



UNIVERSITY OF
PATRAS
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΑΤΡΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

Τμήμα Χημείας

**Σχεδιασμός και σύνθεση καινοτόμων κινολινικών
παραγώγων με αντική δράση κατά του Δάγκειου ιού**

**Ερευνητική διπλωματική εργασία στο πλαίσιο του Διατμηματικού
Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών «Ιατρική Χημεία και
Χημική Βιολογία»**

Χρονοπούλου Ελπινίκη

Επιβλέπων: Γεράσιμος Ρασσιάς, Αναπληρωτής Καθηγητής

Πάτρα, 2024



Χρονοπούλου Ελπινίκη

Υποβλήθηκε στο Τμήμα Χημείας

Τομέας Οργανικής Χημείας, Βιοχημείας και Φυσικών Προϊόντων

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

Βικτώρια Μαγκριώτη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Τμήματος Χημείας, ΕΚΠΑ

Διονύσιος Παπαϊωάννου, Ομότιμος Καθηγητής Τμήματος Χημείας, Παν. Πατρών

Γεράσιμος Ρασσιάς, Επιβλέπων, Επίκουρος Καθηγητής Τμήματος Χημείας, Παν. Πατρών



**UNIVERSITY OF
PATRAS**
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΑΤΡΩΝ

SCHOOL OF NATURAL SCIENCES

Department of Chemistry

**Design and synthesis of innovative quinoline
derivatives with antiviral action against Dengue virus**

**MSc Thesis in the context of the Interdepartmental Program of
Postgraduate Studies in «Medicinal Chemistry and Chemical
Biology»**

Chronopoulou Elpiniki

Supervisor: Gerry Rassias, Associate Professor

Patras, 2024

UNIVERSITY OF PATRAS, DEPARTMENT OF CHEMISTRY



Chronopoulou Elpiniki

It was submitted to the Department of Chemistry
Division of Organic Chemistry, Biochemistry and Natural Products

Assessment Committee:

Magrioti Victoria, Associate Professor, Department of Chemistry, NKUA

Papaioannou Dionysios, Professor Emeritus, Department of Chemistry, University of Patras

Gerry Rassias, Associate Professor, Department of Chemistry, University of Patras
(Supervisor)

Ευχαριστίες

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στο ερευνητικό εργαστήριο Οργανικής Χημείας του αναπληρωτή καθηγητή κ. Γεράσιμου Ρασσιά του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Πατρών. Ολοκληρώνοντας τη μεταπτυχιακή μου διατριβή, θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς τους καθηγητές μου και τους ανθρώπους που στήριξαν και ενθάρρυναν την προσπάθεια μου αυτή.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερος τον επιβλέποντα καθηγητή μου, κ. Ρασσιά για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε με την ανάθεση της ενδιαφέρουσας αυτής μελέτης, η οποία αν μη τι άλλο αποτέλεσε εφαλτήριο για περεταίρω εξέλιξη τόσο σε ερευνητικό, ακαδημαϊκό και προσωπικό επίπεδο, καθορίζοντας και τη μετέπειτα πορεία μου.

Ευχαριστώ, επίσης, θερμά τους συνεργάτες μου, τον υποψήφιο διδάκτορα Δημήτρη Κιούση για τις πολύτιμες συμβουλές του και την καθοδήγηση του καθ' όλη την διάρκεια της συνεργασίας μας, την υποψήφια διδάκτορα Ιωάννα Ζγουλέτα, και την υποψήφια διδάκτορα Ελεάνα Βαχλιώτη για την άψογη συνεργασία μας. Δεν θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω θερμά τους μεταπτυχιακούς φοιτητές Χρύσα Γιαννικοπούλου, Παναγιώτη Αγγελόπουλο, Νίκο Πολύζο, Νίκο Καραδήμα, Ελευθερία Κουτρουμάνη, Βασίλη Καραμπάτση, Άγγελο Μπιτζέκου, Αναστασία Μοσχοπούλου και Κωνσταντίνα Κατσίγιαννη για την άψογη συνεργασία και την υπέροχη παρέα τους. Ένα ξεχωριστό ευχαριστώ θα ήθελα να εκφράσω στην μεταπτυχιακή φοιτήτρια Δέσποινα Γιαννιώτη που εκτός από συνεργάτη αποτελεί και οικογένεια για εμένα.

Θα ήθελα ακόμη να ευχαριστήσω τον καθηγητή Subhash Vasudevan και τους υπόλοιπους συνεργάτες μας από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Duke-NUS της Σιγκαπούρης για τη βιολογική αποτίμηση των συντεθειμένων μορίων.

Τέλος, ένα τεράστιο ευχαριστώ οφείλω στην οικογένεια μου, τους φίλους μου και τους κοντινούς μου ανθρώπους για την υποστήριξη τους σε όλη την προσπάθεια που έκανα όλα αυτά τα χρόνια. Η βοήθεια τους ήταν ανεκτίμητη και δίχως αυτήν δεν θα μπορούσα να ολοκληρώσω με επιτυχία το έργο μου.

Περίληψη

Ο δάγκειος ιός αποτελεί μέλος του γένους *Flavivirus* της οικογένειας *Flaviviridae*, μεταδίδεται στον άνθρωπο μέσω του θηλυκού κουνουπιού *Aedes aegypti* και έχει τέσσερις οροτύπους: DEN-1, DEN-2, DEN-3, και DEN-4. Ο δάγκειος ιός αποτελεί απειλή για την παγκόσμια δημόσια υγεία, καθώς οι μολύνσεις από τον ιό αριθμούν σε 400 εκατομμύρια ετησίως, και εμφανίζει έξαρση ειδικά στις τροπικές και υποτροπικές περιοχές. Τα συμπτώματα της μόλυνσης από δάγκειο ποικίλουν από κλινικά μη σημαντικά έως πολύ σοβαρές ασθένειες μεταξύ των οποίων ο Δάγκειος Αιμορραγικός Πυρετός (DHF) και το Σύνδρομο του Δάγκειου Κλονισμού (DSS). Δεν υπάρχει ασφαλή αντι-ική θεραπεία προς το παρόν και οι ερευνητικές προσπάθειες συνεχίζονται ακόμα. Η προσοχή των ερευνητών έχει στραφεί τόσο σε βιολογικούς στόχους του κυττάρου-ξενιστή όσο και σε πρωτεΐνες του ιού.

Η παρούσα διπλωματική εργασία επικεντρώθηκε στη σύνθεση καινοτόμων κινολινικών παραγώγων που φέρουν διαφορετικούς αμινο- και αλκοξυαιθέρες και διαμένεις στη θέση 4 της κινολίνης, καθώς και διαφορετικούς υποκαταστάτες στη θέση 6 του δακτυλίου της κινολίνης, με σκοπό τη μελέτη της σχέσης δομής-δραστηριότητας (SAR) σε επίπεδο επιμολυσμένων κυττάρων. Αξίζει να σημειωθεί ότι σε κανένα στάδιο των συνθέσεων δεν απαιτήθηκε η χρήση χρωματογραφίας στήλης.

Λέξεις κλειδιά: Δάγκειος ιός, επιδημία, αναστολείς, κινολινικά παράγωγα, SAR

Abstract

Dengue virus is a member of the genus *Flavivirus* of the family *Flaviviridae*, transmitted to humans through the female mosquito *Aedes aegypti* and has four serotypes: DEN-1, DEN-2, DEN-3, and DEN-4. Dengue virus is a threat to global public health, with 400 million infections annually, and is on the rise especially in tropical and subtropical regions. Symptoms of dengue infection range from clinically insignificant to very serious diseases, including dengue hemorrhagic fever (DHF) and dengue shock syndrome (DSS). There is no antiviral treatment available at present, and research efforts are still ongoing. The researchers' attention has turned to both biological targets of the host cell and proteins of the virus.

This diploma thesis is focused on the synthesis of innovative quinolinic derivatives carrying different amino- and alkoxyethers and diamines at position 4 of quinoline, as well as different substituents at position 6 of the quinoline ring, in order to study the structure-activity relationship (SAR) at the cellular level. It is worth noting that column chromatography isn't required at any stage of the compositions.

Keywords: dengue, epidemic, inhibitors, quinolinic derivatives, SAR

Συντμήσεις

ER	Endoplasmic Reticulum
Lys	Λυσίνη
Arg	Αργινίνη
PI3K	Phosphoinositide 3-kinase
AKT	Protein kinase B
PDK1	3-Phosphoinositide-dependent kinase 1
GAK	Cyclin G-associated kinase
STK10	Serine/threonine-protein kinase 10
SLK	STE20-like serine/threonine-protein kinase
BTK	Bruton's Tyrosine Kinase
mTOR	Mammalian target of rapamycin
mTORC1	Mammalian target of rapamycin complex 1
mTORC2	Mammalian target of rapamycin complex 2
SAR	Structure Activity Relationship
EC ₅₀	Half maximal effective concentration
IC ₅₀	Half-maximal inhibitory concentration
CC ₅₀	Concentration of cytotoxicity 50%
K _i	Σταθερά συγγένειας πρόσδεσης
TLC	Thin layer chromatography
HPLC	High-performance liquid chromatography
NMR	Nuclear magnetic resonance
RT	Room temperature
DCM	Dichloromethane
THF	Tetrahydrofuran
eq	Equivalent
DMSO	Dimethyl sulfoxide
DMSO-d ₆	Deuterated dimethyl sulfoxide
DMF	Dimethylformamide
MeOH	Methanol
EtOH	Ethanol

EtOAc	Ethyl acetate
TBME	Methyl tert-butyl ether
Hex	Hexane
MIBK	Methyl tert-butyl ether
MeCN	Acetonitrile
Et ₃ N	Triethylamine
PdCl ₂ dppf	1, 1'-Bis(diphenylphosphino)ferrocene) palladium (II) chloride
Pd ₂ (dba) ₃	Tris(dibenzylideneacetone)dipalladium (0)

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες	5
Περίληψη	6
Abstract	7
Συντμήσεις	8
Περιεχόμενα.....	10
1. Εισαγωγή	12
1.1 Εισαγωγή στους φλαβοϊούς	13
1.2 Επιδημιολογία του Δάγκειου ιού	14
1.2.1 Γεωγραφική κατανομή των κρουσμάτων του Δάγκειου ιού.....	14
1.2.2 Παθοφυσιολογία του Δάγκειου πυρετού	16
1.3 Κύκλος αναπαραγωγής του Δάγκειου ιού	17
1.4 Μηχανισμοί του κυττάρου-ξενιστή που χρησιμοποιούνται από τον ιό κατά την αναπαραγωγή του	18
1.5 Δομή γονιδιώματος του δάγκειου ιού	20
1.6 Ανάπτυξη αντι-ιικών φαρμάκων που στοχεύουν στις πρωτεΐνες του ιού (DAAs) 21	
1.6.1 Το σύμπλεγμα πρωτεάσης NS2B-NS3 ως βιολογικός στόχος ανάπτυξης αντι-ιικών φαρμάκων.....	22
1.6.2 Η πρωτεΐνη NS4 ως βιολογικός στόχος ανάπτυξης αντι-ιικών φαρμάκων	24
1.6.3 Η πρωτεΐνη NS5 ως βιολογικός στόχος ανάπτυξης αντι-ιικών φαρμάκων	26
1.7 Ανάπτυξη αντι-ιικών φαρμάκων που στοχεύουν στους μηχανισμούς του κυττάρου-ξενιστή (HTAs).....	27
1.7.1 Βιολογικοί στόχοι των HTAs και αναστολείς.....	28
1.7.2 Κινολινικά παράγωγα με αντι-ιική δράση στο κύτταρο-ξενιστή.....	32
1.8 Σκοπός διπλωματικής εργασίας	36
2. Συζήτηση – Αποτελέσματα	38
2.1 Αντιθετική ανάλυση 4-υποκατεστημένων κινολινικών παραγώγων.....	39

2.2 Σύνθεση της 6-βρωμο-4-ιωδοκινολίνης	40
2.3 Σύνθεση 4-υποκατεστημένων 6-βρωμοκινολινικών ενδιαμέσων.....	41
2.3.1 Αντίδραση πυρηνόφιλης αρωματικής αντικατάστασης στη θέση 4 της κινολίνης	41
2.3.2 Σύζευξη Buchwald- Hartwig	44
2.4 Σύζευξη Suzuki-Miyaura στην θέση 6 των 4-υποκατεστημένων-6-βρωμοκινολινικών ενδιαμέσων.....	48
2.5 Εγκατάσταση θειουρίας	52
Συμπεράσματα	56
3. Πειραματικό Μέρος	57
3.1 Αντιδραστήρια.....	58
3.2 Χρωματογραφική Ανάλυση	58
3.3 Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR).....	59
3.4 Συνθετική Πορεία Μορίων- Στόχων	60
3.4.1 Σύνθεση της 6-βρωμο-4-ιωδοκινολίνης	60
3.4.2 Αντίδραση πυρηνόφιλης αρωματικής αντικατάστασης στη θέση 4 της 6-βρωμο-4-ιωδοκινολίνης	61
3.4.3 Σύζευξη Buchwald- Hartwig	66
3.4.4 Σύζευξη Suzuki- Miyaura στη θέση 6 του κινολινικού δακτυλίου	76
3.4.5 Σχηματισμός θειουρίας	91
Παράρτημα NMR	105
Βιβλιογραφία	157

1. Εισαγωγή

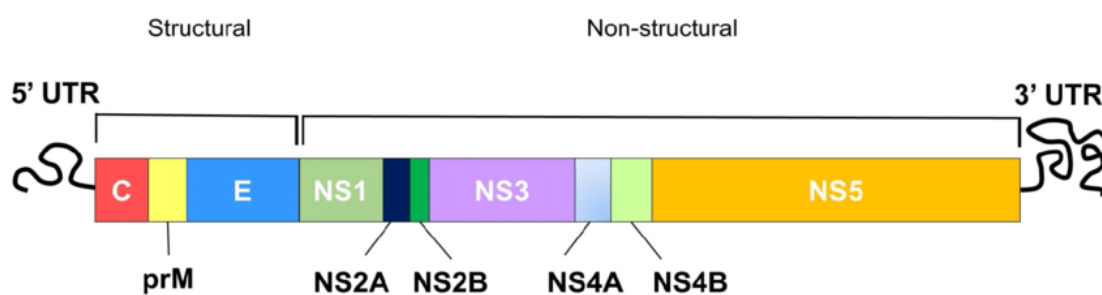
1.1 Εισαγωγή στους φλαβοϊούς

Η λέξη ‘ιός’ στα αρχαία ελληνικά σημαίνει δηλητήριο και το ίδιο ισχύει για την αντίστοιχη λατινική λέξη “virus”. Οι ιοί είναι μικρά ενδοκυτταρικά παράσιτα, των οποίων το γονιδίωμα είναι είτε DNA είτε RNA και περιβάλλεται από ένα πρωτεϊνικό κέλυφος, το καψίδιο. Πρόκειται, δηλαδή, για νουκλεοπρωτεϊνικά σύμπλοκα[1]. Οι ιοί στερούνται οποιασδήποτε μεταβολικής δραστηριότητας και συνεπώς δεν έχουν τη δυνατότητα αυτοδύναμης αναπαραγωγής. Για τους λόγους αυτούς, αναπαράγονται και συνθέτουν τα απαραίτητα συστατικά για την επιβίωση και διάδοση τους χρησιμοποιώντας τους μηχανισμούς μετάφρασης και τον μεταβολισμό του κυττάρου-ξενιστή. Έτσι, εξαρτώνται από τα κύτταρα ξενιστές για την βιοσύνθεση πρωτεϊνών και άλλων σημαντικών μακρομορίων[2]. Ένας μεγάλος αριθμός ιών έχει ανακαλυφθεί, οδηγώντας στην ανάγκη προσδιορισμού και κατηγοριοποίησης τους. Για τον λόγο αυτό, η Διεθνής Επιτροπή για την Ταξινόμηση των Ιών (ICTV) κατηγοριοποίησε τους ιούς με βάση την τάξη, την οικογένεια, το γένος και το είδος[3].

Το γένος των φλαβοϊών ανήκει στην οικογένεια Flaviviridae, μάλιστα αποτελεί το μεγαλύτερο γένος της οικογένειας αυτής, συμπεριλαμβάνοντας 70 ιούς. Οι περισσότεροι από αυτούς τους ιούς ευθύνονται για πρόκληση ασθενειών στον άνθρωπο και απειλή της δημόσιας υγείας. Σε αυτούς συγκαταλέγονται, ο ιός Ζίκα (ZIKV), ο Δάγκειος ιός (DENV), ο ιός του Κίτρινου Πυρετού (YFV), ο ιός του Δυτικού Νείλου (WNV) και ο ιός της Ιαπωνικής Εγκεφαλίτιδας (JEBV)[4].

Παρότι τα γονιδιώματα των φλαβοϊών έχουν παρόμοια οργάνωση και μηχανισμούς αντιγραφής, παρουσιάζουν διαφορές στο εύρος των ξενιστών τους και την μεταδοτικότητα τους. Έτσι, οι φλαβοϊοί διακρίνονται σε τέσσερις μεγάλες κατηγορίες: ιοί που μεταδίδονται μέσω κουνουπιών (MBFV), ιοί που μεταδίδονται από τσιμπούρια (TBFV), ιοί μη γνωστού φορέα (NKFV), και ιοί που έχουν απομονωθεί από έντομα (ISFV)[5]. Οι ιοί που μεταδίδονται μέσω κουνουπιών μπορούν να διακριθούν περαιτέρω στους «ιούς του Παλιού Κόσμου» που σχετίζονται με τα κουνούπια του γένους *Aedes* και προκαλούν αιμορραγικές ασθένειες, όπως ο ιός του Κίτρινου Πυρετού (YFV) και ο Δάγκειος ιός (DENV), και στους «ιούς του Παλιού και Νέου Κόσμου». Οι ιοί αυτοί μεταδίδονται από κουνούπια του γένους *Culex* και προκαλούν συμπτώματα εγκεφαλίτιδας[6].

Το γονιδίωμα των φλαβοϊών πρόκειται για ένα θετικό μονόκλωνο μόριο RNA με μόνο ένα ανοιχτό πλαίσιο ανάγνωσης (ORF) το οποίο πλαισιώνεται από 5' και 3' αμετάφραστες περιοχές, οι οποίες είναι σημαντικές για την βιωσιμότητα των ιών αυτών. Το ανοιχτό αυτό πλαίσιο ανάγνωσης κωδικοποιεί μία πολυπρωτεΐνη από την οποία παράγονται μέσω συν- και μεταμεταφραστικών τροποποιήσεων 3 δομικές πρωτεΐνες και 7 μη-δομικές (λειτουργικές). Πιο συγκεκριμένα, οι δομικές πρωτεΐνες είναι το καψίδιο (C), η προμεμβράνη (prM) και ο φάκελος (E), και οι μη-δομικές είναι η NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, και NS5 (*Εικόνα 1*). Το RNA των φλαβοϊών έχει μήκος περίπου 11000 βάσεις και διαθέτει μία δομή τύπου cap I στο 5' άκρο του, ενώ δεν διαθέτει πολυαδενυλική ουρά στο 3' άκρο του[7].



Εικόνα 1: Σχηματική αναπαράσταση του γονιδιώματος των φλαβοϊών, φαίνονται οι δομικές και μη-δομικές πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται[8].

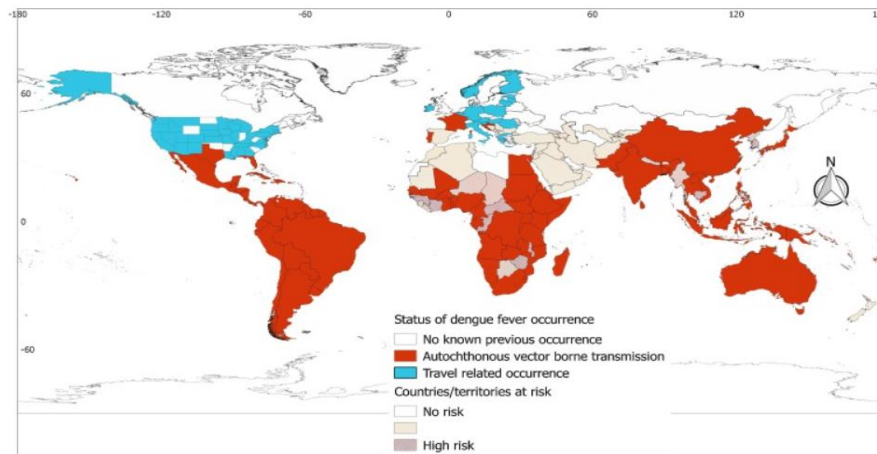
1.2 Επιδημιολογία του Δάγκειου ιού

1.2.1 Γεωγραφική κατανομή των κρουσμάτων του Δάγκειου ιού

Ο Δάγκειος πυρετός πρόκειται για μια ασθένεια που προκαλείται από τον δάγκειο ιό και είναι η πιο γρήγορα μεταδιδόμενη ιογενής ασθένεια που μεταδίδεται από κουνούπια. Ο ιός αυτός μεταδίδεται στον άνθρωπο μέσω του μολυσμένου θηλυκού κουνουπιού *Aedes aegypti*, του γένους *Aedes*. Τα κρούσματα του ιού που αναφέρονται παγκοσμίως ανέρχονται στα 400 εκατομμύρια ετησίως, ενώ οι θάνατοι στους 22000. Υπολογίζεται, μάλιστα, ότι το 40% του παγκόσμιου πληθυσμού βρίσκεται σε κίνδυνο[9].

Ο δάγκειος ιός μολύνει ανθρώπους σε περισσότερες από 100 χώρες ετησίως. Παρότι συναντάται κυρίως σε τροπικές και υποτροπικές περιοχές, επιδημίες δάγκειου ιού προκύπτουν και στην Αμερική και την Αυστραλία. Μάλιστα αναφέρεται πως τα τελευταία 50 χρόνια οι επιπτώσεις του ιού αυτού έχουν αυξηθεί κατά 30 φορές. Εκτός από επιπτώσεις στην δημόσια υγεία, οι επιδημίες δάγκειου ιού έχουν τεράστιες οικονομικές συνέπειες στις χώρες που επηρεάζονται, συμπεριλαμβανομένης και της Ινδίας[10]. Επιπροσθέτως, τις τελευταίες δύο δεκαετίες ο αριθμός των κρουσμάτων έχει αυξηθεί κατά 8 φορές, καθώς το 2000 τα κρούσματα υπολογίζονταν σε 505.430, ενώ σε πάνω από 2.4 εκατομμύρια το 2000 και 5.2 εκατομμύρια το 2019. Ωστόσο, κατά το 2020 και 2021, ο αριθμός των κρουσμάτων από δάγκειο ιό μειώθηκε, πιθανότητα λόγω της πανδημίας της COVID-19 που πιθανότατα εμπόδισε την καταγραφή των κρουσμάτων[11].

Η πρώτη έξαρση του δάγκειου ιού καταγράφηκε στην Τζακάρτα και το Κάιρο το 1779 και η πρώτη επιδημία του ιού στην Βόρεια Αμερική καταγράφηκε το 1780 στην Φιλαδέλφεια. Παρότι αυτές είναι οι πρώτες επίσημες καταγραφές για τον δάγκειο ιό, εκτιμάται ότι αναφορές σε ασθένειες με συμπτώματα συμβατά με αυτά του δάγκειου προέκυψαν ακόμα νωρίτερα στην Κίνα και χρονολογούνται μεταξύ 265 και 420 μ.Χ. Το μοτίβο της ασθένειας από το 1780 έως και το 1940 χαρακτηρίζεται από επιδημίες κυρίως στην Ανατολική, Δυτική και Νότια Αφρική. Με τον δεύτερο παγκόσμιο πόλεμο δημιουργήθηκαν ιδανικές συνθήκες για την μετάδοση ασθενειών μέσω κουνουπιών κι έτσι ξεκίνησε παγκόσμια πανδημία του δάγκειου ιού. Μετά το 1950, επιδημίες δάγκειου ιού προέκυπταν ετησίως σε χώρες της Νοτιοδυτικής Ασίας. Η μεγαλύτερη επιδημία του ιού σημειώθηκε στις ΗΠΑ το 2016 όπου καταγράφηκαν περισσότερα από 2.38 εκατομμύρια κρούσματα, ενώ κρούσματα έχουν καταγραφεί και στην Γαλλία, την Ισπανία και την Κροατία[12].



Εικόνα 2: Παρουσιάζεται η εξάπλωση του δάγκειου ιού σε περισσότερες από 100 χώρες[13].

1.2.2 Παθοφυσιολογία του Δάγκειου πυρετού

Η μόλυνση από δάγκειο ιό προκαλεί ένα φάσμα συμπτωμάτων στον άνθρωπο, τα οποία ποικίλουν από κλινικά ήπια σε θανατηφόρα αιμορραγική νόσο. Τα κλασικά συμπτώματα του δάγκειου πυρετού (DF) γενικά παρατηρούνται σε μεγαλύτερα παιδιά και ενήλικες και περιλαμβάνουν πυρετό, πονοκέφαλο, ναυτία, έμετο, διάρροια, εξανθήματα, μυαλγία και μικρές αιμορραγικές εκδηλώσεις. Η περίοδος ανάρρωσης είναι από 3 έως 7 ημέρες. Η πλειοψηφία των ασθενών παρουσιάζουν αυτή την κλασική μορφή, η οποία είναι σπάνια θανατηφόρα.

Κυρίως σε παιδιά κάτω των 15 ετών, μπορεί να παρατηρηθούν οι πιο επικίνδυνες μορφές της νόσου και ίσως θανατηφόρες. Αυτές είναι η αιμορραγική, γνωστή ως Δάγκειος Αιμορραγικός Πυρετός (DHF) και το Σύνδρομο του Δάγκειου Κλονισμού (DSS). Η πρώτη χαρακτηρίζεται από αιμορραγία, διαρροή στα αιμοφόρα αγγεία και χαμηλά επίπεδα αιμοπεταλίων[14]. Το Σύνδρομο του Δάγκειου Κλονισμού αποτελεί μία πιο βαριά μορφή του Δάγκειου Αιμορραγικού Πυρετού και πρόκειται για μία μορφή υποογκαιμικού σοκ που χαρακτηρίζεται από αδύναμο σφυγμό και μεγάλη πτώση της πίεσης του αίματος. Η κατάρρευση του αγγειακού συστήματος μπορεί να προκαλέσει μειωμένη περιφερική αιμάτωση, οδηγώντας έτσι σε πολυοργανική ανεπάρκεια και τραυματισμό των ιστών[15]. Το ποσοστό θνησιμότητας σε ασθενείς που πάσχουν από βαριά μορφή της νόσου, ανέρχεται στο 20% χωρίς ιατρική φροντίδα, ενώ με υποστηρικτική θεραπεία πέφτει στο 1%[16].

Δεν υπάρχει συγκεκριμένη θεραπεία για τον δάγκειο πυρετό. Το ενδιαφέρον επικεντρώνεται στην αντιμετώπιση των συμπτωμάτων. Για τον λόγο αυτό, οι έρευνες συνεχίζονται για την εύρεση αποτελεσματικού φαρμάκου ή εμβολίου.

1.3 Κύκλος αναπαραγωγής του Δάγκειου ιού

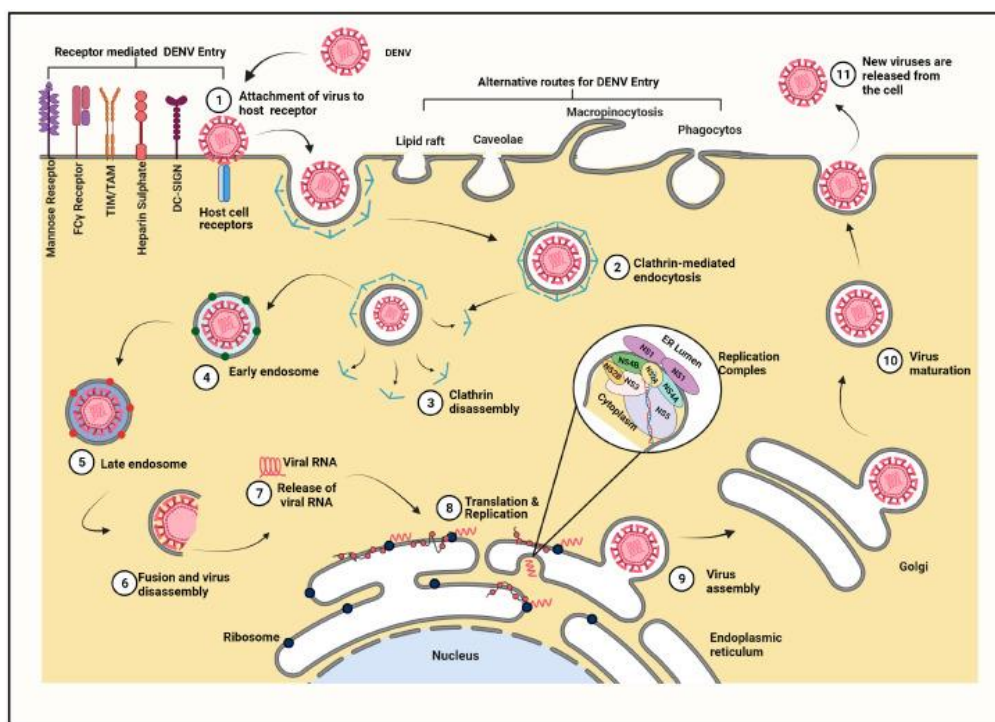
Ο δάγκειος ιός μολύνει κύτταρα από διαφορετικούς ιστούς στα αρθρόποδα, τον άνθρωπο, τους πιθήκους και τα ποντίκια. Ο ιός μεταδίδεται στον άνθρωπο μέσω του μολυσμένου κουνουπιού *Aedes aegypti*, διαπερνά το δέρμα και μεταφέρεται μέσω της κυκλοφορίας του αίματος στα κύτταρα. Μερικοί από τους τύπους κυττάρων που προσβάλλει ο ιός είναι τα επιθηλιακά, τα ενδοθηλιακά, τα δενδριτικά, τα Β και Τ κύτταρα, καθώς και τα μακροφάγα[17].

Το πρώτο βήμα για την εισαγωγή του ιού στα κύτταρα περιλαμβάνει την πρόσδεση της γλυκοπρωτεΐνης Ε του ιού στους υποδοχείς και τα μόρια που υπάρχουν στην επιφάνεια του κυττάρου-ξενιστή. Κάποια ενδεικτικά παραδείγματα των μορίων αυτών είναι: ο υποδοχέας μαννόζης (MR), οι γλυκοζαμινογλυκάνες, και η θεική ηπαράνη (HS). Η αλληλεπίδραση της πρωτεΐνης Ε με τους κυτταρικούς υποδοχείς πυροδοτεί μια σειρά γεγονότων τόσο στο σωματίδιο του ιού όσο και στην μεμβράνη και τον σκελετό του κυττάρου, επιτρέποντας την εισαγωγή του ιού στο κύτταρο[18].

Η είσοδος του ιού στα κύτταρα-ξενιστές πραγματοποιείται μέσω ενδοκυττάρωσης και στις περισσότερες φορές μέσω σχηματισμού κυστιδίων κλαθρίνης (ενδόσωμα). Το όξινο pH που επικρατεί στο ενδόσωμα, έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση του νουκλεοκαψιδίου στο κυτταρόπλασμα. Το RNA του ιού μεταφέρεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο (ER) μέσω του μηχανισμού μεταφοράς του κυτταροσκελετού και εκεί μεταφράζεται στην πολυπρωτεΐνη. Ακολουθούν συν- και μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις που οδηγούν στην παραγωγή των απαραίτητων δομικών και μη-δομικών πρωτεϊνών.

Η αντιγραφή του ιικού RNA (από (+)ssRNA σε (-)ssRNA και ύστερα σε (+)ssRNA), λαμβάνει χώρα στις μεμβράνες του κυττάρου-ξενιστή χρησιμοποιώντας το θετικό RNA ως καλούπι[19]. Μόλις παραχθούν επαρκή αντίγραφα RNA, το γονιδιωματικό RNA εισχωρεί στα τοιχώματα του συμπλέγματος του ER και αποκτά την εξωτερική λιπιδική

μεμβράνη του (φάκελος). Στην συνέχεια, τα νέα σωματίδια του ιού που έχουν συντεθεί, μεταφέρονται από το ER στο trans-Golgi δίκτυο, όπου λαμβάνει χώρα η ωρίμανση τους και τέλος απελευθερώνονται από το κύτταρο με εξωκυττάρωση[20] (*Εικόνα 3*).



Εικόνα 3: Παρουσιάζεται ο κύκλος αναπαραγωγής του δάγκειου ιού[15].

1.4 Μηχανισμοί του κυττάρου-ξενιστή που χρησιμοποιούνται από τον ιό κατά την αναπαραγωγή του

Όπως είναι γνωστό, οι ιοί είναι μικρά ενδοκυτταρικά παράσιτα που για να αναπαραχθούν χρησιμοποιούν τους μηχανισμούς και τον μεταβολισμό του κυττάρου-ξενιστή. Κατά την διάρκεια του αναπαραγωγικού τους κύκλου, οι ιοί μπορούν να επηρεάσουν προς όφελος τους, μια μεγάλη ποικιλία κυτταρικών διεργασιών, μεταξύ των οποίων είναι η αναδιαμόρφωση του ενδομεμβρανικού συστήματος, η ρύθμιση της έκφρασης των πρωτεϊνών του κυττάρου-ξενιστή, η απόπτωση και η αυτοφαγία, η κυτταρική διαίρεση και η ρύθμιση του μεταβολισμού των λιπιδίων. Συνεπώς, οι ιοί, συμπεριλαμβανομένου και του δάγκειου, προσπαθούν να χειραγωγήσουν τις πρωτεΐνες και τους μηχανισμούς του κυττάρου-ξενιστή προς όφελος τους.

Πιο συγκεκριμένα, ο δάγκειος ιός εκμεταλλεύεται τους υποδοχείς που βρίσκονται στην επιφάνεια του κυττάρου-ξενιστή προκειμένου να εισέλθει σε αυτό. Οι υποδοχείς στους οποίους προσδένεται είναι κυρίως θεικής ηπαράνης και άλλων γλυκανών.

Επιπροσθέτως, ο ιός χρησιμοποιεί τις μεμβράνες του κυττάρου για την αναπαραγωγή του. Αναλυτικότερα, αναδιαμορφώνει τις μεμβράνες του ενδοπλασματικού δικτύου προς σχηματισμό των “convoluted membranes” (CMs), οι οποίες είναι οι μεμβράνες όπου λαμβάνει χώρα η μετάφραση του RNA του ιού και η επεξεργασία της πολυπρωτεΐνης. Η αντιγραφή του γονιδιώματος του ιού από την άλλη, λαμβάνει χώρα στα “πακέτα κυστιδίων” (VPs), που είναι μεμβράνες τις οποίες παράγει ο ιός από το σύμπλεγμα Golgi. Ο ιός προκειμένου να αναπτύξει αυτές τις μεμβράνες για την αναπαραγωγή του, προκαλεί μεταβολές στην σύσταση των λιπιδίων του κυττάρου, επηρεάζει την δραστηριότητα διάφορων πρωτεϊνών του κυτταροσκελετού, καθώς και διαμεμβρανικών πρωτεϊνών. Επιπλέον, το ενδοπλασματικό δίκτυο και το σύμπλεγμα Golgi παρέχουν στον ιό πρωτεΐνες του κυττάρου-ξενιστή που χρειάζεται για την επεξεργασία, αναδίπλωση και λειτουργικότητα των δικών του πρωτεϊνών[21].

Προκειμένου να αναπαραχθεί, ο ιός χρησιμοποιεί και τον σκελετό του κυττάρου. Πιο συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι τα νημάτια ακτίνης του κυττάρου-ξενιστή βοηθούν την είσοδο, αναπαραγωγή και έξοδο του ιού από το κύτταρο, αλληλεπιδρώντας με την γλυκοπρωτεΐνη E του ιού. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί μείωση στην αναπαραγωγή του δάγκειου ιού με αναστολή της ακτίνης του ξενιστή. Η μυοσίνη, επίσης έχει βρεθεί ότι εμπλέκεται στην αναπαραγωγή του ιού και μάλιστα έχει αναφερθεί ότι ανακατανομή της μυοσίνης προκαλεί μείωση στην απελευθέρωση των ιοσωματίων. Ένα επιπλέον παράδειγμα που φανερώνει την εκμετάλλευση του κυτταροσκελετού από τον ιό, αποτελεί το γεγονός ότι ο ιός χρησιμοποιεί τους μικροσωληνίσκους στην μεταφορά των ιοσωματίων[22].

Από όλα τα παραπάνω, συνάγεται το συμπέρασμα πως οι πρωτεΐνες και οι μηχανισμοί του κυττάρου-ξενιστή παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην αναπαραγωγή του ιού. Για τον λόγο αυτό, αποτελούν ελκυστικούς στόχους για την ανάπτυξη αντι-ιικών φαρμάκων.

1.5 Δομή γονιδιώματος του δάγκειου ιού

Ο δάγκειος ιός ανήκει στην οικογένεια των φλαβοϊών. Έτσι, διαθέτει μονόκλωνο θετικό RNA μεγέθους περίπου 11000 βάσεων και εμφανίζονται τέσσερις ορότυποι (DEN-1, DEN-2, DEN-3, και DEN-4). Οι τέσσερις ορότυποι είναι παρόμοιοι -το 65% του γονιδιώματος τους είναι κοινό- όμως σε κάθε ορότυπο υπάρχει κάποια γενετική μετάλλαξη. Παρά τις μεταλλάξεις αυτές, μόλυνση από οποιονδήποτε ορότυπο έχει ως αποτέλεσμα την ίδια ασθένεια και εύρος κλινικών συμπτωμάτων. Έκθεση σε έναν συγκεκριμένο ορότυπο του ιού συνεπάγεται ανοσία έναντι αυτού του ορότυπου, ενώ δεν συνεπάγεται ανοσία έναντι των υπόλοιπων τριών οροτύπων.

Το γονιδίωμα του ιού λειτουργεί ως mRNA και με την απελευθέρωση του στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου-ξενιστή μεταφέρεται στα ριβοσώματα του κυττάρου. Εκεί μεταφράζεται και έτσι συντίθεται η απλά οργανωμένη πολυπρωτεΐνη που κωδικοποιεί. Πιο συγκεκριμένα, όπως αναφέρεται παραπάνω, η πρωτεΐνη αυτή κωδικοποιεί 3 δομικές πρωτεΐνες, το καψίδιο (C), την προμεμβράνη (prM), και τον φάκελο (E) και 7 μη-δομικές, λειτουργικές πρωτεΐνες, τις NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B και NS5[23].

Η ιϊκή πολυπρωτεΐνη θα πρέπει να διασπαστεί (μετα-μεταφραστική τροποποίηση) στις επιμέρους διακριτές δομικές και μη-δομικές πρωτεΐνες προκειμένου να επιτευχθεί η αναπαραγωγή του ιού. Οι δομικές πρωτεΐνες είναι υπεύθυνες για το σχηματισμό και την ωρίμανση των νέων ιϊκών σωματίων. Οι μη-δομικές πρωτεΐνες παίζουν σημαντικό ρόλο στην αντιγραφή του γονιδιώματος του ιού, την συναρμολόγηση των νέων ιοσωματίων, και την εξασθένιση του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή μέσω των ενζυμικών δραστηριοτήτων τους ή των αλληλεπιδράσεων μεταξύ πρωτεϊνών.

Οι λειτουργίες των επτά μη-δομικών πρωτεϊνών έχουν χαρακτηριστεί. Πιο συγκεκριμένα, οι NS1, NS3 και NS5 είναι υδατοδιαλυτές, ενώ οι NS2A, NS2B, NS4A και NS4B είναι διαμεμβρανικές. Από τις επτά αυτές πρωτεΐνες μόνο οι NS3 και NS5 έχουν ενζυμική δραστηριότητα. Αναλυτικότερα, η NS3 έχει διπλή δραστηριότητα *πρωτεάσης* Ser στο N-τελικό άκρο της, η οποία με την βοήθεια του συμπαραγόντα NS2B διασπούν την ιϊκή πολυπρωτεΐνη και *ελικάσης* στο C-τελικό άκρο. Η πρωτεΐνη NS5 στο N-τελικό άκρο παρουσιάζει δραστηριότητα μεθυλτρανσφεράσης και στο C-τελικό άκρο δραστηριότητα RNA-εξαρτώμενης RNA πολυμεράσης (RpRd). Λόγω της

ενζυμικής τους δραστηριότητας οι NS3 και NS5 καθίστανται ελκυστικοί στόχοι για την ανάπτυξη αναστολέων. Ωστόσο, αποτελεί πρόκληση το γεγονός ότι τα ενεργά κέντρα τους είναι υδρόφιλα.

Το ενδιαφέρον δεν περιορίζεται μόνο σε αυτές τις μη δομικές πρωτεΐνες του ιού, καθώς και οι υπόλοιπες παίζουν ρόλο στον σωστό σχηματισμό του συμπλόκου της αντιγραφής αποτελώντας πιθανούς αντι-ϊκούς στόχους[24].

Δεδομένου ότι τόσο οι πρωτεΐνες του ιού όσο και οι μηχανισμοί και πρωτεΐνες του κυττάρου-ξενιστή παίζουν σημαντικό ρόλο στην αναπαραγωγή του ιού, οι στρατηγικές για την ανάπτυξη αντι-ϊκών φαρμάκων είναι δύο: αντι-ϊκά που στοχεύουν απευθείας τις πρωτεΐνες του ιού (DAAs) και αντι-ϊκά που στοχεύουν πρωτεΐνες του κυττάρου-ξενιστή (HTAs)[25].

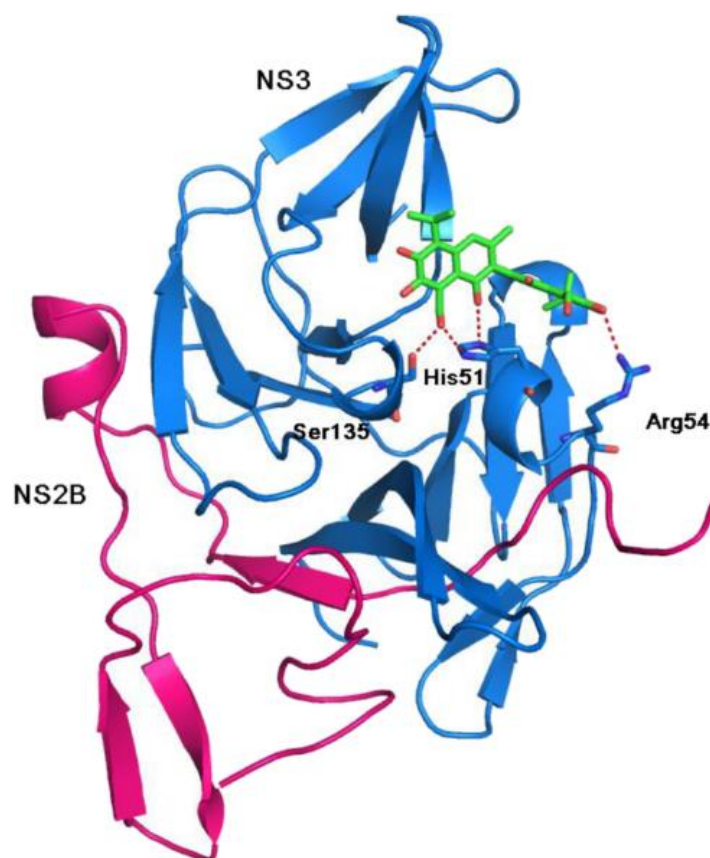
1.6 Ανάπτυξη αντι-ϊκών φαρμάκων που στοχεύουν στις πρωτεΐνες του ιού (DAAs)

Η θεραπεία με αντι-ϊκά φάρμακα τα οποία στοχεύουν άμεσα σε πρωτεΐνες του ιού και τις αναστέλλουν, είναι ασφαλής για τον άνθρωπο, ενώ απαιτείται μικρό χρονικό διάστημα για την ολοκλήρωση της. Ωστόσο, ελλοχεύει ο κίνδυνος ανάπτυξης στελεχών του ιού τα οποία είναι ανθεκτικά στα φάρμακα αυτά. Αυτό μπορεί να προκύψει διότι, υπάρχει μεγάλο ποσοστό μεταλλάξεων στο γονιδίωμα των ιών -ειδικά εάν αυτό είναι RNA- και συνεπώς στις πρωτεΐνες τους. Έτσι είναι πιθανό ένα τέτοιου είδους αντι-ϊκό φάρμακο να μην είναι αποτελεσματικό έναντι όλων των στελεχών του ιού που προκύπτουν. Παρόλα αυτά η χρήση αναστολέων που στοχεύουν άμεσα τον ιό αποτελεί ένα πολύ σημαντικό κομμάτι της θεραπείας κατά των μολύνσεων και για το λόγο αυτό οι έρευνες για την ανάπτυξη τέτοιου είδους αναστολέων συνεχίζονται[21].

1.6.1 Το σύμπλεγμα πρωτεάσης NS2B-NS3 ως βιολογικός στόχος ανάπτυξης αντι-ιικών φαρμάκων

Το ετεροδιμερές σύμπλοκο πρωτεάσης NS2B-NS3 συναντάται στα μέλη της οικογένειας των φλαβοϊών και προκαλεί θραύση της πολυπρωτεΐνης η οποία είναι υπεύθυνη για την αναπαραγωγή του ιού και περαιτέρω εξάπλωση της μόλυνσης. Για τον λόγο αυτό, αποτελεί έναν από τους πιο υποσχόμενους θεραπευτικούς στόχους.

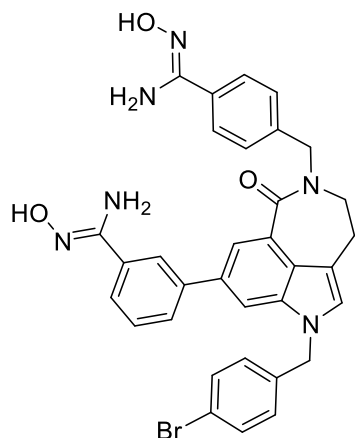
Όπως, προαναφέρθηκε η NS3 είναι μία εκ των πρωτεϊνών που διαθέτουν ενζυμική δράση. Πιο συγκεκριμένα, στο N-τελικό της άκρο, που αποτελείται από 180 αμινοξέα, η πρωτεΐνη παρουσιάζει ενζυμική δράση πρωτεάσης σερίνης (NS3pro) και περιλαμβάνει την καταλυτική τριάδα αμινοξέων His⁵¹, Asp⁷⁵ και Ser¹³⁵. Προκειμένου να εμφανίσει την πρωτεολυτική της δράση, η NS3 πρέπει να σχηματίσει σύμπλοκο με τον συμπαράγοντα NS2B (NS2B_H), συνεπώς η ενζυμικώς δραστική πρωτεάση σερίνης είναι το σύμπλεγμα NS2B-NS3pro, και όχι η μεμονωμένη NS3. Ο συμπαράγοντας NS2B πρόκειται για μια μικρή υδρόφιλη περιοχή περίπου 40 αμινοξέων της κυτταροπλασματικής θηλειάς της γειτονικής ιικής πρωτεΐνης NS2B. Μελέτες κρυσταλλογραφίας έχουν αποκαλύψει ότι ο συμπαράγοντας NS2B βοηθά στην σταθερότητα της πρωτεάσης, σχηματίζοντας μία "ζώνη" γύρω από την NS3pro με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός πρωτεϊνικού δομικού μοτίβου β-φουρκέτας (β-hairpin) το οποίο ολοκληρώνει τη θέση πρόσδεσης του υποστρώματος (**Εικόνα 4**). Αυτή είναι η ενζυμικώς ενεργή διαμόρφωση της πρωτεάσης και χαρακτηρίζεται ως "κλειστή" μορφή. Η NS3, χωρίς τον συμπαράγοντα NS2B, βρίσκεται σε μία μη-ενεργή ενζυμικώς διαμόρφωση και δεν μπορεί να εμφανίσει την πρωτεολυτική της δράση[26, 27]. Στην ενεργή του μορφή το σύμπλοκο NS2B_H-NS3 καταλύει τη θραύση της φλαβϊκής πολυπρωτεΐνης μέσω της υδρόλυσης του πεπτιδικού δεσμού μετά το κατάλοιπο R (Arg) στην τριπλέτα αναγνώρισης με αλληλουχία KRR (Lys-Arg-Arg). Έτσι, αποτελεί φαρμακοπρόσφορο στόχο για την αντιμετώπιση του δάγκειου ιού.



Εικόνα 4: Σχηματική αναπαράσταση του συμπλόκου NS2B-NS3pro με έναν υποκαταστάτη στο ενεργό του κέντρο[28].

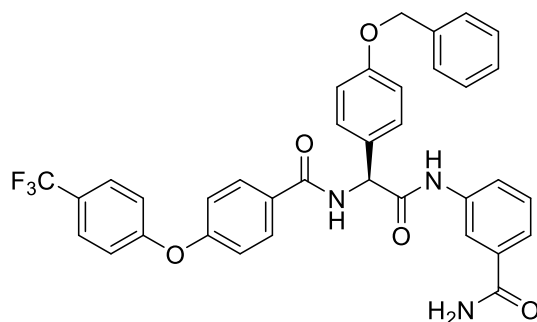
Τα τελευταία χρόνια γίνονται προσπάθειες ανακάλυψης μορίων-αναστολέων του συμπλέγματος NS2B-NS3pro, καθώς έχει μελετηθεί σε βάθος ως βιολογικός στόχος για την εύρεση θεραπείας έναντι του ιού. Από προηγούμενη έρευνα του Εργαστηρίου μας, αναπτύχθηκε ο αναστολέας **SP-1769B**, ο οποίος παρουσιάζει υψηλή αποτελεσματικότητα έναντι όλων των οροτύπων του ιού (100 nM για τους ορότυπους DENV2 και 3) και $CC_{50} > 100 \mu M$ (Σχήμα 1). Τα χαρακτηριστικά αυτά τον καθιστούν έναν από τους ασφαλέστερους και αποτελεσματικότερους αναστολείς της βιβλιογραφίας για τον δάγκειο ιό [29].

Στα δραστικότερα μόρια της βιβλιογραφίας για την πρωτεάση του Δάγκειου ιού κατατάσσεται επίσης και το δι-αμίδιο **1** (Σχήμα 1) που αναπτύχθηκε από την ερευνητική ομάδα του Klein. Το παράγωγο αυτό αποτελείται από μη-φυσικά αμινοξέα, με στόχο να βελτιωθεί η διαπερατότητα, η σταθερότητα και η δραστικότητα εντός των κυττάρων, έναντι προηγούμενων πεπτιδικών αναστολέων. Διαθέτει $EC_{50} = 0.24 \mu M$, εκλεκτικότητα έναντι άλλων πρωτεασών και αμελητέα κυτταροτοξικότητα [30].



SP-1769B

EC₅₀ : 1.26 μM DENV1
0.10 μM DENV2
0.10 μM D2Y10
0.12 μM DENV3
0.95 μM DENV4
100% ADE inhibition
CC₅₀ : > 100 μM
clogP 4.65



(1)

K_i : 6.3 μM DENV2(pro)
EC₅₀ : 0.24 μM DENV2
CC₅₀ : > 100 μM

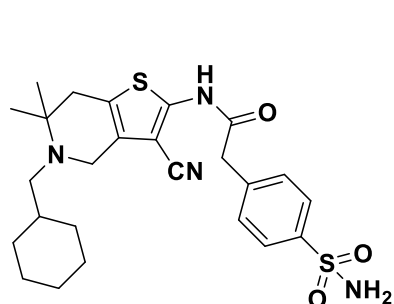
Σχήμα 1: Καινοτόμοι αναστολείς έναντι της πρωτεάσης NS2B-NS3pro του δάγκειου ιού.

1.6.2 Η πρωτεΐνη NS4 ως βιολογικός στόχος ανάπτυξης αντι-ιικών φαρμάκων

Η μη-δομική πρωτεΐνη NS4 του δάγκειου ιού αποτελείται από 2 μεμβρανικές πρωτεΐνες, τις NS4A και NS4B, οι οποίες συνδέονται μεταξύ τους με ένα πεπτίδιο 23 αμινοξέων (2K fragment) που βρίσκεται στο C-τελικό άκρο της NS4A. Η πρωτεΐνη NS4A αποτελείται από 127 αμινοξέα, είναι υδρόφοβη, μεμβρανική πρωτεΐνη και διαθέτει τρεις αμφιπαθείς α έλικες στο N τελικό άκρο και τρεις διαμεμβρανικές α έλικες στο C τελικό άκρο. Η πρωτεάση του ιού προκαλεί θραύση στο C-τελικό άκρο της NS4A και το πεπτίδιο (2K fragment) λειτουργεί ως σήμα για την μεταφορά της NS4B στο ενδοπλασματικό δίκτυο. Αυτή η θραύση του πεπτιδίου, έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή της διαμόρφωσης των μεμβρανών του κυττάρου-ξενιστή προς διαμόρφωση των μεμβρανών όπου πραγματοποιείται μετάφραση του RNA του ιού και αντιγραφή του[31].

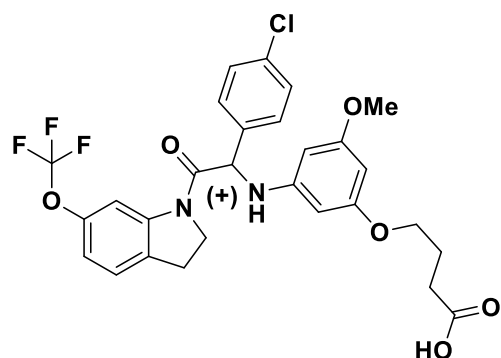
Η NS4B είναι μία μικρή μεμβρανική πρωτεΐνη που περιέχει περισσότερα από 200 αμινοξέα αλλά δεν έχει κάποια ενζυμική δράση και είναι η μεγαλύτερη μη λειτουργική πρωτεΐνη του ιού. Εντούτοις, περιέχει πολλά υδροφοβικά κατάλοιπα και αλληλεπιδρά με τις NS3 και NS5 επηρεάζοντας τη διαμόρφωσή τους. Μελέτες δείχνουν ότι η NS4B είναι N-γλυκοζυλιωμένη σε περιπτώσεις μόλυνσης και η κατάσταση γλυκοζυλίωσης πιθανόν να παίζει ρόλο στην αναπαραγωγή του ιού[32].

Από τα παραπάνω, συνάγεται το συμπέρασμα πως πιθανόν η NS4 πρωτεΐνη παίζει σημαντικό ρόλο στην αναπαραγωγή του ιού. Για τον λόγο αυτό, τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί αναστολείς που στοχεύουν στην πρωτεΐνη αυτή. Αναλυτικότερα, η ένωση **2** πρόκειται για τον αναστολέα NITD-688 που αναπτύχθηκε από τη Novartis και έχει αποτελεσματικότητα έναντι όλων οροτύπων του ιού με $EC_{50s} = 0.008-0.038 \mu M$. Επιπλέον μελέτες έδειξαν, ότι ο αναστολέας εμφανίζει αντι-ϊκή δραστηριότητα μέσω πρόσδεσης του στην πρωτεΐνη NS4B. Μάλιστα, η ένωση **2** εμφανίζει καλή βιοδιαθεσιμότητα και βρίσκεται υπό προ-κλινική ανάπτυξη ως αναστολέας έναντι όλων των οροτύπων του δάγκειου ιού[33].



(2)

EC_{50} : 0.038 μM DENV1
 0.008 μM DENV2
 0.008 μM DENV3
 0.012 μM DENV4
 CC_{50} : > 27.8 $\pm$ 6.2 μM



(3)

EC_{50} : < 0.00003- 0.0003 μM DENV1
 0.00003- 0.004 μM DENV2
 0.0002- 0.001 μM DENV3
 0.00004- 0.003 μM DENV4
 CC_{50} : > 13-25 μM

Σχήμα 2: Καινοτόμοι αναστολείς έναντι της πρωτεΐνης NS4 του δάγκειου ιού.

Έναν επιπλέον αναστολέα με πολύ υψηλή δραστηριότητα έναντι όλων των ορότυπων του ιού με $EC_{50s} < 0.00003-0.004 \mu M$ αποτελεί η ένωση **3**. Ο αναστολέας JNJ-A07 εμφάνισε πολύ καλό φαρμακοκινητικό προφίλ σε ποντίκια και αρουραίους και μάλιστα αποδείχθηκε πολύ αποτελεσματικός σε μολυσμένα ποντίκια από τον ορότυπο DENV-

2. Η ένωση αυτή δρα εμποδίζοντας την αλληλεπίδραση μεταξύ των πρωτεϊνών NS3 και NS4B αναστέλλοντας έτσι τον σχηματισμό του συμπλόκου αντιγραφής του ιού[34].

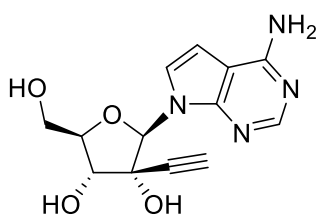
1.6.3 Η πρωτεΐνη NS5 ως βιολογικός στόχος ανάπτυξης αντι-ιικών φαρμάκων

Η πρωτεΐνη NS5 αποτελεί την μεγαλύτερη (102 kDa) και περισσότερο διατηρημένη μη-δομική πρωτεΐνη -το 70% της αλληλουχίας της είναι κοινό μεταξύ όλων των οροτύπων- του δάγκειου ιού. Διαθέτει ενζυμική δραστικότητα και περιλαμβάνει 2 περιοχές: μία που διαθέτει δραστικότητα μεθυλτρανσφεράσης (MTase) στο N-τελικό άκρο της πρωτεΐνης και μία με δραστικότητα RNA-εξαρτώμενης RNA πολυμεράσης στο C-τελικό της άκρο. Η περιοχή με δραστικότητα μεθυλτρανσφεράσης προσθέτει μεθυλομάδες στο RNA χρησιμοποιώντας την S-αδενοσυλμεθειονίνη (SAM) ως δότη μεθυλενομάδων. Το ένζυμο αυτό έχει και δράση GTPασης και μεταφέρει GTP σε ένα αποφωσφορυλιωμένο RNA. Η περιοχή με δραστικότητα RNA πολυμεράσης RNA-εξαρτώμενης, είναι υπεύθυνη για την αντιγραφή του ιικού RNA. Λόγω του ότι η δραστηριότητα της της πολυμεράσης αυτής απουσιάζει από το κύτταρο ξενιστή, η NS5 αποτελεί έναν φαρμοκοπρόσφορο στόχο για ανάπτυξη αντι-ιικών φαρμάκων με χαμηλή τοξικότητα[35].

Η πρωτεΐνη NS5 έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον ως ένας πολλά υποσχόμενος στόχος και για τον λόγο αυτό έχουν αναπτυχθεί αρκετοί αναστολείς έναντι της πρωτεΐνης αυτής. Η ένωση **4** πρόκειται για τον αναστολέα NITD008 που αναπτύχθηκε από την Novartis το 2009, και αναστέλλει αποτελεσματικά τον ορότυπο 2 του δάγκειου ιού με $EC_{50} = 0.64 \mu M$, ενώ προκαλεί χαμηλά επίπεδα τοξικότητας με $CC_{50} > 50 \mu M$. Η ένωση **4** επίσης αναστέλλει αποτελεσματικά τους ορότυπους 1,3 και 4. Ωστόσο, η ανάπτυξη της διακόπηκε διότι προκάλεσε μακροπρόθεσμα τοξικότητα σε αρουραίους και σκύλους μετά από θεραπεία μισού μήνα[36].

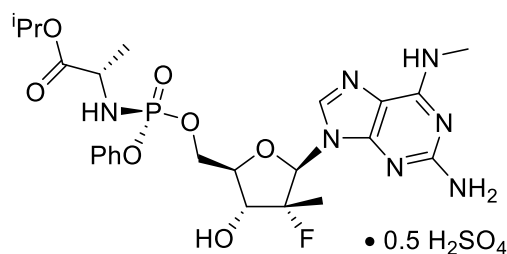
Η ένωση **5** πρόκειται για τον αναστολέα AT-752 ο οποίος έχει αναπτυχθεί από την Atea Pharmaceuticals και αποτελεί ένα νουκλεοτίδιο γουανοσίνης που δρα ως προφάρμακο για την αναστολή της RNA-εξαρτώμενης RNA-πολυμεράσης του δάγκειου ιού.

Παρουσιάζει δραστηριότητα έναντι όλων των ορότυπων του ιού. Στην φάση 1 των κλινικών δοκιμών σε ανθρώπους, παρουσίασε ενθαρρυντικά αποτελέσματα όσον αφορά την ασφάλεια και το φαρμακοκινητικό προφίλ του έτσι ώστε να προχωρήσει σε επόμενες κλινικές μελέτες[37].



(4) NITD008

EC₅₀ : 0.68 μM DENV1
 0.64 μM DENV2
 CC₅₀ : > 50 μM
 0.54 μM DENV3
 0.16 μM DENV4



(5) AT-752

EC₅₀ : 0.57 μM DENV₁
 0.30 μM DENV2
 0.75 μM DENV3
 0.57 μM DENV4

Σχήμα 3: Καινοτόμοι αναστολείς έναντι της πρωτεΐνης NS5 του δάγκειου ιού[38].

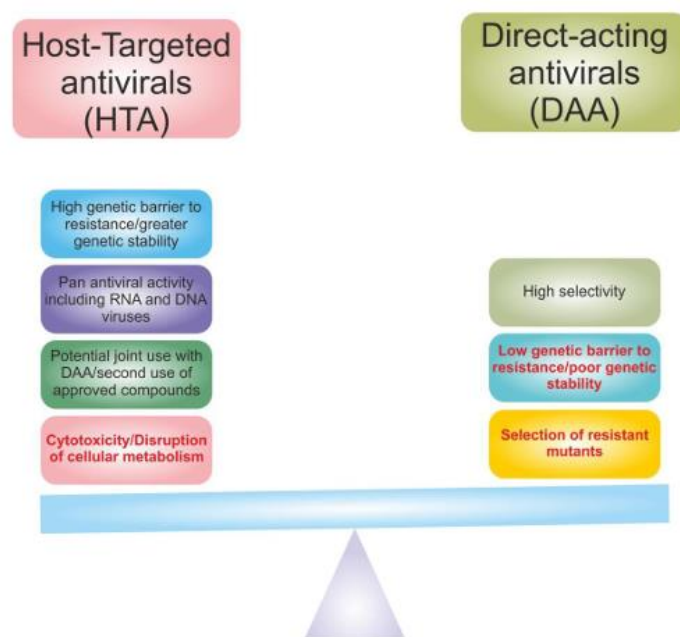
1.7 Ανάπτυξη αντι-ιικών φαρμάκων που στοχεύουν στους μηχανισμούς του κυττάρου-ξενιστή (HTAs)

Όπως προαναφέρθηκε, εφαρμόζονται δύο προσεγγίσεις για την ανάπτυξη αντι-ιικών. Η πρώτη αφορά στην άμεση στόχευση πρωτεϊνών του ιού. Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον μία νέα μέθοδος που περιλαμβάνει την σύνθεση αναστολέων οι οποίοι στοχεύουν σε μηχανισμούς του κυττάρου-ξενιστή. Η προσέγγιση αυτή στηρίζεται στο γεγονός ότι οι μηχανισμοί και οι πρωτεΐνες του κυττάρου-ξενιστή παίζουν κρίσιμο ρόλο στην αναπαραγωγή του ιού.

Η χρήση αντι-ιικών τα οποία στοχεύουν αποκλειστικά στον ιό μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα ανάπτυξη στελεχών του ιού ανθεκτικών στο φάρμακο. Το γεγονός αυτό οφείλεται στο ότι η RNA πολυμεράση του ιού έχει υψηλό ποσοστό μεταλλάξεων. Συνεπώς, το εκάστοτε φάρμακο πιθανόν δεν θα εμφανίζει δραστηριότητα έναντι όλων των μεταλλάξεων που μπορούν να προκύψουν. Σε αντίθεση με τους ιούς, τα κύτταρα-

ξενιστές είναι πολύ πιο σταθερά σε μεταλλάξεις και συνεπώς αντι-ικά φάρμακα που στοχεύουν σε αυτά, θα είναι το ίδιο αποτελεσματικά έναντι όλων μεταλλάξεων του ιού. Επιπροσθέτως, τα αντι-ικά που δρουν σε πρωτεΐνες του κυττάρου-ξενιστή είναι αποτελεσματικά προς όλους τους οροτύπους του ιού και μάλιστα θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν από κοινού με τα φάρμακα που δρουν άμεσα στον ιό. Τέλος, πολλά HTAs έχουν ήδη εγκριθεί από τον FDA για την θεραπεία άλλων ασθενειών συνεπώς έχει εκτιμηθεί εκ των προτέρων η κυτταροτοξικότητα τους και άλλες πιθανές παρενέργειες.

Στην **Εικόνα 5** παρουσιάζεται παραστατικά η σύγκριση των πλεονεκτημάτων και των μειονεκτημάτων των DAAs με αυτά των HTAs. Φαίνεται ότι υπερσχύουν τα πλεονεκτήματα των τελευταίων[21].



Εικόνα 5: Παρουσιάζεται περίληψη των κυριότερων χαρακτηριστικών των HTAs και των DAAs.

1.7.1 Βιολογικοί στόχοι των HTAs και αναστολείς

Τα HTAs είναι, όπως προαναφέρθηκε, αντι-ικά φάρμακα τα οποία δρουν σε συστατικά του κυττάρου-ξενιστή τα οποία είναι απαραίτητα για τον κύκλο ζωής του ιού. Το πρώτο στάδιο κατά την μόλυνση, είναι η είσοδος του ιού στο κύτταρο-ξενιστή και η απελευθέρωση του RNA του στο κυτταρόπλασμα. Έτσι, μια βιώσιμη προσέγγιση

αποτελεί η ανάπτυξη αντι-ικών που στοχεύουν τους *μηχανισμούς εισόδου* του κυττάρου-ξενιστή. Πιο συγκεκριμένα, όσον αφορά τον δάγκειο ιό υπάρχουν ήδη αναστολές στην βιβλιογραφία[39] οι οποίοι εμποδίζουν τις αλληλεπιδράσεις της γλυκοπρωτεΐνης E του ιού με τις γλυκοζαμινογλυκάνες που βρίσκονται στην επιφάνεια του κυττάρου-ξενιστή. Επιπλέον, έχουν αναπτυχθεί αντι-ικά φάρμακα τα οποία μιμούνται τους υποδοχείς θεικής ηπαράνης του κυττάρου-ξενιστή-στους οποίους κανονικά προσδένεται ο δάγκειος ιός- με στόχο την παρεμπόδιση της εισόδου του ιού στο κύτταρο[40].

Μία άλλη στρατηγική ανάπτυξης αντι-ικών που στοχεύουν σε μηχανισμούς του κυττάρου-ξενιστή, αποτελεί η ανάπτυξη αναστολέων που δρουν στις *α-γλυκοσιδάσες* του ενδοπλασματικού δικτύου του κυττάρου. Αυτό διότι, τα ένζυμα αυτά παίζουν σημαντικό ρόλο στην αναδίπλωση και σωστή λειτουργία πολλών ικών

γλυκοπρωτεϊνών που παίρνουν μέρος στον σχηματισμό του καψιδίου των ιών, συμπεριλαμβανομένου και του δάγκειου[41].

Τα *μονοπάτια σύνθεσης λιπιδίων* του κυττάρου-ξενιστή συμπεριλαμβάνονται σε πολλά στάδια του κύκλου αναπαραγωγής του ιού και για τον λόγο αυτό επίσης αποτελούν ελκυστικούς στόχους αντι-ικών φαρμάκων. Μάλιστα, έχει βρεθεί ότι οι στατίνες ως αναστολές καθυστερούν την μόλυνση από δάγκειο ιό και αναστέλλουν την συναρμολόγηση των ιοσωματίων[42].

Έναν ακόμα στόχο των HTAs, αποτελεί ο *κυτταροσκελετός*. Έρευνες δείχνουν ότι τα ινίδια ακτίνης και οι μικροσωληνίσκοι του κυττάρου-ξενιστή αλληλεπιδρούν με τα ιικά σωματίδια σε διάφορα στάδια του κύκλου αναπαραγωγής του. Μάλιστα, δομές ακτίνης όπως τα Cdc42-εξαρτώμενα φιλοπόδια, παίζουν σημαντικό ρόλο στην διάδοση του δάγκειου ιού[43].

Τέλος, η ανάπτυξη αναστολέων που στοχεύουν σε *κινάσες* αποτελεί μία ακόμα στρατηγική. Οι κινάσες καταλύουν την φωσφορυλίωση ενός μεγάλου εύρους υποστρωμάτων, συμπεριλαμβανομένων λιπιδίων, υδατανθράκων, και πρωτεϊνών. Συνεπώς, παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην μετάδοση του κυτταρικού σήματος και την ρύθμιση κυτταρικών διεργασιών συμπεριλαμβανομένου του μεταβολισμού και της διαφοροποίησης. Σύμφωνα με έρευνες, οι ιοί χειραγωγούν πολλές πρωτεϊνικές και λιπιδικές κινάσες του ξενιστή, καθιστώντας τες φαρμακοπρόσφορους στόχους για την ανάπτυξη HTAs[44-46].

Παρακάτω, παρουσιάζονται αναστολείς με υψηλή δραστικότητα που δρουν ως HTAs κατά του δάγκειου ιού (**Σχήμα 4**). Η ένωση **6** πρόκειται για τον αναστολέα NGI-1 ο οποίος εμφανίζει δράση εναντίον όλων των ορότυπων του δάγκειου ιού με $EC_{50} = 0.85 \mu M$. Αναστέλλει το ένζυμο OST (oligosaccharyltransferase) το οποίο παίζει κεντρικό ρόλο στην N-γλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών, ενώ ο ιός εξαρτάται από αυτό κατά την αναπαραγωγή του. Με την δράση του NGI-1 παρατηρείται σημαντική μείωση του σχηματισμού ιοσωματίων σε μολυσμένα κύτταρα[47].

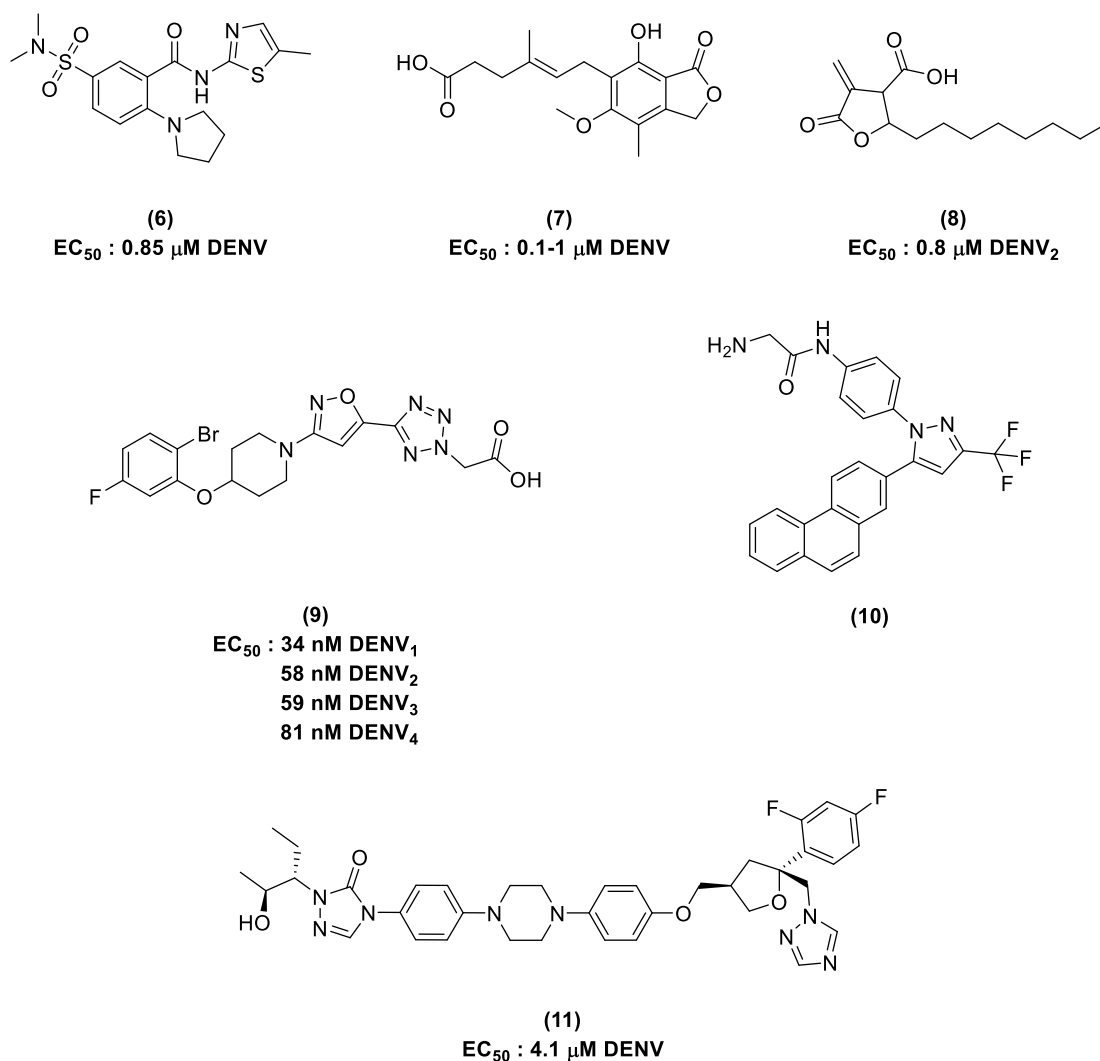
Η ένωση **7** πρόκειται για το μυκοφαινολικό οξύ (MPA) έναν αναστολέα της σύνθεσης νουκλεοτιδίων γουανοσίνης. Το μυκοφαινολικό οξύ έχει βρεθεί ότι έχει δράση εναντίον του δάγκειου ιού και του ζίκα με $EC_{50} = 0.1-1 \mu M$ και μάλιστα έχει θετικά αποτελέσματα και σε ζωικό μοντέλο για τον δάγκειο ιό, αφού εμποδίζει σε μεγάλο βαθμό την αναπαραγωγή του[48, 49]. Ωστόσο, εμφάνισε υψηλή κυτταροτοξικότητα ($CC_{50} = 5.3 \mu M$) γεγονός που μειώνει την δυναμική του ως υποψήφιο φάρμακο[50].

Όπως προαναφέρθηκε, τα μονοπάτια βιοσύνθεσης λιπιδίων του κυττάρου εμπλέκονται σε πολλά στάδια της αναπαραγωγής του ιού. Ένα ένζυμο κλειδί στην βιοσύνθεση των λιπαρών οξέων αποτελεί η συνθάση των λιπαρών οξέων (FASN). Σε κύτταρα μολυσμένα από δάγκειο ιό μάλιστα, παρατηρείται αυξημένη βιοσύνθεση λιπαρών οξέων, καθιστώντας την FASN έναν ελκυστικό στόχο για την ανάπτυξη αναστολέων[51]. Ένας από αυτούς, είναι ο αναστολέας C75 (ένωση **8**) ο οποίος αναστέλλει την FASN με $EC_{50} = \sim 0.8 \mu M$ και συνεπώς εμποδίζει την βιοσύνθεση λιπαρών οξέων και μειώνει αισθητά την αναπαραγωγή του δάγκειου ιού[52].

Η SCD1 (Stearoyl-CoA desaturase-1) αποτελεί ένα επιπλέον ένζυμο που λαμβάνει μέρος στην βιοσύνθεση των λιπαρών οξέων του κυττάρου. Η ένωση **9** πρόκειται για τον αναστολέα MK8245 που αναστέλλει αποτελεσματικά το ένζυμο SCD1. Η αναστολή του ενζύμου έχει ως αποτέλεσμα δραματική μείωση στην αναπαραγωγή του δάγκειου ιού, χωρίς εμφάνιση κυτταροτοξικότητας. Επιπλέον, ο αναστολέας MK8245 εμφανίζει δραστικότητα εναντίον όλων των οροτύπων του δάγκειου ιού με $EC_{50s} = 34-81 \text{ nM}$ αλλά και άλλων φλαβοϊών, όπως ο ζίκα και ο ιός ιαπωνικής εγκεφαλίτιδας[53, 54].

Όπως είναι γνωστό, ο ιός χρησιμοποιεί μονοπάτια μεταγωγής σήματος του κυττάρου-ξενιστή τα οποία εμπλέκουν κινάσες για την εξάπλωση του στο κύτταρο. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η ενεργοποίηση του μονοπατιού PI3K/AKT του

ξενιστή από τον δάγκειο ιό κατά την μόλυνση, προκειμένου να αποφευχθεί η απόπτωση του κυττάρου με την είσοδο του ιού. Η ένωση **10** αποτελεί έναν αναστολέα της PDK1, η οποία πρόκειται για μία πρωτεϊνική κινάση που συμμετέχει στο σηματοδοτικό μονοπάτι PI3K/AKT και ο ρόλος της είναι να ενεργοποιεί την AKT φωσφορυλιώνοντας την. Ο αναστολέας αυτός (AR-12) αναστέλλει αποτελεσματικά την PDK1, απενεργοποιώντας το σηματοδοτικό μονοπάτι και περιορίζοντας την αναπαραγωγή του ιού. Ο AR-12 εμφανίζει δραστικότητα έναντι όλων των οροτύπων του δάγκειου, ωστόσο το εάν θεραπεύει τον ιό είναι ακόμα υπό διερεύνηση[55].



Σχήμα 4: Αναστολείς που δρουν ως HTAs κατά του δάγκειου ιού.

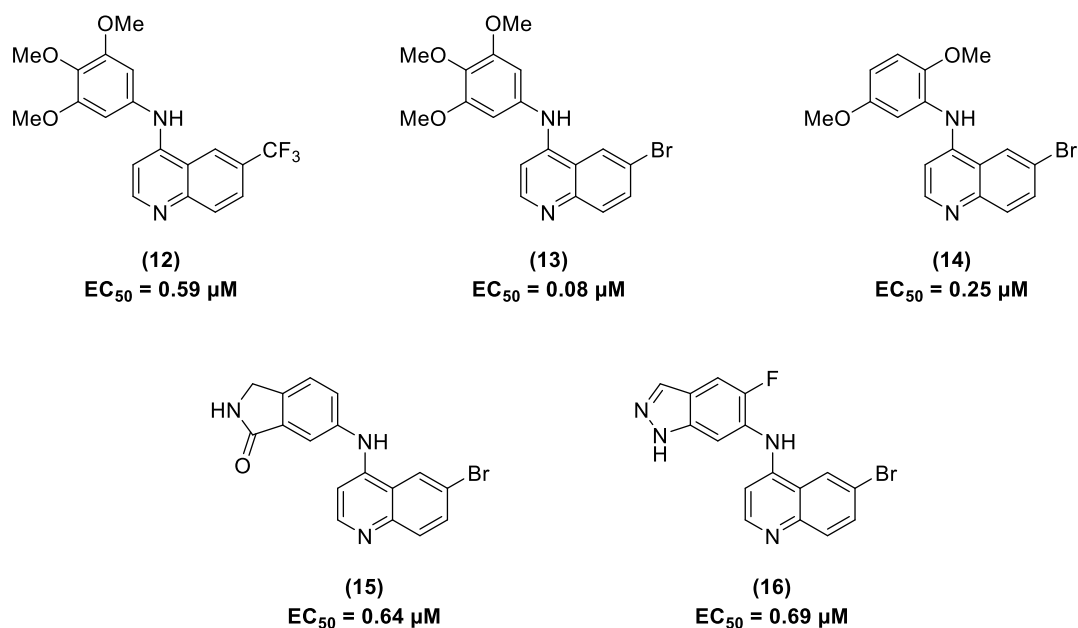
Η ένωση **11** πρόκειται για την ποσακοναζόλη, έναν αναστολέα που αναστέλλει την πρωτεΐνη πρόσδεσης στην οξυστερόλη (OSBP). Αναστολή της OSBP έχει ως

αποτέλεσμα μείωση της αναπαραγωγής του δάγκειου ιού. Η ποσακοναζόλη εμφανίζει δραστικότητα στους περισσότερους οροτύπους του δάγκειου με $EC_{50} = 4.1 \mu M$ [56].

1.7.2 Κινολινικά παράγωγα με αντι-ικική δράση στο κύτταρο-ξενιστή

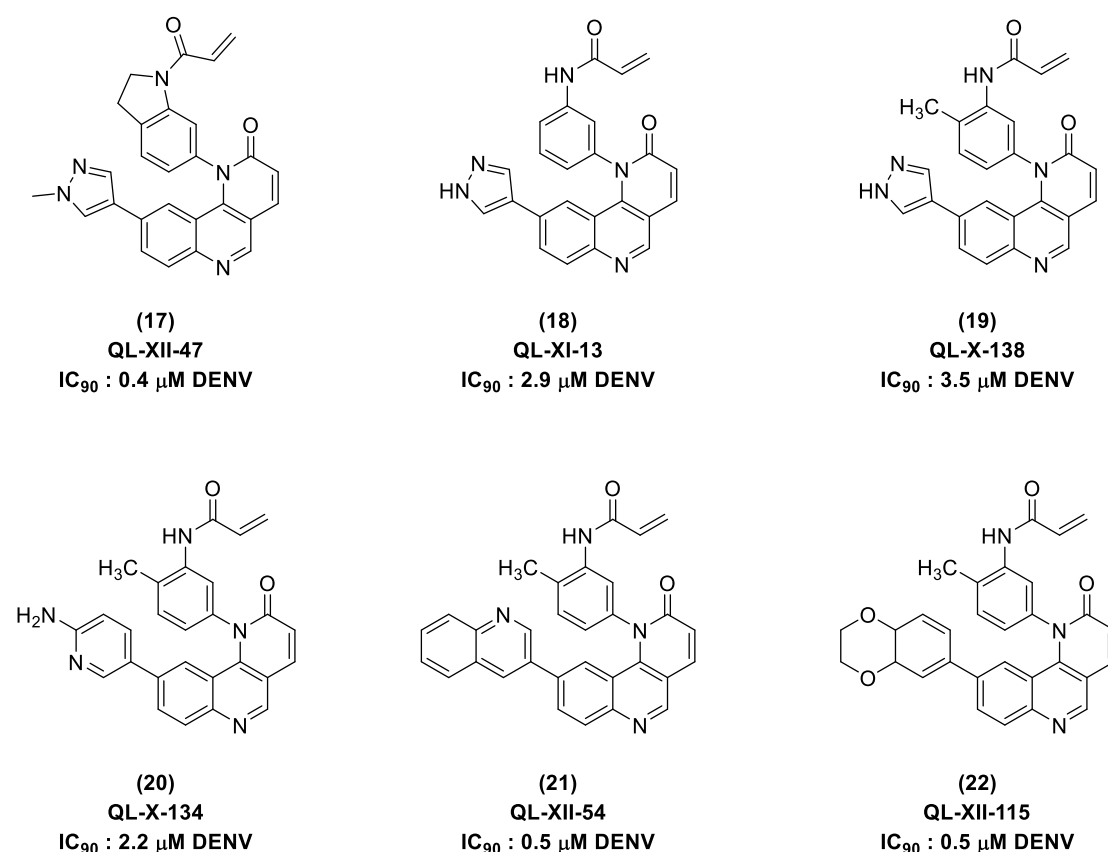
Οι κινολίνες και τα παράγωγα τους έχουν παρουσιάσει πολυάριθμες βιολογικές δράσεις, μεταξύ των οποίων και αντι-ικική δράση κατά των φλαβοϊών. Παρακάτω παρουσιάζονται ορισμένα παραδείγματα κινολινικών παραγώγων με δράση κατά του δάγκειου ιού.

Τα μόρια **12-16** (Σχήμα 5) είναι 4-ανιλिनοκινολίνες που εμφανίζουν ενθαρρυντικά αποτελέσματα για την αναστολή του ιού, έχοντας σχετικά αποδεκτή κυτταροτοξικότητα ($CC_{50} > 10 \mu M$). Τα **12-16** βασίστηκαν σε αναστολείς της θέσης πρόσδεσης ATP των ανθρώπινων κινασών GAK, STK10, SLK και διατηρούν αυτή τη δραστικότητα ωστόσο άλλοι εκλεκτικοί και ισχυροί αναστολείς αυτών των κινασών είναι σημαντικά λιγότερο δραστικοί κατά του δάγκειου ιού.[57] Φαίνεται ότι τα **12-16** συμμετέχουν σε επιπλέον αλληλεπιδράσεις με τους εμπλεκόμενους στόχους να είναι ακόμα υπό διερεύνηση.



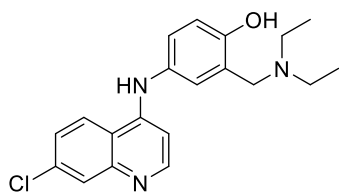
Σχήμα 5: Παραδείγματα 4-ανιλινοκινολινών με αντι-ικική δράση έναντι του DENV.

Τα μόρια **17-22** (**Σχήμα 6**) είναι παράγωγα κινολινών τα οποία είναι αποτελεσματικά έναντι του δάγκειου ιού και εμφανίζουν χαμηλή τοξικότητα. Οι ενώσεις αυτές αναστέλλουν την έκφραση των πρωτεϊνών του ιού μέσω ομοιοπολικής τροποποίησης ενός στόχου στο κύτταρο-ξενιστή. Αρχικά, τα μόρια σχεδιάστηκαν για την αναστολή των κινάσων της οικογένειας Tec, συμπεριλαμβανομένων των BTK, και BMX. Ωστόσο, ο μηχανισμός δράσης τους χρήζει περαιτέρω διερεύνησης[58, 59].



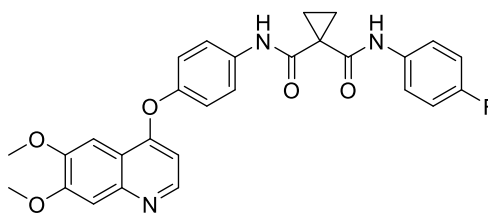
Σχήμα 6: Παραδείγματα κινολινικών παραγώγων με αντι-ική δράση έναντι του DENV.

Εξίσου ελπιδοφόρα αποτελέσματα είχε και ο έλεγχος κινολινικών παραγώγων που αποτελούν γνωστά ανθελνοσσιακά φάρμακα. Ένα από αυτά τα φάρμακα, με σκελετό 4-αμινοκινολίνης, είναι το amodiaquine (**Σχήμα 7**). Όσον αφορά τον μηχανισμό δράσης του για την αναστολή του DENV2, είναι πιθανό να στοχεύει μια μη δομική πρωτεΐνη χωρίς ενζυμική δραστηριότητα ή έναν άγνωστο παράγοντα του ξενιστή που είναι απαραίτητος για την αναπαραγωγή του ιού[60].



Amodiaquine

EC_{50} : $1.08 \pm 0.09 \mu M$ DENV₂
 CC_{50} : $52.09 \pm 4.25 \mu M$ DENV₂

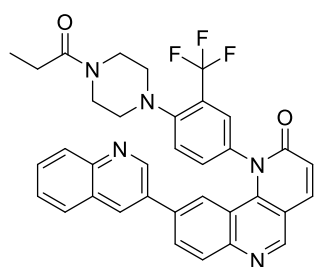


Cabozantinib

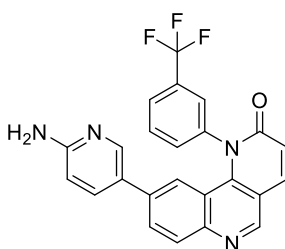
IC_{50} : $0.2 \mu M$ ZIKV
 CC_{50} : $> 10 \mu M$ ZIKV

Σχήμα 7: Δομές των Amodiaquine και Cabozantinib. με τις τιμές EC_{50} , CC_{50} (μM) για τον DENV2 και Ζίκα αντίστοιχα.

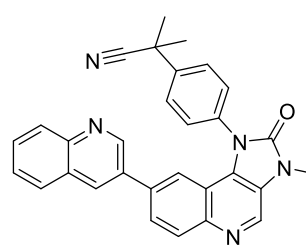
Ο υποδοχέας AXL ανήκει στους υποδοχείς με δράση κινάσης τυροσίνης (TKR), και συμμετέχει στην πρόσδεση του ιού στο κύτταρο-ξενιστή. Συνεπώς, αποτελεί έναν ελκυστικό στόχο για την ανάπτυξη αντι-ιικών φαρμάκων. Ένα από αυτά είναι και το Cabozantinib (**Σχήμα 7**), το οποίο είναι κινολινικό παράγωγο που αναστέλλει αποτελεσματικά τον υποδοχέα AXL με $IC_{50} = 0.2 \mu M$ σε κύτταρα μολυσμένα από τον ιό Ζίκα. Ωστόσο, τα πειραματικά αποτελέσματα έδειξαν ότι οι αναστολείς του υποδοχέα AXL εμφανίζουν δραστηριότητα μόνο σε κύτταρα όπου υπάρχουν πολυάριθμοι τέτοιοι υποδοχείς, γεγονός που υποδεικνύει ότι η αναστολή εξαρτάται από τον τύπο του κυττάρου[61].



Torin 1



Torin 2

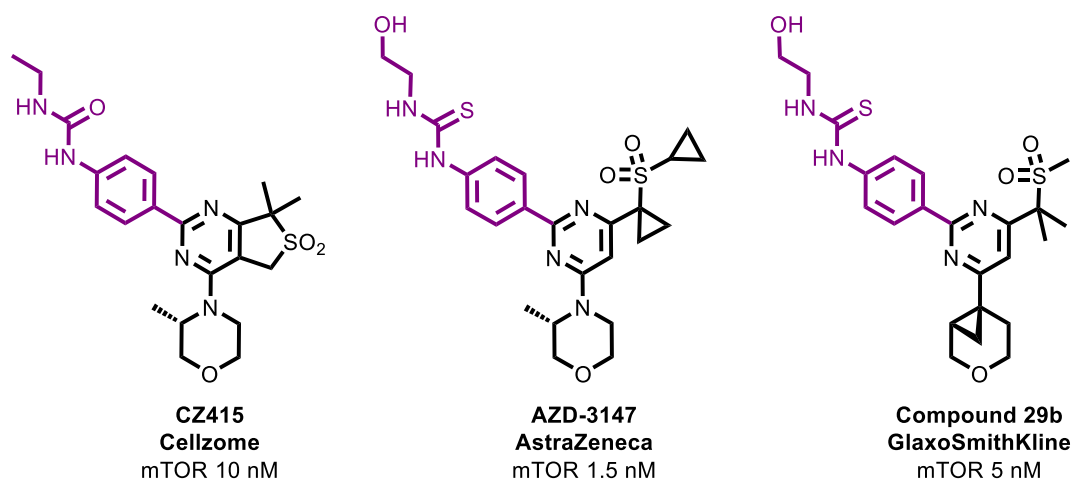


Dactolisib

Σχήμα 8: Παρουσιάζονται οι μη-εκλεκτικοί αναστολείς mTOR: Torin 1, Torin 2 και Dactolisib.

Η Torin 1 (**Σχήμα 8**) αποτελεί αναστολέα του μονοπατιού mTOR. Προκειμένου να εξακριβωθεί, εάν το σηματοδοτικό μονοπάτι αυτό, συμμετέχει στην αναπαραγωγή του δάγκειου ιού, η Torin 1 χρησιμοποιήθηκε σε κύτταρα μολυσμένα από τον DENV2.

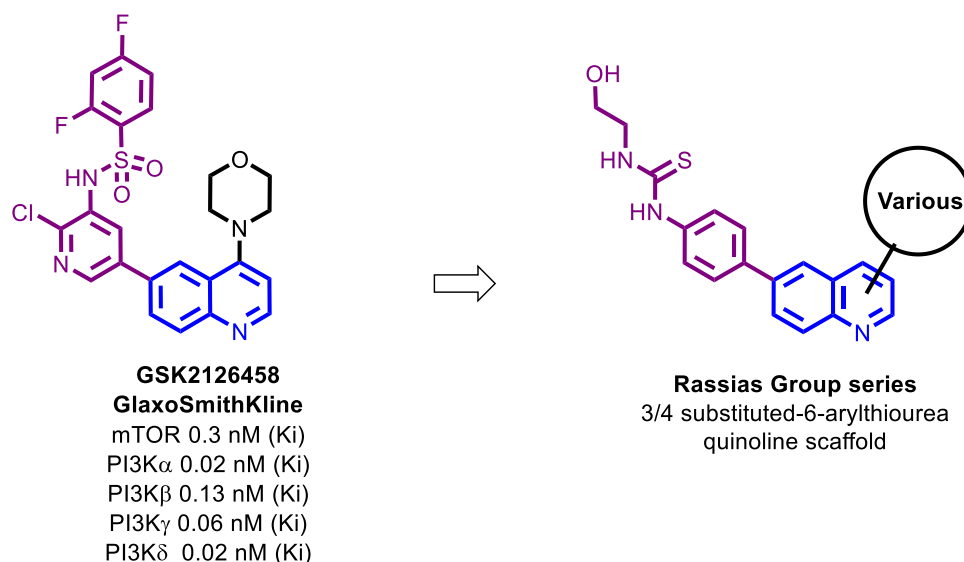
Παρατηρήθηκε, μείωση της δραστηριότητας του ενζύμου λουσιφεράση στα κύτταρα αυτά αποδεικνύοντας πως το μονοπάτι mTOR πράγματι συμμετέχει στην αναπαραγωγή του ιού[56]. Επιπλέον, η Torin 1 έχει βρεθεί ότι μειώνει δραματικά την παραγωγή ιοσωματίων, καθώς ενεργοποίηση του μονοπατιού mTOR σε μολυσμένα κύτταρα από ιό ζίκα έχει ως αποτέλεσμα καταστολή της αυτοφαγίας των κυττάρων προκειμένου να πραγματοποιηθεί η έκφραση των πρωτεϊνών του ιού και συνεπώς η αναπαραγωγή του[62]. Η Torin 2 και το Dactolisib (**Σχήμα 8**) είναι επίσης αναστολείς του μονοπατιού mTOR και έχουν βρεθεί πως έχουν αξιοσημείωτη αντι-ιική δράση κατά του SARS-CoV-2.[63] Οι παραπάνω mTOR αναστολείς ωστόσο δεν είναι εκλεκτικοί. Εκλεκτικότεροι mTOR αναστολείς έχουν αναφερθεί από διάφορες φαρμακευτικές εταιρίες με κοινό χαρακτηριστικό την παρουσία μίας άρυλο-(θειο)ουρίας σε παράγωγα πυριμιδίνης (**Σχήμα 9**).



Σχήμα 9: Εκλεκτικοί αναστολείς της mTOR κινάσης που αποτέλεσαν αφετηρία στο εργαστήριό μας για τη σύνθεση κινολινικών παραγώγων που φέρουν άρυλοθειουρίες με αξιόλογη αντική δράση.

Σε προηγούμενη προσπάθεια του εργαστηρίου μας για την ανάπτυξη εκλεκτικών mTOR αναστολέων, πραγματοποιήθηκε προσάρτηση άρυλο-θειοουριών στην 6-θέση 4- ή 3- υποκατεστημένων κινολινών (**Σχήμα 10**) βασιζόμενη στη δομή του ισχυρού αν και μη εκλεκτικού mTOR αναστολέα GSK2126458. Κάποια από τα 3-υποκατεστημένα παράγωγα αυτής της προσπάθειας αποδείχθηκαν δραστικοί αναστολείς της mTOR κινάσης με αξιόλογη αντικαρκινική δράση σε κυτταρική σειρά μεταστατικού μελανώματος. Τα παράγωγα αυτά ωστόσο δεν είχαν αντική δράση έναντι του δάγκειου

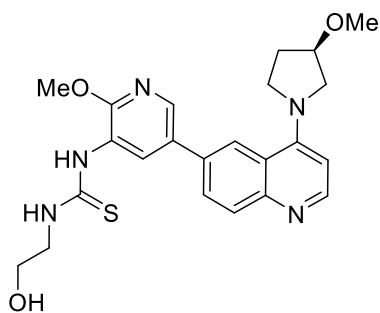
σε αντίθεση με κάποια 4-υποκατεστημένα παράγωγα που δεν εμφάνισαν αντικαρκινικές ιδιότητες. Επιλεγμένα 4-υποκατεστημένα παράγωγα αυτής σειράς αποτέλεσαν την αφετηρία για τη ευρύτερη διερεύνηση και ανάπτυξη αυτής της σειράς κινολινών ως εν δυνάμει νέων αντιαρκωτικών παραγόντων.



Σχήμα 10: Σειρά αναστολέων της mTOR κινάσης από το εργαστήριό μας, μέλη της οποίας βρέθηκαν να έχουν αξιόλογη αντιαρκωτική δράση.

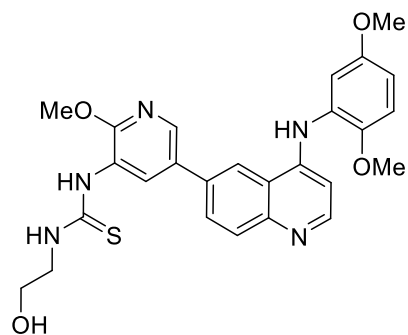
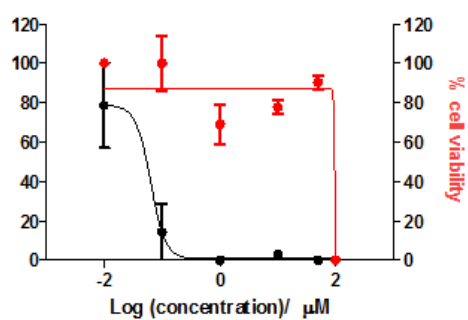
1.8 Σκοπός διπλωματικής εργασίας

Βάσει των παραπάνω ενθαρρυντικών επιδόσεων με τα 4-υποκατεστημένα-6-αρυλοθειουριο κινολινικά παράγωγα, συντέθηκαν παράγωγα με στόχο τη βελτιστοποίηση της φύσης και θέσης της (θειο)ουρίας. Από αυτή τη μελέτη τα παράγωγα **26** και **27** επέδειξαν την ισχυρότερη αναστολή του δάγκειου ιού σε κυτταρική δοκιμασία (**Σχήμα 11**). Παράγωγα με άλλες ομάδες αντί της θειουρίας, συμπεριλαμβανομένης και της απλής ουρίας με άτομο οξυγόνου, είχαν πολύ ασθενέστερη δράση. Επιπλέον, επειδή αρκετές *πάρα-*θειουρίες είχαν επιδείξει παρόμοια δραστηριότητα αλλά γενικά καλύτερη κυτταροτοξικότητα, αποφασίστηκε η παρούσα εργασία να επικεντρωθεί στη μελέτη της Σχέσης Δομής-Δραστηριότητας (SAR) του υποκαταστάτη στη θέση 4- της κινολίνης, διατηρώντας την επικράτεια της *πάρα-*αρυλο θειουρίας στην 6-θέση (**Σχήμα 11**).



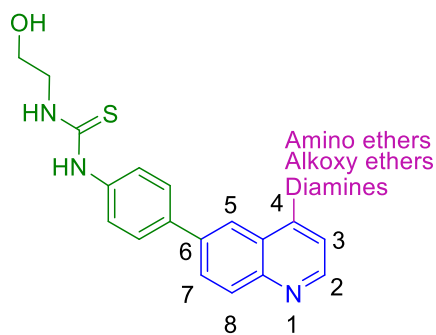
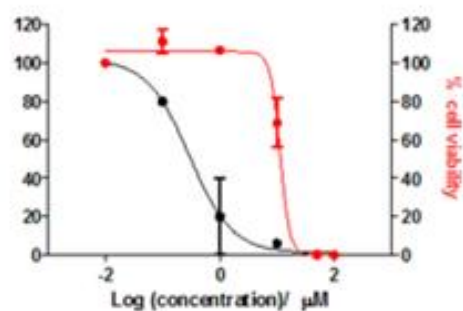
(26)

SP-443-SV HuH7 EDEN2 48H
(EC₅₀ = ~0.06 μM; CC₅₀ = 59.10 μM)



(27)

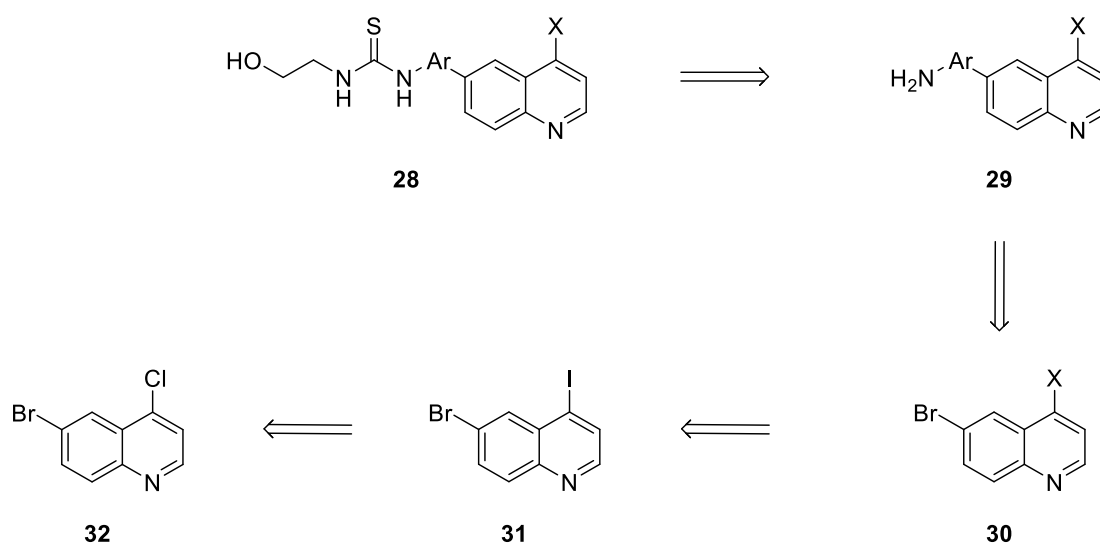
SP-433-SV HuH7 EDEN2 48H
(EC₅₀ = 0.29 μM; CC₅₀ = ~15.1 μM)



Σχήμα 11: Παρουσιάζονται τα καλύτερα μόρια της πρώτης προσπάθειας (26) και (27), και τα μόρια-στόχοι της παρούσας διπλωματικής εργασίας.

2. Συζήτηση – Αποτελέσματα

2.1 Αντιθετική ανάλυση 4-υποκατεστημένων κινολινικών παραγώγων

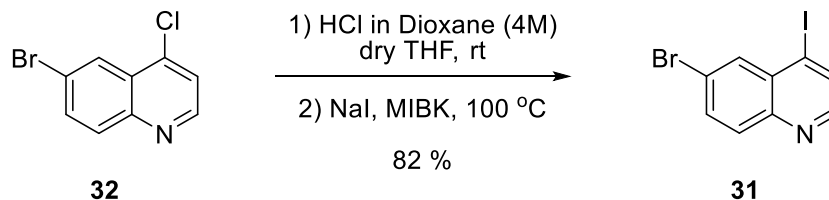


Σχήμα 12: Αντιθετική ανάλυση των παραγώγων 28.

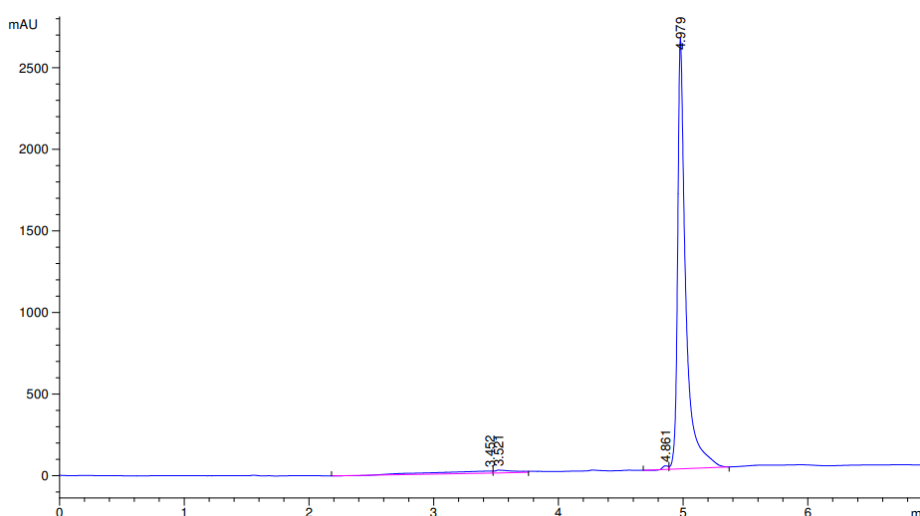
Για την ανάπτυξη των μορίων **28** προτείνεται μια γραμμική σύνθεση τριών σταδίων. Οι θειουρίες **28** μπορούν να συντεθούν μέσω αντίδρασης των αντίστοιχων ανιλινών του γενικού τύπου **29** με την 2-αμινοαιθανόλη παρουσία TCDI. Οι ανιλίνες **29** δύνανται να προκύψουν από αντίδραση Suzuki των 6-βρομοκινολινών **30** με τα αντίστοιχα βορονικά αντιδραστήρια. Τα παράγωγα **30** μπορούν να προκύψουν από αντίδραση της 4-ιωδο-6-βρομοκινολίνης **31** με διάφορους αμίνες ή αλκοόλες X, είτε μέσω πυρηνόφιλης αρωματικής υποκατάστασης είτε μέσω αντίδρασης Buchwald-Hartwig. Στο παράγωγο **31** ο ιωδο-υποκαταστάτης μπορεί να προκύψει από την αντικατάσταση ενός χλωρίου. Η μετατροπή αυτή θα μας εξασφαλίσει μεγαλύτερη εκλεκτικότητα στην αντίδραση Buchwald-Hartwig στον C4 της κινολίνης (Σχήμα 12).

2.2 Σύνθεση της 6-βρωμο-4-ιωδοκινολίνης

Η προτεινόμενη σύνθεση των παραγώγων **28** ξεκίνησε με τη μετατροπή της 6-βρωμο-4-χλωροκινολίνης **32** στην αντίστοιχη 6-βρωμο-4-ιωδοκινολίνη **31**, η οποία πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με την βιβλιογραφία.[64] Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε δυο στάδια. Αρχικά με την χρήση υδροχλωρικού οξέος (4M) σε διοξάνιο σε διαλύτη THF γίνεται μετατροπή της κινολίνης **32** στο αντίστοιχο υδροχλωρικό της άλας προς περαιτέρω ενεργοποίηση της θέσης 4, η οποία ακολουθείται από πυρηνόφιλη αντικατάσταση του χλωρίου με ιόντα ιωδίου (**Σχήμα 13**). Η παρακολούθηση της αντίδρασης έγινε μέσω HPLC και διαπιστώθηκε η ολοκλήρωση της σε 48 h. Το προϊόν της αντίδρασης λήφθηκε σε απόδοση του 82 % και σε εξαιρετική ποιότητα. Η αντίδραση επαναλήφθηκε αρκετές φορές χωρίς απόκλιση από την αρχική και μάλιστα πραγματοποιήθηκε με συνέπεια ακόμα και σε κλίμακα 5 g. Σε κάθε περίπτωση για την απομόνωση του προϊόντος δεν απαιτήθηκε χρωματογραφία στήλης. Το τελικό προϊόν χαρακτηρίστηκε με φασματοσκοπία NMR.



Σχήμα 13: Αντίδραση πυρηνόφιλης αρωματικής αντικατάστασης του χλωρίου με ιώδιο.



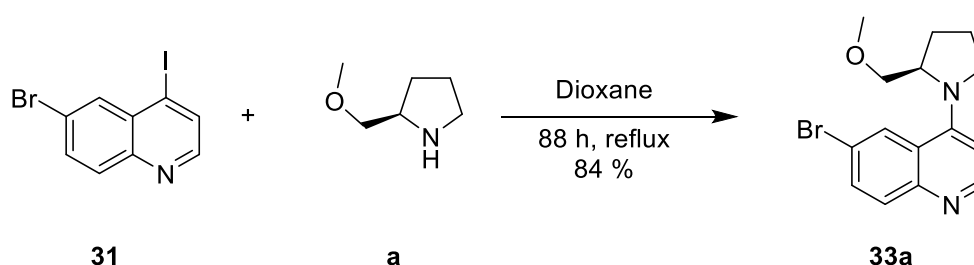
Εικόνα 6: Χρωματογράφημα HPLC της 6-βρωμο-4-ιωδοκινολίνης **31**.

2.3 Σύνθεση 4-υποκατεστημένων 6-βρωμοκινολινικών ενδιαμέσων

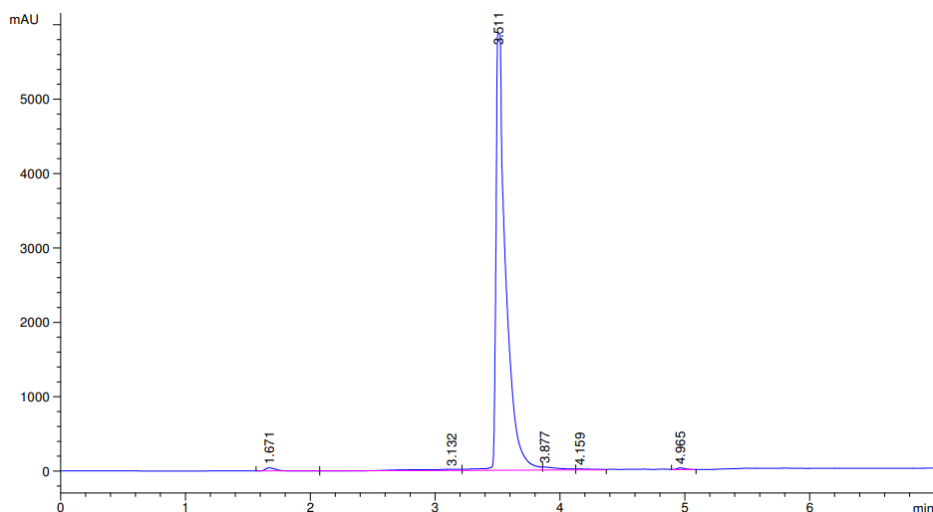
2.3.1 Αντίδραση πυρηνόφιλης αρωματικής αντικατάστασης στη θέση 4 της κινολίνης

Για το σχηματισμό των 4-υποκατεστημένων κινολινών με δευτεροταγείς αμίνες μέσω πυρηνόφιλης αρωματικής αντικατάστασης δοκιμάστηκαν οι συνθήκες που είχαν αναδειχθεί για το σχηματισμό αντίστοιχων mTOR αναστολέων που περιεγράφηκαν παραπάνω.

Για το σχηματισμό της ένωσης **33a** (Σχήμα 14), η (*R*)-2-μεθοξυμεθυλ-πυρρολιδίνη αντέδρασε με το **31** σε διαλύτη διοξάνιο υπό βρασμό με επαναροή (reflux). Η παρακολούθηση της αντίδρασης έγινε μέσω HPLC και παρατηρήθηκε αργή αλλά πλήρης μετατροπή προς το επιθυμητό **33a** χωρίς παραπροϊόντα μετά από 88 h. Το προϊόν απομονώθηκε με απόδοση 84 % και σε υψηλή καθαρότητα (>99 %) χωρίς τη χρήση χρωματογραφίας στήλης και χαρακτηρίστηκε με φασματοσκοπία NMR.

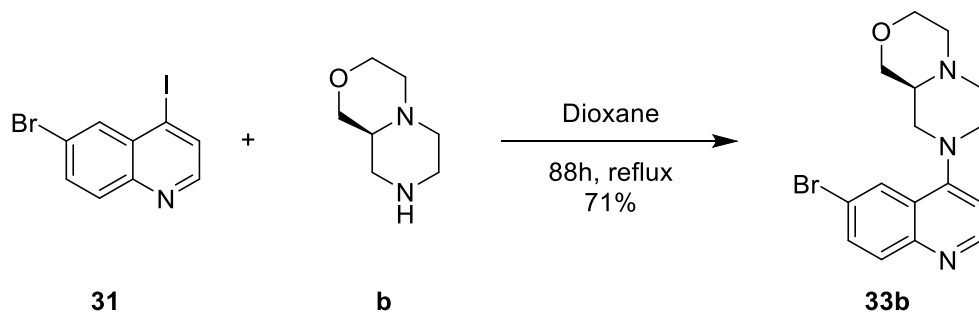


Σχήμα 14: Αντίδραση πυρηνόφιλης αρωματικής αντικατάστασης της **31** με την **a** προς σχηματισμό του ενδιαμέσου **33a**.



Εικόνα 7: Χρωματογράφημα του ενδιαμέσου **33a** μετά την επεξεργασία του μίγματος αντίδρασης.

Για τον σχηματισμό της ένωσης **33b** (Σχήμα 15) χρησιμοποιήθηκαν οι ίδιες συνθήκες όπως για την **33a**. Το προϊόν απομονώθηκε με απόδοση 71 % και χαρακτηρίστηκε μέσω φασματοσκοπίας NMR.

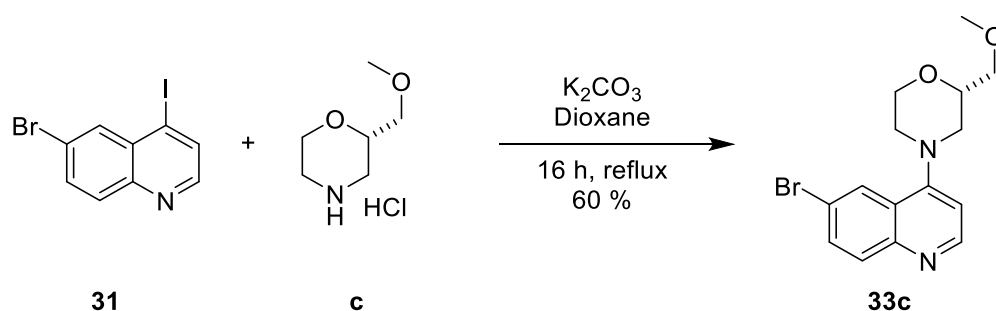


Σχήμα 15: Αντίδραση πυρηνόφιλης αρωματικής αντικατάστασης της **31** με την **b** προς σχηματισμό του ενδιάμεσου **33b**.

Η σύνθεση του ενδιαμέσου **33c** πραγματοποιήθηκε, επίσης, με πυρηνόφιλη αρωματική αντικατάσταση του ιωδίου του C-4 της **31** από την αμίνη **c** σε διαλύτη διοξάνιο υπό βρασμό με επαναρροή (reflux) για 16 h. Στην περίπτωση αυτή χρησιμοποιήθηκε το υδροχλωρικό αλάτι της (*S*)-2-μεθοξυμεθυλ-μορφολίνης όπου το ελεύθερο ζεύγος ηλεκτρονίων της μορφολίνης είναι πρωτονιομένο και συνεπώς δεν είναι διαθέσιμο για να προσβάλει τον C-4 της ένωσης **31**. Η χρήση του K₂CO₃ εξυπηρετεί την

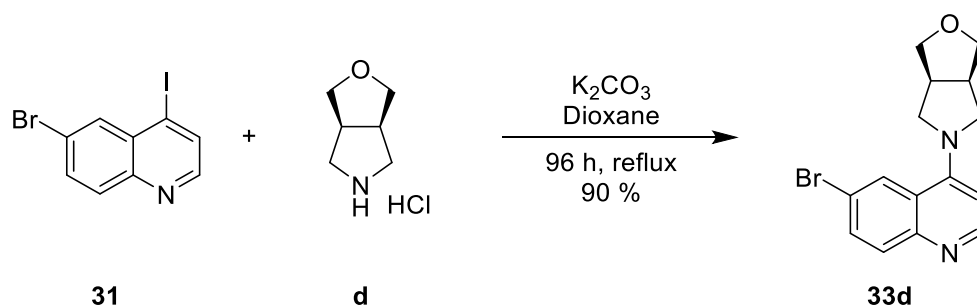
εξουδετέρωση του υδροχλωρικού άλατος της αμίνης και την επαναφορά του πυρηνόφιλου χαρακτήρα της.

Η παρακολούθηση της αντίδρασης έγινε με χρήση HPLC και παρατηρήθηκε πλήρης μετατροπή προς το επιθυμητό **33c**, χωρίς παραπροϊόντα. Το προϊόν απομονώθηκε με απόδοση 60 % και σε υψηλή καθαρότητα, χωρίς τη χρήση χρωματογραφίας στήλης και χαρακτηρίστηκε με φασματοσκοπία NMR.



Σχήμα 16: Αντίδραση πυρηνόφιλης αρωματικής αντικατάστασης προς **31** με την **c** προς σχηματισμό του ενδιαμέσου **33c**.

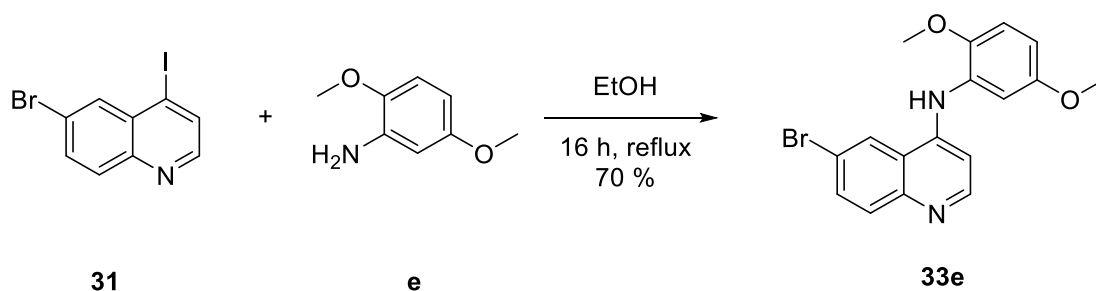
Για τον σχηματισμό της ένωσης **33d** (**Σχήμα 17**) χρησιμοποιήθηκαν οι ίδιες συνθήκες με την **33c**, με την διαφορά ότι στην περίπτωση της **33d** χρειάστηκαν 96 h προκειμένου να ολοκληρωθεί η αντίδραση. Το προϊόν απομονώθηκε με εξαιρετική απόδοση 90 % και καθαρότητα, και χαρακτηρίστηκε μέσω φασματοσκοπίας NMR.



Σχήμα 17: Αντίδραση πυρηνόφιλης αρωματικής αντικατάστασης της **31** με την **d** προς σχηματισμό του ενδιαμέσου **33d**.

Στην περίπτωση της ένωσης **33e** (**Σχήμα 18**), πραγματοποιήθηκε πυρηνόφιλη αρωματική αντικατάσταση του ιωδίου από την 2,5-διμεθοξυ-ανιλίνη (**e**) σε διαλύτη EtOH υπό βρασμό με επαναρροή (reflux) για 16 h. Σε αυτή την περίπτωση,

χρησιμοποιήθηκε ο πολικός πρωτικός διαλύτης αιθανόλη, έναντι του μη πολικού απρωτικού διοξανίου. Η παρακολούθηση της αντίδρασης έγινε μέσω HPLC και διαπιστώθηκε η πλήρης κατανάλωση του υποστρώματος και ο σχηματισμός του επιθυμητού προϊόντος **33e**. Το προϊόν απομονώθηκε σε απόδοση 70 % και υψηλή καθαρότητα, χωρίς την χρήση χρωματογραφίας στήλης, και χαρακτηρίστηκε με φασματοσκοπία NMR.



Σχήμα 18: Αντίδραση πυρηνόφιλης αρωματικής αντικατάστασης της **31** με την **e** προς σχηματισμό του ενδιαμέσου **33e**.

2.3.2 Σύζευξη Buchwald- Hartwig

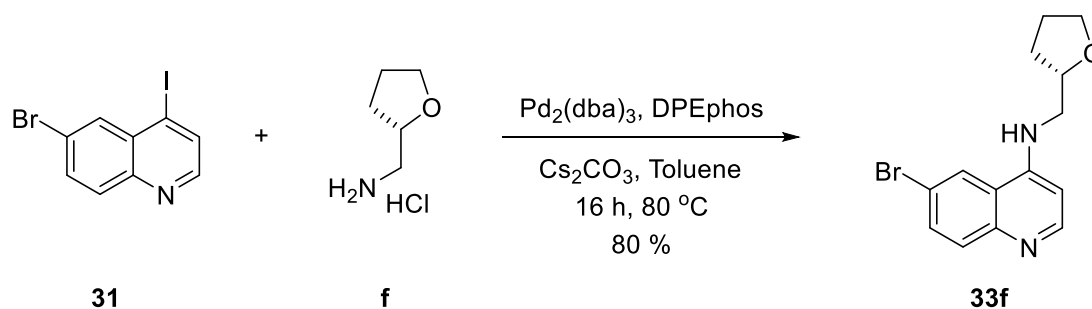
Έγιναν προσπάθειες υποκατάστασης στον C-4 της 6-βρωμο-4-ιωδοκινολίνης με πρωτοταγείς αμίνες μέσω αντίδρασης πυρηνόφιλης αρωματικής αντικατάστασης. Ωστόσο, οι προσπάθειες αυτές απέτυχαν, καθώς στην πλειοψηφία των περιπτώσεων το επιθυμητό προϊόν είτε παραγόταν πολύ αργά είτε καθόλου. Έτσι, καταλήξαμε στην χρήση της αντίδρασης Buchwald-Hartwig για τις πρωτοταγείς αμίνες.

Η σύζευξη Buchwald- Hartwig αφορά την αντίδραση μεταξύ αρυλαλογονιδίων και αμινών προς σχηματισμό δεσμού C-N, καταλυόμενη από Pd. Για την βελτιστοποίηση της αντίδρασης με την (*R*)-(2-τετραϋδροφουρανυλο)-μεθυλαμίνη, διερευνήθηκαν διάφορες συνθήκες, μεταβάλλοντας βασικές παραμέτρους της αντίδρασης όπως ο τύπος και η ποσότητα του προκαταλύτη παλλαδίου, ο υποκαταστάτης του παλλαδίου, η θερμοκρασία, ο τύπος και η ποσότητα της και του διαλύτη (Πίνακας 1). Οι αντιδράσεις παρακολούθηθηκαν μέσω HPLC και συγκρίθηκαν οι επιδόσεις τους μετά από 16 h.

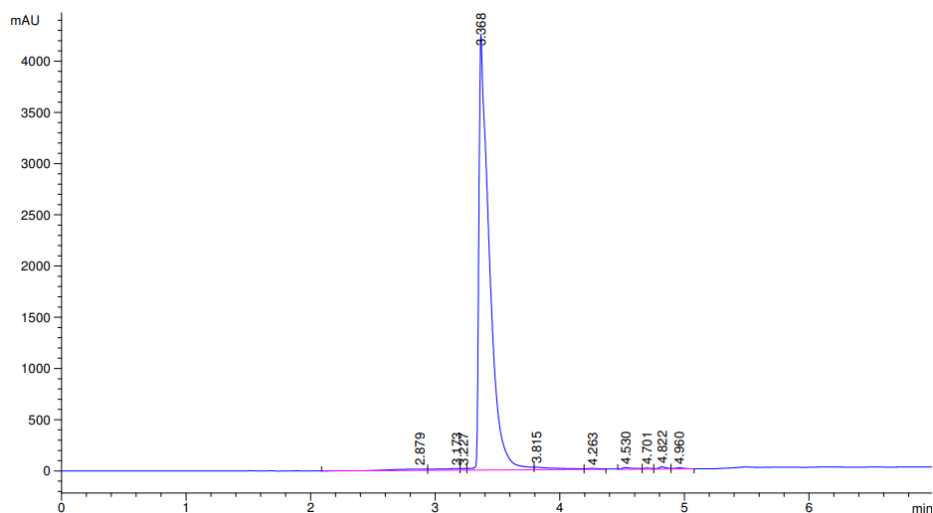
Πίνακας 1: Παρουσιάζονται οι διαφορετικές συνθήκες που χρησιμοποιήθηκαν για τη σύνθεση του ενδιαμέσου **33f**. Και οι επιδόσεις των αντιδράσεων μετά από 16 ώρες.

a/a	Βάση (eq)	Καταλύτης Pd (mol%)	Υποκαταστάτης (mol%)	Διαλύτης (vol)	T (°C)	Σχόλια/ Απόδοση
I	NaOtBu 2	Pd(OAc) ₂ 5 %	X-Phos 10 %	Διοξάνιο 10 vol	90	80 % Προσμίξεις
II	NaOtBu 2	Pd(OAc) ₂ 5 %	BINAP 10 %	Τολουόλιο 4 vol	80	<70% Προσμίξεις
III	Cs ₂ CO ₃ 3	Pd ₂ (dba) ₃ 2.5 %	DPEphos 5 %	Τολουόλιο 12 vol	80	80 %
IV	K ₂ CO ₃ 3	Pd ₂ (dba) ₃ 2.5 %	DPEphos 5 %	Τολουόλιο 12 vol	100	<70%
V	Cs ₂ CO ₃ 3	Pd ₂ (dba) ₃ 2.5 %	DPEphos 5 %	Διοξάνιο 12 vol	80/100	<70%

Τελικά, οι βέλτιστες συνθήκες που χρησιμοποιήθηκαν για τη σύνθεση του παραγώγου **33f** ήταν οι συνθήκες **III** (**Σχήμα 19**) λαμβάνοντας το σε απόδοση 80 % και υψηλή καθαρότητα (Εικόνα 8).



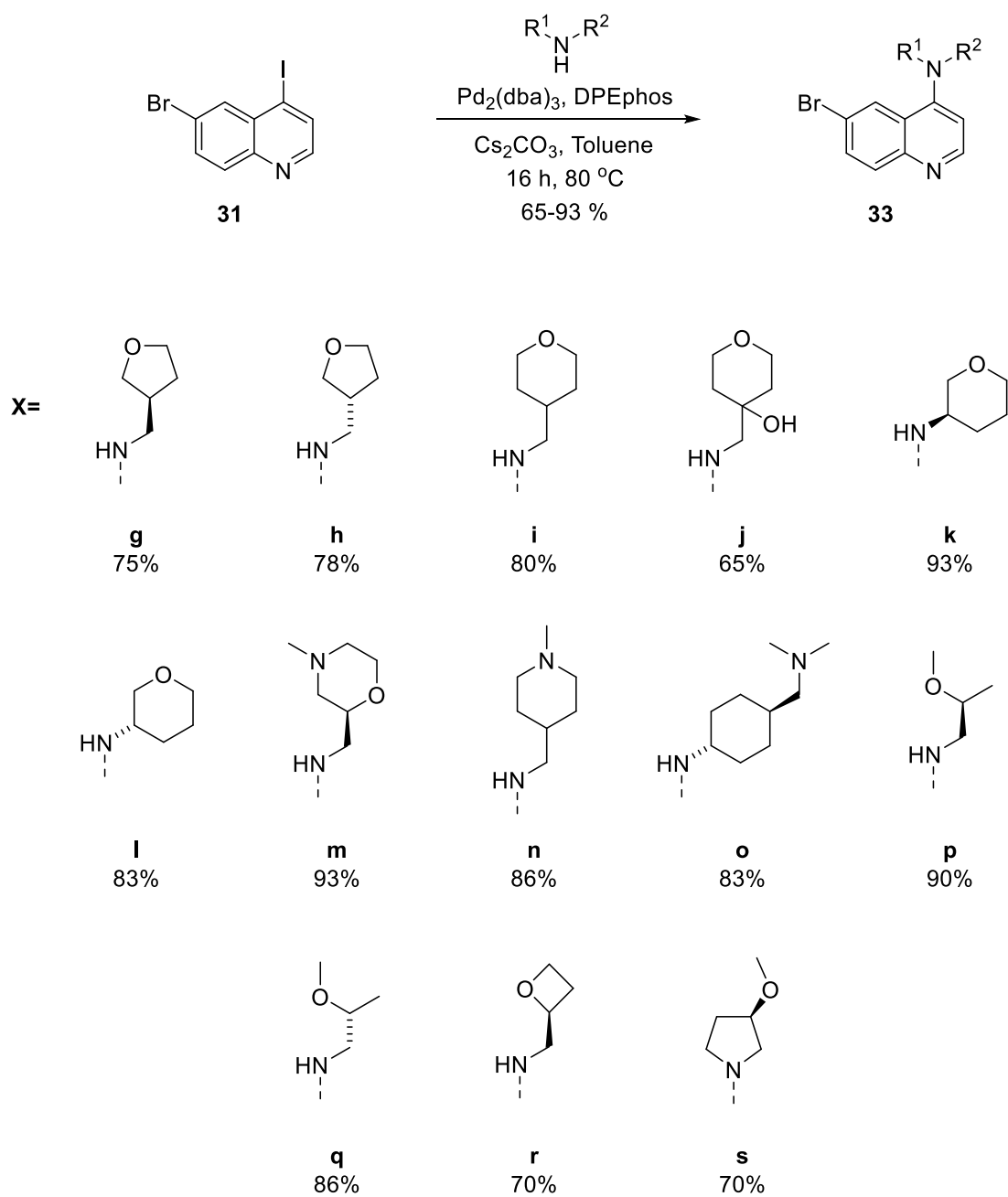
Σχήμα 19: Αντίδραση Buchwald για τον σχηματισμό της ένωσης **33f**.



Εικόνα 8: Χρωματογράφημα HPLC του τελικού προϊόντος **33f**.

Οι ίδιες συνθήκες εφαρμόστηκαν σε όλες τις σύζευξεις Buchwald- Hartwig που ακολούθησαν για την εγκατάσταση πρωτοταγών αμινών στη θέση 4 της κινολίνης. Συγκεκριμένα, μέσω σύζευξης Buchwald-Hartwig συντέθηκαν τα παράγωγα **33g-33r** (Σχήμα 20) από τις εξής πρωτοταγείς αμίνες: η υδροχλωρική (*S*)-τετραϋδροφουραν-2-μεθαναμίνη, η (*S*)-τετραϋδροφουραν-3-μεθαναμίνη και το εναντιομερές της, η τετραϋδρο-2H-πυραν-4-μεθαναμίνη, η υδροχλωρική 4-αμινομεθυλ-τετραϋδρο-2H-πυραν-4-όλη, η υδροχλωρική (*R*)-τετραϋδρο-2H-πυραν-3-αμίνη και το εναντιομερές της, η (*S*)-1-4-μεθυλ-μορφολινο-2-μεθαναμίνη, η 1-μεθυλπιπεριδιν-4-μεθαναμίνη, η διϋδροχλωρική *trans*-4-διμεθυλαμινο-μεθυλ-κυκλοεξαναμίνη, η υδροχλωρική (*S*)-2-μεθοξυπροπαν-1-αμίνη και το εναντιομερές της και η (*S*)-οξεταν-2-μεθαναμίνη.

Επίσης οι ίδιες συνθήκες σύζευξης Buchwald-Hartwig χρησιμοποιήθηκαν επιτυχώς και στην αντίδραση του ιώδο-παραγωγού **31** με το υδροχλωρικό άλας της δευτεροταγούς αμίνης (*R*)-3-μεθοξυ-πυρρολιδίνης προς σχηματισμό του παραγώγου **33s** σε απόδοση 70 % και υψηλή καθαρότητα χωρίς να χρειαστεί καθαρισμός με χρωματογραφία στήλης. Το προϊόν ταυτοποιήθηκε μέσω φασματοσκοπίας NMR.



Σχήμα 20: Σύζευξη Buchwald- Hartwig του **31** με τις αμίνες **g-s**.

2.4 Σύζευξη Suzuki-Miyaura στην θέση 6 των 4-υποκατεστημενων-6-βρωμοκινολινικών ενδιαμέσων

Η αντίδραση σύζευξης Suzuki-Miyaura, καταλυόμενη από παλλάδιο, περιλαμβάνει την αντίδραση σύζευξης των αρυλαλογονιδίων με αρυλοβορονικά οξέα υπό βασικές συνθήκες. Αποτελεί μία από τις συνθετικές μεθόδους με τη μεγαλύτερη επιρροή στη συνθετική οργανική χημεία και έχει λάβει το βραβείο Νόμπελ.

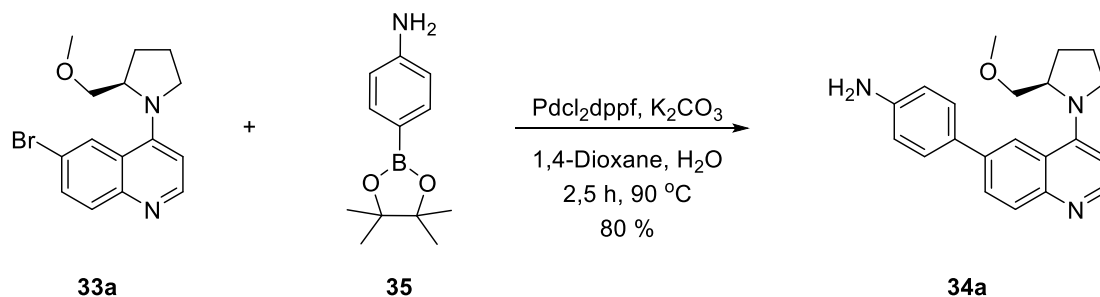
Για την βελτιστοποίηση της αντίδρασης του ενδιαμέσου **33a** με τον βορονικό εστέρα **35**, διερευνήθηκαν διάφορες συνθήκες, μεταβάλλοντας βασικές παραμέτρους της αντίδρασης όπως ο τύπος και η ποσότητα του προκαταλύτη παλλαδίου, ο υποκαταστάτης του παλλαδίου, η θερμοκρασία, ο τύπος και η ποσότητα της και του διαλύτη (Πίνακας 2). Οι αντιδράσεις παρακολούθηθηκαν μέσω HPLC και συγκρίθηκαν οι επιδόσεις τους μετά από 2.5 h.

***Πίνακας 2:** Παρουσιάζονται οι διαφορετικές συνθήκες που χρησιμοποιήθηκαν για την πραγματοποίηση της αντίδρασης Suzuki. Καταγράφεται η βάση, ο καταλύτης Pd και ο υποκαταστάτης του, ο διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε, καθώς και η θερμοκρασία σε κάθε περίπτωση.*

α/α	Βάση	Καταλύτης	Υποκαταστάτης	Διαλύτες	Θερμοκρασία °C
I	K ₂ CO ₃	PdCl ₂ dppf		διοξάνιο:H ₂ O	90
II	K ₃ PO ₄	Pd(G3) dimer	X-Phos	THF: H ₂ O	80
III	K ₃ PO ₄	Pd ₂ (dba) ₃	(t-Bu) ₃ P·HBF ₄	THF: H ₂ O	80
IV	K ₃ PO ₄	Pd(G4)/ X-Phos	X-Phos	THF: H ₂ O	80

Τελικά, τα καλύτερα αποτελέσματα δόθηκαν από την αντίδραση με τις συνθήκες I. Τα βορονικά παράγωγα χρησιμοποιήθηκαν σε ίση στοιχειομετρική ποσότητα σε σχέση με το υπόστρωμα (**33a-33s**) και μετά το πέρας 2.5 h παρατηρήθηκε μέσω HPLC κατανάλωση του αντιδρώντος και σχηματισμός ενός μόνο προϊόντος.

Τελικά, οι βέλτιστες συνθήκες που χρησιμοποιήθηκαν για τη σύνθεση του παραγώγου **34a** ήταν οι συνθήκες **I** (Σχήμα 21). Με τις βελτιστοποιημένες συνθήκες το προϊόν **34a** απομονώθηκε ως πράσινο λάδι σε απόδοση 80 % και υψηλή καθαρότητα. Δεν απαιτήθηκε καθαρισμός με χρωματογραφία στήλης και το προϊόν χαρακτηρίστηκε με φασματοσκοπία NMR.



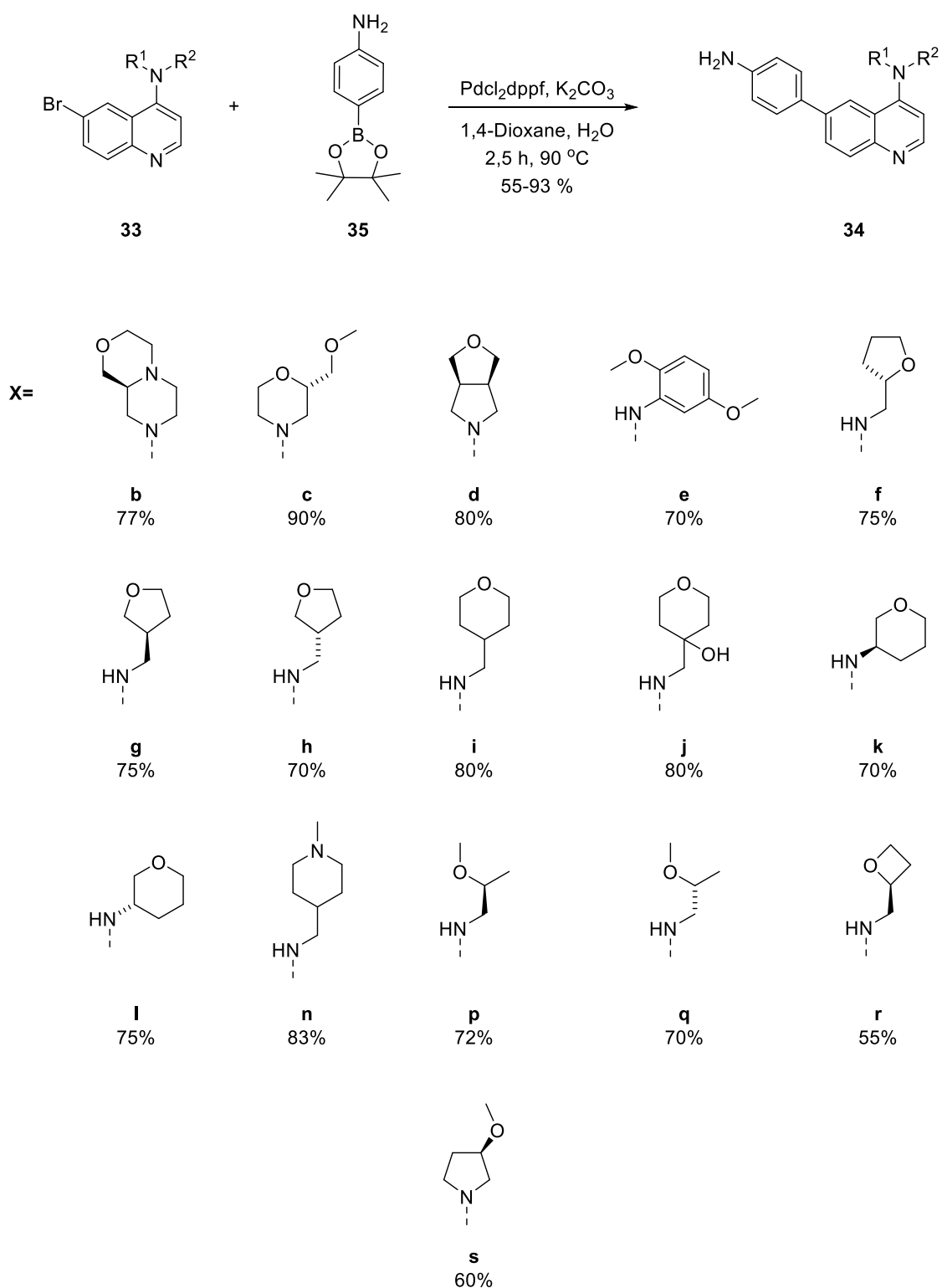
Σχήμα 21: Αντίδραση Suzuki για τον σχηματισμό της ένωσης **34a**.

Οι συνθήκες αυτές χρησιμοποιήθηκαν επιτυχώς στις αντιδράσεις Suzuki για τη σύνθεση των παραγώγων **34b-s** (Σχήμα 23).

Αξίζει να τονιστεί ότι κατά τις αντιδράσεις σύζευξης Suzuki παρατηρήθηκε ένα κοινό παραπροϊόν το οποίο δεν απομακρυνόταν με απλές πλύσεις με νερό. Δοκιμάστηκαν διάφορες πλύσεις, ωστόσο πιο αποτελεσματική κρίθηκε η εκχύλιση του προϊόντος σε όξινη υδατική φάση με χρήση υδατικού διαλύματος HCl 1M. Στη συνέχεια, το pH της υδατικής φάσης ρυθμίστηκε αυστηρά στο 11, διότι σε μεγαλύτερο pH παρατηρήθηκε σχηματισμός παραπροϊόντων ενώ σε μικρότερο οι αποδόσεις ήταν ελαττωμένες. Ακολούθησε, εκχύλιση του προϊόντος στην οργανική φάση και προσθήκη σκόνης ενεργού άνθρακα προς απομάκρυνση του παλλαδίου. Τέλος, το μίγμα διηθήθηκε υπό κενό μέσω κλίνης γης διατόμων, ξηράνθηκε και ο διαλύτης απομακρύνθηκε υπό κενό.

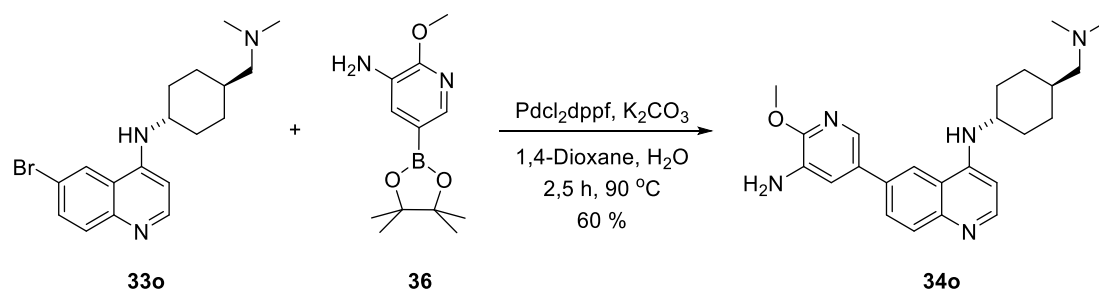
Στις περισσότερες περιπτώσεις, για τον καθαρισμό του τελικού προϊόντος το λάδι που προέκυψε από την κατεργασία του μίγματος της αντίδρασης, διαλύθηκε στην ελάχιστη ποσότητα DCM και προστέθηκε εξάνιο σε διάφορες αναλογίες (βλ. Πειραματικό Μέρος, Παράγραφος 3.4.4).

Τα υπόλοιπα μόρια που συντέθηκαν με τις ίδιες συνθήκες για την αντίδραση Suzuki, παρουσιάζονται παρακάτω στο Σχήμα 22.



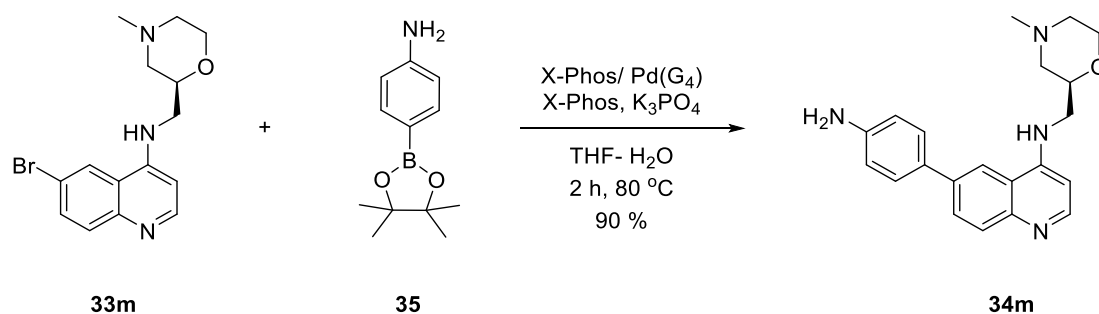
Σχήμα 22: Αντίδραση Suzuki των 4-άμινο κινολινών **33b-s** με το βορονικό **35** για των σχηματισμό των ενώσεων **34b-s**.

Οι βελτιστοποιημένες συνθήκες για την αντίδραση Suzuki εφαρμόστηκαν επιτυχώς και στην αντίδραση του **33o** με τον βορονικό εστέρα **36** για τη σύνθεση του **34o** (Σχήμα 23). Ο καθαρισμός του **34o** πραγματοποιήθηκε με ανακρυστάλλωση από σύστημα διαλυτών DCM-εξάνιο σε αναλογία 1:1. Δεν απαιτήθηκε χρήση χρωματογραφίας στήλης και το προϊόν απομονώθηκε σε απόδοση 60 % και υψηλή καθαρότητα όπως διαπιστώθηκε μέσω NMR.



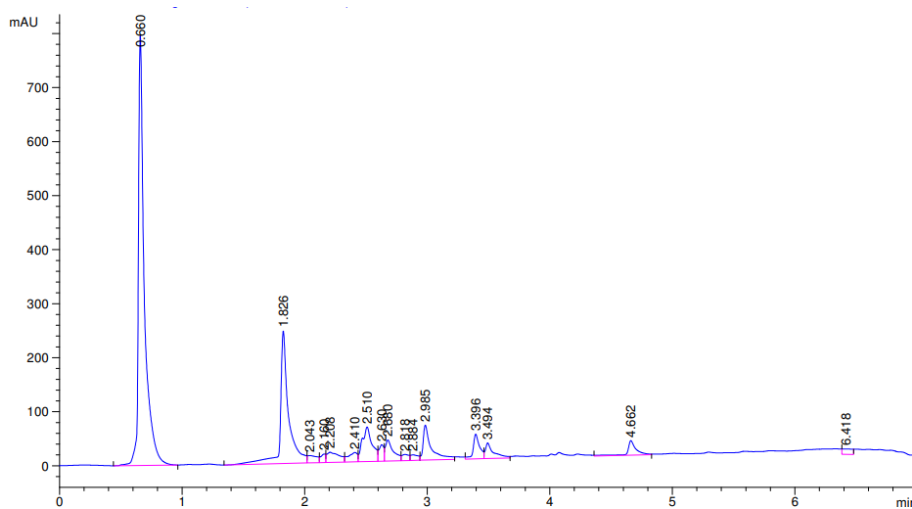
Σχήμα 23: Αντίδραση Suzuki για τον σχηματισμό της ένωσης **34o**.

Αναφορικά με την σύνθεση του **34m** (Σχήμα 24) δοκιμάστηκε αρχικά το σετ συνθηκών **I**, όμως το μίγμα της αντίδρασης μετά το πέρας των 2.5 h είχε αρκετά παραπροϊόντα, τα οποία μάλιστα δεν απομακρύνθηκαν ούτε κατά την επεξεργασία της αντίδρασης, αλλά ούτε και με την πραγματοποίηση ανακρυστάλλωσης. Για τον λόγο αυτό, δοκιμάστηκε το σετ συνθηκών **IV**, το οποίο είχε ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό συγκριτικά καθαρότερου προϊόντος σχετικά με το **I** (Εικόνα 9). Η αντίδραση ολοκληρώθηκε μετά το πέρας 2 h. Ακολούθησε κατεργασία του μίγματος αντίδρασης και απομονώθηκε το τελικό προϊόν σε εξαιρετική απόδοση 93 % και υψηλή καθαρότητα όπως διαπιστώθηκε από το NMR.

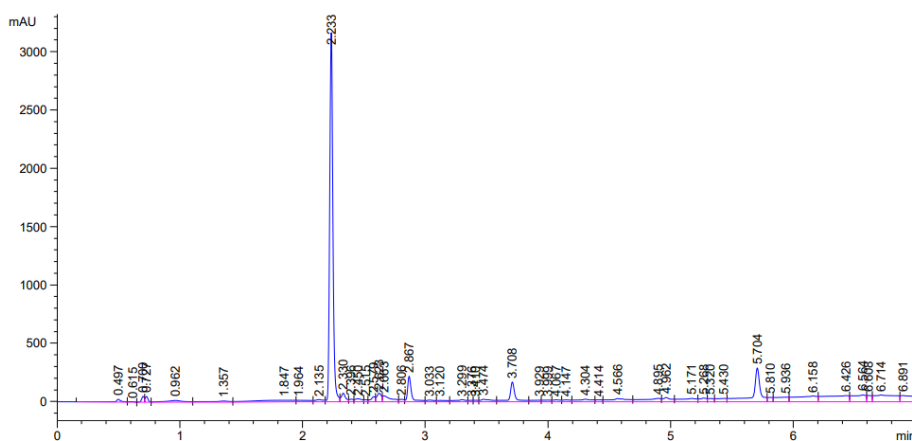


Σχήμα 24: Αντίδραση Suzuki για τον σχηματισμό της ένωσης **34m**.

A)



B)

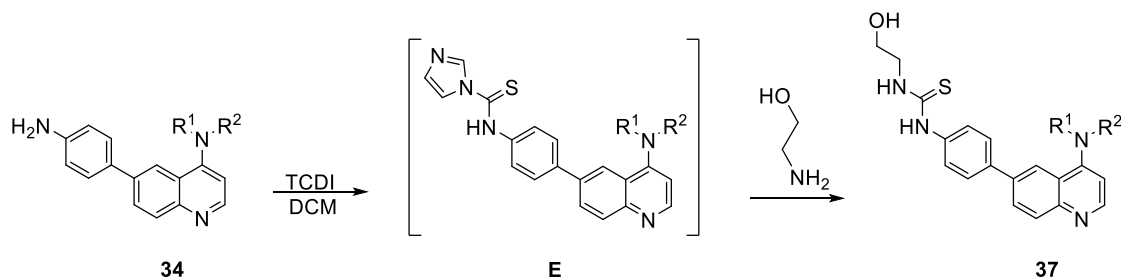


Εικόνα 9: Α) Χρωματογράφημα HPLC του μίγματος αντίδρασης έπειτα από 2.5h για την σύνθεση του μορίου **53s** χρησιμοποιώντας το σετ συνθηκών **I**. Το προϊόν εκλύεται στα 1.826 min. Β) Χρωματογράφημα HPLC του μίγματος αντίδρασης έπειτα από 2h για την σύνθεση του μορίου **53s** χρησιμοποιώντας το σετ συνθηκών **IV**. Το προϊόν εκλύεται στα 2.233 min. (Οι χρόνοι έκλυσης είναι διαφορετικοί διότι τα δείγματα έχουν αναλυθεί με διαφορετική στήλη HPLC).

2.5 Εγκατάσταση θειουρίας

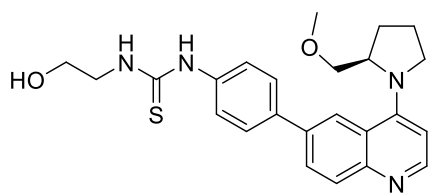
Η παρασκευή του τμήματος της θειουρίας στα παράγωγα **34a-34s** πραγματοποιήθηκε μέσω αντίδρασης δύο σταδίων (**Σχήμα 25**). Αρχικά, πραγματοποιείται πυρηνόφιλη προσβολή από το πυρηνόφιλο άζωτο της ανιλίνης στο θειοκαρβονυλικό άνθρακα του 1,1- θειοκαρβονυλοδιιμιδαζολίου (TCDI). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αποχώρηση της καλής αποχωρούσας ομάδας του ιμιδαζολίου και το σχηματισμό του ενδιάμεσου **E**. Ο σχηματισμός του ενδιάμεσου **E** παρακολούθηθηκε μέσω HPLC και

επιβεβαιώθηκε η ολοκλήρωσή του μετά από 1h. Στη συνέχεια γίνεται προστέθηκε 2-αμινοαιθανόλης η οποία δρα επίσης ως πυρηνόφιλο και προσβάλλει με την σειρά της τον θειοκαρβονυλικό άνθρακα του TCDI, προκαλώντας την αποχώρηση και του δεύτερου ιμιδαζολικού δακτυλίου, οδηγώντας έτσι στο σχηματισμό του επιθυμητού προϊόντος θειουρίας.

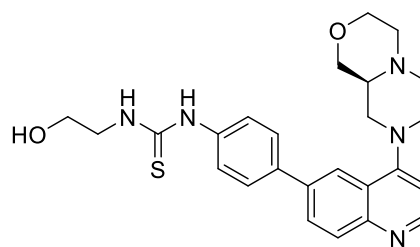


Σχήμα 25: Αντίδραση σχηματισμού θειουρίας στα παράγωγα 37.

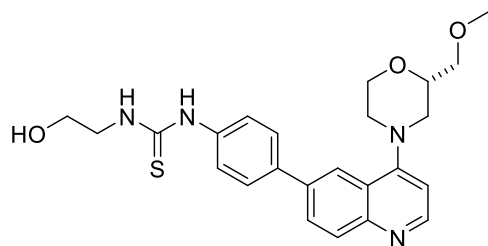
Ο έλεγχος της αντίδρασης έγινε μέσω HPLC μετά από 16 h όπου παρατηρήθηκε η ολοκλήρωση της με τον πλήρη σχηματισμό της θειουρίας. Για τον καθαρισμό και την απομόνωση του προϊόντος χρειάζεται η απομάκρυνση του ιμιδαζολίου η οποία επιτυγχάνεται μέσω αραίωσης του μίγματος αντίδρασης με DCM και αρκετών πλύσεων με νερό ωστόσο, σε κάποιες περιπτώσεις παρατηρήθηκε περιορισμένη διαλυτότητα του προϊόντος σε DCM. Για τον λόγο αυτό, πριν από τις υδατικές πλύσεις, προστέθηκε κατάλληλη ποσότητα EtOH στην οργανική φάση ώστε να προκύψει διαυγές διάλυμα. Τέλος, σε κάθε περίπτωση το τελικό προϊόν πλύθηκε με αιθέρα. Η αντίδραση εφαρμόστηκε για το σύνολο των παραγώγων με μεγάλη συνέπεια. Τα προϊόντα απομονώθηκαν σε υψηλή καθαρότητα χωρίς τη χρήση χρωματογραφίας στήλης με αποδόσεις 60-80 % και χαρακτηρίστηκαν με φασματοσκοπία NMR. (**Σχήμα 26, 27**).



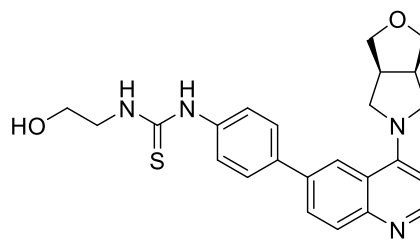
37a



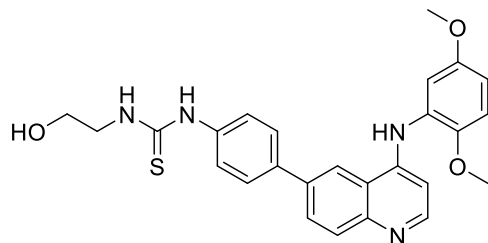
37b



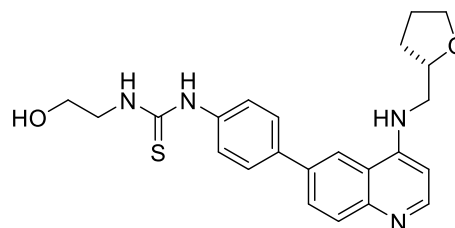
37c



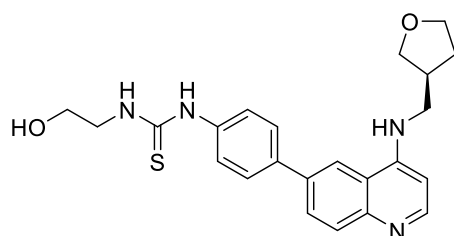
37d



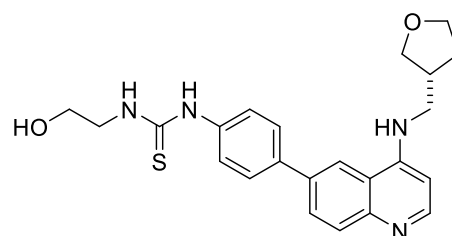
37e



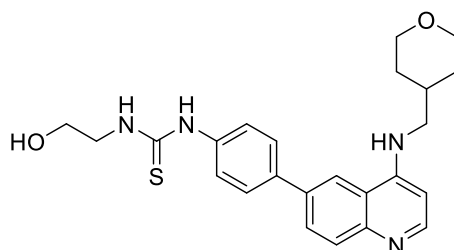
37f



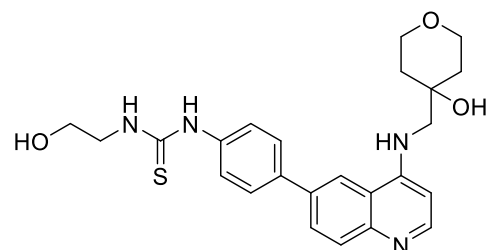
37g



37h

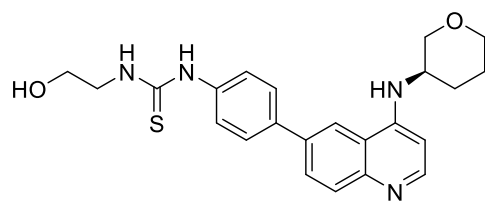


37i

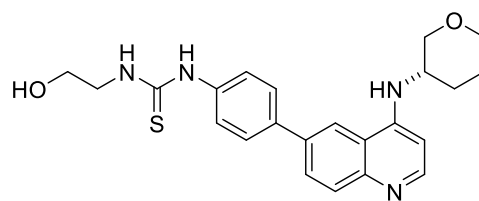


37j

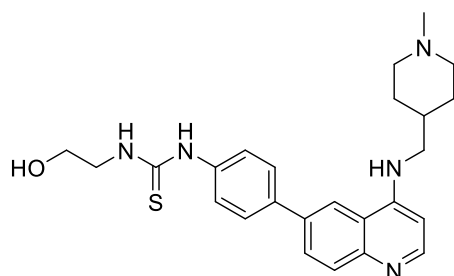
Σχήμα 26: Παρατίθενται οι αναστολείς 37a-37j.



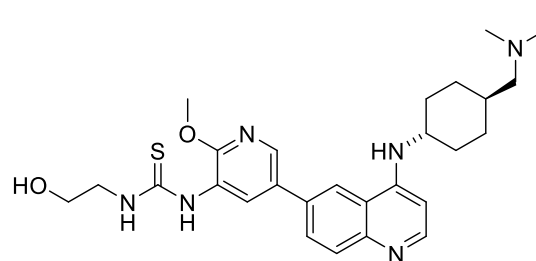
37k



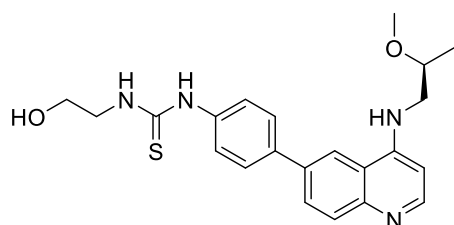
37l



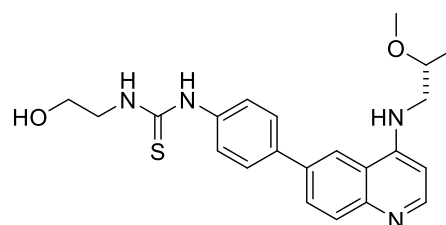
37n



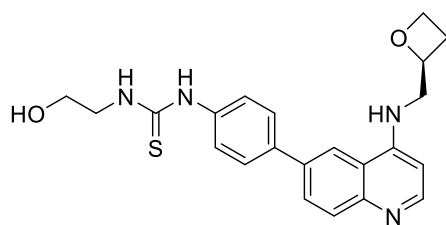
37o



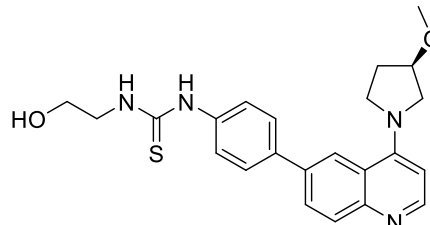
37p



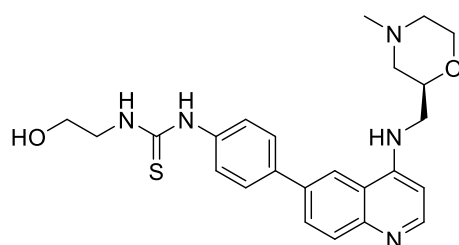
37q



37r



37s



37m

Σχήμα 27: Παρατίθενται οι αναστολείς **37k-37s**.

Συμπεράσματα

- ✓ Σχεδιάστηκαν και συντέθηκαν συνολικά 19 κινολινικά παράγωγα που φέρουν κατάλληλους άμινο-υποκαταστάτες στη θέση 4 και μία άρυλο-θειουρία ως αποδέκτη δεσμών υδρογόνου στην θέση 6 του κινολινικού δακτυλίου.
- ✓ Η σύνθεση των μορίων αυτών έγινε από την 6-βρωμο-4-ιωδοκινολίνη. Το πρώτο στάδιο ήταν η αντικατάσταση του ιωδίου από τον επιθυμητό υποκαταστάτη, είτε μέσω πυρηνόφιλης αντικατάστασης, είτε μέσω αντίδρασης Buchwald. Το επόμενο βήμα, ήταν η σύζευξη, μέσω αντίδρασης Suzuki, των υποκατεστημένων κινολινικών ενδιαμέσων με τα κατάλληλα βορονικά αντιδραστήρια στη θέση 6 του κινολινικού δακτυλίου. Τέλος, πραγματοποιήθηκε σχηματισμός θειουρίας με χρήση TCDI και 2-αμινοαιθανόλης.
- ✓ Τα 19 κινολινικά παράγωγα συντέθηκαν σε κλίμακα έως και 0.5 γραμμαρίου χωρίς την χρήση χρωματογραφίας στήλης σε κανένα στάδιο των συνθέσεων, αποδίδοντας προϊόντα εξαιρετικής ποιότητας.
- ✓ Αναμένεται η βιολογική αποτίμηση των παραγώγων για την αντική τους δράση ενάντια στο Δάγκειο ιό από συνεργαζόμενο εργαστήριο του εξωτερικού.

3. Πειραματικό Μέρος

3.1 Αντιδραστήρια

Τα αντιδραστήρια και οι διαλύτες (υψηλής καθαρότητας >95 και 99% αντίστοιχα), που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των ενώσεων που περιγράφονται στην παρούσα εργασία είναι εμπορικά διαθέσιμα προϊόντα των εταιρειών Sigma Aldrich, Alfa Aesar, ABCR, Fluorochem, TCI, ACROS, Merck, Fluka. Η καθαρότητα των αντιδραστηρίων ήταν 98% και άνω και χρησιμοποιήθηκαν σχεδόν όλα χωρίς περαιτέρω καθαρισμό. Επιπλέον όταν επρόκειτο για άνυδρες συνθήκες, οι ξηροί διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν παρελήφθησαν με απόσταξη.

3.2 Χρωματογραφική Ανάλυση

Ο έλεγχος της καθαρότητας των ενώσεων και η παρακολούθηση της πορείας των αντιδράσεων έγινε με Χρωματογραφία Λεπτής Στιβάδας (TLC) σε πλάκες αλουμινίου, επιστρωμένες με silicagelF254 της εταιρείας Merck καθώς και με Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Επίδοσης (HPLC). Οι αναλύσεις HPLC έγιναν με στήλη Luna C 18 100x4.60 mm, 3 μm και σε όργανο Agilent 1100. Συνθήκες HPLC: ανιχνευτής UV σε $\lambda=220\text{ nm}$, θερμοκρασία 40°C , ροή 1.25 mL/λεπτά και εκλούτης MeCN/H₂O. Σύστημα βαθμιδωτής έκλουσης:

<i>Χρόνος (min)</i>	<i>% MeCN/H₂O</i>
0.00	7.0
5.50	95.0
6.00	100.0
6.50	100.0
7.00	7.0

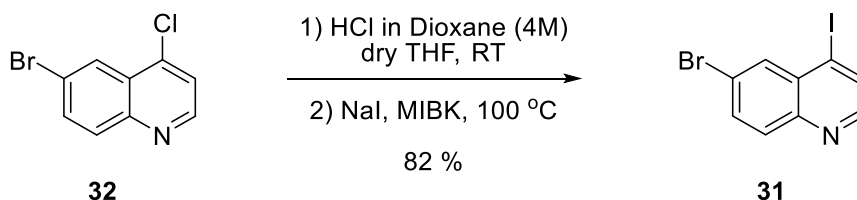
3.3 Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)

Οι ενώσεις που συντέθηκαν χαρακτηρίστηκαν και ταυτοποιήθηκαν με ^1H και ^{13}C φασματοσκοπία NMR στα 400MHz και 600MHz αντίστοιχα σε όργανο Bruker. Τα φάσματα ^{13}C είναι πλήρως αποσυζευγμένα. Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των δειγμάτων ήταν CDCl_3 και DMSO. Η κλίμακα των χημικών μετατοπίσεων είναι βαθμονομημένη σύμφωνα με τη χημική μετατόπιση του πρωτονιωμένου συστατικού που βρίσκεται ως πρόσμιξη στους δευτεριωμένους διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν. Οι τιμές αυτές ορίστηκαν βάσει βιβλιογραφικών δεδομένων και είναι: CDCl_3 (7.26ppm, χημική μετατόπιση πρόσμιξης CHCl_3) και DMSO (2.54 ppm, χημική μετατόπιση πρόσμιξης $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$).

3.4 Συνθετική Πορεία Μορίων- Στόχων

3.4.1 Σύνθεση της 6-βρωμο-4-ιωδοκινολίνης

(31) 6-bromo-4-iodoquinoline



Πειραματική Διαδικασία

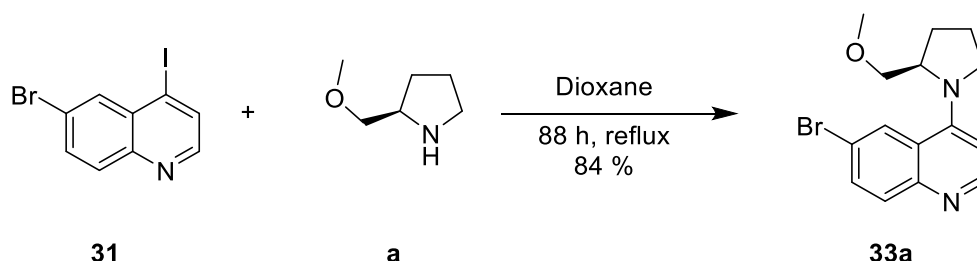
Σε στεγνή σφαιρική φιάλη διαλύονται 5 g (20.62 mmol, 1 eq) 6-βρωμο-4-χλωροκινολίνης σε 65 mL άνυδρου THF (13 vol). Υπό ανάδευση, προστίθενται σταγόδην 6.2 mL (24.74 mmol, 1.2 eq) διαλύματος HCl 4M σε διοξάνιο. Το λευκό αιώρημα που προκύπτει αφήνεται υπό έντονη ανάδευση σε RT για 1 h. Ακολουθεί συμπύκνωση του διαλύτη υπό κενό. Στο λευκό στερεό που προκύπτει προστίθενται 85 mL MIBK (17 vol) και 15.4 g NaI (103.1 mmol, 5 eq). Το μίγμα της αντίδρασης που προκύπτει υπό μορφή πορτοκαλί αιωρήματος, αφήνεται υπό ανάδευση στους 100 °C (reflux) για 48 h. Η πρόοδος της αντίδρασης ελέγχεται με χρωματογραφία HPLC. Μετά το πέρας της αντίδρασης, το μίγμα της αντίδρασης μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη όπου προστίθενται 250 mL MIBK. Ακολουθούν διαδοχικές πλύσεις της οργανικής (x4) με Na₂SO₃ 5 % w/w μέχρι αποχρωματισμού της, με υδατικό διάλυμα HCl 0.5 M, και Brine. Στη συνέχεια, ξηραίνεται με άνυδρο Na₂SO₄, διηθείται από πτυχωτό ηθμό και συμπυκνώνεται υπό κενό μέχρι ξηρού. Ζυγίζονται 5.6 g μπεζ βελονοειδούς στερεού. Απόδοση ~82%.

Φάσμα 1. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃-d₁) δ 8.47 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 8.22 (s, 1H), 8.02 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.82 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H).

Φάσμα 2. ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃-d₁) δ 150.09, 146.74, 133.97, 133.35, 131.88, 131.70, 122.56, 116.39, 110.18.

3.4.2 Αντίδραση πυρηνόφιλης αρωματικής αντικατάστασης στη θέση 4 της 6-βρωμο-4-ιωδοκινολίνης

(33a) (R)-6-bromo-4-(2-(methoxymethyl)pyrrolidin-1-yl)quinoline



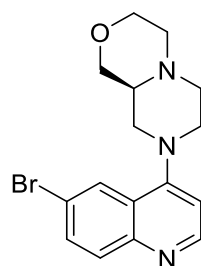
Πειραματική Διαδικασία

Σε σφαιρική φιάλη μεταφέρονται 0.6 g (1.79 mmol, 1 eq) της 6-βρωμο-4-ιωδοκινολίνης σε 3 mL διοξάνιο (5 vol). Στο αιώρημα προστίθενται 0.27 g (2.33 mmol, 1.3 eq) της αμίνης (**a**). Το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 88 h στους 100 °C. Μετά το πέρας της αντίδρασης, συμπυκνώνεται ο διαλύτης υπό κενό και το λάδι που προκύπτει διαλύεται σε 30 mL DCM. Ακολουθούν διαδοχικές πλύσεις της οργανικής φάσης (x2) με 20 mL NaHCO₃ 5% w/w, (x2) με 20 mL H₂O και (x1) με 20 mL Brine. Στη συνέχεια, ξηραίνεται με άνυδρο Na₂SO₄, διηθείται από πτυχωτό ηθμό και συμπυκνώνεται υπό κενό μέχρι ξηρού. Ζυγίζονται 0.48 g καφέ λαδιού. Απόδοση ~84 %.

Φάσμα 3: ¹H NMR (600 MHz, DMSO-d₆) δ 8.48 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 8.26 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.78 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.75 (dd, *J* = 8.9, 2.1 Hz, 1H), 6.84 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 4.33 – 4.22 (m, 1H), 3.93 (td, *J* = 9.6, 6.3 Hz, 1H), 3.54 – 3.47 (m, 1H), 3.46 (dd, *J* = 9.9, 3.8 Hz, 1H), 3.20 (s, 3H), 2.20 (dt, *J* = 11.5, 5.6 Hz, 1H), 2.02 – 1.94 (m, 1H), 1.90 – 1.82 (m, 1H), 1.79 – 1.69 (m, 1H).

Φάσμα 4: ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-d₆) δ 152.59, 150.08, 148.11, 132.36, 131.23, 127.74, 123.48, 116.65, 105.94, 73.18, 59.28, 59.02, 55.25, 29.43, 25.19.

Ομοίως παρασκευάστηκε και η ένωση (**33b**).



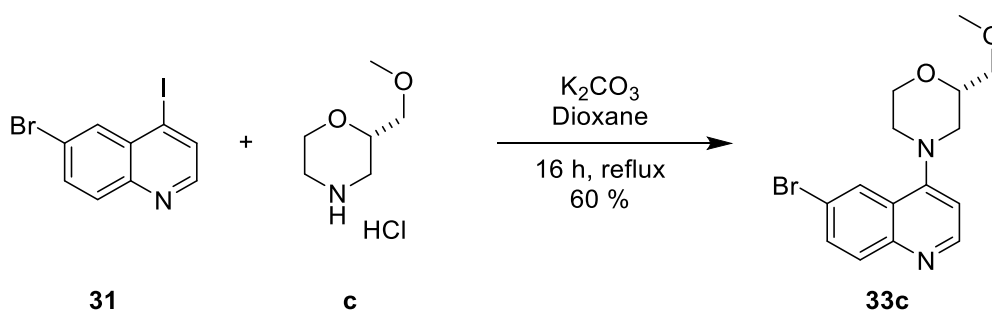
33b

(33b) (S)-8-(6-bromoquinolin-4-yl)octahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazine

Φάσμα 5: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.81 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 8.22 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.00 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.91 (dd, $J = 8.9, 2.2$ Hz, 1H), 7.14 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 3.90 (dd, $J = 11.1, 2.8$ Hz, 1H), 3.83 (dd, $J = 10.8, 2.7$ Hz, 1H), 3.67 (td, $J = 11.4, 2.3$ Hz, 1H), 3.56 (dd, $J = 12.0, 2.2$ Hz, 1H), 3.11 (td, $J = 11.8, 2.6$ Hz, 1H), 2.97 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.81 (d, $J = 11.4$ Hz, 1H), 2.73 – 2.63 (m, 2H), 2.62 – 2.56 (m, 3H), 2.46 (td, $J = 11.5, 3.3$ Hz, 1H).

Φάσμα 6: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 155.69, 151.92, 148.11, 132.68, 132.34, 126.16, 124.65, 119.12, 110.71, 68.49, 66.78, 59.86, 53.81, 52.58, 52.47.

(33c) (S)-4-(6-bromoquinolin-4-yl)-2-(methoxymethyl)morpholine



Πειραματική Διαδικασία

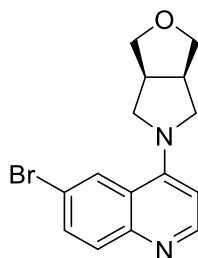
Σε σφαιρική φιάλη μεταφέρονται 0.19 g του υδροχλωρικού άλατος της αμίνης (**c**) (1.16 mmol, 1.3 eq) και 0.12 g K_2CO_3 (0.89 mmol, 1 eq) σε 3 mL διαλύτη διοξάνιο (10 vol). Το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 30 min σε RT. Στη συνέχεια, προστίθενται 0.3 g (0.89 mmol, 1 eq) της 6-βρωμο-4-ιωδοκινολίνης και το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση στους 100 °C για 16 h. Μετά το πέρας της αντίδρασης, ο διαλύτης συμπυκνώνεται υπό κενό και το λάδι που προκύπτει διαλύεται σε 30 mL DCM. Ακολουθούν πλύσεις της οργανικής φάσης (x2) με 20 mL H_2O , με 20 mL $Na_2S_2O_3$ μέχρι αποχρωματισμού της, και (x3) με 20 mL HCl 0.01M. Η οργανική φάση ξεραίνεται με άνυδρο Na_2SO_4 , διηθείται από πτυχωτό ηθμό και συμπυκνώνεται υπό κενό μέχρι ξηρού. Ζυγίζονται 0.18 g κίτρινου λαδιού.

Απόδοση ~60 %.

Φάσμα 7: ^1H NMR (600 MHz, $DMSO-d_6$) δ 8.74 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.92 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J = 11.1$ Hz, 1H), 7.07 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 4.00 – 3.94 (m, 2H), 3.88 (t, $J = 10.1$ Hz, 1H), 3.49 – 3.40 (m, 3H), 3.33 (s, 1H), 3.30 (s, 3H), 2.94 (t, $J = 11.6$ Hz, 1H), 2.79 (t, 1H).

Φάσμα 8: ^{13}C NMR (151 MHz, $DMSO-d_6$) δ 155.67, 151.94, 148.10, 132.76, 132.35, 126.12, 124.57, 119.21, 110.69, 74.16, 73.15, 65.97, 59.07, 54.34, 52.25.

Ομοίως συντέθηκε και η ένωση **33d** με την διαφορά ότι η αντίδραση ολοκληρώθηκε μετά από 96 h και η οργανική φάση εκχυλίστηκε (x3) με HCl 0.1M. Στην συνέχεια, το pH της υδατικής φάσης ρυθμίστηκε ίσο με 11 με χρήση υδατικού διαλύματος NaOH 2 M. Τέλος, η βασική υδατική φάση εκχυλίζεται (x3) με 20 mL DCM.



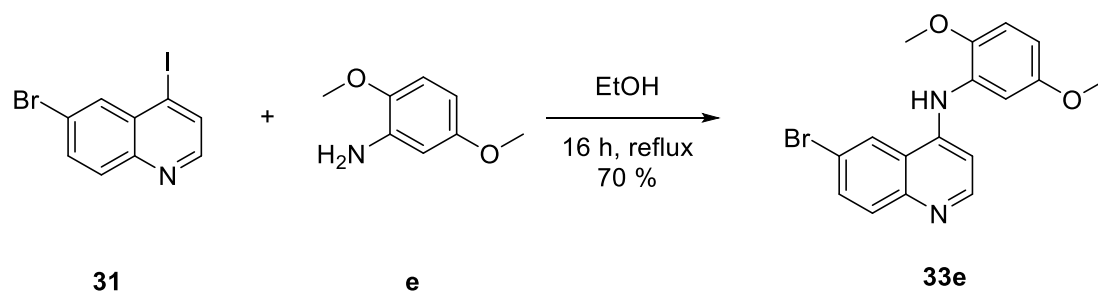
33d

(33d) (3aR,6aS)-5-(6-bromoquinolin-4-yl)hexahydro-1H-furo[3,4-c]pyrrole

Φάσμα 9: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.63 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 8.40 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 7.94 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J = 8.9$, 1.4 Hz, 1H), 6.87 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 3.95 (dd, $J = 8.3$, 6.5 Hz, 2H), 3.77 (m, $J = 10.4$, 4.8 Hz, 4H), 3.49 (d, $J = 2.6$ Hz, 2H), 3.15 (d, $J = 2.5$ Hz, 2H).

Φάσμα 10: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 152.28, 150.95, 148.00, 132.44, 131.58, 127.22, 123.28, 117.39, 107.09, 73.02, 56.88, 43.30.

(33e) 6-bromo-N-(2,5-dimethoxyphenyl)quinolin-4-amine



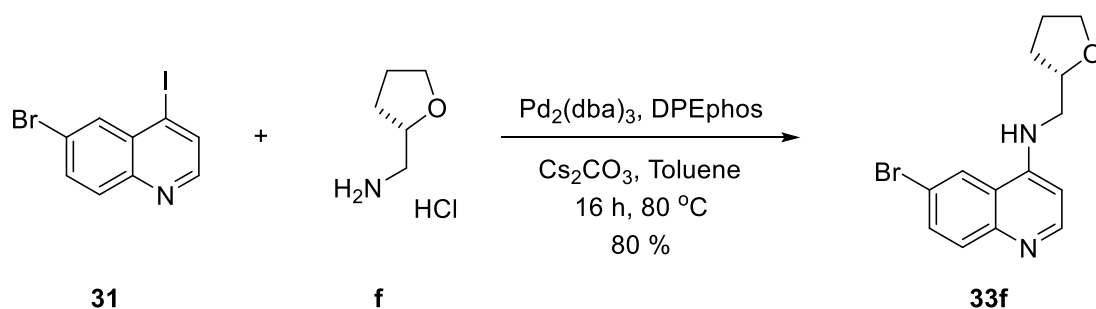
Πειραματική Διαδικασία

Σε σφαιρική φιάλη μεταφέρονται 0.3 g (0.89 mmol, 1 eq) της 6-βρωμο-4-ιωδοκινολίνης σε 2.4 mL EtOH (8 vol). Στο αιώρημα προστίθενται 0.14 g (0.89 mmol, 1 eq) της αμίνης (**e**) και το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 16 h reflux. Μετά το πέρας της αντίδρασης, ο διαλύτης συμπυκνώνεται υπό κενό και στο στερεό που προκύπτει προστίθενται 20 mL Na₂CO₃ 5% w/w και εκχυλίζεται με 20 mL EtOAc. Ακολουθούν πλύσεις της οργανικής φάσης (x2) με 20 mL Na₂CO₃ 5% w/w και 20 mL H₂O. Η οργανική φάση ξηραίνεται με άνυδρο Na₂SO₄, φιλτράρεται και συμπυκνώνεται υπό κενό μέχρι ξηρού. Ζυγίζονται 0.225 g καφέ λαδιού. Απόδοση ~70 %.

Δεν συμπεριλαμβάνονται φάσματα.

3.4.3 Σύζευξη Buchwald- Hartwig

(33f) (S)-6-bromo-N-((tetrahydrofuran-2-yl)methyl)quinolin-4-amine



Πειραματική Διαδικασία

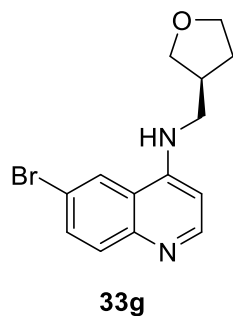
Ένα αιώρημα των 6-βρώμο-4-ιωδοκινολίνης (0.3 g, 0.89 mmol, 1 eq), του υδροχλωρικού άλατος της αμίνης (**f**) (0.12 g, 0.89 mmol, 1 eq), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0.02 g, 0.02 mmol, 2.5 %), DPEphos (0.02 g, 0.04 mmol, 5 %), και Cs_2CO_3 (0.870 g, 2.7 mmol, 3 eq) σε 3.6 mL τολουόλιο (12 vol) απαερώνεται σε RT με 3 κύκλους κενού- N_2 και στην συνέχεια αφήνεται να θερμαίνεται στους 80 °C για 16 h. Η αντίδραση ελέγχεται με HPLC και μετά το πέρας της, το μίγμα διηθείται υπό κενό και το διήθημα που προκύπτει συμπυκνώνεται υπό κενό. Στο πορτοκαλί λάδι που προκύπτει από την συμπύκνωση προστίθενται 30 mL EtOAc και η οργανική φάση εκχυλίζεται (x3) με 20 mL υδατικού διαλύματος HCl 0.1 M. Η όξινη υδατική φάση απομονώνεται και εξουδετερώνεται με υδατικό διάλυμα NaOH 2 -9M μέχρι να επιτευχθεί pH ίσο με 11. Στην συνέχεια, η βασική υδατική φάση εκχυλίζεται (x3) με 20 mL EtOAc. Η οργανική φάση πλένεται (x1) με 15 mL Brine και ξηραίνεται με άνυδρο Na_2SO_4 , διηθείται από πτυχωτό ηθμό και συμπυκνώνεται υπό κενό μέχρι ξηρού. Ζυγίζονται 0.22 g κίτρινου στερεού.

Απόδοση ~80 %.

Φάσμα 13: ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.56 (s, 1H), 8.40 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 7.71 (s, 2H), 7.37 (s, 1H), 6.56 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 4.13 (qu, $J = 12.2, 6.1$ Hz, 1H), 3.79 (q, $J = 14.0, 7.2$ Hz, 1H), 3.65 (q, $J = 14.3, 7.4$ Hz, 1H), 3.41 – 3.33 (m, $J = 4.5$ Hz, 2H), 2.04 – 1.96 (m, $J = 12.4, 7.3$ Hz, 1H), 1.92 – 1.85 (m, 1H), 1.85 – 1.78 (m, 1H), 1.68 – 1.59 (m, $J = 15.2, 7.1$ Hz, 1H).

Φάσμα 14: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 151.63, 149.88, 147.54, 132.19, 131.74, 124.71, 120.61, 117.19, 99.54, 76.78, 67.66, 47.21, 29.43, 25.58.

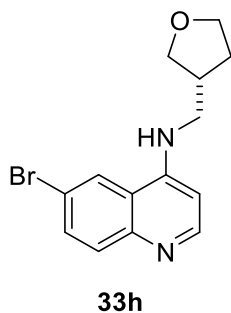
Ομοίως παρασκευάστηκαν τα παράγωγα **33g- 33s**.



(33g) (S)-6-bromo-N-((tetrahydrofuran-3-yl)methyl)quinolin-4-amine

Φάσμα 15: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.63 (s, 1H), 8.51 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 7.86 – 7.76 (q, 2H), 7.36 (s, 1H), 6.63 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 3.88 (m, $J = 25.2, 7.9$ Hz, 2H), 3.76 (q, $J = 15.0, 7.7$ Hz, 1H), 3.64 (q, $J = 8.4, 5.3$ Hz, 1H), 3.35 (s, 2H), 2.82 – 2.71 (m, 1H), 2.20 – 2.09 (m, 1H), 1.76 (m, $J = 12.8, 6.8$ Hz, 1H).

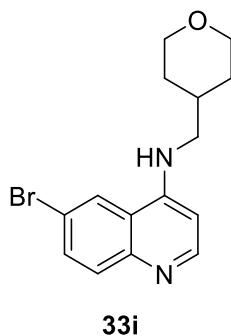
Φάσμα 16: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 151.68, 149.70, 147.52, 132.22, 131.76, 124.65, 120.61, 117.25, 99.43, 71.20, 67.25, 45.87, 37.79, 30.23.



(33h) (R)-6-bromo-N-((tetrahydrofuran-3-yl)methyl)quinolin-4-amine

Φάσμα 17: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.63 (s, 1H), 8.51 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 7.86 – 7.76 (q, 2H), 7.36 (s, 1H), 6.63 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 3.88 (m, $J = 25.2, 7.9$ Hz, 2H), 3.76 (q, $J = 15.0, 7.7$ Hz, 1H), 3.64 (q, $J = 8.4, 5.3$ Hz, 1H), 3.35 (s, 2H), 2.82 – 2.71 (m, 1H), 2.20 – 2.09 (m, 1H), 1.76 (m, $J = 12.8, 6.8$ Hz, 1H).

Φάσμα 18: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 151.68, 149.70, 147.52, 132.22, 131.76, 124.65, 120.61, 117.25, 99.43, 71.20, 67.25, 45.87, 37.79, 30.23.

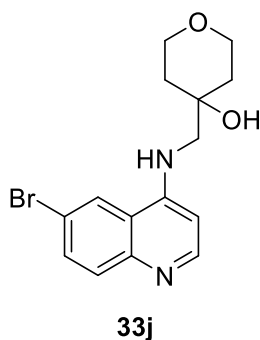


(33i) 6-bromo-N-((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)methyl)quinolin-4-amine

Φάσμα 19: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.64 (s, 1H), 8.50 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 7.80 (q, $J = 2.6$ Hz, 2H), 7.32 (s, 1H), 6.60 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 3.97 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 3.40 (d, $J = 11.3$ Hz, 2H), 3.26 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H), 2.13 – 2.03 (m, 1H), 1.80 (d, $J = 12.6$ Hz, 2H), 1.37 (m, $J = 12.4, 4.2$ Hz, 2H).

Φάσμα 20: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 151.60, 149.91, 147.51, 132.21, 131.71, 124.64, 120.65, 117.19, 99.48, 67.27, 48.74, 33.83, 31.15.

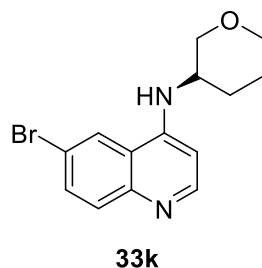
Στην περίπτωση του **33j** για τον καθαρισμό του προϊόντος χρησιμοποιήθηκε διαιθυλαιθέρας.



(33j) 4-(((6-bromoquinolin-4-yl)amino)methyl)tetrahydro-2H-pyran-4-ol

Φάσμα 21: ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ 8.54 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H), 8.40 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.74 – 7.68 (q, 2H), 6.85 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H), 6.66 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 4.61 (s, 1H), 3.69 – 3.61 (m, 4H), 3.29 (d, $J = 5.8$ Hz, 2H), 1.67 (m, $J = 13.6, 10.5, 5.8$ Hz, 2H), 1.53 (d, $J = 12.0$ Hz, 2H).

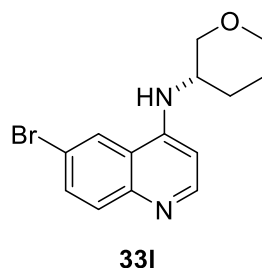
Φάσμα 22: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 152.01 (s), 151.00 (s), 148.01 (s), 132.64 (s), 132.19 (s), 125.11 (s), 121.15 (s), 117.62 (s), 100.53 (s), 69.62 (s), 63.71 (s), 54.06 (s), 36.07 (s).



(33k) (R)-6-bromo-N-(tetrahydro-2H-pyran-3-yl)quinolin-4-amine

Φάσμα 23: ^1H NMR (600 MHz, DMSO-d) δ 8.59 (s, 1H), 8.40 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.70 (d, $J = 0.9$ Hz, 2H), 6.86 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.61 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 3.94 (dd, $J = 10.9, 2.4$ Hz, 1H), 3.82 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 3.70 – 3.62 (m, 1H), 3.34 – 3.30 (m, 1H), 3.26 – 3.21 (t, 1H), 2.07 (m, $J = 3.6$ Hz, 1H), 1.76 – 1.61 (m, 3H).

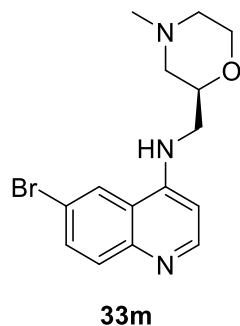
Φάσμα 24: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO-d) δ 152.23, 149.33, 148.18, 132.74, 132.21, 125.30, 121.15, 117.77, 100.27, 70.54, 68.16, 49.16, 29.75, 25.66.



(33l) (S)-6-bromo-N-(tetrahydro-2H-pyran-3-yl)quinolin-4-amine

Φάσμα 25: ^1H NMR (600 MHz, DMSO-d) δ 8.59 (s, 1H), 8.40 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.70 (d, $J = 0.9$ Hz, 2H), 6.86 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.61 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 3.94 (dd, $J = 10.9, 2.4$ Hz, 1H), 3.82 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 3.70 – 3.62 (m, 1H), 3.34 – 3.30 (m, 1H), 3.26 – 3.21 (t, 1H), 2.07 (m, $J = 3.6$ Hz, 1H), 1.76 – 1.61 (m, 3H).

Φάσμα 26: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO-d) δ 152.23, 149.33, 148.18, 132.74, 132.21, 125.30, 121.15, 117.77, 100.27, 70.54, 68.16, 49.16, 29.75, 25.66.

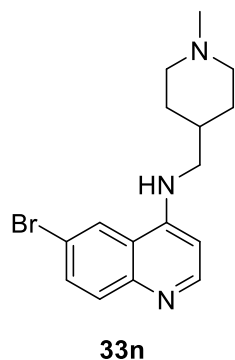


(33m) (S)-6-bromo-N-((4-methylmorpholin-2-yl)methyl)quinolin-4-amine

Φάσμα 27: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.63 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 8.40 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 7.94 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J = 8.9, 1.4$ Hz, 1H), 6.87 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 3.95 (q, $J = 8.3, 6.5$ Hz, 2H), 3.77 (m, $J = 10.4, 4.8$ Hz, 4H), 3.15 (d, $J = 2.5$ Hz, 2H).

Φάσμα 28: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 151.60, 149.84, 147.40, 132.31, 131.64, 124.70, 120.60, 117.32, 99.57, 73.40, 66.29, 58.54, 54.95, 46.38, 45.68.

Στην περίπτωση του **33n** για τον καθαρισμό του προϊόντος χρησιμοποιήθηκε σύστημα ανακρυστάλλωσης DCM- hexane σε αναλογία 1:1.

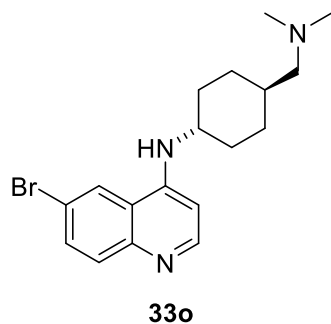


(33n) 6-bromo-N-((1-methylpiperidin-4-yl)methyl)quinolin-4-amine

Φάσμα 29: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.65 (s, 1H), 8.48 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 7.80 (s, 2H), 7.39 (t, 1H), 6.57 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 3.23 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 2.85 (d, $J = 10.7$ Hz, 2H), 2.22 (s, 3H), 1.89 (t, $J = 11.2$ Hz, 2H), 1.83 (d, $J = 12.3$ Hz, 2H), 1.76 (s, 1H), 1.32 (q, $J = 21.3, 10.9$ Hz, 2H).

Φάσμα 30: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 151.65, 149.88, 147.56, 132.19, 131.74, 124.64, 120.65, 117.16, 99.43, 55.61, 48.64, 46.67, 34.16, 30.44.

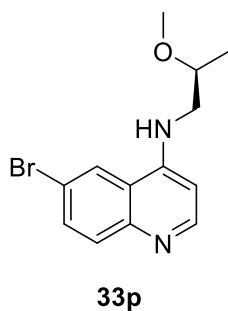
Στην περίπτωση του **33o** η αντίδραση ολοκληρώθηκε μετά το πέρας 48 h.



(33o) 6-bromo-N-((1r,4r)-4-((dimethylamino)methyl)cyclohexyl)quinolin-4-amine

Φάσμα 31: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.69 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 7.78 (s, 2H), 6.97 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 6.61 (s, 1H), 2.29 – 2.10 (m, 11H), 1.95 (d, $J = 11.4$ Hz, 2H), 1.60 – 1.45 (m, 3H), 1.13 (q, $J = 11.9$ Hz, 2H).

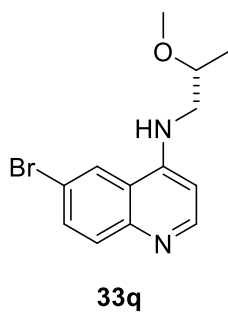
Φάσμα 32: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 151.61, 148.88, 147.71, 132.15, 131.64, 124.89, 120.71, 117.05, 99.59, 66.36, 51.99, 46.06, 35.31, 31.78, 30.32.



(33p) (S)-6-bromo-N-(2-methoxypropyl)quinolin-4-amine

Φάσμα 33: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.54 (s, 1H), 8.41 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 7.72 (q, $J = 8.9$ Hz, 2H), 7.25 (s, 1H), 6.54 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 3.65 (m, $J = 11.8, 5.9$ Hz, 1H), 3.40 – 3.32 (m, 2H), 3.29 (s, 4H), 1.17 (d, $J = 6.1$ Hz, 3H).

Φάσμα 34: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 151.54, 150.00, 147.32, 132.34, 131.53, 124.70, 120.59, 117.30, 99.51, 74.61, 56.34, 48.14, 17.77.

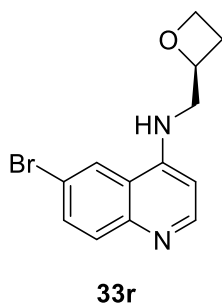


(33q) (R)-6-bromo-N-(2-methoxypropyl)quinolin-4-amine

Φάσμα 35: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.54 (s, 1H), 8.41 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 7.72 (q, $J = 8.9$ Hz, 2H), 7.25 (s, 1H), 6.54 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 3.65 (m, $J = 11.8, 5.9$ Hz, 1H), 3.40 – 3.32 (m, 2H), 3.29 (s, 4H), 1.17 (d, $J = 6.1$ Hz, 3H).

Φάσμα 36: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 151.54, 150.00, 147.32, 132.34, 131.53, 124.70, 120.59, 117.30, 99.51, 74.61, 56.34, 48.14, 17.77.

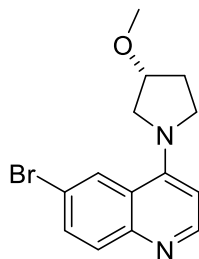
Στην περίπτωση του παραγώγου **33r** για τον καθαρισμό του προϊόντος χρησιμοποιήθηκε σύστημα ανακρυστάλλωσης DCM- εξάνιο σε αναλογία 1:9.



(33r) (S)-6-bromo-N-(oxetan-2-ylmethyl)quinolin-4-amine

Φάσμα 37: ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ 8.61 (s, 1H), 8.42 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 7.80 – 7.72 (q, 3H), 6.66 (d, $J = 21.8, 5.8$ Hz, 1H), 5.00 (m, $J = 12.5, 6.4$ Hz, 1H), 4.56 – 4.50 (m, 1H), 4.44 (m, $J = 9.0, 5.9$ Hz, 1H), 3.80 – 3.72 (m, 1H), 3.64 (dd, $J = 14.1, 6.0$ Hz, 1H), 3.57 (dd, $J = 14.2, 4.0$ Hz, 1H), 2.72 – 2.65 (m, 1H).

Φάσμα 38: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 150.84, 149.49, 145.02, 132.70, 129.55, 124.56, 119.79, 117.37, 99.39, 79.45, 67.61, 48.34, 24.77.



33s

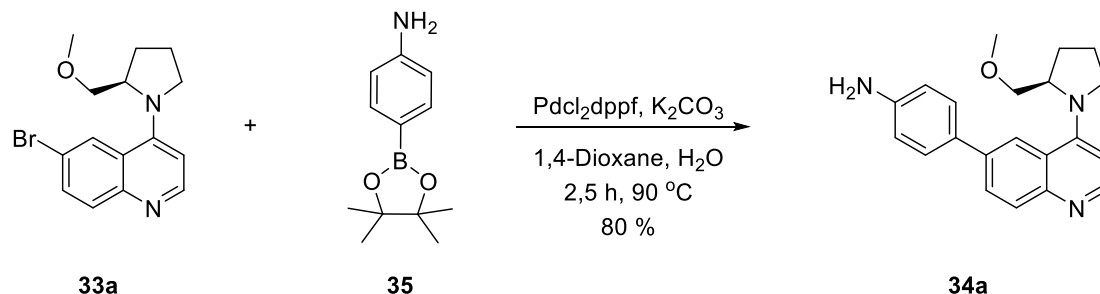
(33s) (R)-6-bromo-4-(3-methoxypyrrolidin-1-yl)quinoline

Φάσμα 39: ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ 8.42 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.36 (s, 1H), 7.77 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.73 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 6.59 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 4.11 (s, 1H), 3.91 (dd, $J = 10.8, 4.4$ Hz, 1H), 3.74 (q, $J = 16.3, 9.5$ Hz, 1H), 3.59 – 3.54 (m, $J = 11.5, 8.9$ Hz, 2H), 3.27 (s, 3H), 2.16 – 2.11 (m, 1H), 2.09 – 2.01 (m, 1H).

Φάσμα 40: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 151.50, 150.70, 148.89, 131.98, 131.88, 127.58, 122.20, 116.05, 104.12, 79.25, 66.82, 57.10, 56.29, 49.94, 30.53.

3.4.4 Σύζευξη Suzuki- Miyaura στη θέση 6 του κινολινικού δακτυλίου

(34a) (R)-4-(4-(2-(methoxymethyl)pyrrolidin-1-yl)quinolin-6-yl)aniline



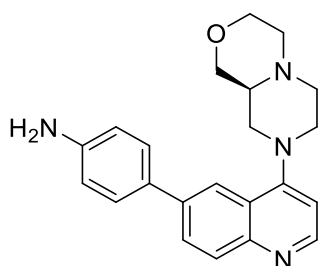
Πειραματική Διαδικασία

Ένα αιώρημα των ενδιαμέσου **33a** (0.12 g, 0.37 mmol, 1 eq), του βορονικού (**35**) (0.08 g, 0.37 mmol, 1 eq), PdCl_2dppf (0.015 g, 0.018 mmol, 5%), K_2CO_3 (0.15 g, 1.1 mmol, 3 eq) σε 0.6 mL H_2O και 0.85 mL διοξάνιο (7 vol) απαερώνεται σε RT με τρεις κύκλους κενού- N_2 και στην συνέχεια αφήνεται να θερμαίνεται υπό ανάδευση στους $90\text{ }^\circ\text{C}$ για 2,5 h. Μετά το πέρας της αντίδρασης στο μίγμα προστίθενται 20 mL EtOAc και η οργανική φάση εκχυλίζεται (x3) με 10 mL υδατικού διαλύματος HCl 1 M. Η όξινη υδατική φάση απομονώνεται και εξουδετερώνεται με υδατικό διάλυμα NaOH 2 M μέχρι να επιτευχθεί pH ίσο με 11. Στην συνέχεια, η βασική υδατική φάση εκχυλίζεται (x3) με 10 mL EtOAc. Η οργανική φάση πλένεται (x1) με 10 mL Brine και ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na_2SO_4 , προστίθεται σκόνη ενεργού άνθρακα και αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 40 λεπτά. Στη συνέχεια, το μίγμα διηθείται υπό κενό μέσω κλίνης γης διατόμων. Το διήθημα που προκύπτει συμπυκνώνεται υπό κενό μέχρι ξηρού. Ζυγίζονται 0.1 g πράσινου λαδιού. Απόδοση ~80 %.

Φάσμα 41: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.50 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 8.28 (s, 1H), 7.95 (s, 2H), 7.57 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 6.87 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 6.81 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 5.27 (s, 2H), 4.39 (m, $J = 6.1, 3.7$ Hz, 1H), 4.08 (q, $J = 15.8, 9.3$ Hz, 1H), 3.65 – 3.56 (m, 2H), 3.30 (s, 3H), 2.35 – 2.28 (m, 1H), 2.10 (m, $J = 5.1$ Hz, 1H), 2.00 (m, $J = 14.4, 10.6$ Hz, 1H), 1.93 – 1.82 (m, 1H), 1.34 (s, 1H).

Φάσμα 42: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 153.14, 149.33, 148.96, 148.50, 136.37, 129.73, 127.92, 127.66, 127.52, 122.75, 120.77, 114.87, 113.38, 105.44, 83.20, 74.04, 73.37, 59.20, 59.03, 55.35, 29.71.

Ομοίως παρασκευάστηκαν τα ενδιάμεσα **34b-34r** στην θέση 6 από την 6-βρωμο-4-ιωδοκινολίνη.

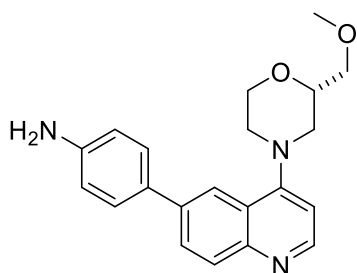


34b

(34b) *(S)*-4-(4-(hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl)quinolin-6-yl)aniline

Φάσμα 43: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.71 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 8.02 (d, $J = 13.5$ Hz, 2H), 7.58 (s, 2H), 7.05 (s, 1H), 6.83 (s, 2H), 5.33 (s, 2H), 3.88 (dd, $J = 35.0, 11.1$ Hz, 3H), 3.72 – 3.61 (m, 2H), 3.46 – 3.40 (d, 2H), 3.10 (t, 1H), 3.00 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 2.82 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 2.70 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H), 2.49 (t, 1H).

Φάσμα 44: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 156.20, 150.41, 149.26, 148.23, 138.10, 130.44, 128.08, 127.27, 123.47, 118.98, 114.88, 109.83, 73.99, 68.61, 66.82, 60.02, 53.99, 53.86, 52.66, 52.48.

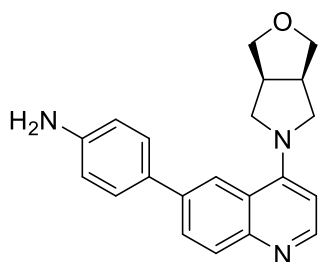


34c

(34c) (S)-4-(4-(2-(methoxymethyl)morpholino)quinolin-6-yl)aniline

Φάσμα 45: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.72 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 8.17 (s, 1H), 8.08 – 8.03 (m, 2H), 7.60 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.09 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 6.82 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 4.11 (d, $J = 10.7$ Hz, 2H), 4.00 (t, $J = 10.4$ Hz, 1H), 3.70 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 3.62 – 3.51 (m, 5H), 3.15 (t, $J = 10.3$ Hz, 2H), 2.96 – 2.90 (t, 1H).

Φάσμα 46: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 156.05, 149.07, 148.89, 146.74, 137.76, 129.10, 128.05, 127.67, 126.54, 122.54, 118.65, 114.38, 108.91, 73.91, 72.70, 65.69, 58.63, 54.30, 51.54.



34d

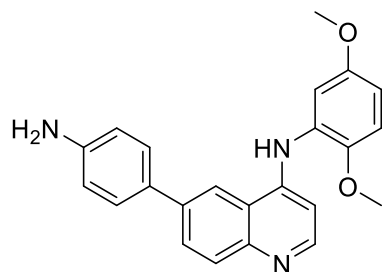
(34d) 4-(4-((3aR,6aS)-tetrahydro-1H-furo[3,4-c]pyrrol-5(3H)-yl)quinolin-6-yl)aniline

Φάσμα 47: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.58 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 8.28 (s, 1H), 7.98 (q, $J = 8.9$ Hz, 2H), 7.57 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 6.87 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 6.82 (d, $J = 8.2$

Hz, 2H), 5.30 (s, 2H), 4.04 – 3.97 (t, 2H), 3.77 (dd, $J = 8.5, 2.5$ Hz, 2H), 3.71 (q, $J = 9.4, 6.3$ Hz, 2H), 3.51 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 3.15 (s, 2H).

Φάσμα 48: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 153.10, 149.76, 149.12, 148.01, 137.23, 129.93, 128.00, 127.89, 127.44, 122.77, 120.06, 114.88, 107.31, 73.31, 56.90, 43.33.

Στην περίπτωση του ενδιάμεσου **34e** για τον καθαρισμό του προϊόντος πραγματοποιήθηκε ανακρυστάλλωση με σύστημα διαλυτών DCM- εξάνιο σε αναλογία 1:4.



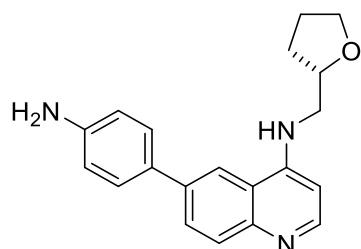
34e

(34e) 6-(4-aminophenyl)-N-(2,5-dimethoxyphenyl)quinolin-4-amine

Φάσμα 49:

Φάσμα 50:

Η διαφορά στην σύνθεση του ενδιάμεσου **34f** έγκειται στην πραγματοποίηση ανακρυστάλλωσης με σύστημα διαλυτών DCM- εξάνιο με αναλογία 1:3 για τον καθαρισμό του τελικού προϊόντος.



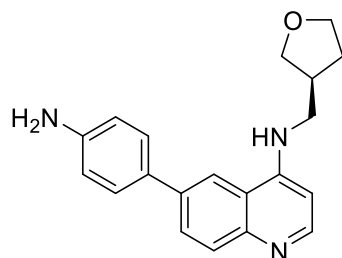
34f

(34f) (S)-6-(4-aminophenyl)-N-((tetrahydrofuran-2-yl)methyl)quinolin-4-amine

Φάσμα 51: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.43 (d, $J = 11.2$ Hz, 2H), 7.90 (dd, $J = 45.3, 8.0$ Hz, 2H), 7.67 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 7.36 (s, 1H), 6.81 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 6.60 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 5.25 (s, 2H), 4.27 (t, 1H), 4.14 (q, $J = 6.9$ Hz, 1H), 3.91 (q, $J = 6.3$ Hz, 1H), 3.77 (q, $J = 6.6$ Hz, 1H), 2.12 (m, $J = 44.1$ Hz, 2H), 2.03 – 1.88 (m, 3H), 1.78 (m, 1H).

Φάσμα 52: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 149.97 (d, $J = 4.6$ Hz), 148.86 (s), 136.76 (s), 129.39 (s), 128.01 (s), 127.60 (s), 127.43 (s), 119.41 (s), 117.23 (s), 114.69 (s), 98.87 (s), 76.89 (s), 67.69 (s), 47.21 (s), 29.41 (s), 25.58 (s).

Στην περίπτωση του ενδιάμεσου **34g** ο καθαρισμός του τελικού προϊόντος πραγματοποιήθηκε με ανακρυστάλλωση με σύστημα διαλυτών DCM- εξάνιο σε αναλογία 1-1.



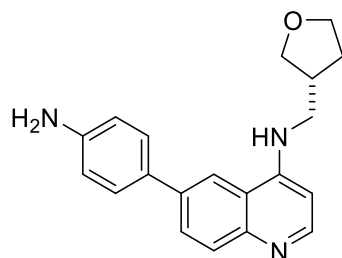
34g

(34g) (S)-6-(4-aminophenyl)-N-((tetrahydrofuran-3-yl)methyl)quinolin-4-amine

Φάσμα 53: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.43 (s, 2H), 7.90 (dd, $J = 42.8, 8.6$ Hz, 2H), 7.66 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.39 (s, 1H), 6.81 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 6.58 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 5.26 (s, 2H), 3.92 (q, $J = 13.8, 7.8$ Hz, 1H), 3.86 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 3.77 (q, $J = 15.0, 7.6$ Hz, 1H), 3.68 (q, $J = 8.2, 5.1$ Hz, 1H), 2.85 – 2.77 (m, 1H), 2.19 – 2.10 (m, 1H), 1.79 (m, $J = 12.7, 6.8$ Hz, 1H).

Φάσμα 54: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 150.29, 150.22, 148.91, 147.25, 136.76, 129.69, 128.03, 127.51, 127.48, 119.49, 117.25, 114.64, 98.78, 71.15, 67.26, 45.75, 37.84, 30.15.

Και κατά τη σύνθεση του ενδιάμεσου **34h**, όπως και του εναντιομερούς του, πραγματοποιήθηκε ανακρυστάλλωση με σύστημα διαλυτών DCM- εξάνιο σε αναλογία 1-1 για τον καθαρισμό του τελικού προϊόντος.

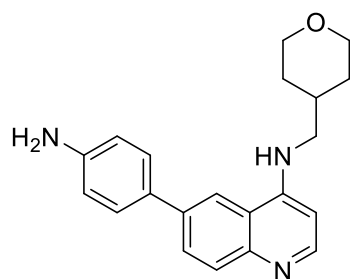


34h

(34h) (R)-6-(4-aminophenyl)-N-((tetrahydrofuran-3-yl)methyl)quinolin-4-amine

Φάσμα 55: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.43 (s, 2H), 7.90 (dd, $J = 42.8, 8.6$ Hz, 2H), 7.66 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.39 (s, 1H), 6.81 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 6.58 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 5.26 (s, 2H), 3.92 (q, $J = 13.8, 7.8$ Hz, 1H), 3.86 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 3.77 (q, $J = 15.0, 7.6$ Hz, 1H), 3.68 (q, $J = 8.2, 5.1$ Hz, 1H), 2.85 – 2.77 (m, 1H), 2.19 – 2.10 (m, 1H), 1.79 (m, $J = 12.7, 6.8$ Hz, 1H).

Φάσμα 56: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 150.29, 150.22, 148.91, 147.25, 136.76, 129.69, 128.03, 127.51, 127.48, 119.49, 117.25, 114.64, 98.78, 71.15, 67.26, 45.75, 37.84, 30.15.



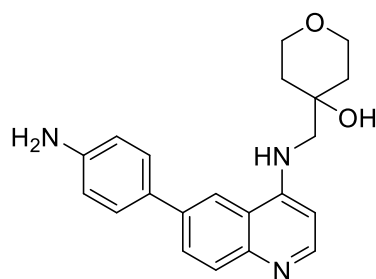
34i

(34i) 6-(4-aminophenyl)-N-((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)methyl)quinolin-4-amine

Φάσμα 57: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.47 – 8.39 (m, 4H), 7.92 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.86 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.66 (d, J = 8.2 Hz, 4H), 7.34 (t, 2H), 6.81 (d, J = 8.2 Hz, 4H), 6.55 (d, J = 5.2 Hz, 2H), 5.25 (s, 4H), 3.96 (m, J = 19.3, 17.6 Hz, 6H), 2.14 – 2.06 (m, 2H), 1.82 (d, J = 12.5 Hz, 4H), 1.44 – 1.32 (m, 5H), 1.27 (s, 3H).

Φάσμα 58: Δεν συμπεριλαμβάνεται φάσμα.

Κατά την σύνθεση του παραγώγου **34j** πραγματοποιήθηκε ανακρυστάλλωση με σύστημα διαλυτών DCM- εξάνιο σε αναλογία 1:1 για τον καθαρισμό του.

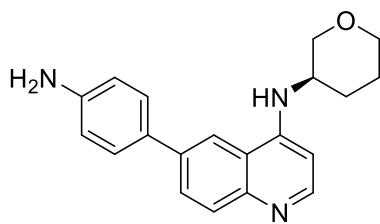


34j

(34j) 4-(((6-(4-aminophenyl)quinolin-4-yl)amino)methyl)tetrahydro-2H-pyran-4-ol

Φάσμα 59: ^1H NMR (600 MHz, DMSO-d) δ 8.35 – 8.26 (m, 2H), 7.85 – 7.75 (m, 2H), 7.56 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.85 (t, 1H), 6.72 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.61 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 5.16 (s, 2H), 4.66 (s, 1H), 3.66 (m, J = 14.8, 6.6 Hz, 4H), 3.33 (d, J = 5.7 Hz, 2H), 1.73 – 1.66 (m, 2H), 1.54 (d, J = 12.7 Hz, 2H).

Φάσμα 60: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO-d) δ 151.89, 150.65, 149.46, 147.68, 137.46, 130.13, 128.71, 128.33, 128.23, 120.10, 117.84, 115.35, 100.08, 69.97, 63.89, 54.18, 36.25.

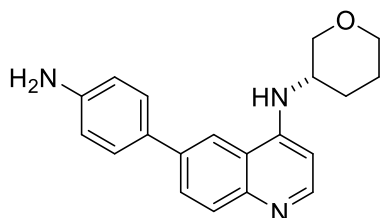


34k

(34k) (R)-6-(4-aminophenyl)-N-(tetrahydro-2H-pyran-3-yl)quinolin-4-amine

Φάσμα 61: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.43 (s, 2H), 7.90 (dd, $J = 39.0, 8.6$ Hz, 2H), 7.67 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 6.82 (m, $J = 7.4$ Hz, 3H), 6.66 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 5.26 (s, 2H), 4.12 – 4.03 (m, 1H), 3.94 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 3.85 – 3.77 (m, 1H), 2.22 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 1.89 – 1.75 (m, 3H), 1.19 (s, 2H).

Φάσμα 62: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 150.23, 149.52, 148.90, 147.34, 136.84, 129.64, 128.13, 127.67, 127.48, 119.55, 117.42, 114.62, 99.21, 74.00, 70.26, 67.72, 48.72, 40.38, 40.24, 40.11, 39.97, 39.83, 39.69, 39.55, 29.46, 25.42, 25.32.



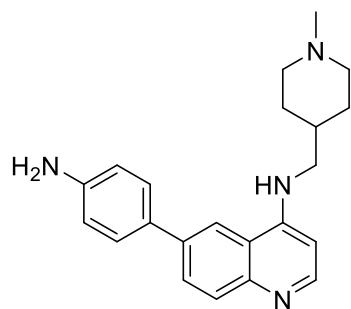
34l

(34l) (S)-6-(4-aminophenyl)-N-(tetrahydro-2H-pyran-3-yl)quinolin-4-amine

Φάσμα 63: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.43 (s, 2H), 7.90 (dd, $J = 39.0, 8.6$ Hz, 2H), 7.67 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 6.82 (m, $J = 7.4$ Hz, 3H), 6.66 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 5.26 (s, 2H), 4.12 – 4.03 (m, 1H), 3.94 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 3.85 – 3.77 (m, 1H), 2.22 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 1.89 – 1.75 (m, 3H), 1.19 (s, 2H).

Φάσμα 64: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 150.23, 149.52, 148.90, 147.34, 136.84, 129.64, 128.13, 127.67, 127.48, 119.55, 117.42, 114.62, 99.21, 74.00, 70.26, 67.72, 48.72, 40.38, 40.24, 40.11, 39.97, 39.83, 39.69, 39.55, 29.46, 25.42, 25.32.

Ο καθαρισμός του ενδιαμέσου **34n** πραγματοποιήθηκε, επίσης, με ανακρυστάλλωση με σύστημα διαλυτών DCM- εξάνιο σε αναλογία 1:1.



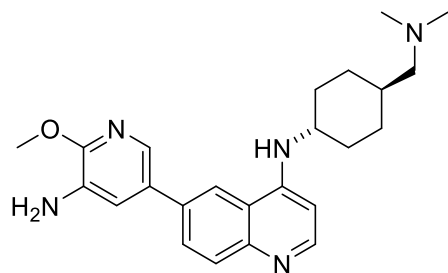
34n

(34n) 6-(4-aminophenyl)-N-((1-methylpiperidin-4-yl)methyl)quinolin-4-amine

Φάσμα 65: ^1H NMR (600 MHz, DMSO-d) δ 8.34 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 8.30 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 7.82 (dd, $J = 8.7, 1.8$ Hz, 1H), 7.75 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.56 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.22 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H), 6.71 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.41 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 5.15 (s, 2H), 2.76 (d, $J = 11.4$ Hz, 2H), 2.14 (s, 3H), 1.86 – 1.81 (m, 2H), 1.72 (m, $J = 14.6, 10.9, 8.4$ Hz, 3H), 1.31 – 1.25 (m, 2H), 1.24 (s, 2H).

Φάσμα 66: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO-d) δ 150.06, 149.82, 148.43, 146.89, 136.24, 129.27, 127.60, 127.12, 127.03, 119.12, 116.83, 114.23, 112.94, 98.37, 82.76, 73.59, 55.19, 48.15, 46.19, 33.79, 30.05.

Το ενδιαμέσο προϊόν **34o** καθαρίστηκε με ανακρυστάλλωση, με σύστημα διαλυτών DCM- εξάνιο σε αναλογία 1:1.

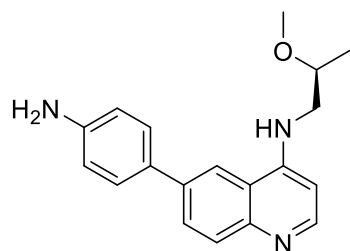


34o

(34o) 6-(5-amino-6-methoxypyridin-3-yl)-N-((1r,4r)-4-((dimethylamino)methyl)cyclohexyl)quinoline-4-amine

Φάσμα 67: ^1H NMR (600 MHz, DMSO-d) δ 8.39 (d, J = 55.1 Hz, 2H), 7.91 – 7.73 (m, 2H), 7.31 (s, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.49 (s, 1H), 4.96 (s, 2H), 3.94 (s, 3H), 2.50 (s, 3H), 2.23 – 1.79 (m, 11H), 1.45 (s, 2H), 1.05 (d, J = 10.0 Hz, 2H).

Φάσμα 68: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO-d) δ 151.58, 150.48, 149.24, 147.67, 133.65, 132.35, 130.98, 130.01, 129.50, 127.48, 119.08, 118.99, 117.58, 98.75, 66.09, 53.01, 51.58, 45.74, 35.07, 31.55, 30.00.

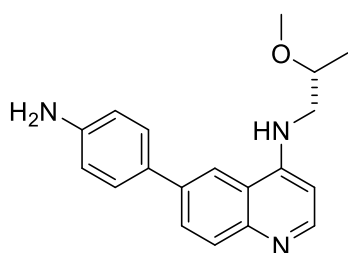


34p

(34p) (S)-6-(4-aminophenyl)-N-(2-methoxypropyl)quinolin-4-amine

Φάσμα 69: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.42 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 7.90 (m, $J = 43.5$, 8.6 Hz, 2H), 7.66 (d, $J = 13.3$ Hz, 2H), 7.34 (t, 1H), 6.81 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 6.58 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 5.25 (s, 2H), 3.77 (q, $J = 11.7$, 5.9 Hz, 1H), 3.50 (m, $J = 13.6$, 7.0 Hz, 2H), 1.47 (s, 1H), 1.35 (s, 3H), 1.19 (s, 2H).

Φάσμα 70: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 150.52, 150.05, 148.90, 147.10, 136.75, 136.39, 129.54, 128.01, 127.54, 127.42, 119.50, 117.25, 114.65, 113.36, 98.83, 74.72, 56.44, 48.20, 30.89, 17.87.



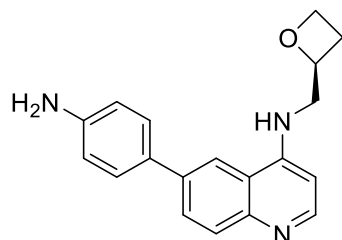
34q

(34q) (R)-6-(4-aminophenyl)-N-(2-methoxypropyl)quinolin-4-amine

Φάσμα 71: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.46 (s, 1H), 8.41 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.68 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.48 (t, $J = 5.0$ Hz, 1H), 6.79 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 6.57 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 5.36 (s, 2H), 3.75 (q, $J = 11.9$, 5.9 Hz, 1H), 1.30 – 1.24 (m, 4H), 1.17 (s, 2H).

Φάσμα 72: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 150.60, 149.97, 148.90, 146.97, 136.79, 129.43, 128.01, 127.60, 127.41, 119.46, 117.25, 114.66, 98.83, 74.72, 74.01, 56.44, 48.19, 25.40, 17.86.

Κατά την σύνθεση του ενδιαμέσου **34r** η διαφορά έγκειται στο ότι μετά το πέρας της αντίδρασης, το μίγμα αραιώθηκε με 20 mL EtOAc και εκχυλίστηκε με υδατικό διάλυμα buffer με pH=5.8.

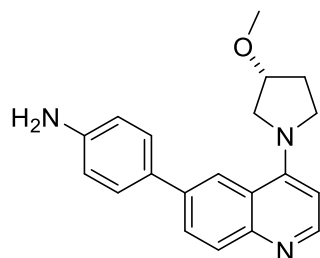


34r

(34r) (S)-6-(4-aminophenyl)-N-(oxetan-2-ylmethyl)quinolin-4-amine

Φάσμα 73: ^1H NMR (600 MHz, DMSO-d) δ 8.36 (d, J = 1.3 Hz, 1H), 8.32 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 7.85 (dd, J = 8.7, 1.6 Hz, 1H), 7.77 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.57 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.39 (t, 1H), 6.71 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.54 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 5.16 (s, 2H), 5.05 – 4.99 (m, 1H), 4.54 (q, J = 13.8, 7.6 Hz, 1H), 4.46 (m, J = 9.0, 5.9 Hz, 1H), 3.67 – 3.60 (m, 1H), 3.56 (m, J = 14.3, 4.8 Hz, 1H), 2.72 – 2.65 (m, 1H).

Φάσμα 74: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO-d) δ 150.42, 149.53, 148.49, 146.52, 136.38, 129.01, 127.58, 127.18, 126.97, 119.04, 116.85, 114.24, 98.68, 79.55, 67.53, 48.38, 24.85.

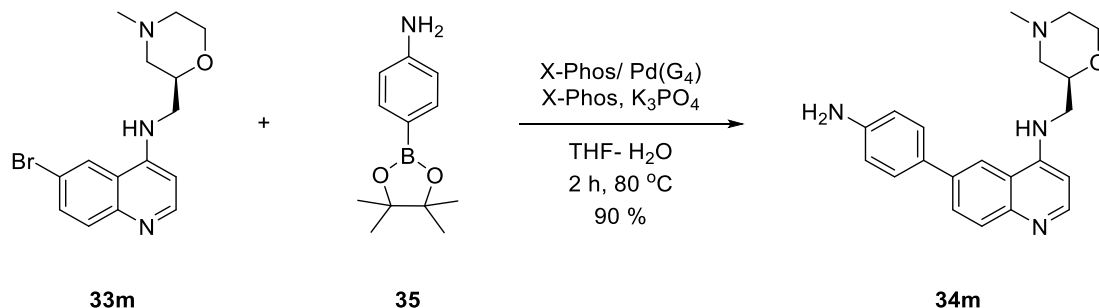


34s

(34s) (R)-4-(4-(3-methoxypyrrolidin-1-yl)quinolin-6-yl)aniline

Δεν συμπεριλαμβάνονται φάσματα.

(34m) (S)-6-(4-aminophenyl)-N-((4-methylmorpholin-2-yl)methyl)quinolin-4-amine



Πειραματική Διαδικασία

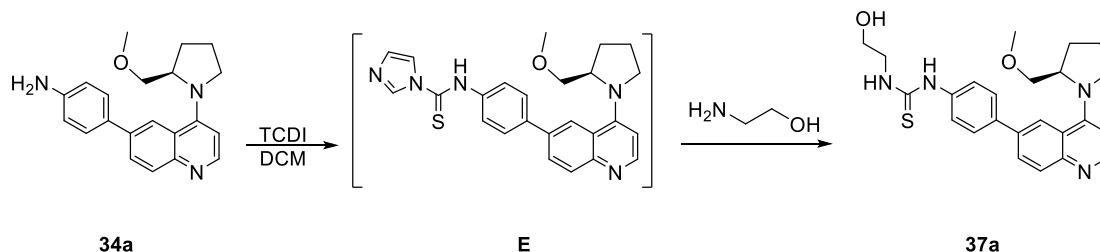
Ένα αιώρημα των ενδιαμέσου **33m** (0.12 g, 0.35 mmol, 1 eq), του βορονικού (**35**) (0.078 g, 0.35 mmol, 1 eq), του προσχηματισμένου συμπλόκου X-Phos/Pd(G₄) (0.006 g, 0.007 mmol, 2 %), X-Phos (0.003 g, 0.007 mmol, 2 %), K₃PO₄ (0.23 g, 1 mmol, 3 eq) σε 0.95 mL H₂O και 1.45 mL THF (12 vol) απαερώνεται σε RT με τρεις κύκλους κενού- N₂ και στην συνέχεια αφήνεται να θερμαίνεται υπό ανάδευση στους 80 °C για 2 h. Μετά το πέρας της αντίδρασης ο διαλύτης συμπυκνώνεται υπό κενό. Στη συνέχεια, στο μίγμα προστίθενται 20 mL EtOAc και η οργανική φάση εκχυλίζεται (x3) με 10 mL υδατικού διαλύματος HCl 0.1 M. Η όξινη υδατική φάση απομονώνεται και εξουδετερώνεται με υδατικό διάλυμα NaOH 2 M μέχρι να επιτευχθεί pH ίσο με 11. Στην συνέχεια, η βασική υδατική φάση εκχυλίζεται (x3) με 10 mL EtOAc. Η οργανική φάση πλένεται (x1) με 10 mL Brine και ξηραίνεται υπεράνω άνυδρου Na₂SO₄, προστίθεται σκόνη ενεργού άνθρακα και αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 40 min. Στη συνέχεια, το μίγμα διηθείται υπό κενό μέσω κλίνης γης διατόμων. Το διήθημα που προκύπτει συμπυκνώνεται υπό κενό μέχρι ξηρού. Ζυγίζονται 0.11 g κίτρινου λαδιού. Απόδοση ~90 %.

Φάσμα 75: ^1H NMR (600 MHz, DMSO-d) δ 8.38 – 8.28 (m, 2H), 7.87 – 7.75 (m, 2H), 7.57 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.27 (t, $J = 5.5$ Hz, 1H), 6.71 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.46 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 5.16 (s, 2H), 3.83 – 3.75 (m, 2H), 3.58 – 3.50 (m, 2H), 2.82 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.58 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.19 (s, 3H), 2.06 – 1.97 (m, 2H), 1.85 – 1.80 (t, 1H).

Φάσμα 76: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO-d) δ 150.82, 150.64, 149.37, 147.70, 137.19, 130.15, 128.46, 127.94, 127.88, 119.97, 117.72, 115.09, 99.36, 73.96, 66.78, 60.69, 59.17, 55.47, 46.88, 46.15.

3.4.5 Σχηματισμός θειουρίας

(37a) (R)-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-(2-(methoxymethyl)pyrrolidin-1-yl)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea



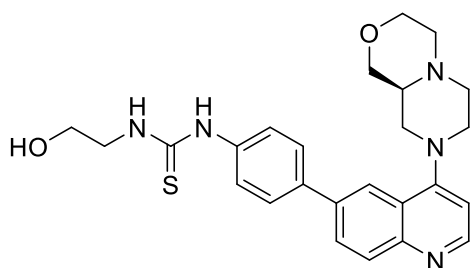
Πειραματική Διαδικασία

Ένα αιώρημα των **34a** (0.07 g, 0.22 mmol, 1 eq), και TCDI (0.05 g, 0.28 mmol, 1.3 eq) σε 0.6 mL DCM (8 vol) αφήνεται υπό ανάδευση σε RT για 1 h. Η αντίδραση ελέγχεται με HPLC όπου διαπιστώνεται η πλήρης κατανάλωση του **34a** και η δημιουργία του ενδιαμέσου **E**. Μετά το πέρας της 1 h παρατηρείται ότι το μίγμα της αντίδρασης έχει μετατραπεί σε διάλυμα και έχουμε πλήρη κατανάλωση του **34a**. Ακολούθως, προστίθενται 0.13 g (2.2 mmol, 10 eq) 2-αμινοαιθανόλης και το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση σε RT για 16 h. Η αντίδραση ελέγχεται με HPLC και διαπιστώνεται η πλήρης κατανάλωση του ενδιαμέσου **E** και ο σχηματισμός του τελικού προϊόντος **37a**. Στην συνέχεια, ο διαλύτης συμπυκνώνεται υπό κενό, προκύπτει σκούρο καφέ μίγμα λαδιού-στερεού, το οποίο μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη όπου προστίθενται 15 mL H₂O και εκχυλίζονται (x2) με 10 mL DCM. Η οργανική φάση πλένεται (x3) με 20 mL H₂O και στην συνέχεια ξηραίνεται με άνυδρο Na₂SO₄, διηθείται από πτυχωτό ηθμό και συμπυκνώνεται υπό κενό μέχρι ξηρού. Το στερεό που προκύπτει πλένεται με διαιθυλαιθέρα. Ζυγίζονται 0.059 g μπεζ- καφέ στερεού. Απόδοση ~65 %.

Φάσμα 77: ¹H NMR (600 MHz, DMSO-d) δ 9.78 (s, 1H), 8.46 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.02 – 7.88 (m, 3H), 7.83 (s, 1H), 7.74 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.62 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 6.83 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 4.83 (s, 1H), 4.36 (m, 1H), 4.06 (m, *J* = 17.6, 8.7 Hz, 1H), 3.68 – 3.63 (t, 1H), 3.59 – 3.50 (m, 6H), 2.22 (m, 1H), 2.00 (m, *J* = 17.9 Hz, 1H), 1.91 (m, *J* = 14.5, 9.4 Hz, 2H), 1.82 – 1.73 (m, 2H).

Φάσμα 78: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO-d) δ 181.32, 154.23, 149.23, 148.30, 135.83, 135.51, 129.30, 128.94, 127.91, 123.96, 123.30, 122.57, 105.69, 73.73, 60.14, 59.97, 59.53, 55.94, 47.40, 29.98, 25.70.

Σύμφωνα με την παραπάνω πειραματική πορεία παρασκευάστηκαν και τα παράγωγα **37b-37s**.

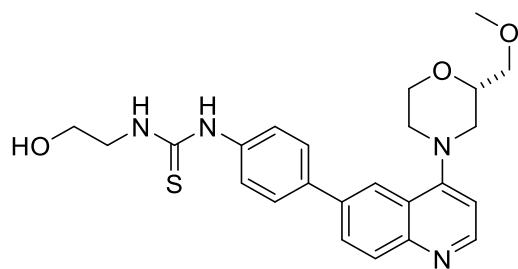


37b

(37b) (S)-1-(4-(4-(hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl)quinolin-6-yl)phenyl)-3-(2-hydroxyethyl)thiourea

Φάσμα 79: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 9.86 (s, 1H), 8.77 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.14 – 8.08 (m, 2H), 7.95 (s, 1H), 7.84 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.75 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.09 (d, $J = 13.2, 4.8$ Hz, 1H), 4.96 (s, 1H), 3.88 (q, $J = 17.3, 10.8$ Hz, 3H), 3.75 – 3.63 (m, 7H), 3.28 (t, $J = 10.4$ Hz, 1H), 3.09 (t, $J = 11.0$ Hz, 1H), 2.99 (d, $J = 10.7$ Hz, 1H), 2.81 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H), 2.71 (q, $J = 22.3, 11.2$ Hz, 3H), 2.47 (t, $J = 10.2$ Hz, 1H).

Φάσμα 80: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO-d) δ 180.44, 156.15, 150.74, 136.61, 130.25, 130.10, 128.10, 127.20, 123.10, 123.08, 122.93, 120.41, 109.61, 109.27, 68.15, 66.39, 59.52, 59.25, 53.54, 53.42, 52.25, 52.15, 46.53.

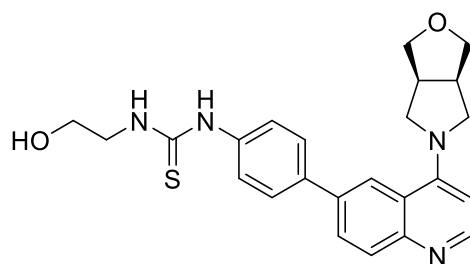


37c

(37c) (S)-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-(2-(methoxymethyl)morpholino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea

Φάσμα 81: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 9.86 (s, 1H), 8.79 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.15 – 8.10 (m, 2H), 7.94 (s, 1H), 7.86 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.74 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.12 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 4.95 (s, 1H), 4.10 (d, $J = 10.5$ Hz, 2H), 4.01 (t, $J = 10.6$ Hz, 1H), 3.68 (s, 4H), 3.57 (m, $J = 26.7, 16.6, 9.2$ Hz, 6H), 3.07 (t, $J = 10.4$ Hz, 1H), 2.89 (t, $J = 11.0$ Hz, 1H).

Φάσμα 82: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 180.40, 155.94, 150.78, 148.32, 139.34, 136.56, 134.94, 130.29, 128.03, 127.18, 123.05, 122.78, 120.31, 109.46, 73.91, 72.74, 65.72, 59.20, 58.63, 54.24, 51.75, 46.48, 30.69.



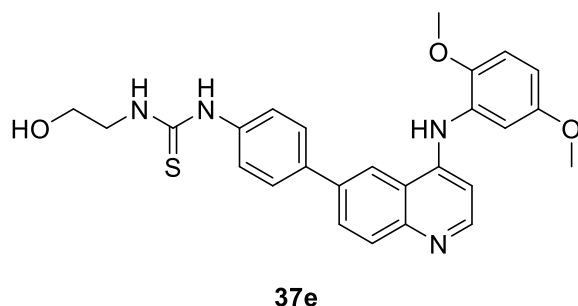
37d

(37d) 1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-((3aR,6aS)-tetrahydro-1H-furo[3,4-c]pyrrol-5(3H)-yl)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea

Φάσμα 83: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 9.77 (s, 1H), 8.62 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 8.45 (s, 1H), 8.07 (s, 2H), 7.84 (d, $J = 8.2$ Hz, 3H), 7.75 (d, $J = 9.7$ Hz, 3H), 6.88 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.88 – 3.82 (m, 3H), 3.78 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H), 3.59 (m, $J = 9.5$ Hz, 3H), 3.17 (s, 3H).

Φάσμα 84: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 180.87, 153.41, 149.79, 147.95, 135.97, 135.57, 129.48, 128.51, 127.62, 127.56, 123.62, 122.21, 122.13, 106.66, 73.17, 73.12, 70.24, 59.68, 56.97, 46.94, 43.34.

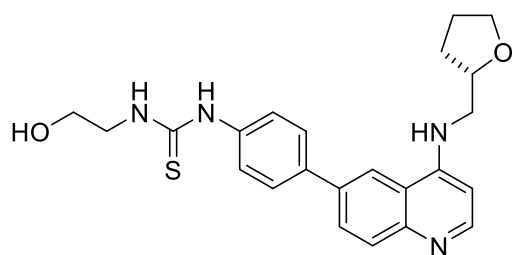
Στην περίπτωση του τελικού προϊόντος **37e** πραγματοποιήθηκε ανακρυστάλλωση με σύστημα διαλυτών DCM- εξάνιο σε αναλογία 1:1 για τον καθαρισμό του. Στην συνέχεια, το στερεό που απομονώθηκε ξεπλύθηκε με διαιθυλαιθέρα.



(37e) 1-(4-(4-((2,5-dimethoxyphenyl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)-3-(2-hydroxyethyl)thiourea

Φάσμα 85: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 9.85 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.46 (d, $J = 4.2$ Hz, 1H), 8.14 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 8.01 (m, $J = 27.1, 8.0$ Hz, 3H), 7.91 (s, 1H), 7.72 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.22 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.97 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 6.42 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 4.95 (s, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 3.67 (s, 4H).

Φάσμα 86: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 180.47, 153.46, 149.28, 148.26, 148.22, 142.91, 139.07, 135.60, 134.99, 129.19, 128.70, 127.81, 127.10, 123.05, 119.37, 119.21, 113.54, 112.84, 111.54, 101.77, 98.49, 59.25, 55.94, 55.54, 46.53.



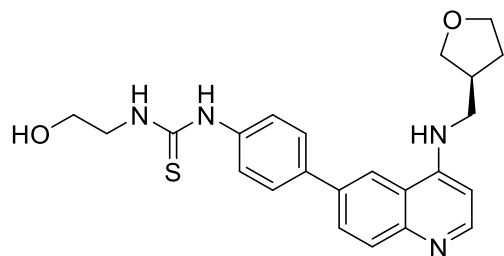
37f

(37f) (S)-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-(((tetrahydrofuran-2-yl)methyl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea

Φάσμα 87: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 10.51 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.44 (d, J = 34.6 Hz, 2H), 8.28 (s, 1H), 8.11 (d, J = 20.2, 8.9 Hz, 1H), 8.04 – 7.90 (m, 2H), 7.82 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 6.73 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 4.96 (s, 1H), 4.31 – 4.23 (m, 1H), 3.89 (q, J = 13.9, 7.1 Hz, 1H), 3.75 (q, J = 14.2, 7.2 Hz, 1H), 3.63 (s, J = 30.5 Hz, 3H), 3.57 – 3.52 (d, 2H), 2.10 (m, J = 12.2, 7.3 Hz, 1H), 2.03 – 1.87 (m, 2H), 1.80 (m, J = 15.0, 7.1 Hz, 1H).

Φάσμα 88: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 181.64, 140.61, 136.90, 135.25, 129.61, 128.28, 127.92, 127.87, 123.51, 120.12, 119.43, 118.86, 99.61, 77.55, 68.30, 60.29, 47.83, 47.29, 45.25, 29.89, 26.15.

Κατά την σύνθεση του προϊόντος **37g**, μετά το πέρας της αντίδρασης παρατηρήθηκε κακή διαλυτότητα του μίγματος αντίδρασης σε DCM. Για τον λόγο αυτό, μετά τις πλύσεις της οργανικής φάσης (x3) με 20 mL H₂O, προστέθηκε EtOH στην οργανική φάση.



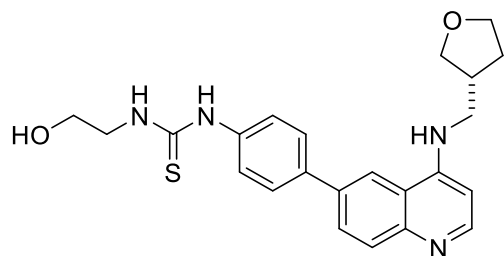
37g

(37g) (S)-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-(((tetrahydrofuran-3-yl)methyl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea

Φάσμα 89: ¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ 10.32 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.40 (d, *J* = 4.8 Hz, 2H), 8.24 (s, 1H), 8.05 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.85 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.72 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 6.65 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 4.89 (s, 1H), 3.81 (q, *J* = 13.8, 7.3 Hz, 1H), 3.75 – 3.70 (t, 2H), 3.64 (t, *J* = 14.9, 7.5 Hz, 4H), 3.37 (t, *J* = 5.7 Hz, 3H), 2.71 (m, 1H), 2.02 (m, *J* = 12.1, 5.7 Hz, 1H), 1.70 (m, *J* = 12.0, 5.8 Hz, 1H).

Φάσμα 90: ¹³C NMR (151 MHz, DMSO) δ 181.01, 155.55, 152.50, 140.05, 129.30, 127.45, 123.00, 119.67, 118.81, 98.84, 71.04, 67.26, 59.69, 46.75, 45.78, 37.83, 30.89, 30.06.

Και στην περίπτωση του εναντιομερούς του παραπάνω προϊόντος **37h**, μετά το πέρας της αντίδρασης παρατηρήθηκε κακή διαλυτότητα του μίγματος αντίδρασης σε DCM και προστέθηκε EtOH, μετά τις πλύσεις της οργανικής φάσης (x3) με 20 mL H₂O.

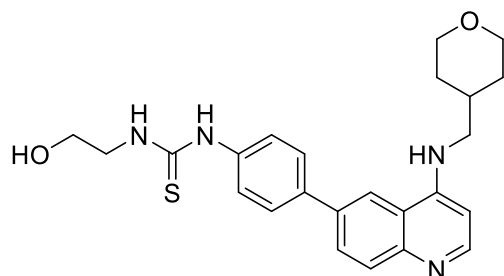


37h

(37h) (R)-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-(((tetrahydrofuran-3-yl)methyl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea

Φάσμα 91: ¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ 10.18 (s, 1H), 8.73 (s, 1H), 8.50 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 8.19 – 8.08 (m, 4H), 7.96 (m, *J* = 29.6, 8.2 Hz, 4H), 7.78 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 6.71 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 3.91 (q, *J* = 13.8, 7.7 Hz, 2H), 3.86 – 3.81 (t, 2H), 3.75 (q, *J* = 14.7, 7.6 Hz, 4H), 2.81 (m, *J* = 5.6 Hz, 2H), 2.17 – 2.08 (m, 2H), 1.79 (m, *J* = 12.6, 6.7 Hz, 2H).

Φάσμα 92: ¹³C NMR (151 MHz, DMSO) δ 180.98, 169.75, 151.73, 149.11, 136.19, 128.77, 127.49, 123.19, 119.47, 119.04, 98.91, 71.07, 67.26, 63.26, 59.70, 46.85, 45.79, 40.38, 40.25, 40.11, 39.97, 39.83, 39.69, 39.55, 37.85, 30.10.



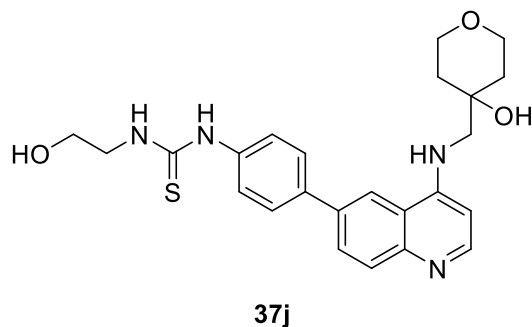
37i

(37i) 1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-(((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)methyl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea

Φάσμα 93: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 10.44 (s, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.48 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.12 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.99 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.94 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.81 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 6.69 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 4.97 (s, 1H), 3.96 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 2.12 (s, 1H), 1.80 (d, $J = 12.3$ Hz, 2H), 1.38 (m, $J = 9.2$ Hz, 2H).

Φάσμα 94: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 181.03, 140.01, 136.26, 134.79, 128.92, 127.41, 122.93, 119.59, 119.00, 117.78, 116.20, 98.95, 67.26, 65.38, 59.72, 48.71, 46.75, 34.00, 31.11, 15.64.

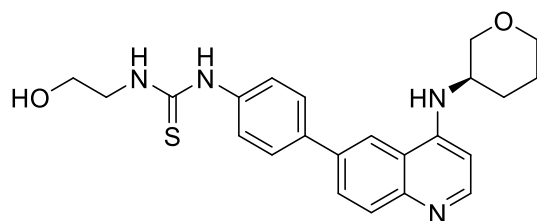
Κατά την σύνθεση του προϊόντος **37j**, μετά το πέρας της αντίδρασης παρατηρήθηκε κακή διαλυτότητα του μίγματος αντίδρασης σε DCM. Για τον λόγο αυτό, μετά τις πλύσεις της οργανικής φάσης (x3) με 20 mL H_2O , προστέθηκε EtOH στην οργανική φάση.



(37j) 1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-(((4-hydroxytetrahydro-2H-pyran-4-yl)methyl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea

Φάσμα 95: ^1H NMR (600 MHz, DMSO-d) δ 10.36 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.38 – 8.23 (m, 2H), 7.95 (dd, $J = 8.7, 1.4$ Hz, 1H), 7.85 (m, $J = 20.3, 8.4$ Hz, 3H), 7.70 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.47 (s, 1H), 6.65 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 5.04 (s, 1H), 4.85 (s, $J = 21.3$ Hz, 1H), 3.63 (d, $J = 7.2$ Hz, 5H), 3.55 (s, 4H), 2.81 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H), 1.70 – 1.63 (m, 2H), 1.57 (d, $J = 12.4$ Hz, 2H).

Φάσμα 96: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO-d) δ 181.49, 152.45, 150.55, 140.30, 136.22, 129.66, 128.63, 127.94, 123.35, 120.05, 119.89, 100.07, 70.71, 69.67, 63.76, 60.20, 58.51, 54.35, 47.21, 42.23, 36.19.

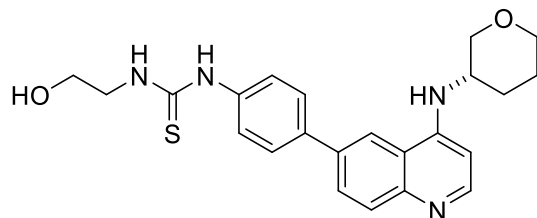


37k

(37k) (R)-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-((tetrahydro-2H-pyran-3-yl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea

Φάσμα 97: ^1H NMR (600 MHz, DMSO-d) δ 9.78 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 7.94 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.82 (d, $J = 8.1$ Hz, 4H), 7.63 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.99 (d, $J = 5.9$ Hz, 1H), 6.62 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H), 4.87 (s, 1H), 3.98 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H), 3.84 (d, $J = 10.9$ Hz, 1H), 3.73 (s, 2H), 3.39 – 3.33 (m, 2H), 3.31 – 3.26 (m, 1H), 2.11 (s, 1H), 1.72 (m, $J = 21.1, 9.7$ Hz, 4H).

Φάσμα 98: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO-d) δ 181.38, 151.17, 150.42, 148.13, 139.86, 136.22, 136.07, 130.12, 128.59, 128.06, 123.85, 119.86, 99.88, 70.66, 68.17, 60.16, 49.24, 47.40, 29.88, 25.72.



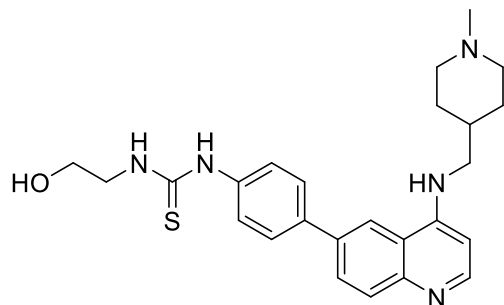
37l

(37l) (S)-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-((tetrahydro-2H-pyran-3-yl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea

Φάσμα 99: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 10.40 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.46 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.03 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.92 (d, $J = 8.3$ Hz, 3H), 7.80 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 7.09 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 6.69 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 4.97 (s, 1H), 4.07 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 3.94 (d, $J = 10.7$ Hz, 1H), 3.80 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 3.66 (s, 5H), 2.21 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 1.89 – 1.76 (m, 3H).

Φάσμα 100: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 181.04, 150.95, 149.78, 148.02, 135.73, 129.91, 127.97, 127.44, 122.99, 119.49, 119.39, 99.64, 99.36, 70.20, 67.70, 65.38, 59.72, 58.16, 48.78, 46.75, 41.81, 29.43, 25.35.

Η διαφορά στην σύνθεση του τελικού προϊόντος **37n** έγκειται στο ότι κατά την αραίωση του μίγματος αντίδρασης με DCM παρατηρήθηκε σχηματισμός αδιάλυτου λαδιού. Ακολούθησαν πλύσεις της οργανικής φάσης (x3) με 20 mL H_2O και στην συνέχεια τα υπολείμματα λαδιού, που ήταν καθαρό προϊόν, διαλύθηκαν σε EtOH. Ακολούθως, οι δύο οργανικές φάσεις (DCM και EtOH) ενώθηκαν σε μία.

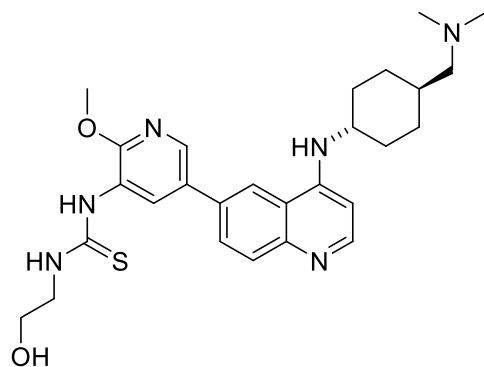


37n

(37n) 1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-(((1-methylpiperidin-4-yl)methyl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea

Φάσμα 101: ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ 10.36 (s, 1H), 8.60 (s, 1H), 8.35 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 8.27 (s, 1H), 7.96 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.82 (d, $J = 8.5$ Hz, 4H), 7.70 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 6.51 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 4.86 (s, $J = 33.4$ Hz, 1H), 3.23 (t, 3H), 2.99 (d, $J = 10.4$ Hz, 2H), 2.34 (s, 3H), 2.22 (s, $J = 26.7$ Hz, 2H), 1.82 (d, $J = 10.6$ Hz, 4H), 1.45 – 1.35 (q, 2H).

Φάσμα 102: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO-d) δ 180.61, 150.82, 149.61, 146.42, 144.98, 139.44, 135.41, 128.63, 127.78, 126.92, 122.51, 118.96, 118.89, 116.91, 98.54, 59.30, 54.09, 47.59, 46.31, 44.50, 41.30, 32.77, 28.60, 25.51, 18.58.



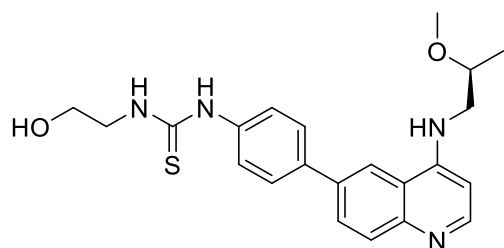
37o

(37o) 1-(5-(4-(((1*r*,4*r*)-4-((dimethylamino)methyl)cyclohexyl)amino)quinolin-6-yl)-2-methoxypyridin-3-yl)-3-(2-hydroxyethyl)thiourea

Φάσμα 103: ^1H NMR (600 MHz, DMSO-d) δ 8.75 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.44 (d, J = 20.8 Hz, 2H), 8.35 (s, 1H), 8.26 – 8.08 (m, 3H), 7.98 (s, 3H), 7.15 (d, J = 25.6 Hz, 2H), 6.80 (s, 1H), 3.18 (q, J = 5.5 Hz, 2H), 2.63 (s, 9H), 2.04 (s, 3H), 1.93 – 1.82 (m, 4H), 1.70 (s, 2H), 1.53 (q, J = 10.9 Hz, 3H).

Φάσμα 104: Δεν συμπεριλαμβάνεται φάσμα.

Στην περίπτωση του τελικού προϊόντος **37p**, μετά το πέρας της επεξεργασίας του μίγματος αντίδρασης, όπως περιγράφεται παραπάνω, λαμβάνεται μπεζ στερεό στο οποίο προστίθενται 2 mL EtOH. Παρατηρείται καταβύθιση λευκού στερεού, το οποίο ελέγχεται με HPLC και διαπιστώνεται πως δεν πρόκειται για το τελικό προϊόν. Στη συνέχεια, συμπυκνώνεται η EtOH υπό κενό.

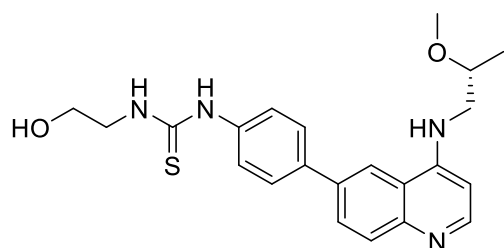


37p

(37p) (S)-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-((2-methoxypropyl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea

Φάσμα 105: ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ 10.33 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 8.04 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.84 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.72 (d, 1H), 6.71 – 6.57 (m, 1H), 4.89 (s, 1H), 3.67 (m, $J = 6.1$ Hz, 2H), 3.55 (s, 3H), 3.28 (s, 3H), 2.07 (s, 2H), 1.17 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H).

Φάσμα 106: Δεν συμπεριλαμβάνεται φάσμα.

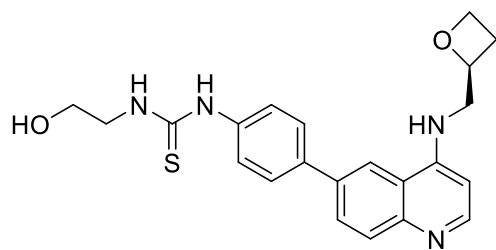


37q

(37q) (R)-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-((2-methoxypropyl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea

Δεν συμπεριλαμβάνονται φάσματα.

Και στην περίπτωση του τελικού προϊόντος **37r**, μετά το πέρας της επεξεργασίας του μίγματος αντίδρασης, όπως περιγράφεται παραπάνω, λαμβάνεται μπεζ στερεό στο οποίο προστίθενται 2 mL EtOH. Παρατηρείται καταβύθιση λευκού στερεού, το οποίο ελέγχεται με HPLC και διαπιστώνεται και σε αυτή την περίπτωση πως δεν πρόκειται για το τελικό προϊόν. Στη συνέχεια, συμπυκνώνεται η EtOH υπό κενό.

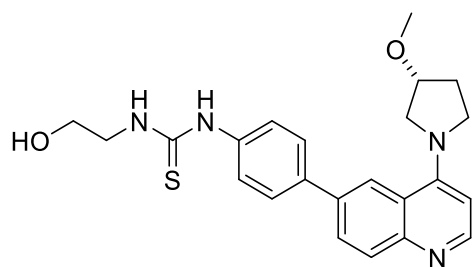


37r

(37r) (S)-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-((oxetan-2-ylmethyl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea

Φάσμα 107: ^1H NMR (600 MHz, DMSO-d) δ 10.33 (s, 1H), 8.73 (s, 1H), 8.43 – 8.35 (m, 2H), 8.24 (s, 1H), 8.06 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.91 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.85 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.71 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 6.70 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 4.99 (m, J = 41.3, 35.5 Hz, 2H), 4.51 (q, J = 13.9, 7.5 Hz, 1H), 4.43 (m, J = 8.9, 5.9 Hz, 1H), 3.68 – 3.62 (m, 4H), 2.72 – 2.64 (m, 1H), 2.58 – 2.52 (m, 1H).

Φάσμα 108: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO-d) δ 181.55 (s), 153.45 (s), 148.45 (s), 140.61 (s), 136.98 (s), 129.75 (s), 127.93 (s), 123.47 (s), 120.17 (s), 119.39 (s), 99.85 (s), 80.63 (s), 68.61 (s), 60.24 (s), 49.24 (s), 47.26 (s), 25.66 (s).

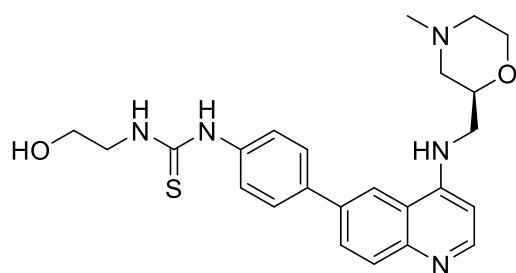


37s

(37s) (R)-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-(3-methoxypyrrolidin-1-yl)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea

Φάσμα 109: ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 9.86 (s, 1H), 8.53 – 8.47 (m, 2H), 8.01 (dd, J = 26.1, 8.6 Hz, 2H), 7.92 (s, 1H), 7.85 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.71 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 6.67 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 4.95 (s, 1H), 4.23 (s, 1H), 4.13 – 4.06 (m, 1H), 3.92 (q, J = 15.9, 8.8 Hz, 1H), 3.74 (m, J = 10.5 Hz, 2H), 3.68 (s, 5H), 2.25 (d, 1H), 2.17 (d, J = 8.9 Hz, 1H).

Φάσμα 110: ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 180.85, 152.54, 150.03, 149.29, 135.88, 134.73, 130.12, 127.81, 127.42, 123.53, 122.65, 121.21, 103.70, 79.34, 65.39, 59.68, 57.32, 56.30, 50.07, 46.96, 30.59.

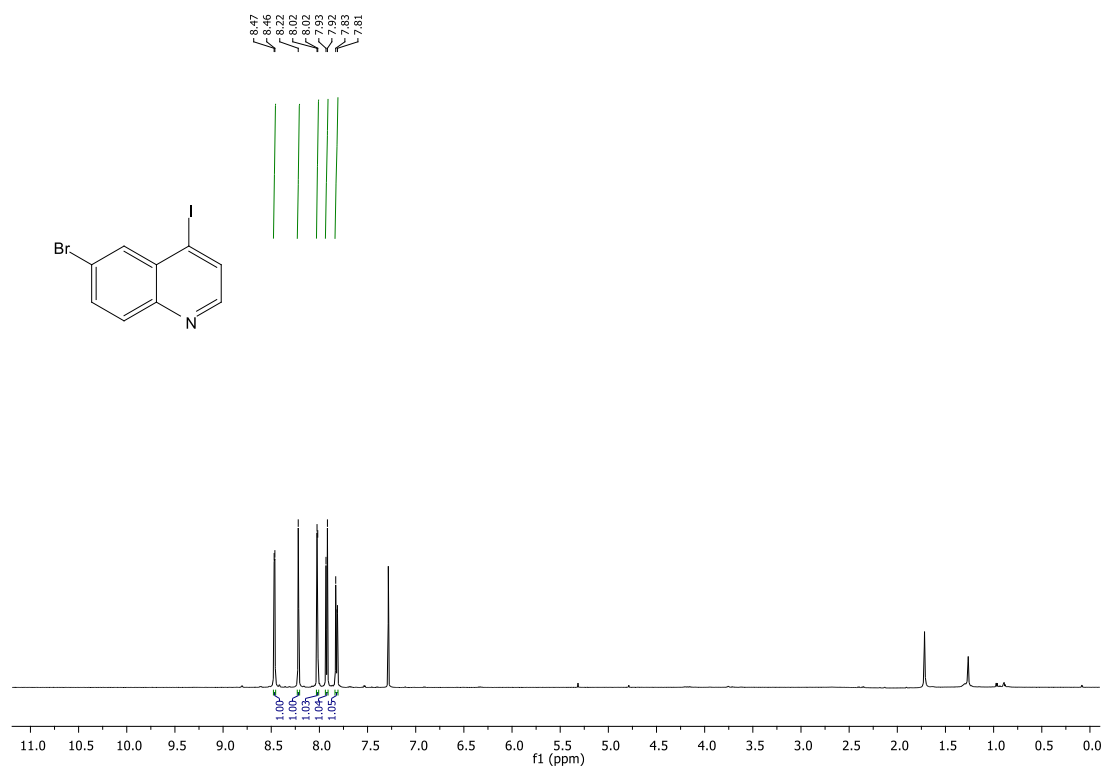


37m

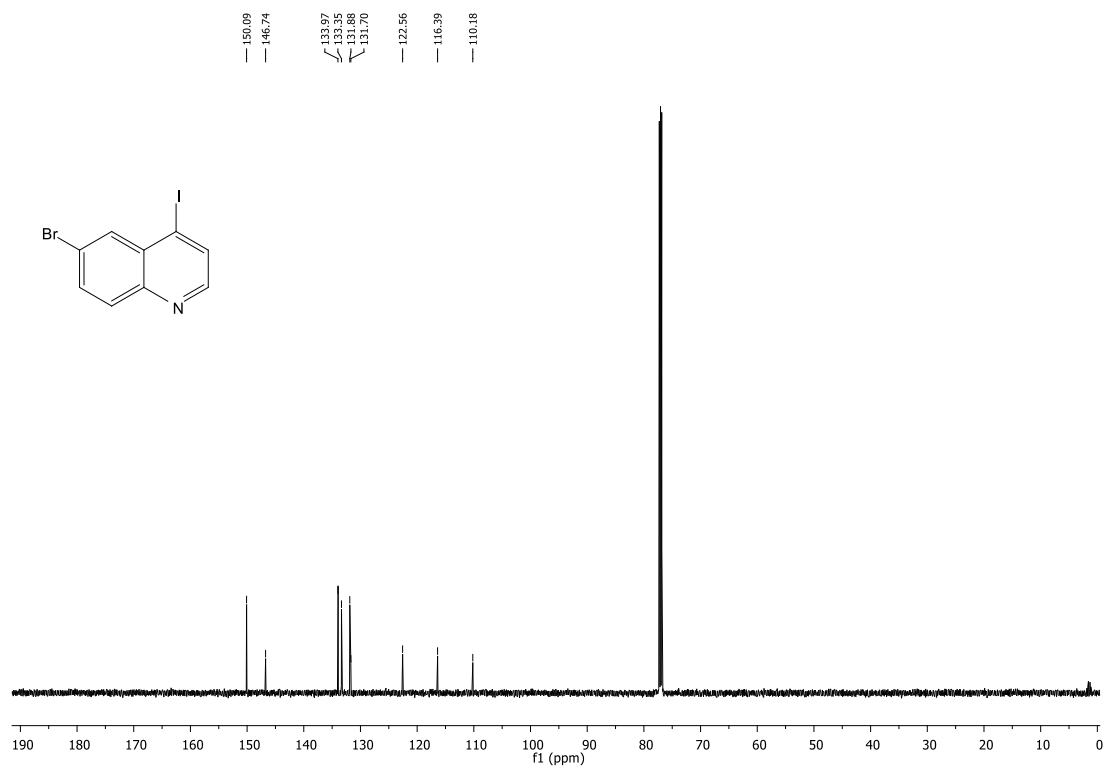
(37m) (S)-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-(((4-methylmorpholin-2-yl)methyl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea

Δεν συμπεριλαμβάνονται φάσματα.

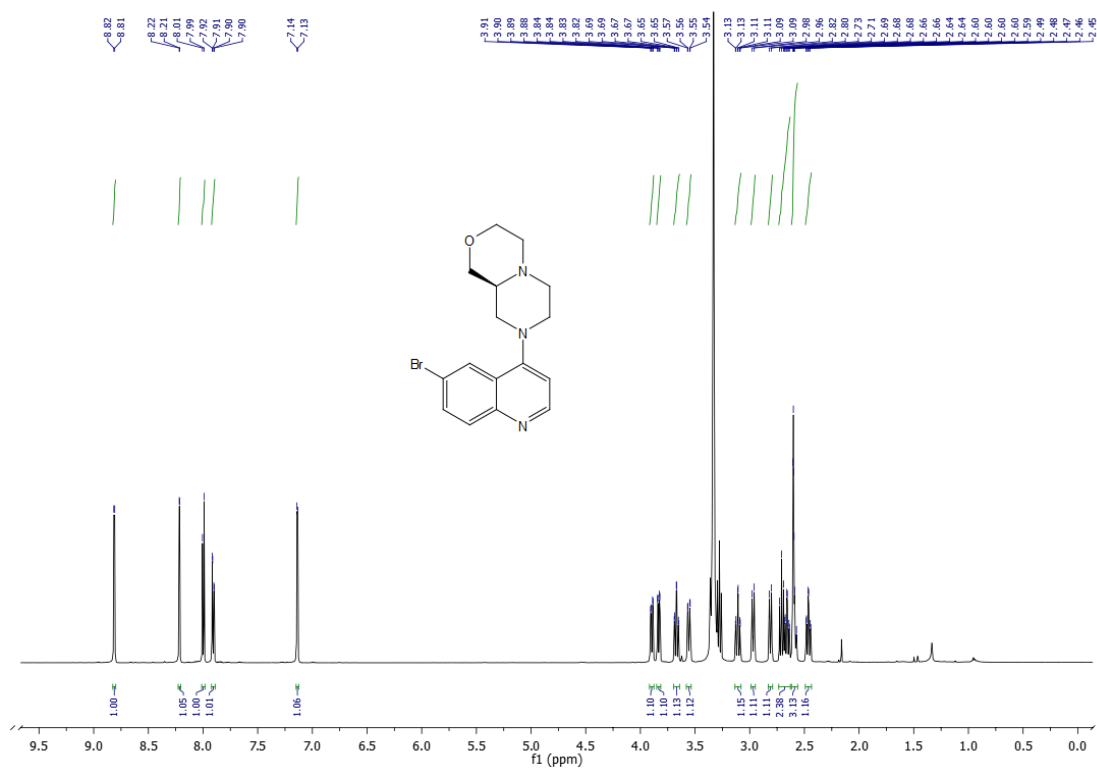
Παράρτημα NMR



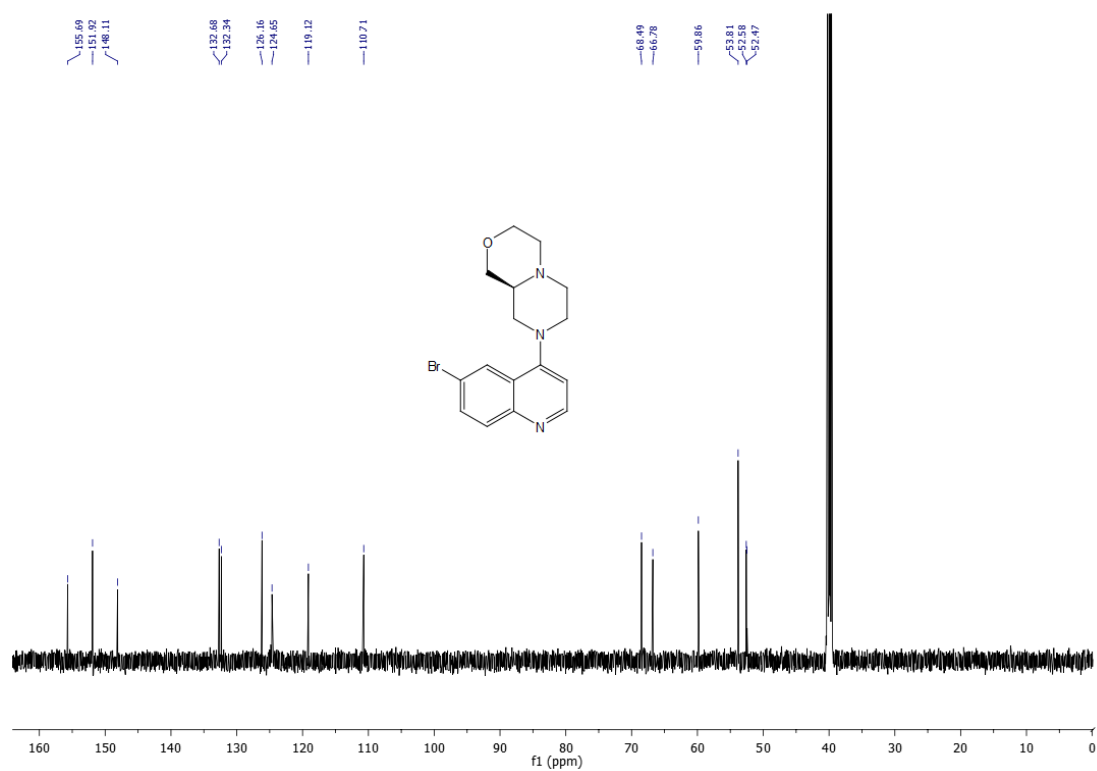
Φάσμα 1- ¹H NMR (31) 6-bromo-4-iodoquinoline



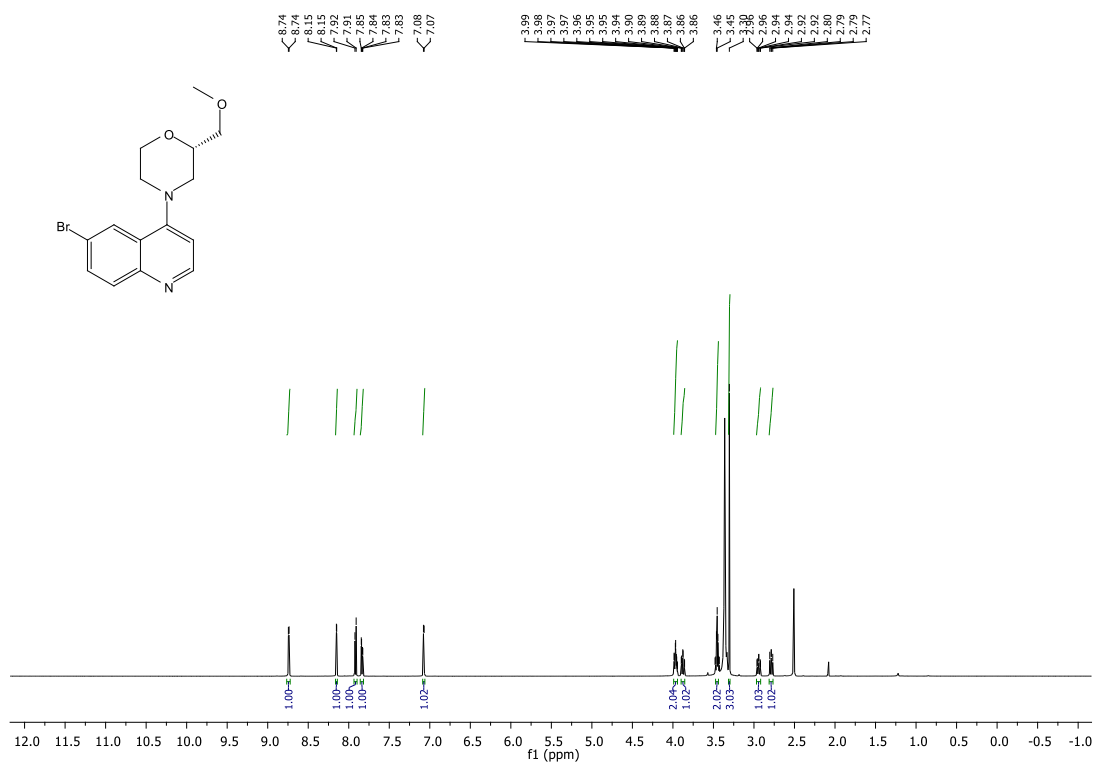
Φάσμα 2- ¹³C NMR (31) 6-bromo-4-iodoquinoline



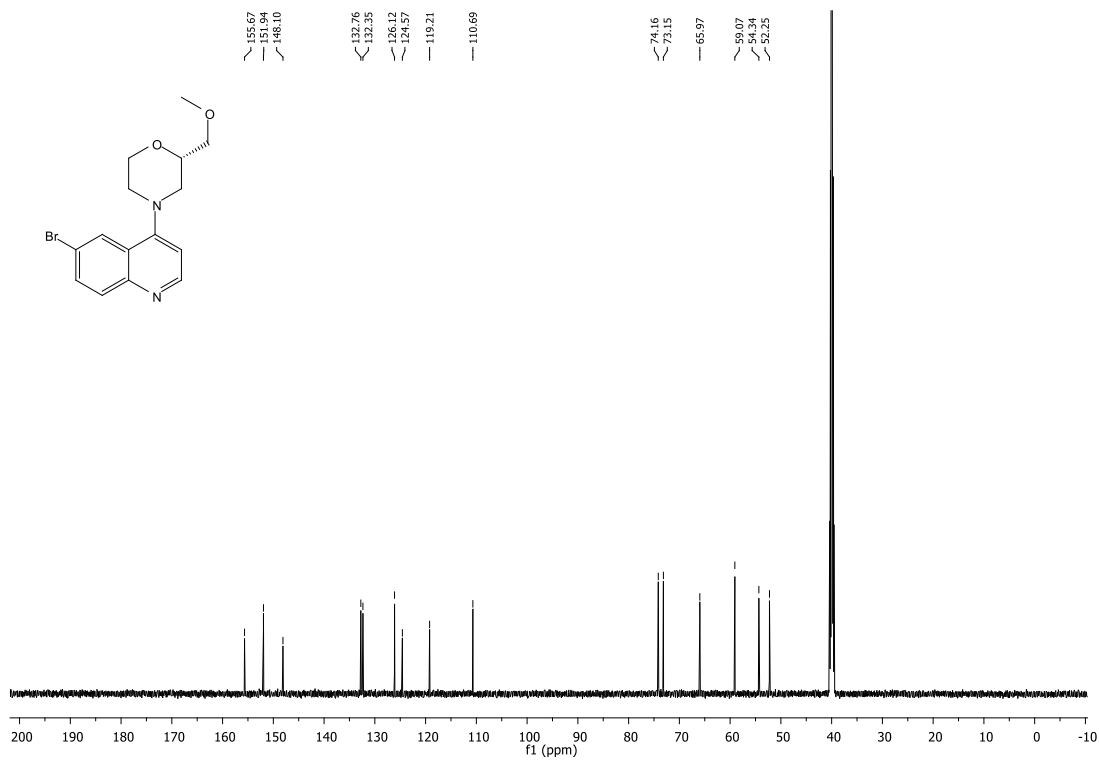
Φάσμα 5- ^1H NMR (33b) *(S)*-8-(6-bromoquinolin-4-yl)octahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazine



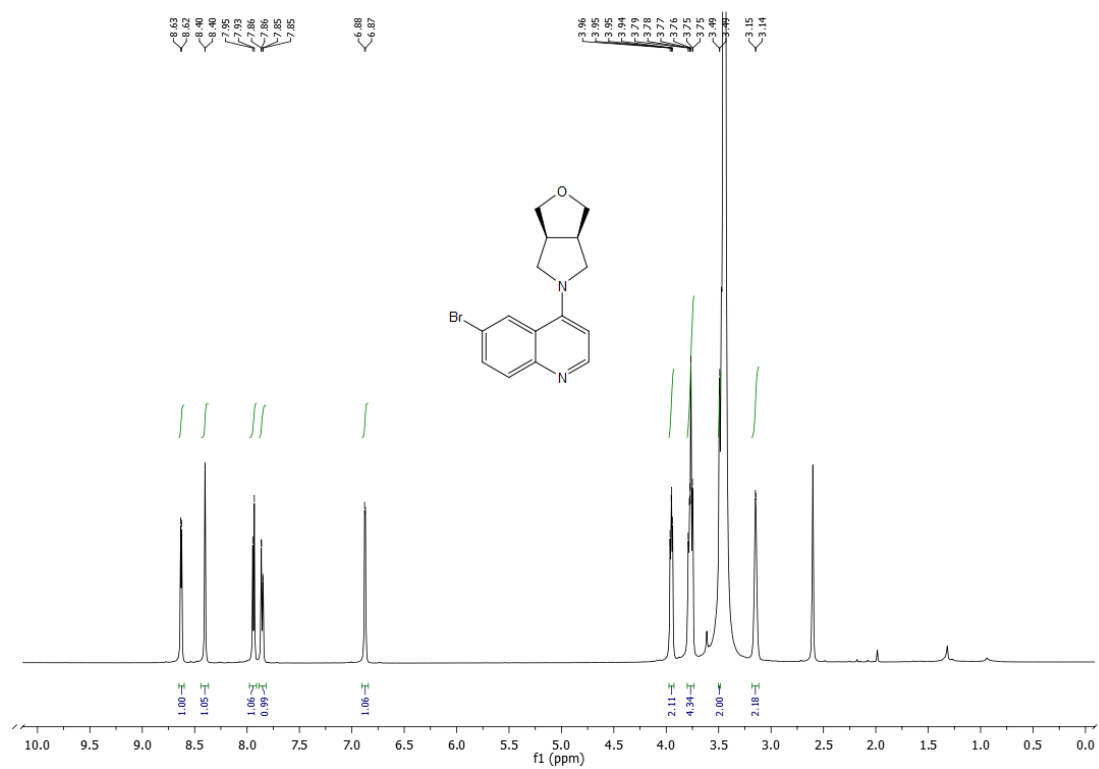
Φάσμα 6- ^{13}C NMR (33b) *(S)*-8-(6-bromoquinolin-4-yl)octahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazine



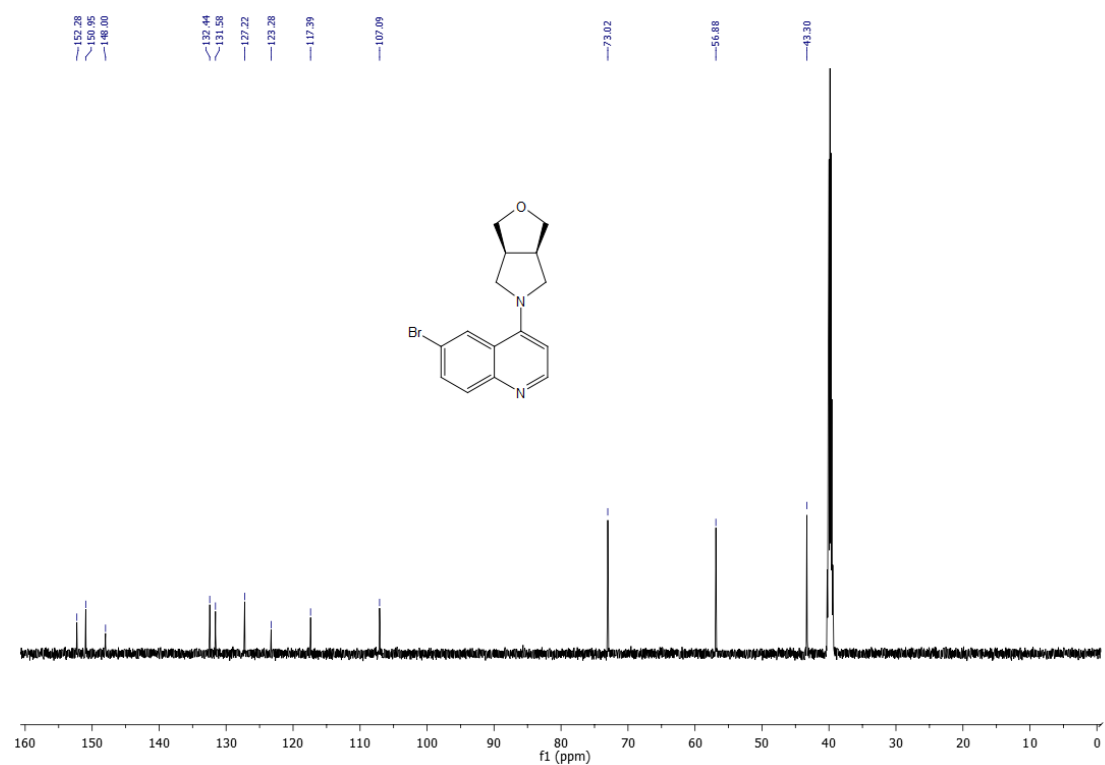
Φάσμα 7- ¹H NMR (33c) (S)-4-(6-bromoquinolin-4-yl)-2-(methoxymethyl)morpholine



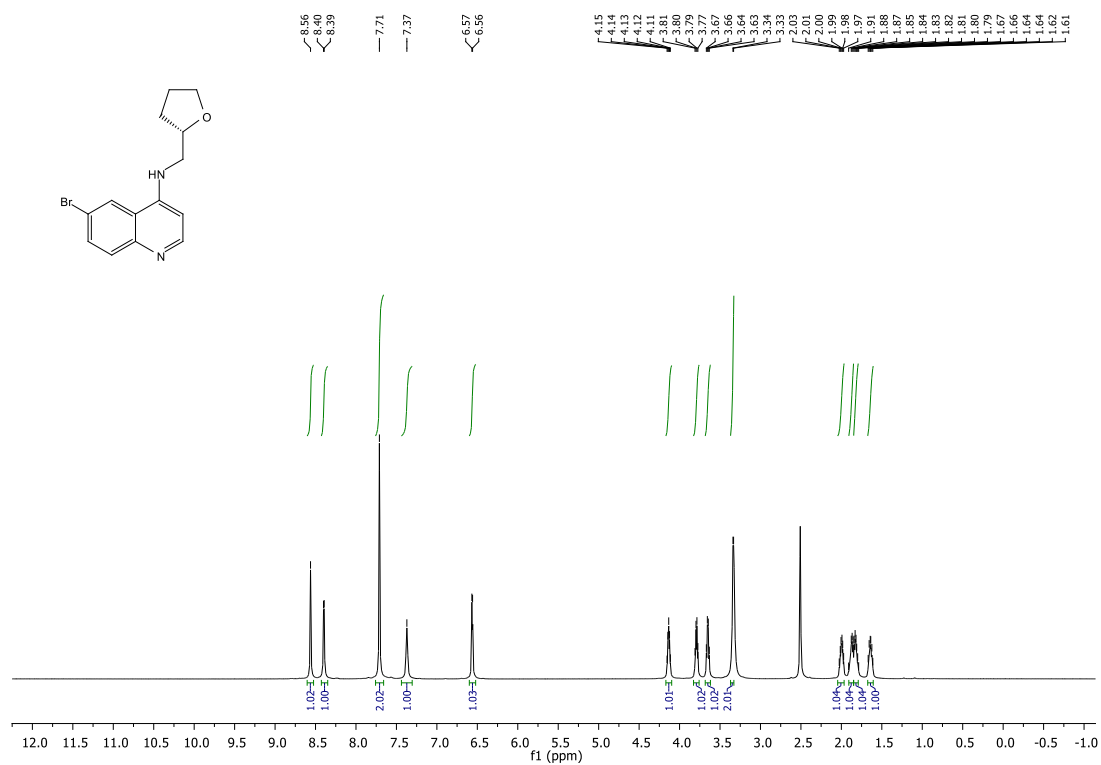
Φάσμα 8- ¹³C NMR (33c) (S)-4-(6-bromoquinolin-4-yl)-2-(methoxymethyl)morpholine



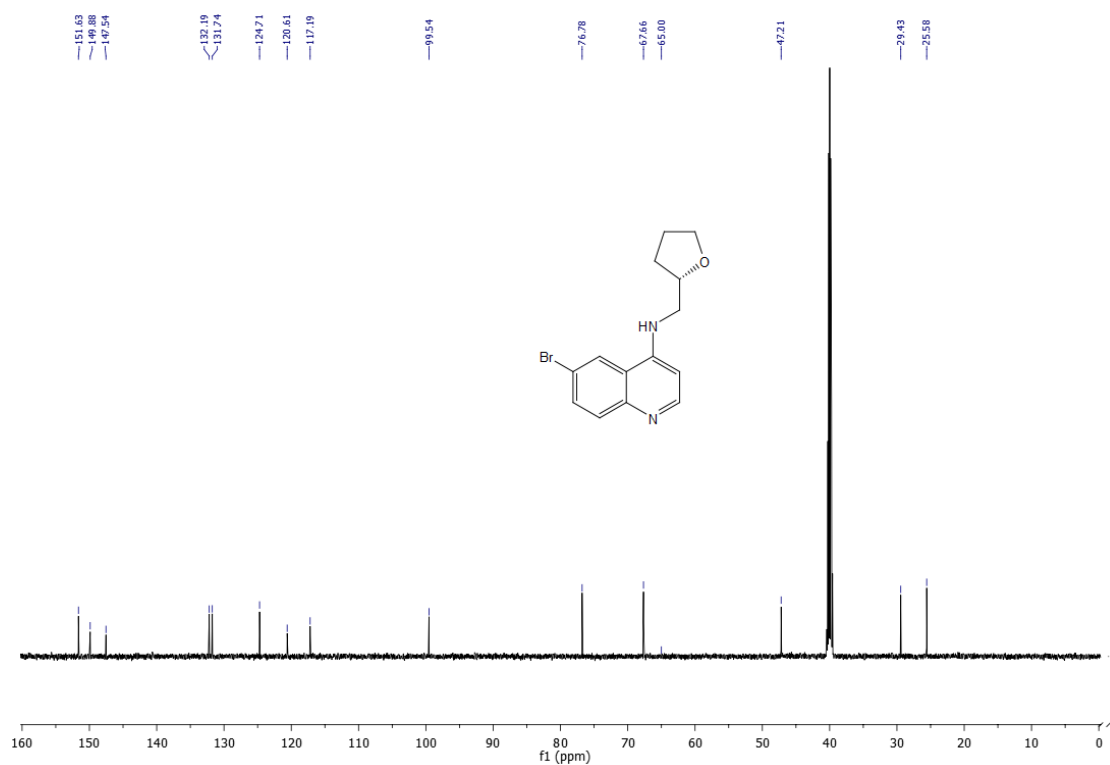
Φάσμα 9- ¹H NMR (33d) (3aR,6aS)-5-(6-bromoquinolin-4-yl)hexahydro-1H-furo[3,4-c]pyrrole



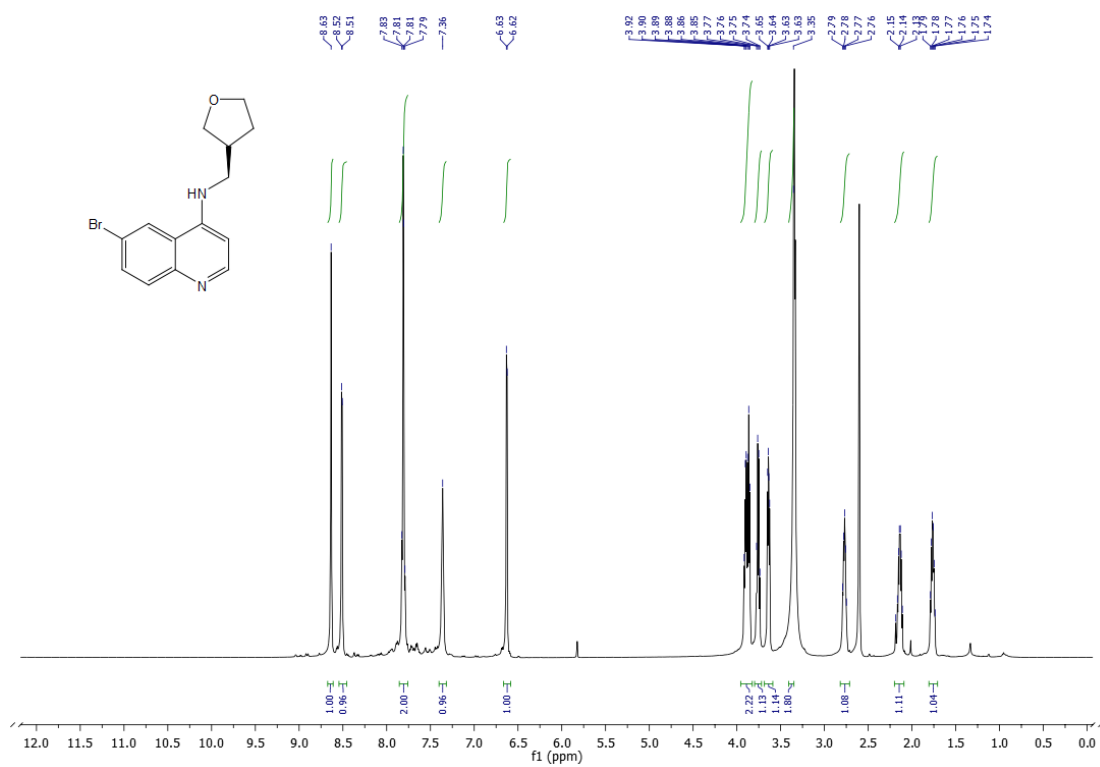
Φάσμα 10- ¹³C NMR (33d) (3aR,6aS)-5-(6-bromoquinolin-4-yl)hexahydro-1H-furo[3,4-c]pyrrole



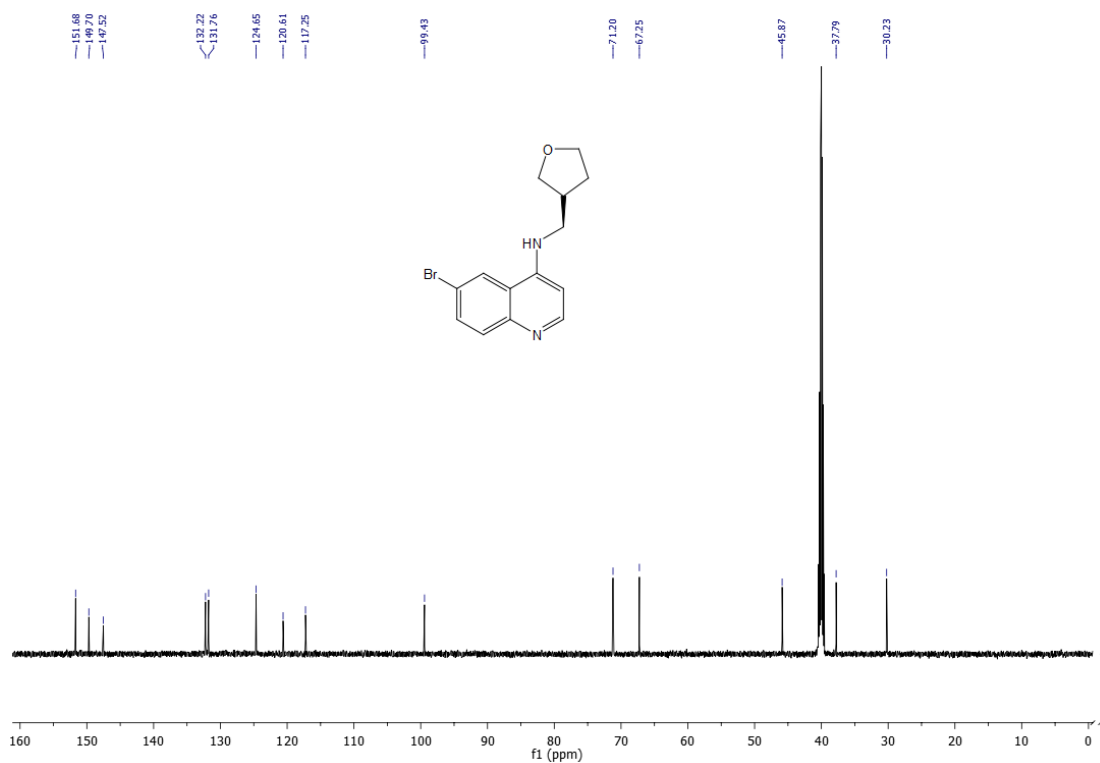
Φάσμα 13- ¹H NMR (33f) (S)-6-bromo-N-((tetrahydrofuran-2-yl)methyl)quinolin-4-amine



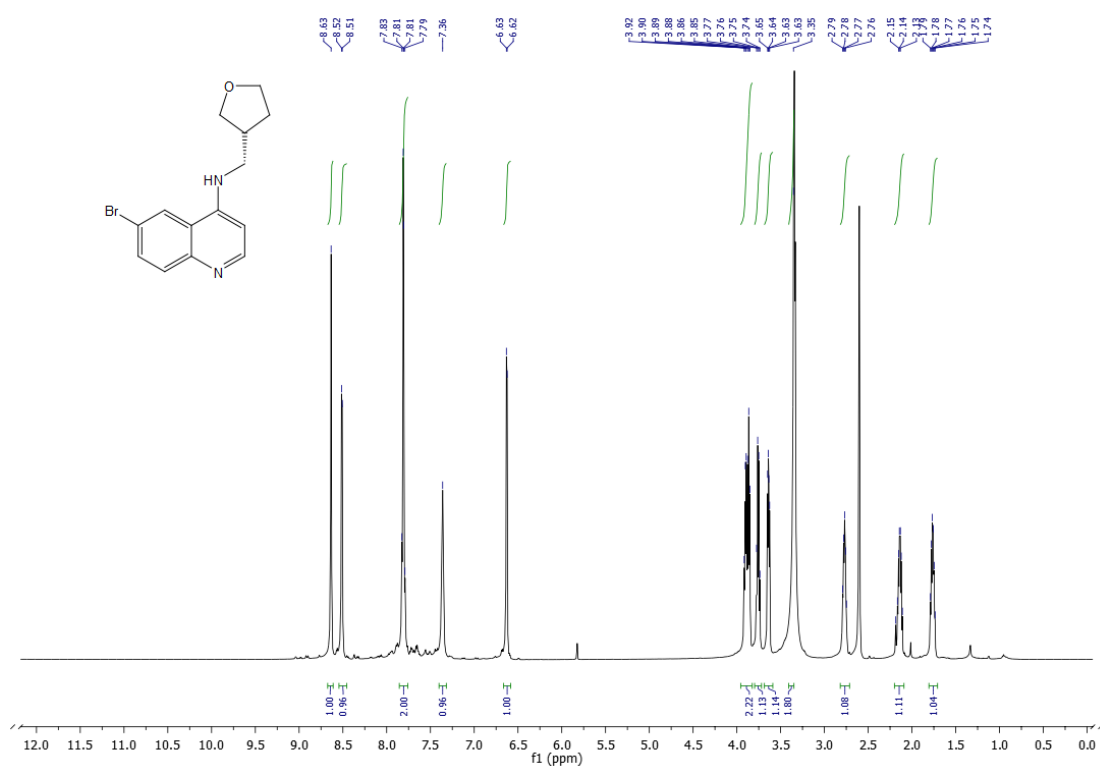
Φάσμα 14- ¹³C NMR (33f) (S)-6-bromo-N-((tetrahydrofuran-2-yl)methyl)quinolin-4-amine



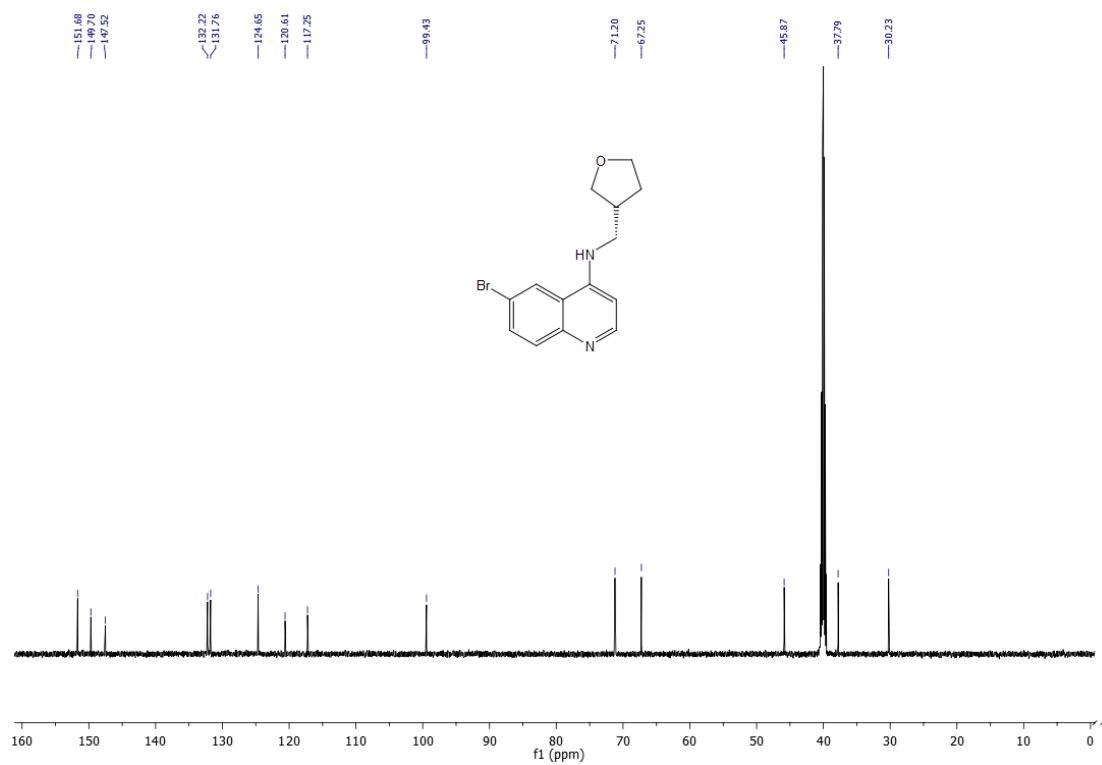
Φάσμα 15- ¹H NMR (33g) (S)-6-bromo-N-((tetrahydrofuran-3-yl)methyl)quinolin-4-amine



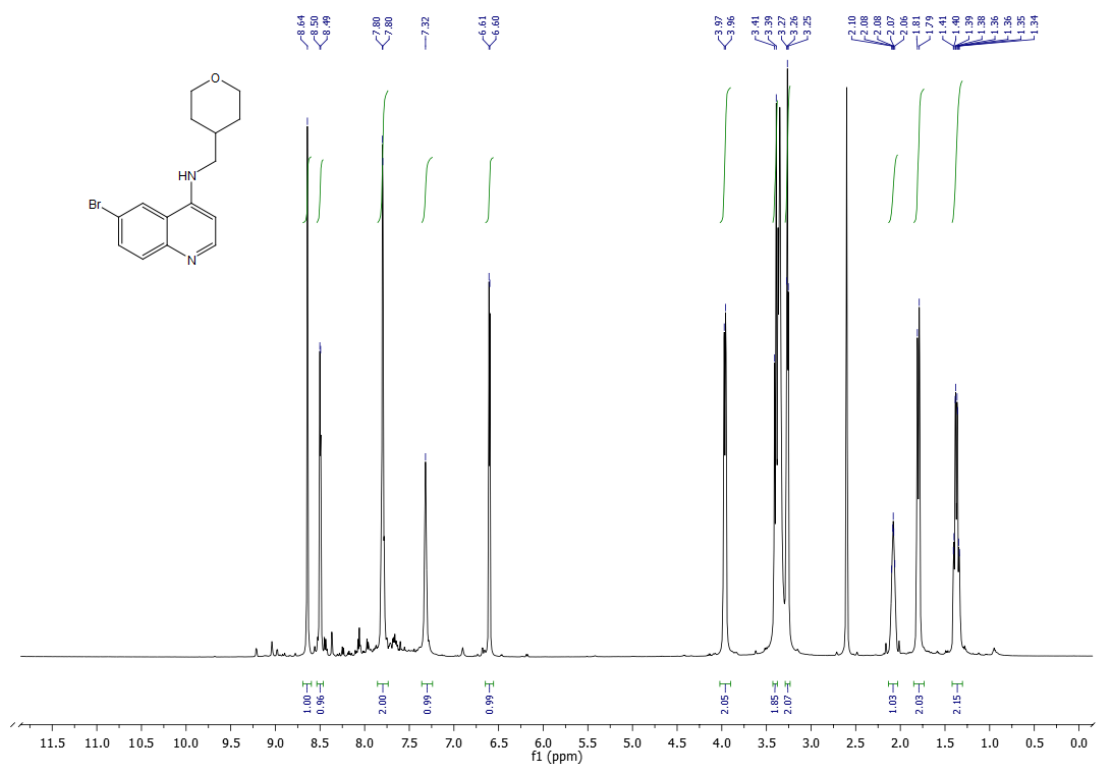
Φάσμα 16- ¹³C NMR (33g) (S)-6-bromo-N-((tetrahydrofuran-3-yl)methyl)quinolin-4-amine



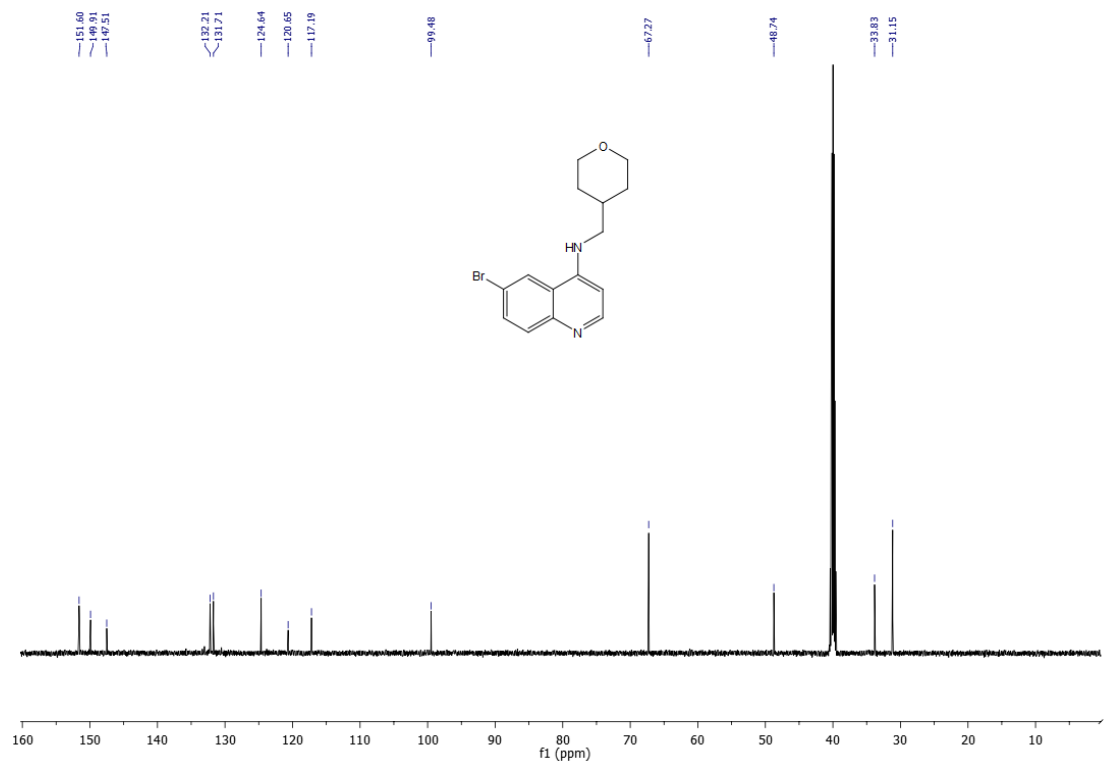
Φάσμα 17- ¹H NMR (33h) (R)-6-bromo-N-((tetrahydrofuran-3-yl)methyl)quinolin-4-amine



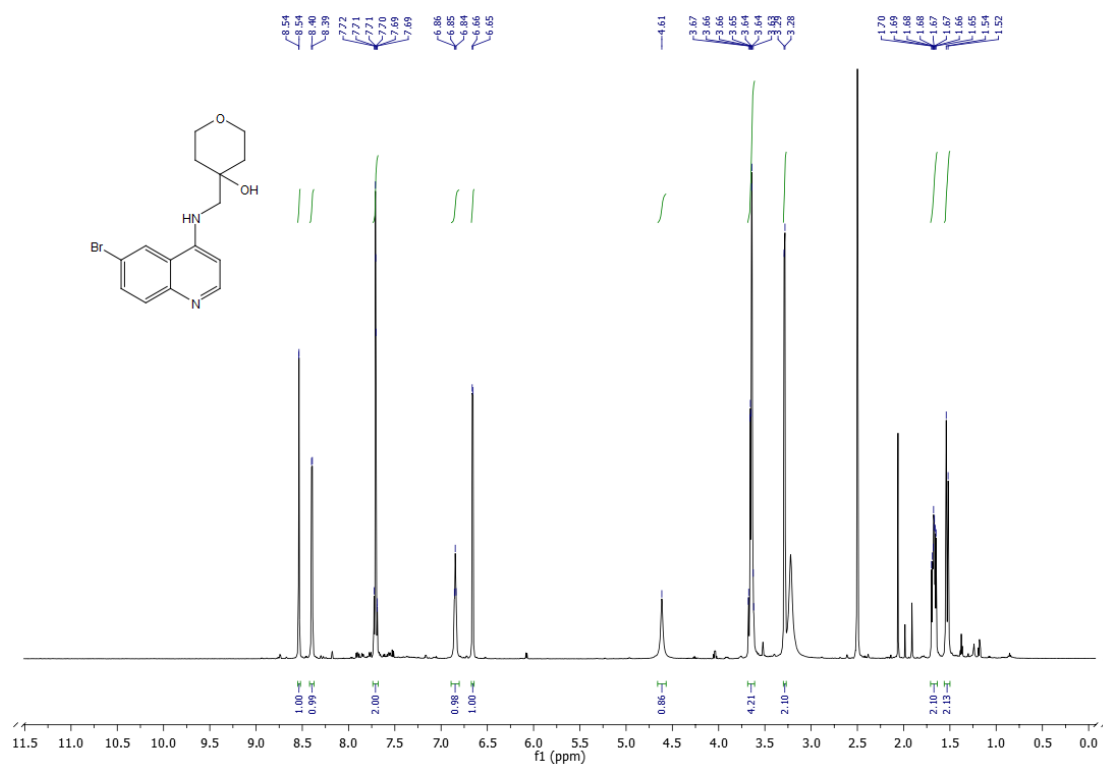
Φάσμα 18- ¹³C NMR (33h) (R)-6-bromo-N-((tetrahydrofuran-3-yl)methyl)quinolin-4-amine



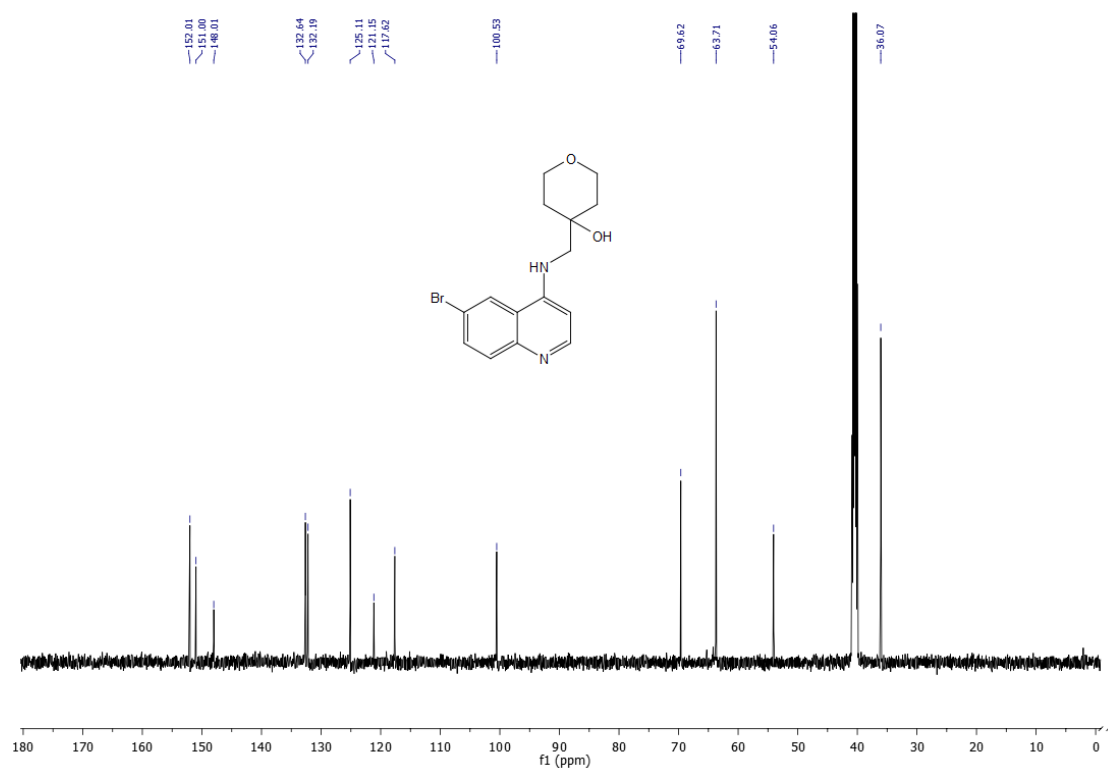
Φάσμα 19- ¹H NMR (33i) 6-bromo-N-((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)methyl)quinolin-4-amine



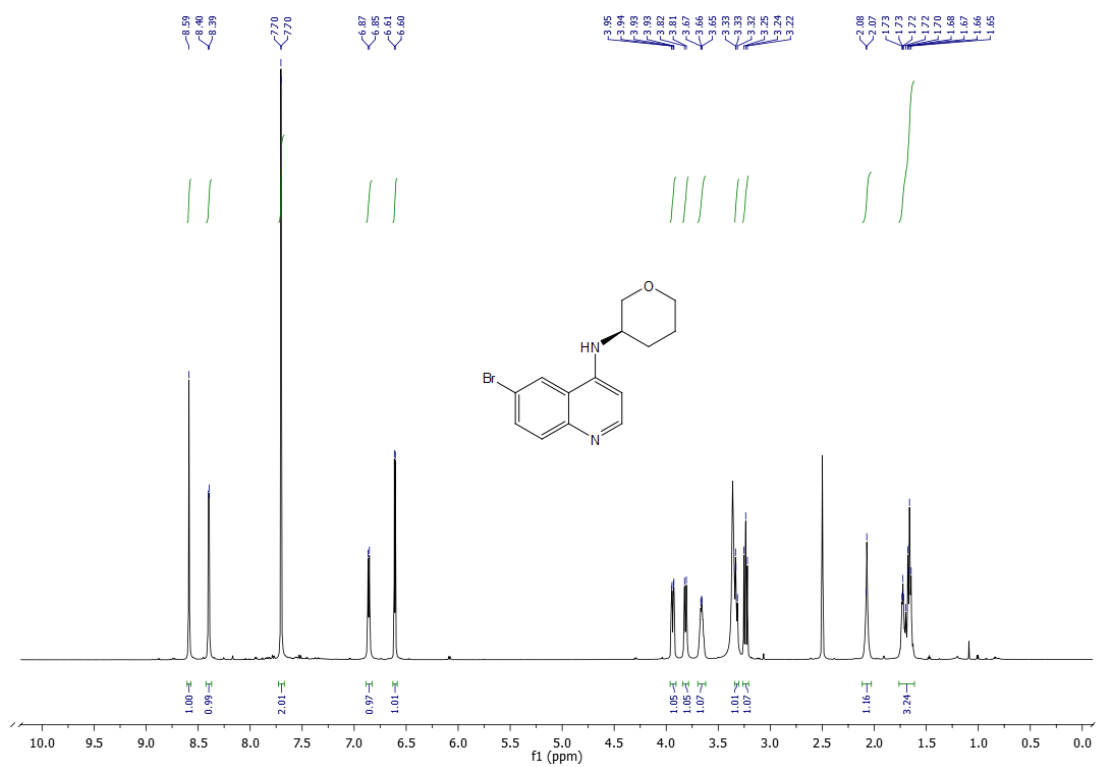
Φάσμα 20- ¹³C NMR (33i) 6-bromo-N-((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)methyl)quinolin-4-amine



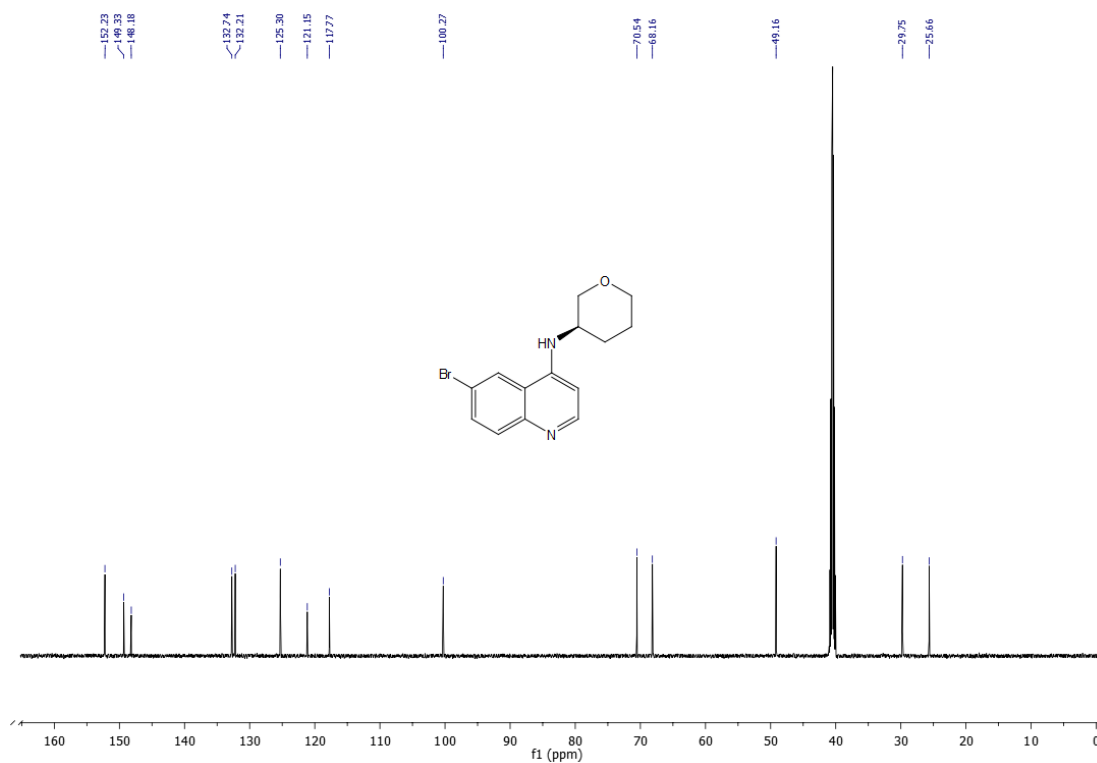
Φάσμα 21- ¹H NMR (33j) 4-(((6-bromoquinolin-4-yl)amino)methyl)tetrahydro-2H-pyran-4-ol



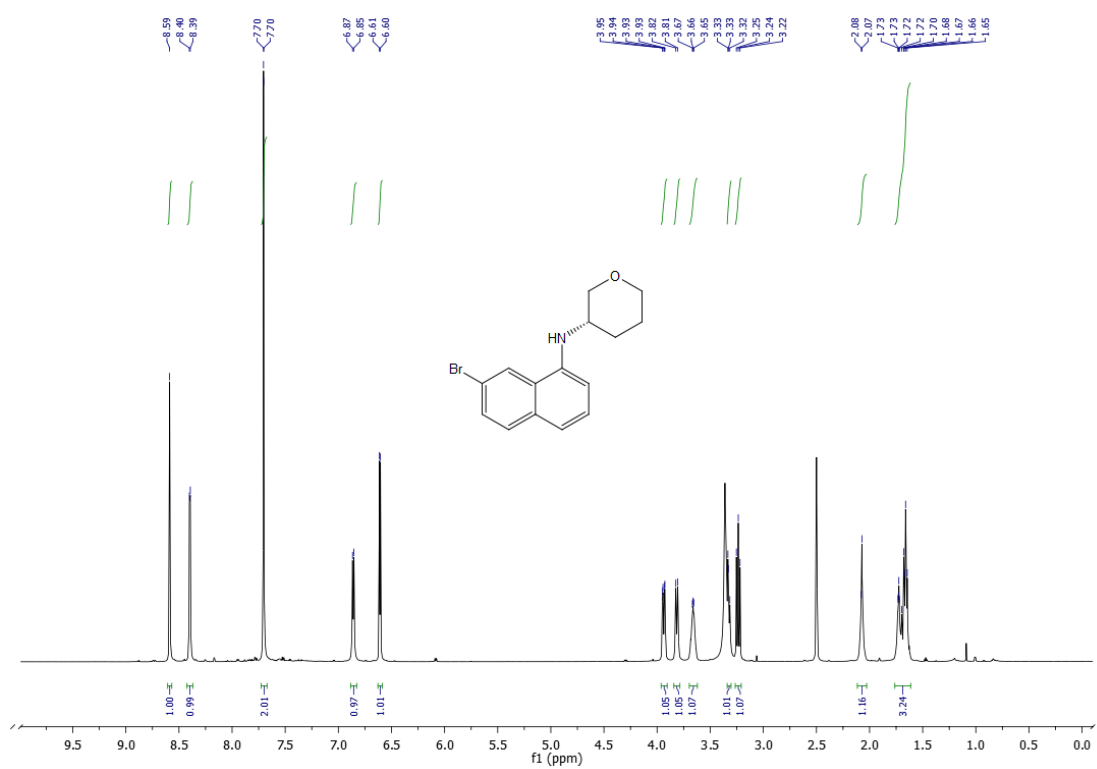
Φάσμα 22- ¹³C NMR (33j) 4-(((6-bromoquinolin-4-yl)amino)methyl)tetrahydro-2H-pyran-4-ol



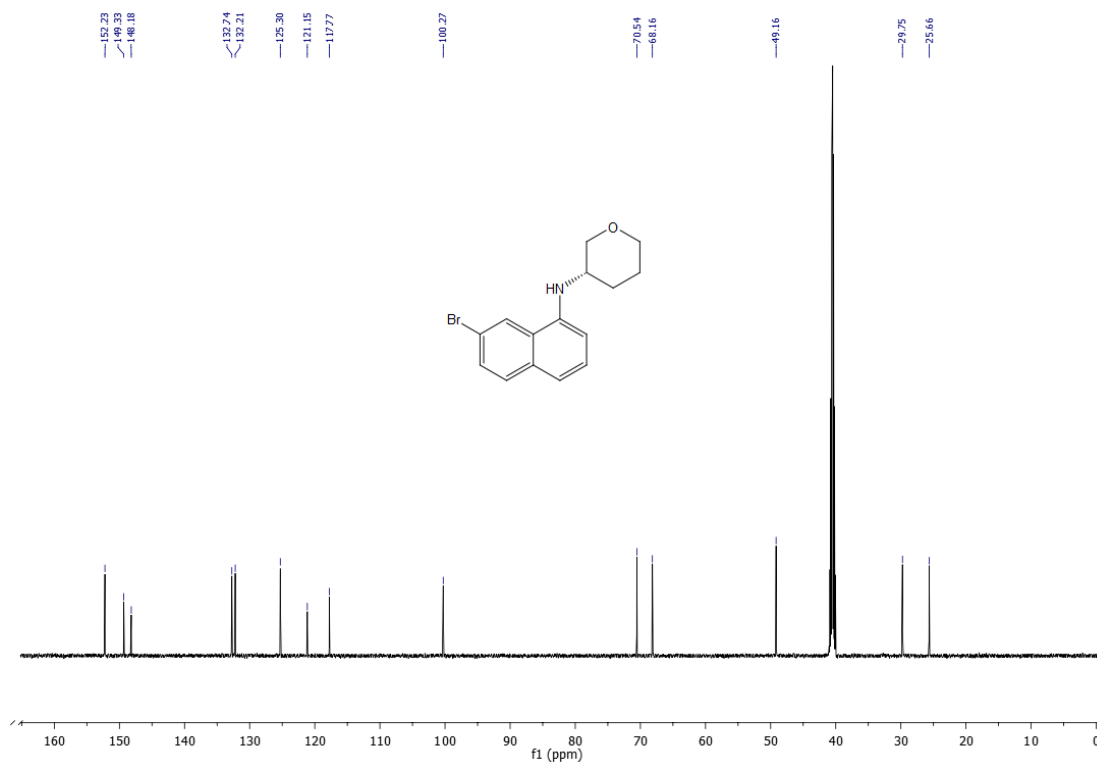
Φάσμα 23- ¹H NMR (**33k**) (*R*)-6-bromo-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-3-yl)quinolin-4-amine



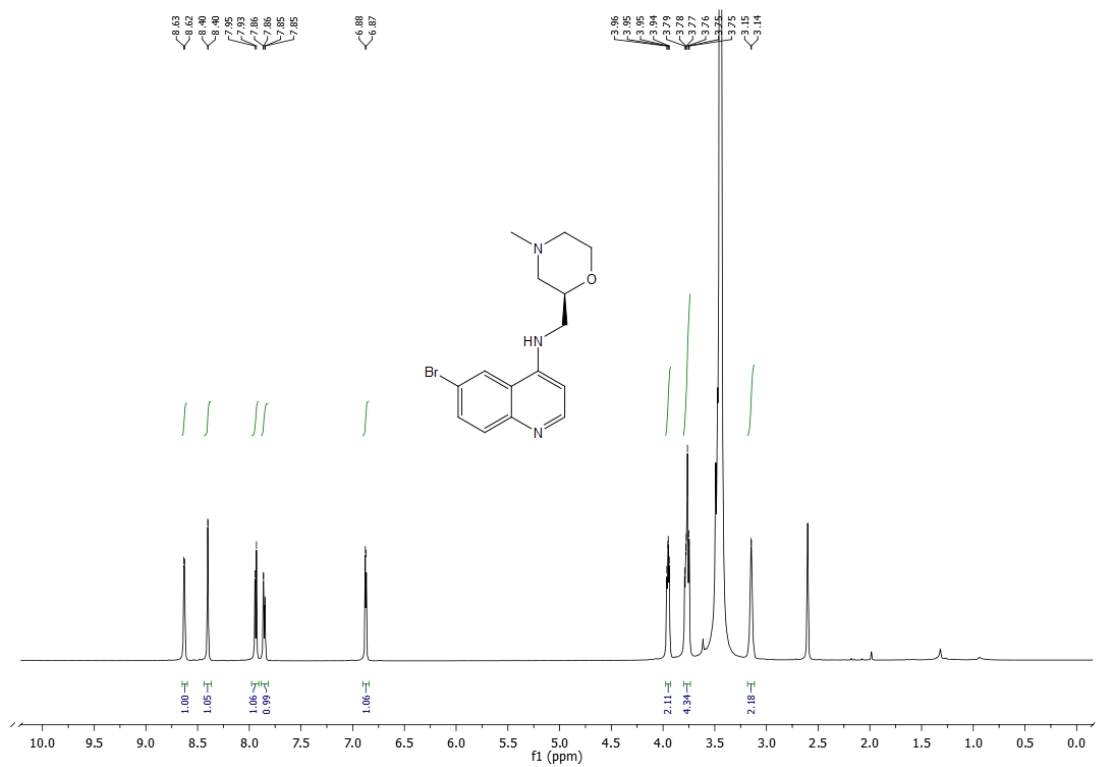
Φάσμα 24- ¹³C NMR (**33k**) (*R*)-6-bromo-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-3-yl)quinolin-4-amine



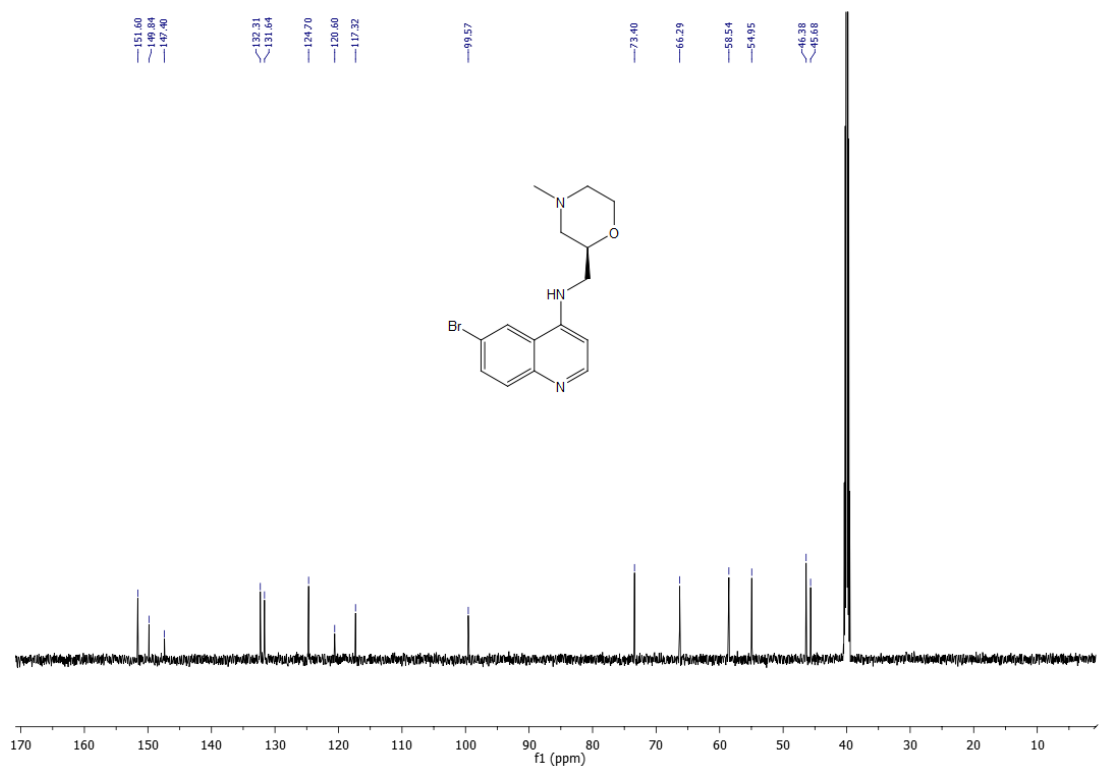
Φάσμα 25- ¹H NMR (331) (*S*)-6-bromo-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-3-yl)quinolin-4-amine



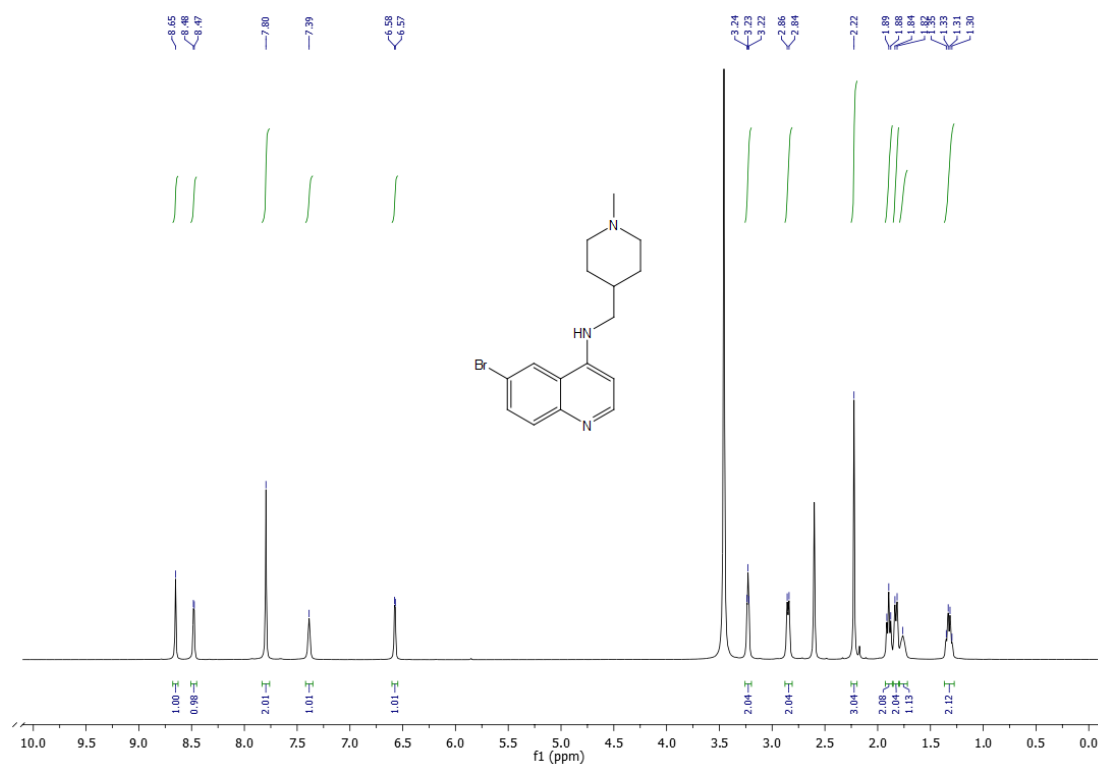
Φάσμα 26- ¹³C NMR (331) (*S*)-6-bromo-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-3-yl)quinolin-4-amine



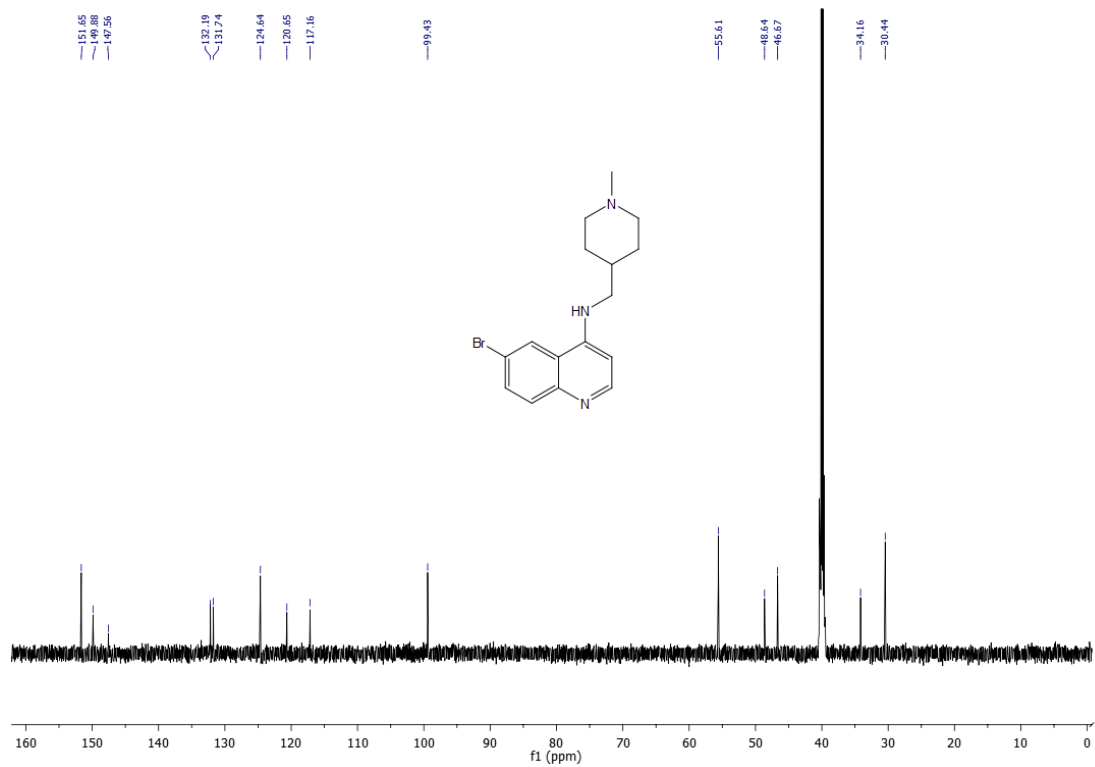
Φάσμα 27- ¹H NMR (33m) (S)-6-bromo-N-((4-methylmorpholin-2-yl)methyl)quinolin-4-amine



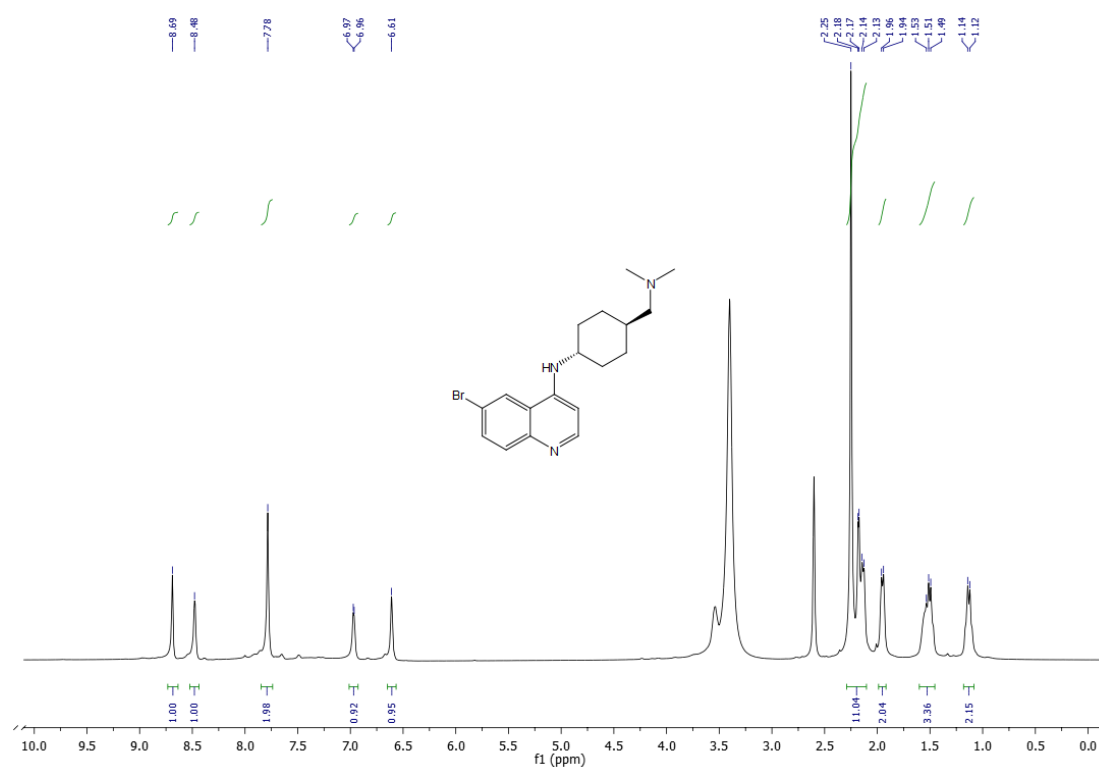
Φάσμα 28- ¹³C NMR (33m) (S)-6-bromo-N-((4-methylmorpholin-2-yl)methyl)quinolin-4-amine



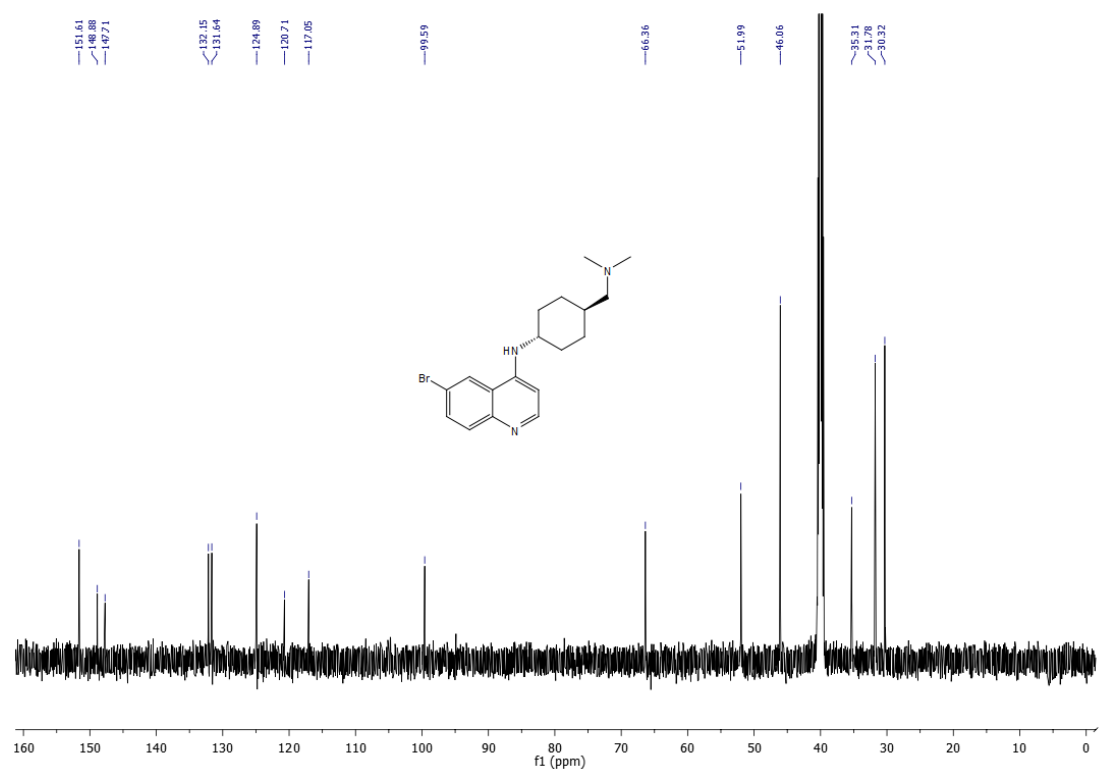
Φάσμα 29- ¹H NMR (33n) 6-bromo-N-((1r,4r)-4-((dimethylamino)methyl)cyclohexyl)quinolin-4-amine



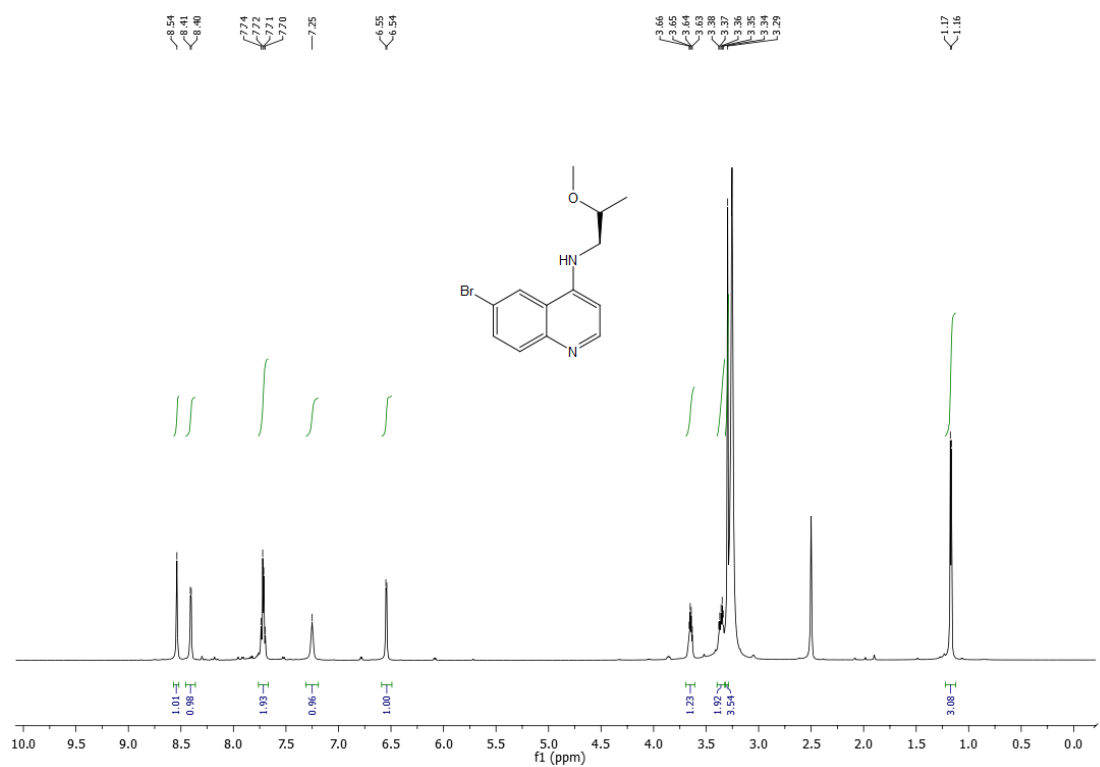
Φάσμα 30- ¹³C NMR (33n) 6-bromo-N-((1r,4r)-4-((dimethylamino)methyl)cyclohexyl)quinolin-4-amine



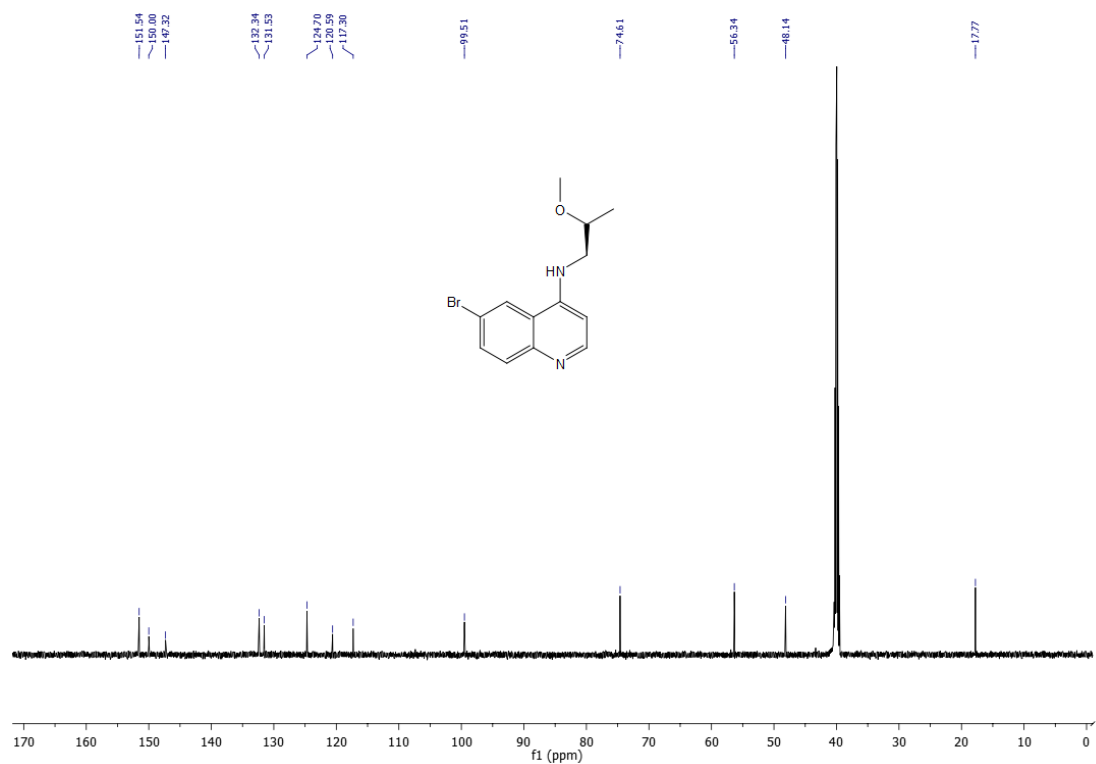
Φάσμα 31- ¹H NMR (33o) 6-bromo-N-((1r,4r)-4-((dimethylamino)methyl)cyclohexyl)quinolin-4-amine



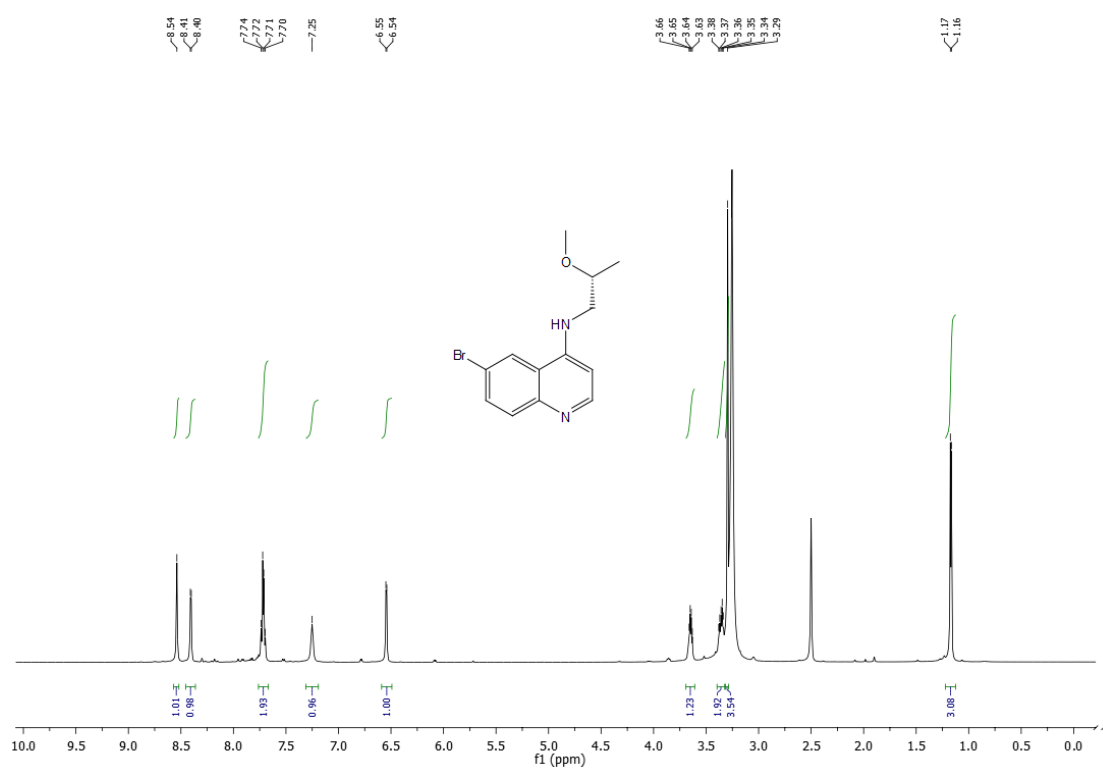
Φάσμα 32- ¹³C NMR (33o) 6-bromo-N-((1r,4r)-4-((dimethylamino)methyl)cyclohexyl)quinolin-4-amine



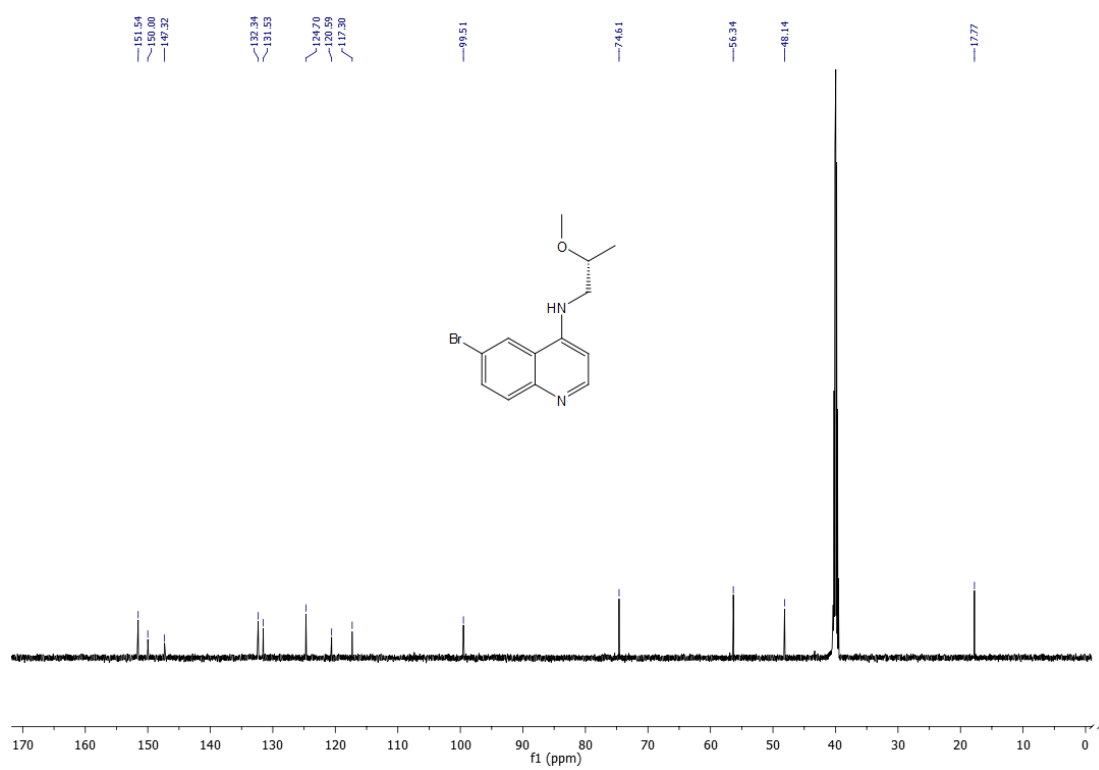
Φάσμα 33- ¹H NMR (33p) (S)-6-bromo-N-(2-methoxypropyl)quinolin-4-amine



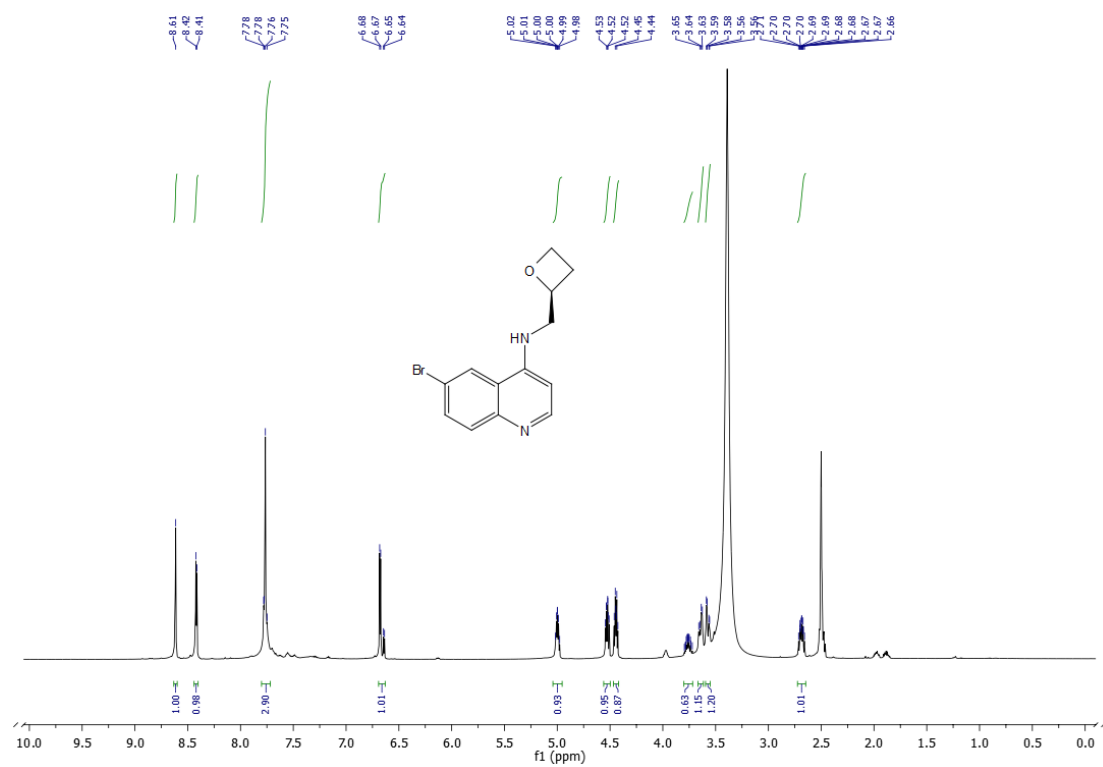
Φάσμα 34- ¹³C NMR (33p) (S)-6-bromo-N-(2-methoxypropyl)quinolin-4-amine



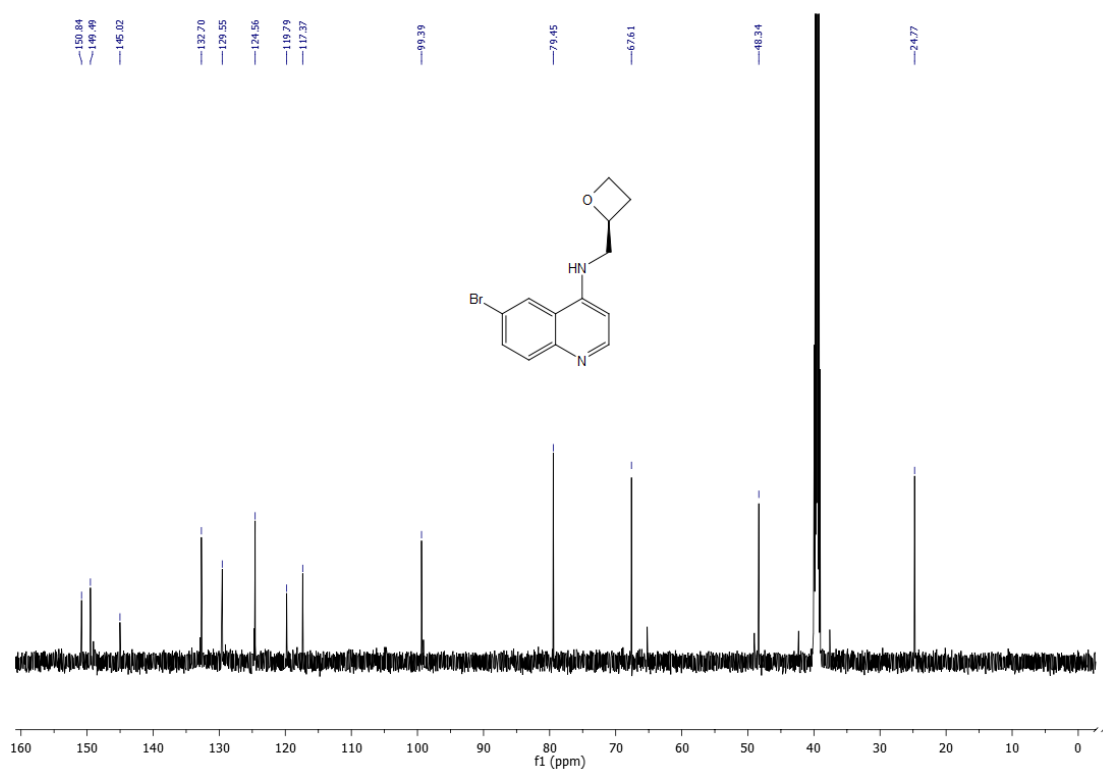
Φάσμα 35- ¹H NMR (33q) (R)-6-bromo-N-(2-methoxypropyl)quinolin-4-amine



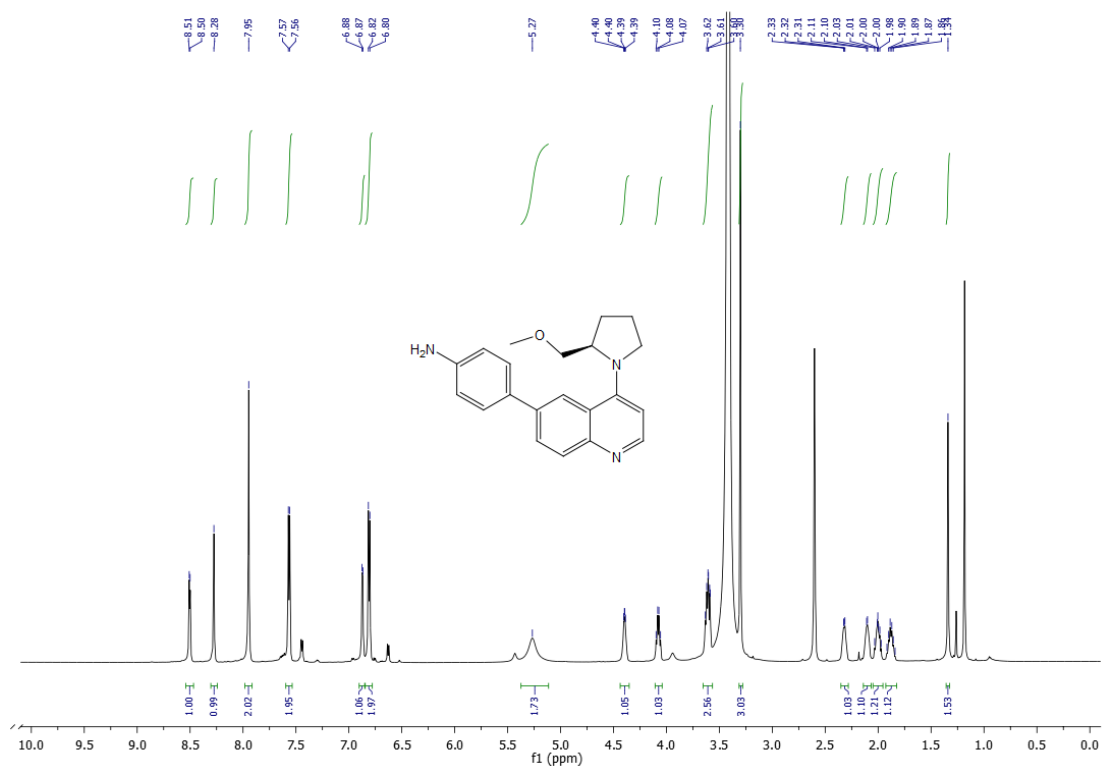
Φάσμα 36- ¹³C NMR (33q) (R)-6-bromo-N-(2-methoxypropyl)quinolin-4-amine



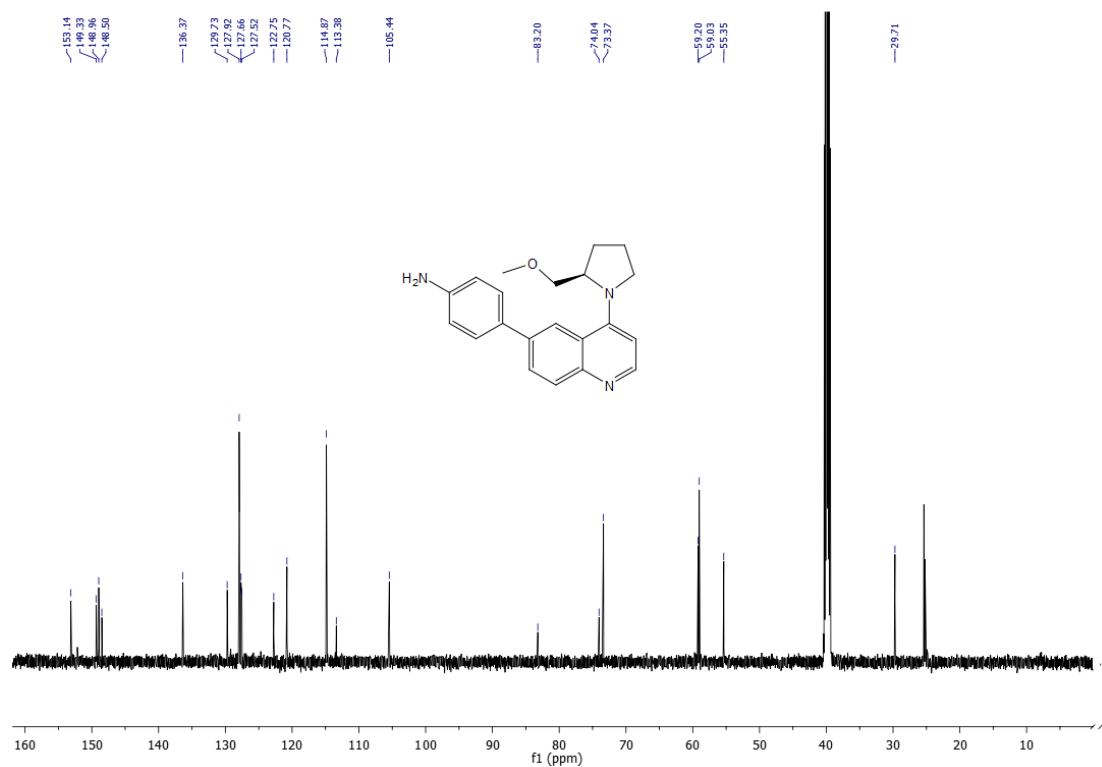
Φάσμα 37- ¹H NMR (33r) (*S*)-6-bromo-*N*-(oxetan-2-ylmethyl)quinolin-4-amine



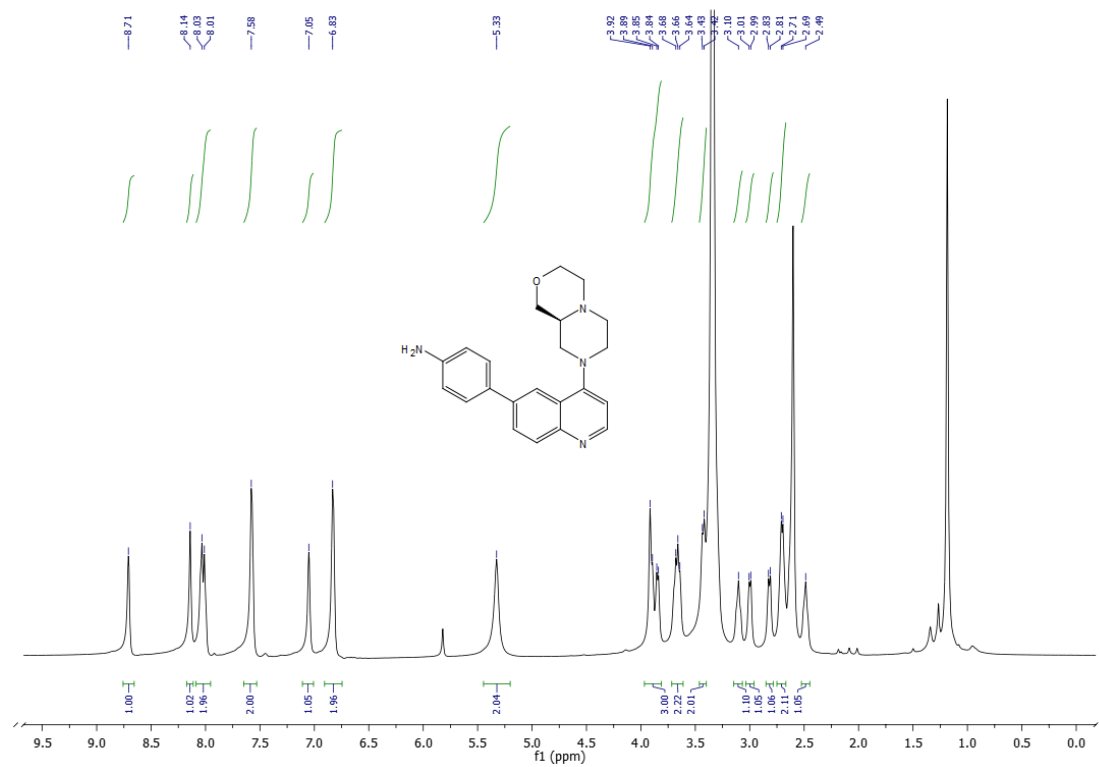
Φάσμα 38- ¹³C NMR (33r) (*S*)-6-bromo-*N*-(oxetan-2-ylmethyl)quinolin-4-amine



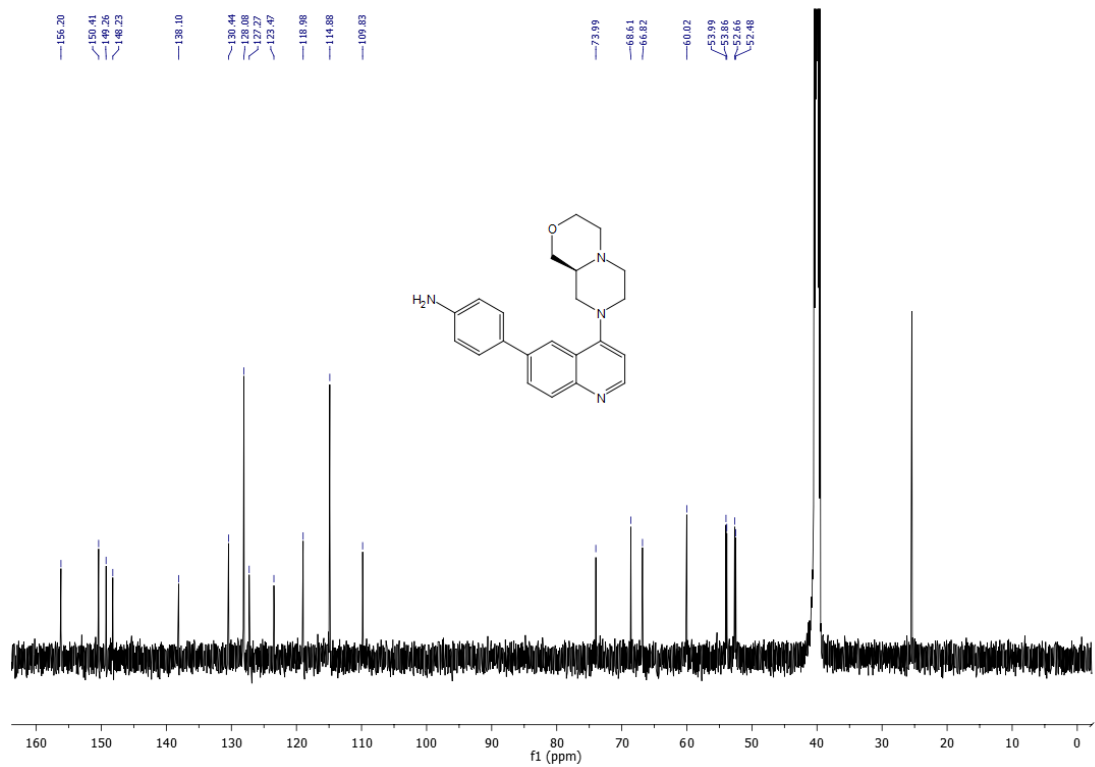
Φάσμα 41- ¹H NMR (34a) (R)-4-(4-(2-(methoxymethyl)pyrrolidin-1-yl)quinolin-6-yl)aniline



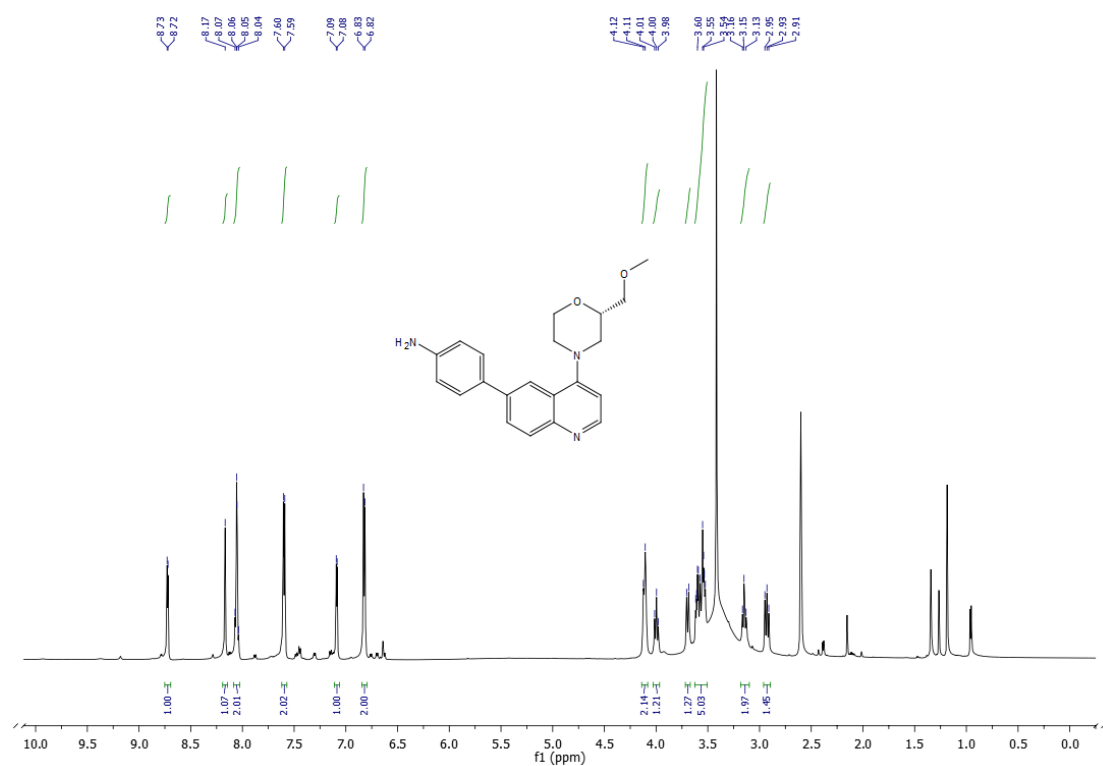
Φάσμα 42- ¹³C NMR (34a) (R)-4-(4-(2-(methoxymethyl)pyrrolidin-1-yl)quinolin-6-yl)aniline



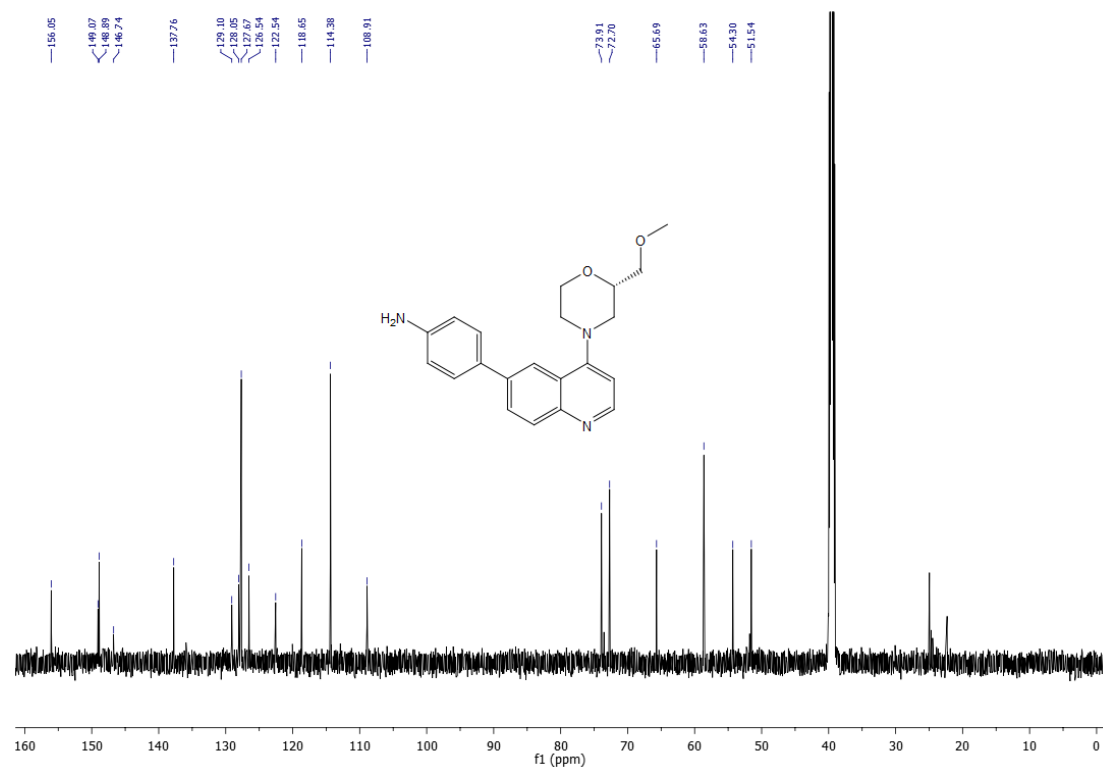
Φάσμα 43- ¹H NMR (**34b**) *(S)*-4-(4-(hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl)quinolin-6-yl)aniline



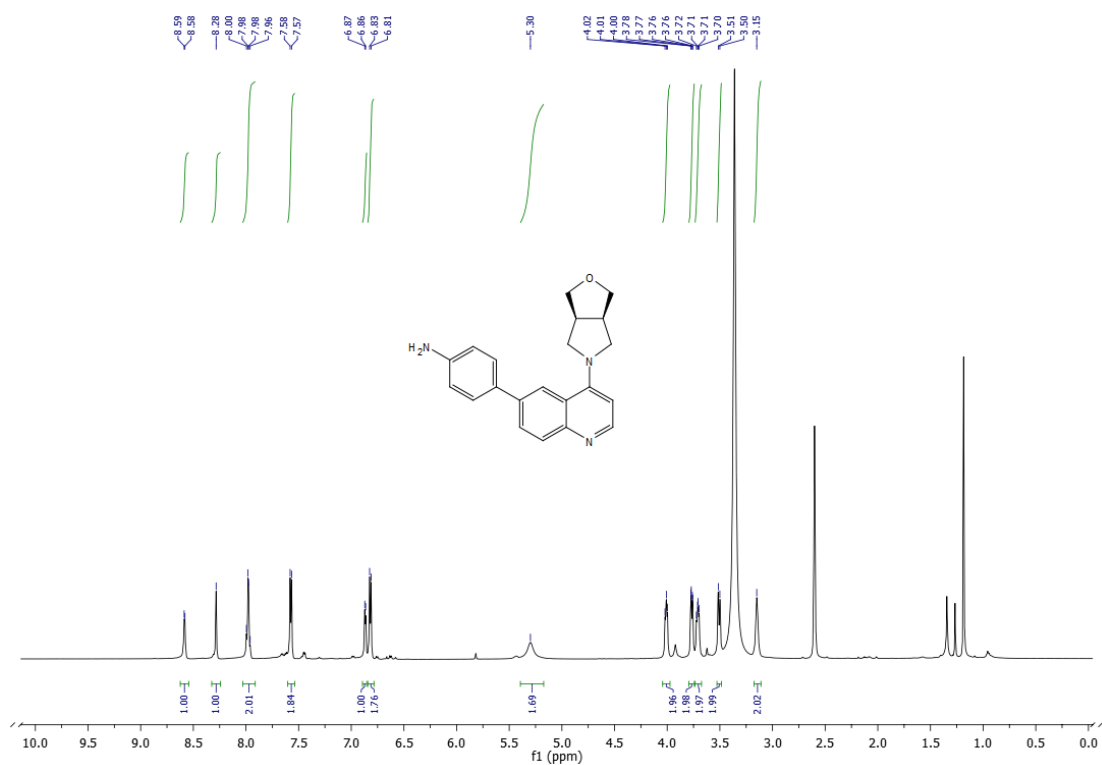
Φάσμα 44- ¹³C NMR (**34b**) *(S)*-4-(4-(hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl)quinolin-6-yl)aniline



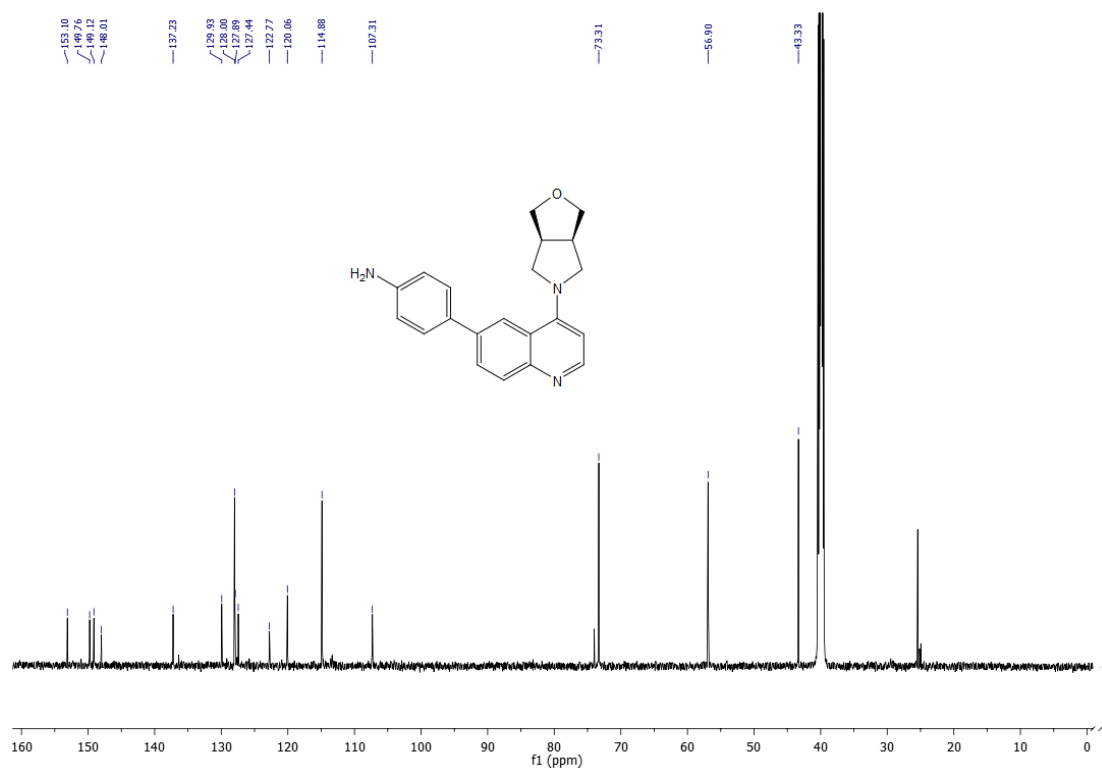
Φάσμα 45- ¹H NMR (34c) (S)-4-(4-(2-(methoxymethyl)morpholino)quinolin-6-yl)aniline



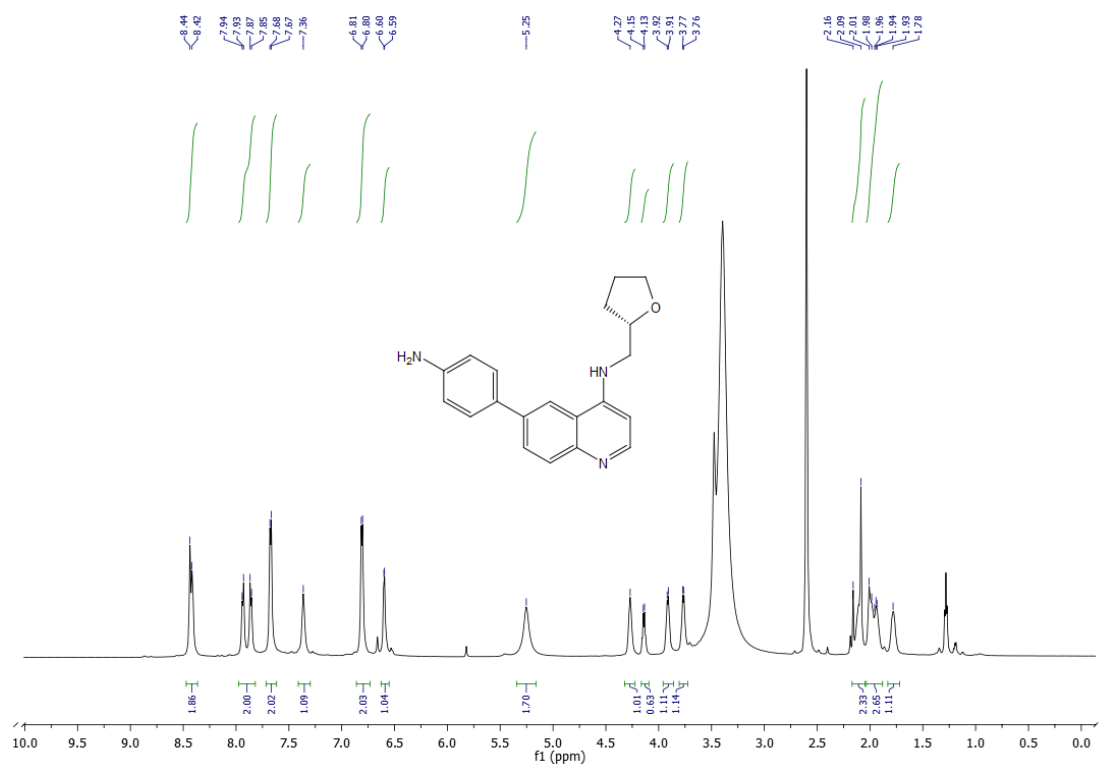
Φάσμα 46- ¹³C NMR (34c) (S)-4-(4-(2-(methoxymethyl)morpholino)quinolin-6-yl)aniline



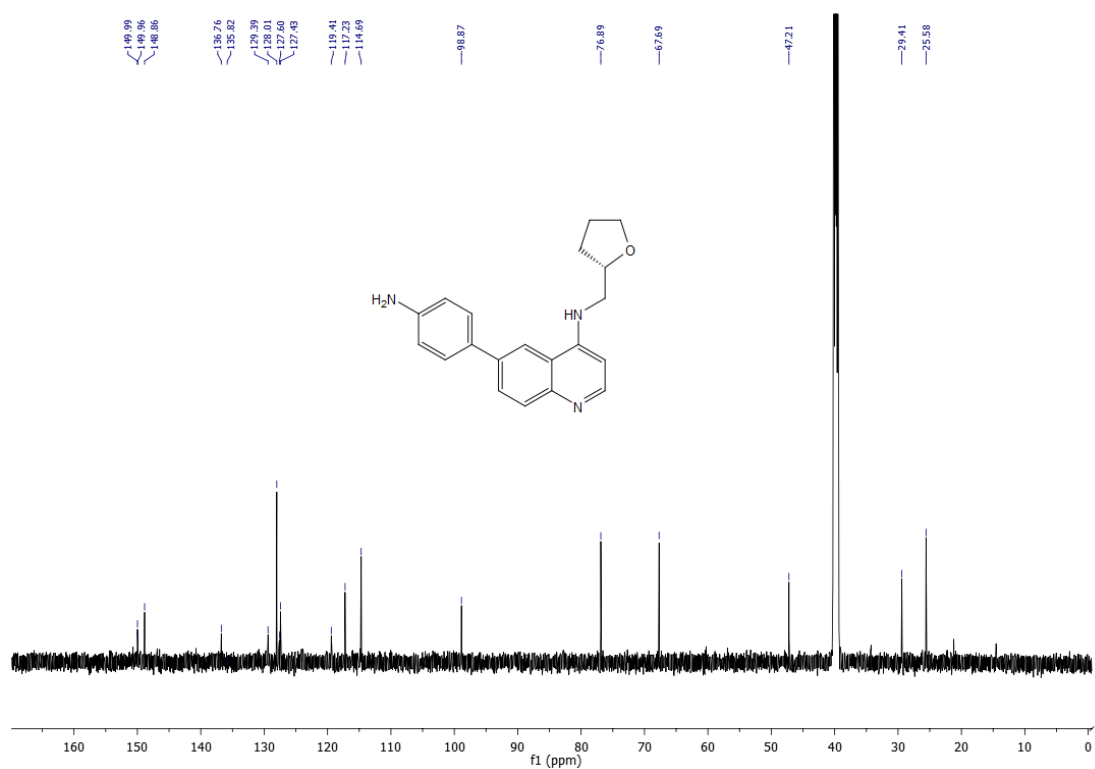
Φάσμα 47- ¹H NMR (**34d**) *4-(4-((3aR,6aS)-tetrahydro-1H-furo[3,4-c]pyrrol-5(3H)-yl)quinolin-6-yl)aniline*



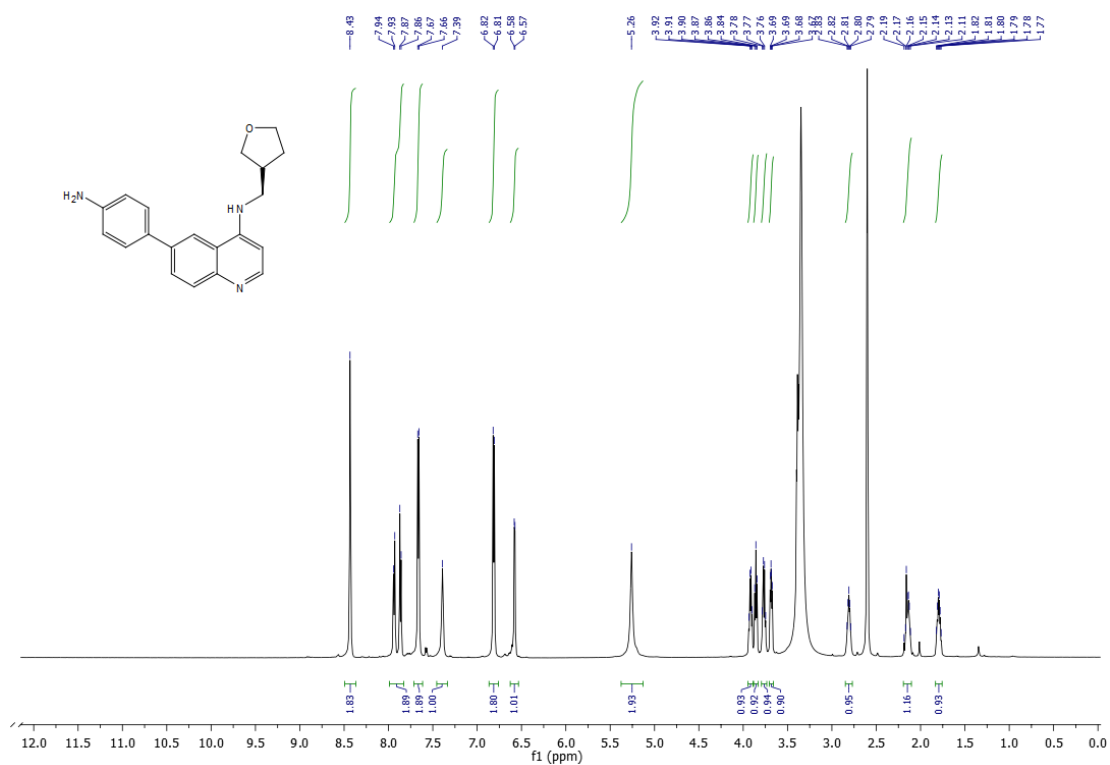
Φάσμα 48- ¹³C NMR (**34d**) *4-(4-((3aR,6aS)-tetrahydro-1H-furo[3,4-c]pyrrol-5(3H)-yl)quinolin-6-yl)aniline*



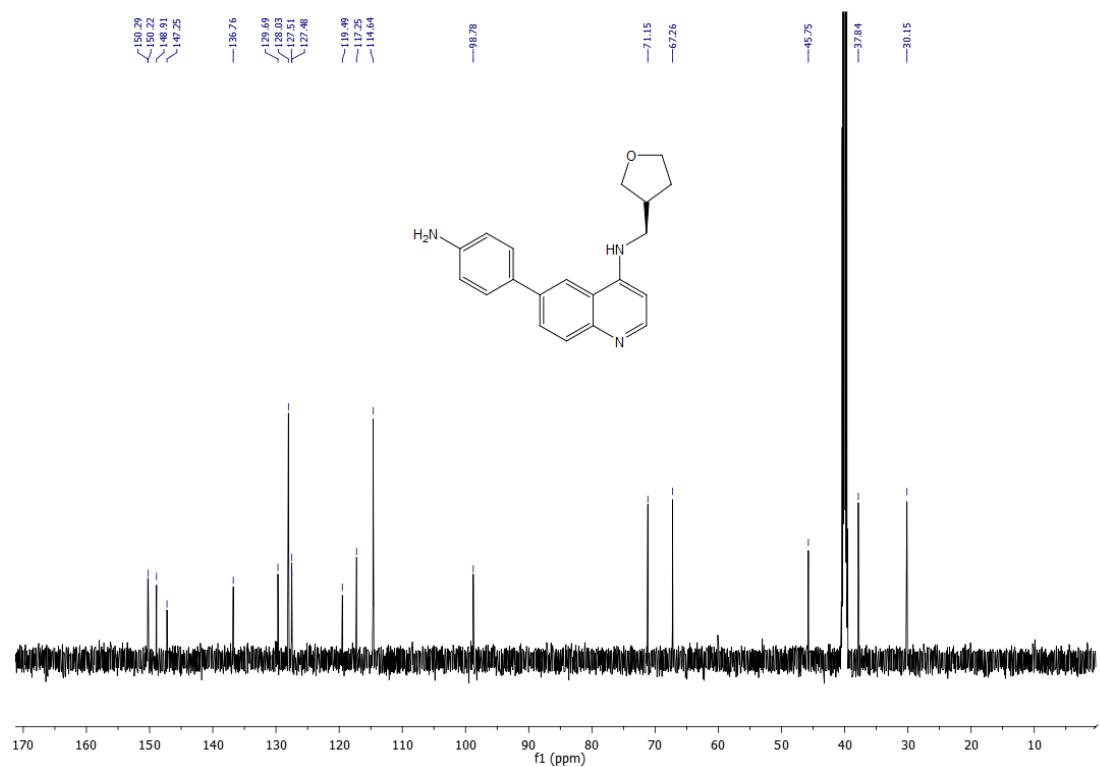
Φάσμα 51- ¹H NMR (34f) *(S)*-6-(4-aminophenyl)-*N*-((tetrahydrofuran-2-yl)methyl)quinolin-4-amine



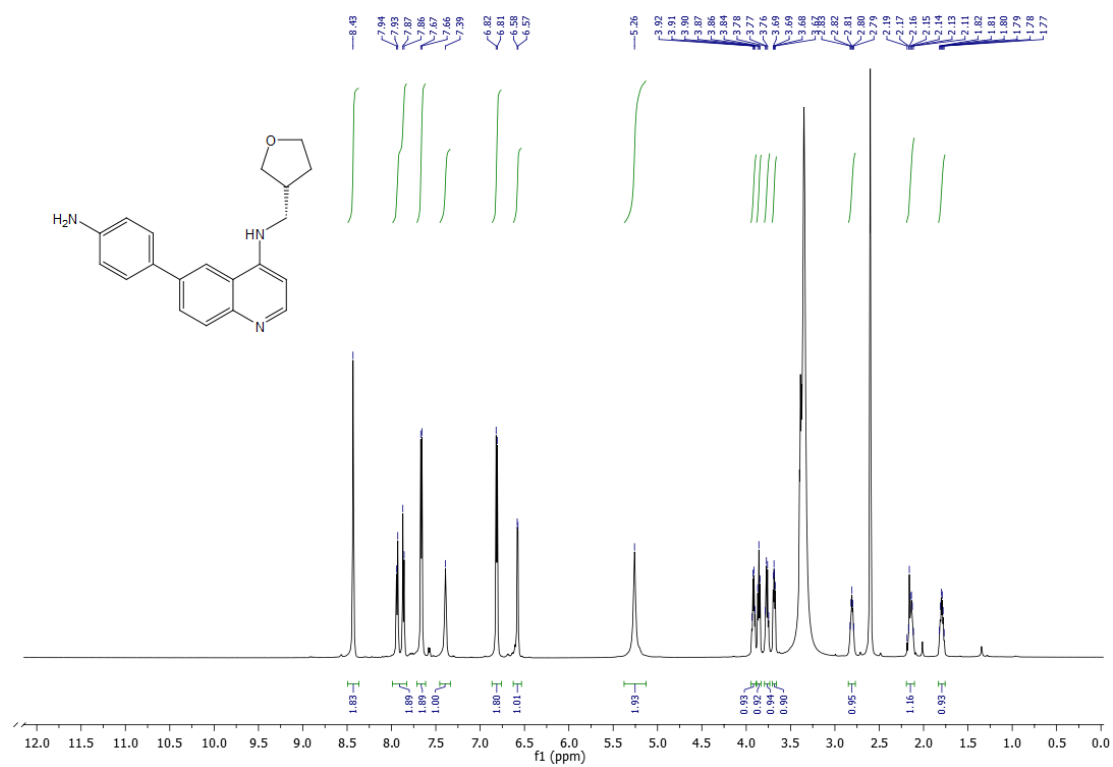
Φάσμα 52- ¹³C NMR (34f) *(S)*-6-(4-aminophenyl)-*N*-((tetrahydrofuran-2-yl)methyl)quinolin-4-amine



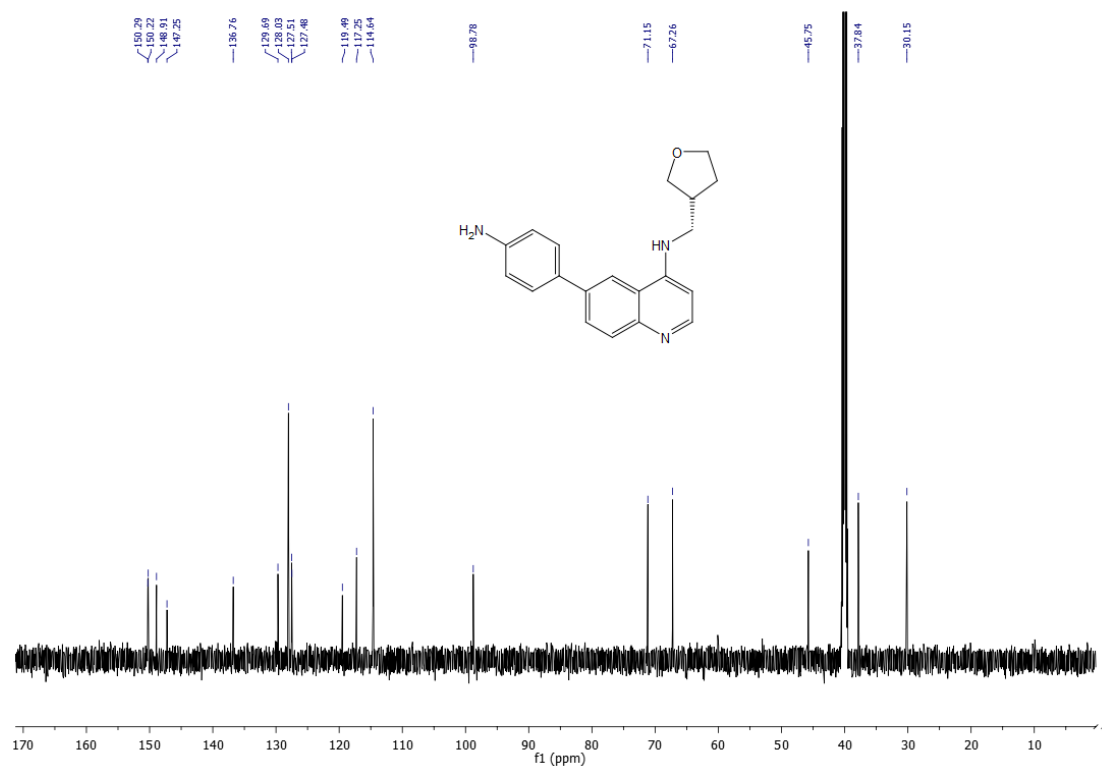
Φάσμα 53- ¹H NMR (34g) *(S)*-6-(4-aminophenyl)-*N*-((tetrahydrofuran-3-yl)methyl)quinolin-4-amine



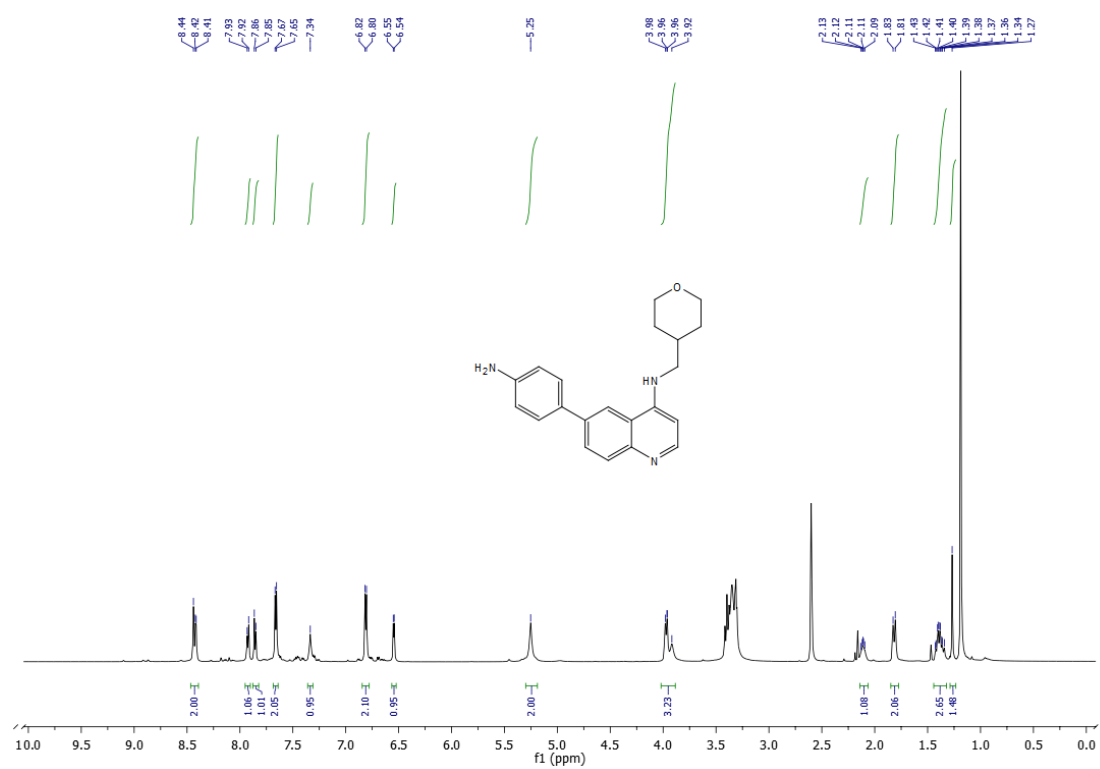
Φάσμα 54- ¹³C NMR (34g) *(S)*-6-(4-aminophenyl)-*N*-((tetrahydrofuran-3-yl)methyl)quinolin-4-amine



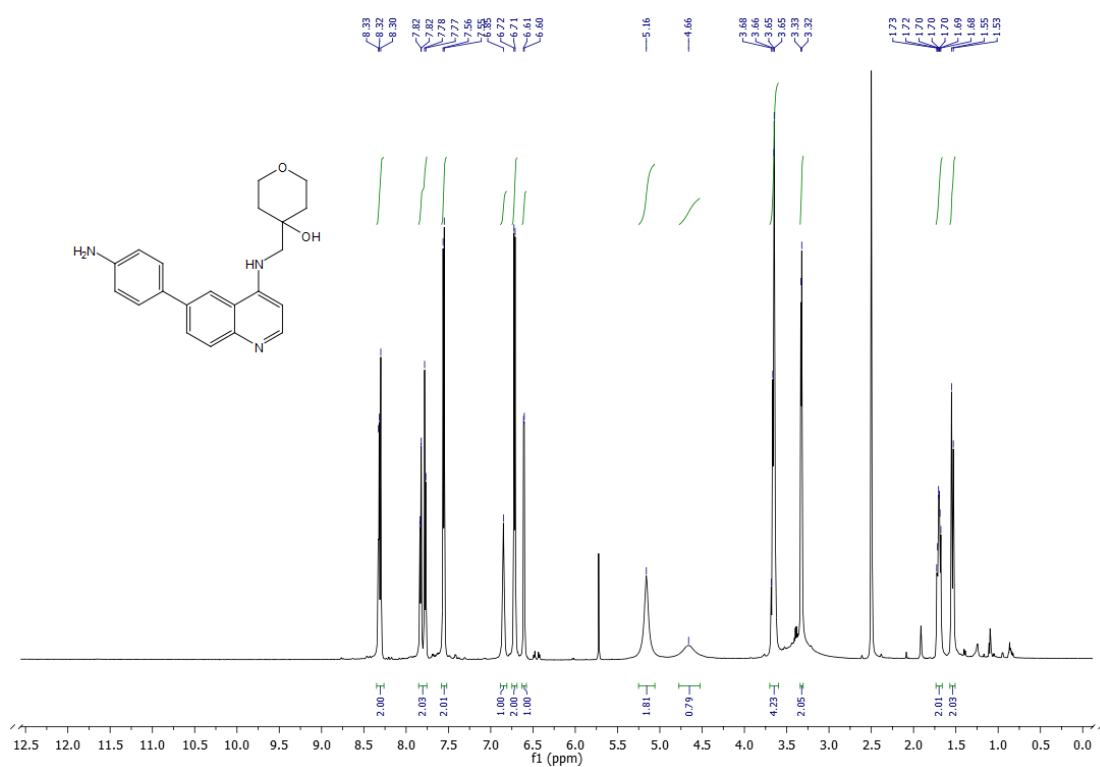
Φάσμα 55- ¹H NMR (34h) (R)-6-(4-aminophenyl)-N-((tetrahydrofuran-3-yl)methyl)quinolin-4-amine



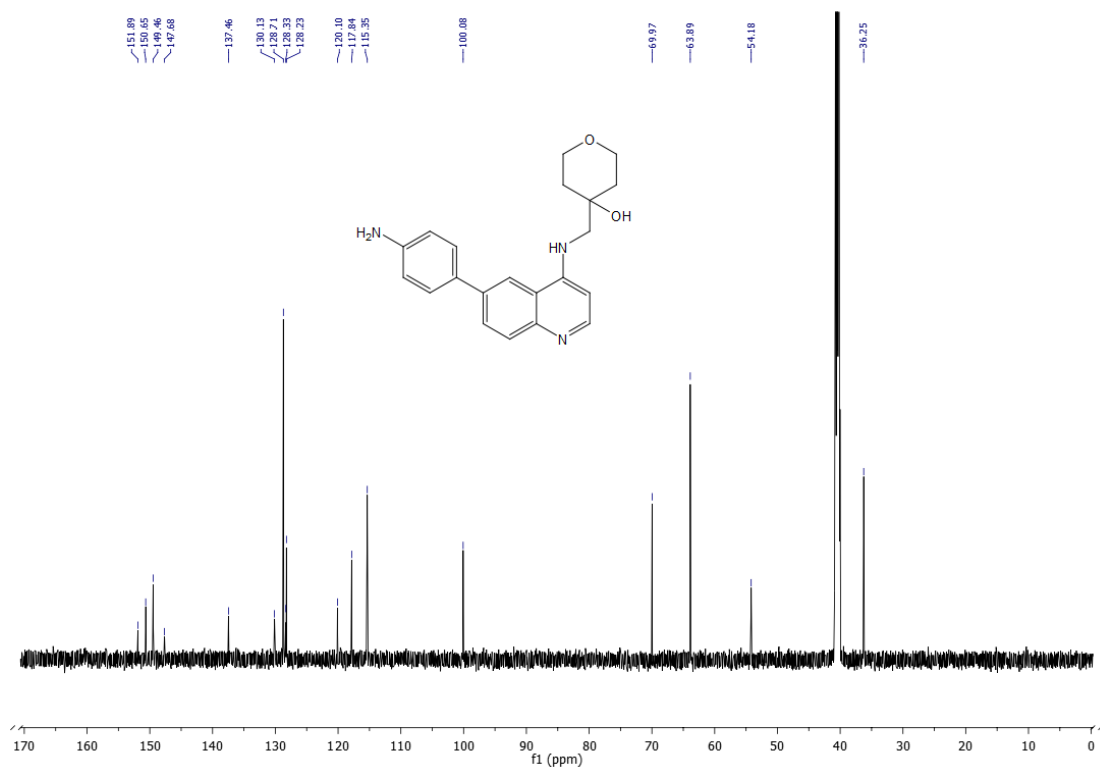
Φάσμα 56- ¹³C NMR (34h) (R)-6-(4-aminophenyl)-N-((tetrahydrofuran-3-yl)methyl)quinolin-4-amine



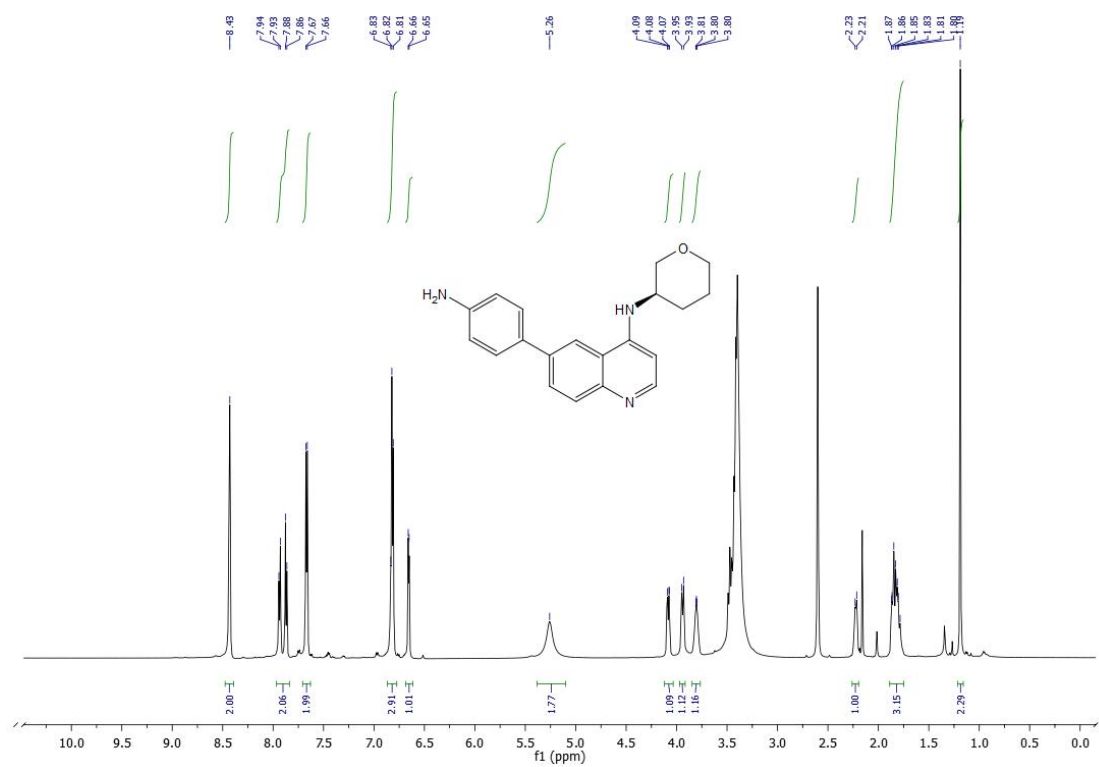
Φάσμα 57- ¹H NMR (34i) 6-(4-aminophenyl)-N-((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)methyl)quinolin-4-amine



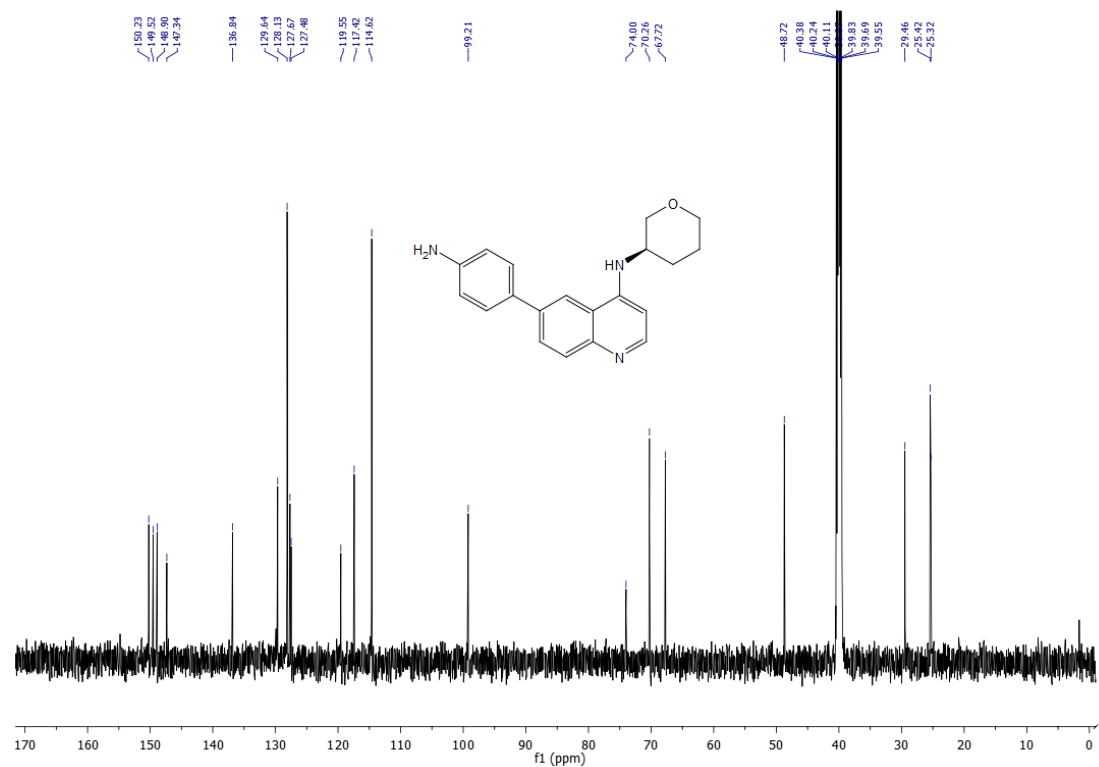
Φάσμα 59- ¹H NMR (34j) 4-(((6-(4-aminophenyl)quinolin-4-yl)amino)methyl)tetrahydro-2H-pyran-4-ol



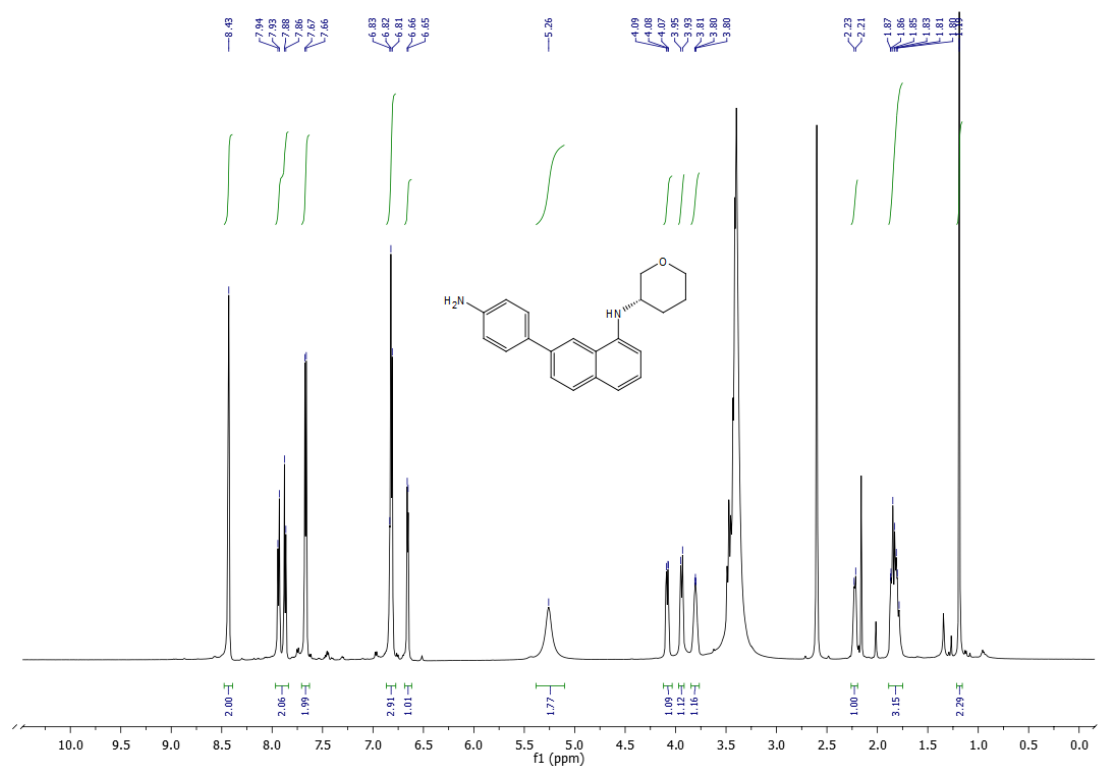
Φάσμα 60- ¹³C NMR (34j) 4-(((6-(4-aminophenyl)quinolin-4-yl)amino)methyl)tetrahydro-2H-pyran-4-ol



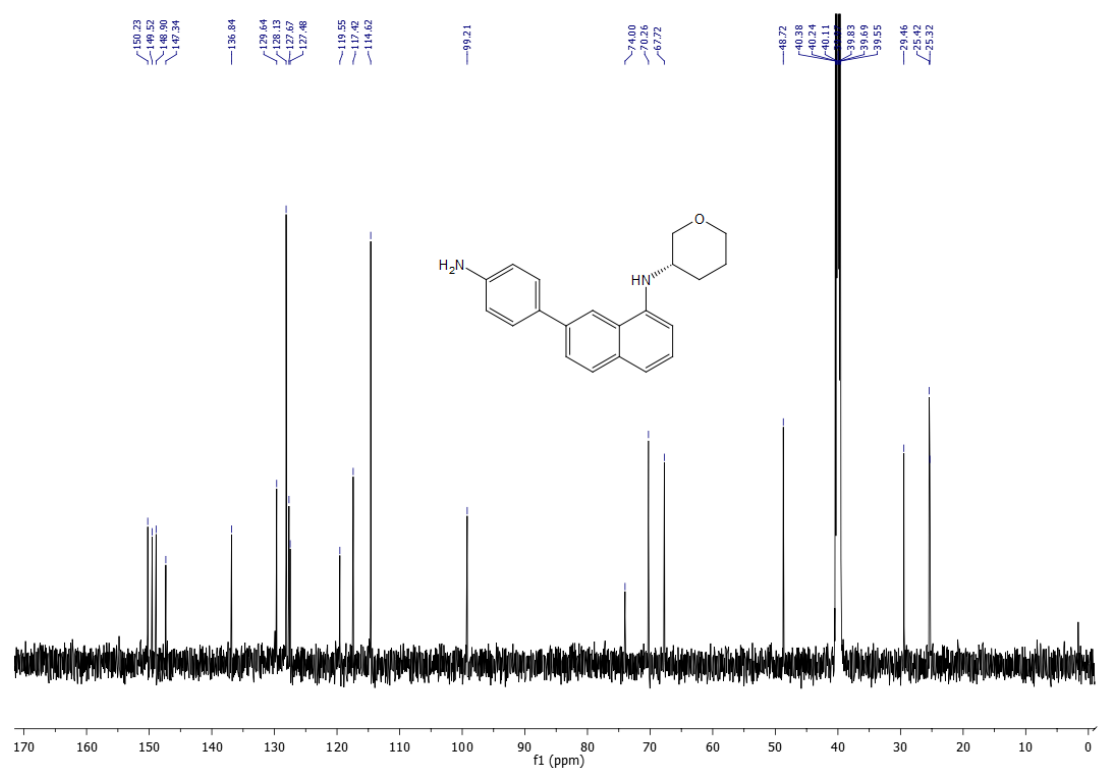
Φάσμα 61- ¹H NMR (34k) *(R)*-6-(4-aminophenyl)-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-3-yl)quinolin-4-amine



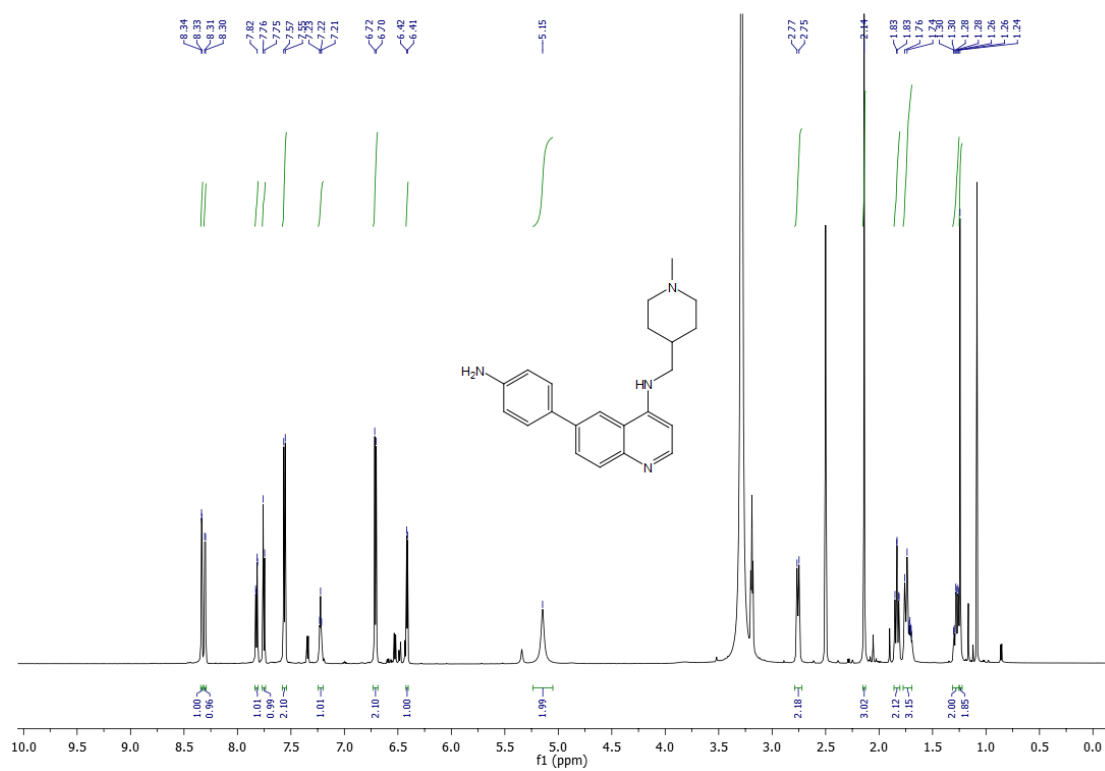
Φάσμα 62- ¹³C NMR (34k) *(R)*-6-(4-aminophenyl)-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-3-yl)quinolin-4-amine



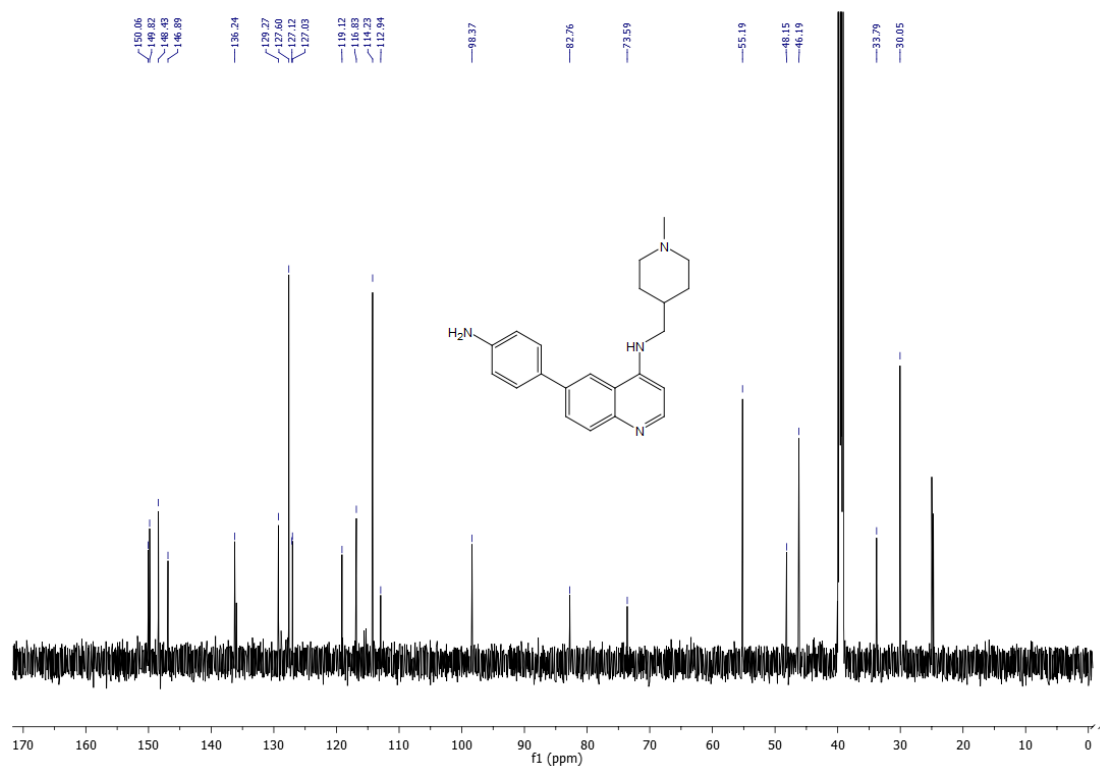
Φάσμα 63- ¹H NMR (34I) (S)-6-(4-aminophenyl)-N-(tetrahydro-2H-pyran-3-yl)quinolin-4-amine



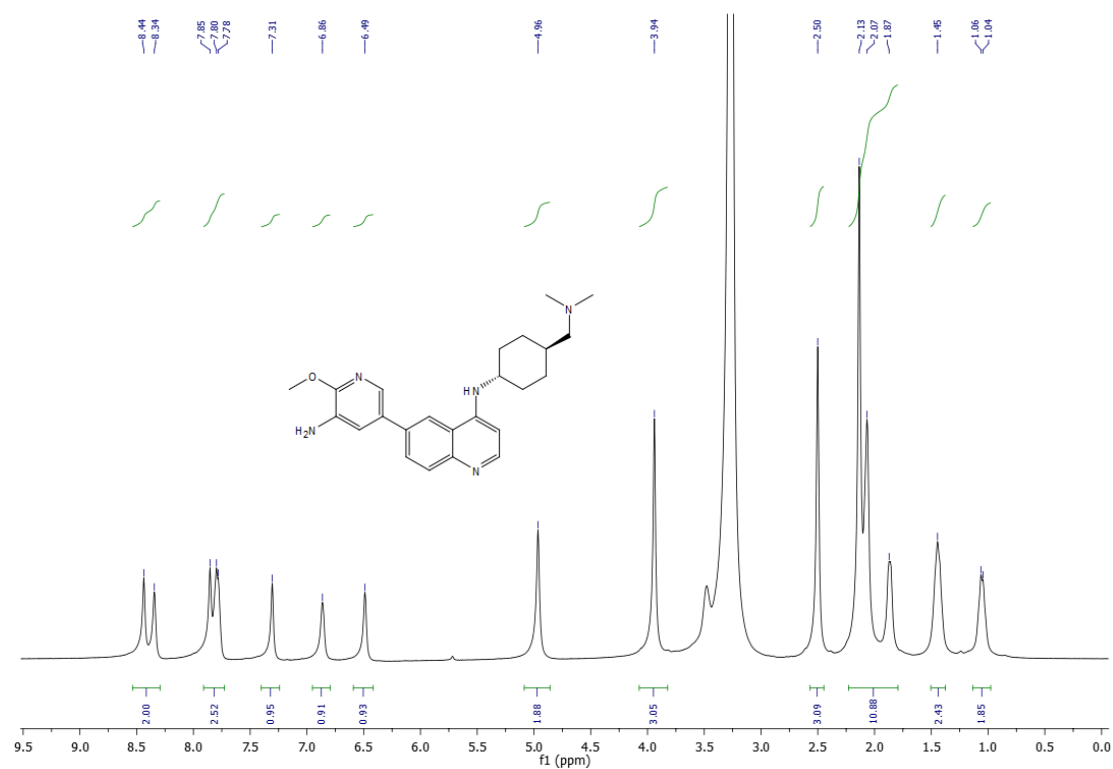
Φάσμα 64- ¹³C NMR (34I) (S)-6-(4-aminophenyl)-N-(tetrahydro-2H-pyran-3-yl)quinolin-4-amine



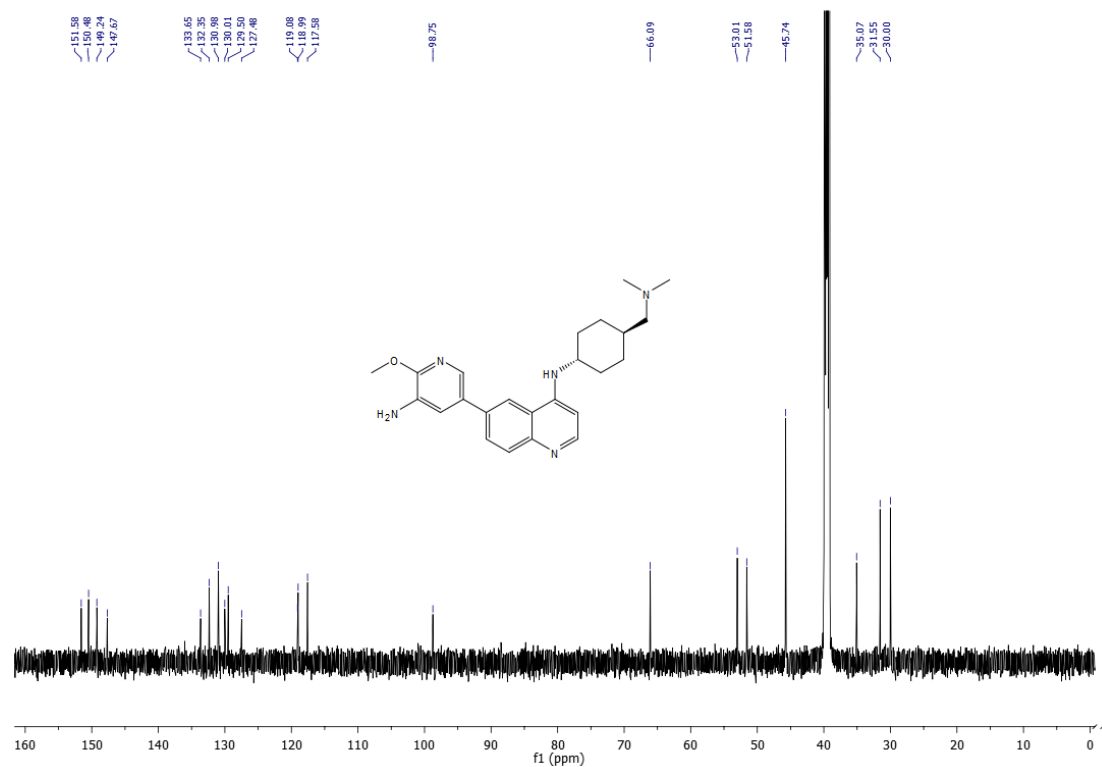
Φάσμα 65- ¹H NMR (34n) 6-(4-aminophenyl)-N-((1-methylpiperidin-4-yl)methyl)quinolin-4-amine



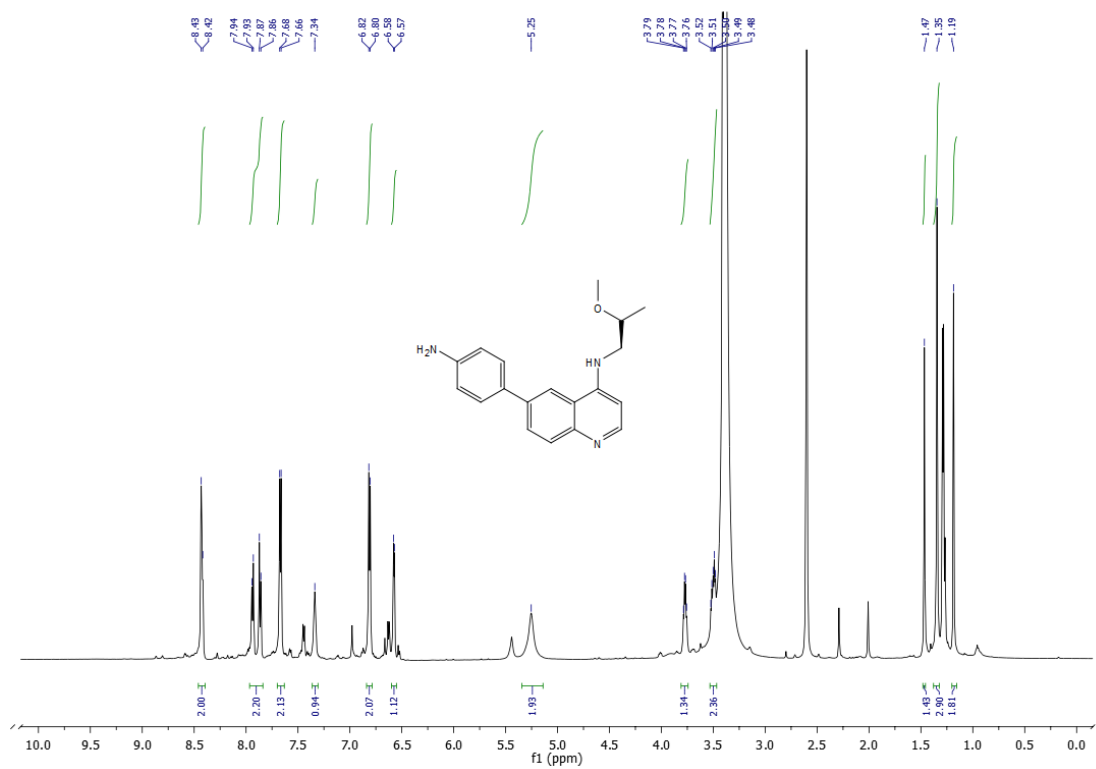
Φάσμα 66- ¹³C NMR (34n) 6-(4-aminophenyl)-N-((1-methylpiperidin-4-yl)methyl)quinolin-4-amine



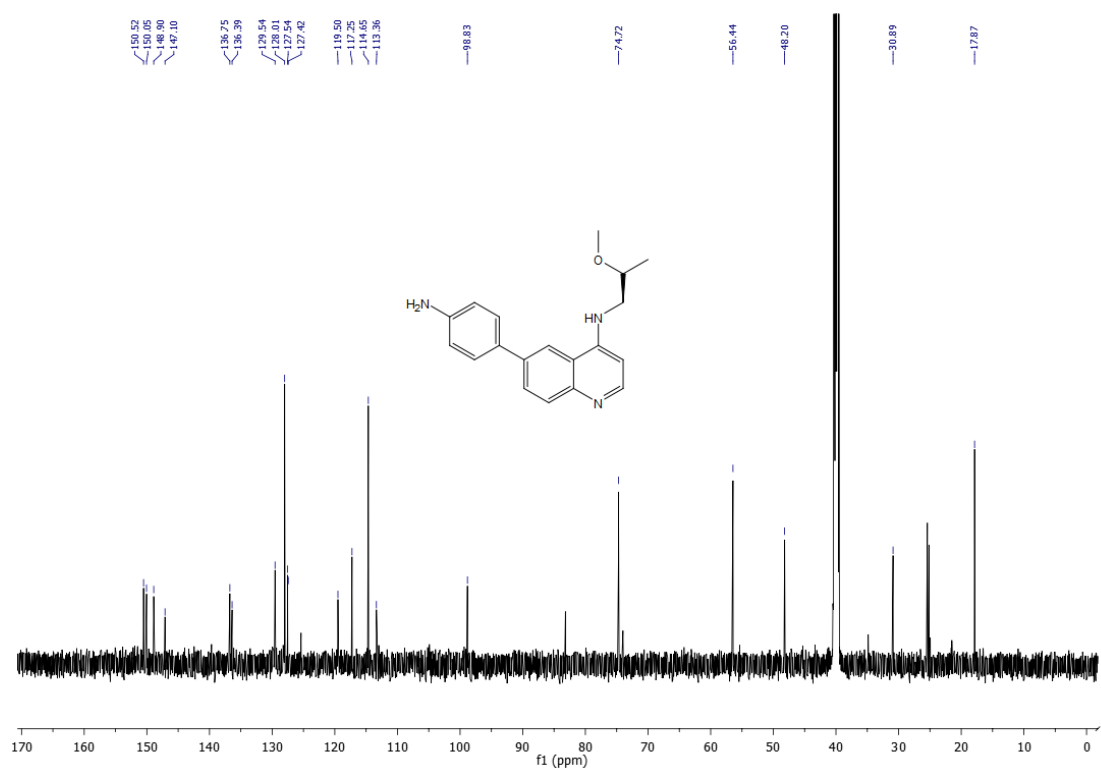
Φάσμα 67- ^1H NMR (34o) 6-(5-amino-6-methoxypyridin-3-yl)-N-((1r,4r)-4-((dimethylamino)methyl)cyclohexyl)quinoline-4-amine



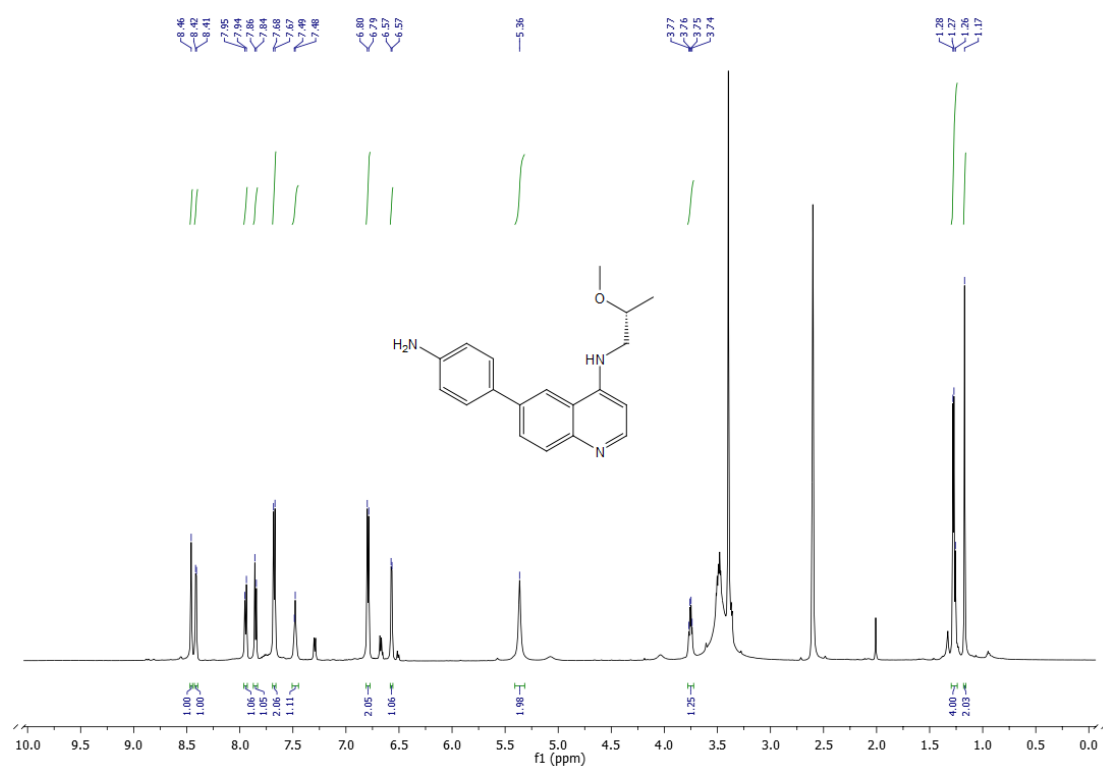
Φάσμα 68- ^{13}C NMR (34o) 6-(5-amino-6-methoxypyridin-3-yl)-N-((1r,4r)-4-((dimethylamino)methyl)cyclohexyl)quinoline-4-amine



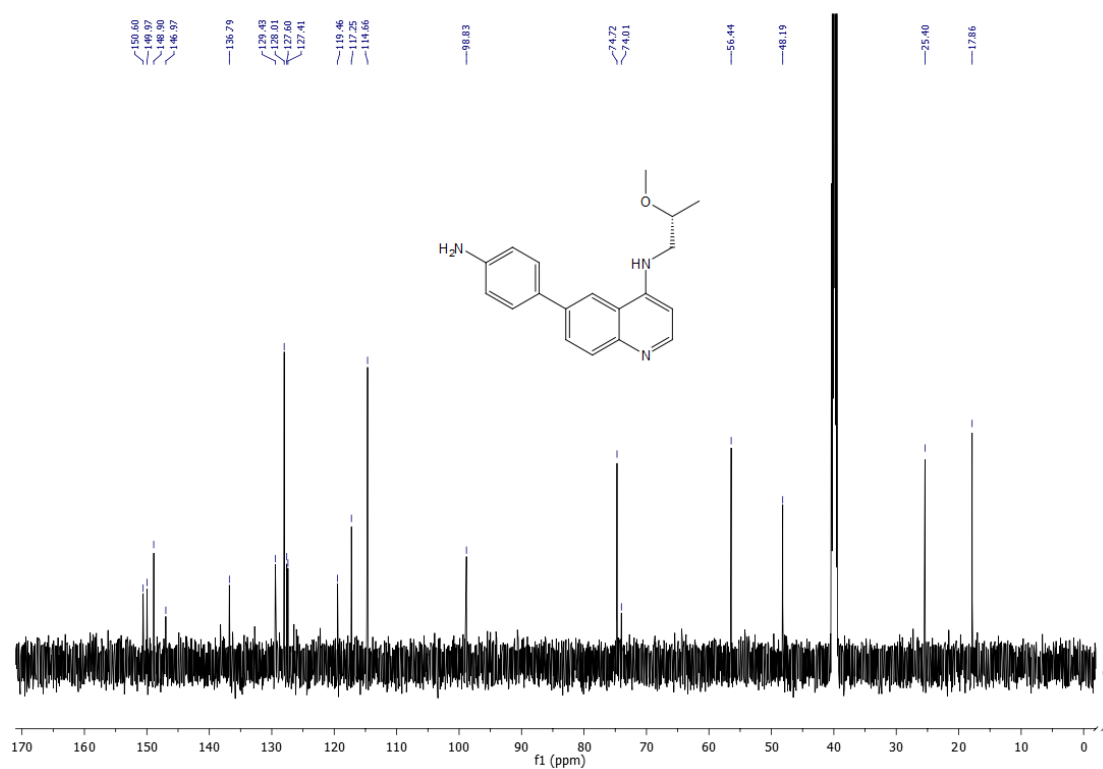
Φάσμα 69- ¹H NMR (34p) *(S)*-6-(4-aminophenyl)-*N*-(2-methoxypropyl)quinolin-4-amine



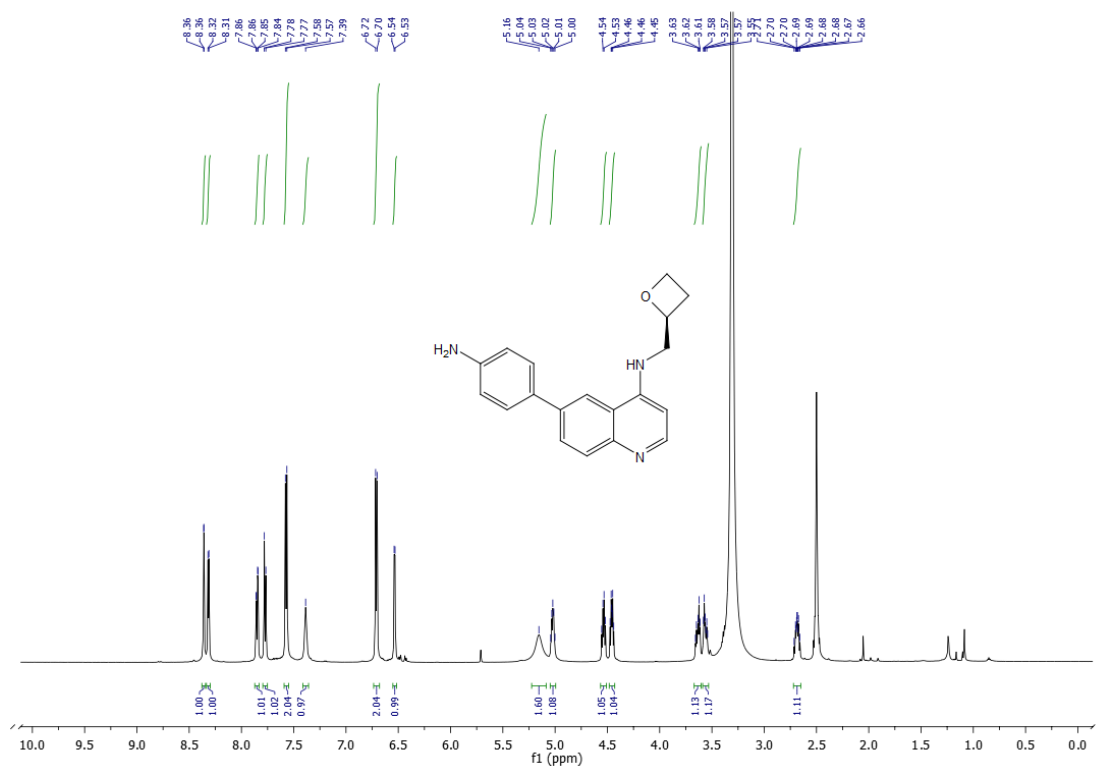
Φάσμα 70- ¹³C NMR (34p) *(S)*-6-(4-aminophenyl)-*N*-(2-methoxypropyl)quinolin-4-amine



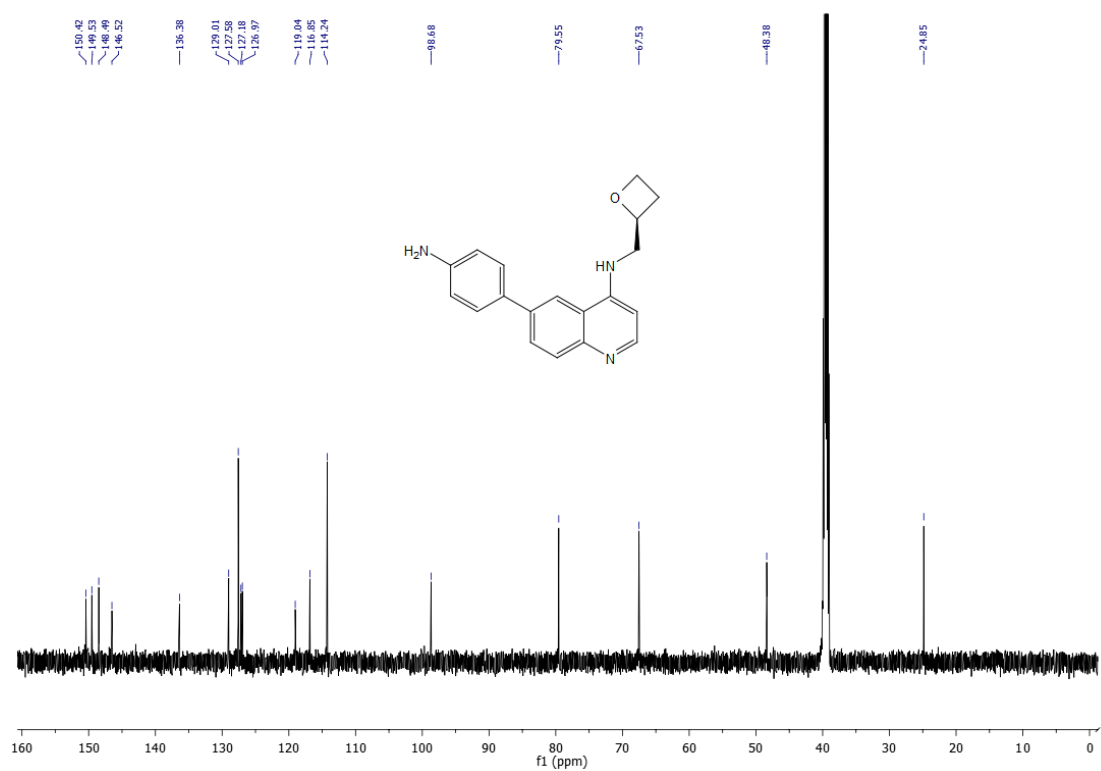
Φάσμα 71- ¹H NMR (34q) *(R)*-6-(4-aminophenyl)-*N*-(2-methoxypropyl)quinolin-4-amine



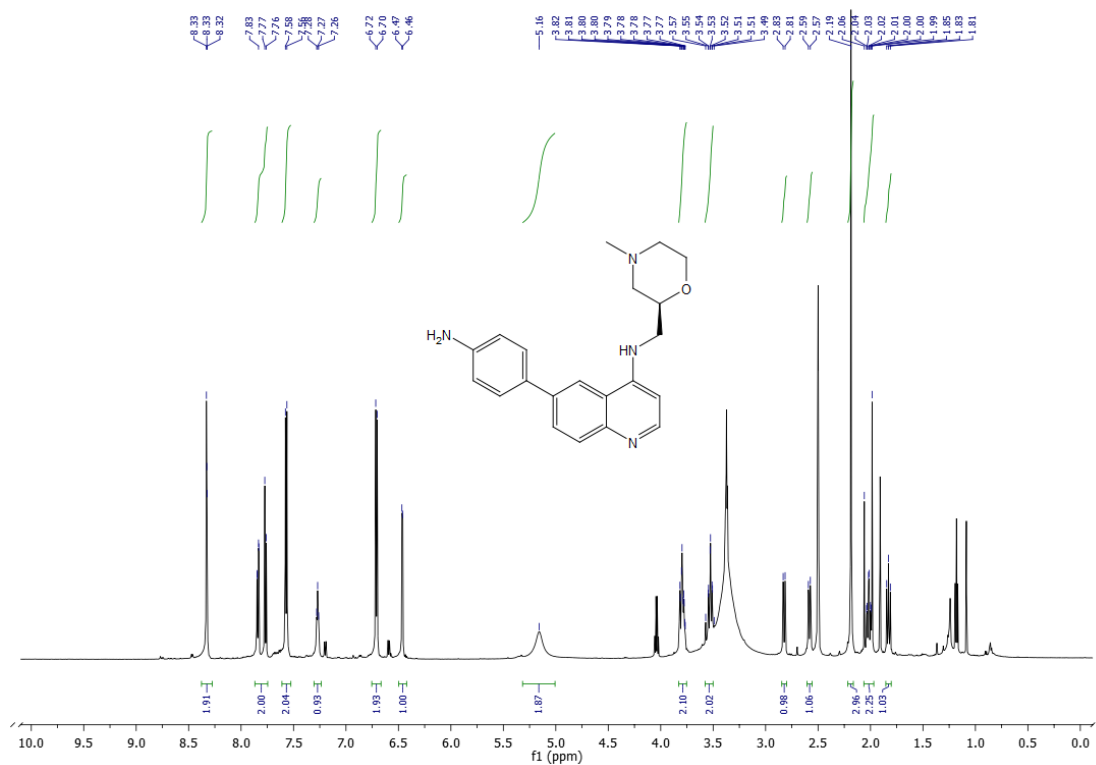
Φάσμα 72- ¹³C NMR (34q) *(R)*-6-(4-aminophenyl)-*N*-(2-methoxypropyl)quinolin-4-amine



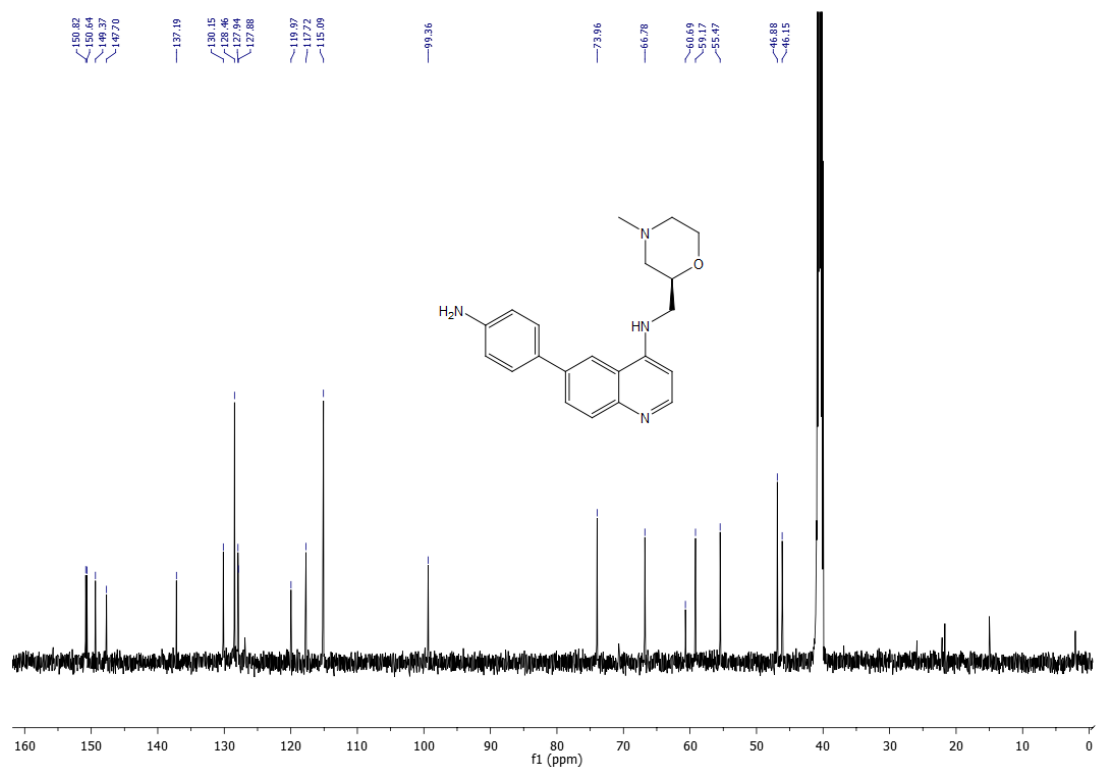
Φάσμα 73- ¹H NMR (34r) (S)-6-(4-aminophenyl)-N-(oxetan-2-ylmethyl)quinolin-4-amine



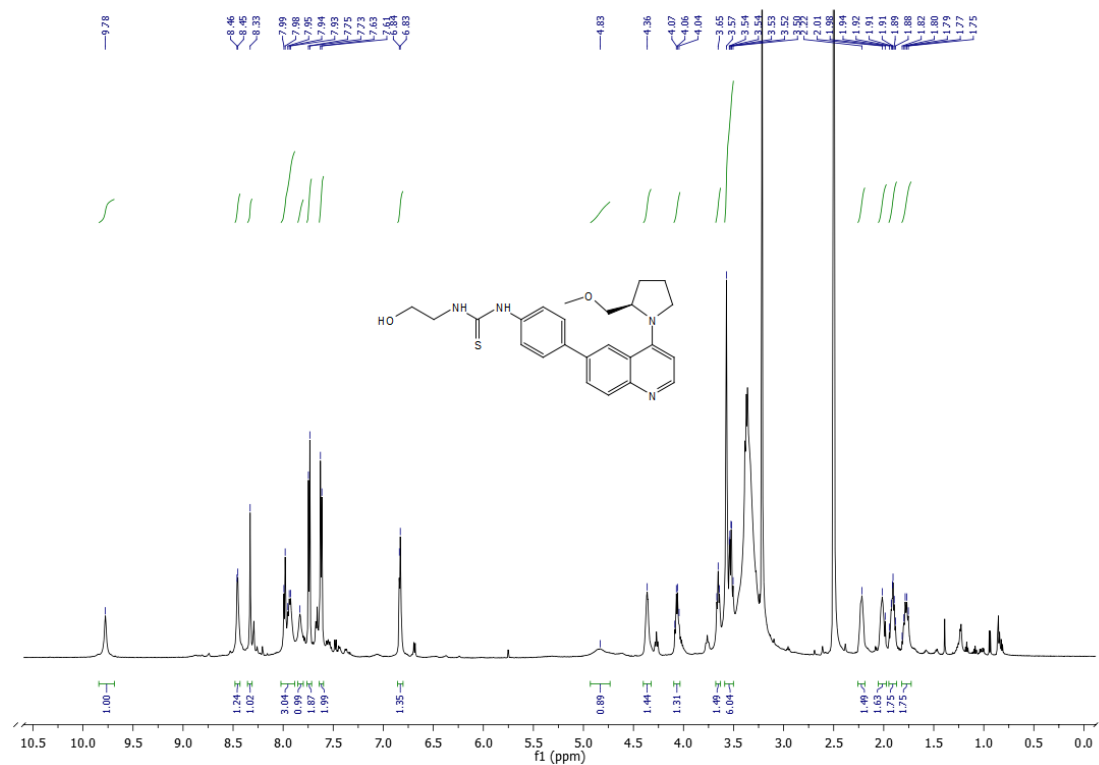
Φάσμα 74- ¹³C NMR (34r) (S)-6-(4-aminophenyl)-N-(oxetan-2-ylmethyl)quinolin-4-amine



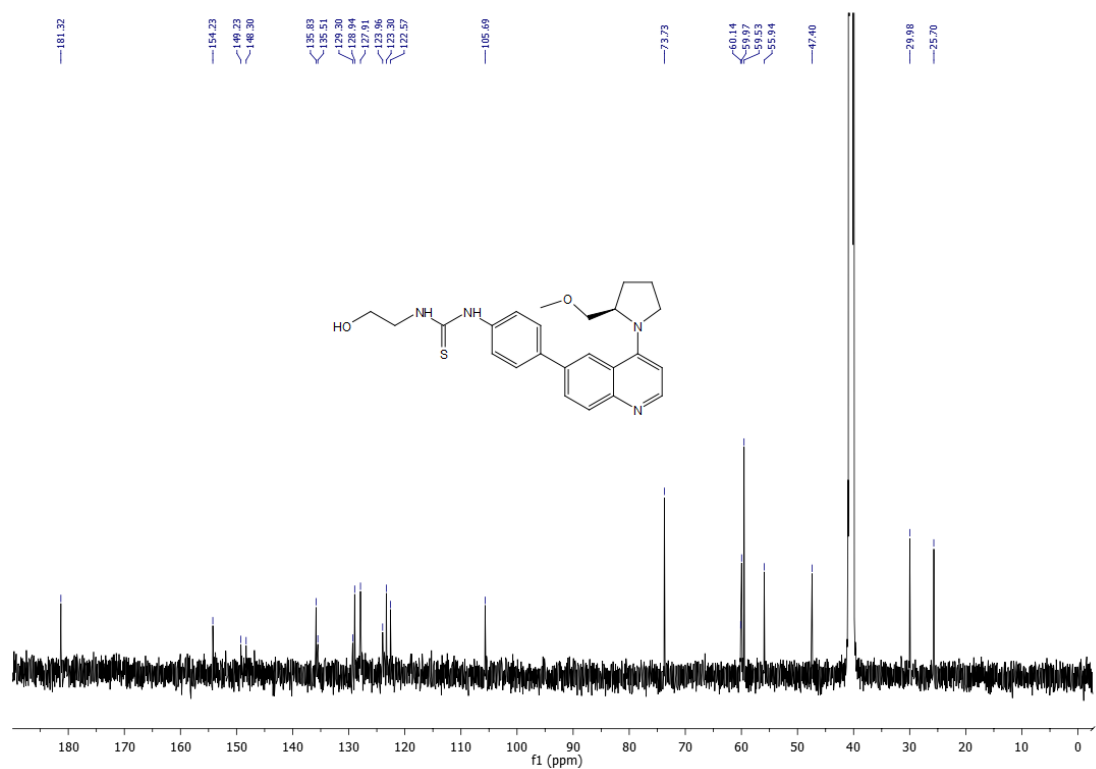
Φάσμα 75- ¹H NMR (34m) *(S)*-6-(4-aminophenyl)-*N*-((4-methylmorpholin-2-yl)methyl)quinolin-4-amine



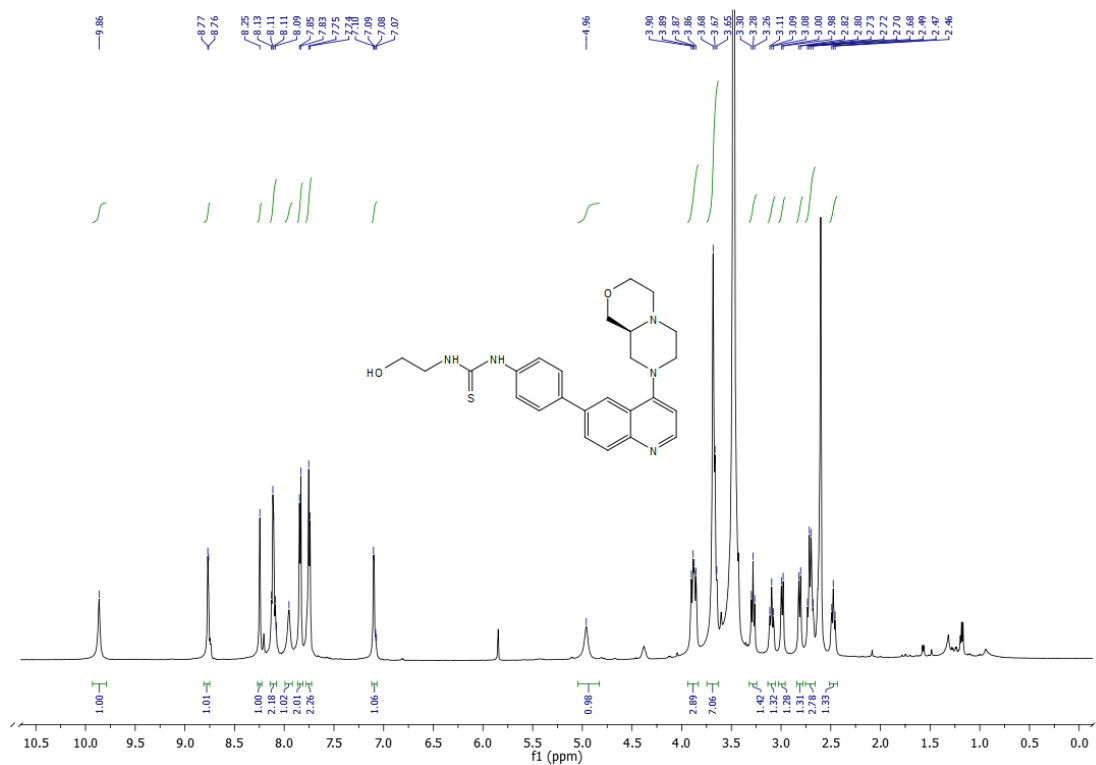
Φάσμα 76- ¹³C NMR (34m) *(S)*-6-(4-aminophenyl)-*N*-((4-methylmorpholin-2-yl)methyl)quinolin-4-amine



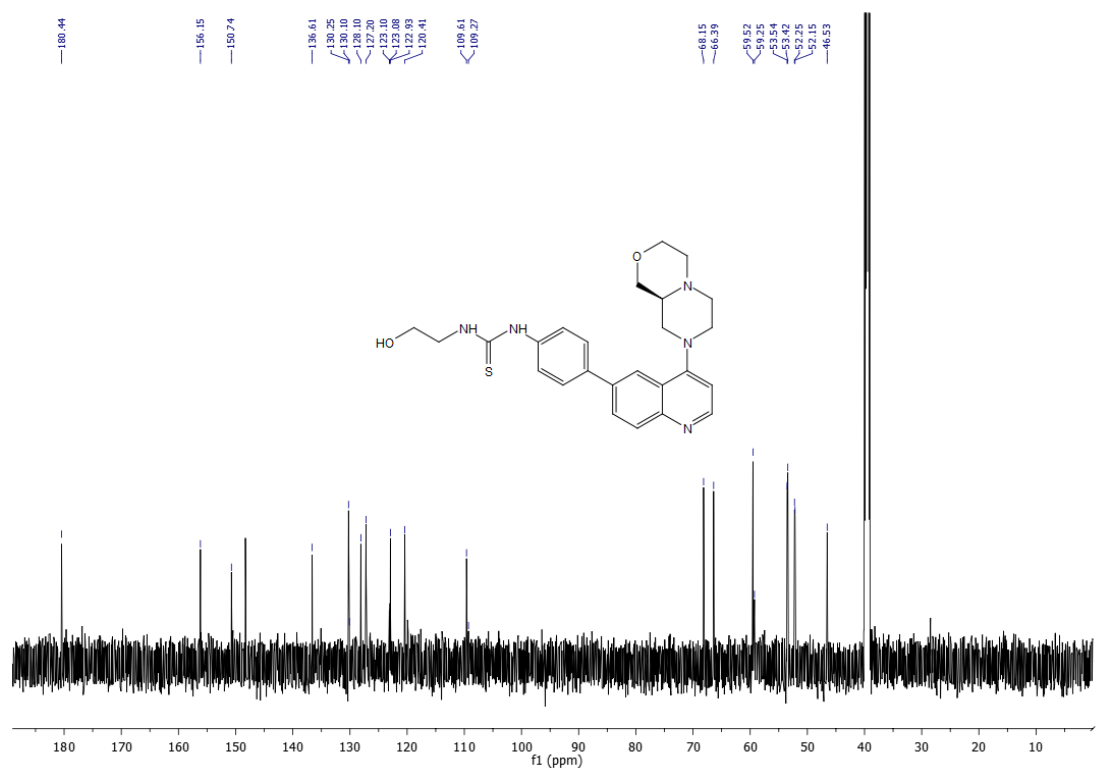
Φάσμα 77- ¹H NMR (37a) *(R)-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-(2-(methoxymethyl)pyrrolidin-1-yl)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea*



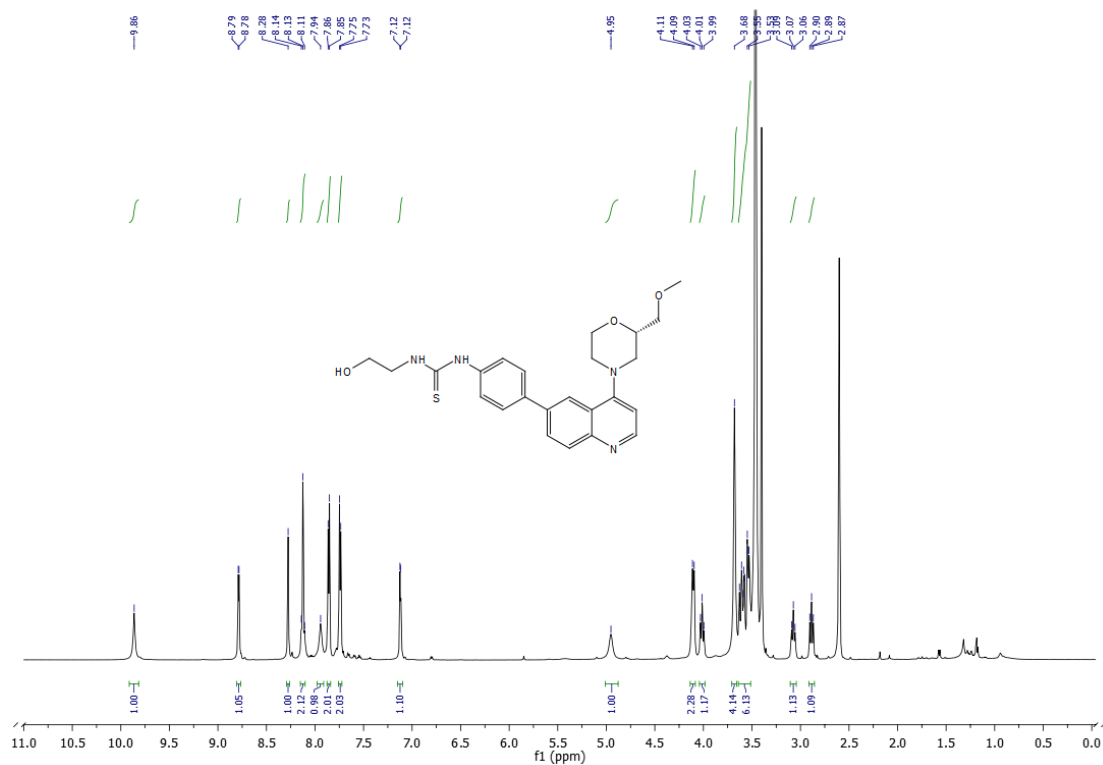
Φάσμα 78- ¹³C NMR (37a) *(R)-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-(2-(methoxymethyl)pyrrolidin-1-yl)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea*



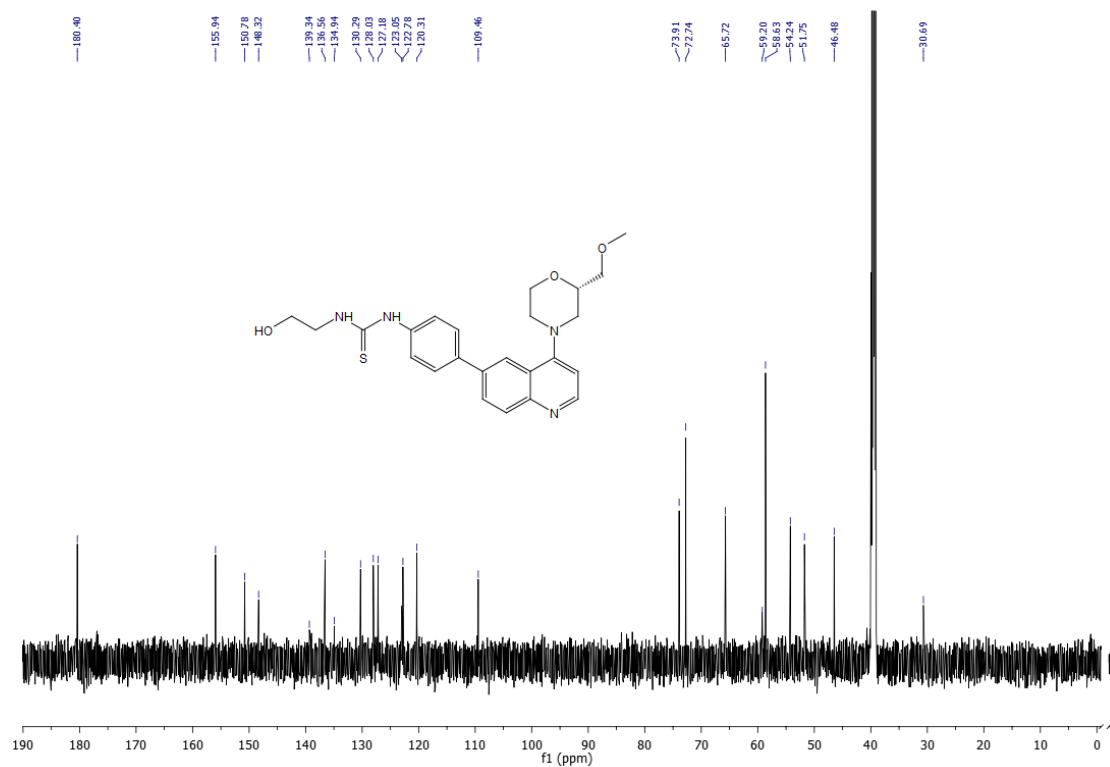
Φάσμα 79- ¹H NMR (37b) *(S)*-1-(4-(4-(hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl)quinolin-6-yl)phenyl)-3-(2-hydroxyethyl)thiourea



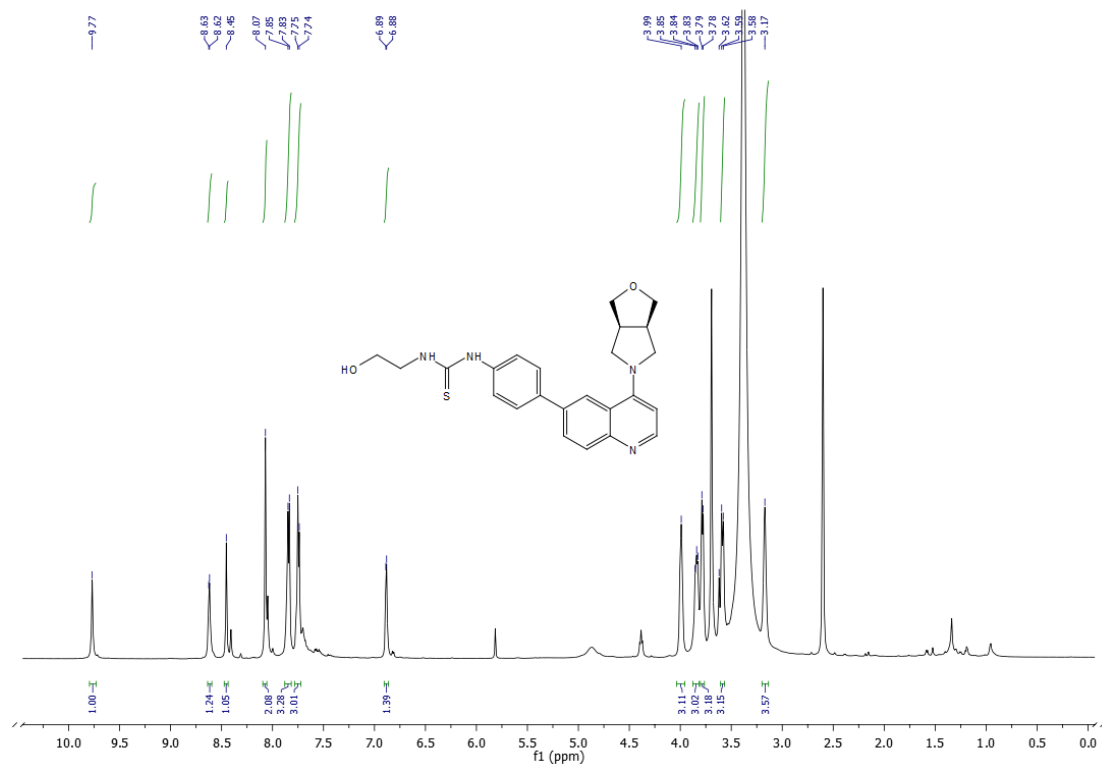
Φάσμα 80- ¹³C NMR (37b) *(S)*-1-(4-(4-(hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl)quinolin-6-yl)phenyl)-3-(2-hydroxyethyl)thiourea



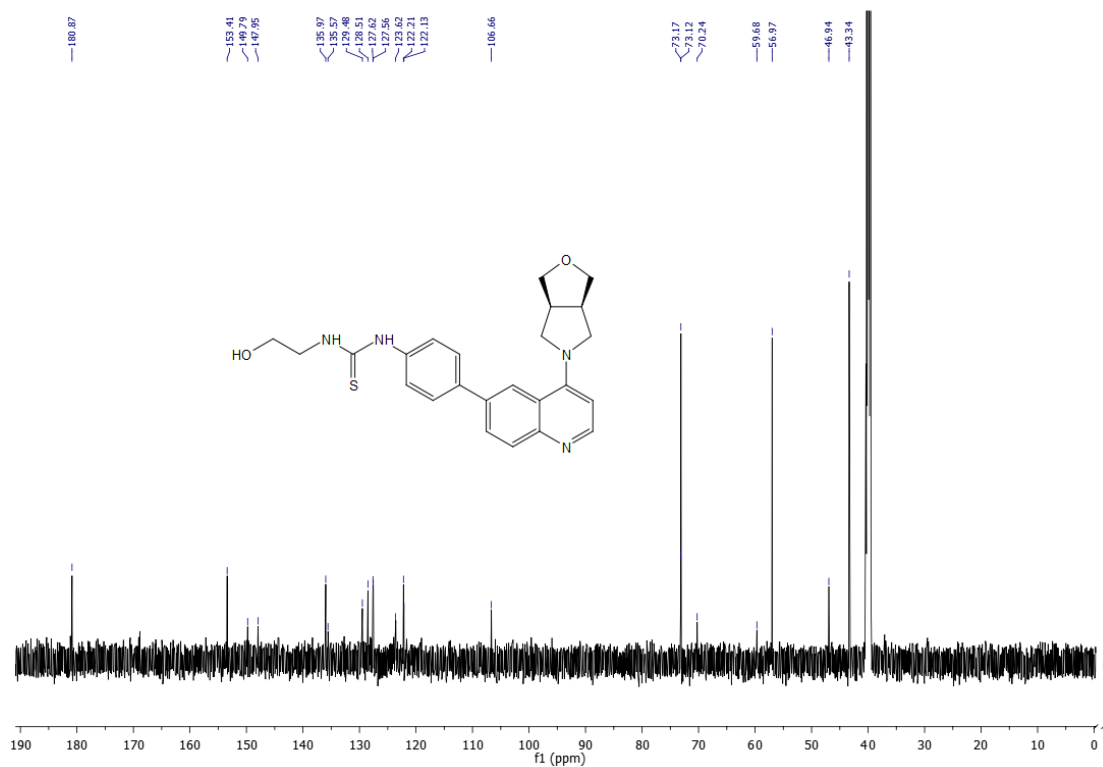
Φάσμα 81- ¹H NMR (37c) *(S)*-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-(2-(methoxymethyl)morpholino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea



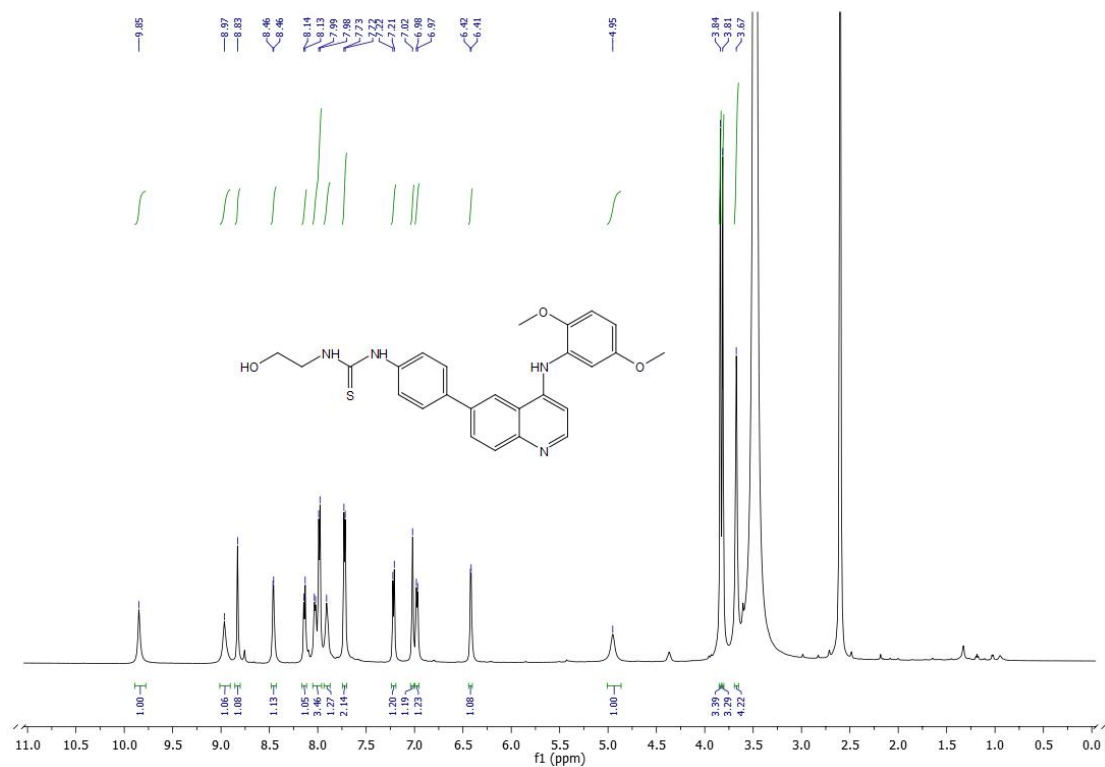
Φάσμα 82- ¹³C NMR (37c) *(S)*-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-(2-(methoxymethyl)morpholino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea



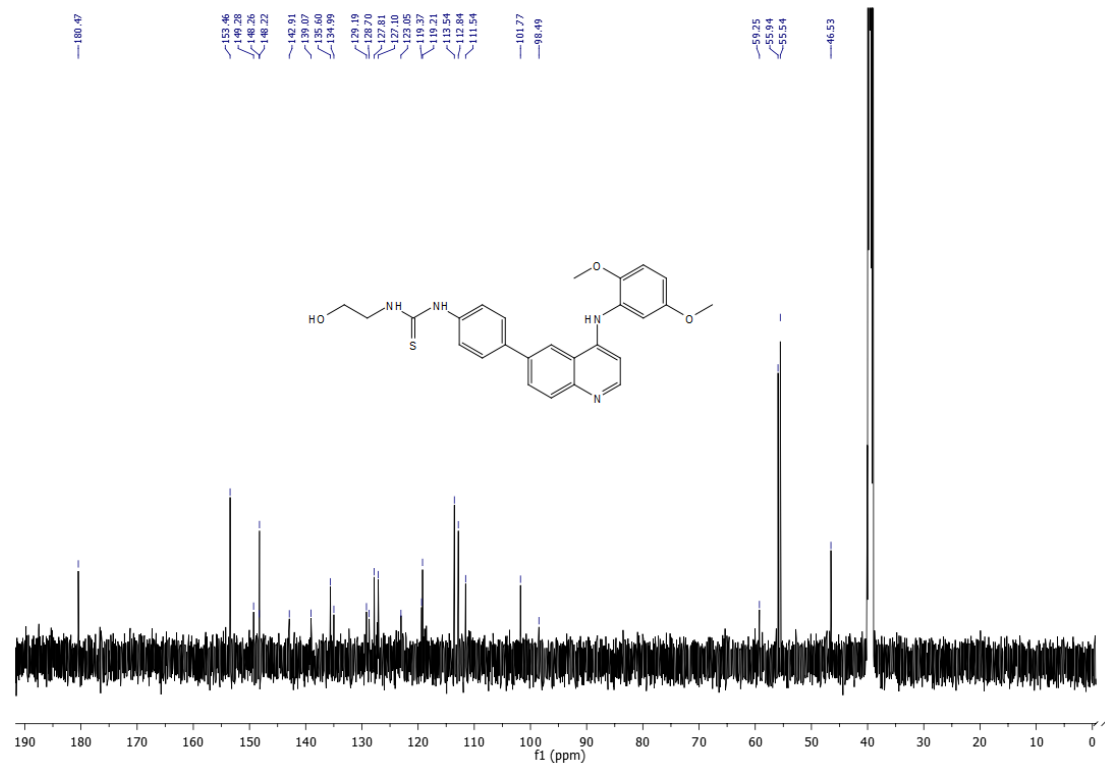
Φάσμα 83- ¹H NMR (**37d**) *1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-((3aR,6aS)-tetrahydro-1H-furo[3,4-c]pyrrol-5(3H)-yl)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea*



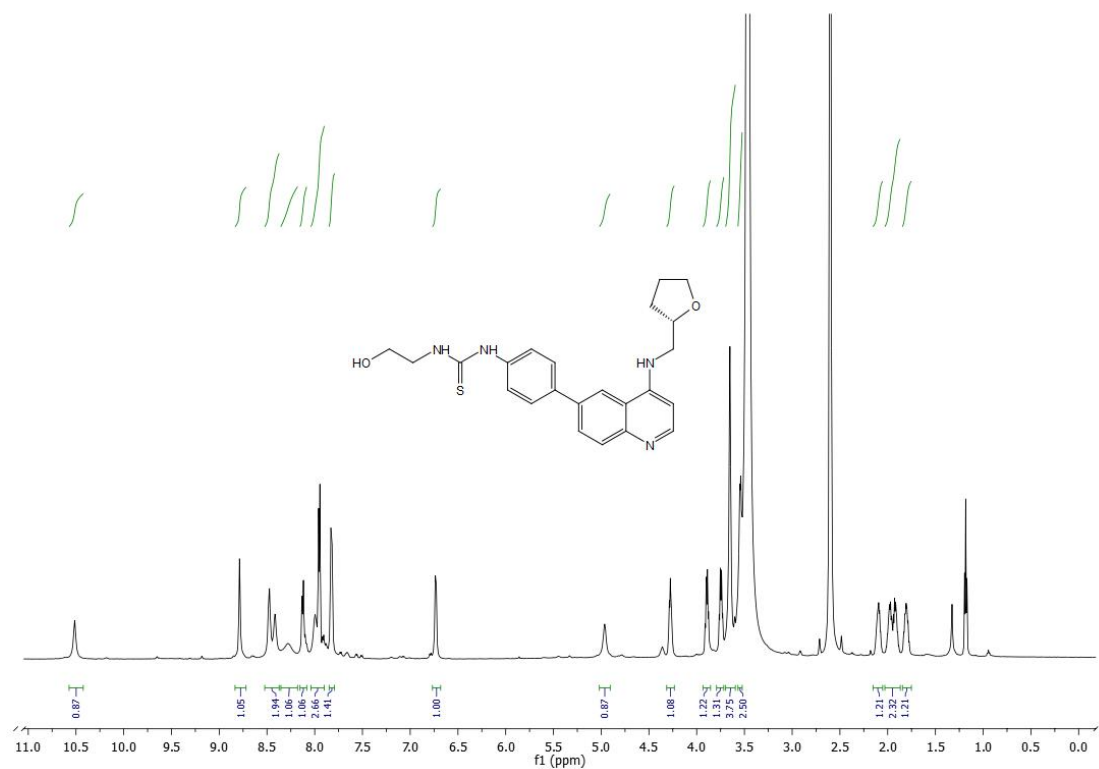
Φάσμα 84- ¹³C NMR (**37d**) *1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-((3aR,6aS)-tetrahydro-1H-furo[3,4-c]pyrrol-5(3H)-yl)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea*



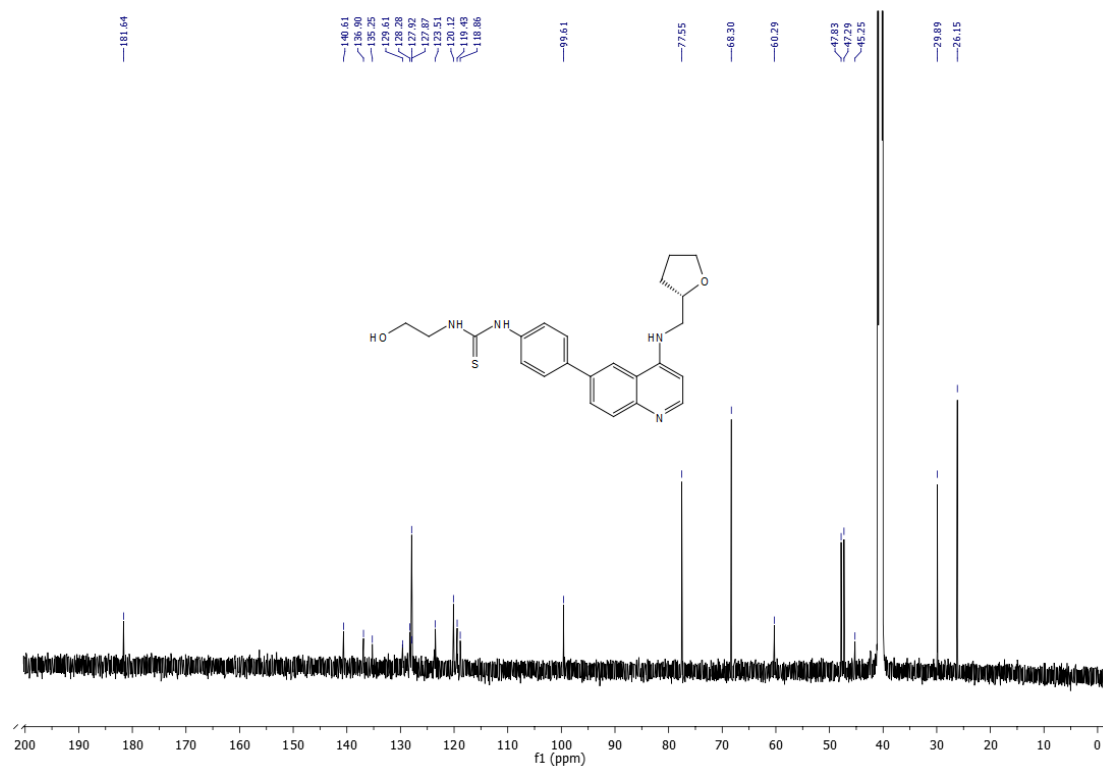
Φάσμα 85- ¹H NMR (**37e**) *1-(4-(4-((2,5-dimethoxyphenyl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)-3-(2-hydroxyethyl)thiourea*



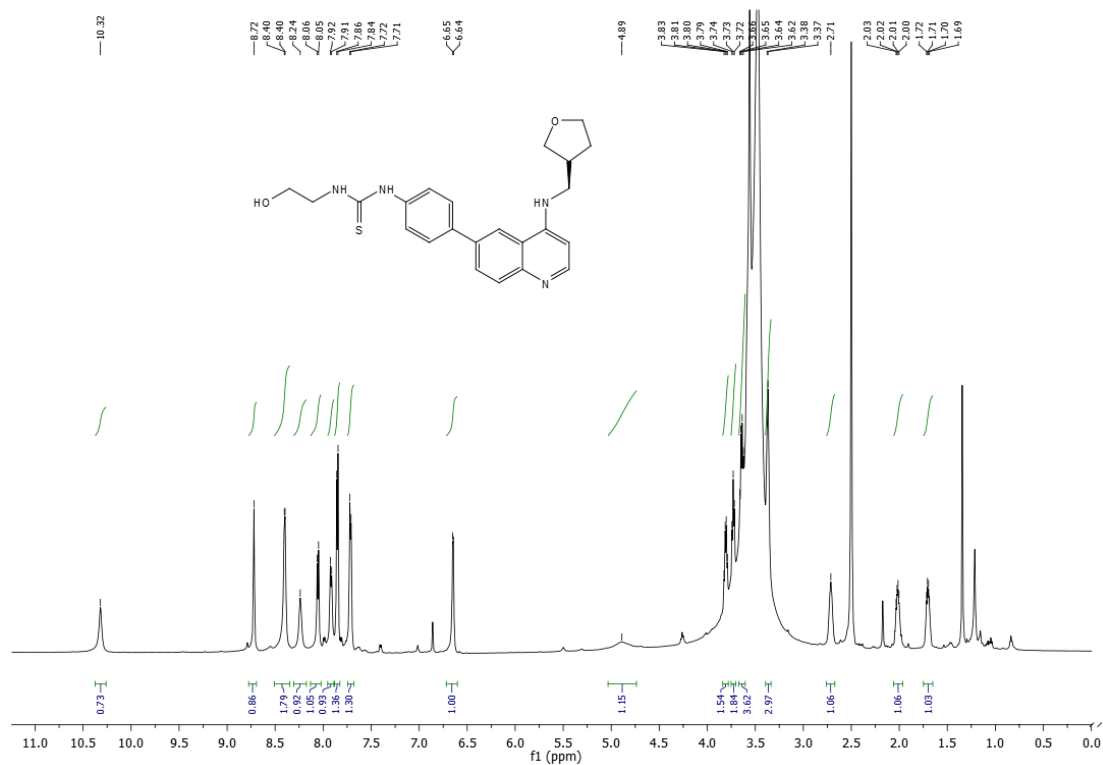
Φάσμα 86- ¹³C NMR (**37e**) *1-(4-(4-((2,5-dimethoxyphenyl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)-3-(2-hydroxyethyl)thiourea*



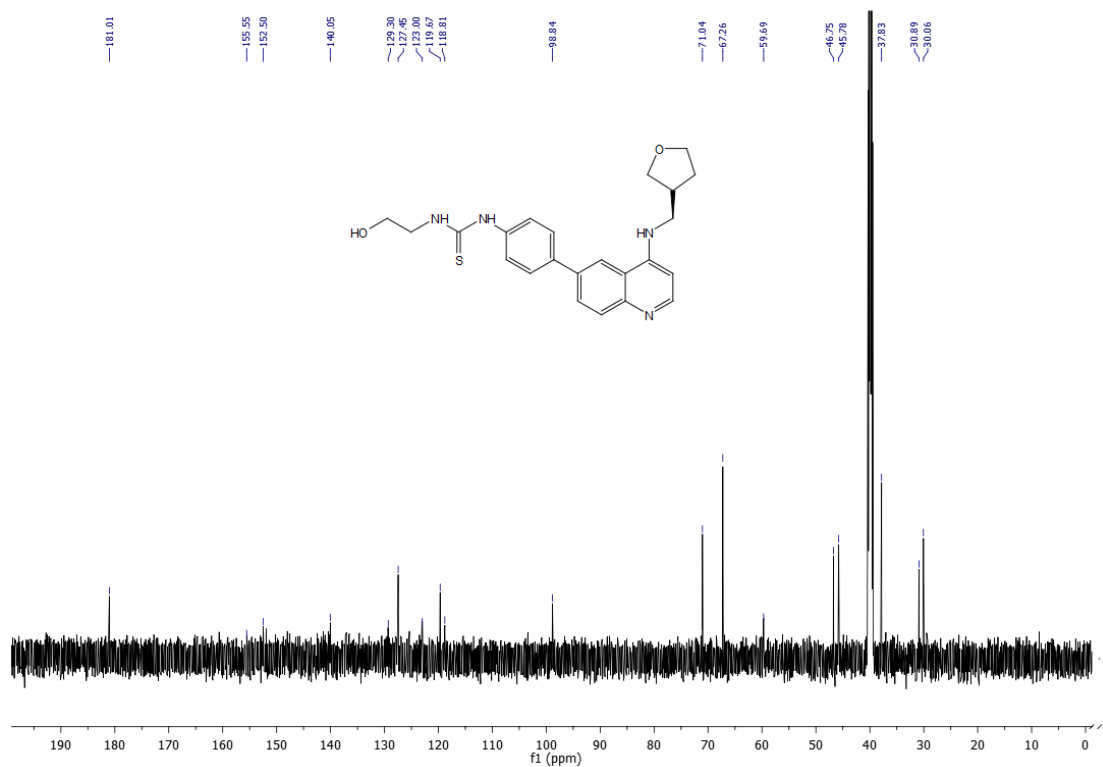
Φάσμα 87- ¹H NMR (37f) *(S)*-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-(((tetrahydrofuran-2-yl)methyl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea



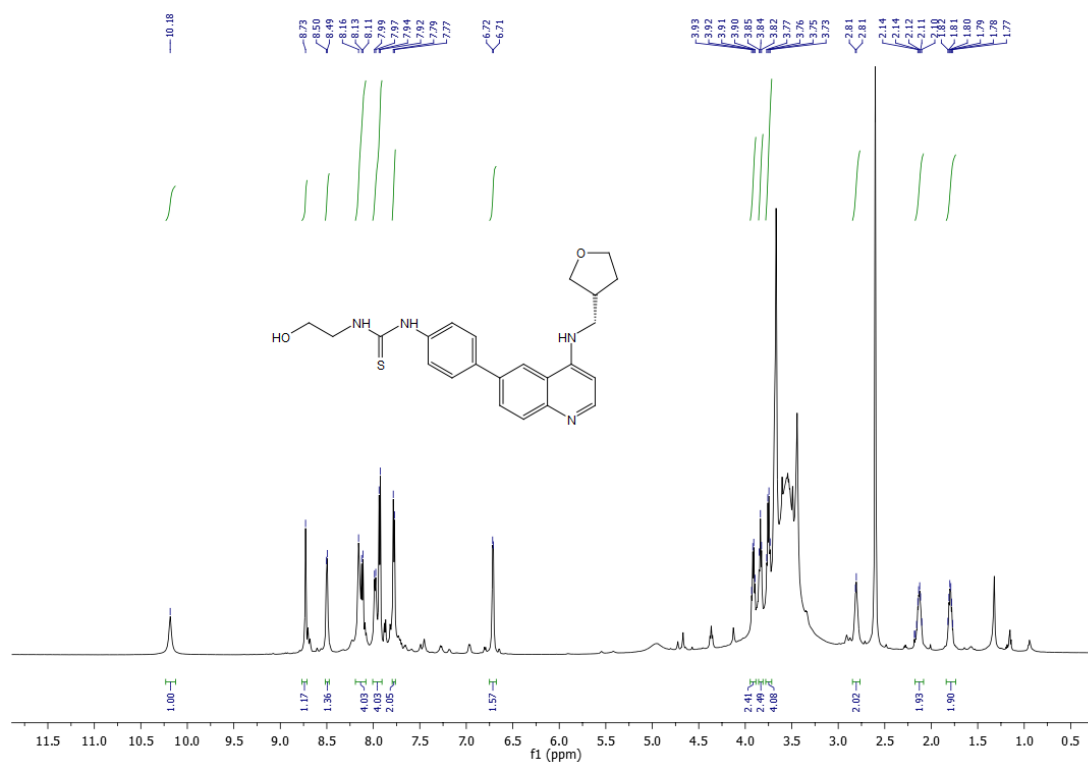
Φάσμα 88- ¹³C NMR (37f) *(S)*-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-(((tetrahydrofuran-2-yl)methyl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea



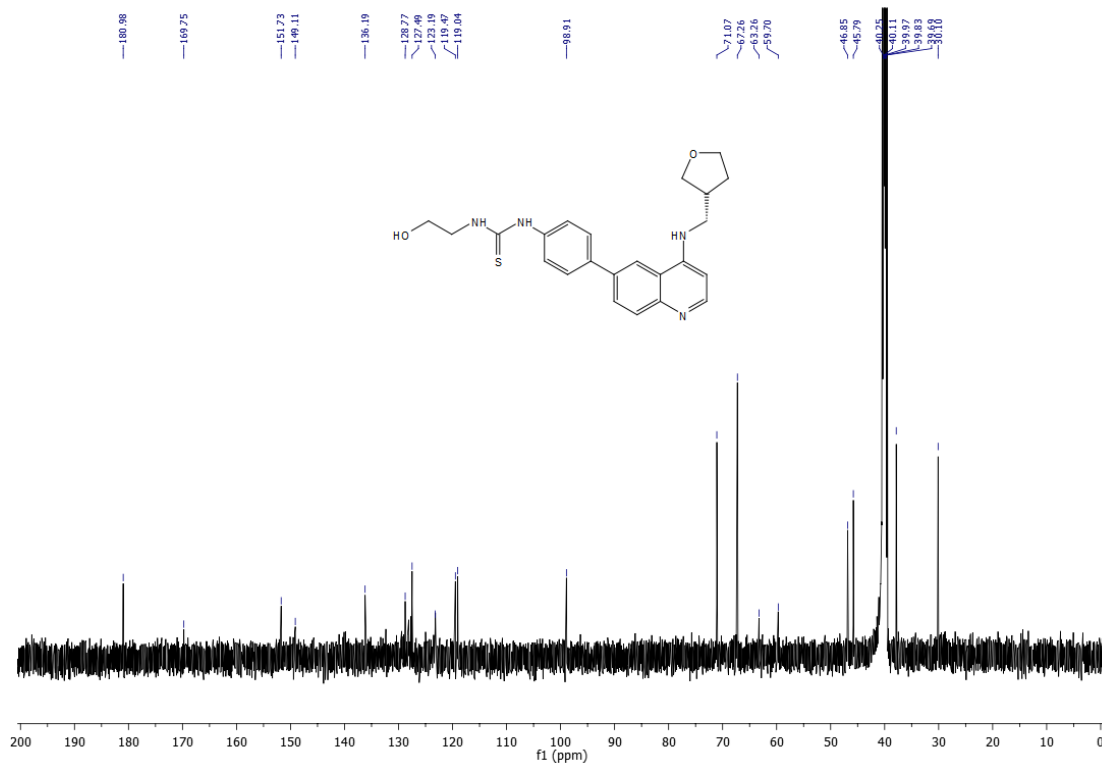
Φάσμα 89- ¹H NMR (37g) (S)-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-(((tetrahydrofuran-3-yl)methyl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea



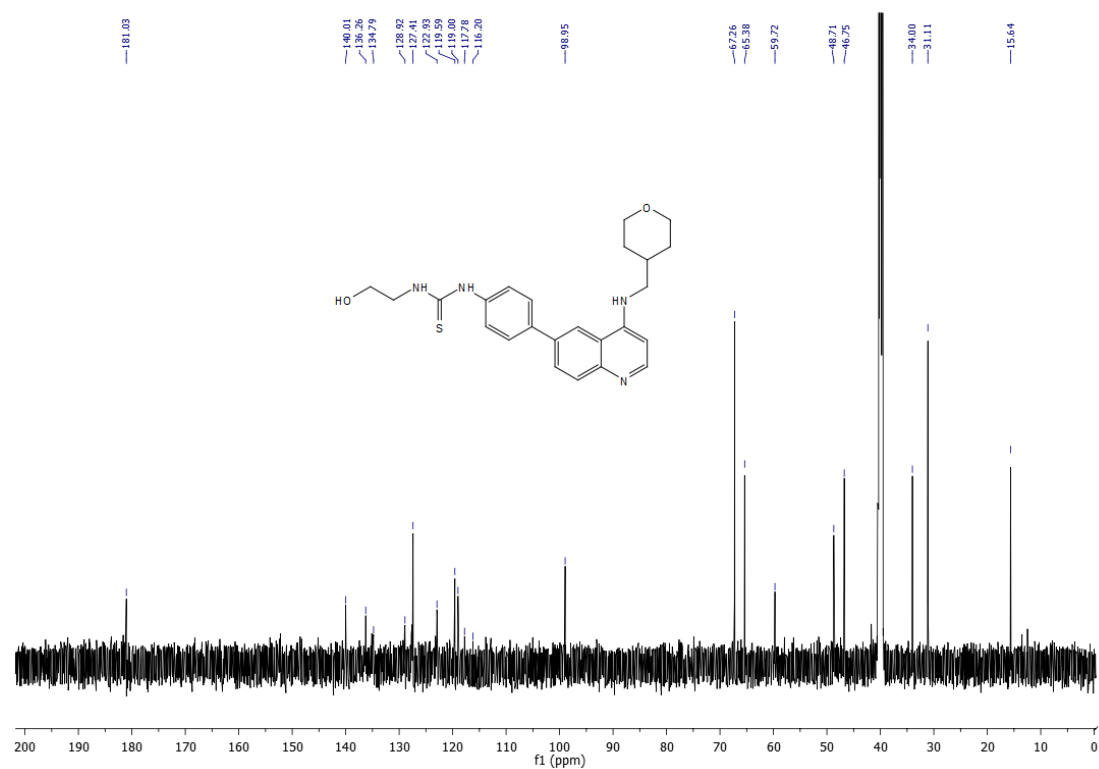
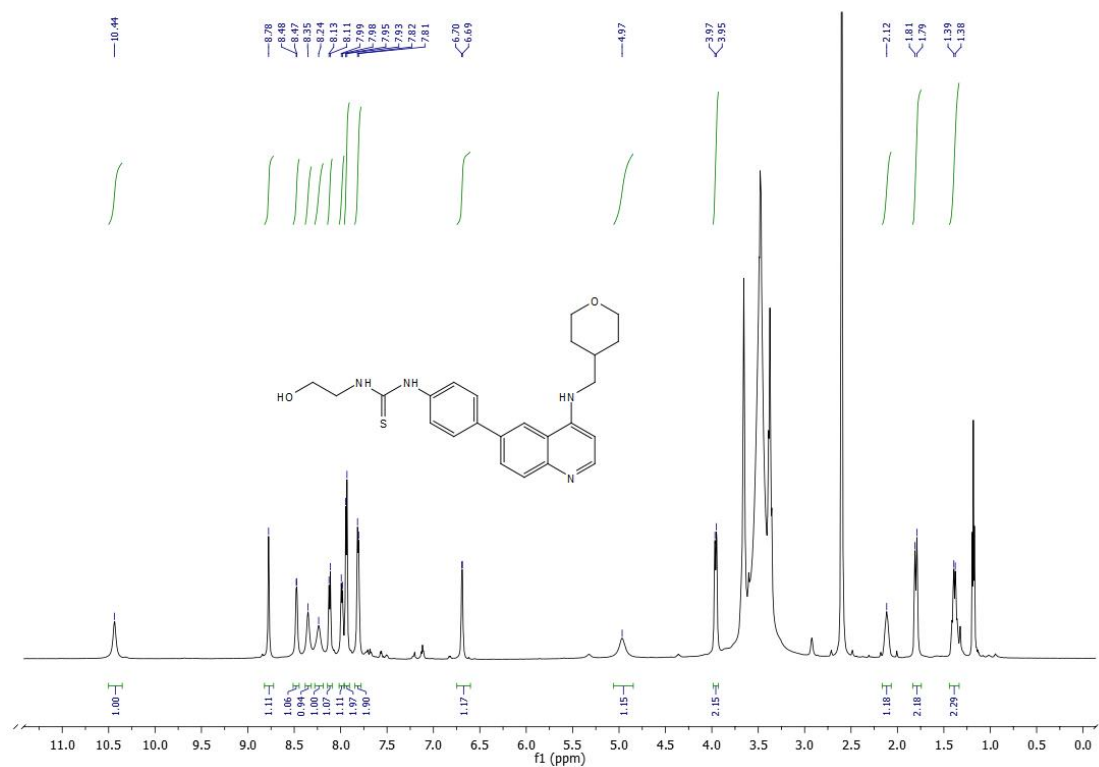
Φάσμα 90- ¹³C NMR (37g) (S)-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-(((tetrahydrofuran-3-yl)methyl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea

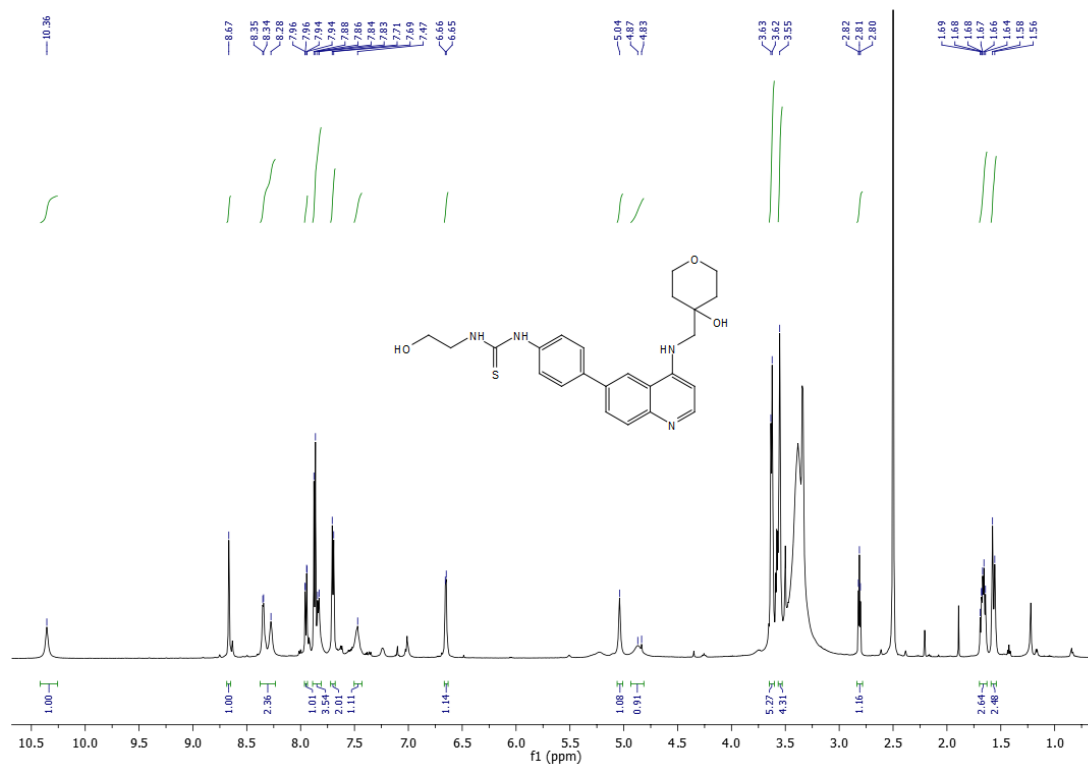


Φάσμα 91- ¹H NMR (37h) (R)-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-(((tetrahydrofuran-3-yl)methyl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea

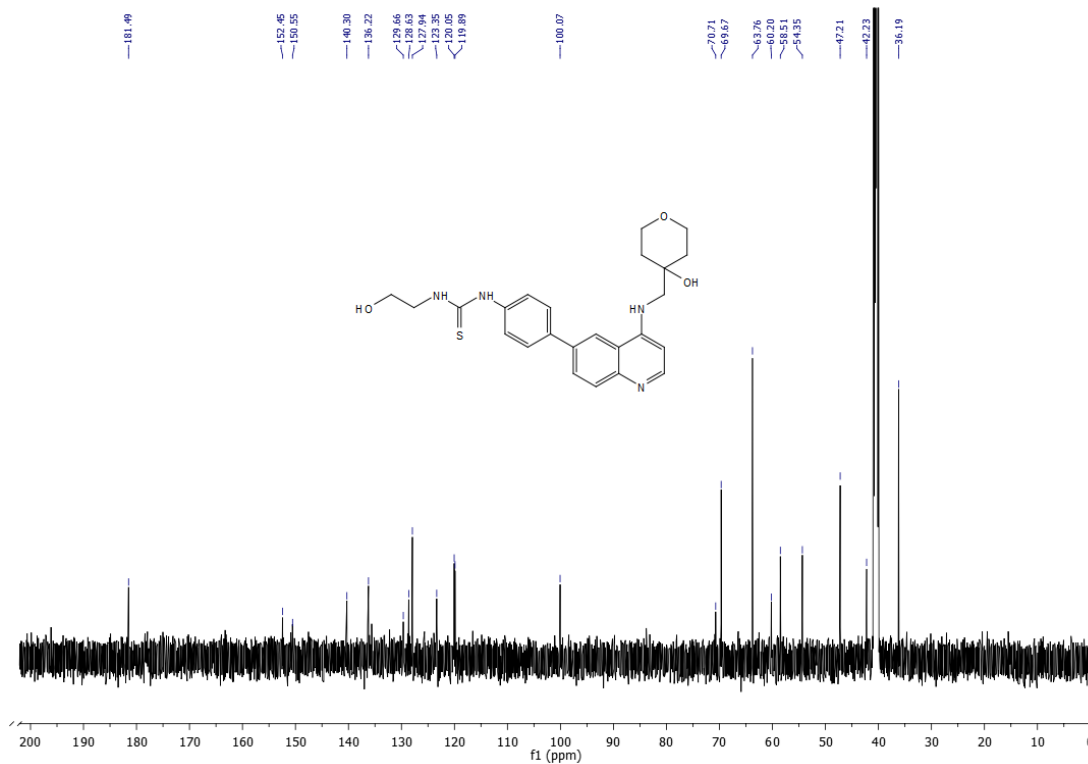


Φάσμα 92- ¹³C NMR (37h) (R)-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-(((tetrahydrofuran-3-yl)methyl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea

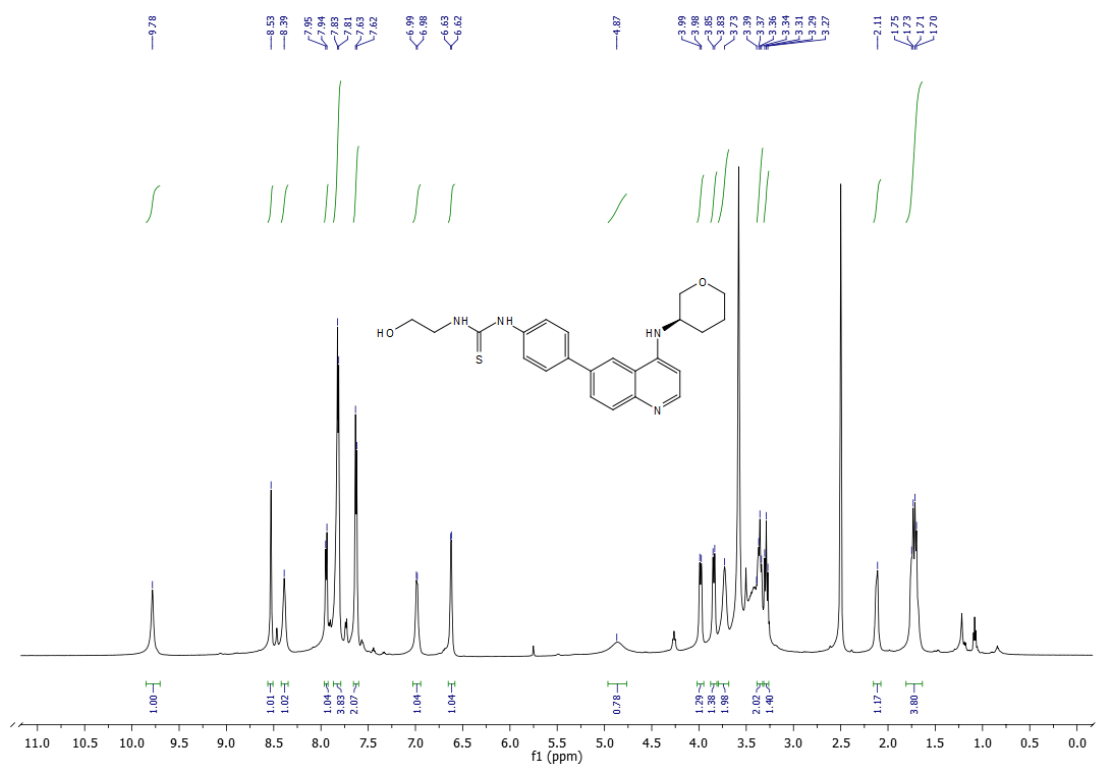




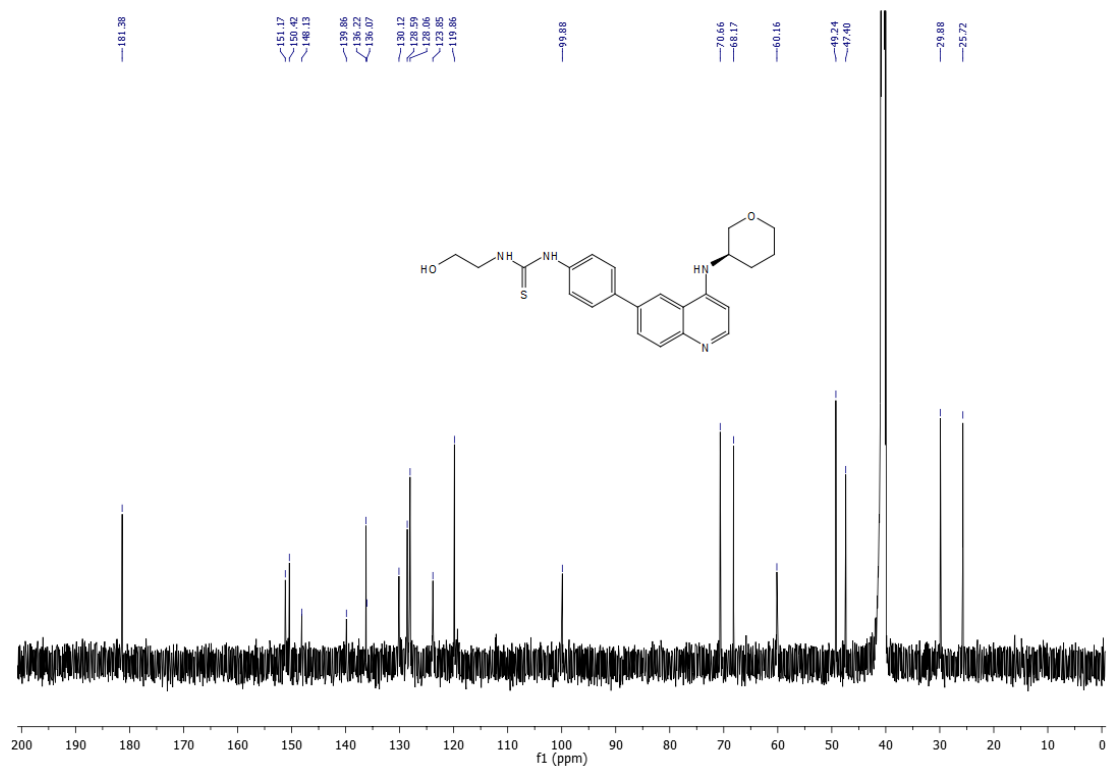
Φάσμα 95- ¹H NMR (37j) 1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-(((4-hydroxytetrahydro-2H-pyran-4-yl)methyl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea



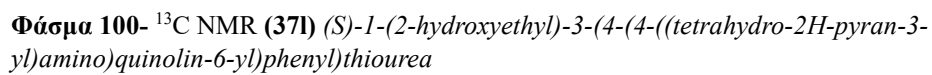
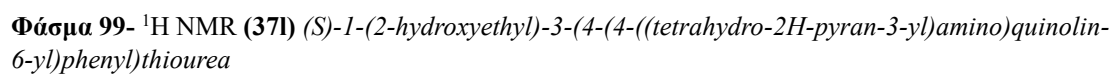
Φάσμα 96- ¹³C NMR (37j) 1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-(((4-hydroxytetrahydro-2H-pyran-4-yl)methyl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea

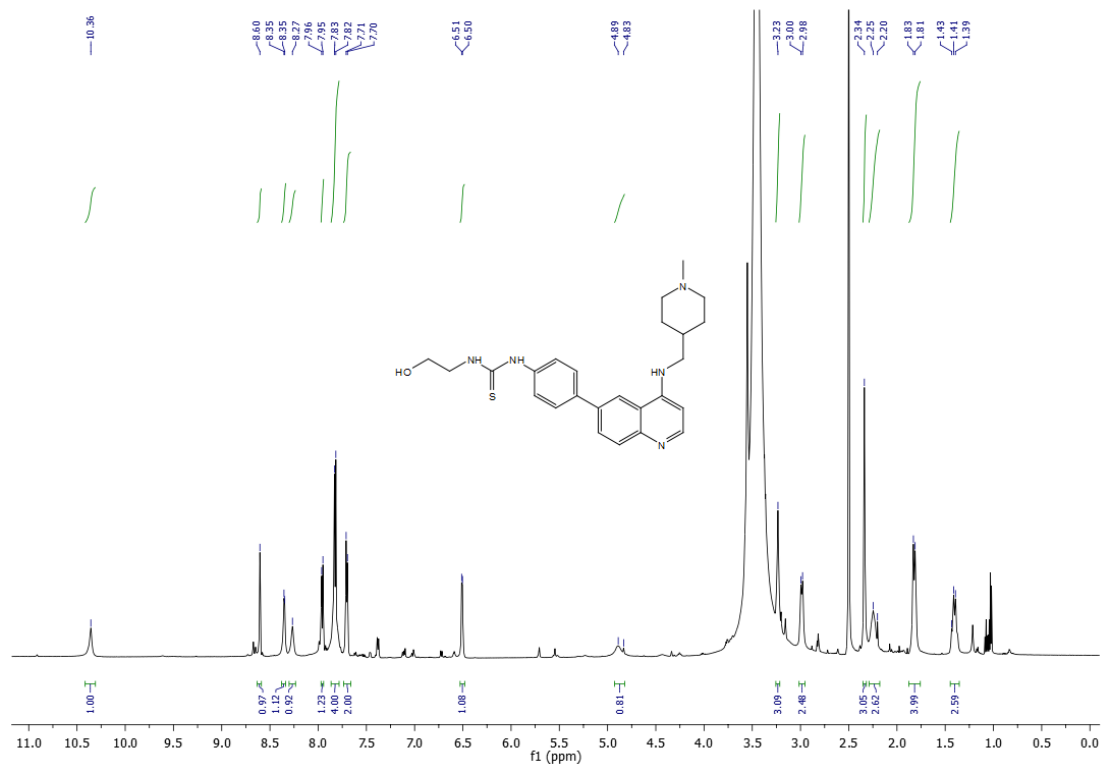


Φάσμα 97- ¹H NMR (37k) (R)-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-((tetrahydro-2H-pyran-3-yl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea

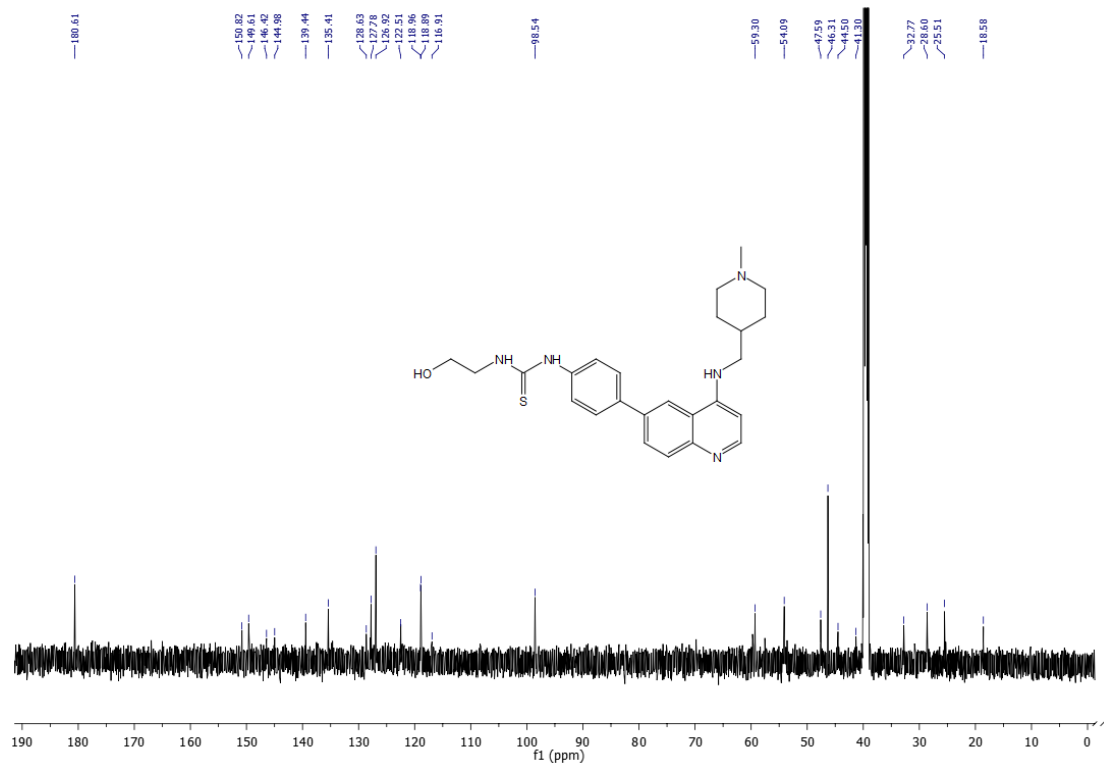


Φάσμα 98- ¹³C NMR (37k) (R)-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-((tetrahydro-2H-pyran-3-yl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea

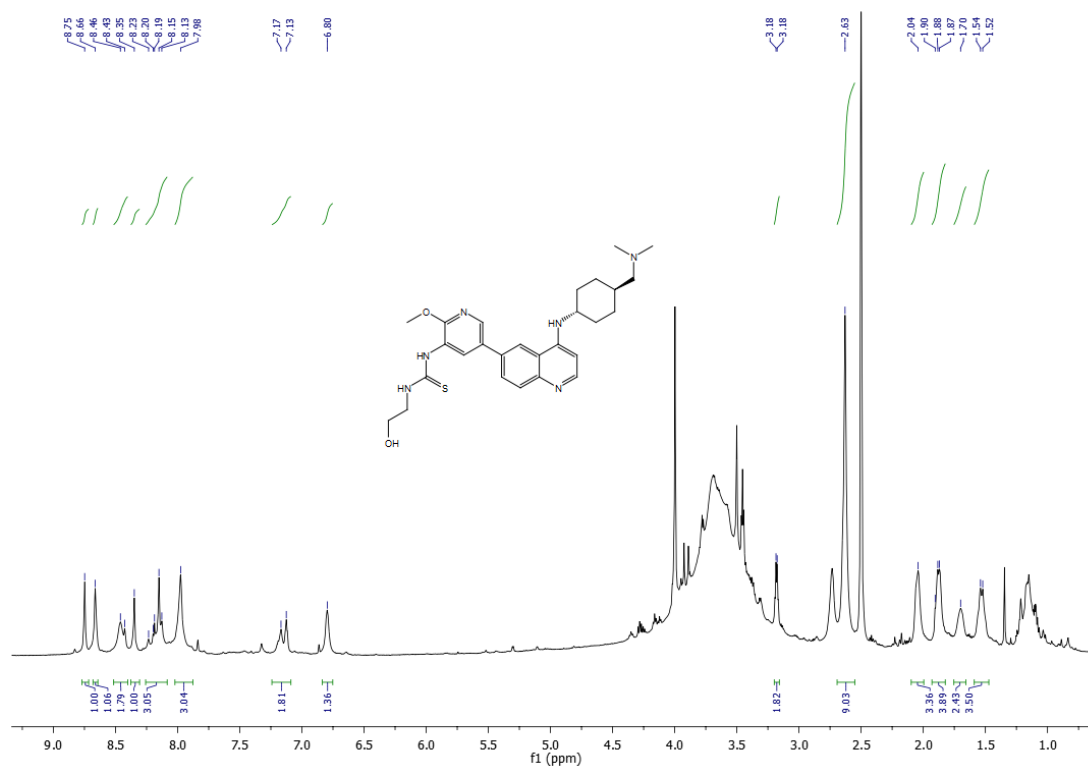




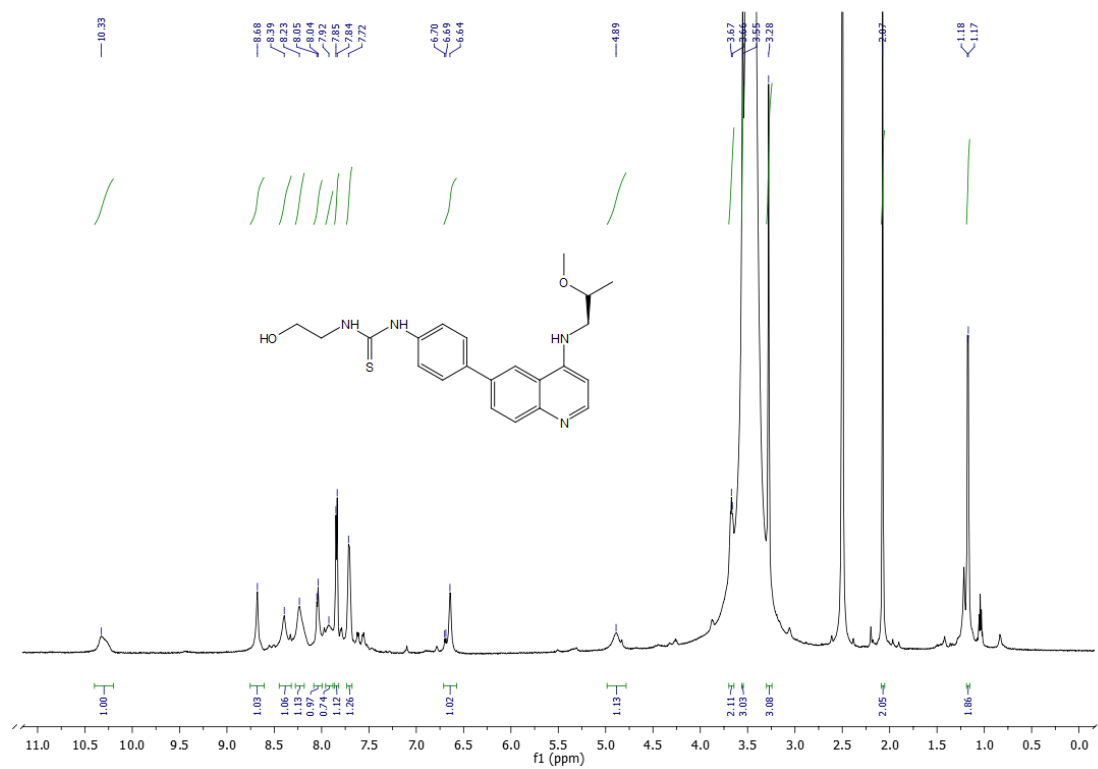
Φάσμα 101- ¹H NMR (**37n**) 1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-((1-methylpiperidin-4-yl)methyl)amino)quinolin-6-yl)phenylthiourea



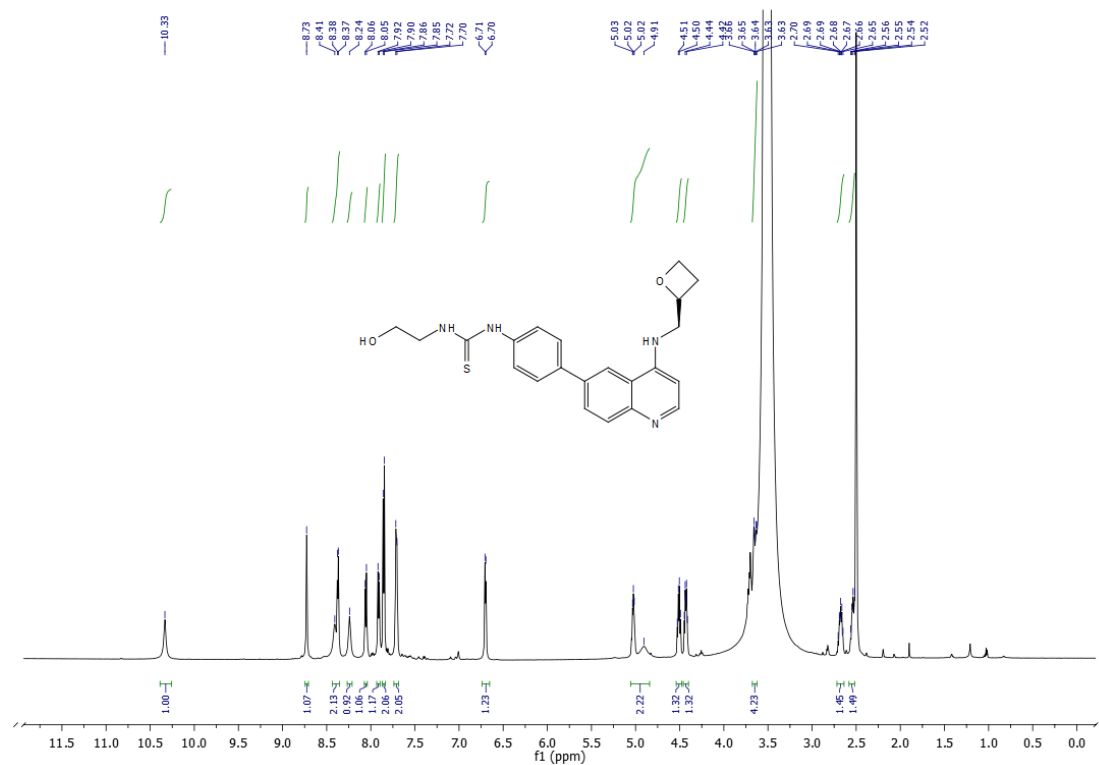
Φάσμα 102- ¹³C NMR (**37n**) 1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-((1-methylpiperidin-4-yl)methyl)amino)quinolin-6-yl)phenylthiourea



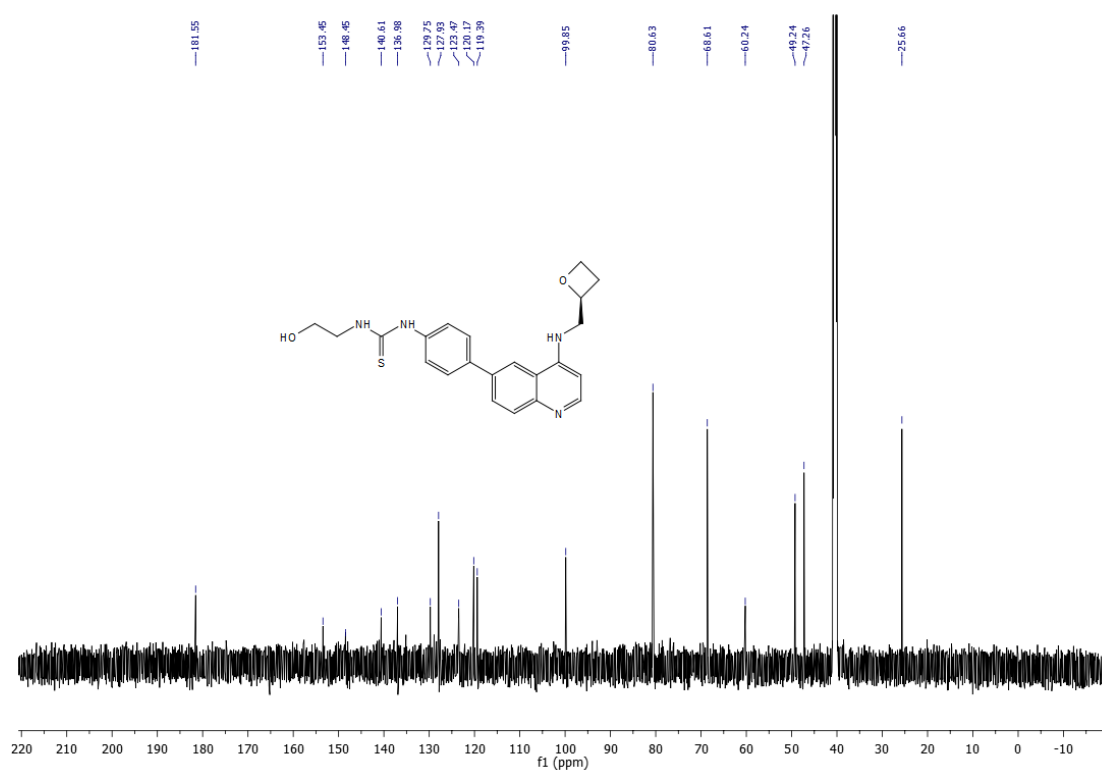
Φάσμα 103- ¹H NMR (**37o**) *1-(5-(4-(((1r,4r)-4-((dimethylamino)methyl)cyclohexyl)amino)quinolin-6-yl)-2-methoxypyridin-3-yl)-3-(2-hydroxyethyl)thiourea*



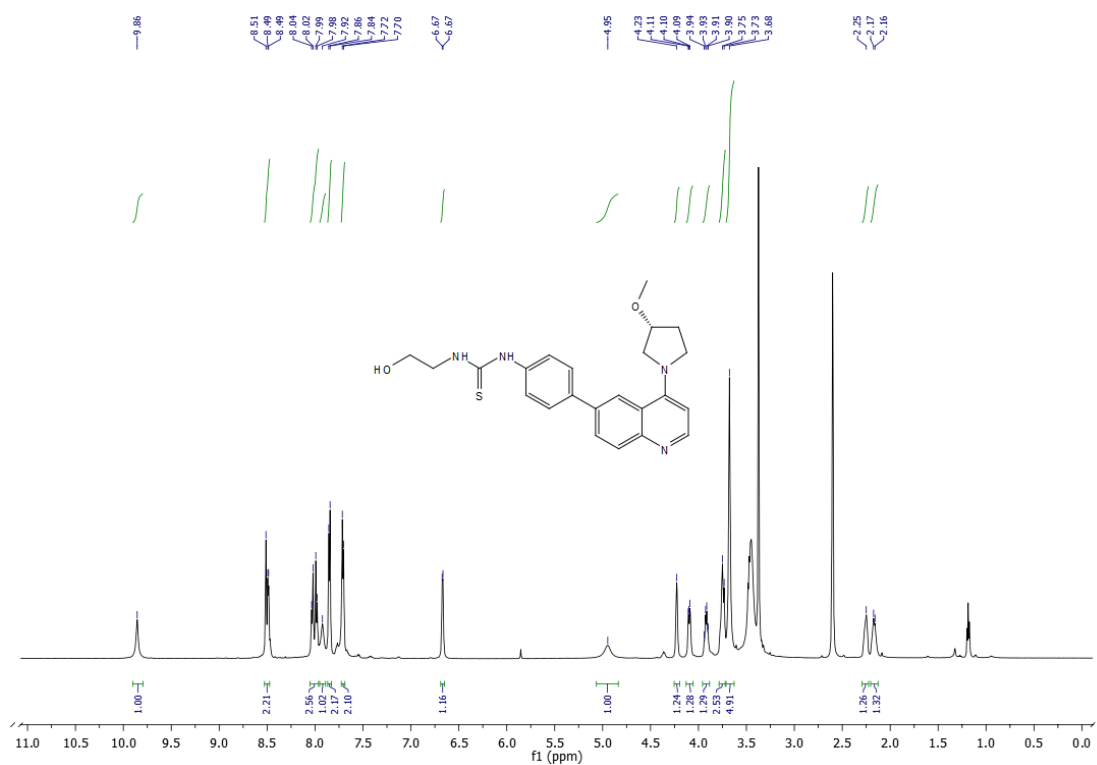
Φάσμα 105- ¹H NMR (37p) *(S)*-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-((2-methoxypropyl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea



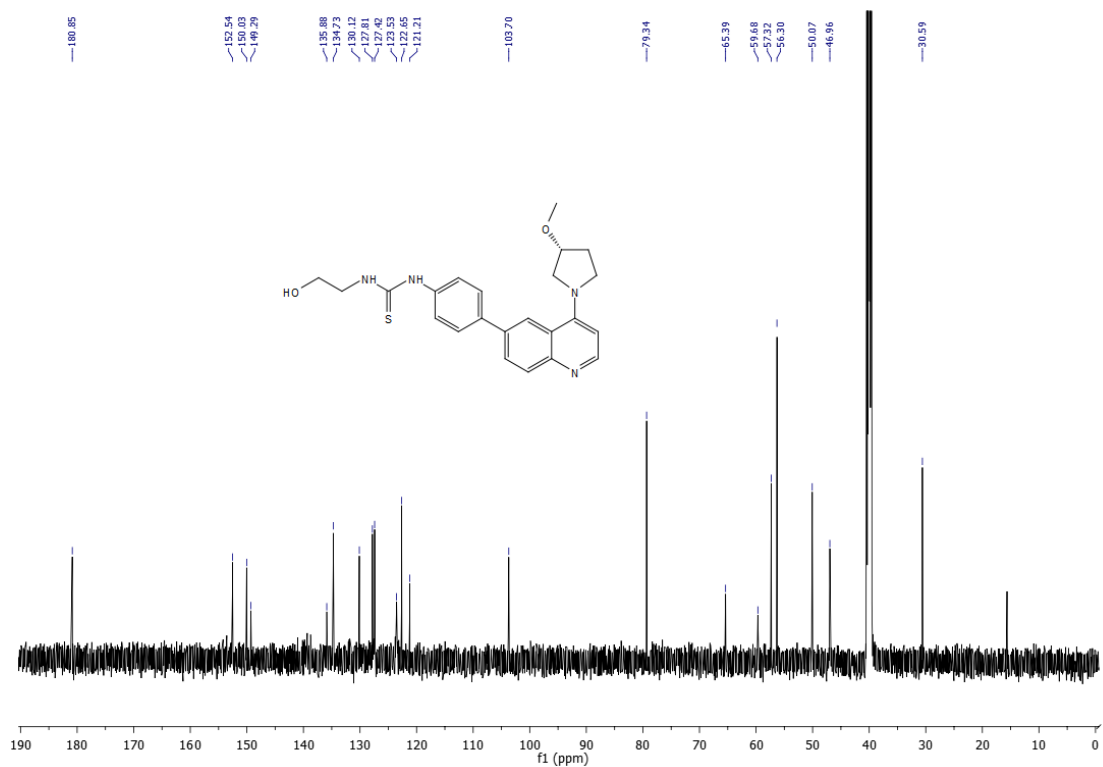
Φάσμα 107- ¹H NMR (37r) (S)-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-((oxetan-2-ylmethyl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea



Φάσμα 108- ¹³C NMR (37r) (S)-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-((oxetan-2-ylmethyl)amino)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea



Φάσμα 109- ¹H NMR (37s) (R)-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-(3-methoxypyrrolidin-1-yl)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea



Φάσμα 110- ¹³C NMR (37s) (R)-1-(2-hydroxyethyl)-3-(4-(4-(3-methoxypyrrolidin-1-yl)quinolin-6-yl)phenyl)thiourea

Βιβλιογραφία

1. Gelderblom, H.R., *Structure and Classification of Viruses*, in *Medical Microbiology*, S. Baron, Editor. 1996: Galveston (TX).
2. Pellett, P.E., S. Mitra, and T.C. Holland, *Basics of virology*. Handb Clin Neurol, 2014. **123**: p. 45-66.
3. Walker, P.J., et al., *Changes to virus taxonomy and to the International Code of Virus Classification and Nomenclature ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses (2021)*. Arch Virol, 2021. **166**(9): p. 2633-2648.
4. Zhang, X., et al., *The discovery of segmented flaviviruses: implications for viral emergence*. Curr Opin Virol, 2020. **40**: p. 11-18.
5. Villordo, S.M., et al., *RNA Structure Duplications and Flavivirus Host Adaptation*. Trends Microbiol, 2016. **24**(4): p. 270-283.
6. Huang, Y.J., et al., *Flavivirus-mosquito interactions*. Viruses, 2014. **6**(11): p. 4703-30.
7. Ramos-Lorente, S., C. Romero-Lopez, and A. Berzal-Herranz, *Information Encoded by the Flavivirus Genomes beyond the Nucleotide Sequence*. Int J Mol Sci, 2021. **22**(7).
8. Chew, M.F., K.S. Poh, and C.L. Poh, *Peptides as Therapeutic Agents for Dengue Virus*. Int J Med Sci, 2017. **14**(13): p. 1342-1359.
9. Roy, S.K. and S. Bhattacharjee, *Dengue virus: epidemiology, biology, and disease aetiology*. Can J Microbiol, 2021. **67**(10): p. 687-702.
10. Holbrook, M.R., *Historical Perspectives on Flavivirus Research*. Viruses, 2017. **9**(5).
11. Prapty, C., et al., *SARS-CoV-2 and dengue virus co-infection: Epidemiology, pathogenesis, diagnosis, treatment, and management*. Rev Med Virol, 2023. **33**(1): p. e2340.
12. Gubler, D.J., *Dengue and dengue hemorrhagic fever*. Clin Microbiol Rev, 1998. **11**(3): p. 480-96.
13. Leta, S., et al., *Global risk mapping for major diseases transmitted by Aedes aegypti and Aedes albopictus*. Int J Infect Dis, 2018. **67**: p. 25-35.
14. Esteva, L. and C. Vargas, *Coexistence of different serotypes of dengue virus*. J Math Biol, 2003. **46**(1): p. 31-47.
15. Nanaware, N., et al., *Dengue Virus Infection: A Tale of Viral Exploitations and Host Responses*. Viruses, 2021. **13**(10).

16. Medagama, A., et al., *Risk Factors Associated with Fatal Dengue Hemorrhagic Fever in Adults: A Case Control Study*. Can J Infect Dis Med Microbiol, 2020. **2020**: p. 1042976.
17. Urcuqui-Inchima, S., et al., *Recent developments in understanding dengue virus replication*. Adv Virus Res, 2010. **77**: p. 1-39.
18. Cruz-Oliveira, C., et al., *Receptors and routes of dengue virus entry into the host cells*. FEMS Microbiol Rev, 2015. **39**(2): p. 155-70.
19. Fischl, W. and R. Bartenschlager, *Exploitation of cellular pathways by Dengue virus*. Curr Opin Microbiol, 2011. **14**(4): p. 470-5.
20. Sinha, S., et al., *Dengue virus pathogenesis and host molecular machineries*. J Biomed Sci, 2024. **31**(1): p. 43.
21. Roa-Linares, V.C., et al., *Host Cell Targets for Unconventional Antivirals against RNA Viruses*. Viruses, 2023. **15**(3).
22. Foo, K.Y. and H.Y. Chee, *Interaction between Flavivirus and Cytoskeleton during Virus Replication*. Biomed Res Int, 2015. **2015**: p. 427814.
23. Gebhard, L.G., C.V. Filomatori, and A.V. Gamarnik, *Functional RNA elements in the dengue virus genome*. Viruses, 2011. **3**(9): p. 1739-56.
24. Li, Q. and C. Kang, *Structures and Dynamics of Dengue Virus Nonstructural Membrane Proteins*. Membranes (Basel), 2022. **12**(2).
25. He, Y., et al., *Broad-spectrum antiviral strategy: Host-targeting antivirals against emerging and re-emerging viruses*. Eur J Med Chem, 2024. **265**: p. 116069.
26. Rassias, G., et al., *Cell-active carbazole derivatives as inhibitors of the zika virus protease*. Eur J Med Chem, 2019. **180**: p. 536-545.
27. Choksupmanee, O., et al., *Structural platform for the autolytic activity of an intact NS2B-NS3 protease complex from dengue virus*. Biochemistry, 2012. **51**(13): p. 2840-51.
28. Purohit, P., et al., *Targeting the DENV NS2B-NS3 protease with active antiviral phytocompounds: structure-based virtual screening, molecular docking and molecular dynamics simulation studies*. J Mol Model, 2022. **28**(11): p. 365.
29. Zogali, V., et al., *Carbazole to indolazepinone scaffold morphing leads to potent cell-active dengue antivirals*. Eur J Med Chem, 2024. **268**: p. 116213.

30. Kuhl, N., et al., *Beyond Basicity: Discovery of Nonbasic DENV-2 Protease Inhibitors with Potent Activity in Cell Culture*. J Med Chem, 2021. **64**(8): p. 4567-4587.
31. Gopala Reddy, S.B., W.X. Chin, and N.S. Shivananju, *Dengue virus NS2 and NS4: Minor proteins, mammoth roles*. Biochem Pharmacol, 2018. **154**: p. 54-63.
32. Li, Q. and C. Kang, *Dengue virus NS4B protein as a target for developing antivirals*. Front Cell Infect Microbiol, 2022. **12**: p. 959727.
33. Moquin, S.A., et al., *NITD-688, a pan-serotype inhibitor of the dengue virus NS4B protein, shows favorable pharmacokinetics and efficacy in preclinical animal models*. Sci Transl Med, 2021. **13**(579).
34. Kaptein, S.J.F., et al., *A pan-serotype dengue virus inhibitor targeting the NS3-NS4B interaction*. Nature, 2021. **598**(7881): p. 504-509.
35. El Sahili, A. and J. Lescar, *Dengue Virus Non-Structural Protein 5*. Viruses, 2017. **9**(4).
36. Lo, M.K., et al., *In vitro antiviral activity of adenosine analog NITD008 against tick-borne flaviviruses*. Antiviral Res, 2016. **130**: p. 46-9.
37. Zhou, X.J., et al., *First-in-human trial evaluating safety and pharmacokinetics of AT-752, a novel nucleotide prodrug with pan-serotype activity against dengue virus*. Antimicrob Agents Chemother, 2024. **68**(5): p. e0161523.
38. Feracci, M., et al., *AT-752 targets multiple sites and activities on the Dengue virus replication enzyme NS5*. Antiviral Res, 2023. **212**: p. 105574.
39. Lin, L.T., et al., *Broad-spectrum antiviral activity of chebulagic acid and punicalagin against viruses that use glycosaminoglycans for entry*. BMC Microbiol, 2013. **13**: p. 187.
40. Talarico, L.B. and E.B. Damonte, *Interference in dengue virus adsorption and uncoating by carrageenans*. Virology, 2007. **363**(2): p. 473-85.
41. Sayce, A.C., et al., *Iminosugars Inhibit Dengue Virus Production via Inhibition of ER Alpha-Glucosidases--Not Glycolipid Processing Enzymes*. PLoS Negl Trop Dis, 2016. **10**(3): p. e0004524.
42. Martinez-Gutierrez, M., J.E. Castellanos, and J.C. Gallego-Gomez, *Statins reduce dengue virus production via decreased virion assembly*. Intervirology, 2011. **54**(4): p. 202-16.

43. Wang, J.L., et al., *Roles of small GTPase Rac1 in the regulation of actin cytoskeleton during dengue virus infection*. PLoS Negl Trop Dis, 2010. **4**(8).
44. Garcia-Carceles, J., et al., *Kinase Inhibitors as Underexplored Antiviral Agents*. J Med Chem, 2022. **65**(2): p. 935-954.
45. Raghuvanshi, R. and S.B. Bharate, *Recent Developments in the Use of Kinase Inhibitors for Management of Viral Infections*. J Med Chem, 2022. **65**(2): p. 893-921.
46. Blazquez, A.B. and J.C. Saiz, *Potential for Protein Kinase Pharmacological Regulation in Flaviviridae Infections*. Int J Mol Sci, 2020. **21**(24).
47. Puschnik, A.S., et al., *A Small-Molecule Oligosaccharyltransferase Inhibitor with Pan-flaviviral Activity*. Cell Rep, 2017. **21**(11): p. 3032-3039.
48. Dong, S., S. Kang, and G. Dimopoulos, *Identification of anti-flaviviral drugs with mosquitocidal and anti-Zika virus activity in Aedes aegypti*. PLoS Negl Trop Dis, 2019. **13**(8): p. e0007681.
49. Barrows, N.J., et al., *A Screen of FDA-Approved Drugs for Inhibitors of Zika Virus Infection*. Cell Host Microbe, 2016. **20**(2): p. 259-70.
50. Adcock, R.S., et al., *Evaluation of anti-Zika virus activities of broad-spectrum antivirals and NIH clinical collection compounds using a cell-based, high-throughput screen assay*. Antiviral Res, 2017. **138**: p. 47-56.
51. Heaton, N.S., et al., *Dengue virus nonstructural protein 3 redistributes fatty acid synthase to sites of viral replication and increases cellular fatty acid synthesis*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010. **107**(40): p. 17345-50.
52. Perera, R., et al., *Dengue virus infection perturbs lipid homeostasis in infected mosquito cells*. PLoS Pathog, 2012. **8**(3): p. e1002584.
53. Hishiki, T., et al., *Stearoyl-CoA desaturase-1 is required for flavivirus RNA replication*. Antiviral Res, 2019. **165**: p. 42-46.
54. Gullberg, R.C., et al., *Stearoyl-CoA desaturase 1 differentiates early and advanced dengue virus infections and determines virus particle infectivity*. PLoS Pathog, 2018. **14**(8): p. e1007261.
55. Chen, H.H., et al., *AR-12 suppresses dengue virus replication by down-regulation of PI3K/AKT and GRP78*. Antiviral Res, 2017. **142**: p. 158-168.
56. Meutiawati, F., et al., *Posaconazole inhibits dengue virus replication by targeting oxysterol-binding protein*. Antiviral Res, 2018. **157**: p. 68-79.

57. a) Huang, P.T., et al., *Optimization of 4-Anilinoquinolines as Dengue Virus Inhibitors*. *Molecules*, 2021. **26**(23).
- b) Saul, S.; Huang, P.-T.; Einav, S.; Asquith, C.R.M. *Evaluation and identification of 4-anilinoquin(az)olines as potent inhibitors of both dengue virus (DENV) and Venezuelan equine encephalitis virus (VEEV)*. *Bioorg. Med Chem Lett.*, **2021**, 52, 128407.
- c) Huang, P.-T.; Saul, S.; Einav, S.; Asquith, C. R. M. *Optimization of 4-anilinoquinolines as dengue virus inhibitors*. *Molecules*, **2021**, 26(23), 7338.
- d) Martínez-Gualda, B.; Pu, S.-Y.; Froeyen, M.; Herdewijn, P.; Einav, S.; De Jonghe, S. *Discovery of 3-phenyl- and 3-N-piperidinyl-isothiazolo[4,3-b]pyridines as highly potent inhibitors of cyclin G-associated kinase*. *Eur. J. Med. Chem.*, **2021**, 213, 113179.
58. de Wispelaere, M., et al., *Discovery of host-targeted covalent inhibitors of dengue virus*. *Antiviral Res*, 2017. **139**: p. 171-179.
59. Liang, Y., et al., *Structure–Activity Relationship Study of QL47: A Broad-Spectrum Antiviral Agent*. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 2017. **8**(3): p. 344-349.
60. Boonyasuppayakorn, S., et al., *Amodiaquine, an antimalarial drug, inhibits dengue virus type 2 replication and infectivity*. *Antiviral Res*, 2014. **106**: p. 125-34.
61. Wang, L., et al., *Development of Small-Molecule Inhibitors Against Zika Virus Infection*. *Front Microbiol*, 2019. **10**: p. 2725.
62. Sahoo, B.R., et al., *Mechanistic Target of Rapamycin Signaling Activation Antagonizes Autophagy To Facilitate Zika Virus Replication*. *J Virol*, 2020. **94**(22).
63. Garcia, G., Jr., et al., *Antiviral drug screen identifies DNA-damage response inhibitor as potent blocker of SARS-CoV-2 replication*. *Cell Rep*, 2021. **35**(1): p. 108940.
64. Knight, S.D., et al., *Discovery of GSK2126458, a Highly Potent Inhibitor of PI3K and the Mammalian Target of Rapamycin*. *ACS Med Chem Lett*, 2010. **1**(1): p. 39-43.