



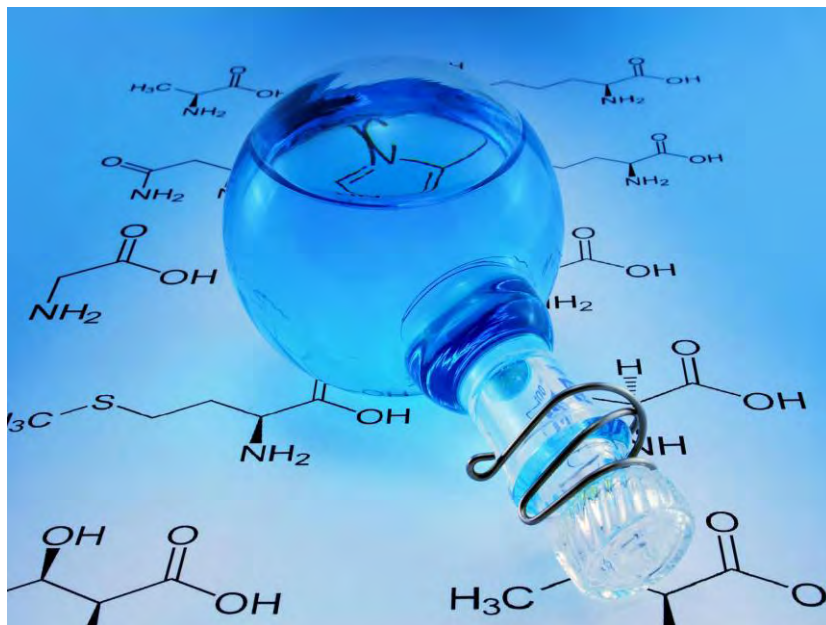
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ & ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟ-ΟΡΓΑΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

« Σχεδιασμός , σύνθεση, φασματοσκοπικός προσδιορισμός και βιολογική αποτίμηση νέων αλογονοφαίνυλο πύρρολο παραγώγων»

«Design, synthesis, spectroscopic characterization and biological evaluation of novel pyrrole derivatives»



ΓΕΩΡΓΙΑ ΑΝΝΑ ΧΑΤΖΗΕΥΦΡΑΙΜΙΔΗ

ΛΑΡΙΣΑ 2019

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Κομιώτης Δημήτριος: Καθηγητής Οργανικής Χημείας με έμφαση στη σύνθεση Βιοδραστικών Μορίων, Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

Μήτσος Χρήστος: Εργαστηριακό διδακτικό προσωπικό (Ε.ΔΙ.Π), Εργαστήριο Οργανικής Χημείας, Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

Μαρκουλάτος Παναγιώτης: Καθηγητής Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας με έμφαση στη Βιοτεχνολογία, Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

Ευχαριστίες

Η παρούσα πτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Βιο-οργανικής χημείας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, υπό την επίβλεψη του Καθηγητή κ. Δημήτριου Κομιώτη. Θα ήθελα λοιπόν να του εκφράσω τις ευχαριστίες μου για την ανάθεση του θέματος, το ενδιαφέρον αλλά και το χρόνο που διέθεσε για τη διεκπεραίωση της πτυχιακής μου εργασίας.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στον κ. Χρήστο Μήτσο, μέλος ΕΔΙΠ του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, για την καθοριστική βοήθεια, την υπομονή, τον σεβασμό και για τον χρόνο που αφιέρωσε όλον αυτόν τον καιρό στο εργαστήριο. Ήταν δίπλα μου σε όλα και έτοιμος να μου μεταφέρει τις γνώσεις του σε κάθε μου απορία.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω και όλη την ομάδα του εργαστηρίου, και ιδιαίτερα τον υποψήφιο διδάκτορα Κολλάτο Νικόλαο που δημιούργησαν ένα φιλικό κλίμα συνεργασίας και ήταν πρόθυμοι να επιλύσουν οποιαδήποτε απορία μου.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου, που με στηρίζει σε κάθε μου προσπάθεια.

Περίληψη

Οι ετεροκυκλικές ενώσεις είναι κυκλικές χημικές ενώσεις και κυριαρχούν στη σύγχρονη οργανική χημεία. Ο δακτύλιος των ενώσεων αυτών περιέχει τουλάχιστον δύο διαφορετικά χημικά στοιχεία. Τα πιο συχνά άτομα που συναντώνται στις ετεροκυκλικές ενώσεις είναι N,O,S. Το πυρρόλιο αποτελεί μια από αυτές καθώς διαθέτει σημαντικές ιδιότητες στην φαρμακολογία και απαντάται σε πλήθος φυσικών και μη φυσικών προϊόντων. Έτσι και τα πύρρολο παράγωγα εμφανίζουν σημαντική βιολογική δράση, αποτελούν δομική μονάδα πολλών φυσικών και φαρμακευτικών προϊόντων και έχουν μεγάλη σημασία στο τομέα της φαρμακολογίας και της επιστήμης των υλικών.

Η παρούσα διπλωματική εργασία είχε ως στόχο τον σχεδιασμό, την σύνθεση, τον φασματοσκοπικό προσδιορισμό και τη βιολογική αποτίμηση νέων αλογονοφαίνυλο πύρρολο παραγώγων. Αυτό επετεύχθη με αντιδράσεις πολλών συστατικών και τη χρήση γενικών μεθόδων όπως τα μικροκύματα, την χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας, την χρωματογραφία στήλης, την εκχύλιση και την κρυστάλλωση. Όλες οι δομές των νέων μορίων ταυτοποιήθηκαν με φασματοσκοπία μαγνητικού συντονισμού ^1H - και ^{13}C -NMR. Τέλος όλα τα νέα παράγωγα έχουν σταλεί στο ινστιτούτο REGA στο Βέλγιο για την βιολογική αποτίμηση τους. Θα αξιολογηθούν ως προς την κυτταροστατική τους δράση σε ανθρώπινα κύτταρα και θα διερευνηθούν πιθανές αντικές ιδιότητές τους.

Abstract

Heterocyclic compounds are cyclic compounds and dominate modern organic chemistry. The ring of these compounds contains at least two different chemical elements. The most common atoms encountered in the heterocyclic compounds are N, O, S. Pyrrole is one of them as it has important properties in the pharmacology and occurs in a number of natural and non-natural products. Thus pyrrole derivatives have significant biological activity, are a building block of many natural and pharmaceutical products and are of great importance in the field of pharmacology and materials science.

This diploma thesis focused on the design, synthesis, spectroscopic determination and biological assay of novel halo phenyl pyrrole derivatives. The synthesis of the targeted compounds was accomplished utilizing multi-component reactions and the use of general methods such as microwaves, thin-layer chromatography, column chromatography, extraction and crystallization. The structures of all newly synthesized molecules were identified by magnetic resonance spectroscopy ^1H - and ^{13}C -NMR. Finally, all new molecules have been sent to the REGA Institute in Belgium for their biological evaluation. Their cytostatic activity against human cell lines will be determined along with their possible antiviral properties.

Περιεχόμενα

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ.....	2
Ευχαριστίες.....	3
Περίληψη.....	4
Abstract.....	5
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	8
1.1 ΠΥΡΡΟΛΙΔΙΝΕΣ.....	8
1.2 ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑΤΑ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕ ΠΥΡΡΟΛΙΔΙΝΙΚΟ ΔΑΚΤΥΛΙΟ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ.....	10
1.3 ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΠΟΛΛΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ.....	17
2. ΣΚΟΠΟΣ.....	18
3. ΓΕΝΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	20
3.1 ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΑ (Microwave dielectric heating).....	20
3.2 ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΛΕΠΤΗΣ ΣΤΟΙΒΑΔΑΣ (TLC: Thin Layer Chromatography).....	22
3.3 ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΣΤΗΛΗΣ (flash chromatography).....	23
3.4 ΕΚΧΥΛΙΣΗ.....	25
3.5 ΚΡΥΣΤΑΛΛΩΣΗ.....	28
3.6 ΣΗΜΕΙΟ ΤΗΞΕΩΣ (melting point).....	29
3.7 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ (NMR).....	30
4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	33
5. ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ (NMR).....	39
6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	45
7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	47

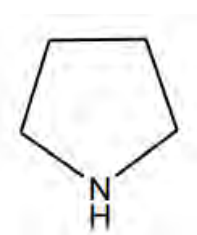
Κατάλογος Πινάκων

Εικόνα 1 : Πυρρολιδινικός δακτύλιος	8
Εικόνα 2 : Βιολογικές ιδιότητες πυρρολιδινικού δακτυλίου	9
Εικόνα 3 : Παραδείγματα ενώσεων με πυρρολιδινικό δακτύλιο	9
Εικόνα 4 : Οξοπυρρόλες και παράγωγα	15
Εικόνα 5 : Παράδειγμα σύνθεσης ετεροκυκλικής ένωσης από πυρρολο-καρβαλδεΐδη	15
Εικόνα 6 : Σύνθεση πυρρολο παραγώγων με αντική δράση	16
Εικόνα 7 : Ένωση με βάση τον πυρρολιδινικό δακτύλιο	18
Εικόνα 8 : CEM Microwave, Αντιδραστήρας με αυτόματο συλλέκτη δειγμάτων.....	22
Εικόνα 9 : Παραδείγματα χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας και προσδιορισμός συντελεστή Rf.....	23
Εικόνα 10 : Παράδειγμα χρωματογραφία στήλης	25
Εικόνα 11 : Χοάνη που χρησιμοποιείται στην εκχύλιση.....	26
Εικόνα 12 : Περιστροφικός εξατμιστήρας.....	27
Εικόνα 13 : Συσκευή διήθησης υπό κενό	29
Εικόνα 14 : Προσδιορισμός σημείου τήξεως.....	30
Εικόνα 15 : Φασματομέτρο NMR	32

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

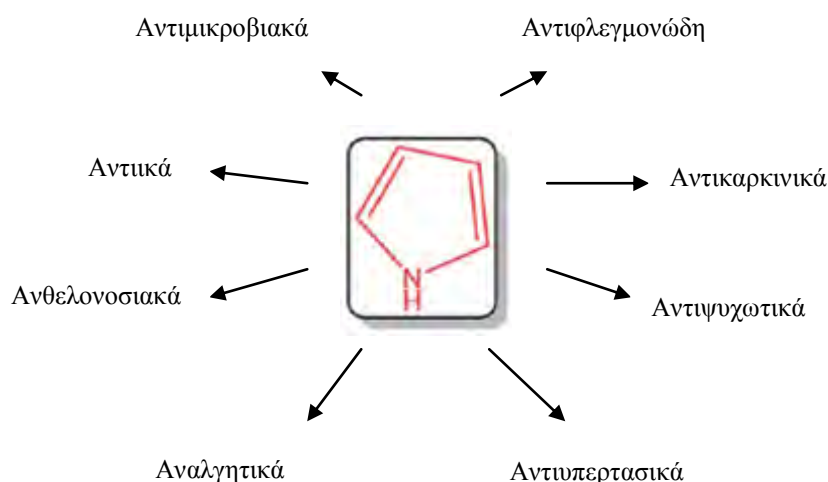
1.1 ΠΥΡΡΟΛΙΔΙΝΕΣ

Η πυρρολιδίνη αποτελεί βασικό δομικό συστατικό πολλών σημαντικών χημικών ενώσεων που αναγράφονται στην βιβλιογραφία συνθετικών και μη. Με τον όρο πυρρολιδίνες ουσιαστικά αναφερόμαστε σε μια δευτεροταγή κυκλική αμίνη, που συνίσταται από ετεροκυκλικό δακτύλιο τεσσάρων ατόμων άνθρακα και ενός ατόμου αζώτο το οποίο και προσδίδει στο μόριο βασικό χαρακτήρα.



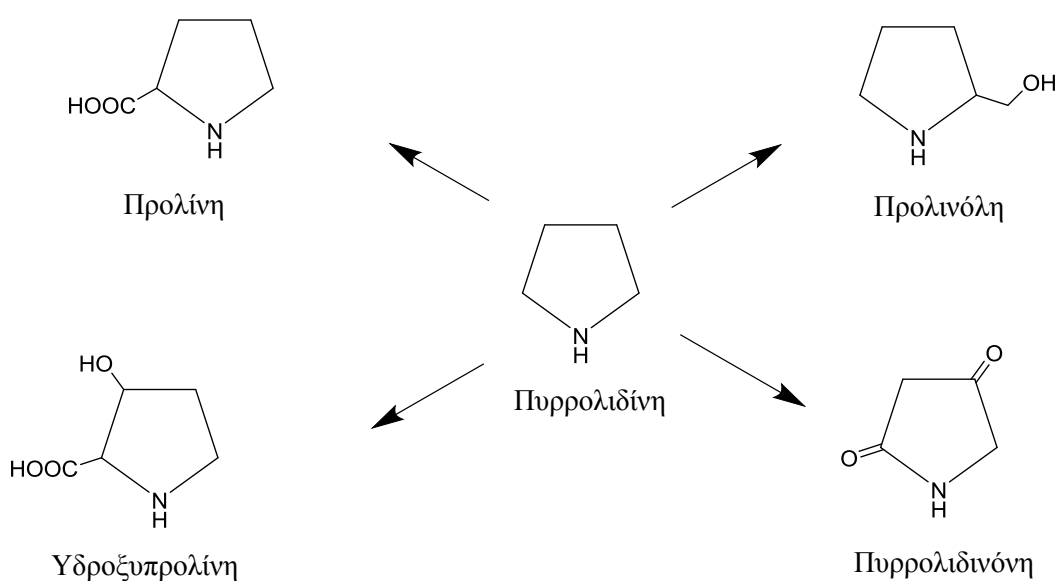
Εικόνα 1 : Πυρρολιδινικός δακτύλιος

Η δομή του πυρρολιδινικού δακτυλίου βρίσκεται σε φυσικά αλκαλοειδή (νικοτίνη, υγρίνη) και σε πολλές φαρμακευτικές δραστικές ουσίες που δρα ως αντιχολινεργικό φάρμακο. Ακόμη συναντάται στα καρότα και στα φύλλα του καπνού. Το πυρρόλιο κατέχει πολλές φυσικές δράσεις. Ο συνδυασμός διαφορετικών μορίων στο σύστημα του δακτυλίου του πυρρολίου έχει οδηγήσει στο σχηματισμό των πιο δραστικών ενώσεων. Τα ανάλογα που περιέχουν πυρρόλιο θεωρούνται ως δυνητική πηγή βιολογικά ενεργών ενώσεων που περιέχουν ένα σημαντικό σύνολο ιδιοτήτων και μπορούν να βρεθούν σε πολλά φυσικά προϊόντα. Τα φάρμακα που κυκλοφορούν στο εμπόριο και περιέχουν δακτύλιο πυρρολίου είναι γνωστό ότι έχουν πολλές βιολογικές ιδιότητες όπως αγχολυτικές, αντικαρκινικές (λευχαιμία, λέμφωμα και μυελοϊνώματωση κλπ.), αντιβακτηριακές, αντιμυκητιακές, αντιπρωτοζιακές, ανθελονοσιακές, δρουν ως β-αδρενεργικοί ανταγωνιστές και πολλά άλλα. Λόγω της ποικιλομορφίας αυτών των αναλόγων στο θεραπευτικό προφίλ, πολλοί ερευνητές έχουν εργαστεί με αυτόν τον σκελετό στο μέγιστο δυναμικό του ενάντια σε πολλές ασθένειες ή διαταραχές. (Bhardwaj, Gumber, Abbot, Dhiman, & Sharma, 2015)



Εικόνα 2 : Βιολογικές ιδιότητες πυρρολιδινικού δακτυλίου

Τα αμινοξέα προλίνη και υδροξυπρολίνη διαθέτουν ως δομικό συστατικό τον πυρρολιδινικό δακτύλιο και ο πενταμελής δακτύλιος έχει υποκατασταθεί με τις λειτουργικές ομάδες του υδροξυλίου και του καρβοξυλίου. Ακόμη υπάρχουν ενώσεις πυρρολιδίνης με υποκατεστημένη πλευρική αλειφατική αλυσίδα και με καρβonyλίο επί του δακτυλίου. Παρακάτω απεικονίζονται η υδροξυπρολίνη, η πυρρολιδινόνη, η προλινόλη και η προλίνη.



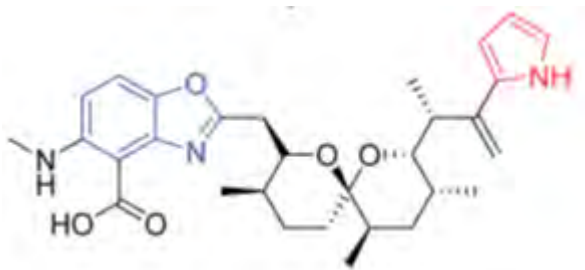
Εικόνα 3 : Παραδείγματα ενώσεων με πυρρολιδινικό δακτύλιο

Πολλές ενώσεις με σημαντική βιολογική δράση που απαντώνται στη φύση φέρουν τον βασικό δακτύλιο της πυρρολιδίνης. Παραδείγματα τέτοιων ενώσεων αποτελούν οι βινδεσίνη, πιρακετάμη, ατορβαστατίνη και άλλες που θα παρουσιαστούν παρακάτω, για τις οποίες έχει αποδειχθεί ότι εμφανίζουν αντιμωτικές αντιβακτηριακές και άλλες ιδιότητες. Οι ίδιες ενώσεις ακόμη αποτελούν ενδιάμεσα για την σύνθεση πιο περίπλοκων και σημαντικών φαρμακευτικά ενώσεων όπως οι δετοξίνη, λακτακυστίνη και άλλες. (Yaakob I.U., 2009)

1.2 ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑΤΑ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕ ΠΥΡΡΟΛΙΔΙΝΙΚΟ ΔΑΚΤΥΛΙΟ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Έχει γίνει προσπάθεια εύρεσης διάφορων συνθετικών προσεγγίσεων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να συνθέσουν επιπλέον βιολογικά ενεργά μόρια που περιέχουν πυρρόλιο. Αυτές οι προσπάθειες αφορούν τη σχέση δομικής δραστηριότητας ή την υποκατάσταση διαφόρων ομάδων στον δακτύλιο του πυρρόλιου. Αυτός ο δακτύλιος είναι δυνατό να περιέχει μια σειρά βιολογικά δραστικών ενώσεων, ενσωματωμένων ως υποκαταστάτες. Μερικά από τα φάρμακα που περιέχουν τμήμα πυρρόλης είναι ήδη διαθέσιμα στην αγορά και ορισμένα βρίσκονται υπό κλινικές δοκιμές. Κάποια από αυτά τα μόρια παρουσιάζονται παρακάτω (Bhardwaj et al., 2015):

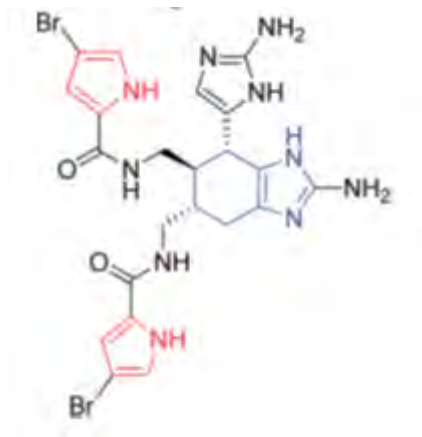
- ✓ Καλσιμυκίνη



Περιγραφή:

- Παράγεται με ζύμωση του *Streptomyces chartreusensis*

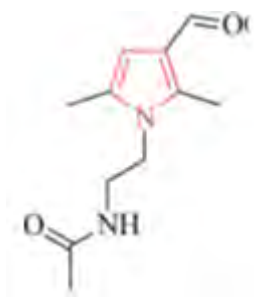
- Διαθέτει αντιβιοτικές ιδιότητες έναντι Gram θετικών βακτηριδίων και μύκητες
 - Λειτουργεί ως δισθενής κατιοντοφόρος και η σειρά της επιλεκτικότητας είναι:
 $Mn^{2+} > Ca^{2+} > Mg^{2+} > Sr^{2+} > Ba^{2+}$
 - Αποσυνδέει την οξειδωτική φωσφορυλίωση
 - Αναστέλλει τη δράση της μιτοχονδριακής ΑΤΡάσης
 - Επάγει την απόπτωση σε ορισμένα κύτταρα και αποτρέπει την εμφάνιση σε άλλα
- ✓ Αγγελιφερίνη



Περιγραφή:

- Είναι μια χημική ένωση που παράγεται από ορισμένους σπόγγους
- Απομονώθηκε πρώτα από την Καραϊβική και έπειτα από την θαλάσσια περιοχή Okinawan από σπόγγους του γένους Agelas
- Έχει αντιβακτηριακές ιδιότητες
- Μπορεί να προκαλέσει διάλυση των βιολογικών παραγόντων

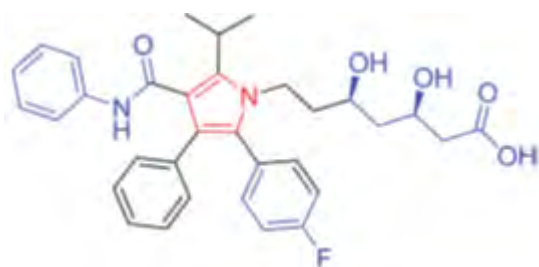
✓ Αλορακετάμη



Περιγραφή:

- Πρόκειται για ένα νεοτρόπο φάρμακο της οικογένειας των φυτών
- Είναι χρήσιμο για τη θεραπεία της νόσου του Alzheimer

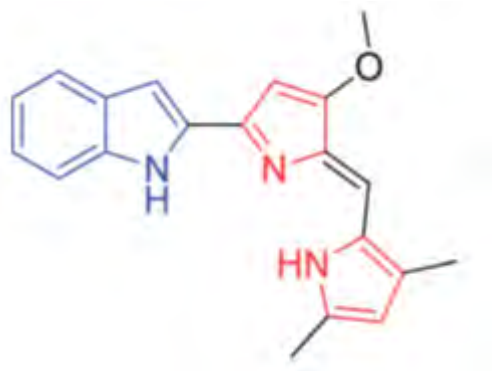
✓ Ατορβαστατίνη



Περιγραφή:

- Χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της δυσλιπιδαιμίας
- Είναι χρήσιμο για την πρόληψη καρδιαγγειακών παθήσεων
- Συνιστάται να χρησιμοποιείται μόνο όταν διαίτα, άσκηση και μείωση του βάρους δεν βελτιώνουν τα επίπεδα χοληστερόλης

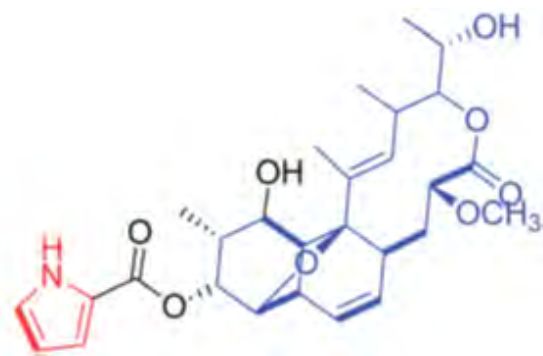
✓ Obatoclax



Περιγραφή:

- Είναι ένα πειραματικό φάρμακο για τη θεραπεία διαφόρων τύπων καρκίνων
- Είναι στις κλινικές δοκιμές φάσης II για τη θεραπεία της λευχαιμίας, λεμφώματος και μαστοκυττάρωσης

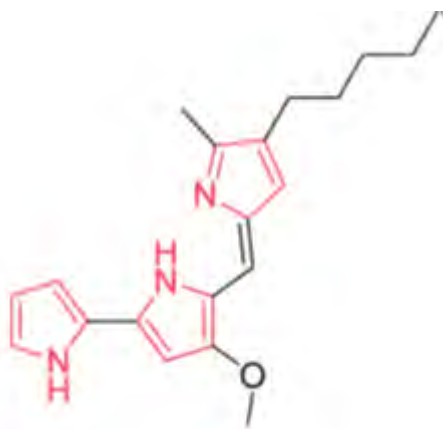
✓ Nargenicin



Περιγραφή:

- Πρόκειται για ένα μόριο με 28 ατόμων άνθρακα με τρικυκλικό δακτύλιο λακτόνης και μοναδική αιθερική γέφυρα
- Απομονώθηκε από βακτήρια του γένους *Nocardia argentinensis*
- Είναι αποτελεσματικό έναντι των Gram θετικών βακτηρίων
- Προκαλεί κυτταρική διαφοροποίηση, έτσι χρησιμοποιείται για νεοπλασματικές ασθένειες

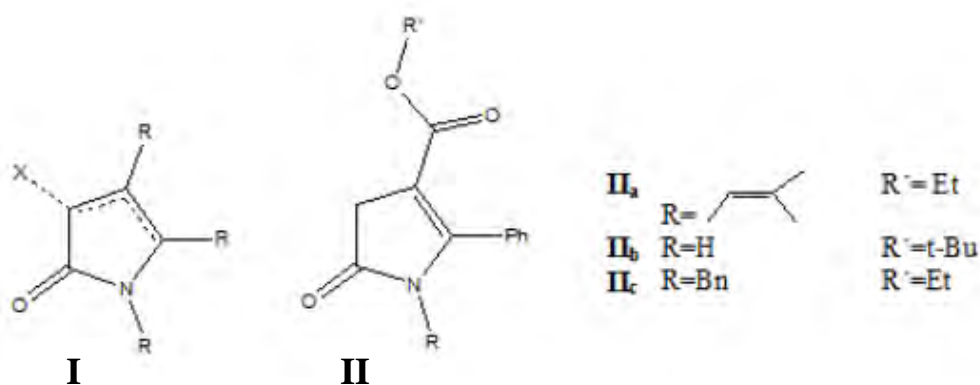
✓ Prodigiosin



Περιγραφή:

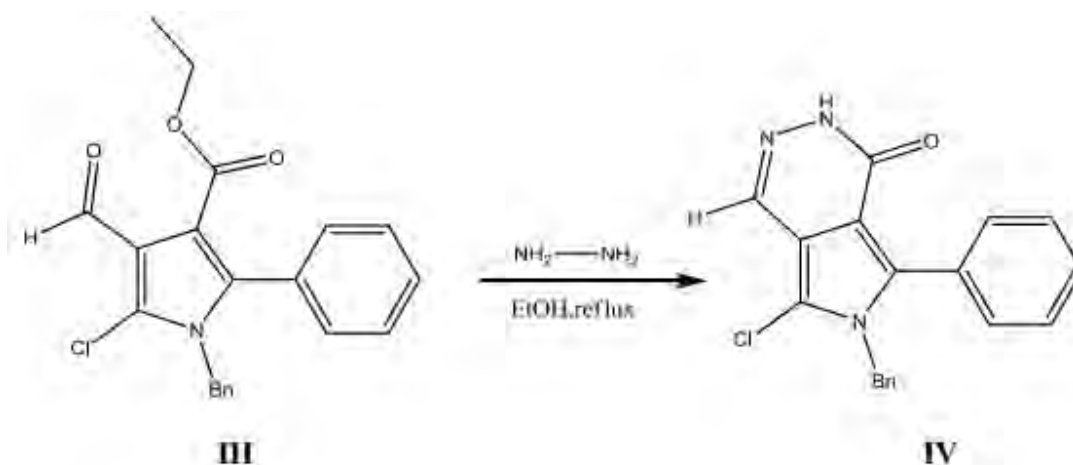
- Διαθέτει αντιβακτηριακές, αντιμυκητιακές, αντιπρωτοζωικές, ανθελονοσιακές, ανοσοκατασταλτικές και αντικαρκινικές ιδιότητες

Εκτός των παραπάνω φυσικών παραγώγων, υπάρχουν συνθετικά παράγωγα που φέρουν στη δομή τους τον πυρρολιδινικό δακτύλιο και έχουν θεραπευτικές ιδιότητες καθώς και αντικές και αντικαρκινικές δράσεις. Κάποια παράγωγα από αυτά είναι οι 2-οξοπυρρόλες. Οι 2-οξοπυρρόλες (**I**) είναι γνωστές ως θεμέλιοι λίθοι για τη σύνθεση των αλκαλοειδών, καθώς και προϊόντων όπως οι 2,2'-διπυρρόλες, οι τετραπυρρόλες και κάποιες χρωστικές. Οι 5-αλκυλο-2-οξοπυρρόλες, αναφέρθηκαν για πρώτη φορά το 1890 από τον Emery, ενώ τα 5-αρυλο-2-πυρρολο παράγωγα **II** χρησιμοποιήθηκαν ως πρώτη ύλη για τη σύνθεση δικετοπυρρολοπυρρολών ως πιθανοί μη νουκλεοζιτικοί αναστολείς της αντίστροφης μεταγραφάσης (NNRTIs), με φθορίζουσα ικανότητα. (Metten, Kostermans, Van Baelen, Smet, & Dehaen, 2006)



Εικόνα 4 : Οξοπυρρόλες και παράγωγα

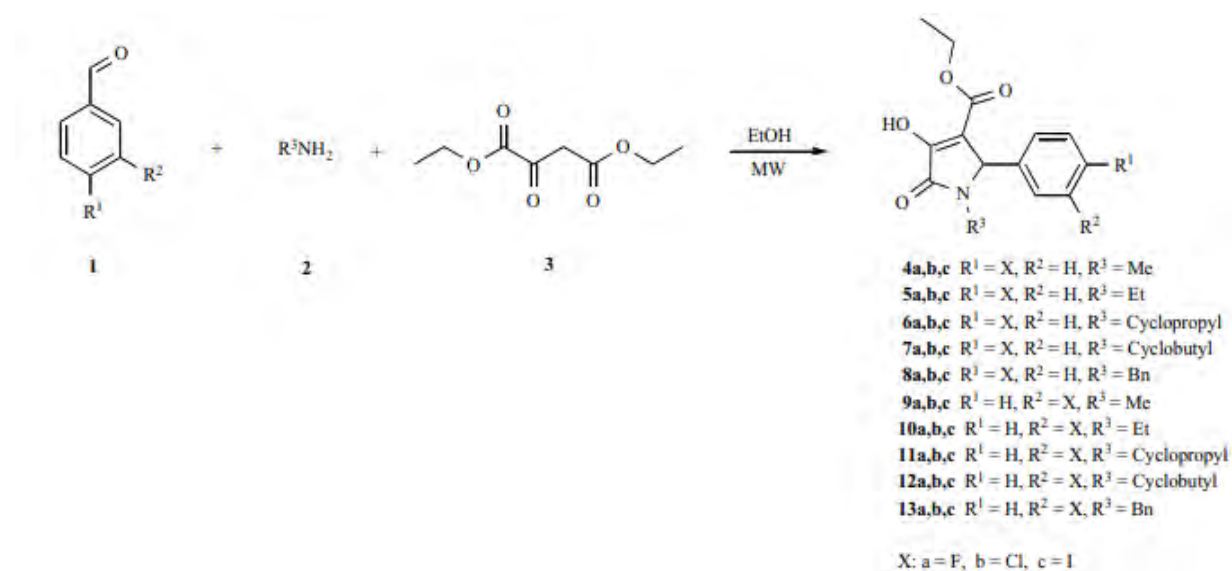
Εξίσου σημαντική συνθετική διαδρομή είναι η δημιουργία παραγώγων του 2-οξοπυρρολίου με αλδεΐδες, διαζωνιακά άλατα, ενεργούς εστέρες και διθειάνθρακα με στόχο τη σύνθεση νέων ενώσεων. Παράδειγμα αποτελεί η χλωροφορμυλίωση του **IIc** που δίνει τις πυρρολο-καρβαλδεΐδες **III** οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη σύνθεση πολυκυκλικών ενώσεων. Για παράδειγμα, οι πυρρολο [3,4-d] πυριδαζιόνες **IV** απομονώθηκαν με σύντηξη αλδεΐδικού και εστερικού δακτυλίου του **III** μέσω υδραζίνης. (Metten et al., 2006)



Εικόνα 5 : Παράδειγμα σύνθεσης ετεροκυκλικής ένωσης από πυρρολο-καρβαλδεΐδη

Αν και υπάρχουν πολλές διαδρομές για τη σύνθεση των πυρρολο παραγώγων, οι περισσότερες από αυτές περιλαμβάνουν πολλά στάδια, μειώνοντας τις συνολικές

αποδόσεις και χρησιμοποιώντας ακριβούς καταλύτες μετάλλων μεταπτώσεως σε συνδυασμό με οργανικούς διαλύτες. Λόγω αυτών των δυσκολιών, υπάρχει ανάγκη ανάπτυξης ήπιων, γρήγορων και εύκολων συνθετικών μεθόδων. Ένα τέτοιο συνθετικό μονοπάτι είναι η παρασκευή μιας μικρής συλλογής διάφορων νέων υποκατεστημένων 3-υδροξυ-3-πυρρολιδινών μέσω αντίδρασης τριών συστατικών του οξαλικού αιθυλεστέρα με μίγμα διαφόρων αρωματικών αλδευδών και πρωτοταγών αμινών χρησιμοποιώντας τεχνολογία μικροκυμάτων. Οι καλές αποδόσεις, ο μικρότερος χρόνος αντίδρασης και η εύκολη επεξεργασία είναι τα βασικά πλεονεκτήματα αυτού του πρωτοκόλλου. Οι αντι-ικές ιδιότητες των νέων ενώσεων ήταν επίσης αξιόλογες. (Manta et al., 2018)



Εικόνα 6 : Σύνθεση πυρρολο παραγώγων με αντική δράση

Από τα παραπάνω είναι εμφανές πως οι ενώσεις με πυρρολιδινικό δακτύλιο αποτελούν ένα ενδιαφέρον και πολύπλευρο δομικό συστατικό στη Συνθετική Οργανική και στην Φαρμακευτική Χημεία.

1.3 ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΠΟΛΛΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ

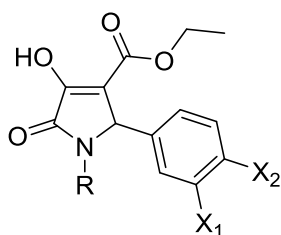
Οι αντιδράσεις πολλών συστατικών (Multi-Component-Reactions – MCRs) είναι οι συγκλίνουσες χημικές διαδικασίες στις οποίες συνδυάζονται τρία ή περισσότερα αντιδραστήρια έτσι ώστε το τελικό προϊόν να διατηρεί τμήματα όλων των αρχικών συστατικών. Με αυτόν τον τρόπο συνδέονται τρία ή περισσότερα αρχικά υλικά σε ένα ενιαίο μόριο σύνθεσης με υψηλή ατομική οικονομία και αποτελεσματικότητα στον σχηματισμό δεσμών. Το αποτέλεσμα είναι να αυξάνονται η μοριακή ποικιλομορφία και πολυπλοκότητα με γρήγορο και απλό πειραματικά τρόπο. Λόγω των παραπάνω οι MCRs είναι μια ισχυρή στρατηγική στην οργανική, συνδυαστική και φαρμακευτική χημεία και για την αποτελεσματικότητα τους αλλά και την οικονομία και οικολογία στην οργανική σύνθεση έχουν αναπτυχθεί πολλές. Με την τεχνολογία των Μικροκυμάτων, οι αντιδράσεις πολλών συστατικών προσδίδουν ευκολία χειρισμού, γρήγορη βελτιστοποίηση, υψηλές αποδόσεις και ανάπτυξη καινοτόμων διαφοροποιημένων ετεροκυκλικών ικριωμάτων σε πολλές χημικές αντιδράσεις με αποτέλεσμα την προαγωγή της διαδικασίας ανακάλυψης φαρμάκων.

Το πυρρόλιο, λόγω της παρουσίας του σε πολλές φυσικές και μη φυσικές ενώσεις, αποτελεί μία από τις πιο απλές ετεροκυκλικές ενώσεις και έχει σημαντικές φαρμακευτικές ιδιότητες. Στα πλαίσια της συγκεκριμένης διπλωματικής μελετήθηκαν οι πυρρολιδίνες, οι οποίες αποτελούν μια πολύ σημαντική υποκατηγορία των πυρρόλιων καθώς περιέχονται σε πολλά συνθετικά φαρμακευτικά και φυσικές τοξίνες. (Dömling, Wang, & Wang, 2012)

2. ΣΚΟΠΟΣ

Είναι γεγονός ότι υπάρχει ανάγκη νέων θεραπευτικών ουσιών με αυξημένη βιολογική δράση, ελαττωμένη τοξικότητα και λιγότερες ανοσοκατασταλτικές παρενέργειες. Έτσι αναπτύσσεται συνεχώς η φαρμακευτική χημεία και επιτρέπει την μελέτη και τη σύνθεση πληθώρας φαρμάκων που περιέχουν ως κύρια δραστική ουσία πύρρολο-ανάλογα.

Τέτοιες έρευνες έχουν πραγματοποιηθεί στο εργαστήριο Βιοοργανικής στο Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας όπου έχουν παραχθεί πλήθος προϊόντων και έχουν ως βάση τον πυρρολιδινικό δακτύλιο (Manta et al., 2018) (Manta et al., 2014):



Εικόνα 7 : Ένωση με βάση τον πυρρολιδινικό δακτύλιο

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η σύνθεση νέων παραγώγων πυρρολιδίνης του παραπάνω τύπου, μέσω αντίδρασης πολλών συστατικών (MCRs) μεταξύ οξαλοξικού διαιθυλεστέρα, μιας αλδεύδης και μιας αμίνης. Προκειμένου να διερευνηθεί η σημασία του ενολικού υδροξυλίου στοχεύουμε επιπλέον σε παράγωγα όπου αυτό θα έχει δεσμευθεί με μία αλκυλο-ομάδα. Τέλος η μετατροπή της εστερικής ομάδας σε αμίδιο μπορεί να βελτιώσει τη σταθερότητά της και τις πιθανές βιολογικές ιδιότητες.

Οι δομές όλων των νέων μορίων θα επιβεβαιωθούν μέσω φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού ^1H - και ^{13}C -NMR.

Τέλος όλα τα νέα παράγωγα θα σταλούν στο ινστιτούτο REGA στο Βέλγιο για την βιολογική αποτίμηση τους, όπου θα μελετηθεί η κυτταροστατική τους δράση σε ανθρώπινα κύτταρα, και θα διερευνηθούν πιθανές αντικές ιδιότητές τους.

3.ΓΕΝΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΑ (Microwave dielectric heating)

Η ενέργεια των μικροκυμάτων αποτελεί μια από τις πιο διαδεδομένες μεθόδους που εφαρμόζεται στην οργανική σύνθεση και ιδιαίτερα στην οργανική και φαρμακευτική χημεία. Αυτό οφείλεται στα πλεονεκτήματα που προσδίδει αυτή η μέθοδος καθώς είναι γρήγορη προσδίδει υψηλές αποδόσεις σε φιλικές και ήπιες συνθήκες για το περιβάλλον, είναι οικονομική καθώς δεν απαιτεί συχνή χρήση διαλυτών και έχει μικρότερη κατανάλωση ενέργειας.(Polshettiwar & Varma, 2008) Συγκεκριμένα δημοσιευμένες εργασίες έδειξαν πως με τη χρήση μικροκυμάτων επιτυγχάνονται:

- Μειωμένος χρόνος αντίδρασης (από ημέρες σε ώρες, από ώρες σε λεπτά , από λεπτά σε δευτερόλεπτα).
- Αύξηση της απόδοσης παραγωγής προϊόντων.
- Παραγωγή πιο καθαρών προϊόντων και μείωση των παραπροϊόντων λόγω της μείωσης των παραπλευρών αντιδράσεων σε σχέση με τις συμβατικές μεθόδους θέρμανσης (ελαιόλουτρα , heat-blocks).
- Παρακολούθηση της αντίδρασης μέσω λογισμικού (on-line reaction monitoring)
- Όμοια κατανεμημένη θέρμανση σε όλο το μίγμα της αντίδρασης.

Η μέθοδος των μικροκυμάτων βασίζεται στην δυνατότητα ορισμένων υλικών (διαλυτών και αντιδραστηρίων) να απορροφούν την ενέργεια των μικροκυμάτων και να την μετατρέπουν σε θερμότητα η οποία είναι απαραίτητη ώστε να ξεκινήσει η αντίδραση. Τα μικροκύματα είναι ένα είδος ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας, τα όρια συχνοτήτων της οποίας κυμαίνονται από 300 -300.000 MHz και αντιστοιχούν σε μήκη κύματος από 1cm- 1m.(Ravichandran & Karthikeyan, 2011)

Η ενέργεια των μικροκυμάτων αποτελείται από ένα ηλεκτρικό και ένα μαγνητικό πεδίο. Μόνο το ηλεκτρικό πεδίο μεταφέρει ενέργεια με στόχο την παραγωγή θερμότητας , ενώ οι αλληλεπιδράσεις του μαγνητικού πεδίου, δεν αποτελούν σημαντικό παράγοντα.

Η ταχύτητα κίνησής των μικροκυμάτων είναι ίση με αυτή του φωτός (300.000 km/s) και η κβαντική τους ενέργεια (0,037 kcal/mol), είναι πολύ χαμηλή σε σχέση με την ενέργεια που απαιτείται ώστε να σπάσουν οι μοριακοί δεσμοί (80-120 kcal/mol). Από τα παραπάνω δεδομένα, τα μικροκύματα είναι αδύνατο να επιδράσουν στη δομή των μορίων. Η μεταφορά κινητικής ενέργειας επιτυγχάνει τον σχηματισμό ή την καταστροφή της μεταφοράς κινητικής ενέργειας. Όσον αφορά τα δοχεία της αντίδρασης που χρησιμοποιούνται στη σύνθεση με μικροκύματα, έχουμε κατασκευή από κατάλληλο υλικό που είναι διαπερατό στην μικροκυματική ακτινοβολία. Πιο αναλυτικά οι αντιδράσεις πραγματοποιούνται είτε σε κλειστά είτε σε ανοιχτά δοχεία και υπό ατμοσφαιρική πίεση.

✓ Κλειστά δοχεία

Τα συγκεκριμένα δοχεία μένουν σφραγισμένα καθ' όλη την διάρκεια της ακτινοβόλησης και επιτρέπουν τη χρήση υψηλών πιέσεων και θερμοκρασιών με ασφάλεια που παρέχεται από δίσκους ασφαλείας με αδρανείς μεμβράνες τεφλόν κλπ. Έτσι αποφεύγεται κάθε καταστροφικό αποτέλεσμα.

✓ Ανοιχτά δοχεία

Τα ανοιχτά δοχεία χρησιμοποιούνται για αντιδράσεις που πραγματοποιούνται σε θερμοκρασία ίση ή μικρότερη από το σημείο βρασμού των αντιδραστηρίων σε ατμοσφαιρική πίεση. Εφόσον οι διαλύτες δεν είναι δυνατό να ξεπεράσουν το σημείο βρασμού τους, χρησιμοποιούνται διαλύτες με υψηλά σημεία βρασμού έτσι ώστε να επιτευχθούν υψηλοί ρυθμοί αντίδρασης. (Springer, 2006)

Όλα τα παραπάνω ελέγχονται με κάποιες παραμέτρους όπου επιτρέπουν την εφαρμογή της μεθόδου ακτινοβόλησης με μικροκύματα σε ένα μείγμα επιτυχώς. Μέσω χειρισμού του οργάνου γίνεται οι απαραίτητες ρυθμίσεις για την ισχύ, τον χρόνο, την πίεση και την θερμοκρασία. Μία από τις πιο σημαντικές ομάδες αντιδράσεων που υποβοηθούνται με μικροκύματα είναι η σύνθεση των πυρρολών.



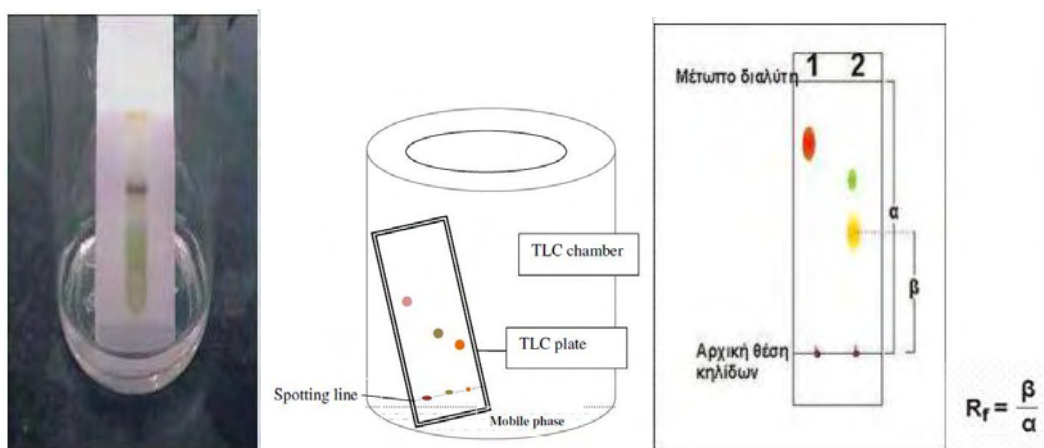
Εικόνα 8 : CEM Microwave, Αντιδραστήρας με αυτόματο συλλέκτη δειγμάτων

3.2 ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΛΕΠΤΗΣ ΣΤΟΙΒΑΔΑΣ (TLC: Thin Layer Chromatography)

Η χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC) είναι μια τεχνική χρωματογραφίας και χρησιμοποιείται για τον έλεγχο της προόδου μιας αντίδρασης, την ταυτοποίηση των ενώσεων σε ένα μείγμα και τον καθορισμό της καθαρότητας μιας ουσίας.(Preethi, Harita, & Rajesh, 2017) Στη μέθοδο αυτή χρησιμοποιούνται γυάλινες ή αλουμιμένες πλάκες επιστρωμένες με μια λεπτή στοιβάδα στατικής φάσης, εμείς χρησιμοποιήσαμε πλάκες αλουμινίου επιστρωμένες με silica gel (διοξείδιο του πυριτίου) πάχους 0.2 mm. Η στατική φάση θα μπορούσε να είναι επίσης ή κυτταρίνη ή τριοξείδιο αργιλίου (alumina) ή ρητίνες με βασικές ή όξινες ομάδες κ.α. . Το διάλυμα που εξετάζουμε τοποθετείται σε μορφή κηλίδας σε απόσταση 2 cm περίπου από την αρχή της πλάκας. Έπειτα η πλάκα τοποθετείται όρθια εντός αεροστεγούς θαλάμου στον οποίο έχουμε εισάγει την κινητή φάση. Η κινητή φάση αποτελείται από διάφορους διαλύτες (π.χ. εξάνιο, μεθανόλη , διχλωρομεθάνιο, οξικός αιθυλεστέρας, πετρελαιοκίς αιθέρας, τολουόλιο,ακετόνη κ.ά.) ή και μίγματα διαλυτών. Η πλάκα έτσι υποβάλλεται σε έναν υπερκείμενο χώρο που έχει κορεσθεί από τους ατμούς των διαλυτών. Ο διαλύτης ανάπτυξης ανεβαίνει αργά στο πλακίδιο και συμπαρασύρει τα συστατικά που περιέχει το δείγμα μας σε διαφορετικές αποστάσεις, με διαφορετική ταχύτητα λόγω τριχοειδών φαινομένων. Πρέπει να σημειωθεί ότι όταν ο διαλύτης ανάπτυξης είναι οργανικός ή είναι μίγμα οργανικών διαλυτών τότε το δείγμα διαχωρίζεται στα

συστατικά του βάσει του μηχανισμού προσρόφησης, ενώ όταν ο διαλύτης περιέχει και νερό τότε παρατηρούνται και φαινόμενα κατανομής. Η παραπάνω διαδικασία διακόπτεται όταν το μέτωπο ανάπτυξης του διαλύτη πλησιάσει το άνω άκρο του πλακιδίου και εκεί σημειώνουμε το μέτωπο του διαλύτη με μολύβι. Οι διάφορες ουσίες που περιέχονται στο υπό εξέταση δείγμα εμφανίζονται με τη μορφή διακριτών κηλίδων και ακολουθεί η εμφάνιση του χρωματογραφήματος, επίσης αν αυτό είναι απαραίτητο για τον προσδιορισμό των κηλίδων, το πλακίδιο ξηραίνεται με ρεύμα αέρα ή στο φούρνο. Η παρατήρηση των κηλίδων πραγματοποιείται στο υπεριώδες φως (254 ή 356 nm) ή μετά από ψεκασμό με ειδικά αντιδραστήρια (π.χ. με διάλυμα H_2SO_4). Η απόσταση που διένυσε το κάθε μόριο προσδιορίζει τον συντελεστή κατακράτησης R_f , ο οποίος ορίζεται από τον παρακάτω λόγο:

$$R_f = \frac{\text{Απόσταση που διανύθηκε από την ένωση } (\beta)}{\text{Απόσταση που διανύθηκε από το διαλύτη } (\alpha)}$$



Εικόνα 9 : Παραδείγματα χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας και προσδιορισμός συντελεστή R_f

3.3 ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΣΤΗΛΗΣ (flash chromatography)

Η χρωματογραφία είναι μια τεχνική διαχωρισμού η οποία εφαρμόζεται σε πολλούς κλάδους της επιστήμης. Ο Mikhail Tswett, ένας ρώσος βοτανολόγος, ήταν αυτός που

εφηύρε την τεχνική στις αρχές του 20^{ου} αιώνα και την εφάρμοσε για να διαχωρίσει διάφορες φυτικές χρωστικές (χλωροφύλλες κ.α)

Σε κάθε είδους χρωματογραφία , έχουμε το δείγμα που κινείται σε μια κινητή φάση (mobile phase) . Αυτή η κινητή φάση μπορεί να είναι υγρή , αέρια ή ρευστή και αναγκάζεται να διέλθει μέσω μιας στατικής φάσης (stationary phase) που είναι στερεομένη σε μια στήλη ή μια στερεή επιφάνεια. Έτσι όταν θέλουμε να απομονώσουμε μια χημική ένωση υποβάλλουμε αέρα υπό πίεση σε ένα υλικό προσρόφησης ώστε να ξεκινήσει ο καθαρισμός από διαλύτες και παραπροϊόντα.

Στις μέρες μας αποτελεί μια από τις πανίσχυρες τεχνικές διαχωρισμού και βασίζεται στην προσρόφηση των συστατικών ενός δείγματος σε μια ακίνητη φάση, σε silica gel ή alumina (υλικό προσρόφησης) , και την έκλουση τους με μια κινητή φάση, διαλύτης ή μείγμα διαλυτών.

Στην χρωματογραφία στήλης τοποθετούμε τη στατική φάση σε μια στήλη που έχει κατασκευαστεί από ένα αδρανές υλικό πχ γυαλί, ανοξείδωτο χάλυβα κ.α. έπειτα τοποθετούμε στην κορυφή της στήλης το δείγμα μας και η κινητή φάση διέρχεται μέσω της στατικής φάσης με την βοήθεια πίεσης με αέρα ή μέσω της βαρύτητας. Αυτό το σύστημα έχει ως αποτέλεσμα τα συστατικά του δείγματος να κινούνται κατά μήκος της στήλης με διαφορετικές ταχύτητες που σχετίζονται άμεσα με τη συγγένεια των συστατικών ως προς την στατική φάση.

Ανάλογα με την πολικότητα της ουσίας που θέλουμε να απομονώσουμε έχουμε τις εξής περιπτώσεις:

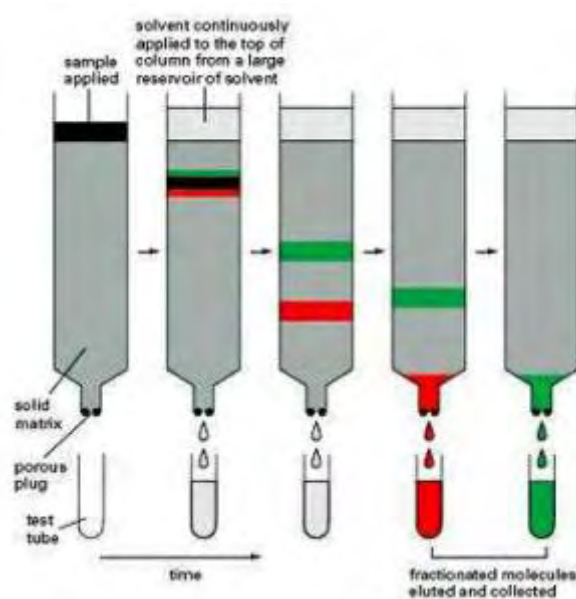
- Οι πολικές προσροφούνται στην κορυφή της στήλης και χρειάζονται έναν διαλύτη πιο πολικό για να προχωρήσουν.
- Οι άπολες ουσίες προχωρούν εύκολα και με διαλύτες χαμηλής πολικότητας.

Για να εκλουθούν οι ουσίες από το silica gel πρέπει να γίνει έκλουση της στήλης με διαλύτες αρχικά λιγότερο πολικούς και στη συνέχεια με περισσότερο πολικούς όπως φαίνεται και στην παρακάτω διάταξη:

Εξάνιο< κυκλοεξάνιο< βενζόλιο< τολουόλιο< διαιθυλαιθέρας< χλωροφόρμιο< οξικός αιθυλεστερας< διχλωρομεθάνιο< βουτανόλη-1< ακετόνη< αιθανόλη< μεθανόλη< ακετονιτρίλιο< νερό

Για να ελέγξουμε την συμπεριφορά μιας ουσίας στη στήλη εφαρμόζουμε χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC) πάνω σε silica gel για να βρούμε το κατάλληλο σύστημα διαλυτών.

Η εξέλιξη της χρωματογραφίας στήλης είναι η χρωματογραφία υψηλής πίεσης ή υψηλής απόδοσης (HPLC) (High Performance Liquid Chromatography). Η τεχνική αυτή παρέχει αποτελέσματα με μεγάλη ταχύτητα και έχει μεγάλη ικανότητα διαχωρισμού.(Roge, Firke, Kawade, Sarje, & Vadvalkar, 2011)



Εικόνα 10 : Παράδειγμα χρωματογραφία στήλης

3.4 ΕΚΧΥΛΙΣΗ

Η εκχύλιση αποτελεί μία από τις πιο συνηθισμένες και παλαιότερες τεχνικές διαχωρισμού. Η τεχνική αυτή είναι απλή σε μεθοδολογία και γρήγορη . Πλεονεκτήματα της αποτελούν και η ευελιξία και η δυνατότητα εφαρμογής της σε δείγματα που περιέχουν μεγάλες ποσότητες ή και ίχνη μιας ουσίας. Η εκχύλιση είναι κατάλληλη για την απομόνωση ουσιών ή τον διαχωρισμό ουσιών ή την απομάκρυνση μη επιθυμητών προσμίξεων, τόσο σε διαλύματα όσο και σε στερεά μίγματα.

Υγρή-Υγρή Εκχύλιση

Βασίζεται στο νόμο κατανομής μιας ουσίας μεταξύ δύο φάσεων που αναμιγνύονται ελάχιστα ή καθόλου μεταξύ τους. Αν σε ένα τέτοιο σύστημα υγρών που δεν αναμιγνύονται, προστεθεί μια ουσία που διαλύεται και στα δύο υγρά, τότε θα υπάρξει μια κατανομή της ουσίας μεταξύ των δύο υγρών με σταθερή αναλογία, η οποία καθορίζεται από τον συντελεστή κατανομής K . Ο συντελεστής αυτός εκφράζει τον λόγο της συγκέντρωσης της εκχυλιζόμενης ουσίας στον έναν διαλύτη ως προς την συγκέντρωση της στον άλλο διαλύτη.

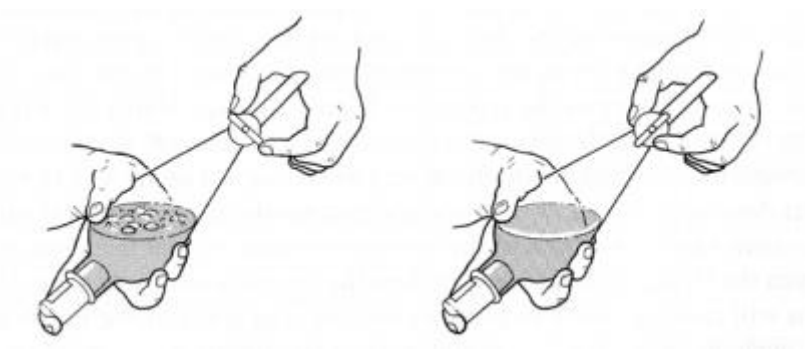
$$K = C_1/C_2$$

όπου

C_1 = συγκέντρωση της εκχυλιζόμενης ουσίας στον διαλύτη 1 ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

C_2 = συγκέντρωση της εκχυλιζόμενης ουσίας στον διαλύτη 2 ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

Η εκχύλιση γίνεται σε διαχωριστική χοάνη όπου προσθέτουμε το διάλυμα της ουσίας και το δεύτερο διαλύτη σε ποσότητα ίση με το 1/3 περίπου του όγκου του πρώτου (με προσοχή διότι ο συνολικός όγκος των διαλυμάτων δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 2/3 του όγκου της χοάνης). Αφού πωματίσουμε τη χοάνη και την απομακρύνουμε από το στήριγμα, αναταράσσουμε ώστε να προκληθεί ισχυρή ανάδευση ενώ στο ενδιάμεσο επειδή είναι πιθανόν να αυξηθεί η πίεση ανοιγοκλείνουμε τη στρόφιγγα με κατεύθυνση του ρύγχους της χοάνης προς τα πάνω. Έπειτα αφήνουμε για λίγο σε ηρεμία για να διαχωριστούν οι δύο φάσεις. Η επάνω φάση είναι πάντα η ελαφρύτερη.



Εικόνα 11 : Χοάνη που χρησιμοποιείται στην εκχύλιση

Αφού εκτελέσουμε τον αριθμό των εκχυλίσεων που κρίνεται απαραίτητος, συγκεντρώνουμε όλα εκείνα τα εκχυλίσματα των φάσεων που περιέχουν την ουσία σε

μια καθαρή και στεγνή κωνική φιάλη όπου και θα ξηραθούν. Η ξήρανση πραγματοποιείται με προσθήκη μικρής ποσότητας ανόργανων αλάτων(π.χ. CaCl_2 NaSO_4) στο διάλυμα, ανακίνηση και αναμονή για μερικά λεπτά. Τα ξηραντικά συγκρατούν το νερό σε κρυσταλλικό ύδωρ και δεν πρέπει να αντιδρούν με την ουσία που θέλουμε να ξηράνουμε, να διαλύονται στο νερό ή να έχουν καταλυτική δράση (πρόκληση πολυμερισμού, αυτοξειδωση, συμπύκνωση). Μετά από αυτό το στάδιο, απομακρύνουμε το ξηραντικό με διήθηση και αποστάζουμε τον διαλύτη ή τον εξατμίζουμε υπό κενό.(Κομιώτης Δ., Μαντά Σ.,)

Στο παρακάτω σχήμα απεικονίζεται ένας από τους βασικούς τύπους συσκευών περιστροφικού εξατμιστήρα υπό κενό και η διαδικασία λειτουργίας του είναι η εξής:

- 1) Ανοίγουμε τη ψύξη
- 2) Συνδέουμε τη φιάλη μας και ξεκινά η περιστροφή
- 3) Εφαρμόζεται το κενό
- 4) Θέρμανση της φιάλης έως το τέλος της εξάτμισης
- 5) Διακοπή κενού και περιστροφής
- 6) Κλείσιμο βρύσης που συνδέεται με τον ψυκτήρα



Εικόνα 12 : Περιστροφικός εξατμιστήρας

Για να έχουμε μια επιτυχημένη εκχύλιση , βασικός παράγοντας είναι η επιλογή του κατάλληλου διαλύτη για αυτό και πρέπει να πληρεί τα παρακάτω κριτήρια:

- 1) Δεν πρέπει να υπάρχει η διαλυτότητα μεταξύ των δύο υγρών
- 2) Η εκχυλιζόμενη ουσία πρέπει να ανακτάται εύκολα με βρασμό ή επανεκχύλιση με νερό από το εκχυλιστικό μέσο
- 3) Οι δύο φάσεις να μην εμφανίζουν γαλάκτωμα
- 4) Η πυκνότητα d του ενός διαλύτη να είναι σημαντικά μεγαλύτερη ή μικρότερη από την πυκνότητα του νερού για να διαχωρίζονται εύκολα και γρήγορα οι δύο φάσεις
- 5) Ο διαλύτης να μην αντιδρά με την εκχυλιζόμενη ουσία

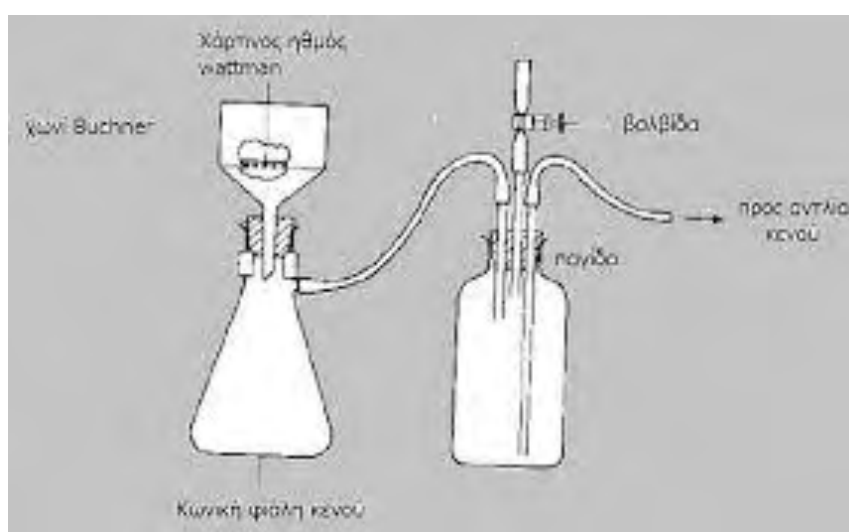
3.5 ΚΡΥΣΤΑΛΛΩΣΗ

Κρυστάλλωση ονομάζεται η απομάκρυνση ενός συστατικού από ένα διάλυμα με τη μορφή κρυσταλλικών στερεών σωματιδίων. Είναι η συνηθέστερη διεργασία καθαρισμού ή ανάκτησης στερεών σωμάτων και μέσω αυτής η ουσία μεταβαίνει από μια υγρή ή μια άμορφη κατάσταση σε μια κρυσταλλική κατάσταση. Με την κρυστάλλωση οι κρύσταλλοι διαχωρίζονται από το διάλυμα κρυστάλλων-υγρού (μάγμα) και οι κρύσταλλοι που σχηματίζονται είναι καθαροί εκτός από τις περιπτώσεις που μέσα τους εγκλείονται ουσίες που μπορούν να μολύνουν το τελικό προϊόν. Σε αυτές τις περιπτώσεις χρειάζεται να γίνει ανακρυστάλλωση δηλαδή εκ νέου κρυστάλλωση της κρυσταλλικής ουσίας. Για αυτήν την περίπτωση επιλέγεται κατάλληλος διαλύτης στον οποίο διαλύεται η προς καθαρισμό ουσία με θερμότητα και στην συνέχεια αποβάλλεται σε κρυσταλλική δομή και παραλαμβάνεται με διήθηση του διαλύματος με την βοήθεια κατάλληλου χωνιού Buchner . Η ουσία που παραλαμβάνουμε μετά την ανακρυστάλλωση αναμένουμε να είναι καθαρή καθώς οι προσμίξεις που περιέχονται απομακρύνονται είτε επειδή είναι αδιάλυτοι/ δυσδιάλυτοι στον επιλεγμένο διαλύτη λόγω θερμότητας, είτε επειδή είναι ευδιάλυτοι σε αυτόν και παραμένουν στο διάλυμα. Για να είναι επιτυχημένη η κρυστάλλωση πρέπει το διαλυτικό μέσο να μην αντιδρά με την ουσία και η διαλυτότητα της ουσίας να είναι μεγάλη τόσο σε υψηλές όσο και χαμηλές θερμοκρασίες. Οι διαλύτες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν είναι νερό, αιθέρας, αλκοόλη, οξικό οξύ, τολουόλιο, βενζόλιο, χλωροφόρμιο, κ.α. και κάθε φορά επιλέγεται διαλύτης , χημικά καθαρός και με βάση τον χημικό τύπο της κρυσταλλικής ουσίας.

Η ποιότητα του τελικού προϊόντος εξαρτάται από :

- Την απουσία συσσωματωμάτων
- Την εμφάνιση του
- Το μέγεθος και την ομοιομορφία των κρυστάλλων
- Την υψηλή καθαρότητα του

Το πλεονέκτημα της κρυστάλλωσης σε σχέση με άλλες μεθόδους είναι η ικανότητα διαλογής μιας καθαρής ουσίας ανάμεσα από πολλές ανεπιθύμητες κάτω από ήπιες συνθήκες πίεσης και θερμοκρασίας.



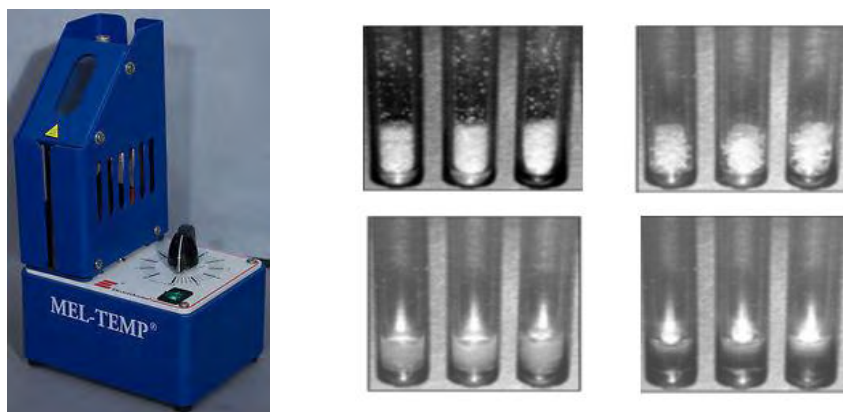
Εικόνα 13 : Συσκευή διήθησης υπό κενό

3.6 ΣΗΜΕΙΟ ΤΗΞΕΩΣ (melting point)

Σημείο τήξεως ή θερμοκρασία τήξης μιας στερεής ουσίας ονομάζεται η θερμοκρασία στην οποία η ουσία μεταβαίνει από τη στερεά κατάσταση στην υγρή, φαινόμενο που ονομάζεται τήξη. πρόκειται για τη θερμοκρασία εκείνη στην οποία συνυπάρχουν σε ισορροπία τόσο η στερεά όσο και η υγρή κατάσταση μιας ουσίας (καθαρής). Η παρουσία κάποιας πρόσμιξης, ακόμα και σε μικρές ποσότητες, προκαλεί ελάττωση του σημείου τήξεως και αύξηση του εύρους.

Το σημείο τήξεως (σ.τ.) χρησιμοποιείται:

- ✓ στην ταυτοποίηση μιας ουσίας και
- ✓ στον έλεγχο της καθαρότητας των οργανικών ενώσεων.



Εικόνα 14 : Προσδιορισμός σημείου τήξεως

3.7 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ (NMR)

Με τον όρο φασματοσκοπία αναφερόμαστε στην τεχνική ανάλυσης της δομής των μορίων με βάση τον τρόπο που αυτά απορροφούν την ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία. Υπάρχουν διάφοροι τύποι φασματοσκοπίας με ιδιαίτερα δημοφιλείς στην οργανική χημεία, την φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR), την φασματοσκοπία υπέρυθρου (IR), την φασματοσκοπία υπεριώδους (UV) και την φασματομετρία μάζας (MS).

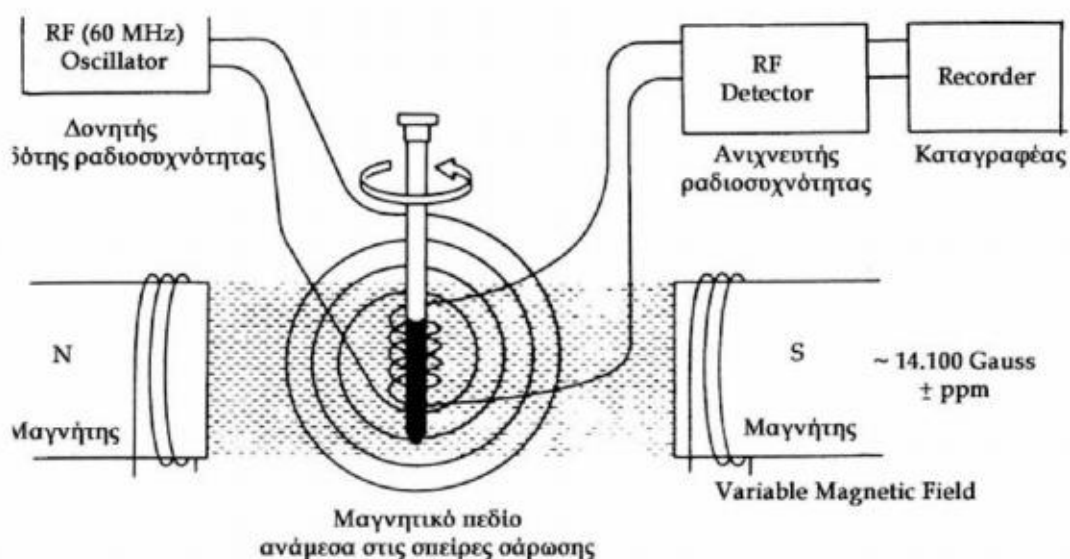
Η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) μπορεί να παρέχει για ένα οργανικό μόριο τον χάρτη του ανθρακικού σκελετού του μαζί με τα υδρογόνα. Για αυτό τον λόγο αποτελεί την πιο χρήσιμη τεχνική προσδιορισμού της δομής των μορίων και μελετά την αλληλεπίδραση της ύλης με την ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία ώστε να βγούν συμπεράσματα για τις φυσική, χημική και βιολογική δράση αυτών. Οι πυρήνες ^1H και ^{13}C , παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον διότι

αποτελούν κύρια συστατικά των περισσότερων οργανικών ενώσεων. (Σπυρούλιας Γ. Πάτρα)

Η τεχνική βασίζεται στην μαγνητική ιδιότητα της ιδιοστροφορμής (spin) κάποιων πυρήνων κάτω από ισχυρό μαγνητικό πεδίο και στηρίζεται στην απορρόφηση ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στην περιοχή των βραχέων ραδιοκυμάτων (102 MHz). Το spin θεωρείται θεμελιώδης ιδιότητα όπως για παράδειγμα η μάζα ή το ηλεκτρικό φορτίο, είναι πολλαπλάσιο του $\frac{1}{2}$ και μπορεί να είναι θετικό(+) ή αρνητικό(-). Δημιουργείται έτσι ένα μαγνητικό δίπολο λόγω του γεγονότος ότι οι ατομικοί πυρήνες έχουν φορτίο και αυτοπεριστρέφονται γύρω από τον πυρηνικό τους άξονα και η μαγνητική ροπή (μ) τους είναι κατά μήκος αυτού του άξονα. Ανάλογα την ενεργειακή κατάσταση υπάρχει το α -spin (χαμηλή) και το β -spin (υψηλή). Όσο αυξάνεται η ένταση του εξωτερικού μαγνητικού πεδίου τόσο αυξάνεται και η διαφορά ενέργειας μεταξύ της χαμηλής (α -spin) και της υψηλής (β -spin) ενεργειακής κατάστασης. (Βαρβόγλη Α.Γ., Αλεξανδρού Α.Γ., 1986) Αν ένας πυρήνας με μη μηδενικό spin βρεθεί σε μαγνητικό πεδίο εντάσεως H_0 , το διάνυσμα της στροφικής ορμής του πυρήνα παίρνει πολλούς προσανατολισμούς ως προς την διεύθυνση του πεδίου και σε κάθε προσανατολισμό αντιστοιχεί μια ορισμένη τιμή ενέργειας E.(Βαρβόγλη Α.Γ., Αλεξάνδρου Α.Γ., 1986) Ο πυρήνας του 1H (πρωτόνιο) έχει $I=1/2$ και μπορεί να προσανατολιστεί παράλληλα ($I=+1/2$) και αντιπαράλληλα ($I=-1/2$). Η βασική κατάσταση της χαμηλής ενέργειας χαρακτηρίζεται με τον παράλληλο προσανατολισμό του πυρήνα του 1H (πρωτόνιο) ενώ η διεγερμένη κατάσταση της υψηλής ενέργειας χαρακτηρίζεται από τον αντιπαράλληλο προσανατολισμό του πυρήνα του 1H . Όταν στους προσανατολισμένους πυρήνες πέσει ακτινοβολία κατάλληλης συχνότητας τότε απορροφάται ενέργεια και η βασική κατάσταση μετατρέπεται σε διεγερμένη (αναστροφή spin). Η αναστροφή spin υποδεικνύει ότι οι πυρήνες έχουν συντονιστεί με την ακτινοβολία που τους παραχωρήθηκε και έχουμε μαγνητικό συντονισμό. (McMURRY, J. 2005) Όμως κάθε πυρήνας έχει διαφορετική συχνότητα συντονισμού διότι παίζει ρόλο το είδος των ατόμων και των δεσμών στο γειτονικό περιβάλλον. (Μανvomoustakos T., 2004) Έτσι δημιουργούνται οι κορυφές απορρόφησης στο φάσμα NMR και λαμβάνουμε ξεχωριστό σήμα για κάθε διακριτό πυρήνα άνθρακα ή υδρογόνου.

Η αρχή λειτουργίας ενός φασματομέτρου NMR απεικονίζεται στην παρακάτω εικόνα. Ο οριζόντιος άξονας καταγράφει το υποβληθέν μαγνητικό πεδίο που

υφίστανται οι πυρήνες, ενώ ο κάθετος άξονα την ένταση της απορρόφησης της ενέργειας. Συνοπτικά αποτελείται από έναν μαγνήτη, έναν ανιχνευτή ραδιοσυχνότητων, τον υποδοχέα δείγματος, τον ανιχνευτή και τον καταγραφέα.

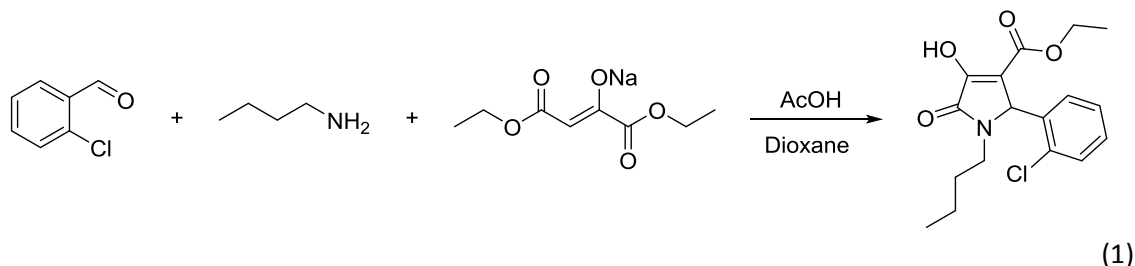


Εικόνα 15 : Φασματόμετρο NMR

Η ταυτοποίηση των ενώσεων της συγκεκριμένης διπλωματικής εργασία έγινε με την τεχνική της φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) και τα φάσματα καταγράφηκαν στα 300MHz σε φωτόμετρο Bruker AVAMCEIII 300. Τα φάσματα ^{13}C -NMR καταγράφηκαν στο ίδιο φωτόμετρο στα 75.5 MHz με την χρήση δευτεριωμένου χλωροφορμίου (CDCl_3).

4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1) Σύνθεση του 1-Βουτυλο-2-(2-χλωροφαινυλ)-4-υδροξυ-5-οξο-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα (1) μέσω αντίδρασης τριών αντιδρώντων.



Πρωτόκολλο:

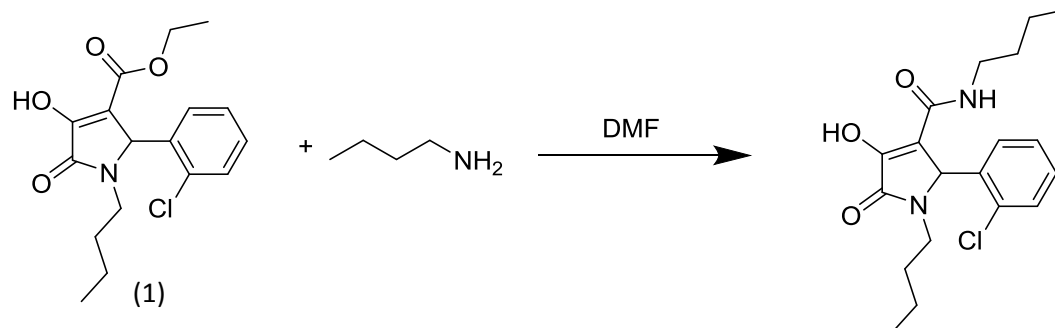
1.0 mmol αμίνης απαιτεί: 1.0 mmol μετανατρίου άλας, 5.0 ml άνυδρο 1,4-διοξάνιο, 1.0 mmol AcOH

Πειραματική διαδικασία:

Χρησιμοποιήθηκε μια σφαιρική φιάλη των 5 ml, που προηγουμένως είχε ξηρανθεί στο φούρνο και έπειτα ψύχθηκε μέσα σε ξηραντήρα ώστε να επιτευχθούν οι άνυδρες συνθήκες. Μετά προστέθηκαν διαδοχικά 1,4-διοξάνιο (2.0 ml), η αλδεΐδη, η αμίνη, το μετά νατρίου άλας του οξαλοξικού και το οξικό οξύ. Το άλας άρχισε να διαλύεται και ένα λεπτό ίζημα σχηματίστηκε. Στη συνέχεια προστέθηκε επιπλέον διοξάνιο (2.0 ml), και έπειτα από ανάδευση 5 ωρών προστέθηκε άλλο 1.0 ml. Το μίγμα αναδεύεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (rt) για 18 ώρες. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με TLC. Τέλος προστίθενται 2.0 ml HCl 0.5M, το διάλυμα που προκύπτει συμπυκνώνεται σε περιστροφικό εξατμιστήρα, το υπόλειμμα αραιώνεται με νερό (5 ml) και εκχυλίζεται με οξικό αιθυλεστέρα (EtOAc, 3 × 10 ml). Τα εκχυλίσματα ξηραίνονται (Na₂SO₄), συμπυκνώνονται σε περιστροφικό εξατμιστήρα και το υπόλειμμα έπειτα από κατεργασία με εξάνιο, διήθηση υπό κενό και εκπλύσεις με εξάνιο δίνει το προϊόν (1) σαν λευκό στερεό.

M.B. = 337,80	Σ.Τ. = 125-127 °C
TLC (4 hex : 1 EtOAc)	R _f = 0,75
Απόδοση	α = 65%

- 2) Σύνθεση του N, 1- διβουτυλ-2-(2-χλωροφαινυλ)-4-υδροξυ-5-οξο-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξαμίδιο μέσω αντίδρασης δύο αντιδρώντων.



Πρωτόκολλο:

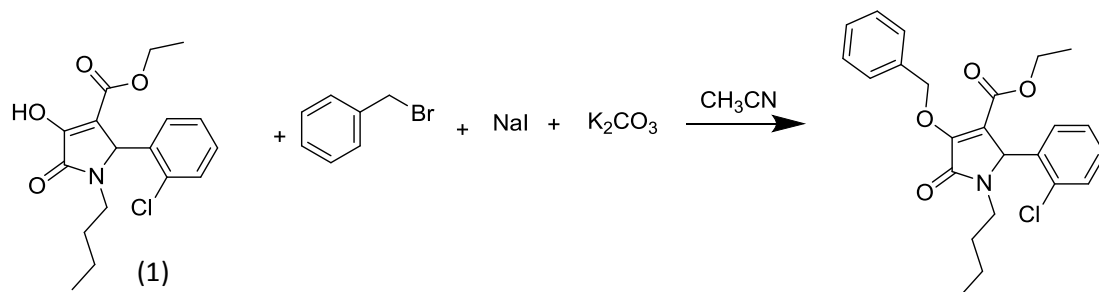
0.1 mmol του αντιδρώντος (1) απαιτεί: 0.2 mmol βουτυλαμίνη, 0.5 ml διαλύτη διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF).

Πειραματική διαδικασία:

Σε σωληνάκι microwave CEM προστέθηκαν το αντιδρών (1), η βουτυλαμίνη και ο διαλύτης διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF). Τοποθετήθηκε στο microwave CEM και το διάλυμα θερμάνθηκε στους 100° C για 30 min σε μέγιστη ισχύ 250 Watt. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με TLC. Έπεται η κατεργασία όπου προστίθεται H₂O (5 ml) και 1 ml HCl 1M και στη συνέχεια το μίγμα εκχυλίζεται με διχλωρομεθάνιο (CH₂Cl₂) (4 × 5 ml). Τελευταίο στάδιο είναι η ξήρανση των εκχυλισμάτων και η εξάτμιση του διαλύτη. Το προϊόν που μένει είναι ένα λευκό στερεό.

M.B. = 364,87	Σ.Τ. = 151-152 °C
TLC (0.5 MeOH :9.5 CH ₂ Cl ₂)	R _f = 0,7
Απόδοση	α = 70%

3) Σύνθεση του 4-(Βενζυλοξυ)-1-βουτυλ-2-(2-χλωροφαινυλ)-5-οξο-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω αντίδρασης πολλών αντιδρώντων.



Πρωτόκολλο:

0.2 mmol αντιδρώντος (1) απαιτεί: 0.2 mmol βενζυλ-βρομίδιο, 0.02 mmol ιωδιούχο νάτριο, 0.6 mmol ανθρακικό κάλιο και 2.0 ml ακετονιτρίλιο.

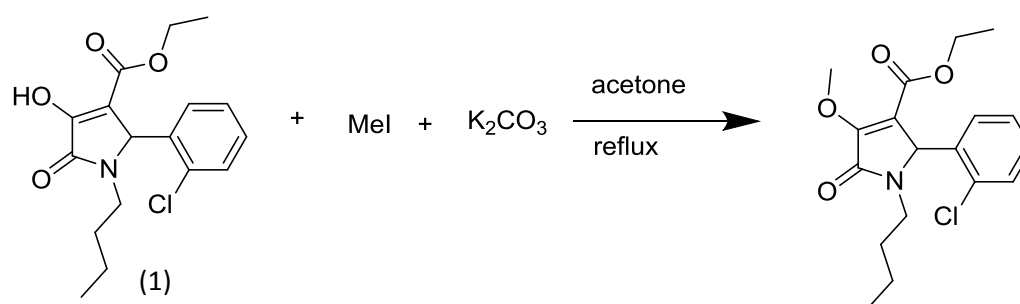
Πειραματική διαδικασία:

Χρησιμοποιήθηκε μια σφαιρική φιάλη των 5ml και ένας ψυκτήρας, που προηγουμένως είχαν ξηρανθεί στο φούρνο και έπειτα ψύχθηκαν σε ξηραντήρα ώστε να επιτευχθούν οι άνυδρες συνθήκες. Μετά προστέθηκε το αντιδρών (1), το ανθρακικό κάλιο και το ιωδιούχο νάτριο, διοχετεύοντας άζωτο στη φιάλη. Έπειτα προστέθηκαν και 2.0 ml ακετονιτρίλιο και υπό ανάδευση προστέθηκε και το βενζυλοβρωμίδιο και προσαρμόστηκε ο ψυκτήρας. Το διάλυμα θερμάνθηκε υπό έντονη ανάδευση στο σημείο βρασμού του ακετονιτρίλιου. Η πορεία της αντίδρασης ελεγχόταν με TLC. Ακολούθησε κατεργασία μετά από 5 ώρες και 30 λεπτά. Συγκεκριμένα απομακρύνθηκε σε περιστροφικό εξαμιστήρα, το υπόλειμμα εκχυλίσθηκε με 5 ml διχλωρομεθάνιο (x 5 φορές), το μείγμα των εκχυλισμάτων πλύθηκε με διάλυμα χλωριούχου νατρίου (για να απομακρύνουμε τα αδιάλυτα άλατα), ξηράνθηκε με θειικό νάτριο και συμπυκνώθηκε περιστροφικό εξαμιστήρα. Έτσι σχηματίστηκε ένα κολλώδες υποκίτρινο υγρό για το οποίο πραγματοποιήσαμε χρωματογραφία στήλης για να απομακρυνθούν τυχόν υπολείμματα ή παραπροϊόντα.

Με συμπύκνωση σε περιστροφικό εξατμιστήρα των κλασμάτων που περιείχαν το προϊόν αυτό παραλήφθηκε ως λευκό στερεό.

M.B. = 427,93	Σ.Τ. = 88-90 °C
TLC (4 hex : 1 AcOEt)	R _f = 0,55
Απόδοση	α = 28%

4) Σύνθεση του 1-Βουτυλ-2-(2-χλωροφαινυλ)-4-μεθοξυ-5οξο-2.5-διυδρο-1Η-πυρρολο-3- καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω αντίδρασης πολλών αντιδρώντων.



Πρωτόκολλο:

0.2 mmol αντιδρώντος (1) απαιτεί: 1.0 mmol ανθρακικό κάλιο, 0.6 mmol ιωδομεθάνιο και 2.0 ml ακετόνη.

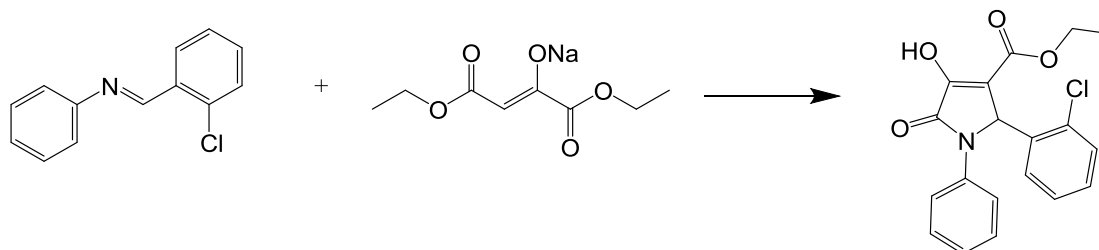
Πειραματική διαδικασία:

Χρησιμοποιήθηκε μια σφαιρική φιάλη των 5ml και ένας ψυκτήρας , που προηγουμένως είχαν ξηρανθεί στο φούρνο και έπειτα ψύχθηκαν σε ξηραντήρα ώστε να επιτευχθούν οι άνυδρες συνθήκες. Μετά στη σφαιρική προστέθηκε το αντιδρών (1) και το ανθρακικό κάλιο. Έπειτα προστέθηκε η ακετόνη και υπό έντονη ανάδευση το ιωδομεθάνιο. Αφού προσαρμόστηκε και ο ψυκτήρας, η φιάλη θερμάνθηκε στο

σημείο βρασμού της ακετόνης. Η πορεία της αντίδρασης ελεγχόταν με TLC. Η κατεργασία έγινε με εξάτμιση της ακετόνης σε περιστροφικό εξάτμιστήρα, προσθήκη νερού στο υπόλειμμα, εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο, ξήρανση των εκχυλισμάτων εξάτμισή τους σε περιστροφικό εξάτμιστήρα. Το προϊόν που λήφθηκε δεν ήταν στερεό και είχε όψη φιλμ.

M.B. = 351,83	Σ.Τ. = -
TLC (0.5 MeOH : 9.5 CH ₂ Cl ₂)	R _f = 0,27
Απόδοση	α = 20%

5) Σύνθεση του 2-(2-Χλωροφαινυλ)-4-υδροξυ-5-οξο-1-φαινυλ-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω αντίδρασης δύο αντιδρώντων.



Πρωτόκολλο:

1.1 mmol μίνης (E)-1-(2-chlorophenyl)-N-phenylmethanimine απαιτεί: 1.1 mmol οξαλοξικό αιθυλεστέρα, 1.1 mmol AcOH και 3.0 ml διοξάνιο.

Πειραματική διαδικασία:

Χρησιμοποιήθηκε μια σφαιρική φιάλη των 5 ml, που προηγουμένως είχε ξηρανθεί στο φούρνο και έπειτα ψύχθηκε σε ξηραντήρα ώστε να επιτευχθούν οι άνυδρες συνθήκες. Μετά στη σφαιρική προστέθηκαν διαδοχικά η μίνη, το διοξάνιο, ο

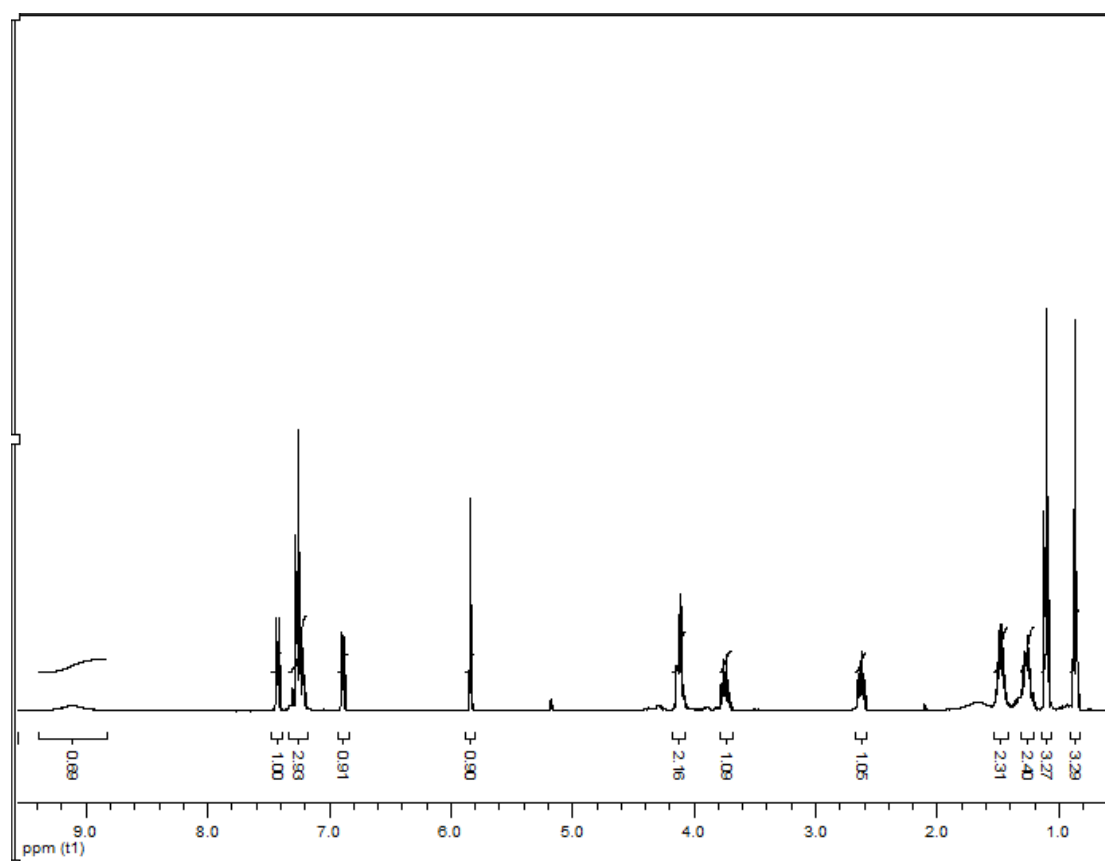
οξαλοξικός και το οξικό οξύ. Το μείγμα αναδεύθηκε σε θερμοκρασία δωματίου. Η πορεία της αντίδρασης ελεγχόταν με TLC. Η κατεργασία έγινε με εξάτμιση του διοξάνιου, προσθήκη HCl 1M (1-2 ml), διήθηση υπό κενό και πλύση του στερεού με νερό και με δισοπροπυλαιθέρα ώστε να απομακρυνθεί τυχόν απομένουσα αλδεύδη. Το προϊόν παραλαμβάνεται ως λευκό στερεό.

M.B. = 357,79	Σ.Τ. = 185-189 °C
TLC (9.9 hex : 0.1 AcOEt)	R _f = 0,5
Απόδοση	α= 68%

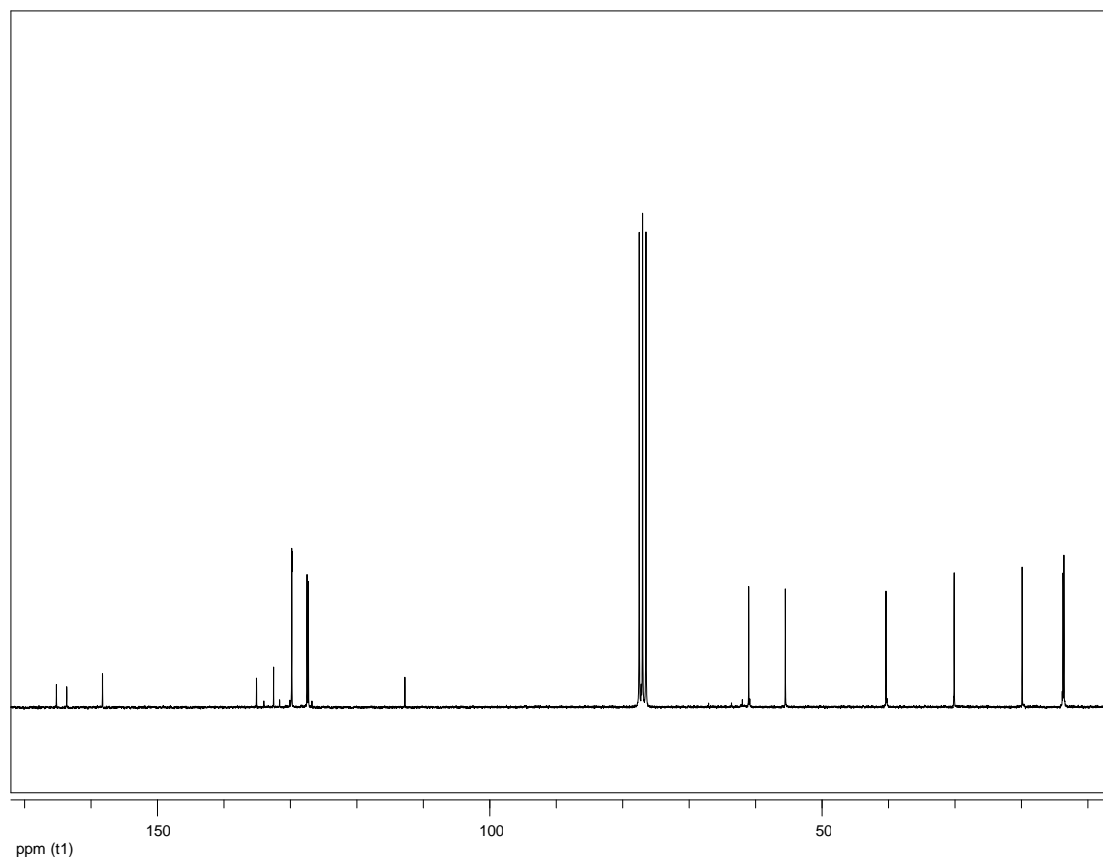
5. ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ (NMR)

Όλα τα προϊόντα που παρήχθησαν ταυτοποιήθηκαν με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) και τα αντίστοιχα φάσματα δίνονται παρακάτω.

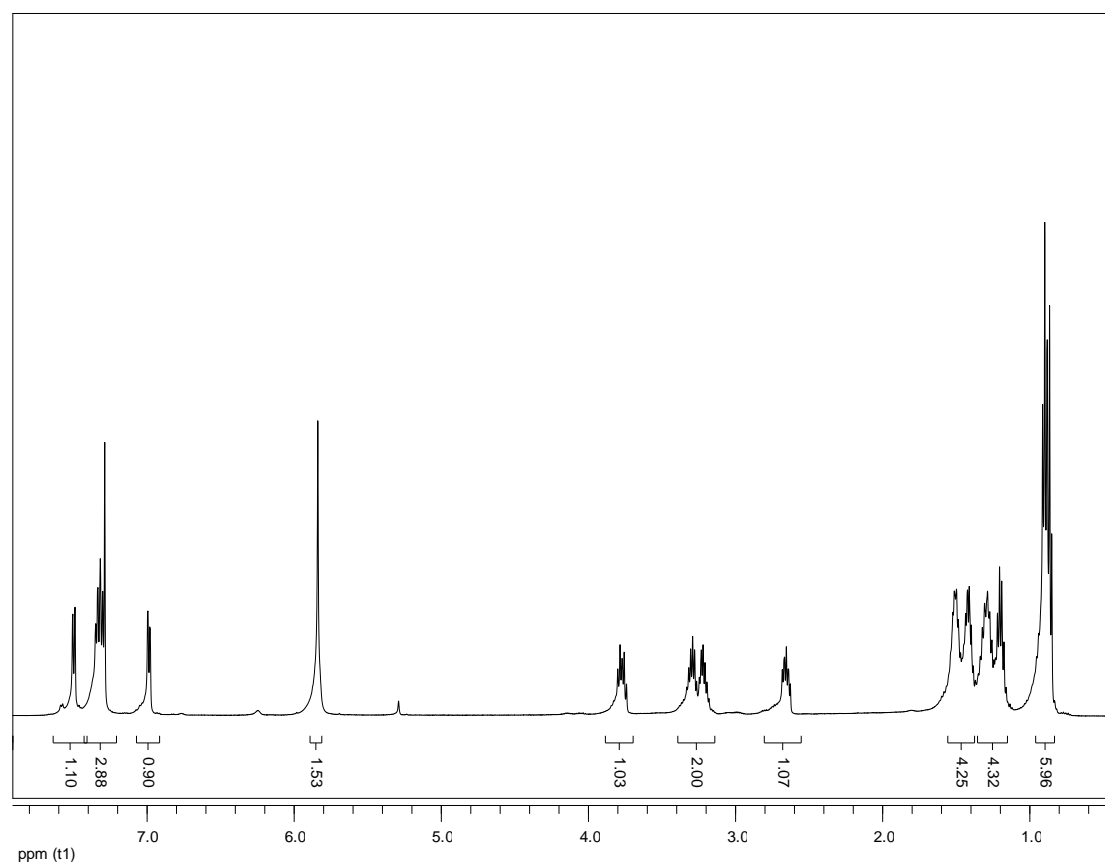
Φάσμα ^1H NMR του 1-βουτυλο-2-(2-χλωροφαινυλ)-4-υδροξυ-5-οξο-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα (1)



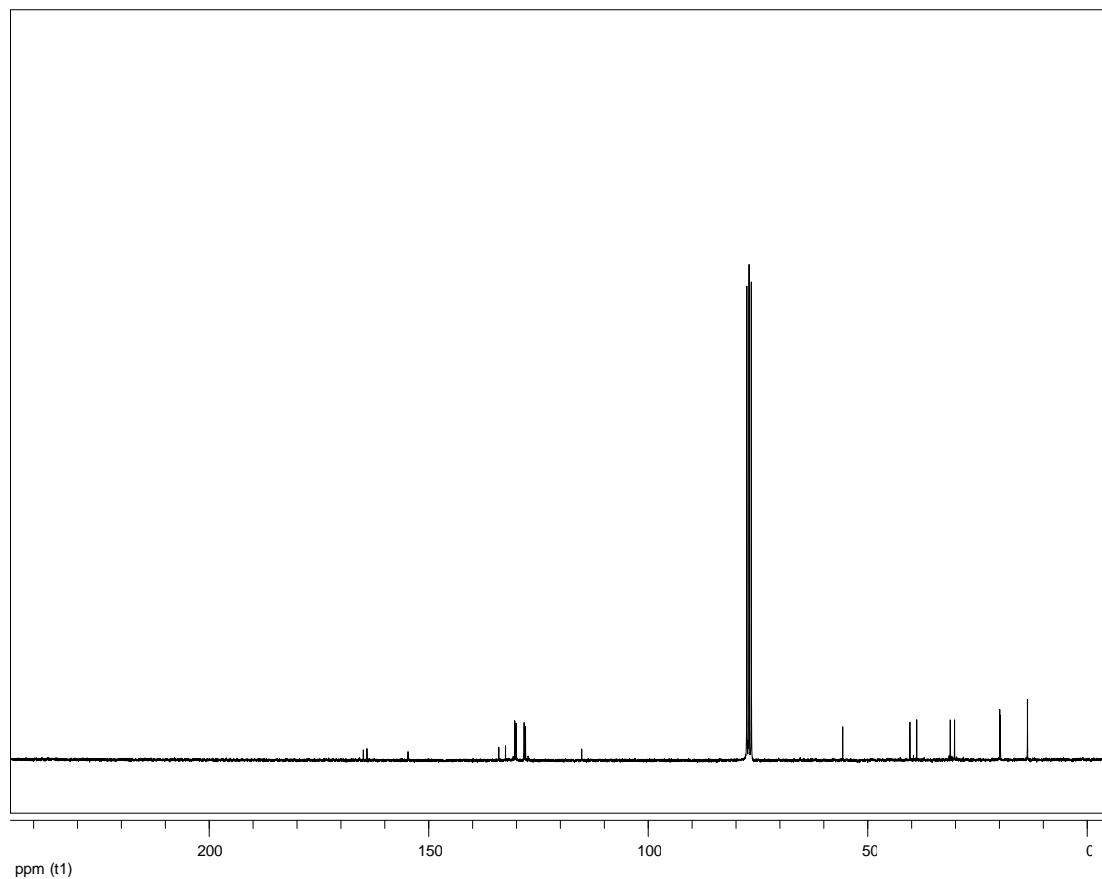
Φάσμα ^{13}C NMR του 1-βουτυλο-2-(2-χλωροφαινυλ)-4-υδροξυ-5-οξο-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα (1)



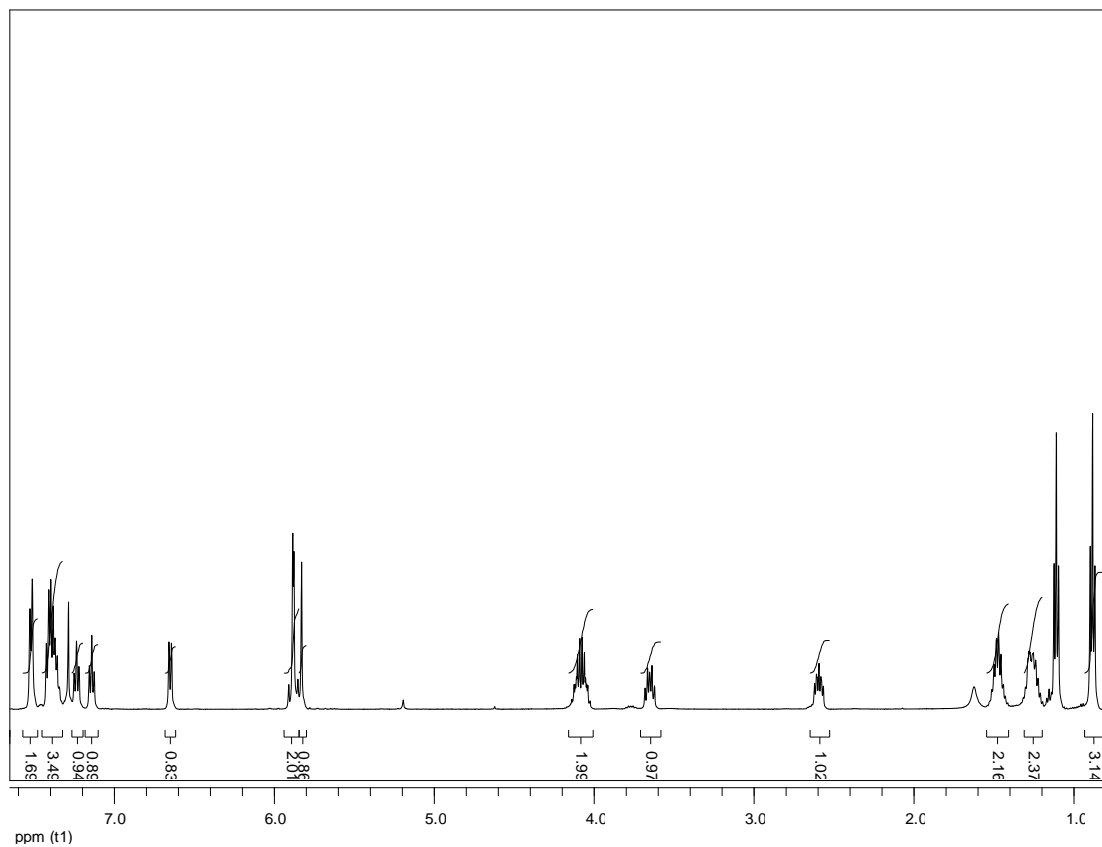
Φάσμα ^1H NMR του N, 1- διβουτυλ-2-(2-χλωροφαινυλ)-4-υδροξυ-5-οξο-2,5-διυδρο-
1H-πυρρολο-3-καρβοξαμιδίου



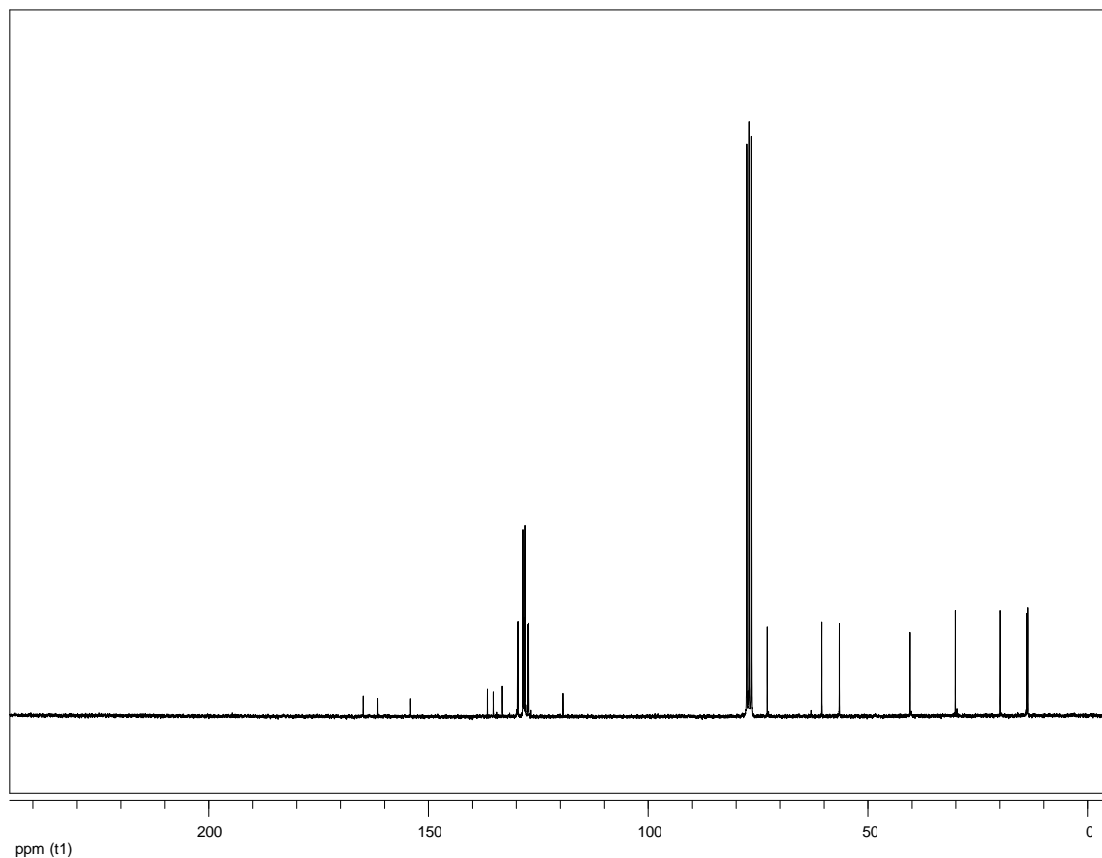
Φάσμα ^{13}C NMR του N, 1- διβουτυλ-2-(2-χλωροφαινυλ)-4-υδροξυ-5-οξο-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξαμιδίου



Φάσμα ^1H NMR του 4-(Βενζυλοξυ)-1-βουτυλ-2-(2-χλωροφαινυλ)-5-οξο-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα



Φάσμα ^{13}C NMR του 4-(Βενζυλοξυ)-1-βουτυλ-2-(2-χλωροφαινυλ)-5-οξο-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα



6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

- 1) 1-Βουτυλο-2-(2-χλωροφαινυλ)-4-υδροξυ-5-οξο-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικός αιθυλεστέρας
- 2) N, 1- διβουτυλ-2-(2-χλωροφαινυλ)-4-υδροξυ-5-οξο-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξαμίδιο
- 3) 4-(Βενζυλοξυ)-1-βουτυλ-2-(2-χλωροφαινυλ)-5-οξο-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικός αιθυλεστέρας
- 4) 1-Βουτυλ-2-(2-χλωροφαινυλ)-4-μεθοξυ-5οξο-2.5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικός αιθυλεστέρας
- 5) 2-(2-Χλωροφαινυλ)-4-υδροξυ-5-οξο-1-φαινυλ-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικός αιθυλεστέρας

Κατά την διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας και για να επιτευχθεί η σύνθεση των παραπάνω προϊόντων με τις συγκεκριμένες τροποποιήσεις, έγιναν διάφοροι σχεδιασμοί πειραμάτων και πολλές προσπάθειες μεταβάλλοντας κάθε φορά τις συνθήκες και τους διαλύτες. Πρώτος στόχος ήταν η σύνθεση του πυρρολιδινικού δακτυλίου, η οποία πραγματοποιήθηκε σε ένα απλό στάδιο συνδυάζοντας τρία συστατικά. Ακολούθως επιχειρήθηκε η μετατροπή του εστέρα σε αμίδιο με θέρμανση παρουσία περίσσειας αμίνης. Τέλος επιτευχθηκε η δέσμευση του υδροξυλίου (OH) του αρχικού πυρρολο παραγώγου με δύο διαφορετικές αλκυλο ομάδες.

Αυτό που αξίζει να επισημανθεί είναι ότι προκειμένου να παραχθούν τα αμίδια δοκιμάστηκαν πολλές διαφορετικές πειραματικές συνθήκες. Φάνηκε πως η συμβατική θέρμανση δεν έδωσε τα αποτελέσματα που αναμέναμε, ενώ η θέρμανση με μικροκύματα ήταν αυτή που αποδείχθηκε πιο αποτελεσματική και γρήγορη. Ακόμη η επιλογή των διαλυτών κρίθηκε καθοριστική, καθώς προηγήθηκαν πολλές αποτυχημένες προσπάθειες μετατροπής του εστέρα σε αμίδιο. Το τολουόλιο δεν ευνόησε την αντίδραση ενώ το διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF) ήταν ο κατάλληλος διαλύτης για να προχωρήσει η αντίδραση.

Τα παράγωγα έχουν σταλεί στο ινστιτούτο REGA στο Βέλγιο για την βιολογική αποτίμηση τους και τα αποτελέσματα αναμένονται. Τα νέα παράγωγα (1) και (5) αναμένουμε, βάσει της βιβλιογραφίας και προηγούμενων μελετών που έχουν πραγματοποιηθεί στο εργαστήριο, να παρουσιάζει αντική ή αντικαρκινική δράση. Από την αποτίμηση των τροποποιημένων παραγώγων (2), (3) και (4) θα εξακριβωθεί η σημασία των ομάδων υδροξυλίου και εστέρα στα αρχικά μόρια για την εμφάνιση βιολογικής δράσης.

7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Κομιώτης Δ., Μαντά Σ., Μέθοδοι διαχθρισμού, επεξεργασίας και ανάλυσης φυσικών προϊόντων, 2015, Λάρισα

Σπυρούλιας Γ., ανοιχτά ακαδημαϊκά μαθήματα τμήμα φαρμακευτική, φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού, Πάτρα

Larhed M., Olofsson K., Appukkuttan P., “Microwave methods in organic synthesis”. Springer, 2006.

Βαρβόγλη Α.Γ., Αλεξανδρού Α.Γ., 1986

McMurry J. Οργανική Χημεία, τόμος I, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης

Mavromoustakos T., 2004

Yaakob I.U., Degree of Bachelor of Science (Hons.), 2009.

Wade L.G.Jr, Οργανική Χημεία εκδόσεις Τζιόλα

Τζανή Α., εργαστήριο οργανικής χημείας, Οργανική σύνθεση με χρήση μικροκυμάτων, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο

Rampa A.; Piazzzi L.; Belluti F.; Bisi A.; Gobbi S.; Rizzo S.; Bartolini M.; Andrisano V. and Recanatini M., *Bioorg. & Med. Chem.* 15 (2007) 575–585.

P. Diana, A. Martorana, P. Barraja, A. Montalbano, G. Dattolo, G. Cirrincione, F. Dall'acqua, A. Salvador, D. Vedaldi, G. Basso, G. Viola, *J. Med.Chem.* 2008, 51, 2387-2399

Boiadjiev S.E., Lightner D.A., *J. Org. Chem.*, 2005, 70, 688-691

ΝταήςΦ., Βασικές αρχές της Φασματοσκοπίας NMR, Τμήμα Χημεία, Κρήτη

Dehaen W.; Metten B.; Kostermans M.; Van Baelen G. and Smet M., *Tetrahedron* 62 (2006) 6018–6028. Bhardwaj, V., Gumber, D., Abbot, V., Dhiman, S., & Sharma, P. (2015). Pyrrole: A resourceful small molecule in key medicinal hetero-aromatics. *RSC Advances*, 5(20), 15233–15266. <https://doi.org/10.1039/c4ra15710a>

Dömling, A., Wang, W., & Wang, K. (2012). Chemistry and biology of

- multicomponent reactions. *Chemical Reviews*, 112(6), 3083–3135.
<https://doi.org/10.1021/cr100233r>
- Manta, S., Gkaragkouni, D. N., Kaffesaki, E., Gkizis, P., Hadjipavlou-Litina, D., Pontiki, E., ... Komiotis, D. (2014). A novel and easy two-step, microwave-assisted method for the synthesis of halophenyl pyrrolo[2,3-b]quinoxalines via their pyrrolo precursors. Evaluation of their bioactivity. *Tetrahedron Letters*, 55(11), 1873–1876. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2014.01.106>
- Manta, S., Tzioumaki, N., Kollatos, N., Andrea, P., Margaritouli, M., Panagiotopoulou, A., ... Komiotis, D. (2018). Polyfunctionalized Pyrrole Derivatives: Easy Three-component Microwave-assisted Synthesis, Cytostatic and Antiviral Evaluation. *Current Microwave Chemistry*, 5(1), 23–31. <https://doi.org/10.2174/2213335605666180221155915>
- Metten, B., Kostermans, M., Van Baelen, G., Smet, M., & Dehaen, W. (2006). Synthesis of 5-aryl-2-oxopyrrole derivatives as synthons for highly substituted pyrroles. *Tetrahedron*, 62(25), 6018–6028. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2006.04.005>
- Polshettiwar, V., & Varma, R. S. (2008). Aqueous microwave chemistry: A clean and green synthetic tool for rapid drug discovery. *Chemical Society Reviews*, 37(8), 1546–1557. <https://doi.org/10.1039/b716534j>
- Preethi, J., Harita, B., & Rajesh, T. (2017). Review on Thin Layer Chromatography. *Journal of Formulation Science & Bioavailability*, 1(1), 1–4.
- Ravichandran, S., & Karthikeyan, E. (2011). Microwave synthesis - A potential tool for green chemistry. *International Journal of ChemTech Research*, 3(1), 466–470. <https://doi.org/10.1177/014662168200600206>
- Roge, A. B., Firke, S. N., Kawade, R. M., Sarje, S. K., & Vadvalkar, S. M. (2011). Brief Review on: Flash chromatography. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(8), 1930–1937.