



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

Διπλωματική Εργασία

**«Σχεδιασμός, σύνθεση και χαρακτηρισμός δομής
νέων πολυ-υποκατεστημένων κινολινονών και
αξιολόγηση της βιολογικής δράσης τους»**

Μήτρου Γεώργιος

Επιβλέπουσα:

Δρ Αναστασία Δέτση, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια

ΑΘΗΝΑ, 2020

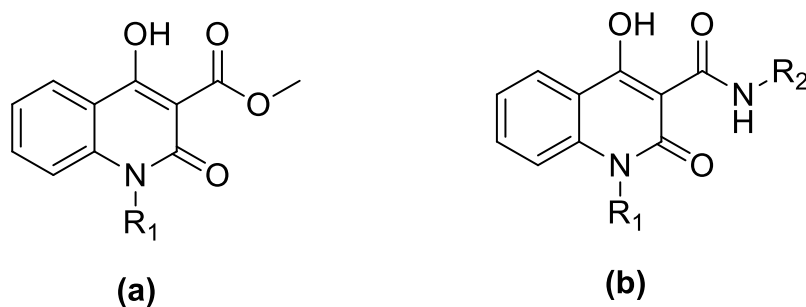
ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι κινολινόνες είναι αζωτούχες ετεροκυκλικές ενώσεις και ανήκουν στην γενική κατηγορία των αλκαλοειδών. Απαντώνται συχνά στην φύση και χάρη στις βιολογικές τους ιδιότητες χρησιμοποιούνται ευρύτατα και ως δραστικές ουσίες φαρμάκων. Η βιολογική δράση τους ποικίλει και αυτό οφείλεται στην προνομαϊκή δομή τους, που τους επιτρέπει να δέχονται πληθώρα χημικών τροποποιήσεων, παρέχοντας έτσι τη δυνατότητα εμπλουτισμού και ενίσχυσης της βιολογικής και φαρμακευτικής δράσης τους.

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι ο σχεδιασμός, η σύνθεση και ο δομικός χαρακτηρισμός νέων N-υποκατεστημένων υβριδικών κινολινονικών αναλόγων, καθώς επίσης και η μελέτη της αντιοξειδωτικής τους δράσης, μέσω της μεθόδου του DPPH και η μελέτη της κυτταροτοξικής τους δράσης, μέσω της μεθόδου MTT.

Η επιλογή των υβριδικών μορίων στηρίχτηκε σε μόρια-οδηγούς που είχαν παρασκευαστεί στο παρελθόν από την ερευνητική ομάδα του εργαστηρίου Οργανικής Χημείας ΕΜΠ και παρουσίασαν αξιόλογη αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση.

Για τον σκοπό αυτό συντέθηκαν 4 παράγωγα N-υποκατεστημένων-4-υδροξυ-3-μεθυλοκαρβονυλο-2-κινολινονών και 15 νέα υβριδικά παράγωγα κινολινονών – αμιδίων. Τα παράγωγα των κινολινονών προέκυψαν από δύο στάδια αντιδράσεων N-αλκυλίωσης και C-ακυλίωσης, ενώ τα υβριδικά μόρια προέκυψαν από μία αντίδραση Αμινόλυσης του εστέρα των κινολινονών. (Εικόνα 1)

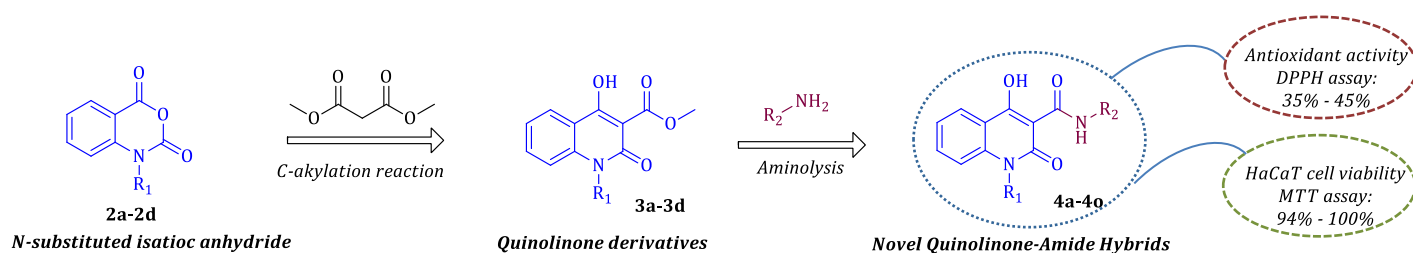


Εικόνα 1: Γενικές δομές παραγώγων (a) Κινολινονης (b) Αμιδίων

Η ταυτοποίηση της χημικής δομής όλων των συντιθέμενων μορίων πραγματοποιήθηκε μέσω Φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού Πρωτονίου (¹H NMR), Φασματοσκοπίας Υπερύθρου Μετασχηματισμού Fourier (FT-IR) και Φασματομετρίας Μάζας (MS). Όλες οι ενώσεις αξιολογήθηκαν ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση σύμφωνα με την ικανότητα τους να δεσμεύουν τη σταθερή ελεύθερη ρίζα DPPH, ενώ ακόμη ελέγχθηκαν για την

κυτταροτοξική τους δράση σε επιθηλιακά κύτταρα HaCaT, σύμφωνα με την μέθοδο MTT.

Μεταξύ όλων των μορίων που συντέθηκαν, καλύτερη αντιοξειδωτική δράση εμφάνισαν τα υβριδικά μόρια **4a**, **4c**, **4k**, **4l** τα οποία παρουσίασαν ποσοστό αναστολής της ρίζας μεγαλύτερο από 35%. Επιπλέον, όλα τα νέα υβριδικά μόρια παρουσίασαν ποσοστό επιβίωσης των κυττάρων HaCaT μεγαλύτερο από 96%, γεγονός που τα καθιστά ασφαλή για την περαιτέρω χρήση τους σε ανθρώπινα κύτταρα.



Εικόνα 2: Οπτικοποιημένη περίληψη

ABSTRACT

Quinolinones are nitrogenous heterocyclic compounds and belong to the general class of alkaloids. They are often found in nature and thanks to their biological properties are widely used as active substances in medicine. Their biological action varies, this is due to their privileged structure, which allows them to accept a variety of chemical modifications, thus providing the ability to enrich and enhance their biological and medicinal action.

The purpose of this research is the design, synthesis and structural characterization of new N-substituted hybrid quinolinone analogs, as well as the study of their antioxidant activity, via the DPPH method and the study of their cytotoxicity against the HeCaT cell line, via the MTT method.

The selection of the synthesized hybrid molecules was based on guide-molecules that had been previously prepared by the research team of the NTUA Organic Chemistry laboratory and have showed remarkable antioxidant and anti-inflammatory activity.

For this purpose, 4 N-substituted-4-hydroxy-3-methylcarbonyl-2-quinolinone derivatives and 14 new quinolinone-amide hybrids were synthesized. Quinolinone derivatives were obtained via two steps, one of N-alkylation and one C-acylation reaction, while hybrid molecules were derived from a reaction in which quinolinone derivatives are involved in an ester aminolysis. (Figure 1)

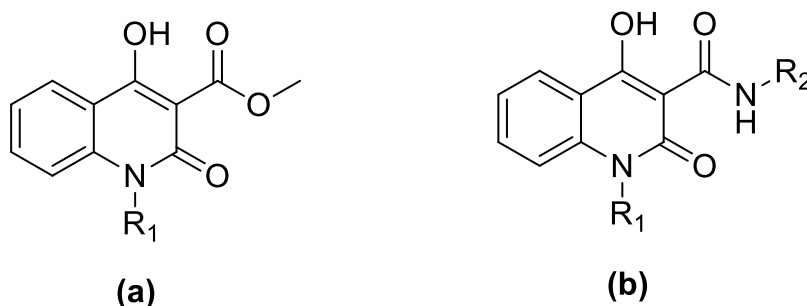


Figure 1: General structures derivatives of (a) Quinolinones (b) Amides

The chemical structure of all the synthesized molecules was identified through Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (^1H NMR), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) and Mass Spectroscopy (MS). Furthermore, all the analogues were evaluated for their antioxidant activity, according to their ability to scavenge the free and stable DPPH radical, while they were also tested for their cytotoxic activity to epithelial cells HaCat, according to the MTT method.

Among all the 19 synthesized molecules, the hybrids which possessed the best antioxidant activity were the compounds **4a**, **4c**, **4k**, **4l** which showed an inhibition

rate greater than 35%. Furthermore, all the novel hybrids exhibited cell viability rate greater than 96%, which makes them safe for further use in human cells.

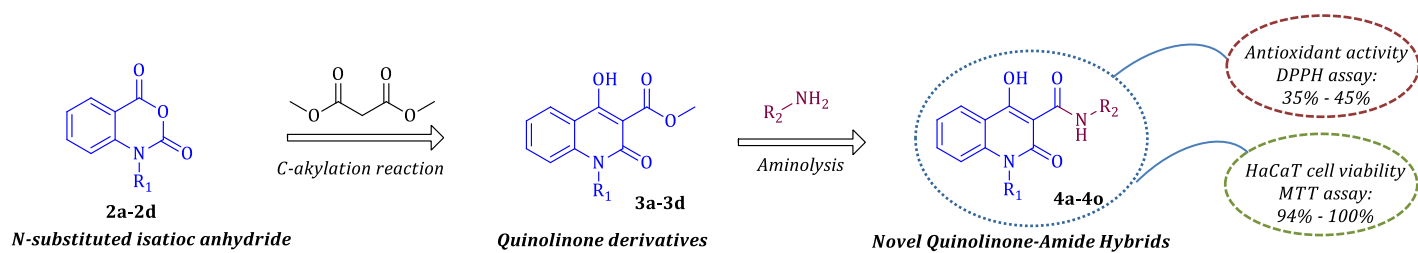


Figure 2: Graphical Abstract

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Τμήματος Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, κατά το ακαδημαϊκό έτος 2018-2019, υπό την επίβλεψη της Δρ. Αναστασίας Δέτση, Αναπληρώτριας Καθηγήτριας Ε.Μ.Π.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την Δρ. Αναστασία Δέτση, για την ευκαιρία που μου έδωσε να εργαστώ πάνω σε ένα τόσο ενδιαφέρον θέμα αλλά κυρίως για τη βοήθεια και την καθοδήγηση που μου προσέφεραν καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας. Η εμπιστοσύνη της σε εμένα, αλλά και ο τρόπος προσέγγισης της στο μαθησιακό κομμάτι, με οδήγησαν να αγαπήσω την οργανική χημεία και ειδικότερα την οργανική σύνθεση.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα την υποψήφια διδάκτορα στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας Ε.Μ.Π., Ιωάννα Κωστοπούλου για την ακούραστη στήριξή της, την άμεση βοήθεια της σε ότι πρόβλημα κι αν προέκυπτε, είτε αυτό ήταν πειραματικού αντικειμένου, είτε ήταν γνωστικού, καθώς και για την άψογη συνεργασία μας.

Επιπλέον, ευχαριστώ την Μαριάννα Καραδένδρου, υποψήφια διδάκτορα στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας Ε.Μ.Π., που με την σειρά της με βοήθησε πάρα πολύ σε όλη την διάρκεια της διπλωματικής μου εργασίας, όπως επίσης ευχαριστώ και ένα ένα, ξεχωριστά όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας Ε.Μ.Π. για την αρμονική συνεργασία και το πάντα ευχάριστο κλίμα που υπήρχε.

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

Τέλος, οφείλω να ευχαριστήσω τους συγγενείς και φίλους μου για την υποστήριξη και την συμπαράστασή τους όλα αυτά τα χρόνια.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΟΧΟΜΕΝΩΝ

1	ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	12
1.1	Κινολινόνες	12
1.1.1	Βιολογική Δράση.....	13
1.1.2	Συσχέτιση Δομής με Αντιμικροβιακή Δράση	20
1.1.3	Γενικές Μέθοδοι Σύνθεσης Κινολινονών	23
1.2	Αμίδια	25
1.2.1	Βιολογική Δράση.....	26
1.2.2	Διαλύτες.....	31
1.2.3	Πολυμερή.....	31
1.2.4	Γενικοί Τρόποι Σύνθεσης Αμιδίων	32
1.3	Υβριδικά Μόρια	36
1.3.1	Ορισμός Υβριδικών Μορίων.....	36
1.3.2	Πλεονεκτήματα Υβριδικών Μορίων.....	38
2	ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ ΝΕΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ	39
2.1	Σχεδιασμός Νέων Υβριδικών Μορίων	39
2.1.1	Σύνθεση N – υποκατεστημένου ισατοϊκού ανυδρίτη	40
2.1.2	Σύνθεση N-υποκατεστημενης-3-μεθυλοκαρβονυλο-4-υδροξυ-2-κινολινονης	40
2.1.3	Σύνθεση Υβριδικών Μορίων κινολινονών – αμιδίων	40
2.2	Μηχανισμοί Αντιδράσεων	41
2.2.1	Μηχανισμός N – αλκυλίωσης.....	41
2.2.2	Μηχανισμός C – αλκυλίωσης.....	42
2.2.3	Μηχανισμός αμινόλυσης εστέρων.....	43
3	ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΕΝΩΣΕΩΝ – ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ	45
3.1	Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)	45
3.1.1	Αρχή λειτουργίας.....	46
3.1.2	Οργανολογία NMR.....	48
3.2	Φασματοσκοπία Υπερύθρου (IR).....	50
3.2.1	Αρχή λειτουργίας.....	50
3.2.2	Οργανολογία IR.....	54
3.3	Φασματοσκοπία Μάζας (MS)	56

3.3.1	Αρχή λειτουργίας.....	56
3.3.2	Οργανολογία MS.....	57
3.4	Σταθερή Ελεύθερη Ρίζα DPPH.....	58
3.5	Μέθοδος Κυτταροτοξικής Δράσης MTT.....	59
4	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	60
4.1	Όργανα και Συσκευές.....	60
4.2	Συνθετική Πορεία Νέων Ενώσεων.....	61
4.2.1	Γενική Μέθοδος Σύνθεσης Κινολινονών.....	61
4.2.2	Υποκαταστάσεις Ισατοϊκού Ανυδρίτη.....	62
4.2.3	Μόρια Κινολινονών.....	64
4.2.4	Γενική μέθοδος σύνθεσης υβριδικών μορίων κινολινόνης – αμιδίου 68	
4.2.5	Υβριδικά μόρια κινολινόνης – αμιδίου.....	68
4.3	Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης μέσω της μεθόδου DPPH.....	84
4.4	Προσδιορισμός της κυτταροτοξικής δράσης σε επιθηλιακά κύτταρα HaCaT, μέσω της μεθόδου MTT.....	85
5	Αποτελέσματα – Συζήτηση.....	86
5.1	Αποτελέσματα Σύνθεσης.....	86
5.1.1	Ανάλυση Φάσματος NMR.....	86
5.1.2	Ανάλυση Φάσματος IR.....	88
5.1.3	Ανάλυση Φάσματος MS.....	90
5.2	Αποτελέσματα Αντιοξειδωτικής Δράσης.....	92
5.3	Συζήτηση Αποτελεσμάτων Αντιοξειδωτικής Δράσης.....	96
5.4	Αποτελέσματα Κυτταροτοξικής Δράσης.....	98
5.5	Συζήτηση Αποτελεσμάτων Κυτταροτοξικής Δράσης.....	101
6	Συμπεράσματα.....	103
7	Μελλοντική Έρευνα.....	105

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Γενικές δομές παραγώγων (α) Κινολινόνης (β) Αμιδίων.....	1
Εικόνα 2: Οπτικοποιημένη περίληψη.....	2
Εικόνα 3: Γενική δομή κινολινονών	12
Εικόνα 4: Γενικές δομές κινολινόνης	13
Εικόνα 5: Δομή Ναλιδιξικού Οξέως	13
Εικόνα 6: Κινολινόνες με αντικαρκινική δράση	14
Εικόνα 7: Κινολινόνες με ανθελονοσιακή δράση	14
Εικόνα 8: Κινολινόνη για τη θεραπεία AD	15
Εικόνα 9: Κινολινόνες με αντιοξειδωτική δράση	16
Εικόνα 10: Κινολινόνες με αντιβρακτηριακή δράση	17
Εικόνα 11: Κινολινόνες με αντιφλεγμονώδη δράση.....	18
Εικόνα 12: Κινολινόνες με αντική δράση.....	19
Εικόνα 13: Κινολινόνη με αντιμυκητιακή δράση.....	19
Εικόνα 14: Υποκαταστάτες κινολινόνης.....	20
Εικόνα 15: Υποκαταστάτης κινολινόνης θέσης 1	20
Εικόνα 16: Υποκαταστάτης κινολινόνης θέσης 2	21
Εικόνα 17: Υποκαταστάτες κινολινόνης θέση 5	21
Εικόνα 18: Υποκαταστάτης κινολινόνης θέση 6	22
Εικόνα 19: Υποκαταστάτες κινολινόνης θέση 7	22
Εικόνα 20: Υποκαταστάτες κινολινόνης θέση 8	23
Εικόνα 21: Σύνθεση 4-υδροξυκινολινονών	24
Εικόνα 22: Σύνθεση 3,4-διυδροκινολιν-2-όνης.....	24
Εικόνα 23: Σύνθεση κινολινόνης με αλδολική συμπύκνωση	24
Εικόνα 24: Σύνθεση 4-υδροξυ-2-κινολινονών.....	24
Εικόνα 25: Σύνθεση 4-υδροξυ-2-κινολινονών με ενεργό βενζοτριαζολυλεστέρα..	25
Εικόνα 26: Σύνθεση 3,4-υποκατεστημένων-5,8-διμεθοξυ-διμεθυλοκινολινών.....	25
Εικόνα 27: Σύνθεση 3-υποκατεστημένων-4-υδροξυ-2-κινολινονών με πράσινη μεθοδολογία	25
Εικόνα 28: Γενική δομή αμιδίου	26
Εικόνα 29: Δομές αμιδίων με φαρμακευτική δράση	27
Εικόνα 30: Αμίδια με αντιβακτηριακή δράση	27
Εικόνα 31: Δομές αμιδίων με αντιφλεγμονώδη δράση.....	28
Εικόνα 32: Δομές αμιδίων με αντιοξειδωτική δράση	28
Εικόνα 33: Δομές αμιδίων με αντικαρκινική δράση	29
Εικόνα 34: Δομές αμιδίων με αντιμυκητιακή δράση.....	30
Εικόνα 35: Δομές αιδίων με ανθελονοσιακή δράση	31
Εικόνα 36: Δομή Διμεθυλομεθαναμιδίου.....	31
Εικόνα 37: Δομές αμιδικών πολυμερών.....	32
Εικόνα 38: Σύνθεση πεπτιδίου.....	32
Εικόνα 39: Σύνθεση αμιδίου με αμινοκαρβονυλίωση αρυλοχλωριδίου	33

Εικόνα 40: Σύνθεση αμιδικού δεσμού με καταλύτη πορφυρινικό ρουθίνιο.....	33
Εικόνα 41: Σύνθεση αμιδίου με αναδιάταξη Charman.....	33
Εικόνα 42: Σύνθεση αμιδίου με αντίδραση Ritter.....	33
Εικόνα 43: Σύνθεση αμιδίου με αντίδραση αμινόλυσης.....	34
Εικόνα 44: Σύνθεση αμιδίου με αντίδραση Leuckart.....	34
Εικόνα 45: Σύνθεση αμιδίου με αντίδραση Passerini.....	34
Εικόνα 46: Σύνθεση αμιδίου με αντίδραση Ugi.....	35
Εικόνα 47: Κατηγορίες των υβριδικών μορίων.....	36
Εικόνα 48: Υβριδικά μόρια με χρήση συνδέτη, διασπάσιμος και μη διασπάσιμος.....	37
Εικόνα 49: Υβριδικά μόρια με συνένωση.....	37
Εικόνα 50: Υβριδικά μόρια με αλληλοεπικάλυψη.....	37
Εικόνα 51: Τα μόρια-οδηγοί της παρούσας διπλωματικής εργασίας.....	39
Εικόνα 52: Αντίδραση N – αλκυλίωσης.....	40
Εικόνα 53: Αντίδραση C – ακυλίωσης.....	40
Εικόνα 54: Αντίδραση αμινόλυσης εστέρα.....	41
Εικόνα 55: Σχηματική απεικόνιση μηχανισμού N – αλκυλίωσης.....	42
Εικόνα 56: Σχηματική απεικόνιση μηχανισμού C – ακυλίωσης.....	43
Εικόνα 57: Δεσμός υδρογόνου που σταθεροποιεί την ενολική μορφή του μορίου.....	43
Εικόνα 58: Μηχανισμοί αμινόλυσης εστέρα (α) Μέσω διπολικών ενδιάμεσων (b) Μέσω ουδέτερων ενδιάμεσων (c) Μέσω συντονισμού.....	44
Εικόνα 59: Προσανατολισμός των μαγνητικών ροπών των πρωτονίων (α) απουσία εξωτερικού μαγνητικού πεδίου ή (β) παρουσία εξωτερικού μαγνητικού πεδίου... ..	46
Εικόνα 60: Ενεργειακή διαφορά μεταξύ α και β καταστάσεων spin που δημιουργείται από την εφαρμογή εξωτερικού μαγνητικού πεδίου.....	47
Εικόνα 61: Οργανολογία φασματομέτρου NMR.....	49
Εικόνα 62: Περιοχές υπέρυθρης ακτινοβολίας.....	51
Εικόνα 63: Βασικοί τύποι δονήσεων τάσης και κάμψης των μοριακών δομών στην IR φασματοσκοπία.....	53
Εικόνα 64: Χαρακτηριστικές ομάδες σε φάσμα IR.....	54
Εικόνα 65: Φασματοφωτόμετρο FTIR με συμβολόμετρο.....	55
Εικόνα 66: Σχηματική απεικόνιση φασματογράφου μάζας (MS).....	57
Εικόνα 67: Χημική δομή μορίου DPPH.....	58
Εικόνα 68: Αλλαγή χρώματος DPPH στην αντιοξειδωτική δράση.....	58
Εικόνα 69: Μετατροπή MTT σε φορμαζάνη.....	59
Εικόνα 70: Αλλαγή χρώματος MTT σε φορμαζάνη.....	59
Εικόνα 71: Αντιδράσεις σύνθεσης κινολινονών.....	61
Εικόνα 72: Αντίδραση σύνθεσης υβριδικών μορίων.....	68
Εικόνα 73: Η ειδική πλάκα (plate) που τοποθετούνται τα δείγματα για την μέθοδο DPPH.....	84
Εικόνα 74: Φάσμα ¹ HNMR της ένωσης 4a.....	87
Εικόνα 75: Περιοχή αρωματικών πρωτονίων της ένωσης 4a.....	88
Εικόνα 76: Φάσμα FT - IR της ένωσης 4b.....	89

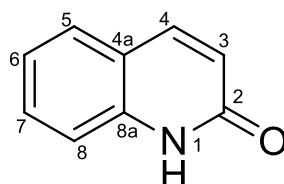
Εικόνα 77: Φάσμα MS της ένωσης 4i	90
Εικόνα 78: Δεσμός υδρογόνου.....	96
Εικόνα 79: Τα 4 κινολινοικά παράγωγα	103
Εικόνα 80: Δομές υβριδίων με την καλύτερη % αναστολή	104
Εικόνα 81: Δομές υβριδίων με την πιο αυξημένη τοξικότητα	104
Εικόνα 82: Θέσεις για δομικές αλλαγές για μελλοντική έρευνα.....	105
Εικόνα 83: Φάσμα NMR της ένωσης 3a	113
Εικόνα 84: Φάσμα NMR της ένωσης 3b	114
Εικόνα 85: Φάσμα NMR της ένωσης 3c.....	114
Εικόνα 86: Φάσμα NMR της ένωσης 3d	115
Εικόνα 87: Φάσμα NMR της ένωσης 4a	115
Εικόνα 88: Φάσμα NMR της ένωσης 4b	116
Εικόνα 89: Φάσμα NMR της ένωσης 4c.....	116
Εικόνα 90: Φάσμα NMR της ένωσης 4d	117
Εικόνα 91: Φάσμα NMR της ένωσης 4e	117
Εικόνα 92: Φάσμα NMR της ένωσης 4f.....	118
Εικόνα 93: Φάσμα NMR της ένωσης 4i	118
Εικόνα 94: Φάσμα NMR της ένωσης 4j	119
Εικόνα 95: Φάσμα NMR της ένωσης 4k	119
Εικόνα 96: Φάσμα NMR της ένωσης 4l	120
Εικόνα 97: Φάσμα NMR της ένωσης 4m.....	120
Εικόνα 98: Φάσμα IR της ένωσης 4a.....	121
Εικόνα 99: : Φάσμα IR της ένωσης 4b	121
Εικόνα 100: Φάσμα IR της ένωσης 4c.....	122
Εικόνα 101: Φάσμα IR της ένωσης 4d	122
Εικόνα 102: Φάσμα IR της ένωσης 4e.....	123
Εικόνα 103: Φάσμα IR της ένωσης 4f.....	123
Εικόνα 104: Φάσμα IR της ένωσης 4g	124
Εικόνα 105: Φάσμα IR της ένωσης 4h	124
Εικόνα 106: Φάσμα IR της ένωσης 4i	125
Εικόνα 107: Φάσμα IR της ένωσης 4j.....	125
Εικόνα 108: Φάσμα IR της ένωσης 4k	126
Εικόνα 109: Φάσμα IR της ένωσης 4l.....	126
Εικόνα 110: Φάσμα IR της ένωσης 4m.....	127
Εικόνα 111: Φάσμα IR της ένωσης 4n	127
Εικόνα 112: Φάσμα IR της ένωσης 4o	128
Εικόνα 113: Φάσμα MS της ένωσης 4b	128
Εικόνα 114: Φάσμα MS της ένωσης 4c.....	129
Εικόνα 115: Φάσμα MS της ένωσης 4h	129
Εικόνα 116: Φάσμα MS της ένωσης 4i.....	129
Εικόνα 117: Φάσμα MS της ένωσης 4j.....	130
Εικόνα 118: Φάσμα MS της ένωσης 4k.....	130

<i>Εικόνα 119: Φάσμα MS της ένωσης 4l</i>	130
<i>Εικόνα 120: Φάσμα MS της ένωσης 4o</i>	131

1 ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1 Κινολινόνες

Οι κινολινόνες, ανήκουν στην κατηγορία αρωματικών ετεροκυκλικών ενώσεων συμπτυκνωμένων δακτυλίων και ειδικότερα στην ομάδα των αλκαλοειδών. Τα αλκαλοειδή στον ορισμό τους είναι κυκλικές οργανικές ενώσεις που περιέχουν άζωτο σε αρνητική οξειδωτική βαθμίδα, η οποία κατανέμεται εντός περιορισμένων ορίων στους ζώντες οργανισμούς. Πρόκειται για φυσικές ενώσεις, με βασικές ιδιότητες οι οποίες συνήθως εμφανίζουν βιολογική δράση στα ζώα ή στον άνθρωπο. Η δομή της κινολινόνης είναι χαρακτηριστική πολυάριθμων φυσικών προϊόντων και συνθετικών ανάλογων που παρουσιάζουν μια ευρεία ποικιλία βιολογικών δραστηριοτήτων. Η ευρεία ποικιλία των βιολογικών ιδιοτήτων των κινολινονών, οφείλεται στην προνομιακή δομή που διαθέτουν και μπορεί να δώσει πολλά διαφορετικά ανάλογα και πολλές διαφορετικές υποκαταστάσεις στο μόριο τους. Αυτό συμβαίνει, αφενός γιατί έχει πολλές θέσεις κενές και ικανές προς υποκατάσταση και αφετέρου, γιατί έχει διττή φύση και μπορεί να λειτουργήσει το μόριο και σαν πυρηνόφιλο και σαν ηλεκτρονιόφιλο. [1] [2] [3]

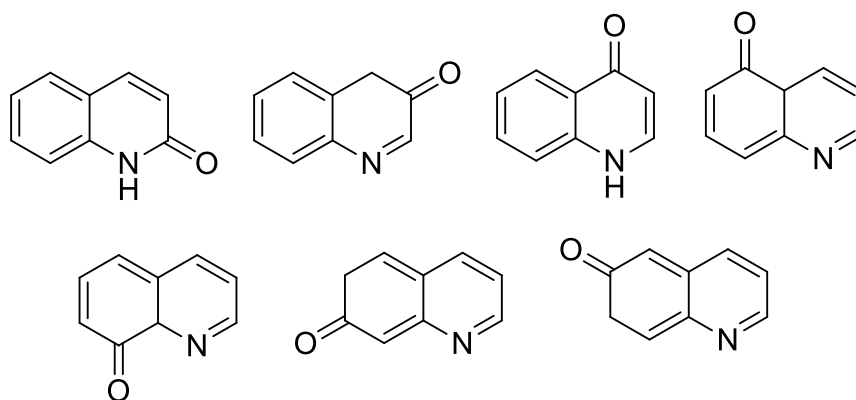


Chemical Formula: C_9H_7NO

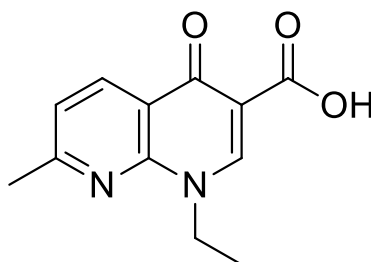
Εικόνα 3: Γενική δομή κινολινονών

Στις δομές των κινολινονών μπορεί το άτομο του οξυγόνου να είναι σε όλες τις αριθμημένες θέσεις του μορίου της Εικόνας 1, καθιστώντας το μόριο ως προνομιακό.

Το 1962 έγινε η ανακάλυψη του πρώτου αντιβιοτικού φαρμάκου της οικογένειας των κινολινονών, από τον George Leshner και την ομάδα του, το ναλιδιξικό οξύ. Το συγκεκριμένο προϊόν ήταν η αρχή της έρευνας για τις δομές της κινολινόνης και των παραγώγων της. [4] [5]



Εικόνα 4: Γενικές δομές κινολινόνης

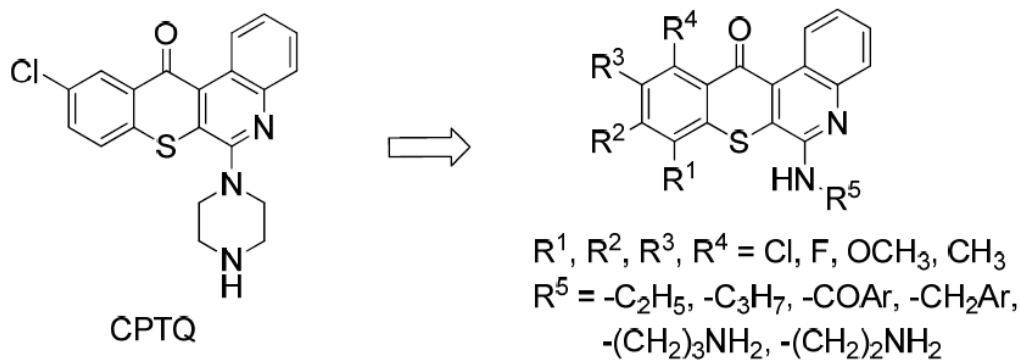


Εικόνα 5: Δομή Ναλιδιξικού Οξέως

1.1.1 Βιολογική Δράση

1.1.1.1 Αντικαρκινική δράση

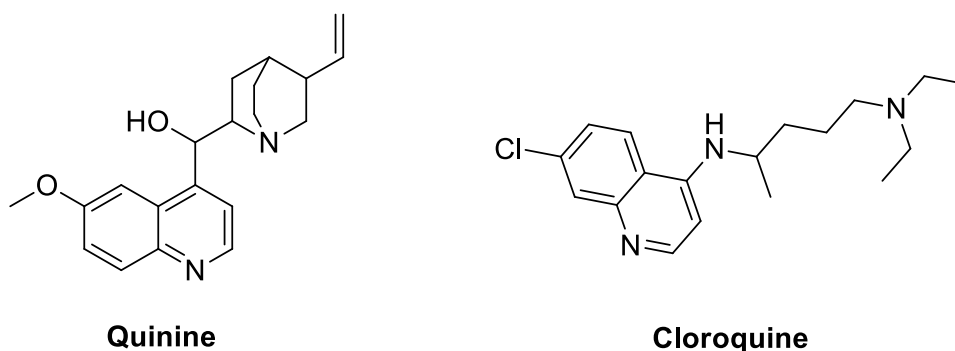
Ο καρκίνος, επίσης γνωστός ως κακοήθης όγκος ή κακοήθες νεόπλασμα, είναι μία ομάδα ασθενειών που έχουν σχέση με την αφύσικη κυτταρική ανάπτυξη με πιθανότητα εισβολής ή διάδοσης σε άλλα μέρη του σώματος. Με την βασική δομή των κινολινονών, έχουν συντεθεί παράγωγα τα οποία έχουν αντικαρκινική δράση. Πιο συγκεκριμένα, συντέθηκαν μια σειρά από thiochromeno[2,3-c]quinolin-12-one και παράγωγα της ένωσης αυτής και αξιολογήθηκαν ως αναστολείς της τοποϊσομεράσης (Topo). Το καλύτερο παράγωγο ήταν η 10-chloro-6-(piperazin-1-yl)-12H-thiochromeno[2,3-c]quinolin-12-one (CPTQ).^{[6] [7]}



Εικόνα 6: Κινολινόνες με αντικαρκινική δράση

1.1.1.2 Ανθελονοσιακή Δράση

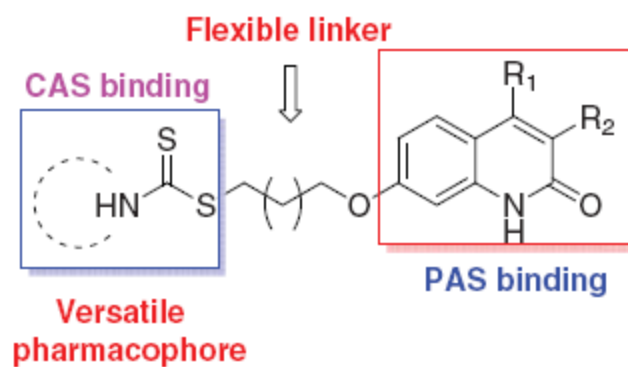
Η ελονοσία είναι μια λοιμώδης ασθένεια που προκαλείται από πρωτόζωα του γένους *Plasmodium*, τα οποία παρασιτούν στα ερυθροκύτταρα των οργανισμών, ενώ η μετάδοση τους στον άνθρωπο, γίνεται από το τσίμπημα ενός θηλυκού κουνουπιού του γένους *Anopheles*. Όταν το μολυσμένο έντομο προσβάλλει ένα άτομο, τα σποροζωΐδια εισέρχονται στο αίμα, διαπερνούν τα ερυθρά αιμοσφαίρια και διαιρούνται σχηματίζοντας μεροζωΐδια. Μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας αυτής, τα ερυθρά αιμοσφαίρια διαρρηγνύονται και τα μεροζωΐδια εισέρχονται στο πλάσμα του αίματος. Τα ανθελονοσιακά φάρμακα των κινολινονών δρουν κυρίως στο επίπεδο των μεροζωΐδιων. [3] [8]



Εικόνα 7: Κινολινόνες με ανθελονοσιακή δράση

1.1.1.3 Θεραπεία Alzheimer

Η νόσος του Alzheimer (AD), είναι μια προοδευτική και μη αναστρέψιμη νευροεκφυλιστική διαταραχή και είναι η συνηθέστερη αιτία που οδηγεί σε εξασθένιση της μνήμης και άνοια σε ηλικιωμένους. Στα πρώτα στάδια της νόσου, εμφανίζεται δυσκολία στην ανάκληση πρόσφατων συμβάντων, ενώ στη συνέχεια παρουσιάζονται προβλήματα στη γλώσσα, τον προσανατολισμό, αλλά και διακυμάνσεις της διάθεσης και τελικά χάνονται οι σωματικές λειτουργίες και επέρχεται ο θάνατος. Η θεραπεία γίνεται μέσω της αναστολής του ενζύμου Acetylcholinesterase (AChE) και μία από τις ενώσεις που το πετυχαίνουν είναι το υβριδικό μόριο κινολινόνης με διθειοκαρβαμικό. [9] [10]



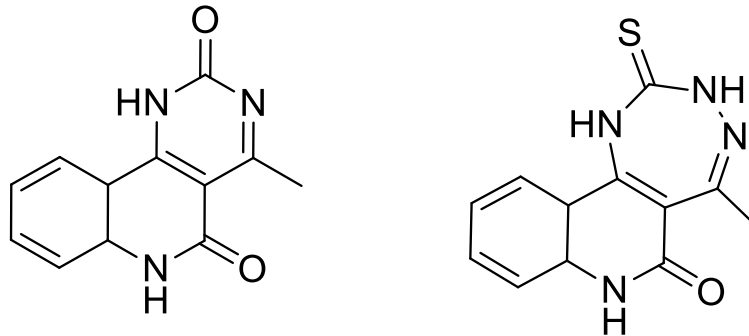
Εικόνα 8: Κινολινόνη για τη θεραπεία AD

1.1.1.4 Αντιοξειδωτική Δράση

Η αντιοξειδωτική δράση είναι μία σημαντική ιδιότητα η οποία απασχολεί ιδιαίτερα τους ερευνητές σε κάθε νεοσύστατο μόριο. Η δράση αυτή είναι απαραίτητη για τους αερόβιους οργανισμούς, έτσι ώστε να καταπολεμήσουν το οξειδωτικό στρες. Το οξειδωτικό στρες είναι μια παθολογική περίπτωση, που η αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού δεν μπορεί να καταπολεμήσει την υπερβολική παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου. Ο σχηματισμός δραστικών μορφών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS), είναι χαρακτηριστικό των αερόβιων οργανισμών, οι οποίοι μπορούν να αμυνθούν φυσιολογικά με έκκριση των κατάλληλων ενζύμων. [1]

Συγκεκριμένα για την ομάδα των κινολινονών, έγινε μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης, σε παράγωγα της 4-υδροξυ-3-ακυλ-κινολινο-2-όνης, κάνοντας δοκιμές με διάφορες μορφές οξυγόνου. Η μελέτη περιλάμβανε την ικανότητα δέσμευσης της ρίζας DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), ισοδύναμη αντιοξειδωτική ικανότητα Trolox (TEAC), σάρωση δραστικότητας ρίζας υπεροξειδίου, μεταλλική χηλική δραστηριότητα, σάρωση δράσης νιτρικού οξειδίου και ολική

αντιοξειδωτική δράση με FRAP. Οι ενώσεις που έδειξαν την καλύτερη αντιοξειδωτική δράση ήταν η 4-methyl-1H,2H,5H,6H,6aH,10aH-pyrimido[5,4-c]quinoline-2,5-dione και η 5-methyl-2-sulfanylidene-1H,2H,3H,6H,7H,7aH,11aH-[1,2,4]triazepino[6,5-c]quinolin-6-one (Εικόνα 7).^[11]

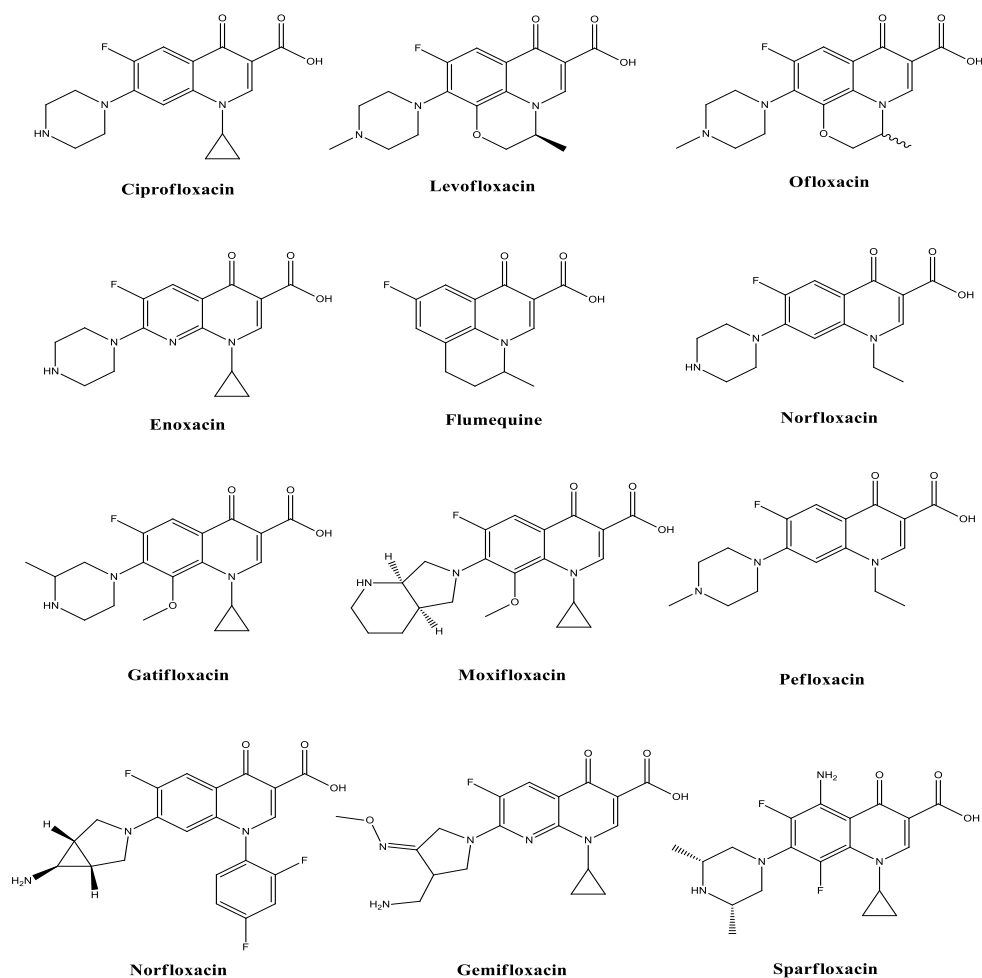


Εικόνα 9: Κινολινόνες με αντιοξειδωτική δράση

1.1.1.5 Αντιβακτηριακή Δράση

Τα βακτήρια είναι μονοκύτταροι, προκαρυωτικοί μικροοργανισμοί, που βρίσκονται σε κάθε βióτοπο της φύσης και διαχωρίζονται σε πάρα πολλά είδη. Διακρίνονται σε παθογόνους, σε μη παθογόνους και σε δυνητικά παθογόνους μικροοργανισμούς. Τα δυνητικά παθογόνα βακτήρια, αποτελούν φυσιολογική χλωρίδα μιας περιοχής, αλλά όταν εμφανιστούν σε μια διαφορετική αποκτούν την παθογόνο δράση τους, όπως κάνει το βακτήριο *Escherichia coli* στον ανθρώπινο οργανισμό. Η παθογόνος δράση στα βακτήρια εμφανίζεται με την απελευθέρωση τοξινών, οι οποίες καταστρέφουν τα κύτταρα του ξενιστή, με αποτέλεσμα την εμφάνιση πολλών ασθενειών.^[12]

Τα αντιβακτηριακά μόρια των κινολινόνων δρουν αναστέλλοντας την βακτηριακή τοποϊσομεράση II (DNA γυράση) και την τοποϊσομεράση IV σε θετικά κατά Gram είδη, αναστέλλοντας έτσι την τριτοταγή αρνητική υπερπλήρωση του βακτηριακού DNA. Αυτή η επίδραση σχετίζεται κατά πάσα πιθανότητα με ένα σύμπλοκο που σχηματίζουν οι κινολινόνες με την DNA γυράση και έχει ταχεία βακτηριοκτόνο δράση.^{[8] [12]}

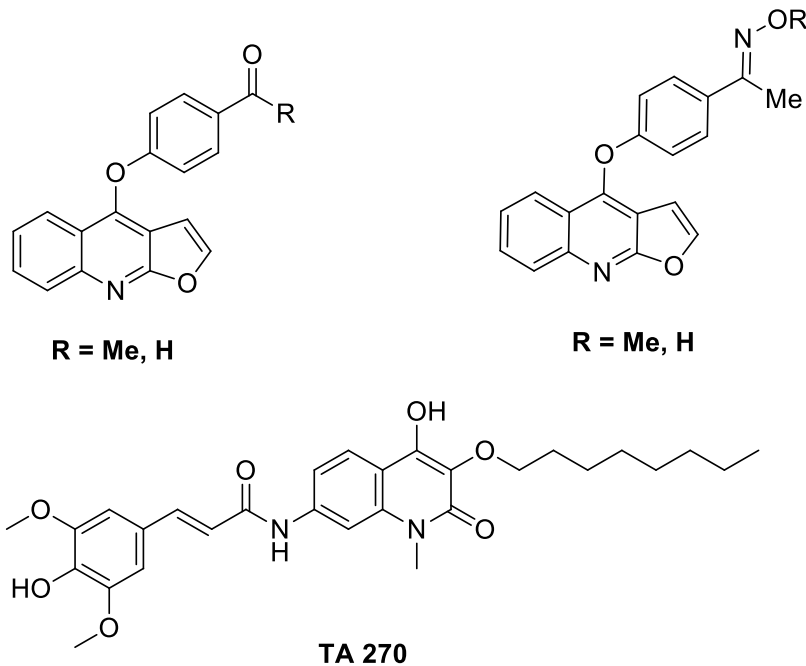


Εικόνα 10: Κινολινόνες με αντιβρακτηριακή δράση

1.1.1.6 Αντιφλεγμονώδης Δράση

Η φλεγμονή είναι μια αντίδραση του οργανισμού, η οποία ανήκει στους μη ειδικούς μηχανισμούς του οργανισμού, για την ανοσοαπόκριση σε περίπτωση που καταφέρουν μικροοργανισμοί να εισέλθουν στο εσωτερικό του οργανισμού. Τα βασικά σημάδια της φλεγμονής είναι η αυξημένη ροή αίματος, ο αυξημένος κυτταρικός μεταβολισμός, η αγγειοδιαστολή, η απελευθέρωση διαλυτών διαμεσολαβητών, η εξαγγείωση υγρών και κυτταρικής εισροής. Είναι πολύ σημαντική η ανάπτυξη φαρμάκων με αντιφλεγμονώδη δράση για δύο λόγους: ο πρώτος είναι ότι σε ορισμένες διαταραχές η φλεγμονώδης διαδικασία, η οποία υπό φυσιολογικές συνθήκες είναι αυτοπεριοριζόμενη, γίνεται συνεχής και στη συνέχεια αναπτύσσονται χρόνιες φλεγμονώδεις ασθένειες, ενώ ο δεύτερος λόγος είναι ότι σε κάποιες περιπτώσεις η φλεγμονή ενεργοποιείται από τον οργανισμό, χωρίς να υπάρχει ξένη προσβολή, οπότε βλάπτονται υγιείς ιστοί. Οι κινολινόνες

δρουν ενάντια στην φλεγμονή αναστέλλοντας τη λυσοζύμη και την απελευθέρωση της β-γλυκουρονιδάσης. [1] [13] [14] [15]

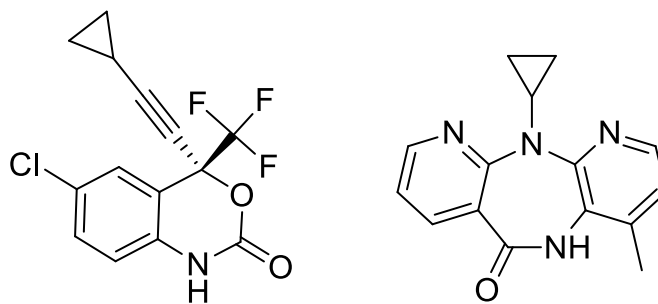


Εικόνα 11: Κινολινόνες με αντιφλεγμονώδη δράση

1.1.1.7 Αντική Δράση

Οι ιοί ανακαλύφθηκαν στα τέλη του 19^{ου} αιώνα και θεωρούνται ως υποχρεωτικά κυτταρικά παράσιτα. Αυτό συμβαίνει, διότι 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. Οι μικροοργανισμοί αυτοί είναι υπεύθυνοι για πολλές ασθένειες, περιλαμβάνοντας απλές διαταραχές της υγείας, όπως είναι το κρυολόγημα ή η γρίπη, αλλά και σοβαρότερες, όπως είναι η πολιομυελίτιδα ή το AIDS.

Τα αντικά μόρια της οικογένειας των κινολινονών, για την καταπολέμηση των ιών δρουν ως αναστολείς της αντίστροφης μεταγραφάσης των ιών, με αποτέλεσμα τον μη πολλαπλασιασμό τους και άρα την εξάλειψή τους. [16] [17] [18]

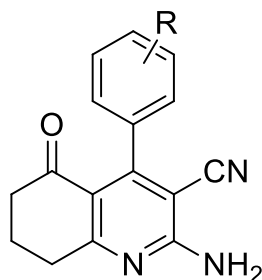


Εικόνα 12: Κινολινόνες με αντική δράση

1.1.1.8 Αντιμυκητιακή Δράση

Οι μύκητες είναι μια ομάδα μικροοργανισμών, οι οποίοι είναι μονοκύτταροι ή κοινοκυτταρικοί ευκαρυωτικοί οργανισμοί και μπορούν να επιβιώσουν είτε παρασιτώνοντας σε ζωντανούς οργανισμούς, είτε στο έδαφος, είτε στο νερό, είτε στον αέρα, είτε στα τρόφιμα. Η πρόκληση ασθενειών από μύκητες συμβαίνει όταν οι μύκητες παράγουν βιολογικά δραστικές ενώσεις, πολλές από τις οποίες είναι τοξικές για τα ζώα ή τα φυτά, τις μυκοτοξίνες. [16] [19]

Οι κινολινόνες είναι μια ομάδα ενώσεων που μπορεί να αντιμετωπίσει τις μυκητιάσεις, βάσει ερευνών που έδειξαν πως τετραϋδροκινολινόνες είναι αποτελεσματικές έναντι των μυκήτων *Candida albicans*, *Fusarium oxysporum* και *Mucor*. [20]

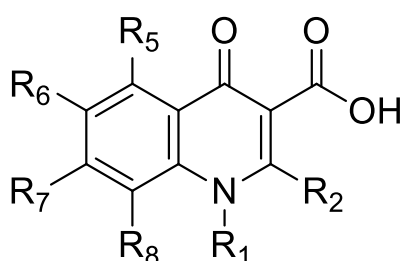


Tetrahydroquinoline

Εικόνα 13: Κινολινόνη με αντιμυκητιακή δράση

1.1.2 Συσχέτιση Δομής με Αντιμικροβιακή Δράση

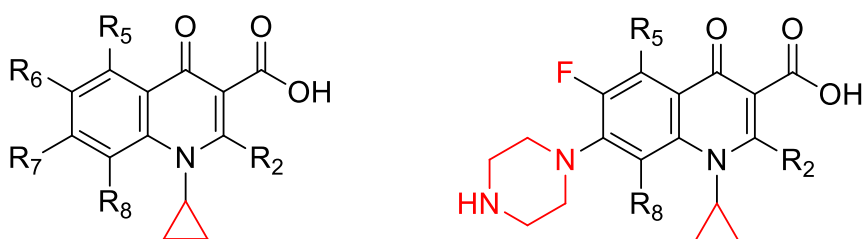
Οι κινολινόνες διαθέτουν ισχυρές φαρμακευτικές δράσεις, όπως παρουσιάστηκε παραπάνω και γι' αυτόν τον λόγο, η έρευνα της δομής της αποτελεί σημαντικό παράγοντα στην εξέλιξη των υποκαταστάσεων τους. Η πιο κοινή διαφορά στις υποκαταστάσεις είναι η χρήση διαφορετικών υποκαταστατών, ωστόσο ακόμη πιο σημαντική μελέτη, πέρα των υποκαταστατών, είναι οι διαφορετικές θέσεις σύνδεσης τους. Με τον συνδυασμό αυτών, τα παραγόμενα μόρια πολλαπλασιάζονται σε αριθμό και εξειδικεύονται στις επιθυμητές ιδιότητες. [21]



Εικόνα 14: Υποκαταστάτες κινολινόνης

Θέση 1

Αυτή η θέση είναι μέρος του συμπλόκου που σχηματίζει το ένζυμο με το DNA και έχει υδρόφοβη αλληλεπίδραση με το μεγαλύτερο μέρος του DNA. Ο καλύτερος υποκαταστάτης, γι' αυτήν την θέση θεωρείται το κυκλοπροπύλιο, ενώ ακολουθεί η προσθήκη ενός 2,4-διφθοροφαινυλίου.

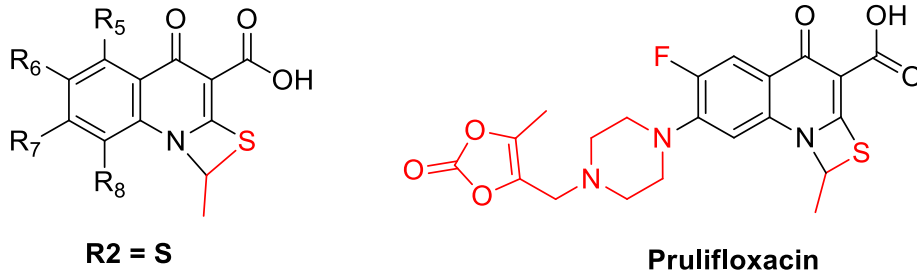


Εικόνα 15: Υποκαταστάτης κινολινόνης θέσης 1

Θέση 2

Αυτή η θέση είναι πολύ κοντά στο σύμπλοκο πρόσδεσης των βακτηριακών ενζύμων DNA γυράσης και τοποϊσομεράσης IV, οπότε πιστεύεται ότι

οποιαδήποτε προστιθέμενη υποκατάσταση αναστέλλει την πρόσβαση και οδηγεί σε χαμηλότερο επίπεδο μικροβιολογικής δραστηριότητας. Μόνο ένα θείο, ενσωματωμένο σε έναν μικρό δακτύλιο, μπόρεσε να αντικαταστήσει το υδρογόνο στη θέση R-2.



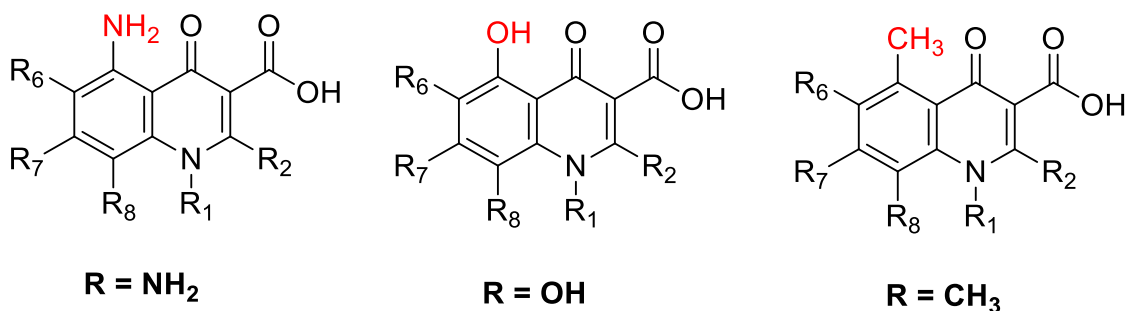
Εικόνα 16: Υποκαταστάτης κινολινόνης θέσης 2

Θέσεις 3 και 4

Αυτές οι δύο θέσεις στον πυρήνα της κινολίνης θεωρούνται κρίσιμες για σύνδεση με διασπασμένο ή διαταραγμένο DNA, και δεν έχουν αναφερθεί ακόμη χρήσιμες υποκαταστάσεις. Επομένως, οι 3-καρβοξυλικές και 4-καρβονυλικές ομάδες θεωρούνται απαραίτητες για την αντιμικροβιακή δραστηριότητα.

Θέση 5

Σε αυτή τη πρώτη θέση του βενζοϊκού δακτυλίου, η υποκατάσταση φαίνεται να επηρεάζει την συνολική επίπεδη δομή του μορίου, δηλαδή τη στεροχημεία της κινολινόνης. Υποκαταστάτες μέτριου μεγέθους, όπως μια ομάδα αμίνης, υδροξυλίου ή μεθυλίου μπορούν να αυξήσουν σημαντικά την *in vitro* δραστηριότητα έναντι θετικών κατά gram βακτηρίων.

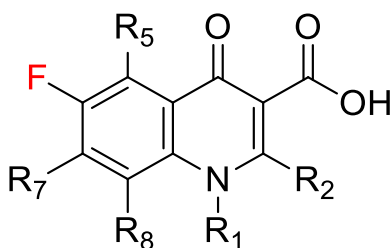


Εικόνα 17: Υποκαταστάτες κινολινόνης θέση 5

Θέση 6

Η θέση αυτή παίζει πολύ σημαντικό ρόλο για την βιολογική δράση του μορίου, καθώς βρέθηκε πως αν γίνει υποκατάσταση με ένα άτομο φθορίου (F), βελτιώνει σημαντικά τις αντιμικροβιακές δραστηριότητες του μορίου και έχει οδηγήσει

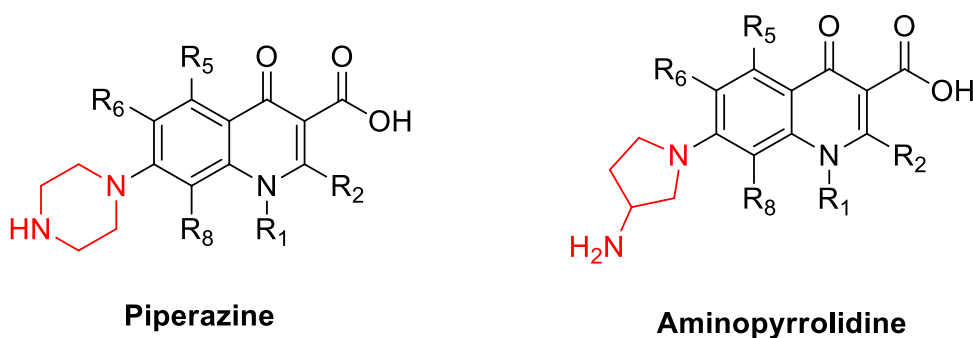
πλέον στις κλινικά επιτυχημένες ενώσεις φθοροκινολινονης. Άλλοι υποκαταστάτες που έχουν δοκιμαστεί είναι σε στάδιο ανάπτυξης, καθώς φαίνεται να χρειάζονται συνδυαστική υποκατάσταση μαζί με τη θέση 1,7 ή 8.



Εικόνα 18: Υποκαταστάτης κινολινονης θέση 6

Θέση 7

Αυτή η θέση θεωρείται ότι αλληλεπιδρά άμεσα με τα ένζυμα DNA γυράση και τοποϊσομεράση IV, άρα πρόκειται για μια πολύ σημαντική βιολογικά θέση. Οι καλύτεροι υποκαταστάτες σε αυτή τη θέση βρέθηκε να είναι ομάδες που περιέχουν, τουλάχιστον, έναν 5-μελή ή 6-μελή ετερόκυκλο αζώτου, με συνηθέστερες ομάδες να είναι οι αμινοπυρρολιδίνες και οι πιπεραζίνες. Η τοποθέτηση μιας αμινοπυρρολιδίνης βελτιώνει τη θετική κατά gram δραστηριότητα, ενώ η πιπεραζίνη ενισχύει γενικά τη δραστηριότητα έναντι αρνητικών κατά gram βακτηρίων.

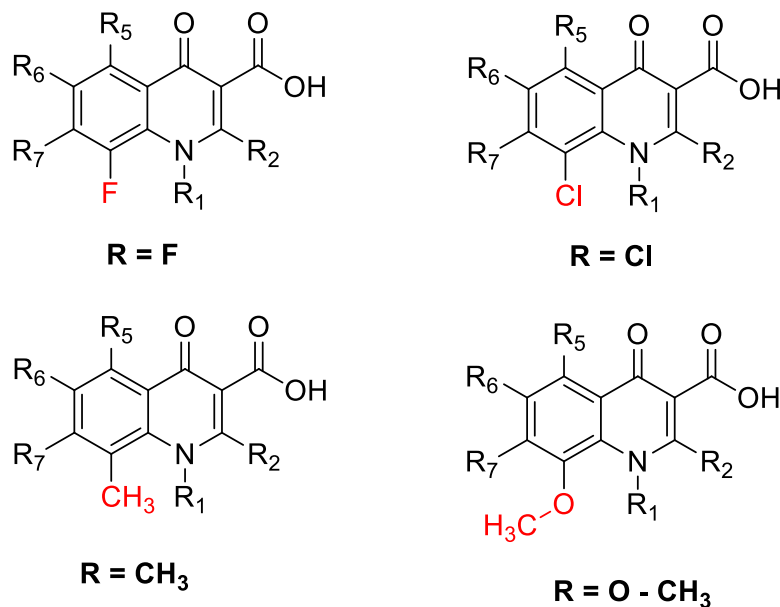


Εικόνα 19: Υποκαταστάτες κινολινονης θέση 7

Θέση 8

Αυτή η θέση θεωρείται ότι επηρεάζει τη συνολική μοριακή στεατική διαμόρφωση, παρόμοια με τη θέση 5. Οι αλλαγές που γίνονται εδώ επηρεάζουν τη συγγένεια στόχου, πιθανώς μεταβάλλοντας την πρόσβαση του φαρμάκου στις θέσεις σύνδεσης ενζύμου ή DNA, οπότε με ένα ελεύθερο αλογόνο σε αυτή τη θέση βελτιώνεται η δραστηριότητα κατά των αναερόβιων βακτηρίων. Οι υποκαταστάτες αλογόνου (F ή Cl), καθώς και ένα μεθύλιο ή μεθοξύλιο αυξάνουν

επίσης την *in vitro* δραστηριότητα έναντι θετικών κατά gram κοκκίων, ακόμη και σε εκείνα τα βακτήρια ανθεκτικά σε παλαιότερες φθοροκινολόνες.

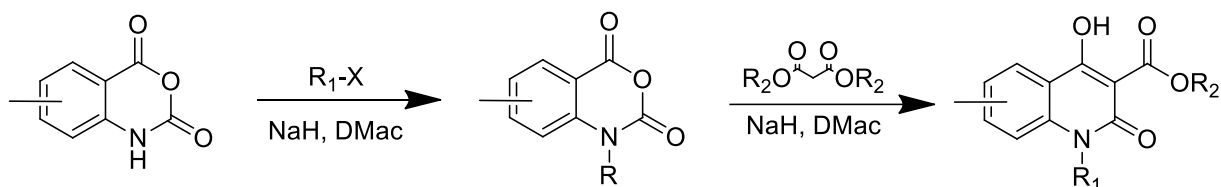


Εικόνα 20: Υποκαταστάτες κινολινονης θέση 8

1.1.3 Γενικές Μέθοδοι Σύνθεσης Κινολινονών

Οι κινολινόνες έχοντας σαν βασικό στοιχείο τους, την προνομακική δομή και της μεγάλης ποικιλίας ιδιότητες για πάρα πολλούς τομείς της φαρμακολογίας, όπως περιεγράφηκε παραπάνω, έχουν κινήσει το ενδιαφέρον των ερευνητών για την εκμετάλλευσή τους. Η έρευνα, περιλαμβάνει τόσο την υποκατάστασή τους, όσο και την σύνθεσή τους. Σε αυτό το σημείο θα παρουσιαστούν μερικές από τις πιο συχνές μεθόδους σύνθεσης των κινολινονών.

- ❖ Σύνθεση 4-υδροξυ-κινολινονών, μέσω N-αλκυλίωσης από τον N-αλκυλοισατοϊκό ανυδρίτη και ενός μηλονικού διεστέρα, παρουσία υδριδίου του νατρίου σε διαλυτή διμεθυλοφορμαμίδιο ή N,N-διμεθυλοακεταμίδιο. [22]



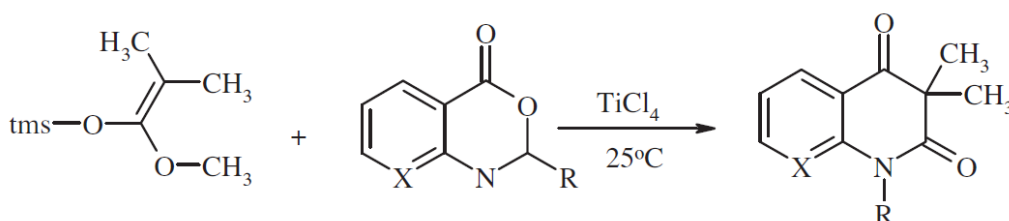
Εικόνα 21: Σύνθεση 4-υδροξυκινολινονών

- ❖ Σύνθεση της 3,4-διυδροκινολιν-2-όνης μέσω επεξεργασίας 2-ιωδοανιλινών ακρυλικού αιθυλεστέρα με αζωδισοβουτυρονιτρίλιο (AIBN), παρουσία υδριδίου του τριβουτυλκασσίτερου [18]



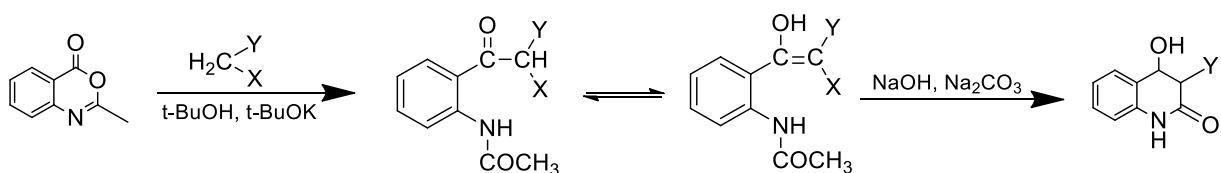
Εικόνα 22: Σύνθεση 3,4-διυδροκινολιν-2-όνης

- ❖ Αντίδραση που βασίζεται σε τροποποίηση της αλδολικής συμπύκνωσης Mukaiyama, κάνοντας χρήση της υψηλής αντιδραστικότητας λακτόνων ή ανυδριτών. [18]



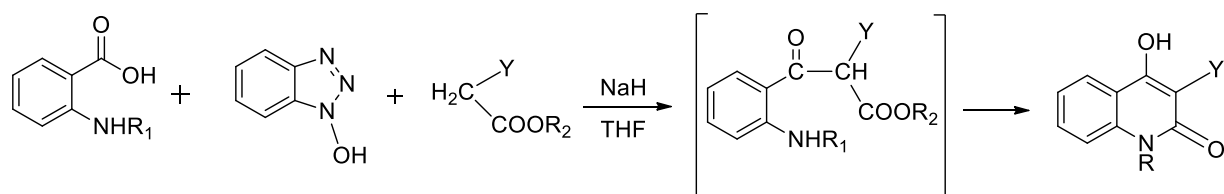
Εικόνα 23: Σύνθεση κινολινόνης με αλδολική συμπύκνωση

- ❖ Σύνθεση 4-υδροξυ-2-κινολινονών με υποκαταστάτη την 2-μεθυλο-3,1-βενζοξαζιν-4-όνης ως ακυλιωτικού μέσου, παρουσία t-βουτοξειδίου του καλίου σε διαλύτη t-βουτανόλης, ενώ η κυκλοποίηση της ενδιάμεσης βενζοξαζινόνης γίνεται παρουσία ανθρακικού νατρίου και υδατικού διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου. [23]



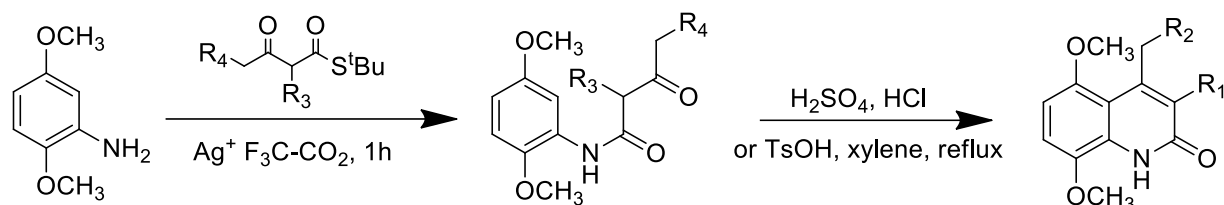
Εικόνα 24: Σύνθεση 4-υδροξυ-2-κινολινονών

- ❖ Σύνθεση 4-υδροξυ-2-κινολινονών με χρήση ενεργού βενζοτρίαζολυλεστέρα και N-υποκατεστημένο ανθρανιλικό οξύ. [24]



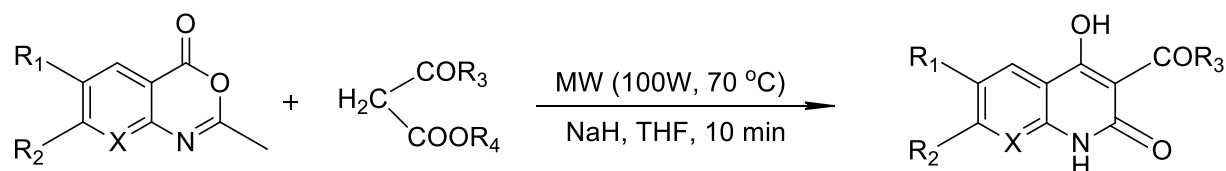
Εικόνα 25: Σύνθεση 4-υδροξυ-2-κινολινονών με ενεργό βενζοτριαζολυλεστέρα

- ❖ Σύνθεση 3,4-υποκατεστημένων-5,8-διμεθοξυ-διμεθυλοκινολινονών σε δύο στάδια με χρήση οξέων για καταλύτες. [25]



Εικόνα 26: Σύνθεση 3,4-υποκατεστημένων-5,8-διμεθοξυ-διμεθυλοκινολινονών

- ❖ Σύνθεσης 3-υποκατεστημένων-4-υδροξυ-2-κινολινονών σε ένα βήμα, από την αντίδραση των αντίστοιχων βενζοξαζινονών υπό την επίδραση μικροκυματικής ακτινοβολίας, με πράσινη μεθοδολογία. [26]

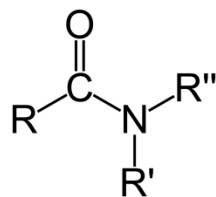


Εικόνα 27: Σύνθεση 3-υποκατεστημένων-4-υδροξυ-2-κινολινονών με πράσινη μεθοδολογία

1.2 Αμίδια

Τα αμίδια είναι ενώσεις οι οποίες περιέχουν μία, δύο ή τρεις ακυλομάδες προσαρτημένες στο άζωτο και ονομάζονται πρωτοταγεί, δευτεροταγεί και

τριτοταγεί αμίδια αντίστοιχα, με γενικό τύπο $RC(=O)NR'R''$, όπου τα R, R' και R'' αντιπροσωπεύουν οργανικές ομάδες ή άτομα υδρογόνου. [27]

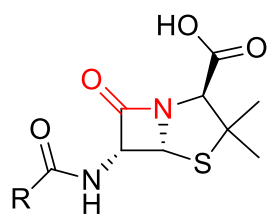


Εικόνα 28: Γενική δομή αμιδίου

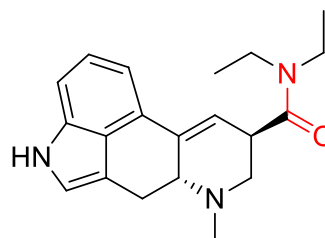
Τα αμίδια μπορεί να είναι από πολύ απλά, όπως τα παράγωγα της αμμωνίας, έως και πολύ σύνθετα οργανικά μόρια όπως είναι οι πρωτεΐνες. Πρόκειται για μια ομάδα ενώσεων που είναι ασθενείς βάσεις με $pK_a = -0.5$, ενώ ο αμιδικός δεσμός, σχηματίζεται εύκολα, παρέχει δομική ακαμψία και αντιστέκεται στην υδρόλυση. Είναι ένας από τους πιο θεμελιώδεις και ευρέως διαδεδομένους χημικούς δεσμούς στη φύση και είναι υπεύθυνος για τις ιδιότητες μιας τεράστιας σειράς οργανικών μορίων, φαρμάκων, διαλυτών, πολυμερών και υλικών, συμπεριλαμβανομένων πεπτιδίων και πρωτεϊνών. Ο πιο συνηθισμένος τρόπος παραγωγής τους είναι από πρωτοταγείς αμίνες και συχνά παράγονται και από δευτεροταγείς αμίνες. [27] [28] [29] [30]

1.2.1 Βιολογική Δράση

Οι αμιδικοί δεσμοί ενσωματώνονται πολύ συχνά στα ενεργά φαρμακευτικά συστατικά (API). Ο σχηματισμός αμιδικού δεσμού είναι ένας από τους πλέον διαδεδομένους μετασχηματισμούς στη φαρμακευτική βιομηχανία, αντιπροσωπεύοντας το 16% όλων των αντιδράσεων που διεξάγονται στα εργαστήρια της φαρμακευτικής χημείας. Το πρώτο αντιβιοτικό που περιείχε αμιδικό δεσμό, ανακαλύφθηκε το 1928 από τον Alexander Fleming και ήταν η γνωστή πενικιλίνη. Άλλο παράδειγμα τέτοιων ενώσεων, είναι το παραισθησιογόνο διαιθυλαμίδιο του λυσεργικού οξέος (lysergide – LSD). [31] [32] [33]



Penicillin

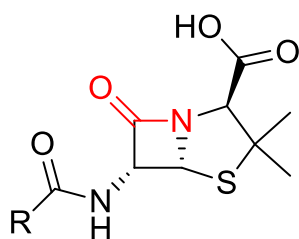


Lysergide

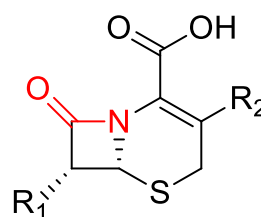
Εικόνα 29: Δομές αμιδίων με φαρμακευτική δράση

1.2.1.1 Αντιβακτηριακή Δράση

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω ο αμιδικός δεσμός βρίσκεται σε πολλά αντιβιοτικά, τα οποία καταπολεμούν τα βακτήρια, με κυριότερες οικογένειες αντιβιοτικών, εκείνες της πενικιλίνης και της κεφαλοσπορίνης. Στις δύο αυτές κατηγορίες το κοινό βασικό δομικό χαρακτηριστικό, είναι μια αμιδική ομάδα που περιέχεται σε τετραμελή δακτύλιο, ο οποίος ονομάζεται β-λακταμικός δακτύλιος. Αυτός ο δακτύλιος αντιδρά με την τρανσπεπτιδάση, ένα ένζυμο που χρησιμοποιούν τα βακτήρια στην οικοδόμηση των κυτταρικών τοιχωμάτων τους. Αυτή η αντίδραση λειτουργεί σαν αναστολέας της δραστηκής θέσης του ενζύμου και το καθιστά ανενεργό. [3] [34]



Penicillin



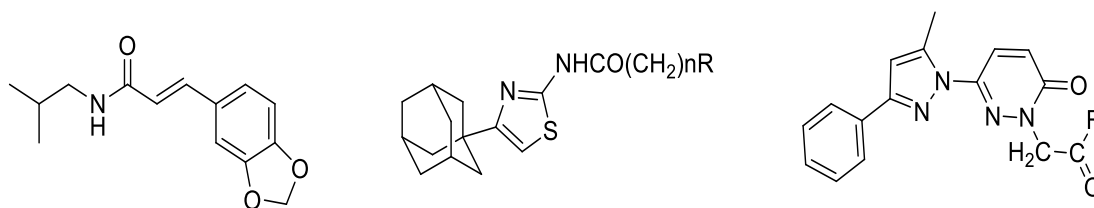
Cephalosporins

Εικόνα 30: Αμίδια με αντιβακτηριακή δράση

1.2.1.2 Αντιφλεγμονώδης Δράση

Η φλεγμονή είναι ένας από τους σημαντικότερους μηχανισμούς φυσικής άμυνας κατά των εσωτερικών και εξωτερικών απειλών. Ωστόσο, τα φλεγμονώδη στοιχεία που παράγονται μπορούν επίσης να είναι θανατηφόρα για το σώμα όταν «ενεργοποιηθεί» για πάρα πολύ καιρό, μια κατάσταση γνωστή ως χρόνια φλεγμονή. Οι έρευνες έχει δείξει ότι η χρόνια φλεγμονή είναι συχνή στα νευρικά κύτταρα των ασθενών με νευροεκφυλιστικές ασθένειες. Η μελέτη της αντιφλεγμονώδους δράσης των αμιδίων, γίνεται δοκιμάζοντας την

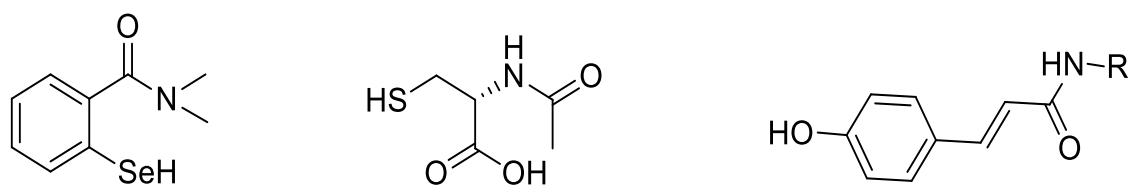
ανασταλτικότητα των μορίων στα ένζυμα κυκλοοξυγενάσης (COX). Η κυκλοοξυγενάση βρίσκεται στους ανθρώπους με την μορφή δύο ισοενζύμων των COX-1 και COX-2, ενώ η αναστολή τους μπορεί να ανακουφίσει από τα συμπτώματα της φλεγμονής και του πόνου. [35] [36] [37] [38]



Εικόνα 31: Δομές αμιδίων με αντιφλεγμονώδη δράση

1.2.1.3 Αντιοξειδωτική Δράση

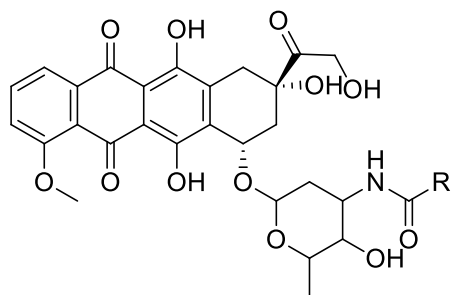
Έρευνες έχουν δείξει πως μόρια τα οποία έχουν αμιδικό δεσμό παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση. Τέτοιες ενώσεις είναι για παράδειγμα τα 2-υδροσελενοδιμεθυλοβενζαμίδιο, ακετυλοκυστεινοαμίδιο και αμίδια του πικουμαρικού οξέως. [39] [40] [41]



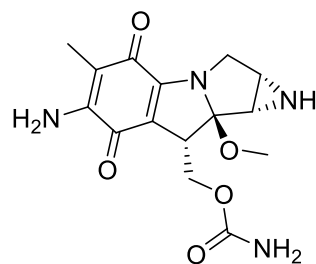
Εικόνα 32: Δομές αμιδίων με αντιοξειδωτική δράση

1.2.1.4 Αντικαρκινική δράση

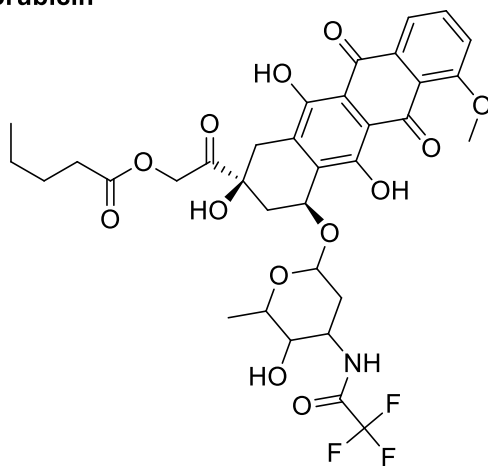
Τα αμίδια έχουν παρουσιάσει αξιόλογες αντικαρκινικές δράσεις και κάποια παραδείγματα είναι τα παράγωγα λιπαρής ακυλο-δοξορουβικίνης, η βαλρουμπικίνη και η μυτομυκίνη C. [42] [43]



Daunorubicin



Mitomycin C

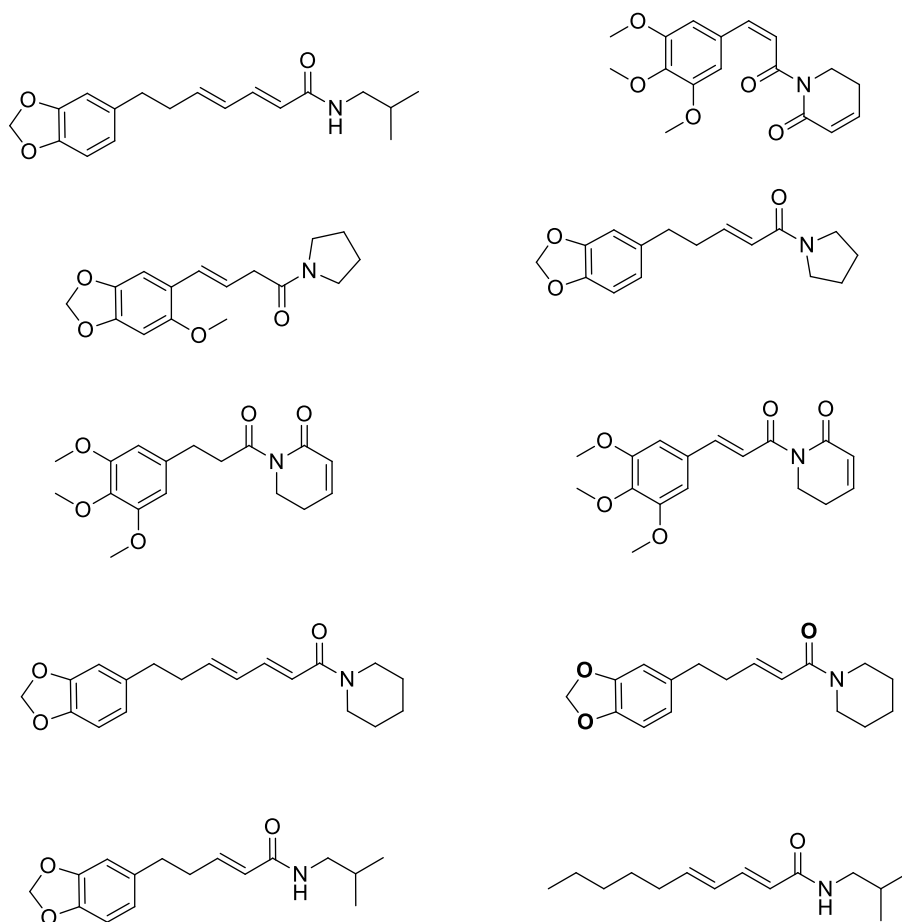


Valrubicin

Εικόνα 33: Δομές αμιδίων με αντικαρκινική δράση

1.2.1.5 Αντιμυκητιακή Δράση

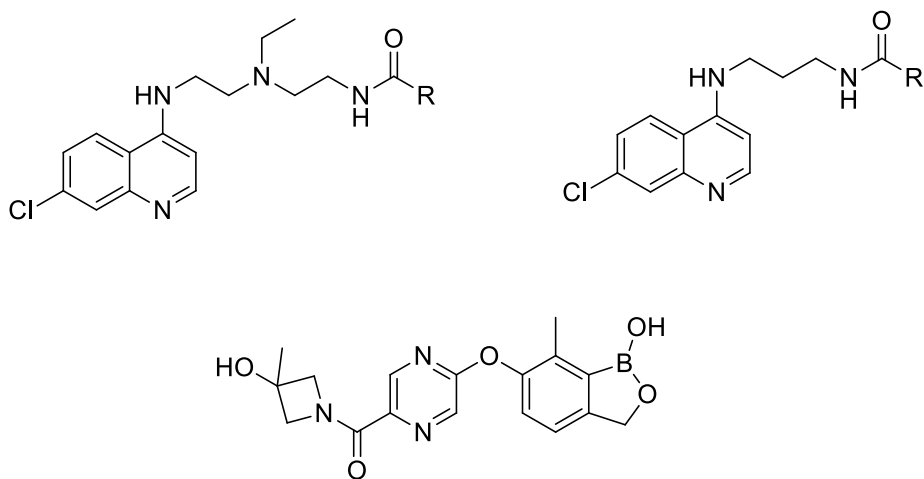
Έχουν συντεθεί ενώσεις στις οποίες υπάρχει η αμιδική ομάδα και έχει μελετηθεί η αντιμυκητιακή τους δράση. Τέτοια παραδείγματα ενώσεων είναι αμίδια που φέρουν στο μόριο τους τμήματα ισοβουτυλίου, πυρρολιδίνης, διυδροπυριδόνης και πιπεριδίνης. Μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζει εμφάνιση της αντιμυκητιακής δράσης τόσο σε μόρια με μικρές αλειφατικές αλυσίδες, όσο και με μεγάλες. Τα παρακάτω αμίδια απομονώθηκαν από τα στελέχη του *Piper hispidum* και από τους σπόρους του *Piper tuberculatum*. [44]



Εικόνα 34: Δομές αμιδίων με αντιμυκητιακή δράση

1.2.1.6 Ανθελονοσιακή Δράση

Η ελονοσία είναι μία από τις πιο διαδεδομένες μολυσματικές ασθένειες του κόσμου μολύνοντας ετησίως εκατομμύρια ανθρώπους. Με το πέρασ των χρόνων τα πρωτόζωα γίνονται όλο και πιο ανθεκτικά στα φάρμακα, οπότε είναι επιτακτική ανάγκη η ανακάλυψη καινούργιων φαρμάκων για την ασθένεια αυτή. Μία πολύ καλή κατηγορία για μελέτη των παραγώγων της είναι η οικογένεια των χλωροκινολινών. [45] [46]

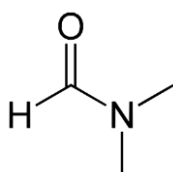


Εικόνα 35: Δομές αιδίων με ανθελονοσιακή δράση

1.2.2 Διαλύτες

Διαλύτης είναι μια ουσία με την ιδιότητα να διαλύει μια άλλη διαλυτή ουσία, καταλήγοντας σε ένα διάλυμα. Η μορφή ενός διαλύτη μπορεί να είναι στερεή, υγρή, αέρια και υπερκρίσιμη αέρια. [47] [48]

Για την ομάδα των αμιδίων, ο πιο γνωστός διαλύτης είναι το διμεθυλομεθαναμίδιο ή διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF), το οποίο έχει συντακτικό τύπο $\text{HCON}(\text{CH}_3)_2$, είναι αναμίξιμο με το νερό και αποτελεί το απλούστερο τριτοταγές αμίδιο. [49]

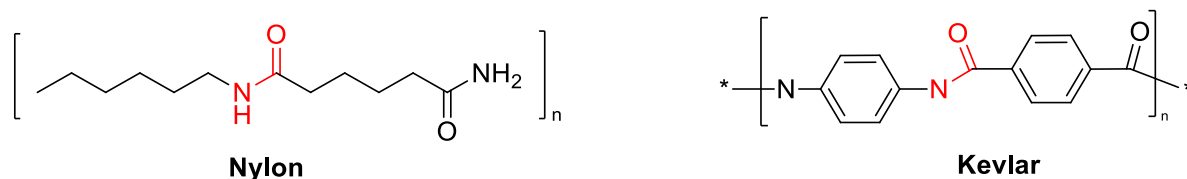


Εικόνα 36: Δομή Διμεθυλομεθαναμιδίου

1.2.3 Πολυμερή

Τα πολυμερή είναι μεγάλα μόρια ή μακρομόρια τα οποία αποτελούνται από συνεχόμενες επαναλαμβανόμενες μονάδες, τα μονομερή και διαχωρίζονται στα συνθετικά και τα φυσικά πολυμερή. Τόσο στα φυσικά, όσο και στα συνθετικά πολυμερή είναι υλικά τα οποία απατώνται σε πολλούς και βασικούς ρόλους στην

καθημερινή ζωή. Τα αμίδια συμμετέχουν σε πολλά πολυμερή, όπως είναι το νάιλον (Nylon), το τουαρόν (Twaron) και το κέβλαρ (Kevlar). [50] [51] [52]

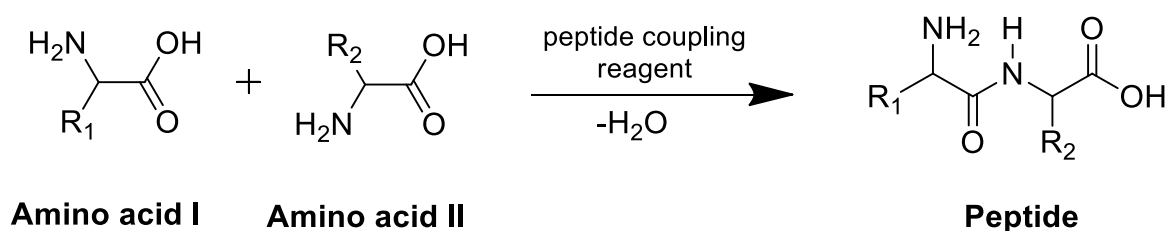


Εικόνα 37: Δομές αμιδικών πολυμερών

1.2.4 Γενικοί Τρόποι Σύνθεσης Αμιδίων

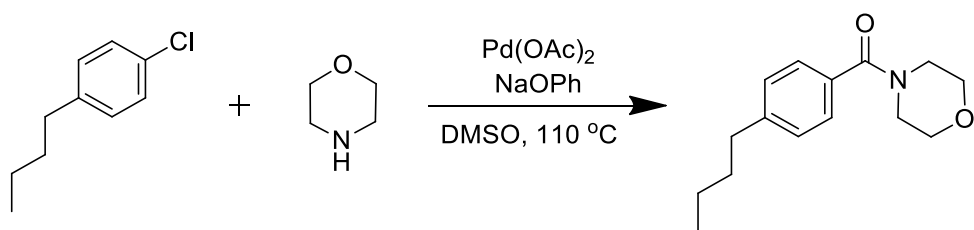
Τα αμίδια αποτελούν ένα πολύ σημαντικό τομέα της ερευνητικής φαρμακευτικής χημείας, όπως περιεγράφηκε και παραπάνω. Γι' αυτόν τον λόγο υπάρχουν πλήθος μελετών, σχετικά με τον τρόπο που μπορεί να συντεθεί ένα αμίδιο και ολοένα αυξάνονται με την συνεχή έρευνα τους. Παρακάτω παρουσιάζονται μερικές γενικές μέθοδοι συνθέσεις των αμιδίων.

- ❖ Σύνθεση πεπτιδίου από δύο αμινοξέα, η οποία αντίδραση αποτελεί μια τυπική σύζευξη πεπτιδίων, που το τμήμα καρβοξυλικού οξέος του αμινοξέος I ενεργοποιείται πρώτα από ένα κατάλληλο αντιδραστήριο σύζευξης πεπτιδίου και μετά αντιδρά με το τμήμα αμίνης του αμινοξέος II για να παραχθεί ένα επιθυμητό πεπτίδιο. [53]



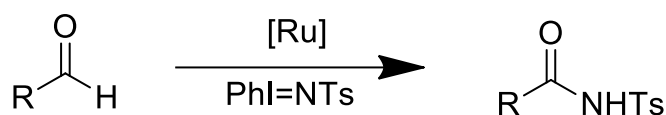
Εικόνα 38: Σύνθεση πεπτιδίου

- ❖ Σύνθεση της (4-βουτυλοφαινυλ)(μορφολινο)μεθανόνης μέσω αμινοκαρβονυλίωσης ενός αρυλοχλωριδίου, με καταλύτη παλλάδιο (Pd) και παρουσία φαινοξειδίου του νατρίου. [54]



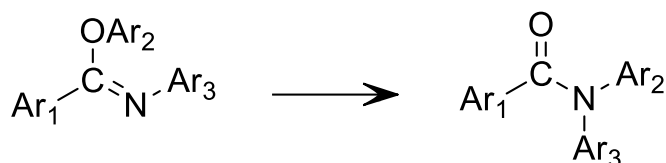
Εικόνα 39: Σύνθεση αμιδίου με αμινοκαρβονύλιωση αρυλοχλωριδίου

- ❖ Σύνθεση αμιδικού δεσμού από αλδεύδη, χρησιμοποιώντας καταλύτη πορφιρινικό ρουθίνιο [Ru]. Όπου Ts = τολουόλο-4-σουλφονύλιο. [55]



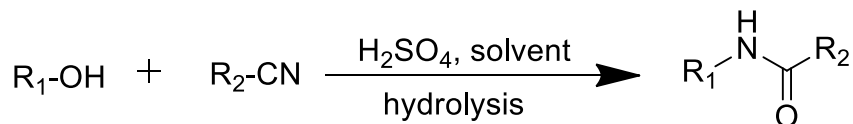
Εικόνα 40: Σύνθεση αμιδικού δεσμού με καταλύτη πορφιρινικό ρουθίνιο

- ❖ Σύνθεση αμιδικού δεσμού, χρησιμοποιώντας μία από τις πρώτες αντιδράσεις σύνθεσης αμιδίων, την αναδιάταξη Charman, η οποία δημοσιεύθηκε το 1925. [56]



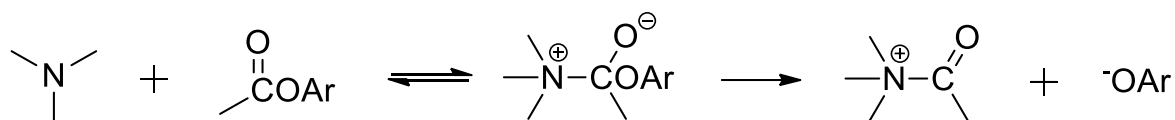
Εικόνα 41: Σύνθεση αμιδίου με αναδιάταξη Charman

- ❖ Σύνθεση αμιδίου, από αλκοόλη και κυανίδιο, με αντίδραση Ritter. [57]



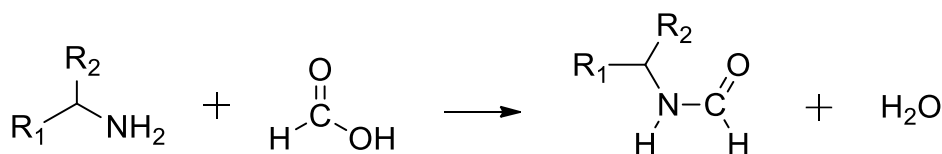
Εικόνα 42: Σύνθεση αμιδίου με αντίδραση Ritter

- ❖ Σύνθεση αμιδίου, με την πιο κλασική μέθοδο, αυτή της αμινόλυσης. Χρησιμοποιούνται για αντιδρώντα μια αμίνη και ένας εστέρας για την παραγωγή ενός αμιδίου. [58]



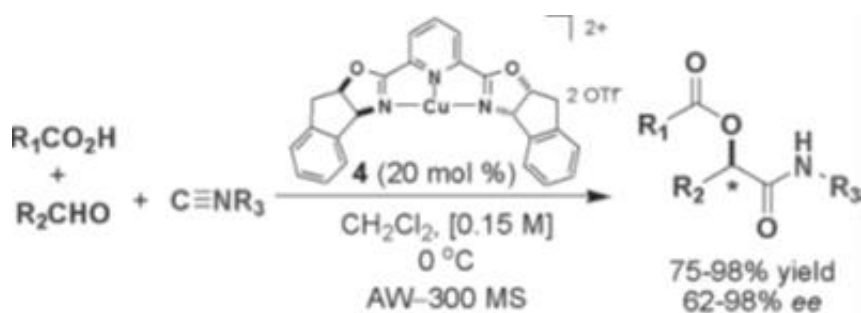
Εικόνα 43: Σύνθεση αμιδίου με αντίδραση αμινόλυσης

- ❖ Σύνθεση αμιδίου, από αμίνη και αλδεύδη, βάσει της αντίδρασης Leuckart. [59]



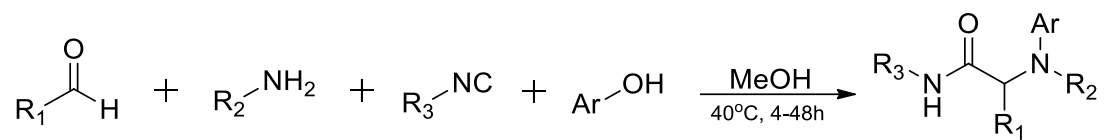
Εικόνα 44: Σύνθεση αμιδίου με αντίδραση Leuckart

- ❖ Σύνθεση αμιδίου, με καταλυτική αντίδραση Passerini. Ο καταλύτης της αντίδρασης είναι ένα σύμπλοκο βισοξαζολινυλική πυριδίνης με χαλκό ΙΙ (Cu II). [60]



Εικόνα 45: Σύνθεση αμιδίου με αντίδραση Passerini

- ❖ Σύνθεση αμιδίου από μία αλδεύδη, μία αμίνη, ένα κυανίδιο και μία αρυλοφαινόλη, βάσει της αντίδρασης Ugi. [61]



Εικόνα 46: Σύνθεση αμιδίου με αντίδραση Ugi

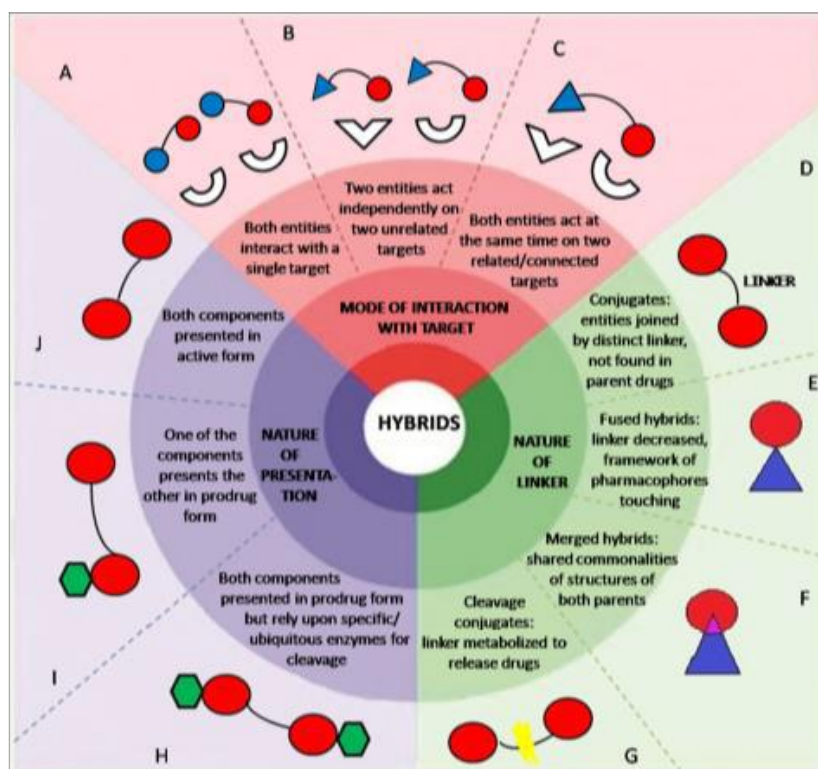
1.3 Υβριδικά Μόρια

1.3.1 Ορισμός Υβριδικών Μορίων

Ως υβριδικά μόρια, θεωρούνται οι ενώσεις εκείνες οι οποίες προκύπτουν από δύο ή παραπάνω δομικές μονάδες με διαφορετικές βιολογικές δράσεις. Ο σκοπός των υβριδικών μορίων είναι ο συνδυασμός των βιολογικών δράσεων, που έχουν οι επιμέρους δομικές μονάδες. Με αυτή τη τακτική, μπορεί να γίνει χορήγηση ενός μόνο φαρμάκου για περισσότερες από μια δράσεις, που στην περίπτωση των μη υβριδικών μορίων, αυτό θα απαιτούσε χορήγηση πολλών φαρμάκων. Η τακτική του υβριδισμού έχει ξεκινήσει εδώ και πολλά χρόνια να εφαρμόζεται και ήδη έχουν αναπτυχθεί υβριδικά φάρμακα για πολλές ισχυρές ασθένειες, όπως του καρκίνου και του AIDS. [62] [63] [64]

Τα υβριδικά μόρια μπορούν να κατανεμηθούν σε τρεις κατηγορίες με τα εξής κριτήρια :

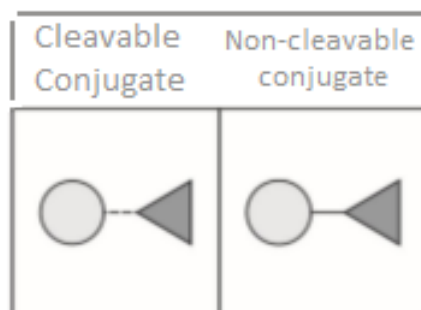
- ❖ Τον τρόπο αλληλεπίδρασης της κάθε δομικής μονάδας με τον στόχο
- ❖ Την φύση της παρουσίασης των δύο μορίων, αν είναι δηλαδή ενεργά ή αν είναι προ-φάρμακα
- ❖ Τον τρόπο σύνδεσης των δομικών μονάδων μεταξύ τους



Εικόνα 47: Κατηγορίες των υβριδικών μορίων

Ειδικότερα, για τον τρόπο σύνδεσης των δύο δομικών μονάδων, κατηγοριοποιούνται κι αυτοί σε τρεις επιμέρους ομάδες: ^[62] ^[64]

- ❖ Οι δομικές μονάδες να ενώνονται με χρήση ενός συνδέτη (linked conjugates), ο οποίος μπορεί να είναι είτε διασπάσιμος είτε μη διασπάσιμος



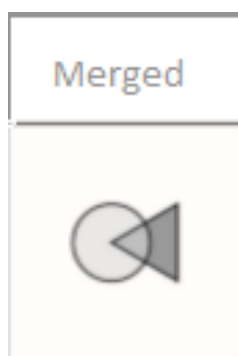
Εικόνα 48: Υβριδικά μόρια με χρήση συνδέτη, διασπάσιμος και μη διασπάσιμος

- ❖ Οι δομικές μονάδες να ενώνονται με συνένωση (fused)



Εικόνα 49: Υβριδικά μόρια με συνένωση

- ❖ Οι δομικές μονάδες να ενώνονται με αλληλοεπικάλυψη (merged)



Εικόνα 50: Υβριδικά μόρια με αλληλοεπικάλυψη

1.3.2 Πλεονεκτήματα Υβριδικών Μορίων

Τα πλεονεκτήματα παρουσιάζονται και αναλύονται ανά κατηγορία παρακάτω :

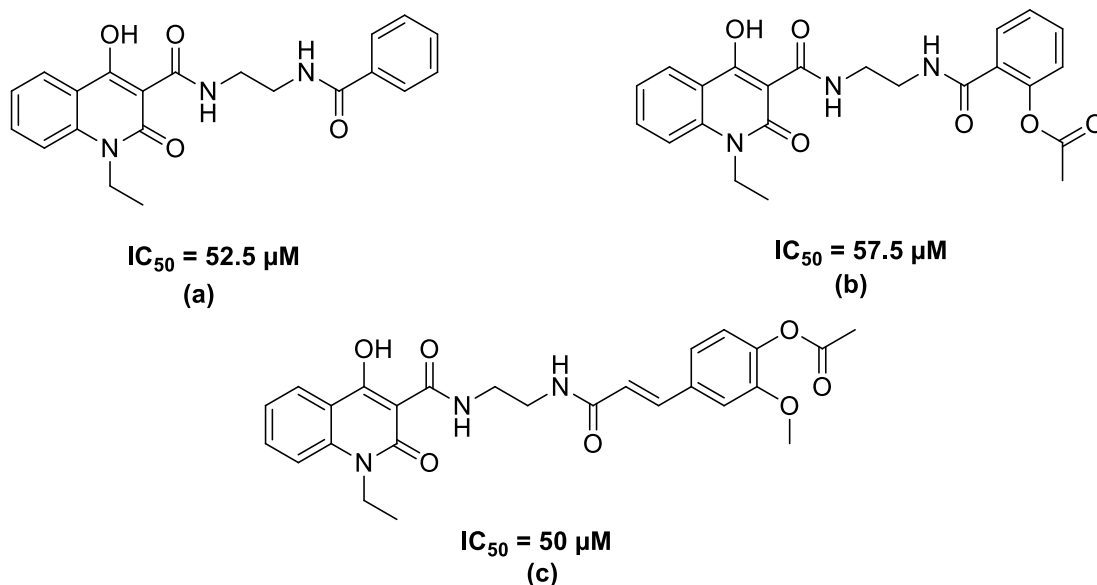
[63]

- ↪ **Ανθεκτικότητα στα φάρμακα** : Τα υβριδικά μόρια, επειδή περιέχουν δύο ή περισσότερες δομικές μονάδες, εμφανίζουν την δυνατότητα μείωσης της πιθανότητας ανάπτυξης αντοχής του στόχου, σε φάρμακα, επειδή γίνεται αμοιβαία προστασία της κάθε φαρμακευτικής μονάδας στην άλλη.
- ↪ **Διαλυτότητα** : Με ένα υβρίδιο, είναι δυνατόν να ξεπεραστεί η λεπτή ρύθμιση που απαιτείται για να εξασφαλίσει παρόμοια επίπεδα ροής στο αίμα, όταν χορηγείται στο ίδιο δισκίο. Σε άλλες περιπτώσεις που συνδυάζονται φάρμακα με σταθερή δοσολογία, προκύπτουν πολλές φορές διαφορετικά επίπεδα απορρόφησης στο αίμα, επειδή υπάρχει διαφορετική διαλυτότητα των φαρμάκων. Επίσης, είναι δυνατό εάν το ένα τμήμα του υβριδικού μορίου είναι πιο διαλυτό από το άλλο, η ικανότητα πρόσληψής του μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να συμβάλει στη βιοδιαθεσιμότητα του άλλου. Επιπλέον, η φύση του χρησιμοποιούμενου συνδέσμου μπορεί επίσης να συμβάλει στη διαλυτότητα ολόκληρης της μονάδας.
- ↪ **Συνέργεια** : Εάν τα ενεργά τμήματα των δύο συνεργαζόμενων φαρμάκων είναι συνδεδεμένα και η απόσταση είναι κατάλληλη, ενδέχεται να αλληλεπιδράσουν συνεργιστικά και να εμφανίζουν υψηλότερη δραστηριότητα από ότι ως ελεύθεροι παράγοντες.
- ↪ **Φαρμακοκινητική** : Οι φαρμακοκινητικές ιδιότητες ενός υβριδίου είναι πιο εύκολο να προβλεφθούν, συγκριτικά με αυτές των ξεχωριστών φαρμάκων. Επομένως, προβλήματα που σχετίζονται με τη φαρμακοκινητική, τη μεταβολική σταθερότητα ή τις παρενέργειες των μεμονωμένων μορίων διορθώνονται με τη μορφή ενός υβριδίου, όπως σε μερικές περιπτώσεις, ολόκληρο το μόριο του φαρμάκου μπορεί να είναι τοξικό, αλλά το φαρμακοφόρο του κομμάτι μπορεί να μην είναι απαραίτητα τόσο τοξικό.
- ↪ **Σταθερότητα** : Ο υβριδισμός προσδίδει μεγαλύτερη και καλύτερη σταθερότητα στα μόρια, με ελάχιστη απώλεια βάρους, βάσει μελετών που έγιναν με όργανα θερμοδομετρίας σάρωσης και θερμοβαρυτικής ανάλυσης.
- ↪ **Ενσωμάτωση πρόσθετων** : Ο σχηματισμός υβριδίων επιτρέπει τον εμβολιασμό κατάλληλων αναστολέων της αντοχής στα παράσιτα ή των υδατοδιαλυτών μορίων για να ξεπεραστεί η κακή διαλυτότητα.

2 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ ΝΕΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι ο σχεδιασμός, η σύνθεση και ο δομικός χαρακτηρισμός νέων N-υποκατεστημένων υβριδικών κινολινονικών αναλόγων, καθώς επίσης και η μελέτη της αντιοξειδωτικής τους δράσης, μέσω της μεθόδου του DPPH.

Η επιλογή των ενώσεων που συντέθηκαν βασίστηκε σε μόρια-οδηγούς παρόμοιας φύσης, τα οποία αποτελούν παλαιότερη ερευνητική δραστηριότητα του εργαστηρίου Οργανικής Χημείας της Σχολής Χημικών Μηχανικών και τα οποία παρουσίασαν αξιόλογη αντιοξειδωτική δράση. Τα μόρια-οδηγοί έχουν ως βασικό χαρακτηριστικό την ικανότητα μεγάλης χημικής τροποποίησης, με αποτέλεσμα την δημιουργία «χημικών βιβλιοθηκών» και επίτευξη του βιολογικού στόχου. Για την παρούσα εργασία, τα μόρια-οδηγοί που χρησιμοποιήθηκαν παρουσιάζονται στην παρακάτω εικόνα.



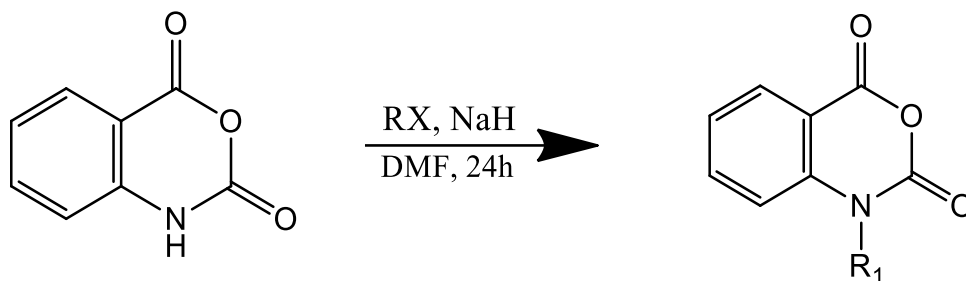
Εικόνα 51: Τα μόρια-οδηγοί της παρούσας διπλωματικής εργασίας

2.1 Σχεδιασμός Νέων Υβριδικών Μορίων

Στο παρόν κεφάλαιο παρουσιάζονται ο σχεδιασμός και η συνθετική πορεία που ακολουθήθηκε για την σύνθεση των νέων υβριδικών μορίων κινολινονών – αμιδίων. Η πορεία ξεκινάει με το μόριο του ισατοϊκού ανυδρίτη και καταλήγει στα υβριδικά μόρια μέσω μιας σειράς αντιδράσεων που παρουσιάζονται παρακάτω.

2.1.1 Σύνθεση N - υποκατεστημένου ισατοϊκού ανυδρίτη

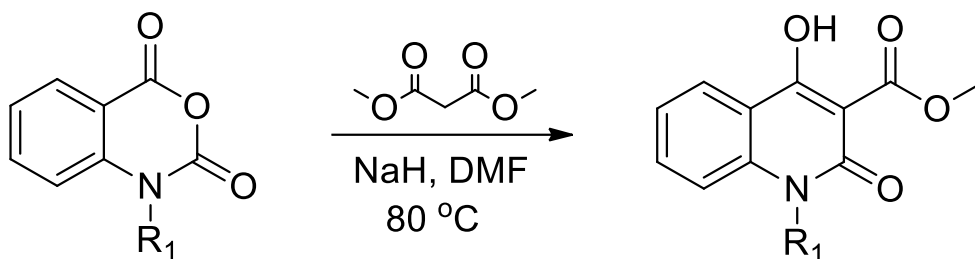
Το πρώτο στάδιο σύνθεσης είναι η υποκατάσταση του ισατοϊκού ανυδρίτη, ακολουθώντας αντίδραση N - αλκυλίωσης. Σε αυτήν την αντίδραση ο ισατοϊκός ανυδρίτης αντιδρά με το κατάλληλο αλκυλαλογονίδιο σε διαλύτη διμεθυλομεθαναμίδιο (DMF), παρουσία υδριδίου του νατρίου (NaH) για 24 ώρες.



Εικόνα 52: Αντίδραση N-αλκυλίωσης

2.1.2 Σύνθεση N-υποκατεστημενης-3-μεθυλοκαρβονυλο-4-υδροξυ-2-κινολινόνης

Το δεύτερο στάδιο της σύνθεσης είναι η παραγωγή της N-υποκατεστημενης-3-μεθυλοκαρβονυλο-4-υδροξυ-2-κινολινόνης μέσω μιας αντίδρασης C-ακυλίωσης του μηλονικού διμεθυλεστέρα. Στην αντίδραση χρησιμοποιείται ο N-υποκατεστημένος ισατοϊκός ανυδρίτης σαν ακυλιωτικό μέσο σε βασικό πειβάλλον, το οποίο δημιουργείται με υδρίδιο του νατρίου (NaH), σε διαλύτη διμεθυλομεθαναμίδιο (DMF) υπό θέρμανση.

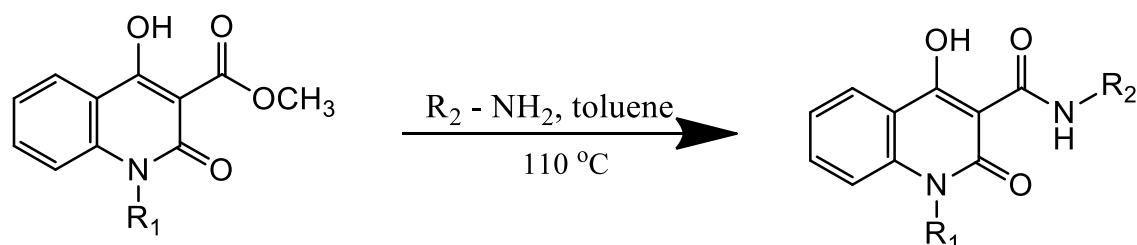


Εικόνα 53: Αντίδραση C-ακυλίωσης

2.1.3 Σύνθεση Υβριδικών Μορίων κινολινονών - αμιδίων

Το τελευταίο στάδιο της σύνθεσης αποτελείται από μια αντίδραση αμινόλυσης του εστέρα της κινολινόνης (3), όπου η τελευταία αντιδρά με την επιθυμητή αμίνη προς σχηματισμό αμιδικού δεσμού και του τελικού υβριδικού μορίου. Στην

αντίδραση αυτή χρησιμοποιείται τολουόλιο σαν διαλύτης υπό θέρμανση σε ξηρές συνθήκες αζώτου. Ο μηχανισμός της αντίδρασης περιλαμβάνει, πυρηνόφιλη προσβολή της αμιδικής ομάδας στην καρβονυλική ομάδα και στην συνέχεια, απόσπαση ενός αλκοξειδικού ιόντος από ένα τετραεδρικό ενδιάμεσο.



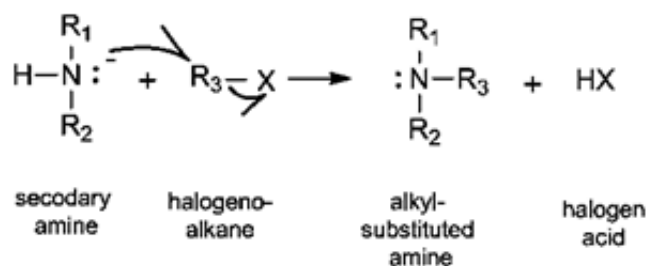
Εικόνα 54: Αντίδραση αμινόλυσης εστέρα

2.2 Μηχανισμοί Αντιδράσεων

Στο παρών σημείο θα αναλυθούν οι μηχανισμοί που συμβαίνουν κατά την διάρκεια των αντιδράσεων που περιεγράφηκαν παραπάνω.

2.2.1 Μηχανισμός N - αλκυλίωσης

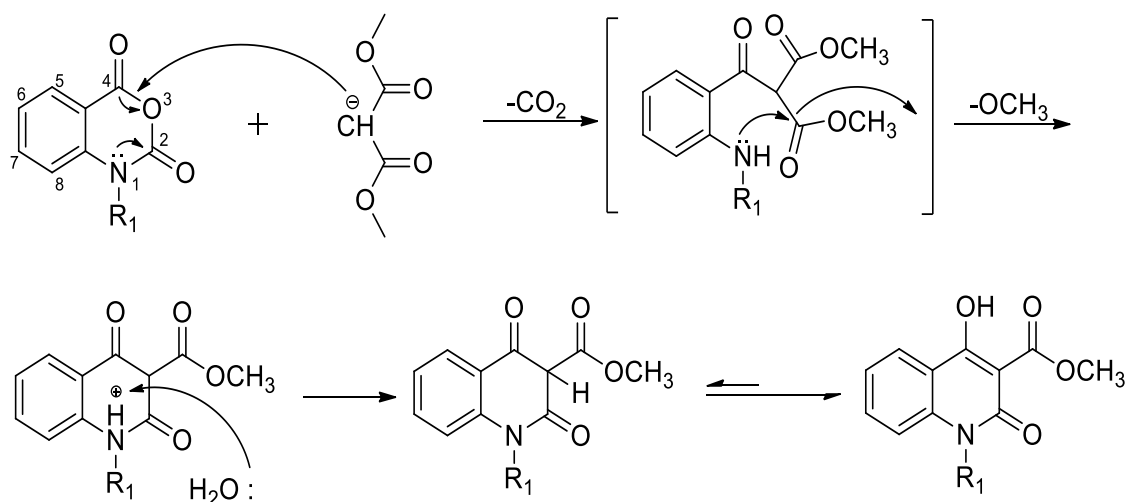
Η N-αλκυλίωση ανήκει στην γενική κατηγορία των αντιδράσεων πυρηνόφιλης υποκατάστασης του μηχανισμού SN₂ (Substitution Nucleophilic Bimolecular) των αλκυλαλογονιδίων. Αυτού του είδους οι αντιδράσεις χρησιμοποιούνται πολύ συχνά για την σύνθεση των αμινών και των παραγώγων τους. Ο λόγος είναι ότι το άζωτο που περιέχουν οι αμίνες είναι πολύ καλό πυρηνόφιλο άτομο, επειδή διαθέτει το ελεύθερο ζεύγος ηλεκτρονίων. Έτσι, η αμμωνία για παράδειγμα αποτελεί σε αυτές τις αντιδράσεις πολύ καλό πυρηνόφιλο, ενώ οι πρωτοταγείς αλκυλομάδες μεταφέρονται με μεγάλη ευκολία. Η αντίδραση πραγματοποιείται χωρίς ενδιάμεσα στάδια και το χαρακτηριστικό της είναι το γεγονός ότι το πυρηνόφιλο προσβάλλει το αλκυλαλογονίδιο από την αντίθετη κατεύθυνση από αυτή που αποχωρεί το ιόν του αλογόνου. [34] [65] [66]



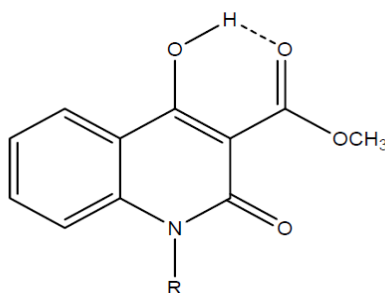
Εικόνα 55: Σχηματική απεικόνιση μηχανισμού N-αλκυλίωσης

2.2.2 Μηχανισμός C-ακυλίωσης

Η αντίδραση της C-ακυλίωσης του μηλονικού διμεθυλεστέρα ανήκει στην ομάδα των ηλεκτρονιόφιλων αρωματικών υποκαταστάσεων και χρησιμοποιείται για την εισαγωγή στον αρωματικό δακτύλιο μίας ακυλομάδας -COR. Η αντίδραση συμβαίνει απαραίτητα υπό θέρμανση, για να αποκτήσει ο κεντρικός άνθρακας του μηλονικού διμεθυλεστέρα αρνητικό φορτίο, το οποίο είναι απαραίτητο για την δημιουργία δεσμού μεταξύ δύο ανθράκων. Για την εισαγωγή της ακυλομάδας στον αρωματικό δακτύλιο, η μέθοδος στηρίζεται στην πυρηνόφιλη προσβολή ενός από τους δύο καρβονυλικούς δεσμούς οι οποίοι υπάρχουν στο μόριο (άνθρακας 4 και ελεύθερα ηλεκτρόνια του αζώτου της θέσης 1) και συνηθέστερα στον άνθρακα 4 του μορίου, αφού το ελεύθερο ζεύγος ηλεκτρονίων που διαθέτει το άζωτο επηρεάζει το ηλεκτρονιακό φορτίο του γειτονικού του άνθρακα 2, καθιστώντας τον πιο δύσκολο στην προσβολή. Όταν δημιουργείται ο νέος δεσμός μεταξύ των δύο ανθράκων, ο ήδη υπάρχων δεσμός μεταξύ του άνθρακα του μορίου και του οξυγόνου της θέσης 3 διασπάται, ενώ το άζωτο λαμβάνει ένα υδρογόνο και διασπά τον δεσμό του με τον διπλανό άνθρακα. Λόγω αυτών των διασπάσεων, αποβάλλεται ένα μόριο διοξειδίου του άνθρακα και δημιουργείται ένα ασταθές ενδιάμεσο, στο οποίο προσβάλλεται ο άνθρακας 1 του μηλονικού διμεθυλεστέρα από το αδέσμευτο ζεύγος ηλεκτρονίων του αζώτου και ταυτόχρονα αποβάλλεται η ομάδα -OCH₃. Στη συνέχεια, το υδρογόνο που είχε δεσμευτεί από το άζωτο, παραλαμβάνεται από ένα μόριο νερού κι έτσι, αποκτά το άζωτο ουδέτερο φορτίο. Από τις κετονικές δομές που σχηματίζονται, η τελική δομή του νέου μορίου είναι ενολική μορφή, διότι είναι η πιο σταθερή, από το σύνολο των δομών συντονισμού. [67]



Εικόνα 56: Σχηματική απεικόνιση μηχανισμού C – ακυλίωσης

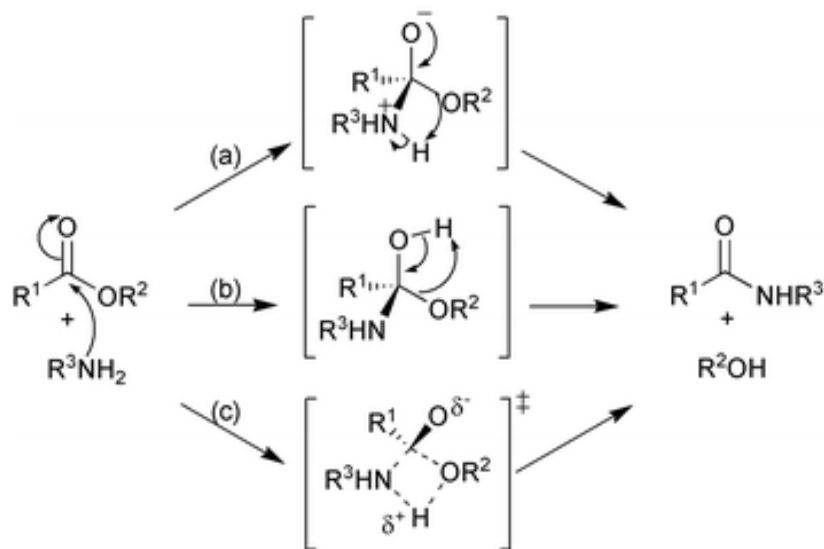


Εικόνα 57: Δεσμός υδρογόνου που σταθεροποιεί την ενολική μορφή του μορίου

2.2.3 Μηχανισμός αμινόλυσης εστέρων

Η σύνθεση των υβριδικών μορίων κινολινονών – αμιδίων ακολουθεί μια αντίδραση αμινόλυσης εστέρων. Η αμινόλυση είναι μία αντίδραση όπου από αμμωνία ή από κάποια αμίνη σχηματίζεται ένα αμιδίο και στηρίζεται στην πυρηνόφιλη προσβολή της αμίνης στην καρβονυλική ομάδα και στη συνέχεια στην απόσπαση ενός αλκοξειδικού ιόντος από ένα τετραεδρικό ενδιάμεσο. Ειδικότερα, το ελεύθερο ζεύγος ηλεκτρονίων του αζώτου που περιέχει η αμίνη, προσβάλλει τον άνθρακα της εστερικής ομάδας δημιουργώντας έναν δεσμό άνθρακα – αζώτου (C-N). Παράλληλα μετατοπίζεται ένα από τα ηλεκτρόνια του άνθρακα προς το οξυγόνο του καρβονυλίου που είναι συνδεδεμένο σε αυτόν. Στην κατάσταση αυτή δημιουργείται ένα ενδιάμεσο προϊόν, το οποίο δίνει διαφορετικά προϊόντα, ανάλογα τον ρυθμό και τις συνθήκες που επικρατούν. Οι

κυριότερες συνθήκες που επηρεάζουν είναι το pH και η παρουσία βασικού ή όξινου καταλύτη. Για το επιθυμητό υβρίδιο, ευνοείται η παρουσία βασικού καταλύτη, καθώς υπάρχει αποχώρηση της ομάδας -R²O από το ενδιάμεσο προϊόν. Επίσης, η αντίδραση πρέπει να πραγματοποιείται σε άνυδρες συνθήκες, διότι η παρουσία νερού ευνοεί παράπλευρες αντιδράσεις. [68] [69]



Εικόνα 58: Μηχανισμοί αμινόλυσης εστέρα (a) Μέσω διπολικών ενδιάμεσων (b) Μέσω ουδέτερων ενδιάμεσων (c) Μέσω συντονισμού

3 ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΕΝΩΣΕΩΝ - ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ

Στο κεφάλαιο αυτό θα μελετηθούν τα όργανα ανάλυσης που χρησιμοποιήθηκαν για την ταυτοποίηση των χημικών ενώσεων που συντέθηκαν, καθώς επίσης και οι μέθοδοι που αξιολόγησαν την βιολογική δράση των ενώσεων αυτών.

Πιο συγκεκριμένα για την ταυτοποίηση των ενώσεων χρησιμοποιήθηκαν τα εξής:

- Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού Πρωτονίου (^1H NMR)
- Φασματοσκοπία Υπερύθρου (IR)
- Φασματομετρία Μάζας (MS)

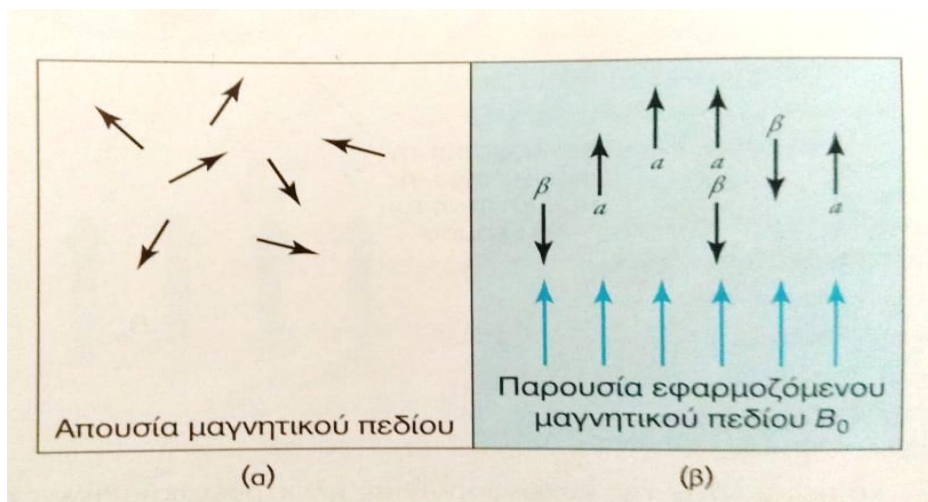
Για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της σταθερής ελεύθερης ρίζας DPPH, ενώ για την αξιολόγηση της κυτταροτοξικότητας χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος MTT.

3.1 Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR) [70][71][72]

Η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού, βασίζεται στη μέτρηση της απορρόφησης ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στην περιοχή των ραδιοσυχνοτήτων, από περίπου 4 έως 900 MHz. Σε αντίθεση με την απορρόφηση υπεριώδους, ορατής και υπέρυθρης ακτινοβολίας, στη διαδικασία της απορρόφησης μετέχουν οι πυρήνες των ατόμων και όχι τα ηλεκτρόνια. Επιπλέον, για τη δημιουργία των πυρηνικών ενεργειακών καταστάσεων, που απαιτούνται για να υπάρξει απορρόφηση, είναι απαραίτητη η τοποθέτηση του αναλύτη εντός ισχυρού μαγνητικού πεδίου. Η φασματοσκοπία NMR είναι από τα αποτελεσματικότερα εργαλεία, που διαθέτει ο χημικός και ο βιοχημικός για τον προσδιορισμό της δομής των χημικών ουσιών, καθώς παρέχει τις περισσότερες πληροφορίες από οποιαδήποτε άλλη φασματοσκοπική μέθοδο. Η τεχνική είναι επίσης χρήσιμη για τον ποσοτικό προσδιορισμό των ενώσεων που απορροφούν. Η φασματοσκοπία που χρησιμοποιήθηκε είναι η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού πρωτονίου (^1H NMR), καθώς το υδρογόνο είναι από τα πρωτεύοντα συστατικά των νέων ενώσεων που παράχθηκαν.

3.1.1 Αρχή λειτουργίας

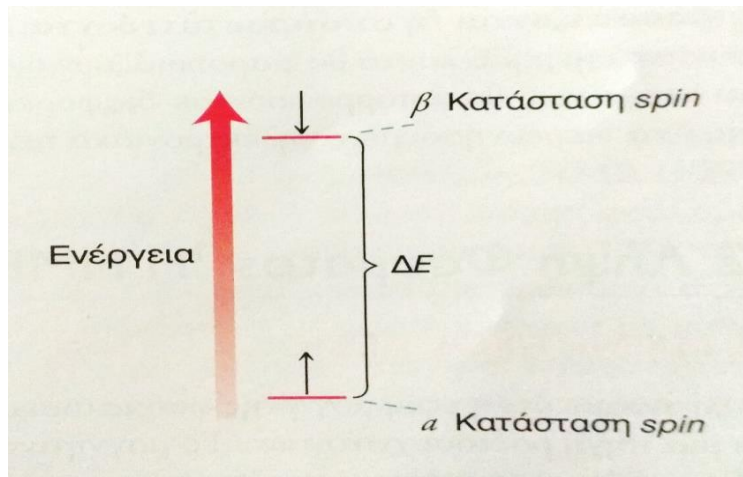
Βάσει της κβαντικής θεωρίας, οι πυρήνες των μορίων έχουν την ιδιότητα της αυτοστροφορμής (spin), δηλαδή την περιστροφή γύρω από έναν άξονα, παρουσιάζοντας έτσι στροφορμή. Η στροφορμή αυτή παρουσιάζει μια μέγιστη συνιστώση, η οποία είναι κβαντισμένη και παίρνει τιμές ίσες με το ακέραιο ή το ημιακέραιο πολλαπλάσιο του $h/2\pi$, όπου h η σταθερά του Planck. Αντίστοιχα, οι συνιστώσες του spin παρουσιάζουν έναν μέγιστο αριθμό (I), ο οποίος είναι κι αυτός κβαντισμένος και παίρνει τιμές $0, 1/2, 1, 3/2, 2$ κ.ο.κ. Τα πυρηνικά spin των μαγνητικών πυρήνων προσανατολίζονται, απουσία εξωτερικού μαγνητικού πεδίου, κατά τυχαίο τρόπο, ενώ αν τοποθετηθούν ανάμεσα στους πόλους ενός ισχυρού μαγνήτη, οι πυρήνες αποκτούν συγκεκριμένους προσανατολισμούς. Ένας περιστρεφόμενος πυρήνας ^1H μπορεί να αποκτήσει τέτοιον προσανατολισμό, ώστε το δικό του εξαιρετικά μικρό μαγνητικό πεδίο να διαταχθεί είτε παράλληλα ($I = +1/2$), είτε αντιπαράλληλα ($I = -1/2$), προς το εξωτερικό πεδίο. Ο παράλληλος προσανατολισμός είναι κατά τι χαμηλότερης ενέργειας, ευνοώντας σχετικά αυτή την κατάσταση του spin έναντι του αντιπαράλληλου προσανατολισμού. Όλοι οι πυρήνες με περιττό αριθμό νετρονίων, εκδηλώνουν μαγνητικές ιδιότητες, ενώ οι πυρήνες με άρτιο αριθμό πρωτονίων και νετρονίων, δεν προξενούν μαγνητικά φαινόμενα. Έτσι, τα άτομα ^{12}C , ^{16}O , ^{32}S για παράδειγμα, δεν δίνουν φάσματα NMR.



Εικόνα 59: Προσανατολισμός των μαγνητικών ροπών των πρωτονίων (α) απουσία εξωτερικού μαγνητικού πεδίου ή (β) παρουσία εξωτερικού μαγνητικού πεδίου

Όταν ένας πυρήνας που βρίσκεται στην (α) κατάσταση spin ακτινοβοληθεί με ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, μπορεί να απορροφήσει ενέργεια εάν αυτή ισούται με τη διαφορά ενέργειας μεταξύ των δύο spin. Η απορρόφηση προκαλεί μετάβαση του πυρήνα στην (β) κατάσταση spin (αναστροφή spin) και έτσι ο

πυρήνας βρίσκεται σε συντονισμό. Όταν εφαρμόζεται ισχυρό μαγνητικό πεδίο, η συχνότητα ακτινοβολίας που απαιτείται για να δημιουργηθεί συντονισμός βρίσκεται στην περιοχή των ραδιοκυμάτων του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος.


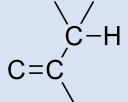
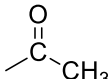

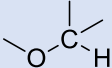


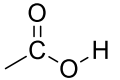
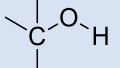


Εικόνα 60: Ενεργειακή διαφορά μεταξύ α και β καταστάσεων spin που δημιουργείται από την εφαρμογή εξωτερικού μαγνητικού πεδίου

Το πρωτόνιο υπόκειται σε δύο μαγνητικά πεδία: το ισχυρό εξωτερικό μαγνητικό πεδίο και το ασθενές επαγόμενο μαγνητικό πεδίο λόγω της κυκλοφορούσα ηλεκτρονιακής πυκνότητας. Επομένως, το ολικό μαγνητικό πεδίο που αισθάνεται το πρωτόνιο είναι λίγο μικρότερο του εξωτερικού πεδίου. Το πρωτόνιο σε αυτή τη περίπτωση προασπίζεται από τα ηλεκτρόνια. Ωστόσο, ορισμένα πρωτόνια περιβάλλονται από μικρότερη ηλεκτρονιακή πυκνότητα και προασπίζονται λιγότερο ή αλλιώς, αποπροασπίζονται. Το γεγονός αυτό επιτρέπει την διερεύνηση του ηλεκτρονιακού περιβάλλοντος κάθε ατόμου υδρογόνου πάνω στο μόριο.

Η παραπάνω προστασία του πυρήνα μετριέται σε ppm και ονομάζεται χημική μετατόπιση (δ). Όσο μεγαλύτερη είναι η προστασία ενός πυρήνα τόσο μικρότερη η χημική μετατόπιση του, με τους ηλεκτραρνητικούς υποκαταστάτες για παράδειγμα να έχουν μικρή προστασία και άρα μεγάλη μετατόπιση.

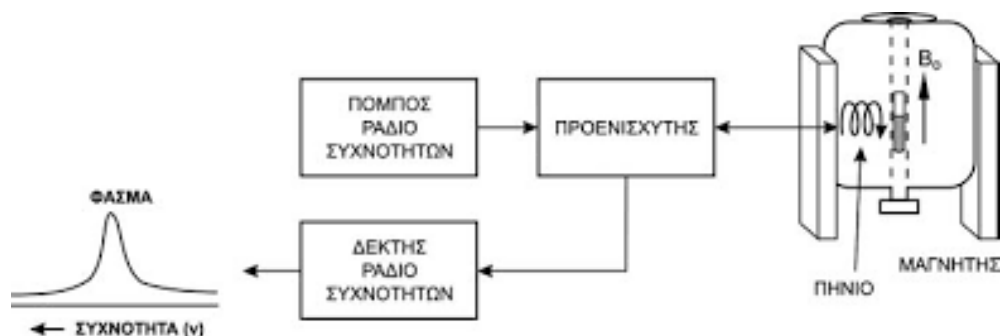
Πίνακας 1: Συσχετισμός των χημικών μετατοπίσεων του ^1H με το περιβάλλον

Τύπος Υδρογόνου	Δομή	Χημική Μετατόπιση (δ)
Αναφορά	$(\text{CH}_3)_4\text{Si}$	0
Κορεσμένο Πρωτοταγές	$-\text{CH}_3$	0.7 – 1.3
Κορεσμένο Δευτεροταγές	$-\text{CH}_2-$	1.2 – 1.4
Κορεσμένο Τριτοταγές		1.4 – 1.7
Αλλυλικό		1.6 – 2.2
Μεθυλοκετονικό		2.1 – 2.4
Αρωματικά Μεθύλια	$\text{Ar} - \text{CH}_3$	2.5 – 2.7
Αλκυλαλογονίδια		2.5 – 4
Αλκοόλες, Αιθέρες		3.3 – 4
Αλκύνυλο	$\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$	2.5 – 2.7
Βινυλικό		5 – 6.5
Αρωματικό	$\text{Ar} - \text{H}$	6.5 – 8
Αλδεϋδικό		9.7 – 10
Καρβοξυλικών Οξέων		11 – 12
Αλκοολικό		2.5 – 5 (μεταβαλλόμενη)

3.1.2 Οργανολογία NMR

Η φασματομετρία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού, αρχικά ξεκίνησε με τα φασματόμετρα συνεχούς κύματος (CW), τα οποία σάρωναν αργά ένα φάσμα ραδιοσυχνοτήτων υπό σταθερό μαγνητικό πεδίο καταγράφοντας τις απορροφούμενες συχνότητες. Άλλος ένας τρόπος λειτουργίας τους ήταν η διατήρηση σταθερής της ραδιοσυχνότητας και η αύξηση έπειτα αργά της ισχύς του μαγνητικού πεδίου, παρακολουθώντας ποιες τιμές πεδίου παρήγαγαν σήμα. Ωστόσο, σήμερα δεν χρησιμοποιούνται πλέον αυτά τα φασματόμετρα και την θέση τους έχουν πάρει τα παλμικά φασματόμετρα τα οποία διαθέτουν μετασχηματισμό Fourier (FT – NMR).

Σε αυτά τα φασματοόμετρα το δείγμα ακτινοβολείται με βραχύ παλμό που καλύπτει όλο το εύρος των επιθυμητών ραδιοσυχνοτήτων. Όλα τα πρωτόνια διεγείρονται ταυτόχρονα κι έπειτα αρχίζουν να φθίνουν στις αρχικές καταστάσεις spin. Με την φθίνουσα πορεία αυτή ελευθερώνεται ενέργεια με καθορισμένο τρόπο δημιουργώντας μια ηλεκτρική ώθηση στο πηνίο λήψης. Το πηνίο λήψης καταγράφει ένα πολύπλοκο σήμα, την ελευθέρα επαγόμενη φθίνουσα ταλάντωση (FID), η οποία είναι το άθροισμα όλων των ηλεκτρικών ωθήσεων που δημιουργούνται από κάθε είδος πρωτονίου. Η FID στην συνέχεια μετατρέπεται σε φάσμα μέσω του μετασχηματισμού Fourier με δυνατότητα λήψης εκατοντάδων φασμάτων μέσα σε λίγα λεπτά.



Εικόνα 61: Οργανολογία φασματοόμετρου NMR

3.2 Φασματοσκοπία Υπερύθρου (IR) [73][74][75][76]

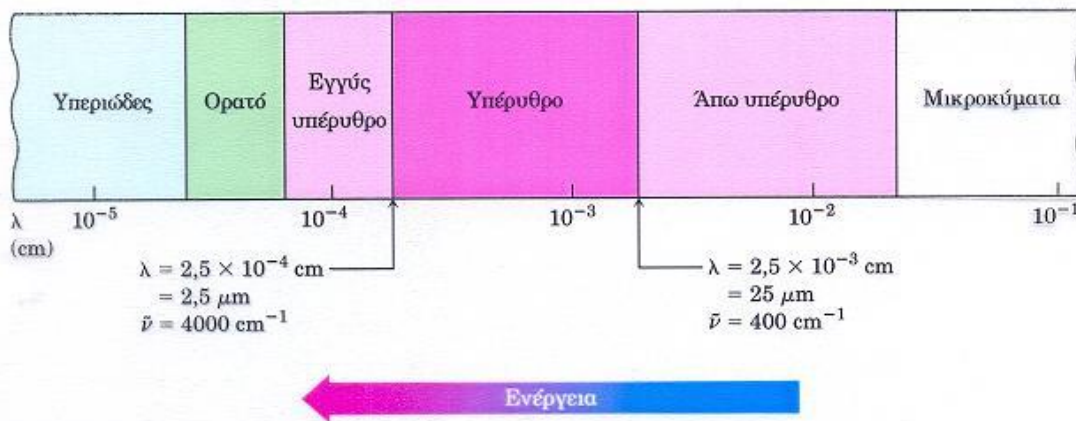
Η υπέρυθη περιοχή του φάσματος (IR), περιλαμβάνει ακτινοβολίες, των οποίων οι κυματαριθμοί κυμαίνονται από 12800 έως 10 cm^{-1} ή τα μήκη κύματος τους από 0,78 έως 1000 μm . Τα φάσματα απορρόφησης, εκπομπής και ανάκλασης υπέρυθρου των διαφόρων ουσιών μπορούν να ερμηνευτούν θεωρώντας ότι οφείλονται σε μια ποικιλία ενεργειακών μεταβολών. Οι μεταβολές αυτές είναι αποτέλεσμα των μορίων από μια δονητική ή μια περιστροφική ενεργειακή κατάσταση σε μια άλλη. Στο τμήμα αυτό χρησιμοποιείται η απορρόφηση των μορίων για να περιγραφεί η φύση αυτών των μεταπτώσεων.

3.2.1 Αρχή λειτουργίας

Η υπέρυθη ακτινοβολία, ανήκει στο ηλεκτρομαγνητικό φάσμα και βρίσκεται ανάμεσα στο ορατό φάσμα και στα μικροκύματα, δηλαδή μεταξύ 0.78 μm και 1000 μm , ενώ διακρίνεται σε τρεις επιμέρους περιοχές:

1. Το εγγύς υπέρυθρο φάσμα, που εκτείνεται από 0.78 μm έως και 2.5 μm μήκους κύματος και αντιστοιχεί σε κυματαριθμούς 12800 cm^{-1} έως και 40000 cm^{-1} .
2. Το μέσος υπέρυθρο φάσμα, που εκτείνεται από 2.5 μm έως και 50 μm μήκους κύματος και αντιστοιχεί σε κυματαριθμούς 4000 cm^{-1} έως και 200 cm^{-1} .
3. Το άπω υπέρυθρο φάσμα, που εκτείνεται από 50 μm έως και 1000 μm μήκους κύματος και αντιστοιχεί σε κυματαριθμούς 200 cm^{-1} έως και 10 cm^{-1} .

Για την αποτίμηση των φασμάτων υπέρυθρου των οργανικών ενώσεων χρησιμοποιείται μόνο η ενδιάμεση περιοχή από τα $2,5 \times 10^{-4} \text{ cm}$ έως τα $2,5 \times 10^{-3} \text{ cm}$.



Εικόνα 62: Περιοχές υπέρυθρης ακτινοβολίας

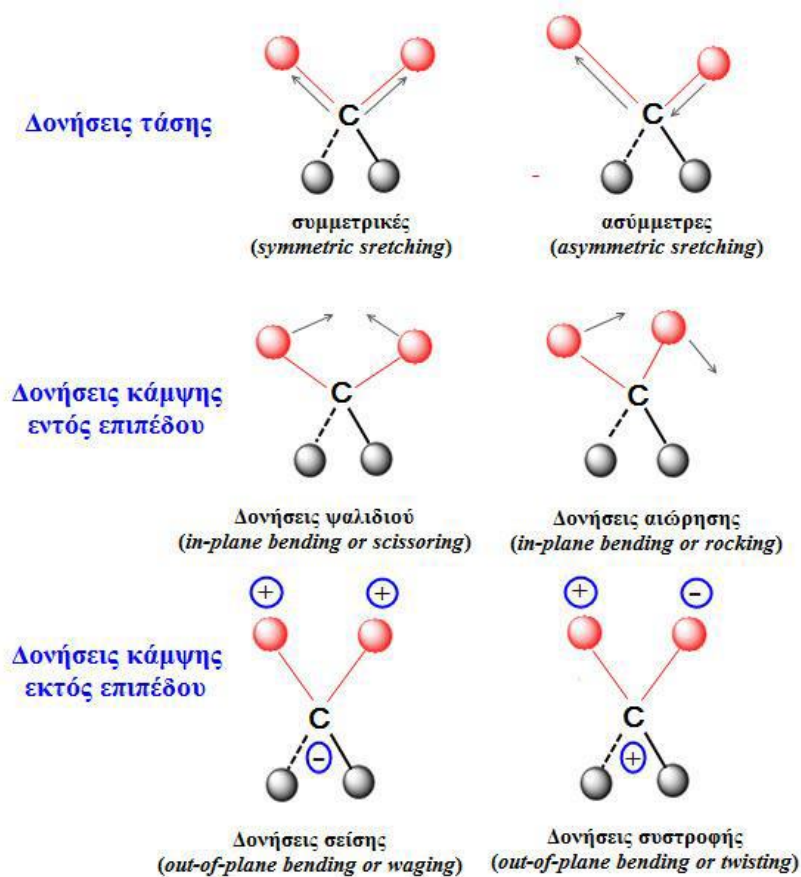
Το βασικό χαρακτηριστικό της φασματοσκοπίας υπέρυθρου είναι η καταγραφή της αλληλεπίδρασης των μορίων μέσω της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, καθώς τα μόρια διαθέτουν την ικανότητα να απορροφούν αυτού του είδους την ακτινοβολία. Ωστόσο, όταν δέχεται ένα μόριο ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, απορροφάτε ενέργεια όταν η ενέργεια της ακτινοβολίας είναι ίδια με την ενεργειακή διαφορά μεταξύ δύο δονητικών συχνοτήτων. Έτσι, όταν κάποια οργανική ένωση προσβληθεί από δέσμη ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, απορροφά ενέργεια σε συγκεκριμένα μήκη κύματος, αλλά αφήνει να διέλθει ενέργεια σε διαφορετικά μήκη κύματος. Οπότε, ένα δείγμα ακτινοβολείται με ενέργεια πολλών διαφορετικών μηκών κύματος κι έπειτα εντοπίζονται ποια απορροφώνται και ποια διέρχονται, προσδιορίζοντας έτσι το φάσμα απορρόφησης.

Την ικανότητα απορρόφησης ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας δεν την έχουν όλα τα μόρια, καθώς αυτή συμβαίνει βάσει κάποιων κανόνων. Ο πρώτος κανόνας αναφέρει πως μόνο οι ενώσεις που οι δονήσεις και οι περιστροφές των ατόμων τους έχουν μια διαρκή μεταβολή της διπολικής ροπής, ή στα μόρια των οποίων αλλάζει η διπολική ροπή κατά τη διάρκεια της περιστροφικής και δονητικής διαδικασίας, έχουν την δυνατότητα για απορρόφηση της υπέρυθρης ακτινοβολίας. Ο δεύτερος κανόνας, αναφέρεται σε διατομικό μόριο, που στην συγκεκριμένη εργασία δεν μελετάται οπότε δεν επηρεάζει.

Η ερμηνεία ενός φάσματος IR, για οργανικά μόρια θεωρείται αρκετά δύσκολη, διότι οι περισσότερες οργανικές ενώσεις είναι τόσο μεγάλες, ώστε εμφανίζουν δεκάδες μορφές δόνησης. Για να υπολογιστεί αυτός ο αριθμός δονήσεων, πρέπει να βρεθούν οι βαθμοί ελευθερίας του μορίου. Κάθε μόριο έχει $3N-6$ δονητικούς βαθμούς ελευθερίας, όπου N ο αριθμός των ατόμων της ένωσης, οι οποίοι περιγράφουν τις ταλαντώσεις του μορίου και ένα γραμμικό μόριο $3N-5$ βαθμοί ελευθερίας αντίστοιχα. Οι βασικοί αυτοί τρόποι δόνησης ($3N-6$ ή $3N-5$)

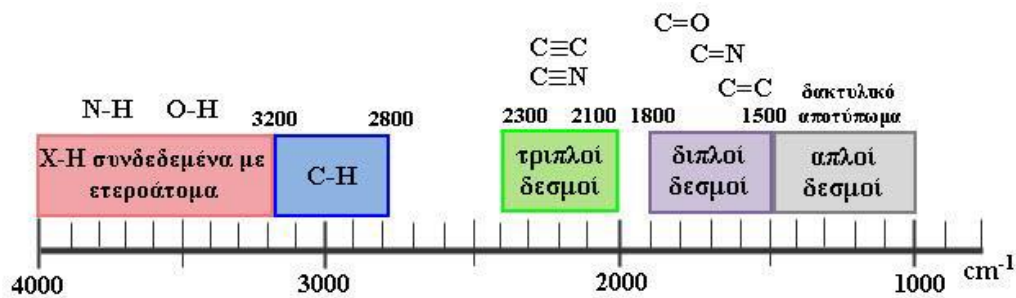
ονομάζονται κανονικοί τρόποι δόνησης (normal vibration modes) και μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως εξής:

- Δονήσεις τάσεις (stretching vibrations) : Παράγονται όταν δύο συνδεδεμένα άτομα πάλλονται συνεχώς μεταξύ τους, μεταβάλλοντας τη μεταξύ τους απόσταση κατά μήκος του άξονα δεσμού. Οι δονήσεις αυτές μπορεί να είναι είτε μεμονωμένες, είτε συζευγμένες. Οι συζευγμένες δονήσεις διακρίνονται σε συμμετρικές και ασέμμετρες.
- Δονήσεις κάμψης (bending vibrations) : Χαρακτηρίζονται από μια συνεχή μεταβολή της γωνίας μεταξύ των δύο δεσμών και διακρίνονται στους εξής τέσσερις τύπους :
 - ✓ Δονήσεις ψαλιδιού ή παραμόρφωσης (scissoring or deformation vibrations) : Παράγονται όταν δύο άτομα που είναι συνδεδεμένα με ένα κεντρικό άτομο κινούνται εμπρός πίσω εντός του επιπέδου ισορροπίας και προ τη μεταξύ τους διεύθυνση.
 - ✓ Δονήσεις αιώρησης (rocking vibrations): Συμβαίνουν όταν μία μη γραμμική δομική μονάδα τριών ατόμων δονείται εμπρός και πίσω του επιπέδου ισορροπίας που σχηματίζεται από τα άτομα και τους δεσμούς.
 - ✓ Δονήσεις σείσης (wagging vibrations) : Παράγονται όταν μια μη γραμμική δομική μονάδα τριών ατόμων δονείται εκτός του επιπέδου ισορροπίας που σχηματίζεται από τα άτομα και τους δύο δεσμούς.
 - ✓ Δονήσεις συντροφής (twisting vibrations) : Συμβαίνουν όταν μια δομική μονάδα τριών ατόμων συστρέφεται γύρω από τον δεσμό σύνδεσης με το υπόλοιπο τμήμα του μορίου εκτός του επιπέδου ισορροπίας.



Εικόνα 63: Βασικοί τύποι δονήσεων τάσης και κάμψης των μοριακών δομών στην IR φασματοσκοπία

Η πολυπλοκότητα που διαθέτουν τα οργανικά μόρια, είναι πολύ χρήσιμη για την αναγνώριση τους από την φασματοσκοπία υπερύθρου, επειδή ένα φάσμα IR μπορεί να λειτουργήσει σαν ένα είδος δακτυλικού αποτυπώματος για μια συγκεκριμένη ένωση. Για τον λόγο αυτό, η περιοχή του φάσματος IR μεταξύ 1500 cm^{-1} και 400 cm^{-1} αποτελεί την περιοχή δακτυλικού αποτυπώματος. Οι περισσότερες λειτουργικές ομάδες διαθέτουν συγκεκριμένες περιοχές απορρόφησης, που δεν διαφέρουν από ένωση σε ένωση. Έτσι, κάθε κορυφή του φάσματος (κάθε απορρόφηση ενέργειας αλλιώς), αντιστοιχείται σε μια χαρακτηριστική ομάδα του μορίου και μπορεί να αναγνωριστεί μέσω βιβλιογραφίας.



Εικόνα 64: Χαρακτηριστικές ομάδες σε φάσμα IR

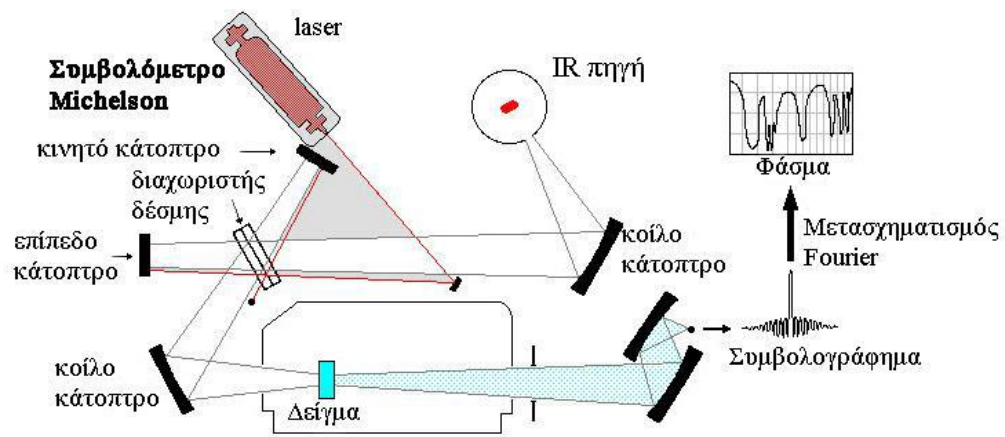
3.2.2 Οργανολογία IR

Τα πρώτα φασματοσκοπία μέσου υπέρυθρου ξεκίνησαν την δεκαετία του '80, με τα περισσότερα όργανα τότε να βασίζονταν σε χρήση φραγμάτων περίθλασης, ενώ σήμερα η πλειονότητα των οργάνων βασίζεται στον μετασχηματισμό Fourier και φίλτρων συμβολής. Τα τελευταία χρόνια έχει αυξηθεί ο αριθμός και ο τύπος των εφαρμογών της μέσης υπέρυθρης ακτινοβολίας, διότι υπάρχει σαφής βελτίωση στον λόγο σήμα προς θόρυβο και βελτίωση των ορίων ανίχνευσης τουλάχιστον κατά μία τάξης μεγέθους.

Τα φασματοφωτόμετρα υπέρυθρης ακτινοβολίας χωρίζονται σε δύο βασικές κατηγορίες, οι οποίες είναι τα συμβατικά φασματοφωτόμετρα διασποράς (classical dispersive IR Spectrometers) και τα φασματοφωτόμετρα υπέρυθρου μετασχηματισμού Fourier με συμβολόμετρο (Fourier Transform IR Spectrometers).

Αναλυτικότερα για το φασματοφωτόμετρο υπέρυθρου με μετασχηματισμό Fourier με συμβολόμετρο, παρουσιάζει υψηλές ταχύτητες και υψηλές ευαισθησίες. Το βασικό πλεονέκτημα της FTIR φασματοσκοπίας έγκειται στη χρήση συμβολόμετρου αντί μονοχρωμάτορα, το οποίο επιτρέπει να κατευθύνονται στον ανιχνευτή όλες οι συχνότητες ταυτόχρονα και όχι διαδοχικά, μόνο μία τη φορά, υπερνικώντας κατ' αυτόν τον τρόπο τις αδυναμίες και τους περιορισμούς των συμβατικών φασματοφωτόμετρων διασποράς. Τα τρία βασικά μέρη του οργάνου είναι : η πηγή της υπέρυθρης ακτινοβολίας, το συμβολόμετρο και ο ανιχνευτής υπέρυθρου. Χρησιμοποιείται επίσης πηγή laser για την δημιουργία εσωτερικής αναφοράς, τη μέτρηση κυματαριθμών και τη ρύθμιση της διάρκειας των παλμών. Ένα τυπικό συμβολόμετρο αποτελείται από δύο κάτοπτρα, εκ των οποίων το ένα παραμένει σταθερό, ενώ το άλλο είτε κινείται με σταθερή ταχύτητα είτε σταματά περιοδικά και για μικρά χρονικά διαστήματα. Τα επίπεδα των δύο κατόπτρων είναι κάθετα μεταξύ τους, ενώ ανάμεσα στο σταθερό και στο κινούμενο κάτοπτρο υπάρχει ένας διαχωριστής

δέσμης. Ο διαχωριστής δέσμης είναι ένα ημιδιαφανές κάτοπτρο το οποίο αποτελείται από υλικό που δεν απορροφά στην υπέρυθρη περιοχή.



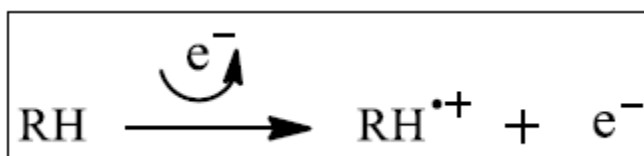
Εικόνα 65: Φασματοφωτόμετρο FTIR με συμβολόμετρο

3.3 Φασματοσκοπία Μάζας (MS) [77][78][79][80]

Η φασματοσκοπία μαζών είναι ίσως η τεχνική που μπορεί να βρει τη μεγαλύτερη ποικιλία εφαρμογών σε σχέση με όλες τις άλλες αναλυτικές τεχνικές που διαθέτει ο επιστήμονας. Το γεγονός αυτό οφείλεται στο ότι η τεχνική αυτή παρέχει πληροφορίες σχετικά με : τη στοιχειομετρική σύσταση του εξεταζόμενου δείγματος, τις δομές ανόργανων, οργανικών και βιολογικών μορίων, την ποιοτική και ποσοτική σύσταση σύνθετων μιγμάτων, τη δομή και τη σύσταση στερεών επιφανειών και την αναλογία ισotόπων ατόμων σε δείγματα.

3.3.1 Αρχή λειτουργίας

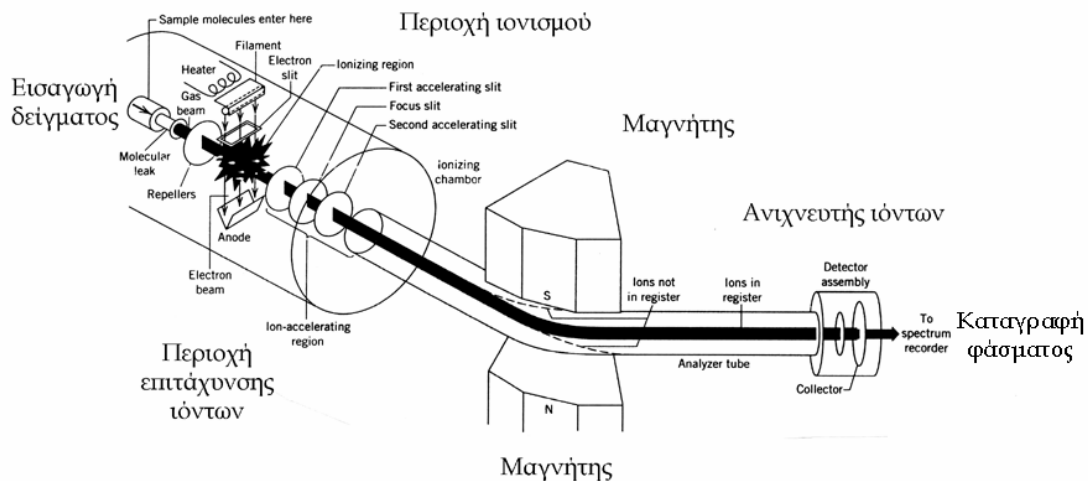
Εισάγεται στο φασματόμετρο μια μικρή ποσότητα δείγματος, η οποία βομβαρδίζεται με ρεύμα ηλεκτρονίων, οπότε αποσπάται ένα ηλεκτρόνιο από μόρια του αναλύτη και σχηματίζεται το μοριακό ιόν M^+ σύμφωνα με την αντίδραση:



Το φορτισμένο σωματίδιο $\text{RH}^{\bullet+}$ είναι το μοριακό ιόν. Όπως υποδηλώνει η τελεία, το μοριακό ιόν είναι ριζικό ιόν, που έχει το ίδιο μοριακό βάρος με το μόριο. Η σύγκρουση μεταξύ των δραστικών ηλεκτρονίων και των μορίων του αναλύτη μεταφέρει αρκετή ενέργεια στα μόρια, ώστε να τα αφήσει σε διεγερμένη κατάσταση. Η αποδιέγερση συχνά συντελείται με διάσπαση μέρους των μοριακών ιόντων προς ιόντα μικρότερης μάζας. Τα θετικά ιόντα που παράγονται από την πρόσκρουση με ηλεκτρόνια έλκονται μέσω σχισμής του φασματόμετρου μαζών, όπου διαχωρίζονται ανάλογα με τον λόγο μάζας-προς-φορτίο (m/z) και παρουσιάζονται ως φάσμα μαζών. Πρόκειται για ένα είδος ραβδογράμματος, που σχετίζει τις εντάσεις των διαφόρων κορυφών μαζών με τον λόγο m/z . Στη μεγαλύτερη κορυφή του φάσματος, η οποία ονομάζεται βασική κορυφή, δίνεται αυθαίρετα η τιμή 100. Τα ύψη των υπόλοιπων κορυφών μετρούνται ως το % ποσοστό του ύψους της βασικής κορυφής.

3.3.2 Οργανολογία MS

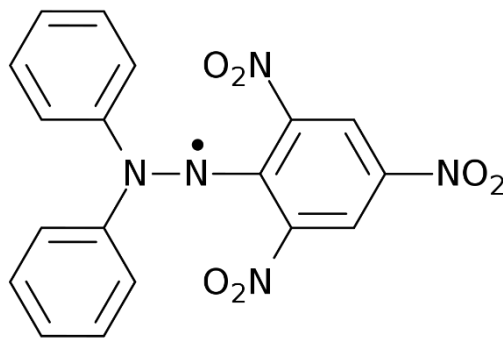
Αφού το δείγμα είναι έτοιμο να εισέλθει στον φασματογράφο μάζας, τότε αυτό γίνεται από το σύστημα εισόδου, το οποίο έχει ως σκοπό να αφήνει μια πολύ μικρή ποσότητα δείγματος να εισέρχεται στο φασματόμετρο. Συχνά το σύστημα εισαγωγής περιλαμβάνει και ένα σύστημα εξαέρωσης στερεών ή υγρών δειγμάτων. Στη συνέχεια, το δείγμα περνάει στην πηγή ιόντων, όπου μετατρέπονται τα συστατικά του δείγματος σε ιόντα (συνήθως θετικά), τα οποία επιταχύνονται προς τον αναλυτή μαζών. Συχνά το σύστημα εισαγωγής και η πηγή ιόντων συνδυάζονται σε ενιαία μονάδα. Έπειτα, στον αναλυτή μαζών, γίνεται μια διασπορά των συστατικών, η οποία βασίζεται στον λόγο μάζας προς φορτίο (m/z) των ιόντων της ουσίας και είναι το στοιχείο εκείνο που διακρίνει τα φασματόμετρα μάζας σε διάφορες κατηγορίες. Το δείγμα στη συνέχεια θα περάσει από έναν μεταλλάκτη, που έχει σαν ρόλο την μετατροπή της δέσμης ιόντων σε ηλεκτρικό σήμα. Το σήμα αυτό στη συνέχεια, υποβάλλεται σε επεξεργασία, αποθηκεύεται στη μνήμη υπολογιστή και αναγνωρίζεται το φάσμα του.



Εικόνα 66: Σχηματική απεικόνιση φασματογράφου μάζας (MS)

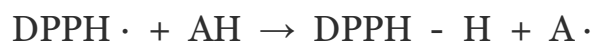
3.4 Σταθερή Ελεύθερη Ρίζα DPPH [81][82]

Η ένωση 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ή αλλιώς DPPH, είναι μια σκούρα κρυσταλλική σκόνη η οποία αποτελείται από σταθερές ελεύθερες ρίζες και έχει ένα βαθύ βιολετί χρώμα όταν βρίσκεται σε διάλυμα, που χαρακτηρίζεται από μία ζώνη απορρόφησης σε διάλυμα αιθανόλης στα 515 - 520 nm, ενώ γίνεται άχρωμο έως και κίτρινο όταν εξουδετερώνεται. Η σάρωση της ρίζας DPPH είναι η βάση της δημοφιλούς αντιοξειδωτικής ανάλυσης DPPH.

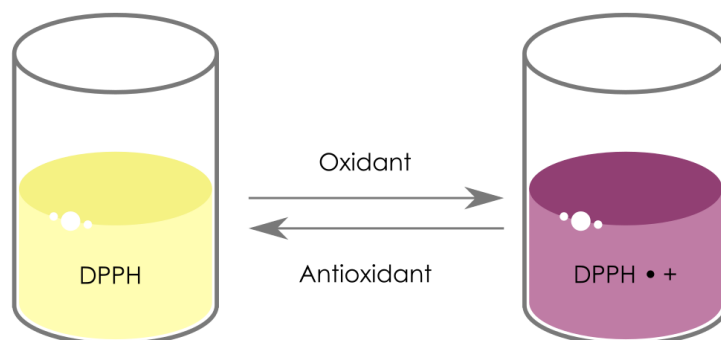


Εικόνα 67: Χημική δομή μορίου DPPH

Οποιαδήποτε ουσία μπορεί να δώσει ένα άτομο υδρογόνου, να είναι δηλαδή αυτή η ουσία αντιοξειδωτική (AH), τότε μπορεί να αντιδράσει με το DPPH και να δώσει την ανηγμένη του μορφή σύμφωνα με την εξίσωση :



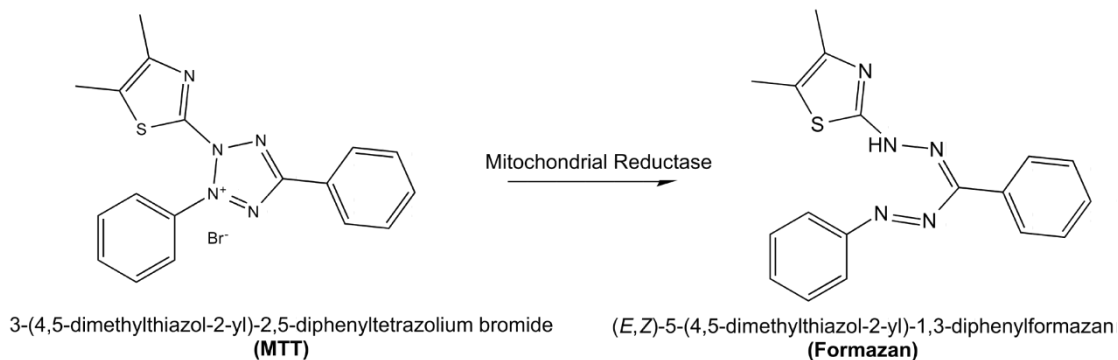
Με την αντίδραση αυτή μειώνεται η σταθερή ελεύθερη ρίζα και αλλάζει χρώμα το διάλυμα από βαθύ βιολετί σε ανοιχτό κίτρινο. Η ριζική μορφή του DPPH που δεν αντέδρασε απορροφά στην ορατή περιοχή και η φασματοσκοπική μέθοδος βασίζεται στις μετρήσεις της έντασης χρώματος στα 515 - 520 nm.



Εικόνα 68: Αλλαγή χρώματος DPPH στην αντιοξειδωτική δράση

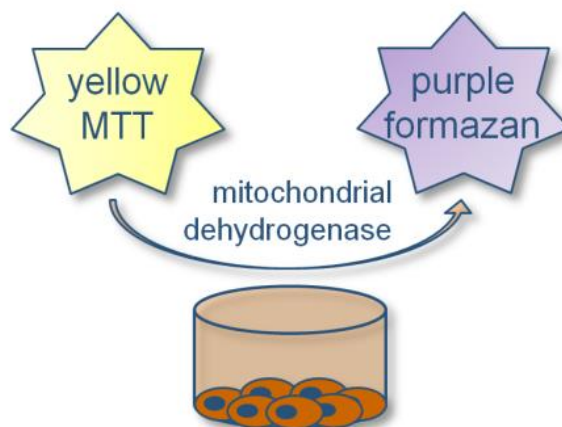
3.5 Μέθοδος Κυτταροτοξικής Δράσης MTT [83] [84]

Η ένωση μεθυλθειαζολετετραζόλιο, ή αλλιώς MTT είναι ένα υδατοδιαλυτό άλας τετραζολίου που δίδει κιτρινωπό διάλυμα όταν παρασκευάζεται σε μέσα ή διαλύματα αλάτων χωρίς ερυθρό φαινόλης. Το διαλυμένο MTT μετατρέπεται σε αδιάλυτη μοβ φορμαζάνη με διάσπαση του δακτυλίου τετραζολίου με ένζυμα μιτοχονδριακής αφυδρογονάσης ζωντανών κυττάρων.



Εικόνα 69: Μετατροπή MTT σε φορμαζάνη

Αυτή η αδιάλυτη στο νερό φορμαζάνη μπορεί να διαλυθεί σε διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO) και να μετρηθεί φασματοφωτομετρικά. Η ανάλυση προσδιορίζει τον αριθμό των βιώσιμων κυττάρων με βιοπαραγωγή MTT σε ένα έγχρωμο προϊόν φορμαζάνης που ανιχνεύεται με απορρόφηση στα 570 nm. Ο βαθμός απορρόφησης φωτός εξαρτάται από τον βαθμό συγκέντρωσης φορμαζάνης που συσσωρεύεται μέσα στο κύτταρο και στην επιφάνεια του κυττάρου. Όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση φορμαζάνης, τόσο πιο βαθύ είναι το μοβ χρώμα και έτσι τόσο μεγαλύτερη είναι η απορρόφηση.



Εικόνα 70: Αλλαγή χρώματος MTT σε φορμαζάνη

4 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4.1 Όργανα και Συσκευές

Η παρακολούθηση της πορείας των αντιδράσεων, αλλά κι ο αρχικός έλεγχος της καθαρότητας των τελικών προϊόντων έγινε με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας, TLC, (Thin Liquid Chromatography) σε πλάκες αλουμινίου, επιστρωμένες με Silica gel F254 της εταιρίας Merck και σε διάφορες αναλογίες συστήματος διαλυτών πετρελαϊκού αιθέρα (PE) / οξικού αιθυλεστέρα (EtOAc). Οι κηλίδες των χρωματογραφημάτων TLC εμφανίστηκαν με λάμπα υπεριώδους (UV) ακτινοβολίας στα 254 nm και με εμποτισμό σε διάλυμα φωσφομολυβδαινικού οξέος (PMA) σε αναλογία (αιθανολικό διάλυμα PMA 7% / EtOH 1:2).

Ο χαρακτηρισμός των νέων μορίων κι ο έλεγχος της καθαρότητάς τους πραγματοποιήθηκε μέσω φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητισμού συντονισμού ^1H NMR, μέσω φασματομετρίας μάζας MS και μέσω φασματοσκοπίας υπερύθρου FTIR.

Τα φάσματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού, ^1H NMR, έχουν καταγραφεί με τα όργανα Varian Gemini 600MHz και Varian Gemini 300MHz του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών και ως διαλύτης χρησιμοποιήθηκε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3 , d1), ή / και το διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO). Οι τιμές των μετατοπίσεων δίνονται σε ppm και οι τιμές των σταθερών συζεύξεων, J, σε Hz. Οι πολλαπλότητες των σημάτων στα φάσματα ^1H NMR δίνονται ως :

- s (singlet, απλό)
- d (doublet, διπλό)
- t (triplet, τριπλό)
- q (quartet, τετραπλό)
- m (multiplet, πολλαπλό)
- dd (doublet of doublets, διπλό διπλών)
- td (triplet of doublets, τριπλό διπλών)
- br (broad, ευρύ)
- brs (broad singlet, ευρύ απλό)

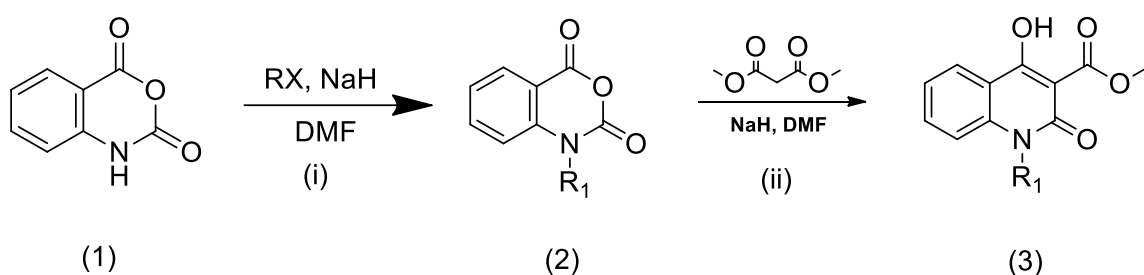
Τα φάσματα υπερύθρου, FTIR, έχουν καταγραφεί με το όργανο Jasco 4200 μέσω σχηματισμού ταμπλέτας σε KBr, του Εργαστηρίου Αναλυτικής Χημείας.

Τέλος, ο προσδιορισμός των σημείων τήξης έγινε σε ανοικτούς τριχοδιαμετρικούς σωλήνες σε μια συσκευή Gallenkamp και οι τιμές δεν έχουν διορθωθεί.

4.2 Συνθετική Πορεία Νέων Ενώσεων

Η συνολική συνθετική πορεία των νέων υβριδικών μορίων έγινε σε τρία στάδια, εκ των οποίων τα δύο πρώτα αφορούν την σύνθεση των κινολινονών και το τρίτο στάδιο, την σύνθεση των υβριδικών μορίων κινολινόνης – αμιδίου.

4.2.1 Γενική Μέθοδος Σύνθεσης Κινολινονών



Εικόνα 71: Αντιδράσεις σύνθεσης κινολινονών

Στο πρώτο στάδιο της σύνθεσης (i), πραγματοποιείται μια αντίδραση N – αλκυλίωσης του ισατοϊουκού ανυδρίτη. Συγκεκριμένη προσότητα ισατοϊκού ανυδρίτη (1), διαλύεται σε κατάλληλη ποσότητα διμεθυλοφορμαμίδιου (DMF), παρουσία υδριδίου του νατρίου (NaH) ως βάσης. Στην συνέχεια, προστίθεται υπό ψύξη το επιθυμητό αλκυλαλογονίδιο και η αντίδραση αφήνεται υπό ανάδευση σε ξηρές συνθήκες και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 24 ώρες. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται με την βοήθεια τη χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC) σε σύστημα διαλυτών PE : EtOAc 6:4. Αφού εξακριβωθεί το τέλος της αντίδρασης, το μίγμα μεταφέρεται σε κωνική φιάλη με πάγο και νερό και ακολούθως εκχυλίζεται τρεις φορές με διαιθυλαιθέρα (Et₂O) ή με οξικό αιθυλεστέρα (EtOAc). Έπειτα, συλλέγεται η οργανική φάση, η οποία ξηραίνεται με Na₂SO₄, και εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση. Το προϊόν (2) (υποκατεστημένος ισατοϊκός ανυδρίτης) παραλαμβάνεται σε στερεή μορφή ύστερα από επιπλέον εκπλύσεις με διαιθυλαιθέρα (Et₂O) και χρησιμοποιείται χωρίς καθαρισμό στο επόμενο στάδιο.

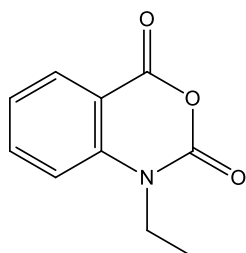
Στο δεύτερο στάδιο της σύνθεσης (ii), πραγματοποιείται μια αντίδραση C-ακυλίωσης του μηλονικού διμεθυλεστέρα με το προϊόν (2) της αντίδρασης (i) σε βασικό περιβάλλον, το οποίο επιτυγχάνεται με την παρουσία κατάλληλης ποσότητας υδριδίου του νατρίου (NaH) διαλυμένου σε διαλύτη

διμεθυλοφορμαμιδίου (DMF), προς σχηματισμό της κινολινόνης (**3**). Το μίγμα της αντίδρασης θερμαίνεται, υπό ανάδευση, στους 80 °C σε ξηρές συνθήκες για 2 με 3 ώρες. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται με την βοήθεια χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας (TLC) σε διάφορα συστήματα διαλυτών PE: EtOAc. Αφού εξακριβωθεί το τέλος της αντίδρασης, το προκύπτων διάλυμα οξινίζεται υπό ψύξη, με κατάλληλη ποσότητα διαλύματος HCl 10%, μέχρις ότου το pH να ισούται με 1. Ακολουθεί εκχύλιση του διαλύματος με διαιθυλαιθέρα (Et₂O) και νερό (H₂O) και παραλαβή της οργανικής φάσης. Έπειτα στην οργανική φάση, γίνεται προσθήκη ξηραντικού μέσου (NaSO₄) και συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Το προϊόν (**3**) παραλαμβάνεται σε στερεή μορφή. Η καθαρότητα της κινολινόνης ελέγχεται με φασματοσκοπία πρωτονίου ¹H NMR και τυχόν προσμίξεις στο στερεό απομακρύνονται μέσω κατεργασίας με διαλύτη μεθανόλη (MeOH).

4.2.2 Υποκαταστάσεις Ισατοϊκού Ανυδρίτη

Τα συνολικά μόρια με τις υποκαταστάσεις του ισατοϊκού ανυδρίτη που παράχθηκαν, παρουσιάζονται παρακάτω:

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

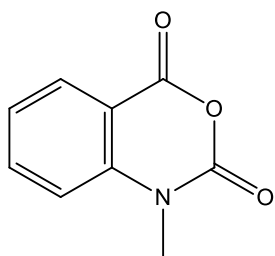


Chemical Formula: C₁₀H₉NO₃
Molecular Weight: 191,18

Η σύνθεση της ένωσης **2a** ακολουθεί την παραπάνω γενική μέθοδο (στάδιο i). Σε σφαιρική φιάλη αναμειγνύονται 18.5 mmol (621.6 mg) NaH 60% σε πετρελαϊκό αιθέρα (PE) και 50 ml διαλύτη DMF υπό ανάδευση και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Στην συνέχεια προστίθενται 12.3 mmol (2 g) ισατοϊκού ανυδρίτη (**1**) και 14.8 mmol (1.2 ml) ιωδοαιθανίου υπό ψύξη. Το επιθυμητό προϊόν **2a** παραλαμβάνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή μπεζ στερεού.

Η απόδοση της αντίδρασης υπολογίστηκε 25% (580 mg).

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



Chemical Formula: C₉H₇NO₃

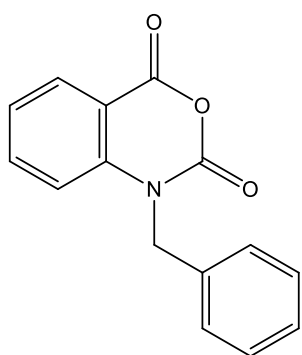
Molecular Weight: 177,16

από κατάλληλη

Η σύνθεση της ένωσης **2b** ακολουθεί την παραπάνω γενική μέθοδο (στάδιο i). Σε σφαιρική φιάλη αναμειγνύονται 18.4 mmol (735.6 mg) NaH 60% σε πετρελαϊκό αιθέρα (PE) και 50 ml διαλύτη DMF υπό ανάδευση και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Στην συνέχεια προστίθενται 12.3 mmol (2 g) ισατοϊκού ανυδρίτη (**1**) και 14.7 mmol (0.92 ml) ιωδομεθανίου υπό ψύξη. Το επιθυμητό προϊόν **2b** παραλαμβάνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή μπεζ στερεού.

Η απόδοση της αντίδρασης υπολογίστηκε 15% (245 mg).

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



Chemical Formula: C₁₅H₁₁NO₃

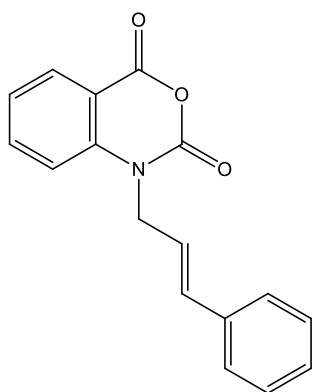
Molecular Weight: 253,25

από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή μπεζ στερεού.

Η σύνθεση της ένωσης **2c** ακολουθεί την παραπάνω γενική μέθοδο (στάδιο i). Σε σφαιρική φιάλη αναμειγνύονται 36.8 mmol (1.47 g) NaH 60% σε πετρελαϊκό αιθέρα (PE) και 100 ml διαλύτη DMF υπό ανάδευση και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Στην συνέχεια προστίθενται 24.5 mmol (4 g) ισατοϊκού ανυδρίτη (**1**) και 29.4 mmol (3.49 ml) βενζυλοβρωμιδίου υπό ψύξη. Το επιθυμητό προϊόν **2c** παραλαμβάνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή μπεζ στερεού.

Η απόδοση της αντίδρασης υπολογίστηκε 49% (3.01 g).

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



Chemical Formula: C₁₇H₁₃NO₃
Molecular Weight: 279,29

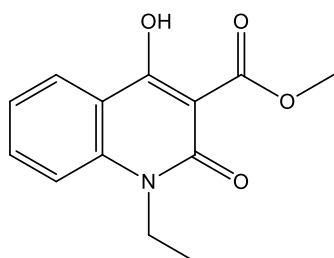
Η σύνθεση της ένωσης **2d** ακολουθεί την παραπάνω γενική μέθοδο (στάδιο i). Σε σφαιρική φιάλη αναμειγνύονται 36.8 mmol (1.47 g) NaH 60% σε πετρελαϊκό αιθέρα (PE) και 100 ml διαλύτη DMF υπό ανάδευση και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Στην συνέχεια προστίθενται 24.5 mmol (4 g) ισατοϊκού ανυδρίτη (**1**) και 29.4 mmol (5.80 g) κινναμυλικό βρωμίδιο υπό ψύξη. Το επιθυμητό προϊόν **2d** παραλαμβάνεται ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία σε μορφή μπεζ στερεού.

Η απόδοση της αντίδρασης υπολογίστηκε 67% (4.55 g).

4.2.3 Μόρια Κινολινονών

Τα συνολικά μόρια με την βασική δομή της κινολινόνης που παράχθηκαν, παρουσιάζονται παρακάτω:

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



Chemical Formula: C₁₃H₁₃NO₄
Molecular Weight: 247,25

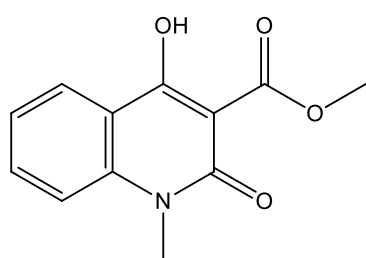
Η σύνθεση της ένωσης **3a** ακολουθεί την παραπάνω γενική μέθοδο (στάδιο ii). Σε σφαιρική φιάλη αναμειγνύονται 5.9 mmol (234.5 mg) NaH 60% σε πετρελαϊκό αιθέρα (PE) και 25 ml διαλύτη DMF υπό ανάδευση και σε θερμοκρασία 80oC. Στην συνέχεια προστίθενται 2.9 mmol (560 mg) του υποκατεστημένου ισατοϊκού ανυδρίτη **2a** και 14.7 mmol (1.70 ml) μηλονικού διμεθυλεστέρα υπό ψύξη. Η αντίδραση θερμαίνεται στους 80oC και αφήνεται με την βοήθεια κάθετου ψυκτήρα για 2 με 3 ώρες. Με το πέρας της αντίδρασης, το μίγμα επεξεργάζεται κατάλληλα και το επιθυμητό προϊόν **3a** παραλαμβάνεται με τη μορφή λευκού στερεού.

Η απόδοση της αντίδρασης υπολογίστηκε 30% (220 mg).

Σημείο τήξης της ένωσης: 136.6 – 138.9 °C.

¹HNMR (600 MHz, CDCl₃, d₁) δ (ppm) 14.01 (s, 1H, -OH), 8.20 (dd, J = 7.8, 0.6 Hz, 1H, Ar-H), 7.68 (td, J = 7.2, 1.8 Hz, 1H, Ar-H), 7.33 (d, J = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.25 (t, J = 7.8 Hz, 1H, Ar-H), 4.31 (q, J = 7.2 Hz, 2H, N-CH₂-CH₃), 4.04 (s, 2H, COOCH₃), 1.33 (t, J = 6.6 Hz, 3H, N-CH₂-CH₃)

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



Chemical Formula: C₁₂H₁₁NO₄
Molecular Weight: 233,22

Η σύνθεση της ένωσης **3b** ακολουθεί την παραπάνω γενική μέθοδο (στάδιο ii). Σε σφαιρική φιάλη αναμειγνύονται 2.0 mmol (80.8 mg) NaH 60% σε πετρελαϊκό αιθέρα (PE) και 10 ml διαλύτη DMF υπό ανάδευση και σε θερμοκρασία 80οC. Στην συνέχεια προστίθενται 1.01 mmol (179 mg) του υποκατεστημένου ισατοϊκού ανυδρίτη **2b** και 5.05 mmol (0.58 ml) μηλονικού διμεθυλεστέρα υπό ψύξη.

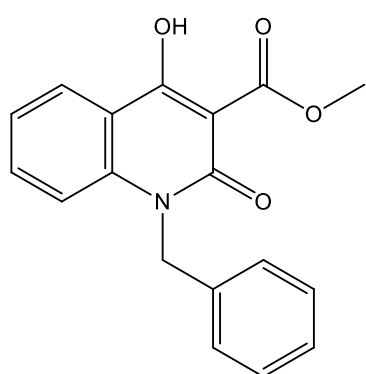
Η αντίδραση θερμαίνεται στους 80οC και αφήνεται με την βοήθεια κάθετου ψυκτήρα για 2 με 3 ώρες. Με το πέρας της αντίδρασης, το μίγμα επεξεργάζεται κατάλληλα και το επιθυμητό προϊόν **3b** παραλαμβάνεται με τη μορφή λευκού στερεού.

Η απόδοση της αντίδρασης υπολογίστηκε 20% (45.1 mg).

Σημείο τήξης της ένωσης: 165.3 – 166.8 °C.

¹HNMR (600 MHz, CDCl₃, d₁) δ (ppm) 14.01 (s, 1H, -OH), 8.19 (dd, J = 6.6 Hz, 1H, Ar-H), 7.69 (td, J = 7.2, 1.8 Hz, 1H, Ar-H), 7.32 (d, J = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.27 (t, J = 6.0 Hz, 1H, Ar-H), 4.04 (s, 3H, N-CH₃), 3.66 (s, 3H, COOCH₃)

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



Chemical Formula: C₁₈H₁₅NO₄
Molecular Weight: 309,32

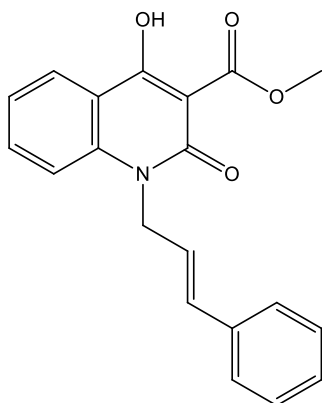
Η σύνθεση της ένωσης **3c** ακολουθεί την παραπάνω γενική μέθοδο (στάδιο ii). Σε σφαιρική φιάλη αναμειγνύονται 23.5 mmol (939 mg) NaH 60% σε πετρελαϊκό αιθέρα (PE) και 90 ml διαλύτη DMF υπό ανάδευση και σε θερμοκρασία 80οC. Στην συνέχεια προστίθενται 11.7 mmol (2.97 g) του υποκατεστημένου ισατοϊκού ανυδρίτη **2c** και 58.7 mmol (6.75 ml) μηλονικού διμεθυλεστέρα υπό ψύξη. Η αντίδραση θερμαίνεται στους 80οC και αφήνεται με την βοήθεια κάθετου ψυκτήρα για 2 με 3 ώρες. Με το πέρας της αντίδρασης, το μίγμα επεξεργάζεται κατάλληλα και το επιθυμητό προϊόν **3c** παραλαμβάνεται με τη μορφή λευκού στερεού.

Η απόδοση της αντίδρασης υπολογίστηκε 56% (2.02 g).

Σημείο τήξης της ένωσης: 152.6 – 154.9 °C.

¹HNMR (600 MHz, CDCl₃, d₁) δ (ppm) 14.22 (s, 1H, -OH), 8.21 (dd, J = 7.8, 1.2 Hz, 1H, Ar-H), 7.55 (td, J = 7.2, 1.8 Hz, 1H, Ar-H), 7.29 (t, J = 7.5 Hz, 2H, Ar-H), 7.22 (m, 5H, Ar-H), 5.51 (brs, 2H, N-CH₂-Ar), 4.05 (s, 3H, COOCH₃)

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



Chemical Formula: $C_{20}H_{17}NO_4$
Molecular Weight: 335,35

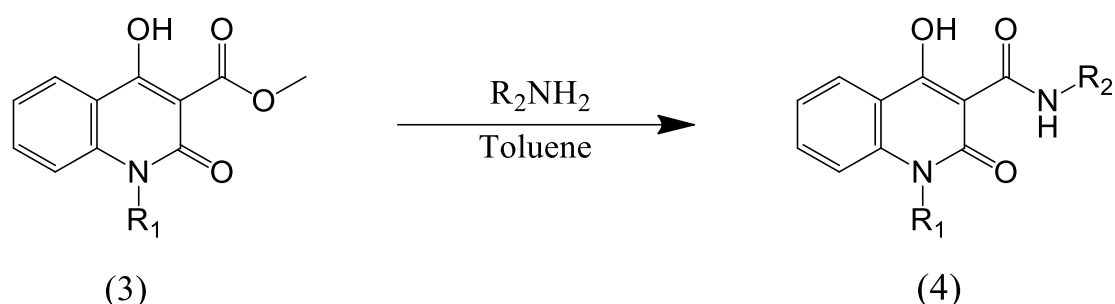
Η σύνθεση της ένωσης **3d** ακολουθεί την παραπάνω γενική μέθοδο (στάδιο ii). Σε σφαιρική φιάλη αναμειγνύονται 38.5 mmol (1.30 g) NaH 60% σε πετρελαϊκό αιθέρα (PE) και 120 ml διαλύτη DMF υπό ανάδευση και σε θερμοκρασία 80°C. Στην συνέχεια προστίθενται 16.26 mmol (4.54 g) του υποκατεστημένου ισατοϊκού ανυδρίτη **2d** και 81.3 mmol (9.34 ml) μηλονικού διμεθυλεστέρα υπό ψύξη. Η αντίδραση θερμαίνεται στους 80°C και αφήνεται με την βοήθεια κάθετου ψυκτήρα για 2 με 3 ώρες. Με το πέρασμα της αντίδρασης, το μίγμα επεξεργάζεται κατάλληλα και το επιθυμητό προϊόν **3d** ανακρυσταλλώνεται για αύξηση της καθαρότητάς του και παραλαμβάνεται με τη μορφή καφέ στερεού.

Η απόδοση της αντίδρασης υπολογίστηκε 72% (3.90 g).

Σημείο τήξης της ένωσης: 160.9 – 162.6 °C.

$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CDCl_3 , d_1) δ (ppm) 14.15 (s, 1H, -OH), 8.21 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 7.65 (td, $J = 7.2, 0.6$ Hz, 1H, Ar-H), 7.37 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, Ar-H), 7.31 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, Ar-H), 7.26 (m, 3H, Ar-H), 7.20 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H, Ar-H), 6.55 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H, N-CH₂-CH=CH-Ar), 6.29 (dt, $J = 15.6, 6.0$ Hz, 1H, N-CH₂-CH=CH-Ar), 5.06 (d, $J = 4.8$ Hz, 2H, N-CH₂-CH=CH-Ar), 4.05 (s, 3H, COOCH₃)

4.2.4 Γενική μέθοδος σύνθεσης υβριδικών μορίων κινολινόνης - αμιδίου



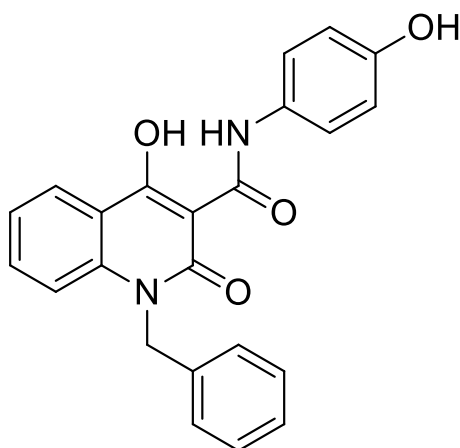
Εικόνα 72: Αντίδραση σύνθεσης υβριδικών μορίων

Για τη σύνθεση των τελικών αμιδίων, πραγματοποιείται αμινόλυση της κινολινόνης (3) με κατάλληλες πρωτοταγείς αμίνες. Σε σφαιρική φιάλη προστίθεται 1eq της κινολινόνης (3), σε κατάλληλη ποσότητα διαλύτη τολουολίου, καθώς και 2eq της αντίστοιχης αμίνης. Η αντίδραση πραγματοποιείται σε ξηρές συνθήκες αζώτου, με τη βοήθεια κάθετου ψυκτήρα και σε θερμοκρασία 110 °C. Η αντίδραση διαρκεί 2 με 2μιση ώρες και η πορεία της παρακολουθείται με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC). Με το πέρας της αντίδρασης, η σφαιρική φιάλη τοποθετείται σε παγόλουτρο κι έπειτα στην κατάψυξη προς καταβύθιση στερεού. Το παραγόμενο προϊόν (4) παραλαμβάνεται με διήθηση υπό κενό και εκπλένεται με διαιθυλαιθέρα (Et₂O).

4.2.5 Υβριδικά μόρια κινολινόνης - αμιδίου

Τα συνολικά νέα υβριδικά μόρια κινολινόνης - αμιδίου που παράχθηκαν, παρουσιάζονται παρακάτω:

1-benzyl-4-hydroxy-N-(4-hydroxyphenyl)-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxamide (4a)



Chemical Formula: **C₂₃H₁₈N₂O₄**

Molecular Weight: **386,4000**

Η σύνθεση της ένωσης **4a** πραγματοποιείται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Σε σφαιρική φιάλη προστίθενται 0.32 mmol (100 mg) της κινολινόνης **3c** σε 7 ml τολουολίου, καθώς και 0.64 mmol (70.6 mg) 4-αμινοφαινόλης. Το μίγμα της αντίδρασης θερμαίνεται στους 110°C και αφήνεται για 2 με 2μιση ώρες με την βοήθεια κάθετου ψυκτήρα σε ξηρές συνθήκες αζώτου. Το επιθυμητό προϊόν **4a** παραλαμβάνεται με τη μορφή μπεζ στερεού, ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία, η οποία περιλαμβάνει κατάψυξη και διήθηση. Έπειτα, πραγματοποιείται κατεργασία με μεθανόλη (MeOH), για καθαρισμό της ένωσης από προσμίξεις.

Η απόδοση της αντίδρασης υπολογίστηκε 58% (70.9 mg).

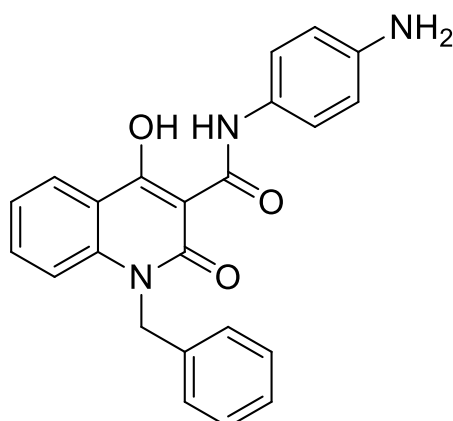
Σημείο τήξης της ένωσης: 256.2 – 257.5 °C.

¹HNMR (600 MHz, DMSO, d₆) δ (ppm) 17.07 (s, 1H, OH), 12.35 (s, 1H, NH), 9.49 (s, 1H, Ar-OH), 8.16 (d, J = 7.8 Hz, 1H, Ar-H), 7.73 (t, J = 7.8 Hz, 1H, Ar-H), 7.49 (m, 3H, Ar-H), 7.38 (t, J = 7.5 Hz, 1H, Ar-H), 7.32 (t, J = 7.5 Hz, 2H, Ar-H), 7.25 (m, 3H, Ar-H), 6.80 (d, J = 8.4 Hz, 2H, Ar-H), 5.61 (s, 2H, N-CH₂-Ar)

IR 3355 cm⁻¹ (ν̄, R-OH, N-H), >3000 cm⁻¹ (ν̄, aromatic C-H), <3000 cm⁻¹ (ν̄, aliphatic

C-H), 1612 cm⁻¹ (ν̄, $\begin{matrix} \text{O} & \text{H} \\ \parallel & | \\ \text{C} & - \text{N}^- \end{matrix}$), 1572 cm⁻¹ (ν̄, C=O), 1512 cm⁻¹ (ν̄, C=C), 1443 cm⁻¹ (ν̄, C-N), 1210 cm⁻¹ (ν̄, C-O)

N-(4-aminophenyl)-1-benzyl-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxamide (**4b**)



Chemical Formula: C₂₃H₁₉N₃O₃

Molecular Weight: 385,42

Η σύνθεση της ένωσης **4b** πραγματοποιείται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Σε σφαιρική φιάλη διαλύονται 0.65 mmol (200 mg) της κινολινόνης **3c** σε 10 ml τολουολίου. Προστίθενται 1.29 mmol (139 mg) 1,4-φαινυλενεδιαμίνη και η αντίδραση θερμαίνεται στους 110°C και αφήνεται για 2 με 2μιση ώρες με την βοήθεια κάθετου ψυκτήρα σε ξηρές συνθήκες. Το επιθυμητό προϊόν **4b** παραλαμβάνεται με τη μορφή πρασινοπού στερεού, ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία, η οποία περιλαμβάνει κατάψυξη και διήθηση. Έπειτα, πραγματοποιείται κατεργασία με μεθανόλη (MeOH), για καθαρισμό της ένωσης από προσμίξεις.

Η απόδοση της αντίδρασης υπολογίστηκε 61% (152 mg).

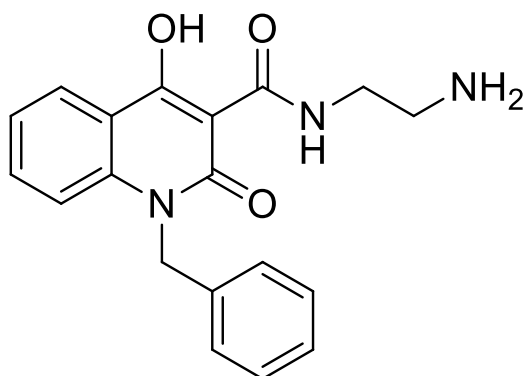
Σημείο τήξης της ένωσης: 211.5 – 213.1 °C.

¹HNMR (600 MHz, DMSO, d₆) δ (ppm) 17.29 (s, 1H, -OH), 12.24 (s, 1H, NH), 8.16 (d, J = 7.2 Hz, 1H, Ar-H), 7.72 (br, 1H, Ar - H), 7.50 (d, J = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.38 (t, J = 7.8 Hz, 1H, Ar-H), 7.33 (br, 3H, Ar-H), 7.25 (br, 3H, Ar-H), 6.59 (d, J = 7.8 Hz, 2H, Ar-H), 5.60 (s, 1H, N-CH₂-Ar), 5.14 (s, 2H, -NH₂)

IR 3423 (ν̄, N-H₂), 3347 cm⁻¹ (ν̄, R-OH, N-H), >3000 cm⁻¹ (ν̄, aromatic C-H), <3000 cm⁻¹ (ν̄, aliphatic C-H), 1631 cm⁻¹ (ν̄, $\begin{matrix} \text{O} & \text{H} \\ \parallel & | \\ \text{C} & - \text{N}^- \end{matrix}$), 1583 cm⁻¹ (ν̄, C=O), 1518 cm⁻¹ (ν̄, C=C), 1438 cm⁻¹ (ν̄, C-N), 1224 cm⁻¹ (ν̄, C-O)

MS 385.4 m/z [M]⁺, 432.3 m/z [M+2Na]⁺, 368.4 m/z [M-NH₂]⁺, 278.3 m/z [M - NHArNH₂], 180.3 m/z [M - N-benzyl-4-hydroxy-2-quinolinone + 2Na], 121.2 m/z [M - N-benzyl-4-hydroxy-2-quinolinone - NH₂ + 2H]⁺, 107.3 m/z [NH-Ar-NH₂]⁺

N-(2-aminoethyl)-1-benzyl-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxamide
(4c)



Chemical Formula: C₁₉H₁₉N₃O₃
Molecular Weight: 337,37

Η σύνθεση της ένωσης **4c** πραγματοποιείται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Σε σφαιρική φιάλη διαλύονται 0.65 mmol (200 mg) της κινολινόνης **3c** σε 10 ml τολουολίου. Προστίθενται 1.29 mmol (86.1 μl) αιθυλοδιαμίνης και η αντίδραση θερμαίνεται στους 110°C και αφήνεται για 2 με 2μισή ώρες με την βοήθεια κάθετου ψυκτήρα σε ξηρές συνθήκες. Το επιθυμητό προϊόν **4c** παραλαμβάνεται με τη μορφή μπεζ στερεού, ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία, η οποία περιλαμβάνει κατάψυξη και διήθηση. Έπειτα, πραγματοποιείται κατεργασία με μεθανόλη (MeOH), για καθαρισμό της ένωσης από προσμίξεις.

Η απόδοση της αντίδρασης υπολογίστηκε 65% (141 mg).

Σημείο τήξης της ένωσης: 166.9 – 168.5 °C.

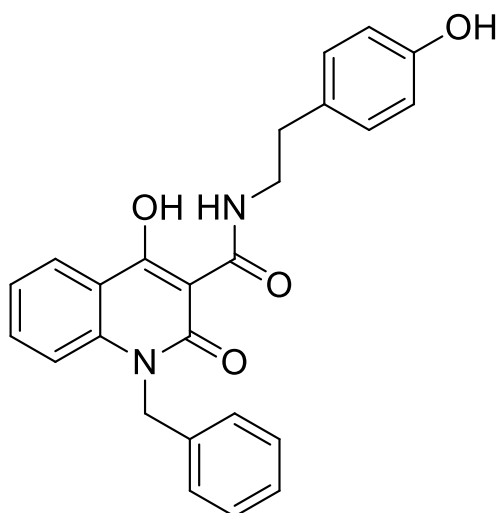
¹HNMR (600 MHz, CDCl₃, d₁) δ (ppm) 10.19 (s, 1H, NH), 8.24 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, Ar-H), 7.54 (t, *J* = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.31 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.25 (m, 4H, Ar-H), 5.53 (s, 2H, N-CH₂-Ar), 3.53 (q, *J* = 6.0 Hz, 2H, CONH-CH₂-CH₂-NH₂), 2.97 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, CONH-CH₂-CH₂-NH₂)

IR 3291 cm⁻¹ (ν̄, R-OH, N-H), >3000 cm⁻¹ (ν̄, aromatic C-H), <3000 cm⁻¹ (ν̄, aliphatic

C-H), 1631 cm⁻¹ (ν̄, $\begin{matrix} \text{O} & \text{H} \\ \parallel & | \\ \text{C} & - \text{N}^- \end{matrix}$), 1578 cm⁻¹ (ν̄, C=O), 1500 cm⁻¹ (ν̄, C=C), 1455 cm⁻¹ (ν̄, C-N), 1228 cm⁻¹ (ν̄, C-O)

MS 338 m/z [M]⁺, 321 m/z [M – OH]⁺, 278 m/z [M – NHCH₂CH₂OH]⁺, 229 m/z [M – ArCH₃OH]⁺, 91 m/z [ArCH₂]⁺

1-benzyl-4-hydroxy-N-(4-hydroxyphenethyl)-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxamide (4d)



Chemical Formula: C₂₅H₂₂N₂O₄
Molecular Weight: 414,45

Η σύνθεση της ένωσης **4d** πραγματοποιείται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Σε σφαιρική φιάλη διαλύονται 0.65 mmol (200 mg) της κινολινόνης **3c** σε 10 ml τολουολίου. Προστίθενται 1.29 mmol (178 mg) τυραμίνης και η αντίδραση θερμαίνεται στους 110°C και αφήνεται για 2 με 2μιση ώρες με την βοήθεια κάθετου ψυκτήρα σε ξηρές συνθήκες. Το επιθυμητό προϊόν **4d** παραλαμβάνεται με τη μορφή λευκού στερεού, ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία, η οποία περιλαμβάνει κατάψυξη και διήθηση. Έπειτα, πραγματοποιείται κατεργασία με μεθανόλη (MeOH), για καθαρισμό της ένωσης από προσμίξεις.

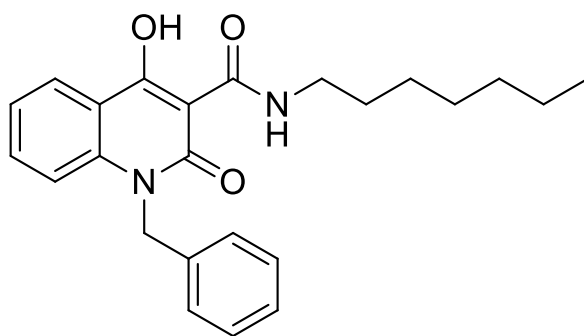
Η απόδοση της αντίδρασης υπολογίστηκε 38% (102 mg).

¹HNMR (600 MHz, DMSO, d₆) δ (ppm) 9.32 (s, 1H, NH), 7.96 (d, J = 7.8 Hz, 1H, Ar-H), 7.68 (brs, 1H, Ar-OH), 7.25 (m, 3H, Ar-H), 7.17 (m, 3H, Ar-H), 7.0 (m, 3H, Ar-H), 6.93 (t, J = 7.2 Hz, 1H, Ar-H), 6.70 (d, J = 7.8 Hz, 2H, Ar-H), 5.30 (s, 2H, N-CH₂-Ar), 2.95 (t, J = 7.2 Hz, 2H, CONH-CH₂-CH₂-Ar), 2.72 (t, J = 8.4 Hz, 2H, CONH-CH₂-CH₂-Ar)

IR 3184 cm⁻¹ (ν̄, R-OH, N-H), >3000 cm⁻¹ (ν̄, aromatic C-H), <3000 cm⁻¹ (ν̄, aliphatic

C-H), 1689 cm⁻¹ (ν̄, $\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{H} \\ \parallel \quad | \\ \text{C} - \text{N}^- \end{array}$), 1585 cm⁻¹ (ν̄, C=O), 1516 cm⁻¹ (ν̄, C=C), 1433 cm⁻¹ (ν̄, C-N), 1230 cm⁻¹ (ν̄, C-O)

1-benzyl-N-heptyl-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxamide (4e)



Chemical Formula: C₂₄H₂₈N₂O₃

Molecular Weight: 392,4907

Η σύνθεση της ένωσης **4e** πραγματοποιείται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Σε σφαιρική φιάλη διαλύονται 0.65 mmol (200 mg) της κινολινόνης **3c** σε 10 ml τολουολίου. Προστίθενται 1.29 mmol (191 μl) επταλαμίνης και η αντίδραση θερμαίνεται στους 110°C και αφήνεται για 2 με 2μιση ώρες με την βοήθεια κάθετου ψυκτήρα σε ξηρές συνθήκες. Το επιθυμητό προϊόν **4e** παραλαμβάνεται με τη μορφή λευκού στερεού, ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία, η οποία περιλαμβάνει κατάψυξη και διήθηση.

Η απόδοση της αντίδρασης υπολογίστηκε 51% (130 mg).

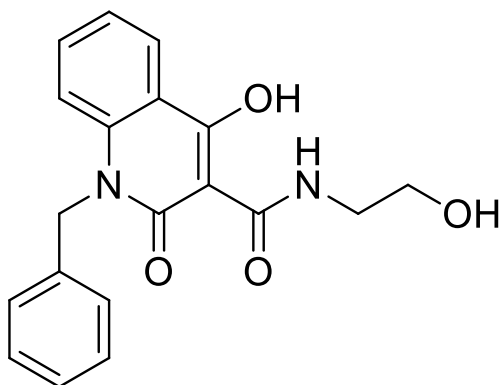
Σημείο τήξης της ένωσης: 66.1 – 67.5 °C.

¹HNMR (300 MHz, DMSO, d₆) δ (ppm) 10.36 (s, 1H, NH), 8.12 (dd, J = 8.1, 1.5 Hz, 1H, Ar-H), 7.68 (td, J = 6.9, 1.5 Hz, 1H, Ar-H), 7.43 (d, J = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.31 (m, 3H, Ar-H), 7.21 (m, 3H, Ar-H), 5.53 (s, 2H, N-CH₂-Ar), 3.39 (br, 2H, CONH-CH₂-CH₂-), 1.58 (quint, J = 7.2 Hz, 2H, CONH-CH₂-CH₂-), 1.28 (m, 8H, Al - H), 0.85 (t, J = 6.6 Hz, 3H, -CH₂-CH₃)

IR 3202 cm⁻¹ (ν̄, R-OH, N-H), >3000 cm⁻¹ (ν̄, aromatic C-H), <3000 cm⁻¹ (ν̄, aliphatic

C-H), 1631 cm⁻¹ (ν̄, $\begin{matrix} \text{O} & \text{H} \\ \parallel & | \\ \text{C} & - \text{N}^- \end{matrix}$), 1602 cm⁻¹ (ν̄, C=O), 1501 cm⁻¹ (ν̄, C=C), 1456 cm⁻¹ (ν̄, C-N), 1218 cm⁻¹ (ν̄, C-O)

1-benzyl-4-hydroxy-N-(2-hydroxyethyl)-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxamide
(4f)



Chemical Formula: C₁₉H₁₈N₂O₄
Molecular Weight: 338,36

Η σύνθεση της ένωσης **4f** πραγματοποιείται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Σε σφαιρική φιάλη διαλύονται 0.65 mmol (200 mg) της κινολινόνης **3c** σε 10 ml τολουολίου. Προστίθενται 1.29 mmol (77.9 μl) εθανολαμίνης και η αντίδραση θερμαίνεται στους 110°C και αφήνεται για 2 με 2μιση ώρες με την βοήθεια κάθετου ψυκτήρα σε ξηρές συνθήκες. Το επιθυμητό προϊόν **4f** παραλαμβάνεται με τη μορφή μπεζ στερεού, ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία, η οποία περιλαμβάνει κατάψυξη και διήθηση.

Η απόδοση της αντίδρασης υπολογίστηκε 35% (76.2 mg).

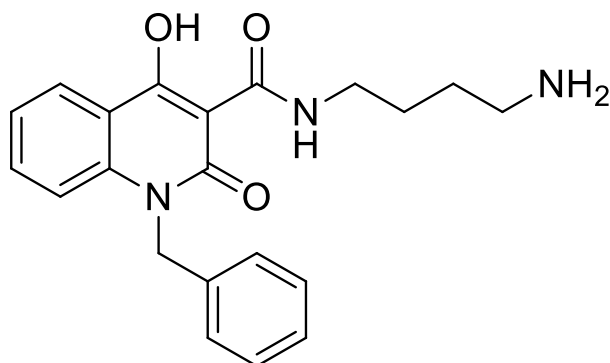
Σημείο τήξης της ένωσης: 113.9 – 115.1 °C.

¹HNMR (600 MHz, DMSO, d₆) δ (ppm) 10.49 (s, 1H, N-H), 8.11 (d, J = 7.8 Hz, 1H, Ar-H), 7.62 (t, J = 7.8 Hz, 1H, Ar-H), 7.38 (d, J = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.30 (m, 3H, Ar-H), 7.21 (m, 3H, Ar-H), 5.51 (s, 2H, N-CH₂-Ar), 3.57 (br, 2H, NH-CH₂-CH₂-OH), 3.44 (br, 2H, NH-CH₂-CH₂-OH), 2.65 (br, 1H, CH₂-OH)

IR 3417 cm⁻¹ (ν̄, R-OH, N-H), >3000 cm⁻¹ (ν̄, aromatic C-H), <3000 cm⁻¹ (ν̄, aliphatic

C-H), 1633 cm⁻¹ (ν̄, $\begin{matrix} \text{O} & \text{H} \\ \parallel & | \\ \text{C} & - \text{N}^- \end{matrix}$), 1548 cm⁻¹ (ν̄, C=O), 1497 cm⁻¹ (ν̄, C=C), 1455 cm⁻¹ (ν̄, C-N), 1219 cm⁻¹ (ν̄, C-O)

N-(4-aminobutyl)-1-benzyl-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxamide
(4g)

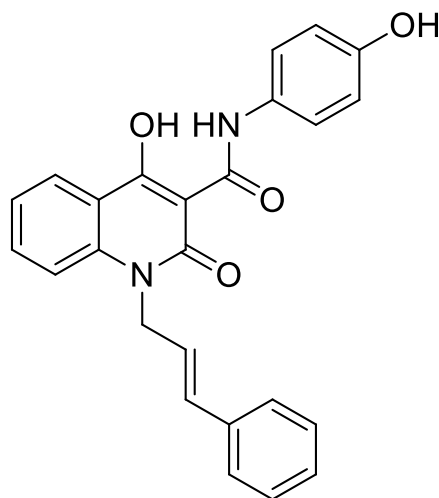


Chemical Formula: C₂₁H₂₃N₃O₃
Molecular Weight: 365,43

Η σύνθεση της ένωσης **4g** πραγματοποιείται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Σε σφαιρική φιάλη διαλύονται 0.65 mmol (200 mg) της κινολινόνης **3c** σε 10 ml τολουολίου. Προστίθενται 1.29 mmol (130 μl) 1,4-διαμινοβουτανίου και η αντίδραση θερμαίνεται στους 110°C και αφήνεται για 2 με 2μιση ώρες με την βοήθεια κάθετου ψυκτήρα σε ξηρές συνθήκες. Το επιθυμητό προϊόν **4g** παραλαμβάνεται με τη μορφή λευκού στερεού, ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία, η οποία περιλαμβάνει κατάψυξη και διήθηση.

Η απόδοση της αντίδρασης υπολογίστηκε 69% (163 mg).

1-cinnamyl-4-hydroxy-N-(4-hydroxyphenyl)-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxamide (4h)



Chemical Formula: C₂₅H₂₀N₂O₄
Molecular Weight: 412,44

Η σύνθεση της ένωσης **4h** πραγματοποιείται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Σε σφαιρική φιάλη διαλύονται 0.60 mmol (200 mg) της κινολινόνης **3d** σε 10 ml τολουολίου. Προστίθενται 1.19 mmol (131 mg) 4-αμινοφαινόλης και η αντίδραση θερμαίνεται στους 110°C και αφήνεται για 2 με 2μιση ώρες με την βοήθεια κάθετου ψυκτήρα σε ξηρές συνθήκες. Το επιθυμητό προϊόν **4h** παραλαμβάνεται με τη μορφή μπεζ στερεού, ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία, η οποία περιλαμβάνει κατάψυξη και διήθηση. Έπειτα, το προϊόν καθαρίζεται με χρωματογραφική στήλη σε silica gel με την κατάλληλη αναλογία (60:40) πετρελαϊκού αιθέρα και οξικού αιθυλεστέρα.

Η απόδοση της αντίδρασης υπολογίστηκε 54% (133 mg).

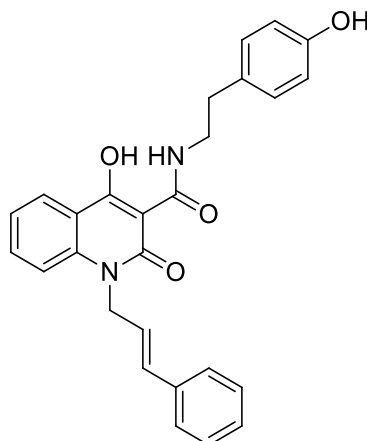
Σημείο τήξης της ένωσης: 171.1-172.4 °C.

IR 3341 cm⁻¹ ($\tilde{\nu}$, R-OH, N-H), >3000 cm⁻¹ ($\tilde{\nu}$, aromatic C-H), <3000 cm⁻¹ ($\tilde{\nu}$, aliphatic

C-H), 1612 cm⁻¹ ($\tilde{\nu}$, $\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{H} \\ \parallel \quad | \\ \text{C} - \text{N}^- \end{array}$), 1509 cm⁻¹ ($\tilde{\nu}$, C=C), 1238 cm⁻¹ ($\tilde{\nu}$, C-O)

MS 412 m/z [M]⁺, 407 m/z [M-OH-H]⁺, 278 m/z [M-OH-CH₂CHCHAr]⁺, 188 m/z [M-CH₂CHCHAr-NHArOH+H]⁺, 135 m/z [CONHArOH-H]⁺, 117 [M-CH₂CHCHAr]⁺, 108 m/z [M-NHArOH]⁺, 105 m/z [M-CHCHAr +2H]⁺

1-cinnamyl-4-hydroxy-N-(4-hydroxyphenethyl)-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxamide (4i)



Chemical Formula: C₂₇H₂₄N₂O₄
Molecular Weight: 440,49

Η σύνθεση της ένωσης **4i** πραγματοποιείται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Σε σφαιρική φιάλη διαλύονται 0.60 mmol (200 mg) της κινολινόνης **3d** σε 10 ml τολουολίου. Προστίθενται 1.19 mmol (165 mg) τυραμίνης και η αντίδραση θερμαίνεται στους 110°C και αφήνεται για 2 με 2μιση ώρες με την βοήθεια κάθετου ψυκτήρα σε ξηρές συνθήκες. Το επιθυμητό προϊόν **4i** παραλαμβάνεται με τη μορφή λευκού στερεού, ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία, η οποία περιλαμβάνει κατάψυξη και διήθηση. Έπειτα, πραγματοποιείται κατεργασία με μεθανόλη (MeOH), για καθαρισμό της ένωσης από προσμίξεις.

Η απόδοση της αντίδρασης υπολογίστηκε 57% (151 mg).

Σημείο τήξης της ένωσης: 186.4 – 188.2 °C.

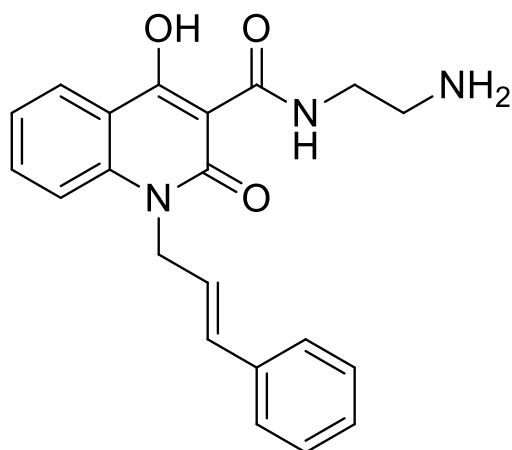
¹HNMR (300 MHz, DMSO, d₆) δ (ppm) 17.21 (brs, 1H, -OH), 10.36 (s, 1H, NH), 9.20 (s, 1H, Ar-OH), 8.12 (d, J = 7.8 Hz, 1H, Ar-H), 7.77 (t, J = 7.8 Hz, 1H, Ar-H), 7.62 (d, J = 8.7 Hz, 1H, Ar-H), 7.28 (m, 6H, Ar-H), 7.1 (d, J = 8.1 Hz, 2H, Ar-H), 6.67 (d, J = 8.1 Hz, 2H, Ar-H), 6.42 (m, 2H, N-CH₂-CH=CH-Ar), 5.06 (d, J = 3.3 Hz, 2H, N-CH₂-), 3.57 (br, 2H, NH-CH₂-CH₂-Ar), 2.77 (t, J = 7.1 Hz, 2H, NH-CH₂-CH₂-Ar)

IR 3346 cm⁻¹ (ν̄, R-OH, N-H), >3000 cm⁻¹ (ν̄, aromatic C-H), <3000 cm⁻¹ (ν̄, aliphatic

C-H), 1624 cm⁻¹ (ν̄, $\begin{matrix} \text{O} & \text{H} \\ \parallel & | \\ \text{C} & - & \text{N}^- \end{matrix}$), 1572 cm⁻¹ (ν̄, C=O), 1514 cm⁻¹ (ν̄, C=C), 1454 cm⁻¹ (ν̄, C-N), 1230 cm⁻¹ (ν̄, C-O)

MS 441 m/z [M+1H]⁺, 349 m/z [M-ArOH]⁺, 337 m/z [M-CHCHAr]⁺, 333 m/z [M-CH₂AROH]⁺, 117 m/z [M-CH₂CHCHAr]⁺

N-(2-aminoethyl)-1-cinnamyl-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxamide (4j)



Chemical Formula: C₂₁H₂₁N₃O₃
Molecular Weight: 363,41

Η σύνθεση της ένωσης **4j** πραγματοποιείται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Σε σφαιρική φιάλη διαλύονται 0.60 mmol (200 mg) της κινολινόνης **3d** σε 10 ml τολουολίου. Προστίθενται 1.19 mmol (80.2 μl) αιθυλοδιαμίνης και η αντίδραση θερμαίνεται στους 110°C και αφήνεται για 2 με 2μισή ώρες με την βοήθεια κάθετου ψυκτήρα σε ξηρές συνθήκες. Το επιθυμητό προϊόν **4j** παραλαμβάνεται με τη μορφή λευκού στερεού, ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία, η οποία περιλαμβάνει κατάψυξη και διήθηση. Έπειτα, πραγματοποιείται κατεργασία με μεθανόλη (MeOH), για καθαρισμό της ένωσης από προσμίξεις.

Η απόδοση της αντίδρασης υπολογίστηκε 49% (106 mg).

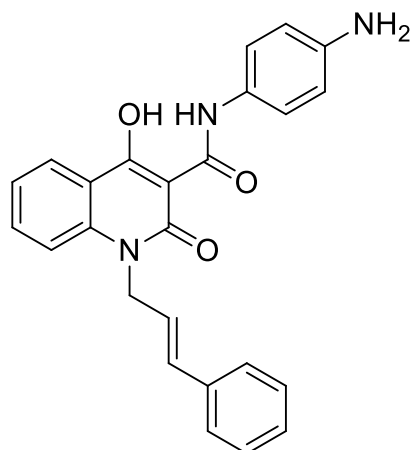
Σημείο τήξης της ένωσης: 155.1 – 156.6 °C.

¹HNMR (300 MHz, DMSO, d₆) δ (ppm) 10.40 (s, 1H, NH), 8.10 (d, J = 7.8 Hz, 1H, Ar-H), 7.66 (t, J = 7.5 Hz, 1H, Ar-H), 7.52 (t, J = 6.9 Hz, 1H, Ar-H), 7.27 (m, 6H, Ar-H), 6.43 (m, 2H, N-CH₂-CH=CH-Ar), 5.02 (br, 2H, N-CH₂-), 3.40 (br, 2H, NH-CH₂-CH₂-NH₂), 2.83 (br, 2H, NH-CH₂-CH₂-NH₂)

IR >3000 cm⁻¹ (ν̄, aromatic C-H), <3000 cm⁻¹ (ν̄, aliphatic C-H), 1633 cm⁻¹ (ν̄, $\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{H} \\ \parallel \quad | \\ \text{C} - \text{N}^- \end{array}$), 1596 cm⁻¹ (ν̄, C=O), 1535 cm⁻¹ (ν̄, C=C), 1453 cm⁻¹ (ν̄, C-N), 1229 cm⁻¹ (ν̄, C-O)

MS 406 m/z [M+2Na-3H]⁺, 242 m/z [M-CH₂CHCHAr-NH₂+Na]⁺, 117 m/z [CH₂CHCHAr]⁺

N-(4-aminophenyl)-1-cinnamyl-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxamide (**4k**)



Chemical Formula: C₂₅H₂₁N₃O₃
Molecular Weight: 411,45

Η σύνθεση της ένωσης **4k** πραγματοποιείται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Σε σφαιρική φιάλη διαλύονται 0.60 mmol (200 mg) της κινολινόνης **3d** σε 10 ml τολουολίου. Προστίθενται 1.19 mmol (130 mg) φαινυλενεδιαμίνης και η αντίδραση θερμαίνεται στους 110°C και αφήνεται για 2 με 2μιση ώρες με την βοήθεια κάθετου ψυκτήρα σε ξηρές συνθήκες. Το επιθυμητό προϊόν **4k** παραλαμβάνεται με τη μορφή πράσινου στερεού, ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία, η οποία περιλαμβάνει κατάψυξη και διήθηση. Έπειτα, πραγματοποιείται κατεργασία με μεθανόλη (MeOH), για καθαρισμό της ένωσης από προσμίξεις.

Η απόδοση της αντίδρασης υπολογίστηκε 77% (191 mg).

Σημείο τήξης της ένωσης: 222.5 – 228.0 °C.

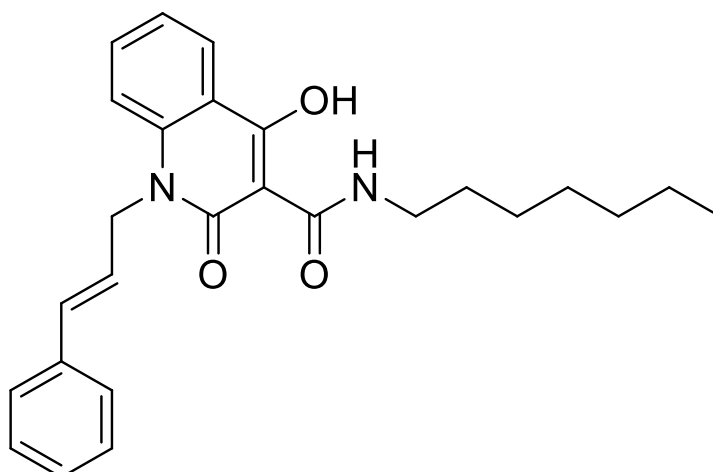
¹HNMR (300 MHz, dms_o, d₆) δ (ppm) 17.17 (brs, 1H, -OH), 12.27 (s, 1H, NH), 8.15 (d, J = 7.8 Hz, 1H, Ar-H), 7.79 (t, J = 7.5 Hz, 1H, Ar-H), 7.67 (d, J = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.31 (m, 8H, Ar-H), 6.59 (d, J = 8.7 Hz, 2H, Ar-H), 6.44 (m, 2H, N-CH₂-CH=CH-Ar), 5.12 (br, 4H, -NH₂, N-CH₂-)

IR 3444 (ν̄, N-H₂), 3359 cm⁻¹ (ν̄, R-OH, N-H), >3000 cm⁻¹ (ν̄, aromatic C-H), <3000

cm⁻¹ (ν̄, aliphatic C-H), 1635 cm⁻¹ (ν̄, $\begin{matrix} \text{O} & \text{H} \\ \parallel & | \\ \text{C} & - \text{N}^- \end{matrix}$), 1581 cm⁻¹ (ν̄, C=O), 1515 cm⁻¹ (ν̄, C=C), 1447 cm⁻¹ (ν̄, C-N), 1221 cm⁻¹ (ν̄, C-O)

MS 411 m/z [M]⁺, 117 m/z [CH₂CHCHAR]⁺, 108 m/z [NHArNH₂]⁺

1-cinnamyl-N-heptyl-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxamide (4I)



Chemical Formula: C₂₆H₃₀N₂O₃
Molecular Weight: 418,53

Η σύνθεση της ένωσης **4I** πραγματοποιείται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Σε σφαιρική φιάλη διαλύονται 0.60 mmol (200 mg) της κινολινόνης **3d** σε 10 ml τολουολίου. Προστίθενται 1.19 mmol (178 μl) φαιτυλενεδιαμίνης και η αντίδραση θερμαίνεται στους 110°C και αφήνεται για 2 με 2μιση ώρες με την βοήθεια κάθετου ψυκτήρα σε ξηρές συνθήκες. Το επιθυμητό προϊόν **4I** παραλαμβάνεται με τη μορφή λευκού στερεού, ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία, η οποία περιλαμβάνει κατάψυξη και διήθηση.

Η απόδοση της αντίδρασης υπολογίστηκε 79% (198 mg).

Σημείο τήξης της ένωσης: 66.1 – 67.5 °C.

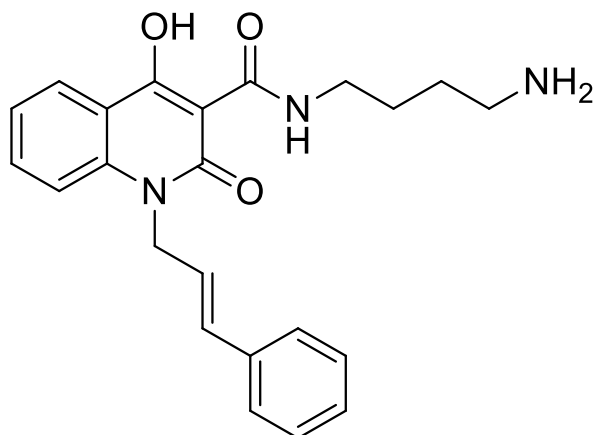
¹HNMR (300 MHz, DMSO, d₆) δ (ppm) 10.35 (s, 1H, N-H), 8.12 (d, J = 7.2 Hz, 1H, Ar-H), 7.76 (br, 1H, Ar-H), 7.63 (br, 1H, Ar-H), 7.29 (m, 6H, Ar-H), 6.46 (m, 2H, N-CH₂-CH=CH-Ar), 5.08 (s, 2H, N-CH₂-), 3.38 (br, 2H, CONH-CH₂-CH₂-), 1.56 (br, 2H, NH-CH₂-CH₂-CH₂-), 1.27 (br, 8H, Al-H), 0.85 (br, 3H, -CH₃)

IR 3230 cm⁻¹ (ν̄, R-OH, N-H), >3000 cm⁻¹ (ν̄, aromatic C-H), <3000 cm⁻¹ (ν̄, aliphatic

C-H), 1650 cm⁻¹ (ν̄, $\begin{matrix} \text{O} & \text{H} \\ \parallel & | \\ \text{C} & - \text{N}^- \end{matrix}$), 1585 cm⁻¹ (ν̄, C=O), 1546 cm⁻¹ (ν̄, C=C), 1448 cm⁻¹ (ν̄, C-N), 1221 cm⁻¹ (ν̄, C-O)

MS 419 m/z [M]⁺, 349 m/z [M-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃+2H]⁺, 327 m/z [M-Ar-CH₃+1H]⁺, 117 m/z [CH₂CHCHAr]⁺

N-(4-aminobutyl)-1-cinnamyl-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxamide (**4m**)



Chemical Formula: C₂₃H₂₅N₃O₃
Molecular Weight: 391,46

Η σύνθεση της ένωσης **4m** πραγματοποιείται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Σε σφαιρική φιάλη διαλύονται 0.89 mmol (300 mg) της κινολινόνης **3d** σε 10 ml τολουολίου. Προστίθενται 1.79 mmol (178 μ l) 1,4-διαμινοβουτανίου και η αντίδραση θερμαίνεται στους 110°C και αφήνεται για 2 με 2μιση ώρες με την βοήθεια κάθετου ψυκτήρα σε ξηρές συνθήκες. Το επιθυμητό προϊόν **4m** παραλαμβάνεται με τη μορφή καφέ στερεού, ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία, η οποία περιλαμβάνει κατάψυξη και διήθηση.

Η απόδοση της αντίδρασης υπολογίστηκε 31% (109 mg).

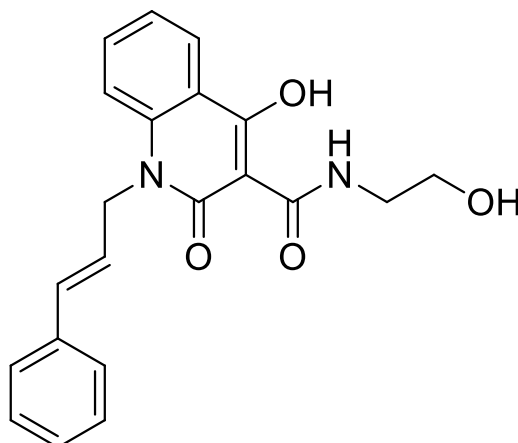
Σημείο τήξης της ένωσης: 141.2 – 142.0 °C.

¹HNMR (300 MHz, dmsο, d₆) δ (ppm) 10.72 (s, 1H, N-H), 8.21 (m, 2H, Ar-H), 7.34 (m, 7H, Ar-H), 6.41 (m, 2H, N-CH₂-CH=CH-Ar), 5.00 (s, 2H, N-CH₂-), 3.33 (br, 2H, CONH-CH₂-), 2.66 (br, 2H, -CH₂-NH₂), 1.49 (m, 4H, CONH-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-NH₂)

IR 3466 ($\tilde{\nu}$, N-H₂), 3321 cm⁻¹ ($\tilde{\nu}$, R-OH, N-H), >3000 cm⁻¹ ($\tilde{\nu}$, aromatic C-H), <3000

cm⁻¹ ($\tilde{\nu}$, aliphatic C-H), 1631 cm⁻¹ ($\tilde{\nu}$, $\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{H} \\ \parallel \quad | \\ \text{C} - \text{N}^- \end{array}$), 1560 cm⁻¹ ($\tilde{\nu}$, C=O), 1496 cm⁻¹ ($\tilde{\nu}$, C=C), 1449 cm⁻¹ ($\tilde{\nu}$, C-N), 1229 cm⁻¹ ($\tilde{\nu}$, C-O)

1-cinnamyl-4-hydroxy-N-(2-hydroxyethyl)-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxamide (4n)

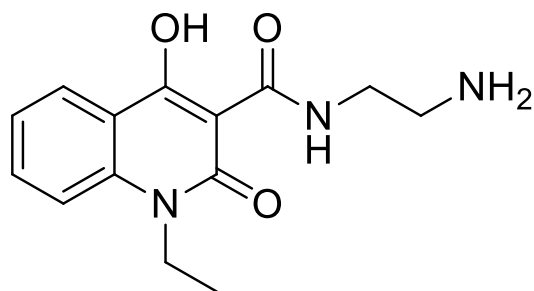


Chemical Formula: C₂₁H₂₀N₂O₄
Molecular Weight: 364,39

Η σύνθεση της ένωσης **4n** πραγματοποιείται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Σε σφαιρική φιάλη διαλύονται 0.60 mmol (200 mg) της κινολινόνης **3d** σε 10 ml τολουολίου. Προστίθενται 1.19 mmol (72.4 μl) εθανολαμίνης και η αντίδραση θερμαίνεται στους 110oC και αφήνεται για 2 με 2μισή ώρες με την βοήθεια κάθετου ψυκτήρα σε ξηρές συνθήκες. Το επιθυμητό προϊόν **4n** παραλαμβάνεται με τη μορφή λευκού στερεού, ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία, η οποία περιλαμβάνει κατάψυξη και διήθηση.

Η απόδοση της αντίδρασης υπολογίστηκε 38% (82 mg).

N-(2-aminoethyl)-1-ethyl-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxamide
(4o)



Chemical Formula: C₁₄H₁₇N₃O₃
Molecular Weight: 275,30

Η σύνθεση της ένωσης **4o** πραγματοποιείται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Σε σφαιρική φιάλη διαλύονται 0.61 mmol (150 mg) της κινολινόνης **3a** σε 10 ml τολουολίου. Προστίθενται 1.21 mmol (81.1 μl) αιθυλενοδιαμίνης και η αντίδραση θερμαίνεται στους 110°C και αφήνεται για 2 με 2μισή ώρες με την βοήθεια κάθετου ψυκτήρα σε ξηρές συνθήκες. Το επιθυμητό προϊόν **4o** παραλαμβάνεται με τη μορφή λευκού στερεού, ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία, η οποία περιλαμβάνει κατάψυξη και διήθηση.

Η απόδοση της αντίδρασης υπολογίστηκε 55% (93 mg).

Σημείο τήξης της ένωσης: 160.1 – 162.3 °C.

¹HNMR (300 MHz, DMSO, d₆) δ (ppm) 10.44 (s, 1H, NH), 8.09 (d, J = 7.2 Hz, 1H, Ar-H), 7.70 (t, J = 7.5 Hz, 1H, Ar-H), 7.55 (d, J = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.27 (t, J = 7.2 Hz, 1H, Ar-H), 4.25 (q, J = 4.5 Hz, 2H, N-CH₂-CH₃), 3.36 (br, 2H, CONH-CH₂-CH₂-NH₂), 2.77 (br, 2H, CONH-CH₂-CH₂-NH₂), 1.19 (t, J = 6.3 Hz, 3H, N-CH₂-CH₃)

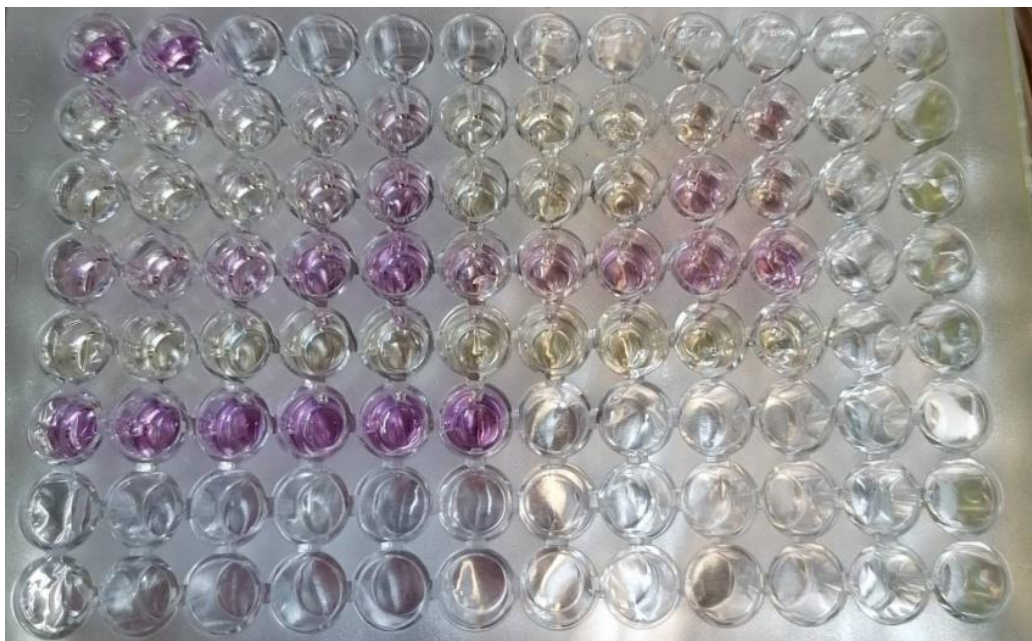
IR 3307 cm⁻¹ (ν̄, R-OH, N-H), >3000 cm⁻¹ (ν̄, aromatic C-H), <3000 cm⁻¹ (ν̄, aliphatic

C-H), 1613 cm⁻¹ (ν̄, $\begin{matrix} \text{O} & \text{H} \\ \parallel & | \\ \text{C} & -\text{N}^- \end{matrix}$), 1542 cm⁻¹ (ν̄, C=O), 1456 cm⁻¹ (ν̄, C-N), 1256 cm⁻¹ (ν̄, C-O)

MS 321 m/z [M+2Na]⁺, 296 m/z [M+Na-2H]⁺, 91 m/z [CH₂CH₂NH₂+2Na]⁺

4.3 Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης μέσω της μεθόδου DPPH

Αρχικά παρασκευάζεται το διάλυμα DPPH διαλύοντας 2.5 mg ουσίας σε 100 ml καθαρής αιθανόλης (συγκέντρωσης 63 μM) και αφήνεται σε σκιερό μέρος σε ανάδευση για μισή ώρα. Έπειτα, οι προς εξέταση ενώσεις διαλύονται σε διαλύτη διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO), προς τελική συγκέντρωση 100 μM . Από αυτό το διάλυμα παρασκευάζονται διαφορετικές συγκεντρώσεις (80%, 60%, 40% και 20%). Στη συνέχεια, τοποθετούνται τρία δείγματα από την κάθε συγκέντρωση σε ένα τριβλίο της ειδικής πλάκας (96 well plate) που θα γίνει η φωτομέτρηση. Το κάθε τριβλίο περιέχει 195 μL από το διάλυμα DPPH και 5 μL από το εξεταζόμενο δείγμα. Όταν ολοκληρωθεί η πλήρωση των κυψελίδων μετράται η απορρόφηση των διαλυμάτων διαφορετικής συγκέντρωσης σε μήκος κύματος 515 nm στα 30 min και στα 60 min. Λαμβάνοντας τις απορροφήσεις, υπολογίζεται η τιμή IC_{50} των δειγμάτων, η οποία ορίζεται ως ελάχιστη συγκέντρωση που απαιτείται για δέσμευση του 50% των ελευθέρων ριζών του DPPH και την επι τοις εκατό τιμή του ανασταλτικού παράγοντα, που ορίζεται ως την απορρόφηση του τυφλού δείγματος μείον την τελική απορρόφηση του δείγματος προς την απορρόφηση του τυφλού δείγματος.



Εικόνα 73: Η ειδική πλάκα (plate) που τοποθετούνται τα δείγματα για την μέθοδο DPPH

4.4 Προσδιορισμός της κυτταροτοξικής δράσης σε επιθηλιακά κύτταρα HaCaT, μέσω της μεθόδου MTT.

Για τον προσδιορισμό της κυτταροτοξικής δράσης των ενώσεων που συντέθηκαν, χρησιμοποιήθηκαν επιθηλιακά κύτταρα HaCaT, τα οποία τοποθετήθηκαν σε τρυβλία 96 φρεατίων (96-well plates). Όταν τα κύτταρα έφτασαν σε συρροή 80% επώαστηκαν για 2 ώρες σε υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), συγκέντρωσης 100 μ M. Στη συνέχεια τα κύτταρα υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με τα παράγωγα κινολινόνης και τα υβριδικά μόρια κινολινόνης-αμιδίου σε συγκέντρωση 100 μ M για 24 ώρες. Ο αριθμός των βιώσιμων κυττάρων σε κάθε χρονικό σημείο υπολογίστηκε φωτομετρικά στα 570nm με τον προσδιορισμό μεθυλθιαζολετετραζολίου (MTT).

5 Αποτελέσματα – Συζήτηση

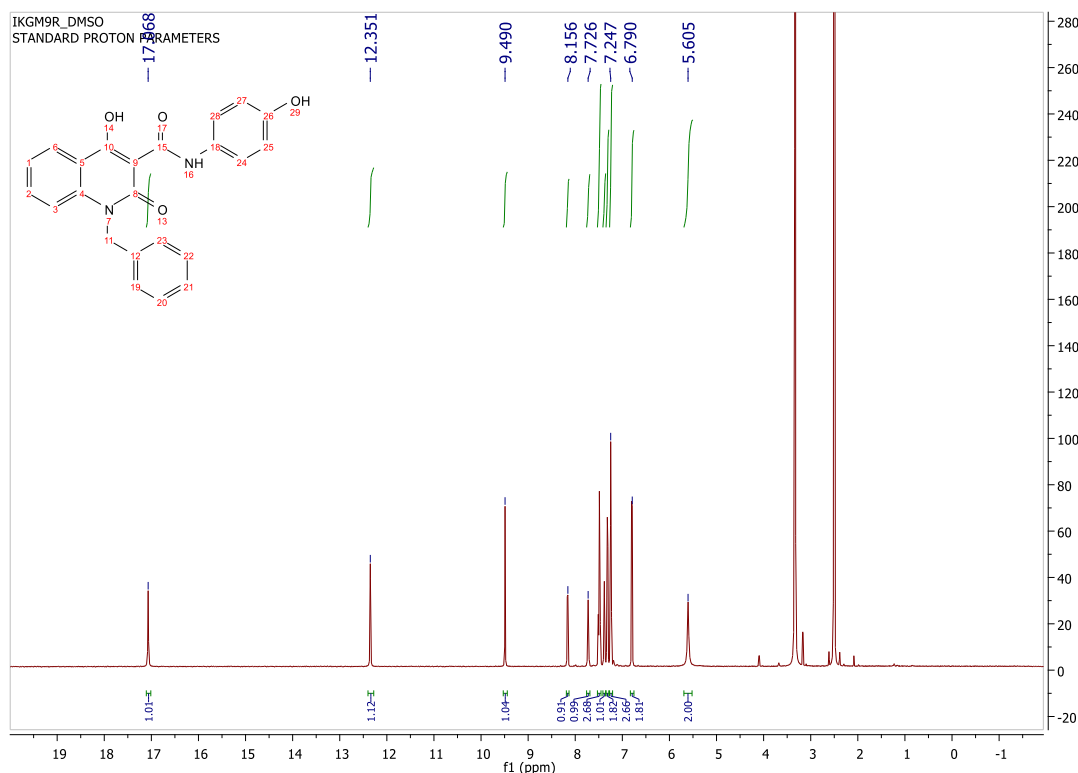
5.1 Αποτελέσματα Σύνθεσης

Στην παρούσα διπλωματική συντέθηκαν 4 κινολινόνες, οι οποίες είχαν διαφορετικούς υποκαταστάτες στο άζωτο και ήταν τα ενδιάμεσα μόρια για την σύνθεση των υβριδικών μορίων. Για τα υβριδικά μόρια κινολιόνης αμιδίου συντέθηκαν 7 μόρια, τα οποία είχαν σαν υποκαταστάτη του αζώτου την *Benzyl* ομάδα, 7 μόρια που είχαν σαν υποκαταστάτη του αζώτου την *κινναμυλο-* ομάδα και 1 μόριο που είχε για υποκαταστάτη του αζώτου την *αιθυλο-*ομάδα. Οι ενώσεις αυτές ταυτοποιήθηκαν μέσω φασματοσκοπίας $^1\text{H NMR}$, FTIR και MS, ενώ για την μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης πραγματοποιήθηκε η μέθοδος DPPH. Η απόδοση σε αυτές τις νέες ενώσεις κυμάνθηκε από 25% έως και 80%, το οποίο δείχνει ότι έχουν περιθώρια βελτίωσης σε μελλοντικές επανασυνθέσεις.

5.1.1 Ανάλυση Φάσματος NMR

Η ανάλυση του φάσματος NMR παρέχει πληροφορίες για τον τρόπο που τα άτομα άνθρακα και υδρογόνου συνδέονται μεταξύ τους σε ένα μόριο. Η πληροφορία αυτή επιτρέπει τον προσδιορισμό του δομικού σκελετού άνθρακα – υδρογόνου σε μια ένωση.

Στην παρακάτω εικόνα παρουσιάζεται το φάσμα $^1\text{H NMR}$ της ένωσης 4a.

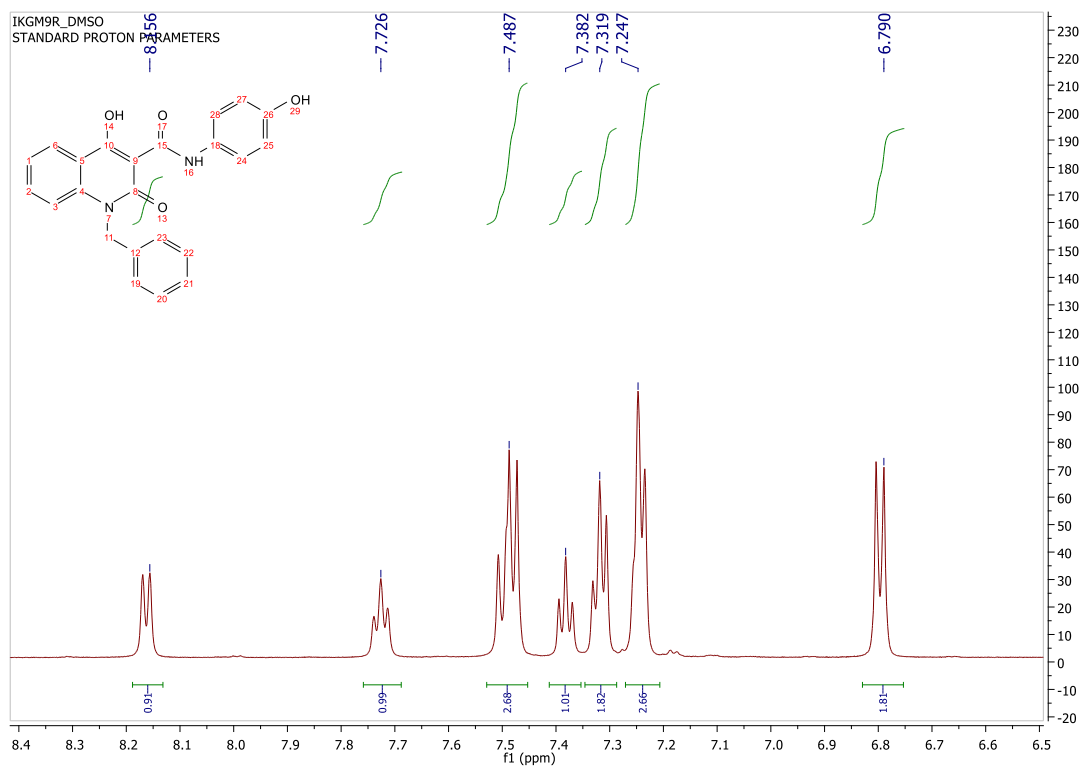


Εικόνα 74: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 4a

Αριστερά του φάσματος, στα χαμηλά πεδία εμφανίζονται τα πιο αποπροστατευμένα πρωτόνια της ένωσης, τα οποία παρουσιάζονται με τρεις απλές κορυφές που ολοκληρώνουν για ένα πρωτόνιο η κάθε μια. Αναλυτικότερα, στα 17.07 ppm απορροφά το πρωτόνιο της υδροξυλομάδας του δομικού σκελετού της κινολιμόνης, το οποίο σχηματίζει δεσμό υδρογόνου με διπλανό καρβονύλιο, δικαιολογώντας έτσι την υψηλή χημική μετατόπιση της κορυφής. Στη συνέχεια, στα 12.35 ppm απορροφά το πρωτόνιο το οποίο είναι ενωμένο με το άζωτο του αμιδικού δεσμού, επιβεβαιώνοντας έτσι το σχηματισμό του αμιδικού δεσμού και τη δομή του νέου υβριδικού μορίου. Τέλος, η απλή κορυφή στα 9.49 ppm αποδίδεται το πρωτόνιο του υδροξυλίου που είναι συνδεδεμένο με τον αρωματικό δακτύλιο.

Στη συνέχεια του φάσματος, και στην περιοχή από 8.16 ppm έως και 6.79 ppm εμφανίζονται τα πρωτόνια της ένωσης που ανήκουν σε αρωματικό δακτύλιο με επτά κορυφές, δύο διπλές, τρεις τριπλές και δύο πολλαπλές, που ολοκληρώνουν για δεκατρία συνολικά πρωτόνια.

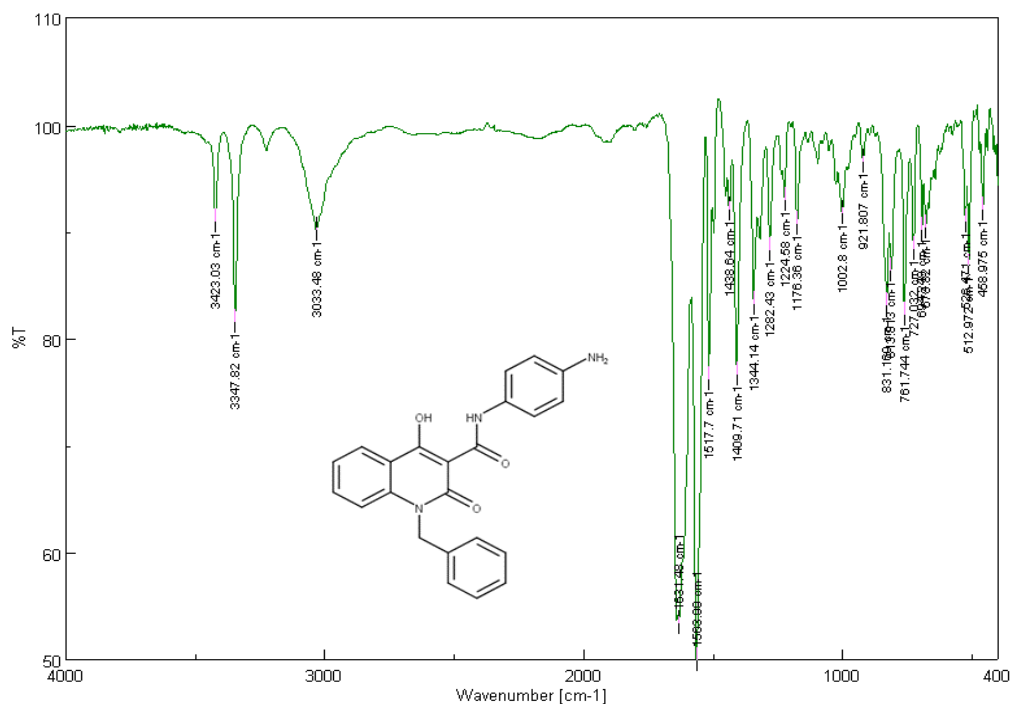
Τέλος, στην οξυγονομένη περιοχή του φάσματος εμφανίζονται τα πιο προστατευμένα πρωτόνια, τα οποία είναι στην προκειμένη περίπτωση αφορούν στο μεθυλένιο που συνδέεται με τον άζωτο της κινολιμόνης. Συγκεκριμένα, στα 5.61 ppm παρουσιάζεται μια απλή κορυφή, που ολοκληρώνει για δύο πρωτόνια και αποδίδεται στο αναφερόμενο οξυγονομένο μεθυλένιο. Οι τελευταίες καμπύλες στις απορροφήσεις 3.33 ppm και 2.50 ppm αφορούν τον διαλύτη $\text{dms-}d_6$ που χρησιμοποιήθηκε και το νερό αυτού.



Εικόνα 75: Περιοχή αρωματικών πρωτονίων της ένωσης 4a

5.1.2 Ανάλυση Φάσματος IR

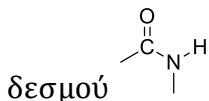
Στην παρακάτω εικόνα παρουσιάζεται το φάσμα FT – IR της ένωσης 4b.



Εικόνα 76: Φάσμα FT-IR της ένωσης 4b

Οι πιο χαρακτηριστικές κορυφές του φάσματος εμφανίζονται στα εξής σημεία:

- ❖ 3423.03 cm^{-1} : Η κορυφή αποδίδεται στην δόνηση τάσης της πρωτοταγούς αμινομάδας -NH_2
- ❖ 3347.82 cm^{-1} : Η κορυφή αποδίδεται στην δόνηση τάσης των χαρακτηριστικών ομάδων -OH και -NH του αρωματικού δακτυλίου και του αμιδικού δεσμού αντίστοιχα
- ❖ 3033.48 cm^{-1} : Η κορυφή αποδίδεται στην δόνηση τάσης των αρωματικών δεσμών C-H
- ❖ 1631.48 cm^{-1} : Η κορυφή αποδίδεται στην δόνηση τάσης του αμιδικού

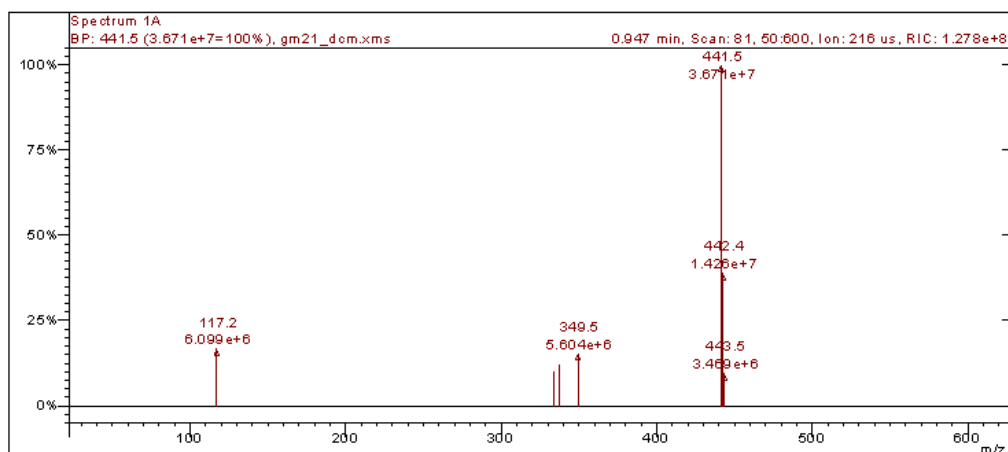


- ❖ 1583.00 cm^{-1} : Η κορυφή αποδίδεται στην δόνηση τάσης του χαρακτηριστικού δεσμού C=O
- ❖ 1517.7 cm^{-1} : Η κορυφή αποδίδεται στην δόνηση τάσης του χαρακτηριστικού δεσμού C=C
- ❖ 1438.64 cm^{-1} : Η κορυφή αποδίδεται στην δόνηση τάσης του χαρακτηριστικού δεσμού C-N

- ❖ 1224.58 cm^{-1} : Η κορυφή αποδίδεται στην δόνηση τάσης του χαρακτηριστικού δεσμού C-O

5.1.3 Ανάλυση Φάσματος MS

Στην παρακάτω εικόνα παρουσιάζεται το φάσμα MS της ένωσης **4i** :



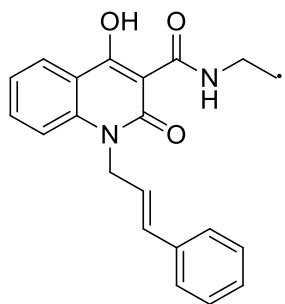
Spectrum from c:\varianws\data\detsh 2020\gm21_dcm.xms
 Scan No: 81, Time: 0.947 minutes
 No averaging. Not background corrected.
 Comment: 0.947 min. Scan: 81 50:600 Ion: 216 us RIC: 1.278e+8
 Pair Count: 7 MW: 0 Formula: None
 CAS No: None Acquired Range: 49.5 - 600.5 m/z

Method Time: 0.00-1.76, Centroid, APCI
 Seg 1, Time: 0.00-1.76, Scan Functions: 1
 1. 50:600 50:600|APCI Standard 55.0[V] Full
 Product Mass Range: 49.5 - 600.5 m/z
 Scan Mass Segment 1: 49.5 - 99.5 m/z
 Scan Mass Segment 2: 99.5 - 399.5 m/z
 Scan Mass Segment 3: 399.5 - 600.5 m/z

Ion	Int	Norm	Ion	Int	Norm	Ion	Int	Norm
117.2	6.099e+6	166	349.5	5.604e+6	152	442.4	1.426e+7	388
333.5	3.741e+6	102	441.5	3.671e+7	999	443.5	3.469e+6	94
337.4	4.557e+6	124						

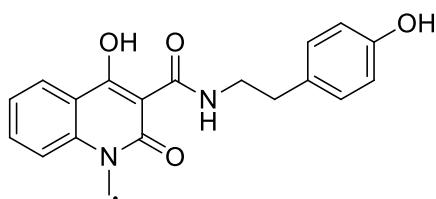
Εικόνα 77: Φάσμα MS της ένωσης 4i

Στο φάσμα παρατηρείται κορυφή με λόγο μάζας προς φορτίο 441.5 m/z με ένταση 100%, η οποία αποτελεί το ιόν βάσης I^+ , ενώ παράλληλα και στο μοριακό ιόν M^+ της ένωσης. Η επόμενη κορυφή που εμφανίζεται στο 349 m/z με ένταση 15% αντιστοιχεί στο θραύσμα $[M-ArOH]^+$, δηλαδή :



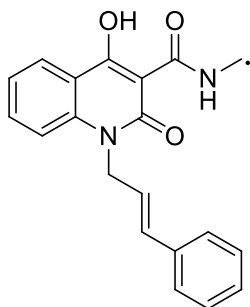
Chemical Formula: $C_{21}H_{19}N_2O_3^{\bullet}$
Exact Mass: 347,14

Η κορυφή στο 337.4 m/z που έχει ένταση 12% αντιστοιχεί στο θραύσμα $[M-CHCHAr]^+$, δηλαδή:



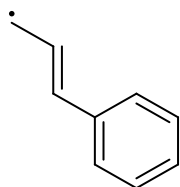
Chemical Formula: $C_{19}H_{17}N_2O_4^{\bullet}$
Exact Mass: 337,12

Έπειτα η κορυφή στα 333 m/z με ένταση 10% αντιστοιχεί στο θραύσμα $[M-CH_2ArOH]^+$:



Chemical Formula: $C_{20}H_{17}N_2O_3^{\bullet}$
Exact Mass: 333,12

Τέλος, η κορυφή στο λόγο 117 m/z με ένταση 17% αντιστοιχεί στο θραύσμα $[CH_2CHCHAr]^+$:



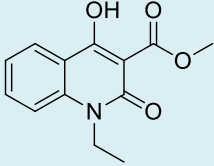
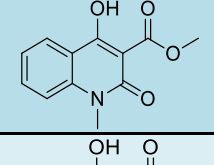
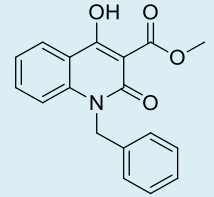
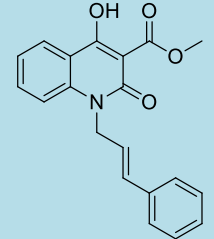
Chemical Formula: $C_9H_9^{\bullet}$
Exact Mass: 117,07

5.2 Αποτελέσματα Αντιοξειδωτικής Δράσης

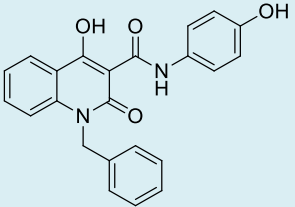
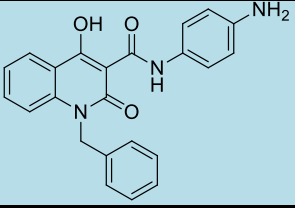
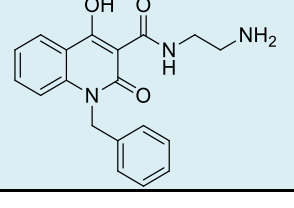
Για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης των νέων μορίων χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο δέσμευσης σταθερής ελεύθερης ρίζας DPPH. Συγκεκριμένα για τον μαθηματικό υπολογισμό αυτής, προσδιορίστηκε η τιμή του ποσοστού δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας από τις ενώσεις (%inhibition).

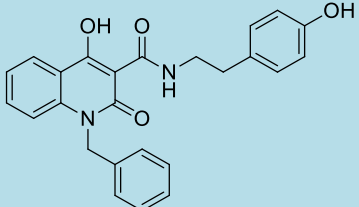
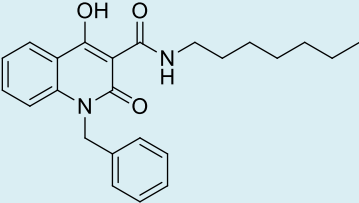
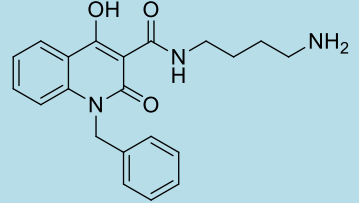
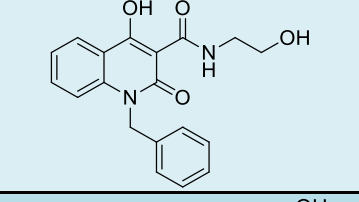
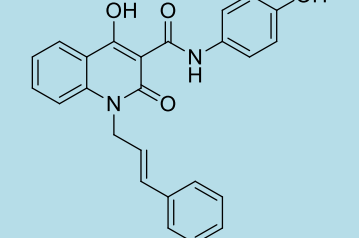
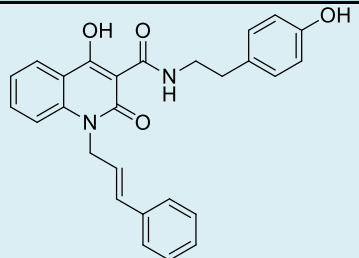
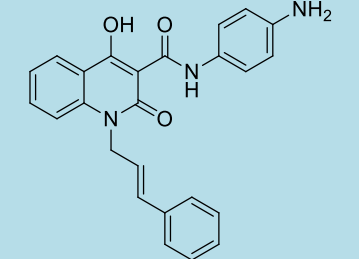
Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων για κάθε δείγμα στα 30 min και στα 60 min, ενώ στις δομές που δεν υπάρχει τιμή αναστολής είναι διότι δεν είχαν καθόλου δράση. Στον Πίνακα 2 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για τις κινολιόνες και στον Πίνακα 3 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των υβριδικών μορίων :

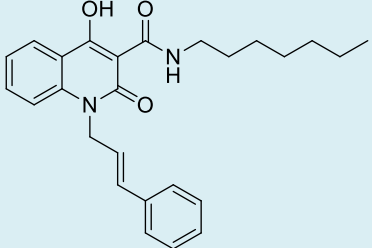
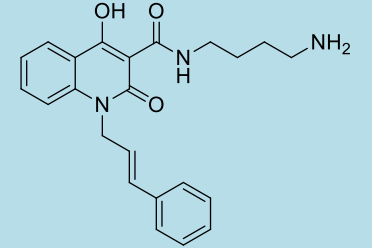
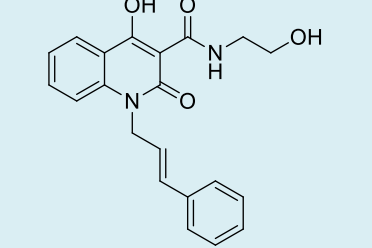
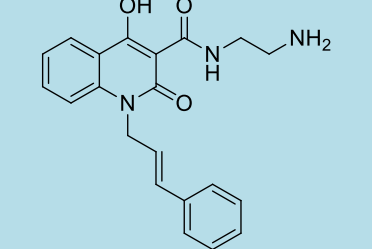
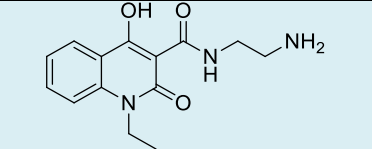
Πίνακας 2: Αποτελέσματα του ποσοστού δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH στις κινολινόνες

ΚΩΔΙΚΟΣ	ΔΟΜΗ	% INHIBITION (100Μμ)	
		30 min	60 min
3a		2	2
3b		2	4
3c		1	2
3d		-	-

Πίνακας 3: Αποτελέσματα του ποσοστού δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH στα υβρίδια

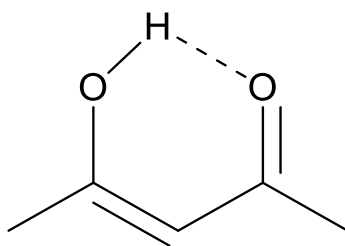
ΚΩΔΙΚΟΣ	ΔΟΜΗ	% INHIBITION (100Μμ)	
		30 min	60 min
4a		30	40
4b		17	27
4c		17	36

4d		10	25
4e		-	-
4g		7	37
4f		4	9
4h		-	-
4i		-	-
4k		23	36

4l		1	4
4m		22	45
4n		-	-
4j		10	25
4o		9	26

5.3 Συζήτηση Αποτελεσμάτων Αντιοξειδωτικής Δράσης

Για την εμφάνιση αντιοξειδωτικής δράσης, δηλαδή για την δέσμευση της ελεύθερης ρίζας του DPPH, πρέπει υπάρχουν πάνω στο μόριο χαρακτηριστικές ομάδες οι οποίες μπορούν να δώσουν πρωτόνιο (δότες πρωτονίου). Τέτοιες ομάδες για παράδειγμα είναι η υδροξυλομάδα (-OH) και η αμινομάδα (-NH₂). Ωστόσο, σε όλες τις δομές υπάρχει μια υδροξυλομάδα πάνω στο μόριο της κινολινόνης, που όμως είναι ιδιαίτερα σταθερή. Αυτό συμβαίνει, διότι αυτή η υδροξυλομάδα αναπτύσσει δεσμό υδρογόνου με το διπλανό καρβονύλιο (C=O), ο οποίος είναι ένας πολύ ισχυρός δεσμός και δεν σπάει εύκολα έτσι ώστε να λειτουργήσει η υδροξυλομάδα σαν δότης πρωτονίου.



Εικόνα 78: Δεσμός υδρογόνου

Στον Πίνακα 2 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της αντιοξειδωτικής δράσης των τεσσάρων κινολινονών που συντέθηκαν στην παρούσα μελέτη. Παρατηρείται ότι όλες οι δομές των κινολινονών είναι αδρανείς στην δέσμευση της ελεύθερης ρίζας και αυτό είναι λογικό διότι δεν υπάρχει καμία χαρακτηριστική ομάδα που να μπορεί να λειτουργήσει σαν δότης πρωτονίου. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, το πρωτόνιο του υδροξυλίου της κινολινόνης είναι ιδιαίτερα σταθερό λόγω του δεσμού υδρογόνου που σχηματίζει και δεν μπορεί να προσδώσει δράση στο μόριο.

Επίσης, σημαντική είναι και η παρατήρηση πως οι διαφορετικοί υποκαταστάτες στο άζωτο της κινολινόνης δεν διαφοροποιούν το αποτέλεσμα της δράσης.

Στον Πίνακα 3 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της αντιοξειδωτικής δράσης των νέων υβριδικών μορίων που συντέθηκαν. Από τις τιμές που εμφανίζονται στον πίνακα, παρατηρείται ότι, για τα μόρια που εμφάνισαν αντιοξειδωτική δράση, αυτή αυξάνεται σημαντικά με την πάροδο του χρόνου.

Επίσης παρατηρείται, ότι την καλύτερη αντιοξειδωτική δράση την εμφάνισαν τα υβρίδια μόρια **4a**, **4c**, **4k**, **4m**, παρουσιάζοντας ικανότητα δέσμευσης του DPPH σε ποσοστά μεγαλύτερα του 35%. Όπως φαίνεται από τα μόρια αυτά, επιβεβαιώνεται ο παραπάνω ισχυρισμός που δόθηκε για την αντιοξειδωτική δράση: αυτή εμφανίζεται αυξημένη στις χημικές δομές που διαθέτουν

υδροξυλομάδες (-OH) ή αμινομάδες (-NH₂), σε θέση τέτοια που να μπορούν να λειτουργήσουν ως δότες πρωτονίου.

Αντιθέτως, παρατηρείται πως τα μόρια που στη χημική τους δομή αντί για μια τέτοια ομάδα-δότερα πρωτονίου, διαθέτουν αλειφατική αλυσίδα (**4e**, **4l**), παρουσιάζονται αδρανή.

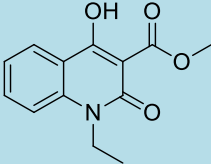
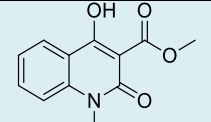
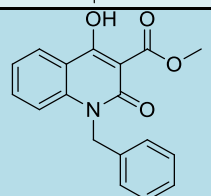
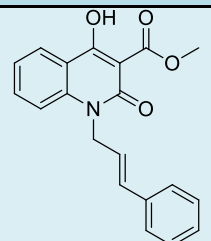
Ανακεφαλαιωτικά, φαίνεται πως η αντιοξειδωτική δράση των νέων υβριδικών μορίων κινολινόνης-αμιδίου οφείλεται στην παρουσία της δομής του αμιδίου (όταν αυτό διαθέτει μια καλή ομάδα-δότερα πρωτονίου), και όχι στην κινολινόνη. Πιο συγκεκριμένα, τα κινολινονικά παράγωγα N-benzyl και N-cinnamyl (**3c**, **3d**), καθώς και τα αντίστοιχα αλειφατικά υβριδικά παράγωγα τους (**4e**, **4l**) παρουσιάζονται αδρανή, ενώ τα υδρόξυ και άμινο παράγωγα (**4a**, **4c**, **4k**, **4m**) διαθέτουν ικανοποιητική αντιοξειδωτική δράση.

5.4 Αποτελέσματα Κυτταροτοξικής Δράσης

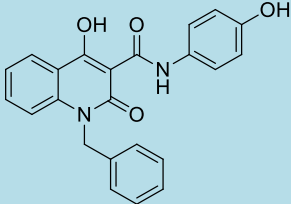
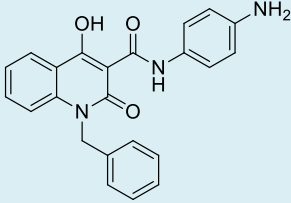
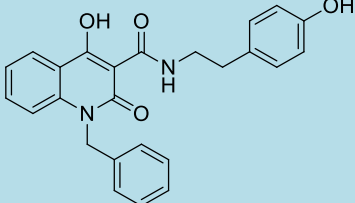
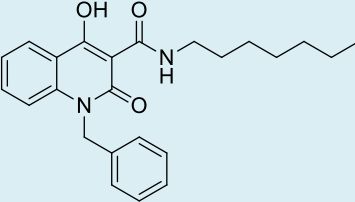
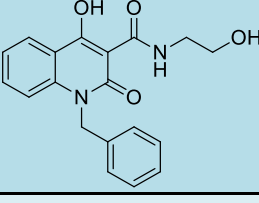
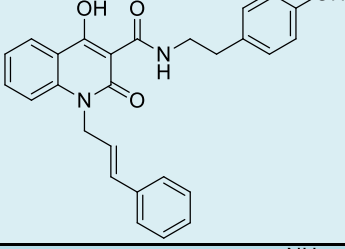
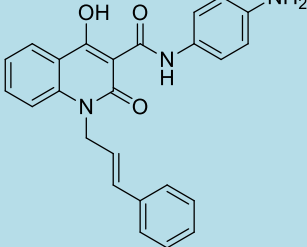
Για την αξιολόγηση της κυτταροτοξικότητας των νέων μορίων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος MTT. Συγκεκριμένα για τον μαθηματικό υπολογισμό αυτής, προσδιορίστηκε η τιμή του ποσοστού των κυττάρων που επιβίωσαν μετά την έκθεσή τους στα υπό εξέταση μόρια. Τα κύτταρα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν ήταν επιθηλιακά κύτταρα HaCaT.

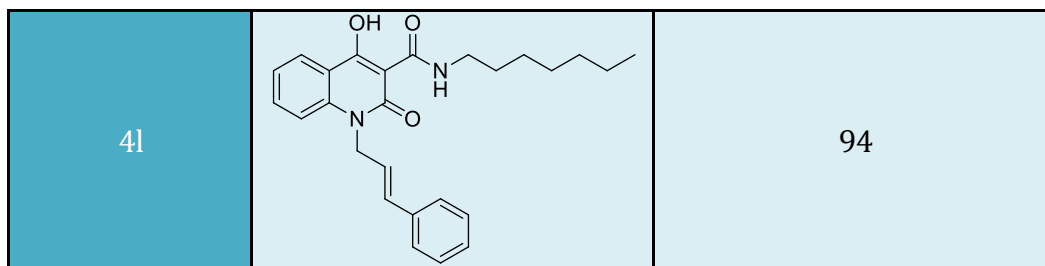
Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων για κάθε δείγμα. Στον Πίνακα 4 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για τις κινολινόνες και στον Πίνακα 5 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των υβριδικών μορίων :

Πίνακας 4: Αποτελέσματα της επιβίωσης των κυττάρων HaCaT (μέθοδος MTT) για τις κινολινόνες 3a-3d

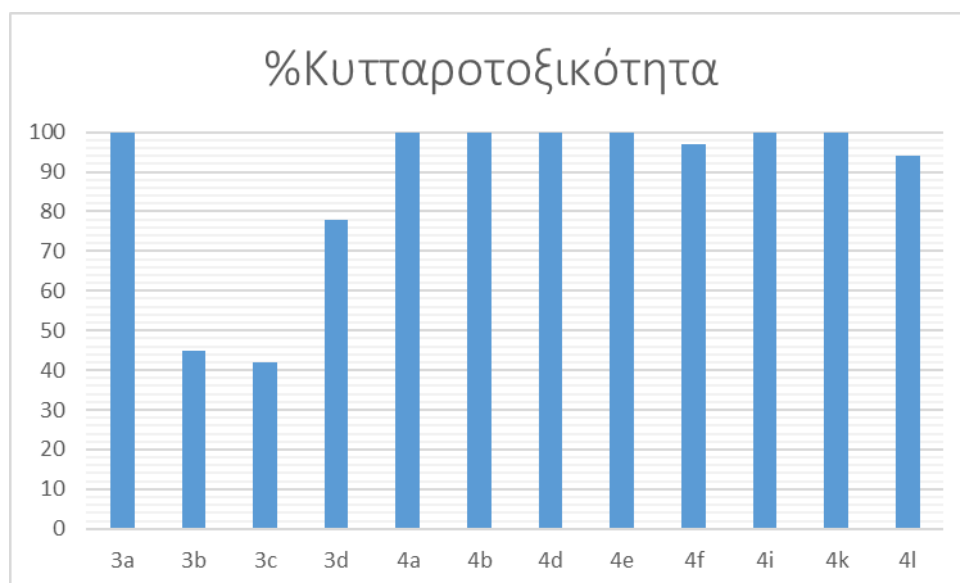
ΚΩΔΙΚΟΣ	ΔΟΜΗ	% ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΚΥΤΤΑΡΩΝ (100μΜ)
3a		100
3b		45
3c		42
3d		78

Πίνακας 5: Αποτελέσματα της επιβίωσης των κυττάρων της μεθόδου ΜΤΤ για τα υριδικά μόρια

ΚΩΔΙΚΟΣ	ΔΟΜΗ	% ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΚΥΤΤΑΡΩΝ (100μΜ)
4a		100
4b		100
4d		100
4e		100
4f		97
4i		100
4k		100



Σχήμα 1: Συγκεντρωτικό διάγραμμα κυτταροτοξικότητας ενώσεων



5.5 Συζήτηση Αποτελεσμάτων Κυτταροτοξικής Δράσης

Στον Πίνακα 4 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της κυτταροτοξικότητας των τεσσάρων κινολινονών που συντέθηκαν στην παρούσα μελέτη. Παρατηρείται πως οι ενώσεις **3b** και **3c**, οι οποίες διαθέτουν έναν μέθυλο και έναν βένζυλο υποκαταστάτη στο ετεροάτομο του αζώτου αντίστοιχα, παρουσίασαν τα πιο χαμηλά ποσοστά επιβίωσης των κυττάρων (45% για την **3b** κινολινόνη και 42% για την **3c** κινολινόνη). Η πιο ασφαλής ένωση, με ποσοστό επιβίωσης κυττάρων 100%, είναι η κινολινόνη **3a**, η οποία διαθέτει μία αιθυλο-ομάδα ως υποκαταστάτη του αζώτου. Συγκρίνοντας τις δομές **3a** και **3b**, παρατηρείται σημαντική διαφορά στο αποτέλεσμα, άρα συμπεραίνεται πως η τοξικότητα μειώνεται με την αύξηση της αλειφατικής αλυσίδας του υποκαταστάτη. Αυτό επιβεβαιώνεται και από την σύγκριση των ενώσεων **3c** και **3d**, όπου και πάλι η αύξηση της αλυσίδας μεταξύ του αζώτου και του αρωματικού δακτυλίου του υποκαταστάτη οδήγησε σε σημαντική αύξηση των ζωντανών κυττάρων (78% για την κινολινόνη **3d**). Επιπλέον, όσον αφορά το ίδιο παράδειγμα, η ύπαρξη διπλού δεσμού στην αλυσίδα του κινναμυλικού υποκαταστάτη της **3d** κινολινόνης, φαίνεται να περιόρισε τη μείωση της κυτταροτοξικότητας. Συνοπτικά, συγκρίνοντας τα αποτελέσματα για τα κινολινονικά ανάλογα, συμπεραίνεται πως τόσο ο αρωματικός δακτύλιος, όσο και η ύπαρξη διπλού δεσμού στη δομή του μορίου, αυξάνει την τοξικότητά του.

Στον Πίνακα 5 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της κυτταροτοξικότητας των νέων υβριδικών μορίων κινολινόνης-αμιδίου που συντέθηκαν στην παρούσα μελέτη. Παρατηρείται, πως όλες οι ενώσεις που αξιολογήθηκαν στην μέθοδο, παρουσιάζουν από ελάχιστη έως και μηδενική τοξικότητα (>94% επιβίωσης κυττάρων). Συμπεραίνεται λοιπόν, πως η κυτταροτοξικότητα των υβριδικών ενώσεων δεν επηρεάζεται πια από τον υποκαταστάτη του αζώτου της κινολινόνης. Αυτός ο ισχυρισμός, μπορεί να επιβεβαιωθεί από την σύγκριση των υβριδικών μορίων με τις αντίστοιχες κινολινόνες **3c** και **3d**, από τις οποίες συντέθηκαν. Όλα τα υβριδικά μόρια παρουσιάζονται ασφαλή σε σχέση με τις αρχικές κινολινόνες. Επιπλέον, παρατηρείται πως η κυτταροτοξικότητα δεν επηρεάζεται ούτε από την επιλογή της αμίνης στα υβριδικά μόρια. Συμπεραίνεται λοιπόν, πως η ύπαρξη του αμιδικού δεσμού στα υβριδικά μόρια, οδηγεί σε πολύ ασφαλείς δομές με υψηλά ποσοστά επιβίωσης κυττάρων (>94%), συγκριτικά με την ύπαρξη του εστερικού δεσμού στα κινολινονικά παράγωγα. Ο αμιδικός δεσμός όπως παρουσιάζεται και στο Κεφάλαιο 1.2, είναι ένας φυσικός δεσμός που βρίσκεται σε όλα τα έμβια όντα, σε βιολογικά μικρομόρια και μακρομόρια, όπως οι πρωτεΐνες, και ίσως συμβάλει στη μείωση της τοξικότητας των υβριδικών μορίων.

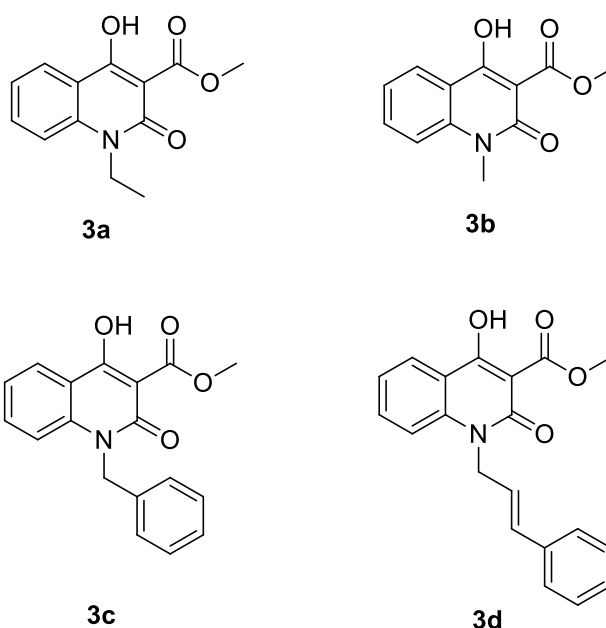
Ανακεφαλαιωτικά, φαίνεται πως ο αμιδικός δεσμός παρουσιάζει πολύ μικρότερη τοξικότητα από τον εστερικό δεσμό, ενώ μείωση στην τοξικότητα επίσης παρουσιάζουν οι αλειφατικές αλυσίδες, οι οποίες δεν περιέχουν διπλούς και τριπλούς δεσμούς. Επίσης, παρουσιάζεται αύξηση της τοξικότητας με την παρουσία αρωματικού δακτυλίου στο άτομο του αζώτου της κινολίνης ενώ φαίνεται να μην επηρεάζουν την τοξικότητα της δομής, χαρακτηριστικές ομάδες που λειτουργούν ως δότες πρωτονίου.

Σημειώνεται, πως τα αποτελέσματα αυτά με τη μέθοδο MTT, προσδίδουν μια αρχική ένδειξη για την κυτταροτοξικότητα των μορίων και είναι ιδιαίτερα ενθαρρυντικά αφού η πλειοψηφία των μορίων που εξετάστηκαν κρίνεται ως ασφαλής και θα προχωρήσει η μελέτη της κυτταροτοξικότητάς τους και σε καρκινικές κυτταρικές σειρές.

6 Συμπεράσματα

Συμπερασματικά στην εργασία αυτή, συντέθηκαν, ταυτοποιήθηκαν και μελετήθηκαν ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση, 4 παράγωγα N-υποκατεστημένων-4-υδροξυ-3-μεθυλοκαρβονυλ-2-κινολινονών και 14 νέα υβριδικά μόρια κινολινονών-αμιδίων.

Για την δημιουργία των μορίων της κινολινόνης εφαρμόστηκαν δύο σειρές αντιδράσεων. Αρχικά, τροποποιήθηκε ο ισατοϊκός ανυδρίτης, μέσω μιας αντίδρασης N-αλκυλίωσης, και στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε μια αντίδραση C-ακυλίωσης του μηλονικού διμεθυλεστέρα, προς τον σχηματισμό των 4 τελικών κινολινονικών παραγώγων.

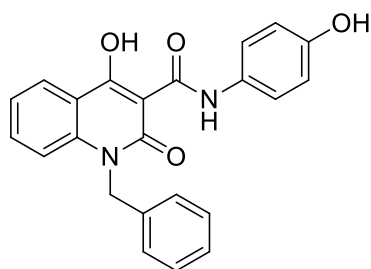


Εικόνα 79: Τα 4 κινολινονικά παράγωγα

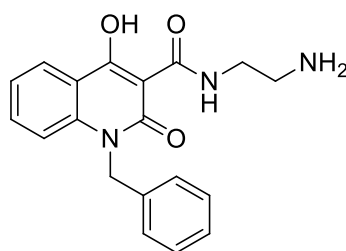
Η δημιουργία των υβριδικών μορίων κινολινόνης-αμιδίου τα οποία αποτελούν και τα μόρια στόχους αυτής της εργασίας, συντέθηκαν μέσω μίας αντίδρασης Αμινόλυσης του εστέρα των κινολινονικών παραγώγων. Αυτά τα μόρια, θεωρούνται υβριδικά μόρια, διότι προέκυψαν από την ένωση των δομών της κινολινόνης και των αμιδίων. Συνολικά συντέθηκαν 15 νέα υβριδικά μόρια, από τα οποία τα 7 διαθέτουν βενζυλο υποκατάσταση, τα 7 κινναμυλο- υποκατάσταση και το 1 αιθυλο- υποκατάσταση στο άζωτο της κινολινόνης.

Όλα τα παραπάνω μόρια ταυτοποιήθηκαν δομικά, μέσα από τρεις μεθόδους της ενόργανης ανάλυσης; την Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR), την Φασματοσκοπία Υπερύθρου (IR) και την Φασματομετρία Μαζών (MS). Η αντιοξειδωτική δράση όλων των μορίων αξιολογήθηκε με βάση την μέθοδο της δέσμευσης της σταθερής ελεύθερης ρίζας του DPPH.

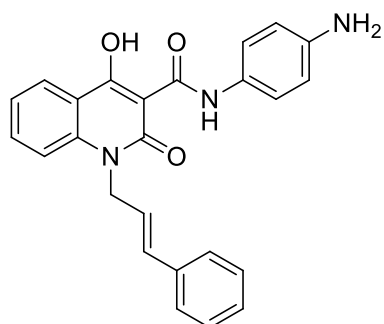
Από την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της αντιοξειδωτικής δράσης όλων των ενώσεων που συντέθηκαν, προέκυψε πως τα υβριδικά μόρια που εμφάνισαν το μεγαλύτερο ποσοστό αναστολής της δράσης του DPPH, είναι τα **4a**, **4c**, **4k** και **4m** (Εικόνα 74).



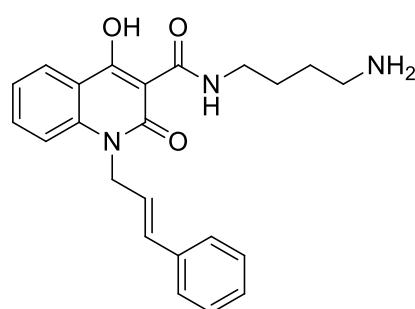
4a
%inhibitor = 40%



4c
%inhibitor = 36%



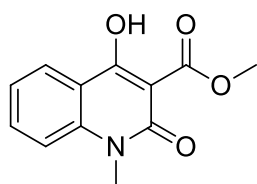
4k
%inhibitor = 36%



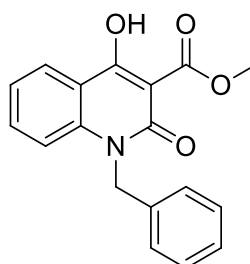
4m
%inhibitor = 45%

Εικόνα 80: Δομές υβριδίων με την καλύτερη % αναστολή

Τέλος, από την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της κυτταροτοξικότητας, προέκυψε πως ενώσεις με αυξημένη λιποφιλία, δηλαδή με αλειφατικές αλυσίδες, και με αμιδικό δεσμό (**3a**, **4a-4l**) παρουσιάζουν μηδενική τοξικότητα, ενώ δομές με αρωματικούς δακτυλίους, μικρή λιποφιλία και εστερικό δεσμό, όπως οι ενώσεις **3b** και **3c**, παρουσιάζουν αυξημένη τοξικότητα.



3b
%survival = 45



3c
%survival = 42

Εικόνα 81: Δομές υβριδίων με την πιο αυξημένη τοξικότητα

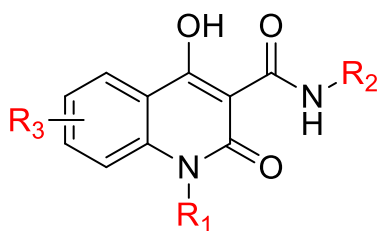
7 Μελλοντική Έρευνα

Βάσει των αποτελεσμάτων, που προήλθαν από την σύνθεση και την μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης, των νέων ενώσεων, προκύπτει ένα μεγάλο εύρος προτάσεων για μελλοντική έρευνα πάνω στην επιστημονική περιοχή που κάλυψε η συγκεκριμένη εργασία.

Ο πρώτος στόχος για την μελλοντική έρευνα είναι η περαιτέρω μελέτη της βιολογικής δράσης των νέων ενώσεων που συντέθηκαν, όπως είναι η αντιφλεγμονώδης δράση, η νευροπροστατευτική δράση, η βιομμητική μελέτη, ενώ είναι σημαντικό να μελετηθεί και η αντιοξειδωτική δράση με διαφορετική μέθοδο προσδιορισμού, όπως είναι η αξιολόγηση της αναστολής της λιπιδικής υπεροξειδωσης του λινολεϊκού οξέος, μέσω του εκκινητή ελευθέρων ριζών AAPH. Επίσης, πρέπει να διεξαχθούν πειράματα για την εξαγωγή των φαρμακοκινητικών δεδομένων των νέων ενώσεων, το οποίο δεν έγινε στην παρούσα εργασία λόγω της πανδημίας του ιού Covid-19, κι έπειτα βλάβη του μηχανήματος.

Επιπλέον, απαιτείται η περαιτέρω μελέτη της κυτταροτοξικότητας των νέων υβριδικών μορίων στην αντίστοιχη καρκινική σειρά A395, προκειμένου να προκύψουν ασφαλή συμπεράσματα για τη δράση τους.

Στη συνέχεια, προτείνεται η σύνθεση περισσότερων υβριδικών μορίων κινολινόνης αμιδίου, με διαφορετικούς υποκαταστάτες, τόσο στα δύο σημεία που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία, που είναι το άζωτο στη θέση 1 της κινολινόνης (υποκαταστάτης R_1), και το άζωτο του αμιδικού δεσμού (υποκαταστάτης R_2), όσο και στον αρωματικό δακτύλιο της κινολινόνης (Υποκαταστάτης R_3). Σημαντικό για την εμφάνιση την αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο του DPPH είναι να δοκιμαστούν υποκαταστάτες που να περιέχουν μία ή περισσότερες ομάδες που θεωρούνται “δότες πρωτονίου”, όπως υδροξυλομάδες και αμινομάδες, ακριβώς όπως βγήκε και το συμπέρασμα για τις ενώσεις της παρούσας εργασίας. Με αυτόν τον τρόπο, συλλέγονται περισσότερα δεδομένα για την μελέτη της σχέσης δομής – βιολογικής δράσης των υβριδικών αυτών ενώσεων.



Εικόνα 82: Θέσεις για δομικές αλλαγές για μελλοντική έρευνα

Επιπλέον, προτείνεται μελέτη σχετικά με τον τρόπο σύνθεσης των ενώσεων αυτών και μεθόδους για αύξηση της απόδοσης και μείωση του χρόνου των αντιδράσεων. Τέτοιες τεχνικές μπορεί να είναι η σύνθεση μέσω μικροκυματικής ακτινοβολία και η βελτιστοποίηση των συνθηκών της αντίδρασης, όπως της αναλογίας των αντιδρώντων, του χρόνου αντίδρασης και της θερμοκρασίας της αντίδρασης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Detsi, A., Bouloumbasi, D., Prousis, K. C., Koufaki, M., Athanasellis, G., Melagraki, G., ... & Hadjipavlou-Litina, D. J. (2007). Design and synthesis of novel quinolinone-3-aminoamides and their α -lipoic acid adducts as antioxidant and anti-inflammatory agents. *Journal of medicinal chemistry*, 50(10), 2450-2458.
- [2] Brossi, A. (1985). *The alkaloids: Chemistry and pharmacology*. Academic Press.
- [3] Samuelsson, G. (1996). Φαρμακευτικά προϊόντα φυσικής προελεύσεως. Πανεπιστημιακές εκδόσεις κρήτης, 326-330, 340, 418-9.
- [4] A. M. Emmerson, A. M. Jones. The quinolones: decades of development and use. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2003, 13-20.
- [5] Andriole, V. T. (2000). The quinolones. Elsevier, 34-38
- [6] World Health Organization. (2014). Cancer Fact sheet N 297. February 2014
- [7] Lee, J. F., Chang, T. Y., Liu, Z. F., Lee, N. Z., Yeh, Y. H., Chen, Y. S., ... & Lin, M. H. (2020). Design, synthesis, and biological evaluation of heterotetracyclic quinolinone derivatives as anticancer agents targeting topoisomerases. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 190, 112074.
- [8] World Health Organization. *Malaria Fact Sheet*; 2013. N 94.
- [9] Burns, A., & Iliffe, S. (2009). Alzheimer's disease. *BMJ* 338, b158.
- [10] Fu, J., Bao, F., Gu, M., Liu, J., Zhang, Z., Ding, J., ... & Ding, J. (2020). Design, synthesis and evaluation of quinolinone derivatives containing dithiocarbamate moiety as multifunctional AChE inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 35(1), 118-128.
- [11] Sankaran, M., Kumarasamy, C., Chokkalingam, U., & Mohan, P. S. (2010). Synthesis, antioxidant and toxicological study of novel pyrimido quinoline derivatives from 4-hydroxy-3-acyl quinolin-2-one. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 20(23), 7147-7151.
- [12] A. S. Wagman and M. P. Wentland, "Quinolone Antibacterial Agents," Elsevier, pp. 567-591, 2007.
- [13] Ferrero-Miliani, L., Nielsen, O. H., Andersen, P. S., & Girardin, S. E. (2007). Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 β generation. *Clinical & Experimental Immunology*, 147(2), 227-235.
- [14] 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.
- [15] 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/amino-acetamide inhibitors of ADAMTS-5 (Aggrecanase-2). *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. December 15, 2008, pp. 6454-6457.
- [16] Αδαμαντιάδου, Σ. Μ., Γεωργιάτου, Μ., Γιαπιτζάκης, Χ., Νοταράς, Δ., Φλωρεντίν, Ν., Χατζηγεωργίου, Γ., ... & Πανταζίδης, Γ. (2012). *Βιολογία Γενικής Παιδείας Γ' Λυκείου*.
- [17] Ellis, D., Kuhen, K. L., Anaclerio, B., Wu, B., Wolff, K., Yin, H., ... & He, Y. (2006). Design, synthesis, and biological evaluations of novel quinolones as HIV-1 non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 16(16), 4246-4251.
- [18] Marella, A., Tanwar, O. P., Saha, R., Ali, M. R., Srivastava, S., Akhter, M., ... & Alam, M. M. (2013). Quinoline: A versatile heterocyclic. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(1), 1-12.
- [19] Schardl, C. L., Panaccione, D. G., & Tudzynski, P. (2006). Ergot alkaloids–biology and molecular biology. *The alkaloids: chemistry and biology*, 63, 45-86.
- [20] Gholap, A. R., Toti, K. S., Shirazi, F., Kumari, R., Bhat, M. K., Deshpande, M. V., & Srinivasan, K. V. (2007). 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. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 15(21), 6705-6715.
- [21] Peterson, L. R. (2001). Quinolone molecular structure-activity relationships: what we have learned about improving antimicrobial activity. *Clinical Infectious Diseases*, 33(Supplement_3), S180-S186.
- [22] Beutner, G. L., Kuethe, J. T., & Yasuda, N. (2007). A practical method for preparation of 4-hydroxyquinolinone esters. *The Journal of organic chemistry*, 72(18), 7058-7061.
- [23] Detsi, A., Bardakos, V., Markopoulos, J., & Igglessi-Markopoulou, O. (1996). 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 1*, (24), 2909-2913.
- [24] Zikou, L., Athanasellis, G., Detsi, A., Zografos, A., Mitsos, C., & Igglessi-Markopoulou, O. (2004). A novel short-step synthesis of functionalized 4-hydroxy-2-quinolones using a 1-hydroxybenzotriazole methodology. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 77(8), 1505-1508.
- [25] López-Alvarado, P., Avendaño, C., & Menéndez, J. C. (1998). A general synthesis of quinoline-2, 5, 8 (1H)-triones via acylation of 2, 5-dimethoxyaniline with *S*-tert-butyl thioacetates by application of the Knorr cyclization. *Synthesis*, 1998(02), 186-194.
- [26] Prousis, K. C., Tzani, A., Avlonitis, N., Calogeropoulou, T., & Detsi, A. (2013). 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*, 50(6), 1313-1321.

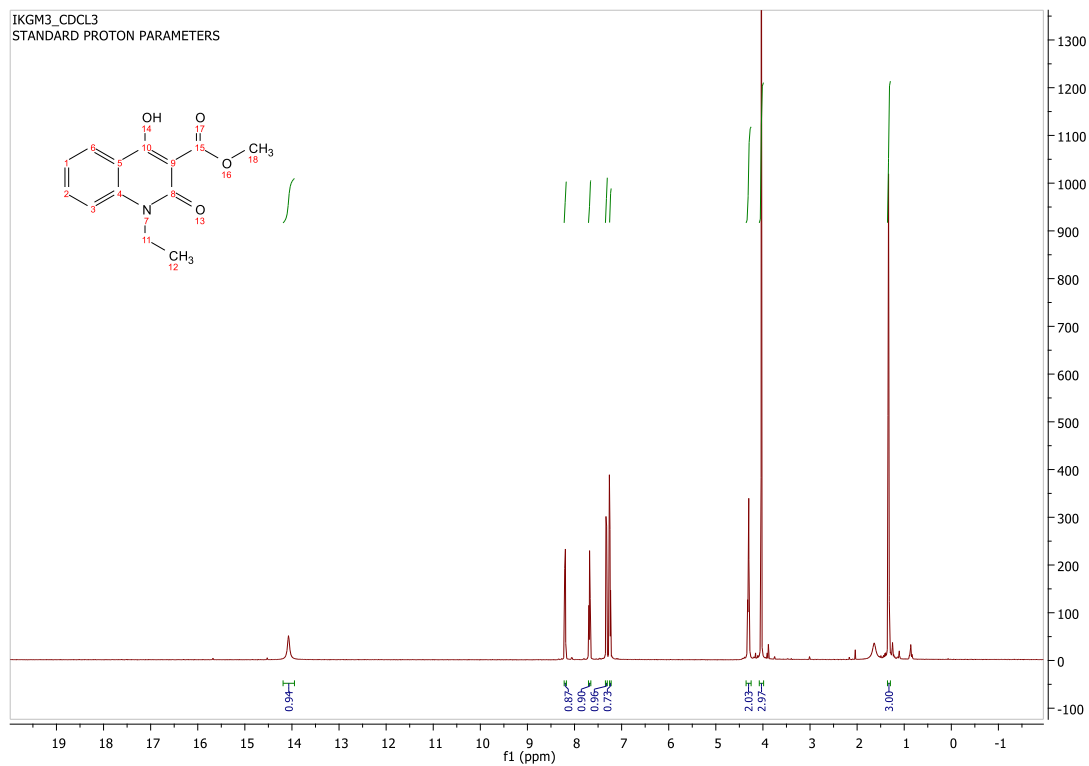
- [27] Greenberg, A., Breneman, C. M., & Liebman, J. F. (Eds.). (2000). The amide linkage: Structural significance in chemistry, biochemistry, and materials science. John Wiley & Sons.
- [28] Gould, R. F. (Ed.). Nomenclature of Organic Compounds, Copyright, Advances in Chemistry Series, FOREWORD: Principles and Practice.
- [29] Kemnitz, C. R., & Loewen, M. J. (2007). "Amide Resonance" Correlates with a Breadth of C– N Rotation Barriers. *Journal of the American Chemical Society*, 129(9), 2521-2528.
- [30] Boonen, J., Bronselaer, A., Nielandt, J., Veryser, L., De Tre, G., & De Spiegeleer, B. (2012). Alkamid database: Chemistry, occurrence and functionality of plant N-alkylamides. *Journal of ethnopharmacology*, 142(3), 563-590.
- [31] Dunetz, J. R., Magano, J., & Weisenburger, G. A. (2016). Large-scale applications of amide coupling reagents for the synthesis of pharmaceuticals. *Organic Process Research & Development*, 20(2), 140-177.
- [32] Clarke, H. T. (Ed.). (2015). *Chemistry of penicillin*. Princeton University Press.
- [33] Schneider, S., Kuffer, P., & Wennig, R. (1998). Determination of lysergide (LSD) and phencyclidine in biosamples. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 713(1), 189-200.
- [34] David R. Klein (2015), *Οργανική Χημεία Τόμος II*, Utopia, pp. 317 – 325, 340-342, 1159-1163.
- [35] Litalien, C., & Beaulieu, P. (2011). Molecular mechanisms of drug actions: From receptors to effectors. In *Pediatric Critical Care* (pp. 1553-1568). Mosby.
- [36] Kouatly, O., Geronikaki, A., Kamoutsis, C., Hadjipavlou-Litina, D., & Eleftheriou, P. (2009). Adamantane derivatives of thiazolyl-N-substituted amide, as possible non-steroidal anti-inflammatory agents. *European journal of medicinal chemistry*, 44(3), 1198-1204.
- [37] Oriowo, M. A. (1982). Anti-inflammatory activity of piperonyl-4-acrylic isobutyl amide, an extractive from *Zanthoxylum zanthoxyloides*. *Planta medica*, 44(01), 54-56.
- [38] Banoglu, E., Akoğlu, Ç., Uenlue, S., Kuepeli, E., Yeşilada, E., & Şahin, M. F. (2004). Amide Derivatives of [6-(5-Methyl-3-phenylpyrazole-1-yl)-3 (2H)-pyridazinone-2-yl] acetic Acids as Potential Analgesic and Anti-Inflammatory Compounds. *Archiv der Pharmazie: An International Journal Pharmaceutical and Medicinal Chemistry*, 337(1), 7-14.
- [39] Bhabak, K. P., & Muges, G. (2009). Amide-Based Glutathione Peroxidase Mimics: Effect of Secondary and Tertiary Amide Substituents on Antioxidant Activity. *Chemistry–An Asian Journal*, 4(6), 974-983.
- [40] Price, T. O., Uras, F., Banks, W. A., & Ercal, N. (2006). A novel antioxidant N-acetylcysteine amide prevents gp120-and Tat-induced oxidative stress in brain endothelial cells. *Experimental neurology*, 201(1), 193-202.

- [41] Rajan, P., Vedernikova, I., Cos, P., Berghe, D. V., Augustyns, K., & Haemers, A. (2001). Synthesis and evaluation of caffeic acid amides as antioxidants. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 11(2), 215-217.
- [42] Chhikara, B. S., Jean, N. S., Mandal, D., Kumar, A., & Parang, K. (2011). Fatty acyl amide derivatives of doxorubicin: Synthesis and in vitro anticancer activities. *European journal of medicinal chemistry*, 46(6), 2037-2042.
- [43] Sreelatha, T., Kandhasamy, S., Dinesh, R., Shruthy, S., Shweta, S., Mukesh, D., ... & Perumal, P. T. (2014). Synthesis and SAR study of novel anticancer and antimicrobial naphthoquinone amide derivatives. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 24(15), 3647-3651.
- [44] Navickiene, H. M. D., Alécio, A. C., Kato, M. J., Bolzani, V. D. S., Young, M. C. M., Cavalheiro, A. J., & Furlan, M. (2000). Antifungal amides from *Piper hispidum* and *Piper tuberculatum*. *Phytochemistry*, 55(6), 621-626.
- [45] Ekoue-Kovi, K., Yearick, K., Iwaniuk, D. P., Natarajan, J. K., Alumasa, J., de Dios, A. C., ... & Wolf, C. (2009). Synthesis and antimalarial activity of new 4-amino-7-chloroquinolyl amides, sulfonamides, ureas and thioureas. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 17(1), 270-283.
- [46] Zhang, Y. K., Plattner, J. J., Easom, E. E., Jacobs, R. T., Guo, D., Freund, Y. R., ... & Campo, B. (2017). Benzoxaborole antimalarial agents. Part 5. Lead optimization of novel amide pyrazinyloxy benzoxaboroles and identification of a preclinical candidate. *Journal of medicinal chemistry*, 60(13), 5889-5908.
- [47] Tinoco, I., Sauer, K., Wang, J. C., Puglisi, J. D., Harbison, G., & Rovnyak, D. (1995). *Physical chemistry: principles and applications in biological sciences* (Vol. 545, p. 621). New Jersey: Prentice Hall.
- [48] Derouane, E. G. (1998). Zeolites as solid solvents. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 134(1-3), 29-45.
- [49] Scailteur, V., & Lauwerys, R. R. (1987). Dimethylformamide (DMF) hepatotoxicity. *Toxicology*, 43(3), 231-238.
- [50] Coleman, M. M. (2019). *Fundamentals of Polymer science: An introductory text*. Routledge.
- [51] Akbarian, M., Hassanzadeh, S., & Moghri, M. (2008). Short Twaron aramid fiber reinforced thermoplastic polyurethane. *Polymers for Advanced Technologies*, 19(12), 1894-1900.
- [52] Allen, S. R., & Roche, E. J. (1989). Deformation behaviour of Kevlar® aramid fibres. *Polymer*, 30(6), 996-1003.
- [53] Han, S. Y., & Kim, Y. A. (2004). Recent development of peptide coupling reagents in organic synthesis. *Tetrahedron*, 60(11), 2447-2467.
- [54] Martinelli, J. R., Clark, T. P., Watson, D. A., Munday, R. H., & Buchwald, S. L. (2007). Palladium-Catalyzed Aminocarbonylation of Aryl Chlorides at Atmospheric Pressure: The Dual Role of Sodium Phenoxide. *Angewandte Chemie International Edition*, 46(44), 8460-8463.

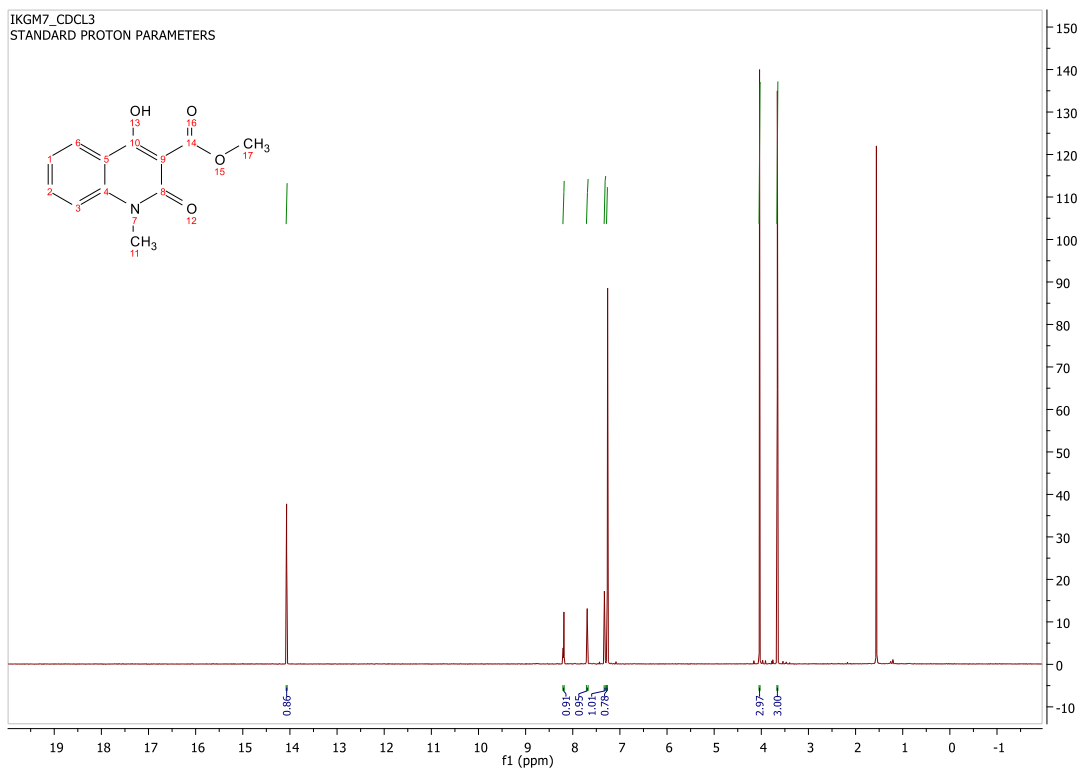
- [55] Chang, J. W. W., & Chan, P. W. H. (2008). Highly efficient ruthenium (II) porphyrin catalyzed amidation of aldehydes. *Angewandte Chemie International Edition*, 47(6), 1138-1140.
- [56] Schulenberg, J. W., & Archer, S. (2004). The Chapman Rearrangement. *Organic Reactions*, 14, 1-51.
- [57] Audiger, L., Watts, K., Elmore, S. C., Robinson, R. I., & Wirth, T. (2012). Ritter reactions in flow. *ChemSusChem*, 5(2), 257-260.
- [58] Gresser, M. J., & Jencks, W. P. (1977). Ester aminolysis. Structure-reactivity relationships and the rate-determining step in the aminolysis of substituted diphenyl carbonates. *Journal of the American Chemical Society*, 99(21), 6963-6970.
- [59] CROSSLEY, F. S., & MOORE, M. L. (1944). Studies on the Leuckart reaction. *The Journal of Organic Chemistry*, 9(6), 529-536.
- [60] Andreana, P. R., Liu, C. C., & Schreiber, S. L. (2004). Stereochemical control of the Passerini reaction. *Organic Letters*, 6(23), 4231-4233.
- [61] El Kaïm, L., Grimaud, L., & Oble, J. (2005). Phenol Ugi-Smiles systems: strategies for the multicomponent N-arylation of primary amines with isocyanides, aldehydes, and phenols. *Angewandte Chemie International Edition*, 44(48), 7961-7964.
- [62] Teiten, M. H., Dicato, M., & Diederich, M. (2014). Hybrid curcumin compounds: a new strategy for cancer treatment. *Molecules*, 19(12), 20839-20863.
- [63] Agarwal, D., Gupta, R. D., & Awasthi, S. K. (2017). Are antimalarial hybrid molecules a close reality or a distant dream?. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 61(5).
- [64] Pawełczyk, A., Sowa-Kasprzak, K., Olender, D., & Zaprutko, L. (2018). Molecular consortia—Various structural and synthetic concepts for more effective therapeutics synthesis. *International journal of molecular sciences*, 19(4), 1104.
- [65] J. Mc Murry, *Οργανική Χημεία, Ηράκλειο: Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης*, 2015, pp. 463-5, 699-700, 1154-7.
- [66] Σανδρός, Κ. Χ. *Οργανική Χημεία (Τόμος Ι)*. Αθήνα : s.n., 1985. pp. 208-211.
- [67] Szymańska-Zachara, E. (1983). On the 1, 6-addition of alkylammonium compounds to para-quinones. *Journal of Organometallic Chemistry*, 259(2), 127-137.
- [68] F. A. Carey and R. J. Sundberg, *Advanced Organic Chemistry: Part A: Structure and Mechanisms*, 4th ed., New York: Plenum Publishers, 2000, pp. 479-481.
- [69] Alfonso, I., & Gotor, V. (2004). Biocatalytic and biomimetic aminolysis reactions: useful tools for selective transformations on polyfunctional substrates. *Chemical Society Reviews*, 33(4), 201-209.
- [70] D. A. Skoog, J. F. Holler και S. R. Crouch, *Αρχές Ενόργανης Ανάλυσης*, 6η Έκδοση επιμ., Εκδόσεις Κωσταράκη, 2007, pp. 569-603.

- [71] Ε. Καλδούδη και Χ. Ελευθεριάδης, Η φυσική της ζωής, Εκδόσεις Κάλλιπος, 2015, pp. 194-208.
- [72] J. Mc Murry, Οργανική Χημεία, Ηράκλειο: Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, 2015, pp. 560-585.
- [73] D. A. Skoog, J. F. Holler και S. R. Crouch, Αρχές Ενόργανης Ανάλυσης, 6η Έκδοση επιμ., Εκδόσεις Κωσταράκη, 2007, pp. 520-545.
- [74] Μ. Κουή, Ν. Αβδελίδης, Π. Θεωδορακάας και Ε. Χειλάκου, Μη καταστρεπτικές και φασματοσκοπικές μέθοδοι εξέτασης των υλικών, Αθήνα: Εκδόσεις Κάλλιπος, 2015, pp. 190-216.
- [75] J. Mc Murry, Οργανική Χημεία, Ηράκλειο: Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, 2015, pp. 533-547.
- [76] David R. Klein (2015), Οργανική Χημεία Τόμος II, Utopia, pp. 779-802.
- [77] Α. Παππά, Φυσικές Μέθοδοι Ανάλυσης, Αθήνα: ΕΜΠ, 2004, pp. 166-200.
- [78] D. A. Skoog, J. F. Holler και S. R. Crouch, Αρχές Ενόργανης Ανάλυσης, 6η Έκδοση επιμ., Εκδόσεις Κωσταράκη, 2007, pp. 625-664.
- [79] David R. Klein (2015), Οργανική Χημεία Τόμος II, Utopia, pp. 804-816.
- [80] J. Mc Murry, Οργανική Χημεία, Ηράκλειο: Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, 2015, pp. 524-529.
- [81] Milardović, S., Iveković, D., & Grabarić, B. S. (2006). A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical. *Bioelectrochemistry*, 68(2), 175-180.
- [82] Sirivibulkovit, K., Nouanthavong, S., & Sameenoi, Y. (2018). based DPPH assay for antioxidant activity analysis. *Analytical Sciences*, 34(7), 795-800.
- [83] Scudiero, D. A., Shoemaker, R. H., Paull, K. D., Monks, A., Tierney, S., Nofziger, T. H., ... & Boyd, M. R. (1988). Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. *Cancer research*, 48(17), 4827-4833.
- [84] Kontogiorgis, C. A., Xu, Y., Hadjipavlou-Litina, D., & Luo, Y. (2007). Coumarin derivatives protection against ROS production in cellular models of A β toxicities. *Free radical research*, 41(10), 1168-1180.

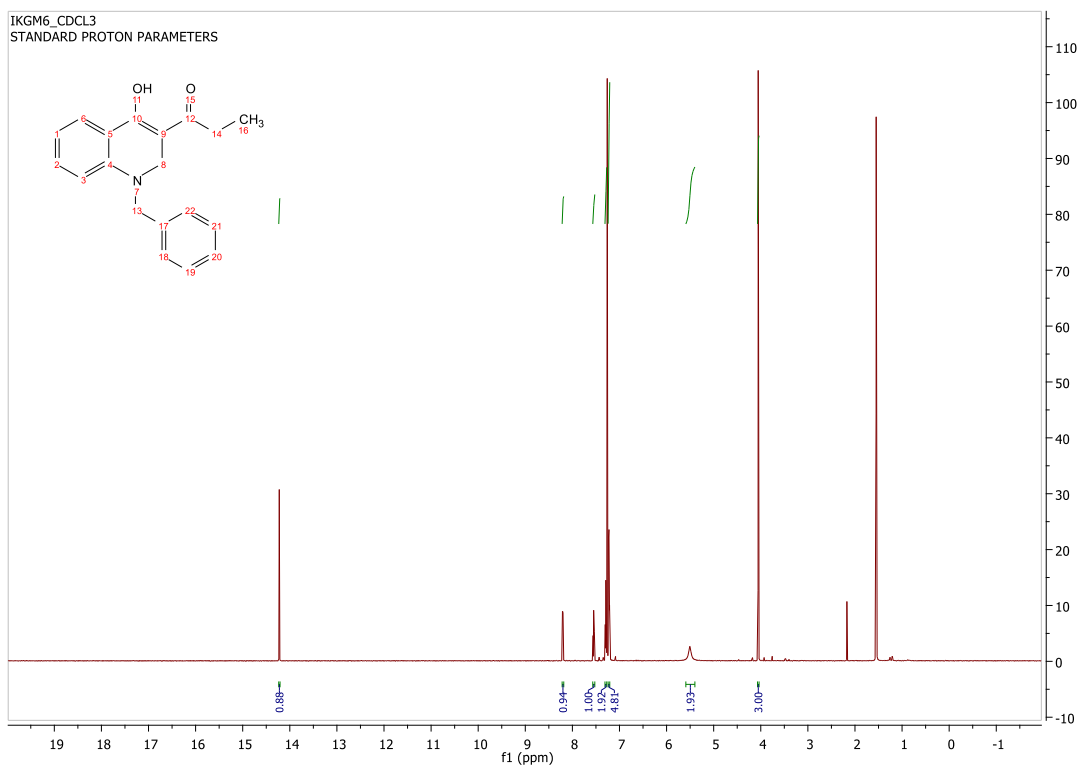
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΑΣΜΑΤΩΝ



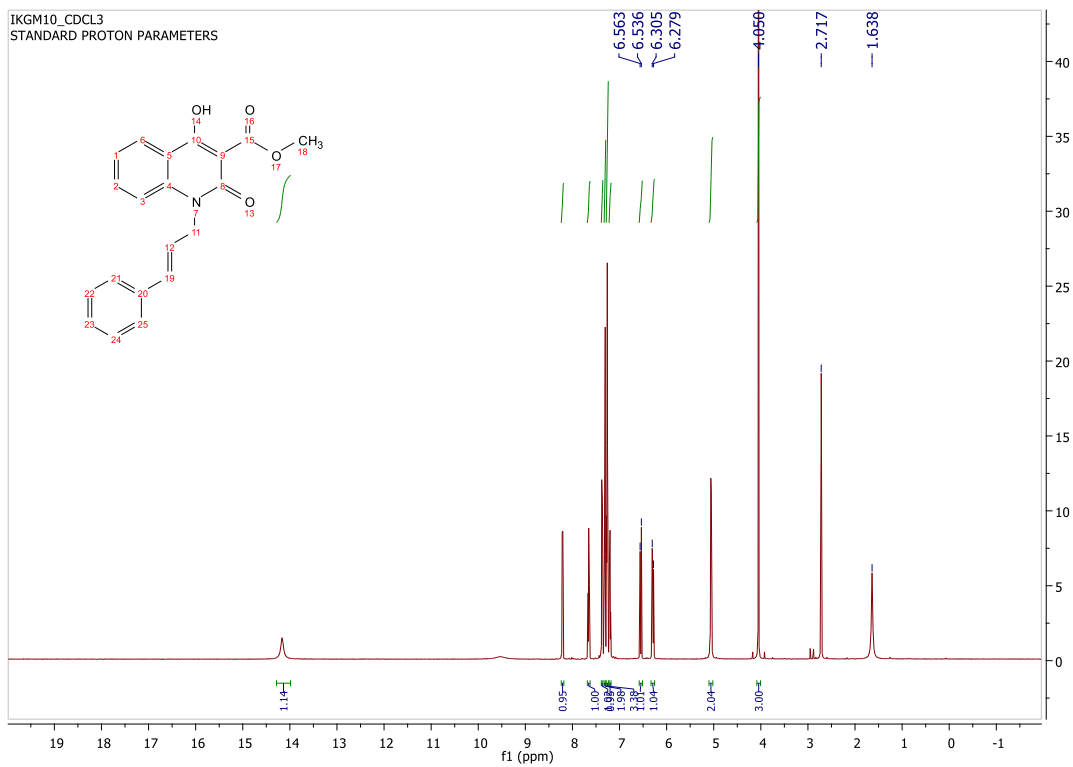
Εικόνα 83: Φάσμα NMR της ένωσης 3a



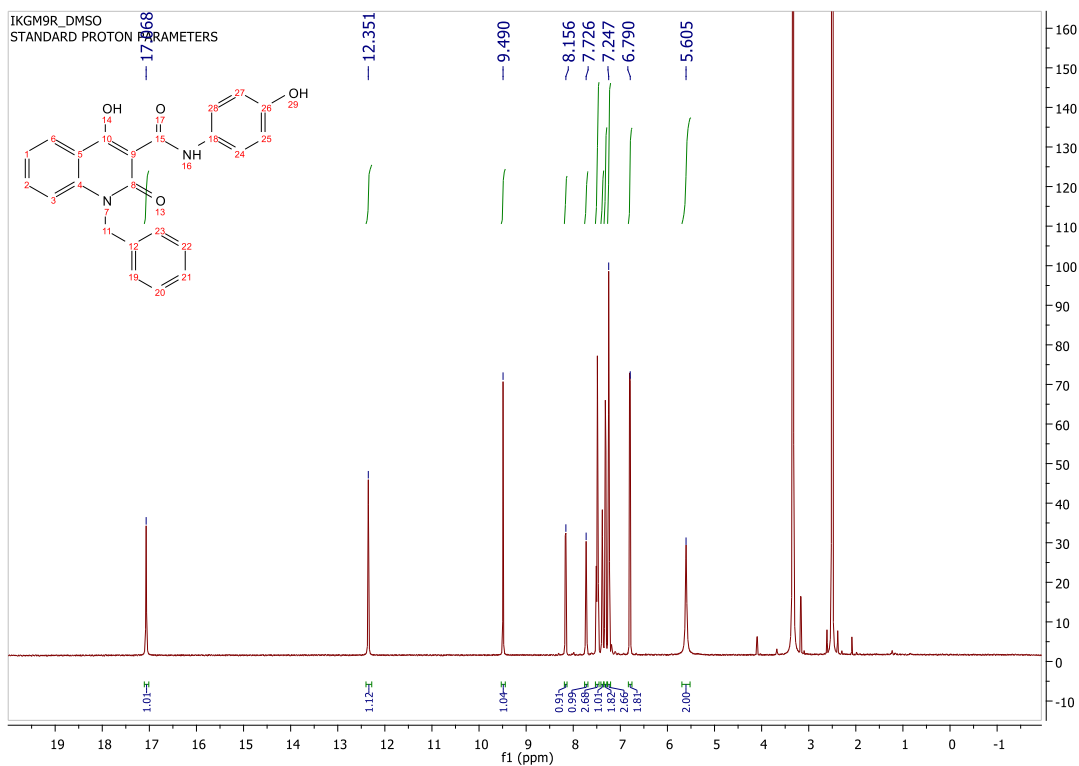
Εικόνα 84: Φάσμα NMR της ένωσης 3b



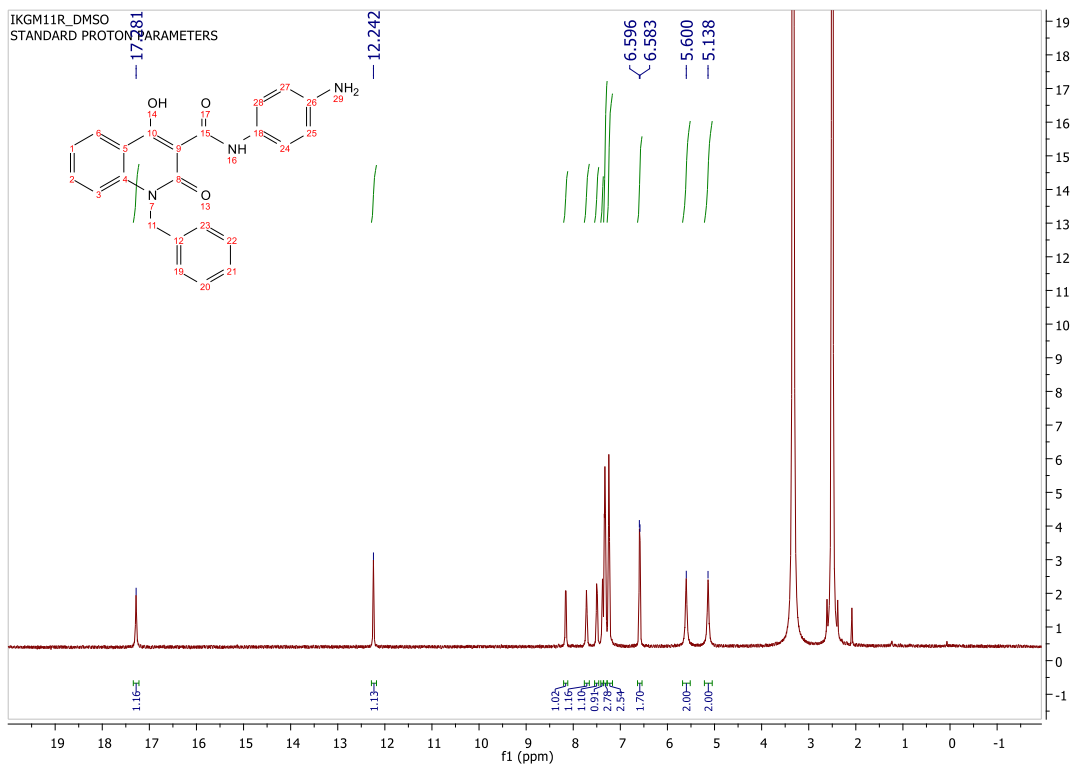
Εικόνα 85: Φάσμα NMR της ένωσης 3c



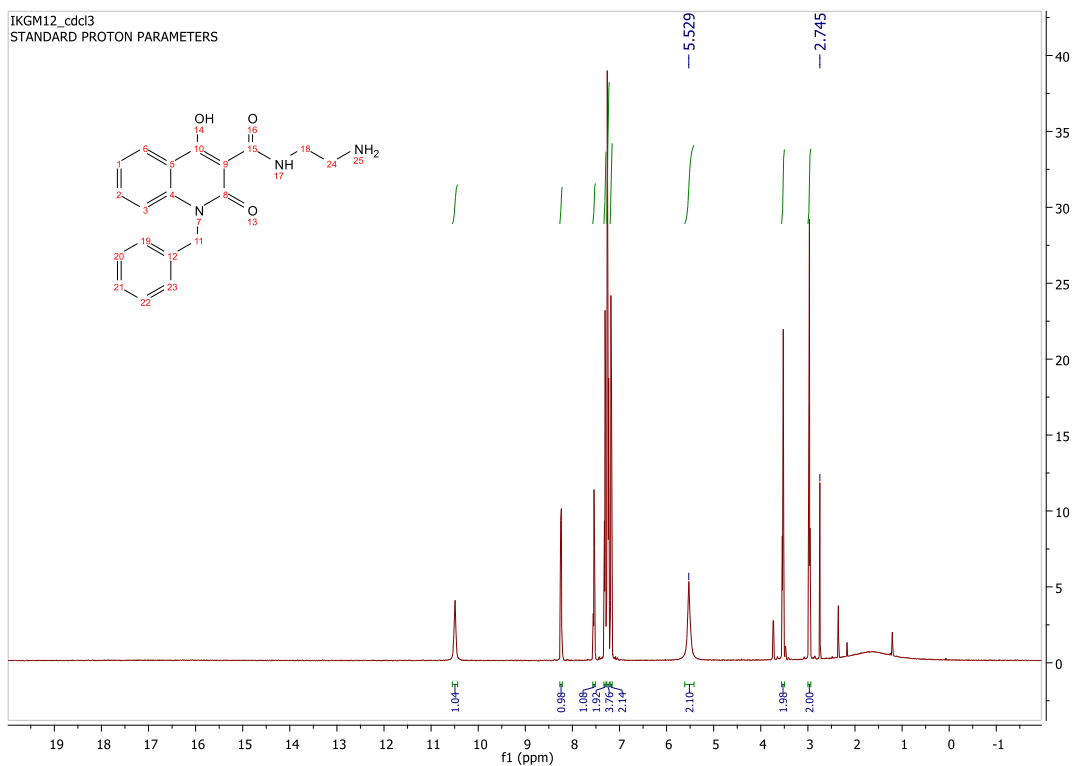
Εικόνα 86: Φάσμα NMR της ένωσης 3d



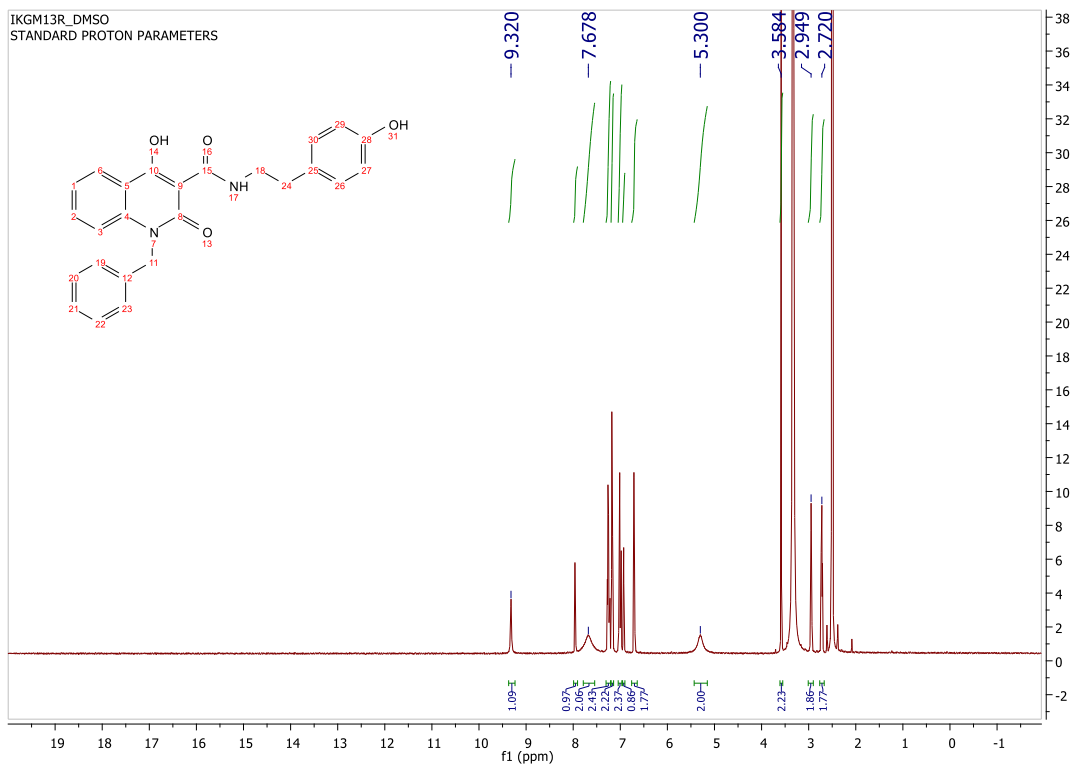
Εικόνα 87: Φάσμα NMR της ένωσης 4a



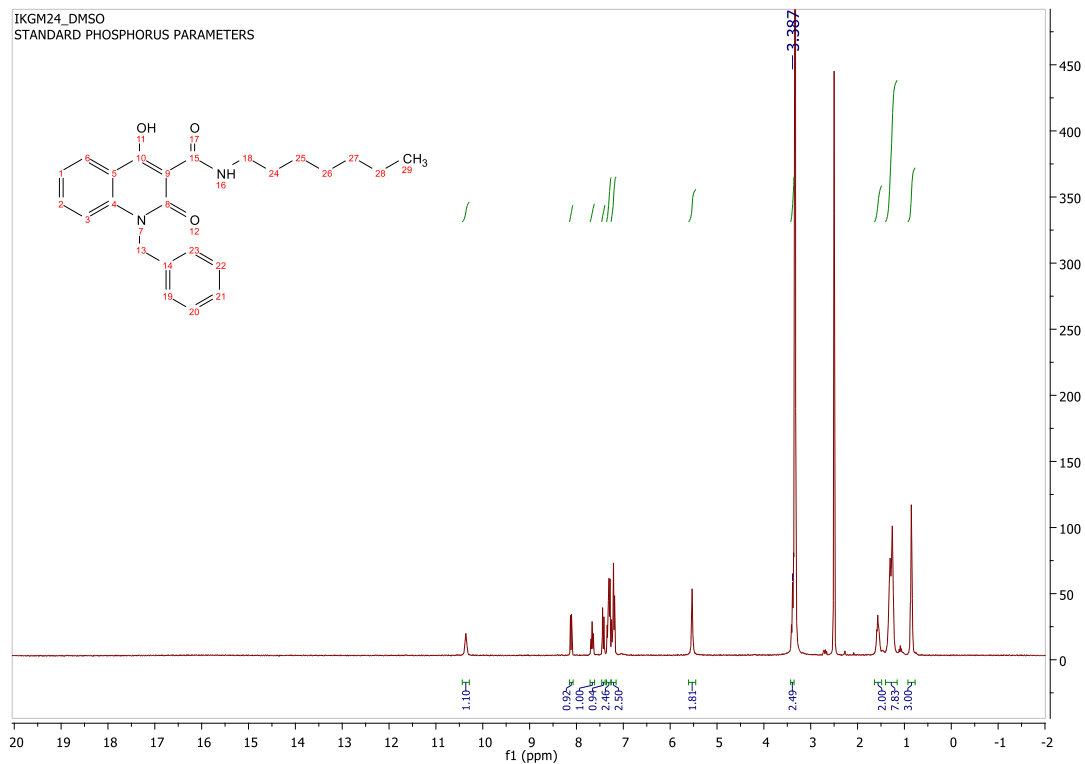
Εικόνα 88: Φάσμα NMR της ένωσης 4b



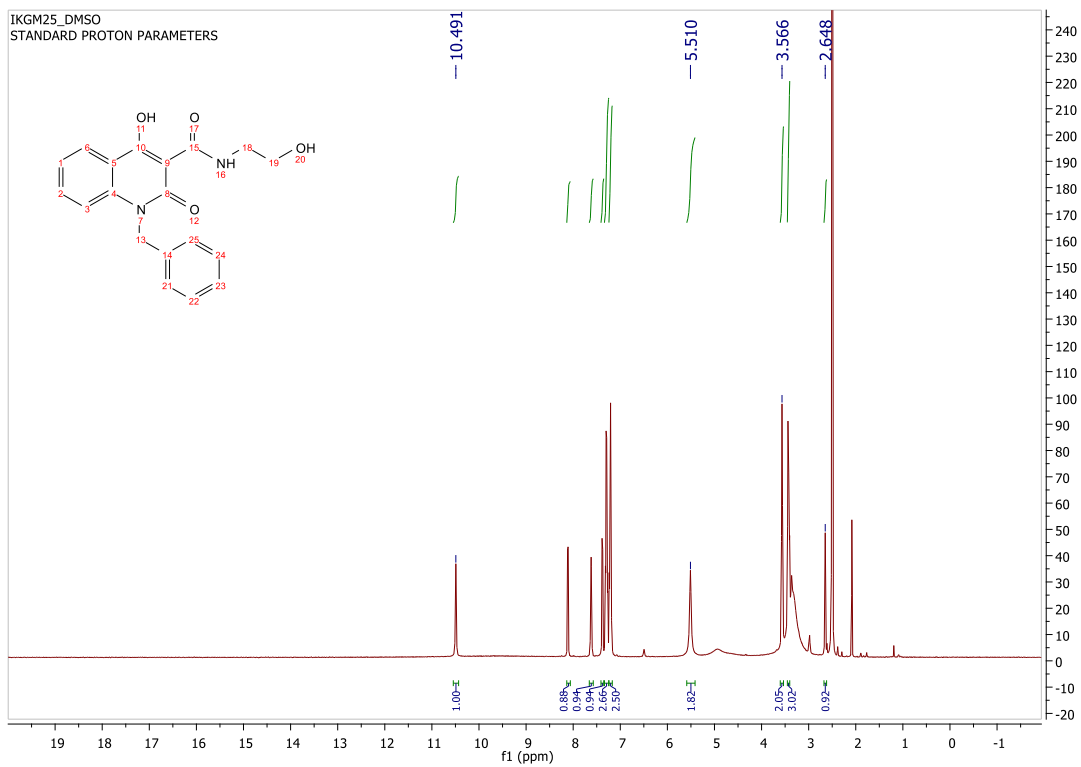
Εικόνα 89: Φάσμα NMR της ένωσης 4c



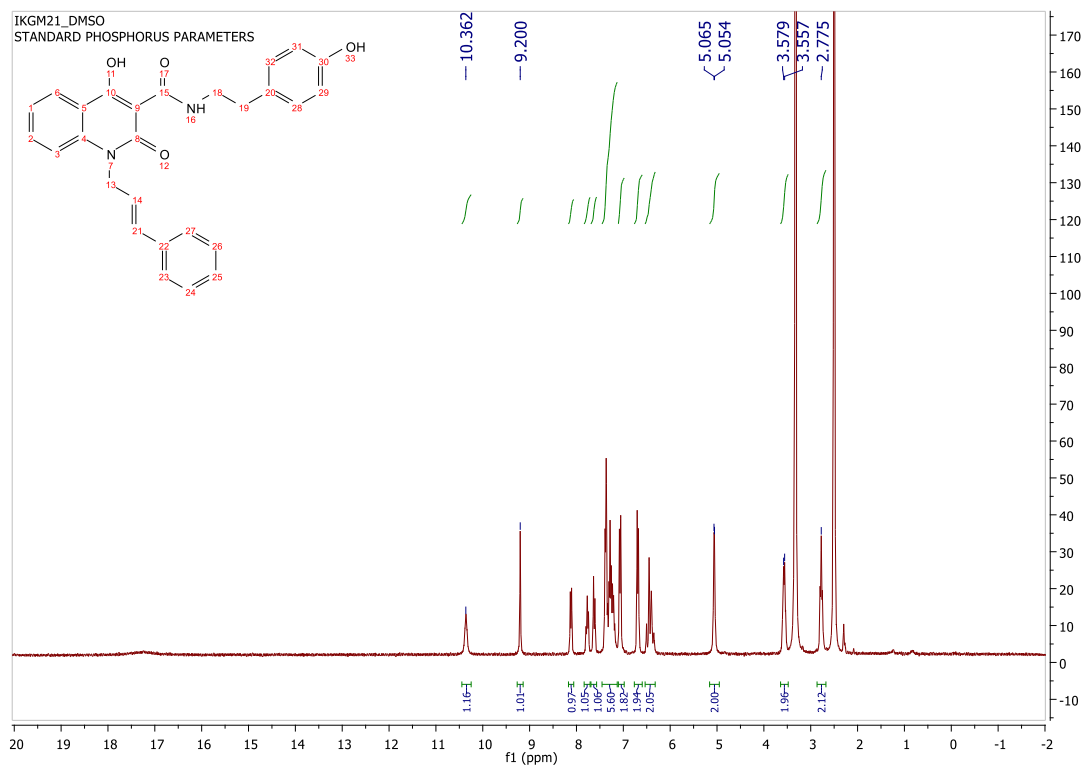
Εικόνα 90: Φάσμα NMR της ένωσης 4d



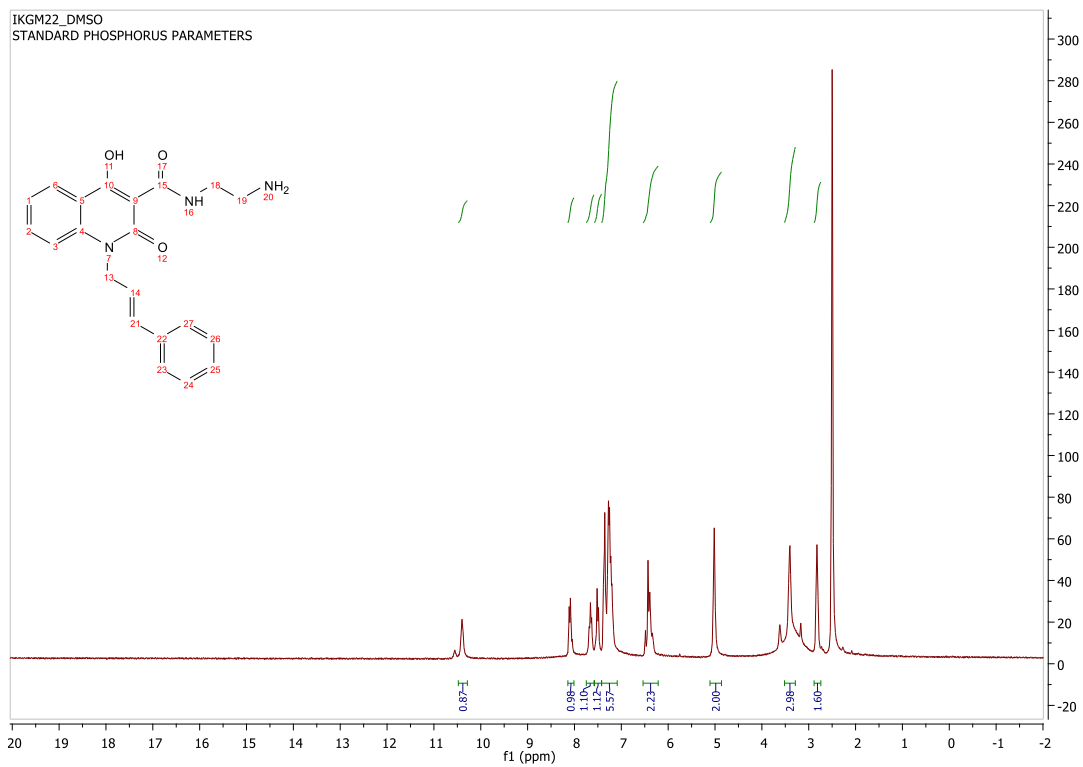
Εικόνα 91: Φάσμα NMR της ένωσης 4e



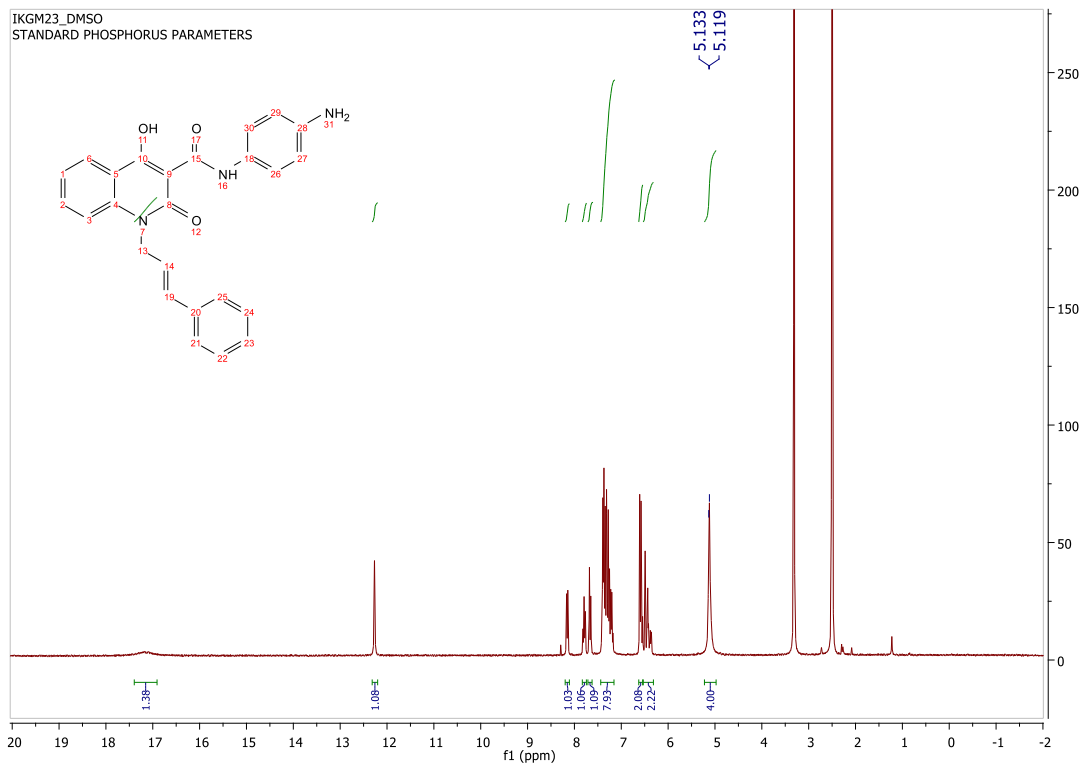
Εικόνα 92: Φάσμα NMR της ένωσης 4f



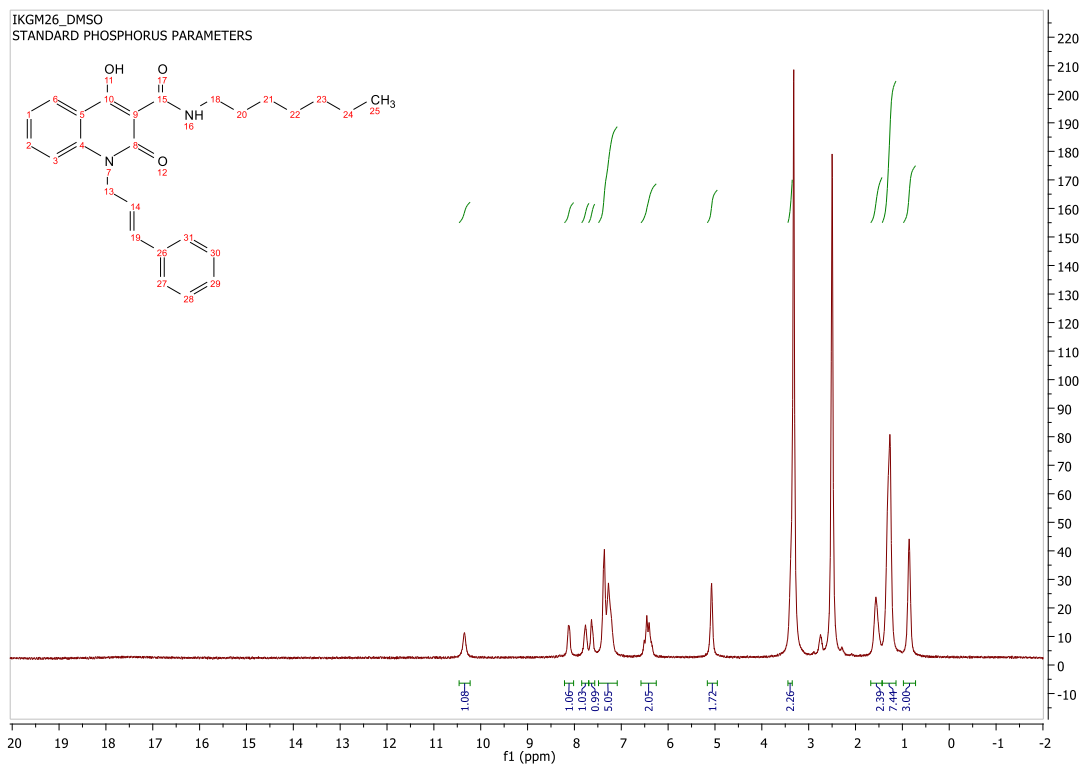
Εικόνα 93: Φάσμα NMR της ένωσης 4i



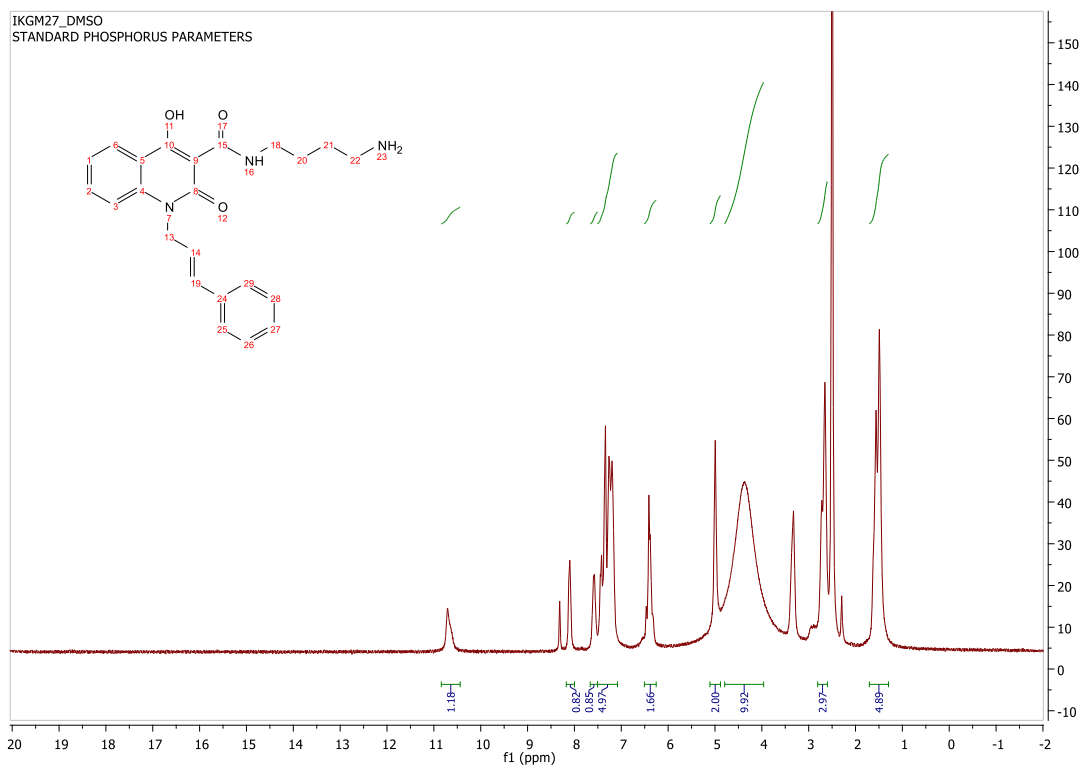
Εικόνα 94: Φάσμα NMR της ένωσης 4j



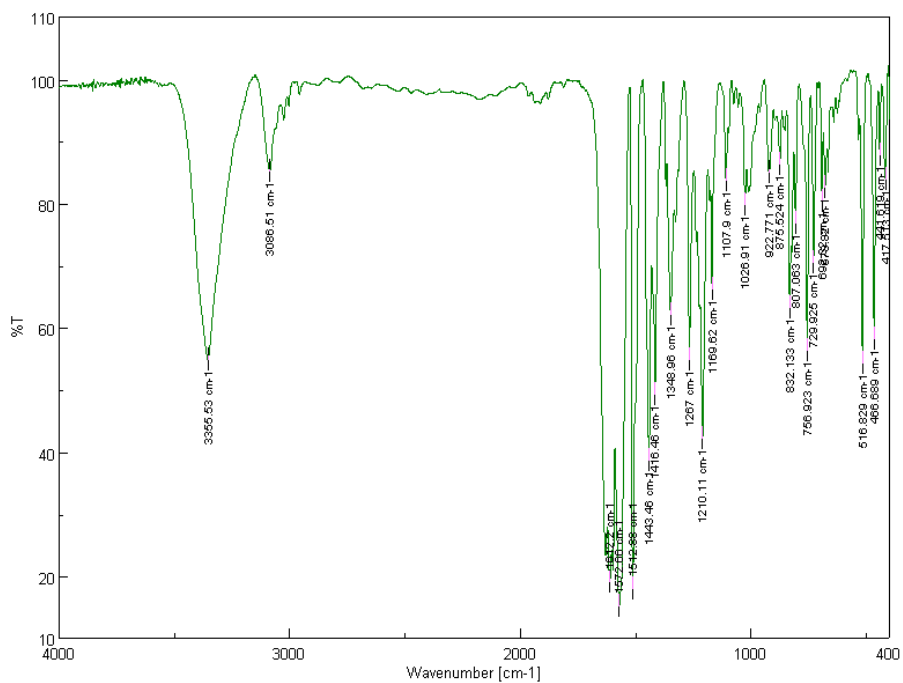
Εικόνα 95: Φάσμα NMR της ένωσης 4k



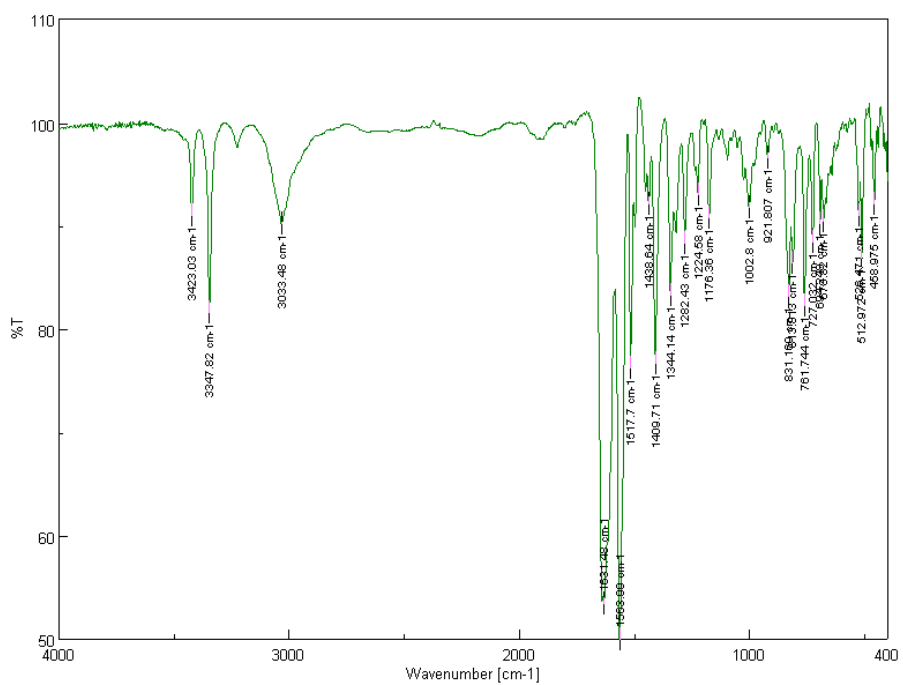
Εικόνα 96: Φάσμα NMR της ένωσης 4l



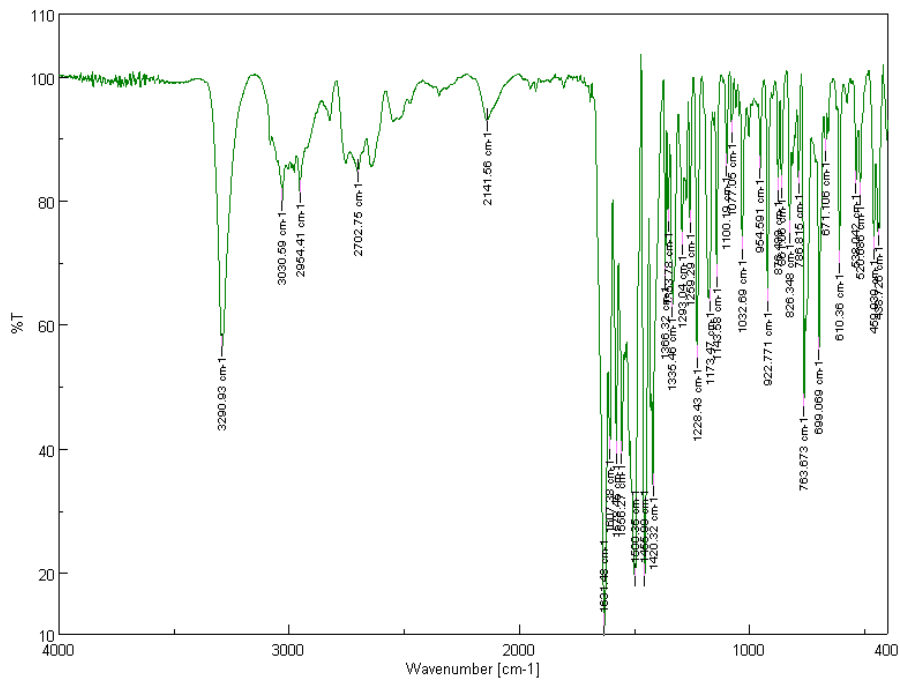
Εικόνα 97: Φάσμα NMR της ένωσης 4m



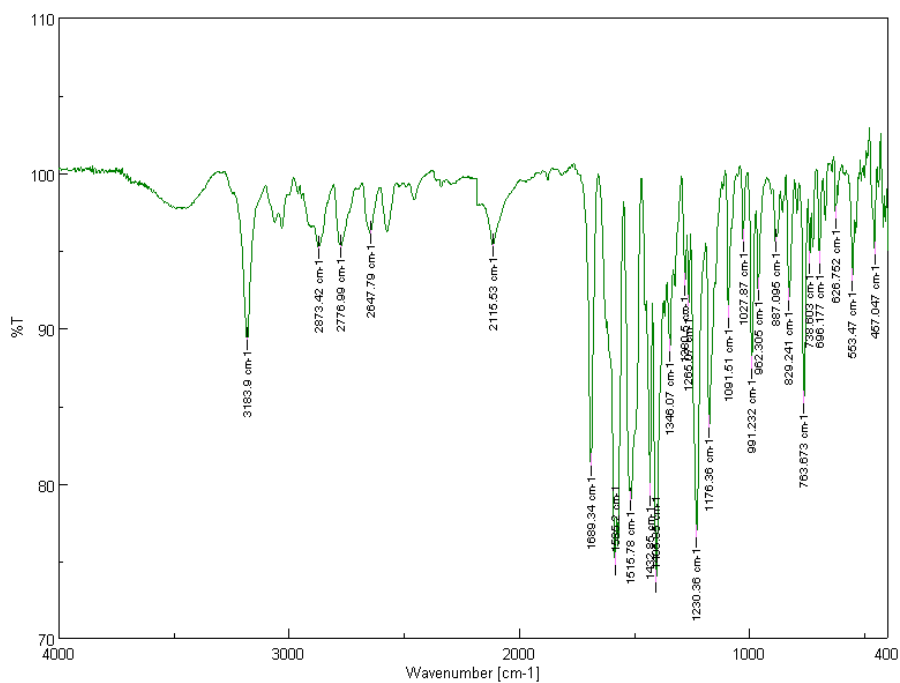
Εικόνα 98: Φάσμα IR της ένωσης 4a



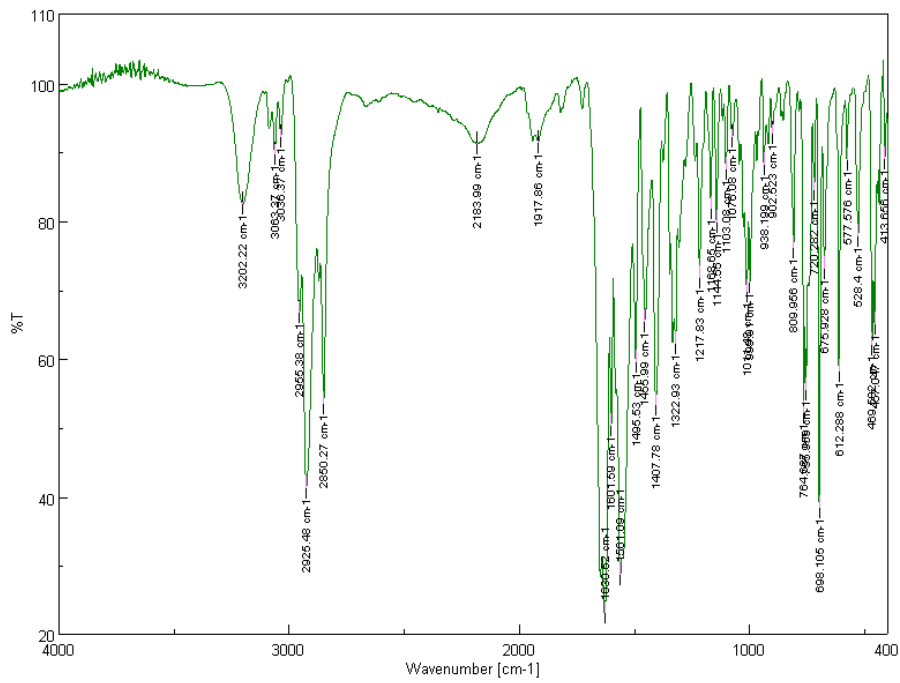
Εικόνα 99: : Φάσμα IR της ένωσης 4b



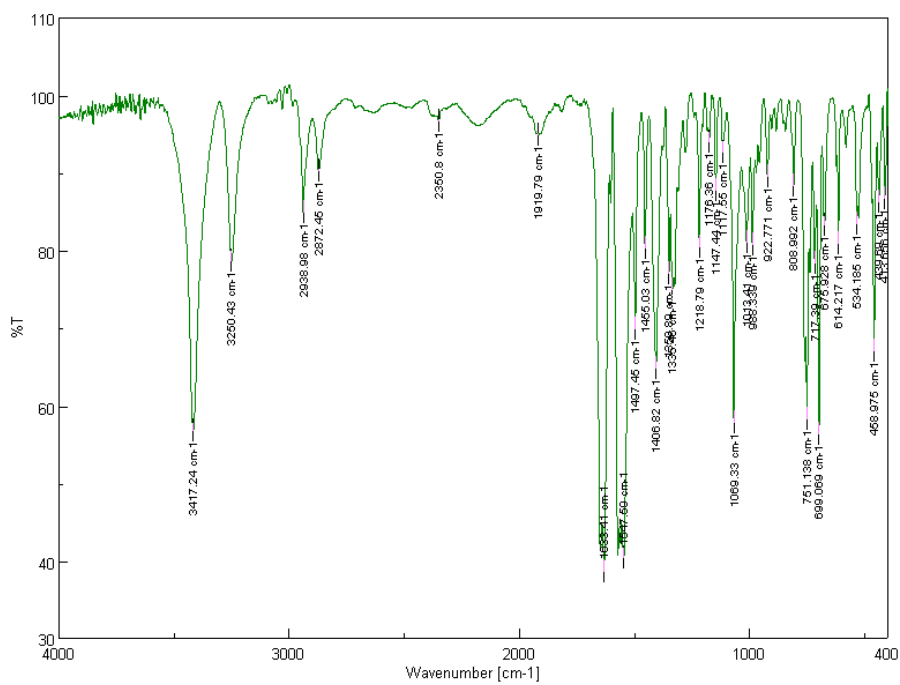
Εικόνα 100: Φάσμα IR της ένωσης 4c



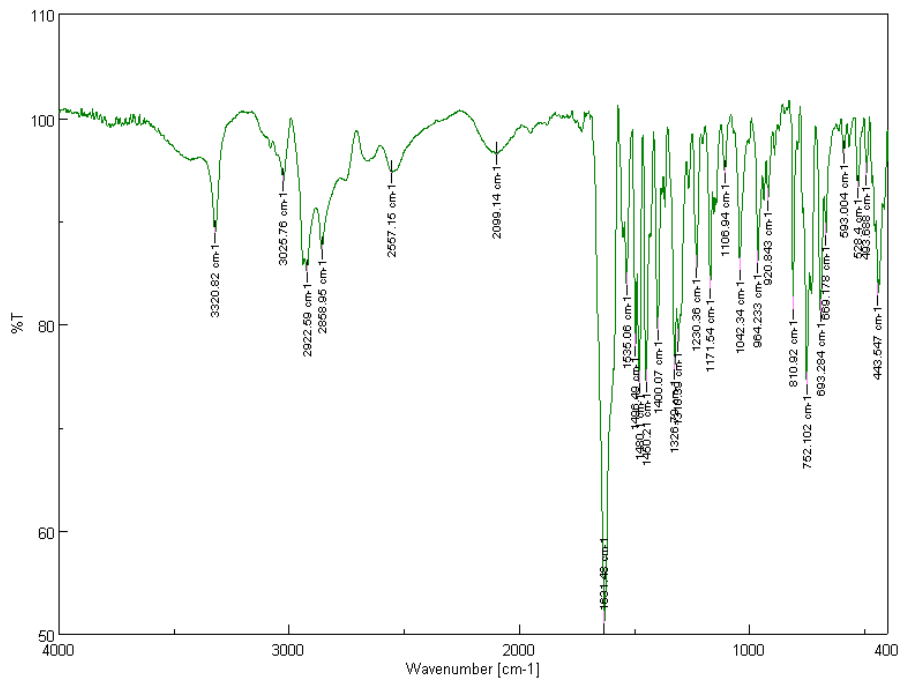
Εικόνα 101: Φάσμα IR της ένωσης 4d



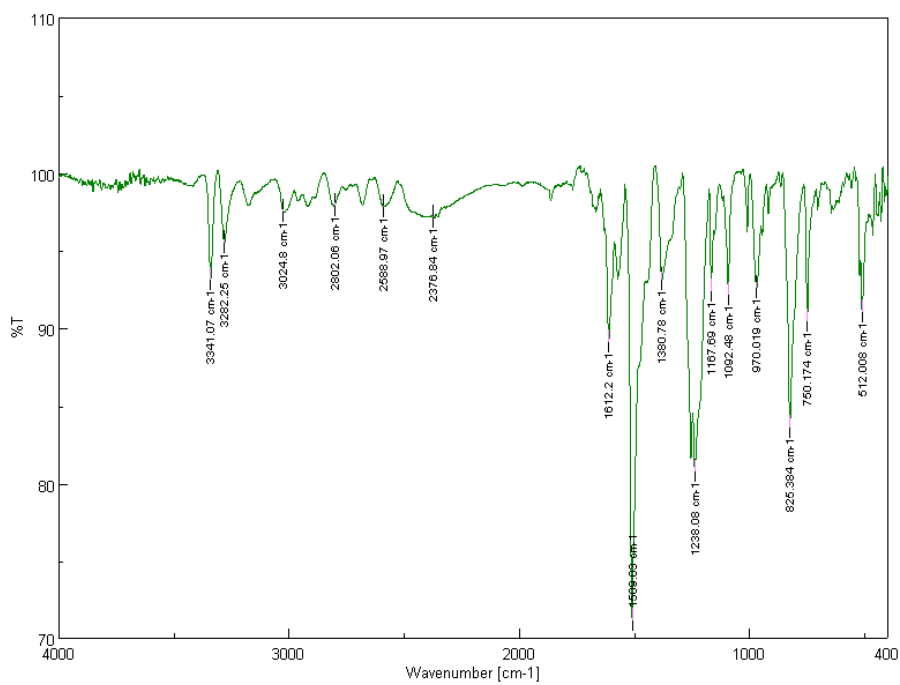
Εικόνα 102: Φάσμα IR της ένωσης 4e



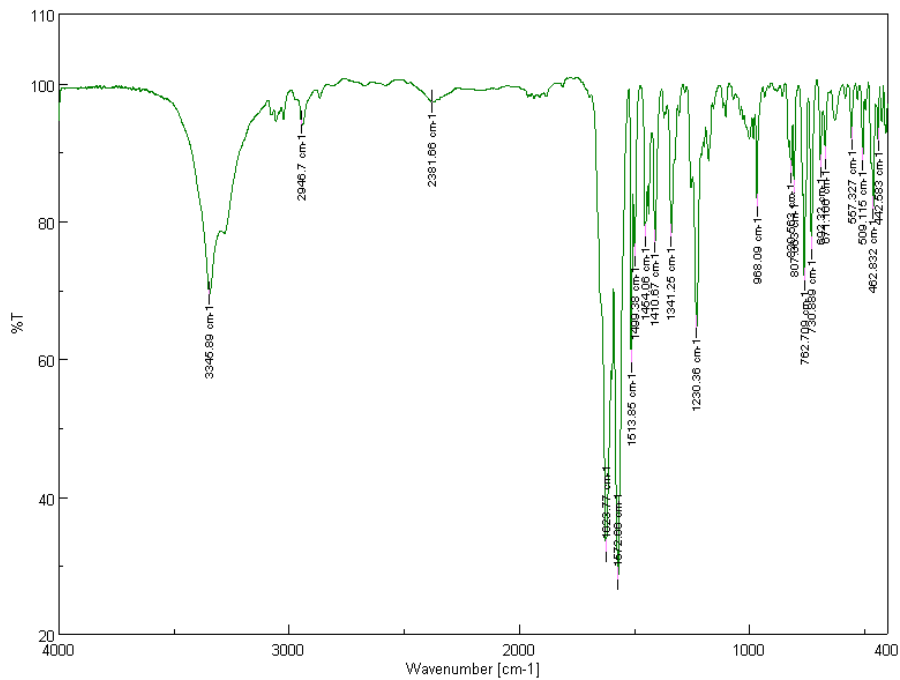
Εικόνα 103: Φάσμα IR της ένωσης 4f



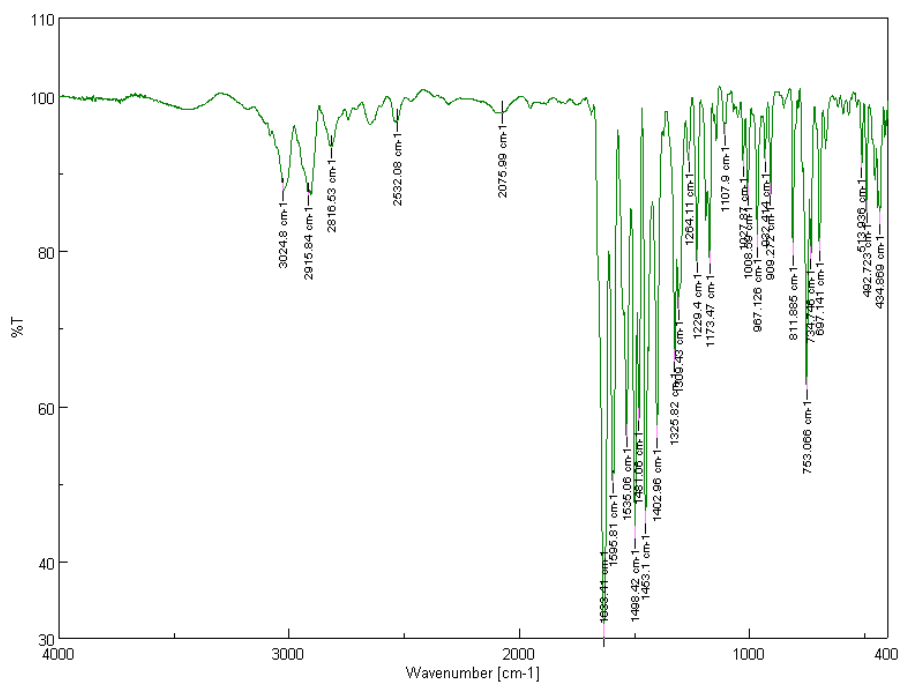
Εικόνα 104: Φάσμα IR της ένωσης 4g



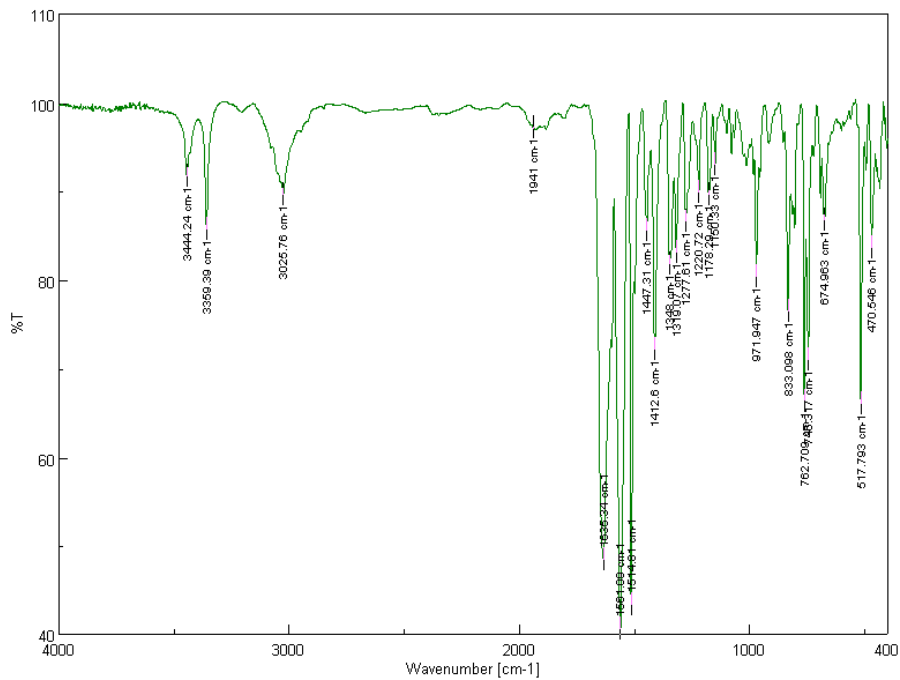
Εικόνα 105: Φάσμα IR της ένωσης 4h



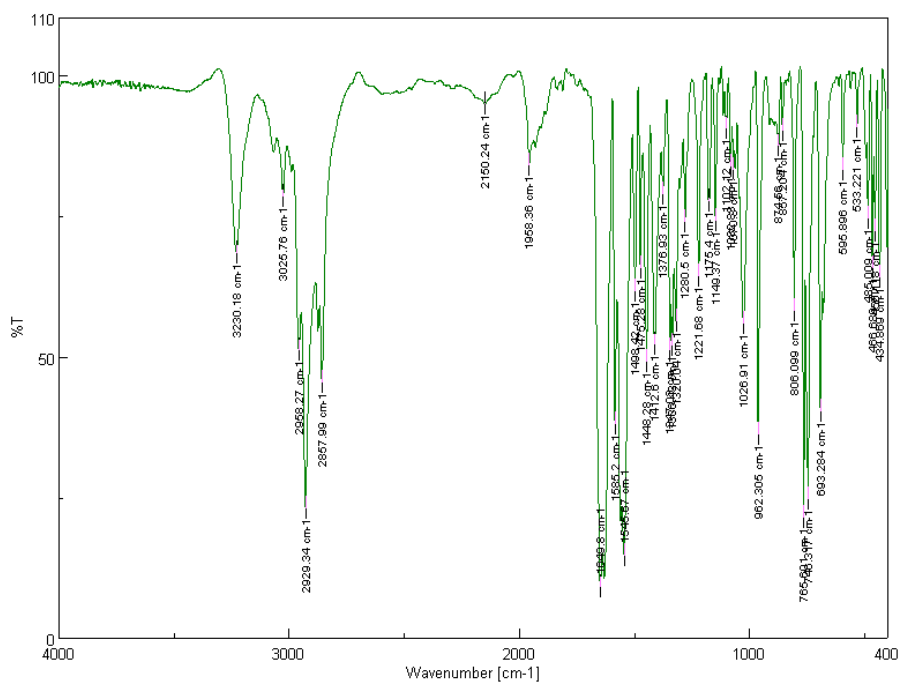
Εικόνα 106: Φάσμα IR της ένωσης 4i



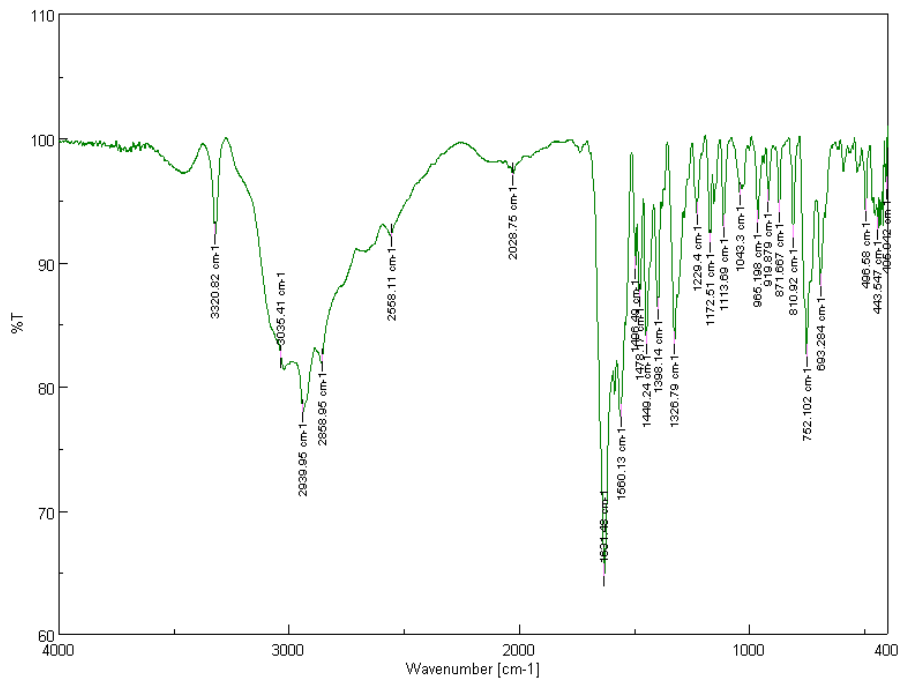
Εικόνα 107: Φάσμα IR της ένωσης 4j



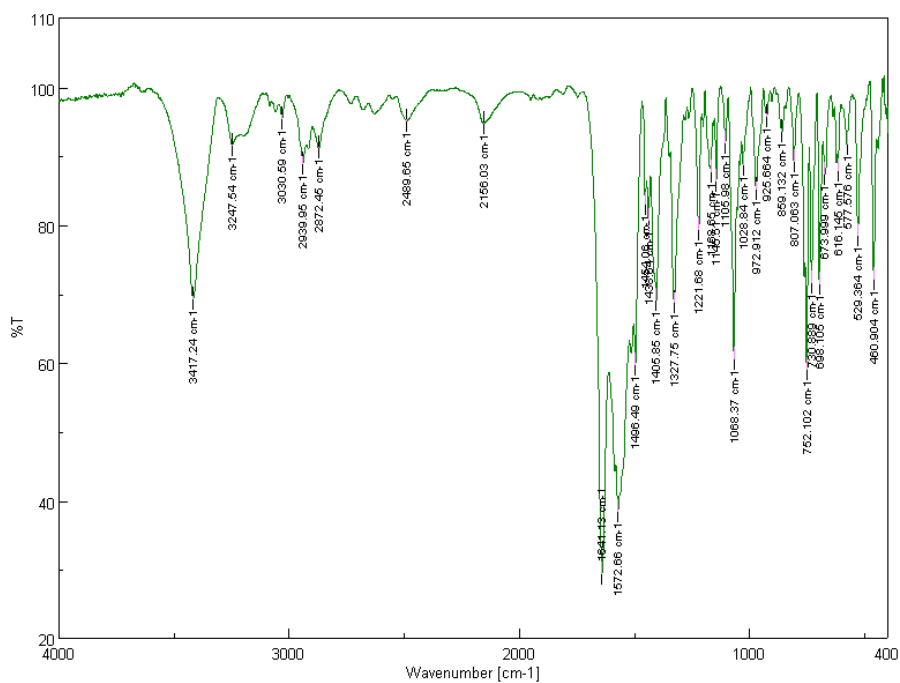
Εικόνα 108: Φάσμα IR της ένωσης 4k



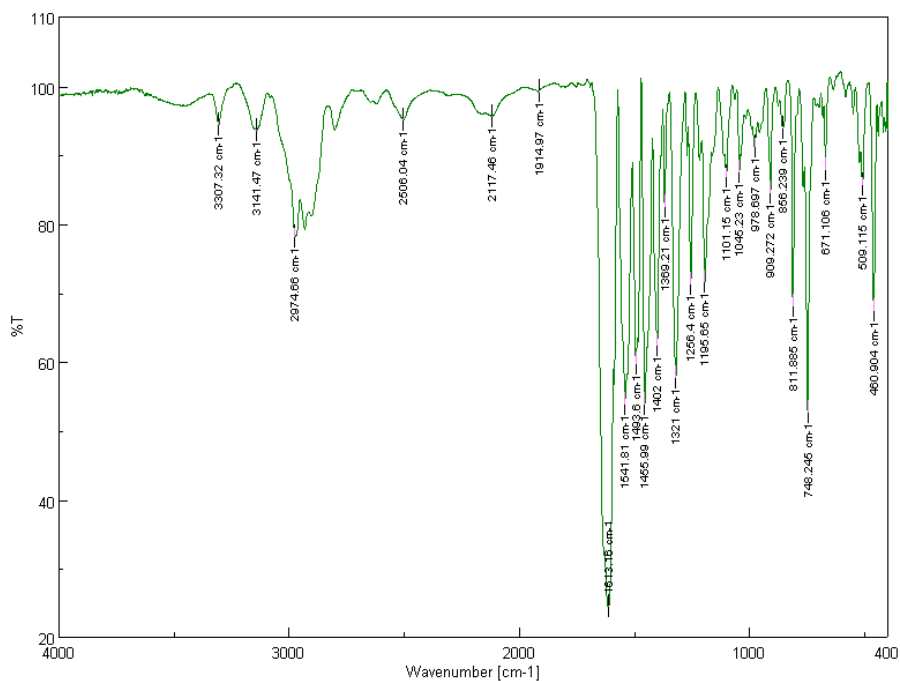
Εικόνα 109: Φάσμα IR της ένωσης 4l



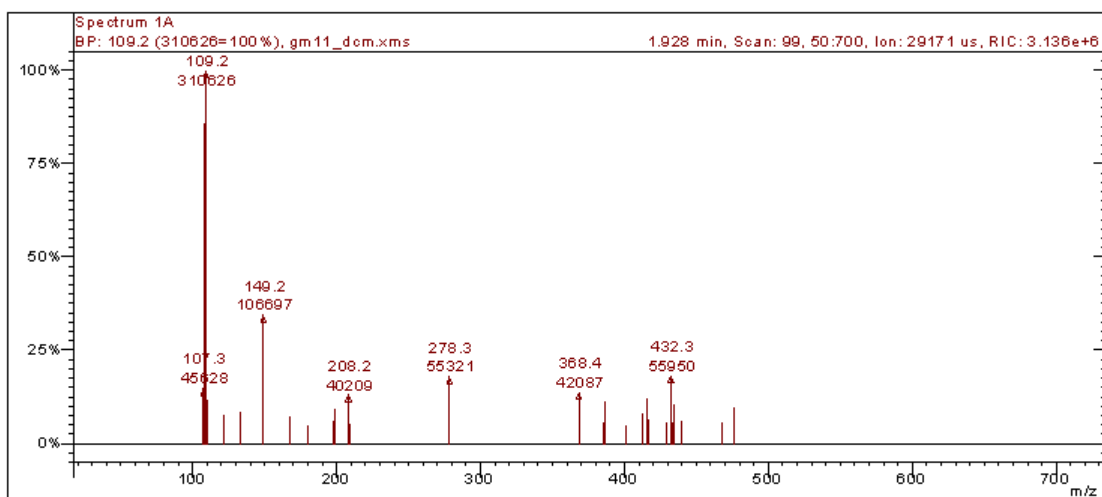
Εικόνα 110: Φάσμα IR της ένωσης 4m



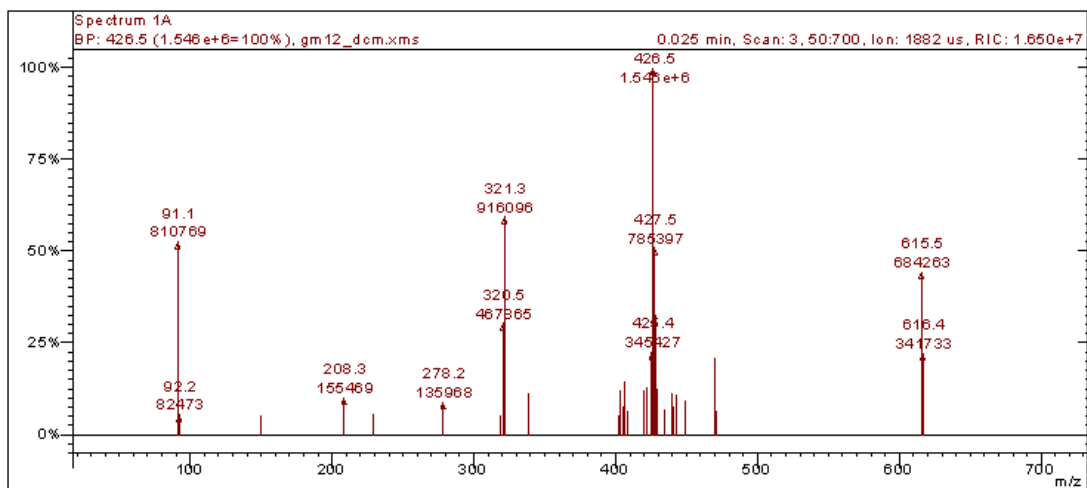
Εικόνα 111: Φάσμα IR της ένωσης 4n



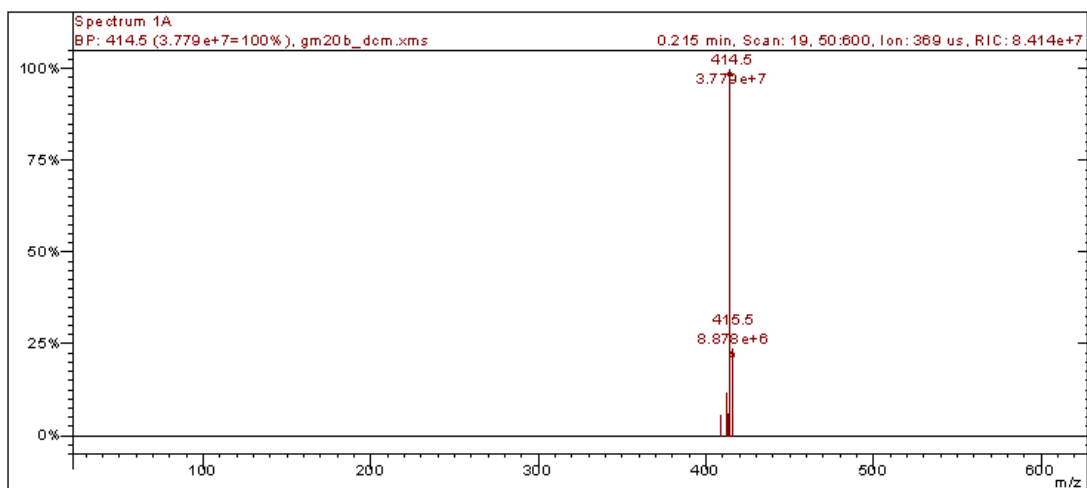
Εικόνα 112: Φάσμα IR της ένωσης 4a



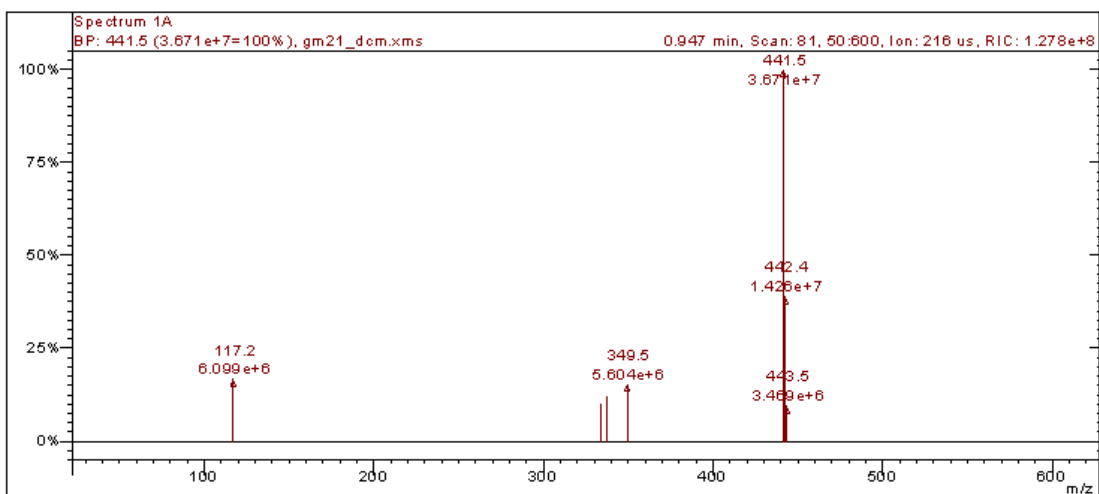
Εικόνα 113: Φάσμα MS της ένωσης 4b



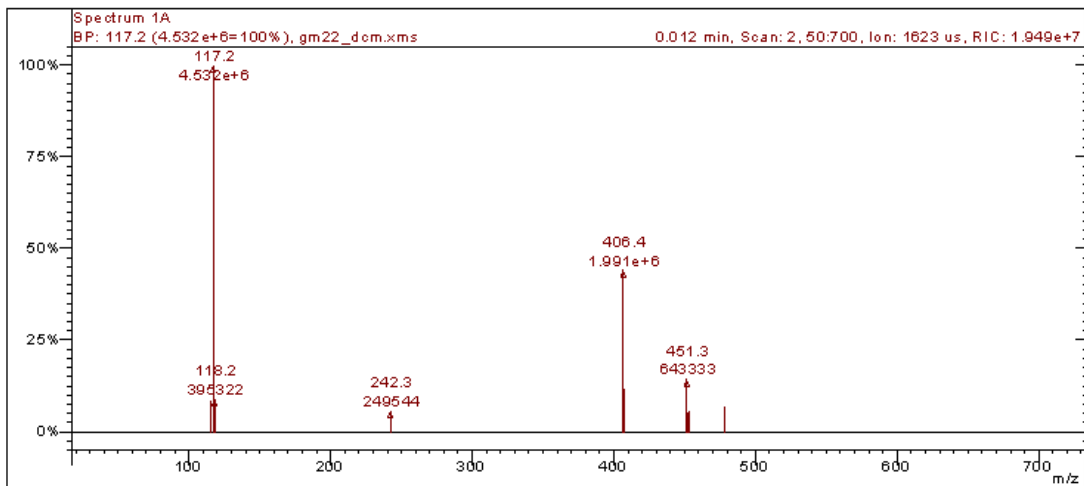
Εικόνα 114: Φάσμα MS της ένωσης 4c



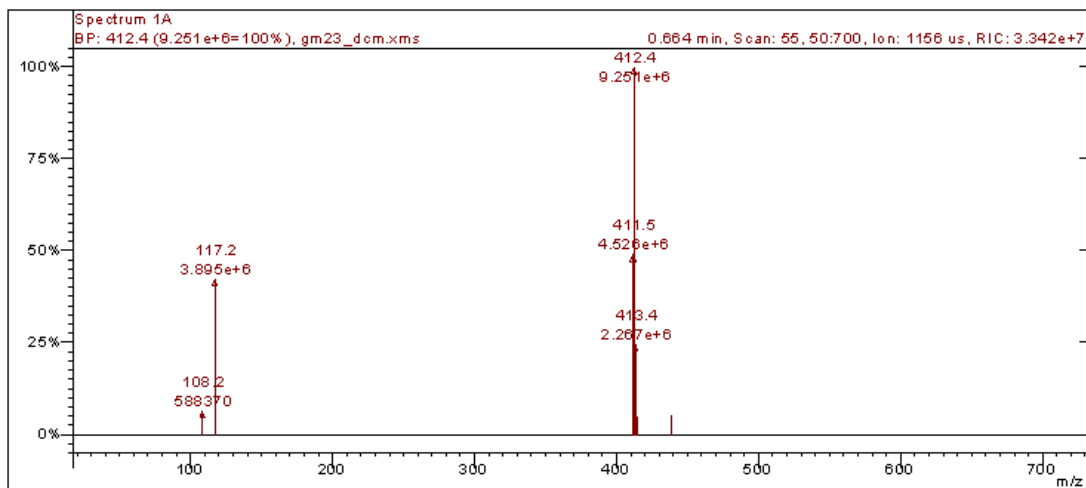
Εικόνα 115: Φάσμα MS της ένωσης 4h



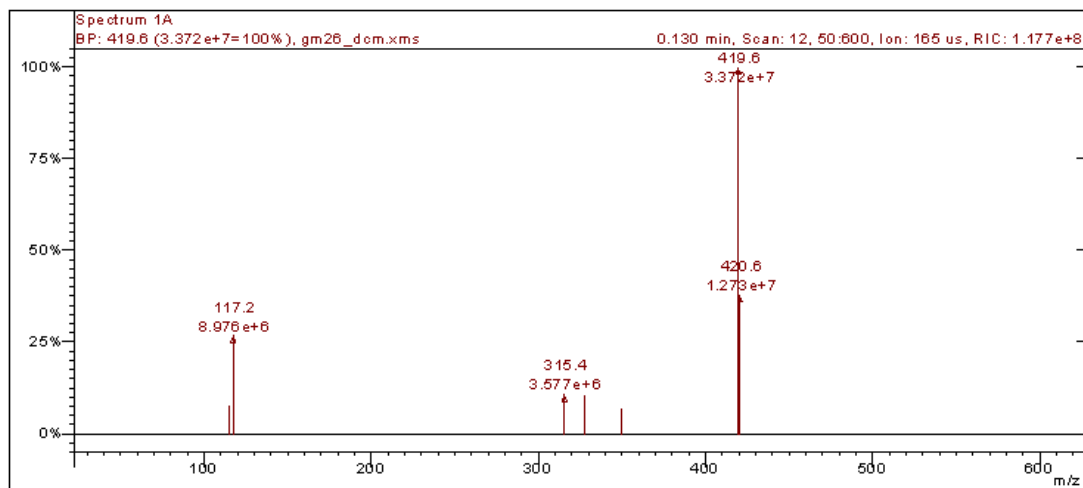
Εικόνα 116: Φάσμα MS της ένωσης 4i



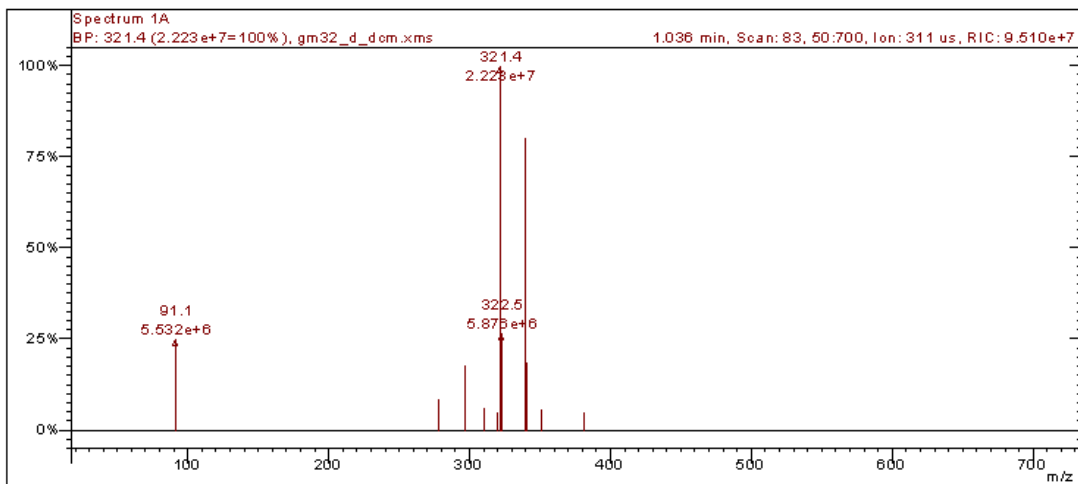
Εικόνα 117: Φάσμα MS της ένωσης 4j



Εικόνα 118: Φάσμα MS της ένωσης 4k



Εικόνα 119: Φάσμα MS της ένωσης 4l



Εικόνα 120: Φάσμα MS της ένωσης 4o