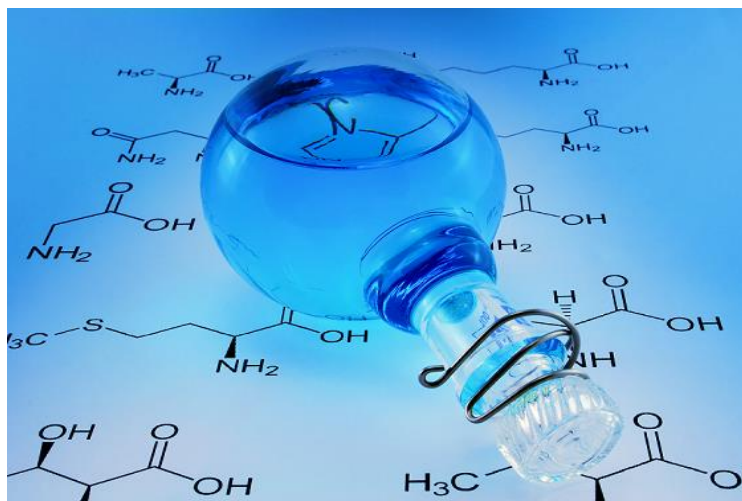




**ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ  
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ  
ΤΟΜΕΑΣ (Ι) ΧΗΜΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΡΓΑΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**ΟΡΓΑΝΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΩΝ:**

**ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΣΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΝΕΩΝ ΜΟΡΙΩΝ ΩΣ  
ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΤΟΥ ΦΛΕΓΜΟΝΟΣΩΜΑΤΟΣ**



**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΝΑΘΑΝΑΗΛ ΕΥΦΡΟΣΥΝΗ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ**

**Δρ ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ ΔΕΤΣΗ  
Επίκουρος Καθηγήτρια ΕΜΠ**

# ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η εκπόνηση της παρούσας εργασίας πραγματοποιήθηκε στο Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών στο τμήμα Φαρμακευτικής χημείας, Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας, υπό την επίβλεψη της διευθύντριας Ερευνών Δρ. Μαρίας Κουφάκη και της Επικ. Καθηγήτριας Αναστασίας Δέτση.

Η ανάθεση του θέματος έγινε από τη Δρ Αναστασία Δέτση, Επίκουρο Καθηγήτρια του ΕΜΠ, και θα ήθελα να την ευχαριστήσω για την ευκαιρία που μου έδωσε να συνεργαστούμε καθώς και για τη βοήθεια και τη στήριξή της καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της εργασίας.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα. Κουφάκη, διευθύντρια στο τμήμα Φαρμακευτικής χημείας, Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας του ΕΙΕ, για την πολύτιμη βοήθειά της τόσο στο στάδιο της έρευνας όσο και κατά τη σύνθεση και μελέτη των αναλόγων. Καθοριστικό ρόλο είχε και η βοήθειά της κατά τη συγγραφή της διπλωματικής εργασίας, ώστε να πάρει αυτή τη μορφή. Εξίσου σημαντική υπήρξε και η συναισθηματική βοήθεια κατά τη χρονική διάρκεια της συνεργασίας μας.

Ξεχωριστές ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω στην Θεανώ Φωτοπούλου για την πολύτιμη βοήθεια και στήριξη που μου προσέφερε κατά τη διάρκεια της διεξαγωγής της πειραματικής διαδικασίας και στη Δήμητρα Πουρνάρα, υποψήφια διδάκτορα, για την καθοδήγηση της στο πρόγραμμα MestReNova.

Τέλος θα ήθελα να εκφράσω στην οικογένειά μου για τη συμπαράσταση και τη στήριξη τους σε όλες μου τις προσπάθειες και την κατανόησή τους σε όλες μου τις επιλογές.

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Ευχαριστίες .....	1
Πίνακας περιεχομένων .....	2
Κατάλογος εικόνων.....	4
Κατάλογος σχημάτων.....	7
Περίληψη.....	10
Abstract .....	11
Πρόλογος .....	12
Αρκτικόλεξα-Ορολογία .....	13
<b>Κεφάλαιο 1: Φλεγμονόσωμα .....</b>	<b>14</b>
1.1 Φλεγμονοσώματα.....	15
1.2 Δραστικές μορφές οξυγόνου .....	16
1.3 Φλεγμονόσωμα NLRP3 .....	18
1.3.1 Μοντέλα ενεργοποίησης φλεγμονοσώματος NLRP3 .....	19
1.3.2 Ο ρόλος του NLRP3 στις ασθένειες .....	20
1.4 Φαρμακευτική αντιμετώπιση .....	22
1.5 Αναστολείς του πουρινικού υποδοχέα P2X7.....	23
1.6 Ρεσβερατρόλη .....	24
1.6.1 Ρεσβερατρόλη και αντιοξειδωτική δράση .....	25
1.6.2 Ρεσβερατρόλη και αντιφλεγμονώδης δράση.....	26
1.7 Ανάπτυξη νέων ενώσεων αναστολέων της ενεργοποίησης του φλεγμονοσώματος.....	26
<b>Κεφάλαιο 2: Χρήση μικροκυμάτων στην οργανική σύνθεση.....</b>	<b>28</b>
2.1 Τρόποι σύνθεσης στην οργανική σύνθεση .....	29
2.2 Εισαγωγή στην οργανική σύνθεση με μικροκύματα .....	31
2.2.1 Τρόπος χρήσης μικροκυμάτων .....	32
2.2.2 Επίδραση της ενέργειας μικροκυμάτων στις χημικές αντιδράσεις.....	34
2.3 Επιλεγμένες συνθετικές αντιδράσεις .....	36
2.4 Εξοπλισμός .....	37
2.4.1 Δοχεία αντίδρασης.....	389

2.5 Παράμετροι ελέγχου .....	40
<b>Κεφάλαιο 3: Βιοϊσοστερή και ‘click’ χημεία .....</b>	<b>41</b>
3.1 Βιοϊσοστερική αντικατάσταση .....	42
3.2 ‘Click’ χημεία για τη σύνθεση 1,2,3-τριαζολίων και οξαζολίων.....	45
3.3 Εφαρμογές ‘click’ χημείας.....	46
<b>Κεφάλαιο 4: Πειραματικό μέρος.....</b>	<b>53</b>
4.1 Σχεδιασμός και σύνθεση.....	54
4.2 Όργανα και συσκευές .....	57
4.3 Σύνθεση αναλόγων ρεσβερατρόλης.....	58
4.4 Σύνθεση αναλόγων ανταγωνιστών του υποδοχέα P2X7 ή/και αντιοξειδωτικών ..	61
4.5 Σύνθεση αναλόγων αδαμαντανίου-πουρίνης.....	66
4.6 Σύνθεση αλκινίων με αντίδραση Sonogashira.....	67
<b>Κεφάλαιο 5: Αποτελέσματα-συζήτηση.....</b>	<b>68</b>
5.1 Σύνθεση νέων ενώσεων .....	69
5.1.1 Ανάλογα ρεσβερατρόλης .....	69
5.1.2 Ανάλογα ανταγωνιστών του υποδοχέα P2X7 ή/και αντιοξειδωτικών.....	73
5.1.3 Ανάλογα αδαμαντανίου-πουρίνης .....	78
5.1.4 Σύνθεση αλκινίων με αντίδραση Sonogashira.....	79
5.2 Συμπεράσματα .....	80
<b>Βιβλιογραφία .....</b>	<b>81</b>
<b>Παράρτημα .....</b>	<b>85</b>

# ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

ΕΙΚΟΝΑ	ΣΕΛΙΔΑ
Εικόνα 1. Σπάνιες ασθένειες οι οποίες συνδέονται με την ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος	21
Εικόνα 2. (α) Λύχνος Bunsen, (β) Θερμαντικός μανδύας και ελαιόλουτρα, (γ) Heat-block και (δ) Συσκευή μικροκυμάτων	29
Εικόνα 3. Ηλεκτρομαγνητικό φάσμα	30
Εικόνα 4. (α) Single mode (β) Multimode σε αντιδραστήρα παράλληλης σύνθεσης	38
Εικόνα 5. Το όργανο μικροκυμάτων που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία	38
Εικόνα 6. Φάσμα $^1\text{H}$ NMR της ένωσης 5-(3,5-διμεθοξυφαίνυλο)-3-(4-μεθοξυφαίνυλο)ισοξαζόλιο ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz)	72
Εικόνα 7. Φάσμα $^1\text{H}$ NMR της ένωσης 1-(((3R, 5R, 7R)-αδαμανταν-1-υλο)μέθυλο)-4-(4-μεθοξυφαίνυλο)-1H-1,2,3-τριαζόλιο ( $\text{CDCl}_3$ , 600MHz)	75
Εικόνα 8. Φάσμα $^1\text{H}$ NMR της ένωσης 1-αιθυνυλο-4-μεθοξυβενζόλιο ( $\text{CDCl}_3$ , 600MHz)	85
Εικόνα 9. Φάσμα $^1\text{H}$ NMR της ένωσης 3-(3,5-διμεθοξυφαίνυλο)-5-(4-μεθοξυφαίνυλο)ισοξαζόλιο ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz)	86
Εικόνα 10. Φάσμα $^1\text{H}$ NMR της ένωσης 5-(3,5-διμεθοξυφαίνυλο)-3-(4-μεθοξυφαίνυλο)ισοξαζόλιο ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz)	87
Εικόνα 11. Φάσμα $^1\text{H}$ NMR της ένωσης 1-μέθυλο-καρβοξυλικό-αδαμαντάνιο	

(CDCl <sub>3</sub> , 600MHz)	88
Εικόνα 12. Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της ένωσης 1-αδαμαντανομεθανόλη (CDCl <sub>3</sub> , 600MHz)	89
Εικόνα 13. Φάσμα <sup>13</sup> C NMR της ένωσης 1-αδαμαντανομεθανόλη (CDCl <sub>3</sub> , 300MHz)	90
Εικόνα 14. Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της ένωσης μεθανοσουλφονικό αδαμανταν- 1-υλομέθυλο (CDCl <sub>3</sub> , 600MHz)	91
Εικόνα 15. Φάσμα <sup>13</sup> C NMR της ένωσης μεθανοσουλφονικό αδαμανταν- 1-υλομέθυλο (CDCl <sub>3</sub> , 300MHz)	92
Εικόνα 16. Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της ένωσης 1(αζιδομέθυλο)αδαμαντάνιο (CDCl <sub>3</sub> , 600MHz)	93
Εικόνα 17. Φάσμα <sup>13</sup> C NMR της ένωσης 1(αζιδομέθυλο)αδαμαντάνιο (CDCl <sub>3</sub> , 300MHz)	94
Εικόνα 18. Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της ένωσης 1-(((3R, 5R, 7R)-αδαμανταν-1-υλ) μέθυλο)-4-(4-μεθοξυφαινυλο)-1H-1,2,3-τριαζόλιο (CDCl <sub>3</sub> , 600MHz)	95
Εικόνα 19. Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της ένωσης 1-(((3R, 5R, 7R)-αδαμανταν-1-υλο) μέθυλο)-4-(4-μεθοξυφαινυλο)-1H-1,2,3-τριαζόλιο (CDCl <sub>3</sub> , 300MHz)	96
Εικόνα 20. Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της ένωσης 4-(1-(((3R, 5R, 7R)-αδαμανταν-1-υλο) μέθυλο)-1H-1,2,3-τριαζολ-4-υλ)φαινόλη (MeOD, 600MHz)	97
Εικόνα 21. Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της ένωσης 1-αδαμάντυλο-προπάργυλο-αιθέρας (CDCl <sub>3</sub> , 600MHz)	98
Εικόνα 22. Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της ένωσης 5-(((3S, 5S, 7S)-αδαμαντάν-1-υλο)	

οξυ)μέθυλο)-3-(4-μεθοξυφαινυλο)ισοξαζόλιο (CDCl <sub>3</sub> , 600MHz)	99
Εικόνα 23. Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της ένωσης 6-χλώρο-9-(προπ-2-υνυλ)-9H-πουρίνη (CDCl <sub>3</sub> , 600MHz)	100
Εικόνα 24. Φάσμα <sup>13</sup> C NMR της ένωσης 6-χλώρο-9-(προπ-2-υνυλ)-9H-πουρίνη (CDCl <sub>3</sub> , 300MHz)	101
Εικόνα 25. Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της ένωσης 9-[1-(αδαμάντυλο-1-μεθυλο)-4-τριαζολυλο-μέθυλο]-6-χλώρο-πουρίνη (CDCl <sub>3</sub> , 600MHz)	102
Εικόνα 26. Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της ένωσης 9-(τετράϋδρο-2H-πυραν-2-υλο)-6-((τρισοπροπυλσιλυλο)αιθυνυλο)-9H-πουρίνη (CDCl <sub>3</sub> , 600MHz)	103

# ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

ΣΧΗΜΑ	ΣΕΛΙΔΑ
Σχήμα 1. Φλεγμονόσωμα	15
Σχήμα 2. Δραστικές μορφές οξυγόνου	17
Σχήμα 3. Ενεργοποίηση NLRP3	19
Σχήμα 4. Αναστολείς φλεγμονοσώματος και ρεσβερατρόλη	22
Σχήμα 5. Αμιδικά ανάλογα αδαμαντίου	23
Σχήμα 6. Ρεσβερατρόλη	24
Σχήμα 7. Αντιοξειδωτική δράση των ο-διυδροξυπαραγώγων και σταθεροποίηση της παραγόμενης ρίζας μέσω δομών που είναι λιγότερο δραστικές ή σταθερές κινόνες	25
Σχήμα 8. Κατηγορίες κλασσικών βιοϊσοστερών	42
Σχήμα 9. Βιοϊσοστερή αμιδίων	43
Σχήμα 10. Ηλεκτρονιακή δομή της ομάδας και του 1,2,3- τριαζολίου	44
Σχήμα 11. Σύνθεση μέσω κλικ χημείας σιλυλο παραγώγων νουκλεοζιτών και ολιγονουκλεοτιδίων και επισήμανση με $^{18}\text{F}$	46
Σχήμα 12. Γενικό σχήμα σύνθεσης και παραδείγματα ClickPhos ενώσεων	47
Σχήμα 13. Σύνθεση αισθητήρων για τη δέσμευση $\text{Cu(II)}$ , $\text{Hg(II)}$	47
Σχήμα 14. Δομή πολυδραστικού βιομοριακού συστήματος Arg-Gly-Asp. Ψ: τριαζόλιο, οξίμη, χ:οξίμη, θειαιθέρας, ζ: θειαιθέρας, τριαζολιο, R: πεπτίδιο, νουκλεϊκό οξύ ή χρωμοφόρο	48



Σχήμα 15. Πρόσδεση πολυμερικών αλυσίδων στην επιφάνεια του VLP Qβ	49
Σχήμα 16. Αντίδραση 1,3-διπολικής κυκλοπροσθήκης αζιδίου σε αλκύνιο μέσω θέρμανσης και παρουσίας καταλυτικού συστήματος Cu(I)	49
Σχήμα 17. Προτεινόμενος μηχανισμός της αντίδρασης κυκλοπροσθήκης μεταξύ μιας οξίμης και ενός ακραίου αλκινίου για την παρασκευή 3,5-υποκατεστημένων ισοξαζολίων, με παρουσία του καταλυτικού συστήματος Cu(I)	51
Σχήμα 18. Ο μηχανισμός της αντίδρασης Sonogashira	52
Σχήμα 19. Σχεδιασμός πάνω στον οποίο βασίστηκε η παρεμπόδιση της ενεργοποίησης του πουρινικού υποδοχέα P2X7 και της παραγωγής ελευθέρων μορφών οξυγόνου ROS	55
Σχήμα 20. Σύνθεση του αντιδραστηρίου Bestmann-Ohira	69
Σχήμα 21. Σύνθεση της ένωσης 5-(5-(4-υδροξυφαίνυλο)ισοξαζόλ-3-υλο)βένζυλο-1,3-διόλη	70
Σχήμα 22. Σύνθεση της ένωσης 5-(3-(4-υδροξυφαίνυλ)ισοξαζολ-5-υλ)βένζυλο-1,3-διόλη	71
Σχήμα 23. Σύνθεση του αναλόγου 1-(((3R, 5R, 7R)-αδαμαντάν-1-υλ)μεθυλ)-4-(4-μεθοξυφαίνυλο)-1H-1,2,3-τριαζόλιο	75
Σχήμα 24. Σύνθεση του αναλόγου 5-(((3S, 5S, 7S)-αδαμανταν-1-υλο)οξυ)μεθυλ)-3-(4-μεθοξυφαινυλ)ισοξαζολίου	77
Σχήμα 25. Διάσπαση του ισοξαζολικού αναλόγου κατά την αποπροστασία	77
Σχήμα 26. Σύνθεση των αναλόγων αδαμαντανίου-πουρίνης	78
Σχήμα 27. Σύνθεση αναλόγου 9-τετράυδρο-2H-πυραν-2-υλ)-6-((τρισοπροπυλσιλυλο)αιθυνυλο)-9H-πουρίνης	79

Σχήμα 28. Αποπροστασία της τριμεθυλο-σιλυλο ομάδας με TBAF

79

# ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η εργασία επικεντρώνεται στο σχεδιασμό και τη σύνθεση νέων ενώσεων κατά της φλεγμονής που προέρχεται από την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού. Η ανακάλυψη του φλεγμονοσώματος, ενός πρωτεϊνικού συμπλέγματος, αποτελεί ορόσημο στο πεδίο της φυσικής ανοσίας και πρόσφατα έχει αναφερθεί ο ρόλος του σε φλεγμονώδεις ασθένειες, ανοίγοντας νέους δρόμους για την ανακάλυψη μικρών μορίων για την εκλεκτική παρεμπόδιση της ενεργοποίησής του.

Στα πλαίσια εκπόνησης της παρούσας διπλωματικής σχεδιάστηκαν και συντέθηκαν δύο σειρές νέων αναλόγων με δομικά χαρακτηριστικά α) ρεσβερατρόλης και β) ανταγωνιστών του υποδοχέα P2X7/αντιοξειδωτικών, που αναμένεται να αλληλεπιδρούν με τα μονοπάτια ενεργοποίησης του φλεγμονοσώματος, που περιλαμβάνουν, μεταξύ άλλων, ενεργοποίηση του υποδοχέα P2X7 και δραστικές μορφές οξυγόνου ROS.

Οι νέες ενώσεις εμπεριέχουν τους ετεροαρωματικούς δακτυλίους, 1,2,3-τριαζόλιο ή ισοξαζόλιο. Η σύνθεση αυτών των δακτυλίων βασίστηκε στην αντίδραση click με χρήση μικροκυμάτων.

Οι αρχικές αυτές σειρές ενώσεων, μετά την βιολογική τους αποτίμηση, θα αποτελέσουν τη βάση για τη δημιουργία καινοτόμων μορίων για την εκλεκτική στόχευση και αναστολή ενεργοποίησης του φλεγμονοσώματος NLRP3.

**ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ:** Μικροκύματα, Φλεγμονόσωμα, Δραστικές μορφές οξυγόνου, Υποδοχέας P2X7, Ρεσβερατρόλη, ‘click’ χημεία

# ABSTRACT

The work focuses on the design and synthesis of new compounds against inflammation resulting from immune activation. The discovery of inflammasome, a protein complex, is a milestone in the field of innate immunity and recently reported its role in inflammatory diseases, opening new avenues for the discovery of small molecules for selective inhibition of activation.

In this diploma thesis two series of new analogs were designed and synthesized having as structural features a) resveratrol and b) competitors of P2X7 / antioxidants receptor, which is expected to interact with the inflammasome activation pathways, including, amongst others, activation of the receptor P2X7 and reactive oxygen species ROS.

The new analogues contain a 5-membered heteroaromatic ring, 1,2,3-triazole or isoxazole. Their synthesis was based on click reaction using microwave irradiation.

These initial series of compounds, after their biological evaluation, will form the basis for the creation of innovative molecules for the selective targeting and activation inhibition of inflammasome NLRP3.

**KEY WORDS:** Microwaves, Inflammasome, Reactive Oxygen Species, Receptor P2X7, Resveratrol, 'click' chemistry

# ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται τεράστιο ερευνητικό ενδιαφέρον για το πρωτεϊνικό σύμπλεγμα φλεγμονόσωμα και τους μοριακούς μηχανισμούς που το ενεργοποιούν. Η ικανότητα του φλεγμονοσώματος ως ενδοκυττάριου ρυθμιστή ανοσοαπόκρισης, έχει αποδειχθεί σε πολλές γνωστές και σπάνιες αυτοάνοσες και αυτοφλεγμονώδεις ασθένειες. Η συμβολή του φλεγμονοσώματος σε πολύπλοκες ασθένειες του ανθρώπου αναμένεται να αποκτήσει κεντρικό ρόλο. Παράλληλα, η έντονη προσπάθεια για την ανακάλυψη και ανάπτυξη μικρών μορίων για την εκλεκτική παρεμπόδιση της ενεργοποίησης του φλεγμονοσώματος, θα δημιουργήσει νέες προσεγγίσεις για τη θεραπεία ασθενειών που συνδέονται με αυτό.

Στην ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος εμπλέκονται, η ATP, η εκροή  $K^+$ , ο πουρινικός υποδοχέας (P2X7) και δραστικές μορφές οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS).

Το αντικείμενο του παρόντος έργου περιλαμβάνει το σχεδιασμό και τη σύνθεση νέων αναλόγων που εμπεριέχουν δομικά χαρακτηριστικά αντιοξειδωτικών αναστολέων εκροής  $K^+$ , ανταγωνιστών του πουρινικού υποδοχέα P2X7 ή/και δοτών NO. Το αποτέλεσμα θα είναι νέες ενώσεις οι οποίες αλληλεπιδρούν με τα μονοπάτια ενεργοποίησης του φλεγμονοσώματος για την αντιμετώπιση σπάνιων αυτοφλεγμονωδών και αυτοάνοσων ασθενειών.

# ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ

ALPS: Αυτοάνοση λεμφοϋπερπλασία

APS: Αυτοάνοση πολυενδοκρिनοπάθεια

ATP: Τριφωσφορική αδενοσίνη

$\text{CDCl}_3$ : Δευτεριωμένο χλωροφόρμιο

DMF: Διμεθυλοφορμαμίδιο

DMSO: Διμεθυλοσουλφοξίδιο

FAD: Φλαβινοδινουκλεοτίδιο

MeOH: Μεθανόλη

NMR: Πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός

P2X7: Πουρινικός υποδοχέας

PI3K: Φωσφατιδυλινοσιτολ- 4,5- διφωσφορική 3- κινάση

ROS: Δραστικές μορφές οξυγόνου

RVT: Ρεσβερατρόλη

TBAF: Φθοροτετραβούτυλο-αμμώνιο

TLC: Υγρή χρωματογραφία λεπτής στιβάδας

# ΟΡΟΛΟΓΙΑ

ACS: Apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD

MAOS: Microwave Assisted Organic Synthesis

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

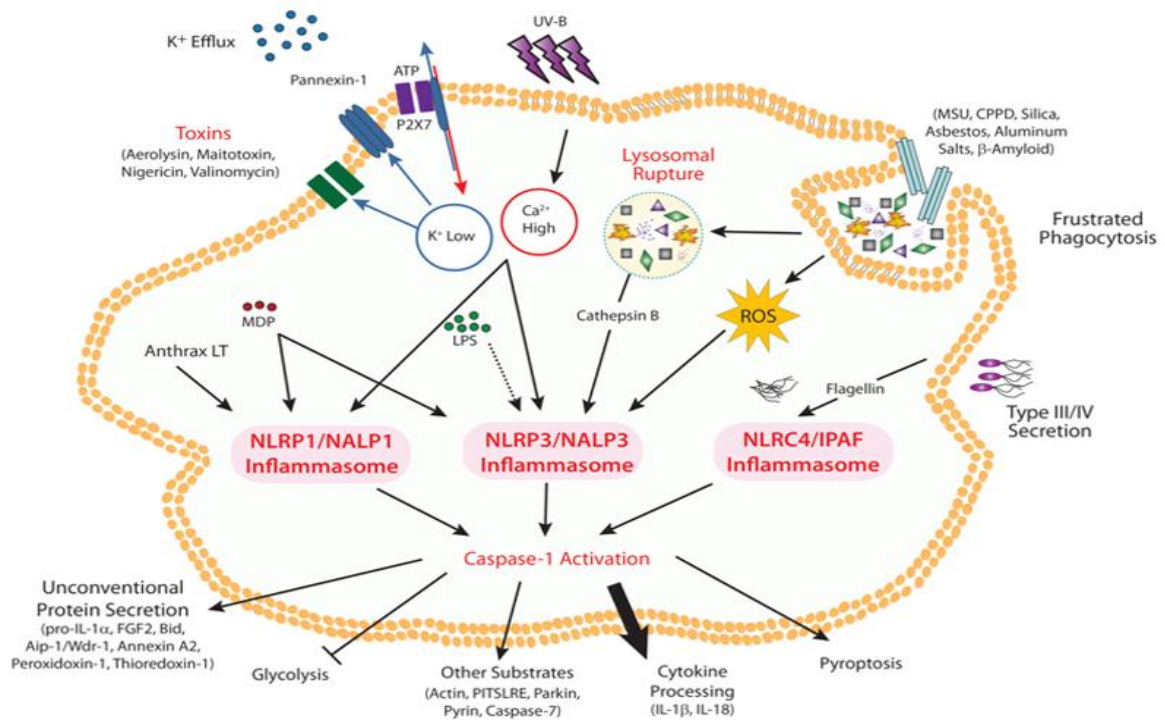
## ΦΛΕΓΜΟΝΟΣΩΜΑ

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται τα φλεγμονοσώματα, και κυρίως το φλεγμονόσωμα NLRP3 που είναι πλήρως χαρακτηρισμένο. Επίσης παρουσιάζονται οι δραστικές μορφές οξυγόνου, ROS, και η ρεσβερατρόλη.

## 1.1 Φλεγμονοσώματα

Τη τελευταία δεκαετία έχει σημειωθεί τεράστια πρόοδος στην κατανόηση των μοριακών μηχανισμών που εμπλέκονται στην ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος.

Αμφότερα εξωγενή μικροβιακά και ενδογενή σήματα κινδύνου (danger signals) (Σχήμα 1) όπως η ATP, η ενεργοποίηση του πουρινικού υποδοχέα (P2X7) και επακόλουθη εκροή  $K^+$ , το ουρικό μονοάτριο, το πυροφωσφορικό ασβέστιο, το πυρίτιο, το β-αμυλοειδές και βακτηριοτοξίνες, ενεργοποιούν ειδικούς υποδοχείς που ευρίσκονται είτε στην μεμβράνη (Toll like receptors), είτε στο κυτταρόπλασμα (Nod like receptors (NLRs)). Μια υποκατηγορία των NLR ελέγχει τη συσσωμάτωση του φλεγμονοσώματος (inflammasome assembly) με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της κασπάσης-1 και την παραγωγή των προφλεγμονωδών κυτταροκινών IL-1β (Ιντερλευκίνη 1β) και IL-18. Οι κασπάσες είναι ειδικά πρωτεολυτικά ένζυμα, που διαθέτει το κύτταρο για να ελέγχει την ποσότητα των κυτταροκινών που εκκρίνει. Η Ιντερλευκίνη 1β, είναι μια πρωτεΐνη που αποτελεί την βάση για την έναρξη της φλεγμονώδους διαδικασίας.



Σχήμα 1. Ενεργοποίηση φλεγμονοσώματος

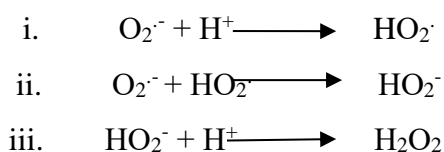


Οι κασπάσες εκτός του ότι μπορούν να εκδηλώσουν έντονη φλεγμονή διαμέσου της Ιντερλευκίνης-1 και άλλων κυτταροκινών, μπορούν να προκαλέσουν και προγραμματισμένο θάνατο του κυττάρου ονομάζεται πυρόπτωση (pyroptosis) και χρησιμοποιεί φλεγμονώδεις διαδικασίες. Σημαντικός είναι και ο ρόλος των δραστικών μορφών οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS) στην ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος. [1-5]

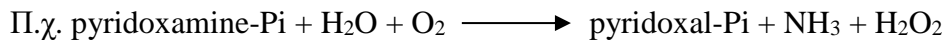
## 1.2 Δραστικές μορφές οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS)

Οι δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS) είναι ένας συλλογικός όρος που χρησιμοποιείται από τους βιολόγους και δεν περιλαμβάνει μόνο τη ρίζα του ανιόντος του υπεροξειδίου ( $O_2^{\cdot-}$ ) και τη ρίζα υδροξυλίου ( $OH^{\cdot}$ ), αλλά επίσης και ορισμένα παράγωγα του  $O_2$  που δεν περιέχουν αδέσμευτα ηλεκτρόνια, όπως το υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) και το υποχλωριώδες οξύ ( $HOCl$ ). Επιπρόσθετα, ελεύθερες ρίζες θεωρούνται το μονοξείδιο του αζώτου ( $NO^{\cdot}$ ) και το διοξείδιο του αζώτου ( $NO_2^{\cdot}$ ).

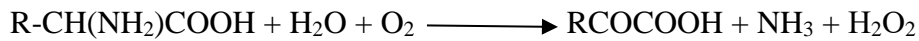
Αναλυτικότερα, η ρίζα ανιόντος του υπεροξειδίου ή υπεροξειδικού ανιόντος ( $O_2^{\cdot-}$ ) είναι ένα προϊόν αρκετών ενζυμικών και αυθόρμητων αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα, π.χ. σε υποκυτταρικά οργανίδια, όπως μιτοχόνδρια και χλωροπλάστες. Επίσης, κατάλληλα διεγερμένα ουδετερόφιλα και μακροφάγα εμφανίζουν δραματική αύξηση της κατανάλωσης οξυγόνου, γνωστή ως «αναπνευστική έκρηξη» κατά την οποία σχηματίζονται μεγάλες ποσότητες  $O_2^{\cdot-}$ . Το  $O_2^{\cdot-}$  λόγω της ηλεκτρονικής του κατανομής και αναλόγως των συνθηκών, μπορεί να συμπεριφέρεται ως ελεύθερη ρίζα, ασθενές πυρηνόφιλο, οξειδωτικό ενός ηλεκτρονίου ή αναγωγικό ενός ηλεκτρονίου. Σε υδατικό περιβάλλον δρα σχεδόν αποκλειστικά σαν αναγωγικό μέσο, ενώ σε υδρόφοβο περιβάλλον, όπως οι κυτταρικές μεμβράνες, ανάγεται είτε αυθόρμητα, είτε με την καταλυτική δράση της δεσμουτάσης του υπεροξειδίου, προς υπεροξείδιο του υδρογόνου. Τέλος, το  $O_2^{\cdot-}$  σε όξινο περιβάλλον μετατρέπεται προς το πολύ τοξικό υδροϋπεροξείδιό του.



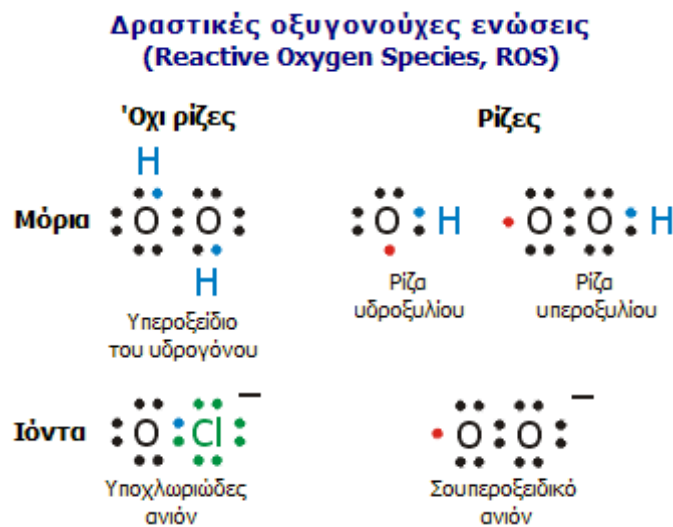
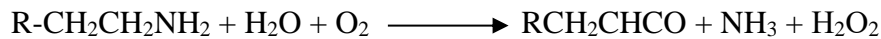
Το υπεροξειδίο του υδρογόνου  $H_2O_2$ , παράγεται κυρίως με τη δράση των υπεροξειδασών (που φέρουν δηλαδή φλαβίνες FAD και FMN) στο ήπαρ και στον εγκέφαλο.



Επίσης,  $H_2O_2$  σχηματίζεται κατά την μετατροπή των αμινοξέων σε κετο-οξέα από οξειδάσες αμινοξέων του ΚΝΣ:



Η σημαντικότερη οξειδάση του ΚΝΣ είναι η οικογένεια MAO (μονοαμινοξειδασών):



Σχήμα 2: Δραστικές μορφές οξυγόνου

Οι ρίζες υδροξυλίου  $HO\cdot$ , θεωρούνται οι πιο δραστικές μορφές οξυγόνου με ενδοκυτταρική ημιπερίοδο ζωής  $t_{1/2}=10^{-9}$  sec και μπορούν να σχηματιστούν από τη συσσώρευση  $O_2\cdot^-$  και  $H_2O_2$ .

Η παραγωγή των δραστικών μορφών οξυγόνου είναι χαρακτηριστικό γνώρισμα της φυσιολογικής κυτταρικής λειτουργίας όπως είναι η μιτοχονδριακή αναπνευστική αλυσίδα, ο μεταβολισμός του αραχιδονικού οξέος, η φαγοκυττάρωση και η γονιμοποίηση. Παράγονται είτε αυθόρμητα, είτε είναι αποτέλεσμα αντιδράσεων που καταλύονται από ένζυμα, ή μέταλλα μεταφορείς, όπως είναι ο σίδηρος ή ο χαλκός.

Πηγές παραγωγής των δραστικών μορφών οξυγόνου είναι οι εξής:

- Η κυτταρική μεμβράνη,

- Τα μιτοχόνδρια,
- Τα υπεροξυσωμάτια,
- Το λείο ενδοπλασματικό δίκτυο μέσω του κυττοχρώματος P<sub>450</sub>.<sup>[6]</sup>

### 1.3 Το φλεγμονόσωμα NLRP3

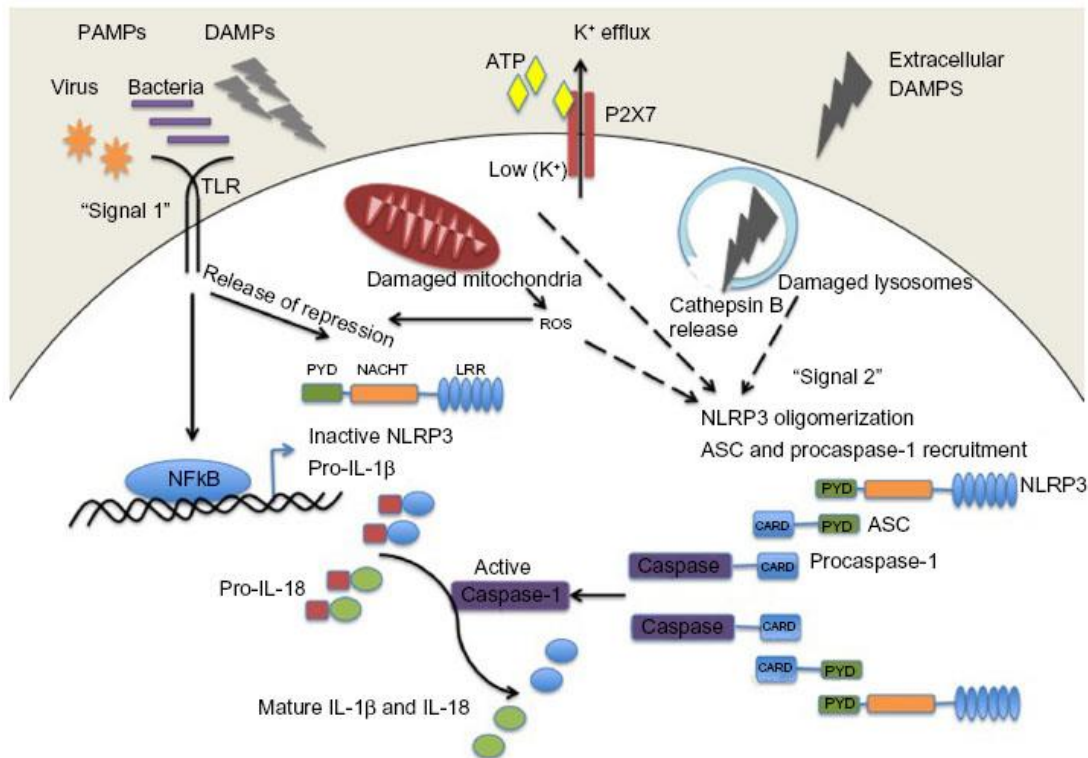
Το μοναδικό έως σήμερα πλήρως χαρακτηρισμένο φλεγμονόσωμα είναι το NLRP3 (Nod-like receptor family, pyrin domain containing 3 protein).

Το φλεγμονόσωμα NLRP3 είναι μακράν το πιο μελετημένο φλεγμονόσωμα. Ενεργοποιείται από μια ευρεία ποικιλία μικροβίων, συμπεριλαμβανομένων των *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Influenza A virus*, και *Candida albicans*, καθώς και μη μικροβιακούς παράγοντες, όπως η τριφωσφορική εξωκυτταρική αδενοσίνη (ATP), οι κρύσταλλοι ουρικού οξέος, β-αμυλοειδείς πλάκες. Το NLRP3 εκφράζεται στο κυτταρόπλασμα των μονοκύτταρων, στα δενδριτικά κύτταρα, στα ουδετερόφιλα, στα λεμφοκύτταρα και στα επιθηλιακά κύτταρα. Η πλατφόρμα του φλεγμονοσώματος αποτελείται από NLRP3, ASC και προκασπάση-1.

Η ικανότητα του φλεγμονοσώματος ως ενδοκυττάριου ρυθμιστή ανοσοαπόκρισης, έχει αποδειχθεί σε πολλές γνωστές και σπάνιες αυτοάνοσες και αυτοφλεγμονώδεις ασθένειες. Το έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον για τον ρόλο του φλεγμονοσώματος φαίνεται από τον αυξανόμενο αριθμό δημοσιεύσεων (μόλις 7 το 2005, περίπου 600 το 2012, 800 το 2015). Πολλές από αυτές τις δημοσιεύσεις είναι σε περιοδικά πολύ υψηλού συντελεστή απήχησης. Η συμβολή του φλεγμονοσώματος σε πολύπλοκες ασθένειες του ανθρώπου αναμένεται να αποκτήσει κεντρικό ρόλο. Παράλληλα, η έντονη προσπάθεια για την ανακάλυψη και ανάπτυξη μικρών μορίων για την εκλεκτική παρεμπόδιση της ενεργοποίησης του φλεγμονοσώματος, θα δημιουργήσει νέες προσεγγίσεις για τη θεραπεία ασθενειών που συνδέονται με αυτό.

### 1.3.1 Μοντέλα ενεργοποίησης του φλεγμονοσώματος NLRP3

Το φλεγμονόσωμα NLRP3 ενεργοποιείται από μια σειρά μορίων που διαφέρουν τόσο χημικά όσο και δομικά, και οι ακριβείς μηχανισμοί ενεργοποίησης του NLRP3 παραμένουν ασαφείς. Έχουν προταθεί τρία διαφορετικά μοντέλα για την ενεργοποίηση του NLRP3, η εκροή καλίου, η φαγολυσosomalική αποσταθεροποίηση και η μιτοχονδριακή παραγωγή ROS.



Σχήμα 3. Ενεργοποίηση NLRP3

Το πρώτο μοντέλο υποδηλώνει ότι η ενεργοποίηση των πουρινεργικών υποδοχέων P2X7 από την εξωκυτταρική ATP οδηγεί σε εκροή ιόντων καλίου μέσω της κυτταρικής μεμβράνης.

Το δεύτερο μοντέλο προτείνει ένα μηχανισμό με τον οποίο μεγάλα σωματίδια όπως το διοξείδιο του πυριτίου και το β-αμυλοειδές, μπορούν να ενεργοποιήσουν το φλεγμονόσωμα NLRP3.

Το τρίτο μοντέλο προϋποθέτει συμμετοχή των ROS. Η παραγωγή ROS είναι πιθανό ότι ενεργοποιεί το φλεγμονόσωμα μέσω ενός ενδιάμεσου, και έχει προηγουμένως αποδειχθεί ότι η αύξηση των ROS οδηγεί στην ενεργοποίηση της θειορεδοξίνης, πρωτεΐνης που αλληλεπιδρά, η οποία στη συνέχεια συνδέεται με το NLRP3, με

αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος. Η πηγή των ROS πιστεύεται ότι είναι τα μιτοχόνδρια, και η απελευθέρωση του μιτοχονδριακού DNA από κατεστραμμένα μιτοχόνδρια έχει επίσης αποδειχθεί ότι ενεργοποιεί το φλεγμονόσωμα NLRP3. Ωστόσο, πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι οι ROS επάγουν τον σχηματισμό του φλεγμονοσώματος και όχι την ενεργοποίησή του. <sup>[7]</sup>

### 1.3.2 Ο ρόλος του NLRP3 στις ασθένειες

Η ανακάλυψη του φλεγμονοσώματος και η συμβολή του στην ενεργοποίηση των IL-1β και IL-18 αποτελεί ορόσημο στο πεδίο της φυσικής ανοσίας. Η εμφάνιση συνδρόμων τα οποία χαρακτηρίζονται από διαταραχή του μηχανισμού φυσικής ανοσίας επαναπροσδιόρισε τα κλασικά παραδείγματα των φλεγμονωδών νόσων.

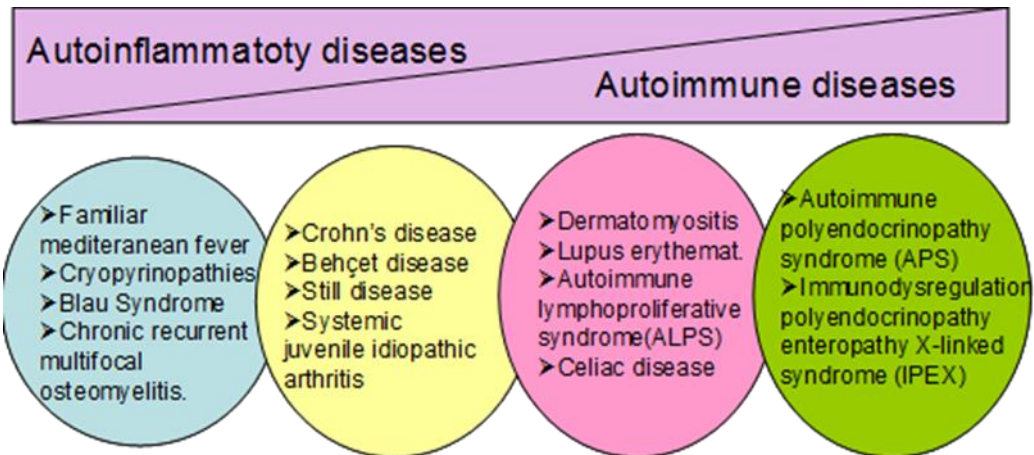
Έχει αναφερθεί ότι η απορρύθμιση του φλεγμονοσώματος NLRP3 συμβάλλει στην παθογένεια πολύπλοκων φλεγμονωδών ασθενειών του ανθρώπου, όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα <sup>[8]</sup>, η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια<sup>[9]</sup>, ο διαβήτης τύπου 2<sup>[10]</sup>, οι καρδιαγγειακές παθήσεις<sup>[11]</sup> καθώς και νευρολογικές παθήσεις, όπως το εγκεφαλικό επεισόδιο και η νόσος του Alzheimer.<sup>[12-13]</sup>

Η απορρύθμιση του φλεγμονοσώματος έχει ενοχοποιηθεί σχεδόν σε κάθε κατάσταση η οποία σχετίζεται με την ηλικία του ανθρώπου. Η ηλικία είναι ένας από τους μεγαλύτερους παράγοντες κινδύνου για μερικές από τις πιο κοινές χρόνιες φλεγμονώδεις παθήσεις, όπως η αθηροσκλήρωση, το μεταβολικό σύνδρομο, η νόσος Alzheimer και η ουρική αρθρίτιδα.

Το φλεγμονόσωμα φαίνεται επίσης να εμπλέκεται σε διάφορες μορφές καρκίνων, συμπεριλαμβανομένων των γαστρεντερικών καρκίνων, το μελάνωμα, τον καρκίνο του μαστού καθώς και του ιού που σχετίζεται με ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα της ηπατίτιδας C.

Πολλές χρόνιες φλεγμονώδεις ασθένειες οι οποίες μπορεί να οδηγήσουν σε αναπηρία, χαρακτηρίζονται ως αυτοφλεγμονώδεις. Αυτές οι διαταραχές συνοδεύονται από πυρετό, πόνο στις αρθρώσεις και τους μύες, κόπωση και περιλαμβάνουν σπάνια μονογονοδιακά σύνδρομα περιοδικού πυρετού, σύνδρομο Blau, χρόνια υποτροπιάζουσα πολυεστιακή οστεομυελίτιδα, κρυοπυρινοπάθειες, ασθένεια του Crohn, καθώς και πολυγονιδιακές ασθένειες όπως τη νεανική ιδιοπαθή αρθρίτιδα. Επιπρόσθετα, σπάνια αυτοάνοσα νοσήματα όπως σύνδρομο αυτοάνοσης πολυενδοκρινοπάθειας (APS), σύνδρομο αυτοάνοσης λεμφοϋπερπλασίας (ALPS), κοιλιοκάκη φαίνεται να

χαρακτηρίζονται μεταξύ άλλων από παρατεταμένη ή ανεξέλικτη ενεργοποίηση του συμπλέγματος του φλεγμονοσώματος.



**Εικόνα 1.** Σπάνιες ασθένειες οι οποίες συνδέονται με την ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος

Στην εικόνα 1 φαίνονται οι σπάνιες ασθένειες οι οποίες συνδέονται με την ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος. Οι ασθένειες αυτές έχουν κοινό χαρακτηριστικό την δυσλειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος. Στις αυτοφλεγμονώδεις ασθένειες το φυσικό ανοσοποιητικό σύστημα προκαλεί απευθείας φλεγμονή, ενώ στις αυτοάνοσες το φυσικό ανοσοποιητικό ενεργοποιεί το επίκτητο, το οποίο στη συνέχεια είναι υπεύθυνο για τη φλεγμονώδη διαδικασία. [14-16]

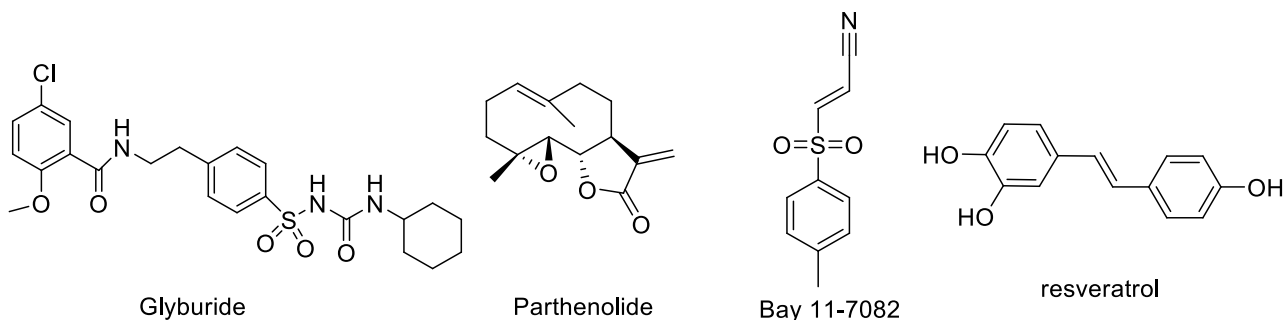
## 1.4 Φαρμακευτική αντιμετώπιση

Η αντιμετώπιση φλεγμονωδών καταστάσεων που προέρχονται από το ανοσοποιητικό, περιλαμβάνει την χορήγηση φαρμάκων (Σχήμα 4) που αναστέλλουν τη δημιουργία της Ιντερλευκίνης 1β.

Τα μονοκλωνικά αντισώματα όπως το Rinolacept, το Canakinumab και το Anakinra[17-18] αποτελούν μια αποτελεσματική λύση για την θεραπεία αυτοφλεγμονωδών νόσων, το πρόβλημα όμως είναι η ιδιαίτερα υψηλή τιμή τους.

Όσον αφορά τα μικρά μόρια, το αντιδιαβητικό φάρμακο Glyburide αναστέλλει το φλεγμονόσωμα που εμπλέκεται στις κρουπυρινοπάθειες.<sup>[19]</sup>

Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι οι αναστολείς της σηματοδότησης του NF-κΒ Parthenolide and Bay 11-7082 είναι ισχυροί παρεμποδιστές του φλεγμονοσώματος.<sup>[20]</sup>



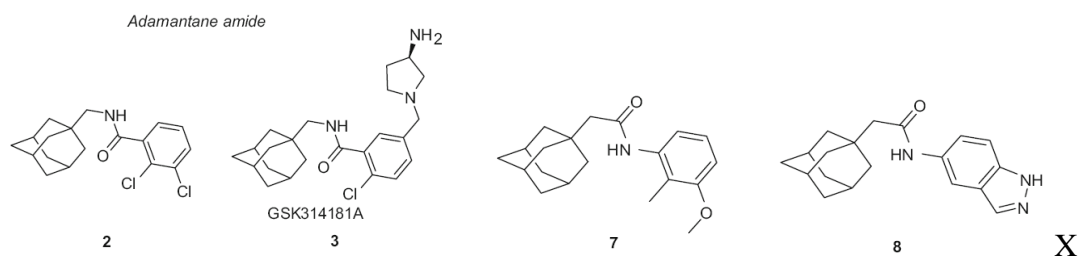
Σχήμα 4. Αναστολείς φλεγμονοσώματος και ρεσβερατρόλη

Αυτά τα φάρμακα όμως δεν στοχεύουν εκλεκτικά το φλεγμονόσωμα, απλά η χρήση τους αναστέλλει και το φλεγμονόσωμα εκτός από τις άλλες ιδιότητες που έχουν.

Δεδομένου ότι οι ενεργές μορφές οξυγόνου εμπλέκονται στη ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος<sup>[21-22]</sup>, οι αντιοξειδωτικές ενώσεις αποτελούν ενδιαφέρουσα προσέγγιση για την αντιμετώπιση ασθενειών που σχετίζονται με αυτό.

### 1.5 Αναστολείς του πουρινικού υποδοχέα P2X7

Οι υποδοχείς P2X7 ανήκουν στην οικογένεια των ATP ευαίσθητων ιονοτροπικών P2X υποδοχέων που αποτελούνται από επτά ομομερείς υποτύπους υποδοχέων (P2X1-P2X7). Οι υποδοχείς P2X7 είναι μοναδικοί στην οικογένεια των P2X υποδοχέων, δεδομένου ότι ενεργοποιούνται από υψηλές συγκεντρώσεις ATP (>100μM). Η υπομονάδα P2X7, προηγουμένως ονομαζόμενη υποδοχέας P2Z, αρχικά κλωνοποιήθηκε από εγκέφαλο αρουραίου και ανθρώπινο καθώς και από ανθρώπινα μακροφάγα. Οι υποδοχείς P2X7 εκφράζονται επιλεκτικά σε αιμοποιητικά κύτταρα, συμπεριλαμβανομένων των μαστοκυττάρων, των λεμφοκυττάρων, των ερυθροκυττάρων, των ινοβλαστών και των περιφερειακών μακροφάγων.



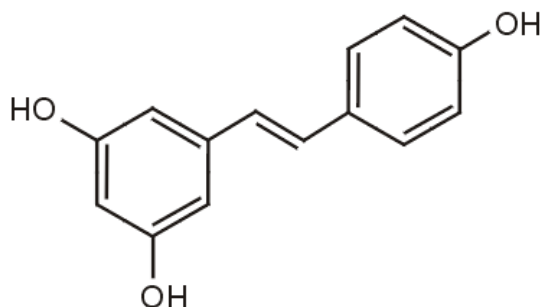
Σχήμα 5. Αμιδικά ανάλογα αδαμαντίου

Μια σημαντική κατηγορία αναστολέων του P2X7 είναι τα αμιδικά ανάλογα του αδαμαντανίου. Η ένωση 2 ήταν μεταξύ των πιο ισχυρών ενώσεων που αναφέρθηκαν. Η παρουσία τουλάχιστον μιας μεθυλενομάδας μεταξύ αδαμαντανίου και αμιδίου είναι απαραίτητη για τη δράση αυτών των ενώσεων. Επιπρόσθετα, η αντικατάσταση της αμιδικής ομάδας NHCO με NMeCO (Nmethyamide) και NHCH<sub>2</sub> (aminomethyl) οδήγησε σε σημαντική μείωση της δραστηριότητας. <sup>[23]</sup>



## 1.6 Ρεσβερατρόλη

Η ρεσβερατρόλη είναι ένα γνωστό αντιοξειδωτικό το οποίο αλληλοεπιδρά με πολλούς μοριακούς στόχους, περιλαμβανομένων και αυτών που συνδέονται με φλεγμονή και ανοσία. <sup>[24]</sup>



Σχήμα 6. Ρεσβερατρόλη

Η ένωση ρεσβερατρόλη (resveratrol, RVT) είναι μια φυσική ουσία της κατηγορίας των φυτοαλεξινών (phytoalexins) με βασική δομή των στιλβενίων [Στιλβένιο: 1,2-διφαινυλο-αιθυλένιο]. Πρόκειται για μια ουσία που οξειδώνεται εύκολα και είναι δύσκολο να παραμείνει καθαρή επί μακρό χρονικό διάστημα και για το λόγο αυτό οι κρύσταλλοί της αποκτούν ένα υποκίτρινο ή ακόμα πιο σκούρο χρώμα.

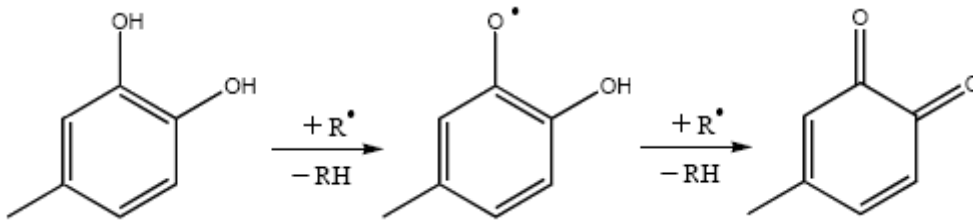
Η RVT βρίσκεται κυρίως σε υψηλές συγκεντρώσεις στον φλοιό των σταφυλιών και ιδιαίτερα των κόκκινων σταφυλιών, στα φύλλα ευκαλύπτου και ελάτου, στους ξηρούς καρπούς, στα μούρα (mulberries, blueberries, cranberries, bilberries) και σε μικρότερες ποσότητες έχει βρεθεί σε 70 ακόμη φυτικά προϊόντα. Η περιεκτικότητα των φρέσκων στον φλοιό των κόκκινων σταφυλιών σε RVT είναι 50-100 μg/g, ενώ στο κόκκινο κρασί μπορεί να βρεθεί σε συγκεντρώσεις 1,5-3 mg/L. Η RVT, όπως και άλλες φυτο-αντιοξειδωτικές ουσίες, αποτελεί φυσικό συστατικό των φυτών με αντιβιοτική δράση για την προστασία από μύκητες και οξειδωτικές βλάβες. Το λευκό κρασί περιέχει RVT, αλλά σε μικρότερες ποσότητες, γιατί η ζύμωση του κρασιού διεξάγεται μετά την απομάκρυνση του φλοιού των σταφυλιών.

Η δομή της RVT είναι αρκετά απλή, έχει τρία υδροξύλια σε διαμετρικές θέσεις των δύο βενζολικών δακτυλίων. Οι δακτύλιοι βρίσκονται σε trans- δομή της αιθυλενικής ομάδας που τους ενώνει. Υπάρχει επίσης και η cis-ρεσβερατρόλη, αλλά δεν έχει βρεθεί σε

εκχυλίσματα σταφυλιών. Η RVT, όπως και άλλες πολυφαινόλες (φλαβόνες, ισοφλαβόνες, κ.λπ.), προστατεύει τα φυτά από εξωτερικούς εχθρούς (έντομα, μύκητες), επιβλαβείς οξειδώσεις και χαμηλές θερμοκρασίες (γι' αυτό και βρίσκεται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις σε σταφύλια ψυχρών περιοχών).

### 1.6.1 Ρεσβεατρόλη και αντιοξειδωτική δράση

Η RVT παρουσιάζει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση, δηλαδή εξουδετερώνει οξυγονούχες ρίζες και οξειδωτικές ενώσεις που παράγονται στους διάφορους ιστούς ή κυκλοφορούν στο πλάσμα του αίματος. Με βάση αυτή την ιδιότητα έχουν γίνει πολυάριθμες έρευνες για την RVT και παράγωγά της. Η αντιοξειδωτική δράση οφείλεται στην εξουδετέρωση δραστικών ριζών (απόσπαση υδρογόνου) και δημιουργία μη δραστικών ριζών, λόγω δομής, συντονισμού, σχηματισμού κινονών ή συμπλοκοποίησης μετάλλων, με τα δύο υδροξύλια σε ο- ή p-θέση.<sup>[25]</sup>



**Σχήμα 7.** Αντιοξειδωτική δράση των ο-διυδροξυπαραγωγών και σταθεροποίηση της παραγόμενης ρίζας μέσω δομών που είναι λιγότερο δραστικές ή σταθερές κινόνες.

### 1.6.2 Ρεσβερατρόλη και αντιφλεγμονώδης δράση

Η ρεσβερατρόλη, μια πολυφαινολική ένωση που παράγεται από τα φυτά, αναστέλλει το φλεγμονόσωμα NLRP3 στα μακροφάγα κύτταρα, μειώνοντας τόσο την εκκίνηση όσο και την ενεργοποίηση του σήματος του φλεγμονοσώματος NLRP3. Μειώνοντας τη μιτοχondριακή βλάβη και αυξάνοντας την αυτοφαγία, οδηγεί στην μείωση της ενεργοποίησης του NLRP3.

Οι ROS εμπλέκονται τόσο στο βήμα εκκίνησης του φλεγμονοσώματος, όσο και στο στάδιο ενεργοποίησης. Η αυξητική ρύθμιση των επιπέδων ROS σε μακροφάγα μετά από επίδραση ATP οδήγησε σε ενεργοποίηση της PI3K, στην προώθηση της ενεργοποίησης της κασπάσης-1 και στην έκκριση της IL-1β. Η αναστολή της επαγόμενης από ATP παραγωγής ROS μπορεί να είναι υπεύθυνη για τη μειωμένη ενεργοποίηση της κασπάσης-1 και την έκκριση της IL-1β από τη ρεσβερατρόλη. Επιπλέον, αποδείχθηκε ότι η ρεσβερατρόλη μείωσε την παραγωγή του μιτοχondριακού ROS, το οποίο παίζει σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος NLRP3. Η υπερπαραγωγή του μιτοχondριακού ROS προωθεί μια μιτοχondριακή μετάβαση διαπερατότητας και διευκολύνει την κυτοσολική απελευθέρωση του μιτοχondριακού DNA, η οποία διευκολύνει την ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος NLRP3. Η ρεσβερατρόλη επίσης μείωσε τη μιτοχondριακή μετάβαση διαπερατότητας και την κυτοσολική απελευθέρωση του μιτοχondριακού DNA, υποδεικνύοντας ότι η μιτοχondριακή σταθερότητα μπορεί να είναι υπεύθυνη για τη μειωμένη ενεργοποίηση των φλεγμονοσωμάτων NLRP3 από τη ρεσβερατρόλη.

Αποδείχθηκε επίσης, ότι ανέστειλε την ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος NLRP3 που επάγεται όχι μόνο από μικροβιακές τοξίνες και περιβαλλοντικούς ερεθισμούς, αλλά και από ενδογενή σήματα κινδύνου (π.χ. ουρικό μονονάτριο και διένυδρο) πυροφωσφορικό ασβέστιο.<sup>[26]</sup>

## 1.7 Ανάπτυξη νέων ενώσεων αναστολέων της ενεργοποίησης του φλεγμονοσώματος

Σύμφωνα με τα πρόσφατα βιβλιογραφικά δεδομένα που αναφέρθηκαν παραπάνω, η ενεργοποίηση του συμπλέγματος του φλεγμονοσώματος και μαζική απελευθέρωση φλεγμονωδών μεσολαβητών η οποία την συνοδεύει, παίζει σημαντικό ρόλο στη φυσική και επίκτητη ανοσοανταπόκριση.

Ενώ αρχικά η έρευνα σχετιζόμενη με το φλεγμονόσωμα χαρακτηριζόταν κυρίως από μελέτες *in vitro* και *in vivo* σε μικρά ζώα, η συμβολή του φλεγμονοσώματος σε πολύπλοκες ασθένειες του ανθρώπου αναμένεται να αποκτήσει κεντρικό ρόλο.

Πολλές ασθένειες συνοδεύονται από πυρετό, εξανθήματα, πόνους στις αρθρώσεις και άλλες σοβαρές επιπλοκές που μειώνουν την ποιότητα ζωής των ασθενών από μικρή ηλικία. Οι πρόσφατες ενδείξεις, ότι αυτές οι ασθένειες συνδέονται με την ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος, ανοίγει νέους δρόμους για την αντιμετώπισή τους. Η έντονη προσπάθεια για την ανακάλυψη και ανάπτυξη μικρών μορίων για την εκλεκτική παρεμπόδιση της ενεργοποίησης του φλεγμονοσώματος, θα δημιουργήσει νέες προσεγγίσεις για τη θεραπεία συνδρόμων για τα οποία δεν υπάρχει αποτελεσματική αντιμετώπιση. <sup>[27]</sup>

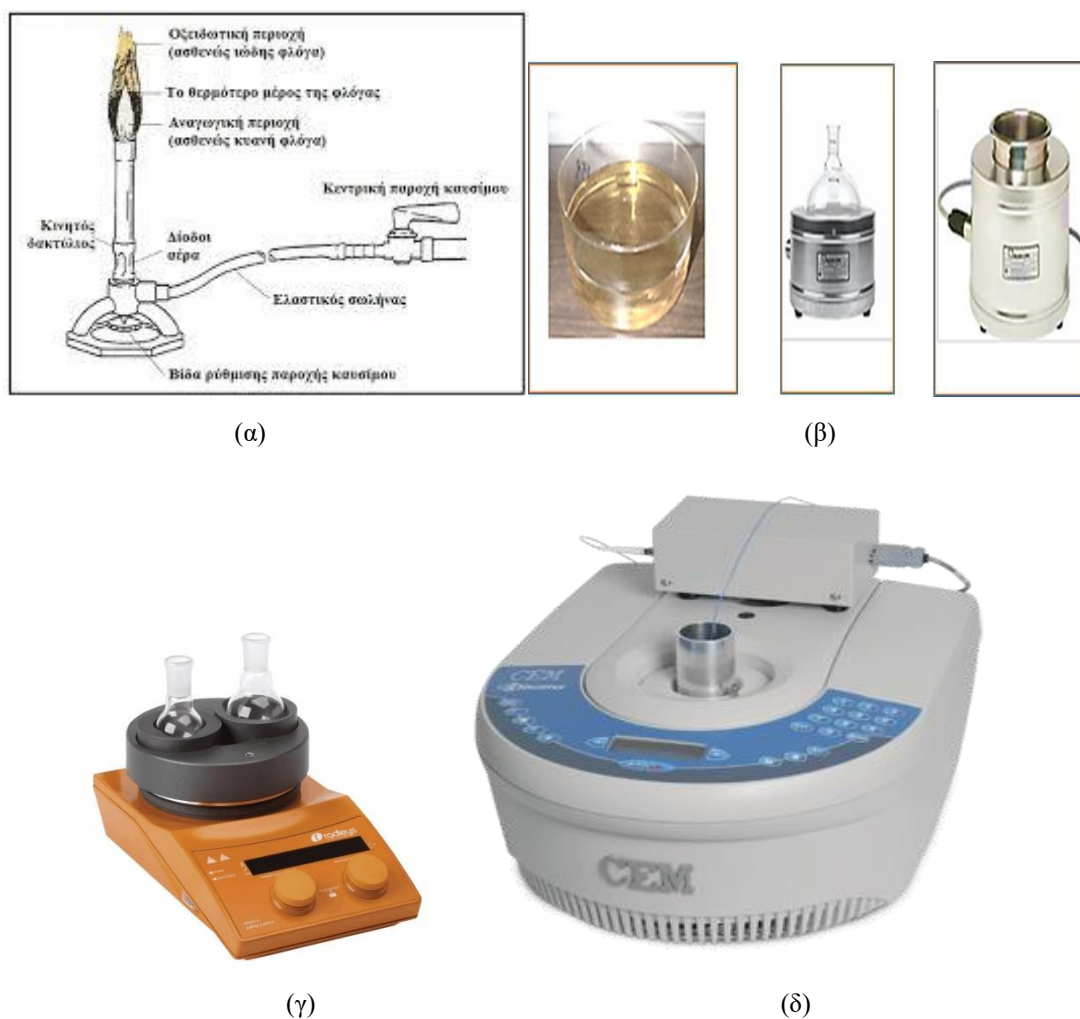
# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

## ΧΡΗΣΗ ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΩΝ ΣΤΗΝ ΟΡΓΑΝΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζεται η χρήση των μικροκυμάτων ως εναλλακτικός τρόπος θέρμανσης καθώς και τα πλεονεκτήματα της χρήσης τους στην οργανική σύνθεση.

### 2.1 Τρόποι θέρμανσης στην οργανική σύνθεση

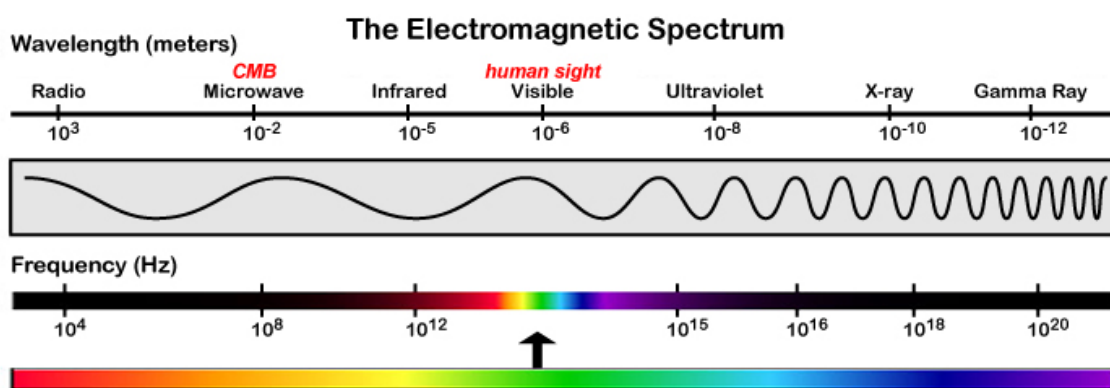
Διάφοροι τρόποι θέρμανσης αναπτύχθηκαν κατά το πέρασμα των χρόνων στη συνθετική χημεία. Αρχικά χρησιμοποιήθηκε η θέρμανση με φλόγα, όταν ο Robert Bunsen εφηύρε το λύχνο Bunsen το 1855 όπου η ενέργεια από την φλόγα (πηγή θερμότητας) εφαρμόζεται με εστιασμένο τρόπο στο δοχείο αντίδρασης. Ο λύχνος Bunsen αργότερα αντικαταστάθηκε από τον θερμαντικό μανδύα (heating mantle), το ελαιόλουτρο (oil bath) ή το Heat-block ως πηγή θερμότητας σε μια χημική αντίδραση.<sup>[28]</sup>



**Εικόνα 2.** (α) Λύχνος Bunsen, (β) Θερμαντικός μανδύας και ελαιόλουτρα, (γ) Heat-block και (δ) Συσκευή μικροκυμάτων

Με την έλευση όμως των μικροκυμάτων, η θέρμανση με μικροκύματα εισήχθη ταχέως ως πρότυπη μέθοδος σε εργαστήρια της οργανικής χημείας, κυρίως λόγω της δυνατότητας της να λειτουργεί σε υψηλές θερμοκρασίες καθώς και να συνοδεύεται από επιταχυνόμενους ρυθμούς αντίδρασης. Πλέον είναι πολύ διαδεδομένη στα εργαστήρια με πολλά παραδείγματα εφαρμογής της στην οργανική σύνθεση.

Τα Μικροκύματα είναι περιοχή των ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων με μήκος κύματος μεταξύ 0,1 και 100 εκατοστών, που αντιστοιχεί σε συχνότητες μεταξύ 0,3-300 GHz. Στην ανόργανη χημεία η τεχνολογία των μικροκυμάτων χρησιμοποιείται από τα τέλη της δεκαετίας του 1970, ενώ στην οργανική χημεία εφαρμόστηκε στα μέσα του 1980. Παρά το γεγονός ότι η ανάπτυξη αυτής της τεχνολογίας για την οργανική σύνθεση ήταν σχετικά αργή, σε σύγκριση, για παράδειγμα, με την συνδυαστική χημεία ή την υπολογιστική, τα τελευταία χρόνια χιλιάδες δημοσιεύσεις αναφέρονται στη χρήση τους στην Οργανική Χημεία.<sup>[29]</sup>



Εικόνα 3. Ηλεκτρομαγνητικό φάσμα

Οι εφαρμογές μικροκυματικής θέρμανσης περιλαμβάνουν, αντιδράσεις κυκλοπροσθήκης, τη σύνθεση ραδιοϊσοτόπων, τη χημεία πολυμερών, ετεροκυκλικών ενώσεων και υδρογονανθράκων, την ομογενή και ετερογενή κατάλυση, την ιατρική και συνδυαστική χημεία αλλά και την πράσινη χημεία.<sup>[30]</sup>

## 2.2 Εισαγωγή στην οργανική σύνθεση με μικροκύματα

Συγκεκριμένα, η θέρμανση με μικροκύματα για πρώτη φορά χρησιμοποιήθηκε στην οργανική σύνθεση το 1986, από τις ομάδες των Gedye και Giguere-Majetich. Σήμερα χρησιμοποιείται ευρύτατα και με μεγάλη επιτυχία γιατί δίνει υψηλές αποδόσεις υπό ηπιότερες και φιλικότερες προς το περιβάλλον συνθήκες, συχνά χωρίς την χρήση διαλυτών, άλλοτε με ανακύκλωση τους, αλλά και με μικρότερη κατανάλωση ενέργειας.<sup>[30]</sup>

Η οργανική σύνθεση με τη βοήθεια της ενέργειας των μικροκυμάτων (Microwave Assisted Organic Synthesis - MAOS) αποτελεί μια τεχνική με διαρκώς επεκτεινόμενες εφαρμογές στην οργανική και φαρμακευτική χημεία. Σύμφωνα με πολλές δημοσιευμένες εργασίες, έχει αποδειχθεί ότι μέσω της οργανικής σύνθεσης με μικροκύματα, επιτυγχάνονται:

- Αισθητή μείωση του χρόνου αντίδρασης
- Αύξηση των αποδόσεων παραγωγής των προϊόντων
- Παραγωγή καθαρότερων προϊόντων μέσω της μείωσης των ανεπιθύμητων παράπλευρων αντιδράσεων σε σχέση με τις συμβατικές μεθόδους θέρμανσης.

Τα πλεονεκτήματα αυτής της τεχνολογίας αφορούν όχι μόνο στην οργανική και φαρμακευτική χημεία (ανάπτυξη φαρμάκων), αλλά έχουν διεισδύσει και σε συναφείς τομείς, όπως στη σύνθεση πολυμερών, στην επιστήμη υλικών, στη νανοτεχνολογία, και στις βιοχημικές διεργασίες. Ειδικά στον τομέα της οργανικής σύνθεσης, η χρήση των μικροκυμάτων έχει γίνει τόσο δημοφιλής τεχνική που θα μπορούσε να συμπεράνει κανείς ότι, σε λίγα χρόνια, θα χρησιμοποιείται κατεξοχήν στη συνθετική οργανική χημεία για τη διεξαγωγή χημικών αντιδράσεων σε εργαστηριακή κλίμακα και όχι μόνο. Η χρήση της ενέργειας των μικροκυμάτων επεκτείνεται με ταχείς ρυθμούς στην οργανική σύνθεση: αποτελεί μια “καθαρή” τεχνική, που παρέχει τη δυνατότητα αυτοματοποίησης μιας διαδικασίας, και οδηγεί στη γρήγορη και με υψηλή απόδοση απομόνωση νέων προϊόντων. Η χρήση των μικροκυμάτων αντικαθιστά την συμβατική θέρμανση με αποτέλεσμα αντιδράσεις που θα απαιτούσαν θέρμανση σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες για πολύ μεγάλο χρονικό διάστημα να επιταχύνονται σημαντικά με παράλληλη αύξηση της απόδοσης του προϊόντος.<sup>[29]</sup>

### 2.2.1 Τρόπος χρήσης μικροκυμάτων



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

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

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

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

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

Το συνολικό αποτέλεσμα της μικροκυματικής ακτινοβολήσης στην οργανική σύνθεση, είναι συνδυασμός θερμικών και μη θερμικών επιπτώσεων, των πρώτων προερχομένων από τον ρυθμό θέρμανσης, την υπερθέρμανση, τις θερμοπηγές και την

εκλεκτική απορρόφηση ακτινοβολίας από πολικές ουσίες, ενώ οι μη θερμικές προέρχονται από το πεδίο δημιουργίας υψηλής πολικότητας και αφορούν την κινητικότητα και διάχυση που μπορούν να αυξήσουν τις πιθανότητες αποτελεσματικών επαφών. Τέτοια αποτελέσματα, συνήθως, δεν είναι δυνατόν να επιτευχθούν με κλασικού τύπου θέρμανση.

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

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

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

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

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

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

Στην μικροκυματική σύνθεση χωρίς διαλύτες τα αντιδραστήρια αντιδρούν «καθαρά», ή με προ-προσρόφηση, επί ανόργανου φορέα στήριξης, ο οποίος είναι, είτε μικροκυματικά διαφανής (οξείδιο πυριτίου, οξείδιο αργιλίου, άργιλος), είτε ισχυρά απορροφητικός (γραφίτης).<sup>[30]</sup>

## 2.2.2 Επίδραση της ενέργειας Μικροκυμάτων στις χημικές αντιδράσεις

Από την εισαγωγή των οργανικών συνθέσεων με μικροκύματα το 1986, το κύριο ερώτημα ήταν τι είναι αυτό που ουσιαστικά διαφοροποιεί το αποτέλεσμα της σύνθεσης. Στην αύξηση της θερμοκρασίας που πραγματοποιείται λόγω των μικροκυμάτων ή σε ένα αποτέλεσμα ειδικό που εξαρτάται από την ενέργεια μικροκυμάτων;

Για να κατανοήσουμε τη διαφορά πρέπει να προσδιοριστεί ο όρος «ενέργεια μικροκυμάτων». Στο παρελθόν ο όρος αυτός χρησιμοποιήθηκε όταν το αποτέλεσμα μιας σύνθεσης με μικροκύματα διέφερε από το αντίστοιχο με την κλασική θέρμανση.

Το κύριο πλεονέκτημα της χρήσης μικροκυμάτων στις οργανικές συνθέσεις είναι οι μικρότεροι χρόνοι αντίδρασης. Για κάθε αύξηση της θερμοκρασίας κατά 10°, ο ρυθμός της αντίδρασης σχεδόν διπλασιάζεται. Ο ρυθμός των αντιδράσεων μπορεί να περιγραφεί από την εξίσωση Arrhenius:

$$K = A * e^{-\Delta G / RT}$$

Σύμφωνα με την παραπάνω εξίσωση υπάρχουν βασικά δυο τρόποι για την αύξηση του ρυθμού μιας χημικής αντίδρασης. Πρώτον, μέσω του παράγοντα A που περιγράφει την μοριακή κινητικότητα και εξαρτάται από τη συχνότητα ταλάντωσης των μορίων στην επιφάνεια αντίδρασης. Αναφέρθηκε προηγουμένως πώς τα μικροκύματα επηρεάζουν τις μοριακές ταλαντώσεις και προτάθηκε ότι αυτός ο παράγοντας A μπορεί να επηρεαστεί. Άλλοι ερευνητές ωστόσο υπέθεσαν, ότι η ακτινοβολία μικροκυμάτων προκαλεί μια

διαφοροποίηση στον εκθετικό παράγοντα επηρεάζοντας την ελεύθερη ενέργεια ενεργοποίησης  $\Delta G$ .

Στα περισσότερα παραδείγματα τα ειδικά αποτελέσματα των μικροκυμάτων που αναφέρθηκαν, μπορούν να αποδοθούν σαν θερμικά αποτελέσματα. Η θέρμανση με μικροκύματα μπορεί να είναι πολύ γρήγορη, παράγοντας θερμικά αποτελέσματα που δύσκολα επιτυγχάνονται με άλλες τεχνικές θέρμανσης. Έτσι πειράματα που γίνονται με τη χρήση μικροκυμάτων σε οργανικές συνθέσεις μπορεί να έχουν ένα διαφορετικό αποτέλεσμα σε σχέση με τις κλασικά θερμαινόμενες αντιδράσεις, ακόμα και αν η τελική θερμοκρασία είναι η ίδια. <sup>[31]</sup>

### 2.3 Επιλεγμένες συνθετικές εφαρμογές

Αναγράφονται κάποιες επιλεγμένες συνθετικές εφαρμογές οι οποίες επιτυγχάνονται με τη χρήση μικροκυμάτων.

- *Δημιουργία δεσμών C-C μέσω κατάλυσης με μεταβατικά μέταλλα*

Μια από τις πιο σημαντικές και περισσότερο μελετημένες ομάδες των αντιδράσεων που υποβοηθούνται με μικροκύματα, είναι οι αντιδράσεις με μεταβατικά μέταλλα ως ομογενείς καταλύτες υπό συνθήκες πράσινης χημείας στο νερό.

Οι αντιδράσεις στις οποίες χρησιμοποιούνται μεταβατικά μέταλλα ως καταλύτες και οι οποίες σχηματίζουν δεσμούς άνθρακα-άνθρακα και άνθρακα-ετεροατόμου, τυπικά χρειάζονται ώρες ή ημέρες για να ολοκληρωθούν με παραδοσιακή θέρμανση, υπό συνθήκες επαναρροής, ενώ συχνά απαιτούν και αδρανή ατμόσφαιρα.

Η χρήση μετάλλων ως καταλυτών, σε συνδυασμό με τα μικροκύματα, μπορεί να έχει σημαντικά πλεονεκτήματα έναντι των συμβατικών μεθόδων θέρμανσης, καθώς η ανεστραμμένη θερμοκρασιακή κατανομή υπό συνθήκες μικροκυμάτων (αύξηση της θερμοκρασίας στο περιεχόμενο και όχι στα τοιχώματα του δοχείου) οδηγεί και σε αυξημένη ζωή του καταλύτη.

Αντιπροσωπευτικά παραδείγματα αυτού του τύπου αντιδράσεων, είναι αντιδράσεις Heck, Suzuki, Sonogashira, Stille.

- *Αντιδράσεις κυκλοπροσθήκης*

Οι αντιδράσεις κυκλοπροσθήκης ήταν μεταξύ των πρώτων μετασχηματισμών που μελετήθηκαν με την χρήση θέρμανσης μέσω μικροκυμάτων. Τυπικά παραδείγματα της κατηγορίας αυτών των αντιδράσεων αποτελούν οι αντιδράσεις Diels–Alder που επιτυγχάνονται χωρίς την προσθήκη διαλύτη με μικροκυματική διηλεκτρική θέρμανση για σύντομο σχετικά χρονικό διάστημα. Ένα επιπλέον παράδειγμα είναι η 1,3 διπολική κυκλοπροσθήκη.

- *Σύνθεση φυσικών προϊόντων*

Σημαντικές εφαρμογές βρίσκει η χρήση των μικροκυμάτων και στη στοχευμένη σύνθεση φυσικών προϊόντων. Υπάρχουν πολλά παραδείγματα ολικών συνθέσεων, όπου κάποιο από τα στάδια της ακολουθίας των αντιδράσεων επιτυγχάνεται με τη χρήση μικροκυματικής ακτινοβολίας με εντυπωσιακότερο παράδειγμα την ολική σύνθεση της (-)-στεφακιδίνης A, ενός δευτερογενούς μεταβολίτη που απομονώθηκε από τον θαλάσσιο οργανισμό *Aspergillus ochraceus* και εμφανίζει αντικαρκινικές ιδιότητες.<sup>[30]</sup>

## 2.4 Εξοπλισμός

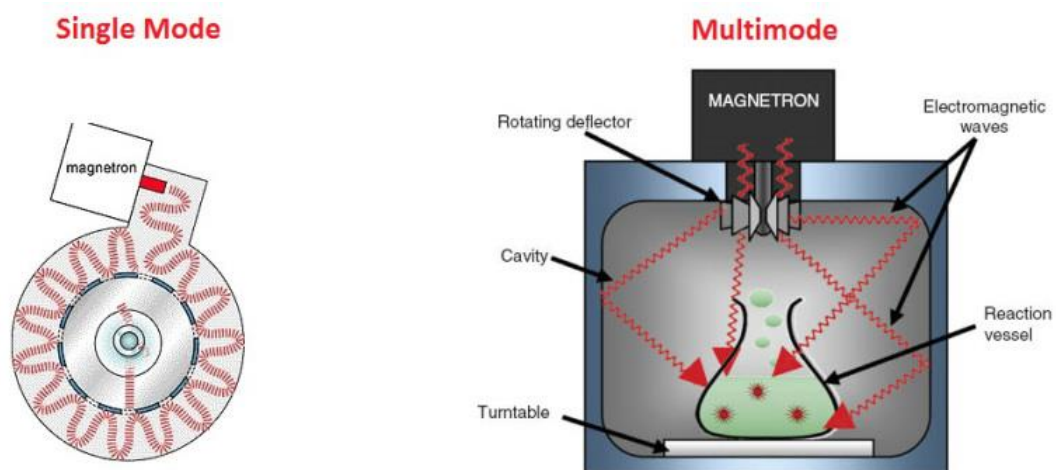
Αν και τα πρώτα πειράματα σύνθεσης με μικροκύματα έγιναν σε οικιακούς φούρνους μικροκυμάτων, πλέον, όπως είναι λογικό, έχουν εξελιχτεί τα πειράματα και η τεχνολογία που διαθέτουμε και έτσι χρησιμοποιούνται εξειδικευμένες για σύνθεση με μικροκύματα συσκευές.

Πρόσφατα, έχουν εξελιχτεί δύο διαφορετικής φιλοσοφίας σχεδιασμού αντιδραστήρες για σύνθεση με μικροκύματα: οι «multimode» και οι «monomode» (ή single-mode) αντιδραστήρες.

Όσον αφορά στα multimode όργανα (θεωρητικά, παρόμοια με τους οικιακούς φούρνους), τα μικροκύματα εισέρχονται στην κοιλότητα και αντανακλώνται στα τοιχώματα. Στην πλειονότητα των περιπτώσεων, χρησιμοποιείται ένας αναδευτήρας, του οποίου η λειτουργία εξασφαλίζει ότι η κατανομή των μικροκυμάτων στο πεδίο είναι όσο το δυνατόν πιο ομοιογενής (Εικόνα 4β).

Στα monomode όργανα, η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία οδηγείται κατευθείαν, μέσω ενός υψηλής ακριβείας σχεδιασμένου ορθογωνίου ή κυκλικού κυματοδηγού, στο δοχείο αντίδρασης που βρίσκεται σε καθορισμένη απόσταση από την πηγή ακτινοβολίας (Εικόνα 4α).

Η ουσιαστική διαφορά μεταξύ των δύο ειδών αντιδραστήρων βρίσκεται στο ότι ενώ στις multimode κοιλότητες μπορούν τα ακτινοβοληθούν ταυτόχρονα πολλά δοχεία αντίδρασης σε multi-vessel rotors (παράλληλη σύνθεση), στα monomode συστήματα μπορεί να ακτινοβοληθεί μόνο ένα δοχείο αντίδρασης τη φορά. Ένα γενικό πρόβλημα που συναντάται στα multimode όργανα, είναι η χαμηλή τους απόδοση σε μικρής κλίμακας αντιδράσεις (<3 mL). Αν η παραγόμενη ισχύς μικροκυμάτων είναι υψηλή (1000-1400 W), η πυκνότητα ισχύος του πεδίου είναι αρκετά χαμηλή, με αποτέλεσμα η θέρμανση των μικρών επιμέρους δειγμάτων να επιτυγχάνεται δύσκολα και αυτό συνιστά ένα σημαντικό μειονέκτημα ειδικά για την έρευνα. Συνήθως, στις περιπτώσεις των μικρών δειγμάτων, χρησιμοποιούνται single-mode όργανα τα οποία μπορούν να επεξεργαστούν ποσότητες που κυμαίνονται από 0.2 mL έως και περίπου 50 mL σε κλειστά δοχεία (250 °C, 20 bar), καθώς και ποσότητες του ύψους των 150 mL υπό συνθήκες reflux και σε ανοιχτό δοχείο. Για ποσότητες έως και μερικών λίτρων προτιμώνται τα multi-mode όργανα με κλειστά είτε ανοιχτά δοχεία αντίδρασης.<sup>[28,32]</sup>



Εικόνα 4. (α) Single mode (β) Multimode σε αντιδραστήρα παράλληλης σύνθεσης



Εικόνα 5. Το όργανο μικροκυμάτων που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία

### 2.4.1 Δοχεία αντίδρασης

Στη σύνθεση με μικροκύματα, χρησιμοποιούνται δοχεία αντίδρασης κατασκευασμένα από κατάλληλο διαπερατό στη μικροκυματική ακτινοβολία υλικό. Υπάρχουν δύο τρόποι σύνθεσης σε σχέση με τα δοχεία αντίδρασης. Μπορούν να διεξαχθούν αντιδράσεις με κλειστά δοχεία και αντιδράσεις με ανοιχτά δοχεία και υπό ατμοσφαιρική πίεση.

- **ΚΛΕΙΣΤΑ ΔΟΧΕΙΑ**

Αυτού του είδους τα δοχεία μένουν σφραγισμένα καθ' όλη τη διάρκεια της διαδικασίας της ακτινοβόλησης. Επίσης, επιτρέπουν τη χρήση υψηλών πιέσεων και θερμοκρασιών και για λόγους ασφαλείας, είναι εξοπλισμένα με έναν ή περισσότερους μηχανισμούς με τους οποίους η ταχεία ή υπερβολική αύξηση της πίεσης θα μπορεί να αποφευχθεί χωρίς οποιοδήποτε καταστροφικό αποτέλεσμα. Τέτοιοι μηχανισμοί μπορεί να περιλαμβάνουν δίσκους ασφαλείας από αδρανείς μεμβράνες τεφλόν ή μεταλλικούς δίσκους. Η χρήση τους, είναι σημαντική καθώς επιτρέπουν την εκτεταμένη ασφαλή χρήση του δοχείου το οποίο δέχεται μηχανικές και θερμικές καταπονήσεις.

- **ΑΝΟΙΧΤΑ ΔΟΧΕΙΑ**

Τα ανοιχτά δοχεία χρησιμοποιούνται για αντιδράσεις που πραγματοποιούνται σε θερμοκρασία ίση ή μικρότερη από το σημείο βρασμού των αντιδραστηρίων σε ατμοσφαιρική πίεση. Κατά την ακτινοβόληση με μικροκύματα σε ατμοσφαιρική πίεση, οι διαλύτες δε μπορούν να ξεπεράσουν το σημείο βρασμού τους, έτσι, προκειμένου να επιτευχθούν υψηλοί ρυθμοί αντίδρασης, σε αντιδράσεις με ανοιχτά δοχεία, χρησιμοποιούνται διαλύτες με υψηλά σημεία βρασμού.<sup>[28]</sup>

## 2.5 Παράμετροι ελέγχου



Κατά την εφαρμογή της μεθόδου ακτινοβόλησης ενός δείγματος με μικροκύματα, απαραίτητη είναι η ρύθμιση και ο έλεγχος κάποιων βασικών για την αντίδραση παραμέτρων, μια δυνατότητα που μας δίνεται απόλυτα μέσω του χειρισμού οργάνου. Τέτοιες βασικές παράμετροι είναι οι εξής:

- Ισχύς/ Χρόνος
- Πίεση
- Θερμοκρασία

### **Ισχύς/ Χρόνος**

Η ισχύς και ο χρόνος, αποτελούν δύο από τις απλούστερες και προφανείς παραμέτρους που πρέπει πρώτα να ελέγξει κανείς. Ο καθορισμός αυτών των παραμέτρων για μια αντίδραση, προκύπτει από τον ερευνητή έπειτα από δοκιμή και σφάλμα.

### **Πίεση**

Η πίεση είναι μια από τις δυο άμεσα προσδιοριζόμενες φυσικές παραμέτρους στο σύστημα μικροκυμάτων. Οι αισθητήρες πίεσης είναι σχετικά φθηνοί και τα δοχεία αντίδρασης μπορεί να κατασκευαστούν έτσι ώστε να επιτρέπουν την ελεγχόμενη παροχή ισχύος στο σύστημα βάσει της μετρούμενης εσωτερικής πίεσης στο δοχείο. Βάσει αυτού του σχεδιασμού, η παροχή ισχύος ανακόπτεται στην επιλεγμένη τιμή πίεσης και επανέρχεται όταν αυτή η τιμή πέσει κάτω τις προεπιλεγμένης. Η πίεση που επιτυγχάνεται σε μια δεδομένη θερμοκρασία κατά τη διάρκεια της αντίδρασης, εξαρτάται από ένα συνδυασμό παραγόντων όπως η πίεση των ατμών των αντιδρώντων καθώς και η πίεση των αερίων των προϊόντων που παράγονται κατά την αντίδραση.

### **Θερμοκρασία**

Η θερμοκρασία αποτελεί βασική παράμετρο στις αντιδράσεις με μικροκύματα καθώς από αυτή εξαρτάται και η ποιότητα διάλυσης των ουσιών που συμμετέχουν. Για να μπορεί να υπάρχει αποτελεσματικός έλεγχος της διεργασίας, ένας αισθητήρας θερμοκρασίας θα πρέπει:

- Να είναι ταχείας απόκρισης στα ερεθίσματα.
- Να δείχνει την πραγματική εσωτερική θερμοκρασία του δοχείου
- Να είναι αδρανής στην ενέργεια μικροκυμάτων.<sup>[28]</sup>

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

## ΒΙΟΙΣΟΣΤΕΡΗ ΚΑΙ 'CLICK' ΧΗΜΕΙΑ

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζεται η βιοϊσοστερική αντικατάσταση και η 'click' χημεία και οι εφαρμογές τους.

### 3.1 Βιοϊσοστερική αντικατάσταση

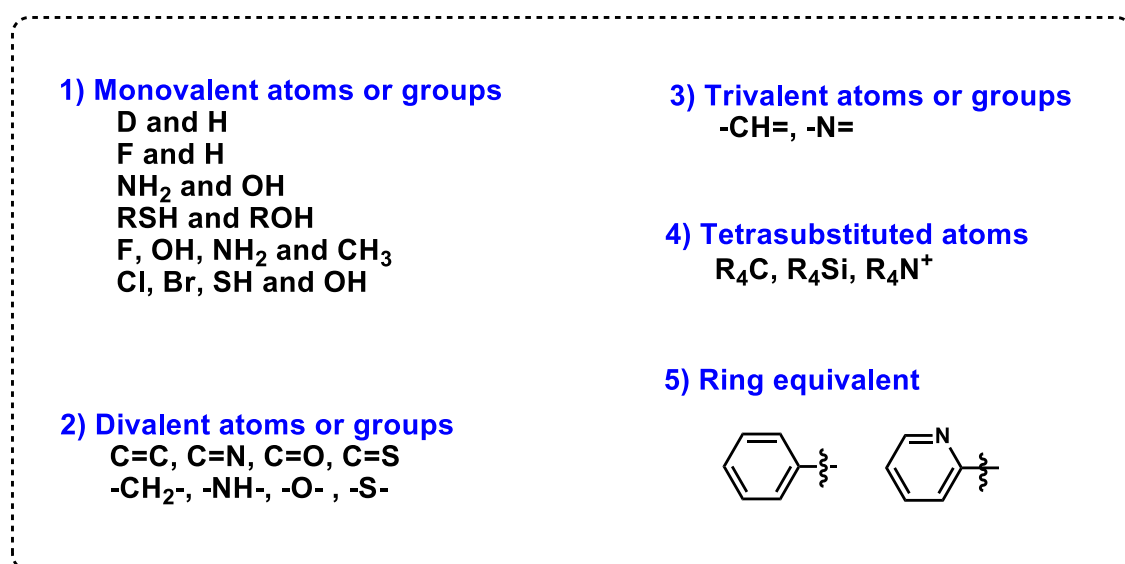
Μία σημαντική στρατηγική που χρησιμοποιείται για τον ορθολογικό σχεδιασμό νέων φαρμάκων είναι η μοριακή τροποποίηση ενώσεων οδηγών μέσω βιοϊσοστερικής αντικατάστασης.

Με τη στρατηγική αυτή μπορεί να επιτευχθεί μεγαλύτερη εκλεκτικότητα, λιγότερες παρενέργειες και μειωμένη τοξικότητα της δραστικής ένωσης, βελτιωμένες φαρμακοκινητικές ιδιότητες και αυξημένη σταθερότητα. Επίσης, μπορεί να απλοποιηθεί η συνθετική πορεία που απαιτείται για την παρασκευή της ένωσης. <sup>[33]</sup>

Η μέθοδος αυτή πολλές φορές οδηγεί στη σύνθεση νέων ενώσεων οδηγών για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων ενώ τέλος είναι το θεμέλιο για τη μελέτη των ποσοτικών σχέσεων δομής-δράσης (QSAR) των αναλόγων που συντίθενται.

Τα βιοϊσοστερή είναι υποκαταστάτες ή ομάδες με χημικές ή φυσικές ομοιότητες που εμφανίζουν και όμοια βιολογική δράση και έχουν ταξινομηθεί σε δύο μεγάλες κατηγορίες: τα κλασικά και μη-κλασικά βιοϊσοστερή.

Η πρώτη κατηγορία έχει υποδιαιρεθεί σε α) μονοσθενή άτομα ή ομάδες, β) δισθενή άτομα ή ομάδες, γ) τρισθενή άτομα ή ομάδες, δ) τετραϋποκατεστημένα άτομα και ε) ισοδύναμα δακτυλίων. Τα κλασικά βιοϊσοστερή έχουν όμοια στερεοχημικά και ηλεκτρονιακά χαρακτηριστικά και μπορούν να έχουν τον ίδιο αριθμό ατόμων με το άτομο ή τον υποκαταστάτη που αντικαθιστούν.



Σχήμα 8. Κατηγορίες κλασικών βιοϊσοστερών

Αντίθετα, τα μη κλασικά βιοϊσοστερή έχουν διαφορετικό αριθμό ατόμων σε σχέση με τον υποκαταστάτη που αντικαθιστούν αλλά έχουν παρόμοια βιολογική δράση. Α) Η πρώτη κατηγορία περιλαμβάνει κυκλικές έναντι μη κυκλικών δομών και Β) η δεύτερη κατηγορία περιλαμβάνει τη μη κλασική αντικατάσταση λειτουργικών ομάδων.

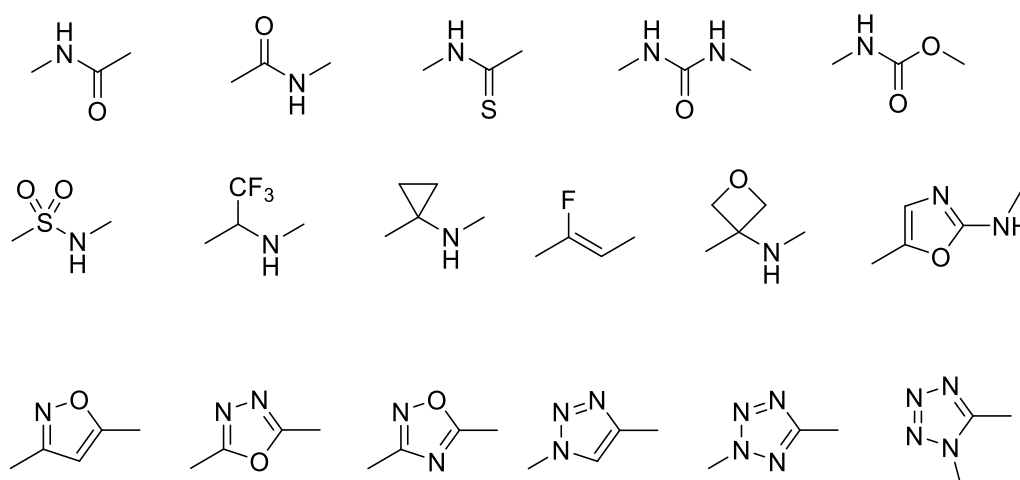
Γενικά, η σωστή χρήση της βιοϊσοστερικής αντικατάστασης απαιτεί προσεκτική ανάλυση των φυσικών, χημικών, ηλεκτρονιακών και διαμορφωτικών παραμέτρων ώστε να προβλεφθεί οποιαδήποτε μεταβολή αναφορικά με τις φαρμακοδυναμικές και φαρμακοκινητικές ιδιότητες που θα παρουσιάζει η νέα βιοδραστική ένωση.

Λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι οι βιοϊσοστερικές τροποποιήσεις μπορεί να αλλάξουν το συνολικό μοριακό μέγεθος ή να οδηγήσουν σε διαφορετική βιολογική δράση από αυτή της αρχικής ουσίας, πρέπει να γίνει προσεκτική επιλογή των ομάδων της ένωσης οδηγού που θα τροποποιηθούν χωρίς να μεταβληθεί η δραστηριότητα.<sup>[34]</sup>

Όπως είναι γνωστό, η αμιδική ομάδα αποτελεί σημαντικό δομικό συστατικό πολλών βιολογικών μορίων όπως των αμινοξέων και των πρωτεϊνών καθώς επίσης και πολλών δραστικών ουσιών.

Η βιοϊσοστερική αντικατάσταση του αμιδικού δεσμού αποτελεί μία σημαντική προσέγγιση για την ανάπτυξη νέων πεπτιδομιμητικών ενώσεων και γενικά ουσιών με μεγαλύτερη χημική σταθερότητα και έχει ευρύτατα χρησιμοποιηθεί τα τελευταία χρόνια.

### Βιοϊσοστερή αμιδίων



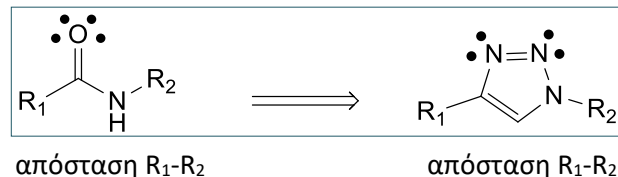
Σχήμα 9. Βιοϊσοστερή αμιδίων

Εκτός από το θειοαμίδιο (-NHCS-) που είναι κλασικό βιοϊσοστερές της αμιδικής ομάδας (-NHCO-), πολλά μη κλασικά βιοϊσοστερή όπως το ρετρο-αμίδιο (-CONH-), η ομάδα της ουρίας (-NHCONH-) και το ομόλογο αμίδιο (-CH<sub>2</sub>NHCO-) έχουν χρησιμοποιηθεί για τη σύνθεση νέων αναλόγων.

Ο αμιδικός δεσμός μπορεί να αντικατασταθεί και από ετεροκυκλικούς δακτυλίους όπως το 1,2,3-τριαζόλιο, το τετραζόλιο και το ισοξαζόλιο. [35]

Όπως είναι γνωστό, οργανικές ενώσεις που περιέχουν πενταμελείς ετεροκυκλικούς δακτυλίους είναι ευρύτατα διαδεδομένες στη φύση και παίζουν σημαντικό ρόλο σε διάφορες βιοχημικές διαδικασίες.

Το 1,2,3-τριαζόλιο λειτουργεί ως δύσκαμπτη συνδετική ομάδα που μπορεί να μιμηθεί τη θέση των ατόμων και τις ηλεκτρονιακές ιδιότητες ενός πεπτιδικού δεσμού χωρίς την ίδια ευαισθησία σε υδρολυτική διάσπαση. Παρά τη διαφορά των 1.1 Å μεταξύ των υποκαταστατών R<sub>1</sub> και R<sub>2</sub>, το ισχυρό δίπολο N=N εκτός του ότι δρα ως δέκτης δεσμού υδρογόνου πιθανότατα πολώνει το βινυλικό H με αποτέλεσμα να δρα ως δότης για το σχηματισμό δεσμού υδρογόνου (Σχήμα 10).



Σχήμα 10. Ηλεκτρονιακή δομή της ομάδας και του 1,2,3-τριαζολίου

Ο 1,5-δωποκατεστημένος τετραζολικός δακτύλιος αποτελεί έναν άριστο μιμητή του cis-αμιδικού δεσμού και χρησιμοποιείται ευρύτατα στη σύνθεση πεπτιδομιμητικών ενώσεων με καλά καθορισμένη και βιολογικά σταθερή διαμόρφωση. Επίσης, αποτελεί και σημαντικό βιοϊσοστερές του καρβοξυλίου, καθώς έχουν παρόμοιες φυσικοχημικές ιδιότητες ως προς τη οξύτητα.

Ο ισοξαζολικός δακτύλιος αποτελεί δομικό συστατικό ενώσεων με βιολογικό ενδιαφέρον.

Η βιοϊσοστερική αντικατάσταση αποτελεί μια ευρύτατα διαδεδομένη στρατηγική που είναι χρήσιμη για μοριακές τροποποιήσεις και τη σύνθεση νέων δραστικών ουσιών διαφόρων φαρμακολογικών κατηγοριών. Σημαντική είναι και η ικανότητα των

βιοϊσοστερών ομάδων να ορίζουν μερικές από τις βασικές απαιτήσεις μιας φαρμακοφόρου ομάδας. Όμως, δεν είναι δυνατή η πρόβλεψη των αποτελεσμάτων που έχει κάθε είδος βιοϊσοστερικής αντικατάστασης στη βιολογική δράση των ουσιών καθώς εμπλέκονται και άλλοι παράγοντες.<sup>[6]</sup>

### 3.2 “Click” χημεία για τη σύνθεση 1,2,3-τριαζολίων και οξάζολίων

Η τεχνική της “click” χημείας αναπτύχθηκε από τον χημικό K. Barry Sharples<sup>[37]</sup> του ερευνητικού ινστιτούτου Scripps, το 2001 και περιγράφει χημεία εμπνευσμένη από τη φύση, η οποία παράγει ουσίες με την ένωση μικρών μοριακών μονάδων με ετεροδεσμούς. Στόχος είναι η ανάπτυξη δραστικών, εκλεκτικών μορίων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε μια μεγάλη κλίμακα εφαρμογών..

Μια διεργασία πρέπει να πληροί ορισμένες προϋποθέσεις για να χαρακτηριστεί ως ‘click’. Οι αντιδράσεις πρέπει να δίνουν υψηλές αποδόσεις, να είναι αδρανείς, αν είναι δυνατό, στο οξυγόνο και στο νερό, να παράγουν μόνο αβλαβή παραπροϊόντα που μπορούν να διαχωριστούν με μη χρωματογραφικές μεθόδους και να είναι στερεοειδικές.

Οι απαιτούμενες συνθήκες της αντίδρασης περιλαμβάνουν διαθέσιμα αντιδραστήρια, χρήση ήπιων διαλυτών (αν απαιτούνται) που απομακρύνονται εύκολα και απομόνωση απλών και σταθερών προϊόντων που καθαρίζονται με μεθόδους όπως απόσταξη ή κρυστάλλωση.

Οι αντιδράσεις σχηματισμού άνθρακα-ετεροατόμου, περιλαμβάνουν διάφορες τάξεις χημικών μετατροπών:

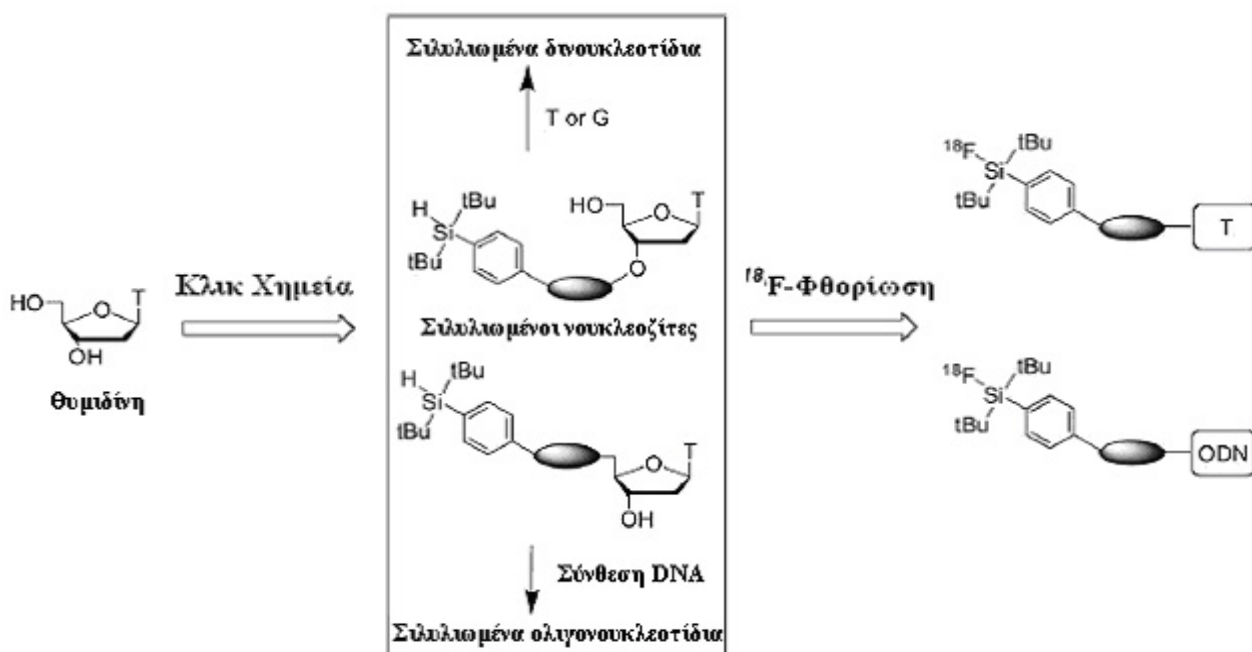
- κυκλοπροσθήκες, ειδικά 1,3-διπολικές κυκλοπροσθήκες, και αντιδράσεις Diels-Alder.
- πυρηνόφιλη υποκατάσταση, ιδιαίτερα αντιδράσεις διάνοιξης δακτυλίου ετεροκυκλικών συστημάτων με τάση όπως αζιριδίνες και εποξειδία.
- σχηματισμό ενώσεων όπως ουρία, θειουρία, αμίδια και υδραζόνες, που περιλαμβάνουν χημεία του καρβονυλίου μη αλδολικού τύπου.
- προσθήκες σε πολλαπλούς δεσμούς άνθρακα- άνθρακα, ειδικά σε οξειδωτικές περιπτώσεις όπως εποξειδωση, αλλά και προσθήκες τύπου Michael.

### 3.3 Εφαρμογές ‘click’ χημείας

Από την καθιέρωση της και μετά ένας τεράστιος αριθμός εφαρμογών της “click” χημείας εμφανίζεται στη βιβλιογραφία. Οι εφαρμογές αυτές περιλαμβάνουν την σύνθεση σχετικά απλών μορίων όπως ligand για την ενεργοποίηση ή την εκλεκτική δέσμευση μετάλλων καθώς και την τροποποίηση και συνδυασμό μεγαλομορίων όπως πεπτίδια, σάκχαρα, νουκλεϊκά οξέα. Παρακάτω δίνονται μερικά παραδείγματα πρόσφατων και σχετικά αντιπροσωπευτικών εφαρμογών της ‘click’ χημείας.

- Σύνθεση επισημασμένων με  $^{18}\text{F}$  νουκλεοτιδίων για εφαρμογή στην τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων

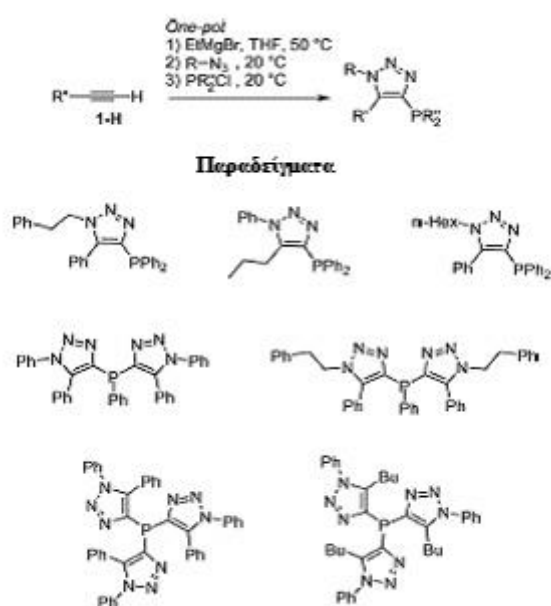
Η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (Positron Emission Tomography PET) είναι μια αποτελεσματική απεικονιστική τεχνική για βιολογικές εξετάσεις σε διάφορους τομείς, όπως ογκολογία, καρδιολογία και νευροεπιστήμες. Η μέθοδος PET χρησιμοποιεί ραδιοϊσότοπα με μικρούς χρόνους ημιζωής όπως το  $^{18}\text{F}$  και η εισαγωγή του σε μόρια που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες είναι ιδιαίτερα σημαντική. Χρησιμοποιώντας ως στάδιο κλειδί την καταλυτική, με χαλκό, κυκλοπροσθήκη αζιδίου-αλκυνίου (CuAAC) και μέσω σύλλο παραγώγων επιτυγχάνεται η επισήμανση με  $^{18}\text{F}$  νουκλεοζιτών και νουκλεοτιδίων



Σχήμα 11. Σύνθεση μέσω κλικ χημείας σύλλο παραγώγων νουκλεοζιτών και ολιγονουκλεοτιδίων και επισήμανση με  $^{18}\text{F}$ .

- Σύνθεση ligand φωσφόρου του τύπου ClickPhos

Η σύνθεση κατάλληλων προσδετών (ligand) για την συμπλοκοποίηση μετάλλων που χρησιμοποιούνται ως καταλύτες σε διάφορες αντιδράσεις διαμοριακής σύζευξης παρουσιάζει ιδιαίτερο πρακτικό ενδιαφέρον. Η εφαρμογή της click χημείας οδήγησε στη σύνθεση μιας ολόκληρης οικογένειας τέτοιων ligand, παραγώγων του φωσφόρου, που αναφέρεται και με το όνομα ClickPhos.

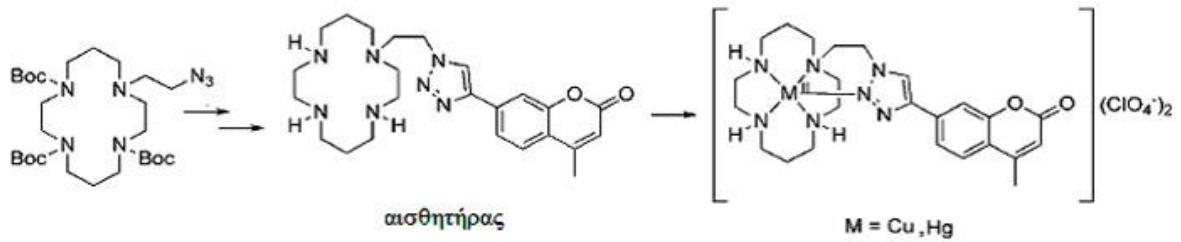


Σχήμα 12. Γενικό σχήμα σύνθεσης και παραδείγματα ClickPhos ενώσεων.

- Σύνθεση αισθητήρων για την εκλεκτική ανίχνευση μετάλλων

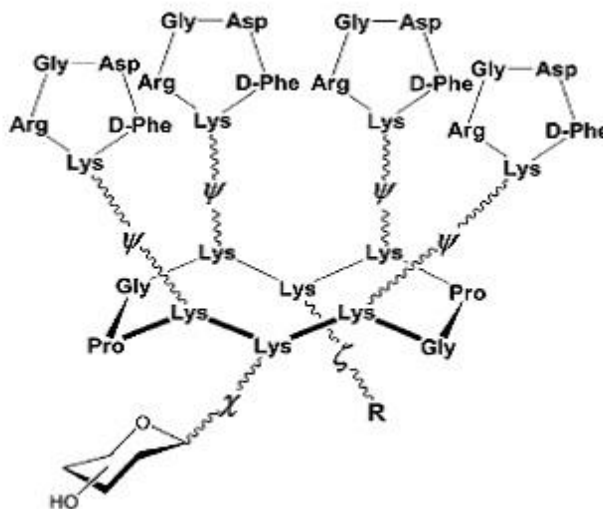
Με αντίδραση κλειδί την CuAAC παρασκευάζονται από κυκλάμες αισθητήρες που φέρουν στη διακλάδωση το δακτύλιο του τριαζολίου για τη συμπλοκοποίηση του μετάλλου και κουμαρίνη ως φθορισμοφόρο. Οι αισθητήρες αυτοί είναι εξαιρετικά ευαίσθητοι σε ουδέτερα υδατικά διαλύματα Cu(II) και Hg(II) και παρουσιάζουν ιδιαίτερη εκλεκτικότητα παρουσία περισσειας ανταγωνιστικών ιόντων.





Σχήμα 13. Σύνθεση αισθητήρων για τη δέσμευση Cu(II), Hg(II).

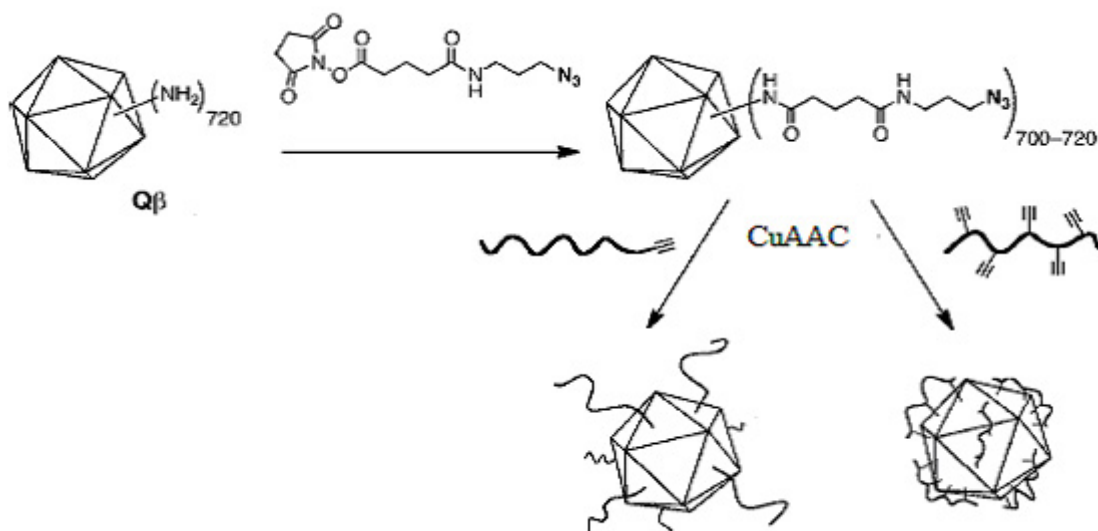
- Εκλεκτικός συνδυασμός ενώσεων για το σχηματισμό πολύπλοκων βιομορίων  
Σύνθετα μοριακά συστήματα παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον για βιολογικές εφαρμογές. Η χημεία αυτή μπορεί να επεκταθεί περικλείοντας μια ποικιλία βιομορίων, όπως πεπτίδια, σάκχαρα και νουκλεϊκά οξέα. Τέτοιου είδους συνένωση επιτυγχάνεται με συνδυασμό CuAAC και σχηματισμό θειοαιθερικού δεσμού.



Σχήμα 14. Δομή πολυδραστικού βιομοριακού συστήματος Arg-Gly-Asp. Ψ: τριαζόλιο, οξίμη, χ:οξίμη, θειαιθέρας, ζ: θειαιθέρας, τριαζολιο, R: πεπτίδιο, νουκλεϊκό οξύ ή χρωμοφόρο.

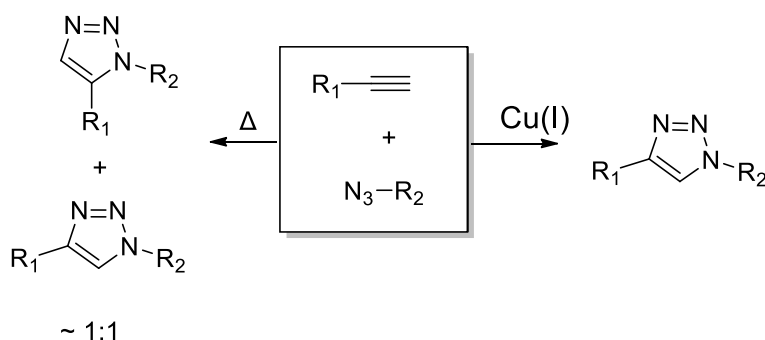
- Σταθεροποίηση σωματιδίων, αναλόγων ιών (Virus-Like Particles VLPs) με πρόσδεση πολυμερών  
Τα VLPs μετά την εισαγωγή τους ως δομικές μονάδες σε νανοκλίμακα συγκεντρώνουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον με εφαρμογές στην ιατρική, την επιστήμη των υλικών και τη βιοτεχνολογία. Το σωματίδια αυτά έχουν ακριβώς καθορισμένη δομή και σχηματίζουν κάψουλες που περικλείουν πρωτεΐνες, μικρά μόρια, καταλύτες και άλλες ουσίες, και μπορούν επίσης να διαθέτουν λειτουργικά τμήματα στην επιφάνειά τους.

Η πρόσδεση πολυμερών στην επιφάνεια τους τα σταθεροποιεί κατά τρόπο ανάλογο με την σταθεροποίηση των λιποσωμάτων σε πολυμερικά δίκτυα. Μια τέτοια τροποποίηση του VLP που σχηματίζεται από τις πρωτεΐνες της επιφανείας του βακτηριοφάγου Qβ και διαθέτει στην εξωτερική επιφάνεια του 720 αμινο-ομάδες επιτυγχάνεται μέσω της ‘click’ χημείας.<sup>[38]</sup>



Σχήμα 15. Πρόσδεση πολυμερικών αλυσίδων στην επιφάνεια του VLP Qβ.

Στην αντίδραση κυκλοπροσθήκης αζιδίων σε αλκύνια για την παρασκευή 1,4-υποκατεστημένων 1,2,3-τριαζολίων, η απουσία καταλύτη απαιτεί υψηλή θερμοκρασία, έχει αργή εξέλιξη, ενώ το σημαντικότερο μειονέκτημα αποτελεί ο σχηματισμός μίγματος τοποϊσομερών 1,4- και 1,5-υποκατεστημένων 1,2,3-τριαζολίων σε αναλογία περίπου 1:1. Η παρουσία, όμως, του καταλυτικού συστήματος Cu(I) αυξάνει δραματικά τη στερεοεκλεκτικότητα της αντίδρασης οδηγώντας στο σχηματισμό αποκλειστικά του 1,4-ισομερούς, αυξάνει την ταχύτητα της αντίδρασης μέχρι και 10<sup>7</sup> φορές, ενώ δεν είναι αναγκαίες υψηλές θερμοκρασίες.<sup>[39]</sup>



**Σχήμα 16.** Αντίδραση 1,3-διπολικής κυκλοπροσθήκης αζιδίου σε αλκύνιο μέσω θέρμανσης και παρουσίας καταλυτικού συστήματος Cu(I).

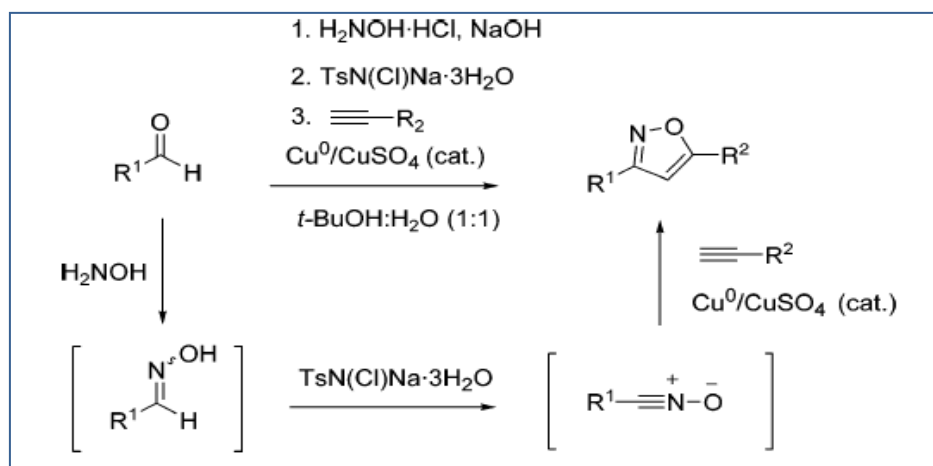
Ο μονοσθενής χαλκός που χρησιμοποιείται μπορεί είτε να εισαχθεί στην αντίδραση ως σύμπλοκο ή αλλιώς να παραχθεί στο ίδιο το μίγμα της αντίδρασης μ' έναν από τους παρακάτω τρόπους: <sup>[40]</sup>

- ✓ Η παραγωγή Cu(I) από Cu(II), παρουσία ενός αναγωγικού μέσου, αποτρέπει την οξείδωση του χαλκού από την οποιαδήποτε παρουσία οξυγόνου στην αντίδραση. Μία από τις πιο διαδεδομένες και χρησιμοποιούμενες ενώσεις του χαλκού γι' αυτόν τον τρόπο παραγωγής του μονοσθενούς χαλκού είναι ο θεικός χαλκός, CuSO<sub>4</sub>. Το πλεονέκτημα της χρησιμοποίησης θεικού χαλκού με ασκορβικό νατριο ως αναγωγικού μέσου έγκειται στο γεγονός ότι η αντίδραση λαμβάνει χώρα σε μίγμα νερού/αλκοόλης διευκολύνοντας τη διάλυση λιπόφιλων ουσιών και δεν είναι απαραίτητη η προσθήκη βάσης.
- ✓ Άλλος τρόπος παραγωγής μονοσθενούς χαλκού είναι η οξείδωση του μετάλλου του χαλκού, Cu<sup>0</sup>.
- ✓ Τέλος, μπορούν να χρησιμοποιηθούν και τα αλογονίδια του χαλκού, όταν η διαλυτότητα δεν είναι καλή. Όμως, τα βρωμίδια και τα ιωδίδια του χαλκού για να χρησιμοποιηθούν χρειάζονται την παρουσία είτε αμινών, είτε υψηλότερων θερμοκρασιών.

Η αντίδραση 'click' στηρίζεται στην πράσινη χημεία, γι' αυτό το λόγο χρησιμοποιείται ως διαλύτης, διάλυμα νερού σε βουτανόλη σε αναλογία 1:1. Όμως, μπορούν να χρησιμοποιηθούν, όταν η διαλυτότητα του μίγματος δεν είναι καλή, πολικοί απρωτικοί διαλύτες όπως είναι το THF, το DMF, το DMSO και το CH<sub>3</sub>CN.<sup>[41]</sup>

Όσον αφορά στην παρασκευή των 3,5-υποκατεστημένων ισοξαζολίων, αυτή πραγματοποιείται σε ικανοποιητική απόδοση, χρησιμοποιώντας την τοποεκλεκτική

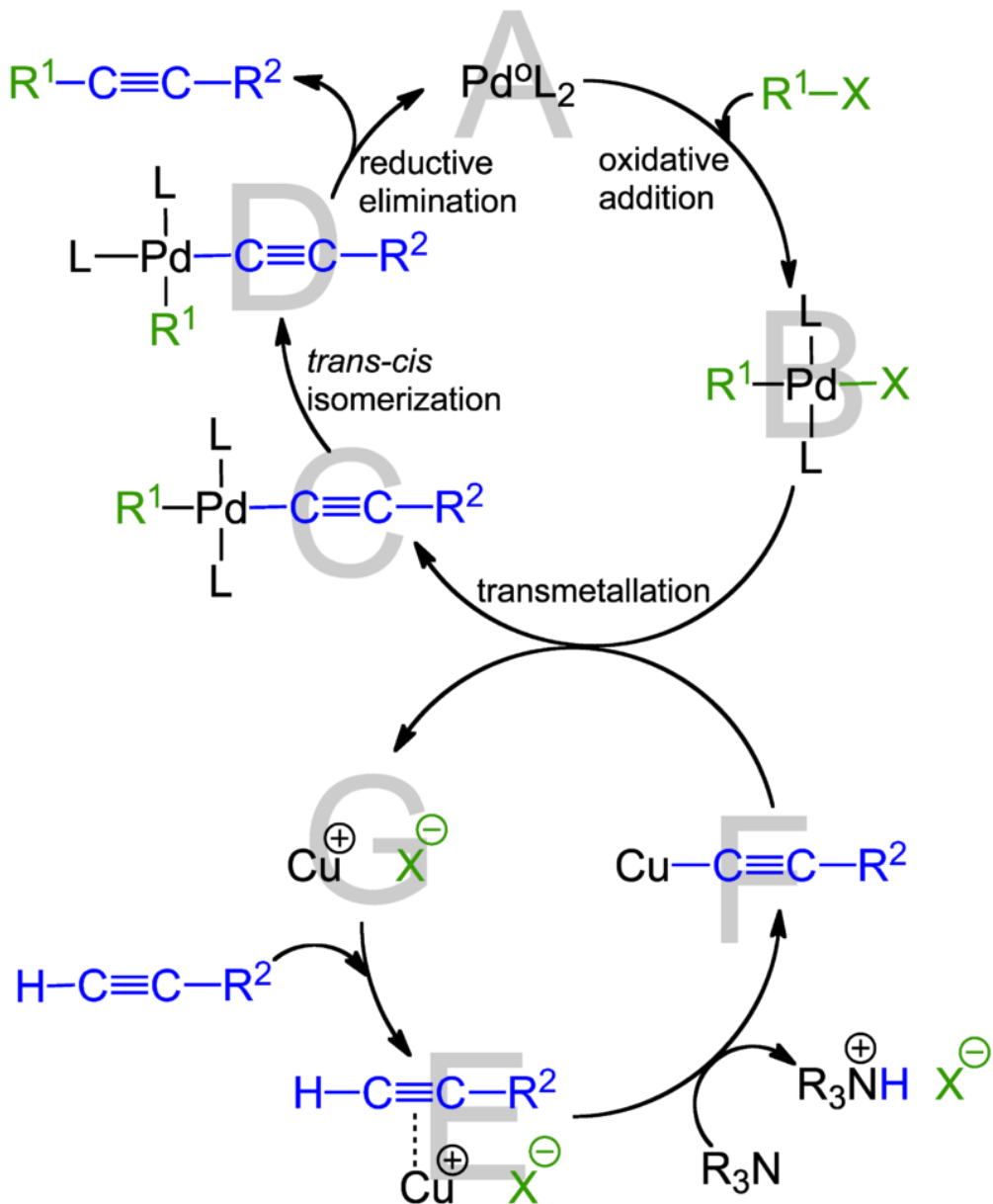
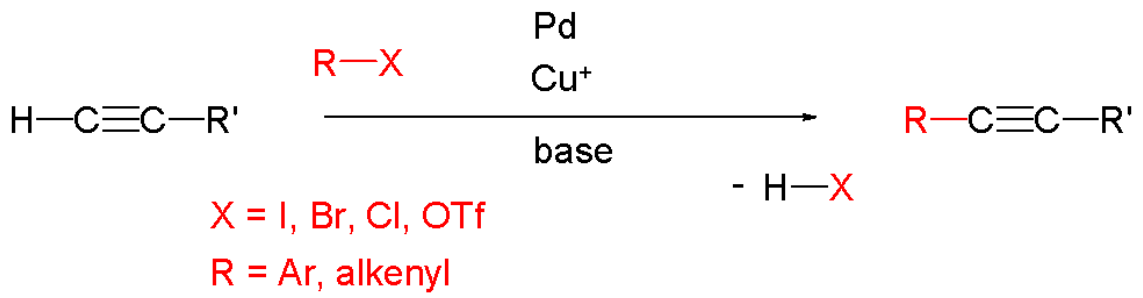
καταλύομενη από τον Cu(I) αντίδραση κυκλοπροσθήκης μεταξύ in situ παραγόμενων οξειδίων νιτριλίου και ακραίων ακετυλενίων. Ο μονοσθενής χαλκός προκύπτει από την αντίδραση μεταξύ του θεικού και του μεταλλικού χαλκού (comproportionation reaction)<sup>[42]</sup>



**Σχήμα 17.** Προτεινόμενος μηχανισμός της αντίδρασης κυκλοπροσθήκης μεταξύ μιας οξίμης και ενός ακραίου αλκινίου για την παρασκευή 3,5-υποκατεστημένων ισοξαζολίων, με παρουσία του καταλυτικού συστήματος Cu(I).

### Αντίδραση Sonogashira

Αυτή η σύζευξη τελικών αλκινίων με άρυλο ή βίνυλο αλογονίδια επιτυγχάνεται με καταλύτη παλλαδίου, με συγκαταλύτη χαλκού και μία βάση αμίνης. Τυπικά, η αντίδραση απαιτεί συνθήκες άνυδρες και αναερόβιες, αλλά νεότερες διαδικασίες που αναπτύχθηκαν υποδεικνύουν ότι αυτοί οι περιορισμοί δεν είναι σημαντικοί.<sup>[43]</sup>



Σχήμα 18. Ο μηχανισμός της αντίδρασης Sonogashira

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

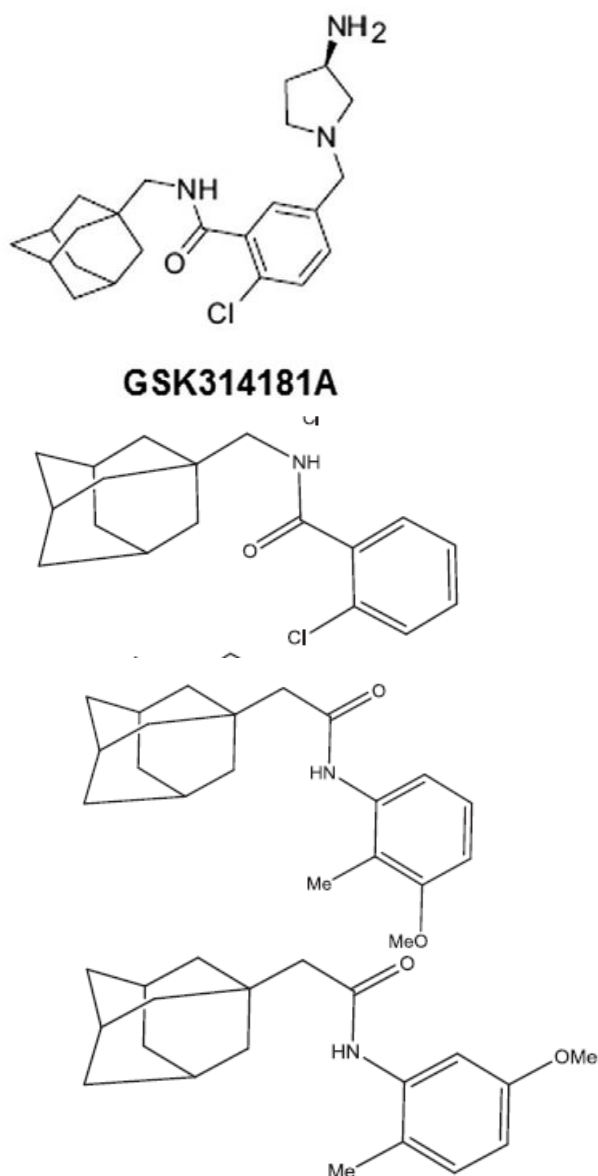
Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται αναλυτικά οι συνθήκες, για τη σύνθεση και την ταυτοποίηση των αναλόγων ρεσβερατρόλης καθώς και των αναλόγων ανταγωνιστών του υποδοχέα P2X7.

#### 4.1 Σχεδιασμός και σύνθεση

Δεδομένου ότι ο σχηματισμός του φλεγμονοσώματος διεγείρεται από διάφορους παράγοντες υπάρχουν πολλές δυνατότητες για την ανάπτυξη ενώσεων που αλληλεπιδρούν με αυτές τις συγκεκριμένες οδούς σηματοδότησης.

Η παρούσα λοιπόν εργασία, αποσκοπεί στη δημιουργία μίας σειράς καινοτόμων μικρών μορίων, που θα στοχεύουν στην αναστολή δυο από τα κρίσιμα στάδια ενεργοποίησης του φλεγμονοσώματος. Συγκεκριμένα, στην παρεμπόδιση της ενεργοποίησης του πουρινικού υποδοχέα P2X7 και της παραγωγής ελευθέρων μορφών οξυγόνου ROS.

Ο σχεδιασμός βασίστηκε στα δομικά χαρακτηριστικά της ρεσβερατρόλης και των αναστολέων του υποδοχέα P2X7 που φέρουν αδαμάντυλο ομάδες (Σχήμα 19).<sup>[44]</sup>



**Σχήμα 19.** Σχεδιασμός πάνω στον οποίο βασίστηκε η παρεμπόδιση της ενεργοποίησης του πουρινικού υποδοχέα P2X7 και της παραγωγής ελευθέρων μορφών οξυγόνου ROS.<sup>[45]</sup>

Στα νέα ανάλογα ο διπλός δεσμός στο μόριο της ρεσβερατρόλης αντικαταστάθηκε από τον ισοξαζολικό δακτύλιο, ενώ η αμιδική ομάδα στα αδαμάντυλο ανάλογα, αντικαταστάθηκε από τους βιοϊσοστερείς ετεροκυκλικούς πενταμελείς δακτυλίους 1,2,3-τριαζόλιο και ισοξαζόλιο

Οι ενώσεις που σχεδιάστηκαν είναι ισοξαζολικά ή τριαζολικά ανάλογα και συντέθηκαν με αντίδραση ‘click’.



Επιπρόσθετα, για τη σύνθεση 1,2,3-τριαζολίων και ισοξαζολίων χρησιμοποιήθηκαν μικροκύματα (MW) χωρίς τη χρήση τοξικών διαλυτών και απομόνωση ενδιάμεσων.

## 4.2 Όργανα και Συσκευές

- Οι αντιδράσεις με μικροκύματα πραγματοποιήθηκαν σε όργανο CEM Explorer microwave synthesizer.
- Τα φασματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού ( $^1\text{H}$  και  $^{13}\text{C}$  NMR) έχουν καταγραφεί με τα εξής όργανα:
  - Varian Gemini 300MHz
  - Varian 600MHz
- Οι τιμές των χημικών μετατοπίσεων, δίνονται σε ppm. Η πολλαπλότητα των σημάτων στα φάσματα  $^1\text{H}$  NMR αναφέρονται ως:
  - s (singlet, απλό)
  - d (doublet, διπλό)
  - t (triplet, τριπλό)
  - q (quartet, τετραπλό)
  - m (multiplet, πολλαπλό)
  - br (broad, ευρύ).

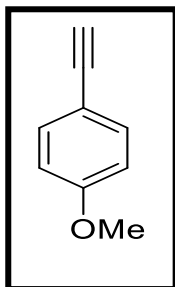
Η σταθερές συζεύξεως J δίνονται σε Hz.

- Για την λήψη των φασμάτων μάζας χρησιμοποιήθηκε το μηχάνημα μάζας Thermo Scientific Fleet LC-MS.

### 4.3 Σύνθεση αναλόγων ρεσβερατρόλης

#### 1. Με 4-μεθοξυ-βενζαλδεΐδη

#### 1-ΑΙΘΥΝΥΛΟ-4-ΜΕΘΟΞΥΒΕΝΖΟΛΙΟ



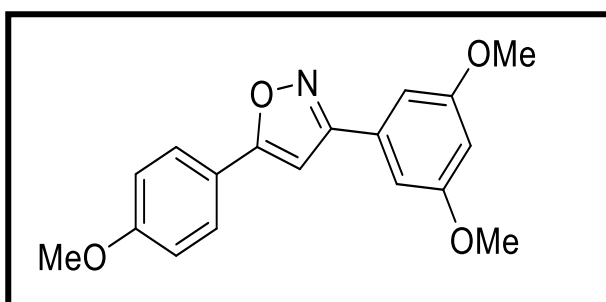
Σε διάλυμα της 4-μεθοξυ-βενζαλδεΐδης (0.558mmol, 0.076 g) σε 6ml MeOH προστίθενται στους 0°C K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.114mmol, 0,154g) και το αντιδραστήριο Bestmann-Ohira (0.078 mmol, 0.15g). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες και αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση, η μεθανόλη εξατμίζεται και το υπόλειμμα εκχυλίζεται με διαιθυλαιθέρα. Η οργανική φάση πλένεται με κορεσμένο

διάλυμα NaCl, ξηραίνεται με Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, διηθείται και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό κενό. Ο καθαρισμός γίνεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση (σύστημα διαλυτών έκλουσης PE:AcOEt 90:10) και λαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν.

**Απόδοση:** 0.015g (20%)

**<sup>1</sup>H-NMR** δ: 7.38 (d, 2H), 6.78-6.80 (d, 2H), 3.76 (s, 3H), 2.96 (s, 3H)

#### 3-(3,5-ΔΙΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-5-(4-ΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)ΙΣΟΞΑΖΟΛΙΟ



Σε διάλυμα της 3,5 διμεθοξυ-βενζαλδεΐδης (0.291mmol, 0.048g) προστίθενται 1ml BuOH:H<sub>2</sub>O, η υδροχλωρική υδροξυλαμίνη (0.378mmol, 0.024g) και 0.4ml NaOH. Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται

μέχρι να καταναλωθεί όλη η αλδεΐδη. Στη συνέχεια, προστίθενται TsN(Cl)Na·3H<sub>2</sub>O (0.378mmol, 0.106g), το 1-αιθυνυλ-4-μεθοξυβενζολιο (0.378mmol, 0.050g) με 2ml BuOH:H<sub>2</sub>O και τέλος το CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (0.087mmol, 0.022g) και το ασκορβικό νάτριο (0.174mmol, 0.035g). Το μίγμα της αντίδρασης τοποθετείται στα μικροκύματα στις εξής συνθήκες:

90°C-80Watt-45min

Παρατηρείται ότι δεν έχει αντιδράσει μεγάλη ποσότητα αλκινίου οπότε επανατοποθετείται στα μικροκύματα στις εξής συνθήκες:

90°C-80Watt-30min

Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση το μίγμα διηθείται υπό κενό πλένεται με οξικό αιθυλεστέρα (AcOEt) καθώς ενώ ελέγχεται το pH. Το υπόλειμμα εκχυλίζεται με AcOEt .

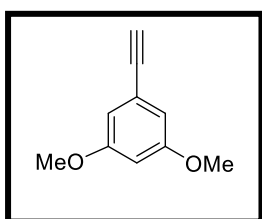
Η οργανική φάση πλένεται με κορεσμένο διάλυμα NaCl, ξηραίνεται με Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, διηθείται και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό κενό. Ο καθαρισμός γίνεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση (σύστημα διαλυτών έκλουσης PE:AcOEt 90:10) και λαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν.

**Απόδοση:** 0.047g (48%)

**<sup>1</sup>H-NMR** δ: 7.77 (d, J=8.6 Hz, 2H), 7.01 (s, 2H, ArH), 7.00 (d, J=8.56 Hz, 2H), 6.67 (s, 1H, isoxazole), 6.55 (bs, 1H, ArH), 3.87 (s, 3H, OMe), 3.86 (s, 6H, OMe)

**m/z:** 312.18

### 1-ΑΙΘΥΝΥΛ-3,5-ΔΙΜΕΘΟΞΥΒΕΝΖΟΛΙΟ



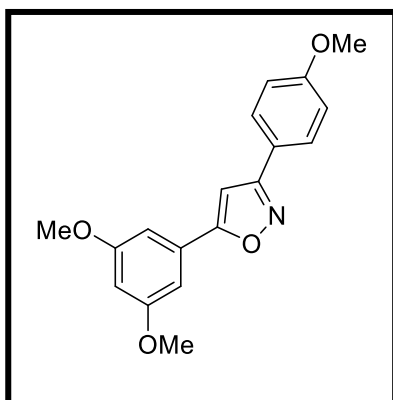
Σε διάλυμα της 3,5-διμεθοξυ-βενζαλδεΐδης (0.55mmol, 0.091g) σε 10ml μεθανόλης προστίθενται στους 0 °C K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.1 mmol, 0.152g) και το αντιδραστήριο Bestmann-Ohira (0.077mmol, 0.148g). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες και αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση, η μεθανόλη εξατμίζεται και το υπόλειμμα εκχυλίζεται με διαιθυλαιθέρα. Η οργανική φάση πλένεται με κορεσμένο διάλυμα NaCl, ξηραίνεται με Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, διηθείται και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό κενό. Τέλος λαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν.

**Απόδοση:** 0.076g (85.4%)

**<sup>1</sup>H-NMR** δ: 6.62 (m, 2H, ArH), 6.35 (m, 1H, ArH), 3.78 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 3.04 (s, 1H, C≡CH)

**m/z:** 326.5

### 5-(3,5-ΔΙΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛ)-3-(4-ΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛ)ΙΣΟΞΑΖΟΛΙΟ



Σε διάλυμα της 4-μεθοξυ-βενζαλδεΐδης (0.446mmol, 0.061g) προστίθενται 1ml BuOH:H<sub>2</sub>O (1:1), η υδροχλωρική υδροξυλαμίνη (0.469mmol, 0.030g) και NaOH (0.469mmol, 0.5ml). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για 2 ώρες, έως ότου καταναλωθεί όλη η αλδεΐδη. Αφού καταναλωθεί προστίθενται η χλωραμίνη (0.469mmol, 0.132g), CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (0.134mmol, 0.033g), το ασκορβικό νάτριο (0.268mmol, 0.053g) και

τέλος το 1-αιθυνυλ-3,5-διμεθοξυβενζόλιο (0.469mmol, 0.076g) με άλλα 2ml BuOH:H<sub>2</sub>O. Η αντίδραση πραγματοποιείται στα μικροκύματα στις εξής συνθήκες: 90°C-80Watt-30min.

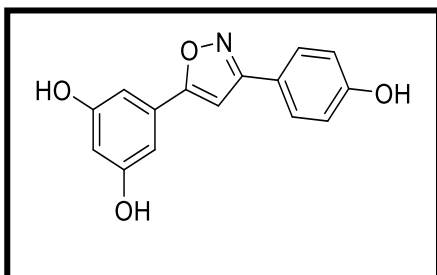
Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση ακολουθεί κατεργασία του μίγματος όπως περιγράφεται για το ανάλογο 3-(3,5-διμεθοξυφαινυλο)-5-(4-μεθοξυφαινυλο)ισοξαζόλιο. Ο καθαρισμός γίνεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση (σύστημα διαλυτών έκλουσης PE:AcOEt 90:10) και λαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν.

**Απόδοση:** 0.054g (39%)

**<sup>1</sup>H-NMR** δ: 7.79 (d, J=7.8Hz, 2H, ArH), 7.00-6.96 (m, 4H, ArH), 6.75 (s, 1H, ισοξαζόλιο), 6.53 (t, J=6.5Hz, 1H, ArH), 3.86 (bs, 9H, OMe)

**m/z:** 326.54

### 5-[3-5-ΔΙ-ΥΔΡΟΞΥ-ΦΑΙΝΥΛΟ]-3-[4-ΥΔΡΟΞΥ-ΦΑΙΝΥΛΟ]-ΙΣΟΞΑΖΟΛΙΟ



Σε διάλυμα του 5-(3,5-διμεθοξυφαινυλο)-3-(4-μεθοξυφαινυλο)ισοξαζολίου (0.173mmol, 0.054g) προστίθενται το CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2.8 ml) και ψύχοντας στους 0°C το BF<sub>3</sub>S(Me)<sub>2</sub> (5.203mmol, 0.5ml). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες και αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση, το

υπόλειμμα εκχυλίζεται με οξικό αιθυλεστέρα. Η οργανική φάση πλένεται με κορεσμένο διάλυμα NaCl, ξηραίνεται με Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, διηθείται και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό κενό. Ο καθαρισμός γίνεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση (σύστημα διαλυτών έκλουσης CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 90:10) και λαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν

**Απόδοση:** 0.033g (70%)

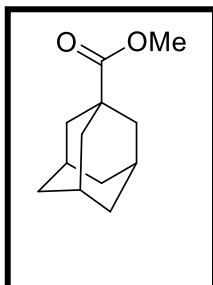
**<sup>1</sup>H-NMR** δ: 7.78 (d, J=8.7 Hz, 2H, ArH), 7.11 (s, 1H, ArH), 6.96 (d, J=8.6Hz, 2H, ArH), 6.88 (s, 2H, ArH), 6.49 (s, 1H, ισοξαζόλιο)

**m/z:** 537.13

#### 4.4 Ανάλογα ανταγωνιστών του υποδοχέα P2X7 ή/και αντιοξειδωτικών

A.

##### 1-ΜΕΘΥΛΟ-ΚΑΡΒΟΞΥΛΙΚΟ-ΑΔΑΜΑΝΤΑΝΙΟ



Σε διάλυμα αδαμανταν-1-καρβοξυλικού οξέος (2.77mmol, 0.500g) προστίθενται 5ml μεθανόλης και έπειτα  $H_2SO_4$  (0,3ml). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται στους 70 °C με αναρροή για 24 ώρες και αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση, η μεθανόλη εξατμίζεται και το υπόλειμμα εκχυλίζεται με οξικό αιθυλεστέρα. Η οργανική φάση πλένεται με κορεσμένο διάλυμα NaCl, ξηραίνεται με  $Na_2SO_4$ , διηθείται και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό κενό. Ο καθαρισμός γίνεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση (σύστημα διαλυτών έκλουσης PE:AcOEt 90:10) και λαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν.

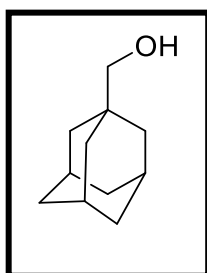
**Απόδοση:** 0.43g (80%)

**$^1H$ -NMR**  $\delta$ : 3.65 (s, 3H, OMe), 2.01 (bs, 3H), 1.89 (bs, 6H), 1.74-1.68 (m, 6H)

**m/z:** 216.99

##### 1-ΑΔΑΜΑΝΤΑΝΟΜΕΘΑΝΟΛΗ

Σε διάλυμα  $LiAlH_4$  (2.573mmol, 0.097g) προστίθενται 10ml τετραϋδροφουράνιου και έπειτα το αδαμαντάνιο-1-καρβοξυλικό οξύ υπό ψύξη (1.286mmol, 0.250g). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται μέχρι να επιτευχθεί θερμοκρασία περιβάλλοντος και ολοκληρώνεται μετά από μια ώρα.



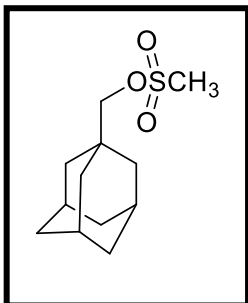
Μετά το πέρας της αντίδρασης γίνεται εξουδετέρωση της βάσης με τετραϋδροφουράνιο και νερό. Προστίθεται οξικός αιθυλεστέρας για αραίωση και τέλος  $Na_2SO_4$  ως ξηραντικό. Ακολουθεί διήθηση υπό κενό με celite.

**Απόδοση:** 0.200g (94%)

**$^1H$ -NMR**  $\delta$ : 3.18 (s, 2H,  $CH_2$ ), 2.00 (bs, 3H, αδαμαντάνιο), 1.76-1.63 (m, 6H, αδαμαντάνιο), 1.52 (bs, 6H, αδαμαντάνιο)

**$^{13}C$ -NMR**  $\delta$ : 73.73(Cτεταρτοταγής), 39.02 ( $CH_2$ , αδαμαντάνιο), 37.16( $CH_2$ , αδαμαντάνιο), 34.45 (C), 28.17 (CH, αδαμαντάνιο)

**m/z:** 697.06

**ΜΕΘΑΝΟΣΟΥΛΦΟΝΙΚΟ ΑΔΑΜΑΝΤΑΝ-1-ΥΛΟΜΕΘΥΛΟ**

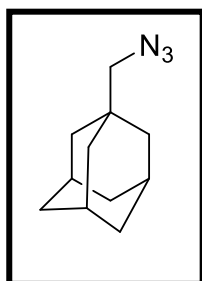
Σε διάλυμα 10ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> προστίθενται η 1-αδαμαντανομεθανόλη (1.124mmol, 0.187g) και η τριαιθυλαμίνη (1.686mmol, 0.24ml). Ακολουθεί ψύξη στους 0°C και προσθήκη CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>Cl (1.349mmol, 0.1ml). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για 2 ώρες και αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση εκχυλίζεται με διχλωρομεθάνιο. Η οργανική φάση πλένεται με κορεσμένο διάλυμα NaCl, ξηραίνεται με Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, διηθείται και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό κενό. Ο καθαρισμός γίνεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση (σύστημα διαλυτών έκλουσης PE:AcOEt 90:10) και λαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν.

**Απόδοση:** 0.221g (81%)

**<sup>1</sup>H-NMR** δ: 3.78 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.99 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.02 (bs, 3H, αδαμαντάνιο), 1.75-1.64 (m, 6H, αδαμαντάνιο), 1.57 (bs, 6H, αδαμαντάνιο)

**<sup>13</sup>C-NMR** δ: 79.35, 38.69, 37.16, 36.69 33.4 27.8

**m/z:** 510.94

**1(ΑΖΙΔΟΜΕΘΥΛ)ΑΔΑΜΑΝΤΑΝΙΟ**

Σε διάλυμα του μεθανοσουλφονικο αδαμανταν-1-υλομέθυλο (0.192mmol, 0.176g) προστίθενται 1.5ml διμεθυλοφορμαμιδίου και έπειτα το αζίδιο του νατρίου (0.961mmol, 0.063g). Το μίγμα της αντίδρασης τοποθετείται στα μικροκύματα στις εξής συνθήκες:

130°C-100Watt-30min

Μετά το πέρας των 30min παρατηρείται ότι δεν τελείωσε η αντίδραση όποτε επανατοποθετείται στα μικροκύματα για άλλα 30 min στις ίδιες συνθήκες. Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση, εκχυλίζεται με οξικό αιθυλεστέρα. Η οργανική φάση πλένεται με κορεσμένο διάλυμα NaCl, ξηραίνεται με Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, διηθείται και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό κενό για να ληφθεί το τελικό προϊόν.

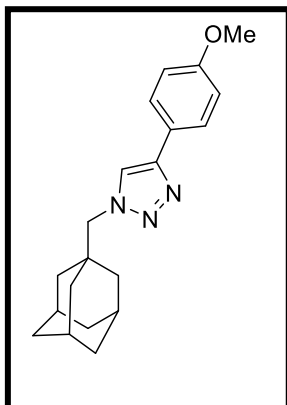
**Απόδοση:** 0.026g (70%)

**<sup>1</sup>H-NMR** δ: 2.94 (bs, 2H, CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 1.98 (bs, 3H, αδαμαντάνιο), 1.73-1.62 (m, 6H, αδαμαντάνιο), 1.51 (bs, 6H, αδαμαντάνιο)

**<sup>13</sup>C-NMR** δ: 64.26 , 40,0 , 36.78 , 34.68 , 28.15

**m/z:** 168.74

### 1-(((3R, 5R, 7R)-ΑΔΑΜΑΝΤΑΝ-1-ΥΛ)ΜΕΘΥΛ)-4-(4-ΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-1H-1,2,3-ΤΡΙΑΖΟΛΙΟ



Σε διάλυμα του 1-αζιδομεθυλ-αδαμαντανίου (0.118mmol, 0,023g) σε μίγμα t-BuOH:H<sub>2</sub>O 1:1 προστίθενται το 1-αιθυνυλ-4-μεθοξυβενζόλιο (0.113mmol, 0.015g), ο CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (0.034mmol, 0.009g) και το ασκορβικό νάτριο (0.068mmol, 0.014g) και τοποθετείται στα μικροκύματα στις εξής συνθήκες:

90°C-80Watt-30min

Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση, εκχυλίζεται με οξικό αιθυλεστέρα. Η οργανική φάση πλένεται με κορεσμένο διάλυμα NaCl, ξηραίνεται με Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, διηθείται και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό κενό. Ο καθαρισμός γίνεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση (σύστημα διαλυτών έκλουσης PE:AcOEt 80:20) και λαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν.

**Απόδοση:** 0.017g (46%)

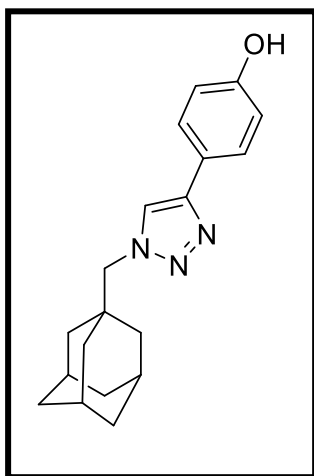
**<sup>1</sup>H-NMR** δ: 7.78 (d, J=8.66, 2H, ArH), 7.58 (s, 1H, τριαζόλιο), 6.96 (d, J=8.68, 2H, ArH), 4.04 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.83 (s, 3H, OMe), 2.01 (bs, 3H, αδαμαντάνιο), 1.72-1.59 (m, 6H, αδαμαντάνιο), 1.55 (bs, 6H, αδαμαντάνιο)

**<sup>13</sup>C-NMR** δ: 159.47 (ArH), 146.92(C, 1,2,3-τριαζόλιο), 126.94 (CH, 1,2,3-τριαζόλιο), 123.5 ArH, 120.19 (ArH), 114.2 (ArH), 62.27 (CH<sub>2</sub>), 55.31 (CH<sub>3</sub>), 40.26 (CH<sub>2</sub>), 36.52 (CH<sub>2</sub>), 34.18 28.09

**m/z:** 324.33



#### 4-(1-(((3R, 5R, 7R)-ΑΔΑΜΑΝΤΑΝ-1-ΥΛΟ)ΜΕΘΥΛΟ)-4-ΥΛ)ΦΑΙΝΟΛΗ



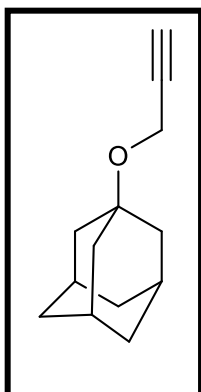
Σε διάλυμα του 1-(((3R, 5R, 7R)-αδαμανταν-1-υλο)μεθυλο)-4-(4-μεθοξυφαινυλο)-1H-1,2,3-τριαζολίου (0.093mmol, 0.030g) σε CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> προστίθεται ψύχοντας στους 0°C το BF<sub>3</sub>S(Me)<sub>2</sub> (0.912mmol, 0.1ml). Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες και αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση εξατμίζεται ο διαλύτης με αργό και το υπόλειμμα εκχυλίζεται με οξικό αιθυλεστέρα. Η οργανική φάση πλένεται με κορεσμένο διάλυμα NaCl, ξηραίνεται με Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, διηθείται και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό κενό. Ο καθαρισμός γίνεται με

χρωματογραφία στήλης υπό πίεση (σύστημα διαλυτών έκλουσης CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 97:3) και λαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν

**Απόδοση:** 0.023g (79%)

**<sup>1</sup>H-NMR** δ: 8.02 (s, 1H, 1,2,3-τριαζόλιο), 7.65 (d, 2H, ArH), 6.86 (d, 2H, ArH), 3.30 (s, 2H, μεθυλένιο), 1.99-1.57 (m, 15H, αδαμαντάνιο)

**m/z:** 641.06

**1-ΑΔΑΜΑΝΤΥΛΟ-ΠΡΟΠΑΡΓΥΛΟ-ΑΙΘΕΡΑΣ**

Στους 0°C προστίθενται η 1-αδαμαντανομεθανόλη (1.314mmol, 0.200g) σε BuOK (6,57mmol, 0.776g). Αναδεύεται για 1 ώρα περίπου σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Στη συνέχεια προστίθεται στους 0°C το προπαργυλο-βρωμίδιο (6.57mmol, 0.73ml) και ακολουθεί ανάδευση 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου.

Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση, εκχυλίζεται με οξικό αιθυλεστέρα. Η οργανική φάση πλένεται με κορεσμένο διάλυμα NaCl, ξηραίνεται με Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, διηθείται και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό κενό για να ληφθεί

το τελικό προϊόν.

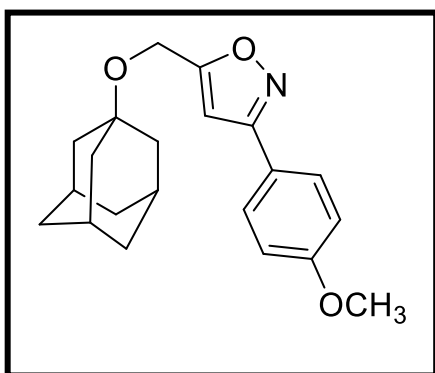
Ο καθαρισμός γίνεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση (σύστημα διαλυτών έκλουσης PE:AcOEt 90:10) και λαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν.

σύστημα διαλυτών έκλουσης PE:AcOEt 90:10.

**Απόδοση:** 0.086g (34%)

**<sup>1</sup>H-NMR** δ: 4.12 (d, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.35 (t, J=2.43Hz, 1H, CH), 2.14-1.57 (m, 15H, αδαμαντάνιο)

**m/z:** 213.17

**5-(((3S, 5S, 7S)-ΑΔΑΜΑΝΤΑΝ-1-ΥΛ)ΟΞΥ)ΜΕΘΥΛ)-3-(4-ΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛ)ΙΣΟΞΑΖΟΛΙΟ**

Σε διάλυμα του 1-αδαμαντυλο-προπαργυλο αιθέρα (0.236mmol, 0.045g) προστίθενται (0.472mmol, 0.071g) οξίμης διαλυμένης σε 2.5ml BuOH:H<sub>2</sub>O σε αναλογία 1:1. Έπειτα προστίθενται (0.59mmol, 0.166g) της γλωραμίνης και τοποθετείται στα μικροκύματα στις εξής συνθήκες:

90°C-80Watt-45min

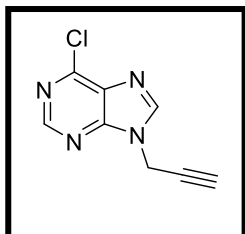
Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση, εκχυλίζεται με οξικό αιθυλεστέρα. Η οργανική φάση πλένεται με κορεσμένο διάλυμα NaCl, ξηραίνεται με Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, διηθείται και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό κενό. Ο καθαρισμός γίνεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση (σύστημα διαλυτών έκλουσης PE:AcOEt 90:10) και λαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν.

**Απόδοση:** 0.039g (48%)

**<sup>1</sup>H-NMR** δ: 7.82 (d, ArH), 7.00 (d, ArH), 6.47 (s, CH, ισοξαζόλιο), 4.61 (s, CH<sub>2</sub>, μεθυλένιο), 3.87-3.83 (m, CH<sub>3</sub>, μεθύλιο), 2.17-1.6 (m, αδαμαντάνιο)

#### 4.5 Σύνθεση αναλόγων αδαμαντανίου-πουρίνης

##### 6-ΧΛΩΡΟ-9- (ΠΡΟΠ-2-ΥΝΥΛΟ)-9Η-ΠΟΥΡΙΝΗ



Σε διάλυμα της 6-χλωρο-9Η-πουρίνης (0.647 mmol, 0.100 g) σε 3 ml διμεθυλοφορμαμίδιο προστίθενται στους 0°C NaH (0.712 mmol, 0.028g) και το προπαργυλοβρωμίδιο (0.841mmol, 0.1ml).

Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 12 ώρες. Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση, εκχυλίζεται με

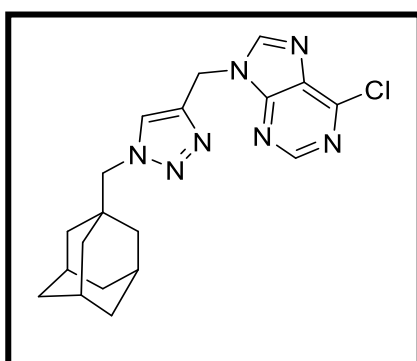
διχλωρομεθάνιο. Η οργανική φάση πλένεται με κορεσμένο διάλυμα NaCl, ξηραίνεται με Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, διηθείται και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό κενό. Ο καθαρισμός γίνεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση (σύστημα διαλυτών έκλουσης CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 97:3) και λαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν.

**Απόδοση:** 0.060g (48%)

**<sup>1</sup>H-NMR** δ: 8.75 (s, 1H, H<sub>8</sub> στην πουρίνη), 8.34 (s, 1H, H<sub>2</sub> στην πουρίνη), 5.05 (d, J=2.52 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.57 (t, J=2.50 Hz, 1H, CH στο αλκίνιο)

**<sup>13</sup>C-NMR** δ: 152.09 (πουρίνη), 151.20 (πουρίνη), 144.27 (πουρίνη), 131.52 (πουρίνη), 77.46-74.98 (C), 33.69 (CH<sub>2</sub>, αλειφατικό)

##### 9-[1-(ΑΔΑΜΑΝΤΥΛΟ-1-ΜΕΘΥΛΟ)-4-ΤΡΙΑΖΟΛΥΛΟ-ΜΕΘΥΛΟ]-6-ΧΛΩΡΟ-ΠΟΥΡΙΝΗ



Σε διάλυμα της 6-χλωρο-9-(προπ-2-υνυλ)-9Η-πουρίνη (0.174mmol, 0.033g) σε μίγμα t-BuOH:H<sub>2</sub>O (1:1) προστίθενται

1-αζιδομεθυλ-αδαμαντανιο (0.183mmol, 0.035g), το CuSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O (0.052mmol, 0.013g) και το ασκορβικό νάτριο (0.104mmol, 0.021g). Το μίγμα της αντίδρασης τοποθετείται στα μικροκύματα στις εξής συνθήκες:

90°C-100Watt-30min

Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση γίνεται απόχυση σε κρύο νερό και εκχυλίζεται με διχλωρομεθάνιο. Η οργανική φάση πλένεται με κορεσμένο διάλυμα NaCl, ξηραίνεται με Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, διηθείται και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό κενό. Ο καθαρισμός γίνεται με

χρωματογραφία στήλης υπό πίεση (σύστημα διαλυτών έκλουσης CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 95:5) και λαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν.

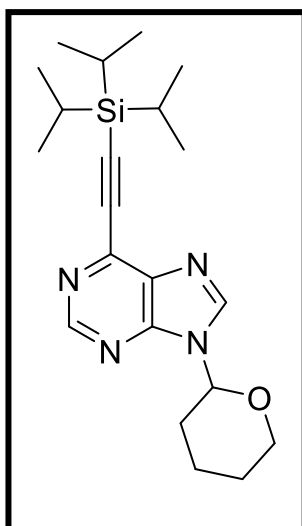
**Απόδοση:** 0.022g (33%)

**<sup>1</sup>H-NMR** δ: 8.76 (s, 1H, H<sub>8</sub>, πουρίνη), 8.35 (s, 1H, H<sub>2</sub>, πουρίνη), 7.59 (s, 1H, τριαζόλιο), 5.58 (s, 2H, CH<sub>2</sub> στην πουρίνη), 3.99 (s, 2H, CH<sub>2</sub> στο αδαμαντάνιο), 1.98 (bs, 3H, αδαμαντάνιο), 1.83-1.46 (m, 12H, αδαμαντάνιο)

**m/z:** 789.15

#### 4.6 Σύνθεση αλκυνίων με αντίδραση Sonogashira

##### 9-(ΤΕΤΡΑΥΔΡΟ-2Η-ΠΥΡΑΝ-2-ΥΛ)-6-((ΤΡΙΠΣΟΠΡΟΠΥΛΣΙΛΥΛ)ΑΙΘΥΝΥΛ)-9Η-ΠΟΥΡΙΝΗ



Σε διάλυμα της 6-χλωρο -9- ( τετραϋδρο-2Η- πυραν- 2-υλ ) -9Η- πουρίνης (0.126mmol, 0.030g) σε DMF (3ml) προστίθεται η αιθυνυλτρισοπροπυλσιλάνη (0.151mmol, 0.05ml) και ακολουθεί απαέρωση. Στη συνέχεια προστίθεται ο καταλύτης (0.03g), το CuI (0.001g) και τέλος η τριαιθυλαμίνη (0.378mmol, 0.04ml). Το μίγμα της αντίδρασης θερμαίνεται στους 60°C και αφήνεται να αναδευτεί overnight. Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση γίνεται εξάτμιση του DMF. Ο καθαρισμός γίνεται με χρωματογραφία στήλης υπό πίεση (σύστημα διαλυτών έκλουσης CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 98:2) και λαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν.

**Απόδοση:** 0.020g (41.66%)

**<sup>1</sup>H-NMR** δ: 8.90 (s, 1H, πουρίνη), 8.31 (s, 1H, πουρίνη), 5.75-5.77 (d, 1H) 3.76 (m, 2H), 2.10 (m, 1H), 1.75 (m, 2H), 1.65 (m, 3H), 1.03-1.24 (m, 18H)

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

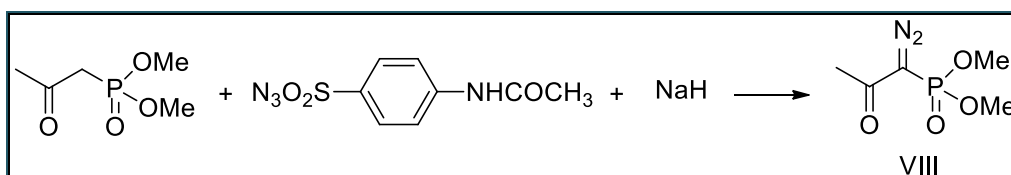
## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ- ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζεται η σύνθεση των ενώσεων που ακολουθήθηκε στην παρούσα εργασία και τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τη σύνθεση καθώς και τυχόν δυσκολίες που προέκυψαν κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων.

## 5.1 Σύνθεση των νέων ενώσεων

Στο Σχήμα 20 περιγράφεται η σύνθεση αναλόγων της ρεσβερατρόλης στο οποία ο διπλός δεσμός έχει αντικατασταθεί από το φαρμακοφόρο ισοξαζόλιο. Ενώσεις που εμπεριέχουν αυτόν τον δακτύλιο έχουν δείξει αξιόλογη βιολογική δράση

Για την σύνθεση των τελικών αλκυνίων από αλδεύδες παρασκευάστηκε το αντιδραστήριο Bestmann-Ohira, με επίδραση υδριδίου του νατρίου και π-ακεταμιδοβενζυλοσουλφονυλαζιδίου επί τον π-2-οξοπροπυλοφωσφονικού διμεθυλεστέρα σε άνυδρο βενζόλιο και τετραϋδροφουράνιο. [46-47]

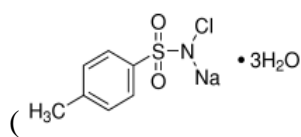


Σχήμα 20. Σύνθεση του αντιδραστήριου Bestmann-Ohira

### 5.1.1 Ανάλογα ρεσβερατρόλης

Αρχικά η 4-μεθοξύ-βενζαλδεΰδη με επίδραση του αντιδραστήριου Bestmann Ohira έδωσε το 4-μεθοξύ-φαινυλο ακετυλένιο .

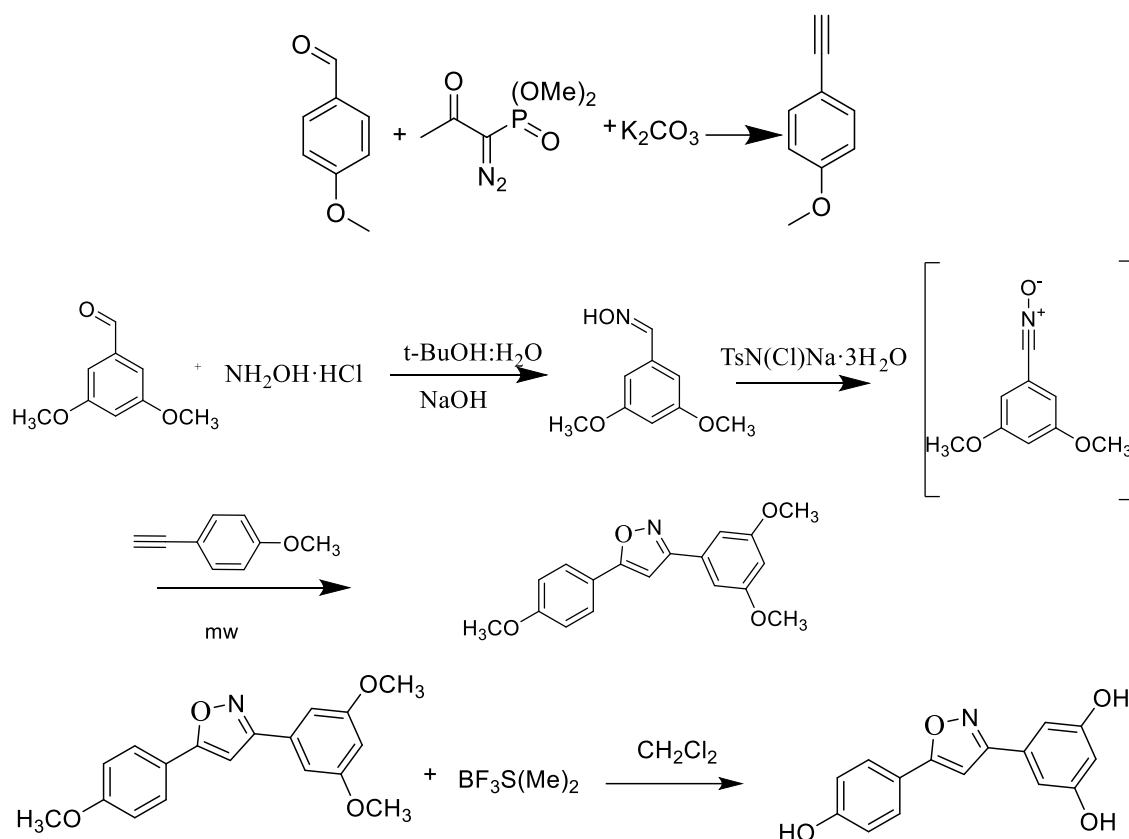
Η αντίδραση “click” πραγματοποιείται με:  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{TsN}(\text{Cl})\text{Na} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$



), ρινίσματα χαλκού σε tBuOH: H<sub>2</sub>O (1:1).

Συγκεκριμένα, η επίδραση της υδροχλωρικής υδροξυλαμίνης σε διάλυμα της 3,5-διμεθοξυβενζαλδεΰδης, οδηγεί στη 3,5-διμεθοξύ-βενζαλδοξίμη. Στη συνέχεια η αντίδραση της 3,5-διμεθοξύ-βενζαλδοξίμης με το αλκύνιο 1-αιθυνυλ-4-μεθοξυβενζόλιο, παρουσία ένυδρης γλωραμίνης T (η οποία δρα τόσο ως παράγοντας αλογόνωσης όσο και ως βάση), ένυδρου θειϊκού χαλκού και ασκορβικού νατρίου, προκύπτει το προστατευμένο 3-(3,5-διμεθοξυφαινυλ)-5-(4-μεθοξυφαινυλ)ισοξαζόλιο με τη χρήση μικροκυμάτων.

Η επιθυμητή αποπροστατευμένη ένωση 5-(5-(4-υδροξυφαινυλ)ισοξαζόλ-3-υλο)βενζυλο-1,3-διόλη, λαμβάνεται μετά από επίδραση του τριφθοριουχουβοριου-διμεθυλοσουλφιδίου ( $\text{BF}_3\cdot\text{SMe}_2$ ) σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο.



Σχήμα 21. Σύνθεση της ένωσης 5-(5-(4-υδροξυφαινυλ)ισοξαζόλ-3-υλο)βενζυλο-1,3-διόλη

Με παρόμοιο τρόπο συντέθηκε το 3-(3,5-διμεθοξυφαινυλο)-3-(4-μεθοξυφαινυλο)ισοξαζόλιο όπως φαίνεται στο Σχήμα 22.

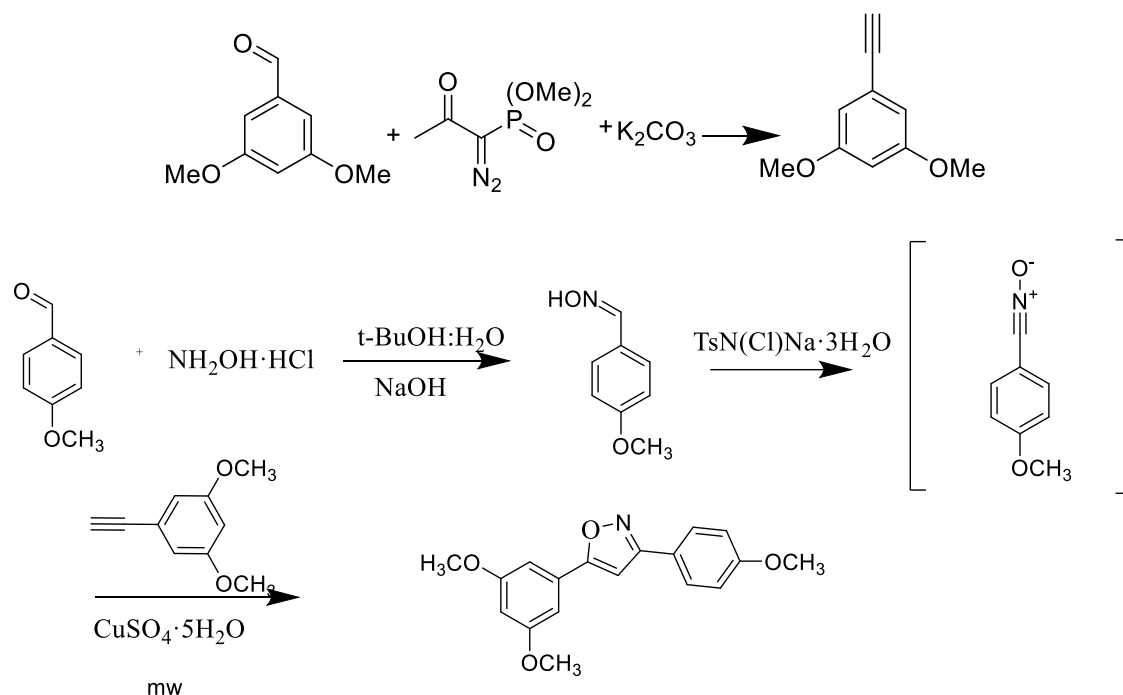
Αρχικά η 3,5-διμεθοξυ-βενζαλδεΐδη με επίδραση του αντιδραστήριου Bestmann Ohira έδωσε το 1-αιθυνυλ-3,5-διμεθοξυβενζόλιο.

Η αντίδραση “click” πραγματοποιείται με τον ίδιο τρόπο όπως προαναφέρθηκε.

Συγκεκριμένα, επίδραση υδροχλωρικής υδροξυλαμίνης σε διάλυμα της 4-μεθοξυβενζαλδεΐδης, οδηγεί στη 4-μεθοξυβενζαλδεΐδοξίμη. Στη συνέχεια η αντίδραση της 4-μεθοξυβενζαλδεΐδοξίμης με το αλκίνιο 1-αιθυνυλ-3,5-διμεθοξυβενζόλιο, παρουσία ένυδρης γλωραμίνης T (η οποία δρα τόσο ως παράγοντας αλογόνωσης όσο και

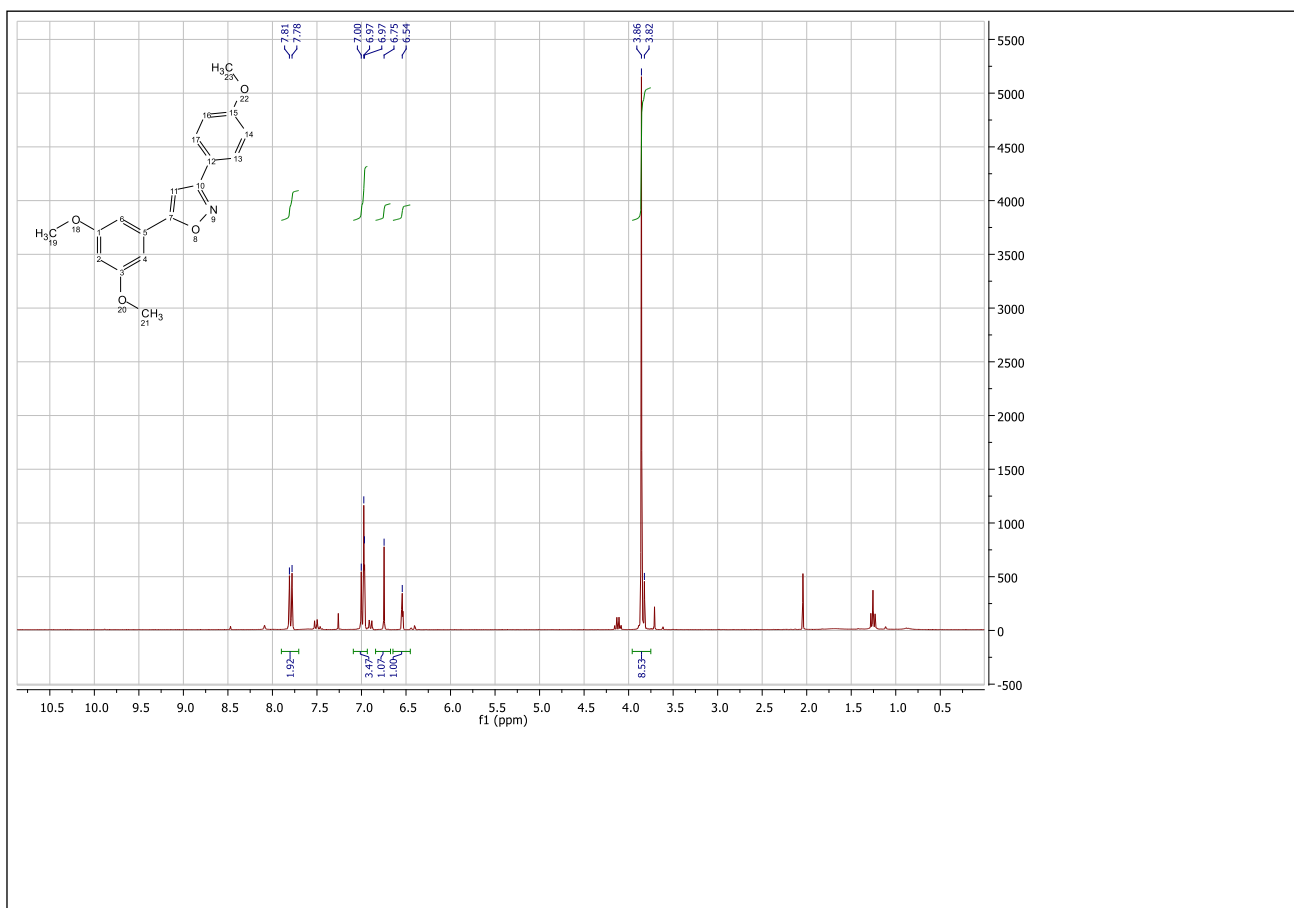
ως βάση), ένυδρου θειϊκού χαλκού και ασκορβικού νατρίου, προκύπτει το προστατευμένο 5-(3,5-διμεθοξυφαινυλ)-3-(4-μεθοξυφαινυλ)ισοξαζόλιο με τη χρήση μικροκυμάτων.

. Έγιναν πολλές προσπάθειες αποπροστασίας του προϊόντος αλλά δεν ήταν επιτυχείς.



**Σχήμα 22.** Σύνθεση της ένωσης 5-(3,5-διμεθοξυφαινυλ)-3-(4-μεθοξυφαινυλ)ισοξαζόλιο





**Εικόνα 6.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης 5-(3,5-διμεθοξυφαινυλο)-3-(4-μεθοξυφαινυλο)ισοξαζόλιο ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz)

Αρχικά παρατηρείται ότι στην περιοχή 6-8 εμφανίζονται διπλές και πολλαπλές κορυφές. Γενικά, στην περιοχή 6-8 δίνουν σήμα τα πρωτόνια που ανήκουν σε αρωματικούς δακτυλίους. Πράγματι, η ολοκλήρωση των κορυφών τους υποδηλώνει ότι αντιστοιχούν συνολικά σε 6 πρωτόνια. Η διπλή κορυφή που εμφανίζεται στα 7.79 ppm αντιστοιχεί στα πρωτόνια του αρωματικού δακτυλίου των θέσεων 13, 17. Η κορυφή είναι διπλή και η πολλαπλότητά τους αυτή οφείλεται στην επίδραση του πρωτονίου με το γειτονικό του πρωτόνιο. Στην περιοχή 7.00-6.96 εμφανίζεται μια πολλαπλή κορυφή η οποία αντιστοιχεί στα 4 αρωματικά πρωτόνια των θέσεων 4, 6, 14, 16. Τέλος η τριπλή κορυφή στα 6.53 ppm αντιστοιχεί στο αρωματικό πρωτόνιο στη θέση 2.

Σε ένα φάσμα  $^1\text{H}$  NMR οι πιο αποπροστατευμένοι πυρήνες πρωτονίων δίνουν σήμα σε χαμηλότερα πεδία, δηλαδή στα αριστερά του φάσματος. Η μονή κορυφή στα 6.75 ppm αντιστοιχεί στο πρωτόνιο του ισοξαζολίου στη θέση 11.

Ως πιο προστατευμένα πρωτόνια (υψηλά πεδία), θεωρούνται τα εννέα ισοδύναμα πρωτόνια των μεθυλομάδων ( $-\text{CH}_3$ ) στις θέσεις 19, 21, 23.

Τέλος, σημειώνεται ότι η κορυφή που αντιστοιχεί στα 7.26 ppm οφείλεται στα πρωτόνια του  $\text{CDCl}_3$  ο οποίος είναι ο διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε για την διεκπεραίωση της φασματοσκοπικής ανάλυσης και την ταυτοποίηση της οργανικής δομής.

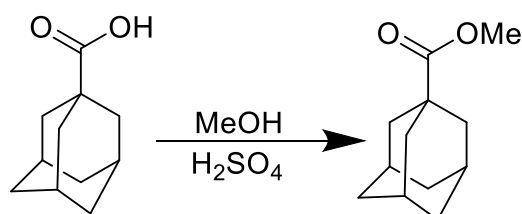
### 5.1.2 Ανάλογα ανταγωνιστών του υποδοχέα P2X7 ή/και αντιοξειδωτικών

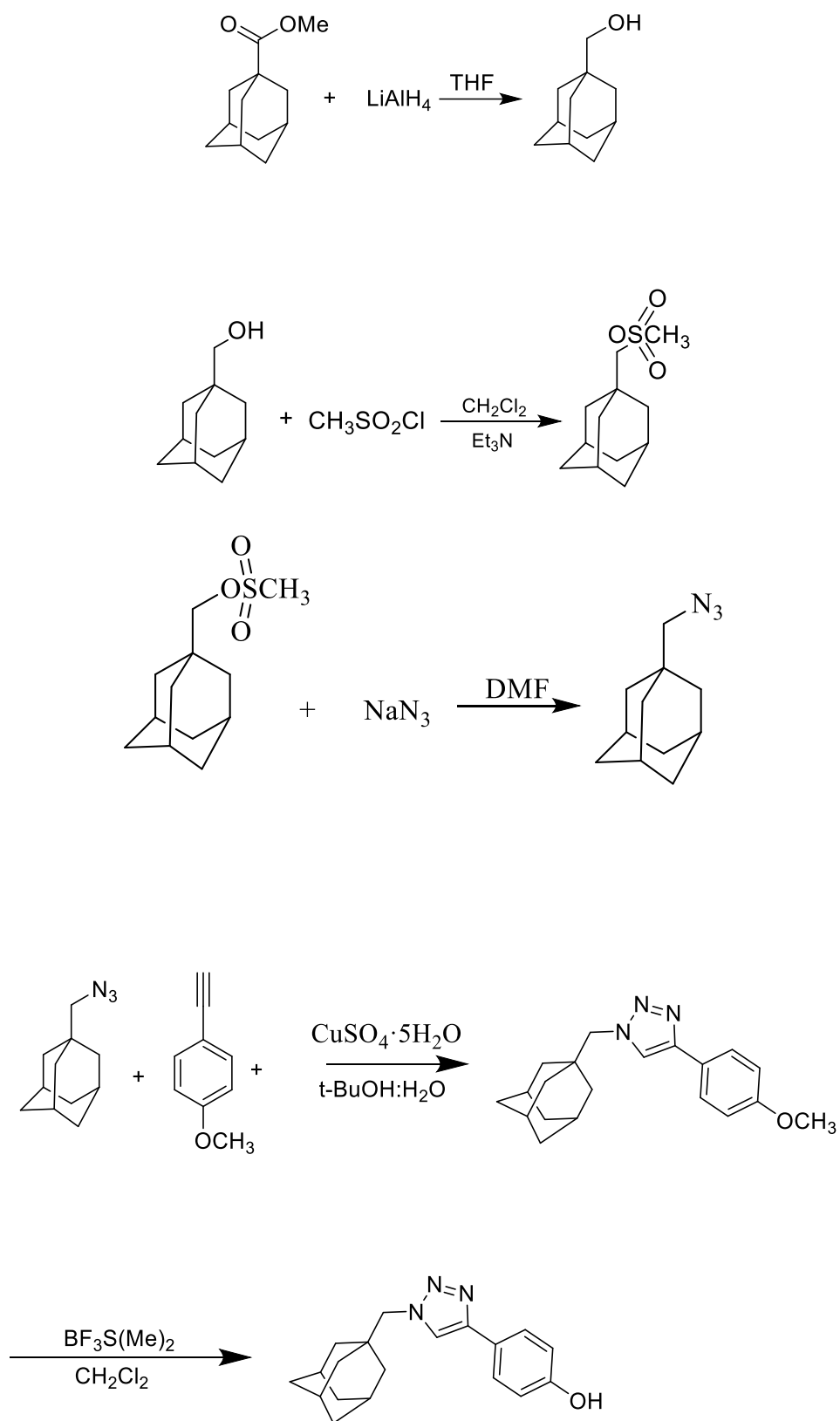
Στο Σχήμα 23 παρουσιάζεται η σύνθεση αναλόγων τριαζολίων ενώσεις που θα συνδυάζουν δομικά χαρακτηριστικά ρυθμιστών του πουρινεργικού υποδοχέα P2X7 τα οποία φέρουν αδαμάντυλο ομάδα.

Για τη σύνθεση του τριαζολικού ανάλογου 1(αζιδομεθυλ)αδαμαντάνιο, ως αρχική ένωση χρησιμοποιήθηκε το 1-αδαμάντυλο καρβοξυλικό οξύ το οποίο με μεθανόλη και θειικό οξύ έδωσε τον αντίστοιχο μεθυλεστέρα, 1-μέθυλο καρβοξυλικό αδαμαντάνιο. Αναγωγή του μεθυλεστέρα οδήγησε στην αλκοόλη 1-αδαμαντανομεθανόλη με επίδραση λίθου αλουμίνιο υδριδίου και στη συνέχεια στον μεθανοσουλφονικό εστέρα, μεθανοσουλφονικό αδαμαντ-1-υλομέθυλο με αντίδραση της αλκοόλης με μεθανοσουλφονυλοχλωρίδιο παρουσία τριαθυλαμίνης σε διχλωρομεθάνιο. Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση μικροκυμάτων.

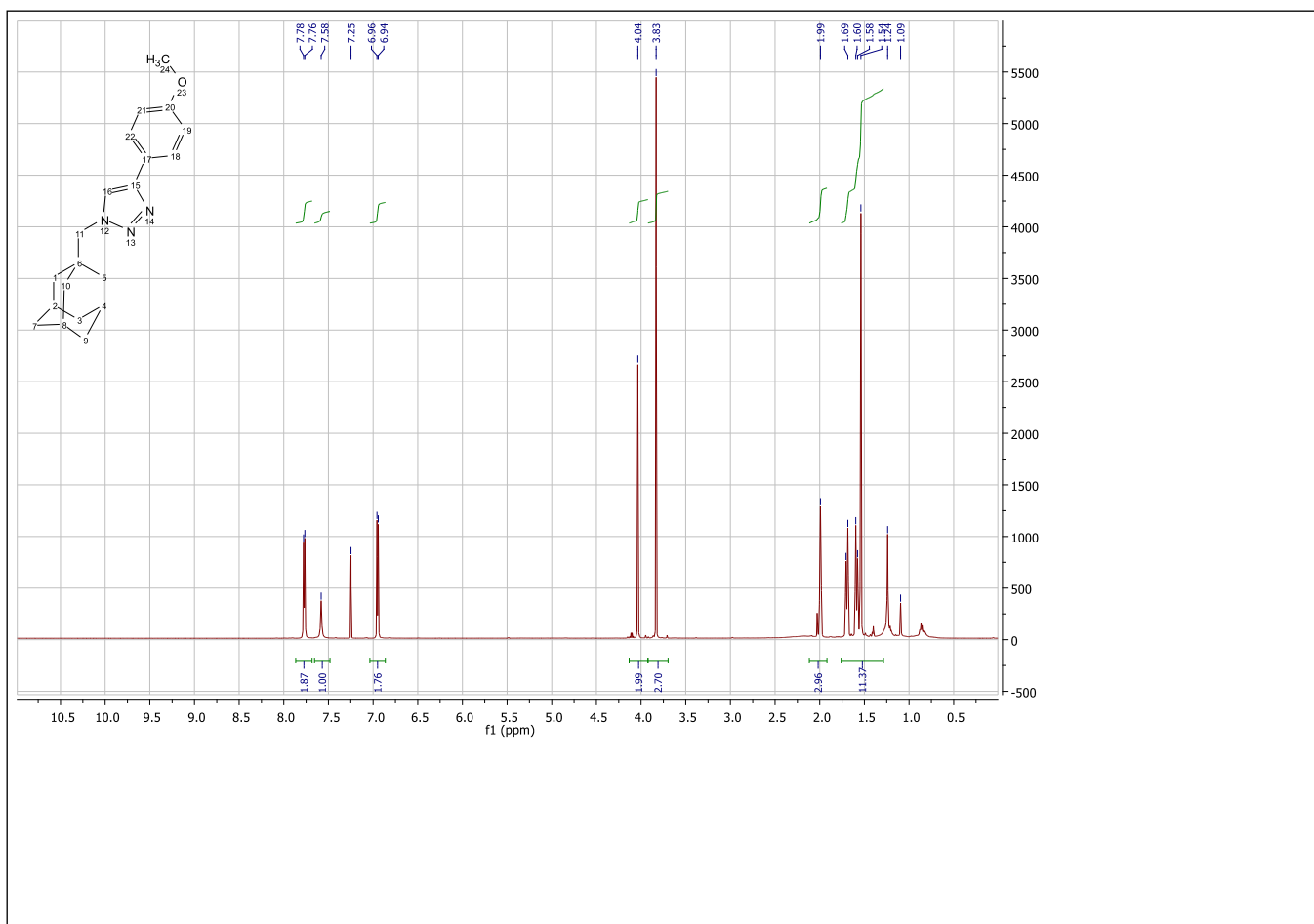
Το 1,2,3-τριαζολικό ανάλογο 1-(((3R, 5R, 7R)-αδαμανταν-1-υλο)μεθυλο)-4-(4-μεθοξυφαινυλο)-1H-1,2,3-τριαζόλιο συντέθηκε μέσω 1,3-διπολικής κυκλοπροσθήκης του 1-αζιδομεθυλ-αδαμαντανίου στο 4-μεθοξυφαινυλοακετυλένιο χρησιμοποιώντας πενταένυδρο θειικό χαλκό και ασκορβικό νάτριο σε μίγμα τριτοταγούς βουτανόλης και νερού. Η αντίδραση πραγματοποιείται με τη χρήση μικροκυμάτων.

Με αποπροστασία της υδροξυλομάδας του αναλόγου με τριφθοριούχο βόριο-διμεθυλοσουλφίδιο σε διχλωρομεθάνιο λήφθηκε το ανάλογο 4-(1-(((3R, 5R, 7R)-αδαμανταν-1-υλο)μεθυλο)-1H-1,2,3-τριαζολ-4-υλο)φαινόλη.





**Σχήμα 23.** Σύνθεση του αναλόγου 4-(1-(((3R, 5R, 7R)-αδαμανταν-1-υλ)μεθυλ)-1H-1,2,3-τριαζολ-4-υλ)φαινόλη



**Εικόνα 7.** Φάσμα <sup>1</sup>H NMR της ένωσης 1-(((3R, 5R, 7R)-αδαμανταν-1-υλ)μέθυλ)-4-(4-μεθοξυφαινυλο)-1H-1,2,3-τριαζόλιο (CDCl<sub>3</sub>, 600MHz)

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, στην περιοχή 6-8 δίνουν σήμα τα πρωτόνια που ανήκουν στους αρωματικούς δακτυλίους. Στα 7.78 και 6.96 ppm εμφανίζονται δύο διπλές κορυφές οι οποίες αντιστοιχούν σε π-υποκατεστημένο βενζόλιο και συγκεκριμένα στα πρωτόνια των θέσεων 21, 19 και 22, 18 αντίστοιχα. Οι δύο αυτές κορυφές είναι διπλές και η πολλαπλότητά τους οφείλεται στην επίδραση του κάθε πρωτονίου με το γειτονικό του πρωτόνιο. Η μεγαλύτερη ηλεκτραρνητικότητα του ατόμου οξυγόνου που επιδρά στα πρωτόνια στις θέσεις 19 και 21, εξακριβώνει ότι τα πρωτόνια αυτά είναι πιο αποπροστατευμένα και συνεπώς εμφανίζονται σε χαμηλότερα πεδία, δηλαδή πιο αριστερά.

Στα 7.58 ppm εμφανίζεται μία μονή κορυφή η οποία αντιστοιχεί σε ένα πρωτόνιο. Το πρωτόνιο αυτό αντιστοιχεί στη θέση 16 και αποτελεί το πρωτόνιο του τριαζολίου.

Πιο δεξιά στο φάσμα παρατηρούνται δύο απλές κορυφές στα 4.04 ppm και 3.83 ppm όπου η πρώτη ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια ενώ η δεύτερη για τρία ισοδύναμα

πρωτόνια. Συμπεραίνουμε ότι η πρώτη αντιστοιχεί στο μεθυλένιο στη θέση 11 ενώ η δεύτερη στη μεθυλομάδα στη θέση 24.

Στην περιοχή 1.55-2.01 ppm εμφανίζονται πολλαπλές κορυφές οι οποίες αντιστοιχούν σε 16 πρωτόνια. Είναι τα 16 πρωτόνια του αδαμαντανίου και εμφανίζονται σε υψηλά πεδία καθώς είναι προστατευμένα.

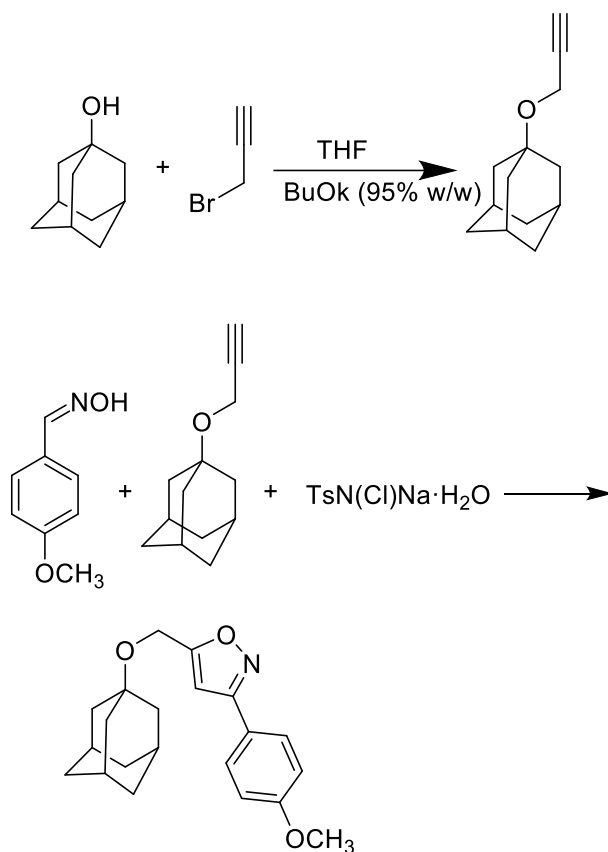
Τέλος, στα 7.25 ppm αντιστοιχεί η κορυφή που οφείλεται στην ύπαρξη του διαλύτη που χρησιμοποιήθηκε ( $\text{CDCl}_3$ ).

Για την παρασκευή του 1(αζιδομεθυλ)αδαμαντίου πριν χρησιμοποιηθούν τα μικροκύματα χρησιμοποιήθηκε διαφορετική μέθοδος. Μετά την προσθήκη του DMF και του αζιδίου του νατρίου η αντίδραση αφέθηκε να αναδευτεί 24 ώρες με θέρμανση στους  $25^\circ\text{C}$ . Η αντίδραση ήταν ανεπιτυχής. Έπειτα αφέθηκε να θερμανθεί 24 ώρες στους  $120^\circ\text{C}$ . Και σε αυτή την περίπτωση η αντίδραση ήταν ανεπιτυχής. Τέλος, η αντίδραση αφέθηκε 48 ώρες στους  $120^\circ\text{C}$  οδηγώντας πάλι σε αποτυχία. Έπειτα χρησιμοποιήθηκαν τα μικροκύματα τα οποία οδήγησαν σε επιτυχή αντίδραση και με καλή απόδοση.

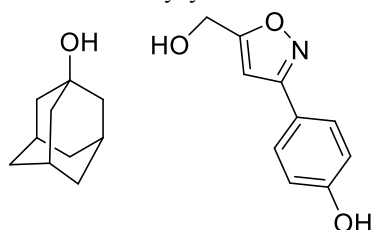
Στο σχήμα 25 παρουσιάζεται η πορεία που ακολουθήθηκε για τη σύνθεση του αναλόγου 5-(((3S, 5S, 7S)-αδαμανταν-1-υλ)οξυ)μεθυλο)-3-(4-μεθοξυφαινυλ)ισοξαζολίου. Το αλκύνιο 1-αδαμάντυλο-προπάργυλο-αιθέρα παρασκευάζεται με αλκυλίωση της 1-αδαμαντανομεθανόλης με το προπαργυλοβρωμίδιο παρουσία της βάσης *tert*-βουτοξυκαλίου ( $\text{tBuOK}$ ) σε άνυδρο THF.

Αντίδραση “click” της οξίμης, της 4-μεθοξυβενζαλδεΐδης, με το ακραίο αλκύνιο 1-αδαμάντυλο-προπάργυλο-αιθέρα, έδωσε το ισοξαζολικό ανάλογο. Η αντίδραση έγινε με τη χρήση μικροκυμάτων. Παρατηρώντας το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του προϊόντος παρατηρούμε ότι υπάρχει και αρχική μεθοξυ-βενζαλδεΐδη η οποία δεν αντέδρασε.

Στη συνέχεια η προσπάθεια για αποπροστασία της υδροξυλομάδας χρησιμοποιώντας το σύμπλοκο του τριφθοριούχου βορίου διμεθυλοσουλφιδίου σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο οδήγησε στη διάσπαση του μορίου και στο σχηματισμό της 4-υδροξυ-φαινυλο-3,5-ισοξαζολο-μεθανόλης.



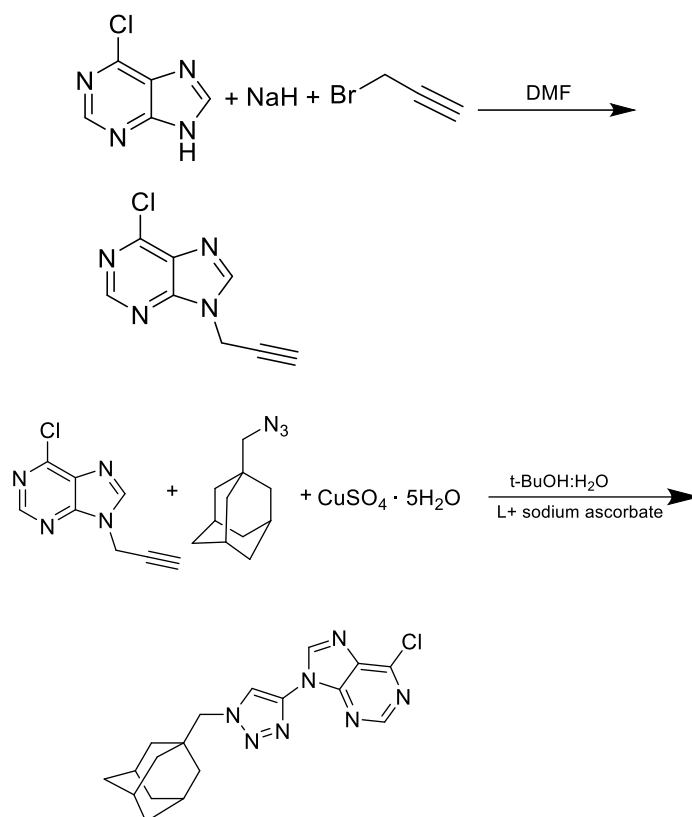
Σχήμα 24. Σύνθεση του αναλόγου 5-(((3*S*, 5*S*, 7*S*)-αδαμανταν-1-υλ)οξυ)μεθυλ)-3-(4-μεθοξυφαινυλ)ισοξαζολίου



Σχήμα 25. Διάσπαση του αναλόγου κατά την αποπροστασία

### 5.1.3 Ανάλογα αδαμαντανίου-πουρίνης

Το 9-υποκατεστημένο ανάλογο της 6-χλωροπουρίνης συντέθηκε ακολουθώντας την πορεία που φαίνεται στο σχήμα 27. Συγκεκριμένα, αλκυλίωση της 6-χλωροπουρίνης με προπάργυλο-βρωμίδιο παρουσία υδριδίου του νατρίου (NaH) σε DMF οδήγησε στο 9-υποκατεστημένο ανάλογο 6-χλωρο-9-(προπ-2-υνυλ)9*H*-πουρίνης, ως κύριο προϊόν, το οποίο στη συνέχεια με αντίδραση 'click' έδωσε το τριαζολικό ανάλογο 9-[1-(αδαμαντυλο-1-μεθυλο)-4-τριαζολυλο-μεθυλο]-6-χλωρο-πουρίνη.



Σχήμα 26. Σύνθεση των αναλόγων αδαμαντανίου-πουρίνης

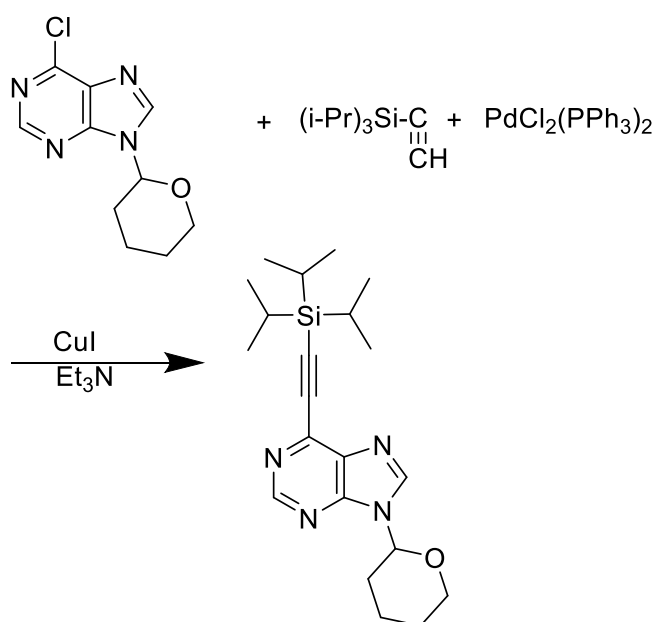
#### 5.1.4 Σύνθεση αλκυνίων με αντίδραση Sonogashira

Αρωματικά αλκίνια εκτός από την μέθοδο που περιγράφηκε στη σύνθεση των αναλόγων της ρεσβερατρόλης, μπορούν να συντεθούν με αντίδραση Sonogashira μεταξύ αρυλοαλογονιδίων και προστατευμένων αλκυνίων.

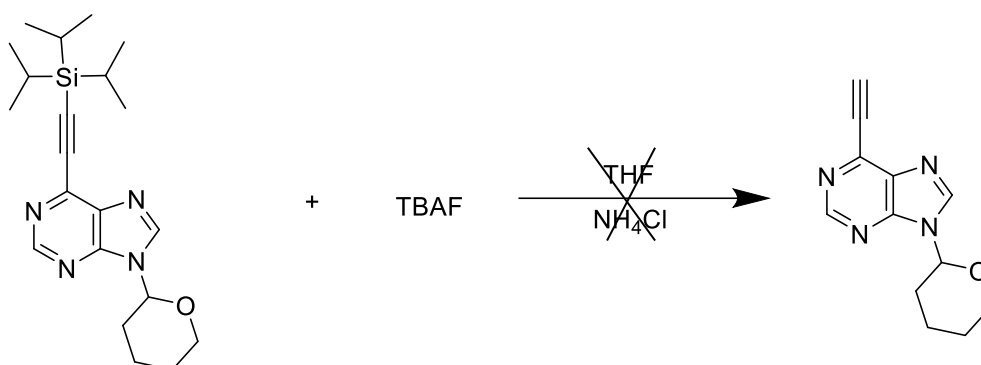
Έχοντας ως στόχο τη σύνθεση 6-αδαμαντυλο-μεθυλο-τριαζολικού αναλόγου της πουρίνης, πραγματοποιείται αντίδραση Sonogashira της προστατευμένης 6-χλώρο-9-(τετραϋδρο-2H-πυραν-2-υλο)-9H-πουρίνης με τρισοπροπυλο-σιλυλο-ακετυλένιο παρουσία καταλύτη  $\text{CuI}$  και τριαιθυλαμίνης έδωσε το ανάλογο 9-τετραϋδρο-2H-πυραν-

2-υλ)-6-((τρισοπροπυλοσιλυλ)αιθυνυλ)-9H-πουρίνης. Στη συνέχεια έγινε προσπάθεια απομάκρυνσης της τρισοπροπυλοσίλυλο ομάδας. Ο σκοπός της αποπροστασίας ήταν η δημιουργία της 6-αιθυνυλο-9-(τετραϋδρο-2H-πυραν-2-υλ)-9H-πουρίνης και η αντίδραση έγινε με την προσθήκη TBAF στους 0°C. Δυστυχώς η αντίδραση δεν ήταν επιτυχής.

Η αντίδραση επαναλήφθηκε χρησιμοποιώντας τριμέθυλο σίλυλο ακετυλένιο. Η προσπάθεια αποπροστασίας της τριμεθυλο-σίλυλο ομάδας με TBAF οδήγησε σε μείγμα παραπροϊόντων.



**Σχήμα 27.** Σύνθεση αναλόγου 9-τετραϋδρο-2H-πυραν-2-υλ)-6-((τρισοπροπυλοσιλυλ)αιθυνυλ)-9H-πουρίνης



**Σχήμα 28.** Αποπροστασία της τρισοπροπυλο-σίλυλο ομάδας με TBAF



## 5.2 Συμπεράσματα

Στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής συντέθηκαν νέες ενώσεις οι οποίες εμπεριέχουν τους ετεροαρωματικούς δακτυλίους 1,2,3-τριαζόλιο και ισοξαζόλιο, με χρήση της αντίδρασης “click” και μικροκυμάτων

Συγκεκριμένα συντέθηκαν ανάλογα ενός σημαντικού αντιοξειδωτικού, της ρεσβερατρόλης, στα οποία ο διπλός δεσμός αντικαταστάθηκε από τον ισοξαζολικό δακτύλιο.

Παράλληλα σχεδιάστηκαν και συντέθηκαν νέα ανάλογα αδαμαντανίου, στα οποία η αμιδική ομάδα των ανταγωνιστών του υποδοχέα P2X7, αντικαταστάθηκε από το βιοϊσοστερές της τριαζόλιο. Τα παράγωγα αυτά θα αποτελέσουν τη βάση για την ανάπτυξη νέων ενώσεων για την αντιμετώπιση φλεγμονωδών ασθενειών που χαρακτηρίζονται από διαταραχή του μηχανισμού φυσικής ανοσίας.

Η παρούσα εργασία μπορεί να αποτελέσει πηγή για περαιτέρω έρευνες μελλοντικά.

# ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Schroder K., Tschopp J. The Inflammasomes. *Cell* 2010, 140, 821-832
2. Shaw P.J., McDermott M.F. Kanneganti T.-D. Inflammasomes and autoimmunity. *Trends Mol. Med.* 2011, 17, 57-64
3. Lamkanfi M., Vande Walle L., Kanneganti T.-D. Deregulated inflammasome signaling in disease. *Immunological Rev.* 2011, 243, 163–173
4. Leemans J.C., Cassel S.L., Sutterwala F.S. Sensing damage by the NLRP3 Inflammasome. *Immunological Rev.* 2011, 243, 152–162
5. Strowig T., Henao-Mejia J., Elinav E., Flavell R. Inflammasomes in health and disease. *Nature* 2012, 481, 278-286
6. Αλεξάνδρα Τσατσαρώνη, Σχεδιασμός και σύνθεση νέων νευροπροστατευτικών 2-,5- υποκατεστημένων βενζοπυρανικών αναλόγων, Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης 2010, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 2-3, 49-51, 60
7. Ozaki E., Campbell M., Doyle SL, 16 January 2016, Targeting the NLRP3 inflammasome in chronic inflammatory diseases: current perspectives, [www.dovepress.com/targeting-the-nlrp3-inflammasome-in-chronic-inflammatory-diseases-curr-peer-reviewed-fulltext-article-JIRm](http://www.dovepress.com/targeting-the-nlrp3-inflammasome-in-chronic-inflammatory-diseases-curr-peer-reviewed-fulltext-article-JIRm)
8. So A., Ives A., Joosten L.A.B, Busso N. Targeting inflammasomes in rheumatic diseases *Nature Rev. Rheumatol.* 2013, 9, 391–399
9. Barnes P.J. New anti-inflammatory targets for chronic obstructive pulmonary disease *Nature Rev. Drug Discovery* 2013, 12, 543-559
10. Vandanmagsar B., et al., The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance, *Nature Medecine* 2011, 17, 179–188

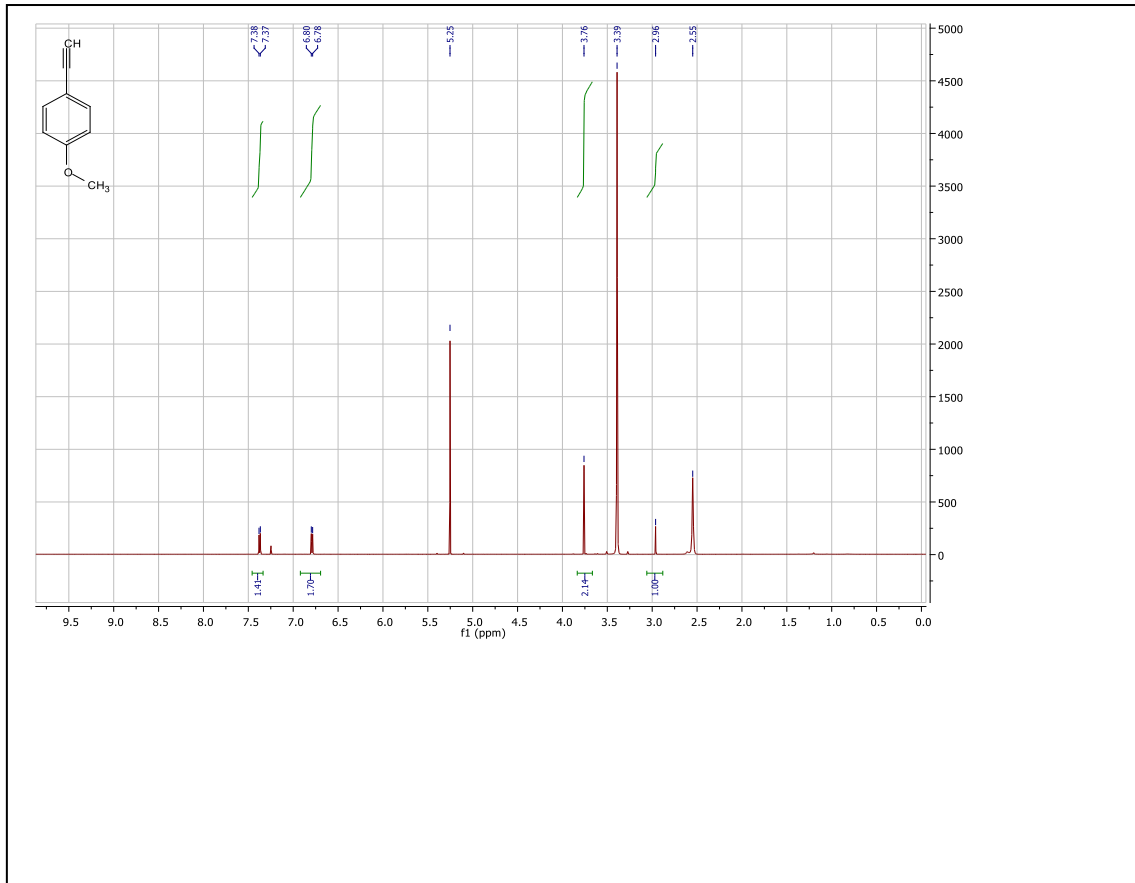
11. Duewell P., et al., NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals, *Nature* 2010, 464, 1357–1361
12. Walsh J.G., Muruve D.A. Power C. Inflammasomes in the CNS. *Nature Rev. Neuroscience* 2014, 15, 84-97
13. Liu Li., Chan C. The role of inflammasome in Alzheimer's disease. *Ageing Res. Rev.* 2014, 15, 6–15
14. Doria A., Zen M., Bettio S., Gatto M., Bassi N., Nalotto L., Ghirardello A., Iaccarino L., Punzi L. Autoinflammation and autoimmunity: Bridging the divide. *Autoimmunity Rev.* 2012, 12, 22–30
15. Park H., Bulua Bourla A., Kastner D.L, Colbert R.A. Siegel R.M. Lighting the fires within: the cell biology of autoinflammatory diseases. *Nature Rev. Immunology* 2012, 12, 570-580
16. Hoffman H.M., Brydges S.D. Genetic and Molecular Basis of Inflammasome-mediated Disease. *J. Biol. Chem.* 2011, 286, 10889–10896
17. Sims J.E., Smith D.E. The IL-1 family: regulators of immunity *Nature Rev. Immunology* 2010, 10, 89-102
18. Doherty T.A., Brydges S.D., Hoffman H.M. Autoinflammation: translating mechanism to therapy. *J. Leukocyte Biol.* 2011, 90, 37-47
19. Lamkanfi M., Mueller J.L., Vitari A.C., Misaghi S., Fedorova A., Deshayes K., Lee W. P., Hoffman H.M., Dixit V.M. Glyburide inhibits the Cryopyrin/Nalp3 inflammasome. *J. Cell Biol.* 2009, 187, 61–70
20. Juliana C., Fernandes-Alnemri T., Wu J., Datta P., Solorzano L., Yu J.-W., Meng R., Quong A.A, Latz E., Scott C.P., Alnemri E.S. Anti-inflammatory Compounds Parthenolide and Bay 11-7082 Are Direct Inhibitors of the Inflammasome. *J. Biol. Chem.* 2010, 285, 9792-9802
21. Bauernfeind F., Bartok E., Rieger A., Franchi L., Núñez G., Hornung V. Cutting Edge: Reactive Oxygen Species Inhibitors Block Priming, but Not Activation, of the NLRP3 Inflammasome. *J. Immunol.* 2011, 187, 613–617
22. Qing-Hua Hu, Xian Zhang, Ying Pan, Yu-Cheng Li, Ling-Dong Kong. Allopurinol, quercetin and rutin ameliorate renal NLRP3 inflammasome activation and lipid accumulation in fructose-fed rats. *Biochem. Pharmacol.* 2012, 84, 113–125
23. William A. Carroll, Diana Donnelly-Roberts, Michael F. Jarvis, Selective P2X7 receptor antagonists for chronic inflammation and pain, 2008, 63-64

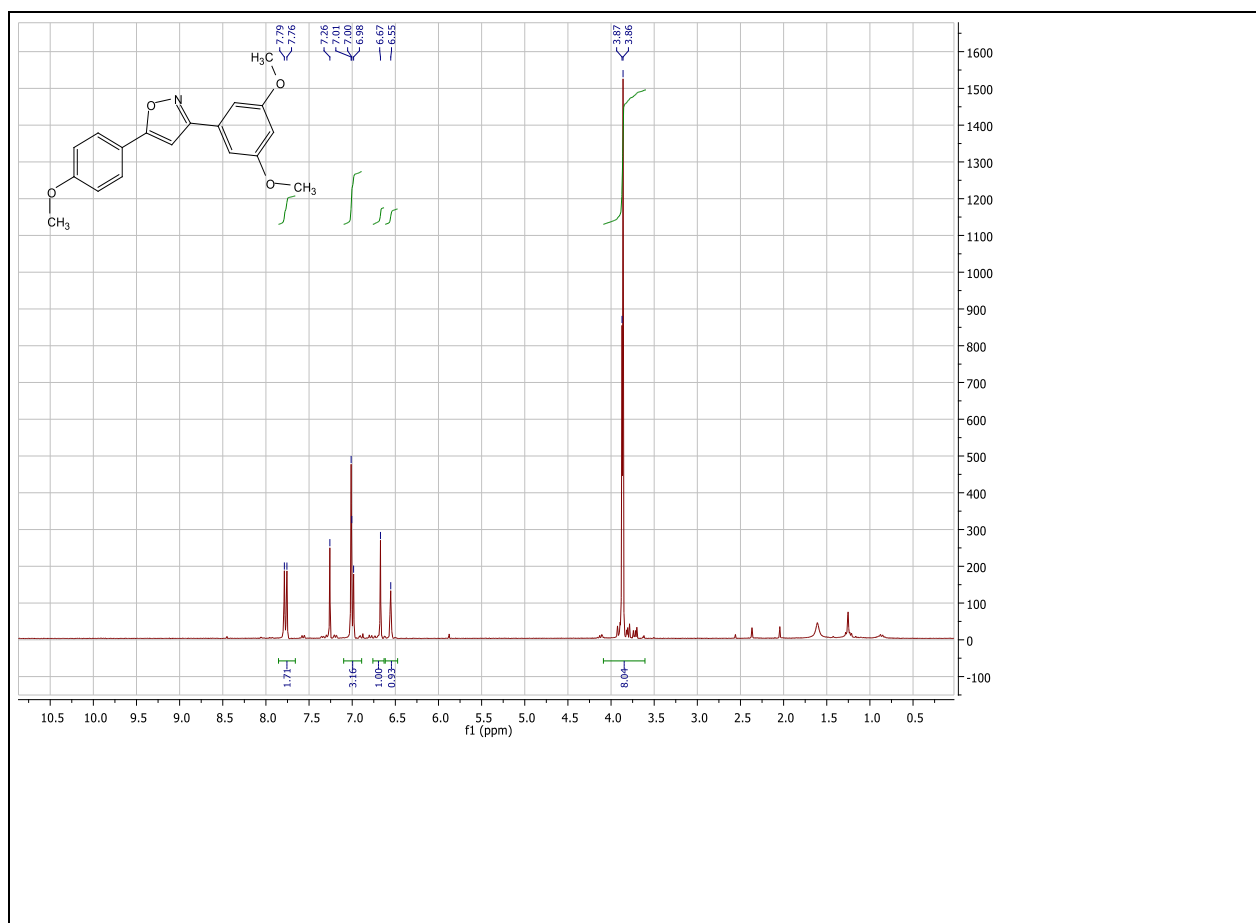
24. Švajger U, Jeras M. Anti-inflammatory effects of resveratrol and its potential use in therapy of immune-mediated diseases. *Int. Rev. Immunol.* 2012, 31, 202-222
25. Θανάσης Βαλαβανίδης, Ιανουάριος 2007, Η χημική ένωση του μήνα, [www.chem.uoa.gr/chemicals/chem\\_resveratrol.htm](http://www.chem.uoa.gr/chemicals/chem_resveratrol.htm)
26. Resveratrol Inhibits NLRP3 Inflammasome Activation by Preserving Mitochondrial Integrity and Augmenting Autophagy
27. Ya-Ping Chang, Shuk-Man Ka, Wan-Han Hsu, Ann Chen, Louis Kuoping Chao, Chai-Ching Lin, Cho-Chen Hsieh, Ming-Cheng Chen, Huan-Wen Chiu, Chen-Lung Ho, Yi-Chich Chiu, May-Lan Liu, Kuo-Feng Hu, Resveratrol Inhibits NLRP3, Inflammasome Activation by Preserving Mitochondrial Integrity and Augmenting Autophagy, *Journal of Cellular Physiology* 230, 2014, 1567, 1576
28. Τζανή Ανδρομάχη, Οργανική σύνθεση με χρήση μικροκυμάτων, Μελέτη δραστηριότητας οξαζινόνων με πυρηνόφιλα άνθρακα και Οξυγόνου, 2011
29. Pelle Lidstrom, Jason Tierney, Bernard Wathey, Jacob Westman, August 2001, Microwave assisted organic synthesis- a review, *Tetrahedron report number* 589, 9226
30. Τρύφων Ζαργάνης-Τζιτζικας, 2011, Τα μικροκύματα στην οργανική σύνθεση, [http://www.chem.auth.gr/iyc2011/iyc\\_2011\\_microwaves.html](http://www.chem.auth.gr/iyc2011/iyc_2011_microwaves.html), Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Χημείας
31. Κλαπινού Ειρήνη, Τσακίρη Μαρία, Εφαρμογές των Μικροκυμάτων στην Οργανική Σύνθεση, *Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Καβάλας*, 13-14
32. This is synthesis, <http://www.this-is-synthesis.com/mainnav/crash-course/instrument-types>
33. Patani G. A.; LaVoie E. J. Bioisosterism: A rational approach in drug design. *Chem. Rev.* 1996, 96, 3147-3176
34. Kier L. B., Hall L. H. Bioisosterism: Quantitation of Structure and Property effects. *Chemistry & Biodiversity* 2004, 1, 138-151
35. Dalvie D. K., Kalgutkar A. S., Khojasteh-Bakht S.C., Obach R. S., O'Donnell J. P. Biotransformation Reactions of Five-Membered Aromatic Heterocyclic Rings. *Chem. Res. Toxicol.* 2002, 15, 269-299
36. Kolb, H. C.; Sharpless, K. B.; The growing impact of click chemistry on drug discovery; *Drug Disc. Today*; 2003; 8; 1128

37. Βασίλης Τσιάρας, 2011, Κλικ Χημεία,  
[http://www.chem.auth.gr/iyc2011/iyc\\_2011\\_click.html](http://www.chem.auth.gr/iyc2011/iyc_2011_click.html), Αριστοτέλειο  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Χημείας
38. Tron, G. C.; Pirali, T.; Billington, R. A.; Canonico, P. L.; Sorba, G.; Genazzani, A. A.; Click chemistry reactions in medicinal chemistry: Applications of the 1,3-dipolar cycloaddition between azides and alkynes; *Med. Res. Rev.* 2008; 28; 278
39. Bock, V. D.; Hiemstra, H.; van Maarseveen, J. H.; Cu-I-catalyzed alkyne-azide "click" cycloadditions from a mechanistic and synthetic perspective; *Eur. J. Org. Chem.* 2005; 51
40. Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B.; A stepwise Huisgen cycloaddition process: Copper(I)-catalyzed regioselective "ligation" of azides and terminal alkynes; *Angew. Chem.-Int. Ed.*; 2002; 41; 25-96
41. Hansen, T. V.; Wu, P.; Fokin, V. V.; One-pot copper(I)-catalyzed synthesis of 3,5-disubstituted isoxazoles; *J. Org. Chem.*; 2005; 70; 7761.
42. Organic Chemistry portal, Sonogashira Coupling, <http://www.organic-chemistry.org/namedreactions/sonogashira-coupling.shtm>
43. Carroll W.A., Donnelly-Roberts D., Jarvis M.F. Selective P2X7 receptor antagonists for chronic inflammation and pain. *Purinergic Signal.* 2009, 5, 63–73
44. Mehta N., Kaur M., Singh M., Chand S., Vyas B., Silakari P., et al. Purinergic receptor P2X7: A novel target for anti-inflammatory therapy. *Bioorg. Med. Chem.* 2014, 22, 54-88
45. Muller, S.; Liepold, B.; Roth, G. J.; Bestmann, H. J.; An improved one-pot procedure for the synthesis of alkynes from aldehydes; *Synlett*; 1996; 521.
46. Ohira, S.; Methanolysis of dimethyl (1-diazo-2-oxopropyl)phosphonate-generation of dimethyl (diazomethyl) phosphonate and reaction with carbonyl-compounds; *Synth. Comm.*; 1989; 19; 561

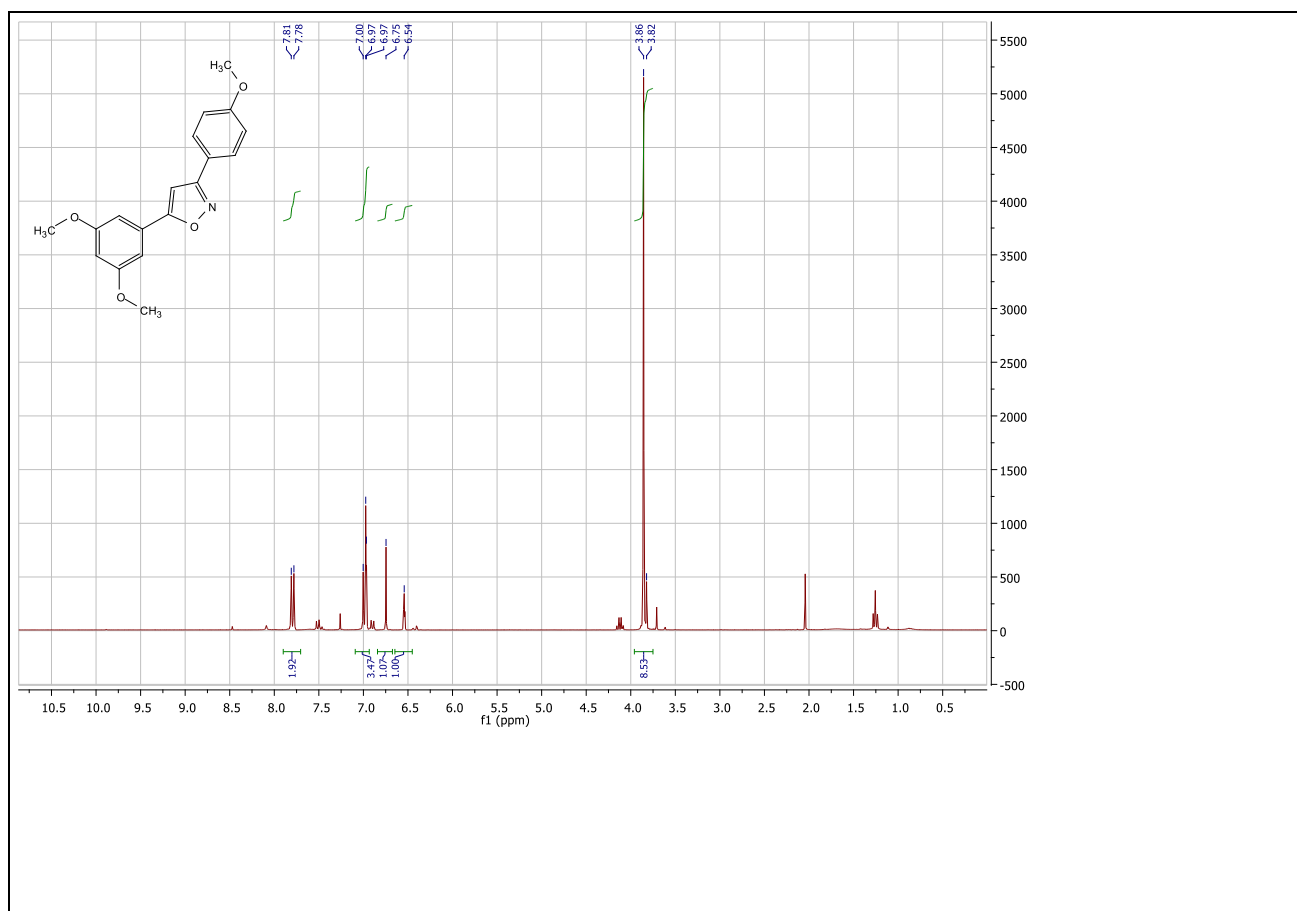
## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

## Α.ΑΝΑΛΟΓΑ ΡΕΣΒΕΡΑΤΡΟΛΗΣ

Εικόνα 8. Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης 1-αιθυνυλ-4-μεθοξυβενζόλιο ( $\text{CDCl}_3$ , 600MHz)

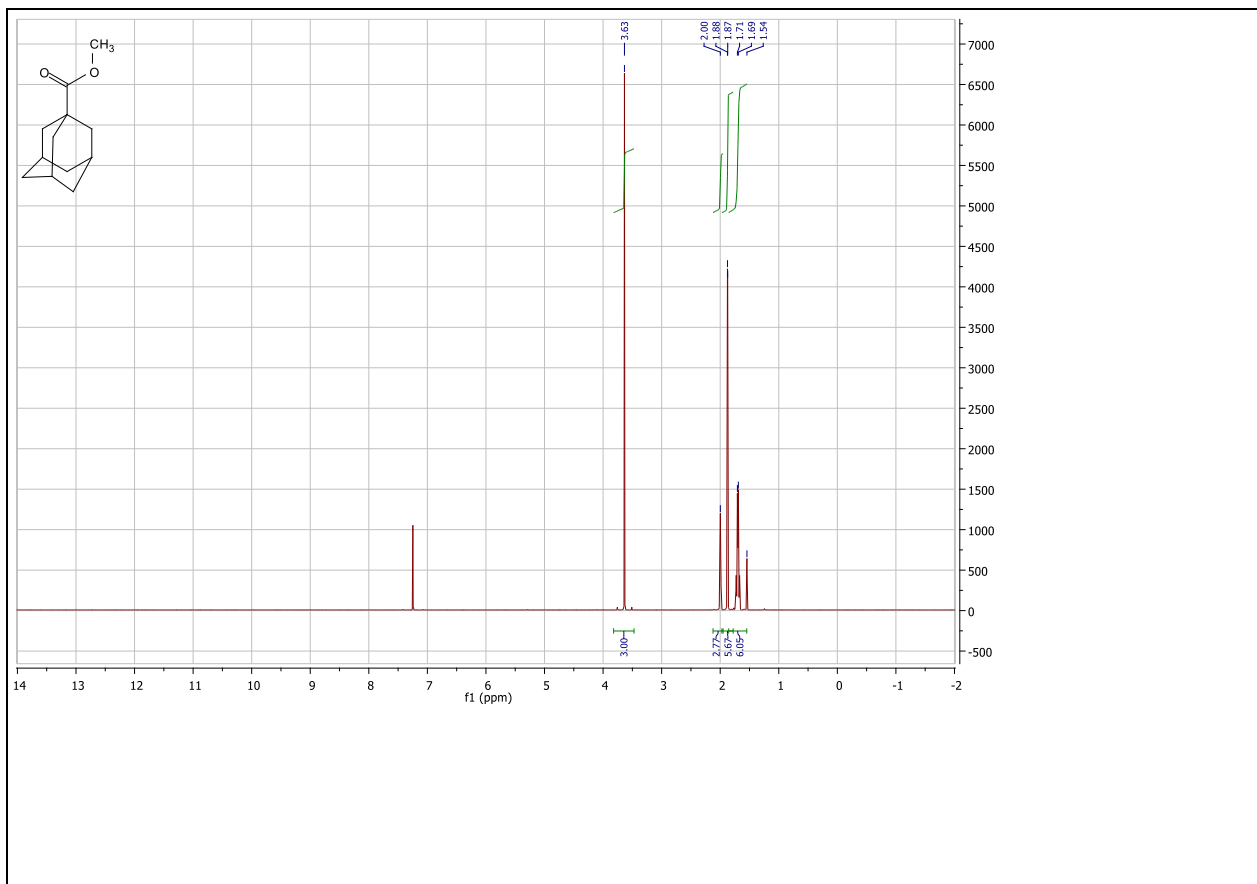


Εικόνα 9. Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης 3-(3,5-διμεθοξυφαινυλο)-5-(4-μεθοξυφαινυλο)ισοξαζόλιο ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz)

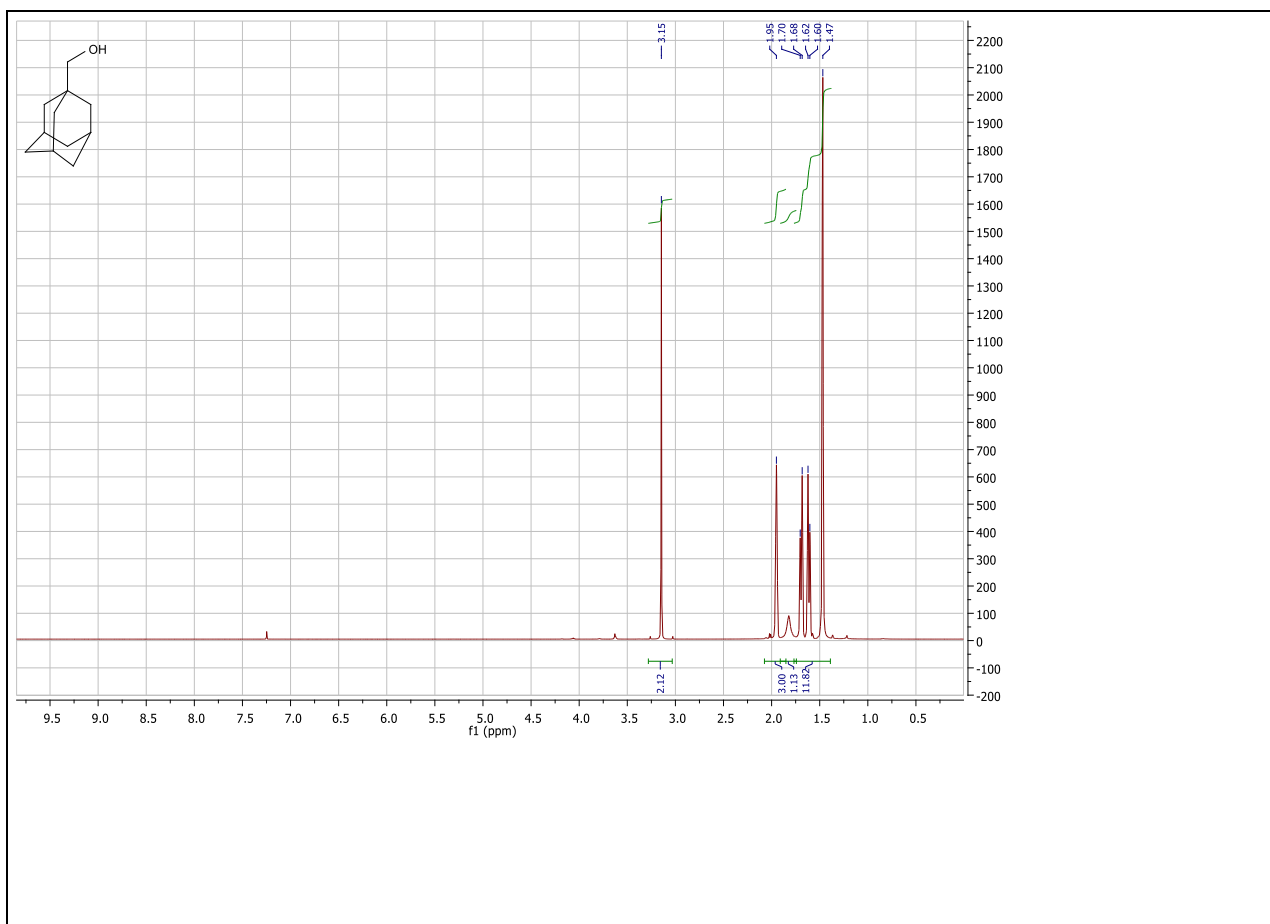


**Εικόνα 10.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης 5-(3,5-διμεθοξυφαινυλο)-3-(4-μεθοξυφαινυλο)ισοξαζόλιο ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz)

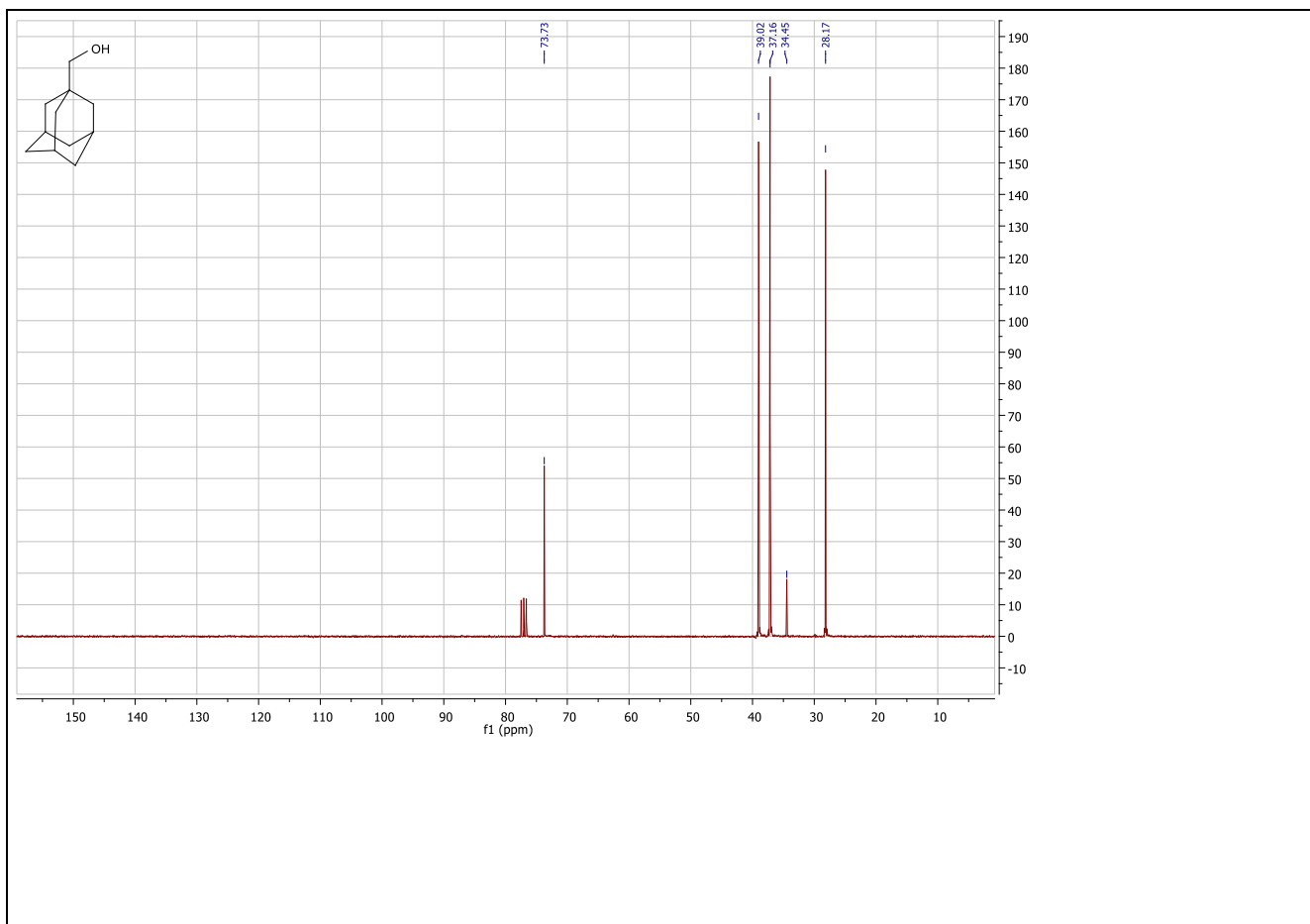


**Β. ΑΝΑΛΟΓΑ ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΩΝ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ Ρ2Χ7  
Η/ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ**

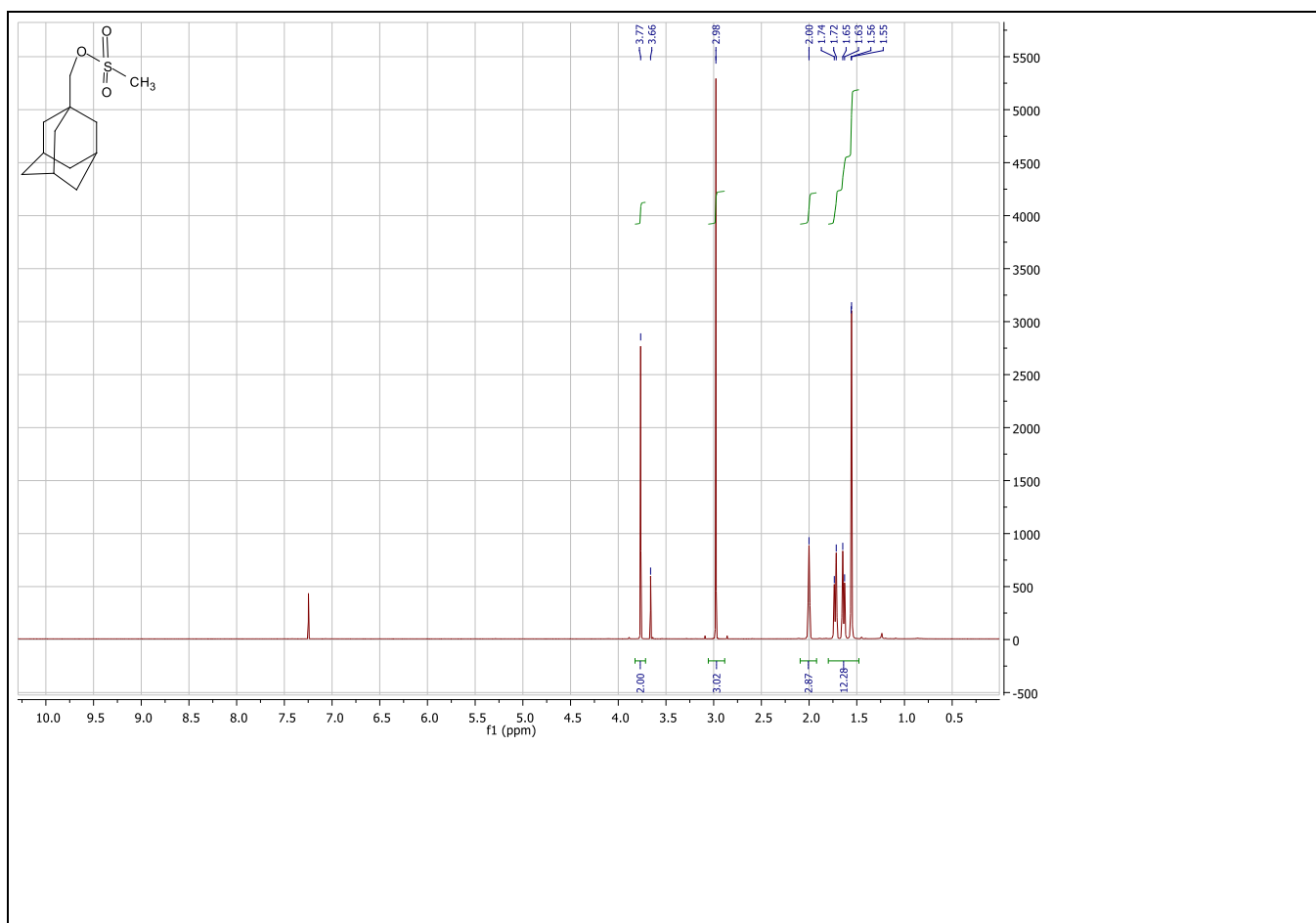
**Εικόνα 11.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης 1-μεθυλο-καρβοξυλικο-αδαμαντάνιο ( $\text{CDCl}_3$ , 600MHz)



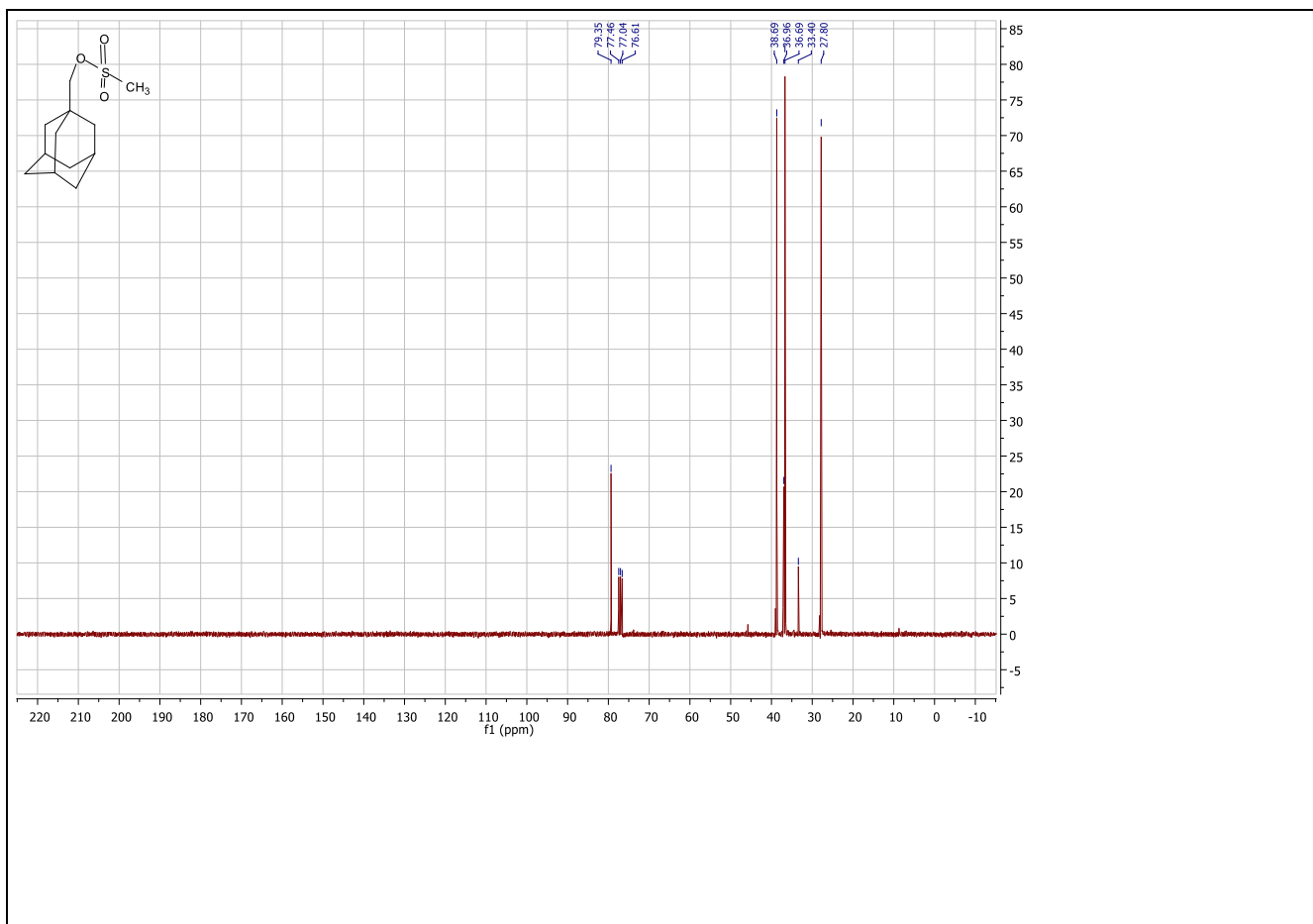
Εικόνα 12. Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης 1-αδαμαντανομεθανόλη ( $\text{CDCl}_3$ , 600MHz)



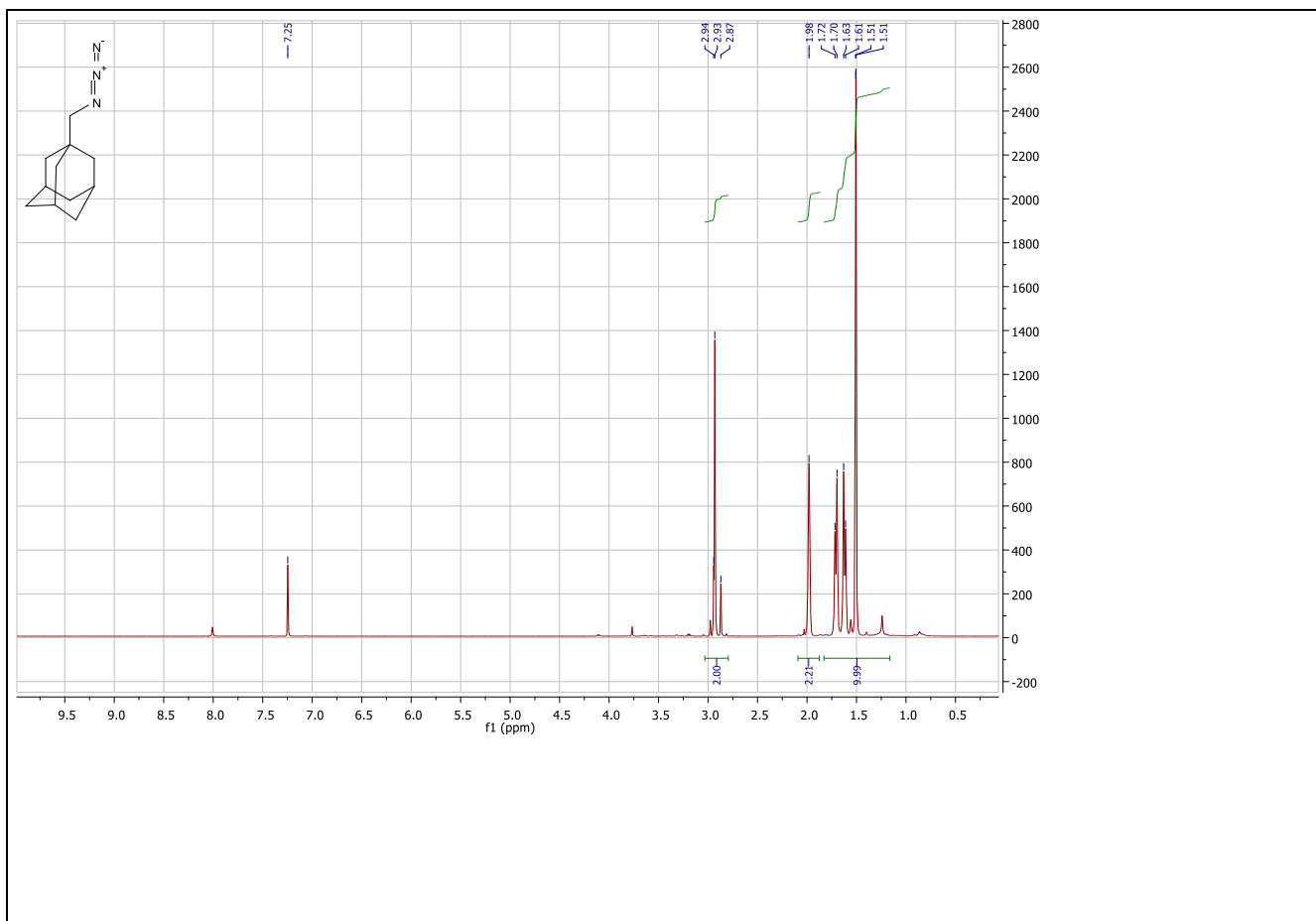
**Εικόνα 13.** Φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR της ένωσης 1-αδαμαντανομεθανόλη ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz)



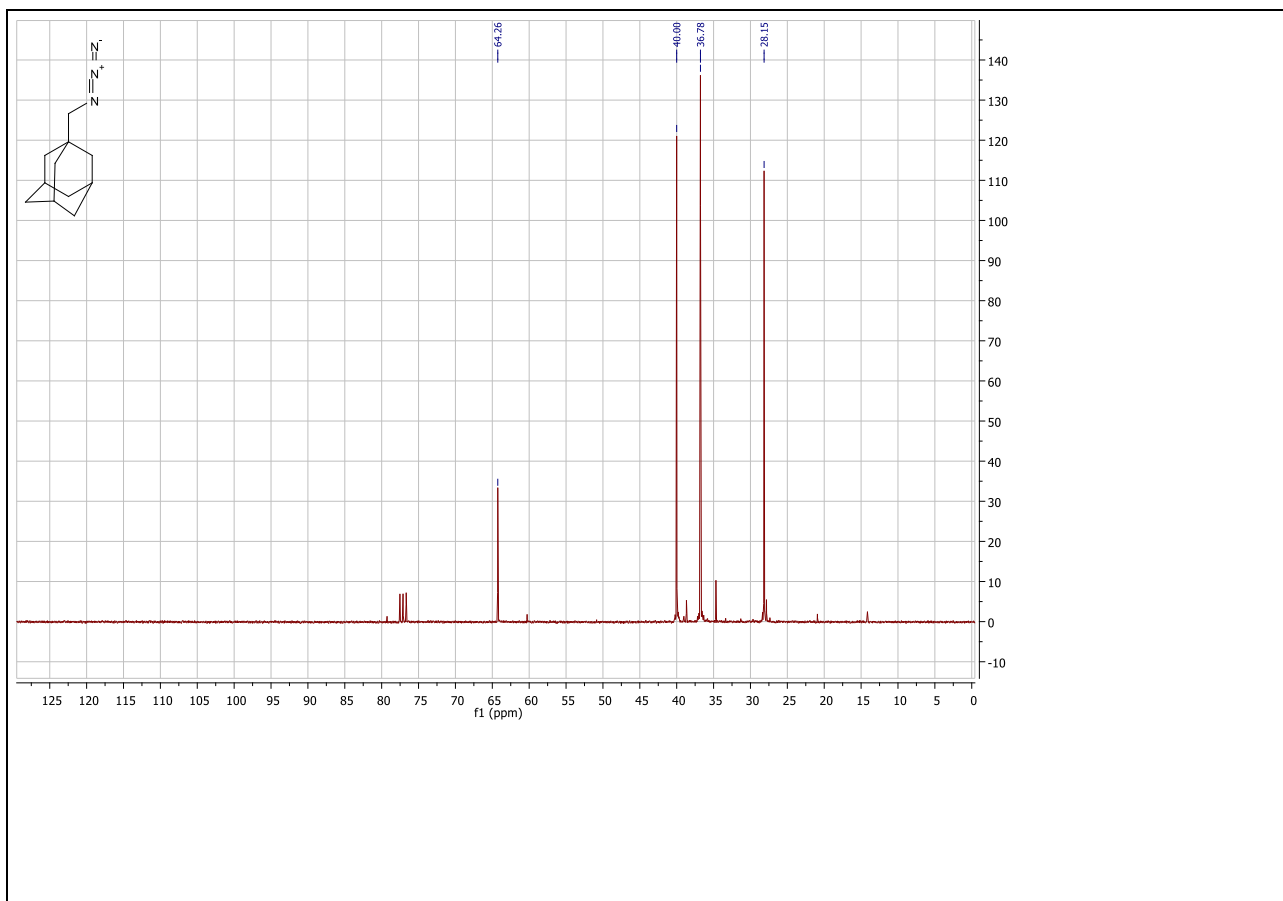
Εικόνα 14. Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης μεθανοσουλφονικό αδαμανταν-1-υλομέθυλο ( $\text{CDCl}_3$ , 600MHz)



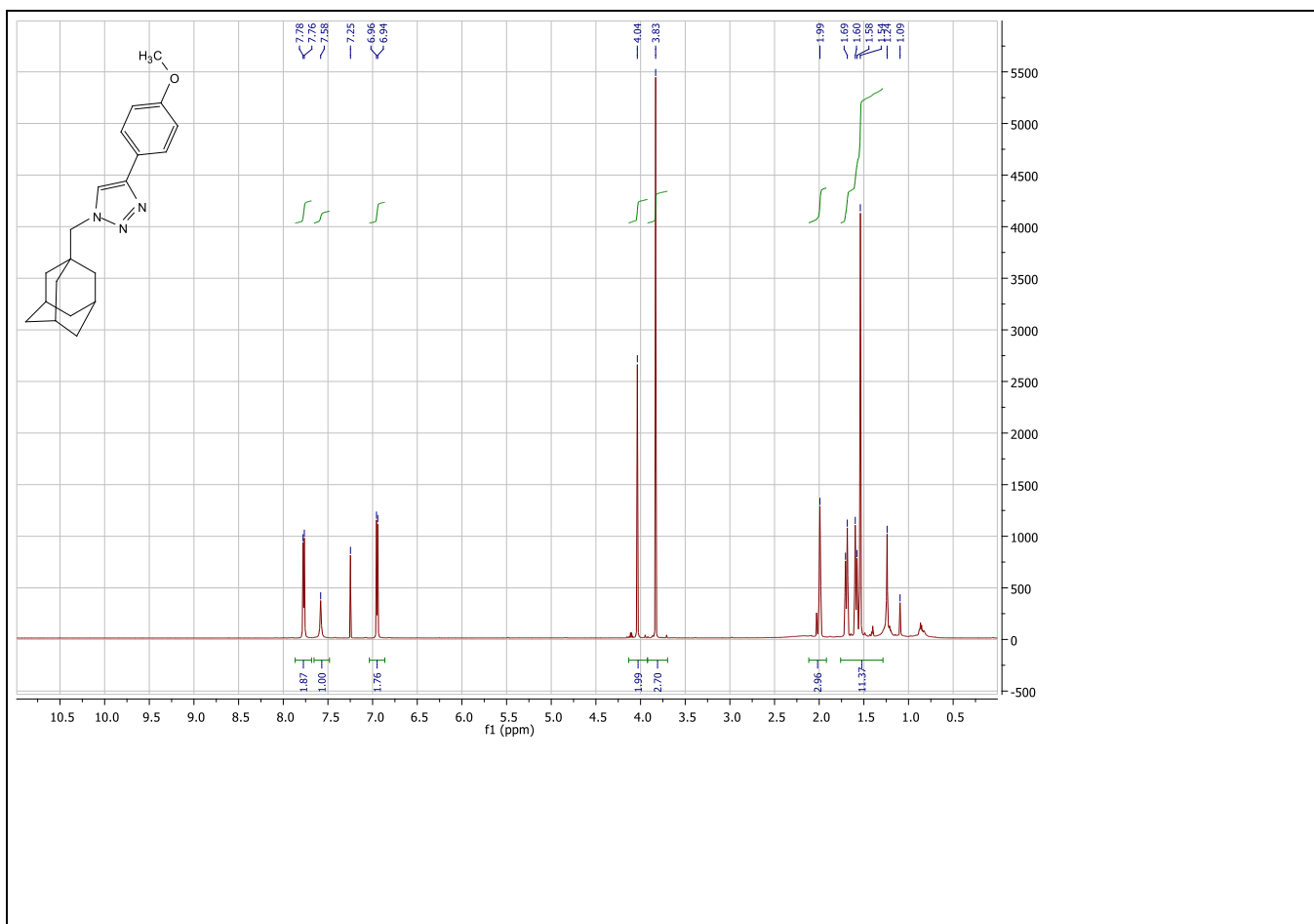
**Εικόνα 15.** Φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR της ένωσης μεθανοσουλφονικό αδαμανταν-1-υλομέθυλο ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz)



Εικόνα 16. Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης 1(αζιδομεθυλ)αδαμαντάνιο ( $\text{CDCl}_3$ , 600MHz)

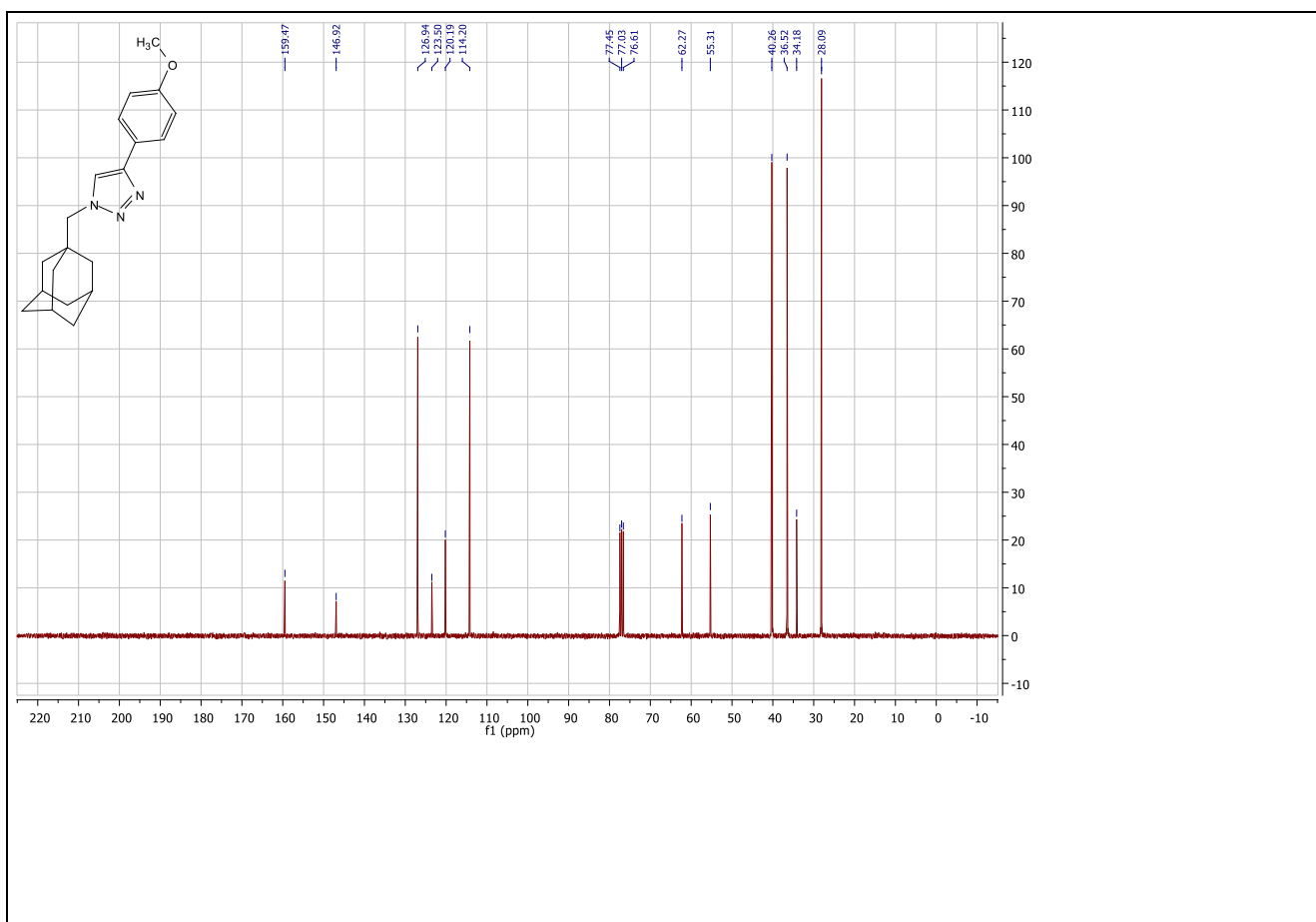


Εικόνα 17. Φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR της ένωσης 1(αζιδομεθυλ)αδαμαντάνιο ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz)

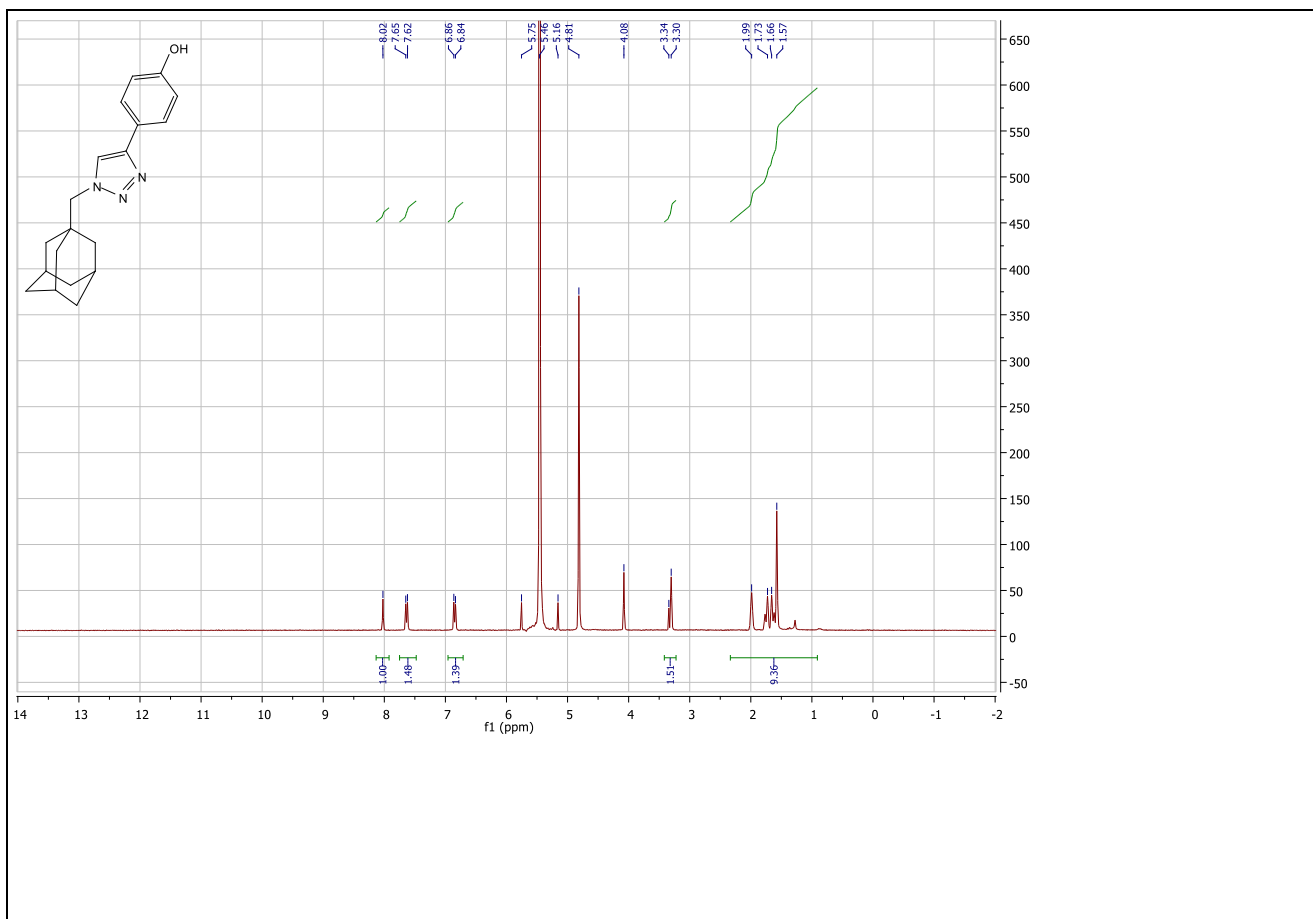


Εικόνα 18. Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης 1-(((3R, 5R, 7R)-αδαμανταν-1-υλ)μεθυλ)-4-(4-μεθοξυφαινυλο)-1H-1,2,3-τριαζόλιο ( $\text{CDCl}_3$ , 600MHz)

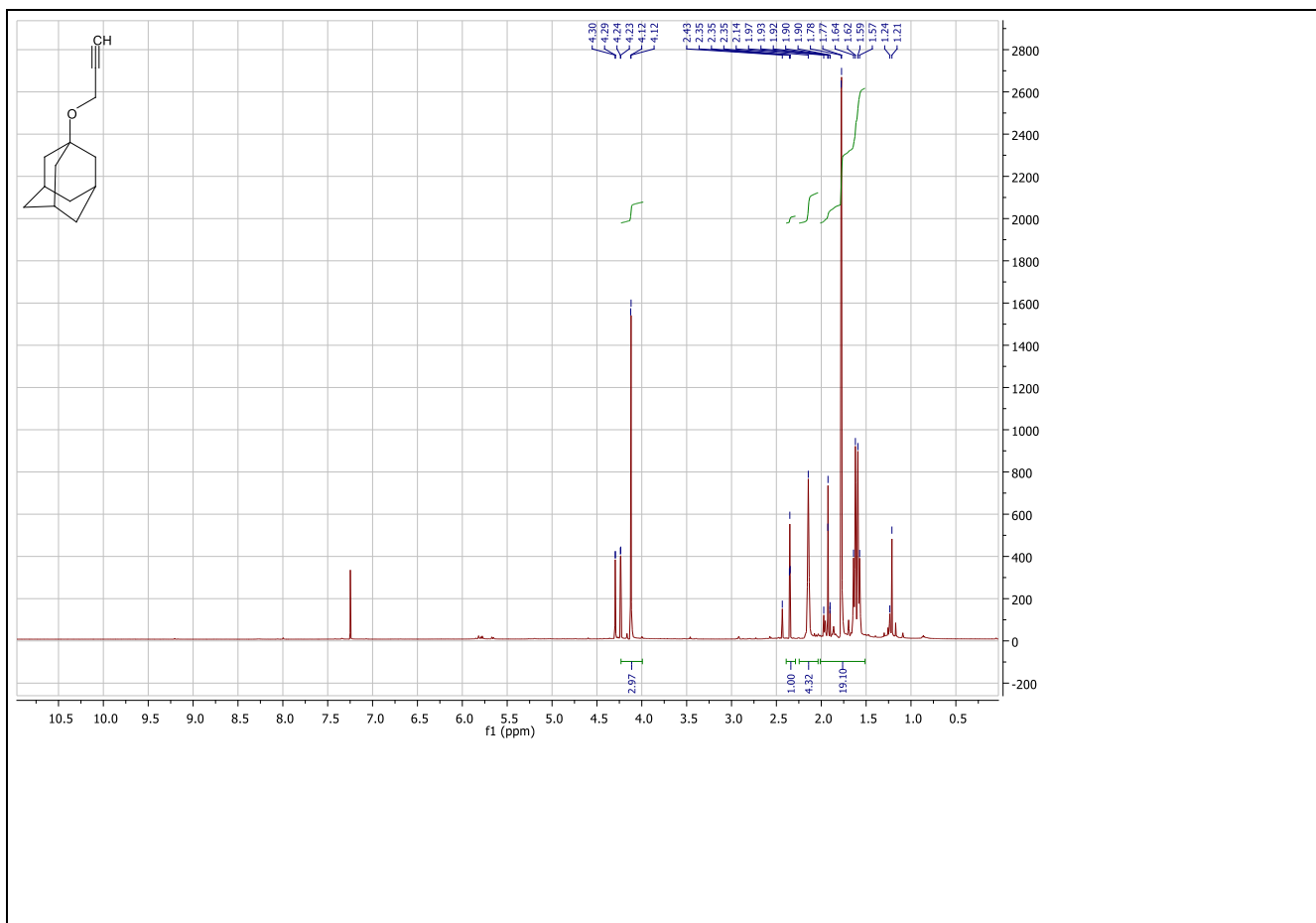




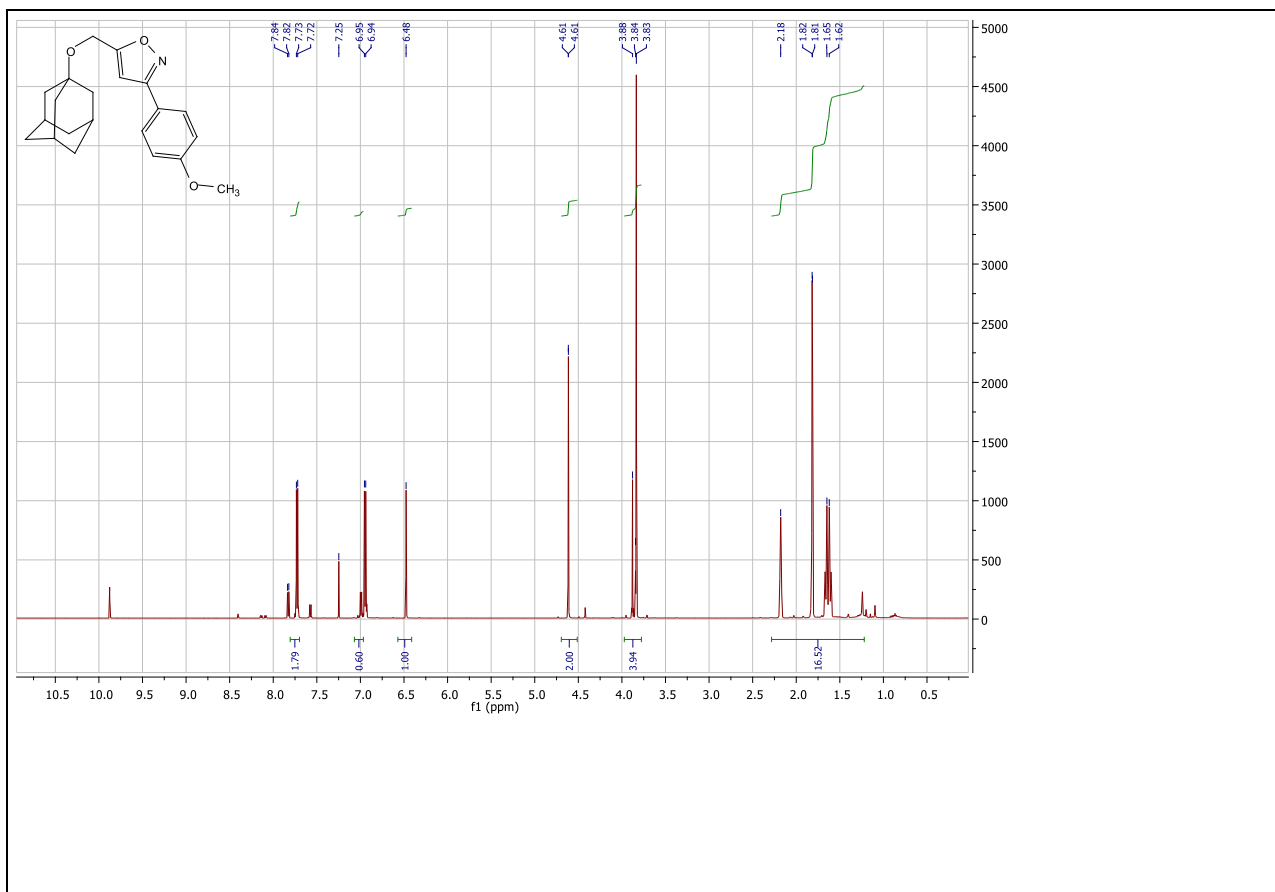
**Εικόνα 19.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης 1-(((3R, 5R, 7R)-αδαμανταν-1-υλο)μεθυλο)-4-(4-μεθοξυφαινυλο)-1H-1,2,3-τριαζόλιο ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz)



**Εικόνα 20.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης  
4-(1-(((3R, 5R, 7R)-αδαμανταν-1-υλο)μεθυλο)-1H-1,2,3-τριαζολ-4-υλ)φαινόλη (MeOD, 600MHz)

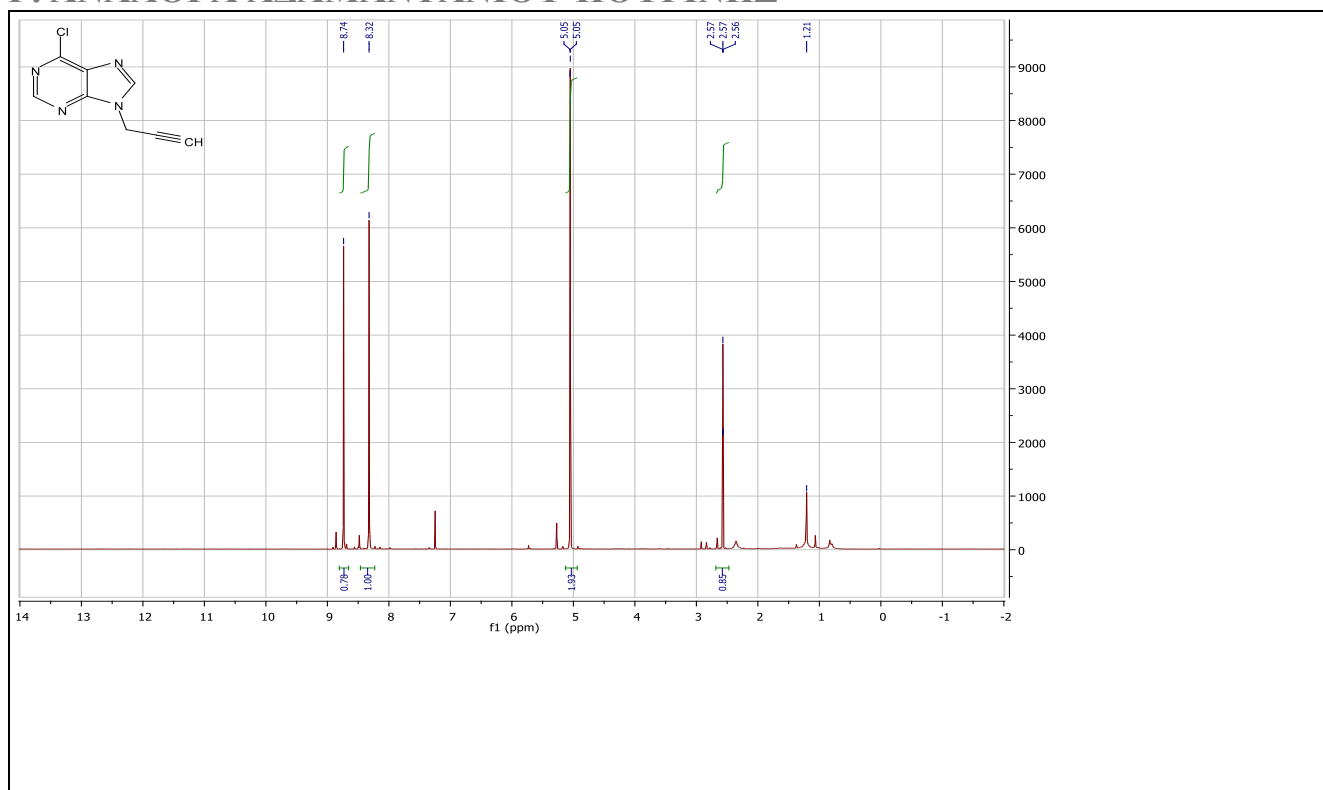


**Εικόνα 21.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης 1-αδαμαντυλο-προπαργυλο-αιθέρας ( $\text{CDCl}_3$ , 600MHz)

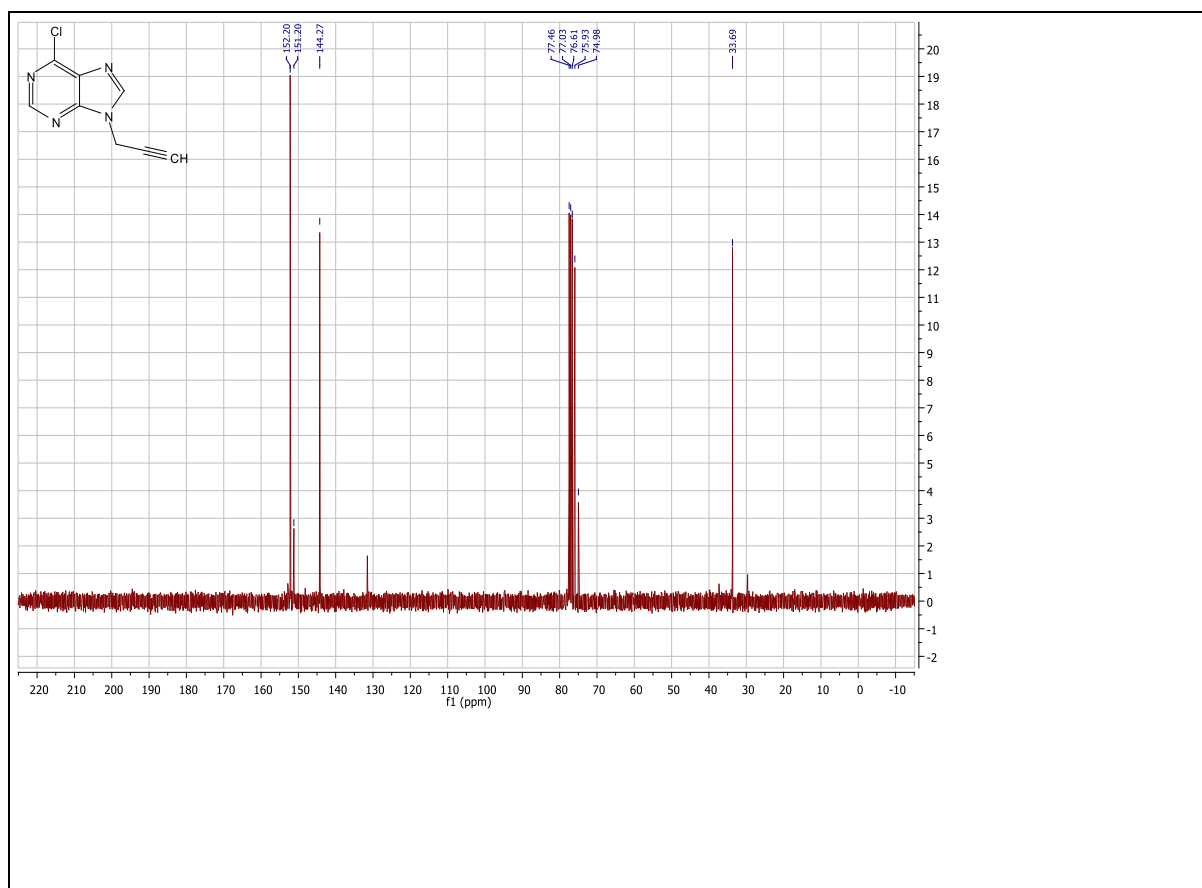


**Εικόνα 22.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης 5-(((3S, 5S, 7S)-αδαμανταν-1-υλ)οξυ)μεθυλ)-3-(4-μεθοξυφαινυλ)ισοξαζόλιο ( $\text{CDCl}_3$ , 600MHz)

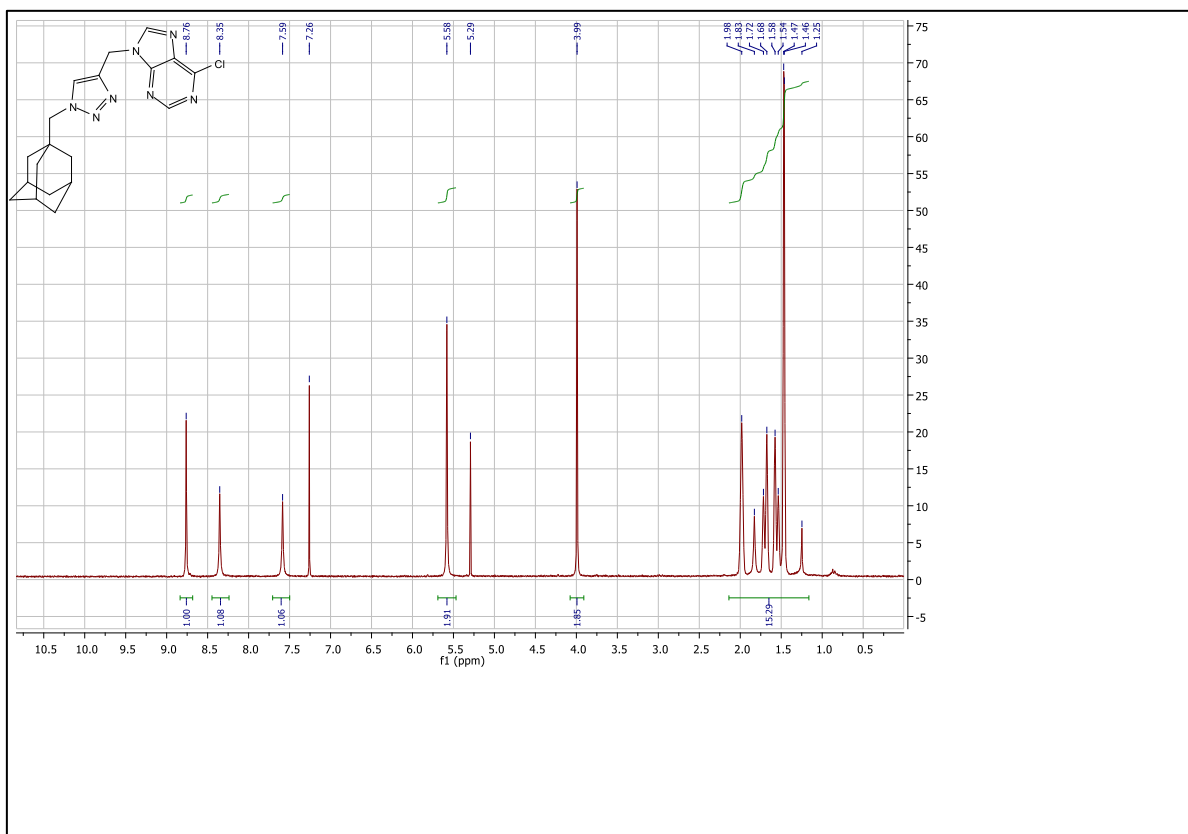
## Γ. ΑΝΑΛΟΓΑ ΑΔΑΜΑΝΤΑΝΙΟΥ-ΠΟΥΡΙΝΗΣ



Εικόνα 23. Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης 6-χλωρο-9-(προπ-2-υνυλ)-9H-πουρίνη ( $\text{CDCl}_3$ , 600MHz)

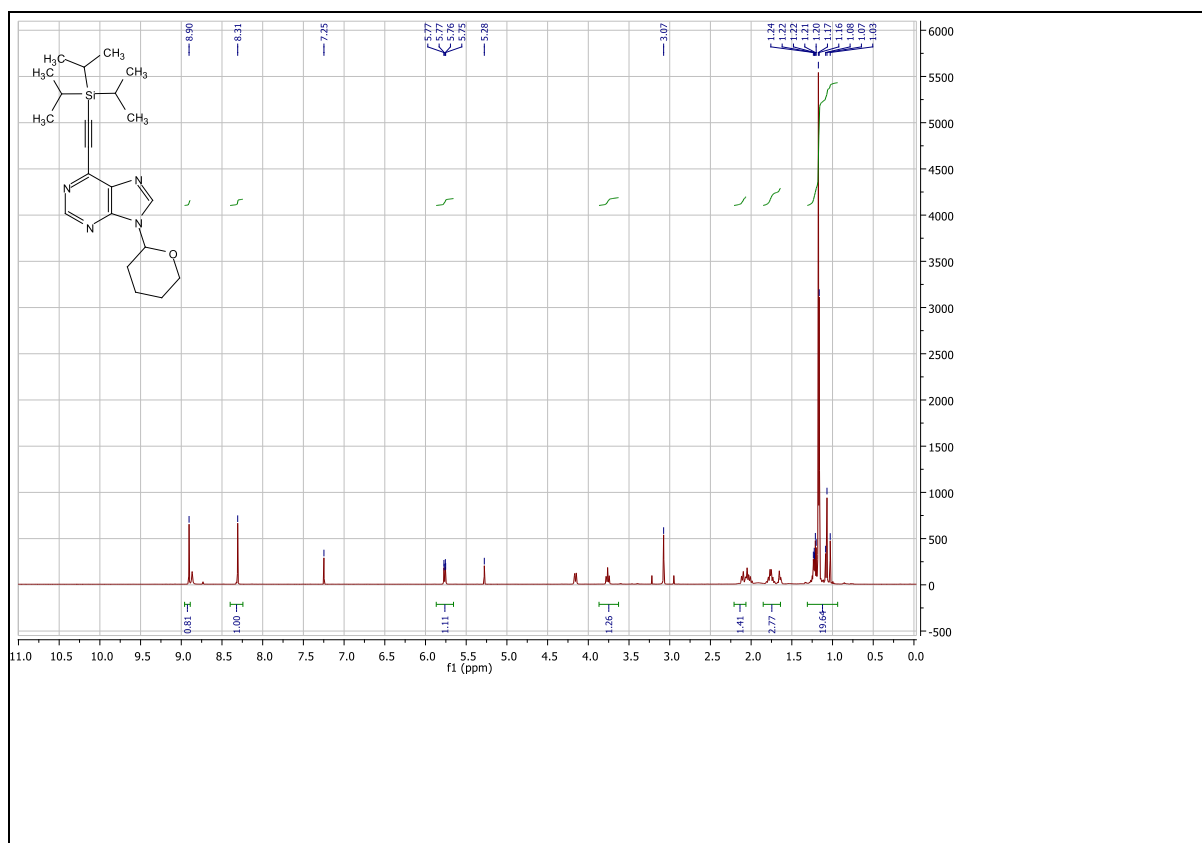


Εικόνα 24. Φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR της ένωσης 6-χλωρο-9-(προπ-2-υνυλ)-9H-πουρίνη ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz)



**Εικόνα 25.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης 9-[1-(αδαμαντυλο-1-μεθυλο)-4-τριαζολο-μεθυλο]-6-χλωρο-πυρίνη ( $\text{CDCl}_3$ , 600MHz)

## Δ. ΑΛΚΙΝΙΟ ΜΕ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ SONOGASHIRA



**Εικόνα 26.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης 9-(τετραϋδρο-2H-πυραν-2-υλ)-6-((τρισοπροπυλσιλυλ)αιθυνυλ)-9H-πουρίνη ( $\text{CDCl}_3$ , 600MHz)