



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

**«Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών του Τμήματος
Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας»**

**«ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ – ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ»**

Σπανός Σωτήριος

Διπλωματική Εργασία

**«ΝΕΟΙ ΑΝΤΙΪΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ: ΣΥΝΘΕΣΗ, ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ
ΜΕΣΩ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ
ΑΠΟΤΙΜΗΣΗ ΝΕΩΝ ΑΛΟΓΟΦΑΙΝΥΛΟ ΠΥΡΡΟΛΟ
ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ»**

Λάρισα 2018

Νέοι αντιϊικοί παράγοντες: Σύνθεση, ταυτοποίηση μέσω φασματοσκοπικής ανάλυσης και βιολογική αποτίμηση νέων αλογονοφαινυλο πυρρολο παραγώγων.

New antiviral agents: Synthesis, identification by spectroscopic analysis and biological assay of novel halogenophenyl pyrrole derivatives.

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

Μήτσος Χρήστος - Εργαστηριακό Διδακτικό Προσωπικό (Ε.ΔΙ.Π) στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας 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. Δημήτρη Κομιώτη. Θα ήθελα αρχικά να ευχαριστήσω τον Νίκο Κολλάτο υπό την επίβλεψη του οποίου έγινε η παρούσα εργασία για την καθοδήγηση τη βοήθεια και την υπομονή που έδειξε κατά τη διάρκεια των πειραματικών διαδικασιών όσο και κατά τη διάρκεια της συγγραφής. Θα ήθελα να ευχαριστήσω επίσης τον κ. Δημήτρη Κομιώτη για την ανάθεση της παρούσας εργασίας καθώς και για τη συμμετοχή του στην τριμελή επιτροπή. Τέλος θέλω να ευχαριστήσω όλα τα μέλη του εργαστηρίου για τη συνεργασία.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα διπλωματική εργασία είχε ως στόχο τη σύνθεση και βιολογική αποτίμηση νέων αλογοφαινυλο-πυρρολών. Αυτό επετεύχθη σε μία αντίδραση ενός σταδίου με την χρήση τριών αντιδραστηρίων. Τα αντιδραστήρια αυτά ήταν διαιθυλικό οξαλοξικό άλας, παράγωγα αμινών και παράγωγα αλδευδών. 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 primary aldehydes. 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	<u>Ετεροκυκλικές ενώσεις</u>	7
1.1	<u>Πυρρόλιο</u>	8
1.2	<u>Αμίνες</u>	10
1.3	<u>Πυρρολιδίνες</u>	11
1.3.1	<u>Vindesine</u>	13
1.3.2	<u>Piracetam</u>	13
1.3.3	<u>Clausenamide</u>	14
1.3.4	<u>Atorvastatin</u>	14
1.4	<u>Αντιδράσεις πολλών συστατικών (MCRs)</u>	17
2	<u>Σκοπός</u>	18
3	<u>Πειραματικές μέθοδοι</u>	19
3.1	<u>Microwave CEM</u>	19
3.2	<u>Κρυστάλλωση</u>	19
3.3	<u>Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC)</u>	20
3.4	<u>Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού</u>	22
4	<u>Πειραματικό μέρος</u>	24
4.1	<u>Σύνθεση του 3-υδροξυ-1-μεθυλο-2-οξο-5-(3-γλωροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού μεθυλεστέρα μέσω αντίδρασης τριών αντιδρώντων</u>	24
4.2	<u>Σύνθεση του 3-υδροξυ-1-αιθυλο-2-οξο-5-(3-γλωροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω αντίδρασης τριών αντιδρώντων</u>	25
4.3	<u>Σύνθεση του 3-υδροξυ-1-κυκλοπροπυλο-2-οξο-5-(3-γλωροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω αντίδρασης τριών αντιδρώντων</u>	26
4.4	<u>Σύνθεση του 3-υδροξυ-1κυκλοβουτυλο -2-οξο-5-(3-γλωροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω αντίδρασης τριών αντιδρώντων</u>	27
4.5	<u>Σύνθεση του 3-υδροξυ-1-βενζυλο-2-οξο-5-(3-γλωροφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω αντίδρασης τριών αντιδρώντων</u>	28
5	<u>Ταυτοποίηση με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR)</u>	29
6	<u>Αποτελέσματα-συζήτηση</u>	31
7	<u>Βιβλιογραφία</u>	32

1. Ετεροκυκλικές ενώσεις

Ετεροκυκλικές ονομάζονται οι κυκλικές χημικές ενώσεις των οποίων ο δακτύλιος περιέχει άτομα τουλάχιστον δύο διαφορετικών χημικών στοιχείων σύμφωνα με τον ορισμό της ΙΟΥΡΑΚ. (A. D. McNaught, A. Wilkinson, *IUPAC*, 1997). 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 ιδιαίτερη 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 θαλάσσιας 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.

1.1 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 , αν και παριστάνεται επίσης με τον κάπως πιο αναλυτικό ημισυντακτικό τύπο C_4H_4NH . (Loudon, Marc G. (2002). 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. Τα πυρρόλια είναι συστατικά στοιχεία πιο πολύπλοκων κυκλικών μακροκυκλικών ενώσεων όπως πορφυρίνες της αίμης, οι χλωρίνες (chlorins), οι βακτηριοχλωρίνες (*bacteriochlorins*), η χλωροφύλλη και τα πορφυρινογόνα. (Jonas Jusélius and Dage Sundholm (2000)). Το πυρρόλιο παράγεται βιομηχανικά με επίδραση αμμωνίας σε φουράνιο, παρουσία στερεών όξινων (κατά Lewis) καταλυτών, όπως το διοξείδιο του πυριτίου (SiO_2) και η αλουμίνα (Al_2O_3). (Albrecht Ludwig Harreus, 2002)

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 B_{12} , χολοχρωστικές όπως η βιλιρουβίνη και η βιλιβερδίνη, και οι πορφυρίνες της αίμης, οι χλωρίνες, οι βακτηριοχλωρίνες και τα πορφυρινογόνα.



Εικόνα 1.1: δομή πυρρολίου

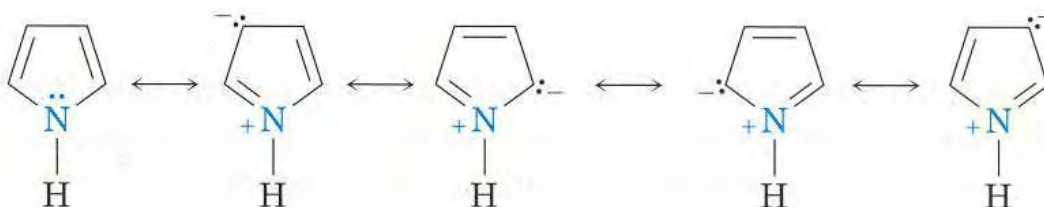
Πραγματοποιούνται αντιδράσεις αλογόνωσης, νίτρωσης, σουλφονίωσης και ακυλίωσης Friedel-Crafts.

Ηλεκτρονιόφιλη νίτρωση πυρρολίου :



Εικόνα 1.2: ηλεκτρονιόφιλη νίτρωση πυρρολίου

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



Εικόνα 1.3: Δομές συντονισμού πυρρολίου, κάθε δομή έχει 6 π ηλεκτρόνια σε ένα κυκλικό συζυγιακό σύστημα στο οποίο υπάρχει αλληλεπικάλυψη των τροχιακών p.

1.2 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. Αντίθετα όμως από άλλες οργανικές ενώσεις αναφέρεται στη συνδεσμολογία του ατόμου του αζώτου, και όχι του άνθρακα. (Αναστάσιου Βάρβογλη, 1991), (McMurry, John E., 1992). Η λειτουργική ομάδα των πρωτοταγών αμινών 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 αμινών 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.

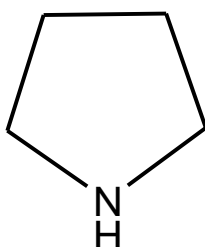
Πολλά συστατικά των τροφίμων είναι αμίνες. Η βιταμίνη B1 (θειαμίνη) είναι αρωματική πρωτοταγής αμίνη και ετεροκυκλική αμίνη. Η βιταμίνη B1 έχει

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.

1.3 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. Η ύπαρξη του ατόμου αζώτου προσδίδει στον πυρρολιδινικό δακτύλιο βασικό χαρακτήρα. Έχει χαρακτηριστική οσμή σπέρματος. (Journal of Chemical Ecology). Παράγεται βιομηχανικά με επίδραση της αμμωνίας σε 1,4- βουτανοδιόλη, συνήθως πάνω από ένα οξείδιο μετάλλου ως καταλύτη. (K. Eller, E. Henkes, R. Rossbacher, H. Höke, 2005).

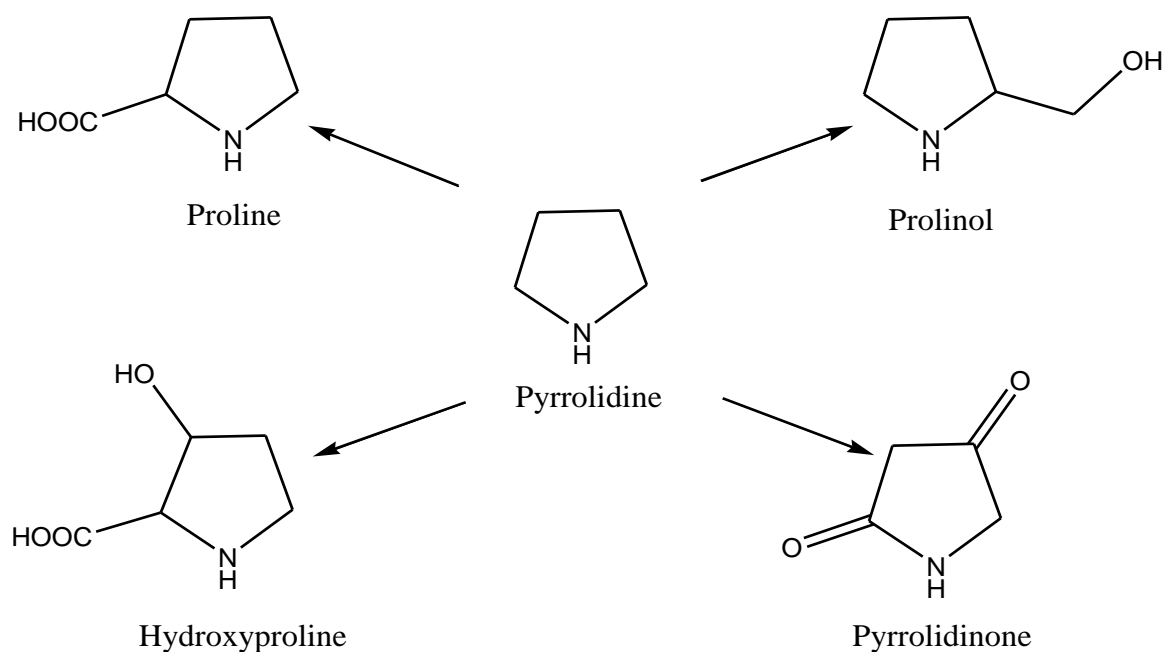
Η πυρρολιδίνη βρίσκεται στα φύλλα του καπνού και στα καρότα. Η δομή πυρρολιδινικού δακτυλίου είναι παρούσα σε πολλά φυσικά αλκαλοειδή, όπως η νικοτίνη και η υγρίνη. Βρίσκεται, επίσης, σε πολλά φαρμακευτικές δραστικές ουσίες, όπως η προκυκλιδίνη και η μπεπριδύλη.



Εικόνα 1.4 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. 1.5). Στο παρακάτω σχήμα απεικονίζονται η υδροξυπρολίνη, η πυρρολιδινόνη, η προλινόλη και η προλίνη.

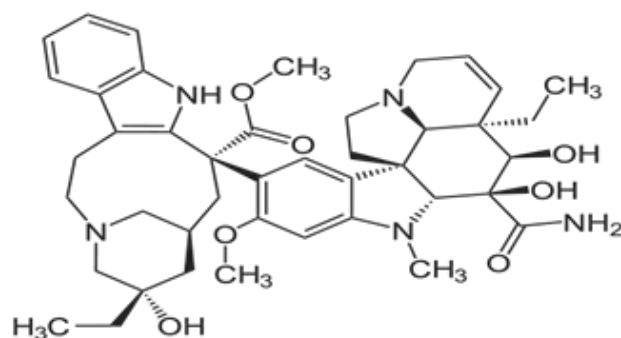


Εικόνα 1.5 Παραδείγματα ενώσεων με πυρρολιδινικό δακτύλιο

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 πिरακετάμη (piracetam), η κλοσεναμίδα (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).

1.3.1 Vindesine

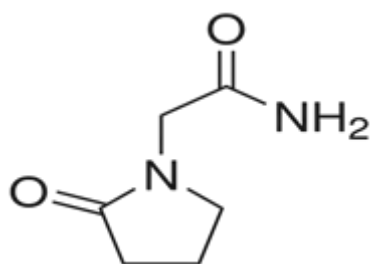
Λειτουργεί ως αναστολέας της μίτωσης και χρησιμοποιείται στην χημειοθεραπεία για την αντιμετώπιση πολλών μορφών καρκίνου όπως είναι η λευχαιμία, το λέμφωμα, το μελάνωμα, ο καρκίνος του μαστού και του πνεύμονα.



Εικόνα 1.6 Μοριακή δομή του Vindesine

1.3.2 Piracetam

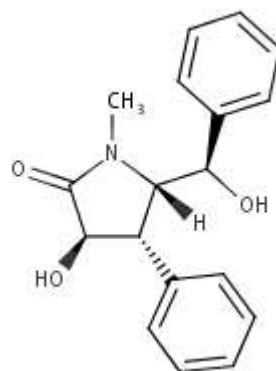
Εμφανίζει ιδιότητες ενίσχυσης της νόησης και χρησιμοποιείται για τη θεραπεία νευροεκφυλιστικών νοσημάτων όπως το Alzheimer.



Εικόνα 1.7 Μοριακή δομή του Piracetam

1.3.3 Clausenamide

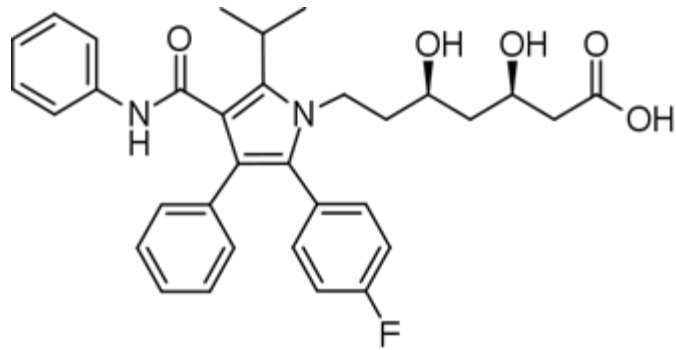
Παράγοντας προστασίας του ήπατος που χρησιμοποιείται συνήθως στην θεραπεία κατά της οξείας και χρόνιας ιογενούς ηπατίτιδας.



Εικόνα 1.8 Μοριακή δομή του Clausenamide

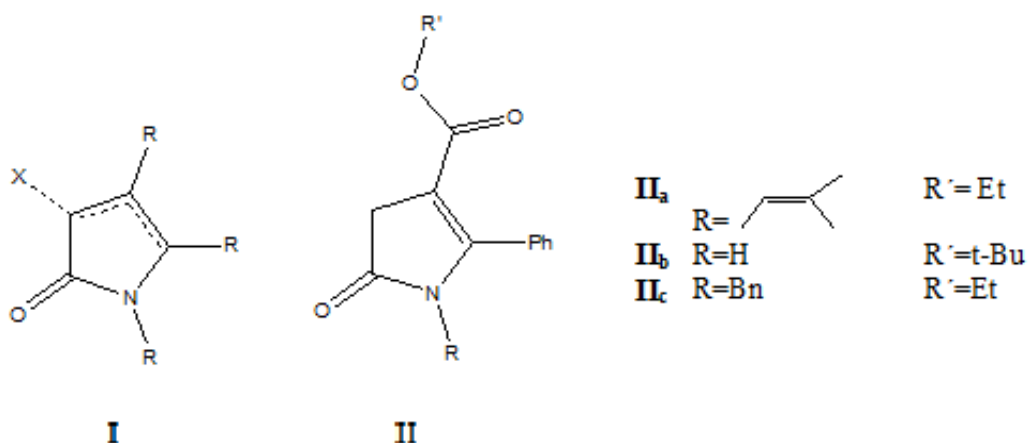
1.3.4 Atorvastatin

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



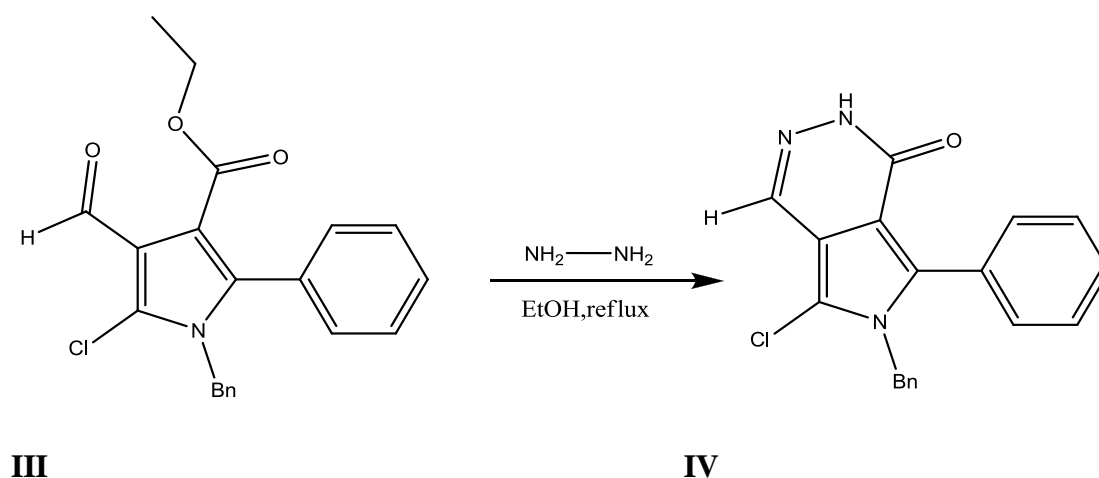
Εικόνα 1.9 Μοριακή δομή του Atorvastatin

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. 1.10 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. 1.10 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 (Deha en etal., 2006).



Εικόνα 1.10 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 1.11 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 (Deha en etal., 2006).

1.4 Αντιδράσεις πολλών συστατικών (MCRs)

Μια από τις μεγαλύτερες προκλήσεις στη σύγχρονη ανάπτυξη φαρμάκων, είναι ο σχεδιασμός μιας σειράς χημικών αντιδράσεων υψηλής απόδοσης, που επιτρέπει τη μεγιστοποίηση της δομικής πολυπλοκότητας και ποικιλομορφίας σε ελάχιστο αριθμό βημάτων κατά τη διαδικασία σύνθεσής τους. Έτσι, οι αντιδράσεις πολλών συστατικών (Multicomponentreactions - MCRs) γίνονται όλο και πιο δημοφιλείς στον τομέα της συνδυαστικής χημείας, εφόσον προσφέρουν τη δυνατότητα παραγωγής μεγάλης ποικιλίας μορίων σε ένα μόνο στάδιο. (Weber L. Drug Discov, 2002). Οι αντιδράσεις πολλών συστατικών 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, αλδεύδες, και νιτροαλκάνια μέσω ενός σιδήρου-καταλυόμενης MCR.

2. Σκοπός

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 πύρρολο ή κινολοξολικό ανάλογο.

Σκοπός αυτής της μελέτης είναι:

- Η σύνθεση της 2,3-διοξοπυρρολιδίνης μέσω μιας αντίδρασης ενός σταδίου τριών συστατικών(MCRs) 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 και η αντική τους δράση.

3 Πειραματικές μέθοδοι

3.1 *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

3.2 *Κρυστάλλωση*

Η κρυστάλλωση είναι μια διεργασία η χρήση της οποίας απαντάται σε όλες σχεδόν τις χημικές βιομηχανίες, είτε ως μέθοδος παραγωγής είτε ως μέθοδος καθαρισμού ή ανάκτησης στερεών. Εκτός από το γεγονός ότι είναι μια μέθοδος παραγωγής καθαρών στερεών από μη καθαρά διαλύματα, η κρυστάλλωση ως διεργασία έχει το πλεονέκτημα ότι τα τελικά προϊόντα είναι δυνατόν να σχεδιαστούν έτσι ώστε να

αποκτήσουν επιθυμητές ιδιότητες όπως είναι το σχήμα, το μέγεθος των σωματιδίων κ.ά., οι οποίες διευκολύνουν την παραπέρα χρήση τους. Η βιομηχανική χρήση της κρυστάλλωσης δεν περιορίζεται αναγκαστικά μόνο στην παραγωγή χημικά καθαρών υλικών με επιθυμητά μορφολογικά χαρακτηριστικά. Τα τελευταία χρόνια, η κρυστάλλωση χρησιμοποιείται και στον καθαρισμό υλικών που σε θερμοκρασία δωματίου είναι υγρά. Μεγάλη επίσης είναι η σημασία της κρυστάλλωσης τόσο στη φύση (πετρώματα, ορυκτά) όσο και στους ζωντανούς οργανισμούς (ανάπτυξη οστών, αρθρίτιδες). Η ανακάλυψη της τεράστιας σημασίας της κρυστάλλωσης των νόμων που τη διέπουν και των παραγόντων που την επηρεάζουν, καθυστέρησε αρκετά και για μεγάλο χρονικό διάστημα, η κρυστάλλωση αναφερόταν περισσότερο ως τέχνη παρά ως επιστήμη. Ο όρος κρυστάλλωση περιλαμβάνει μια σειρά διεργασιών το τελικό αποτέλεσμα των οποίων, είναι ο σχηματισμός μιας νέας φάσης μέσα σε ομογενές διάλυμα. Αναγκαία αλλά όχι ικανή συνθήκη για τον σχηματισμό της νέας φάσης είναι η ύπαρξη του υπερκορεσμού, μιας κατάστασης θερμοδυναμικά ασταθούς. Στην κατάσταση αυτή σε κάποια σημεία του διαλύματος τα μόρια της διαλυμένης ουσίας αρχίζουν να διατάσσονται με τρόπο χαρακτηριστικό της νέας φάσης. Σχηματίζεται έτσι μια νέα επιφάνεια, η οποία διαχωρίζει τα μόρια τα οποία έχουν τη δομή της νέας φάσης από τα υπόλοιπα. Οι πλειάδες αυτές δομικών μονάδων γνωστές και ως έμβρυα ή πυρήνες, (Mullin, 1972) είτε επαναδιαλύονται στο διάλυμα είτε, ξεπερνώντας ένα ενεργειακό φράγμα, αναπτύσσονται και δημιουργούν την νέα φάση. Οι διεργασίες που οδηγούν στον σχηματισμό της νέας φάσης (υπερκορεσμός, πυρηνογένεση, κρυσταλλική ανάπτυξη), πολλές φορές συμβαίνουν σχεδόν ταυτόχρονα καθιστώντας δύσκολη την επιμέρους μελέτη τους και αναγκαία την παράλληλη επεξεργασία τους.

3.3 Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC)

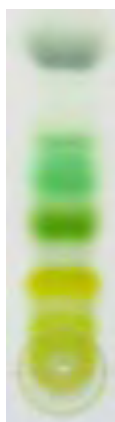
Η χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (Thin-layer chromatography ή TLC) είναι η τεχνική χρωματογραφίας που χρησιμοποιείται στον διαχωρισμό μη πτητικών μειγμάτων. (F. Geiss (1987) Ο έλεγχος των αντιδράσεων έγινε με τη χρήση επίπεδης χρωματογραφίας λεπτής στιβάδος (TLC). Κατά τη τεχνική αυτήν χρησιμοποιούνται πλάκες αλουμινίου επιστρωμένες με Silicagel (MerckKieseilel 60F24) πάχους 0.2 mm.

Το διάλυμα του υπό εξέταση δείγματος τοποθετείται υπό τη μορφή κηλίδας στην αρχή της πλάκας σε απόσταση περίπου 2 cm. Στη συνέχεια η πλάκα τοποθετείται όρθια εντός αεροστεγούς κορεσμένου με ατμούς διαλύτη θαλάμου. Ως διαλύτης χρησιμοποιείται σύστημα δύο διαλυτών μεταβλητής αναλογίας. Το ύψος της στάθμης του διαλύτη δεν πρέπει να καλύπτει τις κηλίδες της υπό εξέταση ουσίας, διότι υπάρχει κίνδυνος διάλυσης αυτών. Ακολούθως ο διαλύτης αφήνεται να ανέλθει με τη βοήθεια τριχοειδών φαινομένων μέχρι το μέτωπο του διαλύτη να φθάσει λίγα εκατοστά πριν το τέλος της πλάκας. Ύστερα, η πλάκα αποσύρεται και στεγνώνεται με ρεύμα αέρα. Οι διάφορες ουσίες που περιέχονται στο υπό εξέταση δείγμα μετακινούνται επί της πλάκας με διαφορετική ταχύτητα ανάλογα με την πολικότητα τους και εμφανίζονται με τη μορφή διακριτών κηλίδων. 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%.

Μια χρωματογραφία λεπτής στιβάδας απεικονίζεται στην εικόνα που δίνεται παρακάτω.



Εικόνα 11 Παράδειγμα χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας

3.4 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 υψίσυχων παλμών προς το δείγμα και κατά την αποδιέγερση λαμβάνεται το σήμα.

Βασικές παράμετροι φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού

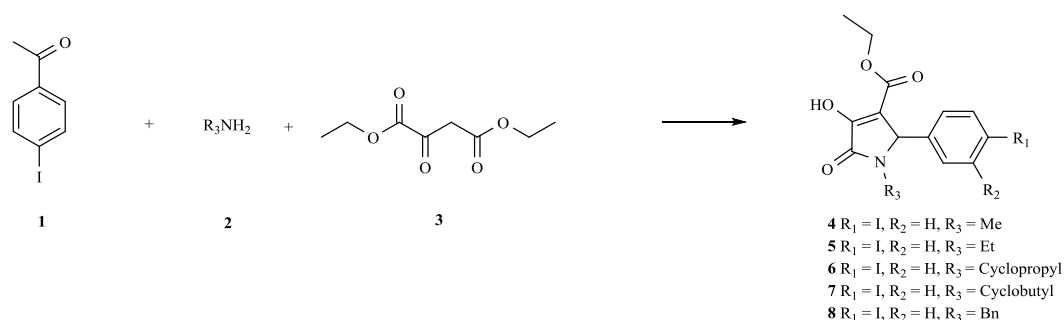
- Χημική μετατόπιση δ (Chemical shift)
- Σταθερά σύζευξης J (J coupling)

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 ($\delta=0$).

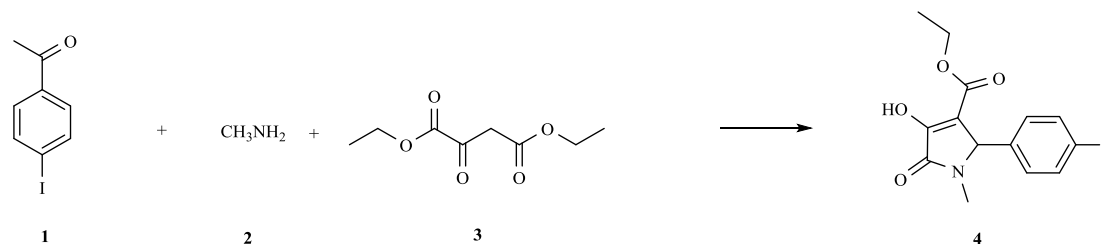
Χημική μετατόπιση $\delta = \nu_i / \nu_0$ (ν_i : συχνότητα συντονισμού του πυρήνα, ν_0 : συχνότητα του οργάνου)

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.

4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



4.1 Σύνθεση του 3-υδροξυ-1-μεθυλο-2-οξο-5-(4-ιώδοφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού μεθυλεστέρα μέσω αντίδρασης τριών αντιδρώντων.



Πρωτόκολλο:

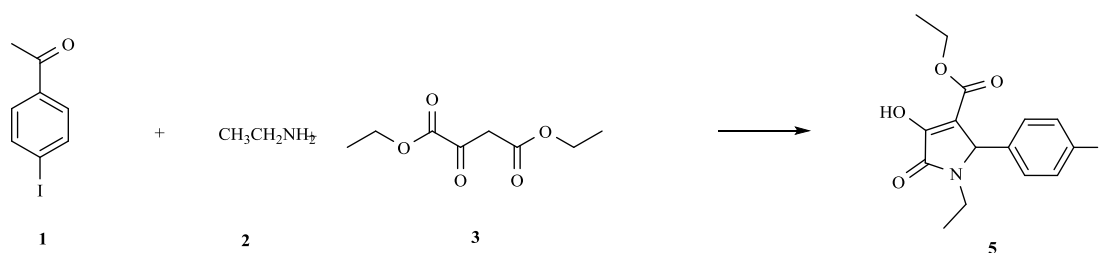
7.11 mmol 4-ιώδο-βενζαλδεΐδης απαιτούν : 7.11 mmol μεθυλαμίνης, 7.11mmol διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου και 25 ml αιθανόλη.

Πειραματική διαδικασία:

Σε σωληνάκι microwave CEM προστέθηκαν 4-ιώδο-βενζαλδεΐδη, μεθυλαμίνη, 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. Έπειτα τοποθετήθηκε το διάλυμα σε εσφυρισμένη σφαιρική φιάλη και συμπυκνώθηκε. Μετά πραγματοποιήθηκε κρυστάλλωση με τολουόλιο στον ελάχιστο δυνατό όγκο. Αφέθηκε 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%

4.2 Σύνθεση του 3-υδροξυ-1-αιθυλο-2-οξο-5-(4-ιώδοφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω αντίδρασης τριών αντιδρώντων



Πρωτόκολλο:

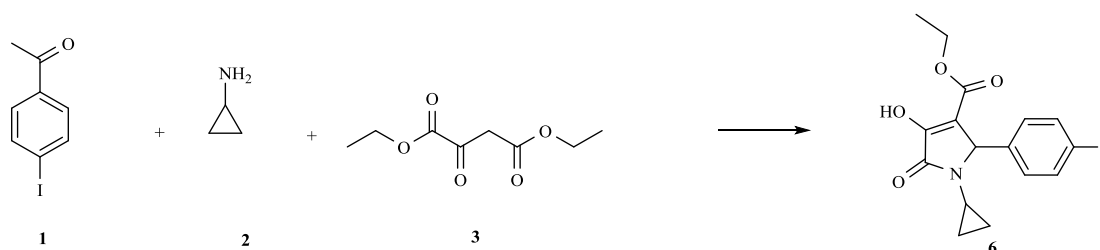
7.11 mmol 4-ιώδο-βενζαλδεΐδης απαιτούν : 7.11 mmol αιθυλαμίνης, 7.11 mmol διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου και 25 ml αιθανολη.

Πειραματική διαδικασία:

Σε σωληνάκι microwave CEM προστέθηκαν 4-ιώδο-βενζαλδεΐδη, 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. 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 διηθήθηκε υπό κενό και παραλήφθηκε υπό τη μορφή υποκίτρινου στερεού (m.p=144-146 °C).

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

4.3 Σύνθεση του 3-υδροξυ-1-κυκλοπροπυλο-2-οξο-5-(4-ιώδοφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω αντίδρασης τριών αντιδρώντων



Πρωτόκολλο:

7.11 mmol 4-ιώδο-βενζαλδεύδης απαιτούν : 7.11 mmol κυκλοπροπυλαμίνης, 7.11 mmol διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου και 25 ml αιθανόλη.

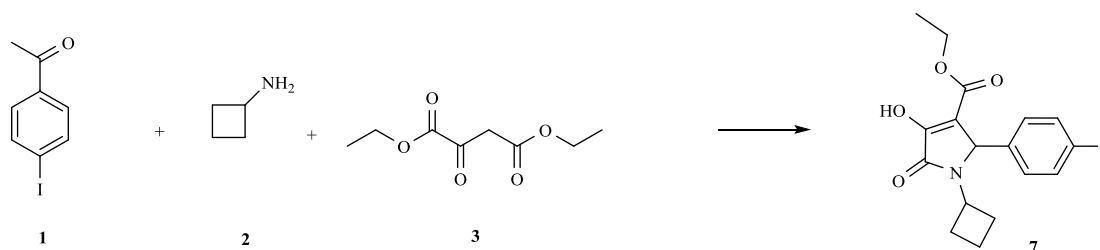
Πειραματική διαδικασία:

Σε σωληνάκι microwave CEM προστέθηκαν 4-ιώδο-βενζαλδεύδη, 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 40 σε 200Watt. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχθηκε με χρήση της μεθόδου TLC. 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 /0.5MeOH)	Rf =0,30
Απόδοση	α =69%

4.4 Σύνθεση του 3-υδροξυ-1-κυκλοβουτυλο-2-οξο-5-(4-ιώδοφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω αντίδρασης τριών αντιδρώντων



Πρωτόκολλο:

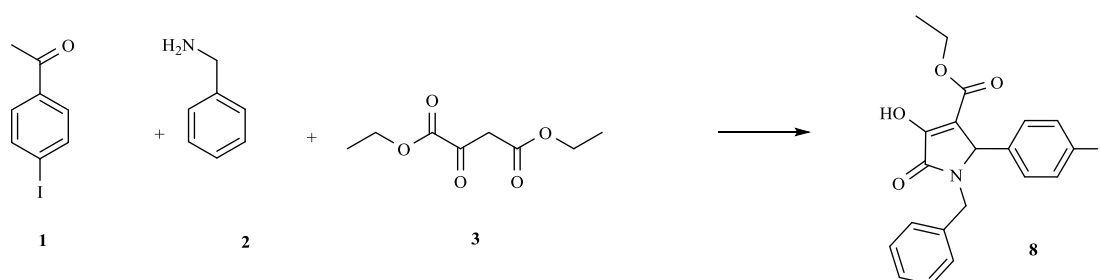
7.11 mmol 4-ιώδο-βενζαλδεΐδης απαιτούν : 7.11 mmol κυκλοβουτυλαμίνης 7.11 mmol διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου και 25 ml αιθανόλη.

Πειραματική διαδικασία:

Σε σωληνάκι microwave CEM προστέθηκαν 4-ιώδο-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. Έπειτα τοποθετήθηκε το διάλυμα σε εσμυρισμένη 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 διηθήθηκε 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%

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



Πρωτόκολλο:

7.11 mmol 4-ιώδο-βενζαλδεΐδης απαιτούν : 7.11 mmol βένζυλαμίνης, 7.11mmol διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου και 25 ml αιθανόλη.

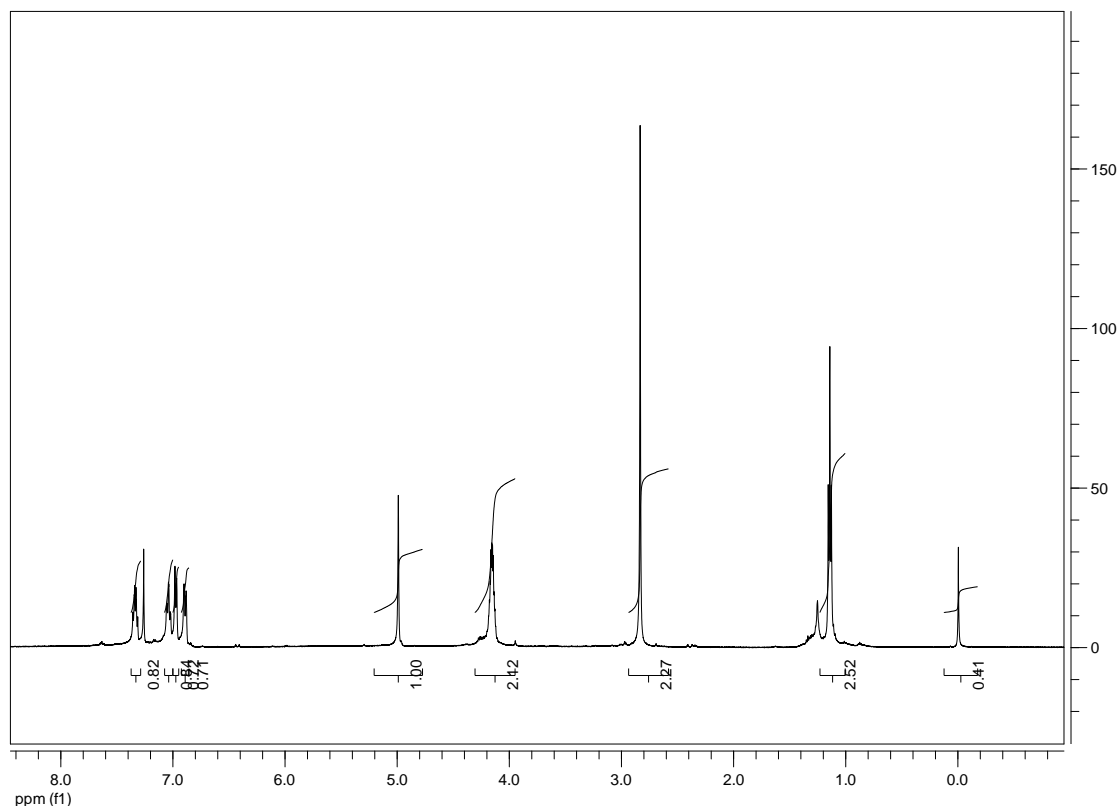
Πειραματική διαδικασία:

Σε σωληνάκι microwave CEM προστέθηκαν 4-ιώδο-βενζαλδεΐδη, βενζυλαμίνη, 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. Έπειτα τοποθετήθηκε το διάλυμα σε εσφυρισμένη σφαιρική φιάλη και συμπυκνώθηκε. Μετά πραγματοποιήθηκε κρυστάλλωση με τολουόλιο στον ελάχιστο δυνατό όγκο. Αφέθηκε 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).

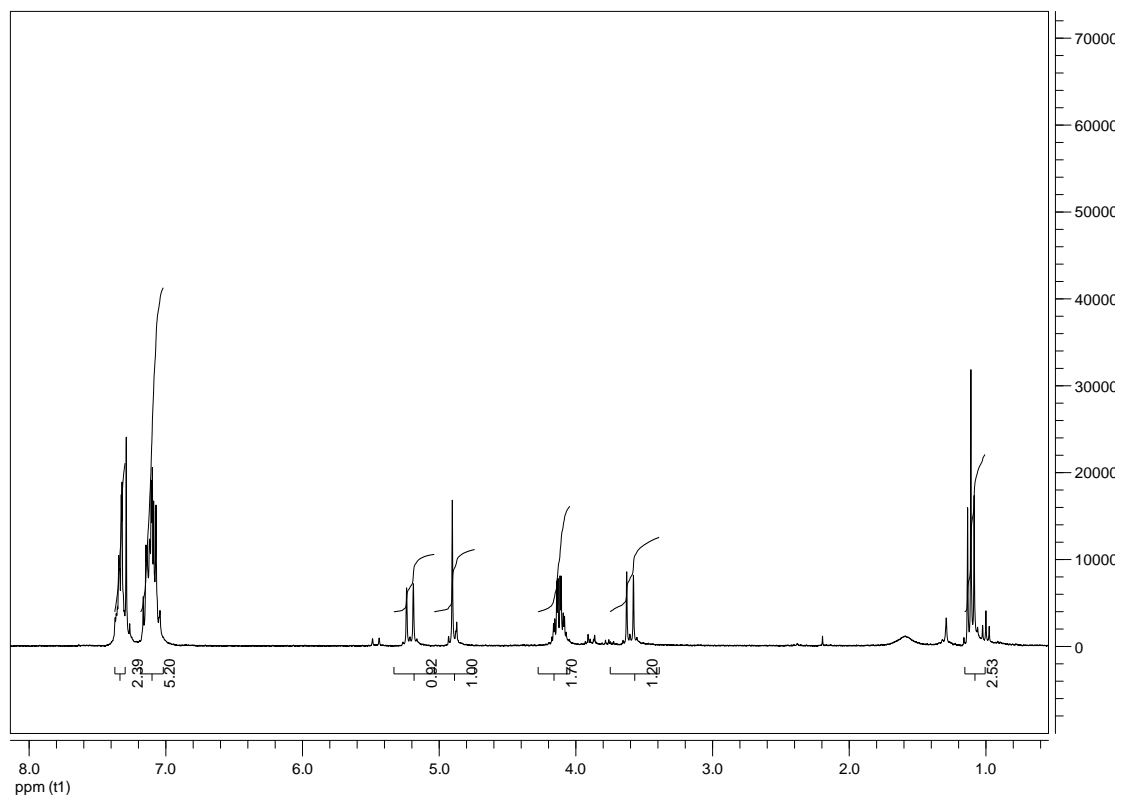
TLC (9.5CH ₂ Cl ₂ /0.5CH ₃ OH)	Rf = 0.30
Απόδοση	α = 67%

5. Ταυτοποίηση με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR)

A) NMR 3-υδροξυ-1-μεθυλο-2-οξο-5-(4-ιώδοφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού μεθυλεστέρα



B) NMR του 3-υδροξυ-1-βενζυλο-2-οξο-5-(4-ιώδοφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα



6. Αποτελέσματα-συζήτηση

Ένα σημαντικό πλεονέκτημα στη σύνθεση νέων αλογοφαινυλοπυρολλο παραγώγων σε μια αντίδραση πολλών συστατικών είναι ότι πραγματοποιήθηκε σε ένα μόνο στάδιο. Επίσης η μέθοδος θέρμανσης σε μικροκύματα αύξησε σημαντικά τις αποδόσεις παραγωγής των προϊόντων και μείωσε τον χρόνο αντίδρασης ως αποτέλεσμα την ταχύτατη παραλαβή των ενώσεων. Επιπλέον οι MCRs σε συνδυασμό με τη χρήση μικροκυμάτων αποτελούν μια οικολογική προσέγγιση στη σύνθεση βιοδραστικών μορίων.

Compound	EC ₅₀ * (μM)	Virus	Cells
4	76.5	Cytomegalovirus	HEL cells
5	46	Vesicular Stomatitis Virus	HEL cells
6	54	HSV-1 (TK ⁻ KOS ACV)	HEL cells
7	65	Vaccinia Virus	HEL cells
8	120	Vaccinia Virus	HEL cells

Αντική δράση των 4-8

Οι ενώσεις που συντέθηκαν στο εργαστήριο εξετάστηκαν για την αντιϊκή τους δράση. Για την εκτίμηση της αντιϊκής δράσης χρησιμοποιήθηκε η παράμετρος EC₅₀(effective concentration) η οποία αντιπροσωπεύει την συγκέντρωση του φαρμάκου που προκαλεί το 50% της μέγιστης απόκρισης. Ενδιαφέρον παρουσίασαν τα αποτελέσματα των ενώσεων. Βλέπουμε ότι οι ενώσεις παρουσιάζουν σημαντική αντιϊκή δράση με εξαίρεση την ένωση **8** που παρουσίασε μέτρια αντιϊκή δράση έναντι του Vaccinia Virus σε κυτταρική σειρά HEL σε σχέση με την ένωση **7** που ρασιάζει σημαντικότερη αντιϊκή δράση έναντι του ίδιου ιού στην ίδια κυτταρική σειρά.

7. Βιβλιογραφία

- A. D. McNaught, A. Wilkinson, *IUPAC. Compendium of Chemical Terminology*, 2η έκδοση, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1997. XML on-line corrected version: <http://goldbook.iupac.org> (2006-) created by M. Nic, J. Jirat, B. Kosata; updates compiled by A. Jenkins. [IUPAC Gold Book: heterocyclic compounds](#)
- Loudon, Marc G. (2002). "Chemistry of Naphthalene and the Aromatic Heterocycles.". *Organic Chemistry* (Fourth ed.). New York: Oxford University Press. pp. 1135–1136
- Jonas Jusélius and Dage Sundholm (2000). "The aromatic pathways of porphins, chlorins and bacteriochlorins". *Phys. Chem. Chem. Phys.* (Open access) 2 (10): 2145–2151. doi:10.1039/b000260g
- Albrecht Ludwig Harreus "Pyrrole" in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 2002, Wiley-VCH, Weinheim. doi:10.1002/14356007.a22_453
- John McMurry. *Οργανική Χημεία*, Τόμος II Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης
- Αναστάσιου Βάρβογλη, «Χημεία Οργανικών Ενώσεων», Παρατηρητής, Θεσσαλονίκη 1991, σελ. 115, §8.2
- McMurry, John E. (1992), *Organic Chemistry* (3rd ed.), Belmont: Wadsworth
- *Journal of Chemical Ecology* 1 (3): 299–310
- K. Eller, E. Henkes, R. Rossbacher, H. Höke (2005) στο *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH.
- Yaakob. I.U., Degree of Bachelor of Science(Hons.), 2009
- Dehaen W.; Metten B.; Kostermans M.; Van Baelen G. and Smet M., *Tetrahedron* 62 (2006) 6018–6028.
- Weber L. *Drug Discov.Today.* 7,143–147, (2002)
- Mullin J.M., 1972. «Crystallization», 2P ndP edition, Butterworths, London.
- F. Geiss (1987): *Fundamentals of thin layer chromatography planar chromatography*, Heidelberg, Hüthig
- Κωνσταντίνος Α. Τσολερίδης, *σημειώσεις φασματοσκοπίας NMR και μαζών*, 1996