



**ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ (Ι) ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΡΓΑΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ ΥΒΡΙΔΙΚΩΝ
ΚΙΝΟΛΙΝΟΝΩΝ-ΧΑΛΚΟΝΩΝ ΚΑΙ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΩΝ ΜΕ
ΠΙΘΑΝΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗ
ΔΡΑΣΗ

ΔΙΑΣΣΑΚΟΥ ΑΝΤΩΝΙΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ

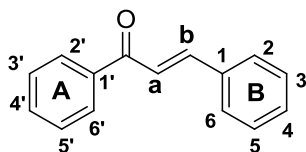
Δρ ΔΕΤΣΗ ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ,
ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ

ΑΘΗΝΑ 2015

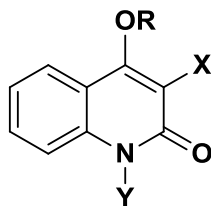
ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα διπλωματική εργασία έχει ως αντικείμενο τη σύνθεση και τον χαρακτηρισμό νέων βιοδραστικών κινολινονών-χαλκονών και πυραζολινών, και τη μελέτη και αξιολόγηση της αντιφλεγμονώδους και αντιοξειδωτικής δράσης τους.

Οι χαλκόνες είναι φυσικά προϊόντα και ανήκουν στην οικογένεια των φλαβονοειδών. Διαθέτουν ως δομικό χαρακτηριστικό ένα α,β -ακόρεστο καρβονυλικό σύστημα και εμφανίζουν μεγάλη ποικιλία βιολογικών δράσεων.



Οι κινολιόνες αποτελούν ετεροκυκλικά συστήματα συμπυκνωμένων δακτυλίων που απαντώνται στη φύση ως αλκαλοειδή και έχουν ευρεία βιολογική δράση.

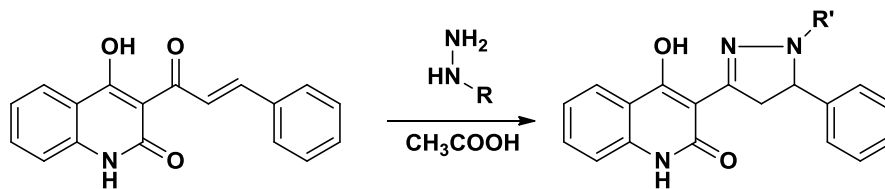


Στην παρούσα εργασία η συνθετική πορεία για την κινολιόνη-χαλκόνη αρχικά περιλαμβάνει την παρασκευή της 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-κινολιόνης, η οποία βασίζεται σε αντίδραση C-ακυλίωσης του ακετοξικού αιθυλεστέρα από την 2-μεθυλο-3,1-βενζοξαζιν-4-όνη. Η κυκλοποίηση των ενδιάμεσων προϊόντων C-ακυλίωσης σε αλκαλικό περιβάλλον υπό ήπιες συνθήκες, οδήγησε με αρκετά ικανοποιητικές αποδόσεις στην επιθυμητή 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-κινολιόνη.

Η σύνθεση των νέων κινολινονο-χαλκονών πραγματοποιήθηκε μέσω αλδολικής συμπύκνωσης της 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-κινολιόνης με την αρωματική 3,4-διμεθοξυβενζαλδεΰδη.

Η θέρμανση της κινολιόνης-χαλκόνης με παράγωγα υδραζίνης σε οξικό οξύ, οδήγησε στα νέα ετεροκυκλικά πυραζολινικά ανάλογα. Παρασκευάστηκαν συνολικά 5 νέες ενώσεις και, στη συνέχεια, ελέγχθησαν ως προς την αντιοξειδωτική και

αντιφλεγμονώδη δράση τους παρουσιάζοντας αξιόλογα και ενθαρρυντικά αποτελέσματα για περαιτέρω μελέτη της σχέσης δομής – βιολογικής δράσης.

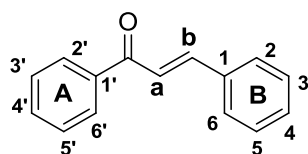


Η ταυτοποίηση της δομής των νέων αυτών ενώσεων πραγματοποιήθηκε με Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού NMR.

ABSTRACT

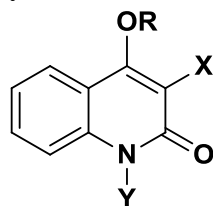
In this work, novel bioactive quinolinone-chalcones and pyrazoline analogues were designed and synthesized and their anti-inflammatory and anti-oxidant activity was evaluated.

Chalcones are natural products that belong to the family of flavonoids. They possess a α, β -unsaturated carbonyl system as a structural characteristic, and present a big variety of biological activities.



Structure of chalcone

The quinolinones are fused heterocyclic systems occurring as alkaloids in nature and they have broad biological activity.



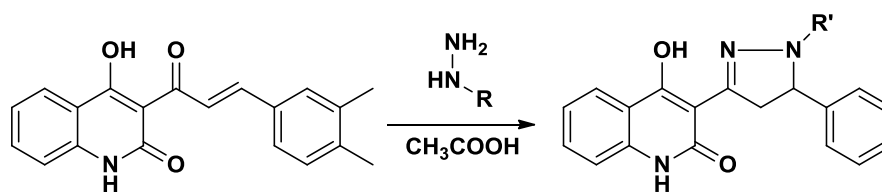
Structure of quinolinone

Among the methods employed in the synthesis of quinolinone analogues, the C-acylation reaction of ethyl acetoacetate, by 2-methyl-3,1-benzoxazin-4-one and further cyclization of the C-acylated intermediates under basic conditions, led to the formation of the starting material 3-acetyl-4-hydroxyquinolin-2(1H)-one.

The quinolinone-chalcone required was prepared via a crossed aldol coupling reaction between 3-acetyl-4-hydroxy-quinolinone and 3,4-dimethoxy-benzaldehyde.

The chemical modification of the α, β -unsaturated carbonyl system of quinolinone-chalcone scaffold was realised by heating the quinolinone-chalcone with hydrazine derivatives in the presence of acetic acid, as a solvent, to give the novel heterocyclic pyrazoline analogues. Five novel compounds were synthesized in total and were

tested for their antioxidant and anti-inflammatory activity. The results indicate that a number of the studied molecules possess promising combined activity.



The structure of all of the synthesized quinolinon-chalcone analogues was elucidated using NMR spectroscopy.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Για την πραγματοποίηση της παρούσας εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω:

Την επιβλέπουσά μου, Δρ Αναστασία Δέτση, Λέκτορα ΕΜΠ για την ανάθεση της εργασίας και την πολύτιμη συμβολή της, τόσο σε επίπεδο εργαστηρίου όσο και σε επίπεδο γενικών γνώσεων, καθώς και για το δημιουργικό περιβάλλον εργασίας που μας εξασφάλισε.

Την Ελένη Καβέτσου, υποψήφια διδάκτορα στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του ΕΜΠ για την πολύτιμη βοήθεια της καθ' όλη την πορεία μου στο εργαστήριο, τόσο σε επιστημονικό όσο και σε προσωπικό επίπεδο, για τις χρήσιμες συμβουλές της και την ουσιαστική καθοδήγηση της στην συγγραφή της διπλωματικής μου εργασίας.

Την Ανδρομάχη Τζάνη, υποψήφια διδάκτορα στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του ΕΜΠ για τη σημαντική βοήθειά της σε εργαστηριακές τεχνικές.

Τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής, την καθηγήτρια κα Ε.Παυλάτου και την καθηγήτρια Σ.Βουγιούκα για την τιμή που μου έκαναν να συμμετάσχουν στην εξεταστική επιτροπή καθώς και για τις εύστοχες παρατηρήσεις τους.

Την Καθηγήτρια Δήμητρα Χατζηπαύλου – Λίτινα, στον Τομέα Φαρμακευτικής Χημείας του Τμήματος Φαρμακευτικής του Αριστοτέλειου Πανεπιστήμιου Θεσσαλονίκης, για την διεξαγωγή των *in vitro* βιοδοκιμασιών για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής και αντιφλεγμονώδους δράσεις των νέων παραγώγων.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για την ψυχική συμπαράσταση κατά την εκπόνηση αυτής της εργασίας, καθώς και τους φίλους μου για την ουσιαστική παρουσία τους σε όλη αυτή τη δημιουργική πορεία για την επίτευξη των στόχων μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	- 10 -
1.1 ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ	- 10 -
1.1.1 ΓΕΝΙΚΑ	- 10 -
1.1.1.1 Κατηγορίες φλαβονοειδών	- 11 -
1.1.2 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ	- 13 -
1.1.2.1 ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	- 13 -
1.1.2.2 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	- 13 -
1.1.2.3 ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	- 14 -
1.1.2.4 ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΔΡΑΣΗ	- 15 -
1.2 ΧΑΛΚΟΝΕΣ	- 16 -
1.2.1 ΓΕΝΙΚΑ	- 16 -
1.2.2 ΔΟΜΗ	- 16 -
1.2.3 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΦΥΣΙΚΩΝ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΤΙΚΩΝ ΧΑΛΚΟΝΩΝ	- 16 -
1.2.3.1 ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	- 17 -
1.2.3.2 ΑΝΤΙΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ	- 18 -
1.2.3.3 ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΔΡΑΣΗ	- 19 -
1.2.3.4 ΑΝΤΙΕΛΚΩΔΗΣ ΔΡΑΣΗ	- 20 -
1.2.3.5 ΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑ ΤΟΥ ΔΙΑΒΗΤΗ	- 20 -
1.2.4 ΚΥΡΙΟΤΕΡΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΧΑΛΚΟΝΩΝ	- 21 -
1.3 ΚΙΝΟΛΙΝΟΝΕΣ	- 24 -
1.3.1 ΔΟΜΗ	- 24 -
1.3.2 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΚΙΝΟΛΙΝΟΝΩΝ	- 30 -
1.3.2.1. ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΔΡΑΣΗ	- 30 -
1.3.2.2. ΑΝΘΕΛΟΝΟΣΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ	- 31 -
1.3.2.3 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	- 31 -
1.3.2.4 ΑΝΤΙΠΑΡΑΣΙΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	- 32 -
1.3.2.5 ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	- 33 -
1.3.3 ΚΙΝΟΛΙΝΟΝΙΚΑ ΑΝΑΛΟΓΑ ΧΑΛΚΟΝΩΝ	- 34 -
1.4 ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΕΣ	- 36 -
1.4.1 ΔΟΜΗ	- 36 -
1.4.2 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΩΝ	- 36 -
1.4.2.1 ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΔΡΑΣΗ	- 37 -
1.4.2.2 ΔΡΑΣΗ ΕΝΑΝΤΙΑ ΣΤΗ ΦΥΜΑΤΙΩΣΗ	- 38 -
1.4.2.3 ΑΝΤΙΚΑΤΑΘΛΙΠΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΚΑΙ ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ENZYMΩΝ MAOs	- 39 -
1.4.2.4 ΑΝΑΛΓΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	- 39 -
1.4.2.5 ΙΔΙΟΤΗΤΑ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ	- 40 -
1.5 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ	- 41 -
1.5.1 ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΚΑΙ ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ	- 41 -
1.5.2 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ	- 41 -
1.5.3 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ	- 43 -
1.5.4 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΧΑΛΚΟΝΩΝ	- 43 -

1.5.5	ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΩΝ	- 44 -
1.6	ΚΥΡΙΟΤΕΡΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΩΝ	- 46 -
<u>2. ΣΧΕΔΙΑΜΟΣ, ΣΥΝΘΕΣΗ, ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ</u>		- 48 -
2.1	ΣΚΟΠΟΣ	- 48 -
2.2	ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ	- 49 -
2.3	ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΜΟΡΙΩΝ	- 49 -
2.3.1	ΣΥΝΘΕΣΗ 3-ΥΠΟΚΑΤΕΣΤΗΜΕΝΩΝ-4-ΥΔΡΟΞΥ-2-ΚΙΝΟΛΙΝΟΝΩΝ	- 49 -
2.3.1.1	ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΗΣ 2-ΜΕΘΥΛΟ-4Η-3,1-BENZOΞΑΖΙΝ-4-ΟΝΗΣ (1)	- 50 -
2.3.1.2	ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ Ν-ΑΚΕΤΥΛΑΝΘΡΑΝΥΛΟ-ΑΚΕΤΟΞΙΚΟΥ ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑ (2)-	
	50 -	
2.3.1.3	ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΗΣ 3-ΑΚΕΤΥΛΟ-4-ΥΔΡΟΞΥ-2-(1Η)-ΚΙΝΟΛΙΝΟΝΗΣ (3)	- 51 -
2.3.2	ΣΥΝΘΕΣΗ ΥΒΡΙΔΙΚΟΥ ΜΟΡΙΟΥ ΚΙΝΟΛΙΝΟ-ΧΑΛΚΟΝΗΣ	- 51 -
2.3.3	ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΙΚΑ ΑΝΑΛΟΓΑ	- 51 -
2.3.3.1	ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΙΚΩΝ	
	ΑΝΑΛΟΓΩΝ	- 53 -
2.4	ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΙΚΩΝ ΑΝΑΛΟΓΩΝ	- 54 -
2.4.1	ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΔΡΑΣΗ	- 54 -
2.4.2	ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	- 58 -
2.4.2.1	ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΤΗΣ ΣΤΑΘΕΡΗΣ ΡΙΖΑΣ DPPH	- 58 -
2.4.2.2	ΑΝΑΣΤΟΛΗ ΤΗΣ ΛΙΠΙΔΙΚΗΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΤΟΥ ΛΙΝΟΛΕΪΚΟΥ ΟΞΕΟΣ (AAPH)	- 60 -
<u>3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</u>		- 63 -
3.1	ΟΡΓΑΝΑ ΚΑΙ ΣΥΣΚΕΥΕΣ	- 63 -
3.2	ΣΥΝΘΕΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ	- 64 -
3.2.1	2-ΜΕΘΥΛΟ-4Η-3,1-BENZOΞΑΖΙΝ-4-ΟΝΗ(1)	- 64 -
3.2.2	Α-ΑΚΕΤΥΛΟ-2-(ΑΚΕΤΥΛΑΜΙΝΟ)-Β-ΟΞΟ-BENZOΛΟΠΡΟΠΑΝΟΪΚΟΣ ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ (2)-	64
	-	
3.2.3	3-ΑΚΕΤΥΛΟ-4-ΥΔΡΟΞΥ-2(1Η)-ΚΙΝΟΛΙΝΟΝΗ (3)	- 65 -
3.2.4	ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΗΣ ΚΙΝΟΛΙΝΟΝΟ-ΧΑΛΚΟΝΗΣ 4	- 65 -
3.2.4.1	4-υδροξυ-3-[3-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)-1-οξο-2-προπεν-1-υλο]-2(1Η)-κινολινόνη (4) -	
	65 -	
3.2.5	ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΩΝ(5-9)	- 66 -
3.2.5.1	5-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)-1-(4-κυανοφαινυλο)-3-(4,5-διυδρο-1Η-πυραζολ-3-υλ)-4-υδροξυ-2-(1Η)-κινολινόνη (5)	- 66 -
3.2.5.2	5-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)-1-(3,4-διμεθυλφαινυλ)-3-(4,5-διυδρο-1Η-πυραζολ-3-υλ)-4-υδροξυ-2-(1Η)-κινολινόνη (6)	- 67 -
3.2.5.3	5-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)-1-(4-μεθοξυφαινυλδραζινη)-3-(4,5-διυδρο-1Η-πυραζολ-3-υλ)-4-υδροξυ-2-(1Η)-κινολινόνη (7)	- 67 -
3.2.5.4	5-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)-1-(4-χλωροφαινυλδραζινη)-3-(4,5-διυδρο-1Η-πυραζολ-3-υλ)-4-υδροξυ-2-(1Η)-κινολινόνη (8)	- 68 -

3.2.5.5 5-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)-1-(4-βενζυλοξυφαινυλδραζινη)-3-(4,5-δωδρο-1H-πυραζολ-3-υλ)-4-υδροξυ-2-(1H)-κινολινόνη (9)	- 69 -
3.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΤΗΣ ΣΤΑΘΕΡΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΡΙΖΑΣ DPPH	- 70 -
3.4 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΝΑΣΤΟΛΗΣ ΤΗΣ ΛΙΠΙΔΙΚΗΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΩΣΗΣ (AAPH)	- 70 -
3.5 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΑΝΑΣΤΟΛΗΣ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ ΛΙΠΟΞΥΓΟΝΑΣΗ ΑΠΟ ΣΟΓΙΑ	- 70 -
<u>4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ</u>	<u>- 72 -</u>
4.1 ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΔΟΜΗΣ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ	- 72 -
4.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ	- 73 -
4.2.1 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ	- 74 -
4.3 ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ	- 78 -
<u>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</u>	<u>- 79 -</u>
<u>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΑΣΜΑΤΩΝ NMR</u>	<u>- 87 -</u>

1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1 ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ

1.1.1 ΓΕΝΙΚΑ

Τα φλαβονοειδή είναι μια κατηγορία πολυφαινολικών χρωστικών ενώσεων, που ποικίλουν στην χημική δομή και τα χαρακτηριστικά. Ανάμεσα σε μια μεγάλη ποικιλία φυσικών προϊόντων φυτικής προέλευσης, καλούνται δευτερογενείς μεταβολίτες καθώς η σημασία της οικοφυσιολογίας των οργανισμών στους οποίους συναντώνται δεν είχε αρχικά αναγνωριστεί. Η ονομασία τους προέρχεται από τον όρο “flavone” που στα λατινικά flavus σημαίνει κίτρινο και είναι χαρακτηριστικό πως πολλές από τις ενώσεις αυτές είναι υπεύθυνες για το χρώμα των καρπών και των άνθων.



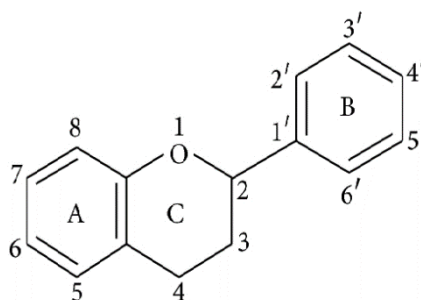
Εικόνα 1: Κουρκουμάς

Συναντώνται κυρίως στη φύση σε φρούτα, λαχανικά, ξηρούς καρπούς, σπόρους, λουλούδια και αποτελούν αναπόσπαστο μέρος της ανθρώπινης διαίτας. Περίπου 3.000 ενώσεις, ίσως και περισσότερος αριθμός, είναι γνωστές και απαντούν στα ανώτερα φυτά. Στις λειχήνες και στο ζωικό βασίλειο δεν έχουν βρεθεί φλαβονοειδή μέχρι σήμερα εκτός από μερικά φλαβονοειδή που βρέθηκαν στα φτερά μιας πεταλούδας. Επίσης, δεν απαντούν στα φύκη και τους μύκητες, αν και υπάρχει μια αναφορά για μια φλαβόνη που απαντά στα φύκη του γένους *Nitella* και ενός άλλου που βρέθηκε στο μύκητα *Aspergillus candidus*.

Οι βοτανολόγοι με τη χρήση των σύγχρονων μεθόδων Χρωματογραφίας μπορούν εύκολα να κατηγοριοποιήσουν και να κατατάξουν τα φυτά σε διάφορα είδη, βασιζόμενοι στην ύπαρξη των φλαβονοειδών. Η μέθοδος αυτή είναι εύκολη, χρήσιμη και απλή στη διαδικασία. Επιπλέον, είναι γνωστό πως οι ενώσεις αυτές και τα παράγωγά τους συνέβαλαν στην εξέλιξη της γνώσης μας γύρω από την μοντέρνα γενετική, λόγω του χρώματος τους, και στην διερεύνηση μιας σειράς από κεντρικά προβλήματα όπως η βιολογία του τρασποζονίου, η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης και η οργάνωση των μεταβολικών οδών.[1-3]

1.1.1.1 Κατηγορίες φλαβονοειδών

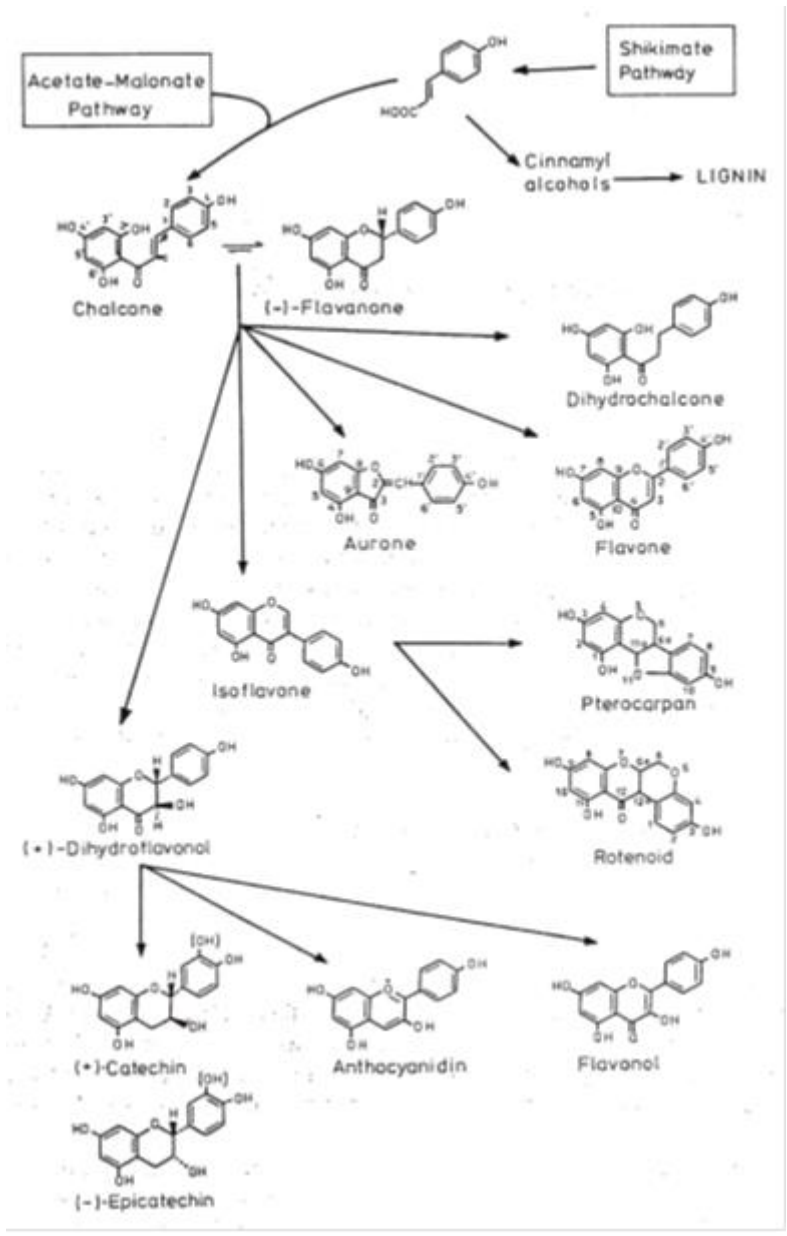
Η χημική δομή των φλαβονοειδών στηρίζεται στην ύπαρξη του φλαβονικού σκελετού $C_6-C_3-C_6$, ο οποίος αποτελείται από έναν αρωματικό δακτύλιο A, έναν αρωματικό δακτύλιο B και από έναν κεντρικό ετεροδακτύλιο, οποίος φέρει ένα οξυγόνο.



Εικόνα 2: Φλαβονικός σκελετός

Ανάλογα με το βαθμό οξειδωσης του ετεροκυκλικού τους δακτυλίου διαιρούνται στις παρακάτω κατηγορίες:

1. Παράγωγα του 2-φαινυλοβενζοπυριλίου: ανθοκυανίδες
2. Παράγωγα της 2-φαινυλοχρωμόνης: φλαβόνες, φλαβονόλες, και τα διμερή τους, φλαβανόνες, ισοφλαβόνες, ισοφλαβανόλες, ξανθόνες.
3. Παράγωγα της 2-φαινυλοχρωμανόνης: Φλαβάνες, φλαβαν-3-όλες, φλαβαν-3,4-διόλες, χαλκόνες, διϋδροχαλκόνες, κατεχίνες.
4. Παράγωγα της βενζυλιδενεκουμαρόνης: ωρόνες [3]



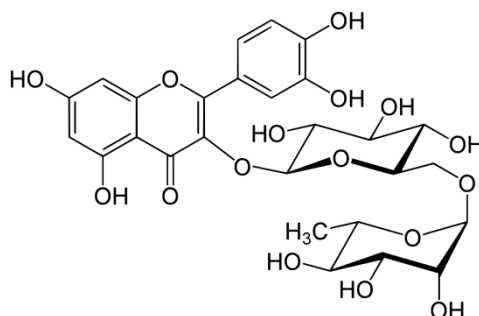
Εικόνα 3: Κατηγορίες φλαβονοειδών

1.1.2 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ

Ένας ακόμα λόγος για το αυξανόμενο ενδιαφέρον στην μελέτη των φλαβονοειδών αποτελούν οι βιομηχανίες φαρμάκων οι οποίες αναζητούν διαρκώς φυτά τα οποία θα περιέχουν ουσίες με θεραπευτικές ιδιότητες για την υγεία του ανθρώπου. Τα φλαβονοειδή έχουν παρουσιάσει μεγάλη ποικιλία σε βιολογικές δράσεις όπως αντιβακτηριδιακή, αντιϊοική, αντιοξειδωτική, αντιθρομβωτική, αντιφλεγμονώδης, αντιαλλεργική καθώς και αγγειοδιασταλτικές δράσεις.

1.1.2.1 ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Οι αλληλεπιδράσεις αιμοπεταλίων και αιμοφόρων αγγείων εμπλέκονται στο σχηματισμό καθώς και στην ανάπτυξη της θρόμβωσης και της αθηροσκλήρωσης. Ορισμένα φλαβονοειδή αναστέλλουν την συσσώρευση των αιμοπεταλίων μειώνοντας έτσι την τάση για θρομβώσεις. Πιο συγκεκριμένα, η κερκετίνη και η ρουτίνη έχουν ισχυρή αντιθρομβωτική και αγγειοπροστατευτική δράση λόγω της ικανότητας τους να προσδένονται στην μεμβράνη του αιμοπεταλίου καθώς και να δρουν ενάντια στις ελεύθερες ρίζες.[4]

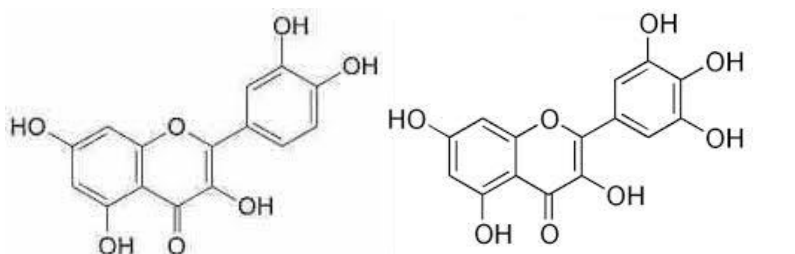


Εικόνα 4: Δομή Ρουτίνης

1.1.2.2 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

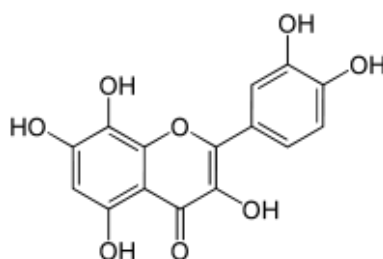
Μια από τις πιο σπουδαίες δράσεις των φλαβονοειδών είναι η αντιοξειδωτική, καθώς έχει την ικανότητα να αναστέλλει την οξείδωση της LDL (‘κακής’ χοληστερίνης) προστατεύοντας έτσι από καρδιαγγειακά νοσήματα. Για παράδειγμα, μελέτες έχουν δείξει πως η καθημερινή κατανάλωση φλαβονοειδών μειώνει την θνησιμότητα λόγω της στεφανιαίας νόσου και τα ποσοστά εμφράγματος του μυοκαρδίου στους ηλικιωμένους άνδρες. Λόγω του αριθμού και της θέσης των ελευθέρων υδροξυλίων

ως ισχυρότερα αντιοξειδωτικά θεωρούνται η κερκετίνη (quercetin), η μυρικετίνη (myricetin), η γκοσουπετίνη και η κερκεταγενίνη. Η κερκετίνη (ή βαλανοκετόνη), εντοπίζεται κυρίως στο κόκκινο κρασί και εμποδίζει την οξείδωση των πολυακορέστων λιπαρών οξέων προστατεύοντας παράλληλα τους χυμούς των εσπεριδοειδών από την οξείδωσή τους όπως στην περίπτωση της βιταμίνης C.[5]



Κερκετίνη

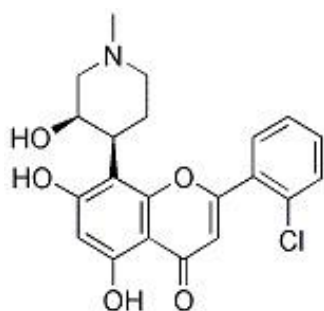
Μυρικετίνη



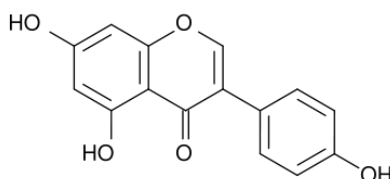
Εικόνα 5: Γκοσουπετίνη

1.1.2.3 ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Τα τελευταία χρόνια μελετούνται οι αντικαρκινικές δράσεις των флаβονοειδών και έχουν δείξει εντυπωσιακά αποτελέσματα καθώς έχει αποδειχθεί πως παρεμβαίνουν στην έναρξη, στην προαγωγή και την εξέλιξη του καρκίνου ρυθμίζοντας διαφορετικά ένζυμα και υποδοχείς που σχετίζονται με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση, την απόπτωση, τη φλεγμονή, την αγγειογένεση, την μετάσταση και την ανθεκτικότητα στα φάρμακα. Πιο συγκεκριμένα, флаβονοειδή όπως η κερκετίνη, η γενιστεΐνη και η флаβοπυριδόλη (συνθετικό παράγωγο της φυσικής αλκαλοειδούς ροχιτουκίνης) έχουν αξιοσημείωτες αντικαρκινικές δράσεις.[6]



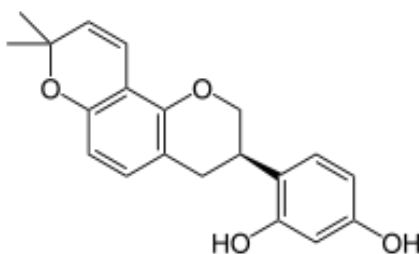
Εικόνα 6: Φλαβοपुरιδόλη



Εικόνα 7: Γενιστεΐνη

1.1.2.4 ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΔΡΑΣΗ

Τα φλαβονοειδή παρουσιάζουν αντιφλεγμονώδεις δράσεις τόσο *in vivo* όσο και *in vitro*. Παρόλο που οι μηχανισμοί δράσης τους δεν είναι πλήρως κατανοητοί *in vivo*, ο σημαντικότερος μηχανισμός τους είναι η αναστολή δημιουργίας εικοσανοειδών όπως, για παράδειγμα, της φωσφολιπίδια A_2 , των κυκλοοξυγονασών και των λιποοξυγονασών, μειώνοντας έτσι τις συγκεντρώσεις των προστανοειδών και των λευκοτριενίων. Παράγωγα της γλυκόριζας, όπως η ισολικουριτιγενίνη, η γλυκερόλη, η γλαβριδίνη και η γλυκορισιδίνη έχει δειχθεί πως έχουν ισχυρή αντιφλεγμονώδη ιδιότητα.[7]



Εικόνα 8: Γλαβριδίνη

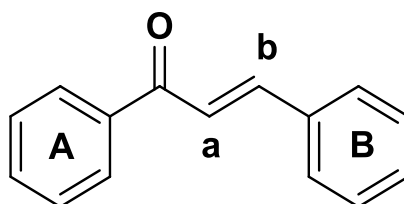
1.2 ΧΑΛΚΟΝΕΣ

1.2.1 ΓΕΝΙΚΑ

Οι χαλκόνες θεωρούνται ως πρόδρομοι των φλαβονοειδών και των ισοφλαβονοειδών τα οποία συναντώνται ευρέως στα βρώσιμα φυτά. Συναντώνται ως ενώσεις σε διάφορα μέρη των φυτών (ρίζες, άνθη, φύλλα, μπουμπούκια, σπόρους) και σε διάφορα είδη, συμπεριλαμβανομένων των ειδών *Angelica*, *Glycyrrhiza*, *Humulus*, *Scutellaria*, τα οποία έχουν χρησιμοποιηθεί στην παραδοσιακή ιατρική για τη θεραπεία ασθενειών όπως ο καρκίνος ή παρασιτικές λοιμώξεις.

1.2.2 ΔΟΜΗ

Χημικά, γνωστές ως α-β ακόρεστες κετόνες, αποτελούνται από μια ανοιχτή αλυσίδα δύο αρωματικών δακτυλίων ενωμένων με τρία άτομα άνθρακα με ένα διπλό δεσμό.



Εικόνα 9: Δομή χαλκονών

Αυτά τα μόρια λόγω της κετο-βινυλικής αλυσίδας που τα διαχωρίζει μπορούν να αποτελέσουν σημαντικά υποστρώματα για την βιοσύνθεση πολύ σημαντικών ετεροκυκλικών ενώσεων όπως παράγωγα κυκλοεξανόνης και παράγωγα πυραζολίνης.[8]

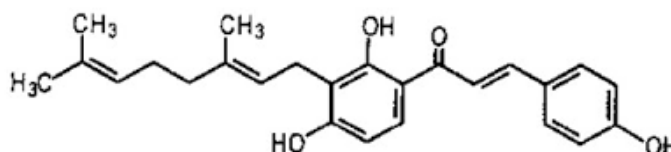
1.2.3 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΦΥΣΙΚΩΝ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΤΙΚΩΝ ΧΑΛΚΟΝΩΝ

Η αλλαγή στην δομή των χαλκονών με διάφορους υποκαταστάτες έχει προκαλέσει μεγάλο ενδιαφέρον στην επιστημονική κοινότητα καθώς τόσο οι ίδιες αλλά και τα συνθετικά τους ανάλογα παρουσιάζουν σημαντικές βιολογικές δράσεις όπως αντιοξειδωτική, αντιμικροβιακή, αντιμυκητιακή, αντικαταθλιπτική, αντικαρκινική και

αντιφλεγμονώδης. Η παρουσία του διπλού δεσμού συνδεδεμένη με το καρβονύλιο θεωρείται υπεύθυνη για τις παραπάνω δράσεις καθώς με απομάκρυνση αυτού τις καθιστά ανενεργές.

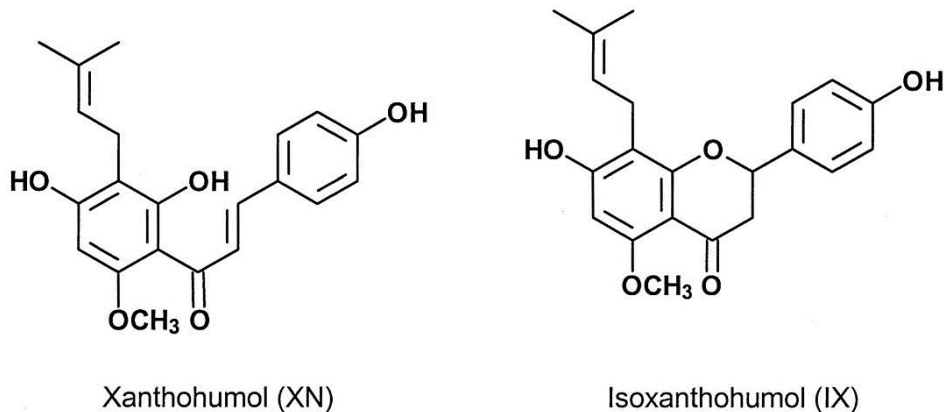
1.2.3.1 ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Χαρακτηριστικά είναι τα παραδείγματα φυσικών χαλκονών τα οποία έχουν χρησιμοποιηθεί για την καταπολέμηση του καρκίνου. Ένα από αυτά είναι οι ρίζες του φυτού *Angelica keiskei* που θεωρείται φυτό με φαρμακευτικές ιδιότητες και έχει εμφανίσει ικανοποιητικά αποτελέσματα για την πρόληψη ενάντια στην στεφανιαία νόσο, στην υπέρταση και στον καρκίνο. Η ξανθοαγγελόλη, που απομονώνεται με εκχύλιση με αιθανόλη από τις ρίζες του *Angelica keiskei*, έχει αποδειχτεί πως είναι ικανή να αναστείλει την ανάπτυξη ενός όγκου σε πρωταρχικά στάδια καθώς και μεταστάσεις σε πνεύμονα και ήπαρ.[8]



Εικόνα 10: Ξανθοαγγελόλη

Άλλη μία όπως στην περίπτωση της ξανθοχουμόλης (*xanthohumol*), μιας πρενυλιωμένης χαλκόνης που αποτελεί συστατικό του λυκίσκου, *Humulus lupulus* L. (*Cannabaceae*). Η έκθεση του ανθρώπου στη ξανθοχουμόλη και σε συναφή της πρενυλιωμένα φλαβονοειδή, όπως η 8-πρενυλναρινγκενίνη και η ισοξανθοχουμόλη, γίνεται κατα κύριο λόγο μέσω της κατανάλωσης μπίρας. Έχει χαρακτηριστεί ως «ευρέου φάσματος» αντικαρκινικό παράγοντα σε μελέτες *in vitro*, ενώ η 8-πρενυλναρινγκενίνη έχει χαρακτηριστεί ως το πιο ισχυρό φυτοοιστρογόνο. Έτσι, παρουσιάζονται κατάλληλα για εφαρμογή σε προγράμματα πρόληψης καρκίνου καθώς και ως φάρμακα για την περίοδο της εμμηνόπαυσης και της οστεοπόρωσης.[9]

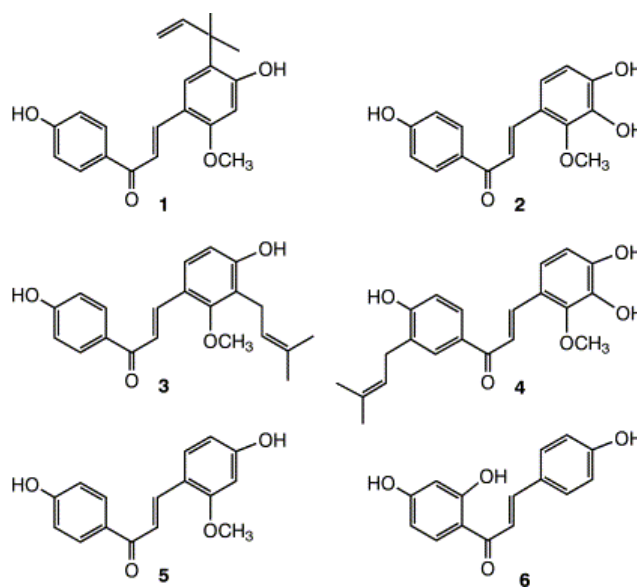


Εικόνα 11

1.2.3.2 ANTIBAKTΗΡΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ

Μεταξύ των ρετροχαλκονών (χαλκόνες που δεν έχουν ένα οξυγόνο στη θέση 2) που απομονώθηκαν από το inflata Glycyrrhiza, οι licochalcone A και licochalcone παρουσίασαν ισχυρή αντιβακτηριακή δραστηριότητα ειδικά στους βάκιλλους *Staphylococcus aureus* and *Micrococcus luteus*. Η Licochalcone A ήταν επίσης αποτελεσματική όταν δοκιμάστηκε ενάντια στο γαλακτοβάκιλλο εμπλουτισμένο με οξεόφιλο λακτοβάκιλο (*Lactobacillus acidophilus*) και στο γαλακτοβάκιλλο *plantarum* (*Lactobacillus plantarum*), καθώς επίσης και στον εντερόκοκκο *faecalis* (*Enterococcus faecalis*), στον *faecium* εντεροκόκκων (*Enterococcus faecium*) και στο στρεπτόκοκκο *lactis* (*Streptococcus lactis*) και σταφυλόκοκκο *mutans* (*Staphylococcus mutans*). Η αντιβακτηριακή δραστηριότητα της licochalcone A σε όξινο pH ήταν υψηλότερη από ότι σε ένα ουδέτερο ή αλκαλικό pH. Η αντιβακτηριακή δραστηριότητα της licochalcone A είναι σταθερή ακόμη και παρουσία του NaCl 3% (w/v), και έδειξε ότι η ελεύθερη ομάδα υδροξυλίου στη θέση 4 του δακτυλίου B ήταν απαραίτητη. Ακόμη, δεν παρατηρείται καμία αλλαγή στη δραστηριότητα της όταν αφαιρείται η ομάδα υδροξυλίου στη θέση 4 του δακτυλίου A ή όταν εμποδίζεται από ένα μεθύλιο ή αντικαθίσταται από ένα χλώριο. Αντίθετα, η απομάκρυνση ή η παρεμπόδιση και των δύο ομάδων υδροξυλίου από τη μεθυλίωση μειώνει τη δραστηριότητα πλήρως. Μια συνολική απώλεια δραστηριότητας παρατηρείται, επίσης, όταν αφαιρείται η λιπόφιλη πρενυλο-ομάδα. Εάν η πρενυλο-ομάδα αντικατασταθεί από μια ομάδα προπυλίου παρατηρείται μια μέτρια

αντιβακτηριακή επίδραση. Ο ισχυρός λιπόφιλος χαρακτήρας του μορίου διαδραματίζει έναν ουσιαστικό ρόλο στην αντιβακτηριακή δράση.[10-11]



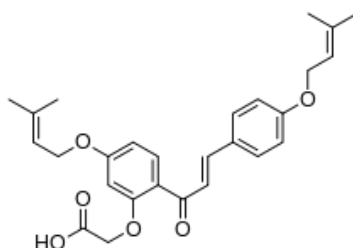
Εικόνα 12: Δομές ρετροχαλκονών που απομονώθηκαν από το φυτό *glycyrrhiza inflata*: 1) licochalcone A, 2) licochalcone B, 3) licochalcone C, 4) licochalcone D, 5) echinatin, 6) isoliquiritigenin

1.2.3.3 ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΔΡΑΣΗ

Μια νέα σειρά από συντιθέμενες χαλκόνες μέσω της αντίδρασης Mannich που περιέχουν άζωτο, έχουν ελεγχθεί για αντιφλεγμονώδη δράση, όπως η αναστολή της κυκλοοξυγενάσης-2 (COX-2), της τρυψίνης και της β-γλυκουρονιδάσης. Η αντιοξειδωτική δράση περιγράφηκε μέσω της ρίζας DPPH (1,1-διφαινυλο-2-πικρυλο-υδραζίνη). Μελέτες έδειξαν ότι αποτελεί δραστικό και αποτελεσματικό αναστολέα των παραπάνω ενζύμων. Πιο συγκεκριμένα, αποδείχθηκε ότι οι χαλκόνες που φέρουν ως υποκαταστάτες N-μεθυλο-πιπεραζίνη και μεθυλο-πιπεριδίνη, είναι αποτελεσματικοί αναστολείς της β-γλυκουρονιδάσης. Αντίθετα, οι χαλκόνες που φέρουν μεθυλο-πιπεριδίνη είναι εκλεκτικοί αναστολείς COX-2.[12]

1.2.3.4 ΑΝΤΙΕΛΚΩΔΗΣ ΔΡΑΣΗ

Το πεπτικό έλκος είναι μια διαταραχή του γαστρεντερικού συστήματος που επηρεάζει μεγάλο μέρος του παγκόσμιου πληθυσμού. Η βλάβη του γαστρικού βλεννογόνου και η περσπαίρω ανάπτυξη των αλλοιώσεων είναι πολυσύνθετη διαδικασία, η οποία οφείλεται σε μια ανισορροπία ανάμεσα στους γαστροπροστατευτικούς (βλεννίνη, προσταγλανδίνη, διττανθρακικό, νιτρικό οξείδιο κ.α.) και στους επιθετικούς παράγοντες (οξύ, πεψίνη) που υπάρχουν στο γαστρικό βλεννογόνο. Μέχρι σήμερα, τα φάρμακα κατά του έλκους επικεντρώνονταν κυρίως στην συρρίκνωση της έκκρισης του γαστρικού οξέος ή/και στην ενίσχυση του αμυντικού συστήματος του βλεννογόνου. Όμως, η ανοχή στα αντιεκκριτικά φάρμακα μετά απο χρόνια χρήση και η υπερέκκριση μετά το τέλος της θεραπείας, καθώς και οι παρενέργειες όπως οστεοπόρωση, υπεργαστριναιμία και η ανάπτυξη καρκινοειδών στο γαστρικό βλεννογόνο οδήγησαν στην ανακάλυψη αποτελεσματικότερων και ασφαλέστερων φαρμάκων. Η σοφαλκόνη, συνθετικό παράγωγο της σοφοραδίνης, είναι ένα πόσιμο φάρμακο το οποίο χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της γαστρίτιδας και του πεπτικού έλκους.[13]



Εικόνα 13: Σοφαλκόνη

1.2.3.5 ΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑ ΤΟΥ ΔΙΑΒΗΤΗ

Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου II είναι μια χρόνια μεταβολική ασθένεια η οποία χαρακτηρίζεται απο αντίσταση στην ινσουλίνη, υπεργλυκαιμία και υπερινσουλιναιμία. Συχνά συνδέεται με παχυσαρκία, δυσλιπιδεμία και υπέρταση οδηγώντας σε καρδιαγγειακούς κινδύνους. Πρόσφατα απομονώθηκαν χαλκόνες απο τα οποία είχαν διάφορους υποκαταστάτες και έδειξαν ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Πιο συγκεκριμένα, οι 3,4-διμεθόξυ ενώσεις εμφανίστηκαν ως σημαντικά αντι-υπεργλυκαιμικά προϊόντα.[14]

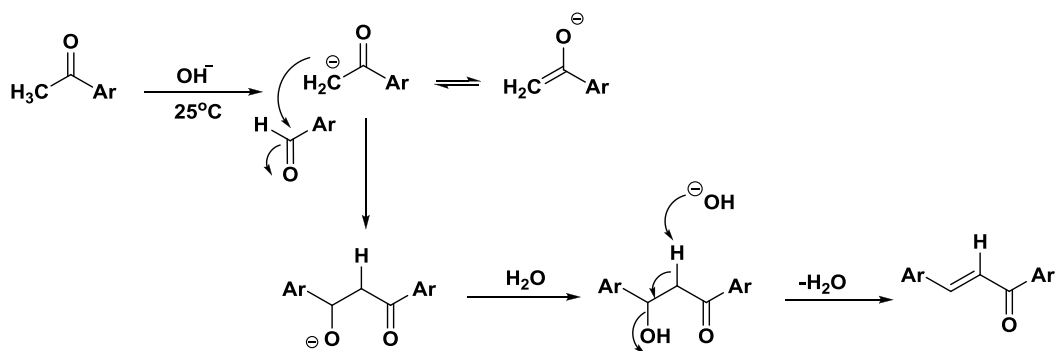


Εικόνα 14: Broussonetia papyrifera

1.2.4 ΚΥΡΙΟΤΕΡΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΧΑΛΚΟΝΩΝ

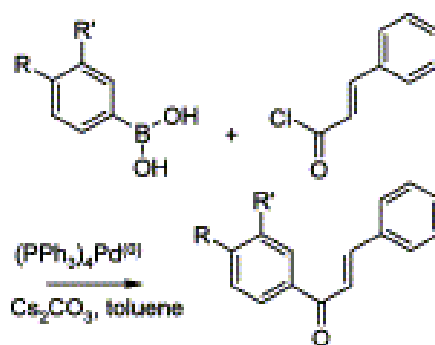
Με βάση βιβλιογραφική ανασκόπηση, οι κυριότερες συνθετικές πορείες για την παρασκευή χαλκονών καθώς και οι ιδιότητές τους είναι οι εξής:

- Η καταλυόμενη από βάση αντίδραση συμπύκνωσης Claisen-Schmidt, που πραγματοποιείται ανάμεσα σε μια κετόνη και σε μια βενζαλδεΐδη, σε ένα πολικό διαλύτη.



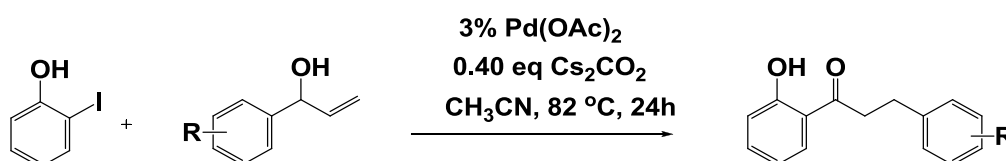
Εικόνα 15: Αντίδραση Claisen-Schmidt

Η αλδολική συμπύκνωση, όπως αλλιώς είναι γνωστή η αντίδραση Claisen-Schmidt, βασίζεται στη δραστηριότητα του καρβονυλίου για τη δημιουργία ενός νέου δεσμού άνθρακα-άνθρακα. Αρχικά, το ισχυρά βασικό ανιόν HO^- αποσπά ένα όξινο υδρογόνο από το CH_3 της ακετοφαινόνης, οπότε σχηματίζεται το αντίστοιχο ενολικό ιόν. Μέσω μιας αντίδρασης πυρηνόφιλης



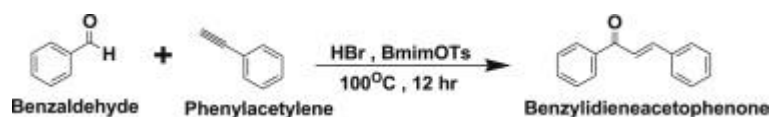
Εικόνα 17

- Η αντίδραση σύζευξης των ο-αλονοφαινολών με 1-αρυλο-2-προπεν-1-όλες, καταλυόμενη από παλλάδιο.[18]



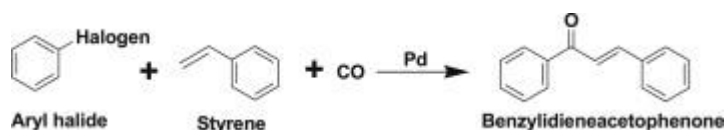
Εικόνα 18: Σύνθεση 2'-υδροξυχαλκονών, μέσω αντίδρασης καταλυόμενης από παλλάδιο

- Η αντίδραση σύζευξης σε ισομοριακές ποσότητες μεταξύ βενζαλδεΐδης με φαινυλακετυλένιο υπό την παρουσία υδροβρωμίου και 3-μεθυλ-1H-ημιδαζολίου για 12 ώρες υπό θέρμανση στους 100°C.[19]



Εικόνα 18

- Η αντίδραση σύζευξης Heck πραγματοποιείται ανάμεσα σε αρυλαλογονίδια και το στυρένιο παρουσία μονοξειδίου του άνθρακα χρησιμοποιώντας παλλάδιο ως καταλύτη.[19]

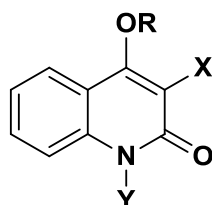


Εικόνα 19

1.3 ΚΙΝΟΛΙΝΟΝΕΣ

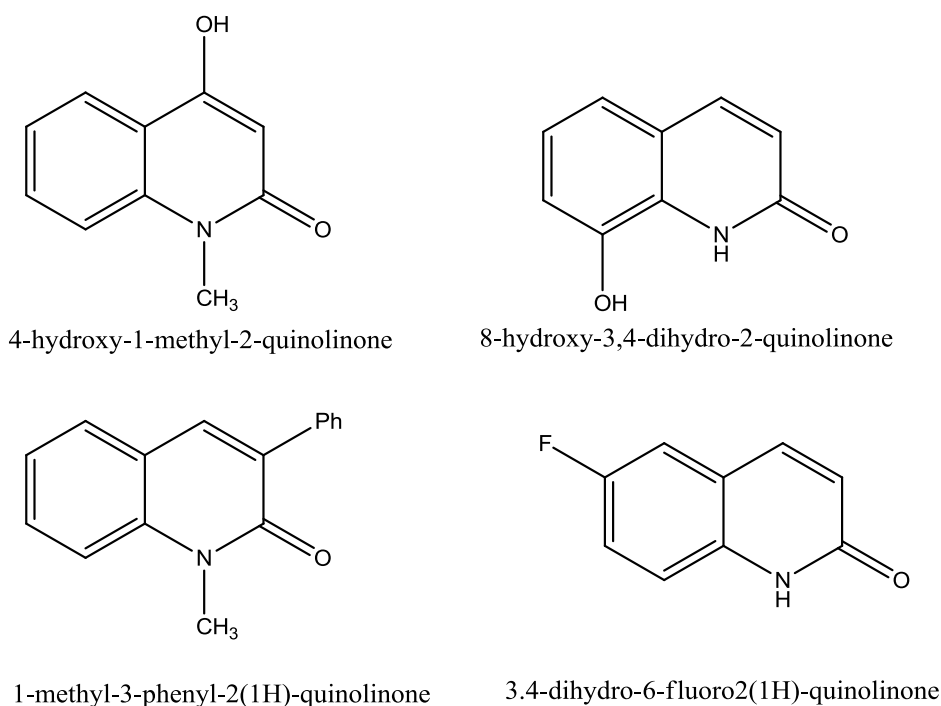
1.3.1 ΔΟΜΗ

Οι κινολινόνες αποτελούν ετεροκυκλικά συστήματα συμπυκνωμένων δακτυλίων που απαντώνται στη φύση ως αλκαλοειδή, ως ενδιάμεσα στο βιοσυνθετικό μονοπάτι άλλων φυσικών προϊόντων αλλά και ως συστατικά προϊόντων μεταβολισμού ορισμένων μικροοργανισμών.[20]



Εικόνα 20: Δομή κινολινόνης

Ανάλογα με το είδος των υποκαταστατών στους άνθρακες τους συστήματος των ετεροκυκλικών δακτυλίων μπορεί να προκύψουν ποικίλες δομές κινολινονών, χαρακτηριστικά παραδείγματα των οποίων παρουσιάζονται παρακάτω:

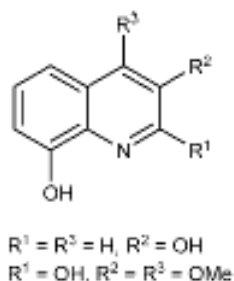


Εικόνα 21: Διάφορες δομές κινολινών

Χαρακτηριστική είναι η εμφάνιση αλκαλοειδών με τη δομή κινολινόνης σε διάφορες φυσικές πηγές ή ζώα και φυτά. Συνεπώς, το θέμα απομόνωσης τους από τους

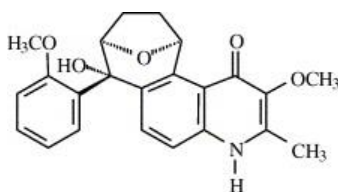
επιστήμονες απαντάται πολύ συχνά στη βιβλιογραφία. Ορισμένα αξιοσημείωτα παραδείγματα αναφέρονται στη συνέχεια:

Η σαρανταποδαρούσα *Scolopendra subspinipes mutilans* (Scolopendridae) έχει χρησιμοποιηθεί από την Κορεάτικη και Κινέζικη Ιατρική σαν παραδοσιακό φάρμακο εναντίον πολλών ασθενειών όπως σπασμοί, επιληπτικές κρίσεις, δηλητηριώδη οξίδια διθφερίτιδα και τέτανο. Σε επιστημονική έρευνα οι κινολινόνες που φαίνονται στην **εικόνα** απομονώθηκαν και εξετάστηκαν ως προς την βιολογική τους δράση. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, όταν στην θέση R2 υπάρχει ως υποκαταστάτης το υδροξύλιο η κινολινόνη παρουσιάζει μέτρια κυτταροτοξική δραστηριότητα κατά της ανάπτυξης ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων. [21]



Εικόνα 22: Κινολινόνη από τη σαρανταποδαρούσα *Scolopendra subspinipes*

Ένα σπάνιο είδος κινολινόνης έχει απομονωθεί από το φυτό *Waltheria douradinha* St Hil. (Sterculiaceae) το οποίο συναντάται στη νότια Αμερική, κυρίως στη νότια Βραζιλία, Ουρουγουάη, Παραγουάη και Αργεντινή, και έχει χρησιμοποιηθεί στην παραδοσιακή φαρμακευτική για ασθένειες όπως βρογχίτις, λαρυγγίτιδα καθώς και ως αντισηπτικό. [22]



Εικόνα 23: Κινολινόνη από το το φυτό *Waltheria douradinha*

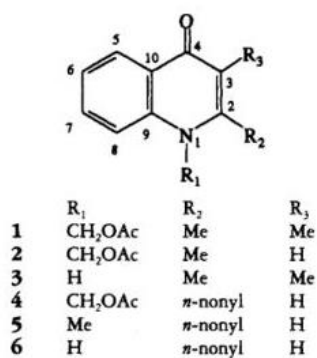
Σύμφωνα με ποικίλες μελέτες, μεγάλος αριθμός αλκαλοειδών περιέχονται στην οικογένεια Rutaceae. Κατά τη διάρκεια φυτοχημικών ερευνών στα φυτά της

οικογένειας στη Νότια Αφρική, απομονώθηκε μια σειρά αλκαλοειδών κινολινόνης που φέρουν ποικιλία υποκαταστατών από διάφορα είδη του γένους *Agathosma*. [23]

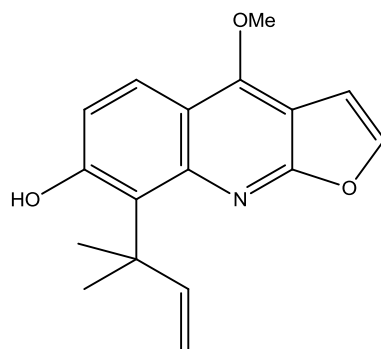


Εικόνα 24: Φυτό Rutaceae

Επιπλέον, σε άλλες μελέτες έχουν απομονωθεί είδη κινολινών από το είδος *Boronia lanceolata*, το οποίο συναντάται στη βόρεια Αυστραλία, και από το είδος *Boronia ternata*, το οποίο συναντάται στη νοτιοδυτική Αυστραλία.[24] Ακόμη, από το είδος *Harpophyllum glabrium* που ανήκει στην οικογένεια Rutaceae απομονώθηκαν διυδροφθοροκινολινόνες και τετραϋδροφθοροκινολινόνες. [25]

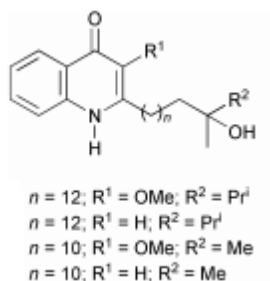


Εικόνα 25: Είδη κινολινονών από το είδος *Boronia ternate*



Εικόνα 26: Είδη κινολινονών από το είδος *Haplophyllum glabrium*

Επίσης, απομόνωση 30 ειδών αλκαλοειδών κινολινών έχει επιτευχθεί από το είδος *Rue* και παραγώγων 2-αλκυλκινολιν-4(1H)-ονών από το είδος *Dictyoloma Vandellianum*. [26]



Εικόνα 27: Είδη κινολινονών από το είδος *Dictyoloma Vandellianum*

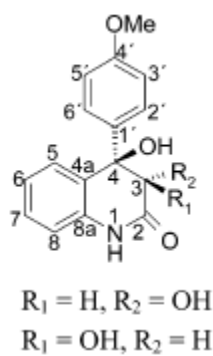
Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται αλκαλοειδείς κινολινόνες που έχουν απομονωθεί από φυτά που ανήκουν στην οικογένεια Rutaceae.

Species ^a	Alkaloid ^b
<i>Almeidea rubra</i>	<i>rel-(7R,8R)-7-Acetoxy-8-[(E)-3-hydroxy-3-methylbut-1-enyl]-4,8-dimethoxy-5,6,7,8-tetrahydrofuro[2,3-b]quinoline</i> Isoduta drupine Isokokusagine ^c Isoskimamianine ^c Kokusagine
<i>Casimiroa pubescens</i>	Casimiroine
<i>Dictamnus albus</i>	Haplopine Robustine
<i>Esenbeckia almawillia</i>	<i>N-Methyl-3,3-diprenylquinoline-2,4-dione</i>
<i>Evodia leptia</i>	Dictamnine Evolitrine
<i>Glycosmis arborea</i>	Acutifolin Glycocitlone C Isodictamnine Iso-γ-fagarine
<i>Haplophyllum foliosum</i> and <i>H. pedicellatum</i>	(-)-Folipidine ^c
<i>Orixa japonica</i>	Edulinine γ-Fagarine Isoplatydesmine Lunidonine Orixalone A ^c Orixalone B ^c Orixalone C ^c (+)-Orixalone D ^c Preskinmianine
<i>Sarcamelicope follicularis</i>	(-)-Sarcodifurine A ^c (+)-Sarcodifurine B ^c
<i>Skimmia laureola</i>	(-)-Acetylribalinine ^c (+)-Ribaliprenylene ^c
<i>Teclea natalensis</i>	Dictamnine 4,7-Dimethoxy-8-prenyloxyfuro[2,3-b]quinoline Flindersiamine (+)-Tecleanatalensine A (= tecleoxine) Tecleanatalensine B ^c
<i>Zanthoxylum beecheyanum</i> (= <i>Z. arnotianum</i>)	Flindersine <i>N</i> -Methylatanine <i>N</i> -Methylfindersine Toddaqinoline Zanthobungeanine Zanthodioline
<i>Zanthoxylum budrunga</i> (= <i>Z. rhetsa</i>)	γ-Fagarine <i>N</i> -Methylfindersine
<i>Zanthoxylum ekmanii</i>	Dictamnine Skimmianine

Εικόνα 28: αλκαλοειδείς κινολινόνες στην οικογένεια Rutaceae

Η παρουσία κινολινονών προκαλεί ενδιαφέρον για τη μελέτη του θαλάσσιου οικοσυστήματος. Για την αποφυγή εξάντλησης των ειδών που παρέχουν τις ενώσεις αυτές και για πιο εύκολη πρόσβαση σε αυτές γίνεται η καλλιέργειά τους στο εργαστήριο. Συγκεκριμένα, γίνεται απομόνωση των κινολινών αυτών από το θαλάσσιο μύκητα *Penicillium janczewskii* Zalesky εξαιτίας του πλούσιου μεταβολικού του περιεχομένου, όπως αυτο διαπιστώθηκε μέσα από χρωματογραφία

λεπτής στιβάδας (TLC). Τα νέα αλκαλοειδή των διαστερομερών διυδροξυκινολινονών που απομονώθηκαν και μελετήθηκαν παρουσιάζονται στην εικόνα 29. [27]



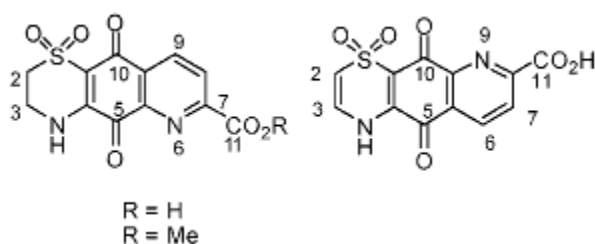
Εικόνα 29: Κινολινόνες από το θαλάσσιο μύκητα *Penicillium janczewskii* Zalessky

1.3.2 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΚΙΝΟΛΙΝΟΝΩΝ

Οι κινολινόνες, αλλά και ενώσεις που φέρουν κινολινονική ρίζα, παρουσιάζουν σημαντικές βιολογικές δράσεις όπως ανθελονοσιακή, αντιφλεγμονώδη, αντικαρκινική, αντιοξειδωτική και αντιπαρασιτική.

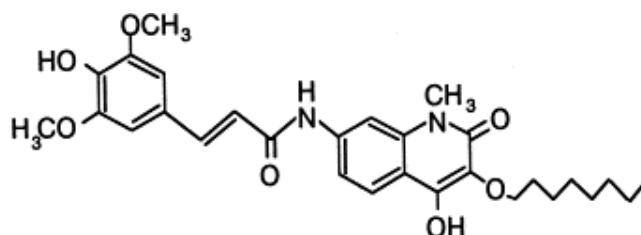
1.3.2.1. ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΔΡΑΣΗ

Κινολινόνες από φυσικές πηγές απομονώθηκαν από ζώντες οργανισμούς στη Νέα Ζηλανδία και συγκεκριμένα από το γένος *Aplidium* (οικογένεια *Polyclinidae*). Οι εν λόγω κινολινόνες παρουσιάζουν αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες και συγκεκριμένα αναστολή της υπεροξειδάσης που παράγεται από τα ανθρώπινα οοουδετερόφιλα όπως αυτά προσομοιώνονται με PMA. Έτσι είναι δυνατή η συμβολή των ουσιών αυτών στη θεραπεία ασθενειών όπως ουρική αρθρίτιδα και ατοπικό άσθμα.[28]



Εικόνα 30: Κινολινόνες του γένους *Aplidium*

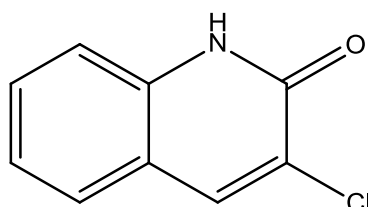
Επίσης, η συνθετική κινολινόνη TA 270 έχει παρατηρηθεί πως έχει αντιοξειδωτική αλλά και αντιφλεγμονώδη δράση. Επίσης, μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν θεραπευτικός παράγοντας του βρογχικού άσθματος. Μέσα από *in vitro* πειράματα διαπιστώθηκε πως ο μηχανισμός δράσης αυτής της ένωσης έγκειται στην μείωση της παραγωγής της λευκοτριένης μέσω αναστολής της 5-λιποξυγονάσης σε αντιφλεγμονώδη κύτταρα.[29]



Εικόνα 31: Δομή TA 270

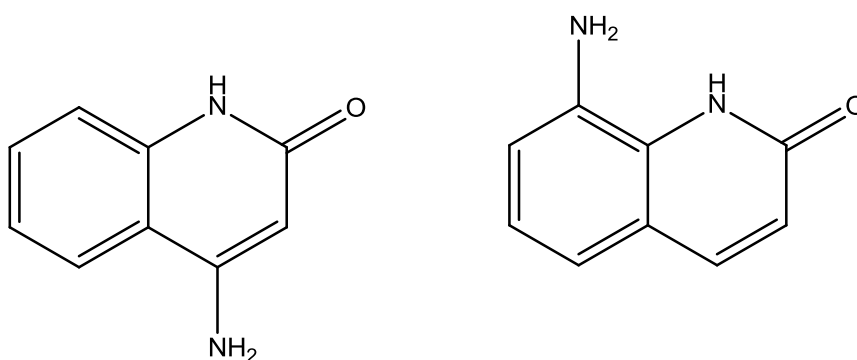
1.3.2.2. ΑΝΘΕΛΟΝΟΣΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ

Οι κινολινόνες ιστορικά συγκαταλέγονται μεταξύ των πιο σημαντικών ανθελονοσιακών φαρμάκων. Μετά το πέρας του 20^{ου} αιώνα, η εντυπωσιακή χρήση της χλωροκινολινόνης, η οποία αποτελεί το πιο σημαντικό φάρμακο της κατηγορίας, έχει δημιουργήσει θετικές προοπτικές εξάλειψης της ελονοσίας.

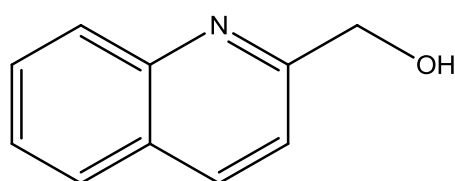


Εικόνα 32: Δομή χλωροκινολινόνης

Στις δραστικές κινολινόνες που παρέχουν ανθελονοσιακή δράση ανήκουν οι κινίνες, οι 4- και 8-αμινοκινολινόνες καθώς και οι κινολινομεθανόλες. [30-31]



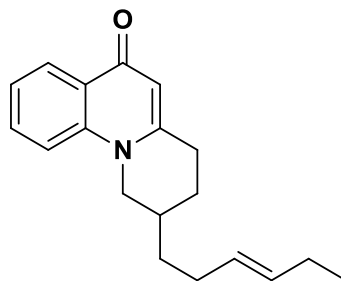
Εικόνα 33: 4-αμινοκινολινόνη και 8-αμινοκινολινόνη



Εικόνα 34: Κινολινομεθανόλη

1.3.2.3 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Απο αντιοξειδωτικής πλευράς, μελέτες είχαν γίνει για την 7-χλωρο-4-υδροξυκινολινόνη η οποία αποτελεί φάρμακο κατά των όγκων αλλά η αποτελεσματικότητά της δεν ήταν ικανοποιητική. Έτσι γνωρίζοντας αυτό, όπως και

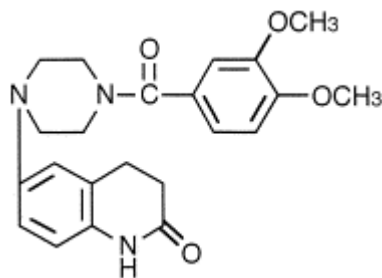


Dictyolomide A

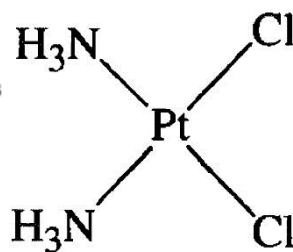
Εικόνα 37

1.3.2.5 ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Πολλές μελέτες έχουν ως αντικείμενο διερεύνησης την αντικαρκινική δράση των κινολινονών. Σε μία από αυτές μελετάται η βεσναρινόνη (3,4-διϋδρο-6-[4-(3,4-διμεθοξυβενζολυ)-1-πιπεριζανυλ]-2(1H)-κινολινονη), η οποία αποτελεί κινολινονικό παράγωγο και χρησιμοποιείται για την αύξηση της συσταλτικότητας του μυοκαρδίου. Έγιναν πειράματα *in vitro* σε κύτταρα του ήπατος ποντικών και συγκρίθηκαν με το αντικαρκινικό φάρμακο CDDP. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η βεσναρινόνη έδειξε πολύ καλή δραστηριότητα αλλά χαμηλότερη από το CDDP. Ο μηχανισμός δράσης της επίδρασης κατά του όγκου της βεσναρινόνης δεν είναι πλήρως κατανοητός, όμως τα δεδομένα υποδηλώνουν πως είναι ένας ελπιδοφόρος αντικαρκινικός παράγοντας, μόνη της ή σε συνδυασμό με άλλα φάρμακα.[34]



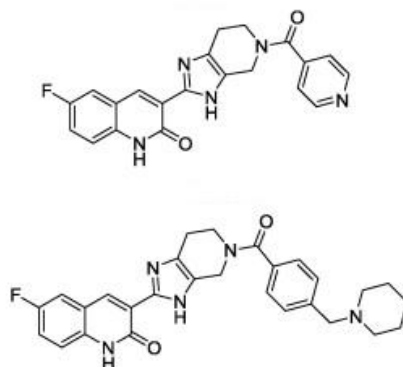
Εικόνα 38: Βεσναρινόνη



Εικόνα 39: CDDP

Σε πιο πρόσφατη μελέτη εξετάστηκαν 2 κινολινονικά παράγωγα ως αναστολείς της ομοιάζουσας με το FMS τυροσινικής κινάσης-3 (FTL3), η οποία ως υποδοχέας τυροσινικών κινασών εμπλέκεται στον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων, καθώς και έχει βρεθεί πως υπερεκφράζεται σε πολλές περιπτώσεις οξείας μυελογενούς λευχαιμίας (ΟΜΛ). Τα αποτελέσματα ήταν

αρκετά ενθαρρυντικά και η κινολινονική δόμη αποτελεί βάση ισχυρών αντικαρκινικών παραγώγων. [35]

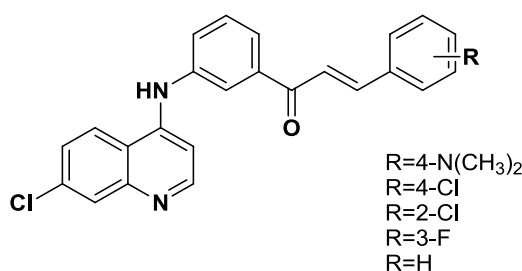


Εικόνα 40: Αντικαρκινικά Παράγωγα

1.3.3 ΚΙΝΟΛΙΝΟΝΙΚΑ ΑΝΑΛΟΓΑ ΧΑΛΚΟΝΩΝ

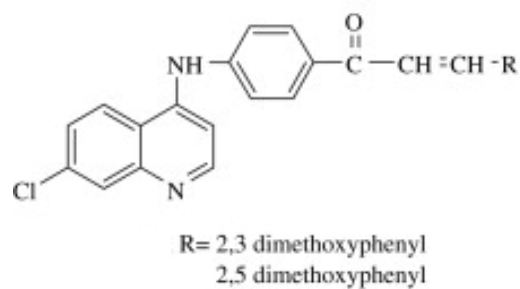
Η σύνθεση και η μελέτη της βιολογικής δραστηριότητας ανάλογων χαλκονών που περιέχουν τον ετεροκυκλικό δακτύλιο της κινολίνης έχει αποτελέσει αντικείμενο ενδιαφέροντος σχετικά πρόσφατα και για το λόγο αυτό η σχετική βιβλιογραφία είναι περιορισμένη.

Επιστήμονες παρασκεύασαν παράγωγα των 3-(7-χλωρο-4-κινολινυλαμινο) χαλκονών με ανθελονοσιακή και αντικαρκινική δράση (Σχήμα). Τα νέα παράγωγα δρουν αναστέλλοντας τόσο το σχηματισμό της β-αιματίνης (β-hematin), όσο και τον πολλαπλασιασμό καρκινικών κυττάρων του προστάτη.[36]



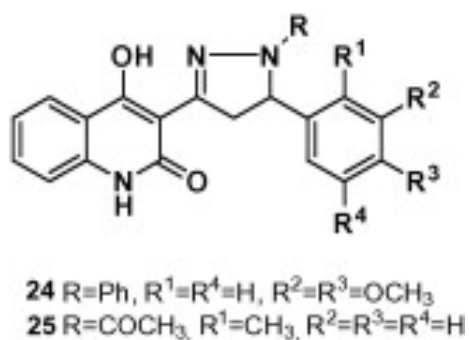
Εικόνα 41: Ανάλογα των 3-(7-χλωρο-4-κινολινυλαμινο) χαλκονών

Ένα σύνολο κινολινο-χαλκονών έχουν εξεταστεί για in vitro δραστηριότητα ενάντια στη φυματίωση και συγκεκριμένα στο βακτήριο *Mycobacterium tuberculosis* H37RV με αξιοσημείωτα αποτελέσματα.[37]



Εικόνα 42

Στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Ε.Μ.Π. μελετήθηκαν και αξιολογήθηκαν μια σειρά κινολινο-χαλκονών ως προς την αντιπαρασιτική τους δράση κατά των παρασίτων *Trypanosoma brucei* και *Leishmania infantum*. Τα παρακάτω παράγωγα έδειξαν την πιο ισχυρή αντιπαρασιτική δράση, με το παράγωγο **25** να είναι αποτελεσματικότερο και ως προς τα δύο παράσιτα.[38]

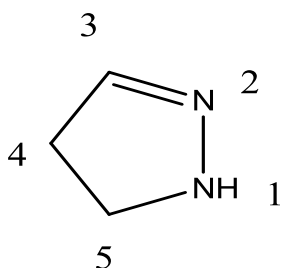


Εικόνα 43

1.4 ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΕΣ

1.4.1 ΔΟΜΗ

Η πυραζολίνη είναι μια πενταμελής ετεροκυκλική ένωση που έχει δύο παρακαείμενα άτομα αζώτου μέσα στο δακτύλιο. Έχει μόνο ένα ενδοκυκλικό διπλό δεσμό και η δομή της είναι βασική στη φύση. Ανάμεσα στην πληθώρα παραγώγων της, μεγαλύτερη προσοχή έχει δοθεί στις 2-πυραζολίνες. Οι ενώσεις αυτές μπορούν να θεωρηθούν κυκλικά ανάλογα υδραζίνης.



Εικόνα 44: Δομή πυραζονιλικού δακτυλίου

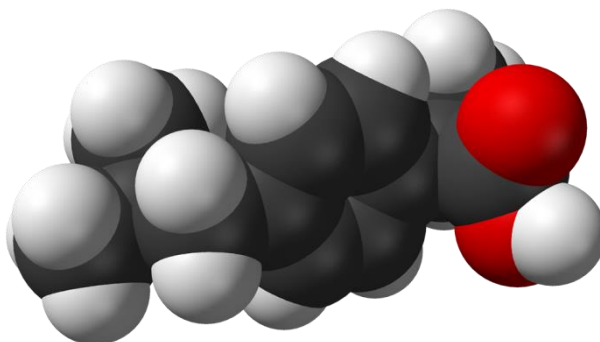
Το άτομο του άνθρακα 5 παρεκκλίνει από το επίπεδο του σχεδόν επιπέδου συστήματος των υπόλοιπων τεσσάρων ατόμων του ετεροκυκλικού δακτυλίου και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της θεωρίας της ετεροκυκλικής χημείας.[39]

1.4.2 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΩΝ

Οι πυραζολίνες και τα παράγωγα τους παρουσιάζουν σημαντικές φαρμακολογικές δράσεις όπως αντικαρκινικές, αντιπυρετικές, αναλγητικές, αντιφλεγμονώδεις, αντιμικροβιακές, αντιπαρασιτικές, αντιοξειδωτικές και μυοχαλαρωτικές. Επιπλέον, ορισμένα παράγωγα βρέθηκαν να έχουν κυτταροτοξική δραστηριότητα καθώς και ανασταλτική δραστηριότητα της συσσωμάτωσης των αιμοπεταλίων. Ειδικότερα, οι 2-πυραζολίνες είναι παρούσες σε φαρμακευτικά μόρια όπως τα αναλγητικά/αντιπυρετικά phenazone, amidopyrene και methampyrone, τα αντιφλεγμονώδη azolid και tandearil, το εντομοκτόνο indoxacarb κ.α

1.4.2.1 ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΔΡΑΣΗ

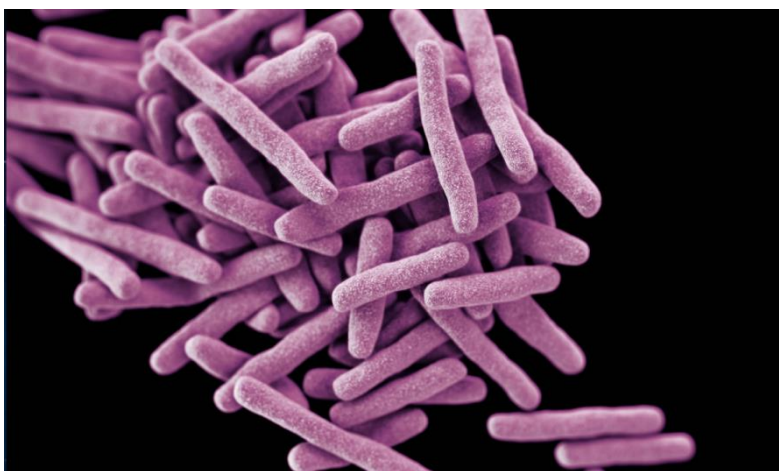
Τα συμβατικά Μη Στεροειδή Αντιφλεγμονώδη Φάρμακα (ΜΣΑΦ) τα οποία αναστέλλουν τη δράση και των δύο κυκλοοξυγονασών (COX-I και COX-II) χρησιμοποιούνται ευρύτατα κατά της φλεγμονής, ειδικότερα του πόνου στα αθριτικά. Η COX-I είναι κυρίως υπεύθυνη για τη παραγωγή των προσταγλανδινών που επηρεάζουν τη φυσιολογία του βλεννογόνου του στομάχου, τη λειτουργία των νεφρών και των αιμοπεταλίων. Η COX-2 είναι επαγόμενη πρωτεΐνη που παράγεται κυρίως μετά από φλεγμονώδη ερεθίσματα και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη φλεγμονώδη διεργασία. Πιο συγκεκριμένα, η βιβλιογραφική έρευνα έδειξε πως η αντιπυρίνη (2,3-διμεθυλ-1-φαινυλ-3-πυραζολιν-5-όνη) είναι το πρώτο πυραζολινικό παράγωγο που χρησιμοποιήθηκε στη θεραπεία του πόνου και της φλεγμονής. Ακόμα, η φαινυλ-βουταζόνη και ο ισχυρός μεταβολίτης της, η σελεκοξίμπη, είναι σημαντικοί αντιφλεγμονώδεις παράγοντες. Όμως η χρήση τους κατέστη περιορισμένη καθώς προκαλούν γαστρεντερολογικά προβλήματα. Έτσι, νέα παράγωγα όπως η φεπραζόνη, που είναι συγκρίσιμη με τη φαινυλοβουταζόνη στην δραστηκότητα αλλά με μείωμενες παρενέργειες, και διάφορες πυραζολιδιν-3,5-διόνες, πυραζολιν-3-όνες και πυραζολιν5-όνες είναι επίσης διαθέσιμα ως ΜΣΑΦ. [40]



Εικόνα 45: Φεπραζόνη

1.4.2.2 ΔΡΑΣΗ ΕΝΑΝΤΙΑ ΣΤΗ ΦΥΜΑΤΙΩΣΗ

Η φυματίωση είναι μία από τις πιο σημαντικές χρόνια μεταδοτικές βακτηριακές ασθένειες που προκαλούνται από το βακτήριο *Mycobacterium tuberculosis*. Πρόκειται για μια θανατηφόρα ασθένεια η οποία πλήττει το 32% του παγκόσμιου πληθυσμού ειδικά σε αναπτυσσόμενες χώρες όπως η Ινδία. Ακόμα, πιστεύεται πως είναι η κύρια αιτία θανάτου ανάμεσα στους θετικούς σε HIV ασθενείς. Τα ήδη υπάρχοντα φάρμακα είναι αρκετά αποτελεσματικά κατά της φυματίωσης αλλά η αυξανόμενη αντοχή των στελεχών του *M. tuberculosis* έχει προκαλέσει ανησυχία στην επιστημονική κοινότητα σε όλο τον κόσμο. Πολλά αζωτούχα προϊόντα που περιέχουν ετεροκυκλικές ενώσεις όπως πυραζολίνες, πυριδαζινόνες και πυρολόνες έχουν μελετηθεί εκτενώς για την ανάπτυξη φαρμακευτικά ισχυρών αντιμικροβιακών στελεχών. Σύμφωνα με την μελέτη των Ahmad et al, οι οποίοι συνέθεσαν προϊόντα με συμπύκνωση της p-ακεταμιδοφαινόλης(παρακεταμόλη) με τη δραστική ένωση Isoniazid, τα προϊόντα με χλώρο-, υδρόξυλο- ή άζωτο- υποκαταστάτες έδειξαν πολύ καλή δραστικότητα. Επιπλέον, οι πυραζολίνες με βάση την ένωση Isoniazid εμφανίστηκαν αντιβακτηριακά και αντιμυκητιακά δραστικότερες από τις πυραζολίνες με βάση την φαινυλδραζίνη. Τέλος, ενώ όλα τα προϊόντα εμφάνισαν ευρύ φάσμα δραστηριοτήτων, δύο από τις ενώσεις που συντέθηκαν από την ένωση Isoniazid παρουσίασαν ανώτερη αντιβακτηριακή και αντιμυκητιακή δράση από τα συνήθη φάρμακα.[41]



Εικόνα 46: *Mycobacterium tuberculosis*

1.4.2.3 ΑΝΤΙΚΑΤΑΘΛΙΠΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΚΑΙ ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ ΜΑΟs

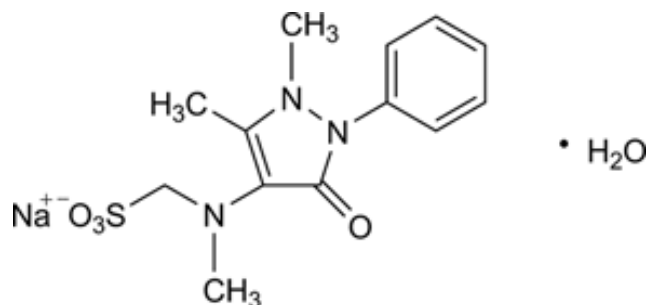
Η μονοαμινική οξειδάση (ΜΑΟ) είναι ένα φλαβοένζυμο υπεύθυνο για τη ρύθμιση και το μεταβολισμό σημαντικών μονοαμινικών νευροδιαβιβαστών όπως η 5-υδροξυτρυπταμίνη, η νορεπινεφρίνη και η ντοπαμίνη του κεντρικού νευρικού συστήματος. Το ένζυμο ΜΑΟ έχει δύο μορφές, την ΜΑΟ-Α και την ΜΑΟ-Β, με βάση τη μοριακή κλωνοποίηση, την επιλεκτικότητα του υποστρώματος και του υποδοχέα, την αλληλουχία των αμινοξέων και την κατανομή του ιστού. Οι περισσότεροι από τους σημερινούς αναστολείς του ένζυμου ΜΑΟ παρουσιάζουν πολλές παρενέργειες λόγω της έλλειψης εκλεκτικότητας ως προς τη μια μορφή και του μη αναστρέψιμου χαρακτήρα.

Πρόσφατα, ομάδα επιστημόνων διερεύνησε τη σύνθεση πυραζολινών που φέρουν ισοπρενοϊκή αλυσίδα στον αρωματικό C3. Οι περισσότερες από αυτές τις ενώσεις επέδειξαν ενδιαφέρουσα δραστικότητα παρεμπόδισης έναντι της ισομορφής hΜΑΟ-Β χωρίς όμως να έχουν αποτελεσματικότητα έναντι στην ισομορφή ΗΜΑΟ-Α. Οι πιο ισχυροί παρεμποδιστές του hΜΑΟ-Β είναι εκείνες οι ενώσεις με μια βενζυλοξυ ομάδα στην πάρα θέση στον C5 και εκείνες με ένα χλωρο υποκαταστάτη στην ίδια θέση. Η εισαγωγή μεθυλο ή μεθόξυ ομάδων στην ίδια θέση, οδήγησε σε σημαντική μείωση της δραστικότητάς τους.[42-43]

1.4.2.4 ΑΝΑΛΓΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Ο πόνος είναι μια δυσάρεστη και υποκειμενική αίσθηση που προκύπτει από μια επιβλαβή αισθητηριακή διέγερση που προειδοποιεί τον οργανισμό σχετικά με την τρέχουσα ή πιθανή βλάβη σε ιστούς ή όργανα. Παρά την οδυνηρή αίσθηση, ο πόνος προκαλεί ένα ερέθισμα το οποίο δεν μπορεί πάντα να ορισθεί εύκολα ή να απομακρυνθεί γρήγορα. Τα σύγχρονα αναλγητικά, όπως τα οπιοειδή και τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα, έχουν κάποιους περιορισμούς στην κλινική χρήση, ειδικά τα οπιοειδή, όπως ο εθισμός, η ανοχή και οι παρενέργειες. Ως εκ τούτου, πειραματικές έρευνες για την ανάπτυξη ασφαλέστερων και πιο αποτελεσματικών αναλγητικών προϊόντων εμφανίζει μεγάλο ενδιαφέρον για πολλούς ερευνητές.

Ορισμένες πυραζολίνες και παράγωγα αυτών όπως η διπυρόνη έχουν εμφανίσει αναλγητική δραστηριότητα που ενεργοποιείται από άλλους μηχανισμούς όπως η αναστολή της δράσης του ενζύμου κυκλοοξυγενάσης, η επικάλυψη του αραχιδονικού οξέος και η βιοσύνθεση των προσταγλανδινών. [44]



Εικόνα 47: Διπυρόνη

1.4.2.5 ΙΔΙΟΤΗΤΑ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ

Μια άλλη γνωστή ιδιότητα των πυραζολινών είναι η ικανότητα τους να απορροφούν το φως μεταξύ 300-400 nm και να εκπέμπουν μπλε φθορισμό. Η ιδιότητα τους αυτή αποδίδεται στα δύο άτομα αζώτου που περιέχει ο ετεροκυκλικός τους δακτύλιος και λειτουργούν ως φωτιστικοί παράγοντες ή παράγοντες τόνωσης χρωμάτων, Επιπλέον, έχουν ευρεία χρήση σε βιομηχανίες χαρτιού, πλαστικού και υφασμάτων.[45]

1.5 ANTIOΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

1.5.1 ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΚΑΙ ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ

Οξειδωση, είναι η μεταφορά ηλεκτρονίων από ένα άτομο σε ένα άλλο, αποτελώντας σημαντικό και ουσιαστικό μέρος της αερόβιας ζωής και του αερόβιου μεταβολισμού, αφού το οξυγόνο είναι ο τελικός αποδέκτης ηλεκτρονίων στο σύστημα ροής που παράγει ενέργεια με τη μορφή ATP. Ωστόσο, ενδέχεται να προκύψουν προβλήματα όταν η ροή ηλεκτρονίων παύει να υφίσταται με τη μορφή ζεύγους ηλεκτρονίων (μεταφορά ασύζευκτων μονών ηλεκτρονίων), δημιουργώντας με αυτό τον τρόπο ελεύθερες ρίζες. Στο εσωτερικό των κυττάρων παράγονται συνεχώς ουσίες που ονομάζονται 'Δραστικές Μορφές Οξυγόνου' ή ΔΜΟ (Reactive Oxygen Species ή ROS). Ο όρος ΔΜΟ περιλαμβάνει τις ελεύθερες ρίζες στις οποίες το ελεύθερο ηλεκτρόνιο βρίσκεται σε άτομο οξυγόνου, όπως για παράδειγμα το σουπεροξειδίο, η ρίζα τους υδροξυλίου, η ρίζα τους αλκυπεροξυλίου και η ρίζα του αλκοξυλίου καθώς και κάποια παράγωγα του οξυγόνου τα οποία δεν είναι ρίζες αλλά είναι οξειδωτικοί παράγοντες και μετατρέπονται εύκολα σε ελεύθερες ρίζες όπως το υπεροξειδίο του υδρογόνου και το υποχλωριώδες οξύ. Ένας άλλος παρόμοιος όρος είναι οι 'Δραστικές Μορφές Αζώτου' ή ΔΜΑ που περιλαμβάνει τις ελεύθερες ρίζες στις οποίες το ελεύθερο ηλεκτρόνιο βρίσκεται σε άτομο αζώτου καθώς και αζωτούχες ενώσεις που δεν είναι ελεύθερες ρίζες αλλά είναι οξειδωτικοί παράγοντες και μεταφέρονται εύκολα σε ελεύθερες ρίζες.

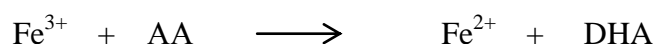
1.5.2 ANTIOΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ

Αντιοξειδωτικό καλείται ένα μόριο που έχει την ικανότητα να εμποδίζει την οξειδωση άλλων μορίων. Με τον όρο οξειδωση εννοούμε τη χημική αντίδραση κατά την οποία συμβαίνει μεταφορά ηλεκτρονίων από μια ουσία σε ένα οξειδωτικό μέσο. Οι αντιδράσεις οξειδωσης μπορούν να παράγουν ελεύθερες ρίζες, οι οποίες δημιουργούν αλυσιδωτές αντιδράσεις που καταστρέφουν το μόριο. Τα αντιοξειδωτικά τερματίζουν αυτές τις αλυσιδωτές αντιδράσεις, απομακρύνοντας αμέσως τις ελεύθερες ρίζες ενώ εμποδίζουν τη δημιουργία κάθε άλλης αντίδρασης οξειδωσης, οξειδώνοντας τον εαυτό τους.

Οι οργανισμοί διαθέτουν μία σειρά από αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς έτσι ώστε η παραγωγή των ΔΜΟ να είναι ελεγχόμενη και να μην ξεπερνά κάποια όρια. Οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί περιλαμβάνουν τις εξής κατηγορίες:

- i. αντιοξειδωτικά ένζυμα με κυριότερα τη δισμουτάση, την καταλάση, οι υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης
- ii. πρωτεΐνες (τρανσφερίνες, αιμοπηξίνη, κερουλοπλασμίνη, απτογλοβίνες) που απομακρύνουν προ-οξειδωτικές ουσίες
- iii. πρωτεΐνες που προστατεύουν τα βιολογικά μακρομόρια από βλαβες με διάφορους μηχανισμούς (π.χ. πρωτεΐνες θερμικού σοκ)
- iv. αντιοξειδωτικά μόρια μικρού μήκους που εξουδετερώνουν τις ΔΜΟ (π.χ. το GSH, ένα τριπεπτίδιο αποτελούμενο από γλουταμινικό οξύ-κυστεΐνη-γλυκίνη, το ουρικό οξύ, η μελανίνες)

Ουσίες με σημαντική αντιοξειδωτική δράση βρίσκονται στις τροφές όπως η βιταμίνη C και η βιταμίνη E. Η πρώτη, το ασκορβικό οξύ δηλαδή, όταν αντιδρά με ελεύθερες ρίζες μετατρέπεται στο αφυδροασκορβικό οξύ. Κάτω όμως από ορισμένες συνθήκες μπορεί να δρά και ως προ-οξειδωτικό όταν ανάγει τον Fe^{3+} σε Fe^{2+} . Στη συνέχεια, ο Fe^{2+} μπορεί να πάρει μέρος στην αντίδραση Fenton και να παράγει OH^* .



Το ασκορβικό οξύ αναγεννάται από τη GSH από μία αντίδραση που καταλύεται από τη ρεδοκτάση του αφυδροασκορβικού.



Η βιταμίνη E (α-τοκοφερόλη) είναι η πιο σημαντική ουσία που εξουδετερώνει τις ΔΜΟ μέσα στις κυτταρικές μεμβράνες προστατεύοντας από λιπιδική υπεροξείδωση. Λόγω του ότι είναι λιπόφιλη ουσία μπορεί και διεισδύει στη λιπιδική διπλοστοιβάδα των κυτταρικών μεμβρανών. Η βιταμίνη E μετατρέπεται σε μία μη δραστική ρίζα διακόπτοντας την αλυσίδα αντιδράσεων της λιπιδικής υπεροξείδωσης.[46]



1.5.3 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ

Τα δομικά χαρακτηριστικά που σχετίζονται με την αντιοξειδωτική δράση τους είναι:

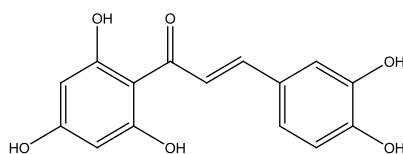
- i. η παρουσία διπλού δεσμού μεταξύ C-2 και C-3 και καρβονυλίου στη θέση 4 του δακτυλίου C
- ii. η παρουσία υδροξυλίου στη θέση 3 του δακτυλίου C
- iii. η παρουσία υδροξυλίων στις θέσεις 3' και 4' του δακτυλίου B

Τα φλαβονοειδή δρουν με δύο μηχανισμούς ως αντιοξειδωτικά. Κυρίως διακόπτουν τις αλυσιδωτές αντιδράσεις της οξείδωσης δίνοντας άτομα υδρογόνου στις υπερόξυ-ρίζες, όπως όλα τα φαινολικά αντιοξειδωτικά. Επίσης, σχηματίζουν σύμπλοκα με μεταλλικά ιόντα που εμφανίζουν προ-οξειδωτική δράση. [47]

1.5.4 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΧΑΛΚΟΝΩΝ

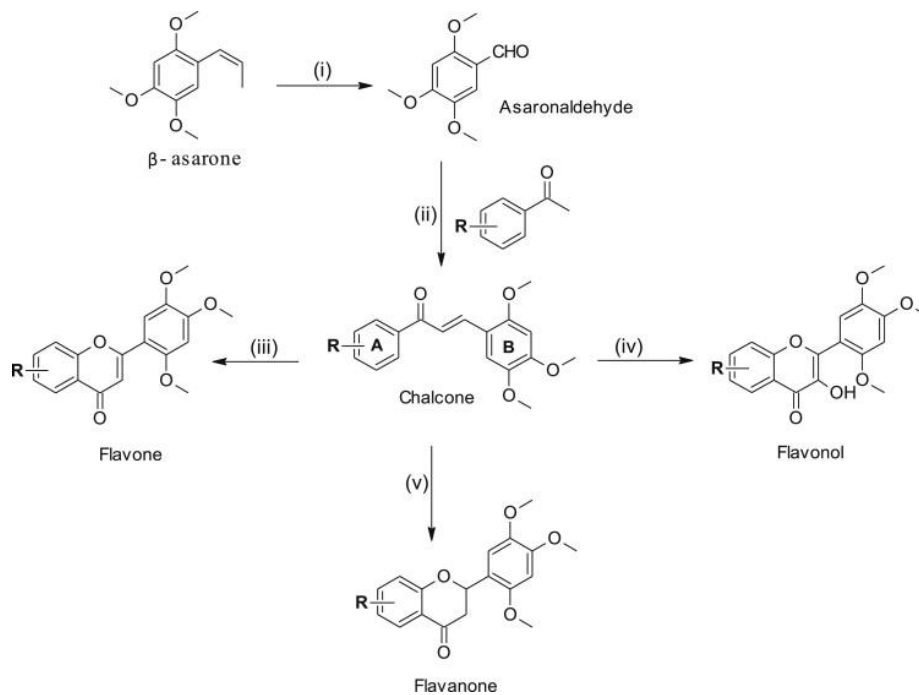
Σε πρόσφατη ερευνητική εργασία που πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας ΕΜΠ, παρασκευάστηκε μια σειρά χαλκονών οι οποίες μελετήθηκαν για την αντιοξειδωτική τους δράση. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της έρευνας η υψηλή ικανότητα δέσμευσης ριζών DPPH δε συνοδεύεται πάντα με υψηλή ικανότητα παρεμπόδισης της δράσης της LOX. Η 2',3,4,4',6'-πενταϋδροξυ-χαλκόνη επέδειξε την καλύτερη ικανότητα δέσμευσης ριζών DPPH, ωστόσο δεν παρεμπόδισε τη δράση των LOX. Από την άλλη πλευρά, οι 2'-υδρόξυ-4-μεθυλο-χαλκόνη και 2'-υδρόξυ-4-χλωρο-χαλκόνη επέδειξαν ισχυρή δράση παρεμπόδισης της LOX, χωρίς όμως να έχουν υψηλή ικανότητα δέσμευσης ριζών DPPH.

Η χαλκόνη που συνδύασε με μεγαλύτερη επιτυχία αντιοξειδωτική δράση με υψηλή ικανότητα παρεμπόδισης της δράσης της LOX ήταν η 2'-υδρόξυ-4-μεθυλο-4',6'-διμεθοξυ-χαλκόνη που φέρει μεθόξυ ομάδες στις θέσεις 2' και 4' του Α δακτυλίου. Προφανώς η μελέτη αυτής της κατηγορίας μορίων που έχουν διπλή δράση έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον και επιδέχεται περαιτέρω διερεύνηση [48].



Εικόνα 48: Χαλκόνη με καλή ικανότητα δέσμευσης ριζών DPPH

Μια άλλη σειρά πειραμάτων με σύνθεση αναλόγων 2,4,5-τριμεθοξυ-χαλκων συντέθηκαν απο ακετοφαινόνες και ασαροναλδεϋδες που προέρχονται απο το φυσικό συστατικό β-ασαρόνη. Οι χαλκόνες που είχαν δότη ηλεκτρονίων στη θέση para του δακτυλίου A έδειξαν καλύτερη αντιοξειδωτική δράση.[49]



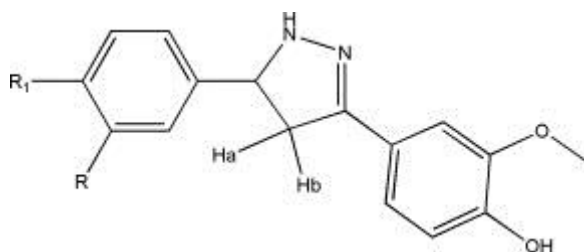
Εικόνα 49

1.5.5 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΩΝ

Σε πρόσφατη μελέτη εξετάστηκαν 6 μόρια 5-υδροξυ-3-μεθυλ-5-τριφλουορομεθυλο-4,5-διϋδρο-1H-πυραζολίνες με διαφορετικούς υποκαταστάτες στην θέση 1 του πυραζολινικού δακτυλίου. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, ιδιαίτερη αντιοξειδωτική δράση είχε το πυραζολινικό ανάλογο με καλυμμένη την θέση 5 του δακτυλίου.[50]

Ωστόσο, οι 2-πυραζολίνες έχουν εξεταστεί περισσότερο και σε πρόσφατη έρευνα πάνω στις 3-[(4-υδροξυ-3-μεθοξυ)φαινυλ]-5-φαινυλ-2-πυραζολίνες, από τις 13 ενώσεις που παρασκευάστηκαν και εξετάστηκαν για την αντιοξειδωτική τους δράση μεσω DPPH, όλες έδειξαν αξιόλογα αποτελέσματα σε σύγκριση με το ασκορβικό

οξύ. Η σημαντική πληροφορία από την έρευνα αυτή είναι πως αν χρησιμοποιηθούν αλογόνα ως υποκαταστάτες στην θέση 3-φαινυλ της πυραζολίνης, η αντιοξειδωτική δράση μειώνεται κατα πολύ και έτσι υποδηλώνεται η ακαταλληλότητα του αλογόνου. Επιπλέον, με υποκαταστάτες με υδροξύλο και μεθόξυ ομάδες σταθεροποιείται το μόριο και έτσι, πάλι, μειώνεται η δραστηκότητα του.[51]



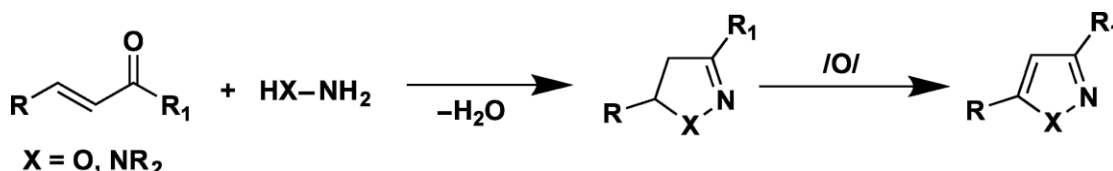
Εικόνα 50: 3-[(4-υδροξυ-3μεθοξυ)φαινυλ]-5-φαινυλ-2-πυραζολίνες

Μια νέα έρευνα στην οποία συντέθηκαν τέσσερις 1,3,5-τριϋποκατεστημένες πυραζολίνες που αποτελούνται από ομάδα ορθουδροξυλίου στον C-3 του φαινολικού δακτυλίου εξετάστηκαν *in vitro* για την αντιοξειδωτική τους δράση και, σύμφωνα με τα αποτελέσματα, αποτελούν ένα πολύ καλό υπόστρωμα για την αναζήτηση νέων αντιοξειδωτικών ενώσεων.[52]

1.6 ΚΥΡΙΟΤΕΡΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΩΝ

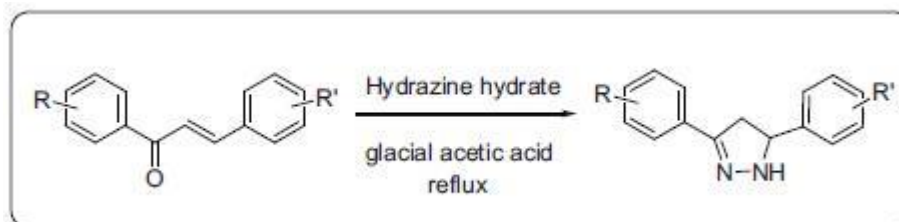
Με βάση βιβλιογραφική ανασκόπηση, οι κυριότερες συνθετικές πορείες για την παρασκευή πυραζολινών καθώς και οι ιδιότητές τους είναι οι εξής:

- Στα τέλη του 19^{ου} αιώνα οι Fischer και Knoevenagel συνέθεσαν μια ένωση 2-πυραζολίνης μέσω αντίδρασης της ακρολεΐνης με φαινυλδραζίνη. Το πείραμα τους αποτελεί το πρώτο παράδειγμα παραγωγής 2-πυραζολίνης μέσω αντιδράσεις α,β-ακόρεστων κετονών με παράγωγο υδραζίνης.[53]



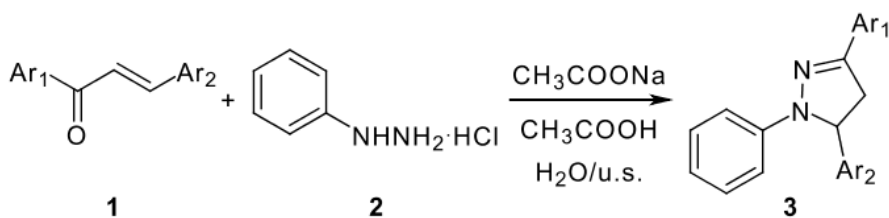
Εικόνα 51

- Η αντίδραση χαλκονών με υδραζίνες παρουσία οξικού οξέος αποτελεί την πιο απλή και εύκολη μέθοδο παραγωγής πυραζολινών με υψηλή απόδοση. Η μέθοδος επιτυγχάνεται με ή χωρίς την απομόνωση του ενδιάμεσου της υδραζόνης. Επίσης, η σύνθεση των πυραζολινών λαμβάνει χώρα και υπό αλκαλικές συνθήκες χρησιμοποιώντας πυριδίνη ως καταλύτη σε αιθανολικό διάλυμα.[54]



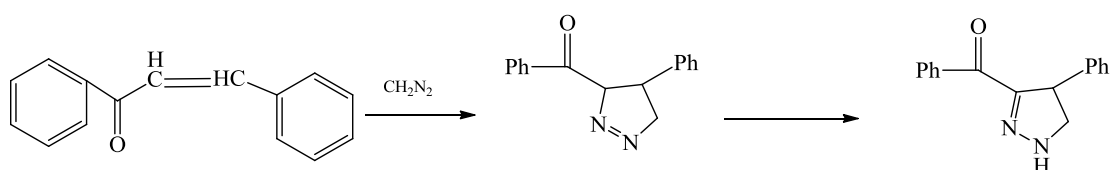
Εικόνα 52

Μια νέα προσέγγιση στην ήδη υπάρχουσα μέθοδο σύνθεσης είναι παρουσία υπερηχητικής ή υπέρυθρης ακτινοβολίας. Μέσω των ακτινοβολιών επιτυγχάνεται βελτίωση στην απόδοση της αντίδρασης, μείωση του χρόνου αυτής και πιο ήπιες συνθήκες σε σχέση με παραδοσιακές μεθόδους.



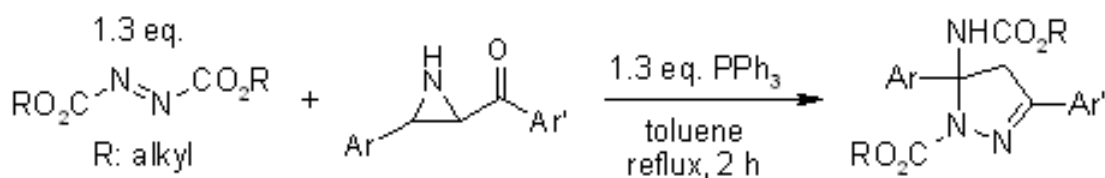
Εικόνα 53

- Η 1,3-διπολική κυκλοπροσθήκη των χαλκονών με διαμεθαζόνη είχε πρωτοερευνηθεί από τους Smith και Ping και συντέθηκαν 3-βενζυλ-4-φαινυλ-1-πυραζολίνες ως πρώτο προϊόν το οποίο ισομερίστηκε σε 3-βενζυλ-4-φαινυλ-2-πυραζολίνες με ήπια θέρμανση.[54]



Εικόνα 54

- Μία καινούρια, αποτελεσματική και σειριακή αντίδραση μεταξύ 2-ακυλοαζιριδινών και Huisgen zwitterions οδηγεί στο σχηματισμό 2-πυραζολινών σε εξαιρετικές αποδόσεις. [55]



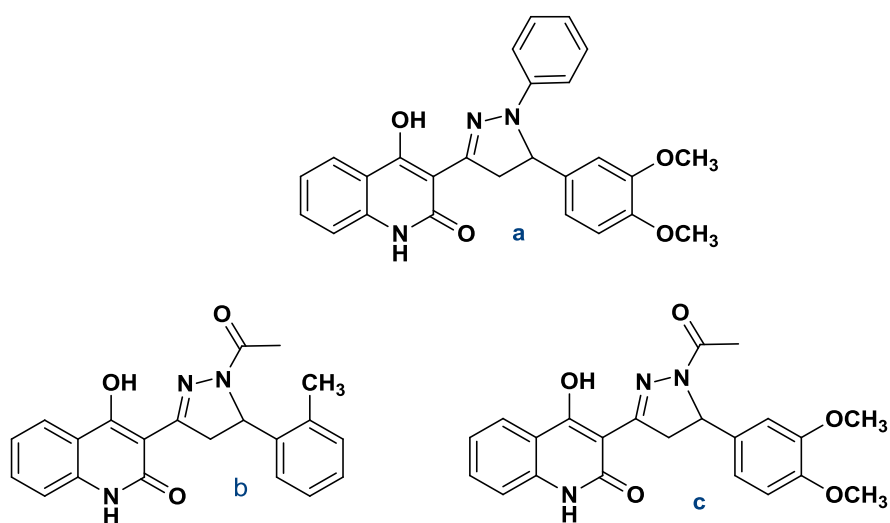
Εικόνα 55: Σύνθεση 2-πυραζολινών από 2-ακυλοαζιριδίνες και Huisgen zwitterions

2. ΣΧΕΔΙΑΜΟΣ, ΣΥΝΘΕΣΗ, ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ

2.1 ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η σύνθεση και ο χαρακτηρισμός χαλκονών και νέων πυραζολινικών αναλόγων, καθώς και η μελέτη της αντιοξειδωτικής και αντιφλεγμονώδους δράσης τους, δεδομένου του αυξημένου ερευνητικού ενδιαφέροντος που παρουσιάζουν λόγω των βιολογικών ιδιοτήτων τους. Οι ενώσεις αυτές περιέχουν μια ποικιλία υποκαταστατών σε διαφορετικές θέσεις των αρωματικών δακτυλίων τους. Οι δομικές τροποποιήσεις που πραγματοποιήθηκαν είχαν ως σκοπό τη διερεύνηση και τον προσδιορισμό των στερεοηλεκτρονικών απαιτήσεων που θα εξασφαλίσουν τη βέλτιστη αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση.

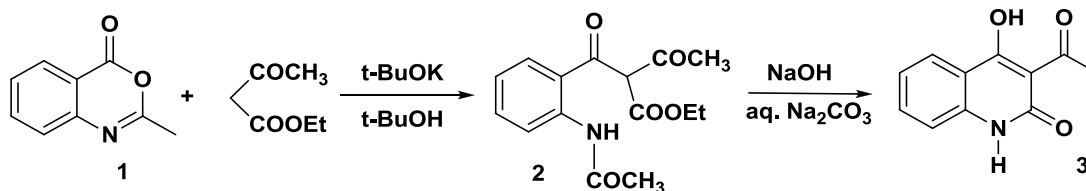
Ως μόρια οδηγία για την συνθετική πορεία χρησιμοποιήθηκαν πυραζολινικά ανάλογα (a-c) που συντέθηκαν στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Ε.Μ.Π. σε προηγούμενη ερευνητική εργασία.[38]



Εικόνα 56: Πυραζολινικά ανάλογα-μόρια οδηγία

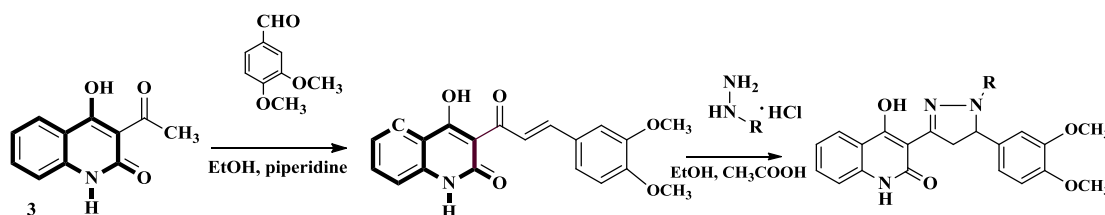
2.2 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ

Αρχικά, πραγματοποιήθηκε η σύνθεση της 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-κινολινόνης (3), βασισμένη σε αντίδραση C-ακυλίωσης του ακετοξικού αιθυλεστέρα από τη 2-μεθυλο-βενζοξάζινονη.



Εικόνα 57: Σύνθεση της 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-κινολινόνης

Η κινολινο-χαλκόνη που μελετήσαμε συντέθηκε μέσω αλδολικής συμπύκνωσης της 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-κινολινόνης (3) με την αρωματική αλδεύδη 3,4-διμεθοξυβενζαλδεύδη.



Εικόνα 58: Σύνθεση των νέων παραγώγων

2.3 ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΜΟΡΙΩΝ

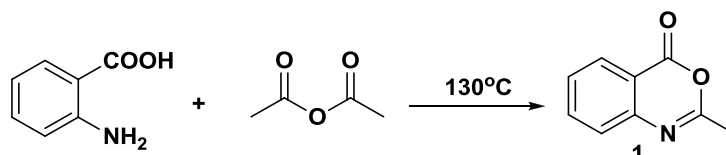
2.3.1 ΣΥΝΘΕΣΗ 3-ΥΠΟΚΑΤΕΣΤΗΜΕΝΩΝ-4-ΥΔΡΟΞΥ-2-ΚΙΝΟΛΙΝΟΝΩΝ

Η μέθοδος η οποία χρησιμοποιείται για τη σύνθεση μιας κατάλληλα 3-υποκατεστημένης-4-υδροξυ-2-κινολινόνης, έχει αναπτυχθεί παλαιότερα στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας και βασίζεται σε αντιδράσεις C-ακυλίωσης ενώσεων ενεργού μεθυλενίου με επιλογή των κατάλληλων ακυλιωτικών μέσων ώστε να επιτευχθεί η σύνθεση του επιθυμητού κάθε φορά ετεροκυκλικού καρβονυλικού παραγώγου.[56]

2.3.1.1 ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΗΣ 2-ΜΕΘΥΛΟ-4Η-3,1-ΒΕΝΖΟΞΑΖΙΝ-4-ΟΝΗΣ

(1)

Στην παρούσα διπλωματική εργασία, επιλέχθηκε η 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-(1H)-κινολινόνη (3) ως αρχική ένωση, για την σύνθεση της οποίας χρησιμοποιήθηκε ως ακυλιωτικό μέσο η 2-μεθυλο-4Η-3,1-βενζοξαζιν-4-όνη (1), η οποία παρασκευάζεται με θέρμανση του ανθρανιλικού οξέος με οξικό ανυδρίτη.

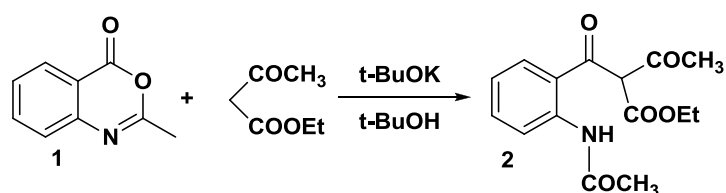


Εικόνα 59: Σύνθεση της 2-μεθυλο-4Η-3,1-βενζοξαζιν-4-όνης

Η 2-μεθυλο-4Η-3,1-βενζοξαζιν-4-όνη (1) καθώς δεν είναι ιδιαίτερα σταθερή ουσία, αφού εκτεθειμένη στην ατμόσφαιρα μετατρέπεται προς Ν-ακέτυλο ανθρανιλικό οξύ, επιβάλλεται να φυλάσσεται σε ξηραντήρα και να γίνεται χρήση της σε διάστημα μίας ή δύο ημερών μετά την παρασκευή της.

2.3.1.2 ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ Ν-ΑΚΕΤΥΛΑΝΘΡΑΝΥΛΟ-ΑΚΕΤΟΞΙΚΟΥ ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑ (2)

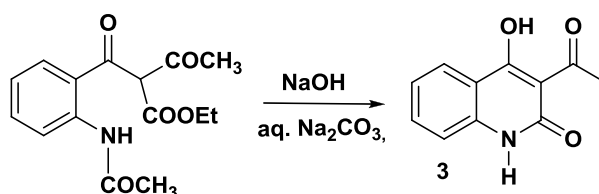
Με αντίδραση C-ακυλίωσης του ακετοξικού αιθυλεστέρα με ακυλιωτικό μέσο τη 2-μεθυλο-4Η-3,1-βενζοξαζιν-4-όνη (1) σε βασικό περιβάλλον (διάλυμα tert-βουτοξυκαλίου σε διαλύτη tert-βουτυλική αλκοόλη) και ανάδευση 1.5 – 2 ώρες σε θερμοκρασία περιβάλλοντος απομονώνεται το αντίστοιχο προϊόν C-ακυλίωσης, το οποίο λαμβάνεται σε καθαρή στερεή μορφή και υψηλή απόδοση (70 – 90%)



Εικόνα 60: Αντίδραση C-ακυλίωσης ενώσεων ενεργού μεθυλενίου

2.3.1.3 ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΗΣ 3-ΑΚΕΤΥΛΟ-4-ΥΔΡΟΞΥ-2-(1H)-ΚΙΝΟΛΙΝΟΝΗΣ (3)

Με αντίδραση κυκλοποίησης του προϊόντος C-ακυλίωσης (2) σε αλκαλικό περιβάλλον (Na₂CO₃/NaOH), με ανάδευση 2 ωρών σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, λαμβάνεται σε καθαρή στερεή μορφή και υψηλή απόδοση (80 – 90%) η 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-(1H)-κινολινόνη (3).

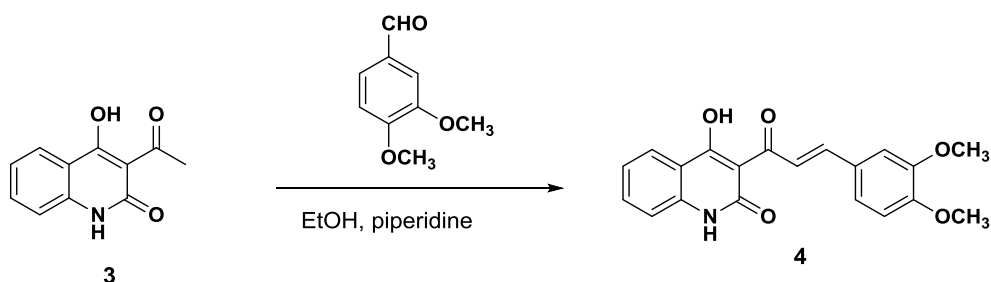


Εικόνα 61: Σύνθεση της 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-(1H)-κινολινόνης

Η συνθετική πορεία της 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-(1H)-κινολινόνης (3) μέσω αντιδράσεων C-ακυλίωσης και κυκλοποίησης δεν παρουσίασε κάποια ιδιαίτερη δυσκολία καθώς τα στάδια της ήταν διακριτά και επέτρεπε την επαρκή και σωστή επεξεργασία των προϊόντων, πραγματοποιήθηκε σε ήπιες συνθήκες με αρκετά ικανοποιητικές αποδόσεις σε κάθε στάδιο.

2.3.2 ΣΥΝΘΕΣΗ ΥΒΡΙΔΙΚΟΥ ΜΟΡΙΟΥ ΚΙΝΟΛΙΝΟ-ΧΑΛΚΟΝΗΣ

Η σύνθεση της νέας κινολινο-χαλκόνης πραγματοποιήθηκε μέσω αλδολικής συμπύκνωσης της 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-(1H)-κινολινόνης (3) με την αρωματική αλδεύδη 3,4-διμεθοξυβενζαλδεύδη, παρουσία καταλυτικής ποσότητας πιπεριδίνης με θέρμανση στους 78°C.

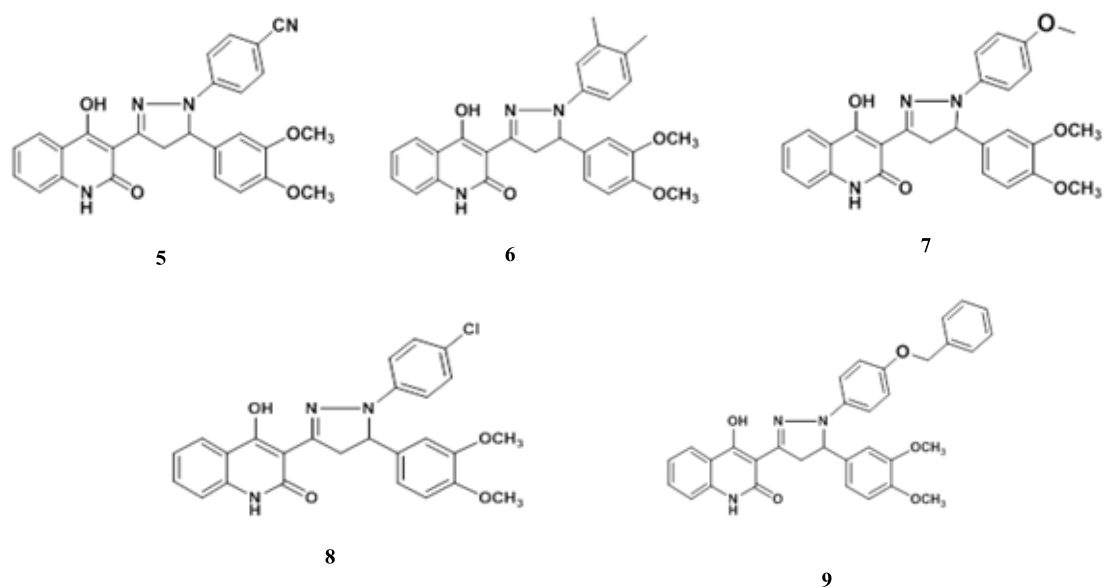


Εικόνα 62: Σύνθεση κινολινο-χαλκόνης 4

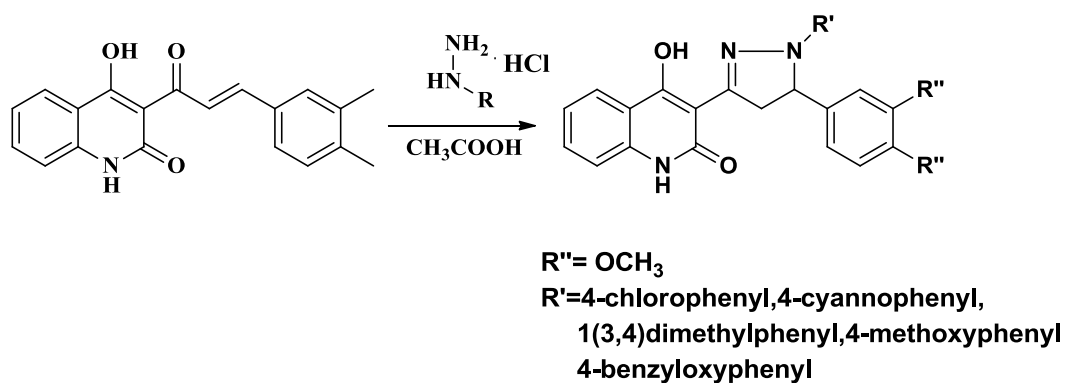
2.3.3 ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΙΚΑ ΑΝΑΛΟΓΑ

Μία από τις προσεγγίσεις στη χημική τροποποίηση του α,β-ακόρεστου καρβονυλικού συστήματος των χαλκόνων που αναπτύσσεται τα τελευταία χρόνια

περιλαμβάνει την αντίδραση με παράγωγα υδραζίνης, η οποία οδηγεί στο σχηματισμό ετεροκυκλικών πυραζολινικών αναλόγων. Τα πυραζολινικά ανάλογα **5-9** παρασκευάστηκαν με θέρμανση της χαλκόνης **4** με την αντίστοιχη υδραζίνη σε διαλύτη οξικό οξύ.



Εικόνα 63: Πυραζολινικά ανάλογα

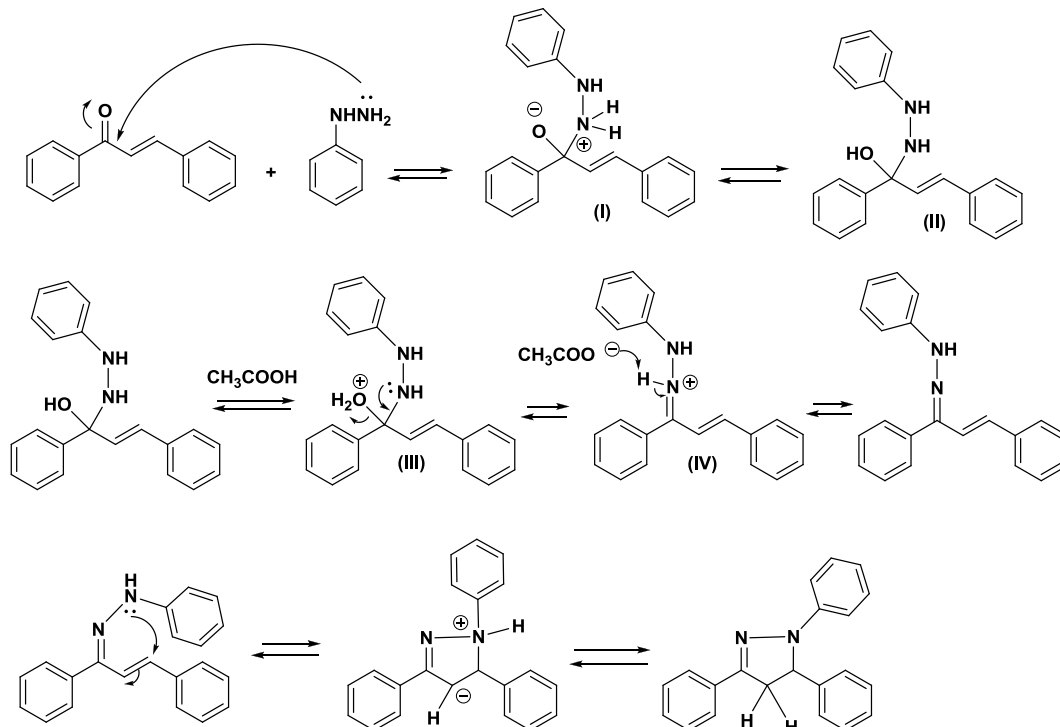


Εικόνα 64: Σύνθεση πυραζολινών

2.3.3.1 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΙΚΩΝ ΑΝΑΛΟΓΩΝ

Η τελική κυκλοποίηση των ενδιάμεσων μορίων προς το σχηματισμό των τελικών προϊόντων, πραγματοποιείται λόγω των δύο ηλεκτρονιόφιλων κέντρων στο α,β-ακόρεστο καρβονυλικό σύστημα της χαλκόνης.

Αρχικά, το ζεύγος ηλεκτρονίων της αμινομάδας της φαινυλνυδραζίνης προσβάλλει τον ηλεκτρονιόφιλο άνθρακα του καρβονυλίου της χαλκόνης οπότε σχηματίζεται το τετραεδρικό ενδιάμεσο (I) το οποίο με μεταφορά πρωτονίου, παρέχει το ουδέτερο ενδιάμεσο (II). Πρωτονίωση του υδροξυλίου του (II) από το οξικό οξύ μετατρέπει το OH σε καλή αποχωρούσα ομάδα (H_2O). Το μη δεσμικό ζεύγος ηλεκτρονίων του αζώτου δημιουργεί ένα νέο διπλό δεσμό ($\text{C}=\text{N}$) και παράλληλα αποσπάται ένα μόριο H_2O (ενδιάμεσο (III)). Στη συνέχεια, πραγματοποιείται απόσπαση του όξινου υδρογόνου με επίδραση του οξικού ανιόντος και δημιουργία του ουδέτερου ενδιάμεσου (IV). Το ασύζευκτο ζεύγος ηλεκτρονίων της δεύτερης αμινομάδας προσβάλλει το δεύτερο ηλεκτρονιόφιλο κέντρο του α,β-ακόρεστου καρβονυλικού συστήματος και σχηματίζει απλό δεσμό ($\text{C}-\text{N}$) κλείνοντας έναν ετεροκυκλικό πενταμελή δακτύλιο. Η τελική πυραζολίνη προκύπτει με μεταφορά πρωτονίου από το άζωτο στον άνθρακα.



Εικόνα 65: Μηχανισμός σχηματισμού πυραζολίνης

2.4 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΙΚΩΝ ΑΝΑΛΟΓΩΝ

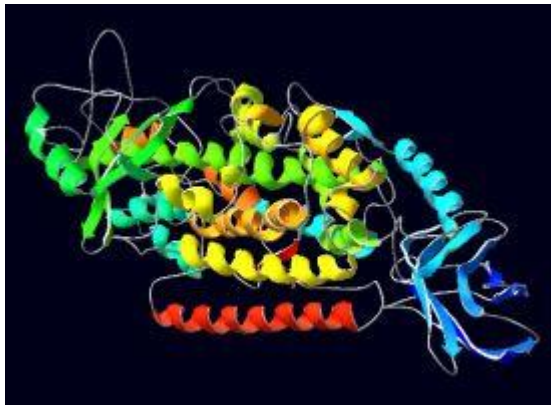
2.4.1 ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΔΡΑΣΗ

Με τον όρο λοίμωξη χαρακτηρίζεται η είσοδος μικροβίων στον οργανισμό, η εγκατάστασή τους σε σημεία όπου δεν ενδημούν φυσιολογικά ή ενδημούν χωρίς να υπερβαίνουν ορισμένα πληθυσμιακά όρια, και η πρόκληση αντίδρασης φλεγμονής είτε άμεσα είτε έμμεσα, μέσω της τοξικότητάς τους. Η λοίμωξη συχνά συγχέεται με την μόλυνση, καθώς η πορεία τους μέχρι και την εγκατάσταση των μικροβίων στον οργανισμό είναι κοινή. Όμως από την δεύτερη απουσιάζει η φλεγμονώδης απόκριση, γεγονός που κάνει τους δύο όρους να διαφέρουν.[57]

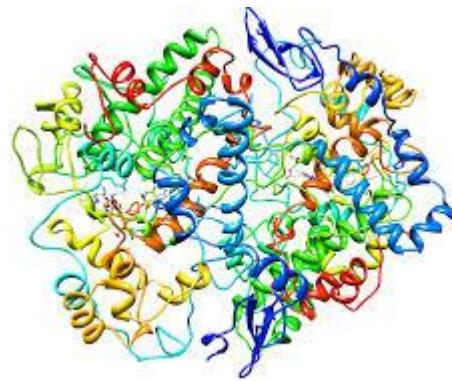
Όπως προκύπτει από τον ορισμό που δόθηκε, η λοίμωξη είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με την φλεγμονή, η οποία αποτελεί μέρος του αμυντικού συστήματος του οργανισμού. Βέβαια η είσοδος βλαπτικών για τον άνθρωπο μικροβίων, δεν είναι ο μοναδικός παράγοντας που είναι ικανός να ενεργοποιήσει την φλεγμονή[58]. Διάφορες χημικές ουσίες, ήσσονος σημασίας μηχανικά τραύματα, ακόμη και αβλαβείς θεωρητικά παράγοντες όπως η γύρη, μπορούν να την πυροδοτήσουν. Ουσιαστικά, η φλεγμονή είναι η απόκριση του οργανισμού σε αυτά τα ερεθίσματα και η εκδήλωσή της αποβλέπει αφενός στην απομάκρυνση ή εξολόθρευση του βλαπτικού παράγοντα και αφετέρου στην επούλωση των ιστών που υπέστησαν φθορές. Τα συμπτώματα της φλεγμονής είναι ο πόνος, η ερυθρότητα, η θερμότητα, το οίδημα και η απώλεια λειτουργικότητας. Τα συμπτώματα αυτά μπορεί να διαφέρουν ως προς την ένταση και την χρονική τους διάρκεια, ανάλογα με το αίτιο που προκάλεσε την φλεγμονή. Επίσης είναι δυνατό να εμφανίζονται ορισμένα μόνο από τα συμπτώματα που αναφέρθηκαν. Η χρονική τους διάρκεια επιτρέπει την διάκριση της φλεγμονής σε οξεία, εάν αυτή είναι μικρή (μερικές ημέρες) και σε χρόνια, όταν είναι μεγαλύτερη. Στην οξεία φλεγμονή τα συμπτώματα χαρακτηρίζονται από μεγάλη ένταση ενώ στη χρόνια είναι κυρίως ήπιας έντασης, μπορεί όμως να είναι και εντονότερα. Ο λόγος για τον οποίο η χρόνια φλεγμονή λαμβάνει χώρα για μακρό χρονικό διάστημα, είναι το γεγονός ότι παρατηρείται ταυτόχρονη πρόκληση και επούλωση ιστικής βλάβης. Οι περιπτώσεις εκείνες στις οποίες η φλεγμονή ενεργοποιείται έπειτα από έκθεση σε κάποιον παράγοντα που θεωρείται ακίνδυνος, χαρακτηρίζονται ως αλλεργίες και οφείλονται στην υπερευαισθησία του οργανισμού στον οποίο εκδηλώνονται. Τέτοιοι παράγοντες μπορεί είναι η γύρη που αναφέρθηκε

πρωτύτερα, συστατικά διαφόρων βιομηχανικών προϊόντων, ρύποι του περιβάλλοντος, ακόμη και το νερό ή ο κρύος αέρας. [59-62]

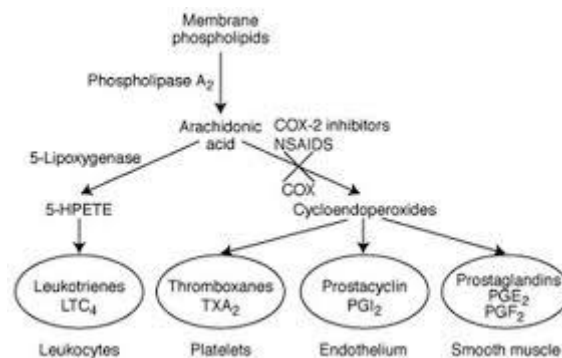
Η φλεγμονή ξεκινά όταν υπό την επίδραση ενός οποιουδήποτε βλαπτικού παράγοντα προκαλείται ιστική βλάβη και ακολούθως απελευθέρωση των πρώτων μεσολαβητών της φλεγμονής, δηλαδή της ισταμίνης, της σεροτονίνης και της βραδυκινίνης. Στη συνέχεια, προκαλείται αύξηση του κυτοσολικού ασβεστίου στα κοκκιοκύτταρα (βασεόφιλα, εωσινόφιλα, ουδετερόφιλα), γεγονός που ενεργοποιεί την φωσφολιπάση $A_2(PLA_2)$. Η ενεργοποιημένη πλέον PLA_2 , ένζυμο που εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα των κοκκιοκυττάρων, υδρολύει τον εστερικό δεσμό των 2-αραχιδονυλοφωσφολιπιδίων των μεμβρανών, καταλύοντας έτσι την απελευθέρωση του αραχιδονικού οξέος. Το αραχιδονικό οξύ ανήκει στην κατηγορία των εικοσανοειδών και υπό την επίδραση των ενζύμων κυκλοοξυγονάση (COX) και λιποοξυγονάση (LOX) οδηγεί στην παραγωγή προσταγλανδινών και λευκοτριενίων αντίστοιχα. Σημειώνεται ότι η προστακυκλίνη και το θρομβοξάνιο A_2 είναι επίσης ουσίες που σχηματίζονται από το αραχιδονικό οξύ μέσω της COX. Τα επίπεδα των ενζύμων COX και LOX αυξάνονται όταν εκδηλώνεται η φλεγμονή, καθώς διεγείρεται η έκφραση των γονιδίων τους. Το ίδιο συμβαίνει και με το ένζυμο επαγωγίμη συνθετάση του μονοξειδίου του αζώτου (i-NOS), το οποίο προ της εκδηλώσεως φλεγμονής ανιχνεύεται μόλις σε ίχνη. Η αύξηση των επιπέδων της i-NOS προκαλεί αύξηση των επιπέδων του μονοξειδίου του αζώτου (NO), για το οποίο είναι γνωστό ότι προκαλεί χάλαση των αγγείων. Όλοι οι παράγοντες που αναφέρονται παραπάνω (ισταμίνη, βραδυκινίνη, σεροτονίνη, προσταγλανδίνες, λευκοτριένια και NO) οδηγούν σε αγγειοδιαστολή, αύξηση της διαπερατότητας των τοιχωμάτων των αγγείων και ενεργοποίηση του χημειοτακτισμού των κυττάρων που εμπλέκονται στην φλεγμονή. Ως απόρροια των παραπάνω εμφανίζονται τα κλινικά συμπτώματα της φλεγμονής (οίδημα, πόνος κ.τ.λ.).[59,63-68]



Εικόνα 66: Δομή LOX



Εικόνα 67: Δομή COX



Εικόνα 68

Το αραχιδονικό οξύ που αποτελεί το κύριο υπόστρωμα του ενζύμου λιποξυγονάση βρίσκεται εστεροποιημένο στη 2-θέση της γλυκερόλης της φωσφολιπιδικής μεμβράνης και η απελευθέρωση του εξαρτάται από τη δράση της φωσφολιπάσης A₂ κυρίως ή από τη συνδυασμένη δράση της φωσφολιπάσης C και της διγλυκεριδικής λιπάσης. Η 5-λιποξυγονάση αποτελεί την πιο σημαντική μορφή του ενζύμου και οδηγεί στο σχηματισμό των λευκοτριενίων. Η 5-LOX μετατρέπει το αραχιδονικό οξύ σε ένα σταθές υπεροξειδικό παράγωγο 5(S)-υδροϋπερόξυ-εικοσατετραενοϊκό οξύ (5-HPETE). Στη συνέχεια αυτό μετατρέπεται:

1. στο αντίστοιχο υδροξυλιωμένο παράγωγο, 5-HETE με τη δράση της υπεροξειδάσης και στη συνέχεια στο 5-οξο-EETE με τη δράση της αφυδρογονάσης 5-HEDE.
2. στο ασταθές 5,6-εποξείδιο, LTA₄, μέσω της 5-LOX, με απόσπαση ενός pro-R- από τον C-10 και αλλυλική μετατόπιση της ρίζας στον C-6.

Η δράση του ενζύμου εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως τα ιόντα ασβεστίου (Ca^{2+}), τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP), φωσφατιδυλοχολίνη κ.α. Ακόμη, μικρά ποσά λιπο-υδροϋπεροξειδίων και H_2O_2 . Ο μηχανισμός δράσης συνίσταται από τρία στάδια:

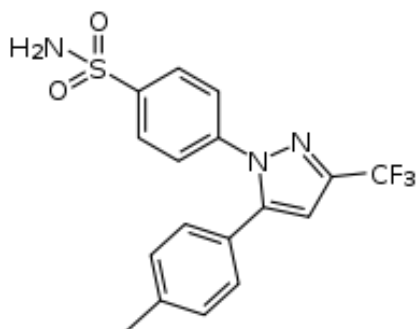
- i. Στεροειδική απόσπαση υδρογόνου
- ii. Μετατόπιση ρίζας
- iii. Εισαγωγή οξυγόνου

Οι πρώτοι αναστολείς της LOX ήταν αντιοξειδωτικά. Ήταν κυρίως φυσικής προέλευσης προϊόντα με κύριους εκπροσώπους το καφεϊκό οξύ και το νορδιϋδρογουαρετικό οξύ (NDGA), τα οποία χρησιμοποιούνται στις μέρες μας ως ενώσεις αναφοράς για τη μελέτη της αναστολής του ενζύμου.[69-70]

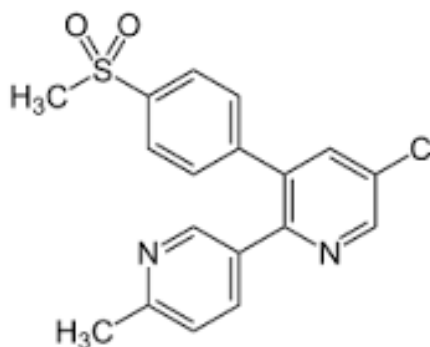
Μια μεγάλη κατηγορία αποτελούν τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (NSAIDs: Non Steroid Anti-Inflammatory Drugs), τα οποία εκδηλώνουν την δράση τους αναστέλλοντας ως επί το πλείστον αντιστρεπτά τα ένζυμα COX-I και COX-II, αμφότερα ισομορφές της κυκλοοξυγονάσης (COX). Η αναστολή των COX-I, COX-II έχει ως αποτέλεσμα να μην παράγονται οι προσταγλανδίνες, όπως φαίνεται και στο παρακάτω σχήμα. Κατά συνέπεια, αναστέλλονται όλες οι βιολογικές τους δράσεις, μεταξύ των οποίων και όσες εμπλέκονται στη φλεγμονή.[71] Η COX-1 εκφράζεται συστηματικά σχεδόν σε όλους τους ιστούς μεσολαβώντας στις φυσιολογικές αντιδράσεις του οργανισμού (π.χ. προστασία του γα-στρικού βλεννογόνου, συσσώρευση αιμοπεταλίων). Η COX-2 όμως, εκφράζεται από κύτταρα τα οποία εμπλέκονται στη φλεγμονή (π.χ. μακροφάγα, μονοκύτταρα) και με αυτόν τον τρόπο προέκυψε ότι η ισομορφή αυτή είναι πρωτίστως υπεύθυνη για τη σύνθεση των προστανοειδών σε παθολογικές διαδικασίες όπως σε οξείες και χρόνιες φλεγμονώδεις καταστάσεις.

Η πεποίθηση ότι η COX-2 είναι περισσότερο υπεύθυνη για την εκδήλωση φλεγμονής οδήγησε στην ανακάλυψη των εκλεκτικών αναστολέων COX-2 (κοξίμπες), με κυριότερους εκπροσώπους την σελεκοξίμπη και την ετορικοξίμπη. Η χημική δομή της σελεκοξίμπης είναι 4-[5-(4-μεθυλφαινυλ)-3-(τριφλουρομεθυλ)-1η-πυραζολ-1-υλ]

βενζενο-σουλφοναμίδη. Παρουσιάζει 375 φορές μεγαλύτερη εκλεκτικότητα για την COX-2 σε σύγκριση με τη COX. Ο μεθυλφαινυλ δακτύλιος της σελεκοξίμπης συνδέεται με τη θέση 1 του ισοενζύμου COX-2 και ο βενζενοσουλφαμιδικός δακτύλιος συνδέεται σε άλλο σημείο της COX-2 αλλά όχι και στο COX-1 ισοένζυμο. Η εκλεκτικότητα της σελεκοξίμπης φαίνεται ότι οφείλεται στην ύπαρξη του φαινυλσουλφοναμιδικού δακτυλίου. Ο δακτύλιος αυτός συνδέεται με έναν θύλακο ο οποίος είναι περιορισμένος.[72]



Εικόνα 69: Σελεκοξίμπη



Εικόνα 70: Ετορικοξίμπη

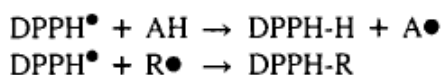
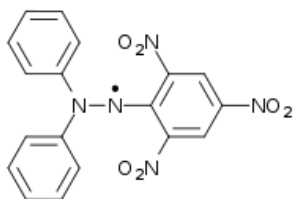
2.4.2 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Η αντιοξειδωτική δράση των νέων ενώσεων αξιολογήθηκε μέσω δύο διαφορετικών πειραμάτων: (α) ικανότητα δέσμευσης της σταθερής ελεύθερης ρίζας DPPH και (β) αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης του λινολεϊκού οξέος που επάγεται από τη ρίζα AAPH.

2.4.2.1 ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΤΗΣ ΣΤΑΘΕΡΗΣ ΡΙΖΑΣ DPPH

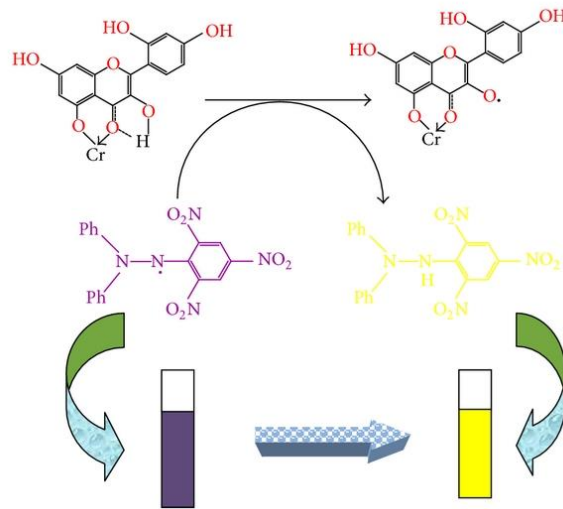
Ως DPPH ορίζεται η σταθερή ελεύθερη ρίζα της 2,2- διφαινυλ-1-πικρυλυδραζιλής. Η DPPH δεν αποσυντίθεται και δεν διμερίζεται ούτε αντιδρά με οξυγόνο είναι ιδιαίτερη χρήσιμη σε ενέργειες όπως η αναστολή του πολυμερισμού ή η χημεία ριζών, στον προσδιορισμό αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων αμινών φαινολών ή άλλων φυσικών ενώσεων (βιταμινών, εκχυλίσματα φυτών, ιατρικών φαρμάκων). Η ελεύθερη ρίζα

DPPH είναι γνωστό ότι μπορεί και αποσπά υδρογόνο δίνοντας το DPPH-H σαν παραπροϊόν.



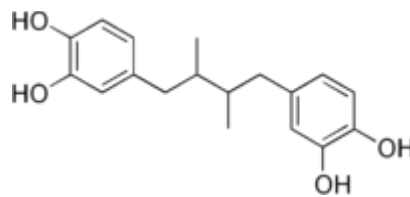
Εικόνα 71: DPPH (πάνω) και η δράση του, R:ρίζα, A:αντιοξειδωτικό

Σε άλλες περιπτώσεις, η προσθήκη του DPPH μπορεί να δώσει R-DPPH-H υποκατεστημένα παράγωγα. Όπως επίσης το ανιόν DPPH, DPPH⁻ μπορεί να οξειδωθεί δίνοντας την ελεύθερη ρίζα. Δραστικές μορφές οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS), όπως το υπεροξείδιο του υδρογόνου, η ρίζα υδροξυλίου, και το ανιόν του υπεροξειδίου δημιουργούνται στα κύτταρα μέσω των μεταβολικών διαδικασιών της αναπνοής, της επαναιμάτωσης και της οξείδωσης των λιπαρών οξέων. Μπορεί να αποβούν ιδιαίτερα επιβλαβείς για τα κύτταρα καταστρέφοντας μόρια όπως το DNA, τα λιπίδια και τα ένζυμα. Τα κύτταρα μπορεί να πάθουν ζημιά ή ακόμα και να πάντουν να λειτουργούν όταν η ποσότητα του ενεργού οξυγόνου υπερβεί την αντιοξειδωτική χωρητικότητα του κυττάρου. Έτσι η DPPH χρησιμοποιήθηκε σαν δείκτης αντιοξειδωτικής ικανότητας του ανθρώπινου πλάσματος. Η ρίζα αυτή έχει χρησιμοποιηθεί σαν σαρωτής πολλών ριζών εξαιτίας της ιδιότητας της βιολετί ρίζας DPPH να μεταπίπτει στην κίτρινη DPPH-H απορροφώντας στην περιοχή του ορατού φάσματος στα 520-330 nm.



Εικόνα 72

Ως ένωση αναφοράς για τη μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο του DPPH και τη μελέτη της αντιφλεγμονώδης δράσης μέσω της αναστολής της δράσης του ενζύμου λιποξυγονάση (LOX), χρησιμοποιήθηκε η αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδης ένωση NDGA (Nordihydroguaiaretic acid).



Εικόνα 73: NDGA

2.4.2.2 ΑΝΑΣΤΟΛΗ ΤΗΣ ΛΙΠΙΔΙΚΗΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΤΟΥ ΛΙΝΟΛΕΪΚΟΥ ΟΞΕΟΣ (ΛΑΡΗ)

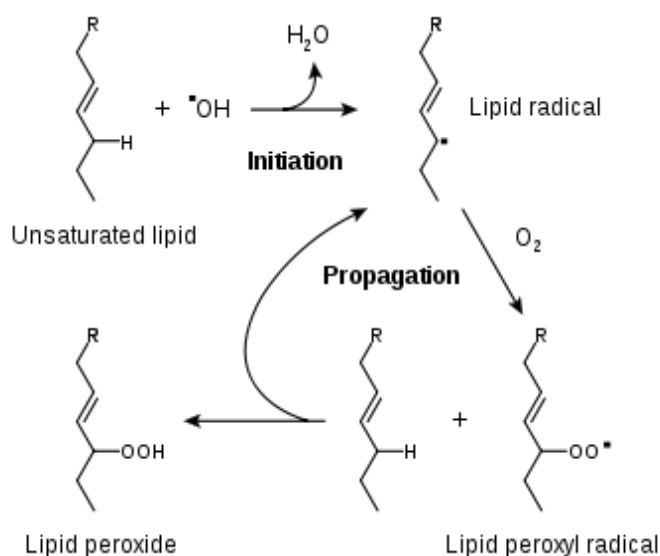
Η λιπιδική υπεροξείδωση είναι η οξείδωση των λιπιδίων (των μεμβρανών των κυττάρων ή του πλάσματος), η οποία χαρακτηρίζεται από μια αλυσιδωτή αντίδραση, με μια σειρά αντιδράσεων κατά τις οποίες ένα ενδιάμεσο προϊόν αντιδρά και παράγει ένα άλλο ενδιάμεσο προϊόν. Διενεργείται σε τρία στάδια:

α) Κατά το στάδιο της έναρξης, οι ελεύθερες ρίζες που σχηματίζονται μέσα στα κύτταρα προσβάλλουν τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs) των κυτταρικών μεμβρανών και αφαιρούν ένα άτομο υδρογόνου κυρίως από μια μεθυλενική ομάδα (-CH₂) που βρίσκεται ανάμεσα σε δύο διπλούς δεσμούς και έτσι σχηματίζεται μια αλκυλορίζα. Μετά την αφαίρεση του υδρογόνου από τη μεθυλενική ομάδα,

προκαλείται αναδιοργάνωση των διπλών δεσμών, η οποία οδηγεί σε μια διαμόρφωση συζευγμένων διενίων. Στη συνέχεια, οι αλκυλορίζες κάτω από αερόβιες συνθήκες προσλαμβάνουν το O₂ και σχηματίζονται υπεροξειδικές ρίζες (LOO*)

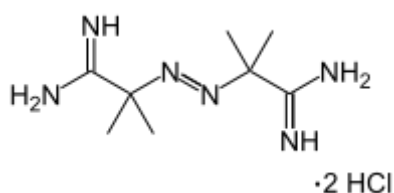
β) Κατά το στάδιο της διάδοσης, οι υπεροξειδικές ρίζες, που παράγονται από την πρώτη αλυσιδωτή αντίδραση αφαιρούν ένα άτομο υδρογόνου από άλλα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα των κυτταρικών μεμβρανών και έτσι σχηματίζονται τα υπεροξειδία (LOOH) καθώς και νέες υπεροξειδικές ρίζες.

γ) Κατά το στάδιο του τερματισμού, όλες οι ελεύθερες ρίζες αντιδρούν μεταξύ τους και εξουδετερώνονται σχηματίζοντας προϊόντα, που δεν είναι πια ελεύθερες ρίζες.[73]



Εικόνα 74: Μηχανισμός λιπιδικής υπεροξειδωσης

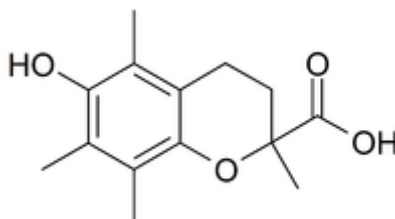
Το 2,2 αζοδις-(2-αμιδινοπροπανο)υδροχλωρίδιο (AAPH) είναι ένας ‘εκκινητής ελευθέρων ριζών’ (Σχήμα 36) που δημιουργεί ελεύθερες ρίζες στο διάλυμα οι οποίες προκαλούν την οξείδωση του λινολεϊκού οξέος.



Εικόνα 75: AAPH

Η μέθοδος μέτρησης της αντιοξειδωτικής δράσης με AAPH είναι μία γρήγορη και αξιόπιστη μέθοδος που χρησιμοποιείται ιδιαίτερα στον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης πρώτων υλών βοτάνων και μύρας. Βασίζεται στην αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσίας του λινολεϊκού οξέος, και είναι ένα μέτρο του πόσο αποδοτικά τα αντιοξειδωτικά προστατεύουν ενάντια στην λιπιδική υπεροξειδωση in vitro. Η οξείδωση του εξωγενούς λινολεϊκού οξέος από ένα θερμικό παραγωγό ελευθέρων ριζών (AAPH) ακολουθείται από φασματοσκοπία UV σε πολύ διαλυτοποιημένο δείγμα.

Για τη μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο του AAPH, χρησιμοποιήθηκε ως ένωση αναφοράς το Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), ένα υδατοδιαλυτό αντιοξειδωτικό ανάλογο της βιταμίνης E.[74]



Εικόνα 76: Trolox

3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1 ΟΡΓΑΝΑ ΚΑΙ ΣΥΣΚΕΥΕΣ

Στο παρόν υποκεφάλαιο παρατίθενται τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν για την ταυτοποίηση των παραχθέντων προϊόντων καθώς και για τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών τους ιδιοτήτων, όπως είναι το σημείο τήξεως.

- Για τον **χαρακτηρισμό** των προϊόντων χρησιμοποιήθηκε η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητισμού συντονισμού NMR και ως διαλύτης χρησιμοποιήθηκε διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO-d₆). Τα φάσματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού πρωτονίου και άνθρακα (¹H και ¹³CNMR) έχουν καταγραφεί με το εξής όργανο:

Varian 300MHz

Οι τιμές των χημικών μετατοπίσεων, δίνονται σε ppm. Η πολλαπλότητα των σημάτων στα φάσματα ¹H NMR αναφέρονται ως :

s (singlet, απλό)

d (doublet, διπλό)

t (triplet, τριπλό)

q (quartet, τετραπλό)

m (multiplet, πολλαπλό)

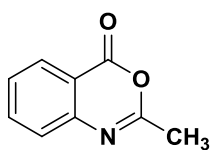
br (broad, ευρύ).

Οι σταθερές συζεύξεως J δίνονται σε Hz.

- Για τον προσδιορισμό των **σημείων τήξεως** των εκάστοτε προϊόντων χρησιμοποιήθηκε η συσκευή Gallenkamp.

3.2 ΣΥΝΘΕΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

3.2.1 2-Μεθυλο-4H-3,1-βενζοξαζιν-4-όνη(1)

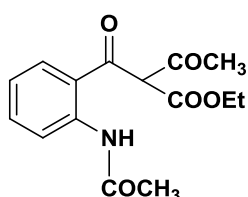


0.02 mol (2.74g) ανθρανιλικού οξέος προστίθενται σε 20 ml οξικού ανυδρίτη και το μίγμα αναδεύεται υπό θέρμανση στους 130°C για περίπου μιάμιση ώρα μέχρι να διαλυθεί πλήρως το (1) 161.16 [C₉H₇NO₂] στερεό. Το διάλυμα ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου και ακολουθεί εξάτμιση του διαλύτη υπό ελαττούμενη πίεση. Στο καστανοκίτρινο ίζημα, το οποίο σχηματίζεται μετά την απομάκρυνση από το λουτρό,πραγματοποιούνται εκπλύσεις με πετρελαϊκό αιθέρα και διήθηση υπο κενό. Τέλος, παραλαμβάνεται η 2-μεθυλο-4H-3,1-βενζοξαζιν-4-όνη με τη μορφή υποκίτρινου στερεού και τοποθετείται στον ξηραντήρα.

απόδοση: 82,5%

σημείο τήξεως : 78 °C

3.2.2 α-Ακετυλο-2-(ακετυλαμινο)-β-οξο-βενζολοπροπανοϊκός αιθυλεστέρας (2)

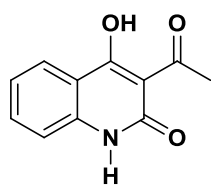


Αρχικά, δημιουργείται μίγμα βάσης ενώσης ενεργού μεθυλενίου: για την παρασκευή του προστίθενται 2,68g t-BuOK σε 60 ml t-BuOH και ακολουθεί ανάδευση για 15 λεπτά. Έπειτα, στο διάλυμα αυτό προστίθενται στάγδην και υπο ανάδευση 3ml ακετοξικού αιθυλεστέρα, οπότε σχηματίζεται ένα ελαφρώς κίτρινο μίγμα το οποίο αναδεύεται για περίπου 1 ώρα. Στο μίγμα αυτό προστίθενται 0.012 mol (2g) 2-μεθυλο-4H-3,1-βενζοξαζιν-4-όνης (1) και συνεχίζεται η ανάδευση για 2 ώρες περίπου. Στο τέλος της αντίδρασης, προς πλήρη διάλυση του στερεού, προστίθεται μικρή ποσότητα νερού και το μίγμα αποκτά καφέ χρώμα. Ύστερα, προστίθενται 60ml διεθυλαιθέρα και ακολουθεί εκχύλιση από την οποία συλλέγεται η υδατική φάση σε κωνική φιάλη. Στη συνέχεια, η κωνική φιάλη τοποθετείται σε παγόλουτρο, ακολουθεί οξίνιση με 15ml HCl, όπου και παρατηρείται καταβύθιση λευκού στερεού. Τέλος, ακολουθεί διήθηση υπό κενό και το στερεό παραλαμβάνεται και τοποθετείται σε ξηραντήρα.

απόδοση : 80%,

σημείο τήξεως : 100 °C

3.2.3 3-Ακετυλο-4-υδροξυ-2(1H)-κινολινόνη (3)



(3) 203.19 [C₁₁H₉NO₃]

Αρχικά, αναμειγνύονται 0,0059mol (1,72g) του α-ακετυλο-2-(ακετυλαμινο)-β-οξο-βενζολοπροπανοϊκού αιθυλεστέρα (2) με 64ml από το υδατικό διάλυμα ανθρακικού νατρίου 7% έως ότου διαλυθεί το στερεό και, ύστερα, προστίθενται 16ml υδατικού διαλύματος καυστικού νατρίου 45%. Ακολουθεί ανάδευση του διαλύματος για 2 ώρες χωρίς θέρμανση. Μετά το πέρας της αντίδρασης, προστίθεται μικρή ποσότητα νερού και το διάλυμα οδηγείται προς οξίνιση με υδροχλωρικό οξύ 10% υπό ψύξη. Στη συνέχεια, το διάλυμα διηθείται και εκπλένεται με μικρή ποσότητα παγωμένου νερού. Τέλος, το λευκό ίζημα που παραλαμβάνεται τοποθετείται σε ξηραντήρα.

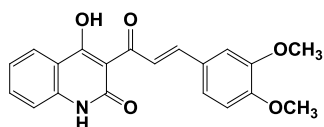
απόδοση : 37%,

σημείο τήξεως : 261 °C

3.2.4 Σύνθεση της κινολινο-χαλκόνης 4

Η σύνθεση της κατάλληλης κινολινο-χαλκόνης πραγματοποιήθηκε μέσω αλδολικής συμπύκνωσης της 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2(1H)-κινολινόνης (3) με την κατάλληλη βενζαλδεΐδη. Σε κατάλληλη ποσότητα απόλυτης αιθανόλης διαλύονται ισομοριακές ποσότητες της 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2(1H)-κινολινόνης (3) και της κατάλληλης βενζαλδεΐδης και προστίθεται καταλυτική ποσότητα πιπεριδίνης. Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για 3 ώρες στους 78°C με τη παρουσία κάθετου ψυκτήρα. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC). Μετά το τέλος της αντίδρασης, το μίγμα ψύχεται σε παγόλουτρο και οξινίζεται με υδατικό διάλυμα HCl 10% w/v. Το προϊόν λαμβάνεται από το οξινισμένο υδατικό διάλυμα με τη μορφή στερεού.

3.2.4.1 4-υδροξυ-3-[3-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)-1-οξο-2-προπεν-1-υλο]-2(1H)-κινολινόνη (4)



(4) 351.35 [C₂₀H₁₇NO₅]

Σύμφωνα με τη γενική μέθοδο, σε 20ml αιθανόλης διαλύονται 1g 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2(1H)-κινολινόνης (3) και 0,81g 3,4-διμεθοξυβενζαλδεΐδης καθώς προστίθενται

και 40 σταγόνες πιπεριδίνης. Το προϊόν που παραλαμβάνεται είναι στερεό έντονου κίτρινου χρώματος, το οποίο τοποθετείται σε ξηραντήρα.

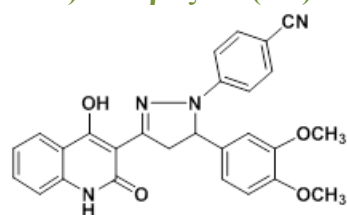
απόδοση : 68%,

σημείο τήξεως : 264 °C

3.2.5 ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΩΝ(5-9)

Η κατάλληλη ποσότητα χαλκόνης αντιδρά με το κατάλληλο παράγωγο υδραζίνης σε γραμμομοριακή αναλογία 1:2,5, παρουσία κατάλληλης ποσότητας οξικού οξέος και απόλυτης αιθανόλης υπό θέρμανση και ανάδευση. Αρχικά, ποσότητα απόλυτης αιθανόλης τοποθετείται σε σφαιρική φιάλη και προστίθεται ποσότητα υδραζίνης υπό ανάδευση. Παράλληλα, σε άλλη σφαιρική φιάλη τοποθετούνται ποσότητα οξικού οξέος και χαλκόνης. Ακολούθως, και όταν έχει διαλυτοποιηθεί το πρώτο διάλυμα, το δεύτερο προστίθεται στάγδην σε αυτό και τίθεται υπό ανάδευση με θέρμανση στους 130 °C και για 24ώρες, ενώ η σφαιρική φιάλη είναι συνδεδεμένη με κάθετο ψυκτήρα υπό αδρανείς συνθήκες. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC). Μετά το πέρας της αντίδρασης το διάλυμα μεταφέρεται σε ποτήρι ζέσεως με πάγο όπου καταβυθίζεται στερεό. Ύστερα από διήθηση υπό κενό, παραλαμβάνεται στερεό το οποίο τοποθετείται σε ξηραντήρα. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία ¹H NMR.

3.2.5.1 5-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)-1-(4-κυανοφαινυλο)-3-(4,5-διυδρο-1H-πυραζολ-3-υλο)-4-υδροξυ-2-(1H)-κινολινόνη (5)



(5) 466,49

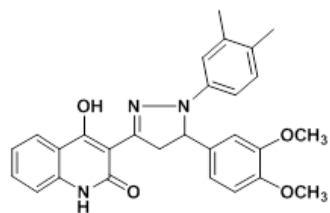
Σύμφωνα με τη γενική μέθοδο, 0,7ml απόλυτης αιθανόλης τοποθετούνται σε σφαιρική φιάλη και προστίθενται 0,52mmol (0,0882g) της υδροχλωρικής 4-κυανοφαινυλδραζίνης υπό ανάδευση. Επίσης, σε άλλη σφαιρική φιάλη παρασκευάζεται διάλυμα 1,32ml οξικού οξέος με 0.208mmol (0.073g) της 4-υδροξυ-3-[3-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)-1-οξο-2-προπεν-1-υλο]-2(1H)-κινολινόνης(4). Ακολούθως το διάλυμα οξικού οξέος με την χαλκόνη 4 προστίθεται στάγδην στο διάλυμα της απόλυτης αιθανόλης με την υδροχλωρική κυανοφαινυλδραζίνη. Το προϊόν που παραλαμβάνεται είναι κίτρινο στερεό το οποίο τοποθετείται σε ξηραντήρα.

απόδοση : 49% (35.8 mg),

σημείο τήξεως : 296 °C

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 2.104 (s), 3.726 (d, J=7.8Hz, 6H), 4.269-4.155 (m), 5.481 (t), 6.702 (d, J=9.6Hz), 6.8815 (d, J=8.1Hz), 6.970 (t), 7.260 (t), 7.599 (t), 7.969 (d, J=8.1Hz), 11.492 (s), 13.020 (s)

3.2.5.2 5-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)-1-(3,4-διμεθυλφαινυλ)-3-(4,5-διυδρο-1H-πυραζολ-3-υλ)-4-υδροξυ-2-(1H)-κινολινόνη (6)



(6) 469,53

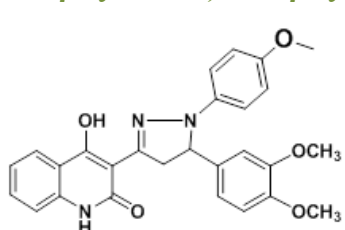
Σύμφωνα με τη γενική μέθοδο, 0,73ml απόλυτης αιθανόλης τοποθετούνται σε σφαιρική φιάλη και προστίθενται 0,58 mmol (0,0993g) της υδροχλωρικής 1(3,4-διμεθυλφαινυλ)υδραζίνης υπό ανάδευση. Επίσης, σε άλλη σφαιρική φιάλη παρασκευάζεται διάλυμα 1,46ml οξικού οξέος με 0.23 mmol (0.08g) της 4-υδροξυ-3-[3-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)-1-οξο-2-προπεν-1-υλο]-2(1H)-κινολινόνης(4). Ακολούθως το διάλυμα οξικού οξέος με την χαλκόνη 4 προστίθεται στάγδην στο διάλυμα της απόλυτης αιθανόλης με την υδροχλωρική 1(3,4-διμεθυλφαινυλ)υδραζίνη, όπου και αφήνεται για 3 ώρες. Το προϊόν που παραλαμβάνεται είναι κίτρινο στερεό το οποίο τοποθετείται σε ξηραντήρα.

απόδοση : 37,5% (30 mg) ,

σημείο τήξεως : 286 °C

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 2.136 (d, J=14.1Hz, 6H), 3.716 (s, 6H), 4.167 (s, 2H), 5.249 (s, 1H), 6.770 (t, 6H), 7.249 (s, 2H), 7.536 (s, 1H), 7.975 (s, 1H), 11.516 (s, 1H), 13.481 (s, 1H)

3.2.5.3 5-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)-1-(4-μεθοξυφαινυλ)υδραζίνη-3-(4,5-διυδρο-1H-πυραζολ-3-υλ)-4-υδροξυ-2-(1H)-κινολινόνη (7)



(7) 471,50

Σύμφωνα με τη γενική μέθοδο, 0,73 ml απόλυτης αιθανόλης τοποθετούνται σε σφαιρική φιάλη και προστίθενται 0,57mmol (0,01004g) της υδροχλωρικής 4-μεθοξυφαινυλ)υδραζίνης υπό ανάδευση. Επίσης, σε άλλη σφαιρική φιάλη παρασκευάζεται διάλυμα 1,46 ml οξικού

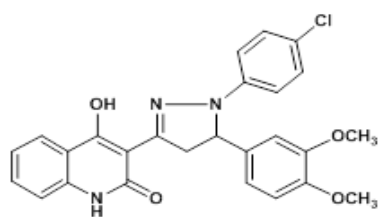
οξέος με 0.23 mmol (0.08g) της 4-υδροξυ-3-[3-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)-1-οξο-2-προπεν-1-υλο]-2(1H)-κινολινόνης(4). Ακολούθως το διάλυμα οξικού οξέος με την χαλκόνη 4 προστίθεται στάγδην στο διάλυμα της απόλυτης αιθανόλης με την υδροχλωρική 4-μεθοξυφαινυλδραζίνη. Το προϊόν που παραλαμβάνεται είναι κίτρινο στερεό το οποίο τοποθετείται σε ξηραντήρα.

απόδοση : 68% (55 mg),

σημείο τήξεως : 230 °C

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆):δ 2.110 (s,2H), 3.462 (dd, J=18.6, 8.7 Hz, 2H), 3.855-3.635 (m, 6H), 4.212 (dd, J=18.6, 12 Hz, 1H), 5.18 (dd, J=11.7, 8.7 Hz, 1H), 7.104-6.803 (m, 6H), 7.299-7.209 (m, 3H), 7.553 (t, 1H), 7.957 (d, 7.8Hz, 1H), 11.525 (s, 1H), 13.509 (s, 1H)

3.2.5.4 5-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)-1-(4-χλωροφαινυλδραζίνη)-3-(4,5-δωδρο-1H-πυραζολ-3-υλ)-4-υδροξυ-2-(1H)-κινολινόνη (8)



(8) 475.13

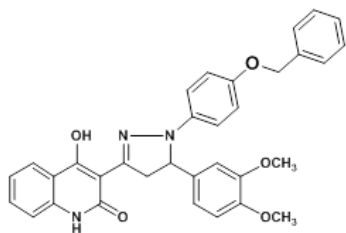
Σύμφωνα με τη γενική μέθοδο, 0,73 ml απόλυτης αιθανόλης τοποθετούνται σε σφαιρική φιάλη και προστίθενται 0,57mmol (0,0103g) της υδροχλωρικής 4-χλωροφαινυλδραζίνης υπό ανάδευση. Επίσης, σε άλλη σφαιρική φιάλη παρασκευάζεται διάλυμα 1,46 ml οξικού οξέος με 0.23 mmol (0.08g) της 4-υδροξυ-3-[3-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)-1-οξο-2-προπεν-1-υλο]-2(1H)-κινολινόνης(4). Ακολούθως το διάλυμα οξικού οξέος με την χαλκόνη 4 προστίθεται στάγδην στο διάλυμα της απόλυτης αιθανόλης με την υδροχλωρική 4-χλωροφαινυλδραζίνη, όπου και αφήνεται για 2 ώρες. Το προϊόν που παραλαμβάνεται είναι κίτρινο στερεό το οποίο τοποθετείται σε ξηραντήρα.

απόδοση : 59% (47 mg) ,

σημείο τήξεως : 285.3 °C

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃):δ 2.136 (s), 3.877 (d, J=7.5), 6.862 (dd, J=17.7, 8.7 Hz), 7.274-7.079 (m), 7.536 (s), 8.1185 (d, J=8.1Hz), 8.893 (s, 1H), 13.564 (s,1H)

3.2.5.5 5-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)-1-(4-βενζυλοξυφαινυλυδραζίνη)-3-(4,5-διυδρο-1H-πυραζολ-3-υλ)-4-υδροξυ-2-(1H)-κινολινόνη (9)



(9) 547,21

Σύμφωνα με τη γενική μέθοδο, 0,88 ml απόλυτης αιθανόλης τοποθετούνται σε σφαιρική φιάλη και προστίθενται 0,7mmol (0,01755g) της υδροχλωρικής 4-βενζυλοξυφαινυλυδραζίνης υπό ανάδευση. Επίσης, σε άλλη σφαιρική φιάλη παρασκευάζεται διάλυμα 1,77 ml οξικού οξέος με 0.28 mmol (0.1g) της 4-υδροξυ-3-[3-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)-1-οξο-2-προπεν-1-υλο]-2(1H)-κινολινόνης (4). Ακολούθως το διάλυμα οξικού οξέος με την χαλκόνη 4 προστίθεται στάγδην στο διάλυμα της απόλυτης αιθανόλης με την υδροχλωρική 4-βενζυλοξυφαινυλυδραζίνη. Το προϊόν παραλαμβάνεται, ύστερα από εκχύλιση με CH_2Cl_2 , με τη μορφή κίτρινου στερεού. Οι προσμίξεις απομακρύνονται με τη διεργασία της ανακρυστάλλωσης με διαλύτη MeOH.

απόδοση : 57% (57mg) , σημείο τήξεως : 245 °C

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 3.483 (d, J=8.1Hz,1H), 3.731 (s, 6H), 5.005 (s,2H), 5.714 (pseudotriplet, 1H), 4.201 (dd, J=19.2, 12.9Hz, 1H), 6.985-6.819 (m, 7H), 7.545-7.200 (m, 8H), 7.9465 (d, J=8.1 Hz, 1H), 11.526 (s, 1H), 13.489 (s, 1H)

3.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΤΗΣ ΣΤΑΘΕΡΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΡΙΖΑΣ DPPH

Οι ουσίες διαλύονται σε DMSO, και στη συνέχεια προστίθενται σε αιθανολικό διάλυμα DPPH (0.05 mM) απόλυτης αιθανόλης μέχρι τελικής συγκέντρωσης 0.1 mM. Το μείγμα αναδεύεται έντονα και αφήνεται σε ηρεμία 20 ή 60 λεπτά. Καταγράφεται η απορρόφηση στα 517 nm και υπολογίζεται μέσω αυτής το ποσοστό της αντιοξειδωτικής δράσης. Όλα τα τεστ γίνονται τρεις φορές και τα αποτελέσματα του προκύπτουν μετά από τον υπολογισμό του μέσου όρου.

3.4 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΝΑΣΤΟΛΗΣ ΤΗΣ ΛΙΠΙΔΙΚΗΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΩΣΗΣ (AAPH)

Η αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης από τις ενώσεις που παρασκευάστηκαν υπολογίζεται από την οξειδωση του λινολεϊκού οξέος σε υδατικό αιώρημα, κάτι που παρατηρείται στα 234 nm. Το 2,2,- αζοδις- (2-αμιδινοπροπανο) διυδροχλωρίδιο (AAPH) χρησιμοποιείται σαν εκκινητής των ελευθέρων ριζών.

Συγκεκριμένα, δέκα μικρόλιτρα από το αιώρημα των 16 mM του λινολεϊκού οξέος προστίθενται στην UV κυψελίδα που περιέχει 0.93 mL από το ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών αλάτων 0.05 M με pH= 7.4 το οποίο έχει προθερμανθεί στους 37 °C. Η αντίδραση οξειδωσης ξεκινά στους 37 °C υπό ατμοσφαιρική πίεση με την προσθήκη 50 µL του διαλύματος AAPH των 40 mM. Η οξειδωση πραγματοποιείται παρουσία δόσεων 10 µL της υπό εξέταση ένωσης. Στην δοκιμασία χωρίς προσθήκη του αντιοξειδωτικού, η λιπιδική οξειδωση μετράται με την παρουσία ίδιας ποσότητας DMSO. Ο ρυθμός οξειδωσης στους 37 °C παρακολουθείται καταγράφοντας την αύξηση της απορρόφησης στα 234 nm που προκαλείται από τα συζευγμένα διενικά υδροϋπεροξειδία.

3.5 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΑΝΑΣΤΟΛΗΣ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ ΛΙΠΟΞΥΓΟΝΑΣΗ ΑΠΟ ΣΟΓΙΑ

Για τον προσδιορισμό της αναστολής της δράσης της λιποξυγονάσης, οι υπό εξέταση ουσίες διαλύονται σε διμεθυλοσουλφοξειδίο και αφήνονται να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου με λινελαϊκό νάτριο (0.1 mL) και 0.2 mL ενζυμικού

διαλύματος ($1/9 \times 10^{-4}$ w/v σε φυσιολογικό ορό) σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris pH= 9. Η μετατροπή του άλατος με νάτριο του λινελαϊκού οξέος σε 13-υδρουπεροξυλινελαϊκό οξύ στα 234 nm καταγράφεται και συγκρίνεται με αυτή που προκαλείται από την κατάλληλη ένωση αναφοράς.[75]

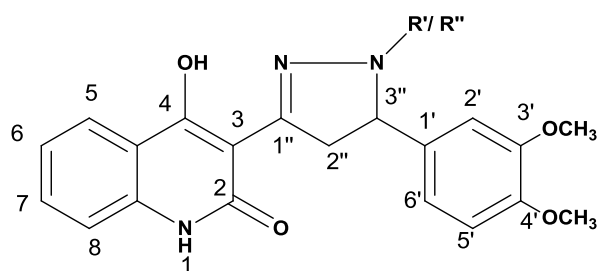
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1 ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΔΟΜΗΣ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

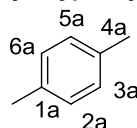
Η ταυτοποίηση της δομής των νέων ενώσεων πραγματοποιήθηκε με Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR) μίας διάστασης. Μελετήθηκαν τα φάσματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού πρωτονίου των πυραζολινικών αναλόγων **5-7** και **9** σε διαλύτη δευτεριωμένο διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO - d₆) και η ένωση **8** σε δευτεριωμένο διαλύτη χλωροφόρμιο (CDCl₃). Η διαλύτοτητα των ενώσεων μας ήταν περιορισμένη και αυτό κατέστησε αρκετά δύσκολη την λήψη καθαρών και αντιπροσωπευτικών φασμάτων.

Οι χαρακτηριστικές απορροφήσεις των νέων πυραζολινικών αναλόγων που εμφανίζονται στα περισσότερα από τα φάσματα ¹H NMR είναι:

- Οι απορροφήσεις των πρωτονίων του υδροξυλίου και της αμινομάδας οι οποίες εμφανίζονταν σε χαμηλά μαγνητικά πεδία (11-13ppm) καθώς είναι τα πιο αποπροστατευμένα πρωτόνια.
- Οι τρεις διπλές διπλών κορυφές στην περιοχή 2-4,5 ppm που αντιστοιχούν στα πρωτόνια των θέσεων 2'' και 3''. Η παρουσία των τριών αυτών κορυφών, οφείλεται στο ότι ο μεθυλενικός άνθρακας του πυραζολινικού δακτυλίου, βρίσκεται δίπλα σε ασύμμετρο κέντρο, με αποτέλεσμα τα πρωτόνια H_a και H_b να είναι διαστερεοτοπικά και συνεπώς χημικά μη ισοδύναμα.
- Η περιοχή των αρωματικών πρωτονίων ορίζεται στα 6,5-8,5 στα περισσότερα φάσματα.

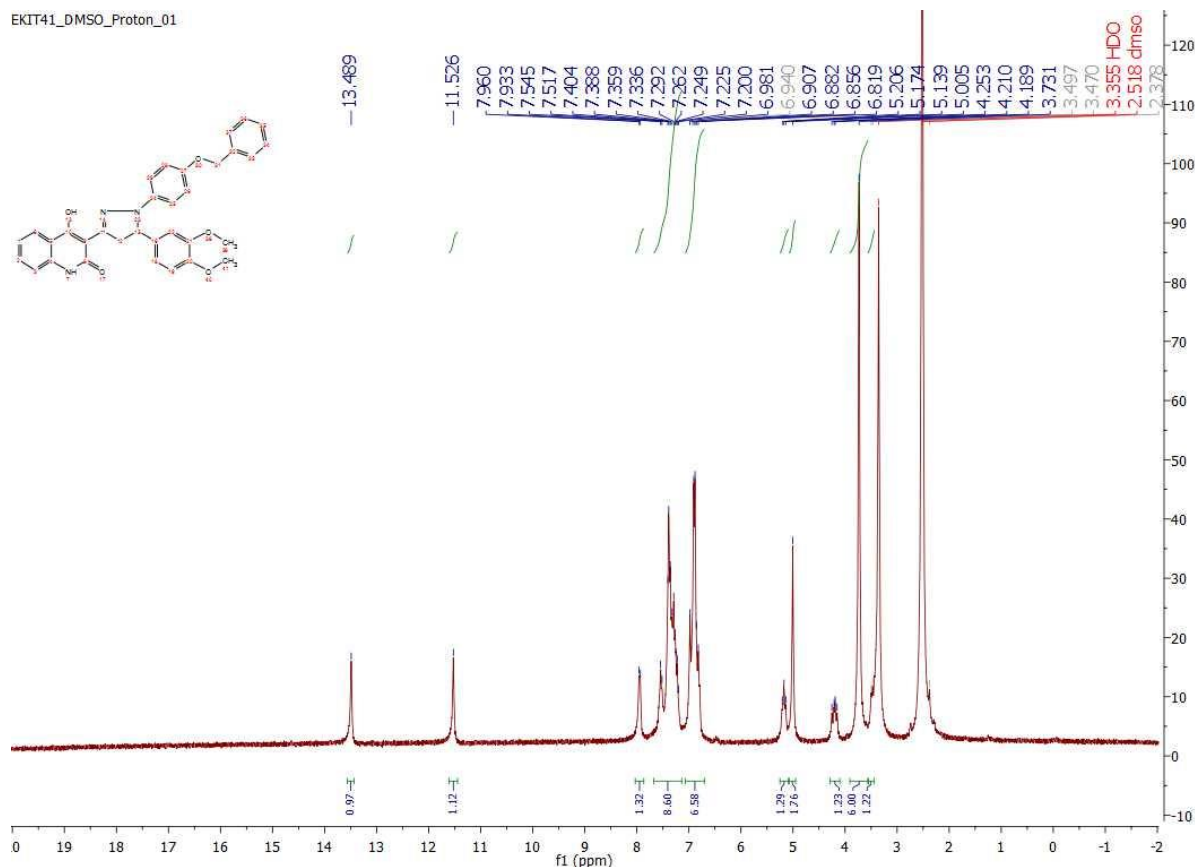


R'= 4-chlorophenyl,4-cyannophenyl,
R''= 1(3,4)dimethylphenyl,4-methoxyphenyl
4-benzyloxyphenyl



Εικόνα 77: Δομή πυραζολινών που ταυτοποιήθηκαν με Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)

Ενδεικτικά, στο παρακάτω φάσμα φαίνονται τόσο ο συντονισμός των πρωτονίων του OH και NH στα χαμηλά μαγνητικά πεδία (στα 13,489ppm και 11,526ppm αντίστοιχα), όσο και μία διπλή διπλών και μια pseudotriplet στο 4,201ppm και 5,714 ppm που αντιστοιχούν στα πρωτόνια των θέσεων 2'' και 3''.



Εικόνα 78: Φάσμα πρωτονίου ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) της πυραζολίνης **9**

4.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε η σύνθεση, μέσω αντίδρασης συμπύκνωσης Claisen-Schmidt, μιας χαλκόνης (**4**) και, μέσω αντίδρασης αυτής με διαφορετικές υδραζίνες, πέντε πυραζολινικών αναλόγων (**5-9**) με σκοπό να μελετηθεί η αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδης δράση τους. Όλες οι ενώσεις χαρακτηρίστηκαν δομικά με φασματοσκοπία ^1H NMR. Η δομή της χαλκόνης **4** χαρακτηρίστηκε επιπλέον και με φασματοσκοπία μάζας. Το μοριακό ιόν της χαλκόνης που εξετάστηκε είναι παρόντα στα αντίστοιχα MS φάσματα, γεγονός που αποδεικνύει ότι το μόρια έχουν παρασκευασθεί επιτυχώς.

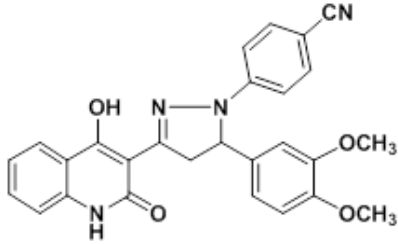
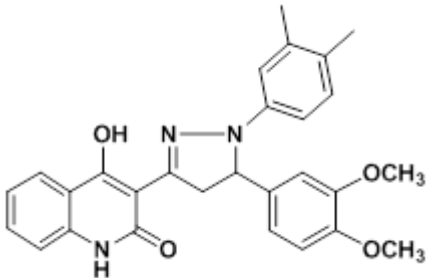
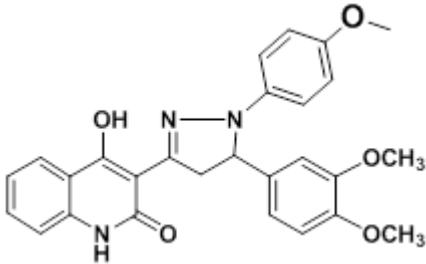
Σε πρώτο στάδιο παρασκευάστηκε η 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-κινολινόνη (3), η οποία μέσω αλδολικής συμπύκνωσης με την 3,4-διμεθοξυβενζαλδεΐδη παρουσία καταλυτικής ποσότητας πιπεριδίνης οδήγησε στο σχηματισμό της νέας κινολινοχαλκόνης, της ένωσης 4. Στη συνέχεια, τα πυραζολινικά ανάλογα 5-9 συντέθηκαν μέσω θέρμανσης της ένωσης 4 με παράγωγα υδραζίνης με διαλύτη οξικού οξέος και αιθανόλης.

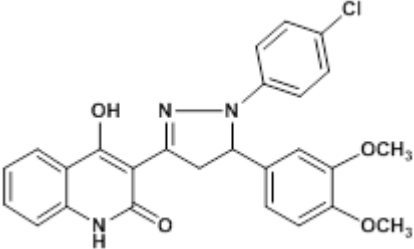
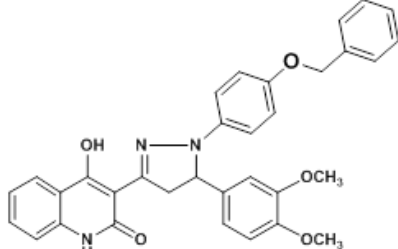
Οι αποδόσεις των ενώσεων που παρασκευάστηκαν, σε ορισμένες περιπτώσεις, όπως οι ενώσεις 5 και 6, είναι χαμηλές και σε άλλες είναι υψηλότερες, όπως οι ενώσεις 4 και 7. Για την ένωση 4, αυτό οφείλεται στο γεγονός πως η παρασκευή της ένωσης είχε επιτευχθεί ξανά στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας Ε.Μ.Π. και λάβαμε υπόψιν όλους τους παράγοντες βελτιστοποίησης της αντίδρασης. Επιπλέον, οι αποδόσεις των ενώσεων 8 και 9 ήταν αρκετά ικανοποιητικές. Τα πυραζολινικά ανάλογα ήταν η πρώτη φορά που συντέθηκαν σε γενικά ικανοποιητικές αποδόσεις.

Στη συνέχεια, μελετήθηκε η πιθανή αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδης δράση των πυραζολινικών παραγώγων. Η αντιοξειδωτική δράση των πυραζολινικών αναλόγων που παρασκευάστηκαν αξιολογήθηκε με δυο διαφορετικούς τρόπους: μέσω προσδιορισμού ικανότητας δέσμευσης της σταθερής ελεύθερης ρίζας DPPH και μέσω αναστολής της λιπιδικής υπεροξειδωσίας του λινελαϊκού οξέος AAPH. Η αντιφλεγμονώδης δράση των παραπάνω αξιολογήθηκε μέσω της αναστολής της δράσης του ενζύμου λιποξυγονάση (LOX).

4.2.1 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ

Τα νέα παράγωγα 5-9, αξιολογήθηκαν για την αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση τους στο Εργαστήριο Φαρμακευτικής Χημείας του Τμήματος Φαρμακευτικής του ΑΠΘ (Καθ. Δ. Χατζηπαύλου-Λίτινα). Τα αποτελέσματα των *in vitro* βιολογικών δοκιμασιών των νέων μορίων παρουσιάζονται στον **Πίνακα 1**.

Προϊόν	Αλληλεπίδραση με την ελεύθερη ρίζα DPPH(%) 0.1mM 20/60 min	Αναστολή της υπεροξειδωσής του λινελαϊκού οξέος (% 0.1mM)	IC50 μM	Ικανότητα αναστολής της λιποξυγονάσης από σόγια (% 0.1mM)
5. 	27,3/12,7	74,7		27,3
6. 	35,8/34,4	no		4,3
7. 	85,3/86,2	82,9	10	

8.		47,5/62,3	39,3	42,9
9.		86,2/98,9	93,3	43,8
NDGA	85/97		0,55	
TROLOX		76		

Πίνακας 1

Ως ένωση αναφοράς για τη μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο του DPPH και τη μελέτη της αντιφλεγμονώδους δράσης μέσω της αναστολής της δράσης του ενζύμου λιποξυγονάση (LOX), χρησιμοποιήθηκε η αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδης ένωση NDGA (Nordihydroguaiaretic acid). Για τη μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο του AAPH, χρησιμοποιήθηκε ως ένωση αναφοράς το Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), ένα υδατοδιαλυτό αντιοξειδωτικό ανάλογο της βιταμίνης E.

Από τον παραπάνω πίνακα παρατηρούμε πως η ένωση **9** παρουσιάζει τη μεγαλύτερη ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH. Ακολουθεί η ένωση **7** όπου με αντικατάσταση της βενζυλοξυ-ομάδας από την μεθοξυ-ομάδα παρατηρείται μειωμένη ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH σε σχέση με την ένωση **9**. Από τις

δύο ενώσεις βλέπουμε παρόμοια δράση και παρατηρείται πως η φύση του υποκαταστάτη (αιθέρας) βοηθά στην αύξηση της δραστηριότητας των ενώσεων. Ύστερα, η ένωση **8** παρουσιάζει μέτρια αποτελέσματα συμπεραίνοντας πως ο υποκαταστάτης-δέκτης e^- μειώνει σημαντικά την δραστηριότητα του μορίου. Από την ένωση **6** φαίνεται πως τοποθετώντας ως υποκαταστάτες δύο μεθύλια στις θέσεις 4a και 5a του αρωματικού δακτυλίου η δράση ελαττώνεται σημαντικά. Τέλος, η ένωση **5** η οποία προήλθε από την 4-κυανουδραζίνη δεν έχει καθόλου ενθαρρυντικά αποτελέσματα και πιθανόν αυτό οφείλεται στο ότι το CN είναι δέκτης e^- μέσω επαγωγικού φαινομένου.

Επιπλέον, η αντιοξειδωτική δράση των παραπάνω ενώσεων μετρήθηκε μέσω της αναστολής της λιπιδικής υπεροξειδωσης του λινελαϊκού οξέος AAPH. Από τον παραπάνω πίνακα παρατηρούμε πως η ένωση **9** ευνοεί την αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης περισσότερο από τις υπόλοιπες και ακολουθεί η ένωση **7** με αντίστοιχο υψηλό αποτέλεσμα. Το χαρακτηριστικό των δύο ενώσεων είναι οι αιθερικοί υποκαταστάτες που δρουν ως δότες e^- (βενζυλόξυ- και μεθόξυ- ομάδες) και η αυξημένη δράση τους μπορεί να οφείλεται στη μη ύπαρξη δεσμικού ζεύγους πάνω στο οξυγόνο. Η επόμενη σε δραστηριότητα ένωση είναι η ένωση **5** όπου η παρουσία της $-CN$, η οποία δρα ως δέκτης e^- , αποτελεί δομικό χαρακτηριστικό το οποίο προσφέρει μια καλή δράση στο μόριο. Αντίθετα, όταν επιλεγεί ως υποκαταστάτης το Cl η δραστηριότητα μειώνεται σημαντικά. Τέλος, η δράση χάνεται εντελώς όταν οι υποκαταστάτες είναι αλκυλομάδες, όπως στην συγκεκριμένη περίπτωση τα δύο μεθύλια, οι οποίες δρουν ως δότες e^- μέσω επαγωγικού φαινομένου.

Για την αξιολόγηση της αντιφλεγμονώδους δράσης των πυραζολινών πραγματοποιήθηκε μελέτη για την αναστολή της δράσης του ενζύμου λιποξυγονάση (LOX). Στις ενώσεις με αυξημένη δραστηριότητα πραγματοποιήθηκαν περαιτέρω πειραματικές διαδικασίες ώστε να προσδιοριστεί η ποσότητα της ουσίας που προκαλεί αναστολή του ενζύμου κατά 50% (IC_{50}). Από τις 5 ενώσεις που μελετήθηκαν, η ένωση **7** παρουσιάζει αξιόλογη δράση καθώς, όπως φαίνεται και στον πίνακα, με αποτέλεσμα $IC_{50}=10\mu M$ φαίνεται πως είναι ιδιαίτερα δραστική για την αναστολή της δράσης του ενζύμου LOX δρώντας με ελάχιστη ποσότητα. Ακολουθεί η ένωση **9**, για την οποία δεν λάβαμε τα αναμενόμενα αποτελέσματα, με αρκετά μειωμένη δραστηριότητα η οποία μπορεί να οφείλεται στο αυξημένο μέγεθος του

μορίου και στη μετέπειτα δυσκολία πρόσβασης αυτού στο ενεργό κέντρο του ενζύμου. Από τις ενώσεις **5,6,8** δεν λάβαμε ικανοποιητικά αποτελέσματα για την αναστολή της δράσης του ενζύμου LOX, αλλά μας εξυπηρετούν για την περαιτέρω μελέτη των μορίων αυτών ως προς τις βιολογικές τους δράσεις

4.3 ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Βάση των αποτελεσμάτων που προέκυψαν μέσω της παρούσας ερευνητικής εργασίας ανοίγονται ορίζοντες για την έρευνα στο κομμάτι της σύνθεσης ανάλογων κινολινοχαλκονών και επιπλέον νέων πυραζολινικών αναλόγων. Συνολικά, συμπεραίνεται, ότι κάποιες από τις ενώσεις που παρασκευάστηκαν παρουσιάζουν αξιόλογο ερευνητικό ενδιαφέρον όσον αφορά την αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση τους και η περαιτέρω διερεύνηση τους μπορεί να τις καταστήσει ικανές για το σχεδιασμό και την ανάπτυξη φαρμάκων, συμπληρωμάτων διατροφής κ.λ.π.

Πιο συγκεκριμένα, η ένωση **7** (5-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)-1-(4-μεθοξυφαινυλυδραζινη)-3-(4,5-διυδρο-1H-πυραζολ-3-υλ)-4-υδροξυ-2-(1H)-κινολινόνη) παρουσίασε συνολικά αρκετά ενθαρρυντικά αποτελέσματα ως προς την αντιοξειδωτική και την αντιφλεγμονώδη δράση. Έτσι, αποτελεί ένωση η οποία αξίζει περαιτέρω διερεύνηση ως προς τις βιολογικές της δράσεις καθώς και δομικές τροποποιήσεις ώστε να ισχυροποιηθεί και να εξελιχθεί. Επιπλέον, μια προσέγγιση για μελλοντική σύνθεση πυραζολινικών αναλόγων αφορά υδραζίνες με υποκαταστάτες αιθέρες, αφού τόσο η ένωση **7** όσο και η ένωση **9** έδειξαν ισχυρή δράση αντιδρώντας με την χαλκόνη **4**.

Μία άλλη πρόταση για μελλοντική έρευνα αφορά την σύνθεση πυραζολινών από την χαλκόνη **4** με ποικίλες υδραζίνες, η οποία θα μπορούσε να παρέχει σημαντικές πληροφορίες για τη σχέση δομής-βιολογικής δράσης των πυραζολινών αυτής της κατηγορίας, επειδή παρουσιάστηκαν σημαντικές διαφορές στις ενώσεις μας επεμβαίνοντας στον δακτύλιο της πυραζολίνης με διάφορους υποκαταστάτες. Ακόμη, προτίνονται δομικές τροποποιήσεις στον κινολινολικό δακτύλιο, με αλλαγή της αμινομάδας, καθώς και στον δακτύλιο B της χαλκόνης δοκιμάζοντας ποικίλους υποκαταστάτες όπως μεθύλια, υδροξυλία και βενζολικούς δακτυλίους.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] E. Grotewold, "The Science of Flavonoids", Department of Cellular and Molecular Biology, The Ohio University, Springer, **2006**
- [2] Μ. Π. Μακαβέλου, Ε. Τσαντίλη, "Αξιολόγηση ποιοτικών χαρακτηριστικών σε καρπούς μουριάς (*Morus Alba L.*), Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, **2010**
- [3] Χ. Σουλελής, "Φλαβονοειδή και συγγενείς ομάδες φυτικών χρωστικών-Χημική τους δομή και θεραπευτικές τους ιδιότητες", Εργαστήριο Φαρμακογνωσίας, Τμήμα Φαρμακευτικής Α.Π.Θ.
- [4] S. Samman, N.C. Cook, "Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources", *J Nutr. Biochem.*, **1996**, 7:66-76
- [5] K. E. Heum, A. R. Tagliaferro, D. J. Bobilya, "Flavonoids antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships", *J. Nutr. biochem.*, **2002**, 13, 572-584
- [6] D. Ravishankar, A. K. Rajora, F. Greco, H. M. I. Osborn, "Flavonoids as prospective compounds for anti-cancer therapy", *The international journal of biochemistry & Cell biology*, 2013, 45, 2821-2831
- [7] K. P. Kim, K. H. Son, H. W. Chang, S. S. Kang, "Anti-inflammatory Plant Flavonoids and Cellular Action Mechanisms", *Journal of Pharmacological Sciences*, **2004**, 96, 229-245
- [8] S. Ducki, "The development of chalcones as promising anticancer agents", *IDrugs: The investigational Drugs Journal*, **2007**, 10(1):42-46
- [9] F. Jan Stevens, J. E. Page, "Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer to your good health", *Phytochemistry*, **2004**, 65, 1317-1330
- [10] H. P. Avilla, E. F. Smania, F. D. Monache, A. Smania, "Structure-activity relationship of antibacterial chalcones", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2008**, 16, 9790-9794
- [11] Nowakowska Zdzislawa, "A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones", *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2007**, 42, 125-137

- [12] P. B. Bandgar, S. A. Patil, R. N. Gacche, B. L. Korbadi, B. S. Hote, S. N. Kinkar, S. S. Jalde, "Synthesis and biological evaluation of nitrogen-containing chalcones as possible anti-inflammatory and antioxidant agents", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2010**, 20, 730-733
- [13] K. V. Sashidhar, S. R. Avula, V. Mishra, G. R. Palnati, L. R. Singh, N. Singh, Y. S. Chhonker, P. Swami, R. S. Bhatta, G. Palit, "Identification of Quinoline-chalcone hybrids as potential antiulcer agents", *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2015**, 89, 638-53
- [14] C. B. Patil, S. K. Mahajan, S. A. Katti, "Chalcone: A Versatile Molecule", *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, **2009**, 3, 11-22
- [15] Osman Muhamad Faridz Bin, "Solvent-free synthesis of chalcone by aldol condensation catalyzed by solid sodium hydroxide (NaOH)", *Faculty of Applied Sciences, Universiti Teknologi Mara*, **2009**
- [16] J. P. Singh, M. Dulawat, N. Jaitawat, S. S. Chundawat, A. Devpura, S. S. Dulawat, "Microwave enhanced Claisen-Schmidt condensation: A green route to chalcones", *Indian Journal of Chemistry*, **2012**, 51B, 1623-1627
- [17] S. Eddarir, N. Cotellet, Y. Bakkour, C. Rolando, "An efficient synthesis of chalcones based on the Suzuki reaction", *Tetrahedron Letters*, **2003**, 44, 5359-5363
- [18] Hadjipavlou-Litina D., "Chalcones in Cancer: Understanding their Role in Terms of QSAR." *Curr. Med. Chem.*, **2009**, 16, 1062-1081.
- [19] D. K. Mahapatra, S. K. Bharti, V. Asati, "Chalcone scaffolds as anti-infective agents: Structural and molecular target perspectives", *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2015**, 101, 496-524
- [20] Δέτση Αναστασία, «Σύνθεση και δομή πυρρολινονών και αναλόγων ετεροκυκλικών συστημάτων», Διδακτορική διατριβή ΕΜΠ, 1998
- [21]. Mi-Ae Yoon, Tae-Sook Jeong, Doo Sang Park, Ming-Zhe Xu, Hyun-Woo Oh, Kyoung-Bin Song, Woo Song Lee, and Ho-Yong Park, "Antioxidant Effects of Quinoline Alkaloids and 2,4-Di-tert-butylphenol Isolated from *Scolopendra subspinipes*" *Biol. Pharm. Bull.*, **2006**, 29(4) 735—739

- [22] S. C. Hoelzel, E. R. Vieira, S. R. Giacomelli, I. I. Dlacol, N. Zanatta, A.F. Morel, "An unusual Quinolinone alkaloid from *Waltheria douradinha*", *Phytochemistry*, **2005**, 66, 1163-7
- [23] W.E Campell, B. Davidowitz, G. E. Jackson, "Quinolinone Alkaloids from an *Agathosma* species", *Phytochemistry*, **1990**, 29(4), 1303-1306
- [24] Ashan Monira, "4-Quinolinone, 2-Quinolinone, 9-Acridanone and Furoquinolinone alkaloids from the aerial parts of *Boronia Bowmani*", *Journal of natural Plants*, 1994
- [25] Zs. Rozsa, M. Rabik, K. Szendrei, M. Aynechi, I. Pelczer, "New alkaloids from *Haplophyllum glabrium*", *Phytochemistry*, **1988**, 27(7), 2369-2371
- [26] P. J. Manley, Mark T., "A New Synthesis of Naphthyridinones and Quinolinones: Palladium-Catalyzed Amidation of o-Carbonyl-Substituted Aryl Halides.", *Bilodeau Organic Letters*, **2004**, 6(14), 2433-2435
- [27] Jian He, U. Lion, I. Sattler, F. A. Gollmick, S. Grabley, j. Cai, "Diastereomeric Quinolinone Alkaloids from the marine -derived Fungus *Penicillium janczewskii*", *Journal National Products*, **2005**, 68(9), 1397-9
- [28] A. N. Pearce, E. Chia, M. V. Berridge, G. R. Clark, J. Harper, L. Larsen, "Anti-inflammatory thiazine alkaloids isolated from the New Zealand ascidian aplidium sp.: inhibitors of the neutrophil respiratory burst in a model of gouty arthritis", *J. Nat. Prod.*, **2006**, 70(6), 936-940
- [29] A. Detsi, D. Bouloumpasi, K Proussis, M. Koufaki, G Athanasellia, G. Melagraki, A. Afantitis, O. Igglesi-Mparkopoulou, C. Contogiorgis, D. Hatzipavlou-Litina, "Design and synthesis of novel quinolinone-3-aminoamides and their a-lipoic acid adducts as antioxidant and anti-inflammatory agents", *Journal Medicine Chem.*, **2007**, 50(10), 2450-2458
- [30] K. Kirandeep, M. Jain, R. P. Reddy, "Quinolines and structurally related heterocycles as antimalarials", *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2010**, 45(8), 3245-64
- [31] M. Foley, L. Tilley, "Quinoline Antimalarials: Mechanisms of Action and Resistance and Prospects for New Agents.", *Pharmacology & Therapeutics*, **1998**, 79(1):55-87.

- [32] *Biochimica et Biophysica Acta*, **2002** 1570,97– 103
- [33] Fournet A. , Ferreira ME, Rojas De Arias A, Torres De Ortiz S, Fuentes S, Nakayama H, Schinini A, Hocquemiller R., “In vivo efficacy of oral and intralesional administration of 2-substituted quinolines in experimental treatment of new world cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmaniaamazonensis*” *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1996**, 40(11), 2447-51
- Lavaud, C., Massiot, G., Vasquez, C., Moretti, C., Sauvain, M., Balderrama, L., “4-Quinolinone alkaloids from *Dictyolomaperuviana*” *Phytochemistry*, **1995**, 40, 317-320
- [34] M. Fujita, T. Fujita, K. Higashino ,”Antitumor effect of a quinolinone derivative, vesnarinone, on mouse hepatoma”, *Hepatology Research*, **2000**, 17, 65-71
- [35] Jin Hye Chung, M. Kamli, Hyo J. Lee, Jae Du Ha, S. Yun Cho, “Discovery of quinolinone derivatives as potent FTL3 inhibitors”, *Biochemical and biophysical research communications*, **2014**, 445(3)
- [36] R. Ferrer, G. Lobo, N. Gamboa, J. Rodrigues, C. Abramjuk, K. Jung, M. Lein, J. E. Charris, ”Synthesis of [(7-chloroquinolin-4-yl)amino]chalcones: potential antimalarial and anticancer agents” *Sci Pharm.*, **2009**, 77, 725-741
- [37] M. Sharma, V. Chaturverdi, Y.K. Manju, S. Bhatnagar, K. Srivastava, S.K. Puri, P.M. Chauhan, ”Substitued quinolin chalcones and quinolinyl pyrimidines as a new classof anti-infective agents”, *European Journal Of Medicinal Chemistry*, **2009**, 44,2081-91
- [38] M. Roussaki, B. S. Hall, S. A. Costa Lima, A. C. Silva, S. R. Wilkinson, ”Synthesis and anti-parasitic activity of a novel quinolinone-chalcone series”, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Lettters*, **2013**, 23
- [39] A. Rahman, A. A. Siddiqui, ” Pyrazoline Derivatives: a worthy insight into the recent advances and potential pharmacological activities”, *International Journal Of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, **2010**, 2, 165-175
- [40] Amir M., Kumar H., Khan S.A., ”Synthesis and pharmacological evaluation of pyrazoline derivatives as new anti-inflammatory and analgesic agents”, *Bioorganic& Medicinal Chemistry Letters*, **2008**, 18(3), 918-922

- [41] Ahmad A., Husain A., Khan S. A., Mujeeb M., Bhandari A., "Synthesis, antimicrobial and antitubercular activities of some novel pyrazoline derivatives", *Journal of Saudi Chemical Society*, **2014**
- [42] Fioravanti R., Bolasco A., Manna F., Rossi F., Orallo F., Yanez M., "Synthesis and molecular modelling studies of prenylated pyrazolines as MAO-B inhibitors", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2010**, 20, 6479-82
- [43] M. Bijo, J. A. Suresh, S. Anbazhagan, S. Dev, "Proposed interaction of some novel antidepressant pyrazolines against monoamine oxidase isoforms. Molecular docking studies and pass assisted in silico approach", *Biomedicine & aging pathology*, **2014**, 4(4)
- [44] A. Z. Kaplancikli, G. Turan- Zitouni, A. Ozdemir, O. D. Can, P. Chevallet, "Synthesis and antinoiceptive activities of some pyrazoline derivatives", *European journal of medicinal chemistry*, **2009**, 44, 2606-10
- [45] Ramkumar V., Kannan P., "Highly fluorescent semiconducting pyrazoline materials for optoelectronics", *Optical Materials*, **2015**, 46, 605-613
- [46] Στάγκος Δημήτριος, "Μελέτη βιολογικών ιδιοτήτων σε εκχυλίσματα και φυτικές πολυφαινόλες από ελληνικές ποικιλίες αμπέλου (*vitis vinifera*)", *Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*, **2006**
- [47] E.Kelly Heim, A. R. Tagliaferro, D. J. Bobilya, "Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships", *Journal of Nutritional Biochemistry*, **2002**, 13, 572-584
- [48] Detsi A., Majdalani M., Kontogiorgis C.A., Hadjipavlou-Litina D., Kefalas P., "Natural and synthetic 2'-hydroxy-chalcones and aurones: Synthesis, characterization and evaluation of the antioxidant and soybean lipoxygenase inhibitory activity", *Bioorg.Med.Chem.*, **2009**, 17, 8073-8085
- [49] Shenvi S., Kumar K., Hatti K.S., Rijesh K., Diwakar L., Reddy G.C., "Synthesis, anticancer and antioxidant activities of 2,4,5-trimethoxy chalcones and analogue from asaronaldehyde: structure-activity relationship", *European journal of medicinal chemistry*, **2013**, 62, 435-442

- [50] D. M. Martins, B. G. Torres, P. R. Spohr, P. Machado, H. G. Bonacorso, N. Zanatta, M. A. P. Martins, T. Emanuelli, "Antioxidant Potential Of new Pyrazoline Derivatives to Prevent Oxidative Damage", *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, **2008**, 1742-7843
- [51] Kumar A., Varadaraj B.G., Singla K. R., "Synthesis and evaluation of antioxidant activity of novel 3.5-disubstitued-2-pyrazolines", *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, **2013**, 51, 167-173
- [52] S. Samshuddin, B. Narayana, B. Kunhanna Sarojini, M. T. H. Khan, H. S. Yathirajan, C. G. D. Raj, R. Raghavendra," Antimicrobial, analgesic, DPPH scavenging activities and molecular docking study of some 1,3,5-triaryl-2-pyrazolines", *Med. Chem. Research*, **2012**, 21, 2012-2022
- [53] Dr. Vasudevarao Avupati, Prof. Rajendra Prasad Yejella, "Bioactive pyrazolines: an update", *World Journal of Pharmaceutical research*, **2014**, 3, 1181-1215
- [54] Manna K, Banik U, Ghosh PS, Das M. "A Review on Synthesis and Pharmacological Diversity of Isoxazoles & Pyrazolines", *NUJPS*. 2014
- [55] S.-L. Cui, J. Wang, Y.-G. Wang, *Org. Lett.*, 2008, 10, 13-16.
- [56] A. Detsi, V. Bardakos, J. Markopoulos and O. Igglessi-Markopoulou, "Reactions of 2-methyl-3,1-benzoxazin-4-one with active methylene compounds. A new route to 3-substituted-4-hydroxy-quinolin-2-ones", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1996, 2909.
- [57] Spicer W. J., *Ιατρική Βακτηριολογία, Μυκητολογία και Παρασιτολογία, Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιάνου Α.Ε., Αθήνα, (2004).*
- [58] Signore A., *EJNMMI Res.* 3 (8), (2013).
- [59] Τσιφτσόγλου Σ. Α., *Μοριακή και Κλινική Φαρμακολογία, Τόμος Β', Έκδοση: Υπηρεσία Δημοσιευμάτων Α.Π.Θ., (2001).*
- [60] Gallin J.I., Goldstein I.M., Snyderman, R., *Inflammation: Basic Principles and Clinical correlates*, 2nd ed., Raven Press, New York. (**1992**).

- [61] Hamor G.H. , “Non-steroidal anti-inflammatory Drugs, In Foye W.O.: Principles of Medicinal Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: Lea & Febiger”, **1989**, 503-530
- [62] Borne R.F. In Foye W.O., Principles of Medicinal Chemistry. 5th ed., Lippincot Williams & Wilkins, Philadelphia, **2002**, 751-793,
- [63] Baynes J.W. Dominiczak M.H., Medical Biochemistry, 2nd. Edition, Elsevier Mosby. **2005**, 555,
- [64] Starkebaum G., Immunol. Allergy Clin. North Am. 13 (273), (**1993**).
- [65] Penrose J.F., Austen K.F., Lam B.K., “Leukotrienes: Biosynthetic Pathways, Release and Receptor-Mediated Actions with Relevance to Disease States. In: Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates, Gallin J.L., Snyderman R., Eds.: Lippicort Williams & Wilkins, Philadelphia P.A., **1999**, 361-372,
- [66] Medzhitov R., Nature 454, **2008**, 428–35,
- [67] Maling H.M., Webster M.E., Williams M.A., Saul W., Anderson W., JPET 191(2), 300-310, (**1974**).
- [68] Chrousos G.P., NEJM 332, p. 1.351-1.362, (**1995**).
- [69] Κατσώρη Αννα-Μαρία, «Σύνθεση και φαρμακοχημική μελέτη ετεροκυκλικών ενώσεων (χαλκονών και παραγώγων) με πιθανή αντιφλεγμονώδη, αντιοξειδωτική, αντικαρκινική δράση. Ε εφαρμογή της μεθοδολογίας QSAR», Τμήμα Φαρμακευτικής, Α.Π.Θ., **2012**
- [70] Ποντίκη Ελένη, «Σύνθεση και φαρμακοχημική μελέτη νέων α,β-ακόρεστων καρβοξυλικών οξέων και παραγώγων του με πιθανή δράση κατά της φλεγμονής. Ε εφαρμογή της μεθοδολογίας QSAR», Τμήμα Φαρμακευτικής, Α.Π.Θ., **2007**
- [71] Raymond N.D., Steven B.A., Leslie C., Rajnish A.G., Lee S.S., Van de Putte Leo B.A., Lipsky P.E., FASEB J. 12, 1063-1073, (**1998**).

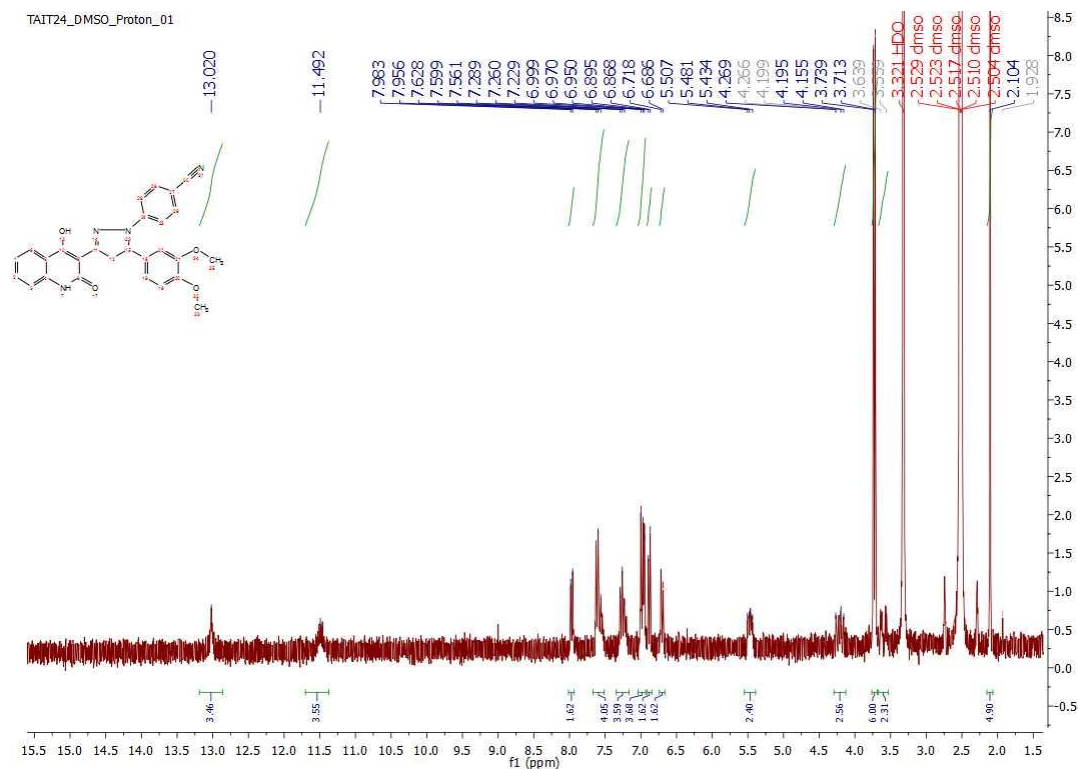
[72] Hinz B, Brune K. Cyclooxygenase-2 – 10 years later. *J Pharmacol Exper Ther* **2002**, 300, 367-375.

[73]Καραμούζης Ιωάννης, « Ο ρόλος των αγγειοδραστικών παραγώγων του αραχιδονικού οξέος στη λιπιδική υπεροξειδωση των ουραιμικών ασθενών», Α.Π.Θ., **2007**

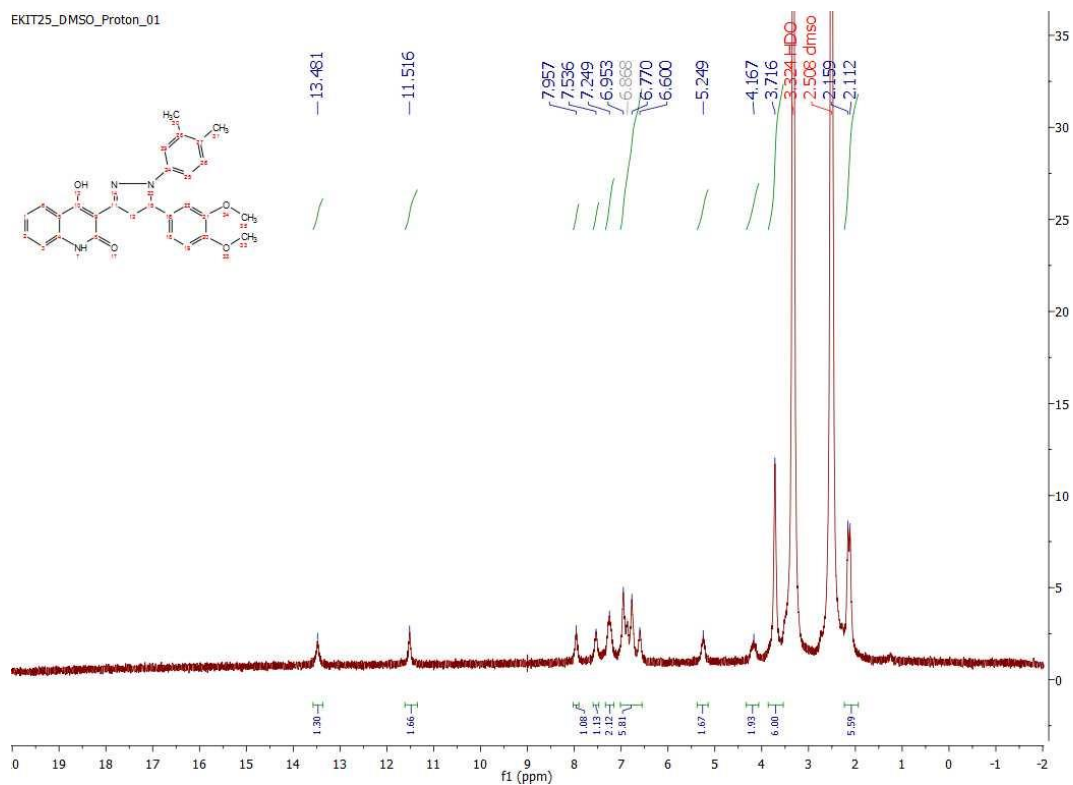
[74] Detsi, A ‘Natural and synthetic 2’-hydroxy-chalcones and aurones: synthesis characterization and evaluation of the antioxidant and soybean lipoxygenase inhibitory activity’, *Bioorg. Med. Chem.* , **2009**, 17 , 8073-8085.

[75]Kontogiorgis C., Hadjipavlou-Litina D., *J.Enzyme Inhib.Med.Chem* **2003** 18, 63

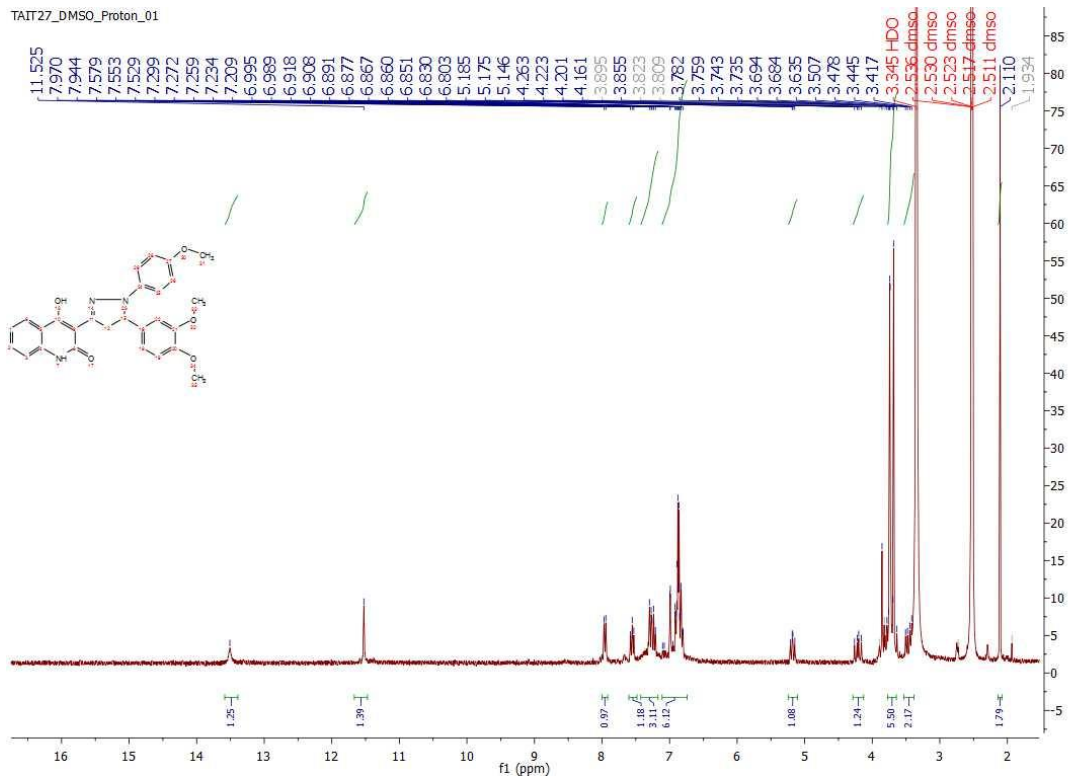
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΑΣΜΑΤΩΝ NMR



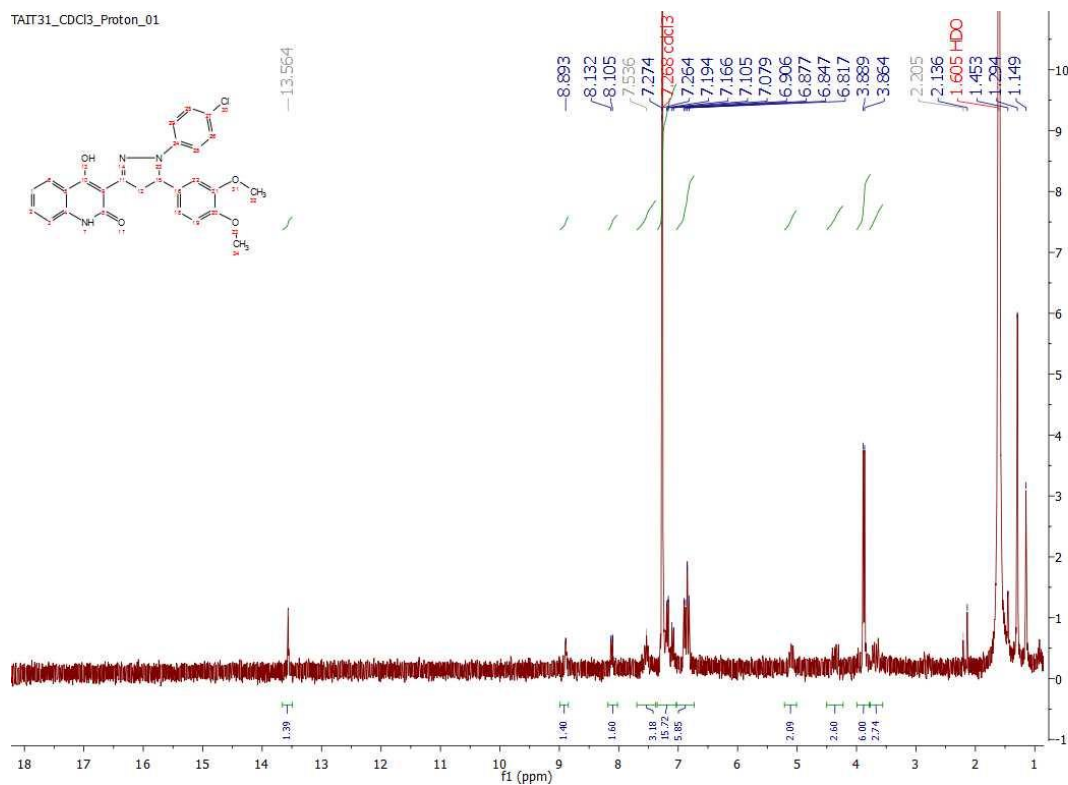
Εικόνα 79 Φάσμα πρωτονίου ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) της παραζολίνης 5



Εικόνα 80: Φάσμα πρωτονίου ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) της παραζολίνης 6



Εικόνα 81: Φάσμα πρωτονίου ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) της πυραζολίνης **7**



Εικόνα 82: Φάσμα πρωτονίου ^1H NMR (300MHz, CDCl₃) της πυραζολίνης **8**