



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

Σύνθεση υβριδικών ενώσεων κινολινονών-φαινολικών οξέων με συνδυασμένη αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση

Επιβλέπουσα: Δρ. Αναστασία Δέτση, Επίκουρος
Καθηγήτρια



Χρονάκη Κωνσταντίνα

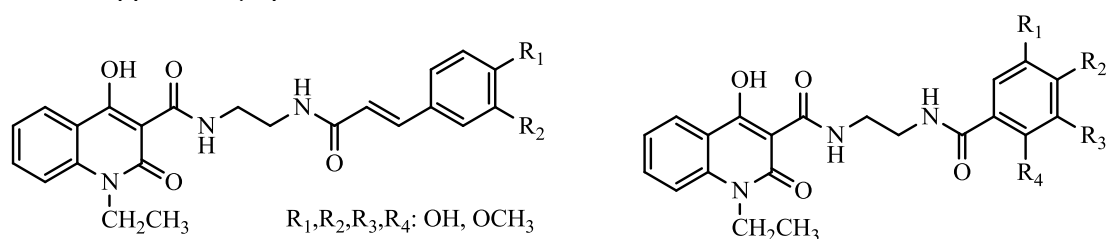
Αθήνα 2016

Περίληψη

Οι κινολινόνες είναι ετεροκυκλικά παράγωγα με μεγάλο εύρος βιολογικών και φαρμακευτικών ιδιοτήτων. Τα φαινολικά οξέα αποτελούν βιοδραστικά φυσικά προϊόντα που απομονώνονται από πληθώρα φυτικών πηγών. Ως συνέχεια της ερευνητικής δραστηριότητας στη σύνθεση νέων μορίων με συνδυασμένη αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση, στην παρούσα διπλωματική εργασία παρουσιάζεται ο σχεδιασμός, η σύνθεση και η ταυτοποίηση νέων υβριδικών ενώσεων, οι οποίες συνδυάζουν το δομικό σκελετό της N-αιθυλο-3-μεθοξυκαρβονυλο-4-υδροξυ-2-κινολινόνης και φαινολικών οξέων (παραγώγων κινναμικού και βενζοϊκού οξέος), συνδεδεμένων με αμιδικούς συνδέτες.

Η σύνθεση των τελικών μορίων επιτυγχάνεται μέσω σειράς έξι αντιδράσεων, οι οποίες περιλαμβάνουν:

- N-ακυλίωση του ισατοϊκού ανυδρίτη, χρησιμοποιώντας αιθυλοϊωδίδιο σε διαλύτη DMF, παρουσία NaH ως βάσης.
- C-ακυλίωση του μηλονικού διμεθυλεστέρα χρησιμοποιώντας τον N-ακυλοισατοϊκό ανυδρίτη ως ακυλιωτικό μέσο, προς σχηματισμό της N-αιθυλο-3-μεθοξυκαρβονυλο-4-υδροξυ-2-κινολινόνης.
- Αντίδραση πυρηνόφιλης υποκατάστασης μεταξύ της κινολινόνης και της αιθυλενοδιαμίνης προς σχηματισμό του αντίστοιχου καρβοξαμιδίου.
- Σύνθεση ακετυλιωμένων φαινολικών οξέων χρησιμοποιώντας οξικό ανυδρίτη ως ακυλιωτικό μέσο.
- Αντίδραση πυρηνόφιλης υποκατάστασης μεταξύ του καρβοξαμιδίου και του χλωριδίου του εκάστοτε φαινολικού οξέος προς σχηματισμό του τελικού υβριδικού μορίου.



Νέα υβριδικά παράγωγα κινολινονών

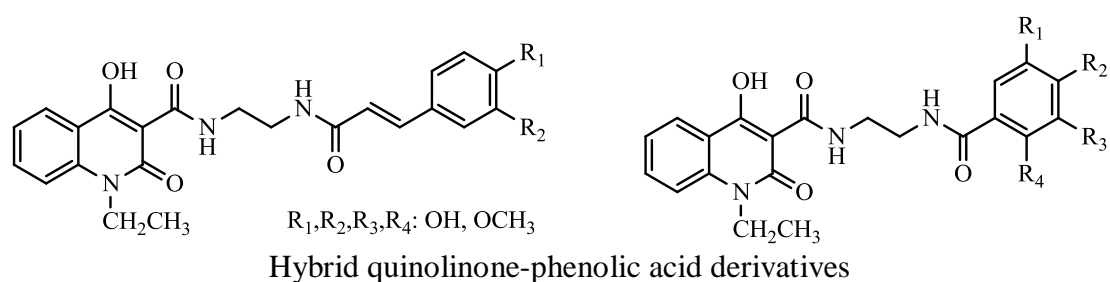
Όλα τα νέα μόρια καθαρίστηκαν χρησιμοποιώντας χρωματογραφία στήλης ή ανακρυστάλλωση. Η ταυτοποίηση της δομής των ενώσεων πραγματοποιήθηκε με Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR) και φασματοσκοπία μάζας (ESI-MS).

Abstract

Quinolinones are heterocyclic derivatives which possess a wide range of biological and pharmaceutical properties. Phenolic acids are bioactive natural products isolated from a variety of plant sources. The aim of this work is the synthesis of new hybrid organic compounds with potential antioxidant and anti-inflammatory activity. The hybrid molecules combine the structural framework of 4-hydroxy-2-quinolinone with natural phenolic acids, both cinnamic and benzoic acid derivatives, in one molecular scaffold.

The synthesis of the desired compounds was succeeded via a series of six reactions, namely:

- N-alkylation of isatoic anhydride, using ethyl iodide as the alkylating agent and NaH as the base, in DFM as a solvent.
- C-acylation of dimethyl malonate using N-ethyl-isatoic anhydride as the acylating agent to produce N-ethyl-3-methoxycarbonyl-4-hydroxy-2-quinolinone.
- Nucleophilic substitution between the quinolinone and ethylenediamine to form the corresponding carboxamide.
- Acetylation of phenolic acids using acetic anhydride as an acylating agent.
- Nucleophilic substitution between the carboxamide and the corresponding phenolic acid chloride to produce the desired hybrid molecules.



The novel compounds were purified using flash column chromatography or recrystallization and were characterized structurally using Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR) and mass spectroscopy (ESI-MS)

Εισαγωγή

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Τμήματος Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, κατά το ακαδημαϊκό έτος 2015-2016.

Πρώτα απ' όλα, θα ήθελα να ευχαριστήσω την υπεύθυνη Επίκουρο καθηγήτρια κα Α. Δέτση για την πολύτιμη βοήθειά της κατά την συγγραφή της εργασίας, αλλά κυρίως για τις συμβουλές και την καθοδήγησή της σε εργαστηριακό και γνωστικό επίπεδο. Στην συνέχεια θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα την υποψήφια διδάκτορα στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας, Ιωάννα Κωστοπούλου, για την συνεχή και ανεκτίμητη βοήθεια σε κάθε προκύπτον ζήτημα, καθώς και για τις γνώσεις τις οποίες προσέφερε σε κάθε βήμα της εκπόνησης της εργασίας οι οποίες αποδείχτηκαν καταλυτικές για την ολοκλήρωσή της. Επίσης θα ήθελα να την ευχαριστήσω για την λήψη και αποτίμηση των φασμάτων NMR. Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τις υποψήφιες διδάκτορες, Ανδρομάχη Τζάνη και Ελένη Καβέτσου, του εργαστηρίου, για την άψογη συνεργασία και την βοήθεια κατά την εκτέλεση των πειραμάτων, τις συμβουλές που παρείχαν για κάθε αμφιλεγόμενο ζήτημα αλλά και για την αποτίμηση των φασμάτων NMR.

Επίσης, είμαι ευγνώμων στα υπόλοιπα μέλη της εξεταστικής επιτροπής της διπλωματικής εργασίας, κ. Φώτιο Τσόπελα και κ. Θεόδωρο Θεοδώρου, για την προσεκτική ανάγνωση της εργασίας μου και για τις πολύτιμες υποδείξεις τους.

Περιεχόμενα

Περίληψη	2
Abstract.....	3
Εισαγωγή	4
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	7
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ	9
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	10
Κεφάλαιο1: Θεωρητικό μέρος.....	11
1)Φαινολικά Οξέα	11
1.1)Δομή	11
1.2) Τα φαινολικά οξέα στην φύση.....	14
1.3) Βιολογική Δράση	15
2)Κινολινόνες	17
2.1) Δομή.....	18
2.2) Κινολινόνες στη φύση.....	18
2.3) Βιολογική Δράση	21
2.4)Μέθοδοι σύνθεσης Κινολινονών	26
3) Αντιοξειδωτικά.....	29
4) Αντιφλεγμονώδη.....	34
Κεφάλαιο2: Σύνθεση και Αξιολόγηση της βιολογικής δράσης.....	39
2.1 Σχεδιασμός και σύνθεση νέων παραγώγων.....	39
2.1.1 Σύνθεση N-αίθυλο-ισατοϊκού ανυδρίτη(2).....	40
2.1.2 Σύνθεση N-αίθυλο-3-μεθυλοκαρβονύλο-4-υδροξύ-2-κινολινόνης(3)	40
2.1.3 Σύνθεση N-(2-αμινοαιθυλ)-1-αιθυλο-4-υδροξύ-2-οξο-1,2-διυδροκινολιν-3-Καρβοξαμίδιο (4)	41
2.1.4 Σύνθεση υβριδικών μορίων Κινολινονών-φαινολικών οξέων	41
2.2 Μηχανισμοί αντιδράσεων	44
2.2.1)Μηχανισμός σύνθεσης αμινών κατά Gabriel.	44
2.2.2) Μηχανισμός C-Αλκυλίωσης.....	44
2.2.3)Μηχανισμός αμινόλυσης εστέρων.	46
2.2.4) Ακετυλίωση οξέων με χρήση οξικού ανυδρίτη.	47
2.2.5) Μηχανισμός χλωρίωσης καρβοξυλικών οξέων	48
2.2.6) Μηχανισμός αμινόλυσης αλογονιδίων των οξέων.....	49
2.4 Αξιολόγηση βιολογικής δράσης παραγώγων	51

2.4.1) Αντιφλεγμονώδη Δράση.....	51
2.4.2)Αντιοξειθωτική Δράση	53
Κεφάλαιο3: Πειραματικό μέρος	56
1)Όργανα και συσκευές	56
2) 1 – αιθυλ - βενζο[d][1,3]οξαζιν -2,4- διόνη (2)	57
3)1– αιθυλο -4- υδρόξυ -2- οξο -1,2- διυδροκινολινόνη -3- καρβοξυλικό οξύ(3)..	58
4)N- (2- αμινοαιθυλ) -1- αιθυλο -4- υδροξυ -2- οξο -1,2- διυδροκινολιν -3- Καρβοξαμίδιο(4)	59
5)Γενική μέθοδος σύνθεσης ακετυλο-φαινολικών οξέων (6a)-(6c)&(8a)-(8b).....	60
5.1) (E) -3- (4- ακετόξυφαινυλ) ακρυλικό οξύ(6a).....	60
5.2)(E) -3- (3,4- διακετυλοφενυλ) ακρυλικό οξύ(6b)	61
5.3)(E) -3- (4- ακετυλο -3- μεθοξυφαινυλ) ακρυλικό οξύ(6c)	61
5.4)4- ακετοξυ- βενζοϊκό οξύ (8a).....	62
5.5) 4- ακετόξυ -3,5- διμεθυλ- βενζοϊκό οξύ(8b)	62
5.6) Ακετυλο- σαλικυλικό άλας(8c).....	63
6) Γενική μέθοδος σύνθεσης χλωριδίων των ακετυλιωμένων φαινολικών οξέων(9a)-(9h).....	63
7) Γενική μέθοδος σύνθεσης ακετυλιωμένων παραγώγων κινολινονών(10a)-(10i)	66
8) 1-αιθυλ-4-υδροξυ-N-(2- (4- υδροξυ-3,5- διμεθοξυβενζαμίδιο) αιθυλ)-2- οξο- 1,2- διυδροκινολιν -3- Καρβοξαμίδιο (11a).....	76
9)Περιγραφή Μεθόδων καθαρισμού	77
9.1) Ανακρυστάλλωση	77
9.2)Καθαρισμός με χρωματογραφική στήλη Flash	78
10)Προσδιορισμός την ικανότητας αναστολής του ενζύμου λιποξυγονάσης από σόγια	79
11)Προσδιορισμος της ικανοτητας δεσμευσης της σταθερης ελευθερης ριζας DPPH	79
12)Υπολογισμος της αναστολης της λιπιδικης υπεροξειδωσης (AAPH).....	80
Κεφάλαιο4: Ταυτοποίηση ενώσεων, Συζήτηση αποτελεσμάτων και Συμπεράσματα	81
4.1) Ταυτοποίηση Ενώσεων.....	81
4.1.1) Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR).....	81
4.1.2) Ανάλυση φασμάτων των παραγόμενων ενώσεων.....	84
4.1.2 Φασματομετρία Μάζας (MS).....	94
4.2) Συζήτηση - Παρατηρήσεις	102

4.3) Συμπεράσματα.....	104
Κεφάλαιο5: Βιβλιογραφία	105
Παράρτημα Φασμάτων.....	114

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

<i>Εικόνα 1- Φυτό της οικογένειας Rutaceae</i>	19
<i>Εικόνα 2- Φυτό του είδους citrus bergamia της οικογένειας Ructaceae</i>	19
<i>Εικόνα 3- Σαρανταποδαρούσα του είδους Scolopendridae.....</i>	20
<i>Εικόνα 4- Τοξικότητα των ελευθέρων ριζών.....</i>	30
<i>Εικόνα 5.....</i>	31
<i>Εικόνα 6- Ενζυμική διαδρομή για την αποτοξίνωση των ROS.....</i>	32
<i>Εικόνα 7- Δέσμευση ελεύθερης ρίζας από αντιοξειδωτικό</i>	32
<i>Εικόνα 8- Πυραμίδα αντιφλεγμονωδών τροφών</i>	34
<i>Εικόνα 9- Δομή LOX</i>	51
<i>Εικόνα 10–Μηχανισμός του καταλυτικού κύκλου της λιποξυγονάσης</i>	52
<i>Εικόνα 11- Η ρίζα DPPH και η αποχρωματισμένη και ανηγμένη μορφή της, μετά τη δράση του αντιοξειδωτικού.</i>	54
<i>Εικόνα 12–Μηχανισμός AAPH</i>	55
<i>Εικόνα 13- Παραγόμενη ένωση (4)</i>	59
<i>Εικόνα 14- Αντίδραση Για παραγωγή προϊόντος (10b).....</i>	68
<i>Εικόνα 15-Αντίδραση για την παραγωγή του προϊόντος (10f).....</i>	72
<i>Εικόνα 16- Τελική ένωση (10i)</i>	75
<i>Εικόνα 17– Διάταξη πυρήνων απουσία-παρουσία Μαγνητικού πεδίου Bo</i>	82
Εικόνα 18– Ενεργειακή Διαφορά ΔΕ μεταξύ πυρήνων με παράλληλο και αντιπαράλληλο spin σε σχέση με το Bo	82
<i>Εικόνα 19- Αξονας φάσματος NMR.....</i>	84
<i>Εικόνα 20- Φάσμα απορρόφησης πρωτονίων NMR για την ένωση (2)σε διαλύτη CDCL3.....</i>	86
<i>Εικόνα 21- Φάσμα απορρόφησης πρωτονίων NMR σεCDCL3 της ένωσης (3)</i>	88
<i>Εικόνα 22- Φάσμα απορρόφησης πρωτονίων NMR σε CDCL3 της ένωσης (4)</i>	89

<i>Εικόνα 23- Φάσμα απορρόφησης πρωτονίων NMR σε DMSO της ένωσης(10a).....</i>	<i>91</i>
<i>Εικόνα 24- Περιοχή απορρόφησης αρωματικών πρωτονίων</i>	<i>92</i>
<i>Εικόνα 25- Φάσμα απορρόφησης πρωτονίων NMR σε DMSO της ένωσης (10f).....</i>	<i>94</i>
<i>Εικόνα 26- Σύστημα εισαγωγής.....</i>	<i>96</i>
<i>Εικόνα 27- Σχηματική αναπαράσταση του συστήματος ιονισμού</i>	<i>97</i>
<i>Εικόνα 28- Πηγή ηλεκτρονίων</i>	<i>97</i>
<i>Εικόνα 29- Σύστημα διαχωρισμού - τετραπολικό φίλτρο μαζών</i>	<i>98</i>
<i>Εικόνα 30- Σύστημα ανίχνευσης- Ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστής</i>	<i>99</i>
<i>Εικόνα 31- Φάσμα μάζας ένωσης (10f)</i>	<i>101</i>
<i>Εικόνα 32- Θασμα Μάζας για m/z=259.....</i>	<i>102</i>
<i>Εικόνα 33-Φάσμα Μάζας ένωσης 11a.....</i>	<i>103</i>
<i>Εικόνα 34- Φάσμα ¹H NMR ένωσης 11a.....</i>	<i>103</i>

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1- Παράγωγα κινναμικού οξέος.....	12
Σχήμα 2- Παράγωγα βενζοϊκού οξέος.....	12
Σχήμα 3- Γενική μορφή Κινολινονών	17
Σχήμα 4- Δομές κινολινονών	18
Σχήμα 5- Δομή των κινολινονών από τη σαρανταποδαρούσα <i>Scolopendra subspinipes</i>	20
Σχήμα 6- Γενική δομή κινολινονών με αντιμικροβιακή δράση όπου για την πρώτη αντίδραση $R= H, Cl, F, R_1=Cl, F, R_2=H, Cl, X=CH, N$ και για την δεύτερη αντίδραση $R_1=H, Cl, F, R_2=H, Cl, X=CH, N$	21
Σχήμα 7- Βεσσαρινόνη.....	23
Σχήμα 8- <i>N- substituted-quinolinone-3-aminiamides</i>	24
Σχήμα 9- Δομή χλωροκινολινόνης.....	25
Σχήμα 10- Δομή 4-αμινοκινολινόνης και 8-αμινοκινολινόνης	25
Σχήμα 11- Δομή Κινολινομεθανόλης.....	25
Σχήμα 12- Γενική μέθοδος σύνθεσης 3-υποκατεστημένων-4-υδροξυ-2-κινολινονών από τον ισατοϊκό ανδρίτη	27
Σχήμα 13- Σύνθεση φαινυλ-υποκατεστημένων κινολινονών με υποβολή ενός μίγματος αιθυλο-βινυλο αιθέρα ή οξικού βινυλο- σουλφιδίου και <i>N-arylaldimine</i> σε όξινο καταλύτη, παρουσία αιθερικού τριφθοριούχου βορίου ($BF_3 \cdot OEt_2$). ^{[19], [39]}	28
Σχήμα 14- Σύνθεση της 3,4-Dihydroquinolin-2-one ύστερα από επεξεργασία 2- ιοδωανιλινών και ακρυλικού αιθυλεστέρα με αζωδισισοβουτυρονιτρίλιο (<i>AIBN</i>), παρουσία υδριδίου του τριβουτυλκασσιτέρου (<i>n-Bu_3SnH</i>). ^{[19], [40]}	28
Σχήμα 15- Σύνθεση πολυ-υποκατεστημένων κινολινονών χρησιμοποιώντας 2- αμινοϋποκατεστημένες κετόνες και κετόνη παρουσία του <i>DPA</i> ως καταλύτη ^{[19], [41]}	28
Σχήμα 16-Σύνθεση κινολινονικών παραγώγων με συμπύκνωση αλδόλης κατά <i>Mukaiyama</i> , παρουσία υψηλής δραστηκότητας κακτονών ή ανιδριτών. ^{[19], [42]}	29
Σχήμα 17-Σύνθεση πολυ-υποκατεστημένων κινολινονικών παραγώγων από 2- αμινοβενζοϊκά παράγωγα αλκοολών με κετόνες ή αλκοόλες, παρουσία βάσης και βενζοφαινόλης ^{[19], [43]}	29
Σχήμα 18- Μια δομή χαλκόνης με καλή ικανότητα δέσμευσης ριζών <i>DPPH</i>	33
Σχήμα 19- Αντιφλεγμονώδεις μηχανισμοί των Φαλβονοειδών.....	36

Σχήμα 20- Χημική δομή της κουρκουμίνης, της 6- ζιγγίβερης και της καψαϊκίνης	37
Σχήμα 21- Δομές Χαλκόνων με αντιφλεγμονώδη δράση	38
Σχήμα 22-Ενώσεις οδηγοί	39
Σχήμα 23-Σχηματική απεικόνιση του μηχανισμού σύνθεσης αμινών κατά Gabriel.....	44
Σχήμα 24- Μηχανισμός C-ακυλίωσης N-υποκατεστημένου ισατοϊκού ανυδρίτη	45
Σχήμα 25- Δεσμός υδρογόνου που σταθεροποιεί την ενολική μορφή.....	46
Σχήμα 26- Μηχανισμός αμινόλυσης εστέρα	47
Σχήμα 27-Παράπλευρες αντιδράσεις παρουσία νερού	47
Σχήμα 28-Μηχανισμός ακυλίωσης του βενζοϊκού οξέος με οξικό ανυδρίτη.....	48
Σχήμα 29-Μηχανισμός Χλωρίωσης Καρβοξυλικών οξέων	48
Σχήμα 30-Μηχανισμός Αμινόλυσης Ακέτυλο αλογονιδίου	50
Σχήμα 31- Χημική δομή της ελεύθερης ρίζας DPPH	53
Σχήμα 32-Χημική δομή AAPH.....	54
Σχήμα 33-Χημική δομή NDGA.....	79
Σχήμα 34- Χημική δομή Trolox.....	80
Σχήμα 35- Γενική μορφή του δεσμού υδρογόνου που εμφανίζεται στα νέα παράγωγα.	91
Σχήμα 36- Διάγραμμα ροής συσκευής Φασματομέτρου μάζας	95
Σχήμα 37- Φάσμα μάζας αιθυλοβενζολίου.....	100

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1- Ποικιλία ενώσεων υδροξυ-βενζοϊκού οξέος , ανάλογα με τη θέση των υποκαταστατών και τον αριθμό των υδροξυλίων, επί του αρωματικού δακτυλίου ^[3] ..	13
Πίνακας 2- Ποικιλία ενώσεων υδροξυ-κινναμικού οξέος , ανάλογα με τη θέση των υποκαταστατών και τον αριθμό των υδροξυλίων, επί του αρωματικού δακτυλίου. ^[3] ..	13
Πίνακας 3- Κουμαρικά παράγωγα με αντιφλεγμονώδη ιδιότητες	35

Κεφάλαιο1: Θεωρητικό μέρος

1)Φαινολικά Οξέα

Τα φαινολικά οξέα ανήκουν στην κατηγορία των αρωματικών οξέων, τα οποία είναι δευτερογενείς μεταβολίτες και απαντώνται συχνά στα φυτά.^[1] Έχουν συσχετιστεί με το χρώμα, τις διατροφικές και τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες κάποιων τροφίμων.^[8] Τα φαινολικά οξέα μπορούν να θεωρηθούν σαν μια υποκατηγορία μιας μεγαλύτερης κατηγορίας φαινολικών που βρίσκονται στα φυτά με την μορφή εστέρων ή γλυκοζιτών μαζί με άλλες φυσικές ενώσεις όπως τα φλαβονοειδή, οι στερόλες κ.α.^[2] Λόγω του όξινου χαρακτήρα των υδροξυλικών ομάδων που διαθέτουν και των πυρηνόφιλων ιδιοτήτων των φαινολικών δακτυλίων τους θεωρούνται δραστικές ουσίες.^[4]

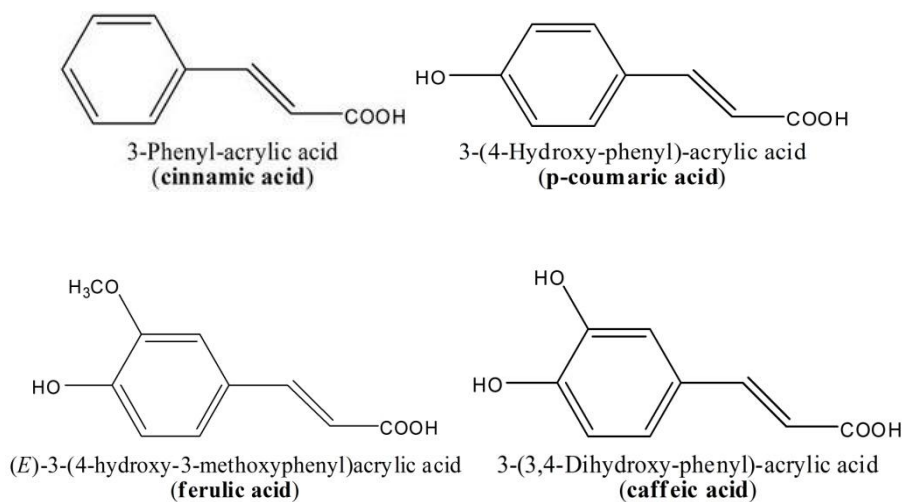
Τα παράγωγα κινναμικού οξέος αντιπροσωπεύονται κυρίως από το καφεϊκό, το φερουλικό, το σιναπικό και το p-κουμαρικό οξύ. Το καφεϊκό οξύ είναι το πιο κοινό από τα κινναμικά παράγωγα και αποτελεί το 70% των υδροξυ-κινναμικών παραγώγων που συναντώνται στα φρούτα. Το φερουλικό οξύ είναι άφθονο στους σπόρους δημητριακών, οι οποίοι αποτελούν βασικό συστατικό της καθημερινής διατροφής. Τα οξέα αυτά σπάνια απαντώνται σε ελεύθερη μορφή και είναι κυρίως εστεροποιημένα με κινολινικά και ταρταρικά οξέα. Τα κινναμικά οξέα αποτελούν τα συνηθέστερα προσληφθέντα φαινολικά παράγωγα, συγκριτικά με τα παράγωγα βενζοϊκών οξέων ή φλαβονοειδών.^[13]

1.1)Δομή

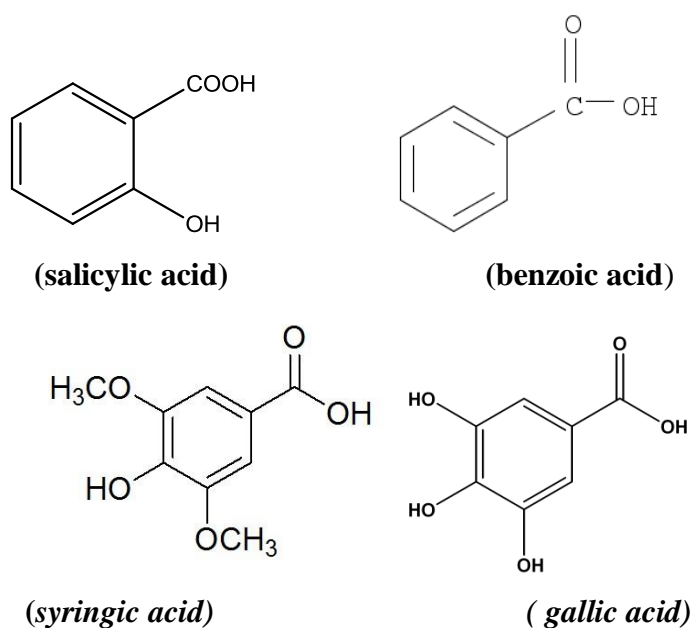
Σαν γενική δομή, περιέχουν ένα φαινολικό δακτύλιο και μια τουλάχιστον ομάδα καρβοξυλίου. Παρ' ότι ο γενικός σκελετός παραμένει ο ίδιος, τα φαινολικά οξέα διαφοροποιούνται ανάλογα με τον αριθμό και την θέση της υδροξυλικής ομάδας πάνω στον δακτύλιο και παράγονται έτσι πολλές ενώσεις.^[1]

Ανάλογα με την ανθρακική αλυσίδα, η οποία είναι συνδεδεμένη στον φαινολικό δακτύλιο, τα φαινολικά οξέα μπορούν να χωριστούν σε ενώσεις C₆-C₃, C₆-C₂ και C₆-C₁. Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν τα υδροξυ-κινναμικά οξέα και στην τελευταία τα υδροξυ-βενζοϊκά. Με αυτό τον διαχωρισμό είναι εύκολο να δημιουργηθούν δύο κατηγορίες φαινολικών οξέων: αυτή των παραγώγων του βενζοϊκού οξέος και αυτή

των παραγώγων του κινναμικού. Χαρακτηριστικές ενώσεις κάθε κατηγορίας παρουσιάζονται στα Σχήματα 1 και 2 και η γενική μορφή τους και πιθανές ενώσεις στους Πίνακες 1 και 2:

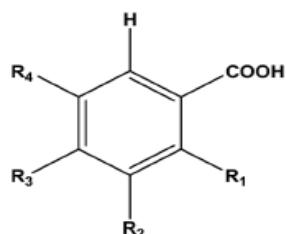


Σχήμα 1- Παράγωγα κινναμικού οξέος



Σχήμα 2- Παράγωγα βενζοϊκού οξέος

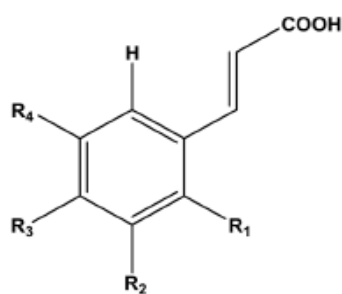
Πίνακας 1- Ποικιλία ενώσεων υδροξυ-βενζοϊκού οξέος, ανάλογα με τη θέση των υποκαταστατών και τον αριθμό των υδροξυλίων, επί του αρωματικού δακτυλίου^[3].



Hydroxybenzoic Acids

Name	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Benzoic acid	H	H	H	H
<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	H	H	OH	H
Vanillic acid	H	OCH ₃	OH	H
Gallic acid	H	OH	OH	OH
Protocatechuic acid	H	OH	OH	H
Syringic acid	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
Gentisic acid	OH	H	H	OH
Veratric acid	H	OCH ₃	OCH ₃	H
Salicylic acid	OH	H	H	H

Πίνακας 2- Ποικιλία ενώσεων υδροξυ-κινναμικού οξέος, ανάλογα με τη θέση των υποκαταστατών και τον αριθμό των υδροξυλίων, επί του αρωματικού δακτυλίου.^[3]



Hydroxycinnamic Acids

Name	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Cinnamic acid	H	H	H	H
<i>o</i> -Coumaric acid	OH	H	H	H
<i>m</i> -Coumaric acid	H	OH	H	H
<i>p</i> -Coumaric acid	H	H	OH	H
Ferulic acid	H	OCH ₃	OH	H
Sinapic acid	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
Caffeic acid	H	OH	OH	H

Η διαφορά στην θέση και τον αριθμό των υδροξυ- ή μεθοξυ- υποκαταστατών στους δακτυλίους διαφοροποιεί τις ιδιότητες της τελικής ένωσης. Παρακάτω παρατίθενται ορισμένες από αυτές τις διαφοροποιήσεις:

1. Τα παράγωγα του κινναμικού οξέος είναι πιο αποτελεσματικά στην αντιοξειδωτική τους δράση από αυτά του βενζοϊκού.
2. Η ύπαρξη δεύτερης υδροξυ- ομάδας σε όρθο- ή πάρα- θέση ως προς το φαινολικό υδροξύλιο αυξάνει την αντιοξειδωτική δράση της ένωσης.
3. Η ύπαρξη μιας μεθοξυ- ομάδας σε περιοχή μιας p-υδροξυ- ομάδας αυξάνει την αποτελεσματικότητα της ένωσης. Αν υπάρχουν δύο μεθοξυ- ομάδες η επίδραση είναι μεγαλύτερη.
4. Περισσότεροι από τρεις υδροξυ- υποκαταστάτες δεν ενισχύουν τη δραστηριότητα των ενώσεων.
5. Η στερεοχημική παρεμπόδιση των φαινολικών υδροξυλίων από τις γειτονικές αδρανείς ομάδες (π.χ. μεθοξυ- ομάδες) ενισχύει την αντιοξειδωτική δράση.
6. Η μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα των υδροξυ-κινναμικών αποδίδεται αφενός στην παρουσία διπλού δεσμού στην πλευρική ανθρακική αλυσίδα ($\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$) που επιτρέπει τη σταθεροποίηση της φαινοξυ- ρίζας με περισσότερες δομές συντονισμού και αφετέρου στην ασθενέστερη ηλεκτραρνητική ισχύ της $-\text{COOH}$ ομάδας λόγω μεγαλύτερης απόστασής της από τον αρωματικό δακτύλιο. ^{[5]-[7]}

1.2) Τα φαινολικά οξέα στην φύση

Το οξειδωτικό stress είναι ένα φαινόμενο το οποίο συναντάται σε αρκετές ασθένειες, όπως ο καρκίνος, νευροεκφυλιστικές ασθένειες, ο διαβήτης, η γήρανση κ.α. Για αυτό τον λόγο ο ανθρώπινος οργανισμός χρειάζεται κάποια φυσικά αντιοξειδωτικά, ώστε να ασκήσουν έναν προστατευτικό ρόλο ενάντια στις οξειδωτικές διεργασίες. Τα φαινολικά οξέα είναι φυσικά αντιοξειδωτικά τα οποία μπορούν να προσληφθούν από μια μεγάλη ποικιλία τροφών και ποτών. Η ημερήσια πρόσληψη φαινολικών οξέων είναι περίπου 200mg/d, ποσότητα η οποία ποικίλει ανάλογα με τις διατροφικές συνήθειες και προτιμήσεις. Το καφεϊκό και το φερουλικό οξύ, είναι τα πιο συχνά απαντώμενα φαινολικά οξέα στην διατροφική αλυσίδα. ^[9]

Χαρακτηριστικές πηγές φαινολικών οξέων είναι αρκετά φρούτα και λαχανικά και αφεψήματα. Τα φαινολικά οξέα επίσης βρίσκονται σε φρούτα, όπως τα cranberries το

μήλο, το πορτοκάλι, το γκρέιπφρουτ, το γκουαρανά, το σταφύλι, τα μούρα κ.α. Επίσης, φαινολικά οξέα όπως το γαλλικό μπορούν να βρεθούν σε φρούτα όπως τα raspberries (*Rubus idaeus*), οι φράουλες (*Fragaria ananassa*) και τα μούρα (*Rubus fruticosus*).^[10]

Πλούσια φυσική πηγή είναι και τα λαχανικά, όπως η τομάτα και η μελιτζάνα, το καλαμπόκι, ο αρακάς, το ρύζι και το σιτάρι, και από βολβώδη λαχανικά η πατάτα – ιδιαίτερα ο φλοιός της – καθώς και το κρεμμύδι. Επίσης σημαντική βρώσιμη φυσική πηγή είναι και τα φύλλα των λαχανικών, όπως το κουνουπίδι και το λάχανο.

Όσο αφορά τα ποτά ο καφές, το τσάι, η μύρα, το κρασί και πολλοί χυμοί φρούτων είναι πηγές φαινολικών οξέων. Στα φύλλα του μαύρου τσαγιού τα φαινολικά οξέα μπορούν να βρεθούν σε ποσότητες έως και 3.5g/kg. Επιπλέον, στα γαλλικά κρασιά και ποτά μπορεί να φτάσουν τα 31±38mg/l. Για τα λευκά κρασιά ισχύει ότι περιέχουν λιγότερα φαινολικά οξέα από αυτά που υπάρχουν στα κόκκινα. Ακόμη, φαινολικά οξέα βρίσκονται στα λικέρ φρούτων.^[10]

Μια ακόμα πηγή φαινολικών οξέων για τον άνθρωπο είναι τα γαλακτοκομικά προϊόντα. Τόσο τα φρέσκα όσο και τα επεξεργασμένα περιέχουν φαινολικά οξέα, όπως το βενζοϊκό και μάλιστα σε υψηλές περιεκτικότητες (μπορεί να φτάσουν και περιεκτικότητες της τάξης των 50mg/kg προϊόντος.)^[11] Επίσης οι αποξηραμένοι καρποί, όπως τα αμύγδαλα, τα καρύδια, τα φιστίκια, καθώς και τα όσπρια και τα δημητριακά. Επιπρόσθετα, σημαντικές ποσότητες φαινολικών οξέων περιέχονται στο ελαιόλαδο, τη μύρα καθώς και το αλεύρι.^[12]

1.3) Βιολογική Δράση

Τα φαινολικά οξέα είναι ουσίες οι οποίες εύκολα βρίσκονται στην ανθρώπινη διατροφή και έχουν αρκετά οφέλη στον ανθρώπινο οργανισμό. Κατά κύριο λόγο δρουν σαν αντιοξειδωτικά, δηλαδή προστατεύουν τον ανθρώπινο οργανισμό από τις βλαβερές συνέπειες της οξείδωσης των θρεπτικών συστατικών που καταναλώνονται ή βρίσκονται στον ανθρώπινο οργανισμό. Παρ' όλα αυτά έχουν και άλλες πιθανές βιολογικές δράσεις, μερικές εκ των οποίων είναι:

- Αντιβακτηριακή δράση
- Αναστολή της δράσης του ενζύμου του ιού Human Immuno-Deficiency(HIV)
- Αντικαρκινική δράση

Αντιβακτηριακή Δράση

Η αντιβακτηριακή δράση των φαινολικών οξέων είναι αλληλένδετη με την χημική του δομή. Πιο συγκεκριμένα, ο αριθμός και η θέση των υποκαταστατών στον βενζοϊκό δακτύλιο καθώς και το μήκος και η δομή της συνδεδεμένης αλυσίδας επηρεάζουν στην αντιβακτηριακή δράση του οξέος. Η αντιβακτηριακή τους ικανότητα αυξάνεται με την αύξηση της συνδεδεμένης ανθρακικής αλυσίδας. Τα φαινολικά οξέα έχουν χαμηλότερη δράση σε σχέση με αυτή των εστέρων τους. Επίσης η αντιβακτηριακή δράση των υδροξυ-βενζοϊκών οξέων μειώνεται με την αύξηση του αριθμού των ομάδων υδροξυλίου, κάτι το οποίο συσχετίζεται κυρίως με τη λιποφιλικότητά τους. Η αντιβακτηριακή δράση των υδροξυ-κινναμικών οξέων, και ιδιαίτερα η δραστηριότητα τους ενάντια στους γαλακτοβάκιλλους, εξαρτάται σε πολύ μικρότερο βαθμό από τις αντικαταστάσεις του αρωματικού δακτυλίου με υδροξύλιο ή μεθόξυ- ομάδες, ενώ εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ύπαρξη και την θέση του διπλού δεσμού της πλευρικής αλυσίδας.^[14]

Αναστολή της δράσης του ενζύμου του ιού HIV

Στο Καμερούν χρησιμοποιούνται ευρέως τα φυτά για την ίαση διάφορων ασθενειών. Το φυτό *Bersama enleriana*, πλούσιο σε φαινολικά οξέα, είναι ένα από αυτά τα φυτά και χρησιμοποιείται αρκετά για την αντιμετώπιση της μόλυνσης από τον ιό HIV. Τα πειράματα που διεξήχθησαν από την ερευνητική ομάδα του *Armelle T. Mbaveng* έδειξαν ότι η χρήση αυτού του φυτού αναστέλλει το ένζυμο το HIV έως και 80%.^[15]

Αντικαρκινική Δράση

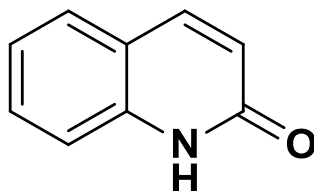
Οι εστέρες του κινναμικού οξέος (cinnamic acid esters) παρουσιάζουν μια επιλεκτική ιδιότητα που εμποδίζει τον πολλαπλασιασμό συγκεκριμένων τύπων καρκινικών κυττάρων. Ένας συγκεκριμένος εστέρας (cinnamic acid phenethyl ester, CAPE), ο οποίος είναι φυσικό συστατικό των κυψελών των μελισσών, έχει παρατηρηθεί ότι κατέχει αντικαρκινικές και ανοσορυθμιστικές ιδιότητες. Η «τοξικότητα» των φαινολικών οξέων προς αυτά τα κύτταρα σχετίζεται με την λιποφιλική τους φύση. Ακόμη, τα παράγωγα του γαλλικού οξέος προσβάλλουν τα καρκινικά κύτταρα και τα καταστρέφουν, καθώς επίσης αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των λεμφοκυττάρων [16],[17]

Αντιοξειδωτική δράση

Η αντιοξειδωτική ικανότητα των φαινολικών οξέων σχετίζεται με τον αριθμό των υδροξυλικών ομάδων που υπάρχουν στο μόριο της ένωσης. Τα παράγωγα των φαινολικών οξέων που χρησιμοποιούνται ευρέως στην φαρμακοβιομηχανία και την βιομηχανία τροφίμων ως αντιοξειδωτικά είναι το γαλλικό και οι εστέρες του. ^[14]

2)Κινολινόνες

Οι κινολινόνες είναι αζωτούχες ετεροκυκλικές αρωματικές ενώσεις που αποτελούνται από δύο συμπυκνωμένους δακτυλίους. Η γενική τους μορφή παρουσιάζεται στο παρακάτω σχήμα:

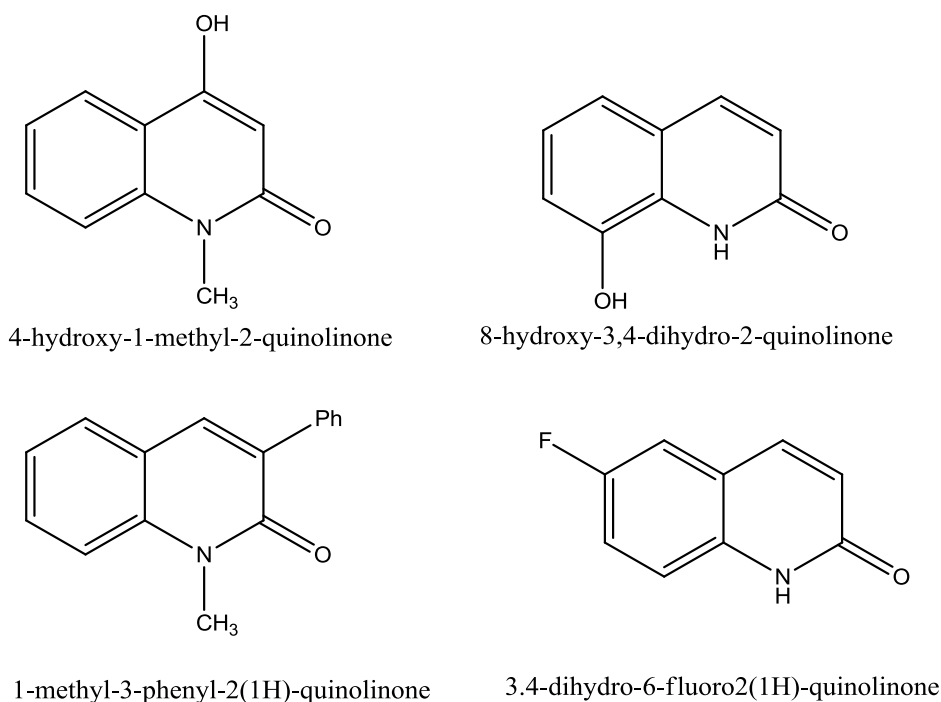


Σχήμα 3- Γενική μορφή Κινολινονών

Τα υδρογόνα της ένωσης μπορούν να αντικατασταθούν με πληθώρα υποκαταστατών, ανάλογα με τους οποίους μπορούν να προκύψουν και πολλά διαφορετικά παράγωγα. Οι κινολινόνες και τα παράγωγά τους απαντώνται σε πολλά φυσικά προϊόντα, τα οποία έχουν φυσικές και βιολογικές δράσεις. ^[18] Γενικά θεωρούνται ασθενείς βάσεις, οι οποίες μπορούν να σχηματίσουν άλατα με οξέα και να συμμετέχουν σε αντιδράσεις παρόμοιες με αυτές της πυριδίνης και του βενζολίου. Επιπλέον μπορούν να δράσουν τόσο σαν πυρινόφιλες όσο και σαν ηλεκτρονιόφιλες ενώσεις. Γενικά οι κινολινόνες είναι φυσικές, μη τοξικές για τον άνθρωπο ενώσεις, οι οποίες παρουσιάζουν αντιβακτηριακή, αντιμυκητιακή, αντιφλεγμονώδη, αναλγητική και αντισπασμωδική δράση, καθώς και ιδιότητες που τονώνουν την καρδιά. ^[19] Από μορφολογική άποψη οι κινολινόνες είναι άσπρα κρυσταλλικά στερεά.

2.1) Δομή

Ο γενικός σκελετός των κινολινονικών παραγώγων αποτελείται από δύο αρωματικούς δακτυλίους, βενζολίου και πυριδίνης, οι οποίοι έχουν συμπυκνωθεί σχηματίζοντας μια ετεροκυκλική ένωση. Στον βασικό αυτό σκελετό μπορούν να γίνουν πολλές προσθήκες παράπλευρων ομάδων οι οποίες οδηγούν σε πληθώρα ενώσεων, μερικές εκ των οποίων παρουσιάζονται στην παρακάτω εικόνα:



Σχήμα 4– Δομές κινολινονών

2.2) Κινολινόνες στη φύση

Τα κινολινονικά παράγωγα εμφανίζονται σε ποικιλία φυτών. Οι κινίνες είναι μια από τις πιο γνωστές κατηγορίες κινολινονών, οι οποίες βρίσκονται σε αξιόλογες ποσότητες στο φλοιό των φυτών του είδους *Cinchona*, όπως για παράδειγμα στα είδη *C. officinalis* και *C. rubescens*, από τα οποία απομονώνονται για φαρμακευτική χρήση και χρήση στα τρόφιμα.^[20]

Ακόμα μια ποικιλία φυτών στην οποία βρίσκονται οι κινολινόνες είναι η *Waltheria Douradinah* St Hil. (*Sterculiaceae*) η οποία ευδοκμεί στην Βραζιλία, την νότια Αμερική, την Ουρουγουάη και την Αργεντινή.^[21] Κινολινόνες εμφανίζονται επίσης και στα φυτά της οικογένειας των Ρυτοειδών (*Rutaceae*), τα οποία παρουσιάζονται στις παρακάτω εικόνες 1 και 2:

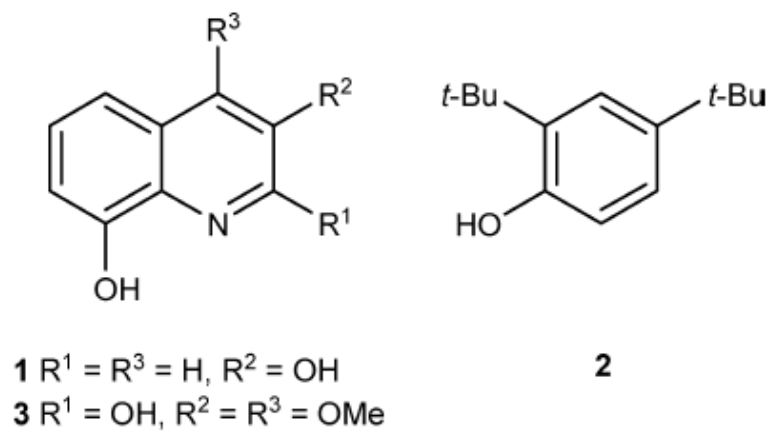


Εικόνα 1- Φυτό της οικογένειας Rutaceae



Εικόνα 2- Φυτό του είδους citrus bergamia της οικογένειας Ructaceae

Επίσης εκτός από τα φυτά έχουν παρατηρηθεί παράγωγα κινολιμόνης στην σαρανταποδαρούσα *Scolopendra subspinipes mutilans* (Scolopendridae). Η σαρανταποδαρούσα αυτή συναντάται κατά κύριο λόγο στην Κίνα, όπου και χρησιμοποιείται σαν φάρμακο εναντίον πολλών ασθενειών όπως σπασμοί, επιληπτικές κρίσεις, δηλητηριώδη οξίδια διφθερίτιδα και τέτανο. Οι κινολιμόνες που εμφανίζονται στην σαρανταποδαρούσα έχουν τον ακόλουθο γενικό μοριακό τύπο και εμφανίζουν εκτός των άλλων και αντιοξειδωτικές ιδιότητες.^[23]



Σχήμα 5- Δομή των κινολινονών από τη σαρανταποδαρούσα Scolopendra subspinipes



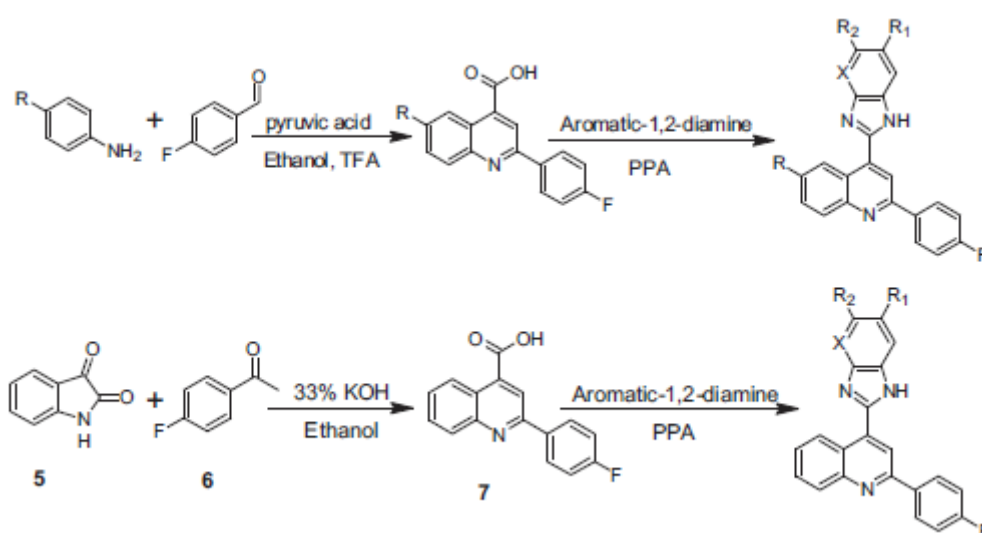
Εικόνα 3- Σαρανταποδαρούσα του είδους Scolopendridae

2.3) Βιολογική Δράση

Οι ετεροκυκλικές ενώσεις παίζουν έναν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη νέων αντιμικροβιακών, αντικαρκινικών, αντισπασμωδικών φαρμάκων, καθώς και φαρμάκων κατά της ελονοσίας. Σύμφωνα με πρόσφατες έρευνες φαίνεται πως οι κινολιόνες και οι υποκατεστημένες βενζιμιδαζόλες παρουσιάζουν ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών στον τομέα των φαρμακευτικών προϊόντων, δρώντας ως φάρμακα κατά της ελονοσίας, της φυματίωσης, ως αντικαρκινικά, αναλγητικά, αντιφλεγμονώδη, αντιμικροβιακά και αντι-ικά.^[24]

2.3.1 Αντιμικροβιακή δράση

Η αντιμικροβιακή δράση των κινολινονών οφείλεται κατά κύριο λόγο στην μορφολογία του ετεροκυκλικού τους δακτυλίου. Οι κινολιόνες, με γενική μορφή που παρουσιάζεται στο Σχήμα 6, εξετάστηκαν από τους B. Garudachari, et. al. για την αντιμικροβιακή τους δράση κατά των βακτηριακών στελεχών *S. aureus*, *E. coli*, *Xanthomonas sp.* και *Salmonella sp.*, *in vitro*. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι εξεταζόμενες ενώσεις παρουσίασαν καλή αναστολή της δράσης των συγκεκριμένων μικροβίων, με τις 4-(1H-Benzimidazol-2-yl)-6-chloro-2-(4-fluorophenyl) quinoline και 4-(5,6-Dichloro-1H-benzimidazol-2-yl)-2-(4-fluorophenyl) quinoline να δρουν εξαιρετικά καλά κατά των *E. coli* και *S. Aureus*.^[24]



Σχήμα 6- Γενική δομή κινολινονών με αντιμικροβιακή δράση όπου για την πρώτη αντίδραση $R = H, Cl, F, R_1 = Cl, F, R_2 = H, Cl, X = CH, N$ και για την δεύτερη αντίδραση $R_1 = H, Cl, F, R_2 = H, Cl, X = CH, N$

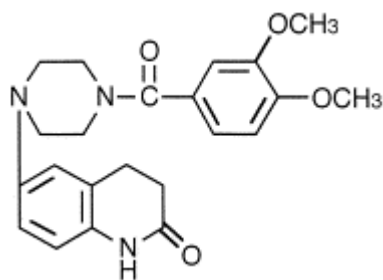
2.3.2 Αντιμυκητιακή Δράση

Έρευνες που έχουν γίνει *in vitro* έχουν δείξει ότι οι κινολιόνες παρουσιάζουν αξιόλογη δράση κατά των μυκήτων. Πιο συγκεκριμένα, μια υποκατηγορία των κινολονονών, η υδροξυ-κινολιόνη και τα παράγωγά της, εισήχθησαν ως αντιμυκητιακά σε κλινικές μελέτες δίνοντας ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Νέες ενώσεις αυτού του τύπου, όπως οι 4-υδροξυ-1H-κινολιν-2-όνες, ελέγχονται συνεχώς και έχουν ήδη βρεθεί θετικές ως προς την αντιμυκητιακή τους δράση.^[25]

Συγκεκριμένα σύμφωνα με την ερευνητική ομάδα του B. Garudachari, η κινολιόνη 4-(5-Chloro-1H-benzimidazol-2-yl)-2-(4-fluorophenyl)quinoline δρα πολύ καλά ενάντια στους μύκητες *A. niger* και *A. Flavus*, ενώ οι κινολιόνες 4-(1H-Benzimidazol-2-yl)-6-chloro-2-(4-fluorophenyl)quinoline, 4-(1H-Benzimidazol-2-yl)-2-(4-fluorophenyl)quinoline και 2-(4-Fluorophenyl)-4-(6-methoxy-1H-benzimidazol-2-yl)quinoline εμφανίζουν αξιόλογη δράση ενάντια στα μυκητιακά στελέχη *A. terreus* και *Penicillium sp.* Η ενισχυμένη δραστηριότητα της 4-(5-Chloro-1H-benzimidazol-2-yl)-2-(4-fluorophenyl)quinoline μπορεί να οφείλεται στην παρουσία ενός ατόμου χλωρίου επί του δακτυλίου της βενζιμιδαζόλης και της ομάδας 4-φθοροφαινυλίου στη δεύτερη θέση του δακτυλίου κινολιόνης.^[24]

2.3.3 Αντικαρκινική δράση

Η αντικαρκινική δράση των κινολιόνων έχει υπάρξει αντικείμενο πολλών ερευνητικών μελετών. Σε μία από αυτές μελετάται η βεσναρινόνη (3,4-dihydro-6-[4-(3,4-dimethoxybenzoyl)-1-piperazinyl]-2(1H)-quinolinone), η οποία αποτελεί κινολιόνικό παράγωγο και χρησιμοποιείται για την αύξηση της συσταλτικότητας του μυοκαρδίου. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκαν διάφορα *in-vitro* πειράματα σε κύτταρα του ήπατος ποντικών, τα οποία 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, είτε μόνη της είτε σε συνδυασμό με άλλα φάρμακα.^[26]



Σχήμα 7- Βεσναρινόνη

Σε μια πιο πρόσφατη μελέτη έγινε προσπάθεια ανάπτυξης κινολινονικών φαρμάκων για την αντιμετώπιση της λευχαιμίας. Στην μελέτη αυτή εξετάστηκαν δύο κινολινονικά παράγωγα ως αναστολείς της τυροσινικής κινάσης-3 (FTL3) η οποία, ως υποδοχέας τυροσινικών κινασών, εμπλέκεται στον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων. Ακόμη, έχει βρεθεί πως εκφράζεται σε πολλές περιπτώσεις οξείας μυελογενούς λευχαιμίας και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η κινολινονική δομή μπορεί να αποτελέσει βάση ισχυρών αντικαρκινικών παραγώγων.^[27]

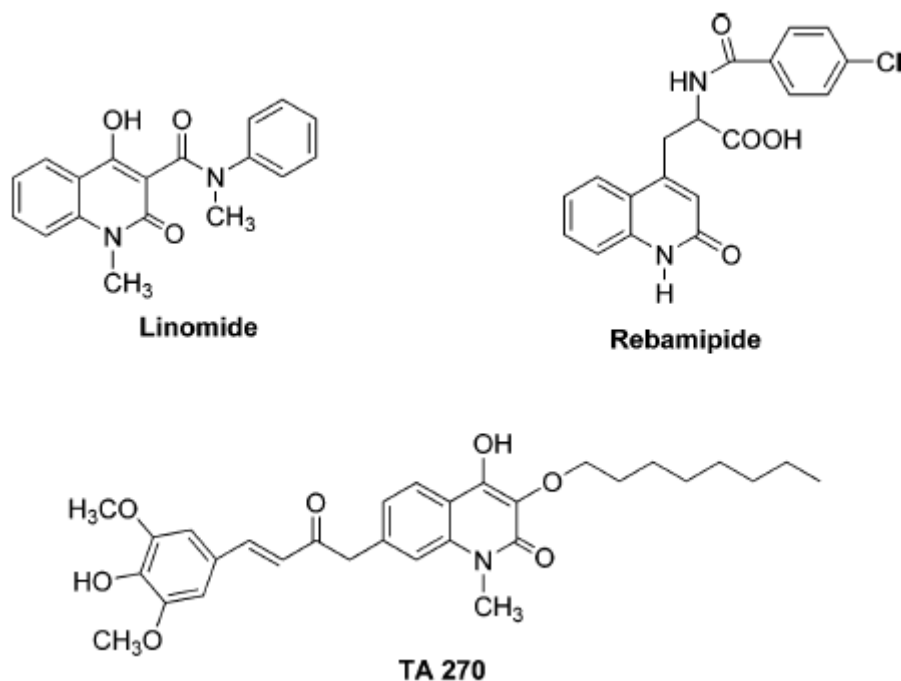
Επίσης, μελέτες έδειξαν πως μία ομάδα κινολινονών που απομονώθηκε από το *Streptomyces lanedualae* παρουσιάζει ιδιαίτερη αντικαρκινική δραστηριότητα. Παρόλο που η τοξικότητα κάποιων παραγώγων τους (lavendamycin παράγωγα) δεν καθιστά τις ενώσεις αυτές κατάλληλες για κλινική χρήση, η ικανότητά τους να σταματούν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων έχει κεντρίσει το ενδιαφέρον των ερευνητών για τη διεξαγωγή περαιτέρω μελετών.^[28]

2.3.4 Αντιφλεγμονώδης Δράση

Το οξειδωτικό stress συνδέεται άμεσα με την δημιουργία φλεγμονών. Κάποια είδη ενεργού οξυγόνου, όπως το υπεροξειδικό ανιόν, το υπεροξείδιο του υδρογόνου και η υδροξυλική ρίζα, κατά τη φλεγμονή παράγονται ως τοξίνες από φαγοκυτταρικά λευκά αιμοσφαίρια και εισβάλλουν στον ιστό. Οι κινολινονες είναι χαρακτηριστική ομάδα ενώσεων που έχουν συνδυασμένη αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση.

Μια σειρά N-υποκατεστημένων-κινολινονο-3-αμινοαμιδίων που αποτελούν παλαιότερη ερευνητική εργασία του εργαστηρίου οργανικής χημείας ΕΜΠ παρουσιάζει αξιόλογες αντιφλεγμονώδεις δράσεις. *In-vitro* πειράματα έδειξαν ότι η συνθετική κινολινονη TA 270 διαθέτει αντιοξειδωτική αλλά και αντιφλεγμονώδη

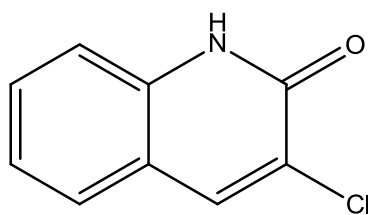
δράση, ενώ μπορεί ακόμη να χρησιμοποιηθεί σαν θεραπευτικός παράγοντας του βρογχικού άσθματος. Μέσα από *in vitro* πειράματα διαπιστώθηκε πως ο μηχανισμός δράσης αυτής της ένωσης έγκειται στην μείωση της παραγωγής της λευκοτριένης μέσω αναστολής της 5-λιποξυγονάσης σε αντιφλεγμονώδη κύτταρα.^{[29],[30]}



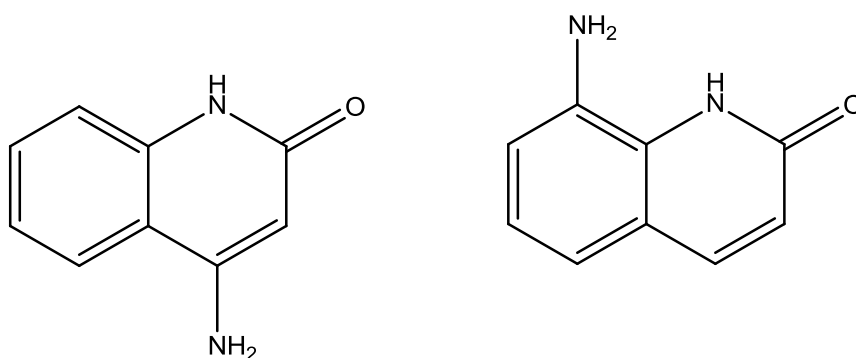
Σχήμα 8- N- substituted-quinolinone-3-aminiamides

2.3.5 Ανθελονοσιακή Δράση

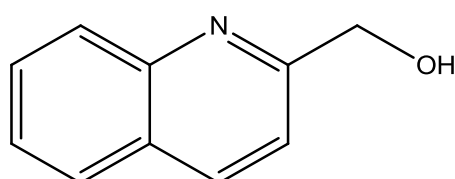
Η ελονοσία είναι μια θανατηφόρος ασθένεια η οποία μεταδίδεται στον άνθρωπο μέσω των κουνουπιών. Οι κινολινόνες μεταξύ των άλλων τους δράσεων χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση της ελονοσίας, και ειδικά μετά την ανακάλυψη της χλωροκινολίνης. Στις δραστικές κινολινόνες που παρέχουν ανθελονοσιακή δράση ανήκουν επίσης οι κινίνες, οι 4-αμινοκινολινόνες, οι 8-αμινοκινολινόνες και οι κινολινομεθανόλες. Παρά το γεγονός ότι η ανθελονοσιακή δράση των κινολινονικών φαρμάκων έχει υπάρξει αντικείμενο μελέτης δεν έχει κατανοηθεί πλήρως.^{[31],[32]}



Σχήμα 9- Δομή χλωροκινολινόνης



Σχήμα 10- Δομή 4-αμινοκινολινόνης και 8-αμινοκινολινόνης



Σχήμα 11- Δομή Κινολινομεθανόλης

Η δράση των 4-αμινοκινολινονών οφείλεται στην πρωτονίωση των αζώτων που υπάρχουν στα μόριά τους. Επιπλέον οι παράπλευρες αλυσίδες στον κινολινονικό δακτύλιο μπορεί να επηρεάσουν τη δράση τους καθώς επίσης και η ύπαρξη υδροξυλικής ομάδας στον άνθρακα C-9 του μορίου.

2.3.6 Αντιοξειδωτική Δράση

Ο σχηματισμός των δραστικών μορφών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) είναι χαρακτηριστικό των αερόβιων οργανισμών, οι οποίοι μπορούν να αμυνθούν φυσιολογικά με έκκριση των κατάλληλων ενζύμων. Σε πολλές παθολογικές περιπτώσεις η αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού δεν μπορεί να καταπολεμήσει την υπερβολική παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου. Αυτή η ανισορροπία καλείται οξειδωτικό στρες.^[29]

Οι κινολινόνες, όπως και άλλα φυσικά προϊόντα, είναι γνωστές για τις αντιοξειδωτικές του ικανότητες. Εξακριβωμένες αντιοξειδωτικές ικανότητες έχουν οι 4-(aminophenylamino)-2-methylquinolines, 3-substituted 4-hydroxy(chloro and mercapto)quinolines, και οι θειονιλοκινολινόνες. Μετά από αρκετές μελέτες εντοπισμού ενώσεων κατάλληλων να αντιμετωπίσουν παθολογικές ασθένειες που συνδέονται με τη λιπιδική υπεροξειδωση, βρέθηκε ότι τα κινολινονικά παράγωγα αποτελούν μια πιθανή κατηγορία ενώσεων, ικανών να αντιμετωπίσουν τέτοιου είδους παθολογίες.^{[33],[34]}

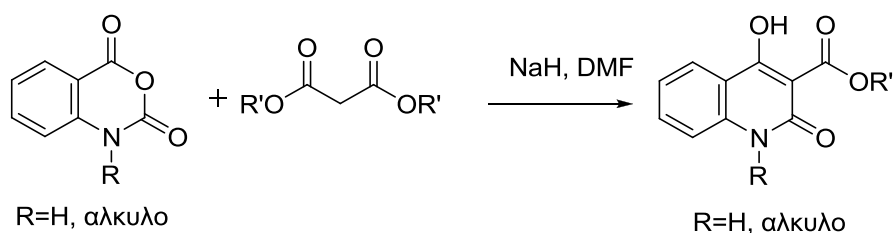
2.4) Μέθοδοι σύνθεσης Κινολινονών

Οι κινολινόνες εφόσον μπορούν να βρεθούν σε φυτά μπορούν να προσληφθούν από αυτά με ποικίλες μεθόδους. Η γενική μέθοδος εκχύλισης και απομόνωσης γίνεται με την χρήση οξέων και βάσεων. Σύμφωνα με αυτή την μέθοδο το φυτό αρχικά ξεραίνεται και κονιοποιείται. Στην συνέχεια εκχυλίζεται με οργανικούς διαλύτες ή με οξιτισμένο νερό, αφού πρώτα το δείγμα έχει αλκικιστεί (alkalized). Για να γίνει η εκχύλιση το δείγμα τυλίγεται με διηθητικό χαρτί και εμβαπτίζεται σε αραιό βασικό διάλυμα, όπως αυτό του υδροξειδίου του αμμωνίου. Η εκχύλιση πραγματοποιείται με οργανικό διαλύτη, ο οποίος εξατμίζεται στο ήμισυ της αρχικής του ποσότητας. Οι διαλύτες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν είναι αιθυλαιθέρας, χλωροφόρμιο ή διχλωρομεθάνιο. Η υπολειπόμενη ποσότητα διαχωρίζεται με υδατικό διάλυμα φωσφορικού οξέος (pH 1 έως 2) ή με υδροχλωρικό οξύ. Με την χρήση του βασικού διαλύματος οι επιθυμητές ουσίες απελευθερώνονται από οργανικά οξέα, διευκολύνοντας έτσι την εξαγωγή τους από οργανικούς διαλύτες.

Λιγότερο εφαρμοζόμενες τεχνικές απομόνωσης των ουσιών αυτών είναι:

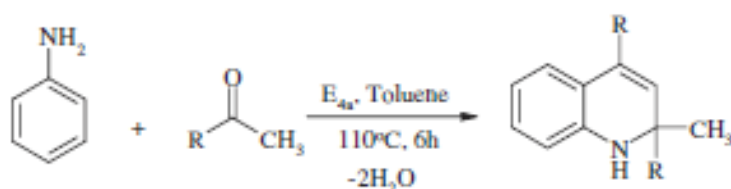
- ▲ Η χρήση πολικών διαλυτών, όπως η αιθανόλη
- ▲ Η χρωματογραφική στήλη (column chromatography CC) με χρήση σίλικας και κατάλληλου συστήματος διαλυτών.
- ▲ Η ιοντική χρωματογραφία^[35]

Οι κινολινόνες επίσης μπορούν να συντεθούν και στο εργαστήριο μέσω πληθώρας χημικών αντιδράσεων. Η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη είναι η σύνθεση αναλόγων της 4-υδροξυ-κινολινονης μέσω C-ακυλίωσης ενός μηλονικού διεστέρα από τον ισατοϊκό ανυδρίτη ή τον N-αλκυλο-ισατοϊκό ανυδρίτη. Συνήθως ως βάση χρησιμοποιείται το υβρίδιο του νατρίου (NaH) σε διαλύτη DMF ή N,N-διμεθυλοακεταμίδιο (DMAc), σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 120° C.^[36]

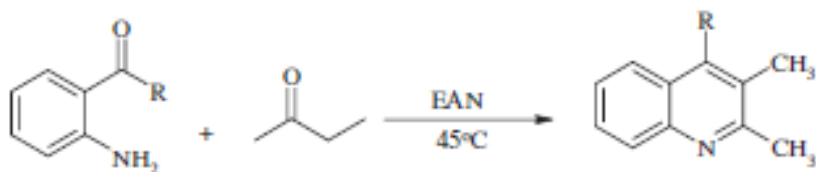


Σχήμα 12- Γενική μέθοδος σύνθεσης 3-υποκατεστημένων-4-υδροξυ-2-κινολινονών από τον ισατοϊκό ανυδρίτη

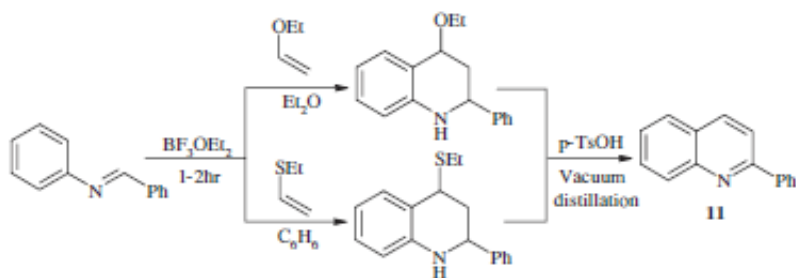
Η 2,4-Diphenyl-2-methyl-1,2 dihydroquinoline συντίθεται χρησιμοποιώντας ανιλίνη και ακετοφαινόνη, παρουσία μικρής ποσότητας καταλύτη ζεολίθου, σύμφωνα με την αντίδραση^{[19],[37]}:



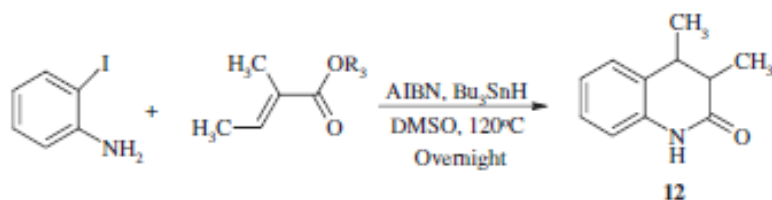
Επίσης οι 2,3,4-trisubstituted quinolines παρασκευάζονται ύστερα από ανάδευση 2-αμινο υποκατεστημένων αρωματικών κετονών και καρβονυλικών ενώσεων, οι οποίες διαθέτουν μια αντιδραστική α-μεθυλ- ομάδα, σε νιτρικό αμμώνιο αιθυλεστέρα^{[19],[38]}:



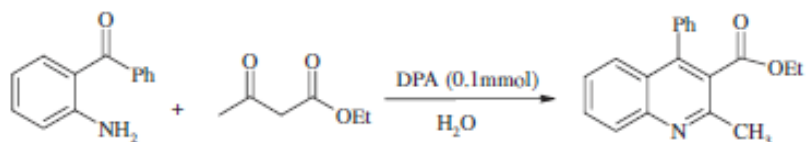
Στα παρακάτω σχήματα παρουσιάζονται μερικά ακόμα παραδείγματα μεθόδων σύνθεσης κινολινονών:



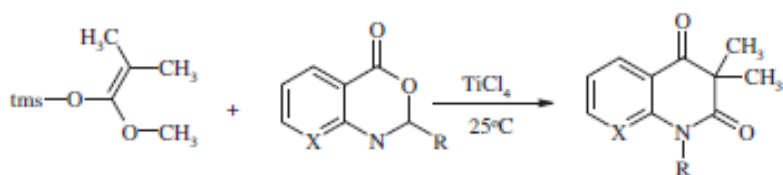
Σχήμα 13- Σύνθεση φαινυλ-υποκατεστημένων κινολινονών με υποβολή ενός μίγματος αιθυλο-βινυλο αιθέρα ή οξικού βινυλο- σουλφιδίου και *N*-aryaldimine σε όξινο καταλύτη, παρουσία αιθερικού τριφθοριούχου βορίου ($BF_3 \cdot OEt_2$).^{[19],[39]}



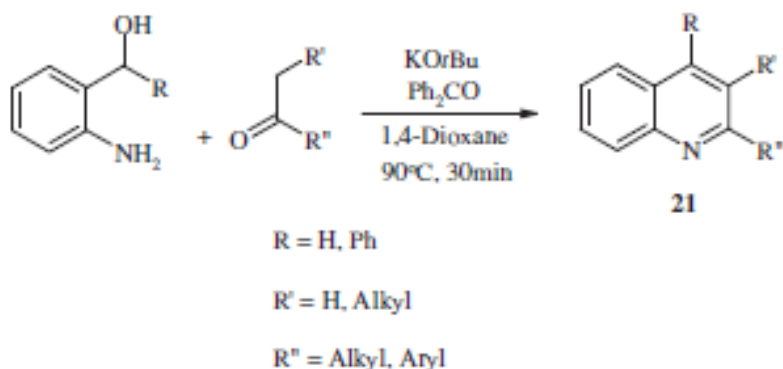
Σχήμα 14- Σύνθεση της 3,4-Dihydroquinolin-2-one ύστερα από επεξεργασία 2-ιοδωανιλινών και ακρυλικού αιθυλεστέρα με αζωδισσοβουτυρονιτρίλιο (AIBN), παρουσία υδριδίου του τριβουτυλκασσιτέρου (*n*-Bu₃SnH).^{[19],[40]}



Σχήμα 15- Σύνθεση πολυ-υποκατεστημένων κινολινονών χρησιμοποιώντας 2-αμινοϋποκατεστημένες κετόνες και κετόνη παρουσία του DPA ως καταλύτη^{[19],[41]}



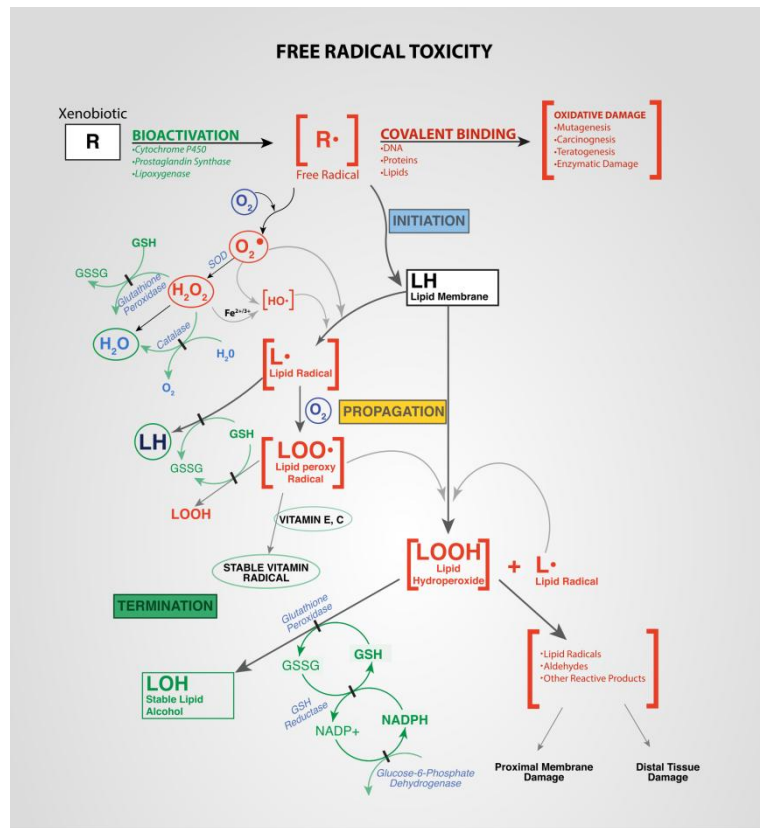
Σχήμα 16-Σύνθεση κινολινονικών παραγώγων με συμπύκνωση αλδόλης κατά *Μικαϊγυατα*, παρουσία υψηλής δραστηριότητας κακτονών ή ανιδριτών.^{[19],[42]}



Σχήμα 17-Σύνθεση πολυ-υποκατεστημένων κινολινονικών παραγώγων από 2-αμινοβενζοϊκά παράγωγα αλκοολών με κετόνες ή αλκοόλες, παρουσία βάσης και βενζοφαινόλης^{[19],[43]}

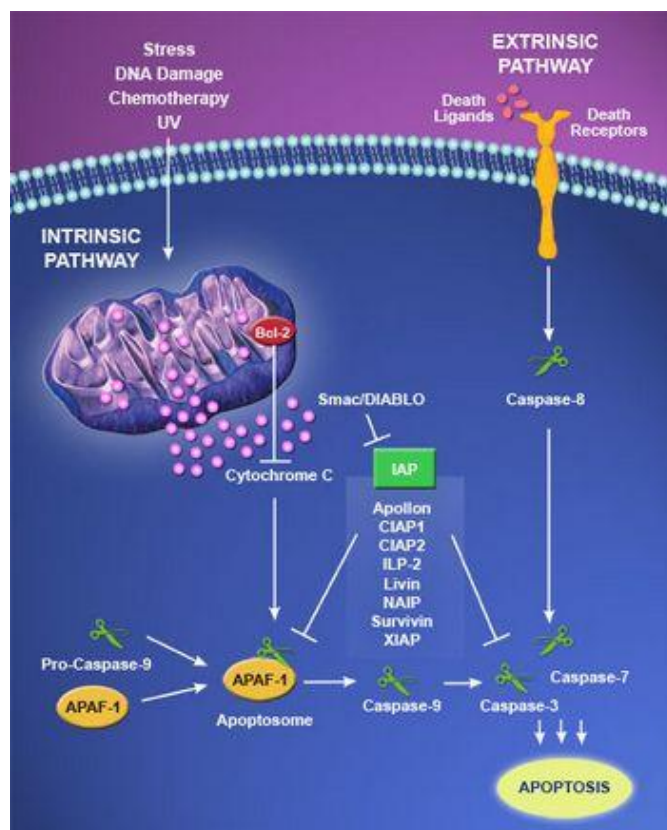
3) Αντιοξειδωτικά

Το οξυγόνο είναι ένα απαραίτητο στοιχείο για την επιβίωση των αερόβιων οργανισμών, όμως μπορεί να γίνει τοξικό σε μεγάλες συγκεντρώσεις. Το οξυγόνο εκτός από την ατμόσφαιρα μπορεί να βρεθεί και στο έδαφος, όπου όμως είναι αδρανές. Η μερική αποδόμηση του τελευταίου, δημιουργεί δραστικά είδη οξυγόνου, όπως το μονήρες οξυγόνο, το υπεροξείδιο του οξυγόνου, τα οξειδωτικά ανιόντα κ.α. Αυτό οφείλεται εν μέρει στο οξειδωτικό stress, που είναι μια δυσμενής επίπτωση των οξειδωτικών στην φυσιολογική τους δράση. Οι ελεύθερες ρίζες του οξυγόνου παίζουν σημαντικό ρόλο σε πολλές ασθένειες, όπως η αρθρίτιδα, ο καρκίνος, ο διαβήτης, ασθένειες του μυοκαρδίου και η αρτηριοσκλήρυνση.^{[44],[19]} Οι ελεύθερες ρίζες είναι άτομα ή μόρια που φέρουν ένα μονήρες ηλεκτρόνιο. Όταν μια ελεύθερη ρίζα προσβάλλει ένα μόριο, τότε αυτό θα γίνει μια ελεύθερη ρίζα το ίδιο, προκαλώντας μια αλυσιδωτή αντίδραση η οποία μπορεί να οδηγήσει στην καταστροφή του κυττάρου.^{[47],[48]}



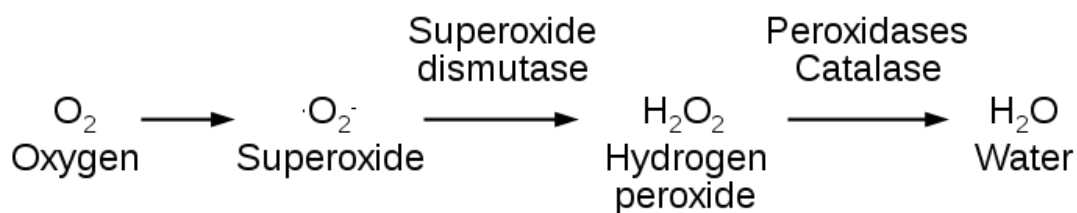
Εικόνα 4- Τοξικότητα των ελευθέρων ριζών

Μέσα στον οργανισμό δημιουργούνται ρίζες κατά τον κυτταρικό μεταβολισμό. Το υπεροξειδικό ανιόν ($O_2^{\cdot-}$) και το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2) σχηματίζονται εντός των μιτοχονδρίων κατά την κυτταρική αναπνοή. Τα είδη αυτά του οξυγόνου μπορεί να προκαλέσουν οξείδωση σε λιπίδια, πρωτεΐνες αλλά και στο DNA, κάτι το οποίο επηρεάζει τη γήρανση. Το ενδοκυτταρικό οξυγόνο δίνεται να προκαλέσει μια σειρά αντιδράσεων που οδηγούν στην καταστροφή κυττάρων και βιομάζας. Συνεπώς οι ελεύθερες ρίζες του οξυγόνου μπορούν να προκαλέσουν πολλά προβλήματα σε κάποιον οργανισμό, γι αυτό και για την αντιμετώπισή τους έχουν αναπτυχθεί μηχανισμοί για την απενεργοποίηση των ριζών αυτών, που ονομάζονται αντιοξειδωτικά.^{[44],[45],[46],[50]} Βλάβη στον οργανισμό, εκτός το οξυγόνου, μπορεί να προκαλέσει και το άζωτο, το οποίο κυρίως επηρεάζει το νευρικό σύστημα και τα κύτταρα του εγκεφάλου.^[46]



Εικόνα 5

Τα αντιοξειδωτικά δρουν ως αναστολείς της διαδικασίας της οξειδωσης ακόμα και σε μικρές ποσότητες. Τα φυτά έχουν αναπτύξει μια σειρά αντιοξειδωτικών για να αντιμετωπίζουν το οξειδωτικό stress. Οι αντιοξειδωτικές ουσίες που βρίσκονται στα φυτά μετατρέπουν τις ρίζες σε λιγότερο δραστικές ενώσεις, ενώ σύμφωνα με την θεωρία της αυτοοξειδωσης, η εισαγωγή ενός αναστολέα σε ένα οξειδωτικό σύστημα οδηγεί σε αλλαγή του μηχανισμού και της κινητικής της διαδικασίας. Η αποτελεσματικότητα ενός αντιοξειδωτικού λοιπόν, εξαρτάται από την συμμετοχή των μορίων του στις οξειδωτικές αντιδράσεις.^{[5],[43]} Τα αντιοξειδωτικά μπορεί να είναι τόσο ενζυμικά όσο και μη-ενζυμικά. Τα μη-ενζυμικά σύστημα περιλαμβάνουν ουσίες όπως το ασκορβικό οξύ(βιταμίνη C), την ά-τοκοφερόλη, τις carthenes κλπ, ενώ τα ενζυμικά συστήματα περιλαμβάνουν διαδικασίες όπως την υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), την κατάλυση (CAT), την υπεροξειδάση (POX), την υπεροξειδωση του ασκορβικού (APX), την αναγωγή της γλουταθειόνης (GR) και τις πολυφαινόλες οξειδάσης (PPO).^[44]

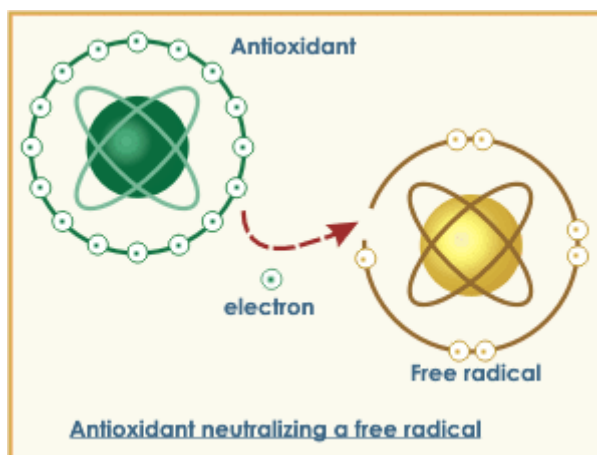


Εικόνα 6- Ενζυμική διαδρομή για την αποτοξίνωση των ROS

Τα αντιοξειδωτικά μπορεί να είναι τόσο φυσικά όσο και συνθετικά. Τα φυσικά αντιοξειδωτικά απαντώνται σε φυτά, λαχανικά αλλά και μπαχαρικά. Τα αντιοξειδωτικά των φυτών υπάρχουν σε διάφορες κατηγορίες ενώσεων όπως οι φαινόλες, τα φλαβονοϊδή, ενδογενής μεταβολίτες, κ.α.^[44] Τα συνθετικά αντιοξειδωτικά χρησιμοποιούνται στα φαγητά ώστε να τα προστατεύσουν και είναι συνήθως BHA (βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη), BHT (βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο), TBHQ (2-τ-βουτυλδροκινόνη), και γαλλικός προπυλεστέρας.^[7] Η δραστηριότητα ενός αντιοξειδωτικού καθορίζεται από τους παρακάτω παράγοντες:

- ▲ Την δυνατότητά του να παγιδεύει τις ελεύθερες ρίζες
- ▲ Την δράση του παρουσία άλλων αντιοξειδωτικών
- ▲ Την δυνατότητα μεταφοράς metal-chelating
- ▲ Και από την δυνατότητά του να σταθεροποιεί το ασύζευκτο ηλεκτρόνιο των ριζών^[46]

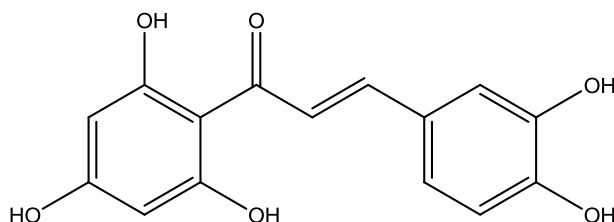
Ενώ η δράση του αποδεικνύεται από την δυνατότητα (α) σάρωσης των ριζών του οξυγόνου, (β) αναστολής της κυτταρικής οξείδωσης και (γ) από την καταστολή σχηματισμού δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS).^[48]



Εικόνα 7- Δέσμευση ελεύθερης ρίζας από αντιοξειδωτικό

Σε μελέτη που διεξήχθη για 6 διαφορετικά μόρια 5-υδροξυ-3-μεθυλ-5-τριφλουορομεθυλο-4,5-διϋδρο-1H-πυραζολινών με διαφορετικούς υποκαταστάτες στην θέση 1 του πυραζολινικού δακτυλίου, φάνηκε ότι ιδιαίτερη αντιοξειδωτική δράση είχε το πυραζολινικό ανάλογο με υποκατεστημένη την θέση 5 του δακτυλίου.^[38] Σε μία άλλη έρευνα συντέθηκαν τέσσερις 1,3,5-τριϋποκατεστημένες πυραζολίνες που αποτελούνται από μία ομάδα ορθοϋδροξυλίου στον C-3 του φαινολικού δακτυλίου και εξετάστηκαν *in vitro* για την αντιοξειδωτική τους δράση. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, αποτελούν ένα πολύ καλό υπόστρωμα για την αναζήτηση νέων αντιοξειδωτικών ενώσεων. Στην ίδια μελέτη αναφέρεται ότι η πυραζολίνη με εμπειρικό όνομα edaravone αναστέλλει τον μεταβολισμό της λιποξυγονάσης του αραχιδονικού οξέος παγιδεύοντας τις ρίζες του υδροξυλίου, καθώς επίσης αναστέλλει και την δράση της υπεροξειδωσης των λιπιδίων προστατεύοντας με αυτόν τον τρόπο τα κύτταρα.^[46]

Παράλληλα, σε πρόσφατη έρευνα 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 δεν συνοδεύεται πάντα με υψηλή ικανότητα παρεμπόδισης της δράσης της λυποξυγονάσης(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'-υδροξυ-4-μεθυλο-χαλκόνη και 2'-υδροξυ-4-χλωρο-χαλκόνη επέδειξαν ισχυρή δράση παρεμπόδισης της LOX, χωρίς όμως να έχουν υψηλή ικανότητα δέσμευσης των ριζών DPPH. Παρ' όλα αυτά, η χαλκόνη που συνδύαζε με μεγαλύτερη επιτυχία την αντιοξειδωτική δράση με υψηλή ικανότητα παρεμπόδισης της δράσης της LOX ήταν η 2'-υδροξυ-4-μεθυλο-4',6'-διμεθοξυ-χαλκόνη που φέρει μεθόξυ ομάδες στις θέσεις 2' και 4' του δακτυλίου.^[49]



Σχήμα 18- Μια δομή χαλκόνης με καλή ικανότητα δέσμευσης ριζών DPPH

4) Αντιφλεγμονώδη

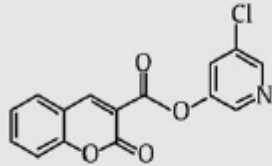
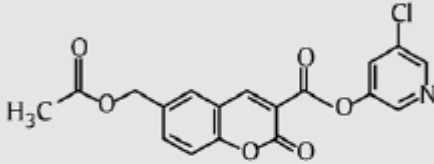
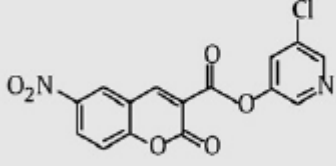
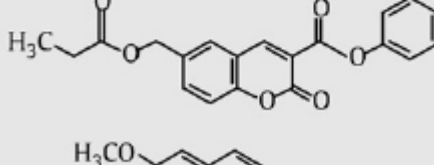
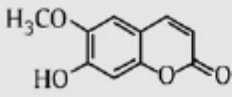
Η αιτία μιας φλεγμονής είναι η αυξημένη έκφραση μορίων κυτταρικής πρόσφυσης (cell adhesion molecules CAM) στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων, η οποία οδηγεί σε αδιάκριτη διήθηση των λευκών κυττάρων κατά μήκος των αιμοφόρων αγγείων, προκαλώντας φλεγμονώδεις ασθένειες. Οι δραστικές μορφές του οξυγόνου (ROS) είναι πρωτογενή μόρια για την έκφραση του μορίου διακυτταρικής προσκόλησης-1 (adhesion molecule-1 ICAM-1) σε ενδοθηλιακά κύτταρα και ως εκ τούτου παίζουν σημαντικό ρόλο σε φλεγμονώδεις νόσους.^[48] Φλεγμονή μπορεί να προκληθεί από κάποιον τραυματισμό ή από κάποια λοίμωξη. Ένα σημαντικό έναυσμα μιας φλεγμονής είναι η αναγνώριση κάποιου μικροβίου από τους ειδικούς υποδοχής του ανοσοποιητικού συστήματος. Η φλεγμονή συνήθως δρα για να περιορίσει την μόλυνση και να αποκαταστήσει τις «ζημιές».^[54] Προκειμένου ο οργανισμός να ανταπεξέλθει στην αντιμετώπιση των φλεγμονών χρειάζεται να προσλάβει ορισμένα αντιφλεγμονώδη τα οποία υπάρχουν σε αφθονία στην φύση. Τα πράσινα λαχανικά, το σέλερι, το μπρόκολο, τα μούρα και ο ανανάς είναι μερικά μόνο από αυτά. Μια μεγαλύτερη ποικιλία τροφών που περιέχουν αντιφλεγμονώδη παρουσιάζεται στην εικόνα 8.



Εικόνα 8- Πυραμίδα αντιφλεγμονωδών τροφών

Μελέτες έδειξαν ότι τα δι-υδρόξυ και δι-ακετόξυ παράγωγα της θειονοκουμαρίνης μπορούν να αναστείλουν την δράση φλεγμονωδών μεσολαβητών, όπως TNF-α και LPS, τα οποία είναι υπεύθυνα για φλεγμονές στους πνεύμονες. Επίσης, οι χαλκόνες επηρεάζουν την γενεσιουργό αιτία των ROS αναστέλλοντας την λειτουργία των υπεροξειδομένων λιπιδίων, περιορίζοντας έτσι τις φλεγμονές. Όπως οι κουμαρίνες και οι χαλκόνες, έτσι και οι πυραζολίνες και τα φλαβονοειδή και τα παράγωγά τους παρουσιάζουν αντιφλεγμονώδεις δράσεις.^{[48],[52]}

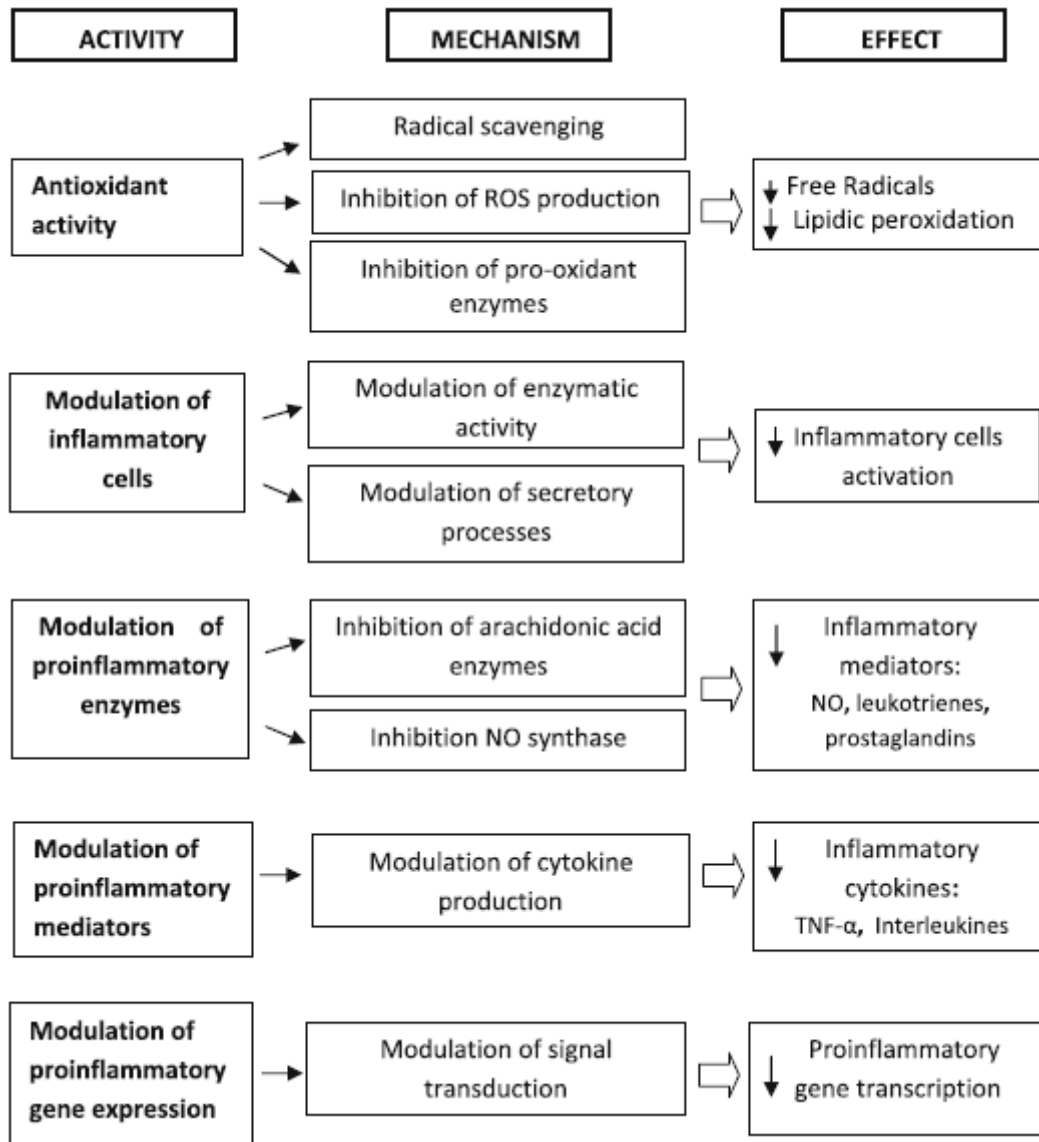
Πίνακας 3- Κουμαρικά παράγωγα με αντιφλεγμονώδη ιδιότητες

Compound MW (g/mol) $k_{i\text{nact}}/K_i$ or $k_{\text{obs}}/[I]$ ($M^{-1}.s^{-1}$)	Structure
1 301.7 32 850	
2 373.7 107 000	
3 346.7 90 000	
4 352.3 NI	
Scopoletin 192.1	

NI: no inhibition.

Σε μία άλλη έρευνα που διεξήχθη από την ερευνητική ομάδα του Teresita Guardia πραγματοποιήθηκε *in-vivo* μελέτη της αντιφλεγμονώδους δράσης των φλαβονοειδών σε ποντίκια και τα αποτελέσματα, παρότι δεν ήταν ιδιαίτερα ευκρινή, ενθάρρυναν τη διεξαγωγή περαιτέρω μελετών.^[52] Σε γενικές γραμμές τα φλαβονοειδή εξαιτίας της ευρείας εμφάνισής τους στην φύση χρησιμοποιούνται ως αντιφλεγμονώδη και οι μηχανισμοί που εξηγούν τη δράση τους είναι οι ακόλουθοι:

- ▲ Ρύθμιση των κυτταρικών δραστηριοτήτων των κυττάρων που σχετίζονται με την φλεγμονή
- ▲ Διαμόρφωση της δραστηριότητας των ενζύμων μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος (φωσφολιπάσης A2, κυκλοοξυγονάσης, λιποξυγονάση) και της σύνθεσης νιτρικού οξειδίου
- ▲ Ρύθμιση της παραγωγής των άλλων προφλεγμονωδών μορίων
- ▲ Διαμόρφωση των γονιδίων έκφρασης των προφλεγμονωδών^[54]



Σχήμα 19- Αντιφλεγμονώδεις μηχανισμοί των Φαλβονοειδών

Η καρκινογένεση έχει συνδεθεί με το οξειδωτικό stress από δραστικά ενδιάμεσα του οξυγόνου (reactiveoxygen intermediates ROIs) και από φλεγμονές που δημιουργούνται στον ιστό, συνεπώς έχει αρχίσει να εξετάζεται η χρήση

αντιοξειδωτικών και αντιφλεγμονώδων φαρμάκων για την αντιμετώπισή τους. Σύμφωνα με έρευνα του Young-Joon Surh κάποια είδη μπαχαρικών όπως κουρκουμίνη από κουρκούμη (*Curcuma longa* L., Zingiberaceae), η ζιγγίβερη από πιπερόριζα (*Zingiber officinale* Roscoe, Zingiberaceae) και η καψαϊκίνη από την καυτή πιπεριά τσίλι (*Capsicum annuum* L., Solanaceae) δρουν ως χημειοπροληπτικές ουσίες κατά τα προ-φλεγμονώδη και προ-οξειδωτικά στάδια της εμφάνισης των καρκινικών κυττάρων.^[55]

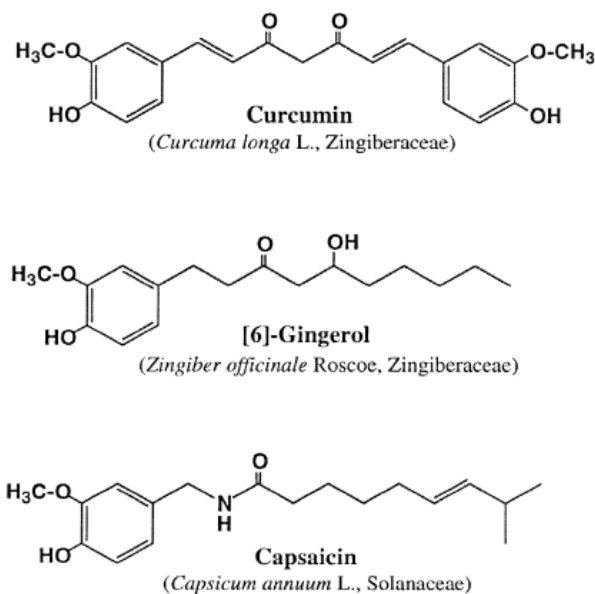
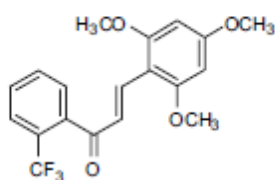
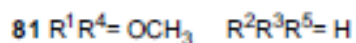
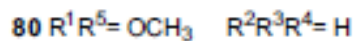
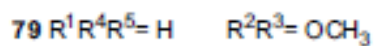
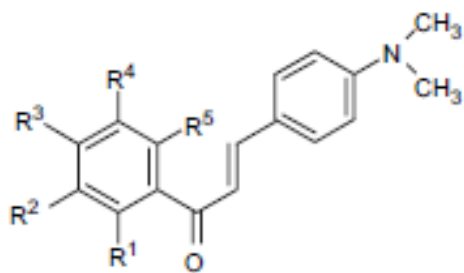


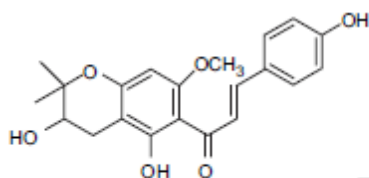
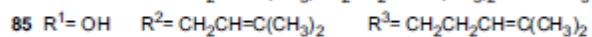
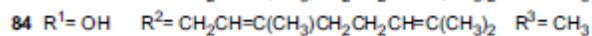
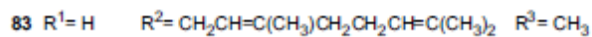
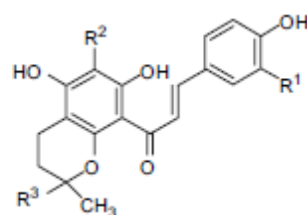
Fig. 2. Chemical structures of curcumin, [6]-gingerol and capsaicin.

Σχήμα 20- Χημική δομή της κουρκουμίνης, της 6- ζιγγίβερης και της καψαϊκίνης

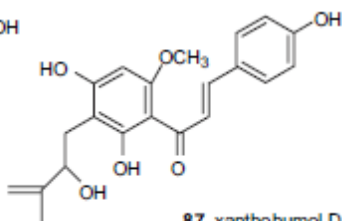
Μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τον Z.Nowakowska πάνω στις χαλκόνες φανέρωσε μεταξύ άλλων, ότι ορισμένα παράγωγα των χαλκονών διαθέτουν αξιόλογη αντιφλεγμονώδη δράση. Οι χαλκόνες αυτές δρουν ως αναστολείς του νιτρικού οξειδίου (nitric oxide NO) και του prostaglandin E2 (PGE2).^[56]



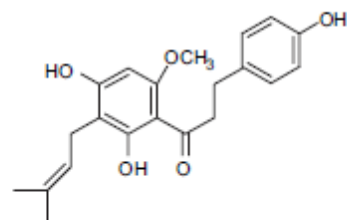
82



86 xanthohumol B



87 xanthohumol D



88 dihydroxanthohumol

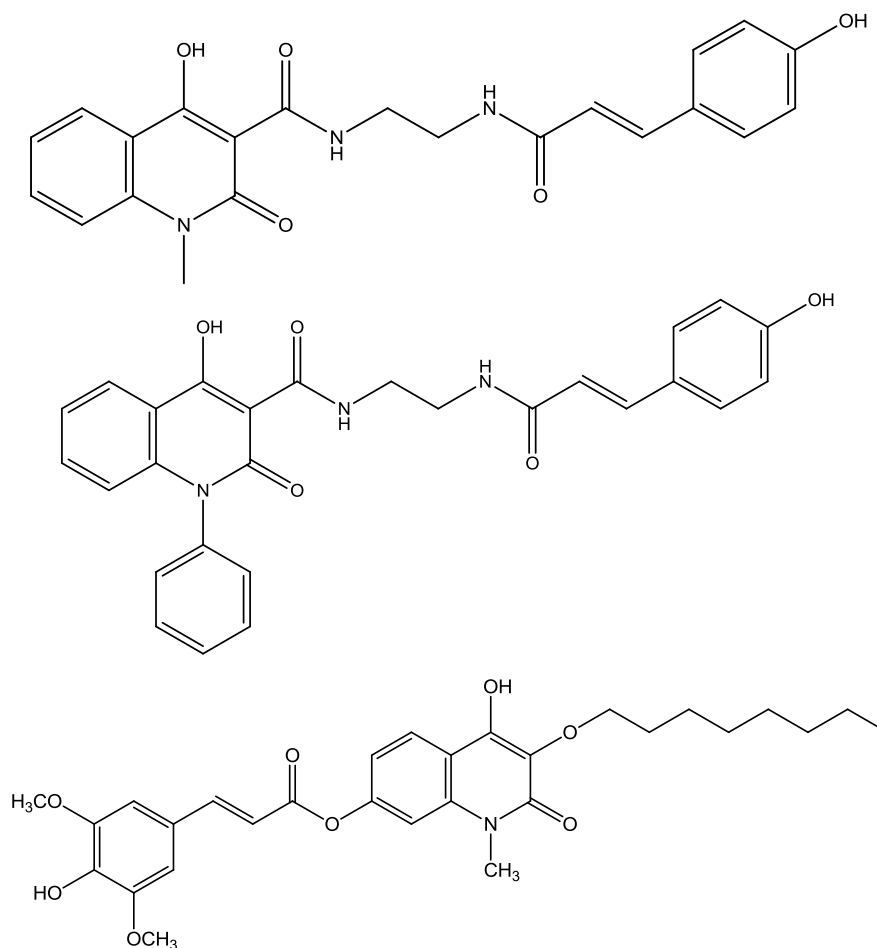
Σχήμα 21- Δομές Χαλκόνων με αντιφλεγμονώδη δράση

Κεφάλαιο2: Σύνθεση και Αξιολόγηση της βιολογικής δράσης

2.1 Σχεδιασμός και σύνθεση νέων παραγώγων

Ο σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η σύνθεση κινολινονικών παραγώγων, τα οποία θα εξεταστούν για πιθανές βελτιωμένες αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις δράσεις.

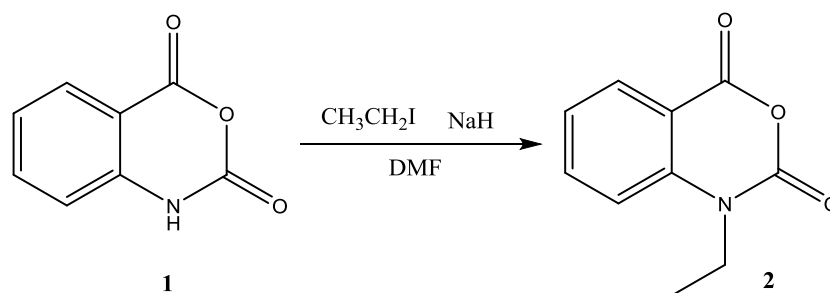
Η αφορμή για την εκτέλεση των πειραμάτων τα οποία πραγματεύεται η δεδομένη διπλωματική εργασία δόθηκε από τις αξιολογες ιδιότητες που παρουσίασαν μόρια παρόμοιας φύσης, τα οποία αποτελούν παλιότερη ερευνητική δραστηριότητα του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας ΕΜΠ. Αυτα τα μόρια-οδηγοί παρουσιάζονται στο παρακάτω σχήμα:



Σχήμα 22-Ενώσεις οδηγοί

2.1.1 Σύνθεση N-αιθυλο-ισατοϊκού ανυδρίτη(2)

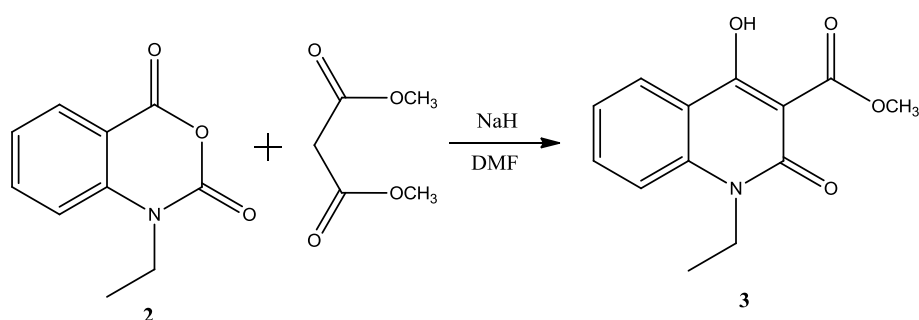
Προκειμένου να γίνει η σύνθεση του N-αιθυλο-ισατοϊκού ανυδρίτη (2) χρησιμοποιήθηκε σαν αρχικό αντιδρόν ο ισατοϊκός ανυδρίτης (1). Στην ένωση (1), χρησιμοποιώντας ως βάση το υδρίδιο του Νατρίου (NaH) σε διαλύτη DMF, έδρασε το ιωδοαιθάνιο ως ακυλιωτικό μέσο. Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τον μηχανισμό αμινοσύνθεσης κατά Gabriel:



Ο N-αιθυλο-ισατοϊκός ανυδρίτης είναι μια αρκετά σταθερή ένωση η οποία μπορεί να αποθηκευθεί σε ξηρό περιβάλλον.

2.1.2 Σύνθεση N-αιθυλο-3-μεθυλοκαρβονύλο-4-υδροξυ-2-κινολινόνης(3)

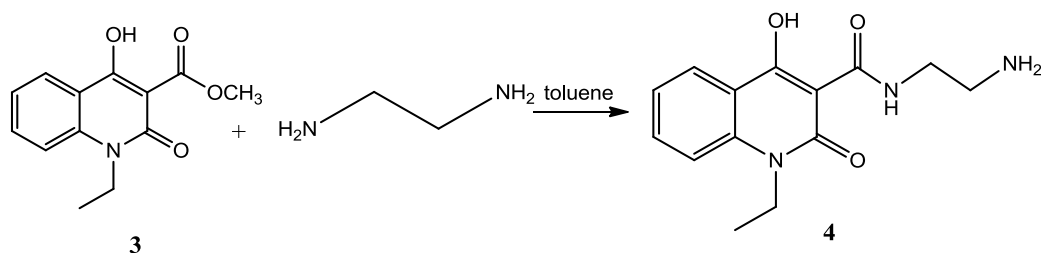
Για τη σύνθεση της N-αιθυλο-3-μεθυλοκαρβονύλο-4-υδροξυ-2-κινολινόνης (3), ο N-αιθυλο-ισατοϊκός ανυδρίτης έδρασε ως ακυλιωτικό για την αντίδραση C-ακυλίωσης του μηλονικού διμεθυλεστέρα σε βασικό περιβάλλον. Ως βάση χρησιμοποιήθηκε το υδρίδιο του νατρίου (NaH) και σαν διαλύτης το DMF. Η αντίδραση είναι η ακόλουθη:



Η N-αιθυλο-3-μεθυλοκαρβονύλο-4-υδροξυ-2-κινολινόνη (3) είναι σταθερή ένωση και μπορεί να διατηρηθεί σε ξηρό περιβάλλον.

2.1.3 Σύνθεση *N*-(2-αμινοαιθυλ)-1-αιθυλο-4-υδροξυ-2-οξο-1,2-διδροκινολιν-3-Καρβοξαμίδιο (4)

Η σύνθεση του καρβοξαμιδίου (4) πραγματοποιήθηκε με θέρμανση της ένωσης (3) παρουσία αιθυλενοδιαμίνης, σε διαλύτη ξηρό τολουόλιο. Πρόκειται για την παρακάτω αντίδραση, η οποία βασίζεται στην αμινόλυση του εστέρα της κινολινόνης:



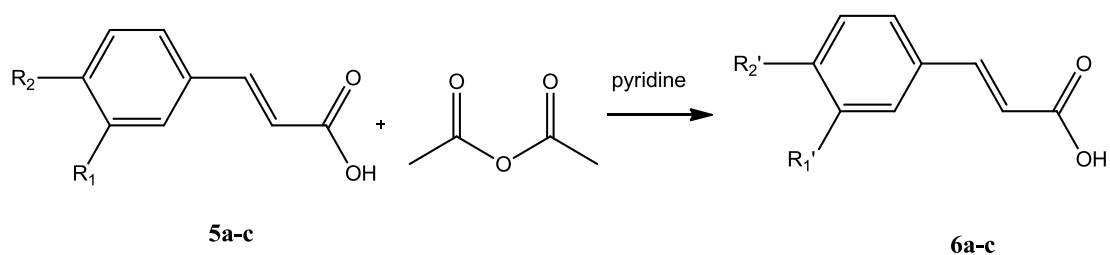
Το καρβοξαμίδιο είναι σταθερή ένωση και μπορεί να διατηρηθεί σε ξηρό περιβάλλον.

2.1.4 Σύνθεση υβριδικών μορίων *Κινολινονών-φαινολικών οξέων*

2.1.4a Σύνθεση ακετυλο-φαινολικών οξέων (6a-c, 8a-c)

Η σύνθεση των ακετυλο-φαινολικών οξέων πραγματοποιήθηκε μέσω αντιδράσεων ακετυλίωσης χρησιμοποιώντας τον οξικό ανυδρίτη σαν ακυλιωτικό μέσο και την πυριδίνη ή το φωσφορικό οξύ σαν καταλύτη. Οι αντιδράσεις που πραγματοποιήθηκαν είναι των ακόλουθων μορφών:

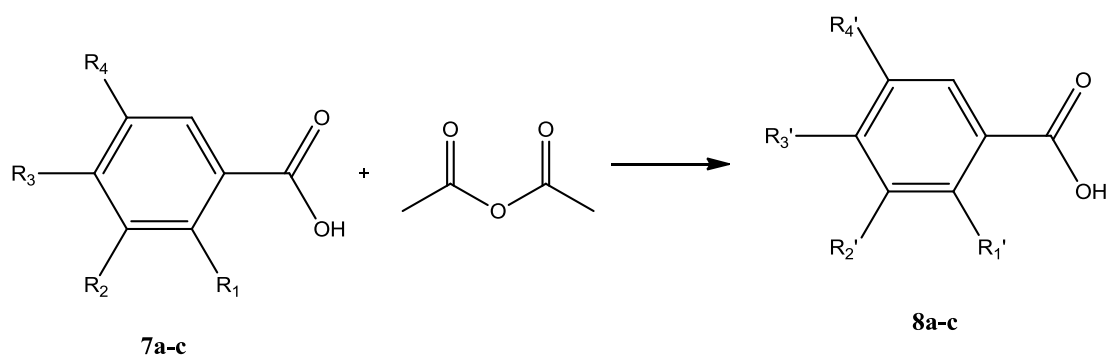
Κατηγορία 1:



Όπου

- ▲ $R_1 = -H, R_2 = -OH$ (p-κουμαρικό οξύ **5a**), $R_1' = H, R_2' = -O(COCH_3)$
- ▲ $R_1 = R_2 = -OH$ (καφεϊκό οξύ **5b**), $R_1' = R_2' = -O(COCH_3)$
- ▲ $R_1 = -OCH_3, R_2 = -OH$ (φερουλικό οξύ **5c**), $R_1' = -OCH_3, R_2' = -O(COCH_3)$

Κατηγορία 2:



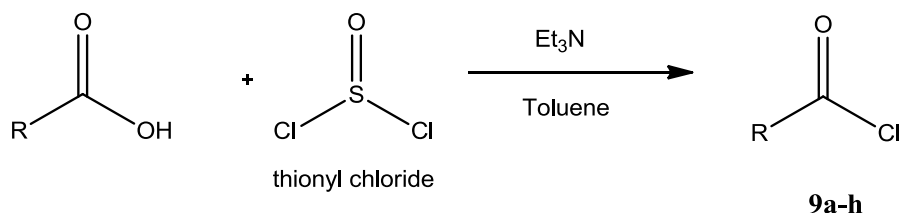
Όπου

- ▲ R₁=-OH, R₂=R₃=R₄=-H (σαλικυλικό οξύ **7c**), R'₁'=-O(COCH₃), R'₂'=R'₃'=R'₄'=-H
- ▲ R₃=-OH, R₁=R₂=R₄=-H (p-υδροξυ-βενζοϊκό οξύ **7a**), R'₃'=-O(COCH₃), R'₁'=R'₂'=R'₄'=-H
- ▲ R₃=-OH, R₁=H, R₂=R₄=-OCH₃ (συριγγικό οξύ **7b**), R'₃'=-O(COCH₃), R'₁'=-H, R'₂'=R'₄'=-OCH₃

Τα ακετυλιωμένα φαινολικά οξέα είναι σταθερά οπότε μπορούν να διατηρηθούν σε ξηρό περιβάλλον.

2.1.4b Σύνθεση χλωριδίων φαινολικών οξέων(9a-i)

Τα ακετυλο-φαινολικά οξέα είναι αδρανείς ενώσεις και πριν χρησιμοποιηθούν πρέπει να ενεργοποιηθούν. Η αντίδραση ενεργοποίησης βασίζεται στη μεθοδολογία της μετατροπής καρβονυλικών οξέων σε χλωρίδια οξέων μέσω αντίδρασης του θειονυλοχλωριδίου σε διαλύτη άνυδρο τολουόλιο υπό θέρμανση. Η αντίδραση που πραγματοποιείται είναι η ακόλουθη:

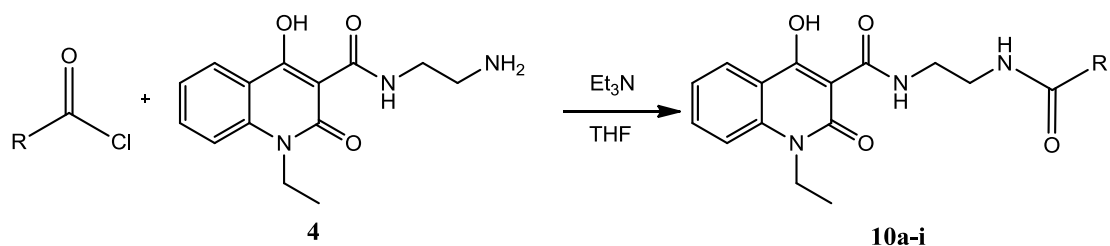


Όπου R είναι ο σκελετός του κάθε ακετυλιωμένου φαινολικού.

Τα χλωρίδια των ακετυλο-φαινολικών οξέων είναι ιδιαίτερα ασταθείς και ευαίσθητες ενώσεις και πρέπει να χρησιμοποιηθούν αμέσως μετά την παρασκευή τους.

2.1.4c Σύνθεση ακετυλιωμένων παραγώγων κινολινόνης και φαινολικών οξέων(10a-i)

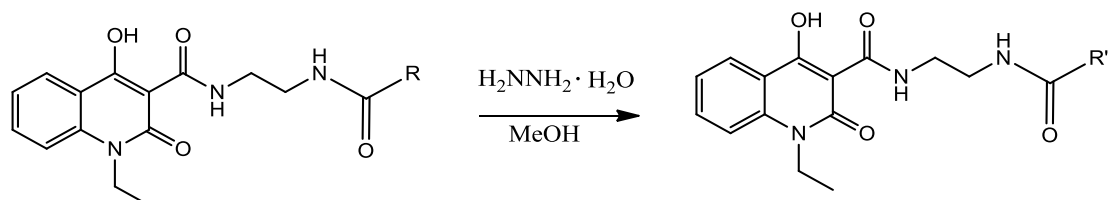
Η σύνθεση των νέων ακετυλιωμένων παραγώγων κινολινονών πραγματοποιήθηκε παρουσία τριαιθυλαμίνης σε διαλύτη τετραϋδροφουράνιο (THF), σύμφωνα με την ακόλουθη αντίδραση πυρηνόφιλης ακυλο-υποκατάστασης στα χλωρίδια των οξέων (αμινόλυση):



Οι παραγόμενες ενώσεις είναι σταθερές και μπορούν να διατηρηθούν σε ξηρό περιβάλλον.

2.1.4d Απομάκρυνση της ακετυλο-ομάδας από τα τελικά υβριδικά μόρια

Η απομάκρυνση της ακετυλο-αμάδας στα νέα παράγωγα κινολινονών που παρασκευάστηκαν πραγματοποιήθηκε με την βοήθεια της ένυδρης υδραζίνης σύμφωνα με την αντίδραση:

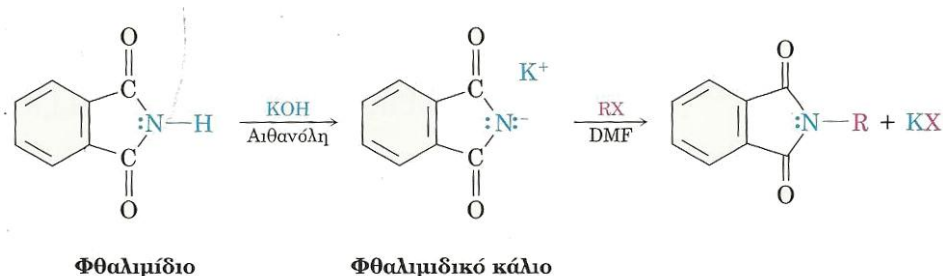


Όπου R είναι ο σκελετός του κάθε ακετυλιωμένου φαινολικού και R' αυτός του φαινολικού οξέος

2.2 Μηχανισμοί αντιδράσεων

2.2.1) Μηχανισμός σύνθεσης αμινών κατά Gabriel.

Η σύνθεση αμινών με την μέθοδο Gabriel, χρησιμοποιεί τα ιμίδια(-CONHCO-), δηλαδή ενώσεις που έχουν στο μόριό τους τη χαρακτηριστική αλληλουχία δύο ομάδων καρβονιλίου ενωμένων σε ένα άζωτο, για την παρασκευή αμινών από κάποιο αλκυλαλογονίδιο. Κατά την αντίδραση αυτή τα ιμίδια αποπρωτονιώνονται από βάσεις, και τα ανιόντα που σχηματίζονται αλκυλιώνονται άμεσα σύμφωνα με μια αντίδραση ακετοξικής σύνθεσης.^[57]

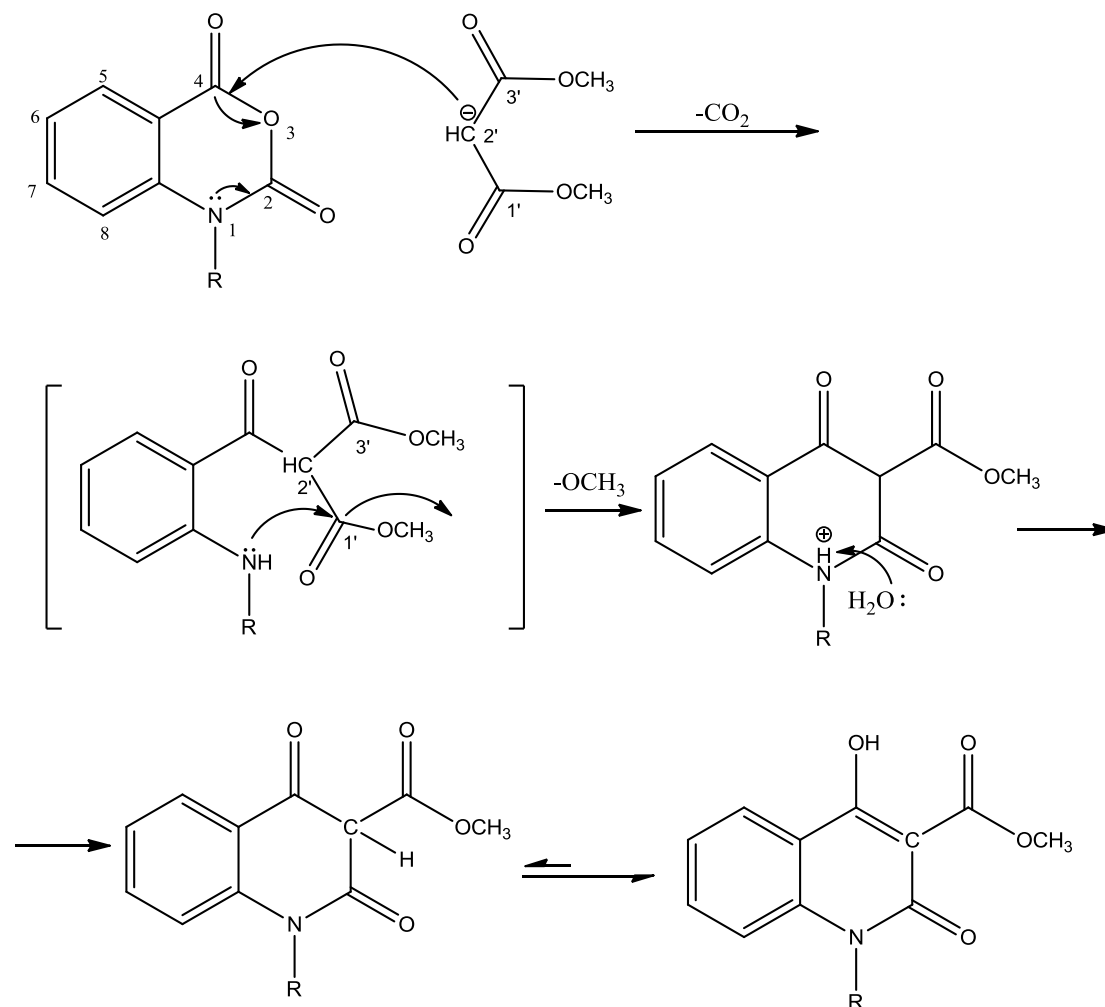


Σχήμα 23-Σχηματική απεικόνιση του μηχανισμού σύνθεσης αμινών κατά Gabriel

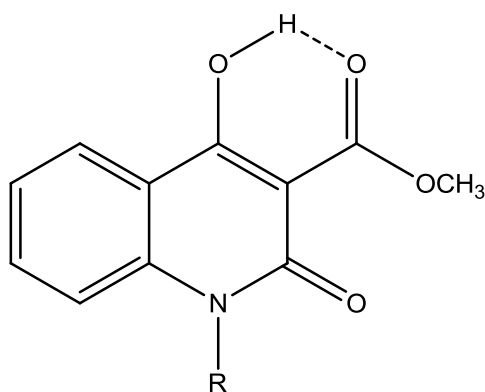
2.2.2) Μηχανισμός C-Αλκυλίωσης

Η C-ακυλίωση του N- υποκατεστημένου ισατοϊκού ανυδρίτη στηρίζεται στην πυρηνόφιλη προσβολή κάποιου από τους δύο καρβονυλικούς δεσμούς οι οποίοι υπάρχουν στο μόριο. Συνήθως η προσβολή γίνεται στον άνθρακα 4 του μορίου, διότι το ελεύθερο ζεύγος ηλεκτρονίων του αζώτου της θέσης 1, επηρεάζει το ηλεκτρονιακό φορτίο του γειτονικού του άνθρακα 2, καθιστώντας τον πιο δύσκολο στην προσβολή. Το βασικό περιβάλλον στο οποίο πραγματοποιείται η αλκυλίωση επιτρέπει στον κεντρικό άνθρακα του μηλονικού διμεθυλεστέρα να αποκτήσει αρνητικό φορτίο. Το φορτίο αυτό είναι ικανό να προσβάλει τον άνθρακα του καρβονυλίου και να οδηγήσει σε δημιουργία δεσμού μεταξύ των δύο ανθράκων. Ταυτόχρονα με την δημιουργία του νέου δεσμού, ο ήδη υπάρχων δεσμός μεταξύ του άνθρακα του μορίου και του οξυγόνου της θέσης 3 διασπάται, ενώ το άζωτο λαμβάνει ένα υδρογόνο και διασπά τον δεσμό του με τον διπλανό άνθρακα. Με τις διασπάσεις αυτές υπάρχει αποβολή ενός μορίου διοξειδίου του άνθρακα και δημιουργία ενός ασταθούς ενδιάμεσου. Στο ενδιάμεσο αυτό το αδέσμευτο ζεύγος ηλεκτρονίων του αζώτου προσβάλει τον άνθρακα 1' του μορίου του μηλονικού διμεθυλεστέρα, με ταυτόχρονη αποβολή μιας

ομάδας $-\text{OCH}_3$. Προκειμένου να αποκτήσει ουδέτερο φορτίο το άζωτο αποδεσμεύει το υδρογόνο που είχε λάβει σε ένα μόριο νερού. Η κετονική δομή που σχηματίζεται δημιουργεί δομές συντονισμού προς την ενολική μορφή του μορίου. Η πιο σταθερή μορφή είναι η ενολική σε αυτή την ένωση, λόγω της δημιουργίας ενός δεσμού υδρογόνου μεταξύ της καρβονυλικής ομάδας του υδροξυλίου, όπως φαίνεται στο σχήμα 25. Στο σχήμα 24 παρουσιάζεται διαγραμματικά ο μηχανισμός C-ακυλίωσης του N-υποκατεστημένου ισατοϊκού ανυδρίτη:



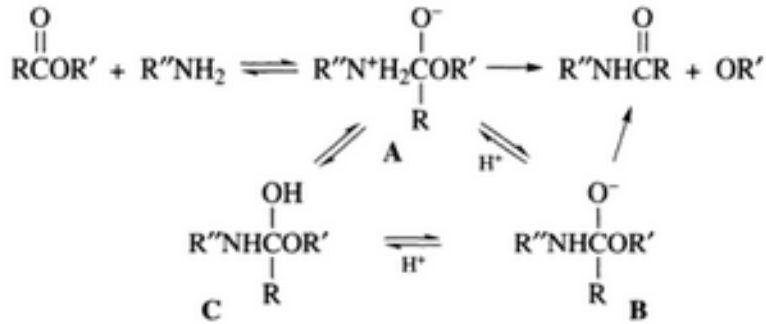
Σχήμα 24- Μηχανισμός C-ακυλίωσης N-υποκατεστημένου ισατοϊκού ανυδρίτη



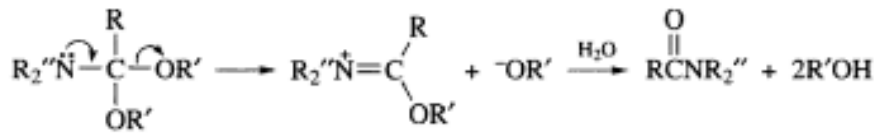
Σχήμα 25- Δεσμός υδρογόνου που σταθεροποιεί την ενολική μορφή

2.2.3) Μηχανισμός αμινόλυσης εστέρων.

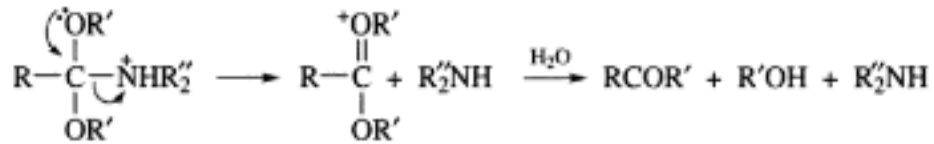
Οι εστέρες μπορούν να αντιδράσουν με την αμμωνία ή με αμίνες και να δώσουν αμίδια. Ο μηχανισμός της αντίδρασης βασίζεται στην πυρηνόφιλη προσβολή της αμιδικής ομάδας στο καρβονύλιο και στην συνέχεια στην απόσπαση ενός αλκοξειδικού ιόντος από ένα τετραεδρικό ενδιάμεσο. Αρχικά η αμίνη δίνει ένα από τα ηλεκτρόνια του ελεύθερου ζεύγους ηλεκτρονίων της στον άνθρακα στον οποίο είναι συνδεδεμένη η εστερική ομάδα, δημιουργώντας έναν δεσμό άνθρακα αζώτου. Ταυτόχρονα ο άνθρακας αυτός δίνει ένα από τα ηλεκτρόνια του στο οξυγόνο του καρβονυλίου που είναι συνδεδεμένο σε αυτόν. Με αυτόν τον τρόπο δημιουργείται ένα ενδιάμεσο το οποίο ανάλογα με τον ρυθμό της αντίδρασης και τις συνθήκες που επικρατούν μπορεί να δώσει διαφορετικά προϊόντα, διότι θα ευνοηθεί διαφορετική αποχωρούσα ομάδα. Οι πιθανές αποχωρούσες ομάδες είναι $R''O^-$ και RNH^- και οι κυριότεροι παράγοντες που επηρεάζουν την επιλογή είναι το pH και η παρουσία βασικού ή όξινου καταλύτη/διαλύτη. Παρουσία βασικού καταλύτη ευνοεί καλύτερα την αποχώρηση της ομάδας $R''O^-$ και έτσι ακολουθείται η επιθυμητή πορεία της αντίδρασης. Σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει τα παραγόμενα προϊόντα είναι και η ύπαρξη νερού στο διάλυμα. Για να γίνει η παραγωγή της επιθυμητής αμίνης οι συνθήκες πρέπει να είναι άνυδρες, διότι παρουσία νερού ευνοούνται οι αντιδράσεις (α) και (β).^[58]



Σχήμα 26- Μηχανισμός αμινόλυσης εστέρα



(α)



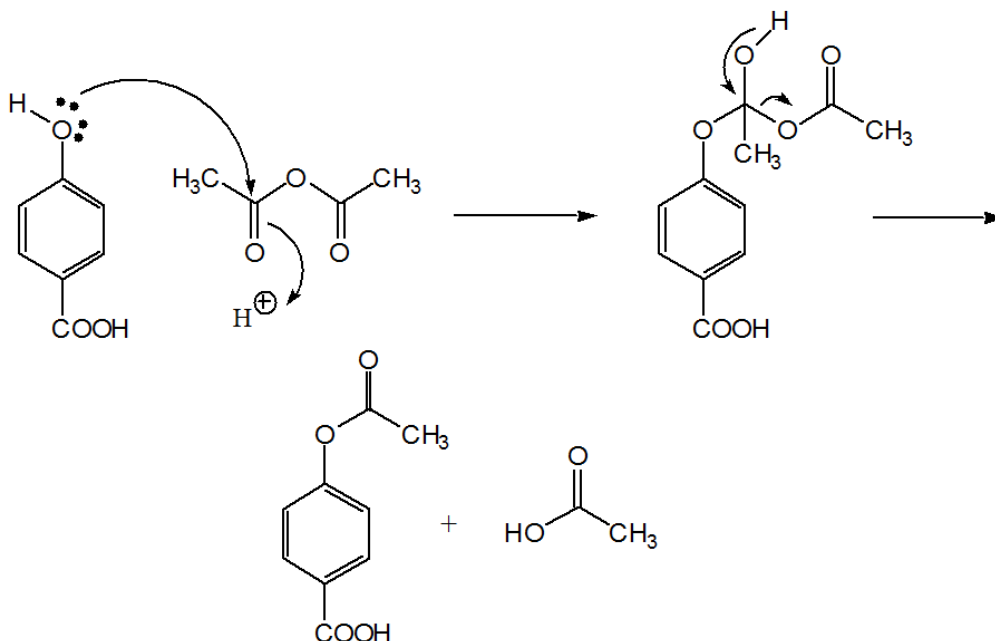
(β)

Σχήμα 27-Παράπλευρες αντιδράσεις παρουσία νερού

2.2.4) Ακετυλίωση οξέων με χρήση οξικού ανυδρίτη.

Η ακετυλίωση μιας ομάδας υδροξυλίου γίνεται με βάση τον ακόλουθο μηχανισμό. Το ένα ελεύθερο ζεύγος ηλεκτρονίου του οξυγόνου του υδροξυλίου προσφέρεται σε έναν άνθρακα ο οποίος έχει συνδεμένη μια καρβοξυλική ομάδα. Με την προσφορά αυτή δημιουργείται ένας καινούριος δεσμός μεταξύ του οξυγόνου του υδροξυλίου και του άνθρακα σε ένα τετραεδρικό ενδιάμεσο. Στο ενδιάμεσο αυτό ο άνθρακας στον οποίο δημιουργήθηκε ο δεσμός έχει πλεονάζον φορτίο το οποίο όμως θέλει να αποβάλει ώστε να παραμείνει ουδέτερο. Προκειμένου να συμβεί αυτό δίνει ένα ηλεκτρόνιο στο οξυγόνο της καρβοξυλομάδας το οποίο πλέον αποκτά αρνητικό φορτίο και εύκολα μπορεί να συνδεθεί με το υδρογόνο της υδροξυλομάδας το οποίο είχε θετικό φορτίο. Το τετραεδρικό ενδιάμεσο είναι ασταθές οπότε αυθόρμητα το υδρογόνο επιστρέφει στον άνθρακα ο οποίος με την σειρά του το προσφέρει στο κεντρικό οξυγόνο του οξικού ανυδρίτη δημιουργώντας μια καλή αποχωρούσα ομάδα

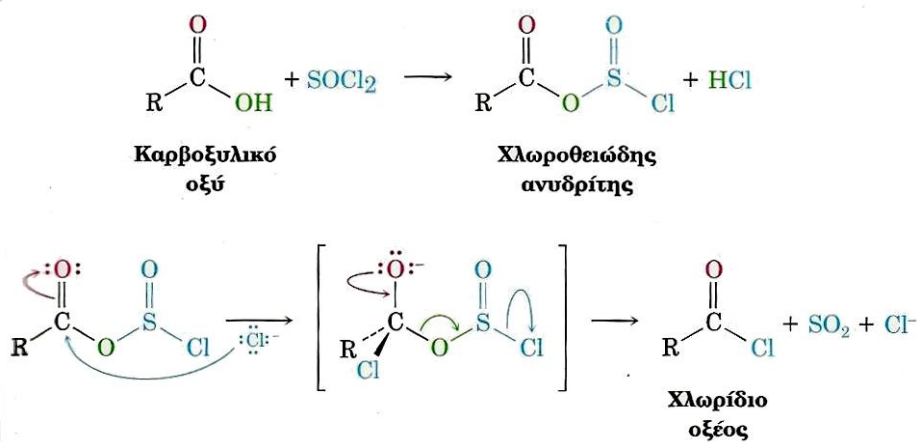
η ο οποία είναι το οξικό οξύ. Στο παρακάτω σχήμα παρουσιάζεται διαγραμματικά ο μηχανισμός της ακετυλίωσης του p-υδροξυ-βενζοϊκού οξέος:



Σχήμα 28-Μηχανισμός ακυλίωσης του βενζοϊκού οξέος με οξικό ανυδρίτη.

2.2.5) Μηχανισμός χλωρίωσης καρβοξυλικών οξέων

Η αντίδραση χλωρίωσης πραγματοποιείται μέσω πυρηνόφιλης ακυλο-υποκατάστασης. Σύμφωνα με την υποκατάσταση αυτή το καρβοξυλικό οξύ μετατρέπεται αρχικά σε ένα ενδιάμεσο προϊόν το οποίο είναι ένας δραστικός χλωροθειώδης ανυδρίτης, ο οποίος προσβάλλεται από ένα πυρηνόφιλο ιόν χλωρίου. Ο μηχανισμός της υποκατάστασης αυτής περιγράφεται στο παρακάτω σχήμα:^[59]

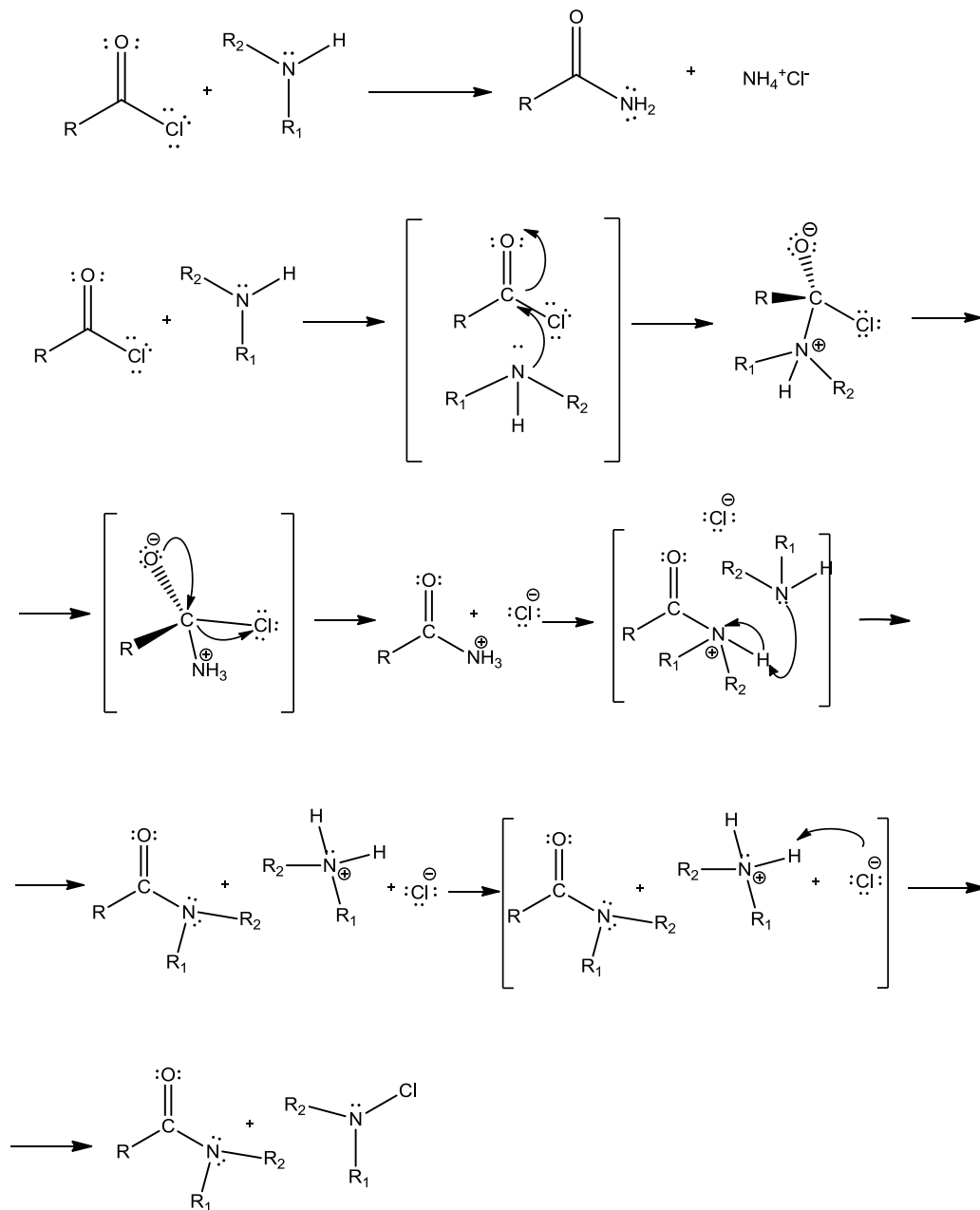


Σχήμα 29-Μηχανισμός Χλωρίωσης Καρβοξυλικών οξέων

2.2.6) Μηχανισμός αμινόλυσης αλογονιδίων των οξέων.

Τα αλογονίδια των οξέων είναι πιο ασταθείς μορφές από αυτές των αμιδίων. Τα αλογονίδια των οξέων μπορούν να αντιδράσουν με μονο-διυποκατεστημένες αμίνες αλλά όχι με τρι-υποκατεστημένες. Οι αμίνες είναι καλές πυρινόφυλες ενώσεις και έχουν ένα μονήρες ζεύγος ηλεκτρονίων. Έτσι μπορούν να προσβάλουν τον άνθρακα μιας ανθρακικής αλυσίδας που είναι συνδεδεμένος με καρβονύλιο. Για κάθε 1 eq αλογονιδίου απαιτούνται 2 eq αμίνης.

Κατά την αντίδραση της αμινόλυσης, το ένα μόριο αμίνης προσφέρει ένα ηλεκτρόνιο από το μονήρες ζεύγος των ηλεκτρονίων του αζώτου της στον άνθρακα που είναι συνδεδεμένο το καρβονύλιο, έστω άνθρακας C_1 , προς δημιουργία ενός δεσμού άνθρακα αζώτου. Με την σειρά του ο άνθρακας C_1 μπορεί να «δώσει» ένα από τα ηλεκτρόνιά του στο οξυγόνο του καρβονυλίου. Έτσι το άζωτο θα συνδεθεί με την ανθρακική αλυσίδα πάνω στον άνθρακα αυτό. Το άζωτο στο συγκεκριμένο σημείο θα είναι θετικά φορτισμένο, και το οξυγόνο αρνητικά. Μετά την δημιουργία του δεσμού άνθρακα αζώτου, το οξυγόνο «επιστρέφει» το ηλεκτρόνιο που πήρε στον άνθρακα C_1 και ταυτόχρονα το αλογόνο παραλαμβάνει ένα ηλεκτρόνιο από τον άνθρακα αυτό, σχηματίζοντας ένα ιόν αλογόνου. Σε αυτό το στάδιο το άλλο μόριο της αμίνης, δρώντας σαν μια βάση, δίνει ένα ηλεκτρόνιο στο υδρογόνο που είναι συνδεδεμένο στο άζωτο της ανθρακικής αλυσίδας, το οποίο με την σειρά του δίνει ένα ηλεκτρόνιο στο θετικά φορτισμένο άζωτο, το οποίο έτσι αποκτά ουδέτερο φορτίο. Με αυτόν τον τρόπο έχει σχηματιστεί ένα ουδέτερο μόριο αμιδίου, το οποίο περιέχει την ανθρακική αλυσίδα του αλογονιδίου, το ανιόν του αλογόνου και μια θετικά φορτισμένη αμίνη. Το στάδιο αυτό είναι αμφίδρομο. Στο τελικό στάδιο η θετικά φορτισμένη αμίνη και το ανιόν του αλογόνου σχηματίζουν ένα αμμωνικό άλας.^[60]



Σχήμα 30-Μηχανισμός Αμινόλυσης Ακέτυλο αλογονιδίου

2.4 Αξιολόγηση βιολογικής δράσης παραγώγων

2.4.1) Αντιφλεγμονώδη Δράση

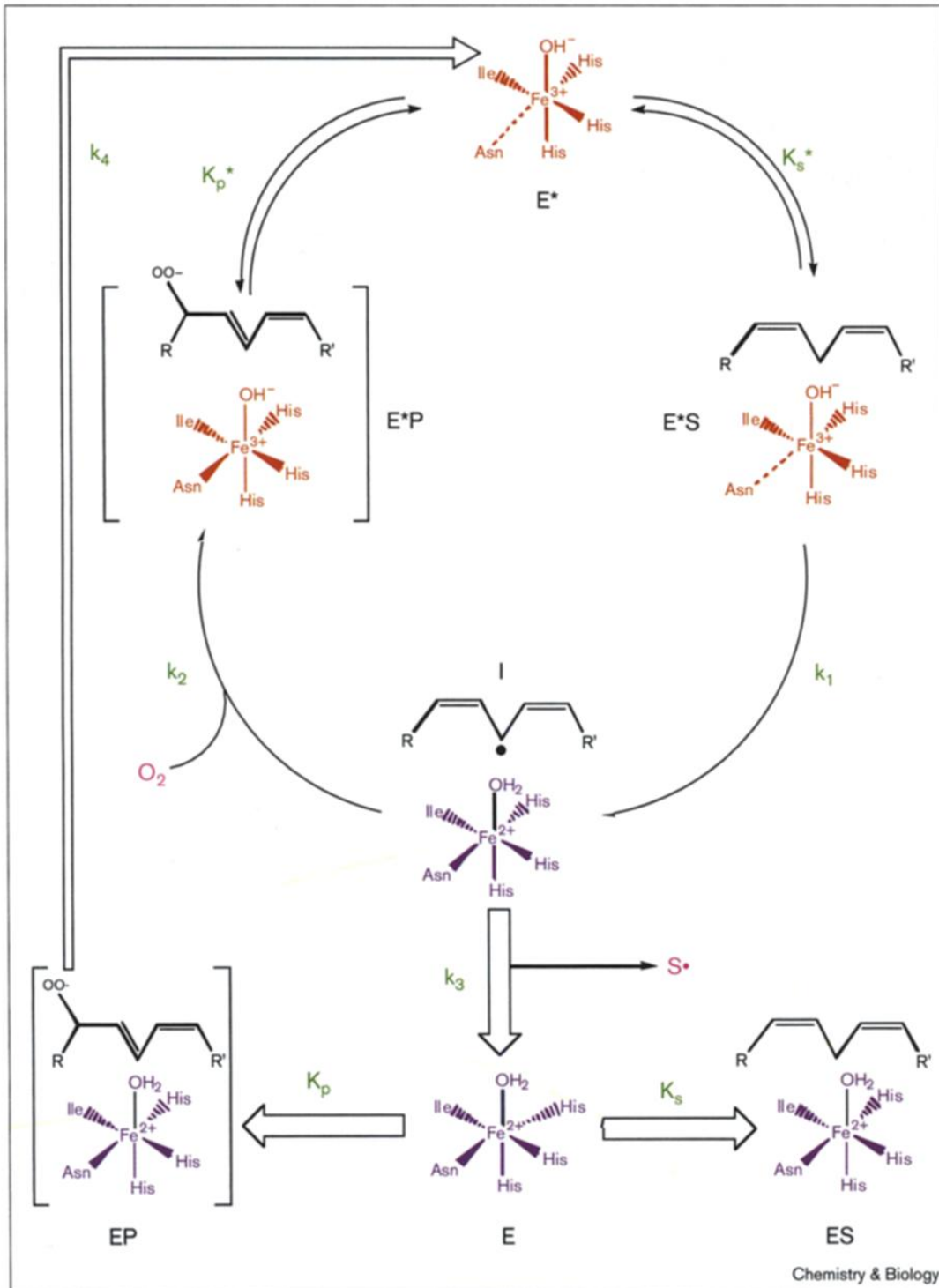
Οι λιποξυγονάσες (LOX) είναι ένζυμα τα οποία περιέχουν σίδηρο και απαντώνται πολύ συχνά σε ζώα και φυτά. Τα ένζυμα αυτά καταλύουν την οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων όπως το τριλινολεϊκό οξύ για τα φυτά και το αραχιδονικό οξύ για τα ζώα, σε συγκεκριμένες θέσεις.^[49] Από άποψη δομής οι λιποξυγονάσες αποτελούνται από ένα μη-αίμης άτομο σιδήρου στην ενεργό θέση τους.^[61] Η εμπλοκή τους σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις έχει κεντρίσει το ενδιαφέρον πολλών ερευνητών. Συγκεκριμένα για τον ανθρώπινο οργανισμό η λιποξυγονάση παίζει σημαντικό ρόλο στη σύνθεση λευκτρονίων και προφλεγμονωδών παραγώγων, που σχηματίζονται κυρίως από τα κύτταρα του μυελού. Επομένως, η εύρεση αναστολέων των ενζύμων αυτών κρίνεται απαραίτητη από μεγάλο μέρος της ερευνητικής κοινότητας. Στον αντίποδα των αρνητικών τους επιρροών στον ανθρώπινο οργανισμό, οι λιποξυγονάσες διαδραματίζουν ιδιαίτερα θετικό ρόλο στον τομέα της χημείας των τροφίμων.^[49]



Εικόνα 9- Δομή LOX

Οι λιποξυγονάσες καταλύουν το οξυγόνο κατά την εισαγωγή τους σε πολυ-ακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA), όπως το αραχιδονικό οξύ και το λινελαϊκό οξύ. Η καταλυτική αυτή αντίδραση βασίζεται στην οξείδωση ενός ηλεκτρονίου από την ενεργή θέση του ατόμου του σιδήρου το οποίο εναλλάσσεται από Fe^{2+} σε Fe^{3+} . Στην καταλυτική αντίδραση, πραγματοποιείται οξείδωση του υποστρώματος των λιπιδίων, ύστερα από αφαίρεση του υδρογόνου ενός δις-αλλυλικού μεθυλενίου προς τον σχηματισμό μιας ρίζας πενταδιενύλιου, η οποία επαναδιατάσσεται και σχηματίζει ένα 1-cis, 3-trans-συζευγμένο διένιο. Στη συνέχεια, πραγματοποιείται μια στερεο-ειδική εισαγωγή του

οξυγόνου στην πενταδιενυλική ρίζα για να σχηματιστεί μια υδροϋπεροξειδική ρίζα λιπαρού οξέος. Η ενδιάμεση αυτή ρίζα ανάγεται προς το αντίστοιχο ανιόν με ταυτόχρονη επανοξείδωση του σιδήρου προς Fe^{3+} .^[62]



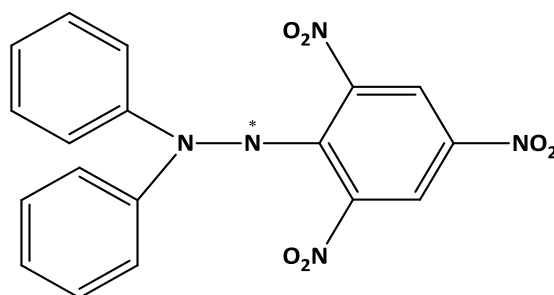
Εικόνα 10–Μηχανισμός του καταλυτικού κύκλου της λιποξυγονάσης

Οι αναστολείς των LOX εξετάζονται κυρίως ως παράγοντες θεραπείας φλεγμονών και αλλεργιών, έχουν όμως δείξει ενθαρρυντικά αποτελέσματα στην αντιμετώπιση ορισμένων τύπων καρκίνου, καθώς και σε ασθένειες του μυοκαρδίου. Κατά κύριο λόγο οι αναστολείς των λιποξυγονασών είναι αντιοξειδωτικά ή ενώσεις οι οποίες δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες, και αυτό επειδή οι λιποξυγονάσες εμφανίζονται σε αντιδράσεις όπου δημιουργούνται ελεύθερες ρίζες και έτσι δρουν σαν αναστολείς της δημιουργίας των τελευταίων ή σαν παγίδες για αυτές.

2.4.2)Αντιοξειδωτική Δράση

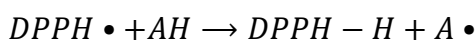
2.4.2.1 Ικανότητα δέσμευσης της σταθερής ελεύθερης ρίζας DPPH

Μια ταχεία, απλή και φθηνή μέθοδος για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας διαφόρων ουσιών βασίζεται στη χρήση της ελεύθερης ρίζας, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).^[63] Πρόκειται για μία σταθερή ρίζα, λόγω της δυνατότητας μετακίνησης του ελεύθερου ηλεκτρονίου το οποίο διαθέτει σε όλο το μόριο. Με αυτόν τον τρόπο αποτρέπεται ο διμερισμός του μορίου σε άλλες ελεύθερες ρίζες. Η μετακίνηση αυτή προσδίδει στην ένωση ένα βαθύ βιολετί χρώμα, το οποίο έχει ζώνη απορρόφησης στα 520nm σε διάλυμα αιθανόλης. Το DPPH χρησιμοποιείται ευρέως για την εξακρίβωση της ικανότητας των εξεταζόμενων ενώσεων να δρουν ως δεσμευτές των ελεύθερων ριζών ή ως δότες υδρογόνου.^[63]



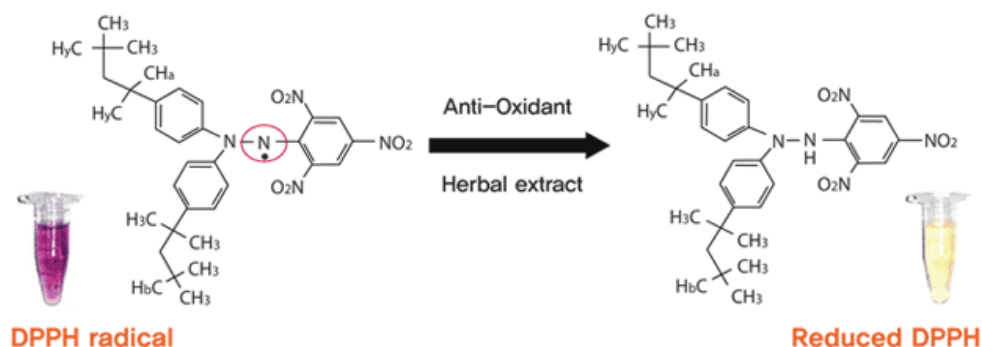
Σχήμα 31- Χημική δομή της ελεύθερης ρίζας DPPH

Όταν ένα διάλυμα DPPH(DPPH•) αναμιγνύεται με διάλυμα ουσίας που μπορεί να δώσει ένα άτομο υδρογόνου, τότε λαμβάνεται η ανηγμένη μορφή της ένωσης (DPPH-H), έχοντας χάσει το βιολετί χρώμα, σύμφωνα με την αντίδραση:



Οι ελεύθερες ρίζες A• που παράγονται στο πρώτο αυτό στάδιο, υπόκινται ύστερα σε περαιτέρω αντιδράσεις, οι οποίες ελέγχουν τη συνολική στοιχειομετρία, τον αριθμό, δηλαδή, των ανηγμένων μορίων DPPH, ανά μόριο το αναγωγικού μέσου.

Αντιδράσεις αυτού του τύπου λαμβάνουν χώρα και κατά την διάρκεια του οξειδωτικού stress.^[65]

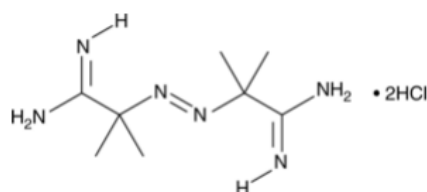


Εικόνα 11- Η ρίζα DPPH και η αποχρωματισμένη και ανηγμένη μορφή της, μετά τη δράση του αντιοξειδωτικού.

2.4.2.2 Αναστολή λιπιδικής υπεροξειδωσης

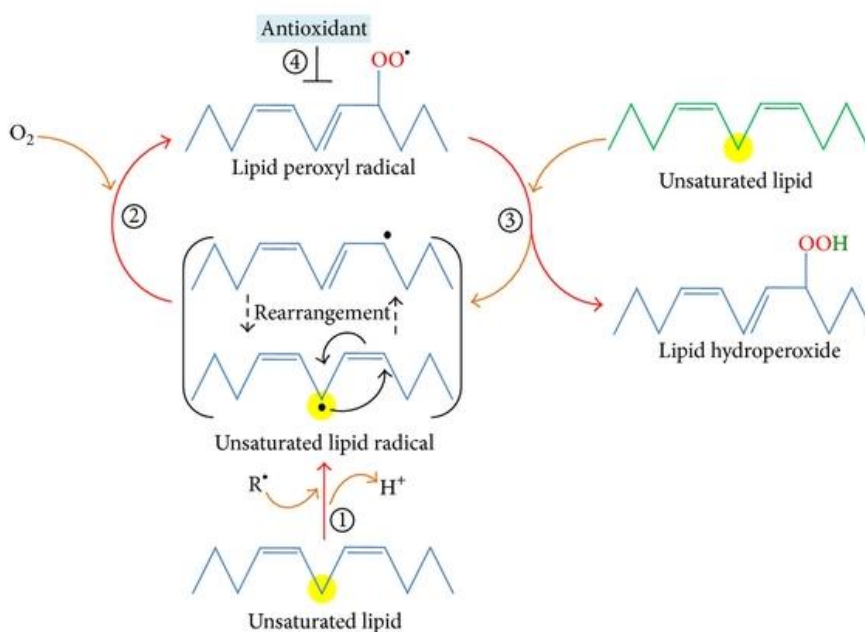
Η λιπιδική υπεροξειδωση μπορεί να περιγραφεί, γενικά, ως μια διαδικασία σύμφωνα με την οποία, οξειδωτικά μέσα, όπως ελεύθερες ρίζες επιτίθενται σε λιπίδια που περιέχουν διπλό δεσμό άνθρακα- άνθρακα(C=C), ιδιαίτερα σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA).^[66]

Το 2,2 αζοδισ-(2-αμιδινοπροπανο)υδροχλωρίδιο (AAPH) είναι ένας ‘εκκινητής ελευθέρων ριζών, που δημιουργεί ελεύθερες ρίζες στο διάλυμα οι οποίες προκαλούν την οξείδωση του λινολεϊκού οξέος. Μια γρήγορη μέθοδος για την μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας μιας ένωσης στηρίζεται στην ικανότητα του AAPH να προκαλεί την οξείδωση του λινελαϊκού οξέος. Η μέθοδος αυτή μετρά την ικανότητα του αντιοξειδωτικού να αναστέλλει την οξείδωση των λιπιδίων, η οποία παρατηρείται με φασματογράφο UV.^[49]



Σχήμα 32-Χημική δομή AAPH.

Η μέθοδος της λιπιδικής υπεροξειδωσης πραγματοποιείται σε τρία στάδια: την έναρξη, τον πολλαπλασιασμό, και τον τερματισμό. Κατά το στάδιο της έναρξης τα προ-οξειδωτικά όπως οι ρίζες υδροξυλίου αποσπών το αλλυλικό υδρογόνο και σχηματίζουν τη λιπιδική ρίζα στον κεντρικό άνθρακα. Στο στάδιο του πολλαπλασιασμού οι ρίζες των λιπιδίων αντιδρούν γρήγορα με το οξυγόνο προς δημιουργία υπεροξυλικών ριζών. Οι ρίζες αυτές με την σειρά τους αποσπών ένα υδρογόνο από ένα άλλο μόριο λιπιδίου πυροδοτώντας μια σειρά αντιδράσεων. Τέλος στο στάδιο του τερματισμού, τα αντιοξειδωτικά προσφέρουν ένα άτομο υδρογόνου στην ρίζα του λιπιδίου διακόπτοντας έτσι τον περαιτέρω σχηματισμό δραστικών προϊόντων.^[66]



Εικόνα 12–Μηχανισμός AAPH

Κεφάλαιο3: Πειραματικό μέρος

1) Όργανα και συσκευές

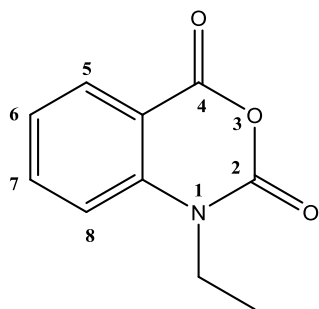
Για τον χαρακτηρισμό των νέων προϊόντων χρησιμοποιήθηκε η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητισμού συντονισμού NMR. Τα φάσματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού, NMR ^1H , έχουν καταγραφεί με τα όργανα Varian Gemini του ευθνικού ιδρύματος ερευνών. Ως διαλύτης χρησιμοποιήθηκε διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO).

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.

Ο προσδιορισμός των σημείων τήξης (Σ.Τ.) έγινε σε ανοικτούς τριχοδιαμετρικούς σωλήνες σε μια συσκευή Gallenkamp και οι τιμές τους δεν έχουν διορθωθεί.

Ο έλεγχος της καθαρότητας των ενώσεων και η παρακολούθηση της πορείας των αντιδράσεων έγινε με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC) σε πλάκες αλουμινίου, επιστρωμένες με Silica gel F254 της εταιρίας Merck. Οι κηλίδες των χρωματογραφημάτων TLC εμφανίστηκαν με λάμπα υπεριώδους (UV) ακτινοβολίας στα 254 nm και με εμποτισμό σε διάλυμα φωσφομολυβδαινικού οξέος (PMA) σε αναλογία (αιθανολικό διάλυμα PMA 7% /EtOH 1:2).

2) 1 – αιθυλ - βενζο[d][1,3]οξαζιν -2,4- διόνη (2)



Chemical Formula: $C_{10}H_9NO_3$
Molecular Weight: 191,18

Σε σφαιρική φιάλη των 250ml τοποθετούνται 100ml DMF και 0.03 mol (0.72gr) υβριδίου του Νατρίου (NaH) υπό ανάδευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Έπειτα προστίθεται στην σφαιρική 1.5ml ιωδοαιθανίου και 0.025 mmol (4gr) ισατοϊκού ανυδρίτη (1) στάγδην και υπό ψύξη. Το τελικό σύστημα αναδεύεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 24 ώρες (αντίδραση overnight) και σε αδρανή ατμόσφαιρα αζώτου. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) σε σύστημα διαλυτών πετρελαϊκού αιθέρα και οξικού αιθυλεστέρα σε αναλογία 6 προς 4.

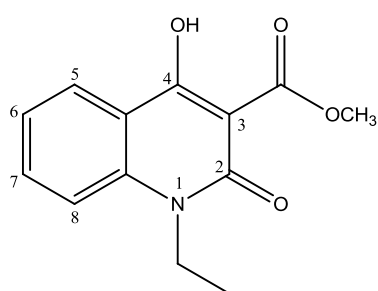


Μετά το πέρας της αντίδρασης, το μίγμα μεταφέρεται σε κωνική φιάλη η οποία περιέχει πάγο. Παρατηρείται ο σχηματισμός ιζήματος, το οποίο διηθείται υπό κενό και το τελικό προϊόν παραλαμβάνεται με τη μορφή καφέ στερεού. Εάν δεν παρατηρηθεί καταβύθιση στερεού ακολουθεί εκχύλιση με διαιθυλαιθέρα, από όπου η οργανική φάση συλλέγεται και ξηραίνεται. Το τελικό προϊόν παραλαμβάνεται ύστερα από εξάτμιση του οργανικού διαλύτη, με τη μορφή καφέ στερεού.

Η απόδοση της αντίδρασης 54% και το σημείο τήξης 111.1-113.3° C.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 8.172(dd, 1H, $J=7.8\text{Hz}$, $j=1.2\text{Hz}$, H-5), 7.767 (dt, $J=8.7\text{Hz}$, $j=1.5\text{Hz}$, 1H, H-7), 7.29(t, $J=7.5\text{Hz}$, 1H, H-6), 7.132 (d, 1H, $J=8.4\text{Hz}$ H-8), 4.145(q, 2H τα $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.385(t, 3H, $J=7.14\text{Hz}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$)

3)1- αιθυλο -4- υδροξύ -2- οξο -1,2- διυδροκινολινόνη -3- καρβοξυλικό οξύ(3)



Chemical Formula: $C_{13}H_{13}NO_4$
Molecular Weight: 247,25000

Σε σφαιρική φιάλη των 250ml προστίθενται 79.44ml DMF και 21.37mmol (523.8 gr) NaH, υπό ανάδευση και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Στη συνέχεια προστίθεται στάγδην και υπό ψύξη 45.20mmole (5.2ml) μηλονικού διμεθυλεστέρα και 0.011mmole (2.0544gr) από την ένωση (2). Το διάλυμα αναδεύεται σε αδρανή ατμόσφαιρα για δυόμιση ώρες στους 80° C.

Ο έλεγχος της πορείας της αντίδρασης γίνεται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) σε σύστημα διαλυτών πετρελαϊκού αιθέρα και οξικού αιθυλεστέρα σε αναλογία 4 προς 6.

Μετά την λήξη της αντίδρασης στο μίγμα προστίθεται μικρή ποσότητα νερού και

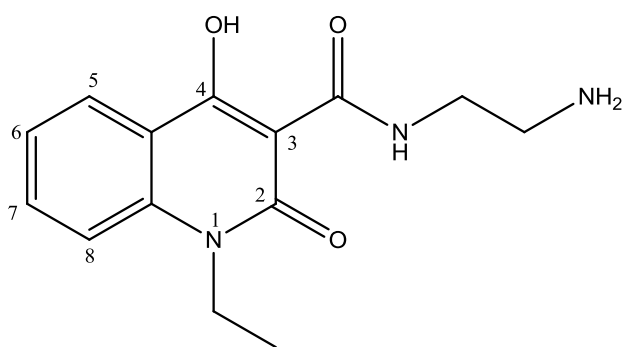


οξινίζεται υπό ψύξη με κατάλληλη ποσότητα διαλύματος HCl 10%. Παρατηρείται καταβύθιση στερεού, το οποίο διηθείται υπό κενό και το τελικό προϊόν παραλαμβάνεται με τη μορφή μπεζ στερεού. Αν κατά την οξίνιση δεν παρατηρηθεί καταβύθιση στερεού ακολουθεί εκχύλιση με διαλύτη διαιθυλαιθέρα από όπου η οργανική φάση συλλέγεται και ξηραίνεται. Το τελικό προϊόν παραλαμβάνεται ύστερα από εξάτμιση του οργανικού διαλύτη, με τη μορφή μπεζ στερεού.

Η απόδοση της αντίδρασης είναι 64% και το σημείο τήξης της ουσίας είναι 124°C-134.9°C.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 14.035 (s, 1 H, 4-OH) 8.1975(d, $J=8.1\text{Hz}$, 1 H, H-5), 7.684(t, $J=7.2\text{Hz}$, 1 H, H-7), 7.329(d, $J=8.4\text{Hz}$, 1 H, H-8), 7.287-7.217(m, 1 H, H-6 & CDCl_3), 4.328 (q, $J=7.1\text{Hz}$, 2 H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4.057(s, 3H, 3-COOCH₃), 1.370 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 3 H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$)

4)N- (2- αμινοαιθυλ) -1- αιθυλο -4- υδροξυ -2- οξο -1,2- διυδροκινολιν -3- Καρβοξαμίδιο(4)



Chemical Formula: $C_{14}H_{17}N_3O_3$
Molecular Weight: 275,30

Σε σφαιρική φιάλη των 50ml, 0.0015mmole (0.4 gr) της ένωσης (3), και 0.204gr (0.23ml) αιθυλενοδιαμίνης προστίθενται σε 8.5ml τολουόλιο, και το μίγμα αναδεύεται στους $100^{\circ}C$ για περίπου 2 ώρες. Ο έλεγχος της πορείας της αντίδρασης γίνεται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας

(TLC) σε σύστημα διαλυτών πετρελαϊκού αιθέρα και οξικού αιθυλεστέρα σε αναλογία 3 προς 7.

Μετά το πέρας της αντίδρασης η σφαιρική αφήνεται να ψυχθεί και παρατηρείται καταβύθιση στερεού το οποίο διηθείται υπό κενό και εκπλένεται με διαιθυλαιθέρα. Το τελικό προϊόν παραλαμβάνεται με τη μορφή λευκού στερεού.



Εικόνα 13- Παραγόμενη ένωση (4)

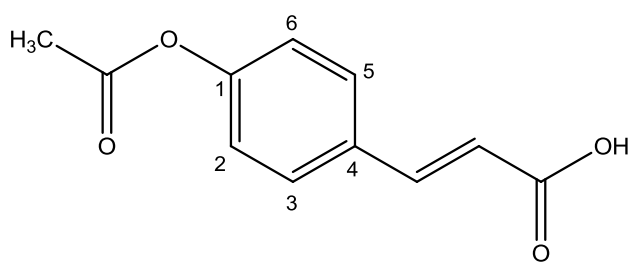
Η απόδοση της αντίδρασης είναι περίπου 96% και το σημείο τήξης $147.6^{\circ}-150^{\circ}C$

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm), 10.444(s, 1H, 4-OH), 8.119(d, $J=7.8$ Hz, 1H, H-5), 7.574(t, 1H, $J=8.7$ Hz, H-7), 7.355(d, $J=8.4$ Hz, 1H, H-8), 7.271(t, $J=7.5$ Hz, 1H, H-6), 4.2405(q, $J=7.05$ Hz, 2H, $-CH_2CH_3$), 3.432(q, $J=5.85$ Hz, 2H, 3- $CONHCH_2CH_2NH_2$), 2.840(t, $J=6$ Hz, 2H, 3- $CONHCH_2CH_2NH_2$), 1.275(t, $J=6.9$ Hz, 3H, $-CH_2CH_3$)

5)Γενική μέθοδος σύνθεσης ακετυλο-φαινολικών οξέων (6a)-(6c)&(8a)-(8b)

Σε σφαιρική φιάλη διαλύονται 1eq φαινολικού οξέος σε 2eq οξικού ανυδρίτη για κάθε υδροξύλιο του οξέος, και στη συνέχεια προστίθεται κατάλληλη ποσότητα πυριδίνης. Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για 24 ώρες στους 80°C υπό αδρανείς συνθήκες. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC). Μετά το πέρας της αντίδρασης η πυριδίνη εξατμίζεται υπό ελαττώμενη πίεση στους 70-80°C, οπότε προκύπτει στερεό υπόλειμμα. Το τελικό προϊόν παραλαμβάνεται κατόπιν εκπλύσεων με διαλύτη διαιθυλαιθέρα και διήθησης υπο κενό του σχηματιζόμενου στερεού. Το προϊόν χρησιμοποιείται για τις αντιδράσεις χλωρίωσης χωρίς περαιτέρω διεργασίες καθαρισμού.

5.1) (E) -3- (4- ακετόξυφαινυλ) ακριλικό οξύ(6a)



Chemical Formula: $C_{11}H_{10}O_4$
Molecular Weight: 206,19

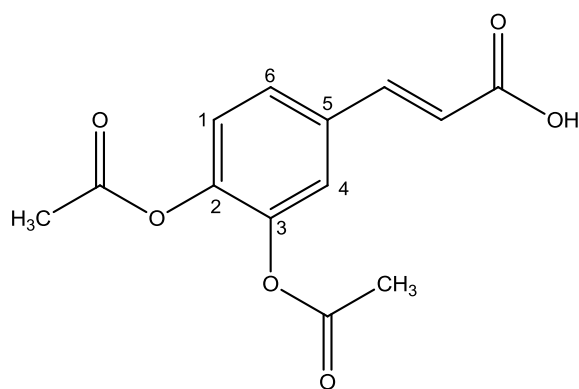
Το ακετυλιωμένο p-κουμαρικό οξύ παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο. Σε σφαιρική φιάλη των 25ml προστίθενται 2.44 mmole (400mg) p-κουμαρικού οξέος (**5a**), 4.87 mmole (0.46ml) οξικού ανυδρίτη και 4.9ml πυριδίνης. Η πορεία της

αντίδρασης παρακολουθείται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) σε σύστημα διαλυτών DCM μεθανόλης σε αναλογία 9 προς 1.

Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 76% και το σημείο τήξης είναι στην περιοχή 185-188° C

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO) δ (ppm) 12.346(s, 1H, , 4-CH=CH-COOH), 7.737 (d, J=8.4Hz, 2 H, H-2& 6), 7.579 (d, J=8.4Hz, 1H, 4-CH=CH-COOH), 7.164 (d, J=8,4Hz, 2H, H-3& 5), 6.500(d, 1H, J=15,9 Hz, 4-CH=CH-COOH), 2.291(s, 3H, 1-OCOCH₃).

5.2)(E) -3- (3,4- διακετυλοφενυλ) ακριλικό οξύ(6b)



Chemical Formula: $C_{13}H_{12}O_6$
Molecular Weight: 264,23

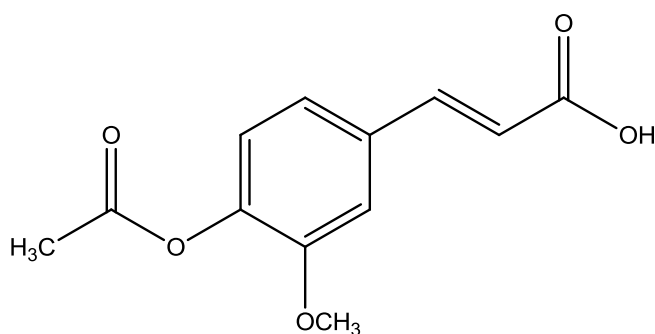
Το ακετυλιωμένο καφεϊκό οξύ παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο. Σε σφαιρική φιάλη των 25ml τοποθετούνται 4.44 mmole (800mg) καφεϊκού οξέως (**5b**), 17.76 mmole(1.68ml) οξικού ανυδρίτη και 8.88ml πυριδίνης. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας

(TLC) σε σύστημα διαλυτών DCM μεθανόλης σε αναλογία 9 προς 1.

Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 54% και το σημείο τήξεως 167-170° C

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO) δ (ppm) 12.422(s, 1H, 4-CH=CH-COOH) 7.639 (d, J= 3Hz, 1 H, H-6), 7.603 (s, 1H, H-3), 7.559 (d, J= 15.9Hz, 1H, 4-CH=CH-COOH), 7,300(d, 1H, J=8.1 Hz,), 6.525(d, 1H, J=15.9 Hz, 4-CH=CH-COOH), 3.338(s, 3H), 2.303(d, 3H, J=2.1 Hz,).

5.3)(E) -3- (4- ακετυλο -3- μεθοξυφαινυλ) ακριλικό οξύ(6c)



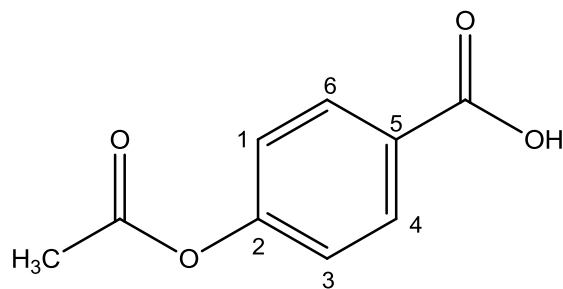
Chemical Formula: $C_{12}H_{12}O_5$
Molecular Weight: 236,22

Το ακετυλιωμένο φερουλικό οξύ παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο. Σε σφαιρική φιάλη των 25ml τοποθετούνται 2.58 mmole (500mg) φερουλικού οξέως (**5c**), 5.25 mmole(0.49ml) οξικού ανυδρίτη και 5.15ml πυριδίνης. Η πορεία της

αντίδρασης παρακολουθείται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) σε σύστημα διαλυτών DCM μεθανόλης σε αναλογία 9 προς 1.

Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 99% και το σημείο τήξης είναι στην περιοχή 195-196° C

5.4) 4-ακετοξυ-βενζοϊκό οξύ (8a)



Chemical Formula: C₉H₈O₄

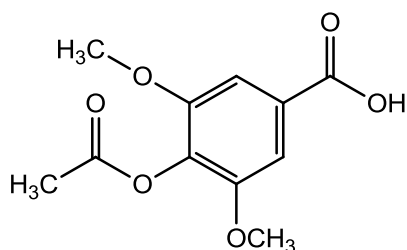
Molecular Weight: 180,16

Το ακετυλιωμένο p-υδροξύ-βενζοϊκό οξύ παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο. Σε σφαιρική φιάλη των 25ml προστίθενται 2.90 mmole (400mg) p-υδροξύ-βενζοϊκού οξέος (**7a**), 5.79 mmole (0.55ml) οξικού ανυδρίτη και 5.8ml πυριδίνης. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) σε σύστημα διαλυτών πετρελαϊκού αιθέρα και ακετοξικού αιθέρα σε αναλογία 6 προς 4.

Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 95%

¹HNMR (300 MHz, DMSO) δ(ppm) 12.992(s, 1H, 5- COOH), 7.970 (d, J=8.7Hz, 2H, H-1& 3), 7.245(d, J=8.7Hz, 2H, H-4& 6), 2.309(s, 3H, 2-OCOCH₃).

5.5) 4-ακετόξυ-3,5-διμεθυλ-βενζοϊκό οξύ(8b)



Chemical Formula: C₁₁H₁₂O₆

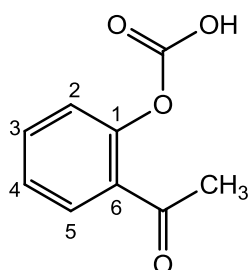
Molecular Weight: 240,21

Το ακετυλιωμένο συριγγικό οξύ παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο. Σε σφαιρική φιάλη των 25ml προστίθενται 2.02 mmole (400mg) συριγγικού οξέος (**7b**), 4.04 mmole(0.38ml) οξικού ανυδρίτη και 4.04ml πυριδίνης. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) σε σύστημα διαλυτών πετρελαϊκού αιθέρα και ακετοξικού αιθέρα σε αναλογία 6 προς 4.

Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 69% και το σημείο τήξης είναι 177-180° C

5.6) Ακετυλο-σαλικυλικό άλας(8c)

Για την ακυλίωση του σαλικυλικού οξέος ακολουθήθηκε η ακόλουθη μέθοδος:



Chemical Formula: $C_9H_8O_4$

Molecular Weight: 180,16

σε αναλογία 6 προς 4.

Το διάλυμα, λόγω της παρουσίας του καταλύτη, γίνεται διαυγές και μετά τη θέρμανση ακολουθεί προσθήκη σε αυτό 4 σταγονών απιονισμένου νερού. Έπειτα στο μίγμα προστίθενται ακόμη 3.3ml απιονισμένου νερού και ψύχεται σε παγόλουτρο. Ακολουθεί καταβύθιση κρυστάλλων ακετυλοσαλικυλικού οξέος, η οποία υποβοηθείται τρίβοντας τα τοιχώματα της φιάλης με μία γυάλινη ράβδο. Το στερεό προϊόν διηθείται και οι κρύσταλλοι εκπλένονται με μικρή ποσότητα νερού.

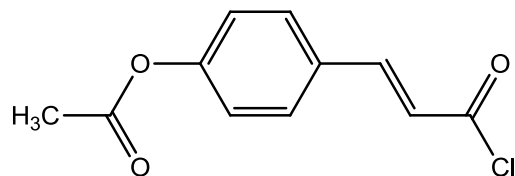
Η απόδοση της αντίδρασης είναι 100%.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO) δ (ppm) 13.028(s, 1 ^1H , 1- COOH), 7.911 (dd, $J=7.8\text{Hz}$, $j=1.8\text{Hz}$, 1 ^1H , H-2), 7.621(dt, $J=9\text{Hz}$, $j=1.5\text{Hz}$, 1 ^1H , H4), 7.361(dt, $J=8.7\text{Hz}$, $j=1.5\text{Hz}$, 1 ^1H , H-3), 7.181(dd, $J=7.8\text{Hz}$, $j=0.6\text{Hz}$, 1 ^1H , H-3), 2.260(s, 3H, 6-OCOCH₃).

6) Γενική μέθοδος σύνθεσης χλωριδίων των ακετυλιωμένων φαινολικών οξέων(9a)-(9h)

Σε σφαιρική φιάλη προστίθενται 1eq του κατάλληλου ακετυλο-φαινολοξικού οξέος με ορισμένη ποσότητα τολουολίου και 4eq θειονυλοχλωριδίου. Το μίγμα αναδεύεται στους 80-90° C για 45min και μετά το πέρας της αντίδρασης πραγματοποιείται συμπύκνωση της περίσσειας του θειονυλοχλωριδίου υπό ελαττωμένη πίεση. Τα παραγόμενα χλωρίδια χρησιμοποιούνται χωρίς καθαρισμό, άμεσα στα περαιτέρω στάδια.

6.1) (E) -4- (3- Χλωρο-οξοπροπ -1- εν-υλ) φενυλκικό οξικό άλας (9a)



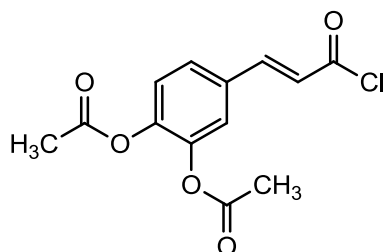
Chemical Formula: C₁₁H₉ClO₃

Molecular Weight: 224,64

Η παρασκευή της ένωσης **9a** πραγματοποιείται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Σε προζυγισμένη σφαιρική φιάλη προστίθενται 1.481mmole (305.3mg) από την ένωση **6a** σε 3.3ml τολουολίου και 0.43ml θειονυλοχλωριδίου.

Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 100%.

6.2) (E) -4 -(3- Χλωρο -3- οξοπροπ -1- εν- υλ)-1,2- διφενυλκικό διοξικό άλας (9b)



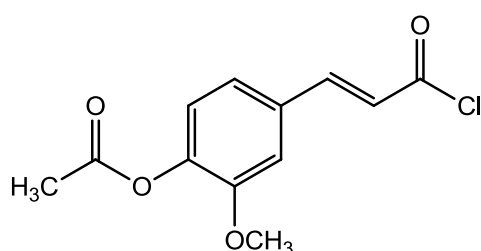
Chemical Formula: C₁₃H₁₁ClO₅

Molecular Weight: 282,68

Η παρασκευή της ένωσης **9b** πραγματοποιείται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Σε προζυγισμένη σφαιρική φιάλη προστίθενται 1.62mmole (430mg) από την ένωση **6b** σε 3.7ml τολουολίου και 0.47ml θειονυλοχλωριδίου.

Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 100%.

6.3) (E) -4- (3- Χλωρο -3- οξοπροπ -1- εν-υλ)- 2- μεθοξυφενυλκικό οξικό άλας (9c)



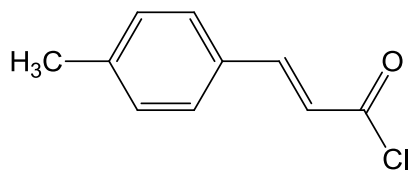
Chemical Formula: C₁₂H₁₁ClO₄

Molecular Weight: 254,67

Η παρασκευή της ένωσης **9c** πραγματοποιείται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Σε προζυγισμένη σφαιρική φιάλη προστίθενται 1.27mmole (300mg) από την ένωση **6c** σε 2.83ml τολουολίου και 0.37ml θειονυλοχλωριδίου.

Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 100%.

6.4) (E) -3 -(p-τολυλ) ακριλικό χλωρίδιο(9d)

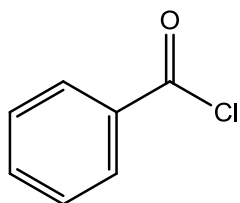


Chemical Formula: C₁₀H₉ClO
Molecular Weight: 180,63

Η παρασκευή της ένωσης **9d** πραγματοποιείται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Σε προζυγισμένη σφαιρική φιάλη προστίθενται 0.673mmole (120mg) του p-μεθοξυ-κινναμικού οξέος σε 1.5ml τολουολίου και 0.2ml θειονυλοχλωριδίου.

Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 100%.

6.5) Βενζολικό χλωρίδιο(9e)

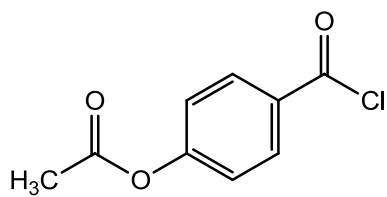


Chemical Formula: C₇H₅ClO
Molecular Weight: 140,57

Η παρασκευή της ένωσης **9e** πραγματοποιείται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Σε προζυγισμένη σφαιρική φιάλη προστίθενται 2.457mmole (300mg) βενζοϊκού οξέος σε 5.48ml τολουολίου και 0.36ml θειονυλοχλωριδίου.

Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 94%.

6.6) 4- (χλωροκαρβονυλ) φαινιλικό οξικό άλας (9f)

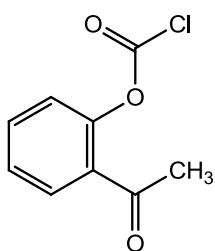


Chemical Formula: C₉H₇ClO₃
Molecular Weight: 198,60

Η παρασκευή της ένωσης **9f** πραγματοποιείται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Σε προζυγισμένη σφαιρική φιάλη προστίθενται 1.47mmole (264.0mg) από την ένωση **8a** σε 3.27ml τολουολίου και 0.43ml θειονυλοχλωριδίου.

Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 100%.

6.7) 2-ακετυλοφαινυλοκαρβοχλωρίδιο(9g)



Chemical Formula:

$C_9H_7ClO_3$

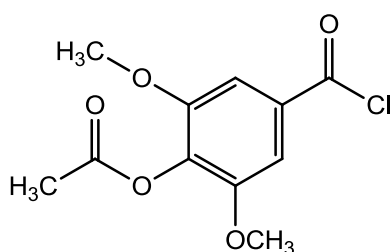
Molecular Weight:

198,60

Η παρασκευή της ένωσης **9g** πραγματοποιείται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Σε προζυγισμένη σφαιρική φιάλη προστίθενται 2.22mmole (400mg) από την ένωση **8c** σε 5ml τολουολίου και 0.65ml θειονυλοχλωριδίου.

Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 100%.

6.8) 4-(χλωροκαρβονυ)-2,6-διμεθοξυφαινυλικό άλας(9h)



Chemical Formula: $C_{11}H_{11}ClO_5$

Molecular Weight: 258,66

Η παρασκευή της ένωσης **9h** πραγματοποιείται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Σε προζυγισμένη σφαιρική φιάλη προστίθενται 1.154mmole (277.3mg) από την ένωση **8b** σε 2.6ml τολουολίου και 0.34ml θειονυλοχλωριδίου.

Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 100%.

7) Γενική μέθοδος σύνθεσης ακετυλιωμένων παραγώγων κινολινονών(10a)-(10i)

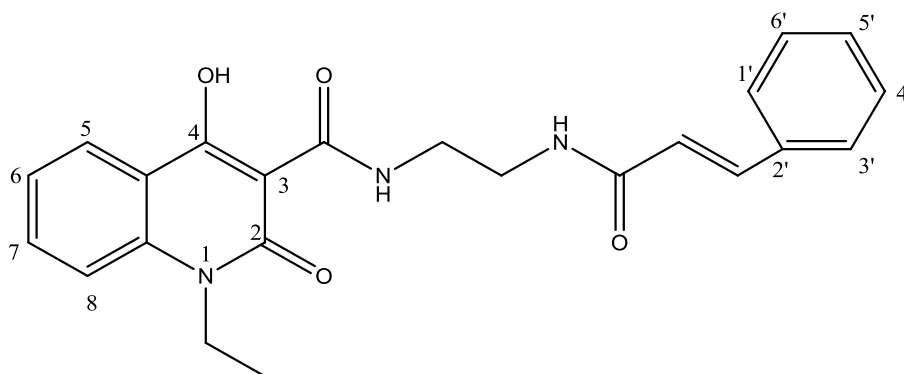
Σε σφαιρική φιάλη προστίθενται 1,5eq του κατάλληλου ακέτυλο χλωριδίου φαινολικού οξέος και 1eq του καρβοξαμιδίου (**4**), διαλυόμενα σε κατάλληλη ποσότητα τετραϋδροφουρανίου (THF). Έπειτα στο μίγμα προστίθεται κατάλληλη ποσότητα τριαιθυλαμίνης (Et_3N). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται στους $50^\circ C$, για 24 ώρες υπό αδρανείς συνθήκες.

Μετά το πέρας της αντίδρασης προστίθεται στο μίγμα κατάλληλη ποσότητα νερού. Παρατηρείται καταβύθιση στερεού, το οποίο παραλαμβάνεται ύστερα από διήθηση υπό κενό και εκπλύσεις με διαιθυλαιθέρα. Εάν δεν παρατηρηθεί σχηματισμός ιζήματος κατά την προσθήκη νερού, τότε ακολουθεί εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα ($EtOAc$), από όπου η οργανική φάση συλλέγεται και ξηραίνεται με ξηραντικό μέσο το

θεικό νάτριο (Na₂SO₄). Στη συνέχεια, ο διαλύτης εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση, οπότε προκύπτει το στερεό υπόλειμμα.

Το τελικό προϊόν παραλαμβάνεται κατόπιν κατάλληλης διεργασίας καθαρισμού.

7.1) (E)-N-(2-κινναμ-αμινοαιθυλ)-1-αιθυλ-4-υδροξύ-2-οξο-1,2-διυδροκινολιν-3-καρβοξαμίδιο(10a)



Chemical Formula: C₂₃H₂₃N₃O₄

Molecular Weight: 405,45

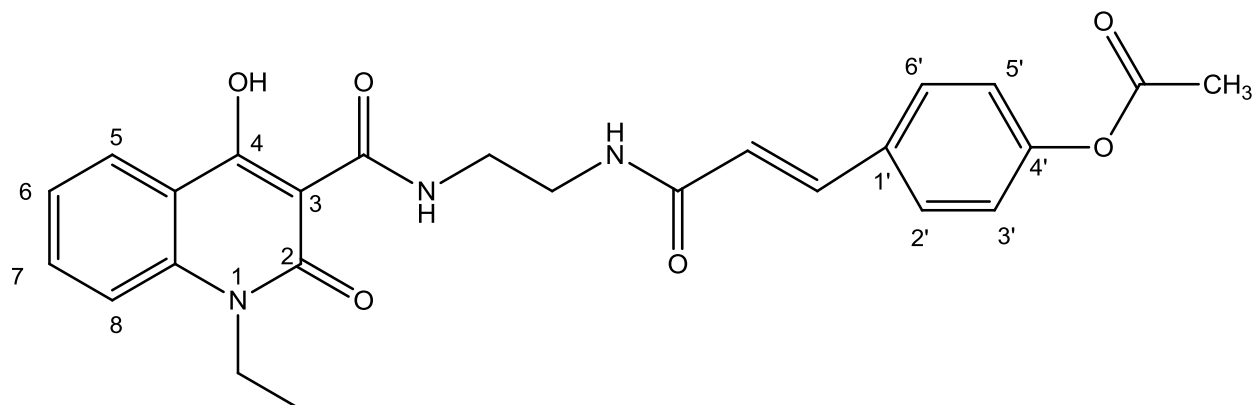
Το προϊόν (**10a**) παρασκευάζεται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο, χρησιμοποιώντας 1.09mmol (181.56mg) του χλωριδίου του κινναμικού οξέος και 0.726mmol (200mg) της ένωσης (**4**) σε 1.5ml THF. Έπειτα, στο μίγμα προστίθενται 0.1ml τριαιθυλαμίνης. Το τελικό καθαρό προϊόν παραλαμβάνεται κατόπιν διαδικασίας ανακρυστάλλωσης με μεθανόλη. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) σε σύστημα διαλυτών ακετοξικού αιθέρα και πετρελαϊκού αιθέρα σε αναλογία 6 προς 4.

Η απόδοσή της είναι 100% και ένα ενδεικτικό σημείο τήξης είναι 157.8-162.3° C

¹HNMR (300 MHz, DMSO) δ(ppm) 17.26 (s, 1H, 4-OH), 10.405(s, 1H, 3 CONHCH₂CH₂NHCO), 8.318(s, 1H, 3 CONHCH₂CH₂NHCO), 8.086(d, J=8.1Hz, 1H, H-5), 7.786 (t, J=8.1Hz, 1 H, H- 7), 7.642 (d, J=8.4Hz, 1H, H-8), 7.546(d, J=6.3Hz, 2H), 7.450-7.326(m, 5H), 6.619(d, J=15.6Hz, 1 H, H-3 CONHCH₂CH₂NHCOCH), 4.546 (q, J=5.85Hz, 2H3 CONHCH₂CH₂NHCO), 3.430(q, J=5.7Hz, 2H, 3 CONHCH₂CH₂NHCO), 4.292(q, J=6.9, 2H, -CH₂CH₃), 1.227(t, J=6.9Hz, 3H, -CH₂CH₃).

MS m/z 407 (30%) [M+2]⁺, m/z 430 (25%) [M+2+Na]⁺

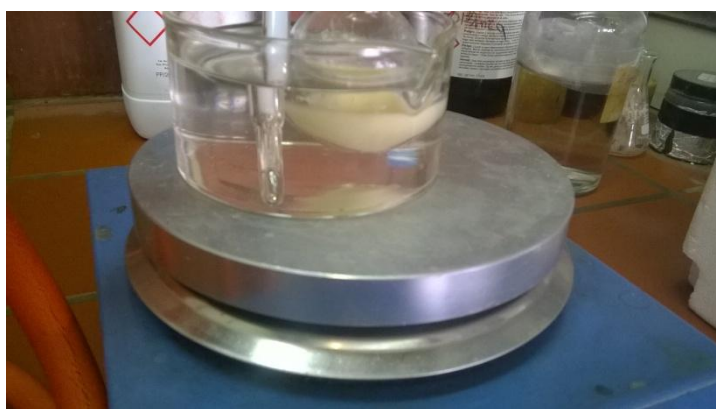
7.2) (E)-4-(3-((2-(1-αιθυλο-4-υδροξυ-2-οξο-1,2-διυδροκινολιν-3-καρβοξαμίδιο)αιθυλ)αμινο)-3-οξοπροπ-1-2ν-1υλ)φαινιλικό οξικό άλας (10b)



Chemical Formula: $C_{25}H_{25}N_3O_6$

Molecular Weight: 463,48

Το προϊόν (**10b**) παρασκευάζεται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο, χρησιμοποιώντας 1.487mmol (334.1mg) του χλωριδίου του p-κουμαρικού (**9a**) οξέος και 0.992 mmol (272.96mg) της ένωσης (**4**) σε 4.96ml THF. Έπειτα, στο μίγμα προστίθενται 0.45ml τριεθυλαμίνης. Το τελικό καθαρό προϊόν παραλαμβάνεται κατόπιν διεργασίας ανακρυστάλλωσης με εξάνιο και μεθανόλη. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) σε σύστημα διαλυτών ακετοξικού αιθέρα και πετρελαϊκού αιθέρα σε αναλογία 9 προς 1.



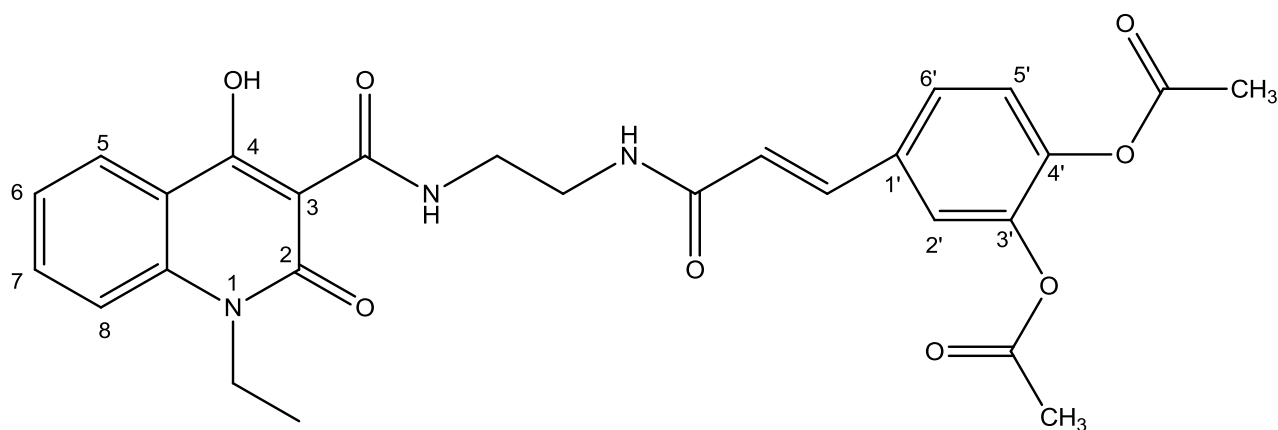
Εικόνα 14- Αντίδραση Για παραγωγή προϊόντος (**10b**)

Η απόδοσή της είναι 53% και ένα ενδεικτικό σημείο τήξης είναι 134.5-151.9° C.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO) δ (ppm), 17.277 (s, 1H, 4-OH), 10.408(s, 1H, 3-CONHCH₂CH₂NHCO-), 8.318(t, 1H, J=7.2 Hz, 3- CONHCH₂CH₂NHCO-), 8.094 (d, J= 6.9 Hz, 1H), 7.790 (t, J= 6.9Hz, 1H), 7.689- 7.547 (m, 3H), 7.426 (d, J=15.3, 1H, 3-

CONHCH₂CH₂NHCOCH=CH-), 7.355(t, J= 7.5Hz, 1H), 7.157(d, J=8.4Hz, 1 H), 6.587(d, J=15.6 Hz, 1H, 3-CONHCH₂CH₂NHCOCH=CH-), 4.296 (q, J=7.2Hz, 2H, -CH₂CH₃), 3.546(q, J=6, 2H, CONHCH₂CH₂NHCO), 3.428(q, J=5.6Hz, 2H, 3 CONHCH₂CH₂NHCO), 2.288(s, 3H, 4'-OCOCH₃) 1.248(m, 4H, -CH₂CH₃).

7.3)(E) -4-(3-((2- (1- αιθυλ -4- υδροξύ -2- οξο -1,2- διυδροξυκινολιν -3- καρβοξαμido) αιθυλ) αμινο)-3- οξοπροπ- 1- εν- 1- υλ)-1,2- φαινυλεν διακετοξικό άλας(10c)



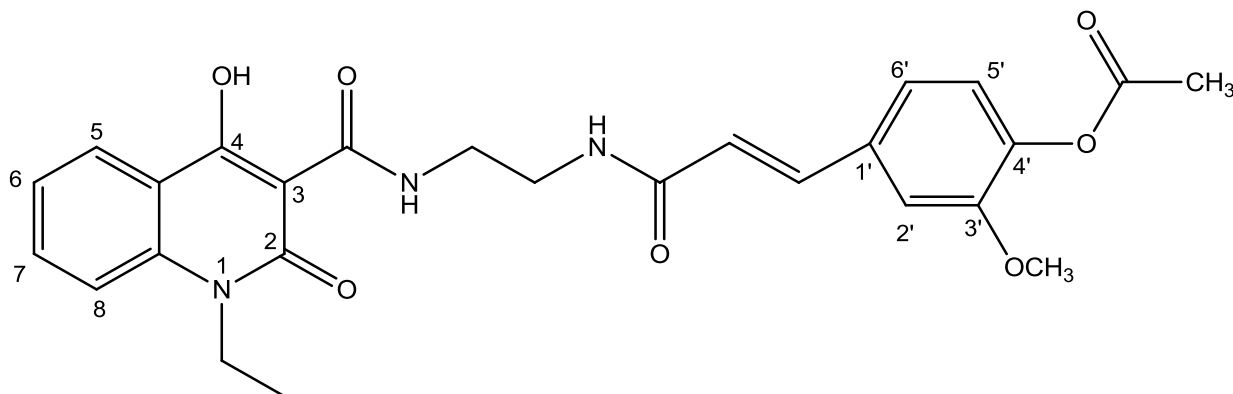
Chemical Formula: C₂₇H₂₇N₃O₈

Molecular Weight: 521,52

Το προϊόν (**10c**) παρασκευάζεται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο, χρησιμοποιώντας 1.626mmol (459.7mg) του χλωριδίου του καφεϊκού οξέος (**9b**) και 1.084 mmol (298.4 mg) της ένωσης (**4**) σε 5.42ml THF. Έπειτα, στο μίγμα προστίθενται 0.49ml τριεθυλαμίνης. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) σε σύστημα διαλυτών ακετοξικού αιθέρα και πετρελαϊκού αιθέρα σε αναλογία 9 προς 1.

Η απόδοσή της αντίδρασης είναι 77%

7.4)(E)- 4- (3- ((2- (1- αιθυλ -4- υδροξύν -2- οξύ -1,2- διυδροκινολιν -3- καρβοξαμίδο) αιθυλ) αμινο)-3- οξοπροπ- 1- εν- 1- υλ) -2- μεθοξυφαινυλ οξικό άλας (10d)



Chemical Formula: $C_{26}H_{27}N_3O_7$

Molecular Weight: 493,51

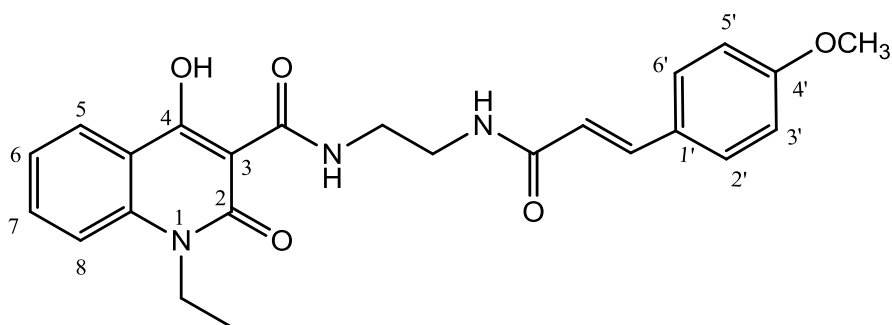
Το προϊόν (**10d**) παρασκευάζεται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο, χρησιμοποιώντας 1.259mmol (320.9mg) του χλωριδίου του φερουλικού οξέος (**9c**) και 0.840mmol (231.3 mg) της ένωσης (**4**) σε 4.20ml THF. Έπειτα, στο μίγμα προστίθενται 0.38 ml τριεθυλαμίνης. Το τελικό καθαρό προϊόν παραλαμβάνεται κατόπιν διεργασίας ανακρυστάλλωσης σε οξικό αιθυλεστέρα. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) σε σύστημα διαλυτών μεθανόλης και DCM σε αναλογία 8 προς 2.

Η απόδοσή της αντίδρασης είναι 59% και ένα ενδεικτικό σημείο τήξης είναι 114.7-121.2°C.

¹HNMR (300 MHz, DMSO) δ(ppm) 17.226 (s, 1H, 4-OH), 10.397(s, 1H, 3-CONHCH₂CH₂NHCO-), 8.304 (t, 1 H, J=4.8 Hz, 3-CONHCH₂CH₂NHCO-), 8.091 (d, J=7.2Hz, 1 H, H-5), 7.788 (t, J=6.9 Hz, 1 H, H-7), 7.646(d, 1H, J=8.4 Hz, H-8), 7.471-7.277(m, 3 H, H-6, H-5',3-CONHCH₂CH₂NHCO-CH=CH-), 7.219-7.053(m, 2H,H-2' &H-6'), 6.618(d, J=15.6 Hz, 1H, 3- CONHCH₂CH₂NHCO-), 4.296 (q, J=6.8Hz, 2H, -CH₂CH₃), 3.833(s, 3 H, 3'- OCH₃-), 3.546 (q, J=5.6 Hz, 2 H, 3- CONHCH₂CH₂NHCO-), 3.431(q, J=5.4 Hz, 2H, 3-CONHCH₂CH₂NHCO-), 2.280(d, J=5.4 Hz, 3H, 4'-OCOCH₃), 1.231 (t, J=7.2Hz, 3 H, -CH₂CH₃)

MS m/z 493 (33%) M⁺, m/z 380 (75%) [M+Na-(OCH₃+ OCOCH₃)]⁺, m/z 259 (26%) [M-NHCOCHCHC₆OCH₃OCOCH₃]⁺

7.5) (E)- 1- αιθυλ- 4- υδροξυ- N- (2- (3- (4- μεθοξυβενζαμιδο)ακρυλαμιδο) αιθυλ)- 2- οξο- 1,2- διυδροκινολιν -3- Καρβοξαμίδιο (10e)



Chemical Formula: C₂₄H₂₅N₃O₅

Molecular Weight: 435,47

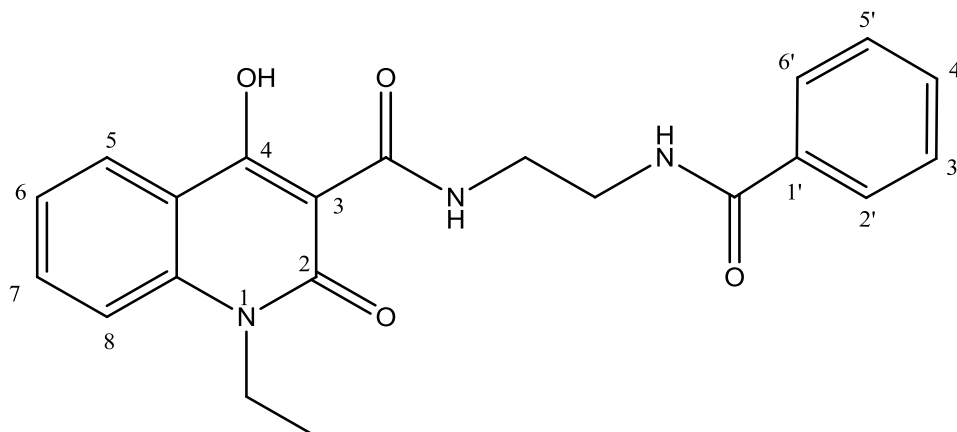
Το προϊόν (**10e**) παρασκευάζεται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο, χρησιμοποιώντας 0.693mmol (136.2 mg) του χλωριδίου του p-μεθόξυ-κινναμιού (**9d**) οξέος και 0.460mmol (126.64mg) της ένωσης (**4**) σε 2.36ml THF. Έπειτα, στο μίγμα προστίθενται 0.21ml ml τριεθυλαμίνης. Το τελικό καθαρό προϊόν παραλαμβάνεται κατόπιν διεργασίας ανακρυστάλλωσης με μεθανόλη (MeOH). Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) σε σύστημα διαλυτών μεθανόλης DCM σε αναλογία 9 προς 1.

Η απόδοσή της αντίδρασης είναι 55% και ένα ενδίκτικό σημείο τήξης είναι 153.6-155.2° C

¹HNMR (300 MHz, DMSO) δ(ppm) 17.266(s, 1H, 4-OH), 10.399(t, 1H, J=5.7Hz, 3- CONHCH₂CH₂NHCO), 8.218(t, 1H, J=5.7Hz, H-6), 8.086(d, 1H, J=7.8Hz, CONHCH₂CH₂NHCO), 7.789(t, 1H, J=7.2Hz, H-7), 7.643(d, 1H, J=8.4Hz, H-8), 7.495(d, 2H, J=8.7Hz, H-2' & H-6'), 7.413-7.309(m, 2H, H-6 και 3- CONHCH₂CH₂NHCOCHCH-), 6.956(d, 2H, J=8.7Hz, H-3' & H-5'), 6.472(d, 1H, 3- CONHCH₂CH₂NHCOCHCH-), 4.295(q, 2H, J=6.9Hz, -CH₂CH₃), 3.788(s, 3H, 4'-OCH₃), 3.538(q, 2H, J=5.9Hz, 3- CONHCH₂CH₂NHCO-), 3.419(q, 2H, J=4.4Hz, 3- CONHCH₂CH₂NHCO-), 1.231(t, 3H, J=6.9Hz, -CH₂CH₃)

MS m/z 435 (100%) M⁺

7.6) *N*- (2- βενζαμινοαιθυλ)- 1- αίθυλο- 4- υδρόξη- 2- οξο- 1,2- διυδροκινολιν- 3- Καρβοξαμίδιο (**10f**)



Chemical Formula: $C_{21}H_{21}N_3O_4$
Molecular Weight: 379,41

Το προϊόν (**10f**) παρασκευάζεται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο, χρησιμοποιώντας 1.956mmol (275mg) του χλωριδίου του βενζοϊκού οξέος (**9e**) και 1.304mmol (359.1mg) της ένωσης (**4**) σε 6.5 ml THF. Έπειτα, στο μίγμα προστίθενται 0.59 ml ml τριεθυλαμίνης. Το τελικό καθαρό προϊόν παραλαμβάνεται κατόπιν διεργασίας χρωματογραφικής στήλης (Flash) σε σύστημα διαλυτών πετρελαϊκού αιθέρα και οξικού αιθυλεστέρα σε αναλογία 4 προς 6. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) σε σύστημα διλυτών μεθανόλης και DCM σε αναλογία 8 προς 2.



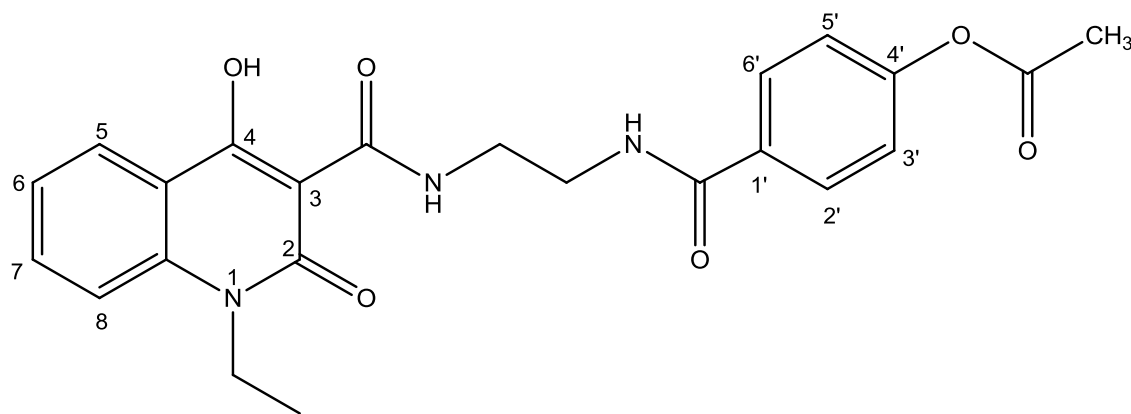
Εικόνα 15-Αντίδραση για την παραγωγή του προϊόντος (10f)

Η απόδοσή της αντίδρασης είναι 34% και ένα ενδεικτικό σημείο τήξης είναι 45.2-150.4° C

¹HNMR (300 MHz, DMSO) δ(ppm), 17.278 (s, 1H, 4-OH), 10.447 (s, 1H, 3-CONHCH₂CH₂NHCO-), 8.627 (s, 1 H, 3-CONHCH₂CH₂NHCO-), 8.088 (d, J=8.1Hz, 1 H), 7.802 (dd, J=15.3Hz, j=8.1Hz, 3 H), 7.542-7.412(m, 3 H), 7.352 (t, J=7.2Hz, 1H), 4.287 (q, J=6.3Hz, 2H, -CH₂CH₃), 3.601(t, J=5.7Hz, 2 H, 3- CONHCH₂CH₂NHCO-), 3.495 (t, J=5.4Hz, 2 H, 3- CONHCH₂CH₂NHCO-), 1.225 (t, J=6.3Hz, (3 H, -CH₂CH₃)

MS m/z 378 (100%) ιόν βάσης, 379 (43.2%) M⁺, m/z 377 (32.5%) [M-2]⁺, m/z 259 (35.0%) [M-NHCOC₆H₆]⁺

7.7) 4-((2- (1-αιθυλ)-4-υδροξυ -2- οξο-1,2- διυδροκινολιν-3-Καρβοξαμίδο) αιθυλ) carabamoyl) φαινυλικό άλας(10g)



Chemical Formula: C₂₃H₂₃N₃O₆

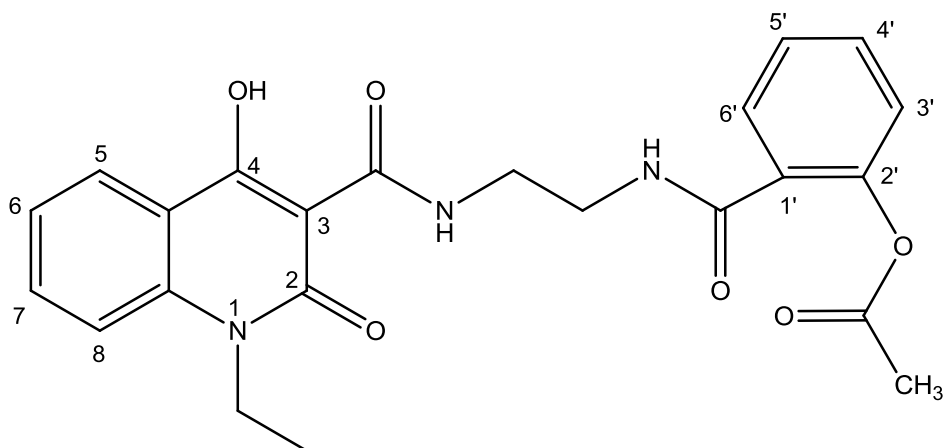
Molecular Weight: 437,45

Το προϊόν (**10g**) παρασκευάζεται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο, χρησιμοποιώντας 1.463mmol (290.6mg) του χλωριδίου του p-υδροξυ-βενζοϊκού οξέος (**9f**) και 0.975mmol (268.55 mg) της ένωσης (**4**) σε 4.88ml THF. Έπειτα, στο μίγμα προστίθενται 0.44ml ml τριεθυλαμίνης. Το τελικό καθαρό προϊόν παραλαμβάνεται κατόπιν διεργασίας ανακρυστάλλωσης σε οξικό αιθυλεστέρα. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) σε σύστημα διαλυτών μεθανόλης και DCM σε αναλογία 9 προς 1.

Η απόδοσή της αντίδρασης είναι 95% και ένα ενδεικτικό σημείο τήξης είναι 136.6-145.8°C.

¹HNMR (300 MHz, DMSO) δ(ppm) 17.280(s, 1^H, 4-OH), 10.444 (s,1H, 3-CONHCH₂CH₂NHCO-), 9.917 (s,1 H, 3-CONHCH₂CH₂NHCO-),8.654(t, J=5.4 Hz, 1H), 8.090 (d, J=7.5Hz, 1 H), 7.866 (d, J=8.7Hz, 2 H), 7.786(t, J=6.9Hz, 1 H), 7.742-7.593(m, 1H), 7.552(t, J=7.5Hz, 1H, H-2',H-6'), 7.212(d, J=8.7Hz, 2H), 4.336-4.221(m, 2H,-CH₂CH₃), 2.299(s, 3H, 4'-OCOCH₃), 1.224(t, J=6.9 Hz, 3H)

7.8) 2-((2-(1- αιθυλο-4- υδροξυ -2- οξο-1,2- διυδροκινολιν-3- Καρβοξαμίδο) αιθυλ) carabamoyl)φαινόλ οξικό άλας(10h)



Chemical Formula: C₂₃H₂₃N₃O₆

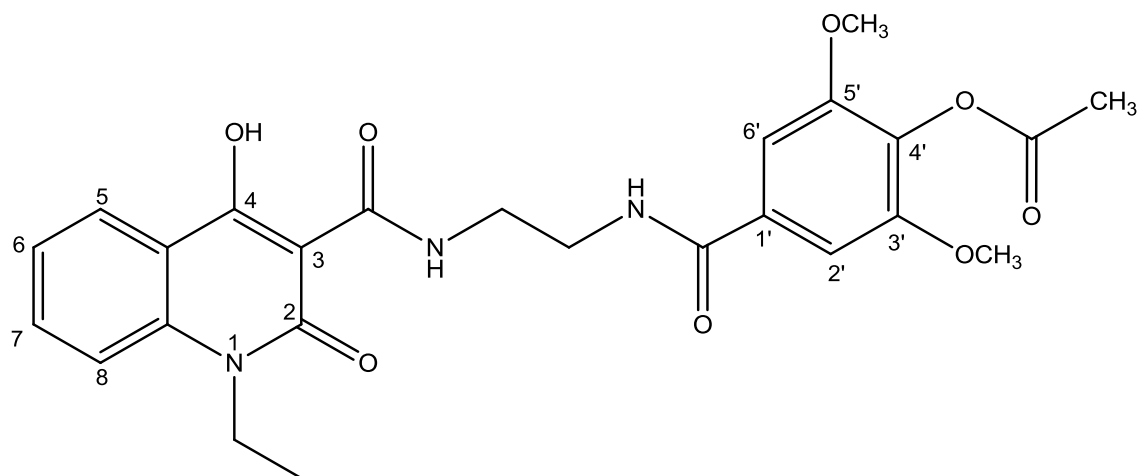
Molecular Weight: 437,45

Το προϊόν (**10h**) παρασκευάζεται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο, χρησιμοποιώντας 2.166mmol (430.2 mg) του χλωριδίου του ακετυλοσαλικυλικού οξέος (**9g**) και 1.444mmol (397.6 mg) της ένωσης (**4**) σε 7.22ml THF. Έπειτα, στο μίγμα προστίθενται 0.66ml ml τριεθυλαμίνης. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) σε σύστημα διαλυτών μεθανόλης και DCM σε αναλογία 7 προς 3.

Η απόδοσή της αντίδρασης είναι 74%

¹HNMR (300 MHz, DMSO) δ(ppm) 17.271(s, 1 ¹H, 4-OH), 10.441 (s, 1 ¹H, 3-CONHCH₂CH₂NHCO-), 8.958(s,1 ¹H, 3-CONHCH₂CH₂NHCO-),8.452(s, 1 ¹H), 8.085 (d, J=7.2Hz, 1 ¹H), 7.792 (t, J= 9.9Hz, 1 ¹H), 7.708-7.541(m, 1 ¹H), 7.490(t, J=6.3Hz, 1 ¹H), 7.363(d, J=8.4Hz, 1 ¹H), 7.154(d, J=8.1Hz, 1 ¹H), 6.879(d, J= 6.9Hz, 1 ¹H), 4.290(t, J=6, 2 ¹H,-CH₂CH₃), 3.685-3.392(m,4 ¹H), 2.191(s, 1 ¹H), 1.220(t, J=4.8 Hz, 3 ¹H,-CH₂CH₃)

7.9) 4- ((2-(1-αιθυλο-4-υδροξυ-2-οξο-1,2-διδροκινολιν-3-καρβοξαμίδο)αιθυλ)carabomoyl)-2,6-διμεθοξυφαινιλ οξικό άλας (10i)



Chemical Formula: $C_{25}H_{27}N_3O_8$

Molecular Weight: 497,50

Το προϊόν **(10i)** παρασκευάζεται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο, χρησιμοποιώντας 1.180mmol (305.3mg) του χλωριδίου του συριγγικού οξέος **(9h)** και 2.787mmol (216.6mg) της ένωσης **(4)** σε 3.96ml THF. Έπειτα, στο μίγμα προστίθενται 0.36ml ml τριεθυλαμίνης. Το τελικό καθαρό προϊόν παραλαμβάνεται κατόπιν διεργασίας χρωματογραφικής στήλης (Flash) σε σύστημα διαλυτών πετρελαϊκού αιθέρα και οξικού αιθυλεστέρα σε αναλογία 3 προς 7. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) σε σύστημα μεθανόλης και DCM σε αναλογία 6 προς 4.



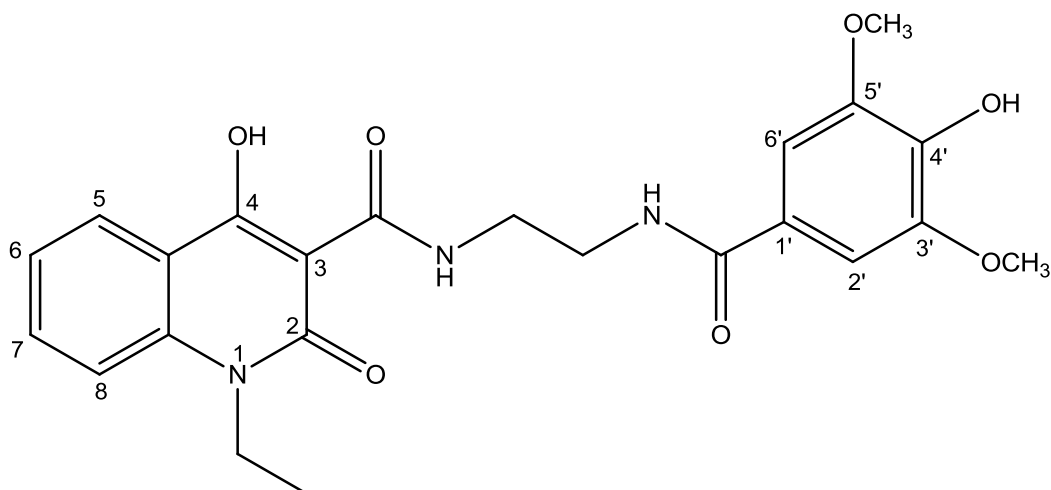
Εικόνα 16- Τελική ένωση **(10i)**

Η απόδοσή της αντίδρασης είναι 81% και ένα ενδεικτικό σημείο τήξης είναι 192.6-194.3° C

¹HNMR (300 MHz, DMSO) δ(ppm) 17.262 (s, 1 ¹H, 4-OH), 10.465 (s, 1 ¹H, 3-CONHCH₂CH₂NHCO-), 8.680 (s, 1 ¹H, 3-CONHCH₂CH₂NHCO-), 8.092 (d, J=8.1Hz, 1 ¹H, H-5), 7.789 (t, J=7.2Hz, 1 ¹H, H-7), 7.647(d, J=8.7 Hz, 1 ¹H, H-8), 7.356 (t, J=7.2Hz, 1 ¹H, H-6), 7.196(s, 2 ¹H, H-2',H-6'), 4.292(q, J=7.05Hz, 2 ¹H, -CH₂CH₃), 3.620(q, J=5.4Hz, 2 ¹H, 3- CONHCH₂CH₂NHCO-), 3.509(q, J=5.4Hz, 2 ¹H, 3- CONHCH₂CH₂NHCO-), 2.276(s, 3 ¹H, 3'-OCOCH₃), 1.341-1,163(m, 8 ¹H)

MS m/z 497 (100%) M⁺, m/z 435 (43.1%) [M -(2x-OCH₃)]⁺

8) 1-αιθυλ-4-υδροξυ-N-(2- (4- υδροξυ-3,5- διμεθοξυβενζαμιδιο) αιθυλ)-2-οξο- 1,2- διυδροκινολιν -3- Καρβοξαμίδο (11a)



Chemical Formula: C₂₃H₂₅N₃O₇

Molecular Weight: 455,46

Για την πραγματοποίηση της απακετυλίωσης της ένωσης (**10i**) ακολουθείται η παρακάτω μέθοδος. Ένα ισοδύναμο από την ακετυλιωμένη ένωση (**10i**) αντιδρά με 5eq μονοένυδρης υδραζίνης NH₂NH₂.H₂O, παρουσία διαλύτη μεθανόλη. Σύμφωνα με αυτές τις αναλογίες σε 1.6ml μεθανόλης διαλύονται 0.1mmol (50 mg) του (**10i**) και εν συνεχεία προστίθενται 0.5mmol (0.025ml) μονοένυδρης υδραζίνης. Η αντίδραση λαμβάνει χώρα για 1,5 με 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) σε σύστημα διαλυτων οξικού αιθυλεστέρα και πετρελαϊκού αιθέρα σε αναλογία 8 προς 2.

Μετά το πέρας της αντίδρασης στο διάλυμα προστίθεται νερό και εν συνεχεία πραγματοποιείται εκχύλιση με διαλύτη οξικό αιθυλεστέρα (EtOAc). Το διάλυμα συμπυκνώνεται και λαμβάνεται το τελικό ξηρό στερεό.

Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 60% και ένα ενδεικτικό σημείο τήξης είναι 166.8-174.9 °C.

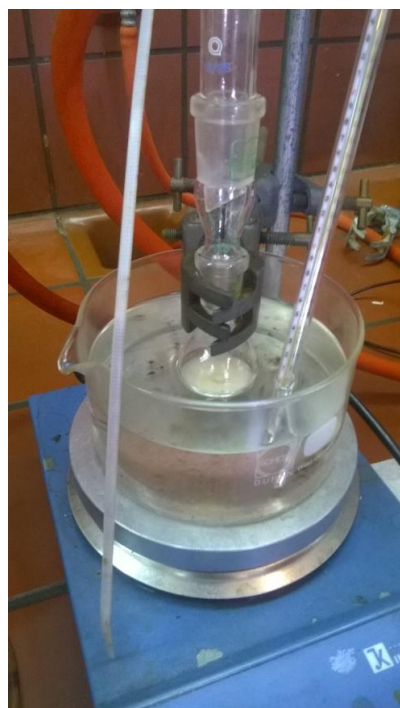
¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ(ppm) 17.287(s, 1 ¹H, 4-OH), 10.453(d, 1 ¹H, J=5,7Hz, 4'-OH), 8.875(s, 1 ¹H, 3-CONHCH₂CH₂NHCO), 8.682(t, 1 ¹H, J=6.6 Hz, 3-CONHCH₂CH₂NHCO), 8.454(t, 1 ¹H, J=4.5 Hz), 8.086(d, J= 6.9 Hz, 1 ¹H, H-5), 7.7889(t, 1 ¹H, J=8.1 Hz, H-7), 7.644(d, 1 ¹H, J=8.4Hz, H-8), 7.353(t, J=7.5 Hz, 1 ¹H, H-6), 7.174(d, 2 ¹H, J=12 Hz, H-2' & H-6'), 4.2875(q, J=7.2 Hz, 2 ¹H, -CH₂CH₃), 3.809(s, 3 ¹H 3,595(q, J= 6Hz, 2 ¹H, 3- CONHCH₂CH₂NHCOCHCH-), 3.505(q, J= 5.25Hz, 2 ¹H, 3-NHCH₂CH₂NHCO-), 1.223(t, 3 ¹H, J=6.9Hz, -CH₂CH₃)

MS m/z 497.9 (100%), m/z 455 (44.5%) M⁺, m/z 259 (6.8%)

9) Περιγραφή Μεθόδων καθαρισμού

9.1) Ανακρυστάλλωση

Για να πραγματοποιηθεί ο καθαρισμός μιας ένωσης με την μέθοδο της ανακρυστάλλωσης ακολουθείται η παρακάτω διαδικασία:



Σε σφαιρική φιάλη τοποθετείται το προς καθαρισμό στερεό και σε αυτή προστίθεται συγκεκριμένη ποσότητα από κάποιον πολικό ή άπολο διαλύτη, που στις ανακρυσταλλώσεις που έγιναν ήταν είτε μεθανόλη, είτε συνδυασμός μεθανόλης και εξανίου. Έπειτα το μίγμα αφήνεται σε στο σημείο βρασμού του εκάστοτε διαλύτη μέχρι να διαλυθεί η ουσία, και έπειτα τοποθετείτε στο ψυγείο μέχρι καταβύθισης στερεού. Ο διαλύτης ο οποίος προστίθεται και στον οποίο διαλύεται η ουσία, δεσμεύει τις ακαθαρσίες που υπάρχουν σε αυτή και κατά της ψύξης αφήνει να καταβυθιστεί το πλέον καθαρό προϊόν. Κάποιες

φορές οι άπολοι διαλύτες μπορεί να μην διαλύσουν πλήρως την ένωση όμως με αυτή την διαδικασία μπορούν και δεσμεύουν τις άπολες ακαθαρσίες που περιέχει.

9.2) Καθαρισμός με χρωματογραφική στήλη Flash

Ο καθαρισμός μιας ένωσης με χρωματογραφική στήλη Flash βασίζεται στον διαφορετικό χρόνο που θέλει κάθε ουσία για να περάσει από το πληρωτικό υλικό της στήλης. Στην συγκεκριμένη χρωματογραφική μέθοδο το πληρωτικό υλικό είναι σίλικα η οποία είναι διαλυμένη σε συγκεκριμένο σύστημα διαλυτών, το οποίο



χρησιμοποιείται και για τον καθαρισμό της ένωσης. Το σύστημα διαλυτών που επιλέγεται κάθε φορά εξαρτάται από την πολικότητα της προς καθαρισμό ουσίας και από την απορρόφησή της στο UV. Αφού επιλεγεί το κατάλληλο σύστημα, η ένωση διαλύεται σε αυτό και φορτώνεται στη στήλη. Αν το σύστημα δεν διαλύσει την ουσία ακολουθείτε μια διαδικασία που λέγεται dry packing, κατά την οποία η ουσία διαλύεται πρώτα σε μεθανόλη, έπειτα στο διάλυμα αυτό προστίθεται σίλικα και το σύστημα εξατμίζεται υπό ελατούμενη πίεση. Κατά τη διαδικασία αυτή, η σίλικα δεσμεύει την ουσία, διαλύεται στο σύστημα και μεταφέρεται στην στήλη. Για την παραλαβή της καθαρής ουσίας

από την στήλη, γίνονται εκπλήσεις της σίλικας που περιέχει πλέον και την ουσία με το σύστημα διαλυτών. Το υγρό που εξέρχεται από την στήλη συλλέγεται σε προζυγισμένη σφαιρική και οδηγείται σε εξάτμιση. Η πορεία του καθαρισμού ελέγχεται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) στο ίδιο σύστημα διαλυτών.

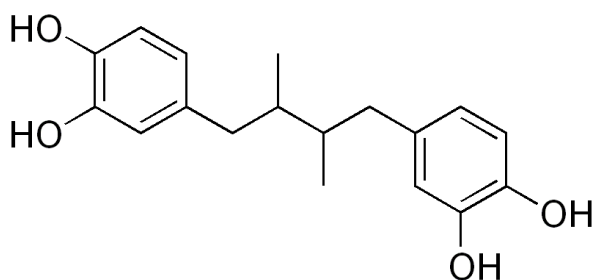
10) Προσδιορισμός την ικανότητας αναστολής του ενζύμου λιποξυγονάσης από σόγια

Οι υπό εξέταση ουσίες διαλύονται σε DMSO και αφήνονται να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου με λινολεϊκό 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 sodium λινολεϊκού νατρίου σε 13-υδροπεροξυλινολεϊκό οξύ στα 234 nm καταγράφεται και συγκρίνεται με το κατάλληλο πρότυπο αναστολέα. ^[67]

11) Προσδιορισμός της ικανότητας δεσμεύσης της σταθερής ελευθερης ρίζας 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. ^[67]

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



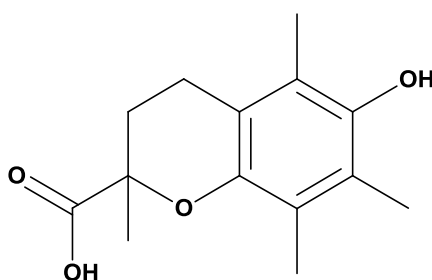
Σχήμα 33-Χημική δομή NDGA

12)Υπολογισμος της αναστολης της λιπιδικης υπεροξειδωσης (AAPH).

Η αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης από τις ενώσεις που παρασκευάστηκαν υπολογίζεται από την οξείδωση 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. ^[68]

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 0 C. Η αντίδραση οξείδωσης ξεκινά στους 37 0 C υπό ατμοσφαιρική πίεση με την προσθήκη 50 µL του διαλύματος AAPH των 40 mM. Η οξείδωση πραγματοποιείται παρουσία δόσεων 10 µL της υπό εξέταση ένωσης. Στην δοκιμασία χωρίς προσθήκη του αντιοξειδωτικού, η λιπιδική οξείδωση μετράται με την παρουσία ίδιας ποσότητας DMSO. Ο ρυθμός οξείδωσης στους 37 0C παρακολουθείται καταγράφοντας την αύξηση της απορρόφησης στα 234 nm που προκαλείται από τα συζευγμένα διενικά υδροϋπεροξειδία.

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 ικανό αντιοξειδωτικό ανάλογο της βιταμίνης E.



Σχήμα 34- Χημική δομή Trolox

Κεφάλαιο4: Ταυτοποίηση ενώσεων, Συζήτηση αποτελεσμάτων και Συμπεράσματα

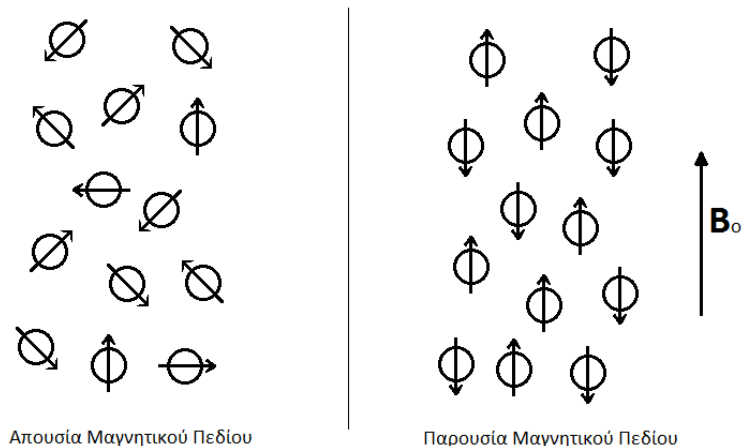
4.1) Ταυτοποίηση Ενώσεων

4.1.1) Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)

Η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) βασίζεται στις διεγέρσεις πυρήνων που βρίσκονται σε ισχυρό μαγνητικό πεδίο οι οποίες προκαλούνται από ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία στην περιοχή ραδιοσυχνοτήτων. Αποτελεί μια μορφή φασματομετρίας απορρόφησης, όπου το δείγμα που βρίσκεται σε ισχυρό μαγνητικό πεδίο απορροφά ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία στην περιοχή των ραδιοκυμάτων (4-900 MHz), με συνέπεια τη μετάβαση των προσανατολισμένων πυρήνων από κατάσταση χαμηλότερης ενέργειας σε υψηλότερης με αναστροφή του spin. Η συχνότητα της ακτινοβολίας απορρόφησης είναι χαρακτηριστική για κάθε πυρήνα με αποτέλεσμα η μέθοδος NMR να χρησιμοποιείται για την αποτελεσματική ταυτοποίηση διαφόρων ουσιών (και ιδιαίτερα οργανικών ενώσεων), για τον ποσοτικό προσδιορισμό τους και για το «χημικό περιβάλλον» των πυρήνων των ατόμων στα μόρια των ενώσεων. Βέβαια, η φασματομετρία NMR είναι συμπληρωματική άλλων φασματομετρικών μεθόδων για την ταυτοποίηση δομής εξαιρετικά πολύπλοκων μορίων.

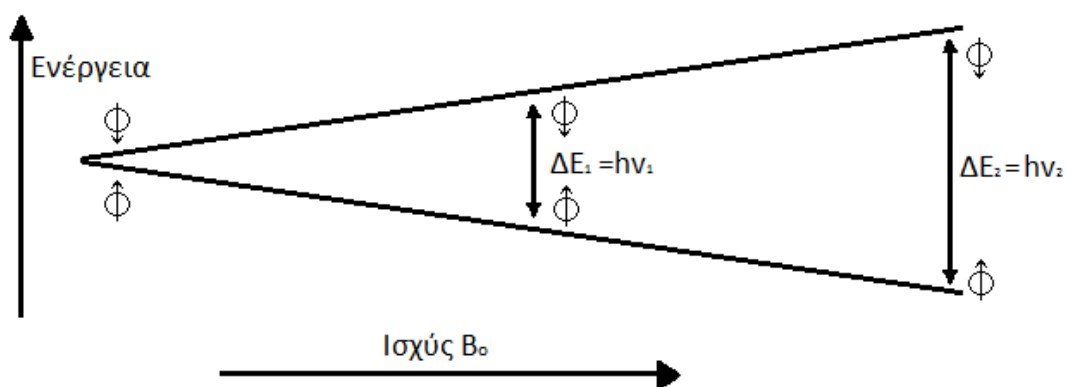
Θεωρία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού

Διάφορα είδη πυρήνων παρουσιάζουν μία περιστροφή γύρω από τον εαυτό τους, με τυχαίο προσανατολισμό, που ονομάζεται spin. Παρουσία όμως κάποιου ισχυρού μαγνητικού πεδίου, οι πυρήνες αποκτούν συγκεκριμένους προσανατολισμούς. Για ένα ορισμένο πυρήνα με κβαντικό αριθμό πυρηνικού spin I ($I=0,1/2,\dots,9/2$) υπάρχουν $2\cdot I+1$ δυνατές στάθμες ή προσανατολισμοί μέσα στο μαγνητικό πεδίο. Για πυρήνες όπως H^1 με $I=1/2$ σύμφωνα με τα παραπάνω υπάρχουν 2 δυνατοί προσανατολισμοί με διαφορετική ενέργεια: Παράλληλος προσανατολισμός (χαμηλότερη ενέργεια) και Αντιπαράλληλος προσανατολισμός (υψηλότερη ενέργεια) προς το εξωτερικό μαγνητικό πεδίο B_0 .



Εικόνα 17– Διάταξη πυρήνων απουσία-παρουσία Μαγνητικού πεδίου B_0

Αν οι προσανατολισμένοι πυρήνες ακτινοβοληθούν με κατάλληλη ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία της περιοχής των ραδιοκυμάτων, απορροφάται ενέργεια από τους χαμηλότερης ενέργειας πυρήνες (παράλληλο spin προς το B_0) οι οποίοι μεταβαίνουν στην κατάσταση υψηλότερης ενέργειας με αναστροφή του spin. Το φαινόμενο αυτό καλείται «συντονισμός» καθώς οι πυρήνες συντονίζονται με την συχνότητα της ακτινοβολίας από το εφαρμοζόμενο μαγνητικό πεδίο, η οποία εξαρτάται: α) από την ισχύ του εξωτερικού μαγνητικού πεδίου B_0 και β) από το είδος του πυρήνα. Όσο αυξάνεται το B_0 τόσο αυξάνεται η ενεργειακή διαφορά μεταξύ της παράλληλης και αντιπαράλληλης διάταξης των πυρήνων με αποτέλεσμα να απαιτείται ακτινοβολία υψηλότερης ενέργειας για την αντιστροφή του spin.



Εικόνα 18– Ενεργειακή Διαφορά ΔE μεταξύ πυρήνων με παράλληλο και αντιπαράλληλο spin σε σχέση με το B_0

Χημική Μετατόπιση-Φάσματα NMR

Στις χημικές ενώσεις οι πυρήνες των ατόμων περιβάλλονται από ηλεκτρόνια και άλλα άτομα. Ως αποτέλεσμα οι συχνότητες συντονισμού των πυρήνων του ίδιου στοιχείου μέσα σε ένα μόριο επηρεάζονται με χαρακτηριστικό τρόπο από το χημικό τους περιβάλλον, δηλαδή από την ηλεκτρονιακή πυκνότητα που τα περιβάλλει και το είδος των ατόμων με τα οποία συνδέονται. Όταν ο πυρήνας είναι συνδεδεμένος με ένα μη ηλεκτραρνητικό άτομο και ισομοιράζεται το ζεύγος ηλεκτρονίων με αυτό, ο πυρήνας ονομάζεται *προστατευμένος* και «αισθάνεται» μικρότερη ένταση μαγνητικού πεδίου από αυτή του εφαρμοζόμενου εξωτερικά μαγνητικού πεδίου. Αντίθετα, ένας αποπροστατευμένος πυρήνας, ονομάζεται ο πυρήνας αυτός που είναι συνδεδεμένος με ένα ηλεκτραρνητικό άτομο, το οποίο έλκει το ζεύγος ηλεκτρονίων προς το μέρος του.

Δεδομένου ότι η ηλεκτρονιακή κατανομή γύρω από κάθε συγκεκριμένο πυρήνα σε ένα μόριο είναι διαφορετική, ο κάθε πυρήνας προστατεύεται σε διαφορετικό βαθμό, με αποτέλεσμα το πραγματικό εφαρμοζόμενο μαγνητικό πεδίο να μην είναι το ίδιο για κάθε πυρήνα.

Ένα φάσμα NMR είναι ένα διάγραμμα των κορυφών απορρόφησης σε συνάρτηση με τη συχνότητα συντονισμού. Οι χημικά μη ισοδύναμοι πυρήνες συντονίζονται σε διαφορετικές συχνότητες και δίνουν διαφορετικά σήματα στο φάσμα NMR (χημική μετατόπιση). Δεν υπάρχει απόλυτη κλίμακα, καθώς η συχνότητα συντονισμού και η ένταση του μαγνητικού πεδίου είναι αλληλοεξαρτώμενες. Επομένως, το φάσμα παρουσιάζεται ως απορρόφηση ενέργειας, συναρτήσει σχετικής κλίμακας, της κλίμακας δ , η οποία αυξάνεται από δεξιά προς τα αριστερά και ορίζεται:

$$\delta = \frac{\nu_{\text{εξεταζόμενου πυρήνα (Hz)}}}{\nu_{\text{λειτουργίας οργάνου (MHz)}}} \cdot 10^6$$

Κατ' αυτόν τον τρόπο, οι χημικές μετατοπίσεις έχουν σε αυτή την κλίμακα την ίδια τιμή ανεξάρτητα από το μαγνητικό πεδίο ή τη συχνότητα λειτουργίας του οργάνου που χρησιμοποιείται. Οι χημικές μετατοπίσεις εκφράζονται τελικά σε μέρη στο εκατομμύριο (ppm). Ο άξονας του φάσματος που λαμβάνεται έχει τη μορφή:



Εικόνα 19- Άξονας φάσματος NMR

Κάθε πυρήνας στοιχείου εμφανίζει διαφορετική χαρακτηριστική συχνότητα συντονισμού στο NMR. Παράλληλα, στις χημικές ενώσεις, οι πυρήνες των ατόμων περιβάλλονται από ηλεκτρόνια και άλλα άτομα. Έτσι, οι συχνότητες συντονισμού των πυρήνων του ίδιου στοιχείου επηρεάζονται με χαρακτηριστικό τρόπο από το χημικό τους περιβάλλον, δηλαδή από την ηλεκτρονιακή πυκνότητα που τα περιβάλλει και το είδος των ατόμων με τα οποία συνδέονται. Οι πυρήνες προστατεύονται από την πλήρη επίδραση του εφαρμοζόμενου μαγνητικού πεδίου από τα ηλεκτρόνια που τους περιβάλλουν. Καθώς η ηλεκτρονιακή κατανομή γύρω από τον κάθε πυρήνα είναι διαφορετική ο κάθε πυρήνας προστατεύεται σε διαφορετικό βαθμό, με αποτέλεσμα οι χημικά μη ισοδύναμοι πυρήνες να συντονίζονται σε διαφορετικές συχνότητες και να δίνουν διαφορετικά σήματα στο φάσμα NMR.^{[69],[70]}

4.1.2) Ανάλυση φασμάτων των παραγόμενων ενώσεων

Η ταυτοποίηση και ο χαρακτηρισμός των νέων παραγώγων έγινε με φασματοσκοπία πρωτονίων (H^1) NMR, η οποία πραγματοποιήθηκε στο Φασματογράφο NMR Varian Gemini 300 του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών.

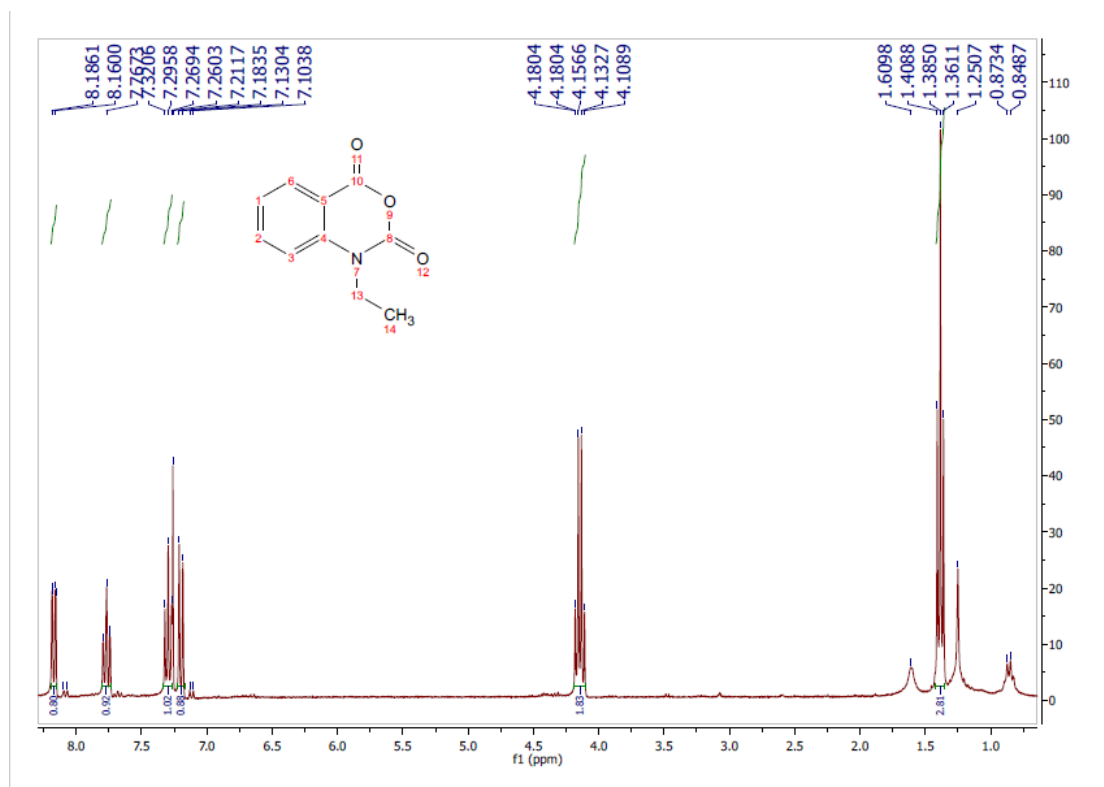
Παρακάτω παρουσιάζονται οι αναλύσεις χαρακτηριστικών φασμάτων των παραγόμενων ενώσεων:

Φάσμα ένωσης (2)

Στην εικόνα 22 παρουσιάζεται το φάσμα πρωτονίων H^1 της ένωσης (2) σε διαλύτη χλωροφόρμιο(CDCL₃), η οποία παρουσιάζει συνολικά 9 πρωτόνια.

Τα αρωματικά πρωτόνια της ένωσης εμφανίζονται στην περιοχή με εύρος χημικών μετατοπίσεων από 6,5ppm έως 8.5ppm. Συγκεκριμένα, στα πιο χαμηλά πεδία του φάσματος και στα 8.172ppm εμφανίζεται μια κορυφή διπλή-διπλών (dd) η οποία έχει $J=7.8\text{Hz}$, $j=1.2\text{Hz}$ και ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο ($1 H^1$), το οποίο αντιστοιχεί στον υδρογόνο H-5. Στη συνέχεια εμφανίζεται μια κορυφή διπλή-τριπλής (dt) στα 7.767ppm, η οποία έχει $J=8.7\text{Hz}$, $j=1.5\text{Hz}$ και ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο ($1 H^1$), το οποίο αντιστοιχεί στον υδρογόνο H-7. Έπειτα, στα 7.296ppm εμφανίζεται μια τριπλή κορυφή(t) η οποία έχει $J=7.5\text{Hz}$ και ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο ($1 H^1$), το οποίο αντιστοιχεί στο υδρογόνο H-6. Στη συνέχεια, στα 7.132ppm εμφανίζεται μια διπλή κορυφή(d) η οποία έχει $J=8.4\text{Hz}$ και ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο($1 H^1$), το οποίο αντιστοιχεί στον υδρογόνο H-8.

Τέλος, τα πιο προστατευμένα πρωτόνια είναι αυτά που αντιστοιχούν στην αιθυλο-ομάδα που είναι συνδεδεμένη στο άζωτο του δακτυλίου, και εμφανίζονται στα υψηλότερα πεδία Έτσι, στα 4.145ppm εμφανίζεται μια τετραπλή κορυφή(q) η οποία έχει $J=7.2\text{Hz}$ και ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια ($2 H^1$) τα οποία αντιστοιχούν στα υδρογόνα $-CH_2CH_3$ και στα 1.385ppm εμφανίζεται μια τριπλή κορυφή(t), η οποία έχει $J=7.14$ και ολοκληρώνεται για τρία πρωτόνια($3 H^1$) τα οποία αντιστοιχούν στα υδρογόνα $-CH_2CH_3$.



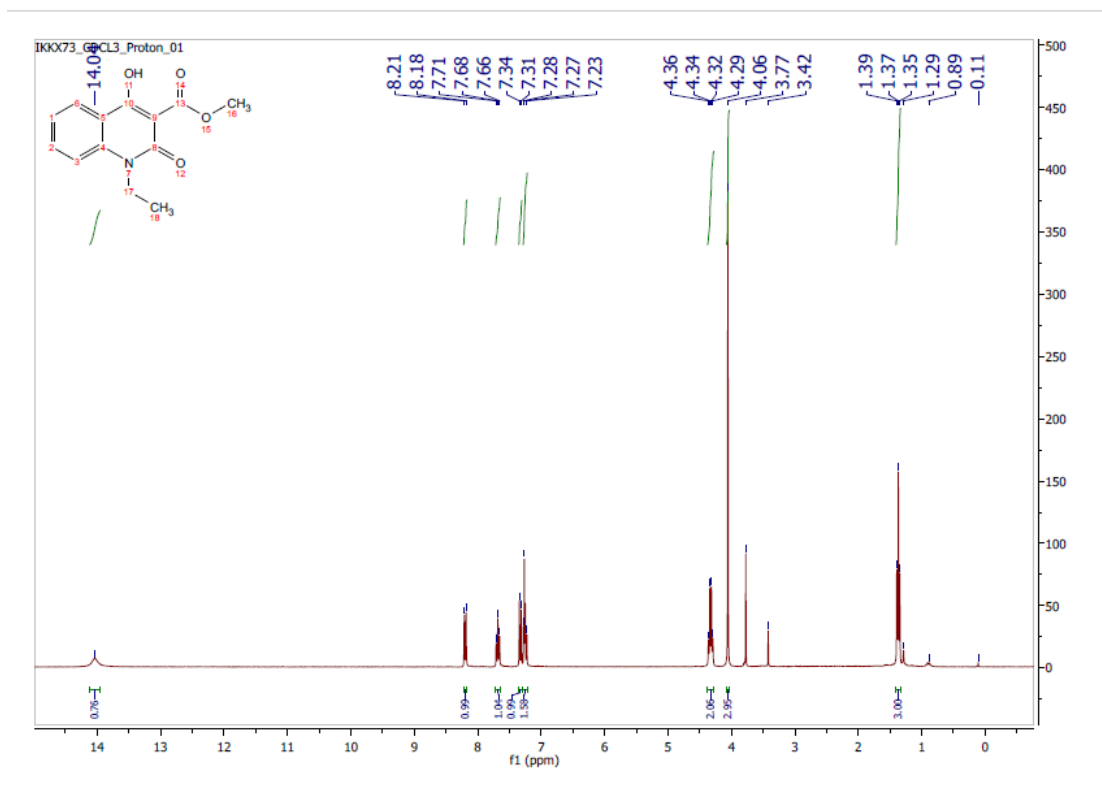
Εικόνα 20- Φάσμα απορρόφησης πρωτονίων NMR για την ένωση (2) σε διαλύτη CDCl₃

Φάσμα ένωσης (3)

Στην εικόνα 21 παρουσιάζεται το φάσμα της ένωσης (3), η οποία παρουσιάζει συνολικά 13 πρωτόνια. Οι κορυφές των πρωτονίων αυτών αναλύονται παρακάτω:

- ▲ Στα 14.035ppm εμφανίζεται μια απλή κορυφή(s) η οποία ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο (1 H¹) και αντιστοιχεί στο υδρογόνο 4-OH.
- ▲ Στα 8.198ppm εμφανίζεται μια διπλή κορυφή(d) η οποία έχει J=8.1Hz και ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο (1 H¹), το οποίο αντιστοιχεί στο υδρογόνο H-5
- ▲ Στα 7.684ppm εμφανίζεται μια τριπλή κορυφή(t) η οποία έχει J=7.2Hz και ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο (1 H¹), το οποίο αντιστοιχεί στο υδρογόνο H-7

- ▲ Στα 7.329ppm εμφανίζεται μια διπλή κορυφή(d) η οποία έχει $J=8.4\text{Hz}$ και ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο (1 H^1), το οποίο αντιστοιχεί στον υδρογόνο H-8
- ▲ Στα 7.287-7.217ppm εμφανίζεται μια multi κορυφή η οποία ολοκληρώνεται για 1 πρωτόνιο(1 H^1) και περιέχει το πρωτόνιο H-6 και την κορυφή που εμφανίζει η κορυφή του διαλύτη
- ▲ Στα 4.328ppm εμφανίζεται μια τετραπλή κορυφή(q) η οποία έχει $J=7.1\text{Hz}$ και ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια (2 H^1), τα οποία αντιστοιχούν στα υδρογόνα της αιθυλ-ομάδας που είναι συνδεδεμένη στο άζωτο του δακτυλίου $-\text{CH}_2\text{CH}_3$.
- ▲ Στα 4.057ppm εμφανίζεται μια απλή κορυφή(s) που ολοκληρώνεται για τρία πρωτόνια (3 H^1), τα οποία αντιστοιχούν στα υδρογόνα του μεθυλίου $3-\text{COOCH}_3$.
- ▲ Στα 1.365ppm εμφανίζεται μια τριπλή κορυφή(t) η οποία έχει $J=7.2\text{Hz}$ και ολοκληρώνεται για τρία πρωτόνια (3 H^1), τα οποία αντιστοιχούν στα υδρογόνα της αιθυλ-ομάδας που είναι συνδεδεμένη στο άζωτο του δακτυλίου $-\text{CH}_2\text{CH}_3$.



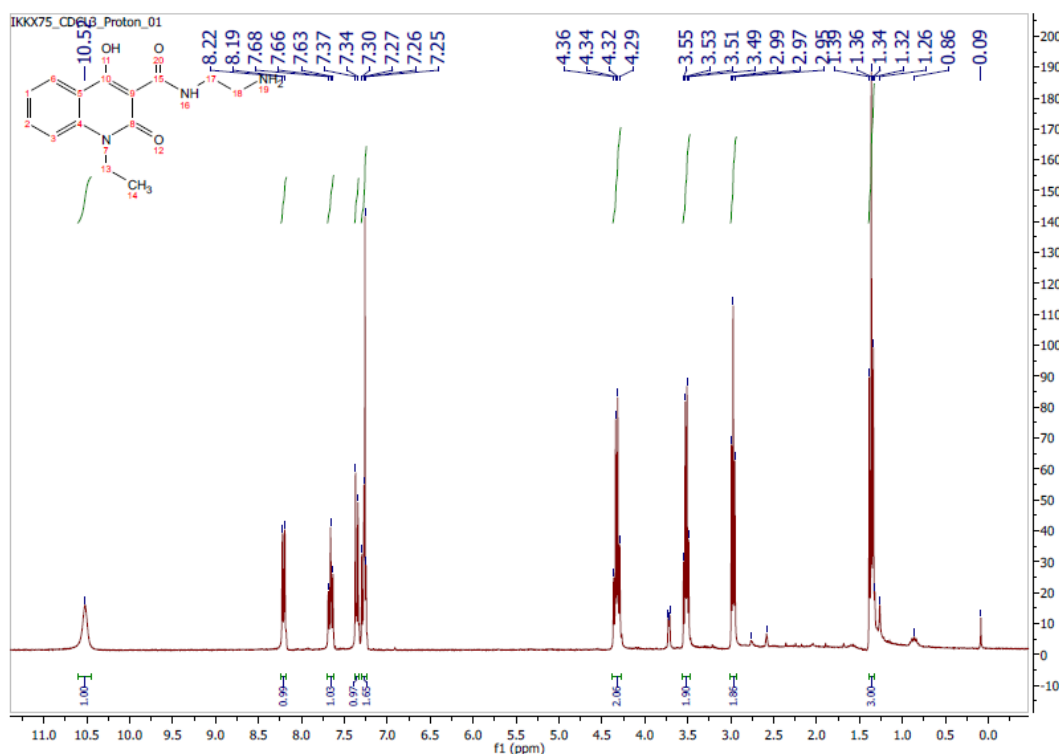
Εικόνα 21- Φάσμα απορρόφησης πρωτονίων NMR σε $CDCl_3$ της ένωσης (3)

Φάσμα ένωσης (4)

Στην Εικόνα 22 παρουσιάζεται το φάσμα της ένωσης (4), η οποία παρουσιάζει συνολικά 9 πρωτόνια τα οποία εμφανίζονται:

- ▲ Στα 10.444 ppm με απλή κορυφή(s) η οποία έχει ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο($1 H^1$) το οποίο αντιστοιχεί στο πρωτόνιο 3-CONHCH₂CH₂NH₂
- ▲ Στα 8.119ppm με διπλή κορυφή(d) η οποία έχει $J= 7.8\text{Hz}$ και ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο($1 H^1$) το οποίο αντιστοιχεί στον υδρογόνο H-5
- ▲ Στα 7.574 ppm με τριπλή κορυφή(t) η οποία έχει $J= 8.7\text{Hz}$ και ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο($1 H^1$) το οποίο αντιστοιχεί στον υδρογόνο H-7
- ▲ Στα 7.355ppm με διπλή κορυφή(d) η οποία έχει $J= 8.4\text{Hz}$ και ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο($1 H^1$) το οποίο αντιστοιχεί στον υδρογόνο H-8
- ▲ Στα 7.271ppm με τριπλή κορυφή(t) η οποία έχει $J= 7.5\text{Hz}$ και ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο($1 H^1$) το οποίο αντιστοιχεί στον υδρογόνο H-6

- ▲ Στα 4.241ppm με τετραπλή κορυφή(q) η οποία έχει $J= 7.05\text{Hz}$ και ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια(2H^1) τα οποία αντιστοιχούν στα υδρογόνα της αιθυλομάδας και συγκεκριμένα στα $-\text{CH}_2\text{CH}_3$
- ▲ Στα 3.432ppm με τετραπλή κορυφή(q) η οποία έχει $J= 5.85\text{Hz}$ και ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια(2H^1) τα οποία αντιστοιχούν στα υδρογόνα $3\text{-NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$
- ▲ Στα 2.840ppm με τριπλή κορυφή(t) η οποία έχει $J= 6\text{Hz}$ και ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια(2H^1) τα οποία αντιστοιχούν στα υδρογόνα της $3\text{-NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$
- ▲ Στα 1.275ppm με τριπλή κορυφή(t) η οποία έχει $J= 6.9\text{Hz}$ και ολοκληρώνεται για τρία πρωτόνια(3H^1) τα οποία αντιστοιχούν στα υδρογόνα της αιθυλομάδας και συγκεκριμένα στα $-\text{CH}_2\text{CH}_3$



Εικόνα 22- Φάσμα απορρόφησης πρωτονίων NMR σε CDCl_3 της ένωσης (4)

Φάσμα της ένωσης (10a):

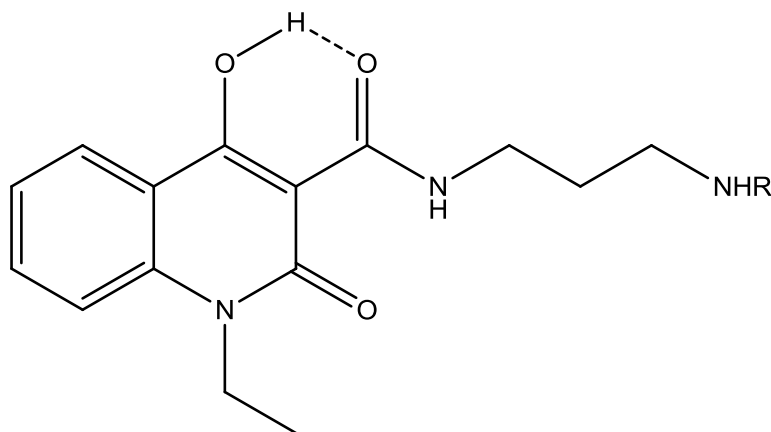
Το επόμενο φάσμα αντιστοιχεί στην ένωση (10a).

Τα πιο αποπροστατευμένα πρωτόνια είναι αυτά που αντιστοιχούν στα δύο άζωτα της ένωσης και στο υδροξύλιου της θέσης 11 του μορίου. Πιο συγκεκριμένα στα 17.26ppm λόγω του δεσμού υδρογόνου που σχηματίζει με την καρβοξυλομάδα τους άνθρακα 3- CONHCH₂CH₂NHCO-, σχήμα 35, απορροφά το πρωτόνιο του υδροξύλιου 4-OH με μια απλή κορυφή (s). Έπειτα στα 10.405 ppm, παρουσιάζεται μια απλή κορυφή (s) η οποία αντιστοιχεί στο πρωτόνιο του αζώτου της θέσης 3- CONHCH₂CH₂NHCO-. Το πρωτόνιο του αζώτου της θέσης 3- CONHCH₂CH₂NHCO- εμφανίζεται με απλή κορυφή(s) στα 8.318ppm.

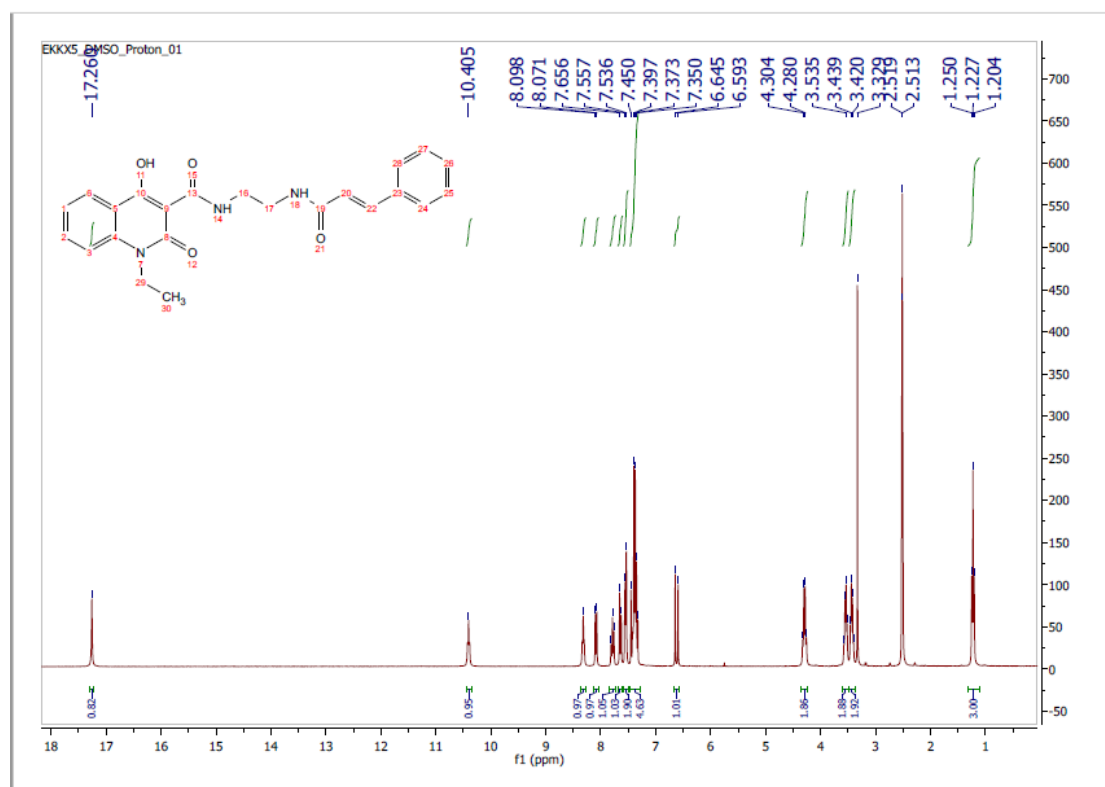
Στην συνέχεια εμφανίζονται τα αρωματικά και τα βυνιικά πρωτόνια της ένωσης. Ειδικότερα στα 8.086ppm εμφανίζεται μια διπλή κορυφή(d), η οποία ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο (1 H¹), έχει J=8.1Hz και αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-5. Στα 7.786ppm εμφανίζεται μία τριπλή κορυφή(t), η οποία ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο(1 H¹) και έχει J=8.1Hz. Στη συνέχεια στα 7.642ppm εμφανίζεται μια διπλή κορυφή(d) με J=8.4Hz και ολοκληρώνετε για ένα πρωτόνιο το οποίο αντιστοιχεί στον άνθρακα H-8. Η αμέσως επόμενη κορυφή που εμφανίζεται στο φάσμα είναι διπλή(d) με J=6.3Hz και ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια στα 7.546ppm. Τα υπόλοιπα πρωτόνια μαζί με ένα βυνιλικό πρωτόνιο απορροφούν στην περιοχή 7.450-7.326ppm με μία multi κορυφή η οποία ολοκληρώνεται για 5 πρωτόνια (5 H¹). Το δεύτερο βυνιλικό πρωτόνιο, της θέσης 3- CONHCH₂CH₂NHCOCHCH- της ένωσης εμφανίζεται με μια διπλή κορυφή(d) η οποία έχει J=15.6Hz και ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο (1 H¹) στα 6.619ppm.

Στη συνέχεια, στα 3.546ppm εμφανίζεται μία τετραπλή κορυφή(q) με J=5.85Hz, η οποία ολοκληρώνεται για τα δύο πρωτόνια 3- CONHCH₂CH₂NHCO- του μορίου. Τα δύο (2 H¹) πρωτόνια της θέσης 3- CONHCH₂CH₂NHCO- του μορίου απορροφούν επίσης με μία τετραπλή κορυφή(q) στα 3.430ppm, η οποία έχει J=5.7Hz και ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια..

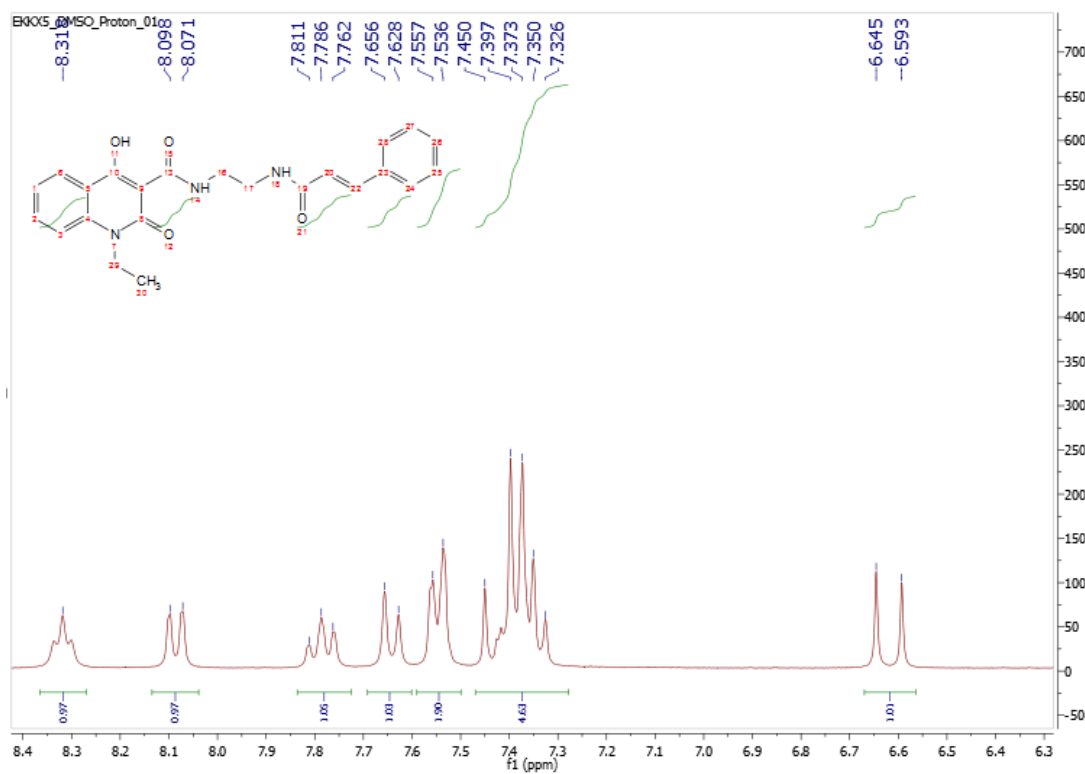
Τέλος, τα πέντε πρωτόνια της αιθυλ- ομάδας που είναι συνδεδεμένη στο άζωτο της θέσης 1 του μορίου απορροφούν με μία τετραπλή κορυφή στα 4.292ppm που ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια ($-\text{CH}_2\text{CH}_3$) και με μία τριπλή κορυφή που εμφανίζεται στα 1.227ppm και ολοκληρώνεται για 3 πρωτόνια ($-\text{CH}_2\text{CH}_3$).



Σχήμα 35- Γενική μορφή του δεσμού υδρογόνου που εμφανίζεται στα νέα παράγωγα



Εικόνα 23- Φάσμα απορρόφησης πρωτονίων NMR σε DMSO της ένωσης(10a)



Εικόνα 24- Περιοχή απορρόφησης αρωματικών πρωτονίων

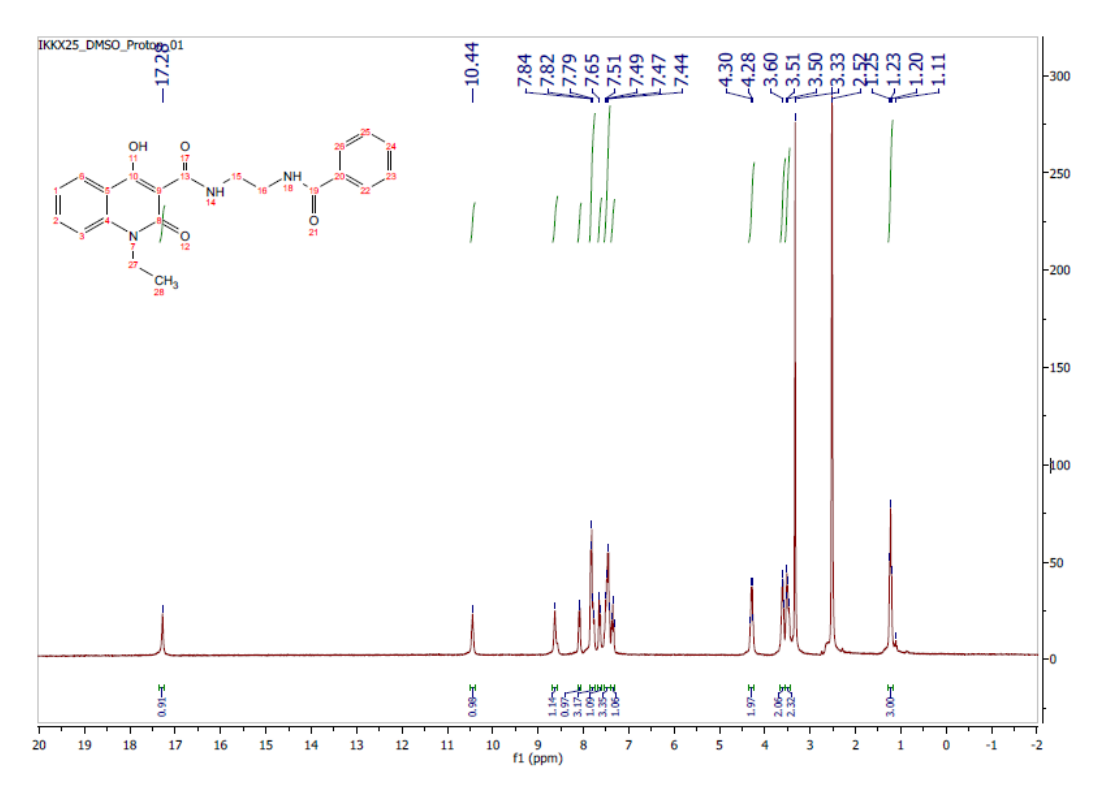
Φάσμα πρωτονίων ένωσης(10f):

Στην Εικόνα 25 παρουσιάζεται το φάσμα της ένωσης (**10f**), η οποία παρουσιάζει συνολικά 20 πρωτόνια τα οποία εμφανίζονται:

- ▲ Στα 17.278ppm με απλή κορυφή(s) η οποία ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο($1 H^1$) το οποίο αντιστοιχεί στο υδρογόνο του υδροξυλίου 4-OH
- ▲ Στα 10.447ppm με απλή κορυφή(s) η οποία ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο($1 H^1$) το οποίο αντιστοιχεί στο υδρογόνο 3- CONHCH₂CH₂NHCO-.
- ▲ Στα 8.627ppm με απλή κορυφή(s) η οποία ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο($1 H^1$) το οποίο αντιστοιχεί στο υδρογόνο του αζώτου 3- CONHCH₂CH₂NHCO-.
- ▲ Στα 8.088ppm με διπλή κορυφή(d) η οποία έχει $J=8.1\text{Hz}$, και ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο($1 H^1$) το οποίο αντιστοιχεί στο υδρογόνο H-8
- ▲ Στο εύρος χημικών μετατοπίσεων από 7,5-8 ppm εμφανίζονται τα 9 αρωματικά πρωτόνια της ένωσης, τα οποία απορροφούν με δύο διπλές κορυφές που ολοκληρώνονται για δύο πρωτόνια η κάθε μία, μια τριπλή που

ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο, μια τετραπλή που ολοκληρώνεται για τρία πρωτόνια και με μία multi κορυφή, που ολοκληρώνεται για τρία πρωτόνια.

- ▲ Στα 4.287ppm με τετραπλή κορυφή(q) η οποία έχει $J=6.75\text{Hz}$ και ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια(2 H^1) τα οποία αντιστοιχούν στα υδρογόνα της μεθυλομάδας και συγκεκριμένα στα ($-\text{CH}_2\text{CH}_3$) που είναι συνδεδεμένη στο άζωτο του δακτυλίου
- ▲ Στα 3.601ppm με τριπλή κορυφή(t) η οποία έχει $J=5.7\text{Hz}$ και ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια(2 H^1) το οποίο αντιστοιχεί στο υδρογόνο 3- $\text{CONHCH}_2\text{CH}_2\text{NHCO}-$
- ▲ Στα 3.495ppm με τριπλή κορυφή(t) η οποία έχει $J=5.4\text{Hz}$ και ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια(2 H^1) το οποίο αντιστοιχεί στο υδρογόνο 3- $\text{CONHCH}_2\text{CH}_2\text{NHCO}-$
- ▲ Στα 1.225 ppm με τριπλή κορυφή(t) η οποία έχει $J=6.3\text{Hz}$ και ολοκληρώνεται για τρία πρωτόνια (3 H^1) τα οποία αντιστοιχούν στα υδρογόνα της μεθυλομάδας και συγκεκριμένα στα ($-\text{CH}_2\text{CH}_3$) που είναι συνδεδεμένη στο άζωτο του δακτυλίου



Εικόνα 25- Φάσμα απορρόφησης πρωτονίων NMR σε DMSO της ένωσης (**10f**)

4.1.2 Φασματομετρία Μάζας (MS)

Αρχή της μεθόδου

Η μέθοδος βασίζεται στην παραγωγή μοριακών ιόντων ή θραυσμάτων, συνήθως με βομβαρδισμό του δείγματος με δέσμη ηλεκτρονίων και στη συνέχεια με διαχωρισμό των ιόντων με βάση το λόγο της μάζας τους ως προς το φορτίο τους m/z .

Τα ιόντα αυτά περιέχουν περίσσεια ενέργειας και θραύονται στη συνέχεια σε ιόντα μικρότερου μεγέθους. Όλη αυτή η θραυσματοποίηση δημιουργείται μέσω σχάσης ή αντιδράσεων ανασύνταξης, παρέχοντας πληροφορίες για τη δομή του αρχικού μορίου.

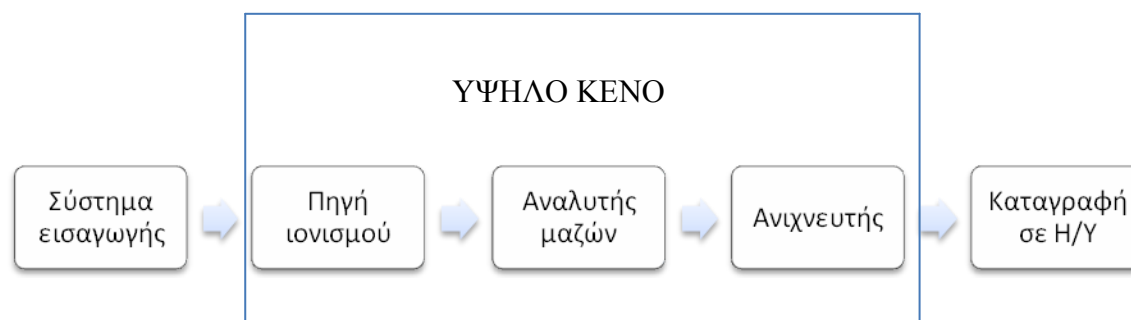
Μετά την επιτάχυνσή τους από ένα ηλεκτρικό πεδίο, τα ιόντα εισέρχονται στον αναλυτή μαζών, όπου διαχωρίζονται με βάση το λόγο m/z . Στη συνέχεια τα ιόντα διαφορετικών μαζών καταγράφονται με κατάλληλο ανιχνευτή. Το σύστημα βρίσκεται σε υψηλό κενό (χαμηλή πίεση της τάξης του $\text{nanobar} = 10^{-9} \text{bar}$) ώστε να αποφεύγονται οι διαμοριακές αντιδράσεις.

Τέλος τα δεδομένα αποθηκεύονται σε Η/Υ, με τη βοήθεια του οποίου παράγεται το φάσμα μάζας.

Περιγραφή συσκευής Φασματομέτρου μάζας (MS)

Ένα τυπικό φασματομέτρο μάζας αποτελείται από τέσσερα κύρια μέρη:

- α) Σύστημα εισαγωγής
- β) Πηγή ιονισμού
- γ) Σύστημα διαχωρισμού/ Αναλυτής μαζών
- δ) Ανιχνευτής μαζών



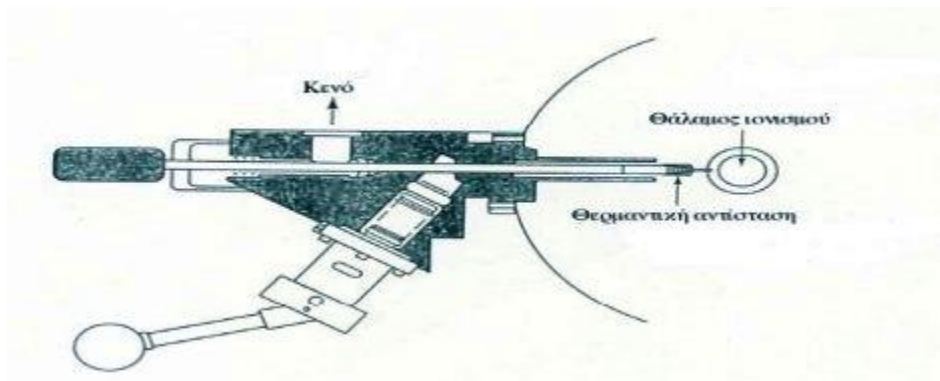
Σχήμα 36- Διάγραμμα ροής συσκευής Φασματομέτρου μάζας

A) Σύστημα εισαγωγής

Σημαντικό ρόλο στην εισαγωγή του δείγματος στη συσκευή παίζει η φυσική κατάσταση της ουσίας. Τα στερεά δείγματα καθώς και τα μη πτητικά υγρά (με σχετικά χαμηλή τάση ατμών) εισάγονται κατευθείαν στην πηγή ιονισμού. Αντιθέτως ουσίες με υψηλή τάση ατμών (έντονα πτητικά υγρά) και αέρια, απαιτούν εισαγωγή μέσω ενός ειδικού ρεζερβουάρ, προκειμένου και να αποφευχθεί στην πρώτη περίπτωση πρόωρη εξάτμιση του δείγματος.

Ο ρόλος του συστήματος εισαγωγής είναι η μετατροπή της ουσίας στην αέρια μορφή της (εξάτμιση) και η προσφορά σταθερής παροχής αερίου δείγματος για επόμενη διεργασία της συσκευής, η οποία είναι ο ιονισμός του. Πολύ συχνά, σαν σύστημα εισαγωγής μπορεί να χρησιμοποιηθεί ο αέριος ή υγρός χρωματογράφος, οπότε και μιλάμε για συνδυασμό τεχνικών χρωματογραφίας και φασματομετρίας μάζας. Σε αυτήν την περίπτωση πριν την εισαγωγή του δείγματος στο φασματομέτρο, γίνεται

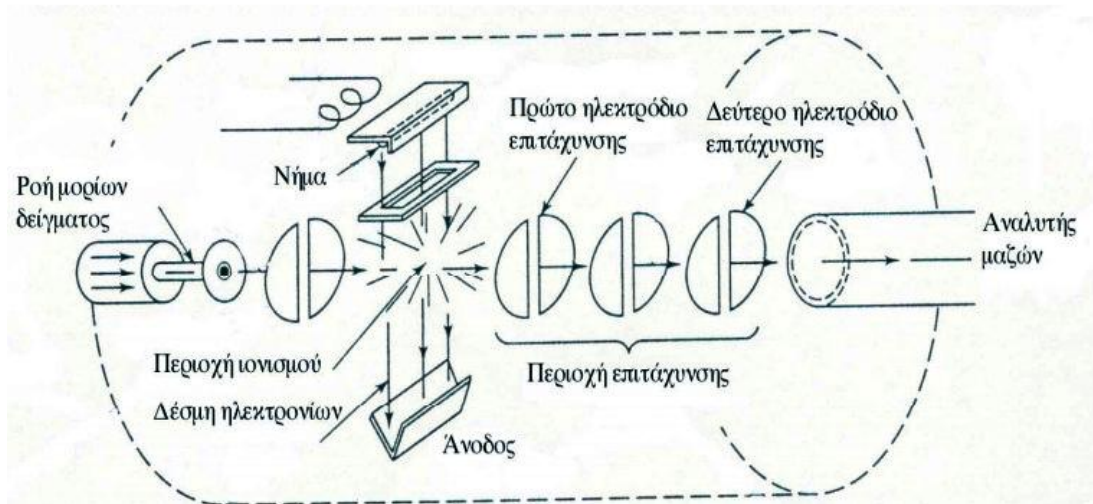
διαχωρισμός των επιμέρους συστατικών του με το χρωματογράφο, επομένως τα συστατικά πολύπλοκων μειγμάτων δεν εισέρχονται ομαδικά στη συσκευή. Αυτό συνεισφέρει στην αποφυγή λήψης περίπλοκων φασμάτων μάζας που αντιστοιχούν σε διαφορετικές επιμέρους ουσίες, τα οποία δυσχεραίνουν την ταυτοποίηση των συστατικών του μείγματος.^[74]



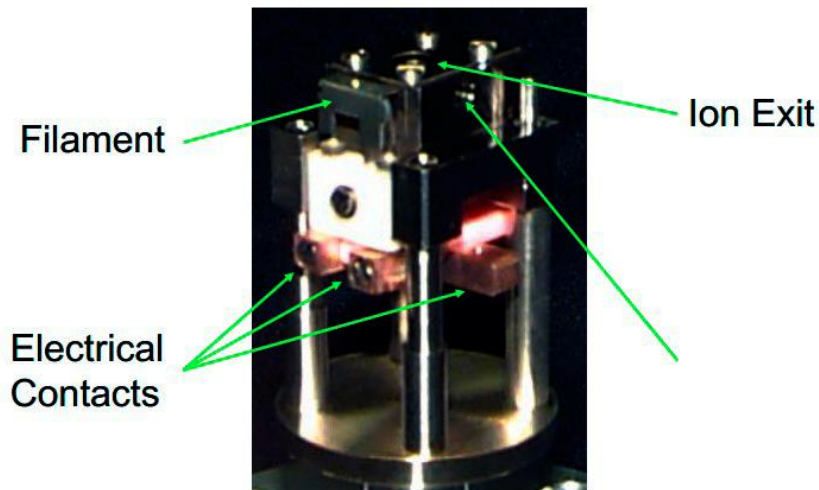
Εικόνα 26- Σύστημα εισαγωγής

B) Πηγή ιονισμού

Μετά την αεριοποίηση του δείγματος, αυτό εισέρχεται στον χώρο ιονισμού. Ο πιο διαδεδομένος τρόπος ιονισμού, είναι με σύγκρουση με δέσμη ηλεκτρονίων. Εναλλακτικά, πιο ήπια μέθοδος ιονισμού είναι ο χημικός ιονισμός, ενώ υπάρχουν και πιο σύγχρονες μέθοδοι, όπως ο ιονισμός με χρήση Laser. Η ενέργεια ιονισμού είναι τυπική και πολλές βιβλιοθήκες φασμάτων αντιστοιχούν σε αυτήν. Κατά την είσοδο του δείγματος στο χώρο ιονισμού, αυτό δέχεται ριπή ηλεκτρονίων και τα οργανικά του μόρια αντιδρούν στον βομβαρδισμό αποβάλλοντας κατά κανόνα ηλεκτρόνια και σχηματίζοντας έτσι θετικά ιόντα. Καθώς η προσδιδόμενη στο μόριο ενέργεια είναι πολύ μεγαλύτερη από την ενέργεια ιονισμού του (η οποία είναι της τάξης των 8-12 eV) το μόριο έχει μεγάλη περίσσεια ενέργειας, επομένως διασπάται σε θραύσματα. Ανάλογα με την ενεργειακή περίσσεια έχουμε μεγάλο ή μικρό αριθμό φασμάτων. Εξαιτίας της μεγάλης ενέργειας που προσδίδεται στο δείγμα με αυτόν τον τρόπο, η δέσμη ηλεκτρονίων χαρακτηρίζεται σκληρή πηγή ιονισμού. Αναλόγως, ο χημικός ιονισμός που προσδίδει μικρότερα ποσά ενέργειας στα μόρια της ουσίας, χαρακτηρίζεται μαλακή πηγή ιονισμού.



Εικόνα 27- Σχηματική αναπαράσταση του συστήματος ιονισμού



Εικόνα 28- Πηγή ηλεκτρονίων

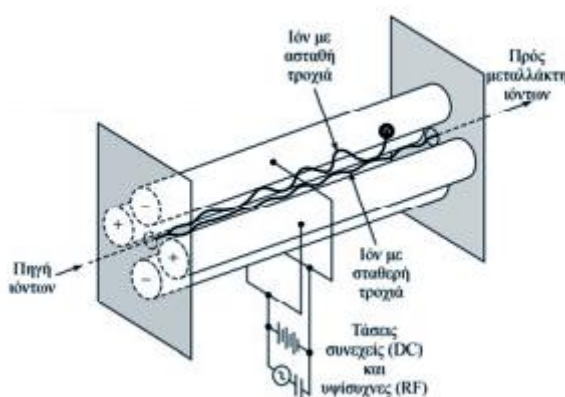
Γ) Σύστημα διαχωρισμού

Τον ιονισμό του αέριου δείγματος ακολουθεί η επιτάχυνση των ιόντων προς τον αναλυτή μαζών, που αποτελεί το σύστημα διαχωρισμού των φορτισμένων σωματιδίων με βάση το λόγο m/z , όπου m : η μάζα του ιόντος και z : το φορτίο του. Διαδεδομένα συστήματα διαχωρισμού μαζών είναι τα μαγνητικού πεδίου, ηλεκτρικού πεδίου, ιοντικό κύκλοτρο, ωμεγατρόνιο, χρόνου πτήσεως και το τετραπολικό φίλτρο μαζών.

Στην περίπτωση του μαγνητικού πεδίου, τα ιόντα, υπό την επίδραση μαγνητικής δύναμης, διαγράφουν τροχιά ακτίνας r , η οποία εξαρτάται από τον λόγο m/z , κάτι που αποτελεί την κύρια αρχή του διαχωρισμού τους. Μέγιστη διαχωριστική ικανότητα επιτυγχάνεται σε συστήματα που χρησιμοποιούν συνδυασμό μαγνητικού και ηλεκτρικού πεδίου.

Το σύστημα διαχωρισμού χρόνου πτήσης στηρίζεται στην διακοπτόμενη πορεία ιόντων υπό την επίδραση δυναμικού που εφαρμόζεται και διακόπτεται ανά $1\mu\text{s}$. Ο χρόνος πτήσεως είναι ανάλογος ως προς τον λόγο μάζα/φορτίο.

Στην περίπτωση του τετραπολικού φίλτρου μαζών τέσσερις ράβδοι σε παραλληλεπίπεδη διάταξη αποτελούν το σύστημα διαχωρισμού. Σε αυτές τις δυο διαγώνιες ευρισκόμενες ράβδους εφαρμόζεται συνεχές ρεύμα και στις υπόλοιπες δύο εφαρμόζεται εναλλασσόμενο ρεύμα. Τα ιόντα τα οποία εισέρχονται στο χώρο μεταξύ των ράβδων ακολουθούν κυματοειδή τροχιά και για κάθε τιμή των τάσεων διέρχεται από την οπή εξόδου σωματίδιο με διαφορετικό λόγο m/z .

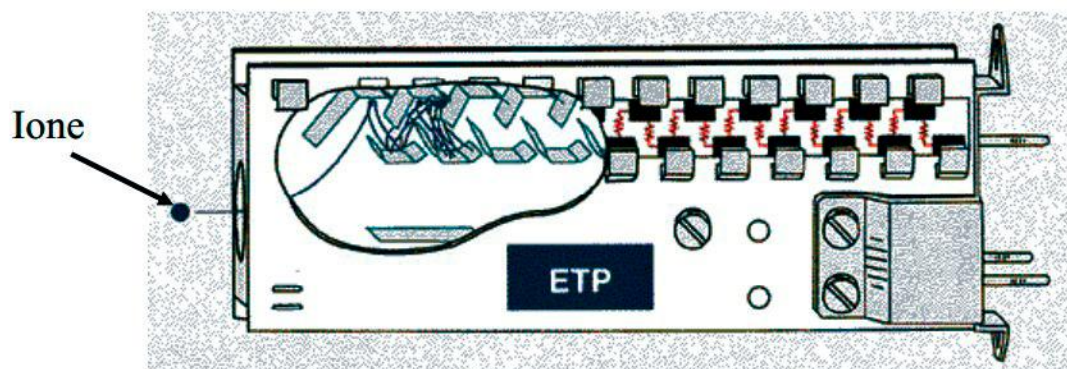


Εικόνα 29- Σύστημα διαχωρισμού - τετραπολικό φίλτρο μαζών

Δ) Σύστημα ανίχνευσης

Μετά τη διέλευση των ιόντων από την οπή εξόδου του διαχωριστή μαζών, αυτά προσκρούουν στον ανιχνευτή, ο οποίος μπορεί να είναι κύπελλο Faraday, φωτογραφική πλάκα ή ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστής. Στην περίπτωση του ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστή, η πρόσκρουση του ιόντος σε αυτόν μεταδίδει ένα ηλεκτρικό σήμα το οποίο πολλαπλασιάζεται από αυτόν προκειμένου να αποκτήσει

ανιχνεύσιμη ένταση. Η δυνατότητα να ανιχνεύεται ποιο ακριβώς ιόν αντιστοιχεί στο σήμα που καταγράφεται γίνεται μέσω βαθμονόμησης των οργάνων με πρότυπα διαλύματα γνωστής σύστασης.



Εικόνα 30- Σύστημα ανίχνευσης- Ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστής

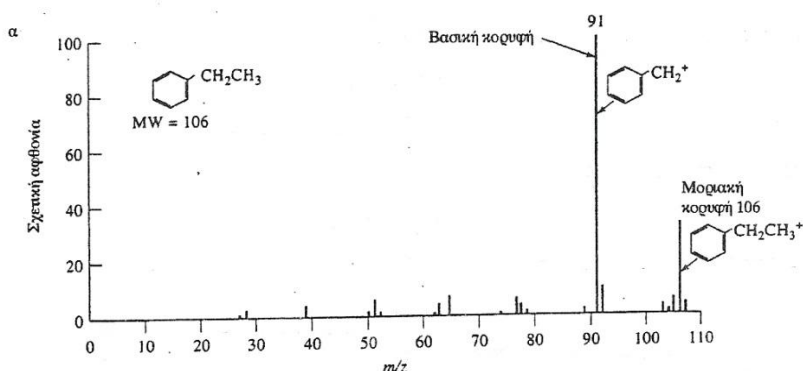
Ε) Καταγραφή των δεδομένων

Μετά την ανίχνευση των παραπάνω δεδομένων, αυτά μεταφέρονται στη μνήμη ενός υπολογιστή για αποθήκευση και περαιτέρω επεξεργασία.

Πρέπει να σημειωθεί πως το φασματομέτρο μάζας λειτουργεί σε πολύ χαμηλές πιέσεις και όσο δυνατόν υψηλότερο κενό, κάτι που επιτυγχάνεται με τη λειτουργία αντλιών. Αυτό συμβαίνει διότι επιχειρείται να αποφευχθεί η αλληλεπίδραση των φορτισμένων σωματιδίων που παράγονται από την πηγή ιονισμού με τα αέρια της ατμόσφαιρας, κάτι που θα οδηγούσε στην εκφόρτισή τους και στη διεξαγωγή διαμοριακών αντιδράσεων. Επειδή λοιπόν η διάταξη λειτουργεί σε αυτές τις συνθήκες, οι οποίες δεν επιτυγχάνονται εύκολα και σε σύντομο χρονικό διάστημα, συνήθως απαιτούνται περίπου 48 ώρες, προκειμένου να προσεγγισθούν τέτοιες καταστάσεις και οι φασματογράφοι μάζας παραμένουν σε κατάσταση αναμονής. Κατά την συγκεκριμένη κατάσταση οι αντλίες που δημιουργούν τις συνθήκες χαμηλής πίεσης καθώς και τα θερμικά σώματα που θερμαίνουν τα τοιχώματα του λειτουργούν κανονικά.

Απεικόνιση Φασμάτων Μάζας

Φάσμα μάζας είναι η γραφική απεικόνιση των σχετικών ποσοτήτων (εντάσεων) των ιόντων που προέρχονται από τον ιονισμό ένωσης ή στοιχείου συναρτήσει του λόγου m/z του κάθε ιόντος. Ο οριζόντιος άξονας είναι ο άξονας m/z με μονάδες μέτρησης το 1 amu (atomic mass unit). Ο κατακόρυφος άξονας είναι ο άξονας της (σχετικής) αφθονίας του κάθε χημικού είδους.



Σχήμα 37- Φάσμα μάζας αιθυλοβενζολίου

Στο συγκεκριμένο παράδειγμα το φάσμα μάζας του αιθυλοβενζολίου δίνει ευδιάκριτο μοριακό ιόν στο $m/z=106$, δηλαδή στο μοριακό βάρος του αιθυλοβενζολίου. Το βασικό ιόν είναι σε $m/z=91$, που αντιστοιχεί στην απόσπαση μεθυλομάδας από το μόριο της ένωσης.

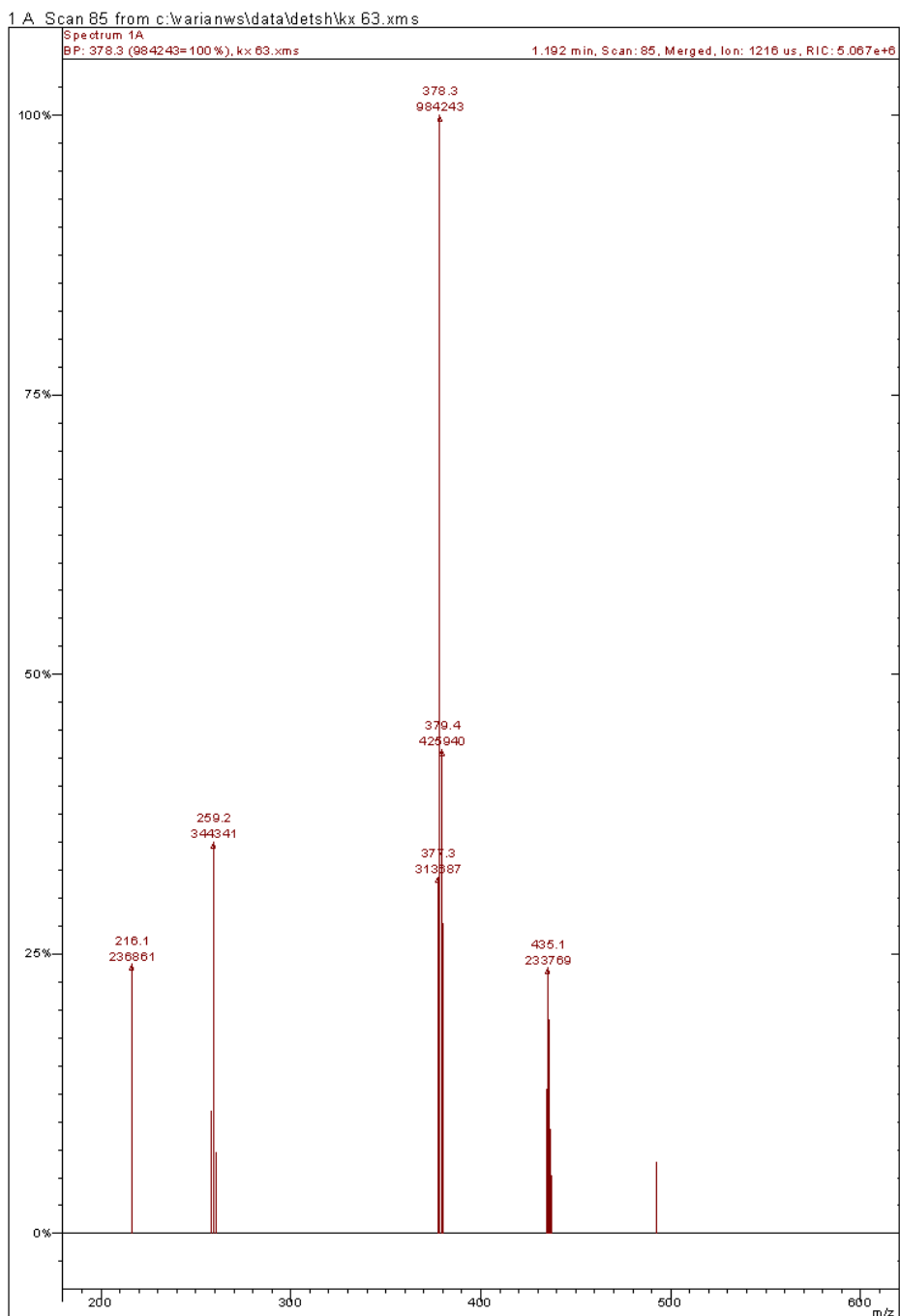
Για τον ποσοτικό προσδιορισμό ουσιών σε άγνωστο δείγμα χρησιμοποιούμε την καμπύλη βαθμονόμησης. Η καμπύλη βαθμονόμησης είναι μια γραφική παράσταση (στην ιδανική της περίπτωση ευθεία) αφθονία=f(συγκέντρωσης). Η διαδικασία έχει ως εξής: Αναλύονται πρότυπα διαλύματα της ουσίας σε διάφορες συγκεντρώσεις, οι οποίες αντιστοιχούν σε κάποια συγκεκριμένη τιμή αφθονίας. Στη συνέχεια για την τιμή της αφθονίας που επιθυμείται βρίσκουμε με κάποια μέθοδο παρεμβολής την άγνωστη συγκέντρωση.^{[71]-[77]}

Φάσμα Μάζας ένωσης(10f):

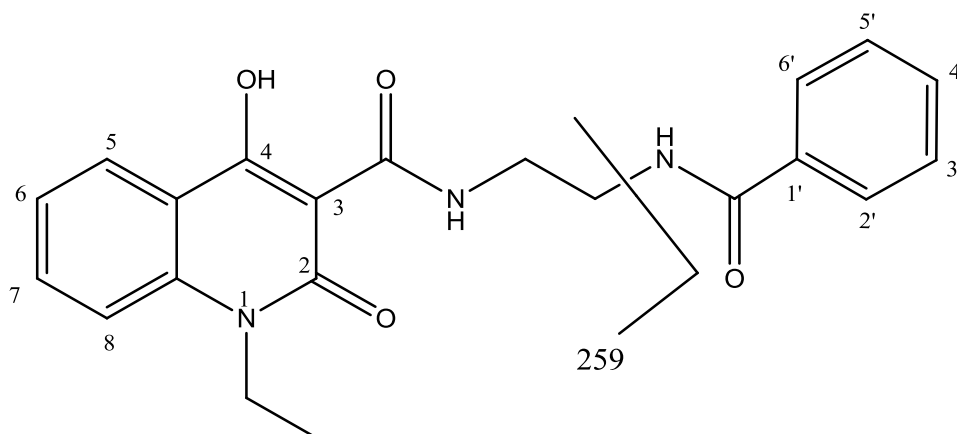
Για τον επιπλέον προσδιορισμό των ενώσεων πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις σε φασματόμετρο μάζας. Στην εικόνα 31 παρουσιάζεται το φάσμα μάζας της ένωσης **10f**. Στο φάσμα παρατηρούμε μία κορυφή σε λόγο μάζας προς φορτίο m/z 378 η

οποία αντιστοιχεί στο ιόν βάσης $[M-1]^+$ εμφανίζοντας ένταση 100%. Ακόμη δύο χαρακτηριστικές κορυφές που εμφανίζονται σε m/z 379 και αντιστοιχεί στο μοριακό ιόν M^+ με ένταση 43.2%, και στα 377 που αντιστοιχεί στο $[M-2]^+$ με ένταση 32.5%.. Τέλος, παρατηρούμε την εμφάνιση μιας ακόμη κορυφής σε m/z 259 η οποία αντιστοιχεί στο ιόν $[M-120]^+$ με ένταση 35.0% και η θραυσματοποίηση παρουσιάζεται στην παρακάτω εικόνα (εικόνα 32).

Spectrum Plot - 29/9/2016 2:12 ii



Εικόνα 31- Φάσμα μάζας ένωσης (10f)



Εικόνα 32- Θαύσμα Μάζας για $m/z=259$

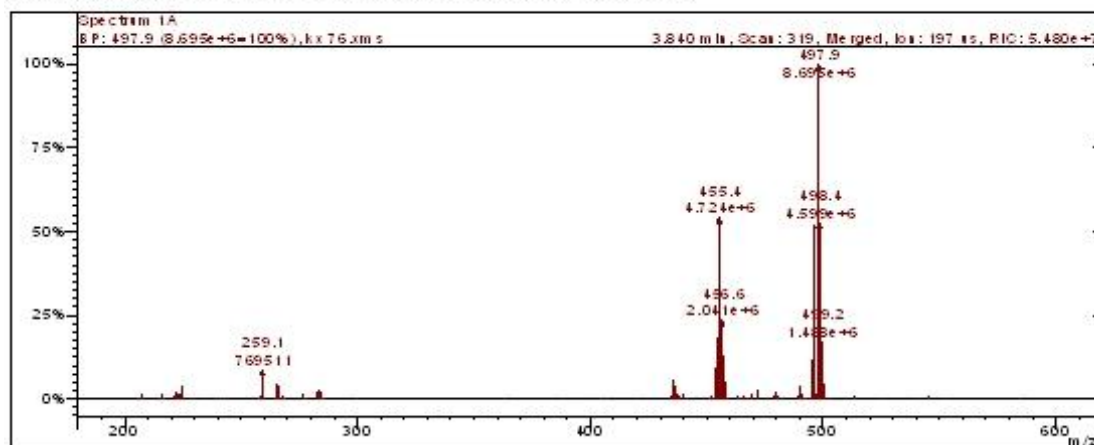
4.2) Συζήτηση - Παρατηρήσεις

Στην παρακάτω εικόνα παρουσιάζεται το φάσμα μάζας του απακετυλιωμένου τελικού παραγώγου **11a**. Στο φάσμα παρατηρείται μια κορυφή σε m/z 497 που αντιστοιχεί στο ιόν βάσης εμφανίζοντας ένταση 100%. Μία ακόμη χαρακτηριστική κορυφή της ένωσης **11a** παρατηρείται σε λόγο m/z 455, η οποία αντιστοιχεί στο μοριακό της ιόν M^+ και εμφανίζει ένταση 44.5%. Η πρώτη κορυφή της ένωσης όμως θα μπορούσε να αποδοθεί στο μοριακό ιόν της αντίστοιχης ακετυλιωμένης ένωσης (**10i**), η οποία έχει μοριακό βάρος $M_r=497$.

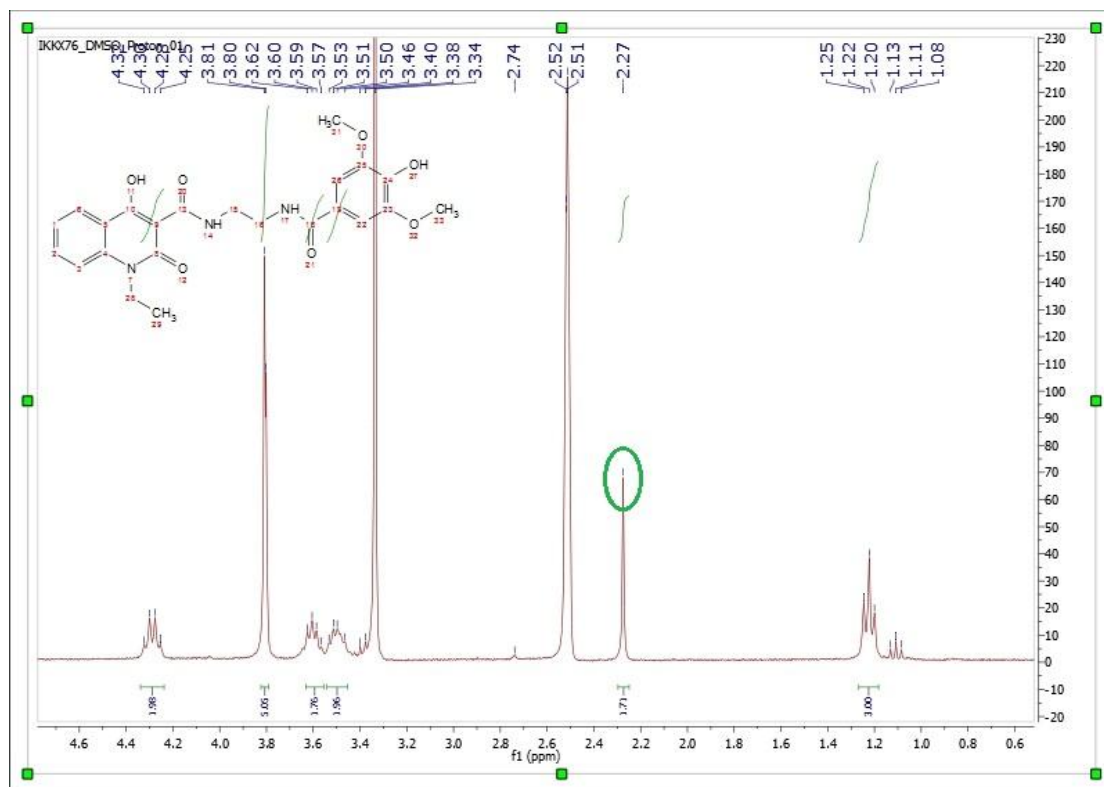
Επιπλέον, αναλύοντας το φάσμα πρωτονίων NMR της ένωσης **11a** (εικόνα 34) παρατηρούμε την εμφάνιση μιας απλής κορυφής στα 2.77 ppm, η οποία όμως εμφανίζεται και στο φάσμα της ακετυλιωμένης ένωσης **10i**. Η κορυφή αυτή λοιπόν, θα μπορούσε να αποδοθεί στην ακέτυλο ομάδα του προϊόντος αυτού.

Συνεπώς, από τις αναλύσεις των φασμάτων εξάγεται το συμπέρασμα πως η αντίδραση απακετυλίωσης της ένωσης **10i**, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο που περιγράφεται στο κεφ.3, δεν ήταν δυνατό να οδηγήσει στο μέγιστο βαθμό το προϊόν στην απακετυλιωμένη μορφή του. Ενδεχομένως μεγαλύτερη ποσότητα υδραζίνης ή αύξηση του χρόνου αντίδρασης να οδηγούσαν στο επιθυμητό αποτελέσματα.

Scan 319 from c:\varian\ws\data\dets\kx 76.xml



Εικόνα 33- Φάσμα Μάζας ένωσης 11a



Εικόνα 34- Φάσμα ¹H NMR ένωσης 11a

4.3) Συμπεράσματα

Κατά την διεξαγωγή αυτής της ερευνητικής πτυχιακής εργασίας πραγματοποιήθηκε σύνθεση υβριδικών μορίων τα οποία ελεγχθηκαν για αντιφλεγμονώδη και αντιοξειδωτική δράση, τα τελικά όμως αποτελέσματα αναμένονται. Παρ' όλα αυτά μπορούν να διεξαχθούν τα ακόλουθα συμπεράσματα για την συνολική διαδικασία σύνθεσης:

1. Οι αποδόσεις την αντίδρασης παραγωγής της ένωσης **(2)** ήταν αρκετά χαμηλές με εύρος ποσοστών 30-50%.
2. Οι αποδόσεις της αντίδρασης για την παραγωγή του προϊόντος **(4)** ήταν εξαιρετικά καλές και κυμαίνονται σε ποσοστά μεταξύ 60-100%
3. Για την παραλαβή των ενώσεων **(2)** και **(3)** συνήθως πραγματοποιούταν εκχυλίσεις, παρ' όλα αυτά κάποιες φορές ήταν δυνατή και η παραλαβή του στερεού με διήθηση υπό κενό.
4. Κατά την πραγματοποίηση των εκχυλίσεων **(2)**, **(3)** δημιουργούνταν γαλάκτωμα στην διεπιφάνεια των δύο φάσεων και το οποίο προερχόταν από τον διαλύτη DMF.
5. Κατά την πραγματοποίηση των ακετυλιώσεων αρκετές φορές χρειάστηκε να αφηθεί το σύστημα υπό ανάδευση για περισσότερο από μια μέρα. Επίσης κάποιες φορές τα TLC δεν ήταν ευδιάκριτα όμως λόγω του μεγάλου χρονικού διαστήματος σε θέρμανση πραγματοποιούνταν η εξαγωγή της αντίδρασης.
6. Οι αποδόσεις παραγωγής των χλωριδίων των φαινολικών οξέων θεωρήθηκε ότι ήταν πάντοτε 100%, γιατί τα χλωρίδια είναι εξαιρετικά δραστικές ενώσεις και πολύ ευαίσθητες στην υγρασία, οπότε χρησιμοποιήθηκαν χωρίς να απομονωθούν.
7. Η παραλαβή των νέων υβριδικών ενώσεων **(10)** ήταν γενικά απλή. Ορισμένες φορές απαιτείται διήθηση ενώ στις περισσότερες πραγματοποιήθηκε εκχύλιση.

Κεφάλαιο5: Βιβλιογραφία

[1]Ali **Ghasemzadeh ND Neda Ghasemzadeh**, ‘Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human’, *Journal of Medicinal Plants Research* Vol.5(31), pp. 6697-6703, 23 December, 2011

[2] Shahidi F, Nacsk M (1995) *Food phenolics: sources, chemistry, effects and application*. Technomic Publ, Lancaster

[3] **Constantine D. Stalikas**, ‘Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids’, *J. Sep. Sci.* 2007, 30, 3268 – 3295

[4] **Keating GJ, Kennedy R.**In ‘The chemistry and occurrence of coumarins’, England, 1997,23-64

[5] **Marinova, E.M., Yanishlieva, N.V.**, ‘Inhibited oxidation of lipids II. ‘Comparison of the antioxidative properties of some hydroxy derivatives of benzoic and cinnamic acids.’, *Fat. Sci.Technol*, 1992, 94, 428, 432

[6]**Dziedzic, S.Z., Hudson, B.J.F**, ‘Phenolic acids and related compounds as antioxidants for edibleoils’, *Food Chem.*, 1984, 14, 45-51

[7] **Cuvelier, M.E Richard, H. Berset C**, ‘Comparison of the activity of some acid phenols: Structure-activity relationship’, *Biosci. Biotech. Biochem*,1992, 56,324-325

[8] **Robbins, Rebecca J.** ‘Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology’ *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003, 51, σ. 2866-2887.

[9] **Piazzon A., Vrhovsek U., Masuero D., Mattivi F., Mandoj F., Nardini M.** ‘Antioxidant activity of phenolic acids and their metabolites: Synthesis and antioxidant properties of the sulfate derivatives of ferulic and caffeic acides and of the acyl glucuronide of ferulic acid’ *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012.

[10] **Tomas-Barberan F.A., Clifford M.N.** ‘Dietary hydroxybenzoic acid derivatives - nature, occurence and dietary burden’, *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2000, 80, σσ. 1024-1032.

[11] **Sieber R., Butikofer U., Bosset J.O.** Benzoic Acid as a Natural Compound in Cultured Dairy Products and Cheese'', *International Dairy Journal*. 1955.

[12] **Robbins, Rebecca J.** 'Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003, 51, σσ. 2866-2887.

[13] **Lafay S., Gil-Izquierdo A.** 'Bioavailability of phenolic acids. *Phytochemistry Reviews*', 2008, σσ. 301-311.

[14] **A.F. Sanchez-Maldonado, A. Schieber and M.G. Ganzle,** 'Structure–function relationships of the antibacterial activity of phenolic acids and their metabolism by lactic acid bacteria', *Journal of Applied Microbiology ISSN 1364-5072*, 2011, σ 1176-1184

[15] **Armelle T. Mbavenga, Victor Kueteb, Brenda M. Mapunyad, Veronique P. Benga, Augustin E. Nkengfack, Jacobus J. Marion Meyerd, Namrita Lal** 'Evaluation of four Cameroonian medicinal plants for anticancer, antigonorrheal and antireverse transcriptase activities', *Environmental toxicology and pharmacology* 3 2 (2 0 1 1) 162–167

[16] . **Fiuza S.M., Gomes C., Texeira L.J., Girao da Cruz M.T., Cordeiro M.N.D.S., Milhazes N., Borges F., Marques M.P.M.** 'Phenolic acid derivatives with potential anticancer properties-a structure-activity relationship study. Part 1: Methyl,propyl and octyl esters of caffeic and gallic acids', *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2004.

[17] **Serrano A., Palacios C., Roy C., Cespon C., Villar M.L., Nocito M., Gonzalez-Porque P.** 'Derivatives of Gallic Acid Induce Apoptosis in Tumoral Cell Lines and Inhibit Lymphocyte Proliferation', *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1998, 350, σσ. 49-54.

[18] **Carlos M. Meléndez Gómez¹ and Vladimir V. Kouznetsov,** 'Recent Developments on Antimicrobial Quinoline Chemistrh'', Science, technology and education, 2013

[19] **Marella A., Tanwar O.P., Saha R., Rahmat Ali M., Srivastava S., Akhter M., Shaquiquzzaman M., Mumtaz Alam M.** ‘Quinoline: A versatile heterocyclic.’ *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2012, 21, σσ. 1-12.

[20] **Koleva I.I., van Beek T.A., Soffers A.E.M.F., Dusemund B., Rietjens I.M.C.M.** ‘Alkaloids in the human food chain – Natural occurrence and possible adverse effects’,. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2012, 56, σσ. 30-52.

[21] **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

[22] **Joseph P. Michael,** ‘Quinoline, quinazoline and acridone alkaloids’, *Natural Product Reports*, 2007 24, 223–246

[23] **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

[24] **B. Garudachari, M.N. Satyanarayana, B. Thippeswamy, C.K. Shivakumar, K.N. Shivananda, Gurumurthy Hegde, Arun M. Isloor** ‘Synthesis, characterization and antimicrobial studies of some new quinoline incorporated benzimidazole derivatives’, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2012, 900-906

[25] **Jampilek J., Musiol R., Pesko M., Kralova K., Vejsova M., Carroll J., Coffey A., Finster J., Tabak D., Niedbala H., Kozik V., Polanski J., Csollei J., Dohnal J.** ‘Ring-substituted 4-Hydroxy-1H-quinolin-2-ones: Preparation and Biological Activity’. *Molecules*. 2009, 14, 1145-1159.

[26] **M. Fujita, T. Fujita, K. Higashino,** “Antitumor effect of a quinolinone derivative, vesnarinone, on mouse hepatoma”, *Hepatology Research*, 2000, 17, 65-71

[27] **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)

[28] **B. Podeszwa, H. Niedbala, J. Polanski, R. Musiol, D. Tabak, J. Finster, K. Serafin, M. Milczarek, J. Wietrzyk, S. Boryczka, W. Molc J. Jampilek, J. Dohnal, D. S. Kalinowski and D. R. Richardson**, ‘Investigating the antiproliferative activity of quinoline-5,8-diones and styrylquinolinecarboxylic acids on tumor cell lines’, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2007, 6138-6141

[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] **Conner E.M., Grisham B.** ‘Inflammation, free radicals, and antioxidants’, *Nutrition*. 1996, 12, σσ. 274-277.

[31] **K. Kirandeep, M. Jain, R. P. Reddy**, ‘Quinolines and structurally related heterocycles as antimalarials’, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2010, 45(8), 3245-64

[32] **M. Foley, L. Tilley**, ‘Quinoline Antimalarials: Mechanisms of Action and Resistance and Prospects for New Agents.’, *Pharmacology & Therapeutics*, 1998, 79(1):55-87.

[33] **El Bakkali M., Ismaili L., Tomassoli I., Nicod L., Pudlo M., Refouvelet B.** ‘Pharmacophore Modelling and Synthesis of Quinoline-3-Carbohydrazide as Antioxidants’. *International Journal of Medicinal Chemistry*. 2011.

[34] **Malakyan M.G., Badzhinyan S.A., Vardevanyan L.A., Grigoryan D.S., Egiazaryan D.É., Avetisyan A.A., Aleksanyan I.L., Ambartsumyan L.P., Sargsyan K.S.** ‘Studies of the antioxidant and antihemolytic activity of quinoline derivatives in a model of oxidative damage to erythrocyte membranes’. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2007, 43, σσ. 7-10.

[35] **Gaspar Diaz, Izabel Luzia Miranda and Marisa Alves Nogueira Diaz**, ‘Quinolines, Isoquinolines, Angustureine, and Congeneric Alkaloids — Occurrence,

Chemistry, and Biological Activity’, *Phytochemicals - Isolation, Characterisation and Role in Human Health*, 141-162

[36] **Gregory L. Beutner, Jeffrey T. Kuethe, Nobuyoshi Yasuda.** ‘A Practical Method for Preparation of 4-Hydroxyquinolinone Esters’, *Journal of Organic Chemistry*, 2007, 7058-7061

[37] Hegedus, A., Hell, Z., Vargadi, T., Potor, A., Gresits, I., 2007. A new, simple synthesis of 1,2-dihydroquinolines via cyclocondensation using zeolite catalyst. *Catal. Lett.* 117, 99–101

[38] Zhou, T., Lin, J., Chen, Z., 2008. A convenient synthesis of quinolines via ionic liquid-catalysed friedlander annulation. *Lett. Org. Chem.* 5, 47–50.

[39] Kouznetsov, V.V., 2009. Recent synthetic developments in a powerful imino Diels–Alder reaction (Povarov reaction): application to the synthesis of N-polyheterocycles and related alkaloids. *Tetrahedron* 65, 2721–2750.

[40] Zhou, W., Zhang, L., Jiao, N., 2009. The tandem reaction combining radical and ionic processes: an efficient approach to substituted 3,4-dihydroquinolin-2-ones. *Tetrahedron* 65, 1982–1987.

[41] Ghassamipour, S., Sardarian, A.R., 2009. Friedlander synthesis of poly-substituted quinolines in the presence of dodecylphosphonic acid (DPA) as a highly efficient, recyclable and novel catalyst in aqueous media and solvent-free conditions. *Tetrahedron Lett.* 50, 514–519.

[42] Zografos, A.L., Mitsos, C.A., Markopoulou, O.I., 1999. One step synthesis for the preparation of quinoline alkaloid analogues. *Org. Lett.* 1, 1953–1955.

[43] Martinez, R., Ramon, D.J., Yus, M., 2008. Transition metal free indirect Friedlander synthesis of quinolines from alcohols. *J. Org. Chem.* 73, 9778–9780.

[44] **Sulekha Mandal, Satish Yadav, Sunita Yadav, Rajesh Kumar Nema,** ‘Antioxidants: A Review’, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2009, 1,102-104.

[45] **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

[46] **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

[47] **Catherine A° Rice-Evans, Nicholas J. Miller and George Paganga**, ‘Antioxidant properties of Phenolic compounds’, *trends in plant science reviews*, 1997, Vol. 2, No. 4, 152-159

[48] **S. Malhotra, G. Shakya, A. Kumar, B.W. Vanhoecke, A.L. Cholli, H.G. Raj, L. Saso, B. Ghosh, M.E. Bracke, A.K. Prasad, S. Biswal, V.S. Parmar**. ‘Antioxidant, anti-inflammatory and antiinvasice Activities of Biopolyphenolics’. *ARKIVOC*, 2008, (vi) 119-139.

[49] **Detsi A., Majdalani M., Kontogiorgis C.A., Hadjipavlou-Litina D., Kefalas P.**, ‘Natural and synthetic 2’-hydroxy-chalcones and auronones: Synthesis, characterization and evaluation of the antioxidant and soybean lipoxygenase inhibitory activity’, *Bioorg. Med. Chem.*, **2009**, 17, 8073-8085

[50] Bruce N. Ames*, Mark K. Shigenaga, and Tory M. Hagen, ‘Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging’, *Proc. Natl. Acad. Sci. US*, 1993, Vol. 90, pp. 7915-7922

[51] **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

[52] **Elyse Y. Bissonnette, Guy M. Tremblay, Véronique Turmel, Bernard Pirotte, Michèle Reboud-Ravaux**, ‘Coumarinic derivatives show anti-inflammatory effects on alveolar macrophages, but their anti-elastase activity is essential to reduce lung inflammation in vivo’, *International Immunopharmacology*, 2009, 9, 49–54.

[53] **Teresita Guardia, Alejandra Ester Rotelli, Ame´rico Osvaldo Juarez, Lilian Eugenia Pelzer**, ‘Anti-inflammatory properties of plant flavonoids. Effects of rutin, quercetin and hesperidin on adjuvant arthritis in rat’, *Il Farmaco* 56, 2001, 683–687

[54] **Ana Garcia-Lafuente, Eva Guillamon, Ana Villares, Mauricio A. Rostagno, Jose´ Alfredo Martinez**, ‘Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease’, *Inflamm. Res.* 2009, (58), 537–552

[55] **Young-Joon Surh**, ‘Anti-tumor promoting potential of selected spice ingredients with antioxidative and anti-inflammatory activities: a short review’, *Food and Chemical Toxicology*, 2002, 1091–1097

[56] **Zdzistawa Nowakowska**, ‘A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones’, *European Journal of Medicinal Chemistry* 42 (2007) 125e137

[57] **John McMurry**, “Οργανική Χημεία» Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, σελ.1072, 1156

[58] **Francis A. Carey, Richard J. Sundberg**, ‘Advanced Organic Chemistry: Part A: Structure and Mechanisms’, σ.479-481

https://books.google.gr/books?id=z3jXKOYuqQAC&pg=PA479&lpg=PA479&dq=base+catalyzed+aminolysis+of+ester&source=bl&ots=dMcju9a_Kv&sig=cQJcB3IGTneWSy2VUAndfl151go&hl=el&sa=X&ved=0ahUKEwiS8e_1q-HOAhXJ0hoKHcqQAmUQ6AEIXzAK#v=onepage&q=base%20catalyzed%20aminolysis%20of%20ester&f=false

[59] **John McMurry**, “Οργανική Χημεία» Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, σελ.988-989

<https://www.youtube.com/watch?v=gMKtGulgGH8>

[60] **John McMurry**, “Οργανική Χημεία» Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, σελ.996-997

[61] **E.I Solomon, J.Zhou, F.Neese, E.G.Pavel**, 'New insights from spectroscopy into the structure/function relationships of lipoxygenases', *Chem. Biol.* 1997, 4, 795–808.

[62] **Rosalina Wisastra and Frank J. Dekker**, 'Inflammation, Cancer and Oxidative Lipoxygenase Activity are Intimately Linked', *Cancers* 2014, 1500-1521

[63] **Seranthimata Samshuddin, Badiadka Narayana, Balladka Kunhanna Sarojini, Mahmud Tareq Hassan Khan, Hemmige S. Yathirajan, Chenna Govindaraju Darshan Raj, Ramappa Raghavendra**, 'Antimicrobial, analgesic, DPPH scavenging activities and molecular docking study of some 1,3,5-triaryl-2-pyrazolines', *Med Chem Res*, 2012, 2012–2022

[64] **Akshay Kumar, Bhat G. Varadaraj, Rajeev K. Singla**, 'Synthesis and evaluation of antioxidant activity of novel 3,5-disubstituted-2-pyrazolines', *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, 2013, 167-173

[65] **Philip Molyneux**, 'The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity', *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 2004, 211-219

[66] **A. Ayala, M.F. Muñoz, S. Argüelles**, 'Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal'. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 1-31.

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

[68] **C. Liegeois , C. G. Lermusieau ,S. J. Collin** ,*Agric. Food. Chem* **2000** 48 1129.

[69] **Μ. Όξενκιουν-Πετροπούλου - Α. Παππά** 'Φυσικές Μέθοδοι Ανάλυσης' Εργαστηριακές Ασκήσεις, , 3η έκδοση, Αθήνα 2009, σελ. 79-90

[70] **Μέθοδοι, Μαρία Όξενκιουν-Πετροπούλου** 'Φυσικές Μέθοδοι Ανάλυσης Φασματομετρικές', Γ' Έκδοση, Εκδόσεις Συμμετρία Αθήνα 2012, σελ. 383-391

[71] 'Φυσικές Μέθοδοι Ανάλυσης', Αθηνά Παππά, ΕΜΠ 2004, σελ. 166-200

[72] 'Φυσικές Μέθοδοι Ανάλυσης Φασματομετρικές Μέθοδοι', Μαρία Οξενκιουν-Πετροπούλου, Γ' Έκδοση, Εκδόσεις Συμμετρία Αθήνα 2012, σελ. 351

[73] Secondary ion mass spectrometry: basic concepts, instrumental aspects, applications and trends", [Benninghoven A.](#), [Rudenauer F.G.](#), [Werner H.W.](#), United States 1987

[74] <http://chimikoergastirio.blogspot.gr/2009/11/s.html> 20/9/16

[75] <http://www.demokritos.gr/Contents.aspx?lang=gr&CatId=226&View=18>
20/9/16

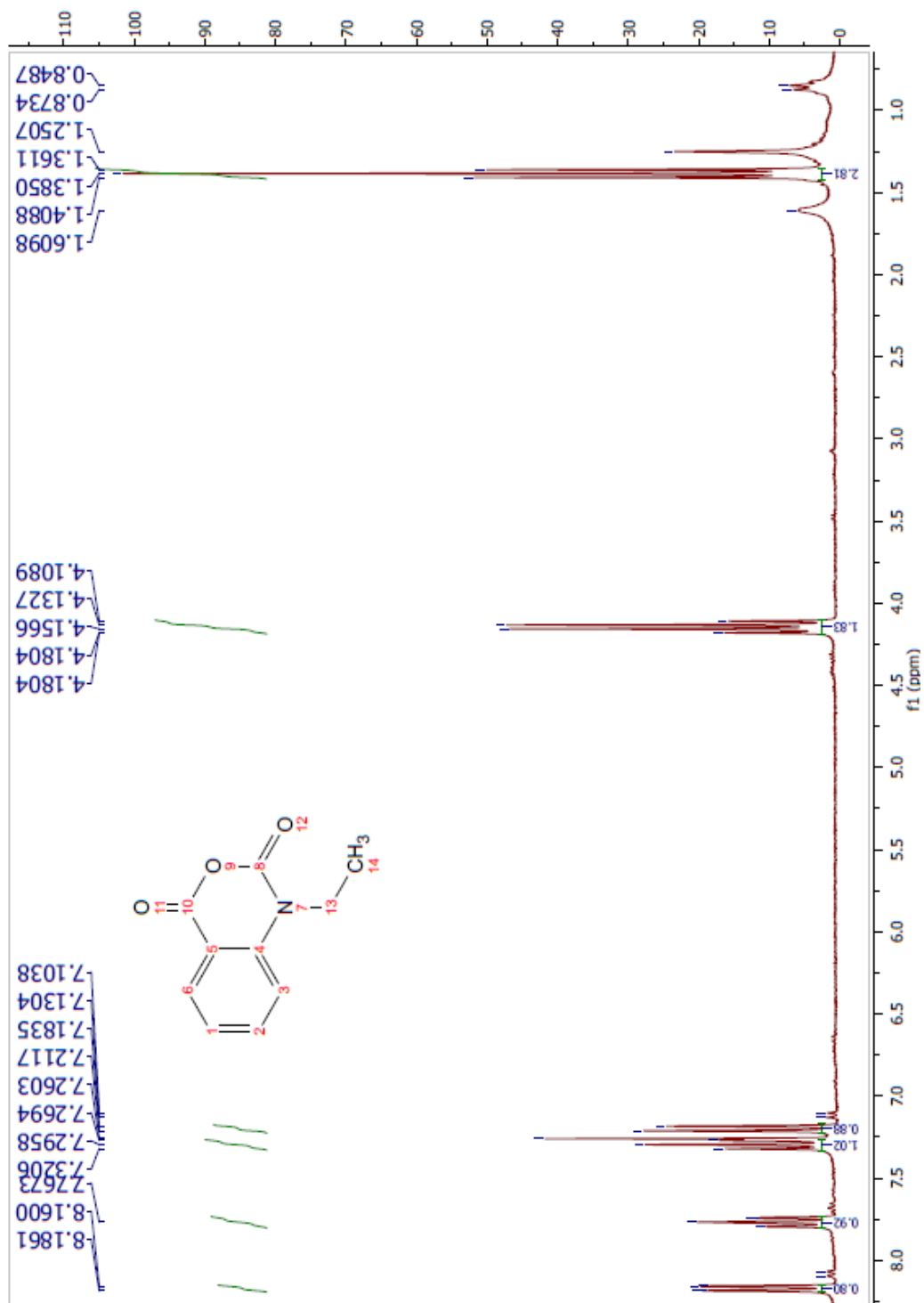
[76]

http://tccc.iesl.forth.gr/AMS_EPEAEK/courses/LazPap/MSLab_AMS.htm 20/9/16

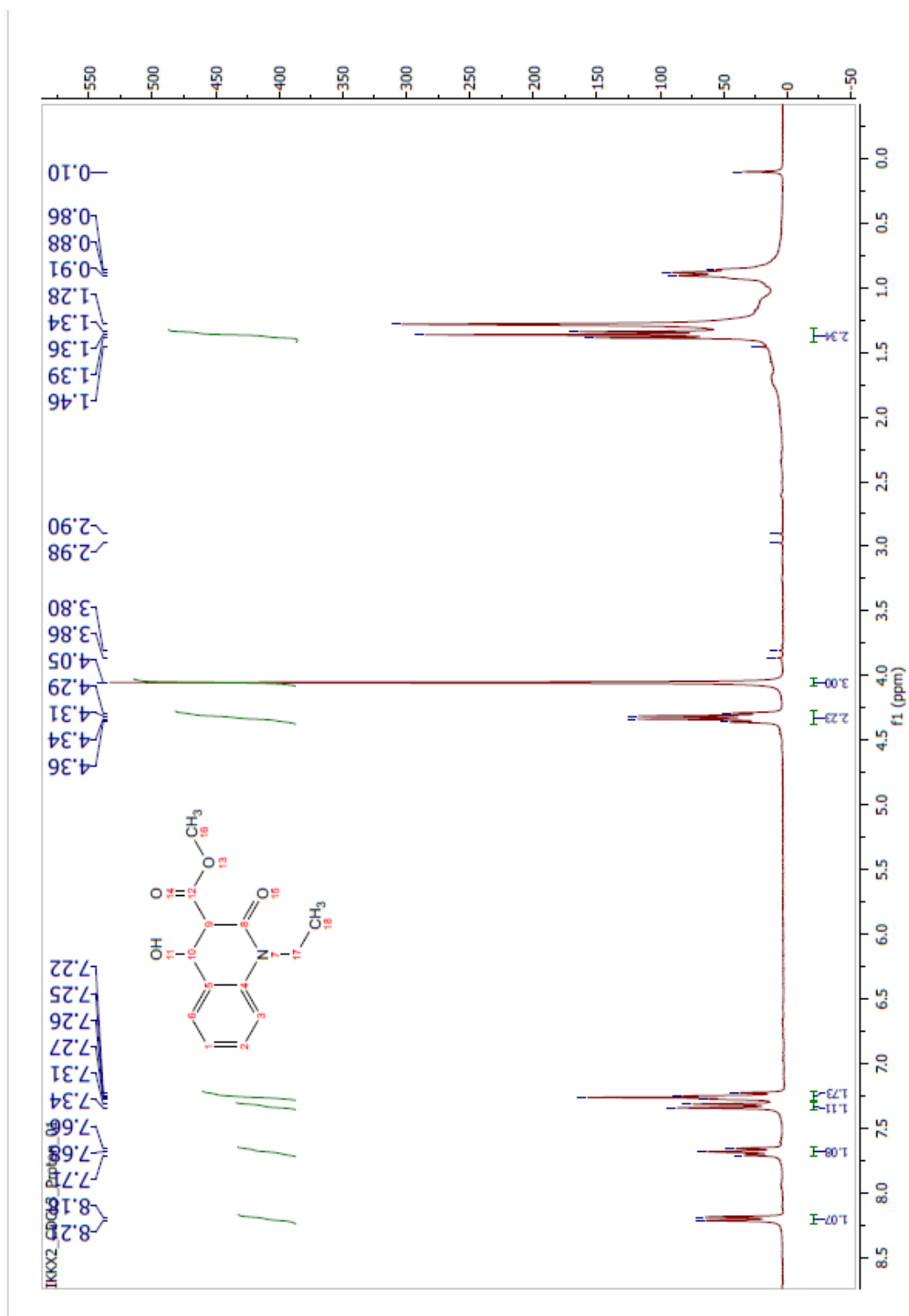
[77] <http://www.absciex.com/applications> 14/12/13

Παράρτημα Φασμάτων

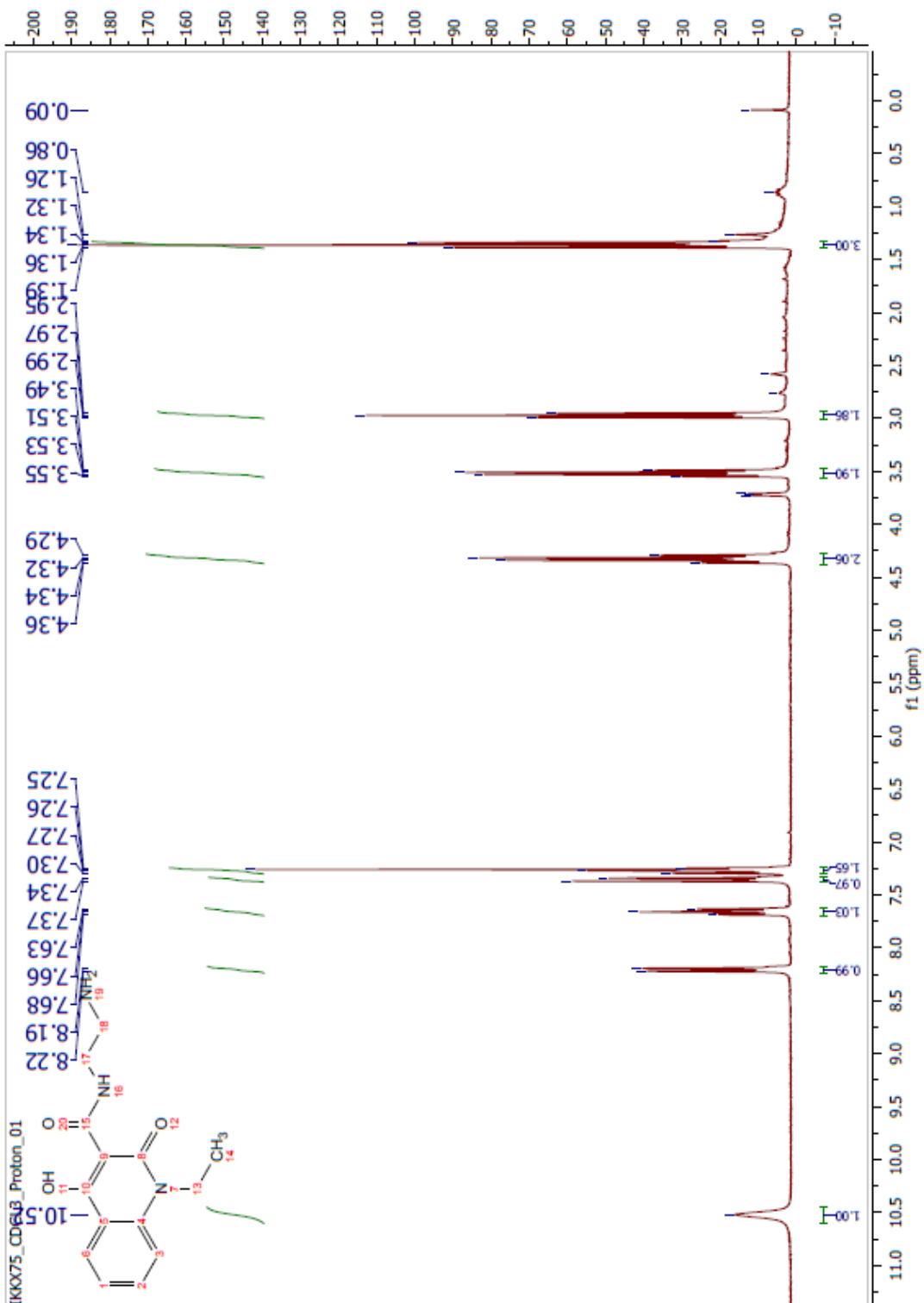
Φάσμα πρωτονίων NMR ένωσης (2)



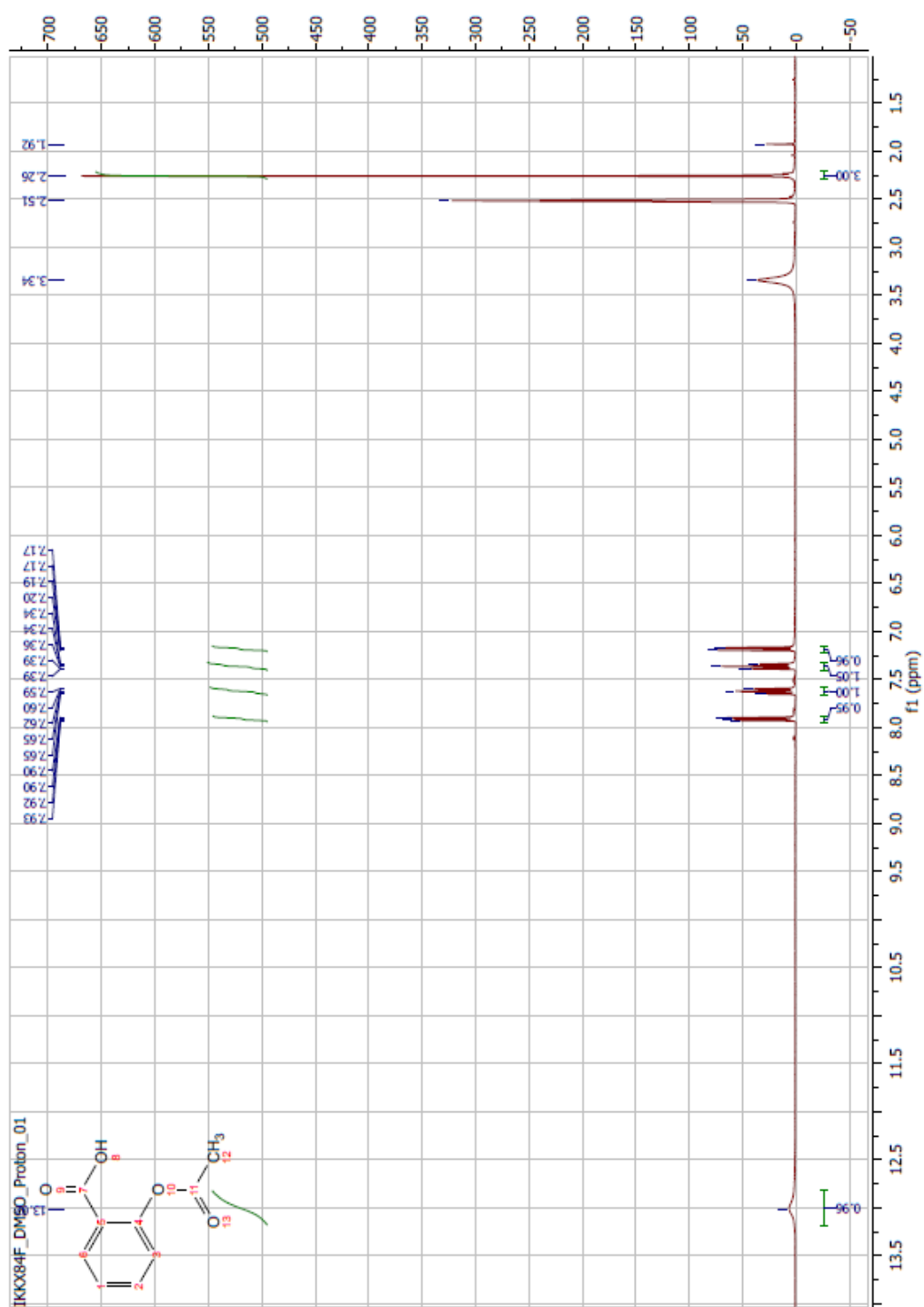
Φάσμα πρωτονίων NMR ένωσης (3)



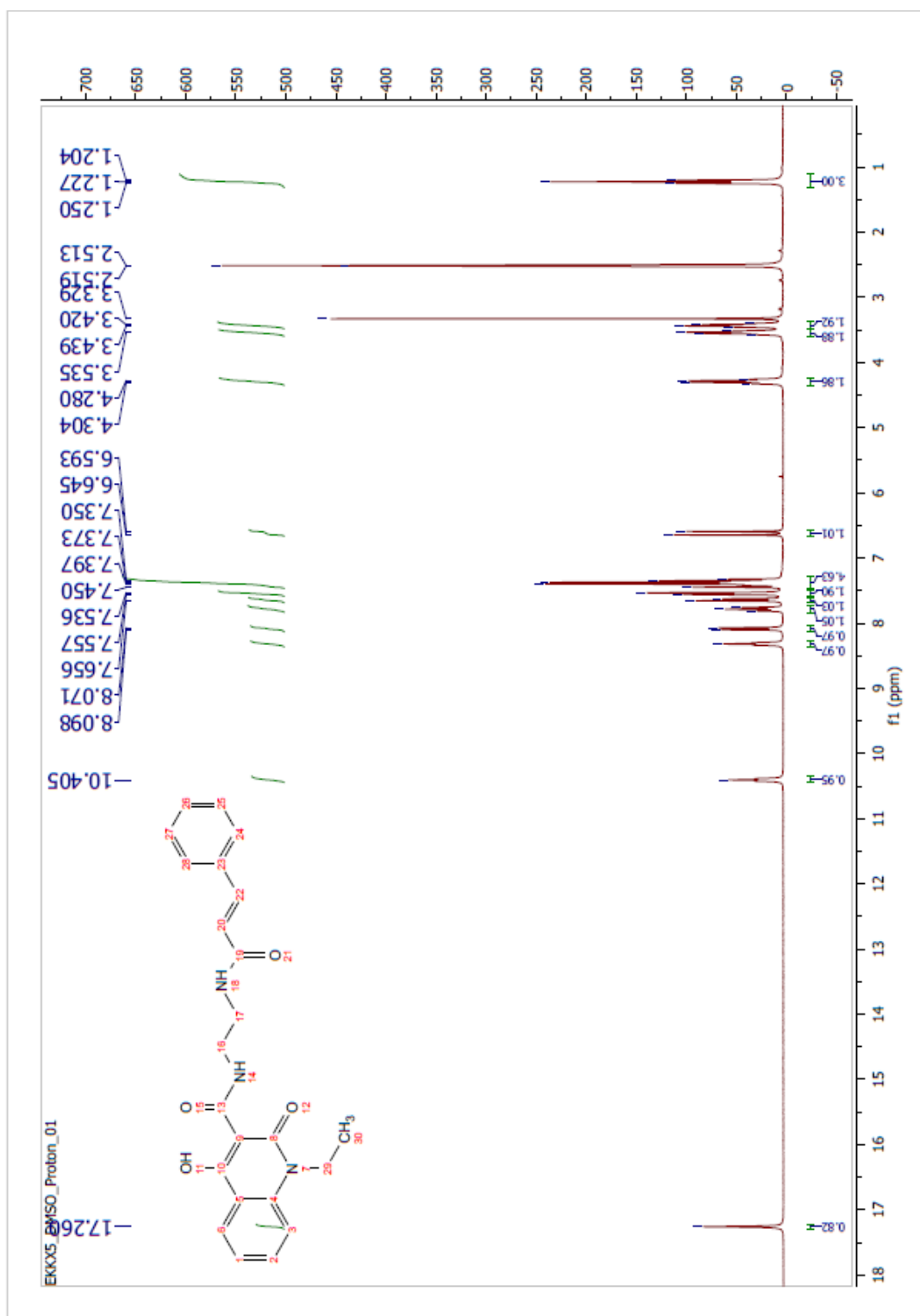
Φάσμα πρωτονίων NMR ένωσης (4)



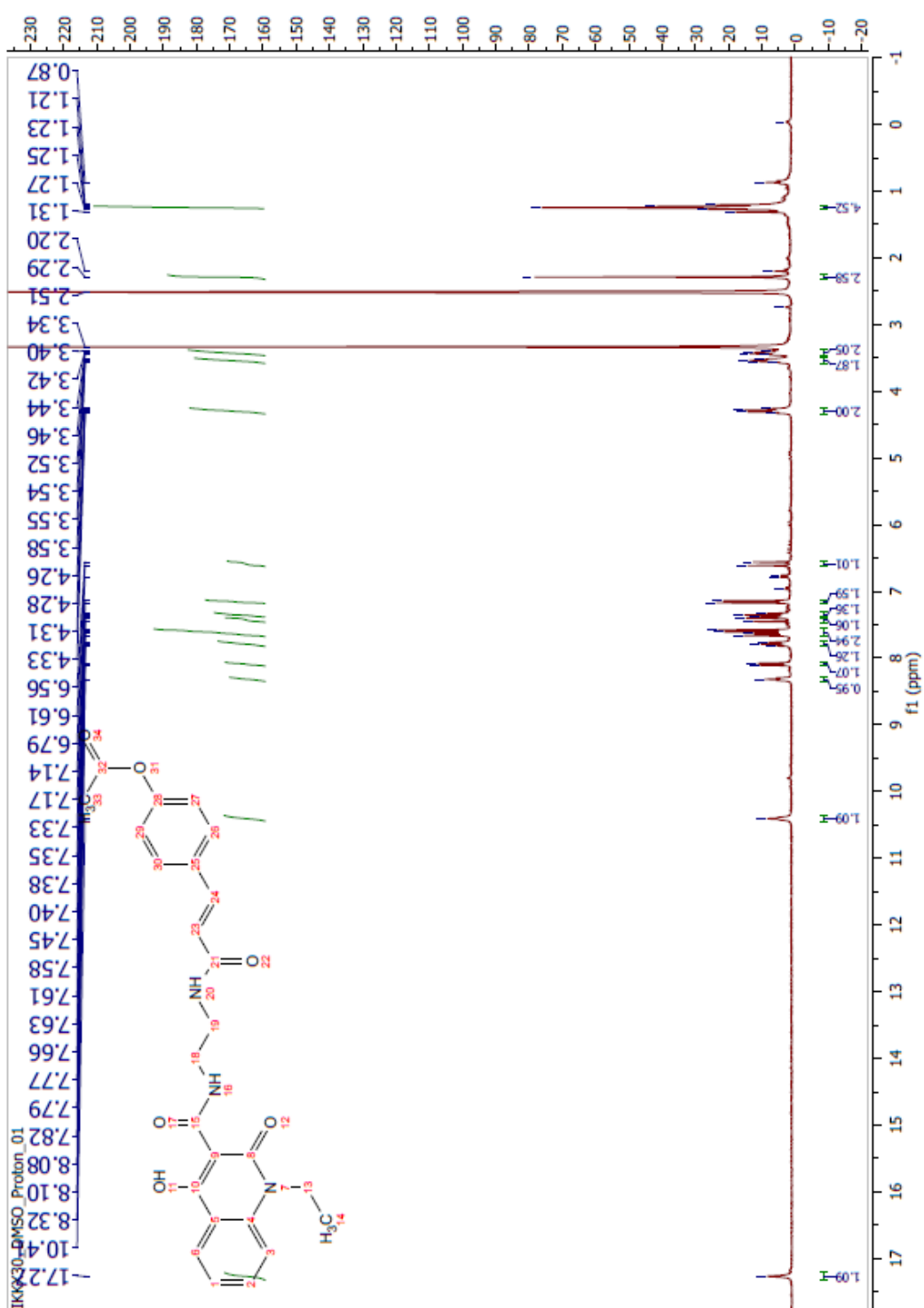
Φάσμα Προτονίων NMR ένωσης (8)



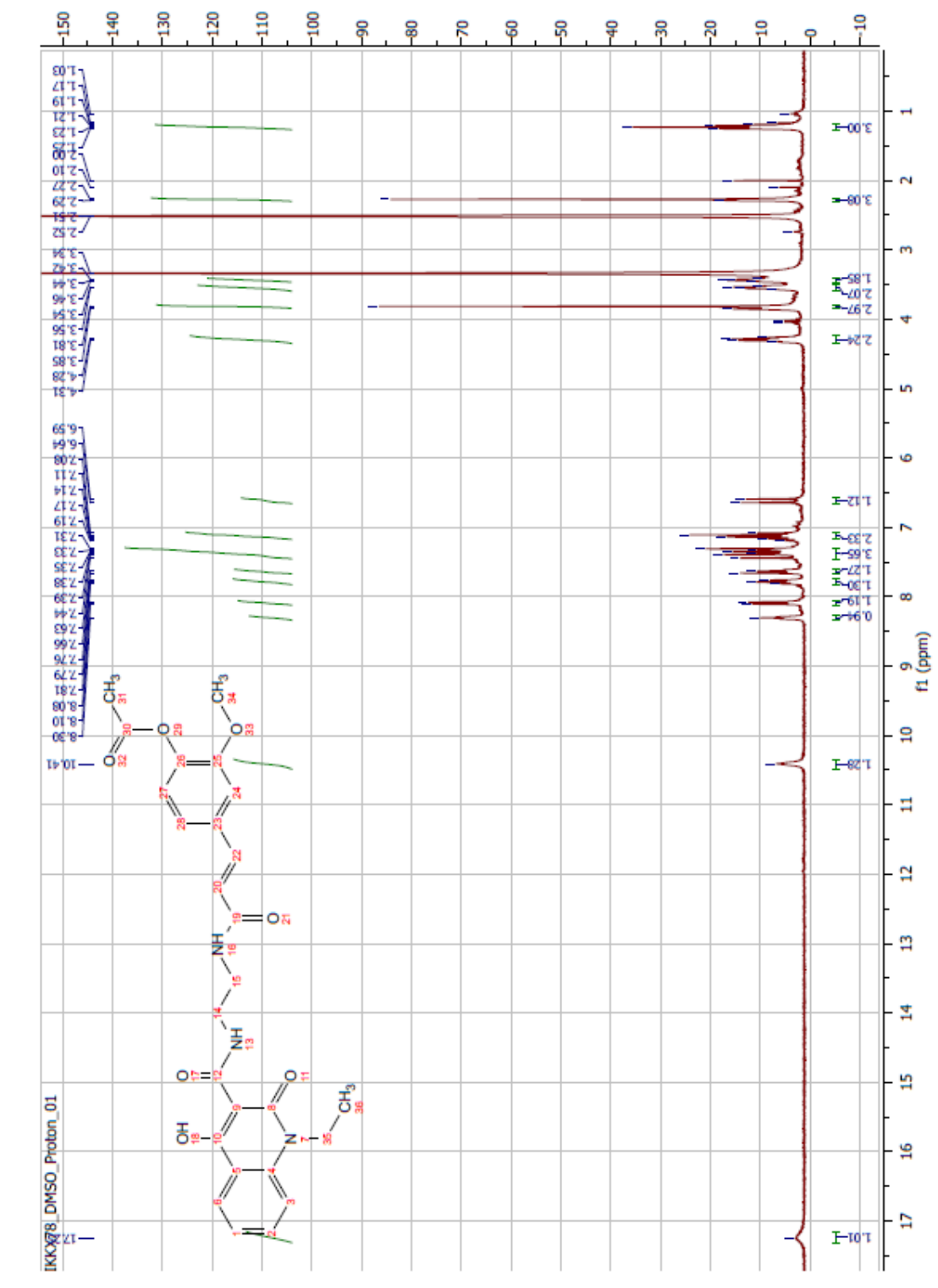
Φάσμα πρωτονίων NMR ένωσης (10a)



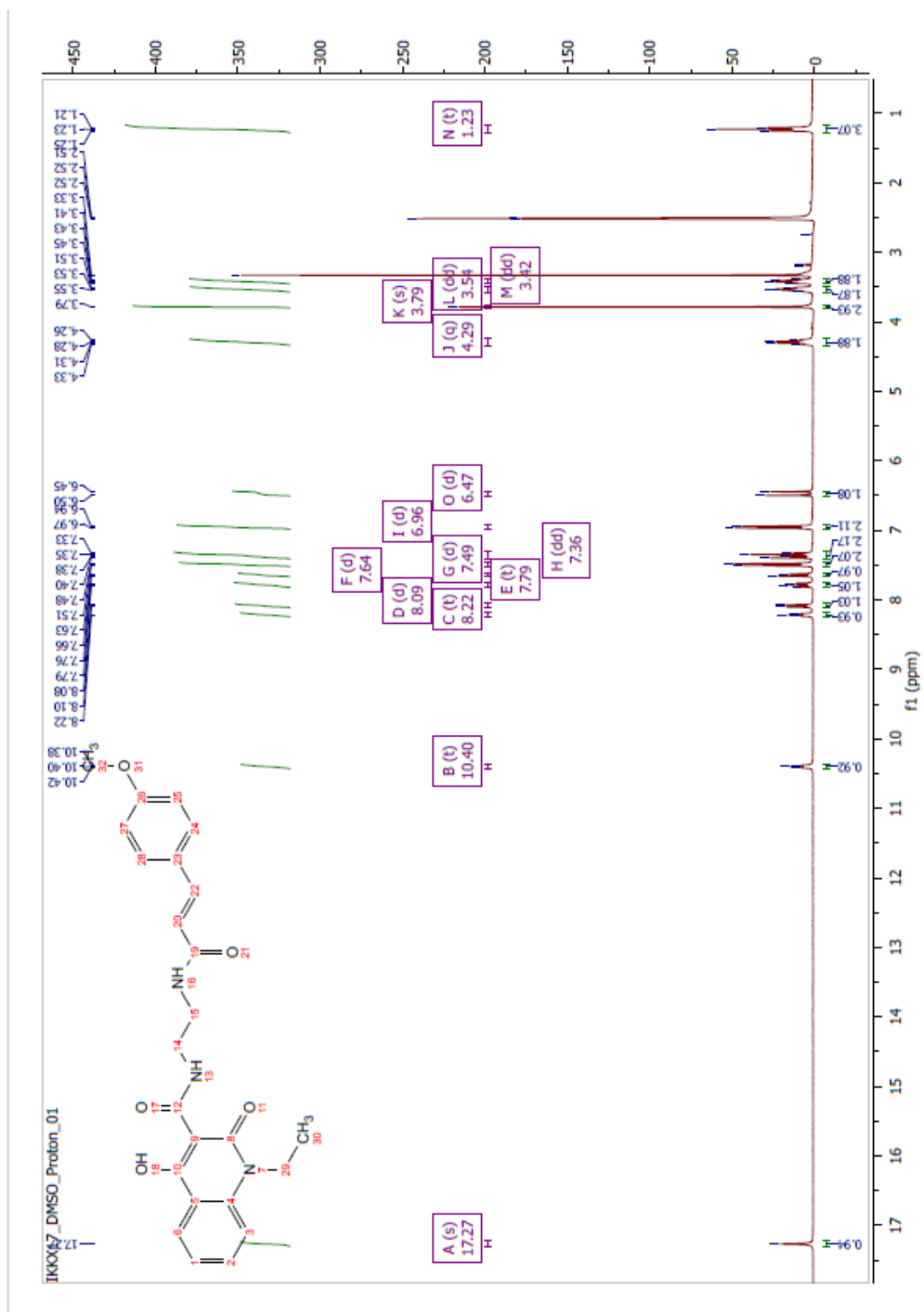
Φάσμα πρωτονίων NMR ένωσης (10b)



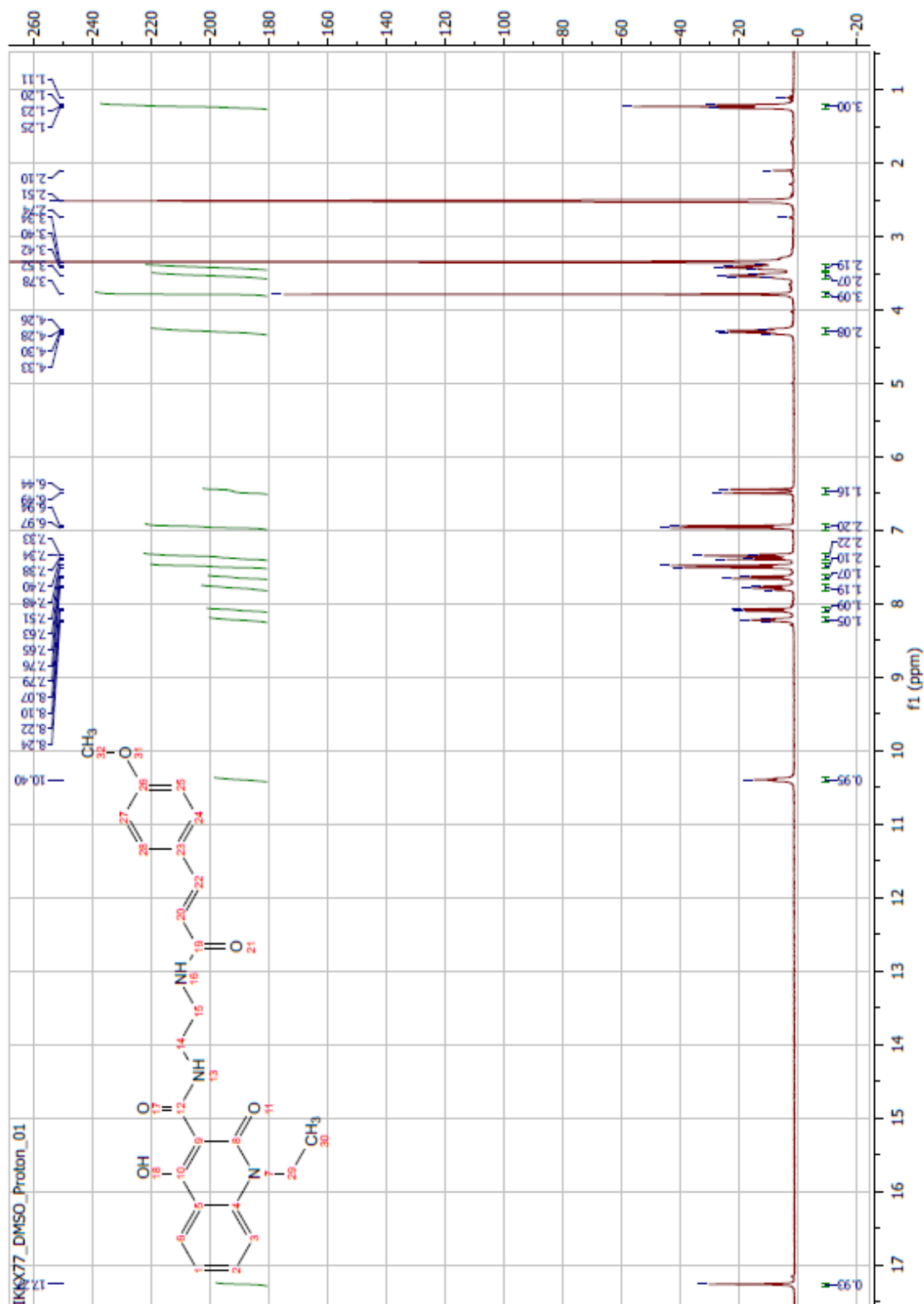
Φάσμα πρωτονίων NMR ένωσης (10d)



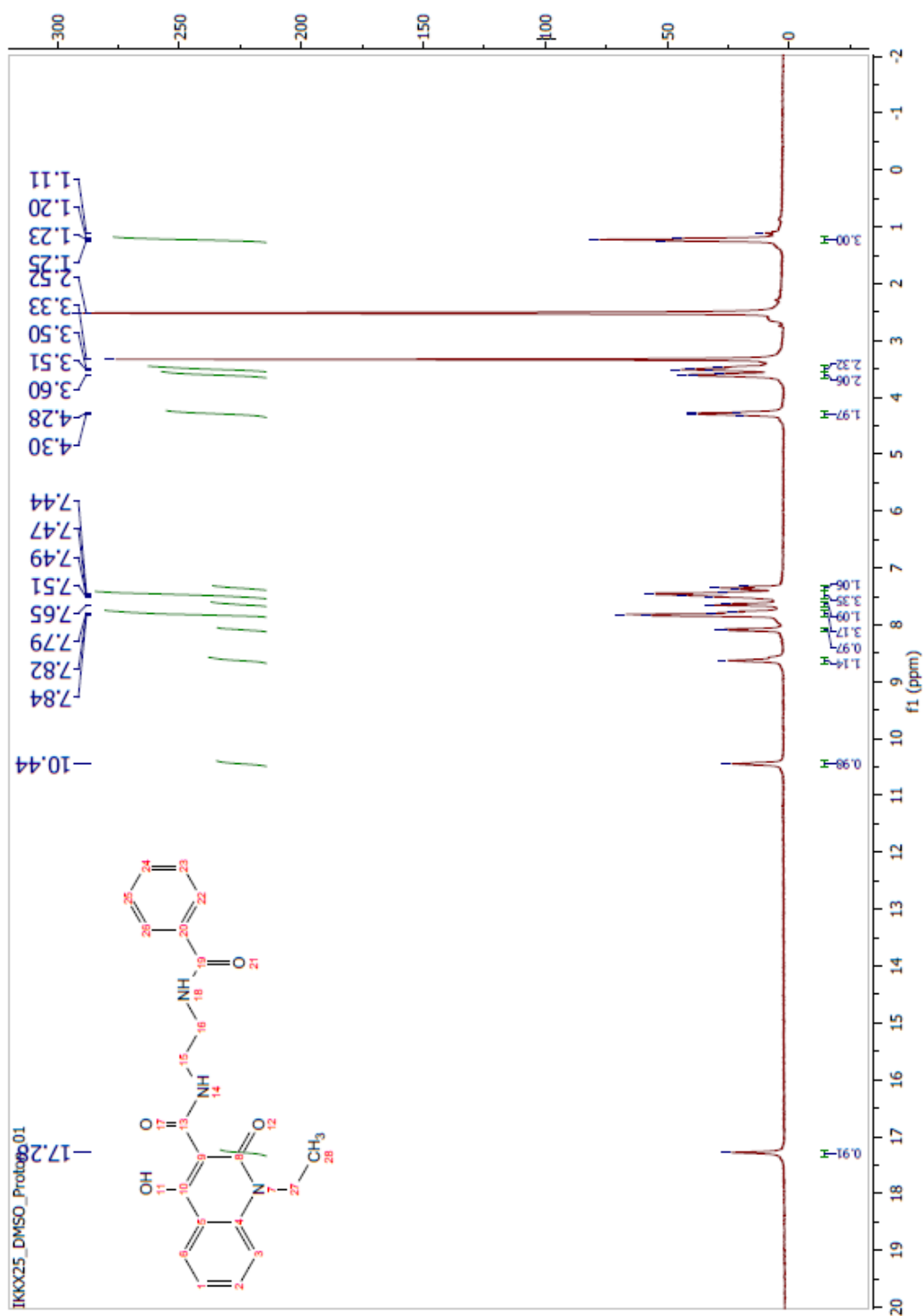
Φάσμα πρωτονίων NMR ένωσης (10e)(a)



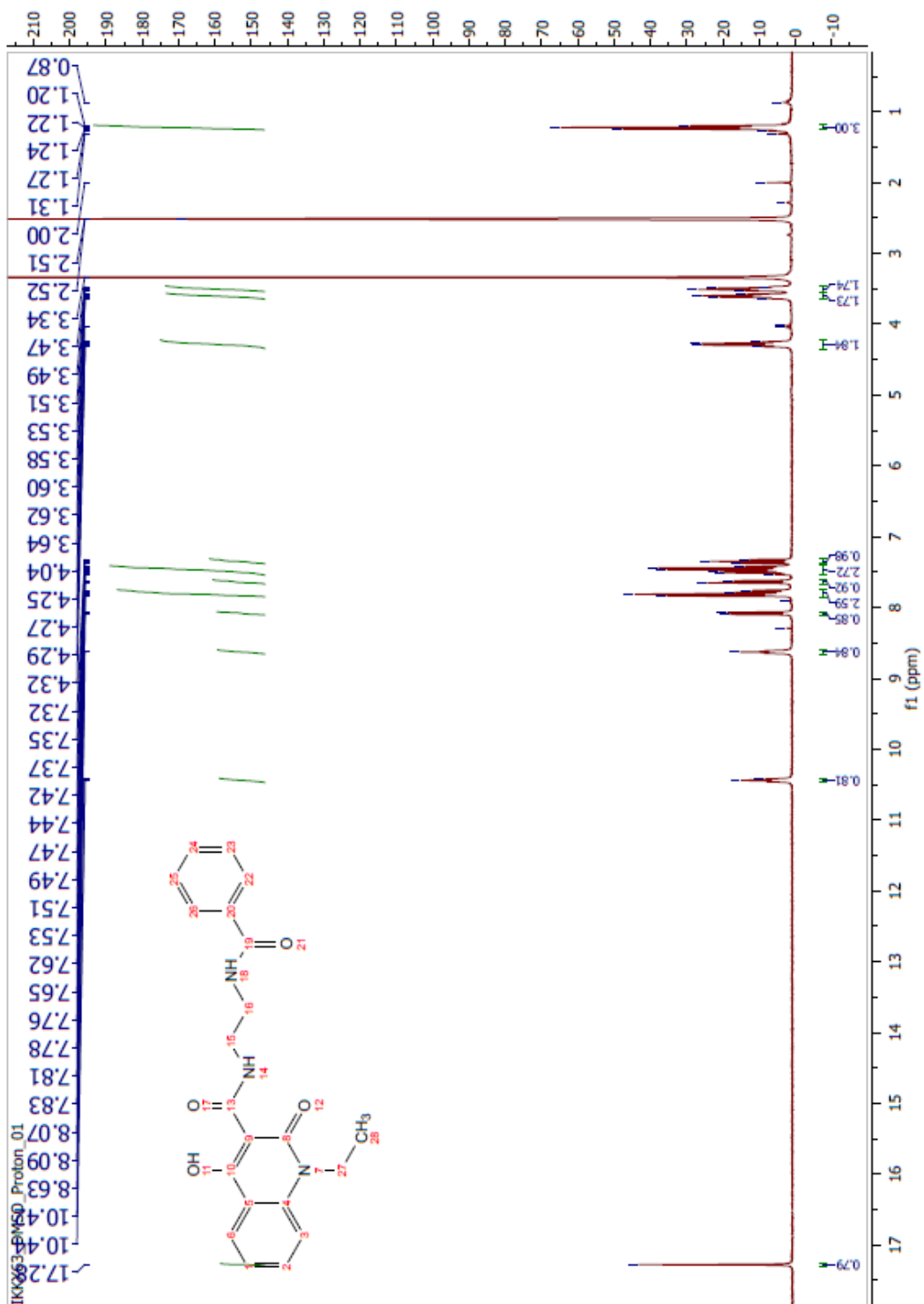
Φάσμα πρωτονίων NMR ένωσης (10e)(b)



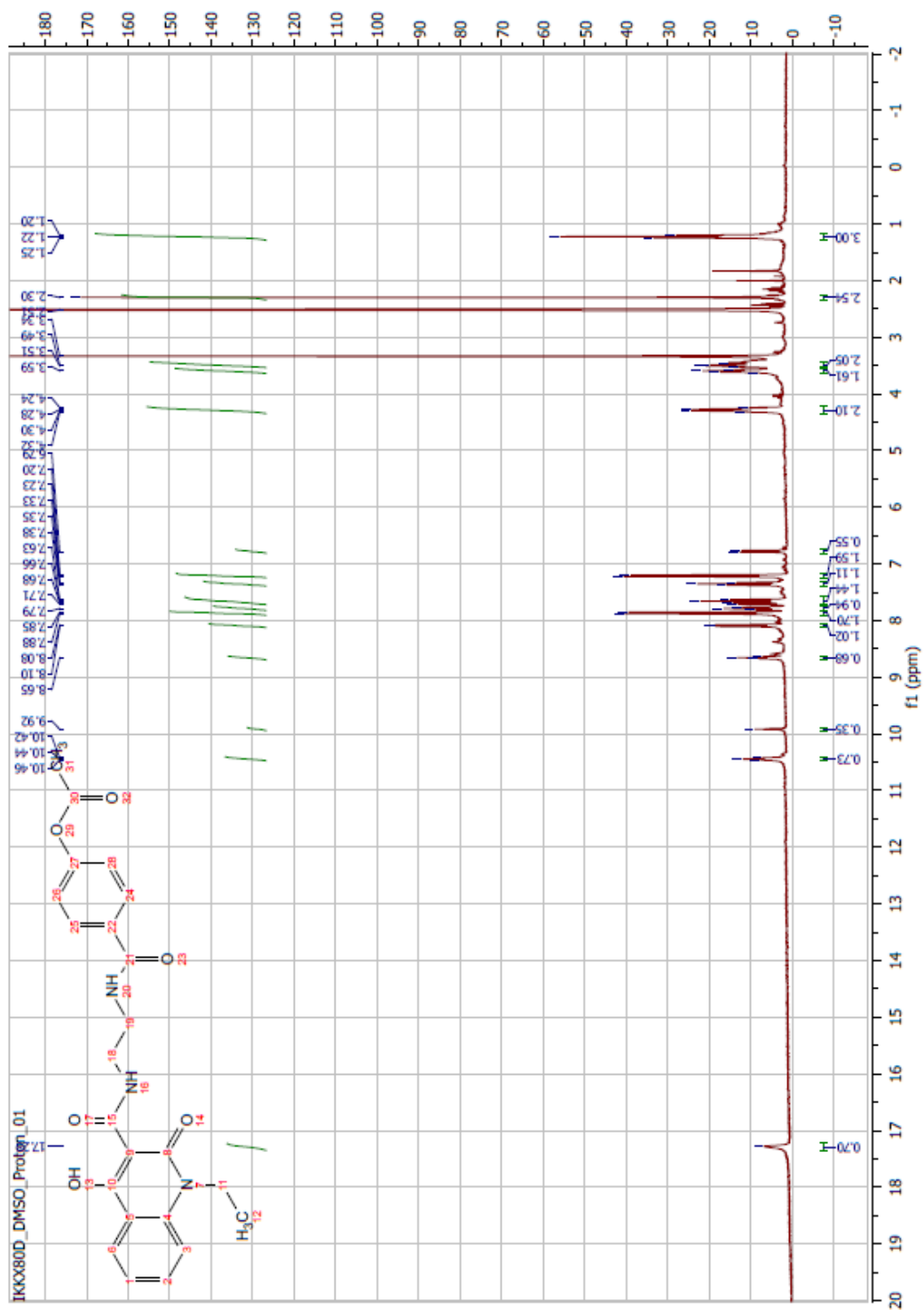
Φάσμα πρωτονίων NMR ένωσης (10f) (a)



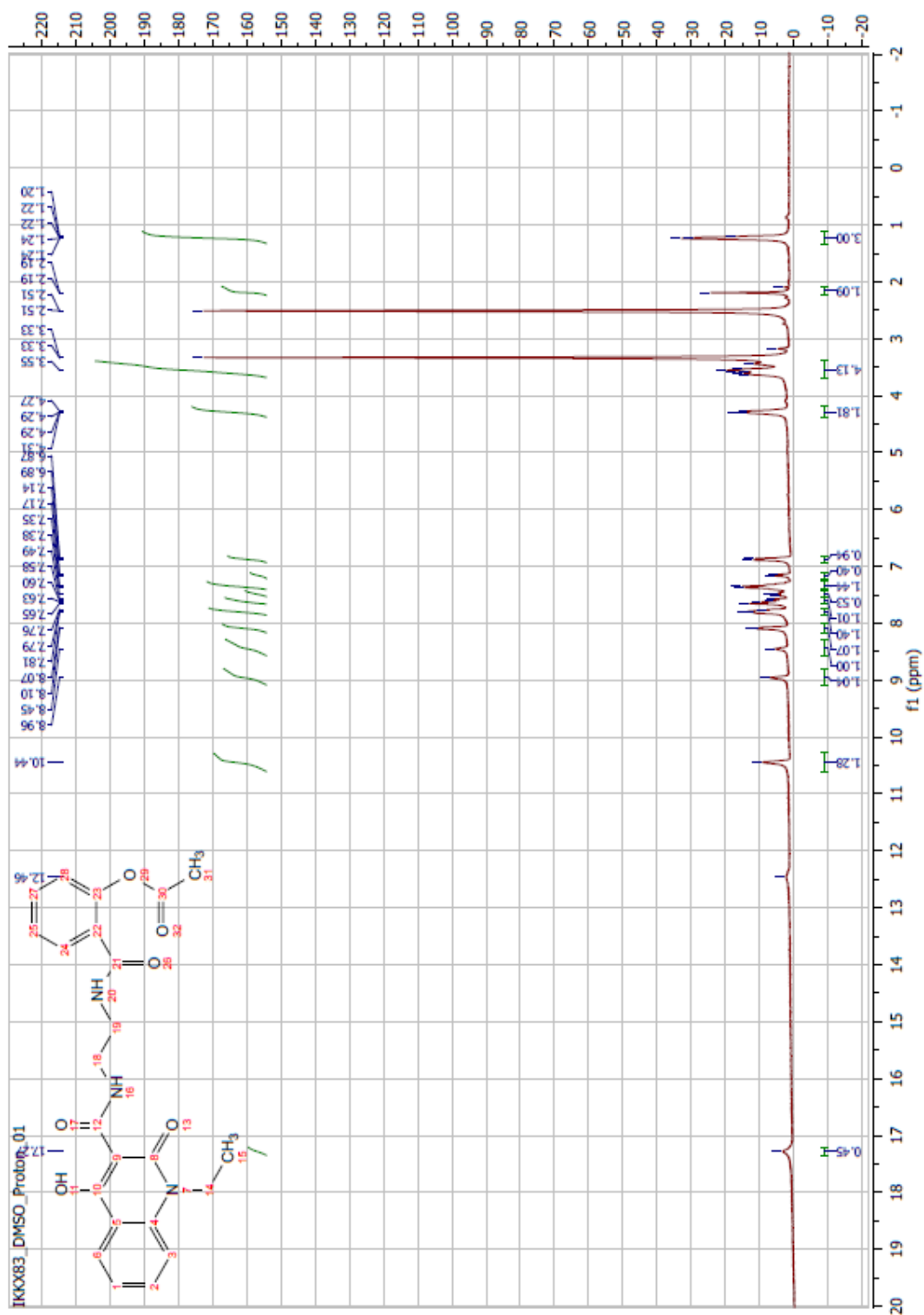
Φάσμα πρωτονίων NMR ένωσης (10f) (b)



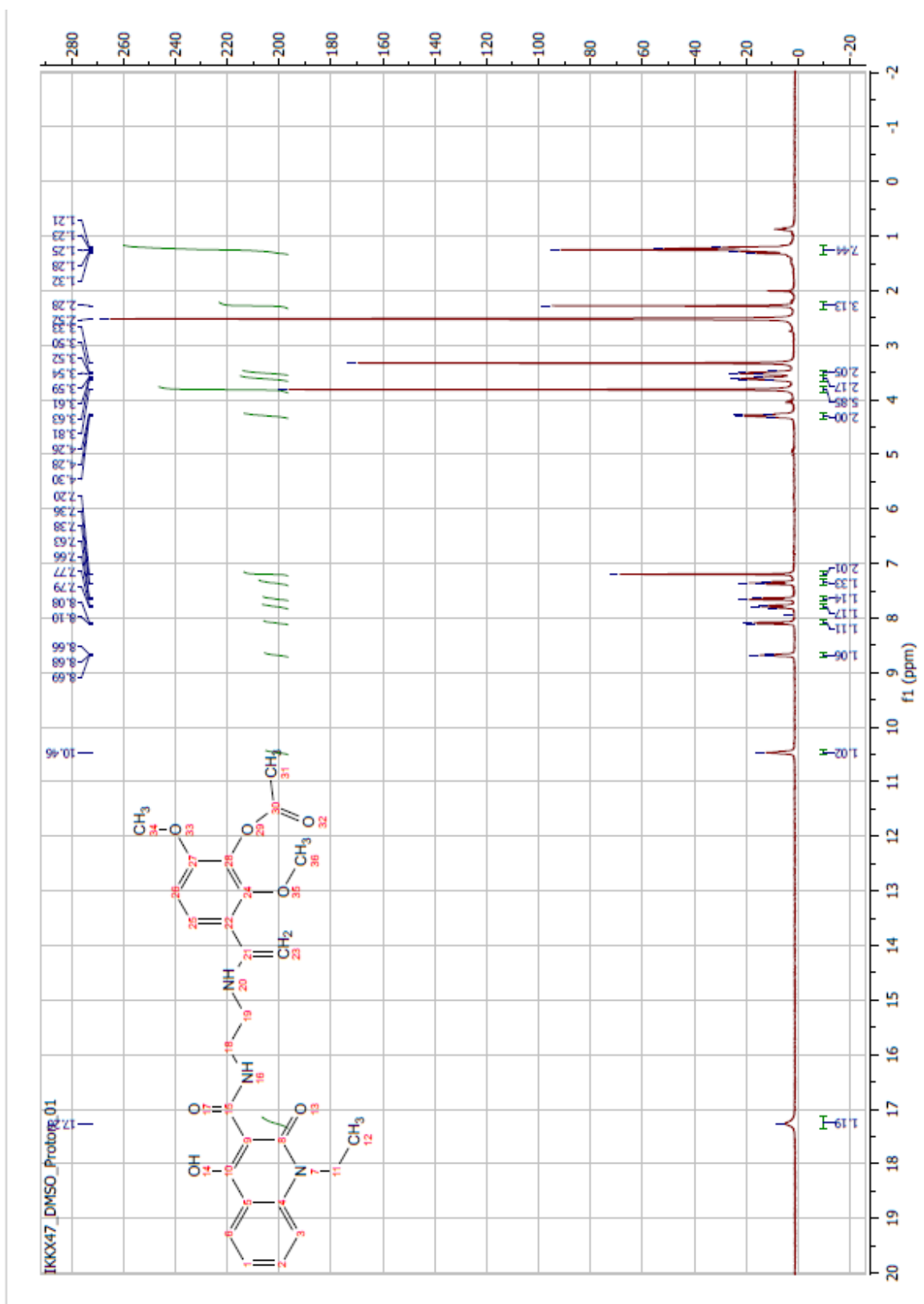
Φάσμα πρωτονίων NMR ένωσης (10g) p-υδροξυ-βενζοϊκού



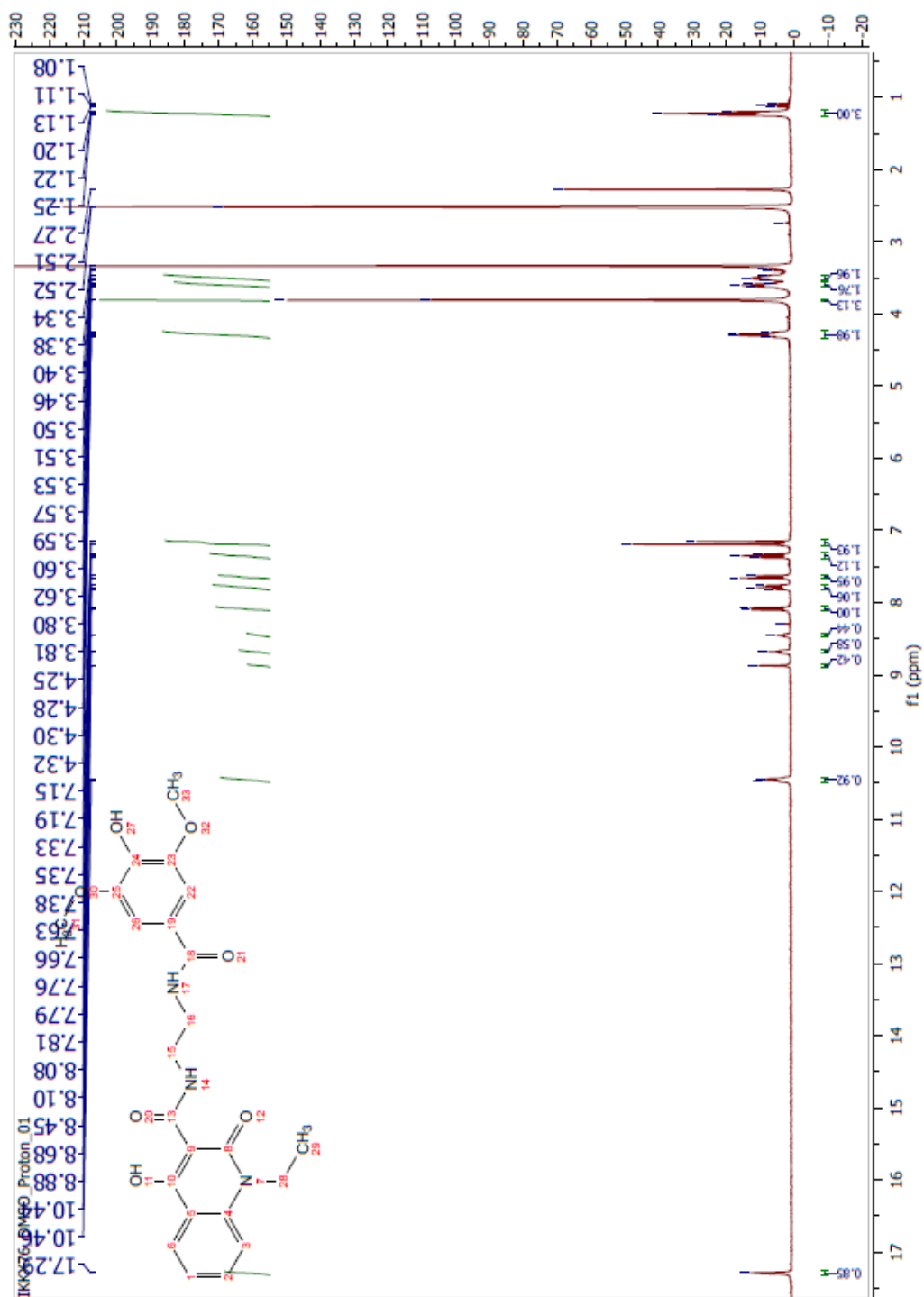
Φάσμα πρωτονίων NMR ένωσης (10h)



Φάσμα πρωτονίων NMR ένωσης (10i) συριγγικού οξέος

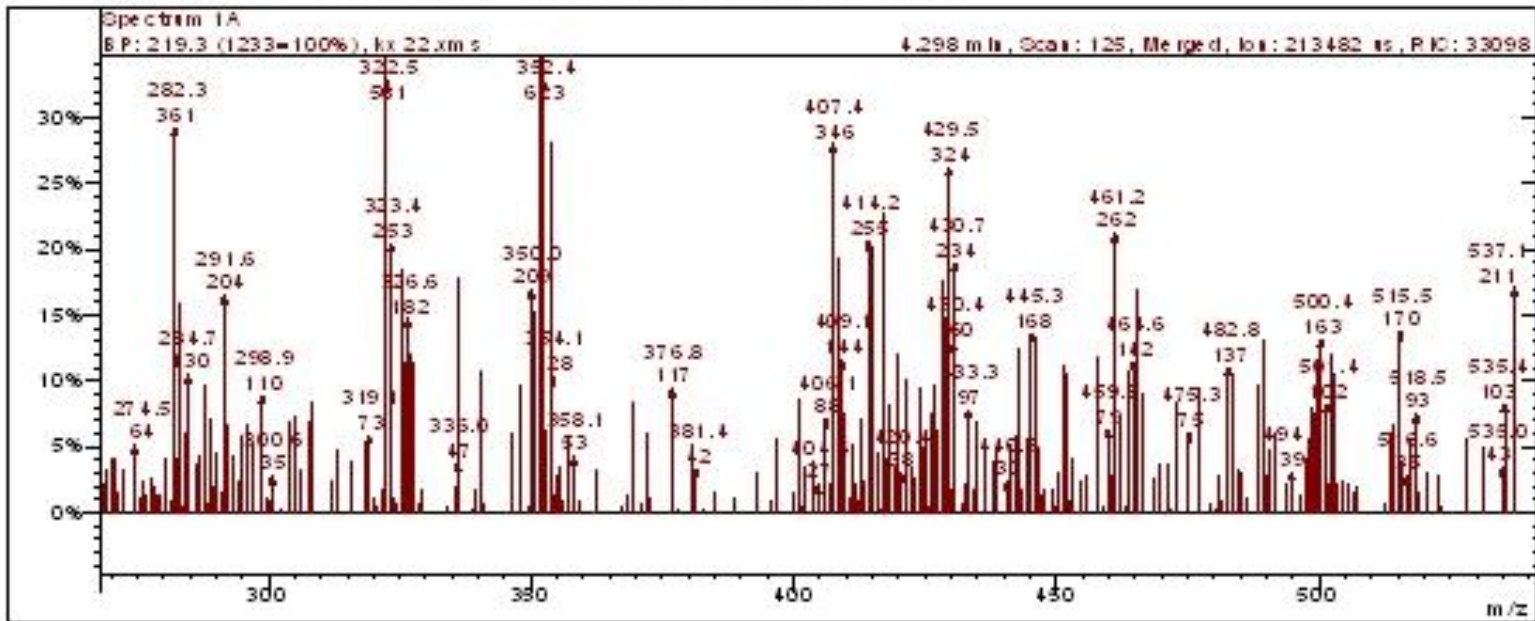


Φάσμα πρωτονίων NMR ένωσης (**11a**) συριγγικού οξέος



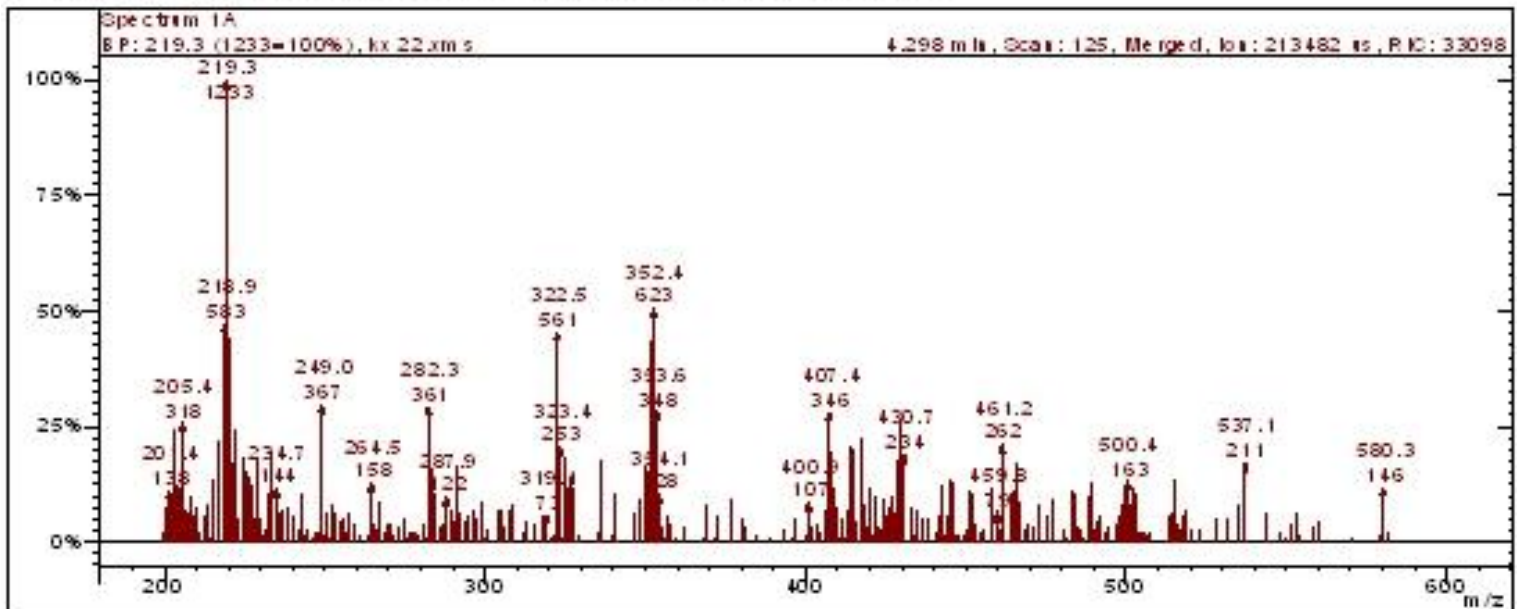
Φάσμα Μάζας ένωσης (10a)(α)

Scan 125 from c:\varianws\data\detsh\kx 22.xms



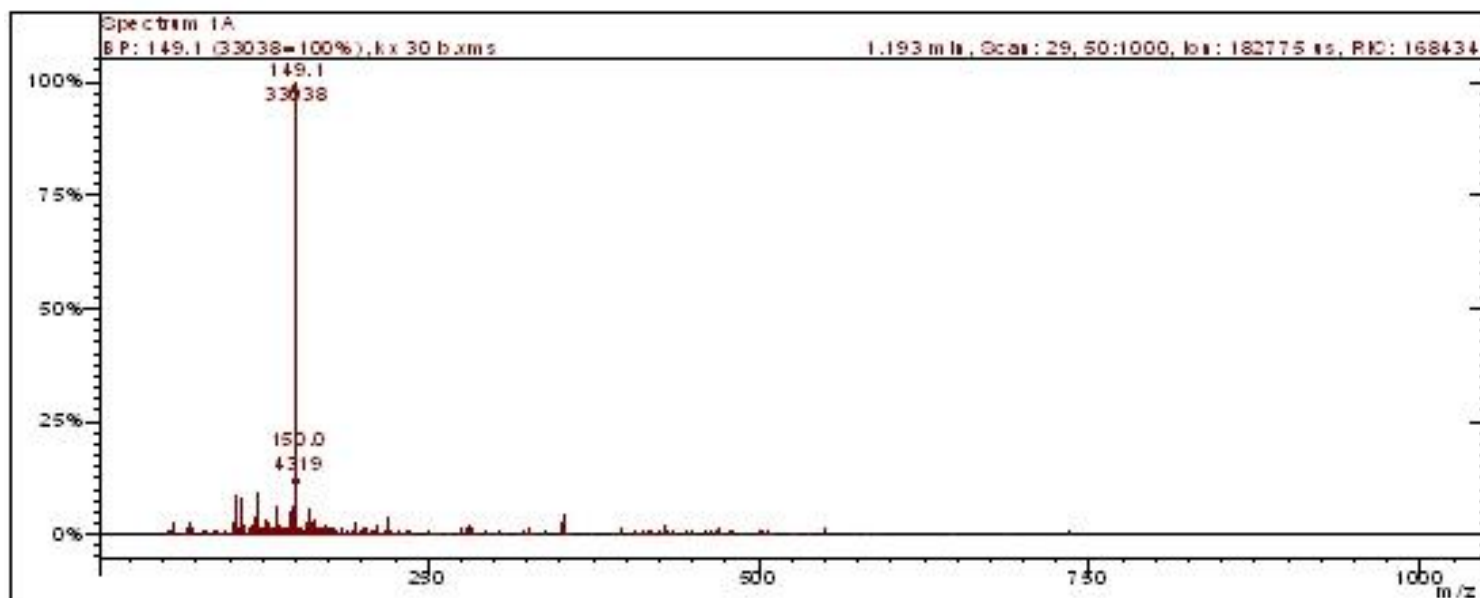
Φάσμα μάζας ένωσης (10a)(β)

Scan 125 from c:\varianws\data\detsh\kx 22.xms



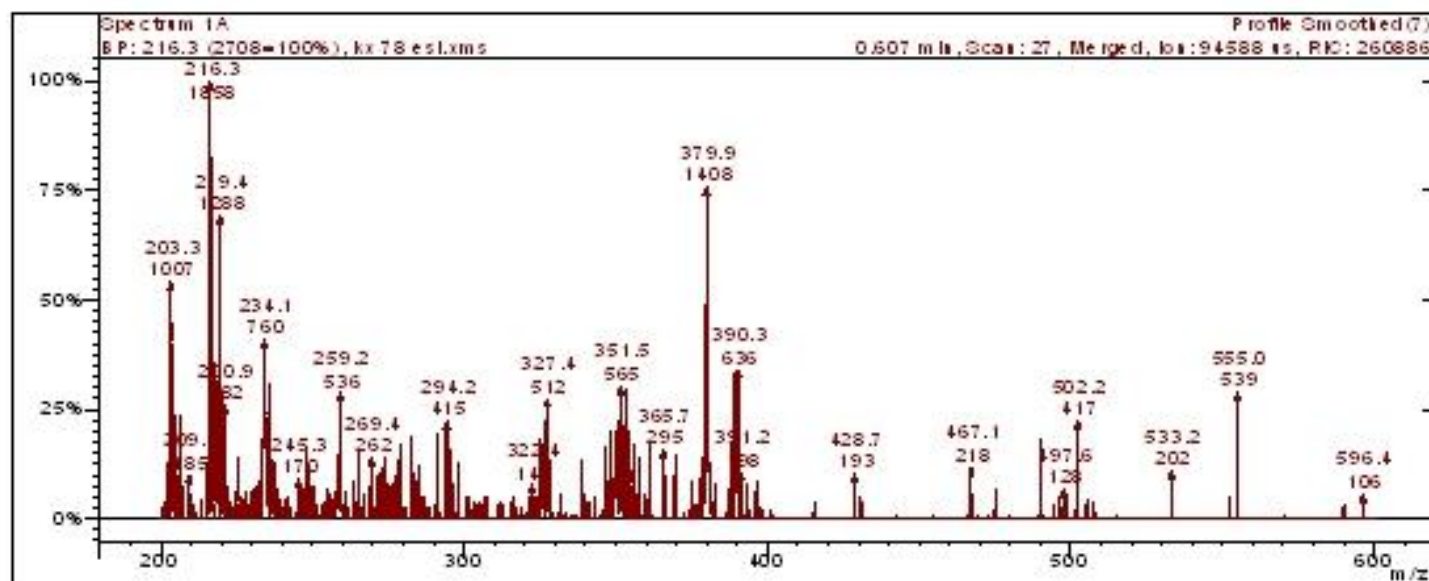
Φάσμα μάζας ένωσης (10b)

Scan 29 from c:\varianws\data\dets\kx 30 b.xms



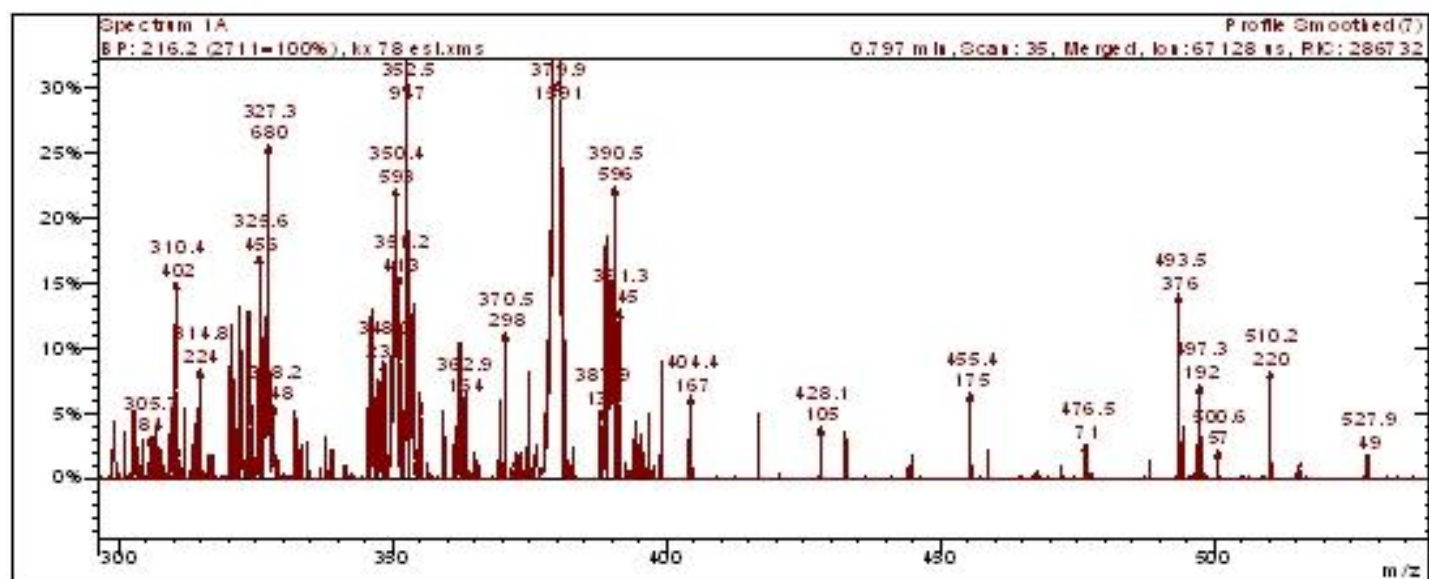
Φάσμα μάζας ένωσης (10d)(α)

Profile Scan 27 from c:\varianws\data\detsh\kx 78 esi.xms



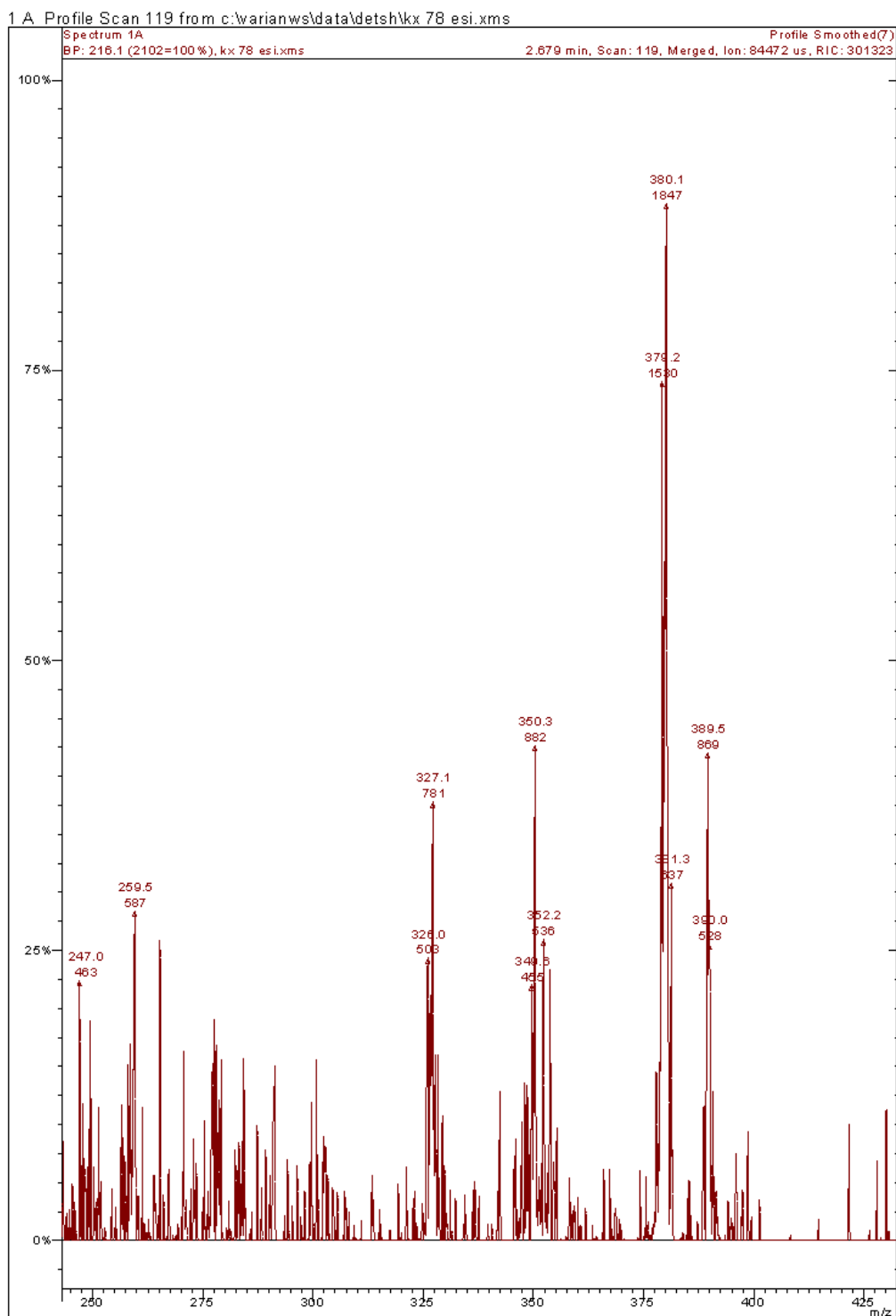
Φάσμα μάζας ένωσης (10d) (β)

Profile Scan 35 from c:\varianws\data\detsh\kx 78 esi.xms



Φάσμα μάζας ένωσης (10d) (γ)

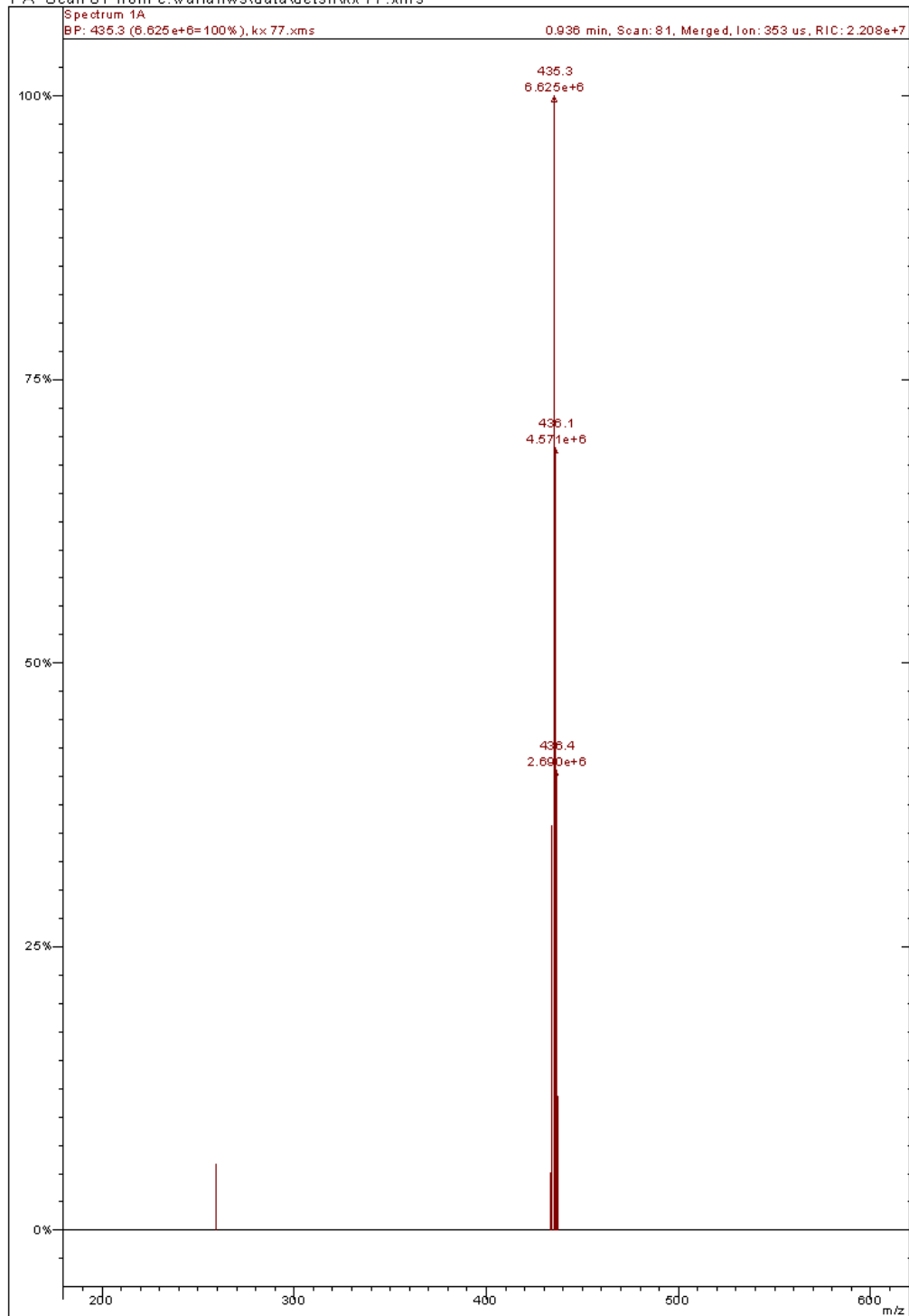
Spectrum Plot - 29/9/2016 2:25 ii



Φάσμα μάζας ένωσης (10e)

Spectrum Plot - 29/9/2016 2:20 ii

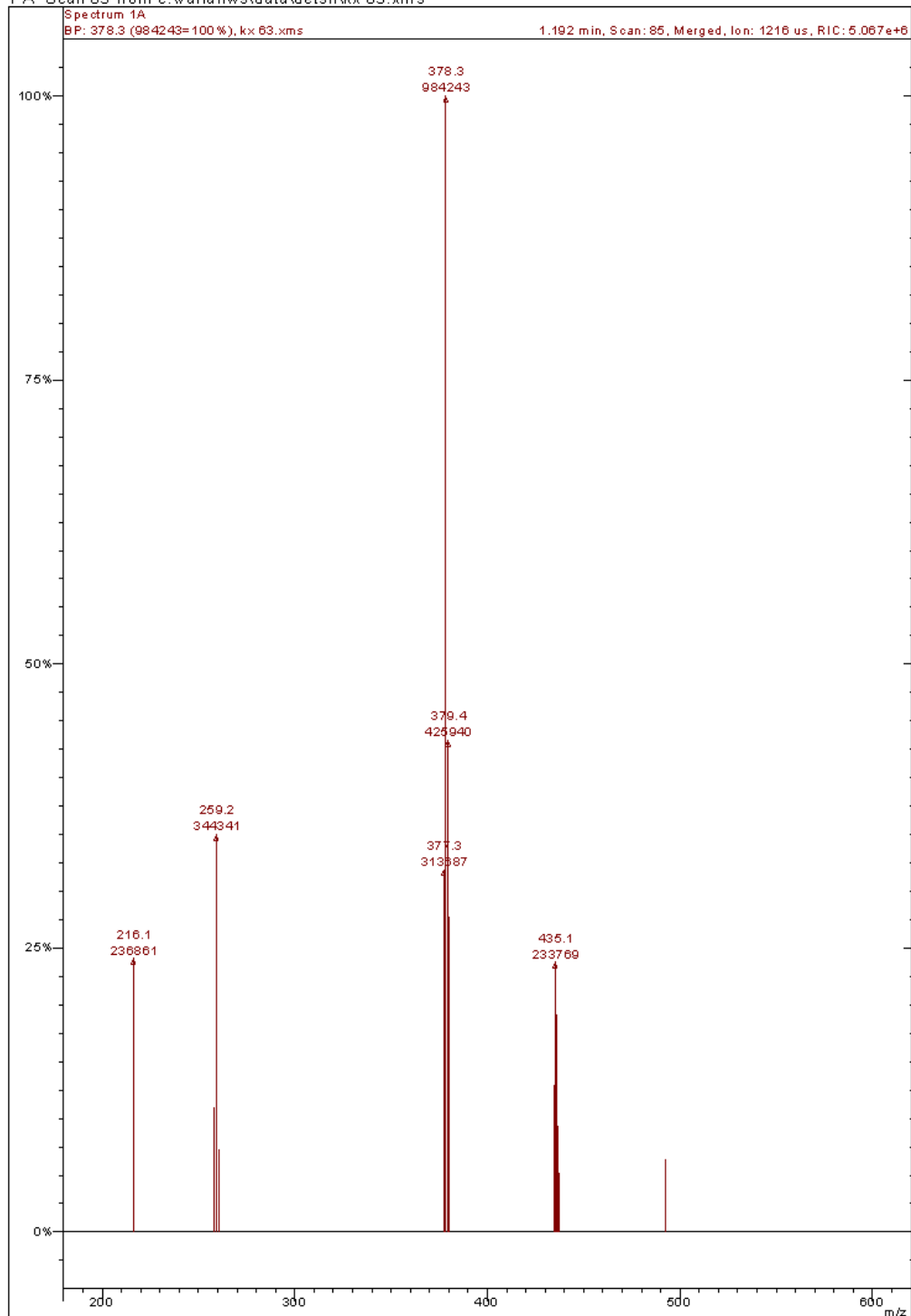
1 A Scan 81 from c:\varianws\data\detsh\kx 77.xms



Φάσμα μάζας ένωσης (10f)(a)

Spectrum Plot - 29/9/2016 2:12 ii

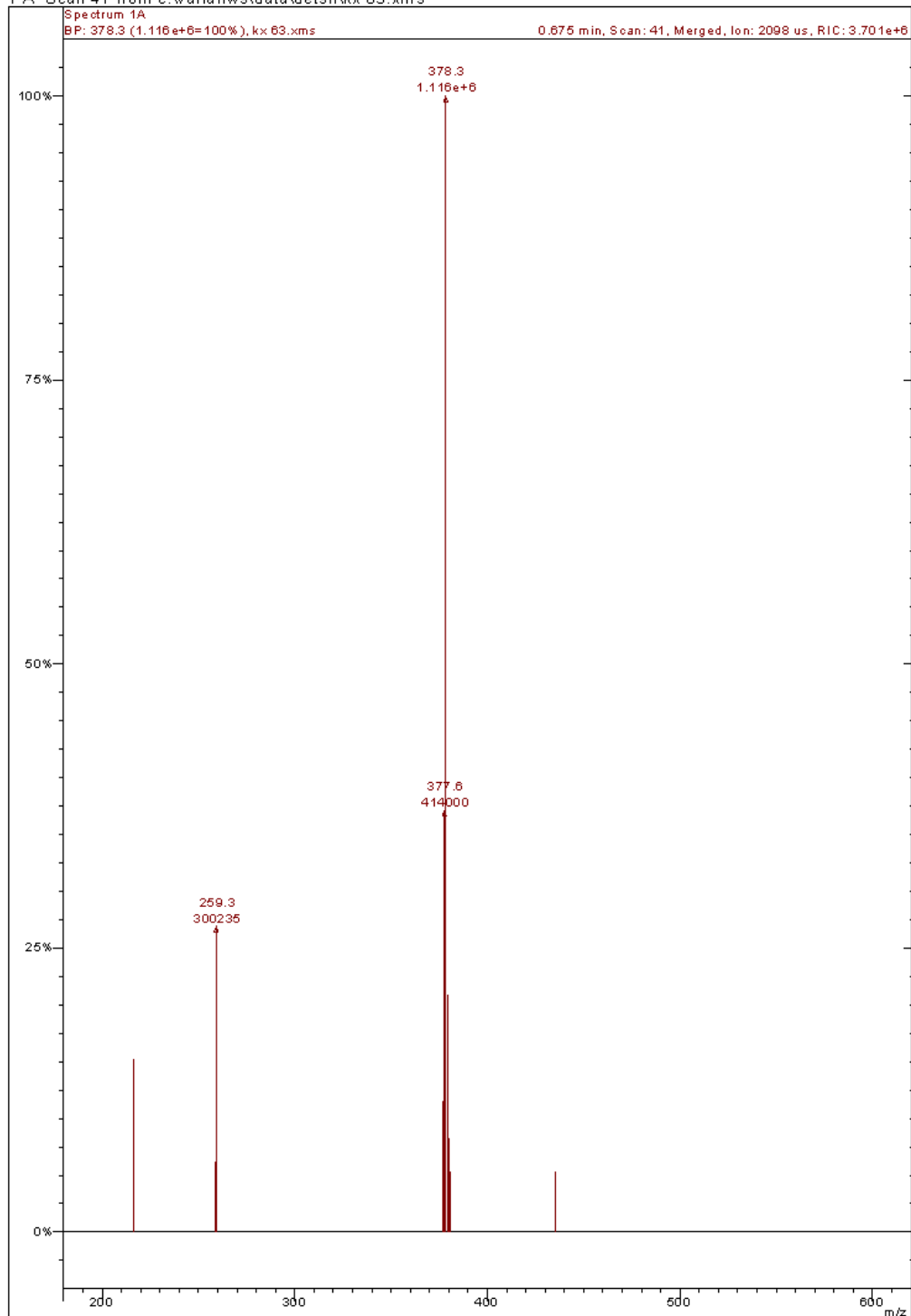
1 A Scan 85 from c:\varianws\data\detsh\kx 63.xms



Φάσμα μάζας ένωσης (10f)(b)

Spectrum Plot - 29/9/2016 2:13 ii

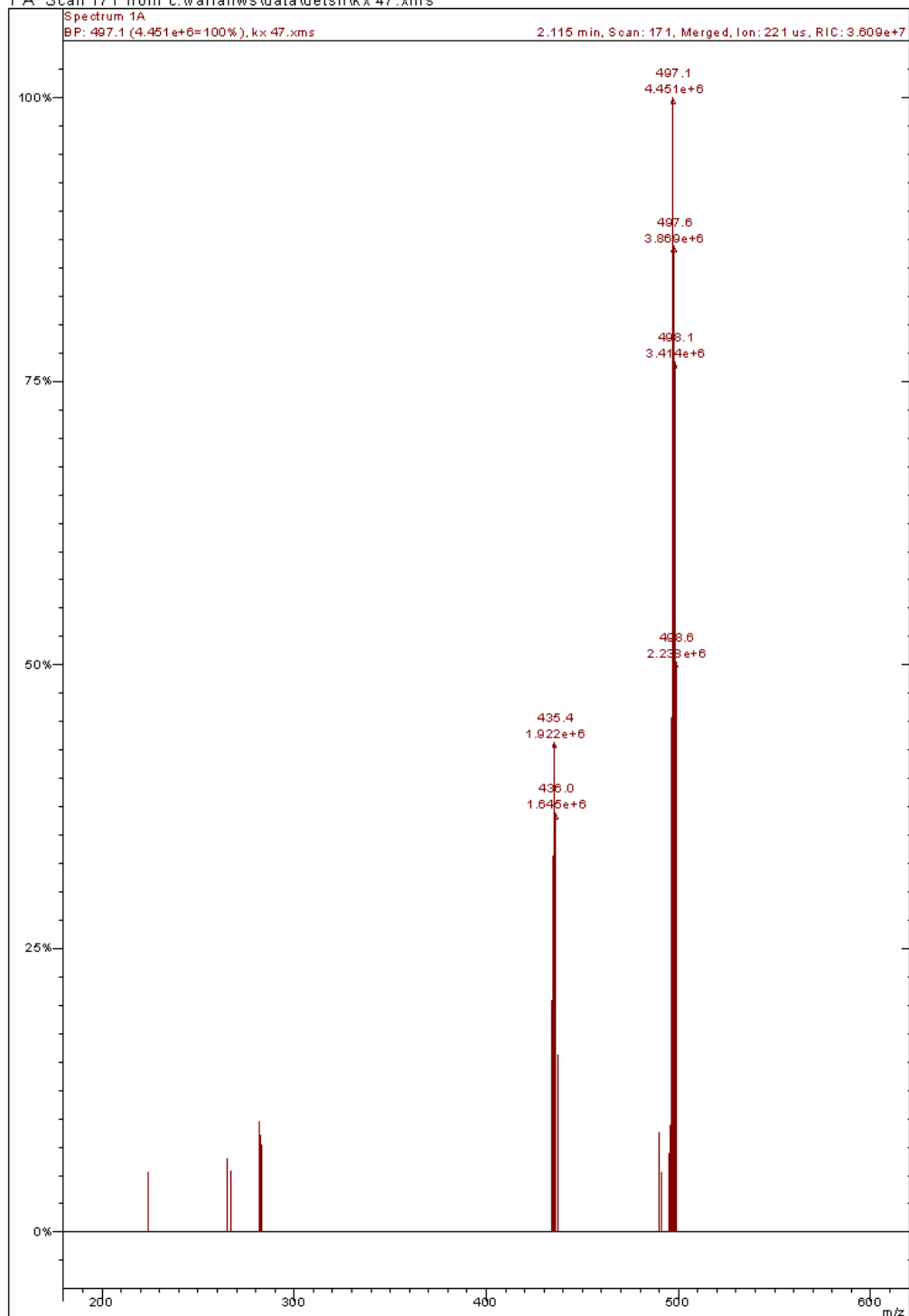
1 A Scan 41 from c:\varianws\data\detsh\kx 63.xms



Φάσμα μάζας ένωσης (10i)

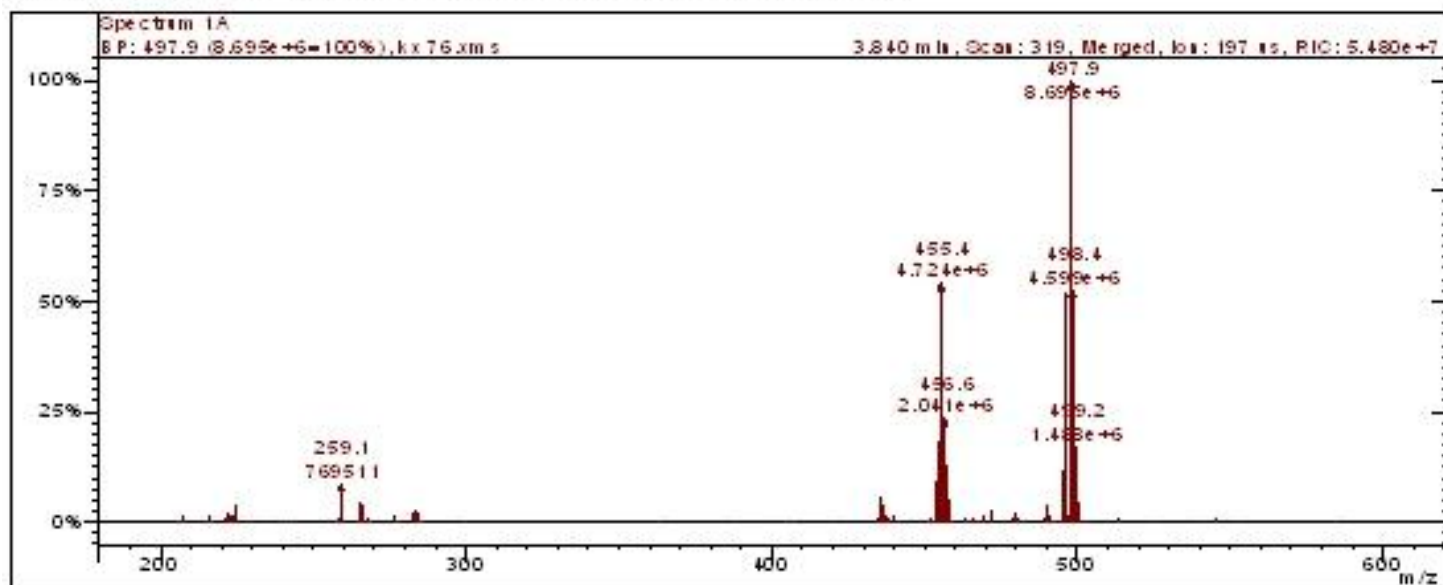
Spectrum Plot - 29/9/2016 2:07 ii

1 A Scan 171 from c:\warianws\data\detsh\kx 47.xms



Φάσμα μάζας ένωσης(11a)

Scan 319 from c:\varianws\data\detsh\kx 76.xms



Spectrum Plot - 29/9/2016 2:19 ii

1 A Scan 69 from c:\varianws\data\detsh\kx 76.xms

