



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

**Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών του τμήματος Βιοχημείας και  
Βιοτεχνολογίας**

**ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑ**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟ-ΟΡΓΑΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**“ΝΕΟΙ ΑΝΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ. ΣΥΝΘΕΣΗ, ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΗ  
ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΟΤΙΜΗΣΗ ΝΕΩΝ  
ΑΛΟΓΟΝΟΦΑΙΝΥΛΟΠΥΡΡΟΛΟ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ”**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΜΑΡΓΑΡΙΤΟΥΛΗ ΜΑΡΙΛΗ**

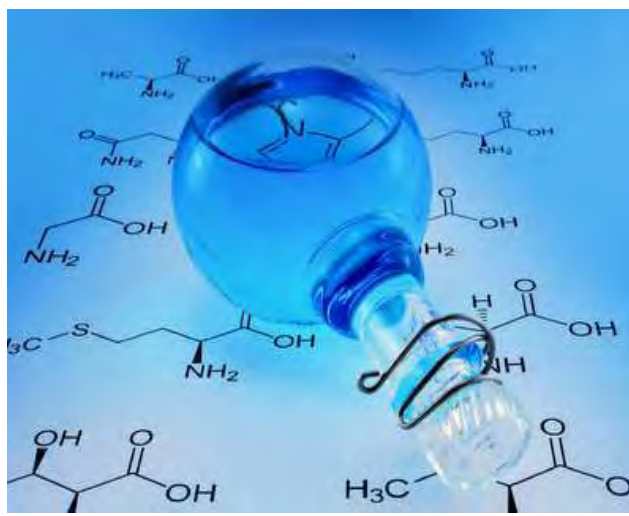
**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ :**

**Δρ ΚΟΜΙΩΤΗΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ**

**ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Π.Θ.**

**ΛΑΡΙΣΑ 2017**

**“ΝΕΟΙ ΑΝΤΙΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ. ΣΥΝΘΕΣΗ, ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΗ  
ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΟΤΙΜΗΣΗ ΝΕΩΝ  
ΑΛΟΓΟΝΟΦΑΙΝΥΛΟΠΥΡΡΟΛΟ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ”**



**“NOVEL ANTIVIRAL AGENTS. SYNTHESIS, PHASMATOSCOPIC  
AND BIOLOGICAL EVALUATION OF NOVEL  
HALOGENOPHENYLPYRROLO 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.

**Αμούτζιας Γρηγόριος** — Επίκουρος Καθηγητής Βιοπληροφορικής στη Γενωμική του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας υπό την επίβλεψη του καθηγητή Οργανικής Χημείας κ. Κομιώτη Δημήτριο την περίοδο 2016-2017.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά για την πολύτιμη βοήθεια τους, τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Κομιώτη Δημήτριο και τον υποψήφιο διδάκτορα κ. Κολλάτο Νικόλαο.

Τέλος ευχαριστώ όλα τα μέλη του εργαστηρίου για την θερμή υποδοχή τους και το ευχάριστο κλίμα συνεργασίας.

## **ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ**

<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b> .....	7
<b>ABSTRACT</b> .....	8
<b>1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b> .....	9
1.1 Πυρρολιδίνες.....	9
1.2 Παραδείγματα ενώσεων με πυρρολιδινικό δακτύλιο και βιολογική δράση.....	11
1.3 Αντιδράσεις πολλών συστατικών(MCRs).....	16
<b>2.ΣΚΟΠΟΣ</b> .....	18
<b>3.ΓΕΝΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ</b> .....	20
3.1 Θέρμανση με μικροκύματα.....	20
3.2 Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας(TLC).....	22
3.3 Χρωματογραφία στήλης.....	24
3.4 Εκχύλιση.....	27
3.5 Κρυστάλλωση.....	29
3.6 Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού(NMR).....	30
<b>4.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b> .....	32
4.1 Σύνθεση του 3-υδροξυ-1-μεθυλο-2-οξο-5-(3-ίωδοφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω αντίδρασης τριών αντιδρώντων.....	32
4.2 Σύνθεση του 3-υδροξυ-1-αιθυλο-2-οξο-5-(3-ίωδοφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω αντίδρασης τριών αντιδρώντων.....	33
4.3 Σύνθεση του 3-υδροξυ-1-κυκλοπροπυλο-2-οξο-5-(3-ίωδοφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω αντίδρασης τριών αντιδρώντων.....	34

4.4	Σύνθεση του 3-υδροξυ-1-κυκλοβούτυλο-2-οξο-5-(3-ιώδοφαινυλο)-2,5-διυδρο-1Η-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω αντίδρασης τριών αντιδρώντων.....	35
4.5	Σύνθεση του 3-υδροξυ-1-βενζυλο-2-οξο-5-(3-ιώδοφαινυλο)-2,5-διυδρο-1Η-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα μέσω αντίδρασης τριών αντιδρώντων.....	36
<b>5.</b>	<b>ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ (NMR).....</b>	<b>37</b>
<b>6.</b>	<b>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....</b>	<b>39</b>
<b>7.</b>	<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>42</b>

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ετεροκυκλικές ενώσεις, είναι οι κυκλικές χημικές ενώσεις των οποίων ο δακτύλιος περιέχει άτομα τουλάχιστον δύο διαφορετικών χημικών στοιχείων. Τα άτομα, τα οποία απαντώνται πιο συχνά σε ενώσεις βιοχημικές είναι N, O, S. Οι ετεροκυκλικές ενώσεις, κυριαρχούν στη σύγχρονη οργανική χημεία. Μία από τις πιο απλές ετεροκυκλικές ενώσεις είναι και το πυρρόλιο, εξαιτίας του ότι βρίσκεται σε μεγάλο αριθμό φυσικών και μη φυσικών ενώσεων με σημαντικές ιδιότητες τόσο για την φαρμακολογία όσο και για την επιστήμη υλικών. Σημαντική βιολογική δράση εμφανίζουν και τα πύρρολο παράγωγα, τα οποία είναι δομική μονάδα πολλών φυσικών και φαρμακευτικών προϊόντων, με μεγάλη σημασία στη Φαρμακολογία.

Η παρούσα διπλωματική εργασία είχε ως στόχο τη σύνθεση και βιολογική αποτίμηση νέων αλογονοφαινυλοπύρρολο παραγώγων. Αυτό επετεύχθη σε μία αντίδραση ενός σταδίου με την χρήση τριών αντιδραστηρίων ( ένα άλας, μία αμίνη και μία αλδεύδη). Τα αντιδραστήρια αυτά ήταν το διαιθυλικό οξαλοξικό άλας, μία αμίνη (μεθυλαμίνη, αιθυλαμίνη, κυκλοπροπυλαμίνη, κυκλοβουτυλαμίνη, βενζυλαμίνη) και 3-ιώδο-βενζαλδεΐδη σε αιθανόλη (διαλύτης). Όλες οι νεοσυντιθέμενες ενώσεις μελετήθηκαν ως προς την κυτταροτοξική και αντιϊκή τους δράση. Οι δομές όλων των προϊόντων ταυτοποιήθηκαν με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού ( $^1\text{HNMR}$ ).

## **ABSTRACT**

Heterocyclic compounds are cyclic compounds, whose ring contain atoms of at least two different chemical elements. The atoms that occur more often in biochemical compounds are N, O, S. The heterocyclic compounds dominate in modern organic chemistry. Among them, pyrrole is one of the most relevant simple heterocycles because of its presence in a large number of natural and unnatural compounds with important properties, both in pharmacology and in materials science. Pyrrole derivatives are structural units of many natural and pharmaceutical products, with high importance in pharmacology.

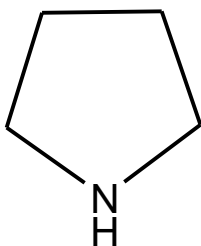
The main focus of the present thesis was the synthesis and biological evaluation of halogenophenylpyrrolo compounds. This was achieved in an one-step multi component reaction (MCR) using three reagents: diethyl oxalacetate, amine (methylamine, ethylamine, cyclopropylamine, cyclobutylamine and benzylamine) and one aldehyde 3-iodo 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  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy.



## 1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

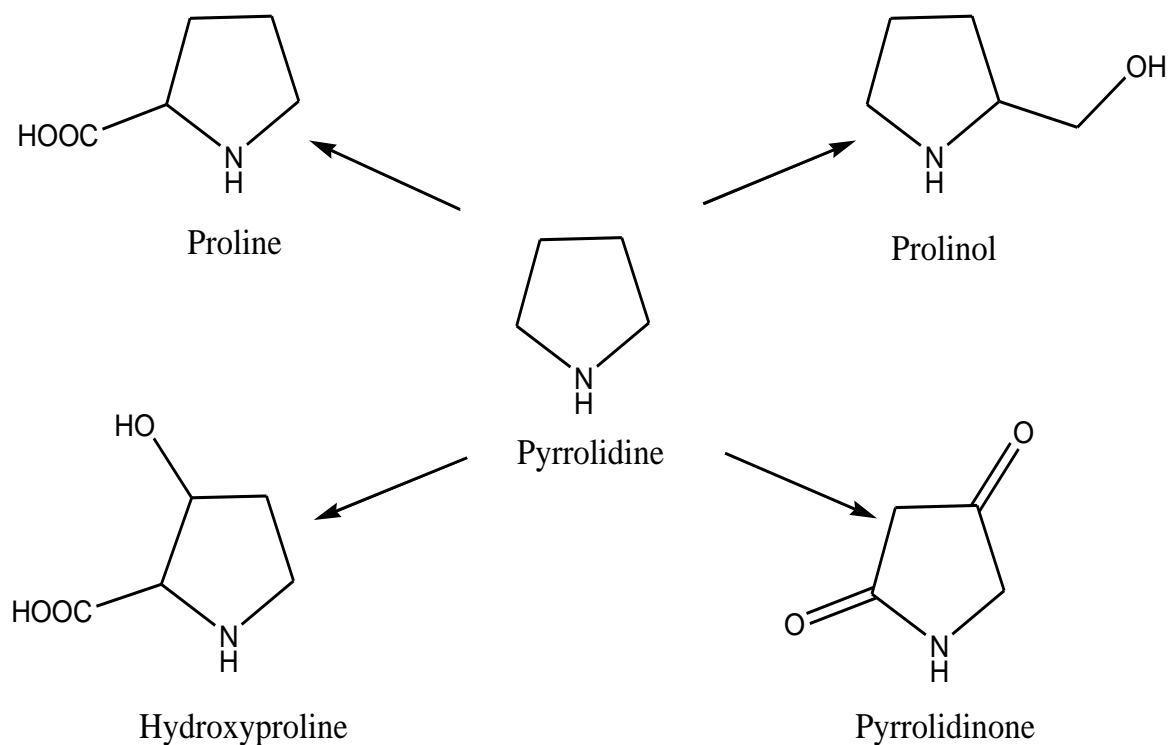
### 1.1 ΠΥΡΡΟΛΙΔΙΝΕΣ

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



**Εικόνα 1.1** Πυρρολιδινικός δακτύλιος

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



**Εικόνα 1.2** Παραδείγματα ενώσεων με πυρρολιδικό δακτύλιο

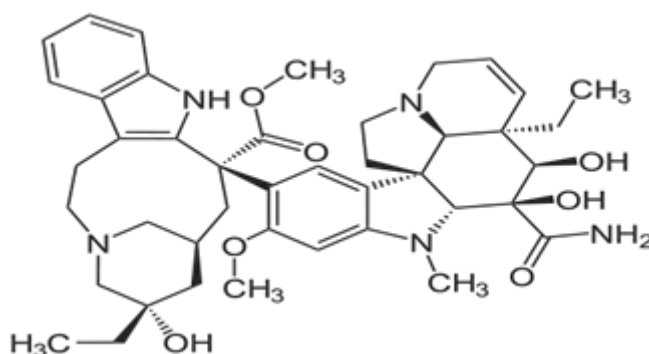
Πολλές ενώσεις με σημαντική βιολογική δράση που απαντώνται στη φύση φέρουν τον βασικό δακτύλιο της πυρρολιδίνης. Παραδείγματα τέτοιων ενώσεων αποτελούν οι vandesine, piracetam, clausenamide, atorvastatin, tolmetin, zomepirac και sunitinib για τις οποίες έχει αποδειχθεί ότι εμφανίζουν αντιμυτωτικές, αντιβακτηριακές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

## 1.2 ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑΤΑ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕ ΠΥΡΡΟΛΙΔΙΝΙΚΟ ΔΑΚΤΥΛΙΟ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

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

- **Vindesine**

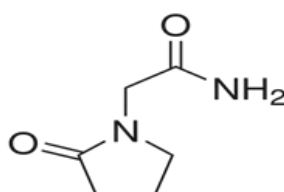
Λειτουργεί ως αναστολέας της μίτωσης και χρησιμοποιείται στην χημειοθεραπεία για την αντιμετώπιση πολλών μορφών καρκίνου όπως είναι η λευχαιμία, το λέμφωμα, το μελάνωμα, ο καρκίνος του μαστού και του πνεύμονα.



Εικόνα 1.3 Μοριακή δομή του Vindesine

- **Piracetam**

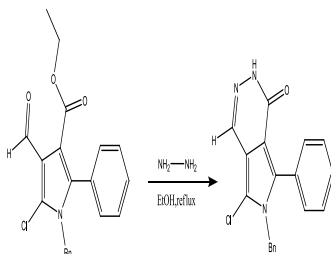
Εμφανίζει ιδιότητες ενίσχυσης της νόησης και χρησιμοποιείται για τη θεραπεία νευροεκφυλιστικών νοσημάτων όπως το Alzheimer.



Εικόνα 1.4 Μοριακή δομή του Piracetam

- **Clausenamide**

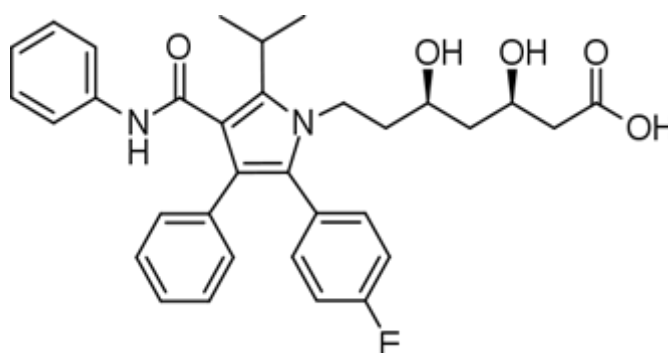
Παράγοντας προστασίας του ήπατος που χρησιμοποιείται συνήθως στην θεραπεία κατά της οξείας και χρόνιας ιογενούς ηπατίτιδας.



**Εικόνα 1.5** Μοριακή δομή του Clausenamide

- **Atorvastatin**

Ανήκει στην κατηγορία των αντιλιπιδαιμικών φαρμάκων. Χρησιμοποιείται για τη μείωση των επιπέδων χοληστερόλης στο αίμα και είναι αναστολέας της HMG-CoA αναγωγάσης, του ενζύμου που είναι υπεύθυνο για τη μετατροπή του 3-υδροξυ-3-μεθυλ-γλουταρυλ-συνενζύμου Α σε μεβαλονικό οξύ, πρόδρομη ουσία των στερολών, συμπεριλαμβανόμενης και της χοληστερόλης, εμποδίζοντας τη de novo σύνθεση χοληστερόλης στον οργανισμό.

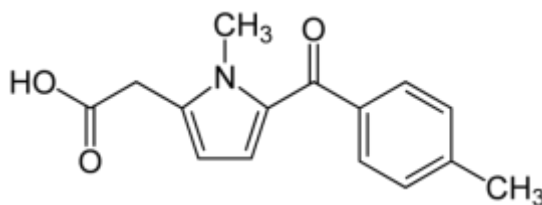


**Εικόνα 1.6** Μοριακή δομή του Atorvastatin

- **Tolmetin**

Ανήκει στα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα για την αντιμετώπιση της ρευματοειδούς αρθρίτιδας και της οστεοαρθρίτιδας. Είναι ένα φάρμακο με αναλγητικές, αντιφλεγμονώδεις και αντιπυρετικές δράσεις. Αν και ο ακριβής

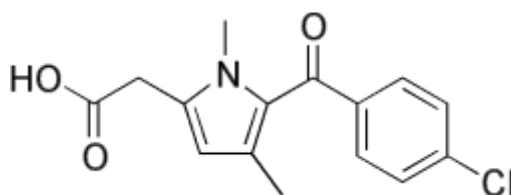
μηχανισμός δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί πλήρως, ο παράγοντας αυτός φαίνεται να αναστέλλει το ένζυμο "συνθάση προσταγλανδίνης". Αυτό εμποδίζει τον σχηματισμό προσταγλανδινών συμπεριλαμβανομένης της φλεγμονώδους προσταγλανδίνης PGE2.



Εικόνα 1.7 Μοριακή δομή του Tolmetin

- **Zomepirac**

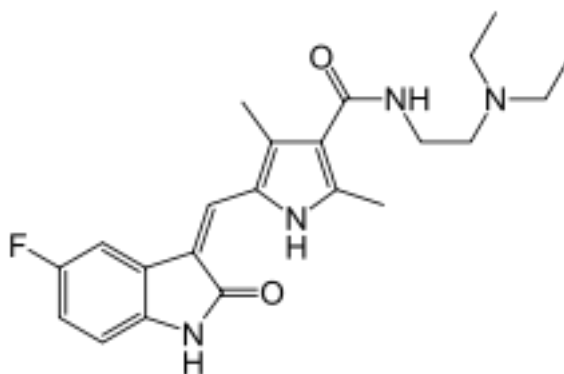
Ανήκει στα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα για την αντιμετώπιση της ρευματοειδούς αρθρίτιδας. Εκτός από τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες έχει αναλγητική, αντιπυρετική και αντιαιμοπεταλιακή δράση παρεμποδίζοντας τη συνθάση των προσταγλανδινών αναστέλλοντας την κυκλοοξυγονάση (COX), το ένζυμο που μετατρέπει το αραχιδονικό οξύ σε κυκλικά ενδοπεροξείδια, προδρόμους προσταγλανδινών. Στην αναστολή της σύνθεσης των προσταγλανδινών οφείλει τις αναλγητικές, αντιπυρετικές και ανασταλτικές δράσεις της συσσωμάτωσης των αιμοπεταλίων, άλλοι μηχανισμοί μπορεί να συμβάλλουν στις αντιφλεγμονώδεις επιδράσεις τους.



Εικόνα 1.8 Μοριακή δομή του Zomepirac

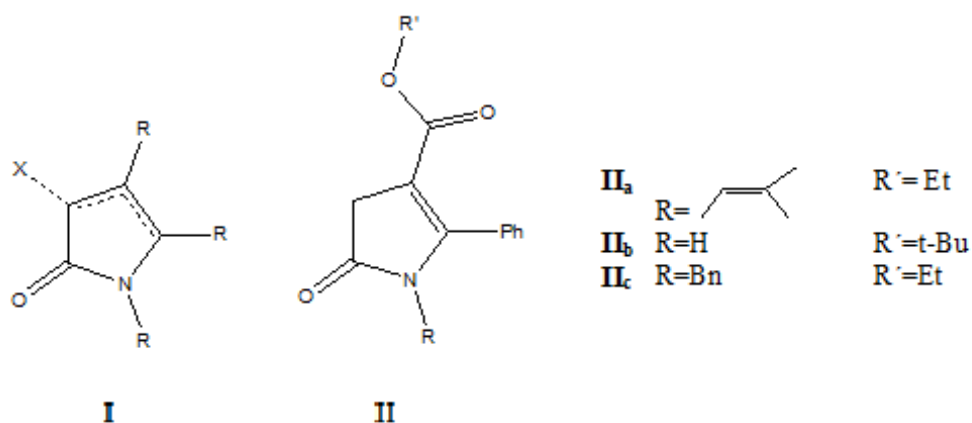
- **Sunitinib**

Η σουνιτινίμπη (sunitinib) αναστέλλει πολλαπλούς υποδοχείς τυροσινικών κινασών (RTKs-Receptor Tyrosine Kinase) που εμπλέκονται στην αύξηση του όγκου, τη νεοαγγειογένεση και τη μεταστατική εξέλιξη του καρκίνου. Ανήκει στα αντινεοπλασματικά φάρμακα.



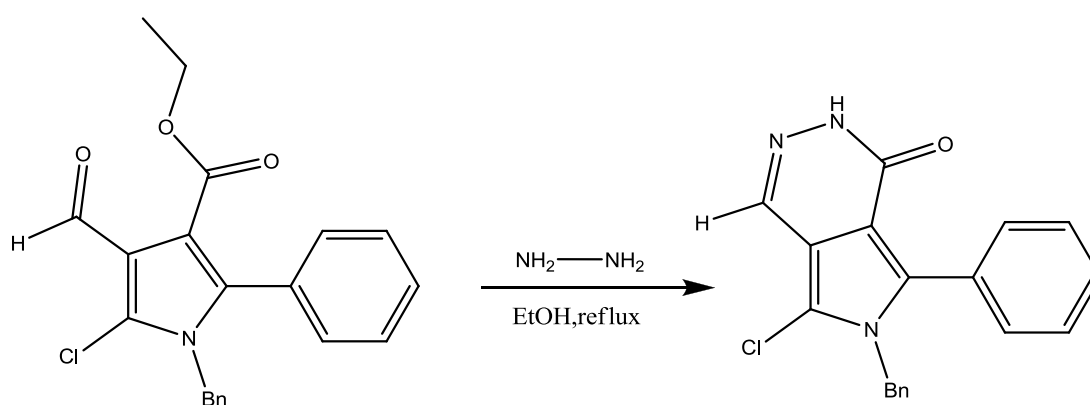
**Εικόνα 1.9** Μοριακή δομή του Sunitinib

Εκτός των παραπάνω φυσικών παραγώγων, άλλα ανάλογα που φέρουν στη δομή τους τον πυρρολιδινικό δακτύλιο, διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο τόσο για τη σύνθεση νέων θεραπευτικών ενώσεων όσο και για την αξιολόγηση αντικαρκινική τους δράση. Συγκεκριμένα, οι 2-οξοπυρρόλες **I** (Εικ. 1.10) χρησιμοποιούνται ευρέως και αποτελούν τη βασική δομή σε πολλά φάρμακα, συμπεριλαμβανομένων και προϊόντων που έχουν ενεργή δράση ενάντια σε ιικές μολυσματικές ασθένειες (HIV, γρίπη), αντικαρκινικούς παράγοντες και προϊόντα που δρουν ενάντια σε ασθένειες μικροβιολογικής φύσεως (είτε βακτηριακής, είτε μυκητιακής). Επιπλέον, οι 2-οξοπυρρόλες είναι γνωστές ως θεμέλιοι λίθοι για τη σύνθεση των αλκαλοειδών, καθώς και προϊόντων όπως οι 2,2'-διπυρρόλες, οι τετραπυρρόλες και κάποιες χρωστικές. Πέρα από τις πολύ γνωστές 5-αλκυλο-2-οξοπυρρόλες, που πρωτοαναφέρθηκαν το 1890 από τον Emery, στην βιβλιογραφία έχει γίνει ελάχιστη αναφορά στα 5-αρυλο-2-πυρρολο παράγωγα **II** (Εικ. 1.10). Οι 5-αρυλο-2-οξοπυρρόλες χρησιμοποιήθηκαν ως πρώτη ύλη για τη σύνθεση δικετοπυρρολοπυρρολών ως πιθανοί μη νουκλεοζιτικοί αναστολείς της αντίστροφης μεταγραφάσης (NNRTIs), με φθορίζουσα ικανότητα (Dehaen et al., 2006).



**Εικόνα 1.10** 2-οξοπυρρόλες **I** και 5-αρυλο-2-οξοπυρρόλες **II**

Στο σημείο αυτό είναι άξιο λόγου να αναφερθεί η δημιουργία παραγώγων του 2-οξοπυρρολίου με αλδεΐδες, διαζωνικά άλατα, ενεργούς εστέρες και διθειάνθρακα με στόχο τη σύνθεση νέων ενώσεων. Επίσης, η χλωροφορμυλίωση του **IIc** παρείχε τις πυρρολο-καρβαλδεΐδες **III** (Σχ. 1.1). Ένας μεγάλος αριθμός πυρρολο-καρβαλδεΐδών χρησιμοποιήθηκε για τη σύνθεση πολυκυκλικών ενώσεων. Για παράδειγμα, οι πυρρολο [3,4-d] πυριδαζιόνες **IV** απομονώθηκαν με σύντηξη αλδεΐδικού και εστερικού δακτυλίου του **III** μέσω υδραζίνης (Σχ. 1.1).



### **IIIIV**

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

Συνεπώς, αποδείχθη ότι οι οξοπυρρόλες και τα ανάλογά τους αποτελούν ενδιαφέροντες και πολύπλευρους δομικούς λίθους στη Συνθετική Οργανική Χημεία. Επίσης πολλές από αυτές

τις ενώσεις απεδείχθησαν νέα ενδιάμεσα στη σύνθεση πολυυποκατεστημένων πυρρολίων (Dehaen et al., 2006).

### **1.3 ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΠΟΛΛΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ (MCRs)**

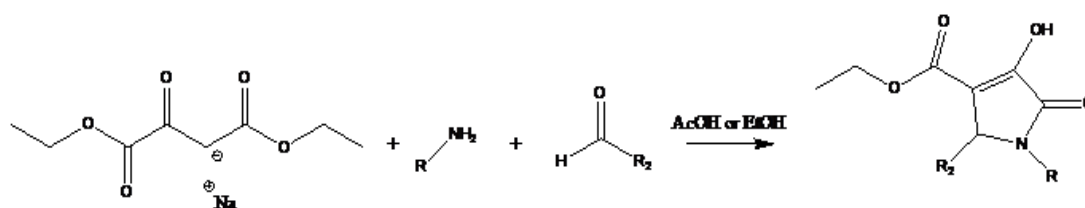
Οι αντιδράσεις πολλών συστατικών (Multi-Component-Reactions - MCRs) μπορούν να οριστούν ως συγκλίνουσες χημικές διαδικασίες όπου τρία ή περισσότερα αντιδραστήρια συνδυάζονται με τέτοιο τρόπο έτσι ώστε το τελικό προϊόν διατηρεί σημαντικά τμήματα όλων των αρχικών συστατικών. Ως εκ τούτου, οδηγούν στη σύνδεση τριών ή περισσότερων αρχικών υλικών σε ένα ενιαίο μόριο σύνθεσης με υψηλή ατομική οικονομία και αποτελεσματικότητα σχηματισμού δεσμών, αυξάνοντας έτσι τη μοριακή ποικιλομορφία και πολυπλοκότητα με έναν γρήγορο και συχνά απλό πειραματικά 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. Σε συνδυασμό με την τεχνολογία των Μικροκυμάτων (Microwave-MW) που προσδίδει πολλές χημικές αντιδράσεις με χαρακτηριστικά όπως αυξημένα ποσοστά αντίδρασης, υψηλότερες αποδόσεις από καθαρά προϊόντα, καλύτερη επιλεκτικότητα, ευκολία χειρισμού, ταχεία βελτιστοποίηση των αντιδράσεων και αρκετά προς το περιβάλλον πλεονεκτήματα. Το επίτευγμα της σύζευξης πολλαπλών συστατικών σε μία αντίδραση σε συνδυασμό με την τεχνολογία των μικροκυμάτων προάγει την διατήρηση της συνθετικής προσέγγισης για την ανάπτυξη καινοτόμων διαφοροποιημένων ετεροκυκλικών ικριωμάτων σε μία διαδικασία ανακάλυψης φαρμάκων.

Μία από τις πιο σχετικά απλές ετεροκυκλικές ενώσεις είναι το Πυρρόλιο (κεφάλαιο 1), λόγω της παρουσίας του σε μεγάλο αριθμό φυσικών και μη φυσικών ενώσεων με σημαντικές ιδιότητες τόσο στη φαρμακολογία όσο και στην επιστήμη των υλικών. Οι Πυρρολιδίνες (κεφ.1) είναι και αυτή μία πολύ χρήσιμη υποκατηγορία του σκελετού των πυρρολίων, αφού έχει αναφερθεί μία ποικιλία συνθετικών φαρμακευτικών και φυσικών τοξινών που περιέχουν αυτό το δομικό μοτίβο (cocaine, Iepadiformine, Iapidilectine). Δεδομένο ότι οι αντιδράσεις πολλών συστατικών (MCRs) συχνά δημιουργούν ολοκληρωμένα και σύνθετα μοριακά προϊόντα σε ένα μοναδικό βήμα σύνθεσης, είναι περισσότερο αποδεκτό η περιγραφή αυτής της σύγχρονης συνθετικής διεργασίας ως "Σύνθεση πολλών συστατικών



με μικροκύματα'' (Microwave Multi component Synthesis MMS). Έτσι και κατά τη παρούσα πειραματική διαδικασία ισομοριακές ποσότητες από τρία αντιδραστήρια (ένα άλας, μία αρωματική αλδεύδη και μία πρωτοταγή αμίνη) και με τη μέθοδο θέρμανσης με μικροκύματα οδήγησαν στη σύνθεση ενός ενιαίου μορίου που όλα τα αντιδρώντα είναι ενσωματωμένα στο τελικό προϊόν (one-pot multi component reaction) (σχήμα 3.1).

Οι καλές αποδόσεις, ο πιο σύντομος χρόνος αντίδρασης και η εύκολη επεξεργασία είναι τα κύρια πλεονεκτήματα αυτού του πράσινου πρωτοκόλλου.



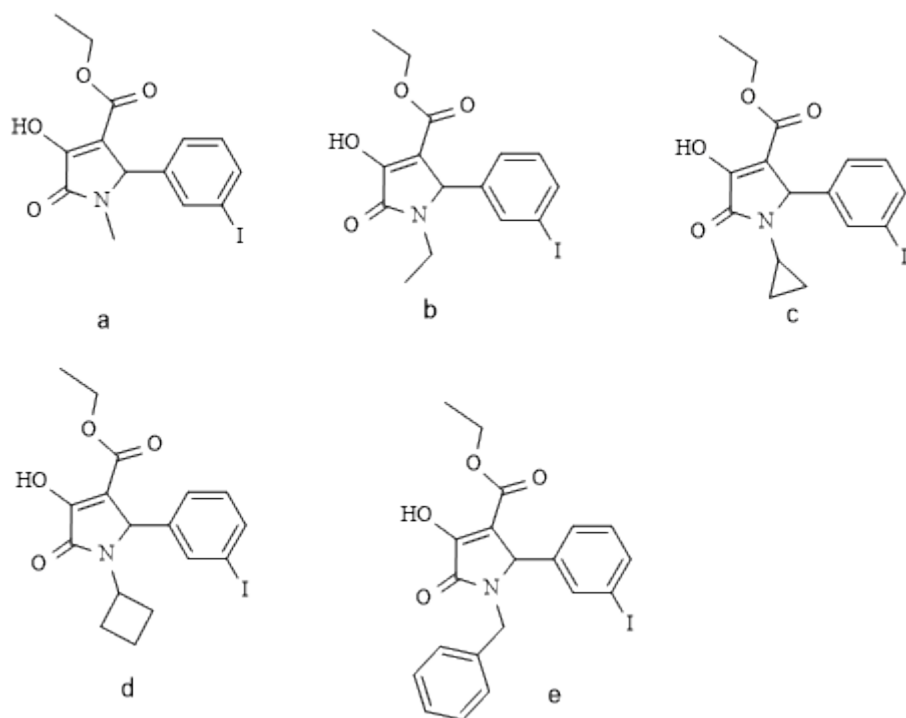
Σχήμα 1.2 Μηχανισμός της αντίδρασης Mannich

## 2.ΣΚΟΠΟΣ

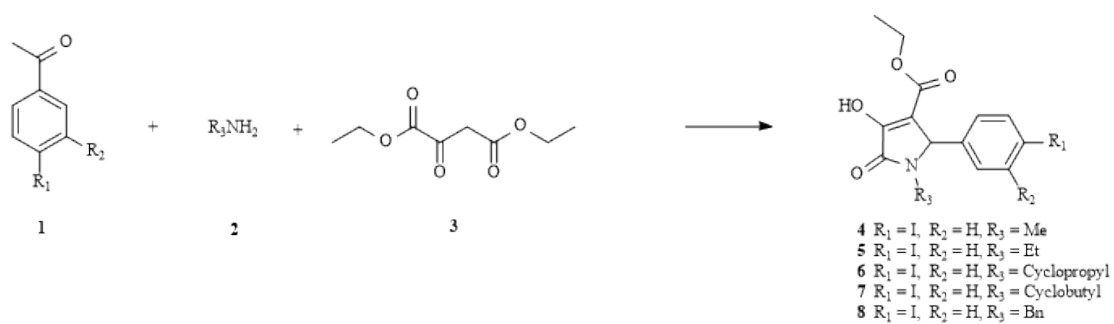
Η ανάγκη για την εύρεση νέων χημειοθεραπευτικών ουσιών, με αυξημένη βιολογική δράση, ελαττωμένη τοξικότητα και λιγότερες ανοσοκατασταλτικές παρενέργειες καθώς και η ραγδαία και συνεχής ανάπτυξη της φαρμακευτικής χημείας επέτρεψε τη μελέτη, τη σύνθεση και την προώθηση στην αγορά, πληθώρας φαρμάκων που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

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η χρήση του διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος, της 3-ιώδοβενζαλδεΐδης και 5 διαφορετικών παραγώγων αμινών με μια "αντίδραση πολλών συστατικών" (MCRs) για την σύνθεση των παρακάτω:

- a) 3-υδροξυ-1-μεθυλο-2-οξο-5-(3-ιώδοφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα(εικόνα 2.1 a)
- b) 3-υδροξυ-1-αιθυλο-2-οξο-5-(3-ιώδοφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα (εικόνα 2.1 b)
- c) 3-υδροξυ-1-κυκλοπροπυλο -2-οξο-5-(3- ίωδοφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα (εικόνα 2.1c)
- d) 3-υδροξυ-1-κυκλοβουτυλο -2-οξο-5-(3- ίωδοφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα (εικόνα 2.1d)
- e) 3-υδροξυ-1-βενζυλο-2-οξο-5-(3-ιώδοφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα (εικόνα 2.1e)



**Εικόνα 2.1**



**Εικόνα 2.2**

### 3.ΓΕΝΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

#### 3.1 ΘΕΡΜΑΝΣΗ ΜΕ ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΑ (MICROWAVE DIELECTRIC HEATING)

Η οργανική σύνθεση με τη βοήθεια της ενέργειας των μικροκυμάτων αποτελεί μία τεχνική με διαρκώς επεκτεινόμενες εφαρμογές στην οργανική και φαρμακευτική χημεία. Σήμερα χρησιμοποιείται ευρύτατα γιατί δίνει υψηλές αποδόσεις υπό ηπιότερες και πιο φιλικές προς το περιβάλλον συνθήκες, συχνά χωρίς τη χρήση διαλυτών, άλλοτε με ανακύκλωση τους, αλλά και με μικρότερη κατανάλωση ενέργειας. Έρευνες έχουν δείξει ότι με τη χρήση μικροκυμάτων στην οργανική σύνθεση επιτυγχάνονται :

- Μείωση του χρόνου αντίδρασης(από ημέρες, ώρες σε λεπτά, δευτερόλεπτα).
- Αύξηση αποδόσεων παραγωγής των προϊόντων.
- Παραγωγή καθαρότερων προϊόντων μέσω της μείωσης των ανεπιθύμητων παράπλευρων αντιδράσεων σε σχέση με τις συμβατικές μεθόδους θέρμανσης.
- Ηλεκτρονική παρακολούθηση της αντίδρασης(“on-line reaction monitoring”).
- Ομοιόμορφη θέρμανση σε όλο το μίγμα της αντίδρασης.

Η θέρμανση με τη χρήση μικροκυμάτων χρησιμοποιεί τη δυνατότητα ορισμένων υλικών (διαλύτες, αντιδραστήρια) να απορροφήσουν την ενέργεια των μικροκυμάτων και να την μετατρέψουν σε θερμότητα ώστε να ξεκινήσει η χημική αντίδραση. Τα μικροκύματα είναι ένα είδος ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας, της οποίας τα όρια συχνοτήτων κυμαίνονται από 300 - 300,000 MHz και αντιστοιχούν σε μήκη κύματος από 1 cm - 1m. Η ενέργεια των μικροκυμάτων, αποτελείται από ένα ηλεκτρικό και ένα μαγνητικό πεδίο. Όσον αφορά την παραγωγή θερμότητας, μόνο το ηλεκτρικό πεδίο μεταφέρει θερμότητα με τελικό στόχο τη θέρμανση, ενώ οι αλληλεπιδράσεις του μαγνητικού πεδίου δεν αποτελούν σημαντικό παράγοντα. Όσον αφορά την κίνησή τους, είναι αυτή του φωτός (300,000 km/h) και η κβαντική τους ενέργεια 0,037 kcal / mol είναι πολύ χαμηλή σε σχέση με την ενέργεια που τυπικά απαιτείται για να σπάσουν οι μοριακοί δεσμοί (80 - 120 kcal / mol). Επομένως τα μικροκύματα δεν μπορούν να επιδράσουν στη δομή των μορίων. Ο σχηματισμός ή η καταστροφή των χημικών δεσμών με μικροκύματα επιτυγχάνεται ολοκληρωτικά μέσω της μεταφοράς κινητικής ενέργειας. Στη σύνθεση με μικροκύματα χρησιμοποιούνται δοχεία αντίδρασης κατασκευασμένα από κατάλληλο διαπερατό στην μικροκυματική ακτινοβολία υλικό. Πραγματοποιούνται αντιδράσεις σε κλειστά δοχεία και σε ανοιχτά υπό ατμοσφαιρική πίεση. Τα κλειστά δοχεία μένουν σφραγισμένα σε όλη τη διάρκεια της

διαδικασίας και επιτρέπουν τη χρήση υψηλών πιέσεων και θερμοκρασιών. Τα ανοιχτά δοχεία χρησιμοποιούνται για αντιδράσεις που πραγματοποιούνται σε θερμοκρασία ίση ή μικρότερη από το σημείο βρασμού των αντιδραστηρίων σε ατμοσφαιρική πίεση. Εφόσον δεν γίνεται να ξεπεραστεί το σημείο βρασμού, προκειμένου να επιτευχθούν υψηλές αποδόσεις, χρησιμοποιούνται διαλύτες με υψηλά σημεία βρασμού. Κατά την εφαρμογή της μεθόδου είναι απαραίτητη η ρύθμιση και ο έλεγχος κάποιων βασικών παραμέτρων: ισχύς/χρόνος, πίεση, θερμοκρασία. Μια από τις πιο σημαντικές ομάδες αντιδράσεων που υποβοηθούνται με μικροκύματα είναι η σύνθεση των πυρρολών. Έτσι η τεχνική ακτινοβόλησης με μικροκύματα, μία εναλλακτική μέθοδος θέρμανσης και τρόπος εισαγωγής ενέργειας σε ένα σύστημα συντέλεσε στην ανάπτυξη της Πράσινης Χημείας, ένα είδος χημικής επανάστασης για την προστασία του περιβάλλοντος.



**ΕΙΚΟΝΑ 3.1** CEM Microwave. Αντιδραστήρας με αυτόματο συλλέκτη δειγμάτων

### **3.2 ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΛΕΠΤΗΣ ΣΤΟΙΒΑΔΑΣ (TLC: Thin Layer Chromatography)**

Ο έλεγχος των αντιδράσεων έγινε με τη χρήση επίπεδης χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδος (TLC). Κατά τη τεχνική αυτήν χρησιμοποιήθηκαν πλάκες αλουμινίου επιστρωμένες με Silica gel (Merck Kieselgel 60F24) πάχους 0.2 mm.

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.

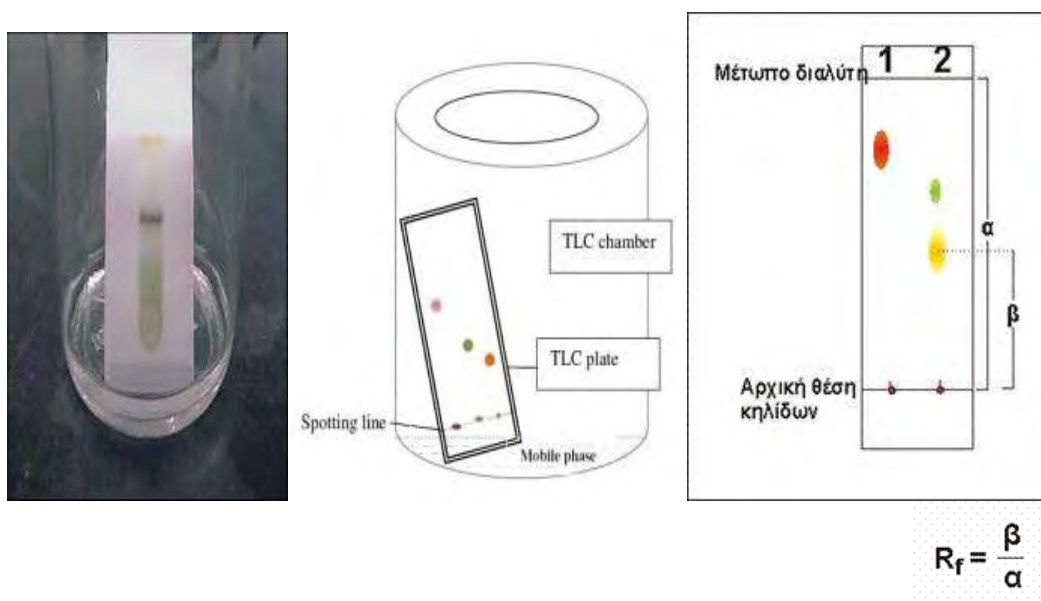
Με βάση τη διανυθείσα απόσταση κάθε μορίου στη στατική φάση πραγματοποιείται και ο προσδιορισμός του συντελεστή κατακράτησης  $R_f$ , που ορίζεται από το λόγο: απόσταση που

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  $H_2SO_4$  (θειικού οξέος) 30%.

Μια χρωματογραφία λεπτής στιβάδας απεικονίζεται στην εικόνα 3.2 που δίνεται παρακάτω.



**ΕΙΚΟΝΑ 3.2** Παράδειγμα ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ ΛΕΠΤΗΣ ΣΤΟΙΒΑΔΑΣ και προσδιορισμός ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗ  $R_f$

### **3.3 ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΣΤΗΛΗΣ**

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.

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 (flash chromatography) σε silica gel (240-400, Merck grade).

Γενικά η χρωματογραφία στήλης είναι μια τεχνική διαχωρισμού που βασίζεται στην προσρόφηση των συστατικών ενός δείγματος πάνω σε μια ακίνητη φάση, συνήθως silica gel ή alumina (υλικό προσρόφησης) και την έκλυση τους με μια κινητή φάση, που είναι ένας διαλύτης ή μείγμα διαλυτών. Η εκλογή του κατάλληλου υλικού που χρησιμοποιείται για την πλήρωση της στήλης εξαρτάται από το είδος της χρωματογραφικής μεθόδου που θα εφαρμοστεί, π.χ χρωματογραφία προσρόφησης, χρωματογραφία ανταλλαγής ιόντων, χρωματογραφία πηκτής (μοριακού αποκλεισμού). Δηλαδή βασίζεται στην κατανομή των ουσιών του μείγματος μεταξύ δύο φάσεων, μίας κινητής και μίας στατικής, που πρακτικά δεν αναμειγνύονται. 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 έκλυση των ουσιών από τη silica gel χρειάζεται να γίνει έκλυση της στήλης με διάφορους διαλύτες αρχίζοντας με τους λιγότερο πολικούς και καταλήγοντας στους περισσότερο πολικούς: **Εξάνιο<κυκλοεξάνιο< βενζόλιο<τολουόλιο<διαιθυλαιθέρας<χλωροφόρμιο<οξικόςαιθυλεστέρας<διχλωρομεθάνιο<βουτανόλη<ακετόνη<αιθανόλη<μεθανόλη<ακετονιτρίλιο<νερό**. Η συμπεριφορά μιας ουσίας πάνω στη στήλη μπορεί να διαπιστωθεί με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC) πάνω σε silicagel έτσι ώστε να βρεθεί ο κατάλληλος διαλύτης ή μείγμα διαλυτών για την στήλη.

Στη χρωματογραφία στήλης κανονικής φάσης η στατική φάση τοποθετείται σε μια στήλη κατασκευασμένη από αδρανές υλικό ( ύαλος, πηκτή πυριτίας, ανοξείδωτος χάλυβας). Το



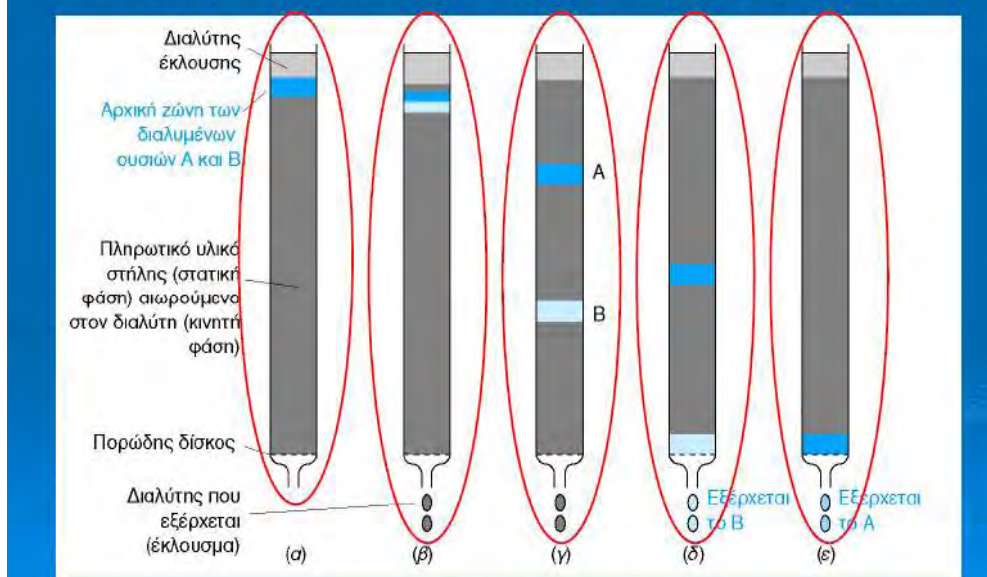
δείγμα τοποθετείται στην αρχή (κορυφή) της στήλης και η κινητή φάση διέρχεται εξαναγκασμένα μέσω της στατικής φάσης με την εφαρμογή πίεσης σε αυτήν ή λόγω της βαρύτητας. Τα συστατικά του δείγματος μετακινούνται κατά μήκος της στήλης με διαφορετικές ταχύτητες εξαρτώμενες από την συγγένεια των συστατικών ως προς την στατική φάση όπως φαίνεται και παρακάτω στην εικόνα 3.3. Εξέλιξη της χρωματογραφίας στήλης είναι η χρωματογραφία υψηλής πίεσης ή απόδοσης HPLC (High Performance Liquid Chromatography) η οποία είναι ταχύτερη, παρέχει αποτελέσματα σε μερικά λεπτά και επειδή χρησιμοποιούνται λεπτόκοκκα υλικά προσρόφησης (λίγα μικρόμετρα) έχει μεγάλη ικανότητα διαχωρισμού.

#### Εφαρμογή:

- 1) Στο κάτω άκρο της στήλης τοποθετείται υαλοβάμβακας □
- 2) Τοποθετείται στη στήλη το υλικό προσρόφησης (silica gel)-στατική φάση
- 3) Διαβιβάζεται η κινητή φάση-διαλύτης/μείγμα διαλυτών. Ο διαλύτης όπως ρέει προς τα κάτω εκκλύει το δείγμα
- 4) Οι ουσίες διαχωρίζονται κατά μήκος της στήλης λόγω διαφορετικής προσρόφησης κατά σειρά μειούμενης έντασης προσρόφησης (ανάπτυξη) □
- 5) Παραλαβή των διαχωριζόμενων ουσιών (έκλυση)

# Χρωματογραφία

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



**ΕΙΚΟΝΑ 3.3** Παράδειγμα ουσιών που διαχωρίζονται με χρωματογραφία στήλης. Η ουσία (B) εξέρχεται πρώτη λόγω μικρότερης συγγένειας με τη στατική φάση

Η σίλικα είναι ένα πολικό προσροφητικό υλικό, οπότε οι πολικές ενώσεις συγκρατούνται ισχυρά (ουσία A) και εκλούνται μετά από τα λιγότερο πολικά συστατικά, τα οποία κινούνται πιο γρήγορα με μη πολικούς διαλύτες.

### 3.4 ΕΚΧΥΛΙΣΗ

Η εκχύλιση είναι μία από τις παλαιότερες “χημικές” διεργασίες του ανθρώπου. Η παρασκευή ενός αφεψήματος (καφές, τσάι), η παραλαβή ενός αρώματος, μιας χρωστικής ή μιας φαρμακευτικής ουσίας από μία φυτική ύλη είναι κατά βάση αρχέγονες διαδικασίες εκχύλισης, όπου το επιθυμητό συστατικό με τη χρήση θερμού νερού μεταφέρεται από τη φυτική πρώτη ύλη στην υδατική φάση.

Η εκχύλιση είναι εργαστηριακή τεχνική κατάλληλη για την απομόνωση ουσιών από διαλύματα ή στερεά μίγματα, για διαχωρισμό ουσιών όπως και για την απομάκρυνση ανεπιθύμητων προσμίξεων (έκπλυση). Βασίζεται στο νόμο κατανομής, που λέει ότι όταν σε ένα σύστημα δύο υγρών που δεν αναμιγνύονται, προστεθεί μία ουσία διαλυτή και στα δύο υγρά, τότε η ουσία αυτή κατανέμεται μεταξύ των δύο, έτσι ώστε ο λόγος των συγκεντρώσεων της ουσίας στους δύο διαλύτες, στην ισορροπία, να είναι σταθερός σε σταθερή θερμοκρασία. Εκφράζεται με τη σχέση:  $K = C_1 / C_2$ , όπου  $C_1$  και  $C_2$ , οι συγκεντρώσεις της ουσίας στους δύο διαλύτες, δηλαδή τις δύο στοιβάδες που σχηματίζονται. Η σταθερά  $K$  λέγεται συντελεστής κατανομής.

Βασικό σημείο στην εκχύλιση είναι η εκλογή του κατάλληλου διαλύτη. Ένας καλός διαλύτης για εκχύλιση πρέπει να έχει μικρή διαλυτότητα στην άλλη φάση, χαμηλό σημείο ζέσεως για να απομακρύνεται εύκολα, και την ικανότητα να διαλύει τις προσμίξεις και όχι την ουσία. Η εκχύλιση γίνεται μέσα στη διαχωριστική χοάνη όπου τα δύο υγρά ανακατεύονται με ισχυρή ανάδευση, αφήνονται για λίγο σε ηρεμία και διαχωρίζονται. Ο συνολικός όγκος περιεχομένου της διαχωριστικής δεν πρέπει να ξεπερνά τα  $\frac{3}{4}$  της χοάνης. Μετά την ανατάραξη ανοίγουμε προσεκτικά τη στρόφιγγα (με κατεύθυνση του ρύγχους της χοάνης προς τα πάνω) για να ελαττωθεί η πίεση που αναπτύσσεται μέσα στη χοάνη. Η πίεση αυτή οφείλεται στο γεγονός ότι στην τάση ατμών του νερού προστέθηκε και η τάση ατμών του διαλύτη (εκχυλιστικό υγρό). Μετά την εκτέλεση του αριθμού των εκχυλίσεων που κρίνεται αναγκαίος κάθε φορά, συγκεντρώνονται τα εκχυλίσματα της στιβάδας που περιέχει την ουσία σε στεγνή κωνική φιάλη και ξηραίνονται. Τα ξηραντικά μέσα είναι συνήθως ανόργανα άλατα που συγκρατούν το νερό σαν κρυσταλλικό ύδωρ. Η ξήρανση γίνεται με προσθήκη μικρής ποσότητας ξηραντικού στο διάλυμα ή στην ουσία που θέλουμε να ξηράνουμε, ανακίνηση της φιάλης και παραμονή για 2-12 ώρες. Ανάλογα με τη φύση των προς ξήρανση ουσιών χρησιμοποιείται το κατάλληλο ξηραντικό. Ένα καλό ξηραντικό πρέπει να μην αντιδρά με την ουσία που θα ξηράνει, να ξηραίνει γρήγορα και σχεδόν ποσοτικά, να μην διαλύεται πολύ στο νερό, να μην έχει καταλυτική επίδραση (δηλαδή να

μην προκαλεί πολυμερισμό, συμπύκνωση ή αυτοξείδωση). Τα σπουδαιότερα ξηραντικά που χρησιμοποιούνται είναι το άνυδρο  $\text{CaCl}_2$ , και το άνυδρο  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Μετά την ξήρανση το ξηραντικό απομακρύνεται με απλή διήθηση και τέλος απομακρύνεται ο διαλύτης με απλή απόσταξη ή με περιστροφική εξάτμιση υπό κενό.



**ΕΙΚΟΝΑ 3.4** Απλή εκχύλιση ενός αφεψήματος (αριστερή εικ.) και η εκχύλιση στο εργαστήριο με διαχωριστική χωάνη (δεξιά εικ.)

### **3.5 ΚΡΥΣΤΑΛΛΩΣΗ**

Η συνηθέστερη μέθοδος καθαρισμού ή ανάκτησης στερεών σωμάτων είναι η **κρυστάλλωση**, μέσω της οποίας μία ουσία μεταβαίνει από την υγρή ή άμορφη κατάσταση στην κρυσταλλική κατάσταση. Ανάλογο ενδιαφέρον παρουσιάζει και η **ανακρυστάλλωση**, δηλαδή η εκ νέου κρυστάλλωση ουσίας ήδη κρυσταλλικής. Κατ' αρχήν επιλέγεται ο κατάλληλος διαλύτης, θερμαίνεται και διαλύεται σε αυτόν η προς καθαρισμό ουσία και το προκύπτον διάλυμα αφήνεται να ψυχθεί βραδέως. Κατ' αυτόν τον τρόπο η προς καθαρισμό ουσία αποβάλλεται σε κρυσταλλική μορφή και παραλαμβάνεται με διήθηση του διαλύματος. Οι προσμίξεις τις οποίες περιέχει η προς καθαρισμό ουσία απομακρύνονται είτε διότι είναι αδιάλυτοι ή δυσδιάλυτοι στον χρησιμοποιούμενο διαλύτη, οπότε απομακρύνονται εξ αρχής από το θερμό διάλυμα με διήθηση, είτε διότι είναι πολύ ευδιάλυτοι σε αυτόν και παραμένουν στο διάλυμα, το ατμόλοιπο μετά την αποβολή του κρυσταλλικού σώματος. Για να επιτύχει μία κρυστάλλωση πρέπει αφενός η κρυσταλλούμενη ουσία να μην αντιδρά με το διαλυτικό μέσο, αφετέρου η διαλυτότητα της ουσίας να είναι μεγάλη σε υψηλή θερμοκρασία και μικρή σε χαμηλή. Ο διαλύτης πρέπει να είναι χημικά καθαρός και να επιλέγεται με βάση τον πιθανό χημικό τύπο της προς κρυστάλλωση ουσίας. Σαν διαλύτες χρησιμοποιούνται το νερό, οι αλκοόλες, ο αιθέρας, ο πετρελαϊκός αιθέρας, το οξικό οξύ, το βενζόλιο, το τολουόλιο, το χλωροφόρμιο κ.α. Η διεργασία της κρυστάλλωσης βασίζεται στην κατάσταση του υπερκορεσμού, δηλαδή μέσα στο διάλυμα βρίσκεται διαλυμένη περισσότερη ουσία από εκείνη που προβλέπει η μακροχρόνια ισορροπία μεταξύ στερεής και υγρής φάσης και η οποία αντιστοιχεί στη διαλυτότητα της ουσίας στις συγκεκριμένες συνθήκες θερμοκρασίας και πίεσης.

Τα κριτήρια ποιότητας του τελικού προϊόντος είναι:

- ✓ Η υψηλή καθαρότητα του
- ✓ Η εμφάνιση του
- ✓ Το μέγεθος και η ομοιομορφία των κρυστάλλων
- ✓ Η απουσία συσσωματωμάτων

Τα πλεονεκτήματα της διεργασίας είναι η παραγωγή προϊόντος με υψηλή καθαρότητα από ένα αρχικό διάλυμα, που να περιέχει πολλές ανεπιθύμητες ουσίες. Από ενεργειακή πλευρά πλεονεκτεί έναντι της απόσταξης διότι μπορεί να γίνει σε ήπιες συνθήκες θερμοκρασίας και πίεσης.

### **3.6 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ (NMR)**

Η Φασματοσκοπία γενικά, είναι μία τεχνική ανάλυσης της δομής των μορίων, η οποία συνήθως βασίζεται σε διαφορές του τρόπου με τον οποίο αυτά απορροφούν την ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία. Αν και υπάρχουν πολλοί τύποι φασματοσκοπίας, στην Οργανική Χημεία χρησιμοποιούνται περισσότερο τέσσερις: η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR), η φασματοσκοπία υπερύθρου (IR), η φασματοσκοπία υπεριώδους (UV) και η (βασιζόμενη σε διαφορετικές αρχές) φασματομετρία μάζας (MS). (Κωνσταντίνος Α. Τσολερίδης, σημειώσεις φασματοσκοπίας NMR και μαζών, 1996).

Η **φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR)** αποτελεί την πρώτη και χρησιμότερη φασματοσκοπική τεχνική προσδιορισμού της δομής των μορίων καθώς παρέχει ένα χάρτη του ανθρακικού σκελετού μαζί με τα υδρογόνα σε ένα οργανικό μόριο. Στη φασματοσκοπία NMR μελετάται η αλληλεπίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας με την ύλη, για την μελέτη των χημικών, φυσικών και βιολογικών ιδιοτήτων της. Το NMR φάσμα του  $^1\text{H}$  ή  $^{13}\text{C}$  ή και τα δύο, αποτελούν βασικά στοιχεία για την ταυτοποίηση της ένωσης. Η φασματοσκοπία NMR βρίσκει εφαρμογές σε πολλούς επιστημονικούς κλάδους, όπως στην Συνθετική Οργανική Χημεία για τη μελέτη της δομής χημικών ενώσεων, στον προσδιορισμό καθαρότητας, στον έλεγχο ταυτοποίησης, στον σχεδιασμό φαρμάκων για τη μελέτη της σχέσης δομής-δραστηριότητας, στον προσδιορισμό της τρισδιάστατης δομής για τη μελέτη της δομής πολυπλοκότερων μορίων, για παράδειγμα πρωτεΐνες, DNA, RNA, πολυσακχαρίτες, σύμπλοκα πρωτεΐνη/DNA, πρωτεΐνη/RNA καθώς και στην Ιατρική (Μαγνητική Τομογραφία-MRI).

Η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού βασίζεται στις διεγέρσεις πυρήνων που βρίσκονται σε ισχυρό ομογενές μαγνητικό πεδίο, οι οποίες προκαλούνται από ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία στην περιοχή ραδιοσυχνοτήτων. Αυτά που παρουσιάζουν μεγαλύτερο ενδιαφέρον είναι το  $^1\text{H}$  και  $^{13}\text{C}$ , καθώς αποτελούν τα κύρια συστατικά των περισσότερων οργανικών ενώσεων. Επειδή οι ατομικοί πυρήνες έχουν φορτίο και αυτοπεριστρέφονται γύρω από τον πυρηνικό τους άξονα, δημιουργούν ένα μαγνητικό δίπολο, που έχει μαγνητική ροπή  $\mu$ , κατά μήκος αυτού του άξονα. Η χαμηλή ενεργειακή κατάσταση ονομάζεται  $\alpha$  - spin, ενώ η ασταθής υψηλή ενεργειακή κατάσταση χαρακτηρίζεται  $\beta$  - spin. Όσο μεγαλύτερη είναι η ένταση του εξωτερικού μαγνητικού πεδίου, τόσο μεγαλύτερη είναι και η διαφορά ενέργειας μεταξύ της  $\alpha$  - spin και  $\beta$  - spin κατάστασης. Ένας πυρήνας βρίσκεται σε συντονισμό όταν απορροφά ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία με ενέργεια ίση με τη διαφορά ενέργειας μεταξύ τη  $\alpha$  - spin και  $\beta$  - spin

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

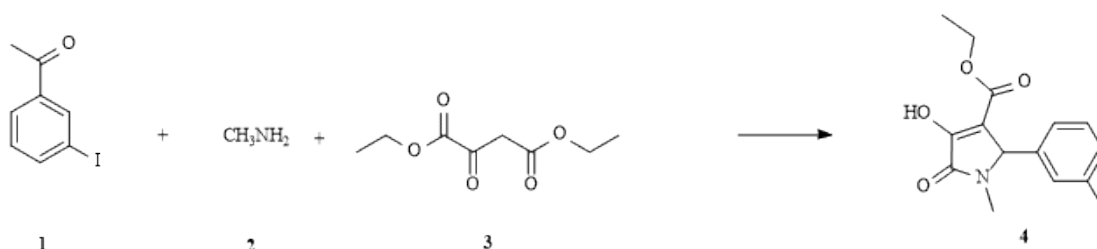
Η ανάλυση NMR μπορεί να γίνει με δύο μεθόδους, την σάρωση συχνότητας (μεταβολή συχνότητας ακτινοβολίας) και σάρωση πεδίου (μεταβολή έντασης μαγνητικού πεδίου) που είναι και η συνηθέστερη μέθοδος.

Επιγραμματικά, το φασματοφωτόμετρο NMR αποτελείται από τα εξής μέρη : 1. Έναν μαγνήτη, 2. τον πομπό ραδιοσυχνοτήτων, 3. τον υποδοχέα δείγματος, 4. τον ανιχνευτή και 5. το σύστημα καταγραφής.

Η ταυτοποίηση των ενώσεων που συντέθηκαν έγινε με τη χρήση του φάσματος πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR (Nuclear Magnetic Resonance). Τα φάσματα  $^1\text{H}$ -NMR καταγράφηκαν στα 300MHz στο φωτόμετρο Bruker AVAMCEIII 300 και τα φάσματα  $^{13}\text{C}$ -NMR καταγράφηκαν στα 75.5MHz στο ίδιο φωτόμετρο, χρησιμοποιώντας δευτεριωμένο χλωροφόρμιο ( $\text{CDCl}_3$ ) και διμεθυλοσουλφοξείδιο ( $\text{DMSO-d}_6$ ). Το τετραμεθυλοσιλάνιο (TMS) χρησιμοποιήθηκε ως σημείο αναφοράς και η πολλαπλότητα των καμπύλων φαίνεται με s (single), d (double), t (triple), q (quadruple), m (multiple). Οι σταθερές σύζευξης J μετρήθηκαν σε Hz.

## 4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

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



#### Πρωτόκολλο:

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

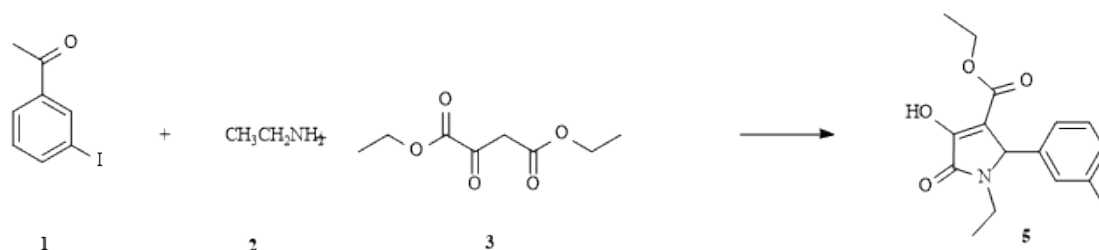
#### Πειραματική διαδικασία:

Σε σωληνάκι microwave CEM προστέθηκαν 3-ιώδο-βενζαλδεΐδη, μεθουλαμίνη, 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 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 H<sub>2</sub>O. Το προϊόν παραλαμβάνεται ως λευκό στερεό (m.p.= 182-184 °C).

TLC (9.5CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /0.5CH <sub>3</sub> OH)	R <sub>f</sub> = 0.30
Απόδοση	α = 67%



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



**Πρωτόκολλο:**

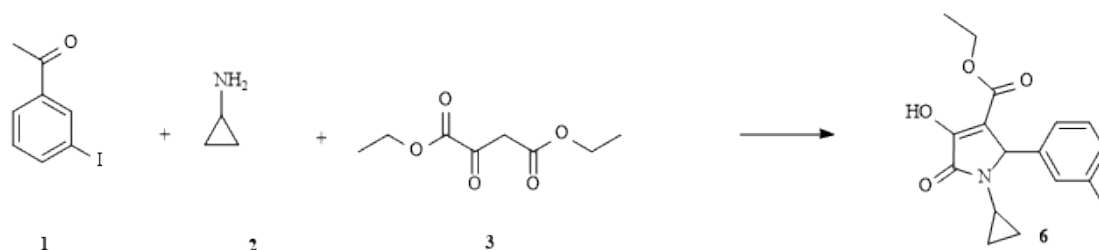
7.11 mmol 3-ιώδο-βενζαλδεΐδης απαιτούν: 7.11 mmol αιθυλαμίνης, 7.11 mmol διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου και 25 ml αιθανολη.

**Πειραματική διαδικασία:**

Σε σωληνάκι microwave CEM προστέθηκαν 3-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. 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 H<sub>2</sub>O 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 <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /0.5MeOH)	R <sub>f</sub> =0,30
Απόδοση	α =64%

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



#### Πρωτόκολλο:

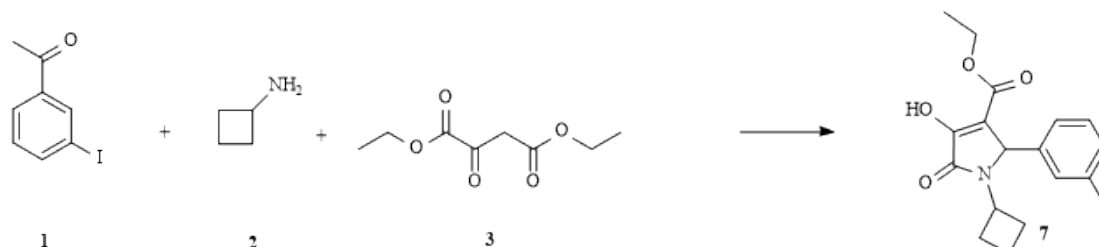
7.11 mmol 3-ιώδο-βενζαλδεΐδης απαιτούν: 7.11 mmol κυκλοπροπυλαμίνης, 7.11 mmol διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου και 25 ml αιθανόλη.

#### Πειραματική διαδικασία:

Σε σωληνάκι microwave CEM προστέθηκαν 3-ιώδο-βενζαλδεΐδη, 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°C 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 H<sub>2</sub>O και, ζύνοντας 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 H<sub>2</sub>O. Το προϊόν παραλήφθηκε ως κίτρινο στερεό (m.p.= 156-158 °C).

TLC (9.5CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /0.5MeOH)	R <sub>f</sub> =0,30
Απόδοση	α =69%

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



**Πρωτόκολλο:**

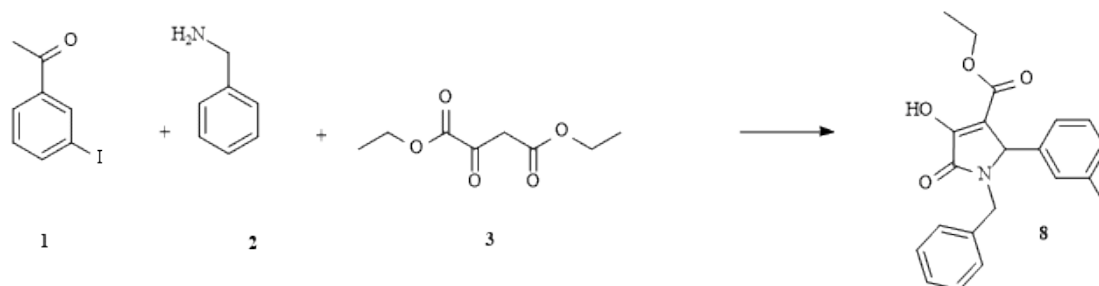
7.11 mmol 3-ιώδο-βενζαλδεΐδης απαιτούν: 7.11 mmol κυκλοβουτυλαμίνης 7.11 mmol διαιθυλικού οξαλοξικού άλατος του νατρίου και 25 ml αιθανόλη.

**Πειραματική διαδικασία:**

Σε σωληνάκι microwave CEM προστέθηκαν 3-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. 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 H<sub>2</sub>O 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 <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /0.5MeOH)	R <sub>f</sub> =0,30
Απόδοση	α = 83%

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



**Πρωτόκολλο:**

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

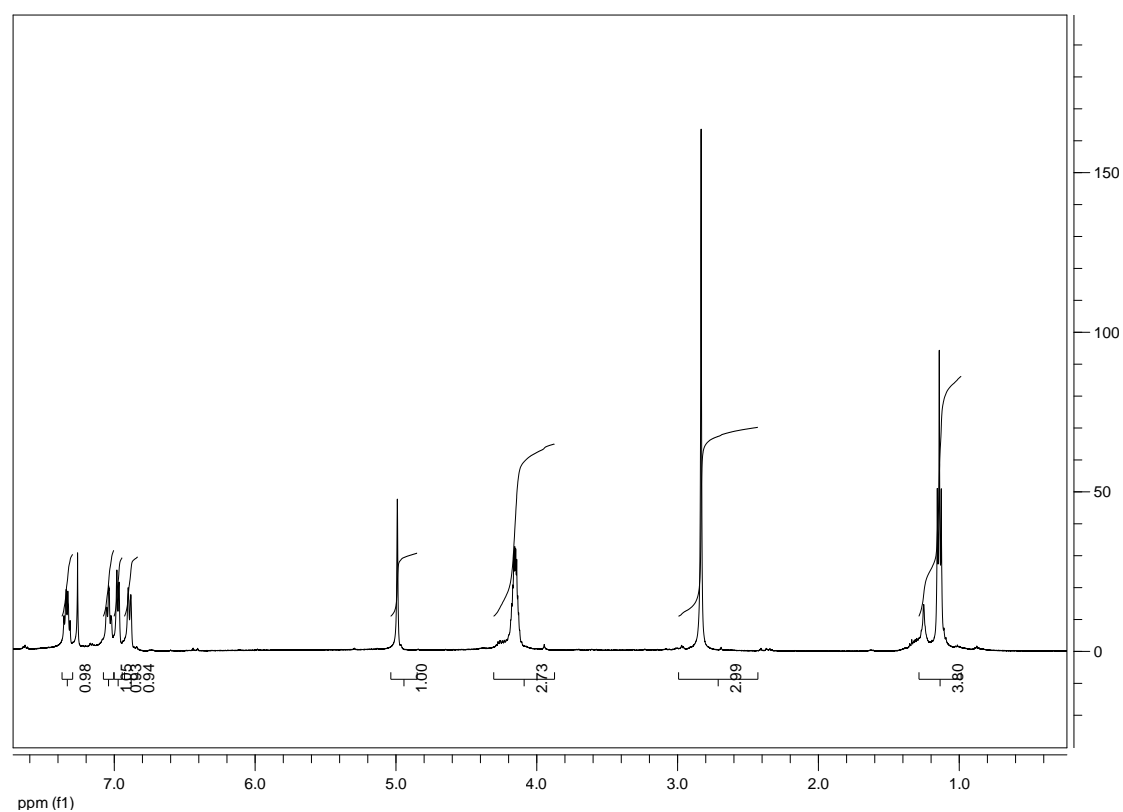
**Πειραματική διαδικασία:**

Σε σωληνάκι microwave CEM προστέθηκαν 3-ιώδο-βενζαλδεΐδη, βένζυλαμίνη, 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 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 H<sub>2</sub>O. Το προϊόν παραλαμβάνεται ως λευκό στερεό (m.p.= 182-184 °C).

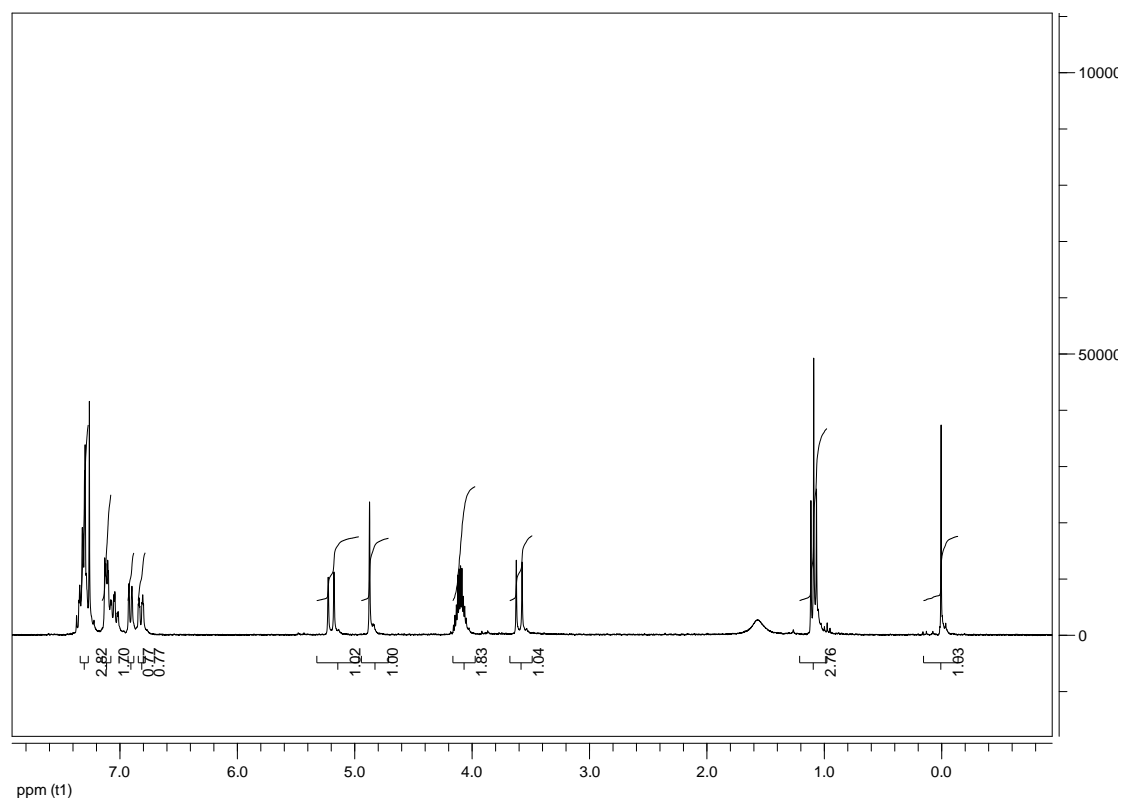
TLC (9.5CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /0.5CH <sub>3</sub> OH)	R <sub>f</sub> = 0.30
Απόδοση	α = 67%

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

Όλα τα προϊόντα ταυτοποιήθηκαν με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού  $^1\text{H}$  NMR και δίνονται παρακάτω.



**Εικόνα 5.1** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του 3-υδροξυ-1-μεθυλο-2-οξο-5-(4-ιώδοφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα (**compound 4**) σε DMSO.



**Εικόνα 5.2** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του 3-υδροξυ-1-βενζυλο-2-οξο-5-(4-ιώδοφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα (**compound 8**) σε DMSO.

## 6.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η βιολογική αποτίμηση όλων των μορίων πραγματοποιήθηκε στο Ινστιτούτο REGA στο Βέλγιο. Όλα τα μόρια αξιολογήθηκαν για την κυτταροστατική τους δράση έναντι κυττάρων λευχαιμίας ποντικού (**L1210**), ανθρώπινου λεμφώματος (**CEM**) καθώς και των ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων του τραχήλου της μήτρας (**HeLa**). Για την εκτίμηση της κυτταροστατικής δράσης χρησιμοποιήθηκε η παράμετρος **IC<sub>50</sub>** (half maximal Inhibitory Concentration), η οποία αντιπροσωπεύει τη συγκέντρωση της ένωσης που απαιτείται για την αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης κατά 50%.

Όπως βλέπουμε από τον παρακάτω πίνακα, όλες οι εξετασθείσες ενώσεις παρουσίασαν μέτρια ανασταλτική δράση έναντι της ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων, παρουσιάζοντας τιμές IC<sub>50</sub> μεταξύ 61-250 μM (**πίνακας 6.1**).

Τα καλύτερα αποτελέσματα εμφάνισε η ένωση 8 με IC=61Μμ σε ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα του τράχηλου της μήτρας (HeLa).

COMPOUND	IC <sub>50</sub> <sup>*</sup> (μM)		
	L1210	CEM	HeLa
4	172 ± 46	115 ± 2	116 ± 16
5	186 ± 78	125 ± 21	116 ± 5
6	≥ 250	99 ± 15	106 ± 22
7	123 ± 13	118 ± 8	92 ± 4
8	≥ 250	168 ± 68	61 ± 1

Πίνακας 6.1

Οι ενώσεις που συντέθηκαν στο εργαστήριο εξετάστηκαν για την κυτταροστατική και για την αντιϊκή τους δράση. Για την εκτίμηση της αντιϊκής δράσης χρησιμοποιήθηκε η παράμετρος **EC<sub>50</sub>** (half maximal Effective Concentration), η οποία αντιπροσωπεύει την συγκέντρωση της ένωσης που προκαλεί το 50% της μέγιστης απόκρισης. Ενδιαφέρον παρουσίασαν τα αποτελέσματα των ενώσεων (πίνακας 6.2).

COMPOUND	EC <sub>50</sub> (μM)	VIRUS	CELLS
<b>6</b>	45	Coxsackie virus B4	Vero cells
<b>7</b>	Test 1: 58 Test 2: 50	HSV-1 (KOS)	HEL cells
	Test 1: 58 Test 2: 45	HSV-2 (G)	HEL cells
	Test 1: 58 Test 2: 50	HSV-1 (TK <sup>-</sup> KOS ACV <sup>1</sup> )	HEL cells
	Test 1: 12 Test 2: 8.9	Yellow Fever Virus	Vero cells
<b>8</b>	6.3	Feline Corona Virus (FIPV)	CRFK cells

**Πίνακας 6.2**

Το **προϊόν 6** (3-υδροξυ-1-κυκλοπροπυλο-2-οξο-5-(3-ιώδοφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα (3-Hydroxy-1-cyclopropyl-2-oxo-5-(3-iodophenyl)-2,5-dihydro-1H-pyrrole-3-carboxylic acid ethylester) παρουσίασε αυξημένη **EC<sub>50</sub>=45μM** έναντι του ιού Coxsackie Virus B4 σε σειρά επιθηλιακών κυττάρων νεφρού (Vero cell cultures).



Το **προϊόν 7** (3-υδροξυ-1-κυκλοβουτυλο-2-οξο-5-(3-ιώδοφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα (3-Hydroxy-1-cyclobutyl-2-oxo-5-(3-iodophenyl)-2,5-dihydro-1H-pyrrole-3-carboxylic acid ethylester) παρουσίασε **EC<sub>50</sub>=12μM** (Test 1) και **EC<sub>50</sub>=8.9μM** (Test 2), δηλαδή η συγκέντρωση που απαιτείται για τη μείωση της κυτταροπαθογένειας που προκαλείται από ιούς κατά 50%, έναντι του ιού Yellow Fever σε σειρά επιθηλιακών κυττάρων νεφρού (Vero cell cultures).

Το **προϊόν 8** (3-υδροξυ-1-βενζυλο-2-οξο-5-(3-ιώδοφαινυλο)-2,5-διυδρο-1H-πυρρολο-3-καρβοξυλικού αιθυλεστέρα (3-Hydroxy-1-benzyl-2-oxo-5-(3-iodophenyl)-2,5-dihydro-1H-pyrrole-3-carboxylic acid ethylester) παρουσίασε **EC<sub>50</sub>=6.3μM** έναντι του ιού Feline Corona Virus (FIPV-κορωναϊός των αιλουροειδών) σε κυτταρική σειρά νεφρού αιλουροειδών (CrFK).

Το προϊόν 4 και το προϊόν 5 δεν παρουσίασαν αντική δράση, σε αντίθεση με τα προϊόντα 6, 7, 8 που παρουσίασαν αξιοσημείωτη αντική ικανότητα έναντι συγκεκριμένων ιών σε διάφορες κυτταρικές σειρές.

## 7.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Hamzah A.S., Mohammat M.F., Shaameri Z., *Molecules* 2009, *Synthesis of 2,3-Dioxo-5-(substituted) arylpyrroles and Their 2-Oxo-5-aryl-3-hydrazone Pyrrolidine Derivatives*, *Molecules*
- Γιακωβ Ι.Υ., *Degree of Bachelor of Science (Hons.)*, 2009.
- McMurry J.(2012). *Οργανική Χημεία, ενιαίος τόμος, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης*. Μπφρ Α. Βάρβογλης, Μ. Ορφανόπουλος, Ι. Σμόνου, Μ. Στρατάκης.
- Παπαδογιάννης Ι.Ν., Σαμανίδου Β.Φ., *Ενόργανη Χημική Ανάλυση*, Εκδόσεις Πήγασος.
- Τσολερίδης Κ.Α, *σημειώσεις φασματοσκοπίας NMR και μαζών*, 1996.
- Παπαπολυμέρου Γ.Α, Σπηλιώτης Ξ.Δ, *εργαστηριακές ασκήσεις γενικής χημείας*, 1<sup>η</sup> έκδοση, 2010, Λάρισα.
- Garofalo A., Neamati N., Grande F., Aiello F., De Grazia O. and Brizzi A., *Bioorg. & Med. Chem.* 15 (2007) 288–294.
- Manta S., Tzioumaki N., Kollatos N., Schols D., Komiotis D. *Ecofriendly and Facile One-Pot Multicomponent Synthesis of Highly Substituted Pyrrole Derivatives under Microwave Irradiation*, on preparation.
- Diana P., Martorana A., Barraja P., Montalbano A., Dattolo G., Cirrincione G., Dall’Acqua F., Salvador A., Vedaldi D., Basso G. and Viola G., *J. Med. Chem.* 2008, 51, 2387–2399.
- Σπυρούλιας Γ., *ανοιχτά ακαδημαϊκά μαθήματα τμήμα φαρμακευτικής, φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού*, Πάτρα.
- Τζανή Α., *εργαστήριο οργανικής χημείας, Οργανική σύνθεση με χρήση μικροκυμάτων*, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.
- Karpe C.O, (21 Απριλίου 2008), “*Microwave dielectric heating in synthetic organic chemistry*”. Προσβάσιμο: <https://sci-hub.tw/10.1039/b803001b> , (Ημερομηνία επίσκεψης: 2017, 12 Δεκεμβρίου).

- *Gawande M.B, Shelke S.N, Zboril R., Varma R.S, (15 Απριλίου 2014), "Microwave-assisted chemistry: synthetic applications for rapid assembly of nanomaterials and organics". Προσβάσιμο: <https://sci-hub.tw/10.1021/ar400309b> , (Ημερομηνία επίσκεψης: 2017, 18 Δεκεμβρίου).*
- *Dehaen W., Metten B., Kostermans M., Van Baelen G. and Smet M. Tetrahedron 62 (2006) 6018–6028.*
- *Anslyn E.V., Krug R.M., You L., Jeong Cho E., Leavitt J., Mad L.C., Montelione G.T. Ellington A. and Robertus J.D., Bioorg. & Med. Chem. Letters 21 (2011) 3007–3011.*
- *Boiadjiev S.E., Lightner D.A., J. Org. Chem., 2005, 70, 688-691*
- *Aldana I., Zarranz B., Jaso A., Lima L.M., Monge A., Maurel S. and Sauvain M., Brazilian Jour. of Pharmaceutical Sciences, vol. 42, n. 3, jul./set., 2006.*
- *Omar M.A.; Shaker Y.M.; Galal S.A.; Ali M.M.; Kerwin S.M.; Rodriguez M.L.; Tokuda H.; Ramadan R.A. and El Diwani H.I., Bioorg. & Med. Chem. (2012).*
- *Rampa A., Piazzzi L., Belluti F., Bisi A., Gobbi S., Rizzo S., Bartolini M., Andrisano V. and Recanatini M., Bioorg. & Med. Chem. 15 (2007) 575–585.*
- *Pujol M.D., Harrak Y., Weber S., Gómez A.B. and Rosell G., Arkivoc 2007 (iv) 251-259.*
- *Κατσαούνης Α, Τμήμα V εισαγωγή στους χρωματογραφικούς διαχωρισμούς, Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Πάτρα.*
- *Νταής Φ., Βασικές αρχές της Φασματοσκοπίας NMR, Τμήμα Χημείας, Κρήτη.*
- *Wade L.G.Jr, Οργανική Χημεία, Εκδόσεις Τζιόλα.*
- *Sobolev A., Cekavicus B., Kore K., Jakovele L., Plotniece A., Pajuste K., Petrova M., Belyakov S., Tetrahedron Letters 52, 2011, 6246-6249.*
- *Κομιώτης Δ., Μαντά Σ., Μέθοδοι διαχωρισμού, επεξεργασίας και ανάλυσης φυσικών προϊόντων, 2015, Λάρισα.*

