



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών του τμήματος Βιοχημείας και

Βιοτεχνολογίας

ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ – ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟ - ΟΡΓΑΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

**“ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ, ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΔΟΜΗΣ ΜΕΣΩ
ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΝΕΩΝ ΑΛΟΓΟΦΑΙΝΥΛΟ - ΠΥΡΡΟΛΟ
ΑΝΑΛΟΓΩΝ. ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΟΤΙΜΗΣΗ”**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΤΗΣ

ΚΑΡΑΤΣΩΡΗ ΕΥΑΓΓΕΛΙΑΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ :

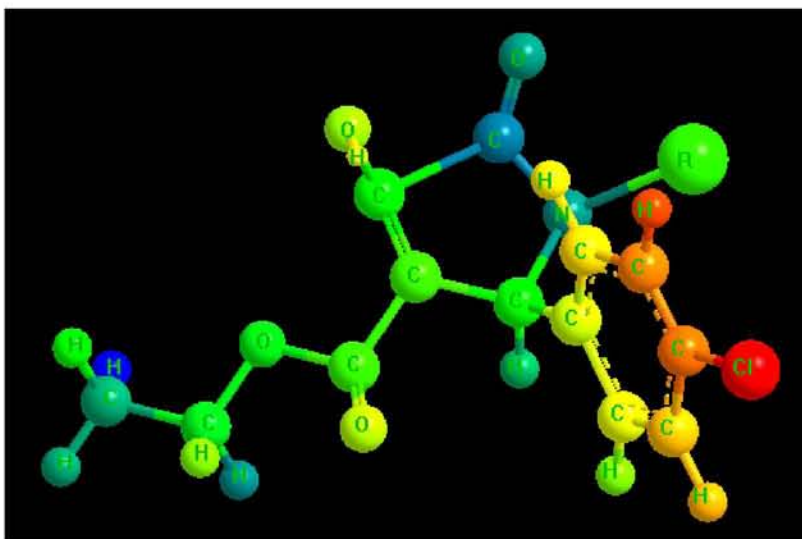
Δρ ΚΟΜΙΩΤΗΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Π.Θ.

ΛΑΡΙΣΑ 2016

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

“ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ, ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΔΟΜΗΣ ΜΕΣΩ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΝΕΩΝ ΑΛΟΓΟΦΑΙΝΥΛΟ - ΠΥΡΡΟΛΟ ΑΝΑΛΟΓΩΝ. ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΟΤΙΜΗΣΗ”



ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Κομιώτης Δημήτριος — Καθηγητής Οργανικής Χημείας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Μαρκουλάτος Παναγιώτης — Καθηγητής Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Μπαλατσός Νικόλαος — Επίκουρος Καθηγητής Βιοχημείας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα ερευνητική εργασία πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας υπό την επίβλεψη του Καθηγητή Οργανικής Χημείας κ. Δημητρίου Κομιώτη.

Με την ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Δημήτριο Κομιώτη, για την ανάθεση της διπλωματικής εργασίας και για τις πολύτιμες και εποικοδομητικές υποδείξεις του, όπως και την επιβλέπουσα μεταδιδακτορική ερευνήτρια κα. Στυλιανή Μαντά για τη συνεχή παρακολούθηση, καθοδήγηση και υποστήριξή της καθ' όλη τη διάρκεια της έρευνας.

Τέλος, δεν θα ήθελα να παραλείψω να ευχαριστήσω όλα τα μέλη του εργαστηρίου για την θερμή υποδοχή τους, την προθυμία τους να βοηθήσουν σε επιστημονικό επίπεδο και το ευχάριστο κλίμα συνεργασίας.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ABSTRACT.....	8
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	9
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	10
1.1. Πυρρολιδίνες.....	10
1.1.1. Παραδείγματα ενώσεων με πυρρολιδινικό δακτύλιο και βιολογική δράση.....	12
2. ΣΚΟΠΟΣ.....	16
3. ΓΕΝΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	17
3.1. Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC).....	17
3.2. Θερμανση με μικροκύματα	18
3.3. Ταυτοποίηση ενώσεων με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR)	20
4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	22
4.1. Επισκόπηση συνθετικής οδού.....	22
4.1.1. Σύνθεση με αντιδρών την 4 - χλωροβενζαλδεΰδη.....	22
4.1.2. Σύνθεση με αντιδρών την 3 - χλωροβενζαλδεΰδη.....	23
4.2. Σύνθεση με αντιδρών την 4 χλωροβενζαλδεΰδη.....	26
4.2.1. Σύνθεση του N - αίθυλο - 3 υδροξυ - 2 οξο - 5 (4 - χλωροφαίνυλο) - 2,5 διυδρο 1H πύρρολο - 4 καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω της αντίδρασης τριών αντιδρώντων.....	26

4.2.2. Σύνθεση του N - κυκλοπρόπυλ - 3 υδροξυ - 2 οξο - 5 (4 - χλωροφαίνυλο) - 2,5 διυδρο 1H	
πύρρολο - 4 καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω της αντίδρασης τριών αντιδρώντων.....	28
4.2.3. Σύνθεση του N - κυκλοβούτυλ - 3 υδροξυ - 2 οξο - 5 (4 - χλωροφαίνυλο) - 2,5 διυδρο 1H	
πύρρολο - 4 καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω της αντίδρασης τριών αντιδρώντων.....	30
4.2.4. Σύνθεση του N - βενζυλ - 3 υδροξυ - 2 οξο - 5 (4 - χλωροφαίνυλο) - 2,5 διυδρο 1H	
πύρρολο - 4 καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω της αντίδρασης τριών αντιδρώντων...	32
4.3. Σύνθεση με αντιδρών την 3 - χλωροβενζαλδεύδη.....	34
4.3.1. Σύνθεση του N - μέθυλο - 3 υδροξυ - 2 οξο - 5 (3- χλωροφαίνυλο) - 2,5 διυδρο 1H	
πύρρολο - 4 καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω της αντίδρασης τριών αντιδρώντων.....	34
4.3.2. Σύνθεση του N - αιθυλο - 3 υδροξυ - 2 οξο - 5 (3- χλωροφαίνυλο) - 2,5 διυδρο 1H	
πύρρολο - 4 καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω της αντίδρασης τριών αντιδρώντων.....	36
4.3.3. Σύνθεση του N - κυκλοπροπυλ - 3 υδροξυ - 2 οξο - 5 (3- χλωροφαίνυλο) - 2,5 διυδρο 1H	
πύρρολο - 4 καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω της αντίδρασης τριών αντιδρώντων.....	38
4.3.4. Σύνθεση του N - κυκλοβουτυλ - 3 υδροξυ - 2 οξο - 5 (3- χλωροφαίνυλο) - 2,5 διυδρο 1H	
πύρρολο - 4 καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω της αντίδρασης τριών αντιδρώντων.....	40
4.3.5. Σύνθεση του N - βενζυλ - 3 υδροξυ - 2 οξο - 5 (3- χλωροφαίνυλο) - 2,5 διυδρο 1H	
πύρρολο - 4 καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω της αντίδρασης τριών αντιδρώντων.....	42

6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	44
6.1. Κυτταροτοξική του δράση έναντι μίας σειράς καρκινικών κυτταρικών σειρών.....	44
7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	49

ABSTRACT

Heterocyclic compounds are cyclic compounds, whose ring contain atoms of at least two different chemical elements. The atoms that occur more often in biochemical compounds are N, O, S. The heterocyclic compounds dominate in modern organic chemistry and cover at least 55 % of the publications in organic chemistry.

Among them, pyrrole is one of the most relevant simple heterocycles because of its presence in a large number of natural and unnatural compounds with important properties, both in pharmacology and in materials science. Pyrrole derivatives are structural units of many natural products and important pharmaceuticals, with major biological activity.

Due to the need for new therapeutic flowed compounds with increased biological activity and decreased toxicity, the design, synthesis of medicaments containing pyrrole or quinoxaline derivatives as an active ingredient, is continuously studied.

The main focus of the present thesis is the design, synthesis and the structural determination of new alogenophenyl pyrrole analogues and their biological evaluation. There were three reagents in one step reaction to achieve this experiment. The reagents were diethyl oxalacetate, amine (methylamine, ethylamine, cyclopropylamine, cyclovutylamine and benzylamine) and one aldehyde (3 - chloro-benzaldehyde and 4-chloro-benzaldehyde).

All the synthesized compounds were evaluated for their cytotoxic activity against a series of cancer cell lines. The structures of all the synthesized products were determined by using ^1H NMR spectroscopy.

The general methods, used to evaluate and identify compounds, as well as the method of Microwave Assisted Organic Synthesis are mentioned.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ετεροκυκλικές ενώσεις, είναι οι κυκλικές χημικές ενώσεις των οποίων ο δακτύλιος περιέχει άτομα τουλάχιστον δύο διαφορετικών χημικών στοιχείων. Τα άτομα, τα οποία απαντώνται πιο συχνά σε ενώσεις βιοχημικές είναι N, O, S. Οι ετεροκυκλικές ενώσεις, κυριαρχούν στη σύγχρονη οργανική χημεία και καλύπτουν τουλάχιστον το 55% των δημοσιεύσεων που αφορούν την οργανική χημεία.

Μία από τις πιο απλές ετεροκυκλικές ενώσεις είναι και το πυρρόλιο, εξαιτίας του ότι βρίσκεται σε μεγάλο αριθμό φυσικών και μη φυσικών ενώσεων με σημαντικές ιδιότητες τόσο για την φαρμακολογία όσο και για την επιστήμη υλικών. Σημαντική βιολογική δράση εμφανίζουν και τα πύρρολο παράγωγα, τα οποία είναι δομική μονάδα πολλών φυσικών και φαρμακευτικών προϊόντων, με μεγάλη σημασία στη Φαρμακολογία.

Εξαιτίας της ανάγκης για έρευνα νέων χημειοθεραπευτικών ενώσεων με αυξημένη βιολογική δράση και μειωμένη τοξικότητα μελετάται συνεχώς ο σχεδιασμός και η σύνθεση φαρμάκων που περιέχουν ως δραστική ουσία κάποιο πύρρολο ή κινολαλικό παράγωγο.

Στόχος της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι ο σχεδιασμός, η σύνθεση και ο προσδιορισμός της δομής νέων αλογονοφαίνυλο αναλόγων και η βιολογική αποτίμησή τους.

Στο πρώτο κεφάλαιο, γίνεται μια εισαγωγή και αναφορά στις πυρρολιδίνες, στα παραδείγματα με πυρρολιδινικό δακτύλιο και στη βιολογική τους δράση, ενώ στο δεύτερο αναφερόμαστε στο σκοπό της παρούσας μελέτης.

Στο τρίτο κεφάλαιο αναφέρονται οι γενικές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση και την ταυτοποίηση των ενώσεων (TLC, NMR), καθώς και στην τεχνική σύνθεσης με μικροκύματα.

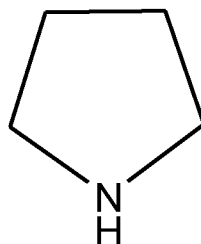
Το τέταρτο κεφάλαιο αποτελείται από το πειραματικό μέρος. Αναφέρονται οι αντιδράσεις ενός σταδίου σύνθεσης της 2,3-διοξοπυρρολιδίνης τριών αντιδραστηρίων. Τα αντιδραστήρια ήταν διαιθυλικό οξαλοξικό άλας, μία αμίνη (μεθυλαμίνη, αιθυλαμίνη, κυκλοπροπυλαμίνη, κυκλοβουτυλαμίνη και βενζυλαμίνη) και μία αλδεΐδη (3 - χλώρο βενζαλδεΐδη και 4-χλώρο βενζαλδεΐδη. Επίσης, παρατίθενται όλα τα φάσματα των προϊόντων που ταυτοποιήθηκαν με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού.

Τέλος, στο πέμπτο κεφάλαιο, αναφέρονται τα αποτελέσματα και η αποτίμηση των ενώσεων ως προς την κυτταροτοξική τους δράση έναντι μίας σειράς καρκινικών κυτταρικών σειρών.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

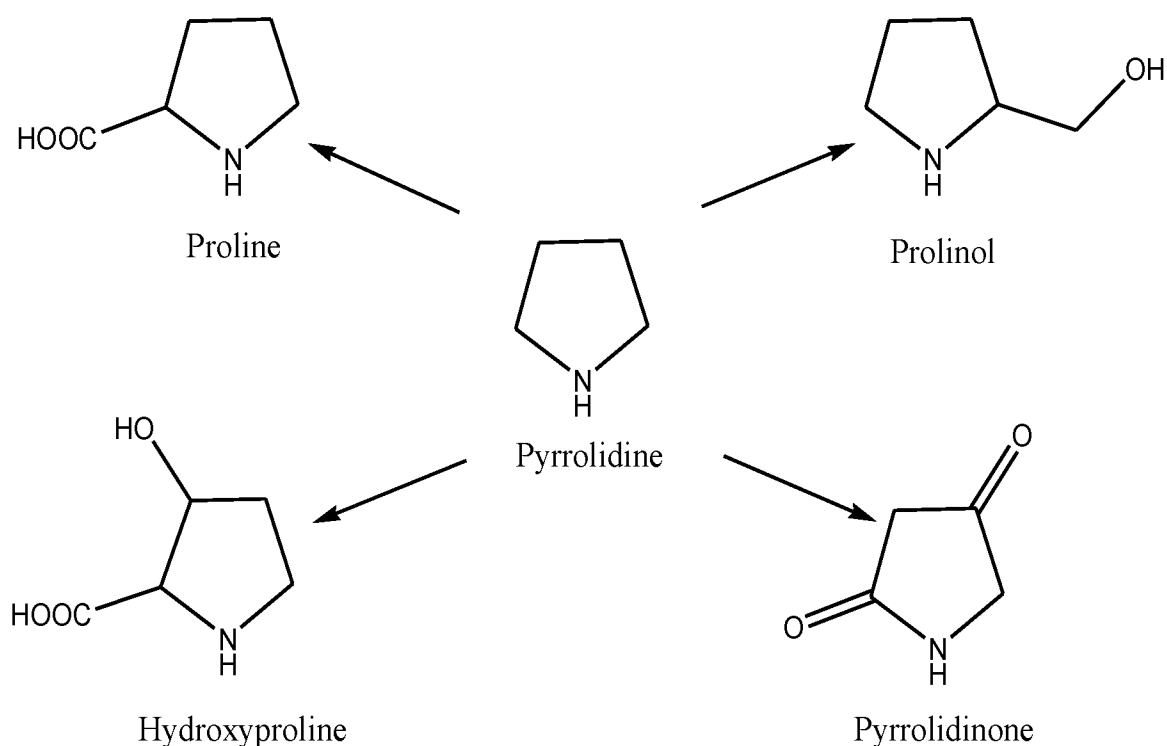
1.1 Πυρρολιδίνες

Σημαντικός αριθμός ενώσεων στη βιβλιογραφία, συνθετικών και μη, αναφέρουν την πυρρολιδίνη ως βασικό δομικό συστατικό. Πρόκειται για δευτεροταγή κυκλική αμίνη, που συνίστανται από ετεροκυκλικό δακτύλιο με τέσσερα άτομα άνθρακα και ένα άτομο αζώτου (Εικ. 1.1). Η ύπαρξη του ατόμου αζώτου προσδίδει στον πυρρολιδινικό δακτύλιο βασικό χαρακτήρα. Οι πυρρολιδίνες αποτελούν ένα από τα πιο βασικά δομικά στοιχεία σε πλήθος ενώσεων. Αποτελούνται από έναν πενταμελή δακτύλιο που περιέχει ένα άτομο αζώτου (N). Συνήθως ο πυρρολιδινικός δακτύλιος έχει βασικό χαρακτήρα λόγω της ύπαρξης του αζώτου (N).



Εικόνα 1.1 Πυρρολιδινικός δακτύλιος

Ο πυρρολιδινικός δακτύλιος αποτελεί δομικό στοιχείο των αμινοξέων προλίνη και υδροξυπρολίνη, στα οποία ο πενταμελής δακτύλιος έχει υποκατασταθεί με τις λειτουργικές ομάδες του υδροξυλίου και του καρβοξυλίου. Επίσης, στη βιβλιογραφία αναφέρονται ενώσεις πυρρολιδίνης άλλες με υποκατεστημένη πλευρική αλειφατική αλυσίδα και άλλες με καρβονύλιο επί του δακτυλίου (Εικ. 1.2). Στο παρακάτω σχήμα απεικονίζονται η υδροξυπρολίνη, η πυρρολιδινόνη, η προλινόλη και η προλίνη.



Εικόνα 1.2 Παραδείγματα ενώσεων με πυρρολιδινικό δακτύλιο

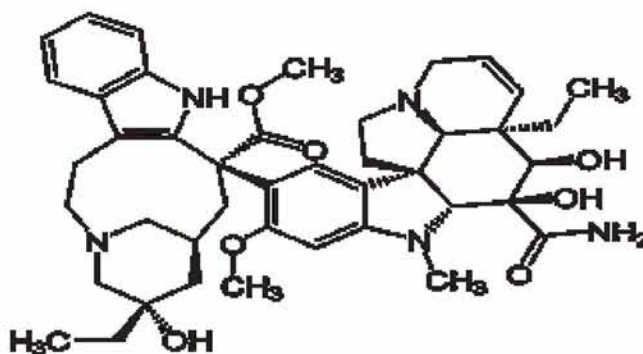
Πολλές ενώσεις με σημαντική βιολογική δράση που απαντώνται στη φύση φέρουν τον βασικό δακτύλιο της πυρρολιδίνης. Παραδείγματα τέτοιων ενώσεων αποτελούν οι vindesine, piracetam, clausenamide και atorvastatin, για τις οποίες έχει αποδειχθεί ότι εμφανίζουν αντιμυτωτικές, αντιβακτηριακές και άλλες ιδιότητες. Οι ίδιες πάλι ενώσεις, αποτελούν ενδιάμεσα για τη σύνθεση πιο περίπλοκων και σημαντικών φαρμακευτικά ενώσεων όπως οι detoxine, lactacystin και πολλών άλλων (Yaakob, 2009).

1.1.1 Παραδείγματα ενώσεων με πυρρολιδινικό δακτύλιο και βιολογική δράση

Όπως αναφέρθηκε στη προηγούμενη παράγραφο αρκετές ενώσεις με σημαντική φαρμακολογική δράση εμπεριέχουν τον πυρρολιδινικό δακτύλιο και χρησιμοποιούνται σήμερα για τη θεραπευτική αντιμετώπιση ασθενειών. Παρακάτω αναφέρονται παραδείγματα αυτών και η εφαρμογή τους στη θεραπευτική (Yaakov, 2009).

- **Vindesine**

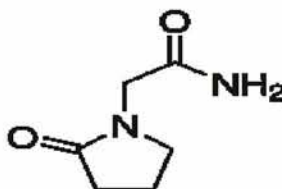
Λειτουργεί ως αναστολέας της μίτωσης και χρησιμοποιείται στην χημειοθεραπεία για την αντιμετώπιση πολλών μορφών καρκίνου όπως είναι η λευχαιμία, το λέμφωμα, το μελάνωμα, ο καρκίνος του μαστού και του πνεύμονα.



Εικόνα 1.3 Μοριακή δομή του Vindesine

- **Piracetam**

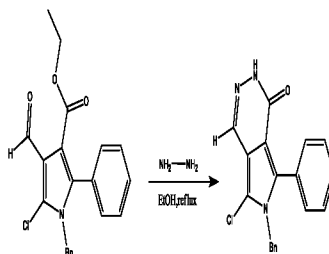
Εμφανίζει ιδιότητες ενίσχυσης της νόησης και χρησιμοποιείται για τη θεραπεία νευροεγκευλιστικών νοσημάτων όπως το Alzheimer.



Εικόνα 1.4 Μοριακή δομή του Piracetam

- **Clausenamide**

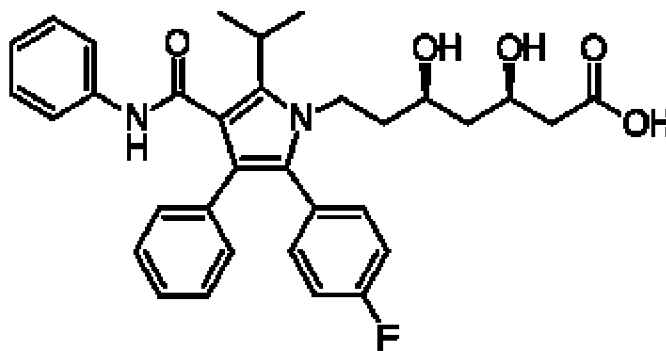
Παράγοντας προστασίας του ήπατος που χρησιμοποιείται συνήθως στην θεραπεία κατά της οξείας και χρόνιας ιογενούς ηπατίτιδας.



Εικόνα 1.5 Μοριακή δομή του Clausenamide

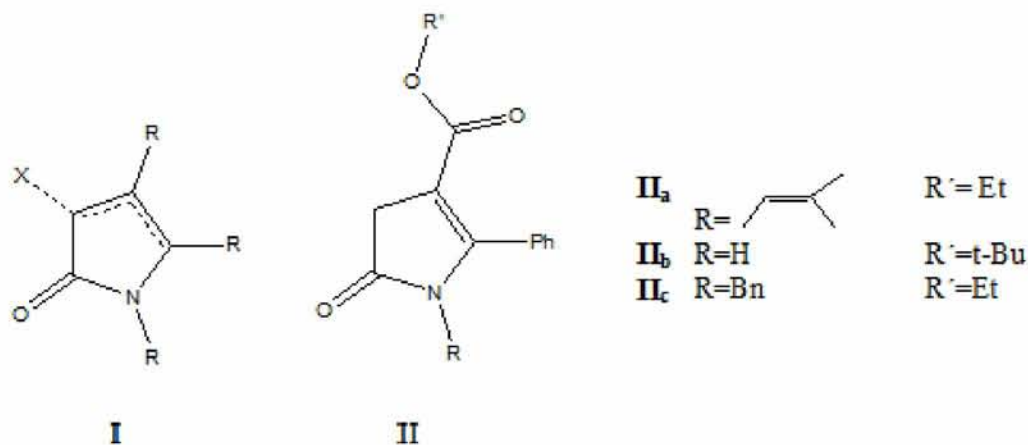
- **Atorvastatin**

Χρησιμοποιείται για τη μείωση των επιπέδων χοληστερόλης και είναι ανταγωνιστικός αναστολέας της HMG-CoA αναγωγάσης εμποδίζοντας τη de novo σύνθεση χοληστερόλης στον οργανισμό.



Εικόνα 1.6 Μοριακή δομή του Atorvastatin

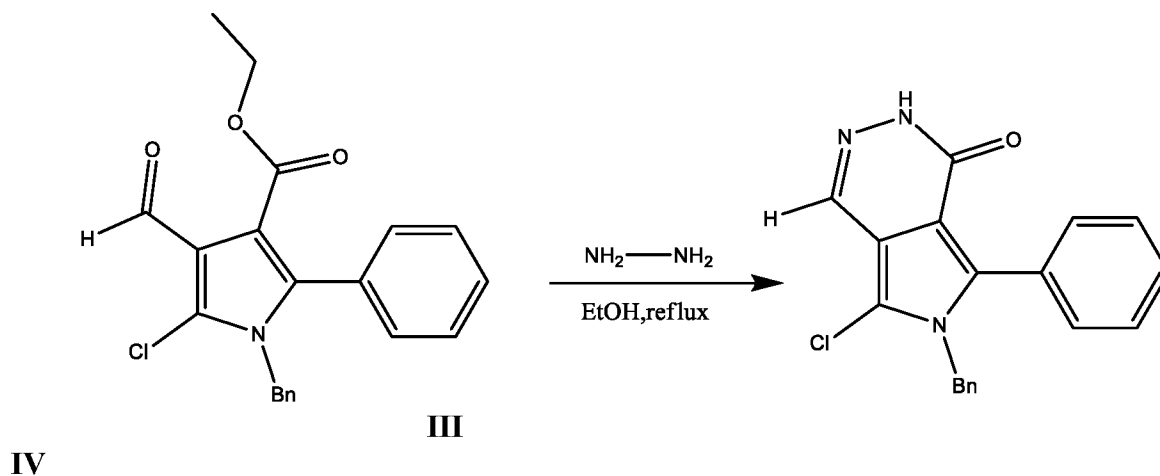
Εκτός των παραπάνω φυσικών παραγώγων, άλλα ανάλογα που φέρουν στη δομή τους τον πυρρολιδινικό δακτύλιο, διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο τόσο για τη σύνθεση νέων θεραπευτικών ενώσεων όσο και για την αξιολόγηση αντική και αντικαρκινική τους δράση. Συγκεκριμένα, οι 2-οξοπυρρόλες **I** (Εικ. 1.7) χρησιμοποιούνται ευρέως και αποτελούν τη βασική δομή σε πολλά φάρμακα, συμπεριλαμβανομένων και προϊόντων που έχουν ενεργή δράση ενάντια σε ιικές μολυσματικές ασθένειες (HIV, γρίπη), αντικαρκινικούς παράγοντες και προϊόντα που δρουν ενάντια σε ασθένειες μικροβιολογικής φύσεως (είτε βακτηριακής, είτε μυκητιακής). Επιπλέον, οι 2-οξοπυρρόλες είναι γνωστές ως θεμέλιοι λίθοι για τη σύνθεση των αλκαλοειδών, καθώς και προϊόντων όπως οι 2,2'-διπυρρόλες, οι τετραπυρρόλες και κάποιες χρωστικές. Πέρα από τις πολύ γνωστές 5-αλκυλο-2-οξοπυρρόλες, που πρωτοαναφέρθηκαν το 1890 από τον Emery, στην βιβλιογραφία έχει γίνει ελάχιστη αναφορά στα 5-αρυλο-2-πυρρολο παράγωγα **II** (Εικ. 1.7). Οι 5-αρυλο-2-οξοπυρρόλες χρησιμοποιήθηκαν ως πρώτη ύλη για τη σύνθεση δικετοπυρρολοπυρρολών ως πιθανοί μη νουκλεοζιτικοί αναστολείς της αντίστροφης μεταγραφάσης (NNRTIs), με φθορίζουσα ικανότητα (Dehaen et al., 2006).



Εικόνα 1.7 2-οξοπυρρόλες **I** και 5-αρυλο-2-οξοπυρρόλες **II**

Στο σημείο αυτό είναι άξιο λόγου να αναφερθεί η δημιουργία παραγώγων του 2-οξοπυρρολίου με αλδεΐδες, διαζωνιακά άλατα, ενεργούς εστέρες και διθειάνθρακα με στόχο τη σύνθεση νέων ενώσεων. Επίσης, η χλωροφορμυλίωση του **IIc** παρείχε τις πυρρολο-καρβαλδεΐδες **III** (Σχ. 1.1). Ένας

μεγάλος αριθμός πυρρολο-καρβαλδεϋδών χρησιμοποιήθηκε για τη σύνθεση πολυκυκλικών ενώσεων. Για παράδειγμα, οι πυρρολο [3,4-d] πυριδαζινόνες **IV** απομονώθηκαν με σύντηξη αλδεϋδικού και εστερικού δακτυλίου του **III** μέσω υδραζίνης (Σχ. 1.1).



Σχήμα 1.1 Παράδειγμα σύνθεσης ετεροκυκλικής ένωσης **IV** από πυρρολο-καρβαλδεϋδη **III**

Συνεπώς, απεδείχθη ότι οι οξοπυρρόλες και τα ανάλογά τους αποτελούν ενδιαφέροντες και πολύπλευρους δομικούς λίθους στη Συνθετική Οργανική Χημεία. Επίσης πολλές από αυτές τις ενώσεις απεδείχθησαν νέα ενδιάμεσα στη σύνθεση πολυυποκατεστημένων πυρρολίων (Dehaen et al., 2006).

2. ΣΚΟΠΟΣ

Η ανάγκη για την εύρεση νέων χημειοθεραπευτικών ουσιών, με αυξημένη βιολογική δράση, ελαττωμένη τοξικότητα και λιγότερες ανοσοκατασταλτικές παρενέργειες καθώς και η ραγδαία και συνεχής ανάπτυξη της φαρμακευτικής χημείας επέτρεψε τη μελέτη, τη σύνθεση και την προώθηση στην αγορά, πληθώρας φαρμάκων που περιέχουν ως δραστική ουσία κάποιο πυρρολο ή κινοξαλινικό ανάλογο.

Σκοπός αυτής της μελέτης είναι:

- ✓ Η σύνθεση της 2,3-διοξοπυρρολιδίνης μέσω μιας αντίδρασης ενός σταδίου τριών συστατικών με θέρμανση με την βοήθεια της ενέργειας των μικροκυμάτων - Microwave Assisted Organic Synthesis (green chemistry), η οποία διακόπτεται με προσθήκη υδροχλωρικού οξέως (37%).
- ✓ Η ταυτοποίηση των προϊόντων με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR.
- ✓ Η αποτίμηση της ανασταλτικής τους δράσης έναντι μιας σειράς καρκινικών κυτταρικών σειρών.

3. ΓΕΝΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC : Thin Layer Chromatography)

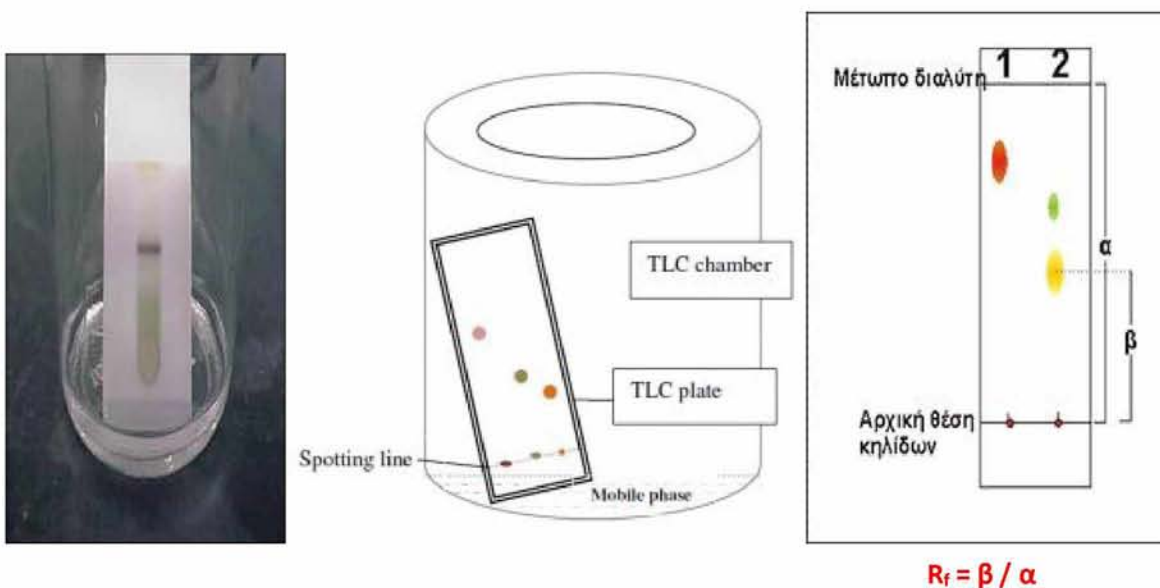
Ο έλεγχος των αντιδράσεων έγινε με τη χρήση της χρωματογραφικής μεθόδου επίπεδη χρωματογραφία λεπτής στιβάδος TLC. Πρόκειται, για μία μέθοδο υγρής χρωματογραφίας που χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό λιπόφιλων ουσιών. Συνίσταται από πλάκες αλουμινίου επιστρωμένες με Silica gel (Merck Kieselgel 60F24) πάχους 0,2 mm, οι οποίες αποτελούν και την σταθερή - ακίνητη φάση της τεχνικής αυτής.

Σταγόνα του εξεταζόμενου διαλύματος ενσταλάζεται πάνω στο προσροφητικό υλικό με τη μορφή κυλίδας στην αρχή της πλάκας και σε απόσταση περίπου 2 cm. Ακολουθεί κατακόρυφη τοποθέτηση της πλάκας σε κλειστό δοχείο (θάλαμος αναπτύξεως) το οποίο περιέχει οργανικό διαλύτη (υγρό αναπτύξεως), ο οποίος αποτελεί και την κινητή φάση της τεχνικής. Ως διαλύτης χρησιμοποιείται σύστημα δύο διαλυτών μεταβλητούς αναλογίας. Το ύψος της στάθμης του διαλύτη δεν πρέπει να καλύπτει τις κηλίδες της υπό εξέταση ουσίας, διότι υπάρχει κίνδυνος διάλυσης αυτών.

Καθώς ο διαλύτης κινείται λόγω τριχοειδών φαινομένων πάνω στο προσροφητικό υλικό, οι ενώσεις του μίγματος προωθούνται με διαφορετική ταχύτητα ανάλογα με την πολικότητά τους πάνω στο προσροφητικό υλικό και έτσι επιτυγχάνεται ο διαχωρισμός τους και οι ουσίες εμφανίζονται με τη μορφή διακριτών κηλίδων κατά μήκος της πλάκας. Ο διαλύτης αφήνεται να ανέλθει μέχρι λίγα εκατοστά πριν το τέλος της πλάκας. Ύστερα, η πλάκα αποσύρεται και στεγνώνεται με ρεύμα αέρα.

Με βάση τη διανυθείσα απόσταση κάθε ένωσης στη στατική φάση, πραγματοποιείται και ο προσδιορισμός του συντελεστή κατακράτησης, R_f , ο οποίος ορίζεται από το λόγο: απόσταση που διανύθηκε από την ένωση (β) προς την απόσταση που διανύθηκε από τον διαλύτη (α). Η τιμή R_f ενός συγκεκριμένου μορίου χρησιμεύει για την ταυτοποίηση μιας άγνωστης ουσίας. Η παρατήρηση των κηλίδων γίνεται με εξέταση στο υπεριώδες φως (254 ή 356 nm) ή μετά από ψεκασμό με διάλυμα H_2SO_4 (θειικού οξέος) 30%.

Παρακάτω, στην **εικόνα 3.1** απεικονίζεται μία χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας και ο τρόπος προσδιορισμού του συντελεστή κατακράτησης R_f .



Εικόνα 3.1 Παράδειγμα χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας και προσδιορισμός συντελεστή R_f

3.2 Θέρμανση με μικροκύματα (Microwave dielectric heating)

Η οργανική σύνθεση με τη βοήθεια της ενέργειας των μικροκυμάτων αποτελεί μία τεχνική με διαρκώς επεκτεινόμενες εφαρμογές στην οργανική και φαρμακευτική χημεία. Έρευνες έχουν δείξει ότι με τη χρήση μικροκυμάτων στην οργανική σύνθεση επιτυγχάνονται :^{6,7}

- A. Μείωση του χρόνου αντίδρασης
- B. Αύξηση αποδόσεων παραγωγής των προϊόντων
- Γ. Παραγωγή καθαρότερων προϊόντων και αισθητή μείωση ανεπιθύμητων παράπλευρων αντιδράσεων

Η θέρμανση με τη χρήση μικροκυμάτων χρησιμοποιεί τη δυνατότητα ορισμένων υλικών (διαλύτες, αντιδραστήρια) να απορροφήσουν την ενέργεια των μικροκυμάτων και να την μετατρέψουν σε θερμότητα ώστε να ξεκινήσει η χημική αντίδραση. ^{4,8}

Τα μικροκύματα είναι ένα είδος ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας, της οποίας τα όρια συχνοτήτων κυμαίνονται από 300 - 300,000 MHz και αντιστοιχούν σε μήκη κύματος από 1 cm - 1m.⁴

Η ενέργεια των μικροκυμάτων, αποτελείται από ένα ηλεκτρικό και ένα μαγνητικό πεδίο. Όσον αφορά την παραγωγή θερμότητας, μόνο το ηλεκτρικό πεδίο μεταφέρει θερμότητα με τελικό στόχο τη θέρμανση, ενώ οι αλληλεπιδράσεις του μαγνητικού πεδίου δεν αποτελούν σημαντικό παράγοντα.

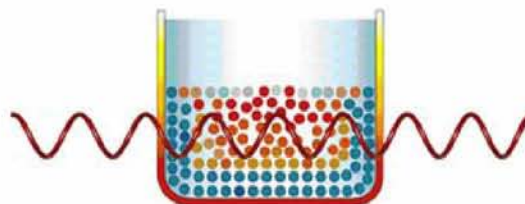
Όσον αφορά την κίνησή τους, είναι αυτή του φωτός (300,000 km/h) και η κβντική τους ενέργεια 0,037 kcal / mol είναι πολύ χαμηλή σε σχέση με την ενέργεια που τυπικά απαιτείται για να σπάσουν οι μοριακοί δεσμοί (80 - 120 kcal / mol). Επομένως τα μικροκύματα δεν μπορούν να επιδράσουν στη δομή των μορίων. Ο σχηματισμός ή η καταστροφή των χημικών δεσμών με μικροκύματα επιτυγχάνεται ολοκληρωτικά μέσω της μεταφοράς κινητικής ενέργειας.

Στη σύνθεση με μικροκύματα χρησιμοποιούνται δοχεία αντίδρασης κατασκευασμένα από κατάλληλο διαπερατό στην μικροκυματική ακτινοβολία υλικό. Πραγματοποιούνται αντιδράσεις σε κλειστά δοχεία και σε ανοιχτά υπο ατμοσφαιρική πίεση.

Τα κλειστά δοχεία μένουν σφραγισμένα σε όλη τη διάρκεια της διαδικασίας και επιτρέπουν τη χρήση υψηλών πιέσεων και θερμοκρασιών. Τα ανοιχτά δοχεία χρησιμοποιούνται για αντιδράσεις που πραγματοποιούνται σε θερμοκρασία ίση ή μικρότερη από το σημείο βρασμού των αντιδραστηρίων σε ατμοσφαιρική πίεση. Εφόσον δεν γίνεται να ξεπεραστεί το σημείο βρασμού, προκειμένου να επιτευχθούν υψηλές αποδόσεις, χρησιμοποιούνται διαλύτες με υψηλά σημεί βρασμού.

Κατά την εφαρμογή της μεθόδου είναι απαραίτητη η ρύθμιση και ο έλεγχος κάποιων βασικών παραμέτρων :

- Ισχύς / χρόνος
- Πίεση
- Θερμοκρασί



Εικόνα 3.2 Θέρμανση με μικροκύματα

3.3 Ταυτοποίηση ενώσεων με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR)

Η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) αποτελεί την χρησιμότερη φασματοσκοπική τεχνική προσδιορισμού της δομής των μορίων καθώς παρέχει ένα χάρτη του ανθρακικού σκελετού μαζί με τα υδρογόνα σε ένα οργανικό μόριο. Το NMR φάσμα του ^1H ή ^{13}C ή και τα δύο, αποτελούν βασικά στοιχεία για την ταυτοποίηση της ένωσης. Βρίσκει ευρεία εφαρμογή στην Φαρμακευτική ανάλυση, (πχ διερεύνηση της δομής νέων συνθετικών και φυσικών προϊόντων καθώς και πολυμερών), στον έλεγχο ταυτοποίησης και καθαρότητας πρώτων υλών, στον έλεγχο της πορείας μίας αντίδρασης, στην μελέτη μοριακών αλληλεπιδράσεων, στον προσδιορισμό προσμίξεων και υγρασίας, στη μελέτη σχηματισμού μικυλλίων και στον προσδιορισμό της αλύσεως επιφανειοδραστικών ουσιών.

Η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού βασίζεται στις διεγέρσεις πυρήνων που βρίσκονται σε ισχυρό ομογενές μαγνητικό πεδίο, οι οποίες προκαλούνται από ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία στην περιοχή ραδιοσυχνοτήτων. Αυτά που παρουσιάζουν μεγαλύτερο ενδιαφέρον είναι το ^1H και ^{13}C , καθώς αποτελούν τα κύρια συστατικά των περισσότερων οργανικών ενώσεων.

Επειδή οι ατομικοί πυρήνες έχουν φορτίο και αυτοπεριστρέφονται γύρω από τον πυρηνικό τους άξονα, δημιουργούν ένα μαγνητικό δίπολο, που έχει μαγνητική ροπή μ , κατά μήκος αυτού του άξονα. Η χαμηλή ενεργειακή κατάσταση ονομάζεται α - spin, ενώ η ασταθής υψηλή ενεργειακή κατάσταση χαρακτηρίζεται β - spin. Όσο μεγαλύτερη είναι η ένταση του εξωτερικού μαγνητικού πεδίου, τόσο μεγαλύτερη είναι και η διαφορά ενέργειας μεταξύ της α - spin και β - spin κατάστασης. Ένας πυρήνας βρίσκεται σε συντονισμό όταν απορροφά ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία με ενέργεια ίση με τη διαφορά ενέργειας μεταξύ τη α - spin και β - spin κατάστασης. Έτσι δημιουργούνται οι κορυφές απορρόφησης στο φάσμα NMR.

Γενικά, ο αριθμός των απορροφήσεων στο NMR φάσμα καθορίζεται από τα είδη των πρωτονίων που έχει το εξεταζόμενο μόριο. Ο βαθμός "θωράκισης" των πρωτονίων σχετίζεται με την ηλεκτρονιακή δομή του μορίου. Το μέγεθος των κορυφών συντονισμού έχει να κάνει με τον αριθμό των πρωτονίων κάθε είδους. Τέλος, η πολλαπλότητα (splitting) των σημάτων συντονισμού οφείλεται στην αλληλεπίδραση των spin γειτονικών μαγνητικών πυρήνων.

Η ανάλυση NMR μπορεί να γίνει με δύο μεθόδους, την σάρωση συχνότητας (μεταβολή συχνότητας ακτινοβολίας) και σάρωση πεδίου (μεταβολή έντασης μαγνητικού πεδίου) που είναι και η συνηθέστερη μέθοδος.

Επιγραμματικά, το φασματοφωτόμετρο NMR αποτελείται από τα εξής μέρη : 1. Έναν μαγνήτη, 2.

τον πομπό ραδιοσυχνοτήτων, 3. τον υποδοχέα δείγματος, 4. τον ανιχνευτή και 5. το σύστημα καταγραφής.

Οι χρησιμοποιούμενοι διαλύτες πρέπει να είναι χημικά αδρανείς, μαγνητικά ισότροποι, να στερούνται υδρογόνων και να είναι πτητικοί για πιθανή ανάντηση του δείγματος. Συνήθως χρησιμοποιούνται CCl_4 , CS_2 , υγρό SO_2 , CHCl_3 σε δευτεριωμένη μορφή κ.α. για να μην έχουμε κάλυψη των σημάτων συντονισμού από τα σήματα πρωτονίων του διαλύτη.

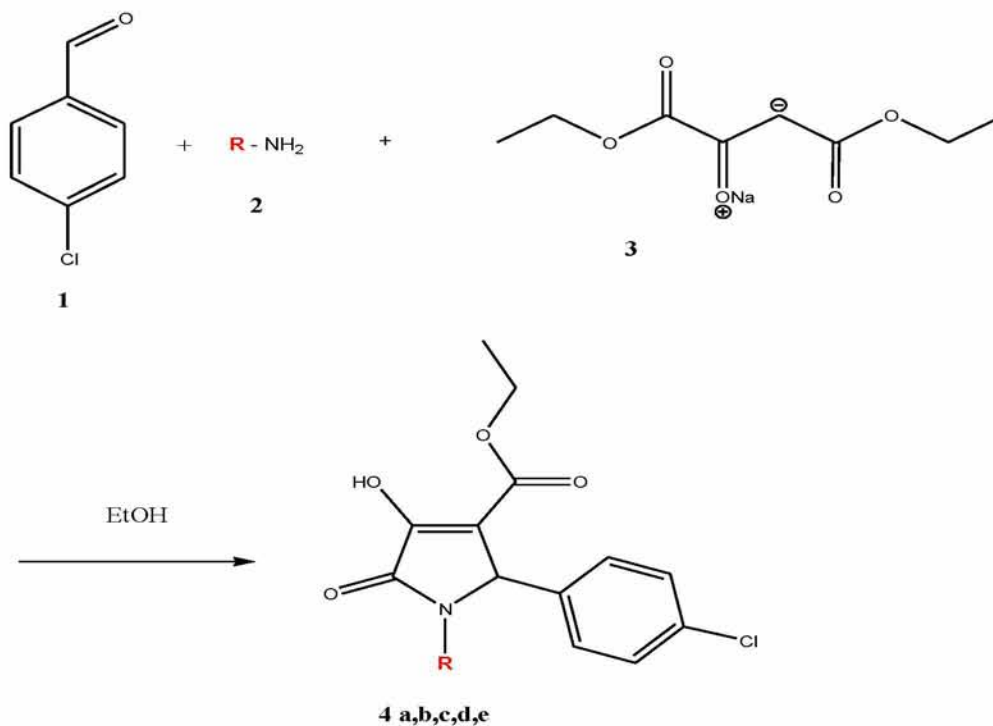
Η θέση συντονισμού ενός πρωτονίου εκφράζεται σε σχέση με μία πρότυπη ουσία που προστίθεται στο δείγμα. Συνήθως, ως πρότυπη ουσία λαμβάνεται το τετραμεθυλοσιλάνιο $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$ (TMS). Το TMS είναι ιδανικό εσωτερικό πρότυπο για την βαθμονόηση του φάσματος NMR, επειδή είναι χημικώς αδρανές, μαγνητικώς ισότροπο, δίνει μόνο μία απλή κορυφή σε υψηλότερες τιμές πεδίου από όλα σχεδόν τα πρωτόνια, είναι διαλυτό σε πολλούς διαλύτες και οργανικές υγρές ουσίες και είναι πτητικό (σημείο ζέσεως 27°C). Προστίθεται στα διαλύματα σε ποσοστό 0,5 - 1 %. Δεν χρησιμοποιείται στα υδατικά διαλύματα. Σε αυτά χρησιμοποιείται το 2,2 - διμέθυλο - 2 - σιλαπέντανο - 5 σουλφονικό νάτριο $(\text{CH}_3)_3\text{Si}(\text{CH}_2)_3\text{SO}_3\text{Na}$ (DSS) ή τετραδευτεριοδιμέθυλοσιλαπεντανοϊκό νάτριο (TSP).

Η ταυτοποίηση των ενώσεων που συντέθηκαν έγινε με τη χρήση του φάσματος πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR (Nuclear Magnetic Resonance). Τα φάσματα ^1H -NMR καταγράφηκαν στα 300MHz στο **φωτόμετρο Bruker AVANCE^{III} 300** και τα φάσματα ^{13}C -NMR καταγράφηκαν στα 75.5MHz στο ίδιο φωτόμετρο, χρησιμοποιώντας δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3) και διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO-d_6). Το τετραμεθυλοσιλάνιο (TMS) χρησιμοποιήθηκε ως σημείο αναφοράς και η πολλαπλότητα των καμπύλων φαίνεται με s (single), d (double), t (triple), q (quadruple), m (multiple). Οι σταθερές σύζευξης J μετρήθηκαν σε Hz.

4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

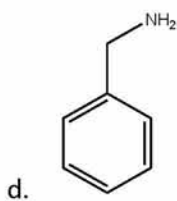
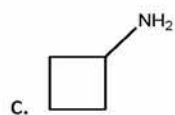
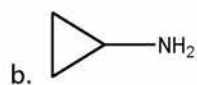
4.1 Επισκόπηση συνθετικής οδού

4.1.1. Σύνθεση με αντιδρών την 4 - χλωρο βενζαλδεύδη

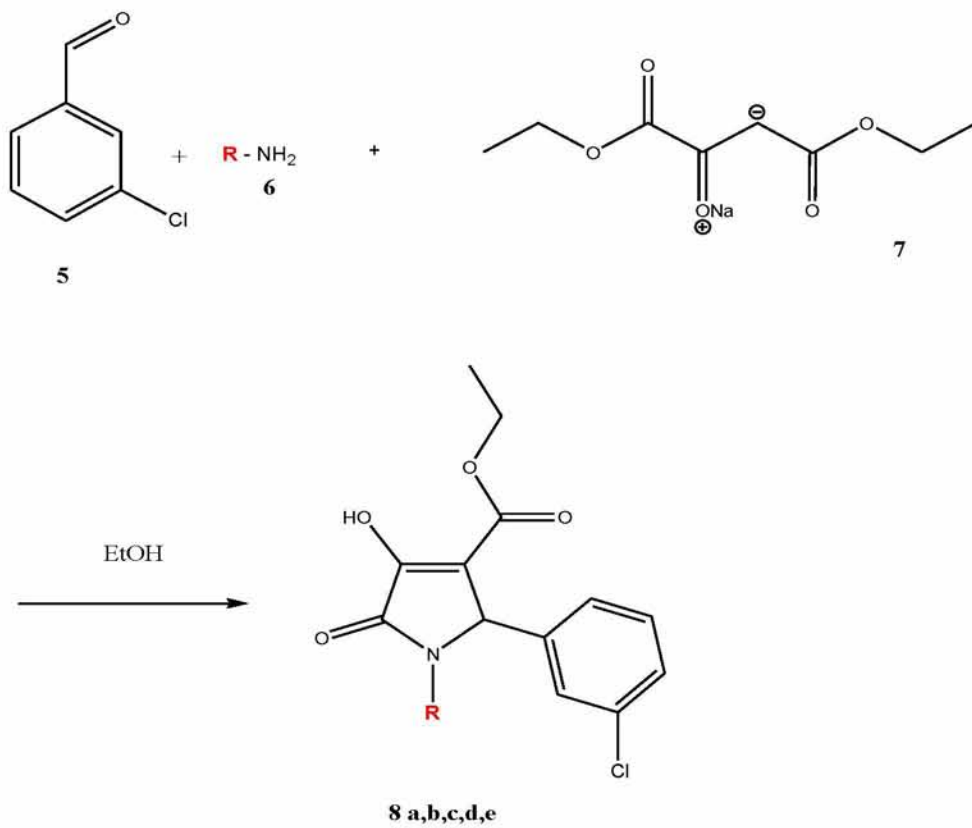


Όπου $R =$

a. $CH_3CH_2NH_2$



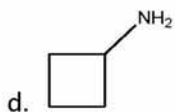
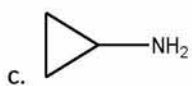
4.1.2. Σύνθεση με αντιδρών την 3 - χλωρο βενζαλδεύδη

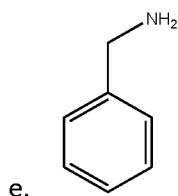


Όπου $R =$

a. CH_3NH_2

b. $CH_3CH_2NH_2$

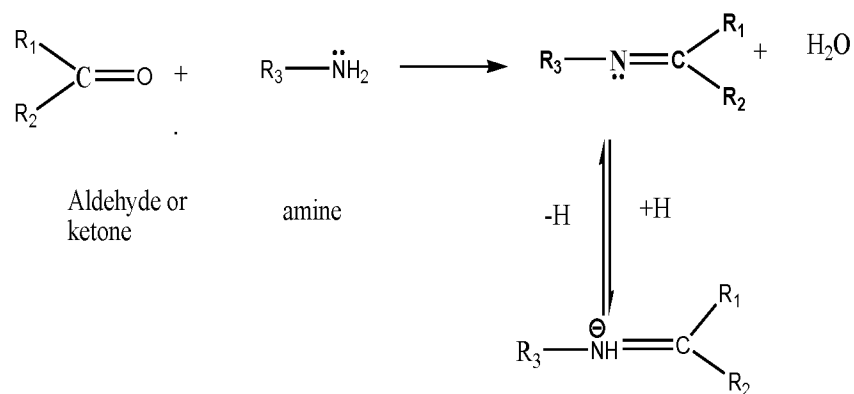




Τα προϊόντα **4 a, b, c, d** και **8 a, b, c, d, e** σχηματίστηκαν μέσω μιας αντίδρασης πυρηνόφιλης προσθήκης. Πυρηνόφιλο είναι ένα άτομο ή μόριο που περιέχει ένα ελεύθερο ζεύγος ηλεκτρονίων, το οποίο μπορεί να προσφέρει προς σχηματισμό δεσμού σε χημική αντίδραση. Το πυρηνόφιλο είναι αρνητικά φορτισμένο και αναζητά ένα θετικά φορτισμένο κέντρο για να προσφέρει το ελεύθερο ζεύγος ηλεκτρονίων που διαθέτει. Συνεπώς η πυρηνόφιλη προσθήκη είναι μια αντίδραση προσβολής ενός ηλεκτρονιόφιλου από ένα πυρηνόφιλο.

Τα πυρηνόφιλα του αζώτου όπως είναι η αμμωνία και τα παράγωγά της H_2N-Z προστίθενται στην ομάδα του καρβονυλίου των αλδευδών και των κετονών. Η αντίδραση καταλύεται από οξύ. Η ισορροπία της αντίδρασης ευνοεί το σχηματισμό του προϊόντος εξαιτίας της ταχείας αφυδάτωσης του ενδιάμεσου τετραεδρικού προϊόντος προσθήκης. Το αποτέλεσμα είναι η αντικατάσταση της κετονομάδας ($C=O$) από την ομάδα $C=N-Z$.

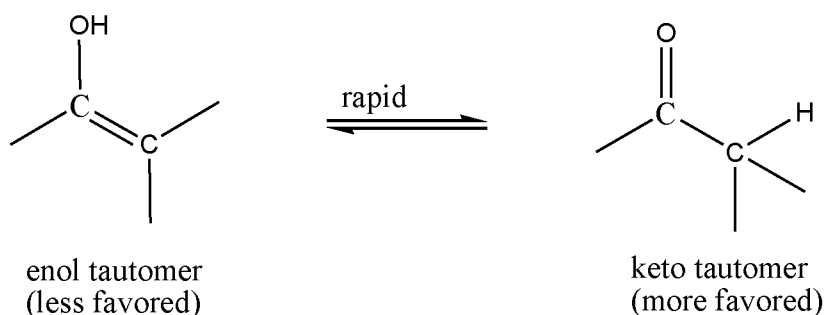
Οι αλδεΐδες και οι κετόνες αντιδρούν με αλειφατικές αμίνες και αρωματικές αμίνες προς σχηματισμό βάσεων του Schiff. Αυτές οι ενώσεις λέγονται επίσης και ιμίνες (Σχήμα 4.1). (Yaakob, 2009)



Σχήμα 4.1 Παράδειγμα πυρηνόφιλης προσθήκης προς σχηματισμό βάσης Schiff.

Επίσης στην παραπάνω αντίδραση πυρηνόφιλης προσθήκης (Σχήμα 4.1) εμφανίζεται το φαινόμενο της κετο-ενολικής ταυτομέρειας. Μια ένωση που περιέχει καρβονύλιο ($C=O$) είναι σε ταχεία ισορροπία με ένα ενολικό ταυτομερές, το οποίο περιέχει ένα ζεύγος ατόμων άνθρακα ενωμένων με διπλό δεσμό που γειτνιάζουν με μία υδροξυλική ομάδα ($-OH$), $C=C-OH$. Στις περισσότερες κετόνες επικρατεί η κετο-μορφή. Αυτή η διαδικασία λέγεται ταυτομέρεια και καταλύεται τόσο από οξέα όσο και από βάσεις.

Γενικά οι ενόλες είναι ασταθείς ενώσεις και είναι σε ισορροπία με μία ευνοϊκότερη καρβονυλική ομάδα. Η ενολική μορφή είναι σημαντική σε μερικές αντιδράσεις. Επιπλέον, το αποπρωτονιωμένο ενδιάμεσο στην αλληλομετατροπή των δύο μορφών, που αναφέρεται ως ενολικό ανιόν, είναι σημαντικό στη χημεία του καρβονυλίου, κυρίως λόγω του ότι αποτελεί ισχυρό πυρηνόφιλο (Yaakob, 2009).



Σχήμα 4.2 Παράδειγμα κετο-ενολο αντίδρασης

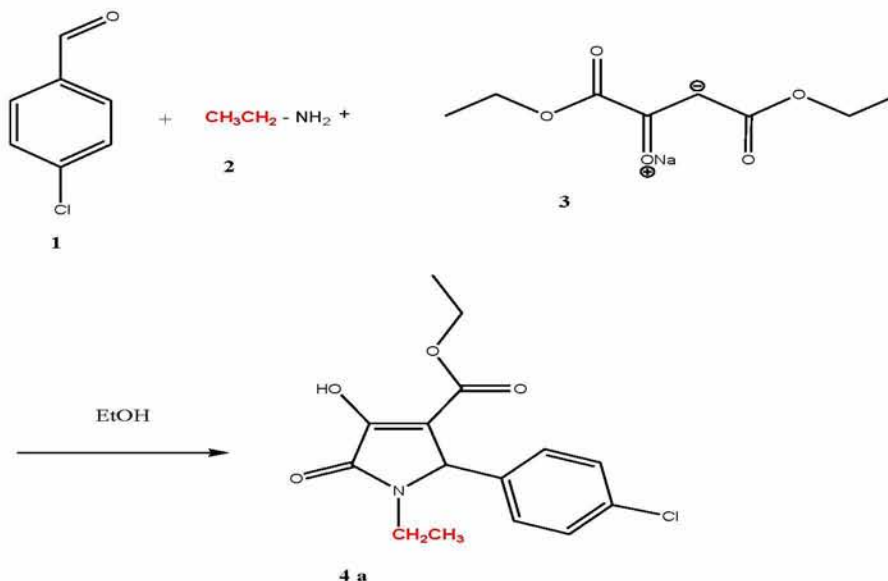
Στην παρούσα έρευνα, για τη σύνθεση των 2,3 πυρρολιδινών (πυρρολο-2-νών) μέσω μιας αντίδρασης τριών συστατικών, χρησιμοποιήθηκαν ως πρώτες ύλες :

- Διαιθυλικό οξαλικό άλας του νατρίου
- 4 - χλώρο βενζαλδεΰδη και 3 - χλώρο βενζαλδεΰδη
- Μεθυλαμίνη, αιθυλαμίνη, κυκλοπροπυλαμίνη, κυκλοβουτυλαμίνη και βενζυλαμίνη

4.2 Σύνθεση με αντιδρών την 4 - χλωροβενζαλδεύδη

4.2.1. Σύνθεση του N - αιθυλο - 3 υδροξυ - 2 οξο - 5 (4 - χλωροφαίνυλο) - 2,5 διυδρο 1H πύρρολο - 4 καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω της αντίδρασης τριών αντιδρώντων.

Αντίδραση :



Πρωτόκολλο :

7.11 mmol 4-χλωρο-βενζαλδεΐδης (MB = 140,57) **1** απαιτούν : 7.11 mmol αιθυλαμίνης (MB = 45,08 και $d = 0,814$) **2** , 7.11 mmol διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου (MB = 210,16) **3** και 25 ml αιθανόλη.

Για την παρασκευή τελικού προϊόντος **4a** προστέθηκαν 200mgr 4-χλωρο-βενζαλδεΐδης, 298 mgr διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου ($m = n \times \text{MB} = 0.711 \times 210,16 = 298\text{mgr}$), 78μl αιθυλαμίνης και 5ml αιθανόλης.

Πειραματική διαδικασία :

Η οργανική σύνθεση έγινε με τη βοήθεια της ενέργειας των μικροκυμάτων. Σε ένα γυάλινο σωληνάκι προστέθηκαν 200 mgr 4-χλωρο-βενζαλδεΐδης **1**, 78 μl αιθυλαμίνης **2**, 298 mgr διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου **3**, 5 ml αιθανόλης και τέλος ένα μαγνητάκι. Γίνεται ανάδευση των

αντιδρώντων για κάποια λεπτά και στη συνέχεια το γυάλινο σωληνάκι τοποθετείται σε μια επιλεγμένη θέση στο microwave. Επιλέγονται θερμοκρασία, χρόνος αντίδρασης και watt. Η συγκεκριμένη σύνθεση γίνεται στους 110°C για 15 λεπτά στα 100 Watt και 120pres. Η αντίδραση ελέγχεται με TLC και επιλέγεται σύστημα διαλυτών 9,8 CH₂Cl₂ / 0,2 CH₃OH. Μετά από μία ώρα τοποθετούμε το διάλυμα σε μία σφαιρική φιάλη, γίνεται προσθήκη παγωμένου νερού και ξεπλένεται το γυάλινο σωληνάκι ώστε να έχουμε όσο το δυνατόν λιγότερες απώλειες. Προστίθενται 5 σταγόνες πυκνού διαλύματος HCl (37%) ώστε το pH του διαλύματος της αντίδρασης να είναι 4 - 5. Τοποθετείται στη συνέχεια στο ψυγείο για περίπου 3 μέρες. Το επιθυμητό προϊόν πέφτει ως ίζημα το οποίο διηθείται υπό κενό και ξεπλένεται αρκετές φορές με παγωμένο νερό και εξάνιο ώστε να απομακρυνθούν τυχόν υπολείμματα 4-χλωρο-βενζαλδεΐδης που δεν αντέδρασαν. Το προϊόν παραλαμβάνεται ως λευκό στερεό.

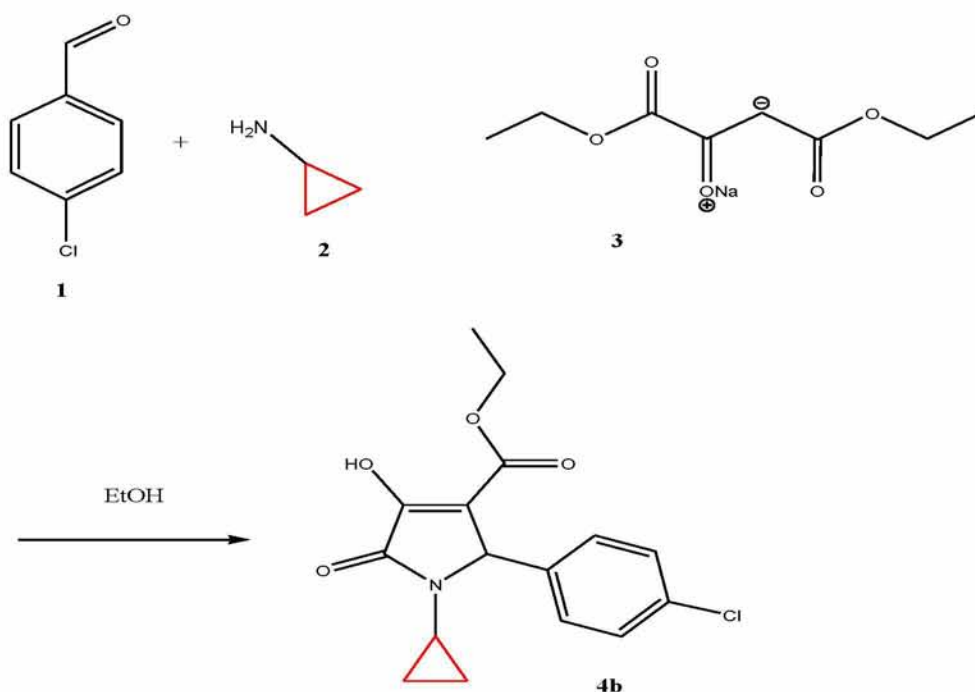
TLC (9,8 CH ₂ Cl ₂ /0,2 CH ₃ OH)	Rf = 0.35
Απόδοση	60%

Αποτελέσματα

¹H NMR (400 MHz, DMSO): δ 7.36 (d, 2H, *J* = 7.7 Hz, aromatic), 7.15 (d, 2H, *J* = 7.7 Hz, aromatic), 5.11 (s, 1H, CH, pyrrole), 4.16 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz, OCH₂), 3.79 (q, 1H, *J* = 7.1 Hz, NCH₂), 2.84 (q, 1H, *J* = 7.1 Hz, NCH₂), 1.20-1.08 (m, 6H, OCH₂CH₃, NCH₂CH₃).

4.2.2. Σύνθεση του N - κυκλοπρόπυλ - 3 υδροξυ - 2 οξο - 5 (4 - χλωροφαινυλο) - 2,5 διυδρο 1H πύρρολο - 4 καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω της αντίδρασης τριών αντιδρώντων.

Αντίδραση :



Πρωτόκολλο :

7.11 mmol 4-χλωρο-βενζαλδεΐδης (MB = 140,57) **1** απαιτούν : 7.11 mmol κυκλοπροπυλαμίνης (MB = 57,10 και d=0,824) **2** , 7.11 mmol διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου (MB = 210,16) **3** και 25 ml αιθανόλη.

Για την παρασκευή τελικού προϊόντος **4b** προστέθηκαν 200mgr 4-χλωρο-βενζαλδεΐδης, 298 mgr διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου ($m = n \times MB = 0.711 \times 210,16 = 298\text{mgr}$), 98 μl κυκλοπροπυλαμίνης ($m = n \times MB = 0.711 \times 57.10 = 40.59$ και $V = m / d = 40.59 / 0.824 = 49 \mu\text{l}$) και 5ml αιθανόλης.

Πειραματική διαδικασία :

Η οργανική σύνθεση έγινε με τη βοήθεια της ενέργειας των μικροκυμάτων. Σε ένα γυάλινο σωληνάκι προστέθηκαν 200 mgr 4-χλωρο-βενζαλδεΐδης **1**, 98 μl κυκλοπροπυλαμίνης **2**, 298 mgr

δισαυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου **3**, 5 ml αιθανόλης και τέλος ένα μαγνητάκι. Γίνεται ανάδευση των αντιδρώντων για κάποια λεπτά και στη συνέχεια το γυάλινο σωληνάκι τοποθετείται σε μια επιλεγμένη θέση στο microwave. Επιλέγονται θερμοκρασία, χρόνος αντίδρασης και watt. Η συγκεκριμένη σύνθεση γίνεται στους 95°C για 15λεπτά στα 100 Watt και 120pres. Η αντίδραση ελέγχεται με TLC και επιλέγεται σύστημα διαλυτών 9 CH₂Cl₂ / 1 CH₃OH. Μετά από μία ώρα τοποθετούμε το διάλυμα σε μία σφαιρική φιάλη, γίνεται προσθήκη παγωμένου νερού και ξεπλένεται το γυάλινο σωληνάκι ώστε να έχουμε όσο το δυνατόν λιγότερες απώλειες. Προστίθενται 5 σταγόνες πυκνού διαλύματος HCl (37%) ώστε το pH του διαλύματος της αντίδρασης να είναι 4 - 5. Τοποθετείται στη συνέχεια στο ψυγείο για περίπου 3 μέρες. Το επιθυμητό προϊόν πέφτει ως ίζημα το οποίο διηθείται υπό κενό και ξεπλένεται αρκετές φορές με παγωμένο νερό και εξάνιο ώστε να απομακρυνθούν τυχόν υπολείμματα 4-χλωρο-βενζαλδεΐδης που δεν αντέδρασαν. Το προϊόν παραλαμβάνεται ως λευκό στερεό.

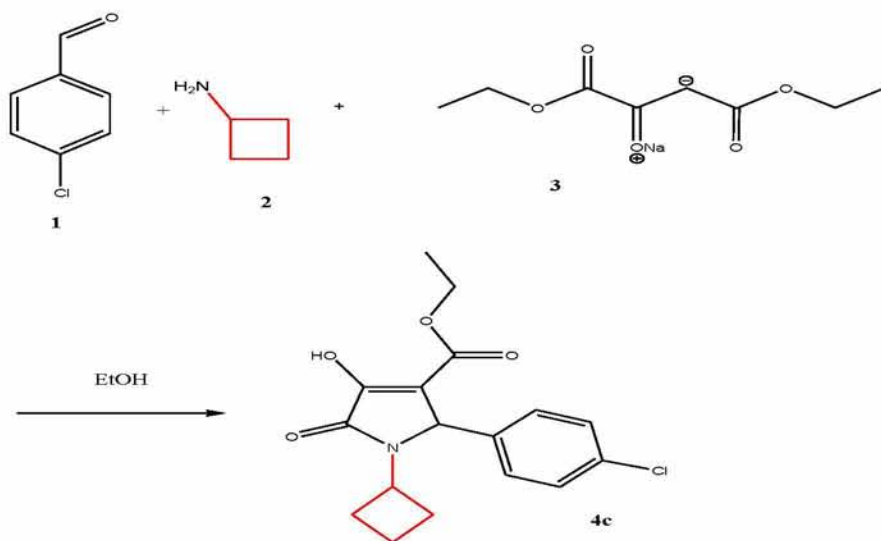
TLC (9 CH ₂ Cl ₂ /1 CH ₃ OH)	Rf = 0,3
Απόδοση	65%

Αποτελέσματα

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.85 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, aromatic), 7.55 (d, 1H, *J* = 8.2 Hz, aromatic), 7.36 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, aromatic), 7.19 (d, 1H, *J* = 8.2 Hz, aromatic), 5.05 (s, 1H, CH, pyrrole), 4.16 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz, OCH₂), 2.36-2.28 (m, 1H, NCHcyclopropyl), 1.17 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz, OCH₂CH₃), 0.94-0.87 (m, 2H, CH₂cyclopropyl), 0.68-0.58 (m, 2H, CH₂cyclopropyl).

4.2.3. Σύνθεση του N - κυκλοβούτυλ - 3 υδροξυ - 2 οξο - 5 (4 - χλωροφαινύλο) - 2,5 διυδρο 1H πύρρολο - 4 καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω της αντίδρασης τριών αντιδρώντων.

Αντίδραση :



Πρωτόκολλο :

7.11 mmol 4-χλωρο-βενζαλδεΰδης (MB = 140,57) **1** απαιτούν : 7.11 mmol κυκλοβούτυλαμίνης (MB = 71,12 και d= 0,833) **2** , 7.11 mmol διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου (MB = 210,16) **3** και 25 ml αιθανόλη.

Για την παρασκευή τελικού προϊόντος **4c** προστέθηκαν 200mgr 4-χλωρο-βενζαλδεΰδης, 298 mgr διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου ($m = n \times MB = 0.711 \times 210,16 = 298\text{mgr}$), 122μl κυκλοβουτυλαμίνης και 5ml αιθανόλης.

Πειραματική διαδικασία :

Η οργανική σύνθεση έγινε με τη βοήθεια της ενέργειας των μικροκυμάτων. Σε ένα γυάλινο σωληνάκι προστέθηκαν 200 mgr 4-χλωρο-βενζαλδεΰδης **1**, 122μl κυκλοβουτυλαμίνης **2**, 298 mgr διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου **3**, 5 ml αιθανόλης και τέλος ένα μαγνητάκι. Γίνεται ανάδευση των αντιδρώντων για κάποια λεπτά και στη συνέχεια το γυάλινο σωληνάκι τοποθετείται σε

μια επιλεγμένη θέση στο microwave. Επιλέγονται θερμοκρασία, χρόνος αντίδρασης και watt. Η συγκεκριμένη σύνθεση γίνεται στους 110°C για 10 λεπτά στα 100 Watt και 120pres. Η αντίδραση ελέγχεται με TLC και επιλέγεται σύστημα διαλυτών 9,8 CH₂Cl₂ / 0,2 CH₃OH. Μετά από μία ώρα τοποθετούμε το διάλυμα σε μία σφαιρική φιάλη, γίνεται προσθήκη παγωμένου νερού και ξεπλένεται το γυάλινο σωληνάκι ώστε να έχουμε όσο το δυνατόν λιγότερες απώλειες. Προστίθενται 5 σταγόνες πυκνού διαλύματος HCl (37%) ώστε το pH του διαλύματος της αντίδρασης να είναι 4 - 5. Τοποθετείται στη συνέχεια στο ψυγείο και αφήνεται για 3 περίπου μέρες. Το επιθυμητό προϊόν πέφτει ως ίζημα το οποίο διηθείται υπό κενό και ξεπλένεται αρκετές φορές με παγωμένο νερό και εξάνιο ώστε να απομακρυνθούν τυχόν υπολείμματα 4-χλωρο-βενζαλδεΐδης που δεν αντέδρασαν.ο προϊόν παραλαμβάνεται ως λευκό στερεό.

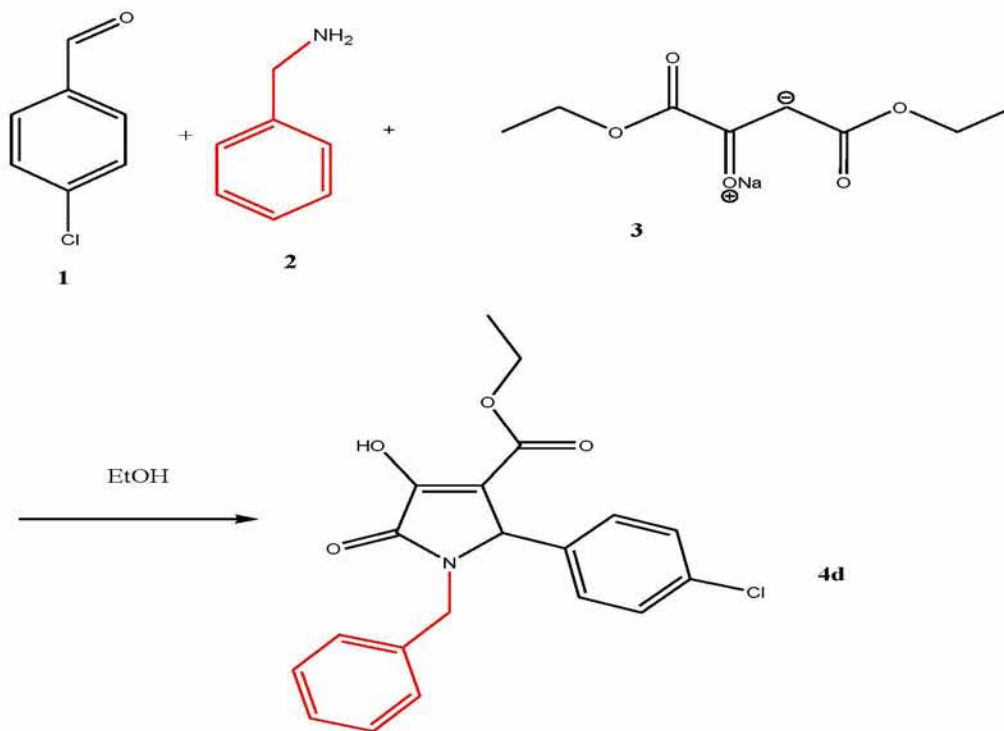
TLC (9,8 CH ₂ Cl ₂ / 0,2 CH ₃ OH)	Rf = 0,35
Απόδοση	65%

Αποτελέσματα

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.31 (d, 2H, *J* = 7.9 Hz, aromatic), 7.16 (d, 1H, *J* = 7.9 Hz, aromatic), 5.15 (s, 1H, CH, pyrrole), 4.18-4.11 (m, 2H, *J* = 7.0 Hz, OCH₂CH₃) 2.44 (t, 1H, *J* = 10.4 Hz, NCHcyclobutyl), 2.14 (t, 2H, *J* = 9.4 Hz, CHcyclobutyl), 1.91-1.79 (m, 1H, CHcyclobutyl), 1.70-1.46 (m, 3H, CHcyclobutyl), 1.59 (t, 3H, *J* = 7.0 Hz, OCH₂CH₃).

4.2.4. Σύνθεση του N - βενζυλ - 3 υδροξυ - 2 οξο - 5 (4 - χλωροφαινυλο) - 2,5 διυδρο 1H πύρρολο - 4 καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω της αντίδρασης τριών αντιδρώντων.

Αντίδραση :



Πρωτόκολλο :

7.11 mmol 4-χλωρο-βενζαλδεΐδης (MB = 140,57) **1** απαιτούν : 7.11 mmol βενζυλαμίνης (MB = 107,15 και d= 0,981) **2** , 7.11 mmol διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου (MB = 210,16) **3** και 25 ml αιθανόλη.

Για την παρασκευή τελικού προϊόντος **4d** προστέθηκαν 200mgr 4-χλωρο-βενζαλδεΐδης, 298 mgr διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου ($m = n \times MB = 0.711 \times 210,16 = 298\text{mgr}$), 156ml βενζυλαμίνης και 5ml αιθανόλης.

Πειραματική διαδικασία :

Η οργανική σύνθεση έγινε με τη βοήθεια της ενέργειας των μικροκυμάτων. Σε ένα γυάλινο

σωληνάκι προστέθηκαν 200 mgr 4-χλωρο-βενζαλδεΐδης **1**, 156ml βενζυλαμίνης **2**, 298 mgr διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου **3**, 5 ml αιθανόλης και τέλος ένα μαγνητάκι. Γίνεται ανάδευση των αντιδρώντων για κάποια λεπτά και στη συνέχεια το γυάλινο σωληνάκι τοποθετείται σε μια επιλεγμένη θέση στο microwave. Επιλέγονται θερμοκρασία, χρόνος αντίδρασης και watt. Η συγκεκριμένη σύνθεση γίνεται στους 110°C για 10 λεπτά στα 100 Watt και 120pres. Η αντίδραση ελέγχεται με TLC και επιλέγεται σύστημα διαλυτών 9,8 CH₂Cl₂/ 0,2 CH₃OH. Μετά από μία ώρα τοποθετούμε το διάλυμα σε μία σφαιρική φιάλη, γίνεται προσθήκη παγωμένου νερού και ξεπλένεται το γυάλινο σωληνάκι ώστε να έχουμε όσο το δυνατόν λιγότερες απώλειες. Προστίθενται 5 σταγόνες πυκνού διαλύματος HCl (37%) ώστε το pH του διαλύματος της αντίδρασης να είναι 4 - 5. Τοποθετείται στη συνέχεια στο ψυγείο για περίπου 3 μέρες. Το επιθυμητό προϊόν πέφτει ως ίζημα το οποίο διηθείται υπό κενό και ξεπλένεται αρκετές φορές με παγωμένο νερό και εξάνιο ώστε να απομακρυνθούν τυχόν υπολείμματα 4-χλωρο-βενζαλδεΐδης που δεν αντέδρασαν. Το προϊόν παραλαμβάνεται ως λευκό στερεό.

TLC (9,8 CH ₂ Cl ₂ / 0,2 CH ₃ OH)	Rf = 0,3
Απόδοση	70%

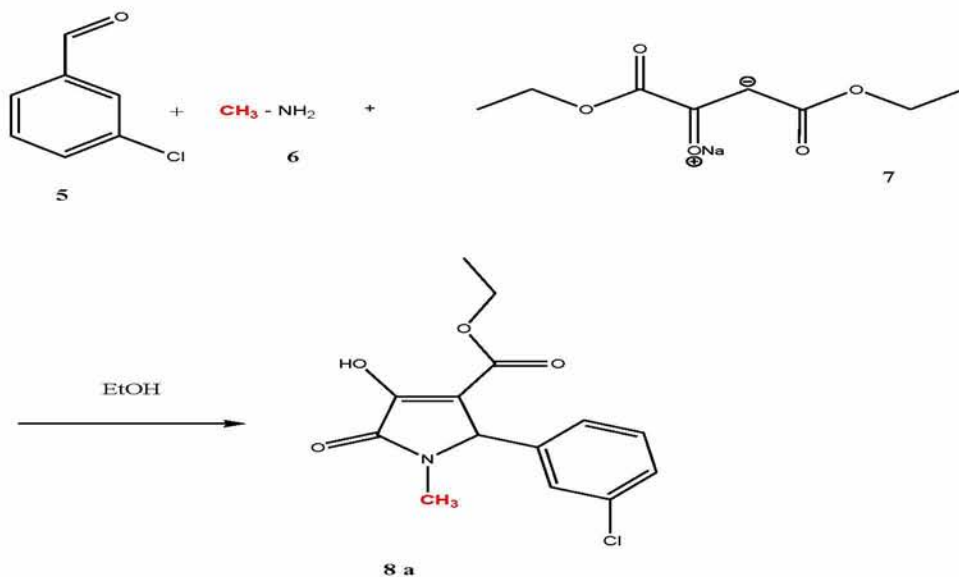
Αποτελέσματα

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.34-7.29 (m, 4H, aromatic), 7.10-7.03 (m, 5H, aromatic), 5.19 (d, 1H, *J* = 14.7 Hz, CH₂benzyl), 4.85 (s, 1H, CH, pyrrole), 4.11-4.07 (m, 2H, *J* = 6.9 Hz, OCH₂CH₃) 3.55 (d, 1H, *J* = 14.7 Hz, CH₂benzyl), 1.09 (t, 3H, *J* = 6.9 Hz, OCH₂CH₃).

4.3 Σύνθεση με αντιδρών την 3 - χλωροβενζαλδεύδη

4.3.1. Σύνθεση του N - μέθυλο - 3 υδροξυ - 2 οξο - 5 (3 - χλωροφαίνυλο) - 2,5 διυδρο 1H πύρρολο - 4 καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω της αντίδρασης τριών αντιδρώντων.

Αντίδραση :



Πρωτόκολλο :

7.11 mmol 3-χλωρο-βενζαλδεϋδης (MB = 140,57) **5** απαιτούν : 7.11 mmol μεθυλαμίνης (MB =31,06 και $d= 0,897$) **6** , 7.11 mmol διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου (MB = 210,16) **7** και 25 ml αιθανόλη.

Για την παρασκευή τελικού προϊόντος **8a** προστέθηκαν 200mgr 3-χλωρο-βενζαλδεϋδης, 298 mgr διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου ($m = n \times \text{MB} = 0.711 \times 210,16 = 298\text{mgr}$), 50μl μεθυλαμίνης και 5ml αιθανόλης.

Πειραματική διαδικασία :

Η οργανική σύνθεση έγινε με τη βοήθεια της ενέργειας των μικροκυμάτων. Σε ένα γυάλινο

σωληνάκι προστέθηκαν 200 mgr 3-χλωρο-βενζαλδεΐδης **5**, 50ml μεθυλαμίνης **6**, 298 mgr διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου **7**, 5 ml αιθανόλης και τέλος ένα μαγνητάκι. Γίνεται ανάδευση των αντιδρώντων για κάποια λεπτά και στη συνέχεια το γυάλινο σωληνάκι τοποθετείται σε μια επιλεγμένη θέση στο microwave. Επιλέγονται θερμοκρασία, χρόνος αντίδρασης και watt. Η συγκεκριμένη σύνθεση γίνεται στους 110°C για 15 λεπτά στα 100 Watt και 120pres. Η αντίδραση ελέγχεται με TLC και επιλέγεται σύστημα διαλυτών 9,8 CH₂Cl₂/ 0,2 CH₃OH. Μετά από μία ώρα τοποθετούμε το διάλυμα σε μία σφαιρική φιάλη, γίνεται προσθήκη παγωμένου νερού και ξεπλένεται το γυάλινο σωληνάκι ώστε να έχουμε όσο το δυνατόν λιγότερες απώλειες. Προστίθενται 5 σταγόνες πυκνού διαλύματος HCl (37%) ώστε το pH του διαλύματος της αντίδρασης να είναι 4 - 5. Τοποθετείται στη συνέχεια στο ψυγείο. Το επιθυμητό προϊόν πέφτει ως ίζημα το οποίο διηθείται υπό κενό και ξεπλένεται αρκετές φορές με παγωμένο νερό και εξάνιο ώστε να απομακρυνθούν τυχόν υπολείμματα 3-χλωρο-βενζαλδεΐδης που δεν αντέδρασαν. Το προϊόν παραλαμβάνεται ως λευκό στερεό.

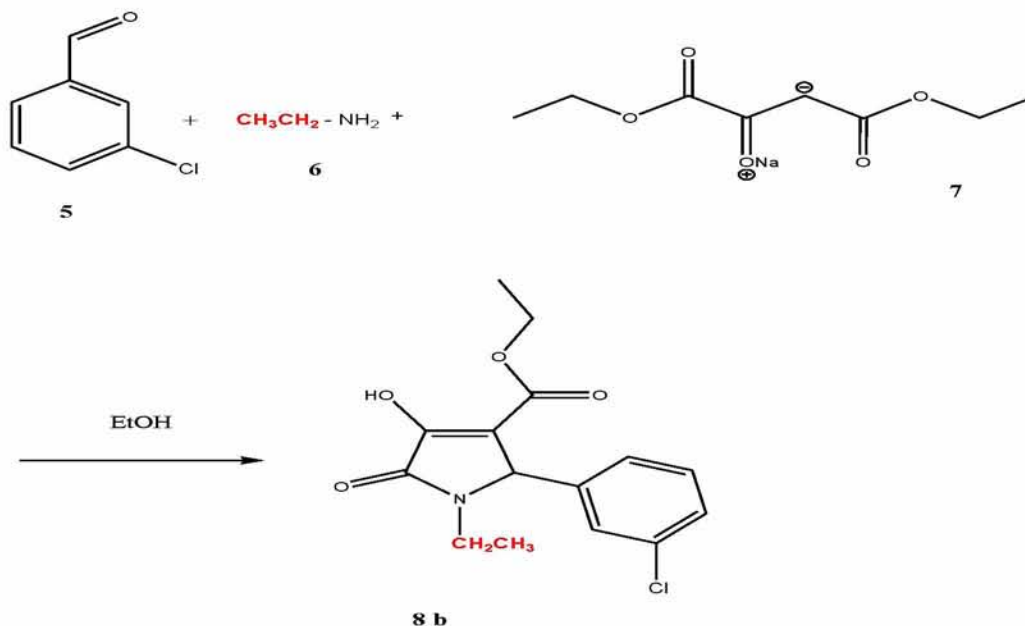
TLC (9,8 CH ₂ Cl ₂ / 0,2 CH ₃ OH)	Rf = 0,3
Απόδοση	60%

Αποτελέσματα

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.34-7.08 (m, 4H, aromatic), 4.99 (s, 1H, CH, pyrrole), 4.16 (q, 2H, J = 7.2 Hz, OCH₂), 2.86 (s, 3H, NCH₃), 1.18 (t, 3H, J = 7.2 Hz, CH₃).

4.3.2. Σύνθεση του N - αιθυλο - 3 υδροξυ - 2 οξο - 5 (3- χλωροφαινυλο) - 2,5 διυδρο 1H πύρρολο - 4 καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω της αντίδρασης τριών αντιδρώντων.

Αντίδραση :



Πρωτόκολλο :

7.11 mmol 3-χλωρο-βενζαλδεΰδης (MB = 140,57) **5** απαιτούν : 7.11 mmol αιθυλαμίνης (MB = 45,08 και $d = 0,814$) **6** , 7.11 mmol διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου (MB = 210,16) **7** και 25 ml αιθανόλη.

Για την παρασκευή τελικού προϊόντος **8a** προστέθηκαν 200mgr 3-χλωρο-βενζαλδεΰδης, 298 mgr διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου ($m = n \times \text{MB} = 0.711 \times 210,16 = 298\text{mgr}$), 78μl αιθυλαμίνης και 5ml αιθανόλης.

Πειραματική διαδικασία :

Η οργανική σύνθεση έγινε με τη βοήθεια της ενέργειας των μικροκυμάτων. Σε ένα γυάλινο σωληνάκι προστέθηκαν 200 mgr 3-χλωρο-βενζαλδεΐδης **5**, 78 ml αιθυλαμίνης **6**, 298 mgr διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου **7**, 5 ml αιθανόλης και τέλος ένα μαγνητάκι. Γίνεται ανάδευση των αντιδρώντων για κάποια λεπτά και στη συνέχεια το γυάλινο σωληνάκι τοποθετείται σε μια επιλεγμένη θέση στο microwave. Επιλέγονται θερμοκρασία, χρόνος αντίδρασης και watt. Η συγκεκριμένη σύνθεση γίνεται στους 110°C για 15 λεπτά στα 100 Watt και 120pres. Η αντίδραση ελέγχεται με TLC και επιλέγεται σύστημα διαλυτών 9,8 CH₂Cl₂/ 0,2CH₃OH. Μετά από μία ώρα τοποθετούμε το διάλυμα σε μία σφαιρική φιάλη, γίνεται προσθήκη παγωμένου νερού και ξεπλένεται το γυάλινο σωληνάκι ώστε να έχουμε όσο το δυνατόν λιγότερες απώλειες. Προστίθενται 5 σταγόνες πυκνού διαλύματος HCl (37%) ώστε το pH του διαλύματος της αντίδρασης να είναι 4 - 5. Τοποθετείται στη συνέχεια στο ψυγείο για περίπου 3 μέρες. Το επιθυμητό προϊόν πέφτει ως ίζημα το οποίο διηθείται υπό κενό και ξεπλένεται αρκετές φορές με παγωμένο νερό και εξάνιο ώστε να απομακρυνθούν τυχόν υπολείμματα 3-χλωρο-βενζαλδεΐδης που δεν αντέδρασαν. Το προϊόν παραλαμβάνεται ως λευκό στερεό.

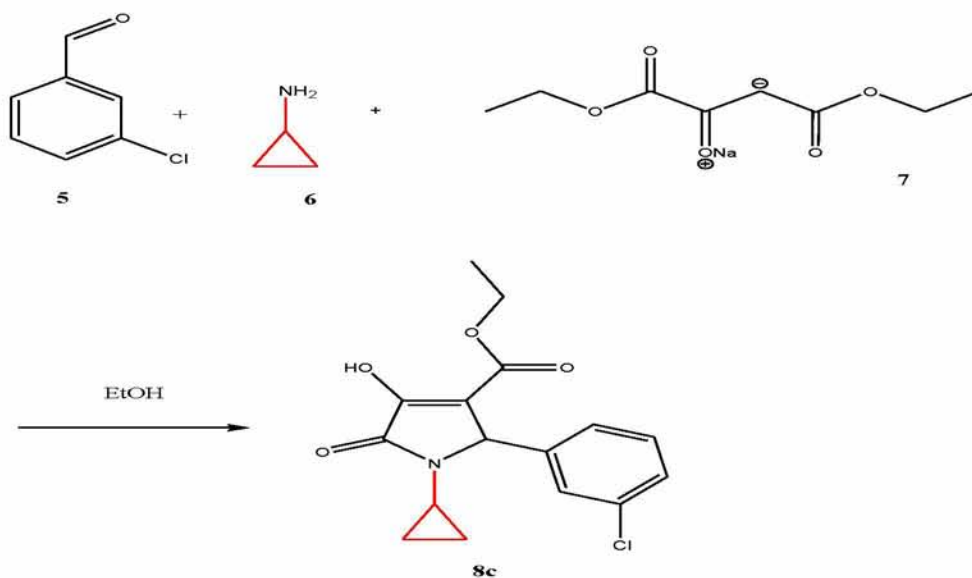
TLC (9,8 CH ₂ Cl ₂ / 0,2 CH ₃ OH)	Rf = 0,25
Απόδοση	68%

Αποτελέσματα

¹H NMR (400 MHz, DMSO): δ 7.34-7.32 (m, 2H, aromatic), 7.21-7.09 (m, 2H, aromatic), 5.18 (s, 1H, CH, pyrrole), 4.19-4.16 (m, 2H, OCH₂), 3.86 (q, 1H, J = 6.7 Hz, NCH₂), 2.82 (q, 1H, J = 6.7 Hz, NCH₂), 1.18-1.11 (m, 6H, OCH₂CH₃, NCH₂CH₃).

4.3.3. Σύνθεση του N - κυκλοπροπυλ - 3 υδροξυ - 2 οξο - 5 (3- χλωροφαινύλο) - 2,5 διυδρο 1H πυρρόλο - 4 καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω της αντίδρασης τριών αντιδρώντων.

Αντίδραση :



Πρωτόκολλο :

7.11 mmol 3-χλωρο-βενζαλδεΰδης (MB = 140,57) **5** απαιτούν : 7.11 mmol κυκλοπροπυλαμίνης (MB = 57,10 και d=0,824) **6** , 7.11 mmol διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου (MB = 210,16) **7** και 25 ml αιθανόλη.

Για την παρασκευή τελικού προϊόντος **8c** προστέθηκαν 200mgr 3-χλωρο-βενζαλδεΰδης, 298 mgr διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου ($m = n \times MB = 0.711 \times 210,16 = 298\text{mgr}$), 98 μl κυκλοπροπυλαμίνης ($m = n \times MB = 0.711 \times 57.10 = 40.59$ και $V = m / d = 40.59 / 0.824 = 49 \mu\text{l}$) και 5ml αιθανόλης.

Πειραματική διαδικασία :

Η οργανική σύνθεση έγινε με τη βοήθεια της ενέργειας των μικροκυμάτων. Σε ένα γυάλινο σωληνάκι προστέθηκαν 200 mgr 3-χλωρο-βενζαλδεΰδης **1**, 98 μl κυκλοπροπυλαμίνης **2**, 298 mgr διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου **3**, 5 ml αιθανόλης και τέλος ένα μαγνητάκι. Γίνεται

ανάδευση των αντιδρώντων για κάποια λεπτά και στη συνέχεια το γυάλινο σωληνάκι τοποθετείται σε μια επιλεγμένη θέση στο microwave. Επιλέγονται θερμοκρασία, χρόνος αντίδρασης και watt. Η συγκεκριμένη σύνθεση γίνεται στους 110°C για 15 λεπτά στα 100 Watt και 120pres Η αντίδραση ελέγχεται με TLC και επιλέγεται σύστημα διαλυτών 9,8 CH₂Cl₂ / 0,2 CH₃OH. Μετά από μία ώρα τοποθετούμε το διάλυμα σε μία σφαιρική φιάλη, γίνεται προσθήκη παγωμένου νερού και ξεπλένεται το γυάλινο σωληνάκι ώστε να έχουμε όσο το δυνατόν λιγότερες απώλειες. Προστίθενται 5 σταγόνες πυκνού διαλύματος HCl (37%) ώστε το pH του διαλύματος της αντίδρασης να είναι 4 - 5. Τοποθετείται στη συνέχεια στο ψυγείο για περίπου 3 μέρες. Το επιθυμητό προϊόν πέφτει ως ίζημα το οποίο διηθείται υπό κενό και ξεπλένεται αρκετές φορές με παγωμένο νερό και εξάνιο ώστε να απομακρυνθούν τυχόν υπολείμματα 3-χλωρο-βενζαλδεΐδης που δεν αντέδρασαν. Το προϊόν παραλαμβάνεται ως λευκό στερεό.

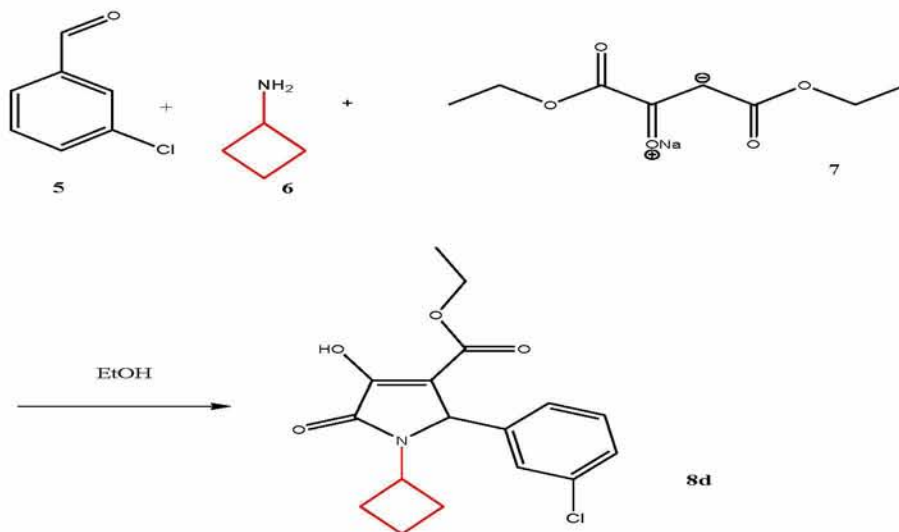
TLC (9,8 CH ₂ Cl ₂ / 0,2 CH ₃ OH)	Rf = 0,3
Απόδοση	62%

Αποτελέσματα

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.30-7.11 (m, 4H, aromatic), 5.00 (s, 1H, CH, pyrrole), 4.19 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz, OCH₂), 2.34-2.27 (m, 1H, NCHcyclopropyl), 1.15 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz, OCH₂CH₃), 0.94-0.87 (m, 2H, CH₂cyclopropyl), 0.64-0.59 (m, 2H, CH₂cyclopropyl).

4.3.4. Σύνθεση του N - κυκλοβουτυλ - 3 υδροξυ - 2 οξο - 5 (3- χλωροφαινύλο) - 2,5 διυδρο 1H πύρρολο - 4 καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω της αντίδρασης τριών αντιδρώντων

Αντίδραση :



Πρωτόκολλο :

7.11 mmol 3-χλωρο-βενζαλδεΰδης (MB = 140,57) **5** απαιτούν : 7.11 mmol κυκλοβουτυλαμίνης (MB = 71,12 και d= 0,833) **6** , 7.11 mmol διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου (MB = 210,16) **7** και 25 ml αιθανόλη.

Για την παρασκευή τελικού προϊόντος **8d** προστέθηκαν 200mgr 3-χλωρο-βενζαλδεΰδης, 298 mgr διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου ($m = n \times MB = 0.711 \times 210,16 = 298\text{mgr}$), 122μl κυκλοβουτυλαμίνης και 5ml αιθανόλης.

Πειραματική διαδικασία :

Η οργανική σύνθεση έγινε με τη βοήθεια της ενέργειας των μικροκυμάτων. Σε ένα γυάλινο σωληνάκι προστέθηκαν 200 mgr 3-χλωρο-βενζαλδεΰδης **5**, 122μl κυκλοβουτυλαμίνης **6**, 298 mgr διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου **7**, 5 ml αιθανόλης και τέλος ένα μαγνητάκι. Γίνεται

ανάδευση των αντιδρώντων για κάποια λεπτά και στη συνέχεια το γυάλινο σωληνάκι τοποθετείται σε μια επιλεγμένη θέση στο microwave. Επιλέγονται θερμοκρασία, χρόνος αντίδρασης και watt. Η συγκεκριμένη σύνθεση γίνεται στους 110°C για 10 λεπτά στα 100 Watt και 120pres. Η αντίδραση ελέγχεται με TLC και επιλέγεται σύστημα διαλυτών 9,8 CH₂Cl₂ / 0,2 CH₃OH. Μετά από μία ώρα τοποθετούμε το διάλυμα σε μία σφαιρική φιάλη, γίνεται προσθήκη παγωμένου νερού και ξεπλένεται το γυάλινο σωληνάκι ώστε να έχουμε όσο το δυνατόν λιγότερες απώλειες. Προστίθενται 5 σταγόνες πυκνού διαλύματος HCl (37%) ώστε το pH του διαλύματος της αντίδρασης να είναι 4 - 5. Τοποθετείται στη συνέχεια στο ψυγείο για περίπου 3 μέρες. Το επιθυμητό προϊόν πέφτει ως ίζημα το οποίο διηθείται υπό κενό και ξεπλένεται αρκετές φορές με παγωμένο νερό και εξάνιο ώστε να απομακρυνθούν τυχόν υπολείμματα 3-χλωρο-βενζαλδεΐδης που δεν αντέδρασαν. Το προϊόν παραλαμβάνεται ως λευκό στερεό.

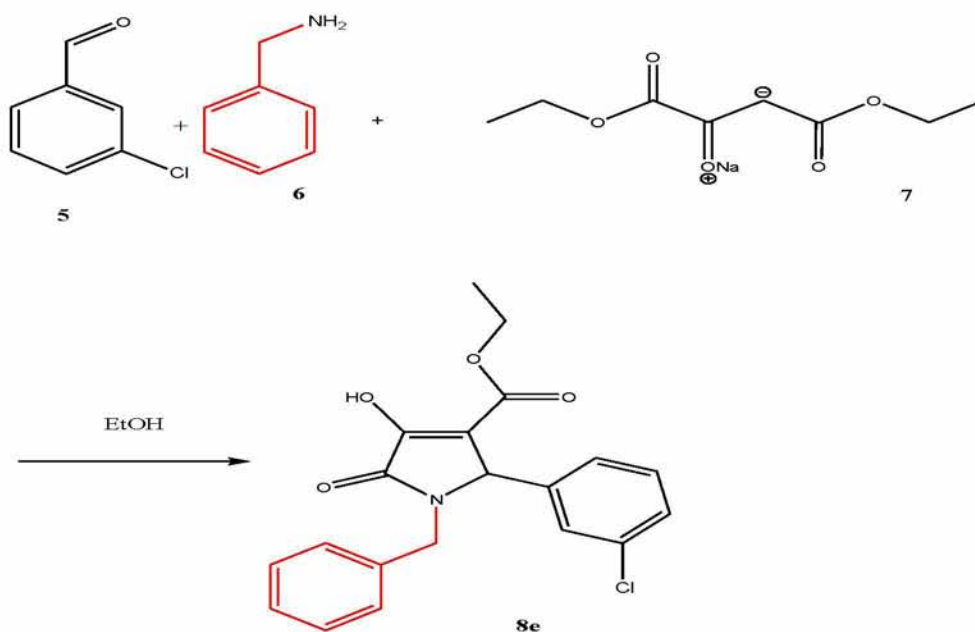
TLC (9,8 CH ₂ Cl ₂ / 0,2 CH ₃ OH)	0,35
Απόδοση	65%

Αποτελέσματα

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.31-7.25 (m, 3H, aromatic), 7.13-7.11 (m, 1H, aromatic), 5.17 (s, 1H, CH, pyrrole), 4.24-4.16 (m, 2H, OCH₂CH₃, 1H, NCHcyclobutyl) 2.50-2.40 (m, 1H, *J* = 10.0 Hz, CHcyclobutyl), 2.20-2.18 (m, 1H, CHcyclobu-tyl), 1.93-1.83 (m, 1H, CHcyclobutyl), 1.69-1.55 (m, 2H, *J* = 10.0 Hz, CHcyclobutyl), 1.19 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz, OCH₂CH₃).

4.3.5. Σύνθεση του N - βενζυλ - 3 υδροξυ - 2 οξο - 5 (3- χλωροφαίνυλο) - 2,5 διυδρο 1H πύρρολο - 4 καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω της αντίδρασης τριών αντιδρώντων

Αντίδραση :



Πρωτόκολλο :

7.11 mmol 3-χλωρο-βενζαλδεΰδης (MB = 140,57) **5** απαιτούν : 7.11 mmol βενζυλαμίνης (MB = 107,15 και d= 0,981) **6** , 7.11 mmol διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου (MB = 210,16) **7** και 25 ml αιθανόλη.

Για την παρασκευή τελικού προϊόντος **8e** προστέθηκαν 200mgr 3-χλωρο-βενζαλδεΰδης, 298 mgr διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου ($m = n \times MB = 0.711 \times 210,16 = 298\text{mgr}$), 156μl βενζυλαμίνης και 5ml αιθανόλης.

Πειραματική διαδικασία :

Η οργανική σύνθεση έγινε με τη βοήθεια της ενέργειας των μικροκυμάτων. Σε ένα γυάλινο σωληνάκι προστέθηκαν 200 mgr 3-χλωρο-βενζαλδεΐδης **5**, 156ml βενζυλαμίνης **6**, 298 mgr διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου **7**, 5 ml αιθανόλης και τέλος ένα μαγνητάκι. Γίνεται ανάδευση των αντιδρώντων για κάποια λεπτά και στη συνέχεια το γυάλινο σωληνάκι τοποθετείται σε μια επιλεγμένη θέση στο microwave. Επιλέγονται θερμοκρασία, χρόνος αντίδρασης και watt. Η συγκεκριμένη σύνθεση γίνεται στους 110°C για 10 λεπτά στα 100 Watt και 120pres. Η αντίδραση ελέγχεται με TLC και επιλέγεται σύστημα διαλυτών 9,8 CH₂Cl₂ / 0,2 CH₃OH. Μετά από μία ώρα τοποθετούμε το διάλυμα σε μία σφαιρική φιάλη, γίνεται προσθήκη παγωμένου νερού και ξεπλένεται το γυάλινο σωληνάκι ώστε να έχουμε όσο το δυνατόν λιγότερες απώλειες. Προστίθενται 5 σταγόνες πυκνού διαλύματος HCl (37%) ώστε το pH του διαλύματος της αντίδρασης να είναι 4 - 5. Τοποθετείται στη συνέχεια στο ψυγείο για περίπου 3 μέρες. Το επιθυμητό προϊόν πέφτει ως ίζημα το οποίο διηθείται υπό κενό και ξεπλένεται αρκετές φορές με παγωμένο νερό και εξάνιο ώστε να απομακρυνθούν τυχόν υπολείμματα 3-χλωρο-βενζαλδεΐδης που δεν αντέδρασαν. Το προϊόν παραλαμβάνεται ως λευκό στερεό.

TLC (9,8 CH ₂ Cl ₂ / 0,2 CH ₃ OH)	Rf = 0,3
Απόδοση	59%

Αποτελέσματα

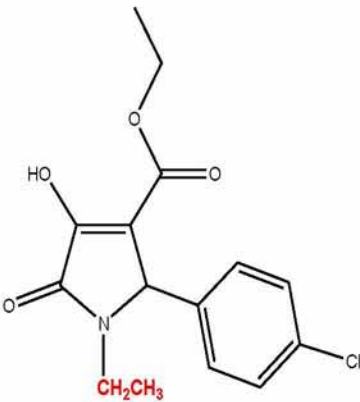
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.32-7.22 (m, 5H, aromatic), 7.13-7.10 (m, 3H, aromatic), 7.02-7.00 (m, 1H, aromatic), 5.20 (d, 1H, *J* = 14.8 Hz, CH₂benzyl), 4.86 (s, 1H, CH, pyrrole), 4.16-4.05 (m, 2H, OCH₂CH₃) 3.62 (d, 1H, *J* = 14.8 Hz, CH₂benzyl), 1.10 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz, OCH₂CH₃)

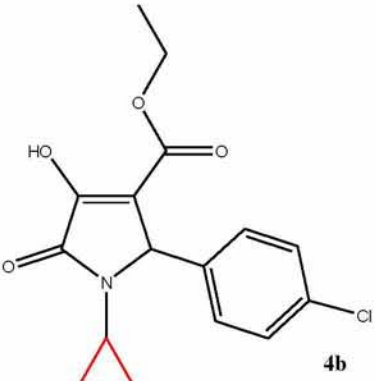
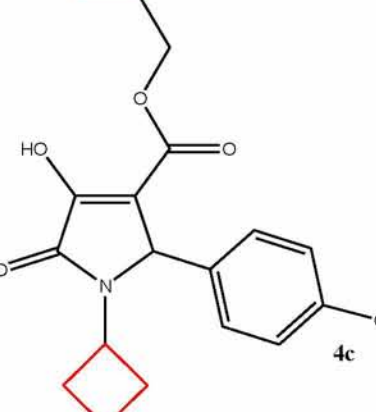
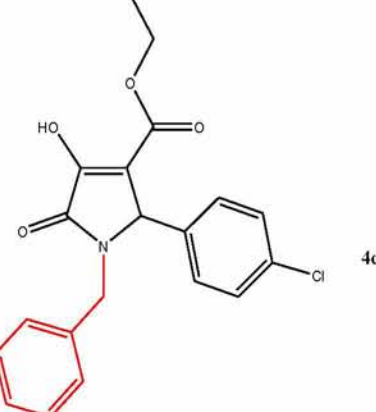
5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

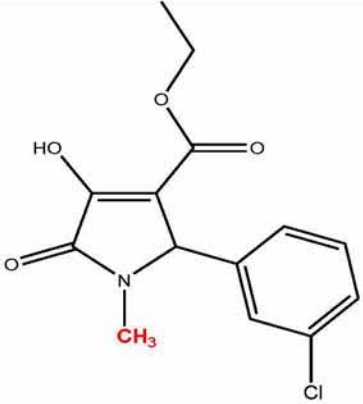
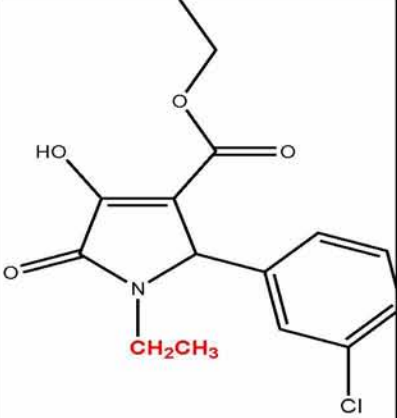
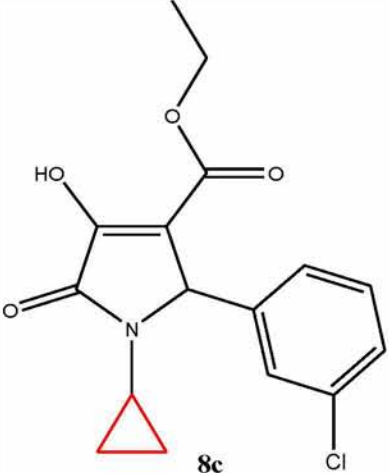
5.1 Αντικαρκινική δράση

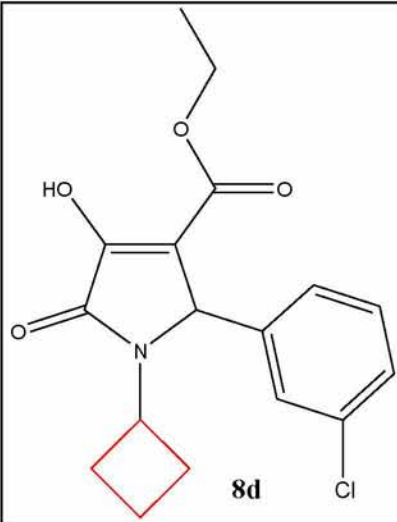
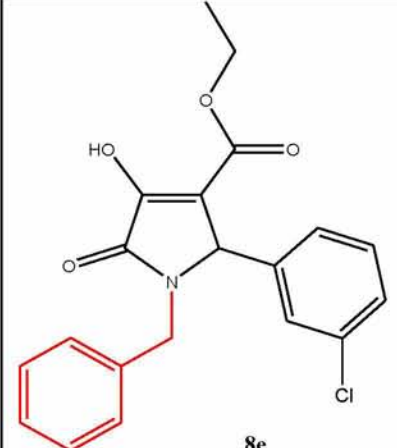
Η βιολογική αποτίμηση όλων των μορίων πραγματοποιήθηκε στο Ινστιτούτο REGA στο Βέλγιο.

Όλα τα μόρια αξιολογήθηκαν για την κυτταροτοξική και κυτταροστατική τους δράση έναντι κυττάρων λευχαιμίας ποντικού (L1210), ανθρώπινου λεμφώματος (CEM) καθώς και των ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων του τραχήλου της μήτρας (HeLa). Για την εκτίμηση της κυτταροστατικής δράσης χρησιμοποιήθηκε η παράμετρος IC_{50} , η οποία αντιπροσωπεύει τη συγκέντρωση του φάρμακου που απαιτείται για την αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης κατά 50%.

Προϊόν	IC_{50}^* (μM)		
	L1210	CEM	HeLa
 4 a	> 250	184 ± 9	185 ± 23

 <p>4b</p>	≥ 250	105 ± 0	112 ± 2
 <p>4c</p>	152 ± 4	48 ± 19	65 ± 1
 <p>4d</p>	138 ± 35	52 ± 15	69 ± 28

 <p>8 a</p>	28 ± 1	156 ± 2	27 ± 2
 <p>8 b</p>	134 ± 1	107 ± 12	122 ± 4
 <p>8c</p>	150 ± 0	99 ± 7	78 ± 12

 <p>8d</p>	181 ± 47	60 ± 14	88 ± 22
 <p>8e</p>	≥ 250	84 ± 29	62 ± 4

Καμία από τις ενώσεις που ελέγχθηκαν δεν παρουσίασε αξιόλογη αντι-καρκινική δράση , με μόνη εξαίρεση την **8a** η οποία επέδειξε κυτταροστατική δράση με CC50 27,2 μM ενάντια σε κύτταρα HeLa και 28,1 μM ενάντια σε κύτταρα L1210, αλλά ήταν σημαντικά λιγότερο δραστικά ενάντια κυττάρων CEM (CC50: 156 μM).

Ακολουθούν η ένωση **4c**, η οποία επέδειξε κυτταροστατική δράση με CC50 65,1 μM ενάντια σε κύτταρα HeLa και 48 μM ενάντια σε κύτταρα CEM, αλλά ήταν σημαντικά λιγότερο δραστικά ενάντια κυττάρων L1210 (CC50: 152 μM), η ένωση **8d**, η οποία επέδειξε κυτταροστατική δράση με CC50 88 μM ενάντια σε κύτταρα HeLa και 60 μM ενάντια σε κύτταρα CEM, αλλά ήταν σημαντικά λιγότερο δραστικά ενάντια κυττάρων L1210 (CC50: 181 μM) και η ένωση **8e**, η οποία επέδειξε κυτταροστατική δράση με CC50 62 μM ενάντια σε κύτταρα HeLa και 84 μM ενάντια σε κύτταρα CEM , αλλά ήταν

σημαντικά λιγότερο δραστικά ενάντια κυττάρων L1210 (CC50 > 250 μ M).

Οι υπόλοιπες ενώσεις, επέδειξαν κυτταροστατική δράση με CC50 > 100 μ M ενάντια σε κύτταρα L1210, σε κύτταρα CEM και σε κύτταρα HeLa.

7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Yaakob I.U., Degree of Bachelor of Science (Hons.), 2009.
2. Omar M.A.; Shaker Y.M.; Galal S.A.; Ali M.M.; Kerwin S.M.; Rodriguez M.L.; Tokuda H.; Ramadan R.A. and El Diwani H.I., Bioorg. & Med. Chem. (2012).
3. Noolvi M. N.; Patel H. M.; Bhardwaj V.; Chauhan A., Europ. Jour. of Med. Chem. 46 (2011) 2327-2346.
4. McMurry J. Οργανική Χημεία, τόμος Ι, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, σελ.334-336.
5. Wade L.G.Jr, Οργανική Χημεία, Εκδόσεις Τζιόλα.
6. Παπαδογιάννης Ι.Ν., Σαμανίδου Β.Φ., Ενόργανη Χημική Ανάλυση, Εκδόσεις Πήγασος.
7. Diana P.; Martorana A.; Barraja P.; Montalbano A.; Dattolo G.; Cirrincione G.; Dall'Acqua F.; Salvador A.; Vedaldi D.; Basso G. and Viola G., J. Med. Chem. 2008, 51, 2387–2399.
8. Aldana I.; Zarranz B.; Jaso A.; Lima L.M.; Monge A.; Maurel S. and Sauvain M., Brazilian Jour. of Pharmaceutical Sciences, vol. 42, n. 3, jul./set., 2006.
9. Garofalo A.; Neamati N.; Grande F.; Aiello F.; De Grazia O. and Brizzi A., Bioorg. & Med. Chem. 15 (2007) 288–294.
10. Hamzah A.S.; Mohammat M.F. and Shaameri Z., Molecules 2009, 14, 250-256.
11. Anslyn E.V.; Krug R.M.; You L.; Jeong Cho E.; Leavitt J.; Mad L.C.; Montelione G.T.; Ellington A. and Robertus J.D., Bioorg. & Med. Chem. Letters 21 (2011) 3007–3011.
12. Pujol M.D.; Harrak Y.; Weber S.; Gómez A.B. and Rosell G., Arkivoc 2007 (iv) 251-259.
13. Vennerstrom J.L.; Cheruku S.R. and Padmanilayam M.P., Tetrahedron Letters 44 (2003) 3701–3703.
14. Florio S.; Epifani E.; Ingrosso G.; Sgarra R. and Stasi F., Tetrahedron Vol. 43, No 12 (1987) 2769-2778.
15. Sobolev A.; Cekavicus B.; Kore K.; Jakovele L.; Plotniece A.; Pajuste K.; Petrova M. and Belyakov S., Tetrahedron Letters 52 (2011) 6246–6249.
16. 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.
17. Polshettiwar, V.; Varma, R.S., “Aqueous microwave chemistry: a clean and green synthetic tool for rapid drug discovery”. Chemical Society Reviews. 2008, 37 (8), 1546-1557.

