



**«Σύνθεση οργανικών ενώσεων με πιθανή φαρμακευτική δράση και  
αξιολόγηση βιολογικών ιδιοτήτων τους»**

---

*Διπλωματική Εργασία*

**Τσελώνης Δημήτριος**

**Υπεύθυνος Καθηγητής**

Τσόπελας Φώτιος, Επίκουρος Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας

**Αθήνα, 2020**



Στο κορίτσι που γνώρισα εδώ

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας, καθώς και στο Εργαστήριο Ανόργανης και Αναλυτικής Χημείας της σχολής των Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, κατά το ακαδημαϊκό έτος 2019-20, υπό την επίβλεψη της Δρ. Αναστασίας Δέτση, Αναπληρώτριας Καθηγήτριας Ε.Μ.Π. και του Δρ. Φώτιου Τσόπελα, Επίκουρου Καθηγητή Ε.Μ.Π., τους οποίους θα ήθελα να ευχαριστήσω για την ευκαιρία που μου έδωσαν να ασχοληθώ με ένα τόσο ενδιαφέρον και πρωτοποριακό θέμα που με κέρδισε από την πρώτη στιγμή. Επίσης, τους ευχαριστώ βαθύτατα για την βοήθεια και την υποστήριξη που μου παρείχαν καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της διπλωματικής εργασίας.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να αποδώσω και στον κ. Ανδρέα Ανδρεόπουλο, Καθηγητή Ε.Μ.Π., για τη συμμετοχή του στην τριμελή εξεταστική επιτροπή και τον χρόνο που διέθεσε για την κριτική ανάγνωση της εργασίας μου.

Ένα επίσης μεγάλο ευχαριστώ από καρδιάς αξίζει στην Ιωάννα Κωστοπούλου, υποψήφια διδάκτορα του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας Ε.Μ.Π. για την συνεχή στήριξη και βοήθεια που μου προσέφερε καθημερινά, σε όλη τη διάρκεια εκπόνησης της εργασίας μου. Με τις γνώσεις και την επιστημονική της εμπειρία, αποτέλεσε αρωγό σε οποιοδήποτε πρόβλημα κι αν προέκυπτε και κυρίως στην ανάπτυξη μιας άψογης συνεργασίας.

Ακόμη, οφείλω να ευχαριστήσω όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας Ε.Μ.Π. για την αρμονική συνεργασία και το πάντα ευχάριστο κλίμα που υπήρχε.

Τέλος, ευχαριστώ θερμά την οικογένεια μου και το κοντινό φιλικό μου περιβάλλον για τη συμπαράσταση, την υπομονή και την αγάπη τους όλα τα χρόνια των σπουδών μου στο Ε.Μ.Π.



## Πίνακας περιεχομένων

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	3
ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	7
ABSTRACT .....	9
1. Θεωρητικό Μέρος .....	11
1.1. Κινολινόνες.....	11
1.1.1. Γενικά περί Κινολινονών .....	11
1.1.2. Βιολογική Δράση .....	12
1.1.3. Συσχέτιση Δομής και Αντιμικροβιακών Ιδιοτήτων των Κινολινονών .....	20
1.1.4. Γενικές Μέθοδοι Σύνθεσης Κινολινονών .....	23
1.2. Σύνθεση μέσω Μικροκυματικής Ακτινοβολίας.....	27
1.3. Φάρμακα <sup>(32)</sup> .....	30
1.3.1. Μια Ιστορική Αναδρομή.....	30
1.3.2. Σχεδιασμός Νέων Φαρμάκων .....	31
1.3.3. Ανάπτυξη Νέων Φαρμάκων και Στοιχεία Στατιστικής .....	32
1.3.4. Έννοιες της Φαρμακολογίας .....	34
1.3.5. Εξεταζόμενες Παράμετροι κατά τον Σχεδιασμό Φαρμάκων .....	35
1.3.6. Ο Κανόνας των 5 (Rule of 5, Ro5) .....	46
1.4. Βιομηχανική Χρωματογραφία.....	48
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ .....	49
2. Σχεδιασμός, Σύνθεση και Ταυτοποίηση Νέων Φαρμακομορίων .....	50
2.1. Σχεδιασμός και Σύνθεση N-υποκατεστημένης-3-μεθυλοκαρβονυλο-4-υδροξυ-κινολινόνης.....	50
2.1.1. N-ακυλίωση Ισατοϊκού Ανυδρίτη .....	50
2.1.2. C-ακυλίωση Μηλονικού Διμεθυλεστέρα .....	50
2.2. Σχεδιασμός και Σύνθεση 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-κινολινόνης .....	51
2.2.1. Ακετυλίωση Ανθρανλικού Οξέος .....	51
2.2.2. C-ακυλίωση του Ακετοξικού Αιθυλεστέρα.....	51
2.2.3. Κυκλοποίηση του προϊόντος της C-ακυλίωσης.....	51
2.3. Μηχανισμοί Αντιδράσεων.....	52
2.3.1. Μηχανισμός N-ακυλίωσης Ισατοϊκού Ανυδρίτη .....	52
2.3.2. Μηχανισμός C-ακυλίωσης Μηλονικού Διμεθυλεστέρα .....	52
2.3.3. Μηχανισμός Ακετυλίωσης Ανθρανλικού Οξέος.....	53
2.3.4. Μηχανισμός C-ακυλίωσης Ακετοξικού αιθυλεστέρα .....	54

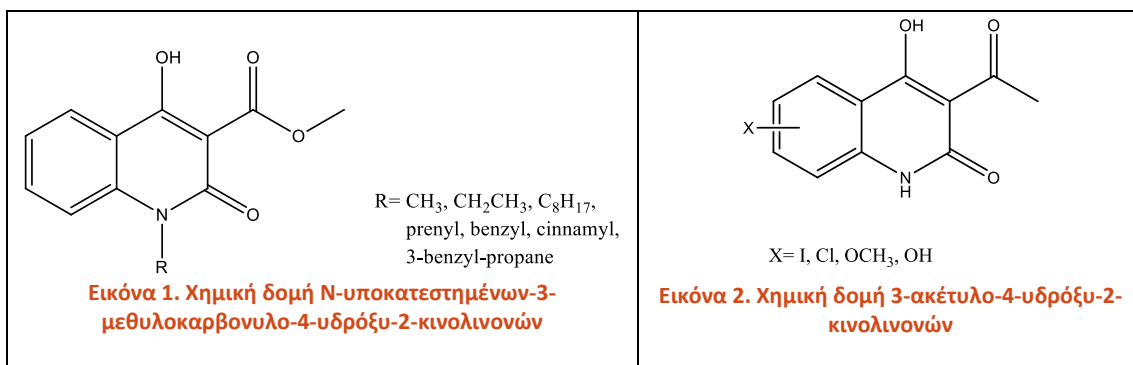
2.3.5.	Μηχανισμός Κυκλοποίησης Ενδιάμεσου Προϊόντος .....	54
2.4.	Ταυτοποίηση Ενώσεων .....	55
2.4.1.	Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR) .....	55
2.4.2.	Φασματομετρία Υπερύθρου (IR).....	59
3.	Πειραματικό Μέρος .....	63
3.1.	Όργανα και Συσκευές.....	63
3.2.	Γενική Πορεία Σύνθεσης Κινολινονών .....	65
3.2.1.	Γενική μέθοδος σύνθεσης N-υποκατεστημενων-3-μεθυλοκαρβονυλο-4-υδροξυ-2-κινολινονών .....	65
3.2.2.	Γενική μέθοδος σύνθεσης 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-κινολινόνης .....	75
3.3.	Πρόβλεψη Λιποφιλίας και Ιοντισμού των Νέων Ενώσεων.....	85
3.4.	Παρασκευή Διαλύτη Κινητής Φάσης .....	86
3.5.	Καταμέτρηση Χρόνου Έκλουσης των Νέων Ενώσεων .....	87
4.	Αποτελέσματα, Συζήτηση & Επεξεργασία .....	89
4.1.	Φασματοσκοπική Μελέτη Κινολινονικών Αναλόγων .....	89
4.1.1.	Ανάλυση Φασμάτων Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού Πρωτονίου ( <sup>1</sup> H NMR) .....	89
4.1.2.	Ανάλυση Φασμάτων Υπερύθρου Μετασχηματισμού Fourier .....	96
4.2.	Αποτελέσματα Υπολογισμών των Βιομημητικών Χρωματογραφικών Ιδιοτήτων των Κινολινονικών Αναλόγων .....	97
4.3.	Πρόβλεψη Φαρμακοκινητικών Ιδιοτήτων με Χρήση των Αποτελεσμάτων της Βιομημητικής Χρωματογραφίας .....	100
	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....	102
	ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ .....	104
5.	Βιβλιογραφία.....	105
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΑΣΜΑΤΩΝ.....	112
	ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	124
	ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΣΧΗΜΑΤΩΝ.....	125

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι κινολιόνες είναι αζωτούχες ετεροκυκλικές ενώσεις που απαντώνται στη φύση, αλλά χάρη στις ευεργετικές και θεραπευτικές τους ιδιότητες χρησιμοποιούνται ευρύτατα και ως δραστικές ουσίες φαρμάκων. Αν και η δράση τους είναι κυρίως αντιμικροβιακή, οι κινολιόνες είναι δεκτικές σε πληθώρα χημικών τροποποιήσεων, παρέχοντας έτσι τη δυνατότητα εμπλουτισμού και ενίσχυσης της βιολογικής και φαρμακευτικής δράσης τους.

Η φύση της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι διττή, αφού σε πρώτη φάση πραγματοποιήθηκε ο σχεδιασμός, η σύνθεση και η ταυτοποίηση ορισμένων νέων κινολινονικών αναλόγων, ενώ σε δεύτερη φάση ακολούθησε η μελέτη των φαρμακοκινητικών και βιομμητικών ιδιοτήτων τους, μέσω εφαρμογής υγρής χρωματογραφίας, για την διαπίστωση της ικανότητας χρήσης τους ως δραστικές φαρμάκων. Είναι μόλις η πρώτη φορά που την σύνθεση των κινολινονών διαδέχεται η φαρμακοκινητική και βιομμητική μελέτη τους, γεγονός που καθιστά το θέμα που πραγματεύεται η διπλωματική εργασία νέο και πρωτοποριακό.

Για το σκοπό αυτό συντέθηκαν σε σχετικά χαμηλές αποδόσεις 7 μόρια N-υποκατεστημένων-3-μεθυλοκαρβονυλο-4-υδροξυ-2-κινολινονών (εικόνα 1) και 5 μόρια 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-κινολινονών (εικόνα 2), μέσα από μια σειρά δύο και τριών αντιδράσεων αντίστοιχα.



Συγκεκριμένα τα στάδια αυτά για την 1<sup>η</sup> σειρά ήταν τα εξής:

- N-αλκυλίωση του Ισατοϊκού Ανυδρίτη
- C-ακυλίωση του Μηλονικού Διμεθυλεστέρα

ενώ για την 2<sup>η</sup>:

- Ακετυλίωση Ανθρανλικού Οξέος
- C-ακυλίωση του Ακετοξικού Εστέρα
- Κυκλοποίηση του ενδιάμεσου προϊόντος της C-ακυλίωσης

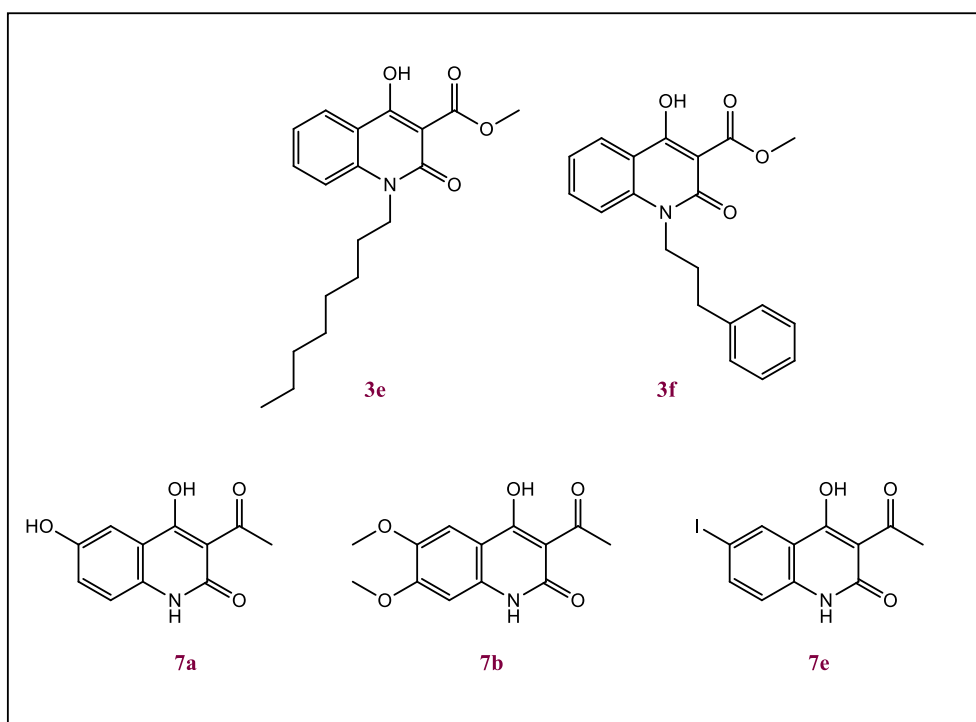
Οι παραπάνω αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν συμβατικά, σε λουτρά θέρμανσης, με εξαίρεση την Ακετυλίωση του Ανθρανλικού Οξέος, η οποία έλαβε χώρα σε θάλαμο



μικροκυματικής ακτινοβολίας με στόχο τη βελτίωση της συνθετικής πορείας, γεγονός που συνηγορεί υπέρ της πρωτοπορίας του εν λόγω θέματος.

Για την ταυτοποίηση της χημικής δομής όλων των συντιθέμενων μορίων πραγματοποιήθηκε τόσο με Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού Πρωτονίου ( $^1\text{H}$  NMR) όσο και με Φασματοσκοπία Υπερύθρου Μετασχηματισμού Fourier (FT-IR).

Η μελέτη των φαρμακοκινητικών και βιομιμητικών ιδιοτήτων μέσω υψηλής απόδοσης υγρή χρωματογραφία έγινε με χρήση στήλης ακινητοποιημένων τεχνητών μεμβρανών (IAM). Παρατηρήθηκε ο χρόνος έκλουσης των ουσιών με στόχο την ανεύρεση του συντελεστή κατακράτησης των συντιθέμενων μορίων από τις μεμβράνες και κατ' επέκταση την πρόβλεψη του ποσοστού απορρόφησής τους στην εκ του στόματος πρόσληψη (%HOA), με τα αποτελέσματα που προέκυψαν να κρίνονται ενθαρρυντικά. Οι κινολίνες με τις πιο ευνοϊκές φυσικοχημικές και φαρμακοκινητικές ιδιότητες ήταν οι εξής:

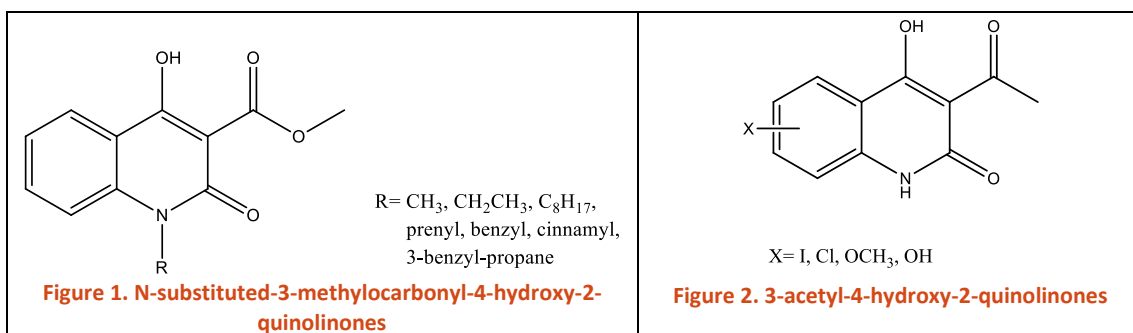


## ABSTRACT

Quinolinones are heterocyclic nitrogen compounds, mainly found in natural products but due to their beneficial and healing properties they are widely used as active substances in drugs. Although quinolinones are mainly antimicrobial, they are receptive to a variety of chemical modification and thus they can be enriched in order to achieve biological and pharmaceutical enhancement.

This diploma thesis consists of two main stages. The first stage includes the design, synthesis and identification of some new quinolinone analogs and in the second stage their pharmacokinetic and biomimetic properties were examined, via liquid chromatography for the investigation of their potential use as drug active substances. The fact that the synthesis of quinolinones is followed by a pharmacokinetic and biomimetic research makes this diploma thesis a groundbreaking endeavor.

For this purpose two series of quinolinone analogs were synthesized in relatively low efficiencies. The 1<sup>st</sup> series consists of 7 N-substituted-3-methylcarbonyl-4-hydroxy-2-quinolinones (figure 1) and were synthesized through a two stage reaction and the 2<sup>nd</sup> series consists of 5 3-acetyl-4-hydroxy-2-quinolinones (figure2) that were synthesized through a three stage reaction.



The stages for the 1<sup>st</sup> series were:

- N-alkylation of Isatoic Anhydride
- C-acylation of Dimethyl Malonate

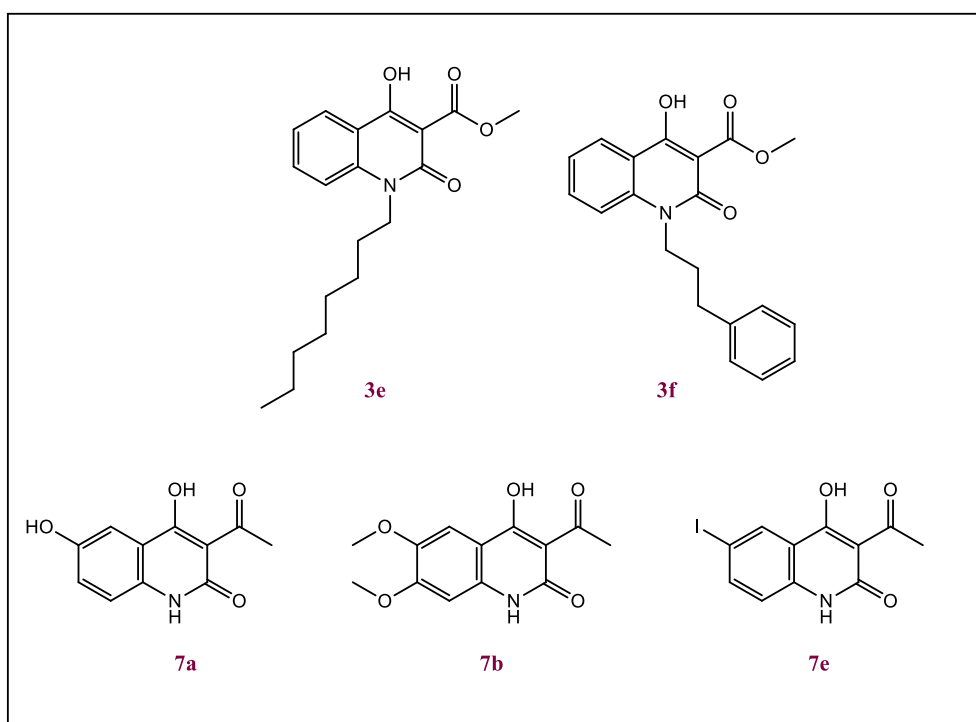
and for the 2<sup>nd</sup> series:

- Acetylation of Anthranilic Acid
- C-acylation of Ethyl Acetoacetate
- Cyclization reaction of the C-acylation product

The aforementioned reactions were executed conventionally, in heated baths, except for the Acetylation of Anthranilic Acid that took place in Microwave Labstation for the efficiency increase.

The identification of the chemical structure of all the analogs synthesized was achieved through Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy ( $^1\text{H}$  NMR) as well as through Fourier-Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR).

The study of pharmacokinetic and biomimetic properties, via reversed phase high performance liquid chromatography was conducted with the use of Immobilized Artificial Membrane (IAM) column. The retention time of the substances was measured in order to calculate the retention coefficient of the synthesized molecules from the membranes and furthermore the prediction of the human oral absorption percentage(%*HOA*), with the results appearing to be promising. The quinolinone analogs that showed the most favorable physicochemical and pharmacokinetic properties are shown below:

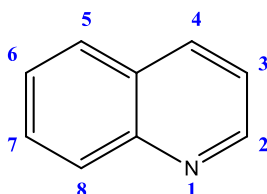


# 1. Θεωρητικό Μέρος

## 1.1.Κινολινόνες

### 1.1.1. Γενικά περί Κινολινονών

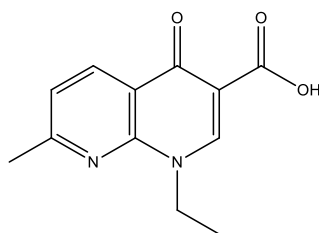
Οι κινολινόνες είναι ετεροκυκλικές αζωτούχες, αρωματικές ενώσεις, αποτελούμενες από δύο συμπυκνωμένους και δομικά παρόμοιους δακτυλίους, το βενζόλιο και την πυριδίνη. Η απλούστερη μορφή κινολινόνης είναι η κινολίνη με μοριακό τύπο  $C_9H_7N$  και δομή όπως παρουσιάζεται ακολούθως (εικόνα 3) (1) (2).



Εικόνα 3. Κινολίνη, η απλούστερη δομή των κινολινονών

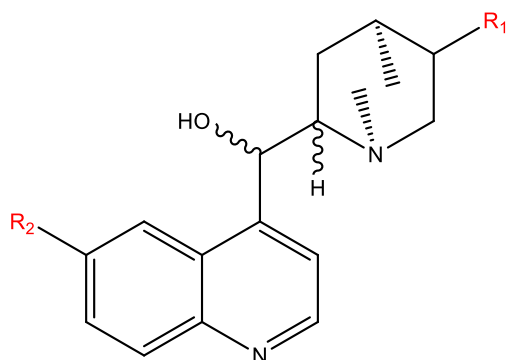
Η κινολίνη είναι ένα άχρωμο και υγροσκοπικό στερεό με έντονη οσμή, ενώ αν και αποτελεί μια ιδιαίτερα σταθερή ένωση, εκτιθέμενη στο φως αποκτά χρώμα κίτρινο και αργότερα καφέ. Στο νερό είναι εξαιρετικά δυσδιάλυτη, ωστόσο διαλύεται εύκολα στους περισσότερους οργανικούς διαλύτες (3). Παρουσιάζει συντελεστή μερισμού,  $\log P = 2,04$ , ενώ γενικά θεωρείται ασθενής βάση με σταθερά ιοντισμού  $pK_b = 4,85$  και γι' αυτό μαζί με οξέα μπορεί να σχηματίσει άλατα. Στις αντιδράσεις επιδεικνύει συμπεριφορά παρόμοια με αυτή του βενζολίου και τις πυριδίνης, ενώ γενικότερα συμμετέχει τόσο σε αντιδράσεις ηλεκτρονιόφιλης όσο και πυρηνόφιλης υποκατάστασης. Επίσης, χαρακτηρίζεται από μεγάλη βιοδιαθεσιμότητα και είναι μη τοξική για τον άνθρωπο, είτε στην εκ του στόματος πρόσληψη είτε εισπνεόμενη (4).

Ενδιαφέρον παρουσιάζει ότι το πρώτο αντιβιοτικό της οικογένειας των κινολινονών, το ναλιδιξικό οξύ (εικόνα 4), ανακαλύφθηκε από τον George Leshner και την ομάδα του το 1962, όταν ενδιαφέρθηκαν να ταυτοποιήσουν τα παραπροϊόντα κατά τη σύνθεση της χλωροκίνης, η οποία πρόσφατα επέδειξε θετικά αποτελέσματα στην καταπολέμηση της πανδημίας του κορονοϊού την Άνοιξη του 2020 (5) (6). Η ανακάλυψη ουσιαστικά του ναλιδιξικού οξέος αποτέλεσε το έναυσμα για την περαιτέρω διερεύνηση και βελτιστοποίηση των κινολινονών (7).



Εικόνα 4. Ναλιδιξικό οξύ

Έτσι, μέχρι σήμερα έχει διαπιστωθεί πως οι κιολινόνες και παράγωγά τους απαντώνται σε πλήθος φυσικών προϊόντων (αλκαλοειδή φυτά του γένους *Cinchona* και *Rutaceae*) (εικόνες 5 και 6) και φαρμακευτικών ενώσεων, λαμβάνοντας ρόλο σε ένα ευρύ πεδίο βιολογικών και φαρμακολογικών δραστηριοτήτων με δράση εν γένει αντιμικροβιακή, αντική, αντικαρκινική, καθώς και εναντίον πληθώρας ασθενειών (1) (4) (8).



Εικόνα 5. Γενική δομή των αλκαλοειδών της κιχόνης



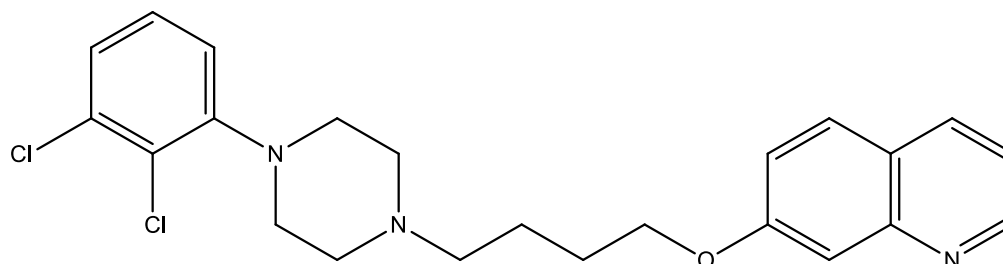
Εικόνα 6. *Cinchona rubescens*

### 1.1.2. Βιολογική Δράση

Γενικότερα οι κιολινόνες διαδραματίζουν ένα σπουδαίο ρόλο στην ανάπτυξη νέων φαρμάκων κατά διαφόρων λοιμώξεων από μικροοργανισμούς, στην καταπολέμηση λοιμωδών νοσημάτων όπως η ελονοσία, αλλά και μολυσματικών όπως η φυματίωση ή/και των συμπτωμάτων τους, όπως η κεφαλαλγία και ο πυρετός, στην αντιμετώπιση του καρκίνου και ιών όπως ο HIV, ενώ τα τελευταία χρόνια διερευνάται και η δράση τους στον τομέα της ψυχιατρικής για νευροψυχιατρικές νόσους και ψυχικές ασθένειες όπως η σχιζοφρένεια και η κατάθλιψη αντίστοιχα.

#### 1.1.2.1. Αντικαταθλιπτική Δράση

Διάφορα κιολινονικά παράγωγα του αντιψυχωτικού Agripiprazole (εικόνα 7) επέδειξαν ενθαρρυντικά αποτελέσματα απέναντι στην κατάθλιψη, σε Forced Swim Test πειράματα που διεξήχθησαν σε ποντίκια. Οι κιολινόνες αυτές παρουσίασαν μεγάλη συγγένεια με τους υποδοχείς D3, της ντοπαμίνη και τους υποδοχείς 5-HT<sub>1A</sub> και 5-HT<sub>2A</sub> της σεροτονίνης (9).

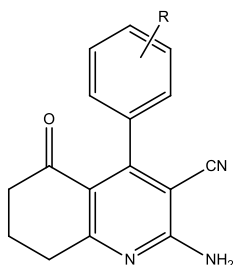


Εικόνα 7. Κιολινονικό Παράγωγο του Agripiprazole με αντικαταθλιπτική δράση

### 1.1.2.2. Αντιμυκητιακή Δράση

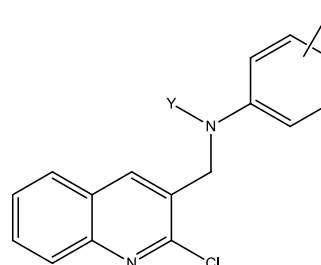
Οι μύκητες είναι ευκαρυωτικοί μονοκύτταροι ή πολυκύτταροι οργανισμοί και διακρίνονται στους μη παθογόνους και τους παθογόνους, οι οποίοι επιβιώνουν παρασιτώντας σε άλλους ζωντανούς οργανισμούς προκαλώντας μυκητιάσεις, οι οποίες δύνανται να αντιμετωπιστούν με φαρμακευτική αγωγή.

Στους τελευταίους ανήκει η *Candida albicans*, η οποία ανάλογα με το όργανο που προσβάλλει, μπορεί να προκαλέσει πνευμονική καντιντίαση, κολπίτιδα ή στοματίτιδα. Σύμφωνα με έρευνες, οι τετραϋδροκινολίνες (εικόνα 8) φέρονται να έχουν αξιόλογη δράση τόσο εναντίον της *Candida albicans*, όσο και άλλων μυκήτων όπως ο *Fusarium oxysporum* και ο *Mucor mucedo*. Επιπρόσθετα, δευτεροταγείς αμίνες που περιέχουν 2-χλωροκινολίνη (εικόνα 9) έχουν αξιολογηθεί επιτυχημένα ως προς τη δράση τους κατά των *Aspergillus niger*, *Monascus purpureus* και *Penicillium citrinum* (10) (11).



R= 4-Cl, 4-F, 3-NO<sub>2</sub>, 4-CH<sub>3</sub>,  
2-Cl, 3,4,5-(OCH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>

Εικόνα 8. Τετραϋδροκινολίνες



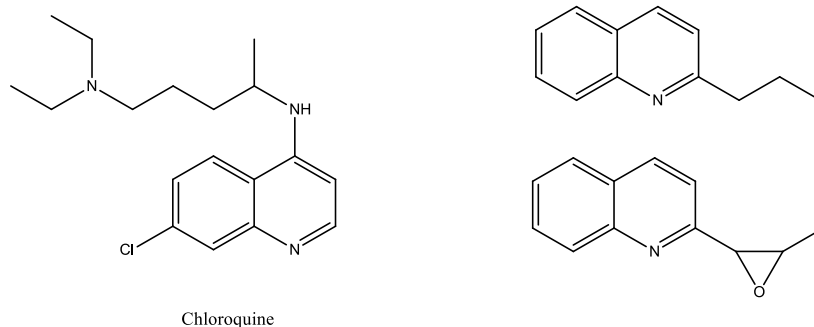
X= F, Cl, Br, CH<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>, Dichloro  
Y= H, CH<sub>3</sub>

Εικόνα 9. Αμίνες με 2-χλωροκινολίνη

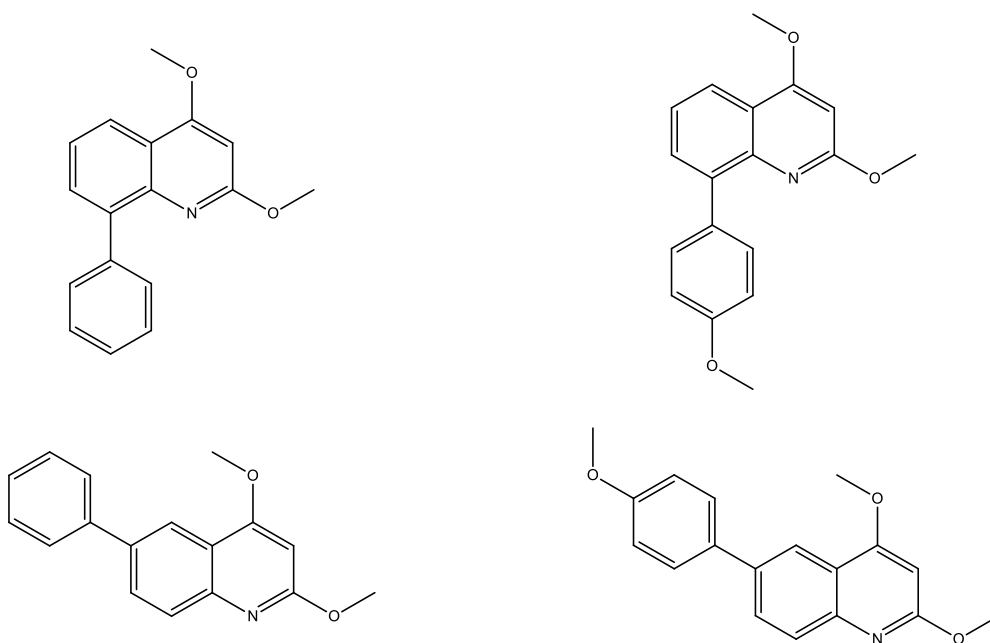
### 1.1.2.3. Αντιπρωτοζωική, Ανθελμινθική και Ανθελονοσιακή Δράση

Τα πρωτόζωα είναι επίσης ευκαρυωτικοί οργανισμοί αλλά μονοκύτταροι. Διακρίνονται και αυτά σε μη παθογόνα και παθογόνα, από τα οποία είναι σκόπιμο να αναφερθούν το πλασμώδιο που προκαλεί την ελονοσία και το τοξόπλασμα που προσβάλλει όργανα όπως οι πνεύμονες και το ήπαρ, ενώ είναι ιδιαίτερα επικίνδυνο για τις εγκύους στις οποίες προκαλεί αποβολή. Επίσης δεν μπορούν να παραληφθούν οι λεισμάνιες, ενδοκυττάρια παράσιτα τα οποία μεταδίδονται μέσω των σκνιπών, προσβάλλοντας κυρίως κατοικίδια ζώα αλλά και τον άνθρωπο, ενώ μια άλλη υποκατηγορία πρωτόζωων είναι οι παρασιτικοί σκώληκες, έλμινθες, που προσβάλλουν το έντερο, προκαλώντας ελμινθίαση.

Οι κινολίνες έχουν να επιδείξουν σπουδαία δράση κατά διαφόρων ειδών λεισμανίασης. Συγκεκριμένα, 2-υποκατεστημένες κινολίνες (εικόνα 10) δρουν τόσο κατά της δερματικής λεισμανίασης, όσο και κατά της σπλαχνικής, ενώ αξιοσημείωτη ανθελμινθική δράση φέρονται να διαθέτουν οι 2,4-αρυλοκινολίνες (εικόνα 11). Επίσης, η δομή της κινολίνης είναι παρούσα και στο γνωστότερο φάρμακο κατά της ελονοσίας, την χλωροκίνη (εικόνα 10) (12) (13).



**Εικόνα 10. Χλωροκίνη και 2-υποκατεστημένες κινολινόνες με αντιπρωτοζωική δράση**



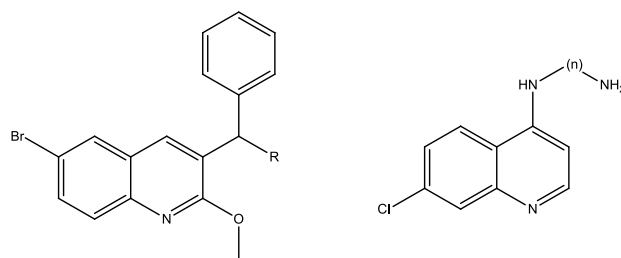
**Εικόνα 11. 2,4-αρυλοκινολινόνες με ανθελμινθική δράση**

#### 1.1.2.4. Αντιβακτηριακή Δράση

Τα βακτήρια είναι προκαρυωτικοί οργανισμοί και σε αντίθεση με τους προαναφερθέντες, εκτός από παθογόνους και μη παθογόνους, διακρίνονται και σε δυνητικά παθογόνους μικροοργανισμούς. Παράδειγμα της τελευταίας κατηγορίας αποτελεί το βακτήριο *Escherichia coli* που ζει στο έντερο και παράγει χρήσιμες χημικές ουσίες που ο άνθρωπος οργανισμός δεν μπορεί να συνθέσει μόνος τους, όπως η βιταμίνη Κ, αποτελώντας έτσι φυσιολογική μικροχλωρίδα για τον άνθρωπο. Αν ωστόσο για οποιονδήποτε λόγο πολλαπλασιαστούν ανεξέλεγκτα ή μεταναστεύσουν σε άλλον ιστό τότε απελευθερώνουν τοξίνες καταστρεπτικές για τα κύτταρα του ξενιστή, προκαλώντας την εκδήλωση ασθενειών.

Μία από τις σημαντικότερες ασθένειες που οφείλεται σε παθογόνα βακτήρια είναι η φυματίωση που προκαλείται από το *Mycobacterium tuberculosis*. Οι 3-βενζυλ-6-βρωμο-2-μεθόξυ κινολινόνες αποδείχθηκαν ιδιαίτερα αποτελεσματικές στην καταπολέμηση του

βακτηρίου αυτού, αλλά και οι 7-χλωροκινολίνες (εικόνα 12) επέδειξαν θετικά αποτελέσματα στην καταπολέμηση πιο ανθεκτικών μορφών του βακτηρίου (14) (15).

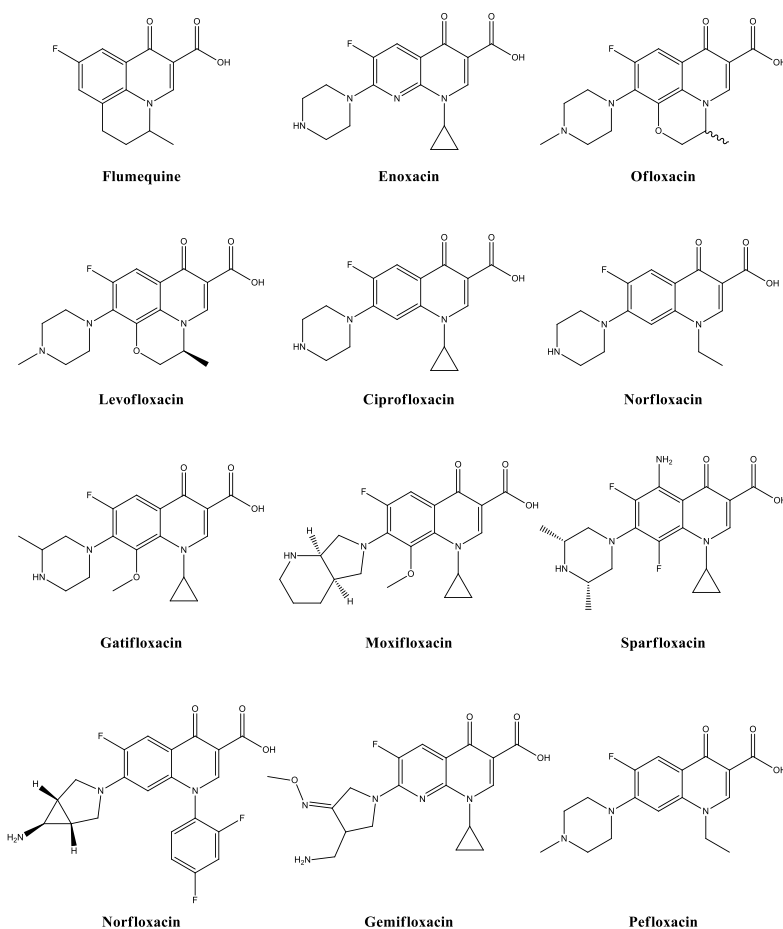


R= Imidazolyl, Pyrazolyl, 1-(3-Trifluoromethyl-phenyl)-piperazinyl, 6-Amino-chromen-2-one

n=8-10

**Εικόνα 12. 3-βενζυλ-6-βρωμο-2-μεθόξυ και 7-χλώρο κινολίνες**

Οι κινολίνες διακόπτουν τη βακτηριακή σύνθεση του DNA, οδηγώντας τα κατ' επέκταση, σε κυτταρική θανάτωση. Πιο συγκεκριμένα, στοχεύουν στην αναστολή της δράσης 2 βακτηριακών ενζύμων, της γυράσης και της τοποϊσομεράσης IV, ένζυμα καθοριστικής σημασίας στο ξετύλιγμα του βακτηριακού DNA και κατ' επέκταση στον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση του βακτηρίου. Ακολούθως δίνονται ορισμένες από τις φθοροκινολίνες που χρησιμοποιούνται ευρύτατα στον τομέα της υγείας για την αντιμετώπιση διαφόρων ασθενειών που οφείλονται σε βακτήρια (εικόνα 13) (16).



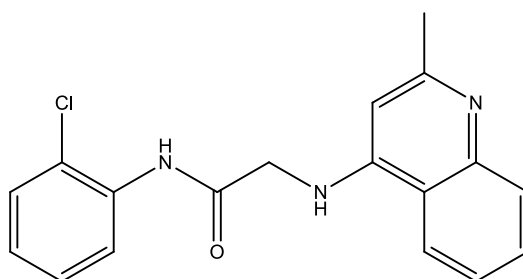
**Εικόνα 13. Φθοροκινολίνες με αντιβακτηριακή δράση**



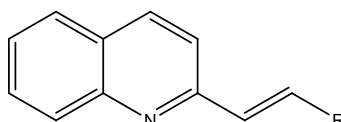
### 1.1.2.5. Αντική Δράση

Τελευταία κατηγορία μικροοργανισμών είναι οι ιοί. Στις ιώσεις περιλαμβάνονται από απλές διαταραχές της υγείας, όπως είναι το κρυολόγημα ή η γρίπη, αλλά και σοβαρότερες, όπως είναι η πολιομυελίτιδα και το AIDS. Οι ιοί εξασφαλίζουν από τον ξενιστή τους μηχανισμούς αντιγραφής, μεταγραφής και μετάφρασης, καθώς και τα περισσότερα ένζυμα που τους είναι απαραίτητα για τις λειτουργίες αυτές, γι' αυτό και οι ιοί αποτελούν υποχρεωτικά κυτταρικά παράσιτα.

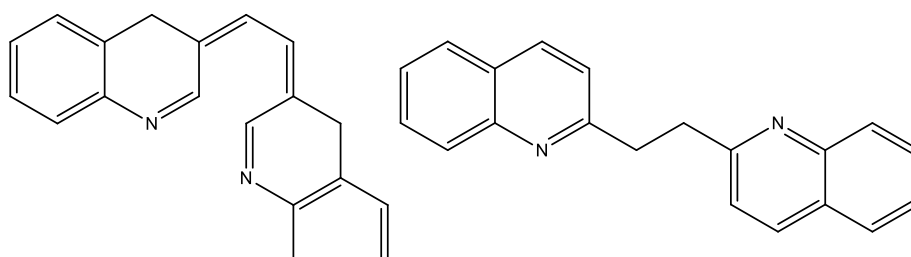
Στην αντιμετώπιση του ιαπωνικού ιού της εγκεφαλίτιδας, καλή δράση φέρεται σε έρευνες που πραγματοποιήθηκαν, να είχε η ανιλιδοκινολιόνη (εικόνα 14) (17). Επιπρόσθετα, ενθαρρυντικά ήταν τα αποτελέσματα όσον αφορά την αναστολή της δράσης του ιού HIV-1 από ορισμένες μονο- και πολυ-υποκατεστημένες κινολίνες οι οποίες παρουσιάζονται παρακάτω (εικόνα 15) (18).



Εικόνα 14. Ανιλιδοκινολιόνη



R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>, C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>



Εικόνα 15. Κινολίνες με ανασταλτική δράση στον ιό 1-HIV

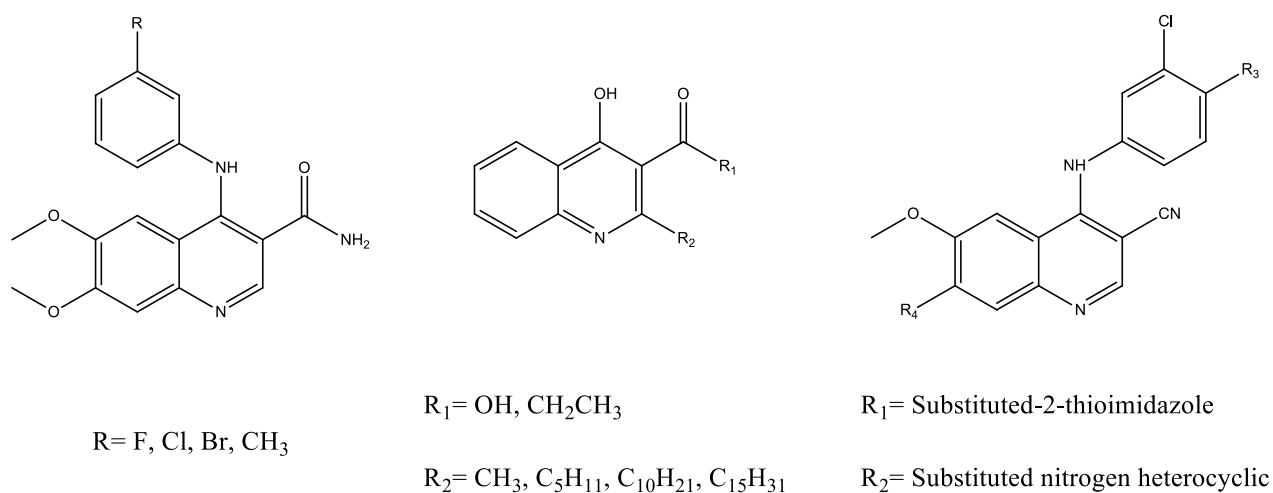
### 1.1.2.6. Αντικαρκινική Δράση

Ο καρκίνος ανήκει στην κατηγορία των σθενειών που σχετίζονται με την αφύσικη κυτταρική ανάπτυξη και τη δημιουργία κακοηθών όγκων που μπορεί να εμφανιστούν σε οποιονδήποτε από τους ιστούς του οργανισμού κ έχουν την τάση να επανεμφανίζονται

μετά από κάθε αφαίρεσή τους, αλλά και να δημιουργούν μεταστάσεις σε γειτονικούς ιστούς και όργανα.

Πολλά ανάλογα μόρια της κινολινόνης έχουν αποδειχθεί να έχουν σημαντική αντινεοπλαστική δράση, περιορίζοντας ή και αποτρέποντας λειτουργίες διαφόρων πρωτεϊνών και ενζύμων όπως η CSF1R (Colony stimulating factor 1 receptor) και τα HATs (Histone acetyltransferases), που είναι υπεύθυνα για την έκφραση των γονιδίων και κατ' επέκταση για τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων όταν η εύρυθμη λειτουργία τους διαταράσσεται.

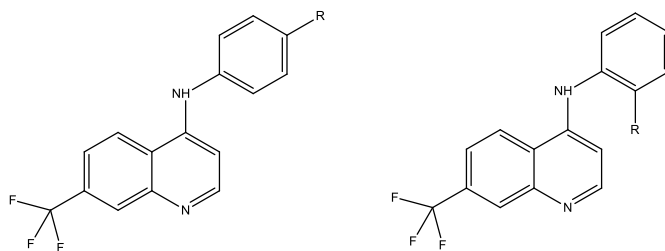
Για παράδειγμα αμιδο-ανιλινοκινολινόνες φέρονται να είναι αποτελεσματικές στην αναστολή της CSF-1R κινάσης, ενώ ορισμένες 4-υδροξυκινολινόνες αναστέλλουν τα ένζυμα HAT (19) (20). Τέλος, μερικές 3-κυανοκινολινόνες φέρονται να «μπλοκαρούν» αποτελεσματικά τους υποδοχείς των αυξητικών παραγόντων IGF-1 (insulin-like growth factor 1) (εικόνα 16) (21).



**Εικόνα 16. Κινολινόνες με αντικαρκινική δράση**

### 1.1.2.7. Αναλγητική Δράση

Οι 4-υποκατεστημένες-7-τριφθορομεθυλοκινολινόνες (εικόνα 17) έχουν διαπιστωθεί πως διαθέτουν καλή αναλγητική δράση, η οποία πιθανότατα οφείλεται στις ευεργετικές ιδιότητες του νιτρικού οξέος (22).

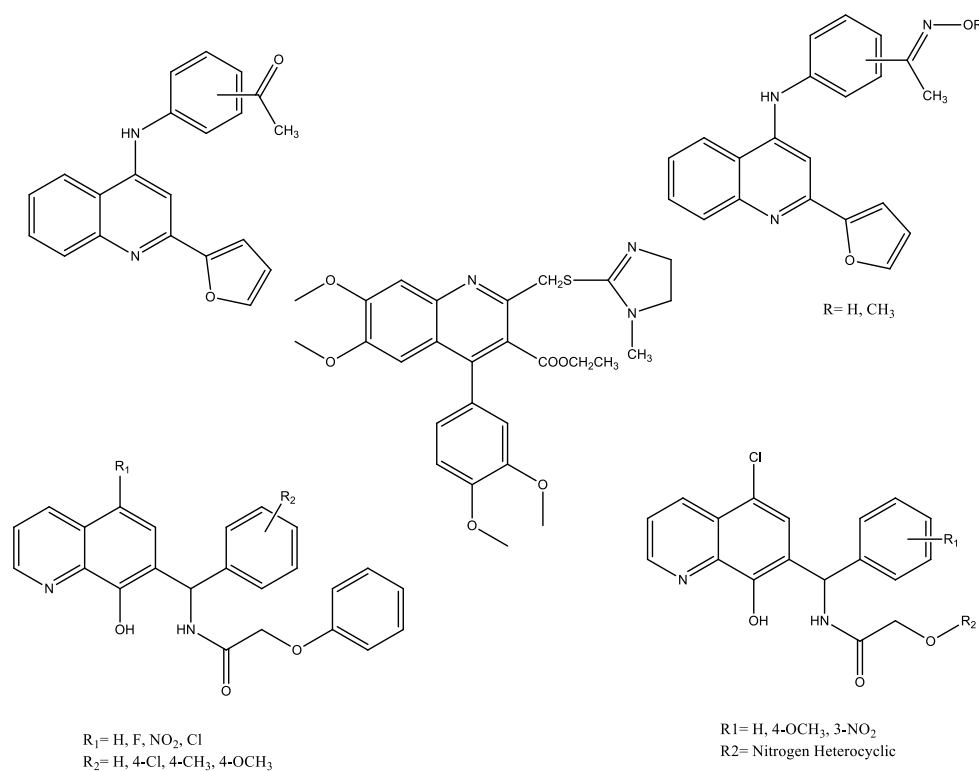


**Εικόνα 17. Κινολινόνες με αναλγητική Δράση**

### 1.1.2.8. Αντιφλεγμονώδης Δράση

Η φλεγμονώδης αντίδραση, ή απλώς φλεγμονή ανήκει στους μη ειδικούς αμυντικούς μηχανισμούς του οργανισμού, που αντιμετωπίζουν τους μικροοργανισμούς αν καταφέρουν να εισέλθουν σε αυτόν. Εκδηλώνεται με ένα σύνολο συμπτωμάτων στα οποία περιλαμβάνεται το κοκκίνισμα στην τραυματισμένη περιοχή, το οίδημα, ο πόνος και η τοπική αύξηση της θερμοκρασίας.

Υπάρχουν ωστόσο περιπτώσεις που η φλεγμονή ενεργοποιείται από το ανοσοποιητικό σύστημα χωρίς να έχει προκληθεί από κάποια ξένη στον οργανισμό εισβολή, με αποτέλεσμα να βλαπτει υγιείς ιστούς και τότε πρέπει να αντιμετωπιστεί με ουσίες που έχουν αντιφλεγμονώδη δράση. Τέτοια δράση φέρονται να έχουν η 2-(φουραν-2-υλ)-4-φαινοξυ-κινολιόνες και τα ανάλογα της που αναστέλλουν τη λυσοζύμη και την απελευθέρωση της β-γλυκουρονιδάσης, ενώ άλλες κινολιόνες έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικές στην αντιμετώπιση της ρευματοειδούς αρθρίτιδας και της οστεοαρθρίτιδας (εικόνα 18) (23) (24) (25) (26).



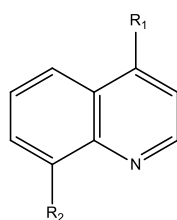
Εικόνα 18. Κινολιόνες με αντιφλεγμονώδη δράση

### 1.1.2.9. Αντιοξειδωτική Δράση

Τα κύτταρα παράγουν της ενέργεια που τους είναι απαραίτητη για την εκτέλεση των λειτουργιών τους ανάγοντας το μοριακό οξυγόνο σε νερό. Ως παραπροϊόντα αυτών των διεργασιών παράγονται δραστικές μορφές οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS), δηλαδή μικρά μερικώς ανηγμένα ποσά ενεργών μορφών οξυγόνου. Τέτοιες μορφές είναι οι ελεύθερες ρίζες, δηλαδή άτομα, μόρια ή ιόντα με ένα μονήρες ηλεκτρόνιο στην εξωτερική τους στιβάδα και για το λόγο αυτό είναι πολύ ασταθή και δραστικά, αφού αντιδρούν άμεσα με παρακείμενα μόρια, «κλέβοντας» τους το ηλεκτρόνιο που χρειάζονται ώστε να ζευγαρώσουν το δικό τους. Αντίστοιχα, τα παρακείμενα μόρια μετατρέπονται τα ίδια σε ελεύθερες ρίζες στην προσπάθεια τους να ξαναβρούν το ηλεκτρόνιο που απώλεσαν και κατ' αυτόν τον τρόπο η μοριακή τάξη διαταράσσεται και ξεκινά μια αλυσιδωτή αντίδραση που έχει ως αποτέλεσμα την κυτταρική βλάβη. Παραδείγματα ελευθέρων ριζών που ανήκουν στις ROS είναι η ρίζα υδροξυλίου ( $\cdot\text{OH}$ ), το ανιόν του υπεροξειδίου ( $\cdot\text{O}_2^-$ ), αλλά και το υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) (27).

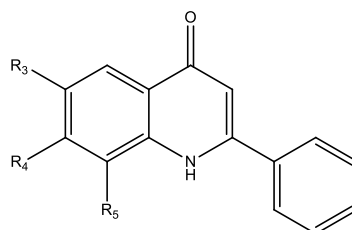
Το φαινόμενο αυτό κατά το οποίο διαταράσσεται η ισορροπία μεταξύ της παραγωγής ROS και της ικανότητας ενός βιολογικού συστήματος να αδρανοποιεί τα τοξικά αυτά μόρια και να επισκευάζει τις βλάβες που προκαλούν καλείται οξειδωτικό στρες και βλάπτει όλα τα συστατικά του κυττάρου, συμπεριλαμβανομένων των πρωτεϊνών, των λιπιδίων και του DNA και κατ' επέκταση οδηγεί στη βλάβη ολόκληρων ιστών του οργανισμού. Το οξειδωτικό στρες ευθύνεται για ασθένειες όπως η υπέρταση, ο διαβήτης, ο καρκίνος αλλά και διάφορες νευροεκφυλιστικές.

Τα αντιοξειδωτικά είναι μόρια που στοχεύουν στην εξουδετέρωση των ελευθέρων ριζών προσφέροντάς τους ηλεκτρόνια και μετατρέπόμενα τα ίδια σε ελεύθερες ρίζες, λιγότερο όμως δραστικές και επικίνδυνες. Για το λόγο αυτό το ενδιαφέρον για ανεύρεση νέων αντιοξειδωτικών και ειδικότερα φυτικής προέλευσης, όπως οι κινολινόνες, είναι ολοένα και αυξανόμενο. Κινολινόνες με τέτοια δράση έχουν βρεθεί πως αποτελούν οι βενζο-υποκατεστημένες-4-(αμινοφαινυλαμινο)-2-μεθυλοκινολινόνες, οι 3-υποκατεστημένες 4-υδροξυ(χλώρο/μερκαπτο)κινολινόνες, οι 8-υδροξυκινολινόνες αλλά και οι θειενοκινολινόνες (εικόνα 20) (28) (29).



**Quinoline**

$R_1, R_2 = \text{H}$   
 $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OH}$   
 $R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{H}$



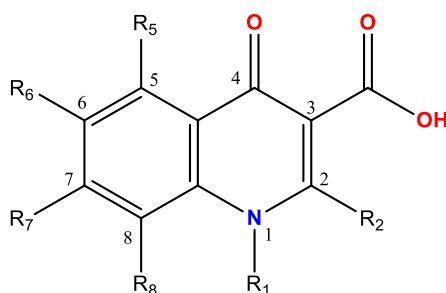
**2-Phenylquinolin-4(1H)-one**

$R_3, R_4, R_5 = \text{H}$   
 $R_3 = \text{OH}, R_4, R_5 = \text{H}$   
 $R_4 = \text{OH}, R_3, R_5 = \text{H}$   
 $R_5 = \text{OH}, R_3, R_4 = \text{H}$

**Εικόνα 20. Κινολινόνες με αντιοξειδωτική δράση**

### 1.1.3. Συσχέτιση Δομής και Αντιμικροβιακών Ιδιοτήτων των Κινολινονών

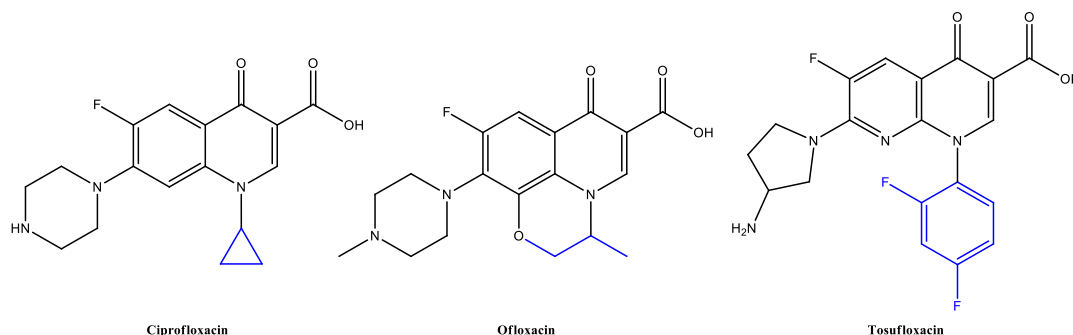
Επομένως, λόγω των πλούσιων ευεργετικών ιδιοτήτων τους, οι κινολινόνες λαμβάνουν μεγάλο ενδιαφέρον στον τομέα της φαρμακευτικής χημείας και έτσι έχουν συντεθεί πολλά διαφορετικά ανάλογα. Μεταξύ όλων των προαναφερθέντων φαρμακολογικών δράσεων που διαθέτουν οι κινολινόνες, αυτές που έχουν διερευνηθεί διεξοδικότερα είναι οι αντιμικροβιακές, οι οποίες μάλιστα έχουν συσχετιστεί και με τη δομή των κινολινονικών αναλόγων, όσον αφορά το πώς οι διαφορετικές τροποποιήσεις και υποκαταστάτες συμβάλλουν στην ενίσχυση των επιθυμητών ιδιοτήτων των παραγόμενων μορίων. Στην ακόλουθη εικόνα (εικόνα 21) δίνεται η γενική μορφή των κινολινονών, όπου με “R” υποδηλώνονται οι θέσεις των δύο δακτυλίων που μπορούν να υποστούν δομικές τροποποιήσεις. Προτού όμως εξεταστούν οι διάφορες τροποποιήσεις, πρέπει να τονιστεί η σημασία συγκεκριμένων πλευρικών ομάδων που κρίνονται απαραίτητες για τη σύνδεση των φαρμακομορίων με τους υποδοχείς του ανθρώπινου οργανισμού. Εξάλλου, όπως είπε και ο βραβευμένος με Νόμπελ Φυσιολογίας και Ιατρικής Paul Ehrlich “corpora non agunt nisi fixate”, δηλαδή οι ενώσεις δεν δρουν εκτός αν συνδεθούν (30) (31) (32).



Εικόνα 21. Γενική δομή κινολινόνης

#### Θέση 1

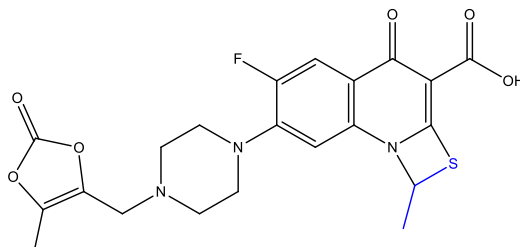
Η θέση 1 του δακτυλίου της πυριδίνης αποτελεί μέρος του συμπλόκου πρόσδεσης του μορίου με το DNA, μέσω μιας ευνοϊκής υδρόφοβης αλληλεπίδρασης και ασθενών δεσμών H<sub>2</sub>. Ο συνηθέστερος υποκαταστάτης στο σημείο αυτό είναι το κυκλοπρόπυλ- (ciprofloxacin), με το 2,4-διφθοροφενυλ- να ακολουθεί, ενώ άλλοι υποκαταστάτες έχει αποδειχθεί πως μειώνουν την ικανότητα πρόσδεσης του μορίου στο DNA. Στο αντιβιοτικό ofloxacin, η θέση αυτή συνδέεται με την 8 μέσω ενός δακτυλίου οξαζίνης (εικόνα 22).



Εικόνα 22. Χημικές δομές των δραστικών ciprofloxacin, ofloxacin και tosufloxacin

## Θέση 2

Η θέση 2 του δακτυλίου της πυριδίνης βρίσκεται πολύ κοντά στο σημείο πρόσδεσης της DNA γυράσης και τοποϊσομεράσης IV, ενζύμων των βακτηρίων, και ως εκ τούτου θεωρείται πως οποιαδήποτε υποκατάσταση στο σημείο αυτό θα μειώσει την αντιμικροβιακή δράση. Μόνο ένα άτομο θείου, ενσωματωμένο σε ένα μικρό δακτύλιο, κατέστη δυνατό να αντικαταστήσει το H στον άνθρακα της θέσης 2, για το αντιβιοτικό prulifloxacin (εικόνα 23).



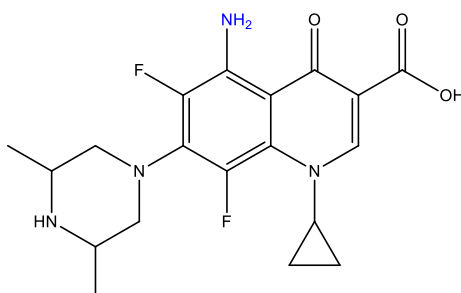
Εικόνα 23. Χημική δομή της δραστηκής prulifloxacin

## Θέσεις 3 και 4

Η παρουσία του καρβοξυλίου και του καρβονυλίου στις θέσεις 3 και 4 αντίστοιχα των κινολινονών, είναι απαραίτητη για την πρόσδεση στο μόριο του DNA και την εκδήλωση της φαρμακευτικής δράσης τους. Ως εκ τούτου καμία χρήσιμη υποκατάσταση δεν έχει προταθεί μέχρι στιγμής

## Θέση 5

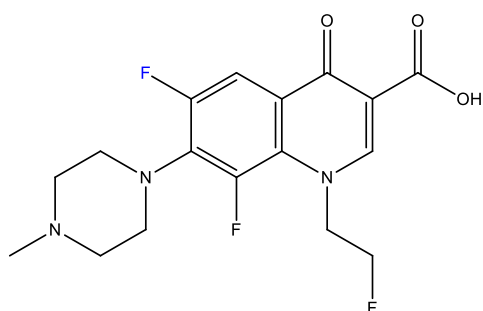
Η υποκατάσταση στη θέση 5 του βενζοϊκού δακτυλίου επηρεάζει τη στεreoχημική δομή της κινολινόνης. Ομάδες μικρού μεγέθους, όπως είναι, κατά σειρά προτίμησης, οι αμινομάδες, οι υδροξυλομάδες και οι μεθοξυομάδες έχουν αποδειχθεί πως αυξάνουν την *in vitro* δράση έναντι των θετικών κατά Gram βακτηρίων, με τα *in vivo* όμως αποτελέσματα να μην επαληθεύουν απαραίτητα τον παραπάνω ισχυρισμό. Γενικότερα πάντως, η αμινομάδα χρησιμοποιείται ευρύτατα στον άνθρακα της συγκεκριμένης θέσης, με χαρακτηριστικό παράδειγμα το αντιβιοτικό sparfloracin (εικόνα 24).



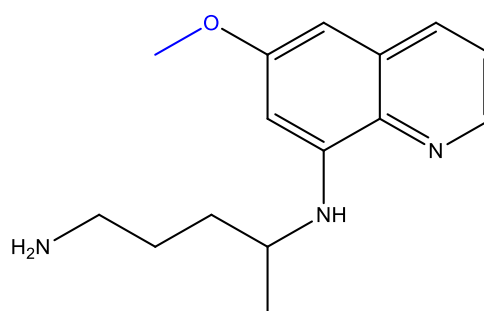
Εικόνα 24. Χημική δομή της δραστηκής sparfloracin

### Θέση 6

Η υποκατάσταση ενός ατόμου Η με ένα άτομο φθορίου είναι η συνηθέστερη τροποποίηση στη θέση αυτή, όπως άλλωστε παρατηρείται και σε όλες τις απεικονίσεις του υποκεφαλαίου αυτού. Η συγκεκριμένη υποκατάσταση βελτίωσε αξιοσημείωτα την αντιμικροβιακή δράση και αποτέλεσε το έναυσμα για την εντατική μελέτη των φθοροκινολονών που σήμερα χρησιμοποιούνται ευρύτατα (εικόνα 25). Άλλες λιγότερο εφαρμοσμένες τροποποιήσεις είναι η υποκατάσταση με μια αμινομάδα ή μια μεθύλομαδα, με την τελευταία να είναι εμφανής στη δομή της ανθελονοσιακής δραστικής πριμακίνης (εικόνα 26). Σε κάθε περίπτωση, πρέπει να αναφερθεί ότι με εξαίρεση την περίπτωση των φθοροκινολονών, οι υπόλοιπες τροποποιήσεις στη θέση αυτή εξετάζονται συνδυαστικά με πρόσθετες τροποποιήσεις, κυρίως στις θέσεις 1, 7 και 8.



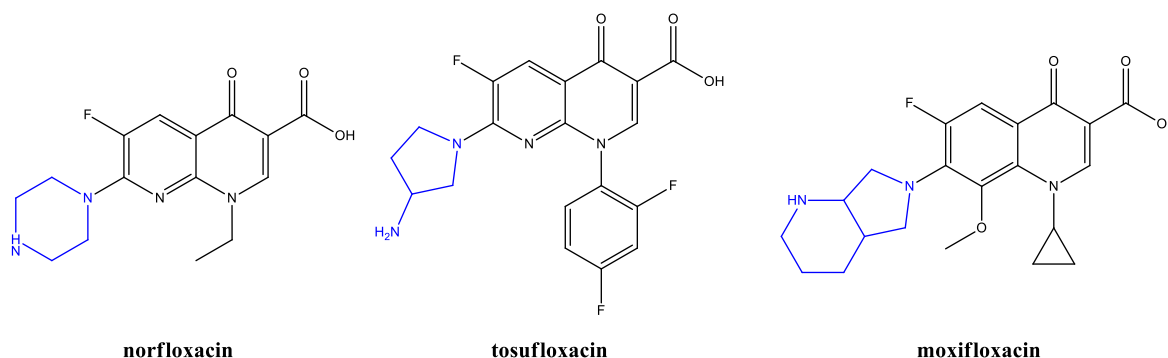
Εικόνα 25. Χημική δομή της δραστικής fleroxacin



Εικόνα 26. Χημική δομή της δραστικής primaquine

### Θέση 7

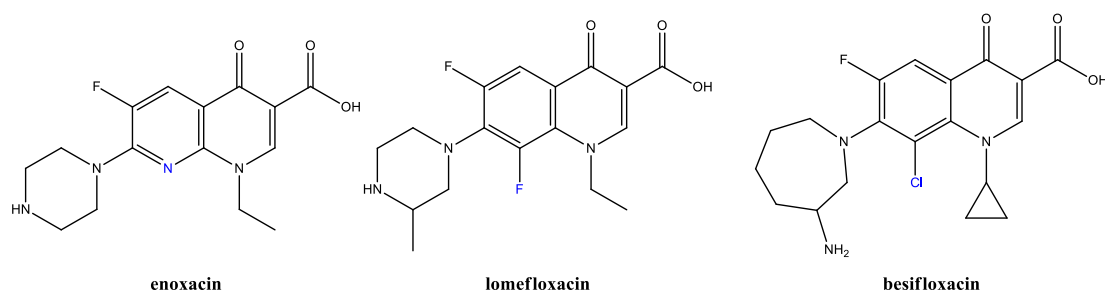
Η θέση αυτή του βενζοϊκού δακτυλίου είναι αυτή που κυρίως αλληλεπιδρά με την DNA γυράση και τοποϊσομεράση IV. Οι βέλτιστοι υποκαταστάτες είναι αζωτούχοι ετεροκυκλικοί δακτύλιοι με τουλάχιστον 5 ή 6 άτομα. Οι πιο κοινοί εξ' αυτών είναι οι αμινοπυρολιδίνες (στο tosylfloxacin) και οι πιπεραζίνες (στο norfloxacin), αλλά χρησιμοποιούνται και ακόμα ογκοδέστεροι δακτύλιοι (στο moxifloxacin) (εικόνα 27).



Εικόνα 27. Χημικές δομές των δραστικών norfloxacin, tosylfloxacin, moxifloxacin

## Θέση 8

Όπως και στη θέση 5, έτσι και στη θέση 8, οι τροποποιήσεις επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό τη στερεοχημική δομή του μορίου και την ικανότητα πρόσδεσής του στο μόριο του DNA. Παρόλα αυτά, έχουν σημειωθεί υποκαταστάσεις κυρίως με ελεύθερα αλογόνα (Cl και F) ή μέθυλο- και μεθόξυ- ομάδες, καθιστώντας τα συντιθέμενα μόρια αποτελεσματικά έναντι των κατά θετικών βακτηρίων, ακόμα και εκείνων που ήταν ανθεκτικά απέναντι σε άλλες φθοροκινολινόνες. Παραδείγματα αποτελούν οι δραστικές lomefloxacin και besifloxacin. Μια άλλη μετατροπή που βρίσκει εφαρμογή καθώς επέδειξε αυξημένη αντιμικροβιακή δράση, είναι η αντικατάσταση του ατόμου C της θέσης, με ένα άτομο αζώτου, όπως στο enoxacin. (εικόνα 28)

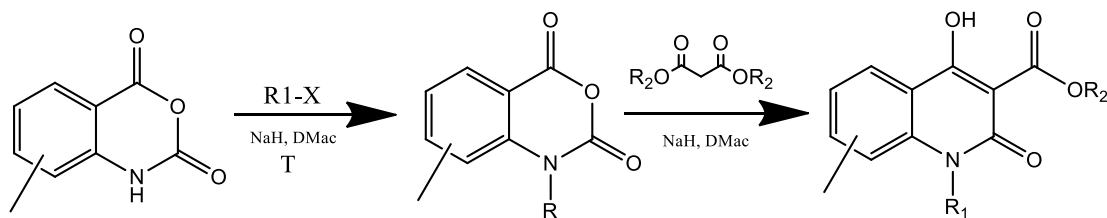


Εικόνα 28. Χημικές δομές των δραστικών enoxacin, lomefloxacin, besifloxacin

### 1.1.4. Γενικές Μέθοδοι Σύνθεσης Κινολινονών

Με γνώμονα το ολοένα και αυξανόμενο ενδιαφέρον για τα κινολινοικά παράγωγα, από το 1962 που πρωτοανακαλύφθηκαν από τον Leshner μέχρι και σήμερα, έχει αναπτυχθεί ένα πλήθος μεθόδων σύνθεσης τους. Έτσι, ακολούθως αναλύονται συνοπτικά ορισμένες μέθοδοι σύνθεσης του δακτυλίου της κινολινόνης και στο τέλος παρουσιάζονται ονομαστικά κάποιες πιο κλασσικές, όπως των Skraup, Doebner-Von Miller, Conrad-Limpach, Combes κ.ά. που με κατάλληλες τροποποιήσεις οδηγούν σε ένα μεγάλο εύρος παραγώγων με ποικίλες ιδιότητες και εφαρμογές (33) (34).

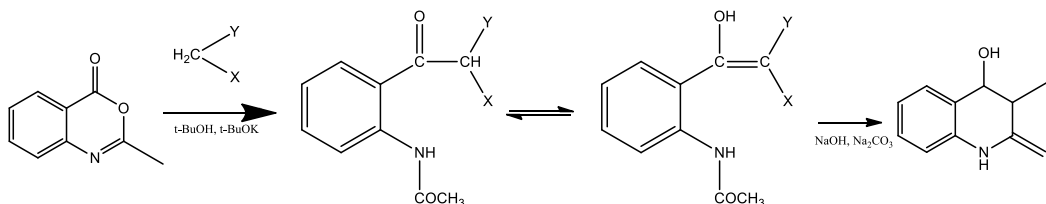
- Σύνθεση 4-υδροξυ-κινολινονών, μέσω N-αλκυλίωσης από τον N-αλκυλο-ισατοϊκό ανυδρίτη ενός μηλονικού διεστέρα, παρουσία υδριδίου του νατρίου σε διαλύτη διμεθυλοφορμαμίδιο ή N,N-διμεθυλοακεταμίδιο, υπό θέρμανση (Σχήμα 1) (35)



Σχήμα 1. Σύνθεση N-υποκατεστημένων-4-υδροξυ-κινολινονών

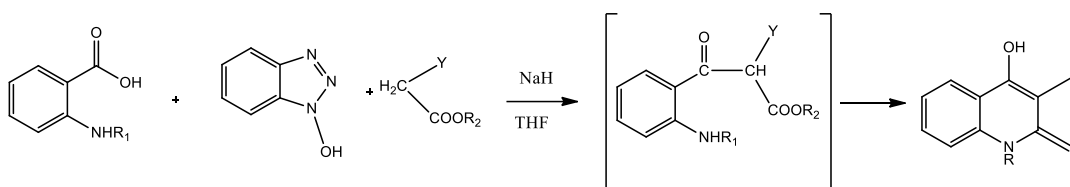


- Σύνθεση 4-υδροξυ-2-κινολινονών με χρήση της 2-μεθυλο-3,1-βενζοξαζιν-4-όνης ως ακυλιωτικού μέσου, παρουσία t-βουτοξειδίου του καλίου σε διαλύτη t-βουτανόλης και θερμοκρασία περιβάλλοντος, ενώ η κυκλοποίηση της ενδιάμεσης βενζοξαζινόνης γίνεται παρουσία ανθρακικού νατρίου και υδατικού διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου (Σχήμα 2) (36)



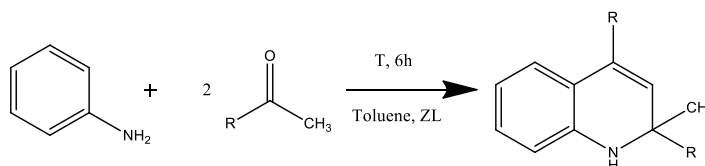
**Σχήμα 2. Σύνθεση 4-υδροξυ-2-κινολινονών**

- Σύνθεση 4-υδροξυ-2-κινολινονών με χρήση ενεργού βενζοτριαζολυλ-εστέρα και N-υποκατεστημένο ανθρακικό οξύ (Σχήμα 3) (37)



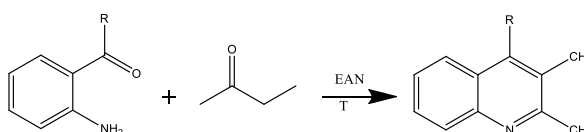
**Σχήμα 3. Σύνθεση N-υποκατεστημένων-4-υδροξυ-2-κινολινονών**

- Σύνθεση 2,4-διφαινυλο-2-μεθυλ-1,2-διυδροκινολινόνης, με συμπύκνωση και εν συνεχεία κυκλοποίηση ανιλίνης και ακετοφαινόνης σε διαλύτη τολουόλιου, παρουσία ζεολίθου ως καταλύτη (Σχήμα 4) (38)



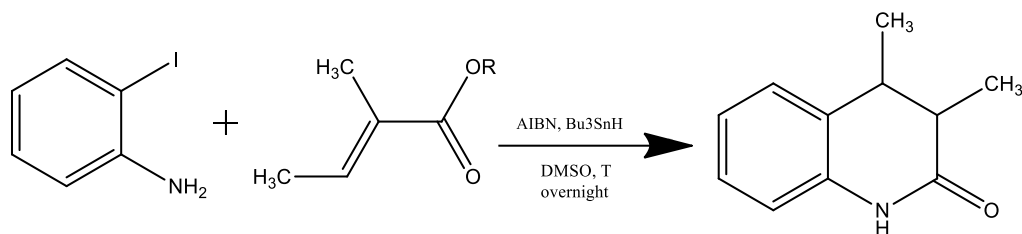
**Σχήμα 4. Σύνθεση 2,4-διφαινυλο-2-μεθυλ-1,2-διυδροκινολινόνης**

- Σύνθεση 2,3,4-τρι-υποκατεστημένων κινολινονών με Friedlander αντίδραση 2-αμινο-υποκατεστημένων αρωματικών κετονών και καρβονυλικών ενώσεων που διαθέτουν μια αντιδραστική μεθυλομάδα, παρουσία νιτρικής εθυλαμίνης (Σχήμα 5) (39)



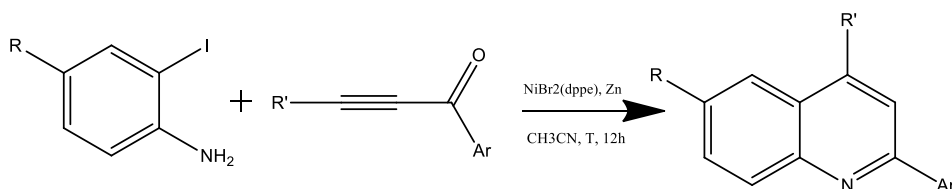
**Σχήμα 5. Σύνθεση 2,3,4-τρι-υποκατεστημένων κινολινονών**

- Σύνθεση 3,4-διυδροκινολιν-2-όνης μέσω επεξεργασίας 2-ιωδοανιλίνων και ακρυλικών αιθυλεστέρων με αζωδισισοβουτυρονιτρίλιο (AIBN), παρουσία υδριδίου του τριβουτυλοκασσίτερου (Σχήμα 6) (40)



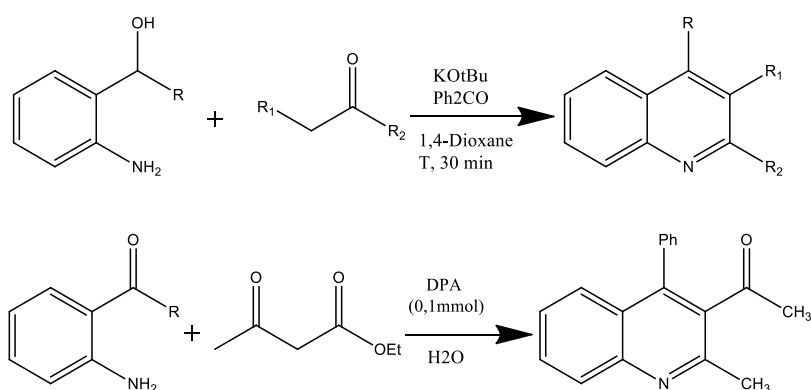
**Σχήμα 6. Σύνθεση 3,4-διυδροκινολιν-2-όνης**

- Σύνθεση 2,4-δι-υποκατεστημένων κινολινονών με συμπύκνωση 2-ιωδοανιλινών με αλκυνο-αρυλο-κετόνες παρουσία νικελίου ως καταλύτη (Σχήμα 7) (23)



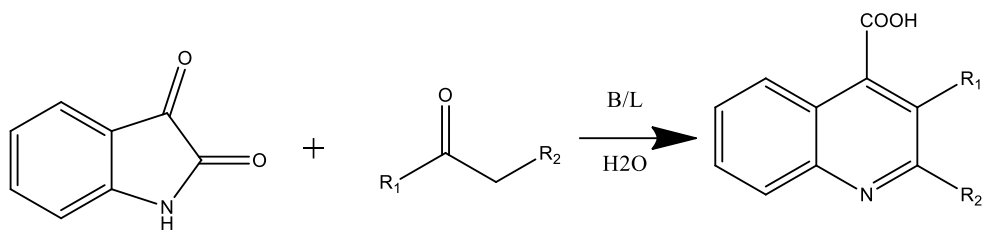
**Σχήμα 7. Σύνθεση 2,4-δι-υποκατεστημένων κινολινονών**

- Σύνθεση πολυ-υποκατεστημένων κινολινονών μέσω αντίδρασης παραγώγων της 2-αμινοβενζολικής αλκοόλης με κετόνες ή αλκοόλες παρουσία βάσης (έμμεση μέθοδος Friedländer) (41) ή αναδεύοντας 2-αμινοάρυλ κετόνες και α-μεθυλοκετόνες, παρουσία καταλύτη δωδεκυλοφωσφονικού οξέος σε νερό (άμεση μέθοδος Friedländer) (Σχήμα 8) (42)



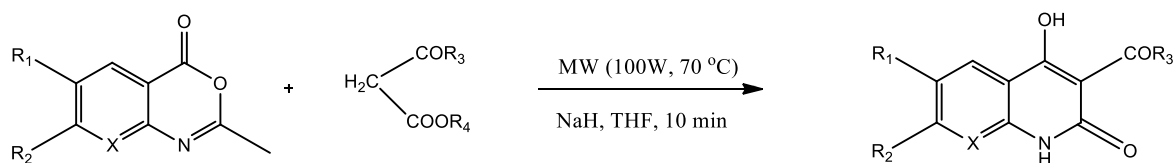
**Σχήμα 8. Σύνθεση πολυ-υποκατεστημένων κινολινονών**

- Πράσινη μέθοδος σύνθεσης κινολινονών με χρήση υπερήχων για αντίδραση ισατίνης με αρυλο-μεθυλο-κετόνες, υπό την παρουσία βασικών ιοντικών υγρών (Σχήμα 9) (43)



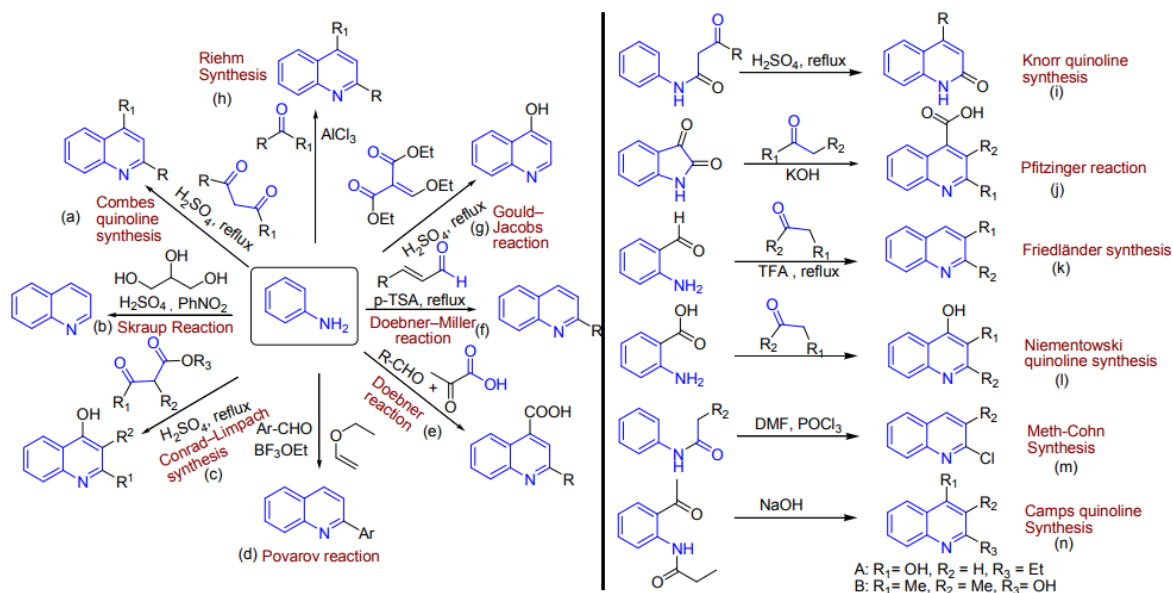
Σχήμα 9. Σύνθεση κινολινόνων με υπερήχους και ιοντικό υγρό

- Πράσινη μέθοδος σύνθεσης 3-υποκατεστημενων-4-υδροξυ-2-κινολινόνων σε ένα βήμα, από την αντίδραση των αντίστοιχων βενζοξαζινόνων υπό την επίδραση μικροκυματικής ακτινοβολίας (Σχήμα 10) (44)



Σχήμα 10. Σύνθεση 3-υποκατεστημενων-4-υδροξυ-2-κινολινόνων με χρήση μικροκυματικής ακτινοβολίας

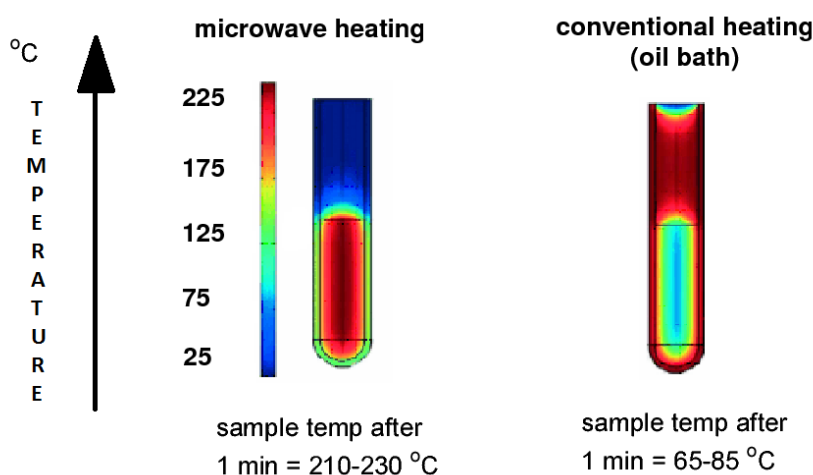
Τέλος, όσον αφορά τις κλασικές μεθόδους σύνθεσης κινολινόνων, στις περισσότερες ως αρχικές ενώσεις χρησιμοποιούνται αρυλαμίνες (Σχήμα 11) (34).



Σχήμα 11. Κλασικές μέθοδοι σύνθεσης κινολινόνων

## 1.2.Σύνθεση μέσω Μικροκυματικής Ακτινοβολίας

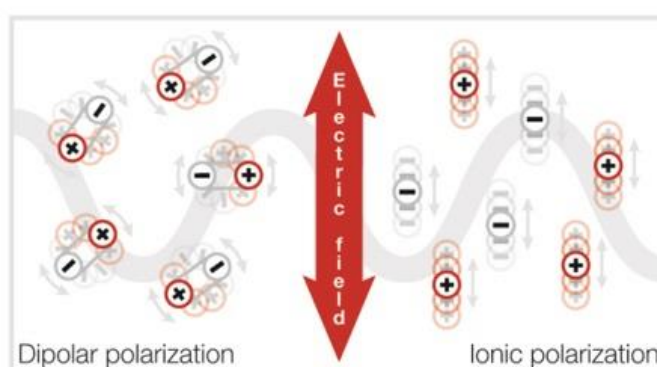
Η σύνθεση οργανικών ενώσεων με μικροκυματική ακτινοβολία αποτελεί ένα τομέα της Πράσινης Χημείας, καθώς πρόκειται για μια τεχνική πιο φιλική προς το περιβάλλον, σε σχέση με τις συμβατικές μεθόδους σύνθεσης. Αυτό δικαιολογείται από το γεγονός ότι στην τεχνική αυτή, τόσο η ποσότητα των χρησιμοποιούμενων διαλυτών, όσο και οι ενεργειακές απαιτήσεις μειώνονται, ενώ επιπρόσθετα συμβάλλει στη μείωση των παραγόμενων παραπροϊόντων αλλά και των αποβλήτων που προκύπτουν. Πέρα όμως από την ίδια την απλότητα της μεθόδου, ορισμένα από τα πλεονεκτήματα που προσφέρει η τεχνική αυτή είναι ο αυξημένος ρυθμός θέρμανσης και η αυξημένη ταχύτητα της αντίδρασης και κατ'επέκταση η μείωση του απαιτούμενου χρόνου σε μερικά λεπτά. Ταυτόχρονα, βελτιώνεται η ποιότητα του τελικού προϊόντος, γεγονός που οδηγεί στον πιο εύκολο και γρήγορο καθαρισμό του, ενώ και η απόδοση τελικά της αντίδρασης αυξάνεται. Αυτό συμβαίνει επειδή με τη χρήση της μικροκυματικής ακτινοβολίας, η θέρμανση επιτυγχάνεται μέσω άμεσης αλληλεπίδρασης των αντιδραστηρίων και των διαλυτών εντός του σκεύους με τα μικροκύματα και έτσι επιτυγχάνεται ομοιόμορφη θέρμανση, την στιγμή που στις συμβατικές μεθόδους θέρμανσης χρησιμοποιείται λουτρό που θερμαίνει μέσω φαινομένων αγωγής και συναγωγής αρχικά το σκεύος και στη συνέχεια τα περιεχόμενα υλικά. Αυτό συνεπάγεται ότι πάντα θα υπάρχει μια διαφορά θερμοκρασίας μεταξύ του λουτρού και του κέντρου του υλικού που θερμαίνεται. Η αποτελεσματικότερη και ταχύτερη θέρμανση φαίνεται και στην ακόλουθη εικόνα (εικόνα 29), όπου το ίδιο υλικό θερμαίνεται για τον ίδιο χρόνο με τις δύο μεθόδους (45) (46) (47) (48).



**Εικόνα 29. Σύγκριση επιτευχθείσας θερμοκρασίας του ίδιου υλικού μετά από χρόνο 1 min με μικροκύματα (αριστερά) και σε λουτρό λαδιού (δεξιά)**

Τα μικροκύματα είναι περιοχή των ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων από 0,1 – 100cm, που αντιστοιχεί σε συχνότητες από 0,3 – 300 GHz. Αν και δεν υπάρχουν ακριβή όρια που διαχωρίζουν τα μικροκύματα από τις γειτονικές περιοχές του φάσματος της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, βρίσκονται ανάμεσα στην υπέρυθη ακτινοβολία και τα ραδιοκύματα. Η ενέργεια που απαιτείται για τη δημιουργία ή το σπάσιμο δεσμών στα χημικά μόρια είναι πολύ μεγάλη σε σχέση με αυτή που μπορούν να προσφέρουν τα μικροκύματα. Συνεπώς η ενέργεια που παρέχεται με τη μορφή της μικροκυματικής

ακτινοβολίας δεν αφορά η δομή των μορίων, αλλά την κινητική τους, προσφέροντάς τους την απαιτούμενη ορμή ώστε να ξεπεράσουν το φράγμα της ενέργειας ενεργοποίησης και να επιταχύνουν την αντίδραση. Η μικροκυματική σύνθεση στηρίζεται στην αποτελεσματική και ομοιόμορφη θέρμανση των υλικών μέσω φαινομένων μικροκυματικής διηλεκτρικής θέρμανσης, φαινόμενα τα οποία εκμεταλλεύονται την ικανότητα ευκίνητων ηλεκτρικών φορτίων, που είναι παρόντα σε υγρά και στερεά, να μετατρέπουν την ηλεκτρομαγνητική ενέργεια σε θερμότητα. Τώρα, όσον αφορά την επίδραση των δύο πεδίων των μικροκυμάτων (ηλεκτρικό και μαγνητικό) στη σύνθεση των ενώσεων, μεγαλύτερη είναι αυτή του ηλεκτρικού, καθώς διαδραματίζει σπουδαιότερο ρόλο στην αλληλεπίδραση μεταξύ κύματος και υλικού. Οι μηχανισμοί με τους με τους οποίους επιτυγχάνεται η θέρμανση μέσω μικροκυμάτων είναι δύο: διηλεκτρική πόλωση (Dipolar Polarization) και ιοντική (Ionic Polarization) (Εικόνα 30) (47).



**Εικόνα 30. Μηχανισμοί θέρμανσης μέσω μικροκυματικής ακτινοβολίας**

Η διηλεκτρική πόλωση εμφανίζεται όταν τα πολικά μόρια επιχειρούν να ευθυγραμμιστούν με τον προσανατολισμό του εναλλασσόμενου ηλεκτρικού πεδίου συγκεκριμένης συχνότητας. Καθώς όμως το πεδίο ταλαντεύεται και τα πολικά μόρια προσπαθούν εκ' νέου να ευθυγραμμιστούν, σημειώνεται απώλεια ενέργειας με τη μορφή θερμότητας που αναπτύσσεται λόγω της τριβής των μορίων και διηλεκτρικής απώλειας. Τέτοια αλληλεπίδραση μεταξύ πολικών διαλυτών, όπως το νερό και η μεθανόλη και πολικών μορίων όπως η αμμωνία μπορούν και παράγουν θερμότητα. Ο μηχανισμός αυτός εξαρτάται από την πολικότητα των μορίων, την ικανότητά τους να προσανατολίζονται, αλλά και από τη συχνότητα του ηλεκτρικού πεδίου (46) (47) .

Κατά την ιοντική πόλωση, τα διαλυμένα φορτισμένα σωματίδια, ταλαντευόμενα υπό την επίδραση του ηλεκτρικού πεδίου, συγκρούονται μεταξύ τους με αποτέλεσμα την απελευθέρωση θερμότητας. Επιπροσθέτως, με την επιβολή του εναλλασσόμενου πεδίου, τα ιόντα που υπάρχουν μέσα στο διάλυμα ευθυγραμμίζονται και κινούνται προσανατολισμένα, δημιουργώντας έτσι ηλεκτρικό ρεύμα, το οποίο περιέχει εσωτερική αντίσταση η οποία παράγει θερμότητα. Πρέπει, ωστόσο στο σημείο αυτό να σημειωθεί πως ο μηχανισμός αυτός δεν εμφανίζεται σε υλικά με υψηλή αγωγιμότητα, στα οποία η περισσότερη ενέργεια που προσκρούει πάνω τους αντανακλάται. Τέλος, σε σύγκριση με τον πρώτο μηχανισμό της διηλεκτρικής πόλωσης, η θερμότητα που παράγεται κατά την ιοντική είναι μεγαλύτερη (46) (47).

Για τη σύνθεση οργανικών ενώσεων με μικροκυματική ακτινοβολία, υπάρχουν δύο είδη αντιδραστήρων: οι φούρνοι single-mode και οι φούρνοι multi-mode. Ως επί το πλείστον χρησιμοποιούνται οι πρώτοι, στους οποίους όπως υποδηλώνεται και από το όνομά τους μπορεί να λάβει χώρα μια αντίδραση τη φορά. Αυτό σε πρώτη φάση θα φάνταζε μειονέκτημα και αρνητικός παράγοντας, όμως στην πραγματικότητα αυτό δεν ισχύει καθώς στους single-mode φούρνους, το δοχείο εντός του οποίου διεξάγεται η αντίδραση τοποθετείται κάθε φορά στο σημείο όπου η μικροκυματική ακτινοβολία είναι μέγιστη και συνεπώς επιτυγχάνεται η βέλτιστη θέρμανση του υλικού. Η παραγωγή των μικροκυμάτων εντός του φούρνου στηρίζεται σε μια θερμο-ιονική δίοδο, αποτελούμενη από μια άνοδο και μια άμεσα θερμαινόμενη κάθοδο. Καθώς, λοιπόν, η κάθοδος θερμαίνεται απελευθερώνονται ηλεκτρόνια τα οποία έλκονται από την άνοδο, η οποία έχει ρυθμιστεί να ταλαντεύεται με συγκεκριμένη συχνότητα. Το μαγνητικό πεδίο δημιουργείται μέσω της ανόδου και αλλάζει την πορεία των ηλεκτρονίων που «ταξιδεύουν» από την κάθοδο στην άνοδο (49).

Η πρώτη φορά που η μικροκυματική ακτινοβολία βρήκε εφαρμογή στη χημική σύνθεση μορίων ήταν το 1986 και έκτοτε έχει εξελιχθεί βρίσκοντας εφαρμογές σε διάφορους τομείς. Παραδείγματα αντιδράσεων που έχουν πραγματοποιηθεί στα μικροκύματα αποτελούν υδρολύσεις, οξειδώσεις, εστεροποιήσεις, κυκλοπροσθήκες, N-αλκυλιώσεις, αρωματικές πυρηνόφιλες υποκαταστάσεις, συμπυκνώσεις, κ.ά., ενώ τέλος, η μικροκυματική ακτινοβολία πέρα από την οργανική χημεία και τη σύνθεση ενώσεων, βρίσκει εφαρμογές στην αναλυτική χημεία, στη σύνθεση καταλυτών και πολυμερών, στη νανοτεχνολογία αλλά και στη διαχείριση αποβλήτων (49).

## 1.3.Φάρμακα <sup>(32)</sup>

### 1.3.1. Μια Ιστορική Αναδρομή

Η σημασία που έχουν τα φάρμακα στην καθημερινή ζωή είναι ένα γεγονός αυταπόδεικτο. Από την αρχαιότητα η ανθρωπότητα κατάλαβε πως εκτός του καθημερινού αγώνα που έδινε για την επιβίωσή και την εύρεση τροφής, έπρεπε να προστατευτεί από τις κακουχίες και τις ασθένειες. Από τον Ιπποκράτη και τον Ασκληπιό της Αρχαίας Ελλάδας, μέχρι τον Διοσκουρίδη και τον Γαληνό μετά Χριστόν, τα φυτά ήταν τα πρώτα θεραπευτικά μέσα που χρησιμοποιήθηκαν για την ανακούφιση από τον πόνο. Φυσικά η ανάγκη αυτή του ανθρώπου δεν γνωρίζει γεωγραφικά όρια. Στην Περσία για παράδειγμα, το όπιο χρησιμοποιούταν στην Ιατρική από το 1000 π.Χ.

Ωστόσο, σταθμό στην φαρμακευτική αποτέλεσε το 1806 η δημοσίευση του Friedrich Sertürner, ο οποίος απομόνωσε από το όπιο το αλκαλοειδές κομμάτι και διαπίστωσε ότι χωρίς αυτό, το όπιο δεν είχε πια την ίδια επίδραση στα ζώα. Το αλκαλοειδές αυτό ήταν το μέχρι και σήμερα ισχυρότατο αναλγητικό φάρμακο, η μορφίνη. Κάτι αντίστοιχο συνέβη και το 1874, όταν από τον φλοιό της ιτιάς απομονώθηκε το σαλικυλικό οξύ και λίγα χρόνια αργότερα, το 1890, αποτέλεσε τη βάση για την παρασκευή του πρώτου συνθετικού φαρμάκου, της ασπιρίνης.

Η έκρηξη στην φαρμακευτική βιομηχανία συνέβη στο πρώτο μισό του 20<sup>ου</sup> αιώνα και συγκεκριμένα γύρω στο 1930, όταν οι σημερινές γνωστές πολυεθνικές εταιρίες σαν την Merck, την Abbott Laboratories, την Upjohn (Pfizer) κ.ά., που λειτουργούσαν τότε ως τοπικά φαρμακεία, έστρεψαν το ενδιαφέρον τους στη σύνθεση νέων οργανικών ενώσεων ως πιθανών υποψήφιων φαρμάκων. Την ίδια περίοδο ξεκίνησαν και οι έρευνες για την φαρμακολογική δράση, προτού το υποψήφιο φάρμακο εγκριθεί ως κατάλληλο για κλινικές μελέτες στον άνθρωπο, με πειράματα αρχικά πάνω στα ζώα και αργότερα με την εξέλιξη της βιολογίας σε απομονωμένα όργανα και ιστούς, κυτταροκαλλιέργειες, ένζυμα και μεμβράνες.

Όταν πια, αργότερα, στο δεύτερο μισό του αιώνα με την ανάπτυξη τεχνολογιών όπως η κρυσταλλογραφία, οι ακτίνες-Χ, η φασματοσκοπία NMR και η φασματομετρία μαζών MS, η υπερφυγοκέντρηση, η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης και σε συνδυασμό με την αξιοσημείωτη εξέλιξη των υπολογιστών και της πληροφορικής, οδήγησαν στην άνθιση της έρευνας για νέα χημικά μόρια με φαρμακευτική δράση.

Τέλος, ειδική μνεία θα πρέπει να γίνει για ακόμα μία φορά στον Γερμανό Νομπελίστα Paul Ehrlich, ο οποίος εισήγαγε στην επιστήμη της φαρμακευτικής έννοιες όπως αυτή της «φαρμακοφόρου δομής», του «**χημειοθεραπευτικού δείκτη**» αλλά και του «**χημειο-υποδοχέα**», έννοιες που ουσιαστικά κατηύθυναν την φαρμακευτική κοινότητα στη θέσπιση των βασικών σταδίων που θα ακολουθούσαν στον σχεδιασμό νέων φαρμακολογικά δραστικών ενώσεων, ή με απλά λόγια την ανακάλυψη μιας ένωσης-οδηγού και τη βελτιστοποίησή της.

### 1.3.2. Σχεδιασμός Νέων Φαρμάκων

Από τις αρχές του 20<sup>ου</sup> αιώνα, σύμφωνα με τη ρήση του Paul Ehrlich, τα βασικά βήματα που ακολουθούνται για το σχεδιασμό νέων φαρμακομορίων αφορούν στην ανεύρεση και σύνθεση μιας ένωσης-οδηγού (lead compound) που θα αποτελέσει ουσιαστικά το «καλούπι» για την περαιτέρω ανάπτυξη μιας ή/και περισσότερων σειρών συγγενών μορίων που θα αποσκοπούν στη βελτίωση της ένωσης οδηγού και στην ενίσχυση της δράσης της.

Η ένωση-οδηγός είναι και αυτή που φέρει τη φαρμακοφόρο δομή, το σύνολο δηλαδή των ηλεκτρονικών και στερικών χαρακτηριστικών που χρειάζονται για την επίτευξη των βέλτιστων υπερμοριακών αλληλεπιδράσεων του φαρμακομορίου με έναν συγκεκριμένο βιολογικό στόχο και την μετέπειτα πρόκληση του βιολογικού αποτελέσματος. Το σχήμα και οι αποστάσεις των κρίσιμων χαρακτηριστικών της φαρμακοφόρου δομής είναι φυσικά, επίσης ζωτικής σημασίας. Παρόλα αυτά, η φαρμακοφόρος δομή αποτελεί αναγκαία, αλλά όχι ικανή συνθήκη, δεδομένου ότι εν τη απουσία της είναι βέβαιο ότι η επιθυμητή δράση δεν θα εμφανιστεί, αλλά ούτε η παρουσία της εξασφαλίζει τη δράση αυτή. Αυτό συμβαίνει διότι οι φυσικοχημικές ιδιότητες, η μεταβολική σταθερότητα και άλλοι παράγοντες, όπως για παράδειγμα ογκώδεις υποκαταστάτες ενδέχεται να παρεμποδίζουν την ένωση με τον υποδοχέα και να δυσχεραίνουν τη σύνδεση με αυτόν.

Σχετική με την έννοια της φαρμακοφόρου δομής είναι και η έννοια του δομικού υποβάθρου (scaffold), που αποτελεί το κεντρικό τμήμα του φαρμακομορίου και είναι αυτό που προσδίδει στο μόριο το γεωμετρικό του σχήμα, καθορίζει κατά πόσο το μόριο είναι δύσκαμπτο ή εύκαμπτο και τοποθετεί τους υποκαταστάτες σε ορισμένη θέση στο χώρο. Η σύστασή του καθορίζει τις συνολικές φυσικοχημικές του ιδιότητες όπως λιποφιλία, υδροφοβία και πολικότητα, ιδιότητες που καθορίζουν τη βιοδιαθεσιμότητα και την πορεία του μορίου στον οργανισμό. Επιπρόσθετα οι ηλεκτρονιακές ιδιότητες και η χημική σύσταση των ομάδων του δομικού υποβάθρου καθορίζουν την ευκολία με την οποία αντιδρά το μόριο, ένας παράγοντας μεγάλης σημασίας για τον μεταβολισμό και την τοξικότητά του.

Δύο φάρμακα διαφέρουν στο δομικό υπόβαθρο όταν έχουν διαφορετικές τοπολογίες, έτσι φαρμακο-όμοια (drug likeness) μόρια καλούνται αυτά που έχουν το ίδιο δομικό υπόβαθρο και πλευρικούς υποκαταστάτες που εμπεριέχουν τα εκτός δομικού υποβάθρου χαρακτηριστικά. Εξάλλου στην αγγλική ορολογία, οι πλευρικοί υποκαταστάτες αναφέρονται και ως decor, διακόσμηση δηλαδή του δομικού υποβάθρου.

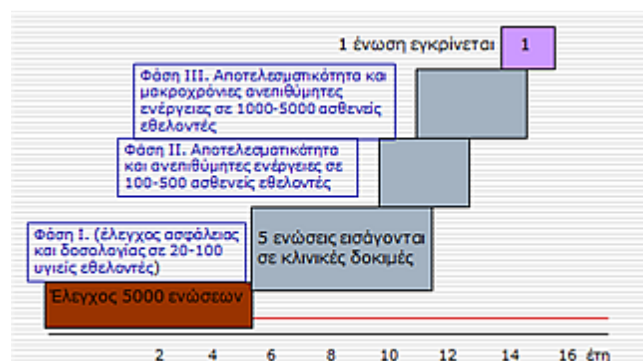
Προτού ακόμα ανακαλυφθεί και συντεθεί η ένωση-οδηγός, στον σύγχρονο σχεδιασμό φαρμάκων προηγείται η ανακάλυψη μιας αρχικής βιοδραστικής οδηγού-δομής (hit), η οποία προκύπτει μέσα από έναν ταχύ βιολογικό έλεγχο και μια διαλογή υψηλής απόδοσης που δίνει μια σαφή απάντηση αναφορικά με την εκδήλωση ή όχι της δραστηριότητας σε καθορισμένη συγκέντρωση της ουσίας. Έπειτα, κατά το στάδιο της βελτιστοποίησης της ένωσης οδηγού, γίνονται μεν τροποποιήσεις στο μόριο, με στόχο τη μεγιστοποίηση της συγγένειας και της εκλεκτικότητας προς τους υποδοχείς ή την βελτίωση των φαρμακοκινητικών χαρακτηριστικών, αλλά αυτές κατά κανόνα δεν αφορούν το δομικό υπόβαθρο.



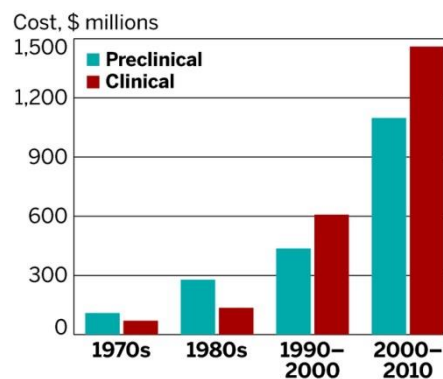
Κατά τον σχεδιασμό, τη σύνθεση και την βιολογική αποτίμηση της σειράς των συγγενών ενώσεων για τη βελτιστοποίηση της ένωσης οδηγού, όπως θα αναλυθεί ακολούθως, συνεκτιμώνται τόσο οι φυσικοχημικές ιδιότητες όσο και οι ιδιότητες ADME, ενώ παράλληλα εξετάζονται η τοξικότητα και η συγγένεια τους με τον υποδοχέα. Οι εκτιμήσεις αυτές γίνονται είτε *in silico*, υπολογιστικά, ή με γρήγορες μετρήσεις για μια πρώτη εκτίμηση (HTS) όσον αφορά τις ενώσεις οδηγούς και ενώσεις-δομή, ενώ σαφώς για τις τελικές ενώσεις που θα επιλεγούν ως υποψήφια φάρμακα, απαιτούνται ακριβείς πειραματικοί προσδιορισμοί των ιδιοτήτων.

### 1.3.3. Ανάπτυξη Νέων Φαρμάκων και Στοιχεία Στατιστικής

Φυσικά, πέρα από τις αρχικές κατευθύνσεις, οι αυξανόμενες γνώσεις για τη φαρμακοδυναμική (αφορά την επίδραση του φαρμάκου στον οργανισμό) και τη φαρμακοκινητική (αφορά την επίδραση του οργανισμού στο φάρμακο) διαμόρφωσαν και τις σύγχρονες αντιλήψεις όσον αφορά τις υψηλές προδιαγραφές των φαρμάκων και επηρέασαν εξίσου τον προσανατολισμό της έρευνας. Προδιαγραφές που σχετίζονται τόσο με την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια που πρέπει να έχει το φάρμακο, όσο και με τις αυξανόμενες κοινωνικές απαιτήσεις για βελτίωση της ποιότητας ζωής, σύμφωνα με τις οποίες το φάρμακο πρέπει να είναι φθινό και εύληπτο, ώστε να παρέχεται η δυνατότητα λήψης του σε όσο το δυνατόν μεγαλύτερο μέρος του πληθυσμού. Έτσι, οι κανονιστικές διατάξεις που έχουν θεσπιστεί και αφορούν την έγκριση νέων φαρμάκων στοχεύουν στην τήρηση των προδιαγραφών αυτών, με αποτέλεσμα ωστόσο να έχει αυξηθεί σημαντικά και το απαιτούμενο κόστος. Η διαπίστωση αυτή όσο και άλλες αναλύονται παρακάτω και με τη βοήθεια ορισμένων στατιστικών στοιχείων από έρευνες που έχουν διεξαχθεί.



Γράφημα 1. Φάσεις ανάπτυξης νέων φαρμάκων (32)

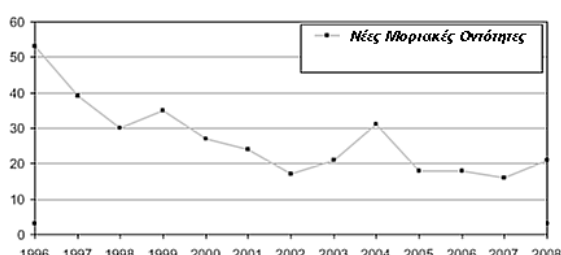


Γράφημα 2. Κόστος ανάπτυξης ενός φαρμάκου με την πάροδο των δεκαετιών

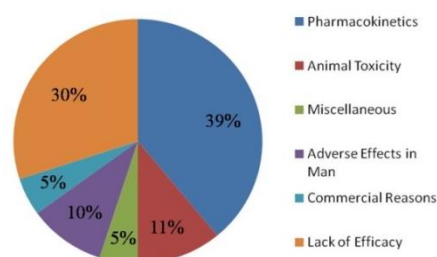
Σύμφωνα με το Γράφημα 1 από τις 5000 ενώσεις που συντίθενται και ελέγχονται προκλινικά, μόλις 5 εξ αυτών καταφέρνουν να προχωρήσουν και στις κλινικές δοκιμές που διακρίνονται σε 3 φάσεις. Τέλος, στα 15 περίπου χρόνια που μεσολάβησαν από την ανάπτυξη και τους ελέγχους της, μόλις μια καταφέρνει τελικά και εγκρίνεται με το πέρας της 3<sup>ης</sup> φάσης, ενώ πρέπει να σημειωθεί ότι ακόμα και μετά την κυκλοφορία του στην

αγορά, το φάρμακο παραμένει υπό επιτήρηση όπως άλλωστε επιτάσσει η «φαρμακοεπαγρύπνηση».

Ενδιαφέρον επίσης παρουσιάζει το γεγονός ότι με την πάροδο των χρόνων μειώνονται τα φάρμακα που τελικά εγκρίνονται, όπως φαίνεται και στο Γράφημα 3, ενώ τη φαρμακευτική έρευνα έχουν απασχολήσει φυσικά και οι λόγοι για τους οποίους τα υποψήφια φάρμακα αποτυγχάνουν στους κλινικούς ελέγχους, σε έρευνα που διεξήχθη πριν την αρχή της χλιετίας, με τις στατιστικές μελέτες να δείχνουν ότι το 40% των αποτυχιών οφείλονται σε λόγους φαρμακοκινητικής, ενώ το 30% αποδίδονται στην έλλειψη αποτελεσματικότητας, ακόμα και αν η συγγένεια με τον υποδοχέα-στόχο είχε επιβεβαιωθεί. Η τοξικότητα στα ζώα, τα συμπτώματα στον άνθρωπο και εμπορικοί λόγοι ακολουθούν κατά σειρά, όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 4.



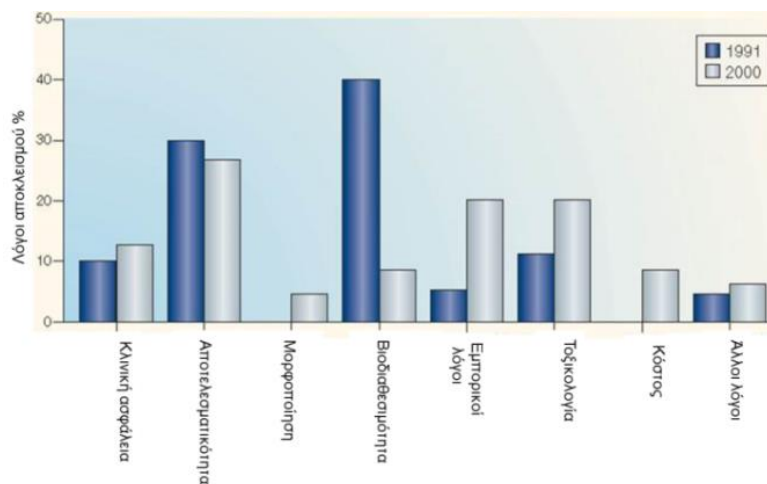
Γράφημα 3. Αριθμός Εγκρίσεων νέων φαρμάκων (32)



Γράφημα 4. Λόγοι αποκλεισμού από την κλινική ανάπτυξη

Επομένως, στο σημείο αυτό γίνεται αντιληπτό ότι η ανακάλυψη νέων φαρμάκων είναι μια διαδικασία ιδιαίτερα χρονοβόρα και πολυδάπανη. Η διαπίστωση ωστόσο για τον σπουδαίο ρόλο των φαρμακοκινητικών ιδιοτήτων στην τελική αποτελεσματικότητα, επέδρασε καθοριστικά στον τρόπο που προσεγγίζεται πλέον η ανάπτυξη νέων φαρμακομορίων, οδηγώντας τελικά στην υιοθέτηση του δόγματος “fail fast, fail cheap”, δηλαδή οι αποτυχίες να διαχωρίζονται έγκαιρα, πριν προχωρήσει η ανάπτυξη σε δαπανηρές κλινικές δοκιμές.

Το πώς γίνεται αυτό και ποιες είναι οι ιδιότητες που εξετάζονται για τον διαχωρισμό θα αναλυθεί εκτενώς παρακάτω, πάντως τα αποτελέσματα της νέας προσέγγισης στο σχεδιασμό και την ανάπτυξη των νέων φαρμάκων είναι ορατά και σε νεότερες στατιστικές μελέτες, όπου όπως αποδεικνύεται σε σχέση με το προηγούμενο διάγραμμα, οι φαρμακοκινητικοί λόγοι απόρριψης των φαρμάκων έχουν μειωθεί δραστικά από το 40% στο 10%, ενώ μικρή μείωση παρατηρείται στα ποσοστά της αποτελεσματικότητας. Αντίστοιχα, μικρή αύξηση παρουσιάζεται όσον αφορά τα κριτήρια της κλινικής ασφάλειας και της τοξικότητας στα ζώα, ενώ εκτόξευση παρουσιάζει το ποσοστό απόρριψης λόγω εμπορικών κριτηρίων.



Γράφημα 5. Σύγκριση κριτηρίων απόρριψης υποψήφιων φαρμάκων στη δεκαετία του '90 και του '00 (32)

### 1.3.4. Έννοιες της Φαρμακολογίας

Προτού αναλυθούν οι ιδιότητες που εξετάζονται κατά τον σχεδιασμό φαρμάκων, θα ήταν χρήσιμο να εισαχθεί η έννοια της Φαρμακολογίας και να γίνει κατανοητή η διάκριση μεταξύ φαρμακοδυναμικής και φαρμακοκινητικής. Η Φαρμακολογία είναι ο τομέας των φαρμακευτικών επιστημών που μελετά τη δράση των ουσιών (τεχνητών, φυσικών ή ενδογενών) που επιδρούν στη βιοχημεία ή/και στη φυσιολογία των κύτταρων, ιστών, οργάνων ή/και ολόκληρου του οργανισμού, προκαλώντας λειτουργικές μεταβολές. Πιο συγκεκριμένα, μελετώνται οι αλληλεπιδράσεις που συμβαίνουν μεταξύ των ζώντων οργανισμών και των ουσιών αυτών, καθώς από τις αλληλεπιδράσεις αυτές καθορίζεται τόσο η φυσιολογική και εύρυθμη λειτουργία του οργανισμού, όσο και τυχόν ανωμαλίες που τη διαταράσσουν (50).

Η Φαρμακολογία διακρίνεται στους κλάδους της φαρμακοδυναμικής και της φαρμακοκινητικής. Η φαρμακοδυναμική ασχολείται με το μηχανισμό δράσης της ουσίας κατά την πρόσδεσή της με τα κύτταρα-στόχους και τους ειδικούς υποδοχείς που βρίσκονται στην κυτταρική επιφάνεια ή στον πυρήνα του κυττάρου, καθώς και με τις συνέπειες της δράσης αυτής στον οργανισμό (51). Η φαρμακοκινητική ασχολείται με την πορεία της ουσίας μέσα στον οργανισμό, και συγκεκριμένα με τις βιομετατροπές στις οποίες υπόκειται από τη στιγμή της πρόσληψης και της απορρόφησης της από τον οργανισμό, την κατανομή της και τον μεταβολισμό της στους ιστούς μέχρι τελικά την απέκκρισή της από αυτόν (52).

Με απλούστερα λόγια, θα μπορούσε να ειπωθεί ότι η φαρμακοδυναμική εξετάζει πως η ουσία επιδρά στον οργανισμό, τη στιγμή που η φαρμακοκινητική επικεντρώνεται στο πως ο οργανισμός επηρεάζει την ουσία, ενώ και οι δύο μαζί καθορίζουν την απαιτούμενη δοσολογία, την αποτελεσματικότητα, αλλά και τις ενδεχόμενες παρενέργειες.

### 1.3.5. Εξεταζόμενες Παράμετροι κατά τον Σχεδιασμό Φαρμάκων

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, τα φαρμακομόρια που αποτυγχάνουν διαχωρίζονται έγκαιρα από αυτά που θα περάσουν στις δαπανηρές κλινικές δοκιμές, κατά το δόγμα “fail fast, fail cheap”. Σύμφωνα, λοιπόν, με την αντίληψη αυτή οι ιδιότητες Απορρόφησης (Absorption), Κατανομής (Distribution), Μεταβολισμού (Metabolism) και Απέκκρισης (Elimination) που συνοψίζονται στο ακρωνύμιο ADME, εξετάζονται παράλληλα με τη συγγένεια των νέων μορίων και του υποδοχέα, από τα πρώτα κιάλας στάδια του σχεδιασμού, όπως άλλωστε και διάφορες φυσικοχημικές ιδιότητες. Οι ιδιότητες ADME, όπως και η τοξικότητα, που εξαρτώνται άμεσα από φυσικοχημικές και μοριακές παραμέτρους, ήταν αυτές που ουσιαστικά ώθησαν στην εισαγωγή της έννοιας της φαρμακο-ομοιότητας. Έτσι, καθώς αναπτύχθηκαν μέθοδοι υπολογισμού και τεχνικές προσδιορισμού των ιδιοτήτων αυτών, κατέστη δυνατή η διαμόρφωση του φυσικοχημικού προφίλ των νέων ενώσεων. Οι κυριότερες φυσικοχημικές ιδιότητες που εξετάζονται και σχετίζονται άμεσα με τη φαρμακοκινητική και τη φαρμακοδυναμική συμπεριφορά των ενώσεων είναι το μοριακό μέγεθος, η λιποφιλία, η δυνατότητα σχηματισμού δεσμών H<sub>2</sub> και η πολικότητα (32).

#### 1.3.5.1. Μοριακοί Στόχοι Φαρμάκων<sup>(32)</sup>

Έγινε σε προηγούμενο κεφάλαιο αναφορά για την σημασία ορισμένων θέσεων και υποκαταστατών των κινολινονικών αναλόγων για τη σύνδεσή τους με τους διάφορους μοριακούς στόχους και την εκδήλωση της φαρμακευτικής δράσης. Η σύνδεση των φαρμακομορίων με τους υποδοχείς αυτών των μακρομορίων είναι το κύριο αντικείμενο μελέτης της φαρμακοδυναμικής.

Μοριακοί στόχοι των φαρμάκων αποτελούν διάφορα μακρομόρια του οργανισμού, όπως ένζυμα και δομικές πρωτεΐνες, νουκλεϊκά οξέα (DNA), μεμβρανικές πρωτεΐνες-μεταφορείς και διάλυτοι ιόντων. Οι κυριότεροι ωστόσο στόχοι είναι υποδοχείς συζευγμένοι με G πρωτεΐνες (GPCR), που επιτελούν μεγάλο εύρος φυσιολογικών λειτουργιών και οι κινάσες που σχετίζονται με τη φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών. Το ίδιο το DNA αποτελεί επίσης μοριακό στόχο αντικαρκινικών, αντιβιοτικών και αντιικών φαρμάκων.

Βέβαια, συνήθως τα φαρμακομόρια δε συνδέονται μόνο με έναν, αλλά με περισσότερους μοριακούς στόχους, προκαλώντας έτσι δευτερεύουσες και συχνά ανεπιθύμητες δράσεις. Επομένως, κατά τον σχεδιασμό νέων φαρμακομορίων επιδιώκεται η όσο το δυνατόν μεγαλύτερη εκλεκτικότητα προς τον επιλεγμένο στόχο, χωρίς ωστόσο αυτό να αποκλείει ορισμένες περιπτώσεις που η συγγένεια με πολλαπλούς στόχους κρίνεται επιθυμητή. Αυτό συμβαίνει όταν η σύνδεση με περισσότερους καθορισμένους υποδοχείς ενδέχεται να οδηγήσει σε συνέργεια φαρμακευτικών δράσεων ή σε αντιστάθμισμα ανεπιθύμητων ενεργειών.

Η ανακάλυψη νέων στόχων φαρμάκων αποτελεί σήμερα ένα ιδιαίτερα αναπτυσσόμενο πεδίο έρευνας που συμβάλλει στην σύνθεση νέων φαρμακομορίων. Η επικύρωση των στόχων απαιτεί την ανάπτυξη in vivo και in vitro τεχνικών βιολογικού προσδιορισμού.

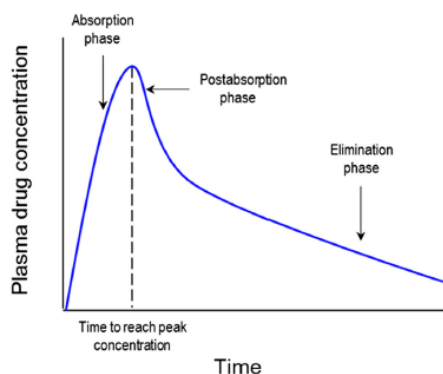
### 1.3.5.2. Ιδιότητες Φαρμακοκινητικής

#### Απορρόφηση (Absorption)

Η απορρόφηση του φαρμάκου αφορά την πορεία που ακολουθεί από την χορήγηση του μέχρι να φτάσει στην κυκλοφορία του αίματος. Η ευκολότερη και πιο διαδεδομένη μέθοδος χορήγησης των φαρμάκων είναι από το στόμα και η πορεία που ακολουθεί στη συνέχεια, εκτείνεται κατά μήκος του γαστρεντερικού σωλήνα, από τον οισοφάγο στο στομάχι και έπειτα στο λεπτό έντερο, όπου και λαμβάνει χώρα το κύριο μέρος της απορρόφησης του και ουσιαστικά καθίσταται βιοδιαθέσιμο στον οργανισμό. Από εκεί μεταβαίνει στο συκώτι όπου και μεταβολίζεται για να εισέλθει στη συνέχεια στο κυκλοφορικό σύστημα προκειμένου να οδηγηθεί στον τελικό στόχο του και να συνδεθεί με τους υποδοχείς των κυττάρων (53) (54) (55).

Κατά την εκ του στόματος χορήγηση, τα δύο βασικά ερωτήματα που εγείρονται είναι ποια συγκέντρωση της φαρμακευτικής ουσίας θα είναι βιοδιαθέσιμη και πόσο γρήγορα θα συμβεί αυτό. Ο επιτυχής σχεδιασμός του φαρμάκου απαιτεί το φαρμακομόριο να είναι αρκούντως ανθεκτικό στη χημική και ενζυματική αποδόμηση που θα γνωρίσει στα διάφορα όργανα κατά την πορεία του στον οργανισμό, να είναι ικανό να διαπεράσει το εντερικό επιθήλιο και να εισέλθει στην κυκλοφορία του αίματος και εξερχόμενο από το συκώτι να έχει παραμείνει όσο το δυνατόν ανέπαφο και σε συγκέντρωση ικανή ώστε να εκδηλωθεί η φαρμακευτική δράση (53).

- Οι κυριότεροι παράγοντες του φαρμάκου που εξετάζονται αναφορικά με την απορρόφηση είναι η διαλυτότητά του, που αφορά το χρόνο που χρειάζεται ώστε να μεγιστοποιηθεί η συγκέντρωσή του εντός του γαστρεντερικού σωλήνα, καθώς και η διαπερατότητα του στο επιθήλιο, όπου η κατακράτηση γίνεται με παθητική διάχυση. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την απορρόφηση είναι το μέγεθος και η χημική μορφή των φαρμακομορίων, ενώ για τα φαρμακευτικά διαλύματα εξέχοντα ρόλο κατέχουν η υδροφοβία και το pH (53) (56) (57) (58).
- Στη διαπερατότητα του επιθηλίου και των μεμβρανών καθοριστικό ρόλο διαδραματίζει η λιποφιλία. Οι λιπόφιλες ενώσεις με ευνοϊκό συντελεστή κατανομής επιδεικνύουν μεγάλη απορρόφηση και ισχυρή φαρμακευτική δράση (58).



**Διάγραμμα 1. Η συγκέντρωση ενός φαρμάκου στο πλάσμα του οργανισμού συναρτήσει του χρόνου, μετά την εκ του στόματος χορήγηση**

### *Μεταβολισμός (Metabolism)*

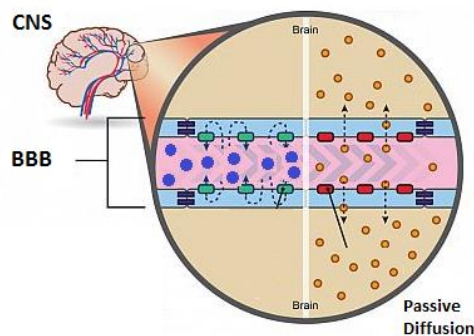
Μετά την απορρόφησή του φαρμάκου, ακολουθεί ο μεταβολισμός του, οπότε και το φάρμακο αποσυντίθεται στα δομικά του στοιχεία. Ο μεταβολισμός λαμβάνει χώρα κατά κύριο λόγο στο μεγαλύτερο εσωτερικό όργανο του ανθρώπινου οργανισμού, το συκώτι. Άλλα όργανα που διενεργούν μεταβολικές λειτουργίες είναι οι πνεύμονες και ορισμένες φορές ο γαστρεντερικός σωλήνας. Κατά το στάδιο αυτό, ένζυμα είναι αυτά που επιτελούν την αποσύνθεση, δημιουργώντας έτσι τους μεταβολίτες. Ο μεταβολισμός διευκολύνει ουσιαστικά τα δύο επόμενα στάδια που θα περάσει το φάρμακο, την κατανομή και την απέκκριση. Ουσιαστικά κατά τον μεταβολισμό τα διάφορα έκδοχα του φαρμάκου διαχωρίζονται από την φαρμακευτική ουσία, το φαρμακομόριο δηλαδή που καλείται μέσω της ροής του αίματος να κατανεμηθεί σε συγκεκριμένους ιστούς. Όσον αφορά την απέκκριση, αυτή διευκολύνεται καθώς μέσα από χημικές αντιδράσεις του μεταβολισμού, όπως υδρολύσεις και οξειδώσεις, οι ουσίες καθίστανται πιο υδρόφιλες και εύκολο να απεκκριθούν (59) (54) (60).

### *Κατανομή (Distribution)*

Μόλις το φάρμακο έχει μεταβολιστεί, το φαρμακομόριο μέσω της κυκλοφορίας του αίματος περνάει στους ιστούς και στο ενδοκυττάριο υγρό των κυττάρων όπου και συνδέεται με τους διάφορους υποδοχείς των μακρομορίων. Η σύνδεση ωστόσο είναι αναστρέψιμη, δηλαδή φαρμακομόρια που δεν συνδέονται ισχυρά με τους υποδοχείς, περνάνε εκ νέου στη κυκλοφορία του αίματος και από εκεί ενδέχεται να «προσβάλλουν» άλλους ιστούς και όργανα, διαφορετικά από τους στόχους τους. Έτσι, το στάδιο αυτό είναι υπεύθυνο και για την ενδεχόμενη εκδήλωση των παρενεργειών του φαρμάκου (54) (59).

- Καθοριστικό ρόλο στην κατανομή του φαρμάκου στον οργανισμό διαδραματίζει η έκταση της σύνδεσης του φαρμακομορίου με τις πρωτεΐνες του πλάσματος (πρωτεϊνική σύνδεση). Εξάλλου, η δράση των φαρμάκου εξαρτάται από τη συγκέντρωση που έχει καταφέρει να εισέλθει στο κυκλοφορικό σύστημα και επομένως, η συγκέντρωση του φαρμάκου αφορά την συγκέντρωση που κυκλοφορεί στο πλάσμα και όχι την συνολική συγκέντρωση. Από το πλάσμα και μέσω της κυκλοφορίας του αίματος τα φαρμακομόρια έρχονται σε επαφή με τους μοριακούς τους στόχους και συνδέονται με τους υποδοχείς τους ώστε να εκδηλωθεί η δράση τους (61).
- Ένα μέγεθος που καθορίζει σε μεγάλο βαθμό την έκταση της σύνδεσης με τις πρωτεΐνες του πλάσματος είναι η λιποφιλία, για την οποία θα γίνει ιδιαίτερη αναφορά παρακάτω. Πρέπει όμως στο σημείο αυτό να σημειωθεί ότι υψηλή τιμή της λιποφιλίας των φαρμακομορίων έχει διαπιστωθεί πως από τη μία ευνοεί τον σχηματισμό του υδρόφοβου δεσμού με τους υποδοχείς των μακρομορίων, από την άλλη όμως ισχυροποιεί και τον δεσμό με τις πρωτεΐνες του πλάσματος. Αυτό σημαίνει πρακτικά ότι μια πολύ ισχυρή σύνδεση με τις πρωτεΐνες του πλάσματος ενδέχεται να εμποδίσει τη σύνδεση με τις πρωτεΐνες-υποδοχείς των μοριακών στόχων, διακινδυνεύοντας έτσι την εν γένει αποτελεσματικότητα του φαρμάκου, αλλά και αυξάνοντας τον κίνδυνο για εκδήλωση τοξικότητας, λόγω της επακόλουθης βιοσυσώρευσης της ουσίας στον οργανισμό (62).

- Μια ακόμα παράμετρος που λαμβάνεται υπόψη κατά τον σχεδιασμό φαρμάκων που στοχεύουν στο κεντρικό νευρικό σύστημα (Central Nervous System, CNS), είναι η ικανότητα των φαρμακομορίων να διαπερνούν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό (Blood Brain Barrier, BBB). Ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός αποτελεί ένα από τα πιο σύνθετα δίκτυα άμυνας του οργανισμού, παρεμποδίζοντας ξένες και πιθανώς παθογόνες ουσίες να φτάσουν στον εγκέφαλο. Μάλιστα, οι περισσότερες ουσίες αδυνατούν να διαπεράσουν το εμπόδιο αυτό. Έτσι, όπως γίνεται αντιληπτό, ένα φάρμακο που καλείται να δράσει στον εγκέφαλο, προκειμένου να θεωρηθεί αποτελεσματικό και να εισέλθει στο κεντρικό νευρικό σύστημα και το νωτιαίο μυελό των οστών, πρέπει πρώτα να διέλθει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω μηχανισμών παθητικής διάχυσης. Στην Εικόνα 28 με μπλε χρώμα παριστάνονται παθογόνες ουσίες ή/και φαρμακομόρια μη αποτελεσματικών τελικά ουσιών που δεν καταφέρνουν να διέλθουν τη σφιχτή ζώνη των ενδοθηλίων που χωρίζει την κυκλοφορία του αίματος στην περιφέρεια από το κεντρικό νευρικό σύστημα. Με πορτοκαλί χρώμα παριστάνονται μόρια που μέσω μηχανισμών παθητικής διάχυσης καταφέρνουν να διέλθουν τον φραγμό και να περάσουν από το κυκλοφορικό σύστημα στο κεντρικό νευρικό σύστημα και τον εγκέφαλο (54) (59).



Εικόνα 31. Μόρια που επιχειρούν να διέλθουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό

Τέλος, η ποσοτική παράμετρος που εξετάζεται για τη διαπερατότητα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού δίνεται από την ακόλουθη λογαριθμική σχέση, όπου  $C_{\text{Brain}}$ , η συγκέντρωση του αναλύτη που διέρχεται στον ιστό του εγκεφάλου και  $C_{\text{Blood}}$ , η συγκέντρωση του αναλύτη που βρίσκεται στο πλάσμα του αίματος (63).

$$\log BB = \log \frac{C_{\text{Brain}}}{C_{\text{Blood}}}$$

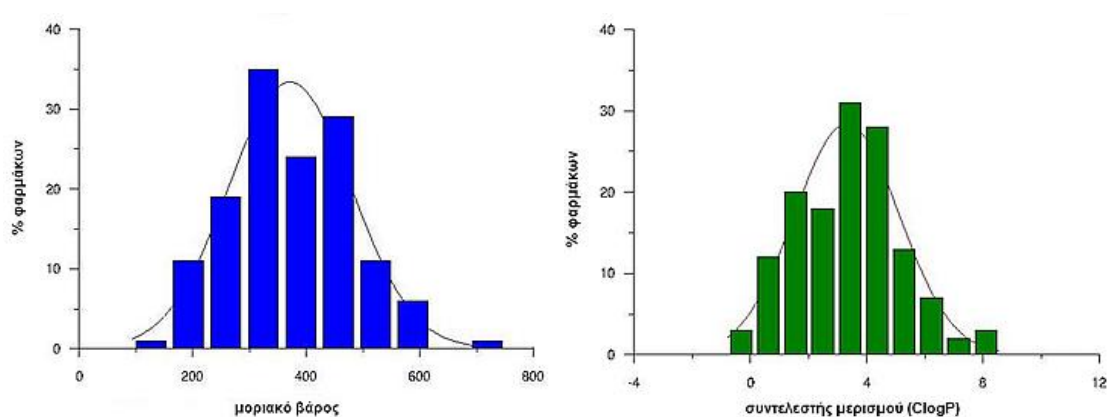
#### Απέκκριση (Excretion)

Η απέκκριση αποτελεί και την τελευταία φάση που περνάει το φάρμακο μέσα στον οργανισμό. Στη φάση αυτή τόσο το φάρμακο, όσο και οι μεταβολίτες του εξέρχονται από

αυτόν κυρίως μέσω της ουρίας, άλλα και κατά την έκκριση άλλων υγρών του ανθρωπίνου σώματος, όπως ο ιδρώτας, το σάλιο και φυσικά το μητρικό γάλα (54) (64).

### 1.3.5.3. Φυσικοχημικές Ιδιότητες

Οι φυσικοχημικές ιδιότητες των φαρμακομορίων και ειδικότερα αυτών που χορηγούνται εκ του στόματος, περιορίζονται σε ένα αυστηρό εύρος τιμών που καθορίζονται από τον φυσικοχημικό χώρο φαρμακο-ομοιότητας που αναφέρθηκε και προηγουμένως. Οι πιο σημαντικές εξ αυτών και οι οποίες επηρεάζουν άμεσα τη φαρμακοδυναμική και φαρμακοκινητική συμπεριφορά των φαρμάκων είναι το μοριακό μέγεθος και το σχήμα στο χώρο, η λιποφιλία, η πολικότητα και η δυνατότητα σχηματισμού δεσμών H<sub>2</sub>, η διαλυτότητα κ.ά. Για του λόγου το αληθές δίνονται στην ακόλουθη εικόνα οι σχεδόν κανονικές καμπύλες κατανομής για το μοριακό βάρος και τη λιποφιλία φαρμάκων που αναπτύχθηκαν την τελευταία 20ετία (32).



**Διάγραμμα 2. Φαρμακο-όμοιοι φυσικοχημικοί χώροι ως προς το μοριακό βάρος και τον συντελεστή μερισμού (32)**

#### Λιποφιλία

Όπως δηλώνεται και από το όνομά της, η λιποφιλία κατά IUPAC εκφράζει τη συγγένεια ενός μορίου ή τμήματός του με ένα λιπόφιλο περιβάλλον και είναι ένα μέγεθος εξέχουσας σημασίας για τη βιολογική δράση των φαρμακομορίων καθώς επηρεάζει τόσο τη φαρμακοκινητική όσο και τη φαρμακοδυναμική τους συμπεριφορά, αφού ελέγχει τόσο παθητικά φαινόμενα όπως η διαπερατότητα, η κατανομή και η απέκκριση, όσο και φαινόμενα σύνδεσης, όπως με τις πρωτεΐνες-υποδοχείς των μακρομορίων-στόχων, τις πρωτεΐνες του πλάσματος, ή τους μεταβολίτες στη φάση του μεταβολισμού (32) (62).

Εκτός όμως της καθοριστικής σημασίας που έχει για τη βιοχημική συμπεριφορά των φαρμάκων, η λιποφιλία είναι άρρηκτα συνδεδεμένη και με ορισμένα ανεπιθύμητα φαινόμενα. Έτσι, όταν η τιμή της είναι αυξημένη μερικά από αυτά είναι τα εξής (32):

- I. Μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα του φαρμάκου στο πλάσμα αίματος, λόγω της χαμηλής διαλυτότητάς του
- II. Αθροιστικά φαινόμενα λόγω παρατεταμένης παραμονής της ουσίας στον οργανισμό



- III. Κίνδυνος τοξικότητας, καθώς έχει διαπιστωθεί η γραμμική της συνάρτηση με τη λιποφιλία ή όπως διетύπωσε ο Richer “le moins soluble, le plus toxique”, δηλαδή όσο λιγότερο διαλυτές, τόσο πιο τοξικές
- IV. Επαγωγή μικροσωμικών ενζύμων με απρόβλεπτες συνέπειες κατά τον μεταβολισμό, λόγω της τάσης του οργανισμού να αμύνεται απέναντι σε λιπόφιλες ουσίες
- V. Δυσχέρεια στη μορφοποίηση των ενώσεων-οδηγών και κατ’ επέκταση την ανάπτυξη φαρμάκων με βελτιωμένες ιδιότητες

Για όλους τους παραπάνω λόγους, ακολουθούνται μετρικοί κανόνες φαρμακο-ομοιότητας όσον αφορά τη λιποφιλία και έχουν θεσπιστεί ανώτατες τιμές προς αποφυγή μοριακής παχυσαρκίας. Όπως φαίνεται και στο ανωτέρω Διάγραμμα 2, ο μέσος όρος των τιμών ClogP που αποτελεί ποσοτικό δείκτη της λιποφιλίας είναι περίπου 3,3 (32).

#### Η Αρχή της Ελάχιστης Λιποφιλίας

Με βάση λοιπόν τις προηγούμενες διαπιστώσεις, το 1987 ο Hansch διетύπωσε την αρχή της ελάχιστης λιποφιλίας, η οποία υπαγορεύει πως ο σχεδιασμός φαρμάκων πρέπει μεν να προσανατολίζεται και να στοχεύει σε ενώσεις που προκαλούν την επιθυμητή δράση και μάλιστα ισχυρά, πρέπει παράλληλα δε να εξασφαλίζεται η ελάχιστη λιποφιλία (32).

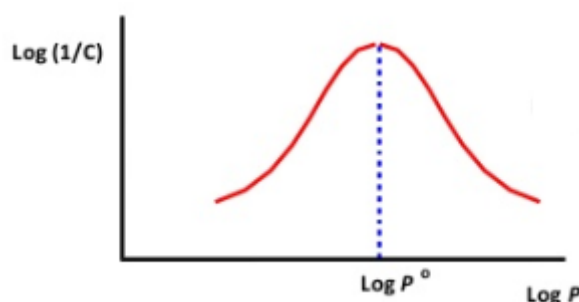
Η αρχή αυτή είναι ύψιστης σημασίας για τα φάρμακα που καλούνται να δράσουν στην περιφέρεια και έτσι επιθυμείται ο αποκλεισμός τους από το κεντρικό νευρικό σύστημα και οι ανεπιθύμητες παρενέργειες που η σύνδεση τους με τους υποδοχείς του κεντρικού νευρικού συστήματος επιφέρει. Όμως η αρχή αυτή επεκτείνεται και στα φάρμακα που καλούνται να δράσουν εκεί. Έχει αποδειχθεί ότι η βέλτιστη τιμή λιποφιλίας για τη διαπερατότητα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού και τη δράση στο κεντρικό νευρικό σύστημα είναι  $\log P \sim 2$ . Παράλληλα όμως έχει διαπιστωθεί πως οι ουσίες με λιποφιλία κοντά σε αυτή την τιμή, πέρα των άλλων δράσεων, καταστέλλουν το νευρικό σύστημα. Έτσι ακόμα και σε αυτά τα φάρμακα επιδιώκεται ακόμα χαμηλότερη τιμή λιποφιλίας από 2, και προκειμένου να αντισταθμιστεί το γεγονός αυτό δίνεται περισσότερη έμφαση στην όσο το δυνατό μεγαλύτερη συγγένεια των φαρμακομορίων με τους υποδοχείς του κεντρικού νευρικού συστήματος, παρά στην ικανότητά τους να διέλθουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό (32).

Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα της προσέγγισης αυτής αποτελεί η περίπτωση της μορφίνης η οποία αν και εμφανίζει χαμηλό συντελεστή κατανομής με τιμή  $\log P = 0,07$ , χάρη στην εξαιρετικά μεγάλη ενδογενή δραστηριότητα που παρουσιάζει, εντούτοις εμφανίζει ισχυρότατη αναλγητική δράση, ακόμα και αν διέρχεται στο κεντρικό νευρικό σύστημα σε μικρά ποσοστά (32).

Σε αντίθεση ωστόσο με την ανεύρεση της βέλτιστης τιμής για τη διέλευση από τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, η εύρεση της ελάχιστης δυνατής τιμής λιποφιλίας στην οποία αυτή μπορεί να επιτευχθεί δεν είναι εφικτή, με την αδυναμία αυτή να οφείλεται αφενός στην ανομοιομορφία του αιματοεγκεφαλικού φραγμού και αφετέρου στην ίδια τη φύση των ουσιών αναφορικά με τη συγγένειά τους προς τους υποδοχείς του κεντρικού νευρικού

συστήματος. Ισχυρή συγγένεια με τους υποδοχείς επιφέρει μικρότερη ανοχή του βιολογικού συστήματος ως προς το ποσοστό της ουσίας που διέρχεται τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, σε σχέση με την ανοχή που παρουσιάζει στις ουσίες που έχουν μικρότερη συγγένεια προς τους υποδοχείς, με το παράδειγμα της μορφίνης να είναι ξανά χαρακτηριστικό (32).

Ως εκ τούτου, και εφόσον η σχέση μεταξύ της διαπερατότητας στο νευρικό σύστημα και λιποφιλίας είναι παραβολική, ο αποκλεισμός από αυτό ερευνάται με γνώμονα τη μείωση της λιποφιλίας των ενώσεων και όχι της αύξησής της, εστιάζοντας δηλαδή σε ενώσεις που βρίσκονται στο αυξανόμενο τμήμα της παραβολικής καμπύλης του Hansch και όχι στο μειούμενο, όπου η λιποφιλία αυξάνεται (32).



**Διάγραμμα 3. Καμπύλη παραβολής του Hansch για μια δεδομένη συγκέντρωση που επιφέρει συγκεκριμένη βιολογική δράση**

#### Η Διττή Φύση της Λιποφιλίας

Η λιποφιλία είναι μια ιδιότητα με διττή φάση, έχει δηλαδή διπλό χαρακτήρα που εκφράζεται από τη γενική σχέση Λιποφιλία = Υδροφοβία – Πολικότητα. Οι δύο συνιστώσες της λιποφιλίας περιγράφονται με θεμελιώδεις μοριακές παραμέτρους. Η βασικότερη των δύο συνιστωσών, η στερική, που συνήθως υπακούει στον κανόνα της προσθετικότητας, δύναται να εκτιμηθεί μέσω συσχετίσεων με παραμέτρους όπως ο μοριακός όγκος, το μοριακό βάρος, η πολωσιμότητα και η μοριακή διαθλασιμότητα. Η πολικότητα από την άλλη, μπορεί να εκφραστεί με τη διπολική ροπή, την ικανότητα σχηματισμού δεσμών  $H_2$ , καθώς και με ηλεκτρονιακές παραμέτρους (32).

Ακόμα μια παράμετρος που είναι δυνατό να επηρεάσει τη λιποφιλία, είτε θετικά, είτε αρνητικά, είναι η διαμόρφωση των μορίων. Η επίδραση κρίνεται ως θετική ή αρνητική ανάλογα με το αν στο εσωτερικό του μορίου κυριαρχούν πολικές ή υδρόφοβες ομάδες, που αποφέρουν αντίστοιχα υδρόφιλη ή υδρόφοβη κατάρρευση και μια «χαμελεοντική» συμπεριφορά του μορίου, ευπροσάρμοστη δηλαδή ανάλογα με το περιβάλλον του. Επομένως, η παραπάνω σχέση μπορεί να διανθιστεί λαμβάνοντας υπόψη τη διαμόρφωση στην εξής νέα Λιποφιλία = Υδροφοβία – Πολικότητα  $\pm$  Διαμόρφωση (32).

Εξάλλου, η σύνθετη φύση της λιποφιλίας αντικατοπτρίζει και τις δυσκολίες που εγείρονται στην προσπάθεια αξιόπιστου υπολογισμού του συντελεστή μερισμού,  $\log P$ .

#### Συντελεστής Μερισμού (P)

Ο συντελεστής μερισμού, P, είναι μια σταθερά ισορροπίας που εκφράζεται με το λόγο της συγκέντρωσης του φαρμάκου στη λιπιδική φάση προς τη συγκέντρωση του στην υδατική φάση και αποτελεί ενδεικτικό μέτρο της λιποφιλίας, καθώς οι λιπιδικές φάσεις του οργανισμού, όπως οι μεμβράνες και τα υδρόφοβα τμήματα των πρωτεϊνών, δύνανται να προσομοιωθούν με κατάλληλο οργανικό διαλύτη. Συνήθως χρησιμοποιείται στη λογαριθμική του μορφή, οπότε και ισχύει ο λόγος (32):

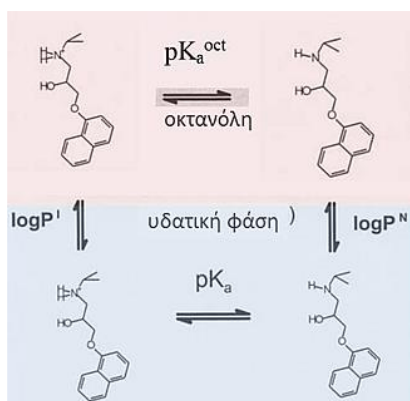
$$\log P = \frac{C_{org}}{C_{ud}}$$

Για να γίνει πλήρως κατανοητό το πρακτικό νόημα του συντελεστή μερισμού, ας υποθεθεί ένα διφασικό σύστημα ίσων όγκων οργανικού διαλύτη και νερού, στους οποίους πραγματοποιείται ο μερισμός της ουσίας και ότι για το σύστημα υπολογίζεται  $\log P = 1$  δηλαδή  $P = 10$ . Αυτό πρακτικά σημαίνει ότι για κάθε 1 μέρος της ουσίας που βρίσκεται στην υδατική φάση, στην οργανική φάση βρίσκονται 10 μέρη της ουσίας (65).

Το πλέον καθιερωμένο σύστημα αναφοράς για τον προσδιορισμό του συντελεστή κατανομής είναι ένα διφασικό σύστημα n-οκτανόλης και νερού, χάρη στα πλεονεκτήματα που παρουσιάζει η n-οκτανόλης, όπως το ότι είναι φτηνή, μη τοξική και το γεγονός ότι δεν απορροφά στο υπερίωδες, άρα διευκολύνεται ο πειραματικός προσδιορισμός, ενώ επιπρόσθετα σχηματίζει δεσμούς  $H_2$  τόσο ως δέκτης, όσο και ως δότης, μια ιδιότητα που προσομοιάζει πολλά βιολογικά συστήματα (μεμβράνες, πρωτεΐνες) (32).

#### Συντελεστής Κατανομής (D)

Καθώς οι περισσότερες φαρμακευτικές ενώσεις φέρουν κέντρα ιοντισμού και αναλόγως του pH ενδέχεται να βρίσκονται περισσότερο ή λιγότερο ιοντισμένες, στην περίπτωση ιοντιζόμενων ουσιών, η κατανομή στο ίδιο διφασικό σύστημα n-οκτανόλης και νερού προσδιορίζεται από περισσότερες σταθερές ισορροπίας, οι οποίες παρουσιάζονται σχηματικά ακολούθως για την προπανολόλη, όπου και συνοψίζονται οι 4 ισορροπίες που λαμβάνουν χώρα (32):



Σχήμα 12. Οι ισορροπίες κατά την κατανομή της προπανολόλης σε σύστημα οκτανόλης-νερού (32)

- το  $\log P^N$ , κατανομή της αδιάστατης μορφής μεταξύ των δύο φάσεων
- το  $\log P^I$ , κατανομή της ιοντισμένης μορφής
- το  $pK_a$ , η σταθερά ιοντισμού
- το  $pK_a^{oct}$ , το pH της υδατικής όταν στην οκτανόλη συνυπάρχουν ίσες συγκεντρώσεις αδιάστατης και ιοντισμένης μορφής

Στην περίπτωση αυτή χρησιμοποιείται συμπληρωματικά, ο συντελεστής κατανομής  $\log D$  που ισούται με τον λόγο του αθροίσματος των συγκεντρώσεων ιοντισμένων και αδιάστατων μορφών σε οργανική και υδατική φάση αντιστοίχως, σύμφωνα με τη σχέση (32):

$$\log D = \frac{\sum C_{org}}{\sum C_{ud}}$$

Με την προϋπόθεση ότι στην οργανική φάση κατανέμεται μόνο η αδιάστατη μορφή και λαμβάνοντας υπόψη ένα παράγοντα διόρθωσης  $Q$ , οι δύο συντελεστές μερισμού και κατανομής συνδέονται μέσω της σχέσης (32):

$$\log P = \log D + Q$$

Ο παράγοντας διόρθωσης  $Q$  εξαρτάται από το  $pK_a$  της φαρμακευτικής ουσίας και το pH του περιβάλλοντος και αναλόγως της φύσης της ουσίας υπολογίζεται βάσει της εξίσωσης Henderson-Hasselbalch για τον ιοντισμό, όπως φαίνεται στον ακόλουθο πίνακα (32):

Πίνακας 1. Διορθώσεις για τη συσχέτιση  $\log P$ ,  $\log D$

Φύση Ουσίας	Q
Μονοπρωτικά Οξέα	$\log (1 + 10^{pH-pK_a})$
Μονοπρωτικές Βάσεις	$\log (1 + 10^{pK_a-pH})$
Διπρωτικά Οξέα	$\log(1 + 10^{pH-pK_{a1}} + 10^{2pH-pK_{a1}-pK_{a2}})$ , με $pK_{a1} < pK_{a2}$
Διπρωτικές Βάσεις	$\log (1 + 10^{pK_{a1}-pH} + 10^{pK_{a1}-pK_{a2}-2pH})$ , με $pK_{a1} > pK_{a2}$
Αμφολύτες	$\log (1 + 10^{pK_{a1}-pH} + 10^{pH-pK_{a2}})$ , με $pK_{a2}(\text{acid}) > pK_{a1}(\text{base})$

#### Προσδιορισμός των Συντελεστών Μερισμού (P) και Κατανομής (D)

Για τον πειραματικό υπολογισμό των δύο συντελεστών έχει αναπτυχθεί μια πληθώρα μεθόδων που διακρίνονται σε άμεσες και έμμεσες. Στις άμεσες εντάσσονται η μέθοδος της

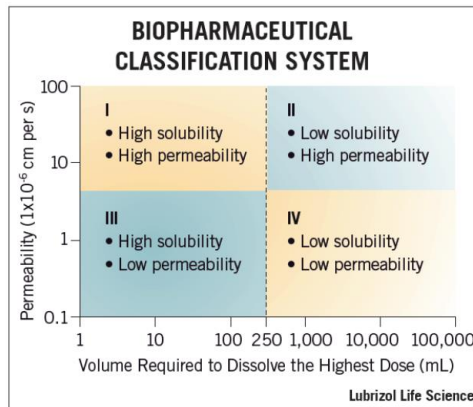
ανακινούμενης φιάλης και η ποτενσιομετρική, ενώ στις έμμεσες ανήκουν διάφορες μέθοδοι χρωματογραφίας με πιο συνηθισμένες την αντίστροφης φάσης χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (RP-TLC) και την υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC). Υπάρχουν επίσης ορισμένα θερμοδυναμικά μοντέλα, όπως του Collander, που δίνουν αριθμητικές εκτιμήσεις (32).

- Η μέθοδος της ανακινούμενης φιάλης αν και αποτελεί την πιο κλασική μέθοδο προσδιορισμού εμφανίζει αρκετούς περιορισμούς και μειονεκτήματα, με τα πολλά βήματα που απαιτούν ακριβή ρύθμιση συνθηκών, το περιορισμένο όριο αξιόπιστων μετρήσεων και την κακή επαναληψιμότητα να είναι κάποια από αυτά. Επιπλέον απαιτούνται τόσο οι μετρούμενες ουσίες, όσο και οι χρησιμοποιούμενοι διαλύτες να είναι πολύ καθαρά. Το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο σύστημα διαλυτών είναι όπως αναφέρθηκε η οκτανόλη με το νερό, χάρη στη μικρή ικανότητα κορεσμού της πρώτης, γεγονός που διευκολύνει τους πειραματικούς προσδιορισμούς σε σχέση με άλλα συστήματα.
- Η ποτενσιομετρική μέθοδος εφαρμόζεται όταν στο εξεταζόμενο μόριο υπάρχουν κέντρα ιοντισμού και επιτρέπει τον προσδιορισμό του  $pK_a$  ταυτόχρονα με του  $\log P$ , ενώ βασίζεται στη μεταβολή της κατανομής της ιοντιζόμενης ουσίας συναρτήσει του pH και στη διαφοροποίηση της  $pK_a$  παρουσία οργανικού διαλύτη. Αν και μέχρι σήμερα η διαδικασία έχει πλήρως αυτοματοποιηθεί, μάλλον το κόστος της αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα στην ευρύτερη εφαρμογή της, καθώς απαιτείται η χρήση ακριβής οργανολογίας και τεχνολογίας Sirius και Pion.
- Στις χρωματογραφικές τεχνικές, η εξεταζόμενη ουσία κατανέμεται μεταξύ μιας μη πολικής στατικής φάσης και μιας πολικής κινητής. Ο έμμεσος προσδιορισμός του συντελεστή μερισμού γίνεται εδώ αποκλειστικά σε σύστημα οκτανόλης-νερού. Βασίζεται στη γραμμικότητα που προκύπτει όσον αφορά τον λογάριθμο του συντελεστή μερισμού στο διφασικό σύστημα και στη χρωματογραφική συγκράτηση που εκφράζεται ως  $R_M$  (RP-TLC) ή  $\log k$  (HPLC). Στις σχέσεις υπεισέρχονται επίσης οι σταθερές  $a$  και  $b$ , οι οποίες προκύπτουν από τη γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης των μετρήσεων. Τέλος, την ποιότητα των ακόλουθων σχέσεων επηρεάζουν σημαντικά τόσο οι συνθήκες διεξαγωγής των χρωματογραφικών μετρήσεων, όσο και η ίδια η φύση της εξεταζόμενης ουσίας.

$$R_M = a \log P + b$$
$$\log k = a \log P + b$$

#### Διαλυτότητα

Εκτός της λιποφιλίας, μια ακόμα φυσικοχημική παράμετρος που εξετάζεται από τα πρώιμα κιάλας στάδια σχεδιασμού και ανάπτυξης νέων φαρμακευτικών ουσιών είναι η διαλυτότητα. Γενικότερα, είναι γνωστή η αντίθεσή της με τη λιποφιλία και είναι ο σημαντικότερος παράγοντας όσον αφορά την απορρόφηση και την τελική μορφοποίηση του φαρμακομορίου. Μαζί με τη διαπερατότητα είναι οι δύο ιδιότητες που χαρακτηρίζουν και κατατάσσουν ένα φάρμακο βάσει του Βιοφαρμακευτικού Συστήματος Ταξινόμησης (BCN), σύμφωνα με το οποίο οι φαρμακευτικές ουσίες ταξινομούνται στις 4 υποφαινόμενες κατηγορίες (32):



**Διάγραμμα 4. Ταξινόμηση Φαρμακευτικών Ουσιών βάσει του BCN**

Η διαλυτότητα εξετάζεται στην υψηλότερη χορηγούμενη δόση του φαρμάκου, η οποία εξετάζεται σε pH 2 – 8, ένα εύρος που αντανακλά τη διαβάθμιση του κατά μήκος του γαστρεντερικού σωλήνα. Όπως εύκολα μπορεί να γίνει αντιληπτό, η πιο επιδωκόμενη είναι η Τάξη I, καθώς ο πλέον ευκολότερος τρόπος χορήγησης είναι εκ του στόματος και ο συνδυασμός υψηλής διαλυτότητας και υψηλής διαπερατότητας επιφέρει και υψηλή διαλυτοποίηση που είναι και το ζητούμενο στην περίπτωση αυτή. Τα φαρμακευτικά σκευάσματα των άλλων τάξεων είτε κατασκευάζονται με τρόπο ώστε να ευνοείται η διαλυτοποίηση και η απορρόφησή τους (καψουλοποίηση, εγκοπές, σιρόπια), είτε τελικά επιλέγονται άλλες μέθοδοι χορήγησης (ενέσιμα, εισπνεόμενα κ.ά.) (66) (67).

Σύμφωνα με έρευνες που έχουν γίνει πάνω από 60% των φαρμάκων που κυκλοφορούν στο εμπόριο είναι ευδιάλυτα (Τάξη I,III) και μόλις το 6% εντάσσονται στην Τάξη IV, ενώ αντίθετα, από αυτά που βρίσκονται ακόμα στο στάδιο του προκλινικών ελέγχων το 90% εντάσσεται στην τελευταία τάξη. Για τους λόγους αυτούς, η αύξηση της διαλυτότητας μέσω στοχευμένων δομικών τροποποιήσεων αποτελεί αντικείμενο εντατικής έρευνας για τα νέα φάρμακα και τη βελτιστοποίηση των ενώσεων-οδηγών (32).

Η διαλυτότητα εκφράζεται σε μονάδες μάζας της διαλυμένης ουσίας προς τον όγκο του διαλύτη και μια ουσία θεωρείται ευδιάλυτη όταν η διαλυτότητα  $S > 0,1M$  και δυσδιάλυτη όταν  $S < 0,01 M$ , ενώ συγκεκριμένα στα φάρμακα θεωρείται ικανοποιητική όταν είναι μεγαλύτερη από τα  $60 \frac{\mu g_{s.o.}}{mL_{\Delta}}$  (32).

Όπως και με τη ο παράγοντας διόρθωσης  $Q$  που αφορούσε τη λιποφιλία, έτσι και η διαλυτότητα υπολογίζεται με βάση την εξίσωση Henderson-Hasselbalch, σύμφωνα με την ακόλουθη σχέση, όπου  $S_0$ , είναι η ενδογενής διαλυτότητα που αφορά την αδιάστατη μορφή των φαρμακομορίων που ιοντίζονται και  $S$ , η φαινόμενη διαλυτότητα που εξαρτάται από το pH του διαλύματος και τη σταθερά ιοντισμού  $pK_a$  της φαρμακευτικής ένωσης (32):

$$S = S_0(1 + 10^{pH-pK_a})$$

Τέλος, όπως και η λιποφιλία, έτσι και ο προσδιορισμός της δύναται να επιτευχθεί πειραματικά με την μέθοδος της ανακινούμενης φιάλης που περιγράφηκε προηγουμένως, ενώ επιπρόσθετα υπάρχουν γενικευμένες εξισώσεις όπως η Γενική Εξίσωση Διαλυτότητας

και Γραμμική Σχέση Ενέργειας-Επιδιαλύτωσης που παρέχουν κάποιες αριθμητικές εκτιμήσεις (32).

### 1.3.6. Ο Κανόνας των 5 (Rule of 5, Ro5)

Όπως τελικά γίνεται αντιληπτό, κατά το σχεδιασμό νέων φαρμάκων υπάρχουν σημαντικοί κανόνες και κριτήρια που πρέπει να λαμβάνονται υπόψη. Τα φαρμακομόρια πρέπει να είναι αρκετά δραστικά και αποτελεσματικά ώστε να μην απαιτούνται υψηλές και συχνές δόσεις, ενώ επιπρόσθετα για φάρμακα που αφορούν χρόνιες παθήσεις πρέπει να επιτυγχάνεται μεγάλος χρόνος παραμονής στον οργανισμό, δηλαδή να έχουν μεγάλο χρόνο ημιζωής (32).

Επιπρόσθετα, τα φάρμακα που καλούνται να δράσουν στο κεντρικό νευρικό σύστημα πρέπει να επιτυγχάνουν το επιθυμητό αποτέλεσμα χωρίς να απαιτείται να διέλθουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό υψηλά ποσοστά της ουσίας, ενώ γι' αυτά που προορίζονται για αποκλειστική δράση στην περιφέρεια πρέπει να επιδιώκεται αποφυγή από το νευρικό σύστημα και άρα η ελάχιστη δυνατή λιποφιλία (32).

Τα νέα φαρμακομόρια πρέπει να εμφανίζουν χαμηλή τοξικότητα και όσο το δυνατόν λιγότερες δευτερεύουσες δράσεις και παρενέργειες, κάτι το οποίο επιτυγχάνεται με αύξηση της εκλεκτικότητάς τους προς τους μοριακούς στόχους (32).

Είναι επίσης πολύ σημαντικό τα φαρμακομόρια να εμφανίζουν αποδεκτές φαρμακοκινητικές ιδιότητες και βιοδιαθεσιμότητα κατά την εκ του στόματος χορήγηση, που είναι και η προτιμητέα, λόγω της ευκολίας της. Έτσι, παράλληλα με τη φαρμακοδυναμική, εξετάζεται και η φαρμακοκινητική συμπεριφορά. Τέλος τα νέα μόρια πρέπει να συντίθενται εύκολα και να παρουσιάζουν μεγάλη χημική σταθερότητα (32).

Ο Lipinski το 1997, 10 χρόνια μετά την διατύπωση της αρχής ελάχιστης λιποφιλίας, συγκεντρώνοντας την έως τότε εμπειρία για την επίδραση όλων των εξεταζόμενων ιδιοτήτων στη διαπερατότητα των μεμβρανών, συνόψισε τους κανόνες αυτούς και διέτυψε ένα απλό μνημονικό κανόνα πολλαπλάσιων του 5, ο οποίος αφορά τα μη ευνοϊκά χαρακτηριστικά που δυσχεραίνουν την απορρόφηση και τη διαπερατότητα των φαρμάκων προορίζονται για εκ του στόματος χορήγηση (32).

1. Μοριακό βάρος,  $Mw > 500$
2. Συντελεστής μερισμού,  $logP > 5$
3. Περισσότερες από 5 θέσεις πρωτονιοδοτών σε δεσμό  $H_2$ , αθροίζοντας όλες τις υδρόξυ- (OH) και άμινο- ομάδες (NH)
4. Περισσότερες από 10 θέσεις πρωτονιοδεκτών από δεσμό  $H_2$ , αθροίζοντας όλα τα άτομα O και N του μορίου

Σύμφωνα λοιπόν με τον κανόνα του 5 του Lipinski, αν μια φαρμακευτική ένωση πληροί τουλάχιστον 2 από τα παραπάνω κριτήρια, τότε ο κίνδυνος να εμφανίζει προβλήματα στην απορρόφηση, στη διαλυτότητα και γενικότερα στη βιοδιαθεσιμότητά της είναι αυξημένος, ενώ ο Lipinski ξεχώρισε και τη διαλυτότητα ως την πλέον καθοριστική φυσικοχημική

παράμετρο για την ανάπτυξη ενός επιτυχούς φαρμάκου. Φυσικά, με την πάροδο των χρόνων και καθώς διερευνήθηκαν εξίσου σημαντικές παράμετροι, ο μνημονικός κανόνας των 5 διανθίστηκε με ακόμα περισσότερα κριτήρια που αφορούν κυρίως στην παθητική απορρόφηση των εκ του στόματος χορηγούμενων φαρμάκων (32).



## 1.4.Βιομηχανική Χρωματογραφία

Η βιομηχανική χρωματογραφία αποτελεί ένα νεοσύστατο τομέα στο σχεδιασμό και την ανάπτυξη των φαρμάκων και παρέχει τη δυνατότητα πρόβλεψης της *in vivo* συμπεριφοράς τους από τα πρώιμα κλόλας στάδια του σχεδιασμού τους. Αυτό συμβάλλει στη γρήγορη απόρριψη φαρμακομορίων που δεν φέρουν ευνοϊκές ιδιότητες ADME και στην περαιτέρω διαμόρφωση του φυσικοχημικού προφίλ των νέων ενώσεων (68).

Οι 3 κυριότερες εφαρμογές βιομηχανικής χρωματογραφίας είναι οι ακινητοποιημένες τεχνητές μεμβράνες (Immobilized Artificial Membrane, IAM), οι ακινητοποιημένες πρωτεΐνες πλάσματος (Immobilized Protein Chromatography) και η μικυλλιακή υγρή χρωματογραφία (Micellar Liquid Chromatography, MLC).

### *Χρωματογραφία Ακινητοποιημένων Τεχνητών Μεμβρανών (IAM)*

Η χρωματογραφία ακινητοποιημένων τεχνητών μεμβρανών βασίζεται στη χρησιμοποιούμενη στατική φάση, η οποία χάρη στις μονοστιβάδες φωσφολιπιδίων που περιέχει, προσομοιάζει σε μεγάλο βαθμό το υδρόφοβο περιβάλλον των βιολογικών μεμβρανών του οργανισμού, ενώ διακρίνεται για την ταχύτητα και την επαναληψιμότητα των μετρήσεων που παρέχει (32).

Κατά την ανάλυση στη χρωματογραφική στήλη ο μετρούμενο μέγεθος είναι ο χρόνος έκλουσης της ουσίας,  $t_r$ , ο οποίος προσδιορίζει και τον παράγοντα συγκράτησης,  $\log k$ . Στον υπολογισμό του  $\log k$  υπεισέρχεται και ο νεκρός χρόνος,  $t_0$ , ο χρόνος δηλαδή που χρειάζεται μια μη συγκρατούμενη ουσία να διασχίσει τη στήλη, σύμφωνα με την ακόλουθη σχέση (32):

$$\log k = \log \left( \frac{t_r - t_0}{t_0} \right)$$

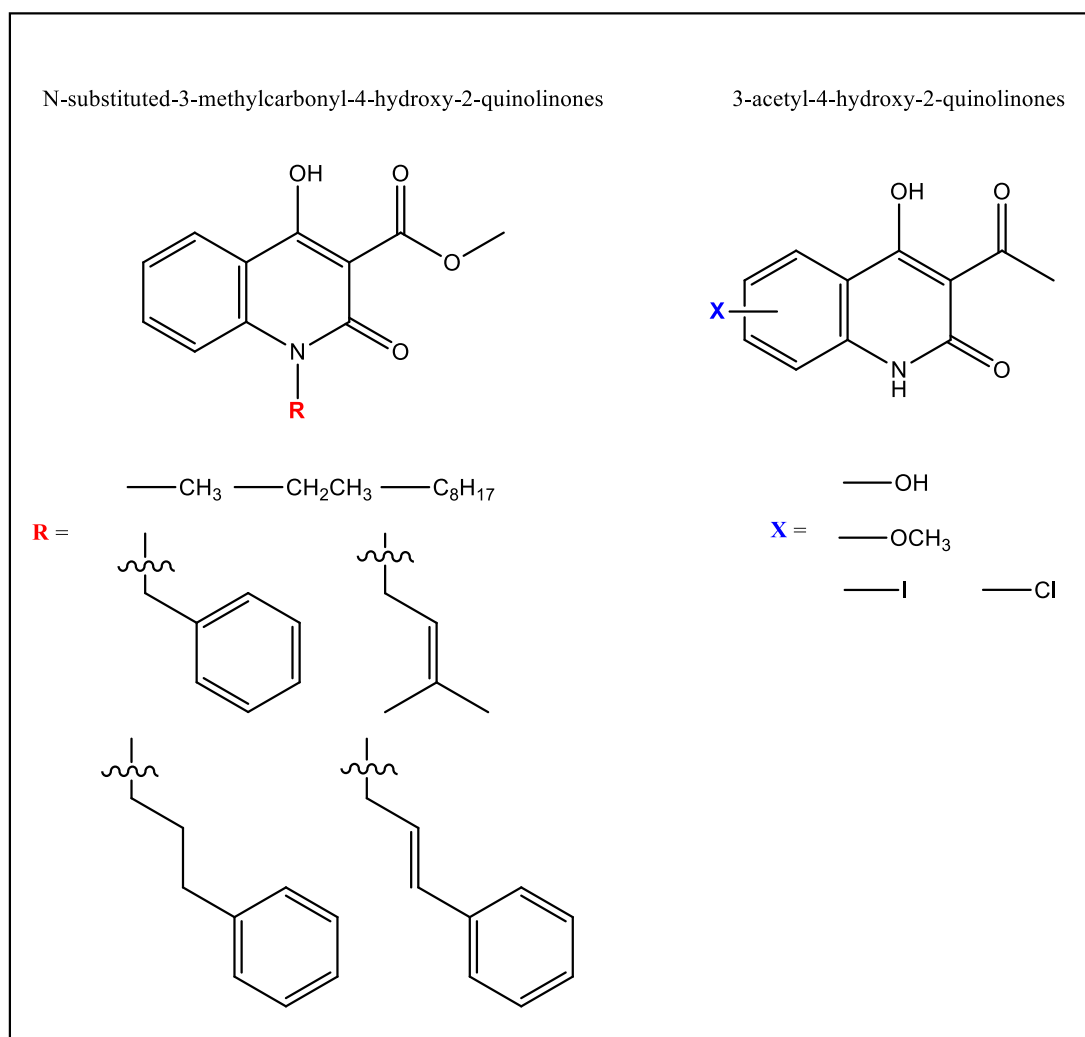
Η κινητή φάση που χρησιμοποιείται μπορεί να είναι αποκλειστικά ρυθμιστικό διάλυμα, χωρίς την επιπλέον προσθήκη κάποιου οργανικού διαλύτη, γεγονός που συντελεί αφενός στην ταχύτητα των μετρήσεων, αφού δεν χρειάζεται αναγωγή των ισοκρατικών τιμών  $\log k$  σε 100% υδατική φάση και αφετέρου στην αποφυγή επίδρασης του οργανικού διαλύτη στη συγκράτηση των εξεταζόμενων ουσιών από τη στήλη. Πάντως αν η συγγένεια των ενώσεων με τη στατική φάση IAM είναι μεγάλη, δύναται να χρησιμοποιηθεί ακετονιτρίλιο σε ποσοστό έως και 30% και ύστερα προκύπτει ο ανηγμένος συντελεστής ανάσχεσης  $\log k_w$  με γραμμική παρεμβολή σε τουλάχιστον 3 διαφορετικές συγκεντρώσεις του ακετονιτρίλιου (32).

Οι τιμές  $\log k$  συσχετίζονται με τον δείκτη λιποφιλίας  $\log P$ , ενώ αν ληφθεί υπόψη η μερική αντιστάθμιση του ιοντισμού λόγω των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων μπορούν να συσχετιστούν και με τον συντελεστή κατανομής  $\log D$ . Πέραν όμως των συσχετίσεων με τη λιποφιλία, οι χρωματογραφικοί δείκτες  $\log k_{IAM}$  χρησιμοποιούνται και σε μοντέλα διαπερατότητας βιολογικών φραγμών όπως ο αιματοεγκεφαλικός και η απορρόφηση από το έντερο (32).

## ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Κατά την εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής εργασίας, στόχο αποτέλεσε ο σχεδιασμός, η σύνθεση και η δομική ταυτοποίηση νέων κινολινικών παραγώγων, καθώς και η αξιολόγηση μέσω εφαρμογής υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης φαρμακοκινητικών ιδιοτήτων τους, όπως είναι το ποσοστό απορρόφησης κατά την εκ του στόματος χορήγηση.

Για το σκοπό αυτό, στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας συντέθηκαν 2 σειρές κινολινονών και συγκεκριμένα 5 ανάλογα της 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-κινολινόνης και 7 της N-υποκατεστημενης-3-μεθυλοκαρβονυλο-4-υδροξυ-2-κινολινόνης (Σχήμα 13).



Σχήμα 13. Συντιθέμενες Σειρές Κινολινονών

Έπειτα, στο Εργαστήριο Ανόργανης και Αναλυτικής Χημείας τα συντιθέμενα μόρια αξιολογήθηκαν ως δραστικές ουσίες φαρμάκων. Μελετήθηκε ο χρόνος κατακράτησης τους από τη χρωματογραφική στήλη IAM, σε  $pH$  7,40 και σε 3 συγκεντρώσεις διαλύτη ακετονιτριλίου και έτσι υπολογίστηκε το ποσοστό απορρόφησης στην εκ του στόματος χορήγηση (%  $HOA$ ).

## 2. Σχεδιασμός, Σύνθεση και Ταυτοποίηση Νέων Φαρμακομορίων

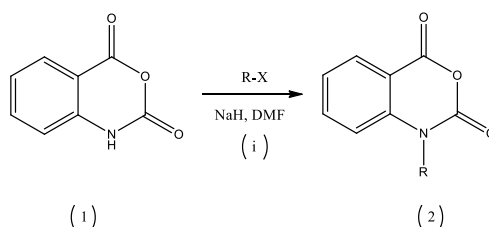
Στο παρόν κεφάλαιο αρχικά γίνεται λόγος για τον σχεδιασμό και τη σύνθεση των νέων οργανικών ενώσεων καθώς και για τους μηχανισμούς που ελέγχουν τις αντιδράσεις που έλαβαν χώρα, ενώ στο τέλος αναλύονται οι μέθοδοι φασματομετρίας που χρησιμοποιήθηκαν για την ταυτοποίηση της χημικής δομής των συντιθέμενων μορίων.

### 2.1. Σχεδιασμός και Σύνθεση N-υποκατεστημένης-3-μεθυλοκαρβονυλο-4-υδροξυ-κινολινόνης

Η σύνθεση της 1<sup>ης</sup> σειράς N-υποκατεστημένων-3-μεθυλοκαρβονυλο-4-υδροξυ-2-κινολινονών περιλαμβάνει μια διαδικασία 2 σταδίων, όπου αρχικά λαμβάνει χώρα μια αντίδραση N-ακυλίωσης του ισατοϊκού ανυδρίτη, και εν συνεχεία μια C-ακυλίωση του μηλονικού διμεθυλεστέρα (35).

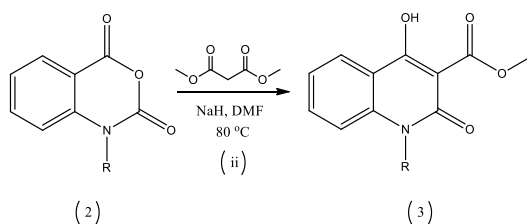
#### 2.1.1. N-ακυλίωση Ισατοϊκού Ανυδρίτη

Η υποκατάσταση στο άτομο N του ισατοϊκού ανυδρίτη γίνεται με αντίδραση N-ακυλίωσης του από ένα αλκυλαλογονίδιο σε διαλύτη διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF) και σε βασικό περιβάλλον που εξασφαλίζεται από την παρουσία υδριδίου του νατρίου (NaH).



#### 2.1.2. C-ακυλίωση Μηλονικού Διμεθυλεστέρα

Για τη σύνθεση της N-υποκατεστημένης-3-μεθυλοκαρβονυλο-4-υδροξυ-2-κινολινόνης ακολουθεί αντίδραση C-ακυλίωσης του μηλονικού διμεθυλεστέρα, όπου ως ακυλιωτικό μέσο χρησιμοποιείται ο N-υποκατεστημένος ισατοϊκός ανυδρίτης του προηγούμενου σταδίου. Η C-ακυλίωση λαμβάνει χώρα και αυτή σε βασικό περιβάλλον που εξασφαλίζεται από την παρουσία NaH, σε διαλύτη DMF.

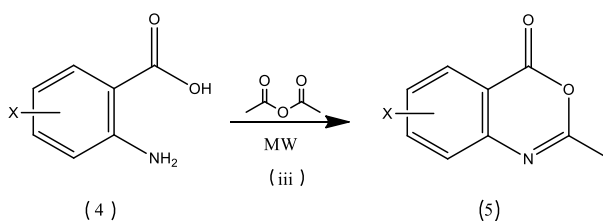


## 2.2. Σχεδιασμός και Σύνθεση 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-κινολινόνης

Η σύνθεση της 2<sup>ης</sup> σειράς 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-κινολινονών περιλαμβάνει μια διαδικασία 3 σταδίων. Αρχικά, λαμβάνει χώρα μια αντίδραση ακετυλίωσης ενός υποκατεστημένου ανθρανιλικού οξέος από τον οξικό ανυδρίτη. Έπειτα στη συνέχεια μια αντίδραση C-ακυλίωσης του ακετοξικού αιθυλεστέρα (ethyl acetoacetate) σε βασικό περιβάλλον και η κινολινόνη παραλαμβάνεται τελικά μέσω μιας αντίδρασης κυκλοποίησης του ενδιάμεσου προϊόντος της C-ακυλίωσης (36).

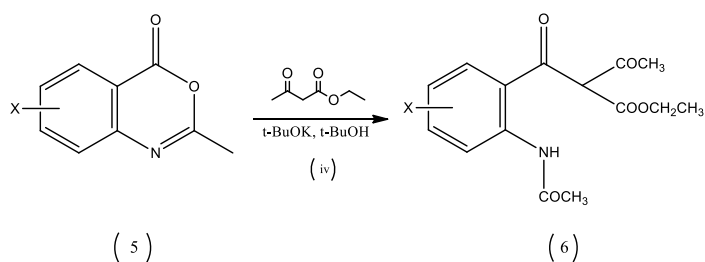
### 2.2.1. Ακετυλίωση Ανθρανιλικού Οξέος

Η ακετυλίωση του υποκατεστημένου ανθρανιλικού οξέος από τον οξικό ανυδρίτη λαμβάνει χώρα σε θάλαμο μικροκυματικής ακτινοβολίας σε καθορισμένες συνθήκες θερμοκρασίας, ισχύος και χρόνου. Ο οξικός ανυδρίτης διαδραματίζει ρόλο τόσο ως αντιδρώντος, όσο και διαλύτη της αντίδρασης. Το προϊόν της αντίδρασης είναι μια 2-μεθυλ-βενζοξαζινόνη.



### 2.2.2. C-ακυλίωση του Ακετοξικού Αιθυλεστέρα

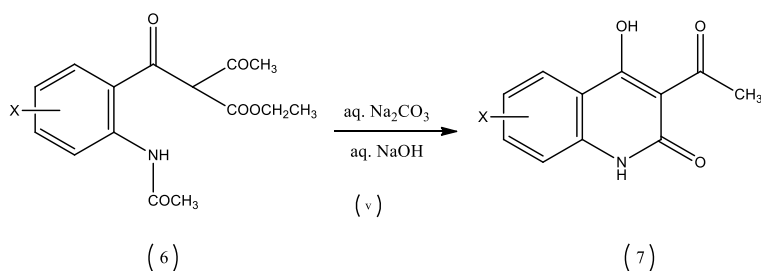
Ακολουθεί μια αντίδραση C-ακυλίωσης του ακετοξικού αιθυλεστέρα, όπου ως ακυλιωτικό μέσο χρησιμοποιείται η 2-μεθυλ-βενζοξαζινόνη του προηγούμενου σταδίου. Η C-ακυλίωση λαμβάνει χώρα σε βασικό περιβάλλον που εξασφαλίζεται από την παρουσία tert-βουτοξειδίου του καλίου (t-BuOK), σε διαλύτη tert-βουτανόλης (t-BuOH).



### 2.2.3. Κυκλοποίηση του προϊόντος της C-ακυλίωσης

Η σύνθεση της 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-κινολινόνης ολοκληρώνεται με μια αντίδραση κυκλοποίησης του ενδιάμεσου προϊόντος της C-ακυλίωσης του προηγούμενου σταδίου. Η

κυκλοποίηση λαμβάνει χώρα σε βασικό περιβάλλον, παρουσία υδατικών διαλυμάτων υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) και ανθρακικού νατρίου (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>).

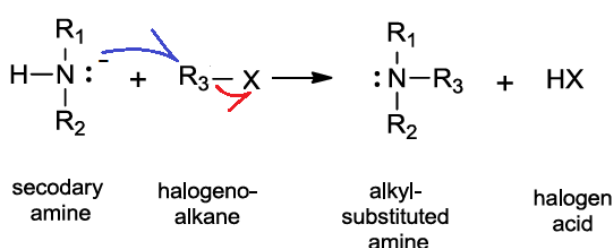


## 2.3.Μηχανισμοί Αντιδράσεων

### 2.3.1.Μηχανισμός N-αλκυλίωσης Ισατοϊκού Ανυδρίτη

Η αντίδραση N-αλκυλίωσης ανήκει στις διμοριακές πυρηνόφιλες υποκαταστάσεις (S<sub>N</sub>2, Substitution Nucleophilic Biomolecular) των πρωτοταγών, κυρίως, αλκυλαλογονιδίων και εφαρμόζεται ευρύτατα στη σύνθεση αμινών. Η αμμωνία και οι αλκυλαμίνες είναι αξιόλογα πυρηνόφιλα στις αντιδράσεις αυτές, ενώ καθώς η παρουσία ογκωδών υποκαταστατών στον άνθρακα του δεσμού C-X παρεμποδίζει την προσβολή του από το πυρηνόφιλο, οι πρωτοταγείς αλκυλομάδες είναι αυτές που μεταφέρονται με τη μεγαλύτερη ευκολία. Επίσης, διαλύτες ελαττωμένης πολικότητας, όπως το DMF ευνοούν την πορεία S<sub>N</sub>2, επιταχύνοντάς τη (69) (70) (71).

Το χαρακτηριστικό του μηχανισμού S<sub>N</sub>2 είναι ότι πραγματοποιείται σε ένα μόνο στάδιο, ενώ για τη δημιουργία της μεταβατικής κατάστασης του μηχανισμού S<sub>N</sub>2, το πυρηνόφιλο αντιδραστήριο προσβάλλει τον άνθρακα του δεσμού C<sup>δ+</sup>-X<sup>δ-</sup>, από την αντίθετη κατεύθυνση που αποχωρεί το ιόν του αλογόνου (70)(71).



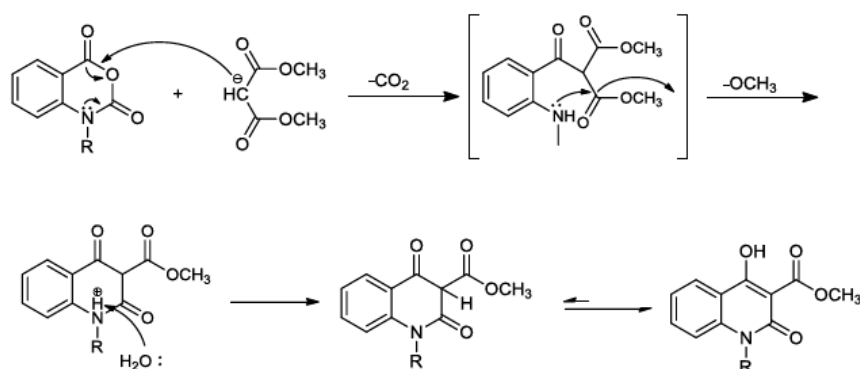
Σχήμα 14. Μηχανισμός S<sub>N</sub>2 της N-αλκυλίωσης

### 2.3.2. Μηχανισμός C-ακυλίωσης Μηλονικού Διμεθυλεστέρα

Η C-ακυλίωση είναι μια αντίδραση ηλεκτρονιόφιλης αρωματικής υποκατάστασης και εισάγει στον αρωματικό δακτύλιο την ακυλομάδα -COR. Βασίζεται στην πυρηνόφιλη προσβολή του απομακρυσμένου από το άτομο N καρβονυλικού δεσμού, καθώς ο γειτονικός καρβονυλικός δεσμός επηρεάζεται έντονα από το ελεύθερο ηλεκτρονιακό ζεύγος

του N, με αποτέλεσμα η προσβολή του να καθίσταται δυσκολότερη. Έτσι, καθώς η αντίδραση διεξάγεται σε βασικό περιβάλλον, ο κεντρικός άνθρακας C του μηλονικού διμεθυλεστέρα αποκτά αρνητικό φορτίο, το οποίο προσβάλλει τον άνθρακα του καρβονυλίου, σχηματίζοντας δεσμό μεταξύ των δύο ανθράκων. Ο δεσμός αυτός έχει ως αποτέλεσμα τη διάσπαση του δεσμού μεταξύ του άνθρακα του καρβονυλίου και του γειτονικού οξυγόνου και κατ' επέκταση την απομάκρυνση ενός μορίου διοξειδίου του άνθρακα CO<sub>2</sub>. Από την ενδιάμεση δομή που έχει προκύψει αφαιρείται μια μεθοξυομάδα -OCH<sub>3</sub> και το άζωτο αποδεσμεύει το υδρογόνο H που είχε προσλάβει, ώστε να καταστεί ουδέτερο το φορτίο του.

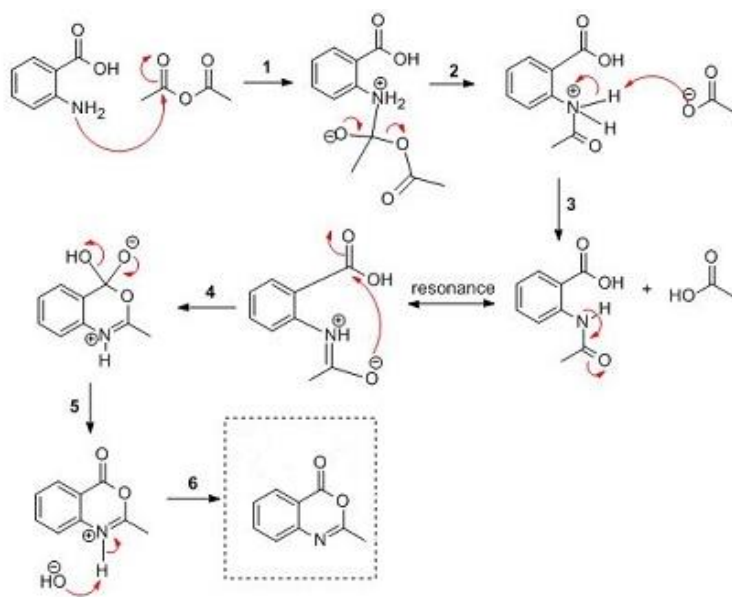
Η προκύπτουσα κετονική δομή δημιουργεί δομές συντονισμού ευνοϊκές προς την ενολική μορφή του μορίου, αφού αυτή είναι η σταθερότερη, λόγω του δεσμού H<sub>2</sub> μεταξύ καρβονύλ- και υδροξυλομάδας.



Σχήμα 15. Μηχανισμός C-ακυλίωσης

### 2.3.3. Μηχανισμός Ακετυλίωσης Ανθρανιλικού Οξέος

Η ακετυλίωση της αμινομάδας ξεκινά με την προσφορά του ελεύθερου ζεύγους ηλεκτρονίων του ατόμου N στο άτομο C που συνδέεται με την καρβοξυλομάδα του οξικού ανυδρίτη. Αυτή η πυρηνόφιλη προσβολή έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός τετραεδρικού ενδιάμεσου με την καρβοξυλομάδα να αποτελεί μια καλή αποχωρούσα ομάδα. Στο ενδιάμεσο αυτό το άτομο N φέρει πλεονάζον φορτίο που θέλει να αποβάλλει ώστε να καταστεί ουδέτερο και για το λόγο αυτό το προσφέρει στο αρνητικά φορτισμένο O της καρβοξυλομάδας το οποίο με τη σειρά του καθίσταται και αυτό ουδέτερο. Ωστόσο πρέπει να τονιστεί ότι η πραγματική δομή του μορίου στο τέλος της εν λόγω αντίδρασης δεν είναι αυτή που παρίσταται στο ακόλουθο σχήμα, αλλά μια ενδιάμεση μεταξύ δύο δομών συντονισμού.



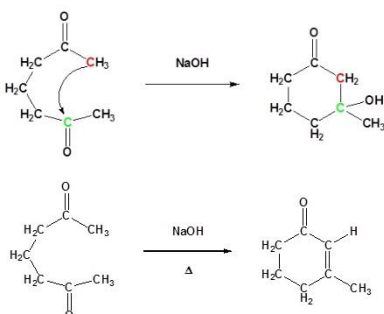
Σχήμα 16. Μηχανισμός Ακετυλίωσης Ανθρανλικού Οξέος

### 2.3.4. Μηχανισμός C-ακυλίωσης Ακετοξικού αιθυλεστέρα

Ο μηχανισμός της C-ακυλίωσης του Ακετοξικού αιθυλεστέρα βασίζεται στην πυρηνόφιλη προσβολή του απομακρυσμένου από το άτομο N καρβονυλικού δεσμού. Ουσιαστικά, καθώς πρόκειται ξανά για εστέρα είναι ο ίδιος με αυτόν που περιγράφηκε παραπάνω και αφορούσε τον Μηλονικό Διμεθυλεστέρα.

### 2.3.5. Μηχανισμός Κυκλοποίησης Ενδιάμεσου Προϊόντος

Η κυκλοποίηση του ενδιάμεσου προϊόντος της C-ακυλίωσης ελέγχεται από έναν μηχανισμό ενδομοριακής συμπύκνωσης. Μόρια που περιέχουν 2 καρβονυλικές ομάδες μπορούν να σχηματίσουν δακτύλιο μέσω ενδομοριακής αλδολικής αντίδρασης, χάρη στα 2 α-υδρογόνα του α-άνθρακα των 2 καρβονυλίων. Όπως και στις περισσότερες αντιδράσεις, έτσι και στην κυκλοποίηση ευνοείται ο σχηματισμός 5-μελών και 6-μελών δακτυλίων που είναι και οι σταθερότεροι. Η αλδολική συμπύκνωση επιτυγχάνεται μέσω θερμότητας.



Σχήμα 17. Μηχανισμός Ενδομοριακής Αλδολικής Συμπύκνωσης

## 2.4. Ταυτοποίηση Ενώσεων

Για την ταυτοποίηση των συντιθέμενων κινολινοκινικών αναλόγων χρησιμοποιήθηκαν 2 μέθοδοι φασματοσκοπίας και συγκεκριμένα η φασματοσκοπία υπερύθρου (IR) καθώς και η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού πρωτονίου ( $^1\text{H}$  NMR), ενώ για την τεκμηρίωση του καθαρισμού τους, κατά τη παραγωγική διαδικασία των φαρμακομορίων διενεργούνταν χρωματογραφίες λεπτής στιβάδας (TLC).

### 2.4.1. Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)

Η Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR) βασίζεται στη χρήση ακτινοβολίας της περιοχής των ραδιοσυχνοτήτων για τη διέγερση ατόμων, συνήθως πρωτονίων, ώστε να αλλάζουν την ιδιοπεριστροφή (spin), από παράλληλη σε αντιπαράλληλη προς ένα εφαρμοζόμενο μαγνητικό πεδίο. Καθώς η περιοχή των χρησιμοποιούμενων συχνοτήτων ακτινοβολίας για τη διέγερση, και η πολλαπλότητα των κορυφών που προκύπτουν είναι χαρακτηριστικές της χημικής δομής του μορίου, η φασματοσκοπία NMR χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της ακριβούς μοριακής δομής των ενώσεων και βρίσκει ευρεία εφαρμογή στην οργανική χημεία, τη φαρμακευτική και την επιστήμη πολυμερών.

Σύμφωνα με την κβαντική θεωρία, οι πυρήνες έχουν την ικανότητα ιδιοπεριστροφής γύρω από κάποιον άξονα, αποκτώντας έτσι στροφορμή και επιδεικνύοντας μαγνητικές ιδιότητες. Πυρήνες με άρτιο ατομικό και μαζικό αριθμό, όπως  $^{12}_6\text{C}$ ,  $^{16}_8\text{O}$ ,  $^{32}_{16}\text{S}$  δεν παρουσιάζουν στροφορμή ( $L = 0$ ). Οι πυρήνες όμως κάποιων ατόμων με περιττό μαζικό αριθμό, όπως οι  $^1_1\text{H}$ ,  $^{13}_6\text{C}$ ,  $^{15}_7\text{N}$ ,  $^{19}_9\text{F}$ ,  $^{29}_{14}\text{Si}$  και  $^{31}_{15}\text{P}$  ιδιοπεριστρέφονται με τα spin τους να λαμβάνουν τιμές περιττά ακέραια πολλαπλάσια του  $\frac{1}{2}$ . Επίσης, πυρήνες με άρτιο μαζικό αριθμό και περιττό ατομικό, όπως οι  $^2_1\text{H}$ ,  $^{14}_7\text{N}$  ιδιοπεριστρέφονται και τα spin τους λαμβάνουν τιμές ακέραιες. Έτσι, οι πυρήνες των 2 τελευταίων κατηγοριών επιδεικνύουν ιδιότητες ενός μαγνητικού ανύσματος και δύνανται να δώσουν φάσμα NMR.

Πιο συγκεκριμένα, εν τη απουσία μαγνητικού πεδίου, η κατανομή των spin του πυρήνα είναι τυχαία και έτσι δεν εμφανίζεται μαγνητική ροπή. Τοποθετούμενοι, όμως, σε μαγνητικό πεδίο, τείνουν (οι άξονες περιστροφής τους) να ευθυγραμμίζονται με αυτό και παρουσία ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στο πεδίο των ραδιοκυμάτων, οι πυρήνες απορροφούν ενέργεια μεταπηδώντας σε υψηλότερη ενεργειακά κατάσταση. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται συντονισμός. Έτσι υπάρχουν δύο είδη κατάστασης που μπορεί να βρεθεί ένα πρωτόνιο υφιστάμενο μαγνητικό συντονισμό. Στη  $1^{\text{n}}$  όπου η στροφορμή του περί τον ευθυγραμμισμένο άξονα είναι παράλληλη με τη φορά του πεδίου που εφαρμόζεται, οπότε και βρίσκεται στη θεμελιώδη κατάσταση χαμηλής ενέργειας, ενώ στην  $2^{\text{n}}$  η στροφορμή του περί τον ευθυγραμμισμένο άξονα είναι αντιπαράλληλη της φοράς του πεδίου και βρίσκεται σε διεγερμένη κατάσταση υψηλής ενέργειας.

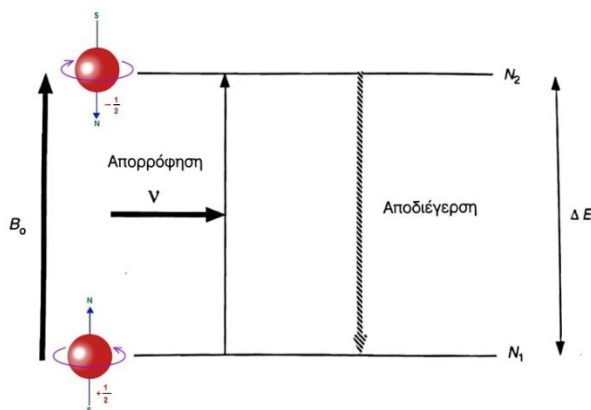
Η διαφορά ενέργειας ανάμεσα στα ευθυγραμμισμένα παράλληλα και τα ευθυγραμμισμένα αντιπαράλληλα με το πεδίο, spin, είναι ανάλογη της ισχύος του μαγνητικού πεδίου που εφαρμόζεται, σύμφωνα με την ακόλουθη σχέση όπου  $h$  είναι η σταθερά Planck,  $\gamma$  ο



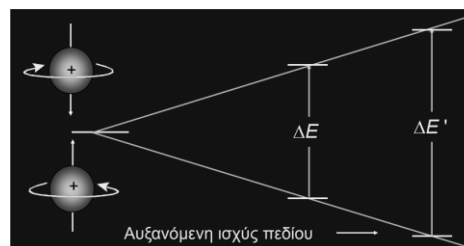
γυρομαγνητικός λόγος, χαρακτηριστική σταθερά ενός συγκεκριμένου πυρήνα και  $B_0$  το εφαρμοζόμενο μαγνητικό πεδίο:

$$\Delta E = h \gamma B_0$$

Κατά σύμβαση, στην κατάσταση χαμηλής ενέργειας το spin του πυρήνα λαμβάνει την τιμή  $+\frac{1}{2}$ , ενώ στη διεγερμένη κατάσταση υψηλής ενέργειας την τιμή  $-\frac{1}{2}$ . Στην ακόλουθη Εικόνα 29 παριστάνεται η απορρόφηση ενέργειας που απαιτείται για να προκύψει ευθυγράμμιση αντιπαράλληλα με το εφαρμοζόμενο πεδίο, ή διαφορετικά η μετάβαση από μια κατάσταση χαμηλής ενέργειας σε μια άλλη υψηλότερης, ενώ στην Εικόνα 30 φαίνεται πως όσο ισχυρότερο είναι το εφαρμοζόμενο μαγνητικό πεδίο, τόσο αυξάνεται και η διαφορά ενέργειας μεταξύ των δύο καταστάσεων και τόσο μεγαλύτερη είναι και η απαιτούμενη συχνότητα ακτινοβολίας (ενέργεια) που χρειάζεται για να προκαλέσει το αντιπαράλληλο spin του ευθυγραμμισμένου πυρήνα.



**Εικόνα 32. Διαφορά ενέργειας μεταξύ θεμελιώδους και διεγερμένης κατάστασης για ένα πρωτόνιο υφιστάμενο μαγνητικό συντονισμό**



**Εικόνα 33. Συσχέτιση της διαφοράς ενέργειας των πυρήνων με την ισχύ του επιβαλλόμενου πεδίου**

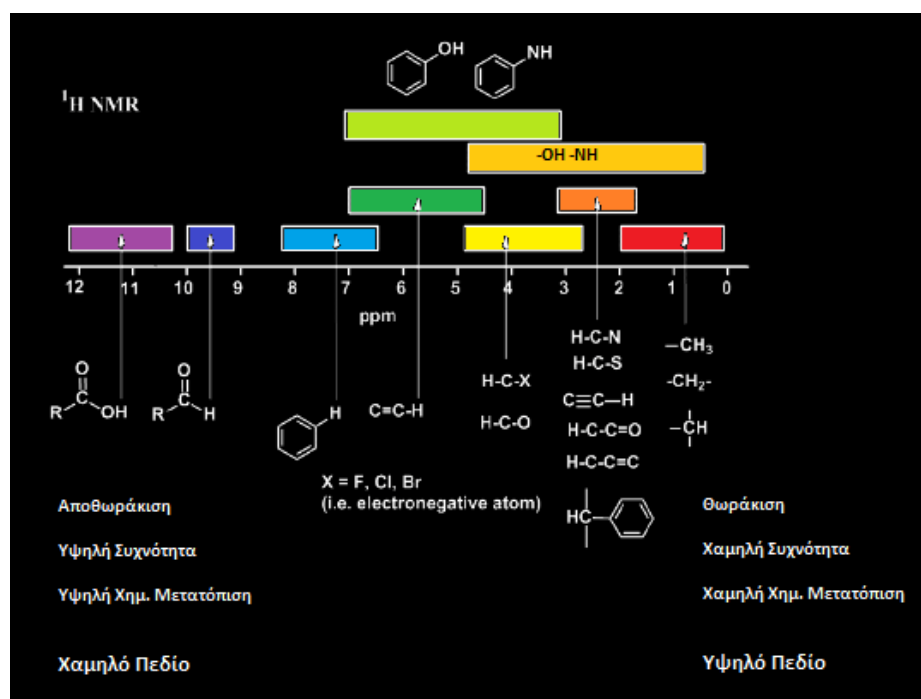
Οι χρησιμοποιούμενες μονάδες ενέργειας στην φασματοσκοπία NMR είναι η μονάδα συχνότητας Hertz ( $Hz$ ) για τη συχνότητα της ακτινοβολίας και τα Gauss ή Tesla για την ισχύ του μαγνητικού πεδίου που κυμαίνεται από  $14.000 - 140.000 G$  (ή  $1,4 - 14 T$ ). Στη θεμελιώδη του κατάσταση, ένα πρωτόνιο απορροφά ακτινοβολία περί τα  $60 MHz$  σε  $1,4T$  και αντίστοιχα  $600 MHz$  στα  $14T$ . Οι συσκευές NMR χαρακτηρίζονται βάσει της συχνότητας στην οποία προκαλούν το συντονισμό των πρωτονίων, δηλαδή ένα όργανο των  $60 MHz$  εξαναγκάζει τα πρωτόνια να συντονιστούν στα  $60 MHz$  και αντίστοιχα, ένα των  $600 MHz$  τα συντονίζει στα  $600 MHz$ , με τη διαφορά αυτή να επιφέρει και 10πλάσια περίπου αύξηση όσον αφορά την ευαισθησία των δύο οργάνων.

#### 2.4.1.1. NMR πρωτονίου ( $^1H$ ) και Χημική Μετατόπιση

Λόγω της ευαισθησίας, αλλά και του όγκου των πληροφοριών που λαμβάνονται για τη μοριακή δομή, η πλέον συνηθισμένη φασματομετρία είναι αυτή του πρωτονίου, NMR  $^1H$ , όπου εξετάζονται οι χημικές μετατοπίσεις, οι θέσεις δηλαδή στην κλίμακα  $\delta$  (σε ppm) στις

οποίες εμφανίζεται η εκάστοτε κορυφή. Η χημική μετατόπιση αποτελεί ενδεικτικό μέτρο του βαθμού στον οποίο ο πυρήνας των ατόμων του μορίου είναι προστατευμένος από τις ομάδες με τις οποίες συνδέεται και ουσιαστικά όσο μεγαλύτερη είναι η θωράκισή του, από την ηλεκτρονιακή πυκνότητα γύρω του, τόσο μικρότερη είναι και η χημική μετατόπιση που λαμβάνεται στο φάσμα, όπως για παράδειγμα συμβαίνει με τα αλειφατικά πρωτόνια. Αντίθετα, ένα πρωτόνιο συνδεδεμένο με κάποιο σύστημα που έλκει ηλεκτρόνια από το περιβάλλον του (ηλεκτραρνητική ομάδα) ή μια ομάδα που δημιουργεί πεδίο αντίθετο του εφαρμοζόμενου μαγνητικού (αρωματικός δακτύλιος, διπλοί δεσμοί), τότε η χημική του μετατόπιση αυξάνεται και ο συντονισμός του συμβαίνει σε χαμηλότερη συχνότητα. Συνοπτικά, τρεις είναι οι παράγοντες που επηρεάζουν τη χημική μετατόπιση:

1. Επαγωγικά φαινόμενα από ηλεκτραρνητικές πλευρικές ομάδες
2. Αποθωράκιση λόγω μειωμένης ηλεκτρονιακής πυκνότητας, επακόλουθο της παρουσίας ηλεκτραρνητικών ατόμων
3. Ανισοτροπία που προκαλείται από τα μαγνητικά πεδία που δημιουργούν οι π δεσμοί



**Γράφημα 6. Χημικές μετατοπίσεις διαφόρων δραστικών ομάδων**

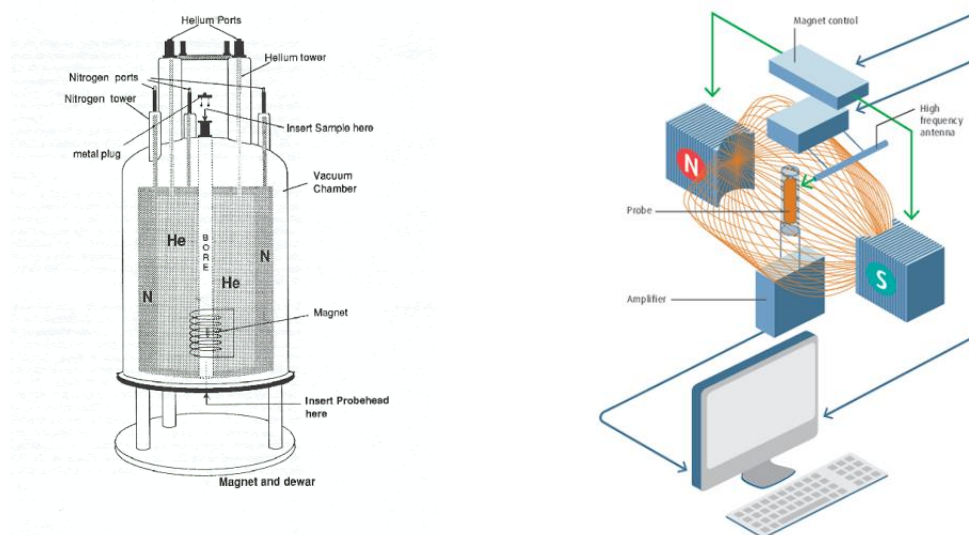
Η χημική μετατόπιση προσδιορίζεται βάσει των πρωτονίων του τετραμεθυλοσιλανίου, για τα οποία κατά σύμβαση έχει οριστεί μηδενική μετατόπιση ( $\delta = 0$ ). Από το ανωτέρω γράφημα, πέρα των προφανών μετατοπίσεων για τις διάφορες χαρακτηριστικές ομάδες, πρέπει να τονιστεί η ανισοτροπία (μη ομοιόμορφο πεδίο) που σε πρωτόνια άμεσα συνδεδεμένα με C=C ή αρωματικό δακτύλιο και εμφανίζονται στη μέση περίπου της κλίμακας. Ανάλογα της θέσης του πρωτονίου στον δεσμό π, αυτό μπορεί να θεωρηθεί είτε θωρακισμένο, είτε αποθωρακισμένο. Τέλος, ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα πρωτόνια που συμμετέχουν σε δεσμούς H (-OH, -NH) και εμφανίζονται σε ένα ευρύ πεδίο χημικής

μετατόπισης. Γενικά όσο περισσότεροι οι δεσμοί H που υπάρχουν στο μόριο, τόσο περισσότερο αποθωρακίζεται το πρωτόνιο. Καθώς οι δεσμοί H είναι ευπαθείς σε διάφορους παράγοντες, όπως η επιδιάλυτωση, η θερμοκρασία κ.ά., η πρόβλεψή της χημικής μετατόπισης χαρακτηρίζεται από αβεβαιότητα και τα άτομα H καλούνται ευκίνητα. Η πρόβλεψή σε αυτή την περίπτωση γίνεται με χρήση απρωτικών διαλυτών (DMSO, CDCl<sub>3</sub>).

### Οργανολογία NMR <sup>1</sup>H

Οι δύο τύποι οργάνων NMR που χρησιμοποιούνται ευρύτατα είναι τα παλμικά φασματόμετρα (pulsed) ή φασματόμετρα μετασχηματισμού Fourier (FT-NMR) και τα φασματόμετρα συνεχούς κύματος (continuous wave, CW). Και στους δύο τύπους η φασματομετρία βασίζεται στην επιβολή ισχυρού μαγνητικού πεδίου (υψηλή τιμή Tesla) και η ειδοποιός διαφορά τους, όπως υποδηλώνεται και από το όνομα τους, είναι ότι στα συνεχούς κύματος φασματόμετρα η συχνότητα σαρώνεται συνεχώς, με αργό ρυθμό και καταγράφεται ένα σήμα απορρόφησης, την ώρα που στα παλμικά το δείγμα ακτινοβολείται περιοδικά με ενεργειακούς παλμούς στην περιοχή των ραδιοσυχνοτήτων και κάθετος στη διεύθυνση του επιβαλλόμενου μαγνητικού πεδίου, ενώ το σήμα που καταγράφεται μέσω μετασχηματισμού Fourier μετασχηματίζεται σε φάσμα.

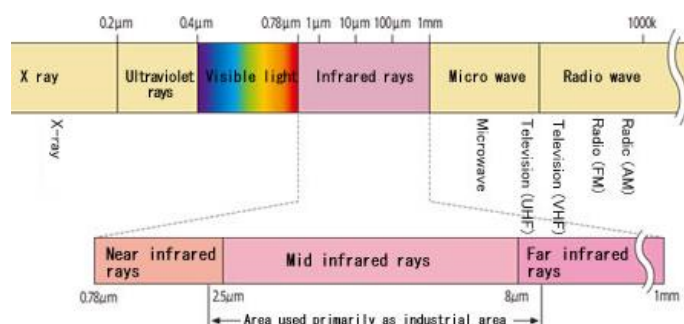
Μια σχηματική αναπαράσταση της διάταξης ενός παλμικού φασματόμετρου δίνεται παρακάτω. Τα ραδιοκύματα παράγονται από τη γεννήτρια και το σήμα μεταφέρεται στον ενισχυτή, ο οποίος δίνει έντονη παλμική επιβολή στο πηνίο εκπομπής. Η ακτινοβολία στη συνέχεια φτάνει στο δείγμα διαμέσου του πηνίου, που λειτουργεί ως δέκτης σήματος. Το σήμα ενισχυμένο μεταφέρεται στον ανιχνευτή και μέσω του μετασχηματισμού Fourier μετασχηματίζεται στο τελικό φάσμα που λαμβάνεται. Η διάρκεια, το πλάτος, η κυματομορφή καθώς και η φάση του παλμού καθορίζονται από τον χειριστή του ηλεκτρονικού υπολογιστή.



Εικόνα 34. Σχηματική Απεικόνιση της διάταξης ενός παλμικού φασματόμετρου (FT-NMR)

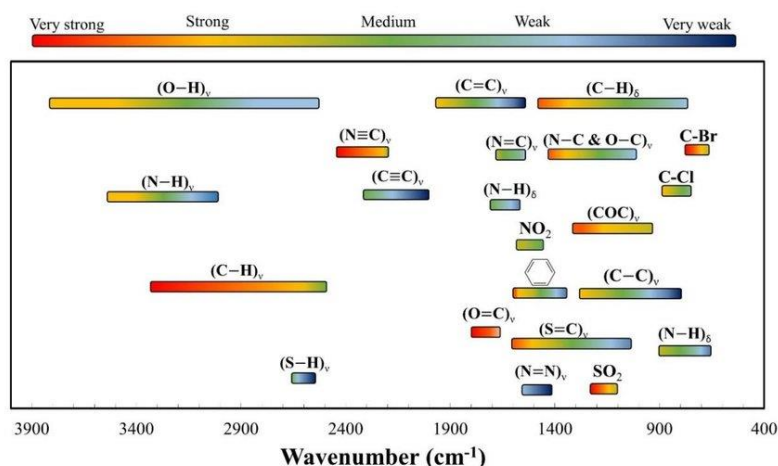
## 2.4.2. Φασματομετρία Υπερύθρου (IR)

Η βασική αρχή της Φασματομετρίας Υπερύθρου είναι πως ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία στην περιοχή του υπερύθρου ( $700\text{nm} - 1\text{mm}$ ) διέρχεται από κάποιο δείγμα, απορροφάται από τους δεσμούς των μορίων του δείγματος, μεταβάλλοντας την κατάσταση των μορίων του και εξαναγκάζοντάς το σε μεταβολή των μοριακών δονήσεων τάσης και κάμψης. Καθώς το μήκος κύματος της ακτινοβολίας που απορροφάται είναι χαρακτηριστικό για το είδος δεσμού που την απορροφά, οι αλλαγές στις μοριακές δονήσεις που μετρούνται και καταγράφονται δημιουργούν το φάσμα IR που χρησιμοποιείται στη συνθετική χημεία ως ένας προκαταρκτικός έλεγχος της δομής της μοριακής ένωσης και ιδιαίτερα για την εξακρίβωση της ύπαρξης ή όχι καρβονυλικής ομάδας στο εξεταζόμενο μόριο.



Εικόνα 35. Περιοχές της υπέρυθρης ακτινοβολίας

Το εύρος του μήκος κύματος που χρησιμοποιείται συνήθως στην τεχνική IR κυμαίνεται από  $0,8\ \mu\text{m}$  έως  $30\ \mu\text{m}$  περίπου, περιέχοντας δηλαδή και τις 3 περιοχές στις οποίες διακρίνεται η υπέρυθρη ακτινοβολία, αλλά κατά κύριο λόγο αυτή του μέσου υπερύθρου (mid-infrared) από τα  $2,5\ \mu\text{m}$  έως τα  $25\ \mu\text{m}$  που αντιστοιχούν σε κυματαριθμούς από  $4.000\ \text{cm}^{-1}$  έως  $400\ \text{cm}^{-1}$ . Στο ακόλουθο Γράφημα 7 παρατίθενται οι συνηθέστεροι δεσμοί των οργανικών μορίων καθώς και το εύρος του κυματαριθμού στο οποίο εμφανίζονται.



Γράφημα 7. Ο κυματαριθμός της απορροφούμενης υπέρυθρης ακτινοβολίας από τα διάφορα είδη χημικών δεσμών

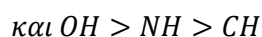
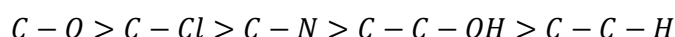
Η περιοχή μεταξύ 1.400-400 καλείται περιοχή του δακτυλικού αποτυπώματος και όπως αναφέρθηκε είναι χαρακτηριστική για κάθε μόριο, παρέχοντας πληθώρα δομικών πληροφοριών για το μόριο. Έτσι, κάθε κορυφή που προκύπτει σε ένα φάσμα IR δύναται να αντιστοιχηθεί σε μια χαρακτηριστική ομάδα του μορίου, μέσω βιβλιογραφικών δεδομένων που συνοψίζονται στον πίνακα ακολούθως.

**Πίνακας 2. Απορρόφηση στο φάσμα IR των πιο συνηθισμένων χαρακτηριστικών ομάδων**

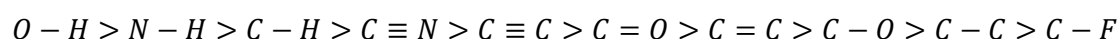
Functional Group	Absorption (cm <sup>-1</sup> )	Intensity	Functional Group	Absorption (cm <sup>-1</sup> )	Intensity
Alkane			Amine		
C-H	2850–2960	Medium	N-H	3300–3500	Medium
Alkene			C-N	1030–1230	Medium
=C-H	3020–3100	Medium	Carbonyl compound		
C=C	1640–1680	Medium	C=O	1670–1780	Strong
Alkyne			Aldehyde	1730	Strong
≡C-H	3300	Strong	Ketone	1715	Strong
C≡C	2100–2260	Medium	Ester	1735	Strong
Alkyl halide			Amide	1690	Strong
C-Cl	600–800	Strong	Carboxylic acid	1710	Strong
C-Br	500–600	Strong	Carboxylic acid		
Alcohol			O-H	2500–3100	Strong, broad
O-H	3400–3650	Strong, broad	Nitrile		
C-O	1050–1150	Strong	C≡N	2210–2260	Medium
Arene			Nitro		
C-H	3030	Weak	NO <sub>2</sub>	1540	Strong
Aromatic ring	1660–2000	Weak			
	1450–1600	Medium			

Όπως φαίνεται, οι απορροφήσεις στο φάσμα IR διακρίνονται σε ισχυρές (strong), μέτριες (medium) και ασθενείς (weak) όσον αφορά την ένταση τους και σε διευρυμένες (broad) ή στενές (narrow) ως προς το εύρος τους. Όσο πιο πολικό είναι το εξεταζόμενο μόριο, δηλαδή όσο μεγαλύτερη είναι η διαφορά ηλεκτραρνητικότητας των ατόμων που το απαρτίζουν, τόσο εντονότερη και υψηλής ενέργειας θα είναι και η απορρόφηση της υπέρυθρης ακτινοβολίας από τους δεσμούς του.

- Η ένταση απορρόφησης ακτινοβολίας του δεσμού εξαρτάται από την διπολική ροπή που εμφανίζει το μόριο και όπως προκύπτει και από τον ανωτέρω πίνακα η σειρά που ακολουθούν είναι η εξής:



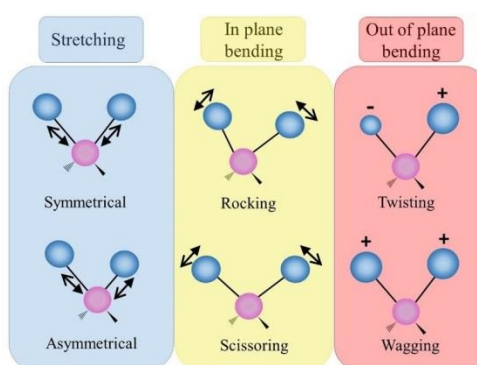
- Αντίστοιχα, όσον αφορά το ενεργειακό επίπεδο απορρόφησης, εξαρτάται κυρίως από την ισχύ του δεσμού. Οι διπλοί δεσμοί είναι ισχυρότεροι των απλών. Η ισχύς των δεσμών και κατ' επέκταση η σειρά απορρόφησης ενέργειας είναι ως ακολούθως:



Ωστόσο, η IR δεν είναι μια τεχνική που μπορεί να εφαρμοστεί σε κάθε είδος μορίων. Προκειμένου η ηλεκτρική συνιστώσα της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας να

αλληλεπιδράσει με κάποιο δεσμό, αυτός θα πρέπει να φέρει ηλεκτρική διπολική ροπή. Επομένως, γίνεται αντιληπτό ότι συμμετρικοί δεσμοί, όπως αυτοί στα μόρια του  $O_2$  και του  $N_2$ , δεν μπορούν να απορροφήσουν υπέρυθη ακτινοβολία και δεν θα εμφανίσουν φάσμα IR. Αντίθετα, τα φαρμακομόρια και γενικότερα οι οργανικές ενώσεις παρουσιάζουν στη δομή τους πολλές ασυμμετρίες και κατ' επέκταση πολλούς δεσμούς με την ικανότητα απορρόφησης ακτινοβολίας.

Ο μεγάλος αριθμός δεσμών στα μόρια με πολλά άτομα καθιστά πολλές φορές τα φάσματα IR πολύπλοκα και δυσανάγνωστα και η πλήρης αποσαφήνισή τους δεν έχει καταστεί δυνατή ακόμα και σήμερα με τα σύγχρονα όργανα. Εξάλλου, ακόμα και σε μικρά μόρια, τα είδη δονήσεων που εμφανίζονται ποικίλουν και είναι πολύπλοκα. Για παράδειγμα, φαίνονται στην ακόλουθη εικόνα οι δονήσεις που υφίσταται μια μεθυλενική ομάδα, κατά την ακτινοβολή της με υπέρυθη ακτινοβολία.



Εικόνα 36. Είδη δονήσεων μιας μεθυλενικής ομάδας

Οι τύποι δονήσεων που αναφέρονται είναι οι λεγόμενοι κανονικοί τρόποι δόνησης και όπως αναφέρθηκε δύνανται να κατηγοριοποιηθούν σε τάσης και κάμψης ως εξής:

- **Δονήσεις τάσης (stretching vibrations),  $\tilde{\nu}$ :** Στον τύπο αυτό τα δύο H πάλλονται μεταξύ τους, μεταβάλλοντας την μεταξύ τους απόσταση κατά μήκος του άξονα του δεσμού. Ανάλογα με την κατεύθυνση των παλλόμενων υδρογόνων διακρίνονται περαιτέρω σε συμμετρικές και ασύμμετρες.
- **Δονήσεις κάμψης (bending vibrations),  $\delta$ :** Στον τύπο αυτό, τα H ταλαντώνονται, μεταβάλλοντας συνεχώς τη γωνία που σχηματίζουν οι 2 δεσμοί μεταξύ τους. Διακρίνονται περαιτέρω στις εντός του επιπέδου ισορροπίας (in plane bending) και στις εκτός του επιπέδου ισορροπίας (out of plane bending).
  - Δονήσεις ψαλιδιού (scissoring vibrations): Τα H ταλαντώνονται εμπρός-πίσω, εντός του επιπέδου ισορροπίας και προς τη μεταξύ τους διεύθυνση
  - Δονήσεις αιώρησης (rocking vibrations): Η δομική μονάδα των τριών ατόμων ταλαντώνεται εμπρός-πίσω, εντός του επιπέδου ισορροπίας που σχηματίζουν οι δεσμοί και τα άτομα
  - Δονήσεις σείσης (wagging vibrations): Η δομική μονάδα των τριών ατόμων ταλαντώνεται εκτός του πεδίου ισορροπίας που σχηματίζουν οι δεσμοί και τα άτομα

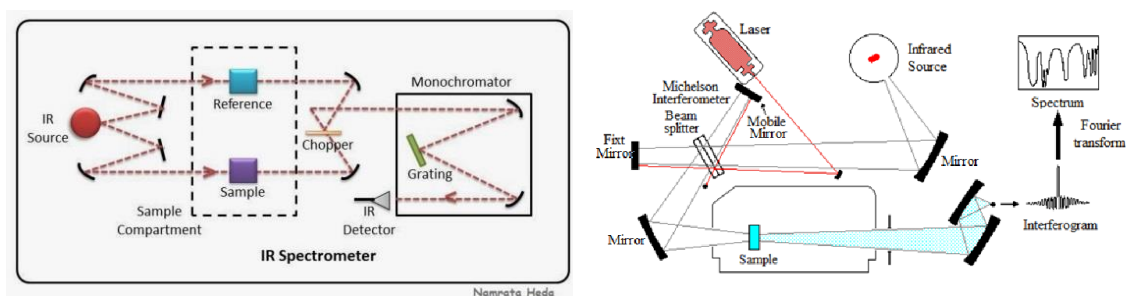
- Δονήσεις συστροφής (twisting vibrations): Η δομική μονάδα των τριών ατόμων συστρέφεται γύρω από τον δεσμό σύνδεσης με το υπόλοιπο τμήμα του μορίου, εκτός του πεδίου ισορροπίας

### Οργανολογία

Υπάρχουν δύο τύποι οργάνων με τα οποία εφαρμόζεται η τεχνική IR. Τα συμβατικά φασματοφωτόμετρα διασποράς (Classical Dispersive IR Spectrometers) και τα φασματοφωτόμετρα υπέρυθρου μετασχηματισμού Fourier (Fourier Transform IR Spectrometers), με τη βασική τους διαφορά να έγκειται στην αντικατάσταση του μονοχρωμάτορα των συμβατικών, από ένα συμβολόμετρο.

Η διάταξη ενός συμβατικού φασματόμετρου διασποράς περιλαμβάνει τα εξής εξαρτήματα:

- μια πηγή ακτινοβολίας που εκπέμπει σε όλη την περιοχή του υπέρυθρου και συνήθως είναι μια λάμπα Ni-Cr ή Nernst ή λυχνία Globar
- ένα μονοχρωμάτορα που περιέχει κάποιο πρίσμα ή ένα φράγμα περίθλασης ως στοιχείο διασποράς
- τον ανιχνευτή υπέρυθρου που είναι θερμικός ή φωτοαγωγίμος
- και το οπτικό σύστημα κατόπτρων



**Εικόνα 37. Σχηματική απεικόνιση ενός συμβατικού φασματοφωτόμετρου και ενός υπέρυθρου μετασχηματισμού Fourier**

Η εκπεμπόμενη ακτινοβολία διαιρείται σε δύο δέσμες μέσω του συστήματος κατόπτρων. Η πρώτη διέρχεται από την κυψελίδα που περιέχει το δείγμα αναφοράς και η δεύτερη από την κυψελίδα του προς προσδιορισμό δείγματος. Οι δύο δέσμες, λόγω της ανάκλασής τους στα περιστροφικά κάτοπτρα, προσπίπτουν στο μονοχρωμάτορα και από εκεί στον ανιχνευτή, όπου μετασχηματίζονται σε ηλεκτρικό σήμα.

Ωστόσο, πλέον ευρύτερα χρησιμοποιούνται τα φασματοφωτόμετρα υπέρυθρου μετασχηματισμού Fourier, κυρίως λόγω της αυξημένης ευαισθησίας τους και της επαναληψιμότητας των μετρήσεων. Το συμβολόμετρο Michelson είναι αυτό που αντικαθιστά συνήθως τον μονοχρωμάτορα των κλασικών οργάνων.

Η εκπεμπόμενη υπέρυθρη ακτινοβολία διαιρείται σε δύο δέσμες μέσω του διαχωριστή δέσμης, και κατευθύνονται σε δύο κάθετα μεταξύ τους κάτοπτρα. Η μία στο σταθερό και η άλλη στο κινητό. Αντανακλώμενες οι δύο δέσμες επιστρέφουν στο διαχωριστή όπου και συμβάλλουν. Η συμβολή της ακτινοβολίας διέρχεται από την κυψελίδα και έπειτα από τον ανιχνευτή, όπου το συμβολογράφημα μέσω μετασχηματισμού Fourier μετασχηματίζεται στο φάσμα FT-IR.

### 3. Πειραματικό Μέρος

#### 3.1. Όργανα και Συσκευές

Στο παρόν υποκεφάλαιο αναφέρονται τα όργανα και οι συσκευές που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη σύνθεση των νέων οργανικών ενώσεων αλλά και για τον έλεγχο ως προς την καθαρότητά τους, καθώς και για τον προσδιορισμό των φυσικοχημικών και φαρμακοκινητικών ιδιοτήτων τους όπως το σημείο τήξης και η εκ του στόματος απορρόφηση τους αντίστοιχα.

Η ζύγιση των αντιδρώντων κατά τη σύνθεση των κινολινονικών αναλόγων έγινε στο ζυγό Explorer της Ohaus, ενώ για την ζύγιση των αλάτων κατά την Παρασκευή του διαλύτη της κινητής φάσης χρησιμοποιήθηκε ο Pioneer της ίδιας εταιρίας.

Ο έλεγχος της πορείας των αντιδράσεων και μια πρώιμη εξακρίβωση της καθαρότητάς τους έγινε με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας, TLC (Thin Layer Chromatography), σε πλάκες αλουμινίου επιστρωμένες με silica gel F254 της εταιρείας Merck και για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν διάφορες αναλογίες συστήματος διαλυτών πετρελαϊκού αιθέρα (P.E.)/οξικού αιθυλεστέρα (EtOAc). Οι κηλίδες των χρωματογραφημάτων φανερώνονταν αρχικά σε λάμπα υπεριώδους (UV) ακτινοβολίας στα 254 nm και ύστερα με εμποτισμό των πλακών σε διάλυμα φωσφομολυβδαινικού οξέος (PMA), αναλογίας 1:2 αιθανολικό διάλυμα PMA 7%/EtOH.

Οι αντιδράσεις που διεξήχθησαν μέσω μικροκυματικής ακτινοβολίας έλαβαν χώρα στη συσκευή "MicroSYNTH-Microwave Labstation for Synthesis" της εταιρίας Milestone, στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας.

Η εξάτμιση των διαλυτών για τη συμπύκνωση των διαλυμάτων επετεύχθη με περιστροφικό εξατμιστήρα Rotavapor R-210 της εταιρίας Buchi.

Η ξήρανση των ενώσεων έγινε στην αντλία Edwards RV5.

Ο χαρακτηρισμός των νέων μορίων και ο ακριβής έλεγχος της καθαρότητάς τους έγιναν μέσω φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού πρωτονίου,  $^1\text{H}$  NMR και φασματοσκοπίας υπερύθρου μετασχηματισμού Fourier (FT-IR). Τα φάσματα πρωτονίου NMR κατεγράφησαν με το όργανο Varian Gemini 600 MHz του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών, όπου ως διαλύτης χρησιμοποιήθηκε το δευτεριωμένο χλωροφόρμιο ( $\text{CDCl}_3$ ) και το δευτεριωμένο διμεθυλο-σουλφοξείδιο ( $\text{DMSO-d}_6$ ). Οι τιμές των χημικών μετατοπίσεων δίνονται σε ppm, ενώ οι τιμές των σταθερών σύζευξης, J, σε Hz. Οι πολλαπλότητες των σημάτων στα φάσματα πρωτονίου NMR χαρακτηρίζονται ως ακολούθως:

- s (singlet, απλό)
- d (doublet, διπλό)
- t (triplet, τριπλό)
- q (quartet, τετραπλό)
- quint (quintet, πενταπλό)
- m (multiplet, πολλαπλό)



- dd (doublet of doublets, διπλό διπλών)
- dt (doublet of triplets, διπλό τριπλών)
- td (triplet of doublets, τριπλό διπλών)
- br (broad, ευρύ)
- brs (broad singlet, ευρύ απλό)

Τα φάσματα IR λήφθηκαν σε όργανο Jasco 4200 μέσω σχηματισμού ταμπλέτας σε KBr.

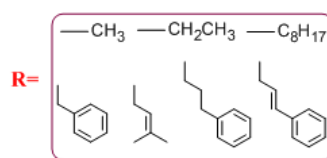
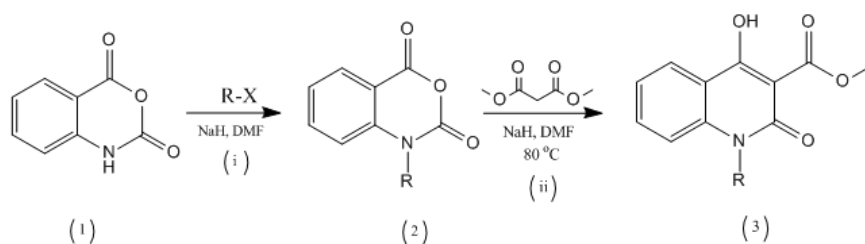
Ο προσδιορισμός του σημείου τήξης των νέων ενώσεων έγινε με χρήση συσκευής Gallenkamp, όπου τοποθετούνταν τα δείγματα εντός ανοικτών τριχοδιαμετρικών σωλήνων. Το καταγραφόμενο εύρος αφορούσε τη θερμοκρασία που εμφανιζόταν η πρώτη φυσαλίδα στο στερεό δείγμα και τη θερμοκρασία στην οποία όλοι οι στερεοί κόκκοι είχαν υγροποιηθεί.

Τα χρωματογραφήματα παραλήφθηκαν σε συσκευή υγρού χρωματογράφου υψηλής απόδοσης Flexar της εταιρίας PerkinElmer με στήλη ακινητοποιημένων μεμβρανών REGIS IAM.PC.DD.2 με διαστάσεις 3 cm x 4 mm και χαρακτηριστικά 10 μM, 300 ANG.

Το υπερκάθαρο νερό για την παρασκευή των ρυθμιστικών διαλυμάτων φωσφορικών και χλωριούχων αλάτων, που χρησιμοποιούνταν ως κινητές φάσεις, λαμβανόταν από τη συσκευή BARNSTEAD EASYPURE II της Thermo Scientific. Ο έλεγχος pH του ρυθμιστικών διαλυμάτων γινόταν με ηλεκτρονικό πεχάμετρο MP125 της εταιρίας Mettler Toledo.

## 3.2.Γενική Πορεία Σύνθεσης Κινολινονών

### 3.2.1. Γενική μέθοδος σύνθεσης N-υποκατεστημενων-3-μεθυλοκαρβονυλο-4-υδροξυ-2-κινολινονών



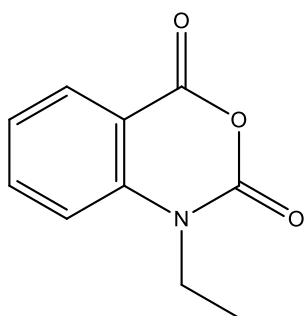
#### i. N-αλκυλίωση Ισατοϊκού Ανυδρίτη

Για τη σύνθεση των της 1ης σειράς κινολινονών συμβατικά, με λουτρά θέρμανσης, σε πρώτο στάδιο πραγματοποιείται η αλκυλίωση του ισατοϊκού ανυδρίτη (1) με το επιθυμητό αλκυλαλογονίδιο ως υποκαταστάτη, σε διαλύτη DMF και σε βασικό περιβάλλον που εξασφαλίζεται από την παρουσία του NaH. Στη σφαιρική που περιέχει το NaH, προστίθεται υπό ανάδευση ο διαλύτης DMF, καθώς και ο ισατοϊκός ανυδρίτης σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, αδρανείς συνθήκες (αέριο N<sub>2</sub>) και παρουσία κάθετου ψυκτήρα. Για την αλκυλίωση του ανυδρίτη, καθώς πρόκειται για μια εντόνως εξώθερμη αντίδραση, ο υποκαταστάτης προστίθεται εντός της σφαιρικής στάγδην και υπό ψύξη. Η σφαιρική διατηρείται στο παγόλουτρο για 10 λεπτά, ενώ ακολούθως μεταφέρεται στο θερμαινόμενο λάδι με θερμόμετρο και την ανάλογη θέρμανση, η οποία καθορίζεται από το σημείο βρασμού του εκάστοτε αλκυλαλογονιδίου. Ο απαιτούμενος χρόνος για την αντίδραση αυτή είναι 24h. Προκειμένου να διαλευκανθεί η πορεία της αντίδρασης αλλά και να διαπιστωθεί το πέρας της αλκυλίωσης του ισατοϊκού ανυδρίτη διενεργούνται ανά τακτά χρονικά διαστήματα δοκιμασίες TLC σε κατάλληλες αναλογίες πετρελαιοειδούς αιθέρα και οξικού αιθυλεστέρα. Μόλις η υποκατάσταση έχει ολοκληρωθεί, το περιεχόμενο της σφαιρικής αποχύνεται σε καθαρή κωνική φιάλη που περιέχει ήδη μικρή ποσότητα πάγου και νερού και παρατηρείται καταβύθιση του ιζήματος.

Για την παραλαβή του υποκατεστημένου ισατοϊκού (2) σε στερεή μορφή, ακολουθεί εκχύλιση με διαιθυλαιθέρα (Et<sub>2</sub>O). Κατά την εκχύλιση, στη διαχωριστική χοάνη τοποθετείται το μίγμα της αντίδρασης, μαζί με ποσότητα διεθυλαιθέρα ίση περίπου με την ποσότητα του DMF που χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης κατά την αντίδραση C-αλκυλίωσης. Ύστερα από ήπια ανάδευση και εκτόνωση, παρατηρείται χρωματισμός της πάνω (οργανικής) φάσης, ενδεικτικό ότι περιέχει το επιθυμητό προϊόν. Η οργανική φάση συλλέγεται, ξηραίνεται με θειικό νάτριο (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), ώστε να δεσμευτούν τα υδατικά υπολείμματα, και εξατμίζεται σε περιστροφικό εξατμιστήρα υπό ελαττωμένη πίεση. Τελικά, το επιθυμητό προϊόν παραλαμβάνεται σε στερεή μορφή ύστερα από επιπλέον εκπλύσεις με Et<sub>2</sub>O και χρησιμοποιείται χωρίς καθαρισμό στο επόμενο στάδιο. Βάσει λοιπόν

της ανωτέρω μεθόδου παρουσιάζονται για κάθε μια από τις 7 ενώσεις που συντέθηκαν οι συνθήκες και οι ακριβείς ποσότητες των αντιδραστηρίων που χρησιμοποιήθηκαν.

*2a) 1-ethyl-1H-benzo[d][1,3]oxazine-2,4-dione*

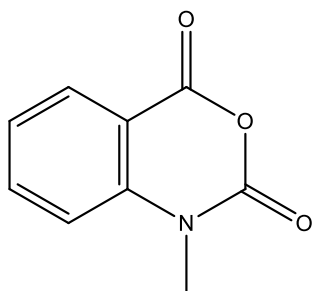


Η σύνθεση της ένωσης **2a** βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο i. Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται **18,5mmol (444mg)** υδριδίου του νατρίου (NaH), προστίθενται **50mL** του διαλύτη DMF και αφήνονται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Έπειτα, προστίθενται τα **12,3mmol (2g)** ισατοϊκού (**1**) και διατηρούμενης της ανάδευσης, η σφαιρική τοποθετείται εντός παγόλουτρου μέχρι να προστεθούν υπό ψύξη και στάγδην τα **14,8mmol (1,2mL)** του ιωδοαιθανίου. Το σύστημα αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και αδρανή ατμόσφαιρα αζώτου για 24h (overnight).

Το επιθυμητό στερεό **2a** παραλαμβάνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή μπεζ στερεού.

Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **840mg** και επομένως, η απόδοση της αντίδρασης αλκυλίωσης ανέρχεται στο **35,8%**.

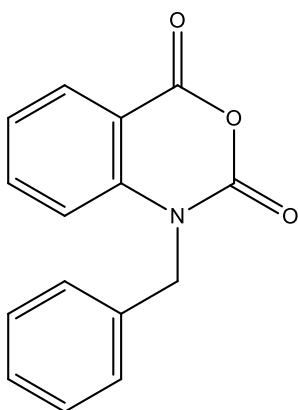
*2b) 1-methyl-1H-benzo[d][1,3]oxazine-2,4-dione*



Η σύνθεση της ένωσης **2b** βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο i. Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται **45,9mmol (1,1g)** υδριδίου του νατρίου (NaH), προστίθενται **125mL** του διαλύτη DMF και αφήνονται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Έπειτα, προστίθενται τα **30,6mmol (5g)** ισατοϊκού (**1**) και διατηρούμενης της ανάδευσης, η σφαιρική τοποθετείται εντός παγόλουτρου μέχρι να προστεθούν υπό ψύξη και στάγδην τα **36,7mmol (2,3mL)** του ιωδομεθανίου. Το σύστημα αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και αδρανή ατμόσφαιρα αζώτου για 24h (overnight).

Το επιθυμητό στερεό **2b** παραλαμβάνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή μπεζ στερεού. Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **3,7290g** και επομένως, η απόδοση της αντίδρασης αλκυλίωσης ανέρχεται στο **68,8%**.

2c) 1-benzyl-1H-benzo[d][1,3]oxazine-2,4-dione

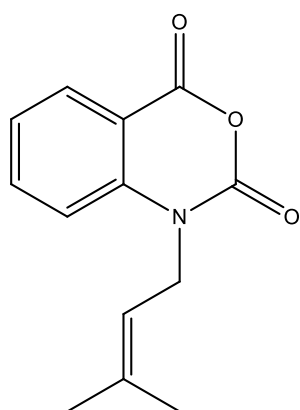


Η σύνθεση της ένωσης **2c** βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο i. Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται **27,6mmol (662,4mg)** υδριδίου του νατρίου (NaH), προστίθενται **75mL** του διαλύτη DMF και αφήνονται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Έπειτα, προστίθενται τα **18,4mmol (3g)** ισατοϊκού (**1**) και διατηρούμενης της ανάδευσης, η σφαιρική τοποθετείται εντός παγόλουτρου μέχρι να προστεθούν υπό ψύξη και στάγδην τα **24,6mmol (2,6mL)** του βενζυλοβρωμιδίου. Το σύστημα αφήνεται υπό ανάδευση στους 70 °C με τη βοήθεια κάθετου ψυκτήρα και αδρανή ατμόσφαιρα αζώτου για 24h (overnight).

Το επιθυμητό στερεό **2c** παραλαμβάνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή μπεζ στερεού.

Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **2,3842g** και επομένως, η απόδοση της αντίδρασης αλκυλίωσης ανέρχεται στο **51,2%**.

2d) 1-(3-methylbut-2-en-1-yl)-1H-benzo[d][1,3]oxazine-2,4-dione

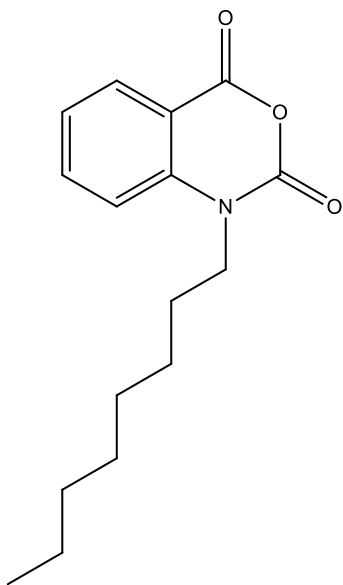


Η σύνθεση της ένωσης **2d** βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο i. Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται **36,8mmol (883,2mg)** υδριδίου του νατρίου (NaH), προστίθενται **100mL** του διαλύτη DMF και αφήνονται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Έπειτα, προστίθενται τα **24,5mmol (4g)** ισατοϊκού (**1**) και διατηρούμενης της ανάδευσης, η σφαιρική τοποθετείται εντός παγόλουτρου μέχρι να προστεθούν υπό ψύξη και στάγδην τα **36,8mmol (4,3mL)** του πρενυλοβρωμιδίου. Το σύστημα αφήνεται υπό ανάδευση στους 80 °C με τη βοήθεια κάθετου ψυκτήρα και αδρανή ατμόσφαιρα αζώτου για 24h (overnight).

Το επιθυμητό στερεό **2d** παραλαμβάνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή μπεζ στερεού.

Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **680,9mg** και επομένως, η απόδοση της αντίδρασης αλκυλίωσης ανέρχεται στο **12,0%**.

2e) 1-octyl-1H-benzo[d][1,3]oxazine-2,4-dione

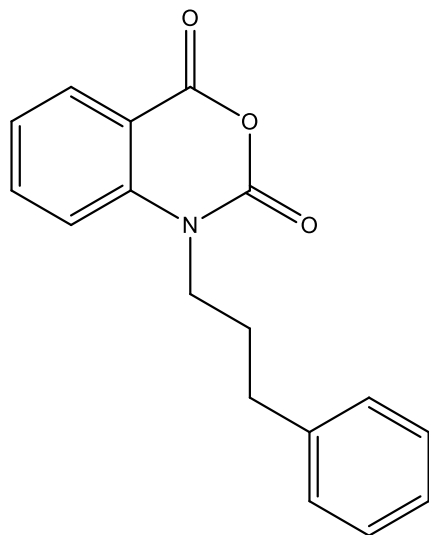


Η σύνθεση της ένωσης **2e** βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο i. Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται **27,6mmol (662,4mg)** υδριδίου του νατρίου (NaH), προστίθενται **50mL** του διαλύτη DMF και αφήνονται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Έπειτα, προστίθενται τα **12,3mmol (2g)** ισατοϊκού (**1**) και διατηρούμενης της ανάδευσης, η σφαιρική τοποθετείται εντός παγόλουτρου μέχρι να προστεθούν υπό ψύξη και στάγδην τα **27,6mmol (4,8mL)** του 1-βρωμοοκτανίου. Το σύστημα αφήνεται υπό ανάδευση στους 80 °C με τη βοήθεια κάθετου ψυκτήρα και αδρανή ατμόσφαιρα αζώτου για 24h (overnight).

Το επιθυμητό στερεό **2e** παραλαμβάνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή μπεζ στερεού.

Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **813,8mg** και επομένως, η απόδοση της αντίδρασης αλκυλίωσης ανέρχεται στο **24,0%**.

2f) 1-(3-phenylpropyl)-1H-benzo[d][1,3]oxazine-2,4-dione

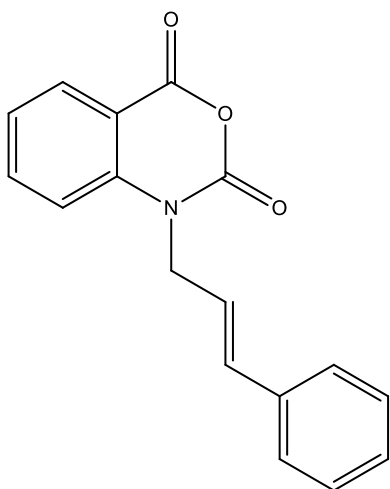


Η σύνθεση της ένωσης **2f** βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο i. Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται **36,8mmol (883,2mg)** υδριδίου του νατρίου (NaH), προστίθενται **100mL** του διαλύτη DMF και αφήνονται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Έπειτα, προστίθενται τα **24,5mmol (4g)** ισατοϊκού (**1**) και διατηρούμενης της ανάδευσης, η σφαιρική τοποθετείται εντός παγόλουτρου μέχρι να προστεθούν υπό ψύξη και στάγδην τα **36,8mmol (5,6mL)** του 1-βρωμο-3-φαινυλοπροπανίου. Το σύστημα αφήνεται υπό ανάδευση στους 80 °C με τη βοήθεια κάθετου ψυκτήρα και αδρανή ατμόσφαιρα αζώτου για 24h (overnight).

Το επιθυμητό στερεό **2f** παραλαμβάνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή μπεζ στερεού.

Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **2,1g** και επομένως, η απόδοση της αντίδρασης αλκυλίωσης ανέρχεται στο **20,4%**.

2g) (E)-1-(3-phenylprop-1-en-1-yl)-1H-benzo[d][1,3]oxazine-2,4-dione



Η σύνθεση της ένωσης **2g** βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο i. Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται **9,2mmol (219,6mg)** υδριδίου του νατρίου (NaH), προστίθενται **25mL** του διαλύτη DMF και αφήνονται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Έπειτα, προστίθενται τα **6,1mmol (1g)** ισατοϊκού (**1**) και διατηρούμενης της ανάδευσης, η σφαιρική τοποθετείται εντός παγόλουτρου μέχρι να προστεθούν υπό ψύξη και στάγδην τα **9,2mmol (3,2mL)** του κινναμυλοβρωμιδίου. Το σύστημα αφήνεται υπό ανάδευση στους 80 °C με τη βοήθεια κάθετου ψυκτήρα και αδρανή ατμόσφαιρα αζώτου για 24h (overnight).

Το επιθυμητό στερεό **2g** παραλαμβάνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή μπεζ στερεού.

Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **520,0mg** και επομένως, η απόδοση της αντίδρασης αλκυλίωσης ανέρχεται στο **31,1%**.

ii. C-ακυλίωση Μηλονικού Διμεθυλεστέρα

Όπως και η αντίδραση του πρώτου σταδίου, έτσι και η δεύτερη διεξάγεται σε περιβάλλον βασικό (NaH) και με διαλύτη DMF. Επομένως, εντός της σφαιρικής, και σε αδρανείς συνθήκες, προστίθενται ο N-υποκατεστημένος ανυδρίτης που συντέθηκε προηγουμένως και το NaH σε διαλύτη DMF. Εν συνεχεία, ο μηλονικός διμεθυλεστέρας προστίθεται στάγδην και υπό ψύξη στο μίγμα. Η αντίδραση πραγματοποιείται υπό θέρμανση στους 80°C και σε αδρανείς συνθήκες αζώτου για 2-2,5h. Η πορεία της αντίδρασης και το πέρας της ελέγχονται ομοίως με το πρώτο στάδιο, μέσω δοκιμασιών TLC.

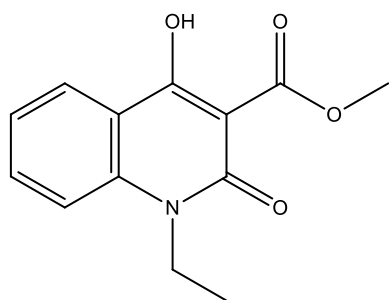
Με το πέρας της αντίδρασης, η σφαιρική τοποθετείται σε παγόλουτρο και το μίγμα οξινίζεται υπό ανάδευση με αραιό διάλυμα HCl 10%, μέχρι pH 1.0 ώστε να εξουδετερωθούν οι επικρατούσες βασικές συνθήκες, οπότε και παρατηρείται καταβύθιση του ιζήματος.

Προκειμένου το επιθυμητό προϊόν να απομονωθεί, όπως και στο πρώτο στάδιο, ακολουθεί εκχύλιση με διεθυλαιθέρα, συλλογή της οργανικής φάσης, δέσμευση των υπολειμμάτων του νερού με ξηραντικό άλας Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, διήθηση του άλατος, και εξάτμιση σε περιστροφικό εξάτμιστήρα υπό ελαττωμένη πίεση. Το επιθυμητό προϊόν παραλαμβάνεται ύστερα από εκπλύσεις με διαιθυλαιθέρα. Προκειμένου από το προϊόν να απομακρυνθούν οι προσμίξεις ακολουθεί διαδικασία ανακρυστάλλωσης σε διαλύτη MeOH.

Σε αυτό το στάδιο είναι απαραίτητος ο έλεγχος της καθαρότητας του τελικού προϊόντος, ο οποίος επιτυγχάνεται μέσω φασματοσκοπίας πρωτονίου <sup>1</sup>H NMR και φασματομετρία υπερύθρου μετασχηματισμού Fourier FT-IR.

Ακολούθως παρουσιάζονται, βάσει της ανωτέρου μεθόδου, οι συνθήκες και οι ακριβείς ποσότητες των αντιδραστηρίων που χρησιμοποιήθηκαν για τη σύνθεση των 7 N-υποκατεστημένων κινολινόνων.

3a) methyl 1-ethyl-4-hydroxy-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylate



Η σύνθεση της ένωσης **3a** βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο ii. Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται **16,2mmol (388,8mg)** υδριδίου του νατρίου (NaH), προστίθενται **60mL** του διαλύτη DMF και αφήνονται υπό ανάδευση. Έπειτα, διατηρούμενης της ανάδευσης, προστίθενται τα **8,1mmol (1,5429g)** του υποκατεστημένου ισατοϊκού ανυδρίτη **2a** και **40,5mmol (4,7mL)** του μηλονικού διμεθυλεστέρα υπό ψύξη. Το σύστημα αφήνεται υπό ανάδευση στους 80 °C με τη βοήθεια κάθετου ψυκτήρα και αδρανή ατμόσφαιρα αζώτου για 2-2,5h.

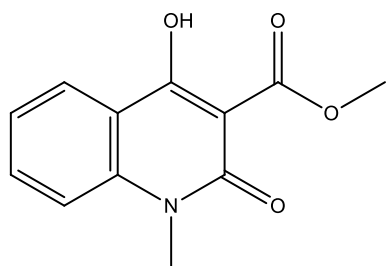
Το επιθυμητό στερεό **3a** παραλαμβάνεται ί ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία, σε μορφή λευκού στερεού.

Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **449,4mg** και επομένως, η απόδοση της αντίδρασης ακυλίωσης ανέρχεται στο **19,8%** και το σημείο τήξης της ένωσης προέκυψε μεταξύ **133-134 °C**.

<sup>1</sup>H NMR (600MHz, CDCl<sub>3</sub>, d<sub>1</sub>) δ (ppm) 8.19 (dd, J= 7.8, 1.2 Hz, 1H, H-6), 7.69 (td, J= 8.4, 1.2 Hz, 1H, H-7), 7.32 (d, J= 8.4 MHz, 1H, H-9), 7.26 (m, 1H), 4,31 (q, J= 7.2 Hz, 2H, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 4.03 (s, 3H, C=O-O-CH<sub>3</sub>), 1,33 (t, J= 7.2Hz, 3H, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>)

FT-IR 2964 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C-H αρωματικού δακτυλίου), 2713 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C-H αλειφατικής αλυσίδας), 1656 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C=O), 1623 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C=C), 1274 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C-N), 1251 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C-O), 767 cm<sup>-1</sup> και 748 cm<sup>-1</sup> (δ̄ μονουποκατάσταση Ar)

3b) methyl 4-hydroxy-1-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylate



Η σύνθεση της ένωσης **3b** βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο ii. Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται **5,0mmol (120,5mg)** υδριδίου του νατρίου (NaH), προστίθενται **20mL** του διαλύτη DMF και αφήνονται υπό ανάδευση. Έπειτα, διατηρούμενης της ανάδευσης, προστίθενται τα **2,51mmol (444,3g)** του υποκατεστημένου ισατοϊκού ανυδρίτη **2b** και **12,6mmol (1,4mL)** του μηλονικού διμεθυλεστέρα υπό ψύξη. Το σύστημα αφήνεται υπό ανάδευση στους 80 °C με τη βοήθεια κάθετου ψυκτήρα και αδρανή ατμόσφαιρα αζώτου για 2-2,5h.

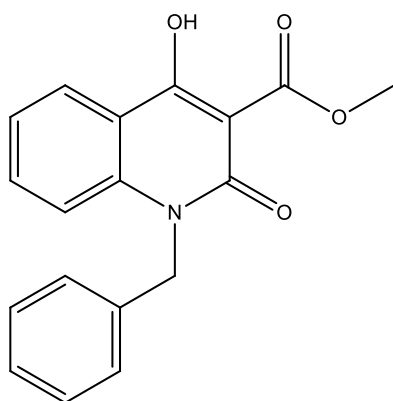
Το επιθυμητό στερεό **3b** παραλαμβάνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή λευκού στερεού.

Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **65,6mg** και επομένως, η απόδοση της αντίδρασης ακυλίωσης ανέρχεται στο **11,2%** και το σημείο τήξης της ένωσης προέκυψε μεταξύ **160-162 °C**.

**<sup>1</sup>H NMR** (600MHz, CDCL<sub>3</sub>, d<sub>1</sub>) δ (ppm) 10.91 (brs, 1H, **N-H**), 8.11 (dd, J= 8.1 Hz, 1H, **H-6**), 7.64 (td, J= 8.4, 1.2 Hz, 1H, **H-7**), 7.32 (d, J= 8.4 Hz, 1H, **H-9**), 7.26 (t, J = 7.8 Hz, 1H, **H-8**), 4.07 (s, 3H, C=O-O-**CH<sub>3</sub>**), 3.66 (s, 3H, **N-CH<sub>3</sub>**)

**FT-IR** 2983 cm<sup>-1</sup> ( $\tilde{\nu}$  C-H αρωματικού δακτυλίου), 2729 cm<sup>-1</sup> ( $\tilde{\nu}$  C-H αλειφατικής αλυσίδας), 1656 cm<sup>-1</sup> ( $\tilde{\nu}$  C=O), 1621 cm<sup>-1</sup> ( $\tilde{\nu}$  C=C), 1261 cm<sup>-1</sup> ( $\tilde{\nu}$  C-N), 1193 cm<sup>-1</sup> ( $\tilde{\nu}$  C-O), 769 cm<sup>-1</sup> και 750 cm<sup>-1</sup> ( $\delta$  μονουποκατάσταση Ar)

### 3c) methyl 1-benzyl-4-hydroxy-1-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylate



Η σύνθεση της ένωσης **3c** βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο ii. Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται **18,8mmol (451,2mg)** υδριδίου του νατρίου (NaH), προστίθενται **70mL** του διαλύτη DMF και αφήνονται υπό ανάδευση. Έπειτα, διατηρούμενης της ανάδευσης, προστίθενται τα **9,4mmol (2,38g)** του υποκατεστημένου ισατοϊκού ανυδριτη **2c** και **47mmol (5,4mL)** του μηλονικού διμεθυλεστέρα υπό ψύξη. Το σύστημα αφήνεται υπό ανάδευση στους 80 °C με τη βοήθεια κάθετου ψυκτήρα και αδρανή ατμόσφαιρα αζώτου για 2-2,5h.

Το επιθυμητό στερεό **3c** παραλαμβάνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή λευκού στερεού.

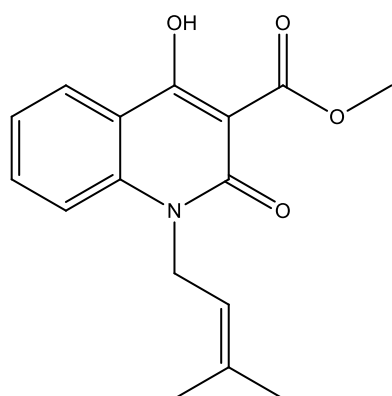
Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **536,2mg** και επομένως, η απόδοση της αντίδρασης ακυλίωσης ανέρχεται στο **18,4%** και το σημείο τήξης της ένωσης προέκυψε μεταξύ **151-152 °C**.

**<sup>1</sup>H NMR** (600MHz, CDCL<sub>3</sub>, d<sub>1</sub>) δ (ppm) 8.20 (dd, J= 8.4, 1.8 Hz, 1H, **H-6**), 7.55 (td, J= 8.4, 1.2 Hz, 1H, **H-7**), 7.29 (m, 1H), 7.26 (m, 5H), 5.50 (s, 2H, **N-CH<sub>2</sub>-Ar**), 4.05 (s, 3H, C=O-O-**CH<sub>3</sub>**)

**FT-IR** 3446 cm<sup>-1</sup> ( $\tilde{\nu}$  -OH), 3029 cm<sup>-1</sup> ( $\tilde{\nu}$  C-H αρωματικού δακτυλίου), 2962 cm<sup>-1</sup> ( $\tilde{\nu}$  C-H αλειφατικής αλυσίδας), 1656 cm<sup>-1</sup> ( $\tilde{\nu}$  C=O), 1619 cm<sup>-1</sup> ( $\tilde{\nu}$  C=C), 1266 cm<sup>-1</sup> ( $\tilde{\nu}$  C-N), 1166 cm<sup>-1</sup> ( $\tilde{\nu}$  C-O), 767 cm<sup>-1</sup> και 727 cm<sup>-1</sup> ( $\delta$  μονουποκατάσταση Ar)



*3d) methyl 4-hydroxy-1-(3-methylbut-2-en-1-yl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylate*



Η σύνθεση της ένωσης **3d** βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο ii. Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται **5,8mmol (139,2mg)** υδριδίου του νατρίου (NaH), προστίθενται **22mL** του διαλύτη DMF και αφήνονται υπό ανάδευση. Έπειτα, διατηρούμενης της ανάδευσης, προστίθενται τα **2,9mmol (680,9mg)** του υποκατεστημένου ισατοϊκού ανυδριτη **2d** και **14,5mmol (1,7mL)** του μηλονικού διμεθυλεστέρα υπό ψύξη. Το σύστημα αφήνεται υπό ανάδευση στους 80 °C με τη βοήθεια κάθετου ψυκτήρα και αδρανή ατμόσφαιρα αζώτου για 2-2,5h.

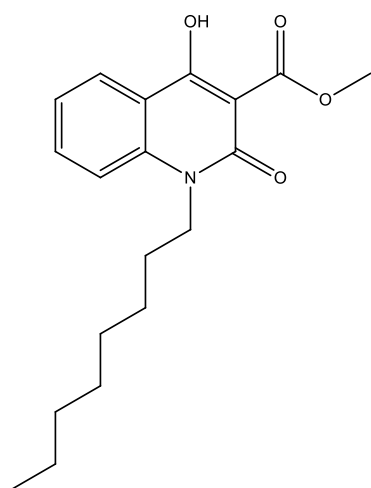
Το επιθυμητό στερεό **3d** παραλαμβάνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή λευκού στερεού.

Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **267,9mg** και επομένως, η απόδοση της αντίδρασης ακυλίωσης ανέρχεται στο **32,2%** και το σημείο τήξης της ένωσης προέκυψε μεταξύ **119-121 °C**.

<sup>1</sup>H NMR (600MHz, CDCl<sub>3</sub>, d<sub>1</sub>) δ (ppm) 8.19 (dd, J= 7.8, 1.2 Hz, 1H, **H-6**), 7.65 (td, J=8.4, 1.2 Hz, 1H, **H-7**), 7.25 (m, 2H), 5.12 (t, J=8.4 Hz, 1H, N-CH<sub>2</sub>-CH=), 4.87 (d, J=5.4 Hz, 2H, N-CH<sub>2</sub>-CH=), 4.03 (s, 3H, C=O-O-CH<sub>3</sub>), 1.88 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 1.71 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>)

FT-IR 3081 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C-H αρωματικού δακτυλίου), 2958 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C-H αλειφατικής αλυσίδας), 1658 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C=O), 1619 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C=C), 1253 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C-N), 1166 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C-O), 754 cm<sup>-1</sup> (δ μονουποκατάσταση Ar)

*3e) methyl 4-hydroxy-1-octyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylate*



Η σύνθεση της ένωσης **3e** βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο ii. Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται **6mmol (144mg)** υδριδίου του νατρίου (NaH), προστίθενται **22mL** του διαλύτη DMF και αφήνονται υπό ανάδευση. Έπειτα, διατηρούμενης της ανάδευσης, προστίθενται τα **3mmol (813,8mg)** του υποκατεστημένου ισατοϊκού ανυδριτη **2e** και **15mmol (1,7mL)** του μηλονικού διμεθυλεστέρα υπό ψύξη. Το σύστημα αφήνεται υπό ανάδευση στους 80 °C με τη βοήθεια κάθετου ψυκτήρα και αδρανή ατμόσφαιρα αζώτου για 2-2,5h.

Το επιθυμητό στερεό **3e** παραλαμβάνεται ύστερα από

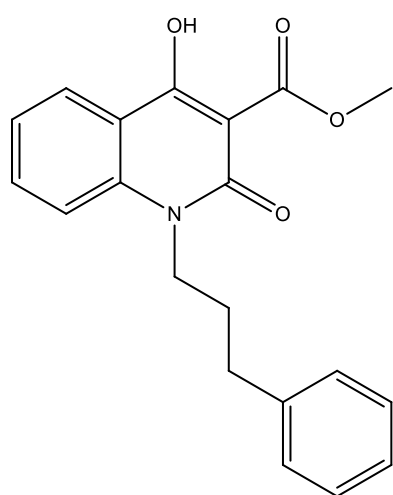
κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή λευκού στερεού.

Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **189,8mg** και επομένως, η απόδοση αυτής της αντίδρασης αλκυλίωσης ανέρχεται στο **19,1%** και το σημείο τήξης της ένωσης προέκυψε μεταξύ **69-71 °C**.

**<sup>1</sup>H NMR** (600MHz, CDCl<sub>3</sub>, d<sub>1</sub>) δ (ppm) 8.20 (dd, J= 7.8, 1.2 Hz, 1H, **H-6**), 7.68 (td, J= 8.4, 1.2 Hz, 1H, **H-7**), 7.30 (d, J= 8.4 Hz, 1H, **H-9**), 7.24 (t, J= 7.2 Hz, 1H, **H-8**), 4.20 (t, J= 7.8 Hz, 2H, N-CH<sub>2</sub>-), 4.03 (s, 3H, C=O-O-CH<sub>3</sub>), 1.71 (q, J= 7.8 Hz, 2H, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 1.45 (q, J= 7.8 Hz, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 1.36 (q, J= 7.2 Hz, 2H, N-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-), 1.27 (m, 6H, N-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>), 0,88 (t, J= 0.6 Hz, 3H, N-(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH<sub>3</sub>)

**FT-IR** 2956 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C-H αρωματικού δακτυλίου), 2929 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C-H αλειφατικής αλυσίδας), 1658 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C=O), 1621 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C=C), 1255 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C-N), 1089 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C-O), 769 cm<sup>-1</sup> και 750 cm<sup>-1</sup> (δ μονουποκατάσταση Ar)

3f) methyl 4-hydroxy-2-oxo-1-(3-phenylpropyl)-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylate



Η σύνθεση της ένωσης **3f** βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο ii. Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται **15mmol (360mg)** υδριδίου του νατρίου (NaH), προστίθενται **56mL** του διαλύτη DMF και αφήνονται υπό ανάδευση. Έπειτα, διατηρούμενης της ανάδευσης, προστίθενται τα **7,5mmol (2,1g)** του υποκατεστημένου ισατοϊκού ανυδρίτη **2f** και **37,5mmol (4,3mL)** του μηλονικού διμεθυλεστέρα υπό ψύξη. Το σύστημα αφήνεται υπό ανάδευση στους 80 °C με τη βοήθεια κάθετου ψυκτήρα και αδρανή ατμόσφαιρα αζώτου για 2-2,5h.

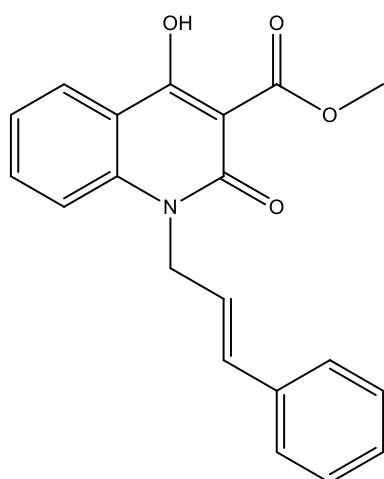
Το επιθυμητό στερεό **3f** παραλαμβάνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή λευκού στερεού.

Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **753,5mg** και επομένως, η απόδοση της αντίδρασης αλκυλίωσης ανέρχεται στο **29,8%** και το σημείο τήξης της ένωσης προέκυψε μεταξύ **101-104 °C**.

**<sup>1</sup>H NMR** (600MHz, CDCl<sub>3</sub>, d<sub>1</sub>) δ (ppm) 8.18 (dd, J= 7.8, 1.2 Hz, 1H, **H-6**), 7.59 (td, J= 8.4, 1.2Hz, 1H, **H-7**), 7.30 (t, J= 7.2 Hz, 2H, N-CH<sub>2</sub>-), 7.22 (m, 4H, N-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 7.06 (d, J= 8.4 Hz, 1H), 4.24 (t, J= 7.8 Hz, 2H, N-CH<sub>2</sub>-), 4.04 (s, 3H, C=O-O-CH<sub>3</sub>), 2.80 (t, J= 7.8 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-Ar), 2.05 (q, J= 7.8 Hz, 2H, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Ar)

**FT-IR** 3019 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C-H αρωματικού δακτυλίου), 2925 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C-H αλειφατικής αλυσίδας), 1659 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C=O), 1562 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C=C), 1251 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C-N), 1097 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C-O), 771 cm<sup>-1</sup> και 746 cm<sup>-1</sup> (δ μονουποκατάσταση Ar)

3g) methyl 1-cinnamyl-4-hydroxy-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylate



Η σύνθεση της ένωσης **3g** βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο ii. Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται **3,8mmol (91,2mg)** υδριδίου του νατρίου (NaH), προστίθενται **14mL** του διαλύτη DMF και αφήνονται υπό ανάδευση. Έπειτα, διατηρούμενης της ανάδευσης, προστίθενται τα **1,9mmol (520mg)** του υποκατεστημένου ισατοϊκού ανυδριτη **2g** και **9,3mmol (1,1mL)** του μηλονικού διμεθυλεστέρα υπό ψύξη. Το σύστημα αφήνεται υπό ανάδευση στους 80 °C με τη βοήθεια κάθετου ψυκτήρα και αδρανή ατμόσφαιρα αζώτου για 2-2,5h.

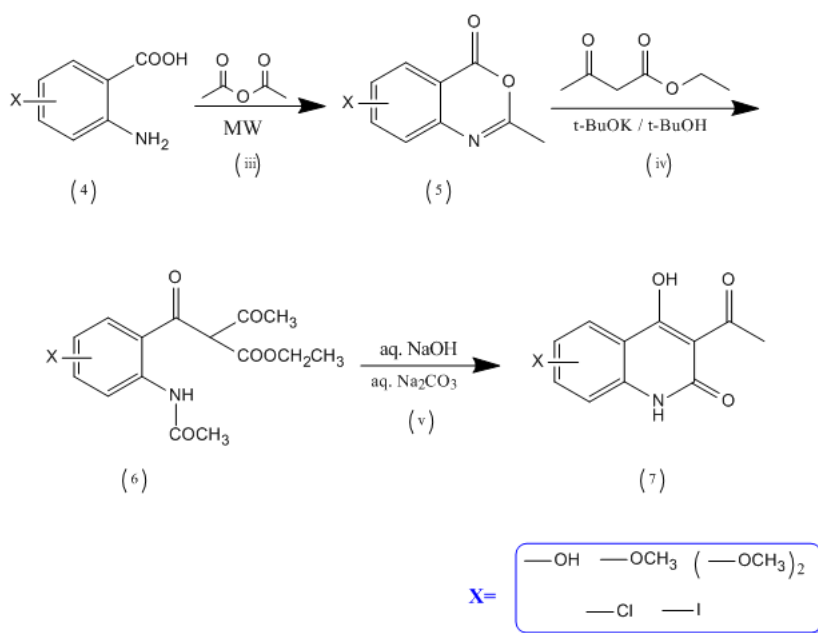
Το επιθυμητό στερεό **3g** παραλαμβάνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή λευκού στερεού.

Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **195,8mg** και επομένως, η απόδοση αυτής της αντίδρασης αλκυλίωσης ανέρχεται στο **30,7%** και το σημείο τήξης της ένωσης προέκυψε μεταξύ **177-178 °C**.

**<sup>1</sup>H NMR** (600MHz, CDCl<sub>3</sub>, d<sub>1</sub>) δ (ppm) 14.18 (brs, 1H, -OH), 8.22 (dd, J= 7.8, 1.2 Hz, 1H, H-6), 7.66 (td, J= 9, 1.8 Hz, 1H, H-7), 7.34 (d, J= 9 Hz, 1H), 7.31 (m, 2H), 7.27 (m, 3H), 7.20 (t, J= 7.8 Hz, 1H), 6.55 (d, J= 16.2 Hz, 1H, N-CH<sub>2</sub>-CH=CH-Ar), 6.29 (dt, J= 16.2, 6 Hz, 1H, N-CH<sub>2</sub>-CH=CH-Ar), 5.06 (d, J= 4.8 Hz, 2H, N-CH<sub>2</sub>-), 4.05 (s, 3H, C=O-O-CH<sub>3</sub>)

**FT-IR** 3050 cm<sup>-1</sup> (ν̄ -OH) 3019 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C-H αρωματικού δακτυλίου), 2960 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C-H αλειφατικής αλυσίδας), 1660 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C=O), 1621 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C=C), 1251 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C-N), 1168 cm<sup>-1</sup> (ν̄ C-O), 755 cm<sup>-1</sup> και 734 cm<sup>-1</sup> (δ̄ μονουποκατάσταση Ar)

### 3.2.2. Γενική μέθοδος σύνθεσης 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-κινολινόνης



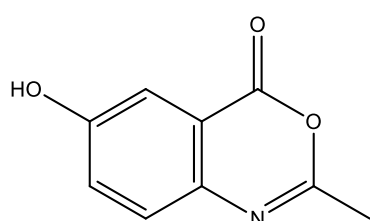
#### iii. Ακετυλίωση Ανθρανιλικού Οξέος

Για τη σύνθεση της 2ης σειράς κινολινονών, το πρώτο στάδιο των αντιδράσεων πραγματοποιείται μέσω μικροκυματικής ακτινοβολίας. Το επιλεγμένο N-υποκατεστημένο ανθρανιλικό οξύ τοποθετείται στο κατάλληλο ειδικό γυάλινο σκεύος quartz, μαζί με την απαιτούμενη ποσότητα οξικού ανυδρίτη, ο οποίος διαδραματίζει ρόλο εκτός του αντιδρώντος και ως διαλύτη της αντίδρασης. Οι συνθήκες που ρυθμίζονται πριν την ακτινοβόληση των μειγμάτων με μικροκυματική ακτινοβολία είναι η παροχή ακτινοβολίας ισχύος 250W, η εσωτερική θερμοκρασία μίγματος T1 = 120-150 °C και η θερμοκρασία θαλάμου T2=120-155 °C. Επιπλέον, ορίζονται ο χρόνος που απαιτείται ώστε οι θερμοκρασίες T1 και T2 να φτάσουν τις επιθυμητές τιμές της αντίδρασης ίσως με 7min, ο χρόνος της αντίδρασης από 17-22 min και ο χρόνος ψύξης του μίγματος και του θαλάμου από 10-15min.

Με τη λήξη της αντίδρασης, το quartz τοποθετείται σε παγόλουτρο ώστε να καταβυθιστεί η βενζοξαζινόνη ως στερεό, το οποίο εν συνεχεία θα παραληφθεί μέσω διήθησης υπό κενό και πλύσεων με πετρελαϊκό αιθέρα, οπότε και θα αποθηκευτεί σε ξηραντήρα.

Με βάση τη μέθοδο αυτή, ακολούθως παρουσιάζονται οι συνθήκες και οι ακριβείς ποσότητες που χρησιμοποιήθηκαν για τη σύνθεση των βενζοξαζινονών.

#### 5a) 6-hydroxy-2-methyl-4H-benzo[d][1,3]oxazin-4-one



Η σύνθεση της ένωσης **5a** με εφαρμογή μικροκυματικής ακτινοβολίας βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο iii. Στο σκεύος quartz εισάγονται **19,6mmol (3g) 2-amino-5-hydroxybenzoic acid**, καθώς και **211,6mmol (20mL)**

ακετοξικού ανυδρίτη. Οι συνθήκες της αντίδρασης ορίζονται ως εξής:

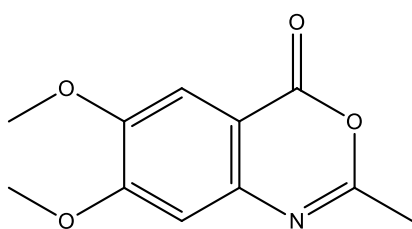
- Ισχύς ακτινοβολίας, P=250W
- Εσωτερική θερμοκρασία μίγματος, T<sub>1</sub>=120 °C
- Θερμοκρασία θαλάμου, T<sub>2</sub>=100 °C

Καθώς και οι χρόνοι:

- Χρόνος θέρμανσης, t<sub>1</sub>= 7min
- Χρόνος αντίδρασης, t<sub>2</sub>= 22min
- Χρόνος ψύξης, t<sub>3</sub>(exhaust)= 15min

Το επιθυμητό στερεό **5a** απομονώνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή γκρι στερεού. Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **2,5923g** και επομένως, η απόδοση της αντίδρασης ακετυλίωσης ανέρχεται στο **74,7%**.

*5b) 6,7-dimethoxy-2-methyl-4H-benzo[d][1,3]oxazin-4-one*



Η σύνθεση της ένωσης **5b** με εφαρμογή μικροκυματικής ακτινοβολίας βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο iii. Στο σκεύος quartz εισάγονται **15,2mmol (3g) 2-amino-4,5-dimethoxybenzoic acid**, καθώς και **126,9mmol (12mL)** οξικού ανυδρίτη. Οι συνθήκες της αντίδρασης ορίζονται ως εξής:

- Ισχύς ακτινοβολίας, P=250W
- Εσωτερική θερμοκρασία μίγματος, T<sub>1</sub>=150 °C
- Θερμοκρασία Θαλάμου, T<sub>2</sub>=130 °C

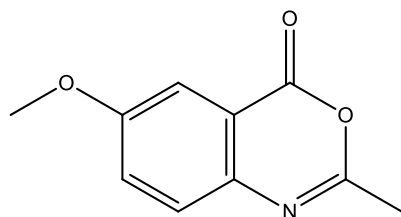
Καθώς και οι χρόνοι:

- Χρόνος θέρμανσης, t<sub>1</sub>= 7min
- Χρόνος αντίδρασης, t<sub>2</sub>= 17min
- Χρόνος ψύξης, t<sub>3</sub>(exhaust)= 15min

Το επιθυμητό στερεό **5b** απομονώνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή γκρι στερεού.

Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **2,4689g** και επομένως, η απόδοση της αντίδρασης ακετυλίωσης ανέρχεται στο **73,4%**.

5c) 6-methoxy-2-methyl-4H-benzo[d][1,3]oxazin-4-one



Η σύνθεση της ένωσης **5c** με εφαρμογή μικροκυματικής ακτινοβολίας βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο iii. Στο σκεύος quartz εισάγονται **17,9mmol (3g) 2-amino-5-methoxybenzoic acid**, καθώς και **126,9mmol (12mL)** οξικού ανυδρίτη. Οι συνθήκες της αντίδρασης ορίζονται ως εξής:

- Ισχύς ακτινοβολίας, P=250W
- Εσωτερική θερμοκρασία μίγματος, T<sub>1</sub>=150 °C
- Θερμοκρασία Θαλάμου, T<sub>2</sub>=130 °C

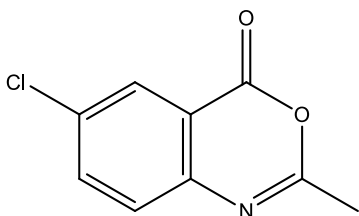
Καθώς και οι χρόνοι:

- Χρόνος θέρμανσης, t<sub>1</sub>= 7min
- Χρόνος αντίδρασης, t<sub>2</sub>= 17min
- Χρόνος ψύξης, t<sub>3</sub>(exhaust)= 15min

Το επιθυμητό στερεό **5c** απομονώνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή γκρι στερεού.

Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **2,8032g** και επομένως, η απόδοση της αντίδρασης ακετυλίωσης ανέρχεται στο **80,2%**.

4d) 6-chloro-2-methyl-4H-benzo[d][1,3]oxazin-4-one



Η σύνθεση της ένωσης **5d** με εφαρμογή μικροκυματικής ακτινοβολίας βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο iii. Στο σκεύος quartz εισάγονται **17,5mmol (3g) 2-amino-5-chlorobenzoic acid**, καθώς και **126,9mmol (12mL)** τοξικού ανυδρίτη. Οι συνθήκες της αντίδρασης ορίζονται ως εξής:

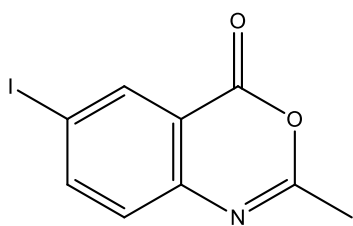
- Ισχύς ακτινοβολίας, P=250W
- Εσωτερική θερμοκρασία μίγματος, T<sub>1</sub>=150 °C
- Θερμοκρασία θαλάμου, T<sub>2</sub>=130 °C

Καθώς και οι χρόνοι:

- Χρόνος θέρμανσης, t<sub>1</sub>= 7min
- Χρόνος αντίδρασης, t<sub>2</sub>= 17min
- Χρόνος ψύξης, t<sub>3</sub>(exhaust)= 10min

Το επιθυμητό στερεό **5d** απομονώνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή γκρι στερεού. Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **2,7356g** και επομένως, η απόδοση της αντίδρασης ακετυλίωσης ανέρχεται στο **79,9%**.

5e) 6-iodo-2-methyl-4H-benzo[d][1,3]oxazin-4-one



Η σύνθεση της ένωσης **5e** με εφαρμογή μικροκυματικής ακτινοβολίας βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο iii. Στο σκεύος quartz εισάγονται **11,4mmol (3g) 2-amino-5-iodobenzoic acid**, καθώς και **126,9mmol (12mL)** οξικού ανυδρίτη. Οι συνθήκες της αντίδρασης ορίζονται ως εξής:

- Ισχύς ακτινοβολίας, P=250W
- Εσωτερική θερμοκρασία μίγματος, T<sub>1</sub>=150 °C
- Θερμοκρασία Θαλάμου, T<sub>2</sub>=130 °C

Καθώς και οι χρόνοι:

- Χρόνος θέρμανσης, t<sub>1</sub>= 7min
- Χρόνος αντίδρασης, t<sub>2</sub>= 17min
- Χρόνος ψύξης, t<sub>3</sub>(exhaust)= 15min

Το επιθυμητό στερεό **5e** απομονώνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή γκρι στερεού. Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **2,8727g** και επομένως, η απόδοση της αντίδρασης ακετυλίωσης ανέρχεται στο **87,8%**.

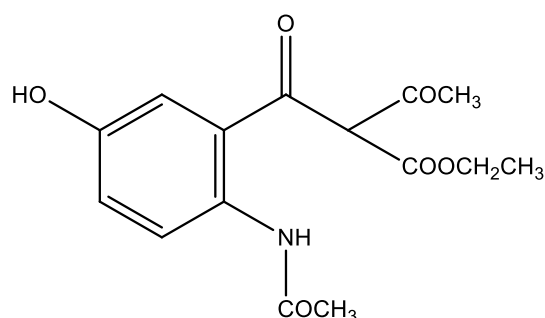
#### iv. C-ακυλίωση Ακετοξικού Εστέρα

Η N-υποκατεστημένη βενζοξαζινόνη που συντέθηκε χρησιμοποιείται ως ακυλιωτικό μέσο, παρουσία t-βουτοξειδίου του καλίου (t-BuOK) σε διαλύτη t-βουτανόλης (t-BuOH) και θερμοκρασία περιβάλλοντος. Να σημειωθεί ότι το t-BuOK που θα χρησιμοποιηθεί, πρέπει να είναι πολύ ξηρό, γι' αυτό και ενδείκνυται η αποθήκευση περίσσειας ποσότητας στον φούρνο από την προηγούμενη ημέρα. Αρχικά στη σφαιρική φιάλη τοποθετείται η απαιτούμενη ποσότητα αλκοόλης και του βασικού αντιδραστηρίου και αφήνονται προς ανάδευση για περίπου 20 λεπτά σε κλειστό σύστημα αζώτου. Στη συνέχεια προστίθεται στάγδην ο ακετοξικός αιθυλεστέρας ώστε να ξεκινήσει η C-ακυλίωση για περίπου 1 ώρα. Τέλος, στη σφαιρική θα προστεθεί και η παρασκευασθείσα βενζοξαζινόνη και το σύστημα συνεχίζει να αναδεύεται για περίπου 2 ώρες, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και αδρανείς συνθήκες. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με δοκιμασίες TLC και με το πέρας της στη σφαιρική προστίθεται μικρή ποσότητα νερού, ώστε να σταματήσει το σύστημα να αντιδρά.

Προκειμένου να απομονωθεί το ενδιάμεσο προϊόν, ακολουθεί εκχύλιση με διεθυλαιθέρα, όπου συλλέγεται η υδατική φάση, η οποία ακολούθως οξινίζεται με αραιό διάλυμα HCl 10%, μέχρι pH 1.0 και αποθηκεύεται στην ψύξη, ώστε να καταβυθιστεί ως στερεό το ενδιάμεσο προϊόν. Ύστερα, παραλαμβάνεται μέσω διήθησης υπό κενό και πλύσεων με αραιό διάλυμα HCl. Το προϊόν αφού ξηραθεί είναι έτοιμο να χρησιμοποιηθεί στην τελική αντίδραση κυκλοποίησής του.

Με βάση λοιπόν την μέθοδο αυτή, ακολούθως παρουσιάζονται οι συνθήκες και οι ακριβείς ποσότητες των αντιδραστηρίων που χρησιμοποιήθηκαν.

6a) ethyl 2-(2-acetamido-5-hydroxybenzoyl)-3-oxobutanoate



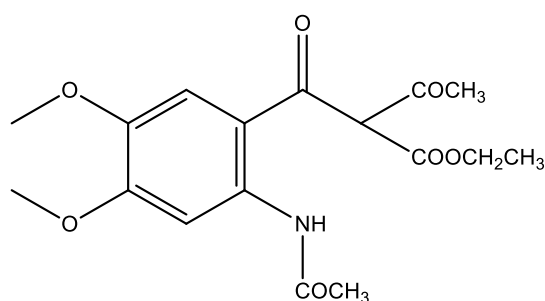
Η σύνθεση της ένωσης **6a** βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο iv. Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται **15,8mmol (1,77g)** t-BuOK, προστίθενται **40mL** του διαλύτη t-BuOH και αφήνονται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 20min. Έπειτα, διατηρούμενης της ανάδευσης, προστίθενται στάγδην **15,8mmol (2mL)** ακετοξικού αιθυλεστέρα

και το σύστημα αφήνεται για διάστημα 1h σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Τέλος, εντός της σφαιρικής προστίθενται **7,9mmol (1,4g)** της παρασκευασθείσας στο προηγούμενο 1<sup>ο</sup> στάδιο βενζοξαζινόνης **5a** και το σύστημα αφήνεται υπό ανάδευση, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και αδρανή ατμόσφαιρα αζώτου για 2h.

Το επιθυμητό στερεό **6a** απομονώνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή γκρι στερεού.

Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **768,8mg** και επομένως, η απόδοση της αντίδρασης ακυλίωσης ανέρχεται στο **32,3%**.

6b) ethyl 2-(2-acetamido-4,5-dimethoxybenzoyl)-3-oxobutanoate



Η σύνθεση της ένωσης **6b** βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο iv. Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται **5,4mmol (0,606g)** t-BuOK, προστίθενται **13,5mL** του διαλύτη t-BuOH και αφήνονται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 20min. Έπειτα, διατηρούμενης της ανάδευσης, προστίθενται στάγδην **5,4mmol**

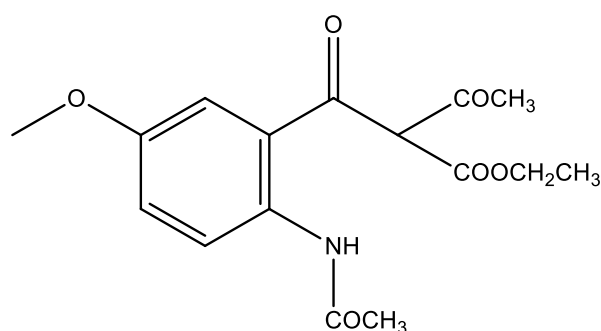
**(0,684mL)** ακετοξικού αιθυλεστέρα και το σύστημα αφήνεται για διάστημα 1h σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Τέλος, εντός της σφαιρικής προστίθενται **2,7mmol (0,6g)** της παρασκευασθείσας στο προηγούμενο 1<sup>ο</sup> στάδιο βενζοξαζινόνης **5b** και το σύστημα αφήνεται υπό ανάδευση, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και αδρανή ατμόσφαιρα αζώτου για 2h.

Το επιθυμητό στερεό **6b** απομονώνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή λευκού στερεού.

Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **288,2mg** και επομένως, η απόδοση της αντίδρασης ακυλίωσης ανέρχεται στο **30,3%**.



6c) ethyl 2-(2-acetamido-5-methoxybenzoyl)-3-oxobutanoate



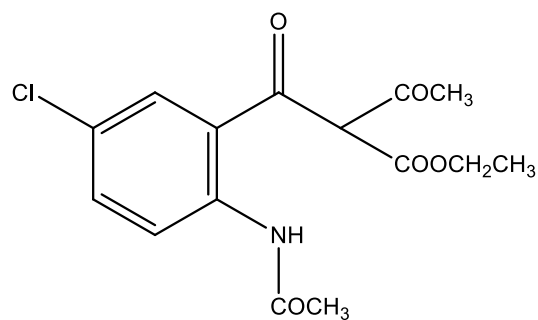
Η σύνθεση της ένωσης **6c** βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο iv. Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται **8,73mmol (0,98g)** t-BuOK, προστίθενται **21,8mL** του διαλύτη t-BuOH και αφήνονται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 20min. Έπειτα, διατηρούμενης της ανάδευσης, προστίθενται στάγδην **8,73mmol**

**(0,57mL)** ακετοξικού αιθυλεστέρα και το σύστημα αφήνεται για διάστημα 1h σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Τέλος, εντός της σφαιρικής προστίθενται τα **4,36mmol (1,4018g)** της παρασκευασθείσας στο προηγούμενο 1<sup>ο</sup> στάδιο βενζοξαζινόνης **5c** και το σύστημα αφήνεται υπό ανάδευση, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και αδρανή ατμόσφαιρα αζώτου για 2h.

Το επιθυμητό στερεό **6c** απομονώνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή λευκού στερεού.

Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **1018,7mg** και επομένως, η απόδοση αυτής της αντίδρασης C-αλκυλίωσης ανέρχεται στο **72,7%**.

6d) ethyl 2-(2-acetamido-5-chlorobenzoyl)-3-oxobutanoate



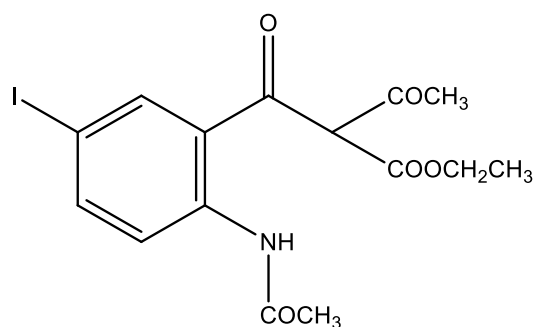
Η σύνθεση της ένωσης **6d** βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο iv. Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται **22,5mmol (2,5245g)** t-BuOK, προστίθενται **56,25mL** του διαλύτη t-BuOH και αφήνονται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 20min. Έπειτα, διατηρούμενης της ανάδευσης, προστίθενται στάγδην **22,5mmol (2,914mL)** ακετοξικού αιθυλεστέρα και το

σύστημα αφήνεται για διάστημα 1h σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Τέλος, εντός της σφαιρικής προστίθενται **11,25mmol (2,2g)** της παρασκευασθείσας στο προηγούμενο 1<sup>ο</sup> στάδιο βενζοξαζινόνης **5d** και το σύστημα αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και αδρανή ατμόσφαιρα αζώτου για 2h.

Το επιθυμητό στερεό **6d** απομονώνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή λευκού στερεού.

Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **1934,7mg** και επομένως, η απόδοση της αντίδρασης ακυλίωσης ανέρχεται στο **52,8%**.

6e) ethyl 2-(2-acetamido-5-iodobenzoyl)-3-oxobutanoate



Η σύνθεση της ένωσης **6e** βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο iv. Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται **13,935mmol (1,56g)** t-BuOK, προστίθενται **34,835mL** του διαλύτη t-BuOH και αφήνονται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 20min. Έπειτα, διατηρούμενης της ανάδευσης, προστίθενται στάγδην **13,935mmol (1,764mL)** ακετοξικού

αιθυλεστέρα και το σύστημα αφήνεται για διάστημα 1h σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Τέλος, εντός της σφαιρικής προστίθενται **6,967mmol (2g)** της παρασκευασθείσας στο προηγούμενο 1<sup>ο</sup> στάδιο βενζοξαζινόνης **5e** και το σύστημα αφήνεται υπό ανάδευση, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και αδρανή ατμόσφαιρα αζώτου για 2h.

Το επιθυμητό στερεό **6e** απομονώνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή λευκού στερεού.

Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **1,9990mg** και επομένως, η απόδοση της αντίδρασης ακυλίωσης ανέρχεται στο **68,7%**.

#### v. Κυκλοποίηση Ενδιάμεσου Προϊόντος

Η κυκλοποίηση του ενδιάμεσου προϊόντος C-ακυλίωσης πραγματοποιείται σε βασικό περιβάλλον, παρουσία υδατικού διαλύματος ανθρακικού νατρίου (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) 7% w/v και υδατικού διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) 45% w/v.

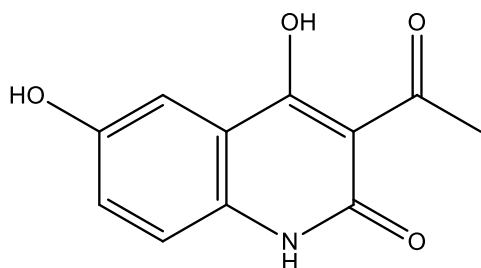
Σε σφαιρική φιάλη προστίθεται το ενδιάμεσο προϊόν της C-ακυλίωσης μαζί με το διάλυμα ανθρακικού νατρίου και αφήνεται υπό ανάδευση. Μόλις διαπιστωθεί πως η μεγαλύτερη ποσότητα του ενδιάμεσου προϊόντος έχει διαλυθεί, στη σφαιρική προστίθεται το διάλυμα καυστικού νατρίου και το σύστημα αναδεύεται για περίπου 2 ώρες σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Με τη λήξη της αντίδρασης, στην υπό ανάδευση σφαιρική προστίθεται μικρή ποσότητα νερού και εν συνεχεία εντός παγόλουτρου ακολουθεί οξίνιση με αραιό διάλυμα HCl 10%, μέχρι pH 1.0, όπου παρατηρείται καταβύθιση στερεού προϊόντος. Προκειμένου να παραληφθεί το τελικό προϊόν, το μίγμα διηθείται υπό κενό, εκπλένεται με το αραιό διάλυμα HCl και το συλλεχθέν στερεό αποθηκεύεται στον ξηραντήρα. Προκειμένου από το προϊόν να απομακρυνθούν οι προσμίξεις ακολουθεί διαδικασία ανακρυστάλλωσης σε διαλύτη MeOH.

Σε αυτό το στάδιο είναι απαραίτητος ο έλεγχος της καθαρότητας του τελικού προϊόντος, ο οποίος επιτυγχάνεται μέσω φασματοσκοπίας πρωτονίου <sup>1</sup>H NMR και φασματομετρία υπερύθρου μετασχηματισμού Fourier FT-IR.

Τέλος, βάσει της ανωτέρω μεθόδου, ακολούθως παρουσιάζονται οι συνθήκες και οι ακριβείς ποσότητες των αντιδραστηρίων που χρησιμοποιήθηκαν για την ολοκλήρωση της σύνθεσης των 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-κινολινονών.

*7a) 3-acetyl-4,6-dihydroxyquinolin-2(1H)-one*



Η σύνθεση της ένωσης **7a** βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο ν. Αρχικά παρασκευάζεται το διάλυμα ανθρακικού νατρίου ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 7%, όπου σε **23,5mL** νερού διαλύονται **1,65g**  $\text{Na}_2\text{CO}_{3(s)}$ . Ακολούθως, εντός σφαιρικής, προστίθενται **2,12mmol (650mg)** της ένωσης **6a** που συντέθηκε στο προηγούμενο στάδιο. Εν συνεχεία, παρασκευάζεται το διάλυμα καυστικού

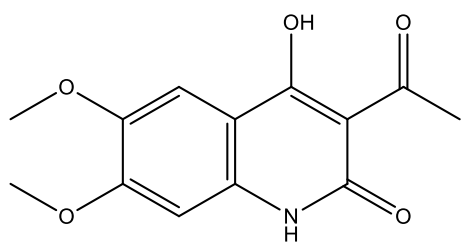
νατρίου ( $\text{NaOH}$ ) 45%, όπου σε **6mL** νερού διαλύονται **2,7g**  $\text{NaOH}_{(s)}$  και μεταφέρεται στη σφαιρική. Τελικά, το μίγμα αναδεύεται για 2h σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Το επιθυμητό στερεό **7a** απομονώνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή γκρι στερεού.

Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **180,6mg** και επομένως, η απόδοση αυτής της αντίδρασης αλκυλίωσης ανέρχεται στο **39%** και το σημείο τήξης της ένωσης προέκυψε μεταξύ **221-224 °C**.

$^1\text{H NMR}$  (600MHz, DMSO,  $d_1$ )  $\delta$  (ppm) 13.37 (brs, 1H, **-OH**), 10,59 (s, 1H, **-NH**), 9,53 (s, 1H, **Ar-OH**), 8,16 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H, **H-9**), 7.33 (d,  $J = 3.0$  Hz, 1H, **H-6**), 6.97 (dd,  $J = 9.0, 2.4$  Hz, 1H, **H-8**), 2.06 (s, 3H, **-CH<sub>3</sub>**)

*7b) 3-acetyl-4-hydroxy-6,7-dimethoxyquinolin-2(1H)-one*



Η σύνθεση της ένωσης **7b** βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο ν. Αρχικά παρασκευάζεται το διάλυμα ανθρακικού νατρίου ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 7%, όπου σε **9,5mL** νερού διαλύονται **0,665g**  $\text{Na}_2\text{CO}_{3(s)}$ . Ακολούθως, εντός σφαιρικής, προστίθενται **0,738mmol (261mg)** της ένωσης **6b**

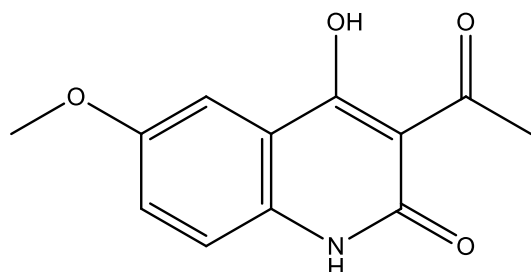
που συντέθηκε στο προηγούμενο στάδιο. Εν συνεχεία, παρασκευάζεται το διάλυμα καυστικού νατρίου ( $\text{NaOH}$ ) 45%, όπου σε **2,5mL** νερού διαλύονται **1,125g**  $\text{NaOH}_{(s)}$  και μεταφέρεται στη σφαιρική. Τελικά, το μίγμα αναδεύεται για 2h σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Το επιθυμητό στερεό **7b** απομονώνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή λευκού στερεού.

Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **90,3mg** και επομένως, η απόδοση αυτής της αντίδρασης αλκυλίωσης ανέρχεται στο **46,2%** και το σημείο τήξης της ένωσης προέκυψε μεταξύ **240-242 °C**.

<sup>1</sup>H NMR (600MHz, DMSO, d<sub>6</sub>) δ (ppm) 11.35 (brs, 1H, -OH), 8.26 (s, 1H, -NH), 7.43 (s, 1H, H-6), 3.79 (s, 3H, Ar-O-CH<sub>3</sub>), 3.75 (s, 3H, Ar-O-CH<sub>3</sub>), 2.11 (s, 3H, O=C-CH<sub>3</sub>)

7c) 3-acetyl-4-hydroxy-6-methoxyquinolin-2(1H)-one



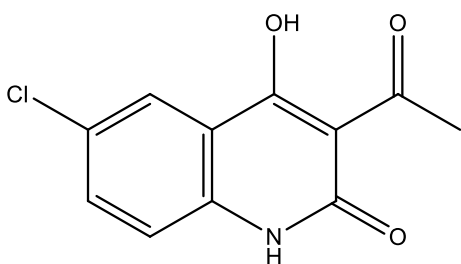
Η σύνθεση της ένωσης **7c** βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική ν. Αρχικά παρασκευάζεται το διάλυμα ανθρακικού νατρίου (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) 7%, όπου σε **36,5mL** νερού διαλύονται **2,55g** Na<sub>2</sub>CO<sub>3(s)</sub>. Ακολούθως, εντός σφαιρικής, προστίθενται **3,17mmol (1018,7mg)** της ένωσης **6c** που συντέθηκε στο προηγούμενο στάδιο. Εν συνεχεία, παρασκευάζεται το διάλυμα καυστικού νατρίου (NaOH) 45%, όπου σε **9,2mL** νερού διαλύονται **4,125g** NaOH<sub>(s)</sub> και μεταφέρεται στη σφαιρική. Τελικά, το μίγμα αναδεύεται για 2h σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Το επιθυμητό στερεό **7c** απομονώνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή λευκού στερεού.

Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **251mg** και επομένως, η απόδοση αυτής της αντίδρασης αλκυλίωσης ανέρχεται στο **34,1%** και το σημείο τήξης της ένωσης προέκυψε μεταξύ **169-173 °C**.

<sup>1</sup>H NMR (600MHz, DMSO, d<sub>6</sub>) δ (ppm) 13.70 (brs, 1H, -OH), 10.82 (s, 1H, -NH), 8.35 (s, 1H, H-6), 7.48 (s, 1H, Ar-H), 7.24 (s, 1H, Ar-H), 3.82 (s, 3H, Ar-O-CH<sub>3</sub>), 2.15 (s, 3H, O=C-CH<sub>3</sub>)

7d) 3-acetyl-6-chloro-4-hydroxyquinolin-2(1H)-one



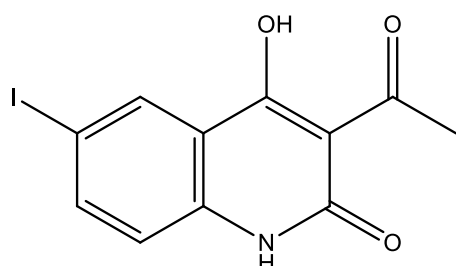
Η σύνθεση της ένωσης **7d** βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο ν. Αρχικά παρασκευάζεται το διάλυμα ανθρακικού νατρίου (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) 7%, όπου σε **69mL** νερού διαλύονται **4,83g** Na<sub>2</sub>CO<sub>3(s)</sub>. Ακολούθως, εντός σφαιρικής, προστίθενται **5,94mmol (1934,7mg)** της ένωσης **6d** που συντέθηκε στο προηγούμενο στάδιο. Εν συνεχεία, παρασκευάζεται το διάλυμα καυστικού νατρίου (NaOH) 45%, όπου σε **17,4mL** νερού διαλύονται **7,83g** NaOH<sub>(s)</sub> και μεταφέρεται στη σφαιρική. Τελικά, το μίγμα αναδεύεται για 2h σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Το επιθυμητό στερεό **7d** απομονώνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή λευκού στερεού.

Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **408,2mg** και επομένως, η απόδοση αυτής της αντίδρασης αλκυλίωσης ανέρχεται στο **31,1%** και το σημείο τήξης της ένωσης προέκυψε μεγαλύτερο από **250 °C**.

<sup>1</sup>H NMR (600MHz, DMSO, d<sub>6</sub>) δ (ppm) 17.00 (brs, 1H, -OH), 11.68 (s, 1H, -NH), 7.91 (s, 1H, H-6), 7.70 (d, J= 7.8 Hz, 1H, Ar-H), 7.31 (s, 1H, Ar-H), 2.12 (s, 3H, O=C-CH<sub>3</sub>)

*7e*) 3-acetyl-4-hydroxy-6-iodoquinolin-2(1H)-one



Η σύνθεση της ένωσης **7e** βασίζεται στην προαναφερθείσα γενική μέθοδο ν. Αρχικά παρασκευάζεται το διάλυμα ανθρακικού νατρίου (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) 7%, όπου σε **71,5mL** νερού διαλύονται **5,005g** Na<sub>2</sub>CO<sub>3(s)</sub>. Ακολούθως, εντός σφαιρικής, προστίθενται **4,79mmol (1999mg)** της ένωσης **6e** που συντέθηκε στο προηγούμενο στάδιο. Εν συνεχεία, παρασκευάζεται το διάλυμα καυστικού νατρίου (NaOH) 45%, όπου σε **18mL** νερού διαλύονται **8,1g** NaOH<sub>(s)</sub> και μεταφέρεται στη σφαιρική. Τελικά, το μίγμα αναδεύεται για 2h σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

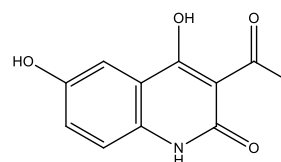
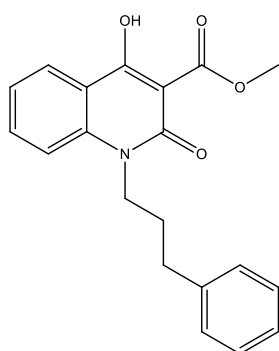
Το επιθυμητό στερεό **7e** απομονώνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή λευκού στερεού.

Η μάζα του τελικού προϊόντος που ζυγίστηκε ήταν **1269,7mg** και επομένως, η απόδοση αυτής της αντίδρασης αλκυλίωσης ανέρχεται στο **80,5%** και το σημείο τήξης της ένωσης προέκυψε μεταξύ **241-244 °C**.

<sup>1</sup>H NMR (600MHz, DMSO, d<sub>6</sub>) δ (ppm) 13.88 (brs, 1H, -OH), 10.95 (s, 1H, -NH), 8.26 (d, J= 8.4 Hz, 1H, H-8), 8.20 (s, 1H, H-6), 7.89 (d, J= 8.4 Hz, 1H, H-9), 2.12 (s, 3H, O=C-CH<sub>3</sub>)

### 3.3. Πρόβλεψη Λιποφιλίας και Ιοντισμού των Νέων Ενώσεων

Για τον υπολογισμό των συντελεστών μερισμού ( $\log P$ ) και κατανομής ( $\log D$ ) που αποτελούν ενδεικτικά μέτρα της λιποφιλίας και του ιοντισμού αντίστοιχα, γίνεται χρήση σειράς προγραμμάτων στον ηλεκτρονικό υπολογιστή. Συγκεκριμένα, αρχικά σε προγράμματα όπως το Marvin Sketch σχεδιάζεται η χημική δομή και τα προγράμματα αυτά δύνανται να μετατρέψουν τη δομή σε smiles. Για παράδειγμα τα smiles των προϊόντων **3f** (methyl 4-hydroxy-2-oxo-1-(3-phenylpropyl)-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylate) και **7a** (3-acetyl-4,6-dihydroxyquinolin-2(1H)-one) είναι όπως δίνεται ακολούθως:



COC(=O)C1=C(O)C2=CC=CC=C2N(CCCC2=CC=CC=C2)C1=O    CC(=O)C1=C(O)C2=C(NC1=O)C=CC(O)=C2

Εν συνεχεία δεδομένων των smiles, σε άλλο πρόγραμμα όπως το ADME Boxes 3.0 δύνανται να προβλεφθούν οι συντελεστές  $\log P$  και  $\log D$ . Πρέπει πάντως να σημειωθεί ότι οι τιμές που προκύπτουν δεν είναι παρά προσεγγιστικές και έτσι οι πραγματικές, αν δηλαδή αυτές υπολογίζονταν πειραματικά, ενδέχεται να διαφέρουν. Έτσι στον ακόλουθο Πίνακα 3 παρουσιάζονται οι τιμές των συντελεστών που προέκυψαν για καθένα από τα προϊόντα.

**Πίνακας 3. Προβλεπόμενες Τιμές των Συντελεστών Μερισμού και Κατακράτησης για κάθε Κινολινονικό Ανάλογο**

Ένωση	$\log P$	$\log D$
3h	3,49	-1,29
3b	4,71	-0,77
3c	4,39	0,91
3e	6,11	2,63
3d	5,75	0,72
3a	6,81	-0,28
3f	6,22	2,74
3g	5,24	1,76
7a	1,29	-2,48
7b	0,92	-1,60
7c	2,66	-1,42
7d	6,88	-0,74
7e	4,88	-0,12

### 3.4. Παρασκευή Διαλύτη Κινητής Φάσης

Κατά την διενέργεια των χρωματογραφικών ελέγχων ως κινητή φάση χρησιμοποιείται ρυθμιστικό διάλυμα συγκεκριμένης περιεκτικότητας σε ακετονιτρίλιο ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ). Οι χρόνοι έκλουσης κάθε ένωσης απαιτείται να μετρηθούν σε τουλάχιστον 3 συγκεντρώσεις.

Για την παρασκευή του ρυθμιστικού διαλύματος, αρχικά σε ποτήρι ζέσεως εισάγεται κατάλληλη ποσότητα στερεών αλάτων, με τη βοήθεια ζυγού ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων. Για 500 ml διαλύματος, θα ζυγιστούν και θα εισαχθούν στο ποτήρι ζέσεως 0,12 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,72 g  $\text{Na}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 4 g  $\text{NaCl}$ , 0,10 g  $\text{KCl}$ , και μαζί με περίπου 300 mL υπερκάθαρου νερού θα τεθούν υπό ανάδευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και για περίπου 15 λεπτά, μέχρις ότου το διάλυμα να καταστεί διαυγές.

Έπειτα με τη βοήθεια του ηλεκτρονικού πεχάμετρου, το pH του διαλύματος θα ρυθμιστεί στην κατάλληλη τιμή η οποία καθορίζεται από την χρωματογραφική στήλη που πρόκειται να χρησιμοποιηθεί. Για τη στήλη IAM, η τιμή αυτή είναι pH 7,40 και επιτυγχάνεται με την προσθήκη στο διάλυμα σταγόνων αραιού διαλύματος  $\text{NaOH}$  0,1 M. Στο σημείο αυτό το ρυθμιστικό διάλυμα θεωρείται έτοιμο και η τιμή του pH του παραμένει αμετάβλητη σε αραιώσή του εντός ορίων.

Εν συνεχεία το ρυθμιστικό διάλυμα μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη των 500 mL και αναλόγως της επιθυμητής συγκέντρωσης, προστίθεται με σιφώνιο πλήρωσης συγκεκριμένη ποσότητα διαλύτη  $\text{CH}_3\text{CN}$ . Στον ακόλουθο πίνακα παρατίθενται οι απαιτούμενοι όγκοι  $\text{CH}_3\text{CN}$  για την επίτευξη κάθε μιας εκ των συγκεντρώσεων που χρησιμοποιήθηκαν.

**Πίνακας 4. Όγκος Διαλύτη Ακετονιτρίλιου σε 500 mL Ρυθμιστικού Διαλύματος Κινητής Φάσης**

Συγκέντρωση Ρυθμιστικού Διαλύματος	Όγκος ACN (mL)
10%	50
20%	100
25%	125
30%	150

Για την ολοκλήρωση της παρασκευής του διαλύτη μένει η αραιώση με υπερκάθαρο νερό μέχρι την χαραγή της ογκομετρικής φιάλης και ο διαλύτης συγκεκριμένης περιεκτικότητας σε  $\text{CH}_3\text{CN}$  και pH 7,40 είναι έτοιμος να χρησιμοποιηθεί ως κινητή φάση στην HPLC αφού μεταφερθεί σε κατάλληλο δοχείο αποθήκευσης, συνδεδεμένο με τη χρωματογραφική διάταξη.

Η χρήση τους πρέπει να γίνεται εντός εύλογου χρονικού διαστήματος από την παρασκευή τους (συνήθως 5 ημέρες) και αποφεύγεται όταν παρατηρηθεί η θόλωσή τους και η εμφάνιση αιωρούμενων σωματιδίων στο εσωτερικό τους για τη διασφάλιση της εύρυθμης λειτουργίας της στήλης αλλά και του χρωματογράφου γενικότερα.

Τέλος, για τον ίδιο λόγο, μετά το πέρας της εργασίας απαιτείται ο καθαρισμός της στήλης και του χρωματογράφου με σύστημα  $\text{CH}_3\text{CN}$  και νερού σε αναλογία 1:1 για τουλάχιστον μισή ώρα. Για το σκοπό αυτό με ανάλογη διαδικασία παρασκευάζεται διαλύτης περιεκτικότητας 50% (250mL  $\text{CH}_3\text{CN}$ , 250 mL υπερκάθαρο  $\text{H}_2\text{O}$ ).

### 3.5. Καταμέτρηση Χρόνου Έκλουσης των Νέων Ενώσεων

Αφού το δοχείο που περιέχει τον διαλύτη συνδεθεί με την διάταξη της HPLC, ενδείκνυται η απαερίωσή του με τη βοήθεια σύριγγας. Αυτό στοχεύει στην απομάκρυνση του ατμοσφαιρικού αέρα που βρίσκεται παγιδευμένος εντός του υγρού και ενδέχεται να επιφέρει μεγάλη αύξηση στην πίεση που επικρατεί στην αντλία, γεγονός που μπορεί να βλάψει τη διάταξη. Η σύριγγα συνδέεται με την αντλία και ενεργοποιείται η άντληση από το κανάλι του διαλύτη για διάστημα περίπου 5 λεπτών. Ακολούθως η αντλία κλείνει και αφού συνδεθεί στη διάταξη η στήλη, βάσει της κατεύθυνσης που υποδεικνύεται από τον κατασκευαστή, ορίζεται από τον χειριστή η επιθυμητή ροή διαμέσου της αντλίας και το μήκος κύματος του ανιχνευτή.

Γενικότερα, αν και η στήλη IAM είναι ανθεκτική σε υψηλές πιέσεις, καθώς η πίεση που παρατηρήθηκε αρχικά ήταν ασυνήθιστα μεγάλη, προτιμήθηκε η ροή  $1 \text{ mL}/\text{min}$  και όχι μεγαλύτερη, ενώ όσον αφορά το μήκος κύματος του ανιχνευτή ορίστηκε στα  $220 \text{ nm}$  που έχει βρεθεί ότι είναι το καταλληλότερο για την παρατήρηση των κορυφών των οργανικών ενώσεων.

Το πρόγραμμα του υπολογιστή στο οποίο καθορίζονται όλες οι παραπάνω παράμετροι και ελέγχεται η πορεία καθ' όλη τη διάρκεια των μετρήσεων είναι το Chromera. Από το ίδιο πρόγραμμα λαμβάνονται και τα χρωματογραφήματα.

Πριν την έναρξη των μετρήσεων συνίσταται η ενεργοποίηση της αντλίας με την καθορισμένη ροή έως ότου σχηματιστεί στην οθόνη η χαρακτηριστική baseline, ενδεικτική ότι ο διαλύτης έχει τρέξει χωρίς διαρροές και το σύστημα είναι απαλλαγμένο από ακαθαρσίες και ίχνη, εφόσον το σήμα του ανιχνευτή έχει σταθεροποιηθεί. Ο σχηματισμός της baseline διαρκεί συνήθως περίπου 15-20 λεπτά. Πλέον οι μετρήσεις μπορούν να ξεκινήσουν και να βρεθούν οι χρόνοι έκλουσης των ουσιών.

Για την ανεύρεσή τους, αρχικά μικρή ποσότητα από τα κινολινοικά παράγωγα εισάγεται εντός καθαρού ποτηριού ζέσεως και με χρήση κατάλληλου διαλύτη οι ενώσεις διαλύονται. Για τη διάλυση των περισσότερων κινολινοών χρησιμοποιήθηκε η μεθανόλη, ενώ για κάποιες πιο δυσδιάλυτες προτιμήθηκε η αιθανόλη. Να σημειωθεί ότι η ποσότητα του χρησιμοποιούμενου διαλύτη πρέπει να μην είναι μεγάλη προκειμένου το διάλυμα των ενώσεων να μην είναι πολύ αραιό.

Στη συνέχεια με μικροσύριγγα η οποία έχει καθαριστεί πολύ καλά (πλύσεις κατά σειρά με υπερκάρθο νερό, διαλύτη, αλλά και το υπό εξέταση δείγμα) για την απομάκρυνση τυχόν υπολειμμάτων και ακαθαρσιών, λαμβάνεται μικρή ποσότητα, περί τα  $30 \mu\text{L}$  και γίνεται έγχυση στον χρωματογράφο και καταγράφεται ο χρόνος έκλουσης  $t_r$ , μόλις διαπιστωθεί ο σχηματισμός της χαρακτηριστικής κορυφής. Προτείνεται για κάθε δείγμα η επανάληψη των μετρήσεων τουλάχιστον 3 φορές για την όσο το δυνατό μεγαλύτερη αξιοπιστία των τελικών αποτελεσμάτων. Επιπρόσθετα, με το πέρας των μετρήσεων ενός δείγματος προτείνεται εκ νέου ο καθαρισμός της σύριγγας, όπως προηγουμένως, προτού γίνουν οι μετρήσεις του επόμενου δείγματος.



Για την επεξεργασία των αποτελεσμάτων και την εξαγωγή συμπερασμάτων είναι απαραίτητος ο προσδιορισμός του νεκρού χρόνου,  $t_0$ , της χρωματογραφίας. Γι αυτό με διαδικασία αντίστοιχη των υπόλοιπων των δειγμάτων παρασκευάζεται διάλυμα κιτρικού νατρίου, με τη διαφορά ότι καθώς το κιτρικό νάτριο είναι άλας και διαλύεται στο νερό, επομένως το συντιθέμενο διάλυμα θα είναι υδατικό και όχι αλκοολικό. Αφού γίνει η έγχυσή του στο χρωματογράφο, η σχηματιζόμενη κορυφή αφορά τον νεκρό χρόνο των μετρήσεων, ο οποίος καταγράφεται. Και εδώ προτείνεται η επανάληψη τουλάχιστον 3 μετρήσεων.

Με το πέρας των μετρήσεων, η αντλία απενεργοποιείται και το δοχείο που περιέχει το διαλύτη  $CH_3CN$  αφαιρείται και αντικαθίσταται με το δοχείο που περιέχει το διαλύτη καθαρισμού περιεκτικότητας 50%  $CH_3CN$ . Αφού επίσης απαερωθεί με διαδικασία ανάλογη της προηγούμενης, η αντλία τίθεται ξανά σε λειτουργία για τουλάχιστον μισή ώρα, διάστημα στο οποίο ο διαλύτης περνάει μέσα από το σύστημα καθαρίζοντάς το, αφού συμπαρασύρει τυχόν υπολείμματα και ακαθαρσίες και τα απομακρύνει.

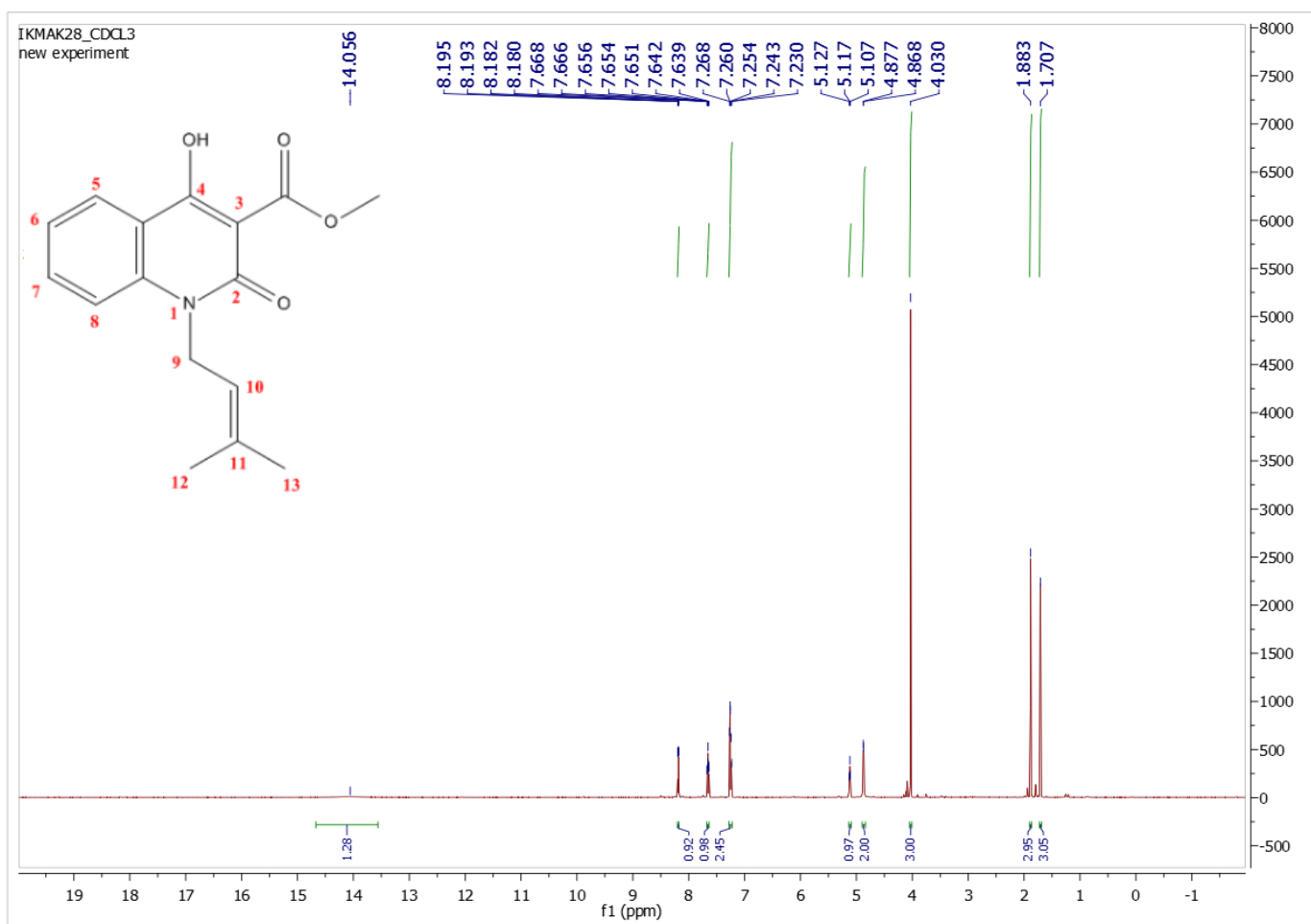
## 4. Αποτελέσματα, Συζήτηση & Επεξεργασία

### 4.1. Φασματοσκοπική Μελέτη Κινολινονικών Αναλόγων

#### 4.1.1. Ανάλυση Φασμάτων Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού Πρωτονίου ( $^1\text{H}$ NMR)

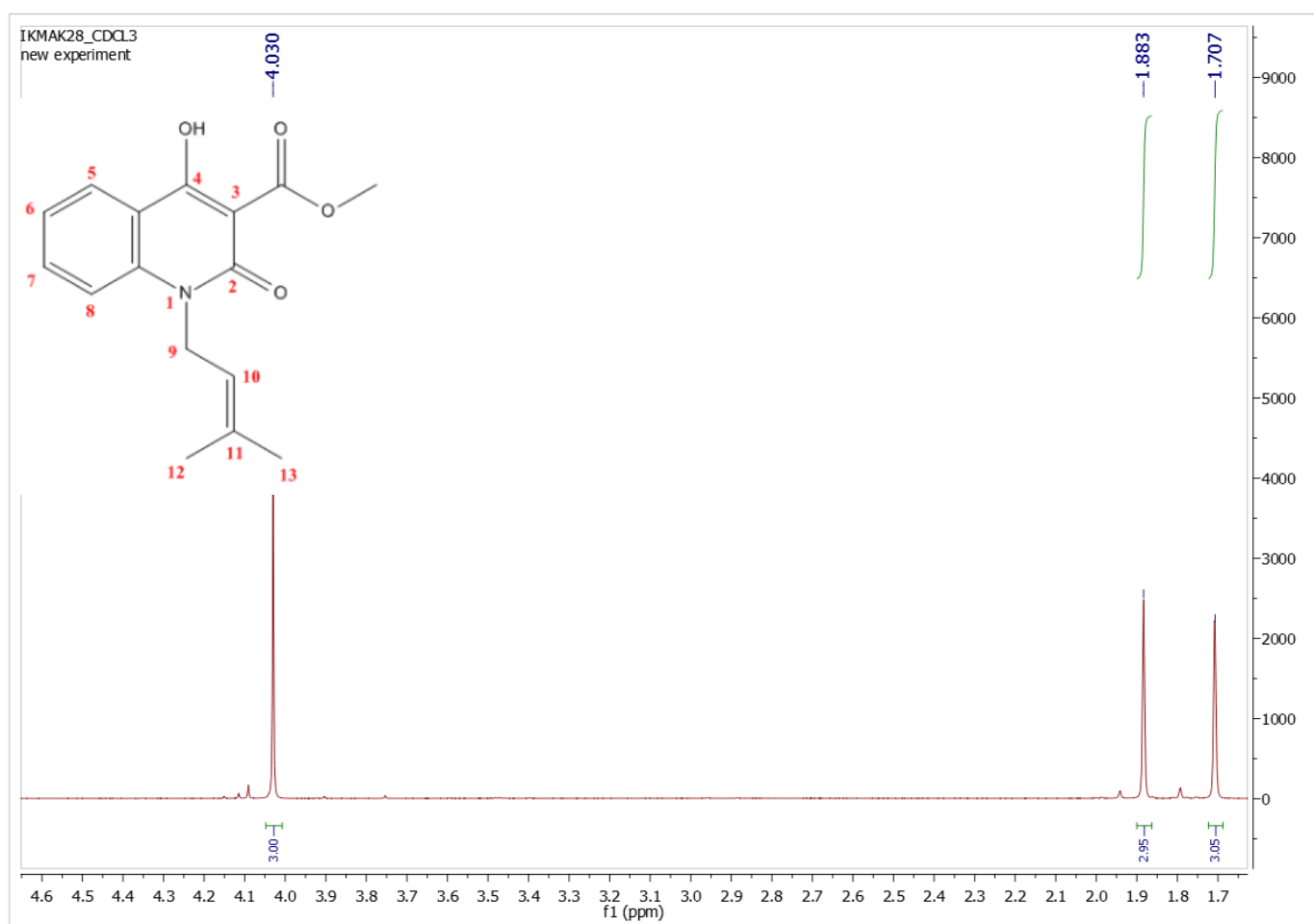
Για τη μελέτη ενός φάσματος  $^1\text{H}$  NMR χρειάζεται η ανεύρεση μιας κορυφής η οποία αποδίδεται στα πρωτόνια μιας συγκεκριμένης πλευρικής ομάδας της εξεταζόμενης ένωσης και για την οποία είναι γνωστά τόσο η χημική μετατόπιση στην οποία αναμένεται, όσο και το πλήθος των πρωτονίων για τα οποία αφορά και ολοκληρώνεται. Έτσι η χαρακτηριστική αυτή κορυφή θα αποτελέσει τη βάση για την ολοκλήρωση και τον καθορισμό των υπόλοιπων κορυφών του φάσματος και κατ' επέκταση την ταυτοποίηση της εκάστοτε ένωσης.

Ακολούθως παρουσιάζονται και αναλύονται δύο φάσματα  $^1\text{H}$  NMR, ένα από κάθε μια σειρά των συντιθέμενων κινολινονικών αναλόγων. Συγκεκριμένα, από την 1<sup>η</sup> σειρά των N-υποκατεστημένων κινολινονών παρουσιάζεται το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης **3d**, ενώ από τη 2η σειρά των 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-κίνολινονών επιλέγεται να παρουσιαστεί η ένωση **7a**.



Εικόνα 38. Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της κινολινόνης **3d**

Για τις N-υποκατεστημένες κινολινόνες, όσον αφορά τα πρωτόνια με βάση τα οποία γίνεται η ολοκλήρωση των κορυφών, αυτά ανήκουν οξυγονομένο μεθύλιο του μορίου (O-CH<sub>3</sub>). Για τα πρωτόνια αυτά αναμένεται μια κορυφή κοντά στα 3,8 ppm. Μάλιστα, με βάση τον κανόνα n+1 για την πολλαπλότητα των κορυφών (όπου n το πλήθος πρωτονίων των συνδεδεμένων ατόμων C στον υπό εξέταση C), η κορυφή αυτή αναμένεται απλή καθώς ο συγκεκριμένος άνθρακας συνδέεται με άτομο οξυγόνου. Όπως φαίνεται ακολούθως, στην αναμενόμενη χημική μετατόπιση, και συγκεκριμένα στα 4.03 ppm, εμφανίζεται μια απλή κορυφή. Η μετατόπιση αυτή δικαιολογείται καθώς πρόκειται για πρωτόνια εστερομάδας, όπου δηλαδή τα 2 ηλεκτραρνητικά οξυγόνα δεσμεύουν το ηλεκτρονιακό νέφος, γεγονός που αποθωρακίζει τα πρωτόνια, οδηγώντας τα έτσι να εμφανίζονται πιο αριστερά στο φάσμα, από το αναμενόμενο. Το πλήθος πρωτονίων για τα οποία ολοκληρώνεται ορίζεται στα 3, ενώ όλα τα εν λόγω πρωτόνια είναι ισοδύναμα.

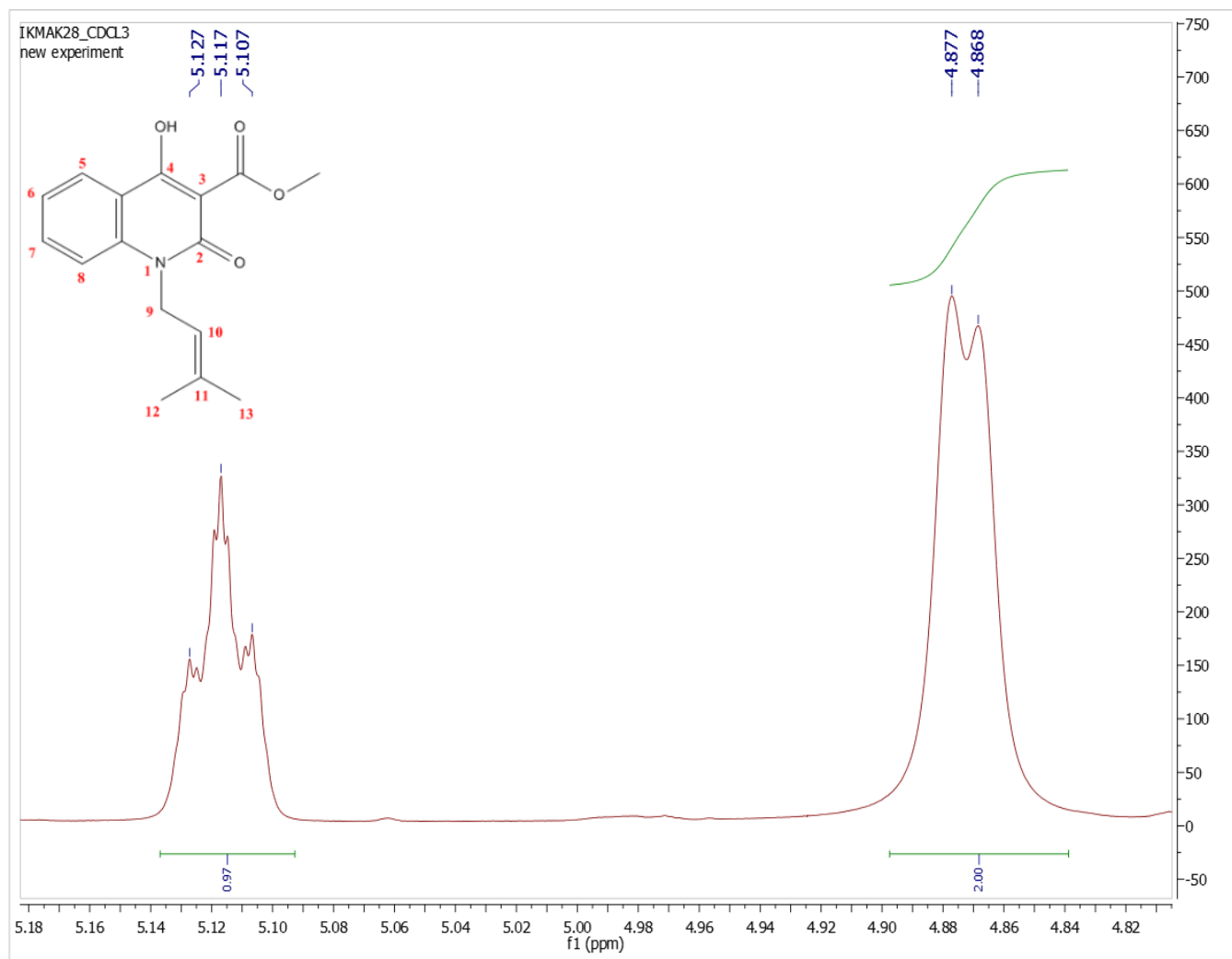


**Εικόνα 39. Χημικές Μετατοπίσεις των Πρωτονίων των Μεθυλομάδων της ένωσης 3d**

Όσον αφορά τον πρενυλ-υποκαταστάτη στο άτομο του N, γενικά τα πρωτόνια των αλιφατικών αλυσίδων απορροφούν στα υψηλά πεδία του πεδία του φάσματος και εμφανίζονται έτσι σε μικρές χημικές μετατοπίσεις, καθώς πρόκειται για προστατευμένες ομάδες. Περίπου στα 1,70 και 1,90 ppm παρατηρούνται δύο απλές κορυφές, που η κάθε μια ολοκληρώνει για 3 πρωτόνια και αποδίδονται στις δύο μεθυλ-ομάδες των θέσεων 12

και 13 της αλυσίδας. Οι κορυφές αυτές είναι αναμενόμενα απλές, καθώς ο C-11 στον οποίο συνδέονται τα 2 μεθύλια δεν φέρει πρωτόνια.

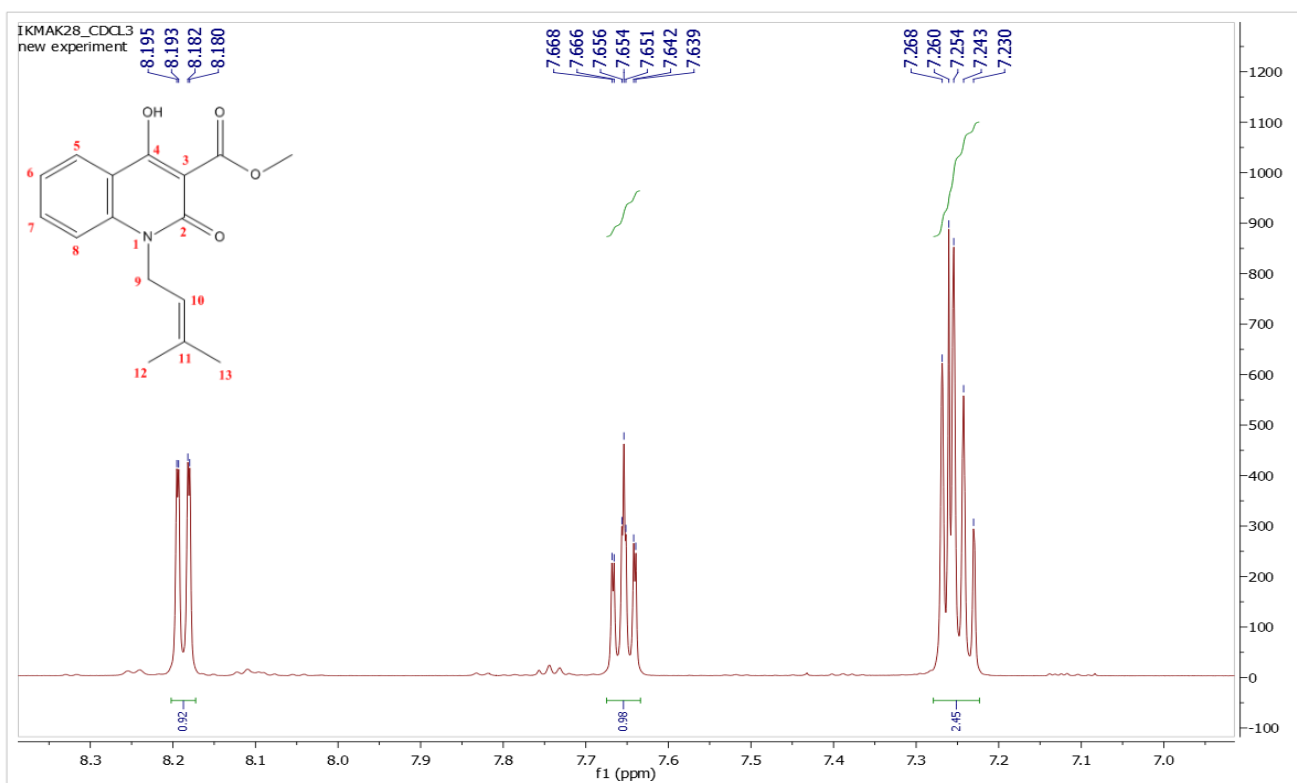
Ακολούθως, στα 4.87 ppm εμφανίζεται μια διπλή κορυφή που ολοκληρώνει για δύο πρωτόνια και αποδίδεται στο μεθυλένιο που συνδέεται με το N της κινολινόνης. Στα 5.12 ppm απορροφά μια τριπλή κορυφή, η οποία ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο και αποδίδεται στο πρωτόνιο του διπλού δεσμού της πρενυλ-αλυσίδας του N-υποκαταστάτη.



**Εικόνα 40. Χημικές Μετατοπίσεις των Πρωτονίων της Αλειφατικής Αλυσίδας της ένωσης 3d**

Τα πρωτόνια του αρωματικού δακτυλίου της κινολινόνης, εμφανίζονται στο εύρος χημικών μετατοπίσεων μεταξύ 6.5 και 8.5 ppm. Πιο συγκεκριμένα, στο φάσμα που εξετάζεται, παρατηρείται μια διπλή διπλών κορυφή στα 8.19 ppm, μια τριπλή διπλών κορυφή στα 7.65 ppm και μια πολλαπλή κορυφή στα 7.25 ppm, οι οποίες ολοκληρώνουν συνολικά για 4 πρωτόνια, όσα δηλαδή και τα πρωτόνια του αρωματικού δακτυλίου της κινολινόνης. Οι σχάσεις που παρατηρούνται οφείλονται στην τάση που έχουν τα πρωτόνια των αρωματικών δακτυλίων να αλληλεπιδρούν με γειτονικά πρωτόνια, σε απόσταση τριών ή τεσσάρων δεσμών.

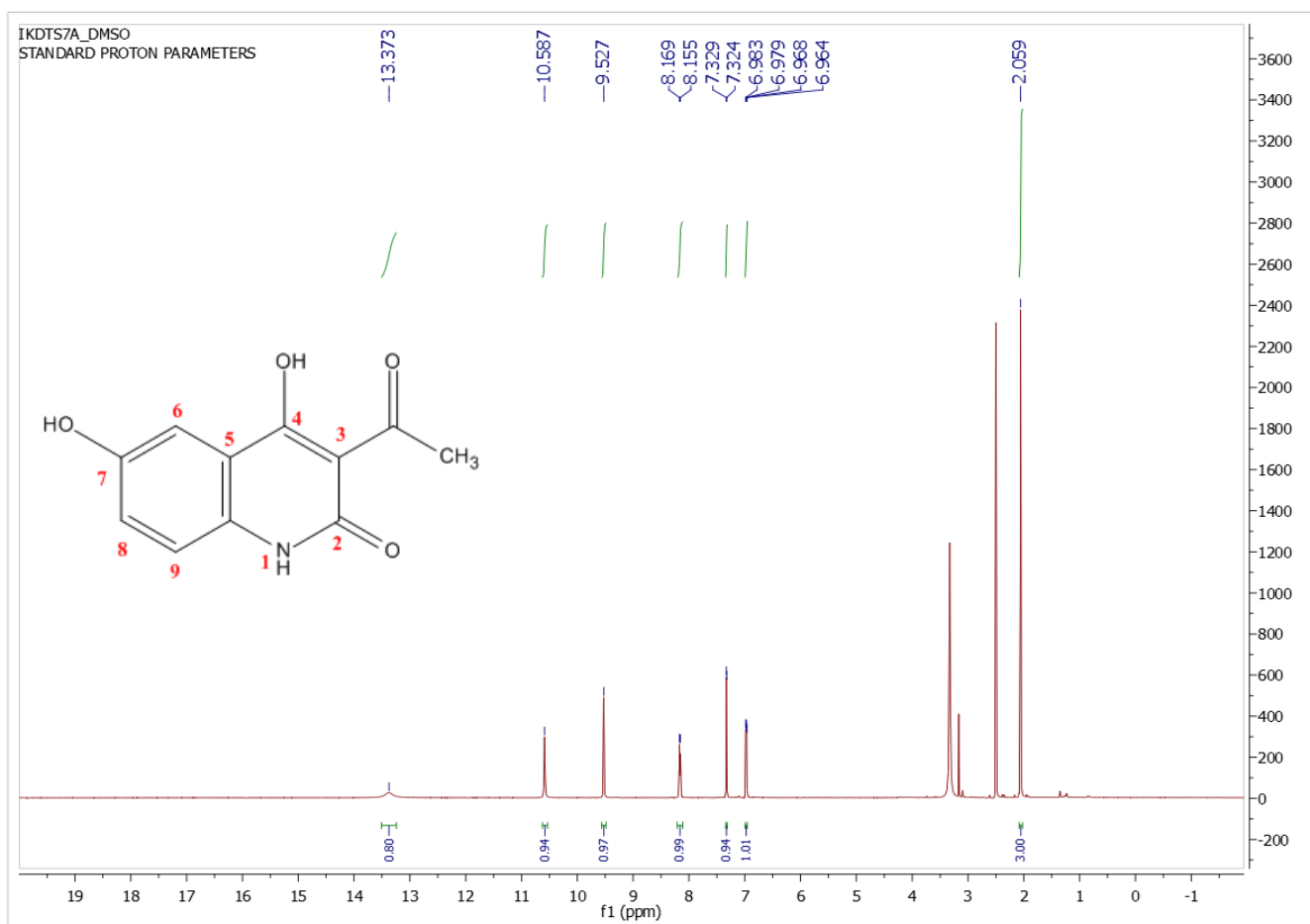
Πιο συγκεκριμένα, το πρωτόνιο του C-5 αλληλεπιδρά με τα πρωτόνια των C-6 και C-7 που βρίσκονται σε απόσταση τριών και τεσσάρων δεσμών αντίστοιχα και θέσεις ortho και meta. Κάθε μια αλληλεπίδραση προκαλεί σχάση της διπλής, καθιστώντας την διπλή διπλών. Εντονότερη φυσικά είναι η αλληλεπίδραση σε θέση ortho με μεγάλη σταθερά σύζευξης  $J = 7.8$  Hz, ενώ η meta φέρει τη μικρότερη  $J = 1.2$  Hz. Αντίστοιχα, το πρωτόνιο του C-6 πέρα από τις 2 ortho αλληλεπιδράσεις που έχει με καθένα από τα πρωτόνια των γειτονικών του C-5 και C-7, σε απόσταση 3 δεσμών και μεγάλη σταθερά σύζευξης  $J = 8.4$  Hz, αλληλεπιδρά ασθενέστερα και με το πρωτόνιο σε απόσταση 4 δεσμών του C-8, με μικρότερη σταθερά σύζευξης  $J = 1.2$  Hz. Σε αυτή τη meta αλληλεπίδραση οφείλεται η μικρότερη σχάση που καθιστά την κορυφή διπλή τριπλών. Όσον αφορά την πολλαπλή ολοκληρώνεται για τα 2 εναπομείναντα αρωματικά πρωτόνια, ενώ όπως φαίνεται συμπίπτει με την κορυφή στα 7.26 που αποδίδεται στο δευτεριωμένο χλωροφόρμιο  $CDCl_3$  που χρησιμοποιήθηκε κατά τη λήψη του φάσματος.



Εικόνα 41. Χημικές Μετατοπίσεις Πρωτονίων του Αρωματικού Δακτυλίου της ένωσης 3d

Τέλος, στα χαμηλά πεδία του φάσματος και στις υψηλές χημικές μετατοπίσεις παρατηρείται μια διευρυμένη απλή κορυφή στα 14.10 ppm που ολοκληρώνει για 1 πρωτόνιο και αποδίδεται σε αυτό της υδροξυλομάδας. Η κορυφή αυτή παρουσιάζεται σε τόσο υψηλή χημική μετατόπιση, καθώς το πρωτόνιο της ομάδας σχηματίζει ισχυρό δεσμό υδρογόνου με το οξυγόνο του διπλανού καρβονυλίου, με αποτέλεσμα να αποθωρακίζεται έντονα. Το ίδιο παρατηρείται σε όλα τα φάσματα των κινολινονών, καθώς και σε αυτά που αφορούν της 2<sup>η</sup> σειρά ενώσεων που συντέθηκαν, τις 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-κινολινόνες.

Πιο συγκεκριμένα, στην επόμενη (εικόνα 42) παρουσιάζεται το φάσμα <sup>1</sup>H NMR της ένωσης 7a. Είναι εμφανής στα πολύ χαμηλά πεδία και στα 13.37 ppm, μια ευρεία απλή κορυφή που ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο και αποδίδεται στο πρωτόνιο του υδροξυλίου που σχηματίζει τον δεσμό υδρογόνου.

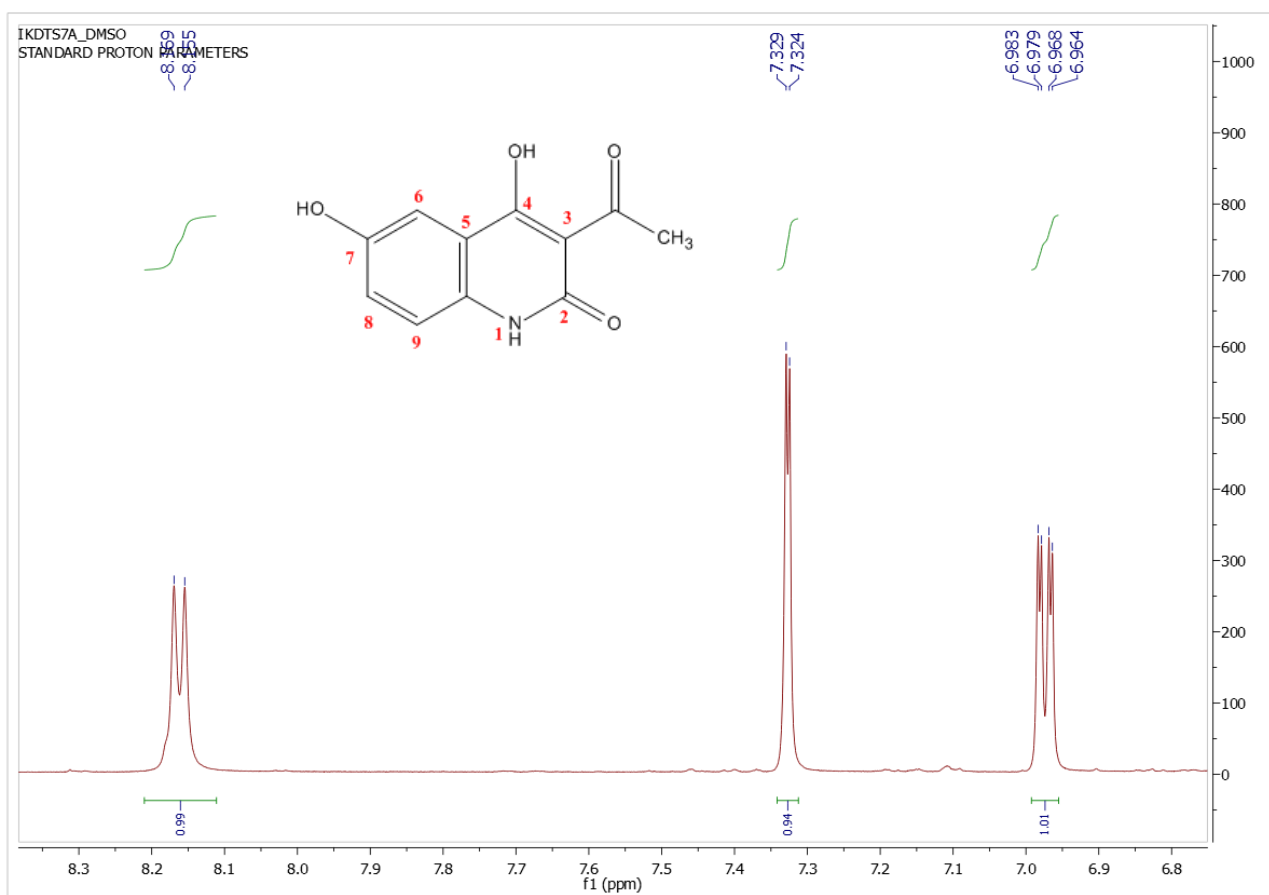


Εικόνα 42. Φάσμα <sup>1</sup>H NMR της κινολινόνης 7a

Στη συνέχεια του φάσματος, σε αρκετά μεγάλες χημικές μετατοπίσεις ακόμη και στα 10.60 ppm περίπου, παρατηρείται η μία απλή κορυφή που ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο και αποδίδεται σε αυτό που συνδέεται με το ετεροάτομο N. Φυσικά, η υψηλή χημική μετατόπιση είναι αναμενόμενη αφού το ηλεκτραρνητικό άτομο έλκει το ηλεκτρονιακό νέφος, αποθωρακίζοντας έτσι το πρωτόνιο. Η επόμενη απλή κορυφή εμφανίζεται στα 9.53

ppm, ολοκληρώνει επίσης για 1 πρωτόνιο και αποδίδεται στο πρωτόνιο του αρωματικού υδροξυλίου.

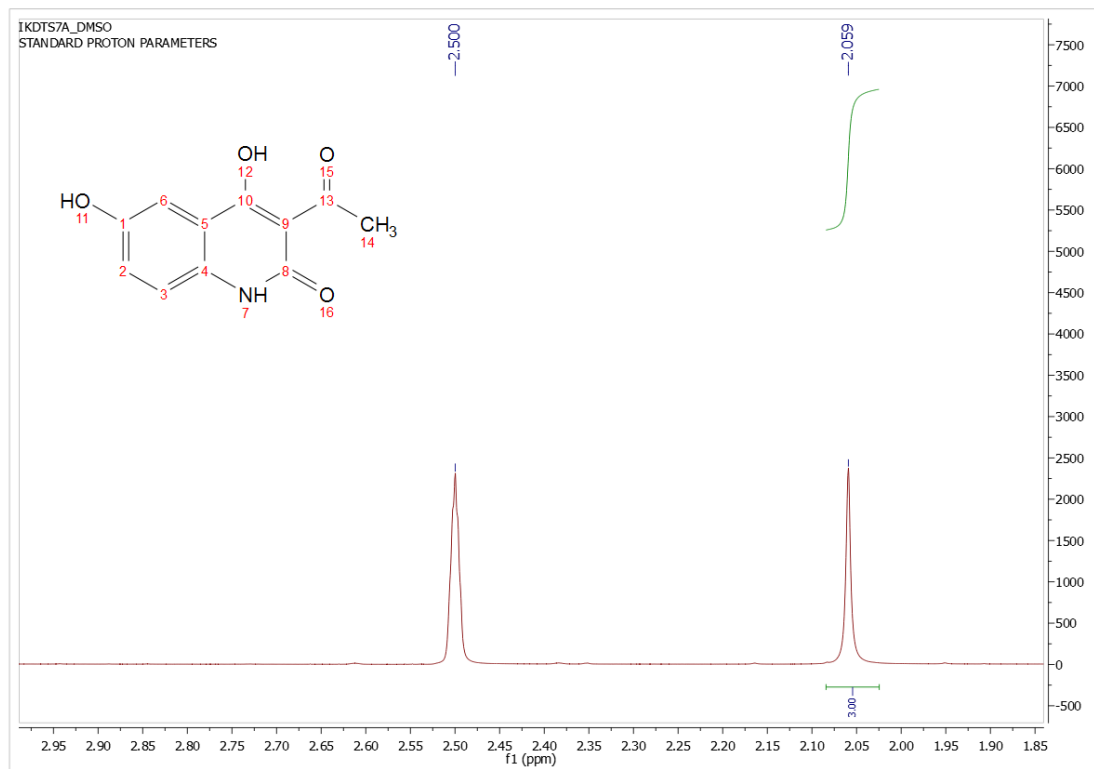
Ακολούθως παρατηρούνται στην περιοχή των αρωματικών πρωτονίων 2 διπλές και μια διπλή διπλών κορυφή, που η καθεμιά ολοκληρώνει για 1 πρωτόνιο. Η σχάση που παρατηρείται και στις 3 σχετίζεται φυσικά με την τάση των αρωματικών πρωτονίων να αλληλεπιδρούν με τα πρωτόνια των γειτονικών ανθράκων που βρίσκονται σε απόσταση 3 ή/και 4 δεσμών. Η διπλή διπλών στα 6.97 ppm αφορά το πρωτόνιο του C-8, για το οποίο αναμένεται βάσει του κανόνα της πολλαπλότητας να παρουσιάζει μια διπλή κορυφή, αφού και ο γειτονικός του C-9 φέρει επίσης 1 πρωτόνιο. Η σχάση της διπλής κορυφής που παρατηρείται οφείλεται στην αλληλεπίδραση του συγκεκριμένου πρωτονίου, κυρίως με το πρωτόνιο του C-9 σε θέση ortho, αλλά και στην meta αλληλεπίδραση με το πρωτόνιο του C-6. Αναφορικά με τις άλλες 2 διπλές, προκειμένου να διαλευκανθεί ποια αντιστοιχεί στα 2 εναπομείναντα αρωματικά πρωτόνια πρέπει να εξεταστούν οι σταθερές σύζευξης.



Εικόνα 43. Χημικές Μετατοπίσεις Πρωτονίων της Αρωματικού Δακτυλίου της ένωσης 7a

Οι σταθερές σύζευξης που αφορούν στις ισχυρότερες ortho αλληλεπιδράσεις κυμαίνονται κατά κανόνα από 6 - 8 Hz, ενώ για τις ασθενέστερες meta οι αντίστοιχες τιμές είναι από 0 - 2 Hz. Στην προκειμένη περίπτωση, για την διπλή κορυφή στα 8.16 ppm η σταθερά σύζευξης υπολογίζεται  $J = 8.4$  Hz, ενώ για την διπλή στα 7.33 ppm η σταθερά σύζευξης που

προκύπτει είναι  $J = 3.0$  Hz, σαφώς μικρότερη. Συμπερασματικά, η πρώτη αφορά το πρωτόνιο του C-9 που αλληλεπιδρά ortho με το αντίστοιχο του C-8, ενώ η δεύτερη αφορά τη meta αλληλεπίδραση του πρωτονίου του C-6 με το πρωτόνιο του C-8.



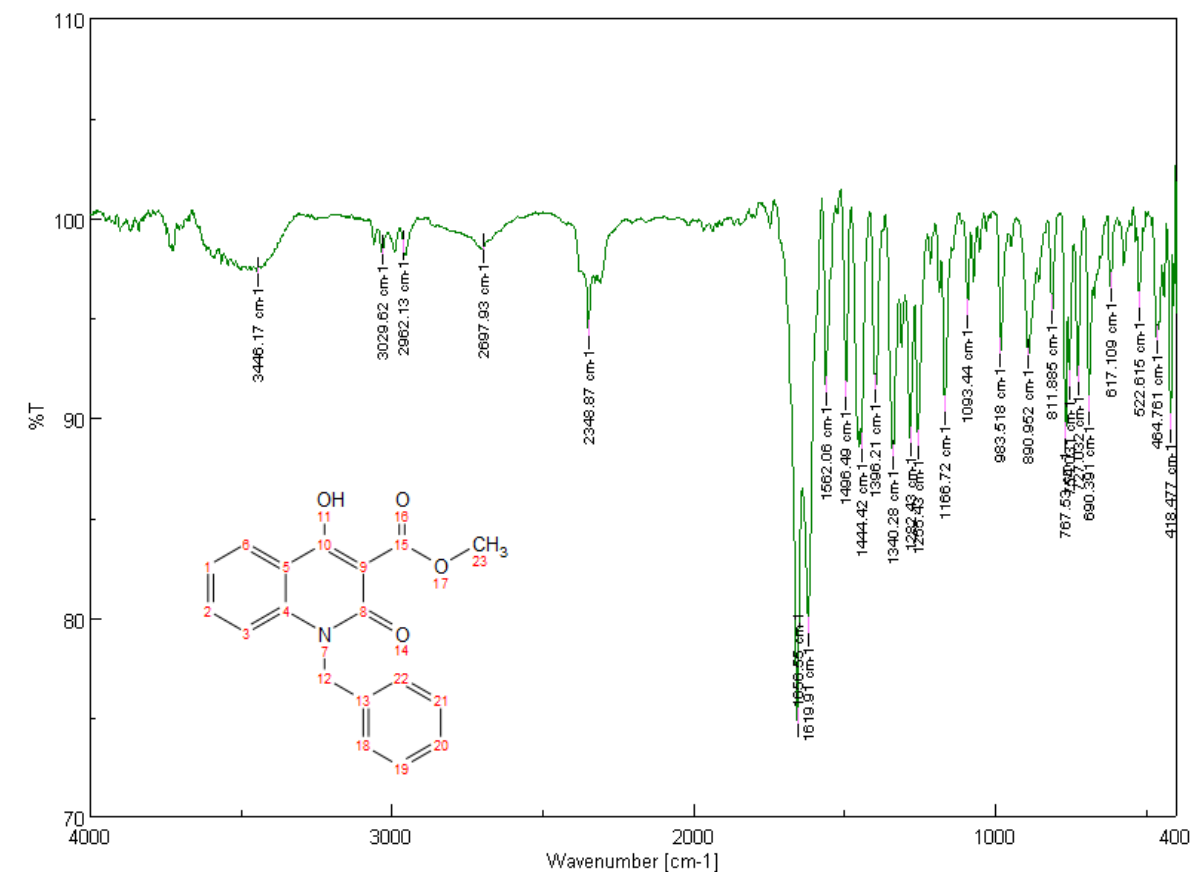
Εικόνα 44. Χημική Μετατόπιση των Πρωτονίων της Καρβονυλομάδας της ένωσης 7a

Τέλος, σε αρκετά χαμηλές μετατοπίσεις παρατηρούνται 2 απλές κορυφές. Η πρώτη στα 2.50 ppm αποδίδεται στον διαλύτη διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO) που χρησιμοποιήθηκε κατά τη λήψη του φάσματος. Τα πρωτόνια της ακετυλο-ομάδας αναμένονται στις χαμηλές μετατοπίσεις, όπου απορροφούν τα προστατευμένα πρωτόνια. Έτσι η συγκεκριμένη κορυφή στα 2.06 ppm αποδίδεται στην ακετυλο-ομάδα του μορίου και ορίζεται να ολοκληρώνει για 3 πρωτόνια, αποτελώντας έτσι τη βάση στην οποία στηρίζεται και η ολοκλήρωση όλων των προαναφερθέντων κορυφών του φάσματος  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης 7a.



#### 4.1.2. Ανάλυση Φασμάτων Υπερύθρου Μετασχηματισμού Fourier

Ακολούθως παρουσιάζεται και αναλύεται το φάσμα της ένωσης **3c** από την 1<sup>η</sup> σειρά των N-υποκατεστημένων κινολινονών.



Εικόνα 45. Φάσμα FT-IR της κινολινόνης **3c**

Οι πιο χαρακτηριστικές κορυφές του φάσματος είναι οι εξής:

- 3446 cm<sup>-1</sup>, δόνηση τάσης ( $\tilde{\nu}$ ), που αποδίδεται στην ομάδα -OH
- 3029 cm<sup>-1</sup>,  $\tilde{\nu}$ , που αποδίδεται στους αρωματικούς δεσμούς C-H
- 2962 cm<sup>-1</sup>,  $\tilde{\nu}$ , που αποδίδεται στους αλειφατικούς δεσμούς C-H
- 1656 cm<sup>-1</sup>,  $\tilde{\nu}$ , που αποδίδεται στον καρβονυλικό δεσμό C=O
- 1619 cm<sup>-1</sup>,  $\tilde{\nu}$ , που αποδίδεται στον διπλό δεσμό C=C
- 1562 cm<sup>-1</sup>,  $\tilde{\nu}$ , αποδίδεται στους διπλούς δεσμούς C=C
- 1340 cm<sup>-1</sup>,  $\tilde{\nu}$ , που αποδίδεται στον απλό δεσμό C-C
- 1266 cm<sup>-1</sup>,  $\tilde{\nu}$ , που αποδίδεται στον δεσμό C-N
- 1166 cm<sup>-1</sup>,  $\tilde{\nu}$ , που αποδίδεται στον δεσμό C-O
- 767 cm<sup>-1</sup> και 727 cm<sup>-1</sup> δονήσεις κάμψης ( $\delta$ ), που αποδίδονται στην αρωματική μονουποκατάσταση

## 4.2.Αποτελέσματα Υπολογισμών των Βιομημητικών Χρωματογραφικών Ιδιοτήτων των Κινολινονικών Αναλόγων

Στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας τα 12 κινολινονικά παράγωγα που συντέθηκαν και ταυτοποιήθηκαν μέσω φασματοσκοπικών μεθόδων ανάλυσης, στη συνέχεια μελετήθηκαν μέσω εφαρμογής υγρής χρωματογραφίας αντίστροφης φάσης σε διάφορες συγκεντρώσεις και για τιμή pH 7,40 σε στήλη ακινητοποιημένων τεχνητών μεμβρανών, IAM.

Κατά τη χρωματογραφική μελέτη των ενώσεων που συντέθηκαν αναλύεται η τιμή του συντελεστή κατακράτησης,  $\log k_w$ , και συγκρίνεται με τις προβλεπόμενες τιμές λιποφιλίας για τις ενώσεις, ενώ αναλύονται και οι κλίσεις των διαγραμμάτων που προέκυψαν. Στον ακόλουθο πίνακα αποτελεσμάτων παρουσιάζονται οι χρωματογραφικοί δείκτες που προέκυψαν κατά τη διενέργεια της HPLC, στη στήλη IAM και συγκεντρώσεις διαλύτη ακετονιτριλίου 30%, 25%, 20%, 10%, pH 7,40, ροή 1 mL/min και μήκος κύματος του ανιχνευτή 220 nm.

**Πίνακας 5. Χρωματογραφικοί δείκτες κάθε ένωσης στις διάφορες συγκεντρώσεις διαλύτη ACN pH 7,40 (IAM, 1 mL/min, 220 nm) και η τυπική τους απόκλιση για 3 χρωματογραφικές μετρήσεις**

Ένωση	$\log k_{20}$	$\log k_{25}$	$\log k_{30}$
MAK 12	0,97 ± 0,03	0,73 ± 0,03	0,37 ± 0,04
3b	1,93 ± 0,02	1,69 ± 0,02	1,42 ± 0,02
3c	0,95 ± 0,03	0,73 ± 0,03	0,43 ± 0,03
3a	1,57 ± 0,02	1,12 ± 0,03	0,43 ± 0,03
3f	0,69 ± 0,03	0,42 ± 0,03	0,21 ± 0,04
7a	1,00 ± 0,03	0,92 ± 0,03	0,86 ± 0,03
7c	1,02 ± 0,03	0,82 ± 0,03	0,47 ± 0,03
7d	2,08 ± 0,02	1,76 ± 0,02	1,40 ± 0,02
7e	1,95 ± 0,02	1,89 ± 0,03	1,80 ± 0,02
Ένωση	$\log k_{10}$	$\log k_{20}$	$\log k_{25}$
3e	1,26 ± 0,03	1,09 ± 0,03	0,96 ± 0,03
3d	2,08 ± 0,02	1,38 ± 0,02	0,81 ± 0,03
3g	1,39 ± 0,02	0,69 ± 0,03	0,37 ± 0,04
Ένωση	$\log k_{10}$	$\log k_{25}$	$\log k_{30}$
7b	0,91 ± 0,03	0,60 ± 0,03	0,50 ± 0,03

Βάσει των ανωτέρω αποτελεσμάτων κατασκευάζεται για κάθε ένωση το διάγραμμα  $\log k$  συναρτήσει της συγκέντρωσης του διαλύτη σε ACN και εν συνεχεία με τη μέθοδο της γραμμικής παλινδρόμησης βρίσκεται η βέλτιστη ευθεία για τα αποτελέσματα κάθε ένωσης. Η αποτέμνουσα κάθε ευθείας αντιστοιχεί την τιμή του  $\log k_w$  σε διαλύτη συγκέντρωσης 0% CH<sub>3</sub>CN, δηλαδή τον συντελεστή κατακράτησης σε καθαρά υδατική φάση. Η τιμή αυτή αποτελεί ενδεικτική της λιποφιλίας που εμφανίζουν τα ανάλογα της κινολινόνης.

Στον ακόλουθο πίνακα παρουσιάζονται η κλίση, η αποτέμνουσα ( $\log k_w$ ) και ο συντελεστής προσδιορισμού για κάθε ευθεία και κάθε ένωση.

**Πίνακας 6. Κλίση, Αποτέμνουσα και Συντελεστής Προσδιορισμού για κάθε Ανάλογο Κινολινόνης**

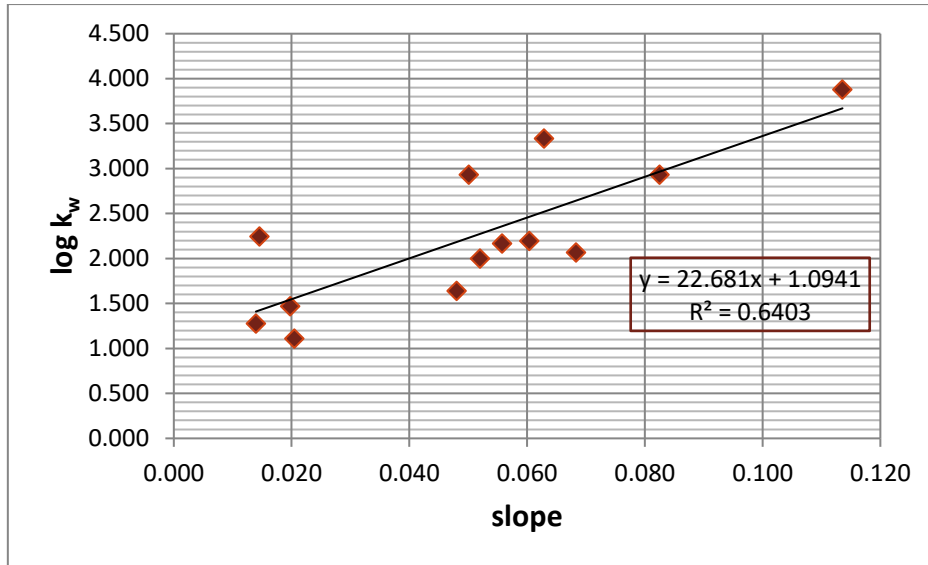
Ένωση	Slope	R <sup>2</sup>	$\log k_w$	$\log k_w/\text{slope}$
3a	-0,11	0,984	3,88	34,16
3b	-0,050	0,999	2,93	58,55
3c	-0,052	0,993	2,00	38,45
3d	-0,083	0,983	2,93	35,53
3e	-0,019	0,990	1,47	74,26
3f	-0,048	0,996	1,64	34,13
3g	-0,068	0,999	2,07	30,26
7a	-0,014	0,985	1,28	91,50
7b	-0,021	1,000	1,11	54,28
7c	-0,056	0,978	2,17	38,82
7d	-0,063	1,000	3,33	53,03
7e	-0,015	0,987	2,25	154,35
3h	-0,060	0,987	2,19	36,39

Έτσι στο σημείο αυτό, από τους χρωματογραφικούς δείκτες που παρουσιάζονται, μπορεί να γίνει μια πρώτη πρόβλεψη σχετικά με τις ενώσεις που είναι πιθανό να παρουσιάζουν την καλύτερη απορρόφηση χορηγούμενες εκ του στόματος. Αυτές είναι οι 3c, 3e, 3f, 3g, 7a, 7b, 7c και 7e, ενώ η ένωση 3h αν και δεν ήταν προγραμματισμένη να συντεθεί και δημιουργήθηκε «από ατύχημα», εντούτοις εξετάστηκε όπως και οι υπόλοιπες και πράγματι επέδειξε ενθαρρυντικά αποτελέσματα αναφορικά με την απορρόφησή της εκ του στόματος.

Επίσης υπολογίζεται ο λόγος  $\log k_w/|S|$ , που καλείται δείκτης χρωματογραφικής υδροφοβίας και χρησιμοποιείται εναλλακτικά της λιποφιλίας. Το S εκφράζει την υδρόφοβη επιφάνεια των μορίων και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα.

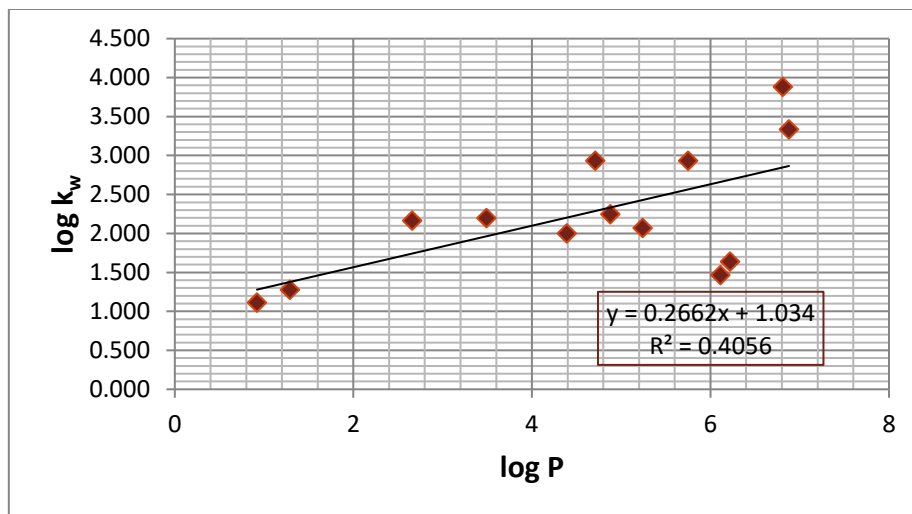
Ο λόγος αυτός ουσιαστικά εκφράζει το κλάσμα όγκου του οργανικού διαλύτη στην κινητή φάση, για το οποίο η ποσότητα που είναι διαλυμένη στη κινητή φάση ισούται με την ποσότητα που είναι διαλυμένη στη στατική.

Η απόλυτη τιμή του λόγου, όπως προκύπτει, λαμβάνει αρκετά υψηλές τιμές, γεγονός που υποδεικνύει ότι το κλάσμα όγκου του οργανικού διαλύτη στην κινητή φάση είναι μεγάλο. Επιπρόσθετα, πρέπει να τονιστεί η συσχέτιση που παρατηρείται μεταξύ  $\log k_w/\text{slope}$ , κάτι που ερμηνεύεται από το γεγονός πως αύξηση της λιποφιλίας προκαλεί αύξηση της υδρόφοβης επιφάνειας και συνακόλουθα μεγάλη κρίνεται και η επίδραση της προσθήκης του ακετονιτριλίου, το οποίο επεμβαίνει στην υδρόφοβη επιφάνεια των μορίων.



**Διάγραμμα 5. Γραφική παράσταση του συντελεστή κατακράτησης,  $\log k_w$ , συναρτήσει της κλίσης, Slope, των ευθειών των μορίων**

Τέλος, κατασκευάζεται το διάγραμμα του συντελεστή κατακράτησης στην υδατική φάση συναρτήσει των προβλεπόμενων τιμών λιποφιλίας για όλες τις ενώσεις που συντέθηκαν.



**Διάγραμμα 6. Γραφική παράσταση του συντελεστή κατακράτησης,  $\log k_w$ , συναρτήσει της προβλεπόμενης τιμής λιποφιλίας,  $\log P$ , των μορίων**

Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων έλαβε χώρα κυρίως στο Excel, ωστόσο για την εξαγωγή της σχέσης που συνδέει την κατακράτηση με την λιποφιλία χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα στατιστικής ανάλυσης SPSS, με τις σχέση που προέκυψε να είναι η ακόλουθη:

$$\log k_w = (0,2662 \pm 0,097) * \log P + (1,034 \pm 0,48)$$

Αν και ο συντελεστής προσδιορισμού,  $R^2$  και για τις 2 γραμμές τάσης είναι φαινομενικά χαμηλός, στα 0,64 και 0,41 για το διάγραμμα κλίσης και λιποφιλίας αντίστοιχα, εντούτοις αυτό είναι αναμενόμενο καθώς υπάρχουν πρόσθετοι παράγοντες πέραν της λιποφιλίας που επηρεάζουν τελικά την κατακράτηση,  $\log k_w$ . Επομένως, προκειμένου τα ανάλογα της

κινολιμόνης να κριθούν επαρκώς ως προς την καταλληλότητα και τη δράση τους ως δραστικές φαρμακευτικών ουσιών, κρίνεται σκόπιμη η περαιτέρω διερεύνηση και των υπόλοιπων παραμέτρων απ' τις οποίες εξαρτάται η κατακράτηση, με τα δεδομένα πάντως για τις περισσότερες να είναι ενθαρρυντικά.

### 4.3. Πρόβλεψη Φαρμακοκινητικών Ιδιοτήτων με Χρήση των Αποτελεσμάτων της Βιομηχανικής Χρωματογραφίας

Για τη στήλη ακινητοποιημένων μεμβρανών, IAM, σε ροή 1 mL/min, μήκος κύματος του ανιχνευτή στα 220 nm και για διάφορες συγκεντρώσεις διαλύτη ACN, pH 7,40 υπολογίζεται το ποσοστό απορρόφησης των φαρμακομορίων κατά την πρόσληψη από το στόμα, % HOA. Για αυτό απαιτείται προηγουμένως ο υπολογισμός φυσικοχημικών ιδιοτήτων όπως η λιποφιλία που βρέθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο και το μοριακό βάρος. Οι υπολογισμοί για κάθε ένωση πραγματοποιήθηκαν ξανά με τη βοήθεια προγράμματος ADME Boxes 3.0 και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ευθύς αμέσως.

Πίνακας 7. Φυσικοχημικές Ιδιότητες Κινολινονικών Αναλόγων

Ένωση	logP	logk <sub>w</sub>	Mw	A	F*+	F*-
3h	3,49	2,19	219,2	0,72	0%	100%
3b	4,71	2,93	232,2	0,31	0%	100%
3c	4,39	2,00	309,3	0,31	0%	100%
3e	6,11	1,47	331,4	0,31	0%	100%
3d	5,75	2,93	287,3	0,31	0%	100%
3a	6,81	3,88	247,3	0,31	0%	100%
3f	6,22	1,64	337,4	0,31	0%	100%
3g	5,24	2,07	335,4	0,31	0%	100%
7a	1,29	1,28	219,2	1,22	0%	100%
7b	0,92	1,11	263,3	0,72	0%	100%
7c	2,66	2,17	233,2	0,72	0%	100%
7d	6,88	3,33	237,6	0,78	0%	100%
7e	4,88	2,25	329,1	0,78	0%	100%

Αρχικά παρατηρείται ότι όλες οι συντιθέμενες κινολιμόνες παρουσιάζουν κλάσματα αρνητικού φορτίου, (F<sup>-</sup>), και κατ' επέκταση όξινο χαρακτήρα σε τιμές pH μεγαλύτερες του 7,40, ενώ επιπρόσθετα εξετάζοντας τη χημική δομή των μορίων φαίνεται πως οι 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-κινολιμόνες φέρουν και τους περισσότερους δότες σε δεσμούς υδρογόνου, με την ένωση 7a μάλιστα να φέρει και τους περισσότερους.

Με αριθμητική αντικατάσταση των δεδομένων του ανωτέρω πίνακα, υπολογίζεται το ποσοστό της εκ του στόματος απορρόφησης κάθε ένωσης (72) (73):

$$(\% HOA) = \frac{100}{1 + 10^{-(2.17 + 0.88 \log K_w - 0.006 M_w - 0.88 A - 0.58 F^{*+} + 1.18 F^{*-})}}$$

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα:

**Πίνακας 8. Πρόβλεψη στήλης IAM του εκ του Στόματος Ποσοστού Απορρόφησης των Συντιθέμενων Κινολινόνων**

Ένωση	% HOA
ΜΑΚ 12	91,0
3b	54,4
3c	95,8
3e	98,9
3d	71,9
3a	17,7
3f	98,6
3g	96,6
7a	99,4
7b	99,4
7c	92,9
7d	59,6
7e	97,9

Όπως φαίνεται οι 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2- εμφανίζουν αρκετά υψηλά ποσοστά απορρόφησης εκ του στόματος. Εξαιρέση αποτελεί η ένωση 7d που περιέχει τον υποκαταστάτη χλώριο, που αυξάνει σημαντικά την λιποφιλία, παράγοντας που επηρεάζει σημαντικά την απορρόφηση. Η ένωση 7a με τους 3 δότες σε δεσμούς υδρογόνου φέρεται να εμφανίζει το μεγαλύτερο ποσοστό και μαζί με τις 7b και 7e φαίνονται να απορροφώνται πλήρως. Επιπρόσθετα οι 7a και 7b παρουσίασαν αρκετά χαμηλές τιμές λιποφιλίας, έτσι σε πρώτη φάση κρίνονται κατάλληλες για χρήση τους σε φαρμακευτικά σκευάσματα που προορίζονται για χορήγηση εκ του στόματος, ενώ και η λιποφιλία της 7e δεν είναι απαγορευτική. Εξάλλου και οι 3 ενώσεις είναι εντός ορίων στα κριτήρια του Lipinski, αναφορικά με το πλήθος των θέσεων δεκτών και δοτών σε δεσμό υδρογόνου, αλλά και το μοριακό τους βάρος.

Από τις N-υποκατεστημενες-3-μεθυλοκαρβονυλο-4-υδροξυ-2-κινολινόνες φαίνεται πως κατά κανόνα, όσο ογκωδέστερος είναι ο υποκαταστάτης στο άτομο του αζώτου, τόσο μεγαλύτερη είναι και η απορρόφηση που επιτυγχάνεται. Οι ενώσεις 3e και 3f φαίνονται να απορροφούνται πλήρως. Ωστόσο, η λιποφιλία των ενώσεων αυτών βρέθηκε μεγαλύτερη του 5 και έτσι ικανοποιούν ένα από τα απαγορευτικά κριτήρια του Lipinski. Το πλήθος των θέσεων δεκτών και δοτών σε δεσμό υδρογόνου είναι και εδώ εντός των επιτρεπτών ορίων, όπως άλλωστε και το μοριακό βάρος.

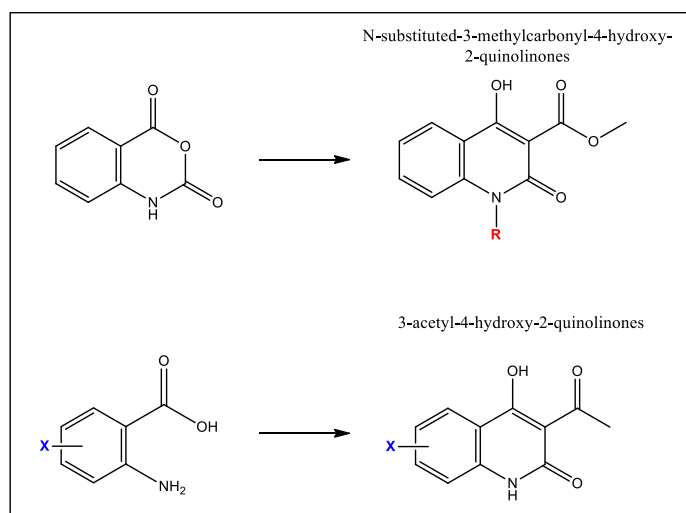
## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Κατά τη διεξαγωγή της παρούσας διπλωματικής εργασίας πραγματοποιήθηκε ο σχεδιασμός, η σύνθεση και ο χαρακτηρισμός 12 μορίων κινολιόνης, καθώς και η μελέτη των φυσικοχημικών και φαρμακοκινητικών ιδιοτήτων τους. Τα 7 μόρια ανήκουν στην 1<sup>η</sup> σειρά που συντέθηκε, αυτή των N-υποκατεστημένων-3-μεθυλοκαρβονυλο-4-υδροξυ-2-κινολινονών, ενώ τα υπόλοιπα 5 ανήκουν στη 2<sup>η</sup> σειρά των 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-κινολινονών. Ο έλεγχος ως προς την καθαρότητά τους και η ταυτοποίηση όλων των μορίων ελέγχθηκε μέσω Φασματοσκοπία υπερύθρου μετασχηματισμού Fourier (FT-IR) και η Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού πρωτονίου (<sup>1</sup>H NMR), ενώ η βιομμητική τους μελέτη πραγματοποιήθηκε μέσω υψηλής απόδοσης υγρής χρωματογραφίας αντιστρόφου φάσης και με χρήση στήλης ακινητοποιημένων τεχνητών μεμβρανών IAM.

Οι 7 N-υποκατεστημένες-3-μεθυλοκαρβονυλο-4-υδροξυ-2-κινολιόνες συντέθηκαν συμβατικά σε δύο στάδια με σχετικά χαμηλές αποδόσεις της τάξης του 30% και 20% για κάθε στάδιο. Οι χαμηλές αποδόσεις αποδίδονται στην επεξεργασία που υφίστανται τα τελικά προϊόντα μέχρι την παραλαβή τους, καθώς και στα δύο στάδια απαιτείται εκχύλιση κατά την οποία δημιουργείται μεγάλη ποσότητα γαλακτώματος, λόγω του διαλύτη DMF.

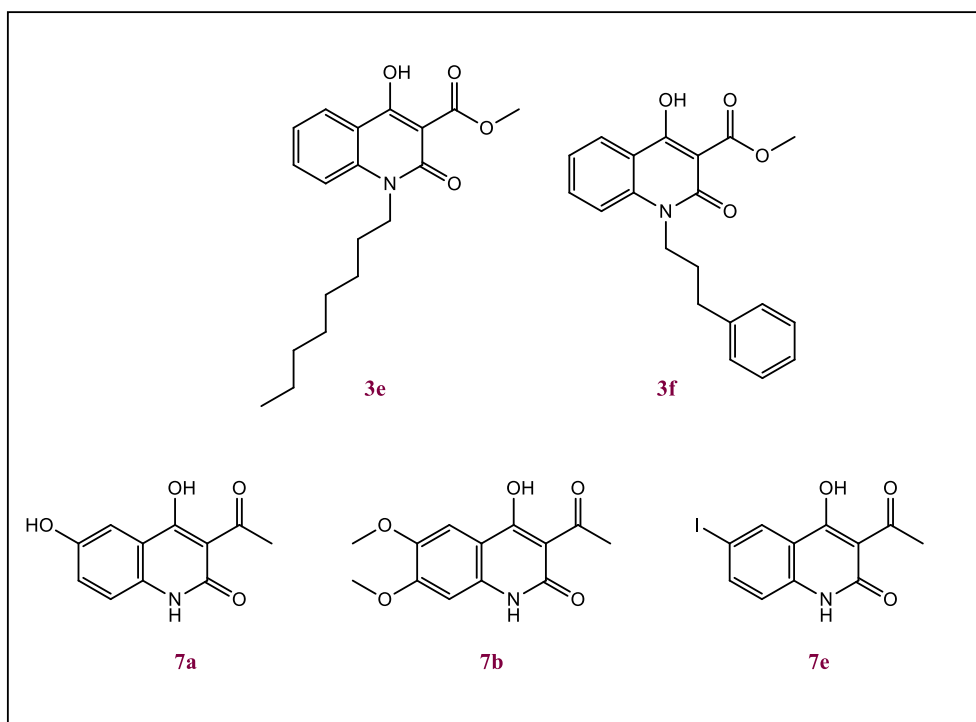
Οι 5 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-κινολιόνες συντέθηκαν σε τρία στάδια, με το πρώτο να διεξάγεται με χρήση μικροκυματικής ακτινοβολίας και να σημειώνονται σχετικά υψηλές αποδόσεις της τάξης του 70%. Στα επόμενα δύο στάδια που διεξήχθησαν συμβατικά οι αποδόσεις ήταν χαμηλότερες της τάξης του 50% και 40% για κάθε στάδιο. Η υψηλή απόδοση της πρώτης αντίδρασης οφείλεται στο γεγονός ότι εντός του θαλάμου της μικροκυματικής ακτινοβολίας τα μικροκύματα καταφέρνουν μεγαλύτερη θέρμανση των αντιδρώντων υλικών, ενώ επιπρόσθετα και ο χρόνος της αντίδρασης μειώνεται αισθητά σε λιγότερο από μια ώρα.

Πρέπει τέλος να τονιστεί ότι και στις 2 σειρές που συντέθηκαν, την παραλαβή του τελικού προϊόντος ακολούθησε η διαδικασία της ανακρυστάλλωσης, προκειμένου να απομακρυνθούν οι προσμίξεις και να καθαριστεί το τελικό προϊόν.



Η χρωματογραφική/βιομημητική μελέτη των κινολινονικών αναλόγων έγινε μέσω εφαρμογής υψηλής απόδοσης υγρής χρωματογραφίας αντιστρόφου φάσης και χρήση στήλης ακινητοποιημένων τεχνητών μεμβρανών (IAM), σε συνθήκες pH 7,40, ροή 1 mL/min, μήκος κύματος του ανιχνευτή στα 220 nm και συγκεντρώσεις της κινητής φάσης σε διαλύτη ακετονιτριλίου από 10% - 30%.

Τα συντιθέμενα μόρια που αξιολογήθηκαν ως προς την απορρόφηση τους κατά την εκ του στόματος χορήγηση (% HOA), παρουσιάζοντας συντελεστή κατακράτησης  $\log k_w$  από 1,00 έως και 4,00. Έτσι, λαμβάνοντας υπόψη και τα κριτήρια του Lipinski, συμπεραίνεται ότι οι ενώσεις με τις πιο ευνοϊκές φυσικοχημικές και φαρμακοκινητικές ιδιότητες που είναι πιθανόν κατάλληλες για χρήση τους ως δραστικές φαρμακευτικών σκευασμάτων είναι οι 3e, 3f, 7a, 7b, 7e.





## ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Για την ολοκλήρωση της παρούσας ερευνητικής εργασίας, μελλοντικό στόχο αποτελεί η περαιτέρω μελέτη της βιολογικής δράσης των νέων μορίων, όπως η αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής τους δράσης μέσω δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH αλλά και της ικανότητάς τους να αναστέλλουν τη λιπιδική υπεροξειδωση του λινολεϊκού οξέος, μέσω του εκκινητή ελευθέρων ριζών AAPH. Επιπρόσθετα προτείνεται η μελέτη της αντιφλεγμονώδους δράσης τους, μέσω αξιολόγησης της ικανότητάς τους να αναστέλλουν τη δράση της λιποξυγονάσης από σόγια, καθώς επίσης και ο έλεγχος της νευροπροστατευτικής δράσης τους και της κυτταροτοξικότητάς τους.

Εκτός των βιολογικών δοκιμών προτείνεται η σύνθεση ακόμα περισσότερων κινολινονικών αναλόγων με διαφορετικούς υποκαταστάτες τόσο στο άτομο του αζώτου, όσο και στον αρωματικό δακτύλιο, ενώ μεγάλο ενδιαφέρον θα παρουσίαζε η χημική τροποποίηση των N-υποκατεστημένων-3-μεθυλοκαρβονυλο-4-υδροξυ-2-κινολινονών προς το σχηματισμό αμιδίων, αλλά και των 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-κινολινονών προς το σχηματισμό χαλκονών. Επίσης, σκόπιμο κρίνεται να διερευνηθεί η πιθανότητα διεξαγωγής όλων των συνθετικών σταδίων μέσω μικροκυματικής ακτινοβολίας, αλλά και η βελτιστοποίηση των συνθηκών υπό τις οποίες διεξάγονται οι αντιδράσεις αυτές εντός του θαλάμου, όπως ο χρόνος και η θερμοκρασία της αντίδρασης, η ισχύς της ακτινοβολίας, αλλά και η αναλογία των αντιδρώντων.

Αναφορικά με την φυσικοχημική μελέτη των κινολινονικών αναλόγων, πρωταρχικό στόχο θα πρέπει να αποτελέσει η αξιολόγηση της λιποφιλικής τους, αλλά και άλλων φαρμακοκινητικών/βιομιμητικών ιδιοτήτων τους σε στήλη HAS (Human Serum Albumin). Επιπρόσθετα, καθώς η οξύτητα του περιβάλλοντος από τον γαστρεντερικό σωλήνα μέχρι το εσωτερικό του στομάχου και των εντέρων, διαδρομή που ακολουθεί η δραστική κατά την χορήγησή της από το στόμα, σκόπιμη κρίνεται η εφαρμογή της IAM σε τιμή pH 5,50.

Τέλος, μια ακόμα εφαρμογή που θα μπορούσε να βρει η βιομιμητική χρωματογραφία θα ήταν η μελέτη της τοξικότητας των κινολινονικών αναλόγων.

## 5. Βιβλιογραφία

1. **Shweta Jain, Vikash Chandra, Pankaj Kumar Jain, Kamla Pathak, Devendra Pathak, Ankur Vaidya.** Comprehensive review on current developments of quinoline-based anticancer agents. *Arabian Journal of Chemistry*. December 2019, Vol. 12, 8, pp. 4920-4946.
2. **Tashima, Toshihiko.** The structural use of carbostyryl physiologically active substances. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2015.
3. **Chisholm, Hugh.** Quinoline. *Encyclopædia Britannica*. 11th ed, 1911, p. 759.
4. **Akranth Marella, Om Prakash Tanwar, Rikta Saha, Mohammad Rahmat Ali,.** Quinoline: A versatile heterocyclic. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2013, pp. 1-12.
5. **Bisacchi, Gregory S.** Origins of the Quinolone Class of Antibacterials: An Expanded "Discovery Story". *Journal of Medical Chemistry*. 2015, Vol. 58, p. 4874-4882.
6. **Franck Touret, Xavierde Lamballerie.** Of chloroquine and COVID-19. *Antiviral Research*. May 2020, 177.
7. **A. M. Emerson, A. M. Jones.** The quinolones: decades of development and use. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2003, pp. 13-20.
8. **Sara Richtep, Cristina Parolin, Manlio Palumbo, Giorgio Palù.** Antiviral Properties of Quinolone-based Drugs. *Current Drug Targets – Infectious Disorders*. 2004, pp. 111-116.
9. **Butini S, Gemma S, Campiani G, Franceschini S, Trotta F, Borriello M, Ceres N, Ros S, Coccone SS, Bernetti M, De Angelis M, Brindisi M, Nacci V, Fiorini I, Novellino E, Cagnotto A, Mennini T, Sandager-Nielsen K, Andreasen JT, Scheel-Kruger J, Mikkelsen J.** Discovery of a new class of potential multifunctional atypical antipsychotic agents targeting dopamine D3 and serotonin 5-HT1A and 5-HT2A receptors: design, synthesis, and effects on behavior. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2009, Vol. 52, 1, pp. 151-169.
10. **Gholap AR, Toti KS, Shirazi F, Kumari R, Bhat MK, Deshpande MV, Srinivasan KV.** Synthesis and evaluation of antifungal properties of a series of the novel 2-amino-5-oxo-4-phenyl-5,6,7,8-tetrahydroquinoline-3-carbonitrile and its analogues. *Bioorg Med Chem*. Nov 1, 2007, Vol. 15, 21, pp. 6705-6715.
11. **Suresh Kumar, Sandhya Bawa, Sushma Drabu, Bibhu P. Panda.** Design and synthesis of 2-chloroquinoline derivatives as non-azoles antimycotic agents. *Medicinal Chemistry Research*. 2011, Vol. 20, 8, pp. 1340-1348.
12. **Fournet A., Barrios A.A., Munoz V., Hocquemiller R., Cave A., Bruneton J.** 2-Substituted Quinoline Alkaloids as Potential Antileishmanial Drugs. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1993, Vol. 37, pp. 859-863.

13. **Rossiter S., Peron S.J., Whitfield P.J., Jones K.** Synthesis and Anthelmintic Properties of Arylquinolines with Activity Against Drug-resistant Nematodes. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2005, Vol. 15, pp. 4806-4808.
14. **Upadhayaya RS, Vandavasi JK, Vasireddy NR, Sharma V, Dixit SS, Chattopadhyaya J.** Design, synthesis, biological evaluation and molecular modelling studies of novel quinoline derivatives against Mycobacterium tuberculosis. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. April 1, 2009, Vol. 17, 7, pp. 2830-2841.
15. **Marcus V.N.de Souzaa, Karla C.Paisa, Carlos R.Kaiser, Mônica A.Peralta, Marcellede L. Ferreira, Maria C.S.Lourenço.** Synthesis and in vitro antitubercular activity of a series of quinoline derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. February 15, 2009, Vol. 17, 4, pp. 1474-1480.
16. **Abdul Naeem, Syed Lal Badshah, Mairman Muska, Nasir Ahmad, Khalid Khan.** The Current Case of Quinolones: Synthetic Approaches and Antibacterial Activity. *Molecules*. April 2016, Vol. 21, 4, p. 268.
17. **Joydeep Ghosh, Vivek Swarup, Amit Saxena, Sulagna Das, Abhijit Hazra, Priyankar Paira, Sukdeb Banerjee, Nirup B. Mondal, Anirban Basu.** Therapeutic effect of a novel anilidoquinoline derivative, 2-(2-methyl-quinoline-4ylamino)-N-(2-chlorophenyl)-acetamide, in Japanese encephalitis: correlation with in vitro neuroprotection. *International Journal of Antimicrobial Agents*. October 1, 2008, pp. 349-354.
18. **Mohammed A.Fakhfakh, Alain Fournet, Eric Prina, Jean-François Mouscadetd, Xavier Francka, Reynald Hocquemiller, Bruno Figadère.** Synthesis and biological evaluation of substituted quinolines: potential treatment of protozoal and retroviral co-infections. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. November 17, 2003, pp. 5013-5023.
19. **Scott DA, Balliet CL, Cook DJ, Davies AM, Gero TW, Omer CA, Poondru S, Theoclitou ME, Tyurin B, Zinda MJ.** Identification of 3-amido-4-anilinoquinolines as potent and selective inhibitors of CSF-1R kinase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. February 1, 2009, pp. 697-700.
20. **Mai A, Rotili D, Tarantino D, Nebbioso A, Castellano S, Sbardella G, Tini M, Altucci L.** Identification of 4-hydroxyquinolines inhibitors of p300/CBP histone acetyltransferases. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. February 15, 2009, pp. 1132-1135.
21. **Miller LM, Mayer SC, Berger DM, Boschelli DH, Boschelli F, Di L, Du X, Dutia M, Floyd MB, Johnson M, Kenny CH, Krishnamurthy G, Moy F, Petusky S, Tkach D, Torres N, Wu B, Xu W.** Lead identification to generate 3-cyanoquinoline inhibitors of insulin-like growth factor receptor (IGF-1R) for potential use in cancer treatment. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. January 1, 2009, pp. 62-66.
22. **Ashraf H. Abadi, Gehan H. Hegazy, Asmaa A. El-Zaher.** Synthesis of novel 4-substituted-7-trifluoromethylquinoline derivatives with nitric oxide releasing properties and their evaluation as analgesic and anti-inflammatory agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2005, pp. 5759-5765.

23. **Chen YL, Zhao YL, Lu CM, Tzeng CC, Wang JP.** Synthesis, cytotoxicity, and anti-inflammatory evaluation of 2-(furan-2-yl)-4-(phenoxy)quinoline derivatives. Part 4. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. July 1, 2006, pp. 4373-4378.
24. **Baba A, Kawamura N, Makino H, Ohta Y, Taketomi S, Sohda T.** Studies on disease-modifying antirheumatic drugs: synthesis of novel quinoline and quinazoline derivatives and their anti-inflammatory effect. *Journal of Medicinal Chemistry*. December 20, 1996, pp. 5176-5182.
25. **Gilbert AM, Bursavich MG, Lombardi S, Georgiadis KE, Reifenberg E, Flannery CR, Morris EA.** N-((8-hydroxy-5-substituted-quinolin-7-yl)(phenyl)methyl)-2-phenyloxy/aminoacetamide inhibitors of ADAMTS-5 (Aggrecanase-2). *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. December 15, 2008, pp. 6454-6457.
26. **Detsi A, Bouloumbasi D, Prousis KC, Koufaki M, Athanasellis G, Melagraki G, Afantitis A, Igglessi-Markopoulou O, Kontogiorgis C, Hadjipavlou-Litina DJ.** Design and synthesis of novel quinolinone-3-aminoamides and their alpha-lipoic acid adducts as antioxidant and anti-inflammatory agents. *Journal of Medicinal Chemistry*. May 17, 2007, pp. 2450-2458.
27. **Mustapha El Bakkali, Lhassane Ismaili, Isabelle Tomassoli, Laurence Nicod, Marc Pudlo, Bernard Refouvelet.** Pharmacophore Modelling and Synthesis of Quinoline-3-Carbohydrazide as Antioxidants. *International Journal of Medicinal Chemistry*. 2011, pp. 1-10.
28. **M. G. Malakyan, S. A. Badzhinyan, L. A. Vardevanyan, D. S. Grigoryan, D. É. Egiazaryan, A. A. Avetisyan, I. L. Aleksanyan, L. P. Ambartsumyan, K. S. Sargsyan.** Studies of the antioxidant and antihemolytic activity of quinoline derivatives in a model of oxidative damage to erythrocyte membranes. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2009, Vol. 43, pp. 7-10.
29. **Fernández-Bachiller MI, Pérez C, González-Muñoz GC, Conde S, López MG, Villarroya M, García AG, Rodríguez-Franco MI.** Novel tacrine-8-hydroxyquinoline hybrids as multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease, with neuroprotective, cholinergic, antioxidant, and copper-complexing properties. *Journal of Medicinal Chemistry*. July 2010, pp. 4927-4937.
30. **Peterson, LR.** Quinolone molecular structure-activity relationships: what we have learned about improving antimicrobial activity. *Clinical Infectious Diseases*. September 15, 2001, pp. 180-186.
31. **Domagala, JM.** Structure-activity and structure-side-effect relationships for the quinolone antibacterials. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. April 1994, pp. 685-706.
32. **Βασίλης Δημόπουλος, Άννα Τσαντίλη-Κακουλίδου.** Βασικές Αρχές Σχεδιασμού και Ανάπτυξης Φαρμάκων. Ζωγράφου, Αθήνα : Σύνδεσμος Ελληνικών Ακαδημαϊκών Βιβλιοθηκών, 2015.
33. **Rajesh, Yamajala B.R.D.** *Quinoline Heterocycles: Synthesis and Bioactivity*. 2018.

34. **Jaideep B. Bharate, Ram A. Vishwakarma, Sandip B. Bharate.** Metal-free domino one-pot protocols for quinoline synthesis. *RSC Advances*. 2015, pp. 42020–42053.
35. **Gregory L. Beutner, Jeffrey T. Kuethe, Nobuyoshi Yasuda.** A Practical Method for Preparation of 4-Hydroxyquinolinone Esters. *The Journal of Organic Chemistry*. August 4, 2007, pp. 7058-7061.
36. **Anastasia Detsi, Vassilios Bardakos, John Markopoulos, Olga Igglesi-Markopoulou.** Reactions of 2-methyl-3,1-benzoxazin-4-one with active methylene compounds: A new route to 3-substituted 4-hydroxyquinolin-2(1H)-ones. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions*. 1996, pp. 2909-2913.
37. **L. Zikou, G. Athanasellis, A. Detsi, A. Zografos, C. Mitsos, O. Igglesi-Markopoulou.** A Novel Short-Step Synthesis of Functionalized 4-Hydroxy-2-quinolones Using a 1-Hydroxybenzotriazole Methodology. *Bulletin of Chemical Society of Japan*. 2004, pp. 1505-1508.
38. **A. Hegedus, Z. Hell, T. Vargadi, A. Potor, I. Gresits.** A new, simple synthesis of 1,2-dihydroquinolines via cyclocondensation using zeolite catalyst. *Catalysis Letters*. August 2007, pp. 99-101.
39. **Tao Zhou, Jian-Li Lin, Zhen-Chu Chen.** A Convenient Synthesis of Quinolines via Ionic Liquid-Catalysed Friedlander Annulation. *Letters in Organic Chemistry*. 2008, pp. 47-50.
40. **Wang Zhou, Liangren Zhang, Ning Jiao.** The tandem reaction combining radical and ionic processes: an efficient approach to substituted 3,4-dihydroquinolin-2-ones. *Tetrahedron*. March 2009, pp. 1982-1987.
41. **Martínez R, Ramón DJ, Yus M.** Transition-metal-free indirect friedlander synthesis of quinolines from alcohols. *The Journal of Organic Chemistry*. December 2008, pp. 9778-9780.
42. **S.Ghassamipour, A.R.Sardarian.** Friedländer synthesis of poly-substituted quinolines in the presence of dodecylphosphonic acid (DPA) as a highly efficient, recyclable and novel catalyst in aqueous media and solvent-free conditions. *Tetrahedron Letters*. February 2009, pp. 514-519.
43. **Kowsari E, Mallakmohammadi M.** Ultrasound promoted synthesis of quinolines using basic ionic liquids in aqueous media as a green procedure. *Ultrasonics sonochemistry*. January 18, 2011, pp. 447-454.
44. **K. C. Prousis, A. Tzani, N. Avlonitis, T. Calogeropoulou, A. Detsi.** Reactivity of 2-Methyl-4H-3,1-benzoxazin-4-ones and 2-Methyl-4H-pyrido[2,3-d][1,3]oxazin-4-one Under Microwave Irradiation Conditions. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 2012, pp. 1313-1321.
45. **J. P. Tierney, P. Lidström.** *Microwave Assisted Organic Synthesis*. s.l. : Blackwell Publishing, 2005. pp. 1-21.

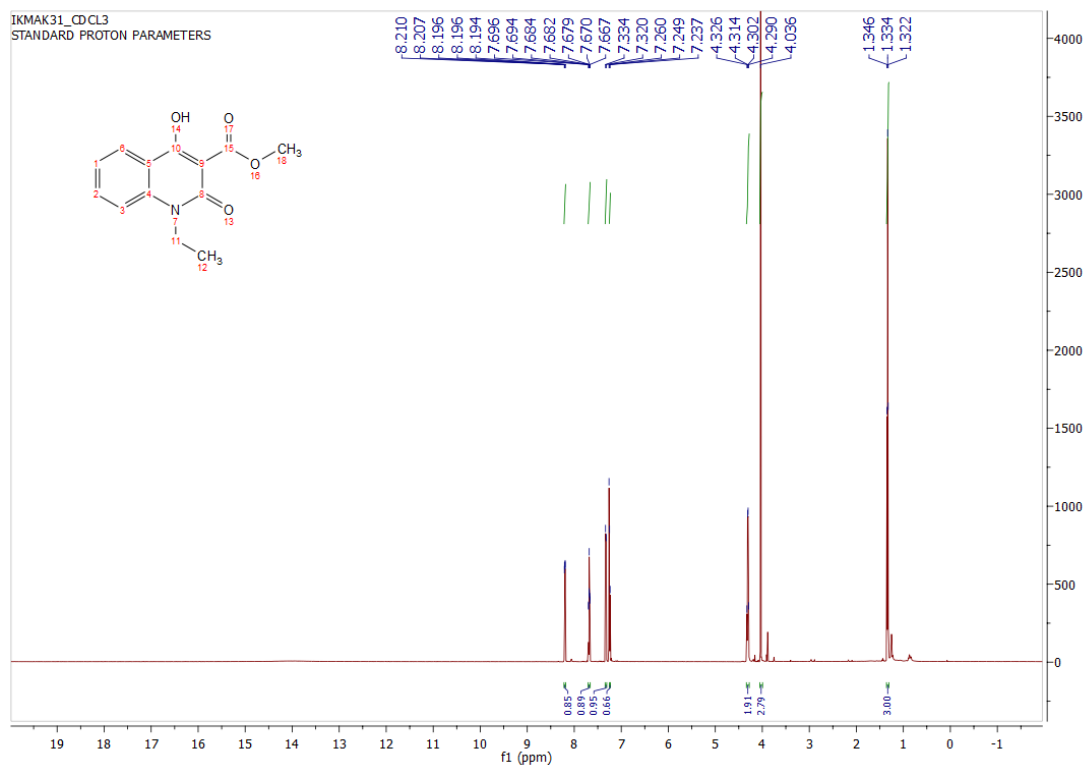
46. **Ajmer Singh Grewal, Karunesh Kumar, Sonika Redhu, Shashikant Bhardwaj.** Microwave assisted synthesis: a green chemistry approach. *International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences*. 2013, Vol. 3, 5, pp. 278-285.
47. **C. Oliver Kappe, Alexander Stadler.** Microwaves in Organic and Medicinal Chemistry. *Methods and Principles in Medicinal Chemistry*. 2005.
48. **D'Souza, Brendan Roberto.** *Development of a microwave-assisted epoxide aminolysis and investigation of the aza-cope rearrangement--mannich cyclization for alkaloid synthesis.* Ypsilanti, Michigan : Master's Theses and Doctoral Dissertations, 2007. p. 24.
49. **Madhvi A Surati, Smita Jauhari, Kishor Ratilal Desai.** A brief review: Microwave assisted organic reaction. *Archives of Applied Science Research*. January 2012, pp. 645-661.
50. **Patrick Vallance, Trevor G Smart.** The future of pharmacology. *British Journal of Pharmacology*. January 2006, pp. 304-307.
51. **Duffus, J.** Glossary for chemists of terms used in toxicology (IUPAC Recommendations 1993). *Pure and Applied Chemistry*. January 1, 2006, Vol. 65, 9, pp. 2003-2122.
52. **M. Nordberg, J. Duffus and D. M. Templeton.** Glossary of terms used in toxicokinetics (IUPAC Recommendations 2003). *Pure and Applied Chemistry*. January 1, 2009, Vol. 76, 5, pp. 1033-1082.
53. **Y. Yang, Y. Zhao, A. Yu, D. Sun, L.X. Yu.** Oral Drug Absorption: Evaluation and Prediction. *Developing Solid Oral Dosage Forms*. 2017, pp. 331-354.
54. **Sakai, Joy Bellis.** Pharmacokinetics: The Absorption, Distribution and Excretion of Drugs. *Practical Pharmacology for the Pharmacy Technician*. Philadelphia, United States : Lippincott Williams and Wilkins, 2009.
55. **Le, Jennifer.** merckmanuals.com. [Online] June 2019.  
<https://www.merckmanuals.com/home/drugs/administration-and-kinetics-of-drugs/drug-administration>.
56. **Dr. O. Cudina, B. Markovic, K. Karljickovic, S. Vladimirov.** Biopartitioning Micellar Chromatography-Partition Coefficient Micelle/Water as a Potential Descriptor for Hydrophobicity in Prediction of Oral Drug Absorption. *Analytical Letters*. 2012, pp. 677-688.
57. **C. Quinones-Torrelo, S. Sagrado, R.M. Villanueva-Camanas, M.J. Medina-Hernandez.** Development of Predictive Retention-Activity Relationship Models of Tricyclic Antidepressants by Micellar Liquid Chromatography. *Journal of medicinal chemistry*. 1999, pp. 3154-3162.
58. **D. S. Shokry, L. J. Waters, G. M. B. Parkers, J. C. Mitchell.** Incorporating physiologically relevant mobile phases in micellar liquid chromatography for the prediction of human intestinal absorption. *Biomedical Chromatography*. 2018, pp. 1-9.

59. **Davis, Alison.** *Medicines By Design*. s.l. : U.S. Department of Health and Human Services , National Institutes of Health Publication, 2006.
60. **Yu, Walter.** ionsource.com. [Online] 2016.  
[https://www.ionsource.com/tutorial/metabolism/met\\_slide3.htm](https://www.ionsource.com/tutorial/metabolism/met_slide3.htm).
61. **Mohammadreza Hadjmohammadi, Mina Salary.** Biopartitioning micellar chromatography with sodium dodecyl sulfate as a pseudo 1-acid glycoprotein to the prediction of protein–drug binding. *Journal of Chromatography B*. 2013, pp. 50-55.
62. **Fotios Tsopeles, Constantinos Giaginis & Anna Tsantili-Kakoulidou.** Lipophilicity and biomimetic properties to support drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*. 2017, pp. 885-896.
63. **De Vrieze M, Janssens P, Szucs R, Van der Eycken J, Lynen F.** In vitro prediction of human intestinal absorption and blood-brain barrier partitioning: development of a lipid analog for micellar liquid chromatography. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. September 2015, pp. 7453-7466.
64. **Le, Jennifer.** merckmanuals.com/. [Online] 2019.  
<https://www.merckmanuals.com/home/drugs/administration-and-kinetics-of-drugs/drug-elimination>.
65. **David G. Watson, RuAngelie Edrada-Ebel.** *Pharmaceutical Analysis: A Textbook for Pharmacy Students and Pharmaceutical Chemists*. s.l. : Elsevier, 2012.
66. **Chi-Yuan Wu, Leslie Z. Benet.** Predicting Drug Disposition via Application of BCS: Transport/Absorption/Elimination Interplay and Development of a Biopharmaceutics Drug Disposition Classification System. *Pharmaceutical Research*. 2005, pp. 11-23.
67. **Ku, M. Sherry.** Use of the Biopharmaceutical Classification System in Early Drug Development. *AAPS Journal*. 2008, pp. 208–212.
68. **Valko, Klara L.** Application of biomimetic HPLC to estimate in vivo behavior of early drug discovery compounds. *Future Drug Discovery*. 2019, Vol. 1.
69. **Klein, David.** *Οργανική Χημεία για τις Επιστήμες της Ζωής*. s.l. : Utopia, 2015. pp. 317-325, 340-342.
70. **MuMurry, John.** *Οργανική Χημεία*. s.l. : Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, 2013. pp. 463-465. 699-700, 1068.
71. **Σανδρής, Κ. Χ.** *Οργανική Χημεία (Τόμος Ι)*. Αθήνα : s.n., 1985. pp. 208-211.
72. **F. Tsopeles, T. Vallianatou, A. Tsantili- Kakoulidou.** Advances in immobilized artificial membrane (IAM) chromatography for novel drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*. 2016, Vol. 11, 5, pp. 473-488.
73. —. The potential of immobilized artificial membrane chromatography to predict human oral absorption. *Pharmaceutical Sciences*. 2016, Vol. 81, pp. 82-93.

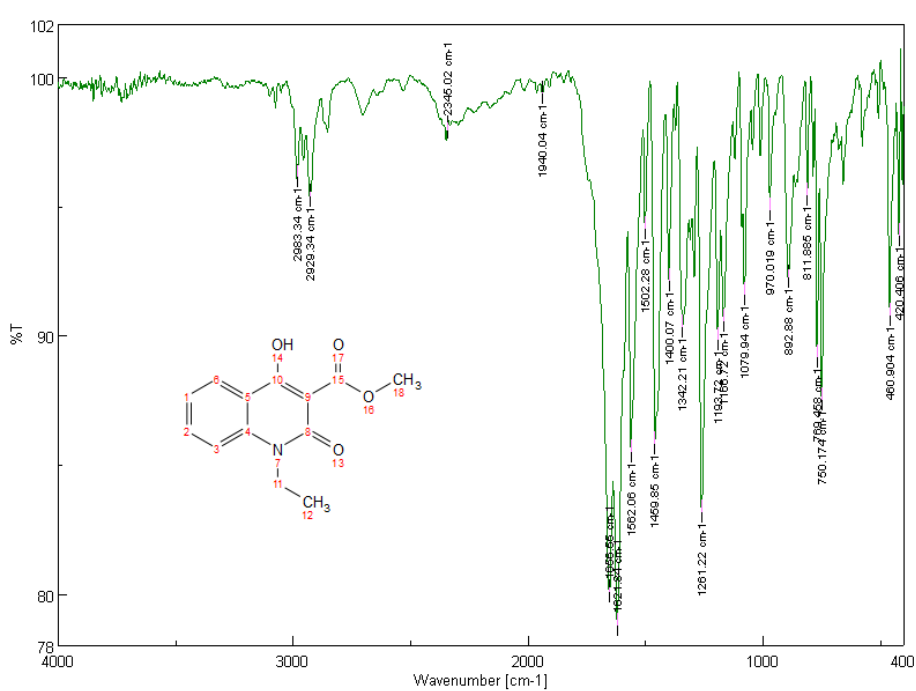
74. **Carlos M. Meléndez Gómez, Vladimir V. Kouznetsov.** *Recent Developments on Antimicrobial Quinoline Chemistry.* 2013.
75. **Ethel A. Wilhelm, Ana Teresinha Ferreira, Mikaela P. Pinz, Angélica S. dos Reis, Ane G. Vogt, Andre L. Stein, Gilson Zeni, Cristiane Luchese.** Antioxidant effect of quinoline derivatives containing or not selenium: Relationship with antinociceptive action quinolines are antioxidant and antinociceptive. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* . 2017, Vol. 89, pp. 457-467.
76. **Catrin Roof, Jan-Niklas Saleweski, Arno Stein, Anna Richter, Claudia Maletzki, Anett Sekora, Hugo Murua Escobar, Xiao-Feng Wu, Matthias Beller, Christian Junghanss.** Novel Isoquinolinamine and Isoindoloquinazolinone Compounds Exhibit Antiproliferative Activity in Acute Lymphoblastic Leukemia Cells. *Biomol Ther.* September 27, 2019, Vol. 27, 5, pp. 492-501.
77. **Chen S., Chen R., He M., Pang R., Tan Z., Yang M.** Design, synthesis, and biological evaluation of novel quinoline derivatives as HIV-1 Tat-TAR interaction inhibitors. *Bioorg Med Chem.* March 1, 2009, Vol. 17, 5, pp. 1948-1956.
78. **Goda FE, Abdel-Aziz AA, Ghoneim HA.** Synthesis and biological evaluation of novel 6-nitro-5-substituted aminoquinolines as local anesthetic and anti-arrhythmic agents: molecular modeling study. *Bioorg Med Chem.* May 2, 2005, Vol. 13, 9, pp. 3175-3183.
79. **Ukrainets, Igor.** *Creation of New Local Anesthetics Based on Quinoline Derivatives and Related Heterocycles.* Ukraine : National University of Pharmacy, 2011.



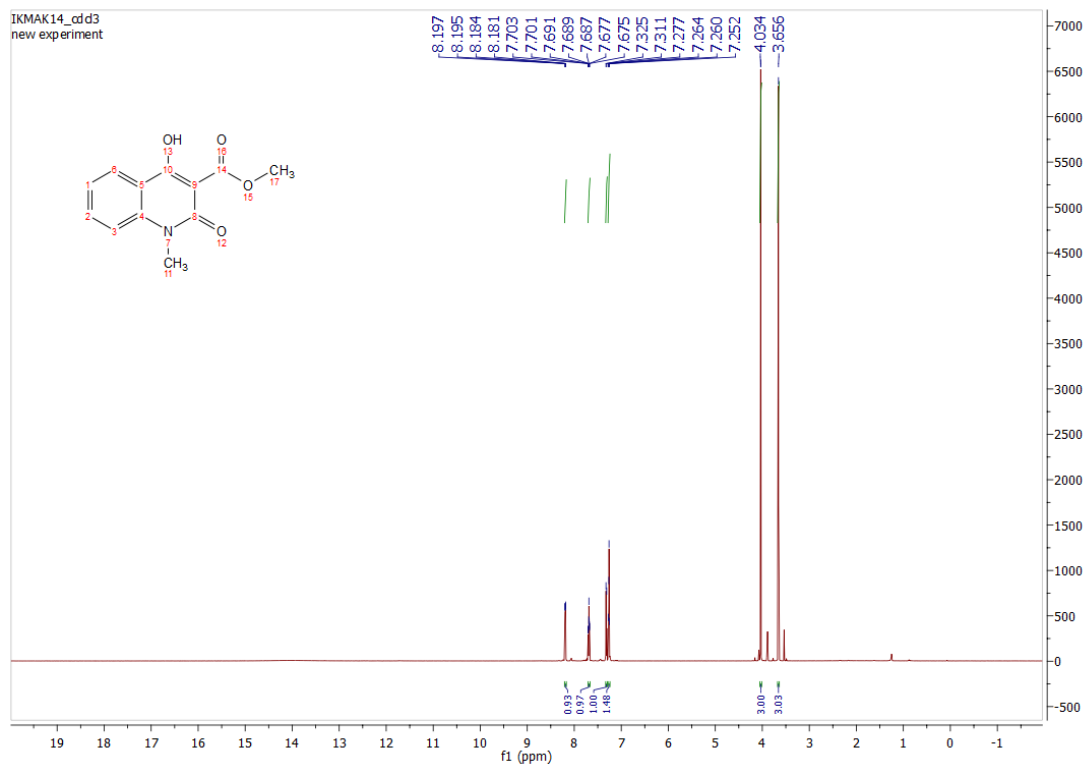
## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΑΣΜΑΤΩΝ



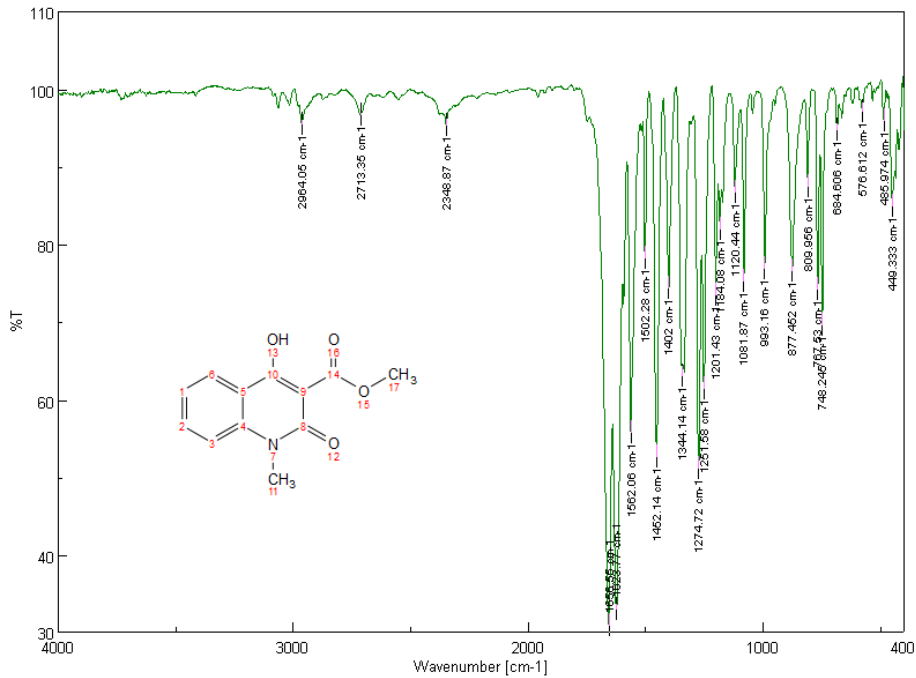
Εικόνα 46. Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της Ένωσης 3a



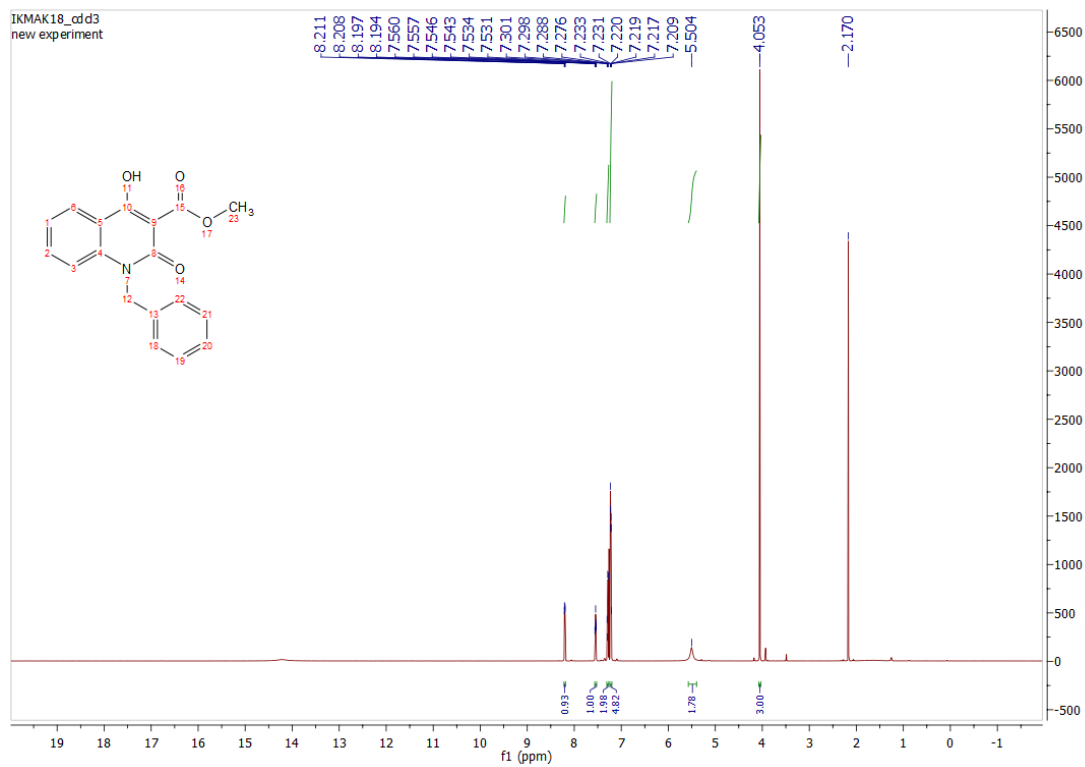
Εικόνα 47. Φάσμα FT-IR της Ένωσης 3a



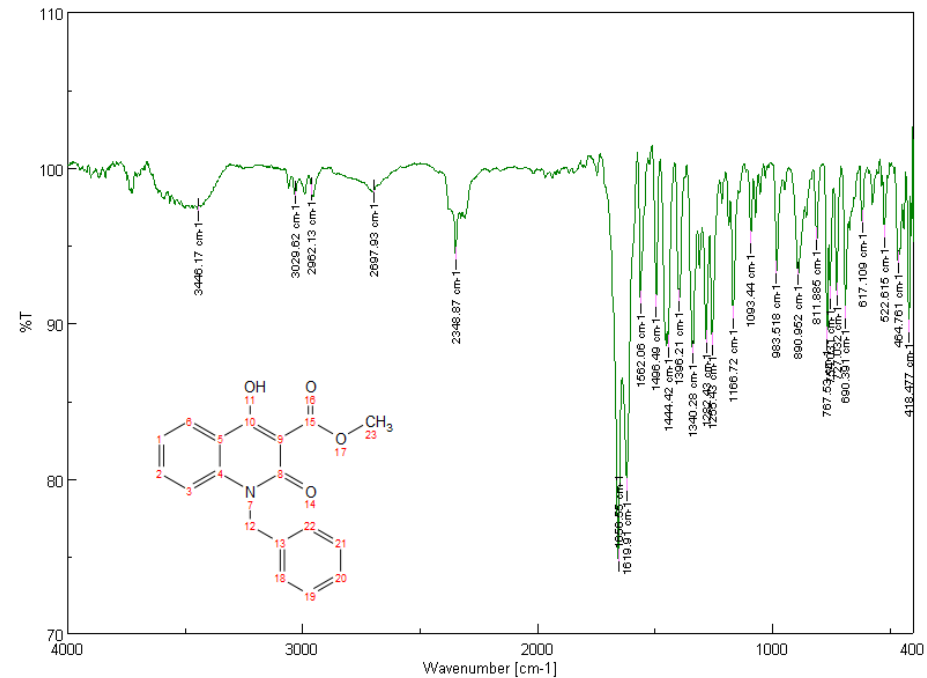
Εικόνα 48. Φάσμα <sup>1</sup>H NMR της Ένωσης 3b



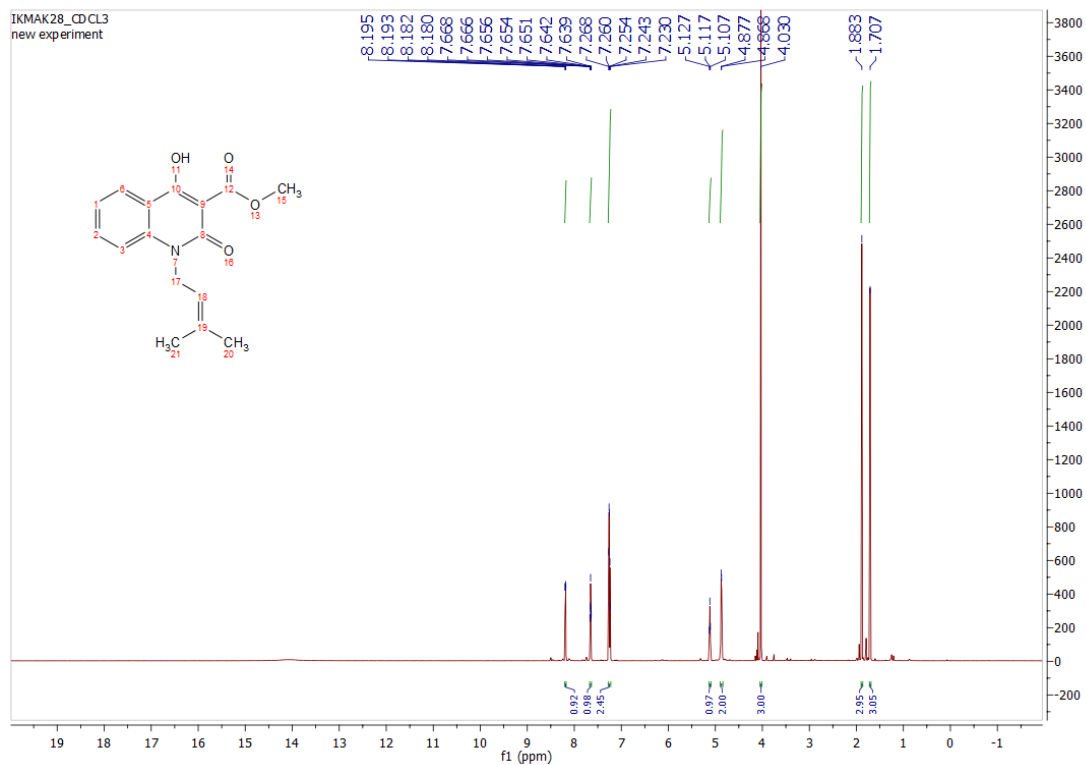
Εικόνα 49. Φάσμα FT-IR της Ένωσης 3b



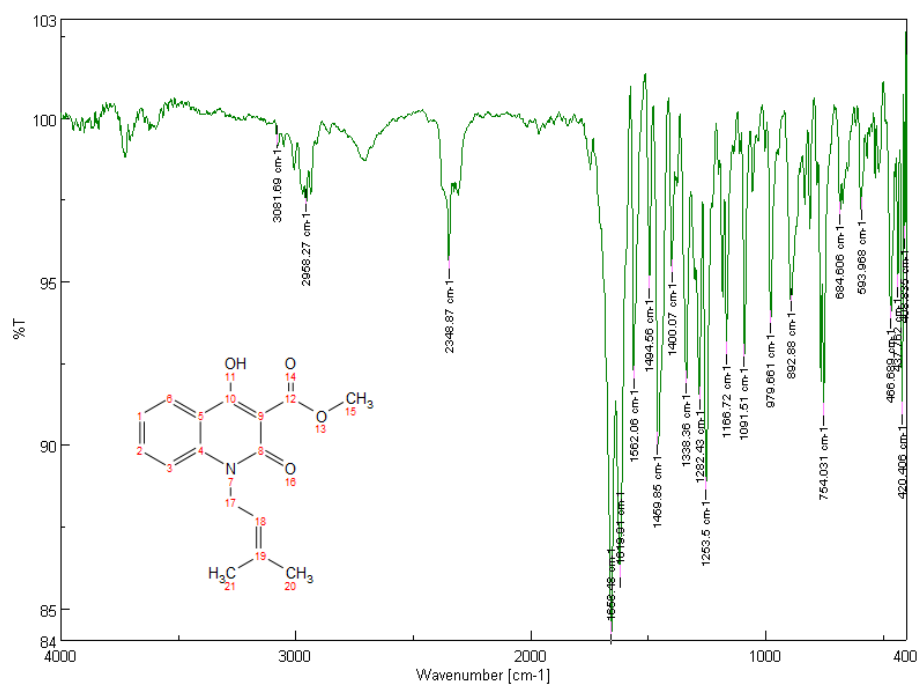
Εικόνα 50. Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της Ένωσης 3c



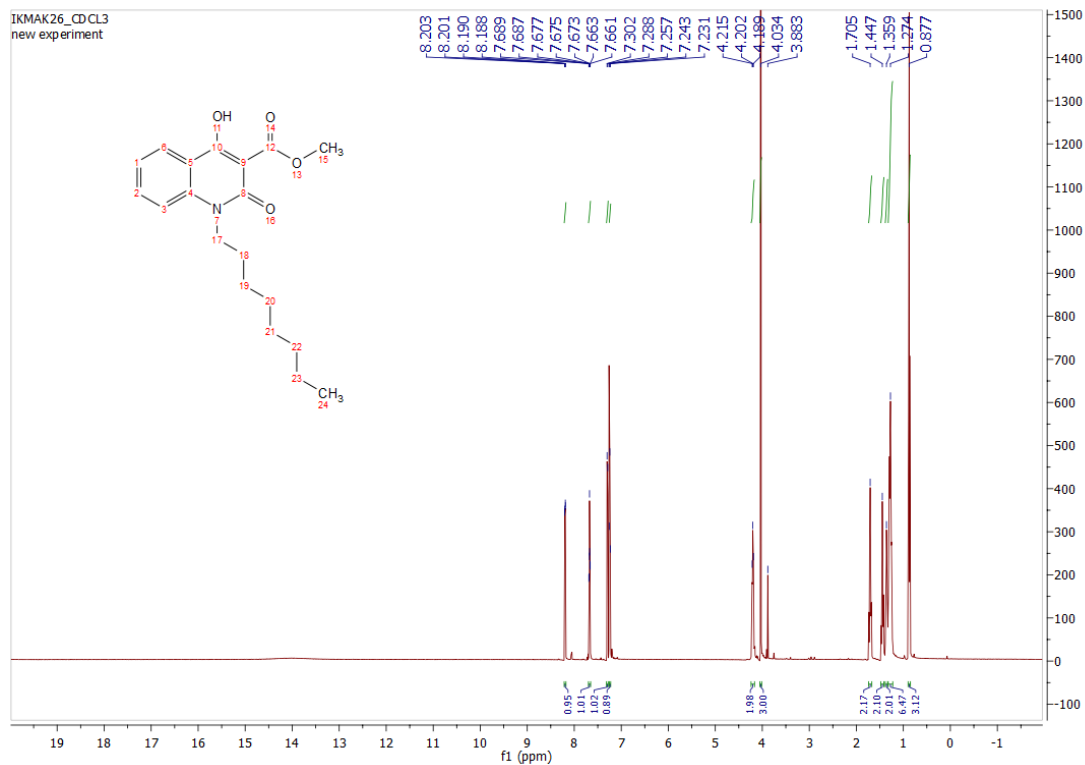
Εικόνα 51. Φάσμα FT-IR της Ένωσης 3c



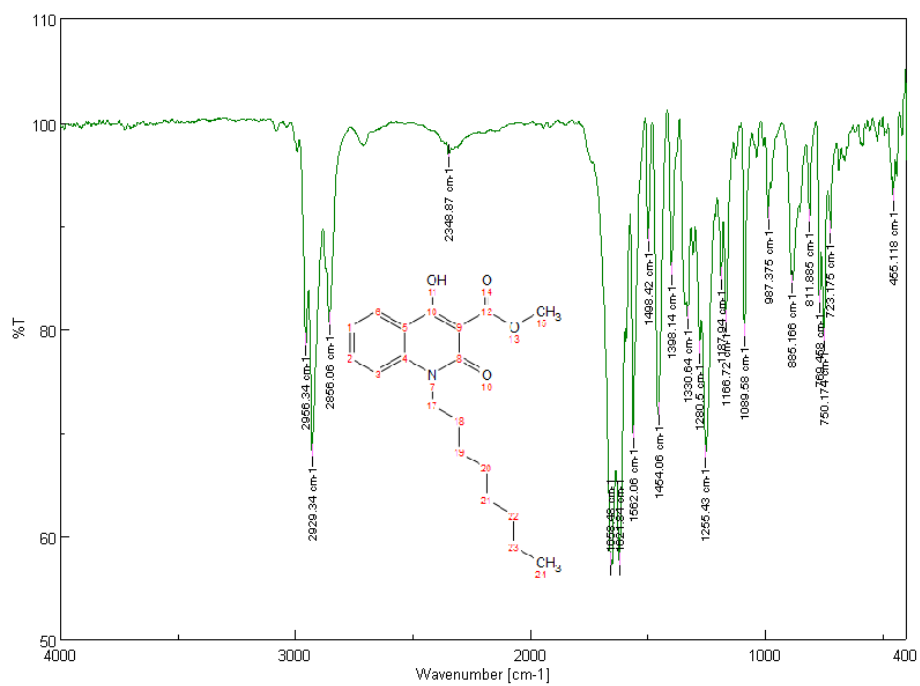
Εικόνα 52. Φάσμα <sup>1</sup>H NMR της Ένωσης 3d



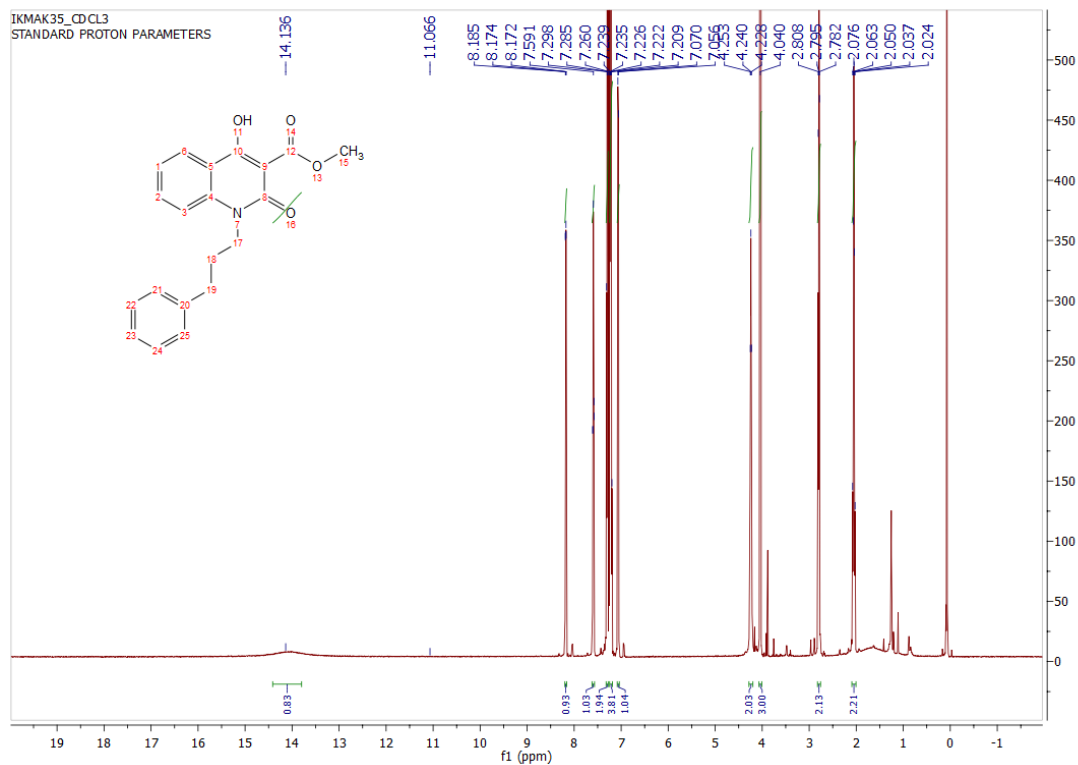
Εικόνα 53. Φάσμα FT-IR της Ένωσης 3d



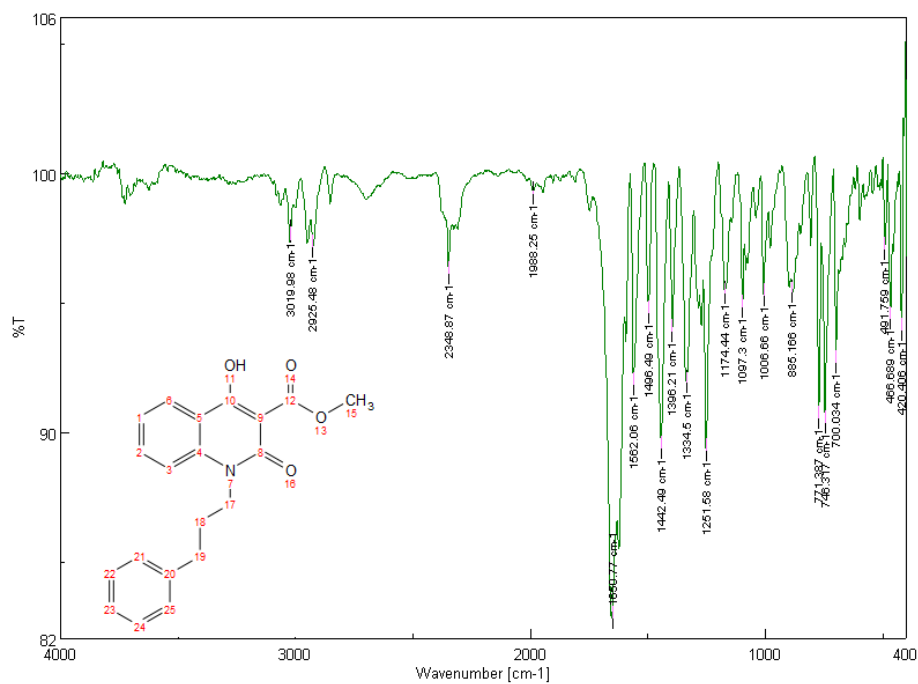
Εικόνα 54. Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της Ένωσης 3e



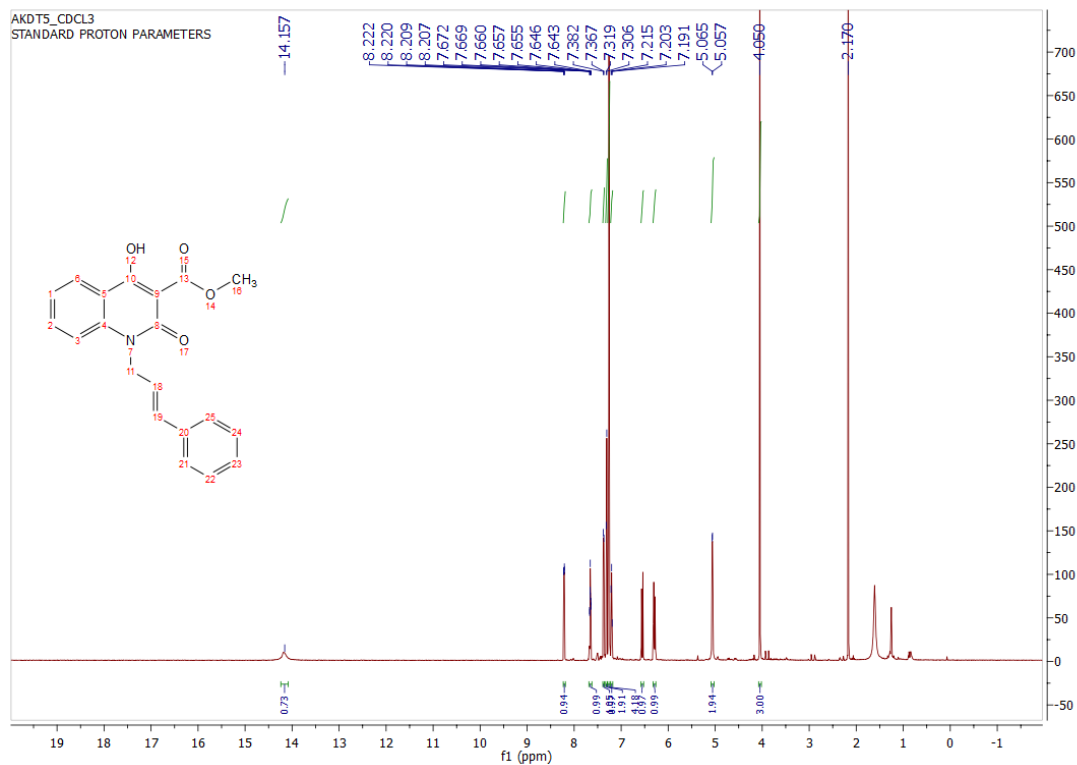
Εικόνα 55. Φάσμα FT-IR της Ένωσης 3e



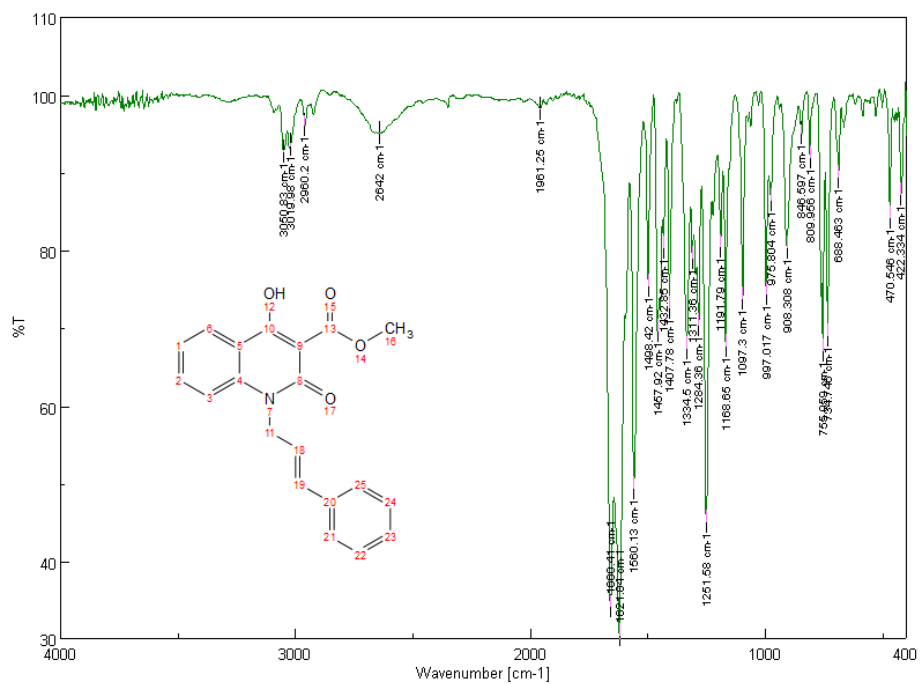
Εικόνα 56. Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της Ένωσης 3f



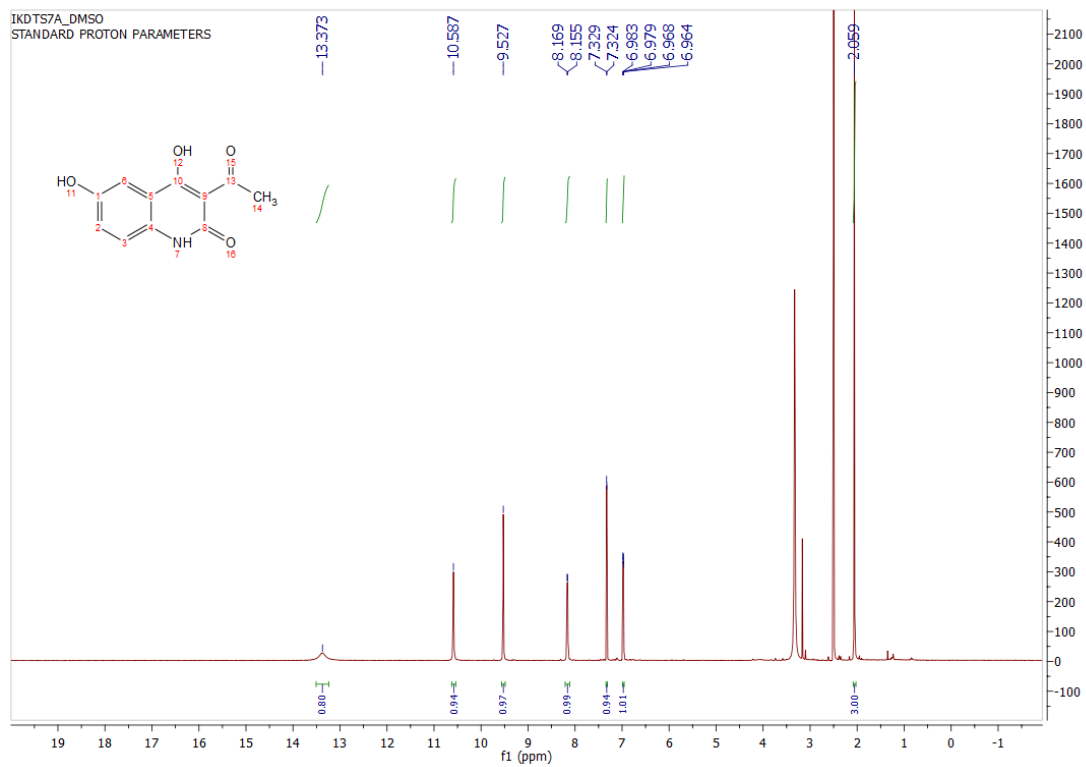
Εικόνα 57. Φάσμα FT-IR της Ένωσης 3f



Εικόνα 58. Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της Ένωσης 3g

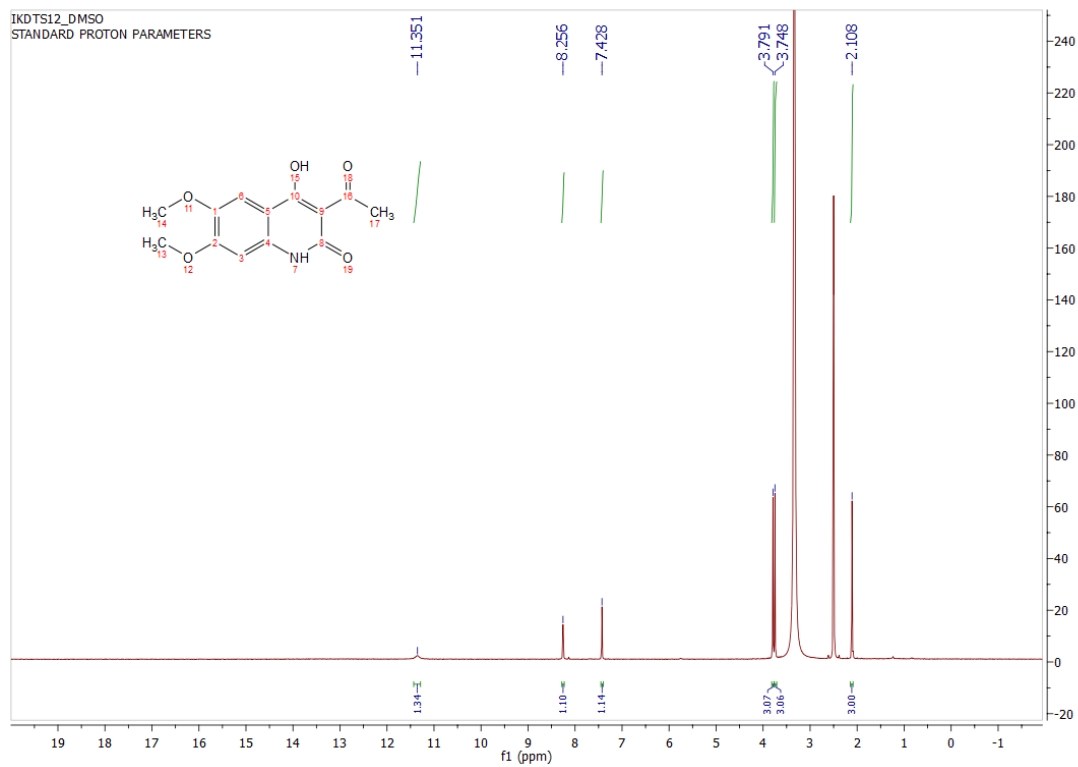


Εικόνα 59. Φάσμα FT-IR της Ένωσης 3g

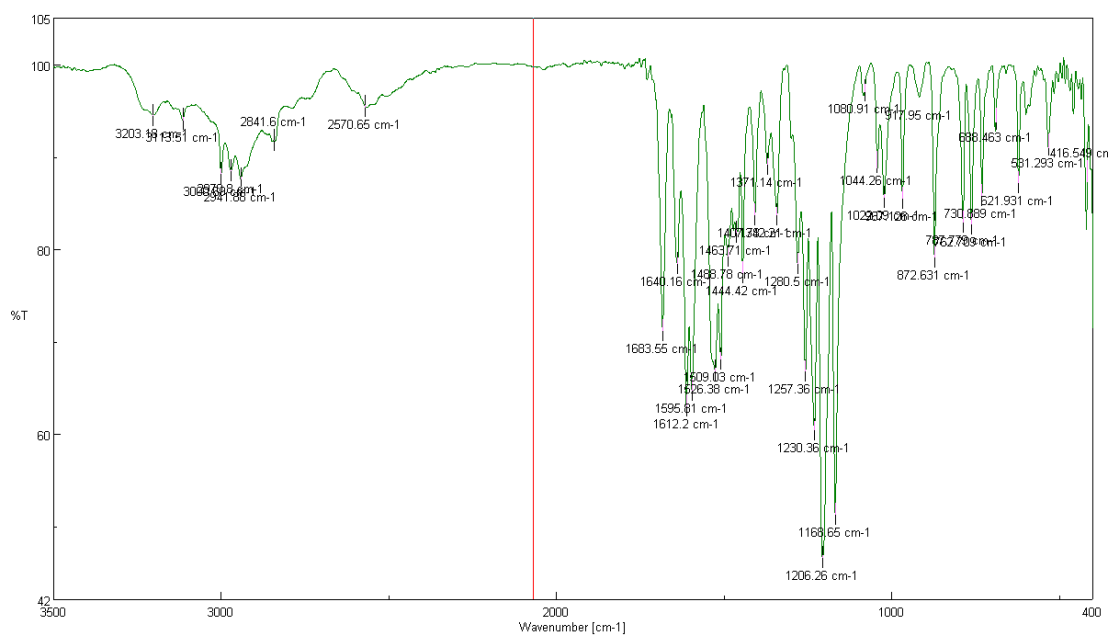


Εικόνα 60. Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της Ένωσης 7a

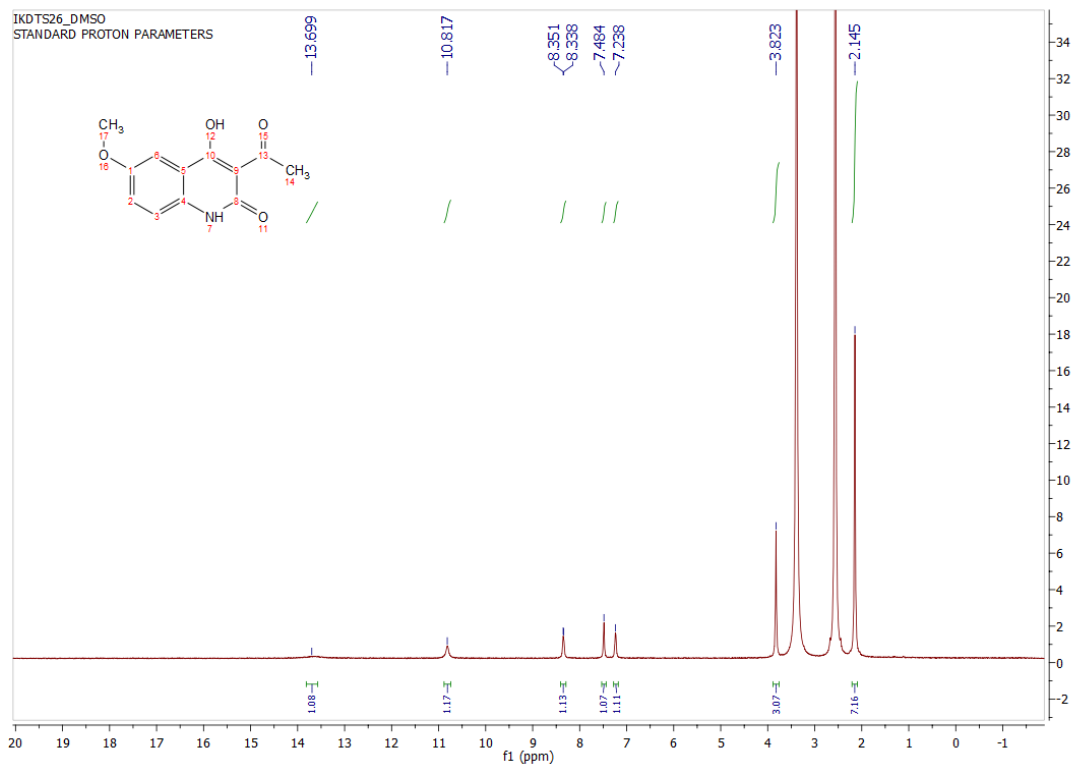




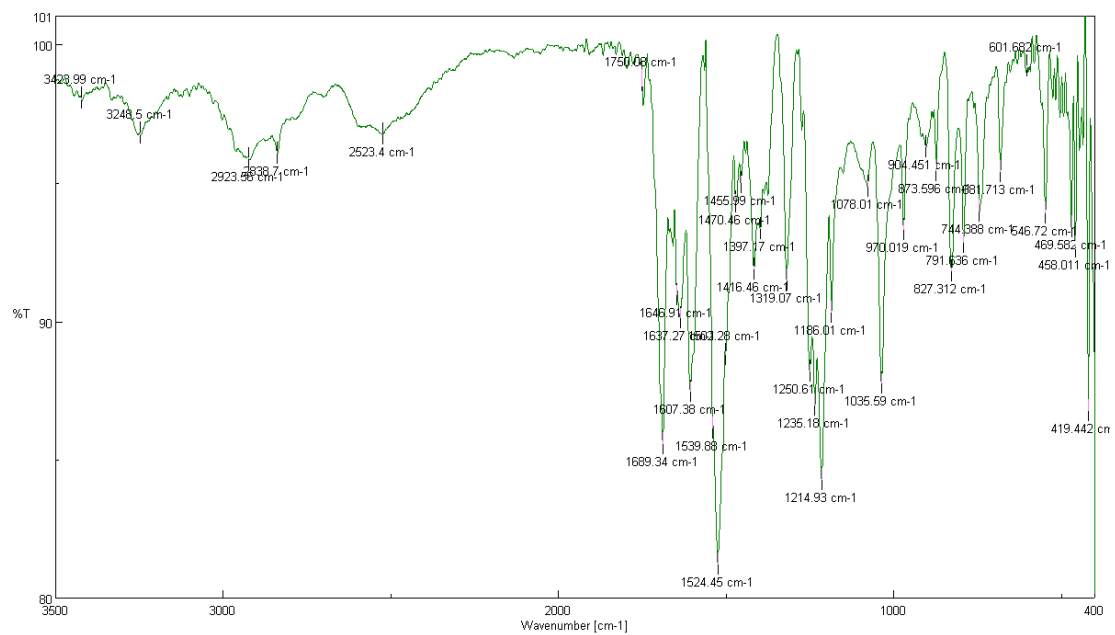
Εικόνα 61. Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της Ένωσης 7b



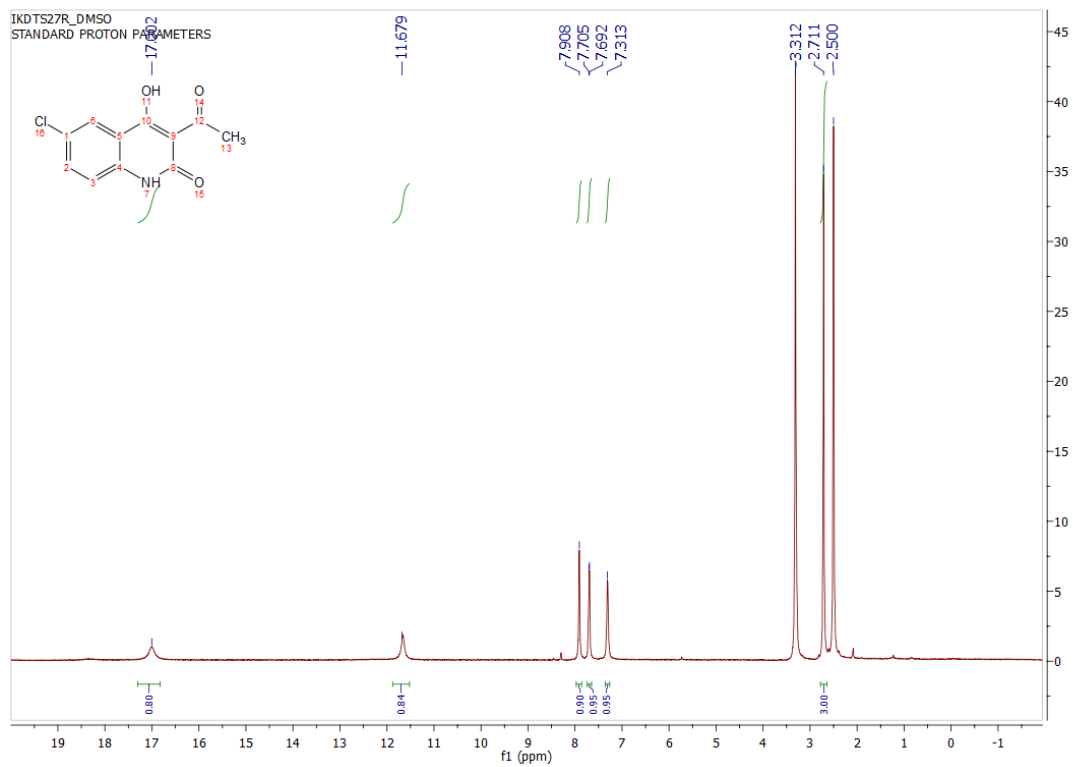
Εικόνα 62. Φάσμα FT-IR της Ένωσης 7b



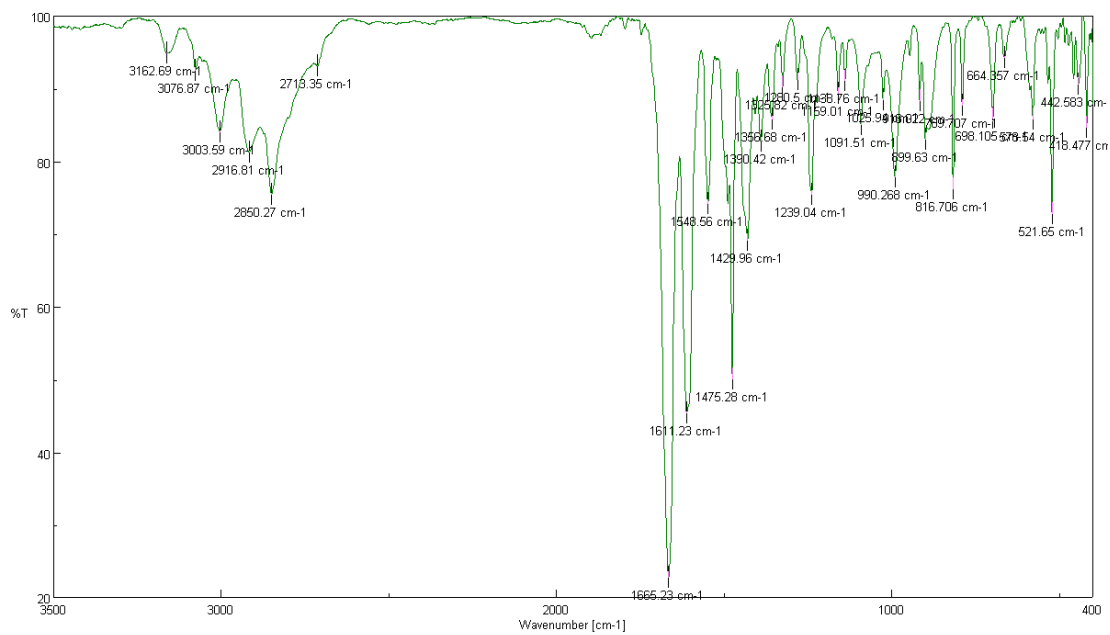
Εικόνα 63. Φάσμα <sup>1</sup>H NMR της Ένωσης 7c



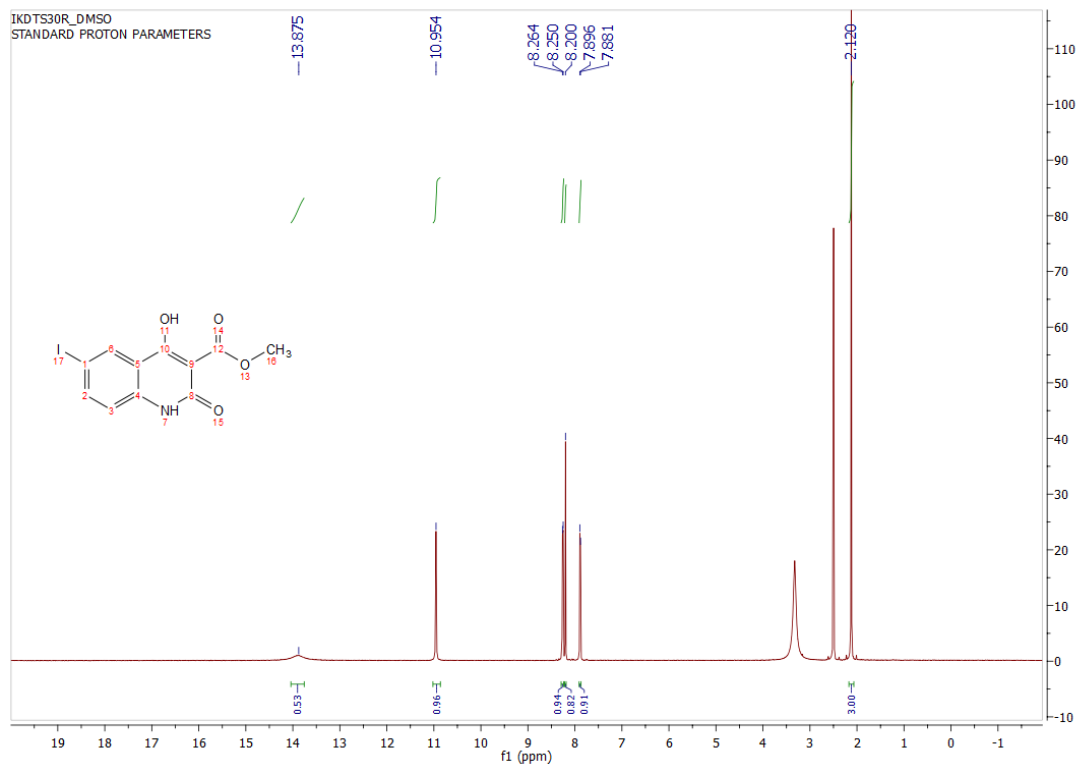
Εικόνα 64. Φάσμα FT-IR της Ένωσης 7c



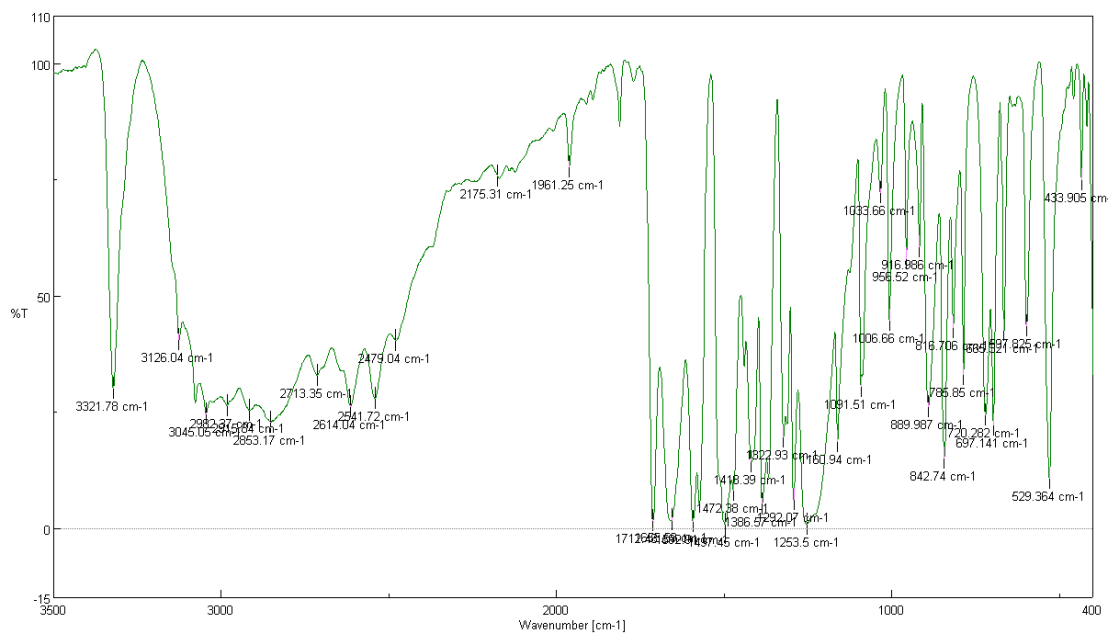
Εικόνα 65. Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της Ένωσης 7d



Εικόνα 66. Φάσμα FT-IR της Ένωσης 7d



Εικόνα 67. Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της Ένωσης 7e



Εικόνα 68. Φάσμα FT-IR της Ένωσης 7e

## ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1. Χημική δομή N-υποκατεστημένων-3-μεθυλοκαρβονυλο-4-υδρόξυ-2-κινολινονών	7
Εικόνα 2. Χημική δομή 3-ακέτυλο-4-υδρόξυ-2-κινολινονών.....	7
Εικόνα 3. Κινολίνη, η απλούστερη δομή των κινολινονών.....	11
Εικόνα 4. Ναλιδιξικό οξύ.....	11
Εικόνα 5. Γενική δομή των αλκαλοειδών της κιχόνης.....	12
Εικόνα 6. <i>Cinchona pubescens</i> .....	12
Εικόνα 7. Κινολινονικό Παράγωγο του Aripiprazole με αντικαταθλιπτική δράση.....	12
Εικόνα 8. Τετραϋδροκινολινόνες.....	13
Εικόνα 9. Αμίνες με 2-χλωροκινολινόνη.....	13
Εικόνα 10. Χλωροκίνη και 2-υποκατεστημένες κινολινόνες με αντιπρωτοζωική δράση.....	14
Εικόνα 11. 2,4-αρυλοκινολινόνες με ανθελμινθική δράση.....	14
Εικόνα 12. 3-βενζυλ-6-βρωμο-2-μεθόξυ και 7-χλώρο κινολινόνες.....	15
Εικόνα 13. Φθοροκινολινόνες με αντιβακτηριακή δράση.....	15
Εικόνα 14. Ανιλιδοκινολινόνη.....	16
Εικόνα 15. Κινολινόνες με ανασταλτική δράση στον ιό 1-HIV.....	16
Εικόνα 16. Κινολινόνες με αντικαρκινική δράση.....	17
Εικόνα 17. Κινολινόνες με αναλγητική Δράση.....	17
Εικόνα 18. Κινολινόνες με αντιφλεγμονώδη δράση.....	18
Εικόνα 20. Κινολινόνες με αντιοξειδωτική δράση.....	19
Εικόνα 21. Γενική δομή κινολινόνης.....	20
Εικόνα 22. Χημικές δομές των δραστικών ciprofloxacin, ofloxacin και tosufloxacin.....	20
Εικόνα 23. Χημική δομή της δραστικής prulifloxacin.....	21
Εικόνα 24. Χημική δομή της δραστικής sparfloxacin.....	21
Εικόνα 25. Χημική δομή της δραστικής fleroxacin.....	22
Εικόνα 26. Χημική δομή της δραστικής primaquine.....	22
Εικόνα 27. Χημικές δομές των δραστικών norfloxacin, tosufloxacin, moxifloxacin.....	22
Εικόνα 28. Χημικές δομές των δραστικών enoxacin, lomefloxacin, besifloxacin.....	23
Εικόνα 29. Σύγκριση επιτευχθείσας θερμοκρασίας του ίδιου υλικού μετά από χρόνο 1 min με μικροκύματα (αριστερά) και σε λουτρό λαδιού (δεξιά).....	27
Εικόνα 30. Μηχανισμοί θέρμανσης μέσω μικροκυματικής ακτινοβολίας.....	28
Εικόνα 30. Μόρια που επιχειρούν να διέλθουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό.....	38
Εικόνα 31. Διαφορά ενέργειας μεταξύ θεμελιώδους και διεγερμένης κατάστασης για ένα πρωτόνιο υφιστάμενο μαγνητικό συντονισμό.....	56
Εικόνα 32. Συσχέτιση της διαφοράς ενέργειας των πυρήνων με την ισχύ του επιβαλλόμενου πεδίου.....	56
Εικόνα 33. Σχηματική Απεικόνιση της διάταξης ενός παλμικού φασματόμετρου (FT-NMR)	58
Εικόνα 34. Περιοχές της υπέρυθρης ακτινοβολίας.....	59
Εικόνα 35. Είδη δονήσεων μιας μεθυλενικής ομάδας.....	61
Εικόνα 36. Σχηματική απεικόνιση ενός συμβατικού φασματοφωτόμετρου και ενός υπέρυθρου μετασχηματισμού Fourier.....	62
Εικόνα 38. Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της κινολινόνης 3d.....	89
Εικόνα 39. Χημικές Μετατοπίσεις των Πρωτονίων των Μεθυλομάδων της ένωσης 3d.....	90

Εικόνα 40. Χημικές Μετατοπίσεις των Πρωτονίων της Αλειφατικής Αλυσίδας της ένωσης 3d .....	91
Εικόνα 41. Χημικές Μετατοπίσεις Πρωτονίων του Αρωματικού Δακτυλίου της ένωσης 3d .	92
Εικόνα 42. Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της κινολινόνης 7a .....	93
Εικόνα 43. Χημικές Μετατοπίσεις Πρωτονίων της Αρωματικού Δακτυλίου της ένωσης 7a..	94
Εικόνα 44. Χημική Μετατόπιση των Πρωτονίων της Καρβονυλομάδας της ένωσης 7a .....	95
Εικόνα 45. Φάσμα FT-IR της κινολινόνης 3c .....	96
Εικόνα 46. Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της Ένωσης 3a .....	112
Εικόνα 47. Φάσμα FT-IR της Ένωσης 3a.....	112
Εικόνα 48. Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της Ένωσης 3b.....	113
Εικόνα 49. Φάσμα FT-IR της Ένωσης 3b.....	113
Εικόνα 50. Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της Ένωσης 3c .....	114
Εικόνα 51. Φάσμα FT-IR της Ένωσης 3c.....	114
Εικόνα 52. Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της Ένωσης 3d.....	115
Εικόνα 53. Φάσμα FT-IR της Ένωσης 3d.....	115
Εικόνα 54. Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της Ένωσης 3e .....	116
Εικόνα 55. Φάσμα FT-IR της Ένωσης 3e.....	116
Εικόνα 56. Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της Ένωσης 3f.....	117
Εικόνα 57. Φάσμα FT-IR της Ένωσης 3f .....	117
Εικόνα 58. Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της Ένωσης 3g .....	118
Εικόνα 59. Φάσμα FT-IR της Ένωσης 3g.....	118
Εικόνα 60. Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της Ένωσης 7a .....	119
Εικόνα 61. Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της Ένωσης 7b.....	120
Εικόνα 62. Φάσμα FT-IR της Ένωσης 7b.....	120
Εικόνα 63. Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της Ένωσης 7c .....	121
Εικόνα 64. Φάσμα FT-IR της Ένωσης 7c.....	121
Εικόνα 65. Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της Ένωσης 7d.....	122
Εικόνα 66. Φάσμα FT-IR της Ένωσης 7d.....	122
Εικόνα 67. Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της Ένωσης 7e .....	123
Εικόνα 68. Φάσμα FT-IR της Ένωσης 7e.....	123

## ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 18. Σύνθεση N-υποκατεστημενων-4-υδροξυ-κινολινονών.....	20
Σχήμα 19. Σύνθεση 4-υδροξυ-2-κινολινονών.....	20
Σχήμα 20. Σύνθεση N-υποκατεστημενων-4-υδροξυ-2-κινολινονών.....	20
Σχήμα 21. Σύνθεση 2,4-διφενυλο-2-μεθυλ-1,2-διυδροκινολινόνης.....	20

Σχήμα 22.	Σύνθεση	2,3,4,	-τρι-υποκατεστημένων
κινολινονών.....			21
Σχήμα 23.	Σύνθεση		3,4-διυδροκινολιν-2-
όνης.....			21
Σχήμα 24.	Σύνθεση		2,4-δι-υποκατεστημένων
κινολινονών.....			21
Σχήμα 25.	Σύνθεση		πολυ-υποκατεστημένων
κινολινονών.....			22
Σχήμα 26.	Σύνθεση	κινολινονών με	υπερήχους και ιοντικό
υγρό.....			22
Σχήμα 27.	Σύνθεση	3-υποκατεστημένων-4-υδροξυ-2-κινολινονών με	χρήση μικροκυματικής
ακτινοβολίας.....			22
Σχήμα 28.	Κλασικές μέθοδοι	σύνθεσης	κινολινονών.....
			23
Σχήμα 29.	Οι ισορροπίες	κατά την	κατανομή της προπανολόλης σε
νερού.....			σύστημα οκτανόλης-39
Σχήμα 30.	Μηχανισμός	SN2	της N-ακυλίωσης.....
			48
Σχήμα 31.	Μηχανισμός	C-ακυλίωσης.....	49
Σχήμα 32.	Μηχανισμός	Ακετυλίωσης	Ανθρανιλικού Οξέος.....
			50
Σχήμα 33.	Μηχανισμός	Ενδομοριακής	Αλδολικής Συμπύκνωσης.....
			50