

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ

ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ



Διπλωματική Εργασία

Λάρισα 2016

Σπανδωνίδης Μιλτιάδης

Σχεδιασμός, σύνθεση και προσδιορισμός δομής μέσω φασματοσκοπικής ανάλυσης νέων αλογοφαίνυλο πύρρολο παραγώγων. Βιολογική αποτίμηση.

Design, synthesis and spectroscopic structure determination of novel halogenofenyl pyrrolo compounds. Biological evaluation.

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

Μόσιαλος Δημήτρης – Καθηγητής Μικροβιολογίας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Στυλιανή Μαντά, και τον Νίκο Κολάτο υπό την επίβλεψη των οποίων πραγματοποιήθηκε η παρούσα εργασία, για την επιστημονική καθοδήγηση, τη βοήθεια και την υπομονή τους καθ' όλη τη διάρκεια των πειραματικών διαδικασιών και της συγγραφής. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ.Κομιώτη Δημήτριο για την συμμετοχή του στην τριμελή επιτροπή καθώς και για την ανάθεση της παρούσας εργασίας. Ευχαριστώ όλα τα μέλη του εργαστηρίου για την καλή συνεργασία και την υπομονή.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα διπλωματική εργασία είχε ως στόχο τη σύνθεση και βιολογική αποτίμηση νέων αλογοφαινυλο-πυρρολών. Αυτό επιτεύχθηκε σε μία αντίδραση ενός σταδίου με την χρήση τριών αντιδραστηρίων. Τα αντιδραστήρια αυτά ήταν διαιθυλικό οξαλοξικό άλας, παράγωγα αμινών και 3-χλώροβενζαλδεΐδη. Όλες οι νεοσυντιθέμενες ενώσεις μελετήθηκαν ως προς την κυτταροτοξική και αντιϊική τους δράση. Οι δομές όλων των προϊόντων ταυτοποιήθηκαν με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (¹H NMR).

ABSTRACT

The main focus of the present thesis was the synthesis and biological evaluation of phenyl-pyrroles. This was achieved in an one-step multi component reaction using diethyl oxalacetate, primary amines and 3-Chloro-benzaldehyde. All the newly synthesized compounds were evaluated for their cytotoxic and antiviral activity. The structures of all the newly synthesized products were determined by using ¹H NMR spectroscopy.

Περιεχόμενα

1	ΚΑΡΚΙΝΟΣ	5
1.1	Στάδια καρκινογένεσης.....	6
1.2	Βασικά χαρακτηριστικά των καρκινικών κυττάρων.....	7
1.3	Ανάπτυξη φαρμάκων για καταπολέμηση του καρκίνου	10
2	Ετεροκυκλικές ενώσεις.....	11
2.1	Πυρρόλιο.....	12
2.2	Αμίνες	14
2.3	Πυρρολιδίνες	15
2.3.1	Vindesine	17
2.3.2	Piracetam.....	17
2.3.3	Clausenamide.....	18
2.3.4	Atorvastatin	18
2.4	Πυρρολινόνες.....	20
2.4.1	Παραδείγματα ενώσεων με πυρρολινονικό δακτύλιο και εφαρμογές τους στην φαρμακολογία.	21

2.4.2	Σύνθεση των πυρρολινονών	22
2.4.3	Η αντίδραση Mannich	23
2.5	Αντιδράσεις πολλών συστατικών (MCRs).....	24
2.5.1	Χρήση μικροκυμάτων	25
3	Σκοπός	29
4	Πειραματικές μέθοδοι.....	31
4.1	Microwave CEM	31
4.2	Χρωματογραφία στήλης.....	32
4.3	Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC).....	35
4.4	Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού	37
5	Πειραματικό μέρος.....	39
5.1	Σύνθεση του 3-υδροξυ-1-μεθυλο-2-οξο-5-(3-χλωροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H- πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω αντίδρασης τριών αντιδρώντων.	39
5.2	Σύνθεση του 3-υδροξυ-1-βενζυλο-2-οξο-5-(3-χλωροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H- πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω αντίδρασης τριών αντιδρώντων.	41
5.3	Σύνθεση του 3-υδροξυ-1-αιθυλο-2-οξο-5-(3-χλωροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H- πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω αντίδρασης τριών αντιδρώντων	42
5.4	Σύνθεση του 3-υδροξυ-1-κυκλοπροπυλο-2-οξο-5-(3-χλωροφαινυλο)-2,5-διυδρο- 1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω αντίδρασης τριών αντιδρώντων	44
5.5	Σύνθεση του 3-υδροξυ-1-κυκλοβουτυλο-2-οξο-5-(3-χλωροφαινυλο)-2,5-διυδρο- 1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω αντίδρασης τριών αντιδρώντων	45
6	Ταυτοποίηση με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR).....	46
7	Αποτελέσματα-συζήτηση	51
8	Βιβλιογραφία	55

1 ΚΑΡΚΙΝΟΣ

Ο καρκίνος αποτελεί μία από τις συχνότερες αιτίες θανάτου στις μέρες μας. Γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες επηρεάζουν τη δημιουργία και την ανάπτυξη του καρκίνου. Σπουδαίο ρόλο στην καρκινογένεση έχουν κληρονομήσιμες μεταλλάξεις γονιδίων, απαραίτητων για τη σωστή λειτουργία της κυτταρικής ανάπτυξης. Επιπλέον χημικά καρκινογόνα, ιοί, ακτινοβολία και η απόρροια του τρόπου ζωής συνδράμουν στην μετάλλαξη των φυσιολογικών κυττάρων σε καρκινικά. Σήμερα έχουν αναπτυχθεί δεκάδες φάρμακα που αποβλέπουν στη θεραπεία του καρκίνου με σπουδαίο μειονέκτημα την ισχυρή τοξικότητα ακόμα και σε υγιή κύτταρα.

Ο όρος «καρκίνος» δεν αποδίδεται σε μία και μόνη ασθένεια, αλλά σε μια ομάδα ασθενειών που χαρακτηρίζονται από τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Σε αντίθεση με τα φυσιολογικά κύτταρα στο σώμα μας, τα οποία αυξάνονται, διαιρούνται και πεθαίνουν με έναν αυστηρά ελεγχόμενο τρόπο, τα καρκινικά κύτταρα διαφέρουν διότι συνεχίζουν να διαιρούνται ανεξέλεγκτα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη μιας μάζας κυττάρων, που ονομάζεται όγκος. Οι όγκοι μπορεί να είναι καλοήθεις ή κακοήθεις.

Γενικά, τα χαρακτηριστικά των καρκινικών κυττάρων είναι ότι:

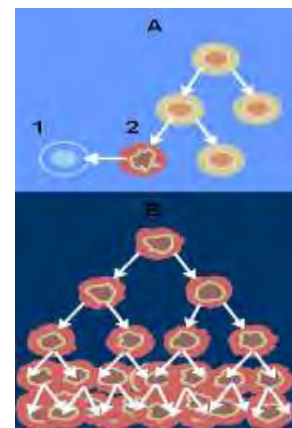
- ανθίστανται στην απόπτωση
- πολλαπλασιάζονται παρουσία ή μη αυξητικών παραγόντων

- ανθίστανται σε σήματα που σταματούν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό
- ανθίστανται στο μηχανισμό γήρανσης
- κάνουν μεταστάσεις
- δημιουργούν αγγεία για την αιμάτωσή τους (Hanahan *et al.*, 2000)

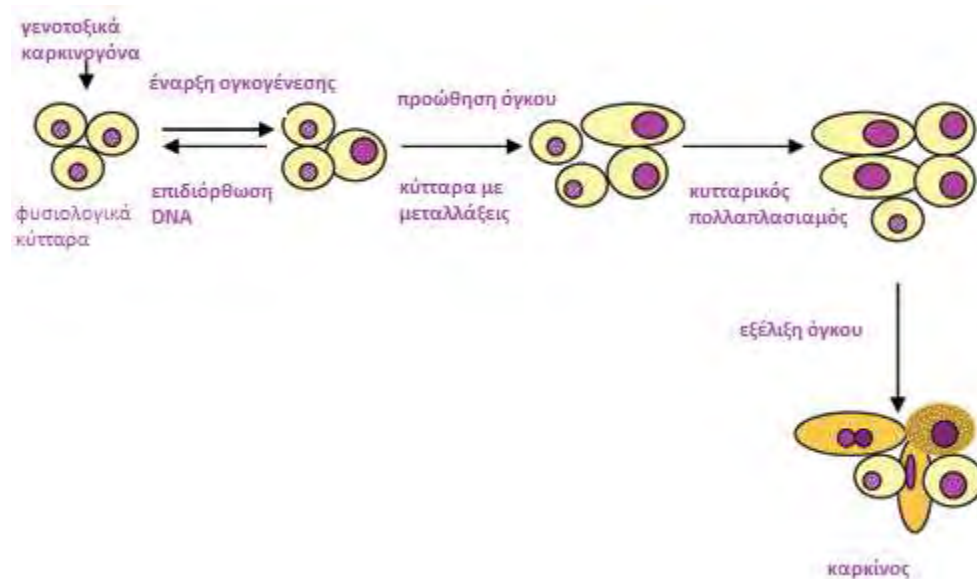
Καρκινογένεση ή ογκογένεση είναι η «δημιουργία» του καρκίνου. Είναι μια διαδικασία με την οποία τα κανονικά κύτταρα μετασχηματίζονται σε καρκινικά κύτταρα. Χαρακτηρίζεται από αλλαγές σε κυτταρικό, γενετικό και επιγενετικό επίπεδο οι οποίες επαναπρογραμματίζουν τελικά ένα κύτταρο με αποτέλεσμα να υποστεί ανεξέλεγκτη κυτταρική διαίρεση, σχηματίζοντας έτσι μία κακοήθη μάζα.

1.1 Στάδια καρκινογένεσης

Η διαδικασία της ογκογένεσης μπορεί να χωριστεί σε τρία στάδια: το στάδιο της έναρξης του όγκου (tumor initiation), της προαγωγής του όγκου (tumor promotion) και της εξέλιξης του όγκου (tumor progression). Η έναρξη της καρκινογένεσης περιλαμβάνει μία ή περισσότερες κυτταρικές αλλαγές οι οποίες προκύπτουν είτε αυθόρμητα είτε μετά από έκθεση σε καρκινογόνα. Αυτή η διαδικασία αποτελεί το πρώτο βήμα στην καρκινογένεση, όπου το κυτταρικό γονιδίωμα υφίσταται αλλαγές και επιτρέπει τη νεοπλασματική ανάπτυξη. Αυτές οι βλάβες περιλαμβάνουν μια σειρά αλλοιώσεων του DNA οι οποίες δεν αναγνωρίζονται από τους επιδιορθωτικούς μηχανισμούς και έχουν το χαρακτήρα μεταλλάξεων (Poirier, 2004). Οι μεταλλάξεις αυτές έχουν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία μετασχηματισμένων κυττάρων που μέσω ενεργοποίησης ογκογονιδίων και απενεργοποίησης ογκοκατασταλτικών γονιδίων οδηγούν στο σχηματισμό νεοπλασματικών κυττάρων. Το στάδιο της προαγωγής: το μεταλλαγμένο κύτταρο μπορεί να παραμείνει αβλαβές αν δεν διεγερθεί για περαιτέρω πολλαπλασιασμό. Οι αλλαγές που είναι απαραίτητες για το σχηματισμό νεοπλασιών απαιτούν παρατεταμένη έκθεση του κυττάρου σε συγκεκριμένα ερεθίσματα. Αυτά τα ερεθίσματα προκαλούνται κυρίως από μη-γενετοξικά καρκινογόνα που



αλληλεπιδρούν με κυτταρικούς υποδοχείς, διαμορφώνουν αυξητικούς παράγοντες, διαταράσσουν την κυτταρική ανάπτυξη και αναστέλλουν την απόπτωση και τελικά οδηγούν στο σχηματισμό όγκων (Bursch *et al.*, 1984). Το τρίτο και τελευταίο στάδιο της ογκογένεσης, η εξέλιξη του όγκου περιλαμβάνει την έκφραση κακοήθους φαινοτύπου και την τάση των νεοπλασματικών κυττάρων να αποκτήσουν πιο επιθετικά χαρακτηριστικά με την πάροδο του χρόνου. Επίσης τα κύτταρα κατά τη μετάσταση έχουν την ικανότητα να εκκρίνουν πρωτεάσες και να εισχωρούν σε θέσεις πέραν του αρχικού όγκου. Ένα επιπλέον σημαντικό χαρακτηριστικό του κακοήθους φαινοτύπου είναι η γενωμική αστάθεια και η ανεξέλεγκτη ανάπτυξη. (Lengauer *et al.*, 1998) Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, περαιτέρω γενετικές και επιγενετικές μεταβολές μπορεί να συμβούν, συμπεριλαμβανομένης της ενεργοποίησης πρωτοογκογονιδίων και την λειτουργική απώλεια των ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Τα φαινόμενα αυτά δίνουν στο κύτταρο τη δυνατότητα να αντιγράφονται ανεξέλεγκτα καθώς και την ικανότητα να εισβάλλουν σε άλλα σημεία απ' τον αρχικό όγκο με τελικό αποτέλεσμα την μεταστατική εξάπλωση.



Εικόνα 1.1: Στάδια καρκινογένεσης

1.2 Βασικά χαρακτηριστικά των καρκινικών κυττάρων

Υπάρχουν περισσότεροι από 100 διαφορετικοί τύποι καρκίνου και υπότυποι καρκινικών όγκων που εμφανίζονται σε συγκεκριμένα όργανα (Hanahan and

Weinberg,2000). Παρόλα αυτά τα καρκινικά κύτταρα μοιράζονται όλα ή κάποια από τα παρακάτω χαρακτηριστικά:

1. Αθανασία/ Απεριόριστη διάρκεια ζωής

Τα φυσιολογικά κύτταρα έχουν περιορισμένη διάρκεια ζωής. Αυτό οφείλεται στη συνεχή βράχυνση των άκρων των χρωμοσωμάτων (τελομερών) σε κάθε κύκλο αντιγραφής του DNA. Η βράχυνση των χρωμοσωμάτων συνεχίζεται μέχρι ενός σημείου πέραν του οποίου ενεργοποιείται ο μηχανισμός προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Ωστόσο, τα καρκινικά κύτταρα διατηρούν το μήκος των τελομερικών περιοχών τους λίγο μεγαλύτερο από ένα κρίσιμο σημείο ενεργοποιώντας ένα ένζυμο που λέγεται τελομεράση. Το 85-90% των καρκινικών κυττάρων έχει πλήρη ενεργότητα τελομεράσης, γεγονός που τους επιτρέπει να διαιρούνται επ' αόριστον. Αντίθετα, στα φυσιολογικά κύτταρα η τελομεράση χάνει την ενεργότητα της με το χρόνο, περιορίζοντας έτσι τον αριθμό των διαιρέσεων που μπορεί να υποστεί το κύτταρο (Μαρμάρας-Λαμπροπούλου, 2005; Hanahan and Weinberg, 2000; Hejmadi, 2010).

2. Επάρκεια μηνυμάτων επαγωγής της κυτταρικής διαίρεσης

Τα φυσιολογικά κύτταρα χρειάζονται εξωκυττάρια αυξητικά σήματα (growth signals) προκειμένου να διαιρεθούν. Αυτά τα σήματα (π.χ. διαλυτοί αυξητικοί παράγοντες, πρωτεΐνες της εξωκυττάριας ύλης, μόρια αλληλεπίδρασης μεταξύ των κυττάρων) δεσμεύονται σε διαμεμβρανικούς υποδοχείς με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση μιας σειράς ενδοκυττάριας μορίων και τελικά την έκφραση των γονιδίων που είναι υπεύθυνα για τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Τα πρωτο-ογκογονίδια κωδικοποιούν πολλές από τις πρωτεΐνες που συμμετέχουν σε αυτό το μονοπάτι μεταγωγής μηνυμάτων για κυτταρική διαίρεση. Μεταλλάξεις στην κωδική ή τη ρυθμιστική περιοχή ενός πρωτο-ογκογονιδίου, χρωμοσωματικές αναδιατάξεις που οδηγούν σε μετατόπιση μέρους ή ολόκληρου του πρωτο-ογκογονιδίου σε διαφορετική θέση του χρωμοσώματος, αύξηση του αριθμού των αντιγράφων του ή ενσωμάτωση του γενετικού υλικού ενός ιού κοντά ή μέσα στο πρωτο-ογκογονίδιο μπορεί να οδηγήσουν σε μετατροπή του σε ογκογονίδιο. Τα ογκογονίδια χαρακτηρίζονται από υπερπαραγωγή των πρωτεϊνών που κωδικοποιούν ή από υπερβολική αύξηση της ενεργότητάς τους με αποτέλεσμα τα φυσιολογικά κύτταρα να αρχίσουν να πολλαπλασιάζονται ανεξέλεγκτα και ανεξάρτητα από το μικρο περιβάλλον τους και να μετατρέπονται σε καρκινικά. Τα ογκογονίδια συμπεριφέρονται ως επικρατή γονίδια (Hanahan and Weinberg,2000; Hejmadi, 2010).

3. Μη απόκριση σε μηνύματα καταστολής της κυτταρικής διαίρεσης

Προκειμένου να διατηρηθεί η ομοιόσταση ενός ιστού, τα κύτταρα εκτός από μηνύματα για κυτταρική διαίρεση δέχονται και μηνύματα τα οποία λειτουργούν ως φρένο για τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Τα ογκοκατασταλτικά γονίδια κωδικοποιούν πρωτεΐνες που εμποδίζουν την διαίρεση των κυττάρων. Τα προϊόντα αυτών των γονιδίων εντοπίζονται στην κυτταρική μεμβράνη, στο κυτταρόπλασμα ή στον πυρήνα. Μεταλλάξεις στα ογκοκατασταλτικά γονίδια οδηγούν σε απενεργοποίηση των πρωτεϊνών που κωδικοποιούν με αποτέλεσμα τα κύτταρα να αγνοούν τα εξωκυττάρια μηνύματα καταστολής και να συνεχίζουν να διαιρούνται. Τα ογκοκατασταλτικά γονίδια συμπεριφέρονται ως υποτελή γονίδια (Hanahan and Weinberg, 2000; Hejmadi, 2010).

4. Αποφυγή της απόπτωσης

Η δημιουργία όγκων μπορεί να ερευνηθεί όχι μόνο από τη σκοπιά του συνεχούς κυτταρικού πολλαπλασιασμού αλλά και από τη σκοπιά του μειωμένου κυτταρικού θανάτου. Τα κύτταρα συνεχώς ελέγχουν την εσωτερική τους κατάσταση δηλαδή τα επίπεδα οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών, την ακεραιότητα του γενετικού υλικού και την ισορροπία των μονοπατιών που ρυθμίζουν τον κυτταρικό κύκλο. Αν αυτός ο έλεγχος αποκαλύψει βλάβη ή δυσλειτουργία, ενεργοποιούνται μηχανισμοί που καθορίζουν αν η ανάπτυξη του κυττάρου θα παγώσει και θα ενεργοποιηθούν μηχανισμοί επιδιόρθωσης ή εναλλακτικά αν η βλάβη είναι εκτεταμένη ενεργοποιούν το μονοπάτι προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (απόπτωση). Υπάρχουν αρκετά στοιχεία που υποδηλώνουν ότι η αποφυγή της απόπτωσης είναι ένα κύριο χαρακτηριστικό των περισσότερων, αν όχι όλων, μορφών καρκίνου. Τα καρκινικά κύτταρα αποφεύγουν την απόπτωση με πολλούς τρόπους. Ο πιο κοινός τρόπος περιλαμβάνει μεταλλάξεις στο ογκοκατασταλτικό γονίδιο p53. Η πρωτεΐνη p53 λειτουργεί κυρίως ως ανιχνευτής βλαβών στο DNA και ενεργοποιεί είτε μηχανισμούς επιδιόρθωσης είτε το μονοπάτι απόπτωσης ως απόκριση στη βλάβη. Επίσης, ενδοκυττάρια μηνύματα όπως υποξία ή υπερέκφραση ογκογόνων πρωτεϊνών ενεργοποιούν πρωτεΐνες οι οποίες εμπλέκονται στην απόπτωση και σχετίζονται με την p53. Η απενεργοποίηση της λειτουργίας της p53 έχει παρατηρηθεί σε ποσοστό μεγαλύτερο από το 50% των περιπτώσεων καρκίνων στον άνθρωπο (Hejmadi, 2010).

5. Αγγειογένεση

Όπως τα φυσιολογικά κύτταρα έτσι και τα καρκινικά χρειάζονται οξυγόνο και θρεπτικά συστατικά για να επιβιώσουν και να αναπτυχθούν. Όμως, καθώς ο όγκος

μεγαλώνει, τα φυσιολογικά αιμοφόρα αγγεία δεν επαρκούν για να τροφοδοτήσουν τα κύτταρα που βρίσκονται στο κέντρο του. Για το λόγο αυτό τα καρκινικά κύτταρα ενεργοποιούν τη διαδικασία της αγγειογένεσης. Σε αρκετούς όγκους έχει παρατηρηθεί υπερέκφραση των αυξητικών παραγόντων VEGF(VascularEndothelialGrowthFactor) και/ήFGF (FibroblastGrownFactor). Σε άλλες περιπτώσεις έχει παρατηρηθεί μειωμένη έκφραση ενδογενών αναστολέων όπως η θρομβοσπονδίνη-1 ή η β-ιντερφερόνη. Σε μερικούς όγκους μπορεί να συμβούν και οι δύο αλλαγές. Και στις δύο περιπτώσεις πάντως διαταράσσεται η ισορροπία μεταξύ των επαγωγέων και των αναστολέων της αγγειογένεσης με αποτέλεσμα το σχηματισμό νέων αιμοφόρων αγγείων (Hanahan and Weinberg,2000).

6. Μετάσταση

Ορισμένα καρκινικά κύτταρα έχουν την ικανότητα να αποσπώνται από την αρχική καρκινική μάζα και με την κυκλοφορία του αίματος και της λέμφου να μεταφέρονται σε άλλους ιστούς και όργανα. Εκεί συνεχίζουν την ανεξέλεγκτη διαίρεσή τους με αποτέλεσμα τη δημιουργία νέων όγκων (Hejmadí, 2010). Οι όγκοι που έχουν την ικανότητα μετάστασης ονομάζονται κακοήθεις. Αντίθετα οι όγκοι που δεν έχουν την ικανότητα να διεισδύουν σε γειτονικούς ιστούς και να εξαπλώνονται σε διαφορετικά σημεία του σώματος ονομάζονται καλοήθεις. Συνήθως οι καλοήθεις όγκοι δεν αποτελούν απειλή. Υπάρχουν όμως και περιπτώσεις που μπορεί να αποκτήσουν χαρακτηριστικά κακοήθους όγκου. Με τον όρο καρκίνος αναφερόμαστε στους κακοήθεις όγκους. Οι κακοήθεις όγκοι αποτελούν την αιτία θανάτου στο 90% των καρκινοπαθών (Hanahan andWeinberg, 2000).

Η σοβαρότητα αυτής της ασθένειας οδήγησε στην ανάγκη για δημιουργία καινοτόμων φαρμάκων που να στοχεύουν στην καταστολή της.

1.3 Ανάπτυξη φαρμάκων για καταπολέμηση του καρκίνου

Για την ανάπτυξη φαρμάκων κατά του καρκίνου, είναι πολύ σημαντικό να αναγνωριστεί ένας ή περισσότεροι μοριακοί στόχοι που να είναι διαφορετικοί ειδικά στα καρκινικά κύτταρα και να μην είναι διαθέσιμοι, ή να είναι διαθέσιμοι σε πολύ χαμηλά επίπεδα στα φυσιολογικά κύτταρα. Αυτοί μπορεί να περιλαμβάνουν

υποδοχείς της επιφάνειας του κυττάρου όπως είναι οι EGFR και VEGFR και η ιντεγκρίνη, ή άλλους μηχανισμούς όπως η σύνθεση του DNA ή καταστολείς του μεταλλαγμένου όγκου και ενεργοποιημένα ογκογονίδια. Ακόμη, ο καρκίνος είναι ετερογενούς φύσης, οπότε οι αναγνωρισμένοι μοριακοί στόχοι για έναν συγκεκριμένο τύπο καρκίνου μπορεί να μην είναι αποτελεσματικοί για κάποιον άλλο τύπο. Έτσι, απαιτείται ειδική στόχευση συγκεκριμένων μεμονωμένων ειδών καρκίνου, ή ίσως είναι δυνατή η αναγνώριση ενός κοινού μηχανισμού που να είναι αποτελεσματικός για μια πληθώρα τύπων καρκίνου. Η επιτυχημένη ανάπτυξη φαρμάκων κατά του καρκίνου απαιτεί την συνεργασία ειδικών σε διαφορετικά πεδία, συμπεριλαμβανομένων της βιοχημείας, κυτταρικής βιολογίας, μοριακής βιολογίας, και κλινικούς ειδικούς. (R. Paulmurugan, 2012)

2 Ετεροκυκλικές ενώσεις

Οι ετεροκυκλικές ενώσεις είναι μια σημαντική κατηγορία οργανικών ενώσεων που αντιπροσωπεύουν σχεδόν το ένα τρίτο των συνθέσεων της τελευταίας δεκαετίας, οι οποίες ανήκουν στο πεδίο της ετεροκυκλικής χημείας. Μεταξύ αυτών, το πυρρόλιο είναι μια από τις σχετικά πιο απλές ετεροκυκλικές ενώσεις λόγω της παρουσίας του σε ένα μεγάλο αριθμό φυσικών και μη φυσικών ενώσεων με σημαντικές ιδιότητες, τόσο στην φαρμακολογία, όσο στην επιστήμη των υλικών. Το πυρρόλιο αποτελεί ιδιάζουσα περίπτωση καθώς αν και είναι συζυγιακό διένιο και αμίνη δεν παρουσιάζει καμία από τις 2 χημικές ιδιότητες. Τα παράγωγα του πυρρολίου είναι δομικές μονάδες πολλών φυσικών προϊόντων και σημαντικών φαρμακευτικών ουσιών και χρήσιμα δομικά στοιχεία για διάφορα βιολογικά δραστικά μόρια και λειτουργικά υλικά. Γνωστά φυσικά πυρρόλια είναι τα παράγωγα της αίμης και η χλωροφύλλη, τα οποία περιέχουν τέσσερις πυρρολικές ομάδες που ενώνονται με γέφυρες μεθινίου, ενώ πυρρολικά δομικά θραύσματα είναι ιδιαίτερα συχνά σε φυσικά προϊόντα

θαλάσσια προέλευσης, όπως είναι οι λαμελλαρίνες που απομονώνονται από θαλάσσια ασπόνδυλα και εμφανίζουν ιδιότητες κατά του καρκίνου και του HIV. Εκτός από τα φυσικά προϊόντα και τα ανάλογά τους, τα μη φυσικά πυρρόλια δείχνουν ενδιαφέρουσες βιοδραστηριότητες, και πράγματι, υπάρχει ένας σημαντικός αριθμός φαρμάκων που προέρχονται από το πυρρόλιο. Μερικά αντιπροσωπευτικά παραδείγματα είναι οι μη στεροειδείς, αντιφλεγμονώδεις παράγοντες tolmetin και zomepirac, το αντικαρκινικό φάρμακο sunitinib και ο παράγοντας μείωσης της χοληστερόλης, η atorvastatin.

2.1 Πυρρόλιο

Το **πυρρόλιο** ή **1H-αζολίνη** είναι οργανική, ετεροκυκλική και αρωματική ένωση, που αποτελείται από άνθρακα, υδρογόνο και άζωτο, με μοριακό τύπο C_4H_5N . Πιο συγκεκριμένα είναι μια ετεροαρωματική (δηλαδή ετεροκυκλική και αρωματική) αμίνη. Δομικά, το μόριό του αποτελείται από έναν πενταμελή ετεροκυκλικό δακτύλιο, με τέσσερα (4) άτομα άνθρακα και ένα (1) άτομο αζώτου. Στο δακτύλιο περιέχονται και δύο (2) διπλοί δεσμοί. Οι υπόλοιπες δεσμικές μονάδες των ατόμων του άνθρακα και του αζώτου καταλαμβάνονται από πέντε (5) συνολικά άτομα υδρογόνου. Ανήκει στις ετεροκυκλικές αρωματικές αμίνες.

Οι πυρρόλες βρίσκονται σε μια ποικιλία βιολογικών υλικών, ως τμήματα συμπαραγόντων και φυσικών προϊόντων. Στα συνηθισμένα φυσικά παραγώμενα μοριακά είδη που είναι ή περιέχουν πυρρόλες περιλαμβάνονται η βιταμίνη B₁₂,

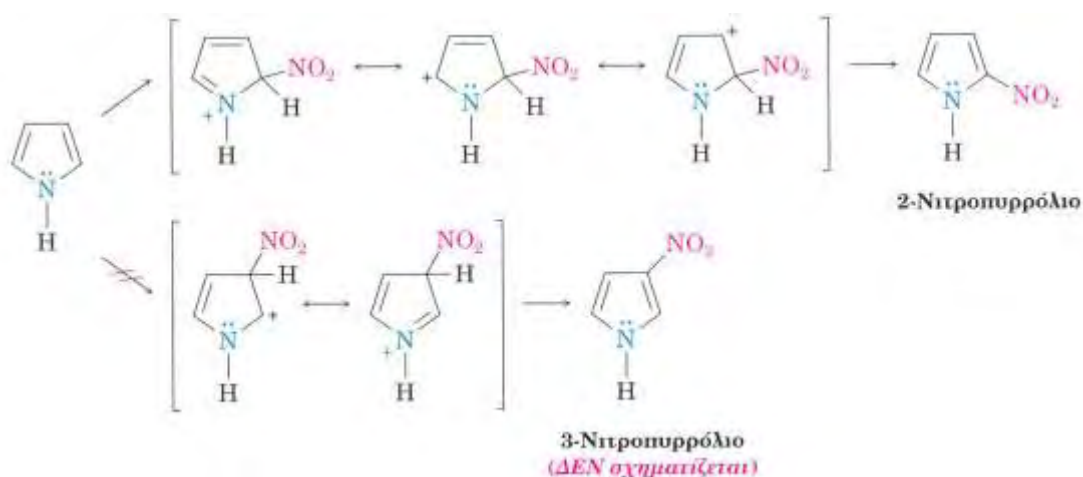
χολοχρωστικές όπως η βιλιρουβίνη και η βιλιβερδίνη, και οι πορφυρίνες της αίμης, οι χλωρίνες, οι βακτηριοχλωρίνες και τα πορφυρινογόνα.



Εικόνα 2.1: δομή πυρρολίου

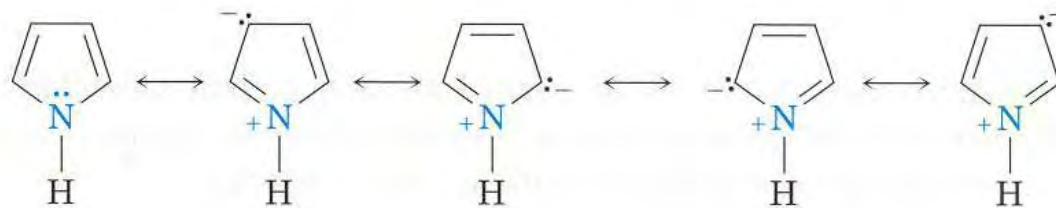
Πραγματοποιούνται αντιδράσεις αλογόνωσης, νίτρωσης, σουλφονίωσης και ακυλίωσης Friedel-Crafts.

Ηλεκτρονιόφιλη νίτρωση πυρρολίου :



Εικόνα 2.2: ηλεκτρονιόφιλη νίτρωση πυρρολίου

Ηλεκτρονιόφιλη υποκατάσταση γίνεται συνήθως στον C2 γιατί αυτή η θέση είναι η πλουσιότερη ηλεκτρονικά θέση του δακτυλίου. (John McMurry, 2008)



Εικόνα 2.3: Δομές συντονισμού πυρρολίου, κάθε δομή έχει 6 π ηλεκτρόνια σε ένα κυκλικό συζυγιακό σύστημα στο οποίο υπάρχει αλληλεπικάλυψη των τροχιακών p.

2.2 Αμίνες

Οι αμίνες είναι οργανικά παράγωγα της αμμωνίας NH_3 , κατά τον ίδιο τρόπο με τον οποίο οι αλκοόλες θεωρούνται παράγωγα του νερού. Όπως η αμμωνία, έτσι και οι αμίνες περιέχουν ένα άτομο αζώτου με ένα μονήρες ζεύγος ηλεκτρονίων, γεγονός που τις καθιστά ταυτόχρονα βασικές και πυρηνόφιλες. Οι αμίνες απαντούν ευρέως τόσο στα φυτά όσο και τα ζώα. Η τριμέθυλαμίνη για παράδειγμα βρίσκεται στους ζωικούς ιστούς και εν μέρει ευθύνεται για τη χαρακτηριστική οσμή των ψαριών. Η κινίνη, ένα σπουδαίο φάρμακο κατά της ελονοσίας απομονώθηκε από το φλοιό του δέντρου Cinchona της Νότιας Αμερικής, ενώ το αναλγητικό κωδεΐνη απαντά στα άνθη του οπίου.

Οι αμίνες διακρίνονται σε πρωτοταγείς, δευτεροταγείς και τριτοταγείς αν το άζωτο συνδέεται με μία, δύο ή τρεις αλκυλομάδες αντίστοιχα. Η λειτουργική ομάδα των πρωτοταγών αμινογλυκόζων είναι η NH_2 . Οι αμίνες σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου που είναι ασθενέστεροι από τους δεσμούς υδρογόνου των αλκοολών. Τα αλκαλοειδή είναι ετεροκυκλικές αμίνες, που απομονώνονται από διάφορα μέρη των φυτών και έχουν επίδραση στις φυσιολογικές λειτουργίες του οργανισμού.

Οι αμίνες είναι πολύ διαδεδομένες στη φύση. Είναι οργανικές ενώσεις που εμπλέκονται σε λειτουργίες του οργανισμού ή έχουν φαρμακευτική δράση. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αμινογλυκόζων είναι οι νευροδιαβιβαστές ντοπαμίνη και σεροτινίνη, οι οποίες είναι πρωτοταγείς αμίνες. Επίσης η αδρεναλίνη είναι δευτεροταγής αμίνη, η οποία διεγείρει το κεντρικό νευρικό σύστημα και παράγεται

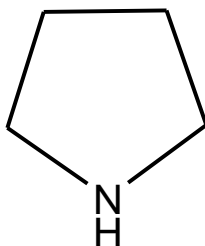
σε καταστάσεις πανικού, πόνου κ.ά. Η ισταμίνη είναι ταυτόχρονα ετεροκυκλική αρωματική και αλειφατική αμίνη και εκκρίνεται σε μεγάλες ποσότητες σε αλλεργικές καταστάσεις. Τα φάρμακα που εμποδίζουν τη δράση της ονομάζονται αντισταμινικά. Οι βάσεις του DNA, όπως η αδενίνη και η γουανίνη, είναι ετερο-κυκλικές αμίνες.

Πολλά συστατικά των τροφίμων είναι αμίνες. Η βιταμίνη B1 (θειαμίνη) είναι αρωματική πρωτοταγής αμίνη και ετεροκυκλική αμίνη. Η βιταμίνη B1 έχει σημαντικό ρόλο στον καταβολισμό των υδατανθράκων και δρα ως συνένζυμο σε μηχανισμούς παραγωγής ενέργειας στον οργανισμό. Πολλές αμίνες χρησιμοποιούνται ως φαρμακευτικές ουσίες. Παράδειγμα αποτελεί η φλουοξετίνη, η οποία είναι η δραστική ουσία του Prozac που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της κατάθλιψης.

2.3 Πυρρολιδίνες

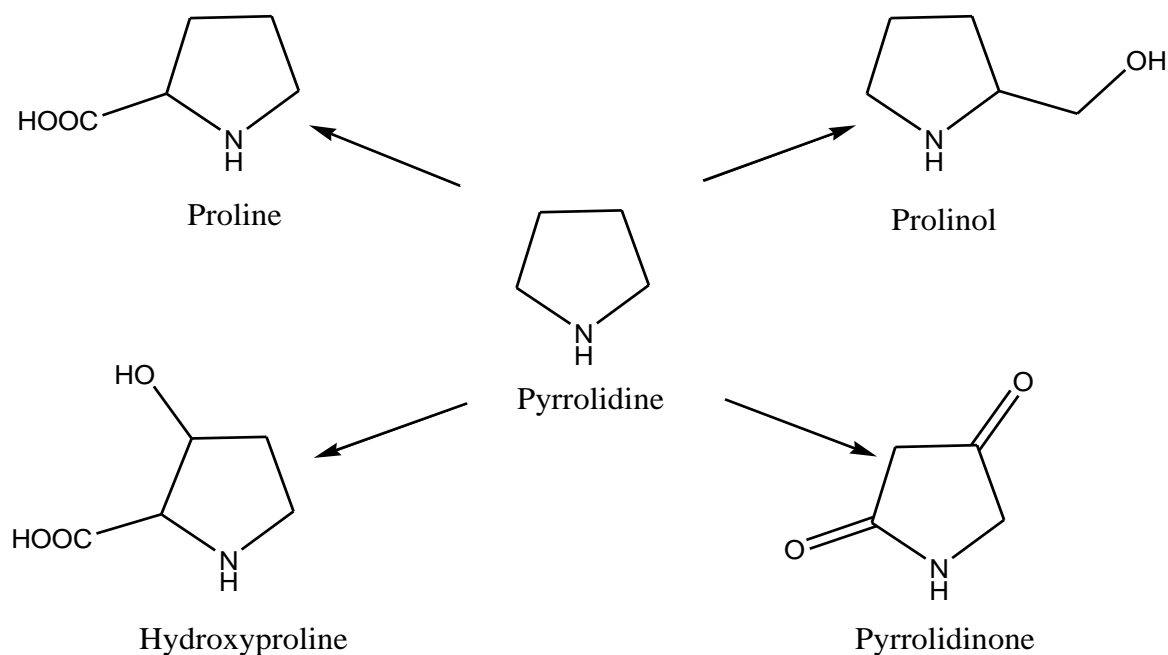
Η πυρρολιδίνη είναι ένα βασικό δομικό συστατικό ενός πλήθους συνθετικών και μη ενώσεων. Πρόκειται για μία δευτεροταγή κυκλική αμίνη, που συνίστανται από ετεροκυκλικό δακτύλιο με τέσσερα άτομα άνθρακα και ένα άτομο αζώτου (Εικ.1). Η ύπαρξη του ατόμου αζώτου προσδίδει στον πυρρολιδινικό δακτύλιο βασικό χαρακτήρα.

Η πυρρολιδίνη βρίσκεται στα φύλλα του καπνού και στα καρότα. Η δομή πυρρολιδινικού δακτυλίου είναι παρούσα σε πολλά φυσικά αλκαλοειδή, όπως η νικοτίνη και η υγρίνη. Βρίσκεται, επίσης, σε πολλά φαρμακευτικές δραστικές ουσίες, όπως η προκυκλιδίνη και η μπεπριδύλη.



Εικόνα 2.4 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, υπάρχουν ενώσεις πυρρολιδίνης, άλλες με υποκατεστημένη πλευρική αλειφατική αλυσίδα και άλλες με καρβονύλιο επί του δακτυλίου (Εικ. 2.5). Στο παρακάτω σχήμα απεικονίζονται η υδροξυπρολίνη, η πυρρολιδινόνη, η προλινόλη και η προλίνη.

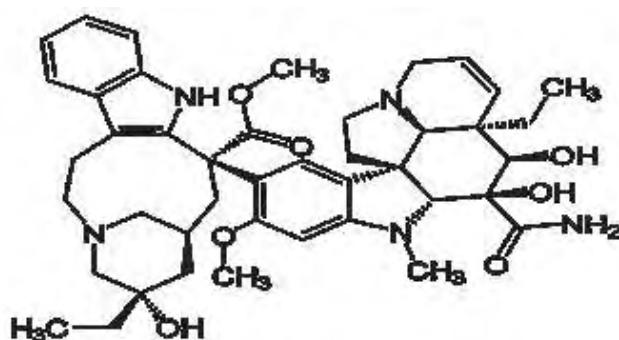


Εικόνα 2.5 Παραδείγματα ενώσεων με πυρρολιδινικό δακτύλιο

Ο βασικός δακτύλιος της πυρρολιδίνης εμπεριέχεται σε πληθώρα ενώσεων, οι οποίες απαντώνται στη φύση και εμφανίζουν σημαντική βιολογική δράση. Παραδείγματα τέτοιων ενώσεων αποτελούν η βιντεσίνη (vindesine), η πιρακετάμη (piracetam), η κλοσεναμίδη (clausenamida) και η ατορβαστατίνη (atorvastatin), για τις οποίες έχει αποδειχθεί ότι εμφανίζουν αντιμυτωτικές, αντιβακτηριακές και άλλες ιδιότητες. Επιπλέον, οι ενώσεις αυτές αποτελούν ενδιάμεσα για τη σύνθεση πιο περίπλοκων και σημαντικών φαρμακευτικά ενώσεων όπως της διτοξίνης (detoxine), της λακτακυστίνης (lactacystin) και πολλών άλλων. Στη συνέχεια, παραθέτονται παραδείγματα αυτών των ενώσεων και η εφαρμογή τους στη θεραπευτική αντιμετώπιση ασθενειών (Yaakob, 2009).

2.3.1 Vindesine

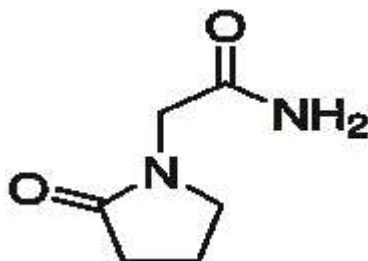
Λειτουργεί ως αναστολέας της μίτωσης και χρησιμοποιείται στην χημειοθεραπεία για την αντιμετώπιση πολλών μορφών καρκίνου όπως είναι η λευχαιμία, το λέμφωμα, το μελάνωμα, ο καρκίνος του μαστού και του πνεύμονα.



Εικόνα 2.6 Μοριακή δομή του Vindesine

2.3.2 Piracetam

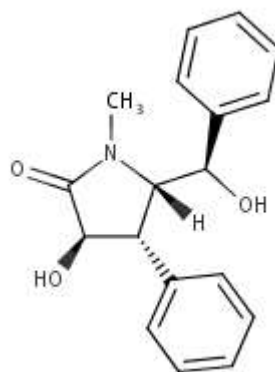
Εμφανίζει ιδιότητες ενίσχυσης της νόησης και χρησιμοποιείται για τη θεραπεία νευροεκφυλιστικών νοσημάτων όπως το Alzheimer.



Εικόνα 2.7 Μοριακή δομή του Piracetam

2.3.3 Clausenamide

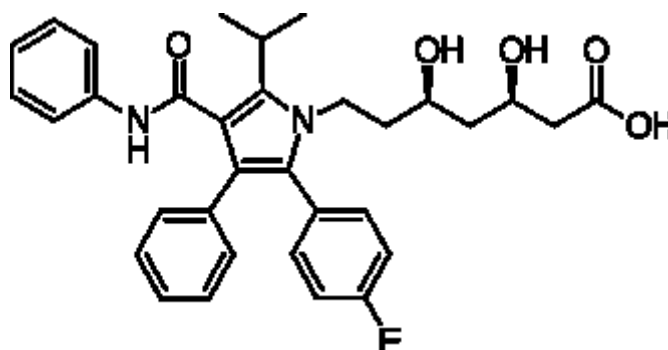
Παράγοντας προστασίας του ήπατος που χρησιμοποιείται συνήθως στην θεραπεία κατά της οξείας και χρόνιας ιογενούς ηπατίτιδας.



Εικόνα 2.8 Μοριακή δομή του Clausenamide

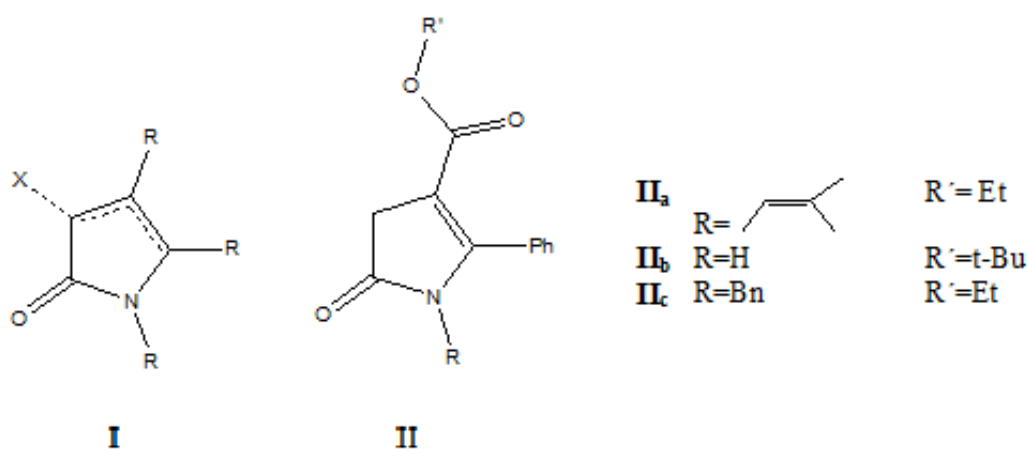
2.3.4 Atorvastatin

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



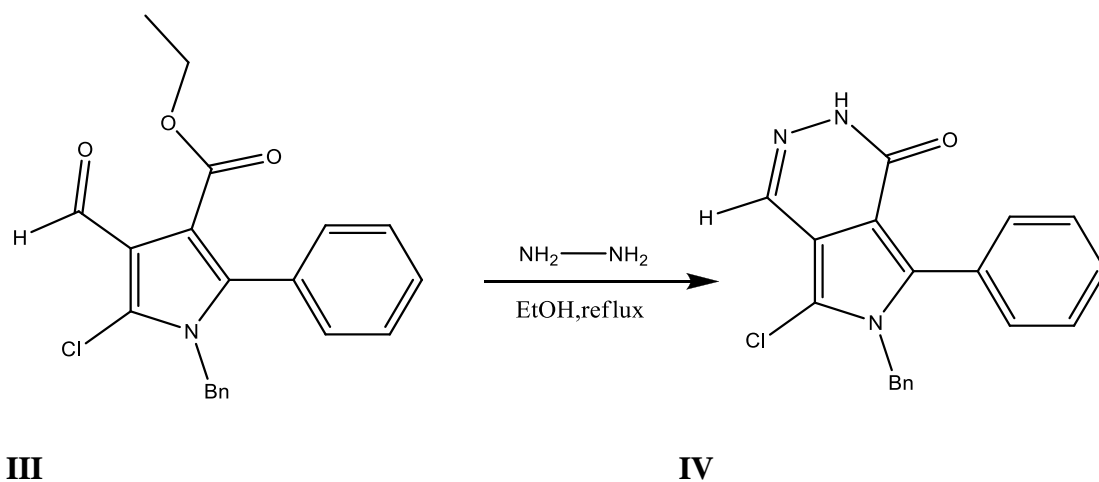
Εικόνα 2.9 Μοριακή δομή του Atorvastatin

Εκτός από τα παραπάνω φυσικά παράγωγα, υπάρχουν και άλλα ανάλογα που φέρουν στη δομή τους τον πυρρολιδινικό δακτύλιο, διαδραματίζοντας καθοριστικό ρόλο στη δημιουργία νέων θεραπευτικών ενώσεων. Επιπλέον, εμφανίζουν αξιόλογη αντιϊική και αντικαρκινική δράση. Συγκεκριμένα, οι 2-οξοπυρρόλες (Εικ. 2.10 ένωση I) χρησιμοποιούνται ευρέως και αποτελούν το βασικό συστατικό 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 ενώσεις αυτές είναι απαραίτητες για τη σύνθεση αλκαλοειδών, καθώς και προϊόντων όπως οι 2,2'-διπυρρόλες, οι τετραπυρρόλες και κάποιες χρωστικές. Με εξαίρεση τις 5-αλκυλο-2-οξοπυρρόλες, που πρωτοαναφέρθηκαν το 1890 από τον Emery, έχει γίνει ελάχιστη αναφορά στα 5-αρυλο-2-πυρρολο παράγωγα (Εικ. 2.10 ένωση II). Ωστόσο, 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 (Dehaenetal., 2006).



Εικόνα 2.10 οξοπυρρόλες I και 5-αρυλο-2-οξοπυρρόλες II

Αξιοσημείωτη είναι η δημιουργία παραγώγων του 2-οξοπυρρολίου με αλδεΐδες, διαζωνιακά άλατα, ενεργούς εστέρες και διθειάνθρακα με στόχο τη σύνθεση νέων ενώσεων.



Εικόνα 2.11 Παράδειγμα σύνθεσης ετεροκυκλικής ένωσης IV από πυρρολο-καρβαλδεΐδη III

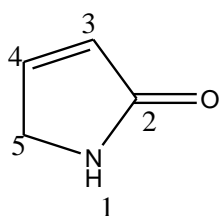
Συνεπώς, απεδείχθη ότι οι οξοπυρρόλες και τα ανάλογά τους αποτελούν ενδιαφέροντες και πολύπλευρους δομικούς λίθους στη Συνθετική Οργανική Χημεία. Επίσης πολλές από αυτές τις ενώσεις απεδείχθησαν νέα ενδιάμεσα στη σύνθεση πολύ-υποκατεστημένων πυρρολίων (Dehaenet al., 2006).

2.4 Πυρρολινόνες

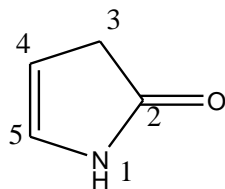
Οι πυρρολινόνες είναι οργανικές ετεροκυκλικές ενώσεις με μοριακό τύπο C_4H_5NO . Είναι κυκλικές αμίνες ή αμίδια, ανάλογα με την θέση της κετονο-ομάδας, με ένα διπλό δεσμό. Οι Πυρρολιν-2-όνες είναι κυκλικά αμίδια αλλά οι Πυρρολιν-3-όνες είναι κυκλικές εναμίνες, με μία κετονο-ομάδα στην 3- θέση. Το Σχήμα 1 δείχνει κάποια παραδείγματα πυρρολινονών με τις ονομασίες τους. Η αρίθμησή τους ξεκινάει από το άζωτο και συνεχίζει όπως φαίνεται. Π.χ. η 1,5-δύδρο-2H-πυρρολ-2-όνη λέγεται και 3-πυρρολιν-2-όνη.

Οι Πυρρολινόνες δύνανται να υποκατασταθούν σε κάθε θέση εκτός της θέσης της κετονο-ομάδας. Οι υποκατεστημένες πυρρολινόνες συνήθως συνθέτονται απευθείας από τα πρόδρομά τους μόρια και όχι μέσω αντίδρασης της μη-υποκατεστημένης

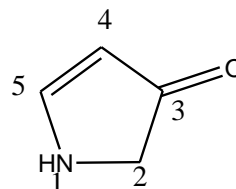
πυρρολινόνης με ένα ηλεκτρονιόφιλο ή πυρηνόφιλο αντιδραστήριο. (Boiadjiev S.E. et al, 2005)



1,5-dihydro-2H-pyrrol-2-one



1,3-dihydro-2H-pyrrol-2-one

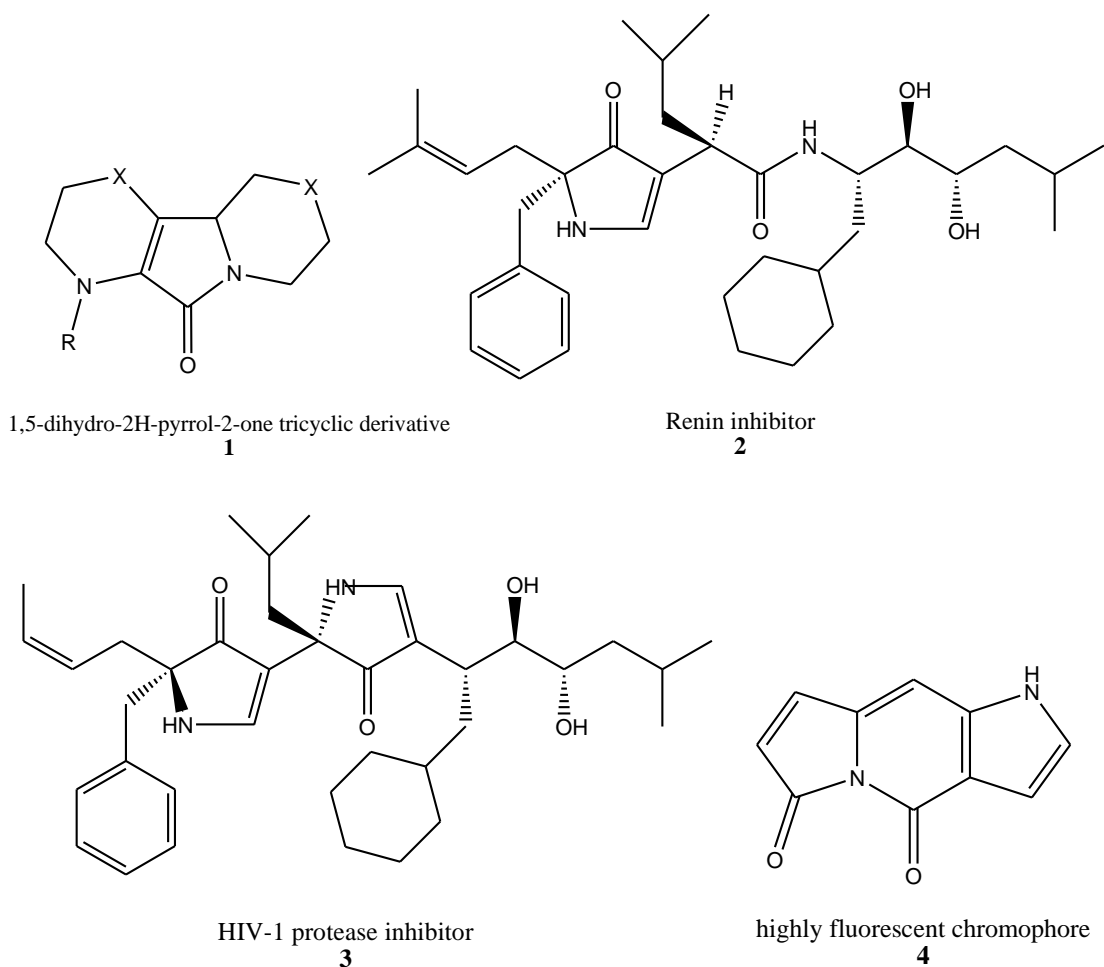


1,2-dihydro-3H-pyrrol-3-one

Σχήμα 1: Δομή πυρρολινονών με αρίθμηση κατά IUPAC.

2.4.1 Παραδείγματα ενώσεων με πυρρολινονικό δακτύλιο και εφαρμογές τους στην φαρμακολογία.

Οι Πυρρολινόνες έχουν πολλές εφαρμογές. Οι ενώσεις της ομάδας τρικυκλικών παραγώγων της 1,5-Διύδρο-2H-πυρρολ-2-όνη **1** είναι παραδείγματα υποκατεστημένων πυρρολινονών με φαρμακολογική δράση, συγκεκριμένα αντιμολυσματική, αντιβακτηριδιακή ή/και αντι-μυκητιακή δράση. Σε αυτήν την ομάδα μορίων, το X μπορεί να αντιπροσωπεύει S, SO, SO₂, O και R, επιλεγμένο από ένα γκρουπ αποτελούμενο από C₁-C₅ αλκύλια, C₃-C₅ αλκένυλα, μη-υποκατεστημένα C₃-C₇ κυκλοαλκένυλα και 4-φαίνυλβένζυλ. Οι Πυρρολινόνες είναι γνωστές και ως αναστολείς της ρενίνης όπως το μόριο **2**. Ένας αναστολέας ρενίνης χρησιμοποιείται κυρίως στην θεραπεία της υπέρτασης. Το μόριο **3** έχει παρόμοια δομή, αλλά διαφορετική εφαρμογή. Αυτό το μόριο φέρει έναν πυρρολινονικό δακτύλιο παραπάνω από ότι το μόριο **2** και δρα ως αναστολέας της HIV-1 προτεάσης. (Guzman et al, 1996) Ένα άλλο παράδειγμα με διαφορετική εφαρμογή είναι ένα πολύ φθορίζον πύρρολο[3,2-f]ινδολιζινο-4,6-δίοιο χρωμοφόρο **4** το οποίο ενδέχεται να είναι χρήσιμο στην φθορίζουσα απεικόνιση του μεταβολισμού του ήπατος. (Boiadjiev S.E. et al, 2005)



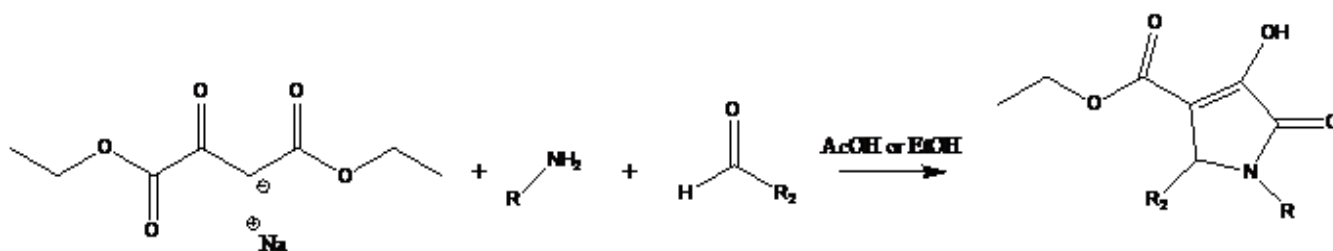
Σχήμα 2: Πυρρολινόνες με φαρμακευτικές εφαρμογές

2.4.2 Σύνθεση των πυρρολινονών

Σύμφωνα με μελέτες, υπάρχουν διαφορετικές στρατηγικές σύνθεσης των πυρρολινονών. Ωστόσο οι τρόποι σύνθεσης των ενώσεων αυτών ακόμη ερευνώνται. Έτσι, η μέθοδος σύνθεσής τους διαφοροποιείται ανάλογα με τη δομή της ένωσης. Για παράδειγμα, οι 2-πυρρολινόνες συνθέτονται με διαφορετικό τρόπο από ότι οι 3-πυρρολινόνες.

Η κύρια μέθοδος σύνθεσής τους αποτελεί μία αντίδραση τριών συστατικών, ξεκινώντας από διαιθυλικό οξαλοξικό άλας του νατρίου, αμμωνία ή πρωτοταγής

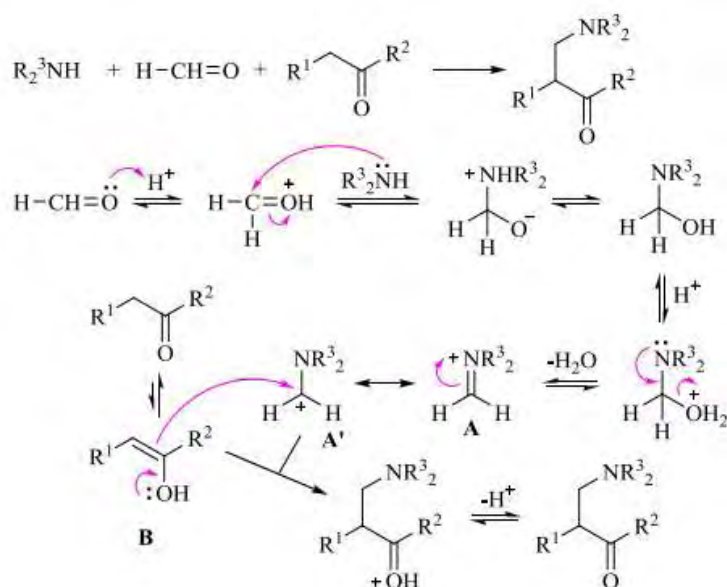
αμίνη και αλδεΰδη. Στην αντίδραση αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί οξύ ως καταλύτης ή να θερμανθούν τα συστατικά χρησιμοποιώντας αιθανόλη ως διαλύτη. Αρχικά η αμίνη και η αλδεΰδη σχηματίζουν μία ιμίνη. Κατόπιν, με αντίδραση Mannich, η ιμίνη και το διαιθυλικό οξαλοξικό άλας του νατρίου σχηματίζουν δακτύλιο. Μετά από ισομερισμό, σχηματίστηκε πυρρολινόνη με υποκαταστάτες στην 1-και/ή 2-θέση.



Εικόνα 2.12 Αντίδραση τριών συστατικών με κυκλοποίησηMannich.

2.4.3 Η αντίδραση Mannich

Η αντίδραση Mannich (Mannichreaction) είναι μια αντίδραση τριών συστατικών: μια πρωτοταγής ή δευτεροταγής αμίνη, μια μη ενολοποιήσιμη αλδεΰδη (συνήθως φορμαλδεΰδη) και μια ενολοποιήσιμη καρβονυλική ένωση αντιδρούν για να δώσουν μια β-αμινοκαρβονυλική ένωση. Η αντίδραση καταλύεται από οξύ (στην πράξη η αμίνη είναι με την πρωτονιωμένη της μορφή). Στο πρώτο στάδιο σχηματίζεται από τη μη ενολοποιήσιμη αλδεΰδη και την αμίνη το ιμινιακόκατιόν, το οποίο στη συνέχεια προσβάλλεται από την ενολική μορφή της ενολοποιήσιμης καρβονυλικής ένωσης.



Εικόνα 2.13 Μηχανισμός της αντίδρασης Mannich

2.5 Αντιδράσεις πολλών συστατικών (MCRs)

Οι αντιδράσεις πολλών συστατικών (Multicomponentreactions - MCRs) μπορούν να οριστούν ως συγκλίνουσες χημικές διαδικασίες όπου τρία ή περισσότερα αντιδραστήρια συνδυάζονται με τέτοιο τρόπο έτσι ώστε το τελικό προϊόν διατηρεί σημαντικά τμήματα όλων των αρχικών συστατικών. Ως εκ τούτου, οδηγούν στη σύνδεση τριών ή περισσότερων αρχικών υλικών σε ένα ενιαίο σύνθετο μόριο με υψηλή ατομική οικονομία και αποτελεσματικότητα σχηματισμού δεσμών, αυξάνοντας έτσι τη μοριακή ποικιλία και πολυπλοκότητα με έναν γρήγορο και συχνά πειραματικά απλό τρόπο. Για το λόγο αυτό, οι MCRs έχουν αναδειχθεί ως μια ισχυρή στρατηγική στην οργανική, συνδυαστική, και φαρμακευτική χημεία. Διάφορες MCRs έχουν αναπτυχθεί, όχι μόνο για την αποτελεσματικότητά τους, αλλά και για την οικονομία και την οικολογία στην οργανική σύνθεση. Αυτά τα χαρακτηριστικά καθιστούν MCRs κατάλληλες για την εύκολη κατασκευή ποικίλων ετεροκυκλικών κριωμάτων. Στην πραγματικότητα, οι MCRs έχουν καταδειχθεί ως μια ευθύς προσέγγιση των πυρρολών, οι οποίες έχουν μελετηθεί εκτενώς. Πιο πρόσφατα, ο Parrainetal. ανέπτυξε την σύνθεση τρισυποκατεστημένων πυρρολών, που καταλύεται

από το παλλάδιο και τον χαλκό μέσω της MCR 3,4-διοδοαλκ-2-ενοϊκών παραγώγων, πρωτοταγών αμινών, και τερματικών αλκινίων. Οι Zhuetal. ανέφεραν μια MCR/μετα-ενεργοποιητική στρατηγική για τη σύνθεση 2-αμινο-5-κυανοπυρρολών. Τα ενεργοποιημένα πυρρόλια συντέθηκαν επίσης από ενώσεις 1,3-δικαρβονυλίου, αμίνες, αλδεΐδες, και νιτροαλκάνια μέσω ενός σιδήρου-καταλυόμενης MCR.

2.5.1 Χρήση μικροκυμάτων

Η θέρμανση με μικροκύματα για πρώτη φορά χρησιμοποιήθηκε στην οργανική σύνθεση το 1986, από τις ομάδες των Gedye και Giguere-Majetich. Σήμερα χρησιμοποιείται ευρύτατα και με μεγάλη επιτυχία γιατί δίνει υψηλές αποδόσεις υπό ηπιότερες και φιλικότερες προς το περιβάλλον συνθήκες, συχνά χωρίς την χρήση διαλυτών, άλλοτε με ανακύκλωση τους, αλλά και με μικρότερη κατανάλωση ενέργειας.

Τέτοιες εφαρμογές μικροκυματικής θέρμανσης περιλαμβάνουν, αντιδράσεις κυκλοπροσθήκης, τη σύνθεση ραδιοϊσοτόπων, τη χημεία πολυμερών, ετεροκυκλικών ενώσεων και υδρογονανθράκων, την ομογενή και ετερογενή κατάλυση, την ιατρική και συνδυαστική χημεία αλλά και την πράσινη χημεία.

Η μικροκυματική ακτινοβολή προκαλεί θέρμανση μέσω κυρίως δύο μηχανισμών, την **διπολική πόλωση** και την **ιοντική μεταγωγή**. Παρόλο που τα δίπολα που βρίσκονται στο μίγμα, (π.χ., τα μόρια του πολικού διαλύτη), συμμετέχουν στο αποτέλεσμα της διπολικής πόλωσης, τα φορτισμένα σωματίδια του δείγματος (συνήθως ιόντα) επηρεάζονται από ιοντική μεταγωγή.

Όταν τα δίπολα ή τα ιόντα του μίγματος ακτινοβολούνται σε συχνότητες μικροκυμάτων ευθυγραμμίζονται στο ηλεκτρικό πεδίο που εφαρμόζεται. Όταν το εφαρμοζόμενο πεδίο ταλαντεύεται, το διπολικό ή ιοντικό πεδίο προσπαθεί να ευθυγραμμισθεί με το εναλλασσόμενο ηλεκτρικό πεδίο και κατ' αυτήν την διεργασία, χάνεται ενέργεια, με την μορφή θερμότητας, λόγω μοριακών τριβών και διηλεκτρικών απωλειών.

Η ικανότητα κάποιου συγκεκριμένου υλικού ή διαλύτη να μετατρέψει την μικροκυματική ενέργεια σε θερμότητα, σε δεδομένη συχνότητα και θερμοκρασία, καθορίζεται από την αποκαλούμενη **εφαπτομένη απωλειών ($\tan\delta$)**. Γενικά, το μέσο ή ο φορέας της αντίδρασης πρέπει να έχει μεγάλη $\tan\delta$ στην τυπική λειτουργική συχνότητα του αντιδραστήρα μικροκυματικής σύνθεσης (2,45 GHz), ώστε να υπάρχει καλή απορρόφηση και αποτελεσματική θέρμανση.

Για διαλύτες χαμηλής απορροφητικότητας μπορούν να προστεθούν πολικά πρόσθετα, όπως ιοντικά υγρά ή παθητικά θερμαντικά στοιχεία κατασκευασμένα από υλικά ισχυρής απορρόφησης μικροκυμάτων, έτσι ώστε να αυξηθεί το επίπεδο απορροφητικότητας του μέσου. Επειδή δε τα δοχεία που χρησιμοποιούνται για χημικές αντιδράσεις με μικροκυματική θέρμανση, είναι κατασκευασμένα από υλικά ουσιαστικά διαφανή στα μικροκύματα, όπως το γυαλί ή το Τεφλόν, (με $\tan\delta < 0,01$), θερμαίνεται μόνον το μίγμα της αντίδρασης και όχι το δοχείο.

Ενώ τα πρώτα και πρωτοποριακά πειράματα έγιναν σε οικιακούς φούρνους μικροκυμάτων, από το 2001 και μετά η τάση είναι αναμφισβήτητη να χρησιμοποιούνται ειδικά κατασκευασμένοι μικροκυματικοί αντιδραστήρες για ελεγχόμενη μικροκυματική σύνθεση. Ένας τέτοιος αντιδραστήρας τυπικά διαθέτει μαγνητικούς αναδευτήρες και διάταξη άμεσου ελέγχου της θερμοκρασίας του μίγματος, με οπτικές ίνες ή εξωτερικούς υπέρυθρους αισθητήρες, που επιτρέπουν τον άμεσο κατά την διεργασία έλεγχο θερμοκρασίας και πίεσης, με την ρύθμιση της παρεχόμενης μικροκυματικής ισχύος.

Επίσης για την παρακολούθηση της αντίδρασης είναι δυνατή η επικοινωνία με φασματοσκοπία UV, IR και Raman καθώς και η χρήση ψηφιακών φωτογραφικών μηχανών. Οι χρησιμοποιούμενες συσκευές διακρίνονται στις συσκευές ενός ή πολλαπλών υποδοχέων (monomode or multimode). Το 90% των δημοσιευθέντων σχετικών πρωτοκόλλων σύνθεσης βασίζονται στην χρήση αντιδραστήρων μικροκυμάτων ενός υποδοχέως με διεργασίες σε σφραγισμένα δοχεία.

Το συνολικό αποτέλεσμα της μικροκυματικής ακτινοβολήσης στην οργανική σύνθεση, είναι συνδυασμός θερμικών και μη θερμικών επιπτώσεων, των πρώτων προερχομένων από τον ρυθμό θέρμανσης, την υπερθέρμανση, τις θερμοπηγές και την εκλεκτική απορρόφηση ακτινοβολίας από πολικές ουσίες, ενώ οι μη θερμικές προέρχονται από το πεδίο δημιουργίας υψηλής πολικότητας και αφορούν την

κινητικότητα και διάχυση που μπορούν να αυξήσουν τις πιθανότητες αποτελεσματικών επαφών. Τέτοια αποτελέσματα, συνήθως, δεν είναι δυνατόν να επιτευχθούν με κλασικού τύπου θέρμανση.

Πρέπει να τονισθεί ότι, οι μη θερμικές επιπτώσεις της ακτινοβολίας υψηλής πολικότητας, η λεγόμενη «ειδική μικροκυματική επίπτωση», αποτελεί ακόμη θέμα επιστημονικών αντιπαραθέσεων. Η υποβοηθούμενη με μικροκυματική θέρμανση οργανική σύνθεση, χαρακτηρίζεται από εντυπωσιακές επιταχύνσεις σε πολλές αντιδράσεις, που είναι αποτέλεσμα ενός ρυθμού θέρμανσης που δεν μπορεί να επιτευχθεί με κλασικές μεθόδους.

Οι επιτυγχανόμενες υψηλές αποδόσεις, οι ηπιότερες (περιβαλλοντικές) συνθήκες και οι συντομότεροι χρόνοι της αντίδρασης αποδεικνύονται πολύ χρήσιμα στοιχεία, που επιτρέπουν την ουσιαστική βελτίωση πολλών χημικών διεργασιών. Οι ιδιότητες αυτές της μικροκυματικής θέρμανσης καθιστούν εφικτές ακόμη και αντιδράσεις που ούτε καν θα προχωρούσαν με κλασικές μεθόδους θέρμανσης, ενώ σε αρκετές περιπτώσεις παρατηρείται και αλλαγή της εκλεκτικότητας των αντιδράσεων.

Ιδιαίτερα σημαντική είναι η χρήση της μικροκυματικής θέρμανσης και από τη σκοπιά της πράσινης χημείας. Μεταξύ των 12 αρχών της πράσινης χημείας η «επιθυμία της χρήσης ασφαλέστερων διαλυτών» και εκείνη για «σχεδιασμό με στόχο την ενεργειακή αποδοτικότητα» είναι βασικής σημασίας για τους ερευνητές της χημικής σύνθεσης.

Από την άποψη του συνολικού ενεργειακού ισοζυγίου της αντίδρασης η θέρμανση υπό συνθήκες μικροκυματικής ακτινοβολίας μπορεί να χαρακτηριστεί σαν πράσινη χημεία γιατί όπως προκύπτει από μελέτες για τους περισσότερους χημικούς μετασχηματισμούς, παρατηρείται σημαντικότερη εξοικονόμηση ενέργειας, (μέχρι και 85 φορές), όταν χρησιμοποιούνται τα μικροκύματα ως πηγή ενέργειας σε αντιδράσεις εργαστηριακής κλίμακας.

Η δυνατότητα εκτέλεσης αντιδράσεων με απ' ευθείας αλληλεπίδραση μικροκυματικής ενέργειας επί του μίγματος της αντίδρασης, σε πολύ μικρούς χρόνους, σε αντιδιαστολή προς την έμμεση μεταφορά ενέργειας με την χρήση ελαιόλουτρου ή παρόμοιας συσκευής, επιτρέπει να θεωρηθεί, η πρώτη, ως «πράσινη» διεργασία, όχι μόνον λόγω της μειωμένης κατανάλωσης ενέργειας αλλά και λόγω της οικονομίας χρόνου, δηλαδή της αυξημένης αποτελεσματικότητας της.

Οι διαλύτες είναι, φυσικά, αναπόσπαστα μέρη των χημικών διεργασιών και στο εργαστήριο και στο εργοστάσιο. Η αναπόφευκτη επιλογή συγκεκριμένου διαλύτη, πέρα από τα καθαρά τεχνικά αποτελέσματα, μπορεί να έχει σημαντικές οικονομικές, περιβαλλοντικές αλλά και, κοινωνικές επιπτώσεις. Σε κάποιο βαθμό, η πιεστική ανάγκη ανάπτυξης εναλλακτικών διαλυτών προκύπτει, από την ευαισθησία για τις ανωτέρω επιπτώσεις, ως στρατηγική επιλογή της πράσινης χημείας. Εκτός από τις διεργασίες χωρίς διαλύτη ως εναλλακτικοί διαλύτες προτείνονται υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα, ιοντικά υγρά, υπερφθοριωμένοι διαλύτες, και βέβαια νερό.

Στην μικροκυματική σύνθεση χωρίς διαλύτες τα αντιδραστήρια αντιδρούν «καθαρά», ή με προ-προσρόφηση, επί ανόργανου φορέα στήριξης, ο οποίος είναι, είτε μικροκυματικά διαφανής (οξείδιο πυριτίου, οξείδιο αργιλίου, άργιλος), είτε ισχυρά απορροφητικός (γραφίτης).

Πρόσφατα, παρουσιάζονται μικροκυματικά υποβοηθούμενες αντιδράσεις που χρησιμοποιούν ιοντικά υγρά ως διαλύτες. Τα ιοντικά υγρά αλληλεπιδρούν πολύ αποτελεσματικά με τα μικροκύματα, μέσω ενός μηχανισμού ιοντικής μεταγωγής και θερμαίνονται με ρυθμούς που ξεπερνούν τους 10 οC ανά δευτερόλεπτο, χωρίς κάποια σημαντική αύξηση της πίεσης.

Έτσι, τα προβλήματα ασφαλείας, λόγω υπερβολικής πίεσης των σφραγισμένων δοχείων των αντιδράσεων, ελαχιστοποιούνται. Επίσης έχουν αναφερθεί εφαρμογές μικροκυμάτων σε συνδυασμό με την χρήση φθοριούχων διαλυτών ή φθοριούχων αντιδραστηρίων / κατάλυσης. Το πλεονέκτημα της μικροκυματικής θέρμανσης είναι η ταχεία σύμφυση της οργανικής και της φθοριούχου φάσης και ο σχηματισμός ενός ομογενούς διαλύματος.

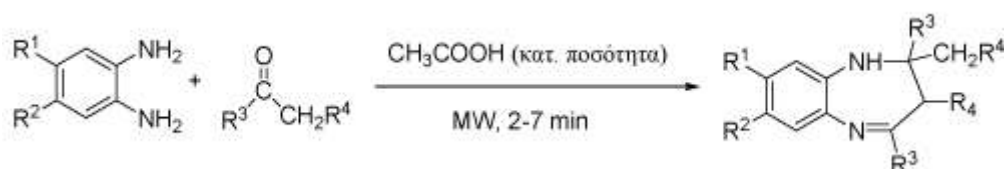
Ο ‘πρασινότερος’ διαλύτης είναι το νερό και τα τελευταία χρόνια ιδιαίτερο και αυξανόμενο ενδιαφέρον συγκεντρώνει η χρήση του νερού ως διαλύτη σε οργανικές μετατροπές με εφαρμογή της μικροκυματικής ακτινοβολίας. Το νερό ως πολικό μέσο απορροφά τα μικροκύματα θερμαίνεται γρήγορα σε πολύ ψηλές θερμοκρασίες στις οποίες λειτουργεί ως ψευδο-οργανικός διαλύτης.

Μια από τις πιο σημαντικές και περισσότερο μελετημένες ομάδες των αντιδράσεων που υποβοηθούνται με μικροκύματα, είναι η σύνθεση των πυρρολών καθώς επίσης

και δημιουργία δεσμών C-C μέσω κατάλυσης με μεταβατικά μέταλλα, αντιδράσεις ελεύθερων ριζών, αντιδράσεις κυκλοπροσθήκης, σύνθεση ετεροκυκλικών ενώσεων, αντιδράσεις με ένζυμα κ.α. .

Γενικά θα μπορούσαμε να πούμε ότι η οργανική σύνθεση με χρήση μικροκυμάτων αποτελεί “πράσινη” τεχνική και υπερέχει σε σχέση με τη συμβατική θέρμανση στα εξής βασικά σημεία:

- Προσφέρει ομοιόμορφη θέρμανση σε όλο το μίγμα της αντίδρασης
- Αυξάνει σημαντικά την ταχύτητα της αντίδρασης
- Ελαττώνει τις παράπλευρες αντιδράσεις
- Παρέχει αυξημένες αποδόσεις



Εικόνα 2.14 : Σύνθεση βενζοδιαζεπινών με χρήση μικροκυμάτων.

3 Σκοπός

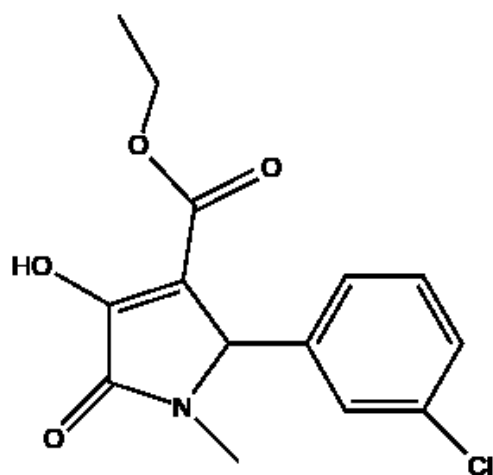
Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η χρήση του διαιθυλικούοξαλοξικού άλατος, της 3-χλώρο βενζαλδεΐδης και 5 διαφορετικών παραγώγων αμινών για τη σύνθεση των παρακάτω:

- a) 3-υδροξυ-1-μεθυλο-2-οξο-5-(3-χλώροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα (εικόνα 3.1 a)
- b) 3-υδροξυ-1-αιθυλο-2-οξο-5-(3-χλώροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα (εικόνα 3.1 b)
- c) 3-υδροξυ-1-κυκλοπροπυλο -2-οξο-5-(3-χλώροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα (εικόνα 3.2 c)

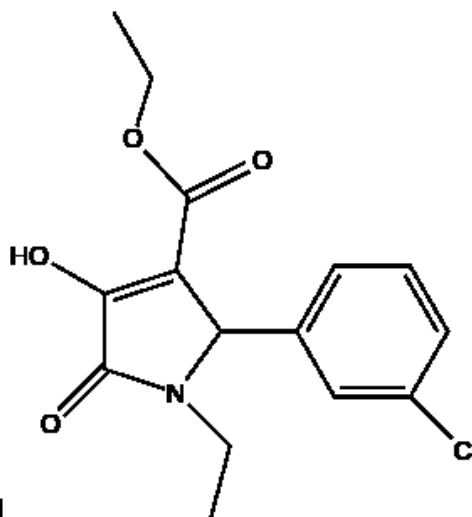
d) 3-υδροξυ-1-κυκλοβουτυλο -2-οξο-5-(3-χλώροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1Η-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα (εικόνα 3.2 d)

e) 3-υδροξυ-1-βενζυλο -2-οξο-5-(3χλώροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1Η-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα (εικόνα 3.2 e)

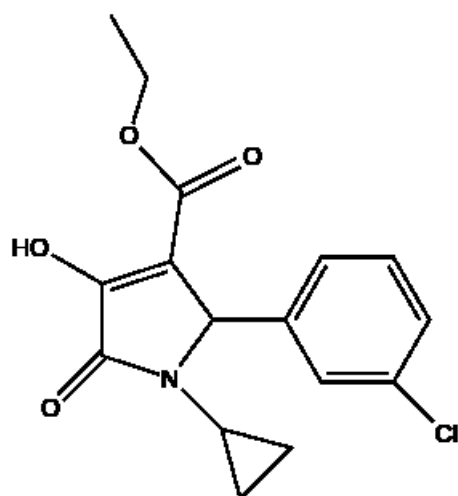
a)



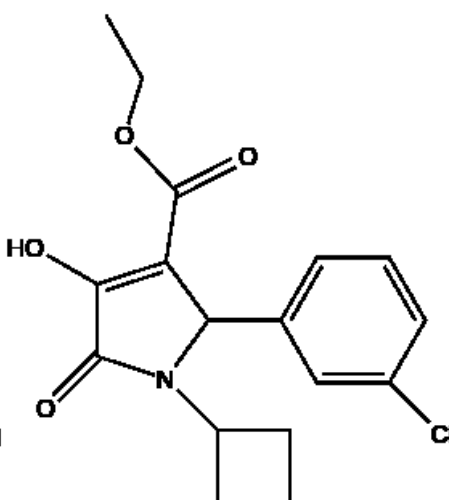
b)



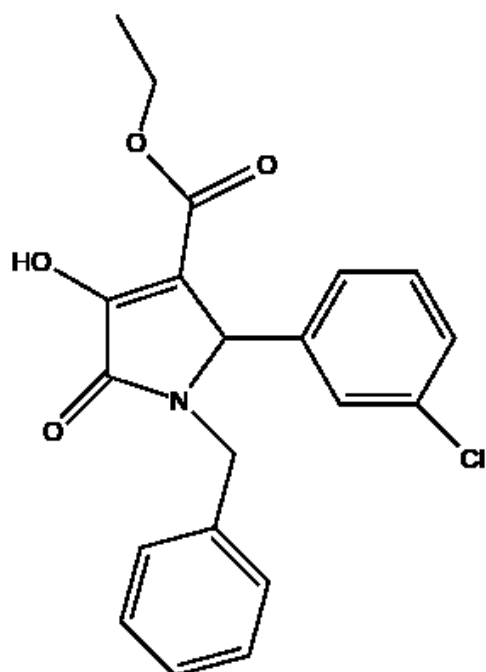
c)



d)



e)



4 Πειραματικές μέθοδοι

4.1 Microwave CEM

Αρχικά να τονίσουμε ότι οι αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν με μια παραλλαγή της συμβατικής μεθόδου δημιουργίας φαινυλοπυρρολων. Κατά τη συμβατική μέθοδο έχουμε χρήση εσφυρισμένης σφαιρικής φιάλης, όπου τοποθετούνται όλα τα αντιδρώντα και εφαρμόζεται κάθετος ψυκτήρας για τη ψύξη του δείγματος. Τέλος, το διάλυμα θερμαίνεται με επαναροή για κάποιες ώρες στην αντίστοιχη θερμοκρασία που απαιτείται για κάθε πειραματική διαδικασία. Στη παρούσα διπλωματική εργασία, τα αντιδρώντα αρχικά τοποθετήθηκαν σε ειδικό σωληνάριο και στη συνέχεια στο όργανο Microwave CEM όπου πραγματοποιήθηκε η αντίδραση. Η συγκεκριμένη μέθοδος χρησιμοποιήθηκε διότι είναι ταχύτερη και επιτυγχάνει την δημιουργία των προϊόντων σε συντομότερο χρονικό διάστημα.



Εικόνα 4.1 CEM Microwave Αντιδραστήρας με αυτόματο συλλέκτη δειγμάτων

4.2 Χρωματογραφία στήλης

Η χρωματογραφία είναι μια πανίσχυρη τεχνική διαχωρισμού, η οποία βρίσκει εφαρμογή σε κάθε κλάδο της επιστήμης. Εφευρέθηκε στις αρχές του 20ου αιώνα από τον Ρώσο βοτανολόγο Mikhail Tswett, ο οποίος χρησιμοποίησε την τεχνική για να διαχωρίσει διάφορες φυτικές χρωστικές, όπως οι χλωροφύλλες και οι ξανθοφύλλες.

Σε όλους τους χρωματογραφικούς διαχωρισμούς, το δείγμα κινείται σε μια κινητή φάση (mobile phase) η οποία μπορεί να είναι ένα αέριο, ένα υγρό ή υπερκρίσιμο ρευστό. Στη συνέχεια, η κινητή φάση εξαναγκάζεται να διέλθει μέσω μιας στατικής φάσης (stationary phase), η οποία είναι καθηλωμένη σε μια στήλη ή μια στερεή επιφάνεια.

Όταν μια χημική ένωση απομονώνεται, η ένωση στόχος θα πρέπει να καθαριστεί από διαλύτες και παραπροϊόντα. Η τεχνική που χρησιμοποιείται για να επιτευχθεί αυτό είναι η χρωματογραφία στήλης και επιτυγχάνεται με την εισαγωγή αέρα υπό πίεση (flashchromatography) σε silicagel (240-400, Merckgrade).

Γενικά η χρωματογραφία στήλης είναι μια τεχνική διαχωρισμού που βασίζεται στην προσρόφηση των συστατικών ενός δείγματος πάνω σε μια ακίνητη φάση, συνήθως silica gel και την έκλουση τους με μια κινητή φάση, που είναι ένας διαλύτης ή μείγμα διαλυτών. Οι πολικές ουσίες προσροφούνται ή κολλούν στην αφετηρία (κορυφή) της στήλης και χρειάζονται πιο πολικό διαλύτη για να προχωρήσουν. Οι άπολες ουσίες συνήθως προχωρούν ή κατεβαίνουν πιο εύκολα ακόμη και με διαλύτες χαμηλής πολικότητας. Για την έκλουση των ουσιών από το silica gel χρειάζεται να γίνει

έκλουση της στήλης με διάφορους διαλύτες αρχίζοντας με τους λιγότερο πολικούς και καταλήγοντας στους περισσότερο πολικούς: Εξάνιο< κυκλοεξάνιο< βενζόλιο< τολουόλιο< διαιθυλαιθέρας< χλωροφόρμιο< οξικός αιθυλεστερας< διχλωρομεθάνιο< βουτανόλη-1< ακετόνη< αιθανόλη< μεθανόλη< ακετονιτρίλιο< νερό. Η συμπεριφορά μιας ουσίας πάνω στη στήλη μπορεί να διαπιστωθεί με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC) πάνω σε silica gel έτσι ώστε να βρεθεί ο κατάλληλος διαλύτης ή μείγμα διαλυτών για την στήλη.

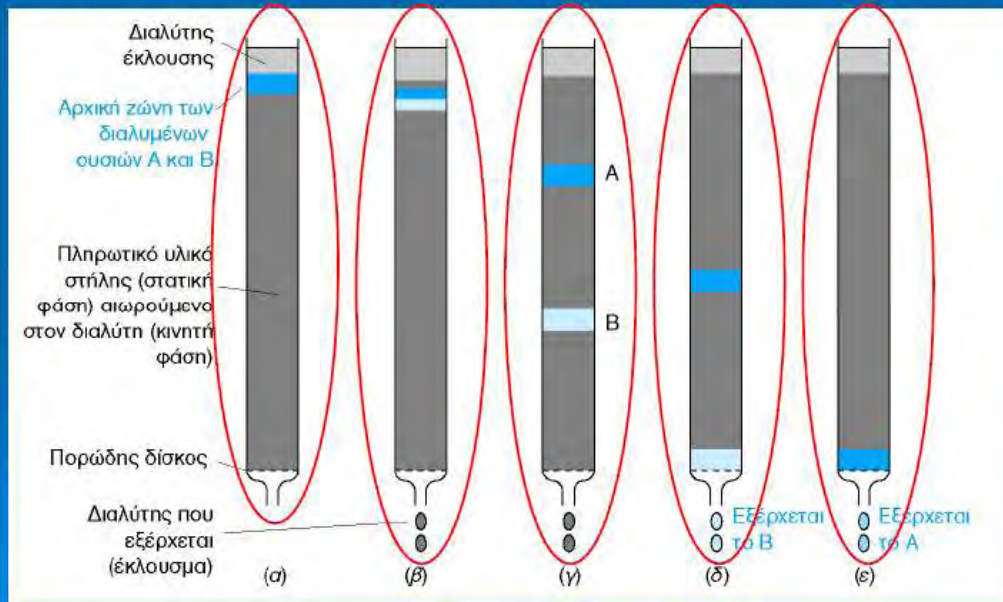
Στη χρωματογραφία προσρόφησης επί στήλης (κλασσική) η προσροφητική ουσία (ή μείγμα ουσιών) βρίσκεται υπό μορφή στήλης μέσα σε γυάλινο σωλήνα. □ Ο διαχωρισμός των ουσιών βασίζεται στο διαφορετικό βαθμό προσρόφησης των συστατικών στη στερεά φάση και στη διαφορετική διαλυτότητα τους στη κινητή φάση. □ Η ταχύτητα μετακίνησης μιας ουσίας εξαρτάται από τον ανταγωνισμό του προσροφητικού μέσου και του διαλύτη.

Εφαρμογή: □

- 1) Στο κάτω άκρο της στήλης τοποθετείται υαλοβάμβακας □
- 2) Τοποθετείται στη στήλη το προσροφητικό υλικό □
- 3) Διαβιβάζεται η κινητή φάση □
- 4) Οι ουσίες διαχωρίζονται κατά μήκος της στήλης λόγω διαφορετικής προσρόφησης κατά σειρά μειούμενης έντασης προσρόφησης (ανάπτυξη). □
- 5) Παραλαβή των διαχωριζόμενων ουσιών (έκλουση)

Χρωματογραφία

- Η διαλυμένη ουσία A εμφανίζει μεγαλύτερη συγγένεια προς τη στατική φάση σε σχέση με την ουσία B οπότε παραμένει περισσότερο χρόνο στη στήλη.



Εικόνα 4.2 παράδειγμα ουσιών που διαχωρίζονται με χρωματογραφία στήλης, η ουσία B εξέρχεται πρώτη λόγω μικρότερης συγγένειας με τη στατική φάση.

4.3 Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC)



Εικόνα 4.3 πλακίδιο χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας

Κατά την τεχνική της *επίπεδης χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας* (*Thin Layer Chromatography, TLC*) η ακίνητη φάση επιστρώνεται με κατάλληλο τρόπο επάνω σε γυαλί ή φύλλο πλαστικού ή αλουμινίου (φορέας επίστρωσης). Το πάχος επίστρωσης μπορεί να είναι από 0.15 mm μέχρι 2 mm. Ως υλικά επίστρωσης είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν διοξείδιο του πυριτίου (Silica gel), τριοξείδιο του αργιλίου (Alumina), κυτταρίνη σε μορφή σκόνης ή ακόμα και ρητίνες με όξινες ή βασικές ομάδες.

Ως κινητή φάση (διαλύτης ανάπτυξης) χρησιμοποιούνται διάφοροι διαλύτες (διχλωρομεθάνιο, εξάνιο, τολουόλιο, οξικός αιθυλεστέρας, πετρελαϊκός αιθέρας, ακετόνη, μεθανόλη κ.ά.) ή και μίγματα διαλυτών. Όταν ο διαλύτης ανάπτυξης είναι οργανικός διαλύτης ή μίγμα οργανικών διαλυτών τότε ο διαχωρισμός των συστατικών του δείγματος γίνεται κυρίως βάσει του μηχανισμού προσρόφησης, ενώ στην περίπτωση όπου ο διαλύτης περιέχει και νερό τότε ταυτόχρονα με τα φαινόμενα προσρόφησης παρατηρούνται και φαινόμενα κατανομής σε μεγάλο βαθμό.

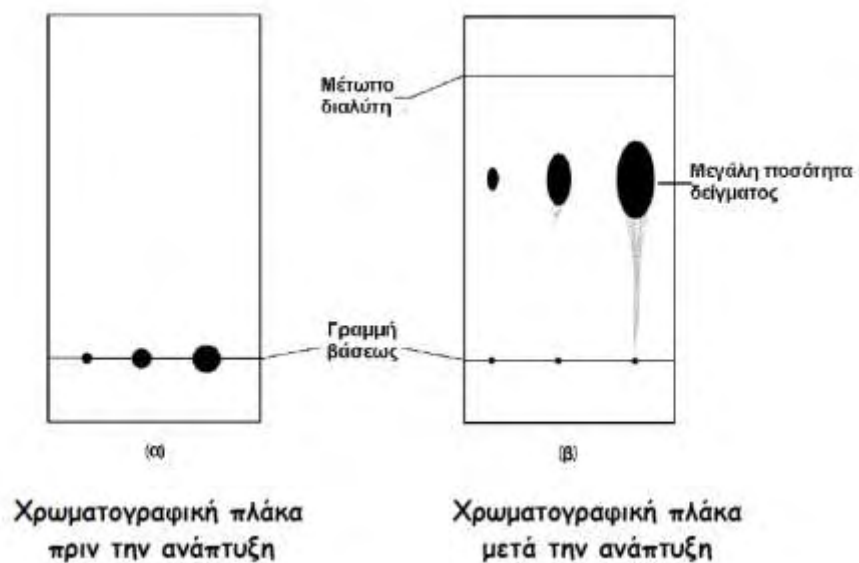
Η συσκευή η οποία χρησιμοποιείται στη χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας αποτελείται από υάλινο δοχείο με κάλυμμα (δοχείο ανάπτυξης). Μέσα στο δοχείο

τοποθετείται ο διαλύτης (στοιβάδα διαλύτη 0.5 cm) και το δοχείο κλείνεται ώστε να επιτευχθεί κορεσμός του χώρου από τους ατμούς του διαλύτη.

Ο διαλύτης ανάπτυξης ανεβαίνει στο πλακίδιο αργά-αργά λόγω τριχοειδών φαινομένων συμπαρασύροντας και τα συστατικά του δείγματος σε διαφορετικές αποστάσεις (ανάπτυξη χρωματογραφήματος). Όταν το μέτωπο ανάπτυξης του διαλύτη πλησιάζει το επάνω άκρο του πλακιδίου τότε αυτό απομακρύνεται από το θάλαμο ανάπτυξης και σημειώνεται το μέτωπο του διαλύτη με μολύβι. Μετά την ανάπτυξη του χρωματογραφήματος, το πλακίδιο ξηραίνεται (με ρεύμα αέρα ή στο φούρνο) και ακολουθεί ο προσδιορισμός των θέσεων των κηλίδων. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται εμφάνιση του χρωματογραφήματος. Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι οι κηλίδες πρέπει να είναι όσο το δυνατόν μικρές και να προέρχονται από αραιά διαλύματα των δειγμάτων (~1-1.5%), έτσι ώστε μετά την εμφάνιση του χρωματογραφήματος να μην παρατηρούνται ουρές κάτω από τις κηλίδες ή υπερκάλυψη αυτών.



Εικόνα 4.4 θάλαμος ανάπτυξης χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας



Με βάση τη διανυθείσα απόσταση κάθε μορίου στη στατική φάση πραγματοποιείται και ο προσδιορισμός του συντελεστή κατακράτησης R_f , που ορίζεται από το λόγο: απόσταση που διανύθηκε από την ένωση (β) προς την απόσταση που διανύθηκε από το διαλύτη (α). Η τιμή R_f ενός συγκεκριμένου μορίου χρησιμεύει για την ταυτοποίηση μιας άγνωστης ουσίας.

$$R_f = \frac{\beta}{\alpha}$$

Η παρατήρηση των κηλίδων γίνεται με εξέταση στο υπεριώδες φως (254 ή 356 nm) ή μετά από ψεκασμό με διάλυμα H_2SO_4 (θεικού οξέος) 30%.

4.4 Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού

Στη φασματοσκοπία NMR μελετάται η αλληλεπίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας με την ύλη, για την μελέτη των χημικών, φυσικών και βιολογικών ιδιοτήτων της.

Οι μαγνητικές ιδιότητες του ατομικού πυρήνα αποτελούν τη βάση για τη φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού. Ο πυρήνας κάθε ατόμου περιστρέφεται γύρω από άξονα που διέρχεται από το κέντρο του πυρήνα. Σαν αποτέλεσμα αυτής της κίνησης ο πυρήνας αποκτά στροφορμή και λόγω του φορτίου του δημιουργείται μαγνητικό δίπολο, δηλαδή ένας μικροσκοπικός μαγνήτης. Αυτή η τελευταία ιδιότητα του πυρήνα είναι υπεύθυνη για τη συμπεριφορά των μαγνητικών πυρήνων μέσα σε μαγνητικό πεδίο. Στην ουσία το σπιν ενός πρωτονίου είναι που το κάνει να συμπεριφέρεται ως μικρός μαγνήτης (δίπολο). Έτσι όταν τοποθετείται σε εξωτερικό ισχυρό μαγνητικό πεδίο το δίπολο προσανατολίζεται σε σχέση με το εξωτερικό πεδίο. (Κωνσταντίνος Α. Τσολερίδης, σημειώσεις φασματοσκοπίας NMR και μαζών, 1996)

Ο Πυρηνικός μαγνητικός Συντονισμός (NMR) είναι ένα φαινόμενο κατά το οποίο οι πυρήνες ατόμων με αυτοστροφορμή (σπιν) υπό την επίδραση ισχυρού στατικού μαγνητικού πεδίου, όταν ακτινοβολούνται διεγείρονται και κατά την αποδιέγερσή τους δίνουν σήμα.

Τα πυρηνικά σωματίδια όπως και τα ηλεκτρόνια, κινούνται σε τροχιακά. Όταν ο αριθμός των πρωτονίων ή νετρονίων είναι ίσος με 2, 8, 20, 28, 50, 82, και 126, τα τροχιακά είναι συμπληρωμένα. Επειδή έχουν σπιν, όπως και τα ηλεκτρόνια, όταν γεμίζουν τα τροχιακά αυτά συζευγνύονται. Σχεδόν όλα τα στοιχεία του περιοδικού πίνακα έχουν ένα ισότοπο με μη μηδενικό πυρηνικό σπιν. Η φασματοσκοπία NMR μπορεί να εφαρμοστεί σε ισότοπα των οποίων η φυσική του αφθονία είναι αρκετά μεγάλη για να είναι ανιχνεύσιμη. Στον πυρηνικό μαγνητικό συντονισμό, μόνο τα ασύζευκτα πυρηνικά spins παίζουν ρόλο.

- Πυρηνικός: Ανίχνευση πυρήνων με σπιν.
- Μαγνητικός: Λήψη φασμάτων εντός μαγνητικού πεδίου.
- Συντονισμός: Οι πυρήνες διεγείρονται με την εκπομπή υψίσυχνων παλμών προς το δείγμα και κατά την αποδιέγερση λαμβάνεται το σήμα.

Βασικές παράμετροι φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού

- Χημική μετατόπιση δ (Chemical shift)
- Σταθερά σύζευξης J (J coupling)

δ : Η συχνότητα στην οποία συντονίζεται κάθε πυρήνας και μετράται αναφορικά με τη συχνότητα συντονισμού μιας ένωσης προτύπου. Εκφράζεται σε μονάδες δ ppm (parts per million) σε σχέση με την κορυφή απορρόφησης των πρωτονίων του TMS ($\delta=0$).

Χημική μετατόπιση $\delta = \nu_i / \nu_0$ (ν_i : συχνότητα συντονισμού του πυρήνα, ν_0 : συχνότητα του οργάνου)

J: Σύζευξη των σπιν των πρωτονίων, στην οποία οφείλεται η πολλαπλότητα των κορυφών. Χαρακτηρίζεται από τη σταθερά σύζευξης J, η οποία ορίζεται ως η απόσταση μεταξύ των υποκορυφών που συνιστούν μια πολλαπλή κορυφή και μετράται σε μονάδες συχνότητας Hz. Ως πολλαπλή κορυφή εννοείται το φαινόμενο κατά το οποίο διαφορετικοί συντονισμοί του ίδιου πρωτονίου δίνουν πολλαπλές κορυφές λόγω ύπαρξης των γειτονικών.

5 Πειραματικό μέρος

5.1 Σύνθεση του 3-υδροξυ-1-μεθυλο-2-οξο-5-(3-γλώροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω αντίδρασης τριών αντιδρώντων.

Αντίδραση 1 σύνθεση του 3-υδροξυ-1-μέθυλο-2-οξο-5-(3-χλώροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1^H-πύρρολο-3καρβοξυλικού αιθυλεστέρα

Πρωτόκολλο:

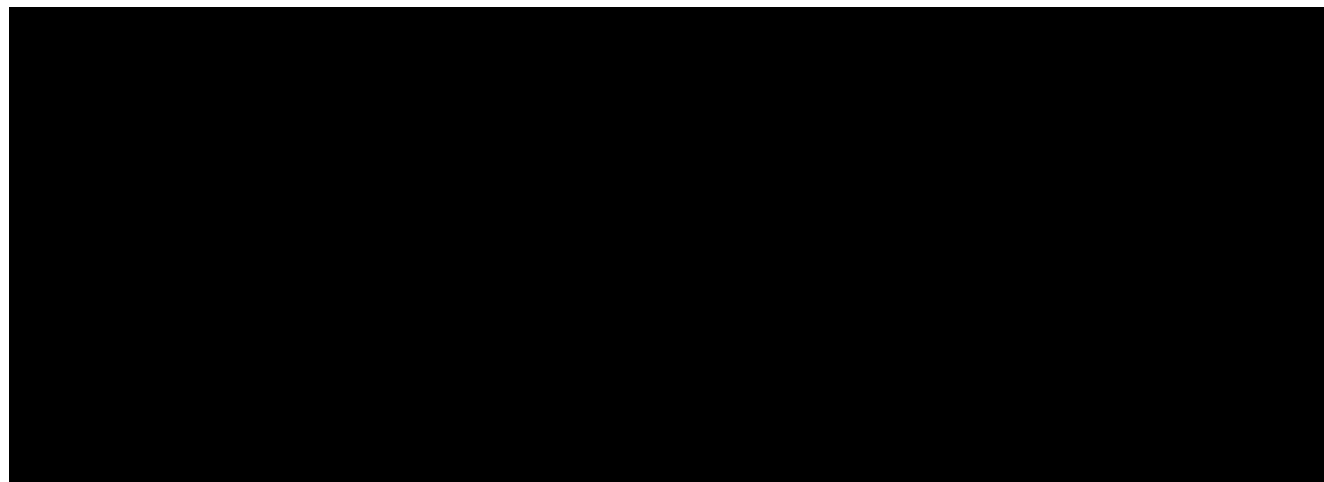
7.11 mmol 3-χλώρο-βενζαλδεΰδης απαιτούν : 7.11 mmol μεθυλαμίνης, 7.11 mmol διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου και 25 ml αιθανόλη.

Πειραματική διαδικασία:

Σε σωληνάκι microwave CEM προστέθηκαν 3-χλώρο-βενζαλδεΰδη, μεθυλαμίνη, διαιθυλικό οξαλοξικό άλας του νατρίου και αιθανόλη(2.83). Τοποθετήθηκε στο microwave CEM και το διάλυμα θερμάνθηκε στους 110°C για 15' σε 100Watt. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με TLC. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης για να απομακρυνθούν τυχόν υπολείμματα ή παραπροϊόντα. Έπειτα τοποθετήθηκε το διάλυμα σε εσφυρισμένη σφαιρική φιάλη και συμπυκνώθηκε. Μετά προστέθηκε λίγο παγωμένο απιονισμένο H₂O και μερικές σταγόνες πυκνού διαλύματος HCl (37%) ώστε το pH του διαλύματος της αντίδρασης να είναι περίπου 4-5. Ξύνοντας τα τοιχώματα με μια μεταλλική σπάτουλα σε θερμοκρασία δωματίου δημιουργήθηκε ίζημα και στην συνέχεια τοποθετήθηκε η φιάλη στο ψυγείο. Τέλος το επιθυμητό προϊόν διηθήκε υπό κενό και παραλήφθηκε υπό τη μορφή λευκού στερεού (m.p.= 149-151 °C).

TLC (9.5CH ₂ Cl ₂ /0.5 MeOH)	R _f =0,29
Απόδοση	α =74%

5.2 Σύνθεση του 3-υδροξυ-1-βενζυλο-2-οξο-5-(3-χλωροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω αντίδρασης τριών αντιδρώντων.



Αντίδραση 2 σύνθεση του 3-υδρο ξυ-1-βενζυλο-2-οξο-5-(3-χλωροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1^H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα

Πρωτόκολλο:

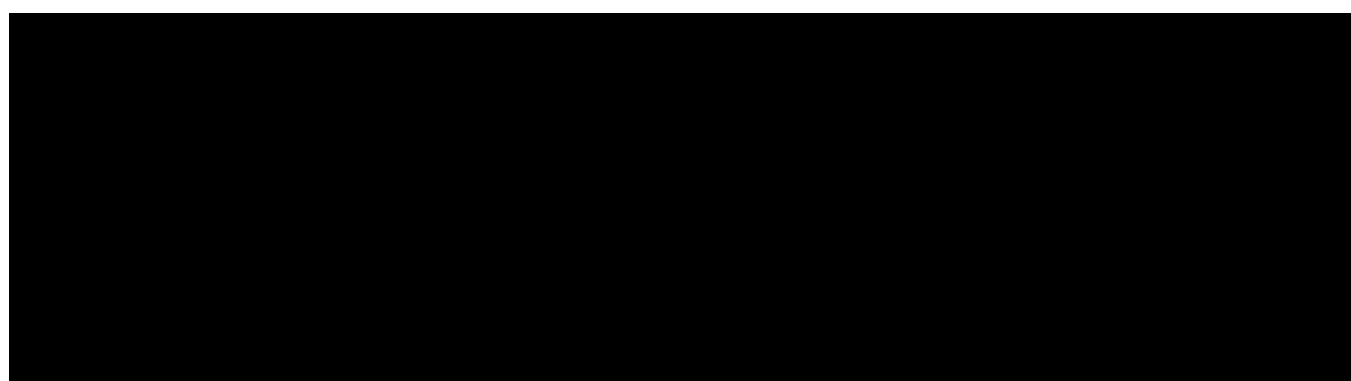
7.11 mmol 3-χλωρο-βενζαλδεΐδης απαιτούν : 7.11 mmol βένζυλαμίνης, 7.11mmol διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου και 25 ml αιθανόλη.

Πειραματική διαδικασία:

Σε σωληνάκι microwave CEM προστέθηκαν 3-χλωρο-βενζαλδεΐδη, βενζυλαμίνη, διαιθυλικό οξαλοξικό άλας του νατρίου και αιθανόλη. Τοποθετήθηκε στο microwaveCEM και το διάλυμα θερμάνθηκε στους 40°C για 10' σε 200watt. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με TLC. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης για να απομακρυνθούν τυχόν υπολείμματα ή παραπροϊόντα. Έπειτα τοποθετήθηκε το διάλυμα σε εσφυρισμένη σφαιρική φιάλη και συμπυκνώθηκε. Μετά πραγματοποιήθηκε κρυστάλλωση με τολουόλιο στον ελάχιστο δυνατό όγκο. Αφήθηκε σταδιακά να πέσει σε θερμοκρασία δωματίου και μετά το τοποθετήθηκε στην κατάψυξη. Το επιθυμητό προϊόν έπεσε ως ίζημα το οποίο διηθήθηκε υπό κενό και ξεπλύθηκε αρκετές φορές με παγωμένο H₂O. Το προϊόν παραλαμβάνεται ως λευκό στερεό (m.p.= 182-184 °C).

TLC (9.5CH ₂ Cl ₂ /0.5CH ₃ OH)	R _f = 0.30
Απόδοση	α = 67%

5.3 Σύνθεση του 3-υδροξυ-1-αιθυλο-2-οξο-5-(3-χλωροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω αντίδρασης τριών αντιδρώντων



Αντίδραση 3: σύνθεση του 3-υδροξυ-1-αιθυλο-2-οξο-5-(3-χλωροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα

Πρωτόκολλο:

7.11 mmol 3-χλωρο-βενζαλδεΰδης απαιτούν : 7.11 mmol αιθυλαμίνης, 7.11 mmol διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου και 25 ml αιθανολη.

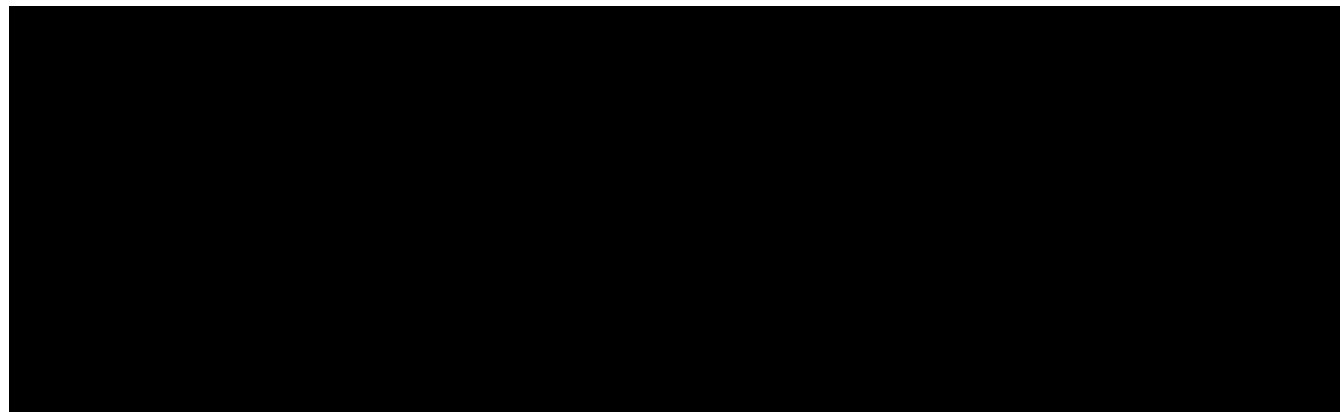
Πειραματική διαδικασία:

Σε σωληνάκι microwave CEM προστέθηκαν 3-χλωρο-βενζαλδεΰδη, αιθυλαμίνη, διαιθυλικό οξαλοξικό άλας του νατρίου και αιθανόλη . Τοποθετήθηκε στο microwave CEM και το διάλυμα θερμάνθηκε στους 110°C για 15' σε 100Watt. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με TLC. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε χρωματοχροφία στήλης για να απομακρυνθούν τυχόν υπολείμματα ή παραπροϊόντα. Έπειτα τοποθετήθηκε το διάλυμα σε εσφυρισμένη σφαιρική φιάλη και συμπυκνώθηκε. Μετά προστέθηκε λίγο παγωμένο απιονισμένο H₂O και μερικές σταγόνες πυκνού διαλύματος HCl (37%) ώστε το pH του διαλύματος της αντίδρασης να είναι περίπου 4-5. Ξύνοντας τα τοιχώματα με μια μεταλλική σπάτουλα σε θερμοκρασία δωματίου

δημιουργήθηκε ίζημα και στην συνέχεια τοποθετήθηκε η φιάλη στο ψυγείο. Τέλος το επιθυμητό προϊόν διηθήκε υπό κενό και παραλήφθηκε υπό τη μορφή υποκίτρινου στερεού (m.p=144-146 °C).

TLC (9.5CH ₂ Cl ₂ /0.5 MeOH)	R _f =0,30
Απόδοση	α =64%

5.4 Σύνθεση του 3-υδροξυ-1-κυκλοπροπυλο-2-οξο-5-(3-χλωροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω αντίδρασης τριών αντιδρώντων



Αντίδραση 4: σύνθεση του 3-υδροξυ-1-κυκλοπροπυλο-2οξο-5-(3χλωροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα.

Πρωτόκολλο:

7.11 mmol 3-φθορο-βενζαλδεϋδης απαιτούν : 7.11 mmol κυκλοπροπυλαμίνης, 7.11 mmol διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου και 25 ml αιθανόλη.

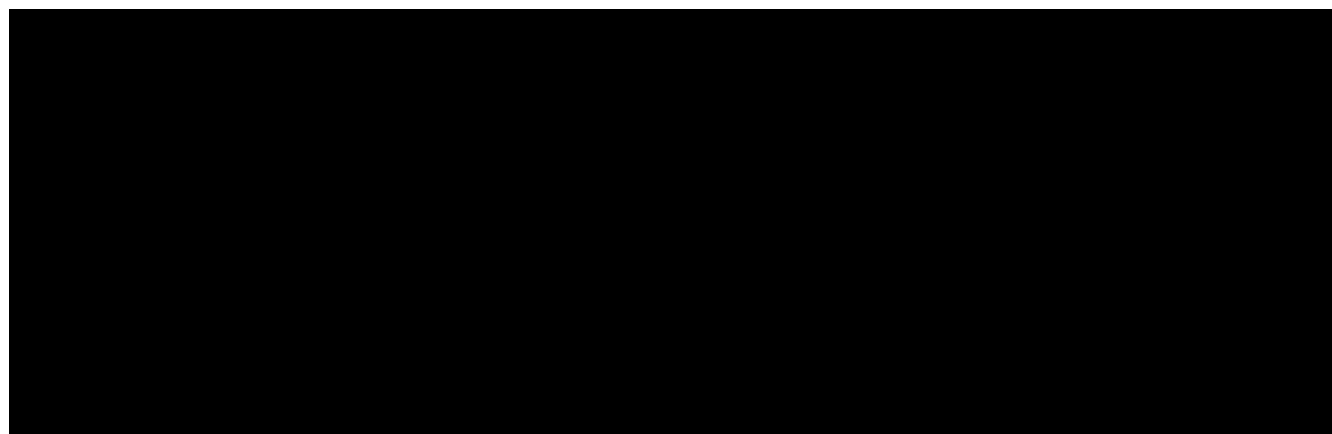
Πειραματική διαδικασία:

Σε σωληνάκι microwave CEM προστέθηκαν 3-χλωρο-βενζαλδεϋδη, κυκλοπροπυλαμίνη, διαιθυλικό οξαλοξικό άλας του νατρίου και αιθανόλη. Τοποθετήθηκε στο microwave CEM και το διάλυμα θερμάνθηκε στους 40°C για 5' σε 200Watt και μετά για ακόμα 5' στους 40ο σε 200Watt. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχθηκε με χρήση της μεθόδου TLC. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης για να απομακρυνθούν τυχόν υπολείμματα ή παραπροϊόντα. Έπειτα το διάλυμα τοποθετήθηκε σε εσφυρισμένη σφαιρική φιάλη και συμπυκνώθηκε. Κατόπιν προστέθηκε λίγο παγωμένο απιονισμένο H₂O και, ξύνοντας τα τοιχώματα με μια μεταλλική σπάτουλα σε θερμοκρασία δωματίου, δημιουργήθηκε ίζημα.. Στην συνέχεια η φιάλη τοποθετήθηκε στο ψυγείο. Μετά πραγματοποιήθηκε κρυστάλλωση με τολουόλιο στον ελάχιστο δυνατό όγκο. Αρχικά αφέθηκε σταδιακά να κατακρημνισθεί σε θερμοκρασία δωματίου και κατόπιν τοποθετήθηκε στην κατάψυξη. Το ίζημα, όπου βρίσκεται το επιθυμητό προϊόν, διηθήθηκε υπό κενό και

ξεπλύθηκε αρκετές φορές με παγωμένο H₂O. Το προϊόν παραλήφθηκε ως κίτρινο στερεό (m.p.= 156-158 °C).

TLC (9.5CH ₂ Cl ₂ /0.5 MeOH)	Rf =0,30
Απόδοση	α =69%

5.5 Σύνθεση του 3-υδροξυ-1-κυκλοβουτυλο-2-οξο-5-(3-χλωροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω αντίδρασης τριών αντιδρώντων



Αντίδραση 5: Σύνθεση του 3-υδροξυ-1-κυκλοβουτυλο-2-οξο-5-(3-χλωροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα.

Πρωτόκολλο:

7.11 mmol 3-χλωρο-βενζαλδεΐδης απαιτούν : 7.11 mmol κυκλοβουτυλαμίνης 7.11 mmol διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου και 25 ml αιθανόλη.

Πειραματική διαδικασία:

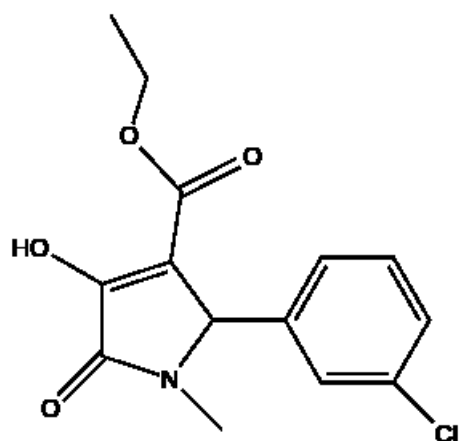
Σε σωληνάκι microwave CEM προστέθηκαν 3-χλωρο-βενζαλδεΐδη, κυκλοβουτυλαμίνη, διαιθυλικό οξαλοξικό άλας του νατρίου και αιθανόλη. Τοποθετήθηκε στο microwave CEM και το διάλυμα θερμάνθηκε στους 40°C για 10' σε 200watt. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με TLC. Στη συνέχεια

πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης για να απομακρυνθούν τυχόν υπολείμματα ή παραπροϊόντα. Έπειτα τοποθετήθηκε το διάλυμα σε εσφυρισμένη σφαιρική φιάλη και συμπυκνώθηκε. Μετά προστέθηκε λίγο παγωμένο απιονισμένο H₂O και ξύνοντας τα τοιχώματα με μια μεταλλική σπάτουλα σε θερμοκρασία δωματίου δημιουργηθεί ίζημα και στην συνέχεια τοποθετήθηκε η φιάλη στο ψυγείο.. Τέλος το επιθυμητό προϊόν διηθήκε υπό κενό και παραλήφθηκε με τη μορφή λευκού στερεού (m.p.= 182-184 °C)

TLC(9.5CH ₂ Cl ₂ /0.5MeOH)	Rf =0,30
Απόδοση	α = 83%

6 Ταυτοποίηση με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR)

A.

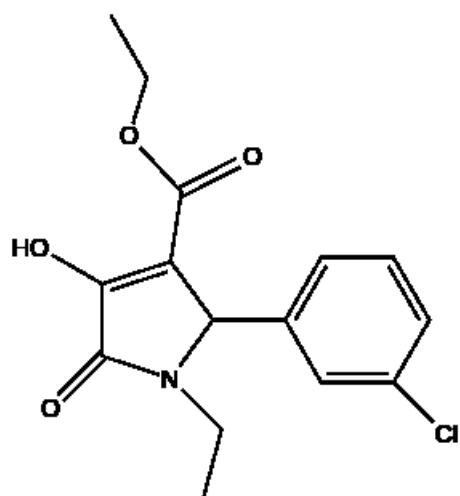


3-υδροξυ-1-μεθυλο-2-οξο-5-(3-χλώροφαινυλο)-2,5-δυδρο-1Η-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα (3-Hydroxy-1-methyl-2-oxo-5-(3-chlorophenyl)-2,5-dihydro-1H-pyrrole-3-carboxylic acid ethyl ester) :

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);

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 167.22, 165.18, 164.29, 139.45, 134.17, 130.11, 127.49, 127.35, 126.27, 111.39, 61.97, 51.02, 32.27, 13.09

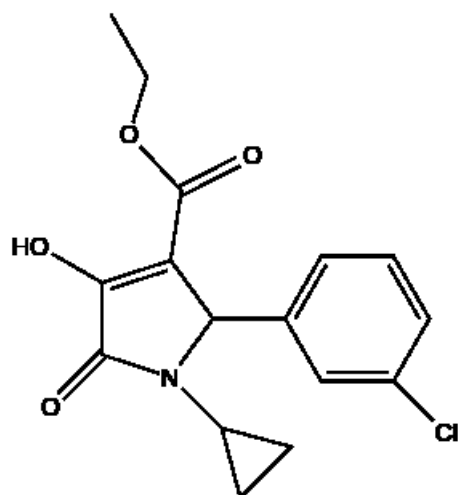
B.



3-υδροξυ-1-αιθυλο-2-οξο-5-(3-χλώροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1Η-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα (3-Hydroxy-1-ethyl-2-oxo-5-(3-chlorophenyl)-2,5-dihydro-1H-pyrrole-3-carboxylic acid ethyl ester) :

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); **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃):** δ 164.68, 163.89, 156.84, 155.29, 131.35, 130.01, 127.62, 126.50, 124.32, 113.08, 61.13, 59.24, 39.30, 14.14, 13.11

Γ.

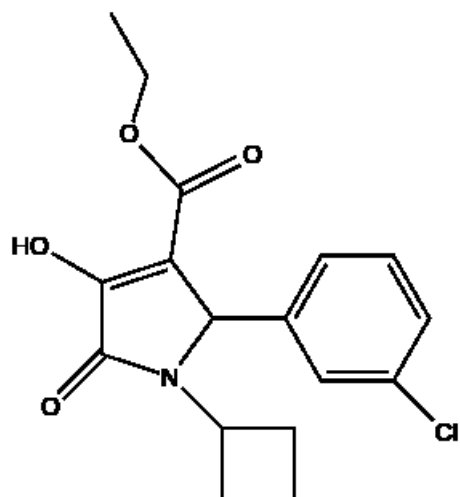


3-υδροξυ-1-κυκλοπροπυλο -2-οξο-5-(3-χλώροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1Η-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα (3-Hydroxy-1-cyclopropyl-2-oxo-5-(3-chlorophenyl)-2,5-dihydro-1H-pyrrole-3-carboxylic acid ethyl ester):

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)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 164.04, 163.25, 157.51, 141.82, 134.75, 129.50, 128.75, 127.46, 112.73, 61.70, 48.39, 29.79, 13.93, 6.05, 4.99

Δ.

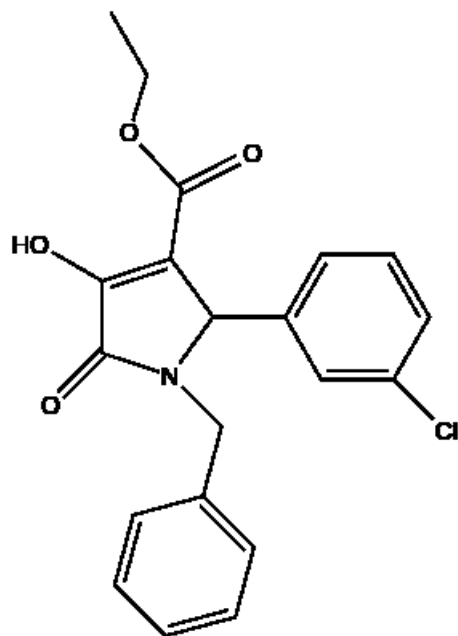


3-υδροξυ-1-κυκλοβουτυλο -2-οξο-5-(3-χλώροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα (3-Hydroxy-1-cyclobutyl-2-oxo-5-(3-chlorophenyl)-2,5-dihydro-1H-pyrrole-3-carboxylic acid ethyl ester):

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)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 170.91, 168.76, 165.54, 143.53, 133.38, 129.12, 128.29, 127.03, 125.57, 101.71, 60.24, 58.08, 48.61, 29.91, 27.66, 15.74, 13.99

E.



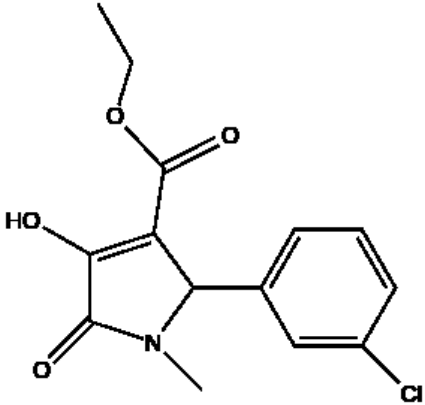
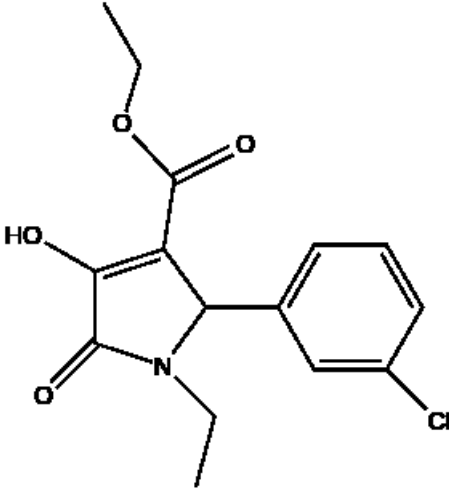
3-υδροξυ-1-βενζυλο -2-οξο-5-(3χλώροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα (3-Hydroxy-1-benzyl-2-oxo-5-(3-chlorophenyl)-2,5-dihydro-1H-pyrrole-3-carboxylic acid ethyl ester):

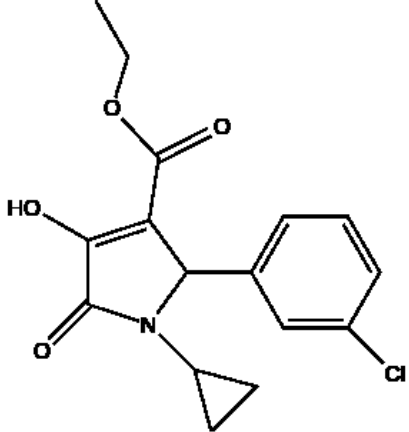
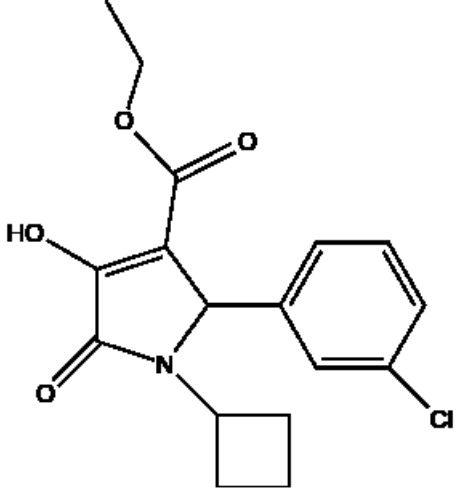
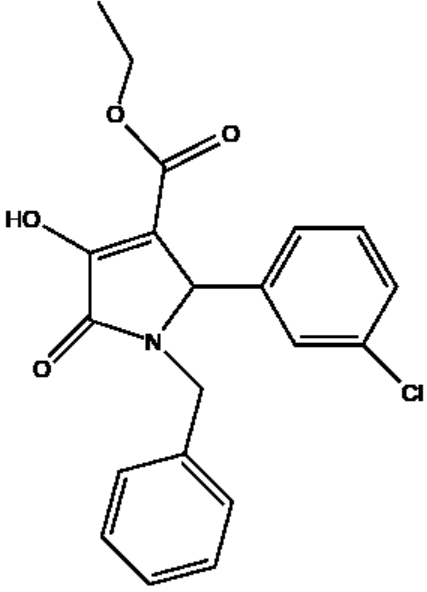
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7.32-7.22 (m, 5H, aromatic), 7.13-7.10 (m, 3H, aromatic), 7.02-7.00 (m, 1H, aromatic), 5.20 (d, 1H, $J = 14.8$ Hz, CH_2 benzyl), 4.86 (s, 1H, CH, pyrrole), 4.16-4.05 (m, 2H, OCH_2CH_3) 3.62 (d, 1H, $J = 14.8$ Hz, CH_2 benzyl), 1.10 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz, OCH_2CH_3)

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 165.11, 163.46, 157.77, 136.87, 135.96, 134.73, 131.16, 130.90, 129.05, 128.90, 128.47, 128.01, 125.96, 112.79, 61.13, 59.09, 44.17, 13.82

7 Αποτελέσματα-συζήτηση

Όλα τα μόρια αξιολογήθηκαν για την κυτταροτοξική 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 κυτταροτοξικής δράσης χρησιμοποιήθηκε η παράμετρος IC₅₀ (inhibition concentration), η οποία αντιπροσωπεύει τη συγκέντρωση του φάρμακου που απαιτείται για την αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης κατά 50%

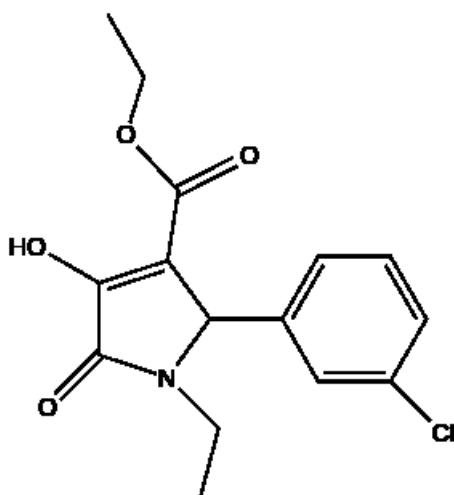
Προϊόν	IC ₅₀ * (μM)		
	L1210	CEM	HeLa
	28 ± 1	156 ± 2	27 ± 2
	134 ± 1	107 ± 12	122 ± 4

	150 ± 0	99 ± 7	78 ± 12
	181 ± 47	60 ± 14	88 ± 22
	≥ 250	84 ± 29	62 ± 4

Όπως βλέπουμε από τον παραπάνω πίνακα, όλες οι εξετασθείσες ενώσεις παρουσίασαν μέτρια κυτταροτοξική δράση, παρουσιάζοντας τιμές IC_{50} μεταξύ 27-250 μM .

Οι ενώσεις που συντέθηκαν στο εργαστήριο εξετάστηκαν και για την αντιϊκή τους δράση. Για την εκτίμηση της αντιϊκής δράσης χρησιμοποιήθηκε η παράμετρος EC_{50} (effective concentration) η οποία αντιπροσωπεύει την συγκέντρωση του φαρμάκου που προκαλεί το 50% της μέγιστης απόκρισης. Ενδιαφέρον παρουσίασαν τα αποτελέσματα των ενώσεων:

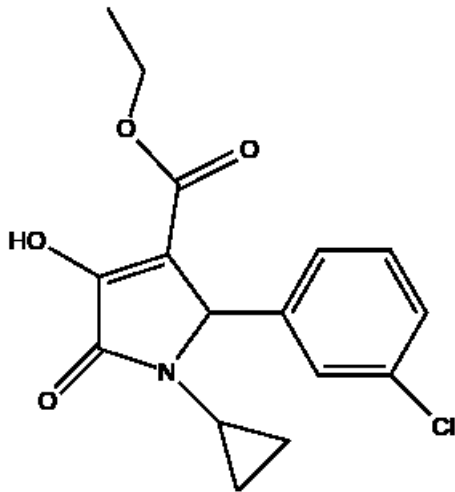
1)



3-υδροξυ-1-αιθυλο-2-οξο-5-(3-χλώροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα (3-Hydroxy-1-ethyl-2-oxo-5-(3-chlorophenyl)-2,5-dihydro-1H-pyrrole-3-carboxylic acid ethyl ester) :

Παρουσίασε **$EC_{50}=45 \mu M$** έναντι του coxsackie B4 ιού σε σειρά επιθηλιακών κυττάρων νεφρού (Vero cell cultures).

2)



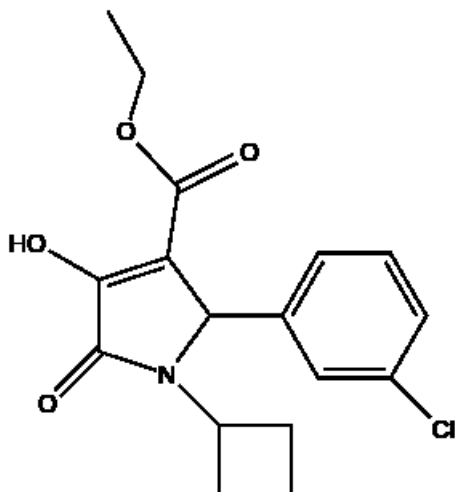
3-υδροξυ-1-κυκλοπροπυλο -2-οξο-5-(3-χλώροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα (3-Hydroxy-1-cyclopropyl-2-oxo-5-(3-chlorophenyl)-2,5-dihydro-1H-pyrrole-3-carboxylic acid ethyl ester):

EC₅₀ = 58μM (Test 1) και **EC₅₀ = 50μM** (Test 2) έναντι του ιού Herpes simplex-1 σε κυτταρική σειρά HEL,

EC₅₀ = 58μM (Test 1) και **EC₅₀ = 45μM** (Test 2) έναντι του ιού Herpes simplex -2 (G) σε κυτταρική σειρά HEL,

EC₅₀ = 12μM (Test 1) και **EC₅₀ = 8.9μM** (Test 2) έναντι του ιού Yellow Fever σε σειρά επιθηλιακών κυττάρων νεφρού (Vero cell cultures).

3)



3-υδροξυ-1-κυκλοβουτυλο -2-οξο-5-(3-χλώροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα (3-Hydroxy-1-cyclobutyl-2-oxo-5-(3-chlorophenyl)-2,5-dihydro-1H-pyrrole-3-carboxylic acid ethyl ester):

$EC_{50} = 58\mu M$ έναντι του ιού Herpes simplex-2 σε κυτταρική σειρά HEL,
 $EC_{50} = 58\mu M$ έναντι του ιού Herpes simplex-1 σε κυτταρική σειρά HEL,
 $EC_{50} = 100\mu M$ (Test 1) και $EC_{50} = 45\mu M$ (Test 2) έναντι του ιού Human Coronavirus (229E) σε κυτταρική σειρά HEL.

8 Βιβλιογραφία

- Hanahan, D., and Weinberg, R. A. (2000). The Hallmarks of Cancer. *Cell* 100: 57-70.
- Hejmadi, M. (2010). Introduction to Cancer Biology. VentusPublishingApS.
- Yaakob I.U., Degree of Bachelor of Science (Hons.), 2009
- John McMurry. Οργανική Χημεία, τόμος I I, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης
- M. F. Mohammat, Z. Shaameri and A. S. Hamzah, (2009), Synthesis of 2,3-Dioxo-5-(substituted) arylpyrroles and Their 2-Oxo-5-aryl-3-hydrazone Pyrrolidine Derivatives, *Molecules*
- Barlow-Stewart, K. (2012). *Environmental and genetic interactions*. 9th Edition
- Guzman M., Hirschmann R., Holcomb R.C., Keenan T., Smith A.B., Sprengeler P., Wood J.L., US Patent 5,489,692, 1996
- Boiadjiev S.E., Lightner D.A., J. Org. Chem., 2005, 70, 688-691
- Παπαδογιάννης I.N., Σαμανίδου Β.Φ., Ενόργανη Χημική Ανάλυση, Εκδόσεις Πήγασος.
- Poirier MC (2004). Chemical induced DNA damage and human cancer risk. *Nature Rev Cancer*. 4: 630 637

- Lengauer C, Kinzler KW & Vogelstein B. (1998). Genetic instabilities in human cancers. *Nature*. 396: 643–9
- Κωνσταντίνος Α. Τσολερίδης, σημειώσεις φασματοσκοπίας NMR και μαζών, 1996