



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

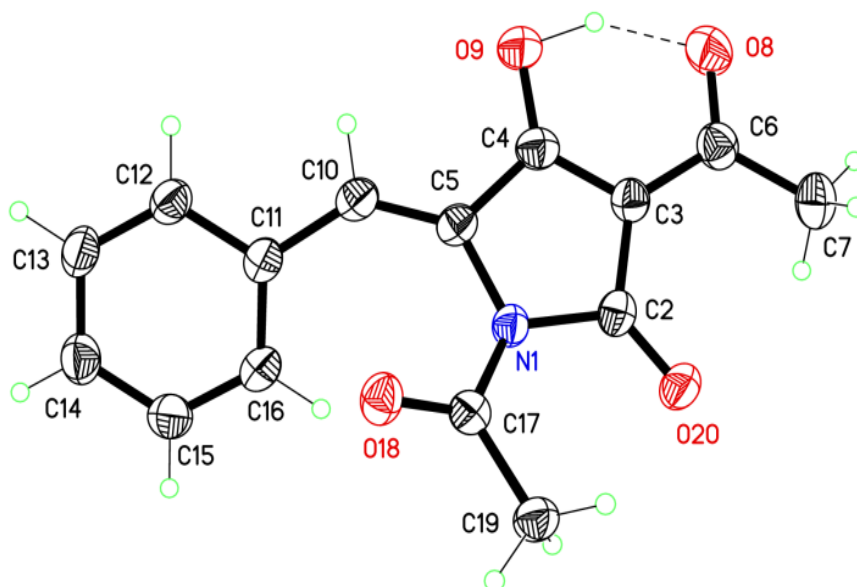
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ ΧΗΜΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΡΓΑΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΔΗΜΗΤΡΗΣ ΜΑΤΙΑΔΗΣ

**Ετεροκυκλικές Ενώσεις Αζώτου και Οξυγόνου: Σχεδιασμός, Σύνθεση και
Διερεύνηση Δομής με Φασματοσκοπικές Μεθόδους και Κρυσταλλογραφική
Ανάλυση**



Αθήνα 2012

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ανωτάτη Σχολή Χημικών Μηχανικών του Ε.Μ.Πολυτεχνείου δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνωμών του συγγραφέα.
(Ν. 5343/1932, Άρθρο 202)

Τριμελής Συμβουλευτική επιτροπή:

Ολγα Μαρκοπούλου	Δανάη Ντούλια	Στυλιανός Χαμηλάκης
Καθηγήτρια ΕΜΠ (Επιβλέπουσα)	Καθηγήτρια ΕΜΠ	Αναπλ. Καθηγητής ΕΜΠ

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή:

Σπύρος Κοΐνης	Εμμανουήλ Κούκιος	Ιωάννης Μαρκόπουλος
Επικ. Καθηγητής ΕΚΠΑ	Καθηγητής ΕΜΠ	Αναπλ. Καθηγητής ΕΚΠΑ

Ολγα Μαρκοπούλου	Δανάη Ντούλια	Αθανάσιος Τσολομύτης
Καθηγήτρια ΕΜΠ	Καθηγήτρια ΕΜΠ	Καθηγητής ΕΜΠ

Στυλιανός Χαμηλάκης
Αναπλ. Καθηγητής ΕΜΠ

Περίληψη

Αντικείμενο της παρούσας Διδακτορικής Διατριβής αποτελεί κατά πρώτο λόγο ο σχεδιασμός, η σύνθεση και η μελέτη της δομής ετεροκυκλικών ενώσεων του αζώτου και του οξυγόνου.

Η χημεία των ετεροκυκλικών ενώσεων σχετίζεται με τη χημεία φυσικών προϊόντων. Η απομόνωση χημικών ενώσεων από φυσικές πηγές είναι τόσο παλιά όσο η ανθρωπότητα και τα φυσικά προϊόντα αποτελούν μία πλούσια πηγή ετεροκυκλικών παραγώγων. Τα μόρια αυτά εξ ορισμού επιδεικνύουν ένα εύρος βιολογικών δράσεων. Σε αναλύσεις βιολογικών ιδιοτήτων, πολύ συχνά παρέχουν στους ερευνητές μία δομή “οδηγό” για ανάπτυξη πλήθους καθαρά συνθετικών προϊόντων και μελέτες συσχετισμού δομής δραστηριότητας.

Το γεγονός αυτό, μας παρακίνησε στο σχεδιασμό ενώσεων και συνθετικών μεθοδολογιών με σκοπό να αποκτήσουμε πρόσβαση σε νέες ή γνωστές δομές ετεροκυκλικών παραγώγων.

Ένα μεγάλο τμήμα της έρευνας που βρίσκεται πίσω από την παρούσα διδακτορική διατριβή είναι αφιερωμένο στα τετραμικά οξέα. Οι ενώσεις αυτές, πενταμελείς ετεροκυκλικές με ένα άτομο αζώτου στο δακτύλιο, βρίσκονται στο επίκεντρο των ερευνών τα τελευταία χρόνια. Πολλά σημαντικά φυσικά προϊόντα, όπως το τενουαζονικό οξύ (tenuazonic acid) είναι γνωστά για τις σημαντικές βιολογικές ιδιότητές τους.

Αρχικά μελετήθηκαν τα τετραμικά οξέα που φέρουν πολική, και συγκεκριμένα υδροξυάλκυλο ή υδροξυβένζυλο ομάδα στη θέση 5 του δακτυλίου. Μέχρι στιγμής, οι αναφορές στη βιβλιογραφία για αυτά τα παράγωγα είναι πολύ περιορισμένες. Η μέθοδος που αναπτύχθηκε, βασίστηκε στη C-ακυλίωση μεταξύ ενός α-αμινοξέος και της κατάλληλης ένωσης ενεργού μεθυλενίου. Το προκύπτον ενδιάμεσο παράγωγο, το οποίο είναι και το ίδιο πολύ αξιόλογο, κυκλοποιείται εύκολα με βασικές συνθήκες προς το αντίστοιχο τετραμικό οξύ. Το σημείο κλειδί αυτής της σύνθεσης ήταν η προστασία της υδροξυλομάδας με τέτοιο τρόπο, ώστε να μπορούμε να χειριστούμε τις ενδιάμεσες ενώσεις.

Στη συνέχεια, περιγράφεται η σύνθεση 5-βενζυλιδενοτετραμικών οξέων που φέρουν μία ακέτυλο ομάδα στο άζωτο του δακτυλίου. Τα παράγωγα αυτά είναι ιδιαίτερα σημαντικά δεδομένου ότι είναι άγνωστα στη βιβλιογραφία, αλλά και ότι τα φυσικά προϊόντα της κατηγορίας ομοιάζουν με αυτά τα μόρια. Κύριο χαρακτηριστικό της μεθόδου αποτελεί η χρήση αζλακτονών που προέρχονται από τη γλυκίνη ως ακυλιωτικά μέσα. Τα παράγωγα αυτά παρέχουν ταυτόχρονη ενεργοποίηση και προστασία των κατάλληλων ομάδων με αποτέλεσμα να καταλήγουμε στις ενώσεις στόχους χωρίς παραπροϊόντα, με υψηλές αποδόσεις και παράλληλα σε λιγότερα στάδια. Οι ενώσεις αυτές, ως νέες, μελετήθηκαν πιο εκτεταμένα. Μελετήθηκαν εκτενώς φασματοσκοπικά και η δομή τους προσδιορίστηκε μέσω κρυσταλλογραφίας ακτίνων Χ. Ακόμη, παρασκευάστηκαν σύμπλοκά τους με μέταλλα, τα οποία επίσης μελετήθηκαν κρυσταλλογραφικά. Τα αποτελέσματα ήταν ενθαρρυντικά και στο άμεσο μέλλον, σκοπεύουμε να μελετήσουμε τις φαρμακολογικές τους δράσεις, καθώς είναι υποσχόμενα αντικαρκινικά και αντιβιοτικά.

Αντικείμενο μελέτης στα επόμενα κεφάλαια αποτελούν οι αμινοφουρανόνες και τα τετρονικά οξέα, πενταμελείς ετεροκυκλικές ενώσεις του οξυγόνου, τα οποία παρασκευάζονται σε στερεά φάση. Ως προς τη χημεία, η μέθοδος ακολουθεί τα βασικά στοιχεία των προηγούμενων, δηλαδή βασίζεται στη C-ακυλίωση μεταξύ α-υδροξυοξέων και των κατάλληλων ενώσεων ενεργού μεθυλενίου. Ωστόσο, η πρωτοπορία της μεθόδου είναι πως η σύνθεση έγινε σε στερεά φάση, δεδομένων των πλεονεκτημάτων αυτής.

Τέλος, καθώς οι ενώσεις στόχοι που παρασκευάζονται είναι πιθανά φαρμακολογικά και βιολογικά δραστικές, επιδιώξαμε να σχεδιάσουμε προσεκτικά μία γκάμα παραγώγων με πιθανή αντικαρκινική δράση, να τα συνθέσουμε και στη συνέχεια να μελετήσουμε τις αντικαρκινικές τους ιδιότητες. Τα αποτελέσματα που αναφέρονται αναλυτικά στα αντίστοιχα κεφάλαια είναι ενθαρρυντικά, τουλάχιστον στο επίπεδο σχεδιασμού ενώσεων-οδηγών. Οι ενώσεις αυτές, επίσης μελετήθηκαν κρυσταλλογραφικά, καθώς η διαμόρφωση των μορίων στο χώρο μας δίνει σημαντικές πληροφορίες, ως προς τη χημεία και της βιολογικές τους ιδιότητες.

Παρόλα αυτά, όσο σημαντική κι αν είναι η σύνθεση (κέντρο της χημείας κατά τον M. Berthelot), σύνθεση χωρίς ανάλυση και ενδελεχή χαρακτηρισμό των προϊόντων είναι άγονη: τα μόρια που συντίθενται είναι “αντικείμενα” προς περαιτέρω μελέτες

[1]. Στο πλαίσιο αυτό, στην παρούσα διδακτορική διατριβή γίνεται διεξοδική μελέτη των δομών των παραγώγων που παρασκευάστηκαν. Τα μέσα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η φασματοσκοπία μίας και δύο διαστάσεων ^1H και ^{13}C NMR, IR, UV, κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ, καθώς και EPR για τα σύμπλοκα.

Abstract

The object of this PhD Thesis is the design and synthesis, as well as the structural elucidation of nitrogen and oxygen heterocycles.

The chemistry of heterocyclic compounds is closely related to the natural products chemistry. The isolation of substances from natural sources is as old as mankind and the natural products constitute a rich source of heterocyclic derivatives.

These products by definition demonstrate a wide range of biological activities. In biological tests, they provide very often the researchers a lead structure for development of a lot of purely synthetic products and structure-activity relationship studies. This fact urged us to design compounds and synthetic methodologies in order to obtain access in new or known structures of heterocycles.

A large part of the research behind this PhD Thesis was devoted to the tetramic acid derivatives. These compounds, five membered nitrogen heterocycles are in the current research interest. Many important natural products, such as tenuazonic acid are well known for their interesting biological activities.

At first, tetramic acids bearing a polar and more particular hydroxyalkyl or hydroxybenzyl group at position 5 of the ring were studied. Until now, the references for these compounds are very limited. The developed method is based in the C-acylation reaction between an α -aminoacid and the appropriate active methylene compound. The intermediate derivative can be cyclized easily with basic conditions to afford the corresponding tetramic acid. The key point of this synthetic protocol is the protection of the hydroxyl group in such way that we are able to handle the intermediate compounds.

Then, the synthesis of 5-benzylidene tetramic acids possessing an acetyl group on ring-nitrogen is described. These derivatives are very important since they are unknown in literature and, moreover, the natural products of this class resemble these molecules. The basic feature of the method is the usage of azlactones from *N*-acetylglycine as acylating media. These derivatives offer the simultaneous activation and protection of the appropriate groups. The result is the synthesis of the target

molecules without byproducts, with high yields in fewer steps. These compounds, as novel ones, were studied more deeply. They were studied spectroscopically and their structure was determined by X-ray crystallography. In addition, metal complexes of these ligands were synthesized and studied. The results are promising and in the near future we are intending to study their pharmaceutical activities as they are potential anticancer and antibiotic agents.

In the next chapter, the solid phase synthesis of aminofuranones and tetronic acids, five membered oxygen heterocycles, is presented. Concerning chemistry, this method shares the basic elements of the previous. That means, it is based on the C-acylation reaction between α -hydroxyacids and the appropriate active methylene compounds. However, the novelty of this methodology is that the synthesis is carried in solid phase, known the advantages.

Finally, since the prepared target molecules are potential pharmaceuticals, we aimed at designing carefully a compound library with potential anticancer activities, synthesizing them and, then, studying their antitumor abilities. The results were successful at least at the level of lead compounds design. These derivatives were studied crystallographically as well, as the conformation of the molecules gives us important information at the synthetic and biological level.

On the other hand, synthesis (centre of chemistry, according to M. Berthelot) without analysis and identification of the products is fruitless; they are "objects" for further studies [1]. In this context, we studied thoroughly the structures of the synthesized compounds, by means of 1D and 2D ^1H and ^{13}C NMR, IR and UV spectroscopy, X-ray crystallography analysis and EPR analysis for the metal complexes.

Ευχαριστίες

Η παρούσα διδακτορική διατριβή δε θα ήταν δυνατό να ολοκληρωθεί χωρίς τη βοήθεια ορισμένων ανθρώπων στους οποίους θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω την καθηγήτρια κ. Όλγα Μαρκοπούλου που μου έδωσε τη δυνατότητα να εργαστώ στην ερευνητική της ομάδα. Η βοήθειά της και η συμβολή της κατά τα έξι τελευταία χρόνια με τις γνώσεις, τις συμβουλές της και τις πολύτιμες συζητήσεις επιστημονικού και μη, περιεχομένου ήταν ανεκτίμητες. Είμαι ακόμη ευγνώμων, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε να εκφράσω τη δημιουργικότητά μου και για τον ειλικρινή της ενθουσιασμό σε κάθε επιτυχία μας!

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον ΕΛΚΕ που με την υποτροφία που μου παρείχε μπόρεσα να πραγματοποιήσω τα ερευνητικά μου σχέδια χωρίς άγχος και με αξιοπρέπεια.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της συμβουλευτικής επιτροπής κα Δ. Ντούλια Καθηγήτρια ΕΜΠ και κ. Σ. Χαμηλάκη Αναπλ. Καθηγητή ΕΜΠ, καθώς και τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής κ. Σ. Κοΐνη Επίκ. Καθηγητή ΕΜΠ, κ. Ε. Κούκιο Καθηγητή ΕΜΠ και κ. Α. Τσολομούτη Καθηγητή ΕΜΠ.

Ιδιαίτερα, ευχαριστώ τον κ. Ι. Μαρκόπουλο, για την άψογη συνεργασία και τις πολύτιμες συμβουλές σε όλη τη διάρκεια του διδακτορικού.

Οφείλω να ευχαριστήσω την καθηγήτρια κ. Vickie McKee από το πανεπιστήμιο του Loughborough, για τις εξαιρετικές κρυσταλλογραφικές αναλύσεις ακτίνων Χ.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τους φίλους και συνεργάτες στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας, που με το πνεύμα συνεργασίας και το χιούμορ έκαναν την έρευνα πιο διασκεδαστική και εποικοδομητική. Οι υποψήφιοι διδάκτορες Λαμπρινή Ζήκου, Βαλεντίνα Στεφάνου, Μαρίνα Ρουσσάκη, Ιωάννα Δεληγκιόζη, Άγγελος Πολυζωίδης καθώς και οι διδάκτορες Ραφαέλο Παπαδάκης και Χρήστος Καραϊσκος ήταν σίγουρα παραπάνω από συνεργάτες. Ευχαριστώ ιδιαιτέρως την κα Ζαμπία Κατσανεβάκη ΕΙΔΙΠ του εργαστηρίου μας για την πρόθυμη βοήθειά της όποτε την χρειάστηκε.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους διδάκτορες Χρήστο Μήτσο και Κυριάκο Προυσή για τη χρήσιμη βοήθειά τους στο ξεκίνημα του διδακτορικού μου.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στη σύντροφό μου, Γιώτα, η οποία με βοήθησε όλα αυτά τα χρόνια πολύ περισσότερο απ'όσο μπορεί να φανταστεί η ίδια.

Θέλω να πω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην αδερφή μου Λίνα και στο γαμπρό μου Περικλή Παπαδόπουλο που ως διδάκτορες μου έδειξαν το δρόμο. Οι καθημερινές μας συζητήσεις ήταν ανεκτίμητες!

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου, για τη συμπαράσταση, την υλική και ηθική υποστήριξη που μου έδειξαν σε όλη την πορεία μου μέχρι εδώ. Σε κάθε μου σχέδιο και όνειρο πίστεψαν απόλυτα σε μένα και ελπίζω να τους έκανα υπερήφανους!

Δημοσιεύσεις σε διεθνή περιοδικά με κριτές

Στα πλαίσια της παρούσας διδακτορικής διατριβής προέκυψαν οι παρακάτω δημοσιεύσεις.

I. D. Matiadis, K. C. Prousis, O. Igglessi-Markopoulou, Solid-Phase Synthesis of Optically Active Substituted 2-Aminofuranones Using an Activated Carbonate Linker. *Molecules*, **2009**, 14(10), 3914-3921.

II. D. Matiadis, O. Igglessi-Markopoulou, Design and Synthesis of Optically Active Esters of γ -Amino- β -oxo Acids as Precursors for the Synthesis of Tetramic Acids Derived from L-Serine, L-Tyrosine and L-Threonine. *European Journal of Organic Chemistry*, **2010**, 31, 5989-5995.

III. D. Matiadis, K. C. Prousis, O. Igglessi-Markopoulou, Three Step Solid-Phase Synthesis of Functionalized Tetric Acids Using an Activated Carbonate Linker. *Synthetic Communications*, **2013**, 43, 392-397.

IV. D. Matiadis, V. Stefanou, G. Athanasellis, S. Hamilakis, V. McKee, O. Igglessi-Markopoulou, J. Markopoulos, Synthesis, X-ray Crystallographic Study and Biological Evaluation of Coumarin and Quinolinone Carboxamides as Anticancer Agents. *Monatshefte für Chemie/Chemical Monthly*, **2013**, έχει γίνει δεκτό προς δημοσίευση, DOI: 10.1007/s00706-013-0986-7.

V. D. Matiadis., O. Igglessi-Markopoulou, Design and Synthesis of N-Acetyl-5-arylidene-tetramic Acids Using as Precursors Functionalized Azlactones. Προς υποβολή για δημοσίευση.

Επιπλέον δημοσιεύσεις που προέκυψαν κατά το διάστημα εκπόνησης της διατριβής. Οι δημοσιεύσεις αυτές είναι εκτός πεδίου του διδακτορικού.

I. K. C. Prousis, G. Athanasellis, V. Stefanou, D. Matiadis, E. Kokalari, O. Igglessi-Markopoulou, V. McKee, J. Markopoulos, Synthesis and Crystal Structure Characterization of Zinc(II) Tetronic Acid Complexes. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, **2010**, Article ID 651651, 7 pages.

II. V. Stefanou, G. Melagraki, A. Afantitis, D. Matiadis, G. Athanasellis, O. Igglessi-Markopoulou, V. Mc Kee, J. Markopoulos, Functionalized Coumarins and Chromones: Novel Synthesis, Crystal structure and DFT calculations. *Molecules*, **2011**, 16(1), 384-402.

III. C. S. Karaiskos, D. Matiadis, J. Markopoulos, O. Igglessi-Markopoulou, Ruthenium-Catalyzed Selective Hydrogenation of Arylidene Tetramic Acids. Application to the Synthesis of Novel Structurally Diverse Pyrrolidine-2, 4-diones. *Molecules*, **2011**, 16(7), 6116-6128.

Δημοσιεύσεις σε διεθνή συνέδρια

I. D. Matiadis, K. Prousis, A. Detsi, J. Markopoulos., O. Igglessi-Markopoulou, *Solid Phase Synthesis of Substituted Tetronic Acids and 2-Aminofuranones*, 1st European Chemistry Congress, Διεθνές Συνέδριο, 27-31 Αυγούστου 2006, Βουδαπέστη, Ουγγαρία.

II. K. C. Prousis, D. Matiadis, A. Detsi, J. Markopoulos, O. Igglessi-Markopoulou, *A Traceless Solid Phase Synthetic Route to Functionalized 4-Hydroxycoumarins*, 1st European Chemistry Congress, Διεθνές Συνέδριο, 27-31 Αυγούστου 2006, Βουδαπέστη, Ουγγαρία.

III. D. Matiadis, K. Prousis, A. Detsi, J. Markopoulos, O. Igglessi-Markopoulou, *Solid Phase Synthesis of Substituted Tetronic Acids and 2-Aminofuranones*, Novel Candidates for the Treatment of Parasitic Diseases, 3rd Cost B22 Annual Congress, Drug Discovery and Development for Parasitic Diseases, Διεθνές Συνέδριο, 1-4 Οκτωβρίου 2006, Αθήνα.

IV. D. Matiadis, C. Mitsos, O. Igglessi-Markopoulou, *Studies Towards the Synthesis of RK-682 Analogues (3-Alkanoyl-5-Hydroxymethyl Tetronic Acids)*, 15th European Symposium on Organic Chemistry, Διεθνές Συνέδριο, 8-13 Ιουλίου 2007, Δουβλίνο, Ιρλανδία.

V. D. Matiadis, O. Igglessi-Markopoulou, *Progress towards the synthesis of tetramic and tetronic acid analogues of RK-682*, 11th Belgian Organic Synthesis Symposium, Διεθνές Συνέδριο, 13-18 Ιουλίου 2008, Γάνδη, Βέλγιο.

VI. V. Stefanou, K. Prousis, G. Athanasellis, D. Matiadis, E. Kokalari, O. Igglessi-Markopoulou, V. Mc Kee, J. Markopoulos, *Synthesis, Characterization and X-Ray Crystallographic Investigation of Zn(II) β-Diketo Tetronic Acid Complexes*, EUROBIC10, Διεθνές Συνέδριο, 22-26 Ιουνίου 2010, Θεσσαλονίκη.

VII. E. Teli-Kokalari, C. Karaiskos, V. Stefanou, D. Matiadis, O. Igglessi-Markopoulou, Markopoulos J. *Catalytic Homogeneous Hydrogenation of 5-Arylidene-pyrrolidine-2,4-diones*, IV international symposium of ecologists of the Republic of Montenegro, 6-10 Οκτωβρίου 2010, Budva, Μαυροβούνιο.

VIII. J. Markopoulos, D. Matiadis, G. Athanasellis, V. Stefanou, F. Kokalari, V. Mc Kee, O. Igglessi-Markopoulou, *Synthesis, X-ray Crystallographic Investigation and Coordination Chemistry of 3-Carboxamide Quinolinone Ligands*, 5th EuCheMS Nitrogen Ligands Conference, 4-8 Σεπτεμβρίου 2011, Γρανάδα, Ισπανία.

IX. E. Teli-Kokalari, V. Stefanou, D. Matiadis, G. Athanasellis, O. Igglessi-Markopoulou, J. Markopoulos, *Synthesis of some n-, o- Ligands, and their Coordination Behavior against Selected Environmental Ions*, 16th International Symposium on Environmental Pollution and its Impact on Life in the Mediterranean Region, 24-27 Σεπτεμβρίου 2011, Ιωάννινα.

Συντομογραφίες

Bn	Βένζυλο
Boc	Tert-βουτυλοξυκαρβονυλο
DCM	Διχλωρομεθάνιο
DFT	Λειτουργική θεωρία πυκνότητας
DMAP	Διμεθυλαμινοπυριδίνη
DMF	Διμεθυλοφορμαμίδιο
DMSO	Διμεθυλοσουλφοξείδιο
HPLC	Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης
HRMS	Φασματοσκοπία μάζας υψηλής ανάλυσης
HSL	Λακτόνη της ομοσερίνης
IR	Υπέρυθρες ακτίνες (φασματοσκοπία)
NMR	Πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός (φασματοσκοπία)
PG	Προστατευτική ομάδα
TBAF	Φθοριούχο τετρα- <i>n</i> -βουτυλαμμώνιο
THF	Τετραϋδροφουράνιο
TLC	Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδος

Περιεχόμενα

Περίληψη	I
Abstract	IV
Ευχαριστίες	VII
Κατάλογος Δημοσιεύσεων	IX
Συνομογραφίες	XIII
Περιεχόμενα	1
Εισαγωγή	5
ΜΕΡΟΣ I Τετραμικά οξέα	9
1 Θεωρητικό μέρος	11
1.1 Φυσικά προϊόντα	13
1.2 Συνθετικές προσεγγίσεις τετραμικών οξέων	35
1.3 Τα τετραμικά οξέα ως ενδιάμεσες ενώσεις	52
1.4 Βιοσύνθεση τετραμικών οξέων	57
2 Σύνθεση τετραμικών οξέων που φέρουν πολική ομάδα στη θέση 5 και των αντίστοιχων εστέρων των β-υδροξυ-γ-αμινοξέων	61
2.1 Εισαγωγή	61
2.2 Αποτελέσματα – Συζήτηση	63
2.3 Συμπεράσματα	74
2.4 Μελλοντικές προοπτικές	75
2.5 Πειραματικό μέρος	77
2.5.1 Γενικά	77
2.5.2 Πειραματική Πορεία	78
2.5.3 Χαρακτηρισμός ενώσεων	80

3	Σύνθεση 5-βενζυλιδενοτετραμικών οξέων	93
3.1	Εισαγωγή	93
3.2	Αποτελέσματα – Συζήτηση	95
3.2.1	Σύνθεση	95
3.2.2	Κρυσταλλογραφική ανάλυση δομής με ακτίνες Χ	100
3.3	Συμπεράσματα	116
3.4	Μελλοντικές προοπτικές	117
3.5	Πειραματικό μέρος	119
3.5.1	Γενικά	119
3.5.2	Πειραματική Πορεία	120
3.5.3	Χαρακτηρισμός ενώσεων	123

4	Βιβλιογραφία	129
----------	---------------------	------------

**ΜΕΡΟΣ II Σύνθεση σε στερεά φάση οπτικά ενεργών 145
υποκατεστημένων 2-αμινοφουρανών και τετρονικών
οξέων**

5	Θεωρητικό Μέρος	147
5.1	Σύνθεση σε στερεά φάση (Solid-phase synthesis)	148
5.1.1	Η ρητίνη (resin)	150
5.1.2	Οι συνδέτες (linkers)	151
5.1.3	Αποκοπή με κυκλοποίηση (cyclative cleavage)	152
5.1.4	Παρακολούθηση αντιδράσεων	153
5.1.5	Συνδυαστική Χημεία	154
5.2	Αμινοφουρανόνες	155
5.3	Τετρονικά οξέα	162

6	Σύνθεση 2-αμινοφουρανονών και τετρονικών οξέων	175
6.1	Εισαγωγή	175
6.2	Αποτελέσματα – Συζήτηση	178
6.3	Συμπεράσματα	183
6.4	Μελλοντικές προοπτικές	184
6.5	Πειραματικό μέρος	185
6.5.1	Γενικά	185
6.5.2	Πειραματική Πορεία	186
6.5.3	Χαρακτηρισμός ενώσεων	188
7	Βιβλιογραφία	195
ΜΕΡΟΣ III	Σύνθεση και αποτίμηση αντικαρκινικών ιδιοτήτων αμιδίων κουμαρινών και κινολινονών	203
8	Θεωρητικό Μέρος	205
8.1	Κουμαρίνες: Ιδιότητες, εφαρμογές και μέθοδοι σύνθεσής τους	206
8.2	Κινολιόνες: Ιδιότητες, εφαρμογές και μέθοδοι σύνθεσής τους	211
8.3	Αντικαρκινικές ιδιότητες κουμαρινών και κινολινονών	213
8.4	Καρβοξαμίδια κουμαρινών και κινολινονών	216
9	Σύνθεση παραγώγων και μετρήσεις	219
9.1	Εισαγωγή	219
9.2	Αποτελέσματα – Συζήτηση	220
9.2.1	Σύνθεση	220
9.2.2	Κρυσταλλογραφική ανάλυση δομής με ακτίνες Χ	223
9.2.3	Βιολογική δραστικότητα	232
9.3	Επίλογος	235
9.4	Μελλοντικές προοπτικές	236
9.5	Πειραματικό μέρος	237
9.5.1	Γενικά	237

9.5.2 Πειραματική Πορεία	239
9.5.3 Χαρακτηρισμός ενώσεων	240
10 Βιβλιογραφία	247
Παραρτήματα	251
I Μηχανισμός ρακεμοποίησης αμινοξέων	253
II Δεδομένα κρυσταλλογραφικών αναλύσεων	256
III Συνοπτικός πίνακας φυσικών προϊόντων τετραμικών οξέων (αλφαβητικά)	265

Εισαγωγή

Ετεροκυκλικές ενώσεις είναι οι κυκλικές ενώσεις, που περιέχουν τουλάχιστον ένα ετεροάτομο (άτομο διαφορετικό του άνθρακα). Ετεροκυκλική χημεία είναι ο κλάδος της χημείας που ασχολείται με τη σύνθεση, τις ιδιότητες και τις εφαρμογές αυτών των ενώσεων. Το πεδίο αυτό, αποτελεί πάνω από το ήμισυ της παγκόσμιας έρευνας πάνω στην οργανική χημεία. Ειδικότερα, η πλειονότητα της οργανικής σύνθεσης που πραγματοποιείται στις φαρμακευτικές και αγροχημικές βιομηχανίες αφορά σε παράγωγα ετεροκυκλικών ενώσεων.

Αν και τα χρησιμοποιούμενα από τον άνθρωπο φάρμακα καλύπτουν όλο το φάσμα των χημικών δομών, το περισσότερο από αυτά είναι ετεροκυκλικά μικρά μόρια (small molecules) ή περιέχουν στη δομή τους κάποιον ετεροκυκλικό δακτύλιο. Ακόμη, πριν από την ανάπτυξη της σύγχρονης χημείας, πολλά από τα φυσικά θεραπευτικά μίγματα που χρησιμοποιήθηκαν από την ανθρωπότητα είχαν ως ενεργό συστατικό κάποιο ετεροκυκλικό αλκαλοειδές και ορισμένα από αυτά χρησιμοποιούνται ακόμη και σήμερα, όπως η μορφίνη [2]. Άξιο αναφοράς είναι το γεγονός πως επτά από τα δέκα φάρμακα με τις υψηλότερες πωλήσεις βάσει αξίας την περίοδο Ιούνιος 2006-Ιούνιος 2007 είναι ετεροκυκλικά μικρά μόρια.

Στο παρόν διδακτορικό παρουσιάζεται ο σχεδιασμός και η μελέτη σύνθεσης ετεροκυκλικών παραγώγων με στόχο την προώθηση της έρευνας σε αυτό το πεδίο. Στο διάστημα εκπόνησης της διδακτορικής διατριβής πραγματοποιήθηκαν έξι μελέτες.

Στο **Μέρος I** παρουσιάζονται οι συνθετικές μεθοδολογίες που αναπτύχθηκαν για την παρασκευή **τετραμικών οξέων**. Στο πρώτο κεφάλαιο (Θεωρητικό Μέρος) αναφέρονται αναλυτικά τα φυσικά προϊόντα που περιέχουν τον τετραμικό δακτύλιο ταξινομημένα χρονολογικά και ακολουθεί η σύντομη ανάπτυξη των συνθετικών μεθοδολογιών που έχουν αναφερθεί στη διεθνή βιβλιογραφία.

Στο επόμενο κεφάλαιο (**2**) παρουσιάζεται η μεθοδολογία (Αποτελέσματα και Συζήτηση και Πειραματικό Μέρος) που αναπτύχθηκε για τη σύνθεση τετραμικών οξέων που φέρουν υδροξυάλκυλο ή υδροξυβένζυλο ομάδα καθώς και των αντίστοιχων εστέρων των β-υδροξυ-γ-αμινοξέων (**δημοσίευση II**). Όπως μπορεί κανείς να διαπιστώσει από το Θεωρητικό μέρος (**1.1**) φυσικά προϊόντα που φέρουν τον τετραμικό δακτύλιο και ιδίως αυτά με πολική ομάδα

στη θέση 5 είναι ιδιαίτερα σημαντικά ως προς τη βιολογική και φαρμακολογική τους αξία. Ωστόσο, στη βιβλιογραφία δεν έχουν καλυφθεί επαρκώς αυτά τα παράγωγα. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης ήταν πλήρως επιτυχημένα, καθώς αναπτύχθηκε ένα συνθετικό πρωτόκολλο που δίνει πρόσβαση στον οργανικό χημικό στη σύνθεση αυτών των παραγώγων με υψηλή απόδοση (75-92% συνολικά), καθαρότητα και εναντιομερική περίσσεια. Ακόμη, οι συνθέσεις είναι σύντομες και πραγματοποιούνται σε λίγα στάδια και σε ήπιες συνθήκες.

Στο κεφάλαιο **3** παρουσιάζεται αναλυτικά η μεθοδολογία που αναπτύχθηκε για τη σύνθεση 3-ακυλοτετραμικών οξέων με τα εξής χαρακτηριστικά: υποκατεστημένο άζωτο με την ακέτυλο ομάδα και υποκατεστημένος C-5 άνθρακας με τη βενζυλίδενο ομάδα (**δημοσίευση IV**). Τα 3-ακυλοτετραμικά οξέα είναι αυτά που εμφανίζουν και τις πιο αξιόλογες βιολογικές και φαρμακολογικές ιδιότητες. Αυτά που φέρουν τη βενζυλίδενο ομάδα στη θέση 5 του ετεροκυκλικού δακτυλίου, είναι ιδιαίτερα, καθώς αν και υπάρχουν σημαντικά στοιχεία για τη δραστικότητα και τις εφαρμογές τους καλύπτονται μόνο μερικώς από τη βιβλιογραφία που αφορά τη σύνθεση τετραμικών οξέων. Μάλιστα, έχουν δημοσιευθεί συνθέσεις που αφορούν μόνο μη υποκατεστημένα ή υποκατεστημένα με τη βενζύλο ομάδα στο N του δακτυλίου, ενώ είναι ευρέως γνωστό πως τα αντίστοιχα ακέτυλο παράγωγα είναι πιο σημαντικά βάσει βιολογικής αξίας. Σε αυτήν τη μελέτη, αναπτύχθηκε μία συνθετική μεθοδολογία που μας δίνει πρόσβαση στα N-ακετυλο-3-ακυλο-5-βενζυλιδενοτετραμικά οξέα με αντιδράσεις σύντομες, σε ήπιες συνθήκες, με υψηλές αποδόσεις χρησιμοποιώντας πολύ οικονομικά αντιδραστήρια και πρώτες ύλες. Τα προϊόντα αυτά μελετήθηκαν, εκτός από τις συνήθεις φασματοσκοπικές μεθόδους (^1H , ^{13}C NMR, FT-IR, UV, HRMS) και με κρυσταλλογραφική ανάλυση ακτίνων Χ. Τέλος, μελετήθηκε η εφαρμογή αυτών των ενώσεων στα σύμπλοκα με στοιχεία μετάπτωσης.

Στο **Μέρος II** παρουσιάζονται οι συνθετικές μεθοδολογίες που αναπτύχθηκαν για την παρασκευή πενταμελών ετεροκυκλικών ενώσεων του οξυγόνου σε στερεά φάση (2-αμινοφουρανόνες και τετρονικά οξέα). Στο κεφάλαιο **5** (Θεωρητικό Μέρος) αναφέρονται αναλυτικά τα χαρακτηριστικά, η τεχνολογία, καθώς και τα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της σύνθεσης σε στερεά φάση (solid-phase synthesis) συγκριτικά με τη σύνθεση σε διάλυμα. Στη συνέχεια, παρουσιάζονται τα πιο αξιόλογα φυσικά προϊόντα αυτών των ενώσεων, καθώς και οι σημαντικότερες μέθοδοι σύνθεσής τους.

Στο επόμενο κεφάλαιο (**6**), που αποτελούν τα αποτελέσματα, τη συζήτηση επί των αποτελεσμάτων και το πειραματικό μέρος, παρουσιάζεται η συνθετική μεθοδολογία για

αυτά τα παράγωγα σε στερεά φάση. Δεδομένων των πλεονεκτημάτων της σύνθεσης σε στερεά φάση επιχειρήσαμε να καλύψουμε ένα κενό στη βιβλιογραφία, καθώς δεν υπάρχει καμία αναφορά στη σύνθεση αμινοφουρανονών, ενώ και οι συνθέσεις τετρονικών οξέων είναι πολύ περιορισμένες. Αυτό που επιτεύχθηκε είναι η ανάπτυξη και βελτιστοποίηση μίας μεθόδου για τη σύνθεση με υψηλή απόδοση, καθαρότητα και εναντιομερική περίσσεια, μίας βιβλιοθήκης προϊόντων 2-αμινοφουρανονών. Τέλος, η μεθοδολογία αυτή επεκτάθηκε με ικανοποιητικά αποτελέσματα στα τετρονικά οξέα (**δημοσιεύσεις I, III**).

Στο **μέρος III (δημοσίευση V)** εκτίθενται η σύνθεση και βιολογικές μελέτες 3-καρβοξαμιδίων των κινολινονών και κουμαρινών. Είναι γνωστό πως αυτές οι ετεροκυκλικές ενώσεις βρίσκουν εφαρμογή σε ένα ευρύ φάσμα πεδίων, όπως στα MOFs (Metal Organic Frameworks), oLEDs (organic Light Emission Diodes), καθώς και στην ανάπτυξη φαρμάκων και βιοδραστικών ενώσεων. Τα αμίδια τέτοιων ενώσεων έχειδειχθεί ότι εντείνουν ορισμένες βιολογικές ιδιότητες και μάλιστα δύο αντίστοιχες μελέτες έχουν δημοσιευθεί ήδη από το εργαστήριο οργανικής χημείας του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου. Με αυτά ως δεδομένο επιχειρήσαμε το σχεδιασμό και τη σύνθεση επιλεκτικά ενώσεων αυτής της τάξης με σκοπό να μελετηθούν ως αντικαρκινικά. Η μελέτη αυτών των ενώσεων έγινε σε ένα ευρύ φάσμα καρκινικών κυτταρικών γραμμών. Χαρακτηριστικά αναφέρουμε μελανώματα, προστάτη, λευχαιμία, στήθος, συκώτι, ωοθήκες κ.α. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν ήταν υποσχόμενα για μελλοντικές εφαρμογές και χρήση των ενώσεων αυτών ως ενώσεις-οδηγοί (lead compounds).

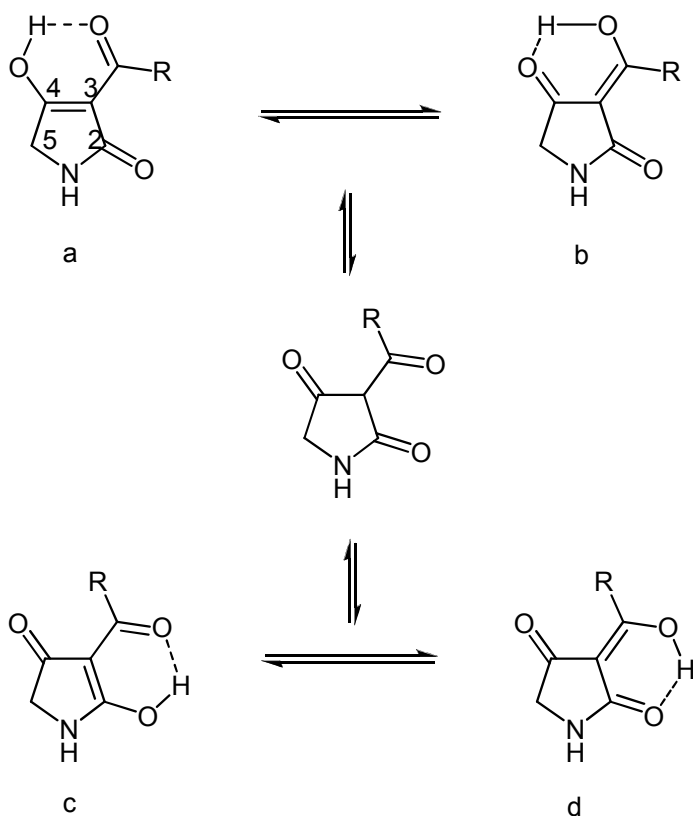
ΜΕΡΟΣ Ι

Τετραμικά οξέα

1

Θεωρητικό Μέρος

Τα τετραμικά οξέα ή πυρρολιдино-2,4-διόνες είναι ετεροκυκλικές ενώσεις με πενταμελή δακτύλιο και ένα άτομο αζώτου. Η πρώτη σύνθεση του τετραμικού οξέος πραγματοποιήθηκε το 1972 [3], αν και προηγήθηκαν συνθέσεις υποκατεστημένων παραγώγων όπως του Lacey [4]. Οι θέσεις στις οποίες είναι δυνατό να υπάρξει υποκατάσταση είναι, σύμφωνα με την αρίθμηση του σχήματος 1.1 οι C-3 και C-5 καθώς και το άζωτο του ετεροκυκλικού δακτυλίου. Ακόμη, σπανιότερα, τα τετραμικά οξέα απαντούν ως 4-O-αλκυλο αιθερικά παράγωγα.



Σχήμα 1.1 Ταυτομέρεια 3-ακυλοτετραμικών οξέων

Ειδικότερα, στα 3-ακυλοτετραμικά οξέα που είναι και τα πιο συχνά απαντώμενα στη φύση είναι αξιοσημείωτη η παρουσία ταυτομερών μορφών. Η ταυτομέρεια περιλαμβάνει 4 ανιχνεύσιμες μορφές, και ειδικότερα, 2 ζευγάρια ταχέως αλληλομετατροπόμενων εσωτερικών ταυτομερών (**a/b** και **c/d**). Η αλληλομετατροπή των εξωτερικών ταυτομερών πραγματοποιείται πιο αργά: τόσο ώστε να είναι ανιχνεύσιμη στο NMR [5,6]. Αξίζει να σημειωθεί ότι η παρουσία διαφορετικών υποκαταστατών επηρεάζει την προαναφερθείσα αναλογία.

Στο κεφάλαιο αυτό (**1.1**) θα αναφερθούν τα σημαντικότερα φυσικά προϊόντα που περιέχουν τον τετραμικό δακτύλιο με κριτήριο τη χρονολογία απομόνωσής τους. Ο μεγάλος αριθμός αυτών των προϊόντων καθιστά αναγκαία την ομαδοποίηση τους όπου αυτό κρίνεται σκόπιμο για την ευκολότερη ανάγνωση και αξιοποίηση των στοιχείων. Η ομαδοποίηση γίνεται με ενώσεις που παρουσιάζουν ιδιαίτερη συγγένεια ως προς τη δομή τους ή την προέλευσή τους. Ιδιαίτερη αναφορά γίνεται σε κάθε παράγωγο στη βιολογική του δράση, στις ολικές συνθέσεις που έχουν πραγματοποιηθεί και στις μελέτες σχετικά με τη μοριακή δομή τους δεδομένου ότι τα περισσότερα φυσικά προϊόντα, έχουν περίπλοκη δομή, η οποία στο μεγαλύτερο μέρος της είναι άγνωστη κατά την απομόνωσή τους. Σε αυτήν την αναδρομή, γίνεται εμφανής η συμβολή των αναλυτικών οργάνων και της φασματοσκοπίας, καθώς στα πιο πρόσφατα ανακαλυφθέντα παράγωγα η αποτίμηση της δομής γίνεται σε σημαντικά συντομότερο χρονικό διάστημα.

Στη συνέχεια (**1.2**), θα προσπαθήσουμε να καλύψουμε τις κύριες μεθόδους σύνθεσης των 3-άκυλο και 3-αλκοξυκαρβονυλοτετραμικών οξέων. Ακόμη, θα γίνει αναφορά στις πρόσφατες εξελίξεις σε αυτό το πεδίο.

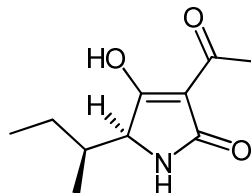
Στην παράγραφο **1.3** θα εξεταστούν συνοπτικά οι χρήσεις των τετραμικών οξέων ως ενδιάμεσες ενώσεις για τη σύνθεση άλλων σημαντικών οργανικών ενώσεων. Τα τετραμικά οξέα έχουν βρει εφαρμογή στη σύνθεση πεπτιδομιμητικών, αμιδίων, κυκλικών ή γραμμικών στατινών, καθώς και σε σύμπλοκα με μέταλλα μετάπτωσης.

Τέλος, στην παράγραφο **1.4** θα αναφερθούμε εν συντομία στη βιοσύνθεση αυτών των μορίων. Η γνώση της βιοσύνθεσης είναι καθοριστικής σημασίας για τη μελέτη του μηχανισμού δράσης και αλληλεπίδρασης στον οργανισμό ενός φυσικού προϊόντος με φαρμακολογικό ενδιαφέρον. Εκτός αυτού, αποτελεί ένα πολύτιμο εργαλείο για τη μελέτη της σύνθεσής τους.

1.1 Φυσικά προϊόντα

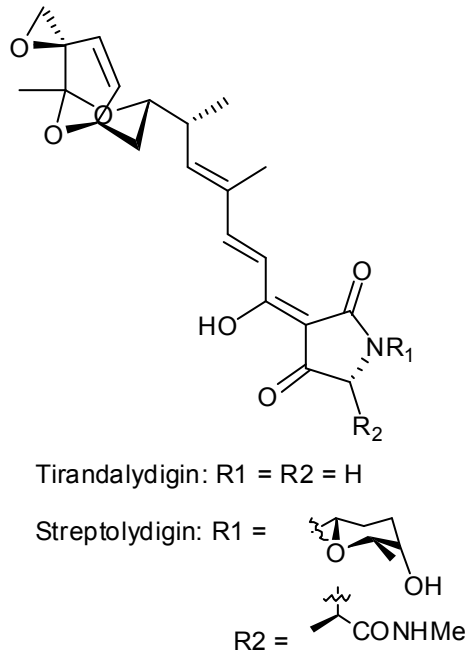
Τα τετραμικά οξέα είναι γνωστά από τις αρχές του 20^{ου} αιώνα. Ωστόσο, μόλις στα τέλη της δεκαετίας του '50 ανακαλύφθηκε ότι ο δακτύλιος των τετραμικών οξέων απαντά σε πολλά φυσικά προϊόντα. Σήμερα, ο αριθμός των φυσικών προϊόντων που περιέχουν τον τετραμικό δακτύλιο έχει ξεπεράσει τα 150 [7]. Φυσικά και συνθετικά προϊόντα αυτής της κατηγορίας ενώσεων παρουσιάζουν ένα ευρύ φάσμα βιολογικών και φαρμακολογικών δράσεων. Αυτές περιλαμβάνουν αντιβιοτικές, αντιιικές και αντιελκωτικές ιδιότητες καθώς και κυτοτοξική και αντικαρκινική δραστηριότητα. Πρόσφατα, σε αρκετά φυσικά προϊόντα έχει αποδωθεί ρόλος και ως αναστολείς του HIV-1.

Το **τενουαζονικό οξύ (tenuazonic acid)** είναι το πρώτο υποκατεστημένο τετραμικό οξύ που απομονώθηκε από φυσικές πηγές. Απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1957 από διήθημα καλλιέργειας *Alternaria tenuis* μαζί με άλλους μεταβολίτες. Περιγράφηκε ως μία οπτικά ενεργή ένωση που συμπεριφέρεται σαν μονοκετόνη και μονοβασικό οξύ [8]. Το 1959 παρουσιάστηκε η δομή του τενουαζονικού οξέος και αποδείχθηκε ότι είναι ένα υποκατεστημένο 3-ακετυλοτετραμικό οξύ. Μάλιστα, αποδείχθηκε ότι έχει δύο ασύμμετρα κέντρα στον C-5 που αντιστοιχούν στην L-ισολευκίνη [9]. Στη συνέχεια απομονώθηκε και από άλλες πηγές όπως τα *Alternaria alternata*, *Alternaria brassicicola* και *Alternaria raphani*. Το τενουαζονικό οξύ είναι μία μυκοτοξίνη [10], η οποία επιδεικνύει ένα ευρύ φάσμα βιολογικών δράσεων. Αυτές περιλαμβάνουν αντιβιοτική, αντιική και αντικαρκινική δραστηριότητα [11-13].



Σχήμα 1.2 Το ισχυρό αντιβιοτικό tenuazonic acid

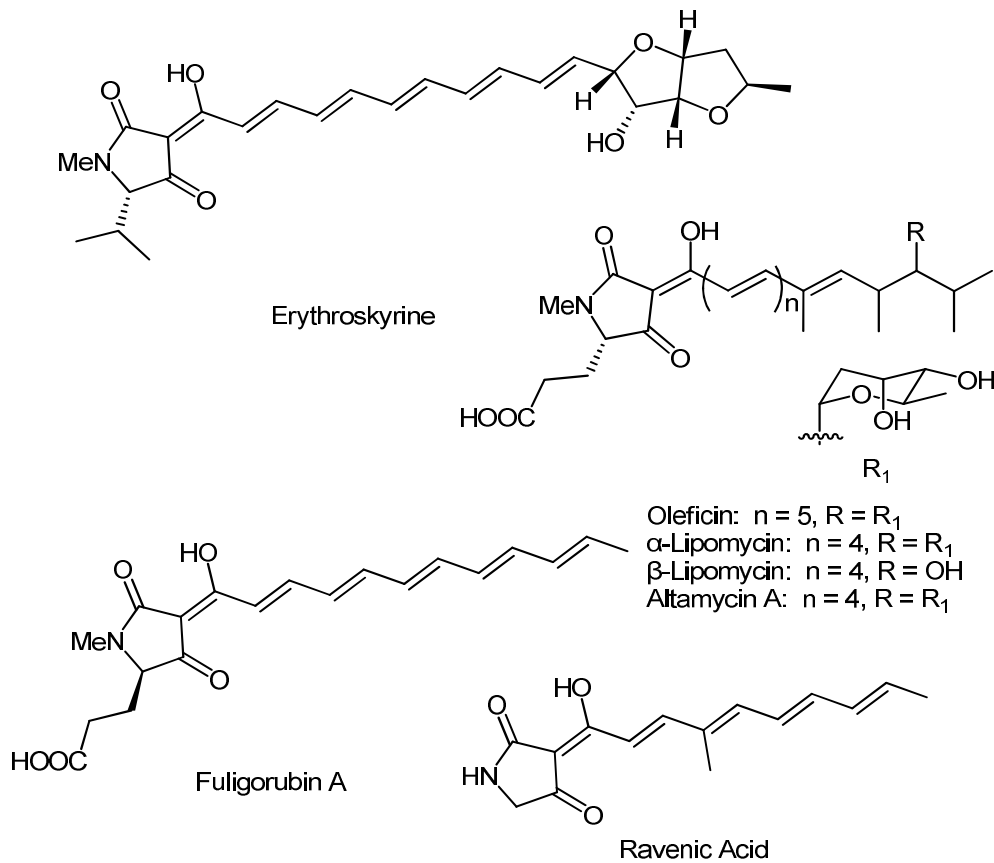
Η **streptolydigin** είναι το δεύτερο σημαντικό φυσικό προϊόν που απομονώθηκε από φυσικές πηγές. Αν και για πρώτη φορά απομονώθηκε, χαρακτηρίστηκε και αναφέρθηκαν οι βιολογικές του ιδιότητες το 1956 [14], όπως συνέβη και με το τενοουαζονικό οξύ, η μοριακή του δομή καθορίστηκε μετά από σχεδόν μία δεκαετία [15], ενώ η πλήρης στερεοχημεία του μορίου έγινε γνωστή με τη βοήθεια κρυσταλλογραφίας ακτίνων Χ (X-ray) το 1973 [16]. Είναι ένα αντιβιοτικό που απομονώθηκε από το μύκητα *Streptomyces lydiginus*. Οι αντιβιοτικές της δράσεις και ο μηχανισμός με τον οποίο λειτουργούν έχουν μελετηθεί εκτεταμένα [17,18]. Η πρώτη ολική σύνθεση της streptolydigin ανακοινώθηκε μόλις το 2010 από τους Pronin και Kozmin [19] σε 24 στάδια παρόλο που είχαν ανακοινωθεί τουλάχιστον 4 συνθέσεις των δύο υπομονάδων που την αποτελούν από το 1987 [20-23].



Σχήμα 1.3 Τα τετραμικά οξέα tiranadalydigin και streptolydigin

1 Θεωρητικό Μέρος

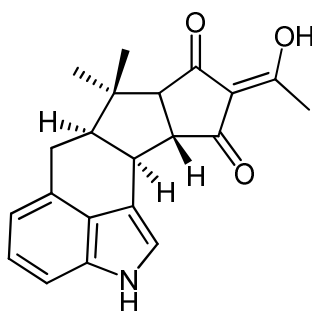
Την ίδια περίοδο (1954) απομονώθηκε και μελετήθηκε ένα ακόμη τετραμικό οξύ, η **ερυθροσκυρίνη (erythroskyrine)**, μία χρωστική που απαντά σε στελέχη *Penicillium islandicum* sopp, από τους Howard και Restricik [24], χωρίς ωστόσο να προσδιοριστεί ο συντακτικός της τύπος. Αυτό επιτεύχθηκε το 1965, οπότε δημοσιεύτηκε η δομή της και χαρακτηρίστηκε πλήρως με φασματοσκοπικές μεθόδους. Όπως φαίνεται στο **σχήμα 1.4**, ο τετραμικός δακτύλιος του μορίου της ερυθροσκυρίνης περιέχει τις



Σχήμα 1.4 3-Πολυενοϋλοτετραμικά οξέα

χαρακτηριστικές ομάδες της *N*-μεθυλοβαλίνης [25]. Εντούτοις, το 1988 παρουσιάστηκαν όλες οι λεπτομέρειες σχετικά με τη δομή της, αφού με τη βοήθεια πειραμάτων 2D NMR και CD καθορίστηκε πλήρως η στεreoχημεία των έξι ασύμμετρων κέντρων άνθρακα. Η ερυθροσκυρίνη είναι μία μυκοτοξίνη, η οποία επιδεικνύει αντιβιοτική δράση έναντι ορισμένων ειδών Σταφυλόκοκκου. Η πρώτη ολική σύνθεση αυτού του φυσικού προϊόντος δημοσιεύτηκε το 1999 από τους Ley και Gracza [26], αν και ήδη από το 1990 είχε παρουσιαστεί από τον Jones η σύνθεση του εξαϋδροφουρανικού δακτυλίου [27].

Το **κυκλοπιαζονικό οξύ (cyclopiazonic acid)** είναι η υπεύθυνη μυκοτοξίνη για την υψηλή τοξικότητα του μύκητα *Penicillium cyclopium*, ο οποίος συναντάται συχνά σε αποθηκευμένα δημητριακά και σιτηρά [28]. Απομονώθηκε και μελετήθηκε πλήρως η μοριακή του δομή το 1968 από τον Holzarfel [29]. Το κυκλοπιαζονικό οξύ, ένα ινδόλιο - 3-ακετυλοτετραμικό οξύ εμφανίζει κάποιες αντιβιοτικές ιδιότητες [30], ωστόσο είναι γνωστό για την υψηλή του τοξικότητα. Ο μηχανισμός της τοξικότητάς του έχει μελετηθεί εκτενώς και πιστεύεται ότι συνδέεται με την ικανότητά του να αναστέλλει την Ca^{2+} ΑΤΡάση [31]. Η πρώτη ολική σύνθεση του κυκλοπιαζονικού οξέος δημοσιεύθηκε το 1984 από τους Kozikowski και Greco και ολοκληρώνεται σε 16 στάδια [32].



Σχήμα 1.5 Το γνωστό για τις αντιβιοτικές του ιδιότητες, cyclopiazonic acid

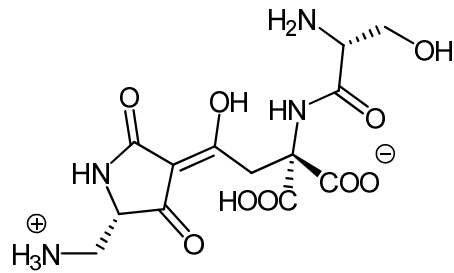
Η **tirandamycin**, ένα φυσικό προϊόν με συγγενική δομή με την streptolydigin, απομονώθηκε το 1971 από τον Meyer. Η δομή της καθορίστηκε ταυτόχρονα με την streptolydigin [15], ενώ η πρώτη πλήρης σύνθεσή της δημοσιεύτηκε το 1985 από

τον DeShong σε 12 στάδια [33]. Η ένωση αυτή ανήκει στην οικογένεια αντιβιοτικών των 3-διενοϋλοτετραμικών οξέων. Στην ίδια κατηγορία ενώσεων ανήκουν ακόμη τα φυσικά προϊόντα Tirandalydigin [34], Bu-2313 [35] και Nocamycin [36], τα οποία ανακαλύφθηκαν μεταγενέστερα (1988, 1980 και 1979 αντίστοιχα).

Το 1971 απομονώθηκε η **oleficin**, το πρώτο σε μία σειρά συγγενικών πολυενοϋλοτετραμικών οξέων με δράση ως αντιβιοτικά. Απομονώθηκε από στελέχη στρεπτομυκητών A-461, τα οποία σχετίζονται με τους *Streptomyces parvulus* [37]. Εξ αρχής έγινε γνωστό ότι εμφανίζει δραστικότητα έναντι των Gram-θετικών βακτηρίων, αλλά η μελέτη και προσδιορισμός της δομής της καθυστέρησε αρκετά. Η σωστή δομή δημοσιεύτηκε το 1978 [38], από τους ίδιους ερευνητές που την απομόνωσαν, 5 χρόνια αφότου δημοσιεύτηκε η πλήρης δομή της **lipomycin** [39] - ενός αντιβιοτικού που ανήκει στην ίδια οικογένεια τετραμικών οξέων, η οποία απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1972 [40]. Τέλος, στην ίδια οικογένεια ανήκει και η **altamycin**, η οποία απομονώθηκε το 1978 από Ρώσους ερευνητές [41]. Οι τρεις αυτές ενώσεις, όπως είναι αναμενόμενο, παρουσιάζουν παρεμφερή αντιβιοτική δραστικότητα. Οι δομές αυτών των παραγώγων έχουν ως κοινό χαρακτηριστικό, εκτός από την πολυενούλο αλυσίδα στη θέση C-3, ένα ασύμμετρο κέντρο άνθρακα στη θέση 5 που αντιστοιχεί στο αμινοξύ L-N-μεθυλογλουταμικό οξύ.

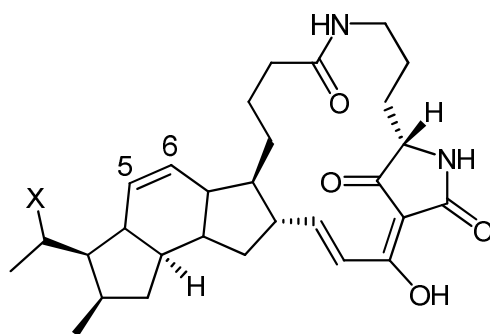
Η **malonomycin** (προηγούμενα γνωστή ως **K16**) είναι ένας μεταβολίτης που απομονώθηκε το 1972 στο *Streptomyces rimosus* και παρουσιάζει υψηλή αντιπρωτοζωική δραστικότητα έναντι τρυπανοσωμάτων [42]. Οι πρώτες ουσιαστικές μελέτες για τη δομή της έγιναν το 1972 οπότε σε δύο εργασίες της ίδιας ομάδας παρουσιάστηκε σχεδόν πλήρως η δομή της [43,44]. Είναι ένα τετραμικό οξύ στο οποίο η ομάδα στη θέση C-5 αντιστοιχεί στο 2,3-διαμινοπροπανοϊκό οξύ. Στη θέση C-3 βρίσκεται μία διπεπτιδική αλυσίδα αποτελούμενη από ρακεμικό ασπαρτικό οξύ και L-σερίνη. Η πρώτη ολική σύνθεση της ρακεμικής malonomycin δημοσιεύτηκε το 1978 από μέλη της ίδιας ομάδας που την μελέτησαν [45]. Σε πρόσφατη πατέντα, μελετήθηκε ως μυκητοκτόνο και συντέθηκε ενζυμικά, ενώ ανάλογες ενώσεις συντέθηκαν εναντιοεκλεκτικά [46].

Τετραμικά οξέα



Σχήμα 1.6 Η δομή της malonomycin περιλαμβάνει μία διπεπτιδική πλευρική ομάδα

Το 1972 απομονώθηκε από τον μύκητα *Streptomyces phaeochromogenes* var. *Ikaruganensis* Sakai ένα ιδιαίτερα σημαντικό, λόγω της δομής του και της έντονης δραστηρότητάς του, φυσικό προϊόν, η **ikarugamycin**. [47]. Η ένωση αυτή ανήκει στην οικογένεια των μακρολακταμών που περιέχουν τον τετραμικό δακτύλιο στη δομή τους. Αυτές από τη δεκαετία του '90 και πολύ περισσότερο σήμερα έχουν προσελκύσει έντονα το ενδιαφέρον των επιστημόνων σχετικά με την απομόνωση τους, τη βιολογική δραστηρότητα, το μηχανισμό της δραστηρότητας τους, τη μελέτη της δομής τους, τη βιοσύνθεση καθώς και την ολική σύνθεσή τους. Εξ αρχής, αυτό το φυσικό προϊόν παρουσίασε έντονη αντιπρωτοζωική δραστηρότητα. Η δομή τους δημοσιεύτηκε από τους Ito και Hirata μερικώς το 1972 [48] και πλήρως το 1979 [49] με τη συνδυασμένη χρήση χημικών αντιδράσεων, κυρίως οξειδωτικής διάσπασης και NMR. Οι πρώτες ολικές συνθέσεις της ikarugamycin δημοσιεύτηκαν το 1989 στο ίδιο τεύχος του ίδιου περιοδικού από διαφορετικές ομάδες αμερικανικών πανεπιστημίων: University of Rochester και Ohio State University [50,51]! Είναι παραδεκτό πάντως, ότι η σύνθεση των Boeckman και συνεργατών αποτελεί την πρώτη ολική σύνθεση του φυσικού προϊόντος η οποία ολοκληρώθηκε σε 28 στάδια από το ακετονίδιο της L-γλυκερικής αλδεΐδης. Τη ίδια δεκαετία απομονώθηκε ένα ακόμη φυσικό προϊόν με αντιβιοτικές ιδιότητες, σχεδόν ταυτόσημο ως προς τη δομή με την ikarugamycin, η **capsimycin**, από τον μύκητα *Streptomyces* sp. C 49-87, η οποία ωστόσο διαφέρει από την προηγούμενη στις φυσικοχημικές της ιδιότητες και τη βιολογική της δράση [52].



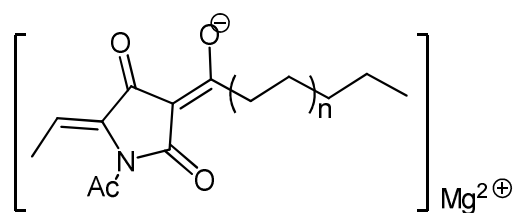
Ikarugamycin: X = H

Capsimycin: X = OMe, 5,6-β-epoxy

Σχήμα 1.7 Οι μακρολακτάμες ikarugamycin και capsimycin περιέχουν τον τετραμικό δακτύλιο στη δομή τους

Το 1973 απομονώθηκε από το βακτήριο *Pseudomonas magnesorubra* nov. Sp. (ATCC No. 21856) ένα νέο αντιβιοτικό που περιέχει μαγνήσιο, η **magnesidin** [53]. Σύντομα [54], παρουσιάστηκε από την ίδια ερευνητική ομάδα η δομή της, η σύνθεσή της, καθώς και πιο εκτενείς βιολογικές δοκιμές. Η δομή της μαγνησιδίνης έχει εξαιρετικό ενδιαφέρον, καθώς απαντά ως μίγμα των μαγνησιακών αλάτων των 3-εξανούλο και 3-οκτανούλο 5-αιθυλιδενοτετραμικών οξέων σε αναλογία 1:1. Στην ίδια εργασία, παρουσιάστηκε η ολική σύνθεση της μαγνησιδίνης από DL-θρεονίνη. Πειράματα NOE (Nuclear Overhauser Effect) NMR εκείνη την εποχή δεν κατέστησαν δυνατό τον προσδιορισμό της στερεοχημείας της αιθυλίδενο ομάδας στη θέση C-5. Αυτό πραγματοποιήθηκε με παρόμοια πειράματα δύο διαστάσεων NMR (NOESY) 20 χρόνια αργότερα με τη βοήθεια ενός πολύ πιο εξελιγμένου οργάνου (500 MHz έναντι 60 MHz). Η magnesidin όπως προαναφέρθηκε, είναι ένα ισχυρό αντιβιοτικό έναντι Gram-θετικών βακτηρίων και η δράση της μελετάται ακόμη και σήμερα όπως φαίνεται από δύο πρόσφατες πατέντες [55,56]. Προϊόντα με παρεμφερείς δομές με τη μαγνησιδίνη έχουν συντεθεί και μελετηθεί με νέες μεθόδους στα πλαίσια αυτής της διδακτορικής διατριβής [57].

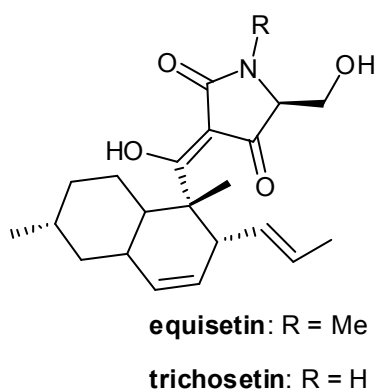
Τετραμικά οξέα



Magnesiumidinate ($n=1, n=2$)

Σχήμα 1.8 Ισχυρό αντιβιοτικό που περιέχει μαγνήσιο

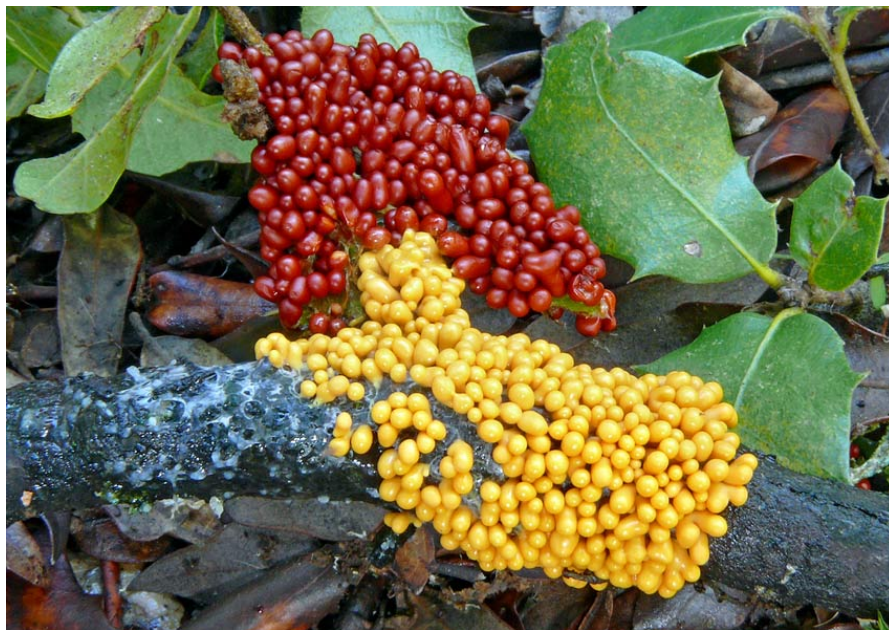
Την επόμενη χρονιά ανακαλύφθηκε ένα ακόμη ιδιαίτερα σημαντικό φυσικό προϊόν η **equisetin**, η οποία απομονώθηκε από τον μύκητα *Fusarium equiseti* [58]. Η ένωση αυτή παρουσίασε πολύ ισχυρή αντιβιοτική δράση, συγκρινόμενη με αυτήν της στρεπτομυκίνης, ενός ευρέως χρησιμοποιούμενου και εμπορικού αντιβιοτικού. Σήμερα, είναι περισσότερο γνωστή για την δράση της ως αναστολέα του ιού HIV-1 [59]. Η δομή της, ωστόσο, δεν ήταν δυνατό ακόμη να καθοριστεί αλλά ήδη ήταν γνωστό ότι περιέχει το N-μεθυλοτετραμικό δακτύλιο. Το 1989 από τους Lynch και συνεργάτες, έγιναν εκτεταμένα πειράματα με NMR και άλλες φασματοσκοπικές μεθόδους. Παρατηρήθηκε ότι το ^1H NMR έδινε αφύσικα ευρείες κορυφές καθιστώντας έτσι αδύνατο το χαρακτηρισμό της ένωσης και τον καθορισμό της δομής της. Το ίδιο παρατηρήθηκε και στα φάσματα ^{13}C NMR σε τέτοιο βαθμό, ώστε



Σχήμα 1.9 Τετραμικά οξέα προερχόμενα βιοσυνθετικά από τη γλυκίνη

ορισμένα σήματα να είναι μη ανιχνεύσιμα. Το φαινόμενο αυτό αποδόθηκε στην ύπαρξη ταυτομερών μορφών. Έτσι, παρασκευάστηκε ο φαινυλοβορονικός εστέρας της ένωσης, με αποτέλεσμα να “κλειδώσει” το αλληλομετατροπόμενο τετραμικό οξύ σε μία ενολική μορφή. Πράγματι, τα φάσματα απέκτησαν καθαρή μορφή και

αποδώθηκε στην equisetin η δομή της (Σχήμα 1.9) με τη χρήση 1D και 2D NMR πειραμάτων. Τα ίδια αποτελέσματα απέδωσε και η μείωση της θερμοκρασίας στους $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Αυτό συνέβη, διότι σε αυτή τη θερμοκρασία τα ταυτομερή δεν μπορούν να ξεπεράσουν το ενεργειακό φράγμα και παρατηρείται μόνο η πιο σταθερή μορφή. Η equisetin είναι το πρώτο σε μία σειρά φυσικών προϊόντων που φέρουν στη θέση C-5 υδροξυαλκυλο και υδροξυβένζυλο ομάδα. Στη συνέχεια, θα αναφερθούν ξεχωριστά και τα υπόλοιπα αφού παρουσιάζουν εξαιρετικό ενδιαφέρον. Η equisetin έχει συντεθεί ολικά με τέσσερις μεθόδους μέχρι σήμερα, με πρώτη αυτήν των Danishefsky και συνεργατών το 1989 [60-63]. Στα πλαίσια αυτής της διδακτορικής διατριβής συντέθηκε με επιτυχία αυτός ο δακτύλιος χρησιμοποιώντας ως πρώτη ύλη τις L-σερίνη, L-θρεονίνη και L-τυροσίνη, τα μόνα πρωτεϊνογενετικά αμινοξέα που φέρουν αυτήν την πολική αλυσίδα [64].

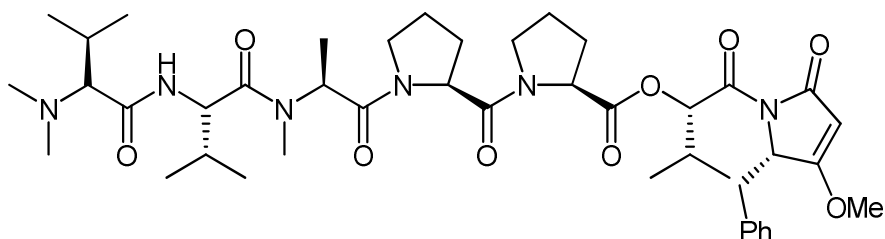


Εικόνα 1.10 *Fuligo septic*

Η **fuligorubin A**, η οποία είναι υπεύθυνη για το κίτρινο χρώμα των πλασμωνίων του *Fuligo septic*, είναι το πρώτο τετραμικό οξύ που απομονώθηκε από μυξομύκητα. Η απομόνωσή της, καθώς και ο πλήρης προσδιορισμός της δομής της με χρήση φασματομετρίας μάζας, φασματοσκοπίας ^1H και ^{13}C -NMR και μετρήσεις κυκλικού διχρωισμού έγινε το 1987 από τον Steglich [65]. Το παράγωγο αυτό αντιστοιχεί στο

αμινοξύ L-N-μεθυλογλουταμινικό οξύ, όπως και η oleficin στην οποία αναφερθήκαμε προηγουμένως, όμως η fuligorubin έχει πιο απλή δομή καθώς στη θέση C-3 έχει μία δεκαενόυλο αλυσίδα. Η πρώτη ολική σύνθεση της δημοσιεύτηκε από τον S. V. Ley το 1988 [66,67]. Δύο χρόνια μετά (1989), η ίδια ερευνητική ομάδα, απομόνωσε 3 ακόμη 3-πολυενούλο και ένα 3-ακέτυλο τετραμικό οξύ από το μυξομύκητα *Leocarpus fragilis* προερχόμενα βιογενετικά από την L-τυροσίνη [68].

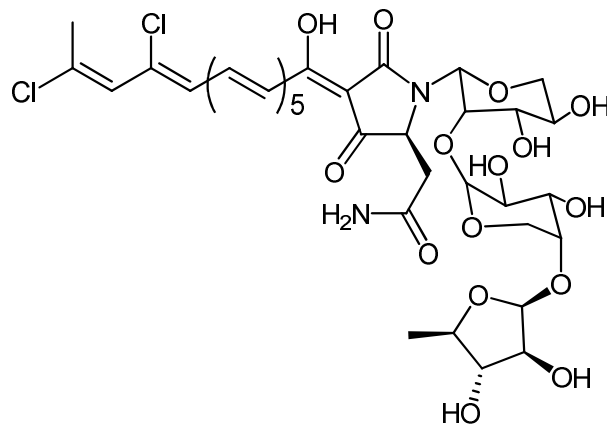
Η **δολαστατίνη 15 (dolastatin 15)** απομονώθηκε αρχικά από τον θαλάσσιο λαγό *Dolabella auricularia* το 1989 [69]. Είναι ένα δεψιπεπτίδιο (πεπτίδιο στο οποίο ένας ή περισσότεροι αμιδικοί δεσμοί έχουν αντικατασταθεί από εστερικούς) και ανήκει στην οικογένεια των δολαστατινών. Οι δολαστατίνες είναι φυσικά προϊόντα με αξιοσημείωτη κυτταροτοξική δραστηριότητα. Η μελέτη της δομής της δολαστατίνης 15 με συνδυασμένη χρήση 2D NMR και MS έδειξε ότι περιέχει ως τελευταία ομάδα ένα 4-O-μεθυλο τετραμικό οξύ. Η ομάδα αυτή ονομάστηκε δολαपुरολλιδόνη [70] και αντιστοιχεί στην L-φαινυλαλανίνη (Σχήμα 1.11). Η ίδια ερευνητική ομάδα παρουσίασε τις πρώτες ολικές συνθέσεις της δολαστατίνης του σωστού (-) ισομερούς, αμέσως μετά τον πλήρη προσδιορισμό της δομής της, ανάμεσα σε 128 πιθανότητες [70,71].



Σχήμα 1.11 Μοριακή δομή της dolastatin 15

Ο σπόγγος *Theonella* που βρίσκεται στο νησί Hachijo στην Ιαπωνία, περιέχει τα φυσικά προϊόντα και πορτοκαλί χρωστικές **aurantoside** A και B. Απομονώθηκαν το 1991 και βρέθηκε ότι έχουν κυτοτοξική δραστηριότητα [72]. Η δομή τους είναι συγγενική της streptolydigin. Τα επόμενα χρόνια ανακαλύφθηκαν κι άλλα φυσικά προϊόντα της οικογένειας aurantoside (C-I). Αυτά διαφέρουν από τις A και B στο μήκος της πολυενούλο αλυσίδας και της δομής του τρισακχαρίτη. Οι aurantoside είναι οι πρώτοι γλυκοζίτες τετραμικών οξέων που απομονώθηκαν από θαλάσσιο

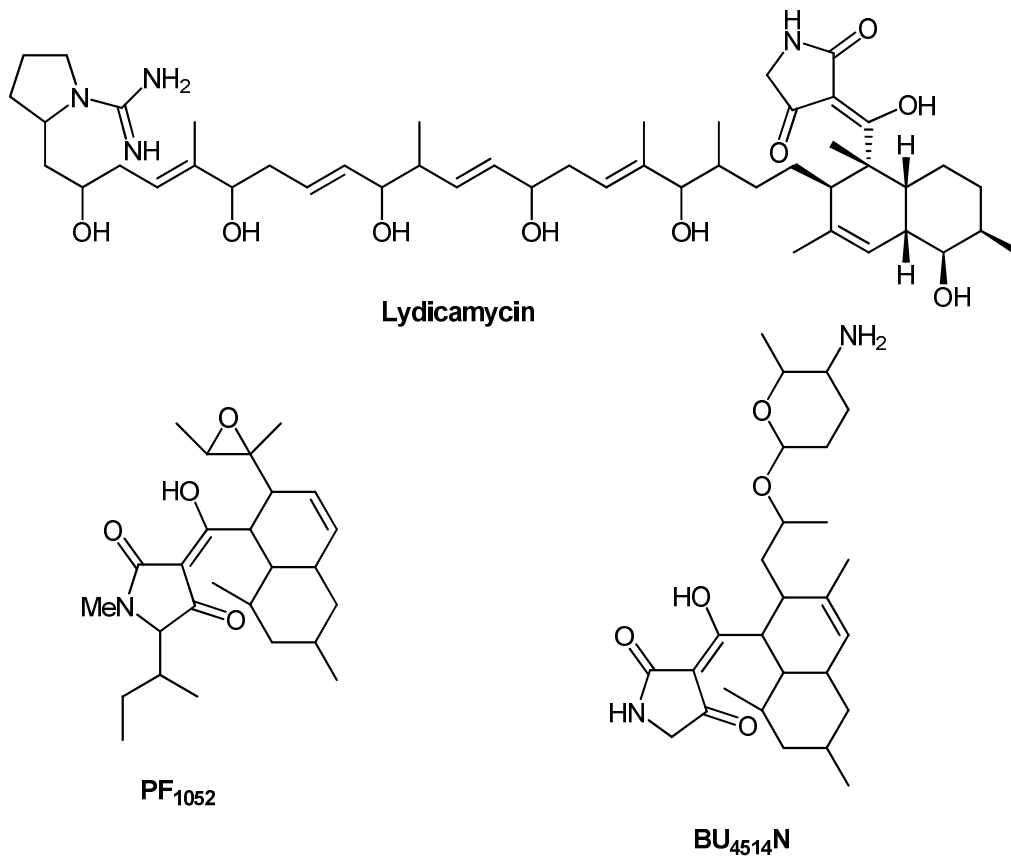
οργανισμό. Παρόλο που ο δακτύλιος του τετραμικού οξέος είναι συγγενικός με άλλους μεταβολίτες με προέλευση τη ξηρά, το ακεταμίδιο, η πολυενόυλο ανθρακική αλυσίδα καθώς και η ομάδα του τρισακχαρίτη είναι μοναδικά δομικά χαρακτηριστικά των aurantoside [73-75]. Το 1999 απομονώθηκαν 8 νέοι γλυκοζίτες τετραμικών οξέων από το θαλάσσιο σπόγγο *Siliquariaspongia japonica* [76], οι **rubroside** A-H. Αυτά τα φυσικά προϊόντα με αντιμικηκτιασική δραστηριότητα έχουν συγγενικές δομές με τις aurantoside με την κύρια διαφορά ότι στις δεύτερες, η C-3 ανθρακική αλυσίδα του τετραμικού οξέος καταλήγει σε ολεφίνη, ενώ στις rubroside καταλήγει σε τετραϋδροφουρανικό δακτύλιο.



Σχήμα 1.12 Η aurantoside B ανήκει στην οικογένεια των γλυκοζιτών τετραμικών οξέων, aurantoside (A-I)

Στις αρχές της δεκαετίας του '90 απομονώθηκαν ορισμένα ακόμη φυσικά προϊόντα που περιέχουν τον τετραμικό δακτύλιο και παρουσιάζουν ομοιότητα με την equisetin ως προς τη δομή τους, αν και δεν έχουν μελετηθεί τόσο εκτεταμένα όσο τα προαναφερθείσες ενώσεις. Η **lydicamycin** απομονώθηκε από στελέχη του ακτινομύκητα *Streptomyces lydicus* το 1991 και παρουσιάζει αντιβιοτικές ιδιότητες [77]. Εκτός από τον τετραμικό δακτύλιο και την ομάδα οκταϋδροναφθαλενίου, περιέχει μία ομάδα αμιδοπυρολλιδίνης. Το τετραμικό οξύ αντιστοιχεί στην L-γλυκίνη, δηλαδή στη θέση C-5 είναι μη υποκατεστημένο [78]. Στο ίδιο αμινοξύ αντιστοιχεί και το **BU-4514N**, που απομονώθηκε από στελέχη του μικροοργανισμού *Microtetraspora* sp. T689-92 [79]. Η ένωση εμφανίζει δραστηριότητα έναντι των Gram-θετικών βακτηρίων καθώς και νευρογενετική δράση. Το **PF1052** που

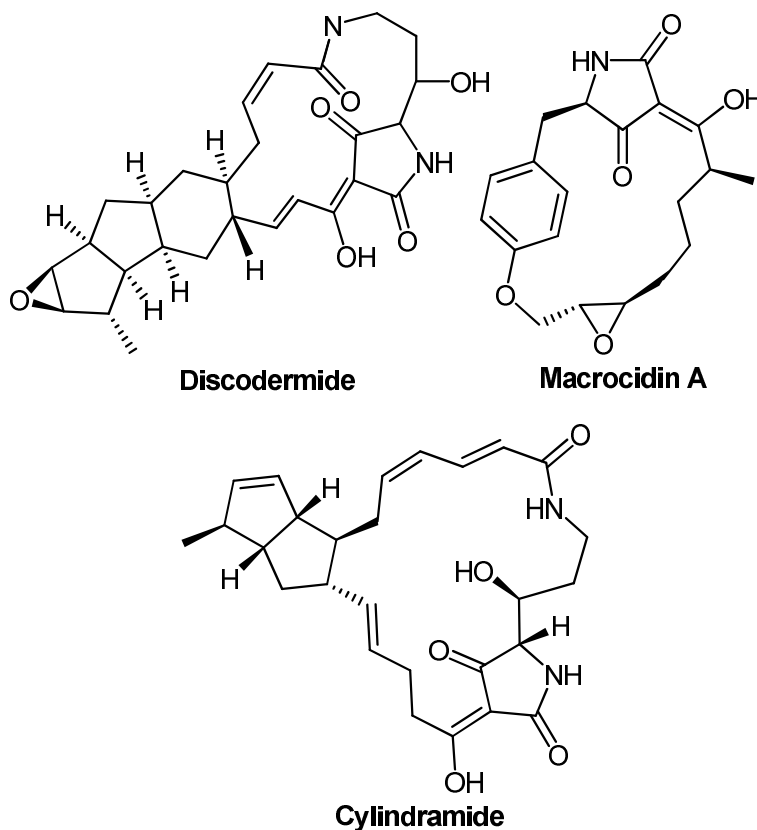
απομονώθηκε το 1992 από το μικρόβιο *Phoma* sp. PF1052, βρέθηκε ότι έχει αντιβιοτική δραστηριότητα [80]. Η μοναδική μελέτη που αναφέρεται σε αυτήν την ένωση είναι μία ιαπωνική πατέντα, στην οποία ωστόσο, δεν αναφέρεται η πλήρης διαμόρφωση του μορίου. Ο τετραμικός δακτύλιος αντιστοιχεί βιοσυνθετικά στην L-ισολευκίνη. Περαιτέρω μελέτες για τη βιολογική δραστηριότητα ή ολική σύνθεση αυτών των παραγώγων δεν έχουν έκτοτε δημοσιευτεί.



Σχήμα 1.13 Τετραμικά οξέα συγγενικά της equisetin

Το 1991 απομονώθηκε η **discodermide** από το θαλάσσιο σπόγγο *Discodermia dissolute* [81]. Η discodermide, είναι μία μακροκυκλική λακτάμη, όπως η ikarugamycin στην οποία αναφερθήκαμε προηγουμένως, η οποία εμφανίζει κυτταροτοξική και αντιβακτηριδιακή δράση. Από τη χρονιά αυτή τονώθηκε το ενδιαφέρον για αυτή την οικογένεια φυσικών προϊόντων. Η επόμενη ένωση σε αυτήν τη σειρά ήταν η **alteramide A**, η οποία ανακαλύφθηκε το 1992. Απομονώθηκε και αυτή από θαλάσσιας προέλευσης οργανισμό και συγκεκριμένα από το βακτήριο

Alteromonas sp., που διαχωρίστηκε από το θαλάσσιο σπόγγο *Halichondria okadai* [82]. Η alteramide A δομικά συγγενεύει με την discodermide, ενώ εμφανίζει και αυτή κυτταροτοξική δράση.



Σχήμα 1.14 Μακροκυκλικές λακτάμες με σημαντική βιολογική δράση

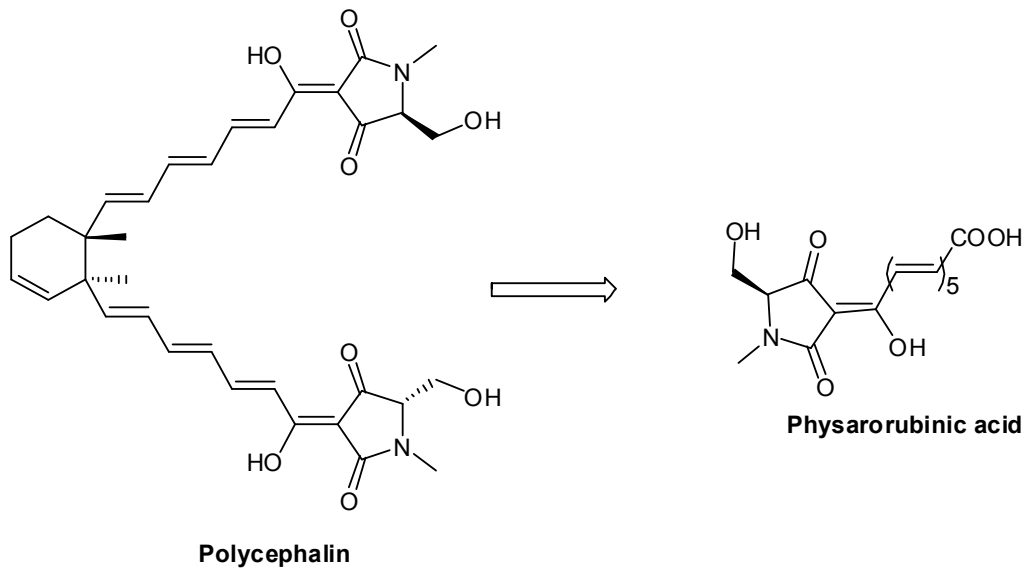
Ένα από τα πιο σημαντικά παράγωγα αυτής της κλάσης είναι η **cylindramide**, η οποία απομονώθηκε το 1993 από το θαλάσσιο σπόγγο *Halichondria cylindrata* [83]. Η ένωση αυτή μελετήθηκε ιδιαίτερα τόσο ως προς τη βιολογική της δραστηριότητα όσο ως προς τη μελέτη της δομής της [84,85]. Η ποικιλομορφία και σημασία της βιολογικής της δραστηριότητας οδήγησε στην ανάπτυξη μεθόδων για τη σύνθεσή της. Η πρώτη ολική σύνθεση πραγματοποιήθηκε το 2005 από τους Cramer, Laschat και συνεργάτες [86] σε 29 στάδια και θεωρείται η πρώτη σύνθεση μακροκυκλικής ένωσης αυτού του τύπου. Ένα χρόνο μετά ο Phillips από το πανεπιστήμιο του Colorado δημοσίευσε μία πιο σύντομη (19 στάδια) σύνθεση της cylindramide [87].

Μέχρι σήμερα έχουν ανακαλυφθεί δύο ακόμη μέλη αυτής της οικογένειας που εμφανίζουν μεγάλη συγγένεια με τις cylindramide, discodermide και alteramide A. Πρόκειται για τις **aburatubolactams A,C** και την **HSAF**. Οι πρώτες είναι βακτηριακής προέλευσης και απομονώθηκαν από στρεπτομύκητα που βρέθηκε σε οστρακόδερμο στην περιοχή της Aburatubo στην Ιαπωνία το 1996, από όπου πήραν και την ονομασία τους [88]. Η πρώτη ολική σύνθεσή της δημοσιεύτηκε το 2008 από τον Phillips και ολοκληρώθηκε σε 23 στάδια [89]. Η HSAF (Heat-Stable Antifungal Factor) είναι ένας δευτερεύον μεταβολίτης που παράγεται από το βακτήριο *Lysobacter enzymogenes* υπό ειδικές συνθήκες. Σε αυτήν την ένωση, η οποία παρουσιάζει ευρεία αντιβακτηριδιακή δραστηριότητα θα αναφερθούμε εκτενέστερα στο πεδίο της βιοσύνθεσης των τετραμικών οξέων.

Ολοκληρώνοντας την αναφορά μας στα μακροκυκλικά φυσικά προϊόντα που περιέχουν τον τετραμικό δακτύλιο, αξίζει να ασχοληθούμε με δύο ακόμη. Οι **pyrroindomycin A** και **B**, απομονώθηκαν το 1994 από τον στρεπτομύκητα *Streptomyces rugosporus* LL-42D005 από τους Ding και συνεργάτες [90] και αποτελούνται δομικά από τρεις ξεχωριστές ομάδες. Μία ομάδα πυρρολοϊνδολίου είναι συνδεδεμένη με εστερικό δεσμό με ένα δεοξυτρισακχαρίδιο το οποίο στο άλλο του άκρο είναι συνδεδεμένο με γλυκοσιδικό δεσμό με μια ομάδα που περιέχει τον τετραμικό δακτύλιο. Οι πρώτες βιολογικές μελέτες έδειξαν ότι είναι εξαιρετικά δραστική έναντι Gram-θετικών βακτηρίων [91]. Οι **Macrocidins A** και **B** είναι δύο μικρές σε σχέση με τις προαναφερθείσες λακτάμες που περιέχουν στον δακτύλιο τους 3-ακυλοτετραμικό οξύ, παράγωγο της L-τυροσίνης. Απομονώθηκαν από το μύκητα *Phoma macrostoma* το 2003 [92] και εμφανίζουν εκλεκτική παρασιτοκτόνα δραστηριότητα σε πλατύφυλλα αγριόχορτα, γεγονός που τις κάνει ελκυστικές σαν ενώσεις οδηγό για ανάπτυξη φυτοφαρμάκων. Η πρώτη ολική σύνθεση της macrocidin A δημοσιεύτηκε το 2010 από τους Pfaltz και Suzuki [93].

Η **Pramanicin** ανήκει σε μία κλάση αντιβιοτικών φυσικών προϊόντων που αποτελούνται από μία πολική κυρίως ομάδα και μία λιπαρή πλευρική αλυσίδα. Η πολική ομάδα είναι μία γ-λακτάμη, ανάλογη τετραμικού οξέος, η οποία βιοσυνθετικά προκύπτει από την L-σερίνη [94]. Απομονώθηκε το 1994 από ένα μύκητα που ανήκει στο είδος *Stagonospora* sp. 1 και παρουσιάζει αντιβιοτική δραστηριότητα [95]. Η pramanicin είναι ένα φυσικό προϊόν υπό μελέτη για τις βιολογικές της ιδιότητες εφόσον έχει βρεθεί ότι έχει ένα ευρύ φάσμα πιθανών εφαρμογών έναντι σε

ανθρώπινες ασθένειες [96-98]. Αν και ήδη από το 1999 έχουν δημοσιευτεί δύο ολικές συνθέσεις της διαστερομερούς (+)-pramanicin [99,100], μόλις το 2006 ανακοινώθηκε η πρώτη ολική σύνθεση του φυσικού προϊόντος (-)-pramanicin [101].

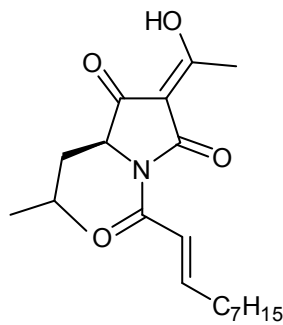


Σχήμα 1.15 Το μόριο της polycephalin προέρχεται βιοσυνθετικά από δύο μόρια physarorubinic acid

Ένα αξιόλογο μέλος της οικογένειας των πολυενοϋλοτετραμικών οξέων είναι το **physarorubinic acid**, το οποίο απομονώθηκε από μικροπλασμάδια του μυξομύκητα *Physarum polycephalum* και χαρακτηρίστηκε από τους Nowak και Steffan το 1997 [102]. Στην ίδια εργασία παρουσιάστηκε από τους συγγραφείς η σύνθεση της ομάδας του τετραμικού οξέος το οποίο προκύπτει από την L-N-μεθυλοσερίνη. Η ολική σύνθεση δημοσιεύτηκε το 1999 από την ομάδα του Steven V. Ley [103]. Στον ίδιο μυξομύκητα ανακαλύφθηκαν δύο ακόμη πολυενοϋλοδιτετραμικά οξέα το 1998 από τους ίδιους ερευνητές. Οι ενώσεις αυτές είναι οι **polycephalin B** και **C**. Μάλιστα αποδείχτηκε ότι το physarorubinic acid είναι μία πρόδρομη ένωση στη βιοσύνθεση της polycephalin [104,105]. Η πρώτες ολικές συνθέσεις δημοσιεύτηκαν το 2002 και 2003 από την ομάδα του Steven V. Ley [106,107].

Τη δεκαετία του 2000 διατηρήθηκε η έντονη δραστηριότητα όσον αφορά στην απομόνωση, τη μελέτη και τη σύνθεση φυσικών προϊόντων και μάλιστα σε ακόμη πιο αυξημένο βαθμό. Είναι φυσικό κάποιες ενώσεις να μην έχουν μελετηθεί επαρκώς ακόμη, γιατί η υπαρχή τους μας έγινε γνωστή πολύ πρόσφατα.

Αναμφισβήτητα, όμως, κάποια φυσικά προϊόντα έχουν ξεχωρίσει είτε λόγω της ιδιαίτερης δομής τους ή λόγω έκδηλης βιολογικής δραστηριότητας ή ιδιαιτεροτήτων οσον αφορά στη βιοσύνθεσή τους. Ένα από αυτά είναι η **reutericyclin**, ένα αμφιφιλικό μικρού μοριακού βάρους τετραμικό οξύ, το οποίο εμφανίζει ευρεία δράση έναντι Gram-θετικών βακτηρίων. Απομονώθηκε το 2000 από το βακτήριο

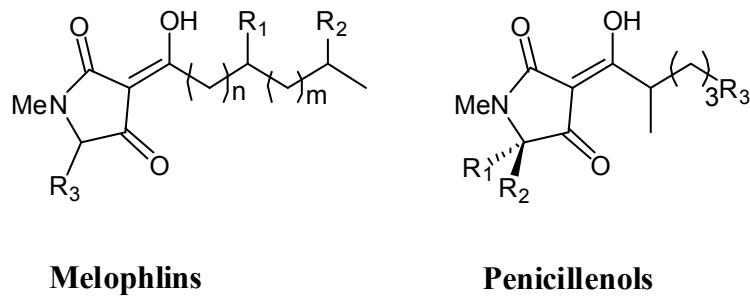


reutericyclin

Σχήμα 1.16 Το προερχόμενο από το *Lactobacillus reuteri* LTH2584 αντιβιοτικό reutericyclin

Lactobacillus reuteri LTH2584 [108]. Η βιολογική της δραστηριότητα, ο μηχανισμός δράσης της καθώς και οι πιθανές εφαρμογές της έχουν μελετηθεί από τότε εκτενώς [109,110]. Αξίζει να αναφερθεί, ότι λόγω της χαμηλής της τοξικότητας στα ζώα και τους ανθρώπους μπορεί να βρει εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων [111]. Η πρώτη ολική σύνθεση της ρακεμικής reutericyclin δημοσιεύτηκε το 2000 [112], ενώ πέντε χρόνια αργότερα, δημοσιεύτηκε η ολική σύνθεση της (+)-reutericyclin σε τρία στάδια [113]. Οι δύο συνθέσεις, καθώς και η πρώτη απομόνωση και μελέτη δομής έγιναν από τον ίδιο κύριο ερευνητή, τον G. Jung.

Οι **melophlins** είναι *N*-μεθυλο-3-ακυλοτετραμικά οξέα που διαφοροποιούνται μόνο από τους υποκαταστάτες στη θέση C-5 (H ή Me) του δακτυλίου και στο μήκος και τη διακλάδωση της πλευρικής αλυσίδας στη θέση C-3. Οι πρώτες melophlins (A και B) απομονώθηκαν το 2000 από το θαλάσσιο σπόγγο *Melophlus sarassinorum* [114], ενώ τα αμέσως επόμενα χρόνια ανακαλύφθηκαν και άλλες από την ίδια προέλευση (οι melophlins C-O το 2003 και οι melophlins P-S το 2006) [115,116]. Η melophlin C παρουσιάζει έντονη αντιβακτηριδιακή δραστηριότητα έναντι του *Bacillus subtilis* και *Staphylococcus aureus* παράλληλα με τη αντιμυκητιασική δραστηριότητα έναντι του *Candida albicans*. Ακόμη, οι melophlins A, B, C, H, O, Q και R παρουσιάζουν αντικαρκινικές ιδιότητες [114-116]. Οι Schobert και συνεργάτες



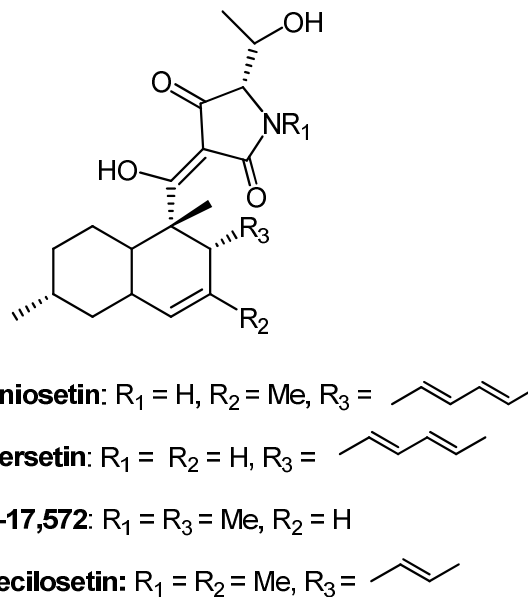
Σχήμα 1.17 *N*-μεθυλο-3-ακυλοτετραμικά οξέα με αντιβακτηριδιακή δραστηριότητα

δημοσίευσαν το 2008 τη σύνθεση, χαρακτηρισμό και μελέτη για αντιμικροβιακή και κυτταροτοξική δραστηριότητα συμπλόκων των melorphlins A και C με Mg, Zn, Ga, La και Ru. Το σύμπλοκο της melorphlin C με λανθάνιο και ρουθίνιο, επέδειξε ιδιαίτερα αυξημένη αντικαρκινική δράση έναντι του υποκαταστάτη. Οι δύο ολικές συνθέσεις των melorphlins που έχουν ανακοινωθεί είναι σε στερεά φάση και ολοκληρώνονται σε 4 στάδια [117,118]. Πρόσφατα (2008), έξι νέα τετραμικά οξέα με συγγενική δομή προς τις melorphlins απομονώθηκαν από το μύκητα *Penicillium* sp. GQ-7, από τον οποίο πήραν και την ονομασία τους [119]. Οι **penicillenols** επιδεικνύουν σύμφωνα με τις πρώτες μελέτες αντικαρκινική δραστηριότητα. Στα τέλη του 2010 ανακοινώθηκε από ιάπωνες ερευνητές η πρώτη ολική σύνθεση της penicillenol A [120].

Το 2002 απομονώθηκε από το μικρομύκητα *Penicillium* sp (MINAP9902) ένα νέο πολυενούλοτετραμικό οξύ με αντιβιοτική δραστηριότητα έναντι του *Staphylococcus aureus*, το **ravenic acid** [121]. Η ένωση αυτή, η οποία δεν έχει ακόμη μελετηθεί επαρκώς ως προς τη βιολογική της δραστηριότητα, έχει πάρει το όνομά της από την περιοχή που συλλέχθηκε ο μύκητας από τον οποίο διαχωρίστηκε ο μύκητας (εθνικό πάρκο Ravensbourne, Αυστραλία). Η ολική της σύνθεση παρουσιάστηκε πολύ πρόσφατα (2010) από την ερευνητική ομάδα του Schobert [122].

Σε προηγούμενες παραγράφους έχουμε αναφερθεί εκτενώς στην equisetin, καθώς και σε ενώσεις που ανακαλύφθηκαν τη δεκαετία του '90 και παρουσιάζουν ομοιότητες με αυτήν στη δομή τους και τις ιδιότητές τους. Ομοίως, από το 2000 μέχρι σήμερα έχουν απομονωθεί και μελετηθεί αρκετές ακόμη ενώσεις που ανήκουν στην ίδια οικογένεια. Καθώς έχουμε ήδη καλύψει αυτήν την κατηγορία

ενώσεων, θα αναφερθούμε σε αυτές σχετικά επιγραμματικά. Οι σημαντικότερες είναι οι **cryptocin** (2000) [123], **trichosetin** (2002) [124], **altersetin** (2002) [125], **CJ-17,572** (2002) [126], **coniosetin** (2003) [127], **paecilosetin** (2005) [128], **JBIR-22** (2009) [129,130] και **ophiosetin** (2010) [131]. Όπως φαίνεται στο *σχήμα 1.18*, οι coniosetin, altersetin, CJ-17,572, paecilosetin και cryptocin έχουν παρόμοια δομή και περιέχουν μία ομάδα τετραμικού οξέος που προκύπτει βιοσυνθετικά από την L-θρεονίνη ή την N-μεθυλο-L-θρεονίνη. Οι ενώσεις αυτές έχουν επίσης παρεμφερή προέλευση. Έχουν απομονωθεί από μύκητες: από τους *Coniochaeta ellipsoidea* DSM 13856, *Alternaria* sp. P 0506, *Pezicula* sp. CL11877, *Paecilomyces farinosus* και *Cryptosporiopsis* cf. *Quercina* αντίστοιχα και παρουσιάζουν αξιόλογη αντιβακτηριδιακή και αντιμικροβιακή δράση. Από τις υπόλοιπες, αξίζει να αναφερθούμε στην trichosetin, η οποία απομονώθηκε από συνδυασμένη καλλιέργεια *Trichoderma harzianum* και *Catharanthus roseus* και προκύπτει, από την



Σχήμα 1.18 Φυσικά προϊόντα της οικογένειας equisetin

N-μεθυλο-L-σερινη. Η ένωση αυτή είναι ταυτόσημη με την equisetin με την μόνη διαφορά ότι το άζωτο του τετραμικού δακτυλίου είναι υποκατεστημένο με μεθύλιο. Η trichosetin επιδεικνύει αξιόλογη δραστικότητα έναντι Gram-θετικών βακτηρίων ιδίως του *Staphylococcus aureus* και *Bacillus subtilis*. Ακόμη, έχει αποδειχτεί ότι παρουσιάζει ιδιαίτερα αυξημένη φυτοτοξικότητα, η οποία οφείλεται στην καταστρεπτική της δράση προς τα μιτοχόνδρια. Από αυτά τα φυσικά προϊόντα, παρά

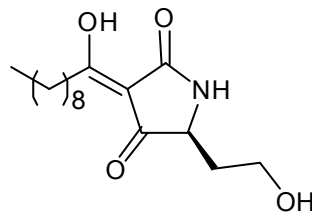
την ομοιότητά τους με την equisetin η οποία έχει συντεθεί ολικά από το 1989, μόνο η conioisetin έχει συντεθεί σύμφωνα με μία πρόσφατη πατέντα [132]. Στην οικογένεια αυτή ανήκει ακόμη η **integramycin**, ένα εξακυκλικό τετραμικό οξύ που απομονώθηκε από μύκητες *Actinoplanes* sp. το 2002 [133]. Έχει επιδείξει αντι-HIV ιδιότητες και παρόλο που επιμέρους τμήματα της έχουν παρασκευαστεί, δεν έχει δημοσιευθεί ακόμη ολική σύνθεση [134].



Εικόνα 1.19 *Paecilomyces farinosus*

Πρόσφατα (2005), ανακαλύφθηκε ότι το κατά Gram αρνητικό βακτήριο *Pseudomonas aeruginosa*, ένας ευκαιριακός παθογόνος μικροοργανισμός, παράγει ένα αντιβιοτικό τετραμικό οξύ την 3-(1-υδροξυδεκυλιδανο)-5-(2-υδροξυ-αιθυλο)πυρρολιдино-2,4-διόνη (**C12-TA**) από ένα από τα μόρια του μηχανισμού διακυτταρικής χημικής επικοινωνίας του. Στη φύση, τα βακτήρια σπάνια απαντούν ως μόνες, απομονωμένες οντότητες, αλλά συχνότερα σε κοινότητες αποτελούμενες

Τετραμικά οξέα

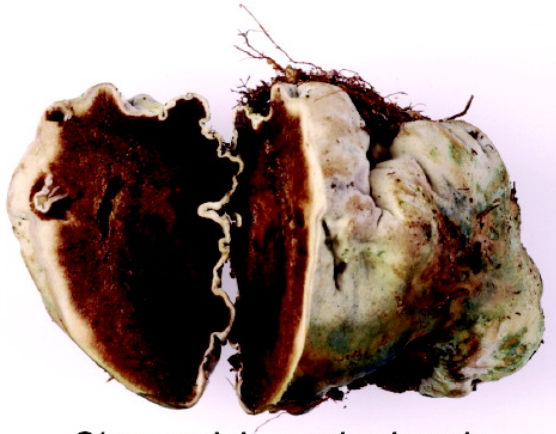


C₁₂-TA

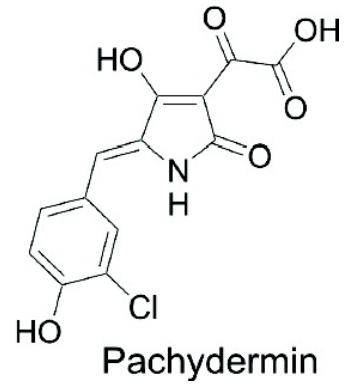
Σχήμα 1.20 Η δράση και ο μηχανισμός λειτουργίας του προερχόμενου από την ομοσερίνη τετραμικό οξύ βρίσκεται στην κορυφή της ερευνητικής δραστηριότητας.

από διάφορα είδη. Για να επιβιώσουν σε αυτό το απαιτητικό περιβάλλον, οι μικροοργανισμοί έχουν αναπτύξει αμυντικούς μηχανισμούς, όπως την παραγωγή αντιμικροβιακών τοξινών. Έτσι, αναμενόμενα αυτό το τετραμικό οξύ εμφανίζει αντιβιοτικές ιδιότητες (ισχυρές έναντι Gram-θετικών βακτηρίων) [135,136]. Το ενδιαφέρον χαρακτηριστικό αυτής της ένωσης είναι η βιοσύνθεσή του. Όπως φαίνεται στο *σχήμα 1.35*, προκύπτει από την ενδομοριακή C-ακυλίωση της ομάδας β-κετοαμιδίου της λακτόνης της N-ακυλοομοσερίνης (AHL) και σε δεύτερο στάδιο την κυκλοποίηση του μορίου προς το τελικό τετραμικό οξύ. Το προϊόν αυτό όπως και πολλά τετραμικά οξέα σχηματίζει σύμπλοκα με μεταλλικά ιόντα. Στην πρώτη δημοσίευση που αφορούσε το μόριο αυτό ανακοινώθηκε εκτός από τη βιολογική του δραστηριότητα, ένα σύμπλοκο του C12-TA με Fe³⁺ καθώς και η εργαστηριακή σύνθεσή του από την ίδια λακτόνη μάλιστα που βιοσυντίθεται [137].

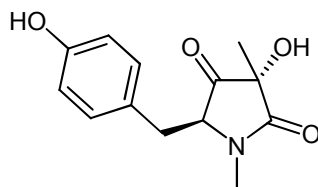
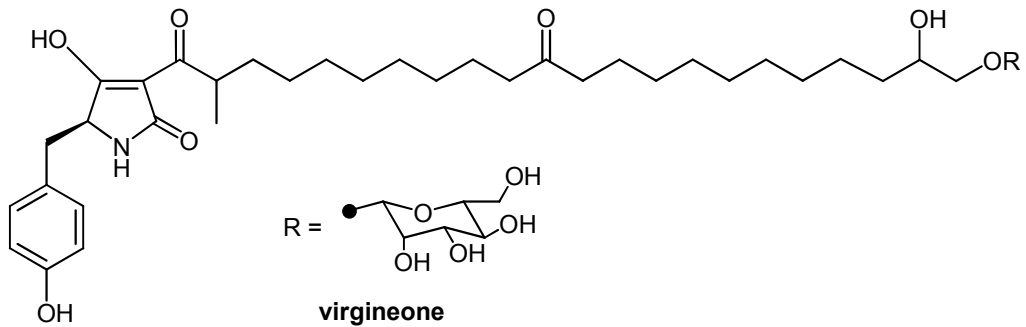
Ένα χρόνο αργότερα, το 2006, απομονώθηκε ένα ασυνήθιστο τετραμικό οξύ, η **pachydermin**, από το γαστερομύκητα (μύκητας, του οποίου τα βασιδιοσπόρια βρίσκονται κλειστά στο εσωτερικό του καρποσώματος) *Chamonixia pachydermis* στη Νέα Ζηλανδία [138]. Όπως φαίνεται στο *σχήμα 1.21*, χαρακτηρίζεται από μία αρυλίδενο ομάδα στη θέση C-5 και από μία οξάλυλο ομάδα στη θέση C-3. Ενώ η 4-υδροξυ-3-χλωροφαίνυλο ομάδα είναι συνήθης σε φυσικά προϊόντα προερχόμενα από μύκητες ή βακτήρια, η οξάλυλο ομάδα είναι πραγματικά χαρακτηριστική της pachydermin. Η τελευταία, σε όξινες συνθήκες, ακόμη και πολύ ήπιες, διασπάται προς ένα μη υποκατεστημένο στη θέση C-3 τετραμικό οξύ. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός πως, ενώ το προϊόν διάσπασης παρουσιάζει αντιβακτηριδιακή δραστηριότητα έναντι του *Bacillus subtilis*, η pachydermin είναι μη δραστική. Ολική σύνθεση αυτής της ένωσης δεν έχει δημοσιευτεί μέχρι σήμερα.



Chamonixia pachydermis



Εικόνα 1.21 Ο γαστερομύκητας *Chamonixia pachydermis* αποτελεί την προέλευση του υλίδενο τετραμικού οξέος pachydermin



rigidiusculamide B

Σχήμα 1.22 Οι virgineone και rigidiusculamide είναι από τα πιο πρόσφατα απομονωθέντα φυσικά προϊόντα που περιέχουν τον τετραμικό δακτύλιο

Τα τελευταία δύο χρόνια, έχει διατηρηθεί αυτός ο υψηλός ρυθμός στην έρευνα

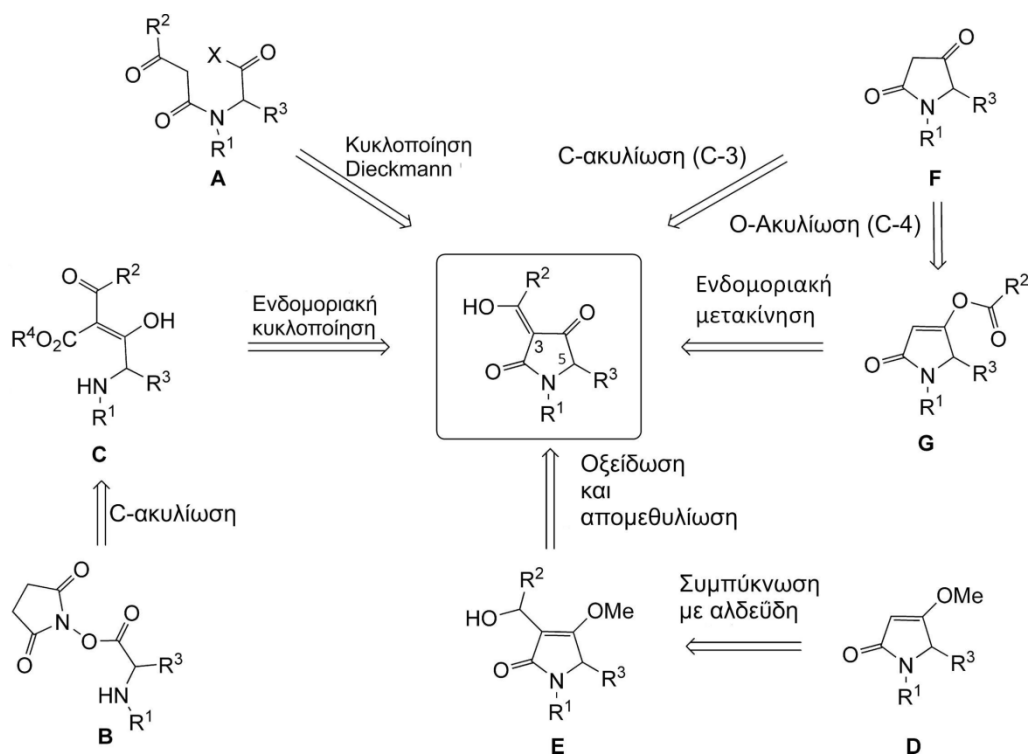
ως προς την απομόνωση νέων φυσικών προϊόντων που περιέχουν τον τετραμικό δακτύλιο. Εκτός από το JBIR-22 και την orhiosetin στα οποία έχουμε ήδη αναφερθεί, άξια αναφοράς είναι και οι **virgineone**, **rigidiusculamide**. Όπως είναι φυσικό, αυτές οι ενώσεις δεν έχουν μελετηθεί ακόμη εκτεταμένα όσο άλλες που μας είναι γνωστές από παλαιότερα. Η virgineone απομονώθηκε το 2009 από το σαπροτροφικό μύκητα *Lachnum virgineum* [139]. Είναι ένα γλυκοζυλιωμένο τετραμικό οξύ, το οποίο προέρχεται βιοσυνθετικά από την L-τυροσίνη. Παρουσιάζει αντιμυκητιστακή δραστικότητα έναντι των παθογόνων μυκητών *Candida albicans* και *Aspergillus fumigates*. Ολική σύνθεση δεν έχει δημοσιευτεί ακόμη για αυτό το μόριο, αλλά σε πρόσφατη διδακτορική διατριβή από το Wayne State University του Detroit στις ΗΠΑ, μελετάται η σύνθεση της virgineone και αναλόγων της [140]. Οι rigidiusculamides A-D απομονώθηκαν το 2009 από τον ασκομύκητα *Albonectria rigidiuscula* [141]. Οι B και C είναι πυρρολιδιν-2,4-διόνες, ενώ οι A και D φέρουν την πυρρολιδιν-2-όνη. Είναι ενώσεις σχετικά μικρού μοριακού βάρους και οι A και B προέρχονται από την L-τυροσίνη. Από τις μέχρι στιγμής βιολογικές μελέτες, οι A και B έχουν παρουσιάσει μέτρια κυτταροτοξικότητα.



Εικόνα 1.23 *Lachnum virgineum*

1.2 Συνθετικές προσεγγίσεις τετραμικών οξέων

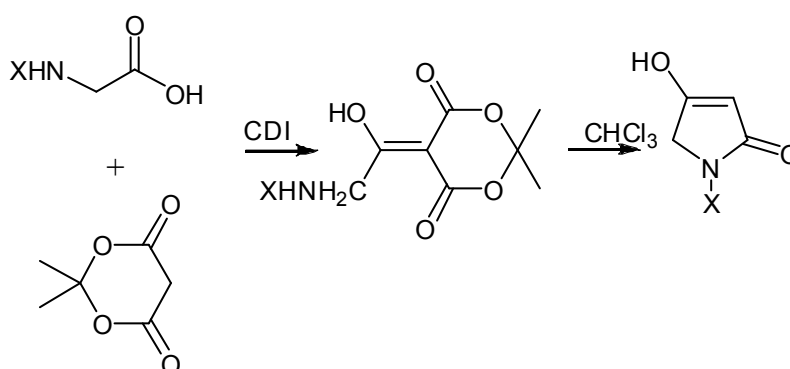
Μέχρι σήμερα, έχουν δημοσιευθεί πάνω από 300 άρθρα που αφορούν στη σύνθεση τετραμικών οξέων. Καθώς η βιβλιογραφία είναι τόσο εκτεταμένη, στο παρόν κεφάλαιο θα αναφερθούμε στις συνθετικές προσεγγίσεις προς 3-ακυλο ή 3-αλκοξυκαρβόνυλο τετραμικά οξέα, τα οποία παρουσιάζουν μεγαλύτερο ενδιαφέρον λόγω βιολογικής δραστηριότητας, συγγένειας με φυσικά προϊόντα ή δυνατότητας περαιτέρω παραγωγοποίησης. Οι συνθετικές πορείες θα καταταχθούν με βάση τη μέθοδο και όχι τα τελικά παράγωγα.



Σχήμα 1.24 Μέθοδοι σύνθεσης 3-ακυλοτετραμικών οξέων

Προτού αναλυθούν οι συνθετικές μέθοδοι, αξίζει μία σύντομη αναφορά στη σύνθεση του μη υποκατεστημένου τετραμικού οξέος. Το τετραμικό οξύ παρασκευάστηκε αρκετά μεταγενέστερα από τα 3-ακυλο ή 3-αλκοξυκαρβόνυλο παράγωγα. Η πρώτη σύνθεσή του δημοσιεύτηκε το 1972 από το Mulholland και μάλιστα προέκυψε από την αποκαρβοξυλίωση του 3-αιθοξυκαρβονυλοτετραμικού

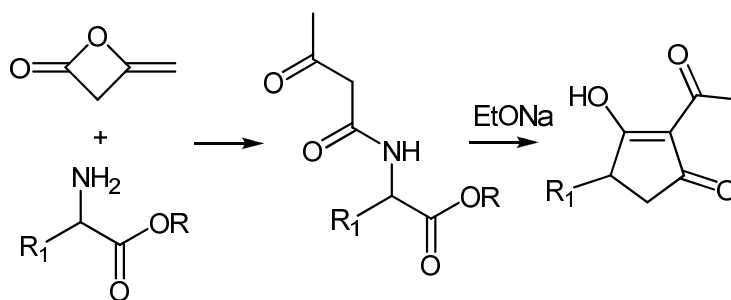
οξέος [3]. Προηγούμενες προσπάθειες [142,143] αποδείχτηκε αργότερα ότι κατέληγαν στο ισομερές 2-ιμινοτετρονικό οξύ. Μέχρι σήμερα, έχουν παρουσιαστεί λίγες συνθετικές πορείες προς αυτό το παράγωγο, το οποίο παρουσιάζει ενδιαφέρον περισσότερο λόγω της χρήσης του ως πρώτη ύλη όπως θα δούμε και στη συνέχεια για την παρασκευή υποκατεστημένων παραγώγων. Στο παρακάτω σχήμα (1.25) παρουσιάζεται η σύνθεσή του από τη Ν-προστατευμένη γλυκίνη και το οξύ του Meldrum, η οποία δημοσιεύτηκε από τους Σ. Χαμηλάκη και συνεργάτες [144].



Σχήμα 1.25 Σύνθεση τετραμικού οξέος.

α) Σύνθεση μέσω Lacey-Dieckmann κυκλοποίησης

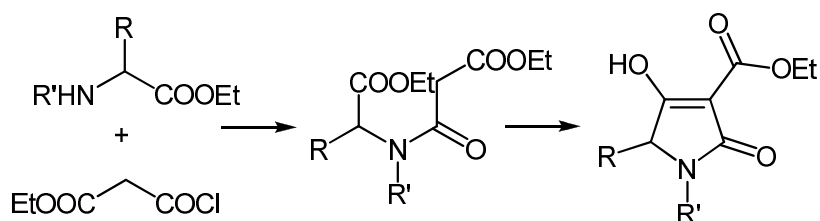
Το 1954, ο Lacey δημοσίευσε μία συνθετική πορεία δύο σταδίων 3-ακυλοτετραμικών οξέων ξεκινώντας από εστέρες α-αμινοξέων (γλυκίνης, DL-αλανίνης και Ν-φαινογλυκίνης). Στο πρώτο στάδιο σχηματίζεται ένα β-κετοαμίδιο από την αντίδραση του αντίστοιχου α-αμινοεστέρα και δικετενίου [4]. Στη συνέχεια, αυτό κυκλοποιείται, με την επίδραση αιθοξειδίου του νατρίου, προς 3-ακυλοτετραμικό οξύ.



Σχήμα 1.26 Μέθοδος Lacey-Dieckmann

Η μέθοδος αυτή είναι αντίστοιχη των περισσότερων βιοσυνθετικών πορειών που έχουν δημοσιευθεί. Ως στρατηγική είναι πολύ ευπροσάρμοστη και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή πολλών παραγώγων 3-ακυλοτετραμικών οξέων. Έχει εφαρμοστεί στη σύνθεση τετραμικών οξέων μεταξύ αυτών και αρκετών φυσικά απαντώμενων, ενίοτε με μικρές ή μεγάλες τροποποιήσεις, στην εισαγωγή της ακυλομάδας. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν το tenuazonic acid [12] και η μέθοδος των Isowa και Ohta που κάνει τη N-ακυλίωση μεταξύ μη προστατευμένου α-αμινοξέος και αιθοξυκαρβονυλοακετυλοχλωριδίου [145].

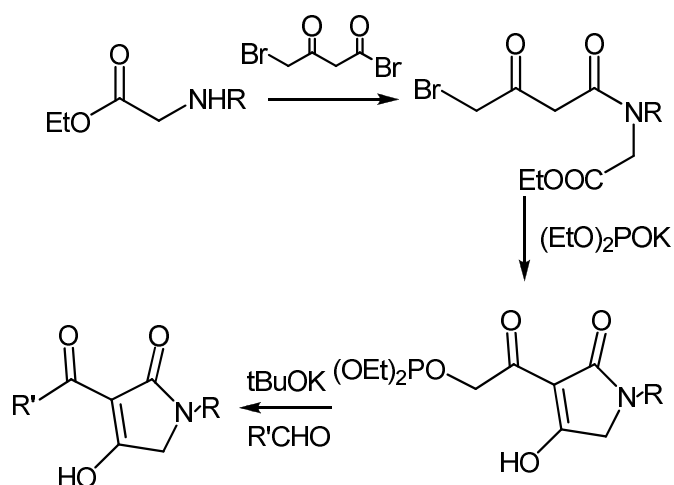
Ο Mulholland επέκτεινε τη μέθοδο στη σύνθεση 3-αλκοξυκαρβονυλοτετραμικών οξέων [3]. Ως ακυλιωτικές ενώσεις, χρησιμοποίησε χλωρίδια του μηλονικού εστέρα. Αυτά, παρουσία ανθρακικού καλίου, αντιδρούν με τους κατάλληλους αιθυλεστέρες α-αμινοξέων, προς σχηματισμό β-κετοαμιδίων, τα οποία κυκλοποιούνται με παρόμοιες με τη μέθοδο του Lacey συνθήκες.



Σχήμα 1.27 Σύνθεση 3-αλκοξυκαρβονυλοτετραμικών οξέων με τη μέθοδο Mulholland

Τη δεκαετία του '80, η μέθοδος που αναπτύχθηκε από τους Boeckmann [50] και Paquette [51] στη σύνθεση της ikarugamycin και τον Schlessinger, εστίαζε στη

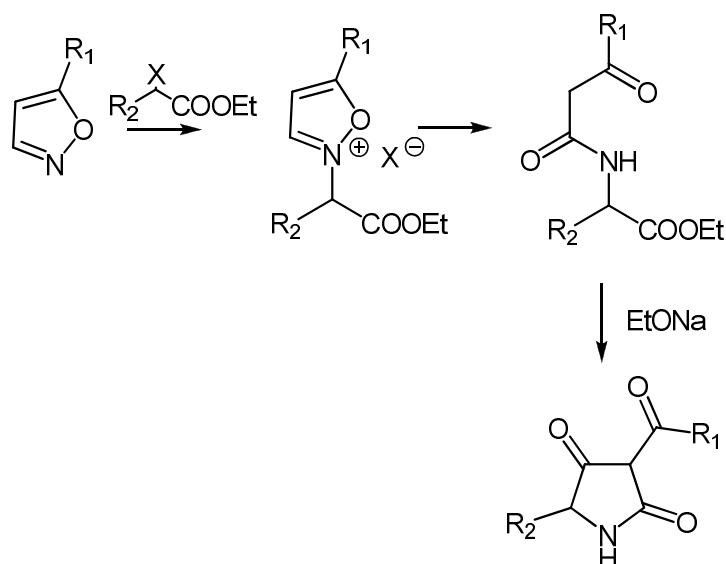
σύνθεση 3-πολυενοϋλοτετραμικών οξέων χρησιμοποιώντας ενεργοποιημένα με φώσφορο ενδιάμεσα [146,147]. Η μέθοδος αυτή βρήκε εφαρμογή πολύ πρόσφατα στη σύνθεση της macrocidin A [93] και cylindramine A [87].



Σχήμα 1.28 Μέθοδος Schlessinger

Ο DeShong ανέπτυξε μία μέθοδο βασισμένη σε αυτήν του Lacey σύμφωνα με την οποία, η αλκυλίωση κατάλληλων ισοξαζολών, ακολουθούμενη από διάσπαση του σχηματιζόμενου άλατος ισοξαζολίου καταλήγει στο σχηματισμό β-κετοαμιδίων [148,149]. Στη συνέχεια, όπως και στις προαναφερθείσες μεθόδους, από τη βασικά καταλυόμενη κυκλοποίηση προκύπτουν τα 3-ακυλοτετραμικά οξέα.

1 Θεωρητικό Μέρος

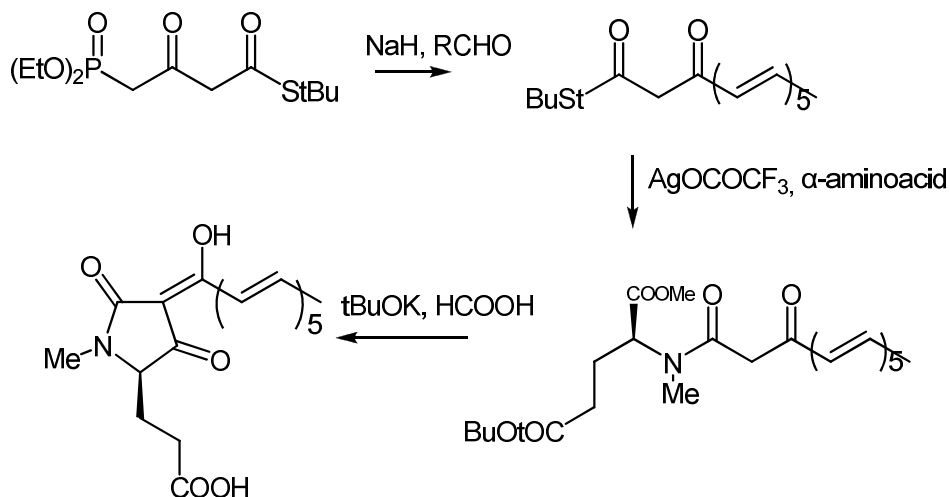


Σχήμα 1.29 Μέθοδος DeShong

Η μέθοδος του Lacey παρουσιάζει δύο σημαντικά μειονεκτήματα. Το πρώτο είναι η μερική ρακεμοποίηση που παρατηρείται στον C-5 του τετραμικού δακτυλίου [150], καθώς το υδρογόνο ή τα υδρογόνα σε αυτήν τη θέση είναι όξινα, τόσο ώστε να αποσπώνται υπό τις ισχυρά βασικές συνθήκες που απαιτούνται για την κυκλοποίηση. Η οξύτητά τους δικαιολογείται από το γεγονός ότι βρίσκονται μεταξύ ενός ηλεκτραρνητικού ατόμου (άζωτο) και μίας ηλεκτρονιοελκτικής ομάδας (καρβονύλιο). Το δεύτερο μειονέκτημα, είναι ο περιορισμός της μεθόδου στη σύνθεση N-άκυλο ή N-ακέτυλο τετραμικών οξέων, λόγω της αποπροστασίας από το αιθοξείδιο του νατρίου. Οι ομάδες αυτές είναι παρούσες σε σημαντικά φυσικά προϊόντα με βιολογική δραστηριότητα (magnesidin, reutericyclin).

Παρόλα αυτά, έχουν πραγματοποιηθεί εναντιοεκλεκτικές συνθέσεις χρησιμοποιώντας ως μέθοδο κυκλοποίησης τη Lacey-Dieckmann. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η σύνθεση της Fuligorubin A από τον Ley [66,67]. Η επιτυχία αυτής της μεθόδου οφείλεται στις ήπιες συνθήκες που χρησιμοποιήθηκαν αφενός στο σχηματισμό των ευαίσθητων β-κετοαμιδίων και αφετέρου στην κυκλοποίηση με ήπιες συνθήκες χρησιμοποιώντας ως βάση TBAF ή ^tBuOK σε θερμοκρασία δωματίου για 5 λεπτά. Αν και δεν υπάρχουν στοιχεία εναντιομερικής περίσσειας (ee) σε αυτήν την εργασία, οι δοκιμές που έγιναν και σε πιο δραστικές συνθήκες έδειξαν ότι ειδικά με τη χρήση μεθοξειδίου του νατρίου ως βάση για παρατεταμένο χρονικό διάστημα επέρχεται ρακεμοποίηση στη θέση C-5.

Τετραμικά οξέα

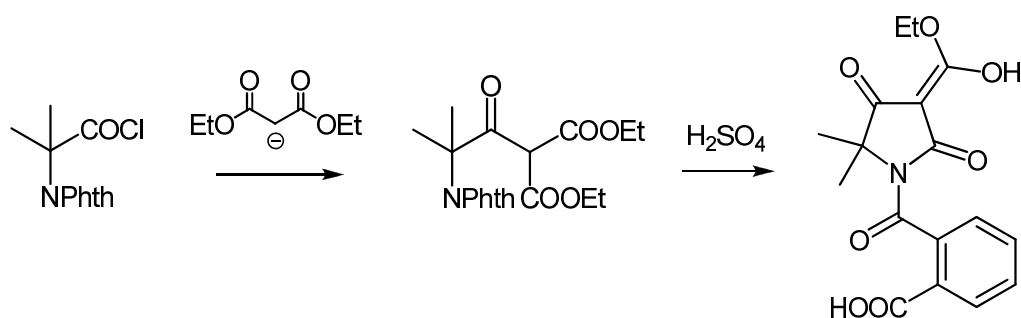


Σχήμα 1.30 Εναντιοεκλεκτική σύνθεση της Fuligorubin A

Πιο πρόσφατα, η ερευνητική ομάδα του Raymond Jones από το πανεπιστήμιο του Nottingham, εφάρμοσε μία παρόμοια (με αυτές των Boeckmann και Raquette) στρατηγική στη σύνθεση 3-πολυενοϋλοτετραμικών οξέων. Συμφωνα με αυτή τη συνθετική μεθοδολογία, έχουμε το σχηματισμό β -κετοακεταμιδίων από τη θερμόλυση των κατάλληλων διοξενονών παρουσία μεθυλεστέρα της *N*-μεθυλο-*L*-βαλίνης. Κατόπιν κατεργασίας με *tert*-βουτοξείδιο του καλίου υπό ήπιες συνθήκες (θεμοκρασία δωματίου, 45 λεπτά) πραγματοποιείται κυκλοποίηση προς τα αντίστοιχα τετραμικά οξέα χωρίς ρακεμοποίηση [151].

β) Μέσω β -κετοεστέρων ή εστέρων του μηλονικού οξέος

Η πρώτη σύνθεση τετραμικού οξέος με χρήση ένωσης ενεργού μεθυλενίου αποδίδεται στον Gabriel [152,153]. Σε αυτήν τη μέθοδο, η οποία θεωρείται η πρώτη αξιόπιστη σύνθεση παραγώγου τετραμικού οξέος, η αντίδραση του χλωριδίου του φθαλιμιδοϊσοβουτυλικού οξέος με το μετά νατρίου άλας του μηλονικού διαιθυλεστέρα, και στη συνέχεια κυκλοποίηση του ενδιάμεσου διεστέρα με πυκνό θειϊκό οξύ, αποδίδει το 3-αιθοξυκαρβονυλοτετραμικό οξύ.

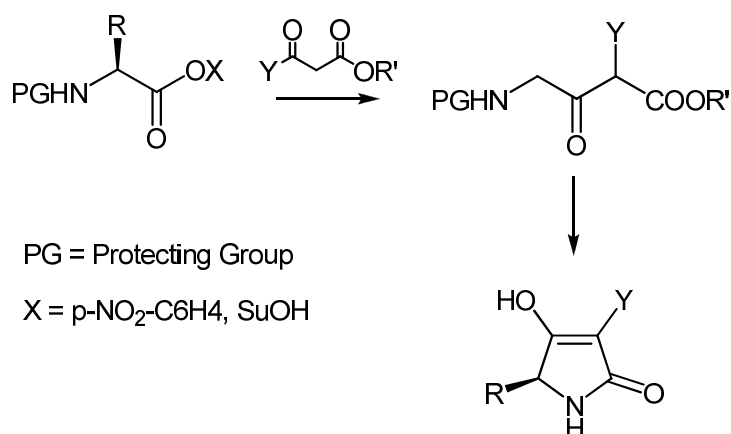


Σχήμα 1.31 Μέθοδος Gabriel

Εδώ και τρεις δεκαετίες, στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, έχουν αναπτυχθεί πολλές μέθοδοι σύνθεσης τετραμικών οξέων. Οι μέθοδοι αυτές βασίζονται στη C-ακυλίωση κατάλληλα ενεργοποιημένων α-αμινοξέων από ενώσεις ενεργού μεθυλενίου και στη συνέχεια στην κυκλοποίηση υπό ήπιες συνθήκες, ώστε να διατηρηθεί η οπτική ενεργότητα των αμινοξέων. Οι μέθοδοι αυτές, που χαρακτηριστικά αναφέρονται στη βιβλιογραφία ως μέθοδος της ερευνητικής ομάδας Μαρκοπούλου (Markoroulou group) [154] και έχει χαρακτηριστεί ως τροποποίηση της μεθόδου Lacey [155], στην πραγματικότητα ωστόσο, αποτελεί μία εντελώς διαφορετική προσέγγιση από αυτήν.

Αναλυτικά θα αναφερθούμε στο θεωρητικό μέρος, καθώς οι πειραματικές προσεγγίσεις της παρούσας διατριβής εντάσσονται στην επέκταση και μελέτη αυτής της μεθόδου. Ωστόσο, στο σημείο αυτό αξίζει να αναφερθούμε αναδρομικά στις διαφοροποιήσεις και τα χαρακτηριστικά των επιμέρους εργασιών, αφού αυτές καλύπτουν ένα εκτεταμένο φάσμα όχι μόνο χρονικό αλλά κυρίως παραγώγων.

Τετραμικά οξέα



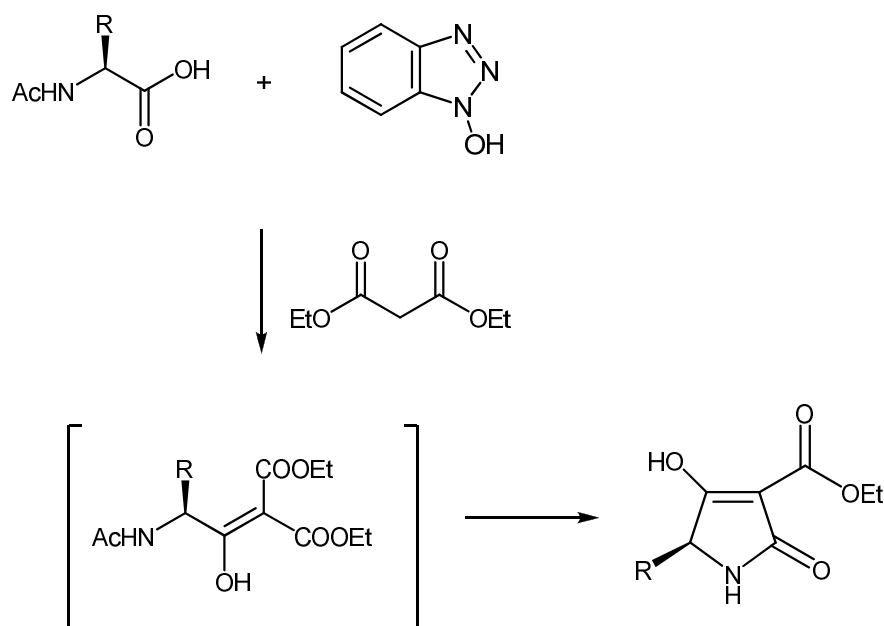
Σχήμα 1.32 Μέθοδος σύνθεσης τετραμικών οξέων μέσω C-ακυλίωσης με ενεργοποίηση του α-αμινοξέος ως π-νιτροφαινυλεστέρα ή ηλεκτριμιδεστέρα

Οι πρώτες συνθέσεις μέσω C-ακυλίωσης, έγιναν μέσω ενεργοποίησης των α-αμινοξέων ως p-νιτροφαινυλεστέρες. Με την πρώτη προσέγγιση συντέθηκαν με επιτυχία τα 3-κύανο και 3-αλκοξυκαρβόνυλο τετραμικά οξέα της γλυκίνης [156]. Με τη χρήση κατάλληλων συνθηκών και αντιδραστηρίων, η μέθοδος επεκτάθηκε στη σύνθεση N-ακετυλο-3-ακετυλοτετραμικών οξέων, τα οποία όπως έχει προαναφερθεί έχουν ιδιαίτερη αξία λόγω βιολογικής δραστηριότητας [157]. Δέκα χρόνια περίπου μετά [158] παρασκευάστηκε με αυτή τη μεθοολογία το N-ακετυλο-3-βουτανούλοτετραμικό οξύ, το οποίο μελετήθηκε εκτενώς με χρήση φασματοσκοπίας NMR και κρυσταλλογραφίας X-Ray.

Σημαντική πρόοδο στη μέθοδο αποτέλεσε η χρήση του N-υδροξυηλεκτριμιδίου για την ενεργοποίηση του α-αμινοξέος. Με αυτό έγινε δυνατό να παρασκευαστούν τετραμικά οξέα, χωρίς χρονοβόρες και απαιτητικές διαδικασίες καθαρισμού και απομόνωσης και με ήπιες συνθήκες. Μέσω εστέρων του υδροξυηλεκτριμιδίου παρασκευάστηκαν πολλά τετραμικά οξέα με διάφορους υποκαταστάτες στο N, όπως ακέτυλο, Boc και μέθυλο, στη θέση C-3 όπως πολυενόυλο, βενζούλο και μεθυλοσουλφόνυλο και στη θέση C-5 για την οποία χρησιμοποιήθηκαν πολλά α-αμινοξέα, όπως οι L-αλανίνη, L-φαινυλαλανίνη, L-βαλίνη και L-λευκίνη [159-162]. Επομένως, η μέθοδος αυτή είναι ιδιαίτερα ευέλικτη. Εκτός από αυτό όμως υπερτερεί σε σχέση με αυτήν του Lacey [154], διότι διατηρείται σε μεγάλο βαθμό η οπτική ενεργότητα. Στις πρώτες μελέτες που έγιναν με τη χρήση χρωματογραφίας HPLC, βρέθηκαν τιμές εναντιομερικής περίσσειας έως 88%. Σε αυτό το διάστημα

έγιναν μελέτες σε πολλά επίπεδα, όπως διηλεκτρικής σταθεράς, DFT, σύνθεση παραγώγων τετραμικών οξέων, όπως 3-αμινοάκυλο και 3-υδραζονοακυλοτετραμικών οξέων [163,164] καθώς και σύνθεση και μελέτη συμπλόκων με μέταλλα όπως λευκόχρυσος [165], ψευδάργυρος και μαγνήσιο [166].

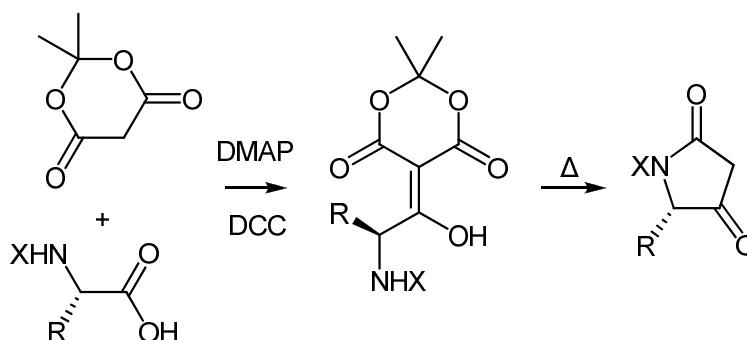
Η παραπάνω μέθοδος μελετάται και χρησιμοποιείται εως σήμερα, ταυτόχρονα όμως παρουσιάστηκε μία ακόμη παραλλαγή το 2001 [167]. Σύμφωνα με αυτήν, χρησιμοποιείται το 1-υδροξυβενζοτριάζολιο αντί του N-υδροξυηλεκτριμιδίου για την ενεργοποίηση του α-αμινοξέος. Τα αποτελέσματα είναι εξαιρετικά τόσο σε αποδόσεις, όσο και σε εναντιομερική περίσσεια. Επομένως, χρησιμοποιείται εναλλακτικά ή συμπληρωματικά της πρώτης, καθώς τα αποτελέσματα είναι συγκρίσιμα. Η μέθοδος του HOBt, βρήκε εφαρμογή και στη σύνθεση σε στερεά φάση όπου σε μία εργασία που παρουσιάστηκε το 2005 συντέθηκε ένας αξιόλογος αριθμός προϊόντων με ικανοποιητική εναντιομερική περίσσεια [168].



Σχήμα 1.33 Σύνθεση τετραμικών οξέων με χρήση του υδροξυβενζοτριάζολιου (HOBt)

γ) Μέσω οξέος του Meldrum

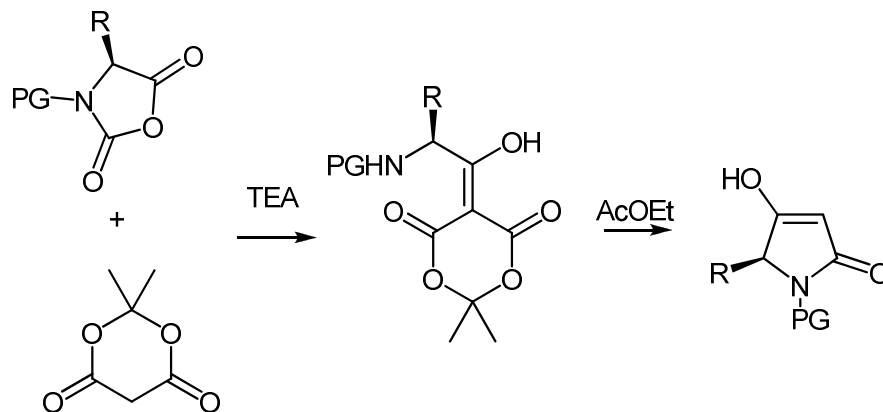
Μία από τις ηπιότερες και πιο ευπροσάρμοστες μεθόδους είναι αυτή που δημοσίευσαν οι Jouin και συνεργάτες το 1987 [169]. Σύμφωνα με αυτήν, πραγματοποιείται μία C-ακυλίωση μεταξύ ενός α-αμινοξέος και του οξέος του Meldrum ως ενεργό μεθυλένιο. Αυτή η αντίδραση πραγματοποιείται με τη χρήση δικυκλοεξυλοκαρβοδιμιδίου (DCC), το οποίο ενεργοποιεί το καρβοξύλιο του αμινοξέος και DMAP ως καταλύτη. Στη συνέχεια, με θέρμανση του προϊόντος C-ακυλίωσης, σχηματίζεται το αντίστοιχο τετραμικό οξύ με ταυτόχρονη απελευθέρωση διοξειδίου του άνθρακα και ακετόνης. Η μέθοδος αυτή θεωρείται εξαιρετική για τη σύνθεση τετραμικών οξέων μη υποκατεστημένων στη θέση C-3, γιατί πραγματοποιείται σε ουδέτερο pH και σε θερμοκρασία δωματίου, με αποτέλεσμα, να μην παρατηρείται ρακεμοποίηση. Ακόμη, οι αποδόσεις είναι ιδιαίτερα υψηλές, έως 94% για το παράγωγο της φαινυλαλανίνης. Το γεγονός ότι χρησιμοποιείται ως ένωση ενεργού μεθυλενίου το οξύ του Meldrum, μας περιορίζει ως προς την υποκατάσταση της θέσης C-3. Αυτό δεν αναφέρεται μόνο ως αρνητικό της μεθόδου, αλλά και ως πλεονέκτημα, αφού η πρόσβαση σε αυτά τα παράγωγα είναι δύσκολη με άλλες μεθόδους. Όπως θα δούμε και στη συνέχεια, τα ελεύθερα στη θέση C-3 τετραμικά οξέα, μπορούν να λάβουν μέρος σε αντιδράσεις συμπύκνωσης και αναγωγής του διπλού δεσμού C3-C4.



Σχήμα 1.34 Σύνθεση οπτικά ενεργών τετραμικών οξέων με χρήση οξέος του Meldrum

Η μέθοδος του Jouin χρησιμοποιείται εκτεταμένα ακόμη και στις μέρες μας. Αυτό, όχι μόνο επειδή μας δίνει πρόσβαση στα μη υποκατεστημένα τετραμικά οξέα, τα οποία χρησιμοποιούνται ως ενδιάμεσα για συνθέσεις στατινών ή περίπλοκων φυσικών προϊόντων, αλλά, και στη σύνθεση σημαντικών τετραμικών οξέων, όπως αναλόγων της reutericyclin [170]. Η προσαρμογή της μεθόδου στη σύνθεση σε στερεά φάση, δημοσιεύτηκε το 2003 από τους Huang et al. με αξιόλογα αποτελέσματα [171]. Τα N-προστατευμένα τετραμικά οξέα είναι δυνατό να ληφθούν με υψηλές αποδόσεις και καθαρότητες, σε δύο μόλις στάδια ξεκινώντας από οξύ του Meldrum συνδεδεμένο σε υπόστρωμα ρητίνης.

Μία αξιόλογη τροποποίηση της μεθόδου των Jouin και Castro αναπτύχθηκε από τους Martinez και συνεργάτες και στηρίζεται στη χρήση προστατευμένων N-καρβοξυανυδριτών των α-αμινοξέων (UNCA) [172]. Η χρήση των ανυδριτών αποσκοπεί στην ενεργοποίηση του καρβονυλίου του οξέος, κάνοντας περιττή πλέον τη χρήση αντιδραστηρίων όπως το DCC.



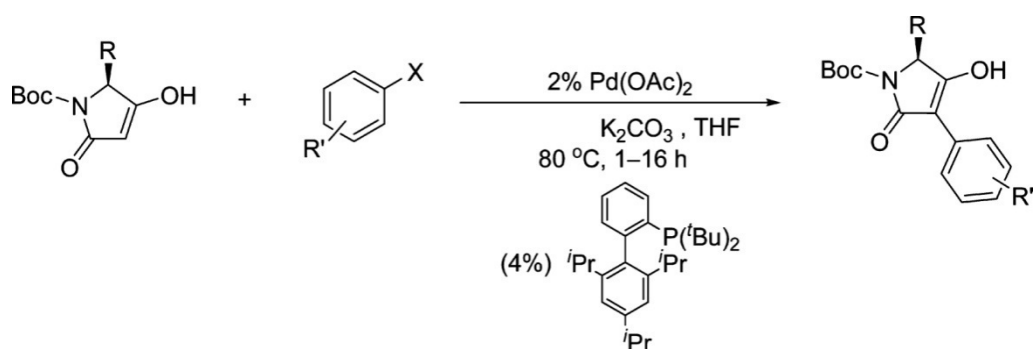
Σχήμα 1.35 Μέθοδος σύνθεσης τετραμικών οξέων μέσω N-καρβοξυανυδριτών των α-αμινοξέων (UNCA)

δ) Μέσω απλούστερων τετραμικών οξέων

Μία εναλλακτική πορεία σύνθεσης 3-ακυλοτετραμικών οξέων, είναι η εισαγωγή της ακυλοομάδας σε ένα μη υποκατεστημένο τετραμικό οξύ στη θέση C-3. Συνήθως

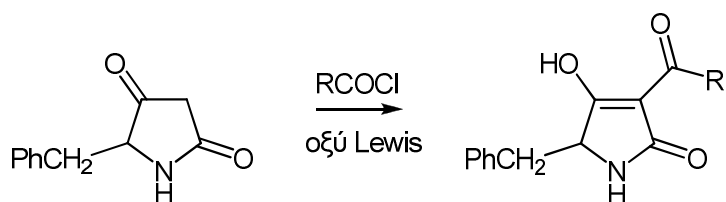
ως πρώτη ύλη χρησιμοποιείται τετραμικό οξύ, το οποίο έχει συντεθεί με τη μέθοδο του Meldrum.

Πρόσφατα, ανακοινώθηκε η εναντιοεκλεκτική σύνθεση 3-αρυλο-5-υποκατεστημένων τετραμικών οξέων. Η αντίδραση αυτή πραγματοποιείται μέσω καταλυόμενης από παλλάδιο α-αρυλίωσης ενός ελεύθερου στη θέση C-3 τετραμικού οξέος [173].



Σχήμα 1.36 α-Αρυλίωση τετραμικών οξέων

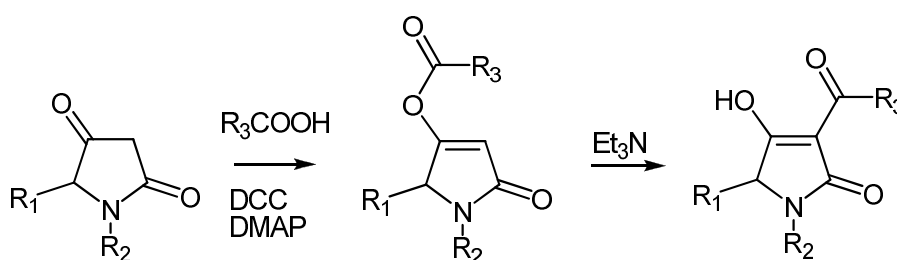
Ωστόσο, σαν ιδέα, η εισαγωγή μίας ομάδας μέσω συμπύκνωσης στη θέση 3 με μία αλδεϋδη ή η απευθείας ακυλίωση σε αυτήν τη θέση δεν είναι πρόσφατη. Ήδη, από το 1978, η ερευνητική ομάδα του Jones ανέπτυξε μία μεθοδολογία σύμφωνα με την οποία πραγματοποιείται απευθείας ακυλίωση στη θέση 3 χρησιμοποιώντας κατάλληλα χλωρίδια οξέων και οξέα κατά Lewis όπως $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ και TiCl_4 ως καταλύτες [174,175]. Μειονέκτημα της μεθόδου αποτελεί το γεγονός ότι στα 5-μη υποκατεστημένα τετραμικά οξέα παρατηρείται αυτοσυμπύκνωση [176]. Η μέθοδος έχει βρει εφαρμογή στην παρασκευή σημαντικών φυσικών προϊόντων, όπως η reutericyclin και το τενουαζονικό οξύ [112,177].



Σχήμα 1.37 Μέθοδος ακυλίωσης στη θέση 3 με χλωρίδια οξέων κατά Jones

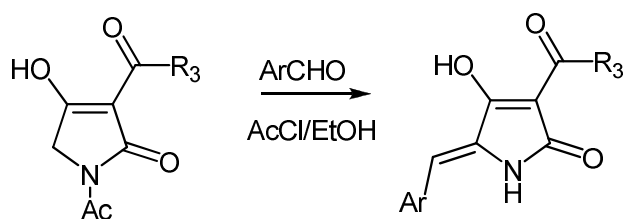
Εναλλακτικά, είναι δυνατό να πραγματοποιηθεί η συμπύκνωση ενός 4-O-μεθυλοτετραμικού οξέος με αλδεΐδη παρουσία n-βουτυλολιθίου ως βάση. Έτσι, σχηματίζεται το υδροξυπαράγωγο, από το οποίο μπορούμε εύκολα να λάβουμε το τετραμικό οξύ με οξείδωση και απομεθυλίωση [178].

Επιπρόσθετα, η επιθυμητή 3-ακυλίωση μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω ενδομοριακής μετακίνησης της ακυλοομάδας ενός O-ακυλοτετραμικού οξέος. Τα τελευταία, μπορούν εύκολα να παρασκευαστούν από το τετραμικό οξύ και το κατάλληλο καρβοξυλικό οξύ παρουσία DCC και DMAP. Στη συνέχεια, με την επίδραση τριαιθυλαμίνης σχηματίζεται το 3-ακυλοτετραμικό οξύ. Η αντίδραση πραγματοποιείται σε χαμηλές θερμοκρασίες (0 °C), ώστε να αποφευχθούν παράπλευρες αντιδράσεις [179]. Η μέθοδος αυτή κρίνεται ενδιαφέρουσα, αφού γίνεται αντικείμενο μελέτης σε πρόσφατες εργασίες ([154], εντούτοις οι αποδόσεις δεν είναι πάντοτε ικανοποιητικές σε σχέση με εναλλακτικές μεθόδους [117].



Σχήμα 1.38 O-Ακυλίωση στη θέση 4 και ενδομοριακή μετακίνηση στη θέση C-3

Σε αυτήν την παράγραφο, μπορούμε να εντάξουμε και συνθέσεις 5-υποκατεστημένων τετραμικών οξέων από απλούστερα μη υποκατεστημένα. Χαρακτηριστικά αναφέρουμε τη σύνθεση N-προστατευμένων-5-αλκυλοτετραμικών οξέων με τη χρήση βρωμιδίων ως αλκυλιωτικά [180] και τη σύνθεση 5-αρυλιδENO-3-υποκατεστημένων τετραμικών οξέων από τη συμπύκνωση τετραμικών οξέων της γλυκίνης με τις κατάλληλες αρωματικές αλδεΐδες [181]. Τα τελευταία, είναι παράγωγα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως υποκαταστάτες για ασύμμετρη καταλυτική υδρογόνωση [182].



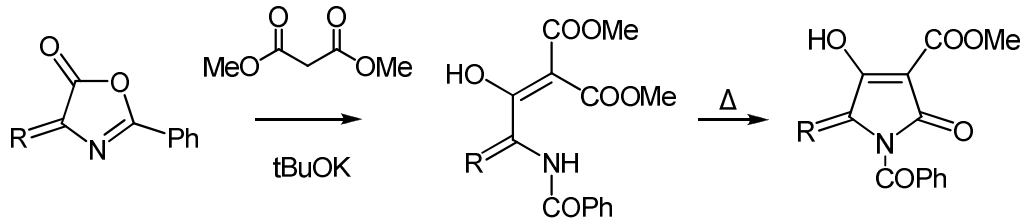
Σχήμα 1.39 Σύνθεση 5-αρυλιδενοτετραμικών οξέων από συμπύκνωση απλούστερων τετραμικών οξέων με αρωματικές αλδεΐδες

ε) Άλλες συνθέσεις τετραμικών οξέων

Στις προηγούμενες παραγράφους καλύφθηκε ο κύριος όγκος των γενικών συνθετικών προσεγγίσεων προς τετραμικά οξέα. Παρόλα αυτά, έχουν δημοσιευθεί στη διεθνή βιβλιογραφία αρκετές ακόμη μέθοδοι. Στο σημείο αυτό, θα γίνει μία συνοπτική αναφορά σε ορισμένες μεθόδους που είχαν αξιόλογη απήχηση ή είναι πρόσφατες.

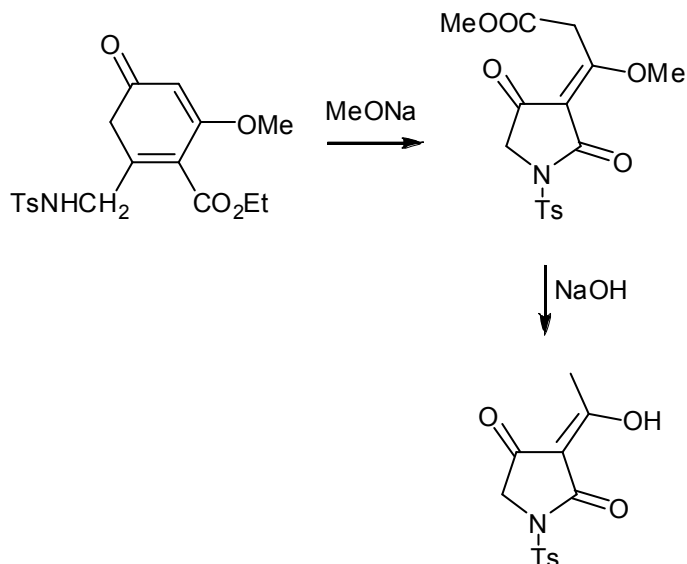
Μία αξιόπιστη μέθοδος σύνθεσης 5-αρυλιδενο τετραμικών οξέων παρουσιάστηκε το 1980 από τον Stachel [183]. Σε αυτήν την ογκώδη εργασία, που παρασκευάζονται 43 παράγωγα, προτείνεται η σύνθεση αυτών των παραγώγων από αζλακτόνες σε 2 στάδια. Όπως στην εργασία του Fehrentz, στην οποία αναφερθήκαμε προηγουμένως, χρησιμοποιείται ο ανυδρίτης του προστατευμένου αμινοξέος, ως ενεργοποίηση του καρβοξυλίου, ομοίως στη μέθοδο του Stachel, έχουμε ενεργοποίηση μέσω αζλακτονών. Η μέθοδος είναι εξαιρετική, εντούτοις, έχει εφαρμοστεί μόνο σε N-βενζόυλο παράγωγα, αφού η μέθοδος κυκλοποίησης είναι απαγορευτική στη διατήρηση της N-ακετυλο ομάδας. Στα πλαίσια αυτού του διδακτορικού, αναπτύξαμε μία μέθοδο, η οποία αν και έχει αδιαμφισβήτητα κοινά στοιχεία με αυτήν του Stachel, μας δίνει τη δυνατότητα σε ένα μόλις στάδιο να

συνθέσουμε τα σημαντικά λόγω βιολογικής δραστηριότητας και παρουσίας στη φύση N-ακετυλο-5-αρυλιδενοτετραμικά οξέα.



Σχήμα 1.40 Σύνθεση N-βενζοϋλο-5-αρυλιδενοτετραμικών οξέων με τη μέθοδο του Stachel

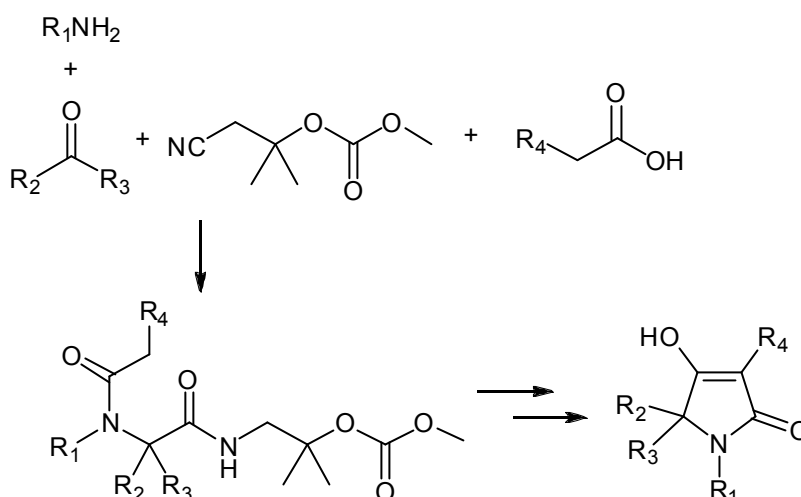
Το όνομα του Raymond C. F. Jones έχει ήδη αναφερθεί σε τρεις διαφορετικές μεθόδους σύνθεσης τετραμικών οξέων. Ωστόσο, έχει ασχοληθεί με την ανάπτυξη και άλλων μεθοδολογιών. Το 1989 παρουσίασε τη χρήση πυρονών για τη σύνθεση τετραμικών οξέων. Κατάλληλα διαμορφωμένες πυρόνες, οι οποίες είναι δ-λακτόνες, υφίστανται διάνοιξη του δακτυλίου τους, παρουσία μεθοξειδίου του νατρίου, με ταυτόχρονη κυκλοποίηση προς το σταθερότερο πενταμελή δακτύλιο του τετραμικού οξέος [184]. Ακόμη, το 1994 παρουσίασε μία προσέγγιση προς 3-ακυλοτετραμικά



Σχήμα 1.41 Μέθοδος σύνθεσης τετραμικού οξέος μέσω πυρόνης κατά Jones

οξέα μέσω κυκλοπροσθήκης. Η 1,3-διπολική κυκλοπροσθήκη οξειδίων του νιτριλίου σε εναμίνες προερχόμενες από προστατευμένους γ-αμινο-β-κετοεστέρες δίνει ως προϊόν ισοξαζολοκαρβοξυλικούς εστέρες, οι οποίοι υπό τις κατάλληλες συνθήκες μετατρέπονται σε 3-ακυλοτετραμικά οξέα [185].

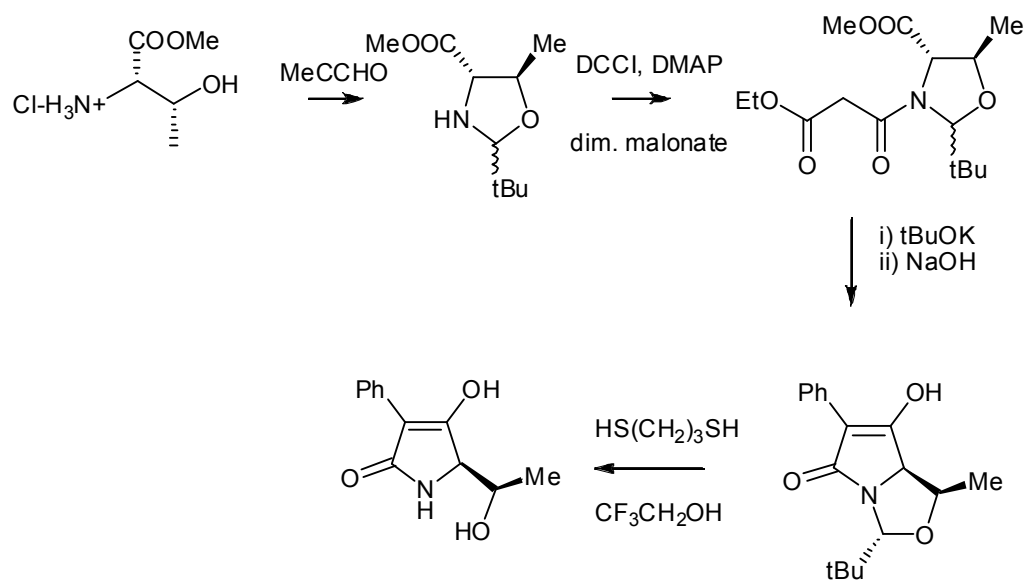
Μία ενδιαφέρουσα και εντελώς νέα μέθοδος σύνθεσης τετραμικών οξέων σε δύο στάδια, παρουσιάστηκε το 2009 από τους Spratz και συνεργάτες [186] σε μία προανακοίνωση. Οι συγγραφείς ισχυρίζονται ότι μέσω μίας αντίδρασης τύπου Ugi τεσσάρων αντιδρώντων, προκύπτει ένα κατάλληλα σχεδιασμένο ενδιάμεσο προϊόν, το οποίο κυκλοποιείται με μηχανισμό Dieckmann προς 3,5-υποκατεστημένα τετραμικά οξέα. Στην αντίδραση τύπου Ugi, στην ίδια σφαιρική φιάλη, αντιδρούν μία αμίνη, μία αλδεΐδη, ένα καρβοξυλικό οξύ και ένα ισοκυανίδιο προς σχηματισμό πεπτιδίων ή πεπτιδομιμητικών.



Σχήμα 1.42 Μεθοδολογία σύνθεσης τετραμικών οξέων σε δύο στάδια μέσω αντίδρασης τύπου Ugi

Η τοποεκλεκτική Dieckmann κυκλοποίηση μίας N-ακυλοξαζολιδίνης, προερχόμενης από την L-σερίνη ή L-θρεονίνη, έχει ως αποτέλεσμα υποκατεστημένα τετραμικά οξέα. Οι αντιδράσεις αυτές πραγματοποιούνται σε υψηλές αποδόσεις και ικανοποιητική εναντιομερική περίσσεια. Η μέθοδος αυτή πρωτοπαρουσιάστηκε από το Moloney το 1994 [187,188] με πρώτη ύλη την L-σερίνη και 10 χρόνια περίπου μετά δημοσιεύτηκε η επέκτασή της προς τα αντίστοιχα παράγωγα της L-θρεονίνης

[189,190]. Ορισμένα από τα προϊόντα αυτής της σειράς, επέδειξαν αντιβακτηριδιακή δράση.

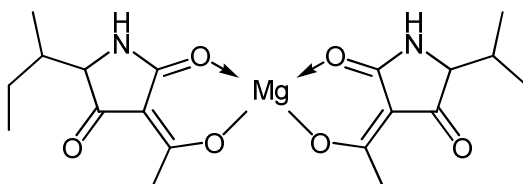


Σχήμα 1.43 Παράδειγμα εφαρμογής με L-θρεονίνη της μεθόδου Moloney

1.3 Τα τετραμικά οξέα ως ενδιάμεσες ενώσεις

α) Σύμπλοκα με μέταλλα μετάπτωσης

Είναι γνωστό, ήδη από τη δεκαετία του '70 ότι τα φυσικά προϊόντα που περιέχουν το δακτύλιο του τετραμικού οξέος απαντούν στη φύση ως σύμπλοκα μετάλλων [191]. Η σύμπλεξη του τετραμικού πυρήνα είναι σημαντική για τη μεταφορά μέσα από μεμβράνες σε βιολογικούς ιστούς [7]. Τα παράγωγα που φέρουν την 3-άκυλο ομάδα έχουν τη δυνατότητα να συμπλέκονται με δισθενή συνήθως μεταλλικά ιόντα. Χαρακτηριστικά αναφέρουμε το τενουαζονικό οξύ, το οποίο σχηματίζει σύμπλοκα με Ca(II) και Mg(II) [192], καθώς και με βαρύτερα μέταλλα όπως Cu(II), Ni(II) και Fe(III) [193,194]. Βιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι σύμπλοκα αυτής της μορφής παρουσιάζουν αντικαρκινικές ιδιότητες. Σε πρόσφατες εργασίες [195], μελετάται ο μηχανισμός δράσης του κυκλοπιαζονικού οξέος (CPA) ως σύμπλοκου με Mg(II), Mn(II) και Ca(II). Έχει δειχθεί, ότι το CPA συμπλέκεται με δισθενή μεταλλικά ιόντα όταν συνδέεται με το σαρκοπλασμικό δικτύωμα Ca(II)-ΑΤΡάσης.



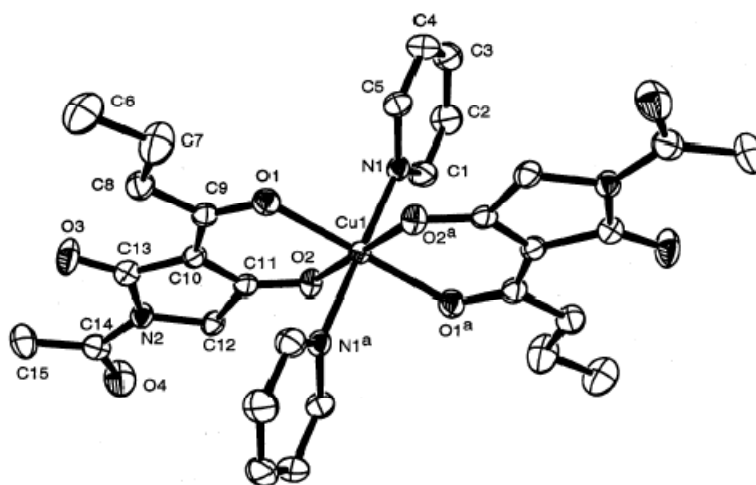
Σχήμα 1.44 Σύμπλοκο τενουαζονικού οξέος-Mg(II)

Εδώ και δεκαετίες σύμπλοκα απλούστερων τετραμικών οξέων με μεταλλικά ιόντα παρασκευάζονται και μελετώνται οι φυσικοχημικές τους ιδιότητες. Στο εργαστήριο οργανικής χημείας του Εθνικού Μετσοβίου Πολυτεχνείου, έχουν συντεθεί πολλά τέτοια παράγωγα. Οι μελέτες με κρυσταλλογραφία X-ray έχουν συμβάλλει σημαντικά στην πρόοδο των μελετών σχετικά με τους μηχανισμούς και τη στερεοχημεία των παραγώγων αυτών. Τα πρώτα σύμπλοκα που παρουσιάστηκαν στη μακρόχρονη ενασχόληση με αυτό το πεδίο ήταν σύμπλοκα των Co(II), Ni(II), Cu(II), Cd(II) και Hg(II) χρησιμοποιώντας ως πηγή του μετάλλου διάφορα

άλατα [196], ως υποκαταστάτες 3-βουτανόυλο ή 3-βενζουλοτετραμικό οξύ. Λίγα χρόνια μετά, σε μία εργασία στην οποία συντέθηκε το σύμπλοκο του N-ακετυλο-3-βουτανούλοτετραμικού οξέος (Habta) με Rh(I), παρουσιάστηκε και το πρώτο X-ray σύμπλοκου αυτού του τύπου [197].

Στο σημείο αυτό αξίζει να σταθούμε σε δύο εργασίες από το εργαστήριο οργανικής χημείας. Η πρώτη είναι η σύνθεση και μελέτη συμπλόκων του Habta και του παραγώγου του ως υδραζόνη με Cu(II), Co(II), Ni(II) και Zn(II), καθώς είναι γνωστό ότι οι υδραζόνες βρίσκουν εφαρμογή σε πολλά πεδία των επιστημών όπως στην αναλυτική χημεία, στα βιολογικά συστήματα και τη μη γραμμική οπτική [198]. Η δεύτερη είναι η σύνθεση και μελέτη της μοριακής δομής συμπλόκων του Pt(II), που περιέχουν N,3-διακετυλοτετραμικό οξύ [165]. Η δομή μελετήθηκε με φασματοσκοπία IR, NMR, ESI-MS και ειδικής αγωγιμότητας. Παραπλήσια σύμπλοκα είχαν προηγουμένως δημοσιευτεί σε μία πατέντα, χωρίς ωστόσο να δίνονται πληροφορίες για τη δομή τους [199,200]. Τα σύμπλοκα του “cisplatin” είναι ευρέως γνωστό ότι έχουν αντικαρκινικές ιδιότητες. Μελέτες που αφορούν τη βιολογική δραστηριότητα αυτών των παραγώγων βρίσκονται σε εξέλιξη στο εργαστήριο οργανικής χημείας του ΕΜΠ.

Οι στρατηγικές για τη σύνθεση αυτών των ενώσεων και όλες οι πρόσφατες εξελίξεις στη βιοανόργανη και βιοοργανική χημεία των συμπλόκων με τετραμικά (και τετρονικά οξέα) καλύπτονται από πρόσφατο άρθρο ανασκόπησης [201].

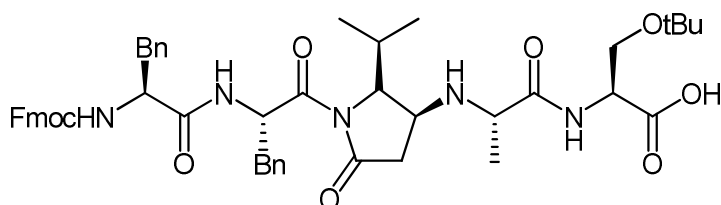


Σχήμα 1.45 X-Ray συμπλόκου $[Cu(abta)_2(py)_2] \cdot 2H_2O$

β) Πεπτιδομιμητικά

Τα τετραμικά οξέα μπορούν να θεωρηθούν ως φυσικά απαντώμενα ανάλογα των αμινοξέων. Στη θέση C-4 του δακτυλίου υπάρχει ένα όξινο ενολικό υδροξύλιο, το οποίο αντιστοιχεί στο καρβοξύλιο του αμινοξέος, ενώ έχουν μία αμιδομάδα (λακτάμη) στο δακτύλιό τους, αντίθετα από τα αμινοξέα που περιέχουν μία αμίνη.

Πρόσφατα, παρουσιάστηκε μία μέθοδος εισαγωγής των τετραμικών οξέων σε διπεπτίδια ή τριπεπτίδια. Όπως φαίνεται στο *σχήμα 1.46*, έχουν παρασκευαστεί διπεπτίδια με ακυλίωση του αμινοξέος στο άζωτο του δακτυλίου [202], διπεπτίδια μέσω αναγωγικής αμίνωσης στη θέση C-4 [203], καθώς και τριπεπτίδια συνδυάζοντας τις δύο παραπάνω αντιδράσεις [204]. Επιπλέον, στην τελευταία εργασία παρασκευάζεται και ένα πενταπεπτίδιο μέσω σύνθεσης σε στερεά φάση, ξεκινώντας από ένα τριπεπτίδιο που περιέχει τετραμικό οξύ και επεκτείνοντάς το με γνωστές στη πεπτιδοχημεία αντιδράσεις και από τα δύο άκρα του κατά ένα αμινοξύ.



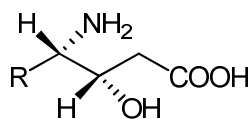
Σχήμα 1.46 Παράγωγο πενταπεπτιδίου με τετραμικό οξύ

Τα προϊόντα αυτά έχουν πολύ μεγάλη αξία, διότι είναι πεπτιδομιμητικά. Τα πεπτίδια, λόγω της εκλεκτικότητάς τους και της δομής τους είναι πολύ ελκυστικά ως μόρια με φαρμακολογική δράση, ενώ συνήθως είναι μη τοξικά [205,206]. Ωστόσο, υπάρχουν κάποιοι περιορισμοί στη χρήση τους, με τον πιο σημαντικό να είναι η πολύ χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα για χορήγηση από το στόμα. Ο βασικός λόγος που υπάρχει αυτός ο περιορισμός είναι η ενζυμική αποικοδόμηση. Όμως, ακόμη κι αν καταφέρει ένα φάρμακο πεπτιδικής φύσης να περάσει αυτά τα εμπόδια, βρίσκεται αντιμέτωπο με την ενζυμική πέψη στη κυκλοφορία του αίματος, με αποτέλεσμα τον

πολύ χαμηλό χρόνο ημιζωής. Για να ξεπεραστούν αυτές οι δυσκολίες, σχεδιάστηκαν τα ψευδοπεπτίδια [207] ή πεπτιδομιμητικά, ενώσεις οι οποίες παρουσιάζουν παρόμοια βιολογική δράση με το πεπτίδιο, αλλά είναι πιο σταθερές.

γ) Στατίνες

Στην ύπαρξη στατινών που περιέχουν τον τετραμικό δακτύλιο έχουμε αναφερθεί και προηγουμένα στο κεφάλαιο “Φυσικά προϊόντα” και συγκεκριμένα στη dolastatin 15. Τα τετραμικά οξέα έχουν χρησιμοποιηθεί ως ενδιάμεσες ενώσεις στη σύνθεση και άλλων στατινών καθώς και β-υδροξυ-γ-αμινοξέων [172]. Ένα τετραμικό οξύ, συνήθως μη υποκατεστημένο στη θέση C-3 μπορεί να υδρογονωθεί στο διπλό δεσμό του δακτυλίου ασύμμετρα και στη συνέχεια με όξινες ή βασικές συνθήκες να διανοιχθεί ο λακταμικός δακτύλιος και να πάρουμε το αντίστοιχο ανοικτό παράγωγο. Αυτές οι ενώσεις με τους κατάλληλους υποκαταστάτες είναι ανάλογα στατινών ή στατίνες, ενώ εξάλλου, οι ίδιες οι λακτάμες, κατάλληλα διαμορφωμένες θεωρούνται κυκλικές στατίνες [208]. Τα β-υδροξυ-γ-αμινοξέα εκτός από φαρμακολογική αξία λόγω αναλογίας τους με τις στατίνες έχουν και συνθετική αξία, καθώς χρησιμοποιούνται στη σύνθεση φυσικών προϊόντων πεπτιδικής φύσης.

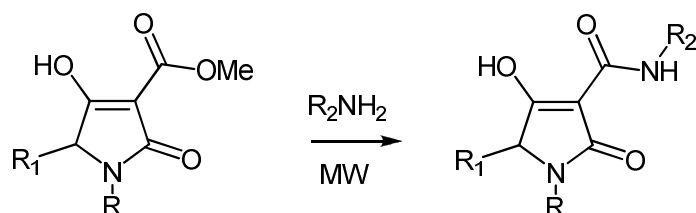


Σχήμα 1.47 β-Υδροξυ-γ-αμινοξύ (στατίνη)

δ) Αμίδια

Στο σημείο αυτό, επιχειρώντας να καλύψουμε ένα σημαντικό κομμάτι από την έρευνα σχετικά με τα τετραμικά οξέα, αλλά και τις πρόσφατες εξελίξεις, αξίζει να

αναφερθούμε σε μία πρόσφατη έρευνα που δημοσιεύτηκε το 2008 από ερευνητές της φαρμακευτικής εταιρίας Novartis [209]. Σε αυτήν την εργασία, συντίθενται μεταξύ άλλων καρβοξαμίδια των τετραμικών οξέων και γίνονται μελέτες συσχετισμού δομής δραστηριότητας για χρήση ως αντιμικροβιακοί παράγοντες.



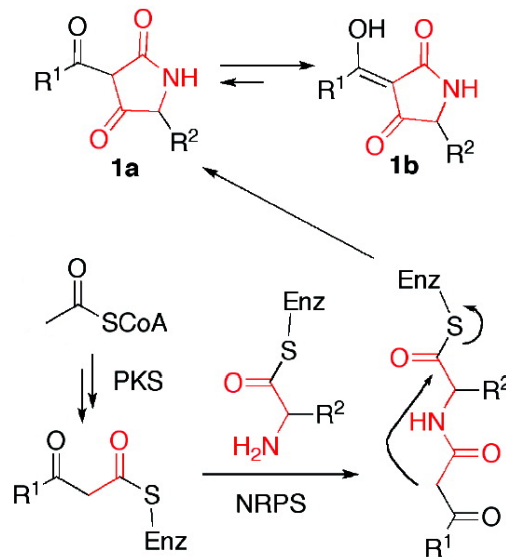
Σχήμα 1.48 Αμίδια τετραμικών οξέων

Τα αποτελέσματα είναι ικανοποιητικά και οι ενώσεις στις οποίες έχουν καταλήξει οι συγγραφείς, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως ενώσεις οδηγό στην ανάπτυξη νέων αντιβακτηριδιακών ενώσεων από τη βιομηχανία. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι οι συγγραφείς αναφέρουν σαφώς, ότι χρησιμοποίησαν μέθοδο της ερευνητικής ομάδας του εργαστηρίου οργανικής χημείας ΕΜΠ για τη σύνθεση των κατάλληλων τετραμικών οξέων [167].

1.4 Βιοσύνθεση τετραμικών οξέων

Η μεγάλη πλειονότητα των φυσικά απαντώμενων τετραμικών οξέων είναι 3-άκυλο υποκατεστημένα με την ενολική μορφή στη θέση C-3 να είναι συχνά το κυρίαρχο ταυτομερές. Αυτή η μορφή θεωρείται ότι αλληλεπιδρά με τους κυτταρικούς στόχους. Τα 3-ακυλοτετραμικά οξέα είναι συνήθεις δευτεροταγείς μεταβολίτες, οι οποίοι προκύπτουν από ένα πολυκετίδιο και ένα α-αμινοξύ (πρόδρομες ενώσεις). Αυτά σχηματίζονται και από τις συνδυασμένες ενέργειες δύο ενζύμων, της συνθετάσης πολυκετιδίων (PKS) και της συνθετάσης μη-ριβωσμικών πεπτιδίων (NRPS). Στο παρακάτω σχήμα (1.49) φαίνεται η προτεινόμενη (από μελέτες ισοτοπικής ιχνηθέτησης) βιοσυνθετική πορεία για τα 3-ακυλοτετραμικά οξέα.

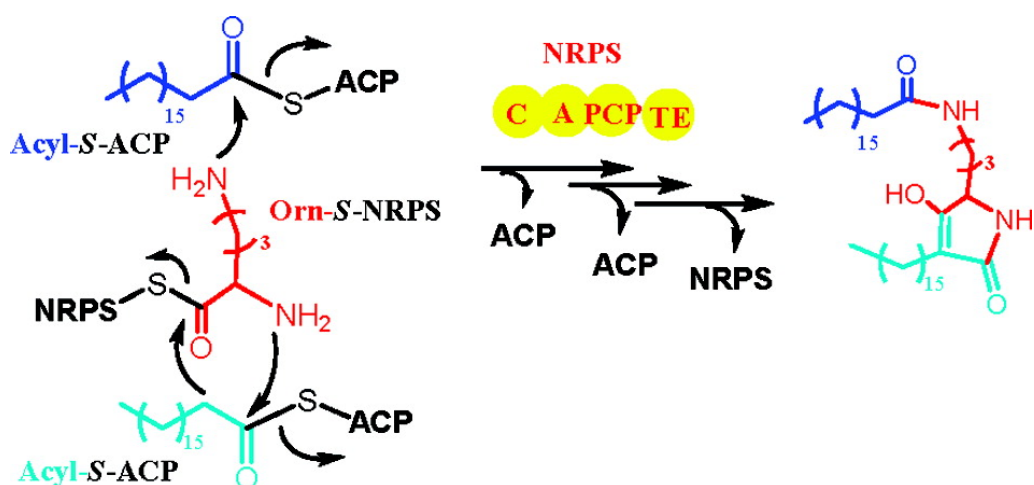
Σύμφωνα με αυτήν το τμήμα C2-C3 του δακτυλίου προέρχεται από έναν οξικό εστέρα. Αυτή η ένωση “χτίζεται” από το ένζυμο PKS και συντίθεται μία ένωση αντίστοιχη ενός β-κετοεστέρα. Αυτή η νέα ομάδα προφανώς ευθύνεται για την άκυλο αλυσίδα στη θέση C-3. Όπως έχει γίνει σαφές και από το κεφάλαιο 1.1, το υπόλοιπο τμήμα του τετραμικού οξέος, καθώς και η παράπλευρη αλυσίδα στη θέση



Σχήμα 1.49 Προτεινόμενη βιοσυνθετική πορεία προς 3-ακυλοτετραμικά οξέα

C-5 οφείλεται στο α-αμινοξύ. Ο κατάλληλα διαμορφωμένος α-αμινοεστέρας συνδέεται με τον β-κετοεστέρα με έναν πεπτιδικό δεσμό, με τη βοήθεια του ενζύμου NRPS, το οποίο λειτουργεί και ως καταλύτης που τερματίζει την αλυσίδα. Ο λακταμικός δακτύλιος σχηματίζεται από την κυκλοποίηση της παραπάνω ένωσης είτε ενζυμικά, είτε αυθόρμητα στο κυτταρόπλασμα [155,210]. Αν επιχειρήσουμε να βρούμε ένα συσχετισμό μεταξύ της βιοσύνθεσης και μίας συνθετικής μεθόδου, τότε αυτή θα ήταν σύμφωνα με την παραπάνω πορεία η μέθοδος του Lacey [4].

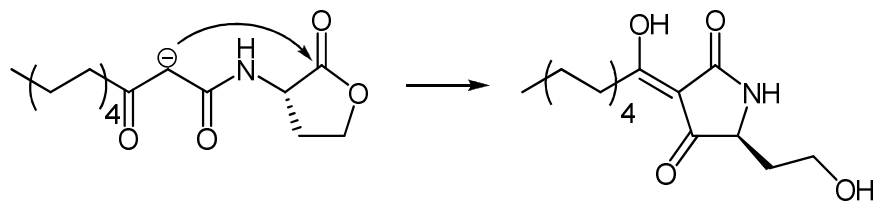
Ωστόσο, πρόσφατα, παρουσιάστηκε στο έγκριτο περιοδικό Journal of American Chemical Society μία νέα, εναλλακτική βιοσυνθετική πορεία για μία μακρολακτάμη-παραγώγο τετραμικού οξέος, την HSAF [211]. Σε αυτήν τη δημοσίευση, η οποία έχει προκύψει από εκτενείς μελέτες, προτείνεται μία πορεία, η οποία αντιστοιχεί συνθετικά στη μέθοδο που έχει αναπτυχθεί στο εργαστήριό μας. Δηλαδή πραγματοποιείται μία C-ακυλίωση του πολυκετιδίου από τον α-αμινοεστέρα και στη συνέχεια (ή ταυτόχρονα) γίνεται η πυρηνόφιλη προσβολή του καρβονυλίου του πολυκετιδίου από την αμίνη του αμινοεστέρα.



Σχήμα 1.50 Βιοσυνθετική πορεία του φυσικού προϊόντος HSAF

Στο κεφάλαιο 1.1 αναφερθήκαμε στο C12-TA, ένα 3-δεκανοΐλοτετραμικό οξύ που βιοσυντίθεται στα βακτήρια *Pseudomonas aeruginosa*. Το προϊόν αυτό προκύπτει βιοσυνθετικά από την κυκλοποίηση της AHL (λακτόνης της ομοσερίνης),

ένα παράγωγο μη πρωτεϊνικού αμινοξέος. Η κυκλοποίηση είναι τύπου Dieckmann [137].



Σχήμα 1.51 Κυκλοποίηση της AHL στα βακτήρια *Pseudomonas aeruginosa*

2

Σύνθεση τετραμικών οξέων που φέρουν πολική ομάδα στη θέση 5 και των αντίστοιχων εστέρων των β-υδροξυ-γ-αμινοξέων

2.1 Εισαγωγή

Στο κεφάλαιο αυτό, θα παρουσιαστεί αναλυτικά το υπόβαθρο της μεθοδολογίας της σύνθεσης των τετραμικών οξέων, καθώς και των εστέρων των β-υδροξυ-γ-αμινοξέων.

Στο πρώτο μέρος θα αναλυθεί η προτεινόμενη ρετροσυνθετική ανάλυση [212] και ακολούθως, στο δεύτερο θα γίνει η παρουσίαση και επεξήγηση των πειραματικών διεργασιών.

Από τα κεφάλαια **1.1** και **1.3** έχουν ήδη εκτεθεί οι εφαρμογές των τετραμικών οξέων στη σύνθεση βιολογικά ενεργών φυσικών προϊόντων και στην κατασκευή σημαντικών παραγώγων όπως τα ψευδοπεπτίδια και τα σύμπλοκα. Επιπλέον, τα συνθετικά τετραμικά οξέα ακόμη κι αν δεν είναι ανάλογες ενώσεις φυσικών προϊόντων παρουσιάζουν βιολογική δραστικότητα, όπως έχει δημοσιευθεί σε πολλές εργασίες σύνθεσης αυτών των παραγώγων και μελέτης δομής-δραστικότητας [213,214].

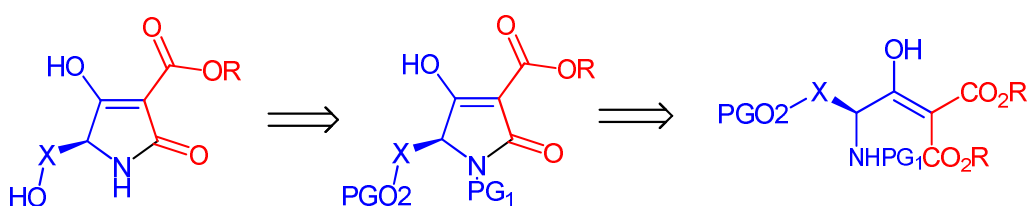
Τα τελευταία χρόνια έχουν δημοσιευθεί αρκετές αξιόλογες εργασίες που αναφέρονται στα τετραμικά οξέα που φέρουν υδροξυάλκυλο ή υδροξυβένζυλο ομάδα [135,137,215]. Ωστόσο, υπάρχει ένα κενό στη διεθνή βιβλιογραφία που αφορά στην ανάπτυξη μιας μεθοδολογίας σύνθεσης αυτών των μορίων, καθώς στις λιγοστές συνθέσεις που έχουν αναφερθεί, παρουσιάζονται παράγωγα μόνο ενός αμινοξέος και δε γίνεται αναφορά στην εναντιομερική περίσσεια του τελικού προϊόντος.

Στα πλαίσια αυτής της διδακτορικής διατριβής αναπτύχθηκε μία μεθοδολογία με την οποία είναι δυνατό να συντεθούν τετραμικά οξέα παράγωγα της L-σερίνης, L-τυροσίνης και της L-θρεονίνης από εμπορικά διαθέσιμες ενώσεις σε λίγα στάδια, υψηλές αποδόσεις και με διατήρηση της οπτικής ενεργότητας.

Στο σημείο αυτό χρήζει ιδιαίτερης αναφοράς η απομόνωση ως καθαρά προϊόντα των ενδιαμέσων παραγώγων, εστέρων των β-υδροξυ-γ-αμινοξέων. Οι ενώσεις αυτές μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη σύνθεση γ-αμινοξέων, καθώς και στατινών (κεφ. 1.3), εφόσον γίνει ασύμμετρη καταλυτική υδρογόνωση στο διπλό δεσμό της ενόλης. Εκτός από αυτό, παράγωγα σαν τα παραπάνω βρίσκουν εφαρμογή στην ολική σύνθεση [216,217] των πεπτιδίων melleumin A και B, φυσικών προϊόντων που έχουν απομονωθεί από το μυξομύκητα *Physarium melleum* [218].

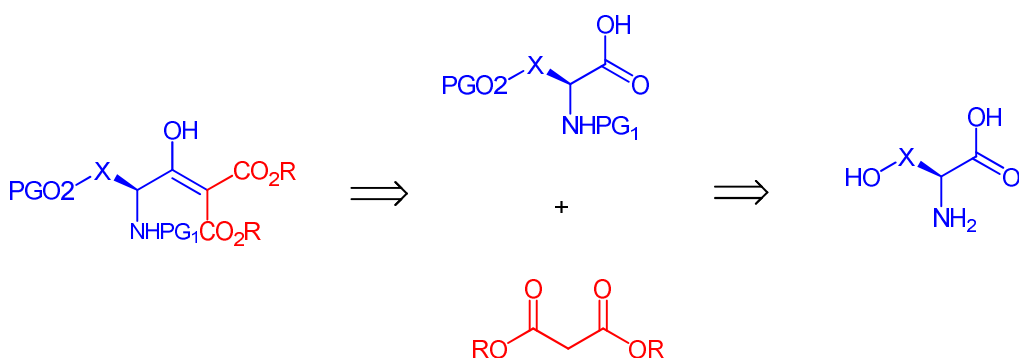
2.2 Αποτελέσματα - Συζήτηση

Η μεθοδολογία της σύνθεσης των τετραμικών οξέων **3α-στ** περιγράφεται στο *σχήμα 2.1*. Με ρετροσυνθετική προσέγγιση, η ένωση-στόχος προκύπτει (μετά την απομάκρυνση των προστατευτικών ομάδων) από την κυκλοποίηση Dieckmann του αντίστοιχου ανοιχτού παραγώγου. Οι ενώσεις αυτές κατατάσσονται βάση της δομής τους στα β-β'-τρικαρβόνυλο ετεροκυκλικές ενώσεις.



Σχήμα 2.1 Ρετροσυνθετική προσέγγιση 5-υδροξυαλκυλοτετραμικών οξέων

Η σύνθεση της ενδιάμεσης αυτής ένωσης, όπως φαίνεται από το παρακάτω *σχήμα (2.2)* επιτεύχθηκε με τη C-ακυλίωση μεταξύ εστέρων του μηλονικού οξέος, ως ένωση ενεργού μεθυλενίου και των κατάλληλα προστατευμένων α-αμινοξέων. Η αντίδραση αυτή μας δίνει τη δυνατότητα σχηματισμού του δεσμού μεταξύ του C-2 και C-3 του κυκλικού παραγώγου.



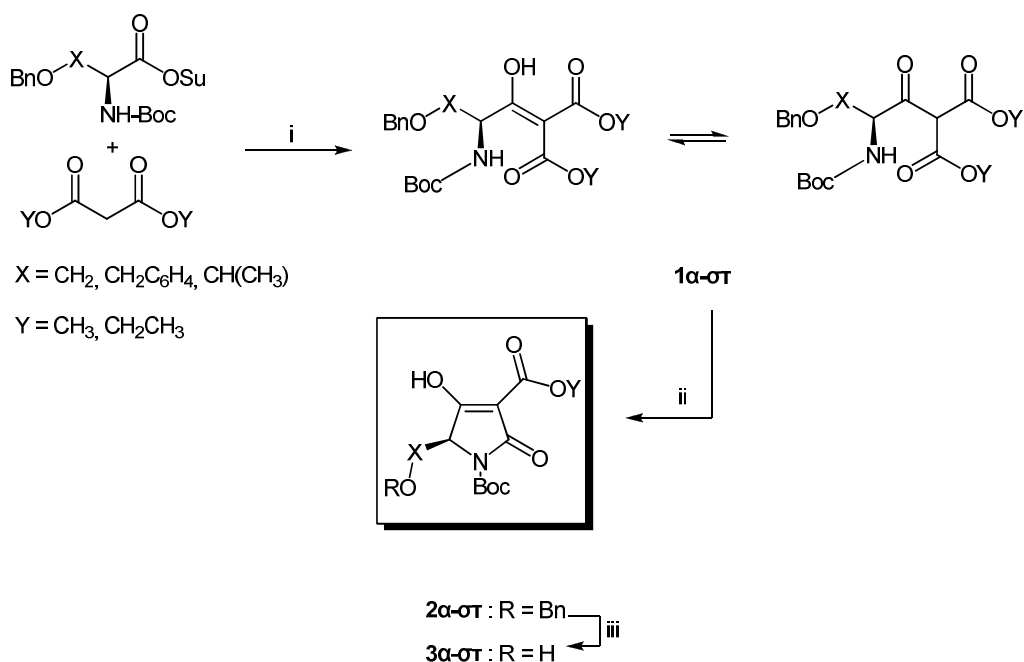
Σχήμα 2.2 Ρετροσυνθετική προσέγγιση εστέρων των β-υδροξυ-γ-αμινοξέων

Ως αρχικές ενώσεις χρησιμοποιήθηκαν οι N-υδροξυηλεκτριμιδοεστέρες των N-Boc-O-βενζυλοαμινοξέων που προαναφέρθηκαν. Οι ενώσεις αυτές είναι εμπορικά διαθέσιμες. Ωστόσο, μπορούν να συντεθούν σε τρία στάδια από τα αντίστοιχα αμινοξέα [219,220].

Με το συνδυασμό αυτών των προστατευτικών ομάδων επιτυγχάνεται η ορθογωνική προστασία του α-αμινοξέος. Αυτό σημαίνει πως μπορούμε ανάλογα με το προϊόν που θέλουμε να καταλήξουμε να αποπροστατεύσουμε τη μία ή την άλλη προστατευτική ομάδα. Πράγματι, η Boc (tert-βουτυλοξυκαρβόνυλο) ομάδα απομακρύνεται εύκολα με τριφθοροξικό οξύ, καθώς επίσης και με άλλα όξινα αντιδραστήρια, όπως υδροχλωρικό οξύ. Σε αυτές τις συνθήκες, η βενζυλομάδα μένει ανεπηρέαστη. Η τελευταία, απομακρύνεται συνήθως με καταλυτική υδρογονόλυση.

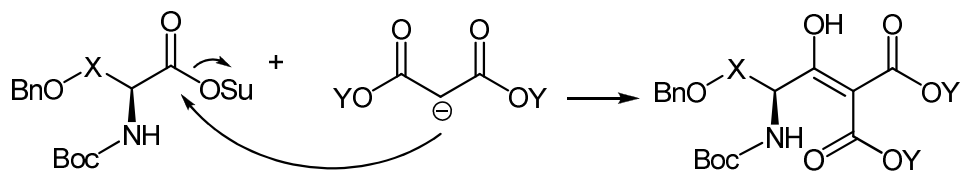
Η Boc ομάδα επιλέχθηκε για την προστασία της αμίνης λόγω της σταθερότητάς της στις συνθήκες της αντίδρασης (βασικές). Η βενζυλομάδα αποτέλεσε την επιλογή μας για την προστασία του υδροξυλίου, εκτός της συμβατότητάς της με την Boc, λόγω των ήπιων συνθηκών που απαιτούνται για την απομάκρυνσή της. Επιπλέον, η μετατροπή του υδροξυλίου σε αιθέρα, έκανε τα τελικά και τα ενδιάμεσα προϊόντα ευκολότερα στο χειρισμό. Είναι γνωστό, ότι η πολικότητα των τετραμικών οξέων κάνει δύσκολη την επεξεργασία τους, όπως τις εκχυλίσεις και το γεγονός ότι απαντούν σε ταυτομερείς μορφές (κεφ. 1) κάνει την αποτίμηση των φασμάτων τους περίπλοκη.

2 Σύνθεση τετραμικών οξέων που φέρουν πολική ομάδα στη θέση 5



Σχήμα 2.3 Γενική πορεία σύνθεσης 3-αλκοξυκαρβονυλο-5-αλκυλοτετραμικών οξέων

Η συνθετική πορεία προς τα τετραμικά οξέα **1α-σT** παρουσιάζεται στο παραπάνω σχήμα (2.3). Αντίδραση-κλειδί της προτεινόμενης μεθοδολογίας αποτελεί η αντίδραση C-ακυλίωσης μεταξύ του κατάλληλα ενεργοποιημένου και προστατευμένου αμινοξέος και της ένωσης ενεργού μεθυλενίου. Για να μετατραπεί το καρβοξύλιο του αμινοξέος σε ακυλιωτικό μέσο πρέπει να αντικατασταθεί το υδροξύλιο από έναν υποκαταστάτη δέκτη ηλεκτρονίων, ώστε να αυξηθεί η πολικότητα της καρβονυλικής ομάδας και επομένως ο ηλεκτρονιόφιλος χαρακτήρας του ατόμου άνθρακα. Έτσι, διευκολύνεται πολύ η πυρηνόφιλη προσβολή της ένωσης που πρόκειται να ακυλιωθεί (ανιόν ενεργού μεθυλενίου). Η ενεργοποίηση της καρβοξυλομάδας πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του N-υδροξυηλεκτριμιδίου [221]. Σε σχέση με άλλους εστέρες, αυτοί πλεονεκτούν στη δραστηριότητα (καλή αποχωρούσα ομάδα) και στο γεγονός ότι είναι σταθεροί για αρκετό χρονικό διάστημα. Επομένως δε χρειάζεται να χρησιμοποιήσουμε έντονες συνθήκες με κίνδυνο να χαθεί η οπτική ενεργότητα. Είναι σημαντικό το γεγονός ότι οι ενώσεις που επιλέξαμε βάσει των παραπάνω κριτηρίων ως αρχικές είναι εμπορικά διαθέσιμες.



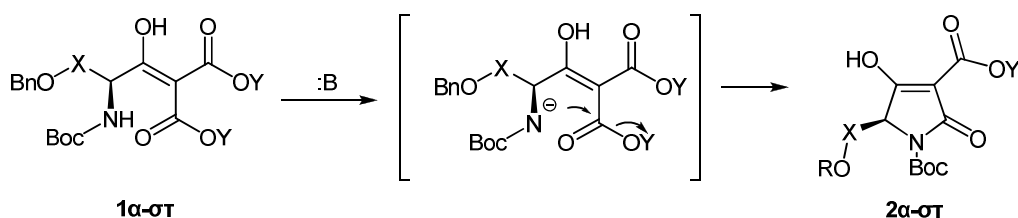
Σχήμα 2.4 C-ακυλίωση μεταξύ ενεργοποιημένου αμινοξέος και ανιόντος ενεργού μεθυλενίου

Το ενεργό μεθυλένιο που επιλέξαμε στην παρούσα εργασία είναι ο μεθυλεστέρας του μηλονικού οξέος και ο αιθυλεστέρας του μηλονικού οξέος. Οι ενώσεις αυτές λόγω της οξύτητας τους στη θέση του μεθυλενίου σχηματίζουν εύκολα καρβανιόντα, τα οποία είναι εξαιρετικά πυρηνόφιλα. Έτσι, μπορούν εύκολα να αντιδράσουν με τον ενεργοποιημένο εστέρα του καρβονυλίου και να σχηματίσουν το δεσμό C-2 με C-3 που αναφέρθηκε προηγουμένως. Η βάση που επιλέχθηκε είναι το υδρίδιο του νατρίου (NaH). Η επιλογή της βάσης για την αποπρωτονίωση είναι καθοριστικής σημασίας για την πειραματική πορεία. Το υδρίδιο επιλέχθηκε έναντι άλλων ισχυρών βάσεων (NaOEt, NaOH), διότι δεν μετέχει σε πυρηνόφιλες αντιδράσεις. Ωστόσο, είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη και δραστική με το νερό, γι'αυτό απαιτούνται άνυδρες συνθήκες. Η αντίδραση της C-ακυλίωσης έλαβε χώρα σε THF. Το THF είναι η προφανής επιλογή σε αντιδράσεις αυτού του τύπου, διότι δεν αποπρωτονιώνεται εύκολα και διαλύει αρκετά οργανικά άλατα του νατρίου. Η αντίδραση αυτή έδωσε τα ενδιάμεσα προϊόντα **1α-στ** σε σχεδόν ποσοτικές αποδόσεις (93-99%).

Η βέλτιστη σύνθεση αυτών των παραγώγων πραγματοποιήθηκε όταν χρησιμοποιήθηκε αναλογία 1 ισοδύναμου του ενεργού μεθυλενίου με 1 ισοδύναμο εστέρα του αμινοξέος παρουσία περίσσειας (2 ισοδύναμα) υδριδίου του νατρίου. Το οργανικό αλάτι που προέκυψε από αυτήν τη διαδικασία κατόπιν επεξεργασίας με 10% υδροχλωρικό οξύ έδωσε τους καθαρούς β-υδροξυ-γ-αμινοεστέρες ως στερεά ή άχρωμα λάδια, χωρίς την ανάγκη για περαιτέρω καθαρισμό. Η χρήση της παραπάνω αναλογίας επέτρεψε την παραλαβή καθαρών προϊόντων, ακόμη και των υγρών, αφού και λόγω της υψηλής απόδοσης δεν παρέμεινε ποσότητα ενεργού μεθυλενίου. Ωστόσο, στην περίπτωση των παραγώγων της L-θρεονίνης, προκειμένου να λάβουμε απόλυτα καθαρό προϊόν για αναλυτικούς σκοπούς

καθαρίστηκαν με χρωματογραφία στήλης. Οι ενώσεις αυτές είναι σταθερές και μπορούν να φυλαχθούν σε θερμοκρασία δωματίου για μήνες, χωρίς να υποστούν κάποια διάσπαση.

Οι παραπάνω ενώσεις με την επίδραση περίσσειας βάσης κυκλοποιούνται προς τα αντίστοιχα κυκλικά παράγωγα (τετραμικά οξέα), μέσω κυκλοποίησης Dieckmann. Η βάση αποπρωτονιώνει την προστατευμένη αμινομάδα, η οποία πλέον γίνεται ισχυρά πυρηνόφιλη και προσβάλλει το καρβονύλιο του εστέρα. Η αλκοξυομάδα του εστέρα απομακρύνεται ως αποχωρούσα ομάδα και σχηματίζεται ο πενταμελής λακταμικός δακτύλιος. Στο κεφάλαιο 1.2 έχει αναφερθεί η κυκλοποίηση αυτή με χρήση μεθοξειδίου του νατρίου. Πράγματι, σε δοκιμές που έγιναν, με αυτό το αντιδραστήριο, παραλήφθηκε προϊόν σε πολύ καλές αποδόσεις και καθαρότητες. Ωστόσο, ίδια ως προς την απόδοση αποτελέσματα, έδωσε και η αντίδραση με υδατικό διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου. Επομένως, προτιμήθηκε η δεύτερη μέθοδος, ως ευκολότερη, απλούστερη και ηπιότερη. Επιπρόσθετα, όπως έχει αναφερθεί σε προηγούμενο κεφάλαιο, η κυκλοποίηση με μεθοξείδιο ή αιθοξείδιο του νατρίου οδηγεί σε πλήρη ή μερική ρακεμοποίηση.



Σχήμα 2.5 Κυκλοποίηση ανοιχτού παραγώγου προς το προστατευμένο τετραμικό οξύ

Η εφαρμοσθείσα πειραματική διαδικασία περιλαμβάνει τη στάγδην προσθήκη διαλύματος καυστικού νατρίου (2 N) σε μεθανολικό ή αιθανολικό διάλυμα της ένωσης **1a-στ**. Το μείγμα που προκύπτει αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 3 ώρες. Εξατμίζοντας το διαλύτη υπό κενό, παραμένει ένα οργανικό αλάτι, το οποίο διαλύεται σε νερό και οξινίζεται με 10% υδροχλωρικό οξύ υπό ψύξη. Κατά την οξίνιση καταβυθίζεται ως στερεό το τετραμικό οξύ **2a-στ**, το οποίο μετά από εκπλύσεις με νερό και πετρελαϊκό αιθέρα παραλαμβάνεται καθαρό, χωρίς την ανάγκη για περαιτέρω καθαρισμό.

Η αποπροστασία των υδροξυλομάδων των παραγώγων **2α-στ** μπορεί να επιτευχθεί με υδρογονολυτική απομάκρυνση της βενζυλομάδας με 10% παλλάδιο σε ενεργό άνθρακα, ως καταλύτη. Η απόδοση αυτού του σταδίου κυμάνθηκε από 82-99%. Η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε περιλαμβάνει την προσεκτική προσθήκη καταλύτη 10% Pd/C (0.20mmol) σε διάλυμα του προϊόντος **2** σε THF και στη συνέχεια την τοποθέτηση του μίγματος σε ατμόσφαιρα υγρού υδρογόνου. Σε αυτό το σημείο χρειάζεται προσοχή, καθώς αν αυτά τα στάδια γίνουν ανάποδα, δηλαδή πρώτα η ατμόσφαιρα υδρογόνου και μετά η προσθήκη του καταλύτη υπάρχει κίνδυνος έκρηξης. Το υγρό υδρογόνο παρέχεται σε καλά απαερωμένη σφαιρική φιάλη με διπλό μπαλόνι (διαφορετικά το αέριο υδρογόνο «δραπετεύει» σύντομα).

Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδος (TLC). Το προϊόν, λόγω του ελεύθερου υδροξυλίου είναι σαφώς πιο πολικό από το αιθερικό παράγωγο, οπότε σε σύστημα DCM/MeOH 90:10 έχουν σημαντική διαφορά στο R_f . Μόλις ολοκληρωθεί η αντίδραση, το μίγμα διηθείται με Celite 545 σε κυλινδρικό χωνί διήθησης, καθώς η χρήση μόνο του χωνιού δεν επαρκεί για να συγκρατήσει τον άνθρακα. Κατόπιν εκπλύσεων με THF και εξάτμισης του διαλύτη, παραλαμβάνεται το καθαρό τετραμικό οξύ **3**. Έκπλυση είναι δυνατό να πραγματοποιηθεί και με DCM και μεθανόλη, καθώς παρασύρουν επιτυχώς το προϊόν, εντούτοις παρασύρουν και τον καταλύτη και σε αυτήν την περίπτωση είναι απαραίτητη η χρωματογραφία στήλης για καθαρισμό.

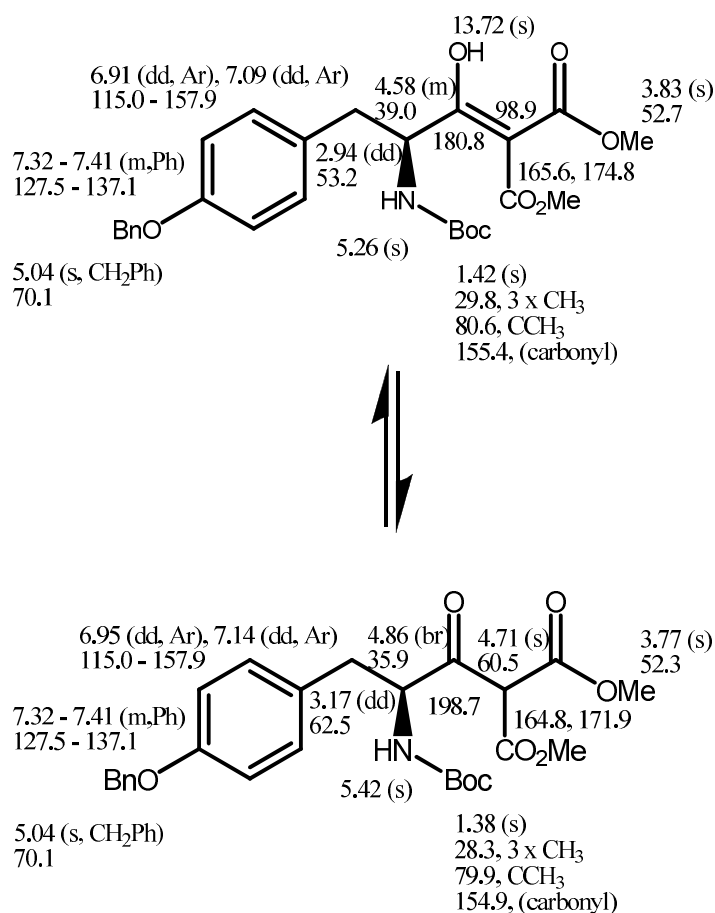
Πίνακας 2.1 Αποδόσεις τετραμικών οξέων και β-υδροξυ-γ-αμινοξέων

Ένωση	X	Y	Απόδοση (%)		
			1	2	3
α	CH ₂	Me	96	82	99
β	CH ₂	Et	94	98	92
γ	CH ₂ C ₆ H ₄	Me	96	90	96
δ	CH ₂ C ₆ H ₄	Et	99	99	94
ε	CH(CH ₃)	Me	93	89	86
στ	CH(CH ₃)	Et	94	80	82

Είναι προφανές ότι εφόσον η αντίδραση πραγματοποιείται σε βασικές συνθήκες, είναι απαραίτητη η προστασία της υδροξυλομάδας ακόμη και για τα λιγότερο δραστικά αμινοξέα θρεονίνη και τυροσίνη. Ωστόσο, πραγματοποιήθηκε μία δοκιμαστική αντίδραση με τις τελικές (βελτιστοποιημένες) συνθήκες μεταξύ του μεθυλεστέρα του μηλονικού οξέος και του N-υδροξυηλεκτριμιδοεστέρα N-Boc-L-τυροσίνης. Το αποτέλεσμα ήταν ένα αδιάλυτο σχεδόν σε όλους τους διαλύτες λευκό στερεό, που το φάσμα MS έδειξε ότι πρόκειται για προϊόν πολυμερισμού της τυροσίνης. Το αποτέλεσμα αυτό επιβεβαιώνει την υπόθεση ότι τα ελεύθερα υδροξύλια παρουσία βάσης έδωσαν αντιδράσεις μετεστεροποίησης με τους ενεργούς εστέρες.

Οι εστέρες των γ-αμινοξέων που σχηματίστηκαν στην πρώτη αντίδραση, ως β, β'-τρικαρβόνυλο σύστημα απαντούν ως κετο-ενολικά ταυτομερή. Η ταυτομέρεια αυτή είναι παρατηρήσιμη από το NMR. Στα φάσματα ^1H και ^{13}C NMR είναι διακριτά τα σήματα και των δύο ταυτομερών μορφών (σχήμα 2.6). Ολοκληρώνοντας τις κορυφές μπορούμε να υπολογίσουμε τη μεταξύ τους αναλογία. Στο CDCl_3 η αναλογία αυτή είναι κετονική/ενολική, 80:20. Λαμβάνοντας το φάσμα σε διαλύτη $\text{DMSO}-d_6$ παρατηρούμε ότι κυριαρχεί η ενολική δομή (κετονική/ενολική, 40:60). Το φαινόμενο αυτό μπορεί να ερμηνευθεί λόγω των δεσμών υδρογόνου στην ενολική μορφή, το οποίο έχει ως συνέπεια να ευνοείται αυτή σε πολικούς διαλύτες. Ωστόσο, η θεωρητική και φασματοσκοπική μελέτη αυτού του φαινομένου, ώστε να διερευνηθούν οι σταθερές δομές, καθώς και η επίδραση παραγόντων όπως η συγκέντρωση, οι διαλύτες και η θερμοκρασία στην ταυτομέρεια είναι στα μελλοντικά σχέδιά μας. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η θεωρητική και πειραματική μελέτη της επίδρασης της συγκέντρωσης, λόγω των διαμοριακών δεσμών υδρογόνου που σχηματίζονται, καθώς και η μελέτη της ταυτομέρειας σε στερεά μορφή.

Τετραμικά οξέα



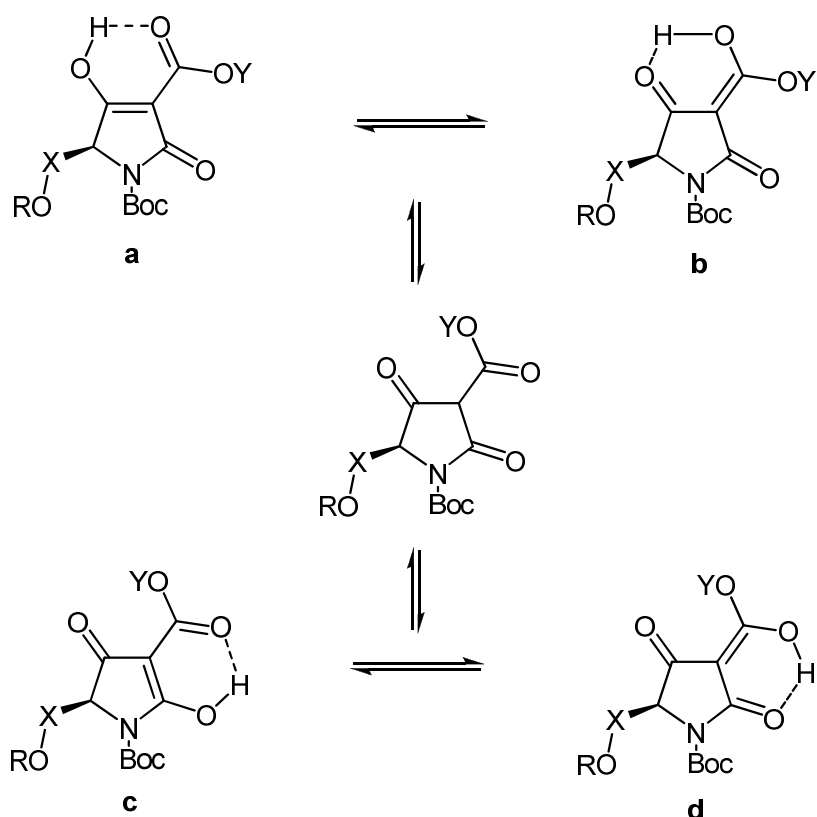
Σχήμα 2.6 Χημικές μετατοπίσεις των ^1H και ^{13}C NMR φασμάτων και πολλαπλότητες για το παράγωγο **1γ**, όπως παρατηρήθηκαν για τις δύο ταυτομερείς μορφές σε CDCl_3 στους 26°C .

Χαρακτηριστικό σήμα της ενολικής μορφής αποτελεί αυτό του υδρογόνου της ενόλης, το οποίο είναι μακράν το πιο αποπροστατευμένο (13.72 ppm), λόγω της όξινης φύσης του, αλλά και των δεσμών υδρογόνου που συμμετέχει. Όπως φαίνεται κι από τις μετατοπίσεις, αυτές επηρεάζονται σχεδόν σε όλο το μόριο ανάλογα τη μορφή. Ένα ακόμη χαρακτηριστικό που μπορούμε να παρατηρήσουμε από το παραπάνω σχήμα (2.6) είναι ότι οι δύο εστερικές ομάδες δεν είναι χημικά ισοδύναμες, λόγω των ενδομοριακών δεσμών υδρογόνου.

Τα τετραμικά οξέα, απαντούν σε 4 ταυτομερείς μορφές (**κεφ. 1**), οι οποίες στα παράγωγα που συντέθηκαν έχουν τις δομές που παρουσιάζονται στο παρακάτω σχήμα (2.7). Ωστόσο, μόνο τα δύο ενολικά ταυτομερή (**a**, **c**) παρατηρήθηκαν στο NMR και αυτό μόνο σε διαλύτη CDCl_3 . Απόδειξη γι'αυτό αποτελεί η απουσία κορυφών που να απόδίδονται σε C ή H του μεθινίου της θέσης 3 του δακτυλίου. Σε

2 Σύνθεση τετραμικών οξέων που φέρουν πολική ομάδα στη θέση 5

όλα τα παράγωγα η αναλογία είναι **a/c**, 80:20. Η σταθερότερη δομή αποδίδεται στο **a**, σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες ταυτομέρειας [5,6]. Σε διαλύτη DMSO-d₆, μόνο μία μορφή είναι παρατηρήσιμη. Τα προϊόντα που παρασκευάστηκαν από την L-θρεονίνη, έχουν δύο ασύμμετρα άτομα άνθρακα και σύμφωνα με τα φάσματά τους ελήφθησαν σε μία (καθαρή) διαστεreoμερική μορφή.



Σχήμα 2.7 Ταυτομέρεια 3-αλκοξυκαρβονυλο-5-υδροξυαλκυλοτετραμικών οξέων

Τα φάσματα ¹H NMR των αποπροστατευμένων τετραμικών οξέων παρουσίασαν στην περίπτωση των παραγώγων της σερίνης και θρεονίνης ασυνήθη διεύρυνση των κορυφών, ενώ σε μη πολικούς διαλύτες δεν ήταν δυνατή η λήψη ικανοποιητικών φασμάτων. Επιπλέον, τα φάσματα ¹³C NMR παρουσίασαν αδύναμα (μερικές φορές στα όρια του θορύβου) σήματα που αφορούσαν στα καρβονύλια (εξαιρείται το καρβονύλιο της Boc ομάδας). Το φαινόμενο αυτό έχει παρατηρηθεί στη βιβλιογραφία σε φυσικά προϊόντα και αποδίδεται στη δυναμική ταυτομερείωση που λαμβάνει χώρα σε θερμοκρασία δωματίου (κεφ. 1.1, βλ. equisetin).

Τα φάσματα υπερύθρου (IR) των προϊόντων που παρασκευάστηκαν επιβεβαιώνουν τις προτεινόμενες μοριακές δομές. Χαρακτηριστικό σήμα που κάνει την εμφάνισή του στους εστέρες 1 είναι αυτό στα $1734-1718\text{ cm}^{-1}$ που αντιστοιχεί στο β-δικαρβονυλικό σύστημα. Τα κυκλοποιημένα τετραμικά οξέα χαρακτηρίζονται από την εμφάνιση κορυφών απορρόφησης στα $1649-1645\text{ cm}^{-1}$, που σηματοδοτούν την παρουσία καρβονυλίου λακτάμης. Τέλος, η αποπροστασία της υδροξυλομάδας στη θέση C-5 επιβεβαιώνεται από την εμφάνιση κορυφής απορρόφησης στα $2996-2948\text{ cm}^{-1}$, χαρακτηριστική μίας ελεύθερης υδροξυλομάδας.

Οι ενώσεις που παρασκευάστηκαν, 18 στο σύνολό τους και όλες νέες, χαρακτηρίστηκαν ακόμη από μετρήσεις σημείου τήξης, ειδικής στροφικής ικανότητας, καθώς και υψηλής ανάλυσης φασματοσκοπίας μάζας (HRMS). Ειδικά τα φάσματα HRMS, τα οποία ελήφθησαν στο πανεπιστήμιο του Notre Dame στις ΗΠΑ, επιβεβαιώνουν πέρα από κάθε αμφισβήτηση τον μοριακό τύπο της μελετώμενης ένωσης.

Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η ανάπτυξη μίας αξιόπιστης μεθόδου σύνθεσης των οργανικών μορίων με τα χαρακτηριστικά που αναφέραμε σε οπτικά καθαρή μορφή. Καθώς οι βιολογικές ιδιότητες των οργανικών μορίων εξαρτώνται από τη στερεοχημεία τους, είναι καθοριστικής σημασίας η σύνθεση αυτών σε οπτικά καθαρή μορφή, δηλαδή να έχουμε τη δυνατότητα να παραλάβουμε όποιο από τα δύο εναντιομερή επιθυμούμε. Στα περισσότερα πεπτίδια και παράγωγα αμινοξέων επιθυμητά είναι τα προϊόντα που αντιστοιχούν στα φυσικά απαντώμενα αμινοξέα και φυσικά προϊόντα. Με τη μεθοδολογία που αναπτύχθηκε παρασκευάζονται αυτά τα παράγωγα μέσω διατήρησης της οπτικής ενεργότητας των αρχικών α-αμινοξέων.

Πράγματι, ξεκινώντας από τα L-αμινοξέα, παρατηρείται σε πρώτο επίπεδο η ύπαρξη οπτικής ενεργότητας λόγω της μετρήσιμης ειδικής στροφικής ικανότητας, $\alpha_{[D]}$. Με αυτό ως δεδομένο, μετρήθηκε η εναντιομερική περίσσεια χρησιμοποιώντας χειρόμορφη στήλη HPLC, με την οποία είναι δυνατή η διάκριση των δύο εναντιομερών και μέσω της ολοκλήρωσης των κορυφών τους η εξαγωγή αναλογίας. Η εναντιομερική περίσσεια ορίζεται ως η διαφορά της ποσοστιαίας αναλογίας του κυρίαρχου εναντιομερούς έναντι του δεύτερου. Στην περίπτωση των ενδιάμεσων εστέρων βρέθηκε ίση με 98%, δηλαδή το επιθυμητό εναντιομερές απαντά σε ποσοστό 99%, ενώ στα αποπροστατευμένα τετραμικά υπολογίστηκε στο 95%,

2 Σύνθεση τετραμικών οξέων που φέρουν πολική ομάδα στη θέση 5

δηλαδή το επιθυμητό εναντομερές (R) απαντά σε ποσοστό 97.5%. Η ρακεμοποίηση είναι ιδιαίτερα χαμηλή και οφείλεται στο στάδιο της κυκλοποίησης, κατά το οποίο χρησιμοποιείται καυστικό νάτριο, που σε έναν μικρό βαθμό αποπρωτονιώνει το υδρογόνο του μεθινίου στη θέση C-5. Σε κάθε περίπτωση, η εναντιομερική περίσσεια (ee) είναι εξαιρετική και υπερέρχει της μεθόδου Lacey-Dieckmann κατά την οποία έχουμε σημαντική ή πλήρη ρακεμοποίηση λόγω της χρήσης αλκοξειδίου του νατρίου.

2.3 Συμπεράσματα

Με τη μεθοδολογία που αναπτύχθηκε κατάλληλα προστατευμένοι και ενεργοποιημένοι εστέρες της L-σερίνης, L-τυροσίνης και L-θρεονίνης μπορούν να μετατραπούν σε β-υδροξυ-γ-αμινοεστέρες, σημαντικές πρόδρομες ενώσεις για τη σύνθεση στατινών με υψηλή απόδοση και εναντιοεκλεκτικότητα. Αυτά τα παράγωγα μπορούν να κυκλοποιηθούν και να αποπροστατευθούν στο οξυγόνο στη θέση C-5, προς 5-υδροξυάκυλο και 5-υδροξυβενζυλοτετραμικά οξέα. Το σημείο κλειδί της προτεινόμενης μεθόδου είναι η χρήση της βενζυλομάδας για την προστασία του υδροξυλίου των αμινοξέων. Αυτή η προστασία, εκτός από την παρεμπόδιση της δραστικής υδροξυλομάδας με σκοπό την αποφυγή ανεπιθύμητων αντιδράσεων, μείωσε την πολικότητα των προϊόντων. Επιπλέον, η χρήση των υδροξυηλεκτριμιδοεστέρων για ενεργοποίηση των αμινοξέων ήταν καθοριστικής σημασίας για την διατήρηση της οπτικής ενεργότητας.

2.4 Μελλοντικές προοπτικές

Η μέθοδος που αναπτύχθηκε μας επιτρέπει την πρόσβαση σε παράγωγα που φέρουν υδροξυαλκυλο ή υδροξυμεθυλομάδα στη θέση 5, για πρώτη φορά, χρησιμοποιώντας τη μεθοδολογία των υδροξηλεκτριμιδοεστέρων. Επομένως, μπορούν να γίνουν πολλές προτάσεις επέκτασης αυτής, καθώς και χρήσης των νέων αυτών παραγώγων.

Στα μελλοντικά μας σχέδια περιλαμβάνεται η σύνθεση των 3-άλκυλο και 3-αλκανοϋλοτετραμικών οξέων. Οι ενώσεις αυτές, δομικά, βρίσκονται πολύ κοντά σε φυσικά προϊόντα (κεφ. 1.1). Ο συνδυασμός μίας πολικής ομάδας στη θέση 5 (υδροξύλιο) με μία λιπαρή αλυσίδα στη θέση 3 (αλκανόυλο) είναι ιδιαίτερα υποσχόμενος για αξιόλογη βιολογική δραστηριότητα. Ακόμη, σκοπεύουμε να χρησιμοποιήσουμε και άλλα α-αμινοξέα όπως η ομοσερίνη.

Τόσο τα τελικά, όσο και τα ενδιάμεσα προϊόντα, όπως αναλύθηκε σε προηγούμενες παραγράφους, εμφανίζουν ενδιαφέρουσες ιδιαιτερότητες ως προς τη δομή τους και τη συμπεριφορά τους. Στα άμεσα πλάνα μας, περιλαμβάνεται η διεξοδική μελέτη αυτών με θεωρητικές και υπολογιστικές μεθόδους (Density Functional Theory – DFT), καθώς και δύο διαστάσεων NMR (NOESY, HMBC, HSQC) και κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ (X-Ray diffraction analysis).

Στα πλαίσια της ενασχόλησης της ερευνητικής ομάδας του εργαστηρίου μας με σύμπλοκα μετάλλων, θα ήταν εξαιρετικά ενδιαφέρουσα η σύνθεση και μελέτη συμπλόκων με τα παράγωγα που παρασκευάστηκαν και μελέτη της αλληλεπίδρασης των τετραμικών που περιέχουν την υδροξυαλκυλομάδα στη θέση 5. Ακόμη, σύμπλοκα αυτού του τύπου με μέταλλα όπως το γαδολίνιο παρουσιάζουν αυξημένες βιολογικές δράσεις.

Τέλος, η δραστηριότητα του εστέρα της θέσης 3 και του υδροξυλίου της θέσης 5, μας παρέχει τη δυνατότητα να εισέλθουμε σε ένα νέο πεδίο έρευνας, στα κυκλικά πεπτίδια. Ήδη στο κεφάλαιο 1.3.β έχουμε αναφερθεί στα παράγωγα τετραμικών ως πεπτιδομιμητικά. Ακόμη, στο κεφάλαιο 1.1 έχουν αναφερθεί οι κυκλικές λακτάμες που φέρουν στη δομή τους μία ομάδα τετραμικού οξέος, συνήθως παραγώγου της

Τετραμικά οξέα

σερίνης, της θρεονίνης ή της τυροσίνης. Με δεδομένα τα παραπάνω, πιθανή εφαρμογή των παραγώγων που αναφέρθηκαν στο παρόν κεφάλαιο, παρουσιάζει εξαιρετικό ενδιαφέρον, οσον αφορά στη σύνθεση, το σχεδιασμό και τη μελέτη αυτών των μορίων.

2.5 Πειραματικό Μέρος

2.5.1 Γενικά

Οι πειραματικές πορείες πραγματοποιήθηκαν σε άνυδρες συνθήκες (ατμόσφαιρα αργού). Τα γυαλικά που χρησιμοποιήθηκαν είχαν ξηραθεί σε φούρνο στους 100 °C επί τουλάχιστον 30 λεπτά. Η ανάδευση πραγματοποιήθηκε με συνδυασμένη χρήση μαγνητικού αναδευτήρα – μαγνήτη κατάλληλου μεγέθους. Η ψύξη στους 0 °C πραγματοποιήθηκε σε λουτρό πάγου-νερού. Τα αντιδραστήρια είναι όλα εμπορικά διαθέσιμα και αγοράστηκαν από την Aldrich, Fluka και Acros και χρησιμοποιήθηκαν χωρίς περαιτέρω καθαρισμό. Οι χρωματογραφίες στήλης πραγματοποιήθηκαν σε silica gel Macherey-Nagel 0.063-0.2 mm/70-230 mesh. Το THF που χρησιμοποιήθηκε ήταν άνυδρο και αφυγράνθηκε σύμφωνα με δημοσιευμένη μέθοδο. Συγκεκριμένα, αποστάχθηκε από μίγμα νατρίου και βενζοφαινόνης (αναλογία 6g Na/8g Ph₂CO για 500mL THF). Στη συνέχεια, το άνυδρο THF φυλάχθηκε σε φιάλες των 100mL σε ατμόσφαιρα αργού, παρουσία 4Å molecular sieves και πωματίστηκε με parafilm. Σε κάθε περίπτωση χρησιμοποιήθηκε φρεσκοαλεσταγμένο THF (μέγιστη παραμονή 2 εβδομάδες).

Χαρακτηρισμός ενώσεων

Τα σημεία τήξης υπολογίστηκαν με μία συσκευή σημείου τήξης Gallenkamp MFB-595. Τα φάσματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού καταγράφηκαν με τη χρήση ενός φασματογράφου Varian Gemini-2000 300 MHz που λειτουργεί στα 300 MHz (¹H) και 75 MHz (¹³C). Οι χημικές μετατοπίσεις αναφέρονται σε ppm με σημείο αναφοράς τον κατάλληλο διαλύτη [D₆]DMSO (¹H: δ = 2.50 ppm, ¹³C: δ = 39.52 ppm) ή CDCl₃ (¹H: δ = 7.26 ppm, ¹³C: δ = 77.16 ppm). Οι διαχωρισμοί με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση μίας στήλης DAICEL CHIRALPAK AS (4.6x250 mm) σε ένα σύστημα HPLC αποτελούμενο από μια αντλία Varian 2510 HPLC pump, έναν ανιχνευτή Varian 2510 variable λ

detector, και το SRI Model 203 Peaksimple chromatography data system χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης μίγμα n-εξανίου και αιθανόλης. Η ειδική στροφική ικανότητα μετρήθηκε σε ένα πολωσίμετρο Perkin-Elmer 241. Τα φάσματα IR καταγράφηκαν σε ένα φασματογράφο Jasco 4200 FTIR. Τα φάσματα μάζας υψηλής ανάλυσης (HRMS) πραγματοποιήθηκαν στο τμήμα χημείας και βιοχημείας του πανεπιστημίου Notre Dame, IN, ΗΠΑ με ένα όργανο τύπου ESI.

2.5.2 Πειραματική Πορεία

Σύνθεση οπτικά ενεργών εστέρων των γ-αμινο-β-υδροξυ οξέων

Σε μία σφαιρική φιάλη των 10mL που περιέχει 1.5mL THF προστέθηκε NaH (60% σε ορυκτό λάδι, 20 mg, 0.50mmol) υπό ψύξη και ανάδευση. Στο εναιώρημα που προκύπτει προστέθηκε στάγδην μηλονικός διμεθυλαιθέρας (33mg, 0.25mmol) ή μηλονικός διαιθυλαιθέρας (40mg, 0.25mmol) διαλυμένου στην ελάχιστη ποσότητα THF (~0.3mL) υπό ψύξη. Παρατηρήθηκε αφρισμός από το σχηματισμό H₂. Το μίγμα αφέθηκε υπό ανάδευση για 30 λεπτά. Στη συνέχεια προστέθηκε ο υδροξυηλεκτριμιδο εστέρας της Boc-O-βενζυλο-L-σερίνης (98mg, 0.25mmol) ή Boc-O-βενζυλο-L-τυροσίνης (117mg, 0.25mmol) ή Boc-O-βενζυλο-L-θρεονίνης (102mg, 0.25mmol) υπό ψύξη και το μίγμα αφέθηκε να αντιδράσει υπό ανάδευση για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Το διάλυμα συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού στον περιστροφικό εξατμιστήρα και το στερεό που προέκυψε διαλύθηκε σε 0.5mL νερού. Ορισμένες φορές παρατηρήθηκε μη πλήρης διάλυση του στερεού, χωρίς ωστόσο να επηρεάζεται το αποτέλεσμα της αντίδρασης (απόδοση ή καθαρότητα). Το υδατικό μίγμα (ή εναιώρημα) οξινίστηκε με υδροχλωρικό οξύ 10% μέχρι pH<3. Αμέσως παρατηρήθηκε ο σχηματισμός στερεού ή μη αναμίξιμου λαδιού. Στα παράγωγα της σερίνης και της θρεονίνης το προϊόν έχει τη μορφή άχρωμου λαδιού, το οποίο εκχυλίστηκε από την υδατική φάση με DCM (x3). Στη συνέχεια, αφού η οργανική φάση ξηράθηκε με Na₂SO₄, ο διαλύτης απομακρύνθηκε πλήρως στον περιστροφικό εξατμιστήρα και στην αντλία υψηλού κενού. Στα παράγωγα της τυροσίνης, κατά την

2 Σύνθεση τετραμικών οξέων που φέρουν πολική ομάδα στη θέση 5

οξίνιση το προϊόν καταβυθίστηκε ως λευκό στερεό. Αυτό, διηθήθηκε, εκπλύθηκε με νερό (x2) και αφέθηκε στην αντλία υψηλού κενού να ξηραθεί παρουσία P_2O_5 .

Σύνθεση οπτικά ενεργών τετραμικών οξέων

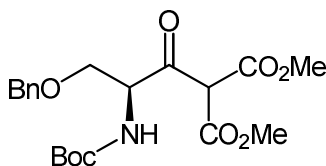
Σε μία σφαιρική φιάλη των 10mL διαλύθηκαν 0.25mmol εστέρα σε 0.5mL αλκοόλης (MeOH ή EtOH ανάλογα την εστερική ομάδα). Σε αυτό το μίγμα προστέθηκαν στάγδην 0.4mL, 2N υδατικού διαλύματος NaOH. Το προκύπτον μίγμα αφέθηκε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 3 ώρες. Στη συνέχεια, απομακρύνθηκε η αλκοόλη στον περιστροφικό εξατμιστήρα και το υδατικό εναιώρημα οξινίστηκε προσεκτικά υπό ψύξη μέχρι $pH < 3$. Το στερεό που καταβυθίστηκε διηθήθηκε, εκπλύθηκε με νερό (x2) και πετρελαϊκό αιθέρα (x3) και ξηράθηκε στην αντλία υψηλού κενού παρουσία P_2O_5 .

Εναλλακτικά, χρησιμοποιήθηκε ως βάση MeONa ή EtONa. Σε αυτήν την περίπτωση, το αλκοξείδιο του νατρίου παρασκευάστηκε σε μία σφαιρική φιάλη των 10mL προσθέτοντας 0.50mmol (~11.5mg) Na σε 0.5 mL αλκοόλης. Στη συνέχεια προστέθηκε αλκοολικό διάλυμα του εστέρα (~0.5mL) στάγδην και το διάλυμα αφέθηκε να αντιδράσει υπό ανάδευση και σε άνυδρες συνθήκες 24 ώρες. Μετά, εξατμίστηκε η αλκοόλη στον περιστροφικό εξατμιστήρα μέχρι ξηρού και το στερεό που προέκυψε διαλύθηκε σε 0.5mL νερού. Το υδατικό διάλυμα οξινίστηκε με υδροχλωρικό οξύ 10% και το στερεό που καταβυθίστηκε διηθήθηκε, εκπλύθηκε με νερό (x2) και πετρελαϊκό αιθέρα (x3) και ξηράθηκε στην αντλία υψηλού κενού παρουσία P_2O_5 .

Τα αποτελέσματα αυτής της πορείας ήταν παραπλήσια και επιλέχθηκε η μέθοδος του NaOH ως φθηνότερη, συντομότερη, απλούστερη και ασφαλέστερη.

Αντίδραση απομάκρυνσης της προστατευτικής ομάδας του υδροξυλίου (Bn)

Σε μία σφαιρική φιάλη των 50mL διαλύονται 0.25 mmol βενζυλο προστατευμένου τετραμικού οξέος σε 15mL THF. Στο διάλυμα προστίθεται 10% Pd/C (210mg, 0.20mmol). Το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 30 λεπτά έως 4 ώρες σε ατμόσφαιρα υδρογόνου με τη χρήση διπλού μπαλονιού (ώστε να μη δραπετεύσουν τα μόρια υδρογόνου) γεμισμένου με υδρογόνο και κατάλληλη διάταξη με αντάπτορα τύπου three-way junction ώστε να απομακρυνθεί πλήρως ο ατμοσφαιρικός αέρας. Η αντίδραση παρακολουθήθηκε με TLC (DCM/MeOH, 90:10-95:5). Το μίγμα της αντίδρασης διηθήθηκε με Celite 545 σε κυλινδρικό διηθητικό χωνί και εκπλύθηκε με THF (x3). Το διήθημα εξατμίστηκε σε περιστροφικό εξατμιστήρα μέχρι ξηρού. Το ακάθαρμο προϊόν είχε ικανοποιητική καθαρότητα (>80% βάσει ^1H NMR). Εντούτοις, καθαρίστηκε περαιτέρω με χρωματογραφία στήλης (DCM/MeOH/AcOH, 95:5:1).

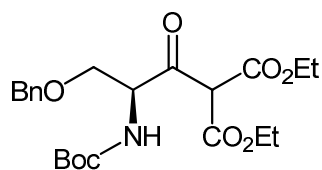
2.5.3 Χαρακτηρισμός ενώσεων**(S)-5-βενζυλοξυ-4-tert-βουτυλοξυκαρβονυλαμινο-2-μεθοξυκαρβονυλ-3-οξοπεντανοϊκός μεθυλεστέρας (1α)**

Άχρωμο λάδι, απόδοση 98 mg, 96%, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +1.0$ ($c = 1.8$, CHCl_3), $R_f = 0.46$ (πετρελαϊκός αιθέρας/AcOEt, 8:2). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3 ; κετονική/ενολική, 80:20): $\delta = 1.44$ (s, 9 H, 3 CH_3), 3.64 (dd, $J = 4.8, 9.9$ Hz, 0.8 H, CH_2CH , κετονική), 3.70

2 Σύνθεση τετραμικών οξέων που φέρουν πολική ομάδα στη θέση 5

(d, 0.4 H, CH_2CH , ενολική), 3.75 (s, 4.8 H, CO_2CH_3 , κετονική), 3.83 (s, 1.2 H, CO_2CH_3 , ενολική), 3.94 (dd, $J = 3.6, 9.6$ Hz, 0.8 H, CH_2CH , κετονική), 4.50 (s, 1.6 H, CH_2Ph , κετονική), 4.54 (s, 0.4 H, CH_2Ph , ενολική), 4.60 (m, 0.8 H, CH_2CH , κετονική), 4.88 [s, 0.8 H, $CH(CO_2CH_3)_2$, κετονική], 5.06 (m, 0.2 H, CH_2CH , ενολική), 5.25 (d, 0.2 H, NH , ενολική), 5.42 (d, 0.8 H, NH , κετονική), 7.27- 7.37 (m, 5 H, Ph), 13.8 (s, 0.2 H, OH) ppm. ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 28.3, 29.7, 52.4, 52.7, 53.2, 53.8, 59.5, 62.5, 69.3, 69.9, 70.6, 73.1, 73.5, 80.1, 80.6, 99.4, 127.6, 127.8, 127.8, 127.9, 128.0, 128.4, 128.5, 137.3, 137.7, 155.2, 155.7, 164.7, 165.6, 171.8, 173.6, 179.8, 197.9$ ppm. IR (ATR): $\nu_{max} = 3648-3837$ (m), 1718 (s, CO-CH-CO, εστέρας), 1689 (s, ουρεθάνη), 1508 (s, αρωματικά), 1454, 1367 (CO_2Me), 1250 (s, *t*Bu) cm^{-1} . HRMS: υπολογίστηκε $C_{20}H_{28}NO_8$ 410.1809, βρέθηκε 410.1798.

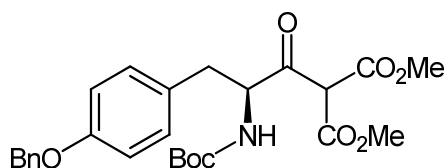
(S)-5-βενζυλοξυ-2-αιθοξυκαρβονυλο-4-tert-βουτυλοξυκαρβονυλαμινο-3-οξοπεντανοϊκός αιθυλεστέρας (1β)



Άχρωμο λάδι, απόδοση = 94%, $[\alpha]_D^{20} = + 8.0$ ($c = 1.8$ $CHCl_3$), $R_f = 0.47$ (πετρελαϊκός αιθέρας:AcOEt = 8:2), 1H NMR ($CDCl_3$, 300MHz, κετονική/ενολική, 75:25): δ 1.24 – 1.32 (m, 3H, $CO_2CH_2CH_3$), 1.44 (s, 9H, 3 x CH_3), 3.65 (dd, 1.5H, $J = 4.8, 9.9$ Hz, CH_2CH , κετονική), 3.75 (d, 0.5H, CH_2CH , ενολική), 3.94 (dd, 0.75H, 4.2, 9.6 Hz, CH_2CH , κετονική), 4.17-4.27 (m, 4H, $CO_2CH_2CH_3$), 4.51 (s, 1.5H, CH_2Ph , κετονική), 4.54 (s, 0.5H, CH_2Ph , ενολική), 4.62 (m, 0.75H, CH_2CH , κετονική), 4.83 [s, 0.75H, $CH(CO_2CH_2CH_3)_2$, κετονική], 5.07 (m, 0.25H, CH_2CH , ενολική), 5.26 (d, 0.25H, NH , ενολική), 5.42 (d, 0.75H, NH , κετονική), 7.28-7.34 (m, 5H, Ph), 13.86 (s, 0.25H, OH , ενολική) ppm, ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): δ 13.8, 13.9, 14.0, 14.0, 28.2, 29.6, 53.6, 59.3, 61.1, 61.4, 61.7, 62.3, 62.7, 69.1, 69.8, 72.9, 73.2, 80.0, 80.4, 99.8, 127.5, 127.7, 128.3, 137.2, 137.4, 155.2, 155.5, 164.1, 165.1, 171.3, 173.5, 179.1, 197.9 ppm, IR (ATR) ν_{max} : 3648-3846 (m), 1718 (s, CO-CH-CO, εστέρας), 1686 (s, ουρεθάνη), 1508 (s,

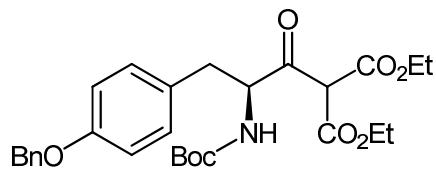
αρωματικά), 1457, 1364 (CO₂Et), 1250 (s, t-Bu); HRMS υπολογίστηκε C₂₂H₃₂NO₈: 438.2122, βρέθηκε: 438.2101.

(S)-5-[4-(βενζυλοξυ)φαινυλο]-4-tert-βουτυλοξυκαρβονυλαμινο-2-μεθοξυκαρβονυλο-3-οξοπεντανοϊκός μεθυλεστέρας (1γ)



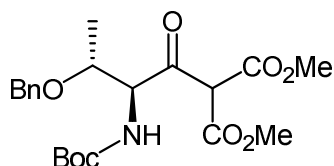
Λευκό στερεό, απόδοση = 96%, σ_T = 94-95 °C (διαιθυλαιθέρας), [α]_D²⁰ = + 4.2 (c = 1.6 CHCl₃), R_f = 0.24 (πετρελαϊκός αιθέρας/AcOEt = 8:2); ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz, κετονική/ενολική = 80: 20): δ 1.38 (s, 7.2H, 3 x CH₃, κετονική), 1.42 (s, 1.8H, 3 x CH₃, ενολική), 2.90 (m, 1H, CH₂CH), 3.16 (dd, 1H, J = 13.5, 4.8 Hz, CH₂CH), 3.77 (s, 4.8H, 2 x CO₂CH₃, κετονική), 3.83 (s, 1.2H, 2 x CO₂CH₃, ενολική), 4.58 (m, 0.2H, CH₂CH, ενολική), 4.71 [s, 0.8H, CH(CO₂Me)₂, κετονική], 4.86 (br, 0.8H, CH₂CH, κετονική), 5.04 (s, 2H, OCH₂Ph), 6.91 (d, J = 8.1 Hz, 2H, CHCH₂C₆H₄), 7.09 (d, J = 8.1 Hz, 2H, CHCH₂C₆H₄), 7.32-7.41 (m, 5H, Ph), 13.72 (s, 0.2H, OH, ενολική), ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz): δ 28.3, 29.8, 35.9, 39.0, 52.3, 52.7, 53.2, 60.5, 62.5, 70.1, 79.9, 80.6, 98.9, 115.0, 127.5, 128.0, 128.6, 130.4, 130.5, 137.1, 154.9, 155.4, 157.9, 164.8, 165.6, 171.9, 174.8, 180.8, 198.7; IR (ATR) ν_{max}: 3648-3847 (m), 1734 (s, CO-CH-CO, εστέρας), 1685 (s, ουρεθάνη), 1510 (s, αρωματικά), 1456, 1369 (s, CO₂Me), 1248 (s, t-Bu); HPLC ανάλυση: (n-εξάνιο/αιθανόλη/TFA = 65:35:0.1; ρυθμός ροής: 1.00 mL/min; 254 nm) κύριο εναντιομερές tR(S) = 5.13 min (99%), δευτερεύον εναντιομερές tR (R) = 6.77 min (1%); HRMS υπολογίστηκε C₂₆H₃₂NO₈: 486.2122, βρέθηκε: 486.2097.

(S)-2-αιθοξυκαρβονυλο-5-[4-(βενζυλοξυ)φαινυλο]-4-tert-βουτυλοξυκαρβονυλαμινο-3-οξοπεντανοϊκός αιθυλεστέρας (1δ)



Λευκό στερεό, απόδοση = 99%; $\sigma\tau = 95-98$ °C; $[\alpha]_D^{20} = +1.2$ ($c = 0.9$ CHCl₃); $R_f = 0.45$ (πετρελαϊκός αιθέρας/AcOEt = 90:10); ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz, κετονική/ενολική = 75: 25); δ 1.24 – 1.35 (m, 3H, CO₂CH₂CH₃), 1.38 (s, 9H, 3 x CH₃), 2.93 (dd, 1H, J = 7.8, 14.1 Hz, CH₂CH), 3.18 (dd, 1H, J = 6.0, 13.8 Hz, 1H, CH₂CH), 4.18 – 4.30 (m, 4H, CO₂CH₂CH₃), 4.62 (m, 0.2H, CH₂CH, ενολική), 4.67 [s, 0.8H, CH(CO₂CH₂CH₃)₂, κετονική], 4.92 (m, 0.8H, CH₂CH, κετονική), 5.04 (s, 2H, OCH₂Ph), 6.90 (d, 2H, J = 8.4 Hz, CHCH₂C₆H₄), 7.10 (d, 2H, J = 8.4 Hz, CHCH₂C₆H₄), 7.31 – 7.43 (m, 5H, Ph), 13.70 (s, 0.2H, OH, ενολική), ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz): δ 14.0, 14.2, 28.3, 29.8, 36.0, 39.1, 60.5, 61.3, 61.8, 62.5, 62.9, 70.1, 80.5, 99.0, 115.0, 115.1, 127.5, 128.1, 128.6, 128.7, 130.5, 137.1, 153.9, 155.3, 157.9, 158.0, 164.5, 164.6, 171.5, 174.8, 198.9; IR (ATR) ν_{\max} : 3648-3837 (m), 1734 (s, CO-CH-CO, εστέρας), 1689 (s, ουρεθάνη), 1516 (s, αρωματικά), 1456, 1367 (s, CO₂Et), 1244 (s, t-Bu); HRMS υπολογίστηκε C₂₈H₃₆NO₈: 514.2435, βρέθηκε: 514.2416.

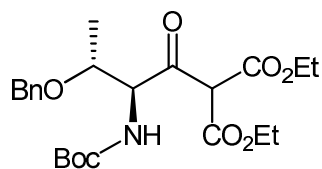
(3S,4R)-5-βενζυλοξυ-4-tert-βουτυλοξυκαρβονυλαμινο-2-μεθοξυκαρβονυλο-3-οξοεξανοϊκός μεθυλεστέρας (1ε)



Άχρωμο λάδι μετά από χρωματογραφία στήλης (πετρελαϊκός αιθέρας/AcOEt = 8:2), απόδοση = 93%, $[\alpha]_D^{20} = -0.4$ ($c = 1.8$ CHCl₃), $R_f = 0.53$ (πετρελαϊκός αιθέρας:

AcOEt = 8:2); ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz, κετονική/ενολική = 80: 20): δ 1.19 (d, 3H, J = 6.3 Hz, CH_3CH), 1.27 (dd, 3H, J = 3.0, 6.3 Hz, CH_3CH), 1.45 (s, 9H, 3 x CH_3), 3.75 (s, 4.8H, CO_2CH_3 , κετονική), 3.83 (s, 1.2H, CO_2CH_3 , ενολική), 3.99 (m, 0.2H, CH_3CHCH , ενολική), 4.18 (m, 0.2H, CH_3CHCH , ενολική), 4.26 (pseudoq, 0.8H, CH_3CHCH , κετονική), 4.38 (br, 0.2H, CH_3CHCH), 4.47 (m, 0.8H, CH_3CHCH), 4.58 (dd, J = 11.7, 7.2 Hz, 2H, CH_2Ph), 4.83 (m, 0.2H, CH_3CHCH), 4.90 [s, 0.8H, $\text{CH}(\text{CO}_2\text{CH}_3)_2$, κετονική], 5.33 (d, J = 8.7 Hz, 0.2H, NH , ενολική), 5.41 (d, J = 8.7 Hz, 0.8H, NH , κετονική), 7.29-7.36 (m, 5H, Ph), 14.03 (s, 0.2H, OH , ενολική), ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz): δ 16.1, 16.2, 17.2, 28.4, 29.8, 41.2, 52.3, 52.6, 53.2, 56.6, 57.8, 63.0, 63.8, 71.4, 71.7, 74.1, 74.6, 76.1, 77.1, 80.0, 80.2, 80.6, 98.9, 127.7, 127.8, 128.0, 128.4, 128.5, 137.7, 138.1, 155.8, 156.3, 164.5, 164.9, 165.8, 167.1, 174.0, 180.8, 198.9; IR (ATR) ν_{max} : 3648-3846 (m), 1723 (s, CO-CH-CO, εστέρας), 1686 (s, ουρεθάνη), 1508 (s, αρωματικά), 1457, 1366 (CO_2Me), 1250 (s, t-Bu); HRMS υπολογίστηκε $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{NO}_8$: 424.1966, βρέθηκε: 424.1948.

(3S,4R)-2-αιθοξυκαρβονυλο-5-βενζυλοξυ-4-tert-βουτυλοξυκαρβονυλαμινο-3-οξοεξανοϊκός αιθυλεστέρας (1στ)

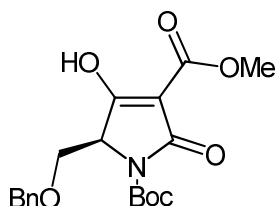


Άχρωμο λάδι μετά από χρωματογραφία στήλης (πετρελαϊκός αιθέρας/AcOEt = 8:2); yield = 94%; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ = -6.5 ($c=1.8$ CHCl_3); R_f = 0.49 (πετρελαϊκός αιθέρας/AcOEt= 8:2); ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz, κετονική/ενολική = 80: 20): δ 1.18 (t, 3H, J = 6.6 Hz, CH_3), 1.24 (t, 6H, J = 6.9 Hz, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.43 (s, 9H, 3 x CH_3), 4.20 (q, 4H, J = 6.9 Hz, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4.44-4.57 (m, 3H, CH_3CHCH , CH_2Ph), 4.66 (s, 1H, CH_2Ph), 4.83 (m, 0.2H, CH_3CHCH , ενολική), 4.85 [s, 0.8H, $\text{CH}(\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$, κετονική], 5.33 (d, 0.2H, J = 9.3Hz, NH , κετονική), 5.42 (d, 0.8H, J = 9.3 Hz, NH , κετονική) 7.26-7.33 (m, 5H, Ph); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz): δ 13.9, 14.1, 16.1, 17.1, 28.2, 29.7, 58.0, 61.1, 61.6, 61.8, 62.3, 63.3, 63.7, 71.3, 71.5, 74.1, 74.7, 80.2, 80.4, 99.3, 127.7, 127.8, 127.9, 128.0, 128.1, 128.3, 128.4, 137.8, 138.2, 155.8, 156.3, 164.2, 164.5, 174.4, 176.1, 181.4, 198.9; IR (ATR) ν_{max} : 3648-3847 (m), 1724 (s, CO-CH-CO, εστέρας), 1690 (s, ουρεθάνη), 1510 (s,

2 Σύνθεση τετραμικών οξέων που φέρουν πολική ομάδα στη θέση 5

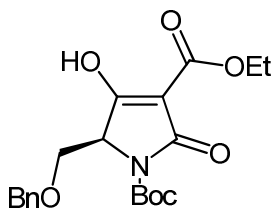
αρωματικά), 1457, 1366 (CO₂Et), 1247 (s, t-Bu); HRMS υπολογίστηκε C₂₃H₃₄NO₈: 452.2279, βρέθηκε: 452.2264.

(S)-N-tert-βουτυλοξυκαρβονυλο-5-βενζυλοξυμεθυλο-3-μεθοξυκαρβονυλοτετραμικό οξύ (2α)



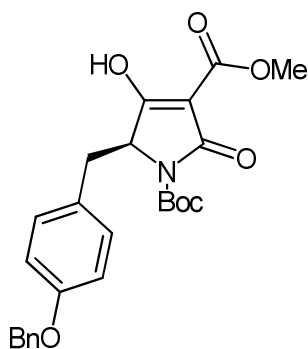
Λευκό στερεό, απόδοση = 82%; σ_T = 114 °C, [α]_D²⁰ = + 38.5 (c = 0.8 CHCl₃); R_f = 0.24 (DCM:MeOH:AcOH = 95:5:0.1), ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz): δ 1.44 (s, 2.25H, 3 x CH₃), 1.50 (s, 6.75H, 3 x CH₃), 3.56 (dd, J = 3.0, 9.3 Hz, 0.25H, CH₂CH), 3.71 (dd, J = 3.0, 9.3 Hz, 1H, CH₂CH), 3.91 (s, 3H, CO₂CH₃), 4.08 (dd, 0.75H, J = 3.0, 9.3 Hz, CH₂CH), 4.49 (s, 1.5H, CH₂Ph), 4.53 (s, 0.25H, CH₂Ph), 4.57 (dd, 1H, CH₂CH), 7.21 – 7.33 (m, 5H, Ph), 9.80 (br, 1H, OH), ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz): δ 28.2, 29.8, 52.4, 59.5, 65.8, 69, 9, 73.5, 73.6, 80.3, 83.4, 99.7, 127.6, 127.7, 127.9, 128.1, 128.5, 137.5, 149.8, 155.8, 163.2, 167.5, 173.9, 185.9; IR (ATR) ν_{max}: 3648-3837 (m), 1753 (s, εστέρας), 1699 (s, ουρεθάνη), 1649 (s, C-2), 1521 (s, αρωματικά), 1460, 1354 (s, CO₂Me), 1253 (s, t-Bu); HRMS υπολογίστηκε C₁₉H₂₄NO₇: 378.1547, βρέθηκε: 378.1532.

(S)-N-tert-βουτυλοξυκαρβονυλο-3-αιθοξυκαρβονυλο-5-βενζυλοξυμεθυλοτετραμικό οξύ (2β)



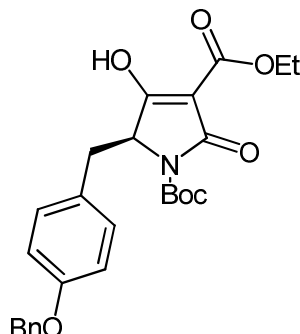
Λευκό στερεό, απόδοση = 98%; $\sigma_t = 114-116$ °C, $R_f = 0.54$ (DCM:MeOH = 95:5), $[\alpha]_D^{20} = +24.1$ ($c = 1.1$ CHCl₃), ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz): δ 1.22 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H, CO₂CH₂CH₃), 1.29 (s, 2.25H, 3 x CH₃), 1.35 (s, 6.75H, 3 x CH₃), 3.56 (dd, $J = 3.0, 9.6$ Hz, 0.25H, CH₂CH), 3.74 (dd, $J = 1.8, 10.2$ Hz, 1H, CH₂CH), 3.92 (dd, $J = 3.0, 9.6$ Hz, 0.75H, CH₂CH), 4.23 (q, $J = 6.9$ Hz, 2H, CO₂CH₂CH₃), 4.34 (s, 2.5H, CH₂Ph, CHCH₂), 4.38 (s, 0.5H, CH₂Ph), 7.06-7.20 (m, 5H, Ph), 7.80 (br, 1H, OH), ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz): δ 14.1, 28.0, 29.6, 59.3, 61.6, 65.5, 69.8, 73.3, 73.4, 80.0, 83.2, 99.6, 126.9, 127.4, 127.5, 127.7, 127.9, 128.1, 128.3, 128.3, 137.3, 137.4, 149.7, 155.6, 162.8, 167.1, 173.5, 185.7, IR (ATR) ν_{max} : 3648-3837 (m), 1731 (s, εστερας), 1676 (s, ουρεθάνη), 1645 (s, C-2), 1571 (s, αρωματικά), 1456, 1365 (s, CO₂Et), 1255 (s, t-Bu); HRMS υπολογίστηκε C₂₀H₂₆NO₇: 392.1704, βρέθηκε: 392.1687.

(S)-N-tert-βουτυλοξυκαρβονουλο-5-[4-(βενζυλοξυ)βενζυλο]-3-μεθοξυκαρβονουλοτετραμικό οξύ (2γ)



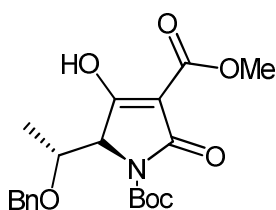
Λευκό στερεό, απόδοση = 90%, $\sigma_t = 188-191$ °C, $[\alpha]_D^{20} = +3.2$ ($c = 0.7$ CHCl₃), $R_f = 0.47$ (DCM:MeOH:AcOH = 95:5:0.5); ¹H NMR (DMSO-d₆, 300MHz): δ 1.46 (s, 3H, 3 x CH₃), 3.09 (brdd, 2H, CH₂CH), 3.50 (s, 3H, CO₂CH₃), 4.00 (s, 1H, CH₂CH), 4.96 (s, 2H, CH₂Ph), 6.76 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, CHCH₂C₆H₄), 6.91 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, CHCH₂C₆H₄), 7.30 – 7.42 (m, 5H, OCH₂Ph); ¹³C NMR (DMSO-d₆, 75MHz): δ 27.9, 34.2, 49.7, 61.9, 69.1, 79.7, 90.3, 113.9, 127.5, 127.8, 128.3, 128.5, 130.6, 134.5, 137.2, 150.0, 156.8, 164.9, 169.4, 189.0; IR (ATR) ν_{max} : 3648-3847 (m), 1754 (s, εστερας), 1694 (s, ουρεθάνη), 1649 (s, C-2), 1522 (s, αρωματικά), 1460, 1362 (s, CO₂Me), 1253 (s, t-Bu); HRMS υπολογίστηκε C₂₅H₂₈NO₇: 454.1860, βρέθηκε: 454.1838.

(S)-N-tert-βουτυλοξυκαρβονυλο-3-αιθοξυκαρβονυλο-5-[4-(βενζυλοξυ)βενζυλο]τετραμικό οξύ (2δ)



Λευκό στερεό, απόδοση = 99%; $\sigma_t = 101-102\text{ }^\circ\text{C}$; $[\alpha]_D^{20} = +22.7$ ($c = 0.3\text{ CHCl}_3$); $R_f = 0.50$ (DCM:MeOH:AcOH=95:5:1); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300MHz): δ 1.27 (br, 3H, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.40 (s, 2.25H, 3 x CH_3), 1.53 (s, 6.75H, 3 x CH_3), 3.17 (d, 1H, $J = 12.3\text{ Hz}$, CH_2CH), 3.30 (br, 1H, CH_2CH), 4.27 (br, 2H, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4.50 (br, 1H, CH_2CH), 4.96 (s, 1.5H, CH_2Ph), 5.03 (s, 0.5H, CH_2Ph), 6.78 (d, 1.5H, $J = 7.8\text{ Hz}$, C_6H_4), 6.85 (d, 0.5H, $J = 7.8\text{ Hz}$, C_6H_4), 6.97 (d, 1.5H, $J = 7.8\text{ Hz}$, C_6H_4), 7.07 (d, 0.25H, $J = 7.8\text{ Hz}$, C_6H_4), 7.32-7.38 (m, 5H, Ph); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75MHz): δ 14.4, 28.3, 29.8, 34.7, 61.1, 70.1, 83.1, 89.0, 100.3, 114.8, 115.0, 127.6, 128.0, 128.7, 130.6, 130.8, 137.2, 150.4, 156.8, 158.0, 166.7, 174.0, 182.8; IR (ATR) ν_{max} : 3648-3846 (m), 1753 (s, εστεράς), 1701 (s, ουρεθάνη), 1646 (s, C-2), 1521 (s, αρωματικά), 1460, 1358 (s, CO_2Et), 1256 (s, t-Bu); HRMS υπολογίστηκε $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{NO}_7$: 468.2017, βρέθηκε: 468.1993.

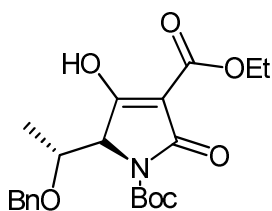
(S)-N-tert-βουτυλοξυκαρβονυλο-5-[(R)-1-(βενζυλοξυ)αιθυλο]-3-μεθοξυκαρβονυλο-τετραμικό οξύ (2ε)



Τετραμικά οξέα

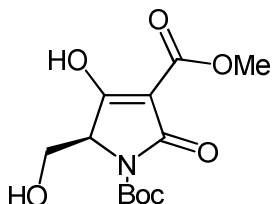
Λευκό στερεό, απόδοση = 89%, $\sigma_t = 175-177\text{ }^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{20} = +46.4$ ($c = 0.1\text{ CHCl}_3$), $R_f =$ (DCM:MeOH:AcOH = 95:5:1), $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 300MHz, κετονική/ενολική = 80:20): δ 1.09 (d, 3H, $J = 6.3\text{ Hz}$, CH_3CH), 1.41 (s, 9H, 3 x CH_3), 3.54 (s, 3H, CO_2CH_3), 3.92 (br, 1H, CH_3CH), 4.08 (br, 1H, CH_3CHCH), 4.48 (s, 2H, CH_2Ph), 7.28 (br, 5H, Ph), 14.00 (s, 1H, OH, ενολική), $^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6 , 75MHz): δ 16.6, 27.8, 49.4, 63.2, 70.5, 74.7, 78.5, 78.9, 79.2, 79.4, 80.3, 127.0, 127.1, 127.3, 128.0, 138.8, 150.0, 168.7; IR (ATR) ν_{max} : 3648-3837 (m), 1759 (s, εστέρας), 1699 (s, ουρεθάνη), 1649 (s, C-2), 1521 (s, αρωματικά), 1458, 1354 (s, CO_2Me), 1253 (s, t-Bu); HRMS υπολογίστηκε $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{NO}_7$: 392.1704, βρέθηκε: 392.1697.

(S)-N-tert-βουτυλοξυκαρβονυλο-3-αιθοξυκαρβονυλο-5-[(R)-1-(βενζυλοξυ)αιθυλο] τετραμικό οξύ (2στ)



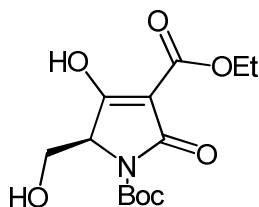
Λευκό στερεό, απόδοση = 80%, $\sigma_t = 182-184\text{ }^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{20} = +13.1$ ($c = 0.8\text{ CHCl}_3$), $R_f =$ 0.44 (DCM:MeOH = 95:5), $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300MHz): δ 1.27 (d, 3H, $J = 6.3\text{ Hz}$, CH_3CH), 1.28 (t, 3H, $J = 7.2\text{ Hz}$, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.46 (s, 9H, 3 x CH_3), 4.21 (q, 2H, $J = 7.2\text{ Hz}$, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4.37 (brd, $J = 8.7\text{ Hz}$, 1H, CH_3CHCH), 4.52 (dd, 2H, $J = 11.7, 42.6$, CH_2Ph), 5.33 (brd, $J = 8.7\text{ Hz}$, 1H, CH_3CHCH), 7.27-7.31 (m, 5H, Ph), $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75MHz): δ 14.1, 16.2, 28.4, 34.7, 58.0, 61.7, 71.4, 74.5, 80.4, 127.9, 128.1, 128.6, 137.6, 153.9, 156.3, 166.8, 175.1; IR (ATR) ν_{max} : 3648-3847 (m), 1747 (s, εστέρας), 1699 (s, ουρεθάνη), 1649 (s, C-2), 1602 (s, αρωματικά), 1452, 1363 (s, CO_2Et), 1219 (s, t-Bu); HRMS υπολογίστηκε $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{NO}_7$: 406.1860, βρέθηκε: 406.1854.

(S)-N-tert-βουτυλοξυκαρβονυλο-3-μεθοξυκαρβονυλο-5-υδροξυμεθυλοτετραμικό οξύ (3α)



Λευκό στερεό, απόδοση = 99%, mp >300 °C; $[\alpha]_D^{20} = -4.7$ (c = 0.55 MeOH); R_f = 0.29 πριν τη χρωματογραφία στήλης, 0.14 μετά τη χρωματογραφία στήλης (DCM:MeOH:AcOH = 90:10:1); ¹H NMR (DMSO-d₆, 300MHz): δ 1.44 (s, 3H, 3 x CH₃), 3.57 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.75 (br, 3H, CHCH₂); ¹³C NMR (DMSO-d₆, 75MHz): δ 27.9, 50.1, 59.4, 63.9, 79.0, 83.6, 145.3, 169.4, 191.1, 211.6; IR (ATR) ν_{max}: 3648-3847 (m), 2996 (br, OH), 1744 (s, εστέρας), 1699 (s, ουρεθάνη), 1647 (s, C-2), 1442, 1361 (s, CO₂Me), 1220 (s, t-Bu); HPLC analysis: (n-εξάνιο:αιθανόλη:TFA = 70:30:0.1; ρυθμός ροής: 0.60 mL/min; 254 nm) κύριο εναντιομερές tR(S) = 6.32 min (97.5%), δευτερεύον εναντιομερές tR(R) = 6.90 min (2.5%); HRMS υπολογίστηκε C₁₂H₁₈NO₇: 288.1078, βρέθηκε: 288.1094.

(S)-N-tert-βουτυλοξυκαρβονυλο-3-αιθοξυκαρβονυλο-5-υδροξυμεθυλοτετραμικό οξύ (3β)

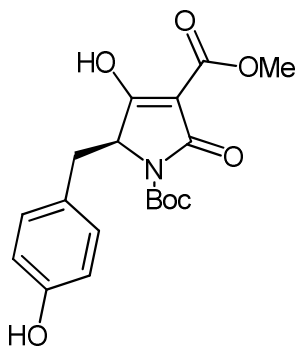


Λευκό στερεό, απόδοση = 92%; σ_t = 122-125 °C, $[\alpha]_D^{20} = +1.3$ (c = 0.3 MeOH), R_f = 0.15 (AcOEt:MeOH = 90:10), ¹H NMR (DMSO-d₆, 300MHz): δ 1.17 (br, 3H,

Τετραμικά οξέα

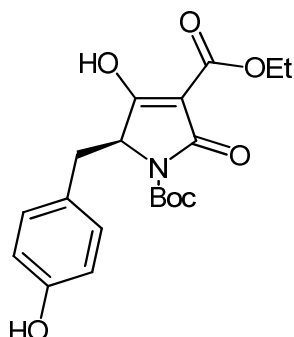
$\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.38, 1.44 (s, 9H, 3 x CH_3), 3.60 (CH_2OH), 3.75 (CHCH_2), 4.06 (br, 2H, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 6.30 (OH), ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75MHz): δ 14.6, 28.2, 57.7, 62.1, 63.7, 77.8, 84.0, 146.1, 168.9, 192.1, IR (ATR) ν_{max} : 3648-3843 (m), 2966 (br, OH), 1751 (s, εστέρας), 1690 (s, ουρεθάνη), 1647 (s, C-2), 1442, 1348 (s, CO_2Et), 1220 (s, t-Bu); HRMS υπολογίστηκε $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{NO}_7$: 302.1234, βρέθηκε: 302.1256.

(S)-N-tert-βουτυλοξυκαρβονυλο-3-μεθοξυκαρβονυλο-5-(4-υδροξυβενζυλο)τετραμικό οξύ (3γ)



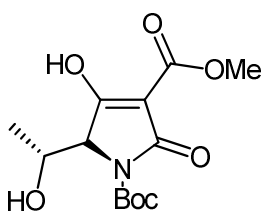
Λευκό στερεό, απόδοση = 96%; $\sigma_t = 230$ °C (αποσυνθ.); $[\alpha]_D^{20} = -28.4$ (c = 0.3 EtOH); $R_f = 0.69$ πριν τη χρωματογραφία στήλης, 0.26 μετά τη χρωματογραφία στήλης (DCM:MeOH:AcOH = 9:1:0.05); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300MHz): δ 1.47 (s, 3H, 3 x CH_3), 3.03 (pseudoq, 2H, CH_2CH), 3.51 (s, 3H, CO_2CH_3), 3.95 (s, 1H, C-5), 6.54 (d, J = 8.1 Hz, 2H, Ar), 6.79 (d, J = 8.1 Hz, 2H, Ar), 9.10 (br, 1H, ArOH); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75MHz): δ 27.9, 34.2, 49.7, 62.1, 80.5, 91.0, 114.7, 125.8, 130.5, 149.9, 155.7, 166.2, 190.6, 204.0; IR (ATR) ν_{max} : 3648-3847 (m), 2956 (br, OH), 1744 (s, εστέρας), 1679 (s, ουρεθάνη), 1645 (s, C-2), 1564 (s, αρωματικά), 1442, 1356 (s, CO_2Me), 1223 (s, t-Bu), HRMS υπολογίστηκε $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{NO}_7$: 364.1391, βρέθηκε: 364.1389.

(S)-N-tert-βουτυλοξυκαρβονυλο-3-αιθοξυκαρβονυλο-5-(4-υδροξυβενζυλο)τετραμικό οξύ (3δ)



Λευκό στερεό, απόδοση = 94%; mp > 250 °C (αποσυνθ.); $[\alpha]_D^{20} = -16.1$ (c = 0.5 MeOH); $R_f = 0.64$ πριν τη χρωματογραφία στήλης, 0.18 μετά τη χρωματογραφία στήλης (AcOEt:MeOH = 95:5); $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 300MHz): δ 1.13 (br, 3H, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 1.46 (s, 9H, 3 x CH_3); 3.01 (brdd, 2H, CH_2CH), 3.92 (s, 1H, C-5), 4.01 (br, 2H, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 6.53 (pseudod, 2H, Ar), 6.78 (pseudod, 2H, Ar), 9.10 (s, 1H, ArOH); $^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6 , 75MHz): δ 14.6, 27.9, 34.3, 57.7, 62.0, 80.2, 91.0, 114.6, 126.1, 127.5, 127.8, 130.5, 150.0, 155.6, 165.7, 190.5; IR (ATR) ν_{max} : 3648-3844 (m), 2972 (br, OH), 1752 (s, εστέρας), 1687 (s, ουρεθάνη), 1647 (s, C-2), 1566 (s, αρωματικά), 1444, 1366 (s, CO_2Et), 1228 (s, t-Bu); HRMS υπολογίστηκε $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{NO}_7$: 378.1547, βρέθηκε: 378.1546.

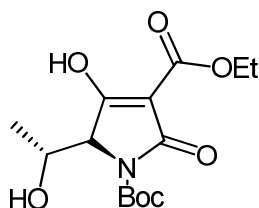
(S)-N-tert-βουτυλοξυκαρβονυλο-3-μεθοξυκαρβονυλο-5-[(R)-1-υδροξυαιθυλο]τετραμικό οξύ (3ε)



Τετραμικά οξέα

Λευκό στερεό, απόδοση = 86%; στ > 200 °C (αποσυνθ.), $[\alpha]_D^{20} = +5.6$ (c = 0.8 MeOH); $R_f = 0.35$ πριν τη χρωματογραφία στήλης, 0.31 μετά τη χρωματογραφία στήλης (DCM:MeOH:AcOEt = 95:5:1); $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 300MHz): δ 0.93 (br, 3H, CH_3CH), 1.43 (s, 9H, 3 x CH_3), 3.55 (s, 3H, CO_2CH_3), 3.84 [br, 1H, $\text{CHCH}(\text{CH}_3)\text{OH}$], 4.12 [br, 1H, $\text{CHCH}(\text{CH}_3)\text{OH}$], 5.00 (br, 1H, OH); $^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6 , 75MHz): δ 18.1, 27.8, 49.6, 63.4, 66.4, 80.8, 91.1, 150.0, 165.5, 190.9, 207.2; IR (ATR) ν_{max} : 3648-3847 (m), 2948 (br, OH), 1755 (s, εστέρας), 1694 (s, ουρεθάνη), 1646 (s, C-2), 1442, 1361 (s, CO_2Me), 1219 (s, t-Bu); HRMS υπολογίστηκε $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{NO}_7$: 302.1234, βρέθηκε: 302.1248.

(S)-N-tert-βουτυλοξυκαρβονυλο-3-αιθοξυκαρβονυλο-5-[(R)-1-υδροξυαιθυλο]τετραμικό οξύ (3στ)



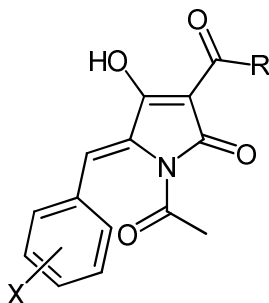
Λευκό στερεό, απόδοση = 82%; mp; $[\alpha]_D^{20} = +7.3$ (c = 0.4 MeOH); $R_f = 0.56$ (DCM:MeOH:AcOEt = 95:5:1); $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 300MHz): δ 0.92 (d, 3H, J=6.3 Hz, CH_3CH), 1.16 (t, 3H, J=6.9 Hz, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.43 (s, 9H, 3 x CH_3), 4.01 (q, 2H, J=6.9Hz, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3.77 [d, 1H, $\text{CHCH}(\text{CH}_3)\text{OH}$], 4.13 [br, 1H, $\text{CHCH}(\text{CH}_3)\text{OH}$], 5.04 (br, 1H, OH); $^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6 , 75MHz): δ 14.4, 18.1, 27.9, 57.9, 64.0, 66.7, 79.9, 86.2, 149.8, 167.7, 191.0, 207.4; IR (ATR) ν_{max} : 3648-3847 (m), 2956 (br, OH), 1749 (s, εστέρας), 1699 (s, ουρεθάνη), 1647 (s, C-2), 1442, 1361 (s, CO_2Et), 1223 (s, t-Bu); HRMS υπολογίστηκε $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{NO}_7$: 316.1391, βρέθηκε: 316.1407.

3

Σύνθεση 5-βενζυλιδενοτετραμικών οξέων

3.1 Εισαγωγή

Η ανάπτυξη νέων μεθοδολογιών, καθώς και η βελτιστοποίηση και επέκταση των γνωστών για τη σύνθεση τετραμικών οξέων αποτελεί ένα πεδίο μελέτης πολλών ερευνητικών ομάδων, λόγω των σημαντικών βιολογικών και φαρμακολογικών ιδιοτήτων που εμφανίζουν. Η επιτυχία της μεθόδου που αναπτύξαμε στη σύνθεση τετραμικών οξέων που φέρουν πολική ομάδα στη θέση 5, μας παρακίνησε στο σχεδιασμό και τη σύνθεση μιας γκάμας N-ακετυλο-3-ακυλο-5-αρυλιδενοτετραμικών οξέων.



Σχήμα 3.1 N-ακετυλο-3-ακυλο-5-αρυλιδενοτετραμικά οξέα

Γιατί όμως επιλέξαμε να ασχοληθούμε με αυτά τα παράγωγα και γιατί αναφέρθηκε η λέξη σχεδιασμός; Η απάντηση βρίσκεται αφενός στην βιολογική και συνθετική αξία αυτών των παραγώγων, αφετέρου στο **κενό** που υπάρχει στη βιβλιογραφία στη σύνθεση και μελέτη τους. Στην αξία τους έχουμε ήδη αναφερθεί έμμεσα στο θεωρητικό μέρος, καθώς σε αυτήν την κατηγορία ανήκουν δύο σημαντικά φυσικά προϊόντα: η magnesidin και η pachydermin.

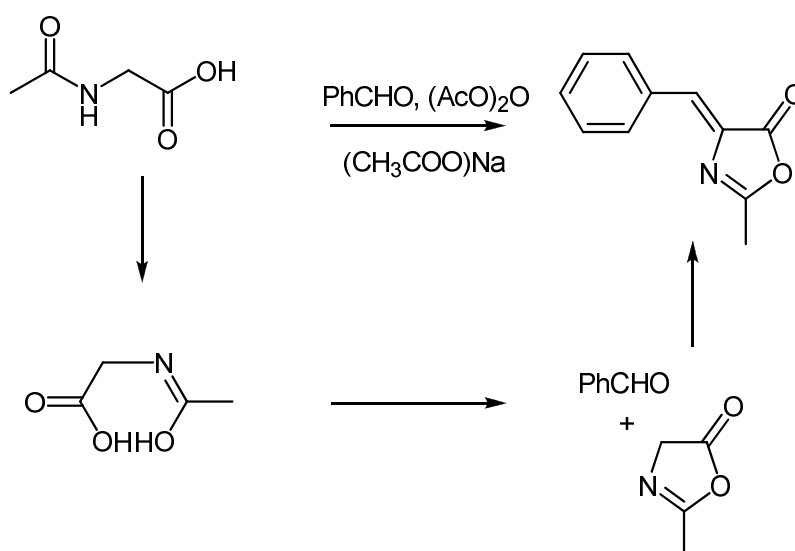
Ο στόχος μας ήταν η ανάπτυξη μίας αποδοτικής και οικονομικής μεθόδου για την ανάπτυξη 5-αρυλιδενοτετραμικών οξέων με τα εξής χαρακτηριστικά: α) διατήρηση της ακέτυλο ομάδας στο άζωτο, γεγονός ιδιαίτερα σημαντικό για τη βιολογική δραστηριότητα των παραγώγων, αφού πολλά σημαντικά φυσικά προϊόντα φέρουν την N-ακέτυλο ομάδα στο δακτύλιο και β) επιτυχημένη εισαγωγή πλήθους άκυλο ομάδων στη θέση 3, η οποία είναι καθοριστική για τις βιολογικές ιδιότητες της ένωσης.

Στη διεθνή βιβλιογραφία δεν έχει δημοσιευθεί σύνθεση που να διατηρεί τη N-ακέτυλο ομάδα. Στις γνωστές μεθόδους το άζωτο είναι συνδεδεμένο με υδρογόνο, αφού αποπροστατεύεται κατά την κυκλοποίηση ή με τη βενζόυλο ομάδα [181,222,183]. Ακόμη, δεν έχει αναφερθεί η εισαγωγή μίας μακριάς λιπαρής αλυσίδας (αλκανόυλο) στη θέση 3, που απαντούν συχνά σε φυσικά προϊόντα με βιολογική δραστηριότητα, όπως η *magnesidin*, η *virgineone*, οι *melophlins* κ.α.

3.2 Αποτελέσματα - Συζήτηση

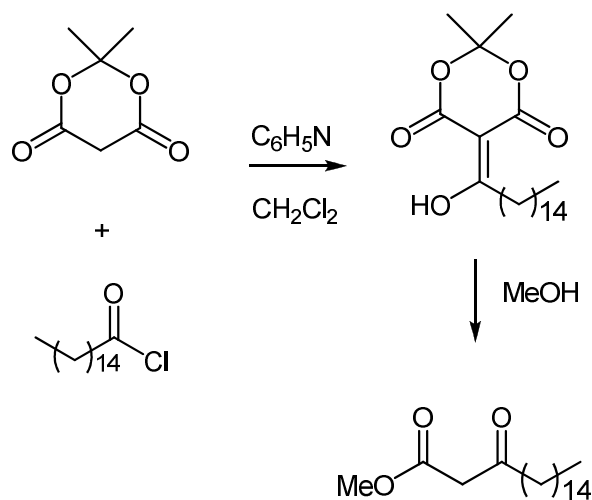
3.2.1 Σύνθεση

Η μέθοδος που αναπτύξαμε (σχήμα 3.4) είναι ήπια και ιδιαίτερα σύντομη (σε μόλις 1 στάδιο λαμβάνονται τα τελικά προϊόντα). Βασίζεται στη χρήση αρυλιδενοξαζολόνης ως ακυλιωτικού μέσου. Οι ενώσεις αυτές (αζλακτόνες) είναι εξαιρετικά ακυλιωτικά μέσα, ενώ παράλληλα προστατεύουν την αμινομάδα. Επομένως, με τη χρήση αυτών των ενώσεων επιτυγχάνεται η σύνθεση σε δύο λιγότερα στάδια με δεδομένο ότι οι αζλακτόνες αυτές είναι εμπορικά διαθέσιμες. Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας προτιμήθηκε η σύνθεση αυτών των κυκλικών παραγώγων, για λόγους κόστους, καθώς η σύνθεσή τους είναι ιδιαίτερα εύκολη και σύντομη. Σε αυτό το σημείο αξίζει να αναφερθεί ότι οι πρώτες ύλες αυτής της μεθόδου και όλα τα αντιδραστήρια είναι πολύ φθηνά. Είναι τόσο η διαφορά σε σχέση με ένα οπτικώς ενεργό αμινοξύ που μπορούμε να ισχυριστούμε ότι εάν βρεθεί κατάλληλος καταλύτης για την καταλυτική υδρογόνωση του διπλού δεσμού στη θέση C-5 αξίζει να ακολουθηθεί αυτή η πορεία για λόγους κόστους στη σύνθεση τετραμικών οξέων παραγώγων της L-φαινυλαλανίνης.



Σχήμα 3.2 Σύνθεση της 4-βενζυλιδενοαζλακτόνης

Η σύνθεση της αζλακτόνης πραγματοποιείται πολύ εύκολα από τη Ν-ακετυλογλυκίνη με μία αντίδραση ενός σταδίου [223]. Η Ν-ακετυλογλυκίνη παρουσία του οξικού ανυδρίτη κυκλοποιείται προς 5-μεθυλοξαζολόνη αποβάλλοντας ένα μόριο νερού. Στη συνέχεια, το ενεργό μεθυλένιο αντιδρά με τη βενζαλδεΰδη σχηματίζοντας το 4-βενζυλιδενο παράγωγο. Ακόμη, ένα από τα ενεργά μεθυλένια, ο εξαδεκανούλοξικός μεθυλέστερας, παρασκευάστηκε στο εργαστήριο από οξύ του Meldrum, αφού ουσιαστικά δεν είναι εμπορικά διαθέσιμος [224,225].



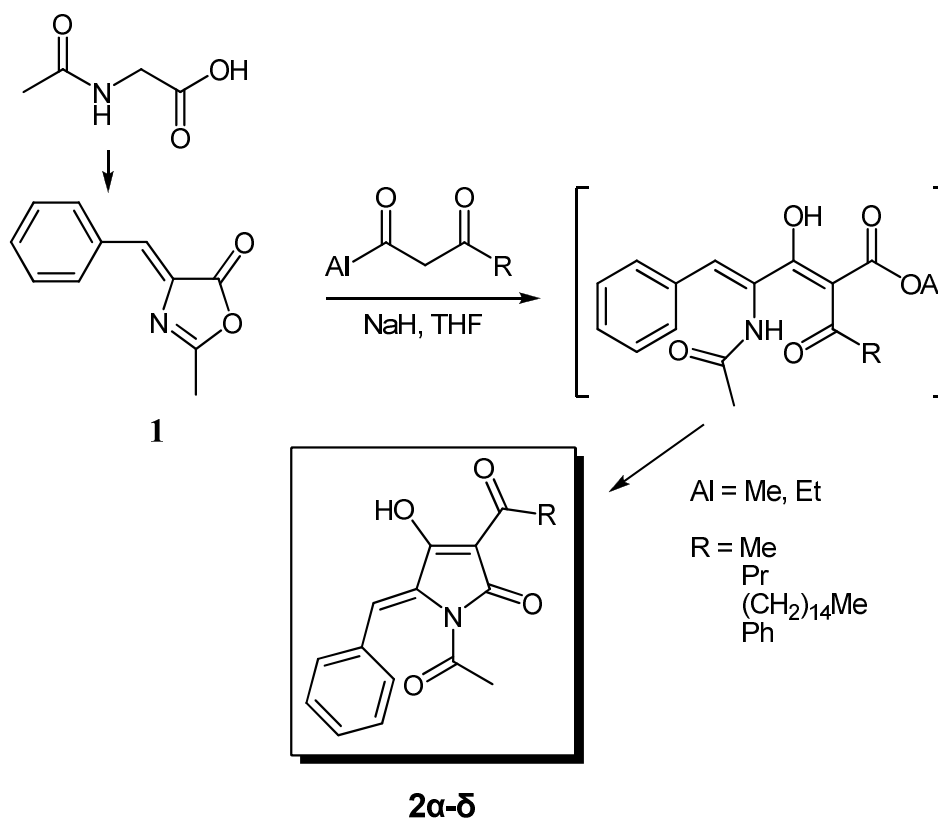
Σχήμα 3.3 Σύνθεση του εξαδεκανούλοξικού μεθυλεστέρα.

Η πειραματική πορεία που ακολουθήθηκε σε γενικές γραμμές είναι παρόμοια με αυτήν για τα 5-υδροξαυλοκυλοτετραμικά οξέα (κεφ. 2). Η βάση που επιλέχθηκε για το σχηματισμό του ανιόντος της ένωσης ενεργού μεθυλενίου ήταν το NaH. Η αναλογία που επιλέχθηκε ήταν 1 ισοδύναμο αζλακτόνης προς 2 ισοδύναμα β-κετοεστέρα προς 2 ισοδύναμα υδριδίου του νατρίου. Αφότου προστέθηκε προσεκτικά υπό ψύξη η ένωση ενεργού μεθυλενίου (β-κετοεστέρα) στο εναιώρημα του NaH σε THF, προστέθηκε η αζλακτόνη **1** και το μίγμα αφέθηκε 24 ώρες να αντιδράσει υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά την επεξεργασία (βλ. πειραματικό μέρος), το προϊόν (**2α-δ**) παραλήφθηκε ως στερεό με διήθηση ή με εκχύλιση. Στη δεύτερη περίπτωση ακολούθησε καθαρισμός με στήλη.

Στη μέθοδο που αναπτύχθηκε, δεν απομονώνεται η ενδιάμεση ένωση C-ακυλίωσης. Αν συνέβαινε αυτό, ενδεχομένως να απαιτούνταν δραστικές συνθήκες

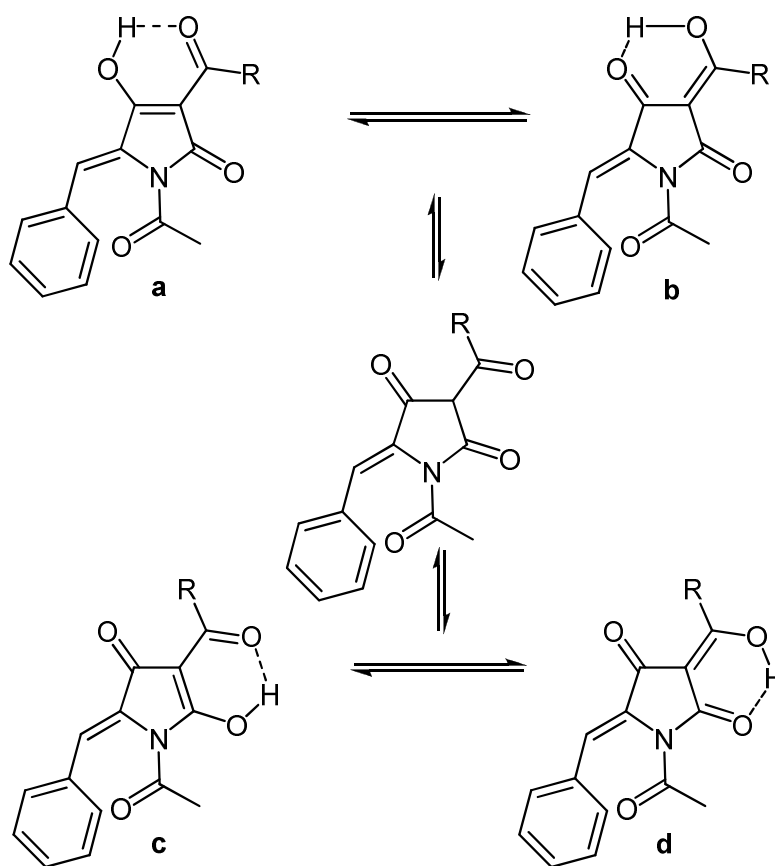
για την κυκλοποίηση, όπως αιθοξείδιο του νατρίου, που αποπροστατεύει την αμινομάδα από την ακέτυλο ομάδα, γεγονός μη επιθυμητό. Αντίθετα, η κυκλοποίηση πραγματοποιείται αυθόρμητα στο μίγμα της αντίδρασης.

Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε παρουσιάζεται στο παρακάτω σχήμα (3.4).



Σχήμα 3.4 Μεθοδολογία σύνθεσης N-ακετυλο-5-βενζυλιδενωτετραμικών οξέων μέσω 4-βενζυλιδενωαζλακτόνης

Τετραμικά οξέα



Σχήμα 3.5 Ταυτομερείς μορφές N-ακετυλο-5-βενζυλιδενοτετραμικών οξέων.

Οι ενώσεις χαρακτηρίστηκαν βάσει ^1H και ^{13}C NMR, IR, UV, HRMS, καθώς και κρυσταλλογραφικής ανάλυσης ακτίνων Χ. Οι μετρήσεις ήταν οι αναμενόμενες. Ειδικότερα, τα φάσματα ^1H NMR έδειξαν ότι οι τα προϊόντα είναι απαλλαγμένα από κάθε ανεπιθύμητη πρόσμειξη, όπως αρχικά αντιδρώντα ή παραπροϊόντα της αντίδρασης. Στα φάσματα που ελήφθησαν σε χλωροφόρμιο, το ενολικό πρωτόνιο ολοκλήρωνε για 1 υδρογόνο, δηλαδή κυρίαρχο ταυτομερές είναι το ενολικό παράγωγο. Αυτό επιβεβαιώνεται (σε στερεά φάση) από την κρυσταλλογραφία X-ray που δείχνει ξεκάθαρα ότι το ταυτομερές που κυριαρχεί είναι το **a**. Η παρατήρηση αυτή παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, δεδομένου ότι τα αντίστοιχα N-H παράγωγα έδειξαν στο NMR μίγμα ταυτομερών (όλες οι κορυφές εμφανισμένες σε ζεύγη). Μία πιθανή αιτιολογία για την επικράτηση του ενολικού ταυτομερούς είναι η επέκταση της συζυγίας παρουσία του διπλού δεσμού C(3)-C(4). Η κρυσταλλογραφική ανάλυση, επιβεβαιώνει την αρχική μας υπόθεση βάσει βιβλιογραφίας [128], ότι ο διπλός δεσμός έχει Z-ισομέρεια.

4 Βιβλιογραφία

Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας, παρατηρήθηκε πως το N-ακετυλο-3-ακετυλο-5-βενζυλίδενο παράγωγο (**2a**), είναι ικανό να σχηματίσει σύμπλοκα με μέταλλα μετάπτωσης. Επομένως, παρασκευάστηκαν δύο σύμπλοκα, με δισθενή χαλκό και ψευδάργυρο. Η δομή τους παρουσιάζεται αναλυτικά στο πεδίο που αναφέρεται στη κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ. Εντούτοις, συνοπτικά, άξια αναφοράς είναι τα εξής: οι ενώσεις εμφανίζονται στη μορφή $[M(L^-)_2(EtOH)_2]$, το τετραμικό οξύ απαντά στη β-β' τρικαρβονυλική μορφή και, τέλος, οι κρύσταλλοι συγκρυσταλλώνουν με δύο μόρια αιθανόλης ο καθένας. Μέχρι τη στιγμή της συγγραφής του παρόντος, δεν κατέστη δυνατός ο σχηματισμός ικανοποιητικού κρυστάλλου για ανάλυση του συμπλόκου με χαλκό. Εντούτοις, βασιζόμαστε για τη δομή του στην κρυσταλλογραφική ανάλυση του παραγώγου του ψευδαργύρου και σε άλλες αναλύσεις, όπως η φασματοσκοπία μάζας υψηλής ανάλυσης (HRMS). Τα μόρια αυτά ήταν αδιάλυτα σε όλους σχεδόν του κοινούς διαλύτες, εκτός από το χλωροφόρμιο στο οποίο ήταν ευδιάλυτα και τα δύο και τη μεθανόλη στην οποία ήταν λίγο διαλυτό το σύμπλοκο του ψευδαργύρου.

3.2.2 Κρυσταλλογραφική ανάλυση δομής με ακτίνες Χ

Αναμφίβολα το NMR αποτελεί το σημαντικότερο αναλυτικό όργανο στην οργανική σύνθεση: είναι το δεξί χέρι του οργανικού χημικού όσον αφορά στην αποτίμηση της δομής ενός μορίου, καθώς και φυσικά στον χαρακτηρισμό ή την ταυτοποίηση μίας ένωσης. Ωστόσο, το ίδιο μπορούμε να ισχυριστούμε ότι ισχύει για την κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ. Από αυτή λαμβάνουμε σημαντικές πληροφορίες, τόσο για τη διάταξη των ατόμων στα μόρια, αλλά και για τις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις στο κρυσταλλικό πλέγμα των μορίων.

Ο σχηματισμός και η απομόνωση κρυστάλλων κατάλληλων για ανάλυση (μονοκρυστάλλων) είναι μία πολύ απαιτητική και όχι πάντοτε εφικτή διαδικασία. Μάλιστα, έχουν γραφεί ακόμη και βιβλία που ασχολούνται με την επιτυχημένη ανάπτυξη κατάλληλων κρυστάλλων [226,227]. Εντούτοις, η συμβολή αυτής της ανάλυσης στον προσδιορισμό της δομής και της διαμόρφωσης ενός οργανικού μορίου είναι εξαιρετικά σημαντική.

Στην κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ, μία δέσμη ακτίνων Χ προσκρούει έναν κρύσταλλο και σκεδάζεται σε πολλές καθορισμένες κατευθύνσεις. Από τις γωνίες και τις εντάσεις των αυτών των ακτίνων, ο κρυσταλλογράφος με τη βοήθεια ειδικών υπολογιστικών εφαρμογών παράγει μία εικόνα τριών διαστάσεων της ηλεκτρονιακής πυκνότητας εντός του κρυστάλλου. Από αυτήν, μπορούν να καθοριστούν οι ακριβείς θέσεις των ατόμων και μορίων σε ένα κρύσταλλο καθώς και τα μήκη και οι γωνίες δεσμών. Επομένως, ο οργανικός χημικός λαμβάνει στα χέρια του την τρισδιάστατη απεικόνιση ενός μεμονωμένου μορίου, καθώς και την αλληλεπίδρασή του με τα γειτονικά μόρια.

Αν και αρκετές ενώσεις κατά τη διάρκεια των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν σχημάτισαν κρυστάλλους, σε κάθε περίπτωση επιλέχθηκε μία αντιπροσωπευτική ένωση. Η λήψη πάνω από μίας κρυσταλλογραφικής ανάλυσης για μια οικογένεια ενώσεων θεωρείται μάλλον περιττή. Όσον αφορά στα Ν-ακετυλο-5-βενζυλιδενοτετραμικά οξέα, επιλέχθηκε το 3-ακέτυλο παράγωγο (**1α**). Στη συνέχεια, αναλύονται τα κρυσταλλογραφικά δεδομένα του συμπλόκου αυτής της ένωσης με Zn(II).

N-ακετυλο-3-ακετυλο-5-βενζυλιδενοτετραμικό οξύ (2α)

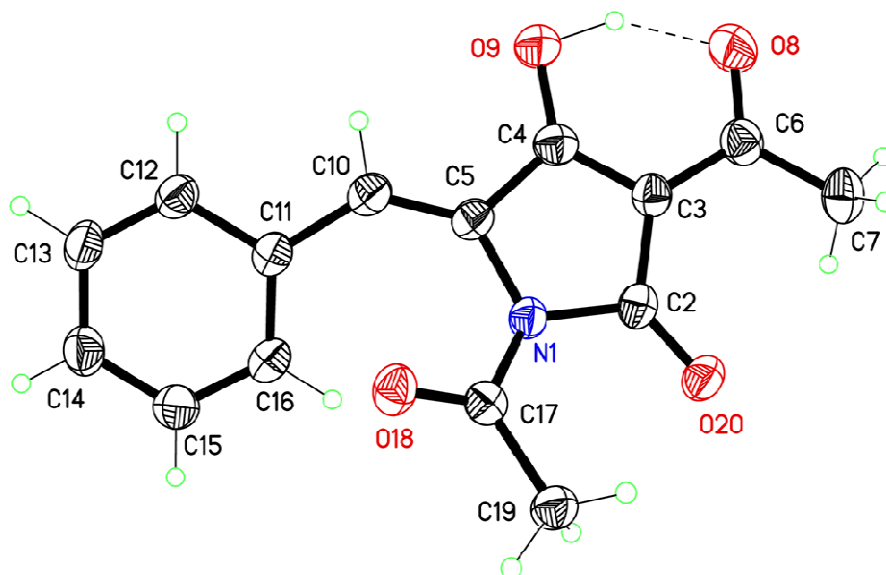
Το μόριο αυτό δεν επέδειξε κάποια ιδιαιτερότητα στην κρυστάλλωσή του. Ακριβέστερα, ήταν πολύ εύκολο να σχηματίσει κρυστάλλους. Δοκιμάστηκαν επιτυχημένα δύο μέθοδοι ανακρυστάλλωσης. Η πρώτη ήταν η μέθοδος της αργής εξάτμισης. Ένα σχετικά πυκνό διάλυμα της ένωσης σε διχλωρομεθάνιο, πωματίστηκε **όχι** σφικτά σε φιαλίδιο και τοποθετήθηκε στο ψυγείο. Σε 48 ώρες ο διαλύτης είχε εξατμιστεί πλήρως αφήνοντας στα τοιχώματα κίτρινους κρυστάλλους σε μορφή βελόνων. Η δεύτερη ήταν η μέθοδος της διάχυσης. Η ένωση διαλύθηκε σε διχλωρομεθάνιο, στο οποίο έχει υψηλή διαλυτότητα και στη συνέχεια προστέθηκε αργά από τα τοιχώματα πετρελαϊκός αιθέρας, ένας διαλύτης στον οποίο η ένωση μας είναι πλήρως αδιάλυτη. Η προσθήκη ολοκληρώθηκε ακριβώς πριν τη θόλωση του διαλύματος. Το μίγμα αφέθηκε μερικές ώρες σε θερμοκρασία δωματίου και στη συνέχεια στο ψυγείο καλά πωματισμένο. Από το πρώτο 24ωρο ξεκίνησε ο σχηματισμός κρυστάλλων, ο οποίος ολοκληρώθηκε σε τουλάχιστον 72 ώρες. Οι κρύσταλλοι είχαν παρόμοια μορφή (βελόνες) που “φύτρωναν” από τον πυθμένα της φιάλης. Τελικά, επιλέχθηκε να χρησιμοποιηθεί το πρώτο δείγμα.

Τα δεδομένα συλλέχθηκαν σε θερμοκρασία 150(2)K σε ένα Bruker apex II CCD diffractometer χρησιμοποιώντας MOΚα radiation ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$). Η δομή αναλύθηκε με άμεσες μεθόδους και καθορίστηκε με βάση F2 χρησιμοποιώντας όλες τις αντανάκλασεις [228]. Όλα τα άτομα εκτός από το υδρογόνο καθορίστηκαν χρησιμοποιώντας ανισοτροπικές παραμέτρους αντικατάστασης και τα άτομα υδρογόνου που είναι συνδεδεμένα με άνθρακα εισήχθησαν στις υπολογισμένες θέσεις με βάση υπολογιστικό μοντέλο. Το άτομο υδρογόνου που είναι συνδεδεμένο με το οξυγόνο εντοπίστηκε μέσω χαρτών διαφοράς και οι συντεταγμένες βελτιστοποιήθηκαν. Οι παράμετροι της συλλογής δεδομένων και βελτιστοποίησης παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 3.1 Κρυσταλλικά δεδομένα και βελτιστοποίηση δομής

Empirical formula	C ₁₅ H ₁₃ N O ₄	
Formula weight	271.26	
Temperature	150(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Triclinic	
Space group	P-1	
Unit cell dimensions	a = 3.9451(9) Å	α = 113.488(3)°.
	b = 12.195(3) Å	β = 91.711(3)°.
	c = 14.380(3) Å	γ = 90.875(3)°.
Volume	633.9(2) Å ³	
Z	2	
Density (calculated)	1.421 Mg/m ³	
Absorption coefficient	0.104 mm ⁻¹	
F(000)	284	
Crystal size	0.45 x 0.22 x 0.07 mm ³	
Crystal description	colourless latn	
Theta range for data collection	1.55 to 26.37°.	
Index ranges	-4<=h<=4, -15<=k<=15, -17<=l<=17	
Reflections collected	7256	
Independent reflections	2564 [R(int) = 0.0325]	
Completeness to theta = 26.37°	99.7 %	
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents	
Max. and min. transmission	0.9927 and 0.9546	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	2564 / 0 / 186	
Goodness-of-fit on F ²	1.024	
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0394, wR2 = 0.0929	
R indices (all data)	R1 = 0.0608, wR2 = 0.1031	
Largest diff. peak and hole	0.203 and -0.226 e.Å ⁻³	

Η κρυσταλλική δομή απεικονίζεται στο *σχήμα 3.6*.



Σχήμα 3.6 Μοριακή δομή του Ν-ακετυλο-3-ακετυλο-5-βενζυλιδενοτετραμικού οξέος (**2α**). Η διακεκομμένη γραμμή αναπαριστά δεσμό υδρογόνου. Τα θερμικά ελλειψοειδή είναι σχεδιασμένα στο 50% του επιπέδου πιθανότητας

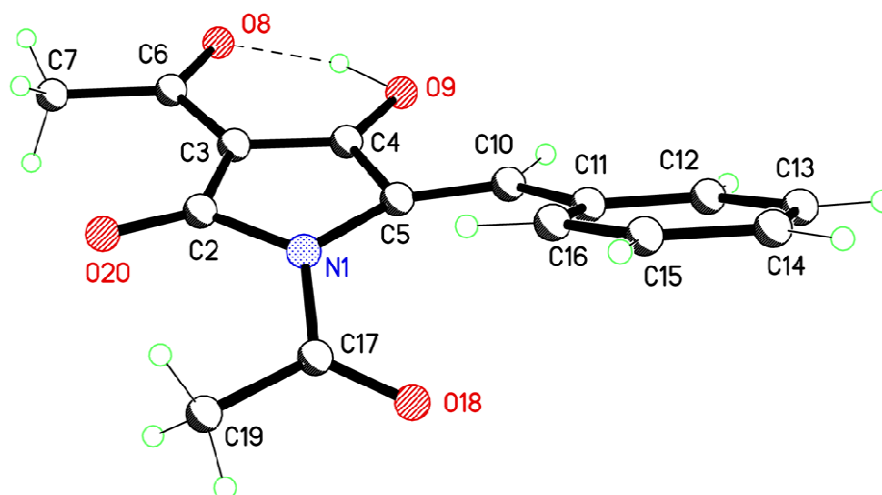
Από τις 4 διαμορφώσεις ισομερών που αναφέρθηκαν προηγούμενα, αποδεικνύεται από την κρυσταλλογραφική ανάλυση ότι **σε στερεά φάση** κυρίαρχη είναι η πρώτη (**α**). Ο δεσμός μεταξύ C(6)-O(8) έχει μήκος 1.26 Å, επομένως είναι διπλός (καρβονύλιο, C=O: 1.23 Å), όπως και ο C(2)-O(20) (1.22 Å) σε αντίθεση με τον C(4)-O(9), που έχει μήκος 1.31 Å και έχει **μερικώς** χαρακτήρα διπλού δεσμού. Ακόμη, ο δεσμός C(3)-C(4) έχει μήκος 1.38 Å, δηλαδή είναι διπλός (C=C: 1.34 Å). Καθοριστικής σημασίας για τον προσδιορισμό του κυρίαρχου ταυτομερούς είναι η θέση του ατόμου υδρογόνου στον ενδομοριακό δεσμό υδρογόνου O(9)-H(9)-O(8). Η απόσταση O(9)-H(9) υπολογίστηκε 1.08 Å, ενώ του δεσμού O(8)-H(9) 1.62 Å. Από τα παραπάνω γίνεται λοιπόν σαφές ότι όσον αφορά στην ταυτομέρεια, η δομή αντιστοιχεί στο ταυτομερές **α**, όπως έχει ήδη παρουσιαστεί στις δύο διαστάσεις. Ακόμη, σημαντική διαπίστωση από το X-ray αποτελεί το γεγονός πως το μόριο κατέχει τη Z διαμόρφωση στον εξωκυκλικό διπλό δεσμό **σε στερεά φάση**.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται συνολικά όλα τα μήκη δεσμών του μορίου.

Πίνακας 3.2 Μήκη δεσμών (Å) του μορίου.

Δεσμός	Μήκος (Å)	Δεσμός	Μήκος (Å)
N(1)-C(17)	1.419(2)	C(6)-C(7)	1.491(3)
N(1)-C(5)	1.433(2)	C(10)-C(11)	1.456(2)
N(1)-C(2)	1.435(2)	C(11)-C(16)	1.403(2)
C(2)-O(20)	1.218(2)	C(11)-C(12)	1.404(2)
C(2)-C(3)	1.453(2)	C(12)-C(13)	1.384(3)
C(3)-C(4)	1.383(2)	C(13)-C(14)	1.382(3)
C(3)-C(6)	1.442(3)	C(14)-C(15)	1.389(3)
C(4)-O(9)	1.314(2)	C(15)-C(16)	1.384(3)
C(4)-C(5)	1.455(2)	C(17)-O(18)	1.212(2)
C(5)-C(10)	1.353(2)	C(17)-C(19)	1.496(2)
C(6)-O(8)	1.259(2)	C(6)-C(7)	1.491(3)

Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι το μόριο είναι εμφανώς στραμμένο. Αυτό φαίνεται καθαρά στα σχήματα (3.7-3.9) που ακολουθούν. Η γωνία μεταξύ των δακτυλίων είναι 27.42(8)°, ενώ η γεωμετρία στο άζωτο δεν είναι επίπεδη.



Σχήμα 3.7 Μοριακή δομή του N-ακετυλο-3-ακετυλο-5-βενζυλιδενοτετραμικού οξέος. Υπό αυτήν την γωνία παρατήρησης φαίνεται καθαρά η γωνία μεταξύ των δύο δακτυλίων. Η διακεκομμένη γραμμή αναπαριστά δεσμό υδρογόνου. Τα θερμικά ελλειψοειδή είναι σχεδιασμένα στο 50% του επιπέδου πιθανότητας

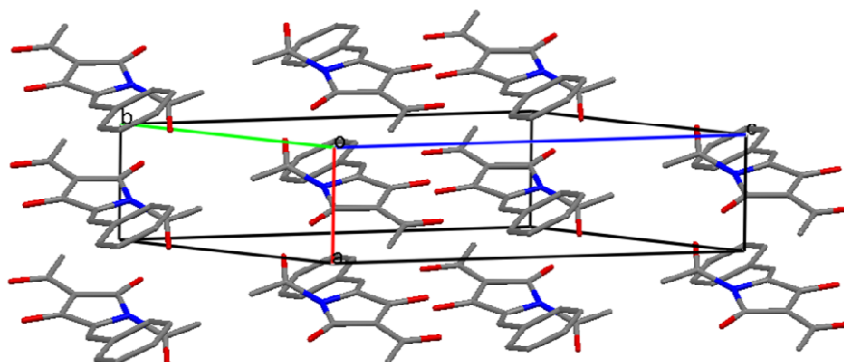
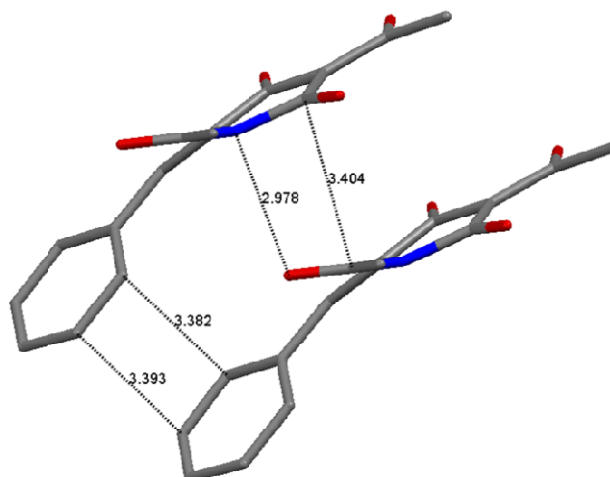
4 Βιβλιογραφία

Πίνακας 3.3 Γωνίες δεσμών (°) του μορίου.

Δεσμός	Γωνία (°)	Δεσμός	Γωνία (°)
C(17)-N(1)-C(5)	122.39(13)	O(8)-C(6)-C(3)	118.26(16)
C(17)-N(1)-C(2)	124.62(14)	O(8)-C(6)-C(7)	120.19(17)
C(5)-N(1)-C(2)	109.64(13)	C(3)-C(6)-C(7)	121.52(17)
O(20)-C(2)-N(1)	124.82(16)	C(5)-C(10)-C(11)	135.20(17)
O(20)-C(2)-C(3)	128.69(16)	C(16)-C(11)-C(12)	118.28(16)
N(1)-C(2)-C(3)	106.48(14)	C(16)-C(11)-C(10)	124.22(15)
C(4)-C(3)-C(6)	121.84(16)	C(12)-C(11)-C(10)	117.19(16)
C(4)-C(3)-C(2)	107.96(15)	C(13)-C(12)-C(11)	121.13(17)
C(6)-C(3)-C(2)	130.17(16)	C(14)-C(13)-C(12)	119.81(17)
O(9)-C(4)-C(3)	125.96(16)	C(13)-C(14)-C(15)	119.98(18)
O(9)-C(4)-C(5)	123.37(16)	C(16)-C(15)-C(14)	120.66(18)
C(3)-C(4)-C(5)	110.57(15)	C(15)-C(16)-C(11)	120.11(16)
C(10)-C(5)-N(1)	133.38(16)	O(18)-C(17)-N(1)	118.62(15)
C(10)-C(5)-C(4)	120.91(16)	O(18)-C(17)-C(19)	123.10(16)
N(1)-C(5)-C(4)	104.80(14)	N(1)-C(17)-C(19)	118.27(14)

Στα επόμενα σχήματα (3.8, 3.9) φαίνονται οι διαμοριακές αλληλεπιδράσεις. Σε αυτό το σύστημα παρατηρούνται ορισμένες π-αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μορίων. Αυτές οι μη δεσμικές αλληλεπιδράσεις είναι ιδιαίτερα σημαντικές, διότι συντελούν στο φαινόμενο που καλείται π-stacking. Αυτό αναφέρεται στο “στοίβαγμα” των μορίων σε νομίσματα και προκαλείται από τη διαμοριακή αλληλεπικάλυψη p-τροχιακών σε π-συζευγμένα συστήματα, όπως οι αρωματικοί δακτύλιοι. Οι π-π αλληλεπιδράσεις είναι ένας σημαντικός παράγοντας στην οργάνωση μορίων σε υπερμοριακές δομές (Self Assembly Structures).

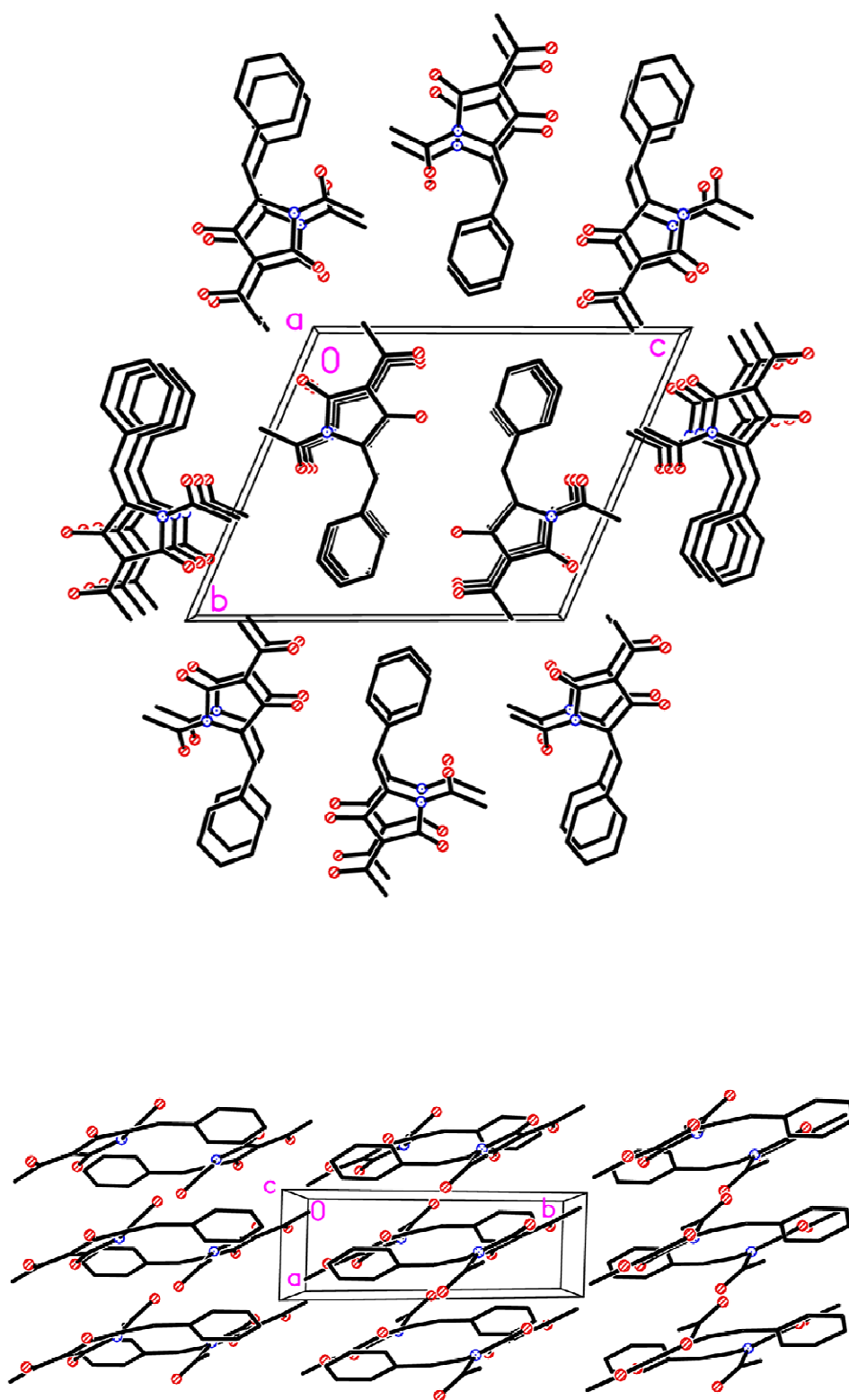
Τετραμικά οξέα



Σχήμα 3.8 Διαμοριακές π-π αλληλεπιδράσεις στην κρυσταλλική δομή του N-ακετυλο-3-ακετυλο-5-βενζυλιδενοτετραμικού οξέος.

Οι κρύσταλλοι είναι τρικλινικοί και κρυσταλλώνουν στην P-1 ομάδα χώρου. Σε κάθε μοναδιαία κυψελίδα περιέχονται δύο μόρια (Σχήμα 3.8).

4 Βιβλιογραφία



Σχήμα 3.9 Κρυσταλλική δομή κατά μήκος του άξονα b και c.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα δεδομένα που αφορούν στους δεσμούς υδρογόνου.

Πίνακας 3.4 Γωνίες (°) και μήκη δεσμών υδρογόνου (Å).

Δεσμός D-H...A	Μήκος D-H (Å)	Μήκος H...A (Å)	Μήκος D...A (Å)	Γωνία (°) DHA
O(9)-H(9)...O(8)	1.08(2)	1.62(2)	2.6085(19)	149.1(19)

Τα πλήρη στοιχεία και υπολογισμοί της κρυσταλλογραφικής ανάλυσης (συντεταγμένες, παράμετροι, κλπ.) αναφέρονται σε πίνακες σε ειδικό παράρτημα.

[Zn(L⁻)₂(EtOH)₂], L = N-ακετυλο-3-ακετυλο-5-βενζυλιδενοτετραμικό οξύ (3a)

Για την κρυστάλλωση του μορίου αυτού δε χρειάστηκε να ακολουθηθεί κάποια τεχνική (ανα)κρυστάλλωσης, αφού καταβυθίστηκε στο μίγμα της αντίδρασης ως κρυσταλλικό στερεό. Οι κρύσταλλοι είχαν μέγεθος 1-2 mm, σχήμα κυβοειδές και χρώμα ανοικτό κίτρινο – διάφανο.

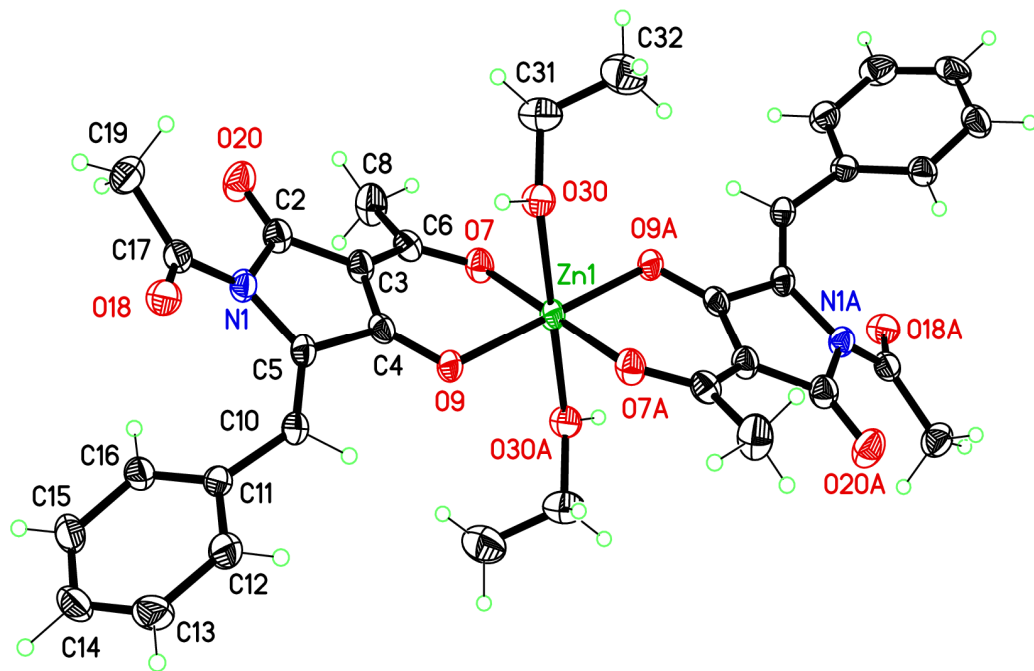
Τα δεδομένα συλλέχθηκαν σε θερμοκρασία 150(2)K σε ένα Bruker apex II CCD diffractometer χρησιμοποιώντας ΜΟΚα radiation ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$). Η δομή αναλύθηκε με άμεσες μεθόδους και καθορίστηκε με βάση F2 χρησιμοποιώντας όλες τις αντανάκλασεις [228]. Όλα τα άτομα εκτός από το υδρογόνο καθορίστηκαν χρησιμοποιώντας ανιστροπικές παραμέτρους αντικατάστασης και τα άτομα υδρογόνου που είναι συνδεδεμένα με άνθρακα εισήχθησαν στις υπολογισμένες θέσεις με βάση υπολογιστικό μοντέλο. Το άτομο υδρογόνου που είναι συνδεδεμένο με το οξυγόνο εντοπίστηκε μέσω χαρτών διαφοράς και οι συντεταγμένες βελτιστοποιήθηκαν. Οι παράμετροι της συλλογής δεδομένων και βελτιστοποίησης παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα.

4 Βιβλιογραφία

Πίνακας 3.5 Κρυσταλλικά δεδομένα και βελτιστοποίηση δομής

Empirical formula	C ₃₄ H ₃₆ N ₂ O ₁₀ Zn
Formula weight	698.02
Temperature	150(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system	Monoclinic
Space group	P2(1)/c
Unit cell dimensions	a = 10.5260(9) Å α = 90°. b = 8.2462(7) Å β = 01.0150(10)°. c = 19.2086(16) Å γ = 90°.
Volume	1636.6(2) Å ³
Z	2
Density (calculated)	1.416 Mg/m ³
Absorption coefficient	0.811 mm ⁻¹
F(000)	728
Crystal size	0.46 x 0.30 x 0.07 mm ³
Crystal description	yellow plate
Theta range for data collection	1.97 to 28.35°.
Index ranges	-13<=h<=14, -10<=k<=11, -25<=l<=25
Reflections collected	16162
Independent reflections	4068 [R(int) = 0.0260]
Completeness to theta = 26.00°	100.0 %
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents
Max. and min. transmission	0.9454 and 0.7066
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	4068 / 0 / 216
Goodness-of-fit on F ²	1.028
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0321, wR2 = 0.0817
R indices (all data)	R1 = 0.0407, wR2 = 0.0860
Largest diff. peak and hole	0.568 and -0.381 e.Å ⁻³

Η κρυσταλλική δομή απεικονίζεται στο *σχήμα 3.10*.



Σχήμα 3.10 Μοριακή δομή του συμπλόκου του N-ακετυλο-3-ακετυλο-5-βενζυλιδενο-τετραμικού οξέος με ψευδάργυρο (πράσινο άτομο). Τα θερμικά ελλειψοειδή είναι σχεδιασμένα στο 50% του επιπέδου πιθανότητας

Εν πρώτοις, παρατηρούμε πως το μόριο είναι κεντροσυμμετρικό. Ακόμη, το μόριο διατηρεί τη Z διαμόρφωση του εξωκυκλικού διπλού δεσμού. Οι αποστάσεις μεταξύ του μετάλλου και των οξυγόνων ακολουθούν την εξής σειρά: Zn-O(9)<Zn-O(7)<Zn-O(30) (2.05-2.13 Å). Ως προς τον υποκαταστάτη δεν παρατηρούνται αξιόλογες μεταβολές, εκτός από το μήκος του δεσμού C(4)-O(9) (1.25 Å) που αντιστοιχεί πλέον σε διπλό δεσμό, ενώ και το μήκος μεταξύ C(3)-C(4) είναι ελαφρώς αυξημένο (1.41 Å) σε σχέση με τον υποκαταστάτη.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται συνολικά όλα τα μήκη δεσμών του μορίου.

4 Βιβλιογραφία

Πίνακας 3.6 Μήκη δεσμών (Å) του μορίου.

Δεσμός	Μήκος (Å)	Δεσμός	Μήκος (Å)
Zn(1)-O(9)#1	2.0544(11)	C(5)-C(10)	1.337(2)
Zn(1)-O(9)	2.0544(11)	C(6)-O(7)	1.253(2)
Zn(1)-O(7)#1	2.0743(12)	C(6)-C(8)	1.500(2)
Zn(1)-O(7)	2.0744(12)	C(10)-C(11)	1.466(2)
Zn(1)-O(30)	2.1353(11)	C(11)-C(16)	1.397(2)
Zn(1)-O(30)#1	2.1353(11)	C(11)-C(12)	1.398(2)
N(1)-C(17)	1.395(2)	C(12)-C(13)	1.390(2)
N(1)-C(5)	1.4261(19)	C(13)-C(14)	1.386(3)
N(1)-C(2)	1.452(2)	C(14)-C(15)	1.381(3)
C(2)-O(20)	1.211(2)	C(15)-C(16)	1.388(2)
C(2)-C(3)	1.453(2)	C(17)-O(18)	1.222(2)
C(3)-C(4)	1.412(2)	C(17)-C(19)	1.497(2)
C(3)-C(6)	1.430(2)	O(30)-C(31)	1.454(2)
C(4)-O(9)	1.2529(19)	C(31)-C(32)	1.482(3)
C(4)-C(5)	1.490(2)	C(5)-C(10)	1.337(2)

Τα μόρια είναι συνδεδεμένα ως κορδέλες-ribbons, οι οποίες έχουν παράλληλο προσανατολισμό στον άξονα *a*, μέσω δεσμών υδρογόνου μεταξύ του οξυγόνου O(30) της αιθανόλης και του O(18) ενός γειτονικού μορίου.

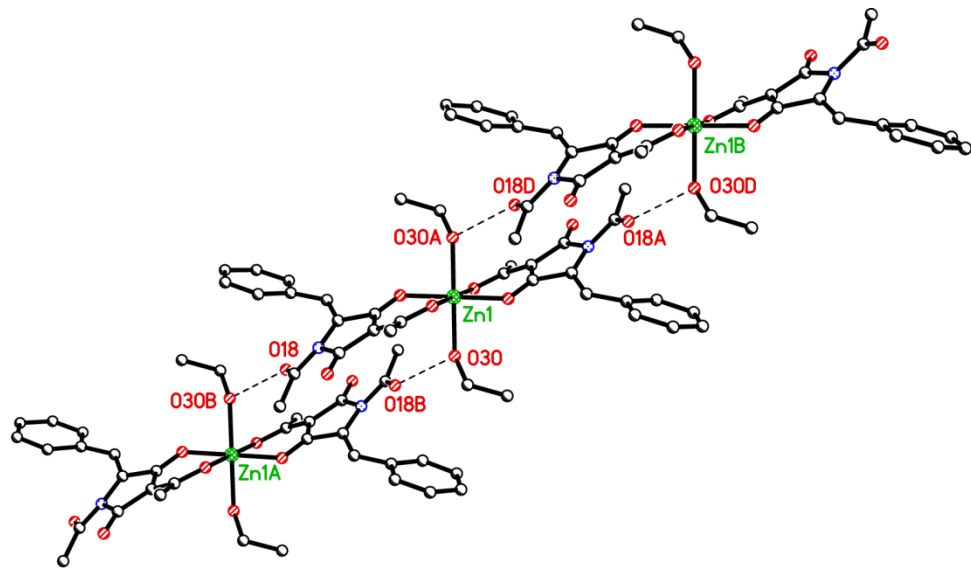
Δεν υπάρχουν ιδιαίτερα ισχυρές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κορδελών-ribbons: ορισμένοι δεσμοί υδρογόνου του τύπου C-H...O, αλλά όχι αλληλεπιδράσεις π-π, οι οποίες είναι παρούσες στο μόριο του υποκαταστάτη.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι γωνίες δεσμών του μορίου και στη συνέχεια, στα σχήματα (3.11-3.14) οι διαμοριακές αλληλεπιδράσεις.

Τετραμικά οξέα

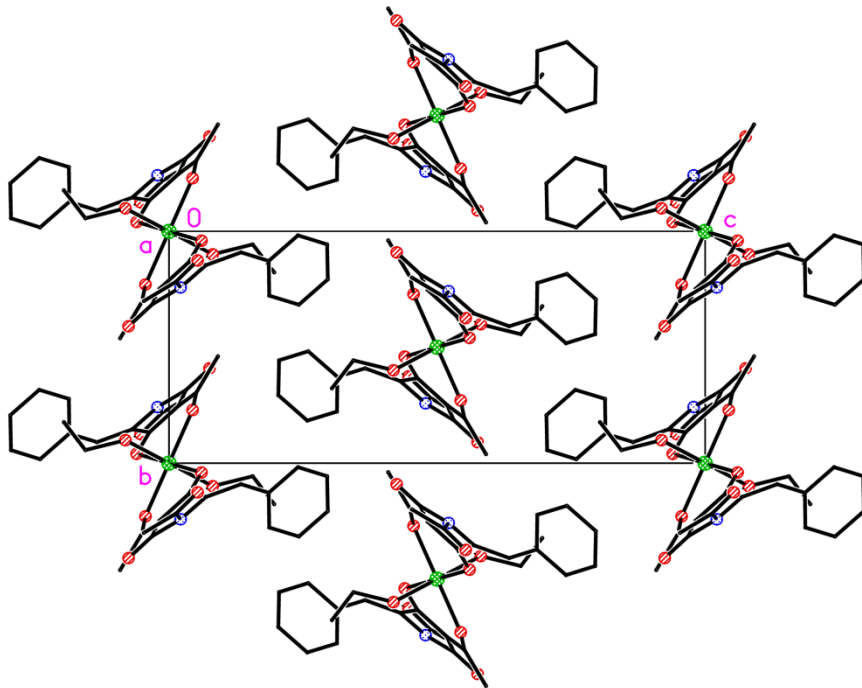
Πίνακας 3.7 Γωνίες δεσμών (°) του μορίου.

Δεσμός	Γωνία (°)	Δεσμός	Γωνία (°)
O(9)#1-Zn(1)-O(9)	180.0	N(1)-C(2)-C(3)	106.70(13)
O(9)#1-Zn(1)-O(7)#1	89.83(4)	C(4)-C(3)-C(6)	124.89(14)
O(9)-Zn(1)-O(7)#1	90.17(4)	C(4)-C(3)-C(2)	108.99(13)
O(9)#1-Zn(1)-O(7)	90.17(4)	C(6)-C(3)-C(2)	125.79(15)
O(9)-Zn(1)-O(7)	89.83(4)	O(9)-C(4)-C(3)	129.90(14)
O(7)#1-Zn(1)-O(7)	180.0	O(9)-C(4)-C(5)	122.50(14)
O(9)#1-Zn(1)-O(30)	90.72(4)	C(3)-C(4)-C(5)	107.47(13)
O(9)-Zn(1)-O(30)	89.29(4)	C(10)-C(5)-N(1)	131.96(14)
O(7)#1-Zn(1)-O(30)	89.56(5)	C(10)-C(5)-C(4)	121.24(14)
O(7)-Zn(1)-O(30)	90.44(5)	N(1)-C(5)-C(4)	106.16(12)
O(9)#1-Zn(1)-O(30)#1	89.28(4)	O(7)-C(6)-C(3)	121.95(15)
O(9)-Zn(1)-O(30)#1	90.71(4)	O(7)-C(6)-C(8)	117.61(15)
O(7)#1-Zn(1)-O(30)#1	90.44(5)	C(3)-C(6)-C(8)	120.37(15)
O(7)-Zn(1)-O(30)#1	89.56(5)	C(6)-O(7)-Zn(1)	124.94(10)
O(30)-Zn(1)-O(30)#1	180.0	C(4)-O(9)-Zn(1)	118.39(10)
C(17)-N(1)-C(5)	121.95(13)	C(5)-C(10)-C(11)	132.18(15)
C(17)-N(1)-C(2)	124.89(13)	C(16)-C(11)-C(12)	118.65(15)
C(5)-N(1)-C(2)	109.14(12)	C(16)-C(11)-C(10)	121.98(15)
O(20)-C(2)-N(1)	122.92(15)	C(12)-C(11)-C(10)	118.99(15)
O(20)-C(2)-C(3)	130.38(15)	C(13)-C(12)-C(11)	120.60(17)
C(14)-C(13)-C(12)	120.04(18)	O(18)-C(17)-C(19)	121.95(15)
C(15)-C(14)-C(13)	119.83(16)	N(1)-C(17)-C(19)	119.34(15)
C(14)-C(15)-C(16)	120.55(17)	C(31)-O(30)-Zn(1)	124.62(11)
C(15)-C(16)-C(11)	120.29(16)	O(30)-C(31)-C(32)	111.27(17)
O(18)-C(17)-N(1)	118.69(14)		

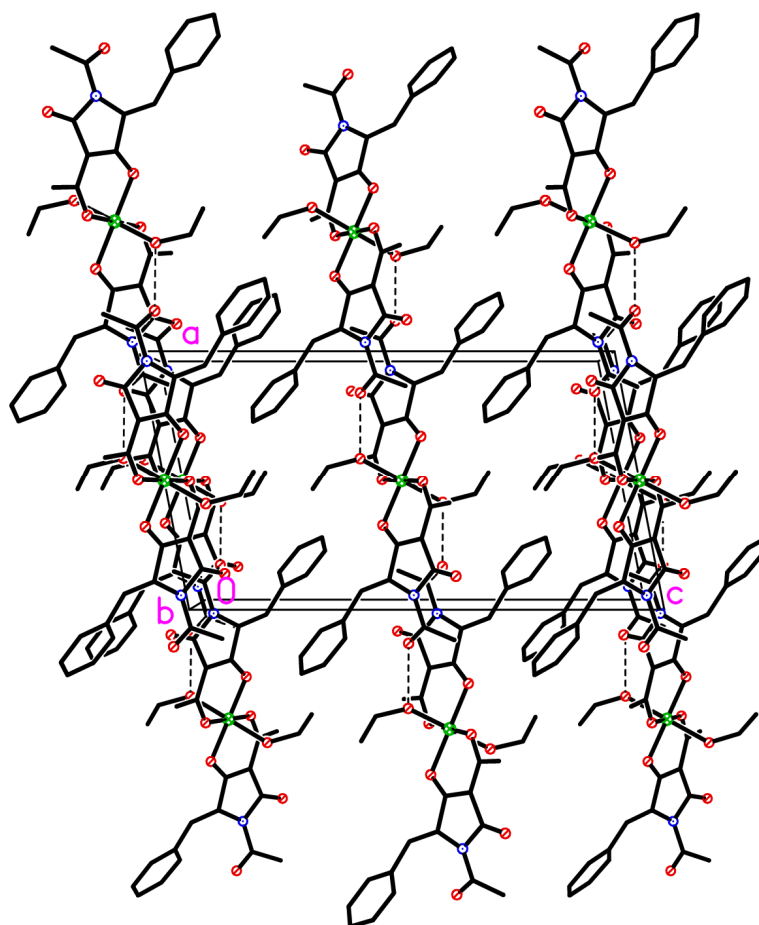


Σχήμα 3.11 Διαμοριακές αλληλεπιδράσεις

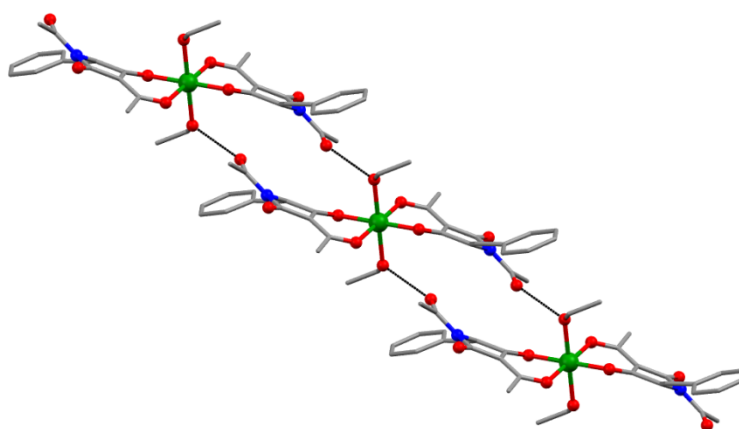
Οι κρύσταλλοι είναι μονοκλινικοί και κρυσταλλώνουν στην P2(1)/c ομάδα χώρου. Σε κάθε μοναδιαία κυψελίδα περιέχονται δύο μόρια (Σχήμα 3.12).



Σχήμα 3.12 Κρυσταλλική δομή κατά μήκος του άξονα a.



Σχήμα 3.13 Κρυσταλλική δομή κατά μήκος του άξονα b.



Σχήμα 3.14 Διαμόρφωση μορίου και δεσμοί υδρογόνου

4 Βιβλιογραφία

Τέλος, στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα δεδομένα που αφορούν στους (διαμοριακούς) δεσμούς υδρογόνου.

Πίνακας 3.8 Γωνίες (°) και μήκη δεσμών υδρογόνου (Å).

Δεσμός D-H...A	Μήκος D-H (Å)	Μήκος H...A (Å)	Μήκος D...A (Å)	Γωνία (°) DHA
O(30)-(30)...O(18)#2	0.84	1.87	2.7070(16)	172.6

Τα πλήρη στοιχεία και υπολογισμοί της κρυσταλλογραφικής ανάλυσης (συντεταγμένες, παράμετροι, κλπ.) αναφέρονται σε πίνακες σε ειδικό παράρτημα.

3.3 Συμπεράσματα

Η νέα συνθετική μέθοδος για 5-αρυλιδενοτετραμικά οξέα μέσω αζλακτονών πληροί τις προϋποθέσεις που θέσαμε από το σχεδιασμό της. Είναι γρήγορη, αποδοτική, έχει πολύ χαμηλό κόστος και τα προϊόντα που προκύπτουν έχουν ιδιαίτερη βιολογική και συνθετική αξία. Το σημείο κλειδί της προτεινόμενης μεθόδου είναι η χρήση 4-αρυλιδενοξαζονών ως ακυλιωτικά μέσα. Με αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνεται παράλληλα η προστασία της αμινομάδας και η ενεργοποίηση της καρβοξυλομάδας, γλιτώνοντας έτσι τη χρονοβόρα και δαπανηρή διαδικασία της προστασίας-αποπροστασίας. Οι ενώσεις μελετήθηκαν εκτενώς και ιδιαίτερα η κρυσταλλογραφική ανάλυση με ακτίνες X κάλυψαν ένα σημαντικό κενό στη βιβλιογραφία ενώσεων αυτού του τύπου.

3.4 Μελλοντικές προοπτικές

Στα άμεσα σχέδια μας είναι η σύνθεση μίας ευρείας γκάμας προϊόντων. Για να επιτευχθεί αυτό πρέπει να εισαχθούν διάφοροι υποκαταστάτες στις θέσεις 3 και 5 του τετραμικού δακτυλίου. Στη θέση 3 διαφοροποίηση επέρχεται με χρήση διαφορετικών ενεργών μεθυλενίων. Στη θέση 5 η διαφοροποίηση επέρχεται με χρήση διαφορετικών αλδεϋδών στο στάδιο της συμπύκνωσης με τη μη υποκατεστημένη αζλακτόνη. Η πρόθεσή μας είναι να χρησιμοποιήσουμε έναν υποκαταστάτη δέκτη ηλεκτρονίων, όπως η νιτρομάδα ή το χλώριο και έναν υποκαταστάτη δότη ηλεκτρονίων, όπως η μεθόξυ ή η μεθυλομάδα. Μπορούν ακόμη να εισαχθούν δύο υποκαταστάτες στο διπλό δεσμό με τη χρήση βενζοφαινόνης αντί αρωματικής αλδεϋδης. Τέλος, σκοπεύουμε να χρησιμοποιήσουμε τη μέθοδο αυτή στη σύνθεση φυσικών προϊόντων, όπως η *rachydermin* και η μαγνησιδίνη (βλ. κεφ. 1).

Όπως αναφέρθηκε και προηγούμενα, οι ενώσεις αυτές μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πρώτες ύλες για την καταλυτική υδρογόνωση του δεσμού C(5)-C(6). Με αυτόν τον τρόπο, μπορεί να παρασκευαστεί το αντίστοιχο οπτικώς ενεργό (ή μη) τετραμικό οξύ. Σημαντικά βήματα σε αυτόν το χώρο έχουν ήδη γίνει στο εργαστήριο οργανικής χημείας [158]. Σε αυτήν την εργασία, αναπτύχθηκε μία αποδοτική καταλυόμενη από ρουθίνιο αναγωγή διπλού δεσμού 3, 5-δισαρυλιδενοτετραμικών οξέων.

Ακόμη, ιδιαίτερο ενδιαφέρον θα παρουσίαζε η σύνθεση ενός προϊόντος με τη μέθοδο που αναπτύχθηκε το οποίο θα φέρει στον υποκαταστάτη της θέσης 5, υδροξύλιο, με δεδομένη την αξία των πολικών υποκαταστατών στο τελικό μόριο. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με την αποπροστασία μίας μεθοξομάδας στην κατάλληλη θέση.

Φυσικά, και σε αυτήν τη μεθοδολογία, χρήσιμη θα ήταν μία εμπειριστατωμένη και πλήρης θεωρητική-υπολογιστική μελέτη με DFT, καθώς τα παρασκευασμένα προϊόντα παρουσιάζουν ιδιαιτερότητες, οπότε αξίζει η απόδοση ερμηνείας σχετικά με αυτές. Χαρακτηριστικά αναφέρουμε την απευθείας κυκλοποίηση με υδρίδιο του νατρίου, χωρίς απομόνωση ή ανίχνευση στις συγκεκριμένες πειραματικές συνθήκες

του ενδιαμέσου προϊόντος C-ακυλίωσης, καθώς και την ανίχνευση μέσω NMR μόνο ενός ταυτομερούς σε αντίθεση με τα N-H παράγωγα που παρατηρούνται δύο (στον ίδιο διαλύτη). Η ύπαρξη κρυσταλλογραφικής ανάλυσης X-ray κάνει εφικτή μία πλήρη θεωρητική μελέτη δομής και σταθερότητας.

Στα άμεσα σχέδιά μας είναι η σύνθεση μίας βιβλιοθήκης ενώσεων σύμπλεξης με δισθενή και άλλα μέταλλα. Αυτές οι ενώσεις και ιδίως τα παράγωγα του γαδολινίου και του λευκόχρυσου είναι υποσχόμενες ως προς το βιολογικό τους ενδιαφέρον. Επομένως μία ολοκληρωμένη σύνθεση και εξαντλητική μελέτη των βιολογικών και φυσικοχημικών ιδιοτήτων αυτών των ενώσεων, είναι εφικτό να πραγματοποιηθεί σύντομα στο εργαστήριό μας.

3.5 Πειραματικό Μέρος

3.5.1 Γενικά

Οι πειραματικές πορείες πραγματοποιήθηκαν σε άνυδρες συνθήκες (ατμόσφαιρα αργού). Τα γυαλικά που χρησιμοποιήθηκαν είχαν ξηραθεί σε φούρνο στους 100 °C επί τουλάχιστον 30 λεπτά. Η ανάδευση πραγματοποιήθηκε με συνδυασμένη χρήση μαγνητικού αναδευτήρα – μαγνήτη κατάλληλου μεγέθους. Η ψύξη στους 0 °C πραγματοποιήθηκε σε λουτρό πάγου-νερού. Τα αντιδραστήρια είναι όλα εμπορικά διαθέσιμα και αγοράστηκαν από την Aldrich, Fluka και Acros και χρησιμοποιήθηκαν χωρίς περαιτέρω καθαρισμό. Οι χρωματογραφίες στήλης πραγματοποιήθηκαν σε silica gel Macherey-Nagel 0.063-0.2 mm/70-230 mesh. Το THF που χρησιμοποιήθηκε ήταν άνυδρο και αφυγράνθηκε σύμφωνα με δημοσιευμένη μέθοδο. Συγκεκριμένα, αποστάχθηκε από μίγμα Na και βενζοφαινόνης (αναλογία 6g Na/8g Ph₂CO για 500mL THF). Στη συνέχεια, το άνυδρο THF φυλάχθηκε σε φιάλες των 100mL σε ατμόσφαιρα αργού, παρουσία 4Å molecular sieves και πωματίστηκε με parafilm. Σε κάθε περίπτωση χρησιμοποιήθηκε φρεσκοαλεσταγμένο THF (μέγιστη παραμονή 2 εβδομάδες).

Χαρακτηρισμός ενώσεων

Τα σημεία τήξης υπολογίστηκαν με μία συσκευή σημείου τήξης Gallenkamp MFB-595. Τα φάσματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού καταγράφηκαν με τη χρήση ενός φασματογράφου Varian Gemini-2000 300 MHz που λειτουργεί στα 300 MHz (¹H) και 75 MHz (¹³C). Οι χημικές μετατοπίσεις αναφέρονται σε ppm με σημείο αναφοράς τον κατάλληλο διαλύτη [D6]DMSO (¹H: δ = 2.50 ppm, ¹³C: δ = 39.52 ppm) ή CDCl₃ (¹H: δ = 7.26 ppm, ¹³C: δ = 77.16 ppm). Τα φάσματα UV καταγράφηκαν σε MeOH ή CHCl₃ με τη χρήση ενός φασματογράφου Perkin-Elmer Lamda 25. Τα φάσματα μάζας υψηλής ανάλυσης (HRMS) πραγματοποιήθηκαν στο τμήμα χημείας και βιοχημείας του πανεπιστημίου Notre Dame, IN, ΗΠΑ με ένα όργανο τύπου ESI.

3.5.2 Πειραματική Πορεία

Σύνθεση 4-βενζυλιδενο-2-μεθυλοξαζολ-5-όνης (1)

Σε μία σφαιρική φιάλη των 25mL που περιέχει 0.80g (6.80mmol) N-ακετυλογλυκίνη προστίθενται 1.08g (10.20mmol) βενζαλδεΐδη και 0.41g (5.00mmol) οξικό νάτριο. Σε αυτά προστίθενται με προσοχή 1.73g (1.6mL, 17.00mmol) οξικού ανυδρίτη. Η φιάλη συνδέεται με κάθετο ψυκτήρα και το λασπώδες μίγμα θερμαίνεται στους 160°C υπό ανάδευση για μία ώρα. Μόλις θερμανθεί, το μίγμα μετατρέπεται σε σκούρο καφέ ομοιογενές διάλυμα.

Στη συνέχεια, το διάλυμα αφήνεται να ψυχθεί σε θερμοκρασία δωματίου και φυλάσσεται στο ψυγείο (2-4°C) για 24 ώρες. Το κόκκινο-κίτρινο λασπώδες στερεό που σχηματίζεται εκπλύνεται με κρύο νερό, ώστε να υδρολυθεί ο οξικός ανυδρίτης σε οξικό οξύ και να διαλυθεί πλήρως στο νερό και διηθείται υπό κενό. Εκπλύνεται μία ακόμη φορά με κρύο νερό. Το μίγμα πρέπει πλέον να έχει μόνο την ευχάριστη οσμή της βενζαλδεΐδης σε σχέση με προηγούμενα που μύριζε έντονα το οξικό οξύ και ο οξικός ανυδρίτης. Το στερεό εκπλύνεται δύο φορές με μικρή ποσότητα Et₂O, ώστε να απομακρυνθεί η βενζαλδεΐδη. Μόλις εκπλύνεται με Et₂O αποκτά ανοικτό κίτρινο χρώμα. Το στερεό ξηραίνεται υπό κενό παρουσία P₂O₅ και χρησιμοποιείται στις επόμενες αντιδράσεις χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

Εξαδεκανοϋλοξικός μεθυλεστέρας

Σε σφαιρική φιάλη των 25mL διαλύονται 1.44g οξύ του Meldrum και 1.58g πυριδίνη σε 10 mL CH₂Cl₂. Στο μίγμα προστίθενται 3.01g εξαδεκανοϋλοχλωριδίου στάγδην. Το μίγμα αφήνεται 1 ώρα να αντιδράσει σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια, εκπλένεται τρεις φορές με μικρή ποσότητα 10% υδροχλωρικού οξέος (<3mL) και μία φορά με νερό. Το διάλυμα ξηραίνεται με άνυδρο θειϊκό νάτριο και συμπυκνώνεται μέχρι ξηρού σε χαμηλή πίεση. Το στερεό που προκύπτει (ακυλιωμένο οξύ του Meldrum) διαλύεται σε 10mL μεθανόλη και θερμαίνεται μέχρι

βρασμού όπου και αφήνεται 5 ώρες να αντιδράσει. Κατόπιν, απομακρύνεται ο διαλύτης και το στερεό που προκύπτει ξηραίνεται στην αντλία υψηλού κενού. Στην περίπτωση που δε σχηματιστεί κατά την εξάτμιση του διαλύτη στερεό, τότε διαλύεται το λασπώδες στερεό σε μικρή ποσότητα μεθανόλης και αφήνεται να κρυσταλλώσει στην κατάψυξη ($<-18^{\circ}\text{C}$). Τέλος, διηθείται και ξηραίνεται.

Σύνθεση N-ακετυλο-5-αρυλιδενοτετραμικών οξέων (2α-δ)

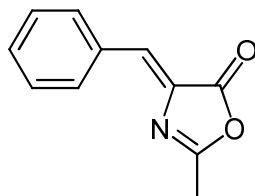
Σε μία σφαιρική φιάλη των 10mL που περιέχει 1.5mL THF προστέθηκε NaH (60% σε ορυκτό λάδι, 32 mg, 0.80mmol) υπό ψύξη και ανάδευση. Στο εναιώρημα που προκύπτει προστέθηκε στάγδην το κατάλληλο ενεργό μεθυλένιο (ακετοξικός αιθυλεστέρας, βουτυρυλοξικός αιθυλεστέρας, βενζοϋλοξικός αιθυλεστέρας ή εξαδεκανοϋλοξικός μεθυλεστέρας, 0.80mmol) διαλυμένου στην ελάχιστη ποσότητα THF (~0.3mL) υπό ψύξη. Παρατηρήθηκε αφρισμός από το σχηματισμό H_2 . Το μίγμα αφέθηκε υπό ανάδευση για μία ώρα. Στη συνέχεια προστέθηκε η οξαζολόνη (74.8mg, 0.40mmol) υπό ψύξη και το μίγμα αφέθηκε να αντιδράσει υπό ανάδευση για 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Το διάλυμα συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού στον περιστροφικό εξατμιστήρα και το στερεό που προέκυψε διαλύθηκε σε 0.5mL νερού. Το υδατικό διάλυμα εκπλύθηκε με μικρή ($<0.2\text{mL}$) ποσότητα διαιθυλαιθέρα. Στη συνέχεια οξινίστηκε με υδροχλωρικό οξύ 10% μέχρι $\text{pH}<3$. Αμέσως καταβύθιστηκε στερεό (στην περίπτωση του ακετοξικού αιθυλεστέρα) ή θόλωσε το διάλυμα. Στην περίπτωση καταβύθισης στερεού, αυτό διηθείται υπό κενό, εκπλύνεται με ψυχρό νερό και πετρελαϊκό αιθέρα και ξηραίνεται υπό κενό σε P_2O_5 . Στις άλλες περιπτώσεις, η υδατική φάση εκχυλίζεται τρεις φορές με DCM. Στη συνέχεια, αφού η οργανική φάση ξηράθηκε με Na_2SO_4 ο διαλύτης απομακρύνθηκε πλήρως στον περιστροφικό εξατμιστήρα και στην αντλία υψηλού κενού. Το 3-βενζοϋλοτετραμικό οξύ παραλήφθηκε ως στερεό μετά από 24ωρη παραμονή στο ψυγείο παρουσία πετρελαϊκού αιθέρα και επεξεργασία με διαιθυλαιθέρα και πετρελαϊκού αιθέρα. Τα υπόλοιπα παράγωγα παραλήφθηκαν ως λάδια. Τα τελευταία ήταν μίγματα των προϊόντων με ενεργό μεθυλένιο και καθαρίστηκαν με χρωματογραφία στήλης.

Σύνθεση των συμπλοκων του N-ακετυλο-3-ακετυλο-5-βενζυλιδενοτετραμικού οξέος (2α-β)

Σε σφαιρική φιάλη των 100 mL αναμιγνύονται 300 mg (1.1 mmol) του υποκαταστάτη διαλυμένα στην ελάχιστη δυνατή ποσότητα αιθανόλης και 120 mg (0.55 mmol) $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ ή 110 mg (0.55 mmol) $Cu(CO_2CH_3)_2 \cdot H_2O$ διαλυμένων στην ελάχιστη ποσότητα αιθανόλης. Το διάλυμα θερμαίνεται μέχρι βρασμού για 2 ώρες. Στην περίπτωση του συμπλόκου του ψευδαργύρου, αφήνεται το διάλυμα να ψυχθεί σε θερμοκρασία δωματίου και στη συνέχεια στο ψυγείο για 24 ώρες, ώστε να ολοκληρωθεί η καταβύθιση των κίτρινων διάφανων κρυστάλλων. Το κρυσταλλικό στερεό διηθείται υπό κενό και εκπλύνεται με αιθανόλη. Στην περίπτωση του συμπλόκου του χαλκού (II), καταβυθίζεται αυθόρμητα στερεό στο εν βρασμό διάλυμα μετά από περίπου 10 λεπτά. Μετά το πέρας των 2 ωρών, το διάλυμα αφήνεται να ψυχθεί σε θερμοκρασία δωματίου και το στερεό διηθείται υπό κενό και εκπλύνεται με αιθανόλη.

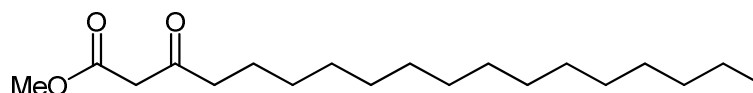
3.5.3 Χαρακτηρισμός ενώσεων

4-βενζυλιδενο-2-μεθυλοξαζολ-5-όνη (1)



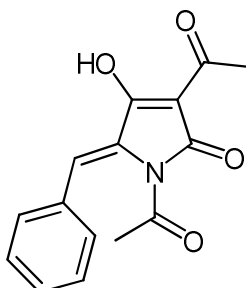
Κίτρινο στερεό, απόδοση 0.88g, 70%, $\sigma\tau = 146-147\text{ }^{\circ}\text{C}$ (διαιθυλαιθέρας), $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 2.41$ (s, 3 H, Me), 7.15 (s, 1 H, CHPh), 7.44 (brm, 3 H, m- p-αρωματικά), 8.07 (d, $J = 4.2$ Hz, 2 H, ο-αρωματικά).

Εξαδεκανοϋλοξικός μεθυλεστέρας



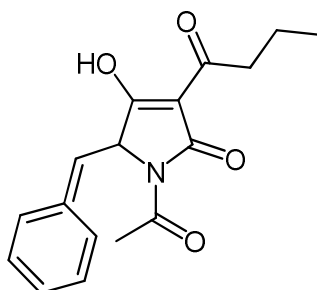
Λευκό κρυσταλλικό στερεό, απόδοση 2.10g, 68%, $\sigma\tau = 47-48\text{ }^{\circ}\text{C}$, $R_f = 0.79$ (pe/AcOEt = 8:2), $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.88$ (t, $J = 7.2$ Hz, 3 H, CH_3CH_2), 1.25 (s, 24 H, 12 x CH_2), 1.58 (pseudoquint., $J = 6.9$ Hz, 2 H, $\beta\text{-CH}_2$), 2.52 (t, $J = 7.2$ Hz, 2 H, $\alpha\text{-CH}_2$), 3.44 (s, 2 H, COCH_2CO), 3.73 (s, 3 H, COOCH_3).

N-ακετυλο-3-ακετυλο-5-βενζυλιδενοτετραμικό οξύ (1α)



Κίτρινο στερεό, απόδοση 96mg, 88%, $\sigma = 112-114\text{ }^\circ\text{C}$, $R_f = 0.20$ (pe/AcOEt = 3:7), $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 2.61$ (s, 3 H, $\text{CH}_3\text{COC-3}$), 2.62 (s, 3 H, CH_3CON), $7.22-7.36$ (m, 6 H, CH=, Ph), 8.67 (br, 1 H, OH), $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 2.42$ (s, 3 H, $\text{CH}_3\text{COC-3}$), 2.46 (s, 3 H, CH_3CON), 6.90 (CH=), $7.18-7.32$ (m, 5 H, Ph), $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DSMO-}d_6$): $\delta = 2.42$ (s, 3 H, $\text{CH}_3\text{COC-3}$), 2.46 (s, 3 H, CH_3CON), 6.90 (s, 1 H, CH=), $7.18-7.37$ (m, 5 H, Ph) $^{13}\text{C NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 24.6$ ($\text{CH}_3\text{COC-3}$), 26.6 (CH_3CON), 102.9 (C-3), 122.9 (PhCH=), 126.9 , 128.2 , 129.9 , 130.6 (Ph), 134.1 (C-5), 166.3 (C-2), 168.5 (CH_3CON), 182.9 ($\text{CH}_3\text{COC-3}$), 196.6 (C-4), UV: $\lambda_{\text{max}} = 316.0$ (c 0.11 mM, $\log \epsilon = 1.75$, MeOH), 347 (c 0.11 mM, $\log \epsilon = 1.72$, CHCl_3), HRMS υπολογίστηκε $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{NO}_4$: 272.0917, βρέθηκε: 272.0929.

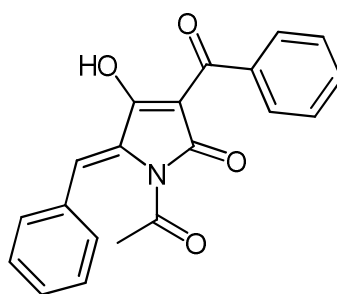
N-ακετυλο-5-βενζυλιδενο-3-βουτυρυλοτετραμικό οξύ (1β)



4 Βιβλιογραφία

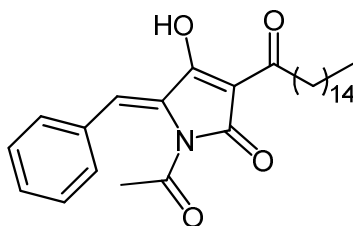
Καθαρίστηκε με στήλη χρωματογραφίας (p.e/AcoEt, 7:3-1:1), λευκό στερεό, απόδοση 96mg, 80%, $\sigma > 230$ °C (αποσύνθ.), $R_f = 0.45$ πριν τη χρωματογραφία στήλης, 0.28 μετά τη χρωματογραφία στήλης (pe/AcoEt = 1:1), $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$): $\delta = 0.91$ (t, 3 H, $J = 6.9$ Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1.60 (pseudodq., 2 H, $J = 6.6$ Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.52 (s, 3 H, CH_3CON), 2.84 (pseudot., 2 H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$), 7.02 (s, 1 H, $\text{CH}=\text{}$), 7.12-7.26 (m, 5 H, Ph), $^{13}\text{C NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$): $\delta = 13.8$ ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$), 18.4 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.4 (CH_3CON), 41.1 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$), 101.7 (C-3), 117.7 (PhCH=), 127.9, 128.4, 129.9, 130.5 (Ph), 135.2 (C-5), 169.9 (C-2), 170.0 (CH_3CON), 185.1 ($\text{CH}_2\text{COC-3}$), 200.2 (C-4), UV: $\lambda_{\text{max}} = 315$ (c 0.10 mM, $\log \epsilon = 1.84$, MeOH), HRMS υπολογίστηκε $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{NO}_4$ 300.1230, βρέθηκε: 300.1227.

N-ακετυλο-3-βενζοϋλο-5-βενζυλιδενοτετραμικό οξύ (1γ)



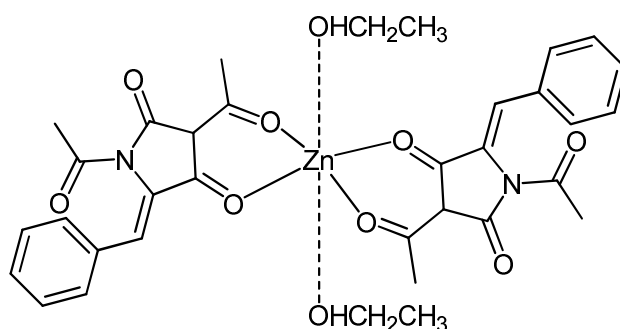
Κίτρινο στερεό, απόδοση 130mg, 49%, $\sigma = 132$ °C (αποσύνθ.), $R_f = 0.16$ (pe/AcoEt = 1:1), $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$): $\delta = 2.08$ (s, 3 H, CH_3CON), 7.20-7.57 (m, 11 H, PhCH=, Ph), $^{13}\text{C NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$): $\delta = 23.0$ (CH_3CON), 101.7 (C-3), 124.6 (PhCH=), 127.5, 128.6, 128.9, 129.5, 129.8, 133.6, 133.8 (C-5), 167.4 (C-2), 170.3 (CH_3CON), 199.9 (PhCOC-3), 200.7 (C-4), UV: $\lambda_{\text{max}} = 280$ (c 0.09 mM, $\log \epsilon = 1.94$, MeOH), HRMS υπολογίστηκε $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{NO}_4$ 334.1074, βρέθηκε: 334.1080.

N-ακετυλο-5-βενζυλιδενό-3-εξαδεκανοΐλοτετραμικό οξύ (1δ)



Καθαρίστηκε με στήλη χρωματογραφίας (p.e/AcoEt, 8:2-6:4), λευκό-υποκίτρινο στερεό, απόδοση 73mg, 39%, σ = 134-136 °C, R_f = 0.19 (pe/AcoEt = 8:2), $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$): δ = 0.94 (t, 3 H, J = 6.6Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1.31 [s, 24 H, $(\text{CH}_2)_{12}$], 1.67 (pseudot., 2 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COC}_3$), 2.64 (s, 3 H, CH_3CON), 2.97 (pseudot., 2 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COC}-3$), 7.14 (s, 1 H, PhCH-), 7.24-7.38 (m, 5 H, Ph), $^{13}\text{C NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$): δ = 14.2 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$), 22.7 (CH_3CON), 25.2, 26.5, 29.4, 29.6, 29.7, 29.8, 32.0, 34.6, 39.3 [$(\text{CH}_2)_{14}$], 101.7 (C-3), 111.8 (PhCH=), 127.9, 128.5, 130.0, 131.2 (Ph), 135.2 (C-5), 169.5 (C-2), 185.1 (CH_3CON), 200.4 (C-4), UV: λ_{max} = 315 (c 0.10 mM, $\log \epsilon$ = 1.88, MeOH), HRMS υπολογίστηκε $\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{NO}_4$ 468.3108, βρέθηκε: 468.3099.

$[\text{Zn}(\text{TA}^-)_2(\text{EtOH})_2]$ (2α)

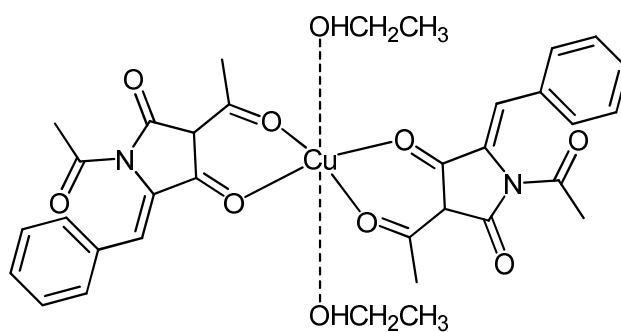


Κίτρινο διάφανο κρυσταλλικό στερεό, απόδοση 73%, σ = 219-223 °C, $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 1.12 (t, J = 6.0 Hz, 2.15 H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$), 2.47 (s, 3 H, $\text{CH}_3\text{COC}-3$), 2.53 (s, 3 H, CH_3CON), 3.49 (quint, 1.4 H, J = 6.0 Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$), 4.44 (t, 0.7 H, J =

4 Βιβλιογραφία

6.0 Hz, CH₃CH₂OH), 6.90 (s, 1 H, CH=), 7.24-7.40 (m, 5 H, Ph), UV: λ_{max} = 320 (c 0.04 mM, log ε = 2.18, MeOH), 346 (c 0.055 mM, log ε = 4.62, CHCl₃), HRMS υπολογίστηκε C₃₀H₂₅N₂O₈Zn 605.0903, βρέθηκε: 605.0841.

[Cu(TA⁻)₂(EtOH)₂] (2β)



Πράσινο στερεό, απόδοση 77%, σ_t = 173 °C (αποσυνθ.), UV: λ_{max} = 344 (c 0.04 mM, log ε = 2.11, CHCl₃), HRMS υπολογίστηκε C₃₀H₂₅N₂O₈ 604.0908; βρέθηκε: 604.0807.

4

Βιβλιογραφία

- [1] S. Berger, D. Sicker, *Classics in Spectroscopy: Isolation and Structure Elucidation of Natural Products*, Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2009.
- [2] J. A. Joule, K. Mills, *Heterocyclic Chemistry*, Wiley-Blackwell, 4^η έκδ., 2003.
- [3] T. P. C. Mulholland, R. Foster, D. B. Haydock, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1972**, 17, 2121–2128.
- [4] R. N. Lacey, *J. Chem. Soc.* **1954**, 850–854.
- [5] P. S. Steyn, P. L. Wessels, *Tetrah. Lett.* **1978**, 47, 4707-4710.
- [6] M. J. Nolte, P. S. Steyn, P. L. Wessels, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1980**, 1057-1065.
- [7] R. Schobert, A. Schlenk, *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16, 4203–4221.
- [8] T. Rosett, R. H. Sankhala, C. E. Stickings, M. E. U. Taylor, R. Thomas, *Biochem. J.* **1957**, 390-400.
- [9] C. E. Stickings, *Biochem. J.* **1959**, 332-340.
- [10] R. A. Meronuck, J. A. Steele, C. J. Mirocha, C. M. Christensen, *Appl. Microbiol.* **1972**, 23(3), 613-617.
- [11] H. T. Shigeura, C. N. Gordon, *Biochemistry* **1963**, 2, 1132-1137.
- [12] F. A. Miller, W. A. Rightsel, B. J. Sloan, J. Ehrlich, J. C. French, Q. R. Bartz, G. J. Dixon, *Nature* **1963**, 1338-1339.
- [13] C. O. Gitterman, *J. Med. Chem.* **1965**, 8, 483–486.
- [14] T. Elbe, C. M. Large, W. H. DeVries, G. F. Crum, J. W. Shell, *Antibiotics Annual 1955-56*; Medical Encyclopedia Inc.: New York, **1956**; pp **893**.
- [15] K. L. Rinehart, J. R. Beck, D. B. Borders, T. H. Kinstle, D. Kraus, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 4038-4039.

- [16] D. J. Duchamp, A. R. Branfman, A. C. Button, K. L. Rinehart, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 4077-4078.
- [17] C. Siddhikol, J. W. Erbstoesz, B. Weisblum, *J. Bacteriol.* **1969**, 99, 151-155.
- [18] S. Tuske, S. G. Sarafianos, X. Wang, B. Hudson, E. Sineva, J. Mukhopadhyay, J. J. Birktoft, O. Leroy, S. Ismail, A. D. Clark, C. Dharia, A. Napoli, O. Laptenko, J. Lee, S. Borukhov, R. H. Ebright, E. Arnold, *Cell* **2005**, 122, 541-552.
- [19] S. V. Pronin, S. A. Kozmin, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 14394-14396.
- [20] R. K. Boeckman, J. C. Potenza, E. J. Enholm, *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 469-472
- [21] R. H. Schlessinger, D. D. Davies, *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 4385-4388.
- [22] R. E. Ireland, M. G. Smith, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 854-860.
- [23] Y. Iwata, N. Maekawara, K. Tanino, M. Miyashita, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 1532-1536
- [24] B. H. Howard, H. Raistrick, *Biochem. J.* **1954**, 212-222.
- [25] J. Shoji, S. Shibata, U. Sankawa, H. Taguchi, Y. Shibanuma, *Chem. Pharm. Bull.* **1965**, 13, 1240-1246.
- [26] D. J. Dixon, S. V. Ley, T. Gracza, P. Szolcsanyi, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1999**, 839-841.
- [27] R. C. F. Jones, M. Tankard, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1990**, 765-767.
- [28] S. Ohmomo, M. Sugita, M. Abe, *Tiraboschi J. Agric. Chem. Soc. Jpn.* **1973**, 47, 57-63.
- [29] C. W. Holzapfel, *Tetrahedron*, **1968**, 24, 2101-2119.
- [30] K. C. Luk, B. Kobbe, J. M. Townsend, *Appl. Environ. Microbiol.* **1977**, 33, 211-212.
- [31] N. W. Seidler, I. Jona, M. Vegh, A. Martonosi, *J. Biol. Chem.* **1989**, 264, 17823-17823.
- [32] A. P. Kozikowski, M. N. Greco, J. P. Springer, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 6873-6814.

4 Βιβλιογραφία

- [33] P. DeShong, S. Ramesh, V. Elango, J. J. Perez, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 5219-5224.
- [34] G. M. Brill, J. B. McAlpine, D. Whittern, *J. Antibiot.* **1988**, *41*, 36-44.
- [35] H. Tsukiura, K. Tomita, M. Hanada, S. Kobaru, M. Tsunakawa, K. Fujisawa, H. Kawaguchi, *J. Antibiot.* **1980**, *33*, 157-165.
- [36] G. Horváth, M. G. Brazhnikova, N. V. Konstantinova, I. V. Tolstykh, N. P. Potapova, *J. Antibiot.* **1979**, *32*, 555-558.
- [37] J. Gyimesi, I. Ott, I. Horváth, I. Koczka, K. Magyar, *J. Antibiot.* **1971**, *24*, 277-282.
- [38] J. Gyimesi, Z. Méhesfalvi-Vajna, G. Horváth, *J. Antibiot.* **1978**, *31*, 626-627.
- [39] K. Schabacher, A. Zeeck, *Tetrahedron Lett.* **1973**, *29*, 2691-2694.
- [40] B. Kunze, K. Schabacher, H. Zöhner, A. Zeeck, *Arch. Microbiol.* **1972**, *86*, 147-174.
- [41] N. P. Barashkova, Iu.D. Shenin, L. G. Miasnikova, *Antibiotiki*, **1976**, *21*, 487-491.
- [42] Koninklijke Nederlandsche Gist -en Spiritusfabriek N. V. Netherlands Patent 67 01,356, 1968.
- [43] J. G. Batelaan, J. W. F. K. Barnick, J. L. van der Baan, F. Bickelhaupt, *Tetrahedron Lett.* **1972**, *13*, 3103-3106.
- [44] J. G. Batelaan, J. W. F. K. Barnick, J. L. van der Baan, F. Bickelhaupt, *Tetrahedron Lett.* **1972**, *13*, 3107-3110.
- [45] J. L. van der Baan, J. W. F. K. Barnick, F. Bickelhaupt, *Tetrahedron* **1978**, *34*, 223
- [46] T. Werk, C. E. Snipes, P. R. Graupner, C. L. Peacock, E. L. Chapin, W. K. Brewster, F. R. Green, WO 2006/078939 A1, **2009**.
- [47] K. Jomon, Y. Kuroda, M. Ajisaka, H. Sakai, *J. Antibiot.* **1972**, *25*, 271-280.
- [48] S. Ito, Y. Hirata, *Tetrahedron Lett.* **1972**, *12*, 1185-1188.
- [49] S. Ito, Y. Hirata, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1979**, *50*, 1813-1820.

- [50] R. K. Boeckman, C. H. Weidner, R. B. Perni, J. J. Napier, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 8036-8037.
- [51] L. A. Paquette, D. Macdonald, L. G. Anderson, J. Wright, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 8037-8039.
- [52] S. Aizawa, H. Akutsu, T. Satomi, T. Nagatsu, R. Taguchi, A. Seino, *J. Antibiot.* **1979**, *32*, 193-196.
- [53] N. M. Gandhi, J. Nazareth, P. V. Divekar, H. Kohl, N. J. de Souza, *J. Antibiot.* **1973**, *26*, 797-798.
- [54] E. Kohl, S. V. Bhat, J. R. Patell, N. M. Gandhi, J. Nazareth, P. V. Divekar, N. J. de Souza, H. G. Berscheid, H. W. Pehlhaber, *Tetrahedron Lett.* **1974**, *12*, 983-986.
- [55] T. P. Castor, U.S. Pat. Appl. Publ. US 20050106111 A1, **2005**.
- [56] D. Friedman, A. Besonov, D. Tamarkin, M. Eini, U.S. Pat. Appl. Publ. US 20060269485 A1, **2006**.
- [57] D. Matiadis, O. Igglessi-Markopoulou, προς υποβολή, **2011**.
- [58] H. R. Burmeister, G. A. Bennett, R. F. Vesonder, C. W. Hesseltine, *Antimicrob. Ag. Chemother.* **1974**, *5*, 634-639.
- [59] D. Hazuda, C. U. Blau, P. Felock, J. Hastings, B. Pramanik, A. Wolfe, F. Bushman, C. Farnet, M. Goetz, M. Williams, K. Silverman, R. Lingham, S. Singh, *Antiviral Chemistry & Chemotherapy* **1999**, *10*, 63-70.
- [60] E. Turos, J. E. Audia, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 8231-8236.
- [61] L. T. Burke, D. J. Dixon, S. V. Ley, F. Rodriguez, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 3611-3613.
- [62] K. Yuki, M. Shindo, K. Shishido, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 2517-2519.
- [63] L. T. Burke, D. J. Dixon, S. V. Ley, F. Rodriguez, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 274-280.
- [64] D. Matiadis, O. Igglessi-Markopoulou, *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 5989-5995.
- [65] I. Casser, B. Steffan, W. Steglich, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* **1987**, *26*, 586-587.

- [66] S. V. Ley, S. C. Smith, P. R. Woodward, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 5829-5832.
- [67] S. V. Ley, S. C. Smith, P. R. Woodward, *Tetrahedron* **1992**, *48*, 1145-1174.
- [68] W. Steglich, *Pure & Appl. Chem.* **1989**, *61*, 281-288.
- [69] G. R. Pettit, Y. Kamano, C. Dufresne, R. L. Cerny, D. L. Herald, J. M. Schmidt, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 6005-6006.
- [70] G. R. Pettit, S. B. Singh, F. Hogan, P. Lloyd-Williams, D. L. Herald, D. D. Burkett, P. J. Clewlow, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 5463-5465.
- [71] G. R. Pettit, T. J. Thornton, J. T. Mullaney, M. R. Boyd, D. L. Herald, *Tetrahedron*, **1994**, *50*, 12097-12108.
- [72] S. Matsunaga, N. Fusetami, Y. Kato, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 9690-9692.
- [73] D. Wolf, F. J. Schmitz, F. Qiu, M. Kelly-Borges, *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 170-172.
- [74] N. U. Sata, S. Matsunaga, N. Fusetami, R. W. M. van Soest, *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 969-971.
- [75] A. S. Ratnayake, R. A. Davis, M. K. Harper, C. A. Veltri, C. D. Andjelic, L. R. Barrows, C. M. Ireland, *J. Nat. Prod.* **2005**, *68*, 104-107.
- [76] N. U. Sata, S. Wada, S. Matsunaga, S. Watabe, R. W. M. van Soest, N. Fusetani, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 2331-2339.
- [77] Y. Hayakawa, N. Kanamaru, A. Shimazu, H. Seto, *J. Antibiot.* **1991**, *44*, 282-287.
- [78] Y. Hayakawa, N. Kanamaru, N. Morisaki, H. Seto, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 213-216.
- [79] S. Toda, S. Yamamoto, O. Tenmyo, T. Tsuno, T. Hasegawa, M. Rosser, M. Oka, Y. Sawada, M. Konishi, T. Oki, *J. Antibiot.* **1993**, *46*, 975-883.
- [80] A. Takahashi, M. Igarashi, T. Tamamura, Y. Tezuka, S. Sato, S. Kutsuma, K. Arita, H. Osanawa, T. Takeuchi, Jpn Kokai Tokkyo Koho JP 08059612, **1996**.
- [81] S. Gunasekera, M. Gunasekera, P. McCarthy, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 4830-4833.

- [82] H. Shigemori, M. Bae, K. Yazawa, T. Sasaki, J. Kobayashi, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 4317-4320.
- [83] S. Kanazawa, N. Fusetani, S. Matsunaga, *Tetrahedron Lett.* 1993, *34*, 1065-1068.
- [84] N. Cramer, M. Buchweitz, S. Laschat, W. Frey, A. Baro, D. Mathieu, C. Richter, H. Schwalbe, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 2488-2503.
- [85] N. Cramer, S. Helbig, A. Baro, S. Laschat, R. Diestel, F. Sasse, D. Mathieu, C. Richter, G. Kummerlöwe, B. Luy, H. Schwalbe, *ChemBioChem* **2008**, *9*, 2474-2486.
- [86] N. Cramer, S. Laschat, A. Baro, H. Schwalbe, C. Richter, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005, *44*, 820-822.
- [87] A. C. Hart, A. J. Phillips, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 1094-1095.
- [88] M. Bae, K. Yamada, Y. Ijuin, T. Tsuji, K. Yazawa, Y. Tomono, D. Vemura, *Heterocycl. Commun.* **1996**, *2*, 315-318.
- [89] J. A. Henderson, A. J. Phillips, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 8627-8629.
- [90] W. Ding, D. R. Williams, P. Northcote, M. M. Siegel, R. Tsao, J. Ashcroft, G. O. Morton, M. Alluri, D. Abbanat, W. M. Maiese, G. A. Ellestad, *J. Antibiot.* **1994**, *47*, 1250-1257.
- [91] M. P. Singh, P. J. Petersen, N. V. Jacobus, M. J. Mroczenski-Wildey, W. M. Maiese, M. Greenstein, D. A. Steinberg, *J. Antibiot.* **1994**, *47*, 1258-1265.
- [92] P. R. Graupner, A. Carr, E. Clancy, J. Gilbert, K. L. Bailey, J. Derby, B. C. Gerwick, *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 1558-1561.
- [93] T. Yoshinari, K. Olumori, M. G. Schrems, A. Pfaltz, K. Suzuki *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 893-897.
- [94] P. M. H. Harrison, D. W. Hughes, R. W. Riddoch, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1998**, 273-274.
- [95] R. E. Schwartz, G. L. Helms, E. A. Bolessa, K. E. Wilson, R. A. Giacobbe, J. S. Tkacz, G. F. Bills, J. M. Liesch, D. L. Zink, J. E. Curotto, B. Pramanik, J. C. Onishi, *Tetrahedron* **1994**, *50*, 1675-1686.
- [96] O. Kutuk, A. Pedrech, P. Harrison, H. Basaga, *Apoptosis* **2005**, *10*, 597-609.

4 Βιβλιογραφία

- [97] C. Kwan, P. H. M. Harrison, T. K. Kwan, *Vascular Pharmacology* **2003**, *40*, 35-42.
- [98] C. Kwan, P. H. M. Harrison, P. A. Duspara, E. E. Daniel, *Jpn. J. Pharmacol.* **2001**, *85*, 243-246.
- [99] A. G. M. Barrett, J. Head, M. L. Smith, N. S. Stock, A. J. P. White, D. J. Williams, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 6005-6018.
- [100] A. G. M. Barrett, J. Head, M. L. Smith, N. S. Stock, *Chem. Commun.* **1999**, 133-134.
- [101] S. Aoki, T. Tsukude, Y. Miyazaki, K. Takao, K. Tadano, *Heterocycles* **2006**, *69*, 49-54.
- [102] A. Nowak, B. Steffan, *Liebigs Ann.* **1997**, 1817-1821.
- [103] D. J. Dixon, S. V. Ley, D. A. Longbottom, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1999**, 2231-2232.
- [104] A. Nowak, B. Steffan, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 3139-3141.
- [105] F. Blumenthal, K. Polborn, B. Steffan, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 8433-8437.
- [106] D. A. Longbottom, A. J. Morrison, D. J. Dixon, S. V. Ley, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 2910-2914.
- [107] D. A. Longbottom, A. J. Morrison, D. J. Dixon, S. V. Ley, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 6955-6966.
- [108] A. Hölzel, M. G. Gänzle, G. J. Nicholson, W. P. Hammes, G. Jung, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 2766-2768.
- [109] M. G. Gänzle, A. Hölzel, J. Walter, G. Jung, W. P. Hammes, *Appl. Environ. Microbiol.* **2000**, *66*, 4325-4333.
- [110] M. G. Gänzle, R. F. Vogel, *Appl. Environ. Microbiol.* **2003**, *69*, 1305-1307.
- [111] M. G. Gänzle, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2004**, *64*, 326-332.
- [112] U. Marquardt, D. Schmidt, G. Jung, *Synlett* **2000**, *8*, 1131-1132.
- [113] R. Böhme, G. Jung, E. Breitmaier, *Helv. Chim. Acta* **2005**, *88*, 2837-2841.
- [114] S. Aoki, K. Higuchi, Y. Ye, R. Satari, M. Kobayashi, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 1833-1836.

- [115] C. Wang, B. Wang, S. Wiryowidagdo, V. Wray, R. van Soest, K. G. Steube, H. Guan, P. Proksch, R. Ebel, *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 51-56.
- [116] J. Xu, M. Hasegawa, K. Harada, H. Kobayashi, H. Nagai, M. Namikoshi *Chem. Pharm. Bull.* **2006**, *54*, 852-854.
- [117] R. Schobert, C. Jagusch, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 2301-2307.
- [118] B. Biersack, R. Diestel, C. Jagusch, G. Rapp, F. Sasse, R. Schobert, *Chem. Biodiversity*, **2008**, *5*, 2423-2430.
- [119] Z. Lin, Z. Lu, T. Zhu, Y. Fang, Q. Gu, W. Zhu, *Chem. Pharm. Bull* **2008**, *56*, 217-221.
- [120] T. Sengoku, J. Wierzejska, M. Takahashi, H. Yoda, *Synlett* **2010**, *19*, 2944-2946.
- [121] A. P. Michael, E. J. Grace, M. Kotiw, R. A. Barrow, *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 1360-1362.
- [122] A. Schlenk, R. Diestel, F. Sasse, R. Schobert, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 2599-2604.
- [123] J. Y. Li, G. Strobel, J. Harper, E. Lobkovsky, J. Clardy, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 767-770.
- [124] E. C. Marfori, S. Kajiyama, E. Fukusaki, A. Kobayashi, *Z. Naturforsch.* **2002**, *57c*, 465-470.
- [125] V. Hellwig, T. Grothe, A. Mayer-Bartschmid, R. Endermann, F. Geschke, T. Henkel, M. Stadler, *J. Antibiot.* **2002**, *55*, 881-892.
- [126] Y. Sugie, K. A. Dekker, T. Inagaki, Y. Kim, T. Sakakibara, S. Sakemi, A. Suguira, L. Brennan, J. Duignan, J. A. Sutcliffe, Y. Kojima, *J. Antibiot.* **2002**, *55*, 19-24.
- [127] M. P. Segeth, A. Bonnefoy, M. Bronstrup, M. Knauf, D. Schummer, L. Toti, L. Vertesy, M. Wetzal-Raynal, J. Wink, G. Seibert, *J. Antibiot.* **2003**, *56*, 114-122.
- [128] G. Lang, J. W. Blunt, N. J. Cummings, A. L. J. Cole, M. G. Munro, *J. Nat. Prod.* **2005**, *68*, 810-811.

4 Βιβλιογραφία

- [129] J. Hashimoto, T. Watanabe, T. Seki, S. Karasawa, M. Izumikawa, T. Seki, S. Iemura, T. Natsume, N. Nomura, N. Goshima, A. Miyawaki, M. Takagi, K. Shin-Ya, *J. Biomol. Screen.* **2009**, *14*, 970-979.
- [130] M. Izumikawa, J. Hashimoto, T. Hirokawa, S. Sugimoto, T. Kato, M. Takagi, K. Shin-ya, *J. Nat. Prod.* **2010**, *73*, 628–631.
- [131] S. P. Putri, H. Kinoshita, F. Ihara, Y. Igarashi, T. Nihira, *J. Antibiot.* **2010**, *63*, 195-198.
- [132] L. Vertesy, M. Knauf, A. Markus-Erb, L. Toti, M. Raynal-Wetzel, F. Fassy, U.S. Pat. Appl. Publ. US 2002/0137788 A1, **2002**.
- [133] S. B. Singh, D. L. Zink, B. Heimbach, O. Genilloud, A. Teran, K. C. Silverman, R. B. Lingham, P. Felock, D. J. Hazuda, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 1123-1126.
- [134] T. A. Dineen, W. R. Roush, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1355-1358.
- [135] C. A. Lowery, J. Park, C. Gloeckner, M. M. Meijler, R. S. Mueller, H. I. Boshoff, R. L. Ulrich, C. E. Barry, D. H. Bartlett, V. V. Kravchenko, G. F. Kaufmann, K. D. Janda, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 14473-14479.
- [136] C. Ueda, K. Tateda, M. Horikawa, S. Kimura, Y. Ishii, K. Nomura, K. Yamada, T. Suematsu, Y. Inoue, M. Ishiguro, S. Miyairi, K. Yamaguchi, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2010**, *54*, 683–688.
- [137] G. F. Kaufmann, R. Sartorio, S. Lee, C. J. Rogers, M. M. Meijler, J. A. Moss, B. Clapham, A. P. Brogan, T. J. Dickerson, K. D. Janda, *PNAS*, **2005**, *102*, 309-314.
- [138] G. Lang, A. L. J. Cole, J. W. Blunt, M. H. G. Munro, *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 151-153.
- [139] J. Ondeyka, G. Harris, D. Zink, A. Basilio, F. Vicente, G. Bills, G. Platas, J. Collado, A. González, M. de la Cruz, J. Martin, J. N. Kahn, S. Galuska, R. Giacobbe, G. Abruzzo, E. Hickey, P. Liberator, B. Jiang, D. Xu, T. Roemer, S. B. Singh, *J. Nat. Prod.* **2009**, *72* 136–141.
- [140] K. Sana, PhD Thesis, Wayne State University, **2010**.
- [141] J. Li, S. Liu, S. Niu, W. Zhuang, Y. Che, *J. Nat. Prod.* **2009**, *72*, 2184–2187.
- [142] E. Benary, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1907**, *40*, 1079-1083.

- [143] E. Benary, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1911**, *44*, 1759-1765.
- [144] S. Hamilakis, D. Kontonassios, C. Sandris, *J. Heterocyclic Chem.* **1996**, *33*, 825-829.
- [145] Y. Isowa, M. Ohta, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1962**, *35*, 1941-1943.
- [146] R. H. Schlessinger, G. R. Bebemitz, P. Lin, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 1777-1778.
- [147] R. H. Schlessinger, G. R. Bebemitz, *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 1344-1346.
- [148] P. DeShong, J. A. Cipollina, N. K. Lowmaster, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 1356-1364.
- [149] P. DeShong, N. K. Lowmaster, O. Baralt, *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 1149-1150.
- [150] J. Poncet, P. Jouin, B. Castro, L. Nicolas, M. Boutar, A. Gaudemer, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1990**, 611-616.
- [151] R. C. F. Jones, M. Tankard, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1991**, 240-241.
- [152] S. Gabriel, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1913**, *46*, 3033-3039.
- [153] S. Gabriel, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1914**, *47*, 1319-1358.
- [154] Y. Jeong, M. G. Moloney, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 1342-1345.
- [155] Schobert, R. *Naturwissenschaften* **2007**, *94*, 1-11.
- [156] O. Igglessi-Markopoulou, C. Sandris, *J. Heterocyclic Chem.* **1982**, *19*, 883-890.
- [157] O. Igglessi-Markopoulou, C. Sandris, *J. Heterocyclic Chem.* **1985**, *22*, 1599-1606.
- [158] J. V. Berkley, J. Markopoulos, O. Markopoulou, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1994**, 1271-1274.
- [159] A. Detsi, A. Afantitis, G. Athanasellis, J. Markopoulos, O. Igglessi-Markopoulou, C. Skylaris, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 4593-4600.
- [160] A. Detsi, M. Micha-Screttas, O. Igglessi-Markopoulou, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1988**, 2443-2449.
- [161] M. Petroliagi, O. Igglessi-Markopoulou, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1997**, 3543-3548.

4 Βιβλιογραφία

- [162] E. Gavrielatos, G. Athanasellis, O. Igglessi-Markopoulou, *J. Heterocyclic Chem.* **2002**, *39*, 185-188.
- [163] E. Gavrielatos, C. Mitsos, M. Petroligi, J. Markopoulos, O. Igglessi-Markopoulou, *Heterocycl. Commun.* **2000**, *6*, 225-230.
- [164] E. Gavrielatos, J. Markopoulos, O. Igglessi-Markopoulou, *Heterocycl. Commun.* **1999**, *5*, 515-520.
- [165] E. Gavrielatos, G. Athanasellis, O. Igglessi-Markopoulou, J. Markopoulos, *Inorg. Chim. Acta* **2003**, *344*, 128-132.
- [166] G. Athanasellis, E. Gavrielatos, O. Igglessi-Markopoulou, J. Markopoulos, *J. Heterocyclic Chem.* **2003**, *40*, 645-648.
- [167] G. Athanasellis, E. Gavrielatos, O. Igglessi-Markopoulou, *Synlett* **2001**, *10*, 1653-1655.
- [168] K. C. Prousis, A. Detsi, O. Igglessi-Markopoulou, *Synlett* **2005**, *18*, 2763-2766.
- [169] P. Jouin, B. Castro, D. Nisato, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1987**, 1177-1182.
- [170] Y. Jeong, M. G. Moloney, *Synlett* **2009**, *15*, 2487-2491.
- [171] Z. Liu, X. Ruan, X. Huang, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 2505-2507.
- [172] J. Fehrentz, E. Bourdel, J. Califano, O. Chaloin, C. Devin, P. Garrouste, A. Lima-Leite, M. Llinares, F. Rieunieur, J. Vizavonna, F. Winternitz, A. Loffet, J. Martinez, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 1557-1560.
- [173] M. Storgaard, F. Z. Dörwald, B. Peschke, D. Tanner, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 5032-5040.
- [174] R. C. F. Jones, S. Sumaria, *Tetrahedron Lett.* **1978**, 3173-3176.
- [175] R. C. F. Jones, G. E. Peterson, *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 4757-4760.
- [176] R. C. F. Jones, M. J. Begley, G. E. Peterson, S. Sumaria, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1990**, 1959-1968.
- [177] R. Schobert, C. Jagusch, C. Melanophy, G. Mullen, *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 3524-3529.
- [178] R. C. F. Jones, G. E. Peterson, *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 4751-4754.

- [179] K. Hori, M. Arai, K. Nomura, E. Yoshii, *Chem. Pharm. Bull.* **1987**, *35*, 4368-4371.
- [180] P. Huang, J. Deng, *Synlett* **2004**, *2*, 247-250.
- [181] G. Athanaseliis, E. Gavrielatos, O. Igglessi-Markopoulou, *J. Heterocyclic Chem.* **2001**, *38*, 1203-1208.
- [182] C. S. Karaikos, D. Matiadis, J. Markopoulos, O. Igglessi-Markopoulou, *Molecules* **2011**, *16*, 6116-6128.
- [183] H. Stachel, K. K. Harigel, H. Poschenrieder, H. Burghard, *J. Heterocyclic Chem.* **1980**, *17*, 1195-1199.
- [184] R. C. F. Jones, J. M. Patience, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 3217-3218.
- [185] R. C. F. Jones, G. Bhalay, P. A. Carter, K. A. M. Duller, S. I. E. Vulto, , *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1994**, 2513-2515.
- [186] J. H. Spatz, S. J. Welsch, D. Duhaut, N. Jäger, T. Boursier, M. Fredrich, L. Allmendinger, G. Ross, J. Kolb, C. Burdack, M. Umkehrer, *Tetrahedron Letters* **2009**, *50*, 1705–1707.
- [187] M. D. Andrews, A. Brewster, M. G. Moloney, *Tetrahedron: Asymmetry* **1994**, *5*, 1477-1478.
- [188] M. D. Andrews, A. G. Brewster, K. M. Crapnell, A. J. Ibbett, T. Jones, M. G. Moloney, K. Prout, D. Watkin, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1998**, 223-235.
- [189] M. Anwar, M. G. Moloney, *Tetrahedron Letters* **2007**, *48*, 7259–7262.
- [190] M. Anwar, A. R. Cowley, M. G. Moloney, *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21*, 1758–1770.
- [191] R. T. Gallagher, J. L. Richard, H. M. Stahr, R. J. Cole, *Mycopathologia* **1978**, *66*, 31-36.
- [192] P. S. Steyn, C. J. Rabie, *Phytochemistry*, **1976**, *15*, 1977-1979.
- [193] M. Lebrun, P. Duvert, F. Gaudemer, A. Gaudemer, C. Deballon, P. Boucly, *J. Inorg. Biochem.* **1985**, *24*, 167-181.
- [194] M. Fujita, Y. Nakao, S. Matsunaga, M. Seiki, Y. Itoh, R. W. M. van Soest, N. Fusetani, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 1229-1234.

4 Βιβλιογραφία

- [195] M. Laursen, M. Bublitz, K. Moncoq, C. Olesen, J. V. Møller, H. S. Young, P. Nissen, J. P. Morth, *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 13513–13518.
- [196] O. Markopoulou, J. Markopoulos, D. Nicholls, *J. Inorg. Biochem.* **1990**, *39*, 307-316.
- [197] E. Gavrielatos, C. Mitsos, G. Athanasellis, B. T. Heaton, A. Steiner, J. F. Bickley, O. Igglessi-Markopoulou, J. Markopoulos, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2001**, 639–644.
- [198] B. T. Heaton, C. Jacob, J. Markopoulos, O. Markopoulou, J. Nähring, C. Skylaris, A. K. Smith, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1996**, 1701-1706.
- [199] M. Keiichi, H. Sakie, M. Masato, and H. Satoru, Japan Kokai Tokkyo Koho, JP, 01,313,488 [89,313,488], **1989**.
- [200] H. Sakie, M. Keiichi, M. Masato, and H. Satoru, Japan Kokai Tokkyo Koho, JP, 02 48,591 [90 48,591], **1990**.
- [201] G. Athanasellis, O. Igglessi-Markopoulou, J. Markopoulos, *Bioinorg. Chem. Appl.* **2010**, Article ID 315056, 11 pages.
- [202] M. Hosseini, H. Kringelum, A. Murray, J. E. Tønder, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2103-2106.
- [203] M. Hosseini, J. S. Grau, K. K. Sørensen, I. Sjøtofte, D. Tanner, A. Murray, J. E. Tønder, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 2207–2210.
- [204] M. Hosseini, H. Kringelum, A. Murray, J. E. Tønder, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 3486-3494.
- [205] S. Frokjaer and D. E. Otzen, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2005**, *4*, 298-306.
- [206] T. Bruckdorfer, O. Marder and F. Albericio, *Curr. Pharm. Biotechnol.* **2004**, *5*, 29-43.
- [207] S. Couve-Bonnaire, D. Cahard, X. Pannecoucke, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 1151–1157.
- [208] J. Maibaum, D. H. Rich, *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 1571-1576.
- [209] S. Peukert, Y. Sun, R. Zhang, B. Hurley, M. Sabio, X. Shen, C. Gray, J. Dzink-Fox, J. Tao, R. Cebula, S. Wattanasin, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 1840–1844.

- [210] B. J. L. Royles, *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 1981-2001.
- [211] L. Lou, G. Qian, Y. Xie, J. Hang, H. Chen, K. Zaleta-Rivera, Y. Li, Y. Shen, P. H. Dussault, F. Liu, L. Du, *J. Am. Chem. Soc.* 2011, *133*, 643–645.
- [212] S. Warren, P. Wyatt, *Organic Synthesis: The Disconnection Approach*, 2^η εκδ. Wiley, Chichester, West Sussex, Ηνωμένο Βασίλειο, **2009**.
- [213] B. Barnickel, F. Bayliffe, R. Diestel, K. Kempf, S. Laschat, S. Pachali, F. Sasse, A. Schlenk, R. Schobert, *Chem. & Biodiv.* **2010**, *7*, 2830-2845.
- [214] R. Yendapally, J. G. Hurdle, E. I. Carson, R. B. Lee, R. E. Lee, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 1487–1491.
- [215] N. Riache, C. Bailly, A. Deville, L. Dubost, B. Nay, *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 5402–5408
- [216] S. Hanazawa, M. A. Arai, X. Li, M. Ishibashi, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 95-98.
- [217] J. Chem, S. Liu, K. Chen, *Chem. Asian J.* **2010**, *5*, 328-333.
- [218] S. Nakatani, K. Kamata, M. Sato, H. Onuki, H. Hirota, J. Matsumoto, M. Ishibashi, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 267-271.
- [219] H. Sugano, M. Miyoshi, *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 2352-2353.
- [220] H. Paulsen, M. Brieden, G. Benz, *Liebigs Ann. Chem.* **1987**, 565- 575.
- [221] G. W. Anderson, J. E. Zimmerman, F. M. Callahan, *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, 1839-1842.
- [222] I. M. Mawer, J. J. Kulagowski, P. D. Leeson, S. Grimwood, G. R. Marshall, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 2643-2648.
- [223] A. I. Vogel, A. R. Tatchell, B. S. Furnis, A. J. Hannaford, P. W. G. Smith, *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*, 5th Ed., Prentice Hall, London, **1996**.
- [224] Y. Oikawa, K. Sugano, O. Yonemitsu, *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2087-2088.
- [225] M. Nakahata, M. Imaida, H. Ozaki, T. Harada, A. Tai, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1982**, *55*, 2186-2189.
- [226] A. Holden and P. Singer, *Crystals and Crystal Growing*, Anchor Books, N.Y., **1960**.

4 Βιβλιογραφία

- [227] R. A. Laudise, *The Growth of Single Crystals*, Solid State Physical Electronic Series, N. Holonyak, Jr. Editor, Prentice-Hall, Inc., **1970**.
- [228] G.M. Sheldrick, *Acta Cryst.* **2008**, A64, 112-122.

ΜΕΡΟΣ ΙΙ

**Σύνθεση σε στερεά φάση οπτικά ενεργών
υποκατεστημένων 2-αμινοφουρανών και τετρονικών
οξέων**

5

Θεωρητικό Μέρος

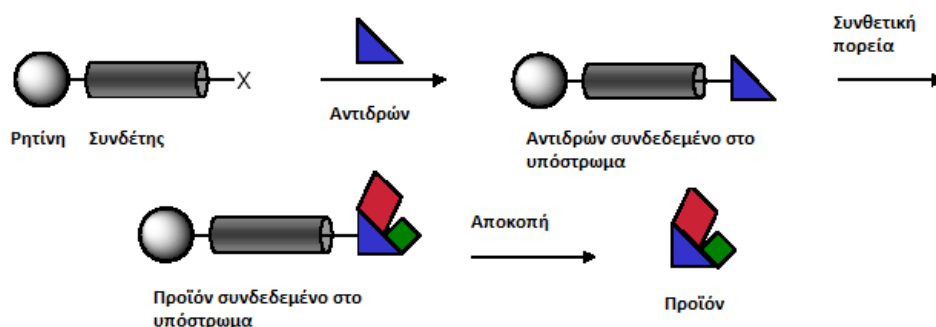
Στο πρώτο μέρος του κεφαλαίου αυτού (5.1) θα εστιάσουμε στη μέθοδο της σύνθεσης σε στερεά φάση (solid-phase synthesis). Ιδιαίτερη βάση θα δοθεί στην ανάλυση της τεχνικής και της τεχνολογίας της στερεάς φάσης. Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι σαφή και ιδιαίτερα σημαντικά, ιδίως εάν σκοπεύουμε να εφαρμόσουμε τη μέθοδο σε σύνθεση βιβλιοθήκης προϊόντων (συνδυαστική χημεία) με σκοπό τη διεξαγωγή μελετών επίδρασης δομής (SAR). Επιμέρους τομείς στους οποίους θα γίνει αναφορά είναι η ρητίνη, οι συνδέτες, η αποκοπή με κυκλοποίηση και η παρακολούθηση των αντιδράσεων.

Στη συνέχεια (5.2, 5.3), γίνεται μία εμπειριστατωμένη ανασκόπηση στα μόρια-στόχοι της παρούσας εργασίας: στις αμινοφουρανόνες και στα τετρονικά οξέα. Οι ενώσεις αυτές είναι ετεροκυκλικές με πενταμελή δακτύλιο και ένα άτομο οξυγόνου στο δακτύλιο. Θα αναφερθούμε στα σημαντικότερα φυσικά ή συνθετικά προϊόντα που παρουσιάζουν βιολογικό ενδιαφέρον, καθώς και στις κύριες μεθόδους σύνθεσης.

5.1 Σύνθεση σε στερεά φάση

Η σύνθεση σε στερεά φάση είναι μία μεθοδολογία σύνθεσης κατά την οποία οι αντιδράσεις λαμβάνουν χώρα σε ένα αδιάλυτο πολυμερές υλικό, το οποίο αναφέρεται ως ρητίνη (resin) ή στερεό υπόστρωμα (solid support). Τα αντιδρώντα συνδέονται με ομοιοπολικό δεσμό με το στερεό υπόστρωμα με τη μεσολάβηση ενός συνδέτη (linker). Οι αντιδράσεις πραγματοποιούνται σε αυτό το αδιάλυτο υπόστρωμα και αφότου ολοκληρωθεί η συνθετική πορεία αποκόπεται το προϊόν από τη ρητίνη.

Η μέθοδος αυτή είναι σχετικά πρόσφατη: πρωτοπαρουσιάστηκε από τον Merrifield το 1963 [1] για τη σύνθεση πεπτιδίων (πεπτιδική σύνθεση σε στερεά φαση-solid-phase peptide synthesis ή SPPS). Σύμφωνα με αυτήν, το N-προστατευμένο C-τελικό αμινοξύ συνδέεται στη ρητίνη και ακολουθεί η αποπροστασία και ακυλίωση της αμινομάδας με το προτελευταίο αμινοξύ. Αυτά τα βήματα επαναλαμβάνονται μέχρι την ολοκλήρωση της σύνθεσης της πεπτιδικής αλυσίδας, οπότε το πεπτίδιο αποκόπεται από στερεό υπόστρωμα. Η μεθοδολογία αυτή βρήκε πρώτη εφαρμογή στη σύνθεση του τετραπεπτιδίου L-λευκυλο-L-αλανυλο-γλυκυλο-L-βαλίνη.



Σχήμα 5.1 Σύνθεση σε στερεά φάση

Έκτοτε, η ιδέα της σύνθεσης σε στερεά φάση έχει εφαρμοστεί εκτεταμένα σε πολλές κατηγορίες οργανικών ενώσεων [2-6], όπως σε ολιγονουκλεοτίδια και σε ετεροκυκλικές ενώσεις. Τα τελευταία χρόνια, το πεδίο αυτό παρουσίασε αξιοσημείωτη πρόοδο, λόγω των σημαντικών πλεονεκτημάτων έναντι της σύνθεσης σε διάλυμα.

Τέσσερις βασικοί παράγοντες συντελούν στη δημοτικότητα αυτής της τεχνικής: (α) η απλουστευμένη συνθετική πορεία – οι αντιδράσεις πραγματοποιούνται σε μόνο τρία στάδια: προσθήκη αντιδραστηρίων, διήθηση και, τέλος, καθαρισμός της ρητίνης, (β) τα χρονοβόρα και δαπανηρά σε διαλύτες στάδια του καθαρισμού και απομόνωσης των ενδιάμεσων προϊόντων εξαλείφονται, καθώς ο μόνος καθαρισμός που απαιτείται είναι η έκπλυση της ρητίνης, (γ) η δυνατότητα χρήσης υψηλής συγκέντρωσης αντιδραστηρίων, καθώς στο τέλος της αντίδρασης απαλασσόμαστε από αυτά απλώς με εκπλύσεις και, τέλος, (δ) η δυνατότητα για αυτοματοποίηση της σύνθεσης. Το τελευταίο, αποτελεί βασική προϋπόθεση για τη συνδυαστική χημεία (combinatorial chemistry) και την πολλαπλή παράλληλη σύνθεση (multiple parallel synthesis). Ακόμη, εφόσον, δε χρειάζεται να εξατμιστεί ο διαλύτης, είναι δυνατό να χρησιμοποιηθεί ένας διαλύτης με υψηλό σημείο ζέσης όπως το DMF ή το DMSO. Η υψηλή συγκέντρωση των χρησιμοποιούμενων αντιδραστηρίων είναι όχι μόνο εφικτή, αλλά και επιθυμητή, αφού με αυτόν τον τρόπο οι αντιδράσεις πραγματοποιούνται σε υψηλές αποδόσεις.

Τα βασικά μειονεκτήματα της σύνθεσης σε στερεά φάση είναι: (α) η επιπλέον εργασία που απαιτείται για την ανάπτυξη της συνθετικής πορείας, (β) οι περιορισμοί στη χρήση ρητινών και συνδετών, καθώς συγκριτικά με άλλες μεθόδους η εμπορική του διαθεσιμότητα είναι σχετικά περιορισμένη, (γ) τα περιορισμένα μέσα για την παρακολούθηση (monitoring) των αντιδράσεων, (δ) τα επιπλέον στάδια που απαιτούνται για τη σύνδεση και αποκοπή από τη ρητίνη και, τέλος, (ε) το γεγονός ότι συνήθως με αυτή τη μεθοδολογία παρασκευάζονται <100mg τελικού προϊόντος.

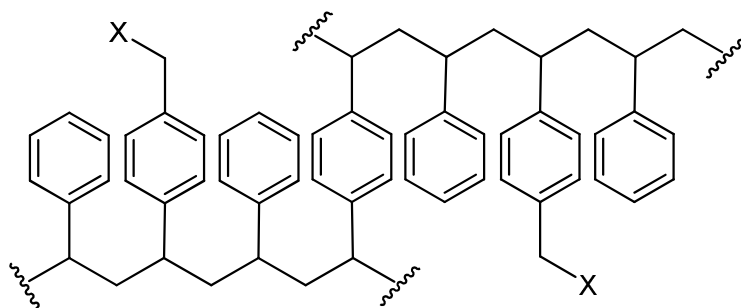
Συνολικά όμως, η ανάπτυξη μεθοδολογιών σε στερεά φάση είναι πολύτιμη για μελέτες συσχετισμού δομής δραστηκότητας, καθώς και για εφαρμογή στη συνδυαστική χημεία.

Στη συνέχεια, θα παρουσιαστούν αναλυτικά τα κρίσιμα σημεία στη σύνθεση σε στερεά φάση. Αυτά οφείλει ο συνθετικός χημικός να τα επιλύσει κατά το σχεδιασμό

της στρατηγικής μίας συνθετικής μεθοδολογίας και είναι: η ρητίνη, ο συνδέτης, η παρακολούθηση της αντίδρασης, οι πειραματικές συνθήκες και καθαρισμός και, τέλος η πιθανή αυτοματοποίηση ή εφαρμογή στη συνδυαστική χημεία [7].

5.1.1 Η ρητίνη (resin)

Το αδιάλυτο υπόστρωμα που χρησιμοποιήθηκε από τον Merrifield είναι ένα συμπολυμερές στυρολίου και διβινυλοβενζολίου (PS-DVB 1%) σε μορφή σκόνης (bead). Έκτοτε, αρκετές ρητίνες έχουν παρουσιαστεί και αρκετές από αυτές υποστηρίζεται ότι έχουν βελτιωμένες ιδιότητες σε σχέση με τη ρητίνη του Merrifield. Παρόλα αυτά, μετά από 50 περίπου χρόνια το στερεό υπόστρωμα του Merrifield είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη ρητίνη.



Σχήμα 5.2 Συμπολυμερές στυρολίου-διβινυλοβενζολίου (PS-DVB). Ο υποκαταστάτης (X) είναι πάντοτε συνδεδεμένος με τον αρωματικό δακτύλιο στη θέση 4.

Ωστόσο, η ρητίνη αυτή έχει μία αδυναμία: είναι ακατάλληλη για χρήση με υδατικά διαλύματα. Το πρόβλημα εντοπίζεται στην αδυναμία διόγκωσης της ρητίνης στο νερό, με αποτέλεσμα να μην επιτυγχάνεται επαρκής διάχυση των αντιδραστηρίων στο πλέγμα. Αυτό αντιμετωπίστηκε με το σχεδιασμό συμπολυμερών που φέρουν και μόρια πολυαιθυλενογλυκόλης (PEG-PS-DVB). Πράγματι, αυτά τα υποστρώματα λειτουργούν ιδανικά και σε υδατικά διαλύματα. Η

πρώτη ρητίνη αυτής της μορφής ήταν η TentaGel και ακολούθησαν οι ArgoGel και NovaGel.

Χαρακτηριστική ιδιότητα της ρητίνης αποτελεί η διόγκωσή της γνωστή ως swelling στη διεθνή βιβλιογραφία. Ειδικότερα για τη ρητίνη του Merrifield, υπάρχουν διαλύτες στους οποίους διογκώνεται ελάχιστα όπως η μεθανόλη και διαλύτες στους οποίους διογκώνεται σε μεγάλο βαθμό, όπως το διχλωρομεθάνιο. Έχει αναφερθεί [8], ότι η διόγκωση ενός διασταυρωτού (cross-linked) πολυμερούς είναι ισοδύναμη με τη διαλυτότητα ενός γραμμικού. Οι αντιδράσεις λαμβάνουν χώρα εντός του πλέγματος. Καθώς το πολυμερές διογκώνεται εισέρχονται στο πλέγμα τα αντιδραστήρια με διάχυση. Αν η διόγκωση δεν είναι επαρκής, τότε δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί αντίδραση. Το σύνολο των σημείων πρόσδεσης (>99%) στις ρητίνες βρίσκονται **εντός** των διογκωμένων σωματιδίων του πολυμερούς. Έτσι, το διογκωμένο πολυμερές γίνεται ο “διαλύτης” της αντίδρασης, με τη σημαντική διαφοροποίηση του πολύ μεγαλύτερου ιξώδους [9].

5.1.2 Οι συνδέτες (linkers)

Ένα καθοριστικό σημείο για το σχεδιασμό μίας συνθετικής μεθοδολογίας σε στερεά φάση είναι η προσεκτική επιλογή του κατάλληλου συνδέτη. Αυτοί συνδέουν το στερεό υπόστρωμα με την τρίτη μονάδα, η οποία είναι συνήθως το αντιδρών και μπορούν να χαρακτηριστούν ως παραδοσιακοί ή κλασικοί αν η ομάδα της πρόσδεσης παραμένει κατά την αποκοπή από τη ρητίνη και ως “traceless” αν επιτρέπουν το διαχωρισμό των τελικών προϊόντων χωρίς καμία προερχόμενη από το συνδέτη ομάδα προσκολλημένη στο μόριο. Καθώς το πεδίο επεκτείνεται διαρκώς, ολοένα και πιο ανεπτυγμένοι στις δυνατότητές τους συνδέτες παρουσιάζονται. Συνδέτες που είναι γνωστοί ως πολυλειτουργικοί (multifunctional ή diversity) δίνουν τη δυνατότητα στο χημικό να εισάγει επιπλέον ποικιλομορφία στα τελικά προϊόντα ανάλογα με τη στρατηγική που θα ακολουθήσει [10,11].

Οι συνδέτες όμως είναι πιο σημαντικοί από απλά ενδιάμεσα μόρια σε αυτήν την πρόσδεση. Λειτουργούν και ως προστατευτικές ομάδες. Επομένως, είναι σοφό η πρόσδεση του αρχικού μορίου να γίνει από μία ομάδα που ούτως ή άλλως θα χρειαζόταν να προστατευθεί. Λόγω αυτού του ρόλου τους, ισχύουν τα ίδια κριτήρια

με την επιλογή μίας προστατευτικής ομάδας σε σύνθεση σε διάλυμα: πρέπει να είναι σταθεροί κατά τη διάρκεια της συνθετικής πορείας, και να απομακρύνονται εκλεκτικά στο τέλος αυτής, απελευθερώνοντας το τελικό προϊόν από τη ρητίνη στο διάλυμα.

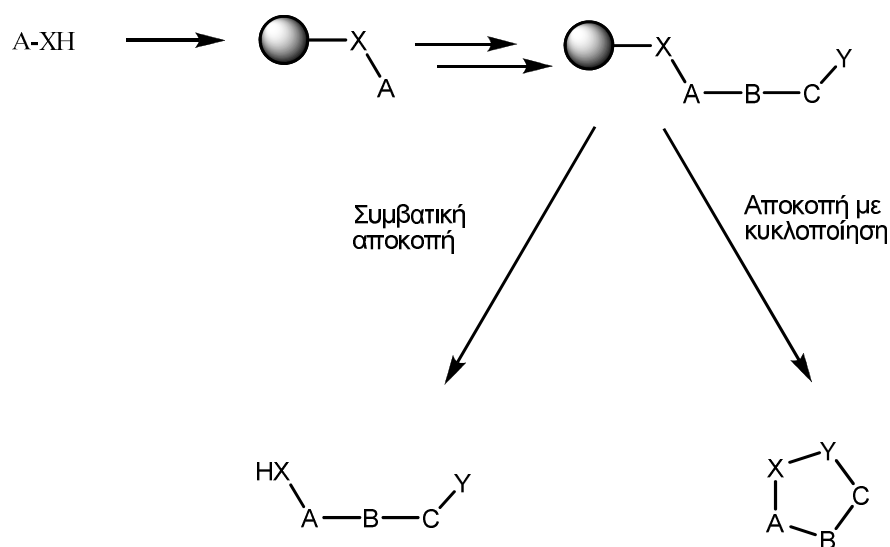
Ο πρώτος συνδέτης που χρησιμοποιήθηκε, έκανε χρήση μιας εστερικής ομάδας, ώστε να παραμείνει σταθερή κατά τη διάρκεια της συνθετικής πορείας. Σε ισχυρά όξινες συνθήκες, το τελικό μόριο αποκόπτεται, απελευθερώνοντας το τελικό καρβοξύλιο. Υπενθυμίζουμε, πως οι πρώτες συνθέσεις σε στερεά φάση αφορούσαν αποκλειστικά σύνθεση πεπτιδίων. Στις μέρες μας, με δεδομένο ότι η στερεά φάση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για πολλούς συνθετικούς στόχους, η επιλογή του κατάλληλου συνδέτη γίνεται με βάση τη στρατηγική που θα ακολουθηθεί, καθώς και την ομάδα του μορίου από την οποία θα προσδεθεί.

5.1.3 Αποκοπή με κυκλοποίηση (cyclative cleavage)

Στις περιπτώσεις που το μόριο στόχος είναι μία κυκλική ή ετεροκυκλική ένωση, η κυρίαρχη μέθοδος που ακολουθείται είναι η αποκοπή με κυκλοποίηση ή, όπως αναφέρεται στη διεθνή βιβλιογραφία, “cyclative cleavage”. Σύμφωνα με αυτήν, στο τελευταίο στάδιο πραγματοποιείται μία αντίδραση ενδομοριακής κυκλοποίησης, που περιλαμβάνει και το σημείο πρόσδεσης. Η στρατηγική αυτή αναφέρθηκε ως “cyclative cleavage” σε ένα άρθρο ανασκόπησης των DeWitt και Czarnik [12].

Συγκρινόμενη με τις συμβατικές μεθόδους αποκοπής, η στρατηγική αυτή παρουσιάζει δύο βασικά πλεονεκτήματα. Πρώτον, το κυκλικό μόριο που προκύπτει δεν έχει ελεύθερη μη επιθυμητή λειτουργική ομάδα στο σημείο της πρόσδεσης. Το δεύτερο, είναι το γεγονός ότι μόνο η τελική ενδιάμεση ένωση στο στερεό υπόστρωμα έχει τη δυνατότητα να δώσει αντίδραση κυκλοποίησης, άρα και αποκοπής. Αυτό είναι ιδιαίτερα πολύτιμο, όταν πραγματοποιούνται πολλαπλά στάδια αντίδρασης στη στερεά φάση, καθώς κάθε παραπροϊόν ή ανεπιθύμητο ενδιάμεσο προηγούμενων αντιδράσεων είναι ανίκανο να δώσει αντίδραση κυκλοποίησης [13].

5 Θεωρητικό Μέρος



Σχημα 5.3 Αποκοπή με κυκλοποίηση έναντι συμβατικής αποκοπής από τη ρητίνη.

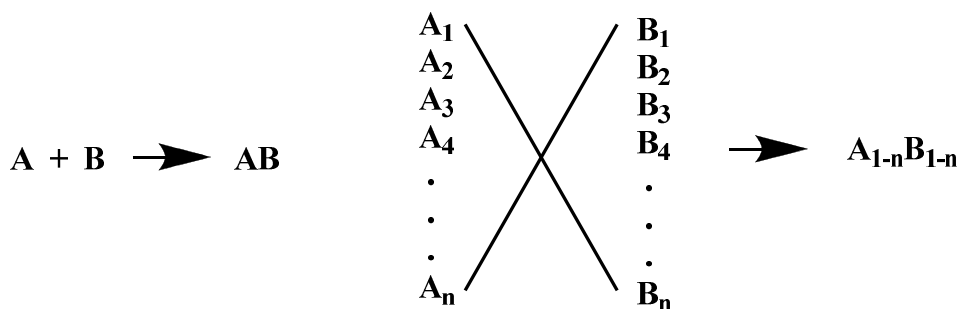
5.1.4 Παρακολούθηση αντιδράσεων

Στις συνήθεις συνθέσεις σε διάλυμα (solution-phase synthesis) οι αντιδράσεις παρακολουθούνται με κάποια μέθοδο χρωματογραφίας, όπως TLC ή φασματοσκοπίας, όπως 1H NMR. Ωστόσο, η διαδικασία αυτή δεν είναι το ίδιο απλή στη στερεά φάση. Εφόσον τα ενδιάμεσα είναι προσδεδεμένα στη ρητίνη, χρωματογραφική παρακολούθηση είναι εφικτή μόνο μετά την αποκοπή από τη ρητίνη. Το ίδιο ισχύει και για τη φασματοσκοπία 1H NMR, καθώς οι ρητίνες είναι αδιάλυτες σε όλους τους κοινούς διαλύτες.

Παρόλα αυτά, μη καταστρεπτικές μέθοδοι, όπως το IR και NMR στερεάς φάσης είναι μέθοδοι που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην παρακολούθηση αντιδράσεων σε στερεά φάση. Ακόμη, η φασματομετρία μάζας θεωρείται χρήσιμη αναλυτική μέθοδος για αναλύσεις τέτοιων ενώσεων προσδεδεμένων σε πολυμερή υποστρώματα με τη χρήση MALDI-TOF MS [14].

5.1.5 Συνδυαστική Χημεία

Ένας από τους θεμελιώδεις στόχους της οργανικής και φαρμακευτικής χημείας είναι ο σχεδιασμός, σύνθεση και παραγωγή μορίων που έχουν αξία ως θεραπευτικοί παράγοντες. Μέχρι τα μέσα της δεκαετίας του '80 η πορεία προς την ανάπτυξη φαρμάκων ήταν ιδιαίτερα χρονοβόρα, μάλιστα υπολογίζεται πως για κάθε νέο φάρμακο που εγκρίνεται, απαιτούνται 1000 ώρες εργασίας και 10000 παράγωγα πρέπει να παρασκευαστούν. Η εισαγωγή της συνδυαστικής χημείας στη σύνθεση βιβλιοθηκών (libraries) παραγώγων είναι πολύτιμη, καθώς σε πολύ λίγο χρόνο σε σχέση με συμβατικές μεθόδους, παρασκευάζονται τα απαραίτητα μόρια.



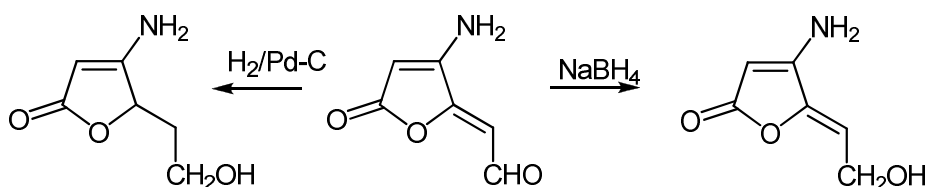
Σχήμα 5.4 Στη συνδυαστική χημεία παρασκευάζονται όλα τα πιθανά προϊόντα, ενώ στην παραδοσιακή συνθετική χημεία τα προϊόντα παρασκευάζονται ξεχωριστά

Η συνδυαστική χημεία βασίζεται στην αποδοτική, παράλληλη σύνθεση, στο γεγονός ότι ένα πλήθος (βιβλιοθήκη) προϊόντων μπορούν να παρασκευαστούν σε, συγκριτικά, λίγα συνθετικά στάδια. Η συνδυαστική χημεία οφείλει την ύπαρξή της σε ένα μεγάλο βαθμό στη σύνθεση σε στερεά φάση, καθώς προσφέρει τη δυνατότητα για αυτοματισμό [15].

5.2 Αμινοφουρανόνες

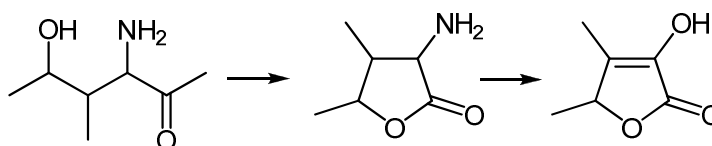
Η σύνθεση ενώσεων που περιλαμβάνουν το δακτύλιο της αμινοφουρανόνης έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον πολλών ερευνητικών ομάδων ειδικά τα τελευταία χρόνια, διότι αυτές οι ενώσεις αν και δεν έχουν ακόμη μελετηθεί εκτεταμένα, παρουσιάζουν σημαντικές βιολογικές και φαρμακολογικές ιδιότητες και είναι ιδιαίτερα χρήσιμες ως ενδιάμεσα στη σύνθεση πιο σύνθετων οργανικών ενώσεων. Δομικά, χαρακτηρίζονται από τον πενταμελή δακτύλιο της φουρανόνης, ενώ φέρουν μία ομάδα αμίνης συνδεδεμένης με το δακτύλιο, η οποία μπορεί να αξιοποιηθεί σε πολλές αντιδράσεις.

Το σημαντικότερο φυσικό προϊόν που περιέχει το δακτύλιο της αμινοφουρανόνης, είναι η Basidalin. Η δομή της κρυσταλλικής αυτής ένωσης, αποδείχθηκε με τη χρήση κρυσταλλογραφίας με ακτίνες Χ ότι είναι η (Z)-4-αμινο-5-φορμυλομεθυλενο-2-φουρανόνη. Απομονώθηκε το 1983 από το φρουτώδες σώμα του μανιταριού *Leucoagaricus naucina* (Fr.) Sing1 στη Νέα Ζηλανδία [16]. Οι βιολογικές μελέτες έδειξαν αξιόλογη αντικαρκινική δραστηριότητα έναντι της L1210 λευχαιμίας σε ποντίκια και ασθενή αντιβακτηριδιακή δράση. Παρατηρήθηκε πλήρης απώλεια της βιολογικής της δράσης με την αναγωγή της φόρμουλο ομάδας (Σχήμα 5.5). Ως δευτερεύον συστατικό, απομονώθηκε η (E)-basidalin, η πρώτη σύνθεση της οποίας δημοσιεύτηκε το 1994 και ολοκληρώνεται σε 5 στάδια από την 3,4-διχλωρο-3-κυκλοβουτενο-1,2-διόνη [17]. Αντίθετα, προσπάθειες για την ολική σύνθεση της (Z)-basidalin δεν απέδωσαν το τελικό προϊόν, αλλά μόνο το σκελετό του μορίου [18].



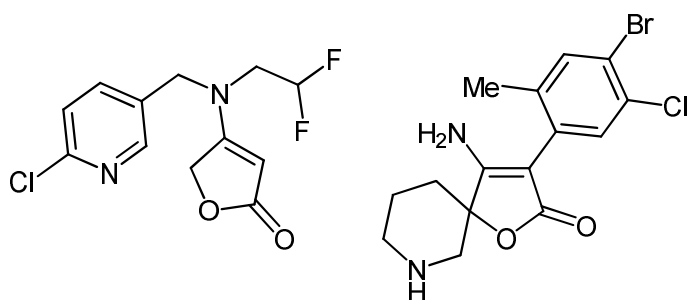
Σχήμα 5.5 Μοριακή δομή της basidalin και αναγωγή της με υδρογόνο (καταλυτικά) και με βορουδρίδιο του νατρίου.

Ένα ακόμη φυσικό προϊόν που σχετίζεται με τις αμινοφουρανόνες είναι η Sotolone. Η Sotolone ή 3-υδροξυ-4, 5-διμεθυλο-2-φουρανόνη είναι μία ένωση με ισχυρή γεύση, που ως συστατικό απαντά σε πολλά τρόφιμα και καρυκεύματα, όπως η τριγωνέλλα, το ζαχαροκάλαμο, ο καφές, καθώς και σε ορισμένους οίνους. Βιοσυνθετικά, προκύπτει από τη 4-υδροξυ-L-ισολευκίνη μέσω της αντίστοιχης λακτόνης (3-αμινο-4,5-διμεθυλο-3,4-διυδρο-2-φουρανόνη). Η σύνθεση αυτή έχει επιβεβαιωθεί και πειραματικά με οξειδωτική απαμίνωση [19].



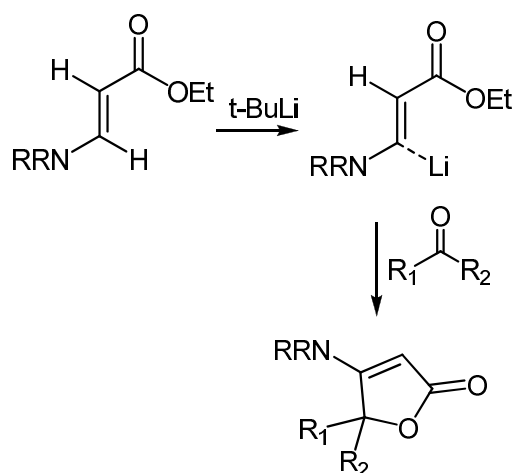
Σχήμα 5.6 Σύνθεση της Sotolone από την 4-υδροξυ-L-ισολευκίνη (HIL) ή από την αντίστοιχη αμινοφουρανόνη.

Την τελευταία δεκαετία παρατηρείται μία εντυπωσιακή δραστηριότητα όσον αφορά στην υποβολή πατεντών που σχετίζονται με τη σύνθεση και τις βιολογικές ιδιότητες αμινοφουρανονών. Η πλειοψηφία αυτών, αλλά και των υπολοίπων δημοσιεύσεων σχετικά με αμινοφουρανόνες αναφέρονται στις **4-αμινο-2-φουρανόνες**. Πρόσφατα, υποκατεστημένα παράγωγα αυτών των ενώσεων παρασκευάστηκαν από την Bayer Healthcare AG λόγω της πιθανής χρήσης τους για την πρόληψη ή θεραπεία ασθενειών, που σχετίζονται με ρετροϊούς σε ανθρώπους και ζώα (αντι-HIV-1) [20]. Ουρείδο παράγωγα 4-αμινοφουρανονών καθώς και άλατα αυτών έχουν υποβληθεί σε πατέντα από τη Roche Diagnostics, ως φαρμακευτικές ενώσεις και ιδίως ως αντικαρκινικά [21]. Μία πολύ πρόσφατη πατέντα (Μάιος 2011) συνδέει μία συγκεκριμένη ένωση αυτού του τύπου, την 4-[[[6-χλωροπυριδιν-3-υλο]μεθυλο](2,2-διφθοροαιθυλο)αμινο]-2-φουρανόνη με την εφαρμογή της για τον έλεγχο παρασίτων σε φυτά και ζώα, καθώς και εντόμων [22]. Τέλος, σε πρόσφατες πατέντες από τη Bayer Cropscience (2010), αναφέρεται πως η μεμονομένη ή συνδυαστική χρήση νέων 4-αμινοφουρανονών με γνωστά ενεργά συστατικά είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικά στον έλεγχο παρασίτων, μυκήτων και ανεπιθύμητων εντόμων [23,24].



Σχήμα 5.7 Προϊόντα από τις πατέντες της Bayer με: δράση κατά των παρασίτων (αριστερά) και δράση κατά ρετροϊών (HIV-1, δεξιά)

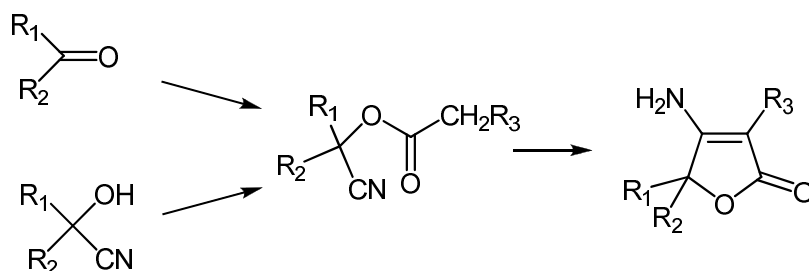
Εκτός από τις πατέντες, αρκετές εργασίες έχουν δημοσιευθεί σε έγκριτα περιοδικά που αφορούν στη σύνθεση και τις ιδιότητες των 4-αμινο-2-φουρανονών. Η πρώτη σύνθεση που συναντούμε στη βιβλιογραφία έχει ως συνθετικό στόχο τη 4-φαινυλαμινο-2-φουρανόνη, η οποία παρασκευάζεται από χλωροξικό αιθυλεστέρα και ανιλίνη [25]. Την επόμενη χρονιά (1978) παρουσιάζεται μία ολοκληρωμένη μέθοδος σύνθεσης 4-αμινο-2-φουρανονών μέσω αντίδρασης μεταξύ βινυλικών καρβανιόντων του λιθίου και αλδεϋδών ή εστέρων [26].



Σχήμα 5.8 Σύνθεση 4-αμινοφουρανονών μέσω καρβανιόντων.

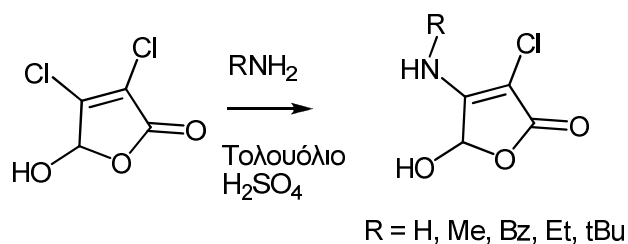
Μία αποτελεσματική μέθοδος σύνθεσης αυτών των παραγώγων σε δύο στάδια δημοσιεύτηκε το 1985 από τον Higama και συνεργάτες. Σύμφωνα με αυτήν, ένα ενδιάμεσο 2-ακυλοξυαλκανονιτρίλιο που έχει παρασκευαστεί από αντίδραση

ακυλίωσης της αρχικής κυανουδρίνης ή κυανίωσης της αντίστοιχης κετόνης, κυκλοποιείται με βασικές ή όξινες συνθήκες [27]. Αυτή η μέθοδος βρήκε εφαρμογή στη μελέτη και σύνθεση πολλών οπτικώς ενεργών 4-αμινο-2-φουρανωνών από τον Effenberger, ο οποίος την βελτιστοποίησε περαιτέρω [28,29].



Σχήμα 5.9 Σύνθεση 4-αμινο-2-φουρανωνών μέσω κυανουδρινών

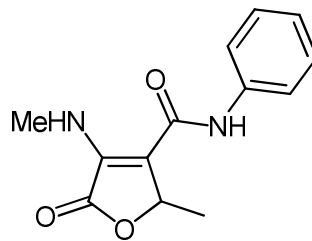
Πιθανότατα η πιο απλή σύνθεση αυτών των ενώσεων πραγματοποιείται με την απευθείας αντίδραση μεταξύ αμινών και των κατάλληλων φουρανωνών. Η μέθοδος πρωτοπαρουσιάστηκε βρίσκοντας εφαρμογή μόνο σε αλειφατικές αμίνες, καθώς βρέθηκε ότι δεν λάμβαναν χώρα οι αντιδράσεις παρουσία αρωματικών αμινών [30]. Λίγα χρόνια αργότερα, παρασκευάστηκαν και τα αντίστοιχα παράγωγα αρωματικών αμινών, με τελικά μόρια-στόχους τις 3-υποκατεστημένες-4-αμινο-2-φουρανόνες μέσω αντίδρασης Eschenmoser-Mannich [31]. Από 4-βρώμο ή 4-χλωρο-2-φουρανόνες είναι δυνατό να προκύψουν τα αντίστοιχα άμινο παράγωγα με υποκατάσταση [32]. Οι *N*-υποκατεστημένες αμινοφουρανόνες που παρασκευάστηκαν από μυκοχλωρικό ή μυκοβρωμικό οξύ επέδειξαν αξιόλογη αντιβακτηριδιακή δράση [33].



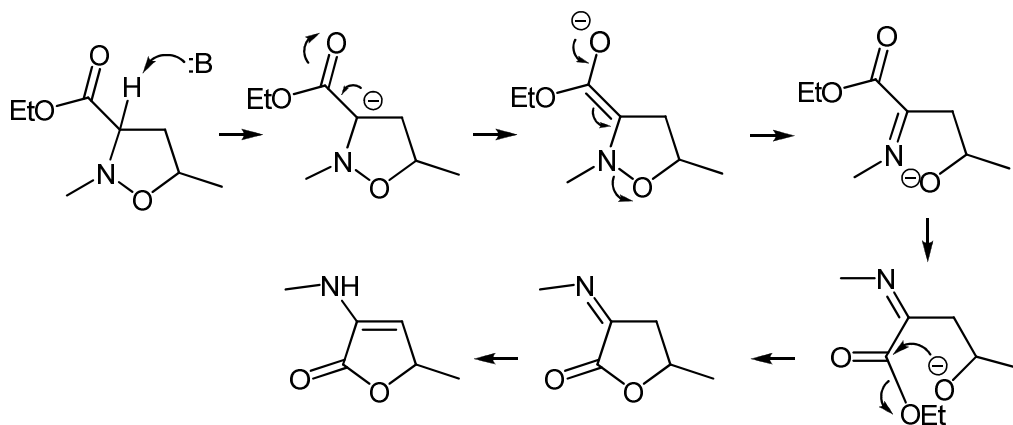
Σχήμα 5.10 Σύνθεση 4-αμινο-5-υδροξυ-2-φουρανωνών από μυκοχλωρικό οξύ

Τέλος, έχει παρατηρηθεί πως τα διανιόντα που προέρχονται από γ-αλλυλοξυ-β-εναμινοεστέρες σχηματίζουν παράγωγα γ-υδροξυ-β-εναμινοεστέρων. Τα τελευταία κυκλοποιούνται σε βασικές συνθήκες προς τις αντίστοιχες 4-αμινο-2-φουρανόνες [34].

Από το 2002 έχει αναπτυχθεί μία αποδοτική μέθοδος για τη σύνθεση υποκατεστημένων παραγώγων **3-αμινο-2-φουρανών** μέσω επίδρασης βάσης σε 3-αλκοξυκαρβόνυλο υποκατεστημένες ισοξαζολιδίνες. Η μέθοδος αυτή οδηγεί στη σύνθεση οπτικώς ενεργών προϊόντων [35]. Πολύ πρόσφατα (2010, 2011) δύο ακόμη μελέτες από την ίδια ερευνητική ομάδα δημοσιεύτηκαν τροποποιώντας και βελτιώνοντας τη μέθοδο σύνθεσης μέσω ισοξαζολιδινών [36,37]. Φουρανόνες αυτής της κλάσης έχουν εξεταστεί ως προς την ιδιότητά τους να αναστέλλουν την αντιγραφή του RNA του ιού της ηπατίτιδας C. Το καρβοξαμίδιο στο παρακάτω σχήμα (5.11) ήταν το πιο δραστικό και υποσχόμενο παράγωγο [38].

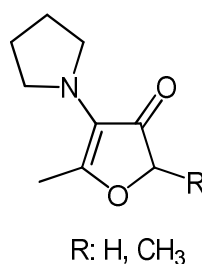


Σχήμα 5.11 Καρβοξαμίδιο 3-αμινο-2-φουρανόνης με δράση κατά του ιού της ηπατίτιδας τύπου C



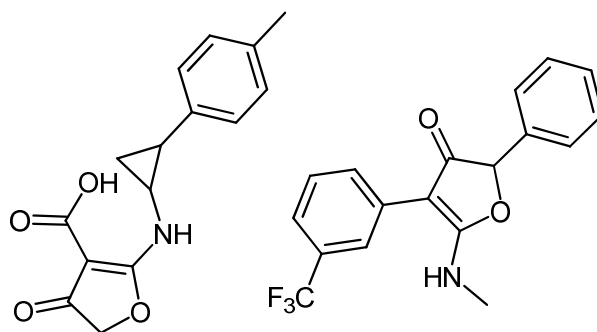
Σχήμα 5.12 Μηχανισμός μετατροπής ισοξαζολιδινών σε 3-αμινο-2-φουρανόνες.

Όσον αφορά στις **4-αμινο-3-φουρανόνες**, τα στοιχεία που υπάρχουν στη βιβλιογραφία είναι ιδιαίτερα περιορισμένα. Αξιοσημείωτη, είναι μία πατέντα της Amura Therapeutics που υποβλήθηκε το 2004 και αφορούσε 4-αμινο-3-φουρανόνες, που παρασκευάστηκαν ως αναστολείς της cruzirain (προϊόν του παρασίτου *Trypanosoma cruzi*) και άλλων πρωτεασών της κυστεΐνης για χρήση ως θεραπευτικοί παράγοντες [39]. Ακόμη, υποκατεστημένες στο άζωτο (ως πυρρολιδίνη) 4-αμινο-3-φουρανόνες, μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη βιομηχανία τροφίμων ως παράγοντες που δίνουν αίσθηση “φρεσκάδας”, όπως η μενθόλη [40].



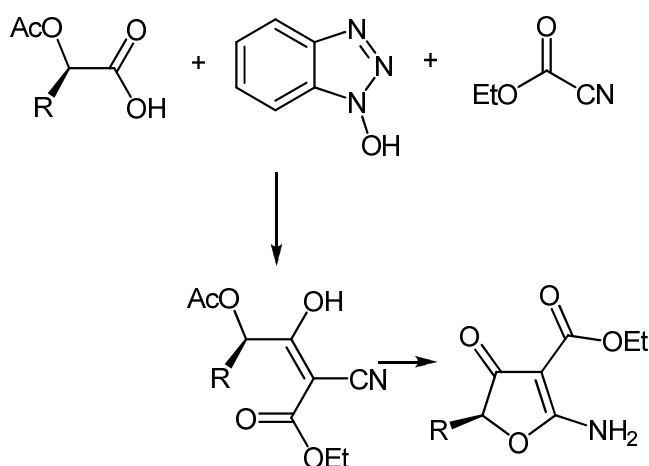
Σχήμα 5.13 4-Αμινο-3-φουρανόνες με δράση ανάλογη της μενθόλης.

Οι πρώτες ενώσεις που ανήκουν στην κλάση των **2-αμινο-4-φουρανονών** δημοσιεύτηκαν το 1962 από τους Spreziale και Smith και είναι 5-διυποκατεστημένες αμινο-2,2,4-τριχλωρο-3-φουρανόνες οι οποίες παρασκευάστηκαν από την αντίδραση μεταξύ οξαλυλοχλωριδίου και N,N-διαιθυλο-2-χλωροακεταμιδίου [41]. Η σύνθεση τριών ακόμη παραγώγων από τα αντίστοιχα τετρονικά έχει δημοσιευτεί από την ερευνητική ομάδα του Mulholland [42]. Πιο πρόσφατα (1988), μία βιβλιοθήκη παραγώγων 2-αμινο-4-φουρανονών παρασκευάστηκε με σκοπό τη δοκιμή τους ως αντιαλλεργικές ενώσεις. Η πιο δραστική ένωση έφερε καρβοξύλιο στη θέση 3 του ετεροκυκλικού δακτυλίου [43]. Όπως και σε άλλες τάξεις αμινοφουρανονών, παρόμοια και σε αυτές έχει επιδειχθεί αξιόλογη δραστικότητα στο πεδίο των παρασιτοκτόνων και μάλιστα με ικανοποιητική εκλεκτικότητα (flurtamone) [44,45].



Σχήμα 5.14 2-Υποκατεστημένη αμινοφουρανόνη με αξιόλογη αντιαλλεργική δραστηριότητα (αριστερά) και το γνωστό στη βιβλιογραφία παρασιτοκτόνο flurtamone (δεξιά).

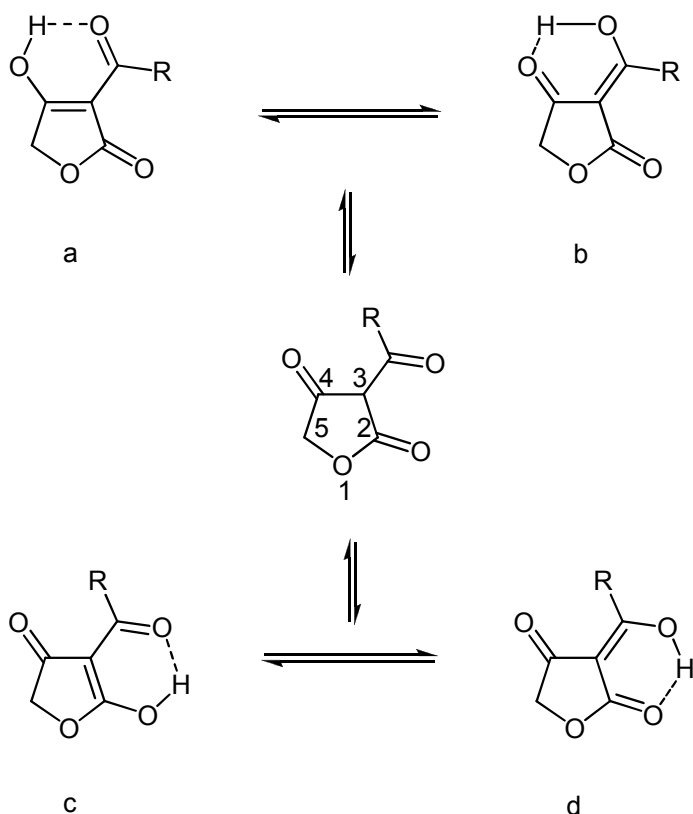
Στο εργαστήριο οργανικής χημείας του ΕΜΠ έχει δημοσιευτεί η πιο πρόσφατη (εξαιρείται η παρούσα εργασία) μέθοδος σύνθεσης αυτών των παραγώγων. Δημοσιεύτηκε το 2003 και αφορούσε μία βιβλιοθήκη προϊόντων που παρασκευάστηκαν σε ένα ή δύο μόλις στάδια από το κατάλληλο ακετυλιωμένο α-υδροξυοξύ και μία ένωση ενεργού μεθυλενίου, όπως το μαλονονιτρίλιο και ο κυανοξικός αιθυλεστέρας. Η αντίδραση πραγματοποιείται μέσω των εστέρων του Ν-υδροξυβενζολίου ή του υδροξυηλεκτριμιδίου ως ακυλιωτικό μέσο, οι αποδόσεις είναι ικανοποιητικές και τα προϊόντα οπτικά ενεργά, αν και δεν υπολογίστηκε η εναντιομερική περίσσεια [46].



Σχήμα 5.15 Παράδειγμα σύνθεσης 2-αμινο-4-φουρανόνης με τη μέθοδο του HOBt

5.3 Τετρονικά οξέα

Τα τετρονικά οξέα (4-υδροξυ-[5H]-φουρανόνες) αποτελούν μία ιδιαίτερα σημαντική τάξη ετεροκυκλικών ενώσεων οξυγόνου. Ανήκουν στην κατηγορία των γ-λακτονών και εμφανίζουν πολλά κοινά χαρακτηριστικά με τις κυκλικές 1,3-δικετόνες, καθώς συγκαταλέγονται στα β-δικαρβονυλικά συστήματα. Έχουν όμως ιδιαίτερες ιδιότητες φυσικές, χημικές και βιολογικές, ειδικά στην περίπτωση των υποκατεστημένων τετρονικών στη θέση 3 με κάποια καρβονυλική ομάδα, οπότε και συγκαταλέγονται στα β,β'-τρικαρβονυλικά συστήματα.



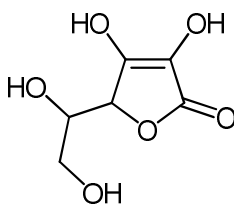
Σχήμα 5.16 Ταυτομερείς μορφές των 3-ακυλοτετρονικών οξέων και η αρίθμηση του ετεροκυκλικού δακτυλίου

Όπως και στην περίπτωση των 3-ακυλοτετραμικών οξέων (βλ. μέρος 1, κεφ. 1), παρόμοια και τα 3-ακυλοτετρονικά οξέα έχει δειχθεί ότι εμφανίζουν τέσσερις

ταυτομερείς μορφές. Πρόσφατες θεωρητικές μελέτες [47,48] βοήθησαν στην πλήρη ταυτοποίηση των ταυτομερών βάσει NMR και IR. Η “εσωτερική” ισορροπία ($\mathbf{a} \rightleftharpoons \mathbf{b}$ και $\mathbf{c} \rightleftharpoons \mathbf{d}$) είναι τόσο γρήγορη σε θερμοκρασία δωματίου, ώστε να είναι μη ανιχνεύσιμη από το NMR. Τα δύο σήματα ανά τύπο υδρογόνου που παρατηρούνται, προκαλούνται από την “εξωτερική” ισορροπία $\mathbf{a}, \mathbf{b} \rightleftharpoons \mathbf{c}, \mathbf{d}$. Στη στερεά φάση, βάσει κρυσταλλογραφίας ακτίνων Χ, μόνο ένα από τα τέσσερα πιθανά ταυτομερή παρατηρείται.

Τα παράγωγα αυτά ονομάστηκαν οξέα, λόγω του όξινου χαρακτήρα τους (pK_a 3.76) [49]. Ακόμη, είναι πολικές ενώσεις (ανάλογα φυσικά και τους υποκαταστάτες), στερεές και εμφανίζουν υψηλά σημεία τήξης.

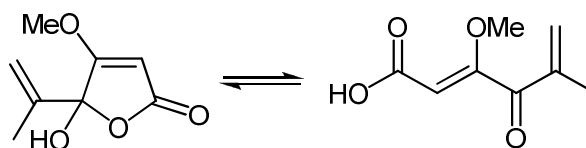
Ο δακτύλιος του τετρονικού οξέος απαντά σε ένα μεγάλο αριθμό φυσικών προϊόντων που παρουσιάζουν σημαντικές βιολογικές ιδιότητες. Τα πιο γνωστά και σημαντικά παράγωγα τετρονικού οξέος είναι η βιταμίνη C (**ασκορβικό οξύ**) και το **πενικιλλικό οξύ**. Το ασκορβικό οξύ απομονώθηκε πρώτη φορά τη δεκαετία του '30 [50]. Όπως είναι γνωστό, είναι συστατικό πολλών λαχανικών και φρούτων, όπως οι φράουλες, τα πορτοκάλια, τα λεμόνια και οι πιπεριές. Η αξία του είναι γνωστή εδώ και αιώνες, ως αντιοξειδωτικό, ενώ έλλειψή του οδηγεί σε σκορβούτο.



Σχήμα 5.17 Η βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ).

Το **πενικιλλικό οξύ** (penicillic acid), ένα αντιβιοτικό, απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1913 από τους Alsberg και Black [51] από το μύκητα *Penicillium puberulum*. Μεταγενέστερα, απομονώθηκε με καλύτερες αποδόσεις και από το μύκητα *Penicillium cyclopium* από τους Oxford και Raistrick [52]. Χαρακτηριστικό της ένωσης όσον αφορά στη δομή της είναι η πλευρική ισοπροπυλίδενο αλυσίδα, μια ομάδα που εμφανίζεται σπάνια σε φυσικά προϊόντα. Η ένωση αυτή απαντά ως μίγμα

ταυτομερών του τετρονικού οξέος και του αντίστοιχου ανοικτού παραγώγου. Σε υδατικό διάλυμα παρατηρείται σχεδόν αποκλειστικά το κυκλικό ταυτομερές. Μαζί με το ασκορβικό οξύ είναι το πιο διαδεδομένο και χρησιμοποιούμενο τετρονικό οξύ. Η βιοσύνθεσή του έχει μελετηθεί εκτεταμένα [53], ενώ πρώτη φορά παρασκευάστηκε το 1947 από τον R. A. Raphael [54].

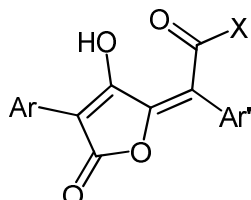


Σχήμα 5.18 Ταυτομερείς μορφές του penicillanic acid.

Εκτός από αυτά τα δύο ευρέως γνωστά τετρονικά οξέα, υπάρχει ένας τεράστιος αριθμός φυσικών προϊόντων που περιέχουν το δακτύλιο του τετρονικού οξέος. Βρίσκονται παντού στη φύση: σε σπόγγους, μύκητες, λειχήνες, καθώς και σε ανώτερα φυτά. Τα περισσότερα από αυτά εμφανίζουν αξιόλογες βιολογικές δράσεις, όπως αντιβιοτικές, αντικαρκινικές, αντιμυκητιασικές, αντιφλεγμονώδεις, αναλγητικές και άλλες. Στη συνέχεια θα αναφερθούμε σε ορισμένα παραδείγματα, επιλεγμένα με βάση τη γνωστή μέχρι σήμερα βιολογική τους αξία. Η κατηγοριοποίηση που ακολουθείται είναι με βάση την υποκατάσταση στη θέση 5 του πενταμελούς δακτυλίου [55].

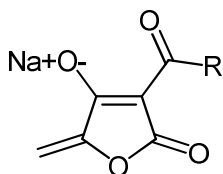
Στην κατηγορία των **5-υλίδενο τετρονικών οξέων** τα πιο χαρακτηριστικά φυσικά προϊόντα είναι το **pulvinic acid**, το **vulpinic acid**, καθώς και ενώσεις με παρόμοιες με αυτά δομές. Οι ενώσεις αυτές, φέρουν έναν υποκατεστημένο αρωματικό δακτύλιο στη θέση C-3 και μία καρβοξυλοαρυλίδενο ομάδα στη θέση C-5 του δακτυλίου. Διαφέρουν μεταξύ τους από τη φύση των άρυλο ομάδων, που είναι συχνά υδροξυλιωμένες. Ορισμένα παράγωγα αυτής της οικογένειας, όπως το vulpinic acid έχουν εστερική ομάδα αντί καρβοξυλίου. Το pulvinic acid απομονώθηκε πρώτη φορά από φυσική πηγή (από τις λειχήνες του γένους *Sticta coronata*) το 1952 [56]. Το vulpinic acid, αντίθετα, είναι γνωστό από τον 19^ο αιώνα, Χάρη στις μελέτες του

Spiegel που αποτίμησε τη δομή του το 1883 [57] και του Vollhardt, που πραγματοποίησε την πρώτη ολική σύνθεση του vulpinic acid, καθώς και του vulvinic acid [58], ακόμη κι αν το δεύτερο δεν είχε ακόμη απομονωθεί. Από τότε, πάνω από 20 συνθέσεις έχουν δημοσιευθεί για αυτά τα παράγωγα [59-65].



Σχήμα 5.19 Γενικός συντακτικός τύπος της οικογένειας των vulpinic acids (X=OH) και vulvinic acids (X=OMe)

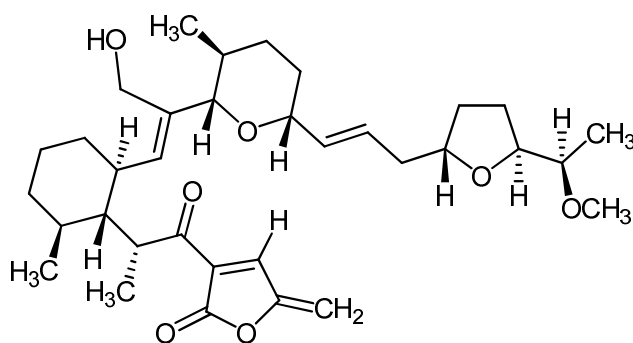
Το 1989 απομονώθηκε μία ομάδα τεσσάρων αντιβιοτικών με όξινο χαρακτήρα, οι **agglomerins A-D** από βακτήρια του γένους *Enterobacter agglomerans* PB-6042 [66]. Ένα χρόνο αργότερα από τους ίδιους ερευνητές, προσδιορίστηκε η δομή αυτών των ενώσεων, οι οποίες είναι 3-ακυλο-5-αιθυλιδενοτετρονικά οξέα. Αυτά τα σχετικά απλά φυσικά προϊόντα συντέθηκαν ολικά σχεδόν αμέσως μετά την ανακάλυψή τους από την ερευνητική ομάδα του S. V. Ley [67]. Το 2005 δημοσιεύτηκε μία ενδιαφέρουσα συνθετική προσέγγιση σε στερεά φάση και σε διάλυμα προς τις agglomerins A-C. Η πορεία ολοκληρώνεται 7 στάδια από προστατευμένο γλυκερικό οξύ [68]. Όπως φαίνεται και το παρακάτω σχήμα (5.20) οι ενώσεις αυτές διαφέρουν στην ανθρακική αλυσίδα της 3-άκυλο ομάδας.



Agglomerin A: R = CH₂(CH₂)₇Me
Agglomerin B: R = CH₂(CH₂)₂CH=CH(CH₂)₅Me
Agglomerin C: R = CH₂(CH₂)₉Me
Agglomerin D: R = CH₂(CH₂)₃CH=CH(CH₂)₆Me

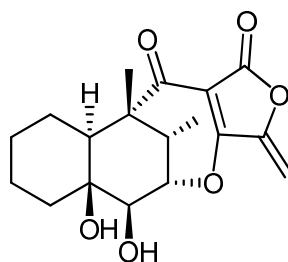
Σχήμα 5.20 Agglomerins A-D

Στις αρχές της δεκαετίας του '80 ανακαλύφθηκε από τη Sandoz Ltd. ένα αντιβιοτικό με αξιόλογη δραστικότητα έναντι των θετικών κατά Gram βακτηρίων, η **tetronomycin**, η οποία απομονώθηκε από στελέχη του μύκητα *Streptomyces* sp. Nov. που συλλέχθηκαν στην περιοχή του Berkeley στην Καλιφόρνια. Η tetronomycin, με μοριακό τύπο $C_{34}H_{50}O_8$, είναι δομικά ένας πολυκυκλικός πολυαιθέρας. Η ιονοφόρος αυτή ένωση αποτελεί τον πρώτο μεταβολικό πολυαιθέρα που περιέχει μία ομάδα τετρονικού οξέος αντί για ομάδα καρβοξυλίου [69]. Η πρώτη ολική σύνθεση δημοσιεύθηκε το 1992 από τον Yoshii και η συνθετική πορεία που ακολουθήθηκε για τη σύνθεση αυτής της ιδιαίτερα περίπλοκης ένωσης, η οποία φέρει δέκα ασύμμετρα κέντρα άνθρακα είναι μία από τις πιο μακροσκελείς και εντυπωσιακές συνθέσεις φυσικών προϊόντων [70].



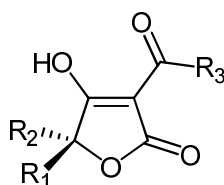
Σχήμα 5.21 Tetronomycin

Η **tetrodecamycin** απομονώθηκε το 1994 από το μύκητα *Streptomyces nashvillensis* MJ885-mF8. Αυτό το τετρονικό οξύ, το οποίο έχει ενδιαφέρουσα και ασυνήθιστη μοριακή δομή, παρουσιάζει αξιόλογη αντιμικροβιακή αντιβιοτική δράση ειδικά έναντι της *Pasteurella piscicida*. Η τελευταία, είναι ευρέως γνωστή ως υπεύθυνη για τη ψευδοφυματίωση σε καλλιεργημένα ψάρια [71,72]. Βιολογικές μελέτες σε ανάλογες ενώσεις της tetrodecamycin, έδειξαν ικανοποιητική αντιβακτηριδιακή και αντικαρκινική δραστικότητα [73]. Η πρώτη ολική εναντιοεκλεκτική σύνθεση της tetrodecamycin δημοσιεύτηκε από τους Tatsuta και συνεργάτες το 2006 [74].



Σχήμα 5.22 Tetrodecamycin

Στην τάξη των **5-μονοϋποκατεστημένων τετρονικών οξέων** τα πιο αξιόλογα και ευρέως γνωστά είναι τα **carolic**, **carolinic**, **carlic**, **carlosic** και **viridatic acids**. Οι τρεις πρώτες αντιπροσωπευτικές ενώσεις αυτής της κατηγορίας απομονώθηκαν από το *Penicillium charlesii* και μελετήθηκαν από τον P. W. Clutterbuck τη δεκαετία του '30 [75-77]. Το carlosic acid είναι ενδιάμεση ένωση στη βιοσύνθεση του penicillic acid. Για τις ενώσεις αυτές, λόγω και των σχετικά απλών δομών τους έχουν παρουσιαστεί πολλές συνθετικές μέθοδοι [78-81], ωστόσο, η πρώτη ολική σύνθεση του (±)-carolinic acid δημοσιεύτηκε το 1956 [82] και η πρώτη εναντιοεκλεκτική σύνθεση του (S)-carlosic acid το 1974 [83].

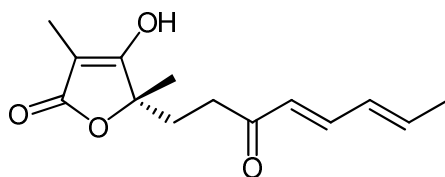


Carolic acid:	R1 = H, R2 = Me, R3 = CH ₂ (CH ₂) ₂ OH
Carolinic acid:	R1 = H, R2 = Me, R3 = CH ₂ CH ₂ COOH
Carlic acid:	R1 = CH ₂ COOH, R2 = H, R3 = CH ₂ (CH ₂) ₂ OH
Carlosic acid:	R1 = CH ₂ COOH, R2 = H, R3 = CH ₂ CH ₂ Me
Viridatic acid:	R1 = CH ₂ COOH, R2 = H, R3 = CH ₂ (CH ₂) ₃ Me

Σχήμα 5.23 5-μονοϋποκατεστημένα τετρονικά οξέα

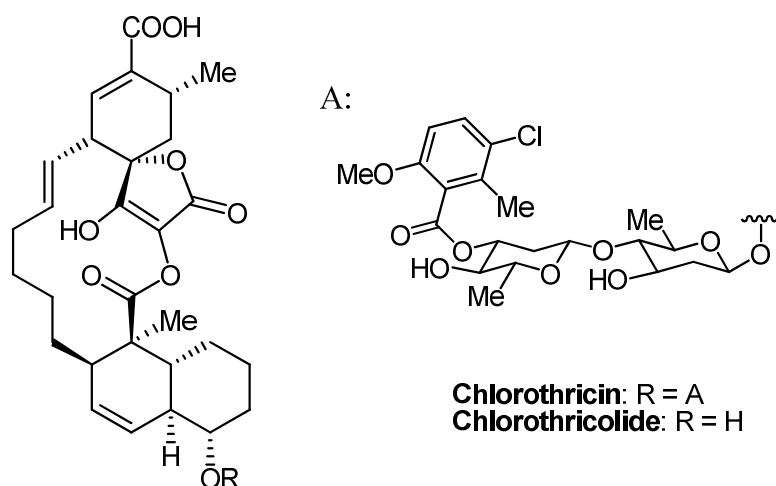
Χαρακτηριστικό παράδειγμα **5-διϋποκατεστημένου τετρονικού οξέος** αποτελεί το (-)-**vertinolide**, το οποίο είναι ένας μεταβολίτης που απομονώθηκε από το μύκητα *Verticillium intertextum* το 1982 [84]. Η πρώτη ολική σύνθεση έλαβε χώρα μόλις το 1983 από τους Wrobel και Ganem [85] και από τότε έχουν δημοσιευθεί πολλές

ολικές συνθέσεις αυτού του μορίου [86,87], μεταξύ αυτών και μία σχετικά πρόσφατη, που κάνει χρήση μίας λιπάσης για την ασύμμετρη σύνθεση του (-)-vertinolide [88]. Εκτός από το vertinolide, αρκετά πλήρως υποκατεστημένα τετρονικά οξέα που φέρουν τεταρτοταγή άνθρακα στη θέση 5 του τετρονικού δακτυλίου έχουν δημοσιευθεί, όπως τα: **isogregatin B** [89], **isoaspertetronin A** [90], **(S)-gregatin B** [91], **gregatin A** [92], **graminin A** [93] και **(-)-ircinianin** [94].



Σχήμα 5.24 (-)-Vertinolide

Τα παράγωγα τετρονικών οξέων, των οποίων το άτομο άνθρακα της θέσης 5 του δακτυλίου ανήκει και σε ένα δεύτερο δακτύλιο, καλούνται **5-σπιροτετρονικά οξέα**. Αυτές οι ενώσεις με την ιδιαίτερη και πολύπλοκη δομή εμφανίζουν αξιόλογες βιολογικές δραστηριότητες. Ο πρώτος εκπρόσωπος αυτής της τάξης, η **chlorothricin**, απομονώθηκε το 1969 από τον *Streptomyces antibioticus* και είναι ενεργός έναντι θετικών κατά Gram βακτηρίων [95]. Σε αντίθεση με τις περισσότερα μακρολιδικά αντιβιοτικά, τα οποία γενικά λειτουργούν αναστέλλοντας την πρωτεϊνοσύνθεση, η chlorothricin δρα ως ανταγωνιστής του ακέτυλο συνενζύμου A αναστέλλοντας την καταλυόμενη αντίδραση από τη καρβοξυλάση του πυροσταφλικού [96]. Το άγλυκο τμήμα αυτού του μορίου, γνωστό ως **chlorothricolide** στη μορφή του ως μεθυλεστέρα διατηρεί σε ένα βαθμό αυτήν την αντιβιοτική δραστηριότητα, αν και σε υψηλότερες συγκεντρώσεις. Η chlorothricolide, αν και περίπλοκο δομικά μακρολίδιο, έχει παρασκευαστεί ήδη από το 1979 μέσω μίας πορείας 14 σταδίων από ταρταρικό οξύ [97].



Σχήμα 5.25 Χαρακτηριστική δομή 5-σπιροτετρονικού οξέος

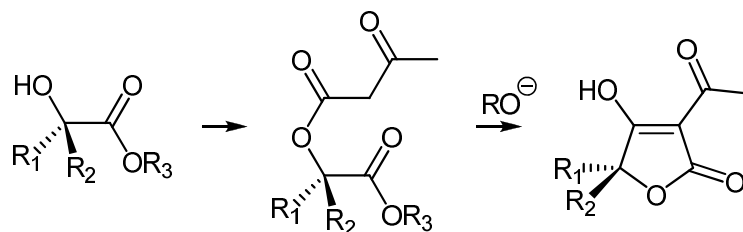
Παρόμοιες δομές με τα παραπάνω μόρια εμφανίζουν τα φυσικά προϊόντα **(+)-tetronolide**, **kijanolid** [98,99] και **kijanimicin** [100]. Οι δύο πρώτες απομονώθηκαν από καλλιέργεια *Micromonospora chalicea* KY 11091 και η τελευταία από τα βακτήρια *Actinomadura kijaniata*.

Τέλος, στην τάξη των **5-μη υποκατεστημένων τετρονικών οξέων** το μόνο ίσως άξιο λόγου φυσικό προϊόν είναι η **tetronasin**, η οποία αν εξαιρέσουμε τη θέση 5 του δακτυλίου έχει σχεδόν ταυτόσημη δομή με τη tetronomycin στην οποία αναφερθήκαμε προηγουμένως. Οι ομοιότητες δεν αφορούν μόνο τη δομή. Η tetronasin ανακαλύφθηκε την ίδια εποχή (1984) από επιστήμονες της ICI από παρόμοια στελέχη στρεπτομυκητών. Ενδιαφέρον έχει το γεγονός ότι τα δέκα (κοινά) χειρικά κέντρα έχουν ακριβώς την αντίθετη διαμόρφωση. Η tetronasin έχει αναφερθεί πως προωθεί την ανάπτυξη σε βοοειδή πιο αποτελεσματικά από τα υπάρχοντα ιονοφόρα [101]. Η ολική σύνθεση αυτού του φυσικού προϊόντος παρουσιάστηκε το 1993 επίσης από την ερευνητική ομάδα του Yoshii [102].

Από τα παραπάνω, συμπεραίνεται εύκολα πως τα τετρονικά οξέα είναι πολύ σημαντικά ετεροκυκλικά παράγωγα. Το γεγονός αυτό, έχει παρακινήσει τους χημικούς στην ανάπτυξη πολλών συνθετικών μεθόδων για την παρασκευή και τη μελέτη τους [103,104].

Η πιο ευρέως γνωστή μεθοδολογία σύνθεσης τετρονικών οξέων βασίζεται στη **καταλυόμενη από βάση κυκλοποίηση Dieckmann**. Χαρακτηριστικό παράδειγμα

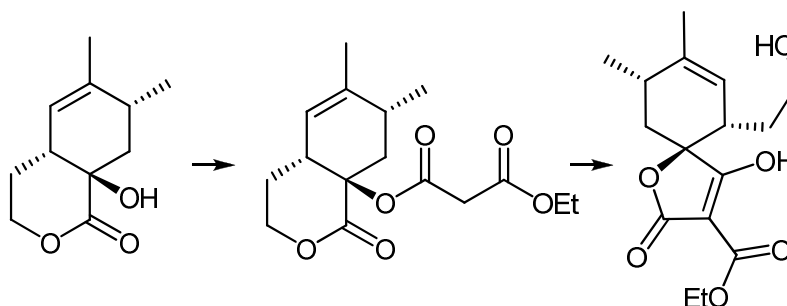
αποτελεί η κλασική πορεία του Lacey, κατά την οποία πραγματοποιείται κυκλοποίηση των ακετοξικών παραγώγων α-υδροξυεστέρων παρουσία αλκοξειδίου του νατρίου σε αλκοολικό διάλυμα ή νατρίου σε τολουόλιο [105].



Σχήμα 5.26 Σύνθεση τετρονικών οξέων με κυκλοποίηση Lacey-Dieckmann.

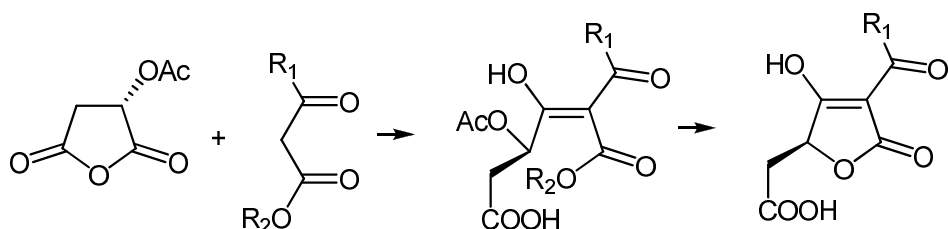
Έκτοτε, οπτικώς ενεργά τετρονικά οξέα έχουν παρασκευαστεί από οπτικώς ενεργές πρώτες ύλες, όπως τα υδροξυοξέα (*S*)-γαλακτικό οξύ, (*S*)-αμυγδαλικό οξύ και (*R,R*)-ταρταρικό οξύ [106-110].

Με αυτήν τη μέθοδο, έχουν συντεθεί όχι μόνο απλές δομές τετρονικών οξέων, αλλά και πιο περίπλοκες, όπως το φυσικό προϊόν tetronasin στη συνθετική πορεία του Yoshii [102]. Ένα ακόμη παράδειγμα εφαρμογής της κυκλοποίησης Dieckmann είναι η σύνθεση 5-σπιροτετρονικών οξέων. Στη σύνθεση που παρίσταται στο παρακάτω σχήμα (5.27) αρχικό αντιδρών είναι μία λακτόνη, η οποία ακυλιώνεται από τον αιθυλεστέρα του χλωριδίου του μηλονικού οξέος και στη συνέχεια η ένωση που προκύπτει κυκλοποιείται προς το επιθυμητό τετρονικό οξύ. Ενδιαφέρον είναι το γεγονός, πως η κυκλοποίηση είναι εφικτή μόνο με τη χρήση KHMDS ως βάση [111].



Σχήμα 5.27 Σύνθεση 5-σπιροτετρονικού οξέος με κυκλοποίηση κατά Dieckmann

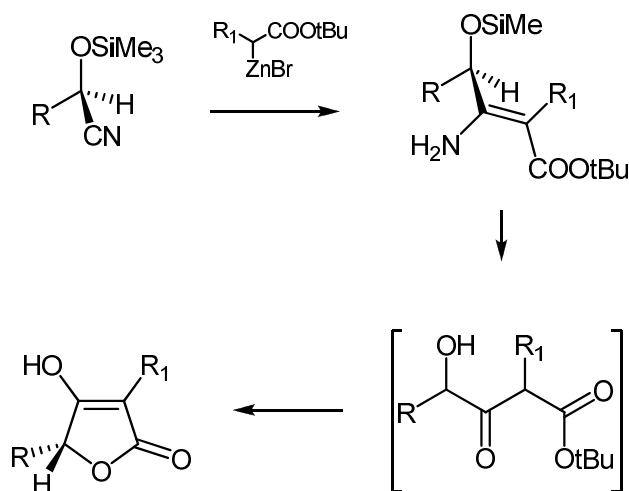
Πολλές μελέτες έχουν δημοσιευτεί πάνω στη σύνθεση τετρονικών οξέων μέσω **κυκλοποίησης γ-υδρόξυ ή γ-σιλυλόξυ β-κετοεστέρων**. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η μέθοδος που έχει αναπτυχθεί στο εργαστήριο οργανικής χημείας στο ΕΜΠ, η οποία αναφέρεται στη βιβλιογραφία ως μέθοδος της ερευνητικής ομάδας Μαρκοπούλου (Markopoulou group) και οδηγεί σε οπτικώς ενεργά παράγωγα. Αντιπροσωπευτικές συνθέσεις αυτής μεθόδου είναι η σύνθεση τετρονικών οξέων μέσω τοποεκλεκτικής διάνοιξης του δακτυλίου του ανυδρίτη του μηλικού οξέος [80], μέσω ηλεκτριμιδοεστέρων των κατάλληλων α-υδροξυοξέων [112], καθώς και με τη χρήση HOBt για την ενεργοποίηση του καρβοξυλίου του α-υδροξυοξέος [113].



Σχήμα 5.28 Σύνθεση 3-ακυλο-5-καρβοξυμεθυλοτετρονικών οξέων από τον ανυδρίτη του (S)-μηλικού οξέος

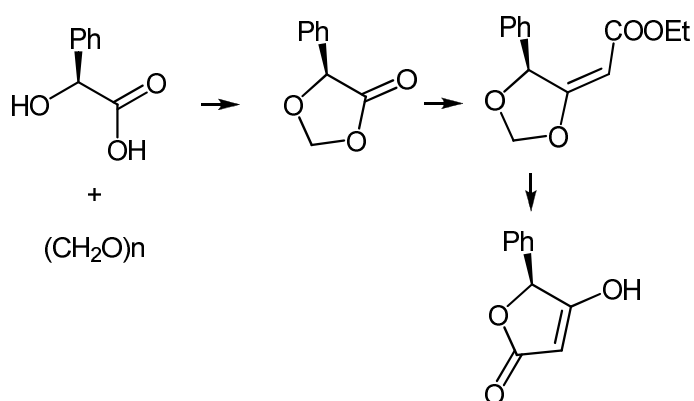
Ακόμη, οπτικώς ενεργά τετρονικά οξέα έχουν παρασκευαστεί μέσω της **αντίδρασης Blaise** από οπτικώς ενεργές κυανοδρίνες. Σε μία από αυτές τις συνθέσεις, η αντίδραση Blaise πραγματοποιείται σε O-προστατευμένες οπτικώς ενεργές κυανοδρίνες από τριφθοροακεταλδεΐδη [114]. Στη συνέχεια, υπό την επίδραση οξέος, προκύπτουν τα αντίστοιχα τριφθορομεθυλοτετρονικά οξέα. Η πιο χαρακτηριστική, πιθανότατα, μελέτη αυτής της μεθόδου είναι των Effenberger και Syed [115], στην οποία συντίθενται τόσο απλά οπτικώς ενεργά τετρονικά, όσο πιο συνθετες δομές με βιολογικό ενδιαφέρον.

Σύνθεση σε Στερεά Φάση



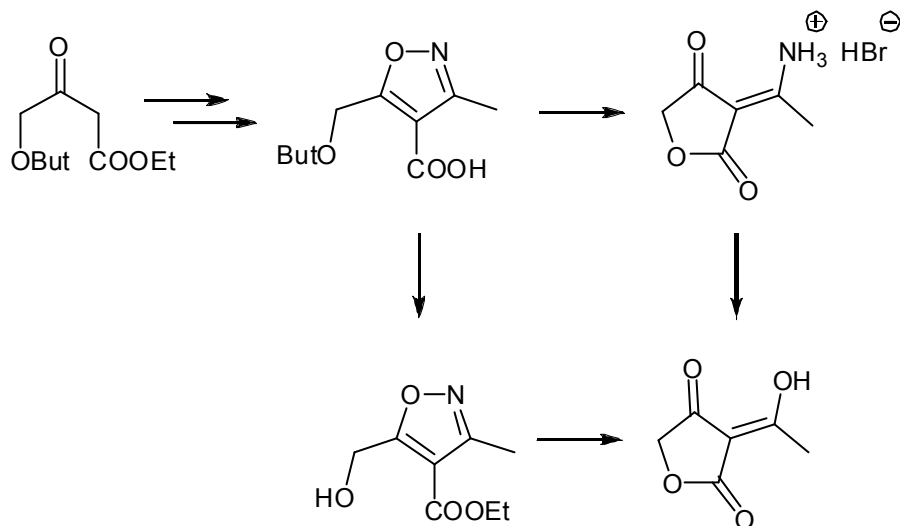
Σχήμα 5.29 Σύνθεση οπτικώς ενεργών τετρονικών οξέων με χρήση της αντίδρασης Blaise.

Αξιόλογες μέθοδοι σύνθεσης τετρονικών οξέων έχουν δημοσιευθεί έχοντας ως **πρώτη ύλη άλλες ετεροκυκλικές ενώσεις**. Οι οπτικώς ενεργές 2-διοξολανόνες είναι χρήσιμες ενδιάμεσες ενώσεις για τη σύνθεση 2-φουρανονών. Αυτά τα ενδιάμεσα παρασκευάζονται εύκολα από α-υδροξυοξέα και αλδεΐδες. Στη συνέχεια, με μία απλή αντίδραση Wittig μετατρέπονται στους αντίστοιχους α,β-ακόρεστους εστέρες, οι οποίοι κυκλοποιούνται υπό όξινες συνθήκες με μία αντίδραση μετάθεσης [116].



Σχήμα 5.30 Σύνθεση τετρονικών οξέων μέσω 2-διοξολανονών

Μία ετεροκυκλική ένωση που έχει χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για τη σύνθεση 3-ακυλοτετρονικών οξέων, είναι οι ισοξαζόλες. Οι τελευταίες μπορούν να θεωρηθούν σαν “μεταμφιεσμένες” 1,3-δικαρβονυλικές ενώσεις. Η χρήση των ισοξαζολών, δίνει



Σχήμα 5.31 Μέθοδος Jones για τη σύνθεση 3-ακυλοτετρονικών οξέων μέσω ισοξαζολών

τη δυνατότητα του εύκολου χειρισμού των ενδιάμεσων ενώσεων, καθώς είναι άπολες. Η μέθοδος αυτή έχει χρησιμοποιηθεί και στη σύνθεση των αντίστοιχων εξαμελών ετεροκυκλικών δακτυλίων.

Τέλος, τα τετρονικά οξέα μπορούν να παρασκευαστούν [117] με προσθήκη δευτεροταγών αμινών ή αλκοολών σε α,β-ακετυλενικά γ-υδροξυοξέα και υδρόλυση των προϊόντων. Η μέθοδος αυτή έχει βρει εφαρμογή και στη σύνθεση αντίστοιχων με τετρονικά οξέα εξαμελών λακτονών και περιορίζεται μόνο από τη διαθεσιμότητα των γ-υδροξυοξέων που προαναφέρθηκαν. Με αυτήν τη μεθοδολογία έχει παρασκευαστεί αξιόπιστα, μεταξύ άλλων, το πενικιλικό οξύ [118].

6

Σύνθεση 2-αμινοφουρανονών και τετρονικών οξέων

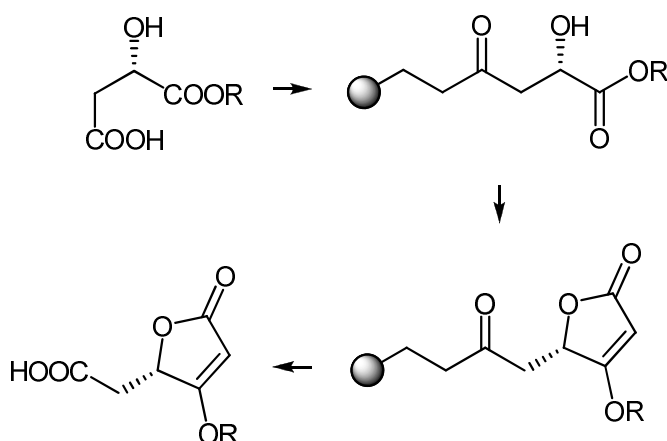
6.1 Εισαγωγή

Στο προηγούμενο κεφάλαιο εκτέθηκαν οι ιδιότητες και οι εφαρμογές των 2-αμινοφουρανονών και των τετρονικών οξέων, καθώς και ορισμένα από τα σημαντικότερα φυσικά προϊόντα που περιέχουν αυτόν το δακτύλιο. Στη συνέχεια αναφέρθηκαν οι βασικές συνθέσεις τους που έχουν δημοσιευθεί στη διεθνή βιβλιογραφία. Με δεδομένα τα σημαντικά πλεονεκτήματα των μεθόδων σύνθεσης σε στερεά φάση (Κεφ. 1.1), προκαλεί έκπληξη το γεγονός πως οι συνθετικές πορείες προς αυτά τα παράγωγα σε ρητίνη είναι εξαιρετικά περιορισμένες.

Συγκεκριμένα, σύνθεση σε στερεά φάση 2-αμινοφουρανονών δεν έχει δημοσιευθεί. Μάλιστα, στο βαθμό που γνωρίζουμε βάσει έγκυρων βάσεων δεδομένων, δεν υπάρχει τέτοια μεθοδολογία γενικά για αμινοφουρανόνες. Όσον αφορά στα τετρονικά οξέα, υπάρχουν μόλις τρεις δημοσιεύσεις μελετών σύνθεσης σε στερεό υπόστρωμα. Αυτό το κενό που παρατηρήσαμε στη διεθνή βιβλιογραφία επιχειρήσαμε να το καλύψουμε σε ένα βαθμό, αφού η μέθοδος που αναπτύχθηκε είναι επαρκώς αποδοτική και ευρείας χρήσης. Προτού προχωρήσουμε στην εμπειριστατωμένη και εκ βαθέων ανάλυση της συνθετικής μας μεθοδολογίας και των αποτελεσμάτων, θα αναφέρουμε εν συντομία τις τρεις προαναφερθείσες συνθέσεις που έχουν παρουσιαστεί έως σήμερα.

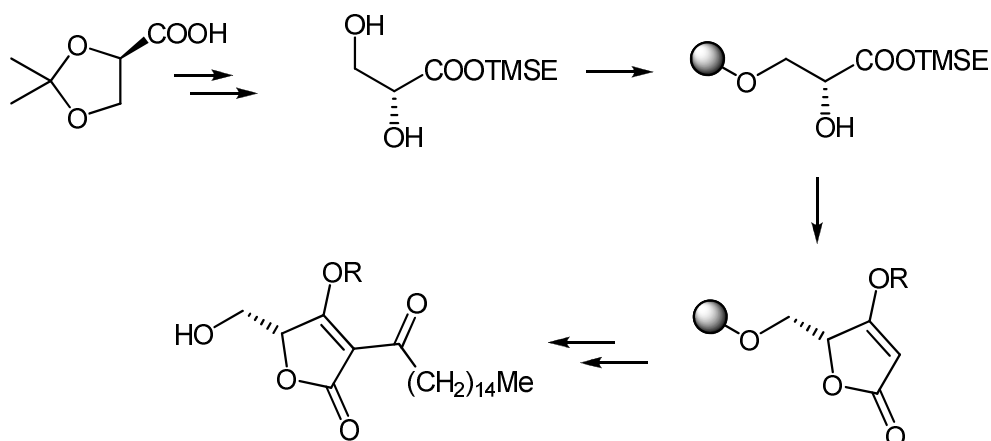
Η πρώτη από τις ούτως ή άλλως πολύ πρόσφατες συνθετικές πορείες σε στερεά φάση δημοσιεύτηκε το 2005 από τον R. Schobert και αφορά στην παρασκευή του carlosic acid και αναλόγων του [79]. Η σύνθεση ολοκληρώνεται σε τρία στάδια, ξεκινώντας από εστέρες του μηλικού οξέος με τη χρήση ρητίνης Wang. Τυπικά για μεθοδολογία του είδους, στα τρία στάδια γίνεται διαδοχικά πρόσδεση στο στερεό υπόστρωμα, κυκλοποίηση και αποκοπή από τη ρητίνη.

Σύνθεση σε Στερεά Φάση



Σχήμα 6.1 Σύνθεση σε στερεά φάση του carlosic acid

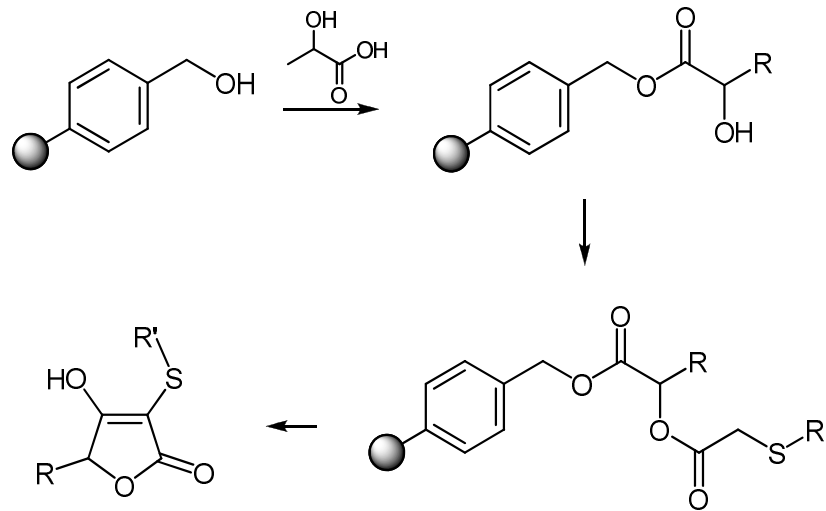
Το ίδιο έτος, η ερευνητική ομάδα του Schobert πάλι [119], παρουσίασε τη σύνθεση σε στερεά φάση του φυσικού προϊόντος RK-682. Η συνθετική προσέγγιση είναι σαφώς πιο περίπλοκη από την προηγούμενη και ολοκληρώνεται σε επτά στάδια από το ακετονίδιο του γλυκερικού οξέος (τρία τα στάδια στα οποία υπάρχει η παρουσία της ρητίνης). Η ρητίνη που χρησιμοποιήθηκε σε αυτήν την περίπτωση είναι πολυστυρολίου με χλωροτρίτυλο συνδέτη.



Σχήμα 6.2 Σύνθεση σε στερεά φάση του RK-682

Τέλος, η πιο πρόσφατη σύνθεση τετρονικών οξέων σε στερεό υπόστρωμα, παρουσιάστηκε το 2006 από τους Schmidt και Larbig [120] και αφορά στη σύνθεση βιβλιοθήκης τετρονικών (και τετραμικών) οξέων ως αναστολείς της β-σεκρετάσης.

Τα προϊόντα είναι τετρονικά οξέα χαμηλού μοριακού βάρους και συντίθενται σε τρία στάδια.

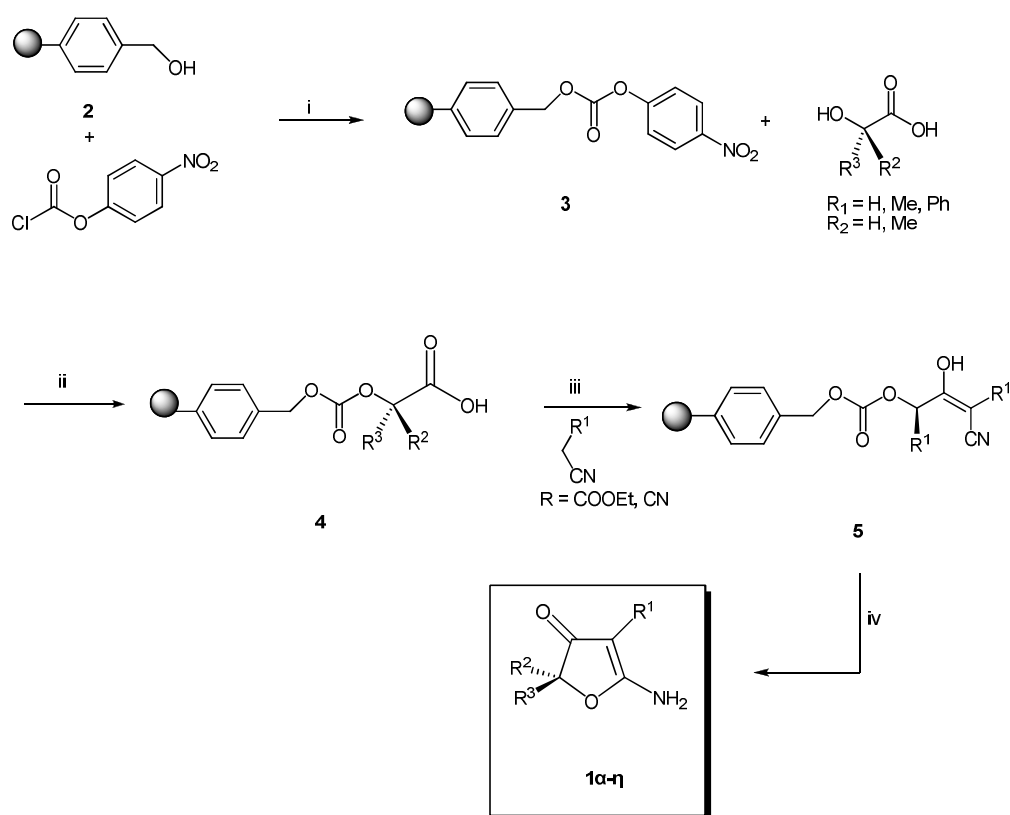


Σχήμα 6.3 Σύνθεση σε στερεά φάση τετρονικών οξέων ως αναστολείς της β-σεκρετάσης

Στο εργαστήριο οργανικής χημείας του ΕΜΠ, έχει δοθεί ιδιαίτερη προσοχή στη σύνθεση ετεροκυκλικών ενώσεων, όπως τα τετραμικά, τα τετρονικά και τα θειοτετρονικά οξέα, που περιέχουν δύο κέντρα υποκαταστατών. Οι συνθέσεις αυτές αφορούν στη σύνθεση τόσο σε διάλυμα, όσο και, πιο πρόσφατα σε στερεή φάση μέσω αντιδράσεων κυκλοποίησης προσδεδωμένων σε ρητίνη, εστέρων του βουτενοϊκού οξέος. Αυτή η γνώση χρησιμοποιήθηκε ως βάση στην ανάπτυξη μίας αξιόπιστης μεθόδου σύνθεσης 2-αμινοφουρανωνών. Ο στόχος ήταν, μεταξύ άλλων, η παρασκευή μίας ευρείας γκάμας προϊόντων, ώστε η μέθοδος να μπορεί να θεωρηθεί ευρείας χρήσης.

6.2 Αποτελέσματα - Συζήτηση

Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας, παρασκευάστηκαν 3, 5-διϋποκατεστημένες 2-αμινοφουρανόνες, οι οποίες στη θέση 5 του δακτυλίου φέρουν φαινύλιο, μεθύλιο, υδρογόνο ή είναι διϋποκατεστημένες με δύο ομάδες μεθυλίου. Η προτεινόμενη μεθοδολογία συνοψίζεται στο παρακάτω σχήμα (6.4).



Σχήμα 6.4 Μεθοδολογία σύνθεσης που ακολουθήθηκε για 3,5-διϋποκατεστημένες-2-αμινοφουρανόνες

Η ρητίνη που χρησιμοποιήθηκε ήταν η Wang (**2**), η οποία ανήκει στις ρητίνες πολυστυρολίου. Αυτές διογκώνονται και λειτουργούν ιδανικά σε άπολους διαλύτες, γεγονός επιθυμητό σύμφωνα με τις αντιδράσεις και τα αντιδραστήρια που είχαμε σχεδιάσει να χρησιμοποιηθούν. Η ρητίνη αυτή χρησιμοποιήθηκε συνδεδεμένη με 4-νιτροφαινολοανθρακικό συνδέτη. Το στερεό αυτό υπόστρωμα, είναι εμπορικά

διαθέσιμο. Παρόλα αυτά, στην παρούσα μελέτη, χρησιμοποιήθηκε τόσο το εμπορικό προϊόν, όσο και παρασκευασμένο στο εργαστήριο, διότι η σύνθεση αυτής της ρητίνης είναι ιδιαίτερα απλή και η εμπορική έχει υψηλό κόστος. Σύμφωνα με γνωστή μέθοδο στη βιβλιογραφία [121], η επεξεργασία ρητίνης Wang με χλωροφορμικό 4-νιτροφαινυλεστέρα και N-μεθυλομορφολίνη σε διμεθυλοφορμαμίδιο, απέδωσε το επιθυμητό στερεό υπόστρωμα **3**. Ωστόσο, η ολική απόδοση και η καθαρότητα των τελικών προϊόντων ήταν μειωμένη κατά >15% με τη χρήση της παρασκευασμένης ρητίνης.

Όπως προαναφέρθηκε, ως συνδέτης επιλέχθηκε η 4-νιτροφαινυλοανθρακική ομάδα. Η ομάδα αυτή επιλέχθηκε, διότι με την απομάκρυνση του 4-νιτροφαινυλίου ως καλή αποχωρούσα ομάδα κατά τη πρόσδεση του αμινοξέος στη ρητίνη, παραμένει η ανθρακική ομάδα μεταξύ ρητίνης και των ενδιάμεσων ενώσεων [11]. Η ομάδα αυτή παρουσιάζει ομοιότητες με την ουρεθάνη, η οποία αποτελεί τμήμα της Boc προστατευτικής ομάδας. Η τελευταία, είναι από τις πιο αξιόλογες προστατευτικές ομάδες για αμίνες και έχουν χρησιμοποιηθεί τόσο στη σύνθεση σε διάλυμα [122], όσο και στη σύνθεση σε στερεά φάση [123]. Με δεδομένο ότι ο συνδέτης σε μία στρατηγική σύνθεσης σε στερεά φάση διαδραματίζει και ρόλο προστατευτικής ομάδας, η επιλογή του συγκεκριμένου είναι εύστοχη, αφού η πρόσδεση πρέπει να γίνει από το υδροξυλικό άκρο του α-υδροξυοξέος και όχι από το καρβοξυλικό. Ένα ακόμη πλεονέκτημα αυτού του συνδέτη είναι η εύκολη αποκοπή της επιθυμητής ένωσης από τη ρητίνη και μάλιστα χωρίς να αφήνει κάποιο ανεπιθύμητο άτομο ή ομάδα σε αυτήν.

Το στάδιο-κλειδί της μεθοδολογίας μας είναι η πρόσδεση του κατάλληλου α-υδροξυοξέος στη ρητίνη. Η πυρηνόφιλη προσβολή του συνδέτη από το υδροξύλιο του υδροξυοξέος, οδηγεί στο σχηματισμό νέου ανθρακικού δεσμού μεταξύ αυτού και του στερεού υποστρώματος. Σε αυτήν την αντίδραση χρησιμοποιήθηκε τετραπλή περίσσεια του αντιδραστήριου, ώστε να εξασφαλιστεί το μέγιστο δυνατό φόρτωμα της ρητίνης. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθήθηκε με φασματοσκοπία FT-IR, η οποία έδειξε την εξαφάνιση των απορροφήσεων που αντιστοιχούν στη νιτρομάδα ($-\text{NO}_2$) στα 1.525 και 1.347 cm^{-1} μετά από 48 ώρες και μία μετατόπιση της κορυφής του καρβονυλίου της ανθρακικής ομάδας από 1.768 σε 1.747 cm^{-1} .

Η αντίδραση C-ακυλίωσης μεταξύ του προσδεδεμένου α-υδροξυοξέος **4** και μίας ένωσης ενεργού μεθυλενίου (κυανοξικός αιθυλεστέρας ή μαλονονιτρίλιο), έδωσε το προσδεδεμένο στη ρητίνη προϊόν C-ακυλίωσης **5**. Η αντίδραση αυτή επίσης παρακολούθηθηκε με φασματοσκοπία FT-IR, η οποία έδειξε την αναμενόμενη εμφάνιση απορρόφησης στο 2.180 cm^{-1} , που προκύπτει από την εισαγωγή της ομάδας κυανίου.

Το τρίτο στάδιο της πειραματικής πορείας ήταν η αποκοπή από τη ρητίνη. Η μέθοδος που επιλέχθηκε να ακολουθηθεί είναι η αποκοπή με ταυτόχρονη κυκλοποίηση. Αυτό επιτεύχθηκε με προσθήκη διαλύματος τριφθοροξικού οξέος σε διχλωρομεθάνιο σε αναλογία 1:1. Μία ώρα μετά την προσθήκη, το μίγμα διηθήθηκε και κρατήθηκε το διήθημα, αφού σε αυτό ήταν διαλυμένο το προϊόν. Το προϊόν **1α-η** παραλήφθηκε σε ικανοποιητικές αποδόσεις και καθαρότητες (>80%). Η ανάλυση μέσω NMR και TLC, έδειξε πως οι δύο ακαθαρσίες που ανιχνεύθηκαν ήταν α-υδροξυοξέα που δεν αντέδρασαν και ίχνη ακαθαρσιών από τη ρητίνη. Στη συνέχεια, καθαρίστηκε από τις ανεπιθύμητες ενώσεις με χρωματογραφία στήλης, οπότε και παραλήφθηκαν σε καθαρή μορφή, ως λευκά στερεά.

Πίνακας 6.1 Αποδόσεις των 2-αμινοφουρανών **1α-η**

Προϊόν	R ¹	R ²	R ³	%απόδοση
1α	CO ₂ Et	H	H	40
1β	CN	H	H	52
1γ	CO ₂ Et	H	Me	37
1δ	CN	H	Me	52
1ε	CO ₂ Et	H	Ph	58
1στ	CN	H	Ph	43
1ζ	CO ₂ Et	Me	Me	53
1η	CN	Me	Me	54

Σύμφωνα με τις μέχρι τώρα δημοσιεύσεις στη διεθνή βιβλιογραφία [124], θα περιμέναμε η αντίδραση κυκλοποίησης να απέδιδε εκτός από 2-αμινο-4-φουρανόνες και 2-ιμινο-4-φουρανόνες ή 2-ιμινο-4-φουρανόλες (ιμιδοτετρονικά

οξέα). Εντούτοις, τα δεδομένα από το NMR έδειξαν την παρουσία μόνο της 2-αμινοφουρανόνης, καθώς κανένα σήμα προερχόμενο από ομάδα μίνης εμφανίστηκε, όπως θα ήταν αναμενόμενο από ένα τέτοιο παράγωγο.

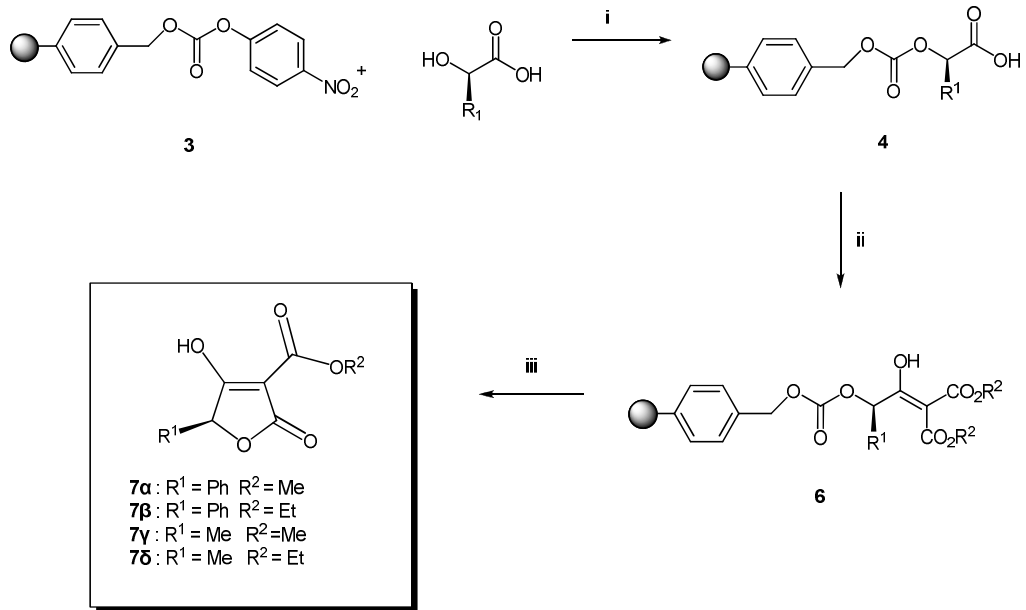
Σε αυτό το σημείο αξίζει να αναφέρουμε το γεγονός ότι η πειραματική μέθοδος που ακολουθήθηκε μας οδηγεί στα τελικά προϊόντα χωρίς σημαντική ρακεμοποίηση. Ως πρώτες ύλες χρησιμοποιήσαμε οπτικώς ενεργά α-υδροξυοξέα και παρατηρήσαμε πως τα αντίστοιχα τελικά προϊόντα σχηματίζονται με διατήρηση της διαμόρφωσής τους στον άνθρακα της θέσης 5 του ετεροκυκλικού δακτυλίου. Πρώτα παρατηρήθηκε το φαινόμενο της διατήρησης της οπτικής ενεργότητας με τη μέτρηση της ειδικής στροφικής ικανότητας. Τελικά, η **οπτική καθαρότητα** επιβεβαιώθηκε για το προϊόν **1στ** με χειρομορφική χρωματογραφία HPLC και η εναντιομερική αναλογία βρέθηκε 87:13 (εναντιομερική περίσσεια ee: 74%).

Οι φασματοσκοπικές αναλύσεις (^1H , ^{13}C NMR, FT-IR) των γνωστών παραγώγων συμφωνούν απόλυτα με τα δεδομένα της βιβλιογραφίας. Όσον αφορά στα νέα παράγωγα, αυτά χαρακτηρίστηκαν επιπλέον από υψηλής ανάλυσης φασματοσκοπία μάζας (HRMS). Τα φάσματα HRMS, που ελήφθησαν στο πανεπιστήμιο του Liverpool στην Αγγλία, επιβεβαιώνουν το μοριακό τύπο των νέων ενώσεων.

Η επιτυχία της μεθόδου που μόλις παρουσιάσαμε στη σύνθεση των 2-αμινοφουρανών, μας παρακίνησε να επιχειρήσουμε την επέκτασή της σε παραπλήσια ετεροκυκλικά συστήματα, τα τετρονικά οξέα. Τα τετρονικά οξέα, όπως αναπτύχθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο είναι από τις πιο σημαντικές ετεροκυκλικές ενώσεις και οι συνθέσεις τους σε στερεά φάση είναι περιορισμένες.

Η στρατηγική της εφαρμογής αυτής της μεθόδου στα τετρονικά οξέα βασίζεται στη χρήση των κατάλληλων ενώσεων ενεργού μεθυλενίου. Πράγματι, όπως φαίνεται και από το *σχήμα 6.5*, χρησιμοποιώντας εστέρες του μηλονικού οξέος, η κυκλοποίηση καταλήγει σε 4-υδροξυ-2-φουρανόνες (τετρονικά οξέα).

Σύνθεση σε Στερεά Φάση



Σχήμα 6.5 Πορεία σύνθεσης τετρονικών οξέων **7α-δ** σε στερεά φάση

Η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν ταυτόσημη με αυτήν στην περίπτωση των αμινοφουρανών. Τα προϊόντα παρελήφθησαν με ικανοποιητικές αποδόσεις (39-46% σε τρία στάδια).

6.3 Συμπεράσματα

Με τη μεθοδολογία που αναπτύχθηκε, μπορούν να προσεγγιστούν συνθετικά πενταμελείς ετεροκυκλικές ενώσεις του οξυγόνου, όπως οι 2-αμινοφουρανόνες και τα τετρονικά οξέα. Οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τα αντίστοιχα οπτικώς ενεργά α-υδροξυοξέα. Τα προϊόντα παραλήφθηκαν με ικανοποιητικές αποδόσεις, καθαρότητα και εναντιομερική περίσσεια. Το σημείο κλειδί της μεθόδου είναι η χρήση του ανθρακικού συνδέτη (carbonate linker). Αυτός μας επέτρεψε να εφαρμόσουμε τη στρατηγική όπως την είχαμε σχεδιάσει: δηλαδή χωρίς επιπλέον προστατευτικές ομάδες, χωρίς κατάλοιπα, άτομα ή ολοκληρες ομάδες από τη ρητίνη μετά την αποκοπή και με κυκλοποίηση κατά την αποκοπή. Έτσι, σε μόλις τρία στάδια, είναι δυνατό να παρασκευαστούν οι επιθυμητές ενώσεις σε ήπιες συνθήκες, μειώνοντας με αυτόν τον τρόπο τις ανεπιθύμητες παράπλευρες και τη ρακεμοποίηση.

6.4 Μελλοντικές προοπτικές

Η μέθοδος που αναπτύχθηκε κάνει χρήση της τεχνικής σύνθεσης σε στερεά φάση. Κύρια εφαρμογή αυτής της μεθοδολογίας είναι ο αυτοματισμός και η παράλληλη σύνθεση. Είναι δυνατό δηλαδή να κατασκευαστεί μία μεγάλη βιβλιοθήκη προϊόντων στον ελάχιστο δυνατό χρόνο. Αυτό αποσκοπεί στη μελέτη σχέσης δραστηριότητας και δομής σε φαρμακολογικές και βιολογικές ιδιότητες. Οι ενώσεις αυτές, άλλωστε δεν έχουν μελετηθεί ακόμη για τη βιολογική τους δραστηριότητα, αλλά βάσει βιβλιογραφίας είναι πολύ πιθανό να δίνουν αξιόλογα αποτελέσματα.

Ακόμη, σχεδιάζουμε την επέκταση της μεθόδου και σε άλλες ετεροκυκλικές ενώσεις. Ο συνδέτης που χρησιμοποιήσαμε, υποθετικά μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε κάθε αντίστοιχη σύνθεση με πρόσδεση σε αμινομάδα, υδροξύλιο ή θειόλη, δίνοντας πρόσβαση και σε ετεροκυκλικές ενώσεις του θείου (θειοκουμαρίνες).

6.5 Πειραματικό Μέρος

6.5.1 Γενικά

Οι πειραματικές πορείες πραγματοποιήθηκαν σε άνυδρες συνθήκες (ατμόσφαιρα αργού). Τα γυαλικά που χρησιμοποιήθηκαν είχαν ξηραθεί σε φούρνο στους 100 °C επί τουλάχιστον 30 λεπτά. Η ανάδευση πραγματοποιήθηκε με συνδυασμένη χρήση μαγνητικού αναδευτήρα – μαγνήτη κατάλληλου μεγέθους. Η ψύξη στους 0 °C πραγματοποιήθηκε σε λουτρό πάγου-νερού. Τα αντιδραστήρια είναι όλα εμπορικά διαθέσιμα και αγοράστηκαν από την Aldrich, Fluka και Acros και χρησιμοποιήθηκαν χωρίς περαιτέρω καθαρισμό. Οι χρωματογραφίες στήλης πραγματοποιήθηκαν σε silica gel Macherey-Nagel 0.063-0.2 mm/70-230 mesh. Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν άνυδροι και αφυγράνθηκαν σύμφωνα με δημοσιευμένες μεθόδους. Συγκεκριμένα, το THF αποστάχθηκε από μίγμα Na και βενζοφαινόνης (αναλογία 6g Na/8g Ph₂CO για 500mL THF). Το DCM αποστάχθηκε από P₂O₅. Στη συνέχεια, τα άνυδρα THF και DCM, φυλάχθηκαν σε φιάλες των 100mL σε ατμόσφαιρα αργού, παρουσία 4Å molecular sieves και πωματίστηκαν με parafilm. Σε κάθε περίπτωση χρησιμοποιήθηκε φρεσκοαπεσταγμένο THF (μέγιστη παραμονή 2 εβδομάδες). Το DMF χρησιμοποιήθηκε μετά από τουλάχιστον 48ωρη παραμονή σε 4Å molecular sieves.

Χαρακτηρισμός ενώσεων

Τα σημεία τήξης υπολογίστηκαν με μία συσκευή σημείου τήξης Gallenkamp MFB-595. Τα φάσματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού καταγράφηκαν με τη χρήση ενός φασματογράφου Varian Gemini-2000 300 MHz που λειτουργεί στα 300 MHz (¹H) και 75 MHz (¹³C). Οι χημικές μετατοπίσεις αναφέρονται σε ppm με σημείο αναφοράς τον κατάλληλο διαλύτη [D₆]DMSO (¹H: δ = 2.50 ppm, ¹³C: δ = 39.52 ppm). Οι διαχωρισμοί με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση μίας στήλης DAICEL CHIRALPAK AS (4.6_250 mm)

σε ένα σύστημα HPLC αποτελούμενο από μια αντλία Varian 2510 HPLC pump, έναν ανιχνευτή Varian 2510 variable λ detector, και το SRI Model 203 Peaksimple chromatography data system χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης μίγμα n-εξανίου και αιθανόλης. Η ειδική στροφική ικανότητα μετρήθηκε σε ένα πολωσίμετρο Perkin-Elmer 241. Τα φάσματα μάζας υψηλής ανάλυσης (HRMS) πραγματοποιήθηκαν στο πανεπιστήμιο του Liverpool σε ένα όργανο τύπου VG 7070E και ελήφθησαν με χημικό ιονισμό (CI) με αμμωνία. Τα φάσματα μάζας (MS) καταγράφηκαν σε ένα όργανο τύπου Varian 500 MS παγίδας ιόντων (Ion Trap). Τα φάσματα IR καταγράφηκαν σε ένα φασματογράφο Jasco 4200 FTIR.

6.5.2 Πειραματική Πορεία

Σύνθεση ρητίνης Wang συνδεδεμένης με 4-νιτροφαινυλοκαρβονικό συνδέτη

Σε σφαιρική φιάλη των 50mL, διασπείρονται σε 24mL άνυδρου DCM και αφήνονται να διογκωθούν 0.75g (0.90mmol, 1.2mmol/g) ρητίνης Wang για 15'. Στο μίγμα αυτό, προστίθεται χλωροφορμικός 4-νιτροφαινυλεστέρας (1.80mmol, 0.36g) υπό ψύξη και N-μεθυλομορφολίνης (1.80mmol, 0.18g). Το διάλυμα αφήνεται να αντιδράσει για 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια, η ρητίνη διηθείται υπό κενό και εκπλύνεται με άνυδρο DCM (3 x 10mL) και μετά ξηραίνεται υπό κενό.

Σύνθεση οπτικά ενεργών 3,5-διυποκατεστημένων-2-αμινοφουρανονών (1α-η) και 3-μεθοξυκαρβονυλο-5-υποκατεστημένων τετρονικών οξέων (7α-δ)

Σε σφαιρική φιάλη των 25mL, διασπείρονται σε 10mL DMF και αφήνονται να διογκωθούν 0.75g (0.90mmol, 1.2mmol/g) ρητίνης Wang με 4-νιτροφαινυλοανθρακικό συνδέτη (**3**) για 10'. Στο μίγμα αυτό προστίθεται το κατάλληλο α-υδροξυοξύ (3.60mmol) και 4-DMAP (5.40mmol, 0.66g). Το μίγμα

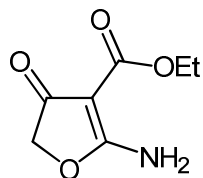
αναδεύεται ομαλά σε ατμόσφαιρα αργού και θερμοκρασία δωματίου για 48 ώρες. Η ρητίνη διηθείται και εκπλύνεται με DMF (3 x 10mL), μεθανόλη (3 x 10mL) και DCM (3x10mL) και μετά ξηραίνεται υπό κενό, προκειμένου να παραλάβουμε το φορτωμένο στη ρητίνη α-υδροξυοξύ **4**.

Η φορτωμένη με το α-υδροξυοξύ ρητίνη αφήνεται να διογκωθεί για 10 λεπτά σε άνυδρο THF (10mL) και στη συνέχεια προστίθεται σε αυτήν το HOBt (3.60mmol) υπό ψύξη και αφήνεται υπό ήπια ανάδευση για 45 λεπτά. Κατόπιν, προστίθεται ένα διάλυμα 3.60mmol DCC σε 3-4mL THF στους 0 °C και αφήνεται να αντιδράσει σε θερμοκρασία δωματίου για 1.5 ώρα. Στο μίγμα αυτό, προστίθεται ένα μίγμα που περιέχει την ένωση ενεργού μεθυλενίου (και το ανιόν της) και NaH σε THF. Το μίγμα αυτό παρασκευάζεται με τη στάγδην προσθήκη της ένωσης ενεργού μεθυλενίου σε ένα εναιώρημα NaH (4.50mmol) σε άνυδρο THF (8mL) στους 0 °C και ανάδευση για 1 ώρα. Το μίγμα που προκύπτει αναδεύεται ήπια για 24 ώρες. Μετά, η ρητίνη διηθείται και εκπλύνεται διαδοχικά με μεθανόλη και DCM (3x10mL) και ξηραίνεται υπό κενό προκειμένου να παραλάβουμε το φορτωμένο στη ρητίνη προϊόν C-ακυλίωσης **5** ή **6**.

Ένα διάλυμα TFA/DCM (50:50) 18mL προστίθεται στη ρητίνη σε σφαιρική φιάλη των 50mL και αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα. Η κόκκινη ρητίνη διηθείται και εκπλύνεται με μεθανόλη (3x10mL) και DCM (3x10mL). Συλλέγεται το διήθημα, το οποίο αποστάζεται σε περιστροφικό εξατμιστήρα μέχρι ξηρού. Τα ακατέργαστα προϊόντα **1α-η** ή **7α-δ** έχουν καθαρότητα που φτάνει το 80% και καθαρίζονται περαιτέρω με στήλη χρωματογραφίας (DCM/MeOH = 92:8).

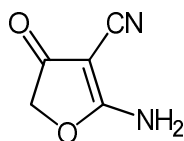
6.5.3 Χαρακτηρισμός ενώσεων

3-Αιθοξυκαρβονυλο-2-αμινο-4-φουρανόνη (1α)

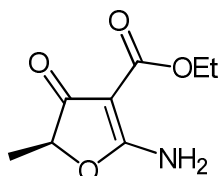


Λευκό στερεό, απόδοση = 40%, $\sigma_t = 246-248$ °C, $R_f = 0.35$ (DCM: MeOH = 92 :8), $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 1.20 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4.13 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4.51 (s, 2H, CH_2), 8.12/9.13 (2s, 2H, NH_2), $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 13.84 ($\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 58.18 ($\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 73.70 (C-5), 85.66 (C-3), 163.61 ($\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 179.99 (C-2), 190.13 (C-4).

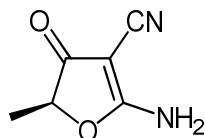
2-Αμινο-3-κυανο-4-φουρανόνη (1β)



Λευκό στερεό, απόδοση = 52%, $\sigma_t = 259-260$ °C, $R_f = 0.31$ (DCM: MeOH = 95:5), $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 4.71 (s, 2H, CH_2), 9.24 (s, 2H, NH_2), $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 67.51 (C-5), 77.90 (C-3), 113.78 (CN), 179.89 (C-2), 193.08 (C-4).

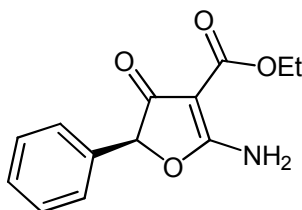
(S)-3-Αιθοξυκαρβονυλο-2-αμινο-5-μεθυλο-4-φουρανόνη (1γ)

Λευκό στερεό, απόδοση = 37%, $\sigma_t = 220-221$ °C, $\alpha_D = -66.0$ ($c = 0.01$ MeOH), $R_f = 0.29$ (DCM: MeOH = 95 :5), $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 1.20 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 1.29 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, CHCH_3), 4.12 (q, $J = 6.9$ Hz, 2H, CH_2CH_3), 4.63 (q, $J = 6.9$ Hz, 1H, CHCH_3), 8.13/9.09 (2H, s/s, NH_2), $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD): δ 14.83 ($\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 16.95 (CH_3), 60.66 ($\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 83.99 (C-5), 86.69 (C-3), 165.61 ($\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 180.95 (C-2), 195.46 (C-4), HRMS: m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ υπολογίστηκε $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{NO}_4$: 186.02663 βρέθηκε: 186.02679.

(S)-2-Αμινο-3-κυανο-5-μεθυλο-4-φουρανόνη (1δ)

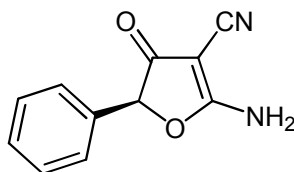
Λευκό στερεό, απόδοση = 52%, $\sigma_t = 240-241$ °C, $\alpha_D = -95.3$ ($c = 0.01$ MeOH), $R_f = 0.34$ (DCM: MeOH = 95 :5), $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 1.32 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, CH_3), 4.82 (q, $J = 6.9$ Hz, 1H, CH), 9.18 (2H, br, NH_2), $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD): δ 16.76 (CH_3), 68.51 (C-5), 84.92 (C-3), 113.55 (CN), 179.91 (C-2), 196.80 (C-4), HRMS: m/z $[\text{M} + \text{NH}_4]^+$ υπολογίστηκε $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_2$: 156.07730 βρέθηκε 156.07689.

(S)-2-αιθοξυκαρβονυλο-2-αμινο-5-φαινυλο-4-φουρανόνη (1ε)

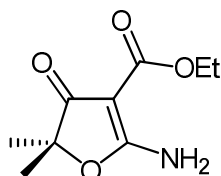


Λευκό στερεό, απόδοση = 58%, $\sigma_t = 211-212$ °C, $\alpha_D = +16.8$ ($c=0.02$ MeOH), $R_f = 0.32$ (DCM: MeOH = 97 :3), $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): 1.20 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4,14 (q, $J = 6.9$ Hz, 2H, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 5.62 (s, 1H, CH), 7.26-7.41 (M, 5H, Ph), 8.34/9.34 (2s, 2H, NH_2), $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 14.43 ($\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 58.67, ($\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 84.06 (C-5), 85.04 (C-3), 126.43 (Ph), 128.80 (Ph), 128.70 (Ph), 134.45 (Ph), 134.80 (Ph), 163.56 ($\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 179.36 (C-2), 188.55 (C-4).

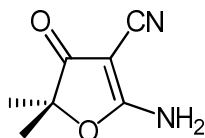
(S)-2-αμινο-3-κυανο-5-φαινυλο-4-φουρανόνη (1στ)



Λευκό στερεό, απόδοση = 43%, $\sigma_t = 269-270$ °C, $\alpha_D = -34.0$ ($c = 0.02$ MeOH), $R_f = 0.29$ (DCM: MeOH = 97 :3), $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 5.83 (1H, s, CH), 7.27 -7.43 (5H, m, Ph), 9.43 (2H, br, NH_2), $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 66.19 (C-5), 86.17 (C-3), 113.48 (CN), 126.61 (Ph), 128.76 (Ph), 129.09 (Ph), 133.93 (Ph), 134.45 (Ph), 177.94 (C-2), 190.84 (C-4); HPLC ανάλυση: (n-εξάνιο/αιθανόλη = 1:1; ρυθμός ροής: 0.80 mL/min; 254 nm) κύριο εναντιομερές $t_R(S) = 6.53$ min (87%), δευτερεύον εναντιομερές $t_R(R) = 7.15$ min (13%).

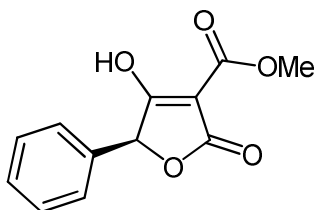
2-Αμινο-3-αιθοξυκαρβονυλο-5,5-διμεθυλο-4-φουρανόνη (1ζ)

Ανοικτό κίτρινο στερεό, απόδοση = 53%, $\sigma_t = 202-203$ °C, $R_f = 0.33$ (DCM: MeOH = 97 :3) $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): 1.20 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.29 (s, 6H, 2 x CH_3), 4.12 (q, $J = 6.9$ Hz, 2H, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 8.14/9.05 (2s, 2H, NH_2), $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): 14.48 ($\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 23.11 (CH_3), 58.56 ($\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 82.70 (C-5), 88.12 (C-3), 163.97 ($\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 177.33 (C-2), 192.77 (C-4); HRMS: m/z [M +H] $^+$ υπολογίστηκε $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{NO}_4$: 200.09228 βρέθηκε: 200.09224.

2-Αμινο-5,5-διμεθυλο-3-κυανο-4-φουρανόνη (1η)

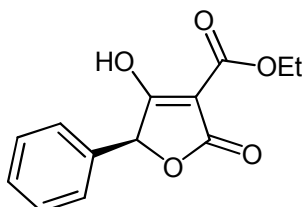
Ανοικτό λευκό στερεό, απόδοση = 54%, $\sigma_t = 240-242$ °C (αποσυνθ.), $R_f = 0.24$ (DCM: MeOH = 95 :5), $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): 1.33 (s, 6H, 2x CH_3), 9.16 (s, 2H, NH_2), $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): 22.88 (CH_3), 64.64 (C-5), 89.76 (C-3), 113.87 (CN), 176.03 (C-2), 195.05 (C-4), HRMS: m/z [M + NH_4] $^+$ υπολογίστηκε $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_2$: 170.09295 βρέθηκε: 170.09265.

(S)-3-Μεθοξυκαρβονυλο-5-φαινυλοτετρανικό οξύ (7α)

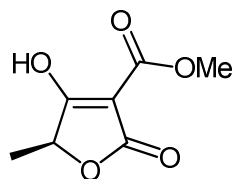


Λευκό στερεό, απόδοση = 46%, $\sigma_t = 156-157\text{ }^\circ\text{C}$, $\alpha_D = +93.2$ ($c = 0.16$ MeOH), $R_f = 0.22$ (DCM/MeOH 92/8), $^1\text{H NMR}$ (CD_3OD): δ 3.56 (s, 3H, CO_2CH_3), 5.09 (s, 1H, C-5), 7.29-7.39 (m, 5H, Ph), $^{13}\text{C NMR}$ (CD_3OD): δ 52.2 (CO_2CH_3), 83.9 (C-5), 88.2 (C-3), 126.2-134.0 (Ph), 163.1 (CO_2CH_3), 178.9 (C-2), 188.0 (C-4), MS: m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: 235.1.

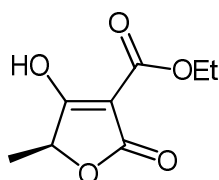
(S)-3-Αιθοξυκαρβονυλο-5-φαινυλοτετρανικό οξύ (7β)



Λευκό στερεό, απόδοση = 42%, $\sigma_t = 155-157\text{ }^\circ\text{C}$, $\alpha_D = +61.3$ ($c = 0.37$ MeOH), $R_f = 0.25$ (DCM/MeOH 92/8), $^1\text{H NMR}$ (CD_3OD): δ 1.26 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4.24 (q, $J = 6.9$ Hz, 2H, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 5.09 (s, 1H, C-5), 7.28-7.40 (m, 5H, Ph), $^{13}\text{C NMR}$ (CD_3OD): δ 14.9 ($\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 57.8 ($\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 83.9 (C-5), 88.1 (C-3), 126.2-133.6 (Ph), 165.1 ($\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 178.9 (C-2), 190.5 (C-4), MS: m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: 249.0.

(S)-3-Μεθοξυκαρβονυλο-5-μεθυλοτετρονικό οξύ (7γ)

Λευκό στερεό, απόδοση = 39%, $\sigma_t = 133-135$ °C, $\alpha_D = -12.0$ (c 0.16 MeOH), $R_f = 0.25$ (DCM/MeOH 9/1), $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): δ 1.16 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, CH_3CH), 3.50 (s, 3H, CO_2CH_3), 4.09 (q, $J = 6.6$ Hz, 1H, C-5); $^{13}\text{C NMR}$ (CD_3OD): δ 17.9 (CH_3CH), 52.2 (CO_2CH_3), 78.4 (C-5), 86.0 (C-3), 167.6 (CO_2CH_3), 180.9 (C-2), 198.9 (C-4), MS: m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: 173.1.

(S)-3-Αιθοξυκαρβονυλο-5-μεθυλοτετρονικό οξύ (7δ)

Λευκό στερεό, απόδοση = 45%, $\sigma_t = 144-147$ °C, $\alpha_D = -7.8$ (c 0.26 MeOH), $R_f = 0.28$ (DCM/MeOH 9/1), $^1\text{H NMR}$ (CD_3OD): δ 1.16 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.35 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H, CH_3CH), 4.21 (q, $J = 6.6$ Hz, 2H, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4.35 (q, $J = 6.3$ Hz, 1H, C-5), $^{13}\text{C NMR}$ (CD_3OD): δ 14.4 ($\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 17.9 (CH_3CH), 58.7 ($\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 76.6 (C-5), 89.7 (C-3), 165.2 (CO_2Et), 168.9 (C-2), 199.1 (C-4), MS: m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: 187.1.

7

Βιβλιογραφία

- [1] R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 2149-2154.
- [2] V. Krchnak, M. W. Holladay, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 61-91.
- [3] A. Nefzi, J. M. Ostresh, R. A. Houghten, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 449-472.
- [4] R. G. Franzen, *J. Comb. Chem.* **2000**, *2*, 195-214.
- [5] R. E. Ziegert, J. Toräng, K. Knepper, S. Bräse, *J. Comb. Chem.* **2005**, *7*, 147–169.
- [6] P. H. H. Hermkens, H. C. J. Ottenheijm, D. Rees, *Tetrahedron*, **1996**, *52*, 4527-4554.
- [7] A. R. Brown, P. H. H. Hermkens, H. C. J. Ottenheijm, D. C. Rees, *Synlett* **1998**, 817-827.
- [8] P. J. Flory, *Principles of Polymer Chemistry*, Cornell Univ. Press, NY, **1953**.
- [9] A. R. Vaino, K. D. Janda, *J. Comb. Chem.* **2000**, *2*, 579-596.
- [10] P. J. H. Scott, P. G. Steel, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 2251-2268.
- [11] N. Jung, M. Wiehn, S. Bräse, *Top. Curr. Chem.* **2007**, *278*, 1-88.
- [12] S. H. DeWitt, A. W. Czarnik, *Acc. Chem. Res.*, **1996**, *29*, 114–122.
- [13] A. Ganesan, *Methods in Enzymology, Vol. 369: Combinatorial Chemistry, Part B*, G. A. Morales, B. A. Bunin, Εκδ., Elsevier: San Diego, Καλιφόρνια, ΗΠΑ, **2003**, 415-434.
- [14] B. J. Egner, G. J. Langley, M. Bradley, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 2652–2653.
- [15] N. K. Terrett, *Combinatorial Chemistry*, Oxford University Press, Οξφόρδη, Ηνωμένο Βασίλειο, **1998**.
- [16] H. Iinuma, H. Nakamura, H. Naganawa, T. Masuda, S. Takanom T. Takeuchi, H. Umezawa, Y. Iitaka, A. Obayashi, *J. Antibiot.* **1983**, 448-450.

- [17] Y. Yamamoto, M. Ohno, S. Eguchi, *Tetrahedron* **1994**, *50*, 7783-7798.
- [18] T. Hiyama, H. Oishi, Y. Suetsugu, K. Nishide, H. Saimoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1987**, *60*, 2139-2150.
- [19] I. Blank, J. Lin, R. Fumeaux, D. H. Welti, L. B. Fay, *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 1851-1856.
- [20] A. Tersteegen, D. Heimbach, K. Thede, R. Welker, B. Fast, A. Paessens, F. Dittmer, R. Schohe-Loop, A. Harrenga, A. Hillisch, K. Henninger, W. Huebsch, M. Bauser, S. Greschat, D. Schneider, T. Marquardt, A. Goeller, A. Urban, S. Wildum, D. Paulsen, WO 2008071359, **2008**.
- [21] E. Menta, N. Pescalli, M. Conti, G. Zimmerman, US Patent 6333346, **2001**.
- [22] B. Olenik, R. Velten, P. Jeschke, N. Lui, C. Funke, W. Wirth, US Patent Application 20110130288 A1, **2011**.
- [23] B. Olenik, P. Jeschke, R. Velten, B. Gallenkamp, W. Joerges, R. Vermeer, L. Pitta, US Patent Application 20100069242 A1, **2010**.
- [24] N. Lui, J. Heinrich, US Patent Application 20110054182 A1, **2011**.
- [25] K. Boosen, *Helv. Chim. Acta* 1977, *60*, 1256-1261.
- [26] R. R. Schmidt, J. Talbierksy, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1978**, *17*, 204-205.
- [27] T. Hiyama, H. Oishi, H. Saimoto, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 2459-2462.
- [28] H. Buehler, A. Bayer, F. Effenberger, *Chem. Eur. J.* **2000**, 2564-2571.
- [29] J. Syed, S. Förster, F. Effenberger, *Tetrahedron: Asymmetry* 1998, *9*, 805-815.
- [30] M. Y. Shandala, M. T. Ayoub, M. J. Mohammad, *J. Heterocyclic Chem.* **1984**, *21*, 1753-1754.
- [31] T. Momose, N. Toyooka, T. Nishi, Y. Takeuchi, *Heterocycles* **1988**, *27*, 1907-1923.
- [32] **M. R. Martín, A. I. Mateo, *Tetrahedron: Aymmetry* 1994, *5*, 1385-1392.**
- [33] E. Lattmann, S. Dunn, S. Niamsanit, N. Sattayasai, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 919-921.
- [34] I. Pevet, C. Meyer, J. Cossy, *Synlett* **2003**, *5*, 663-666.

- [35] U. Chiacchio, A. Corsaro, D. Iannazzo, A. Piperno, A. Procopio, A. Rescifina, G. Romeo, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 4380-4383.
- [36] D. Iannazzo, E. Brunaccini, S. V. Giofrè, A. Piperno, G. Romeo, S. Ronsisvalle, M. A. Chiacchio, G. Lanza, *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 5897-5905.
- [37] D. Iannazzo, C. Carnovale, S. V. Giofrè, R. Ettari, G. Romeo, R. Romeo, G. Lanza, U. Chiacchio *Synlett* **2011**, *2*, 245-248.
- [38] D. Iannazzo, A. Piperno, G. Romeo, R. Romeo, U. Chiacchio, A. Rescifina, E. Balestrieri, B. Macchi, A. Mastino, R. Cortese, *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 9610-9615.
- [39] M. Quibell, US Patent 20040127424 A1, **2004**.
- [40] H. Ottinger, T. Soldo, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 5383-5390.
- [41] A. J. Speziale, L. R. Smith, *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 4361-4365.
- [42] T. P. C. Mulholland, R. Foster, D. B. Haydock, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1972**, 1225-1231.
- [43] R. A. Mack, W. I. Zazulak, L. A. Radov, J. E. Baer, J. D. Stewart, P. H. Elzer, C. R. Kinsolving, V. S. Georgiev, *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 1910-1918.
- [44] C. E. Ward, W. C. Lo, P. B. Pomidor, F. E. Tisdell, A. W. W. Ho, C. L. Chiu, D. M. Tuck, C. R. Bernardo, P. J. Fong, A. Omid, F. A. Buteau, *Synthesis and Chemistry of Agrochemicals*, ACS Symposium Series, No. 35, D. R. Baker, J. G. Fenyès, W. K. Moberg, C. Barrington, Eds., American Chemical Society: Washington, DC, USA, **1987**, 65-73.
- [45] G. Sandmann, C. E. Ward, W. C. Lo, J. O. Nagy, P. Boeger, *Plant Physiol.* **1990**, *94*, 476-478.
- [46] G. Athanasellis, A. Detsi, K. C. Prousis, O. Igglessi-Markopoulou, *Synthesis* **2003**, 2015-2022.
- [47] C. Skylaris, O. Igglessi-Markopoulou, A. Detsi, J. Markopoulos, *Chem. Phys.* **2003**, *293*, 355-363.
- [48] J. P. Hofmann, F. Duus, A. D. Bond, P. E. Hansen, *J. Mol. Struct.* **2006**, *790*, 80-88.
- [49] W. D. Kumler, *J. Am. Chem. Soc.* **1938**, *60*, 859-864.

- [50] C. G. King, *Physiol. Rev.* **1936**, *16*, 238-262.
- [51] C. L. Alsberg, O. F. Black, *US Dept. Agric. Bureau Plant Ind. Bull.* **1913**, *270*, 1-47.
- [52] A. E. Oxford, H. Raistrick, *Biochem. J.* **1935**, *29*, 1549-1554.
- [53] R. Bentley, J. G. Keil, *J. Biol. Chem.* **1962**, *237*, 867-873.
- [54] R. A. Raphael, *Nature* **1947**, *160*, 261-262.
- [55] A. L. Zografos, D. Georgiadis, *Synthesis* **2006**, *19*, 3157-3188.
- [56] J. Murray, *J. Chem. Soc.* **1952**, 1345-1350.
- [57] A. Spiegel, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1883**, *219*, 1-56.
- [58] J. Volhard, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1894**, *282*, 1-21.
- [59] B. Heurtaux, C. Lion, T. Le Gall, C. Mioskowski, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1474-1477.
- [60] P. C. Beaumont, R. L. Edwards, G. C. Elsworthy, *J. Chem. Soc. C* **1968**, 2968-2974.
- [61] R. J. Wikholm, H. W. Moore *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 6152-6158.
- [62] D. W. Knight, G. Pattenden, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1976**, 635-637.
- [63] G. Pattenden, N. Pegg, A. G. Smith, *Tetrahedron Letters*, **1986**, *27*, 403-406.
- [64] D. R. Gedge, G. Pattenden, A. G. Smith, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1986**, 2127-2131.
- [65] R. L. Frank, G. R. Clark, J. N. Coker, *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, *72*, 1824-1826.
- [66] J. Shoji, R. Sakazaki, T. Hattori, K. Matsumoto, N. Uotani, T. Yoshida, *J. Antibiot.* **1989**, *42*, 1729-1733.
- [67] S. V. Ley, M. T. Trudell, D. J. Wadsworth, *Tetrahedron* **1991**, *47*, 8285-8296.
- [68] R. Schobert, C. Jagusch, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 6129-6132.
- [69] C. Keller-Juslén, H. D. King, M. Kuhn, H. Loosli, W. Pache, T. J. Petcher, H. P. Weber, A. von Wartburg, *J. Antibiot.* **1982**, *35*, 142-150.
- [70] K. Hori, N. Hikage, A. Inagaki, S. Mori, K. Nomura, E. Yoshii *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 2888-2902.

- [71] T. Sawa, M. Hamada, T. Takeuchi, *J. Antibiot.* **1994**, *47*, 386-388.
- [72] T. Tsuchida, H. Iinuma, C. Nishida, N. Kinoshita, T. Sawa, M. Hamada, T. Takeuchi, *J. Antibiot.* **1995**, *48*, 1104-1109.
- [73] F. F. Paintner, L. Allmendinger, G. Bauschke, C. Berns, P. Heisig, *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 2823-2833.
- [74] K. Tatsuta, Y. Suzuki, A. Furuyama, H. Ikegami, *Tetrahedron Letters*, **2006**, *47*, 3595-3598.
- [75] P. W. Clutterbuck, H. Raistrick, F. Reuter, *Biochem. J.* **1935**, *29*, 1300-1310.
- [76] P. W. Clutterbuck, H. Raistrick, F. Reuter, *Biochem. J.* **1935**, *29*, 871-880.
- [77] P. W. Clutterbuck, W. N. Haworth, H. Raistrick, G. Smith, M. Stacey, *Biochem. J.* **1934**, *28*, 94-100.
- [78] P. M. Booth, C. M. J. Fox, S. V. Ley, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1987**, 121-129.
- [79] R. Schobert, C. Jagusch, *Synthesis* **2005**, *14*, 2421-2425.
- [80] C. A. Mitsos, A. L. Zografos, O. Igglessi-Markopoulou, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 5852-5853.
- [81] R. Sudo, A. Kaneda, N. Itoh, *J. Org. Chem.*, **1967**, *32*, 1844-1846.
- [82] L. J. Haynes, J. R. Plimmer, A. H. Stanners, *J. Chem. Soc.* **1956**, 4661-4664.
- [83] J. L. Bloomer, F. E. Kappler, *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 113-113.
- [84] L. S. Trifonov, A. S. Dreiding, L. Hoesch, D. M. Rast, *Helv. Chim. Acta*, **1981**, *64*, 1843-1846.
- [85] J. E. Wrobel, B. Ganem, *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 3761-3764.
- [86] K. Takabe, N. Mase, M. Nomoto, M. Daicho, T. Tauchi, H. Yoda, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2002**, 500-502.
- [87] K. Matsuo, Y. Sakaguchi, *Chem. Pharm. Bull.* **1997**, *45*, 1620-1625.
- [88] T. Tauchi, H. Sakuma, T. Ohno, N. Mase, H. Yoda, K. Takabe, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2006**, *17*, 2195-2198.
- [89] A. Takaiwa, K. Yamashita, *Agric. Biol. Chem.* **1982**, *46*, 1721-1722.
- [90] **N. G. Clemo, G. Pattenden, *Tetrahedron Lett.* 1982, 23, 585-588.**

- [91] K. Matsuo, M. Kanayama, J. Xu, R. Takeuchi, K. Nishiwaki, Y. Asaka, *Heterocycles* **2005**, 65, 1609-1614.
- [92] K. Kobayashi, T. Ui, *Physiol. Plant Pathol.* **1977**, **11**, 55-60.
- [93] K. Kobayashi, T. Ui, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1977**, 774-774
- [94] W. Hofheinz, P. Schönholzer, *Helv. Chim. Acta* **1977**, 60, 1367-1370.
- [95] W. Keller-Schierlein, R. Muntwyler, W. Pache, H. Zähler, *Helv. Chim. Acta* **1969**, 52, 127-142.
- [96] P. W. Schindler, H. Zähler, *Arch. Microbiol.* **1972**, 82, 66-75.
- [97] R. E. Ireland, W. J. Thompson, *J. Org. Chem.* **1979**, 44, 3041-3052.
- [98] N. Hirayama, M. Kasai, K. Shirahata, Y. Ohashi, Y. Sasada, *Tetrahedron Letters* **1980**, 21, 2559-2560.
- [99] N. Hirayama, M. Kasai, K. Shirahata, Y. Ohashi, Y. Sasada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1982**, 55, 2984-2987.
- [100] A. K. Mallams, M. S. Puar, R. R. Rossman, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 3938-3940.
- [101] R. N. Gates, L. T. Roland, W. E. Wyatt, F. G. Hembry, J. H. Bailie, *J. Anim. Sci.* **1989**, 67, 3419-3424.
- [102] K. Hori, H. Kazuno, K. Nomura, E. Yoshii, *Tetrahedron Letters*, **1993**, 34, 2183-2186.
- [103] L. J. Haynes, J. R. Plimmer, *Q. Rev. Chem. Soc.* **1960**, 14, 292-315.
- [104] D. Tejedor, F. García-Tellado, *Org. Prep. Proced. Int.* **2004**, 36, 33-59.
- [105] R. N. Lacey, *J. Chem. Soc.* **1954**, 832-839.
- [106] J. L. Bloomer, F. E. Kappler, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* 1976, 1485-1491.
- [107] P. M. Booth, C. M. J. Fox, S. V. Ley, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1987**, 121-129.
- [108] S. Brandaenge, L. Flodman, A. Norberg, *J. Org. Chem.* **1984**, 49, 927-928.
- [109] D. T. Witiak, A. K. Tehim, *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 1112-1114.
- [110] P. M. Boll, E. Sørensen, E. Balieu, *Acta Chem. Scand.* **1968**, 22, 3251-3255.

7 Βιβλιογραφία

- [111] P. C. B. Page, H. Vahedi, K. J. Batchelor, S. J. Hindley, M. Edgar, P. Beswick, *Synlett* **2003**, *7*, 1022-1024.
- [112] C. Mitsos, A. Zografos, O. Igglessi-Markopoulou, *J. Heterocyclic Chem.* **2002**, *39*, 1201-1205.
- [113] G. Athanasellis, O. Igglessi-Markopoulou, J. Markopoulos, *Synlett* **2002**, *10*, 1736-1738.
- [114] **T. Kitazume, *J. Fluorine Chem.* 1987, 35, 287-294.**
- [115] F. Effenberger, J. Syed, *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, *9*, 817-825.
- [116] G. V. Reddy, V. Sreevani, D. S. Iyengar, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 531-532.
- [117] L. J. Haynes, E. R. H. Jones, *J. Chem. Soc.* **1946**, 503-506.
- [118] R. A. Raphael, *J. Chem. Soc.* **1948**, 1508-1512.
- [119] R. Schobert, C. Jagusch, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 6129–6132.
- [120] G. Larbig, B. Schmidt, *J. Comb. Chem.* **2006**, *8*, 480–490.
- [121] **B. A. Dressman, L. A. Spangle, S. W. Kaldor, *Tetrahedron Lett.* 1996, 37, 937-940.**
- [122] D. Matiadis, O. Igglessi-Markopoulou, *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 5989-5995.
- [123] K. C. Prousis, A. Detsi, O. Igglessi-Markopoulou, *Synlett* **2005**, *18*, 2763-2766.
- [124] R. Anschuetz, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1912**, 2374-2378.

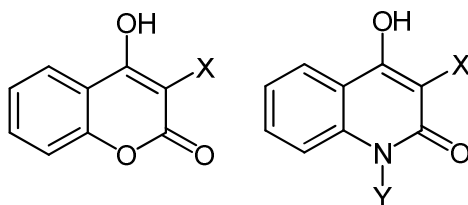
ΜΕΡΟΣ ΙΙΙ

**Σύνθεση και αποτίμηση αντικαρκινικών ιδιοτήτων
αμιδίων κουμαρινών και κινολινονών**

8

Θεωρητικό Μέρος

Οι κουμαρίνες και οι κινολινόνες είναι ετεροκυκλικές ενώσεις που περιέχουν στον ετεροκυκλικό τους δακτύλιο ένα άτομο οξυγόνου και ένα άτομο αζώτου αντίστοιχα. Αποτελούνται από δύο εξαμελείς συμπυκνωμένους δακτυλίους, έναν αρωματικό και έναν ετεροκυκλικό.



Σχήμα 8.1 Υποκατεστημένες 4-υδροξικουμαρίνες και 4-υδροξικινολινόνες

Στο παρόν κεφάλαιο θα γίνει αναφορά στη χημεία, τις ιδιότητες και τις δράσεις αυτών των παραγώγων. Στη συνέχεια, θα παρουσιαστούν αναλυτικότερα οι αντικαρκινικές ιδιότητές τους, καθώς αυτές αποτέλεσαν την αιτία της μελέτης στα πλαίσια της διδακτορικής διατριβής. Ιδιαίτερη αναφορά θα γίνει στα αμιδικά παράγωγα κινολονών και κουμαρινών και στον τρόπο που επηρεάζουν τις ιδιότητές τους.

8.1 Κουμαρίνες: Ιδιότητες, εφαρμογές και μέθοδοι σύνθεσής τους

Οι κουμαρίνες, ως κατηγορία ενώσεων οφείλουν την ονομασία τους στους καρπούς του δέντρου *Dipteryx odorata*, γνωστό και ως cumaru ή kumaru, από το οποίο η κουμαρίνη πρωταπομονώθηκε το 1820. Η κουμαρίνη είναι υπεύθυνη για την ευχάριστη οσμή των σπόρων.



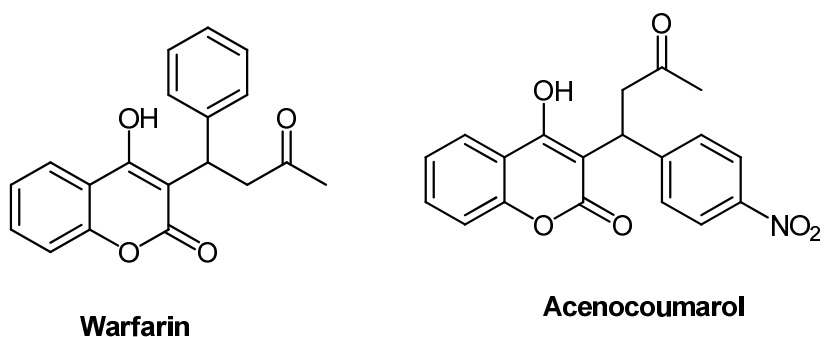
Εικόνα 8.2 Καρποί του δέντρου *Dipteryx odorata*, γνωστού και ως cumaru.

Οι ενώσεις αυτές μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως ακολούθως [1]: α) στις απλές, οι οποίες είναι τα υδροξυλιωμένα, αλκοξυλιωμένα ή αλκυλιωμένα παράγωγά τους, καθώς και οι γλυκοζίτες τους, β) στις φουρανοκουμαρίνες, οι οποίες είναι τα παράγωγα που περιέχουν κι έναν πενταμελή δακτύλιο φουρανίου προσδεμένο στον πυρήνα της κουμαρίνης, γ) στις πυρανοκουμαρίνες, οι οποίες είναι παρόμοιες ενώσεις με τις προηγούμενες, αλλά περιέχουν έναν εξαμελή δακτύλιο και δ) στις κουμαρίνες που είναι υποκατεστημένες στο δακτύλιο πυρανίου.

Οι κουμαρίνες είναι ενώσεις που βρίσκουν εφαρμογές σε πολλά πεδία των επιστημών και της βιομηχανίας. Παράγωγα κουμαρινών χρησιμοποιούνται ως

πρόσθετα φαγητών, ως καλλυντικά, βαφές, φυτοφάρμακα και αρώματα [2]. Αυτά τα μόρια, ως πυρήνας απαντούν σε πολλά φυσικά προϊόντα με βιολογικές ιδιότητες, όπως αντιβιοτικές, αντιϊκές, αντι-HIV, αντιθρομβωτικές και κυτταροτοξικές [3,4]. Η μελέτη των προϊόντων αυτών, αποκάλυψε πως ένα ευρύ φάσμα εκχυλισμάτων φυτών και βοτάνων για θεραπευτική χρήση, που είναι γνωστά από το 1000 μΧ έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε κουμαρίνες. Πρόσφατα, δημοσιεύτηκε από την ερευνητική ομάδα του Surigan, πως αυτές οι ενώσεις αποτελούν μία νέα κλάση αναστολέων της καρβονικής ανυδράσης [5].

Επομένως, είναι αναμενόμενο να υπάρχουν και εμπορικά διαθέσιμα φάρμακα που έχουν ως δραστική ένωση παράγωγα κουμαρινών και ιδίως 4-υδροξικουμαρινών [6,7]. Ανάμεσα σε αυτά, τα πιο ευρέως γνωστά είναι η **warfarin** (βαρφαρίνη) και η **acenocoumarol**. Η πρώτη είναι το κυρίαρχο φάρμακο σε αντιθρομβωτικές θεραπείες παγκοσμίως εδώ και πάνω από 20 χρόνια [8]. Η δεύτερη δρα με παρόμοιο τρόπο και γι' αυτόν το λόγο, πλήθος 4-υδροξικουμαρινών έχουν μελετηθεί για αντιθρομβωτικές και άλλες δράσεις [9].



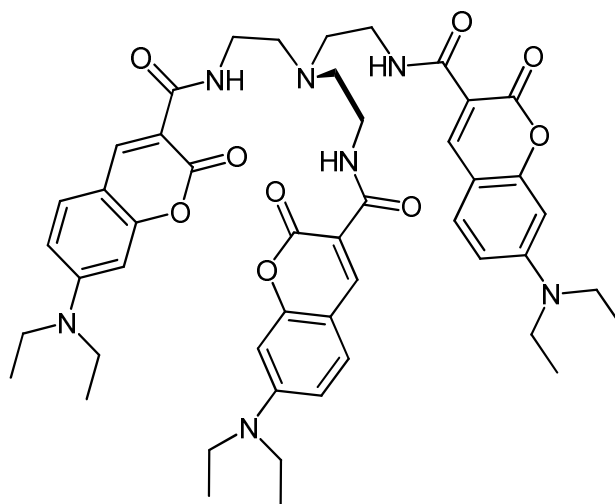
Σχήμα 8.3 Τα δύο σημαντικότερα φαρμακευτικά προϊόντα κουμαρινών

Επιπλέον, παράγωγα όπως οι 4-αρυλοκουμαρίνες (νεοφλαβονοειδή) και οι 3-αρυλοκουμαρίνες έχουν προσελκύσει το ερευνητικό ενδιαφέρον, λόγω των βιολογικών τους δράσεων, όπως αντι-HIV, αντιελονοσιακά [10], αντιβακτηριακά [11], κα. Τέλος, η umbelliferone (7-υδροξικουμαρίνη) είναι το κύριο προϊόν του μεταβολισμού της κουμαρίνης στον άνθρωπο.



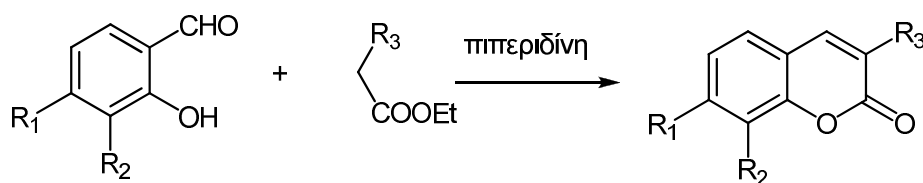
Σχήμα 8.4 Δισκία βαρφαρίνης 3 mg (μπλε), 5 mg (ροζ) και 1 mg (καφέ). Αντίστοιχα σκευάσματα acenocoumarol κυκλοφορούν και στην ελληνική αγορά με την εμπορική ονομασία Sintrom

Εκτός από τις βιολογικές τους ιδιότητες, οι κουμαρίνες έχουν μελετηθεί εκτενώς και για εφαρμογές στη φωτονική και την ηλεκτρονική [12,13], όπως ανιχνευτές φθορισμού, συλλέκτες ηλιακής ενέργειας, λόγω της υψηλής απόδοσης εκπομπής, της εξαιρετικής φωτοσταθερότητας, του εκτεταμένου εύρους φάσματος, της καλής σταθερότητας και της σχετικά εύκολης σύνθεσής τους. Μάλιστα, από τότε που οι Tang και συνεργάτες [14] χρησιμοποίησαν για πρώτη φορά την 3-(2-βενζοθειαζολυλο)-7-διαιθυλαμινοκουμαρίνη (coumarin 6) ως υλικό ηλεκτροφωταύγειας (EL) με επιτυχία, οι κουμαρίνες αυτού του είδους έχουν προσελκύσει το ενδιαφέρον των ερευνητών, λόγω της πιθανής εφαρμογής τους στα OLEDs (οργανική δίοδος εκπομπής φωτός). Από τότε, αρκετά παράγωγα έχουν χρησιμοποιηθεί ως προσμίξεις [15], μεταξύ αυτών και σχηματισμοί με τρίποδες [16].



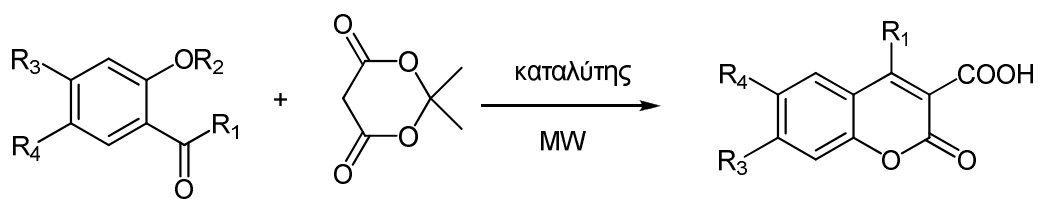
Σχήμα 8.5 Σχηματισμοί κουμαρινών με τρίποδες για χρήση ως προσμίξεις στα OLEDs

Οι πρώτες συνθετικές πορείες προς την κουμαρίνη ή παράγωγα αυτής εμφανίστηκαν στα τέλη του 18^{ου} αιώνα. Κυρίαρχες μεθοδολογίες είναι η συμπύκνωση Pechmann [17], Suzuki [18], Wittig [19] και Knoevenagel [20]. Η τελευταία βασίζεται στη συμπύκνωση σαλικυλικών αλδευδών με ενώσεις ενεργού μεθυλενίου.



Σχήμα 8.6 Σύνθεση υποκατεστημένων κουμαρινών μέσω συμπύκνωσης Knoevenagel μεταξύ μίας σαλικυλικής αλδεΐδης και μίας ένωσης ενεργού μεθυλενίου

Εκτός από αλδεΐδες, έχει αναφερθεί η χρήση 2-υδροξυακετοφαινονών [21], καθώς και η χρήση 2-υδροξυβενζοφαινονών [22,23]. Επιπρόσθετα, έχουν δημοσιευθεί μέθοδοι σύνθεσης με χρήση εποξειδίων [24] και αρυλοκαρβαμιδίων [25].



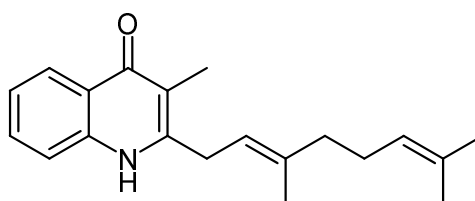
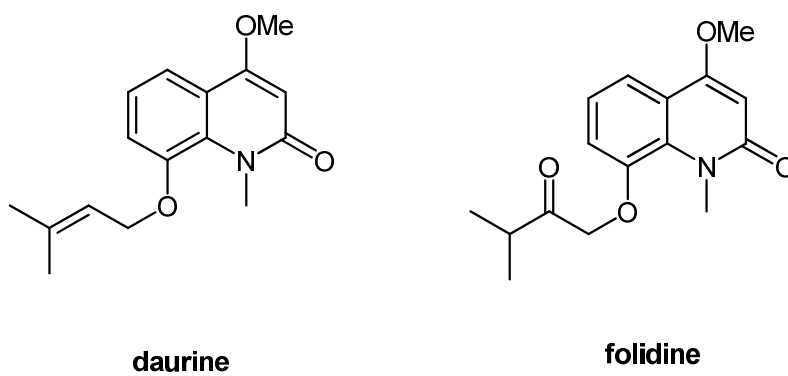
Σχήμα 8.7 Αντίδραση βενζαλδεϋδών ή ακετοφαινονών με οξύ του Meldrum παρουσία καταλυτικής ποσότητας $LiClO_4$ ή $LiBr$ προς 3-καρβοξικουμαρίνες

8.2 Κινολινόνες: Ιδιότητες, εφαρμογές και μέθοδοι σύνθεσής τους

Οι κινολινόνες είναι αζωτούχες ανάλογες ενώσεις της κουμαρίνης. Ως ετεροκυκλικές ενώσεις, αποτελούν μία σημαντική πηγή για τις φαρμακευτικές και αγροχημικές βιομηχανίες. Σε αντίθεση με τις κουμαρίνες, οι κινολινόνες, λόγω της παρουσίας του αζώτου, μπορούν να φέρουν υποκαταστάτη στη θέση 1 του ετεροκυκλικού δακτυλίου. Είναι γνωστές και ως carbostyryls, αν και όχι τόσο ευρέως διαδεδομένες με αυτήν την ονομασία, καθώς μία απλή αναζήτηση των δύο ονομασιών στη βάση δεδομένων SciFinder δίνει σχεδόν 3600 αποτελέσματα για την πρώτη, έναντι μόλις 2100 για τη δεύτερη.

Τα πιο διαδεδομένα παράγωγα είναι οι 2- και 4-κινολινόνες, οι οποίες έχουν μελετηθεί πιο εκτενώς ως προς τις βιολογικές τους δράσεις. Οι 4-υδροξυ-2-κινολινόνες ως κατηγορία ενώσεων, εμφανίζουν πολυποίκιλες φαρμακολογικές ιδιότητες, όπως ανταγωνιστές του υποδοχέα NMDA [26,27], ανταγωνιστές του υποδοχέα σεροτονίνης [28] και με δράσεις κατά του άσθματος [29]. Ακόμη, έχουν παρασκευαστεί ως αντιμυκητιακοί παράγοντες [30] και έχουν μελετηθεί ως φυτοφάρμακα και εντομοκτόνα [31].

Χαρακτηριστικά παραδείγματα 2-κινολινονών αποτελούν οι daurine και folidine [32] οι οποίες απομονώθηκαν από τα *Halophyllum dauricum* [33] και *H. foliosum* [34] αντίστοιχα. Ανάλογα, από φυσικές πηγές (*Pseudonocardia* sp. CL38489) απομονώθηκαν και 8 4-κινολινόνες (CJ-13136 κα) με αντιβακτηριδιακή δραστηριότητα, ιδίως έναντι του *Helicobacter pylori*.



CJ-13,136

Σχήμα 8.8 Φυσικά προϊόντα που περιέχουν το δακτύλιο της 2- ή 4-κινολινόνης.

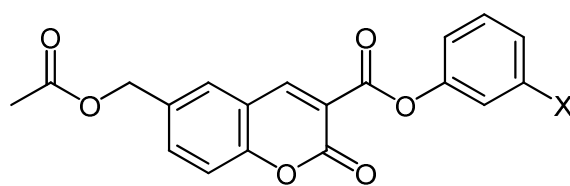
8.3 Αντικαρκινικές ιδιότητες κουμαρινών και κινολινονών

Μεταξύ των βιοχημικών και φαρμακολογικών ιδιοτήτων αυτών των μορίων, αυτές που έχουν μελετηθεί πιο εκτενώς είναι οι αντικαρκινικές. Ιδίως οι κουμαρίνες, έχουν μελετηθεί σχεδόν εξαντλητικά με πειράματα *in vitro*, *in vivo* και με κλινικές μελέτες. Παρόλα αυτά, έχει παρατηρηθεί, πως τα αποτελέσματα αυτών των μετρήσεων από διαφορετικές κουμαρίνες με διαφορετικές καρκινικές κυτταρικές γραμμές, είναι αντιφατικά πολλές φορές. Το γεγονός αυτό, μας υποδεικνύει πως υπάρχει ακόμη μακρύς δρόμος μέχρι να καταλήξει η επιστήμη ποια ενεργή ένωση είναι η κατάλληλη για τη θεραπεία κάθε τύπου καρκίνου. Ακόμη, η ιδιότητα αυτών των μορίων να προσδένονται με μεταλλικά ιόντα, παρέχει επιπλέον δυνατότητες τροποποίησης των φαρμακολογικών τους αντιδράσεων [35].

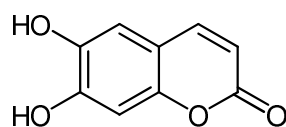
Γενικά, μελέτες *in vitro* συσχετισμού δομής δραστηριότητας, έχουν δείξει πως η κυτταροτοξικότητα είναι παρούσα σε ενώσεις που περιέχουν ορθο-διυδροξύ υποκαταστάτες [36]. Το ίδιο ισχύει και για κουμαρίνες που φέρουν μία κατεχολική ομάδα στην κύρια δομή τους.

Οι Ratanasavanah και συνεργάτες συνέκριναν την κυτταροτοξική δράση κουμαρινών και υδροξυκουμαρινών σε καλλιεργημένα ηπατοκύτταρα από σκύωτι ανθρώπου, αρουραίου, ποντικίου και κουνελιού. Τα αποτελέσματα έδειξαν κάτι πολύ σημαντικό: οι ιδιότητες αυτές εξαρτώνται από το είδος και το μεταβολισμό και ειδικά οι αρουραίοι ίσως είναι ακατάλληλο μοντέλο για τη βιολογική αποτίμηση αυτών των παραγώγων στον άνθρωπο [37].

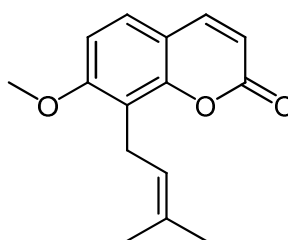
Φυσικά προϊόντα ή συνθετικές κουμαρίνες με απλές δομές, όπως η esculetin, η osthole και η συνθετική 7-υδροξυ-6-νιτροκουμαρίνη είναι γνωστό πως έχουν αξιόλογες αντικαρκινικές ιδιότητες [38-40]. Ειδικά η osthole έχει δειχθεί πως είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική στην αντιμετώπιση του καρκίνου του ήπατος. Πρόσφατα, δημοσιεύτηκε μελέτη, σύμφωνα με την οποία, τα δύο συνθετικά παράγωγα 6-υποκατεστημένου κουμαρινο-3-καρβοξυλικού οξέος που παρουσιάζονται στο σχήμα 8.9 επιδεικνύουν σημαντική αναστολή των καρκινικών όγκων σε *in vitro* και *in vivo* μελέτες [41].



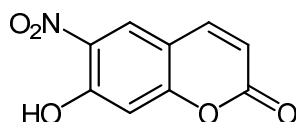
X = Cl, Br



esculetin



osthole

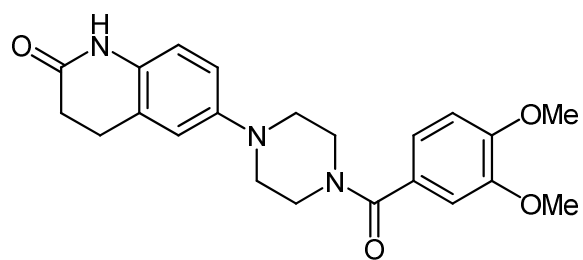


7-hydroxy-6-nitrocoumarin

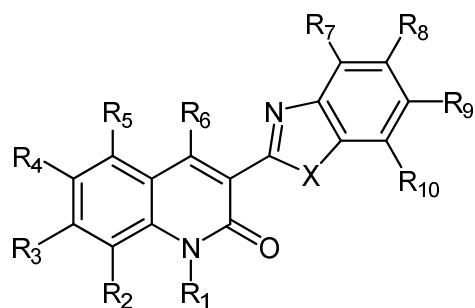
Σχήμα 8.9 Χημικές δομές κουμαρινών με αντικαρκινική δράση.

Αντίστοιχα, όσον αφορά στις κινολινόνες, οι αναφορές σε αντικαρκινικές δράσεις είναι περιορισμένες, εκτός από αμιδικά παράγωγα, στα οποία θα αναφερθούμε στη συνέχεια. Άξια αναφοράς είναι μία πατενταρισμένη εφεύρεση που αφορά ανάπτυξη κινολινικών παραγώγων για τη θεραπεία διάφορων μορφών καρκίνου [42]. Ακόμη, ευρέως γνωστή είναι η ένωση vesnarinone, μία 3,4-διϋδροκινολιόνη. Η ένωση αυτή είναι καθιερωμένο καρδιοτονωτικό φάρμακο και, σχετικά πρόσφατα έχει μελετηθεί για τις αντικαρκινικές της δράσεις [43,44].

8 Θεωρητικό Μέρος



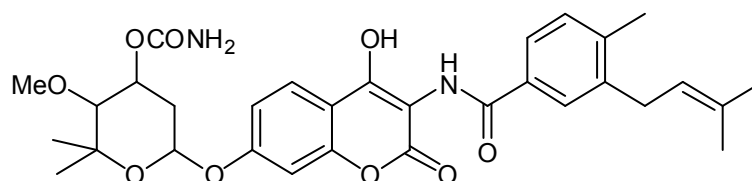
vesnarinone



Σχήμα 8.10 Κινολινόνες με αντικαρκινική δράση.

8.4 Καρβοξαμίδια κουμαρινών και κινολινονών

Η παρουσία διαφορετικών υποκαταστατών, όπως προαναφέρθηκε, διαφοροποιεί τις βιολογικές ιδιότητες των ενώσεων αυτών. Ειδικότερα, κουμαρίνες όπως οι **novobiocin**, **chlorobiocin**, **coumermycin** και **simocyclinone**, που περιέχουν



novobiocin

Σχήμα 8.11 Το πιο ευρέως διαδεδομένο αμιδικό παράγωγο κουμαρίνης με αντικαρκινική δράση

έναν αμιδικό δεσμό στη θέση 3 του ετεροκυκλικού δακτυλίου είναι δραστικά αντιβιοτικά [45,46].

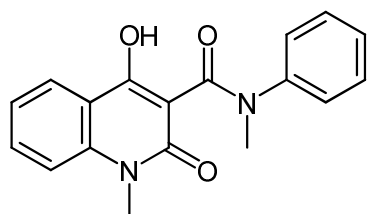
Ακόμη, 4-υδροξικουμαρίνο-3-καρβοξαμίδια έχουν παρασκευαστεί ως πιθανά φάρμακα για τη θεραπεία του διαβήτη. [47]. Δύο πρόσφατες δημοσιεύσεις από το εργαστήριο οργανικής χημείας του ΕΜΠ, έχουν δείξει πως αμινοαμίδια κουμαρινών και κινολινονών παρουσιάζουν αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες [48,49].

Όσον αφορά στην αντικαρκινική δράση, πρόσφατες μελέτες έδειξαν πως 3-καρβοξαμίδια κουμαρινών, αναστέλλουν εκλεκτικά την καρκινική κυτταρική ανάπτυξη [50]. Σε άλλη εργασία, μία βιβλιοθήκη 3-σουλφοναμιδίων κουμαρινών, παρασκευάστηκε και παρουσιάστηκε η ικανότητά τους να καταστρέφουν καρκινικά κύτταρα *in vitro*, μεταξύ αυτών προστάτη, πνεύμονα, στήθους και χρόνιας λευχαιμίας [51].

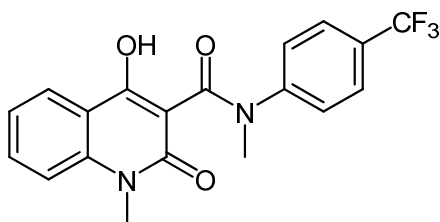
Παρόμοια, αρκετά αμίδια κινολινονών είναι γνωστά στους ερευνητές για τη βιολογική τους δράση. Η **linomide** ή **roquinimex**, είναι ένα 3-καρβοξαμίδιο 4-υδροξυ-2-κινολινονης είναι ένα μόριο το οποίο έχει αποδεδειγμένη

αντιφλεγμονώδη δραστικότητα. Επιπρόσθετα, το μόριο αυτό έχει μελετηθεί και για τις αντικαρκινικές του ιδιότητες. Έχει αποδειχθεί πως αναστέλλει τη διαδικασία της αγγειογένεσης, η οποία αποτελεί το καθοριστικό στάδιο της ανάπτυξης καρκίνου [52].

Εντούτοις, η ένωση αυτή ως φάρμακο αποκλείστηκε κατά τις μελέτες φάσης 3, λόγω της μη αποδεκτής τοξικότητας [53]. Έτσι, τα επόμενα χρόνια η έρευνα επικεντρώθηκε στο σχεδιασμό και σύνθεση αναλόγων του linomide χωρίς τις τοξικές αντιδράσεις. Το μόριο **tasquinimod**, βρέθηκε 30 έως 60 φορές πιο δραστικό από τη linomide σε καρκίνο του προστάτη σε αρουραίους και επιδείκνυε θεραπευτική δράση με δόση από του στόματος μόλις 0.5-1 μm [54].



linomide



tasquinimod

Σχήμα 8.12 3-καρβοξαμίδια 4-υδροξυ-2-κινολινόνης με αντικαρκινική δράση.

9

Σύνθεση και μελέτη αμιδίων κουμαρινών και κινολινονών

9.1 Εισαγωγή

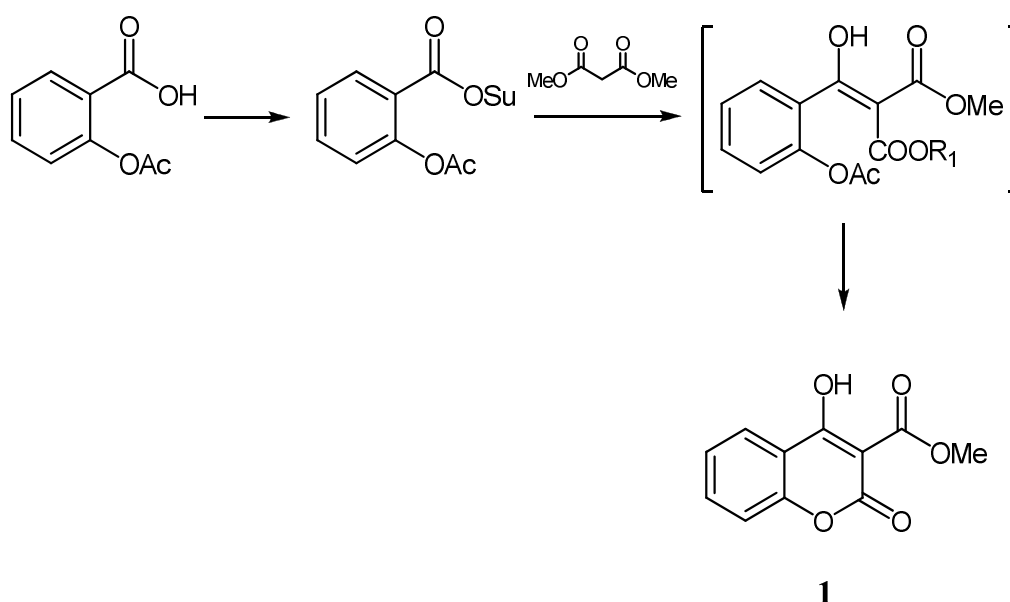
Οι αντικαρκινικές ιδιότητες που περιγράφηκαν στο θεωρητικό μέρος, μας παρακίνησαν να συνθέσουμε μία βιβλιοθήκη παραγώγων, δεδομένου ότι υπήρχε η δυνατότητα να ελέγξουμε τη δραστικότητά τους ως αντικαρκινικά. Σκοπός μας ήταν να παρασκευάσουμε παράγωγα με διαφοροποιήσεις σε συγκεκριμένες ομάδες, ώστε να εξαχθούν συμπεράσματα για τη σχέση δομής-δραστικότητας και να είμαστε σε θέση να προτείνουμε μόρια, ως ενώσεις οδηγούς για χρήση στη φαρμακοβιομηχανία ή για περαιτέρω μελέτη.

Ως προς το ετεροκυκλικό δακτύλιο, επιλέχθηκαν 4-υδροξικουμαρίνες, *N*-μεθυλο-4-υδροξικινολιόνες και *N*-φαιnyλο-4-υδροξικινολιόνες. Όσον αφορά στην πλευρική αλυσίδα, χρησιμοποιήθηκαν διαμίνες με ελεύθερες τις δύο αμινομάδες, όπως η αιθυλενοδιαμίνη και η 1,2-φαιnyλενοδιαμίνη, καθώς και διαμίνες με διϋποκατεστημένη τη μία αμίνη, όπως η *N,N*-διμεθυλοαιθυλενοδιαμίνη και η 1-(2-αμινοαιθυλο)πιπεριδίνη.

9.2 Αποτελέσματα - Συζήτηση

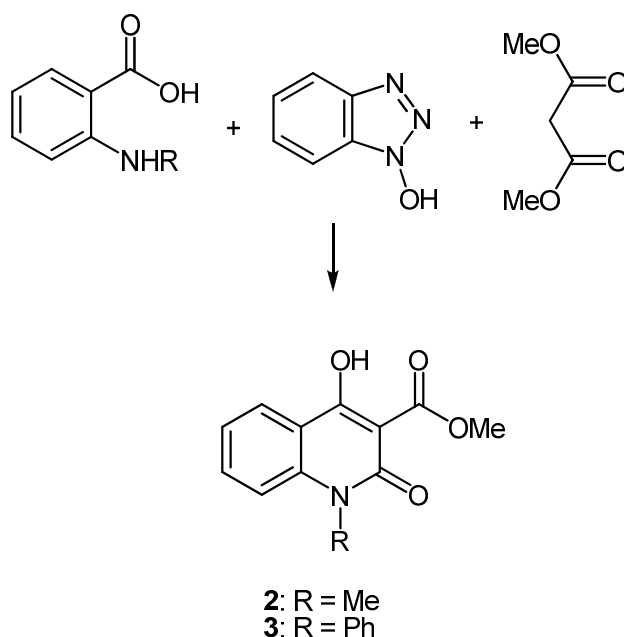
9.2.1 Σύνθεση

Για τη σύνθεση των ετεροκυκλικών δακτυλίων εφαρμόστηκαν μέθοδοι του εργαστηρίου οργανικής χημείας. Συγκεκριμένα, λόγω αποδοτικότητας και ευκολίας σύνθεσης, οι κουμαρίνες παρασκευάστηκαν με τη μέθοδο των N-υδροξυηλεκτριμιδοεστέρων [55] και οι κινολινόνες με τη μέθοδο του HOBt [56].



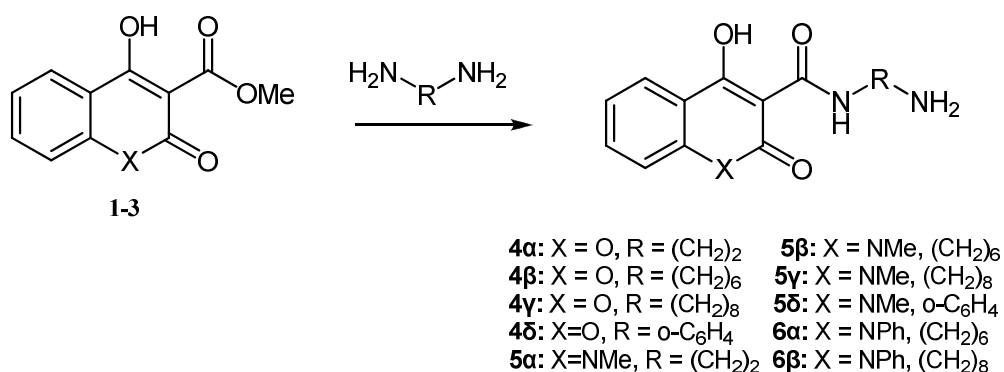
Σχήμα 9.1 Σύνθεση 3-μεθοξυκαρβονυλο-4-υδροξυκουμαρινών

9 Σύνθεση και μελέτη αμιδίων κουμαρινών και κινολινονών



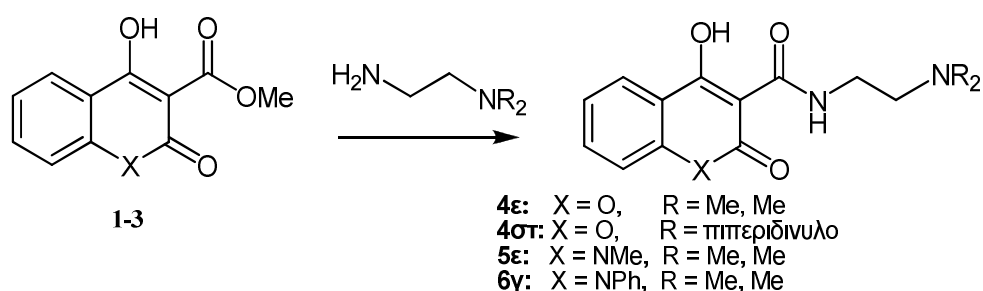
Σχήμα 9.2 Σύνθεση N-μεθυλο και N-φαινυλο 3-μεθοξυκαρβονυλο-4-υδροξυκινολινονών

Η διαδικασία σύνθεσης των αμινοαμιδίων είναι ιδιαίτερα απλή. Ειδικά στην περίπτωση των ελεύθερων διαμινών, τα αμίδια σχηματίζονται μετά από θέρμανση των αντιδρώντων σε τολουόλιο ως διαλύτη και καταβυθίζονται κατά τη διάρκεια της αντίδρασης. Ακολουθούν διήθηση και προσεκτικές εκπλύσεις με τολουόλιο και διαιθυλαιθέρα, ώστε να παραληφθούν τα προϊόντα σε πολύ καλή καθαρότητα. Μόνο σημείο προσοχής, η ανάγκη χρήσης περίσσειας διαμίνης, ώστε να εξασφαλιστεί ότι δε θα σχηματιστούν τα διαμίδια.



Σχήμα 9.3 Σύνθεση πρωτοταγών αμινοαμιδίων κουμαρινών και κινολινονών

Στην περίπτωση των υποκατεστημένων διαμινών, η πορεία αυτή δεν αποδίδει. Μετά από δοκιμές, καταλήξαμε σε μία διαφοροποιημένη μέθοδο, της οποίας κύρια διαφορά από την προηγούμενη είναι η αντίδραση σε πολικό πρωτικό διαλύτη (μεθανόλη) ή χωρίς διαλύτη (solvent free), ανάλογα τους υποκαταστάτες. Κατόπιν επεξεργασίας με τους κατάλληλους διαλύτες, παραλαμβάνουμε τα καθαρά παράγωγα.



Σχήμα 9.4 Σύνθεση τριτοταγών αμινοαμιδίων κουμαρινών και κινολινονών

Τα φασματοσκοπικά δεδομένα των ενώσεων αυτών, δεν παρουσιάζουν κάποια αξιοσημείωτα χαρακτηριστικά. Τα πρωτοταγή αμινοαμίδια είναι όχι επαρκώς διαλυτά για φασματοσκοπικές αναλύσεις, παρά μόνο με προσθήκη ελάχιστης ποσότητας τριφθοροξικού οξέος, οπότε προφανώς σχηματίζεται το άλας της αμίνης, το οποίο είναι διαλυτό. Αντίθετα, τα τριτοταγή αμινοαμίδια έχουν ικανοποιητική διαλυτότητα σε κοινούς διαλύτες, όπως το χλωροφόρμιο.

9.2.2 Κρυσταλλογραφική ανάλυση δομής με ακτίνες Χ

Το μόριο που επιλέχθηκε για την κρυσταλλογραφική ανάλυση ήταν το N-[2-(διμεθυλαμινο)αιθυλο]-4-υδροξυ-2-οξο-1-φαινυλο-1,2-διυδροκινολίνο-3-καρβοξαμίδιο (**6γ**). Η επιλογή αυτή έγινε, διότι η ένωση αυτή εκτός από αντιπροσωπευτική των αμιδίων που παρασκευάστηκαν, έχει κάποια χαρακτηριστικά που καθορίζουν τη δομή της και αξίζουν να μελετηθούν. Έχει ως υποκαταστάτη στο N έναν αρωματικό δακτύλιο του βενζολίου, μία μικρή αλυσίδα στη θέση 3 και το άζωτο της αμίνης της θέσης 3 είναι τριτοταγές.

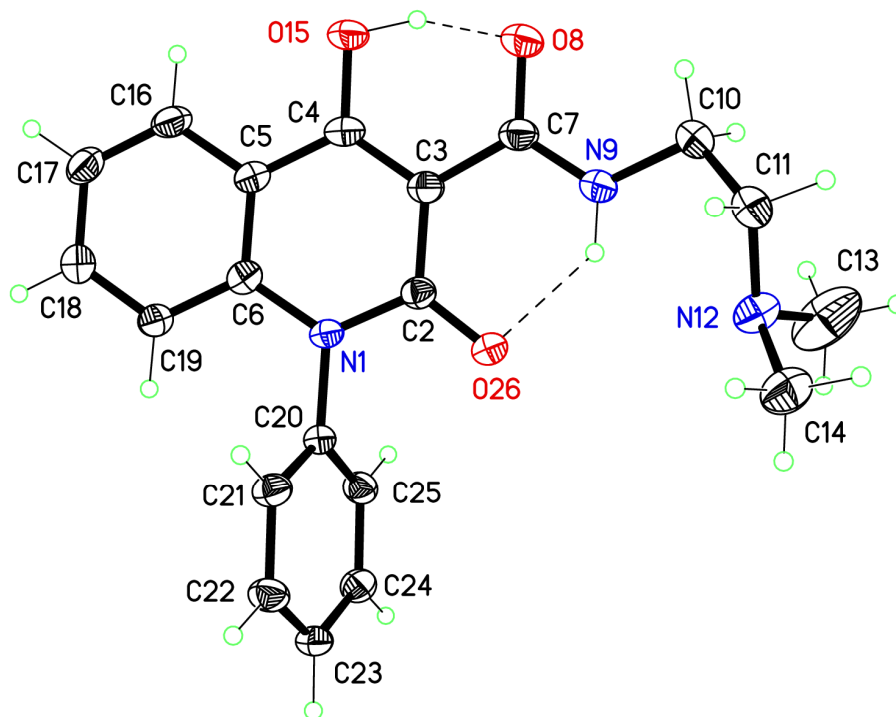
Το μόριο αυτό έχει την τάση να κρυσταλλώνει εύκολα. Ως εκ τούτου, δεν ακολουθήσαμε κάποια ιδιαίτερη τεχνική στην κρυστάλλωσή της, αφού το στερεό προϊόν κατέπεσε σε κρυσταλλική μορφή στο διάλυμα της αντίδρασης. Συγκεκριμένα, στο σκούρο καφέ ελαιώδες προϊόν της αντίδρασης, προστέθηκε μικρή ποσότητα αιθανόλης. Τα δύο αυτά υγρά αναμίχθηκαν πλήρως και αμέσως άρχισε η καταβύθιση του προϊόντος, η οποία ολοκληρώθηκε σε 48 ώρες υπό ψύξη. Το στερεό διηθήθηκε, εκπλύθηκε με ψυχρή αιθανόλη και χωρίς άλλη επεξεργασία εστάλη προς κρυσταλλογραφική ανάλυση.

Τα δεδομένα συλλέχθηκαν σε θερμοκρασία 150(2)K σε ένα Bruker apex II CCD diffractometer χρησιμοποιώντας ΜΟΚα radiation ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$). Η δομή αναλύθηκε με άμεσες μεθόδους και καθορίστηκε με βάση F^2 χρησιμοποιώντας όλες τις αντανάκλασεις [57]. Όλα τα άτομα εκτός από το υδρογόνο καθορίστηκαν χρησιμοποιώντας ανιστροπικές παραμέτρους αντικατάστασης και τα άτομα υδρογόνου που είναι συνδεδεμένα με άνθρακα εισήχθησαν στις υπολογισμένες θέσεις με βάση υπολογιστικό μοντέλο. Το άτομο υδρογόνου που είναι συνδεδεμένο με το οξυγόνο εντοπίστηκε μέσω χαρτών διαφοράς και οι συντεταγμένες βελτιστοποιήθηκαν. Οι παράμετροι της συλλογής δεδομένων και βελτιστοποίησης παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 9.1 Κρυσταλλικά δεδομένα και βελτιστοποίηση δομής

Identification code	dm17
Empirical formula	C ₁₅ H ₁₃ N O ₄
Formula weight	271.26
Temperature	150(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system	Triclinic
Space group	P-1
Unit cell dimensions	a = 3.9451(9) Å α = 13.488(3)°. b = 12.195(3) Å β = 91.711(3)°. c = 14.380(3) Å γ = 90.875(3)°.
Volume	633.9(2) Å ³
Z	2
Density (calculated)	1.421 Mg/m ³
Absorption coefficient	0.104 mm ⁻¹
F(000)	284
Crystal size	0.45 x 0.22 x 0.07 mm ³
Crystal description	colourless latn
Theta range for data collection	1.55 to 26.37°.
Index ranges	-4<=h<=4, -15<=k<=15, -17<=l<=17
Reflections collected	7256
Independent reflections	2564 [R(int) = 0.0325]
Completeness to theta = 26.37°	99.7 %
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents
Max. and min. transmission	0.9927 and 0.9546
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	2564 / 0 / 186
Goodness-of-fit on F ²	1.024
Final R indices [I>2σ(I)]	R1 = 0.0394, wR2 = 0.0929
R indices (all data)	R1 = 0.0608, wR2 = 0.1031
Largest diff. peak and hole	0.203 and -0.226 e.Å ⁻³

Η κρυσταλλική δομή απεικονίζεται στο *σχήμα 9.4*.



Σχήμα 9.4 Μοριακή δομή του N-[2-(διμεθυλαμινο)αιθυλο]-4-υδροξυ-2-οξο-1-φαινυλο-1,2-διυδροκινολίνο-3-καρβοξαμιδίου (**6γ**). Η διακεκομμένη γραμμή αναπαριστά δεσμό υδρογόνου. Τα θερμικά ελλειψοειδή είναι σχεδιασμένα στο 50% του επιπέδου πιθανότητας

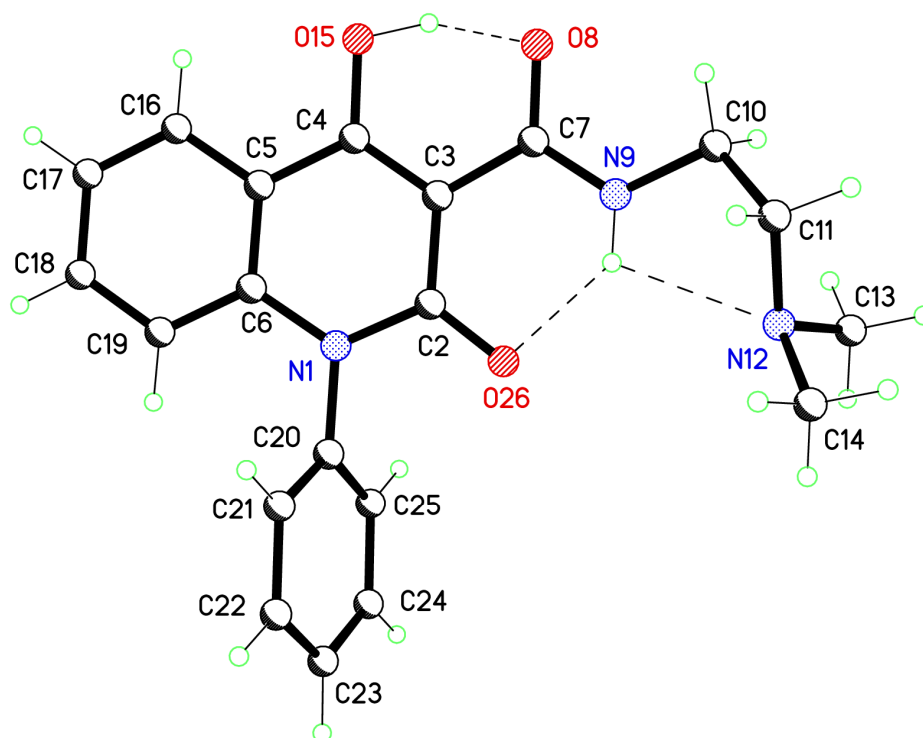
Τα πρώτα πολύ σημαντικά στοιχεία για τη διαμόρφωση του μορίου δίνουν τα μήκη δεσμών. Ο δεσμός μεταξύ N(1) και C(2) (σύμφωνα με την αρίθμηση του σχήματος 9.4) έχει χαρακτήρα διπλού δεσμού, αφού το μήκος του είναι 1.39 Å (μήκος απλού δεσμού 1.47 Å και διπλού 1.28 Å). Θυμίζουμε πως ο αντίστοιχος δεσμός στο 5-βενζυλιδενωτετραμικό οξύ του μέρους 2 ήταν απλός. Σύμφωνα με τους υπολογισμούς, ο C(2) συνδέεται με το O(26) ξεκάθαρα με διπλό δεσμό (1.24 Å), όπως ήταν αναμενόμενο. Ο δεσμός μεταξύ C(3) και C(4) είναι διπλός (1.39 Å), ενώ ο δεσμός μεταξύ C(3) και C(7) είναι απλός αν και κοντύτερος. Αξιοσημείωτα είναι τα δεδομένα για τους δεσμούς C(4)-O(15) και C(7)-O(8). Το μήκος του δεύτερου είναι αντιστοιχεί σε διπλό δεσμό, ενώ του πρώτου είναι μεταξύ απλού και διπλού. Τέλος, ο δεσμός C(7)-N(9) έχει σαφή χαρακτήρα διπλού δεσμού, όπως θα περιμέναμε από έναν αμιδικό δεσμό.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται συνολικά όλα τα μήκη δεσμών του μορίου.

Πίνακας 9.2 Μήκη δεσμών (Å) του μορίου.

Δεσμός	Μήκος (Å)	Δεσμός	Μήκος (Å)
N(1)-C(2)	1.394(2)	N(9)-C(10)	1.453(3)
N(1)-C(6)	1.400(2)	C(10)-C(11)	1.510(3)
N(1)-C(20)	1.448(2)	C(11)-N(12)	1.448(3)
C(2)-O(26)	1.240(2)	N(12)-C(13)	1.450(3)
C(2)-C(3)	1.446(3)	N(12)-C(14)	1.454(3)
C(3)-C(4)	1.386(3)	C(16)-C(17)	1.375(3)
C(3)-C(7)	1.471(3)	C(17)-C(18)	1.387(3)
C(4)-O(15)	1.320(2)	C(18)-C(19)	1.375(3)
C(4)-C(5)	1.443(3)	C(20)-C(21)	1.382(3)
C(5)-C(6)	1.399(3)	C(20)-C(25)	1.383(3)
C(5)-C(16)	1.405(3)	C(21)-C(22)	1.395(3)
C(6)-C(19)	1.398(3)	C(22)-C(23)	1.380(3)
C(7)-O(8)	1.263(2)	C(23)-C(24)	1.383(3)
C(7)-N(9)	1.323(3)	C(24)-C(25)	1.386(3)

Ο αρωματικός δακτύλιος που είναι συνδεδεμένος με το άζωτο του δακτυλίου είναι στραμμένος κατά $72.48(2)^\circ$ σε σχέση με τους συμπυκνωμένους δακτυλίους. Οι τελευταίοι είναι σχεδόν επίπεδοι. Ο αμιδικός δεσμός, όπως φαίνεται και από το σχήμα 9.4 έχει διαμόρφωση cis. Αυτό ενισχύεται από τους δεσμούς υδρογόνου μεταξύ της αμινομάδας του αμιδίου και του καρβονυλίου της θέσης C-2, καθώς και μεταξύ του καρβονυλίου της αμινομάδας και της ενόλης της κινολινόνης. Πιθανότατα υπάρχει και ένας δεύτερος δεσμός υδρογόνου μεταξύ των N(9) και N(12). Η γωνία N-H-N είναι πολύ οξεία, αλλά πιθανή λόγω του προσανατολισμού της “ουράς” της αμίνης. Η διαμόρφωση παρόντος του τρίτου δεσμού υδρογόνου παρουσιάζεται σε ξεχωριστό σχήμα (9.4).



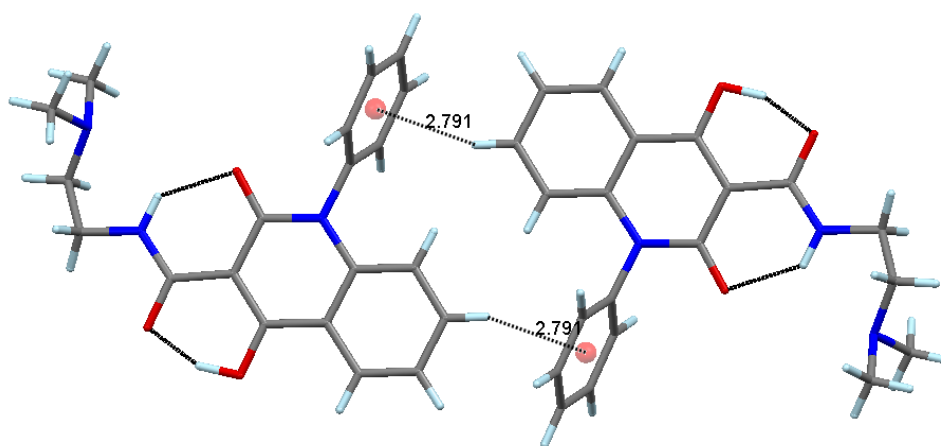
Σχήμα 9.5 Μοριακή δομή του N-[2-(διμεθυλαμινο)αιθυλο]-4-υδροξυ-2-οξο-1-φαινυλο-1,2-διυδροκινολίνο-3-καρβοξαμιδίου. Παρουσιάζεται και ο πιθανός δεσμός υδρογόνου N(9)-H-N(12). Η διακεκομμένη γραμμή αναπαριστά δεσμό υδρογόνου. Τα θερμικά ελλειψοειδή είναι σχεδιασμένα στο 50% του επιπέδου πιθανότητας.

Πίνακας 9.3 Γωνίες δεσμών (°) του μορίου.

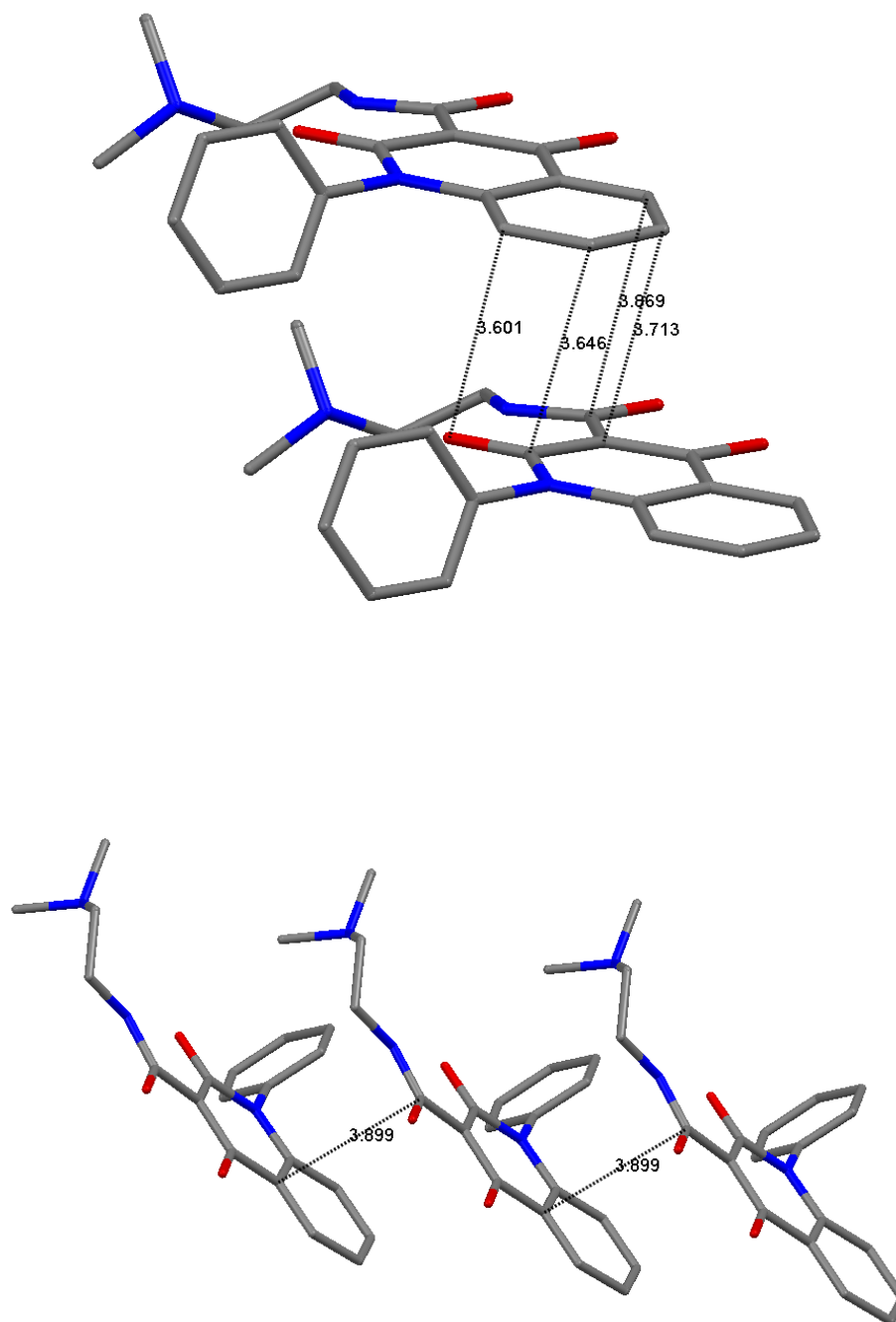
Δεσμός	Γωνία (°)	Δεσμός	Γωνία (°)
C(2)-N(1)-C(6)	122.96(16)	N(9)-C(7)-C(3)	119.14(18)
C(2)-N(1)-C(20)	116.92(16)	C(7)-N(9)-C(10)	123.56(18)
C(6)-N(1)-C(20)	120.11(16)	N(9)-C(10)-C(11)	108.77(17)
O(26)-C(2)-N(1)	118.77(17)	N(12)-C(11)-C(10)	111.61(18)
O(26)-C(2)-C(3)	123.74(18)	C(11)-N(12)-C(13)	111.6(2)
N(1)-C(2)-C(3)	117.48(17)	C(11)-N(12)-C(14)	111.45(18)
C(4)-C(3)-C(2)	120.33(18)	C(13)-N(12)-C(14)	109.69(19)
C(4)-C(3)-C(7)	117.62(18)	C(17)-C(16)-C(5)	120.28(19)
C(2)-C(3)-C(7)	122.03(18)	C(16)-C(17)-C(18)	119.5(2)
O(15)-C(4)-C(3)	122.47(19)	C(19)-C(18)-C(17)	121.2(2)
O(15)-C(4)-C(5)	116.99(18)	C(18)-C(19)-C(6)	120.10(19)

C(3)-C(4)-C(5)	120.53(18)	C(21)-C(20)-C(25)	120.77(18)
C(6)-C(5)-C(16)	119.89(19)	C(21)-C(20)-N(1)	119.97(17)
C(6)-C(5)-C(4)	118.99(18)	C(25)-C(20)-N(1)	119.24(17)
C(16)-C(5)-C(4)	121.12(18)	C(20)-C(21)-C(22)	118.90(19)
C(19)-C(6)-C(5)	119.01(18)	C(23)-C(22)-C(21)	120.6(2)
C(19)-C(6)-N(1)	121.39(17)	C(22)-C(23)-C(24)	119.85(19)
C(5)-C(6)-N(1)	119.59(18)	C(23)-C(24)-C(25)	120.05(19)
O(8)-C(7)-N(9)	121.0(2)	C(20)-C(25)-C(24)	119.80(19)
O(8)-C(7)-C(3)	119.83(19)		

Στα επόμενα σχήματα (9.6-9.8) φαίνονται οι διαμοριακές αλληλεπιδράσεις. Σε αυτό το σύστημα παρατηρούνται π-αλληλεπιδράσεις μεταξύ των συμπυκνωμένων δακτυλίων (π-π stacking). Ακόμη, όπως φαίνεται ξεκάθαρα κι από το *σχήμα 9.6*, υπάρχει αλληλεπίδραση τύπου edge-to-face, δηλαδή μεταξύ δύο δακτυλίων σε κάθετη σχεδόν θέση μεταξύ τους, στην οποία λαμβάνει μέρος και ο βενζολικός δακτύλιος που είναι συνδεδεμένος με το N(1).

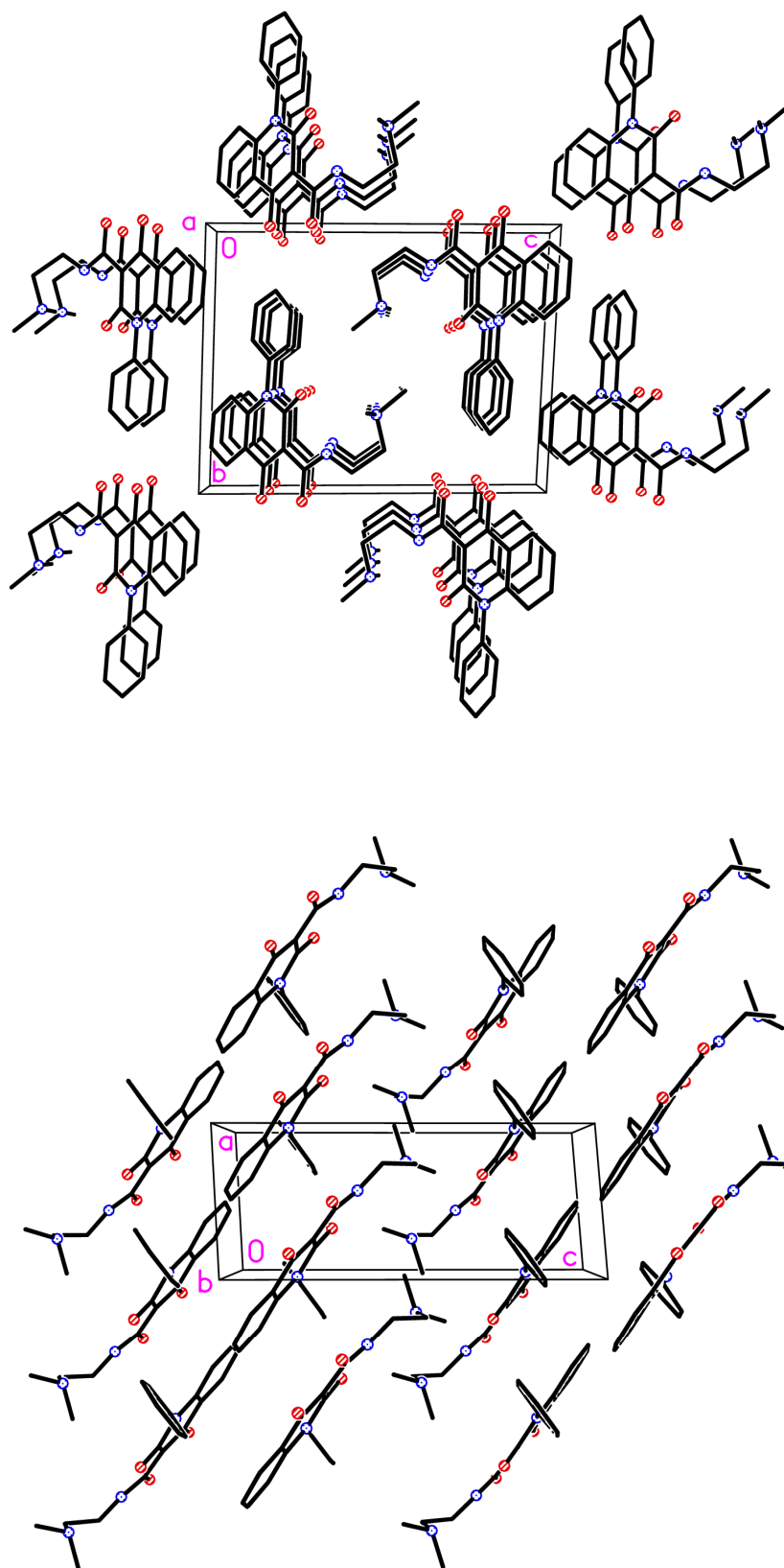


Σχήμα 9.6 Διαμοριακές αλληλεπιδράσεις. Φαίνεται η π-αλληλεπίδραση μεταξύ αρωματικών δακτυλίων σε κάθετη μεταξύ τους θέση (edge-to-face), καθώς και οι δεσμοί υδρογόνου.



Σχήμα 9.7 Διαμοριακές π-π αλληλεπιδράσεις στην κρυσταλλική δομή του N-[2-(διμεθυλαμινο)αιθυλο]-4-υδροξυ-2-οξο-1-φαινυλο-1,2-διυδροκινολίνο-3-καρβοξαμιδίου.

Οι κρύσταλλοι είναι τρικλινικοί και κρυσταλλώνουν στην P-1 ομάδα χώρου. Σε κάθε μοναδιαία κυψελίδα περιέχονται δύο μόρια (Σχήμα 9.8).



Σχήμα 9.8 Κρυσταλλική δομή κατά μήκος του άξονα b και a.

9 Σύνθεση και μελέτη αμιδίων κουμαρινών και κινολινονών

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα δεδομένα που αφορούν στους δεσμούς υδρογόνου.

Πίνακας 9.4 Γωνίες (Å) και μήκη (°) δεσμών υδρογόνου.

Δεσμός D-H...A	Μήκος D-H (Å)	Μήκος H...A (Å)	Μήκος D...A (Å)	Γωνία (°) DHA
N(9)-H(9)...O(26)	0.90(2)	1.97(2)	2.669(2)	134(2)
O(15)-H(15)...O(8)	0.99(3)	1.51(3)	2.445(2)	156(2)
N(9)-H(9)...N(12)	0.90(2)	2.40(2)	2.784(3)	106.4(18)

Τα πλήρη στοιχεία και υπολογισμοί της κρυσταλλογραφικής ανάλυσης (συντεταγμένες, παράμετροι, κλπ.) αναφέρονται σε πίνακες σε ειδικό παράρτημα.

9.2.3 Βιολογική Δραστικότητα

Η βιολογική αποτίμηση των υπό μελέτη παραγώγων βασίστηκε στην αντικαρκινική τους δράση σύμφωνα με τα *in vitro* πρότυπα MCI (GI50, TGI ή LC50). Τα μόρια που μελετήθηκαν είναι αμίδια κινολινονών και κουμαρινών που φέρουν λειτουργικές ομάδες στην αμιδική αλυσίδα με σκοπό να μελετηθούν τα εξής: α) η σχέση του αζώτου (κινολιόνες) ή του οξυγόνου (κουμαρίνες) στον ετεροκυκλικό δακτύλιο με την αντικαρκινική δράση και β) η σχέση τις αμιδικής αλυσίδας στη θέση 3 του δακτυλίου με την αντικαρκινική δράση του μορίου.

Οι καρκινικές κυτταρικές γραμμές που εφαρμόστηκαν ήταν η HCT-15 για τον καρκίνο του παχέος εντέρου, οι DU 145 και PC3 για τον καρκίνο του προστάτη, η MCF 7 για καρκίνο του μαστού, η IGROV-1 για καρκίνο ωοθηκών, η SKHep1 για καρκίνο του ήπατος και η HL-60 (TB) για την λευχαιμία.

Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 9.5 Συγκενρωτικά αποτελέσματα από τον *in vitro* έλεγχο των παραγώγων. Οι πειραματικοί παράγοντες: LC50 είναι η συγκέντρωση του φαρμάκου στην οποία παρατηρείται 50% μείωση της μετρώμενης πρωτεΐνης, TGI είναι η συγκέντρωση στην οποία επιτυγχάνεται πλήρης αναστολή ανάπτυξης, GI50 είναι η συγκέντρωση στην οποία αναστέλλεται η ανάπτυξη κατά 50%.

Ένωση	Συγκέντρωση. (mM)	Πρότυπο	HCT-15	DU 145	PC3	MCF 7	IGROV-1	SKHep1	HL-60 (TB)
4α	20	LC50		100,0	100,0		100,0	100,0	
		TGI		100,0	100,0		100,0	100,0	
		GI50		100,0	95,6		100,0	100,0	
4β	20	LC50		100,0	100,0		100,0	100,0	
		TGI		100,0	100,0		100,0	100,0	
		GI50		86,6	71,1		86,8	55,4	

9 Σύνθεση και μελέτη αμιδίων κουμαρινών και κινολινονών

4γ	20	LC50		47,5	100,0		100,0	100,0	100,0
		TGI		20,5	100,0		100,0	100,0	100,0
		GI50		8,14	41,8		77,0	38,2	100,0
4δ	20	LC50		100,0	100,0		100,0	100,0	
		TGI		100,0	100,0		100,0	100,0	
		GI50		93,5	75,7		100,0	71,3	
4ε	20	LC50	100,0	100,0	100,0		100,0	100,0	100,0
		TGI	100,0	100,0	100,0		100,0	100,0	100,0
		GI50	100,0	53,8	82,9		100,0	100,0	100,0
5α	20	LC50	100,0		100,0	100,0		100,0	
		TGI	100,0		100,0	100,0		100,0	
		GI50	100,0		53,6	100,0		97,6	
5β	20	LC50	100,0		100,0	100,0		100,0	
		TGI	100,0		100,0	100,0		100,0	
		GI50	39,2		83,2	65,8		61,1	
4στ	20	LC50	100,0			100,0		100,0	
		TGI	100,0			100,0		100,0	
		GI50	100,0			100,0		100,0	
6γ	20	LC50	100,0			100,0		100,0	
		TGI	100,0			100,0		100,0	
		GI50	79,7			100,0		79,5	
5δ	20	LC50			100,0		100,0	100,0	
		TGI			100,0		100,0	100,0	
		GI50			100,0		83,0	61,9	

Από τα παραπάνω αποτελέσματα, είναι φανερό πως ορισμένα προϊόντα παρουσιάζουν τιμή GI₅₀ κάτω από 50% (η ένωση **4γ** για την καρκινική κυτταρική γραμμή προστάτη PC3 και ήπατος SKHeP1 και η ένωση **5β** για την κυτταρική γραμμή καρκίνου του παχέος εντέρου) ή περίπου 50% (η ένωση **4β** για καρκίνο του ήπατος, η ένωση **4ε** για καρκίνο του προστάτη). Το παράγωγο **4γ** παρουσίασε πολύ υψηλή δραστικότητα έναντι της κυτταρικής γραμμής καρκίνου του προστάτη DU-145 με τιμή GI₅₀ 8,14 για συγκεντρώσεις 20 mM.

Οι μετρήσεις έλαβαν χώρα στα εργαστήρια της ANAVEX Life Sciences στην Παλλήνη Αττικής από το Δρ. Αλέξανδρο Βαμβακίδη.

9.3 Συμπεράσματα

Στην παρούσα μελέτη παρασκευάστηκαν και μελετήθηκαν ως προς την αντικαρκινική τους δραστικότητα μία αντιπροσωπευτική βιβλιοθήκη παραγώγων κουμαρινών και κινολινονών. Η σχεδίαση έγινε με βάση τις ενδείξεις της πλούσιας βιβλιογραφίας παρόμοιων προϊόντων και τις προτάσεις ειδικών βιολόγων. Η συνθετική μεθοδολογία είναι ιδιαίτερα απλή και αποδοτική, γεγονός που δίνει τη δυνατότητα της εφαρμογής στη βιομηχανία, λαμβάνοντας υπόψη πως οι πρώτες ύλες είναι φθηνές και τα παράγωγα λαμβάνονται σε πολύ καθαρή μορφή με τυπικές διεργασίες διαχωρισμού.

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων είναι ενθαρρυντικά και υποσχόμενα, καθώς μία τουλάχιστον ένωση έδειξε αξιόλογες αντικαρκινικές ιδιότητες κατά του καρκίνου του προστάτη. Οι ενώσεις αυτές μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ενώσεις οδηγό για την ανάπτυξη παραγώγων με σκοπό τη χρήση τους ως αντικαρκινικοί παράγοντες.

9.4 Μελλοντικές Προοπτικές

Τα επόμενα βήματα στη παρούσα προσπάθεια για ανάπτυξη αντικαρκινικών ενώσεων είναι τα εξής δύο: α) σύνθεση νέων παραγώγων με υποκαταστάτες καθορισμένους από τις βιολογικές μετρήσεις και β) σύνθεση μεγαλύτερης ποσότητας της ένωσης **4γ** με σκοπό να πραγματοποιηθούν περαιτέρω *in vitro* και *in vivo* πειράματα, όπως ξενομοσχεύματα.

9.5 Πειραματικό Μέρος

9.5.1 Γενικά

Οι πειραματικές πορείες πραγματοποιήθηκαν σε άνυδρες συνθήκες (ατμόσφαιρα αργού). Τα γυαλικά που χρησιμοποιήθηκαν είχαν ξηραθεί σε φούρνο στους 100 °C επί τουλάχιστον 30 λεπτά. Η ανάδευση πραγματοποιήθηκε με συνδυασμένη χρήση μαγνητικού αναδευτήρα – μαγνήτη κατάλληλου μεγέθους. Η ψύξη στους 0 °C πραγματοποιήθηκε σε λουτρό πάγου-νερού. Τα αντιδραστήρια είναι όλα εμπορικά διαθέσιμα και αγοράστηκαν από την Aldrich, Fluka και Acros και χρησιμοποιήθηκαν χωρίς περαιτέρω καθαρισμό. Οι χρωματογραφίες στήλης πραγματοποιήθηκαν σε silica gel Macherey-Nagel 0.063-0.2 mm/70-230 mesh. Το THF που χρησιμοποιήθηκε ήταν άνυδρο και αφυγράνθηκε σύμφωνα με δημοσιευμένη μέθοδο. Συγκεκριμένα, αποστάχθηκε από μίγμα νατρίου και βενζοφαινόνης (αναλογία 6g Na/8g Ph₂CO για 500mL THF). Στη συνέχεια, το άνυδρο THF φυλάχθηκε σε φιάλες των 100 mL σε ατμόσφαιρα αργού, παρουσία 4Å molecular sieves και πωματίστηκε με parafilm. Σε κάθε περίπτωση χρησιμοποιήθηκε φρεσκοαπεσταγμένο THF (μέγιστη παραμονή 2 εβδομάδες). Το τολουόλιο φυλάχθηκε σε φιάλη των 500 mL σε ατμόσφαιρα αργού, παρουσία 4Å molecular sieves και πωματισμένο με parafilm. Χρησιμοποιήθηκε μετά από τουλάχιστον 72 ώρες παραμονή σε αυτές τις συνθήκες.

Χαρακτηρισμός ενώσεων

Τα σημεία τήξης υπολογίστηκαν με μία συσκευή σημείου τήξης Gallenkamp MFB-595. Τα φάσματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού καταγράφηκαν με τη χρήση ενός φασματογράφου Varian Gemini-2000 300 MHz που λειτουργεί στα 300 MHz (¹H) και 75 MHz (¹³C). Οι χημικές μετατοπίσεις αναφέρονται σε ppm με σημείο αναφοράς τον κατάλληλο διαλύτη [D₆]DMSO (¹H: δ = 2.50 ppm, ¹³C: δ = 39.52 ppm) ή CDCl₃ (¹H: δ = 7.26 ppm, ¹³C: δ = 77.16 ppm).. Οι κουμαρίνες και οι N-μεθυλο και

N-φαινυλοκινολιनोंες που χρησιμοποιήθηκαν, ως πρώτες ύλες στις συνθέσεις παρασκευάστηκαν σύμφωνα με δημοσιευμένες μεθόδους [55,56].

***In vitro* κυτταροτοξική δράση**

Η κυτταρική βιωσιμότητα προσδιορίστηκε στην έναρξη του κάθε πειράματος με τη μέθοδο του αποκλεισμού της χρωστικής του μπλε του τρυπανίου (trypan blue dye) και βρέθηκε πάντοτε πάνω από 95%. Στη συνέχεια έγινε σπορά των κυττάρων σε πλακίδια μικροτιτλοποίησης 96 φρεατίων σε 100 μ l μέσου στην κατάλληλη πυκνότητα (3500-30000 κύτταρα ανά φρεάτιο) και ακολούθως, τα πλακίδια επώαστηκαν σε κανονικές συνθήκες για 24 ώρες, ώστε να επιτραπεί στα κύτταρα να παραχθεί μία εκθετική ενίσχυση πριν από την προσθήκη των εξεταζόμενων αντιδραστηρίων. Μετά, προκειμένου να μετρηθεί ο κυτταρικός πληθυσμός, στα κύτταρα σε ένα πλακίδιο έγινε *in situ* χρήση τριχλωροξικού οξέος (TCA), ακολουθούμενου από προσθήκη διαλύματος χρωστικής sulforhodamine B (SRB). Για τον καθορισμό της δραστηριότητας, κάθε ουσία διαλύθηκε σε DMSO και στη συνέχεια προστέθηκε σε συγκεντρώσεις από 100 έως 0.01 μ M και η επώαση συνεχίστηκε για 48 ώρες ακόμη. Η μέτρηση ολοκληρώθηκε με προσθήκη ψυχρού TCA ακολουθούμενου από SRB και μέτρηση απορρόφησης στα 540 nm, σε μία συσκευή ανάγνωσης μικροπλακιδίων DAS για τον καθορισμό του GI_{50} , δηλαδή της απαιτούμενης συγκέντρωσης στην κυτταρική καλλιέργεια για την αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης κατά 50%, του TGI, δηλαδή της απαιτούμενης συγκέντρωσης για την εξολοκλήρου αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης και του LC_{50} , δηλαδή της συγκέντρωσης που απαιτείται στην καλλιέργεια για το θάνατο του 50% του κυτταρικού πληθυσμού [58].

Η τυπική πειραματική διαδικασία αποτελείται από τα εξής στάδια: α) τα δείγματα διαλύθηκαν σε DMSO, αρχικά σε συγκέντρωση 20mM, β) αραιώσεις του ποσότητας 20 μ l αρχικού διαλύματος με το μέσο σε τελικές συγκεντρώσεις 100 μ M, 10 μ M και 1 μ M ακολούθησαν, προκειμένου να εξεταστεί η κυτταροτοξική δράση και γ) παράλληλα, πραγματοποιήθηκαν μελέτες ελέγχου του DMSO παρασκευάζοντας διαλύματα ελέγχου DMSO, αραιώνοντας 20 μ l του DMSO με το μέσο σε τελικές συγκεντρώσεις 100 μ M, 10 μ M και 1 μ M. Σε αυτές τις συγκεντρώσεις το DMSO δεν εμφάνισε καθόλου κυτταροτοξικότητα.

9.5.2 Πειραματική Πορεία

Σύνθεση πρωτοταγών αμινοαμιδίων κουμαρινών ή κινολινονών

0.50 mmol της κατάλληλης κουμαρίνης ή κινολινονης αναμιγνύονται με 2 mL άνυδρου τολουολίου σε σφαιρική φιάλη των 10 mL. Το μίγμα θερμάνθηκε μέχρι πλήρους διάλυσης της πρώτης ύλης. Στη συνέχεια, προστίθενται στάγδην 1.50 mmol της κατάλληλης αμίνης και το μίγμα θερμαίνεται στους 160 °C για 3-4 h με χρήση κάθετου ψυκτήρα. Κατόπιν, το διάλυμα ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου και το καταβυθισμένο στερεό διηθείται και εκπλύνεται με τολουόλιο (x3) και διαιθυλαιθέρα (x3) και ξηραίνεται υπό κενό παρουσία P₂O₅. Σε ορισμένα παράγωγα κινολίνης, το μίγμα πρέπει να ψυχθεί στο ψυγείο, ώστε να ολοκληρωθεί η καταβύθιση.

Σύνθεση N,N-διμεθυλοαμινοαμιδίων κουμαρινών ή κινολινονών

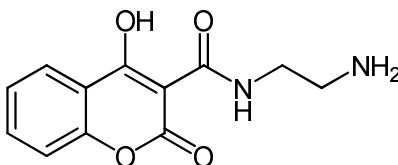
0.40 mmol της κατάλληλης κουμαρίνης ή κινολινονης διαλύονται στην ελάχιστη ποσότητα N,N-διμεθυλοαιθυλενοδιαμίνης υπό θέρμανση στους 130 °C (0.48 – 1.20 mmol) σε σφαιρική φιάλη των 10 mL. Το σκούρο καφέ διάλυμα αναδεύεται ήπια και αφήνεται να αντιδράσει υπό βρασμό με κάθετο ψυκτήρα για 20 λεπτά. Στη συνέχεια η αμίνη αφήνεται να αποσταχθεί (σζ 104-106 °C) για περίπου 40 λεπτά. Το πυκνό ελαιώδες υγρό αφήνεται να ψυχθεί σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια, εκπλύνεται με τον κατάλληλο διαλύτη (αιθανόλη ή διαιθυλαιθέρα) και αφήνεται στο ψυγείο 24 ώρες, ώστε να ολοκληρωθεί ο σχηματισμός ή η καταβύθιση του στερεού ως άμορφο στερεό ή ως κρύσταλλοι. Το στερεό διηθείται υπό κενό και εκπλύνεται με μικρή ποσότητα ψυχρής αιθανόλης ή διαιθυλαιθέρα (x2).

Σύνθεση N-πιπεριδινυλοαμινοαμιδίου κουμαρίνης

0.50 mmol της κατάλληλης κουμαρίνης διαλύονται σε 0.5 mL μεθανόλης. 0.60 mmol 1-(2-αμινοαιθυλο)πιπεριδίνης προστίθενται και το διάλυμα θερμαίνεται μέχρι βρασμού με κάθετο ψυκτήρα για 20 λεπτά. Στη συνέχεια, ο διαλύτης αφήνεται να αποσταχθεί και το σκούρο καφέ λάδι θερμαίνεται στους 140 °C για 1 ώρα. Το λάδι που προκύπτει, αφού ψυχθεί σε θερμοκρασία δωματίου επεξεργάζεται με Et₂O ή MeOH/Et₂O. Κατόπιν, διαλύεται σε DCM και καταβυθίζεται με πετρελαϊκό αιθέρα. Το ακάθαρτο στερεό έχει χρώμα καφέ-μπεζ και εκπλύνεται με μεθανόλη (x4), οπότε και δίνει ένα λευκό στερεό.

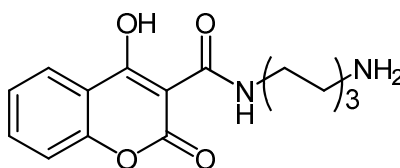
9.5.3 Χαρακτηρισμός ενώσεων

N-(2-αμινοαιθυλο)-4-υδροξυ-2-οξο-2H-χρωμενο-3-καρβοξαμίδιο (4α)



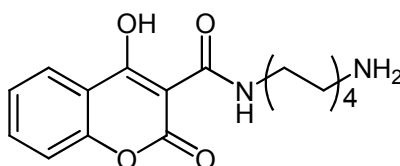
Λευκό στερεό, απόδοση = 95%, σ_T = 245-246 °C, ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃/σ_T. CF₃COOD): 3.47 (br. s, 2 H, CH₂CH₂NH₂), 3.84 (br. s, 2 H, CH₂CH₂NH₂), 7.41 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, Ar), 7.47 (t, J = 7.5 Hz, 1 H, Ar), 7.80 (t, J = 7.5 Hz, 1 H, Ar), 8.08 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, Ar), 9.64 (br, 1 H, CONH), 10.42 (br, 2 H, NH₂).

N-(6-αμινοεξυλο)-4-υδροξυ-2-οξο-2H-χρωμενο-3-καρβοξαμίδιο (4β)



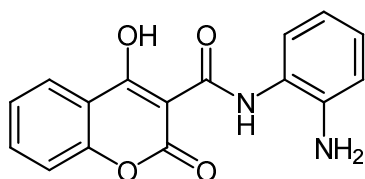
Λευκό στερεό, απόδοση = 86%, $\sigma_t = 212-214$ °C, $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3/σ_t . CF_3COOD): 1.47 (br. s, 4 H, H - 5' - 6'), 1.70-1.77 (m., 4 H, H - 4', H - 7'), 3.16 (br. s, 2 H, H - 3'), 3.48 (br. s, 2 H, H - 8'), 6.92 (br, 0.75 H, CONH), 7.39 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, Ar), 7.45 (t, J = 7.5 Hz, Ar), 7.76 (t, J = 7.5 Hz, Ar), 8.08 (d, J = 8.4 Hz, Ar), 9.36 (br, 0.25 H, CONH), 10.60 (br, 2 H, NH_2).

N-(8-αμινοοκτυλο)-4-υδροξυ-2-οξο-2H-χρωμενο-3-καρβοξαμίδιο (4γ)



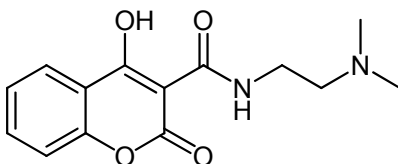
Λευκό στερεό, απόδοση = 88%, $\sigma_t = 220-222$ °C, $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3/dr . CF_3COOD): 1.39 (br. s, 8 H, H - 5'. H - 6', H - 7', H - 8'), 1.67-1.74 (m, 4 H, H - 4', H - 9'), 3.14 (br. s, 2 H, H - 3'), 3.46 (br. s, 2 H, H - 10'), 7.07 (br, 1 H, CONH), 7.36 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, Ar), 7.42 (t, J = 7.5 Hz, 1 H, Ar), 7.73 (t, J = 7.5 Hz, 1 H, Ar), 7.07 (d, J = 7.5 Hz, 1 H, Ar), 9.30 (br, 2 H, NH_2).

N-(2-αμινοφαινυλο)-4-υδροξυ-2-οξο-2H-χρωμενο-3-καρβοξαμίδιο (4δ)



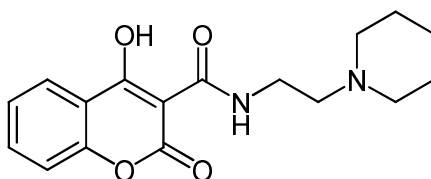
Πράσινο στερεό, απόδοση = 63%, $\sigma_t > 300$ °C (αποσυνθ.), $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{dr. CF}_3\text{COOD}$): 7.42 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, Ar), 7.49 (s, 1H, Ar), 7.51 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H, Ar), 7.62 (br s, 1 H, Ar), 7.72 (br, 2 H, Ar), 7.82 (t, $J = 7.5$ Hz, Ar), 8.20 (d, $J = 7.8$ Hz, 1 H, Ar), 8.90 (br, 1 H, CONH), 10.96 (br, 2 H, NH_2).

N-[2-(διμεθυλαμινο)αιθυλο]-4-υδροξυ-2-οξο-2H-χρωμενο-3-καρβοξαμίδιο (4ε)



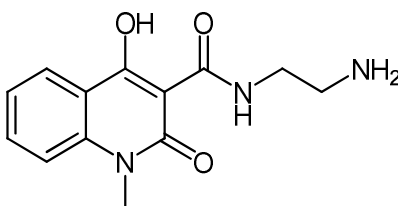
Λευκό στερεό, απόδοση = 65%, $\sigma_t = 209-211$ °C, $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 2.30 (s, 6 H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2.47 (br. s, 2 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.44-3.55 (m, 2 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 7.18-7.24 (m, 2 H, Ar), 7.53 (t, $J = 6.9$ Hz, 1 H, Ar), 8.02 (d, $J = 7.8$ Hz), 9.72 (br, 0.20 H, CONH), 10.12 (br, 0.80 H, CONH), ^{13}C (75 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{dr. CF}_3\text{COOD}$): 34.7 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NCH}_3$), 44.1 (NCH_3), 58.0 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NCH}_3$), 92.0 (C-3), 115.2, 125.4, 136.0, 153.4, 159.4, 160.0 (Ar), 160.5 (C-2), 163.5 (CONH), 171.5 (C-4).

N-[2-(πιπεριδινυλο)αιθυλο]-4-υδροξυ-2-οξο-2H-χρωμενο-3-καρβοξαμίδιο (4στ)



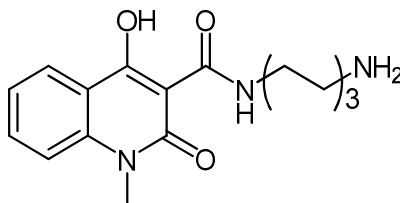
Λευκό στερεό, απόδοση = 57%, $\sigma_t = 185-186\text{ }^\circ\text{C}$, $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 1.54 (br., 2 H, H-8'), 1.78 (br.m, 4 H, H-7'), 2.81 (br., 4 H, H-6'), 2.90 (br.t, $J = 6.3\text{ Hz}$, 2 H, H-4'), 3.72 (q., $J = 6.3\text{ Hz}$, 2 H, H-3'), 7.31 (m., 2 H, Ar), 7.63 (dd., $J = 8.1, 7.2\text{ Hz}$, 1 H, Ar), 8.01 (d., $J = 8.1\text{ Hz}$, 1 H, Ar), 9.63 (br., 1 H, CONH) ppm. ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 23.2 (C-8'), 24.3 (C-7'), 35.4 (C-3'), 54.0 (C-4'), 56.1 (C-6'), 91.7 (C-3), 116.8, 124.3, 125.0, 134.6, 153.4 (Ar), 162.2 (CONH), 170.5 (C-2), 176.7 (C-4).

N-(2-αμινοαιθυλο)-4-υδροξυ-1-μεθυλο-2-οξο-1,2-διυδροκινολίνο-3-καρβοξαμίδιο (5α)



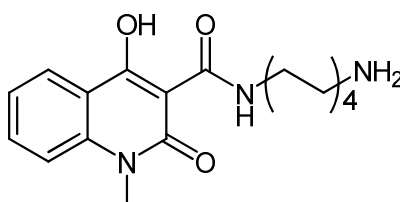
Λευκό στερεό, απόδοση = 84%, $\sigma_t = 188-190\text{ }^\circ\text{C}$, $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{dr. CF}_3\text{COOD}$): 3.44 (br s, 2 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$), 3.68 (s, 3 H, NMe), 3.82 (br s, 2 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$), 7.38-7.46 (m, 2 H, Ar), 7.58 (br, 1 H, NH_2), 7.79 (t, $J = 8.4\text{ Hz}$, Ar), 8.21 (d, $J = 8.1\text{ Hz}$, Ar), 10.62 (br, 1 H, CONH), 15.64 (br, 1 H, OH).

**N-(6-αμινοεξυλο)-4-υδροξυ-1-μεθυλο-2-οξο-1,2-διυδροκινολίνο-3-καρβοξαμίδιο
(5β)**



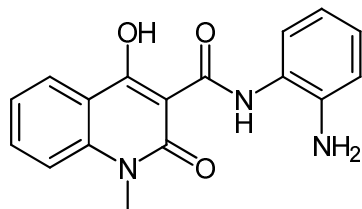
Λευκό στερεό, απόδοση = 85%, $\sigma_t = 166-168$ °C, $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{dr. CF}_3\text{COOD}$): 1.47 (br s, 4 H, H – 5' – 6'), 1.69-1.76 (m, 4 H, H – 4' – 7'), 3.15 (br s, 2 H, H – 3'), 3.47 (br s, 2 H, H – 8'), 3.73 (s, 3 H, NCH_3), 6.97 (br, 1 H, CONH), 7.40-7.49 (m, 2 H, Ar), 7.79 (t, $J = 7.2$ Hz, Ar), 8.27 (d, $J = 7.5$ Hz, Ar), 10.22 (br, 2 H, NH_2).

**N-(8-αμινοοκτυλο)-4-υδροξυ-1-μεθυλο-2-οξο-1,2-διυδροκινολίνο-3-καρβοξαμίδιο
(5γ)**



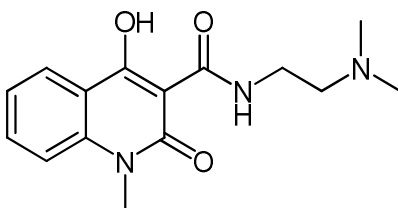
Λευκό στερεό, απόδοση = 80%, $\sigma_t = 152-153$ °C, $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{dr. CF}_3\text{COOD}$): 1.37 (br s, 8 H, H- 5'-8'), 1.64-1.73 (m, 4 H, H – 4', H – 9'), 3.14 (br s, 2 H, H – 3'), 3.44 (t, $J = 6.6$ Hz, 2 H, H – 10'), 3.75 (s, 3 H, NCH_3), 6.92 (br, 1 H, CONH), 7.44-7.50 (m, 2 H, Ar), 7.81 (t, 1 H, $J = 7.4$ Hz, Ar), 8.29 (d, 1 H, $J = 7.1$ Hz, Ar), 10.43 (br, 2 H, NH_2).

N-(2-αμινοφαινυλο)-4-υδροξυ-1-μεθυλο-2-οξο-1,2-διυδροκινολίνο-3-καρβοξαμίδιο (5δ)



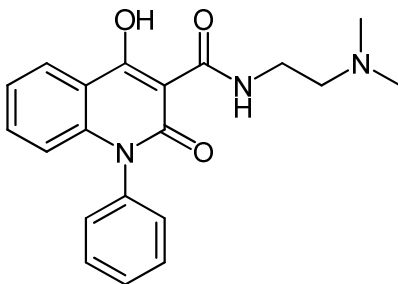
Πράσινο στερεό, απόδοση = 58%, $\sigma_t = 230-232$ °C, $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{dr. CF}_3\text{COOD}$): 3.79 (s, 3 H, NCH_3), 7.44-7.59 (m, 6 H, Ar), 7.65 (br, 1 H, CONH), 7.85 (t, 1 H, $J = 6.9$ Hz, Ar), 8.32 (d, 1 H, $J = 7.8$ Hz, Ar), 9.58 (br, 2 H, NH_2), ^{13}C (75 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{dr. CF}_3\text{COOD}$): 30.5 (NCH_3), 96.9 (C-3), 113.6, 114.4, 115.4, 124.2, 125.4, 126.5, 127.0, 127.3, 129.0, 131.2, 135.9, 137.1, 140.5, 154.3 (Ar), 160.6, (CONH), 170.4 (C-2), 186.7 (C-4).

N-[2-(διμεθυλαμινο)αιθυλο]-4-υδροξυ-1-μεθυλο-2-οξο-1,2-διυδροκινολίνο-3-καρβοξαμίδιο (5ε)



Λευκό στερεό, απόδοση = 54%, $\sigma_t = 94-97$ °C, $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 2.30 (s, 6 H, NMe_2), 2.55 (t, 2 H, $J = 6.3$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NMe}_2$), 3.54 (q, 2 H, $J = 6.3$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NMe}_2$), 3.64 (s, 3 H, NCH_3), 7.24-7.32 (m, 2 H, Ar), 7.64 (t, 1 H, $J = 7.2$ Hz, Ar), 8.18 (d, 1 H, $J = 7.5$ Hz, Ar), 10.39 (br, 1 H, CONH), 17.15 (br, 1 H, OH), ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 29.2 (NCH_3), 37.1 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NMe}_2$), 45.5 (NMe_2), 58.2 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NMe}_2$), 96.6 (C-3), 114.3, 116.4, 122.36, 125.6, 133.7, 140.0 (Ar), 162.8 (CONH), 171.2 (C-2), 172.0 (C-4).

N-[2-(διμεθυλαμινο)αιθυλο]-4-υδροξυ-2-οξο-1-φαινυλο-1,2-διυδροκινολίνο-3-καρβοξαμίδιο (6γ)



Υποκίτρινο στερεό, απόδοση = 61%, σ = 192-193 °C, ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): 2.40 (s, 6 H, NMe_2), 2.68 (t, 2 H, $J = 6.6$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NMe}_2$), 3.61 (q, 2 H, $J = 6.6$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NMe}_2$), 6.63 (d, $J = 7.2$ Hz, 1 H, Ar), 7.27 (d, $J = 6.6$ Hz, 3 H, Ar), 7.45 (t, $J = 8.1$ Hz, 1 H, Ar), 7.52-7.64 (m, 3 H, Ar), 8.24 (d, 1 H, $J = 7.1$ Hz, Ar), 10.23 (br, 1 H, CONH), 17.15 (br, 1 H, OH), ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 36.3 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NMe}_2$), 44.8 (NMe_2), 57.6 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NMe}_2$), 96.3 (C-3), 116.0, 122.5, 125.1, 128.9, 129.0, 130.2, 133.2, 137.1, 140.8 (Ar), 162.9 (CONH), 171.2 (C-2), 172.7 (C-4).

10

Βιβλιογραφία

- [1] R. Douglas, H. Murray, J. Méndez, S. A. Brown, *The natural coumarins: occurrence, chemistry, and biochemistry*, Wiley, Chichester, NY, ΗΠΑ, **1982**.
- [2] S. Carboni, V. Malaguzzi, A. Marsili, *Tetrahedron Lett.* **1964**, *5*, 2783-2786.
- [3] R. O'Kennedy, R. D. Thornes, *Coumarins: Biology, Applications and Mode of Action*, Wiley, NY, ΗΠΑ, **1996**.
- [4] C. Gnerre, M. Catto, F. Leonetti, P. Weber, P. Carrupt, C. Altomare, A. Carotti, B. Testa, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 4747–4758.
- [5] A. Maresca, C. Temperini, H. Vu, N. B. Pham, S. Poulsen, A. Scozzafava, R. J. Quinn, C. T. Supuran, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 3057–3062.
- [6] J. Hirsh, J. Dalen, D. R. Anderson, L. Poller, H. Bussey, J. Ansel, D. Deykin, *Chest* **2001**, *119(suppl 1)*, 8S-21S,
- [7] J. M. Cesar, A. Garcia-Avello, J. L. Navarro, M. V. Herraéz, *Blood Coagul. Fibrinolysis* **2004**, *15*, 673-676.
- [8] M. Gebauer, *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 2414-2420.
- [9] S. Stanchev, V. Hadjimitova, T. Traykov, T. Boyanov, I. Manolov, *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 2077-3082.
- [10] R. Argotte-Ramos, G. Ramírez-Avila, M. del Carmen Rodríguez-Gutiérrez, M. Ovilla-Muñoz, H. Lanz-Mendoza, M. H. Rodríguez, M. González-Cortazar, L. Alvarez, *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 1442–1444.
- [11] L. Verotta, E. Lovaglio, G. Vidari, P. V. Finzi, M. G. Neri, A. Raimondi, S. Parapini, D. Taramelli, A. Riva, E. Bombardelli, *Phytochemistry* **2004**, *65*, 2867-2879.
- [12] S. L. Gilat, A. Adronov, J. M. J. Fréchet, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1422-1427.
- [13] U. Tripathy, P. B. Bisht, *J. Chem. Phys.* **2006**, *125*, 144502-1-144502-8.
- [14] C. W. Tang, S. A. VanSlyke, C. H. Chen, *J. Appl. Phys.* **1989**, 3610-3616.
- [15] M. Lee, C. Yen, W. Yang, H. Chen, C. Liao, C. Tsai, C. H. Chen *Org. Lett.*, **2004**, *6*, 1241–1244.

- [16] T. Yu, P. Zhang, Y. Zhao, H. Zhang, J. Meng, D. Fan, W. Dong, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2008**, *41*, 235406, 7p.
- [17] H. v, Pechmann, *Chem. Berichte* **1884**, *17*, 929-936.
- [18] S. Hesse, G. Kirsch, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 1213-1215.
- [19] I. Yavari, R. Hekmat-Shoar, A. Zonouzi, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2391-2392.
- [20] D. Bogdał, *J. Chem. Res. (S)*, **1998**, 468-469.
- [21] B.P. Bandgar, L.S. Uppalla, V.S. Sadavarte, *J. Chem. Research (S)*, **2002**, 40-41.
- [22] S. H. Mashraqui, D. Vashi, H. D. Mistry, *Synth. Commun.* **2004**, *34*, 3129-3134.
- [23] B. Sreenivasulu, P. N. Sarma, *Synth. Commun.* **1996**, *26*, 3373-3381.
- [24] M. Geoghegan, W.I. O'Sullivan, E.M. Philbin, *Tetrahedron*, **1966**, *22*, 3209-3211.
- [25] A. V. Kalinin, A. J. M. da Silva, C. C. Lopes, R. S. C. Lopes, V. Snieckus, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 4995-4998.
- [26] J. J. Kulagowski, R. Baker, N. R. Curtis, I. M. Mawer, A. M. Moseley, M. P. Ridgill, M. Rowley, I. Stansfield, P. D. Leeson, *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 1402-1405.
- [27] A. G. Chapman, N. Dürmüller, B. L. Harrison, B. M. Baron, N. Parvez, B. S. Meldrum, *Eur. J. Pharmacol.* **1995**, *274*, 83-88.
- [28] H. Hayashi, Y. Miwa, S. Ichikawa, N. Yoda, I. Miki, A. Ishii, M. Kono, T. Yasuzawa, F. Suzuki, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 617-626.
- [29] S. Yoshizaki, K. Tanimura, S. Tamada, Y. Yabuuchi, K. Nakagawa, *J. Med. Chem.* **1976**, *19*, 1138-1142.
- [30] J. Jampilek, R. Musiol, M. Pesko, K. Kralova, M. Vejsova, J. Carroll, A. Coffey, J. Finster, D. Tabak, H. Niedbala, V. Kozik, J. Polanski, J. Csollei, J. Dohnal, *Molecules* **2009**, *14*, 1145-1159.
- [31] M. Abass, B. B. Mostafa, *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 6133-6144.
- [32] J. Reisch, G. M. Kamal, B. Gunaherath, *Monats. Chem.* **1988**, *119*, 1169-1178.
- [33] I. A. Bessonova, D. Batsuren, N. D. Abdullaev, S. Yu. Yunusov, *Chem. Nat. Prod.* **1983**, *19*, 117-118.

- [34] V. I. Akhmedzhanova, I. A. Bessonova, S. Yu. Yunusov, *Chem. Nat. Prod.* **1985**, *21*, 782-783.
- [35] I. Kostova, *Curr. Med. Chem. Anticancer Agents* **2005**, *5*, 29-46.
- [36] H. Kolodziej, O. Kayser, H. J. Woerdenbag, W. van Uden, N. Pras, Z. *Naturforsch. C* **1997**, *52*, 240-244.
- [37] D. Ratanasavanh, D. Lamiable, M. Biour, Y. Guédès, M. Gersberg, E. Leutenegger, C. Riché, *Fundam. Clin. Pharmacol.* **1996**, *10*, 504-510.
- [38] T. Okamoto, T. Kobayashi, S. Yoshida, *Curr. Med. Chem. Anticancer Agents* **2005**, *5*, 47-51.
- [39] A. Lacy, *Curr. Pharm. Des.* **2004**, *10*, 3797-3811.
- [40] G. Finn, B. Creaven, D. Egan, *Eur. J. Pharmacol.* **2003**, *481*, 159-167.
- [41] I. Kempen, D. Papapostolou, N. Thierry, L. Pochet, S. Counerotte, B. Masereel, J-M. Foidart, M. Reboud-Ravaux, A. Noël, B. Pirotte, *Br. J. Cancer* **2003**, *88*, 1111-1118.
- [42] C. A. Metcalf, W. C. Shakespeare, T. K. Sawyer, Y. Wang, R. Bohacek, R. Sundaramoorthi, Patent 6713462, No 10177500, **2004**.
- [43] H. Kawamata, K. Nakashiro, D. Uchida, S. Hino, F. Omotehara, H. Yoshida, M. Sato, *Br. J. Cancer* **1998**, *77*, 71-78.
- [44] D. Uchida, T. Onoue, N. Begum, N. Kuribayashi, Y. Tomizuka, T. Tamatani, H. Nagai, Y. Miyamoto, *Molecular Cancer* **2009**, *8*:62, 11p.
- [45] U. Galm, A. Desso, J. Schmidt, L. A. Wessjohann, L. Heide, *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 173-183.
- [46] J. Tao, S. Hu, M. Pacholec, C. T. Walsh, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3233-3236.
- [47] S. D. Larsen, J. R. Colca, P. K. W. Harris, H. R. Miller, A. L. Laborde, R. F. Kletzien, H. J. Schostarez, Patent WO 97/18808, CAN 127:60619, **1997**.
- [48] A. Detsi, D. Bouloumbasi, K. C. Prousis, M. Koufaki, G. Athanasellis, G. Melagraki, A. Afantitis, O. Igglessi-Markopoulou, C. Kontogiorgis, D. J. Hadjipavlou-Litina, *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 2450-2458.
- [49] G. Melagraki, A. Afantitis, O. Igglessi-Markopoulou, A. Detsi, M. Koufaki, C. Kontogiorgis, D. J. Hadjipavlou-Litina, *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 3020-3026.
- [50] N. S. Reddy, K. Gumireddy, M. R. Mallireddigari, S. C. Cosenza, P. Venkatapuram, S. C. Bell, E. P. Reddy, M. V. R. Reddy, *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 3141-3147.

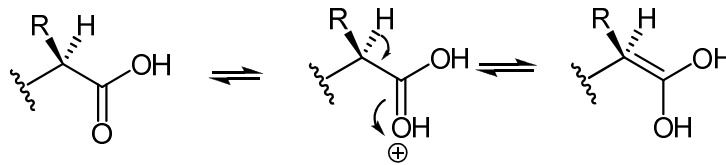
- [51] N. S. Reddy, M. R. Mallireddigari, S. Cosenza, K. Gumireddy, S. C. Bell, E. P. Reddy, M. V. R. Reddy, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 4093–4097.
- [52] I. B. J. K. Joseph, J. Vukanovic, J. T. Isaacs, *Cancer Res.* **1996**, *56*, 3404-3408.
- [53] J. H. Noseworthy, J. S. Wolinsky, F. D. Lublin, J. N. Whitaker, A. Linde, P. Gjorstrup, H. C. Sullivan, *Neurology* **2000**, *54*, 1726–1733.
- [54] J. T. Isaacs, R. Pili, D. Z. Qian, S. L. Dalrymple, J. B. Garrison, N. Kyprianou, A. Björk, A. Olsson, T. Leanderson, *Prostate* **2006**, *66*, 1768-1778.
- [55] V. Stefanou, D. Matiadis, G. Melagraki, A. Afantitis, G. Athanasellis, O. Igglessi-Markopoulou, V. McKee, J. Markopoulos, *Molecules* **2011**, *16*, 384-402.
- [56] L. Zikou, G. Athanasellis, A. Detsi, A. Zografos, C. Mitsos, O. Igglessi-Markopoulou, *Bull Chem. Soc. Jpn.* **2004**, *77*, 1505-1508.
- [57] G. M. Sheldrick, *Acta Cryst.* **2008**, *A64*, 112-122.
- [58] P. Skehan, R. Storeng, D. Scudiero, A. Monks, J. McMahon, D. Vistica, J. T. Warren, H. Bokesch, S. Kenney, M. R. Boyd, *J. Natl. Cancer Inst.* **1990**, *82*, 1107-1112.

Παραρτήματα

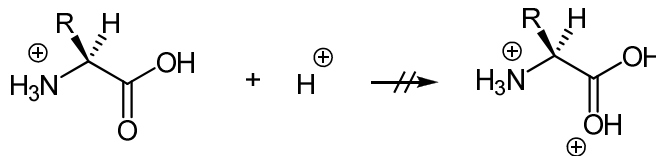
I. Μηχανισμός ρακεμοποίησης αμινοξέων *

Όσον αφορά την οπτική ενεργότητα, τα αμινοξέα δεν επηρεάζονται καθόλου από τα οξέα και τις βάσεις, όπως σε άλλα καρβοξυλικά οξέα.

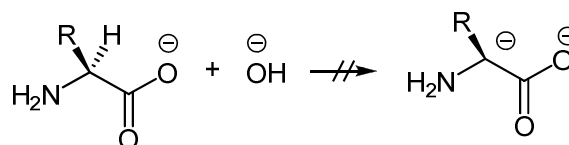
Η ρακεμοποίηση διαμέσου ενολοποίησης των καρβοξυλικών οξέων σε όξινα διαλύματα, περιλαμβάνει πρωτονίωση των καρβοξυλικών οξέων σε όξινα διαλύματα, περιλαμβάνει πρωτονίωση του καρβοξυλικού οξυγόνου.



Ωστόσο, στα α-αμινοξέα, η παρουσία πλησίον ενός θετικά φορτισμένου ατόμου αζώτου παρεμποδίζει το σχηματισμό ενός δευτέρου κατιόντος.

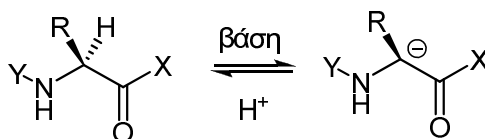


Παρόμοια, ένα αρνητικό φορτίο στο καρβοξυλικό ανιόν παρεμποδίζει την περαιτέρω απόσπαση πρωτονίου από τον α-άνθρακα των αμινοξέων.

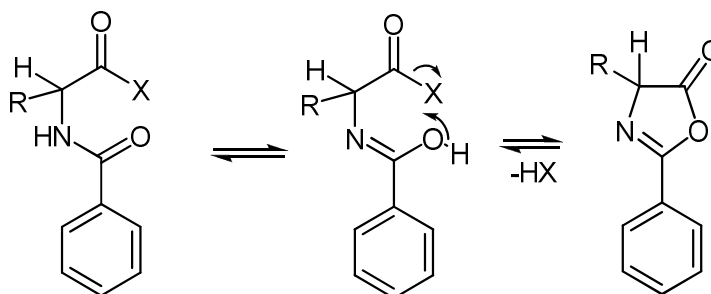


* M. Bodanszky, *Peptide Chemistry: A Practical Textbook*, 2nd Ed. Springer-Verlag, Berlin, 1993.

Το κύριο πρόβλημα για την παρασκευή οπτικώς ενεργών πεπτιδίων και παραγώγων α-αμινοξέων δημιουργείται από την παρουσία της ενεργοποιημένης καρβonyλομάδας. Η επίδραση της έλξης ηλεκτρονίων της ενεργοποιημένης ομάδας (X) επεκτείνεται στο α-άτομο άνθρακα (το οπτικά ενεργό κέντρο) και διευκολύνει την απόσπαση του ατόμου του υδρογόνου.

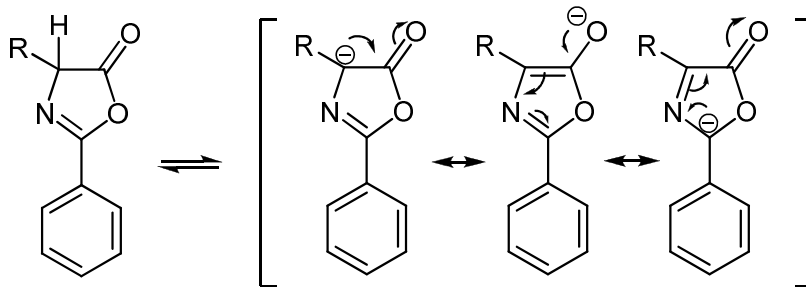


Ένας ακόμη συχνά επικαλούμενος μηχανισμός ρακεμοποίησης περιλαμβάνει κυκλικά ενδιάμεσα, τις αζλακτόνες.



Η απόσπαση πρωτονίου από το οπτικώς ενεργό κέντρο δίνει ένα ανιόν που σταθεροποιείται με συντονισμό.

Παραρτήματα



Για την αντιμετώπιση του φαινομένου της ρακεμοποίησης, έχουν χρησιμοποιηθεί για την ενεργοποίηση του καρβonyλίου το N-υδροξυηλεκτριμίδιο και το 1-υδροξυβενζοτρίαζόλιο. Αυτές οι ενώσεις είναι αρκετά όξινες, ώστε να προβάλλουν ανταγωνισμό στην απόσπαση του πρωτονίου από το άτομο του άνθρακα των ενεργοποιημένων ενδιάμεσων. Ακόμη, αντιδρούν με πολύ δραστικά ενδιάμεσα, όπως είναι η O-ακυλοϊσοουρία στις συζεύξει με καρβοδιιμίδιο, μειώνοντας έτσι το χρόνο ζωής των σωματιδίων που οδηγούν σε ρακεμοποίηση.

II. Δεδομένα κρυσταλλογραφικής ανάλυσης

N-ακετυλο-3-ακετυλο-5-βενζυλιδενοτετραμικό οξύ

Πίνακας 1 Ατομικές συντεταγμένες ($\times 10^4$) και παράμετροι ισοδύναμης ισοτροπικά μετατόπισης ($\text{\AA}^2 \times 10^3$).

	x	y	z	U(eq)
N(1)	4306(3)	3598(1)	1624(1)	27(1)
C(2)	5889(4)	2461(2)	1310(1)	28(1)
C(3)	5884(4)	2130(2)	2175(1)	29(1)
C(4)	4458(4)	3048(2)	2971(1)	32(1)
C(5)	3648(4)	4033(2)	2683(1)	28(1)
C(6)	7159(5)	1085(2)	2285(1)	35(1)
C(7)	8653(5)	93(2)	1420(2)	40(1)
O(8)	6904(4)	1010(1)	3129(1)	49(1)
O(9)	4041(4)	3080(1)	3885(1)	44(1)
C(10)	3009(4)	5129(2)	3395(1)	31(1)
C(11)	2987(4)	6337(2)	3426(1)	29(1)
C(12)	1574(5)	7224(2)	4272(1)	33(1)
C(13)	1661(5)	8411(2)	4400(1)	38(1)
C(14)	3158(5)	8735(2)	3687(2)	39(1)
C(15)	4617(5)	7874(2)	2853(1)	37(1)
C(16)	4572(4)	6687(2)	2722(1)	32(1)
C(17)	2594(4)	4025(2)	958(1)	27(1)
O(18)	529(3)	4796(1)	1303(1)	33(1)
C(19)	3385(5)	3485(2)	-142(1)	33(1)
O(20)	6969(3)	1910(1)	471(1)	36(1)

Παραρτήματα

Πίνακας 2 Παράμετροι ανισοτροπικής μετατόπισης ($\text{\AA}^2 \times 10^3$). Ο εκθέτης του συντελεστή ανισοτροπικής μετατόπισης έχει τη μορφή: $-2\pi^2 [h^2 a^* 2U^{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U^{12}]$

	U ¹¹	U ²²	U ³³	U ²³	U ¹³	U ¹²
N(1)	29(1)	25(1)	26(1)	9(1)	2(1)	5(1)
C(2)	25(1)	26(1)	30(1)	7(1)	1(1)	0(1)
C(3)	30(1)	27(1)	29(1)	10(1)	-1(1)	1(1)
C(4)	33(1)	34(1)	29(1)	14(1)	1(1)	0(1)
C(5)	26(1)	31(1)	26(1)	10(1)	2(1)	2(1)
C(6)	37(1)	31(1)	34(1)	12(1)	-3(1)	-2(1)
C(7)	38(1)	32(1)	45(1)	10(1)	-3(1)	6(1)
O(8)	72(1)	41(1)	41(1)	22(1)	1(1)	9(1)
O(9)	64(1)	40(1)	32(1)	18(1)	10(1)	12(1)
C(10)	29(1)	36(1)	27(1)	12(1)	2(1)	4(1)
C(11)	27(1)	31(1)	26(1)	8(1)	-1(1)	4(1)
C(12)	34(1)	36(1)	27(1)	10(1)	2(1)	6(1)
C(13)	42(1)	34(1)	33(1)	7(1)	5(1)	12(1)
C(14)	47(1)	29(1)	39(1)	10(1)	1(1)	5(1)
C(15)	42(1)	36(1)	34(1)	15(1)	2(1)	0(1)
C(16)	30(1)	34(1)	26(1)	7(1)	2(1)	3(1)
C(17)	26(1)	27(1)	28(1)	11(1)	-1(1)	-1(1)
O(18)	32(1)	32(1)	32(1)	9(1)	0(1)	7(1)
C(19)	36(1)	36(1)	27(1)	13(1)	2(1)	6(1)
O(20)	43(1)	35(1)	30(1)	10(1)	8(1)	11(1)

Παραρτήματα

Πίνακας 3. Συντεταγμένες των ατόμων υδρογόνου ($\times 10^4$) και παράμετροι ισοτροπικής μετατόπισης ($\text{\AA}^2 \times 10^3$).

	x	y	z	U(eq)
H(7A)	9991	-402	1680	60
H(7B)	10121	428	1055	60
H(7C)	6827	-399	958	60
H(9)	4980(60)	2220(20)	3803(17)	66
H(10)	2439	5104	4023	37
H(12)	542	7007	4764	39
H(13)	693	9001	4976	46
H(14)	3189	9547	3767	47
H(15)	5656	8102	2367	45
H(16)	5617	6107	2156	38
H(19A)	2223	3921	-495	49
H(19B)	2610	2645	-439	49
H(19C)	5839	3536	-212	49

[Zn(L⁻)₂(EtOH)₂] L: N-ακετυλο-3-ακετυλο-5-βενζυλιδενοτετραμικό οξύ

Πίνακας 4. Ατομικές συντεταγμένες (x 10⁴) και παράμετροι ισοδύναμης ισοτροπικά μετατόπισης (Å²x 10³).

	x	y	z	U(eq)
Zn(1)	5000	5000	5000	21(1)
N(1)	467(1)	7420(2)	4785(1)	23(1)
C(2)	1483(2)	8144(2)	5310(1)	26(1)
C(3)	2700(2)	7489(2)	5184(1)	24(1)
C(4)	2441(1)	6334(2)	4633(1)	22(1)
C(5)	1040(1)	6457(2)	4311(1)	22(1)
C(6)	3963(2)	8045(2)	5507(1)	26(1)
O(7)	4967(1)	7294(1)	5440(1)	27(1)
C(8)	4127(2)	9611(2)	5912(1)	38(1)
O(9)	3197(1)	5404(1)	4395(1)	23(1)
C(10)	581(1)	5907(2)	3656(1)	23(1)
C(11)	-601(1)	6277(2)	3141(1)	24(1)
C(12)	-1037(2)	5172(2)	2596(1)	32(1)
C(13)	-2064(2)	5562(3)	2052(1)	39(1)
C(14)	-2650(2)	7070(3)	2039(1)	38(1)
C(15)	-2236(2)	8164(2)	2579(1)	34(1)
C(16)	-1226(2)	7775(2)	3131(1)	27(1)
C(17)	-805(2)	7176(2)	4872(1)	25(1)
O(18)	-1495(1)	6256(2)	4467(1)	30(1)
C(19)	-1273(2)	8005(2)	5469(1)	33(1)
O(20)	1267(1)	9093(2)	5755(1)	36(1)
O(30)	4107(1)	4008(2)	5814(1)	28(1)
C(31)	4449(2)	4436(3)	6561(1)	39(1)
C(32)	5345(2)	3230(3)	6962(1)	48(1)

Παραρτήματα

Πίνακας 5. Παράμετροι ανισοτροπικής μετατόπισης ($\text{\AA}^2 \times 10^3$). Ο εκθέτης του συντελεστή ανισοτροπικής μετατόπισης έχει τη μορφή: $-2\pi^2 [h^2 a^* 2U^{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U^{12}]$

	U ¹¹	U ²²	U ³³	U ²³	U ¹³	U ¹²
Zn(1)	12(1)	27(1)	24(1)	-1(1)	1(1)	1(1)
N(1)	18(1)	26(1)	26(1)	-1(1)	3(1)	2(1)
C(2)	23(1)	26(1)	28(1)	-1(1)	2(1)	1(1)
C(3)	19(1)	25(1)	27(1)	-1(1)	1(1)	2(1)
C(4)	16(1)	25(1)	23(1)	4(1)	1(1)	0(1)
C(5)	16(1)	23(1)	26(1)	2(1)	3(1)	2(1)
C(6)	23(1)	27(1)	25(1)	1(1)	0(1)	0(1)
O(7)	19(1)	29(1)	31(1)	-2(1)	-1(1)	-1(1)
C(8)	28(1)	34(1)	46(1)	-12(1)	-5(1)	0(1)
O(9)	14(1)	30(1)	24(1)	-2(1)	2(1)	3(1)
C(10)	17(1)	28(1)	25(1)	0(1)	4(1)	3(1)
C(11)	16(1)	35(1)	21(1)	1(1)	4(1)	1(1)
C(12)	24(1)	43(1)	28(1)	-6(1)	2(1)	4(1)
C(13)	30(1)	61(1)	25(1)	-8(1)	0(1)	-3(1)
C(14)	22(1)	64(1)	24(1)	11(1)	0(1)	3(1)
C(15)	24(1)	43(1)	34(1)	14(1)	7(1)	7(1)
C(16)	22(1)	33(1)	25(1)	3(1)	4(1)	2(1)
C(17)	22(1)	28(1)	26(1)	6(1)	5(1)	4(1)
O(18)	21(1)	42(1)	28(1)	1(1)	5(1)	-4(1)
C(19)	31(1)	35(1)	36(1)	-1(1)	14(1)	3(1)
O(20)	31(1)	37(1)	39(1)	-14(1)	4(1)	4(1)
O(30)	17(1)	40(1)	27(1)	1(1)	4(1)	-3(1)
C(31)	42(1)	47(1)	29(1)	1(1)	8(1)	-8(1)
C(32)	46(1)	57(1)	37(1)	1(1)	-1(1)	-6(1)

Παράρτημα

Πίνακας 6 Συντεταγμένες των ατόμων υδρογόνου ($\times 10^4$) και παράμετροι ιστροπικής μετατόπισης ($\text{\AA}^2 \times 10^3$).

	x	y	z	U(eq)
H(8A)	5011	9682	6186	57
H(8B)	3511	9651	6235	57
H(8C)	3965	10522	5579	57
H(10)	1124	5130	3494	28
H(12)	-627	4146	2596	39
H(13)	-2366	4795	1689	47
H(14)	-3334	7350	1660	45
H(15)	-2645	9193	2572	40
H(16)	-959	8529	3504	32
H(19A)	-2186	7741	5450	50
H(19B)	-1176	9181	5427	50
H(19C)	-761	7635	5922	50
H(30)	3304	3856	5703	42
H(31A)	3653	4497	6763	47
H(31B)	4863	5519	6608	47
H(32A)	5557	3548	7462	72
H(32B)	6140	3184	6767	72
H(32C)	4931	2161	6921	72

Πίνακας 7 Γωνίες στρέψης [°].

C(17)-N(1)-C(2)-O(20)	-26.5(3)	O(7)-Zn(1)-O(9)-C(4)	-29.40(11)
C(5)-N(1)-C(2)-O(20)	175.83(16)	O(30)-Zn(1)-O(9)-C(4)	61.04(11)
C(17)-N(1)-C(2)-C(3)	152.87(15)	O(30)#1-Zn(1)-O(9)-C(4)	-118.96(11)
C(5)-N(1)-C(2)-C(3)	-4.76(17)	N(1)-C(5)-C(10)-C(11)	10.5(3)
O(20)-C(2)-C(3)-C(4)	175.83(18)	C(4)-C(5)-C(10)-C(11)	-158.98(16)
N(1)-C(2)-C(3)-C(4)	-3.52(18)	C(5)-C(10)-C(11)-C(16)	27.4(3)
O(20)-C(2)-C(3)-C(6)	-10.5(3)	C(5)-C(10)-C(11)-C(12)	-159.72(18)
N(1)-C(2)-C(3)-C(6)	170.10(15)	C(16)-C(11)-C(12)-C(13)	0.5(3)
C(6)-C(3)-C(4)-O(9)	12.2(3)	C(10)-C(11)-C(12)-C(13)	-172.59(17)
C(2)-C(3)-C(4)-O(9)	-174.13(16)	C(11)-C(12)-C(13)-C(14)	1.4(3)
C(6)-C(3)-C(4)-C(5)	-163.64(15)	C(12)-C(13)-C(14)-C(15)	-2.0(3)
C(2)-C(3)-C(4)-C(5)	10.05(18)	C(13)-C(14)-C(15)-C(16)	0.7(3)
C(17)-N(1)-C(5)-C(10)	41.7(2)	C(14)-C(15)-C(16)-C(11)	1.1(3)
C(2)-N(1)-C(5)-C(10)	-159.93(17)	C(12)-C(11)-C(16)-C(15)	-1.7(2)
C(17)-N(1)-C(5)-C(4)	-147.73(14)	C(10)-C(11)-C(16)-C(15)	171.12(15)
C(2)-N(1)-C(5)-C(4)	10.68(16)	C(5)-N(1)-C(17)-O(18)	-9.5(2)
O(9)-C(4)-C(5)-C(10)	-17.2(2)	C(2)-N(1)-C(17)-O(18)	-164.47(15)
C(3)-C(4)-C(5)-C(10)	159.05(15)	C(5)-N(1)-C(17)-C(19)	168.71(14)
O(9)-C(4)-C(5)-N(1)	171.01(14)	C(2)-N(1)-C(17)-C(19)	13.8(2)
C(3)-C(4)-C(5)-N(1)	-12.80(17)	O(9)#1-Zn(1)-O(30)-C(31)	47.74(14)
C(4)-C(3)-C(6)-O(7)	-16.3(3)	O(9)-Zn(1)-O(30)-C(31)	-132.26(14)
C(2)-C(3)-C(6)-O(7)	171.01(16)	O(7)#1-Zn(1)-O(30)-C(31)	137.57(14)
C(4)-C(3)-C(6)-C(8)	160.51(17)	O(7)-Zn(1)-O(30)-C(31)	-42.43(14)
C(2)-C(3)-C(6)-C(8)	-12.1(3)	O(30)#1-Zn(1)-O(30)-C(31)	-15(95)
C(3)-C(6)-O(7)-Zn(1)	-9.9(2)	Zn(1)-O(30)-C(31)-C(32)	-97.95(18)
C(8)-C(6)-O(7)-Zn(1)	173.17(12)		
O(9)#1-Zn(1)-O(7)-C(6)	-152.37(13)		
O(9)-Zn(1)-O(7)-C(6)	27.63(13)		
O(7)#1-Zn(1)-O(7)-C(6)	-87(14)		
O(30)-Zn(1)-O(7)-C(6)	-61.66(13)		
O(30)#1-Zn(1)-O(7)-C(6)	118.34(13)		
C(3)-C(4)-O(9)-Zn(1)	17.1(2)		
C(5)-C(4)-O(9)-Zn(1)	-167.67(11)		
O(9)#1-Zn(1)-O(9)-C(4)	-129(5)		
O(7)#1-Zn(1)-O(9)-C(4)	150.60(11)		
O(7)-Zn(1)-O(9)-C(4)	-29.40(11)		

N-[2-(διμεθυλαμινο)αιθυλο]-4-υδροξυ-2-οξο-1-φαινυλο-1,2-διυδροκινόλινο-3-καρβοξαμίδιο

Πίνακας 8 Παράμετροι ανισοτροπικής μετατόπισης ($\text{\AA}^2 \times 10^3$). Ο εκθέτης του συντελεστή ανισοτροπικής μετατόπισης έχει τη μορφή: $-2\pi^2 [h^2 a^* 2U^{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U^{12}]$

	U ¹¹	U ²²	U ³³	U ²³	U ¹³	U ¹²
N(1)	24(1)	16(1)	24(1)	2(1)	0(1)	4(1)
C(2)	22(1)	20(1)	23(1)	2(1)	4(1)	4(1)
C(3)	25(1)	19(1)	26(1)	1(1)	3(1)	4(1)
C(4)	31(1)	17(1)	29(1)	2(1)	5(1)	4(1)
C(5)	27(1)	20(1)	25(1)	2(1)	2(1)	6(1)
C(6)	24(1)	23(1)	21(1)	3(1)	5(1)	6(1)
C(7)	28(1)	19(1)	31(1)	3(1)	4(1)	3(1)
O(8)	39(1)	20(1)	42(1)	3(1)	-6(1)	-1(1)
N(9)	33(1)	19(1)	36(1)	2(1)	-7(1)	0(1)
C(10)	33(1)	25(1)	42(1)	1(1)	-10(1)	-1(1)
C(11)	32(1)	30(1)	32(1)	-2(1)	-4(1)	2(1)
N(12)	39(1)	29(1)	30(1)	4(1)	6(1)	13(1)
C(13)	67(2)	80(2)	77(2)	37(2)	38(2)	43(2)
C(14)	50(2)	37(1)	36(1)	9(1)	4(1)	13(1)
O(15)	42(1)	16(1)	44(1)	4(1)	-10(1)	2(1)
C(16)	36(1)	20(1)	32(1)	4(1)	1(1)	9(1)
C(17)	34(1)	29(1)	33(1)	5(1)	-2(1)	13(1)
C(18)	25(1)	31(1)	28(1)	1(1)	0(1)	5(1)
C(19)	25(1)	21(1)	29(1)	2(1)	2(1)	5(1)
C(20)	21(1)	17(1)	25(1)	3(1)	-1(1)	3(1)
C(21)	28(1)	21(1)	30(1)	3(1)	6(1)	7(1)
C(22)	28(1)	22(1)	31(1)	6(1)	6(1)	1(1)
C(23)	30(1)	17(1)	32(1)	2(1)	-2(1)	3(1)
C(24)	26(1)	22(1)	35(1)	-1(1)	3(1)	9(1)
C(25)	22(1)	22(1)	28(1)	1(1)	4(1)	2(1)
O(26)	29(1)	20(1)	32(1)	3(1)	-3(1)	5(1)

Παραρτήματα

Πίνακας 9 Συντεταγμένες των ατόμων υδρογόνου ($\times 10^4$) και παράμετροι ιστροπικής μετατόπισης ($\text{\AA}^2 \times 10^3$).

	x	y	z	U(eq)
H(9)	5360(40)	-2450(20)	3654(17)	45
H(10A)	7093	-175	4571	42
H(10B)	9045	-874	4132	42
H(11A)	8751	-1429	5718	39
H(11B)	5915	-1803	5563	39
H(13A)	10495	-2570	4236	104
H(13B)	10099	-3990	4533	104
H(13C)	11144	-2901	5314	104
H(14A)	5338	-3843	5912	60
H(14B)	8059	-3663	6318	60
H(14C)	7019	-4751	5537	60
H(15)	3060(50)	380(20)	2284(18)	52
H(16)	-1860	-159	678	35
H(17)	-5269	-1201	-189	37
H(18)	-6284	-3359	-142	34
H(19)	-3962	-4484	765	30
H(21)	-3520	-5039	2681	31
H(22)	-4395	-7215	2735	33
H(23)	-1989	-8431	2021	32
H(24)	1192	-7494	1176	32
H(25)	2000	-5333	1073	29

III. Συνοπτικός πίνακας φυσικών προϊόντων τετραμικών οξέων (αλφαβητικά)

Όνομασία	Απομόνωση	Αμινοξύ	Βιολογική Δράση	Έτος Απομόνωσης
Aburatubolactam A,C	<i>Streptomyces</i> sp. SCRC-A20	L-β-Υδροξυορνιθίνη	Κυτταροτοξική Αντιμικροβιακή	1996
Altamycin	<i>Actinomyces</i> LIA-0788	L-N-Μεθυλογλουταμινικό οξύ	Αντιβιοτική	1978
Alteramide A	<i>Alteromonas</i> sp.	L-β-Υδροξυορνιθίνη	Κυτταροτοξική	1992
Altersetin	<i>Alternaria</i> sp. P 0506	L-Θρεονίνη	Αντιβακτηριδιακή Αντιμικροβιακή	2002
Aurantoside A,B	<i>Theonella</i> sp.	L-Ασπαραγινικό οξύ/L-ασπαραγίνη	Αντιμυκητιασική Αντικαρκινική	1991
Bu-2313	Αγνώστου ταυτότητας ακτινομύκητας (no. E864-861)	N-Μεθυλογλυκίνη	Αντιβιοτική	1980
BU-4514N	<i>Microtetraspora</i> sp. T689-92	Γλυκίνη	Αντιβακτηριδιακή	1993
C12-TA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	L-Ομοσερίνη	Αντιβιοτική Διακυτταρική επικοινωνία	2005
Capsimycin	<i>Streptomyces</i> sp. C 49-87	L-Ορνιθίνη	Αντιβιοτική	1979
CJ-17,572	<i>Pezizula</i> sp. CL11877	L-N-Μεθυλοθρεονίνη	Αντιβακτηριδιακή Αντιμικροβιακή	2002
Coniosetin	<i>Coniochaeta ellipsoidea</i> DSM 13856	L-Θρεονίνη	Αντιβιοτική	2003
Cryptocin	<i>Cryptosporiopsis</i> cf. Quercina	L-N-Μεθυλοσερίνη	Αντιβακτηριδιακή Αντιμικροβιακή	2000
Cyclopiazonic acid	<i>Penicillium cyclopium</i>	Τρυπτοφάνη	Αντιβιοτική Υψηλή τοξικότητα	1968
Cylindramide	<i>Halichondria cylindrata</i>	L-β-Υδροξυορνιθίνη	Κυτταροτοξική	1993
Discodermide	<i>Discodermia dissoluta</i>	L-Ορνιθίνη	Κυτταροτοξική Αντιβακτηριδιακή	1991
Dolastatin 15	<i>Dolabella auricularia</i>	L-Φαινυλαλανίνη	Αντικαρκινική	1989
Equisetin	<i>Fusarium equiseti</i>	N-Μεθυλοσερίνη	Αντι-HIV-1 Αντιβιοτική	1974
Erythroskyrine	<i>Penicillium islandicum</i> sopp	N-Μεθυλοβαλίνη	Αντιβιοτική	1954

Παραρτήματα

Όνομασία	Απομόνωση	Αμινοξύ	Βιολογική Δράση	Έτος Απομόνωσης
Fuligorubin A	<i>Fuligo septic</i>	L-N-Μεθυλογλουταμινικό οξύ	Φωτοϋποδοχέας Χρωστική Μετατροπή ενεργειας	1987
HSAF	<i>Lysobacter enzymogenes</i>	L-Ορνιθίνη	Αντιβακτηριδιακή	2007
Ikarugamycin	<i>Streptomyces phaeochromogenes</i> var. <i>Ikaruganensis</i> Sakai	L-Ορνιθίνη	Αντιβιοτική	1972
JBIR-22	<i>Verticillium</i> sp. f21794	3-Αμινο-2-υδροξυ-2-ισοπροπυλο-ηλεκτρικό οξύ	Κυτταροτοξική	2009
Lipomycin	<i>Streptomyces aureofaciens</i>	L-N-Μεθυλογλουταμινικό οξύ	Αντιβιοτική	1972
Lydicamycin	<i>Streptomyces lydicus</i>	Γλυκίνη	Αντιβιοτική	1991
Macrocidin A,B	<i>Phoma macrostoma</i>	L-Τυροσίνη	Παρασιτοκτόνα	2003
Magnesidin	<i>Pseudomonas magnesorubra</i> nov. Sp. (ATCC No. 21856)	DL-Θρεονίνη (;)	Αντιβιοτική	1973
Malonomycin	<i>Streptomyces rimosus</i>	L-2,3-Διαμινοπροπανοϊκό οξύ	Αντιβιοτική	1972
Melophlins	<i>Melophlus sarassinorum</i>	Γλυκίνη L-Αλανίνη	Αντιβακτηριδιακή Αντικαρκινική	2000 2003 2006
Nocamycin	Αγνώστου ταυτότητας ακτινομύκητας (no. E864-861)	Γλυκίνη	Αντιβιοτική	1979
Oleficin	<i>Streptomyces</i> no. A-461 (<i>parvulus</i>)	L-N-Μεθυλογλουταμινικό οξύ	Αντιβιοτική	1971
Ophiosetin	<i>Elaphocordyceps ophioglossoides</i>	L-N-Μεθυλοσερίνη	Αντιβακτηριδιακή	2010
Pachydermin	<i>Chamonixia pachydermis</i>	Μη διαθέσιμο	Αντιβακτηριδιακή (προϊόν διάσπασης)	2006
Paecilosetin	<i>Paecilomyces farinosus</i>	L-N-Μεθυλοθρεονίνη	Αντιβακτηριδιακή Αντιμικροβιακή	2005
Penicillenols	<i>Penicillium</i> sp. GQ-7	L-Θρεονίνη	Αντικαρκινική	2008

Παραρτήματα

Όνομασία	Απομόνωση	Αμινοξύ	Βιολογική Δράση	Έτος Απομόνωσης
PF1052	<i>Phoma</i> sp. PF1052	L-N-Μεθυλοϊσολευκίνη	Αντιβιοτική	1992
Physarorubinic acid	<i>Physarum polycephalum</i>	L-N-Μεθυλοσερίνη	Χρωστική	1997
Polycephalin B,C	<i>Physarum polycephalum</i>	L-N-Μεθυλοσερίνη	Φωτοϋποδοχέας Χρωστική	1998
Pramanicin	<i>Stagonospora</i> sp. 1	L-Σερίνη	Αντιβιοτική	1994
Pyrrroindomycin A,B	<i>Streptomyces rugosporus</i> LL-42D005	L-Τρυπτοφάνη (;)	Αντιβιοτική	1994
Ravenic Acid	<i>Penicillium</i> sp. MINAP9902	Γλυκίνη	Αντιμικροβιακή	2002
Reutericyclin	<i>Lactobacillus reuteri</i> LTH2584	L-Ισολευκίνη	Αντιβακτηριδιακή	2000
Rigidiusculamide	<i>Albonectria rigidiuscula</i>	L-Τυροσίνη	Κυτταροτοξικότητα	2009
Rubroside A-H	<i>Siliquariaspongia japonica</i>	L-Ασπαραγινικό οξύ/L-ασπαραγίνη	Αντιμυκητιασική	1999
Streptolydigin	<i>Streptomyces lydigus</i>	L-3-Μεθυλοασπαραγινικό οξύ L-N-Μεθυλο-3-μεθυλοασπαραγίνη	Αντιβιοτική	1956
Tenuazonic acid	<i>Alternaria tenuis</i> <i>Alternaria alternate</i> <i>Alternaria brassicicola</i> <i>Alternaria raphani</i>	L-Ισολευκίνη	Αντιβιοτική Αντιική Αντικαρκινική	1957
Tirandalydigin	<i>Streptomyces</i> sp. AB-1006A-9	Γλυκίνη	Αντιβιοτική	1988
Tirandamycin	<i>Streptomyces tirandis</i>	Γλυκίνη	Αντιβιοτική	1971
Trichosetin	<i>Trichoderma harzianum</i> <i>Catharanthus roseus</i>	L-N-Μεθυλοσερίνη	Φυτοτοξική Αντιβακτηριδιακή	2002
Virgineone	<i>Lachum virigineum</i>	L-Τυροσίνη	Αντιμυκητιασική	2009