

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ
ΜΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ**



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

**ΤΟΠΙΚΑ ΑΝΑΙΣΘΗΤΙΚΑ ΜΕΣΩ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΩΝ
ΠΟΛΛΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ**

ΘΩΜΑΪΔΗ ΜΑΡΙΑ

**Υπεύθυνος Καθηγητής: ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ
ΝΕΟΧΩΡΙΤΗΣ**

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2022

**UNIVERSITY OF CRETE
DEPARTMENT OF CHEMISTRY**

**ISOLATION AND SYNTHESIS OF NATURAL
PRODUCTS WITH BIOLOGICAL ACTIVITY**



Master Thesis

**LOCAL ANESTHETICS VIA MULTICOMPONENT
REACTIONS**

MARIA THOMAI

Master Thesis Supervisor: Constantinos Neochoritis

HERAKLION 2022

Εξεταστική Επιτροπή

Κωνσταντίνος Νεοχωρίτης
Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Βασιλικογιαννάκης Γεώργιος
Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Σιδηροπούλου Κυριακή
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο
Κρήτης

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου, κ. Κωνσταντίνο Νεοχωρίτη, όχι μόνο για την ευκαιρία που μου έδωσε να εκπονήσω την μεταπτυχιακή μου εργασία στο εργαστήριο του, αλλά και για την εμπιστοσύνη και την υποστήριξη που μου έδειξε από την αρχή της εργαστηριακής μου έρευνας. Επιπρόσθετα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα δυο μέλη της τριμελούς επιτροπής, κ. Βασιλικογιαννάκη Γεώργιο και κα. Σιδηροπούλου Κυριακή, που δέχτηκαν να αξιολογήσουν την έρευνα του μεταπτυχιακού μου.

Συνεχίζοντας, θα ήθελα να ευχαριστήσω ορισμένα άτομα για την συνεργασία που είχαμε όλο το διάστημα της μεταπτυχιακής μου έρευνας. Ξεκινώντας, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Δρ. Μαρματάκη Κωνσταντίνο για την πολύτιμη βοήθεια του όσο αναφορά την λήψη των φασμάτων μάζας των προϊόντων μου. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Δρ. Σεμίνα Αγγελή για την λήψη των κρυσταλλικών δομών σε ορισμένα από τα προϊόντα μου. Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω, επιπλέον, και στην αναπληρώτρια καθηγήτρια, του τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης, Κυριακή Σιδηροπούλου που συνεργάστηκε μαζί μας, έτσι ώστε η παρούσα έρευνα να είναι όσο το δυνατό πιο ολοκληρωμένη όχι μόνο από χημική αλλά και από βιολογική άποψη. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την υποψήφια διδάκτορα Λήδα-Ευμορφία Βαγιάκη, η οποία ήταν υπεύθυνη για τον βιολογικό έλεγχο που έγινε σε ορισμένα από τα προϊόντα, ως πιθανά αναισθητικά φάρμακα.

Επιπρόσθετα, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα μέλη του εργαστηρίου καθόλη την διάρκεια του μεταπτυχιακού μου. Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τόσο την υποψήφια διδάκτορα Xiaofeng Lei όσο και τον υποψήφιο διδάκτορα Μιχάλη Φραγκιαδάκη για την βοήθεια που μου παρείχαν όποτε αυτή χρειάστηκε. Εν συνεχεία, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους Νικόλαο Τριπολιτσιώτη, Μάριο Ζιγγιρίδη, Παναγιώτα Λαμπίρη, Ζωή Καρδάση και Μαρία Γαϊδατζή για το ευχάριστο κλίμα που υπήρχε καθημερινά στο εργαστήριο.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τόσο το Τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης για τη φιλοξενία του καθόλη την διάρκεια των σπουδών μου όσο και τους καθηγητές μου, όλα αυτά τα χρόνια, για τις γνώσεις που μου προσέφεραν.

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Προσωπικές πληροφορίες

Όνοματεπώνυμο: Μαρία Θωμαΐδη

Ημερομηνία γέννησης: Σεπτέμβριος 25, 1998

Εθνικότητα: Ελληνική

E-mail: maria.thomaidi28@gmail.com

Εκπαίδευση

Μεταπτυχιακό δίπλωμα ειδίκευσης στην οργανική χημεία

- Τοποθεσία: Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης
- Περίοδος: Φεβρουάριος 2020 – Φεβρουάριος 2022
- Τίτλος μεταπτυχιακού διπλώματος: Απομόνωση και σύνθεση φυσικών προϊόντων με βιολογική δραστηριότητα
- Τίτλος μεταπτυχιακής εργασίας: Τοπικά αναισθητικά μέσω αντιδράσεων πολλών συστατικών
- Υπεύθυνος: Κ. Νεοχωρίτης, Επίκουρος καθηγητής

Μεταπτυχιακός βοηθός

- Τοποθεσία: Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης
- Περίοδος: Χειμερινό εξάμηνο 2020-2021 και εαρινό εξάμηνο 2020-2021
- Εργαστήριο: Εργαστήριο Οργανικής χημείας I και II
- Υπεύθυνος: Δρ. Α. Κουβαράκης

Πτυχίο στην Χημεία

- Τοποθεσία: Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης
- Περίοδος: Σεπτέμβριος 2016 – Φεβρουάριος 2020
- Βαθμός πτυχίου: 7.84/10

Πτυχιακή εργασία

- Τοποθεσία: Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης
- Περίοδος: Ιούλιος 2019 - Δεκέμβριος 2019

- Τίτλος πτυχιακής εργασίας: Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός αμινών σε αέρια δείγματα από τον σταθμό Φινοκαλιά
- Υπεύθυνοι: Καθηγήτρια Μ. Κανακίδου και Δρ Α. Κουβαράκης

Προπτυχιακός βοηθός

- Τοποθεσία: Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης
- Περίοδος: Χειμερινό εξάμηνο 2017-2018
- Εργαστήριο: Εργαστήριο Γενικής Χημείας
- Αρμοδιότητα: Παρασκευή χημικών αντιδραστηρίων για την διεξαγωγή των προπτυχιακών πειραμάτων
- Υπεύθυνος : Δρ Σ. Κορνήλιος

Συμμετοχή σε πειραματικές επιδείξεις

- Παρουσίαση πειραμάτων στο 11^ο λύκειο Ηρακλείου Κρήτης και στο 1^ο λύκειο Νεάπολης, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Χημείας, 07/02/2019
- Παρουσίαση για το 2^ο φεστιβάλ αστικής οικολογίας, Ηράκλειο Κρήτης, Καράβολας, 05/06/2019
- Παρουσίαση για το Summer Camp, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Χημείας, 05/07/2019

Γλώσσες

- Αγγλικά: Edexcel Level 2, Edexcel Level 1
- Γερμανικά: Goethe-Zertifikat B1

Δημοσιεύσεις

1. The Ugi Three-Component Reaction; A Valuable Tool in Modern Organic Synthesis, Nikolaos Tripolitsiotis, Maria Thomaidi, Constantinos G. Neochoritis, *Eur. J. Org. Chem.* **2020**, 6525-6554.
2. Fluorene-Based Multicomponent Reactions, Xiaofang Lei, Maria Thomaidi, Giasemi K. Angeli, Alexander Dömling, Constantinos G. Neochoritis, *Synlett*, **2021**, 32, A-F.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ανθρωπότητα, ανέκαθεν, ήταν αντιμέτωπη με την αίσθηση του πόνου, με την αναισθησία (μερική ή ολική) να είναι ζωτικής σημασίας, αποτελώντας τον θεμέλιο λίθο για την αντιμετώπισή της σε χειρουργικές επεμβάσεις και μη. Έως σήμερα, η σύνθεση των υπάρχοντων τοπικών αναισθητικών (TA) πραγματοποιείται μέσω αρκετών σταδίων που απαιτούν χρόνο, κόστος και κόπο, ενώ παράλληλα είναι αναγκαία η εύρεση νέων τοπικών αναισθητικών με βελτιωμένες ιδιότητες. Μια μεγάλη κατηγορία των TA βρέθηκε ότι μπορούν να συντεθούν μέσω της αντίδρασης Ugi (U-3CR). Στην παρούσα μεταπτυχιακή εργασία έγινε η σύνθεση τόσο γνωστών και εμπορικά διαθέσιμων TA, όσο και νέων με διαφορετικές και ποικίλλες δομές σε ένα στάδιο, μέσω διαφόρων αντιδράσεων πολλών συστατικών (multicomponent reactions-MCRs). Επίσης, συντέθηκαν παράγωγα που σχετίζονται με τις ευρύτερες ασθένειες των καναλοπαθειών. Εν συνεχεία, μελετήθηκε η δραστικότητα ορισμένων παραγώγων που συντέθηκαν ως πιθανοί αναστολείς της αντλίας Na^+ σε απομονωμένες φέτες της περιοχής του ιππόκαμπου εγκεφάλου ποντικών.

Λέξεις κλειδιά: Τοπικά αναισθητικά, αμινοαμιδικές ενώσεις, αντιδράσεις πολλών συστατικών, αντίδραση Ugi, αναστολείς αντλίας Na^+

ABSTRACT

Humanity has always been confronted with the sensation of pain, with anesthesia (general or local) being vital, forming the cornerstone for treating this sensation in surgeries and not only. Until now, the synthesis of the already known local anesthetics (LA) is carried out through several steps that require time, cost and effort, while at the same time it is necessary to find new local anesthetics with improved properties. Additionally, a big class of LA can be synthesized via the Ugi reaction (U-3CR). Thus, in the present master thesis, an improved synthesis was performed of not only known and commercially available LAs, but new ones with different and diverse scaffolds in one step via multicomponent reactions-MCRs. Compounds related to the broader canal diseases were also synthesized. Next, the activity of certain derivatives synthesized as effective Na⁺ pump inhibitors in isolated slices of the hippocampal region of mice was studied.

Keywords: Local anesthetics, aminoamides, multi-component reactions, Ugi reaction, Na⁺ pump inhibitors

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	7
ABSTRACT.....	8
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ.....	10
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	11
1.1 Αναισθησία.....	11
1.2 Τοπικά αναισθητικά (καΐνες).....	11
1.2.1 Τοπική αναισθητική δράση των καΐνων.....	13
1.2.2 Το μέλλον των τοπικών αναισθητικών.....	15
1.3 Αντιδράσεις πολλών συστατικών-Multicomponent reactions (MCRs).....	16
2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	18
3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	31
4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	31
4.1 Γενική πειραματική διαδικασία για τη σύνθεση ισονιτριλίων.....	32
4.2 Γενική πειραματική διαδικασία για την Ugi τριών συστατικών (Ugi-3CR).....	32
4.3 Πειραματική διαδικασία για αλκυλίωση/ακυλίωση.....	33
4.4 Γενική πειραματική διαδικασία για την Ugi τετραζόλια τεσσάρων συστατικών (UT-4CR).....	33
4.5 Γενική πειραματική διαδικασία για την Passerini τετραζόλια τριών συστατικών (PT-3CR).....	34
4.6 Γενική πειραματική διαδικασία για την Passerini τριών συστατικών (P-3CR).....	34
4.7 Πειραματική διαδικασία για υδρόλυση.....	35
4.8 Πειραματική διαδικασία για τον βιολογικό έλεγχο παραγώγων.....	35
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΑΣΜΑΤΩΝ ^1H ΚΑΙ ^{13}C	37
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	114

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

DCM	Dichloromethane
Et ₂ O	Diethyl ether
EA	Ethyl acetate
IMCRs	Isocyanide-based MCRs
MCRs	Multicomponent reactions
NMDA	<i>N</i> -methyl-D-aspartate receptors
P-3CR	Passerini three components reaction
PT-3CR	Passerini tetrazole three components reaction
PS	Petroleum ether
U-4CR	Ugi four component reaction
UT-4CR	Ugi tetrazole four components reaction
U-3CR	Ugi three component reaction

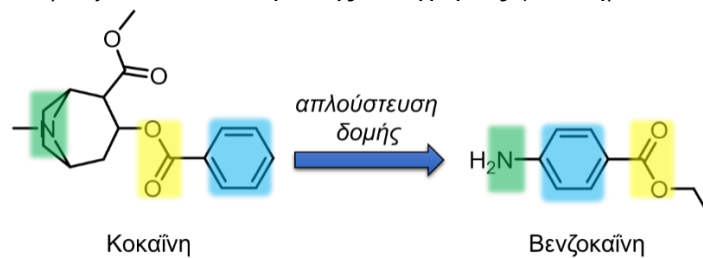
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Αναισθησία

Ανέκαθεν, ο άνθρωπος ήταν και θα είναι αντιμέτωπος με την αίσθηση του πόνου. Οι κοινές μορφές πόνου χωρίζονται σε δυο κατηγορίες, τον οξύ και τον χρόνια πόνο. Η πλέον γνωστή θεραπεία είναι η χρήση των τοπικών αναισθητικών και αναλγητικών.¹ Στην ιατρική, η αναισθησία, είναι μια προκαλούμενη, προσωρινή κατάσταση, κατά την οποία οι ασθενείς δεν αισθάνονται πόνο κατά τη διάρκεια μιας χειρουργικής επέμβασης. Τα χαρακτηριστικά της αναισθησίας μπορούν να είναι η αναλγησία (ανακούφιση ή πρόληψη από τον πόνο), η παράλυση (μυϊκή χαλάρωση) και η απώλεια μνήμης ή συνείδησης. Υπάρχουν τρεις κατηγορίες αναισθησίας, η γενική, η τοπική και η περιφερειακή. Η γενική αναισθησία χρησιμοποιείται τόσο σε εγχείρηση εσωτερικών οργάνων όσο και σε χρονοβόρες διαδικασίες και χωρίς αυτήν, δεν θα ήταν δυνατό να πραγματοποιηθούν πολλές επεμβάσεις, όπως ανοιχτής καρδιάς, εγκεφάλου και μεταμόσχευσης οργάνων. Η τοπική αναισθησία χρησιμοποιείται για την παρεμπόδιση της αίσθησης του πόνου σε ένα μικρό μέρος του σώματος, π.χ. αναισθησία ενός μόνο δοντιού, ενώ η περιφερειακή αναισθησία χρησιμοποιείται για την παρεμπόδιση της αίσθησης του πόνου σε μεγαλύτερα μέρη του σώματος, όπως είναι τα άκρα.²

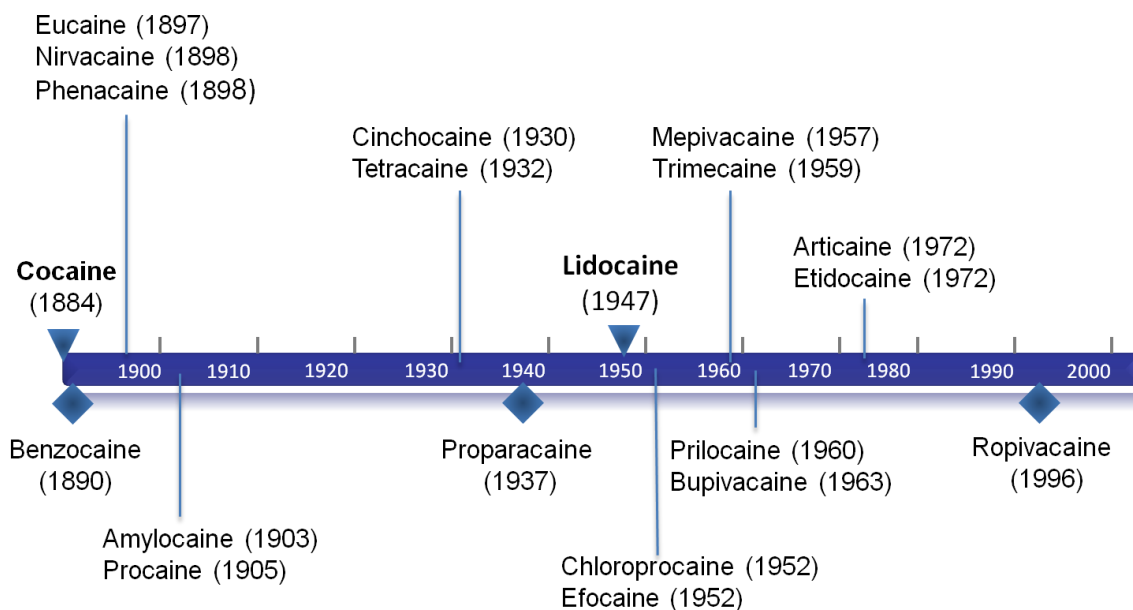
1.2 Τοπικά αναισθητικά (καΐνες)

Τα τοπικά αναισθητικά χωρίζονται σε δυο κατηγορίες βάση της δομής τους, στους αμινοεστέρες και αμινοαμίδια. Το πρώτο τοπικό αναισθητικό της κατηγορίας των καϊνών-αμινοεστέρων είναι η βενζοκαΐνη, η οποία συντέθηκε το 1890 μέσω, ουσιαστικά, της απλούστευσης της δομής του πρώτου ιστορικά αναισθητικού, της κοκαΐνης (Σχήμα 1), εξού και το όνομα της κατηγορίας (-καΐνη).



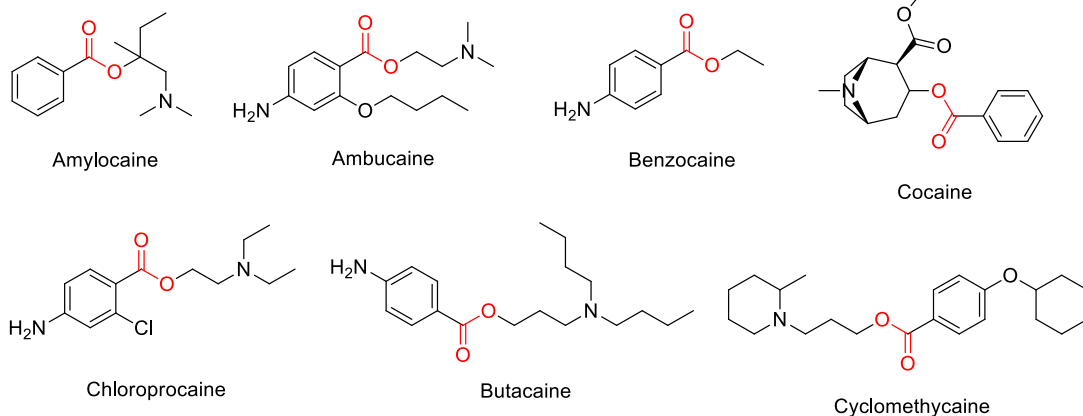
Σχήμα 1. Απλούστευση της δομής της κοκαΐνης. Με χρώμα εμφανίζονται τα φαρμακοφόρα τμήματα.

Το πρώτο τοπικό αναισθητικό της κατηγορίας των καϊνών-αμινοαμιδίων είναι η λιδοκαΐνη, συντέθηκε το 1943 και οι πρώτες κλινικές δοκιμές ξεκίνησαν το 1947. Η χρονολογική εμφάνιση των γνωστών καϊνών έως σήμερα απεικονίζεται στο σχήμα 2,¹ ενώ μερικά παραδείγματα εστερικών και αμιδικών παραγώγων φαίνονται στο σχήμα 3. Γενικά, οι καΐνες-αμινοεστέρες διαφέρουν από τις καΐνες-αμινοαμίδια ως προς τη χημική τους σταθερότητα, τον μεταβολισμό και τη φαρμακοδυναμική τους. Οι καΐνες-αμινοαμίδια είναι εξαιρετικά σταθερές, ενώ οι καΐνες-αμινοεστέρες είναι σχετικά ασταθείς ενώσεις, ιδιαίτερα σε ουδέτερο ή αλκαλικό διάλυμα.³ Οι καΐνες-αμινοεστέρες μεταβολίζονται μέσω των χολινεστερασών πλάσματος και τις εστεράσες ιστού, ενώ οι αντίστοιχες αμιδικές μεταβολίζονται κυρίως στο ήπαρ, μέσω του συστήματος οξειδάσης μικτής λειτουργίας.⁴

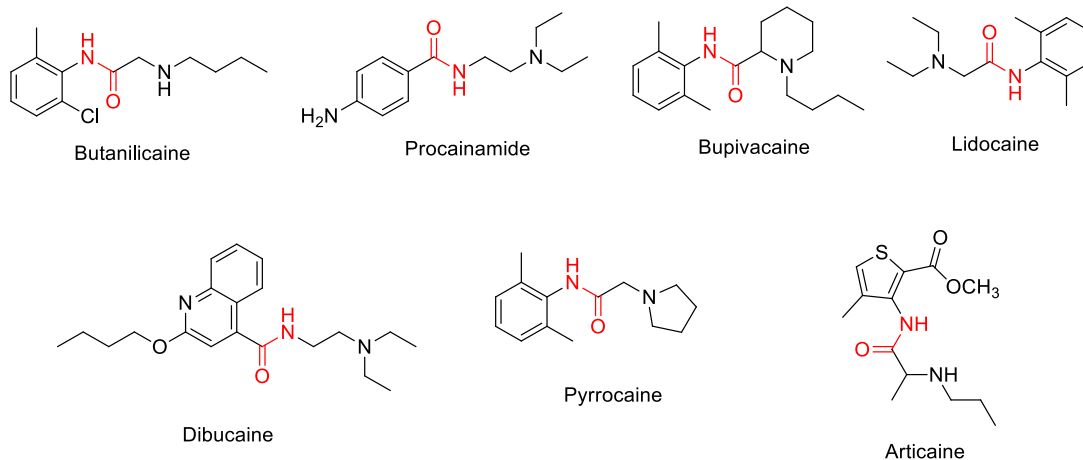


Σχήμα 2. Χρονολογική εμφάνιση κάποιων γνωστών καϊνών οι οποίες ήταν ή είναι ακόμα εμπορικά διαθέσιμες.

ΑΜΙΝΟΕΣΤΕΡΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ



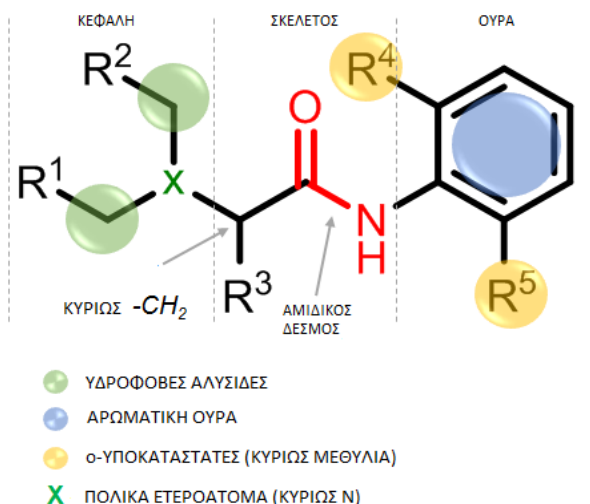
ΑΜΙΝΟΑΜΙΔΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ



Σχήμα 3. Λίστα ορισμένων γνωστών τοπικών αναισθητικών των δύο βασικών κατηγοριών, των αμινοεστέρων και αμινοαμιδίων αντίστοιχα.

Σχεδιασμός καϊνών

Η ύπαρξη ενός αμιδίου (κόκκινο χρώμα), αντί του εστέρα, στον σκελετό μιας καΐνης έχει ως αποτέλεσμα τη μεγαλύτερη ανθεκτικότητα του μορίου σε αντιδράσεις υδρόλυσης, και άρα τη μεγαλύτερη διάρκεια του ως αναισθητικό. Ακόμη, η ύπαρξη των δύο υποκαταστατών σε όρθο θέση (κίτρινες σφαίρες) στον αρωματικό δακτύλιο θεωρείται ότι συμβάλλει στην προστασία του αμιδικού καρβonyλίου από διάφορες πυρηνόφιλες προσβολές. Τέλος, ο αμινοαμιδικός σκελετός συνδέεται με μια πολική «κεφαλή», συνήθως κάπιοιο τριτοταγές άζωτο με αλειφατικές αλυσίδες (πράσινη σφαίρα). Στο σχήμα 4 φαίνονται όλα τα φαρμακοφόρα χαρακτηριστικά μιας τυπικής αμιδικής καΐνης.



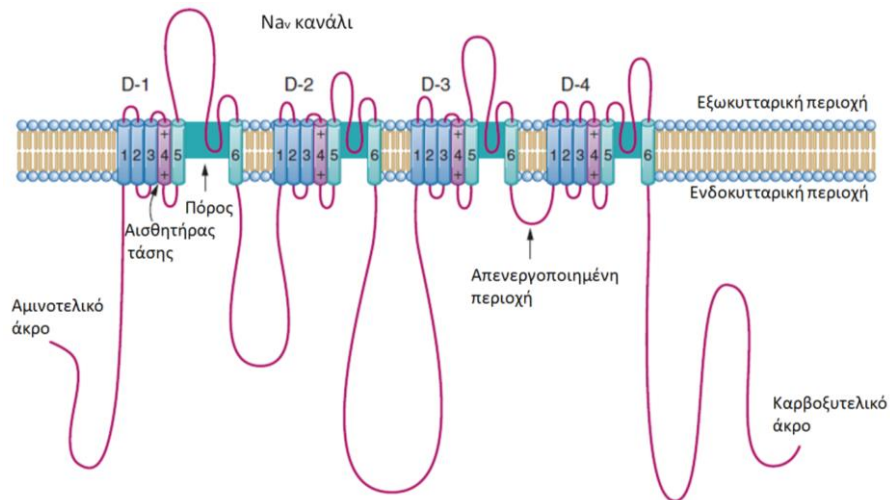
Σχήμα 1. Φαρμακοφόρα χαρακτηριστικά μιας αμιδικής καΐνης.

1.2.1 Τοπική αναισθητική δράση των καϊνών

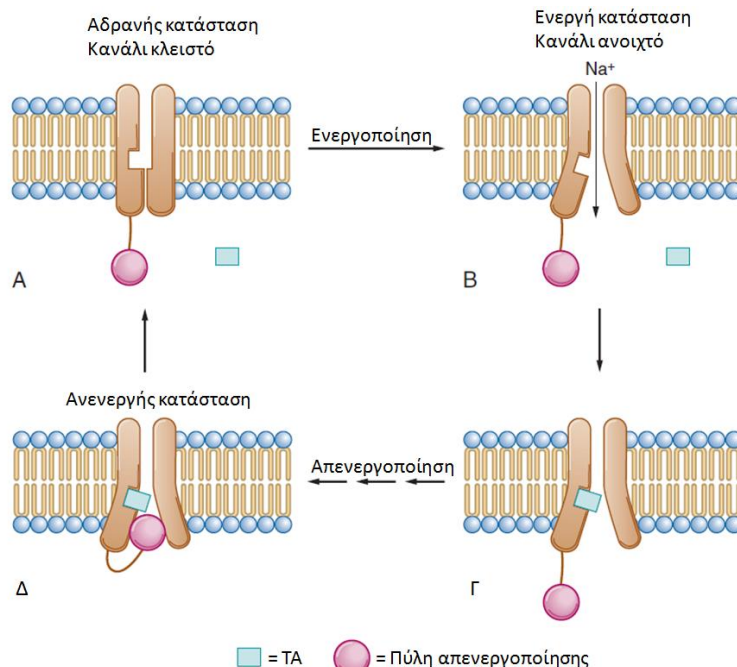
Τα τοπικά αναισθητικά (ΤΑ) για να δράσουν πρέπει να διαπεράσουν το πλούσιο σε λιπίδια περίβλημα των νευρώνων και την κυτταρική μεμβράνη για να φτάσουν στους στόχους τους, τα τασοενεργά κανάλια Na^+ (Na_v). Το σημείο δέσμευσης των τοπικών αναισθητικών βρίσκεται μέσα στο κανάλι πόρων και δεν είναι άμεσα προσβάσιμο από την εξωκυτταρική πλευρά, όπως έχει διαπιστωθεί από φαρμακολογικές μελέτες. Ως εκ τούτου, τα τοπικά αναισθητικά πρέπει να διασχίσουν τη νευρική μεμβράνη στο εσωτερικό του κυττάρου μέσω διάχυσης της διπλοστιβάδας λιπιδίων, για να φτάσουν στη θέση δέσμευσής τους. Κατά συνέπεια, η ισχύς κάθε τοπικού αναισθητικού σχετίζεται με τη λιποδιαλυτότητα και την εξάρτησή του από το pH.³ Σε pH κοντά στο 7.4, τα τοπικά αναισθητικά υπάρχουν σε δυο μορφές, το θετικά φορτισμένο συζυγές οξύ και την ουδέτερη, μη φορτισμένη βάση. Η διάσχιση της διπλοστιβάδας γίνεται πιο γρήγορα μέσω της ουδέτερης λιπόφιλης μορφής του αναισθητικού,³ ενώ η ιονισμένη μορφή του αναισθητικού είναι υπεύθυνη για το μπλοκάρισμα του τασοενεργού καναλιού, καθώς επηρεάζεται το δυναμικό της μεμβράνης, διακόπτεται η ροή κατιόντων Na^+ και αναστέλλεται έτσι η δημιουργία και μετάδοση των νευρικών σημάτων.⁵

Τα κανάλια Na^+ αποτελούνται από μια μεμονωμένη α υπομονάδα και ποικίλες βοηθητικές β υπομονάδες. Η α υπομονάδα σχηματίζει τον ιοντοαγωγό πόρο του καναλιού και αποτελείται από τέσσερις ομόλογους τομείς (D1-D4), καθένα με έξι α-ελικοειδή διαμεμβρανικά τμήματα (S1-S6). Οι βρόχοι που συνδέουν τα τμήματα S5

και S6 από αυτές τις α έλικες, καθενός από τους τέσσερις τομείς, τοποθετούνται εξωκυττάρια, εκτείνονται προς το εσωτερικό των κυττάρων και πιστεύεται ότι παρέχουν την εκλεκτικότητα των ιόντων (Σχήμα 5). Στην κατάσταση ηρεμίας, ο πόρος ιόντων του καναλιού Na^+ είναι κλειστός (Σχήμα 6 A). Οι μεταβολές στην τάση αποπόλωσης οδηγούν στην κίνηση των τμημάτων S1-S4, ως αποτέλεσμα της εξωτερικής κίνησης των θετικών φορτίων στο τμήμα S4, το οποίο με τη σειρά του οδηγεί στην αναδιάταξη των τμημάτων S6, που έχει ως αποτέλεσμα το άνοιγμα του πόρου του καναλιού (Σχήμα 6 B). Το ενεργοποιημένο κανάλι αδρανοποιείται μέσα σε χιλιοστά του δευτερολέπτου από μια άλλη αλλαγή διαμόρφωσης.³



Σχήμα 5. Σχηματική απεικόνιση της α υπομονάδας του καναλιού Na_v με τάση (ελήφθη από την αναφορά 3).



Σχήμα 6. Διαφορετικές καταστάσεις των τασοενεργών καναλιών Na_v . **A.** Κανάλια Na^+ σε αδρανή κατάσταση. **B.** Η ενεργοποίηση οδηγεί στο άνοιγμα του καναλιού για την διέλευση των Na^+ στην ενεργοποιημένη κατάσταση. **Γ.** Η πύλη απενεργοποίησης κλείνει το πόρο καναλιού ενδοκυτταρικά και το κανάλι απενεργοποιείται. **Γ,Δ.** Τα τοπικά αναισθητικά προσδένονται κατά προτίμηση στην ενεργοποιημένη και απενεργοποιημένη κατάσταση (ελήφθη από την αναφορά 3).

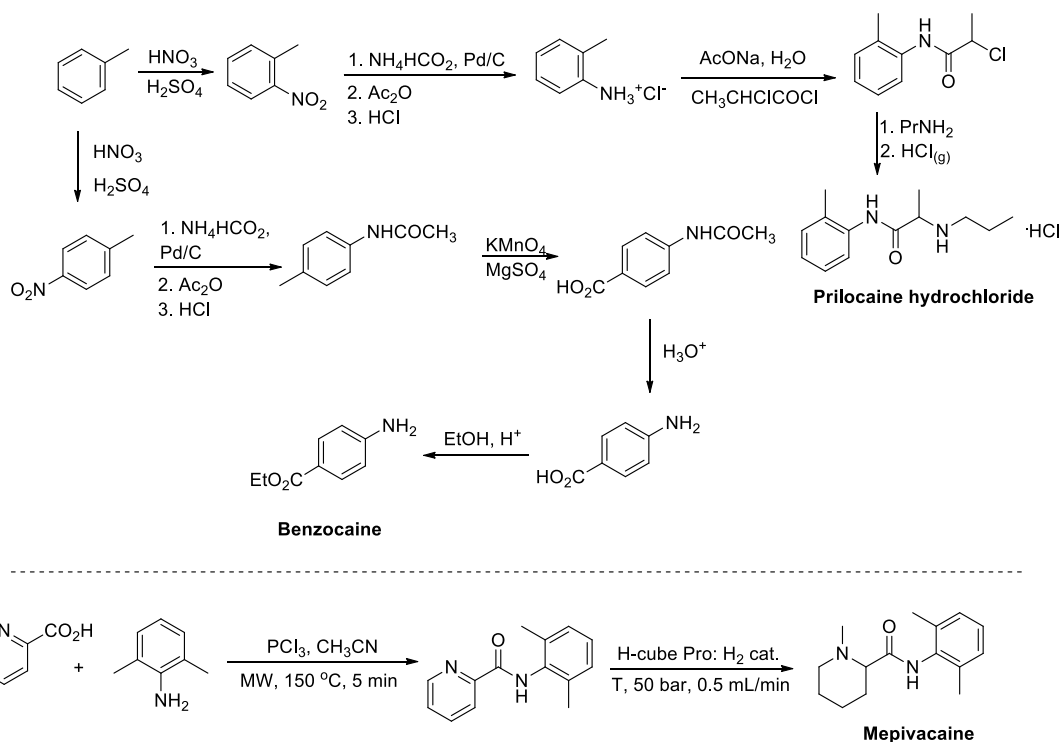
Εκτός της παρεμπόδισης του πρωταρχικού στόχου, τα τοπικά αναισθητικά μπορούν να αλληλεπιδράσουν και με άλλες δομές-στόχους, όπως είναι τα κανάλια καλίου, τα κανάλια ασβεστίου και τους *N*-μεθυλο-*D*-ασπαρτικούς (*N*-methyl-*D*-aspartate, NMDA) υποδοχείς. Μελέτες *in vivo* έχουν δείξει ότι τα τοπικά αναισθητικά αποδυναμώνουν τις φλεγμονώδεις διαταραχές, όπως είναι η βλάβη στην επαναιμάτωση της καρδιάς, στους πνεύμονες και στον εγκέφαλο,⁶ χωρίς να καθυστερούν την επούλωση των πληγών και να αυξάνουν την ταχύτητα της λοίμωξης.⁷⁻⁹ Τα αμιδικά τοπικά αναισθητικά μπορούν να μπλοκάρουν τους διαύλους καλίου συμβάλλοντας σε ένα πιο ισχυρό μπλοκάρισμα των νευρικών ινών¹⁰ και να εξηγήσουν ασθένειες του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ), όπως οι επιληπτικές κρίσεις.¹¹ Άλλες μελέτες έχουν δείξει πως η χρήση περιφερειακής ή τοπικής αναισθησίας στους ασθενείς με καρκίνο έχει ως αποτέλεσμα την βελτίωση της ζωής του, όσο αναφορά το χρονικό περιθώριο που απαιτείται για τυχόν επανεμφάνιση καρκίνου μετά από μια επέμβαση αλλά και της ίδιας της καθημερινότητάς του.^{12,13}

Όσο αναφορά την τοξικότητα των αναισθητικών είναι γνωστό πως σε υπερβολικές δόσεις, όλα τα τοπικά αναισθητικά έχουν τη δυνατότητα να παράγουν τοξικότητα σε σχεδόν οποιοδήποτε τύπο ιστού, ενώ δεν είναι ακόμη σαφές, εάν ορισμένα τοπικά αναισθητικά είναι πιο τοξικά από άλλα.⁴ Τέλος, η αλλεργία από αναισθητικά είναι σπάνια, αλλά πιστεύεται ότι είναι πιο πιθανή να συμβεί στα αμινοεστερικά αναισθητικά. Αυτό οφείλεται στους μεταβολίτες των εστερικών καϊνών, καθώς περιέχουν *p*-αμινοβενζοϊκό οξύ (PABA), το οποίο είναι ανοσογόνο.³

1.2.2 Το μέλλον των τοπικών αναισθητικών

Επί του παρόντος καταβάλλονται προσπάθειες για τη δημιουργία αποκλειστικά παρεμποδιστών καναλιών νατρίου, οι οποίοι θα επιτρέψουν τη στοχευμένη θεραπεία ασθενειών, όπως οι καταστάσεις νευροπαθητικού πόνου,¹⁴ ενώ τα «παλιά» τοπικά αναισθητικά επαναπροσδιορίζονται σε νέους στόχους. Η σύνθεση ορισμένων αντιπροσωπευτικών αναισθητικών (πχ πριλοκαΐνης,¹⁵ βενζοκαΐνης¹⁵ και μεπιβακαΐνης)¹⁶ εμφανίζεται στο σχήμα 7.

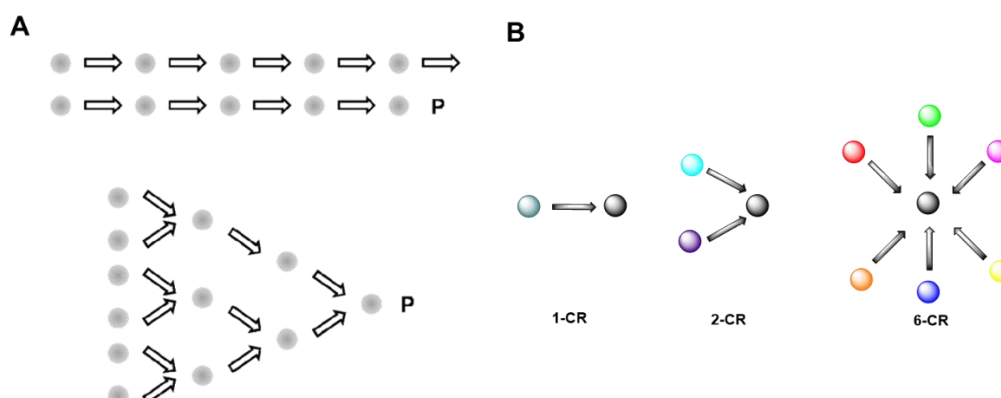
Όπως φαίνεται στο σχήμα 7, η σύνθεση κάποιων καϊνών πραγματοποιείται μέσω αρκετών σταδίων, με πολλές φορές δραστικές πειραματικές συνθήκες. Επίσης, η ολική απόδοση σύνθεσης ορισμένων παραγώγων καϊνών είναι μικρή, γεγονός που αυξάνει το κόστος σύνθεσής τους και παρεμποδίζει την βιομηχανική παραγωγή.¹⁷ Είναι αναγκαίο, λοιπόν, να βρεθούν γρηγορότεροι, οικονομικότεροι και αποτελεσματικότεροι τρόποι σύνθεσης, όχι μόνο των μέχρι τώρα γνωστών φαρμάκων αλλά και αγνώστων που μπορεί να είναι και αποτελεσματικότερα έναντι κάποιων ασθενειών. Η προσέγγισή μας βασίζεται στις αντιδράσεις πολλών συστατικών (multicomponent reactions, MCRs).



Σχήμα 7. Σύνθεση του άλατος πριλοκαΐνης,¹⁵ της βενζοκαΐνης¹⁵ και της μεπιβακαΐνης.¹⁶

1.3 Αντιδράσεις πολλών συστατικών-Multicomponent reactions (MCRs)

Οι MCRs είναι οpe-rot αντιδράσεις, στις οποίες τουλάχιστον τρία διαφορετικά συστατικά αντιδρούν και δίνουν ένα συγκεκριμένο προϊόν. Είναι ένα σημαντικό εργαλείο στη σύγχρονη χημεία, για την επίτευξη φιλικών προς το περιβάλλον μετασχηματισμών. Τα πλεονεκτήματα αυτού του τύπου αντιδράσεων είναι η οικονομία χρόνου και ενέργειας, λιγότερα παραπροϊόντα, η ανθρώπινη προσπάθεια και οι πόροι. Συνήθως αποφεύγονται υψηλές θερμοκρασίες, τοξικοί διαλύτες, δαπανηροί καταλύτες και αδρανείς συνθήκες.¹⁸ Στο σχήμα 8 απεικονίζεται η γραμμική και συγκλίνουσα σύνθεση σε σύγκριση με την σύνθεση βάση MCRs.¹⁹

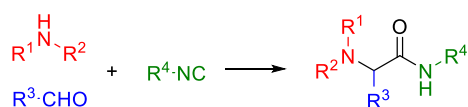


Σχήμα 8. Α. Στρατηγική γραμμικής και συγκλίνουσας σύνθεσης προς την ένωση στόχο, Β. Στρατηγική MCR προς την ένωση στόχο. (ελήφθη από αναφορά 19)

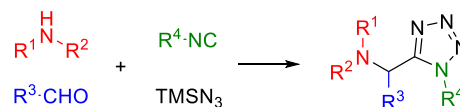
Μια από τις πιο σημαντικές IMCRs (MCRs που βασίζονται σε ισονιτρίλιο) για την σύνθεση πεπτιδικού τύπου ενώσεων είναι η Ugi τεσσάρων συστατικών (U-4CR), η

οποία αναφέρθηκε για πρώτη φορά το 1959 από τον Ivar Ugi.²⁰ Η U-4CR περιλαμβάνει την αντίδραση αμίνης, καρβονυλικής ένωσης, ισονιτριλίου και ενός καρβοξυλικού οξέος. Η αντίδραση Ugi τριών συστατικών (U-3CR) είναι μια παραλλαγή της U-4CR, καθώς προχωρεί απουσία καρβοξυλικού οξέος, με το νερό να δρα ως πυρηνόφιλο. Η αντίδραση Ugi πραγματοποιείται συνήθως σε πολικούς, πρωτικούς διαλύτες.²¹ Εκτός των U-4CR και U-3CR, η αντίδραση Passerini τριών συστατικών (P-3CR) αποτελεί και αυτή μέρος των IMCRs. Αναφέρθηκε πρώτη φορά το 1921 και περιλαμβάνει την αντίδραση καρβονυλικής ένωσης, ισονιτριλίου και ενός καρβοξυλικού οξέος. Η Ugi tetrazole-4CR (UT-4CR) και η Passerini tetrazole-3CR (PT-3CR) δίνουν πρόσβαση σε βιβλιοθήκες τετραζολίων, τα οποία είναι βιοϊσοεστέρες των 1,5-αμιδίων και των καρβοξυλικών οξέων. Τα τετραζόλια ανήκουν στην κατηγορία των πενταμελών αρωματικών ετεροκυκλικών δακτυλίων με δυο διπλούς δεσμούς, που αποτελούνται από έναν άνθρακα και τέσσερα άτομα αζώτου. Δεν υπάρχουν στη φύση και έχουν τον υψηλότερο αριθμό ατόμων αζώτου μεταξύ των σταθερών ετεροκυκλικών δακτυλίων, καθώς τα πενταζόλια είναι εκρηκτικές ενώσεις, ακόμη και σε χαμηλή θερμοκρασία.^{22,23} Ο γενικός τύπος των παραπάνω αντιδράσεων παρουσιάζεται στο σχήμα 9.

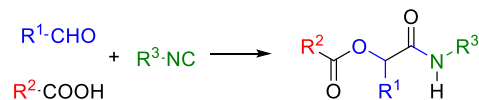
UGI-THREE COMPONENT REACTION



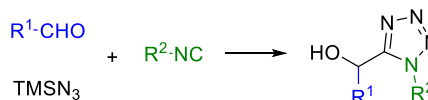
UGI-TETRAZOLE FOUR COMPONENT REACTION



PASSERINI-THREE COMPONENT REACTION



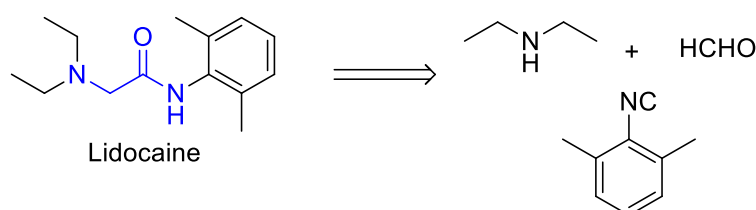
PASSERINI-TETRAZOLE THREE COMPONENT REACTION



Σχήμα 9. Γενικός τύπος αντιδράσεων U-3CR, P-3CR, UT-4CR και PT-3CR.

2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η λιδοκαΐνη είναι ένα από τα πιο γνωστά τοπικά αναισθητικά που κυκλοφορούν στην αγορά και χαρακτηριστικό παράδειγμα των καΐνών-αμινοαμιδίων. Σήμερα η σύνθεση αυτού του φαρμάκου γίνεται μέσω γραμμικής σύνθεσης, ωστόσο, προτείνεται ότι μπορεί να συντεθεί πολύ εύκολα και οικονομικά σε ένα μόνο στάδιο, μέσω της αντίδρασης U-3CR (Σχήμα 10).²⁴ Επιπλέον της λιδοκαΐνης, υπάρχουν πολλές φαρμακευτικές ενώσεις με παρόμοια δομή (αμινοαμιδικός σκελετός). Έτσι, προτείνουμε την ανάπτυξη μιας νέας συνθετικής μεθοδολογίας μέσω U-3CR τόσο προς εμπορικά διαθέσιμα τοπικά αναισθητικά, όσο και άγνωστων ενώσεων παρόμοιας δομής με σκοπό την περαιτέρω μελέτη τους.

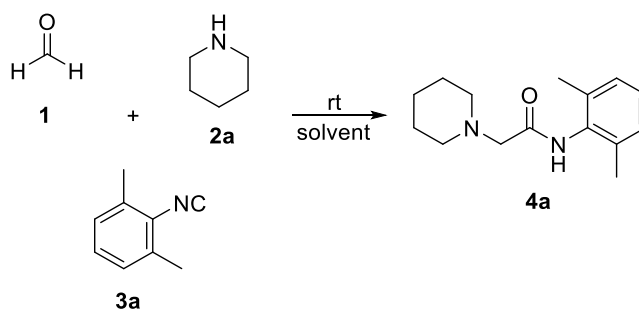


Σχήμα 10. Ρετροσύνθεση της λιδοκαΐνης μέσω U-3CR (ο χαρακτηριστικός αμινοαμιδικός σκελετός απεικονίζεται με μπλε χρώμα).

Στην παρούσα έρευνα, για τις αντιδράσεις U-3CR, χρησιμοποιήθηκαν αρωματικά ισονιτριλία και αλειφατικές αλδεΐδες και αμίνες. Προτιμητέο, βέβαια, είναι τα αρωματικά ισονιτριλία να περιέχουν υποκαταστάτες στην όρθο θέση, καθώς σε αυτή την περίπτωση το αμιδικό καρβονύλιο της καΐνης προστατεύεται από διάφορες πυρηνόφιλες προσβολές, όπως άλλωστε αναφέρθηκε στην ενότητα «Σχεδιασμός καΐνών». Επιπρόσθετα, η χρήση αρωματικών ισονιτριλίων και αλειφατικών αλδεϋδών και αμινών βοηθάει στην λιποφιλικότητα των ενώσεων αυτών. Αυτό είναι σημαντικό, καθώς τα τοπικά αναισθητικά πρέπει να μπορούν να διαπεράσουν τις στρώσεις λιπιδίων και λιποπρωτεϊνών που υπάρχουν στη νευρική μεμβράνη και να φτάσουν στο ενδοκυττάριο χώρο του διαύλου Na⁺. Έτσι, όπως γίνεται αντιληπτό, όσο περισσότερο λιπόφιλο είναι ένα αναισθητικό τόσο ευκολότερα μπορεί να διασχίσει την μεμβράνη και να φτάσει στους υποδοχείς στόχους.

Αρχικά, έγινε προσπάθεια εύρεσης των βέλτιστων συνθηκών αντίδρασης U-3CR (*scope-limitations*). Έτσι, στην αντίδραση μεταξύ υδατικού διαλύματος φορμαλδεϋδης (**1**), πιπεριδίνης (**2a**) και 2-ισοκυανο-1,3-διμεθυλοβενζολίου (**3a**) μεταξύ άλλων, διαφοροποιήθηκε ο χρόνος προσθήκης του ισονιτριλίου, ο χρόνος αντίδρασης και ο διαλύτης, όπως φαίνεται στον πίνακα 1. Διαπιστώθηκε ότι οι βέλτιστες συνθήκες, οι οποίες και χρησιμοποιήθηκαν για όλες τις επόμενες αντιδράσεις είναι: η προσθήκη του ισονιτριλίου να γίνεται μετά από μια ώρα ανάδευσης του διαλύματος αμίνης-αλδεϋδης και ο τερματισμός της αντίδρασης να γίνεται μετά από τρεις ημέρες (πίνακας 1, A/A 3). Επιπρόσθετα, βρέθηκε πως το νερό υπερτερεί σημαντικά ως διαλύτης έναντι άλλων πρωτικών διαλυτών, όπως MeOH. Για τον λόγο αυτό, σε όλες τις αντιδράσεις χρησιμοποιήθηκαν 10 ισοδύναμα υδατικής φορμαλδεϋδης (έναντι του ενός ισοδυνάμου ισονιτριλίου και αμίνης), το νερό της οποίας θα παίζει και τον ρόλο του διαλύτη.

Πίνακας 1. Εύρεση βέλτιστων συνθηκών της αντίδρασης U-3CR.

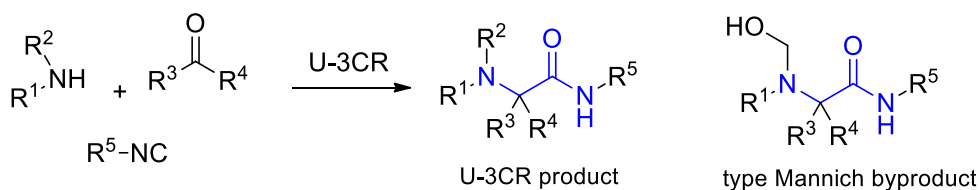


A/A	Διαλύτης	Χρόνος αντίδρασης (h)	Προσθήκη ισονιτριλίου	4a (%)
1	H ₂ O	24	10 min μετά την ανάμειξη της φορμαλδεΐδης και της πιπεριδίνης	53
2	H ₂ O	24	1 h μετά την ανάμειξη της φορμαλδεΐδης και της πιπεριδίνης	65
3	H ₂ O	72	1 h μετά την ανάμειξη της φορμαλδεΐδης και της πιπεριδίνης	96
4 ¹	MeOH	72	1 h μετά την ανάμειξη της φορμαλδεΐδης και της πιπεριδίνης	15

¹αντί υδατικής φορμαλδεΐδης χρησιμοποιήθηκε *para*-φορμαλδεΐδη.

Η φορμαλδεΐδη (**1**) προτιμήθηκε, όχι μόνο γιατί είναι αρκετά δραστική και υδρόφιλη ένωση²⁵ αλλά κυρίως γιατί η πλειονότητα των εμπορικά διαθέσιμων καϊνών διαθέτει μια μεθυλενική (linker, R³ = H, δείτε «σχεδιασμός καϊνών»). Εκτός της υδατικής φορμαλδεΐδης χρησιμοποιήθηκαν κάποιες αλειφατικές αλδεΐδες με σκοπό την αύξηση της ποικιλομορφίας των τελικών προϊόντων. Λόγω προφανώς, θεμάτων διαλυτότητας, οι αντιδράσεις είτε δεν έδωσαν το επιθυμητό προϊόν, είτε οι αποδόσεις ήταν μικρές.

Όσο αναφορά τις αμίνες, πραγματοποιήθηκαν αντιδράσεις τόσο με πρωτοταγείς όσο και με δευτεροταγείς αμίνες. Διαπιστώθηκε πως το επιθυμητό προϊόν σχηματίστηκε μόνο στις περιπτώσεις που έγινε χρήση δευτεροταγών αμινών, ενώ στις πρωτοταγείς αμίνες σχηματίστηκε παραπροϊόν τύπου Mannich, όπως φαίνεται στο σχήμα 11. Έτσι, συνεχίστηκαν οι προσπάθειες σύνθεσης νέων ενώσεων με την χρήση μόνο δευτεροταγών αμινών.



Σχήμα 11. Τύπου Mannich παραπροϊόν έναντι U-3CR προϊόντος.

Με αυτούς τους περιορισμούς στις αμίνες και τις αλδεΐδες συντέθηκαν, τελικά, 26 προϊόντα, μέσω U-3CR, με αποδόσεις να κυμαίνονται από 40-96% (50-200 mg τελικού προϊόντος). Όσον αναφορά τον καθαρισμό των προϊόντων, αυτών, ήταν σχετικά εύκολος, καθώς σε πολλές περιπτώσεις ήταν εφικτή η ανακρυστάλλωσή τους (Σχήμα 12).

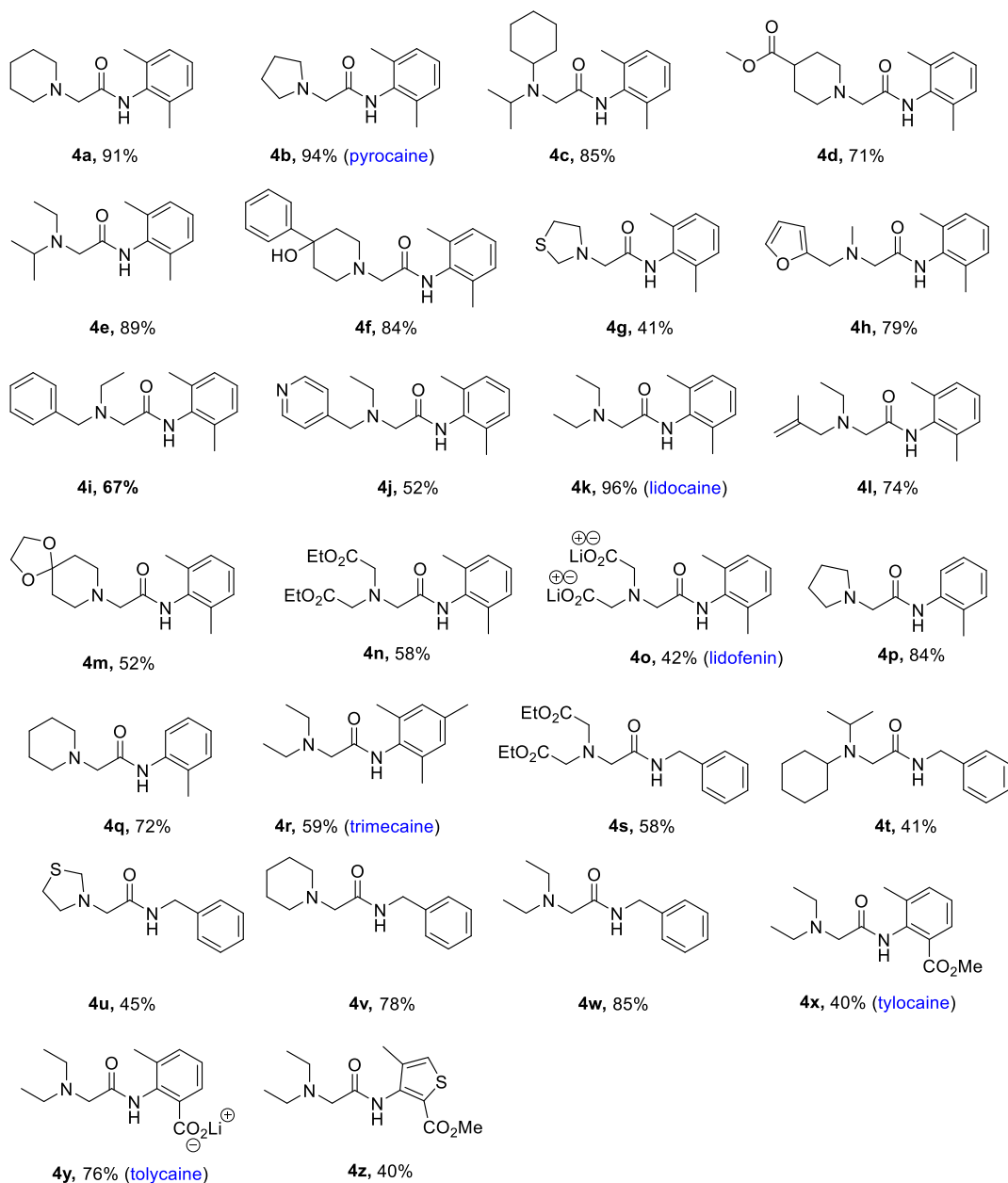
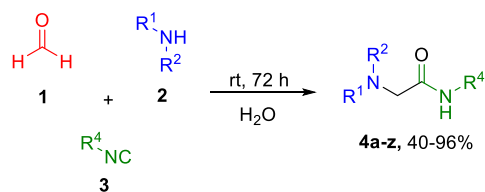
Θέλοντας να δείξουμε την αξία της συνθετικής μας στρατηγικής, συνθέσαμε 6 ήδη γνωστά και εμπορικά τοπικά αναισθητικά (πυρροκαΐνη (**4b**), λιδοκαΐνη (**4k**),

λιδοφενίνη (**4o**), τριμεκαΐνη (**4r**), τυλοκαΐνη (**4x**), τολυκαΐνη (**4y**)), από τα οποία τα **2 (4o, 4y)** συντέθηκαν μέσω υδρόλυσης των εστέρων των αρχικών U-3CR με προσθήκη LiOH·H₂O (5.0 equiv.) σε μίγμα EtOH-H₂O. Αυτά τα αναισθητικά έχουν σημαντική χρήση στην ιατρική. Παραδείγματος χάριν, η λιδοκαΐνη (**4k**), η οποία είναι και το πιο κοινό αναισθητικό, χρησιμοποιείται επιπλέον και για τη θεραπεία της κοιλιακής ταχυκαρδίας, ενώ σε ενέσιμη μορφή συνήθως αρχίζει να δρα εντός τεσσάρων λεπτών με διάρκεια μισής έως και δύο ώρες. Η τριμεκαΐνη (**4r**) χρησιμοποιείται ως τοπικό αναισθητικό και ως αντιαρρυθμικό ενώ η δράση της ξεκινά 15 λεπτά μετά την χορήγηση και διαρκεί έως και 3 ώρες, ενώ η πυρροκαΐνη (**4b**) δρα όπως και η λιδοκαΐνη ως αναισθητικό, με λιγότερες όμως παρενέργειες.

Προχωρώντας στην δημιουργία της βιβλιοθήκης των άγνωστων και πιθανών παρεμποδιστών καναλιών νατρίου, προσπαθήσαμε να κάνουμε όσο το δυνατόν πιο ευρεία μελέτη δομής-δραστικότητας (SAR), σύμφωνα πάντα με τα δεδομένα της βιβλιογραφίας. Έτσι, θελήσαμε τα τελικά προϊόντα να διαθέτουν μεγάλη ποικιλομορφία, να είναι όσο το δυνατόν περισσότερο λιπόφιλα και παράλληλα όσο πιο διαλυτά γίνεται. Πιο συγκεκριμένα, έγινε επιλογή αλειφατικών αμινών και ισονιτριλίων με υδρόφοβες ομάδες, (π.χ. **4a, 4c, 4e, 4l, 4q**). Επιπρόσθετα, ορισμένα παράγωγα της βιβλιοθήκης μας περιέχουν τόσο ομάδες δέκτες (EWG, π.χ. **4d, 4n, 4s, 4x και 4z**), όσο και δότες ηλεκτρονίων (EDG, π.χ. **4f**). Επίσης, ως υποκαταστάτες χρησιμοποιήθηκαν και ετεροκυκλικές ενώσεις (π.χ. **4g, 4h, 4j**).

Κυρίως, χρησιμοποιήθηκαν μονο- και διυποκατεστημένα φαινυλο- και βενζυλο-ισονιτρίλια με σκοπό την πρόσδεσή τους στο υδρόφοβο υποθυλάκιο των καναλιών Na⁺. Η χρήση του 3-ισοκυανο-4-μεθυλοθειοφαινο-2-καρβοξυλικού μεθυλεστέρα (**4z**) έγινε τόσο λόγω του βιοϊσοστερισμού του θειοφαινίου με τον δακτύλιο βενζολίου όσο και λόγω της ύπαρξης της εμπορικής διαθέσιμης αρτικαΐνης.²⁶ Η πλεοψηφία των προϊόντων περιέχει δυο μεθύλια στο ισονιτρίλιο για τον λόγο που αναφέρθηκε στην ενότητα «Σχεδιασμός καΐνων», όμως υπάρχουν και παράγωγα με ένα μεθύλιο και ένα μεθυλεστέρα έναντι των δύο μεθυλίων (π.χ. **4x, 4z**) το οποίο, θεωρητικά, μπορεί να προσδώσει αυξημένη προστασία στην καρβονυλομάδα. Επιπλέον, ορισμένα προϊόντα περιέχουν βένζυλο ισονιτρίλια, τα οποία προσδίδουν στα τελικά μόρια μια επιπλέον μεθυλενική ομάδα και άρα αύξηση των βαθμών ελευθερίας λόγω περιστρεφόμενων δεσμών (rotatable bonds).

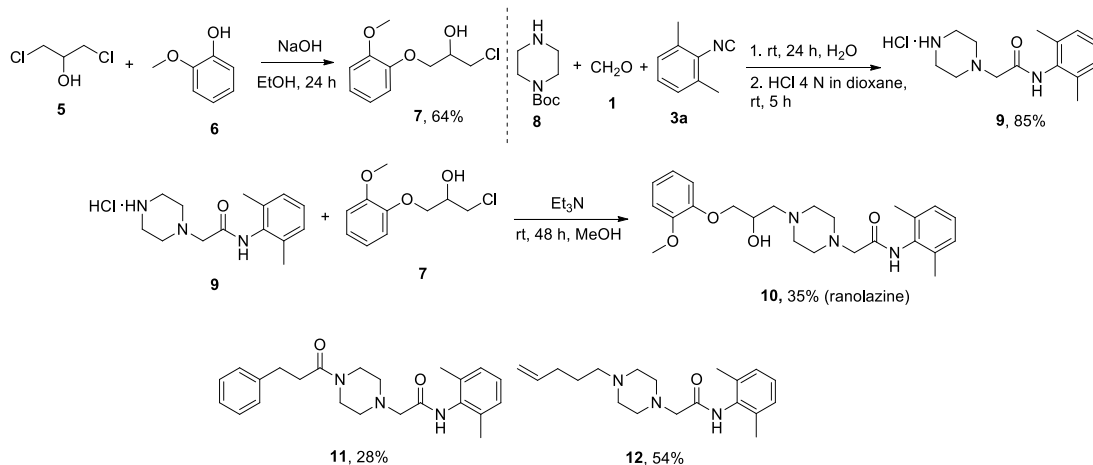
Τέλος, όπως φαίνεται και στο σχήμα 12, ορισμένα από τα συντιθέμενα προϊόντα περιέχουν λειτουργικές ομάδες, όπως εστέρες, υδροξύλιο και ακετάλες. Η παρουσία αυτών των λειτουργικών ομάδων καταδεικνύει ότι η ύπαρξή τους δεν επηρεάζει τον σχηματισμό του τελικού προϊόντος, ενώ επιπλέον, δίνουν την δυνατότητα στα U-3CR προϊόντα να διαφοροποιηθούν ακόμη περαιτέρω, αυξάνοντας τόσο την ποικιλομορφία όσο και την πολυπλοκότητά τους, στοιχεία πολύ σημαντικά στην σύγχρονη φαρμακευτική Χημεία.



Σχήμα 12. Σύνθεση των παραγώγων **4a-z** μέσω της αντίδρασης Ugi τριων συστατικών. Έξι παράγωγα είναι εμπορικά διαθέσιμα τοπικά αναισθητικά.

Η ρανολαζίνη είναι η δραστική φαρμακευτική ουσία (API) του φαρμάκου με το εμπορικό όνομα Ranexa.²⁷ Το φάρμακο αυτό χρησιμοποιείται για την θεραπεία της χρόνιας στηθάγχης, δηλαδή του πόνου στο στήθος, που προκαλείται από μειωμένη αιματική ροή προς την καρδιά και δρα μειώνοντας τη ροή ιόντων νατρίου προς τα κύτταρα του καρδιακού μυός. Η δομή της περιέχει έναν αμινοαμιδικό σκελετό, ακριβώς όπως όλα τα γνωστά αναισθητικά της κατηγορίας καΐνες-αμινοαμίδια. Στηριζόμενοι στην προαναφερθείσα συνθετική στρατηγική και θέλοντας να δείξουμε

τις περαιτέρω δυνατότητές της, έγινε η σύνθεση αυτής της ένωσης, μέσω της συνθετικής πορείας που παρουσιάζεται στο σχήμα 13. Αρχικά, πραγματοποιήθηκε μια αντίδραση Williamson μεταξύ της 1,3-δichλωροπροπαν-2-όλης (**5**) και της 2-μεθοξυφαινόλης (**6**) παρουσία NaOH προς σχηματισμό του αλογονιδίου **7** με απόδοση 64%. Εν συνεχεία, το U-3CR προϊόν **9** συντέθηκε με τη χρήση υδατικού διαλύματος φορμαλδεΐδης (**1**), του 2-ισοκυανο-1,3-διμεθυλοβενζολίου (**3a**) και της Boc-πιπεραζίνης (**8**) και μετέπειτα αποπροστασία με HCl σε διοξάνιο (4 N) σε θερμοκρασία δωματίου, σε απόδοση 85%. Στο τέλος, μέσω αντίδρασης S_N2 μεταξύ των ενδιάμεσων **9** και **7** παρουσία Et₃N συντέθηκε η ρανολαζίνη (**10**), με απόδοση 35%. Επιπρόσθετα, πραγματοποιήθηκαν οι συνθέσεις των αναλόγων **11** και **12**, που παρουσιάζονται στο σχήμα 13, προκειμένου να καταδειχθεί η αξία της προτεινόμενης συνθετικής στρατηγικής. Δομικά ομοιάζουν με την ρανολαζίνη στο τμήμα του U-3CR προϊόντος, ενώ το αλογονίδιο ή το χλωρίδιο οξέος που χρησιμοποιήθηκε κάθε φορά διαφέρει σημαντικά ως προς την πολικότητα και λιποφιλικότητά του. Συγκεκριμένα, η ρανολαζίνη (**10**) είναι αρκετά πολική ένωση, η οποία έχει στο μόριό της μια -OH που αυξάνει την διαλυτότητά της και πιθανώς να μετέχει ως δότης δεσμού υδρογόνου (HBD). Συγκριτικά, το παράγωγο **12** είναι ένα σχετικά άπολο μόριο, με την ανθρακική αλυσίδα του να αυξάνει την λιποφιλικότητά του, ενώ το παράγωγο **11** διαθέτει ένα αμίδιο. Τα παράγωγα **11** και **12** βρίσκονται υπό περαιτέρω μελέτες.



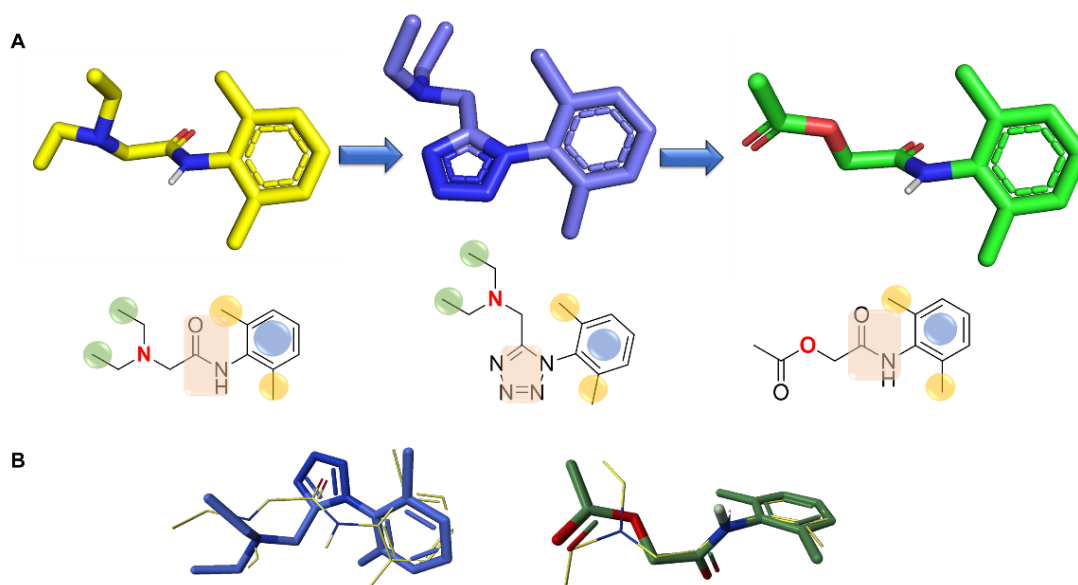
Σχήμα 13. Συνθετική πορεία για την σύνθεση της ρανολαζίνης και αναλόγων.

Όπως αναφέρθηκε και στην εισαγωγή είναι σημαντικό να «ξεφύγουμε» από την κλασική δομή των αμινοαμιδίων και να σχεδιάσουμε νέους δομικούς πυρήνες (scaffold). Στην ανακάλυψη φαρμάκων, το λεγόμενο scaffold hopping (δομική μεταπήδηση), είναι μια στρατηγική, η οποία αναφέρεται στην αναζήτηση και ανακάλυψη ενώσεων με παρόμοια δραστηριότητα αλλά διαφορετικό scaffold. Διατηρώντας, λοιπόν, τα κυριότερα φαρμακοφόρα τμήματα (Σχήμα 14) και με μελέτες υπέρθεσης και ευθυγράμμισης (alignment) εντοπίσαμε άλλα δύο scaffold που πιθανώς να έχουν παρόμοια δραστηριότητα με αυτή της λιδοκαΐνης, όπως τα 1,5-διυποκαστετημένα τετραζόλια **15a-v**, **16a-c** και τα α-ακυλοξυ αμίδια **18a-f**.

Τα 1,5-διυποκαστετημένα τετραζόλια μπορούν να συντεθούν με αντιδράσεις Ugi τετραζολίου τεσσάρων συστατικών (Ugi tetrazole four component reaction, UT-4CR).²³ Αποτελούν βιοϊσοστέρες των *cis*-αμιδίων και καρβοξυλικών οξέων με βελτιωμένες φυσικοχημικές ιδιότητες, καθώς ο τετραζολικός δακτύλιος προσφέρει υψηλότερη μεμβρανική διαπερατότητα. Έτσι, μπορεί να διατηρηθεί η πολική κεφαλή

με τις αλειφατικές αλυσίδες και τον όρθο διυποκατεστημένο αρωματικό δακτύλιο, συνδέοντάς τα με τον τετραζολικό δακτύλιο, ο οποίος θα τα «κρατάει» σε συγκεκριμένη διαμόρφωση (Σχήμα 14, A).

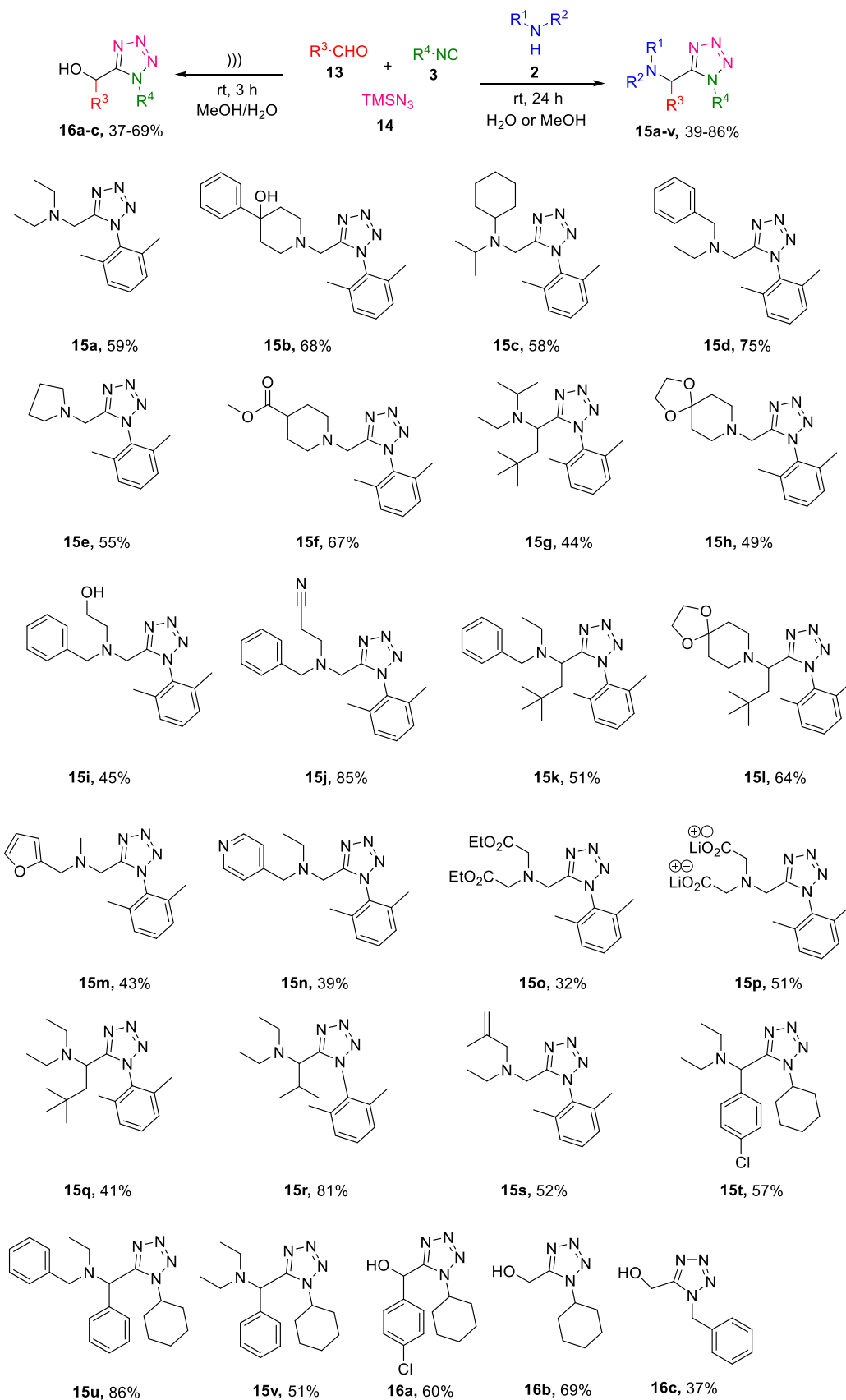
Τα α-ακυλοξυ αμίδια μπορούν να συντεθούν με την αντίδραση Passerini τριών συστατικών (Passerini three component reaction, P-3CR)²⁸ και η μόνη διαφορά με τα αμίδια είναι η ύπαρξη μιας κεφαλής με οξυγόνο έναντι αζώτου (Σχήμα 14, A). Η δομική ομοιότητα αυτών των δυο scaffold με το μόριο της λιδοκαΐνης (μπλε λεπτές γραμμές) παρουσιάζεται στο σχήμα 14, B.



Σχήμα 14. **A.** Scaffold hopping από αμινοαμίδια σε τετραζόλια και αμιδοεστέρες, **B.** Alignment των τετραζολίων και αμιδοεστέρων (μπλε και πράσινα sticks) με την λιδοκαΐνη (κίτρινο wire), δείχνοντας τις δομικές τους ομοιότητες. Η μελέτη έγινε με το πρόγραμμα DataWarrior.

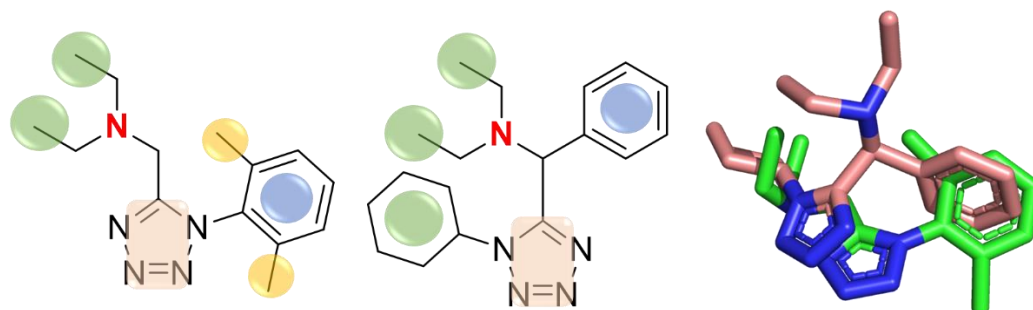
Όσο αναφορά τις αντιδράσεις UT-4CR όλα τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν (ισονιτρίλια, αλδεΐδες και αμίνες) είναι αρωματικά και αλειφατικά, για τους λόγους που αναφέρθηκαν στην αρχή της ενότητας. Όλες οι αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν με προσθήκη του ισονιτρίλιου και του TMSN₃ (**14**) μετά από δέκα λεπτά ανάδευσης του διαλύματος αλδεΐδης με αμίνη και τερματισμό των αντιδράσεων μετά το πέρας μιας ημέρας. Συντέθηκαν 22 τελικά προϊόντα με αποδόσεις να κυμαίνονται από 39-86% (80-350 mg τελικού προϊόντος). Ο καθαρισμός των προϊόντων αυτών ήταν για ακόμη μια φορά σχετικά εύκολος, καθώς σε ορισμένες περιπτώσεις ήταν εφικτή και η ανακρυστάλλωσή τους. Τα προϊόντα UT-4CR (Σχήμα 15) περιέχουν λειτουργικές ομάδες, όπως εστέρα, υδροξύλιο, κυανομάδα, αλογόνα και ακετάλες τόσο για την αύξηση της ποικιλομορφίας των τελικών ενώσεων όσο και για τον πιθανό περαιτέρω μετασχηματισμό τους.

Και σε αυτή την κατηγορία αντιδράσεων η επιλογή των αντιδραστηρίων έγινε με τέτοιο τρόπο έτσι ώστε τα τελικά προϊόντα να είναι όσο το δυνατόν περισσότερο λιπόφιλα (π.χ. **15a**, **15c**, **15g**, **15k**) με τόσο EWG ομάδες (π.χ. **15f**, **15j**, **15o** και **15p**) όπου περιέχουν -CN, -CO₂R και -CO₂H υποκαταστάτες αντιστοίχως, όσο και EDG (π.χ. **15b**, **15i**, **16b** και **16c**) λόγω της ομάδας -OH.



Σχήμα 15. Σύνθεση των παραγώγων **15a-v** και **16a-c** μέσω της αντίδρασης Ugi-Tetrazole τεσσάρων συστατικών και Passerini-Tetrazole τριών συστατικών, αντίστοιχα.

Εναλλακτικά, το μοτίβο υποκατάστασης ενός τετραζολικού παραγώγου θα μπορούσε να είναι λίγο διαφορετικό με έναν αρωματικό δακτύλιο στη θέση της αλδεΐδης και με μια αλειφατική ομάδα (κυκλοξέυλο) στη θέση του ισονιτριλίου (Σχήμα 16). Για αυτό το λόγο συντέθηκαν τα παράγωγα **15t-15v** σε απόδοση 57%, 86% και 51%, αντίστοιχα.

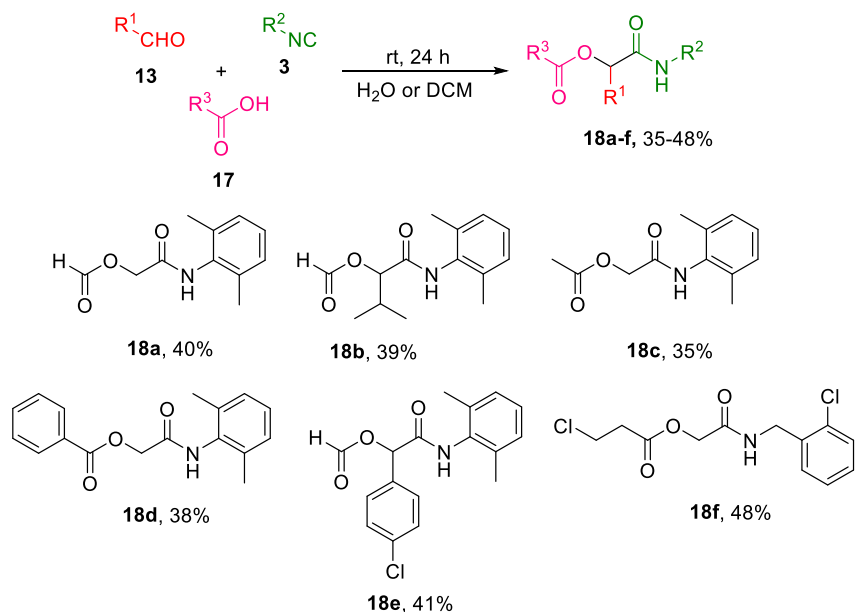


Σχήμα 16. Παράγωγα τετραζολίου που εμφανίζουν διαφορά στην θέση του αρωματικού δακτυλίου και στην αλειφατική ομάδα (κυκλοξέυλο).

Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, η ύπαρξη ενός -OH ίσως ευνοήσει τόσο την ανάπτυξη δεσμών H με συγκεκριμένα αμινοξέα στους υποδοχείς, όσο και την διαλυτότητα αυτών των παραγώγων, οπότε και θελήσαμε να εισάγουμε μια τέτοια ομάδα. Έτσι, μέσω των PT-3CRs²⁹ και τη χρήση υπερήχων συντέθηκαν τα παράγωγα **16a-16c** με αποδόσεις να κυμαίνονται από 37-69% (Σχήμα 15).

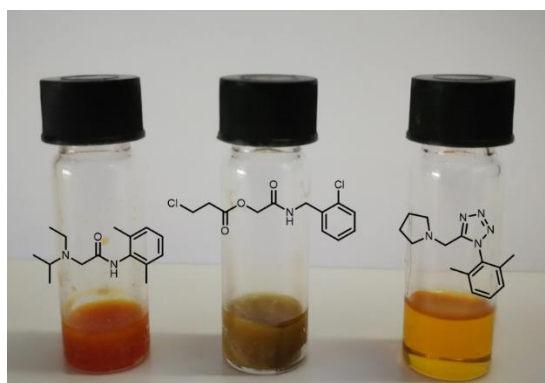
Όσο αφορά τις αντιδράσεις P-3CR, αρχικά, έγινε προσπάθεια εύρεσης των βέλτιστων συνθηκών αντίδρασης, εστιάζόμενοι κυρίως στον διαλύτη της αντίδρασης. Στις περιπτώσεις όπου ως αλδεΐδη δεν χρησιμοποιήθηκε η φορμαλδεΐδη, το DCM ως διαλύτης έδωσε τα καλύτερα αποτελέσματα και η MeOH για την περίπτωση του υδατικού διαλύματος HCHO. Ο βέλτιστος χρόνος αντίδρασης βρέθηκε να είναι 24 h. Γενικά, χρησιμοποιήθηκαν αρωματικά και αλειφατικά ισονιτρίλια, αλδεΐδες και καρβοξυλικά οξέα, για την αύξηση της λιποφιλικότητας των παραγώγων.

Με αυτή την βελτιστοποίηση στις συνθήκες αντίδρασης συντέθηκαν, τελικά, 6 προϊόντα, μέσω P-3CR (Σχήμα 17), από τα οποία τα **18d**, **18e** και **18f** είναι τα περισσότερο λιπόφιλα μόρια. Σε αυτή την περίπτωση, οι αποδόσεις των τελικών προϊόντων είναι μέτριες (35-48% σε ποσότητες από 40-140 mg), ενώ το παράγωγο **18f** έδωσε την υψηλότερη απόδοση εξαιτίας του βένζυλο ισονιτριλίου που χρησιμοποιήθηκε.



Σχήμα 17. Σύνθεση των παραγώγων **18a-f** μέσω της αντίδρασης Passerini τριών συστατικών.

Από τις 4 MCRs που περιγράφηκαν παραπάνω, επαναλήφθηκε μια αντίδραση σε μεγαλύτερη κλίμακα (5 mmol) για κάθε κατηγορία αντιδράσεων από τις τρεις πρώτες (U-3CR, P-3CR, UT-4CR), αναδεικνύοντας και αυτή την δυνατότητα της μεθοδολογίας μας. Στο σχήμα 18 παρουσιάζονται τα μίγματα αντιδράσεων μεγάλης κλίμακας.

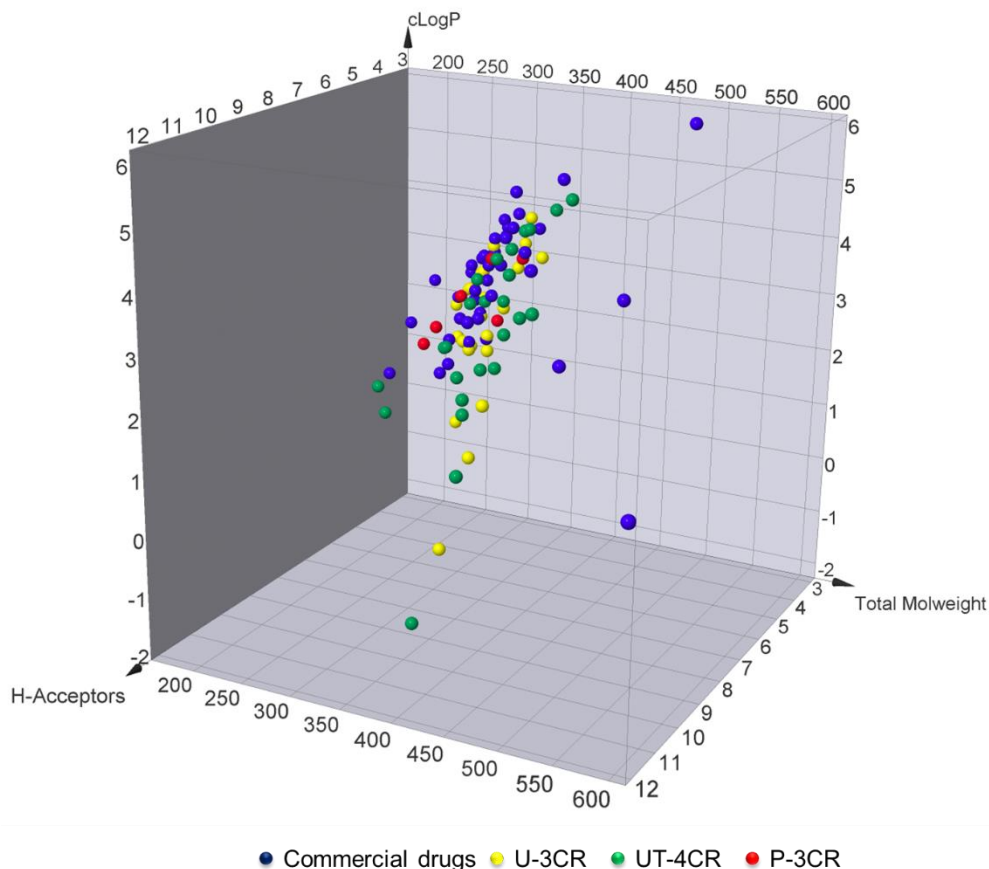


Σχήμα 18. Μεγάλη κλίμακα των U-3CRs, P-3CRs, UT-4CRs.

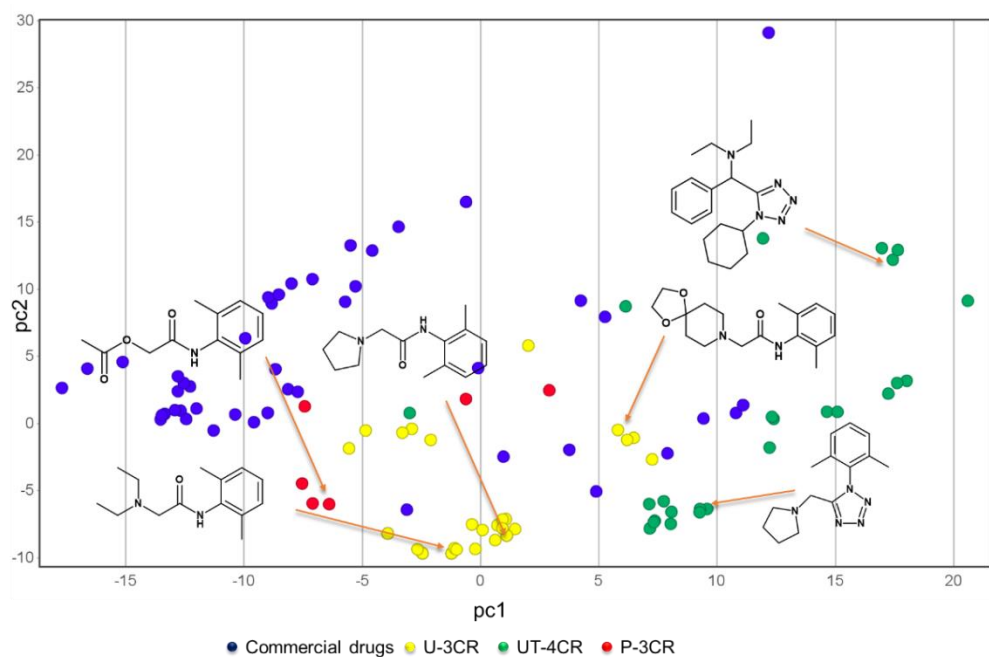
Συνολικά συντέθηκαν 60 ενώσεις μέσω των αντιδράσεων που αναφέρθηκαν. Όλες μας οι ενώσεις υπακούουν στον κανόνα του Lipinski (R_{o5} , HBD (δότες δεσμού υδρογόνου) ≤ 5 , HBA (δέκτες δεσμού υδρογόνου) ≤ 10 , $clogP$ (μέτρηση λιποφιλικότητας) ≤ 5 , $MW \leq 500$). Στο παρακάτω 3D γράφημα (MW vs $clogP$ vs HBA) (Σχήμα 19) απεικονίζονται τα παράγωγα των βιβλιοθηκών μας (κίτρινο: U-3CR, πράσινο: UT-4CR, κόκκινο: P-3CR) με τα εμπορικά διαθέσιμα τοπικά αναισθητικά όπως αναφέρονται στο drugbank.

Εν συνεχεία, πραγματοποιήθηκε ανάλυση κύριων συνιστωσών (principal component analysis, PCA) παίρνοντας υπόψη διάφορες μετρήσεις όπως πραγματοποιήθηκαν με το πρόγραμμα datawarrior όπως τα MW , $clogP$, HBD, HBA, PSA (polar surface area), shape index, molecular complexity και druglikeness. Παρατηρούμε ότι τα εμπορικά διαθέσιμα TA (μπλε) ομαδοποιούνται σε διαφορετικό

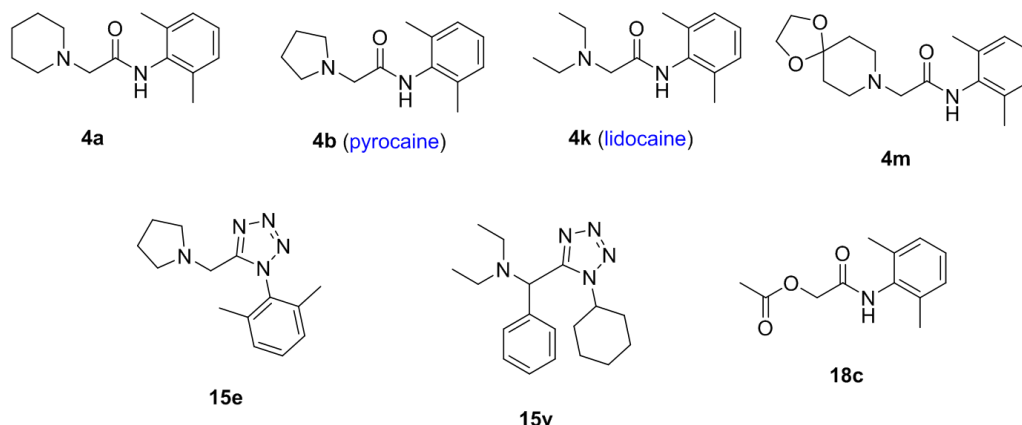
σημείο από ότι τα U-3CR (κίτρινο) και UT-4CR (πράσινο) (Σχήμα 20), το οποίο σημαίνει ότι όντως οι νεοσυντιθέμενες ενώσεις καλύπτουν διαφορετικό «κομμάτι» του χημικού σύμπαντος με πιθανές νέες ιδιότητες. Για αυτό το λόγο αποφασίσαμε να ελέγξουμε αντιπροσωπευτικά παραδείγματα των βιβλιοθηκών μας, όπως φαίνεται στο σχήμα 21.



Σχήμα 19. MW έναντι clogP έναντι HBA των προϊόντων.



Σχήμα 20. Σύγκριση των ήδη γνωστών φαρμάκων με τις παρούσες συντιθέμενες ενώσεις.

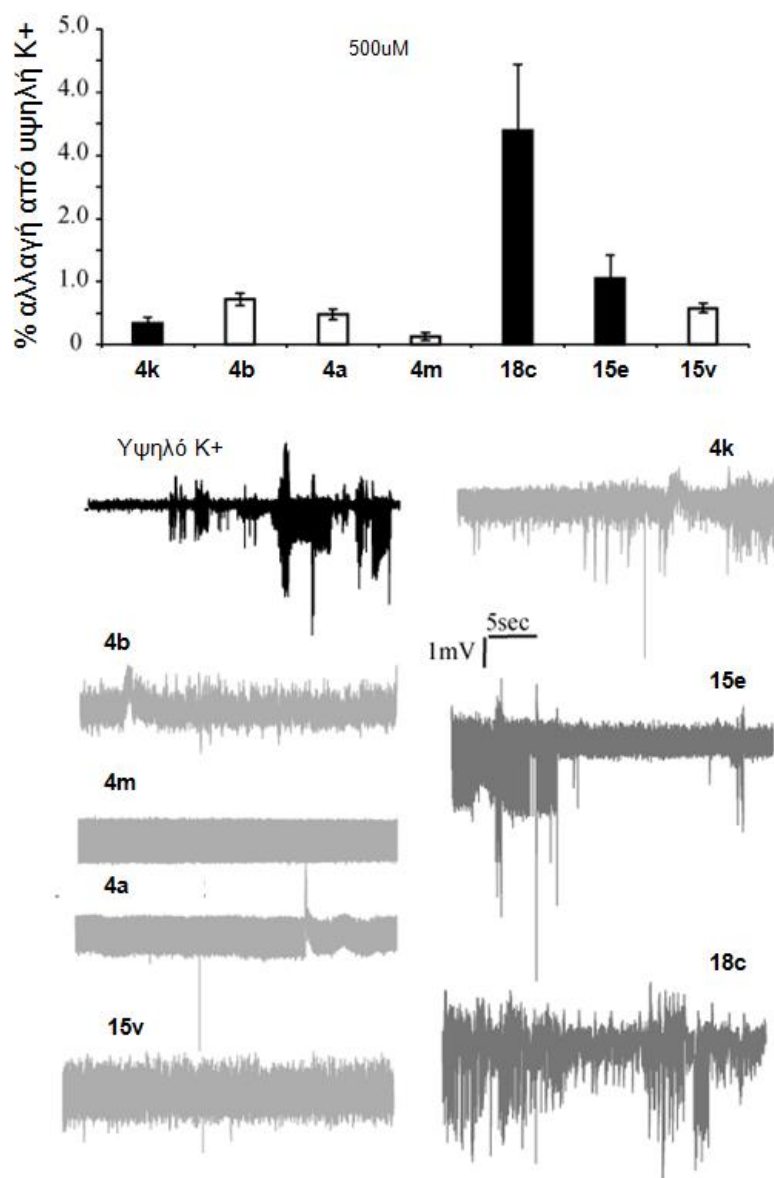


Σχήμα 21. Παραδείγματα βιβλιοθηκών που ελέγχθηκαν ως πιθανά αναισθητικά.

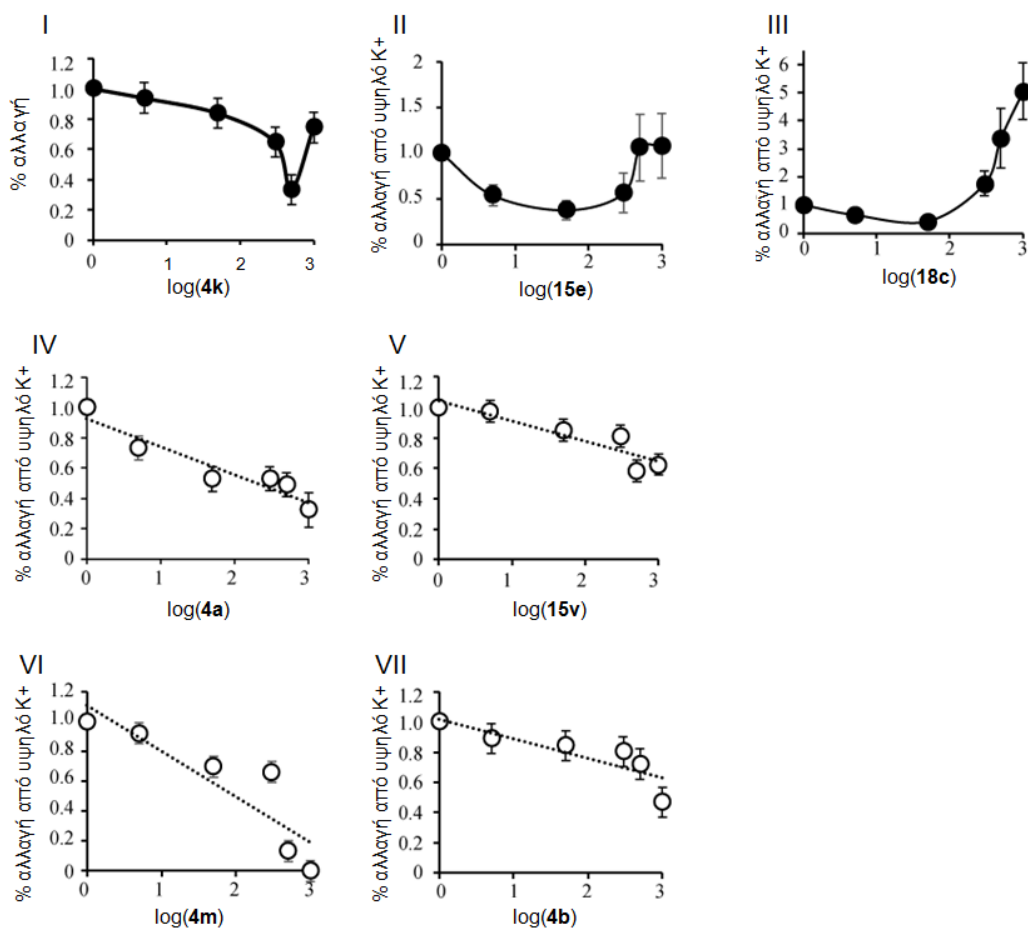
Όπως φαίνεται και από το παραπάνω σχήμα, από την ομάδα των U-3CR προϊόντων εξετάστηκαν, ενδεικτικά, οι ενώσεις **4a**, **4b**, **4k** και **4m**, από την ομάδα των UT-4CR προϊόντων ελέγχθηκαν οι ενώσεις **15e** και **15v** και από την ομάδα των P-3CR προϊόντων μετρήθηκε η ένωση **18c** ως πιθανοί αναστολείς της αυθόρμητης υπερδραστηριότητας στην περιοχή CA1 του ιππόκαμπου. Η περιοχή αυτή αποτελεί την πρώτη περιοχή στον ιππόκαμπο από την οποία μια κύρια οδός εξόδου πηγαίνει στο στρώμα V του ενδορινικού φλοιού. Χρησιμοποιήθηκε ένα ex vivo μοντέλο της αυθόρμητης δραστηριότητας του ιπποκάμπου του εγκεφάλου 30 ενήλικων αρσενικών και θηλυκών ποντικών.

Τα αποτελέσματα που λήφθηκαν παρουσιάζονται στο σχήμα 22, όπου στον άξονα y του γραφήματος απεικονίζεται η ποσοστιαία αλλαγή της αυθόρμητης δραστηριότητας μετά την εισαγωγή του αναισθητικού σε σχέση με αυτή του blank. Αρχικά, σε συγκέντρωση 500 μM η λιδοκαΐνη (**4k**) εμφάνισε μείωση της αυθόρμητης δραστηριότητας. Παρόμοια μείωση εμφάνισαν επιπλέον τα **4a**, **4b**, **4m** και **15v**. Πιο συγκεκριμένα, η **4b** εμφάνισε σημαντικά μικρότερη επίδραση σε σχέση με τη λιδοκαΐνη (**4k**) ($p = 0.01$ και $p = 0.02$, αντίστοιχα), ενώ η **4m** εμφάνισε σημαντικά μεγαλύτερη επίδραση ($p = 0.03$). Αντίστοιχη μείωση με αυτής της λιδοκαΐνης εμφάνισαν τα **4a** και **15v** ($p = 0.5$ και $p = 0.3$, αντίστοιχα). Παρόλα αυτά, οι ενώσεις **15e** και **18c** εμφάνισαν αύξηση της αυθόρμητης δραστηριότητας, όπως φαίνεται και στο σχήμα 22. Αυτή η διαφοροποίηση στην επίδραση της αυθόρμητης δραστηριότητας έχει παρατηρηθεί και με την λιδοκαΐνη. Συγκεκριμένα, η αυξημένη συγκέντρωση λιδοκαΐνης (**4k**) μπορεί να προκαλέσει επιληπτική δραστηριότητα ή επιληπτικές κρίσεις.^{18,30,31} Γενικά, τα τοπικά αναισθητικά που χρησιμοποιούνται στην κλινική θεραπεία παρουσιάζουν αυτές τις δύο διαφορετικές επιδράσεις στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) ανάλογα με τις δόσεις που χρησιμοποιούνται.³⁰

Στη συνέχεια μετρήθηκε η επίδραση κάθε φαρμάκου σε διαφορετικές συγκεντρώσεις (5 μM , 50 μM , 300 μM , 500 μM και 1 mM) προκειμένου να προσδιοριστεί τόσο η ευαισθησία του όσο και η επίδραση της υψηλής συγκέντρωσης. Διαπιστώθηκε πως τα **4a**, **4b**, **4m** και **15v** δεν παρουσιάζουν την αυξημένη αυθόρμητη δραστηριότητα ανάκαμψης στην υψηλότερη συγκέντρωση, όπως γίνεται με την λιδοκαΐνη (**4k**), ενώ τα **15e** και **18c** παρουσιάζουν την αυξημένη αυθόρμητη δραστηριότητα ανάκαμψης σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις από αυτή της λιδοκαΐνης (**4k**) (Σχήμα 23).

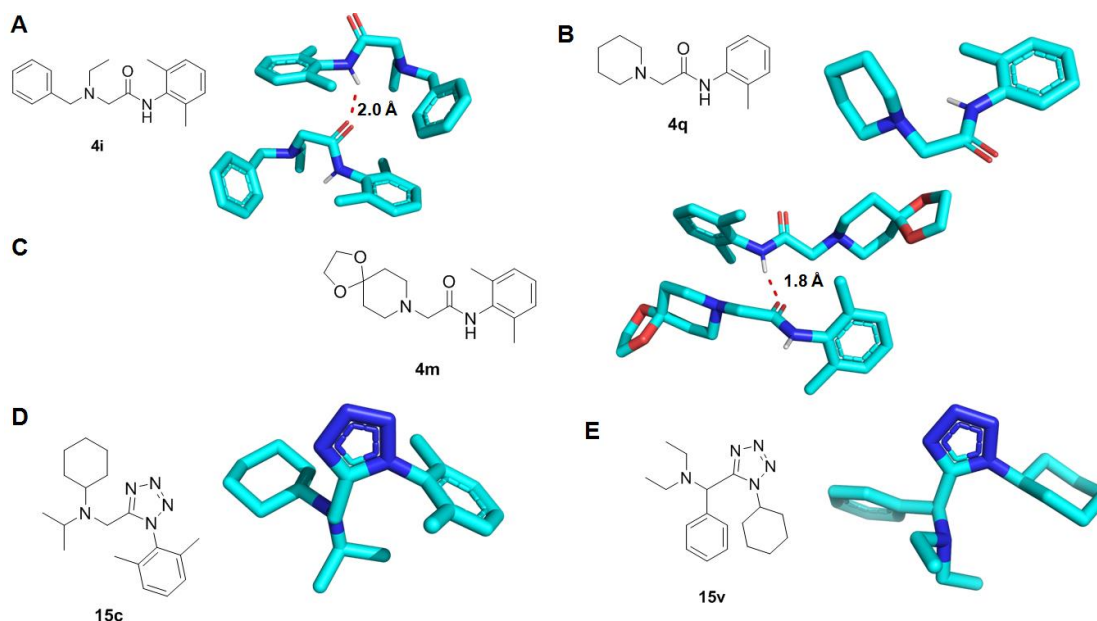


Σχήμα 22. Γράφημα (πάνω) και αντιπροσωπευτικά ίχνη (κάτω) που δείχνουν το ποσοστό επίδρασης των διαφορετικών ενώσεων που χρησιμοποιούνται.



Σχήμα 23. Γραφήματα που δείχνουν τις εξαρτώμενες από τη συγκέντρωση επιδράσεις των διαφορετικών ενώσεων που χρησιμοποιούνται.

Μπορέσαμε, επιπλέον, να κρυσταλλώσουμε διάφορα παράγωγα των βιβλιοθηκών μας. Αυτό είναι πολύ σημαντικό, γιατί έτσι μας δίνεται η δυνατότητα να εκτιμήσουμε το πως αυτές οι ενώσεις μπορούν να προσδεθούν σε ένα στόχο (Σχήμα 24). Όπως φαίνεται, άλλωστε και από το σχήμα, υπάρχει η δυνατότητα σχηματισμού δεσμών υδρογόνου, κάτι το οποίο παίζει σημαντικό ρόλο στην δραστικότητα των φαρμάκων και την πρόσδεση αυτών στα κύτταρα στόχους. Επιπρόσθετα, φαίνεται και η ομοιότητα των παραγώγων τετραζολίου **15c** και **15v** (Σχήμα 16).



Σχήμα 24. Κρυσταλλικές δομές των 4i (CCDC 2149685), 4q (CCDC 2149684), 4m (CCDC 2149960, 15c (CCDC 2149686) and 15v (CCDC 2149687).

3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Αρχικά, στην παρούσα έρευνα έγινε χρήση μιας συνθετικής μεθόδου, κατά την οποία επιτεύχθηκε εξοικονόμηση χρόνου, κόπυ και κόστους. Συνολικά, συντέθηκαν 60 προϊόντα, από τα οποία τα 6 είναι ήδη γνωστά φάρμακα, ενώ τα υπόλοιπα είναι τελείως άγνωστα έως σήμερα στην αγορά.

Η σύνθεση πολλών ενώσεων έγινε σε ένα μόνο στάδιο, χωρίς την ύπαρξη προστατευτικών ομάδων, σε υδατικό περιβάλλον με υψηλή ποικιλομορφία και πολυπλοκότητα. Επιπλέον, οι ενώσεις διαθέτουν χαρακτηριστικές ομάδες που επιτρέπουν τον περαιτέρω μετασχηματισμό τους. Οι αντιδράσεις έχουν καλές αποδόσεις, μπορούν να εκτελεστούν σε μεγάλη κλίμακα, ενώ ο καθαρισμός ήταν εύκολος. Αξιοσημείωτη είναι και η σύνθεση του Ranolazine ως γενόσιμου.

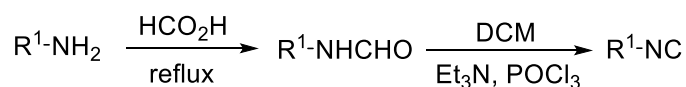
Από τα 60 προϊόντα, εξετάστηκαν 7 αντιπροσωπευτικά παραδείγματα ως πιθανοί αποτελεσματικοί αναστολείς της αντλίας Na^+ σε απομονωμένες φέτες εγκεφάλου της περιοχής του ιππόκαμπου. Μέσω αυτού του ελέγχου φαίνεται πως οι ενώσεις **4a**, **4b**, **4m** έχουν παρόμοιο μηχανισμό δράσης με την λιδοκαΐνη (**4k**), ενώ σε μια περίπτωση (**4m**) το αποτέλεσμα της μείωσης της νευρωνικής δραστηριότητας ήταν ακόμη μεγαλύτερο. Τα **15e** και **18c** παρουσίασαν μείωση της αυθόρμητης δραστηριότητας και σε χαμηλές δόσεις, αλλά σε υψηλότερες δόσεις εμφάνισαν το αντίθετο αποτέλεσμα. Τέλος, το παράγωγο **15v** εμφάνισε μείωση της αυθόρμητης δραστηριότητας με παρόμοιο τρόπο με αυτόν της λιδοκαΐνης (**4k**), κάτι το οποίο βοηθάει στην μελλοντική αξιολόγηση εναλλακτικών δομικών πυρήνων ως ισχυρά τοπικά αναισθητικά.

4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Τα φάσματα ^1H , ^{13}C λήφθηκαν σε φασματόμετρα 300 MHz και 500 MHz AMX Bruker. Ο καθαρισμός όλων των ενώσεων πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία στήλης (flash column chromatography) με υλικό στήριξης SiO_2 (silica gel 60, SDS,

230-400 mesh ASTM). Ο έλεγχος των αντιδράσεων πραγματοποιήθηκε μέσω χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδος (TLC) όπου χρησιμοποιήθηκαν πλακίδια επικαλυμμένα με SiO₂. Η ξήρανση των οργανικών εκχυλισμάτων πραγματοποιήθηκε με Na₂SO₄ και η συμπύκνωση των μιγμάτων με σκοπό την απομάκρυνση των διαλυτών σε περιστροφικό αποστακτήρα κενού. Τα αντιδραστήρια είναι προμηθευμένα από τις εταιρείες Aldrich, Merck, Fluka, TCI, Fluorochem και Apollo Scientific.

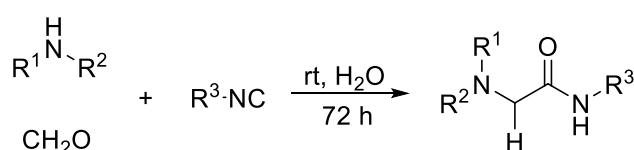
4.1 Γενική πειραματική διαδικασία για τη σύνθεση ισονιτριλίων



R¹: Aromatic groups

Η εκάστοτε αμίνη (1.0 equiv.) διαλύεται σε HCOOH (5.5 equiv.), ακολουθεί έντονη ανάδευση για μια μέρα στους 140 °C και στη συνέχεια, ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττώμενη πίεση. Ύστερα, σε αναδευόμενο διάλυμα του εκάστοτε σχηματιζόμενου φορμαμίδιου (1.0 equiv.) και της Et₃N (4.0 equiv.) σε DCM (50 mL) γίνεται στάγδην προσθήκη POCl₃ (1.0 equiv.) στους 0 °C. Το μίγμα της αντίδρασης, στη συνέχεια, θερμαίνεται έως τη θερμοκρασία δωματίου και αναδεύεται για μια μέρα. Κατόπιν, στο μίγμα της αντίδρασης προστίθεται πάγος και NaHCO₃ και ακολουθεί ανάδευση για δυο ώρες. Έπειτα, πραγματοποιείται διήθηση του μίγματος υπό κενό, εκχυλίσσεις με DCM/H₂O, ξήρανση της οργανικής φάσης με Na₂SO₄, απομάκρυνση του διαλύτη υπό ελαττώμενη πίεση και φιλτράρισμα του μίγματος υπό κενό σε silica με DCM, για την λήψη καθαρού ισονιτριλίου.

4.2 Γενική πειραματική διαδικασία για την Ugi τριών συστατικών (Ugi-3CR)

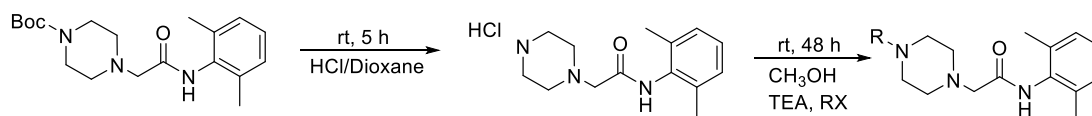


R¹, R²: Aromatic and aliphatic groups

R³: Aromatic groups

Σε αναδευόμενο διάλυμα της εκάστοτε αμίνης (1.0 equiv.) και της υδατικής φορμαλδεΐδης (10.0 equiv.), γίνεται προσθήκη του ισονιτριλίου (1.0 equiv.) σε θερμοκρασία δωματίου, μετά το πέρας μιας ώρας. Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται έντονα για τρεις ημέρες. Έπειτα, ακολουθούν εκχυλίσσεις με DCM/H₂O, ξήρανση της οργανικής φάσης με Na₂SO₄, απομάκρυνση του διαλύτη υπό ελαττώμενη πίεση και έπειτα καθαρισμός του προϊόντος με χρωματογραφία στήλης σε silica (PE-EA 7:1).

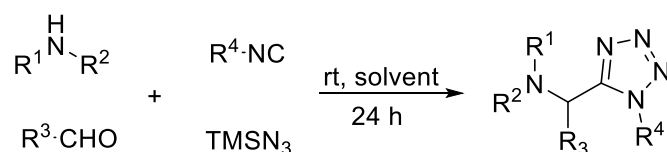
4.3 Πειραματική διαδικασία για αλκυλίωση/ακυλίωση



R: Aryl and aliphatic groups

Στο προστατευμένο U-3CR προϊόν (1.0 eqiv.) γίνεται προσθήκη HCl σε διοξάνιο (4 N) (4 mL). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται έντονα για πέντε ώρες και στη συνέχεια ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττώμενη πίεση. Έπειτα, σε αναδεύσιμο διάλυμα του αποπροστατευμένου προϊόντος (1.0 eqiv.) σε MeOH (4 mL) γίνεται προσθήκη του άλκυλο ή άρυλο- αλογονιδίου (1.0 eqiv.) και της TEA (1.4 eqiv.). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται έντονα για δυο ημέρες και κατόπιν, πραγματοποιούνται εκχυλίσεις με DCM/H₂O. Ακολουθεί ξήρανση της οργανικής φάσης με Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται, στη συνέχεια, υπό ελαττώμενη πίεση. Τέλος, λαμβάνεται καθαρό το προϊόν με χρωματογραφία στήλης σε silica (PE-EA 5:1).

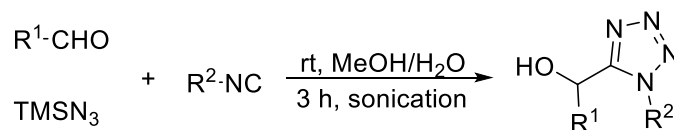
4.4 Γενική πειραματική διαδικασία για την Ugi τετραζόλια τεσσάρων συστατικών (UT-4CR)



R¹, R², R³, R⁴: Aromatic and aliphatic groups

Σε αναδεύσιμο διάλυμα της εκάστοτε αλδεΐδης (1.0 eqiv.) και της αμίνης (1.0 eqiv.) σε MeOH (1 mL), γίνεται προσθήκη του ισονιτριλίου (1.0 eqiv.) και του TMSN₃ (1.0 eqiv.) σε θερμοκρασία δωματίου, μετά το πέρας δέκα λεπτών. Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται έντονα για μια ημέρα. Έπειτα, ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττώμενη πίεση και λαμβάνεται καθαρό το προϊόν με χρωματογραφία στήλης σε silica (PE-EA 7:1). Στην περίπτωση που ως αλδεΐδη χρησιμοποιείται η φορμαλδεΐδη (10.0 eqiv.), δεν γίνεται προσθήκη MeOH. Ακολουθούν εκχυλίσεις με DCM/H₂O, ξήρανση της οργανικής φάσης με Na₂SO₄, απομάκρυνση του διαλύτη υπό ελαττώμενη πίεση και έπειτα καθαρισμός του προϊόντος.

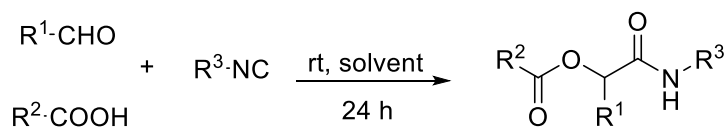
4.5 Γενική πειραματική διαδικασία για την Passerini τετραζόλια τριών συστατικών (PT-3CR)



R¹, R²: Aromatic and aliphatic groups

Στο διάλυμα της εκάστοτε αλδεΐδης (1.0 equiv.) σε MeOH/H₂O (0.5 mL/0.5 mL) γίνεται προσθήκη του ισονιτριλίου (1.0 equiv.) και του TMSN₃ (1.0 equiv.), σε θερμοκρασία δωματίου. Η αντίδραση πραγματοποιείται σε υπερήχους για τρεις ώρες. Στη συνέχεια, ακολουθούν εκχυλίσεις με DCM/H₂O, ξήρανση της οργανικής φάσης με Na₂SO₄ και απομάκρυνση του διαλύτη υπό ελαττώμενη πίεση. Το προϊόν λαμβάνεται καθαρό με χρωματογραφία στήλης σε silica (PE-EA 4:1). Στην περίπτωση που ως αλδεΐδη χρησιμοποιείται η φορμαλδεΐδη (6.0 equiv.) δεν γίνεται προσθήκη MeOH.

4.6 Γενική πειραματική διαδικασία για την Passerini τριών συστατικών (P-3CR)

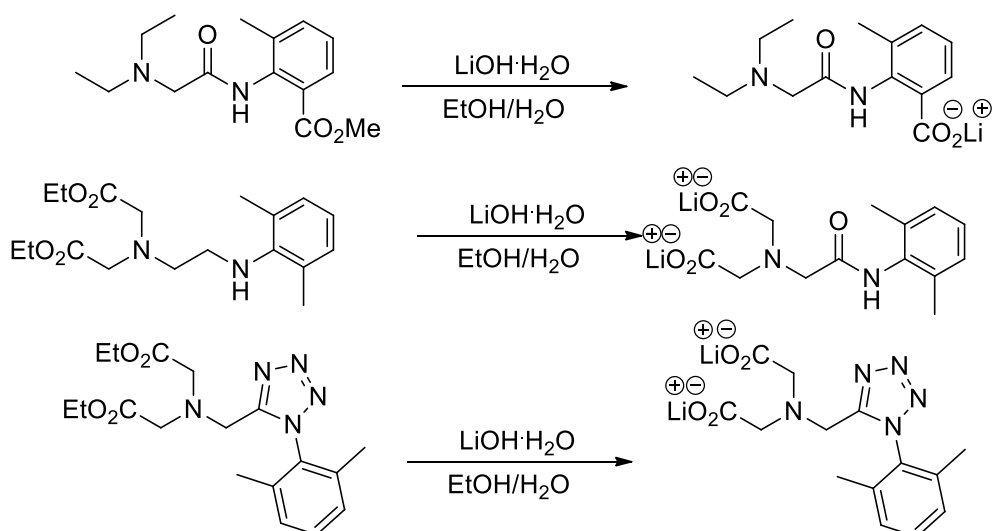


R¹, R²: Aromatic and aliphatic groups

R³: Aromatic groups

Σε αναδεύόμενο διάλυμα της αλδεΐδης (1.0 equiv.) και του καρβοξυλικού οξέος (1.0 equiv.) σε DCM (1 mL) γίνεται προσθήκη του ισονιτριλίου (1.0 equiv.) σε θερμοκρασία δωματίου, μετά το πέρας μιας ώρας. Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται έντονα για μια ημέρα. Έπειτα, ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττώμενη πίεση και λαμβάνεται καθαρό το προϊόν με χρωματογραφία στήλης σε silica (PE-EA 5:1). Στην περίπτωση που ως αλδεΐδη χρησιμοποιείται η φορμαλδεΐδη (10.0 equiv.), δεν γίνεται προσθήκη DCM. Ακολουθούν εκχυλίσεις με DCM/H₂O, ξήρανση της οργανικής φάσης με Na₂SO₄, απομάκρυνση του διαλύτη υπό ελαττώμενη πίεση και έπειτα καθαρισμός του προϊόντος.

4.7 Πειραματική διαδικασία για υδρόλυση



Σε αναδεύόμενο διάλυμα του εκάστοτε εστέρα (1.0 equiv.) σε EtOH/H₂O (1 mL/1 mL), γίνεται προσθήκη του LiOH·H₂O (5.0 equiv.). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται έντονα για μια ώρα. Έπειτα, ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττώμενη πίεση και λαμβάνεται καθαρό το προϊόν μέσω εκπλύσεων με PE και Et₂O.

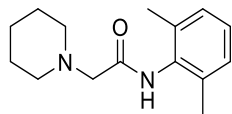
4.8 Πειραματική διαδικασία για τον βιολογικό έλεγχο παραγώγων

Ο αποκεφαλισμός των ποντικών γίνεται υπό αναισθησία με αλοθάνη και ο εγκέφαλος μεταφέρεται αμέσως σε παγωμένο, οξυγονωμένο (95% O₂–5% CO₂) τεχνητό εγκεφαλονωτιαίο υγρό (aCSF) που περιέχει (σε mM): 125 NaCl, 3.5 KCl, 26 NaHCO₃, 1 MgCl₂ και 10 γλυκόζη (pH = 7.4, 315 mOsm/l). Στη συνέχεια, ο εγκέφαλος μπλοκάρεται και συγκολλάται σε έναν δονητή (Leica, VT1000S) και επιλέγονται τομές εγκεφάλου, πάχους 400 μm, που περιέχουν τον ιππόκαμπο. Οι φέτες του εγκεφάλου, μετέπειτα, μεταφέρονται σε έναν βυθισμένο θάλαμο, ο οποίος περιέχει οξυγονωμένο (95% O₂–5% CO₂) aCSF (σε mM): 125 NaCl, 3.5 KCl, 26 NaHCO₃, 2 CaCl₂, 1 MgCl₂ και 10 γλυκόζη (pH = 7.4, 315 mOsm/l), στους 36 °C. Οι φέτες εγκεφάλου που περιέχουν τον ιππόκαμπο τοποθετούνται σε θάλαμο τομής ελεγχόμενης θερμοκρασίας κάτω από ένα μικροσκόπιο συνεχώς διαχυζόμενο με υψηλό K⁺ aCSF (aCSF περιέχει σε mM: 125 NaCl, 7.5 KCl, 26 NaHCO₃, 1 MgCl₂, 2 CaCl₂ and 10 γλυκόζη (pH = 7.4, 315 mOsm/l) στους 37 °C με 95% O₂-5% CO₂. Τα ηλεκτρόδια καταγραφής είναι γεμάτα με NaCl (3 M) και τοποθετούνται στην περιοχή CA1, CA3 ή DG του ιππόκαμπου. Τα τοπικά δυναμικά πεδίου (LFPs) ενισχύονται χρησιμοποιώντας ένα εξωκυτταρικό στάδιο κεφαλής με επιλέξιμο φίλτρο υψηλής διέλευσης των 3 Hz και ένα φίλτρο χαμηλής διέλευσης 300 Hz. Τα σήματα ψηφιοποιούνται χρησιμοποιώντας την πλακέτα ITC-18 (InstruTech, Inc.) σε υπολογιστή με προσαρμοσμένες διαδικασίες στο IgorPro (Wavemetrics, Inc.). Καταγράφεται η αυθόρμητη δραστηριότητα μετά την επαγωγή του φαινομένου που μοιάζει με επιληπτική κρίση χρησιμοποιώντας ένα ex vivo μοντέλο επιληψίας. Κάτω από αυτό το πεδίο, οι εγκεφαλικές φέτες HPC εγχύονται με υψηλό K⁺ aCSF για τουλάχιστον 15 λεπτά πριν από τις εγγραφές. Το υψηλό K⁺ aCSF περιέχει (σε mM):

125 NaCl, 7.5 KCl, 26 NaHCO₃, 2 CaCl₂ και 10 γλυκόζη (pH = 7.4, 315 mOsm/l) σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια, αποκτούνται 30 αυθόρμητα ίχνη τάσης, διάρκειας 30 δευτερολέπτων. Προκειμένου να γίνει ο έλεγχος του φαρμάκου, πραγματοποιείται ανάλυση δόσης-απόκρισης, στην οποία εξετάζονται πέντε (5) διαφορετικές συγκεντρώσεις κάθε φαρμάκου. Οι 5 συγκεντρώσεις είναι: α) 5 μ M, β) 50 μ M, γ) 300 μ M, δ) 500 μ M και ε) 1 mM. Αρχικά τα φάρμακα αραιώνονται σε διάλυμα 100% αιθανόλης με τελικό όγκο 20 ml υψηλό K⁺ aCSF σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια, αποκτούνται 30 αυθόρμητα ίχνη τάσης, διάρκειας 30 δευτερολέπτων, κάτω από καθεμία από τις ακόλουθες πειραματικές συνθήκες: i) Υψηλό K⁺ με το φάρμακο C=5 μ M, ii) Υψηλό K⁺ με το φάρμακο C=50 μ M, iii) Υψηλό K⁺ με το φάρμακο C=300 μ M, iv) Υψηλό K⁺ με το φάρμακο C=500 μ M και τέλος, v) Υψηλό K⁺ με το φάρμακο C= 1mM.

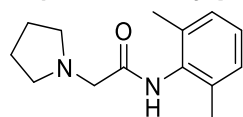
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΑΣΜΑΤΩΝ ¹H ΚΑΙ ¹³C

N-(2,6-dimethylphenyl)-2-(piperidin-1-yl)acetamide (4a)



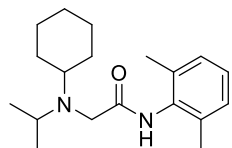
112.1 mg, 91%, yellow crystals. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.82 (s, 1H), 7.09 (s, 3H), 3.14 (s, 2H), 2.62 (s, 4H), 2.24 (s, 6H), 1.68-1.61 (m, 4H), 1.51-1.49 (d, *J* = 6 Hz, 2H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 169.3, 135.1, 133.9, 128.4, 127.2, 62.7, 55.4, 26.5, 23.8, 18.7. HRMS *m/z* calcd for C₁₅H₂₂N₂O [M+H]⁺ 247.18049, found 247.18027.

N-(2,6-dimethylphenyl)-2-(pyrrolidin-1-yl)acetamide (4b)



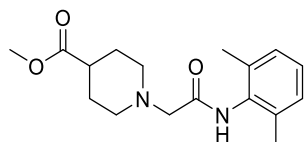
109.2 mg, 94%, orange solid. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.08 (s, 3H), 3.35 (s, 2H), 2.79-2.75 (t, *J* = 5.4 Hz, 4H), 2.24 (s, 6H), 1.88-1.83 (m, 4H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 169.5, 135.2, 128.3, 127.2, 120.1, 59.4, 54.9, 24.2, 18.6. HRMS *m/z* calcd for C₁₄H₂₀N₂O [M+H]⁺ 233.16484, found 233.16473.

2-(cyclohexyl(isopropyl)amino)-*N*-(2,6-dimethylphenyl)acetamide (4c)



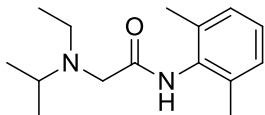
128.5 mg, 85%, yellow oil. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.89 (s, 1H), 7.09 (s, 3H), 3.30 (s, 2H), 3.22-3.13 (m, 1H), 2.64-2.58 (q, *J* = 6 Hz, 1H), 2.22 (s, 6H), 1.86-1.82 (d, *J* = 12 Hz, 4H), 1.60 (s, 2H), 1.32-1.23 (q, *J* = 9 Hz, 4H), 1.12-1.10 (d, *J* = 6 Hz, 6H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 172.0, 135.5, 134.3, 128.4, 127.3, 59.6, 53.6, 50.6, 49.5, 31.7, 26.26, 21.2, 18.9. HRMS *m/z* calcd for C₁₉H₃₀N₂O [M+H]⁺ 303.24309, found 303.2432.

methyl 1-(2-((2,6-dimethylphenyl)amino)-2-oxoethyl)piperidine-4-carboxylate (4d)



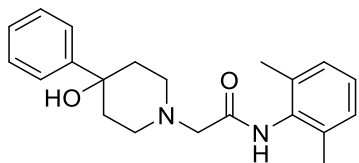
108.0 mg, 71%, yellow solid. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.66 (s, 1H), 7.08 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.17 (s, 2H), 3.03-2.99 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H), 2.40-2.33 (t, *J* = 11.4 Hz, 3H), 2.22 (s, 6H), 2.00-1.99 (t, *J* = 5.1 Hz, 3H), 1.82-1.78 (d, *J* = 10.2 Hz, 2H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 175.3, 168.7, 135.1, 128.4, 127.3, 120.1, 62.2, 53.8, 52.0, 40.4, 28.7, 18.7. HRMS *m/z* calcd for C₁₇H₂₄N₂O₃ [M+H]⁺ 305.18597, found 305.1861.

***N*-(2,6-dimethylphenyl)-2-(ethyl(isopropyl)amino)acetamide (4e)**



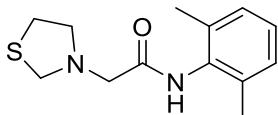
110.5 mg, 89%, yellow crystals. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.99 (s, 1H), 7.09 (s, 3H), 3.20 (s, 2H), 3.12-3.03 (m, 1H), 2.69-2.62 (q, $J = 9$ Hz, 2H), 2.23 (s, 6H), 1.18-1.13 (t, $J = 6$ Hz, 3H), 1.10-1.08 (d, $J = 6$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 171.1, 135.3, 128.3, 127.2, 53.6, 51.9, 46.4, 18.7, 18.6, 14.4. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 249.19614, found 249.19597.

***N*-(2,6-dimethylphenyl)-2-(4-hydroxy-4-phenylpiperidin-1-yl)acetamide (4f)**



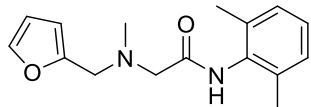
142.1 mg, 84%, orange oil. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.77 (s, 1H), 7.48-7.45 (d, $J = 9$ Hz, 2H), 7.36-7.31 (t, $J = 9$ Hz, 2H), 7.26-7.21 (t, $J = 6$ Hz, 1H), 7.05 (s, 3H), 3.44-3.42 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 3.21-3.20 (d, $J = 3$ Hz, 2H), 2.83-2.76 (t, $J = 12$ Hz, 4H), 2.20 (s, 6H), 1.82-1.78 (d, $J = 12$ Hz, 3H), 1.18-1.14 (t, $J = 6$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 169.1, 148.0, 135.1, 128.6, 128.4, 127.3, 124.6, 70.52, 70.51, 66.0, 62.0, 50.4, 38.7, 18.7. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 339.2067, found 339.2064.

***N*-(2,6-dimethylphenyl)-2-(thiazolidin-3-yl)acetamide (4g)**



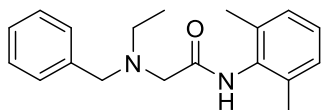
53.2 mg, 41%, orange oil. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.57 (s, 1H), 7.09 (s, 3H), 4.14 (s, 2H), 3.27 (s, 2H), 3.22-3.18 (t, $J = 6$ Hz, 2H), 3.01-2.97 (t, $J = 6$ Hz, 2H), 2.24 (s, 6H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 169.2, 135.2, 128.4, 127.5, 61.4, 58.8, 58.2, 29.9, 18.7. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 251.12126, found 251.1214.

***N*-(2,6-dimethylphenyl)-2-((furan-2-ylmethyl)(methyl)amino)acetamide (4h)**



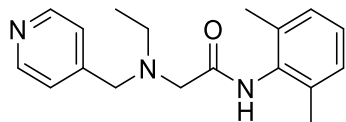
107.6 mg, 79%, brown oil. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.75 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.09 (s, 3H), 6.35-6.33 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 6.27-6.26 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 3.73 (s, 2H), 3.26 (s, 2H), 2.48 (s, 3H), 2.21 (s, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 169.2, 151.7, 142.7, 135.4, 128.4, 127.3, 110.4, 109.2, 60.1, 54.4, 43.5, 18.7. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 273.15975, found 273.1597.

2-(benzyl(ethyl)amino)-*N*-(2,6-dimethylphenyl)acetamide (4i)



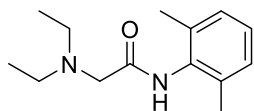
99.3 mg, 67%, yellow crystals. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.73 (s, 1H), 7.35-7.34 (t, $J = 5$ Hz, 5H), 7.09-7.08 (d, $J = 5$ Hz, 3H), 3.75 (s, 2H), 3.27 (s, 2H), 2.76-2.72 (q, $J = 5$ Hz, 2H), 2.13 (s, 6H), 1.23-1.20 (t, $J = 5$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 170.03, 138.34, 135.44, 129.09, 128.78, 128.36, 127.71, 127.37, 59.10, 57.39, 49.58, 18.60, 12.67. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 297.19614, found 297.1964.

***N*-(2,6-dimethylphenyl)-2-(ethyl(pyridin-4-ylmethyl)amino)acetamide (4j)**



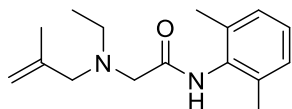
77.3 mg, 52%, brown oil. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.60-8.58 (d, $J = 6$ Hz, 2H), 7.31-7.29 (d, $J = 6$ Hz, 2H), 7.10-7.09 (d, $J = 2.4$ Hz, 3H), 3.77 (s, 2H), 3.29 (s, 2H), 2.78-2.71 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.15 (s, 6H), 1.25-1.20 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 169.2, 150.2, 135.3, 133.6, 128.5, 127.6, 123.8, 58.1, 57.7, 49.6, 18.6, 12.6. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 298.19139, found 298.1916.

2-(diethylamino)-*N*-(2,6-dimethylphenyl)acetamide (4k)



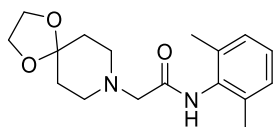
112.5 mg, 96%, yellow solid. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.95 (s, 1H), 7.09 (s, 3H), 3.22 (s, 2H), 2.73-2.66 (q, $J = 6$ Hz, 4H), 2.24 (s, 6H), 1.16-1.12 (t, $J = 6$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 170.5, 135.2, 128.3, 127.2, 57.6, 49.1, 29.8, 18.7, 12.8. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 235.18049, found 235.18027.

***N*-(2,6-dimethylphenyl)-2-(ethyl(2-methylallyl)amino)acetamide (4l)**



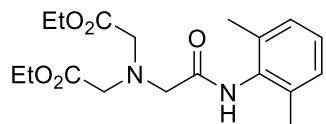
96.3 mg, 74%, yellow oil. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.73 (s, 1H), 7.10 (s, 3H), 4.99-4.95 (d, $J = 12$ Hz, 2H), 3.25 (s, 2H), 3.12 (s, 2H), 2.69-2.62 (q, $J = 6$ Hz, 2H), 2.23 (s, 6H), 1.80 (s, 3H), 1.18-1.13 (t, $J = 6$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 170.2, 142.3, 135.4, 128.4, 127.3, 114.1, 61.7, 57.7, 49.1, 29.8, 21.0, 18.7, 12.6. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 261.19614, found 261.1962.

***N*-(2,6-dimethylphenyl)-2-(1,4-dioxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)acetamide (4m)**



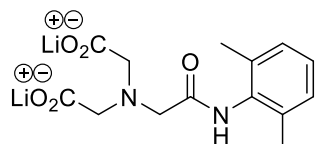
79.1 mg, 52%, orange oil. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.72 (s, 1H), 7.09 (s, 3H), 3.97 (s, 4H), 3.22 (s, 2H), 2.80-2.77 (t, $J = 3$ Hz, 4H), 2.23 (s, 6H), 1.82-1.79 (t, $J = 3$ Hz, 4H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 168.8, 135.1, 133.7, 128.4, 127.3, 106.5, 64.5, 61.6, 52.4, 35.3, 18.7. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 305.18597, found 305.1861.

diethyl 2,2'-((2-((2,6-dimethylphenyl)amino)-2-oxoethyl)azanediyl)diacetate (4n)



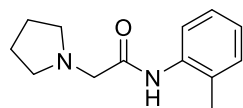
101.6 mg, 58%, orange oil. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9.24 (s, 1H), 7.09 (s, 3H), 4.24-4.17 (q, $J = 6$ Hz, 4H), 3.66-3.64 (d, $J = 6$ Hz, 4H), 3.58 (s, 2H), 2.24 (s, 6H), 1.31-1.26 (t, $J = 9$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 171.2, 169.4, 135.2, 128.2, 127.1, 61.1, 60.3, 59.3, 56.0, 18.5, 14.2.

lithium 2,2'-((2-((2,6-dimethylphenyl)amino)-2-oxoethyl)azanediyl)diacetate (4o)



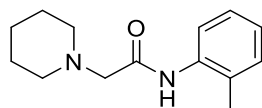
64.3 mg, 42%, yellow solid. ^1H NMR (300 MHz, D_2O) δ 6.80 (s, 3H), 3.00 (s, 4H), 2.83 (s, 2H), 1.80 (s, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, D_2O) δ 180.3, 179.5, 171.4, 133.4, 127.5, 124.9, 59.0, 51.7, 17.3. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{Li}_2\text{N}_2\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 307.14521, found 307.14493.

2-(pyrrolidin-1-yl)-*N*-(*o*-tolyl)acetamide (4p)



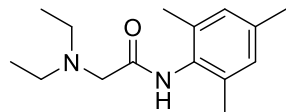
91.7 mg, 84%, brown oil. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9.33 (s, 1H), 8.13-8.11 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 7.23-7.20 (t, $J = 3$ Hz, 2H), 7.10-7.05 (t, $J = 9$ Hz, 1H), 3.36 (s, 2H), 2.78-2.75 (t, $J = 3$ Hz, 4H), 2.30 (s, 3H), 1.92-1.88 (m, 4H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 169.1, 136.0, 130.5, 127.5, 127.1, 124.5, 121.4, 59.7, 54.7, 24.7, 17.6. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 219.14919, found 219.14907.

2-(piperidin-1-yl)-*N*-(*o*-tolyl)acetamide (4q)



83.6 mg, 72%, yellow crystals. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9.51 (s, 1H), 8.24-8.22 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 7.32-7.22 (q, $J = 12$ Hz, 2H), 7.11-7.06 (t, $J = 9$ Hz, 1H), 3.17 (s, 2H), 2.66-2.62 (t, $J = 6$ Hz, 4H), 2.36 (s, 3H), 1.74-1.65 (m, 4H), 1.57-1.55 (d, $J = 6$ Hz, 2H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 168.9, 136.1, 130.4, 127.1, 126.9, 124.2, 120.8, 63.1, 55.1, 26.6, 23.7, 17.8. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 233.16484, found 233.16465.

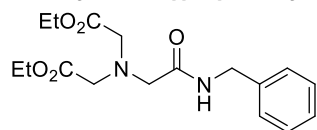
2-(diethylamino)-*N*-mesitylacetamide (4r)



73.2 mg, 59%, orange oil. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.83 (s, 1H), 6.89 (s, 2H), 3.21 (s, 2H), 2.70-2.66 (q, $J = 7$ Hz, 4H), 2.26 (s, 3H), 2.18 (s, 6H), 1.14-1.11 (t, $J = 7$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 170.7, 136.9, 135.0, 131.4, 129.01, 57.7,

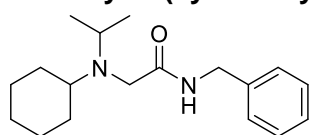
49.1, 21.0, 18.6, 12.8. HRMS m/z calcd for $C_{15}H_{24}N_2O$ $[M+H]^+$ 249.19614, found 249.1962.

diethyl 2,2'-((2-(benzylamino)-2-oxoethyl)azanediyl)diacetate (4s)



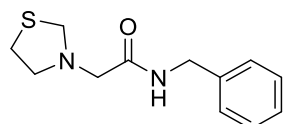
195.1 mg, 58%, brown oil. 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.22 (s, 1H), 7.37-7.28 (m, 5H), 4.51-4.49 (d, $J = 10$ Hz, 2H), 4.18-4.11 (q, $J = 11.5$ Hz, 4H), 3.53 (s, 3H), 3.48 (s, 1), 1.68 (s, 2H), 1.27-1.23 (t, $J = 12.5$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 171.2, 138.6, 128.7, 127.7, 127.4, 61.1, 59.3, 56.0, 43.2, 14.3. HRMS m/z calcd for $C_{17}H_{24}N_2O_5$ $[M+H]^+$ 337.17580, found 337.1755.

***N*-benzyl-2-(cyclohexyl(isopropyl)amino)acetamide (4t)**



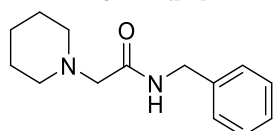
118.2 mg, 41%, brown solid. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.79 (s, 1H), 7.35-7.28 (m, 5H), 4.49-4.47 (d, $J = 6$ Hz, 2H), 3.17 (s, 2H), 3.10-3.02 (m, 1H), 2.49-2.46 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H), 1.75-1.73 (d, $J = 7.8$ Hz, 4H), 1.64-1.59 (d, $J = 13.5$ Hz, 2H), 1.23-1.13 (q, $J = 11.4$ Hz, 4H), 1.00-0.98 (d, $J = 6.6$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 173.8, 138.7, 128.8, 127.6, 127.4, 59.7, 50.3, 49.5, 43.1, 31.4, 26.13 20.9. HRMS m/z calcd for $C_{18}H_{28}N_2O$ $[M+H]^+$ 289.22744, found 289.2276.

***N*-benzyl-2-(thiazolidin-3-yl)acetamide (4u)**



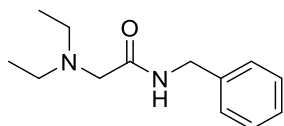
106.3 mg, 45%, orange solid. 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.47-7.46 (d, $J = 4$ Hz, 1H), 7.37-7.34 (dd, $J_1 = 8.5$ Hz, $J_2 = 7$ Hz, 2H), 7.31-7.29 (d, $J = 7.5$ Hz, 3H), 4.51-4.50 (d, $J = 6$ Hz, 2H), 3.99 (s, 2H), 3.14 (s, 2H), 3.06-3.03 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 2.94-2.91 (t, $J = 6$ Hz, 2H). ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 170.1, 138.4, 128.9, 127.9, 127.7, 61.3, 58.7, 58.0, 43.3, 29.8. HRMS m/z calcd for $C_{12}H_{16}N_2OS$ $[M+H]^+$ 237.10561, found 237.1056.

***N*-benzyl-2-(piperidin-1-yl)acetamide (4v)**



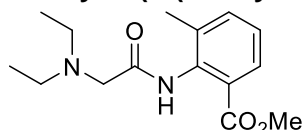
90.6 mg, 78%, orange solid. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.62 (s, 1H), 7.35-7.27 (m, 5H), 4.50-4.48 (d, $J = 6$ Hz, 2H), 3.02 (s, 2H), 2.47-2.44 (t, $J = 3$ Hz, 4H), 1.58-1.51 (m, 4H), 1.46-1.40 (q, $J = 6$ Hz, 2H). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 170.7, 138.6, 128.8, 127.6, 127.5, 62.4, 55.1, 43.0, 26.1, 23.7. HRMS m/z calcd for $C_{14}H_{20}N_2O$ $[M+H]^+$ 233.16484, found 233.16480.

***N*-benzyl-2-(diethylamino)acetamide (4w)**



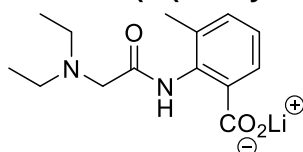
187.3 mg, 85%, brown oil. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.63 (s, 1H), 7.26-7.16 (m, 5H), 4.38-4.36 (d, $J = 6$ Hz, 2H), 2.98 (s, 2H), 2.47-2.40 (q, $J = 7.2$ Hz, 4H), 0.91-0.86 (t, $J = 6.9$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 172.1, 138.6, 128.7, 127.6, 127.4, 57.5, 48.8, 43.0, 12.4. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 221.16484, found 221.1648.

methyl 2-(2-(diethylamino)acetamido)-3-methylbenzoate (4x)



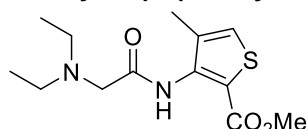
111,3 mg, 40%, yellow oil. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 10.04 (s, 1H), 7.71-7.69 (dd, $J_1 = 8$ Hz, $J_2 = 2$ Hz, 1H), 7.38-7.37 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.17-7.14 (t, $J = 8$ Hz, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.18 (s, 2H), 2.71-2.66 (q, $J = 7$ Hz, 4H), 2.26 (s, 3H), 1.14-1.11 (t, $J = 7$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 170.6, 167.3, 135.6, 135.3, 134.8, 128.2, 125.7, 125.5, 57.9, 52.2, 48.6, 19.1, 12.2. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 279.17032, found 279.17054.

lithium 2-(2-(diethylamino)acetamido)-3-methylbenzoate (4y)



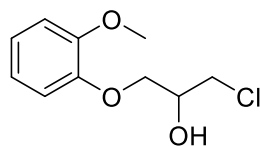
102.7 mg, 76%, white solid. ^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 7.39-7.36 (m, 2H), 7.32-7.29 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 3.35 (s, 2H), 2.73-2.69 (q, $J = 7.5$ Hz, 4H), 2.23 (s, 3H), 1.13-1.10 (t, $J = 7.5$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, D_2O) δ 175.7, 173.7, 136.9, 135.9, 131.2, 130.6, 127.4, 125.4, 56.1, 47.9, 17.5, 11.1. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{LiN}_2\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 271.16285, found 271.16281.

methyl 3-(2-(diethylamino)acetamido)-4-methylthiophene-2-carboxylate (4z)



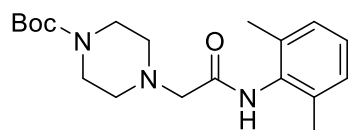
113.7 mg, 40%, yellow oil. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 10.08 (s, 1H), 7.12 (s, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.19 (s, 2H), 2.72-2.65 (q, $J = 6.9$ Hz, 4H), 2.18 (s, 3H), 1.15-1.10 (t, $J = 6.9$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 170.7, 162.8, 141.6, 136.3, 127.2, 118.8, 57.9, 51.9, 48.8, 15.7, 12.2. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 285.12674, found 285.12693.

1-chloro-3-(2-methoxyphenoxy)propan-2-ol (7)³²



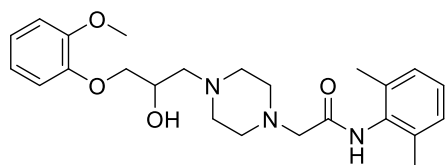
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.01-6.95 (m, 2H), 6.92-6.90 (t, *J* = 5 Hz, 2H), 4.22-4.18 (m, 1H), 4.13-4.12 (d, *J* = 5 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.79-3.70 (m, 2H), 3.28-3.27 (d, *J* = 5 Hz, 1H).

tert-butyl 4-(2-((2,6-dimethylphenyl)amino)-2-oxoethyl)piperazine-1-carboxylate³³



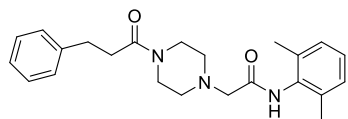
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.57 (s, 1H), 7.12-7.08 (m, 3H), 3.52-3.50 (t, *J* = 5 Hz, 4H), 3.22 (s, 2H), 2.66-2.64 (t, *J* = 5 Hz, 4H), 2.23 (s, 6H), 1.47 (s, 9H).

***N*-(2,6-dimethylphenyl)-2-(4-(2-hydroxy-3-(2-methoxyphenoxy)propyl)piperazin-1-yl)acetamide (10)**³⁴



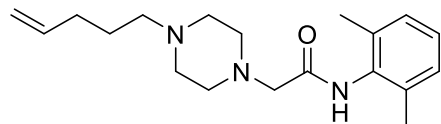
149.6 mg, 35%, ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.69 (s, 1H), 7.11-7.08 (t, *J* = 6 Hz, 3H), 6.97-6.90 (m, 4H), 4.21-4.15 (m, 1H), 4.05-4.03 (d, *J* = 6 Hz, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.47 (s, 1H), 3.22 (s, 2H), 2.77 (s, 6H), 2.65-2.62 (t, *J* = 3 Hz, 4H), 2.22 (s, 6H).

***N*-(2,6-dimethylphenyl)-2-(4-(3-phenylpropanoyl)piperazin-1-yl)acetamide (11)**



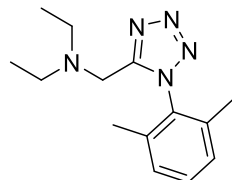
106.2 mg, 28%, yellow solid. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.63 (s, 1H), 7.33-7.28 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.24-7.20 (m, 3H), 7.11-7.07 (m, 3H), 3.73 (s, 2H), 3.50 (s, 2H), 3.30 (s, 2H), 3.02-2.96 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 2.73 (s, 2H), 2.67-2.62 (t, *J* = 8.1 Hz, 4H), 2.22 (s, 6H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 170.9, 167.9, 141.2, 135.0, 133.5, 128.7, 128.6, 128.5, 127.5, 126.4, 77.2, 61.8, 53.8, 53.6, 45.7, 41.8, 35.1, 31.7, 18.8. HRMS *m/z* calcd for C₂₃H₂₉N₃O₂ [M+H]⁺ 380.23325, found 380.23293.

***N*-(2,6-dimethylphenyl)-2-(4-(pent-4-en-1-yl)piperazin-1-yl)acetamide (12)**



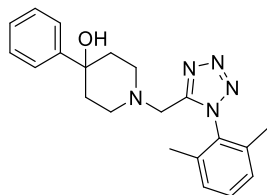
171 mg, 54%, brown solid. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.60 (s, 1H), 7.11-7.04 (m, 3H), 5.78-5.70 (m, 1H), 5.07-5.01 (m, 2H), 3.25 (s, 2H), 3.03 (s, 4H), 2.89 (s, 4H), 2.80-2.77 (t, $J = 5.5$ Hz, 2H), 2.18 (s, 6H), 2.12-2.07 (q, $J = 7.5$ Hz, 2H), 1.80-1.74 (m, 2H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 168.0, 136.5, 135.3, 133.7, 128.4, 127.6, 116.4, 60.8, 57.1, 52.1, 51.1, 30.8, 23.5, 18.6. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 316.23834, found 316.23853.

***N*-((1-(2,6-dimethylphenyl)-1*H*-tetrazol-5-yl)methyl)-*N*-ethylethanamine (15a)**



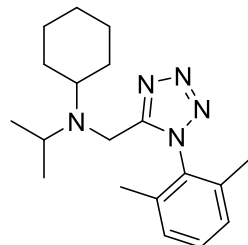
76.5 mg, 59%, light yellow oil. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.36-7.30 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.19-7.16 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 3.57 (s, 2H), 2.45-2.38 (q, $J = 6.3$ Hz, 4H), 1.92 (s, 6H), 0.75-0.70 (t, $J = 6.6$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 154.1, 136.0, 132.4, 130.8, 128.7, 47.1, 44.9, 17.5, 11.4. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{N}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 260.18697, found 260.18689.

1-((1-(2,6-dimethylphenyl)-1*H*-tetrazol-5-yl)methyl)-4-phenylpiperidin-4-ol (15b)



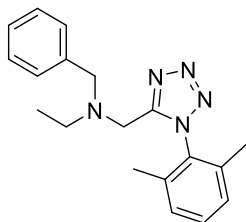
247.1 mg, 68%, orange solid. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.44-7.41 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 7.38-7.32 (m, 3H), 7.27-7.22 (t, $J = 9.9$ Hz, 3H), 3.63 (s, 2H), 2.64-2.62 (d, $J = 8.4$ Hz, 4H), 1.98-1.89 (q, $J = 10.5$ Hz, 8H), 1.69-1.67 (d, $J = 8.4$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 153.5, 148.1, 135.8, 132.3, 130.9, 128.8, 128.5, 127.3, 124.5, 70.7, 50.5, 49.9, 38.3, 17.6. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 364.21319, found 364.21314.

***N*-((1-(2,6-dimethylphenyl)-1*H*-tetrazol-5-yl)methyl)-*N*-isopropylcyclohexanamine (15c)**



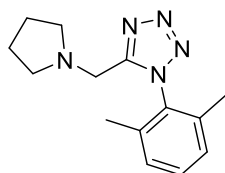
186.4 mg, 58%, yellow solid. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.42-7.37 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.26-7.23 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.80 (s, 2H), 3.06-2.97 (m, 1H), 2.51-2.43 (t, $J = 11.4$ Hz, 1H), 2.02 (s, 6H), 1.72-1.68 (d, $J = 12.6$ Hz, 2H), 1.57-1.53 (d, $J = 12.6$ Hz, 3H), 1.21-1.12 (t, $J = 12.6$ Hz, 2H), 1.05-0.97 (t, $J = 12$ Hz, 3H), 0.85-0.83 (d, $J = 6.6$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 155.3, 136.0, 132.6, 130.7, 128.7, 57.2, 48.1, 38.0, 31.0, 26.4, 26.2, 20.3, 17.7. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{N}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 328.24957, found 328.24944.

***N*-benzyl-*N*-((1-(2,6-dimethylphenyl)-1*H*-tetrazol-5-yl)methyl)ethanamine (15d)**



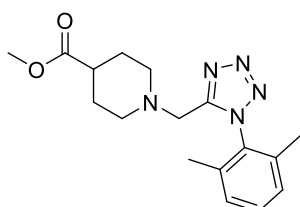
240.9 mg, 75%, orange oil. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.39-7.34 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.18-7.15 (m, 5H), 6.99-6.96 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H), 3.61 (s, 2H), 3.60 (s, 2H), 2.54-2.46 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.86 (s, 6H), 0.91-0.86 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 164.7, 153.8, 137.8, 135.7, 132.3, 130.8, 128.7, 128.3, 127.1, 58.0, 47.5, 44.9, 17.4, 11.4. HRMS *m/z* calcd for C₁₉H₂₃N₅ [M+H]⁺ 322.20262, found 322.20260.

1-(2,6-dimethylphenyl)-5-(pyrrolidin-1-ylmethyl)-1*H*-tetrazole (15e)



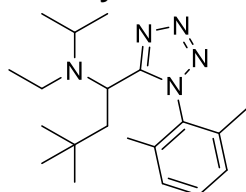
141.5 mg, 55%, yellow oil. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.38-7.33 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H), 7.21-7.18 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 3.66 (s, 2H), 2.53-2.48 (t, *J* = 9.3 Hz, 4H), 1.92 (s, 6H), 1.74-1.68 (m, 4H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 154.1, 136.0, 132.2, 130.9, 128.8, 54.3, 47.4, 23.8, 17.4. HRMS *m/z* calcd for C₁₄H₁₉N₅ [M+H]⁺ 258.17132, found 258.17133.

methyl 1-((1-(2,6-dimethylphenyl)-1*H*-tetrazol-5-yl)methyl)piperidine-4-carboxylate (15f)



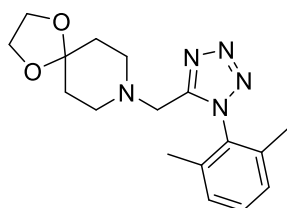
220.7 mg, 67%, yellow solid. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.39-7.34 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.22-7.19 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 3.45 (s, 3H), 3.53 (s, 2H), 2.70-2.66 (d, *J* = 11.4 Hz, 2H), 2.48-2.11 (t, *J* = 11.7 Hz, 2H), 1.94 (s, 6H), 1.81-1.76 (t, *J* = 11.4 Hz, 2H), 1.57-1.50 (t, *J* = 11.4 Hz, 2H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 175.3, 153.3, 135.9, 132.3, 130.9, 128.8, 53.2, 51.8, 50.3, 40.5, 28.2, 17.6. HRMS *m/z* calcd for C₁₇H₂₃N₅O₂ [M+H]⁺ 330.19245, found 330.19240.

1-(1-(2,6-dimethylphenyl)-1*H*-tetrazol-5-yl)-*N*-ethyl-*N*-isopropyl-3,3-dimethylbutan-1-amine (15g)



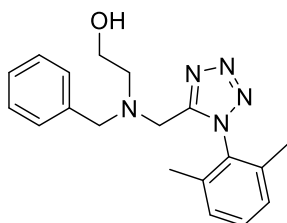
151.1 mg, 44%, light yellow solid. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.36-7.31 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.20-7.16 (d, $J = 6.3$ Hz, 2H), 3.97-3.93 (dd, $J_1 = 9.6$ Hz, $J_2 = 2.7$ Hz, 1H), 3.01-2.99 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H), 2.57-2.43 (m, 3H), 2.03-2.00 (d, $J = 11.1$ Hz, 6H), 1.81-1.75 (dd, $J_1 = 14.1$ Hz, $J_2 = 3$ Hz, 1H), 0.84 (s, 9H), 0.81-0.79 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H), 0.70-0.65 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H), 0.60-0.85 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 157.9, 137.8, 134.9, 132.7, 130.7, 129.1, 128.6, 48.7, 41.6, 38.71, 30.3, 21.2, 19.9, 18.4, 18.3, 14.4. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{N}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 344.28087, found 344.28089.

8-((1-(2,6-dimethylphenyl)-1H-tetrazol-5-yl)methyl)-1,4-dioxa-8-azaspiro[4.5]decane (15h)



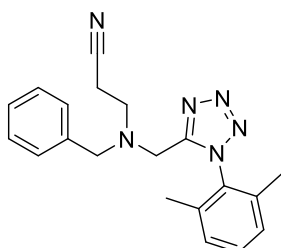
161.4 mg, 49%, yellow solid. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.38-7.33 (t, $J = 15$ Hz, 1H), 7.21-7.19 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 3.90 (s, 4H), 3.57 (s, 2H), 2.52-2.48 (t, $J = 5.7$ Hz, 4H), 1.94 (s, 6H), 1.59-1.56 (t, $J = 5.7$ Hz, 4H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 153.5, 135.8, 132.3, 130.9, 128.8, 106.6, 77.4, 76.9, 64.4, 51.8, 49.9, 34.7, 17.6. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 330.19245, found 330.19235.

2-(benzyl((1-(2,6-dimethylphenyl)-1H-tetrazol-5-yl)methyl)amino)ethanol (15i)



151.8 mg, 45%, light yellow oil. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.40-7.35 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.26-7.18 (q, $J = 9.9$ Hz, 7H), 3.79 (s, 2H), 3.73 (s, 2H), 3.54-3.49 (q, $J = 4.5$ Hz, 2H), 2.80-2.76 (t, $J = 5.1$ Hz, 2H), 2.55 (s, 1H), 1.85 (s, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 153.8, 137.2, 135.6, 131.8, 131.1, 129.1, 129.0, 128.6, 127.6, 59.5, 58.4, 56.1, 45.7, 17.4. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 338.19754, found 338.19748.

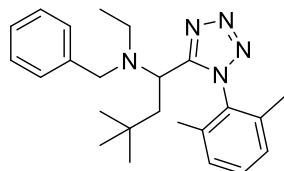
3-(benzyl((1-(2,6-dimethylphenyl)-1H-tetrazol-5-yl)methyl)amino)propanenitrile (15j)



294.4 mg, 85%, orange oil. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.54-7.49 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.38-7.32 (m, 5H), 7.29-7.27 (t, $J = 3.6$ Hz, 2H), 3.91 (s, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.14-

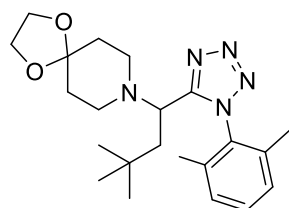
3.09 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.48-2.43 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.02 (s, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 152.8, 136.6, 135.6, 131.69, 131.1, 129.1, 128.9, 128.7, 127.8, 118.4, 58.2, 49.3, 45.0, 17.5, 16.4. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 347.19787, found 347.19776.

***N*-benzyl-1-(1-(2,6-dimethylphenyl)-1*H*-tetrazol-5-yl)-*N*-ethyl-3,3-dimethylbutan-1-amine (15k)**



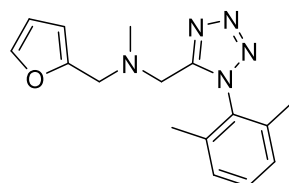
199.7 mg, 51%, orange oil. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.40-7.37 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.23-7.21 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.17-7.15 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.13-7.09 (m, 3H), 6.86-6.84 (d, $J = 6$ Hz, 2H), 3.93-3.91 (dd, $J_1 = 8.5$ Hz, $J_2 = 4$ Hz, 1H), 3.77-3.70 (d, $J = 14$ Hz, 1H), 3.54-3.51 (d, $J = 14$ Hz, 1H), 2.52-2.48 (q, $J = 7$ Hz, 2H), 2.29-2.25 (q, $J = 8.5$ Hz, 1H), 1.98 (s, 3H), 1.394 (s, 3H), 1.93-1.89 (q, $J = 4$ Hz, 1H), 0.80 (s, 9H), 0.75-0.72 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 157.0, 138.7, 137.4, 134.9, 132.6, 130.8, 129.2, 128.8, 128.8, 128.2, 126.8, 77.4, 76.9, 54.3, 50.3, 43.5, 38.6, 30.3, 30.1, 18.5, 18.2, 13.2. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{N}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 392.28087, found 392.28037.

8-(1-(1-(2,6-dimethylphenyl)-1*H*-tetrazol-5-yl)-3,3-dimethylbutyl)-1,4-dioxaspiro[4.5]decane (15l)



255.7 mg, 64%, beige solid. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.37-7.32 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.20-7.18 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.88 (s, 4H), 3.65-3.61 (dd, $J_1 = 9$ Hz, $J_2 = 3.3$ Hz, 1H), 2.57-2.49 (m, 2H), 2.36-2.29 (m, 2H), 2.25-2.17 (q, $J = 7.5$ Hz, 1H), 2.01-2.00 (d, $J = 3.6$ Hz, 6H), 1.83-1.77 (dd, $J_1 = 14.1$ Hz, $J_2 = 3.3$ Hz, 1H), 1.49-1.45 (t, $J = 5.4$ Hz, 4H), 0.83 (s, 9H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 156.5, 137.5, 134.4, 132.4, 130.7, 128.9, 128.6, 106.9, 64.3, 54.9, 38.0, 34.8, 30.0, 29.9, 18.4, 18.0. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 400.27070, found 400.27036.

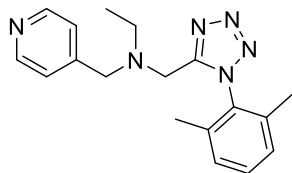
1-(1-(2,6-dimethylphenyl)-1*H*-tetrazol-5-yl)-*N*-(furan-2-ylmethyl)-*N*-methylmethanamine (15m)



127.8 mg, 43%, orange oil. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.36-7.33 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.231-7.226 (dd, $J_1 = 2$ Hz, $J_2 = 1$ Hz, 1H), 7.19-7.17 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 6.22-6.21 (dd, $J_1 = 3$ Hz, $J_2 = 2$ Hz, 1H), 5.991-5.986 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 3.58 (s, 2H), 3.55 (s,

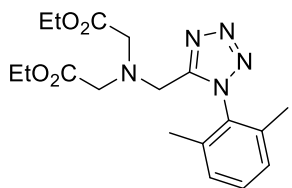
2H), 2.25 (s, 3H), 1.90 (s, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 153.6, 151.2, 142.3, 135.9, 132.1, 130.8, 128.8, 110.1, 109.0, 53.5, 47.8, 42.2, 17.4. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 298.16624, found 298.16629.

***N*-(((1-(2,6-dimethylphenyl)-1*H*-tetrazol-5-yl)methyl)-*N*-(pyridin-4-ylmethyl)ethanamine (15n)**



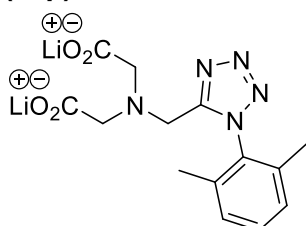
125.7 mg, 39%, dark yellow oil. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.39-8.37 (d, $J = 6$ Hz, 2H), 7.44-7.39 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.22-7.20 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 6.92-6.90 (d, $J = 6$ Hz, 2H), 3.64-3.62 (d, $J = 6.6$ Hz, 4H), 2.56-2.49 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.89 (s, 6H), 0.93-0.88 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 153.3, 149.9, 147.4, 135.8, 132.2, 131.1, 129.0, 123.4, 57.2, 47.9, 45.1, 17.5, 11.5. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 323.19787, found 323.19795.

diethyl 2,2'-(((1-(2,6-dimethylphenyl)-1*H*-tetrazol-5-yl)methyl)azanediyl)diacetate (15o)



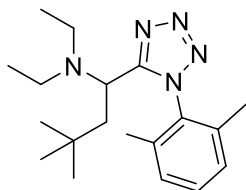
120.1 mg, 32%, yellow oil. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.37-7.34 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.21-7.20 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 4.10-4.06 (q, $J = 7$ Hz, 4H), 4.05 (s, 2H), 3.51 (s, 4H), 1.94 (s, 6H), 1.22-1.19 (t, $J = 7$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 170.3, 153.4, 136.1, 131.9, 131.0, 128.9, 60.8, 54.3, 46.2, 17.4, 14.2. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 376.19793, found 376.19746.

lithium 2,2'-(((1-(2,6-dimethylphenyl)-1*H*-tetrazol-5-yl)methyl)azanediyl)diacetate (15p)



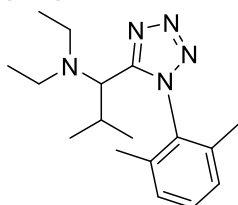
84.45 mg, 51%, white solid. ^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 7.43-7.40 (t, $J = 8$ Hz, 1H), 7.27-7.25 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 3.99 (s, 2H), 3.22 (s, 4H), 1.84 (s, 5H), 1.82 (s, 1H). ^{13}C NMR (126 MHz, D_2O) δ 178.5, 155.1, 135.8, 131.6, 130.4, 129.0, 57.6, 45.7, 16.3. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{Li}_2\text{N}_5\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 332.15169, found 332.15103.

1-(1-(2,6-dimethylphenyl)-1H-tetrazol-5-yl)-N,N-diethyl-3,3-dimethylbutan-1-amine (15q)



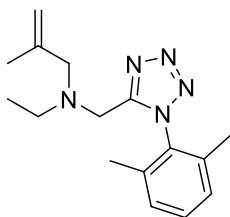
135.1 mg, 41%, colorless solid. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.36-7.31 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.20-7.16 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H), 3.80-3.77 (dd, $J_1 = 9.3$ Hz, $J_2 = 2.4$ Hz, 1H), 2.51-2.38 (m, 2H), 2.35-2.22 (m, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 1.695-1.687 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 0.83 (s, 9H), 0.60-0.56 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 157.2, 137.9, 134.8, 132.5, 130.7, 129.0, 128.5, 49.6, 42.9, 37.9, 30.02, 29.99, 18.3, 18.2, 13.1. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{N}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 330.26522, found 330.26486.

1-(1-(2,6-dimethylphenyl)-1H-tetrazol-5-yl)-N,N-diethyl-2-methylpropan-1-amine (15r)



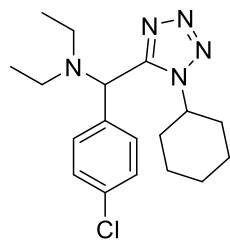
244.1 mg, 81%, red solid. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.37-7.33 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.22-7.20 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.19-7.17 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 3.31-3.28 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 2.84-2.77 (m, 1H), 2.65-2.585 (m, 2H), 2.576-2.51 (m, 2H), 1.99-1.98 (d, $J = 7.5$ Hz, 6H), 1.06-1.05 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 0.84-0.83 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 0.67-0.65 (t, $J = 7.5$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 156.5, 137.6, 134.8, 132.4, 130.8, 129.1, 128.7, 60.8, 44.9, 30.3, 21.7, 21.3, 18.3, 17.9, 14.6. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{N}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 302.23392, found 302.23378.

N-((1-(2,6-dimethylphenyl)-1H-tetrazol-5-yl)methyl)-N-ethyl-2-methylprop-2-en-1-amine (15s)



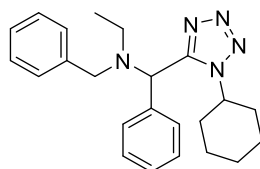
148.4 mg, 52%, yellow oil. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.36-7.33 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.19-7.18 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 4.68-4.67 (m, 2H), 3.59 (s, 2H), 2.95 (s, 2H), 2.46-2.42 (q, $J = 7$ Hz, 2H), 1.93 (s, 6H), 1.34 (s, 3H), 0.84-0.81 (t, $J = 7$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 153.9, 142.8, 135.9, 132.3, 130.9, 128.8, 113.5, 60.9, 47.4, 45.1, 20.3, 17.5, 11.3. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{N}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 286.20262, found 286.20244.

***N*-((4-chlorophenyl)(1-cyclohexyl-1*H*-tetrazol-5-yl)methyl)-*N*-ethylethanamine (15t)**



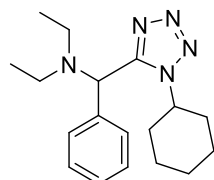
198.3 mg, 57%, yellow solid. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.37-7.36 (d, $J = 9$ Hz, 2H), 7.33-7.31 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 5.30-5.29 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 4.54-4.48 (m, 1H), 2.64-2.50 (m, 4H), 2.03-1.89 (m, 4H), 1.82-1.72 (m, 3H), 1.38-1.24 (m, 3H), 1.03-1.00 (t, $J = 7$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 153.3, 134.3, 134.3, 130.4, 128.8, 59.44, 58.0, 43.7, 33.2, 32.9, 25.5, 25.4, 24.9, 12.5. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{ClN}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 348.19495, found 348.19509.

***N*-benzyl-*N*-((1-cyclohexyl-1*H*-tetrazol-5-yl)(phenyl)methyl)ethanamine (15u)**



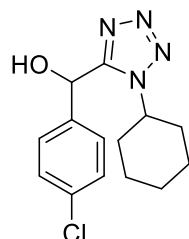
322.9 mg, 86%, orange solid. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.27 (s, 8H), 7.18 (s, 2H), 5.19 (s, 1H), 3.94-3.85 (m, 1H), 3.70-3.55 (q, $J = 14.1$ Hz, 2H), 2.79-2.60 (m, 2H), 1.95-1.43 (m, 7H), 1.24-1.13 (m, 3H), 0.99-0.95 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 153.1, 139.4, 136.2, 129.1, 128.9, 128.7, 128.6, 128.4, 127.4, 58.2, 57.7, 54.3, 44.2, 33.3, 32.7, 25.31, 25.3, 24.8, 13.3. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{N}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 376.24957, found 376.24949.

***N*-((1-cyclohexyl-1*H*-tetrazol-5-yl)(phenyl)methyl)-*N*-ethylethanamine (15v)**



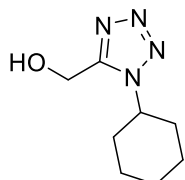
159.8 mg, 51%, white solid. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.41-7.25 (m, 5H), 5.34 (s, 1H), 4.59-4.49 (m, 1H), 2.67-2.52 (m, 4H), 2.01-1.60 (m, 8H), 1.30-1.27 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 1.03-0.98 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 153.9, 136.2, 128.9, 128.6, 128.3, 60.4, 58.0, 43.6, 33.0, 32.9, 25.6, 25.5, 25.0, 12.2. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{N}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 314.23392, found 314.23390.

(4-chlorophenyl)(1-cyclohexyl-1*H*-tetrazol-5-yl)methanol (16a)



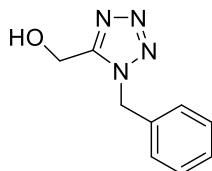
175.6 mg, 60%, white solid. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.38-7.36 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.32-7.31 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.30 (s, 1H), 4.25-4.20 (m, 1H), 1.92-1.77 (m, 6H), 1.69-1.67 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 1.49-1.47 (m, 1H), 1.30-1.22 (m, 2H), 1.16-1.12 (m, 1H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 154.9, 136.8, 134.7, 129.2, 127.4, 66.0, 58.8, 32.7, 32.5, 25.4, 25.4, 24.9. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 293.11637, found 293.11633.

(1-cyclohexyl-1H-tetrazol-5-yl)methanol (16b)



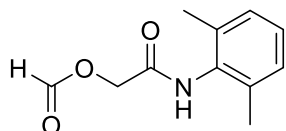
125.7 mg, 69%, orange solid. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 4.97 (s, 2H), 4.49-4.39 (m, 1H), 2.07-1.94 (m, 6H), 1.49-1.34 (m, 4H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 89.7, 58.63, 53.7, 33.0, 25.4, 25.0. HRMS m/z calcd for $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 183.12404, found 183.12414.

(1-benzyl-1H-tetrazol-5-yl)methanol (16c)



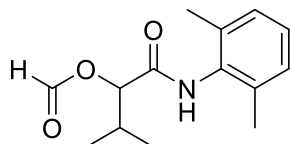
70.4 mg, 37%, brown solid. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.37-7.36 (d, $J = 2.1$ Hz, 3H), 7.31-7.30 (d, $J = 3.6$ Hz, 2H), 5.66 (s, 2H), 4.86 (s, 2H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 133.4, 129.4, 129.2, 128.1, 89.8, 54.1, 51.5. HRMS m/z calcd for $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 191.09274, found 191.09277.

2-((2,6-dimethylphenyl)amino)-2-oxoethyl formate (18a)



82.9 mg, 40%, yellow solid. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.23 (s, 1H), 7.14-7.09 (m, 3H), 4.855-4.853 (d, $J = 1$ Hz, 2H), 4.29 (s, 1H), 2.23 (s, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 164.9, 159.3, 135.6, 132.5, 128.5, 128.0, 62.6, 18.5. HRMS m/z calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{NO}_3$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 230.07877, found 230.0789.

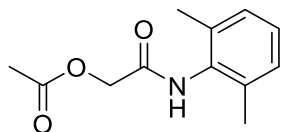
1-((2,6-dimethylphenyl)amino)-3-methyl-1-oxobutan-2-yl formate (18b)



48.6 mg, 39%, white solid. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.301-8.298 (t, $J = 0.5$ Hz, 1H), 7.11-7.07 (t, $J = 9.5$ Hz, 3H), 5.39-5.38 (q, $J = 1$ Hz, 1H), 2.50-2.47 (m, 1H), 2.22 (s, 6H), 1.12-1.08 (q, $J = 6.5$ Hz, 7H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 167.1,

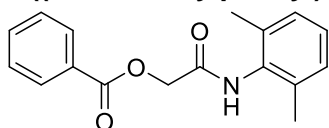
159.9, 135.5, 132.9, 128.5, 127.8, 78.2, 30.7, 19.0, 18.7, 17.2. HRMS m/z calcd for $C_{14}H_{19}NO_3$ $[M+H]^+$ 250.14377, found 250.1438.

2-((2,6-dimethylphenyl)amino)-2-oxoethyl acetate (18c)



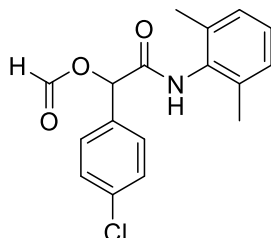
38.7 mg, 35%, yellow solid. 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.34 (s, 1H), 7.12-7.09 (t, $J = 10$ Hz, 3H), 4.76 (s, 2H), 2.233-2.230 (d, $J = 1.5$ Hz, 9H). ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 169.6, 165.6, 135.6, 132.6, 128.5, 128.0, 63.5, 20.9, 18.5. HRMS m/z calcd for $C_{12}H_{15}NO_3$ $[M+Na]^+$ 244.09442, found 244.0945.

2-((2,6-dimethylphenyl)amino)-2-oxoethyl benzoate (18d)



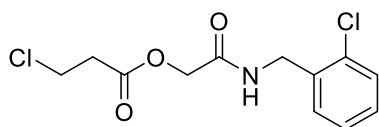
53.8 mg, 38%, white solid. 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.129-8.127 (d, $J = 1$ Hz, 1H), 8.113-8.110 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.66-7.63 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.53-7.50 (t, $J = 8$ Hz, 2H), 7.40 (s, 1H), 7.14-7.09 (m, 3H), 5.03 (s, 2H), 2.25 (s, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 165.8, 165.5, 135.6, 134.1, 132.7, 129.9, 129.0, 128.95, 128.5, 128.0, 63.9, 18.6. HRMS m/z calcd for $C_{14}H_{17}NO_3$ $[M+H]^+$ 284.12812, found 284.12840.

1-(4-chlorophenyl)-2-((2,6-dimethylphenyl)amino)-2-oxoethyl formate (18e)



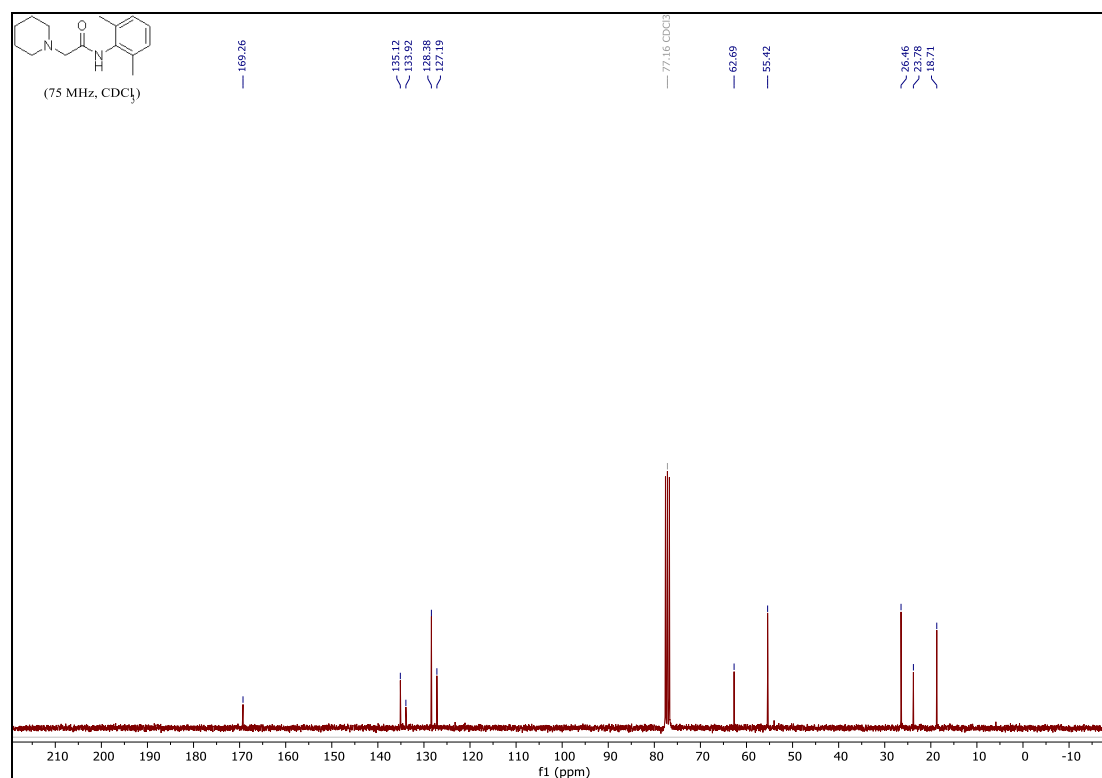
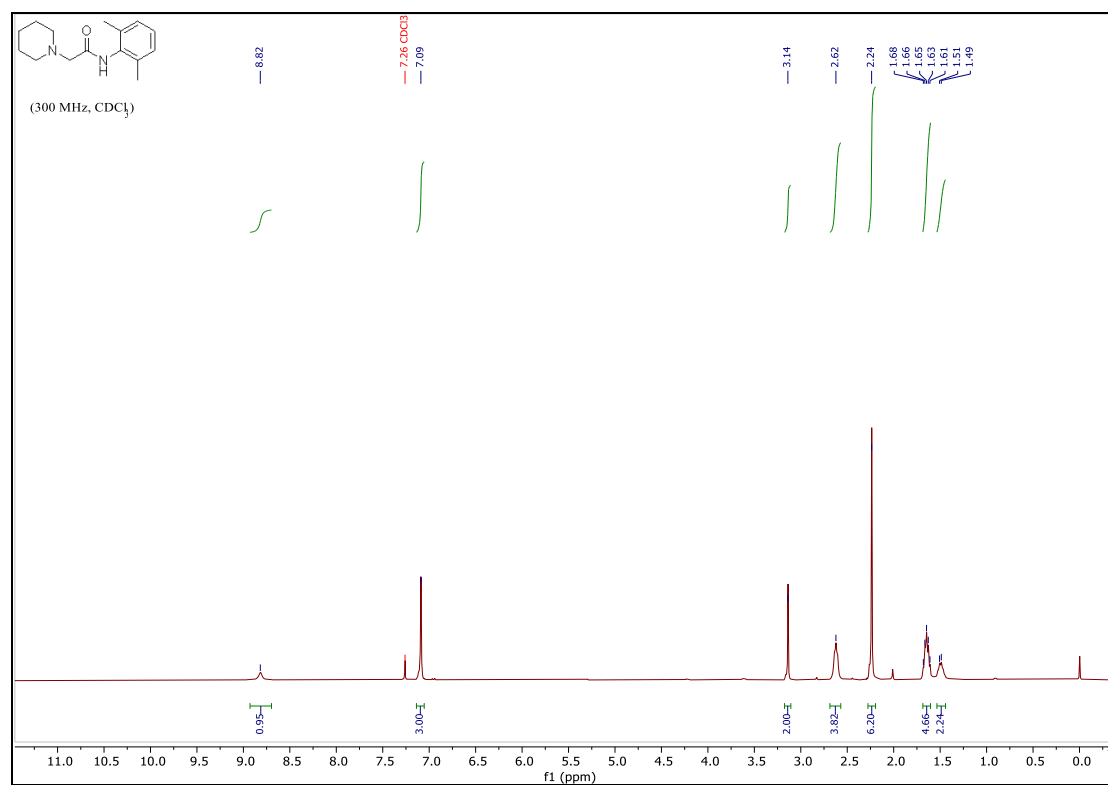
65.1 mg, 41%, white solid. 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.270-8.268 (d, $J = 1$ Hz, 1H), 7.53-7.50 (m, 2H), 7.42-7.39 (m, 2H), 7.36 (s, 1H), 7.19-7.10 (m, 1H), 7.06-7.05 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 6.30 (s, 1H), 2.12 (s, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 165.7, 159.0, 135.6, 135.5, 133.4, 132.4, 129.3, 128.8, 128.5, 128.0, 74.8, 18.4. HRMS m/z calcd for $C_{17}H_{16}ClNO_3$ $[M+Na]^+$ 340.07109, found 340.0712.

2-((2-chlorobenzyl)amino)-2-oxoethyl 3-chloropropanoate (18f)

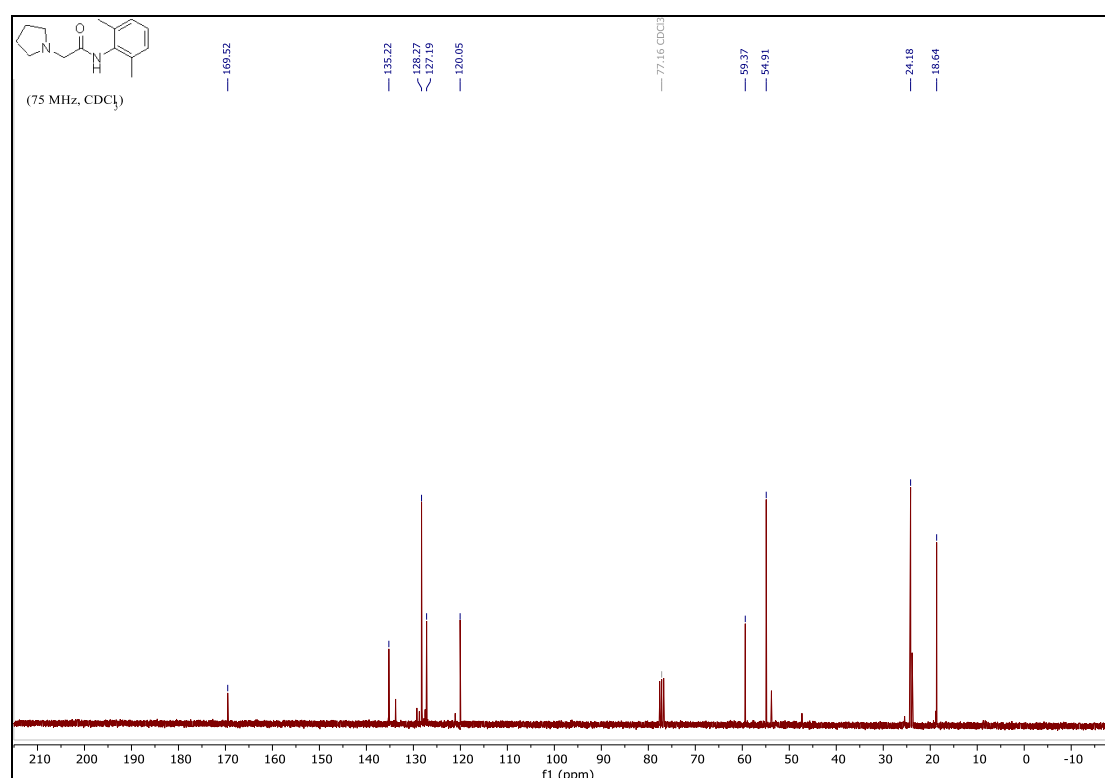
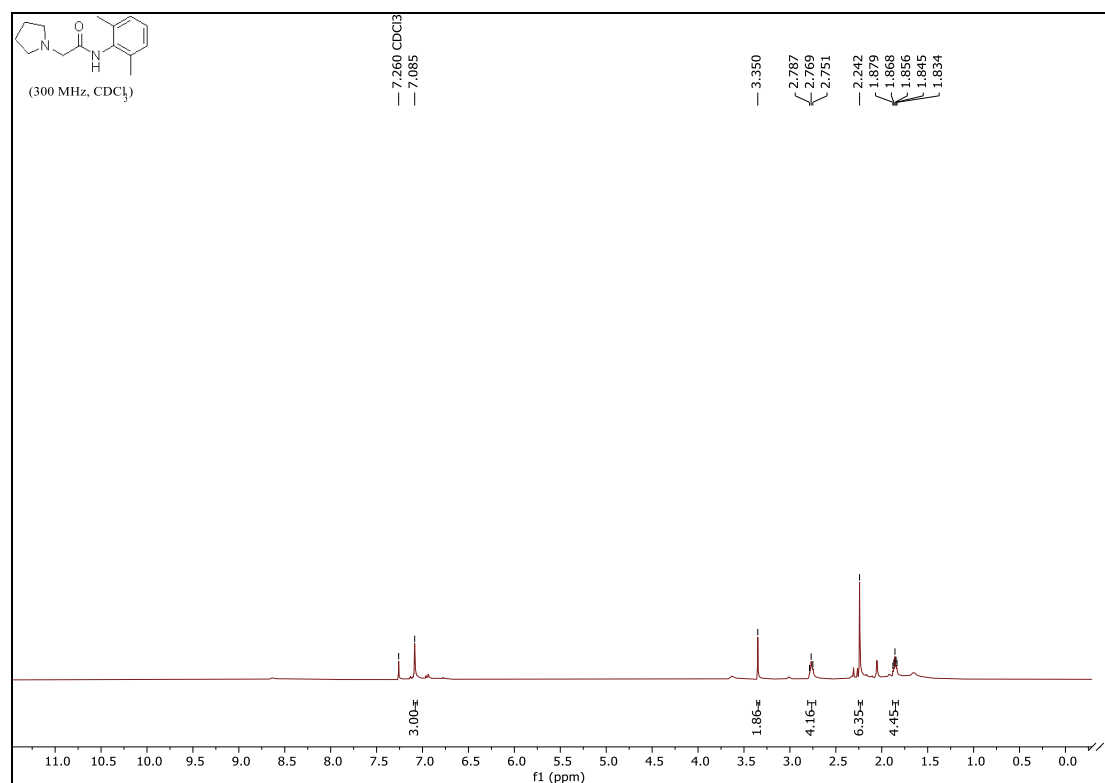


139.2 mg, 48%, yellow solid. 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.39-7.37 (m, 2H), 7.26-7.24 (m, 2H), 6.65 (s, 1H), 4.68 (s, 2H), 4.59-4.58 (d, $J = 6$ Hz, 2H), 3.80-3.78 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 2.92-2.89 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H). ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 169.0, 166.8, 135.0, 133.7, 130.3, 129.7, 129.3, 127.3, 63.2, 41.2, 39.0, 37.4. HRMS m/z calcd for $C_{12}H_{13}Cl_2NO_3$ $[M+Na]^+$ 312.01647, found 312.0169.

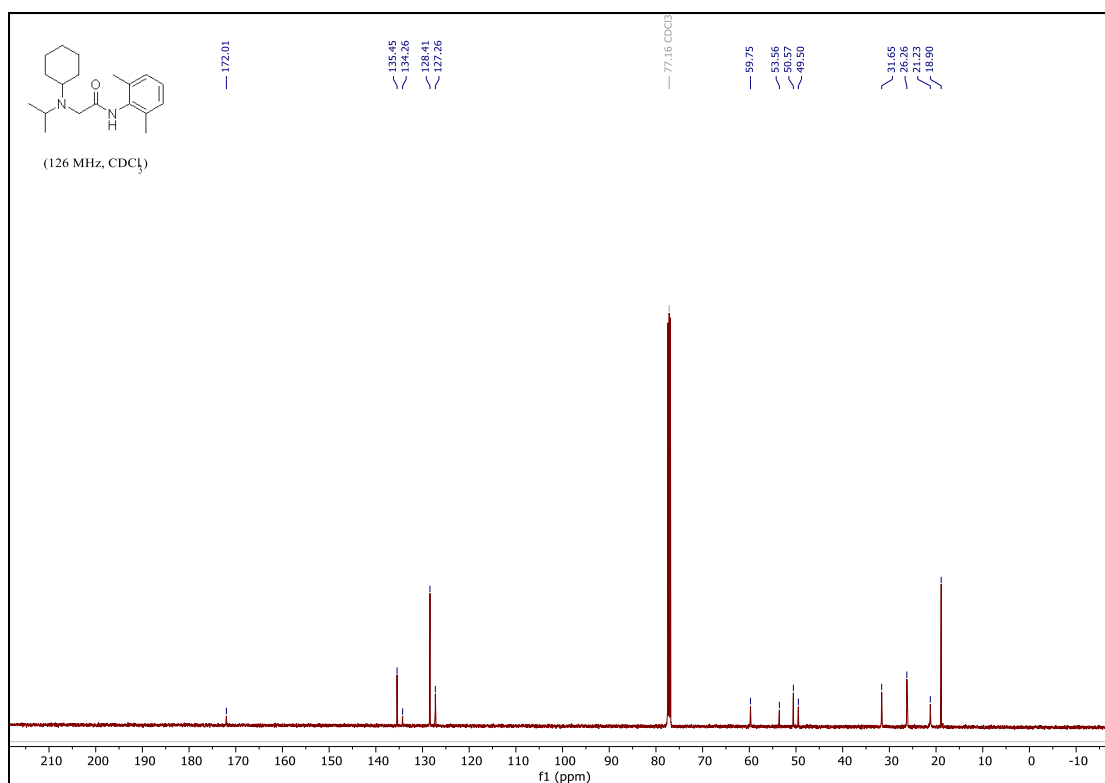
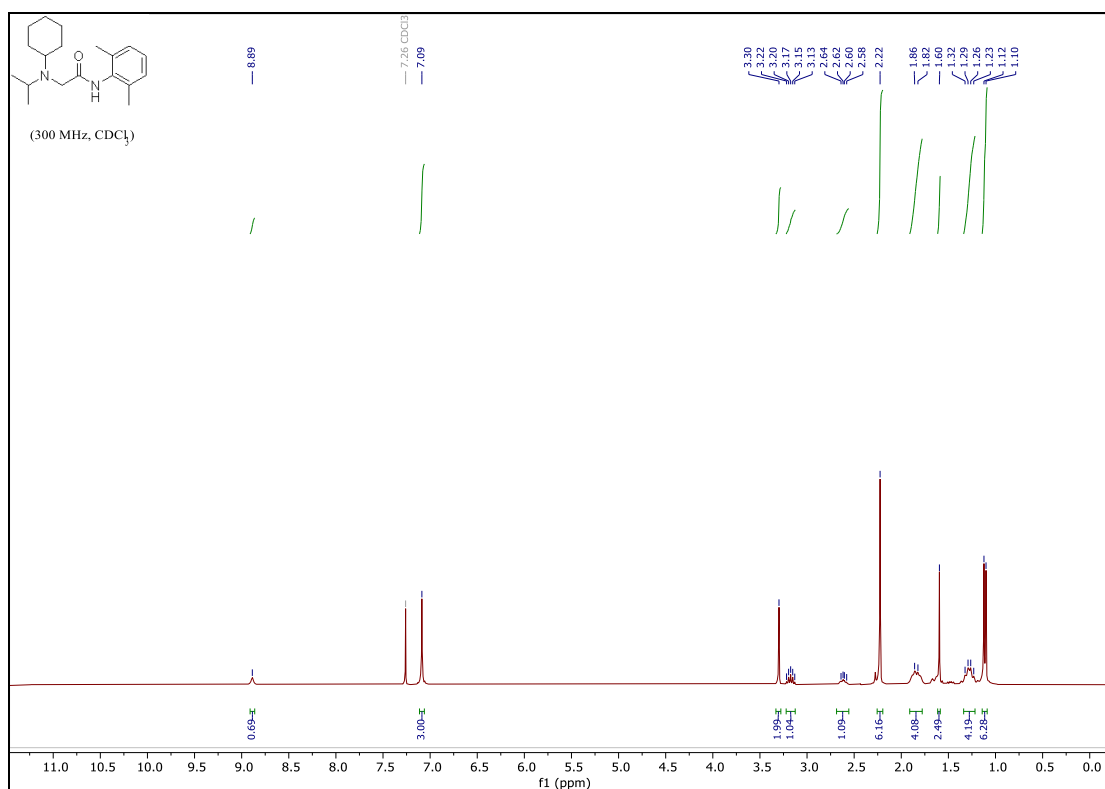
N-(2,6-dimethylphenyl)-2-(piperidin-1-yl)acetamide (4a)



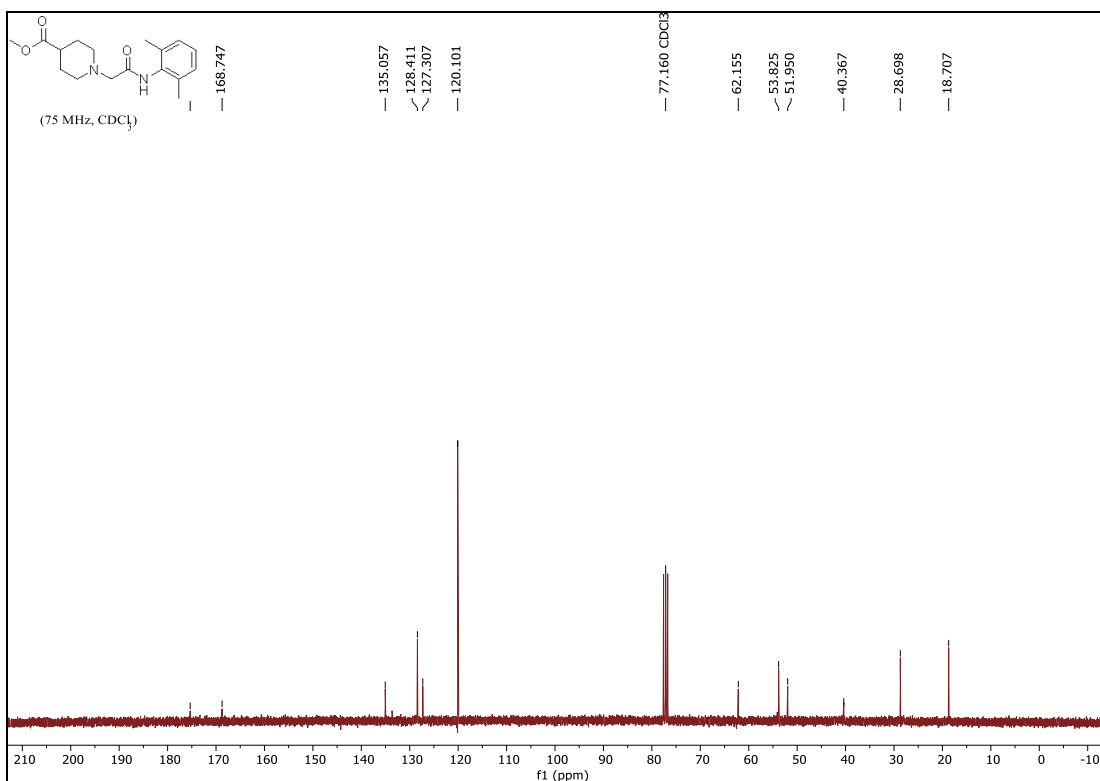
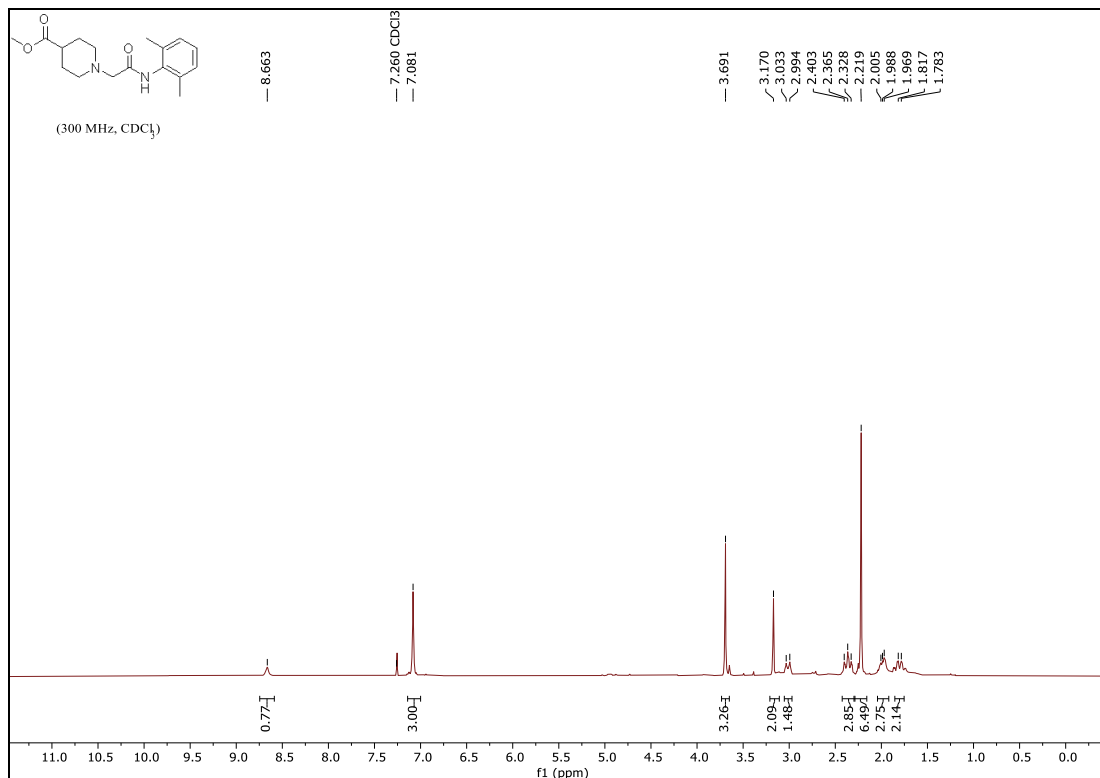
N-(2,6-dimethylphenyl)-2-(pyrrolidin-1-yl)acetamide (4b)



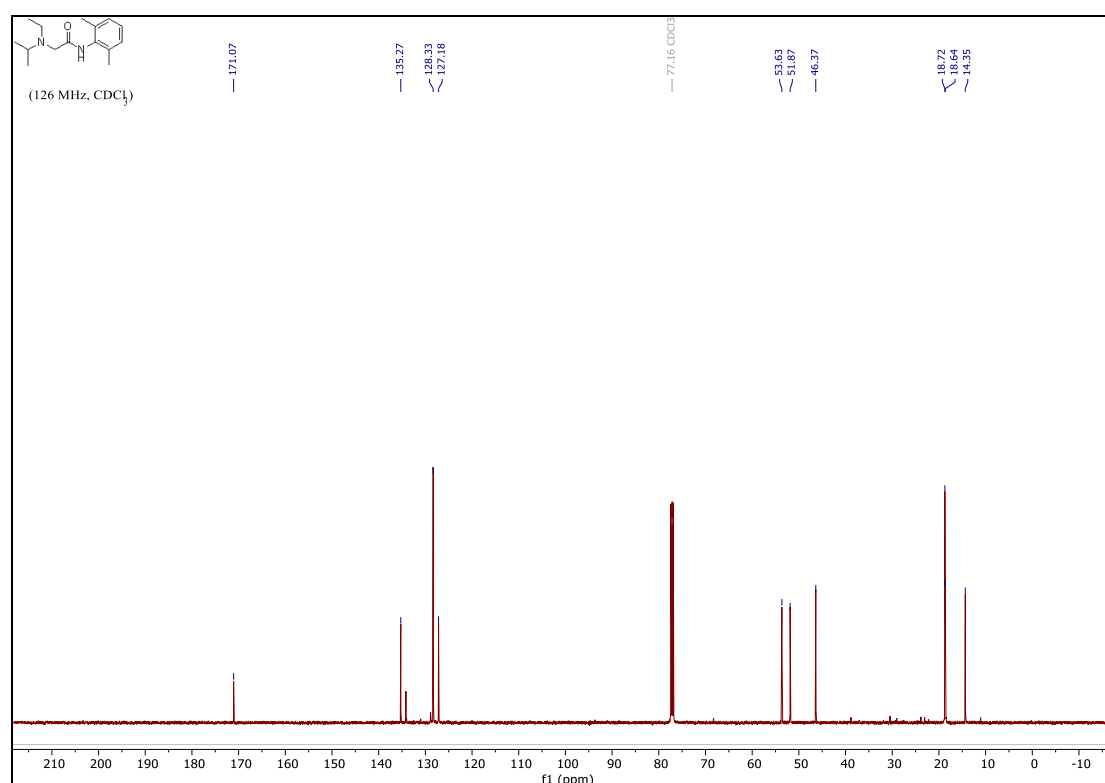
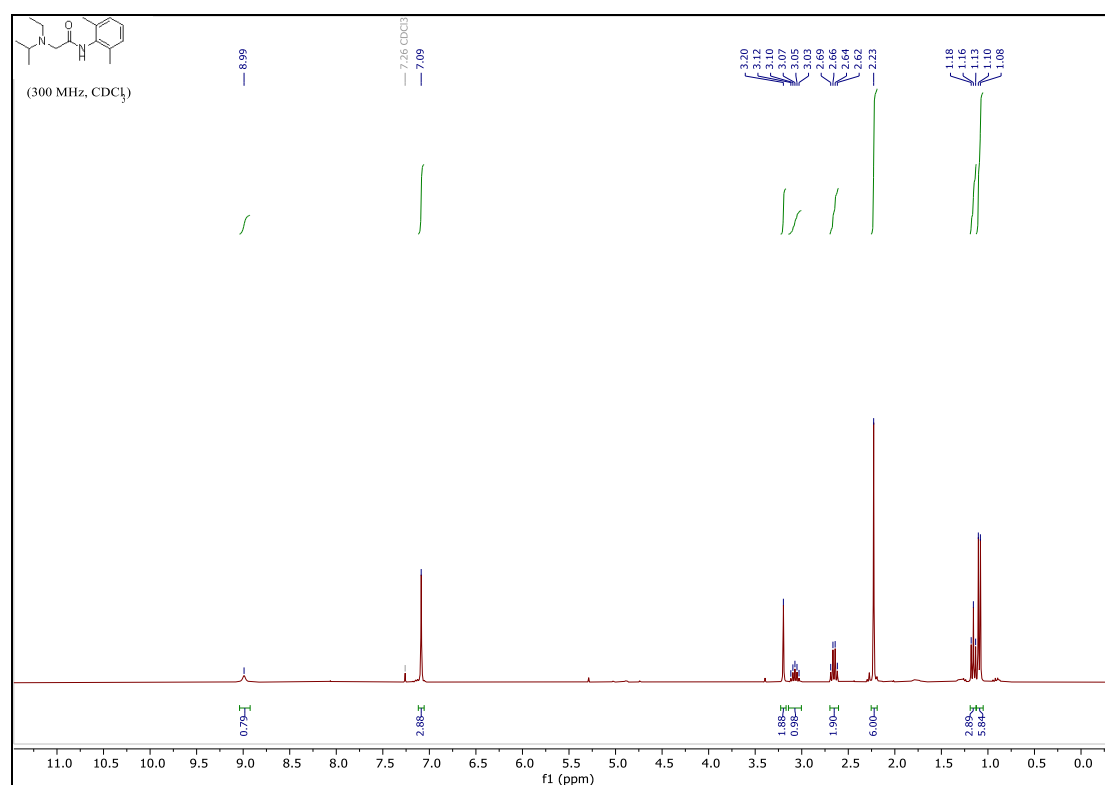
2-(cyclohexyl(isopropyl)amino)-*N*-(2,6-dimethylphenyl)acetamide (4c)



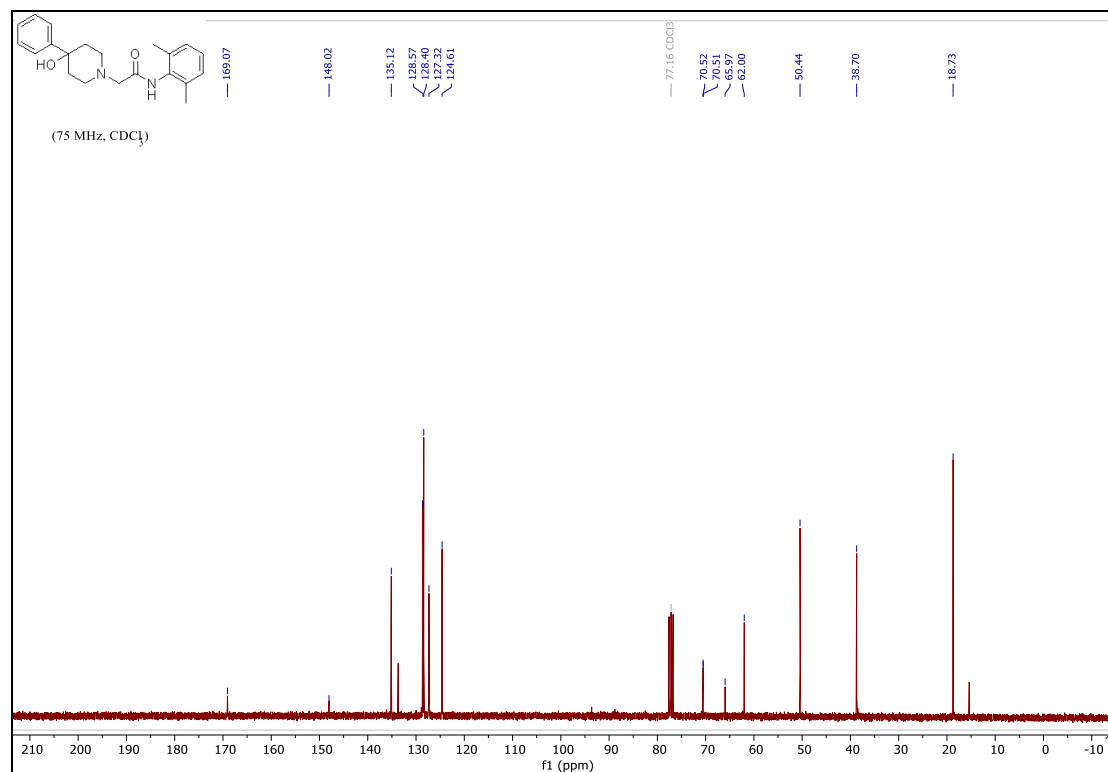
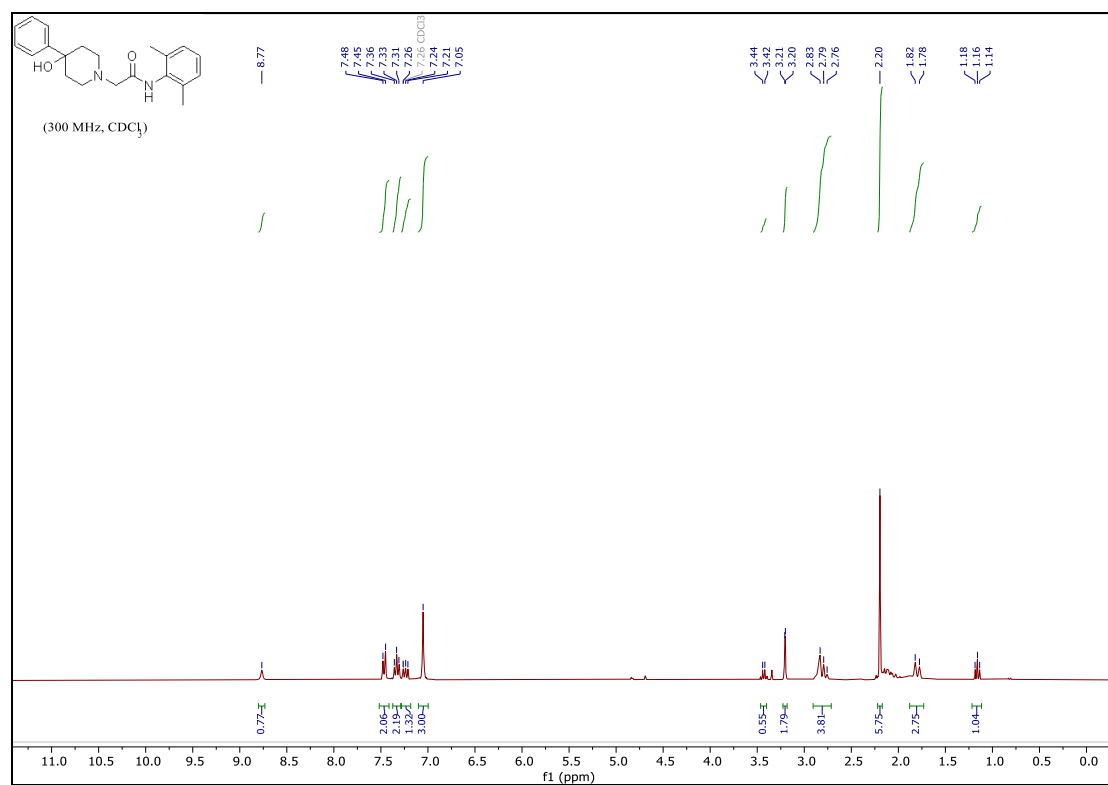
methyl 1-(2-((2,6-dimethylphenyl)amino)-2-oxoethyl)piperidine-4-carboxylate (4d)



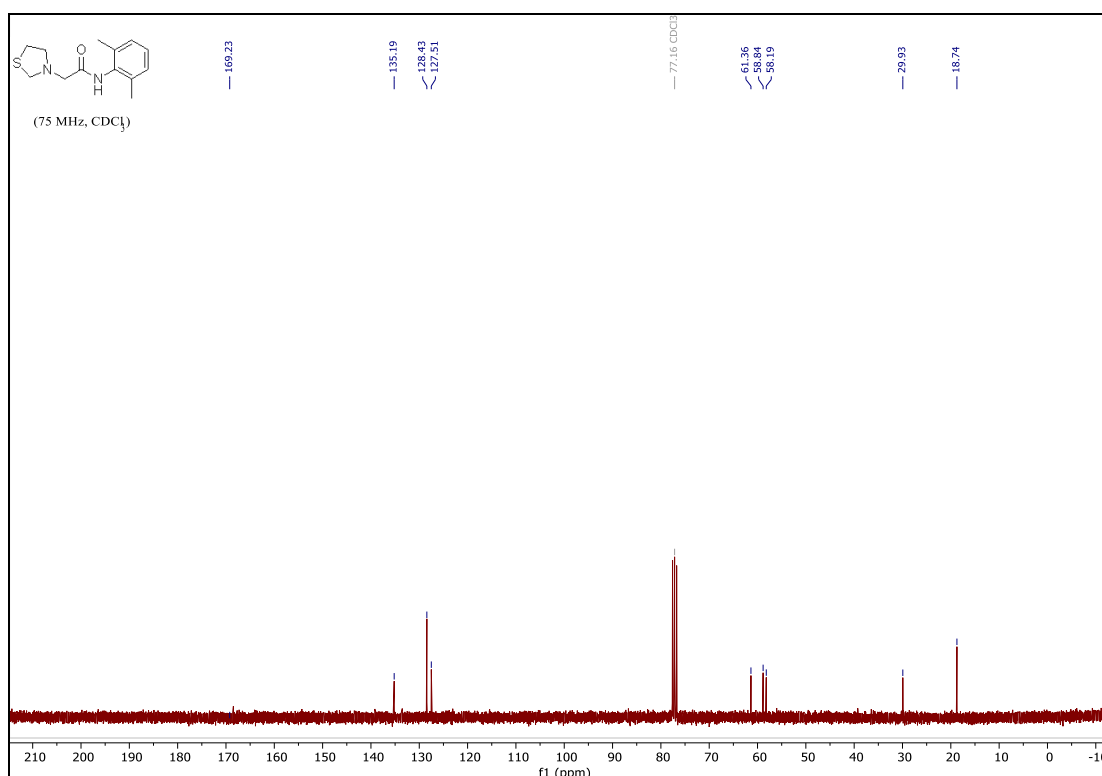
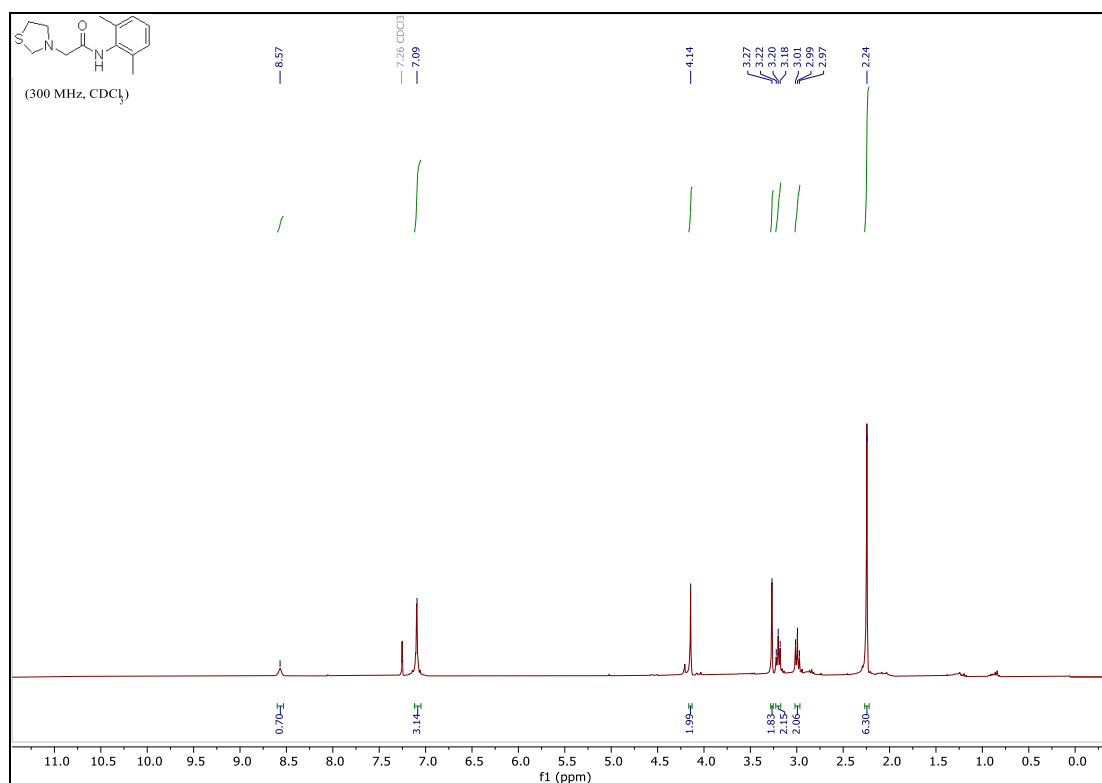
N-(2,6-dimethylphenyl)-2-(ethyl(isopropyl)amino)acetamide (4e)



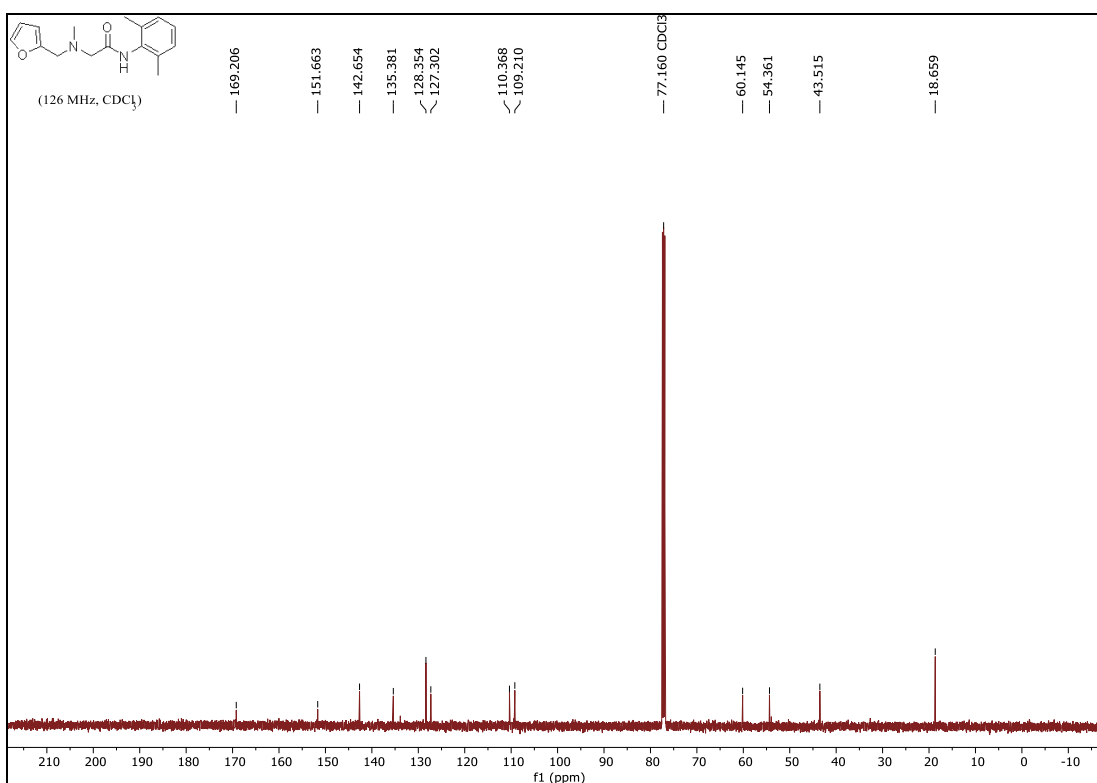
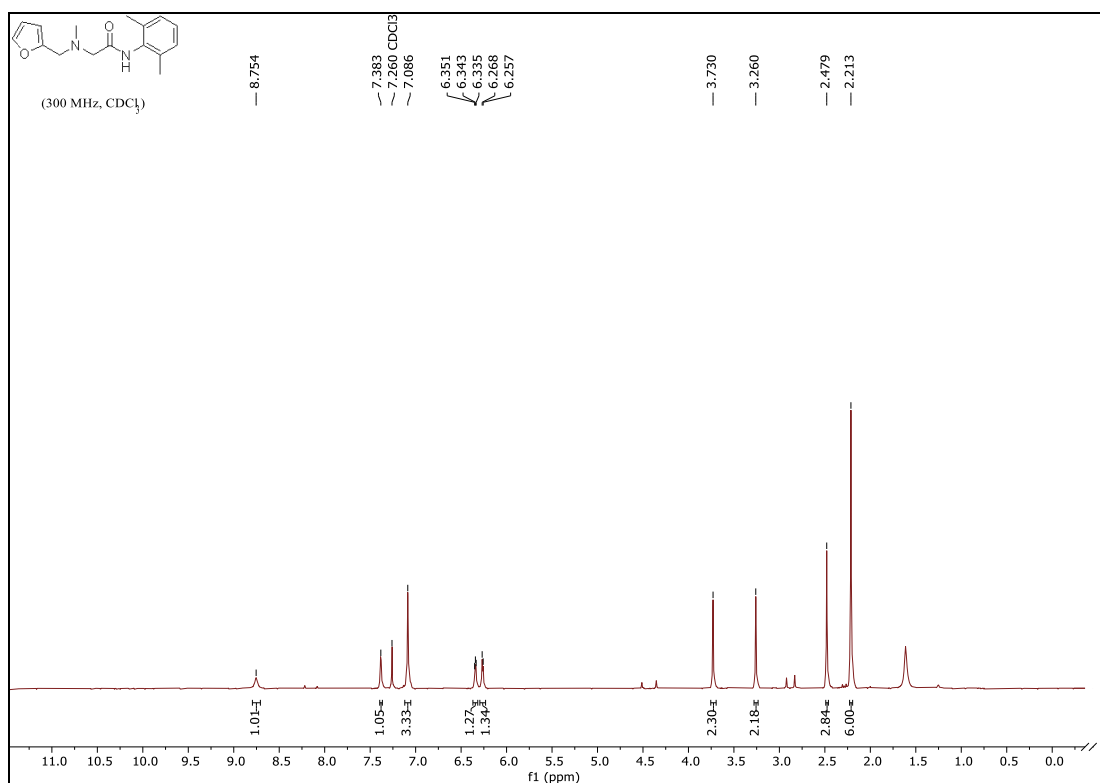
N-(2,6-dimethylphenyl)-2-(4-hydroxy-4-phenylpiperidin-1-yl)acetamide (4f)



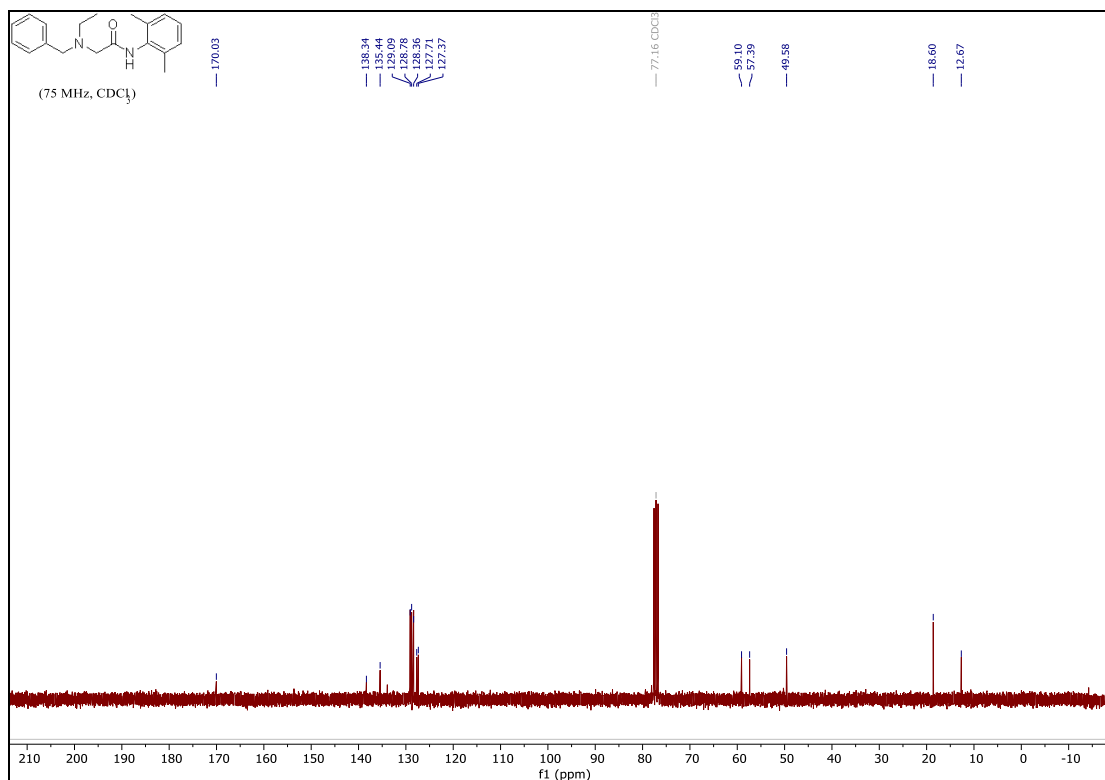
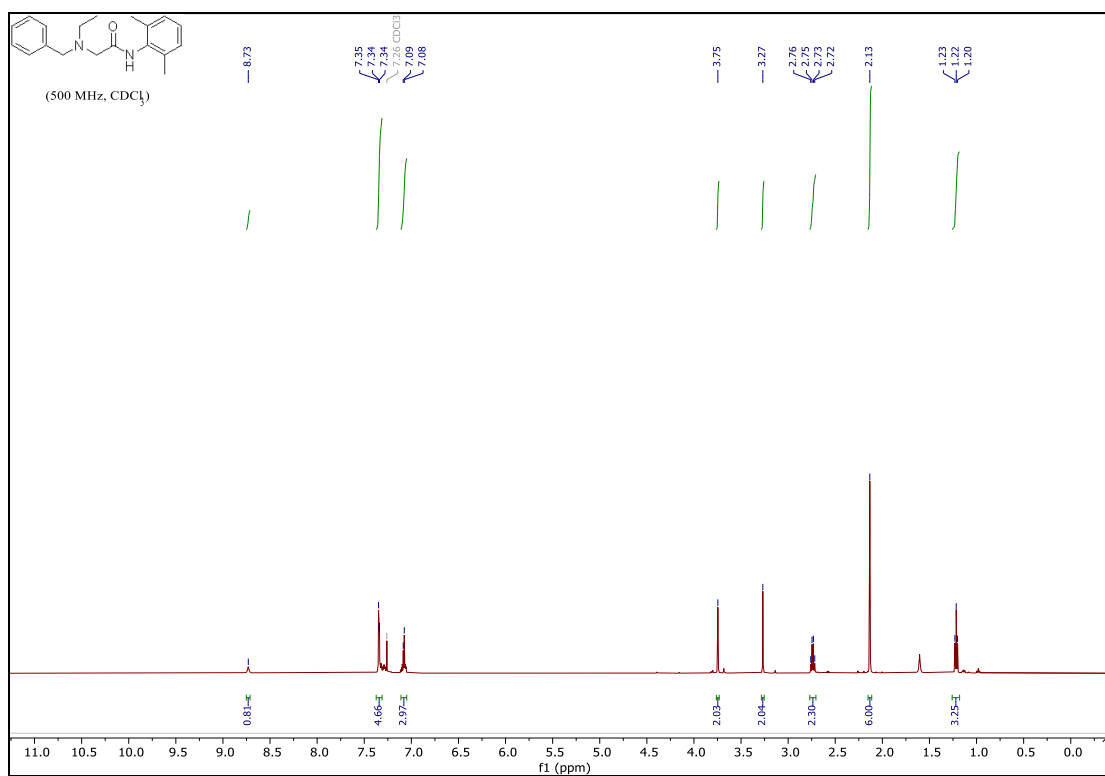
N-(2,6-dimethylphenyl)-2-(thiazolidin-3-yl)acetamide (4g)



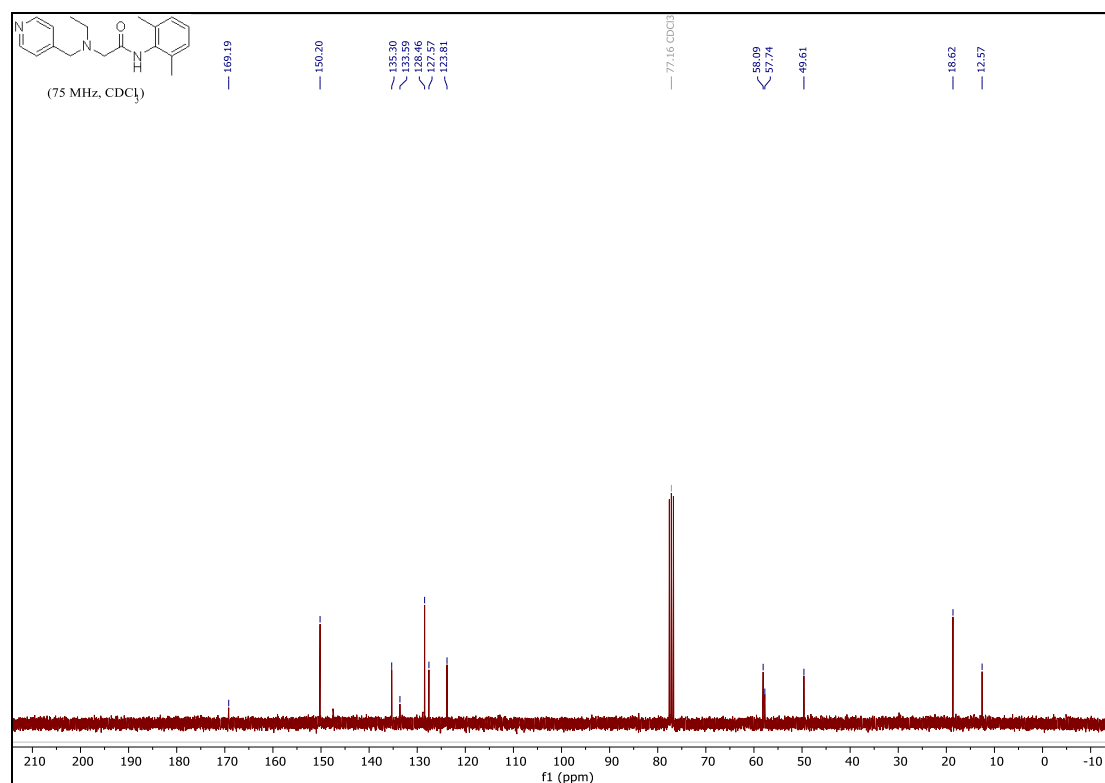
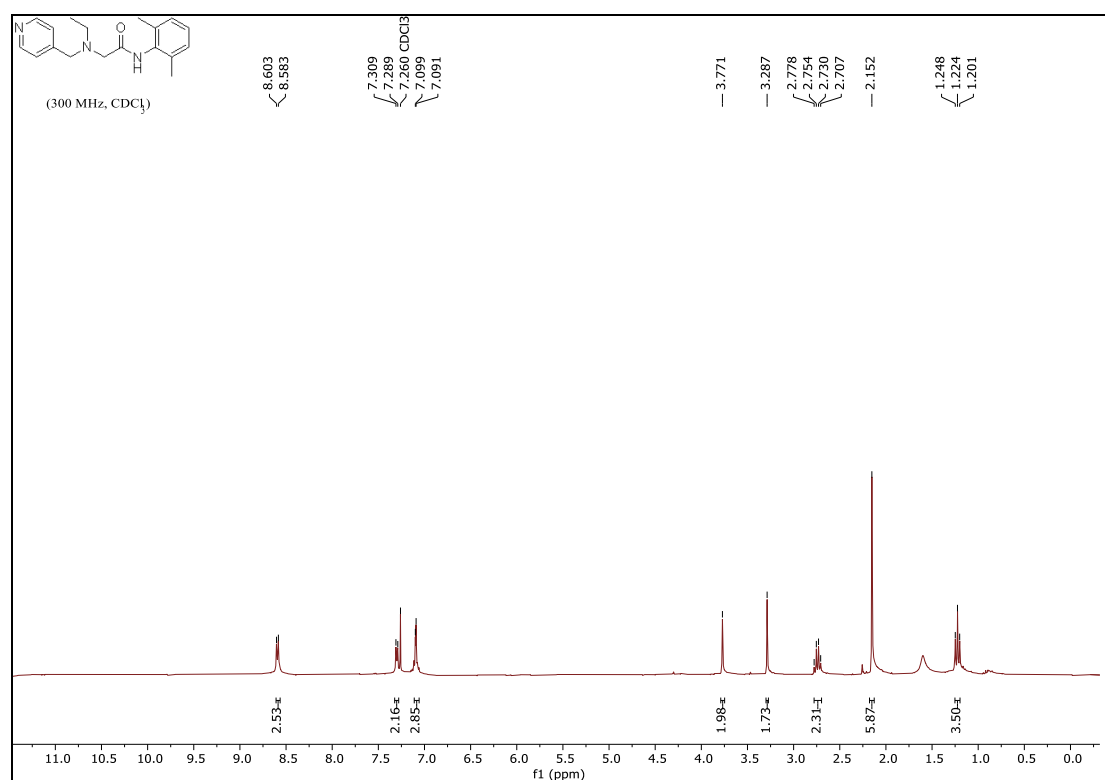
N-(2,6-dimethylphenyl)-2-((furan-2-ylmethyl)(methyl)amino)acetamide (4h)



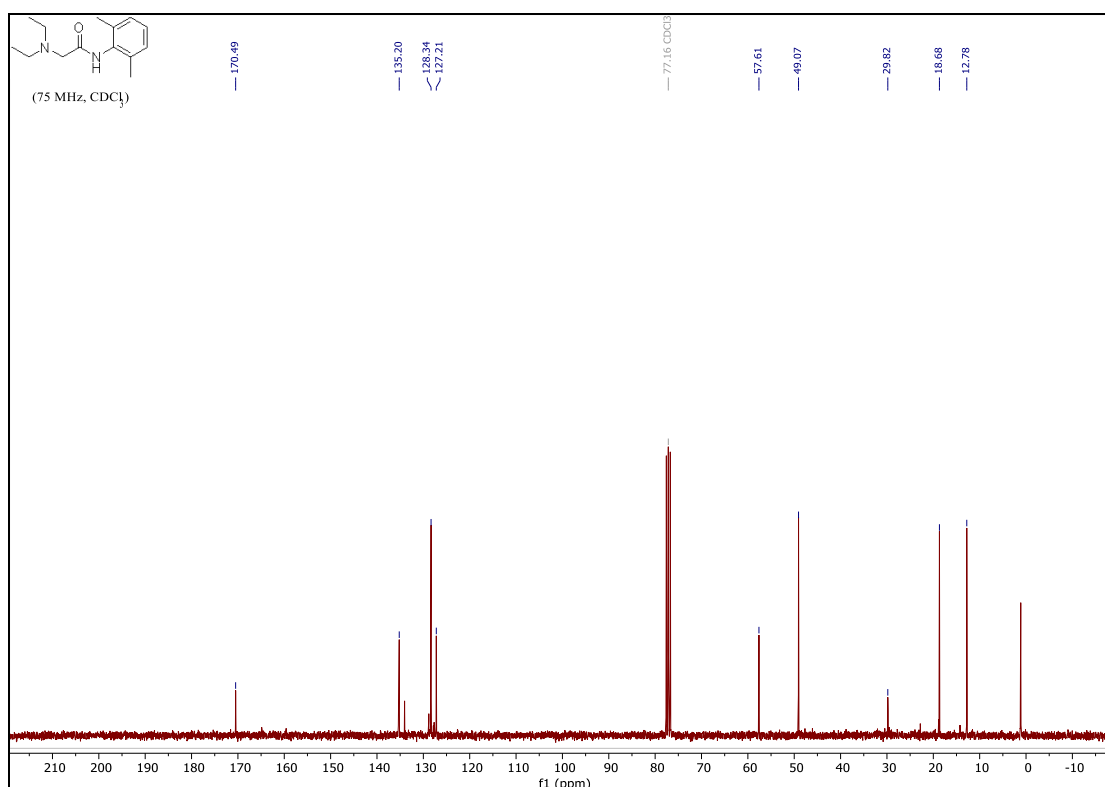
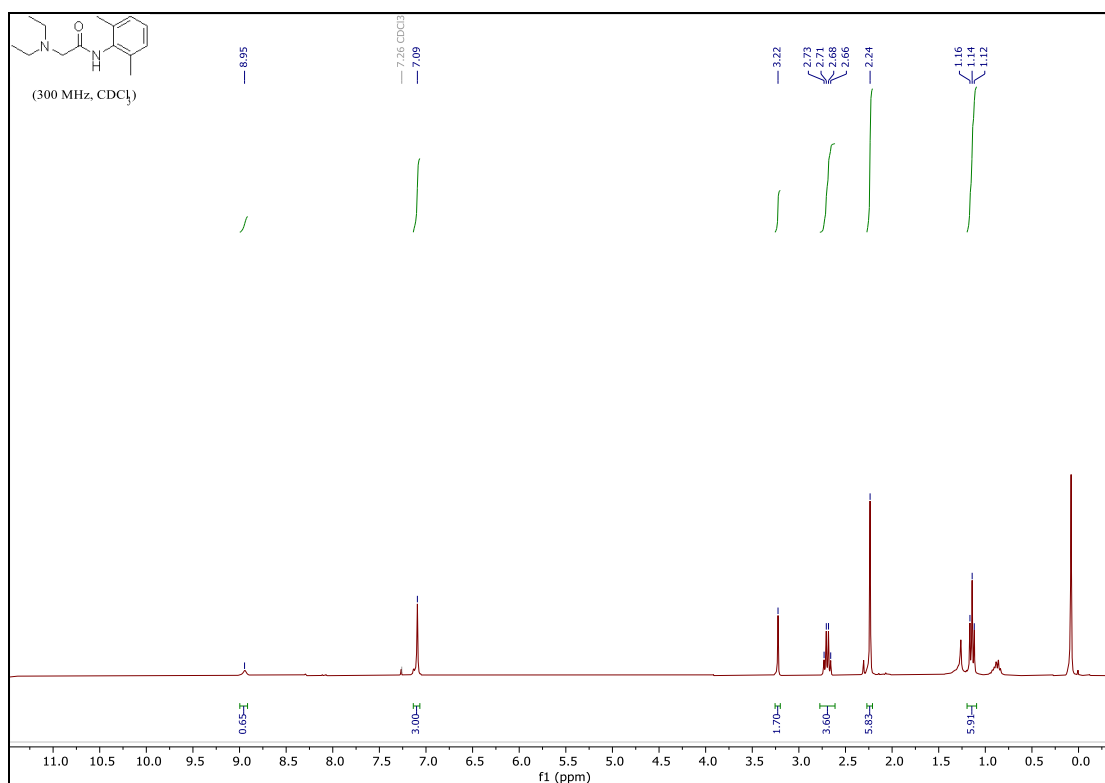
2-(benzyl(ethyl)amino)-*N*-(2,6-dimethylphenyl)acetamide (4i)



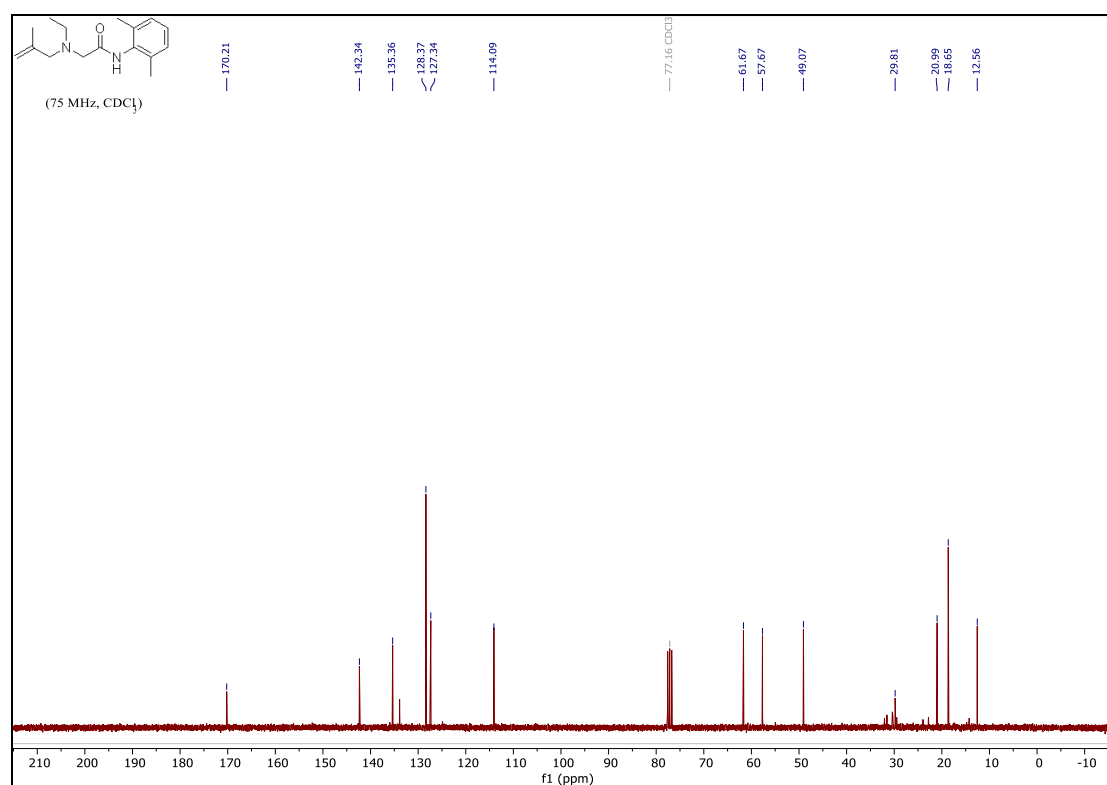
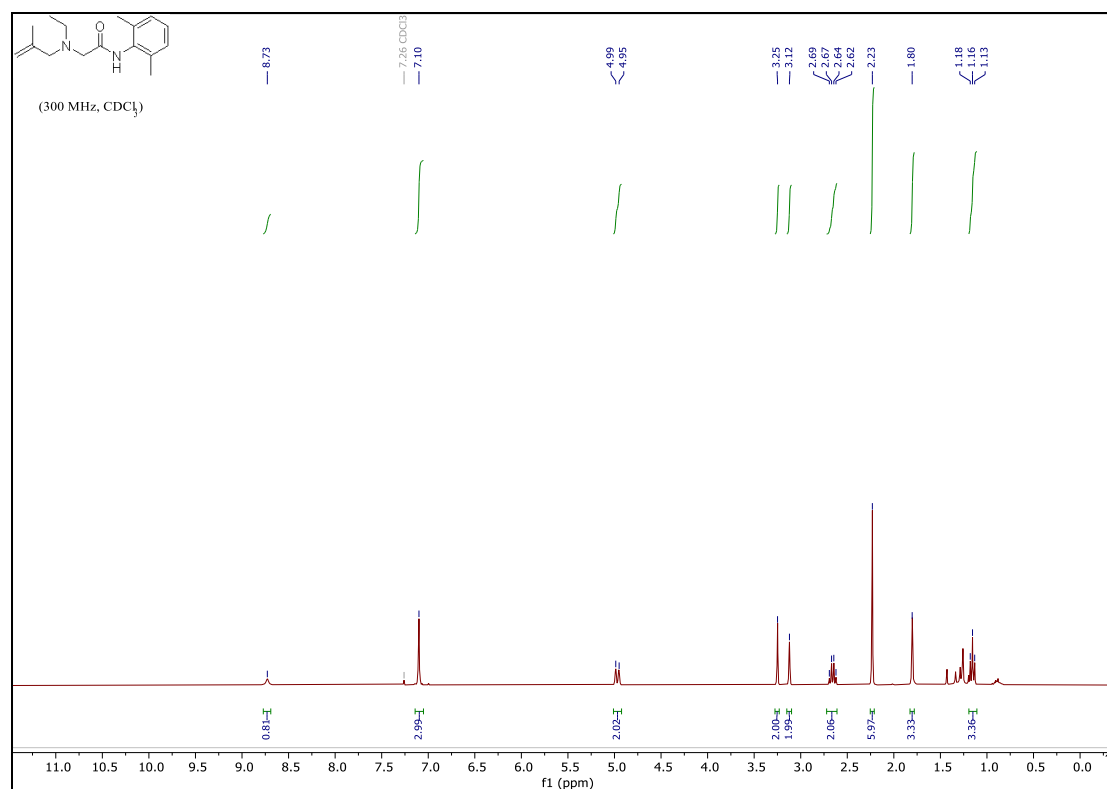
N-(2,6-dimethylphenyl)-2-(ethyl(pyridin-4-ylmethyl)amino)acetamide (4j)



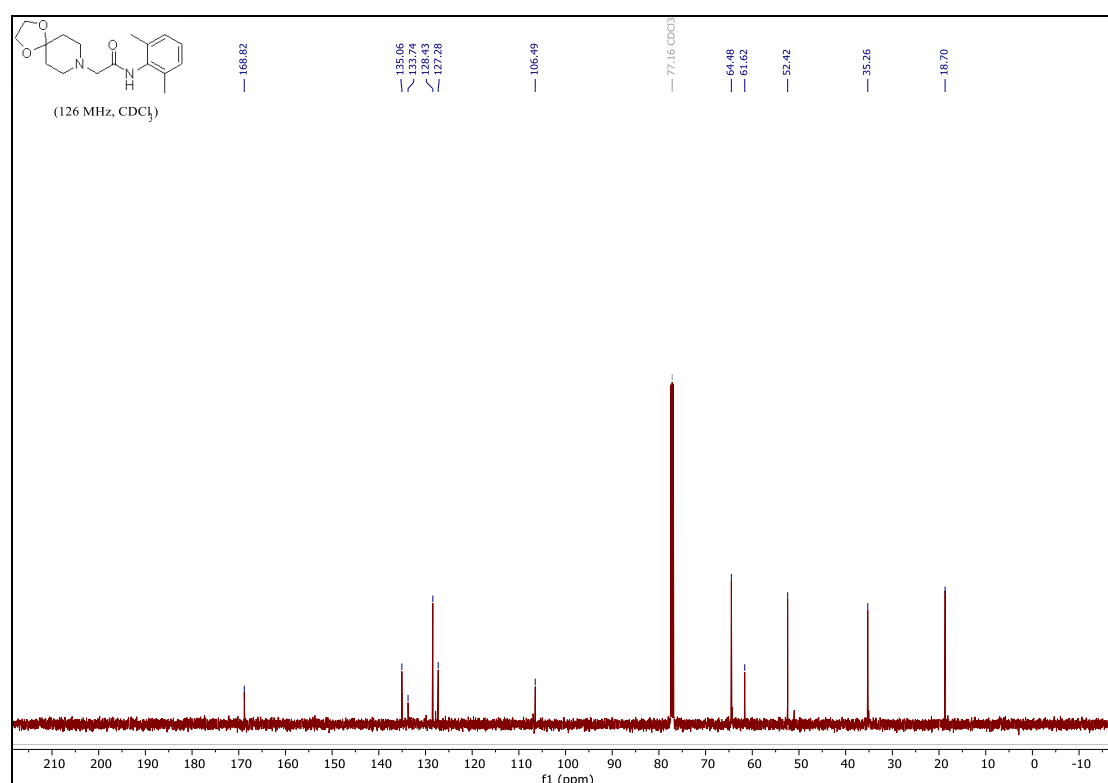
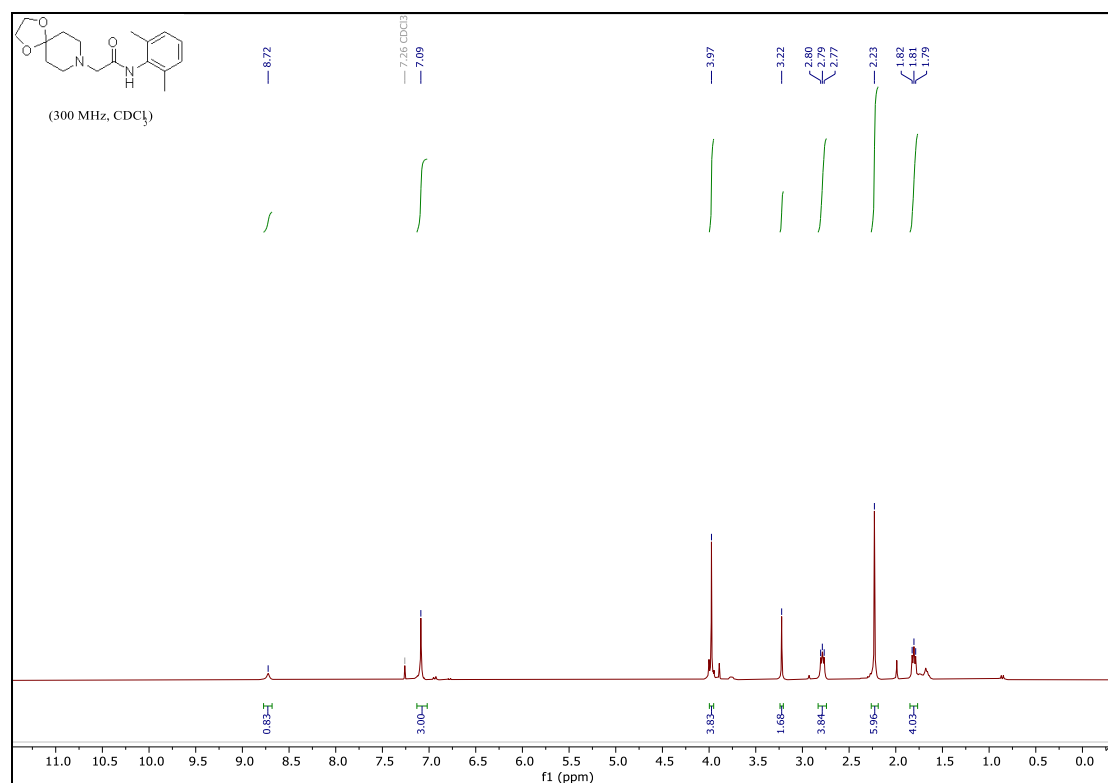
2-(diethylamino)-*N*-(2,6-dimethylphenyl)acetamide (4k)



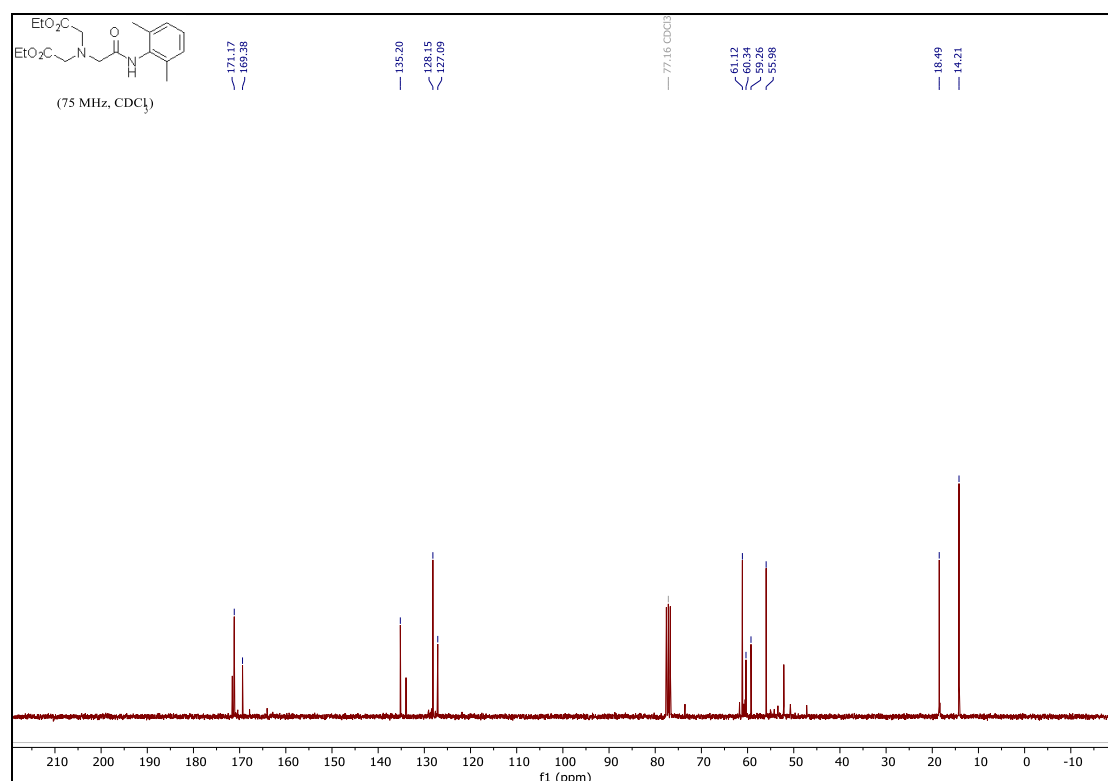
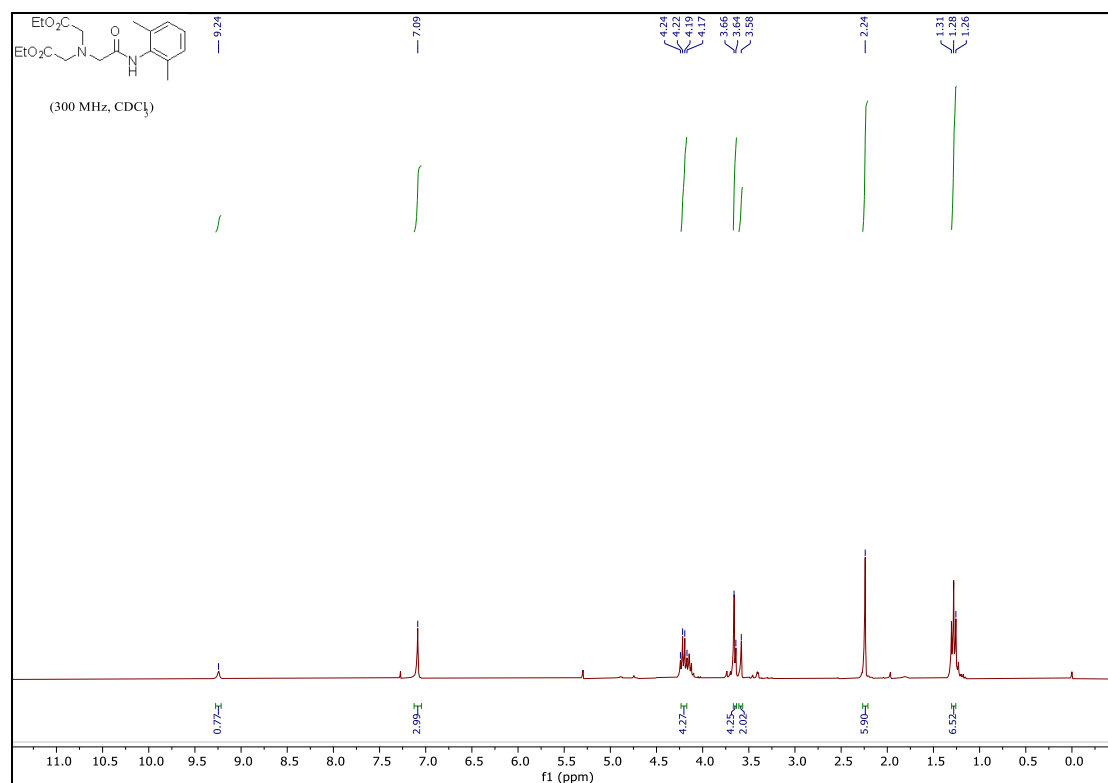
N-(2,6-dimethylphenyl)-2-(ethyl(2-methylallyl)amino)acetamide (4I)



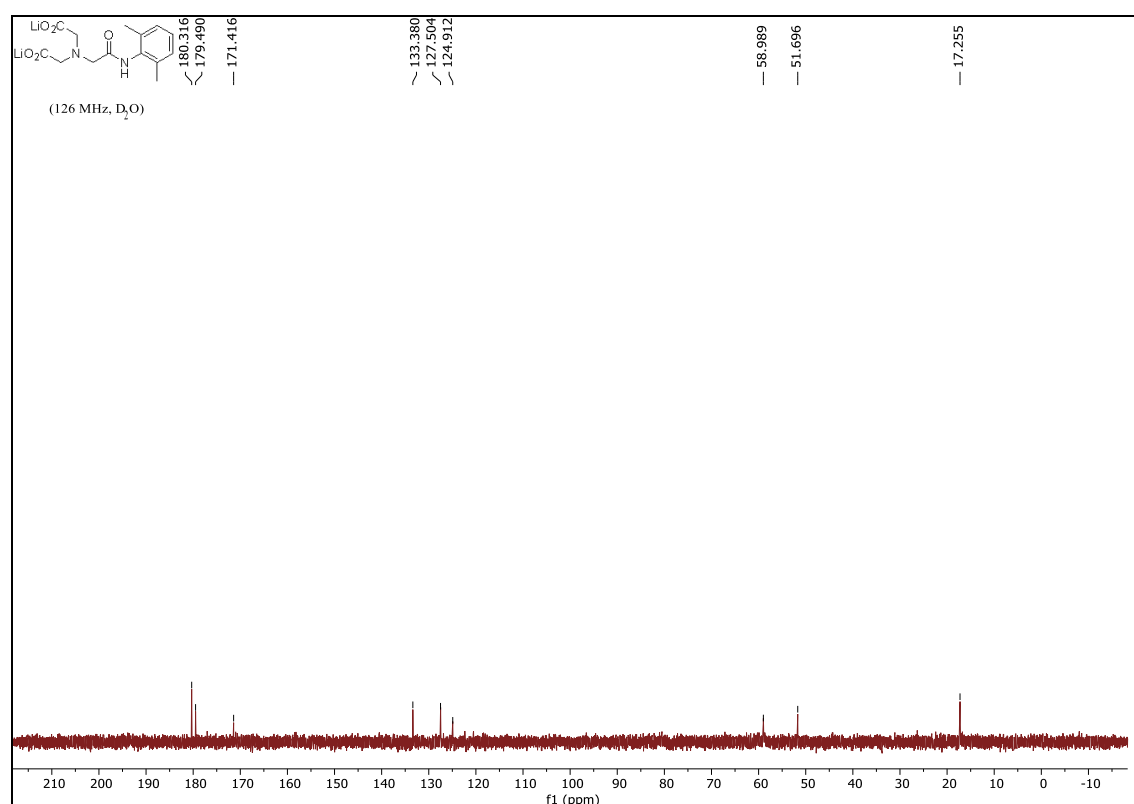
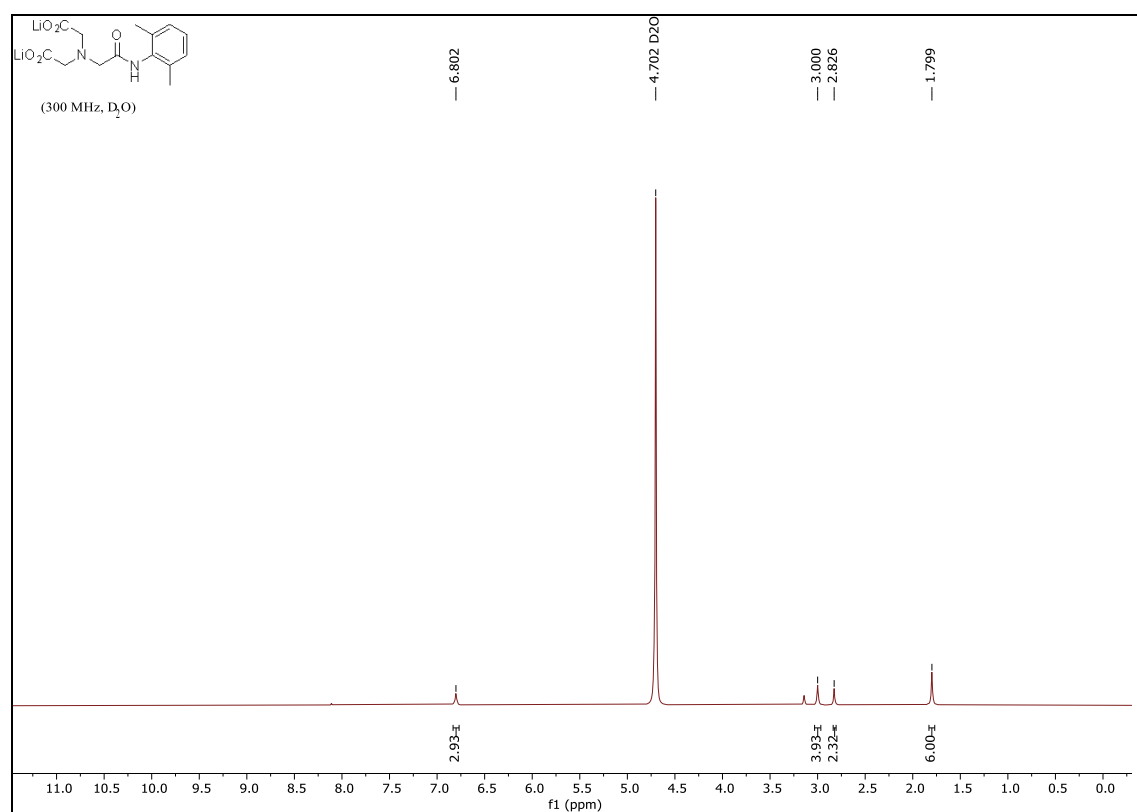
N-(2,6-dimethylphenyl)-2-(1,4-dioxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)acetamide (4m)



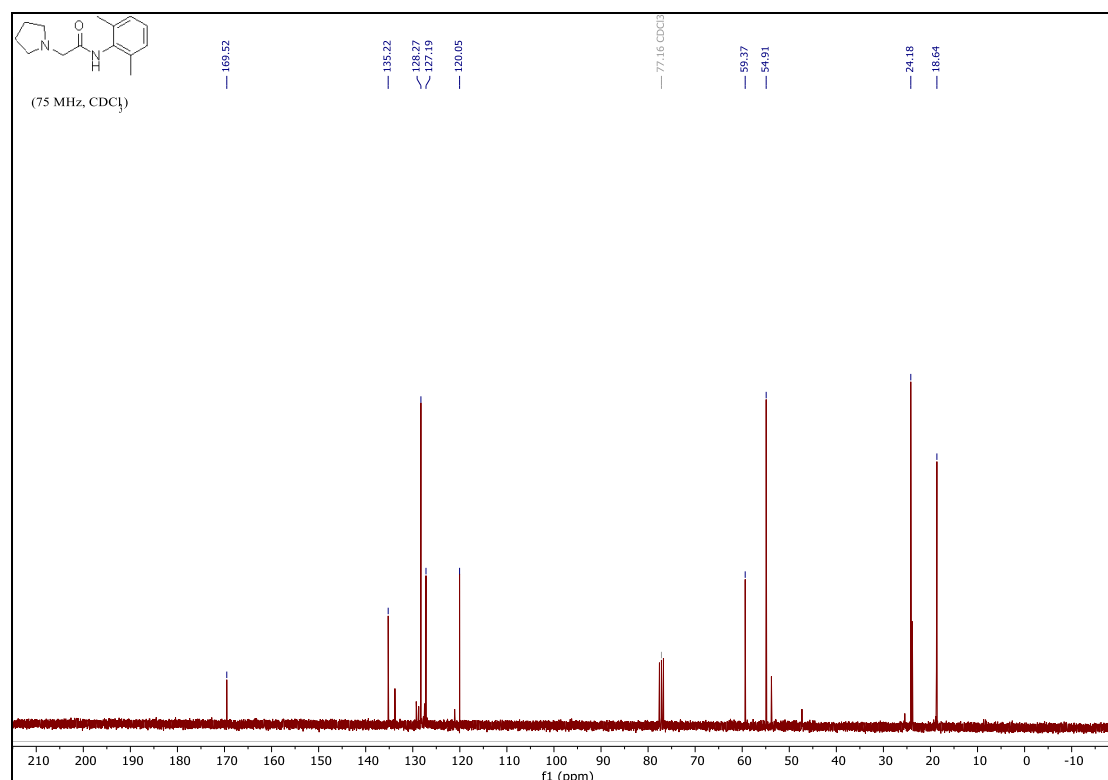
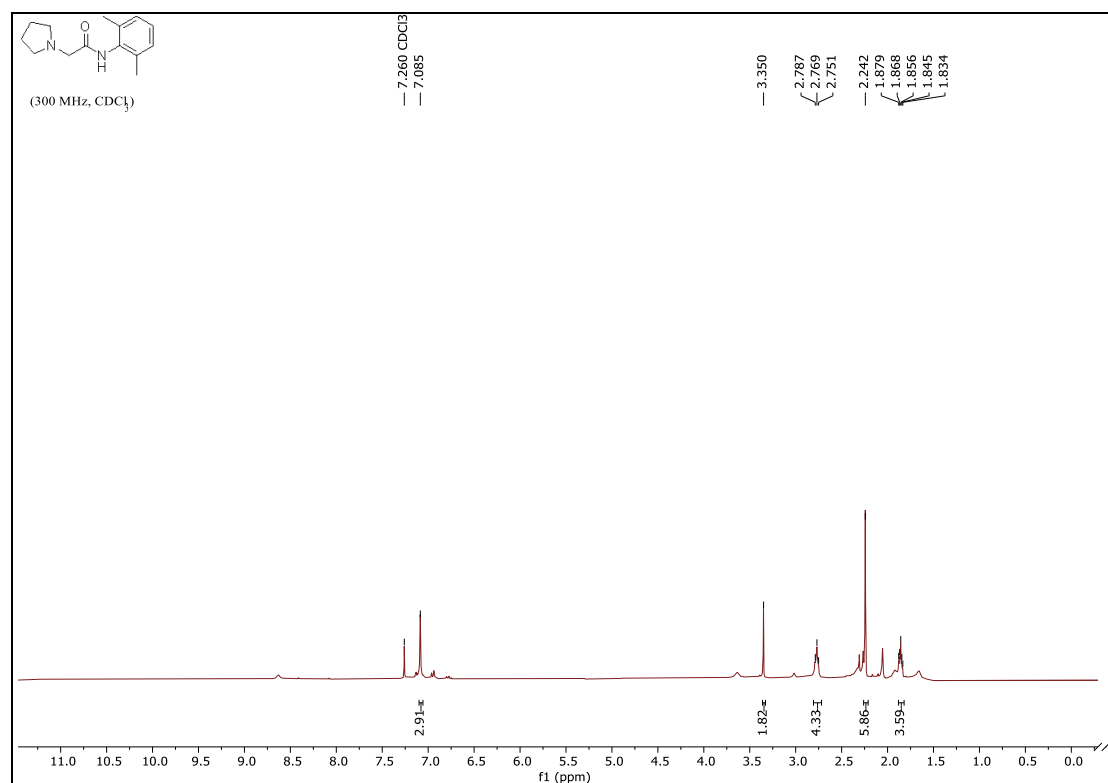
diethyl 2,2'-((2-((2,6-dimethylphenyl)amino)-2-oxoethyl)azanediyl)diacetate (4n)



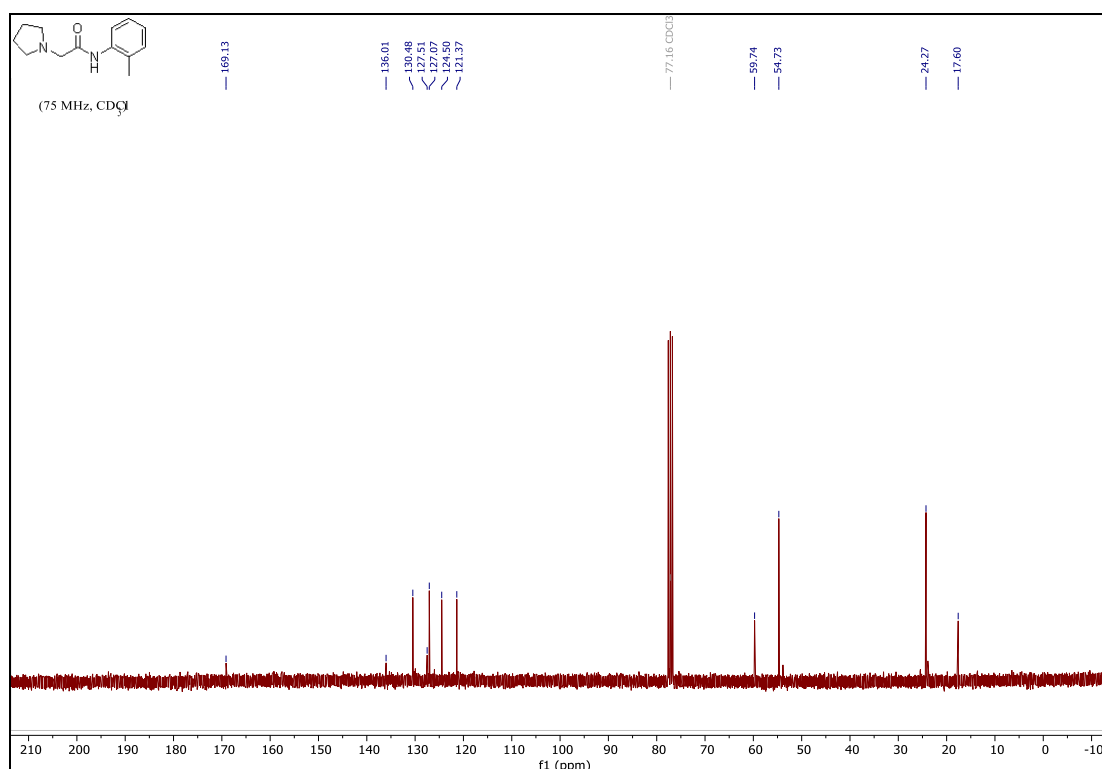
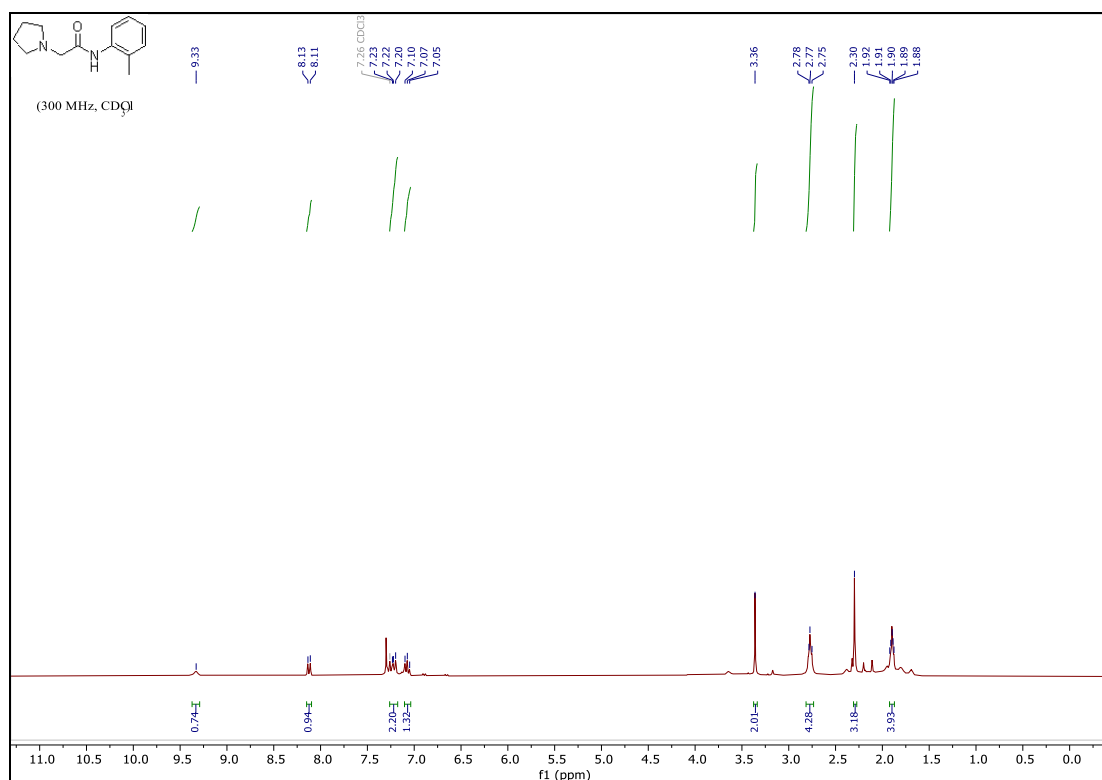
lithium 2,2'-((2-((2,6-dimethylphenyl)amino)-2-oxoethyl)azanediy)diacetate (4o)



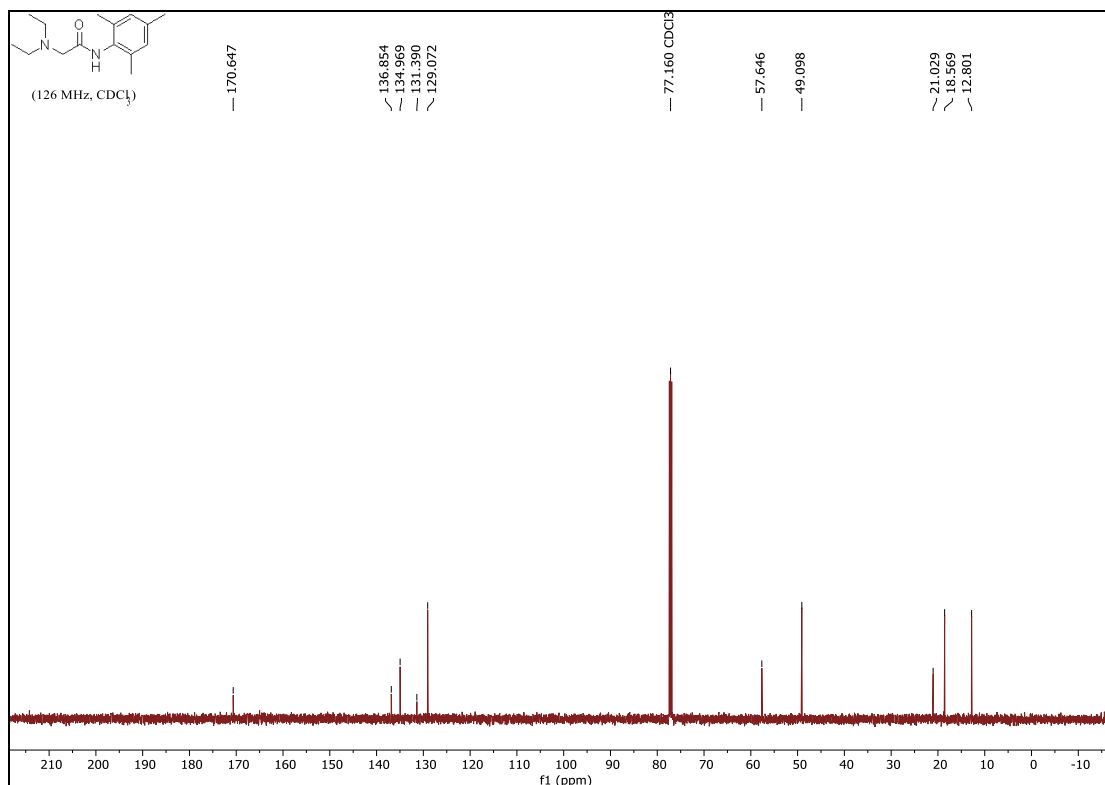
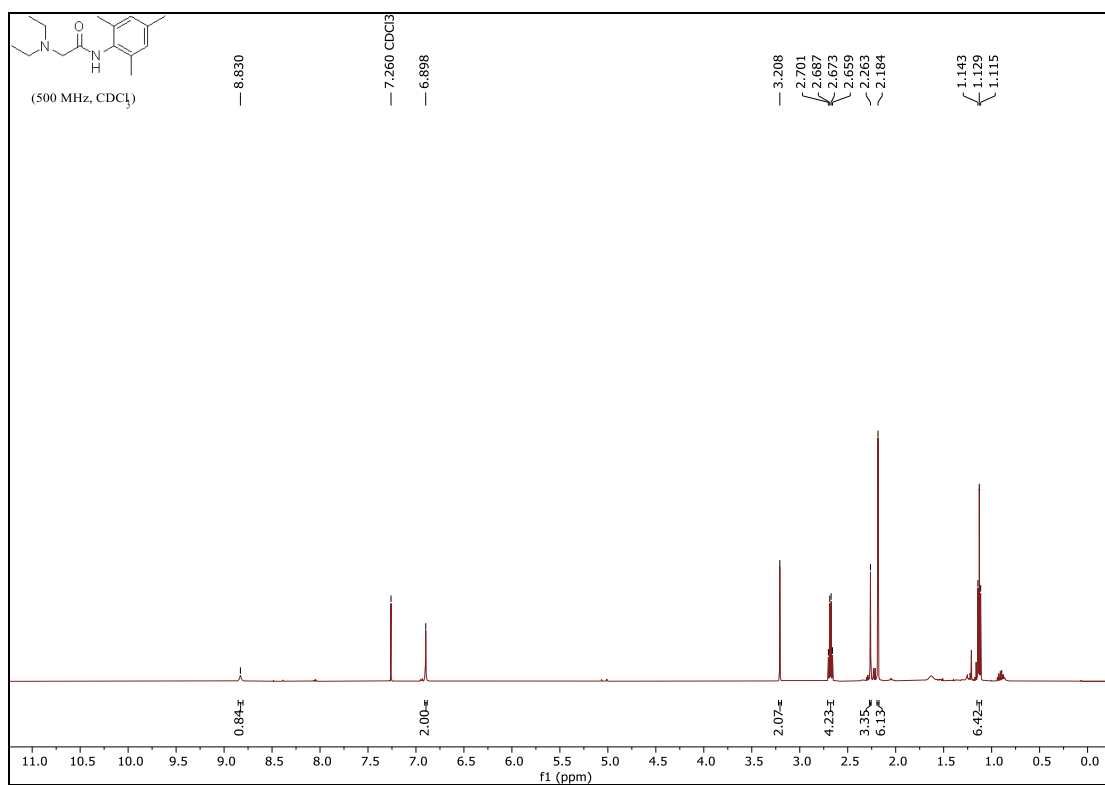
N-(2,6-dimethylphenyl)-2-(pyrrolidin-1-yl)acetamide (4p)



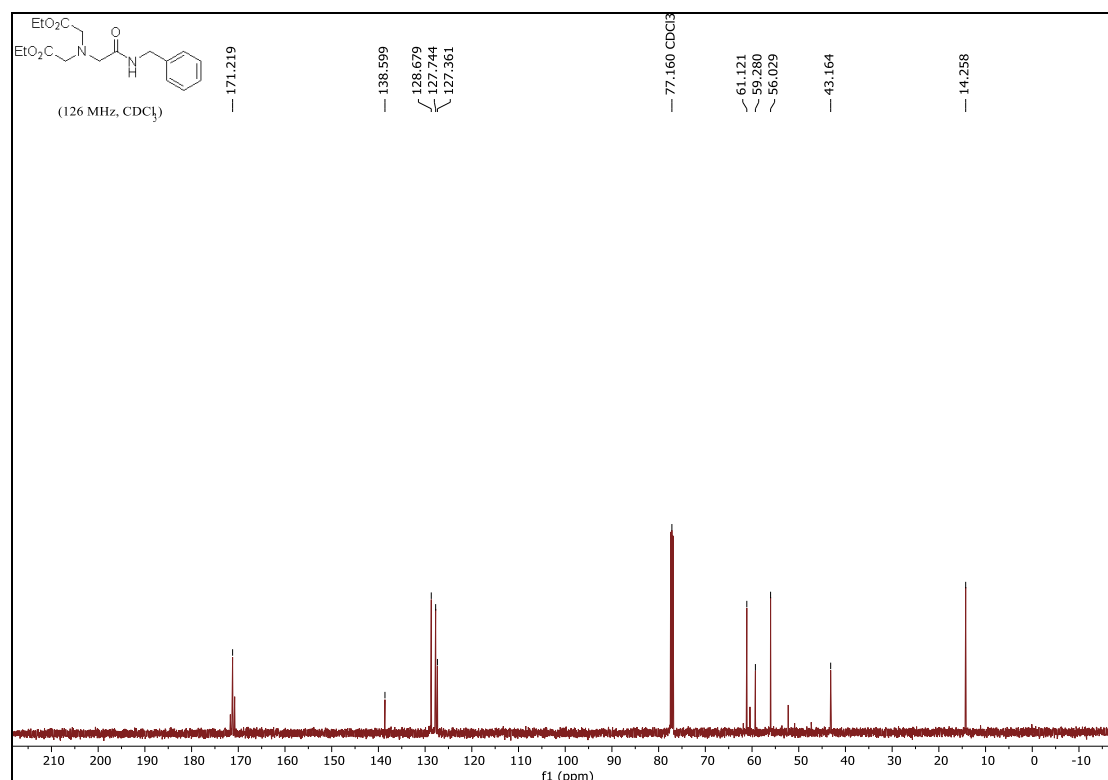
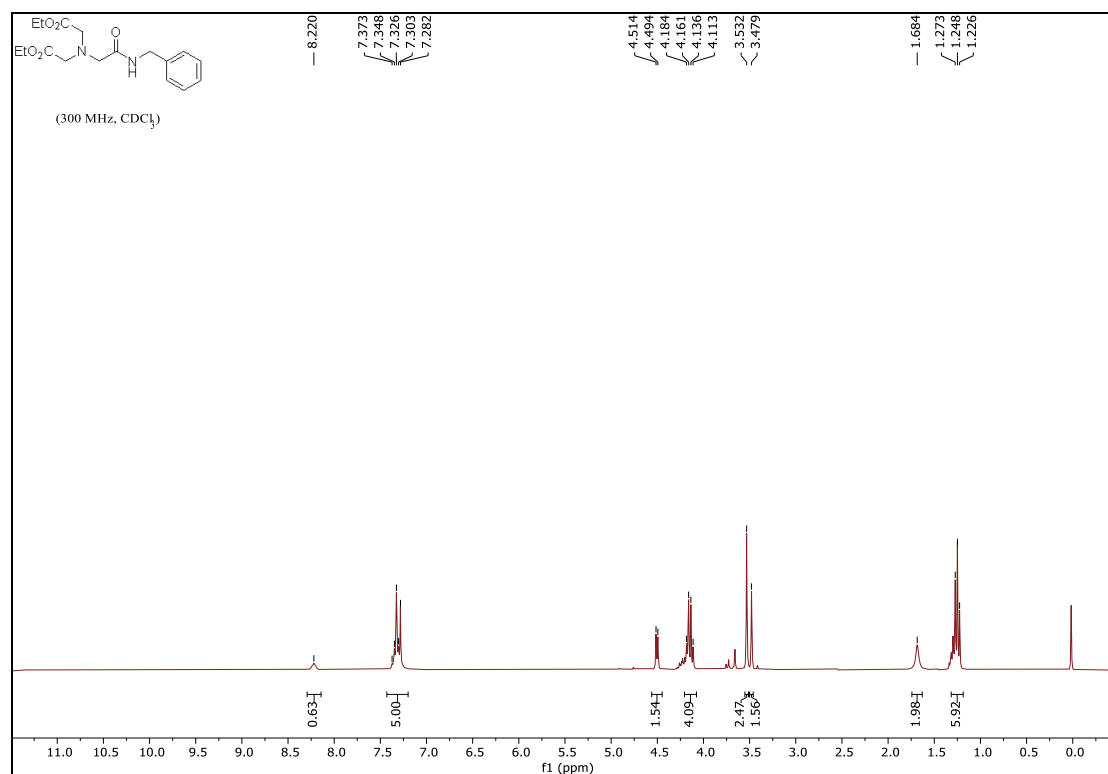
2-(piperidin-1-yl)-*N*-(*o*-tolyl)acetamide (4q)



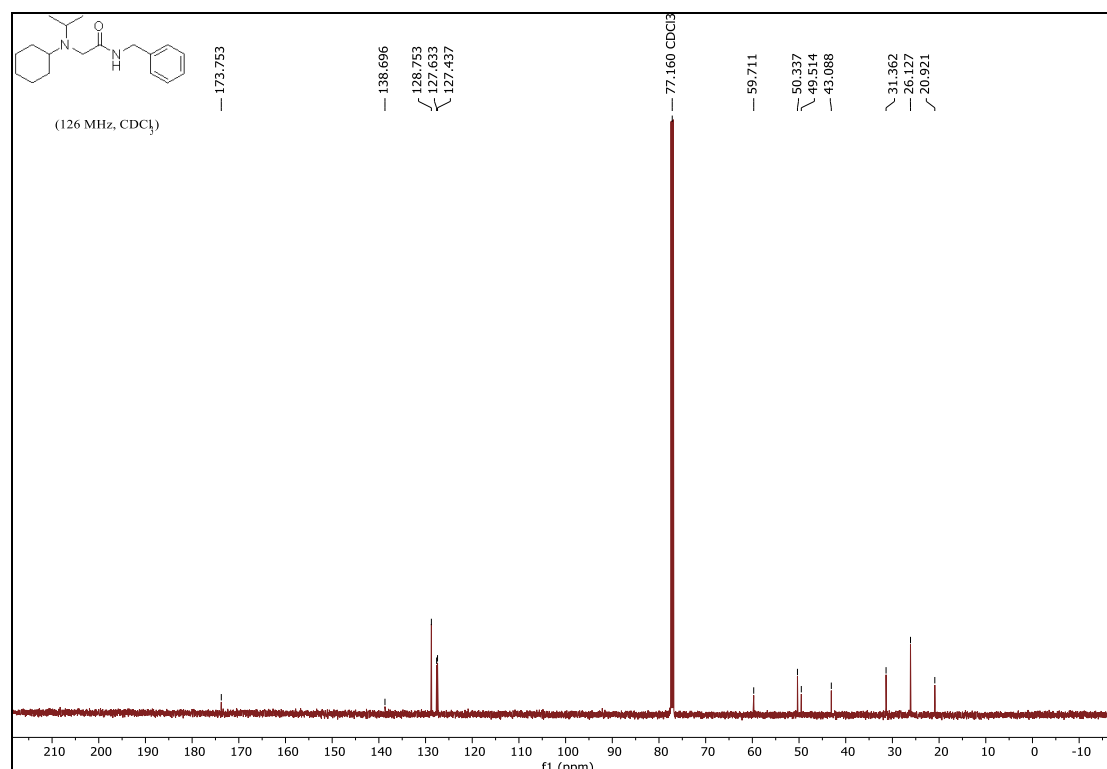
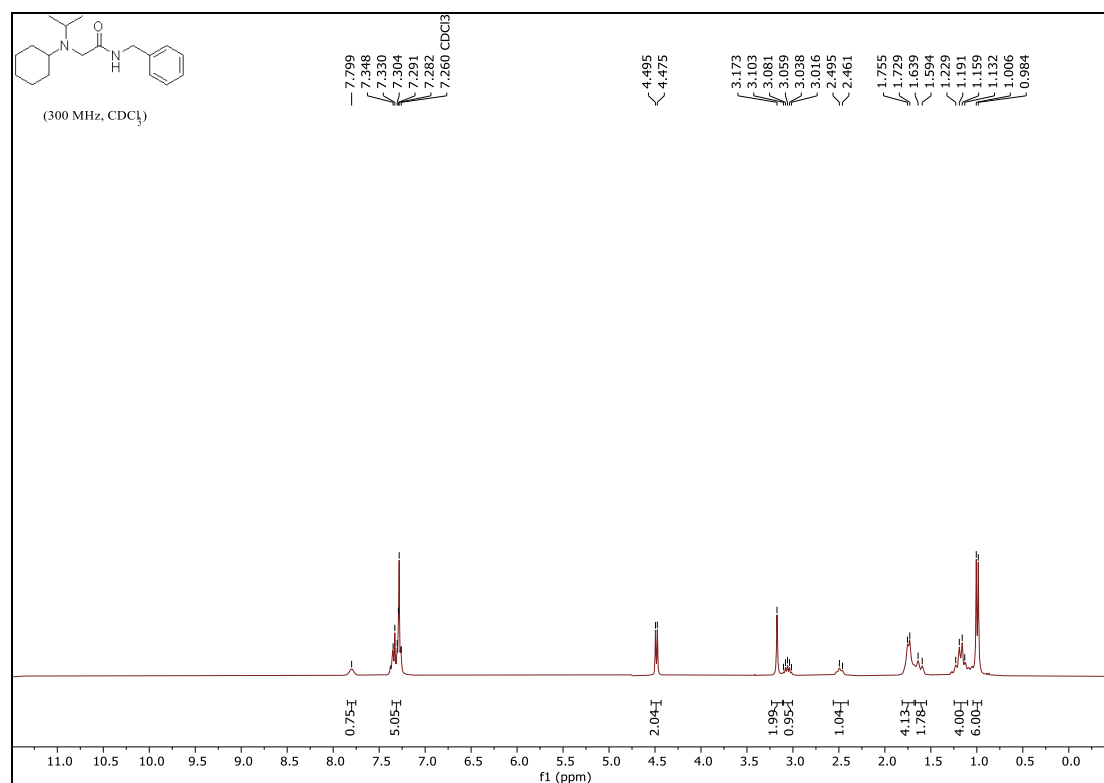
2-(diethylamino)-*N*-mesitylacetamide (4r)



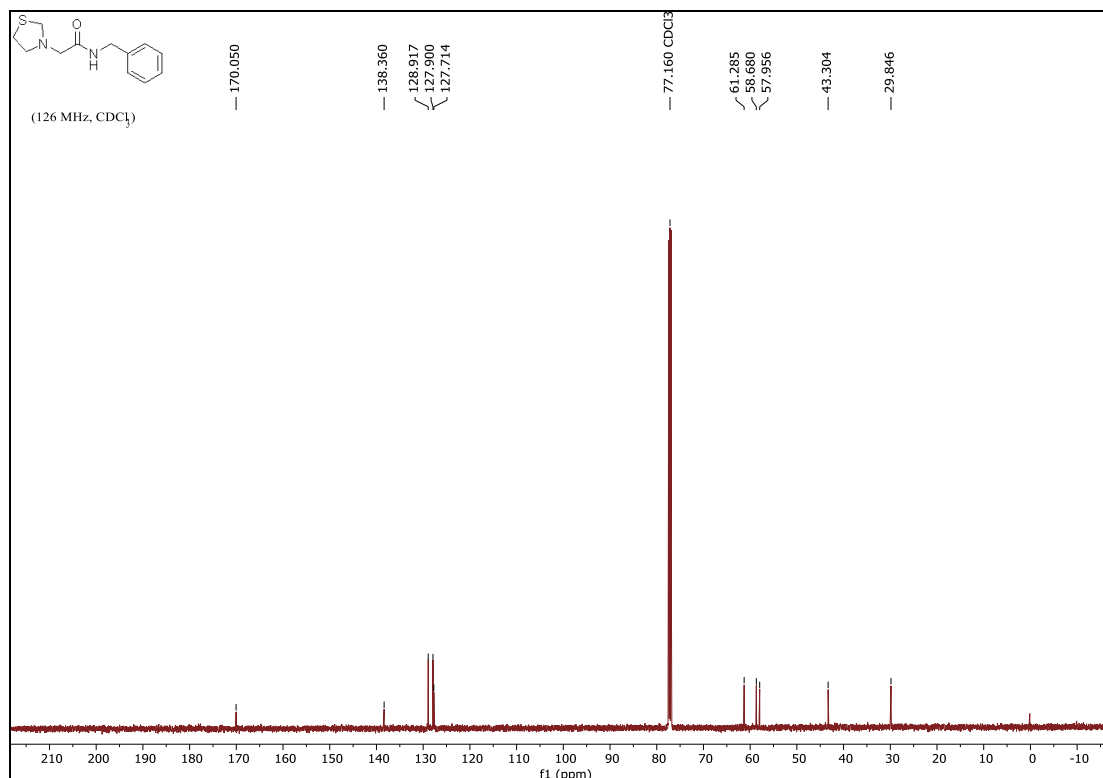
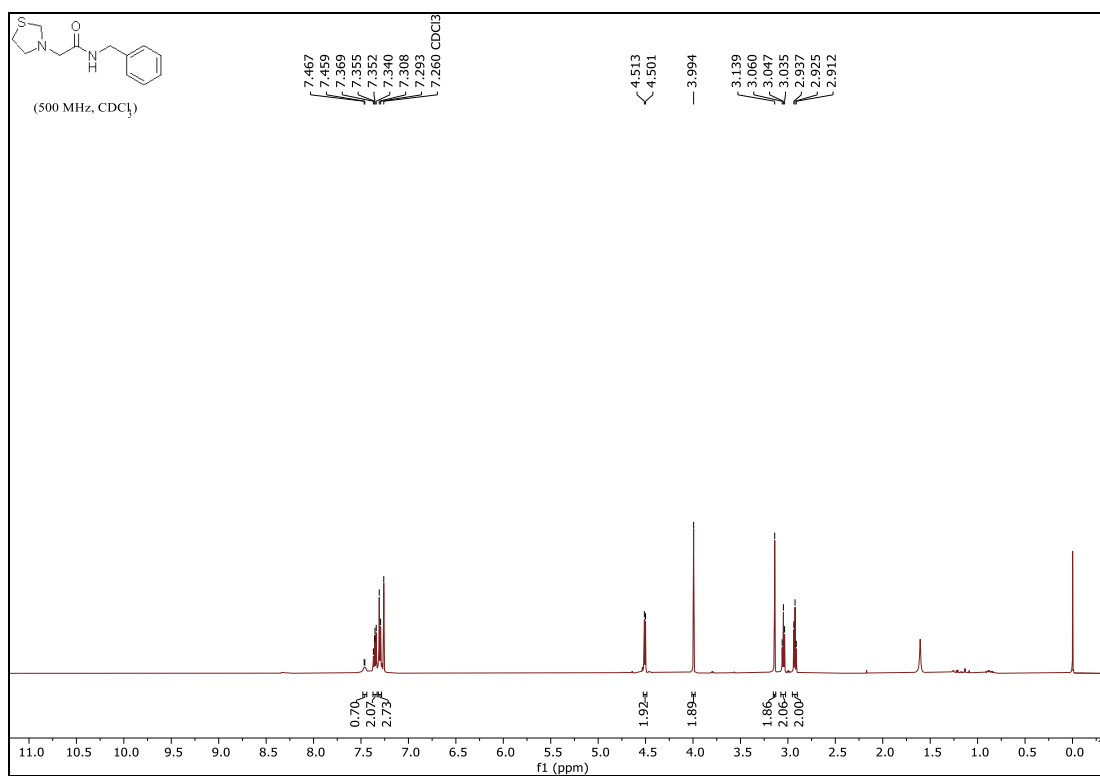
diethyl 2,2'-((2-(benzylamino)-2-oxoethyl)azanediyl)diacetate (4s)



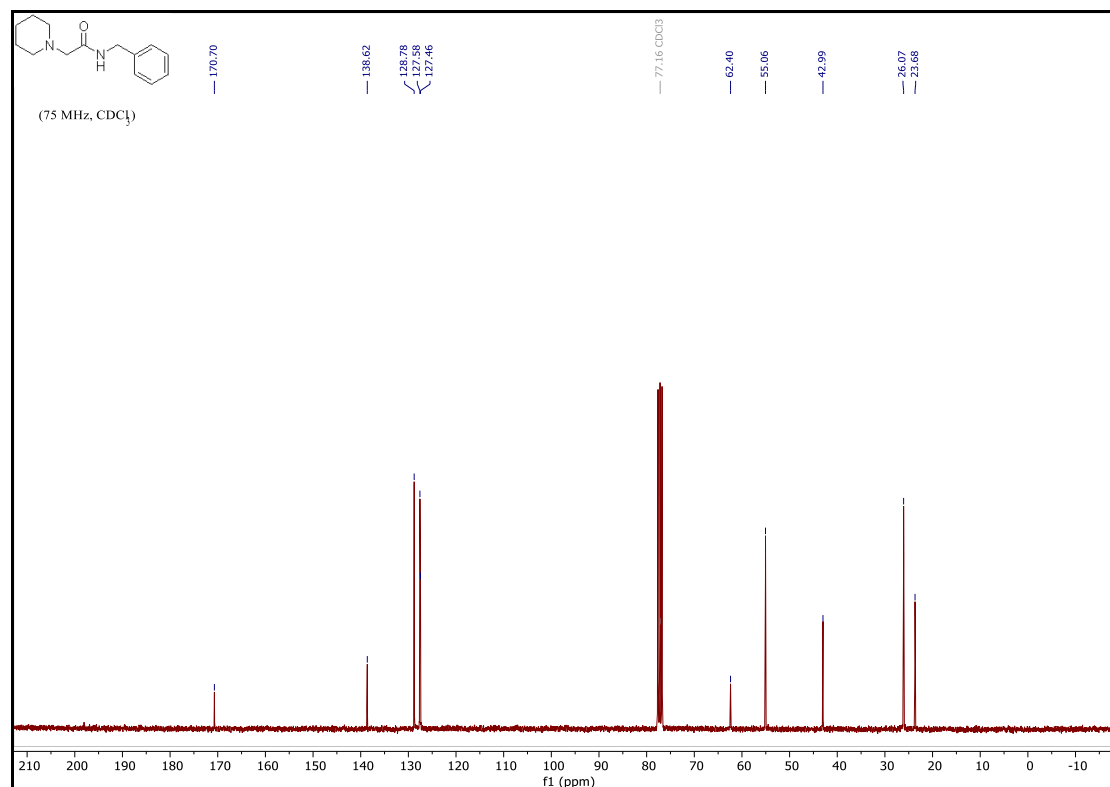
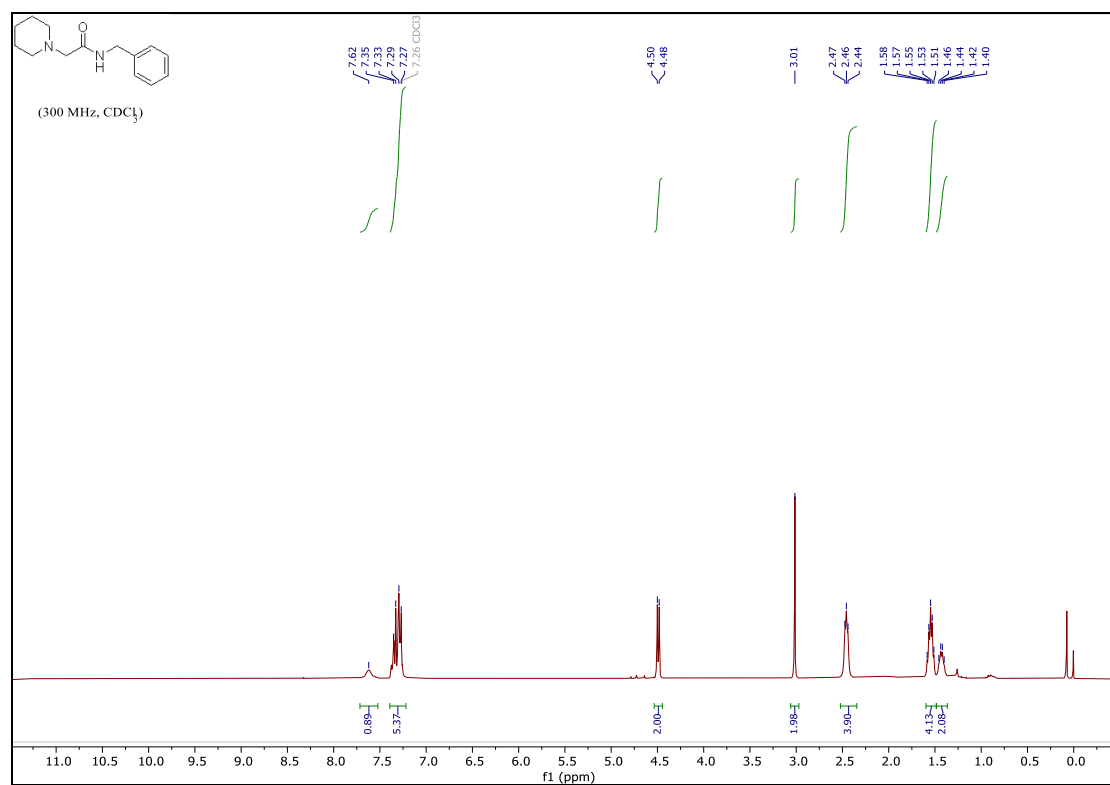
N-benzyl-2-(cyclohexyl(isopropyl)amino)acetamide (4t)



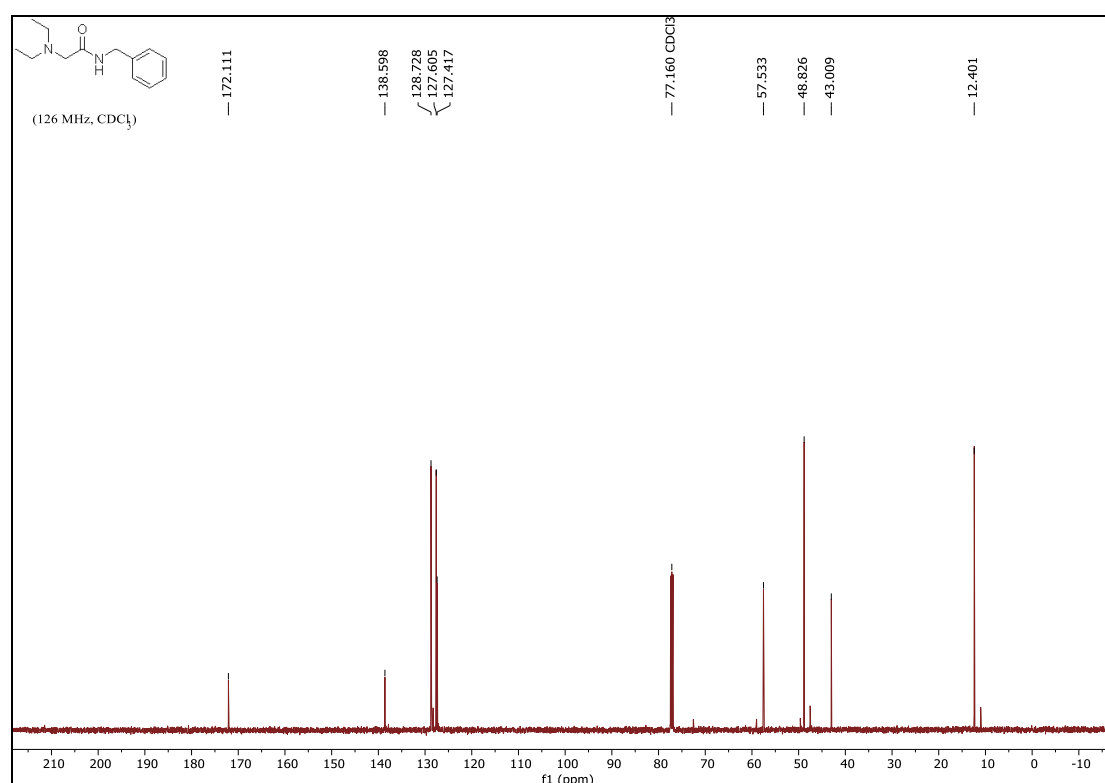
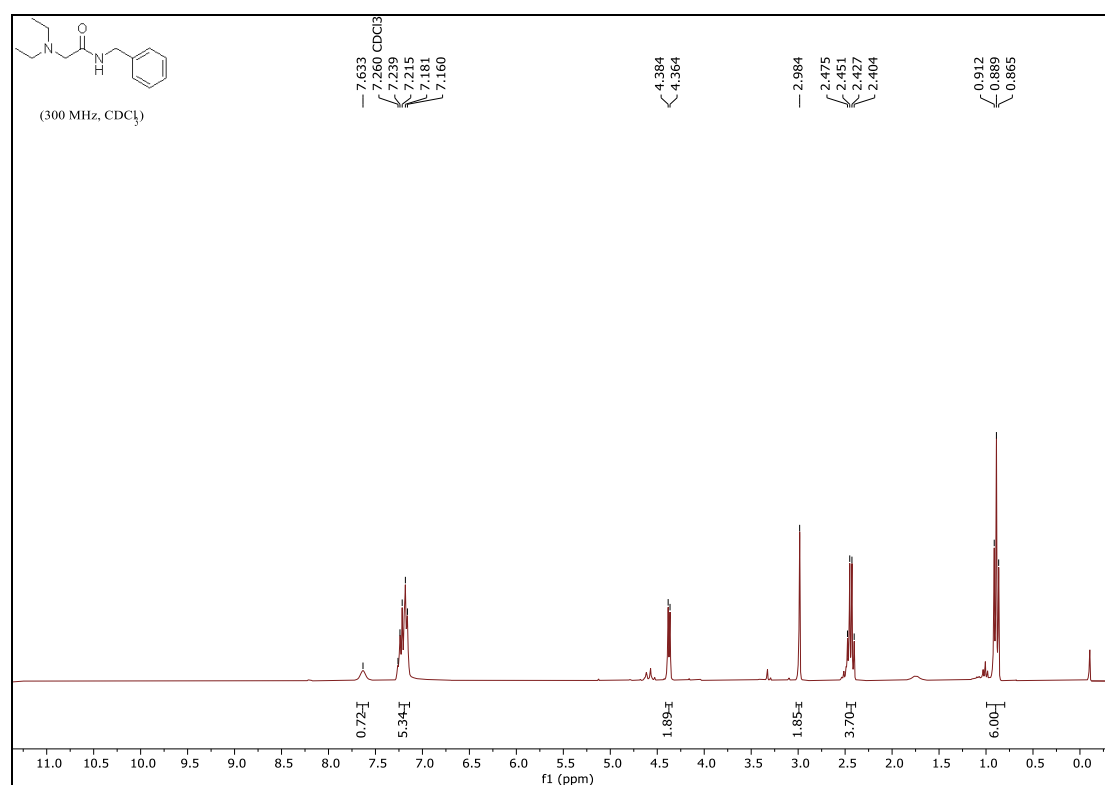
N-benzyl-2-(thiazolidin-3-yl)acetamide (4u)



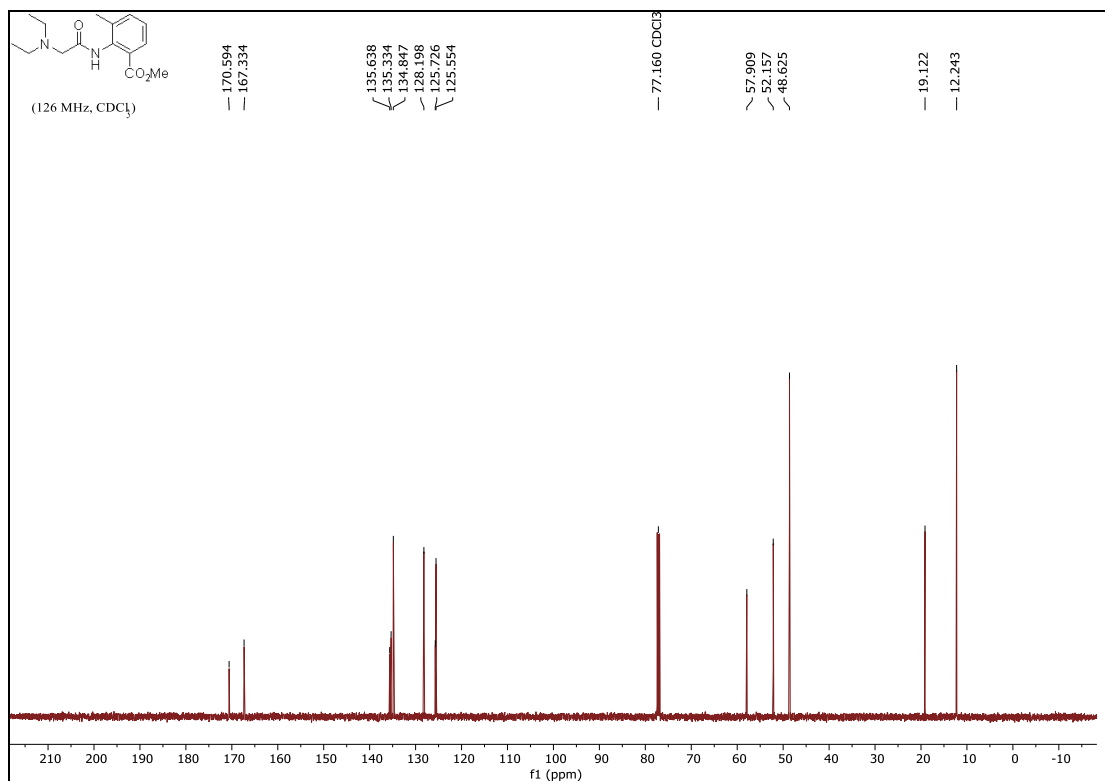
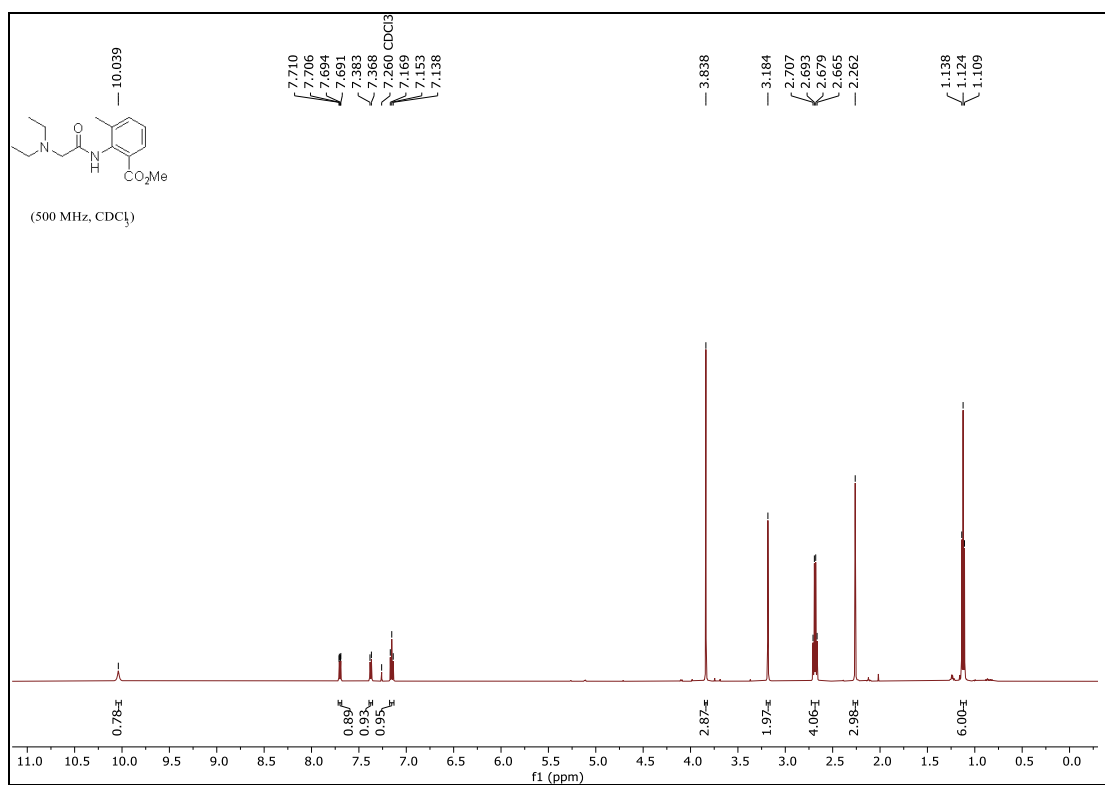
N-benzyl-2-(piperidin-1-yl)acetamide (4v)



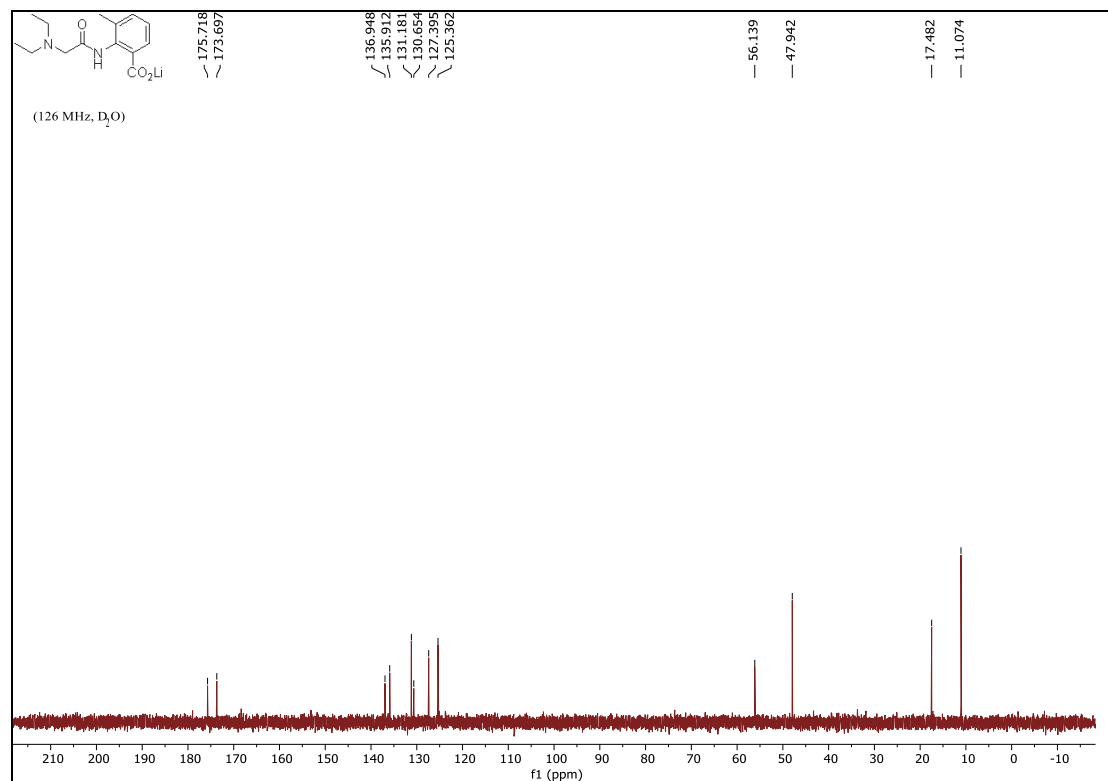
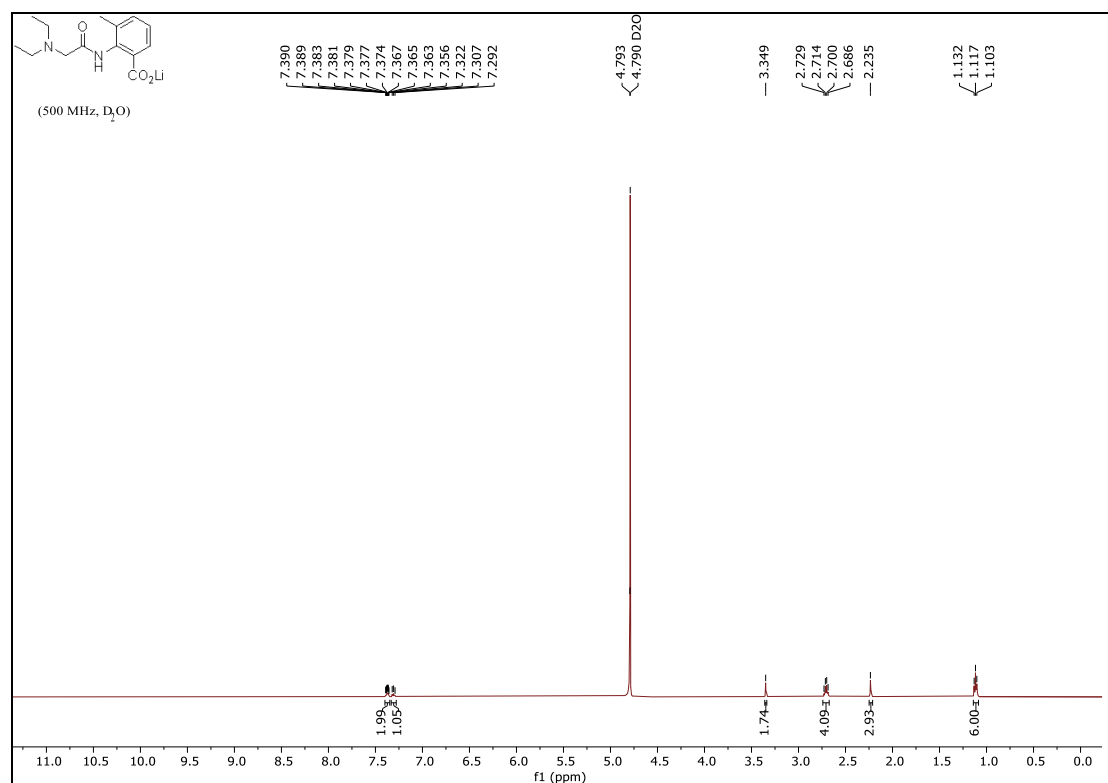
N-benzyl-2-(diethylamino)acetamide (4w)



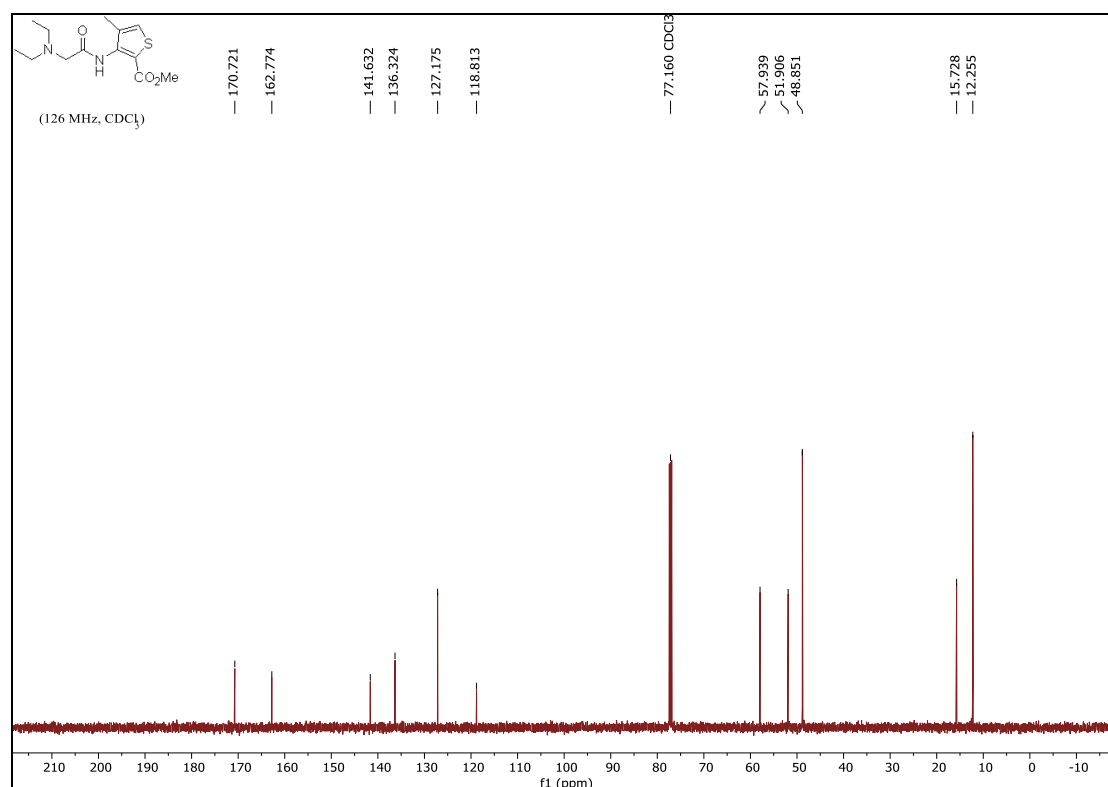
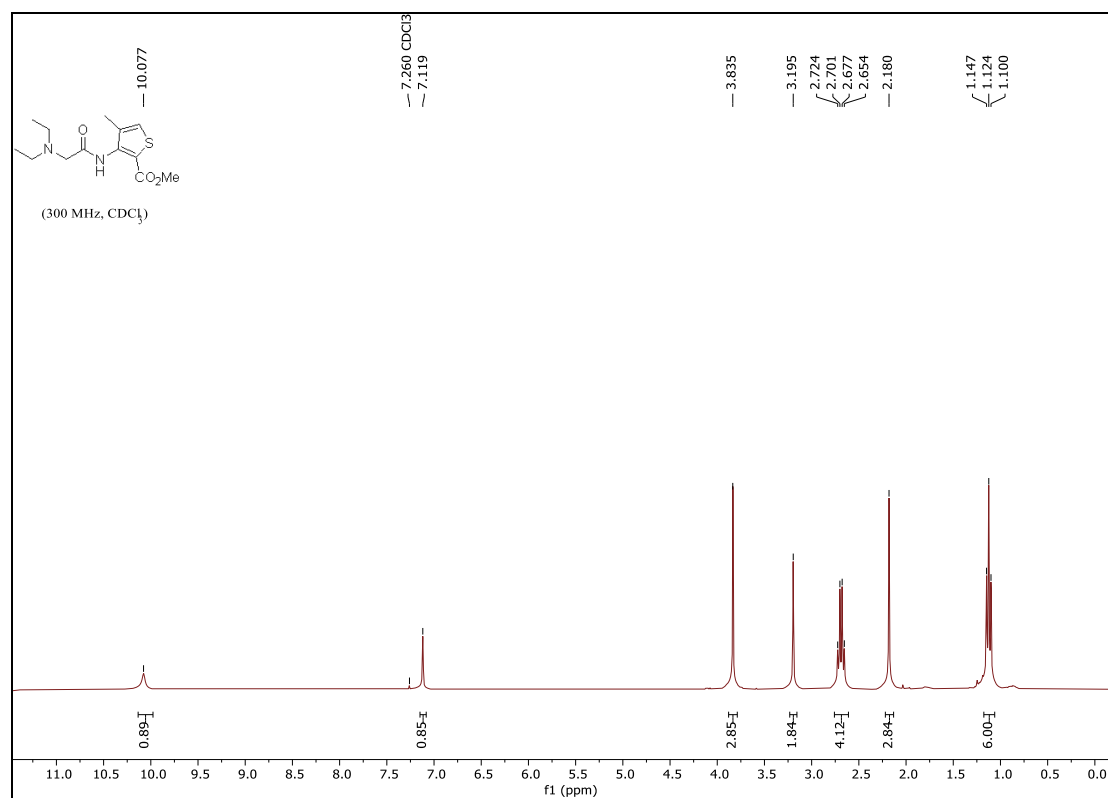
methyl 2-(2-(diethylamino)acetamido)-3-methylbenzoate (4x)



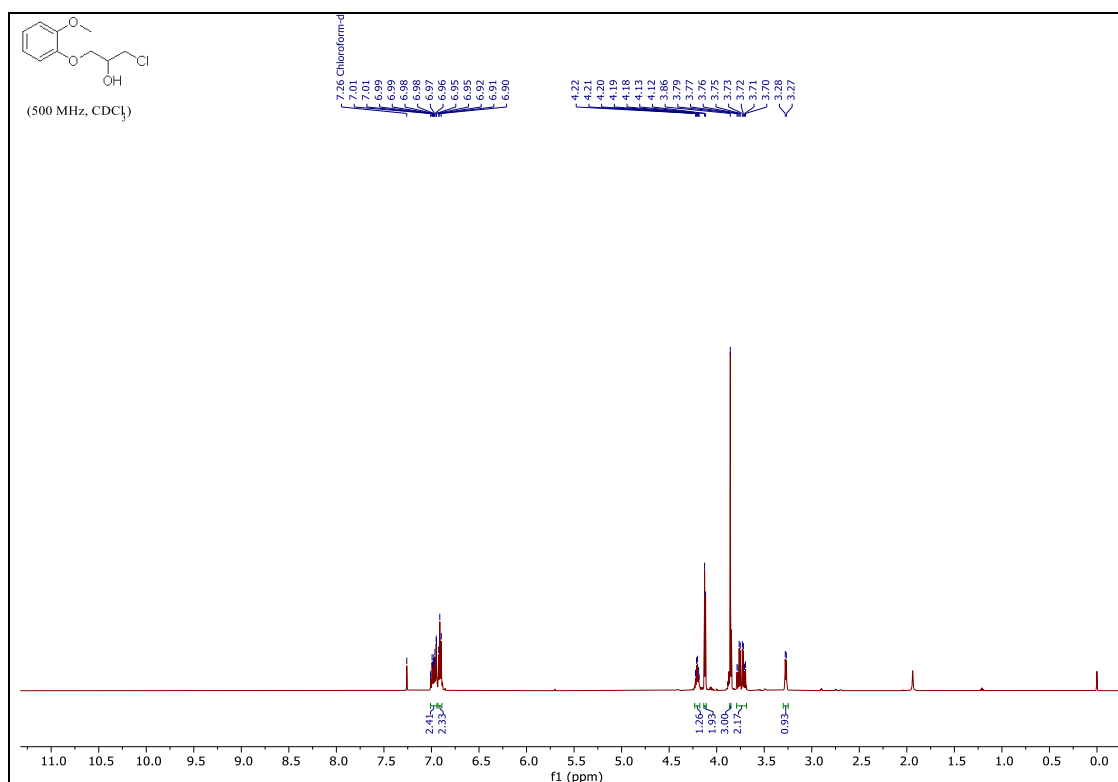
lithium 2-(2-(diethylamino)acetamido)-3-methylbenzoate (4y)



methyl 3-(2-(diethylamino)acetamido)-4-methylthiophene-2-carboxylate (4z)



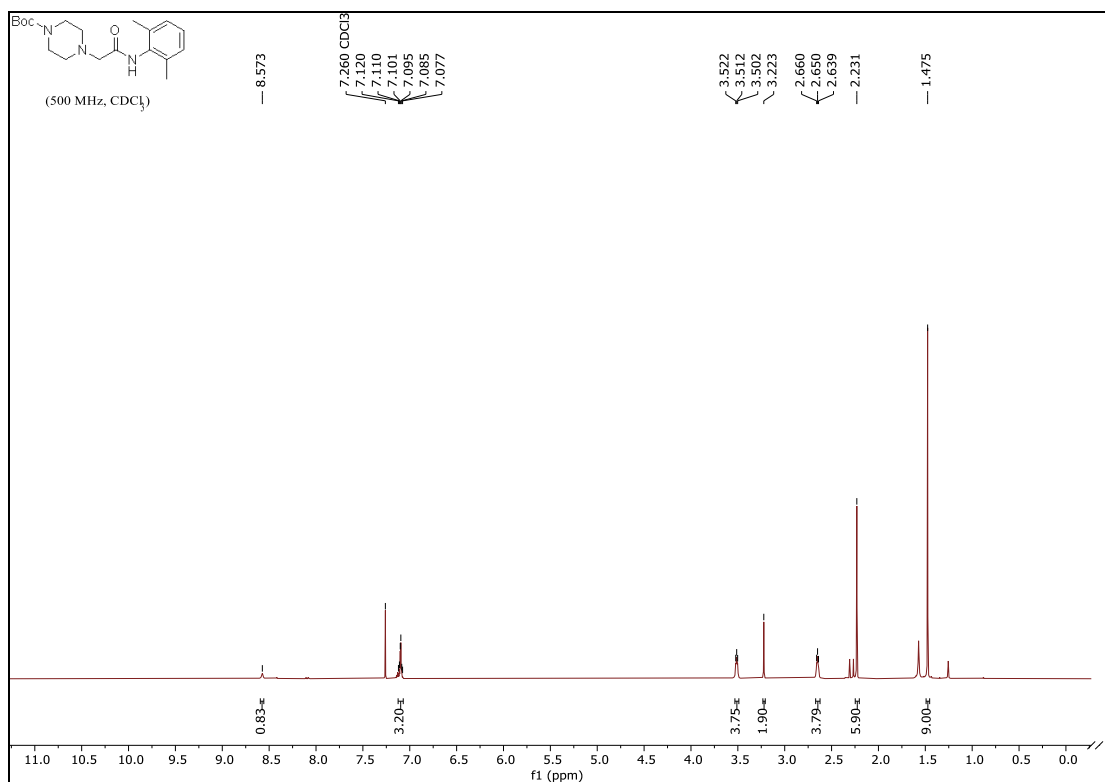
1-chloro-3-(2-methoxyphenoxy)propan-2-ol (7)³²



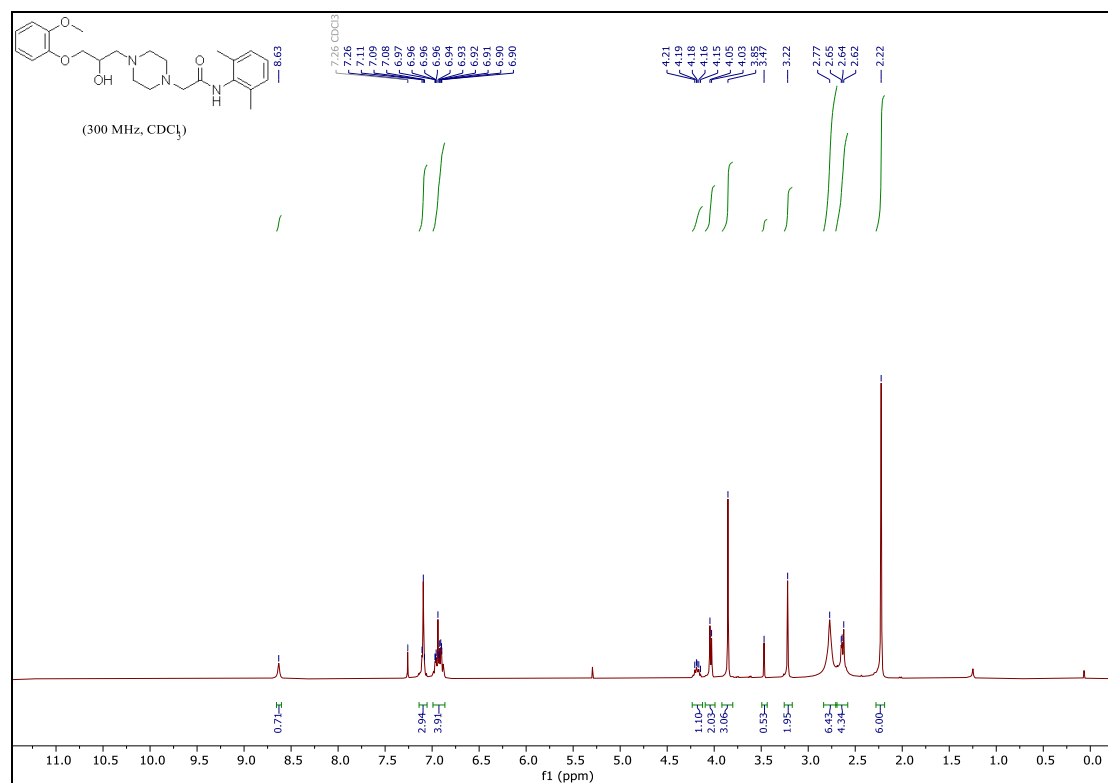
tert-butyl

4-(2-((2,6-dimethylphenyl)amino)-2-oxoethyl)piperazine-1-

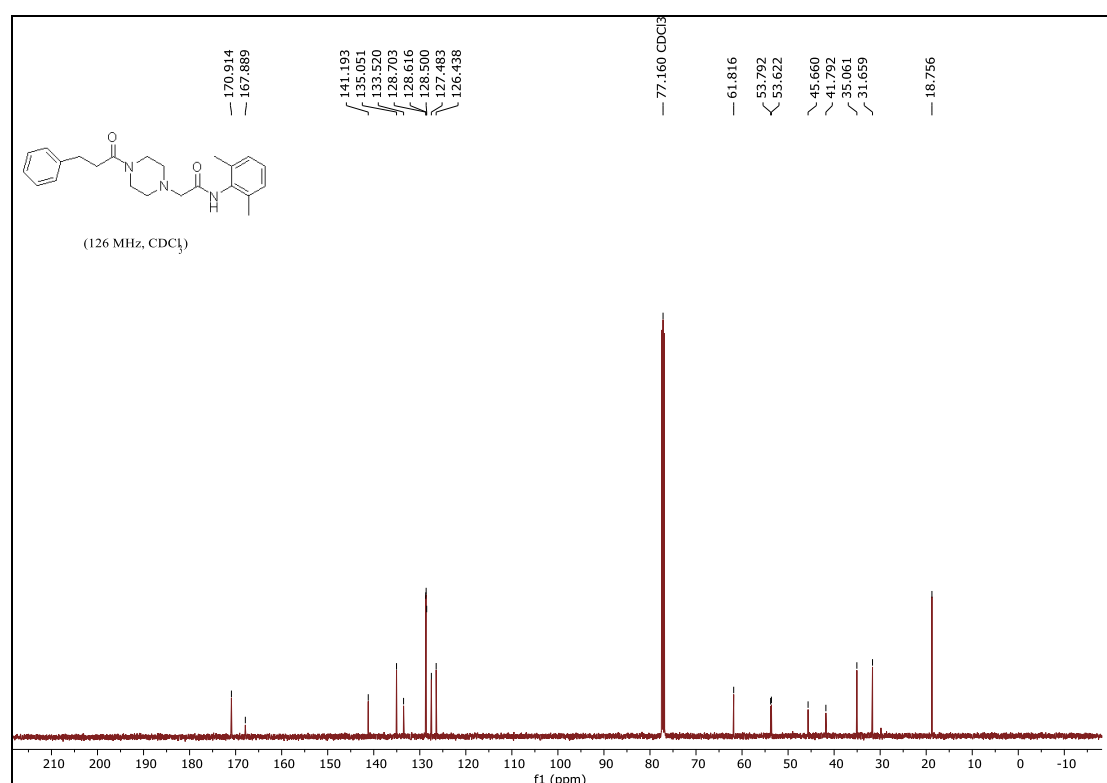
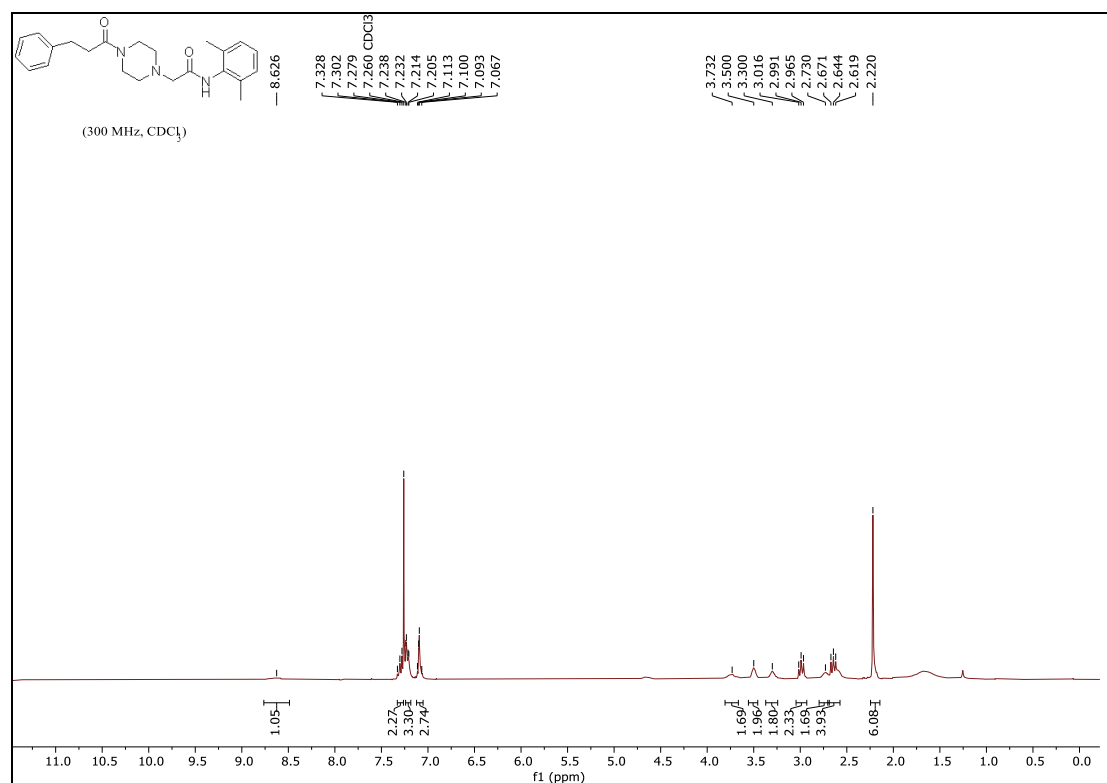
carboxylate³³



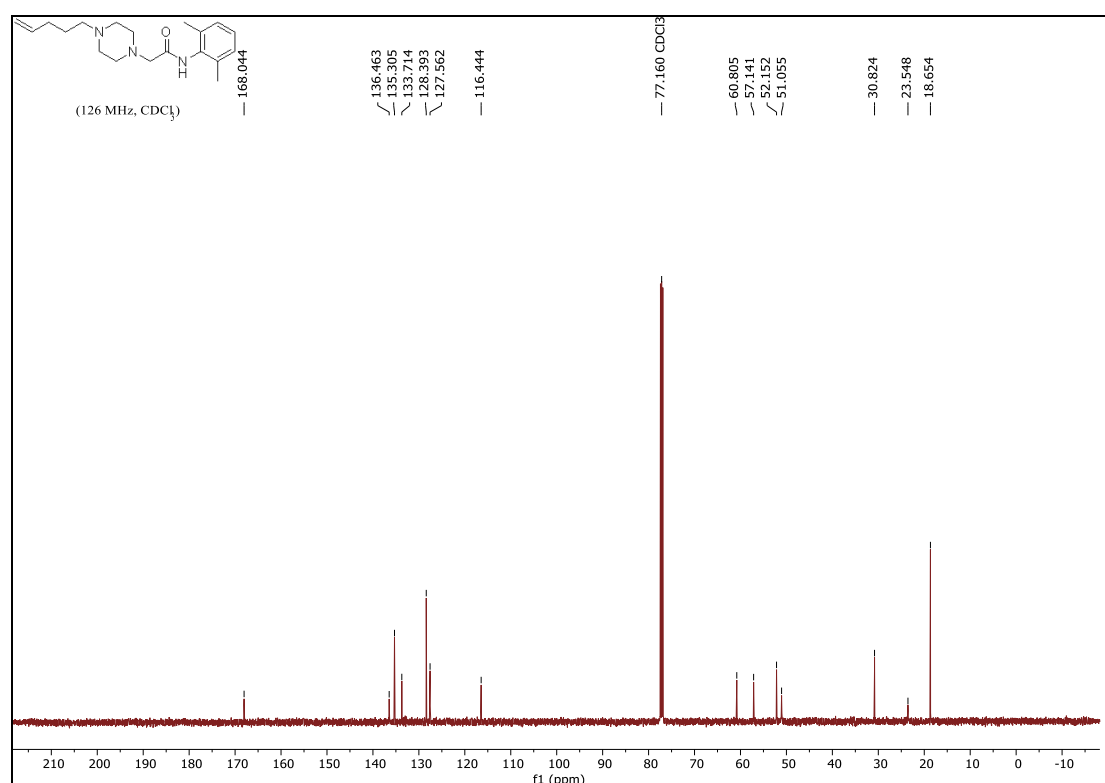
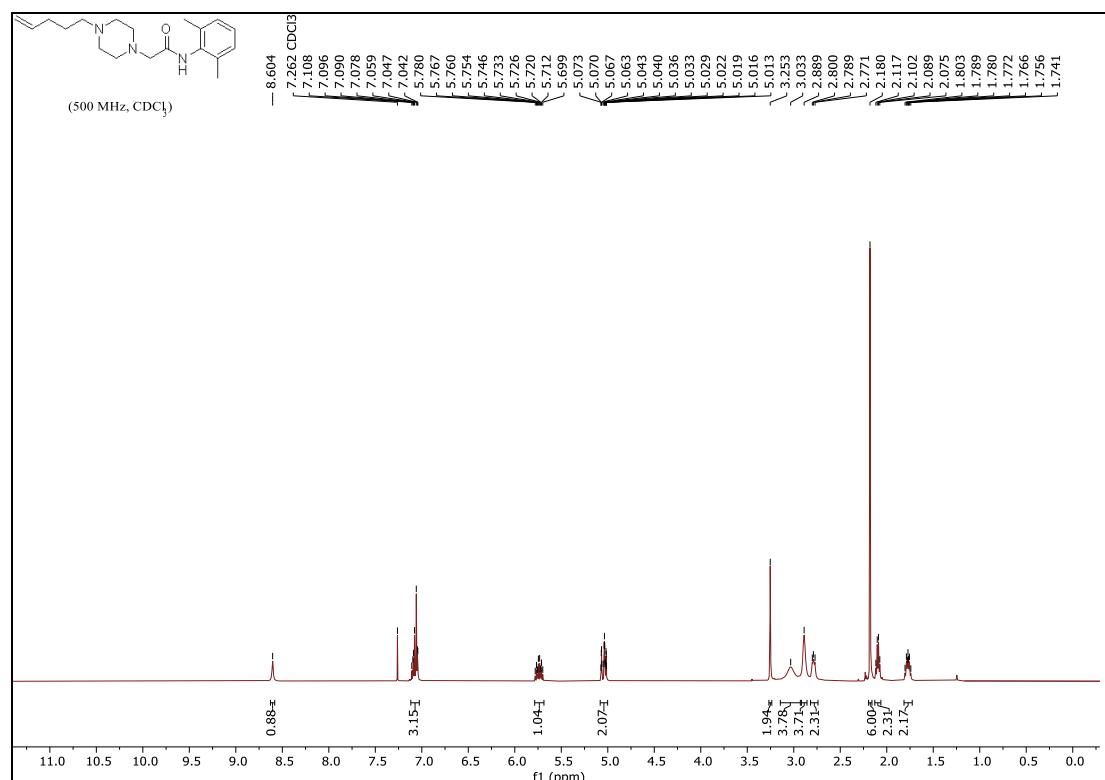
***N*-(2,6-dimethylphenyl)-2-(4-(2-hydroxy-3-(2-methoxyphenoxy)propyl)piperazin-1-yl)acetamide (10)³⁴**



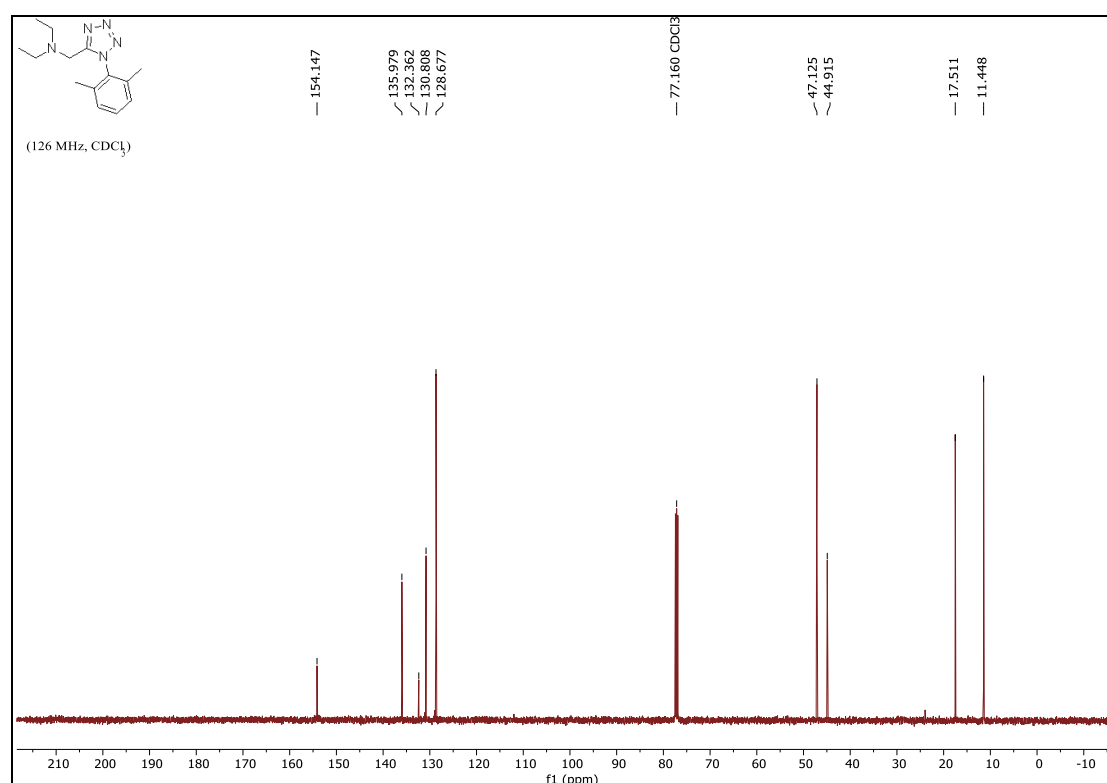
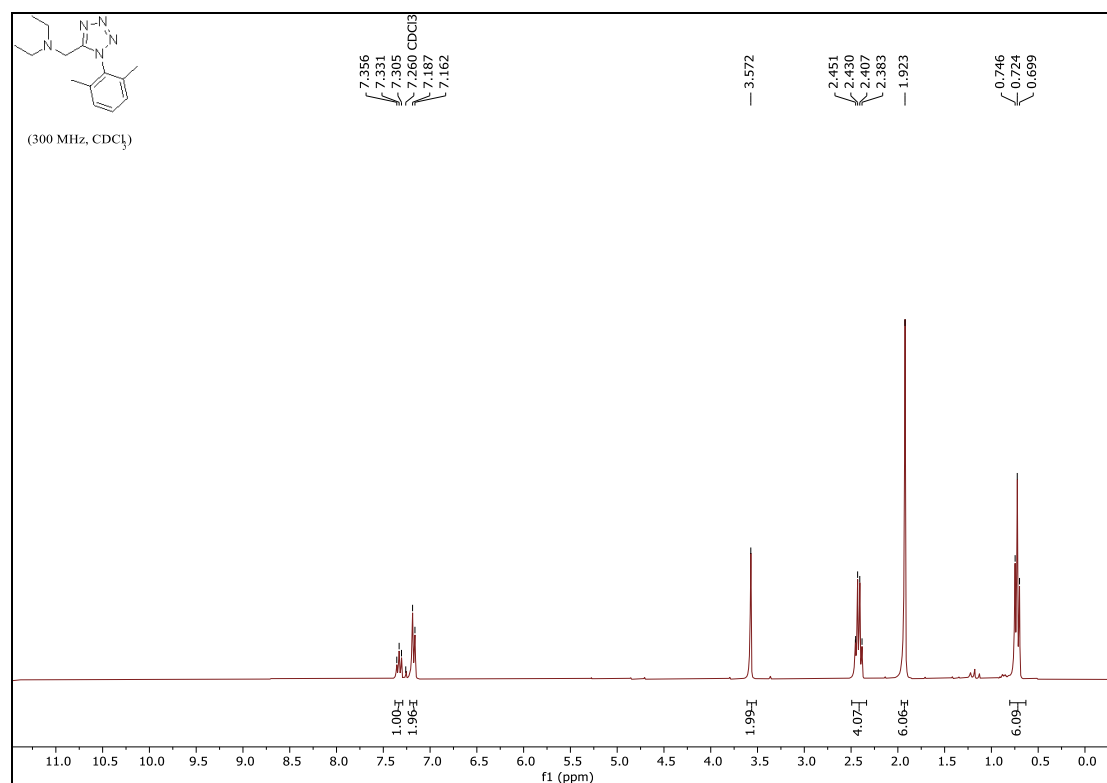
N-(2,6-dimethylphenyl)-2-(4-(3-phenylpropanoyl)piperazin-1-yl)acetamide (11)



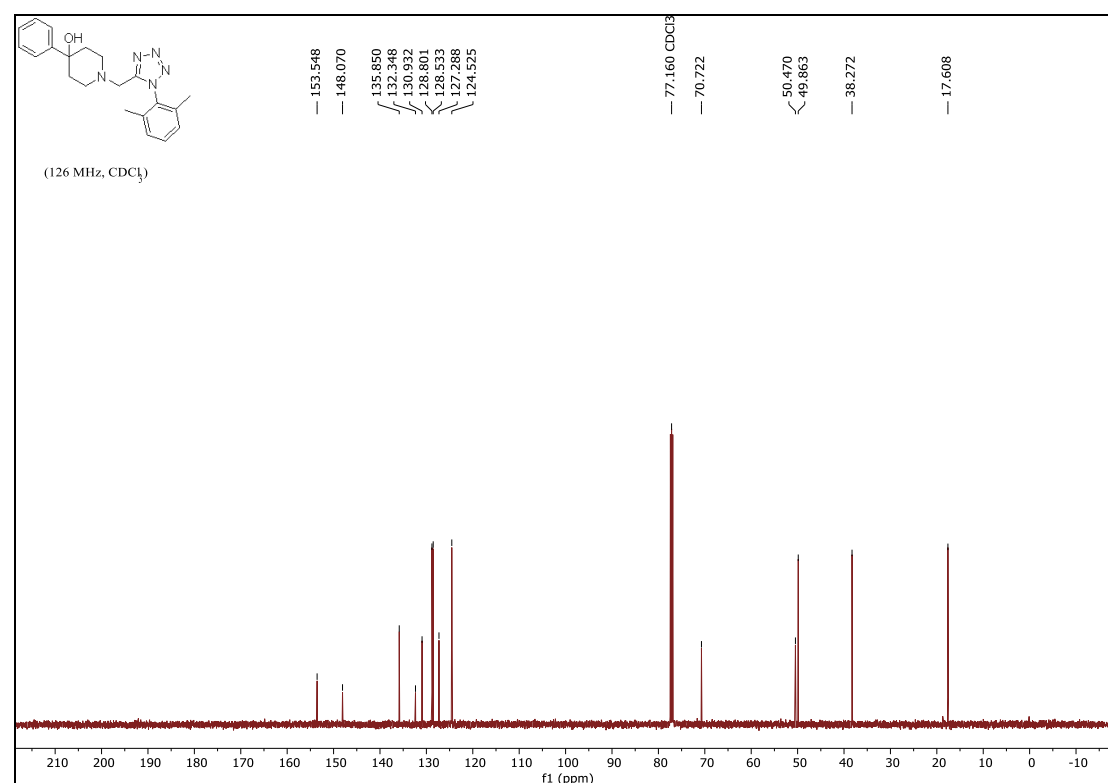
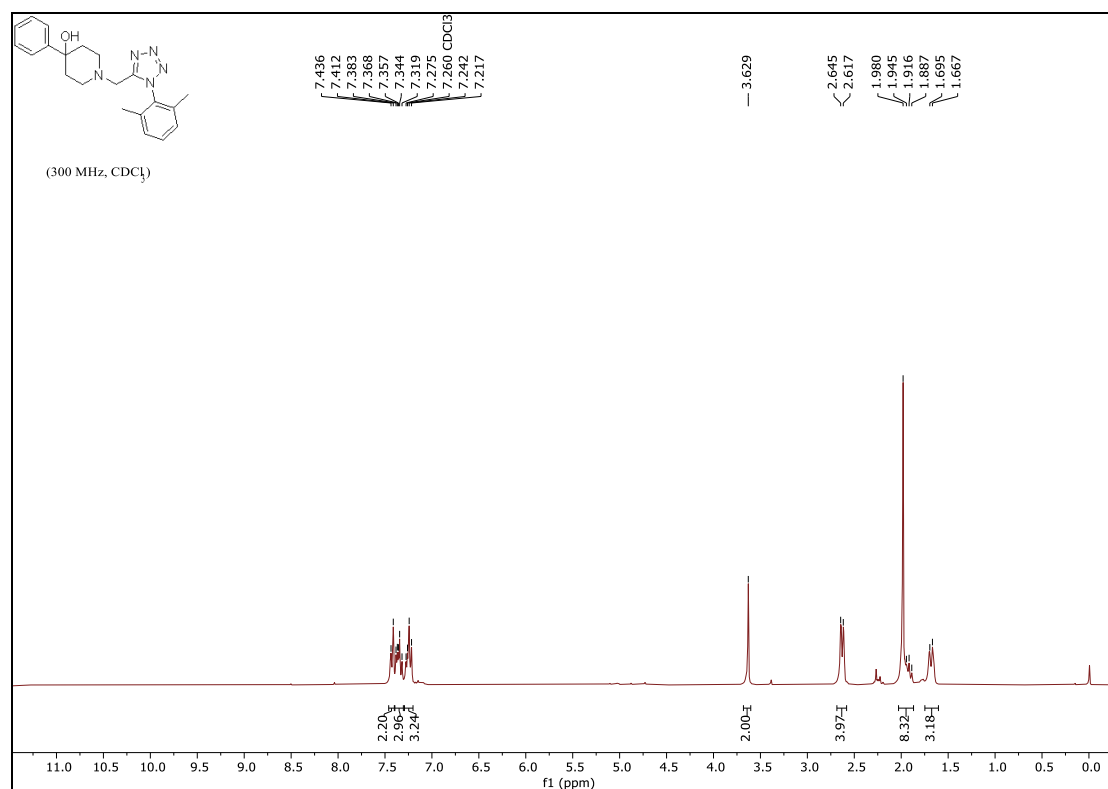
***N*-(2,6-dimethylphenyl)-2-(4-(pent-4-en-1-yl)piperazin-1-yl)acetamide (12)**



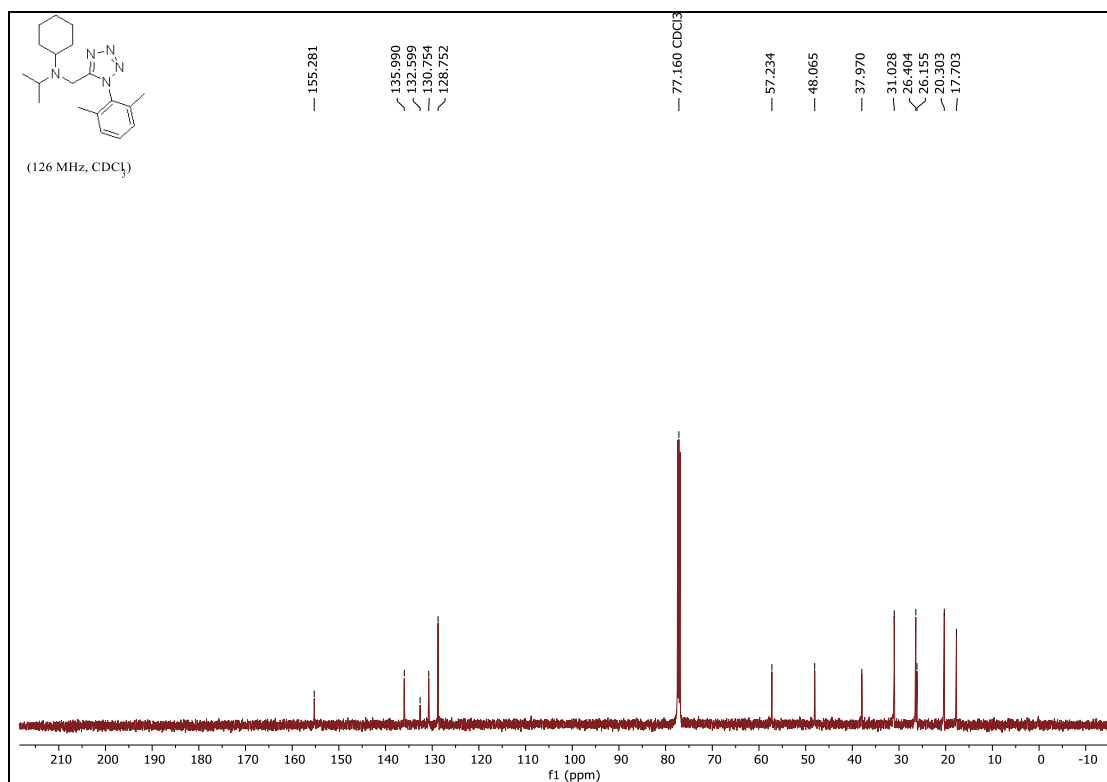
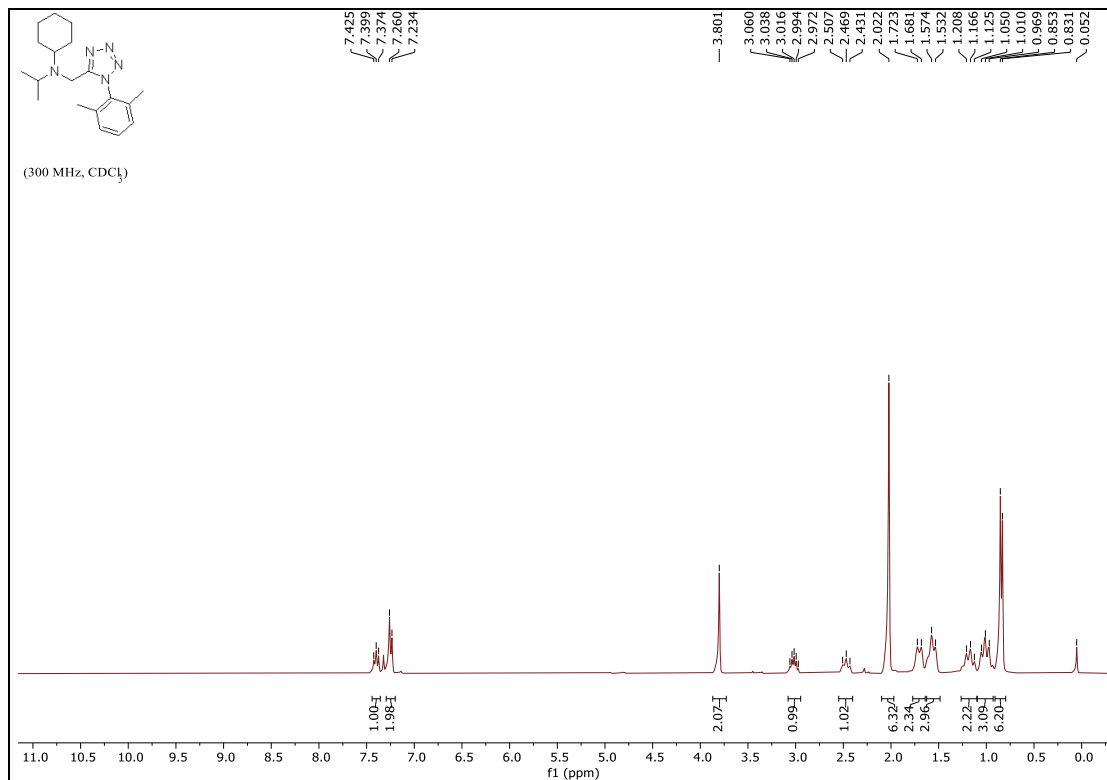
N-((1-(2,6-dimethylphenyl)-1*H*-tetrazol-5-yl)methyl)-*N*-ethylethanamine (15a)



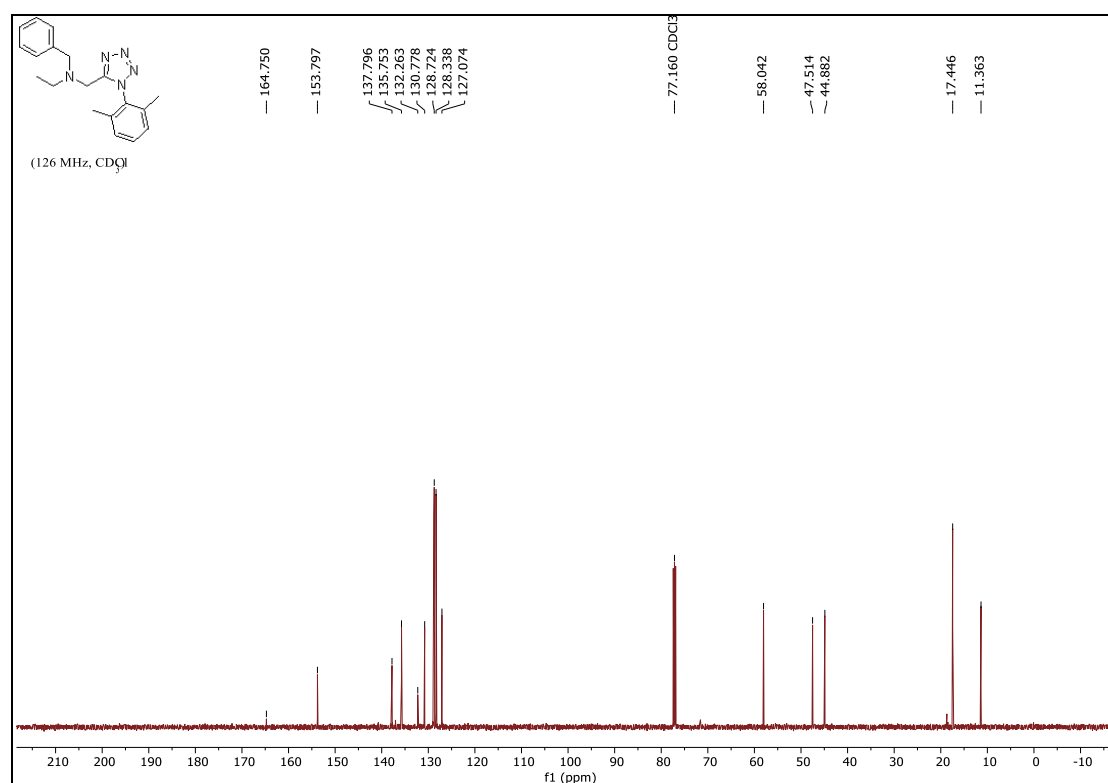
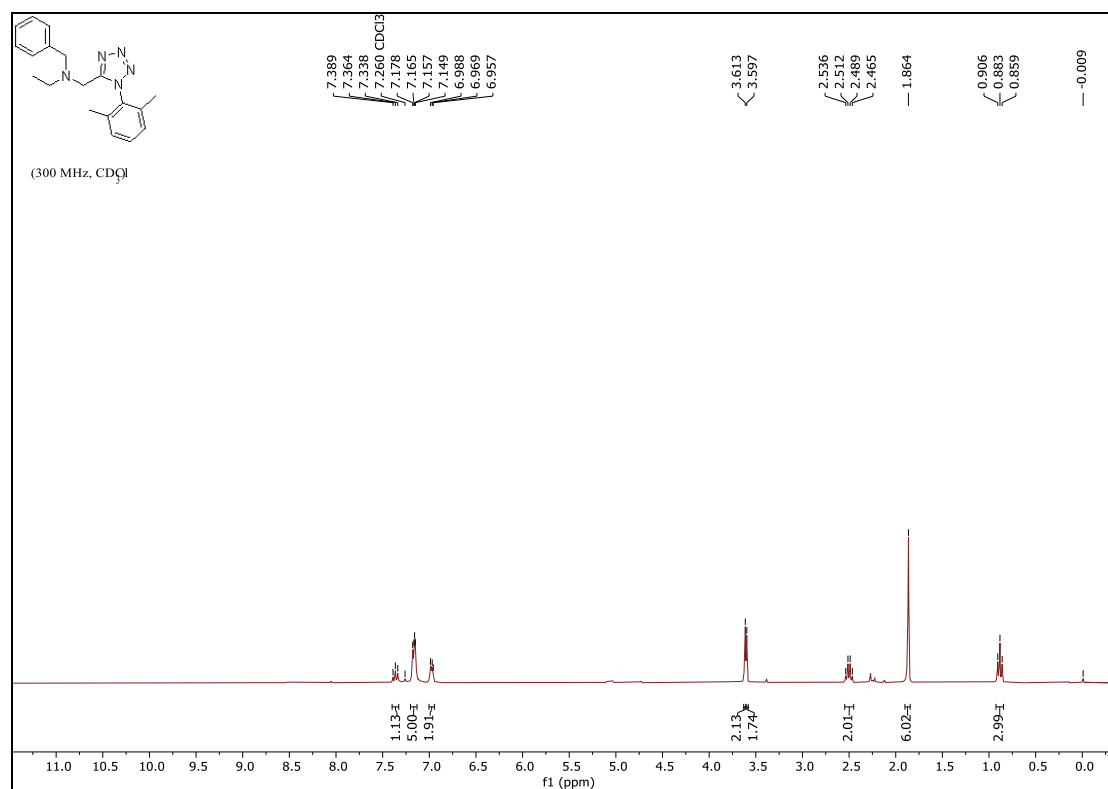
1-((1-(2,6-dimethylphenyl)-1H-tetrazol-5-yl)methyl)-4-phenylpiperidin-4-ol (15b)



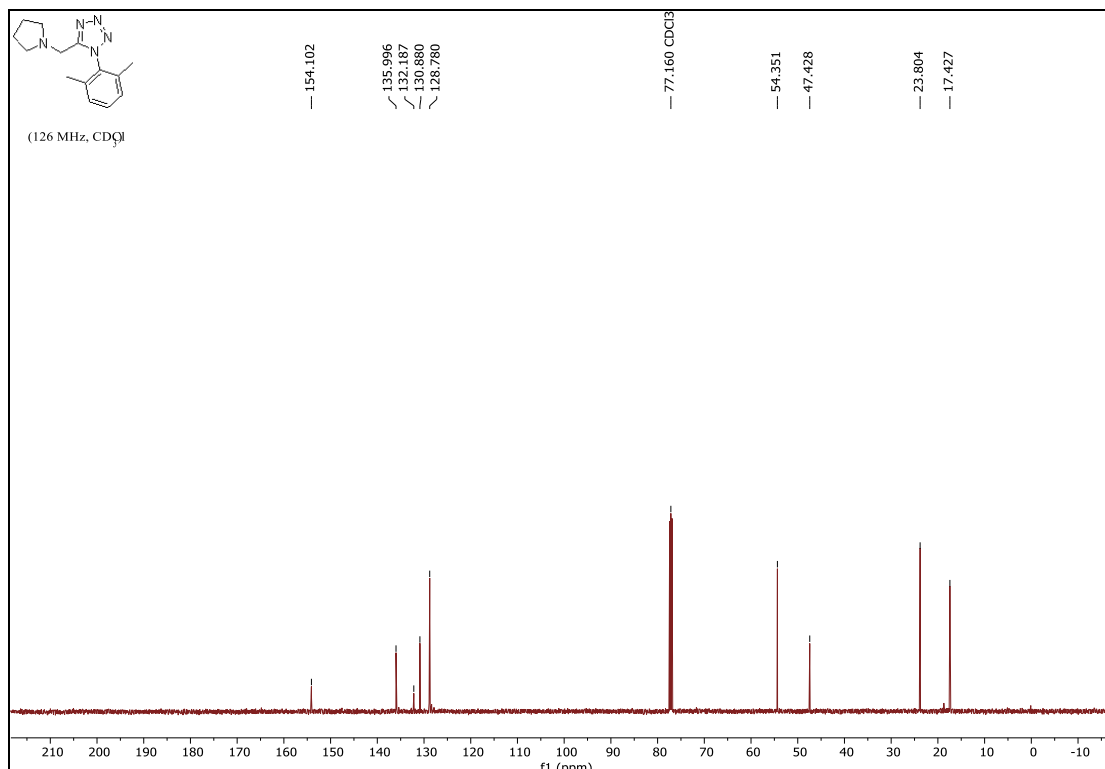
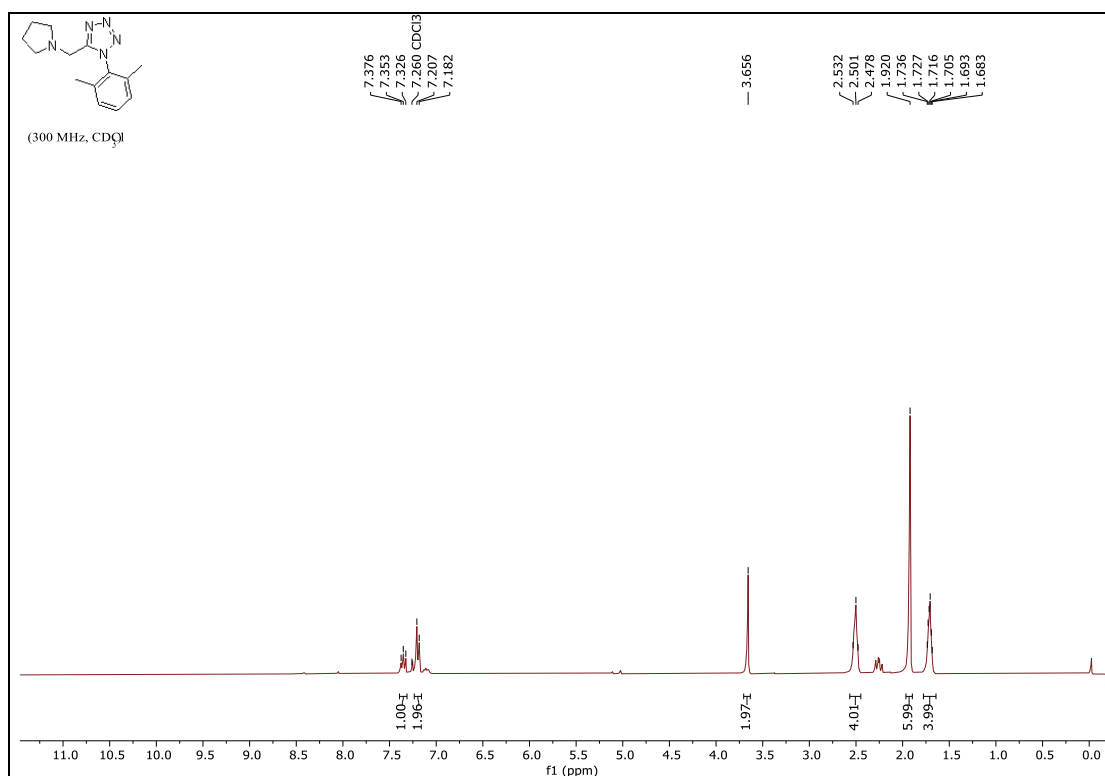
***N*-((1-(2,6-dimethylphenyl)-1*H*-tetrazol-5-yl)methyl)-*N*-isopropylcyclohexanamine (15c)**



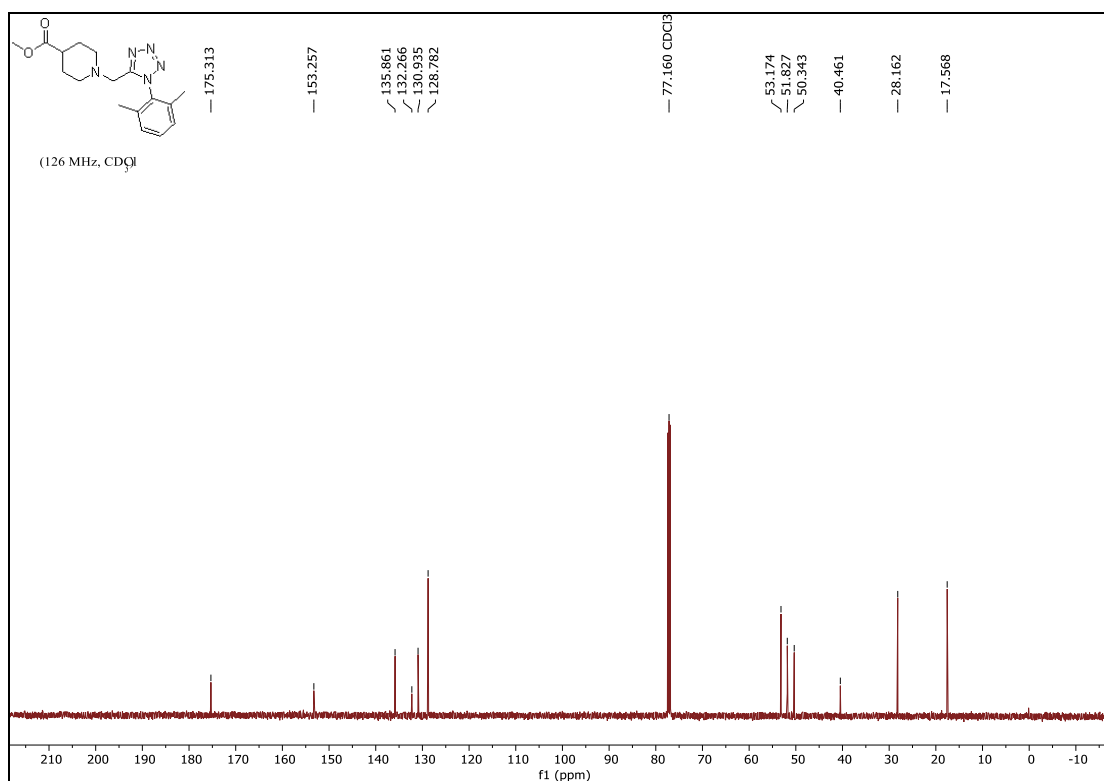
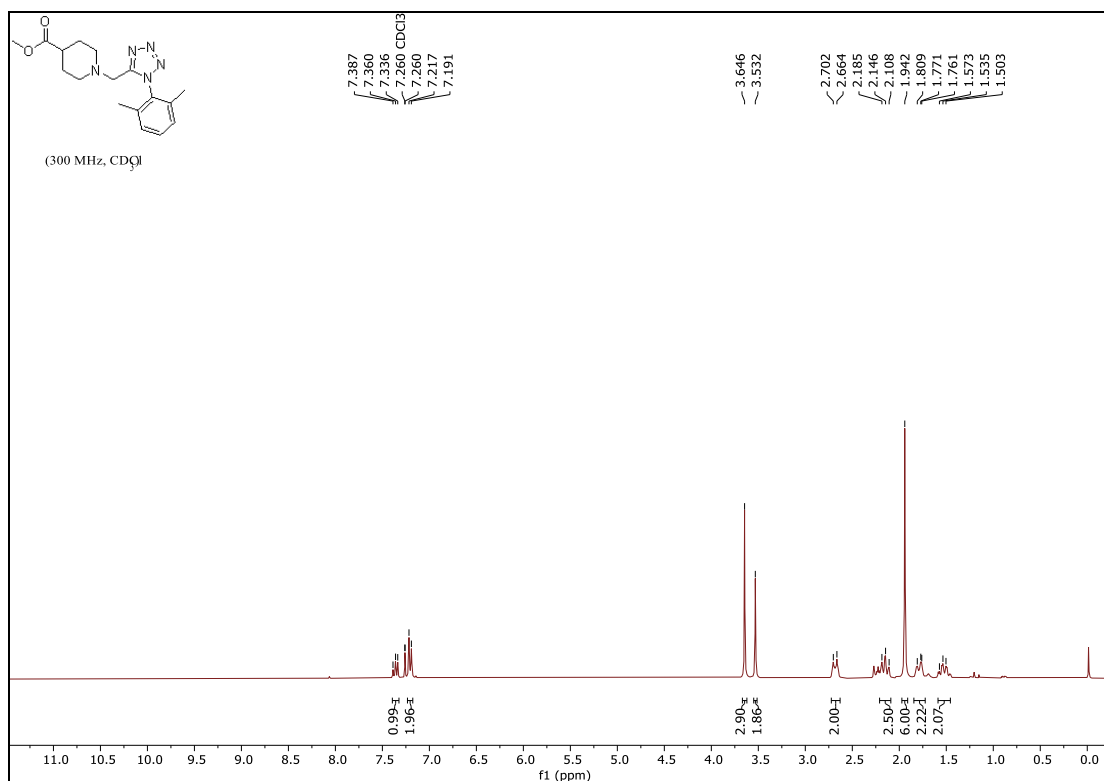
***N*-benzyl-*N*-((1-(2,6-dimethylphenyl)-1*H*-tetrazol-5-yl)methyl)ethanamine (15d)**



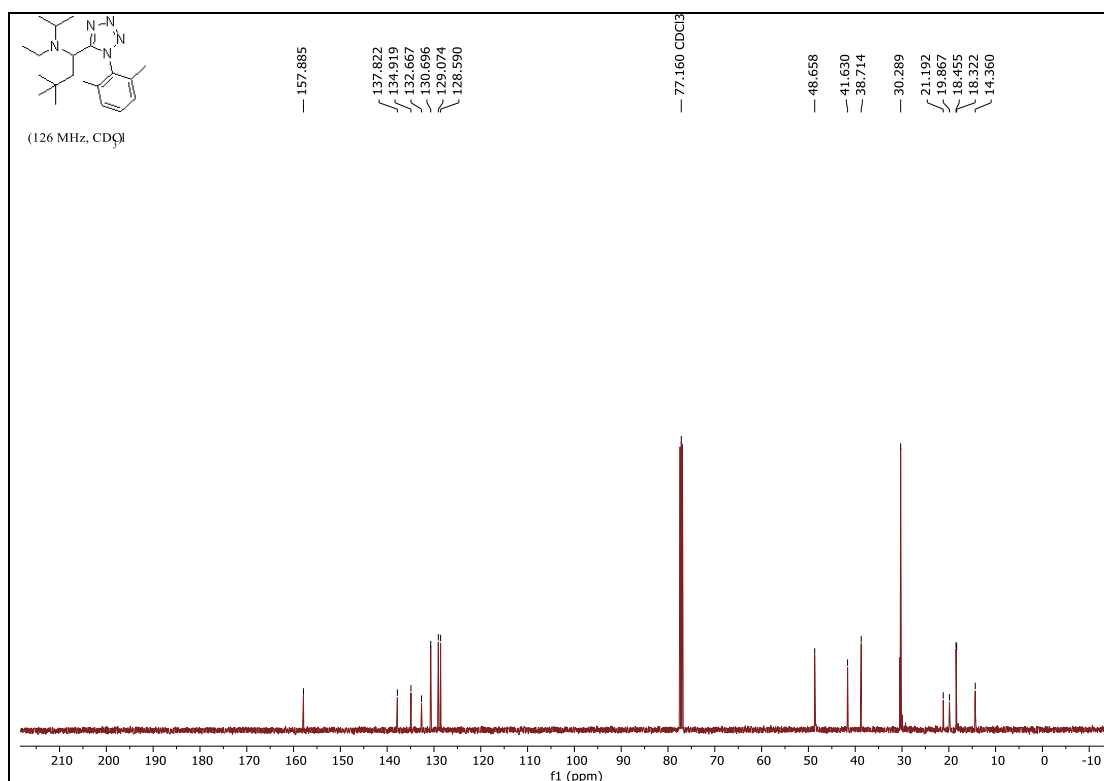
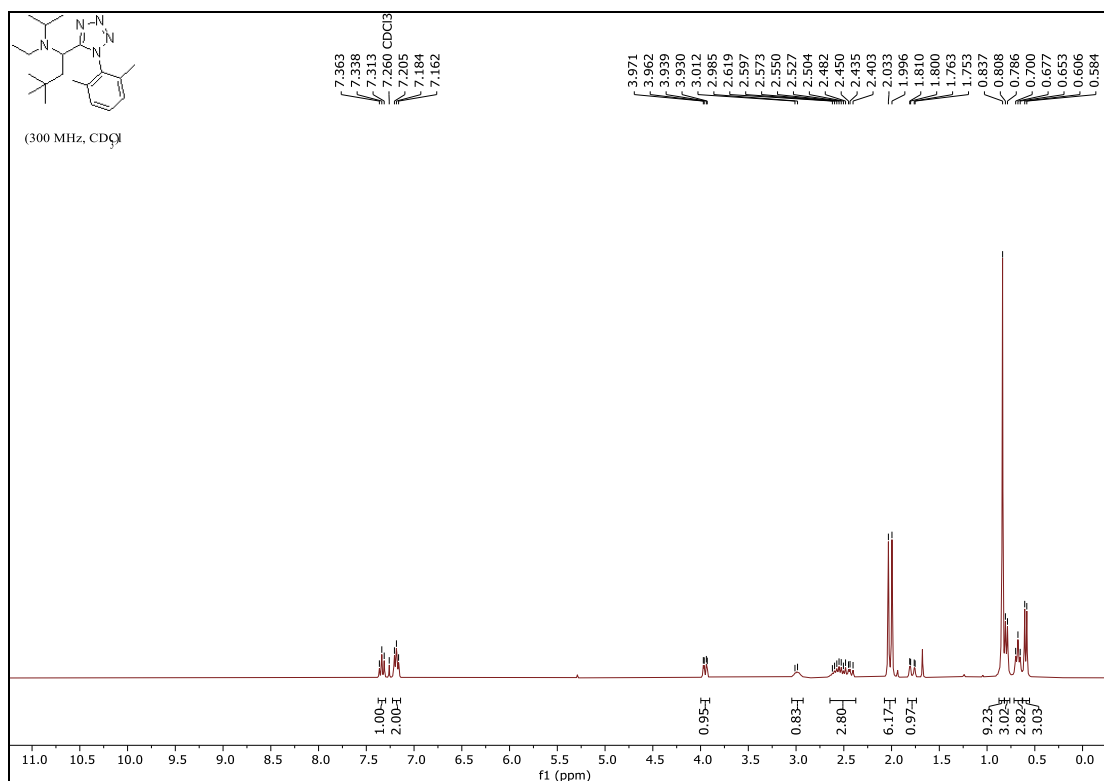
1-(2,6-dimethylphenyl)-5-(pyrrolidin-1-ylmethyl)-1H-tetrazole (15e)



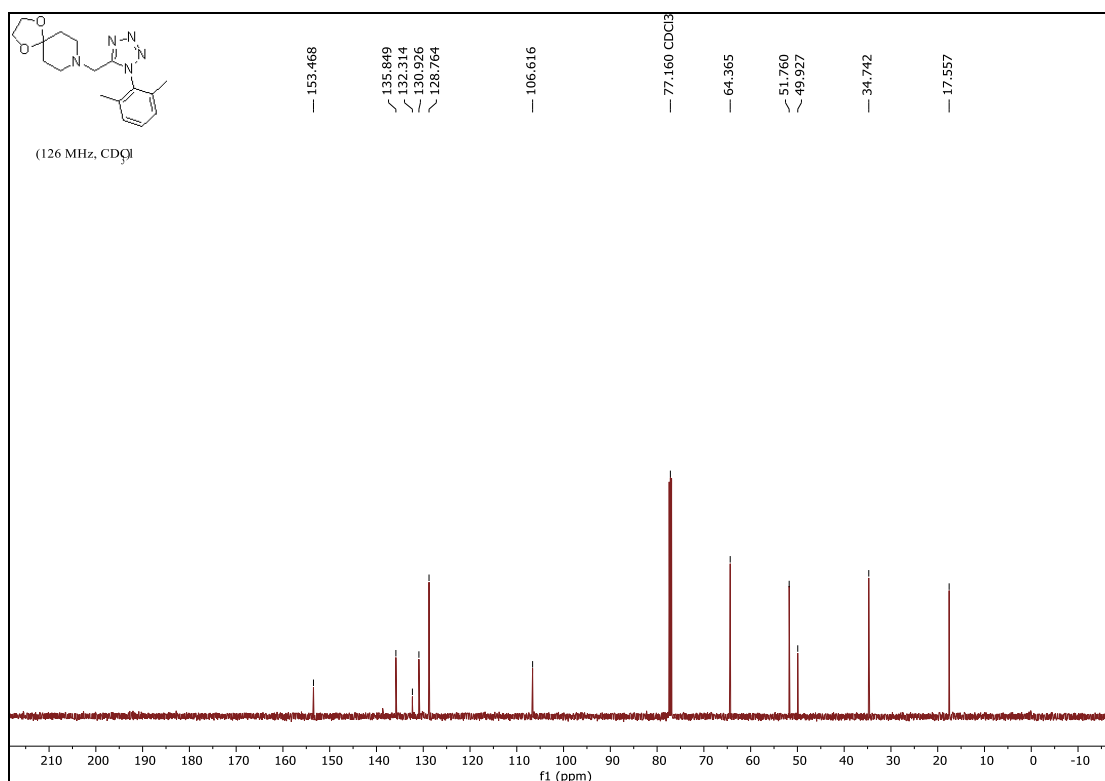
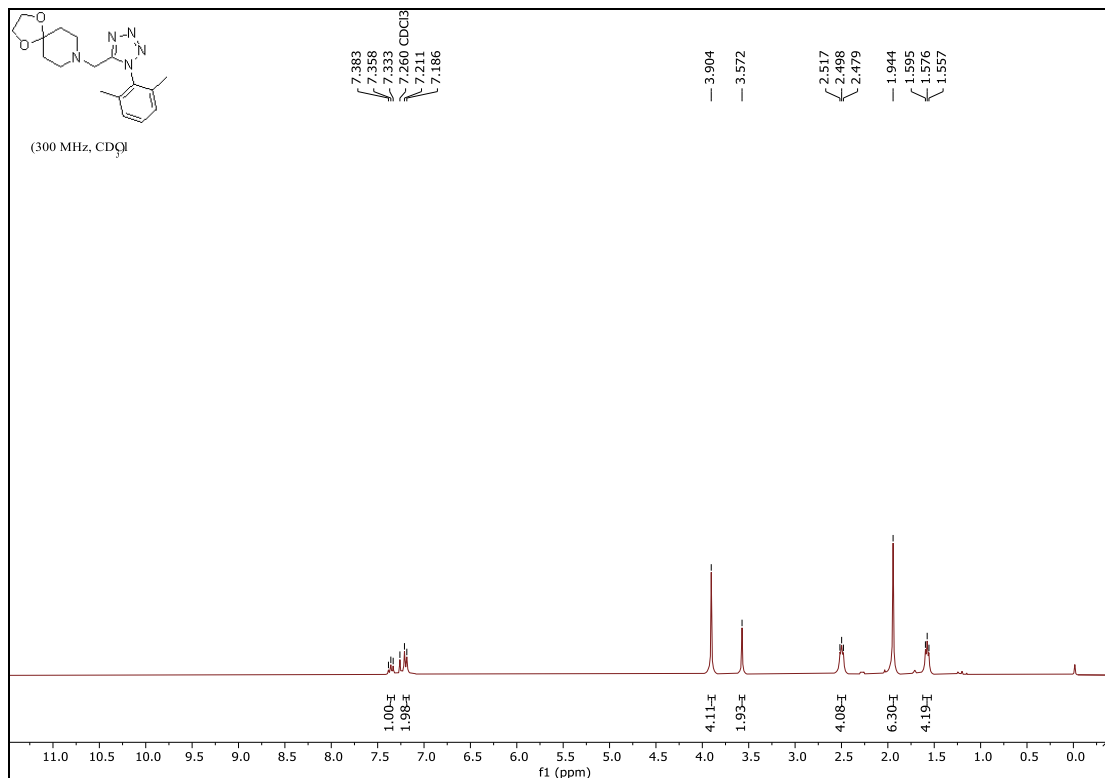
methyl 1-((1-(2,6-dimethylphenyl)-1H-tetrazol-5-yl)methyl)piperidine-4-carboxylate (15f)



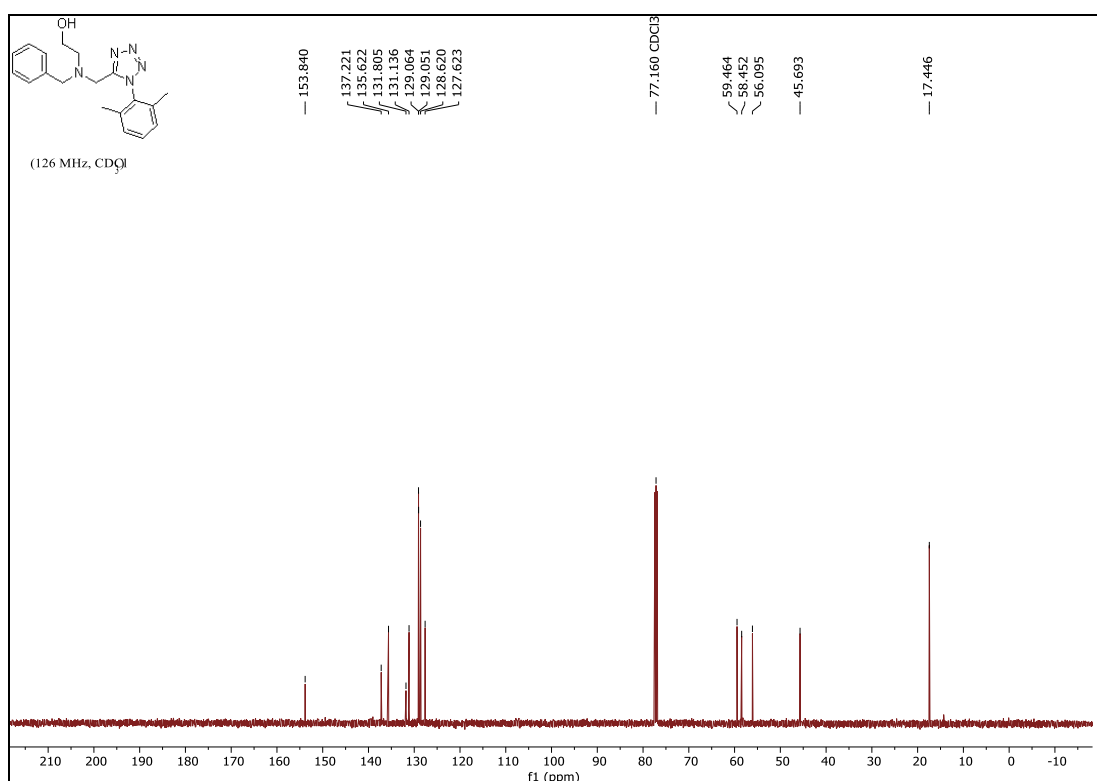
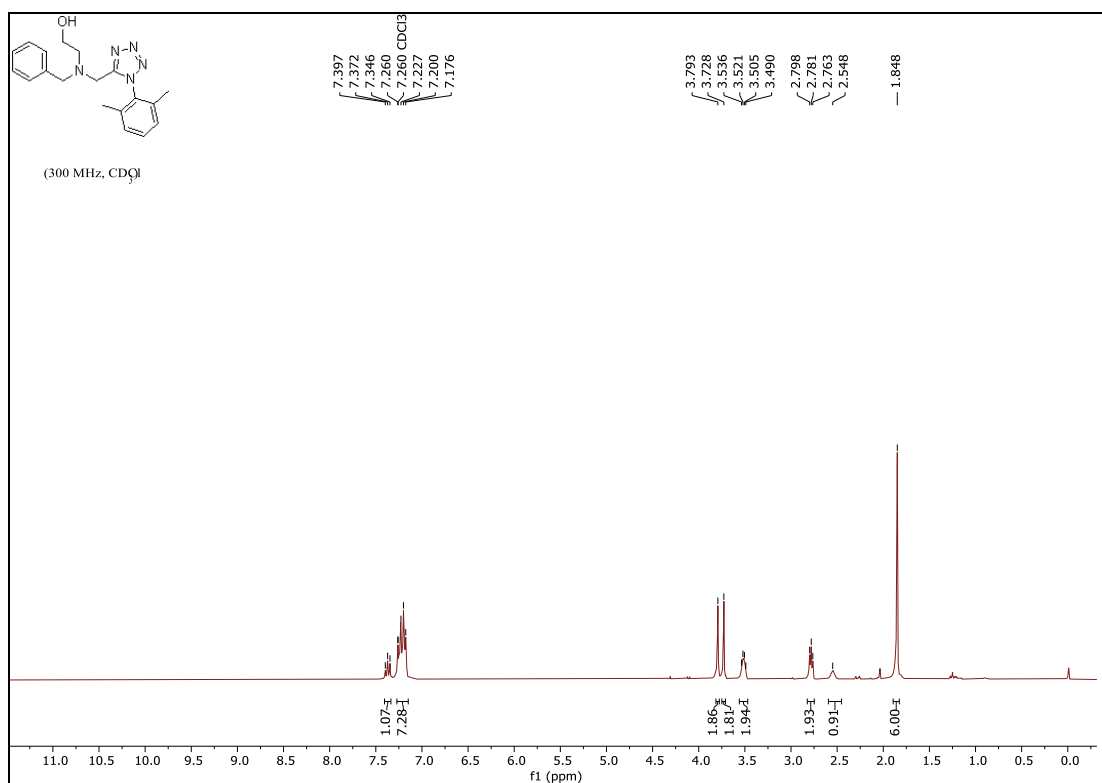
1-(1-(2,6-dimethylphenyl)-1H-tetrazol-5-yl)-N-ethyl-N-isopropyl-3,3-dimethylbutan-1-amine (15g)



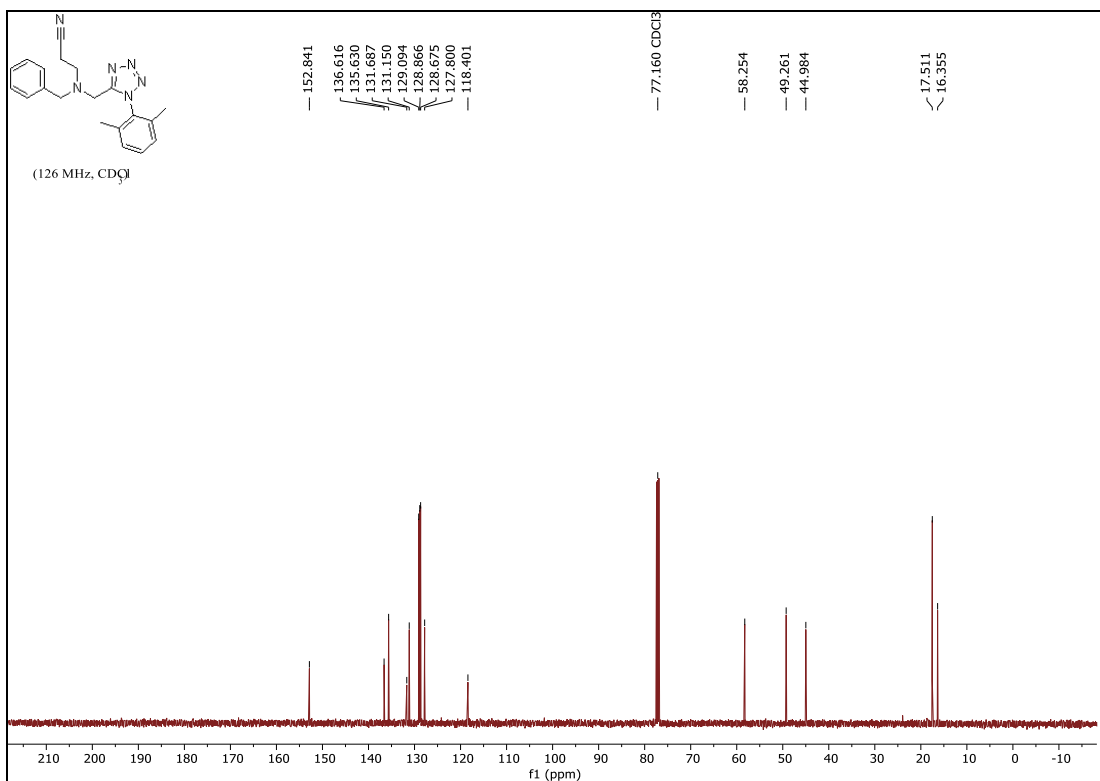
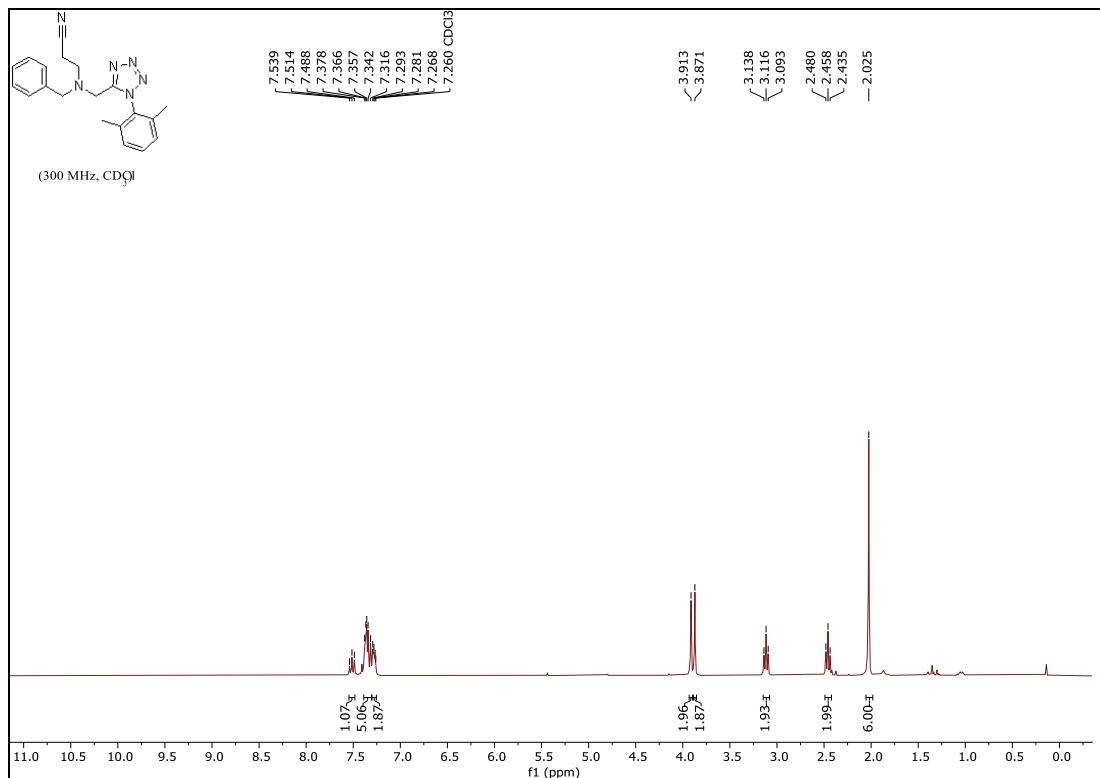
8-((1-(2,6-dimethylphenyl)-1H-tetrazol-5-yl)methyl)-1,4-dioxo-8-azaspiro[4.5]decane (15h)



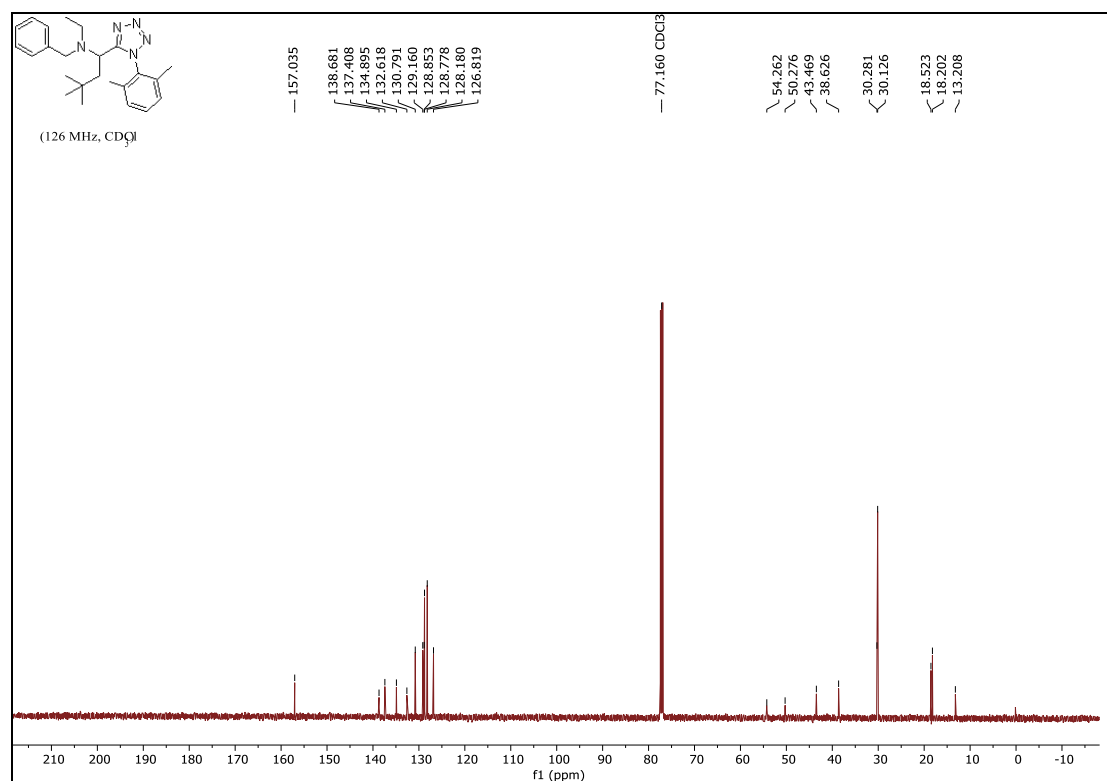
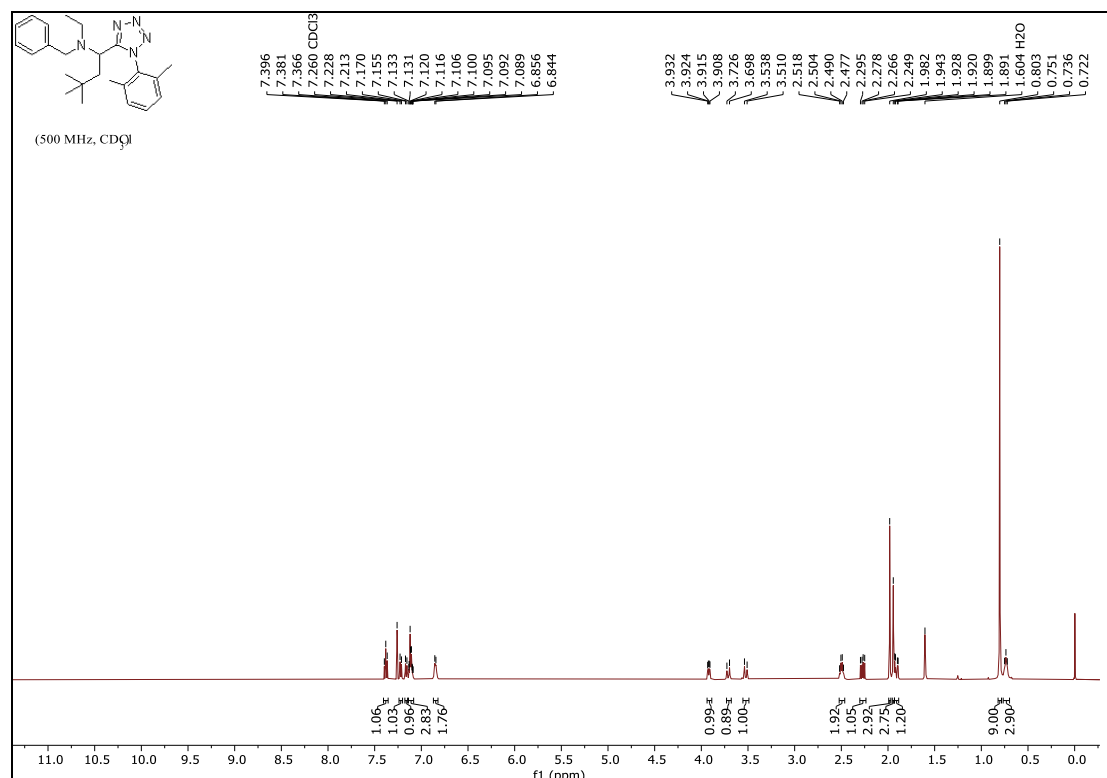
2-(benzyl((1-(2,6-dimethylphenyl)-1H-tetrazol-5-yl)methyl)amino)ethanol (15i)



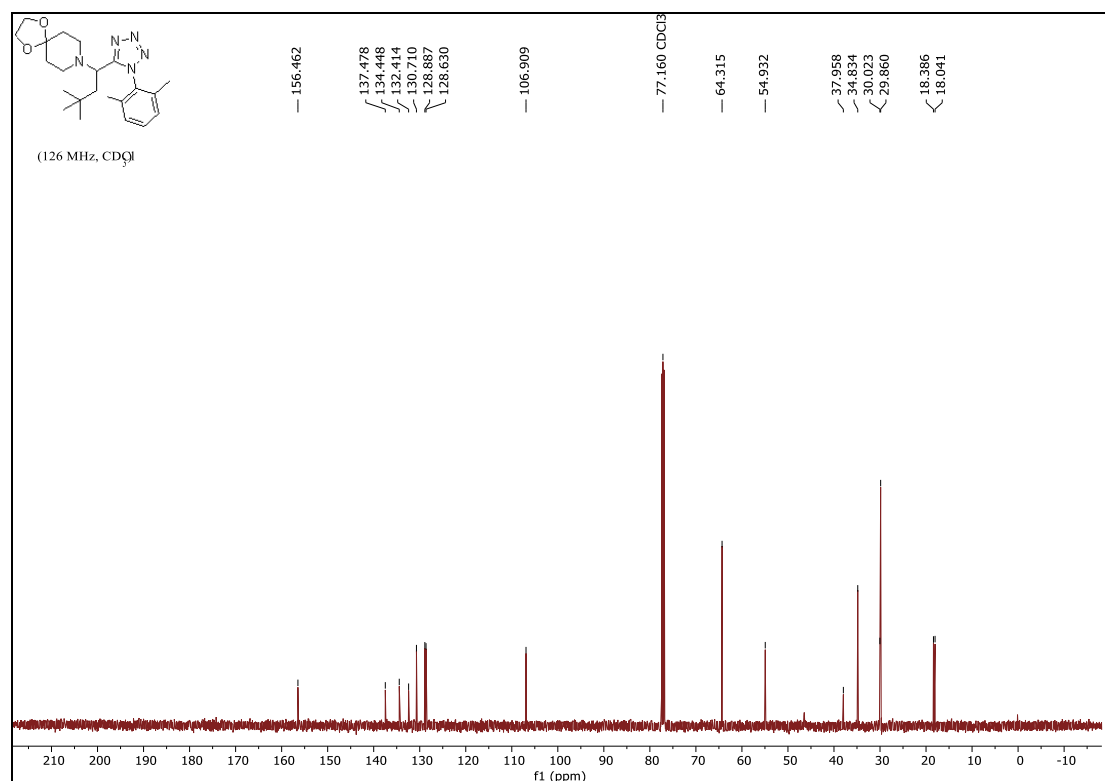
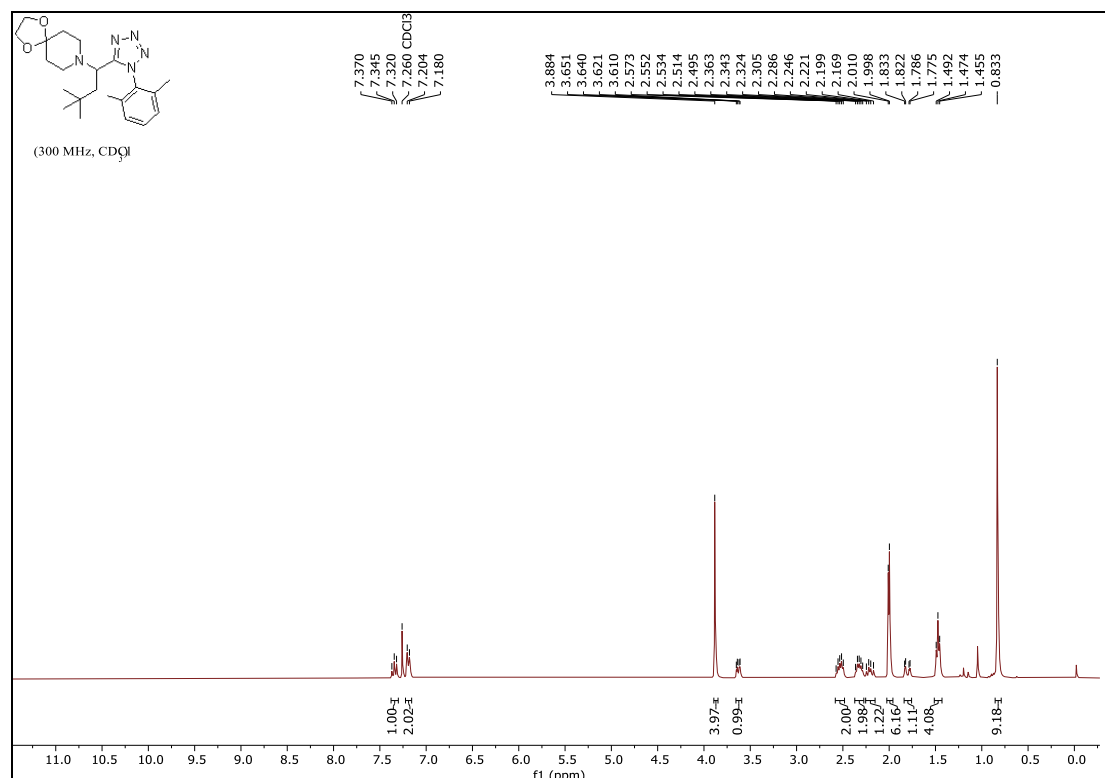
3-(benzyl((1-(2,6-dimethylphenyl)-1H-tetrazol-5-yl)methyl)amino)propanenitrile (15)



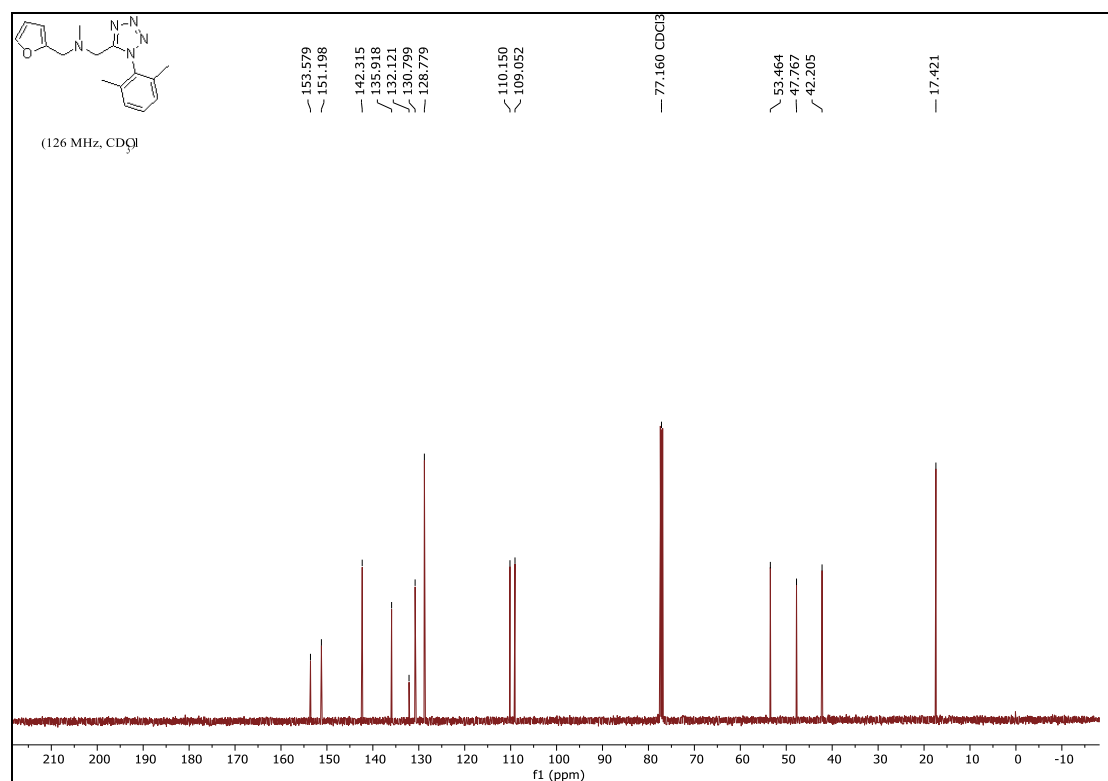
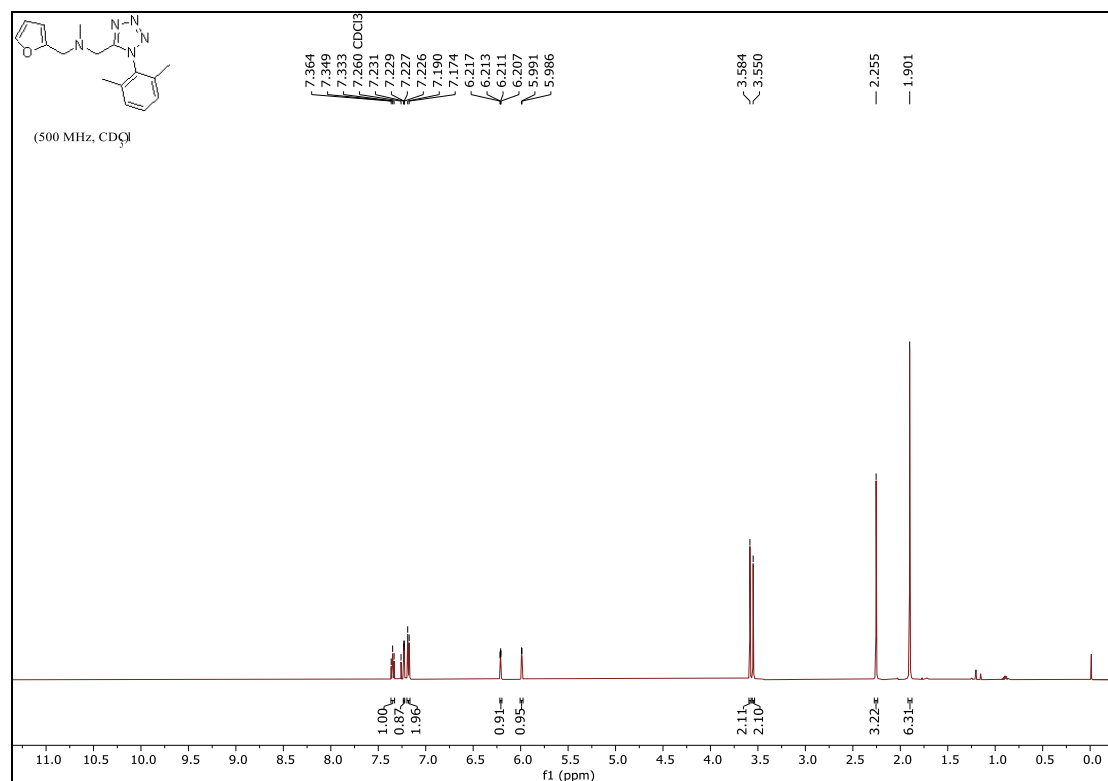
***N*-benzyl-1-(1-(2,6-dimethylphenyl)-1*H*-tetrazol-5-yl)-*N*-ethyl-3,3-dimethylbutan-1-amine (15k)**



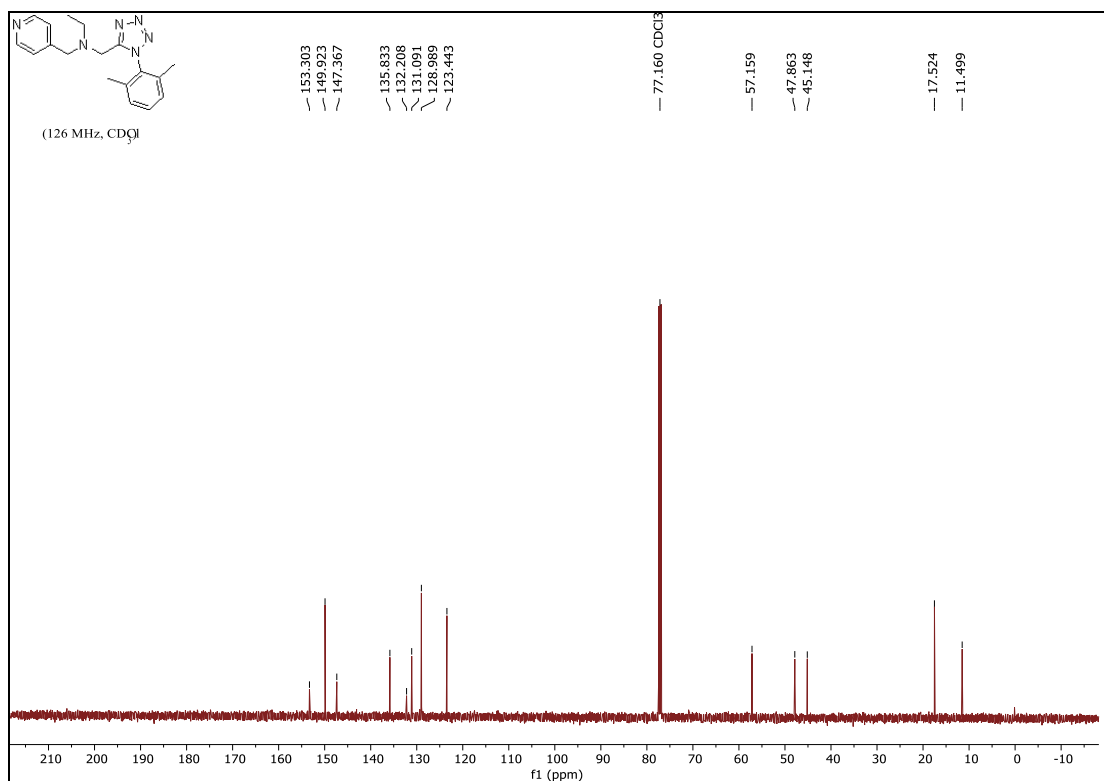
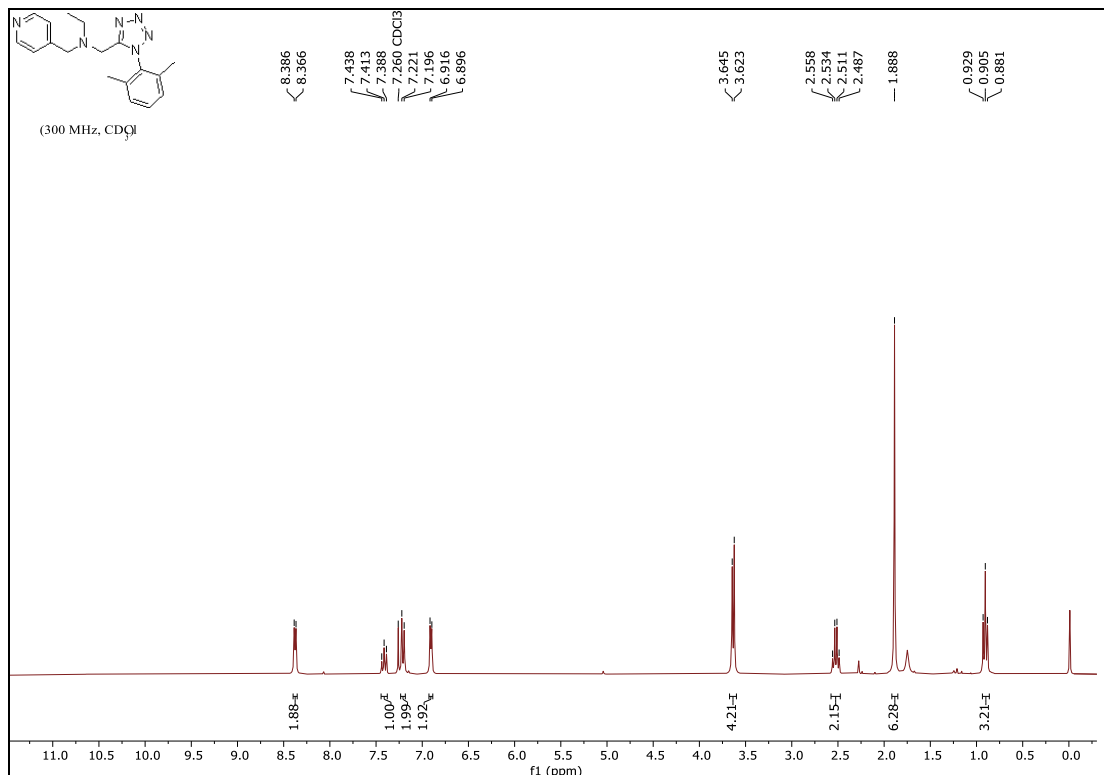
8-(1-(1-(2,6-dimethylphenyl)-1H-tetrazol-5-yl)-3,3-dimethylbutyl)-1,4-dioxo-8-azaspiro[4.5]decane (15l)



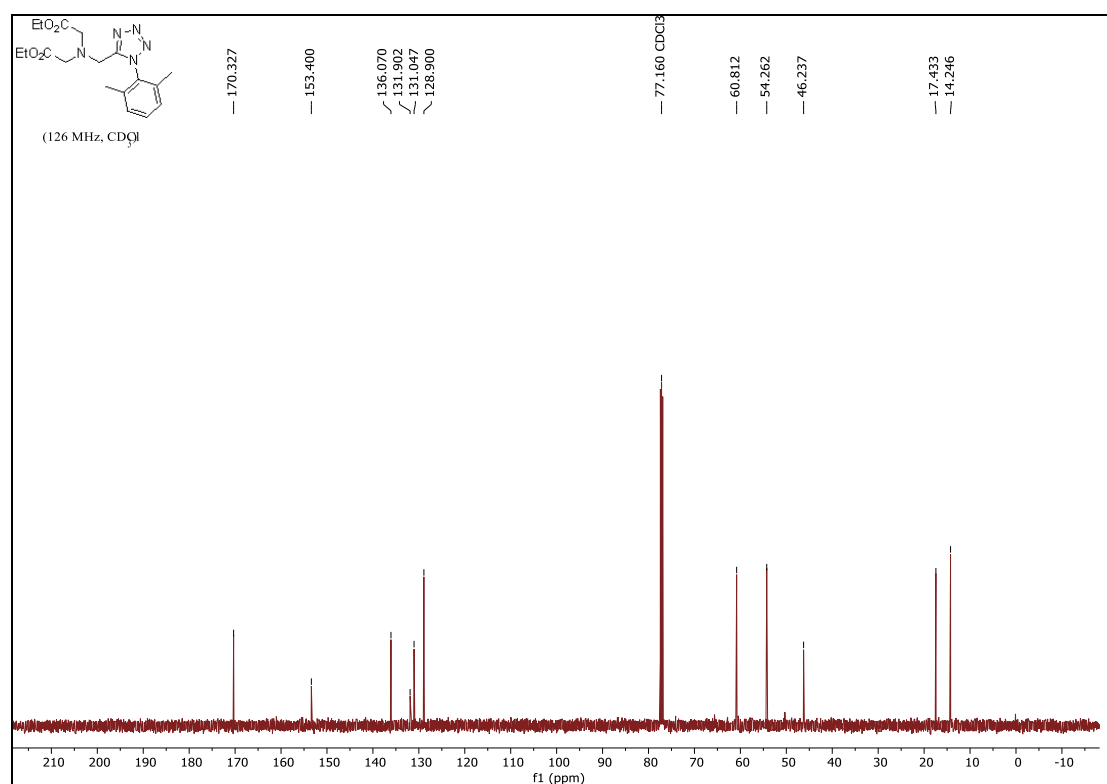
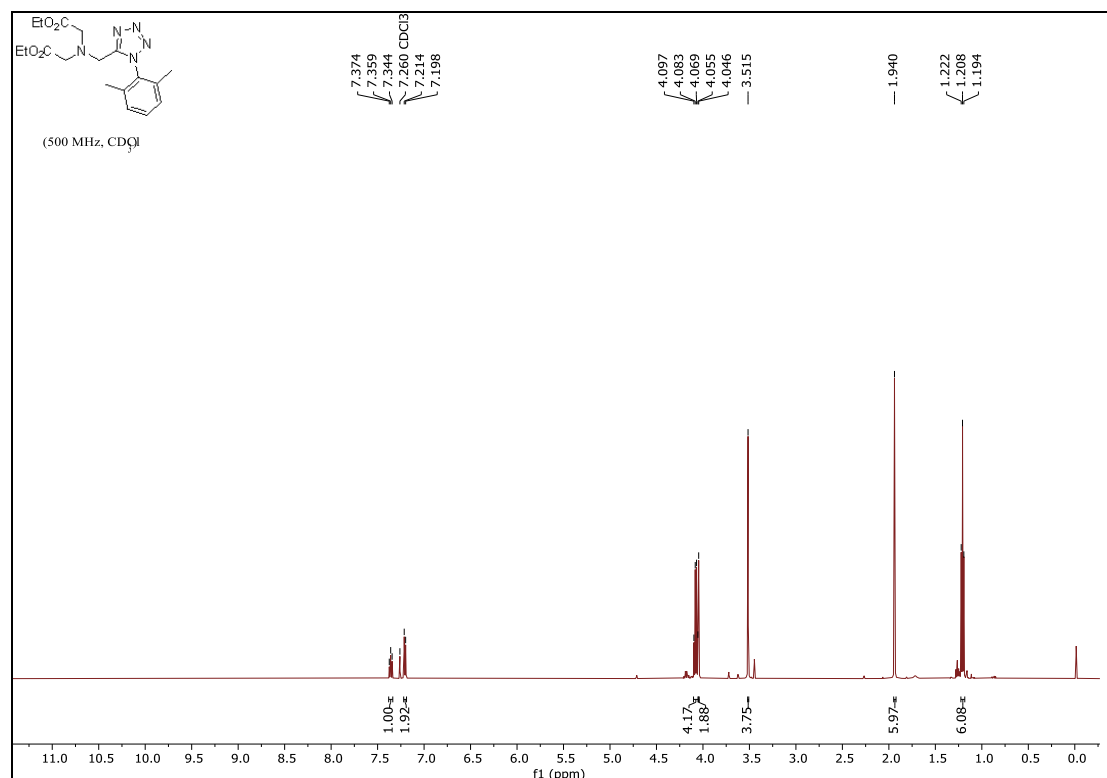
1-(1-(2,6-dimethylphenyl)-1H-tetrazol-5-yl)-N-(furan-2-ylmethyl)-N-methylmethanamine (15m)



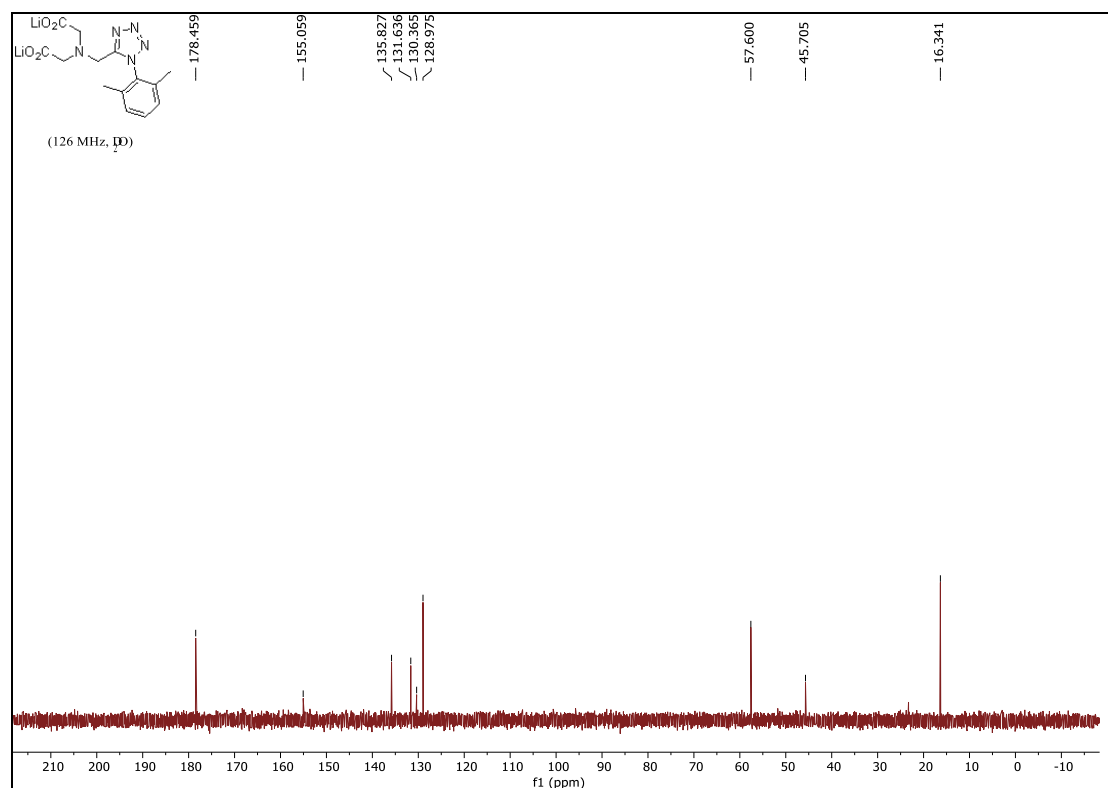
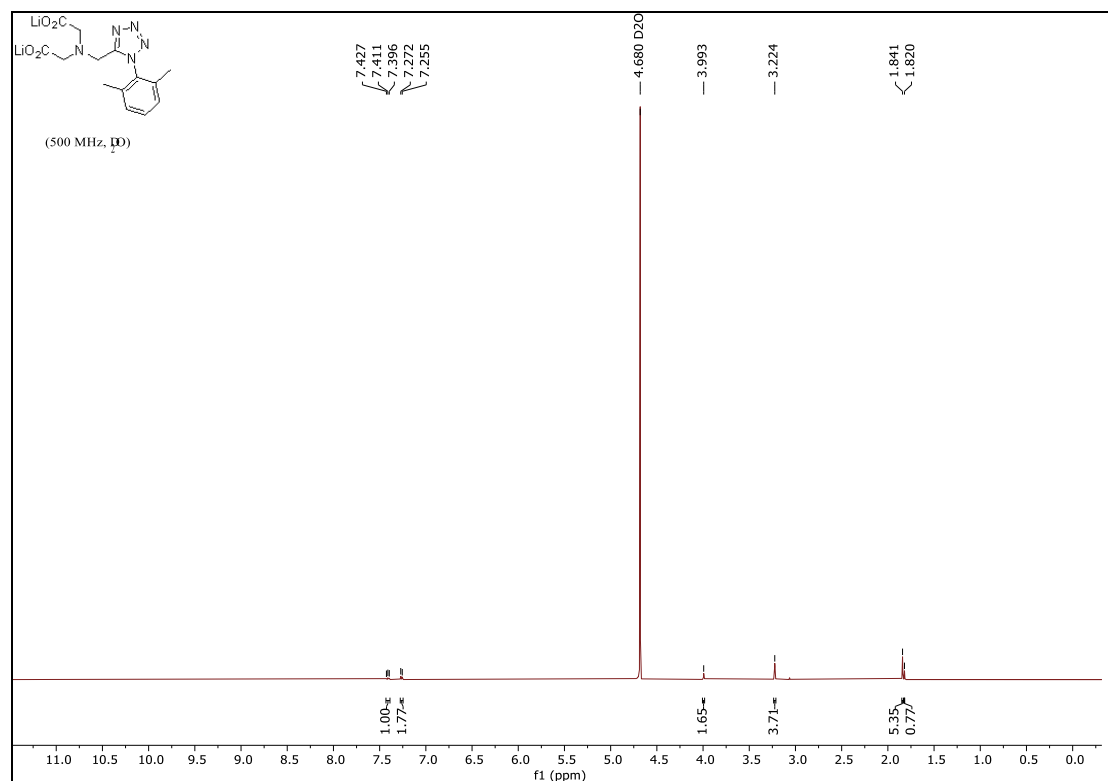
***N*-((1-(2,6-dimethylphenyl)-1*H*-tetrazol-5-yl)methyl)-*N*-(pyridin-4-ylmethyl)ethanamine (15n)**



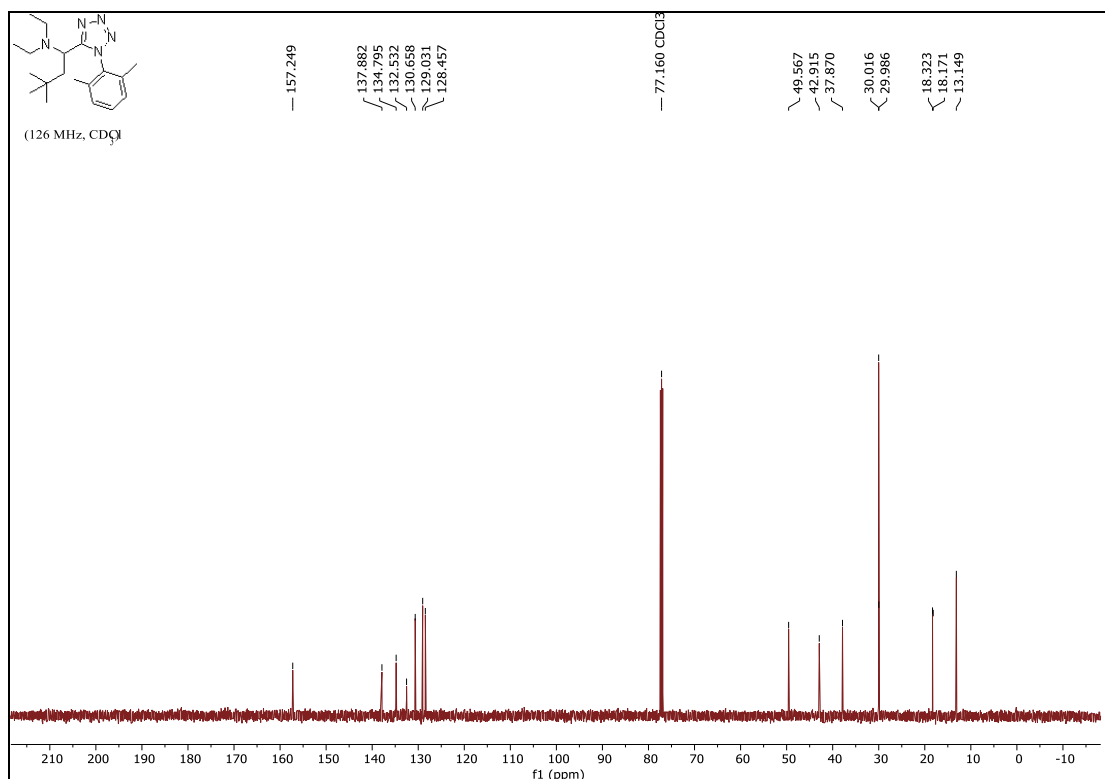
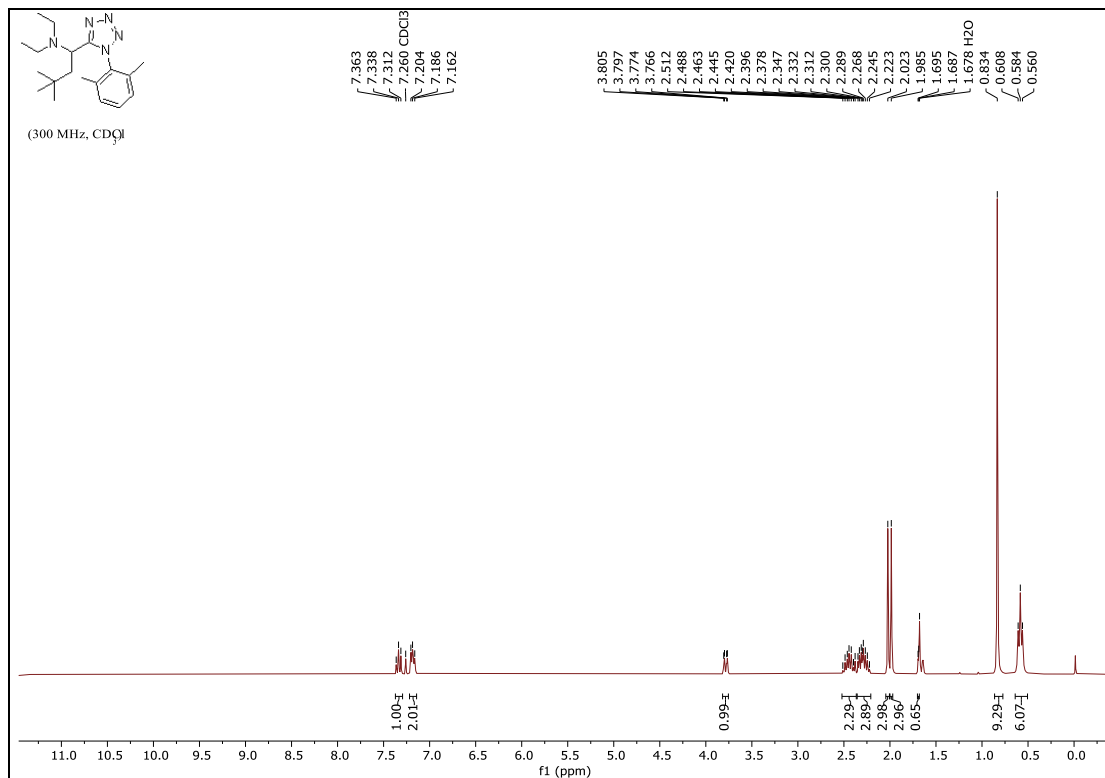
diethyl 2,2'-(((1-(2,6-dimethylphenyl)-1H-tetrazol-5-yl)methyl)azanediyl)diacetate
(15o)



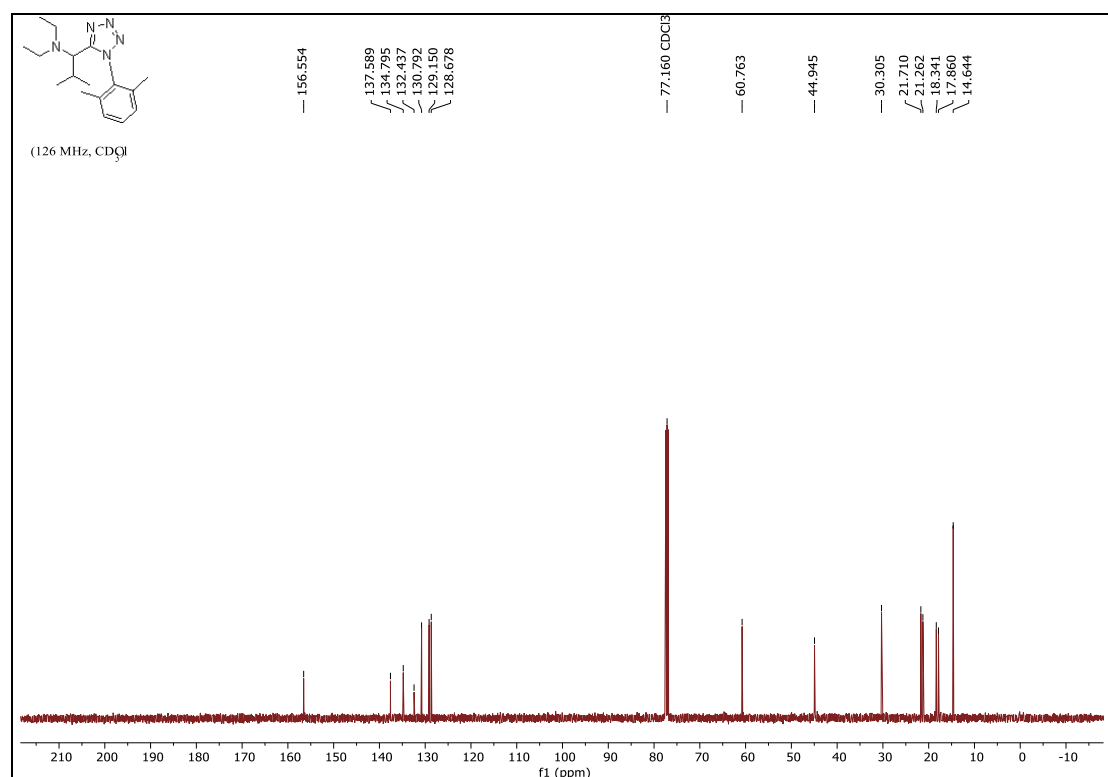
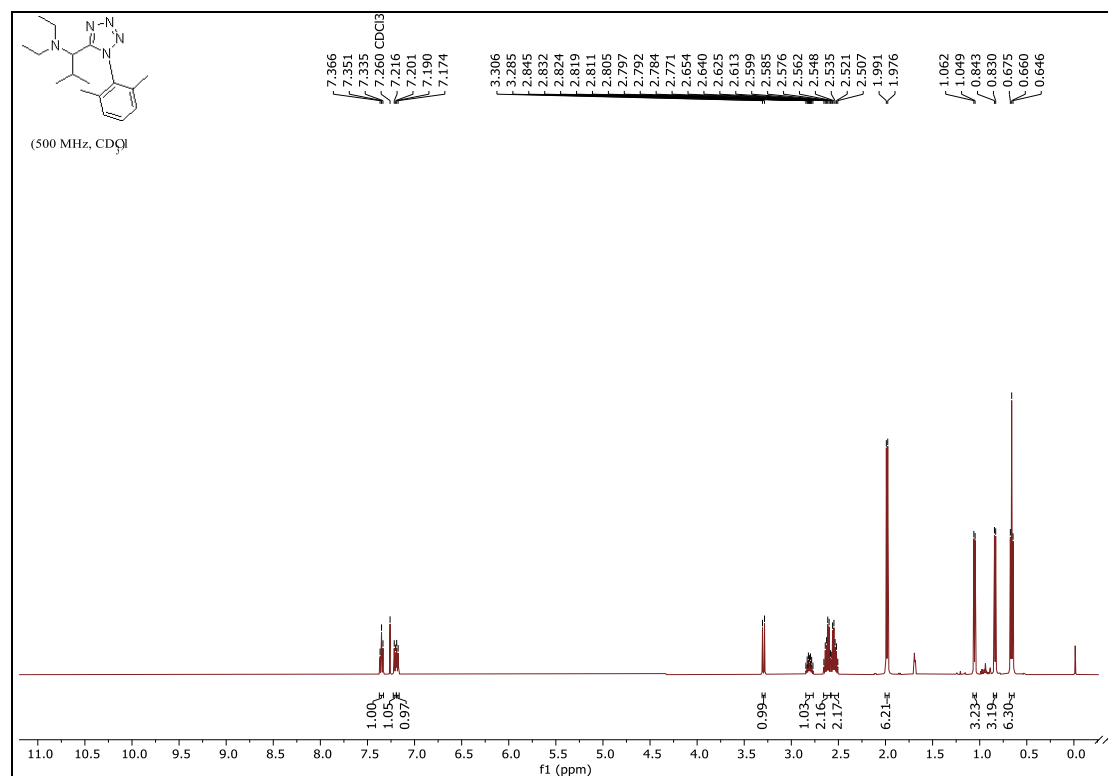
lithium 2,2'-(((1-(2,6-dimethylphenyl)-1H-tetrazol-5-yl)methyl)azanediyl)diacetate (15p)



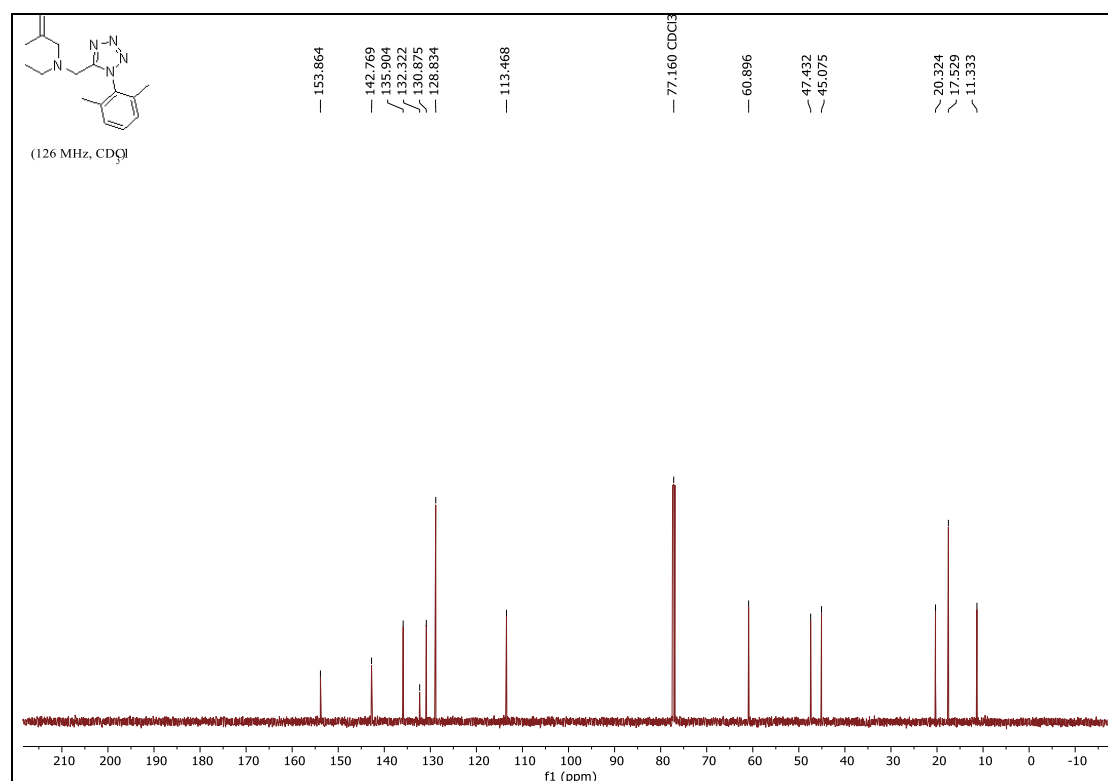
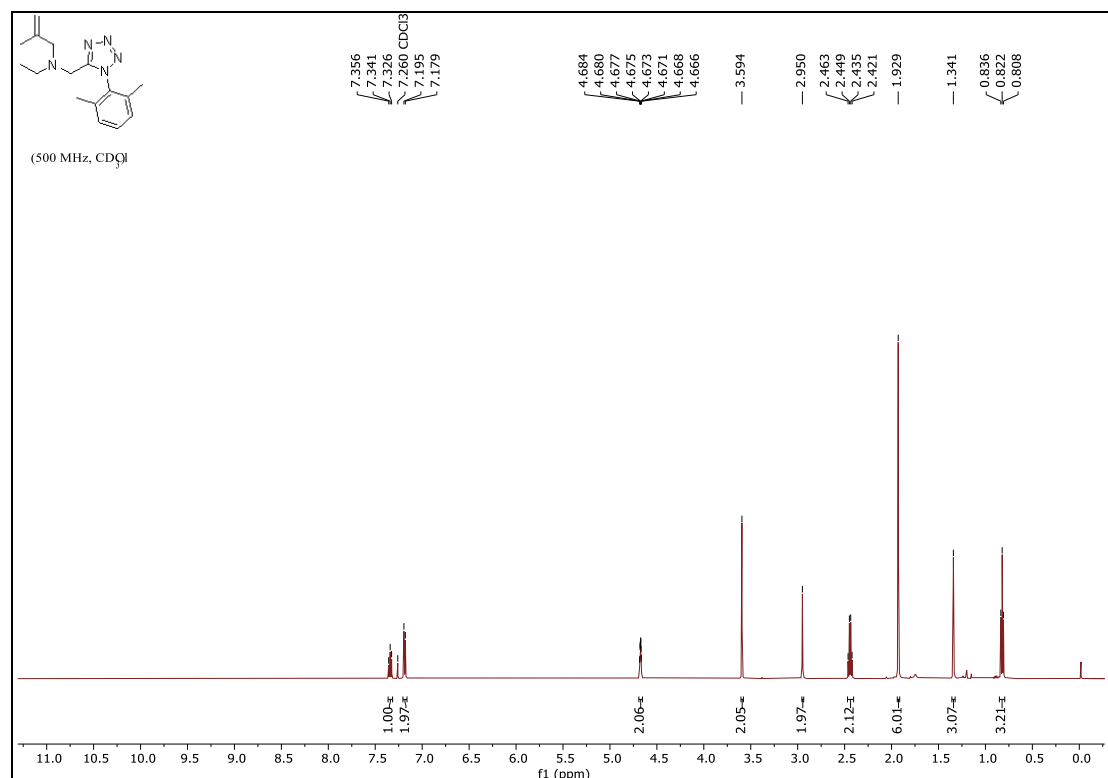
1-(1-(2,6-dimethylphenyl)-1H-tetrazol-5-yl)-N,N-diethyl-3,3-dimethylbutan-1-amine (15q)



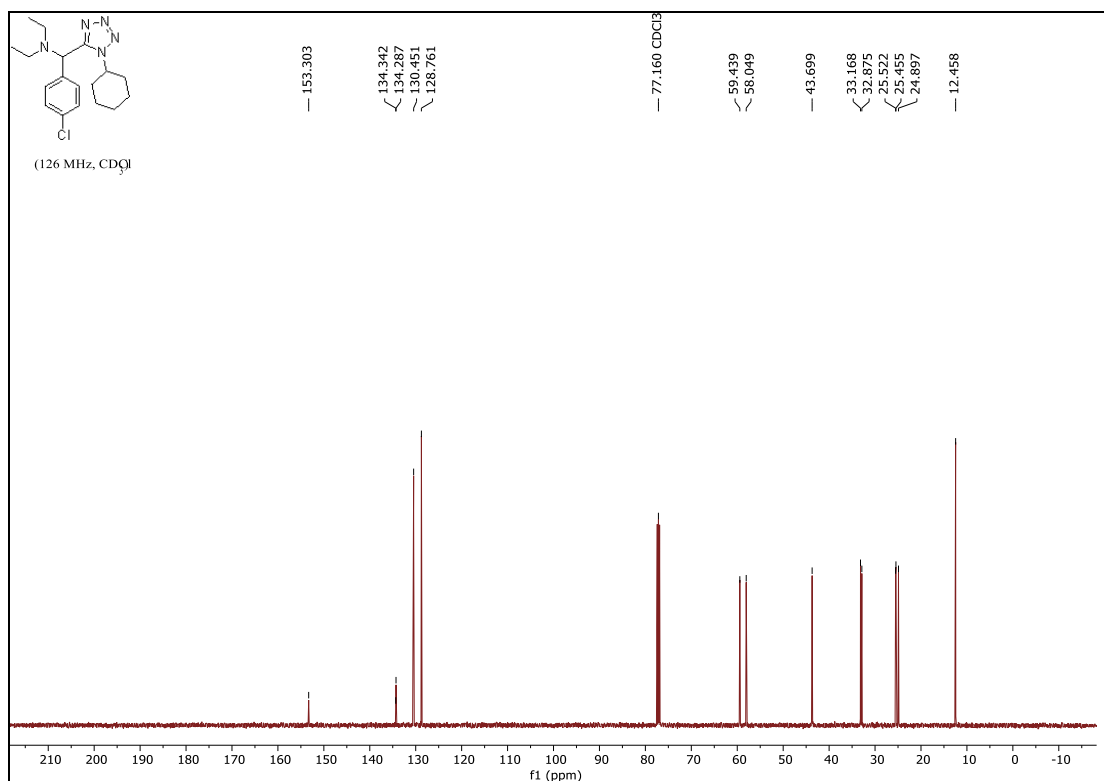
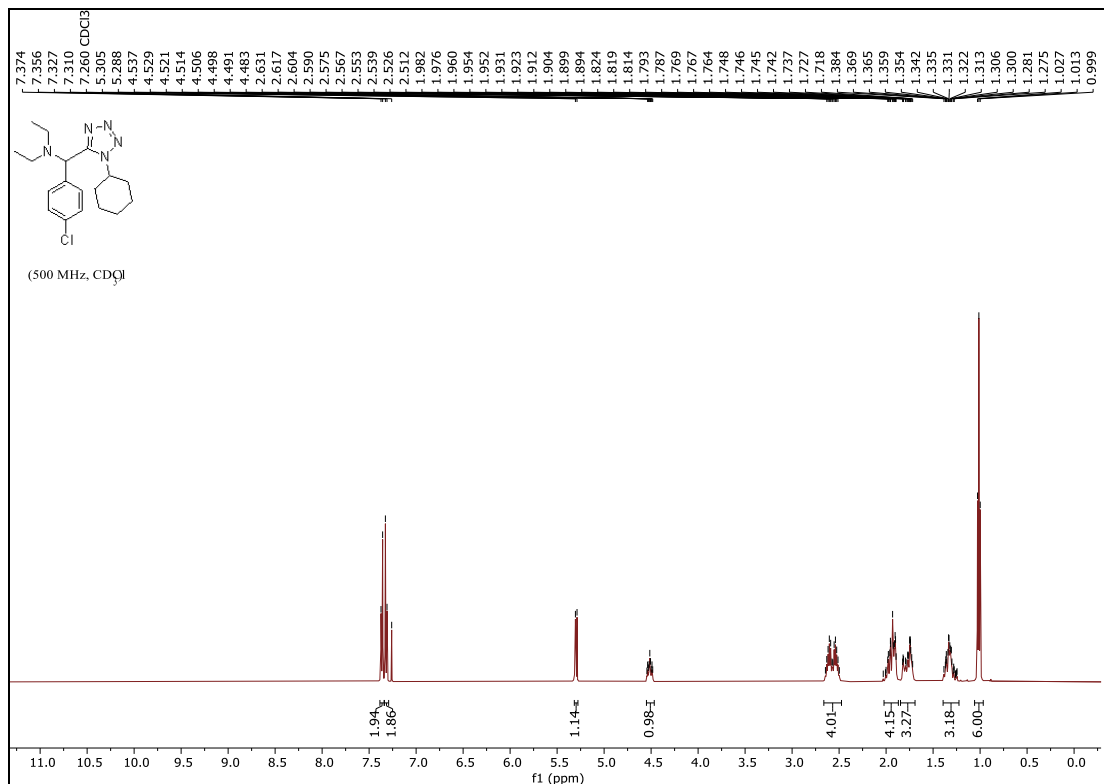
1-(1-(2,6-dimethylphenyl)-1H-tetrazol-5-yl)-N,N-diethyl-2-methylpropan-1-amine (15r)



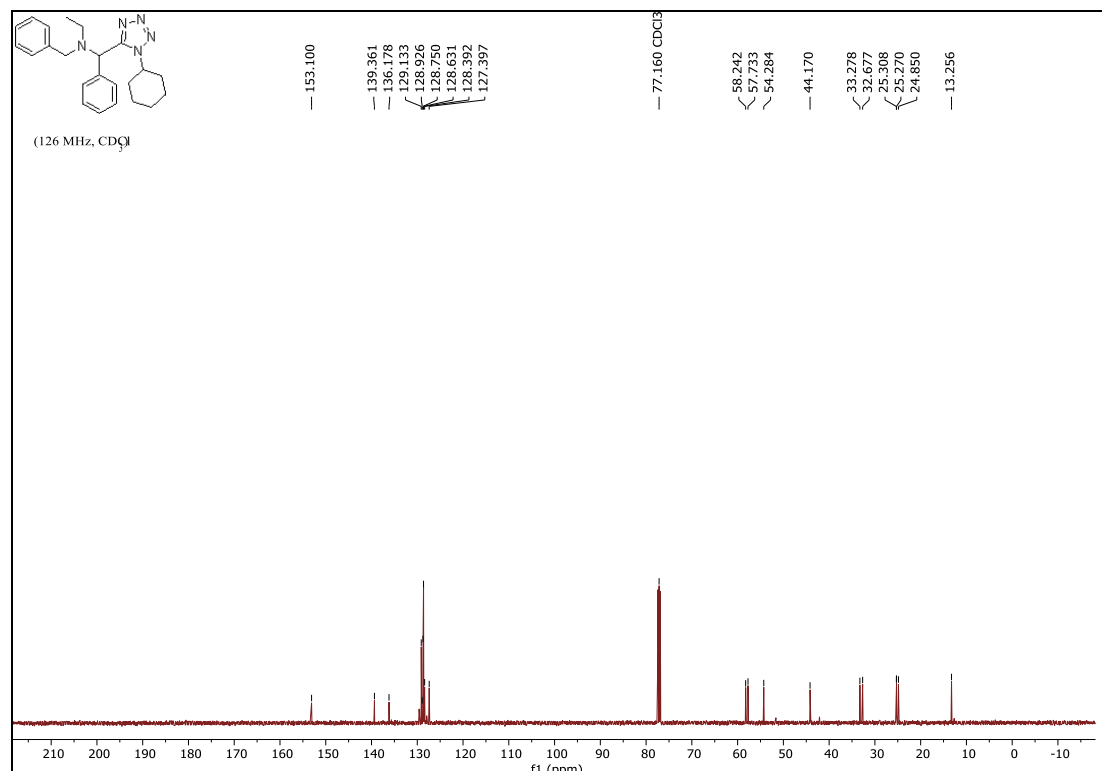
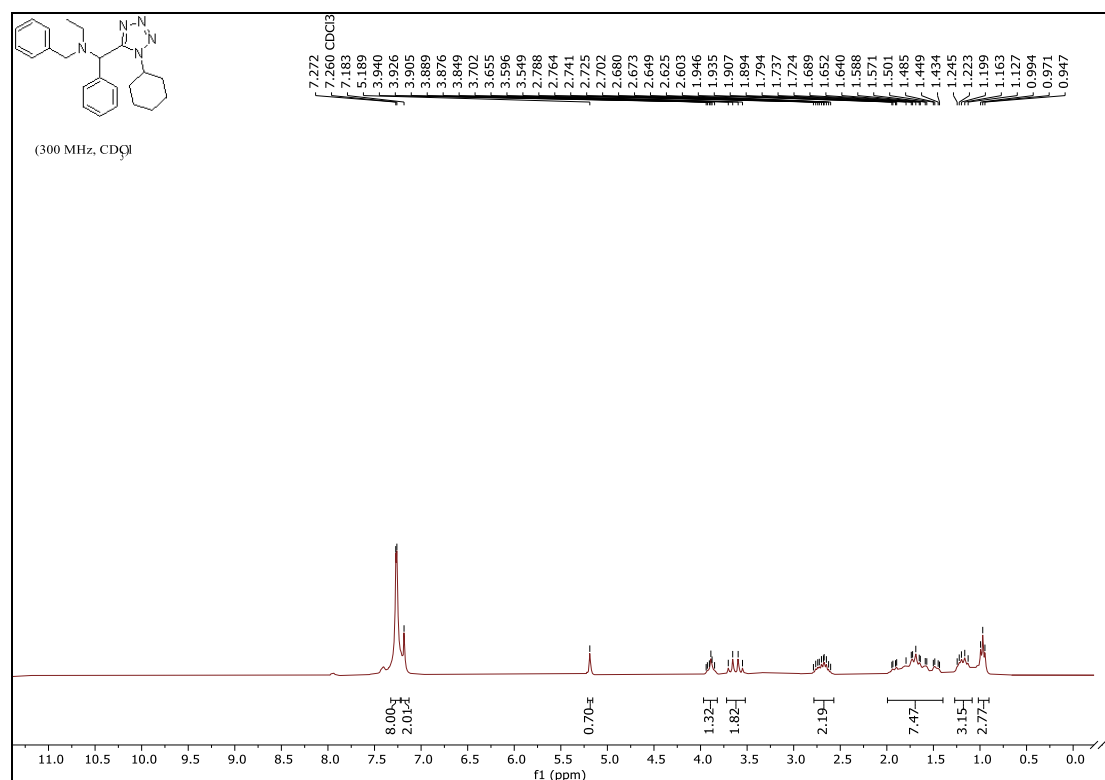
***N*-((1-(2,6-dimethylphenyl)-1*H*-tetrazol-5-yl)methyl)-*N*-ethyl-2-methylprop-2-en-1-amine (15s)**



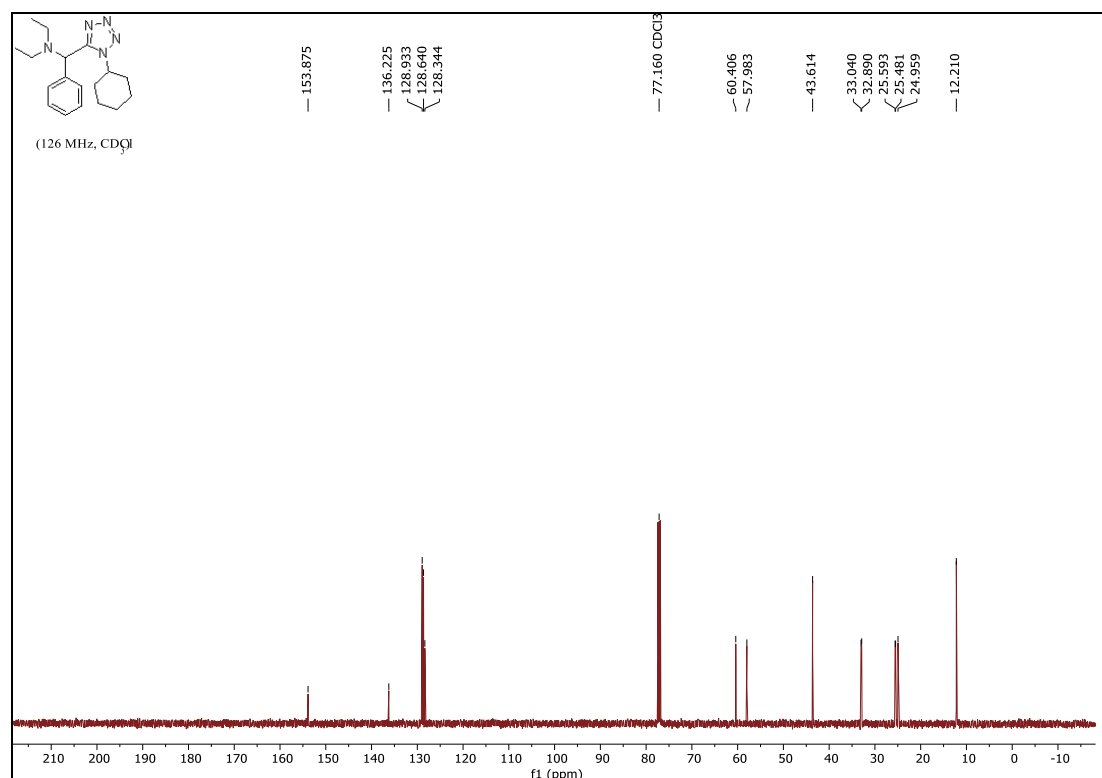
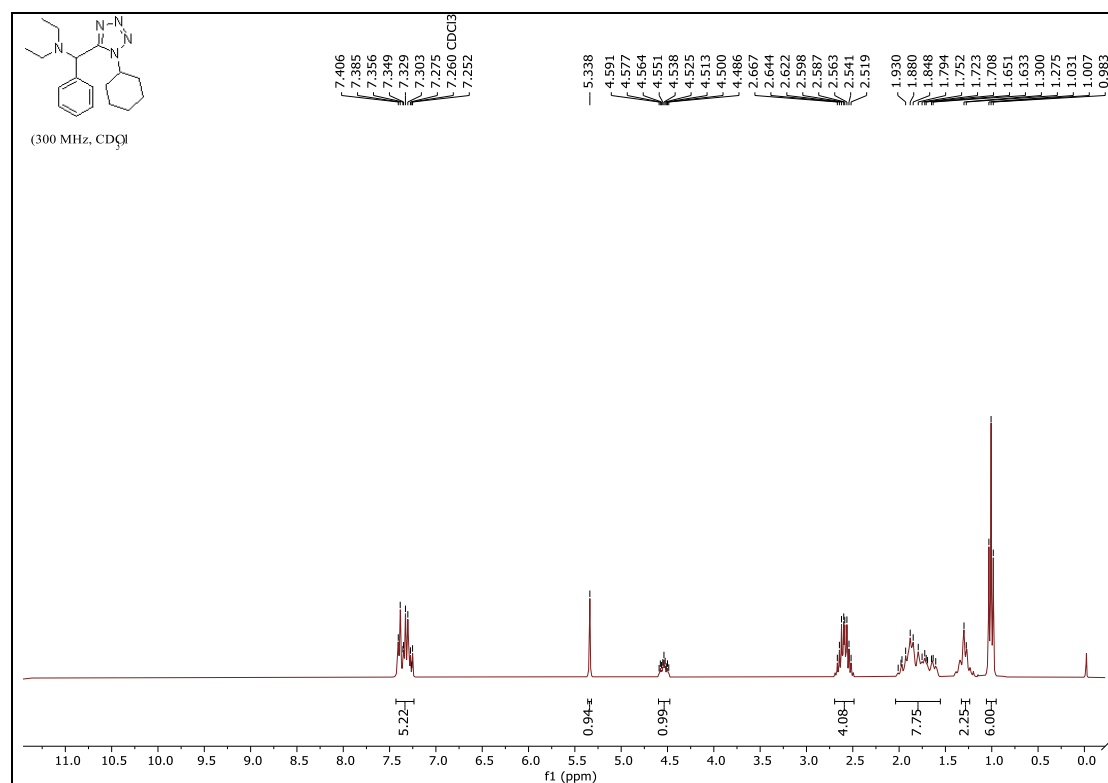
***N*-((4-chlorophenyl)(1-cyclohexyl-1*H*-tetrazol-5-yl)methyl)-*N*-ethylethanamine (15t)**



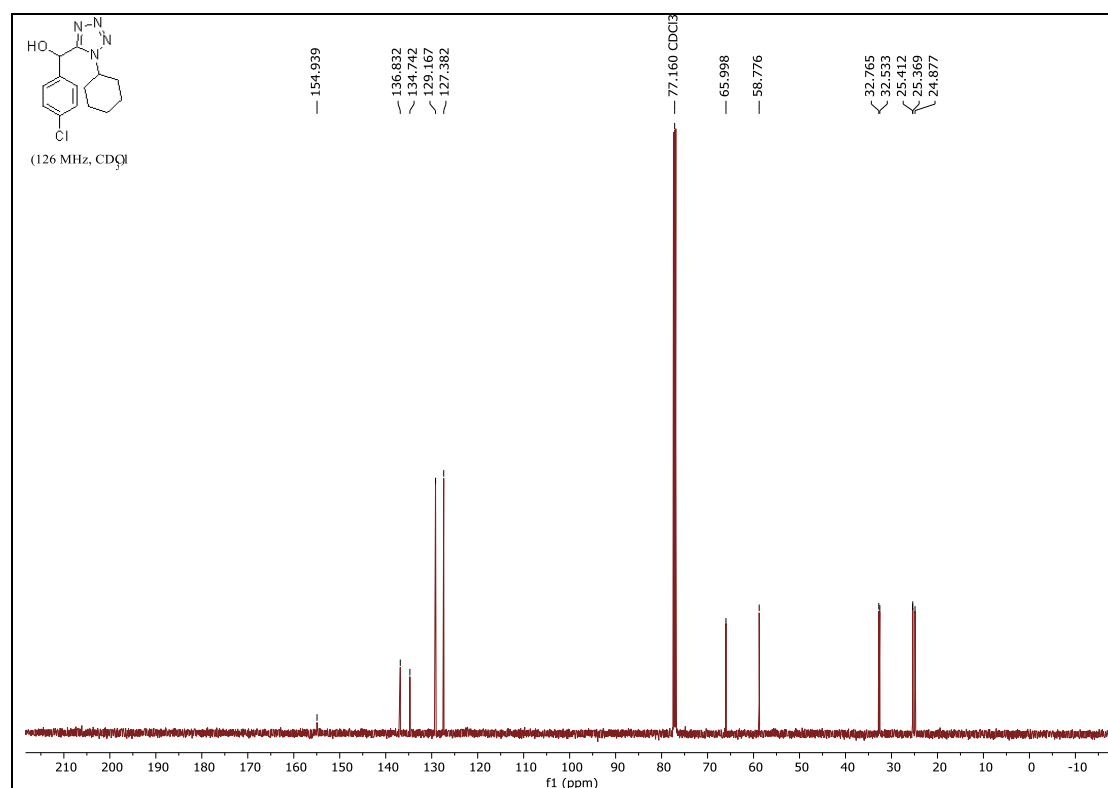
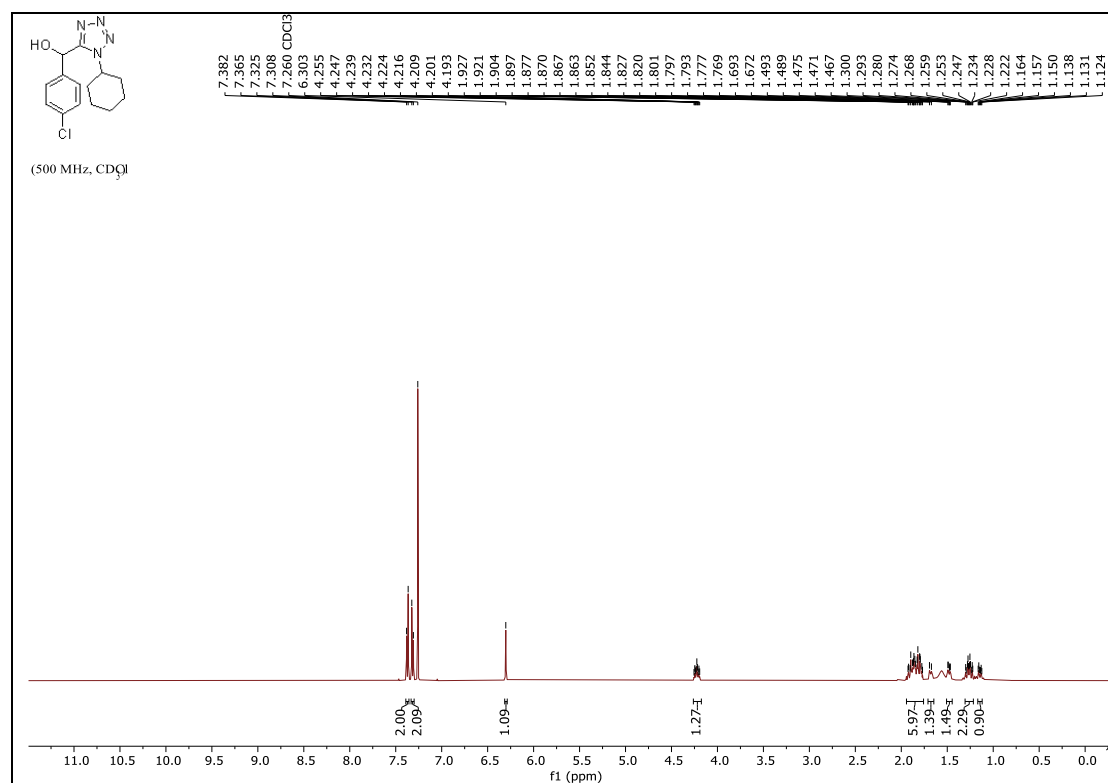
N-benzyl-*N*-((1-cyclohexyl-1*H*-tetrazol-5-yl)(phenyl)methyl)ethanamine (15u)



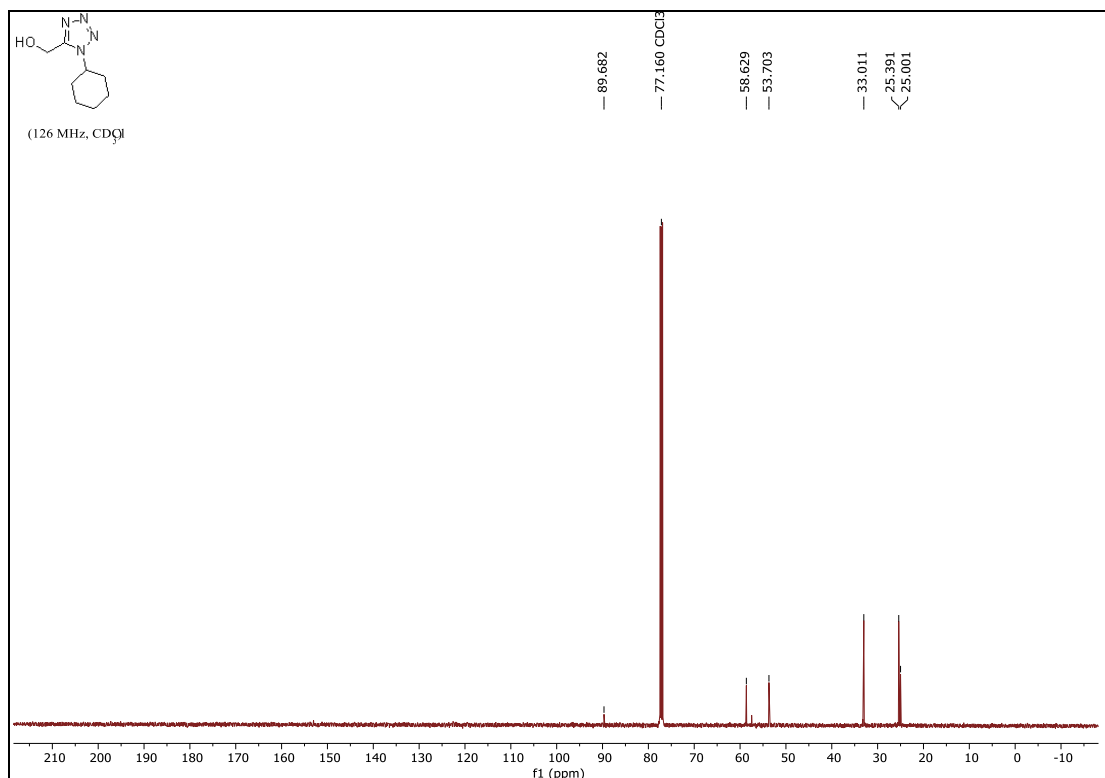
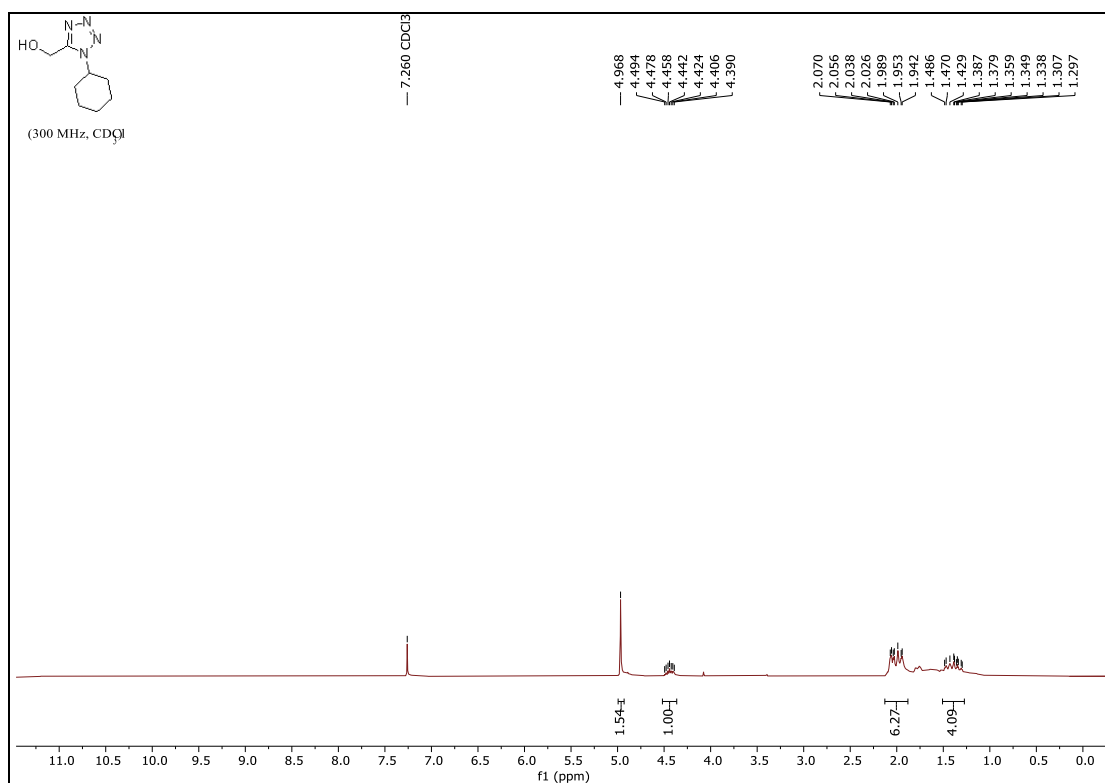
***N*-((1-cyclohexyl-1*H*-tetrazol-5-yl)(phenyl)methyl)-*N*-ethylethanamine (15v)**



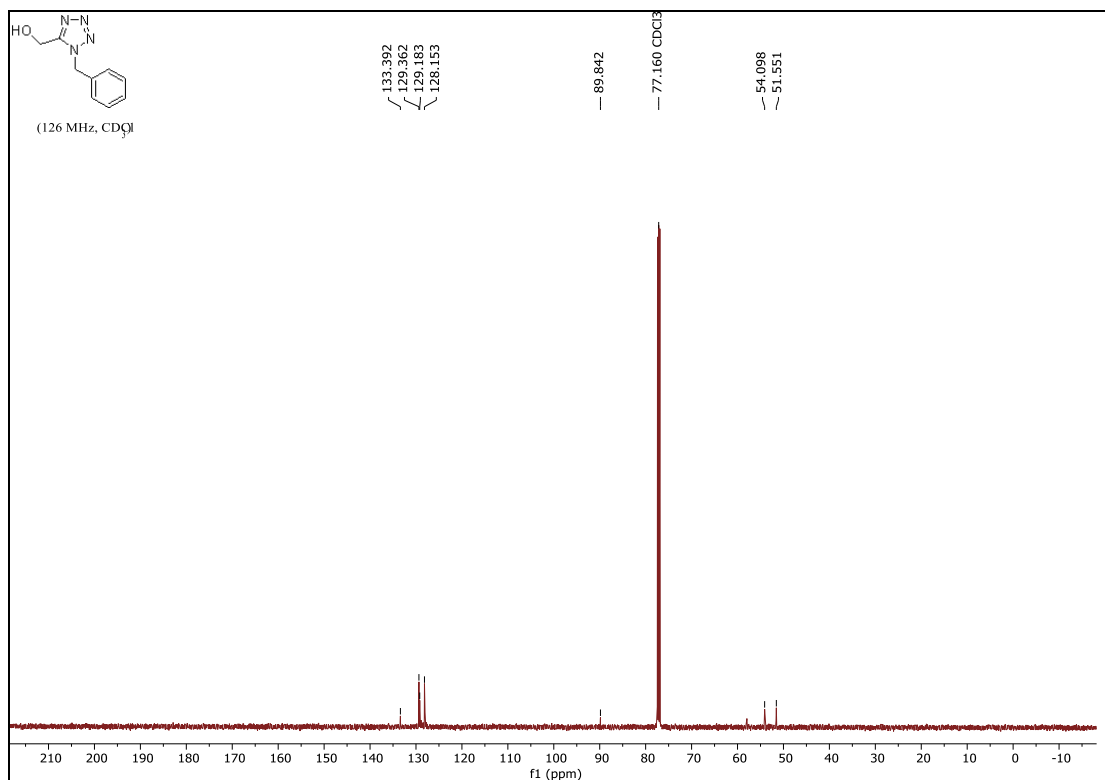
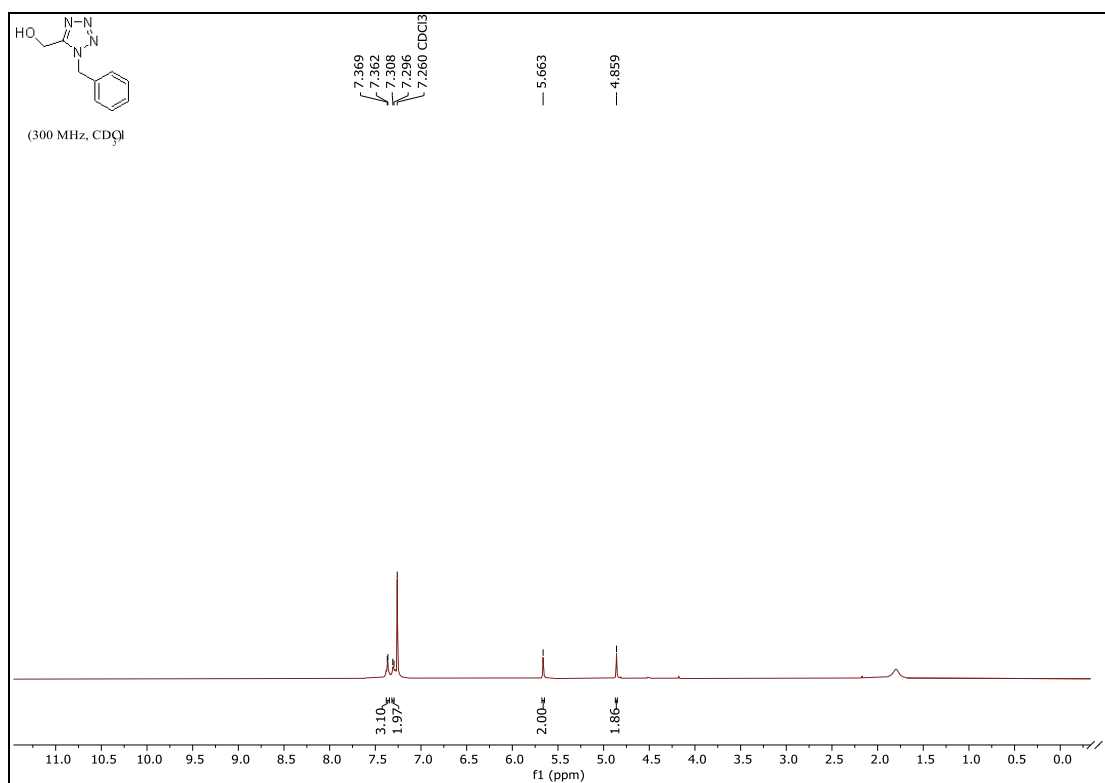
(4-chlorophenyl)(1-cyclohexyl-1H-tetrazol-5-yl)methanol (16a)



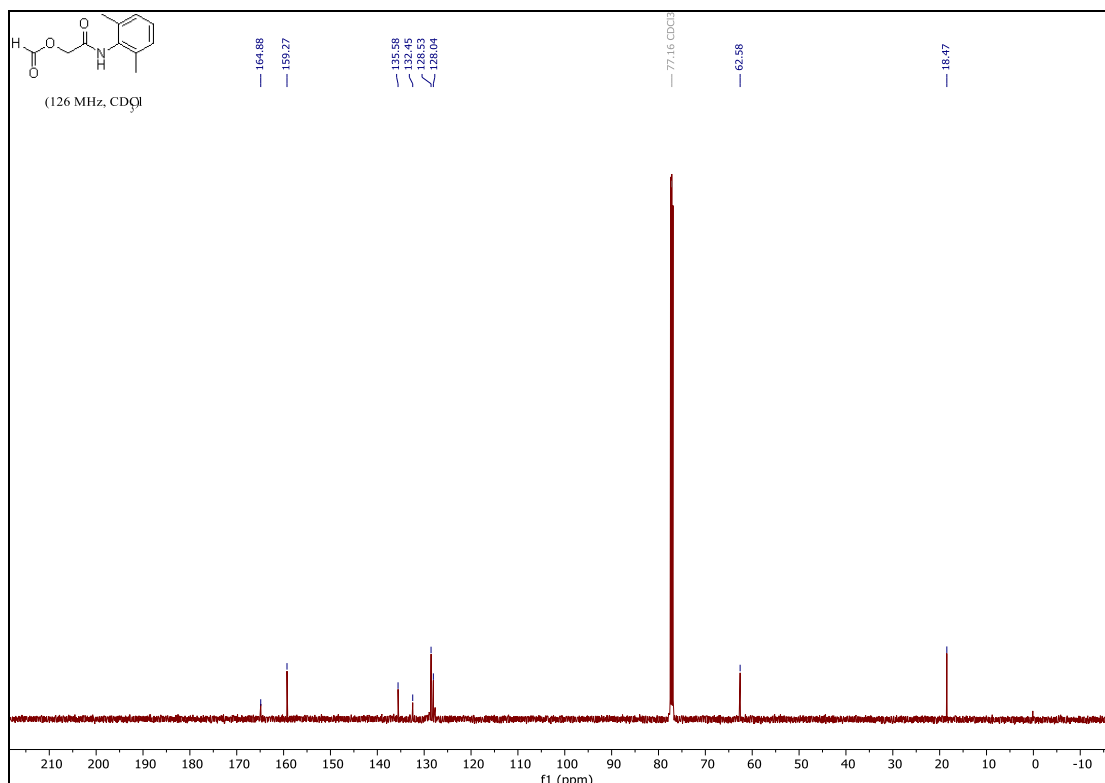
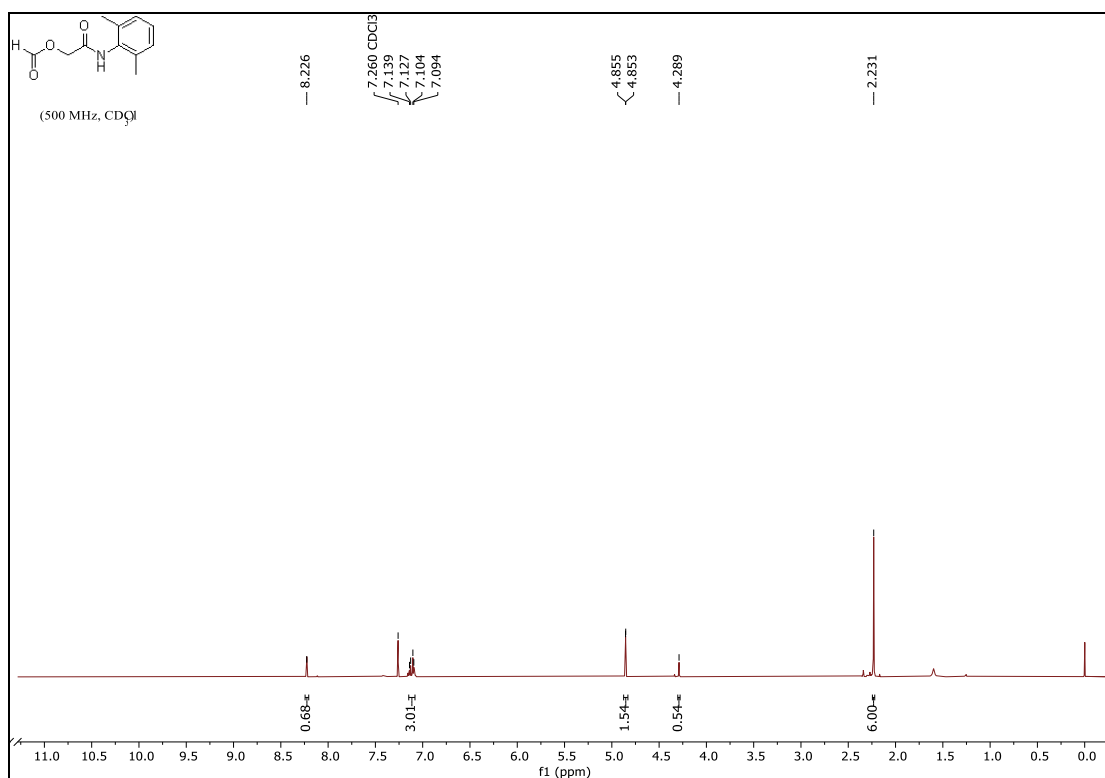
(1-cyclohexyl-1*H*-tetrazol-5-yl)methanol (16b)



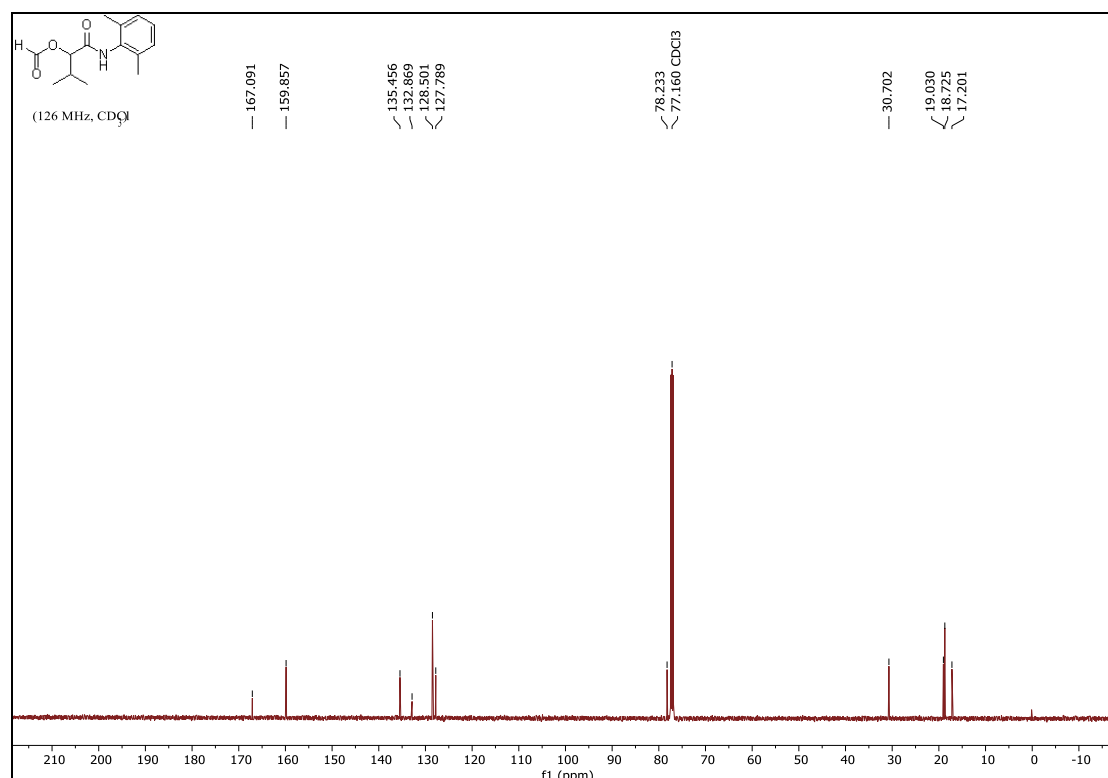
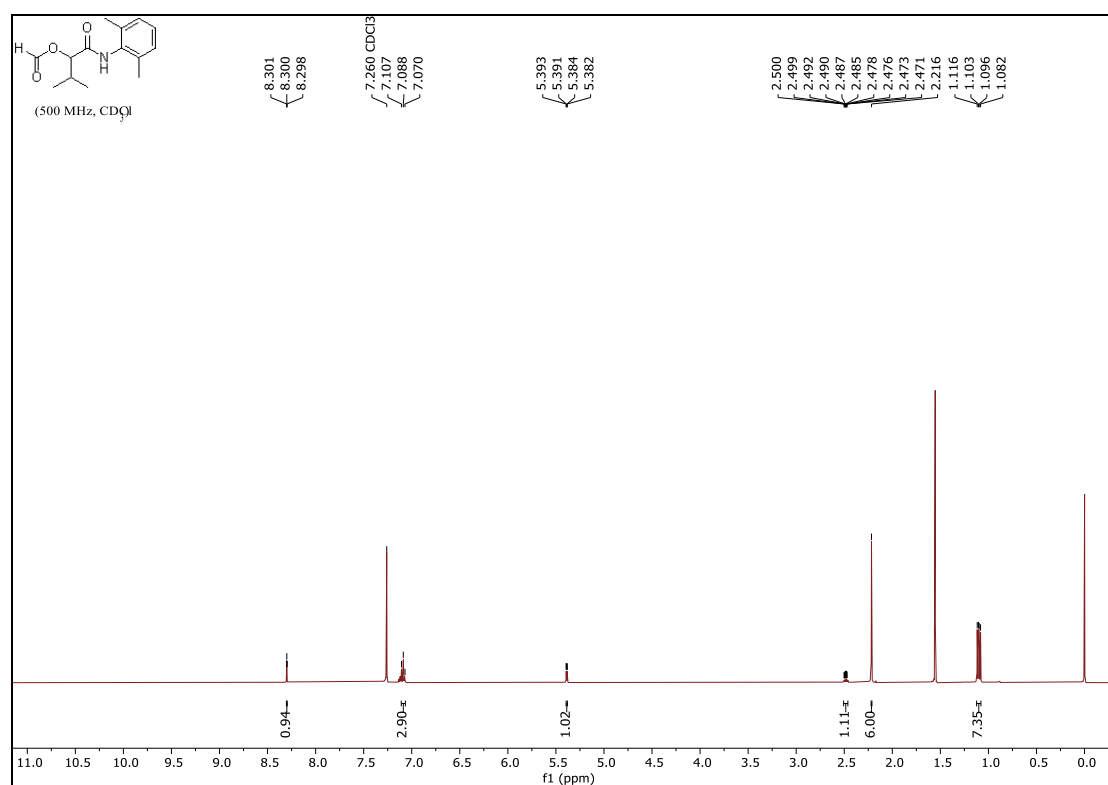
(1-benzyl-1H-tetrazol-5-yl)methanol (16c)



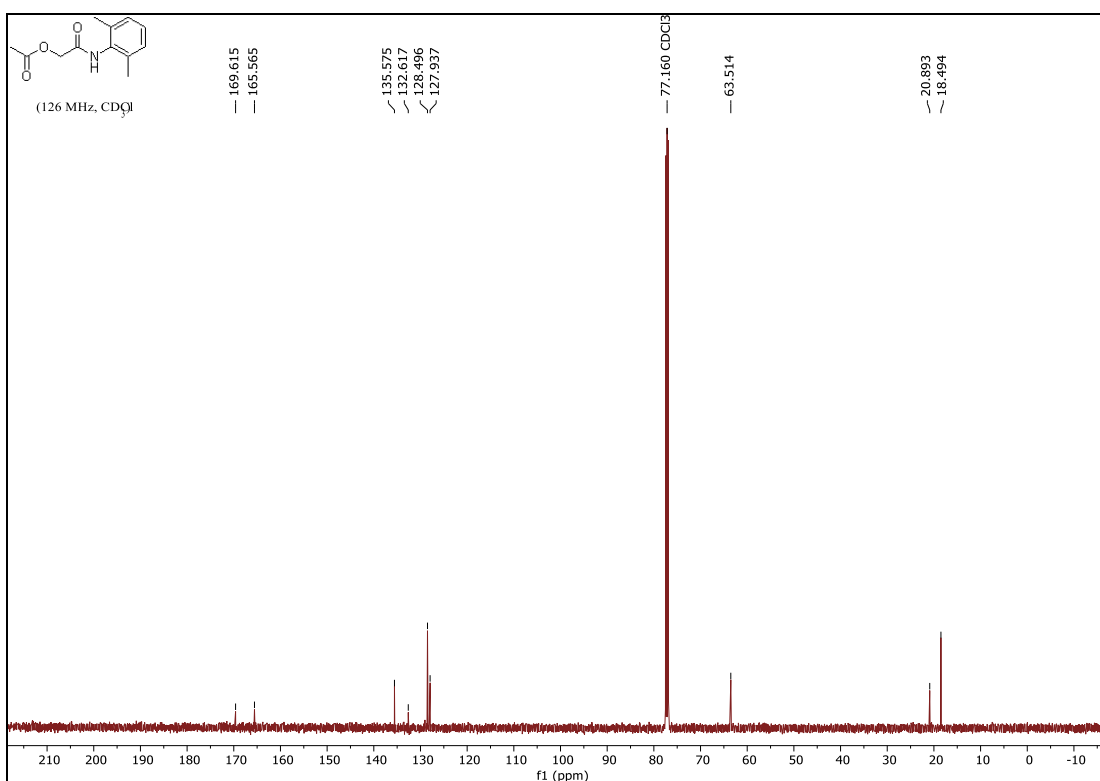
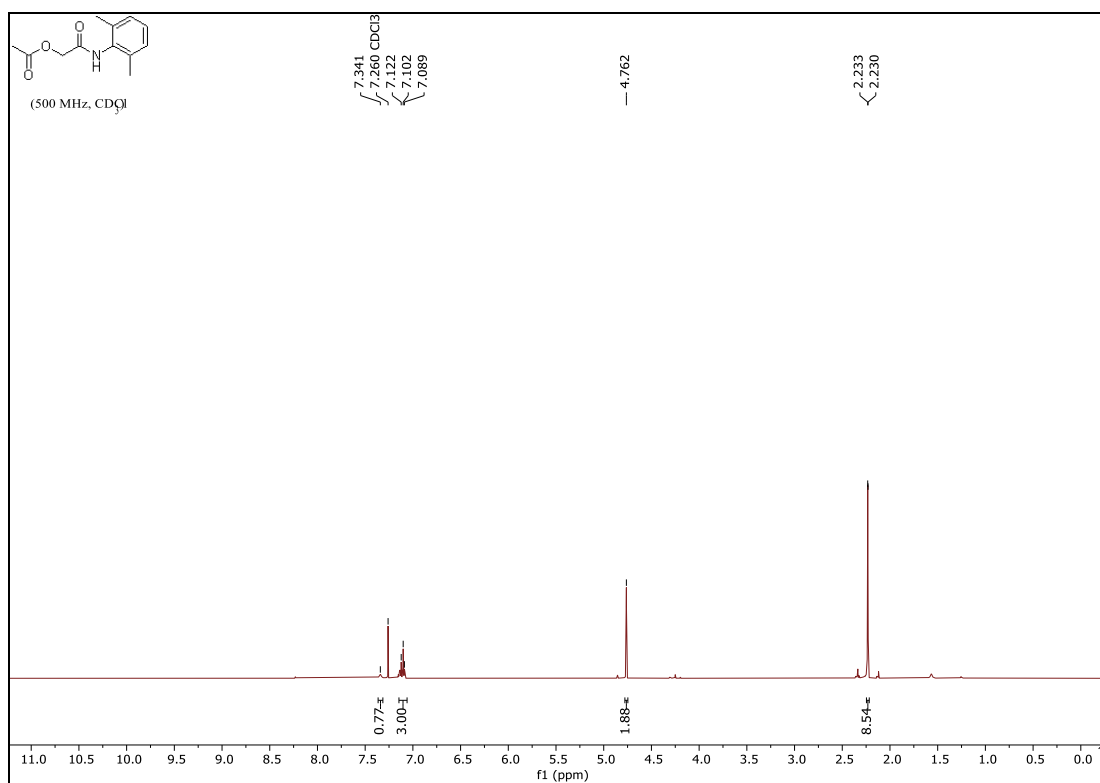
2-((2,6-dimethylphenyl)amino)-2-oxoethyl formate (18a)



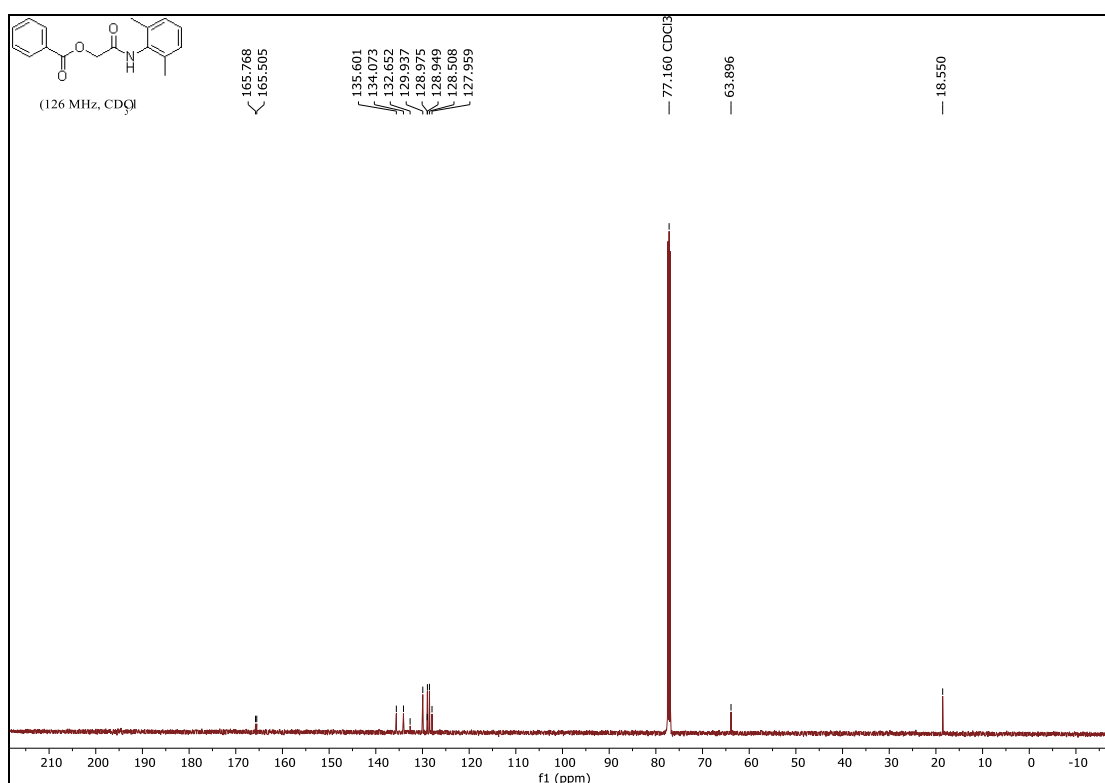
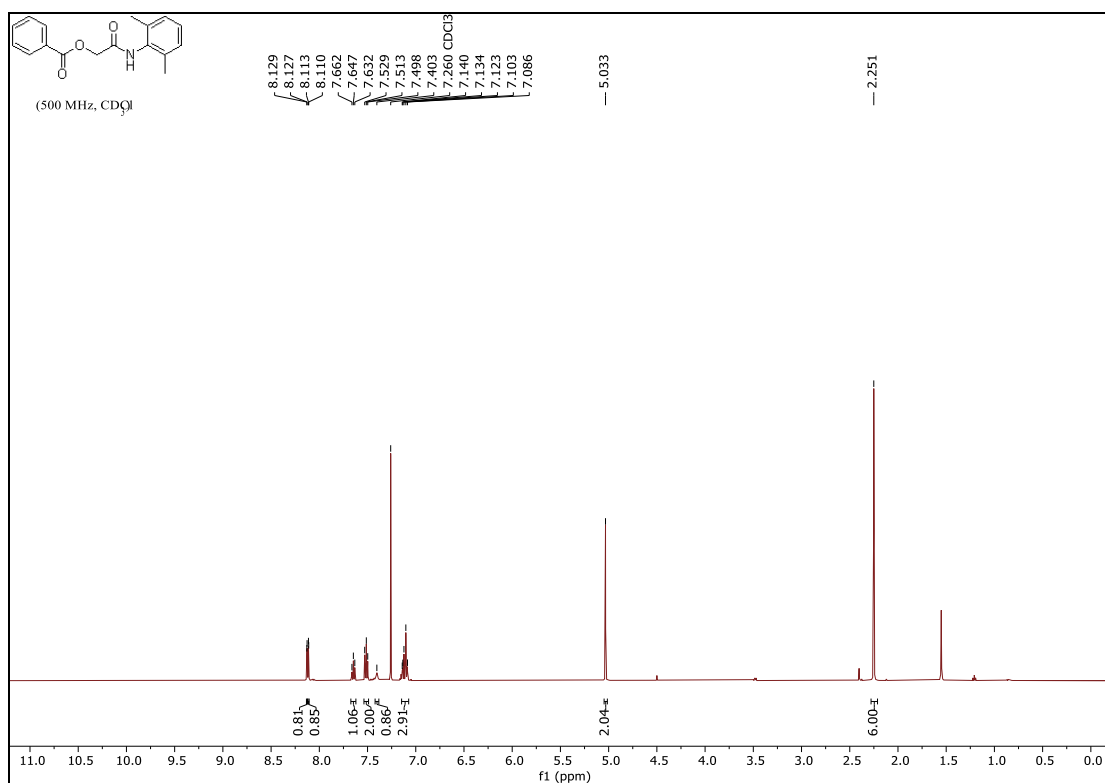
1-((2,6-dimethylphenyl)amino)-3-methyl-1-oxobutan-2-yl formate (18b)



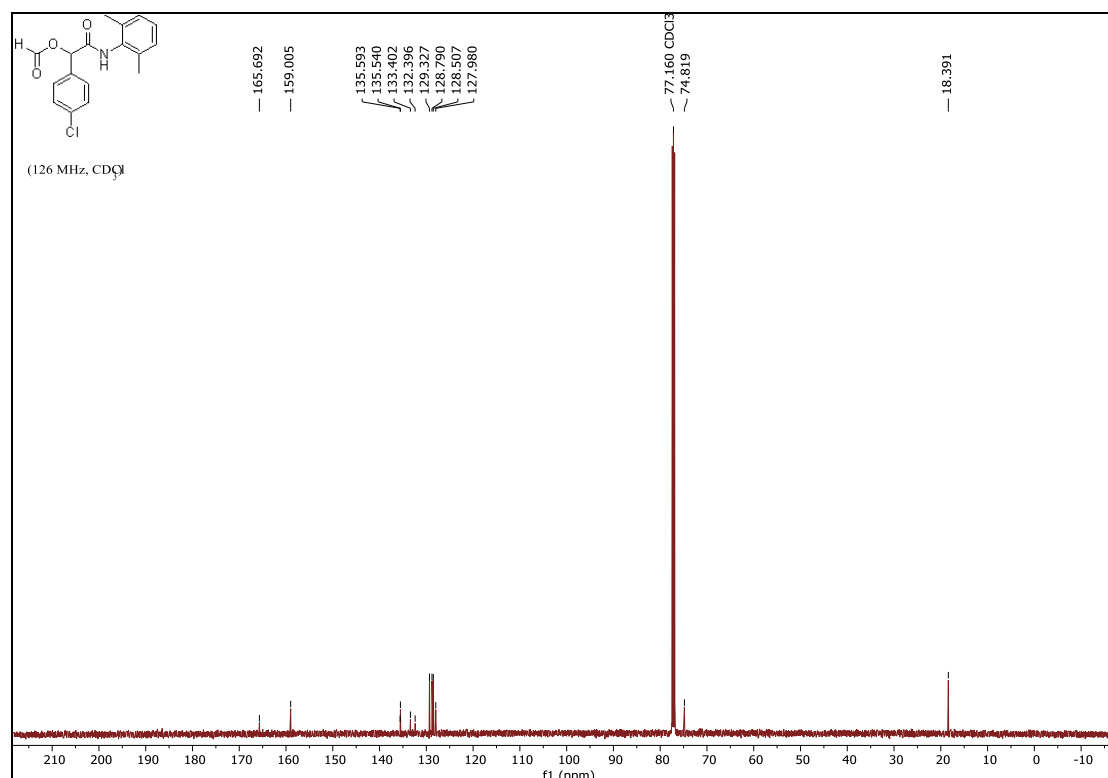
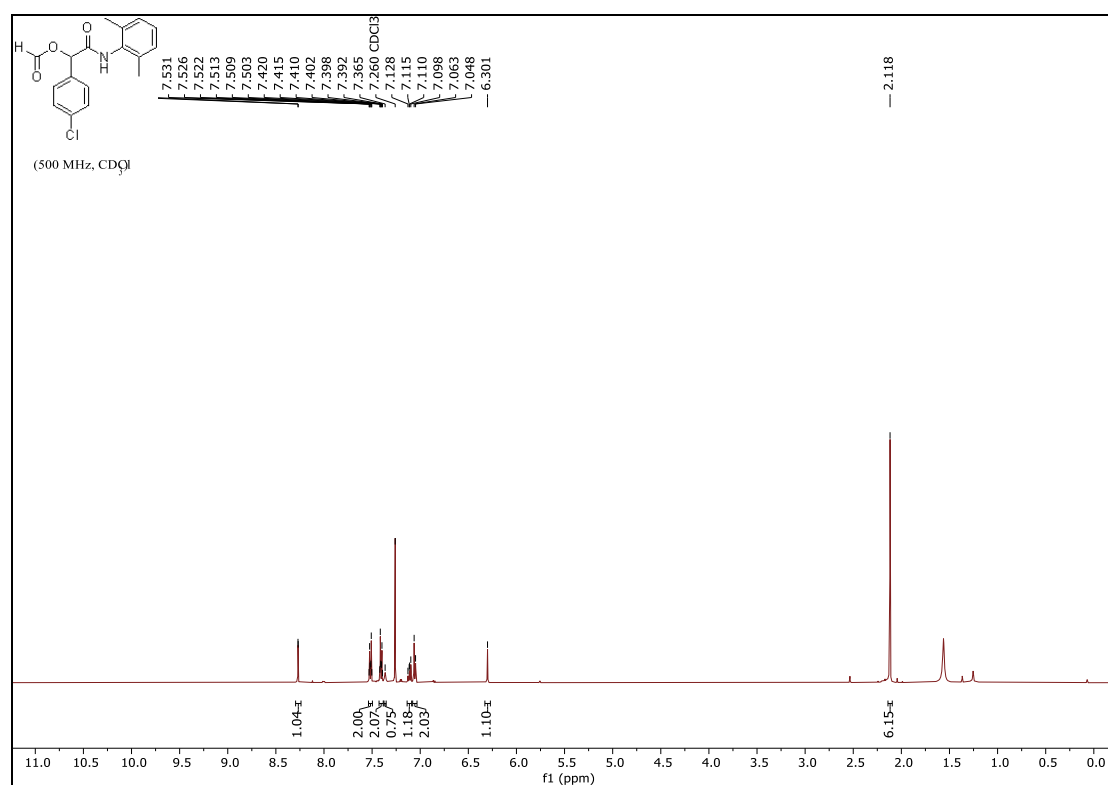
2-((2,6-dimethylphenyl)amino)-2-oxoethyl acetate (18c)



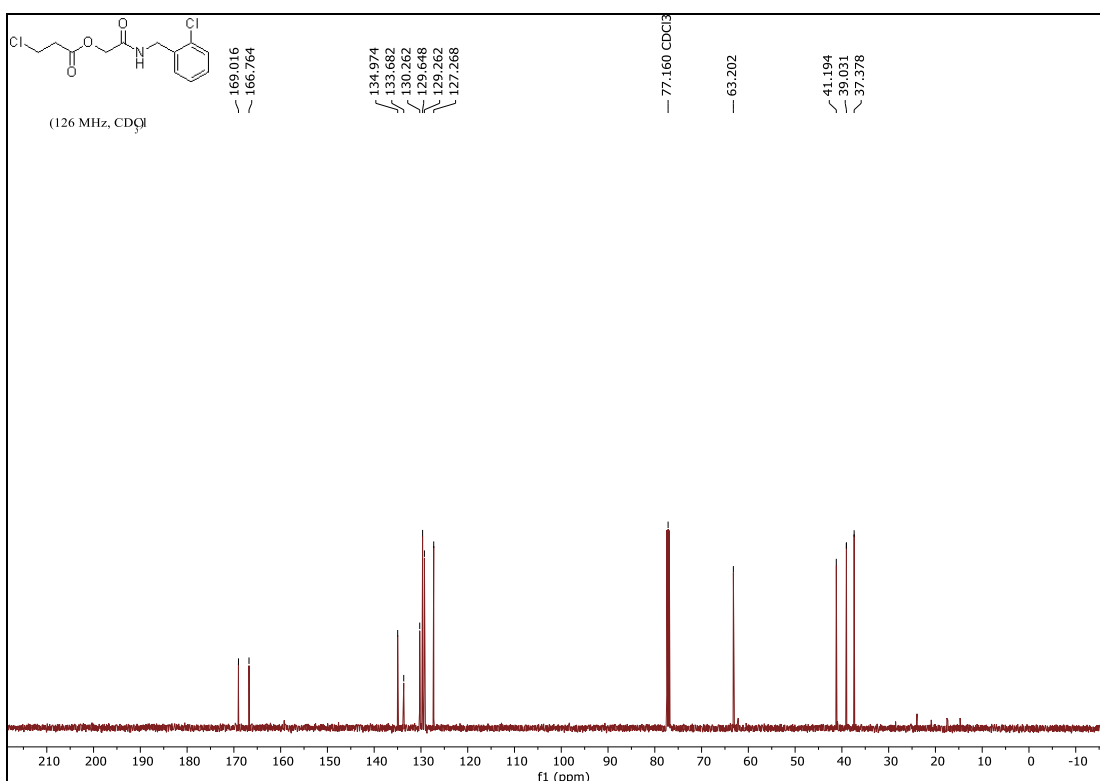
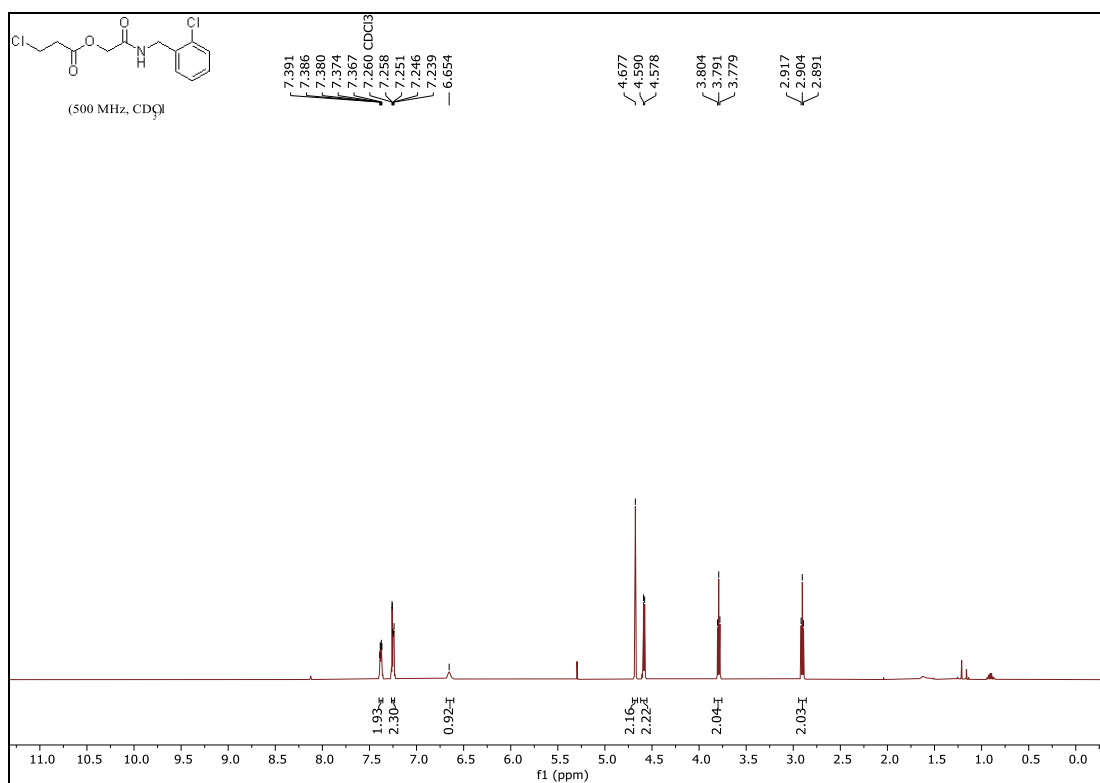
2-((2,6-dimethylphenyl)amino)-2-oxoethyl benzoate (18d)



1-(4-chlorophenyl)-2-((2,6-dimethylphenyl)amino)-2-oxoethyl formate (18e)



2-((2-chlorobenzyl)amino)-2-oxoethyl 3-chloropropanoate (18f)



BIBΛIOΓPAΦIA

- (1) Yu, S.; Wang, B.; Zhang, J.; Fang, K. The Development of Local Anesthetics and Their Applications beyond Anesthesia. *Int. J. Clin. Exp. Med.* **2019**, *12* (12), 13203–13220.
- (2) National Institute of General Medical Sciences. Anesthesia What Is Anesthesia ? What Is General Anesthesia ? What Are Local and Regional Anesthesia ? How Does Anesthesia Work ? What Do Anesthesiologists Do ? How Are Anesthesiologists Trained ? What Does the Future Hold for Anesthesiology ? **2020**, No. September, 1–2.
- (3) Suzuki, S.; Gerner, P.; Lirk, P. *Local Anesthetics*, Second Edi.; Elsevier Inc., 2018. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-48110-6.00020-X>.
- (4) Lirk, P.; Picardi, S.; Hollmann, M. W. Local Anaesthetics: 10 Essentials. *Eur. J. Anaesthesiol.* **2014**, *31* (11), 575–585. <https://doi.org/10.1097/EJA.000000000000137>.
- (5) Becker, D. E.; Reed, K. L. Local Anesthetics: Review of Pharmacological Considerations. *Anesth. Prog.* **2012**, *59* (2), 90–102. <https://doi.org/10.2344/0003-3006-59.2.90>.
- (6) Hollmann, M. W.; Durieux, M. E.; Fisher, D. M. Local Anesthetics and the Inflammatory Response: A New Therapeutic Indication? *Anesthesiology* **2000**, *93* (3), 858–875. <https://doi.org/10.1097/0000542-200009000-00038>.
- (7) Vigneault, L.; Turgeon, A. F.; Côté, D.; Lauzier, F.; Zarychanski, R.; Moore, L.; McIntyre, L. A.; Nicole, P. C.; Fergusson, D. A. Perioperative Intravenous Lidocaine Infusion for Postoperative Pain Control: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Can. J. Anesth.* **2011**, *58* (1), 22–37. <https://doi.org/10.1007/s12630-010-9407-0>.
- (8) Ploppa, A.; Kiefer, R. T.; Haverstick, D. M.; Groves, D. S.; Unertl, K. E.; Durieux, M. E. Local Anesthetic Effects on Human Neutrophil Priming and Activation. *Reg. Anesth. Pain Med.* **2010**, *35* (1), 45–50. <https://doi.org/10.1097/AAP.0b013e3181c75199>.
- (9) Cassuto, J.; Sinclair, R.; Bonderovic, M. Anti-Inflammatory Properties of Local Anesthetics and Their Present and Potential Clinical Implications. *Acta Anaesthesiol. Scand.* **2006**, *50* (3), 265–282. <https://doi.org/10.1111/j.1399-6576.2006.00936.x>.
- (10) Brodsky, J. B. Downloaded from Anesthesiology.Pubs.Asahq.Org by Guest on 01/28/2019. *Anesthesiology* **1995**, *31* (4), 305–309.
- (11) Meuth, S. G.; Budde, T.; Kanyshkova, T.; Broicher, T.; Munsch, T.; Pape, H. C. Contribution of TWIK-Related Acid-Sensitive K⁺ Channel 1 (TASK1) and TASK3 Channels to the Control of Activity Modes in Thalamocortical Neurons. *J. Neurosci.* **2003**, *23* (16), 6460–6469. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.23-16-06460.2003>.
- (12) Boughhey, J. C. 2-23 Can Anesthetic Technique for Primary Breast Cancer Surgery Affect Recurrence or Metastasis? *Breast Dis.* **2007**, *18* (2), 162–163. [https://doi.org/10.1016/S1043-321X\(07\)80224-4](https://doi.org/10.1016/S1043-321X(07)80224-4).
- (13) Schlagenhauff, B.; Ellwanger, U.; Breuninger, H.; Stroebel, W.; Rassner, G.; Garbe, C. Prognostic Impact of the Type of Anaesthesia Used during the Excision of Primary Cutaneous Melanoma. *Melanoma Research*. 2000, pp 165–169. <https://doi.org/10.1097/00008390-200004000-00009>.
- (14) Rogers, M.; Tang, L.; Madge, D. J.; Stevens, E. B. The Role of Sodium Channels in Neuropathic Pain. *Semin. Cell Dev. Biol.* **2006**, *17* (5), 571–581. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2006.10.009>.
- (15) Demare, P.; Regla, I. Synthesis of Two Local Anesthetics from Toluene: An Organic Multistep Synthesis in a Project-Oriented Laboratory Course. *J. Chem. Educ.* **2012**, *89* (1), 147–149. <https://doi.org/10.1021/ed100838a>.
- (16) Suveges, N. S.; de Souza, R. O. M. A.; Gutmann, B.; Kappe, C. O. Synthesis of Mepivacaine and Its Analogues by a Continuous-Flow Tandem Hydrogenation/Reductive Amination Strategy. *European J. Org. Chem.* **2017**, *2017* (44), 6511–6517. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201700824>.
- (17) Zhou, S.; Huang, G.; Chen, G. Synthesis and Biological Activities of Local Anesthetics. *RSC Adv.* **2019**, *9* (70), 41173–41191. <https://doi.org/10.1039/c9ra09287k>.
- (18) SawakiNote, K.; Ohno, K.; Miyamoto, K.; Hirai, S.; Yazaki, K.; Kawaguchi, M. Effects of Anticonvulsants on Local Anaesthetic-Induced Neurotoxicity in Rats. *Pharmacol. Toxicol.* **2000**, *86* (2), 59–62. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0773.2000.d01-11.x>.
- (19) Dömling, A.; Wang, W.; Wang, K. Chemistry and Biology of Multicomponent Reactions. *Chem. Rev.* **2012**, *112* (6), 3083–3135. <https://doi.org/10.1021/cr100233r>.
- (20) Cioc, R. C.; Ruijter, E.; Orru, R. V. A. Multicomponent Reactions: Advanced Tools for Sustainable Organic Synthesis. *Green Chem.* **2014**, *16* (6), 2958–2975. <https://doi.org/10.1039/c4gc00013g>.
- (21) Koopmanschap, G.; Ruijter, E.; Orru, R. V. A. Isocyanide-Based Multicomponent Reactions towards Cyclic Constrained Peptidomimetics. *Beilstein J. Org. Chem.* **2014**, *10*, 544–598. <https://doi.org/10.3762/bjoc.10.50>.
- (22) Wilkins, D. J. Five-Membered Heterocycles with Two Heteroatoms: O and S Derivatives. *Mod. Heterocycl. Chem.* **2011**, *2*, 925–988. <https://doi.org/10.1002/9783527637737.ch11>.
- (23) Neochoritis, C. G.; Zhao, T.; Dömling, A. Tetrazoles via Multicomponent Reactions. *Chem. Rev.*

- 2019**. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00564>.
- (24) Tripolitsiotis, N. P.; Thomaidi, M.; Neochoritis, C. G. The Ugi Three-Component Reaction; a Valuable Tool in Modern Organic Synthesis. *European Journal of Organic Chemistry*. 2020, pp 6525–6554. <https://doi.org/10.1002/ejoc.202001157>.
- (25) Liu, C.; Huang, W.; Zhang, J.; Rao, Z.; Gu, Y.; Jérôme, F. Formaldehyde in Multicomponent Reactions. *Green Chem.* **2021**, *23* (4), 1447–1465. <https://doi.org/10.1039/d0gc04124f>.
- (26) Snoeck, M. Articaine: A Review of Its Use for Local and Regional Anesthesia. *Local Reg. Anesth.* **2013**, *5* (1), 23–33. <https://doi.org/10.2147/LRA.S16682>.
- (27) Rayner-Hartley, E.; Sedlak, T. Ranolazine: A Contemporary Review. *J. Am. Heart Assoc.* **2015**, *5* (3), 1–9. <https://doi.org/10.1161/JAHA.116.003196>.
- (28) Reza Kazemizadeh, A.; Ramazani, A. Synthetic Applications of Passerini Reaction. *Curr. Org. Chem.* **2012**, *16* (4), 418–450. <https://doi.org/10.2174/138527212799499868>.
- (29) Chandgude, A. L.; Dömling, A. An Efficient Passerini Tetrazole Reaction (PT-3CR). *Green Chem.* **2016**, *18* (13), 3718–3721. <https://doi.org/10.1039/c6gc00910g>.
- (30) Wolff, M.; Schnöbel-Eehalt, R.; Mühling, J.; Weigand, M. A.; Olschewski, A. Mechanisms of Lidocaine's Action on Subtypes of Spinal Dorsal Horn Neurons Subject to the Diverse Roles of Na⁺ and K⁺ Channels in Action Potential Generation. *Anesth. Analg.* **2014**, *119* (2), 463–470. <https://doi.org/10.1213/ANE.0000000000000280>.
- (31) Putrenko, I.; Ghavanini, A. A.; Schöniger, K. S. M.; Schwarz, S. K. W. Central Nervous System-Toxic Lidocaine Concentrations Unmask L-Type Ca²⁺ Current-Mediated Action Potentials in Rat Thalamocortical Neurons: An in Vitro Mechanism of Action Study. *Anesth. Analg.* **2016**, *122* (5), 1360–1369. <https://doi.org/10.1213/ANE.0000000000001158>.
- (32) Shindikar, A. V.; Viswanathan, C. L. Efficient Synthesis of 8-Methoxy-3,4-Dihydro-2H-1-Benzopyran-3-Ol. *Synth. Commun.* **2011**, *41* (8), 1141–1145. <https://doi.org/10.1080/00397911003797841>.
- (33) Kommi, D. N.; Kumar, D.; Chakraborti, A. K. “All Water Chemistry” for a Concise Total Synthesis of the Novel Class Anti-Anginal Drug (RS), (R), and (S)-Ranolazine. *Green Chem.* **2013**, *15* (3), 756–767. <https://doi.org/10.1039/c3gc36997h>.
- (34) Sawant, G.; Ghosh, S.; Banesh, S.; Bhaumik, J.; Chand Banerjee, U. In Silico Approach towards Lipase Mediated Chemoenzymatic Synthesis of (S)-Ranolazine, as an Anti-Anginal Drug. *RSC Adv.* **2016**, *6* (54), 49150–49157. <https://doi.org/10.1039/c6ra06879k>.