



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

Ανάπτυξη πράσινης μεθοδολογίας σύνθεσης νέων  
2,3-δισυποκατεστημένων κιναζολινονών μέσω  
αντίδρασης πολλών συστατικών σε φυσικούς  
βαθέως ευτηκτικούς διαλύτες και αξιολόγηση της  
βιοδραστικότητάς τους.

**Διπλωματική Εργασία**

**Παντελή Ιωάννα**

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια:  
Αναστασία Δέτση  
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια

Αθήνα, 2020

## Πρόλογος

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε κατά την περίοδο 2019 – 2020 στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας της Σχολής Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ, υπό την επίβλεψη της Αναπλ. Καθ. Αναστασίας Δέτση.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα Δέτση που μου έδωσε την ευκαιρία να ασχοληθώ με ένα θέμα πρωτότυπο και ιδιαίτερα ενδιαφέρον. Η ενασχόλησή μου με αυτό μου προσέφερε πληθώρα γνώσεων αλλά και μία καινούργια οπτική για την συνθετική χημεία. Επιπλέον, σημαντικό ρόλο στην προσπάθειά μου διαδραμάτισε η υποψήφια διδάκτορας Μπαϊρακτάρη Μαρία η οποία με καθοδήγησε σε κάθε μου βήμα με όρεξη και υπομονή. Παράλληλα δεν θα μπορούσα να μην αναγνωρίσω την συμβολή όλων των μελών του εργαστηρίου με τα οποία είχαμε μια εξαιρετική συνεργασία. Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά το Εργαστήριο Οργανικής Χημείας στο Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (ΑΠΘ) και την κα Φυλακτακίδου, με την βοήθεια των οποίων πραγματοποιήθηκαν τα πειράματα αξιολόγησης της βιολογικής δράσης των ενώσεων που μελέτησα.

## Περιεχόμενα

Κατάλογος Πινάκων .....	5
Κατάλογος Εικόνων.....	6
Κατάλογος Σχημάτων .....	9
Περίληψη.....	11
Abstract.....	13
Graphical Abstract.....	15
Θεωρητικό Μέρος .....	16
1. Πράσινη Χημεία.....	17
1.1. Αρχές Πράσινης Χημείας .....	18
1.2. Πράσινοι Δείκτες Ποσοτικοποίησης.....	22
1.3. Πράσινοι Διαλύτες .....	24
1.3.1. Ιοντικά Υγρά (ILs).....	24
1.3.1.1. Ιδιότητες .....	25
1.3.1.2. Εφαρμογές .....	27
1.3.2. Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (DES) .....	27
1.3.2.1. Φυσικοί Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (NaDES).....	28
1.3.2.2. Θεραπευτικοί Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (TheDES) .....	30
1.3.2.3. Ιδιότητες .....	31
1.3.2.4. Μέθοδοι Παρασκευής.....	34
1.3.2.5. Εφαρμογές .....	35
1.4. Τεχνικές Υψηλής Ενέργειας .....	40
1.4.1. Υπέρηχοι.....	40
1.4.2. Μικροκύματα.....	40
2. Κιναζολινόνες .....	42
2.1. 2,3-Κιναζολιν-4(3H)-όνες .....	44
2.1.1. Δομή.....	44
2.1.2. Μέθοδοι Σύνθεσης .....	44
2.2. 2,3-Διυδροκιναζολιν-4(1H)-όνες .....	49
2.2.1. Δομή.....	49
2.2.2. Μέθοδοι Σύνθεσης .....	49
2.3. Βιολογική Δράση .....	53
3. Βιολογικές Δράσεις.....	55
3.1. Φωτοδιασπαστική Ικανότητα των ενώσεων στο DNA .....	55

3.1.1. Εφαρμογές για θεραπευτικούς σκοπούς.....	56
3.1.1.1. Φωτοδυναμική θεραπεία (PDT) .....	56
3.1.1.2. Φωτοχημειοθεραπεία (PACT).....	58
3.1.1.3. Φωτοθερμική θεραπεία (PTT).....	58
3.2. Τρόποι αλληλεπίδρασης με το DNA.....	60
3.2.1. Παρεμβολή στο DNA.....	60
3.2.2. Ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις.....	62
3.2.3. Δέσμευση στη κύρια ή τη δευτερεύουσα αύλακα.....	62
3.3. Αντιοξειδωτική Δράση.....	63
Πειραματικό Μέρος.....	65
4. Πειραματική Διαδικασία .....	66
4.1. Σκοπός.....	66
4.2. Όργανα – Συσκευές.....	67
4.3. Σύνθεση NaDES.....	68
4.3.1. Πειραματική Διαδικασία .....	68
4.3.2. Χαρακτηρισμός NaDES .....	72
4.3.2.1. Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (H-NMR).....	72
4.3.2.2. Φασματοσκοπία υπερώθρου (FT-IR-ATR).....	72
4.3.2.3. Θερμοσταθμική Ανάλυση (TGA) .....	73
4.3.2.4. Μέτρηση pH.....	73
4.4. Σύνθεση κιναζολινονών.....	74
4.4.1. Σύνθεση 2,3-κιναζολιν-4(3H)-ονών .....	74
4.4.1.1. Μέθοδος με συμβατική θέρμανση .....	74
4.4.2. Σύνθεση 2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)-ονών.....	76
4.4.2.1. Επιλογή NaDES - Αντίδραση μοντέλο .....	76
4.4.2.2. Μέθοδος σύνθεσης με υπερώχους .....	77
4.4.2.3. Αποπροστασία των μεθοξυ-ομάδων .....	85
4.4.3. Ταυτοποίηση κιναζολινονών.....	86
4.4.3.1. Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) .....	86
4.4.3.2. Μέτρηση Σημείου Τήξης .....	87
4.4.3.3. Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (H-NMR).....	88
4.4.3.4. Φασματομετρία μάζας (MS) .....	88
4.4.3.5. Φασματοσκοπία υπερώθρου (FT-IR) .....	88
4.4.3.6. Φασματοσκοπία υπεριώδους (UV-Vis).....	88

4.5. Βιολογικές δοκιμές .....	89
4.5.1. Μελέτη αλληλεπίδρασης με το DNA .....	89
4.5.1.1. Τιτλοδότηση ορατού-υπεριώδους (UV-Vis titration) .....	89
4.5.1.2. Υπολογιστική μελέτη αλληλεπίδρασης (Molecular docking) .....	90
4.5.1.3. Φωτοβόληση ενώσεων παρουσία πλασμιδιακού DNA .....	90
4.5.2. Δοκιμή DPPH .....	94
5. Αποτελέσματα – Συζήτηση .....	97
5.1. Σύνθεση NaDES .....	97
5.1.1. Χαρακτηρισμός NaDES 3 .....	97
5.1.1.1. Φασματοσκοπία H-NMR .....	98
5.1.1.2. Φασματοσκοπία FTIR-ATR .....	99
5.1.1.3. Θερμοσταθμική Ανάλυση (TGA) .....	100
5.1.2. Σύγκριση μεθόδων σύνθεσης .....	101
5.1.3. Μελέτη pH .....	102
5.2. Σύνθεση κιναζολινονών .....	104
5.2.1. Ταυτοποίηση ένωσης 5e .....	104
5.2.1.1. Φασματοσκοπία H-NMR .....	104
5.2.1.2. Φασματοσκοπία FT-IR .....	106
5.2.2. Πράσινοι δείκτες .....	107
5.3. Αξιολόγηση βιολογικής δράσης κιναζολινονών .....	109
5.3.1. Μελέτη αλληλεπίδρασης με το DNA .....	109
5.3.1.1. Τιτλοδότηση ορατού-υπεριώδους .....	109
5.3.1.2. Υπολογιστική μελέτη αλληλεπίδρασης .....	113
5.3.1.3. Φωτοβόληση παρουσία πλασμιδιακού DNA .....	113
5.3.2. Αξιολόγηση αντιοξειδωτικής ικανότητας .....	120
6. Συμπεράσματα .....	124
6.1. Σύνθεση .....	124
6.2. Βιολογική Δράση .....	125
6.2.1. Αλληλεπίδραση με το DNA .....	125
6.2.2. Αντιοξειδωτική δράση .....	126
7. Προτάσεις για μελλοντική έρευνα .....	127
8. Παραρτήματα .....	128
8.1. Κατάλογος ενώσεων .....	128
8.2. Φάσματα H-NMR .....	132

8.3. Φάσματα FT-IR.....	143
8.4. Φάσματα MS.....	152
8.5. Φάσματα UV-Vis.....	153
8.6. Διαγράμματα TGA.....	163
Βιβλιογραφία.....	164

## Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1.1: Οι βασικές κατηγορίες των DES.....	28
Πίνακας 4.1: Όργανα και συσκευές που χρησιμοποιήθηκαν.....	67
Πίνακας 4.2: NaDES που παράχθηκαν.....	68
Πίνακας 4.3: Αξιολόγηση αποτελεσματικότητας NaDES για την σύνθεση 2,3- διυδροκιναζολιν-4(1H)-ονών με χρήση υπερήχων <b>2a</b> .....	77
Πίνακας 5.1: Συγκριτική παρουσίαση των μεθόδων σύνθεσης για το <b>NaDES 5</b> . .....	101
Πίνακας 5.2: Συγκεντρωτικός πίνακας για τα NaDES και το pH τους.....	102
Πίνακας 5.3: Πράσινοι δείκτες για τις παραγόμενες κιναζολινόνες.....	107
Πίνακας 5.4: Σταθερά σύνδεσης με το DNA.....	112
Πίνακας 5.5: Αποτελέσματα υπολογιστικής μελέτης.....	113
Πίνακας 5.6: Πείραμα 1 - Φωτοβόληση UV-B.....	114
Πίνακας 5.7: Πείραμα 2 - Φωτοβόληση UV-B.....	115
Πίνακας 5.8: Πείραμα 3 - Φωτοβόληση UV-B.....	116
Πίνακας 5.9: Πείραμα φωτοβόλησης UV-A.....	118
Πίνακας 5.10: Αποτελέσματα δοκιμής DPPH.....	120
Πίνακας 5.11: Σύγκριση της αντιοξειδωτικής δράσης των κιναζολινονών με το Trolox μέσω του δείκτη TEAC.....	123
Πίνακας 8.1: Τα NaDES που συντέθηκαν και οι αντίστοιχοι κωδικοί τους.....	128
Πίνακας 8.2: Οι ενώσεις που συντέθηκαν και οι αντίστοιχοι κωδικοί τους.....	128

## Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα 1.1: Διαγραμματική απεικόνιση των 12 Αρχών της Πράσινης Χημείας <sup>3</sup> ..	18
Εικόνα 1.2: Η ανάπτυξη των Βαθέως Ευτηκτικών Διαλυτών (DES) αναφορικά την έρευνα και τις εφαρμογές τους <sup>5</sup> .....	27
Εικόνα 1.3: Απεικόνιση του ευτηκτικού σημείου ενός διφασικού μίγματος. <sup>10</sup> .....	32
Εικόνα 2.1: <i>Dichroa febrifuga</i> .....	42
Εικόνα 2.2: Βιολογικές δράσεις κιναζολινών και κιναζολινονών <sup>31</sup> .....	53
Εικόνα 3.1: Μηχανισμός δράσης φωτοδυναμικής θεραπείας <sup>40</sup> .....	57
Εικόνα 3.2: Σχηματική αναπαράσταση της μεθόδου φωτοχημειοθεραπείας με μεταλλικά σύμπλοκα ρουθηνίου <sup>39</sup> .....	58
Εικόνα 3.3: Αγχιστεία του φωτοδιασπαστή με το DNA.....	60
Εικόνα 3.4: Σχηματική αναπαράσταση DNA παρεμβολής .....	61
Εικόνα 3.5: Σχηματική δέσμευσης στην κύρια ή τη δευτερεύουσα αύλακα του DNA .....	63
Εικόνα 4.1: Σύνθεση <b>NaDES 5</b> με τη Μέθοδο I.....	69
Εικόνα 4.2: Σύνθεση <b>NaDES 5</b> με τη Μέθοδο II .....	69
Εικόνα 4.3: Σύνθεση <b>NaDES 5</b> με τη Μέθοδο III.....	70
Εικόνα 4.4: Σύνθεση <b>NaDES 5</b> με τη Μέθοδο IV .....	70
Εικόνα 4.5: Συμβατική μέθοδος σύνθεσης 2,3-κιναζολιν-4(3H)-ονών .....	75
Εικόνα 4.6: Επεξεργασία της κιναζολινονης με χρήση υπερήχων.....	78
Εικόνα 4.7: Αποπροστασία των μεθοξυ-ομάδων .....	85
Εικόνα 4.8: TLC της κιναζολινονης 4d έπειτα από ανακρυστάλλωση .....	87
Εικόνα 4.9: Προσδιορισμός σημείου τήξης κιναζολινονών· αριστερά παρουσιάζονται οι ενώσεις πριν την τήξη τους, ενώ δεξιά μετά από αυτή. ....	87
Εικόνα 4.10: Φωτοδιάσπαση περιελυκομένου DNA πλασμιδίου .....	91
Εικόνα 4.11: Διαδικασία φωροβόλησης δειγμάτων παρουσία πλασμιδιακού DNA .....	92
Εικόνα 4.12: Ηλεκτροφόρηση δειγμάτων σε πηκτή αγαρόζης .....	92
Εικόνα 4.13: Δοκιμή DPPH .....	94
Εικόνα 4.14: Επώαση ενώσεων-DPPH στον δειγματοφορέα για 30 min .....	95
Εικόνα 4.15: Επώαση ενώσεων-DPPH στον δειγματοφορέα για 60 min .....	95
Εικόνα 5.1: Παρουσίαση παραχθέντων NaDES.....	97
Εικόνα 5.2: Φάσμα πρωτονίου <sup>1</sup> H NMR (600 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) του <b>NaDES 3</b> .....	98
Εικόνα 5.3: Φάσμα πρωτονίου FT-IR του <b>NaDES 3</b> .....	99
Εικόνα 5.4: Διάγραμμα TGA του <b>NaDES 3</b> .....	100
Εικόνα 5.5: Παρουσίαση <b>NaDES 5</b> με τις μεθόδους I-IV .....	101
Εικόνα 5.6: Συγκριτική μελέτη pH των NaDES με γαλακτικό οξύ.....	103
Εικόνα 5.7: Συγκριτική μελέτη pH των NaDES με οξαλικό οξύ. ....	103
Εικόνα 5.8: Φάσμα πρωτονίου <sup>1</sup> H NMR (600 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) της ένωσης <b>5e</b> ..	104
Εικόνα 5.9: Χαμηλά πεδία του φάσματος της ένωσης <b>5e</b> .....	105
Εικόνα 5.10: Υψηλά πεδία του φάσματος της ένωσης <b>5e</b> .....	106
Εικόνα 5.11: Φάσμα FT-IR της ένωσης <b>5e</b> .....	106
Εικόνα 5.12: Φάσμα UV διαλύματος των ενώσεων <b>3a</b> (-F), <b>3b</b> (-CH <sub>3</sub> ) και <b>3c</b> (-NH <sub>2</sub> ) συγκέντρωσης 25μM παρουσία CT-DNA σε διάφορες συγκεντρώσεις (0-	



50μM). Τα βέλη υποδηλώνουν τις μεταβολές που παρατηρούνται κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων DNA.....	110
Εικόνα 5.13: Σταθερά σύνδεσης των ενώσεων <b>3a</b> , <b>3b</b> , <b>3c</b> με το DNA.....	110
Εικόνα 5.14: Φάσμα UV διαλύματος των ενώσεων <b>5b</b> , <b>5d</b> και των αντίστοιχων αποπροστατευμένων <b>6a</b> , <b>6b</b> συγκέντρωσης 25μM παρουσία CT-DNA σε διάφορες συγκεντρώσεις (0-50μM). Τα βέλη υποδηλώνουν τις μεταβολές που παρατηρούνται κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων DNA. ....	112
Εικόνα 5.15: Σταθερά σύνδεσης των ενώσεων <b>5b</b> , <b>5d</b> , <b>6a</b> και <b>6b</b> με το DNA....	112
Εικόνα 5.16: Υπολογιστική μελέτη αλληλεπίδρασης <b>3a</b> -DNA.....	113
Εικόνα 5.17: Αποτελέσματα φωτοβολήσης UV-B (312 nm) – Πείραμα 1.....	114
Εικόνα 5.18: Αποτελέσματα φωτοβολήσης UV-B (312 nm) – Πείραμα 2.....	116
Εικόνα 5.19: Αποτελέσματα φωτοβολήσης UV-B (312 nm) – Πείραμα 3.....	117
Εικόνα 5.20: Αποτελέσματα φωτοβολήσης UV-A (365 nm).....	119
Εικόνα 5.21: Συγκριτική απεικόνιση της αναστολής της δράσης των ελεύθερων ριζών στα 30 λεπτά για τις κιναζολινόνες με υποκατάσταση W=F, Cl, CH <sub>3</sub> και NH <sub>2</sub> και για το αντιοξειδωτικό Trolox κατά αύξουσα συγκέντρωση (0-4 mM). .....	121
Εικόνα 5.22: Συγκριτική απεικόνιση της αναστολής της δράσης των ελεύθερων ριζών στα 60 λεπτά για τις κιναζολινόνες με υποκατάσταση W=F, Cl, CH <sub>3</sub> και NH <sub>2</sub> και για το αντιοξειδωτικό Trolox κατά αύξουσα συγκέντρωση (0-4 mM). .....	122
Εικόνα 5.23: Συγκριτική απεικόνιση του IC <sub>50</sub> για τις κιναζολινόνες με υποκατάσταση W=F, Cl, CH <sub>3</sub> και NH <sub>2</sub> και για το αντιοξειδωτικό Trolox. ....	122
Εικόνα 6.1: Μηχανισμός αλληλεπίδρασης της κιναζολινόνης <b>3a</b> με το DNA.....	125
Εικόνα 8.1: Φάσμα πρωτονίου 1H NMR (600 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) του <b>NaDES 1</b> ....	132
Εικόνα 8.2: Φάσμα πρωτονίου 1H NMR (600 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) του <b>NaDES 2</b> ....	132
Εικόνα 8.3: Φάσμα πρωτονίου 1H NMR (600 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) του <b>NaDES 5</b> ....	133
Εικόνα 8.4: Φάσμα πρωτονίου 1H NMR (600 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) της ένωσης <b>1a</b> .....	133
Εικόνα 8.5: Φάσμα πρωτονίου 1H NMR (300 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) της ένωσης <b>1b</b> . 134	
Εικόνα 8.6: Φάσμα πρωτονίου 1H NMR (600 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) της ένωσης <b>2a</b> .....	134
Εικόνα 8.7: Φάσμα πρωτονίου 1H NMR (600 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) της ένωσης <b>3a</b> .....	135
Εικόνα 8.8: Φάσμα πρωτονίου 1H NMR (600 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) της ένωσης <b>3b</b> .....	135
Εικόνα 8.9: Φάσμα πρωτονίου 1H NMR (600 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) της ένωσης <b>3c</b> ..	136
Εικόνα 8.10: Φάσμα πρωτονίου 1H NMR (600 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) της ένωσης <b>4a</b> .....	136
Εικόνα 8.11: Φάσμα πρωτονίου 1H NMR (300 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) της ένωσης <b>5a</b>	137
Εικόνα 8.12: Φάσμα πρωτονίου 1H NMR (300 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) της ένωσης <b>5b</b> .....	137
Εικόνα 8.13: Φάσμα πρωτονίου 1H NMR (300 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) της ένωσης <b>5c</b>	138
Εικόνα 8.14: Φάσμα πρωτονίου 1H NMR (600 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) της ένωσης <b>5d</b> .....	138
Εικόνα 8.15: Φάσμα πρωτονίου 1H NMR (600 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) της ένωσης <b>5e</b>	139
Εικόνα 8.16: Φάσμα πρωτονίου 1H NMR (600 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) της ένωσης <b>5f</b>	139
Εικόνα 8.17: Φάσμα πρωτονίου 1H NMR (600 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) της ένωσης <b>5g</b>	140
Εικόνα 8.18: Φάσμα πρωτονίου 1H NMR (300 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) της ένωσης <b>5h</b> .....	140

Εικόνα 8.19: : Φάσμα πρωτονίου $^1\text{H}$ NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ) της ένωσης <b>5i</b>	141
Εικόνα 8.20: Φάσμα πρωτονίου $^1\text{H}$ NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ) της ένωσης <b>6a</b>	141
Εικόνα 8.21: Φάσμα πρωτονίου $^1\text{H}$ NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ) της ένωσης <b>6b</b>	142
Εικόνα 8.22: Φάσμα FT-IR του <b>NaDES 1</b>	143
Εικόνα 8.23: Φάσμα FT-IR του <b>NaDES 2</b>	143
Εικόνα 8.24: Φάσμα FT-IR του <b>NaDES 3</b>	144
Εικόνα 8.25: Φάσμα FT-IR του <b>NaDES 6</b>	144
Εικόνα 8.26: Φάσμα FT-IR της ένωσης <b>1a</b>	145
Εικόνα 8.27: Φάσμα FT-IR της ένωσης <b>3a</b>	145
Εικόνα 8.28: Φάσμα FT-IR της ένωσης <b>3b</b>	146
Εικόνα 8.29: Φάσμα FT-IR της ένωσης <b>3c</b>	146
Εικόνα 8.30: Φάσμα FT-IR της ένωσης <b>4a</b>	147
Εικόνα 8.31: Φάσμα FT-IR της ένωσης <b>5a</b>	147
Εικόνα 8.32: Φάσμα FT-IR της ένωσης <b>5b</b>	148
Εικόνα 8.33: Φάσμα FT-IR της ένωσης <b>5c</b>	148
Εικόνα 8.34: Φάσμα FT-IR της ένωσης <b>5d</b>	149
Εικόνα 8.35: Φάσμα FT-IR της ένωσης <b>5e</b>	149
Εικόνα 8.36: Φάσμα FT-IR της ένωσης <b>5f</b>	150
Εικόνα 8.37: Φάσμα FT-IR της ένωσης <b>6a</b>	150
Εικόνα 8.38: Φάσμα FT-IR της ένωσης <b>6b</b>	151
Εικόνα 8.39: Φάσμα MS της ένωσης <b>5a</b>	152
Εικόνα 8.40: Φάσμα MS της ένωσης <b>5b</b>	152
Εικόνα 8.41: Φάσμα UV-Vis του ct-DNA	153
Εικόνα 8.42: Φάσμα UV-Vis της ένωσης <b>1a</b>	153
Εικόνα 8.43: Φάσμα UV-Vis της ένωσης <b>1b</b>	154
Εικόνα 8.44: Φάσμα UV-Vis της ένωσης <b>2a</b>	154
Εικόνα 8.45: Φάσμα UV-Vis της ένωσης <b>3a</b>	155
Εικόνα 8.46: Φάσμα UV-Vis της ένωσης <b>3b</b>	155
Εικόνα 8.47: Φάσμα UV-Vis της ένωσης <b>3c</b>	156
Εικόνα 8.48: Φάσμα UV-Vis της ένωσης <b>4a</b>	156
Εικόνα 8.49: Φάσμα UV-Vis της ένωσης <b>5a</b>	157
Εικόνα 8.50: Φάσμα UV-Vis της ένωσης <b>5b</b>	157
Εικόνα 8.51: Φάσμα UV-Vis της ένωσης <b>5c</b>	158
Εικόνα 8.52: Φάσμα UV-Vis της ένωσης <b>5d</b>	158
Εικόνα 8.53: Φάσμα UV-Vis της ένωσης <b>5e</b>	159
Εικόνα 8.54: Φάσμα UV-Vis της ένωσης <b>5f</b>	159
Εικόνα 8.55: Φάσμα UV-Vis της ένωσης <b>5g</b>	160
Εικόνα 8.56: Φάσμα UV-Vis της ένωσης <b>5h</b>	160
Εικόνα 8.57: Φάσμα UV-Vis της ένωσης <b>5i</b>	161
Εικόνα 8.58: Φάσμα UV-Vis της ένωσης <b>6a</b>	161
Εικόνα 8.59: Φάσμα UV-Vis της ένωσης <b>6b</b>	162
Εικόνα 8.60: Διάγραμμα TGA για το <b>NaDES 1</b>	163
Εικόνα 8.61: Διάγραμμα TGA για το <b>NaDES 3</b>	163

## Κατάλογος Σχημάτων

Σχήμα 1.1: Δομή Ιοντικού Υγρού .....	25
Σχήμα 1.2: DES με συστατικά τη χλωριούχο χολίνη και το μαλονικό οξύ .....	28
Σχήμα 1.3: Επιλεγμένες χημικές δομές που χρησιμοποιούνται για τον σχηματισμό NaDES.....	29
Σχήμα 1.4: Παραδείγματα HBA και HBD που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή TheDES .....	31
Σχήμα 2.1: Χημική δομή febrifugine {3-[β-keto-g-(3-hydroxy-2-piperidyl)-propyl]-4-quinazalone} .....	42
Σχήμα 2.2: Παρουσίαση του δακτυλίου κιναζολίνης (βενζοπυριμιδίνης) και του αριθμημένου δακτυλίου πυριμιδίνης.....	43
Σχήμα 2.3: Κατηγορίες κιναζολινονών ανάλογα με τη θέση της κετο-ομάδας.....	43
Σχήμα 2.4: Δομή 2,3-κιναζολιν-4(3H)-όνης.....	44
Σχήμα 2.5: Μέθοδος Niementowski για την σύνθεση .....	44
Σχήμα 2.6: Μηχανισμός της αντίδρασης Niementowski .....	45
Σχήμα 2.7: Τροποποιημένη μέθοδος Niementowski.....	45
Σχήμα 2.8: Συμπύκνωση ανθρανιλικού οξέος, ορθοεστέρων και αμινών προς τον σχηματισμό 2,3-κιναζολιν-4(3H)-ονών .....	46
Σχήμα 2.9: Συμπύκνωση ανθρανιλικού οξέος με ακυλοχλωρίδια και αμίνες προς τον σχηματισμό 2,3-κιναζολιν-4(3H)-ονών .....	46
Σχήμα 2.10: Σύνθεση 2,3-κιναζολιν-4(3H)-ονών μέσω ενδιάμεσου βενζοξαζινόνης.....	46
Σχήμα 2.11: Συμπύκνωση αλδευδών με ανθρανιλαμίδιο προς τον σχηματισμό 2-κιναζολίν-4(3H)-ονών .....	47
Σχήμα 2.12: Συμπύκνωση αλδευδών με ανθρανιλαμίδιο προς τον σχηματισμό 2-κιναζολίν-4(3H)-ονών σε μικροκύματα.....	47
Σχήμα 2.13: Συμπύκνωση ανθρανιλαμιδίου με αλκοόλες προς τον σχηματισμό 2-κοναζολιν-4(3H)-ονών .....	48
Σχήμα 2.14: Αντίδραση ισατοϊκού ανυδρίτη με αλδεύδες και αμίνες προς τον σχηματισμό 2,3-κοναζολιν-4(3H)-ονών .....	48
Σχήμα 2.15: Δομή 2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)-όνης .....	49
Σχήμα 2.16: Αντίδραση ισατοϊκού ανυδρίτη με αλδεύδες και αμίνες προς τον σχηματισμό 2,3-διυδροκοναζολιν-4(1H)-ονών .....	50
Σχήμα 2.17: Προτεινόμενος μηχανισμός σύνθεσης 2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)-όνης με DES .....	51
Σχήμα 2.18: Συμπύκνωση ανθρανιλαμιδίου με καρβονυλικές ενώσεις προς τον σχηματισμό 2-υποκατεστημένων-2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)-ονών .....	52
Σχήμα 2.19: Κιναζολινόνες με αντικαρκινική δράση .....	54
Σχήμα 2.20: Κιναζολινόνη με αντιμικροβιακή δράση.....	54
Σχήμα 2.21: Κιναζολινόνη με αναλγητική δράση.....	54
Σχήμα 2.22: Κιναζολινόνη με δράση αντί της λευχαιμίας.....	54
Σχήμα 2.23: Κιναζολινόνη με εντομοκτόνο δράση .....	54
Σχήμα 4.1: Σύνθεση 2,3-δισυποκατεστημένων κιναζολινονών μέσω αντίδρασης πολλών συστατικών με τη χρήση NaDES.....	74

Σχήμα 4.2: Σύνθεση 2,3-δισυποκατεστημένων διυδροκιναζολινονών μέσω αντίδρασης πολλών συστατικών με τη χρήση NaDES.....	76
Σχήμα 4.3: Σύνθεση 2-(4-μεθοξυφαινυλο)-3-φαινυλο-2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)-όνης μέσω αντίδρασης πολλών συστατικών με τη χρήση διαφόρων NaDES.....	77
Σχήμα 5.1: Δομή του <b>NaDES 3</b> (Be/LA) με αριθμημένες θέσεις.....	97
Σχήμα 5.2: Δομή της ένωσης <b>5e</b> με αριθμημένες θέσεις.....	104
Σχήμα 5.3: Γενικευμένη δομή κινάζολινονών <b>3a</b> , <b>3b</b> και <b>3c</b> .....	109
Σχήμα 5.4: Γενικευμένη δομή κινάζολινονών <b>5b</b> , <b>5d</b> , <b>6a</b> και <b>6b</b> .....	111
Σχήμα 5.5: Γενικευμένη δομή κινάζολινονών για το Πείραμα 1 (UV-B). .....	114
Σχήμα 5.6: Γενικευμένη δομή κινάζολινονών για το Πείραμα 2 (UV-B). .....	115
Σχήμα 5.7: Γενικευμένη δομή κινάζολινονών για το Πείραμα 3 (UV-B). .....	116
Σχήμα 5.8: Γενικευμένη δομή κινάζολινονών για το Πείραμα με UV-A ακτινοβολία.....	118
Σχήμα 6.1: Σύνθεση 2,3-διυδροκιναζολινονών με χρήση NaDES .....	124
Σχήμα 6.2: Κινάζολινόνη με βέλτιστη φωτοδιασπαστική δράση ( <b>5g</b> ).....	126
Σχήμα 6.3: Κινάζολινόνη με βέλτιστη αντιοξειδωτική δράση ( <b>3c</b> ).....	126
Σχήμα 6.4: Παρουσίαση υποκαταστατών σε σειρά αυξανόμενης αντιοξειδωτικής δράσης.....	126

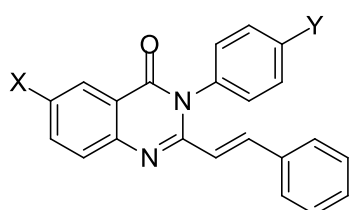
## Περίληψη

Οι Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (DES) καθώς και οι Φυσικοί Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (NaDES) είναι μίγματα δύο ή περισσότερων συστατικών τα οποία είναι υγρά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Ανήκουν στην κατηγορία των πράσινων διαλυτών καθώς χαρακτηρίζονται από χαμηλή τοξικότητα, είναι ανακυκλώσιμοι και βιοαποικοδομήσιμοι. Έχουν ποικίλες εφαρμογές, μία πολλά υποσχόμενη εξ αυτών είναι η χρήση τους ως διαλύτες και καταλύτες στη σύνθεση οργανικών ενώσεων.

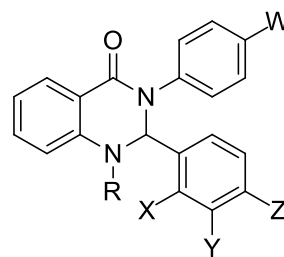
Οι κιναζολινόνες είναι ετεροκυκλικές ενώσεις που περιέχουν άζωτο και παρουσιάζουν σημαντικό ενδιαφέρον λόγω του μεγάλου εύρους των βιολογικών ιδιοτήτων τους, όπως αντικαρκινικές, αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές.

Στο πλαίσιο της παρούσας διπλωματικής εργασίας πραγματοποιήθηκε η σύνθεση και ο χαρακτηρισμός 6 NaDES που έχουν ως συστατικό κάποιο οργανικό οξύ. Σε αυτά πραγματοποιήθηκε μελέτη του pH σε διάφορες περιεκτικότητες υδατικών διαλυμάτων και βρέθηκε πως αυτά που περιέχουν χλωριούχο χολίνη εμφανίζουν αυξημένη οξύτητα. Επίσης αξιολογήθηκαν συγκριτικά ως προς την απολεσματικότητά τους κατά την σύνθεση κιναζολινικών αναλόγων μέσω μιας αντίδρασης πολλών συστατικών (Multicomponent Reactions, MCRs) και χρήση υπερήχων. Υψηλότερη αποτελεσματικότητα έδειξε το NaDES που αποτελείται από χλωριούχο χολίνη και το γαλακτικό οξύ και για αυτό χρησιμοποιήθηκε στην πλειονότητα των αντιδράσεων.

Με την παραπάνω μεθοδολογία συντέθηκαν 13 μόρια 2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)-ονών, 2 εξ αυτών συμμετείχαν σε αντιδράσεις αποπροστασίας παράγοντας αντίστοιχες κιναζολινόνες που περιέχουν υδρόξυ-ομάδες στη θέση αντίστοιχων μεθόξυ-. Επίσης συντέθηκαν 2 μόρια 2,3-κιναζολιν-4(3H)-ονών με χρήση NaDES στο ρόλο διαλύτη-καταλύτη και θέρμανση. Οι ενώσεις που συντέθηκαν ταυτοποιήθηκαν μέσω της φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού ( $^1\text{H-NMR}$ ) φασματομετρία μάζας (MS) και φασματοσκοπία υπερύθρου (FT-IR), ενώ παράλληλα εξετάστηκε συγκριτικά ο «πράσινος» χαρακτήρας της εκάστοτε σύνθεσης με χρήση ποσοτικών δεικτών.



2,3-κιναζολιν-3(4H)-όνες



2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)-όνες

Σε επιλεγμένα οργανικά μόρια πραγματοποιήθηκε μελέτη της αλληλεπίδρασής τους με το DNA μέσω τιτλοδότησης ορατού-υπεριώδους και υπολογιστικής μελέτης και διαπιστώθηκε πως αυτή πιθανώς να πραγματοποιείται με εξωτερική συναρμογή στο DNA. Οι κιναζολινόνες επίσης ελέγχθηκαν και για την φωτοδιασπαστική τους ικανότητα σε DNA πλασμιδίου, Βρέθηκε πως για αυτή

τους τη δράση η παρουσία υποκαταστατών που είναι ηλεκτρονιοδέκτες (αλογόνα, νιτροομάδα) είναι ιδιαίτερα σημαντική.

Επιπλέον, ανάλογα κινολινόνες με συγκεκριμένους υποκαταστάτες εξετάστηκαν για την αντιοξειδωτική τους δράση με τη μέθοδο δέσμησης της σταθερής ελεύθερης ρίζας DPPH. Από τη μελέτη αυτή διαπιστώθηκε πως η παρουσία ομάδας υδροξυλίου και αμινομάδας αυξάνει την αντιοξειδωτική δράση των ενώσεων ενώ η παρουσία αλογόνων ως υποκαταστάτες στο δακτύλιο πιθανώς να αποτελούν παρεμποδιστικό παράγοντα της δράσης.

**Λέξεις-κλειδιά:** Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες, Φυσικοί Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες, κινολινόνες, 2,3-διυδροκινολινόνες, αντίδραση πολλών συστατικών, υπέρηχοι, φωτοδιασπαστική ικανότητα, αλληλεπίδραση με το DNA, DNA παρεμβολή, αντιοξειδωτική δράση.

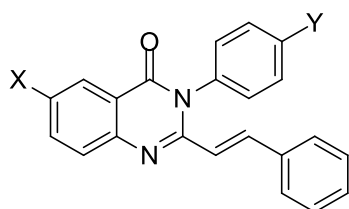
## Abstract

Deep Eutectic Solvents (DES) as well as Natural Deep Eutectic Solvents (NaDES) are mixtures of two or more components that are liquid at room temperature. They belong to the category of green solvents due to their low toxicity, recyclability and biodegradability. They have a variety of applications, a very promising one being their use as solvents and catalysts in organic synthesis.

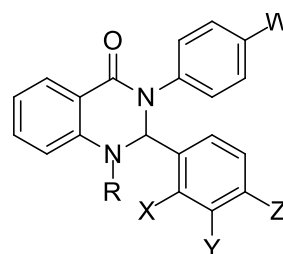
Quinazolinones are heterocyclic compounds that contain nitrogen and have a wide range of biological properties, such as anticancer, antioxidant, antimicrobial.

In the present diploma thesis, 6 organic acid based-NaDESs were successfully synthesized and characterized. Their pH has been measured on various aqueous solutions and it has been observed that choline chloride-based ones have lower pH. They were also studied for their efficacy in the synthesis of quinazolinone analogues through a multi-component reaction (MCRs) using high energy techniques (ultrasounds). The choline chloride and lactic acid containing NaDES showed higher efficacy and was therefore used in the majority of the reactions.

Via the developed methodology, 13 2,3-dihydroquinazolin-4(1H)-ones were synthesized, 2 of which were demethylated in order to produce quinazolinones analogues containing hydroxyl substituents. Furthermore, 2 molecules of 2,3-quinazolin-4(3H)-one were synthesized using NaDES and conventional heating. The structure of the synthesized compounds was identified by nuclear magnetic resonance spectroscopy ( $^1\text{H-NMR}$ ), mass spectrometry (MS) and infrared spectroscopy (FT-IR). Furthermore the "green" character of each composition was specified using green metrics.



2,3-quinazolin-3(4H)-ones



2,3-dihydroquinazolin-4(1H)-ones

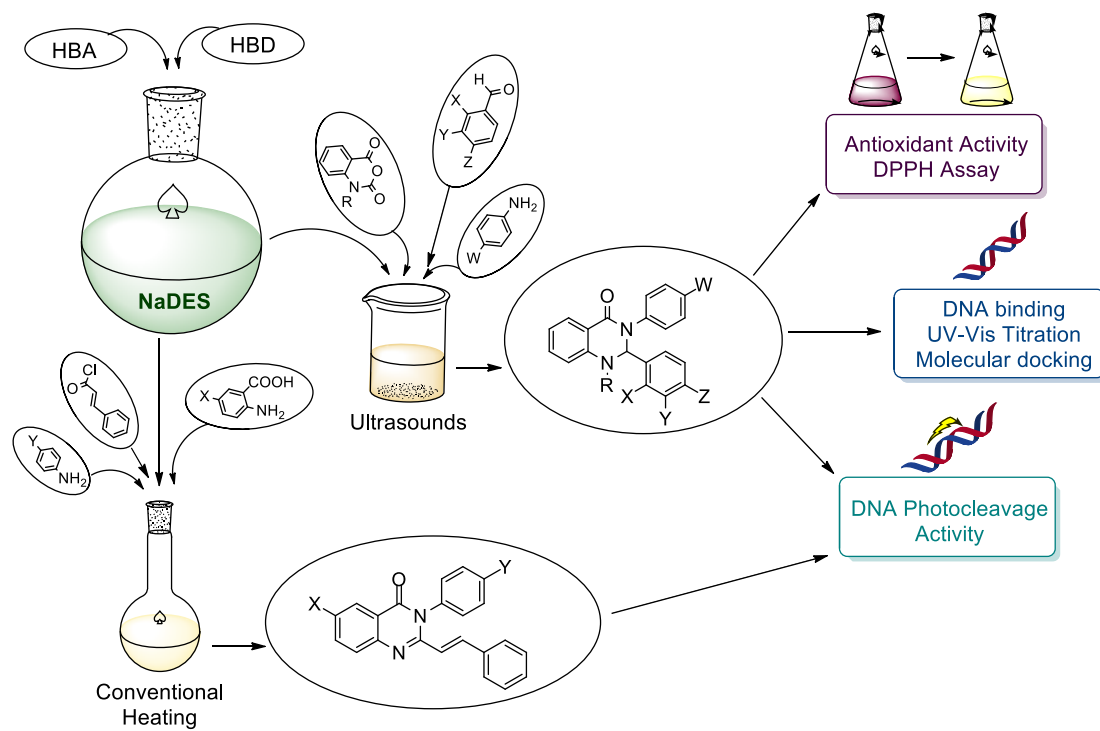
Selected quinazolinones were evaluated for DNA intercalating ability via UV-Vis titration and molecular docking. The results have shown that those compounds may interact with DNA via minor grooves. As for their DNA photocleavage activity, it was found that the presence of electron withdrawing groups (halogens, nitro-group) as substituents is important.

In addition, quinazolinone analogues bearing various substituents were evaluated for the antioxidant activity via using the DPPH free radical scavenging method. From this study it was found that the presence of hydroxyl and amino groups increases the antioxidant activity of the compounds, while the presence of halogens as substituents does not favor antioxidant activity.

**Key-words:** Deep Eutectic Solvents, Natural Deep Eutectic Solvents, quinazolones, 2,3-dihydroquinazolinones, Multi-component reaction, ultrasound technique, photocleavage activity, DNA binding, DNA intercalation, antioxidant activity.



# Graphical Abstract



# **Θεωρητικό Μέρος**

# 1. Πράσινη Χημεία

Η εξέλιξη της χημικής τεχνολογίας διαδραματίζει ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο τόσο στην ανάπτυξη του βιοτικού επιπέδου των ανθρώπων όσο και της οικονομίας. Η εξέλιξη αυτή οφείλει να έχει γνώμονα την βιώσιμη ανάπτυξη, η οποία περιλαμβάνει επίτευξη οικονομικών, κοινωνικών αλλά και περιβαλλοντικών στόχων. Σε αυτούς στρέφεται και η «Πράσινη Χημεία», όρος που χρησιμοποιήθηκε πρώτη φορά στα τέλη του 20<sup>ου</sup> αιώνα και αναφέρεται στην χρησιμοποίηση ενός συνόλου αρχών, με την εφαρμογή των οποίων μειώνεται ή εξαλείφεται η χρήση ή η δημιουργία επικίνδυνων ουσιών στις διεργασίες σχεδιασμού, παραγωγής και εφαρμογής των χημικών προϊόντων, σύμφωνα με τους Paul Anastas και John Warner. Παρόμοια προσέγγιση έχει και ο ορισμός κατά IUPAC (International Union of Pure & Applied Chemistry) σύμφωνα με την οποία: η επινόηση, ο σχεδιασμός και η εφαρμογή χημικών προϊόντων και διεργασιών για την ελάττωση ή τον περιορισμό της χρήσης και της δημιουργίας επικίνδυνων ουσιών.

Η Πράσινη Χημεία αποτελεί μια καινοτόμα προσέγγιση στη βιομηχανία καθώς συνδυάζει την μείωση του κόστους παραγωγής, εφόσον οι αντιδράσεις της εμφανίζουν υψηλή αποδοτικότητα, με την μείωση του περιβαλλοντικού αντίκτυπου. Το τελευταίο στηρίζεται στο γεγονός ότι εξετάζονται όλες οι χημικές ουσίες που χρησιμοποιούνται σε μια χημική διεργασία, από τις πρώτες ύλες και τους διαλύτες μέχρι τα προϊόντα αλλά και τα παραπροϊόντα, σε αντίθεση με την Κλασική Χημεία η οποία έδινε έμφαση στις σχηματιζόμενες ουσίες. Αυτό στην πράξη εφαρμόζεται στον σχεδιασμό νέων προϊόντων ή στη βελτίωση ήδη υπαρχουσών διεργασιών με την χρήση ανανεώσιμων και αποτελεσματικότερων πρώτων υλών αλλά και με την μείωση των αποβλήτων.<sup>1</sup>

## 1.1. Αρχές Πράσινης Χημείας

Για την πρακτική εφαρμογή της Πράσινης Χημείας κατευθυντήριες γραμμές παρέχονται από τις Δώδεκα Αρχές της Πράσινης Χημείας. Αυτές αποτελούν καθοδηγητικό πλαίσιο για τον σχεδιασμό «πράσινων» προϊόντων και μεθοδολογιών και εφαρμόζονται σε όλα τα στάδια της διαδικασίας: ελέγχονται οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται, η αποτελεσματικότητα και η ασφάλεια του χημικού μετασχηματισμού, η τοξικότητα και βιοαποικοδομησιμότητα των αντιδραστηρίων και των προϊόντων.

Αρχικά παρουσιάζονται συνοπτικά και διαγραμματικά (Εικόνα 1.1) οι Δώδεκα Αρχές της Πράσινης Χημείας οι οποίες θα αναλυθούν στη συνέχεια.<sup>1,2</sup>

1. Πρόληψη
2. Οικονομία ατόμων
3. Λιγότερο επικίνδυνες χημικές συνθέσεις
4. Σχεδιασμός ασφαλέστερων χημικών υλικών
5. Ασφαλέστεροι διαλύτες και βοηθητικά μέσα
6. Σχεδιασμός για ενεργειακή αποτελεσματικότητα
7. Χρήση ανανεώσιμων πρώτων υλών
8. Μείωση ενδιάμεσων παραγώγων (προϊόντων)
9. Κατάλυση
10. Σχεδιασμός αποδομήσιμων προϊόντων
11. Ανάλυση σε πραγματικό χρόνο
12. Ασφαλέστερη χημεία για την πρόληψη ατυχημάτων



Εικόνα 1.1: Διαγραμματική απεικόνιση των 12 Αρχών της Πράσινης Χημείας<sup>3</sup>

### 1. Πρόληψη

Θεμελιώδης σημασία τόσο για περιβαλλοντικούς όσο και οικονομικούς λόγους έχει η πρόληψη δημιουργίας αποβλήτων ώστε να αποφευχθεί η μετέπειτα επεξεργασία τους. Για την ποσοτικοποίηση των παραγόμενων προϊόντων ανά

κιλό προϊόντος χρησιμοποιείται ο όρος E-Factor. Πρόκειται για ένα μέσο αξιολόγησης της «περιβαλλοντικής αποδοχής» μιας παραγωγικής διαδικασίας. Σε περίπτωση που η δημιουργία αποβλήτων είναι αναπόφευκτη οι λύσεις κατά σειρά προτεραιότητας είναι η επαναχρησιμοποίηση, η ανακύκλωση, άλλες μορφές ανάκτησης (π.χ. ανάκτηση ενέργειας) και, τέλος, η ασφαλής διάθεση που αποτελεί την έσχατη λύση.

## **2. Οικονομία ατόμων**

Οι συνθετικές μέθοδοι πρέπει να σχεδιάζονται έτσι ώστε να μεγιστοποιείται η ενσωμάτωση στο τελικό προϊόν όλων των χρησιμοποιούμενων στη διεργασία (χημική αντίδραση) υλικών. Η οικονομία του ατόμου ορίζεται ως «το πηλίκο της μάζας των ατόμων που ενσωματώνεται στο επιθυμητό προϊόν προς τη συνολική μάζα των ατόμων όλων των αντιδρώντων». Επομένως, στην ιδανική περίπτωση που όλα τα άτομα των αντιδρώντων ενσωματώνονται πλήρως στο προϊόν, τότε η συνθετική πορεία θα είναι πλήρως επιτυχής από την πλευρά της οικονομίας ατόμου.

## **3. Λιγότερο επικίνδυνες χημικές συνθέσεις**

Τα αντιδραστήρια όσο και τα τελικά προϊόντα που χρησιμοποιούνται στις συνθετικές μεθοδολογίες πρέπει να έχουν μικρή ή μηδενική τοξικότητα για τον άνθρωπο και το περιβάλλον. Η ελαχιστοποίηση ή η εξάλειψη του κινδύνου αποτελεί βασική προϋπόθεση κατά το σχεδιασμό ώστε να αποφευχθεί η χρήση μηχανισμών ελέγχου του κινδύνου η οποία αυξάνει το κόστος της διεργασίας αλλά και την επικινδυνότητα σε περίπτωση αποτυχίας των μηχανισμών. Στην κατηγορία των πράσινων αντιδράσεων ανήκουν αντιδράσεις με υψηλή αποτελεσματικότητα όπως οι αντιδράσεις κυκλοπροσθήκης, αναδιάταξης ή πολλαπλών συστατικών.

## **4. Σχεδιασμός ασφαλέστερων χημικών υλικών**

Παρόλο που η προσοχή έχει στραφεί σημαντικά στο σχεδιασμό χημικών προϊόντων για διάφορες λειτουργίες, από φάρμακα έως υλικά, υπάρχει έλλειψη ενδιαφέροντος να ληφθεί υπόψη ο κίνδυνος στη διαδικασία σχεδιασμού. Ο σχεδιασμός των χημικών προϊόντων πρέπει να συνδυάζει τη διατήρηση της λειτουργικότητάς τους με την μείωση της τοξικότητάς τους. Έχοντας λεπτομερή γνώση του μηχανισμού δράσης μια ουσίας, μπορεί να γίνει τροποποίηση της δομής της ώστε να αποφευχθούν τα τοξικά αποτελέσματα. Αξίζει επίσης να σημειωθεί πως η ασφάλεια των χημικών προϊόντων συχνά συνάδει με τη βιοδιαθεσιμότητά τους.

## **5. Ασφαλέστεροι διαλύτες και βοηθητικά μέσα**

Η χρήση βοηθητικών ουσιών θα πρέπει γενικά να αποφεύγεται ή οι βοηθητικές ουσίες να χρησιμοποιούνται με ασφαλή τρόπο ενώ οι χρησιμοποιούμενοι διαλύτες να είναι μη-τοξικοί. Οι διαλύτες είναι ίσως ο πιο ενεργός τομέας της έρευνας της Πράσινης Χημείας. Είναι μια σημαντική πρόκληση για την Πράσινη Χημεία επειδή αντιπροσωπεύουν συχνά τη συντριπτική πλειοψηφία της μάζας που χρησιμοποιείται σε διεργασίες. Επιπλέον, πολλοί συμβατικοί διαλύτες είναι τοξικοί, εύφλεκτοι ή / και διαβρωτικοί. Η πτητικότητα και η διαλυτότητά τους συνέβαλαν στη ρύπανση του αέρα, του νερού και της γης, αύξησαν τον κίνδυνο έκθεσης των εργαζομένων και οδήγησαν σε σοβαρά ατυχήματα. Η ανάκτηση και η επαναχρησιμοποίησή τους, όταν είναι δυνατόν, συχνά συνδέονται με

ενεργοβόρες διεργασίες όπως η απόσταξη ενώ συχνά δεν αποφεύγεται η επιμόλυνσή τους. Σε μια προσπάθεια αντιμετώπισης όλων αυτών των ελλείψεων, οι χημικοί άρχισαν να αναζητούν ασφαλέστερες λύσεις. Τα συστήματα χωρίς διαλύτες, το νερό, οι διαλύτες από βιομάζα, τα υπερκρίσιμα υγρά (SCF) και πιο πρόσφατα τα ιοντικά υγρά είναι μερικά παραδείγματα αυτών των νέων «πράσινων» απαντήσεων.

#### **6. Σχεδιασμός για ενεργειακή αποτελεσματικότητα**

Η αυξανόμενη ανησυχία σχετικά με την εξάντληση των πρώτων υλών πετρελαίου και η αύξηση της κατανάλωσης ενέργειας έχουν προωθήσει την ανάπτυξη ενεργειακά αποδοτικότερων διαδικασιών και την αναζήτηση ανανεώσιμων πηγών ενέργειας. Απαιτείται ενεργειακός σχεδιασμός των διεργασιών ώστε να εξετάζονται οι περιβαλλοντικές και οικονομικές συνέπειες και να ελαχιστοποιούνται εκ των προτέρων. Οι χημικές αντιδράσεις και διεργασίες θα πρέπει να εκτελούνται κατά το δυνατόν σε θερμοκρασία και πίεση περιβάλλοντος και με φυσικά μέσα. Η αύξηση της ενεργειακής απόδοσης ενός χημικού συστήματος όμως είναι απλώς ένα μέρος της λύσης, απαιτούνται και εναλλακτικές μορφές ενέργειας. Πολλές από αυτές τις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας προέρχονται από την παραγωγή βιοκαυσίμων, την ηλιακή ενέργεια (θερμική και φωτοβολταϊκή), την αιολική ενέργεια, την υδροηλεκτρική ενέργεια, τη γεωθερμική ενέργεια και τις κυψέλες καυσίμου υδρογόνου.

#### **7. Χρήση ανανεώσιμων πρώτων υλών**

Η στροφή προς τις ανανεώσιμες πρώτες ύλες τόσο για το υλικό όσο και για τα καύσιμα είναι κρίσιμη. Οι πρώτες ύλες θα πρέπει να είναι ανανεώσιμες, όπου αυτό είναι εφικτό από τεχνική και οικονομική άποψη. Η πιο διαδεδομένη ανανεώσιμη πρώτη ύλη στον πλανήτη είναι η βιομάζα, υλικό που διατίθεται από ζωντανούς οργανισμούς. Αυτό περιλαμβάνει ξύλο, γεωργικές καλλιέργειες και υπολείμματα, τρόφιμα κλπ. Παραδείγματα ανανεώσιμων υλικών είναι η κυτταρίνη, η λιγνίνη, η σουβερίνη και άλλες ενώσεις ξύλου, πολυυδροξυαλκανοϊκά, γαλακτικό οξύ, χιτίνη, άμυλο, γλυκερόλη και έλαια.

#### **8. Μείωση ενδιάμεσων παραγώγων (προϊόντων)**

Η άσκοπη παραγωγοποίηση θα πρέπει να ελαχιστοποιείται ή να αποφεύγεται. Στη συνθετική χημεία δημιουργούνται συχνά κατάλληλα χημικά παράγωγα ή γίνονται μοριακές τροποποιήσεις ώστε να πραγματοποιηθεί ένας συγκεκριμένος χημικός μετασχηματισμός και να ολοκληρωθεί μια χημική αντίδραση. Χαρακτηριστική τεχνική τέτοιου είδους αποτελεί η χρήση των λεγόμενων «προστατευτικών ομάδων» που χρησιμοποιούνται για την προστασία ενός ευαίσθητου τμήματος κάποιου αντιδραστήριου, του οποίου η λειτουργικότητα μπορεί να διακινδυνεύσει από τις συνθήκες της αντίδρασης, εάν αφεθεί απροστάτευτο.

#### **9. Κατάλυση**

Σε πολλές περιπτώσεις, ο σχηματισμός αποβλήτων συνδέεται με την χρήση μιας στοιχειομετρικής αναλογίας αντιδραστήριων. Η μετάβαση από τις στοιχειομετρικές μεθοδολογίες στις καταλυτικές διαδικασίες θεωρείται ως ένας σημαντικός τρόπος βελτίωσης της αποτελεσματικότητας της συνθετικής χημείας. Η κατάλυση μπορεί να βελτιώσει την αποτελεσματικότητα μιας αντίδρασης μειώνοντας την απαιτούμενη ενέργεια, αποφεύγοντας τη χρήση

στοιχειομετρικής ποσότητας αντιδραστηρίων και αυξάνοντας την εκλεκτικότητα στο προϊόν. Αυτό συνεπάγεται μικρότερη ποσότητα ενέργειας, πρώτης ύλης και αποβλήτων.

#### **10. Σχεδιασμός αποικοδομήσιμων προϊόντων**

Τα χημικά προϊόντα θα πρέπει να σχεδιάζονται έτσι ώστε στο τέλος της χρήσης τους να αποδομούνται εύκολα (με φυσικοχημικό ή βιολογικό τρόπο) προς περαιτέρω αβλαβή προϊόντα. Ορισμένες χημικές δομές όπως αλογονωμένες μονάδες, διακλαδισμένες αλυσίδες, τεταρτοταγείς άνθρακες, τριτοταγείς αμίνες και ετεροκυκλικές ενώσεις συνήθως διασπώνται δύσκολα και για αυτό το λόγο αποφεύγονται. Από την άλλη πλευρά, η ενσωμάτωση λειτουργικών ομάδων όπως είναι οι εστέρες ή τα αμίδια που αναγνωρίζονται από τα ένζυμα μπορεί να βοηθήσει στο σχεδιασμό περιβαλλοντικά αποικοδομήσιμων προϊόντων.

#### **11. Ανάλυση σε πραγματικό χρόνο**

Οι αναλυτικές μεθοδολογίες χρειάζονται περαιτέρω ανάπτυξη προς την κατεύθυνση της παρακολούθησης μιας διεργασίας (χημικής αντίδρασης) σε πραγματικό χρόνο και του έγκαιρου ελέγχου αυτής πριν από το σχηματισμό επικίνδυνων χημικών ουσιών. Χαρακτηριστικό εργαλείο για την ανάλυση σε πραγματικό χρόνο αποτελούν οι βιοαισθητήρες και οι ηλεκτροχημικοί αισθητήρες. Επίσης καίριος στόχος της πράσινης αναλυτικής χημείας είναι η μέτρηση των χημικών χωρίς τη δημιουργία αποβλήτων. Τα περιβαλλοντικά ζητήματα που σχετίζονται με την αναλυτική χημεία συνδέονται συνήθως με την ίδια την αναλυτική προσέγγιση. Συγκεκριμένα περιλαμβάνει την προεπεξεργασία του δείγματος που αφορά σε εκχύλιση, διαχωρισμό ή ακόμη και μερικές φορές χημική τροποποίηση και ένα στάδιο απόκτησης σήματος. Το στάδιο προεπεξεργασίας συνήθως απαιτεί μεγάλους όγκους διαλύτη και για αυτό αποτελεί πηγή προβληματισμού. Εάν η χρήση των διαλυτών δεν μπορεί να αποφευχθεί για ένα βήμα εκχύλισης, θα πρέπει να εξεταστούν εναλλακτικές λύσεις όπως η εκχύλιση με ταχεία έκλυση με διαλύτη ή η εκχύλιση με υπερκρίσιμα υγρά.

#### **12. Ασφαλέστερη χημεία για την πρόληψη ατυχημάτων**

Οι χημικές ουσίες, που συμμετέχουν σε κάποια χημική διεργασία, θα πρέπει να επιλέγονται έτσι ώστε να ελαχιστοποιείται το ενδεχόμενο χημικών ατυχημάτων. Η πρόληψη των ατυχημάτων αρχίζει με τον εντοπισμό και την αξιολόγηση των κινδύνων. Όλοι οι τύποι κινδύνων, είτε πρόκειται για τοξικότητα και για φυσικούς κινδύνους όπως εκρηκτικότητα ή αναφλεξιμότητα, θα πρέπει να αντιμετωπιστούν στο σχεδιασμό χημικών ουσιών και διεργασιών για την πρόληψη ατυχημάτων. Ταυτόχρονα η παραγωγή και η γρήγορη κατανάλωση επικινδύνων χημικών ουσιών μέσα σε μια διεργασία είναι δυνατόν να ελαττώσει την ανάγκη για την αποθήκευση μεγάλων αποθεμάτων επικινδύνων χημικών ουσιών, οι οποίες, όταν φυλάσσονται υπό ακατάλληλες συνθήκες, μπορούν να προκαλέσουν ατυχήματα.

## 1.2. Πράσινοι Δείκτες Ποσοτικοποίησης

Οι δείκτες ποσοτικοποίησης επιλέγονται ώστε να περιγράψουν μία αντίδραση ή ένα σχεδιαστικό πλάνο. Ειδικότερα οι «Πράσινοι Δείκτες» δίνουν ολοκληρωμένη και αντιπροσωπευτική εικόνα σχετικά με την τεχνική και περιβαλλοντική συμπεριφορά κάθε χημικής διεργασίας. Με αυτό τον τρόπο καθιστούν και πιο εύκολη την διάχυση της σχετικής γνώσης και ενίσχυση της αποδοχής νέων πράσινων τεχνολογιών από τους εμπλεκόμενους φορείς. Παρακάτω παραθέτονται ορισμένοι από τους δείκτες που χρησιμοποιούνται ευρέως στην Πράσινη Χημεία.<sup>1,4</sup>

### Απόδοση Αντίδρασης (Yield: $\alpha$ )

Χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας και της αποδοτικότητας μιας χημικής αντίδρασης.

$$\alpha \% = \frac{\text{Πραγματική ποσότητα προϊόντος}}{\text{Θεωρητική ποσότητα προϊόντος}} \times 100$$

### Οικονομία Ατόμων (Atom Economy: AE)

Η οικονομία ατόμων, όπως αναφέρθηκε και στην ενότητα 1.1, περιλαμβάνει τη μεγιστοποίηση της εισαγωγής-ενσωμάτωσης της πρώτης ύλης, που προέρχεται από τα αντιδρώντα συστατικά, στο τελικό προϊόν. Τα άτομα στα ανεπιθύμητα παραπροϊόντα και στα παραπροϊόντα της αντίδρασης μετρούνται σαν απόβλητα.

$$AE \% = \frac{\text{Μάζα ατόμων στο επιθυμητό προϊόν}}{\text{Μάζα ατόμων σε όλα τα αντιδρώντα}} \times 100$$

### Πειραματική Οικονομία Ατόμου (Experimental Atom Economy)

$$AE_{\text{exp}} \% = \frac{\text{Μάζα αντιδρώντων που ενσωματώνονται στο κύριο προϊόν}}{\text{Συνολική πειραματική μάζα αντιδρώντων}} \times 100$$

### Αποδοτικότητα Μάζας Αντίδρασης (Percentage Yield x Experimental Atom Economy)

Με τον όρο αυτό μπορεί να γίνει η συσχέτιση της πραγματικής ποσότητας του προϊόντος και της συνολικής μάζας των αντιδρώντων.

$$AMA \% = \varepsilon \times AE_{\text{exp}} \times 100 = \frac{\text{Πραγματική μάζα προϊόντος}}{\text{Συνολική πειραματική μάζα αντιδρώντων}} \times 100$$

### Χρήση Ατόμου (Atom Utilization)

Είναι μια έννοια παραπλήσια με την οικονομία ατόμου που βοηθά στη σύγκριση της μάζας του επιθυμητού προϊόντος με τη συνολική μάζα των προϊόντων.

$$\text{Χρήση Ατόμου \%} = \frac{\text{Μάζα ατόμων στο επιθυμητό προϊόν}}{\text{Μάζα ατόμων σε όλα τα προϊόντα}} \times 100$$

### Εκλεκτικότητα Χημικής Αντίδρασης (Selectivity)

Η εκλεκτικότητα είναι μια έννοια που χρησιμοποιείται, συνήθως, στις περιπτώσεις εκείνες, όπου μια οργανική αντίδραση μπορεί να εξελιχθεί με περισσότερους από έναν τρόπους (π.χ. στην περίπτωση των πολύπλευρων αντιδράσεων).



$$s\% = \frac{\text{Μάζα επιθυμητού προϊόντος}}{\text{Μάζα υποστρώματος που τροποποιήθηκε}} \times 100$$

### **Αποδοτικότητα Άνθρακα (Carbon Efficiency)**

Ορίζεται ως ποσότητα του άνθρακα στο προϊόν διαιρούμενη με την ποσότητα άνθρακα στα αντιδραστήρια

$$\text{Αποδοτικότητα Άνθρακα \%} = \frac{\text{Μάζα άνθρακα στο προϊόν}}{\sum \text{μάζα άνθρακα στα αντιδρώντα}} \times 100$$

### **Παράγοντας E (Factor E)**

Χρησιμοποιείται για την απευθείας σύγκριση της ποσότητας των αποβλήτων με αυτή του επιθυμητού προϊόντος. Ο Παράγοντας E λαμβάνει υπόψη τους διαλύτες, την κατανάλωση ενέργειας και την τοξικότητα των χημικών ουσιών και είναι ένα μέγεθος που φανερώνει την σπατάλη των πρώτων υλών. Σημειώνεται πως δεν λαμβάνονται υπόψιν υλικά που μπορούν να επαναχρησιμοποιηθούν.

$$\text{Factor E} = \frac{\text{Μάζα Αποβλήτων \& Ανεπιθύμητων παραπροϊόντων}}{\text{Μάζα επιθυμητών προϊόντων}}$$

Αν οι μονάδες του Παράγοντα E εκφραστούν ανά mol επιθυμητού προϊόντος αντί για μάζα τότε μπορεί να γίνει σύγκριση για κάθε επιθυμητό προϊόν σε κάθε συνθετικό σχέδιο.

### 1.3. Πράσινοι Διαλύτες

Στην βιομηχανία γίνεται ευρεία χρήση διαλυτών σε μεγάλες ποσότητες, μέχρι πρότινος η χρήση αυτή αφορούσε ως επί των πλείστων κλασικούς οργανικούς διαλύτες, πετροχημικώς παραγόμενοι, οι οποίοι εμφανίζουν σημαντικά μειονεκτήματα που αφορούν οικονομικά, περιβαλλοντικά και θέματα ασφάλειας. Πιο συγκεκριμένα, εμφανίζουν αυξημένη επικινδυνότητα στον άνθρωπο, γιατί οι περισσότεροι είναι τοξικοί, εξαιρετικά εύφλεκτοι, μερικοί είναι καρκινογόνοι, έχουν ναρκωτική επίδραση, διαπερνούν το δέρμα και διαχέονται στο αίμα, οι ατμοί τους είναι βαρύτεροι του αέρα και, επιπλέον, είναι αρκετά ακριβοί. Ταυτόχρονα, προέρχονται από μη ανανεώσιμες πηγές πρώτων υλών, ενώ η ανακύκλωσή τους επιβαρύνει σε μεγάλο βαθμό τόσο οικονομικά όσο και ενεργειακά.<sup>1</sup>

Υπό αυτό το πρίσμα η πράσινη τεχνολογία στρέφει την προσοχή της στην αναζήτηση νέων διαλυτών φιλικών προς το περιβάλλον που θα μπορούσαν εύκολα να αποικοδομηθούν ή να επαναχρησιμοποιηθούν. Στον σχεδιασμό εναλλακτικών «πράσινων» χημικών διεργασιών ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε στην βιομημητική προσέγγιση. Τα τελευταία χρόνια αναπτύχθηκε η χρήση πληθώρας πράσινων διαλυτών όπως το νερό, τα ιοντικά υγρά (Ionic Liquids: ILs), τα υπερκρίσιμα ρευστά (Supercritical Fluids: SCF), η πολυαιθυλενογλυκόλη (Polyethyleneglycol: PEG), οργανο-φθοριούχες ενώσεις, διαλύτες από βιομάζα και οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες (Deep Eutectic Solvents: DES)<sup>1,5,6</sup>

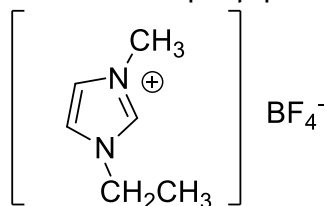
Αναφορικά με τη συνθετική χημεία, που εξετάζεται στην παρούσα διπλωματική, ιδιαίτερο ενδιαφέρον φαίνεται να εμφανίζουν τα Ιοντικά Υγρά και οι Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες. Αυτά θα παρουσιαστούν πιο αναλυτικά στις παρακάτω υποενότητες (1.3.1-1.3.2)

#### 1.3.1. Ιοντικά Υγρά (ILs)

Τα ιοντικά υγρά (Ionic Liquids: ILs) είναι μια κατηγορία ρευστών που αποτελούνται από ιόντα και είναι υγρά σε θερμοκρασίες χαμηλότερες των 100°C. Είναι διαλύτες που αποτελούνται αποκλειστικά από ιόντα. Ο παραπάνω ορισμός χρησιμοποιήθηκε αρχικά και αναφερόταν στην περιγραφή ιοντικών υγρών που περιέχουν χλωροαργιλικό άλας. Επεκτείνοντας τον παραδοσιακό ορισμό διαπιστώνεται πως τα ιοντικά υγρά είναι υγρά σε μια περιοχή θερμοκρασιών από -85°C έως 223°C. Για τις περισσότερες εφαρμογές χρησιμοποιούνται ιοντικά υγρά στην περιοχή θερμοκρασιών από -20°C έως 100°C ενώ μεγαλύτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα ιοντικά υγρά που είναι υγρά κοντά στη θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Η δομή των ιοντικών υγρών εμφανίζει την ιδιαιτερότητα να περιλαμβάνει ένα μεγάλο οργανικό κατιόν και ένα, συνήθως, μικρό ανόργανο ανιόν ενώ σε πιο σπάνιες περιπτώσεις το μικρό ανιόν είναι επίσης οργανικό. Έτσι, η τελική δομή που προκύπτει για τα αντιδραστήρια αυτά είναι μη-κρυσταλλική, αφού δεν υπάρχει η δυνατότητα συμμετρικής διάταξης, οπότε σε αντίθεση με τα συνηθισμένα άλατα που είναι στερεά (και κρυσταλλικά), αυτά μπορεί να είναι υγρά ακόμα και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Τα περισσότερα κοινά κατιόντα είναι βασισμένα στα παράγωγα ιμιδαζολίου (imidazolium), πυριδινινίου (pyridinium), πυρρολιδινίου (pyrrolidinium), αμμωνίου (ammonium) και φωσφονίου (phosphonium).

Στο Σχήμα 1.1 παρουσιάζεται ενδεικτικά η δομή ενός ιοντικού υγρού.



Σχήμα 1.1: Δομή Ιοντικού Υγρού

Τα ιοντικά υγρά που σχηματίστηκαν από οργανικά κατιόντα με  $\text{AlCl}_3$  και  $\text{ZnCl}_2$  ονομάζονται ιοντικά υγρά πρώτης γενιάς. Αυτή η ομάδα ιοντικών υγρών είναι ρευστά σε χαμηλές θερμοκρασίες λόγω του σχηματισμού ογκωδών ιόντων κατά τη σύνθεση του μίγματος. Αυτό μειώνει την πυκνότητα φόρτισης των ιόντων, η οποία με τη σειρά της μειώνει την ενέργεια πλέγματος του συστήματος οδηγώντας σε μείωση του σημείου τήξης του μίγματος. Η δεύτερη γενιά ιοντικών υγρών αποτελείται εξ ολοκλήρου από διακριτά ιόντα και όχι από το μίγμα σύνθετων ιόντων που παρατηρείται στα ιοντικά υγρά πρώτης γενιάς.

Τα ιοντικά υγρά εμφανίζουν σημαντικά πλεονεκτήματα έναντι των συμβατικών διαλυτών καθώς παρασκευάζονται με γρήγορες και πιο απλές μεθοδολογίες. Συγχρόνως με την κατάλληλη επιλογή κατιόντος-ανιόντος μπορούν να συντεθούν ιοντικοί διαλύτες με συγκεκριμένες επιθυμητές διαλυτικές ικανότητες. Ωστόσο έχουν αρκετά υψηλό κόστος και δεν είναι κατάλληλοι για κάθε τύπο αντίδρασης ενώ υπάρχουν και ενδοιασμοί σχετικά με την εφαρμογή των ιοντικών υγρών που σχετίζονται με την τοξικότητα των συγκεκριμένων ενώσεων, τις πιθανές επιπτώσεις στην υγεία και το περιβάλλον.<sup>1,7</sup>

#### 1.3.1.1. Ιδιότητες

Τα ιοντικά υγρά έχουν πολλές προοπτικές στη χρήση τους που προκύπτει από τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά τους, δηλαδή τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες τα οποία ποικίλουν ανάλογα με συνδυασμό διαφορετικών κατιόντων και ανιόντων. Παρακάτω παρουσιάζονται συγκεκριμένα κάποιες από τις σημαντικότερες ιδιότητές τους.<sup>1,5,7</sup>

#### Σημείο Τήξης

Τα ιοντικά υγρά είναι σε υγρή κατάσταση σε εύρος θερμοκρασιών  $\sim 300$  °C (-96 έως +200 °C). Το φορτίο, το μέγεθος και η κατανομή του φορτίου στα αντίστοιχα ιόντα είναι οι κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν το σημείο τήξης των ιοντικών υγρών. Ο βασικός λόγος για τον σχηματισμό στερεής κατάστασης είναι οι ελκτικές δυνάμεις Coulomb μεταξύ των ιόντων, οπότε καθώς αυξάνεται το μέγεθος των ιόντων, το σημείο τήξης αντιστοίχως ελαττώνεται. Το σχήμα των ιόντων είναι, επίσης, σημαντικό. Η αύξηση της συμμετρίας στα ιόντα αυξάνει το σημείο τήξης, καθώς επιτρέπει έναν αποδοτικότερο δεσμό ιόντος-ιόντος στη στερεά κατάσταση.

#### Πτητικότητα

Μία εξαιρετική ιδιότητά τους είναι ότι τα ιοντικά υγρά έχουν μικρή τάση ατμών, οπότε δεν μπορούν να εξατμιστούν και να οδηγήσουν σε εκπομπές ανεπιθύμητων συστατικών στο περιβάλλον, με αποτέλεσμα να θεωρούνται περίπου ως ιδανικοί διαλύτες. Η ιοντική φύση εξηγεί μερικώς την αμελητέα τάση ατμών των ιοντικών

υγρών στην υγρή κατάσταση, που τα διαφοροποιεί από τους μοριακούς διαλύτες. Η μη πτητικότητα συνεπάγεται μη ευφλεκτότητα σε ατμοσφαιρικές και υψηλότερες θερμοκρασίες. Ωστόσο, τα ιοντικά υγρά καίγονται και μάλιστα συμπεριφέρονται ως καύσιμα με εξαιρετικό ενεργειακό περιεχόμενο.

### **Ιξώδες**

Το ιξώδες επηρεάζει τις ιδιότητες μεταφοράς, όπως η διάχυση και αποτελεί σημαντική παράμετρο για καταλυτικές εφαρμογές. Τα ιοντικά υγρά έχουν υψηλότερο ιξώδες σε σχέση με τους συνηθισμένους οργανικούς διαλύτες, μία έως τρεις τάξεις μεγέθους μεγαλύτερο. Το ιξώδες των ιοντικών υγρών σε θερμοκρασία δωματίου κυμαίνεται από 10cP μέχρι 500cP. Ο τύπος του κατιόντος έχει μικρή επίδραση στο ιξώδες ενώ ο τύπος του ανιόντος έχει μεγαλύτερη επιρροή. Το μέγεθος του ανιόντος δεν επηρεάζει το ιξώδες.

### **Πυκνότητα**

Η πυκνότητα των ιοντικών υγρών ποικίλλει μεταξύ 1.1 g/cm<sup>3</sup> - 2.4 g/cm<sup>3</sup>. Η μοριακή μάζα του ανιόντος επηρεάζει αναλογικά την πυκνότητα του ρευστού. Επίσης, αυξάνοντας το μήκος της αλκυλικής αλυσίδας του κατιόντος, μειώνεται η πυκνότητά του, δεδομένου ότι ένα μόριο με ομάδες -CH<sub>2</sub> εμφανίζει μικρότερη πυκνότητα σε σχέση με έναν αρωματικό δακτύλιο.

### **Επιφανειακή Τάση**

Οι τιμές της επιφανειακής τάσης υγρού/αέρα των ιοντικών υγρών είναι υψηλότερες σε σχέση με τους συμβατικούς διαλύτες αλλά όχι τόσο υψηλές όσο το νερό. Το μήκος της αλκυλικής αλυσίδας του κατιόντος έχει μεγάλη επίδραση στην επιφανειακή τάση, καθώς η αύξηση του μήκους της αλυσίδας οδηγεί σε χαμηλότερες τιμές επιφανειακής τάσης. Ταυτόχρονα αξίζει να σημειωθεί πως τα ιοντικά υγρά ιμιδαζολικής φύσης έχουν μέτριας τάξης επιφανειακή τάση συγκρινόμενα με τους οργανικούς διαλύτες.

### **Διαλυτότητα**

Τα ιοντικά υγρά φαίνεται να εμφανίζουν υψηλή διαλυτική ικανότητα αλλά και την δυνατότητα εκλεκτικής διαλυτότητας ανάλογα με την επιλογή κατάλληλων ιόντων. Έχουν δυνατότητα ανάμιξης με οργανικούς διαλύτες χαμηλής πολικότητας αλλά και με διαλύτες υψηλής πολικότητας. Η δυνατότητα ανάμιξης με το νερό ποικίλλει με την αλλαγή του ανιόντος ενώ οι αμοιβαίες διαλυτότητες των ιοντικών υγρών και των οργανικών διαλυτών εξαρτώνται από τη δυνατότητα των ιοντικών υγρών να σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου ή άλλες πιθανές αλληλεπιδράσεις με τους διαλύτες.

### **Ηλεκτρική αγωγιμότητα**

Τα ιοντικά υγρά έχουν καλή ηλεκτρική αγωγιμότητα και μια μεγάλη εύρους περιοχή δυναμικών (παράθυρο δυναμικού, potential window) ελεύθερη για τη διεξαγωγή ηλεκτροχημικών αντιδράσεων. Το εύρος αυτό καθορίζεται από τους τύπους των ανιόντων και κατιόντων, που συμμετέχουν στη δομή τους και μπορεί να είναι ακόμη και πάνω από 4.5 V, σε σχέση με το 1.2 V, που ισχύει για τους υδατικούς ηλεκτρολύτες. Η αγωγιμότητα φαίνεται να εξαρτάται λιγότερο από το μέγεθος και τον τύπο του συμμετέχοντος κατιόντος.

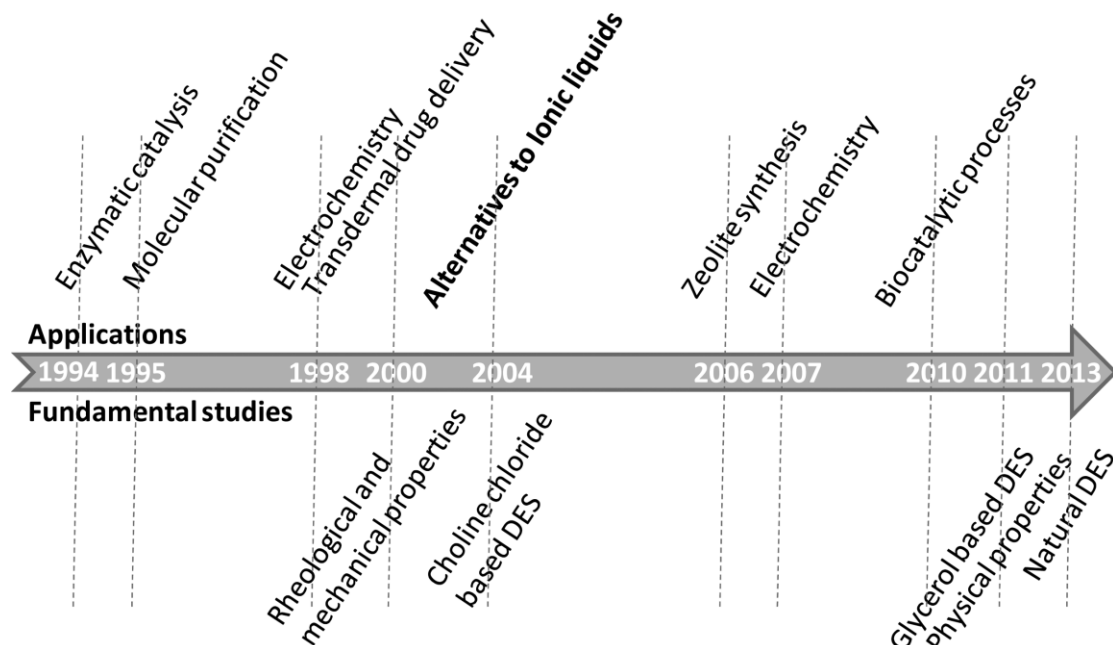
### 1.3.1.2. Εφαρμογές

Τα ιοντικά υγρά μπορούν να έχουν ένα ευρύ φάσμα εφαρμογής λόγω των ιδιοτήτων τους. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η χρήση τους ως διαλύτες για βιοκαταλυτικές διεργασίες, εκχύλιση, οργανική σύνθεση και πολυμερισμό. Επίσης θεμελιώδη σημασία έχουν σε ηλεκτροχημικές εφαρμογές ενώ μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε μπαταρίες και κυψέλες καυσίμου. Η Αναλυτική Χημεία είναι ένας ακόμη κλάδος που τα αξιοποιεί σε διάφορα σημεία όπως στις στήλες αέριας χρωματογραφίας (GC), στις στήλες υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης (HPLC) και στην κρυστάλλωση των πρωτεϊνών. Πρόσφατα, βρέθηκε επίσης ότι τα ιοντικά υγρά μπορούν να βρουν καίρια θέση στην βιοϊατρική καθώς έχουν την ικανότητα να διαλύουν φυσικά βιοπολυμερή στοιχείο που διευκολύνει τη δυνατότητα επεξεργασίας τους.

Συνοψίζοντας είναι φανερό πως ο μεγάλος αριθμός συνδυασμού ιόντων καθιστά εφικτή την δημιουργία εξειδικευμένων μορίων που μπορούν να υπερνικήσουν περιορισμούς των συμβατικών μεθόδων και να αυξήσουν την απόδοση των διεργασιών.<sup>5,7</sup>

### 1.3.2. Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (DES)

Έπειτα από εκτεταμένη χρήση των ιοντικών υγρών την τελευταία δεκαετία διαπιστώθηκε πως αυτά συχνά είναι τοξικά και μη βιοαποικοδομήσιμα έτσι στο πέρασμα του χρόνου μειώνεται η χρήση τους ως διαλύτες. Αυτό το κενό έρχονται να καλύψουν οι Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες, οι οποίοι φαίνεται να είναι ελκυστική πράσινη επιλογή λόγω των ιδιοτήτων τους όπως η χαμηλή τοξικότητα, η βιοαποικοδομησιμότητα, και το χαμηλό κόστος. Στην Εικόνα 1.2 παρουσιάζεται η ανάπτυξη των αυτών των διαλυτών στο πέρασμα του χρόνου.<sup>8</sup>

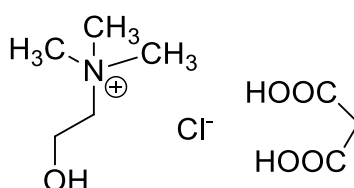


Εικόνα 1.2: Η ανάπτυξη των Βαθέως Ευτηκτικών Διαλυτών (DES) αναφορικά την έρευνα και τις εφαρμογές τους<sup>5</sup>

Ο όρος Βαθέως Ευτηκτικός Διαλύτης (Deep Eutectic Solvents: DES) αναφέρεται σε ένα σύστημα που δημιουργείται από την ανάμειξη δύο ή περισσότερων ουσιών προς τον σχηματισμό ενός ευτηκτικού μίγματος που αποτελείται από έναν δέκτη

δεσμού υδρογόνου (Hydrogen Bond Acceptor: HBA) όπως ένα άλας αμμωνίου, και έναν δότη δεσμού υδρογόνου (Hydrogen Bond Donor: HBD), όπως ένα οξύ, αλκοόλη ή ένα αμίδιο. Σε αντίθεση με τα ιοντικά υγρά, στα DES τα αρχικά υλικά είναι μη ιοντισμένα, όπως μοριακές ενώσεις και άλατα. Τα DES εμφανίζουν ταπείνωση στο σημείο τήξης και σχηματίζουν υγρά σε θερμοκρασίες μεταξύ θερμοκρασίας δωματίου και 70°C. Η μετατόπιση φορτίου που λαμβάνει χώρα μέσω δεσμού υδρογόνου μεταξύ του δέκτη και του δότη δεσμού υδρογόνου είναι υπεύθυνη για τη μείωση του σημείου τήξης του μίγματος σε σχέση με τα σημεία τήξης του κάθε συστατικού. Επιπλέον, η καθαρότητα ενός DES εξαρτάται μόνο από την καθαρότητα των συστατικών τους και δεν απαιτεί επιπλέον επεξεργασία.<sup>7,9</sup>

Στο Σχήμα 1.2 παρουσιάζεται ενδεικτικά η δομή ενός DES με συστατικά τη χλωριούχο χολίνη και το μαλονικό οξύ.



Σχήμα 1.2: DES με συστατικά τη χλωριούχο χολίνη και το μαλονικό οξύ

Οι κυριότερες κατηγορίες DES παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.1:

Πίνακας 1.1: Οι βασικές κατηγορίες των DES

Κατηγορία	Περιγραφή
I	Μεταλλικό Άλας + Οργανικό Άλας ( $ZnCl_2$ + Χλωριούχος Χολίνη)
II	Ενυδατωμένο Μεταλλικό Άλας + Οργανικό Άλας ( $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ + Χλωριούχος Χολίνη)
III	Οργανικό Άλας + HBD (Χλωριούχος Χολίνη + Ουρία)
IV	(Ενυδατωμένο) Μεταλλικό Άλας + HBD ( $ZnCl_2$ + Ουρία)

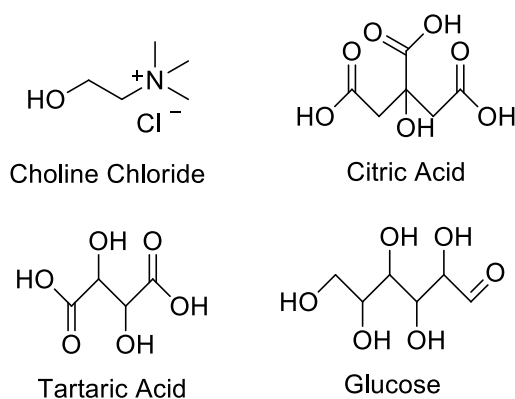
Οι κατηγορίες I, II και IV των DES, όπως φαίνονται στον παραπάνω Πίνακα (Πίνακας 1.1), περιέχουν μεταλλικά άλατα και έχουν την εγγενή τοξικότητα, σε αντίθεση με τα DES τύπου III τα συστατικά των οποίων έχουν χαμηλή τοξικότητα. Ως εκ τούτου, ο κύριος περιβαλλοντικός αντίκτυπος αυτών των διαλυτών βρέθηκε ότι σχετίζεται με την παρουσία βαρέων μετάλλων σε απόβλητα και με τη δημιουργία παραπροϊόντων που σχηματίζονται κατά την ηλεκτρόλυση. Προκειμένου τα DES να είναι πραγματικά "πράσινοι" διαλύτες, πρέπει να γίνεται ανακύκλωσή τους και να βρεθούν μέθοδοι για την απομάκρυνσή τους από υδατικά απόβλητα.<sup>10</sup>

### 1.3.2.1. Φυσιικοί Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (NaDES)

Σημαντική συμβολή στην εξέλιξη των DES είχε η μελέτη των φυτικών κυττάρων τα οποία περιέχουν μεγάλες ποσότητες σακχάρων και μικρότερες ποσότητες άλλων ουσιών όπως αμινοξέα, πολυόλες και οργανικά οξέα. Παρατηρήθηκε πως κάτω από ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες όπως ξηρασία, υψηλές ή χαμηλές

θερμοκρασίες, τα ζωντανά κύτταρα μπορούν να επιβιώσουν συσσωρεύοντας αυτούς τους πρωτογενείς μεταβολίτες και σχηματίζοντας DES στα οποία οι μεμβράνες, τα ένζυμα και οι μεταβολίτες παραμένουν σταθερά. Ο ρόλος όμως των DES επεκτείνεται και στην σύνθεση, μεταφορά και αποθήκευση μιας ποικιλίας ενώσεων υδατοδιαλυτών και μη.<sup>11,12</sup>

Βάσει αυτών ορίστηκε μια νέα κατηγορία DES, οι οποίοι ονομάζονται φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες (Natural Deep Eutectic Solvents: NaDES) και αποτελούνται κυρίως από φυσικούς πρωτογενείς μεταβολίτες όπως σάκχαρα, οργανικά οξέα, αμινοξέα και αμίνες και συχνά περιέχουν νερό σε ορισμένες μοριακές αναλογίες. Όμοια με τα DES λόγω των ιδιοτήτων τους αποτελούν ελκυστικά μόρια για πληθώρα διεργασιών. Έχουν αμελητέα πτητικότητα, βρίσκονται σε κατάσταση υγρού ακόμη πολύ κάτω από 0°C, έχουν υψηλή διαλυτότητα για ένα ευρύ φάσμα ενώσεων, υψηλή ικανότητα εκχύλισης και υψηλή ικανότητα σταθεροποίησης για ορισμένα φυσικά προϊόντα. Από περιβαλλοντική και οικονομική άποψη, τα NaDES προσφέρουν επίσης πολλά εντυπωσιακά πλεονεκτήματα όπως η βιοαποικοδομησιμότητα, η βιωσιμότητα, το χαμηλό κόστος και η απλή προετοιμασία. Όλες αυτές οι ιδιότητες τα καθιστούν ενδιαφέροντα για εφαρμογές σε τομείς που σχετίζονται με την υγεία, όπως φαρμακευτικά προϊόντα, τρόφιμα και καλλυντικά. Μια ευρεία γκάμα NaDES μπορεί να συντεθεί από το συνδυασμό χλωριούχου χολίνης ή των παραγώγων της (ως δέκτες δεσμού υδρογόνου) και ενώσεων όπως γλυκόζη, ξυλιτόλη, ριβιτόλη, κιτρικό οξύ, μηλικό οξύ, οξαλικό οξύ, τρυγικό οξύ, προπανοϊκό οξύ ή φρουκτόζη (ως δότες δεσμού υδρογόνου). Η σταθερότητα των NaDES σχετίζεται με τις δομές των πρώτων υλών και τη μοριακή τους αναλογία. Παρακάτω (Σχήμα 1.3) παρουσιάζονται οι δομές πιθανών συστατικών NaDES.<sup>13,14</sup>



Σχήμα 1.3: Επιλεγμένες χημικές δομές που χρησιμοποιούνται για τον σχηματισμό NaDES

Το ζήτημα που αντιμετωπίζουν συνήθως αυτοί οι διαλύτες, όπως και αρκετά ιοντικά υγρά και κλασικά DES, είναι το υψηλό ιξώδες. Αυτό οδηγεί σε ορισμένα πρακτικά προβλήματα, όπως χρονοβόρες διαδικασίες μεταφοράς διαλυτών και αργή μεταφορά μάζας σε διαλύσεις ή εκχυλίσεις. Αυτό αντιμετωπίζεται εν μέρει με την εφαρμογή εξωτερικών φυσικών δυνάμεων, όπως η χρήση μικροκυμάτων και η ανάδευση σε υψηλή θερμοκρασία, επιταχύνοντας έτσι τη διαδικασία διάλυσης. Ένας άλλος τρόπος αντιμετώπισης αυτού του προβλήματος είναι η αραίωση με νερό. Η επίδραση της περιεκτικότητας σε νερό στη δομή και τα

χαρακτηριστικά του NaDES παρέχει τη βάση για την ανάπτυξη διαλυτών για διάφορες εφαρμογές όπως χρήσεις σε τομείς που σχετίζονται με την υγεία.<sup>15</sup>

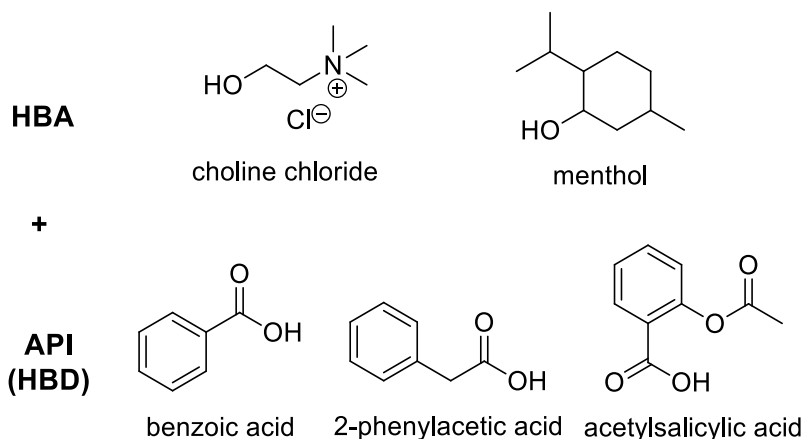
### 1.3.2.2. Θεραπευτικοί Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (TheDES)

Το ενδιαφέρον για τις επιστήμες υγείας και την εξέλιξη της φαρμακευτικής χημείας παραμένει αμείωτο και σε αυτό βρίσκουν εφαρμογή τα DES, τα οποία αναδεικνύονται ως πρόσφορο μέσο για φαρμακευτικά δραστικά συστατικά που είναι πολικά ή ιοντικά. Σημαντική ιδιαιτερότητα αυτών των δραστικών ουσιών είναι ο πολυμορφισμός, στοιχείο που οδηγεί σε χαμηλή διαλυτότητα, και συνεπώς χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα, περιορισμένες φαρμακοκινητικές ιδιότητες και τοξικότητα. Για την παράκαμψη του πολυμορφισμού, μελετήθηκαν οι συνκρύσταλλοι και τα μείγματα στερεών, ωστόσο στη συνέχεια αποδείχθηκε πως έχουν περιορισμένη αποτελεσματικότητα. Έτσι η προσοχή στράφηκε σε υγρά σκευάσματα και αναπτύχθηκε ένας νέος τύπος DES.<sup>16</sup>

Οι Θεραπευτικοί Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (Therapeutic Deep Eutectic Solvents: TheDES) είναι ένα βιοδραστικό ευτηκτικό μίγμα που περιέχει ένα δραστικό φαρμακευτικό συστατικό (Active Pharmaceutical Ingredient: API) ως ένα από τα συστατικά του. Η ικανότητα σχηματισμού DES με δραστικό φαρμακευτικό συστατικό (API) και η δυνατότητα φαρμακευτικής χρήσης του πραγματοποιήθηκε για πρώτη φορά το 1998. Τότε παρουσιάστηκε ένα σύστημα TheDES από μενθόλη και ιβουπροφαίνη, με κύριο στόχο την ανάπτυξη συστημάτων διαδερμικής χορήγησης και την ενίσχυση της διαπερατότητας του δέρματος. Ενώ ακολούθησε πληθώρα αναφορών σε DES με θεραπευτικές ιδιότητες τα οποία μπορούν να ενισχύσουν τη βιοδιαθεσιμότητα και το ρυθμό απελευθέρωσης του φαρμάκου και να μειώσουν την τοξικότητά του. Παράλληλα τα TheDES φαίνεται να έχουν μεγάλη σημασία στον φαρμακευτικό τομέα καθώς παρασκευάζονται χωρίς απώλειες κατά την παραγωγή και χωρίς ανάγκη για επακόλουθα στάδια καθαρισμού, ενώ μπορούν παράλληλα να παραχθούν εύκολα και σε βιομηχανική κλίμακα.<sup>17</sup>

Τα TheDES εμφανίζουν δύο κατηγορίες: εκείνα στα οποία το API είναι δότης δεσμού υδρογόνου-HBD και εκείνα στα οποία το API είναι δέκτης-HBA. Στην βιβλιογραφία έχει γίνει εκτεταμένη αναφορά σε ευτηκτικά μίγματα της πρώτης κατηγορίας τα οποία περιέχουν χλωριούχο χολίνη και μενθόλη, σε συνδυασμό με API όπως ακετυλοσαλικυλικό οξύ, βενζοϊκό οξύ, φαινυλοξικό οξύ, ιβουπροφαίνη και ποικιλία τερπενίων. Ενδεικτικά συστατικά παρουσιάζονται στο Σχήμα 1.4. Στη δεύτερη περίπτωση επειδή πολλά IPA είναι αμίνες αυτά μετατρέπονται σε μορφή άλατος τεταρτοταγούς αμμωνίου μέσω αντίδρασης με υδροχλωρικά άλατα ώστε να διευκολυνθεί η διαλυτοποίηση.<sup>16,18</sup>





Σχήμα 1.4: Παραδείγματα HBA και HBD που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή TheDES

### 1.3.2.3. Ιδιότητες

Οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες έχουν φυσικοχημικές ιδιότητες πολύ παρόμοιες με τα ιοντικά υγρά ενώ παράλληλα έχει διαπιστωθεί ότι είναι βιοαποικοδομήσιμοι, έχουν χαμηλότερη τοξικότητα και χαμηλότερο κόστος από αυτά. Οι ιδιότητές τους ποικίλλουν ανάλογα με το είδος του άλατος, του δότη δεσμού υδρογόνου (HBD) αλλά και με την γραμμομοριακή αναλογία και των συστατικών του. Ως εκ τούτου, μπορούν να παρασκευαστούν DES για συγκεκριμένες εργασίες με διαφορετικές φυσικοχημικές ιδιότητες όπως σημείο τήξης, ιξώδες, αγωγιμότητα και pH.<sup>19</sup>

Πολλές από τις φυσικοχημικές ιδιότητες των DES μπορούν να εξηγηθούν βάσει της κίνησης των ιόντων σύμφωνα με την «θεωρία των οπών». Η θεωρία των οπών υποθέτει ότι, κατά την τήξη, το ιοντικό υλικό περιέχει κενά που προκύπτουν από τις θερμικά δημιουργούμενες διακυμάνσεις της τοπικής πυκνότητας. Οι οπές έχουν τυχαίο μέγεθος και θέση και υποβάλλονται σε συνεχή ροή. Η μέση ακτίνα των οπών ( $r$ ) σχετίζεται με την επιφανειακή τάση του υγρού ( $\gamma$ ) ως εξής:

$$4 \cdot \pi \cdot (r^2) = \frac{3.5 \cdot k \cdot T}{\gamma}$$

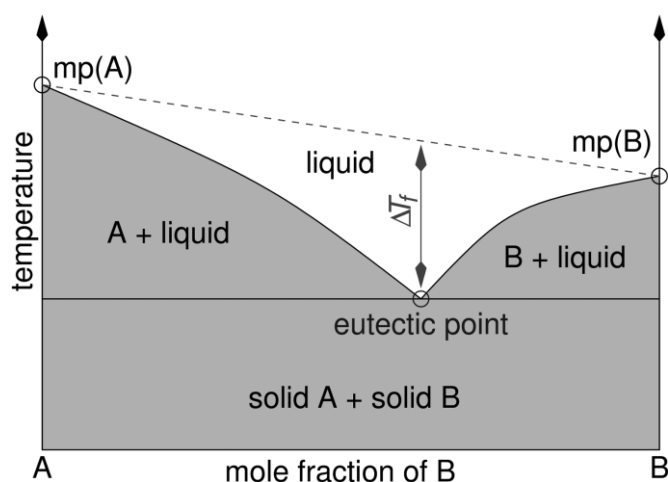
όπου  $k$  η σταθερά Boltzmann και  $T$  απόλυτη θερμοκρασία.

Το μέσο μέγεθος των οπών θα είναι μικρότερο σε συστήματα χαμηλότερης θερμοκρασίας, σε συνδυασμό με ένα μεγαλύτερο μέγεθος ιόντων, γεγονός που καθιστά την κινητικότητα των ιόντων δύσκολη και εξηγεί γιατί το ιξώδες μπορεί να είναι υψηλό. Παρακάτω θα αναλυθούν περαιτέρω κάποιες φυσικοχημικές ιδιότητες των DES.<sup>7,10</sup>

### Σημείο Τήξης

Όπως αναφέρεται και παραπάνω, τα DES σχηματίζονται αναμιγνύοντας δύο στερεά ικανά να συνδεθούν με δεσμούς υδρογόνου και να παράγουν ένα υγρό μίγμα. Αυτή η νέα φάση χαρακτηρίζεται από ένα σημαντικά χαμηλότερο σημείο τήξης από αυτά των επιμέρους συστατικών του και είναι συνήθως μικρότερο από 50°C. Η διαφορά στο σημείο τήξης,  $\Delta T_f$ , ενός ευτηκτικού δυαδικού μείγματος A + B συγκριτικά με εκείνη ενός θεωρητικού ιδανικού μίγματος σχετίζεται με το μέγεθος της αλληλεπίδρασης μεταξύ A και B. Όσο μεγαλύτερη είναι η αλληλεπίδραση, τόσο μεγαλύτερο θα είναι  $\Delta T_f$ . Η αδύναμη αλληλεπίδραση μεταξύ

ανιόντων και κατιόντων οδηγεί στην ταπείνωση του σημείου τήξης. Η γραμμομοριακή αναλογία οργανικού άλατος/HBD έχει επίσης σημαντική επίδραση στο σημείο πήξης των DES. Παρακάτω (Εικόνα 1.3) παρουσιάζεται σχηματικά η δημιουργία του ευτηκτικού σημείου σε ένα δυαδικό μείγμα.<sup>10,19</sup>



Εικόνα 1.3: Απεικόνιση του ευτηκτικού σημείου ενός δυαδικού μίγματος.<sup>10</sup>

### Ιξώδες

Το ιξώδες των ευτηκτικών μιγμάτων φαίνεται να επηρεάζεται κυρίως από τη χημική φύση των συστατικών DES (τύπος άλατος αμμωνίου και HBD, αναλογία οργανικού άλατος/HBD κ.λπ.), τη θερμοκρασία και την περιεκτικότητα σε νερό. Συχνά φαίνεται να λαμβάνει υψηλές τιμές ίσως και υψηλότερες από 100cP λόγω της παρουσίας δικτύου δεσμών υδρογόνου μεταξύ των συστατικών του. Αυτό περιορίζει την κινητικότητα στους κενούς χώρους μέσα στο DES. Παράλληλα υπάρχουν και άλλες αλληλεπιδράσεις όπως van der Waals και ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις οι οποίες επίσης συμβάλλουν στο υψηλό ιξώδες των DES, στοιχείο που δυσχεραίνει την εφαρμογή τους στη βιομηχανία. Για την αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος γίνεται προσθήκη νερού, ωστόσο πρέπει να σημειωθεί ότι η υπερβολική προσθήκη νερού μπορεί να οδηγήσει στην αποδυνάμωση του δεσμού υδρογόνου μεταξύ των συστατικών του DES. Για τη μείωση του ιξώδους, επιπλέον, σύμφωνα με τη θεωρία των οπών συστήνεται επιλογή μικρών κατιόντων ή φθόριομενων δοτών (HBD). Εξετάζοντας τη σχέση του με τη θερμοκρασία φαίνεται πως το ιξώδες των DES είναι αντιστρόφως ανάλογο με αυτή δηλαδή καθώς η θερμοκρασία αυξάνεται το ιξώδες μειώνεται· αυτή η συμπεριφορά είναι γνωστή και ως συμπεριφορά κατά Arrhenius. Σύμφωνα με την θεωρία των οπών αυτό αιτιολογείται ως εξής: η πιθανότητα εύρεσης μιας οπής μεγέθους ιόντων υψηλή θερμοκρασία είναι μεγαλύτερη από ότι σε χαμηλή θερμοκρασία. Παράλληλα επηρεάζεται από τη σύνθεση του δηλαδή την επιλογή των κατάλληλων συστατικών αλλά και την σχετική αναλογία τους.<sup>7,19</sup>

### Επιφανειακή Τάση

Ομοίως με το ιξώδες η επιφανειακή τάση των DES έχει γραμμική συσχέτιση με την θερμοκρασία και η επιφανειακή τάση να μειώνεται καθώς η θερμοκρασία αυξάνεται. Γενικότερα τα DES έχουν υψηλότερη επιφανειακή τάση από τους περισσότερους συμβατικούς διαλύτες και είναι συγκρίσιμη με αυτή των

τηγμένων αλάτων σε υψηλές θερμοκρασίες και των ιοντικών υγρών με ιμιδαζόλιο.<sup>7</sup>

### **Πυκνότητα**

Η πυκνότητα είναι άλλη μία φυσικοχημική ιδιότητα σημαντική για ένα διαλύτη. Τα περισσότερα DES έχουν μεγαλύτερη πυκνότητα από το νερό και αυτό βασίζεται στις αρχές της θεωρίας των οπών. Η ανάμειξη των συστατικών του DES να οδηγεί στη μείωση της μέσης ακτίνας των οπών με αποτέλεσμα να αυξάνεται η πυκνότητά του συγκριτικά με αυτή των αρχικών συστατικών. Η γραμμομοριακή αναλογία των συστατικών επίσης έχει σημαντική επίδραση στην τελική πυκνότητα.<sup>7</sup>

### **Πολικότητα**

Η πολικότητα των DES σχετίζεται με τη μοριακή δομή του δότη στο δεσμό υδρογόνου. Ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο διαδραματίζει η θερμοκρασία καθώς αυξανόμενες θερμοκρασίες οδηγούν σε μείωση της πολικότητας του DES ενώ συγχρόνως έχουν και ως συνέπεια στη μείωση της οξύτητας του δεσμού υδρογόνου. Η βασικότητα του δεσμού και η πολωσιμότητα/διπολικότητα δεν επηρεάζονται από τη θερμοκρασία αλλά φαίνεται να επηρεάζονται από την προσθήκη νερού με την πρώτη να μειώνεται και τη δεύτερη να αυξάνεται. Σε γενικές γραμμές, η πολικότητα ενός διαλύτη μπορεί να εκτιμηθεί από την κλίμακα  $E_T(30)$ , η οποία είναι η ηλεκτρονική ενέργεια μετάβασης μιας βαφής ανιχνευτή (π.χ. Reichardt's Dye 30) σε έναν διαλύτη. Μέσω της τεχνολογίας UV-Vis και χρησιμοποιώντας την Reichardt's Dye 30, το  $E_T(30)$  υπολογίζεται σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση.<sup>7,19</sup>

$$E_T(30)(\text{kcal mol}^{-1}) = h\nu_{\text{CU max}}N_A = (2.8591 * 10^{-3})U_{\text{max}}(\text{cm}^{-1}) = 28591/\lambda_{\text{max}}$$

### **Διαλυτότητα**

Τα DES φαίνεται να έχουν καλή διαλυτική ικανότητα για αρκετά συστατικά συμπεριλαμβανομένων των φαρμάκων, των οξειδίων μετάλλων και του διοξειδίου του άνθρακα. Υπάρχουν ενδείξεις ότι οι δέκτες δεσμού υδρογόνου των DES διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αύξηση της διαλυτότητας σε φαρμακευτικά συστατικά όπως το ακετυλοσαλικυλικό οξύ και το βενζοϊκό οξύ. Συγχρόνως φαίνεται να επιτυγχάνουν καλύτερη διάλυση του DNA με λιγότερη αποικοδόμηση του συγκριτικά με τα ιοντικά υγρά.<sup>7</sup>

### **Αγωγιμότητα**

Λόγω του σχετικά υψηλού ιξώδους τους, τα περισσότερα DES εμφανίζουν χαμηλές αγωγιμότητες (χαμηλότερες από  $2\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$  σε θερμοκρασία δωματίου) αλλά υψηλότερη συγκριτικά με τους μη υδατικούς διαλύτες. Η αγωγιμότητα των DES αυξάνεται σημαντικά καθώς η θερμοκρασία αυξάνεται λόγω της μείωσης του ιξώδους. Ως εκ τούτου, η εξίσωση τύπου Arrhenius μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για την πρόβλεψη της συμπεριφοράς αγωγιμότητας ενός DES.<sup>19</sup>

### **Πράσινος Χαρακτήρας**

Εκτός όμως από τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες, τα DES είναι ιδιαίτερα ελκυστικά καθώς πληρούν πολλές από τις αρχές της πράσινης χημείας. Η διαδικασία παρασκευής τους είναι απλή καθώς είναι ένα μείγμα δύο συστατικών. Σε ορισμένες περιπτώσεις, είναι απαραίτητη είτε κάποια θέρμανση είτε η διαλυτοποίηση των ενώσεων στο νερό, πράγμα που σημαίνει ότι το νερό πρέπει

να ανακτηθεί με εξάτμιση και συμπύκνωση. Με αυτή την λογική είναι φανερό πως δεν παράγονται απόβλητα κατά τη διάρκεια της παραγωγής τους και ότι δεν σχηματίζονται ανεπιθύμητα παραπροϊόντα. Επειδή τα NaDES είναι στην πραγματικότητα ένα μείγμα δύο ή τριών ενώσεων, η απόδοση της μεθόδου μπορεί να θεωρηθεί 100%. Ο παράγοντας E σύμφωνα και με τον ορισμό του στην ενότητα 1.2 (το σύνολο των παραγόμενων αποβλήτων διαιρούμενο με τη συνολική ποσότητα του προϊόντος) είναι δείκτης που φανερώνει την βιωσιμότητα μια διεργασίας. Στην περίπτωση του NaDES, μπορεί να επιτευχθεί η ιδανική τιμή του δείκτη, δηλαδή το 0. Στην αντίδραση σχηματισμού των DES γίνεται 100% χρήση του ατόμου καθώς όλα τα άτομα των αρχικών συστατικών συμμετέχουν στο τελικό προϊόν. Όσον αφορά την αποδοτικότητα του άνθρακα όπως ορίζεται στην ενότητα 1.2, μπορεί να θεωρηθεί ότι είναι 100% στην περίπτωση που γίνεται μόνο ανάμιξη συστατικών. Ωστόσο, εάν είναι απαραίτητη η θέρμανση ή η αρχική διάλυση των συστατικών, πρέπει να γίνουν πιο συγκεκριμένοι υπολογισμοί για την έμμεση χρήση άνθρακα. Είναι σημαντικό ωστόσο να αναφερθεί πως παρόλο που τα συστατικά ενός DES μπορεί να είναι μη τοξικά και με χαμηλό περιβαλλοντικό αντίκτυπο δεν προκύπτει κατ' ανάγκη ότι τα μείγματα αυτών των συστατικών θα είναι μη τοξικά και εγγενώς «πράσινα». Μερικές φορές η κυτταροτοξικότητα των DES ήταν πολύ υψηλότερη από τα μεμονωμένα συστατικά τους ενώ ποικίλει ανάλογα με τη δομή των συστατικών.<sup>5,20</sup>

#### **1.3.2.4. Μέθοδοι Παρασκευής**

Η παρασκευή ενός DES μπορεί να πραγματοποιηθεί εύκολα με ανάμιξη ενός άλατος και ενός HBD σε δωμάτιο ή υψηλές θερμοκρασίες. Ωστόσο η στοχευμένη μελέτη των DES έχει οδηγήσει στην εύρεση ποικίλων μεθόδων παραγωγής τους. Συγκεκριμένα έπειτα από βιβλιογραφική αναζήτηση παρουσιάζονται παρακάτω οι σημαντικότερες μέθοδοι.

#### **Σύνθεση με θέρμανση και ανάδευση**

Τα DES παράγονται από το συνδυασμό δύο συστατικών σε συγκεκριμένες αναλογίες τα οποία αναδεύονται και θερμαίνονται έως ότου να δημιουργηθεί ένα διαυγές διάλυμα. Στη συνέχεια τοποθετούνται σε ξηραντήρα όπου και αφήνονται έως ότου να έρθουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε αντιδράσεις χωρίς περαιτέρω επεξεργασία. Τα αρχικά συστατικά συστήνεται να είναι υψηλής καθαρότητας και χωρίς υγρασία. Σε κάποιες παρασκευές μπορεί να προστεθεί και συγκεκριμένη ποσότητα νερού δημιουργώντας ένα τριαδικό μίγμα. Οι παράμετροι των αντιδράσεων όπως ο χρόνος και η θερμοκρασία μπορεί να ποικίλουν ανάλογα με τα διάφορα συστήματα. Η θέρμανση μπορεί να πραγματοποιείται με υδατόλουτρο ή ελαιόλουτρο και η θερμοκρασία που επιλέγεται συνήθως είναι χαμηλότερη από 50 ° C αλλά μπορεί να φτάσει και μέχρι 100°C. Αυτή η μέθοδος δεν είναι μόνο φθηνότερη αλλά και ασφαλέστερη για συστατικά είναι θερμικά ασταθή, όπως τα σάκχαρα ή τα αμινοξέα. Ταυτόχρονα προσφέρει τα πλεονεκτήματα της ευκολίας χρήσης, της απλότητας και της ικανότητας παραγωγής μεγάλων ποσοτήτων διαλυτών.<sup>13,14</sup>

### **Σύνθεση με εξάτμιση**

Τα συστατικά (στην επιθυμητή αναλογία) διαλύονται σε νερό και στη συνέχεια το νερό εξατμίζεται με κατάλληλη μέθοδο. Το λαμβανόμενο υγρό τοποθετείται σε ξηραντήρα έως ότου επιτευχθεί σταθερό βάρος.<sup>13,14</sup>

### **Σύνθεση με λυοφιλοποίηση/κατάψυξη υπό κενό (freeze drying)**

Για την διαδικασία αυτή αρχικά διαλύεται το εκάστοτε συστατικό (στην επιθυμητή αναλογία) σε νερό. Τα υδατικά διαλύματα που προκύπτουν καταψύχονται σε χαμηλές θερμοκρασίες, στη συνέχεια ξηραίνονται υπό κατάψυξη και λαμβάνονται διαυγή ιξώδη υγρά.<sup>14,21</sup>

### **Σύνθεση υποβοηθούμενη με υπερήχους**

Η σύνθεση των DES υποβοηθούμενη με υπερήχους έχει ερευνηθεί σε μικρό βαθμό ωστόσο σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες έχει προταθεί η παρακάτω διαδικασία. Το μίγμα των δύο συστατικών ομογενοποιείται με την χρήση «vortex» και στη συνέχεια τοποθετείται σε λουτρό υπερήχων. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται έως ότου να επιτευχθεί διαυγές μίγμα. Οι διαλύτες που παραλαμβάνονται, αποθηκεύονται σε ξηραντήρες, σε θερμοκρασία δωματίου. Σε αυτήν τη διαδικασία, τα υπερηχητικά κύματα δημιουργούν κοιλότητες και αυτές οδηγούν στο σχηματισμό και την κατάρρευση φυσαλίδων. Όταν η φυσαλίδα φτάσει σε οριακό μέγεθος και διαλυθεί, υπάρχει η απότομη απελευθέρωση πολύ υψηλής θερμότητας και πίεσης· η ενέργεια που απελευθερώνεται βοηθά τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ του HBD και HBA, που οδηγούν στο σχηματισμό του DES. Η τεχνολογία των υπερήχων θα αναπτυχθεί εκτενώς στο κεφάλαιο 1.4.1.<sup>14,22</sup>

### **Σύνθεση υποβοηθούμενη με μικροκύματα**

Στη σύνθεση υποβοηθούμενη από μικροκύματα, οι πρώτες ύλες ακτινοβολούνται σε κλειστό σύστημα με ελεγχόμενη ισχύ και θερμοκρασία. Τα μίγματα ομογενοποιούνται χρησιμοποιώντας vortex και ακολουθεί επεξεργασία σε αντιδραστήρα μικροκυμάτων. Η θερμοκρασία και η πίεση μέσα στον αντιδραστήρα ελέγχεται και παρέχεται μια σταθερή ροή αέρα η οποία εξασφαλίζει τον αυστηρό έλεγχο των συνθηκών σύνθεσης. Η ακτινοβολία αλληλεπιδρά με το υλικό, προκαλώντας περιστροφή διπόλου που οδηγεί σε συγκρούσεις μεταξύ των μορίων του δότη του δεσμού υδρογόνου (HBD) και του δέκτη (HBA), με αποτέλεσμα τη διηλεκτρική θέρμανση που μειώνει το χρόνο σύνθεσης. Μετά τη σύνθεση, τα DES αποθηκεύονται σε ξηραντήρες, σε θερμοκρασία δωματίου.<sup>14</sup>

#### **1.3.2.5. Εφαρμογές**

Τα DES χάρις των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών τους μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε διάφορες εφαρμογές. Αυτή η υποενότητα επικεντρώνεται στις εφαρμογές των DES, όπως η συνθετική χημεία, η ηλεκτροχημεία, υλικά, η βιοχημεία, οι τεχνικές διαχωρισμού και η αναλυτική χημεία. Ωστόσο μπορεί να υπάρχει κάποια αλληλοεπικάλυψη μεταξύ αυτών των κατηγοριών.

#### **Συνθετική Χημεία**

Τα DES μπορούν να συμβάλλουν σημαντικά στον τομέα της κατάλυσης και της οργανικής σύνθεσης προς τον σχεδιασμό οικολογικά αποδοτικών διαδικασιών. Συγκεκριμένα, παρέχουν τη δυνατότητα εκλεκτικής και εύκολης παραλαβής προϊόντων της αντίδρασης από τη φάση του DES και εύκολης προσαρμογής του pH σε κατάλληλες τιμές. Μπορούν επίσης να διαλύσουν όχι μόνο οργανικές

ενώσεις αλλά και ανόργανα άλατα και μέταλλα που προέρχονται από σύμπλοκα ή νανοσωματίδια ενώ παράλληλα έχουν την δυνατότητα ανακύκλωσης επαναχρησιμοποίησης. Την ίδια στιγμή τα DES θα μπορούσαν να έχουν καίρια θέση στον σχεδιασμό καινοτόμων διαδικασιών για την καταλυτική μετατροπή της βιομάζας.

Στον τομέα της κατάλυσης μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως διαλύτες σε αντιδράσεις που καταλύονται από βάση, από οξύ ή κάποιο μέταλλο, ενώ ουσιώδης είναι και η σημασία τους σε βιοκαταλυτικές αντιδράσεις. Αναφορικά με το τελευταίο, είναι αξιοσημείωτη η σταθερότητα των ενζύμων στα DES.

Στον τομέα της οργανικής σύνθεσης, η αναζήτηση πράσινου διαλύτη παρουσιάζει επίσης μεγάλο ενδιαφέρον και στοχεύει στη μείωση της χρήσης χημικών όπως οι οργανικοί και ανόργανοι διαλύτες που επηρεάζουν σημαντικά το οικονομικό και οικολογικό αποτύπωμα αυτής της αντίδρασης. Ο ρόλος τους είναι καίριος ως προς την ομογενοποίηση των αντιδραστηρίων αλλά παράλληλα στις περισσότερες αντιδράσεις τα DES δεν ήταν μόνο διαλύτες για αντιδραστήρια, αλλά και καταλύτες. Ιδιαίτερη θέση έχουν στην κατάλυση αντιδράσεων πολλαπλών συστατικών (Multicomponent Reactions: MCRs), οι οποίες οδηγούν στο σχηματισμό σύνθετων ενώσεων σε ένα βήμα, όπου ενισχύουν τον πράσινο χαρακτήρα επιτυγχάνοντας υψηλές αποδόσεις.<sup>19</sup>

### **Βιοχημεία**

Οι βιολογικές δράσεις συνήθως εκτελούνται σε υδατικά διαλύματα και ιοντικά υγρά, και η χρήση των DES ως διαλυτών έχει επίσης προσελκύσει προσοχή καθώς δεν έχουν μόνο πολλά χαρακτηριστικά συμβατικών ιοντικών υγρών αλλά έχουν επίσης μειωμένη τοξικότητα και αυξημένη βιοαποικοδομησιμότητα και βιοσυμβατότητα. Μάλιστα έπειτα από έρευνα διαπιστώθηκε πως εξέτασε την καταλυτική δραστηριότητα διάφορων υδρολασών και λιπασών αυξάνεται εντός των DES. Επιπρόσθετα θεωρείται πως ο σχηματισμός φυσικών DES από χημικές ουσίες που υπάρχουν σε υψηλή συγκέντρωση σε ζωντανά κύτταρα μπορεί να συμβάλει στην εξήγηση μηχανισμών και φαινομένων που είναι σήμερα δύσκολο να κατανοηθούν και την ανταπόκριση των ζωντανών οργανισμών στις ακραίες συνθήκες.<sup>19</sup>

### **Τεχνικές διαλυτοποίησης και διαχωρισμού**

Οι DES είναι ικανά να δίνουν ή να δέχονται ηλεκτρόνια ή πρωτόνια για να σχηματίσουν δεσμούς υδρογόνου, στοιχείο που τους καθιστά καλούς διαλύτες για μεγάλο εύρος πολικών αλλά και άπολων μορίων. Αυτό συνδυαστικά με το γεγονός πως μπορούν να παραχθούν με τέτοιο τρόπο και συστατικά ώστε να έχουν τα επιθυμητά χαρακτηριστικά για μία διεργασία τους καθιστά ιδιαίτερα ελκυστικούς διαλύτες για εκχύλιση φυσικών πρώτων υλών. Το πλέγμα δυνάμεων που αναπτύσσεται μεταξύ DES και εκχυλίσματος φαίνεται να προστατεύει τις ουσίες από υποβάθμισή τους οπότε η απομόνωση των ουσιών από τον διαλύτη δεν είναι απαραίτητη.

Με την παρόμοια λογική χρησιμοποιείται και στον καθαρισμό του βιοντίζελ από αλκοόλες. Τα DES μπορούν να απορροφήσουν αλκοόλες σε διεργασίες εκχύλισης από το βιοντίζελ, επειδή αυτές είναι ένας τύπος HBD. Έρευνες έδειξαν ότι DES με βάση τη γλυκερόλη είχαν χαμηλότερη αποτελεσματικότητα απομάκρυνσης σε

σχέση με οι DES με βάση το φωσφόριο. Τα DES μπορούν ομοίως να χρησιμοποιηθούν για τον διαχωρισμό αρωματικών υδρογονανθράκων από μια ποικιλία μιγμάτων.

Οι καλές διαλυτικές ιδιότητές τους μπορούν να συμβάλλουν επίσης στη διαλυτοποίηση μιας μεγάλης ποικιλίας συστατικών όπως το CO<sub>2</sub>, όπου ο συνδυασμός τους με πράσινα συστήματα DES έχει μεγάλες δυνατότητες για μια ποικιλία χημικών διεργασιών όπως διαχωρισμός και καθαρισμός αερίου, χημική σταθεροποίηση του CO<sub>2</sub>, κατάλυση. Τα DES διαλύουν, επίσης, οξείδια μετάλλων, γεγονός που δίνει μια πράσινη λύση στον διαχωρισμό και την ανακύκλωση μετάλλων, αλλά και φάρμακα. Για το τελευταίο μάλιστα έχουν αναπτυχθεί δοκιμές για την χρήση τους σε χορήγηση φαρμάκων από το στόμα και την μελέτη φαρμακοκινητικών ερευνών. Επιπλέον, αξίζει να σημειωθεί ότι τα DES μπορούν να παίξουν σημαντικό ρόλο ως άνυδροι διαλύτες για νουκλειικά οξέα καθώς διαπιστώθηκε πως μπορούν να «μετουσιωθούν» αντιστρεπτά κατά τη θέρμανση σε DES.<sup>19</sup>

### **Ηλεκτροχημεία**

Τα DES χρησιμοποιούνται στην ηλεκτροχημεία ως ηλεκτρολύτες για ηλεκτροαπόθεση μετάλλου, για ηλεκτροχημική αντίδραση, για διάλυση μετάλλων, για την επιλεκτική ανάκτηση καθαρών μετάλλων κ.α..

Τα βασικά πλεονεκτήματα της χρήσης DES έναντι υδατικών ηλεκτρολυτών είναι η υψηλή διαλυτότητα μεταλλικών αλάτων, η απουσία νερού και η υψηλή αγωγιμότητα σε σύγκριση με τους μη υδατικούς διαλύτες. Τα πιθανά ηλεκτροχημικά παράθυρα των DES είναι μεγαλύτερα από αυτά των υδατικών διαλυμάτων. Επίσης είναι πιο οικονομικά σε σύγκριση με τα συμβατικά ιοντικά υγρά ενώ είναι ευκολότερο να παραχθούν σε μεγάλη κλίμακα και να χρησιμοποιηθούν στις βιομηχανίες επεξεργασίας μετάλλων και εξόρυξης μετάλλων. Η έρευνα που αφορά τη μεταποίηση μετάλλων έχει διαιρεθεί σε τρία ευρέα θέματα σε αυτήν την ανασκόπηση: ηλεκτροαπόθεση μετάλλων, ηλεκτρολυτική επίστρωση μετάλλων και εξόρυξη μετάλλων και επεξεργασία οξειδίων μετάλλων.

Ενδεικτικά αναφορικά με την ηλεκτροαπόθεση μετάλλων, αυτή μπορεί να πραγματοποιηθεί παρουσία διαφόρων διαλυτών, αλλά περιορίζεται από τα οξειδοαναγωγικά παράθυρα του εξεταζόμενου διαλύτη. Στους υδατικούς διαλύτες, η ηλεκτροαπόθεση μετάλλων περιορίζεται γενικά σε εκείνα που εμφανίζουν δυναμικό οξειδοαναγωγής υψηλότερο από αυτό του νερού. Οι οργανικοί διαλύτες είναι επίσης ελκυστικοί για την ηλεκτροαπόθεση κυρίως επειδή μερικοί από αυτούς παρουσιάζουν ένα πιθανό παράθυρο που είναι 1.5-2.5 φορές μεγαλύτερο από αυτό των κοινών υδατικών ηλεκτρολυτών οξέος. Τα DES θα μπορούσαν λοιπόν να αποτελούν την βέλτιστη λύση ως ηλεκτρολύτες αξιοποιώντας τις ιδιότητές τους όπως η αντοχή τους στο νερό, το χαμηλό κόστος και η βιοαποικοδομησιμότητα.<sup>10,19</sup>

### **Επιστήμη των υλικών**

Στην επιστήμη των υλικών μπορούν να χρησιμοποιηθούν τα DES για την σύνθεση ενός ευρέος φάσματος ανόργανων υλικών με διαφορετικές υφές και δομές. Στη συμβατική παρασκευή ανόργανων υλικών χρησιμοποιούνται νερό ή οργανικοί

διαλύτες σε πολλές περιπτώσεις στο θερμικό στάδιο για την κρυστάλλωση και το σχηματισμό της δομής (solvothermal synthesis). Πρόσφατα, αναπτύχθηκε μία εναλλακτική λύση (ionothermal synthesis), η οποία περιλαμβάνει κυρίως ιοντικά υγρά ή βαθέως ευτηκτικούς διαλύτες (DESs) ως διαλύτες, υποστρώματα (templating agents), αντιδραστήρια κ.λ.π.. Οι διεργασίες αυτές μπορούν να πραγματοποιηθούν σε χαμηλή πίεση λόγω της χαμηλής πτητικότητας των διαλυτών σε αντίθεση με τις συμβατικές οι οποίες απαιτούσαν χρήση αυτόκλειστου. Χαρακτηριστική εφαρμογή αποτελεί η σύνθεση πορωδών υλικών από άνθρακα: τα DES σε αυτή τη διαδικασία εξασφαλίζουν την ομοιογένεια των αντιδραστηρίων, βοηθούν στην καθοδήγηση της δομής των πόρων ενώ ταυτόχρονα αποτελούν πηγή άνθρακα και αζώτου.

Άλλο ένα πολλά υποσχόμενο πεδίο είναι η νανοτεχνολογία και συγκεκριμένα η σύνθεση νανοσωματιδίων. Εξαιτίας των φυσικοχημικών ιδιοτήτων των DES, αυτά μπορούν να παίξουν ρόλο στην προετοιμασία νανοϋλικών. Πιθανώς μπορεί να παίξουν ρόλο σταθεροποιητή καθώς έρευνες δείχνουν πως τα νανοσωματίδια δεν αναπτύσσονται με την πάροδο του χρόνου μέσα σε DES.

Τα DES, επιπρόσθετα, συμμετέχουν στη σύνθεση πολυμερών τόσο ως διαλύτες μονομερών όσο και ως μέσο πολυμερισμού. Παράλληλα παρέχουν υψηλότερη απόδοση και μικρότερο κόστος σε σύγκριση με κανονικούς οργανικούς διαλύτες και ιοντικά υγρά.<sup>19</sup>

### **Αναλυτική Χημεία**

Όπως αναφέρθηκε και στο κεφάλαιο 1.2, η προκατεργασία δείγματος στις αναλυτικές τεχνικές αποτελεί ένα αναπόσπαστο αλλά και ρυπογόνο στάδιο. Είναι απαραίτητη, λοιπόν, η ανάπτυξη διαδικασιών που οι νέες διαδικασίες να πληρούν τις απαιτήσεις της πράσινης χημείας. Η χρήση των DES στην αναλυτική χημεία μπορεί να είναι πολυποίκιλη. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην (μικρό)εκχύλιση συγκεκριμένων αναλυτών από πολύπλοκες μήτρες οι οποίοι στη συνέχεια ποσοτικοποιούνται με χρήση αναλυτικών οργάνων. Βοηθούν στη διαλυτοποίηση ή καθίζηση στερεών δειγμάτων. Χρησιμοποιούνται σε χρωματογραφικές αναλύσεις ως πρόσθετα για τροποποίηση της κινητής φάσης. Τέλος τα DES μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανίχνευση ιχνοστοιχείων σε βιολογικά δείγματα.<sup>23</sup>

### **Φαρμακευτική Χημεία**

Τα τελευταία χρόνια έχει πραγματοποιηθεί εξέλιξη στη χρήση των DES και των TheDES για φαρμακευτική σύνθεση. Συγκεκριμένα τα DES μπορούν να διαλύσουν αποτελεσματικά τις αδιάλυτες στο νερό δραστικές ουσίες και να βρουν εφαρμογή σε φαρμακολογικές και τοξικολογικές αξιολογήσεις υποψηφίων φαρμάκων. Παράλληλα υπό διερεύνηση βρίσκεται η in vivo συμπεριφορά των δραστικών ουσιών που διαλύονται στο DES και η αξιολόγηση της βιοδιαθεσιμότητάς τους. Επιπλέον, τα DES μπορούν να χρησιμοποιηθούν για επούλωση τραυμάτων ή ως αντιβακτηριακές ουσίες. Αναφορικά με τα TheDES, τα οποία περιέχουν κάποια δραστική ουσία (API) φαίνεται πως μπορούν σύντομα να χρησιμοποιηθούν σε κλινικές μελέτες, όπως φαίνεται από την περίπτωση κάποιων τοπικών αναισθητικών. Αυτά τα DES όπως έχει αναφερθεί και στην Ενότητα 1.3.2.2 μπορούν να συμβάλουν στη βελτίωση φαρμακευτικών ιδιοτήτων διαφόρων δραστικών ουσιών όπως η διαλυτότητα, η διαπερατότητα και ο πολυμορφισμός.



Η εφαρμογή τους σε δερματική και διαδερμική χορήγηση φαρμάκων φαίνεται να είναι ελπιδοφόρα. Συγχρόνως, τα DES μπορούν να βοηθήσουν στο σχεδιασμό καινοτόμων και εξελιγμένων υλικών με φαρμακευτικό ενδιαφέρον όπως ανόργανα νανοϋλικά, πολυμερή και βιοπολυμερή, τα οποία είναι φορείς φαρμάκων.<sup>24</sup>

## 1.4. Τεχνικές Υψηλής Ενέργειας

### 1.4.1. Υπέρηχοι

Η χρήση υπερηχητικής ακτινοβολίας ως πηγή πράσινης ενέργειας έχει σημαντική χρησιμότητα στον τομέα της φαρμακευτικής και της πράσινης χημείας. Έχει προσελκύσει την προσοχή των επιστημονικών και βιομηχανικών ερευνητών ως μια αβλαβής, «πράσινη» τεχνολογία για διάφορες χημικές διεργασίες όπως η εφαρμογή στην οργανική σύνθεση. Σε σύγκριση με τις παραδοσιακές μεθόδους, η διαδικασία είναι πιο βολική, γρήγορη, απλή και εύκολη. Ένας μεγάλος αριθμός οργανικών αντιδράσεων μπορεί να διεξαχθεί σε υψηλότερη απόδοση, μικρότερο χρόνο αντίδρασης ή ήπιες συνθήκες με τη χρήση υπερηχητικής ακτινοβολίας.

Οι υπέρηχοι παράγονται με σχετικά απλές συσκευές, στις οποίες δονείται κάποιο άκρο τους (π.χ. με τη μορφή κατάλληλης ράβδου) και οι συχνότητες που δημιουργούνται και χρησιμοποιούνται στις συνήθως οργανικές συνθέσεις είναι της τάξης των 20 kHz με 1 MHz. Οι υπέρηχοι περικλείουν μεγάλη ενέργεια και μπορούν να επιταχύνουν σημαντικά μια χημική αντίδραση. Ο μηχανισμός που προκαλεί την ενεργειακή έκλυση μέσα σε υγρά ονομάζεται φαινόμενο της ακουστικής σπηλαιώσης και κατάρρευσης (cavitation collapse). Η σπηλαιώδης κατάρρευση παράγει έντονη τοπική θέρμανση (της τάξης των 5000 K) και υψηλή πίεση (της τάξης των 1000 atm). Οι κοιλότητες (μικροφουσαλίδες ατμού/κενού) σχηματίζονται από υπερηχητικά κύματα υψηλής ενέργειας και διογκώνονται μέχρι ένα μέγιστο μέγεθος ενώ στη συνέχεια καταστρέφονται, απελευθερώνοντας την ενέργειά τους. Το αθροιστικό αποτέλεσμα εκατομμυρίων συνεχών μικροσκοπικών διασπάσεων μικροφουσαλίδων σε ένα υγρό μέσο προσφέρει την απαραίτητη ενέργεια για την πραγματοποίηση των αντιδράσεων. Αποτέλεσμα αυτού είναι η επιτάχυνση του ρυθμού των αντιδράσεων σε σύγκριση με τις παραδοσιακές μεθόδους που απαιτούν γενικά μεγαλύτερο χρόνο αντίδρασης, υψηλές θερμοκρασίες και δαπανηρά αντιδραστήρια. Στις χημικές εφαρμογές οι υπέρηχοι απαιτούν μόνο την παρουσία ενός υγρού μέσου, στο οποίο θα μπορούν να σχηματιστούν κοιλότητες (π.χ. σαν φουσαλίδες αέρα), ώστε να μεταδώσουν τη μεγάλη ισχύ τους.<sup>1,9,22</sup>

### 1.4.2. Μικροκύματα

Η χρήση μικροκυμάτων χρησιμοποιείται ευρέως και με μεγάλη επιτυχία, γιατί μπορεί να δώσει υψηλές αποδόσεις υπό ηπιότερες και φιλικότερες προς το περιβάλλον συνθήκες, συχνά χωρίς τη προσθήκη διαλυτών αλλά και με μικρότερη κατανάλωση ενέργειας. Οι εφαρμογές της μικροκυματικής ακτινοβολίας είναι ποικίλες, ενδεικτικά περιλαμβάνουν αντιδράσεις κυκλοπροσθήκης, σύνθεση ραδιοϊσοτόπων, ετεροκυκλικών ενώσεων και υδρογονανθράκων, την ομογενή και ετερογενή κατάλυση.

Τα μικροκύματα είναι ηλεκτρομαγνητικά κύματα που έχουν ένα εύρος συχνότητας από περίπου 0.3 GHz μέχρι 300 GHz. Η μικροκυματική ακτινοβολία προκαλεί θέρμανση μέσω, κυρίως, δύο μηχανισμών: τη διπολική πόλωση και την ιοντική μεταγωγή. Παρόλο το ότι τα δίπολα που βρίσκονται στο μίγμα συμμετέχουν στο αποτέλεσμα της διπολικής πόλωσης, τα φορτισμένα σωματίδια του δείγματος επηρεάζονται, κυρίως, από την ιοντική μεταγωγή. Ο βασικός μηχανισμός της θέρμανσης με μικροκύματα αφορά την ενεργοποίηση των πολικών μορίων ή των ιόντων τα οποία πάλλονται κάτω από την επίδραση ενός

παλλομένου ηλεκτρομαγνητικού πεδίου. Με την παρουσία του παλλόμενου φορτίου, τα σωματίδια προσπαθούν να προσανατολιστούν ή να πάλλονται σε φάση με το πεδίο. Παρ' όλα αυτά, η κίνηση αυτών των σωματιδίων περιορίζεται από δυνάμεις, όπως είναι η αλληλεπίδραση των σωματιδίων μεταξύ τους και η ηλεκτρική αντίσταση, οι οποίες δυνάμεις περιορίζουν την κίνηση των σωματιδίων και παράγουν τυχαία κίνηση παράγοντας θερμότητα. Μονό τα υλικά που απορροφούν τη μικροκυματική ακτινοβολία μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη μικροκυματική χημεία.

Οι αντιδράσεις με τη χρήση μικροκυμάτων προτιμώνται έναντι των συμβατικών οι οποίες συχνά απαιτούν τη χρήση ακραίων συνθηκών όπως υψηλές θερμοκρασίες και μεγάλους χρόνους αντιδράσεων και την ρύθμιση περαιτέρω παραμέτρων όπως η παρουσία αδρανούς ατμόσφαιρας. Τα πλεονεκτήματα της χρήσης της μικροκυματικής ακτινοβολίας στη χημεία αφορούν την αύξηση της ταχύτητας των αντιδράσεων, των αποδόσεών τους και τη μεγαλύτερη επαναληψιμότητά τους. Τα μικροκύματα παράλληλα παρέχουν ομοιόμορφη και επιλεκτική θέρμανση και μεγαλύτερη επαναληψιμότητα οδηγώντας σε αποδοτικότερα συστήματα θέρμανσης.<sup>1,25</sup>

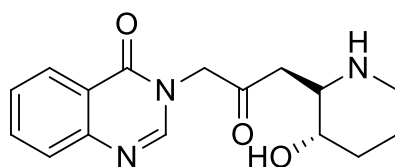
## 2. Κιναζολινόνες

Η σύνθεση ετεροκυκλικών ενώσεων καταλαμβάνει ένα σημαντικό μέρος της έρευνας στην οργανική χημεία καθώς αυτές εμφανίζουν ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών σε πολλούς κλάδους όπως η φαρμακευτική, η κτηνιατρική και η αγροχημεία. Οι κιναζολινόνες είναι μία κατηγορία ετεροκυκλικών ενώσεων που περιέχουν άζωτο και παρουσιάζουν ενδιαφέρον λόγω του μεγάλου εύρους των βιολογικών ιδιοτήτων τους.

Η κιναζολινόνη είναι ένα δομικό στοιχείο για περίπου 150 φυσικά απαντώμενα αλκαλοειδή που έχουν απομονωθεί μέχρι σήμερα από πολλές οικογένειες του φυτικού βασιλείου, ζώα και μικροοργανισμούς. Το πρώτο μόριο κιναζολινόνης φαίνεται να παρασκευάστηκε το 1869 (2-ethoxyquinazolin-4(3H)-one) από ανθρανιλικό οξύ και δικυάνιο παρουσία αιθανόλης. Ακολούθησε ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τις ενώσεις αυτές έπειτα από την απομόνωση ενός αλκαλοειδούς (febrifugine – Σχήμα 2.1) από το φυτό *Dichroa febrifuga* (Εικόνα 2.1), το οποίο αποτελεί συστατικό ενός κινέζικου φυτικού φαρμάκου, αποτελεσματικό έναντι της ελονοσίας. Το 1951 συντέθηκε η μεθακαλόνη (methaqualone), ένα από τα πιο γνωστά φάρμακα που κυκλοφόρησε με βάση την κιναζολινόνη, η οποία έχει ηρεμιστικές και μυοχαλαρωτικές ιδιότητες αλλά προκαλούσε παρενέργειες όπως η φωτοευαισθησία, στοιχείο που οδήγησε στον τερματισμό κυκλοφορίας της το 1984. Ωστόσο αυτές ιδιότητες των κιναζολινονών χρησιμοποιήθηκαν ευρέως και σήμερα αρκετά από τα ηρεμιστικά φάρμακα που κυκλοφορούν περιέχουν κιναζολινόνες. Η χρήση τους έχει προταθεί και για τη θεραπεία του καρκίνου, για παράδειγμα ως χημειοθεραπευτικός παράγοντας.<sup>26</sup>



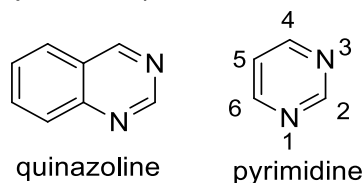
Εικόνα 2.1: *Dichroa febrifuga*



Σχήμα 2.1: Χημική δομή febrifugine {3-[b-keto-g-(3-hydroxy-2-piperidyl)-propyl]-4-quinazolone}

Οι κιναζολινόνες είναι ανάλογα των κιναζολινών, αποτελούνται από κιναζολίνη (Σχήμα 2.2) και μία κετο-ομάδα (=O). Αναλυτικότερα, περιέχουν μια επίπεδη αρωματική περιοχή κιναζολίνης, δέκτη δεσμού υδρογόνου στη θέση 4, υδρόφοβο τμήμα στη θέση 3 και αρωματική περιοχή στις θέσεις 1 ή 2 του πυρήνα. Μία σειρά

παραγόντων επηρεάζουν τη δομή τους, συμπεριλαμβανομένου του τύπου και της θέσης του υποκαταστάτη στα άτομα C<sub>4</sub> και C<sub>5</sub>, τη διεδρική γωνία της αρυλομάδας (στο άτομο C<sub>4</sub>) σε σχέση με τον ετεροκυκλικό δακτύλιο, τον προσανατολισμό της καρβονυλομάδας (στο άτομο C<sub>5</sub>) σε σχέση με τον δεσμό C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub> του ετεροκυκλικού δακτυλίου και την απόκλιση των ατόμων C<sub>4</sub> και N<sub>1</sub> από το επίπεδο.<sup>27</sup>



Σχήμα 2.2: Παρουσίαση του δακτυλίου κιναζολίνης (βενζοπυριμιδίνης) και του αριθμημένου δακτυλίου πυριμιδίνης

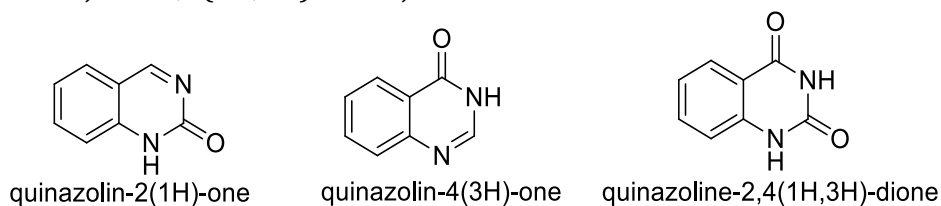
Οι κιναζολινόνες μπορούν να ταξινομηθούν σε πέντε κατηγορίες βάσει της υποκατάστασης του δακτυλίου.

- 2-Υποκατεστημένες-4 (3H) -κιναζολινόνες
- 3-Υποκατεστημένες-4 (3H) -κιναζολινόνες
- 4-Υποκατεστημένες-κιναζολίνες
- 2,3-Διυποκατεστημένες-4 (3H) -κιναζολινόνες
- 2,4-Διυποκατεστημένη-4 (3H) -κιναζολινόνες

Οι ιδιότητες των υποκατεστημένων κιναζολινονών εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από (α) τη φύση των υποκαταστατών, (β) εάν βρίσκονται στον δακτύλιο πυριμιδίνης ή στον δακτύλιο βενζολίου και (γ) εάν υπάρχει ή όχι πλήρης σύζευξη στον δακτύλιο πυριμιδίνης.<sup>28</sup>

Ανάλογα με τη θέση της κετο-ομάδας, αυτές οι ενώσεις μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις τύπους (Σχήμα 2.3):

- Κιναζολιν-2(1H)-όνες
- Κιναζολιν-4(3H)-όνες
- Κιναζολιν-2,4(1H,3H)-διόνες



Σχήμα 2.3: Κατηγορίες κιναζολινονών ανάλογα με τη θέση της κετο-ομάδας

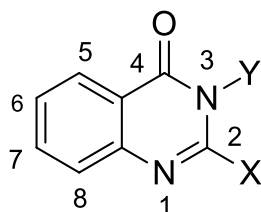
Από τις τρεις αυτές δομές, οι κιναζολιν-4(3H)-όνες είναι οι πιο διαδεδομένες, είτε ως ενδιάμεσα είτε ως φυσικά προϊόντα σε πολλές προτεινόμενες βιοσυνθετικές οδούς. Αυτό οφείλεται εν μέρει στη δομή που προέρχεται από τα ανθρανιλικά παράγωγα (ανθρανιλικό οξύ ή διάφορους εστέρες, ανθρανιλαμίδιο και ανθρανιλονιτρίλιο).<sup>29</sup>

## 2.1. 2,3-Κιναζολιν-4(3H)-όνες

Οι κιναζολιν-4(3H)-όνες και τα παράγωγά τους παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον και θεωρούνται προνομιούχες δομές λόγω των πολλών θέσεων υποκατάστασης που φέρουν και για το λόγο αυτό διαθέτουν ευρύ φάσμα βιολογικών δράσεων, όπως αντικαρκινική, μυοχαλαρωτική, υπνωτική, αντιφλεγμονώδη, διουρητική και αντιυπερτασική, και χρησιμοποιούνται ευρέως σε φαρμακευτικά προϊόντα. Κάποια από αυτά διατίθενται στην αγορά, όπως afloqualone, balaglitazone, halofuginone κ.λπ. Συγκεκριμένα οι 2,3-δισυποκατεστημένες κιναζολιν-4(3H)-όνες έχουν αποκτήσει εμπορική σημασία με τη μορφή φαρμάκων όπως η ρουτακαρπίνη (rutaecarpine), αφλοκουαλόνη (afloqualone) και ραλτιτρεξίδη (raltitrexed). Λόγω αυτής της σημασίας, υπάρχει σημαντικό ενδιαφέρον και ανάγκη διερεύνησης και βελτιστοποίησης της σύνθεσης των κιναζολινονών και των παραγώγων τους.<sup>30</sup>

### 2.1.1. Δομή

Οι 2,3-κιναζολιν-4(3H)-όνες, η δομή των οποίων παρουσιάζεται στο Σχήμα 2.4, αποτελούνται από ένα φαινυλικό δακτύλιο συμπυκνωμένο με έναν εξαμελή δακτύλιο με δύο άτομα αζώτου στις θέσεις 1 (N<sub>1</sub>) και 3 (N<sub>3</sub>) και μία κετο-ομάδα στον άνθρακα της θέσης 4 (C<sub>4</sub>). Αυτά τα παράγωγα υφίστανται υποκαταστάσεις στον χειρόμορφο άνθρακα της θέσης 2 (C<sub>2</sub>) και 3 (C<sub>3</sub>) του δακτυλίου. Επίσης σχηματίζεται διπλός δεσμός μεταξύ N<sub>1</sub> και C<sub>2</sub>.



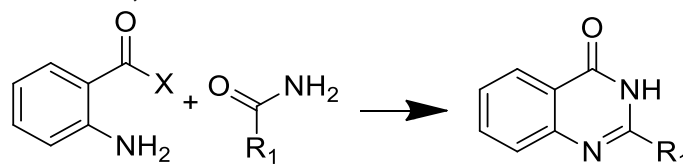
Σχήμα 2.4: Δομή 2,3-κιναζολιν-4(3H)-όνης

### 2.1.2. Μέθοδοι Σύνθεσης

Στη βιβλιογραφία έχει αναπτυχθεί πληθώρα συνθετικών μεθόδων και συνθηκών για την παρασκευή 2,3-κιναζολιν-4(3H)-ονών. Κάποιες από τις συνηθέστερες μεθόδους παρουσιάζονται παρακάτω.

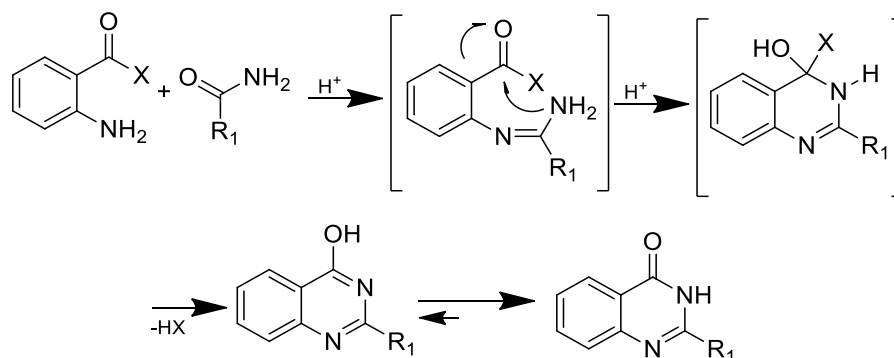
#### Συμπύκνωση ανθρανλικού οξέος (ή παραγώγων) με αμίδιο (Σύνθεση Niementowski)

Μία από τις επικρατέστερες συνθετικές οδούς κιναζολινονών είναι η σύνθεση Niementowski· αυτή περιλαμβάνει συμπύκνωση ανθρανλικού οξέος ή παραγώγου του με ένα αμίδιο υπό όξινες καταλυτικές συνθήκες και θέρμανση (Σχήμα 2.5). Η μέθοδος αυτή μπορεί να εφαρμοστεί και σε άλλες καρβονυλικές ενώσεις, όπως οι κετόνες.<sup>30</sup>



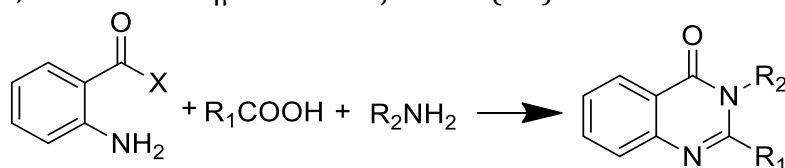
Σχήμα 2.5: Μέθοδος Niementowski για την σύνθεση

Η αντίδραση πραγματοποιείται με τον αρχικό σχηματισμό ενδιάμεσου προϊόντος από την αντίδραση της αμινομάδας του ανθρανιλικού παραγώγου με την καρβonyλομάδα του αμιδίου. Στη συνέχεια ακολουθεί πυρηνόφιλη προσθήκη του αζώτου στην καρβonyλομάδα και ενεργοποίησή της με πρωτονίωση συνοδευόμενη με απομάκρυνση αμίνης ή μορίων νερού (Σχήμα 2.6).



Σχήμα 2.6: Μηχανισμός της αντίδρασης Niementowski

Η αντίδραση που περιγράφεται παραπάνω επικεντρώνεται στον σχηματισμό 2-υποκατεστημένων παραγώγων ωστόσο μπορεί να επεκταθεί στη σύνθεση 3-υποκατεστημένων και 2,3-υποκατεστημένων κιναζολινο-4(3H)-νών. Σε αυτή την περίπτωση τα αμίδια αντικαθίστανται από καρβοξυλικά οξέα και αμίνες (Σχήμα 2.7). Οι τελευταίες αποδίδουν 3-υποκατεστημένες κιναζολινο-4(3H)-όνες ενώ ο συνδυασμός των δύο συστατικών με το ανθρανιλικό παράγωγο οδηγεί στην παραγωγή 2,3-υποκατεστημένων κιναζολινο-4(3H)-νών.<sup>26</sup>

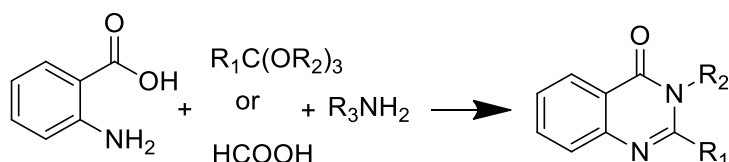


Σχήμα 2.7: Τροποποιημένη μέθοδος Niementowski

Έχουν προταθεί διάφορες πράσινες εναλλακτικές για τις συνθήκες πραγματοποίησης της αντίδρασης. Μία από αυτές είναι η χημική σύνθεση με χρήση μικροκυματικής ακτινοβολίας, η επιλογή αυτή αυξάνει τον βαθμό της αντίδρασης, βελτιώνει τις αποδόσεις και οδηγεί στην παραγωγή καθαρότερων προϊόντων, τα οποία χρειάζονται πιο απλή μετέπειτα επεξεργασία. Επιπλέον προτείνονται όξινα ιοντικά υγρά ή DES αντί των συμβατικών διαλυτών.<sup>26</sup>

### Συμπύκνωση ανθρανιλικού οξέος, ορθοεστέρων και αμινών

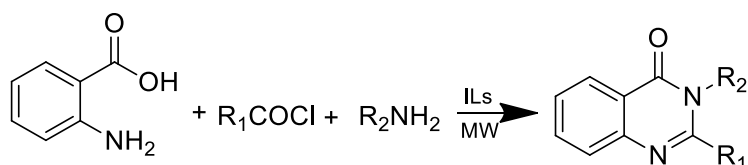
Η αντίδραση περιλαμβάνει συμπύκνωση ανθρανιλικού οξέος, ορθοεστέρων (ή μυρμηκικού οξέος) και αμινών παρουσία όξινου καταλύτη όπως το θειικό οξύ (Σχήμα 2.8). Διαφορετικοί όξινοι καταλύτες είναι γνωστό ότι επηρεάζουν αυτή τη συμπύκνωση. Έχει προταθεί η χρήση του ανακυκλώσιμου  $\text{Bi}(\text{TFA})_3$  ακινητοποιημένο σε  $\text{FeCl}_4$  για την κατάλυση της συμπύκνωσης με υψηλές έως εξαιρετικές αποδόσεις και ήπιες συνθήκες αντίδρασης. Η αντίδραση αυτή ανήκει στις αντιδράσεις πολλαπλών συστατικών (Multi-Component Reaction: MCR).<sup>26</sup>



Σχήμα 2.8: Συμπύκνωση ανθρανιλικού οξέος, ορθοεστέρων και αμινών προς τον σχηματισμό 2,3-κιναζολιν-4(3H)-ονών

Αυτές οι αντιδράσεις χρησιμοποιούν συνήθως διαφορετικούς πτητικούς οργανικούς διαλύτες ή καταλύτες ωστόσο έχουν αναφερθεί πράσινες συνθετικές μέθοδοι στη βιβλιογραφία ώστε να μειωθούν οι επιπτώσεις στο περιβάλλον. Έχει προταθεί αντίδραση τριών συστατικών ενός σταδίου με χρήση τεχνικών υψηλής ενέργειας (μικροκυματική ή υπερηχητική ακτινοβολία) ή χρήση ανακυκλώσιμων διαλυτών ή πράσινων (DES).<sup>29</sup>

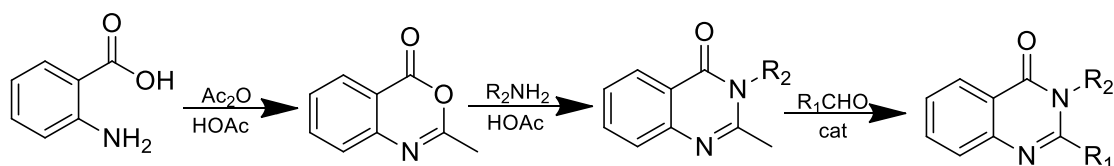
Στο ίδιο μοτίβο έχει προταθεί σύνθεση 2,3-υποκατεστημένων κιναζολιν-4(3H)-ονών με τη συμπύκνωση ανθρανιλικού οξέος με ακυλοχλωρίδια και αρωματικές ή αλειφατικές αμίνες χρησιμοποιώντας όξινα ιοντικά υγρά ως καταλύτη και μικροκύματα. (Σχήμα 2.9)<sup>31</sup>



Σχήμα 2.9: Συμπύκνωση ανθρανιλικού οξέος με ακυλοχλωρίδια και αμίνες προς τον σχηματισμό 2,3-κιναζολιν-4(3H)-ονών

### Σύνθεση μέσω ενδιάμεσου βενζοξαζινόνης

Σε αυτή τη μεθοδολογία το ανθρανιλικό οξύ μετατρέπεται σε βενζοξαζινόνη με οξικό ανυδρίτη σε οξικό οξύ. Έπειτα γίνεται αντίδραση με αμίνη (ή ανιλίνη) παρουσία οξικού οξέος και συμπύκνωση του ενδιάμεσου προϊόντος με αλδεύδη ώστε να σχηματιστούν οι στοχευμένες ενώσεις, 2,3-κιναζολιν-4(3H)-όνες (Σχήμα 2.10).<sup>26</sup>



Σχήμα 2.10: Σύνθεση 2,3-κιναζολιν-4(3H)-ονών μέσω ενδιάμεσου βενζοξαζινόνης

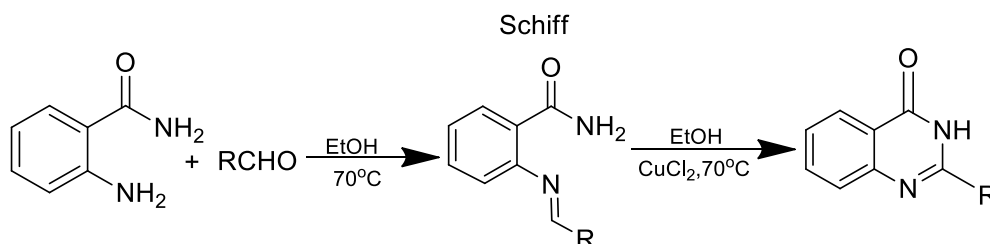
Μπορεί να γίνει αντικατάσταση των οργανικών διαλυτών (στα στάδια μετά των σχηματισμό της βενζοξαζινόνης) που αναφέρονται παραπάνω με DES τόσο για τις διαλυτικές όσο και τις καταλυτικές του ιδιότητες.<sup>29</sup>

### Συμπύκνωση ανθρανιλαμιδίου με αλδεύδες

Η αντίδραση πραγματοποιείται με τη συμπύκνωση αλδευδών με ανθρανιλαμίδιο προς τον σχηματισμό 2-κιναζολιν-4(3H)-ονών. Κατά τη διάρκεια της αντίδρασης (Σχήμα 2.11) εμφανίζονται ενδιάμεσες βάσεις Schiff με την κυκλοποίηση του

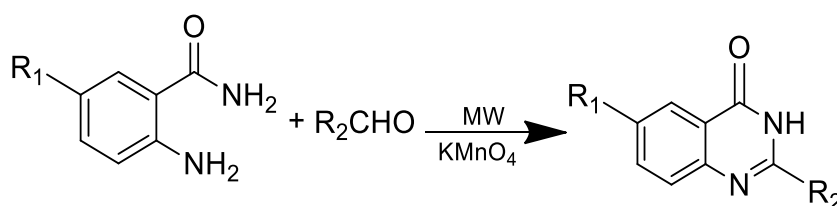


ανθρανιλαμιδίου με την αλδεΐδη σε αναρροή διαλύτη (π.χ. αιθανόλη). Στη συνέχεια παρουσία καταλύτη (π.χ.  $\text{CuCl}_2$ ) γίνεται η μετατροπή σε τελικό προϊόν.<sup>32</sup>



Σχήμα 2.11: Συμπύκνωση αλδεϋδών με ανθρανιλαμίδιο προς τον σχηματισμό 2-κιναζολίν-4(3H)-ονών

Αυτά τα παράγωγα κιναζολινόνης μπορούν να παρασκευαστούν μέσω αντίδρασης ενός σταδίου: το ανθρανιλαμίδιο και η αλδεΐδη παρουσία καταλύτη και διαλύτη μπορούν να αντιδράσουν και να αποδώσουν τις αντίστοιχες κιναζολινόνες με ικανοποιητική απόδοση. Συγκεκριμένα μία τέτοια περίπτωση (Σχήμα 2.12) αναφέρεται στην οξειδωτική ετεροκυκλοποίηση ο-αμινοβενζαμιδίων με αλδεύδες παρουσία  $\text{KMnO}_4$  υπό μικροκυματική ακτινοβολία. Σαν διαλύτης σε αυτή τη μέθοδο χρησιμοποιήθηκε αιθανόλη ακόμη και νερό.<sup>26</sup>

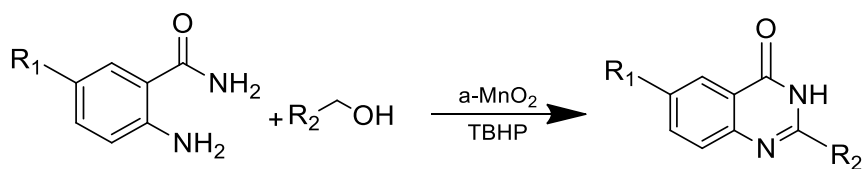


Σχήμα 2.12: Συμπύκνωση αλδεϋδών με ανθρανιλαμίδιο προς τον σχηματισμό 2-κιναζολίν-4(3H)-ονών σε μικροκύματα

Για την επίτευξη της αντίδρασης έχουν διερευνηθεί ποικίλες καταλυτικές οδοί όπως  $\text{NaHSO}_3$ ,  $\text{CuCl}_2$  και  $\text{FeCl}_3$ . Πολύ πρόσφατα, αναφέρθηκε μια ενδιαφέρουσα διαδικασία για τη σύνθεση κιναζολινινών υπό συνθήκες χωρίς καταλύτες.<sup>33</sup>

### Συμπύκνωση ανθρανιλαμιδίου με αλκοόλες

Όσον αφορά τη σύνθεση των κιναζολινονών, η άμεση χρήση εμπορικά διαθέσιμων και φθηνών αλκοολών ως πρώτες ύλες είναι ιδιαίτερα ελκυστική. Σε αυτόν τον μετασχηματισμό, η αλκοόλη μπορεί πιθανώς να εξυπηρετήσει δύο πιθανές λειτουργίες: πηγή υδρογόνου για αναγωγή αζώτου και αντιδραστήριο αλκυλίωσης στην καταλυτική μεταφορά υδρογόνου. Η διαδικασία περιλαμβάνει την καταλυόμενη ( $\alpha\text{-MnO}_2$ ) οξειδωτική κυκλοποίηση των ανθρανιλαμιδίων με αλκοόλες χρησιμοποιώντας το TBHP ως οξειδωτικό (Σχήμα 2.13). Διερευνήθηκε πως μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφορες αρωματικές αλκοόλες που φέρουν δότες ηλεκτρονίων ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{OCH}_3$ ) και δέκτες ηλεκτρονίων (F, Cl, Br) στον δακτύλιο φαινυλίου παρέχοντας τις επιθυμητές ιδιότητες στις κιναζολινόνες με ικανοποιητικές αποδόσεις.<sup>31</sup>

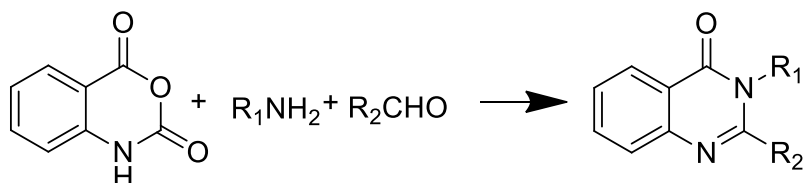


Σχήμα 2.13: Συμπύκνωση ανθρανιλαμιδίου με αλκοόλες προς τον σχηματισμό 2-κοναζολιν-4(3H)-ονών

Η αντίδραση βασίζεται στην οξείδωση της αλκοόλης επί τόπου για να δώσει την αντίστοιχη αλδεΐδη ή κετόνη και ακολουθεί σχηματισμός μίνης και αναγωγή της με υδρογόνο για να παραχθεί αρχικά N-αλκυλιωμένη αμίνη. Με βάση αυτή τη μεθοδολογία, καταδείχτηκε μια σύνθεση κιναζολινονών ενός σταδίου μεταξύ των πρωτοταγών αλκοολών και των ο-αμινοβενζαμιδίων. Πρόσφατα διαπιστώθηκε πως μια σειρά 2,3-κιναζολιν-4(3H)-ονών μπορεί να συντεθεί χρησιμοποιώντας μη τοξικό σίδηρο ως καταλύτη. Τα αλογόνα καθώς και άλλες δραστικές ομάδες δεν παρεμποδίστηκαν υπό τις δεδομένες συνθήκες αντίδρασης.<sup>26</sup>

### Αντίδραση ισατοϊκού ανυδρίτη με αλδεΐδες και αμίνες

Μία πρακτική μέθοδος για την επιλεκτική σύνθεση κιναζολιν-4(3H)-ονών πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας ισατοϊκό ανυδρίτη, οξικό αμμώνιο/αμίνες και αλδεΐδες (Σχήμα 2.14). Η αντίδραση αυτή απαιτεί όξινη κατάλυση και παράγεται αρχικά 2,3-διϋδροκιναζολιν-4(1H)-όνη η οποία λόγω της παρουσίας του διαλύτη μετατρέπεται σε 2,3-κιναζολιν-4(3H)-όνη.



Σχήμα 2.14: Αντίδραση ισατοϊκού ανυδρίτη με αλδεΐδες και αμίνες προς τον σχηματισμό 2,3-κοναζολιν-4(3H)-ονών

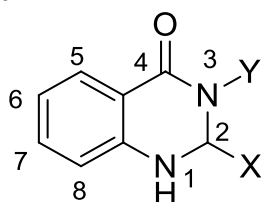
Ως διαλυτικά μέσα μπορεί να χρησιμοποιηθεί ένα ευρύ φάσμα συμβατικών διαλυτών όπως το διχλωρομεθάνιο, το ακετονιτρίλιο, το νερό και η αιθανόλη. Η χρήση αυτών χωρίς καταλύτες δεν οδήγησε σε καλές αποδόσεις. Εξετάζεται, λοιπόν, η χρήση πράσινων διαλυτών όπως τα DES τα οποία όπως έχει προαναφερθεί διαδραματίζουν ρόλο τόσο διαλύτη όσο και καταλύτη.<sup>33</sup> Η αντίδραση αυτή θα διερευνηθεί αναλυτικότερα στην παράγραφο 2.2.2.

## 2.2. 2,3-Διυδροκιναζολιν-4(1H)-όνες

Οι 2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)-όνες είναι μια κατηγορία ετεροκυκλικών ενώσεων που έχουν μεγάλο εύρος βιολογικών και φαρμακευτικών δράσεων. Μεταξύ όλων των παραγώγων κιναζολινονών, αυτές παρουσιάζουν μεγαλύτερο ενδιαφέρον λόγω των δραστηριοτήτων τους όπως η αντιβακτηριακή, διουρητική, αντιμυκησιακή και αντινεοπλασματική. Επιπλέον, θα μπορούσαν εύκολα να οξειδωθούν σε 2-κιναζολιν-4(3H)-όνες, οι οποίες είναι χρήσιμες ως αναστολείς ανάπτυξης έναντι κυττάρων λευχαιμίας. Μερικά παραδείγματα μορίων που χρησιμοποιούνται ως δραστική ουσία σε φάρμακα καθώς και σε βιοδραστικά φυσικά προϊόντα είναι η μετολαζόνη, η κινεθαζόνη, η αφλοκαλόνη, η νολατρεξέδη, η φεριβυγουίνη και η ισοφεριβυγουίνη. Τα αλκαλοειδή της 2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)όνης έχουν επίσης βασικό ρόλο σε διάφορες κυτταρικές διεργασίες και παρουσιάζουν μια ποικιλία φαρμακευτικής δράσης. Λόγω της πολυλειτουργικότητάς τους η επιστημονική κοινότητα έχει στραφεί στην εύρεση νέων συνθετικών μεθόδων για την παρασκευή αυτών των ενώσεων.<sup>9,20</sup>

### 2.2.1. Δομή

Οι 2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)-όνες, η δομή των οποίων παρουσιάζεται στο Σχήμα 2.15, έχουν παρόμοια μορφή με τις 2,3-κιναζολιν-4(3H)-όνες που παρουσιάζονται στην υποενότητα 2.1.1. Η διαφορά τους έγκειται στην απουσία διπλού δεσμού μεταξύ της θέσης 1 και 2 (N<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>).



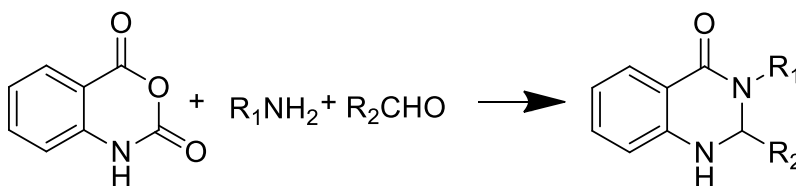
Σχήμα 2.15: Δομή 2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)-όνης

### 2.2.2. Μέθοδοι Σύνθεσης

Σε αντίθεση με μια ποικιλία μεθόδων διαθέσιμων για τη σύνθεση των 2,3-κιναζολιν-4(3H)-ονών, οι συνθετικές μέθοδοι των 2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)-ονών δεν έχουν μεγάλη ποικιλία στην βιβλιογραφία προς το παρόν. Ως εκ τούτου, υπάρχει περιθώριο για την ανάπτυξη νέων, αποτελεσματικών και πιο πρακτικών οδών για τις συνθέσεις αυτών των παραγώγων κιναζολίνης.

#### **Αντίδραση ισατοϊκού ανυδρίτη με αλδεΐδες και οξικό αμμώνιο (ή αμίνες)**

Τη μεγαλύτερη ανταπόκριση στη σύνθεση 2,3-κιναζολιν-4(3H)-ονών έχει η συνθετική οδός με ισατοϊκό ανυδρίτη, οξικό αμμώνιο (ή αμίνες) και αλδεΐδες (Σχήμα 2.16). Σε επέκταση της μελέτης της αντίδρασης (Σχήμα 2.14) στην υποενότητα 2.1.2, σε αυτή την υποενότητα θα εξεταστεί αυτή με τελικό προϊόν οι 2,3-κιναζολιν-4(3H)-όνες. Η αντίδραση πραγματοποιείται παρουσία όξινου καταλύτη. Έχει προταθεί ένα ευρύ φάσμα συνθηκών και βοηθητικών μέσων για την πραγματοποίηση της αντίδρασης με σκοπό να αυξηθεί η απόδοσή της και να γίνει πιο φιλική προς το περιβάλλον. Αυτές οι περιπτώσεις θα αναλυθούν στη συνέχεια.



Σχήμα 2.16: Αντίδραση ισατοϊκού ανυδρίτη με αλδεΐδες και αμίνες προς τον σχηματισμό 2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)-ονών

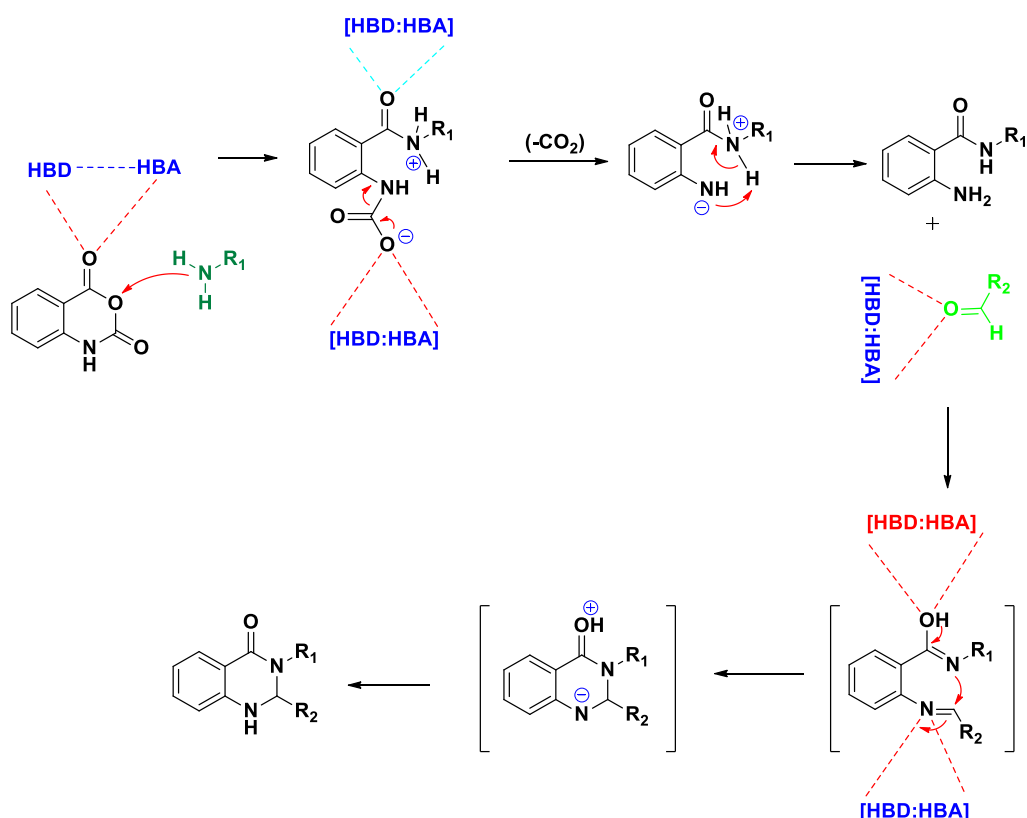
Μία επιλογή όξινου καταλύτη που φαίνεται να παρουσιάζει σημαντικό ενδιαφέρον είναι η χρήση του μεταλλικού  $\text{Ga}(\text{OTf})_3$  το οποίο εμφανίζει χημειο- και τοπο-εκλεκτικότητα, υψηλές αποδόσεις και δυνατότητα ανακύκλωσης και επαναχρησιμοποίησής του. Στη βιβλιογραφία έχει εξεταστεί η χρήση αυτού του καταλύτη σε συνδυασμό με τον διαλύτη διμέθυλοσουλφοξείδιο (DMSO).<sup>33</sup>

Άλλες επιλογές για την αντίδραση είναι τα p-τολουολοσουλφονικά οξέα (p-toluenesulfonic acids) ως καταλύτες υπό έντονες συνθήκες, το θειικό άμυλο, έναν βιο-υποστηριζόμενο όξινο καταλύτη με θέρμανση χωρίς διαλύτη. Μία ακόμα επιλογή μπορεί να είναι καταλυτικά νανοσωματίδια  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SBA-15}$ .<sup>31</sup>

Η χρήση υπερήχων είναι ένα χρήσιμο εργαλείο για το σχεδιασμό και την ανάπτυξη της αντίδρασης. Η χρήση υπερήχων επιταχύνει την αντίδραση και προκαλεί καλύτερη επαφή αντιδραστηρίων, αύξηση του ρυθμού αντίδρασης και αυξημένη επιλεκτικότητα. Αυτή έγινε σε συνδυασμό με τη χρήση όξινων καταλυτικών συστημάτων από νανοσωματίδια. Ο συνδυασμός τους οδήγησε στην ταχύτερη σύνθεση και υψηλότερη απόδοση. Με αυτή τη μέθοδο μπορεί να γίνει σύνθεση μονο- και διυποκατεστημένων διυδροκιναζολιν-4(1H)-ονών. Οι μονο-υποκατεστημένες συντέθηκαν αποτελεσματικά με τη συμπύκνωση ισατοϊκού ανυδρίτη και αρωματικών αλδεϋδών παρουσία οξικού αμμωνίου σε αιθανόλη και ετερογενή υποστηριζόμενο καταλύτη. Επιπλέον, η κατεργασία του ισατοϊκού ανυδρίτη και των αρωματικών αλδεϋδών με αμίνες έδωσε διυποκατεστημένα παράγωγα της 2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)-όνης παρουσία ετερογενούς υποστηριζόμενου καταλύτη σε αιθανόλη με εξαιρετικές αποδόσεις.<sup>27</sup>

Η πιο ελκυστική μέθοδος για την σύνθεση 2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)-ονών φαίνεται να είναι η σύνθεση πολλαπλών συστατικών σε ένα στάδιο. Η σύνθεση, όπως αναφέρεται παραπάνω, πραγματοποιείται με αντιδρώντα ισατοϊκό ανυδρίτη, αλδεΐδη και αμίνη με διάφορες υποκαταστάσεις και παρουσία κάποιου όξινου καταλύτη. Αυτή η μέθοδος παρέχει διάφορα πλεονεκτήματα όπως χαμηλό κόστος, μικρότερο χρόνο αντιδράσεων, υψηλή οικονομία ατόμου, λιγότερες απαιτήσεις σε ενέργεια και ευκολότερη πρόσβαση σε λειτουργικές πρώτες ύλες. Παράλληλα, αξιοποιήθηκε η καταλυτική δράση των βαθώς ευτηκτικών διαλυτών (DES) σε τέτοιου είδους συνθέσεις παραγώγων κινναζολινόνης. Επιλέγονται DES που παράχθηκαν από όξινα συστατικά καθώς όπως διαπιστώθηκε και πειραματικά τα DES τα οποία περιέχουν γλυκερόλη ή ουρία δίνουν χαμηλότερες αποδόσεις, στοιχείο που οφείλεται στην χαμηλότερη οξύτητάς τους. Η σύνθεση αυτού του τύπου μπορεί να εξηγηθεί με τον μηχανισμό που παρουσιάζεται στο Σχήμα 2.17.

DES  
[HBD:HBA]

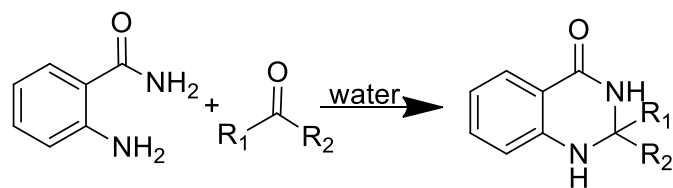


Σχήμα 2.17: Προτεινόμενος μηχανισμός σύνθεσης 2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)-όνης με DES

Ο παραπάνω μηχανισμός σύνθεσης των κιναζολινονών επηρεάζεται σημαντικά από την ύπαρξη των όξινων βαθέως ευτηκτικών διαλυτών. Η αλληλουχία των σταδίων περιλαμβάνει προσβολή της αρωματικής αμίνης στην καρβονυλομάδα του ανυδρίτη ακολουθούμενη από αποκαρβοξυλίωση. Σε αυτό το σημείο η ικανότητα σύνδεσης υδρογόνου του όξινου DES παίζει σημαντικό ρόλο. Το DES μπορεί επίσης να βοηθήσει στη βελτίωση της δραστηριότητας της αρωματικής αλδεΐδης και τέλος στην κυκλοποίηση για τον σχηματισμό του πυρήνα της κιναζολινόνης.<sup>20</sup>

### Συμπύκνωση ανθραμιλαμιδίου με καρβονυλικές ενώσεις

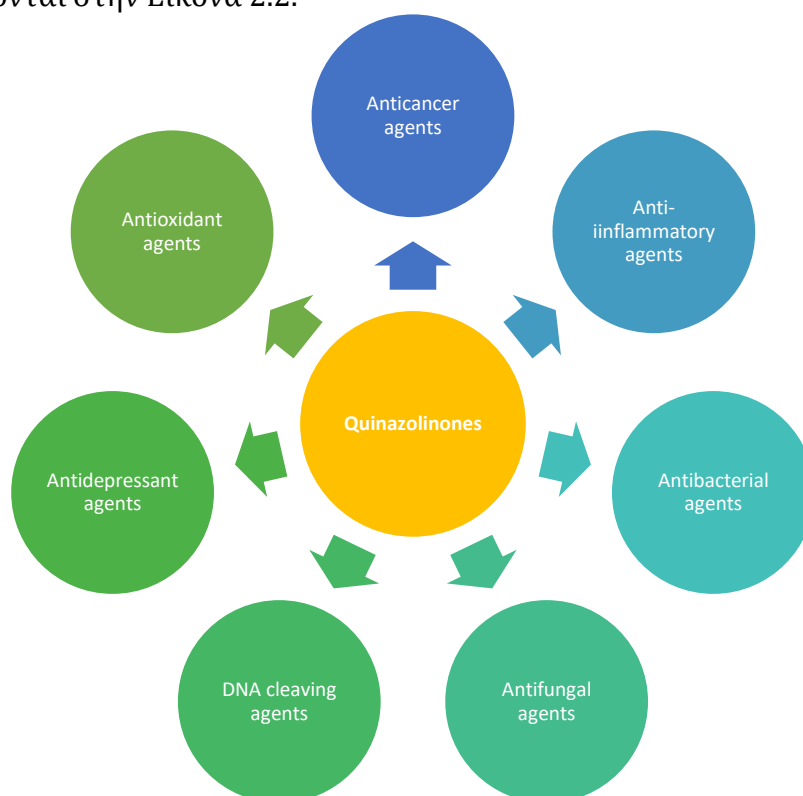
Οι 2-υποκατεστημένες-2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)-όνες συνθέτονται με συμπύκνωση ανθραμιλαμιδίου με αρωματικές αλδεΐδες ή κετόνες παρουσία διαφόρων καταλυτών όπως HCl, p-TSA, SmI<sub>2</sub>, TiCl<sub>4</sub>-Zn, Sc(OTf)<sub>3</sub>, και NH<sub>4</sub>Cl. Επίσης βρέθηκε πως θα μπορούσαν να συντεθούν σε όξινο ιοντικό υγρό χωρίς επιπλέον καταλύτη και σε ήπιες συνθήκες. Αυτές οι αντιδράσεις μπορούν, ωστόσο, να έχουν ορισμένα μειονεκτήματα όπως το αντιδραστήριο να είναι δαπανηρό ή επιβλαβής διαλύτης, και οι αποδόσεις να είναι χαμηλές. Στον αντίποδα αυτού προτάθηκε σε αναρροή νερού χωρίς καταλύτη, μέθοδος απλή και φιλική προς το περιβάλλον (Σχήμα 2.18).<sup>34</sup>



Σχήμα 2.18: Συμπύκνωση ανθραμιλαμιδίου με καρβονυλικές ενώσεις προς τον σχηματισμό 2-υποκατεστημένων-2,3-διϋδροκιναζολιν-4(1H)-ονών

## 2.3. Βιολογική Δράση

Οι αζωτούχες ετεροκυκλικές ενώσεις είναι βασικές φαρμακοφόρες ομάδες ενώ παράλληλα κυριαρχούν σε μια ποικιλία ποικιλιών βιοδραστικών φυσικών προϊόντων, συνθετικών φαρμάκων, φαρμακευτικών και αγροχημικών. Αυτό οφείλεται στη φυσιολογία τους και την φαρμακολογική τους χρησιμότητα. Έχουν ποικίλη βιολογική δράση και το γεγονός ότι μπορούν να σχεδιαστούν πολλά παράγωγα με διάφορες υποκαταστάσεις βοηθά στην κατανόηση των μορίων που μπορούν να αλληλεπιδράσουν με τα μόρια-στόχους. Εμφανίζουν ένα ευρύ φάσμα βιολογικών δραστηριοτήτων τόσο σε ζώα όσο και σε ανθρώπους. Αυτές αφορούν δράσεις όπως αντι HIV, αντικαρκινική, αντιμυκητιασική, αντιβακτηριακή, αντισπασμωδική, αντιφλεγμονώδη, κατασταλτικό του ΚΝΣ, αντί της ελονοσίας, αντιοξειδωτική, αντι της λευχαιμίας. Κάποιες κιναζολινόνες αναφέρονται επίσης ως ισχυροί χημειοθεραπευτικοί παράγοντες στη θεραπεία της φυματίωσης. Συνοπτικά οι βασικές βιολογικές δράσεις των κιναζολινών και κιναζολινονών απεικονίζονται στην Εικόνα 2.2.

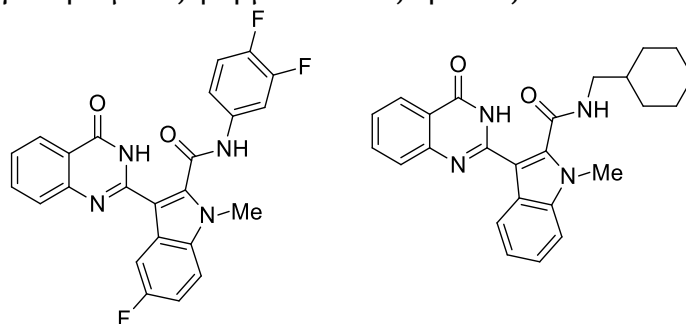


Εικόνα 2.2: Βιολογικές δράσεις κιναζολινών και κιναζολινονών

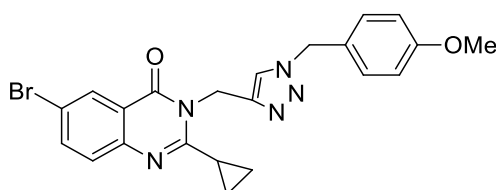
Μια ποικιλία παραγώγων κιναζολίνης έχει συντεθεί για να χρησιμοποιηθεί σε φάρμακα για διάφορες διαταραχές. Η εφαρμογή τους στην ιατρική περιλαμβάνει παράγωγα κιναζολινόνης, όπως ένα φάρμακο χημειοθεραπείας Raltitrexed (Tomudex®) που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία του καρκίνου του εντέρου, Afatinib, που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία του μεταστατικού μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα (NSCLC), της αλφουζοσίνης, που είναι άλφα-αδρενεργικός αποκλειστής για καλοήγη θεραπεία υπερπλασίας του προστάτη, Dacomitinib, που χρησιμοποιείται στη θεραπεία μεταστατικού μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα. Άλλα φάρμακα όπως η μεκλοαλκαλόνη (Casfen), η μεροκουαλόνη και η μεθακουλόνη (Quaalude), έχουν αγχολυτικές,

καταπραϋντικές και υπνωτικές ιδιότητες και χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία της αϋπνίας.<sup>22,29</sup>

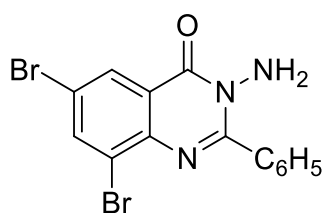
Ενδεικτικά στα Σχήμα 2.19-Σχήμα 2.22 παρουσιάζονται κάποια μόρια κιναζολινόνης για ορισμένες φαρμακευτικές δράσεις.<sup>34</sup>



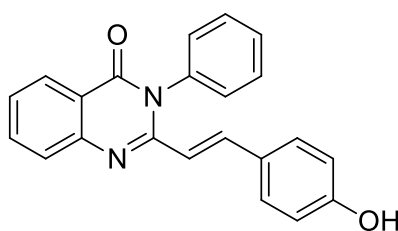
Σχήμα 2.19: Κιναζολινόνες με αντικαρκινική δράση



Σχήμα 2.20: Κιναζολινόνη με αντιμικροβιακή δράση

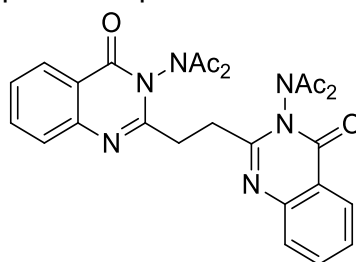


Σχήμα 2.21: Κιναζολινόνη με αναλγητική δράση



Σχήμα 2.22: Κιναζολινόνη με δράση αντί της λευχαιμίας

Εκτός των άλλων ενώσεις έχουν ελεγχθεί για την εντομοκτόνο δράση τους (Σχήμα 2.23) και βρέθηκε ότι η συγκέντρωση των παραγώγων κιναζολινόνης αυξάνει την εντομοκτόνο δραστηριότητα.<sup>34</sup>



Σχήμα 2.23: Κιναζολινόνη με εντομοκτόνο δράση



### 3. Βιολογικές Δράσεις

Μέσω της συνθετικής και οργανικής χημείας παράγονται ποικίλες επίδοξες δραστικές ενώσεις για την καταπολέμηση διάφορων ασθενειών που μαστίζουν την σύγχρονη κοινωνία. Οι διάφορες μέθοδοι θεραπείας πως ασθενειών πέρα από αποτελεσματικές για την αντιμετώπιση του στόχου είναι σημαντικό να είναι κατά το δυνατόν λιγότερο επεμβατικές και να έχουν τις λιγότερες παρενέργειες. Πλέον έχουν αναπτυχθεί διάφορες διαδικασίες σύμφωνα με τις οποίες μελετάται η βιολογική δραστηριότητα. Συνήθεις στόχοι των μορίων είναι βιολογικά μόρια όπως το DNA, οι πρωτεΐνες, αλλά και χημικές ενώσεις, όπως οι ελεύθερες ρίζες.

#### 3.1. Φωτοδιασπαστική Ικανότητα των ενώσεων στο DNA

Η χρήση του φωτός έχει διαδραματίσει σπουδαίο ρόλο στην ανθρώπινη ιστορία λόγω των θεραπευτικών εφαρμογών του. Ο συνδυασμός του φωτός με φάρμακα κατά την κλινική θεραπεία έχει μελετηθεί ευρέως λόγω της ικανότητας παραγωγής ενώσεων κατά της νόσου που ενεργοποιούνται με ακτινοβολία συγκεκριμένου μήκους κύματος που μπορούν να βελτιώσουν την απελευθέρωση του φαρμάκου. Οι ενώσεις αυτές ανήκουν στην κατηγορία των φωτονουκλεασών οι οποίες διεγείρονται από υπεριώδη ακτινοβολία ή ορατό φως και μπορούν να προκαλέσουν σημαντική βλάβη στο DNA. Ένα από τα πιο γνωστά παραδείγματα χρήσης της φωτεινής ακτινοβολίας είναι η θεραπεία της λεύκης με τη χορήγηση ψωραλενίου κάτω από την επίδραση UVA και UVB ακτινοβολίας.

Φωτοδιασπαστές ορίζονται ως «χημικές φωτονουκλεάσες», δηλαδή παράγοντες που αλληλεπιδρούν με το DNA και προκαλούν τη διάσπασή του όταν εκτίθενται σε φως κατάλληλου μήκους κύματος. Συγκεκριμένα οδηγούν σε μια σειρά αντιδράσεων οι οποίες μπορούν να δημιουργήσουν μόνιμες ή επιδιορθώσιμες βλάβες στο DNA. Στην πρώτη περίπτωση, στην οποία δεν καθίσταται δυνατή η επιδιόρθωση του DNA με μία σειρά ενζυματικών διεργασιών, στο κύτταρο επέρχεται θάνατος, γεγονός που καθιστά αυτή την προσέγγιση αποτελεσματική για διάφορες θεραπείες όπως αυτή του καρκίνου και για την καταπολέμηση ανθεκτικών βακτηρίων τόσο για ιατρικούς όσο και για περιβαλλοντικούς λόγους.<sup>35</sup>

Οι φωτοενεργοποιημένοι παράγοντες (Photosensitizer: PS) ενεργοποιούνται σε ακτινοβολία μήκους κύματος μεγαλύτερο από 310nm και έχουν επιλεκτική δράση. Η επιλογή αυτού του μήκους κύματος ακτινοβολίας γίνεται καθώς δεν απορροφάται από νουκλεϊκά οξέα και δεν θα μπορούσε να προκαλέσει βλάβη χωρίς τον συνδυασμό του με τον φωτοενεργοποιημένο παράγοντα. Με την ενεργοποίηση, λοιπόν, ξεκινά μία σειρά αντιδράσεων οι οποίες επηρεάζουν τα διάφορα συστατικά του DNA, όπως τις ετεροκυκλικές βάσεις, το σάκχαρο δεοξυριβόζη και τον φωσφοδιεστερικό δεσμό. Η οξειδωτική διάσπαση οδηγεί στην οξείδωση της βάσης και/ή την αποικοδόμηση του σακχάρου με αφαίρεση ατόμων υδρογόνου, ενώ η υδρολυτική διάσπαση του DNA περιλαμβάνει υδρόλυση του φωσφοδιεστερικού δεσμού.<sup>36,37</sup>

Ως φωτοδιασπαστές έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες ενώσεις όπως τα μεταλλικά σύμπλοκα και πληθώρα οργανικών ενώσεων. Τα μεταλλικά σύμπλοκα εμφανίζουν υψηλή εκλεκτικότητα στη διάσπαση του DNA ανάλογα με τη φύση

του μετάλλου και του προσδέματος που επιλέγονται. Μερικά από τα σύμπλοκα που έχουν διερευνηθεί σε μεγάλο βαθμό είναι τα σύμπλοκα ροδίου Rh(II), κοβαλτίου Co(III) και ρουθενίου Ru(II). Στον αντίποδα των συμπλόκων, οι οργανικές ενώσεις έχουν ευκολότερο χημικό χειρισμό και επιδέχονται ποικίλους μετασχηματισμούς και υποκαταστάσεις. Για αυτό το λόγο αρκετές οργανικές ενώσεις χρησιμοποιούνται ως φωτοδιασπαστές του DNA, εμφανίζοντας δράση σε συγκεκριμένο μήκος κύματος ακτινοβολίας ορατής ή υπεριώδους, όπως οι τριαζόλες, παράγωγα προφλαβίνης, ανθρακινόνες, κινοξαλίνες, κινολίνες, κιναζολινόνες και κετόνες.<sup>36,38</sup>

Στην περίπτωση οργανικών φωτοδιασπαστών φαίνεται πως ισχυρή φωτοδιασπαστική ικανότητα εμφανίζουν μόρια που περιέχουν νιτρο-ομάδες (NO<sub>2</sub>-). Τα μόρια αυτά έχουν την ικανότητα να βρεθούν σε «τριπλή κατάσταση» με την ομόλυση του δεσμού N-O και δημιουργούν δραστικές ρίζες ικανές να αποσπάσουν άτομα υδρογόνου από το DNA. Θεωρείται επίσης πως η δράση των φωτοδιασπαστών ίσως δρα ανεξάρτητα από το οξυγόνο και το pH. Για παράδειγμα κατά την ομολύση του δεσμού N-O, μπορεί να διαταραχθεί το pH των ιστών λόγω της δημιουργίας αμινών αλλά διατηρείται ακόμη η ικανότητα δημιουργίας ριζών. Δεδομένου, ωστόσο, ότι η φωτοδιάσπαση του DNA είναι ένα περίπλοκο φαινόμενο, διάφοροι παράγοντες μπορούν να επηρεάζουν, όπως ο τρόπος συγγένειας του μορίου με το DNA ή η ύπαρξη συγκεκριμένων δομών που διευκολύνουν την απόσπαση υδρογόνου.<sup>35,36</sup>

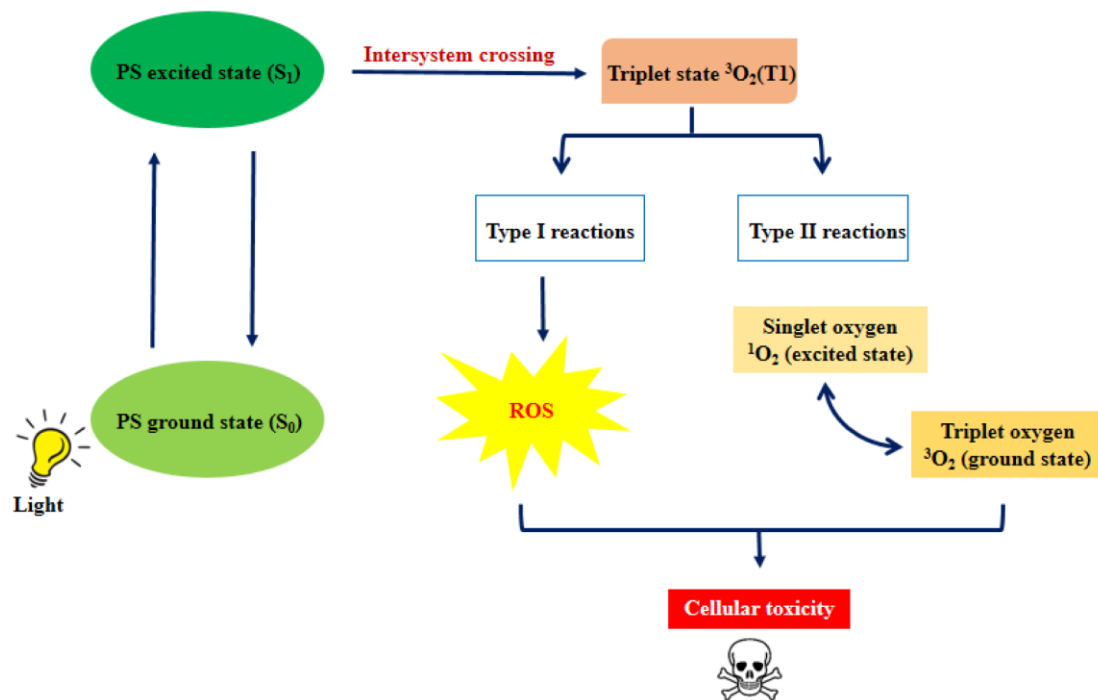
### **3.1.1. Εφαρμογές για θεραπευτικούς σκοπούς**

Η χρήση φωτός σε διάφορες θεραπείες για την αντιμετώπιση διαφόρων τύπων καρκίνου, σε σύγκριση με τις τυπικές θεραπείες, φαίνεται να είναι λιγότερο επεμβατικές προσεγγίσεις. Το πλεονέκτημα του φωτός, όταν χρησιμοποιείται ως συμπαράγοντας μιας θεραπευτικής διαδικασίας, είναι ότι παρέχει τοπική φωτοενεργοποίηση του φαρμάκου στα στοχευόμενα κύτταρα όγκου.

#### **3.1.1.1. Φωτοδυναμική θεραπεία (PDT)**

Η φωτοδυναμική θεραπεία (Photodynamic Therapy: PDT) είναι μια ελάχιστα επεμβατική και κλινικά εγκεκριμένη θεραπεία που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για ασθένεια πρώιμου σταδίου. Περιλαμβάνει 3 κύρια συστατικά: παράγοντα φωτοενεργοποίησης, φως και οξυγόνο ιστών. Ο μηχανισμός πολλαπλών σταδίων της μεθόδου παρουσιάζεται σχηματικά στην Εικόνα 3.1. Αρχικά με τη χορήγησή του ο παράγοντας φωτοενεργοποίησης συσσωρεύεται επιλεκτικά γύρω από ασθενείς ιστούς. Στη συνέχεια, ενεργοποιείται από μια πηγή φωτός και μεταβαίνει από την αρχική κατάσταση (S<sub>0</sub>) σε μία διεγερμένη (S<sub>1</sub>). Από την κατάσταση S<sub>1</sub> μπορεί να επιστρέψει στην κατάσταση S<sub>0</sub> εκπέμποντας την απορροφούμενη ενέργεια με φθορισμό ή διάχυση με τη μορφή θερμότητας. Εναλλακτικά, η κατάσταση S<sub>1</sub> μπορεί να μετατραπεί σε «τριπλή κατάσταση», <sup>3</sup>O<sub>2</sub>, (T<sub>1</sub>). Με τη μεταφορά ενέργειας παράγεται κυτταροτοξικό αντιδραστικό οξυγόνο (Reactive Oxygen Species: ROS). Προκειμένου να ελαχιστοποιηθούν οι βλάβες που προκαλούνται στα υγιή γειτονικά κύτταρα, πρέπει να βελτιστοποιηθούν ορισμένες παράμετροι όπως η δοσολογία, το μήκος της ακτινοβολίας έκθεσης και οι θέσεις έκθεσης του φωτός. Στο στάδιο ενεργοποίησης, το κυτταροτοξικό ROS δημιουργείται από την αλληλεπίδραση μεταξύ του φωτοενεργοποιημένου παράγοντα και του οξυγόνου. Κατά τη διάρκεια αυτής της αλληλεπίδρασης, η

ενέργεια μεταφέρεται από το διεγερμένο παράγοντα στο οξυγόνο που μετατρέπει το τριπλό οξυγόνο ( $^3\text{O}_2$ ) σε απλό οξυγόνο ( $^1\text{O}_2$ ), που προκαλεί οξειδωτική κυτταρική βλάβη. Το απλό οξυγόνο είναι πολύ αντιδραστικό και έχει πολύ μικρή διάρκεια ζωής που υποδεικνύει ότι προκαλεί αποτελεσματικά τον θάνατο των κυττάρων στόχων, ενώ η σύντομη διάρκεια ζωής το εμποδίζει να διαφύγει και να βλάψει υγιείς γειτονικούς ιστούς. Έτσι αυτός ο μηχανισμός ασκεί επιλεκτική κυτταροτοξικότητα σε κακοήγη κύτταρα, οδηγώντας σε κυτταρικό θάνατο.<sup>39,40</sup>



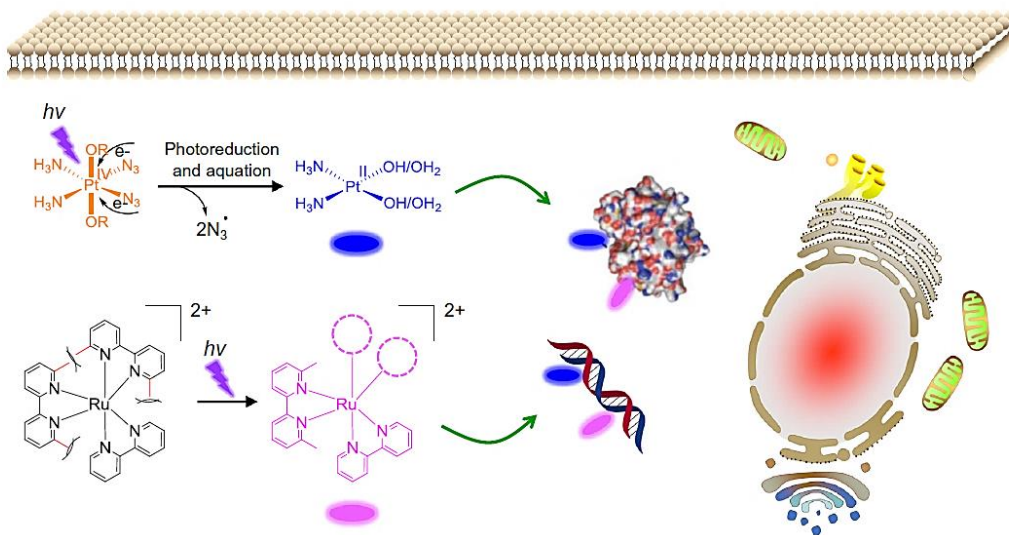
Εικόνα 3.1: Μηχανισμός δράσης φωτοδυναμικής θεραπείας <sup>40</sup>

Μέχρι σήμερα, η φωτοδυναμική θεραπεία χρησιμοποιείται συνήθως για τη θεραπεία ορισμένων τύπων καρκίνων, όπως ο καρκίνος του δέρματος, μαστού, πνεύμονα, κεφαλής και λαιμού, οισοφάγου, ουροδόχου κύστης και προστάτη. Ενδεικτικά παράγωγο αιματοπορφυρίνης (Photofrin) χρησιμοποιείται επί του παρόντος ως αντικαρκινικό φάρμακο σε φωτοδυναμική θεραπεία. Ενώ έχουν μελετηθεί εκτενώς τα σύμπλοκα ρουθηνίου και ροδίου για την αποτελεσματική τους σύνδεση DNA και τις φωτοφυσικές τους ιδιότητες. Εκτός από τη θεραπεία του καρκίνου, εμφανίζει επίσης σημαντική επίδραση σε πολλές μη καρκινικές διαταραχές, όπως η ψωρίαση και η ακμή. Σε σύγκριση με την παραδοσιακή χειρουργική επέμβαση, η φωτοδυναμική θεραπεία είναι λιγότερο επεμβατική και είναι μια ταχύτερη μέθοδος που συνήθως προκαλεί λιγότερο πόνο. Επιπλέον, αυτή η θεραπεία μπορεί να μειώσει τις διάφορες παρενέργειες και να ελαχιστοποιήσει τη βλάβη που προκαλείται στους γειτονικούς υγιείς ιστούς. Δυστυχώς, υπάρχουν μερικά αναπόφευκτα μειονεκτήματα, όπως δερματικές αντιδράσεις και φωτοευαισθησία. Επιπλέον, αυτού του είδους η θεραπεία περιορίζεται για τη χρήση σε όγκους (έως 1 cm) όπου το φως μπορεί να φτάσει (1 cm), και σε καρκίνο που δεν βρίσκεται σε προχωρημένο στάδιο καθώς θα απαιτούταν υψηλή δόση ακτινοβολίας.<sup>37,39,40</sup>

### 3.1.1.2. Φωτοχημειοθεραπεία (PACT)

Η φωτοχημειοθεραπεία (Photoactivated Chemotherapy: PACT) είναι ένας τρόπος αντιμετώπισης του καρκίνου που προκαλεί τον θάνατο των καρκινικών κυττάρων χρησιμοποιώντας φως για την τοπο-εκλεκτική ενεργοποίηση αντικαρκινικών παραγόντων για μια συγκεκριμένη ώρα. Οι αντικαρκινικοί παράγοντες που χρησιμοποιούνται συνήθως σε αυτή τη μέθοδο είναι σύμπλοκα μετάλλων μετάβασης. Η φωτοχημειοθεραπεία εφαρμόζεται στη θεραπεία διαφόρων τύπων καρκίνου, όπως του πνεύμονα και της ουροδόχου κύστης αλλά και χρόνιων νοσημάτων.

Όπως φαίνεται και στην Εικόνα 3.2, τα μεταλλικά σύμπλοκα που χρησιμοποιούνται φαίνεται να είναι αβλαβή για τα κύτταρα στο σκοτάδι, αλλά μπορούν να διεγερθούν από το φως και να οδηγήσουν σε τοξική επίδραση στα κυτταρικά συστατικά, ειδικά στο DNA και στις πρωτεΐνες. Τα σύμπλοκα μετάλλων μετάβασης βρίσκονται σε κατάσταση όπου παρουσιάζουν χαμηλή τοξικότητα στα κύτταρα. Μετά την ακτινοβολήση με ορατό ή υπεριώδες φως, μετατρέπονται σε διεγερμένη κατάσταση, η οποία δεν είναι σταθερή, ενώ αποσυντίθεται στην αδρανή κατάσταση σε σύντομο χρονικό διάστημα. Φωτοχημικές αντιδράσεις, συμπεριλαμβανομένης της διάσπασης του προσδέματος του συμπλόκου και των διαδικασιών οξειδοαναγωγής, συμβαίνουν σε αυτήν την οδό αποσύνθεσης. Τα προϊόντα που παράγονται εμφανίζουν την ικανότητα σχηματισμού ομοιοπολικών δεσμών με DNA, παραμορφώνουν τη δομή του και τελικά οδηγούν σε κυτταρικό θάνατο. Παρότι αυτή η μέθοδος είναι ικανή να σκοτώνει περισσότερα πολλαπλασιαζόμενα καρκινικά κύτταρα από υγιή κύτταρα, τα διαχωριστικά κύτταρα στους φυσιολογικούς ιστούς μπορεί αναπόφευκτα να θανατωθούν επίσης.<sup>39</sup>



Εικόνα 3.2: Σχηματική αναπαράσταση της μεθόδου φωτοχημειοθεραπείας με μεταλλικά σύμπλοκα ρουθηνίου<sup>39</sup>

### 3.1.1.3. Φωτοθερμική θεραπεία (PTT)

Η φωτοθερμική θεραπεία (Photothermal Therapy: PTT) είναι μια εναλλακτική μέθοδος έναντι στη συμβατική επεμβατική χειρουργική για τη θεραπεία του καρκίνου και εφαρμόζει κατευθυνόμενη θερμότητα που οδηγεί στη θανάτωση των καρκινικών κυττάρων. Στην φωτοθερμική θεραπεία ως πηγή θερμότητας

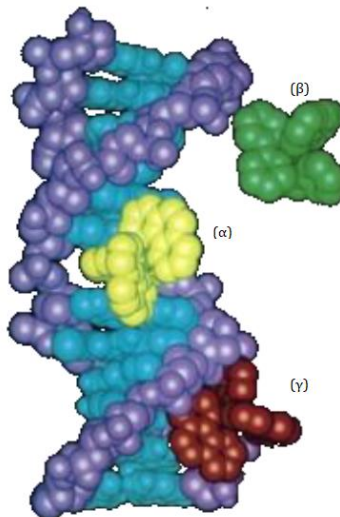
χρησιμοποιείται η πηγή φωτός (κυρίως κοντά στην υπέρυθη ακτινοβολία) σε αντίθεση με τις συνήθεις διεργασίες που χρησιμοποιούν μικροκύματα, υπέρηχους και λέιζερ. Δεδομένου ότι το φαινόμενο θέρμανσης δεν είναι εκλεκτικό, η δόση της ακτινοβολίας πρέπει να ελέγχεται αυστηρά για να καταστρέφει μόνο τους ιστούς που πάσχουν. Δυστυχώς, όμως τόσο οι φυσιολογικοί όσο και οι καρκινικοί ιστοί καταστρέφονται με αυτή τη μέθοδο, καθιστώντας την εφαρμογή της περιορισμένη. Προκειμένου να ξεπεραστεί αυτό το μειονέκτημα, συνδυαστικά με τη θερμική θεραπεία έχουν αρχίσει να χρησιμοποιούνται παράγοντες έναντι μεταλλικών συμπλόκων, όπως τα νανοσωματίδια ως μέσα απορρόφησης της ενέργειας. Έτσι αυτό το είδος θεραπείας έχει χρησιμοποιηθεί επιτυχώς στη θεραπεία επιθηλιακού καρκινώματος, καρκίνου του προστάτη και της νόσου του Lyme.<sup>39</sup>

Τα νανοϋλικά ως φωτοθερμικοί παράγοντες μπορούν να βοηθήσουν στη μείωση της *in vivo* αποικοδόμησης φαρμάκων, να ελαχιστοποιήσουν τις αρνητικές επιπτώσεις στα υγιή κύτταρα και να οδηγήσουν τα φάρμακα στη θέση στόχο. Μία ποικιλία ανόργανων νανοϋλικών, όπως νανοϋλικά με βάση τον άνθρακα, το παλλάδιο, τον χαλκό και τον χρυσό, έχουν χρησιμοποιηθεί για αυτό το λόγο τόσο σε *in vitro* όσο και *in vivo* δοκιμές. Παρόλο που πολλά από τα παραπάνω υλικά έχουν ήδη δείξει υψηλή αποτελεσματικότητα για τη φωτοθερμική θεραπεία καρκίνων σε προ-κλινικά πειράματα σε ζώα, τα περισσότερα από αυτά τα χρησιμοποιούμενα ανόργανα φάρμακα είναι μη βιοαποικοδομήσιμα και μπορούν να διατηρηθούν στο σώμα για μεγάλα χρονικά διαστήματα οδηγώντας σε μακροχρόνια τοξικότητα. Στον αντίποδα, τα τελευταία χρόνια αναπτύχθηκαν οργανικοί φωτοθερμικοί παράγοντες όπως οργανικά νανοσωματίδια, συνήθως πολυμερικά. Σε πρόσφατες έρευνες έγινε χρήση αγωγίμων πολυμερών πολυανιλίνης οργανικών νανοσωματιδίων που απορροφούν το φως για τη φωτοθεραπεία του καρκίνου.<sup>39,41</sup>

## 3.2. Τρόποι αλληλεπίδρασης με το DNA

Σημαντικό πλεονέκτημα των φωτοδιασπαστών για την ανάπτυξη αντικαρκινικών φαρμάκων είναι πως η αντίδραση της ένωσης με το DNA δεν ξεκινά παρά μόνο όταν εφαρμοστεί ακτινοβολία. Αυτοί μπορούν να προκαλέσουν βλάβη στο DNA των καρκινικών κυττάρων εμποδίζοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό τους και οδηγώντας τα σε θάνατο. Η αντίδραση μπορεί να ελέγχεται χωρικά και χρονικά σε αντίθεση με τα χημειοθεραπευτικά φάρμακα. Η ένωση που θα λειτουργήσει ως φωτοδιασπαστής θα πρέπει να έχει κάποιου είδους αγκιστεία με το DNA. Η αλληλεπίδραση αυτή μπορεί να γίνει τόσο με ομοιοπολική όσο και με μη-ομοιοπολική πρόσδεση. Η δεύτερη προτιμάται έναντι της ομοιοπολικής που είναι μη αντιστρεπτή και εμφανίζει τοξικές παρενέργειες.<sup>42</sup> Κάποιοι βασικοί τύποι μη ομοιοπολικής αγκιστείας (Εικόνα 3.3) είναι:

- (α) Παρεμβολή (intercalation)
- (β) Ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις (δεσμοί υδρογόνου, δυνάμεις Van der Waals)
- (γ) Δέσμευση στη μεγάλη ή τη μικρή αύλακα (major or minor groove)

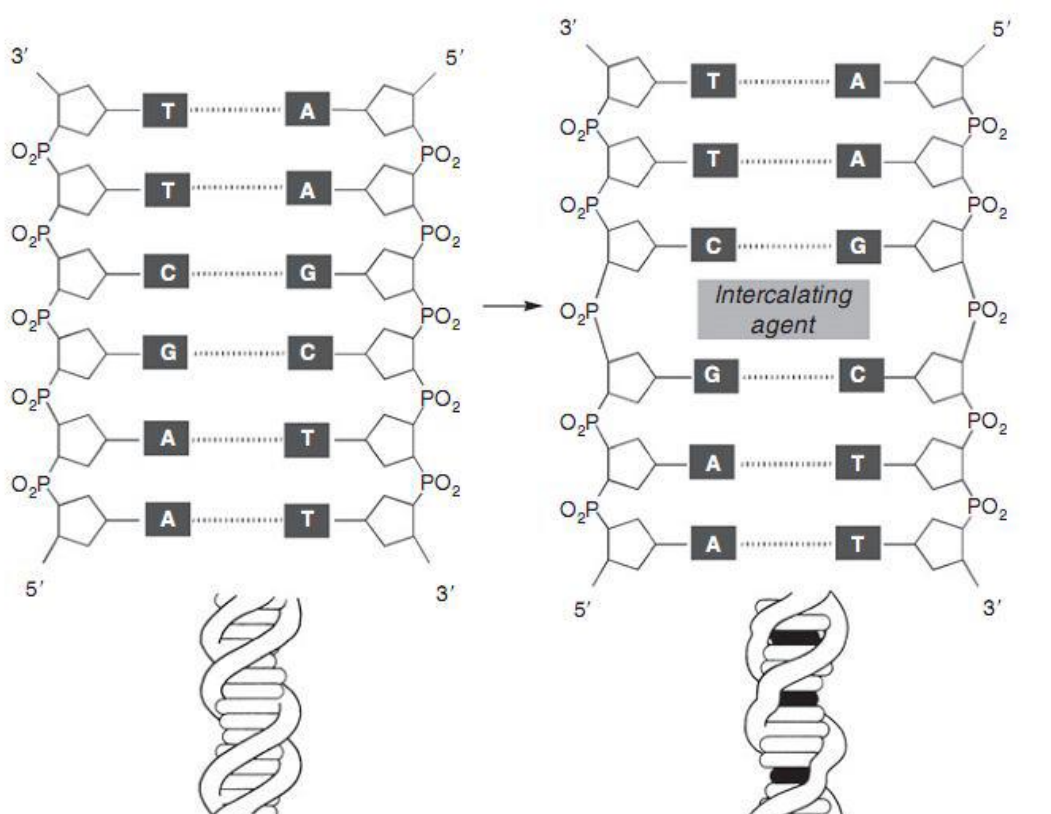


Εικόνα 3.3: Αγκιστεία του φωτοδιασπαστή με το DNA

### 3.2.1. Παρεμβολή στο DNA

Η παρεμβολή (intercalation) μορίων στα ζεύγη βάσεων του DNA έχει πολλές θεραπευτικές ιδιότητες σε θεραπείες καρκίνου, καθώς και για τη θεραπεία μικροβιακών και παρασιτικών λοιμώξεων. Επιπλέον, οι παρεμβολείς χρησιμοποιούνται επίσης ως ανιχνευτές για τη μελέτη της δομής και λειτουργίας των νουκλεϊκών οξέων. Η διαδικασία αυτή λαμβάνει χώρα όταν ενώσεις που περιέχουν συστήματα επίπεδου αρωματικού ή ετεροκυκλικού δακτυλίου εισάγονται μεταξύ γειτονικών ζευγών βάσεων DNA κάθετα στον άξονα της έλικας και χωρίς να διαταράσσεται η συνολική δομή της με τους δεσμούς υδρογόνου. Η παρεμβολή προκαλεί σταθεροποίηση, τοπική χαλάρωση, επιμήκυνση και μερικές άλλες δομικές αλλαγές στο DNA. Συνήθεις παρεμβολείς είναι συντηγημένοι δακτύλιοι, γνωστοί ως χρωμοφόρα αλλά και μεταλλικά σύμπλοκα, στα οποία το ρόλο του παρεμβολέα παίζει συνήθως ο υποκαταστάτης του συμπλόκου.

Η διαδικασία της παρεμβολής αρχίζει με την αλλαγή της διαμόρφωσης του DNA που συνεπάγεται αύξηση της κατακόρυφης απόστασης μεταξύ των ζευγών βάσεων για να δημιουργηθεί μια κοιλότητα στην οποία γίνεται η υδρόφοβη μεταφορά του επίπεδου αρωματικού συστήματος. Έτσι, η διπλή έλικα ξετυλίγεται εν μέρει, γεγονός που οδηγεί σε μεταβολές του σκελετού που σχηματίζεται μεταξύ σακχάρου και ομάδας φωσφόρου και αλλαγές στη γωνία στροφής μεταξύ διαδοχικών ζευγών βάσεων (Εικόνα 3.4). Μόλις το φάρμακο εγκλωβιστεί μεταξύ των ζευγών βάσεων DNA, λαμβάνει χώρα ένας αριθμός μη ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων, όπως van der Waals, η δημιουργία δεσμών υδρογόνου. Σε γενικές γραμμές, τα θετικά φορτισμένα μόρια είναι αποτελεσματικότεροι παρεμβολείς DNA επειδή αλληλεπιδρούν καλύτερα με τον αρνητικά φορτισμένο σκελετό δεοξυριβόζης - ομάδας φωσφόρου στα αρχικά στάδια και τα αρνητικά ιόντα που απελευθερώνονται με την παρεμβολή και σχετίζονται με την ομάδα φωσφόρου. Έτσι οι περισσότεροι παράγοντες παρεμβολής είτε φορτίζονται θετικά είτε περιέχουν βασικές ομάδες που μπορούν να πρωτονιωθούν.<sup>43,44</sup>



Εικόνα 3.4: Σχηματική αναπαράσταση DNA παρεμβολής

Κάποιες από τις βασικές συνέπειες που επιφέρει η DNA παρεμβολή είναι η αναστολή της παραγωγής σημαντικών πρωτεϊνών, όπως τα ένζυμα, ή η μετάλλαξη τους τόσο επηρεάζοντας την αντιγραφή και την μεταγραφή του DNA αλλά και οδηγώντας σε μετατόπιση πλαισίου. Μπορεί επιπρόσθετα να προκληθεί μονοκλωνική θραύση στο DNA εμποδίζοντας το να επιτελέσει τις λειτουργίες του. Οι δύο βασικές κατηγορίες που κατανομούνται οι παρεμβολείς είναι οι μονο-παρεμβολείς (mono-intercalators) και οι δι-παρεμβολείς (bis-intercalators). Οι μονο-παρεμβολείς είναι μικρά οργανικά μόρια με ένα επίπεδο τμήμα δακτυλίου που παρεμβάλλονται μεταξύ ζευγών βάσεων DNA είτε από την κύρια είτε από την



δευτερεύουσα πλευρά της έλικας. Οι δι-παρεμβολείς σχηματίζονται από δύο μονο-παρεμβολείς που ενώνονται μεταξύ τους μέσω ενός ομοιοπολικού δεσμού. Η σύνδεση μεταξύ των δύο μονο-παρεμβολών πρέπει να είναι βέλτιστη σε μήκος, ώστε να επιτρέπεται να εισαχθούν και αλληλεπιδράσουν με τα ζεύγη βάσεων. Επίσης μπορούν να ταξινομηθούν και ανάλογα με τη διάταξη τους σε σχέση με τα ζεύγη βάσεων σε παράλληλους και κάθετους.<sup>8</sup>

### **3.2.2. Ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις**

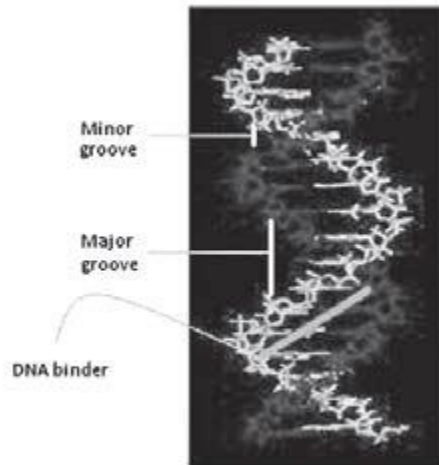
Ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις (electrostatic interactions) αναφέρονται σε μόρια που συνδέονται με την αρνητικά φορτισμένη διπλή έλικα DNA στην εξωτερική επιφάνεια του DNA μέσω μιας μη ειδικής αλληλεπίδρασης. Αναπτύσσονται ηλεκτροστατικοί δεσμοί μεταξύ των φωσφορικών ομάδων του DNA και θετικά φορτισμένου συμπλόκου ή ιόντος.<sup>45</sup>

### **3.2.3. Δέσμευση στη κύρια ή τη δευτερεύουσα αύλακα**

Κατά τη συναρμογή μιας ένωσης στην κύρια ή τη δευτερεύουσα αύλακα (groove binding), Εικόνα 3.5, αναπτύσσονται ασθενείς αλληλεπιδράσεις (π.χ. δεσμοί υδρογόνου, δυνάμεις van der Waals). Τα μόρια αλληλεπιδρούν με το DNA στα άκρα βάσης της κύριας αύλακας ή της δευτερεύουσας αύλακας ανάλογα με το μέγεθός τους. Πολλές πρωτεΐνες που αλληλεπιδρούν με το DNA συνδέονται στην κύρια αύλακα, ενώ μόρια μικρότερα από 1000 Da, όπως πολλά αντιβιοτικά, συνδέονται στη δευτερεύουσα αύλακα. Παρόλο που η πρόσδεση στη δευτερεύουσα αύλακα εκ πρώτης όψεως θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως μη ελκυστική, καθώς σε αυτές τις θέσεις το DNA περιέχει λιγότερες πληροφορίες, οι ενώσεις με αυτή την ιδιότητα παρουσιάζουν αρκετά πλεονεκτήματα, όπως αντικαρκινικές και αντιιικές ιδιότητες.

Η δομή αυτών των μορίων δέσμευσης χαρακτηρίζεται από συνδεδεμένους αρωματικούς δακτυλίους που επιτρέπουν την ελεύθερη κίνηση και στρέψη. Έχουν συνήθως ένα χαρακτηριστικό καμπύλο σχήμα συμβατό με τη δευτερεύουσα αύλακα του DNA. Το σχηματισμένο σύμπλοκο σταθεροποιείται με υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις. Μετά την πρόσδεση δεν προκαλούνται σημαντικές δομικές και ενεργειακές αλλαγές στο μόριο DNA. Μία από τις χαρακτηριστικές ιδιότητες των ενώσεων δέσμευσης μικρής αύλακας είναι η πρόσδεσή τους σε περιοχές πλούσιες σε AT (αδενίνη-θυμίνη) λόγω της καλής υδρόφοβης αλληλεπίδρασης μεταξύ του αρωματικού δακτυλίου της ένωσης και του δεύτερου ατόμου άνθρακα της αδενίνης. Σε επίπεδο κυττάρου, σταματούν τον κυτταρικό κύκλο πριν τη μίτωση, ενώ παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω της πιθανής επίδρασής τους στην έκφραση γονιδίων και στην επιλεκτική σύνδεση.<sup>45,46</sup>





Εικόνα 3.5: Σχηματική δέσμευσης στην κύρια ή τη δευτερεύουσα αύλακα του DNA

### 3.3. Αντιοξειδωτική Δράση

Έπειτα από μελέτη φαίνεται να υπάρχει συσχέτιση μεταξύ ασθενειών όπως νευροεκφυλιστικές διαταραχές, αθηροσκλήρωση και κάποιοι τύποι καρκίνου, με την υπερβολική παραγωγή ελεύθερων ριζών στο ανθρώπινο σώμα. Οι ελεύθερες ρίζες αναγνωρίζονται ως άτομα/μόρια τα οποία κάποιο εξωτερικό τροχιακό καταλαμβάνεται από ένα μονήρες ηλεκτρόνιο και όχι ζεύγος ηλεκτρονίων, γεγονός που τις καθιστά ασταθείς και εξαιρετικά αντιδραστικές. Για να σταθεροποιηθούν ελκύουν ηλεκτρόνια από σταθερά μόρια, κατά συνέπεια, πραγματοποιείται μια αλυσιδωτή αντίδραση, δηλαδή μία ρίζα δημιουργεί μια άλλη.<sup>47</sup>

Η ισορροπημένη παραγωγή αντιδραστικών ελεύθερων ριζών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species: ROS) και αζώτου (Reactive Nitrogen Species: RNS) και η αποτοξίνωσή τους σε έναν φυσιολογικό κυτταρικό μεταβολισμό έχει μεγάλη σημασία για να διατηρηθούν τα κύτταρα των οργανισμών υγιή. Ωστόσο όταν ένα κύτταρο δεν αποτοξινώνει το υπερβολικό ROS ή RNS που δημιουργείται, εισέρχεται σε κατάσταση οξειδωτικού στρες και καταστρέφεται. Τα υψηλά επίπεδα ελεύθερων ριζών μπορούν να προκαλέσουν βλάβη στη δομή των κυττάρων, στα νουκλεϊκά οξέα, στα λιπίδια των μεμβρανών και στις πρωτεΐνες. Για την καταπολέμηση αυτών των συνεπειών, που συσχετίζονται ισχυρά με την εμφάνιση διάφορων ασθενειών, χρησιμοποιούνται ουσίες που εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες και αναστέλλουν το οξειδωτικό στρες. Αυτές οι ουσίες είναι γνωστές ως αντιοξειδωτικά και εφαρμόζονται για την πρόληψη ποικίλων ασθενειών.<sup>47,48</sup>

Μπορούν να ταξινομηθούν σε δύο μεγάλες κατηγορίες, τα ενζυματικά (όπως η καταλάση) και τα μη ενζυμικά (όπως η βιταμίνη E και το ασκορβικό οξύ). Πρόσφατα, πολλές ετεροκυκλικές ενώσεις όπως διάφορες τριαζόλες, κιναζολίνες και διυδροκιναζολινόνες αναφέρθηκαν στη βιβλιογραφία ως καλοί αντιοξειδωτικοί παράγοντες.<sup>47</sup> Για την αντιοξειδωτική δράση θετικό ρόλο φαίνεται να διαδραματίζει και η ύπαρξη υποκαταστάσεων με υδροξυλομάδες, ενώ κάποιες μελέτες φανερώνουν πως και το μήκος της αλκυλικής αλυσίδας είναι σημαντικό. Για παράδειγμα η αντιοξειδωτική δράση των p-αλκυλαμινοφαινόλων (p-alkylaminophenols) φαίνεται να ενισχύεται με την επιμήκυνση της αλκυλικής

αλυσίδας. Παρομοίως, η αντιφλεγμονώδης δράση των 2-αμινο-αλκοολών (2-amino-alcohols) ενισχύθηκε με αύξηση του μήκους της αλυσίδας αλκυλίου.<sup>48</sup>

# Πειραματικό Μέρος

## 4. Πειραματική Διαδικασία

### 4.1. Σκοπός

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η ανάπτυξη «πράσινων» μεθοδολογιών για την σύνθεση νέων κιναζολινικών αναλόγων που ανήκουν στην κατηγορία των 2,3-κιναζολιν-4(3H)-ονών και των 2,3-διϋδροκιναζολιν-4(1H)-ονών και περιέχουν ποικιλία υποκαταστατών στους αρωματικούς δακτυλίους του μορίου.

Αυτή η φιλική προς το περιβάλλον προσέγγιση περιλαμβάνει αρχικά τον σχεδιασμό και σύνθεση διαφόρων φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών (NaDES) για τη χρήση τους ως διαλύτες και καταλύτες στην αντίδραση σύνθεσης των κιναζολινονών. Παράλληλα εξετάζεται συγκριτικά η αποτελεσματικότητά τους και επιλέγεται προς χρήση αυτός που επιτυγχάνει υψηλότερες αποδόσεις και συνεπώς λιγότερα απόβλητα. Η σύνθεση των 2,3-διϋδροκιναζολιν-4(1H)-ονών πραγματοποιείται σε ένα στάδιο μέσω μιας αντίδρασης πολλών συστατικών (MCR) με τη χρήση τεχνικών υψηλής ενέργειας, όπως η τεχνική των υπερήχων ενισχύοντας τον πράσινο χαρακτήρα της αντίδρασης. Επίσης γίνεται προσπάθεια σύνθεσης με συμβατική θέρμανση δομικών αναλόγων 2,3-κιναζολιν-4(3H)-όνης.

Τα οργανικά μόρια σχεδιάζονται έτσι ώστε να μελετηθεί η σχέση δομής-δράσης ως προς την αλληλεπίδραση των μορίων στο DNA, την πιθανότητα πρόκλησης φωτοδιάσπασης στο DNA και την αντιοξειδωτική δράση.

## 4.2. Όργανα – Συσκευές

Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 4.1) παρουσιάζονται τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν σε όλο το πειραματικό μέρος.

Πίνακας 4.1: Όργανα και συσκευές που χρησιμοποιήθηκαν.

<b>Όργανα &amp; Συσκευές</b>	<b>Μοντέλο</b>	<b>Κατασκευαστής</b>
<b>Ζυγός ακριβείας (μέχρι 210g)</b>	ADB 200-4	Kern
<b>Ζυγός ακριβείας (μέχρι 1210g)</b>	KB 1200-2	Kern
<b>Ζυγός ακριβείας (μέχρι 2g)</b>	M2P	Sartorius
<b>Λουτρό υπερήχων</b>	2210 Ultrasonic Bath	Branson
<b>Συσκευή υπερήχων με probe</b>	Vibra-Cell VCX 750	Sonics and Materials Inc
<b>Αναδευτήρας τύπου Vortex</b>	ZX4	Velp
<b>Περιστροφικός εξατμιστήρας κενού</b>	Rotavapor R-114/ Waterbath B-480	Buchi
<b>Μαγνητικός αναδευτήρας</b>	RCT basic	IKA
<b>Πεχάμετρο</b>	744	Metrohm
<b>Λυοφιλοποιητής</b>	Lablyo Mini	Frozen in Time Ltd.
<b>Φασματόμετρο FT-IR</b>	4000	Jasco
<b>Φασματόμετρο NMR</b>	Gemini 600 Hz	Varian
<b>Φασματοφωτόμετρο UV-Vis</b>	V-770 UV-Vis/NIR	Jasco
<b>Φασματόμετρο MS</b>	320 MS	Varian
<b>Plate Reader</b>	Spectra Max 250	Molecular Devices
<b>Συσκευή σημείου τήξης</b>		Gallenkamp

### 4.3. Σύνθεση NaDES

Για το σκοπό της εργασίας πραγματοποιήθηκε η σύνθεση έξι φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών (NaDES) με HBD τα φυσικά οξέα, γαλακτικό και οξαλικό οξύ. Αυτοί χρησιμοποιήθηκαν ως διαλύτες και καταλύτες σε μία πρότυπη αντίδραση σύνθεσης διϋδροκιναζολινόνης με στόχο την εύρεση του αποτελεσματικότερου NaDES. Επίσης εξετάστηκε συγκριτικά το pH τους και πώς αυτό θα μπορούσε να επηρεάσει την αποτελεσματικότητά τους. Στον παρακάτω Πίνακα (Πίνακας 4.2) παρουσιάζονται οι διαλύτες και η σύστασή τους.

Πίνακας 4.2: NaDES που παράχθηκαν.

Κωδικός	NaDES	Συστατικό 1	Συστατικό 2	Αναλογία
NaDES 1	(CC/LA)	χλωριούχος χολίνη (CC)	γαλακτικό οξύ (LA)	1:1.5
NaDES 2	(Pro/LA)	προλίνη (Pro)	γαλακτικό οξύ (LA)	1:2
NaDES 3	(Be/LA)	βεταΐνη (Be)	γαλακτικό οξύ (LA)	1:2
NaDES 4	(Ala/LA)	αλανίνη (Ala)	γαλακτικό οξύ (LA)	1:2
NaDES 5	(CC/OA)	χλωριούχος χολίνη (CC)	οξαλικό οξύ (OA)	1:1
NaDES 6	(Pro/OA)	προλίνη (Pro)	οξαλικό οξύ (OA)	1:1

#### 4.3.1. Πειραματική Διαδικασία

##### Μέθοδος I

Οι ποσότητες των συστατικών που απαρτίζουν το NaDES ζυγίζονται σε ζυγό ακριβείας και προστίθενται σε σφαιρική φιάλη. Αξίζει να σημειωθεί ότι για τα συστατικά που είναι υγροσκοπικά, όπως η χλωριούχος χολίνη και η βεταΐνη, απαιτείται η απομάκρυνση της υγρασίας, τοποθετώντας το δείγμα σε αντλία κενού Edwards, μέχρι σταθερού βάρους. Έπειτα, γίνεται ανάμιξη των συστατικών υπό ήπια ανάδευση με μαγνητικό αναδευτήρα σε σταθερή θερμοκρασία, έως ότου μετατραπούν σε διαυγή ρευστά (Εικόνα 4.1). Η θερμοκρασία και ο χρόνος ανάδευσης ποικίλουν ανάλογα με το σύστημα των συστατικών που χρησιμοποιείται. Το NaDES που δημιουργείται αποθηκεύεται σε ξηραντήρα και είναι έτοιμο να χρησιμοποιηθεί σε αντίδραση σύνθεσης κινάζολινονών χωρίς περαιτέρω επεξεργασία.



Εικόνα 4.1: Σύνθεση **NaDES 5** με τη Μέθοδο I

### **Μέθοδος II**

Κατάλληλη ποσότητα από το κάθε συστατικό του συστήματος, σύμφωνα με την επιθυμητή γραμομοριακή αναλογία, διαλύεται στην ελάχιστη δυνατή ποσότητα απιονισμένου νερού. Το μίγμα εξατμίζεται στους 60°C με χρήση περιστροφικού εξατμιστήρα κενού (Εικόνα 4.2) και παραλαμβάνεται το επιθυμητό NaDES. Αυτό αφήνεται προς ξήρανση σε αντλία υψηλού κενού για 2 μέρες μέχρι να επιτευχθεί σταθερό βάρος.



Εικόνα 4.2: Σύνθεση **NaDES 5** με τη Μέθοδο II

### **Μέθοδος III**

Κατάλληλη ποσότητα από το κάθε συστατικό του συστήματος, σύμφωνα με την επιθυμητή γραμομοριακή αναλογία. Το μίγμα των συστατικών διαλυμένο σε νερό

τοποθετείται σε κρυσταλλωτήριο και καταψύχεται σε χαμηλές θερμοκρασίες. Η επιφάνεια του υγρού δεν πρέπει να υπερβαίνει το μισό του ύψους του κρυσταλλωτηρίου. Στη συνέχεια ξηραίνεται υπό κατάψυξη (-50°C) για 48 ώρες όπου ο πάγος εξαχνώνεται και τελικά λαμβάνεται ένα διαυγές ιξώδες υγρό (Εικόνα 4.3).



Εικόνα 4.3: Σύνθεση NaDES 5 με τη Μέθοδο III

#### Μέθοδος IV

Τα συστατικά του NaDES αναμιγνύονται και ομογενοποιούνται με χρήση vortex για περίπου 1 λεπτό και στη συνέχεια το μίγμα τοποθετείται σε λουτρό υπερήχων για 10 λεπτά. Το μίγμα ομογενοποιείται και πάλι χρησιμοποιώντας το vortex, και ακολουθεί περαιτέρω επεξεργασία για 10 λεπτά στο λουτρό υπερήχων (Εικόνα 4.4). Η διαδικασία επαναλαμβάνεται έως ότου να παραληφθεί διαυγές μίγμα.

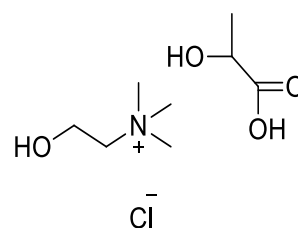


Εικόνα 4.4: Σύνθεση NaDES 5 με τη Μέθοδο IV



### Χλωριούχος χολίνη - Γαλακτικό οξύ (NaDES 1)

Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται κατάλληλες ποσότητες χολίνης (Choline Chloride - CC) (μετά από ξήρανση σε αντλία υψηλού κενού) και γαλακτικού οξέος (Lactic Acid - LA) σε μοριακή αναλογία moles 1:1.5. Το μίγμα τοποθετείται υπό ήπια ανάδευση και θέρμανση στους 50°C για 2-3 h. Το τελικό NaDES είναι διαυγές και διάφανο.



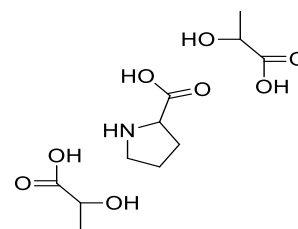
**TGA:**  $T_{\text{onset}} = 259.2^{\circ}\text{C}$

**$^1\text{H NMR}$  (600 MHz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  (ppm) 4.05-4.02(m, -CH [LA], 1H), 3.82(br, -CH<sub>2</sub> [CC], 2H), 3.42(t,  $J = 4.8\text{Hz}$ , -CH<sub>2</sub> [CC], 2H), 3.13(s, -CH<sub>3</sub> [CC], 9H), 1.22(d,  $J = 7.2\text{Hz}$ , -CH<sub>3</sub> [LA], 3H).

**FT-IR-ATR:**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 3374.8(N-R, O-H), 2985.3, 1739.5(C=O), 1479.1, 1128.2, 954.6

### Προλίνη - Γαλακτικό οξύ (NaDES 2)

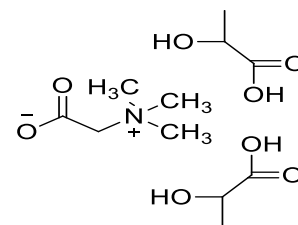
Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται κατάλληλες ποσότητες προλίνης (L-proline: Pro) και γαλακτικού οξέος (Lactic Acid - LA) σε μοριακή αναλογία moles 1:2. Το μίγμα τοποθετείται υπό ήπια ανάδευση και θέρμανση στους 50°C για 2-3 h. Το τελικό NaDES είναι διαυγές, έχει πορτοκαλί χρώμα και χαμηλό ιξώδες.



**FT-IR-ATR:**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 2969.1(O-H), 2539.8, 1731.8(C=O), 1230.4, 1126.2, 1043.3, 821.5

### Βεταΐνη - Γαλακτικό οξύ (NaDES 3)

Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται κατάλληλες ποσότητες βεταΐνης (Betaine - Be) και γαλακτικού οξέος (Lactic Acid - LA) σε μοριακή αναλογία moles 1:2. Το μίγμα τοποθετείται υπό ήπια ανάδευση και θέρμανση στους 50°C για 2 h. Το τελικό NaDES είναι διαυγές και διάφανο.



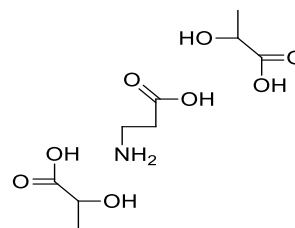
**TGA:**  $T_{\text{onset}} = 243.7^{\circ}\text{C}$

**$^1\text{H NMR}$  (600 MHz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  (ppm) 4.03(q,  $J = 6.6\text{Hz}$ , -CH [LA], 2H), 3.70(s, -CH<sub>2</sub> [Be], 2H), 3.15(s, -CH<sub>3</sub> [Be], 9H), 1.22(d,  $J = 6.6\text{Hz}$ , -CH<sub>3</sub> [LA], 6H).

**FT-IR-ATR:**  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 3405.7(N-R, O-H), 2985.3, 1726.9(C=O), 1629.6, 1400.1, 1130.1  $\text{cm}^{-1}$

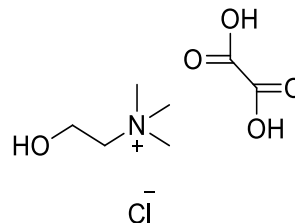
#### Αλανίνη - Γαλακτικό οξύ (NaDES 4)

Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται κατάλληλες ποσότητες αλανίνης (L-alanine - Ala) και γαλακτικού οξέος (Lactic Acid - LA) σε μοριακή αναλογία moles 1:2. Το μίγμα τοποθετείται υπό ήπια ανάδευση και θέρμανση στους 50°C για 2-3 h. Το τελικό NaDES είναι διαυγές και έχει υποκίτρινη χρώση.



#### Χλωριούχος χολίνη - Οξαλικό οξύ (NaDES 5)

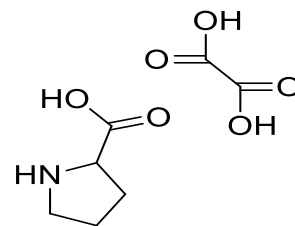
Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται κατάλληλες ποσότητες χλωριούχου χολίνης (Choline Chloride - CC) και οξαλικού οξέος (Oxalic Acid - OA) σε μοριακή αναλογία moles 1:1. Το μίγμα τοποθετείται υπό ήπια ανάδευση και θέρμανση (Μέθοδος I) στους 50°C για 1 h. Το τελικό NaDES είναι διαυγές και διάφανο. Αξίζει να σημειωθεί πως το NaDES αρχίζει να σχηματίζεται κατευθείαν έπειτα από την ανάμειξη των συστατικών. Το NaDES 2 συντέθηκε επιτυχώς και με τις υπόλοιπες προαναφερθείσες μεθόδους (II-IV) για συγκριτικούς λόγους.



**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ (ppm) 3.83-3.82(m, -CH<sub>2</sub> [CC], 2H), 3.41(t, J=5.1Hz, -CH<sub>2</sub> [CC], 2H), 3.12(s, -CH<sub>3</sub> [CC], 9H).

#### Προλίνη - Οξαλικό οξύ (NaDES 6)

Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται κατάλληλες ποσότητες προλίνης (L-proline: Pro) και οξαλικού οξέος (Oxalic Acid - OA) σε μοριακή αναλογία moles 1:1. Το μίγμα τοποθετείται υπό ήπια ανάδευση και θέρμανση στους 50°C για 4 h. Το τελικό NaDES είναι διαυγές και έχει πορτοκαλί χρώμα.



**FT-IR-ATR:** ν (cm<sup>-1</sup>) 3534.6(N-H), 2950.2(O-H), 1727.9(C=O), 1228.4

### 4.3.2. Χαρακτηρισμός NaDES

Τα NaDES που παρασκευάστηκαν υπόκεινται σε περαιτέρω αναλύσεις προκειμένου να ταυτοποιηθούν και να χαρακτηριστούν επαρκώς.

#### 4.3.2.1. Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (<sup>1</sup>H-NMR)

Η φασματοσκοπία NMR χρησιμοποιείται για την αναγνώριση των μοριακών δομών και επιτρέπει τη μη καταστρεπτική, ποσοτική ανάλυση υγρών και στερεών δειγμάτων απαιτώντας πολύ μικρούς όγκους δειγμάτων. Συγκεκριμένα για τη λήψη των φασμάτων, 6-30 mg δείγματος NaDES διαλύονται σε 800 μL διαλύτη. Ως διαλύτης φάσματος <sup>1</sup>H NMR, χρησιμοποιείται δευτεριωμένο διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO-d<sub>6</sub>).

#### 4.3.2.2. Φασματοσκοπία υπερύθρου (FT-IR-ATR)

Στη συγκεκριμένη μελέτη πραγματοποιήθηκε χαρακτηρισμός των υλικών με φασματοσκοπία υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (FT-IR) ώστε να διερευνηθεί η δομή τους. Μικρή ποσότητα διαλύτη τοποθετείται στην υποδοχή ATR και πραγματοποιείται μελέτη της αλληλεπίδρασης τους με την υπέρυθη ακτινοβολία στο εύρος 4000 - 400 cm<sup>-1</sup>.

#### **4.3.2.3. Θερμοσταθμική Ανάλυση (TGA)**

Η θερμοσταθμική ανάλυση είναι απαραίτητη ώστε να ελεγχθεί η ασφάλεια του διαλύτη κατά τη χρήση του, δηλαδή να μπορεί να χρησιμοποιηθεί χωρίς να υπάρχει πιθανότητα αποδόμησης και παραγωγής παραπροϊόντων. Το παρασκευασμένο NADES ξηραίνεται αρχικά για 2-3 h σε αντλία υψηλού κενού υπό ήπια θέρμανση. Έπειτα υπόκειται σε θερμοσταθμική ανάλυση στο θερμοκρασιακό εύρος 20-600°C, με ρυθμό 5°C/min υπό αδρανείς συνθήκες αζώτου. Ως αποτέλεσμα της μεθόδου προκύπτει μια καμπύλη βάρους που καταγράφει την απώλεια βάρους συναρτήσει της θερμοκρασίας του δείγματος. Η πρώτη παράγωγος της καμπύλης ονομάζεται καμπύλη διαφορικής ανάλυσης και αντιπροσωπεύει το ρυθμό αύξησης ή μείωσης βάρους του αναλυόμενου δείγματος.

#### **4.3.2.4. Μέτρηση pH**

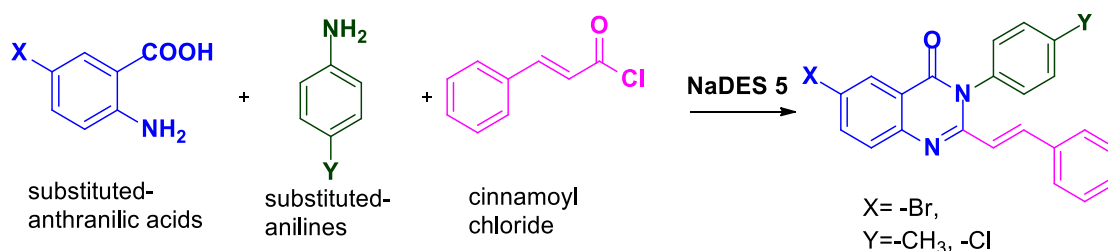
Για την αξιολόγηση του pH των DES παρασκευάζονται διαλύματα περιεκτικότητας σε νερό 50, 70, 95, 96.5% w/w. Συγκεκριμένα τα δείγματα των DES ζυγίζονται και διαλύονται σε κατάλληλη ποσότητα απιονισμένου νερού. Τα διαλύματα ομοιογενοποιούνται με χρήση vortex και μετρούνται σε θερμοκρασία δωματίου ( $29 \pm 2^\circ\text{C}$ ) με χρήση πεχαμέτρου. Για συγκριτικούς λόγους γίνεται μέτρηση και του pH του DES χωρίς επεξεργασία, όπου αυτό είναι εφικτό. Πριν από κάθε μέτρηση γίνεται βαθμονόμηση του οργάνου με πρότυπα διαλύματα που έχουν pH 4 και 7.

## 4.4. Σύνθεση κιναζολινονών

Στην παρούσα εργασία η σύνθεση των κιναζολινονών πραγματοποιήθηκε σε ένα στάδιο μέσω μιας αντίδρασης πολλών συστατικών με τη χρήση φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών (NaDES), οι οποίοι δρουν ως διαλύτες και καταλύτες στην αντίδραση.

### 4.4.1. Σύνθεση 2,3-κιναζολιν-4(3H)-ονών

Οι ενώσεις που χρησιμοποιήθηκαν ως αντιδρώντα είναι κατάλληλα υποκατεστημένα ανθρανιλικά οξέα, αρωματικές αμίνες και το κιναμικό χλωρίδιο (Σχήμα 4.1).



Σχήμα 4.1: Σύνθεση 2,3-δισυποκατεστημένων κιναζολινονών μέσω αντίδρασης πολλών συστατικών με τη χρήση NaDES.

#### 4.4.1.1. Μέθοδος με συμβατική θέρμανση

Κατά τη συμβατική μέθοδο (Εικόνα 4.5), σε προζυγισμένη σφαιρική φιάλη των 10mL ζυγίζονται αρχικά 2g του **NaDES 5** (1:1 CC/OA) καθώς και η κατάλληλη ποσότητα ανθρανιλικού οξέος (150 mg, 0.70 mmol). Παράλληλα, ζυγίζεται και η κατάλληλη ποσότητα της αρωματικής αμίνης και του κιναμικού χλωριδίου. Στη συνέχεια προστίθεται μαγνήτης για ανάδευση και τοποθετείται σε συσκευή μαγνητικού αναδευτήρα. Το μίγμα θερμαίνεται σε ελαιόλουτρο για έως 10h στους 70°C υπό κάθετο ψυκτήρα.

Μετά το τέλος της αντίδρασης προστίθεται νερό στη σφαιρική φιάλη και το μίγμα αφήνεται προς ψύξη. Το στερεό που σχηματίζεται διηθείται υπό ελαττωμένη πίεση και εκπλένεται με παγωμένο νερό. Τέλος, πραγματοποιείται ανακρυστάλλωση με μεθανόλη.

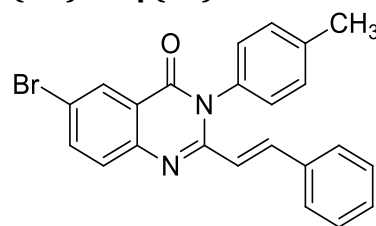


Εικόνα 4.5: Συμβατική μέθοδος σύνθεσης 2,3-κιναζολιν-4(3H)-ονών

### (E)-6-βρωμο-2-στυρυλο-3-(p-τολυλο)κιναζολιν-4(3H)-όνη (1a)

Παρασκευάζεται με τη συμβατική μέθοδο σε διαλύτη 2g του **NaDES 2** (1:1 CC/OA) με τη χρήση 0.69 mmol (149.8 mg) 5-βρωμοανθρανιλικού οξέος, 0.83 mmol (89.2 mg) τολουιδίνης και 0.83 mmol (137.5 mg) κιναμικού χλωριδίου. Αναδύεται σε θερμοκρασία 70°C για χρονική διάρκεια 10 ωρών.

Έπειτα από ανακρυστάλλωση με μεθανόλη παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.



**Απόδοση:** 25%

**MW:** 417.30

**Σημείο Τήξης:** 197-198°C

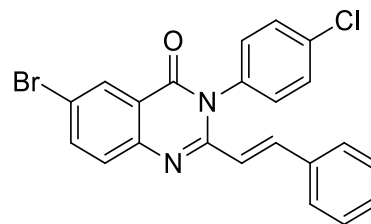
**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) 12.57(s, 1H), 8.57(d, J=9Hz, 1H), 8.13(d, J=1.8Hz, 1H), 7.56-7.53(m, 2H), 7.43-7.41(m, 1H), 6.83(d, J=7.8Hz, 3H), 6.50(d, J=7.8Hz, 4H), 6.32(d, J=16.2Hz, 1H), 2.47(s, -CH<sub>3</sub>, 3H).

**UV-Vis:** λ<sub>max</sub>=258.8nm

**FT-IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>) 3046(=C-H), 2950.6(-CH<sub>3</sub>), 1673.9(C=O), 1613.2(C=C), 1511.9, 1287.3, 936.3, 806.1, 691.4

### (E)-6-βρωμο-3-(4-χλωροφαινυλο)-2-στυρυλοκινναζολιν-4(3H)-όνη (1b)

Παρασκευάζεται με τη συμβατική μέθοδο σε διαλύτη 2g του NaDES 2 (1:1 CC/OA) με τη χρήση 0.63 mmol (135.7 mg) 5-βρωμοανθρανιλικού οξέος, 0.75 mmol (95.7 mg) 4-χλωροανιλίνης και 0.75 mmol (124.99 mg) κιναμικού χλωριδίου. Αναδεύεται σε θερμοκρασία 70°C για χρονική διάρκεια 8 ωρών. Έπειτα από ανακρυστάλλωση με μεθανόλη παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.



**Απόδοση:** 38%

**MW:** 437.72

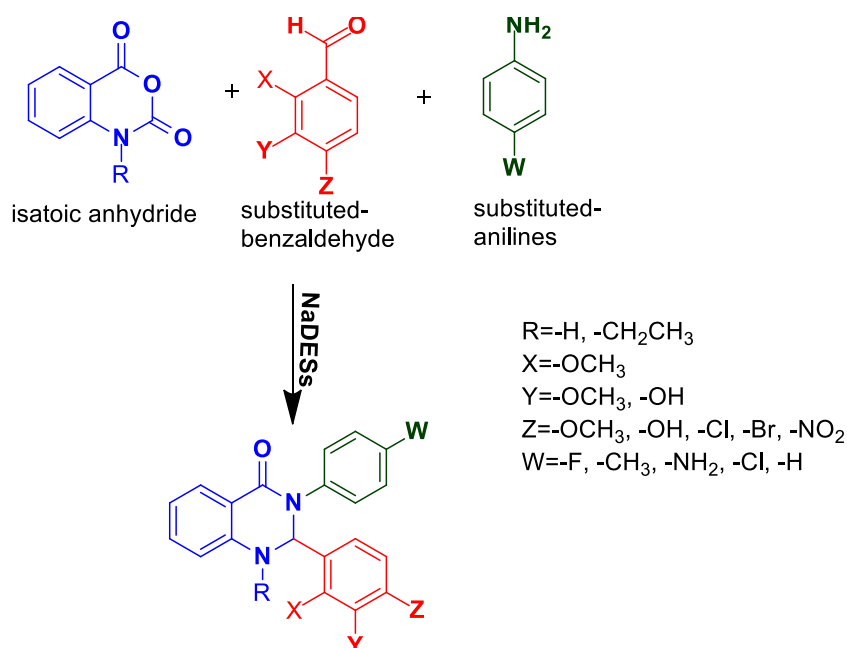
**Σημείο Τήξης:** 186-188°C

**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) 12.45(s, 1H), 8.55(d, J=8.7Hz, 1H), 8.09(m, 1H), 7.84 (dd, J<sub>1</sub>=9.2Hz, J<sub>2</sub>=2.3Hz, 1H), 6.99(d, J=8.7Hz, 5H), 6.53(d, J=8.7Hz, 5H).

**UV-Vis:** λ<sub>max</sub>=260nm

#### 4.4.2. Σύνθεση 2,3-διυδροκινναζολιν-4(1H)-ονών

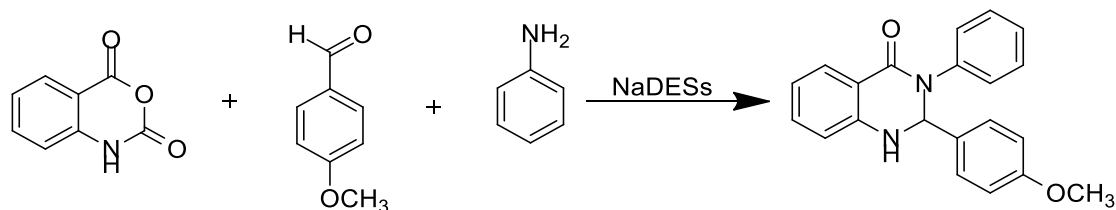
Οι ενώσεις που χρησιμοποιήθηκαν ως αντιδρώντα είναι κατάλληλα υποκατεστημένος ισατοϊκός ανυδρίτης, κατάλληλα υποκατεστημένες βενζαλδεΐδες καθώς και αρωματικές αμίνες (Σχήμα 4.2).



Σχήμα 4.2: Σύνθεση 2,3-δισυποκατεστημένων διυδροκινναζολινονών μέσω αντίδρασης πολλών συστατικών με τη χρήση NaDES.

##### 4.4.2.1. Επιλογή NaDES - Αντίδραση μοντέλο

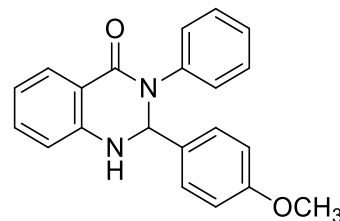
Για την εύρεση του αποτελεσματικότερου NaDES για την πραγματοποίηση των αντιδράσεων δοκιμάζονται τα 6 NaDES που αναφέρονται στον Πίνακα 4.2 σε στην πρότυπη αντίδραση που αναφέρεται παρακάτω στο Σχήμα 4.3.



Σχήμα 4.3: Σύνθεση 2-(4-μεθοξυφαινυλο)-3-φαινυλο-2,3-διυδροκινναζολιν-4(1H)-όνης μέσω αντίδρασης πολλών συστατικών με τη χρήση διαφόρων NaDES.

### 2-(4-μεθοξυφαινυλο)-3-φαινυλο-2,3-διυδροκινναζολιν-4(1H)-όνης (2a)

Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων σε διαλύτη περίπου 2g του εκάστοτε **NaDES (1-6)** με τη χρήση 0.92 mmol (150 mg) ισατοϊκού ανυδρίτη, 1.38 mmol ανιλίνης και 0.92 mmol 4-μεθοξυβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 10 λεπτών.



**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) 8.03(d, J=7.8 Hz, 1H), 7.30(t, J=7.2 Hz, 1H), 7.28-7.25(m, 4H), 7.17(d, J=7.8 Hz, 3H), 6.88(t, J=7.2 Hz, 1H), 6.77(d, J=9 Hz, 2H), 6.63(d, J=8.4 Hz, 1H), 6.07(s, -CH, 1H), 4.75(s, -NH, 1H), 3.74(s, -OCH<sub>3</sub>, 3H).

**Σημείο Τήξης:** 199-200°C

**UV-Vis:** λ<sub>max</sub>=260nm

Πίνακας 4.3: Αξιολόγηση αποτελεσματικότητας NaDES για την σύνθεση 2,3-διυδροκινναζολιν-4(1H)-ονών με χρήση υπερήχων **2a**

NaDES	Απόδοση (α %)
<b>1</b>	63
<b>2</b>	15
<b>3</b>	24
<b>4</b>	21
<b>5</b>	52
<b>6</b>	13

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον Αξιολόγηση αποτελεσματικότητας NaDES για την σύνθεση 2,3-διυδροκινναζολιν-4(1H)-ονών με χρήση υπερήχων **2a** υψηλότερη απόδοση φαίνεται να έχει η σύνθεση με το **NaDES 1** (CC/LA), το οποίο χρησιμοποιείται και στις μετέπειτα αντιδράσεις.

#### 4.4.2.2. Μέθοδος σύνθεσης με υπερήχους

Σε ποτήρι ζέσεως ή κωνική των 5 mL ζυγίζεται κατάλληλη ποσότητα του **NaDES 1** (2-5g) καθώς και ισατοϊκός ανυδρίτης, κατάλληλα υποκατεστημένη αρωματική αμίνη και βενζαλδεΐδη. Οι συνθήκες στις οποίες πραγματοποιείται η αντίδραση στη συσκευή υπερήχων είναι στα 80 W και για χρόνους 10-20 λεπτών.

Στη συνέχεια προστίθεται νερό (Εικόνα 4.6) και το μίγμα αφήνεται προς ψύξη ενώ ακολουθείται διήθηση και έκπλυση με παγωμένο νερό. Εναλλακτικά αντί της διήθησης πραγματοποιήθηκε εκχύλιση με οξικού αιθυλεστέρα. Το προϊόν βρίσκεται στην οργανική φάση απ' όπου εξατμίζεται ο διαλύτης και λαμβάνεται στερεό. Τέλος, πραγματοποιείται ανακρυστάλλωση με μεθανόλη ή αιθανόλη.

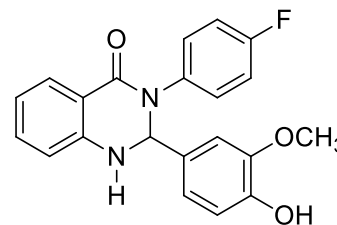
Το NaDES ανακυκλώνεται με σκοπό να επαναχρησιμοποιηθεί. Η ανακύκλωση πραγματοποιείται έπειτα από καθαρισμό του διαλύτη από οργανικά υπολείμματα μέσω εκχύλισης, ενώ ακολουθεί η εξάτμιση του νερού που χρησιμοποιήθηκε για την αρχική επεξεργασία της ένωσης.



Εικόνα 4.6: Επεξεργασία της κιναζολινόνης με χρήση υπερήχων

### 3-(4-φθοροφαινυλο)-2-(4-υδροξυ-3-μεθοξυφαινυλο)-2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)-όνη (3a)

Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων σε διαλύτη 2g του NaDES 1 (1:1.5 CC/LA) με τη χρήση 0.92 mmol (150.7 mg) ισατοϊκού ανυδρίτη, 1.39 mmol (133.1  $\mu$ L) 4-φθοροανιλίνης και 0.92 mmol (140.6 mg) βανιλίνης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 20 λεπτών. Έπειτα από ανακρυστάλλωση με μεθανόλη παραλαμβάνεται στερεό μπεζ χρώματος.



**Απόδοση:** 53%

**MW:** 364.37

**Σημείο Τήξης:** 189-191°C

**$^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) 9.59(s, -OH, 1H), 8.25(dd,  $J_1=7.8\text{Hz}$ ,  $J_2=1.2\text{Hz}$ , 1H), 7.97(d,  $J=1.8\text{Hz}$ , 1H), 7.84-7.81(m, 1H), 7.79-7.76(m, 2H), 7.68-7.64(m, 2H), 7.49(d,  $J=2.4\text{Hz}$ , -NH, 1H), 7.31(d,  $J=7.8\text{Hz}$ , 1H), 7.28-7.25(m, 2H), 7.17(d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H), 6.69(d,  $J=2.4\text{Hz}$ , -CH, 1H), 4.2(s, -OCH<sub>3</sub>, 3H).

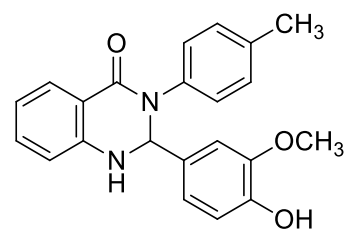
**UV-Vis:**  $\lambda_{\text{max}}=259\text{nm}$

**FT-IR (KBr):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 3309.3(N-H, O-H), 2941.9, 2843.5, 1619.9(C=O), 1508.1, 1450.21, 1028.8, 752.1



### 2-(4-υδροξυ-3-μεθοξυφαινυλο)-3-(p-τολυλο)-2,3-διυδροκινναζολιν-4(1H)-όνη (3b)

Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων σε διαλύτη 2g του **NaDES 1** (1:1.5 CC/LA) με τη χρήση 1.03 mmol (168.5 mg) ισατοϊκού ανυδρίτη, 1.55 mmol (169.8 mg) τολουιδίνης και 1.03 mmol (155.7 mg) βανιλίνης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 15 λεπτών. Έπειτα από ανακρυστάλλωση με μεθανόλη παραλαμβάνεται στερεό υποκίτρινου χρώματος.



**Απόδοση:** 44%

**MW:** 360.41

**Σημείο Τήξης:** 197-201.5°C

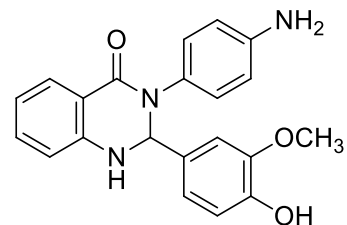
**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) 9.17(s, -OH, 1H), 7.85(dd, J<sub>1</sub>=8.1Hz, J<sub>2</sub>=2.1Hz, 1H), 7.58(d, J=2.4Hz, -NH, 1H), 7.43-7.40(m, 1H), 7.28-7.24(m, 4H), 7.09(d, J=3Hz, 1H), 6.92-6.83(m, 3H), 6.78(d, J=8.4Hz, 1H), 6.25(d, J=2.4Hz, -CH, 1H), 3.8(s, -OCH<sub>3</sub>, 3H), 2.4 (s, -CH<sub>3</sub>, 3H).

**UV-Vis:** λ<sub>max</sub>=259.2nm

**FT-IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>) 3311.2(N-H, O-H), 2926.5, 1616.1(C=O), 1511.9, 1451.2, 1264.1, 1030.8, 753.1

### 3-(4-αμινοφαινυλο)-2-(4-υδροξυ-3-μεθοξυφαινυλο)-2,3-διυδροκινναζολιν-4(1H)-όνη (3c)

Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων σε διαλύτη 2g του **NaDES 1** (1:1.5 CC/LA) με τη χρήση 0.92 mmol (149.2 mg) ισατοϊκού ανυδρίτη, 1.37 mmol (148.5 mg) 1,4-φαινυλενοδιαμίνης και 1.92 mmol (141.2 mg) βανιλίνης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 15 λεπτών. Έπειτα από ανακρυστάλλωση με μεθανόλη παραλαμβάνεται στερεό καφέ χρώματος.



**Απόδοση:** 22%

**MW:** 361.39

**Σημείο Τήξης:** 196-198.3°C

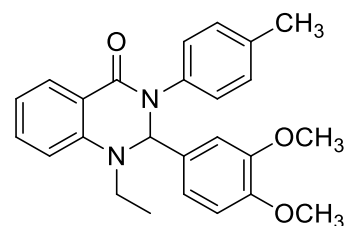
**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ (ppm) 8.07-8.01(m, 1H), 7.86(d, J=7.8Hz, 2H), 7.74-7.70(m, 2H), 7.50 (d, J=7.8, 2H), 7.35-7.27(m, 5H), 7.20(t, J=7.5Hz, 1H), 6.77-6.72(m, 2H), 6.38(d, J=1.8Hz, -CH, 1H), 3.34(s, -OCH<sub>3</sub>, 3H).

**UV-Vis:** λ<sub>max</sub>=324nm

**FT-IR (KBr):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>) 3478.3(N-H, O-H), 3259.1, 3199.3, 2932.2, 2862.8, 1765.5(C=O), 1362.5, 1020.2, 752.1

#### 2-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)-1-αιθυλο-3-(p-τολυλο)-2,3-διυδροκινναζολιν-4(1H)-όνη (4a)

Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων σε διαλύτη 2g του **NaDES 1** (1:1.5 CC/LA) με τη χρήση 0.78 mmol (149.7 mg) υποκατεστημένου ισατοϊκού ανυδρίτη, 1.18 mmol (128.6 mg) τολουιδίνης και 0.78 mmol (133.1 mg) 3,4-διμεθοξυβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 15 λεπτών. Έπειτα από ανακρυστάλλωση με μεθανόλη παραλαμβάνεται στερεό γκρι χρώματος.



**Απόδοση:** 14%

**MW:** 402.49

**Σημείο Τήξης:** 208.2-211°C

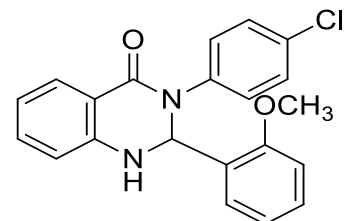
**<sup>1</sup>H NR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) 8.02(d, J=7.8Hz, 1H), 7.33-7.30(m, 1H), 7.06(q, J=8.7Hz, 4H), 6.89-6.85(m, 3H), 6.71 (d, J=8.4Hz, 1H), 6.64(d, J=7.8Hz, 1H), 6.04(s, -CH, 1H), 3.82(s, -OCH<sub>3</sub>, 3H), 3.74(s, -OCH<sub>3</sub>, 3H), 2.28 (s, -CH<sub>3</sub>, 3H), 0.88-0.84(m, -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, 5H).

**UV-Vis:**  $\lambda_{\max}$ =267.2nm

**FT-IR (KBr):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>) 3299.6(N-H), 2926.5, 2848.4, 1640.2(C=O), 1514.8, 1261.2, 1027.8

#### 3-(4-χλωροφαινυλο)-2-(2-μεθοξυφαινυλο)-2,3-διυδροκινναζολιν-4(1H)-όνη (5a)

Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων σε διαλύτη 5g του **NaDES 1** (1:1.5 CC/LA) με τη χρήση 3.06 mmol (498.5 mg) ισατοϊκού ανυδρίτη, 4.58 mmol (584.8 mg) 4-χλωροανιλίνης και 3.06 mmol (416.05 mg) 2-μεθοξυβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 20 λεπτών. Έπειτα από ανακρυστάλλωση με μεθανόλη παραλαμβάνεται στερεό πράσινου χρώματος.



**Απόδοση:** 31%

**MW:** 364.82

**Σημείο Τήξης:** 145-147.5°C

**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) 7.92(d, J=7.8Hz, 1H), 7.73(m, 1H), 7.37(d, J=8.7Hz, 2H), 7.24 (m, 4H), 7.16(d, J=8.4Hz, 1H), 6.99 (d, J=8.1Hz, 1H), 6.89-6.84(m, 1H), 6.79-6.69(m, 2H), 6.43(s, -CH, 1H), 3.75(s, -OCH<sub>3</sub>, 3H).

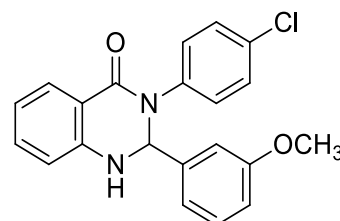
**UV-Vis:**  $\lambda_{\max}$ =259.4nm

**MS (ESI):** m/z (%) 238.2([C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 100), 239.2([C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub> +1], 15), 365.3([M+1], 5).

**FT-IR (KBr):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>) 3336.3(N-H), 2926.5, 2832.9, 1644.9(C=O), 1494.6, 1396.2, 1157.1, 757.9

### 3-(4-χλωροφαινυλο)-2-(3-μεθοξυφαινυλο)-2,3-διυδροκινναζολιν-4(1H)- όνη (5b)

Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων σε διαλύτη 5g του **NaDES 1** (1:1.5 CC/LA) με τη χρήση 3.07 mmol (500.2 mg) ισατοϊκού ανυδρίτη, 4.60 mmol (586.8 mg) 4-χλωροανιλίνης και 3.07 mmol (370  $\mu$ L) 3-μεθόξυβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 20 λεπτών. Έπειτα από ανακρυστάλλωση με μεθανόλη παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.



**Απόδοση:** 48%

**MW:** 364.82

**Σημείο Τήξης:** 172-175.3°C

**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) 7.72(d, J=7.7Hz, 1H), 7.65(s, -NH, 1H), 7.39(d, J=8.4Hz, 2H), 7.30-7.19(m, 4H), 6.92(m, 2H), 6.85-6.72(m, 3H), 6.27(s, -CH, 1H), 3.68(s, -OCH<sub>3</sub>, 3H).

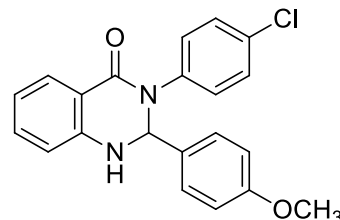
**UV-Vis:**  $\lambda_{\max}$ =275.8nm

**MS (ESI):** m/z (%) 238.2([C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 100), 239.2([C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub> +1], 15).

**FT-IR (KBr):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>) 3273.6(N-H), 2941.9, 2837.7, 1644.9(C=O), 1489.7, 1385.6, 1201.2, 1152.3, 820.5, 753.1

### 3-(4-χλωροφαινυλο)-2-(4-μεθοξυφαινυλο)-2,3-διυδροκινναζολιν-4(1H)- όνη (5c)

Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων σε διαλύτη 5g του **NaDES 1** (1:1.5 CC/LA) με τη χρήση 3.21 mmol (524 mg) ισατοϊκού ανυδρίτη, 4.82 mmol (616 mg) 4-χλωροανιλίνης και 3.21 mmol (390  $\mu$ L) 4-μεθόξυβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 17 λεπτών. Έπειτα από ανακρυστάλλωση με μεθανόλη παραλαμβάνεται στερεό μπεζ χρώματος.



**Απόδοση:** 48%

**MW:** 364.82

**Σημείο Τήξης:** 244-246.5°C

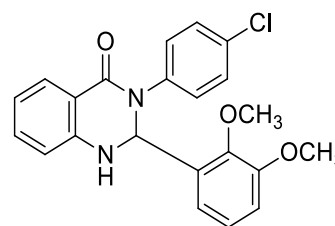
**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ (ppm) 7.9(t, J=9.1Hz, 1H), 7.72(t, J=6Hz, 1H), 7.55(s, -NH, 1H), 7.37(d, J=8.4Hz, 1H), 7.27(m, 5H), 6.85(d, J=8.7Hz, 2H), 6.77-6.69(m, 2H), 6.24(s, -CH, 1H), 3.69(s, -OCH<sub>3</sub>, 3H).

**UV-Vis:** λ<sub>max</sub>=268.4nm

**FT-IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>) 3299.6(N-H), 2937.1, 2837.7, 1649.8(C=O), 1494.6, 1390.2, 1235.2, 1157.1, 820.6

**3-(4-χλωροφαινυλο)-2-(2,3-διμεθοξυφαινυλο)-2,3-διυδροκινναζολιν-4(1H)-όνη (5d)**

Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων σε διαλύτη 5g του NaDES 1 (1:1.5 CC/LA) με τη χρήση 3.06mmol (498.7 mg) ισατοϊκού ανυδρίτη, 4.59 mmol (586 mg) 4-χλωροανιλίνης και 3.06 mmol (509 mg) 2,3-διμεθόξυβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 20 λεπτών. Έπειτα από ανακρυστάλλωση με μεθανόλη παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.



**Απόδοση:** 47%

**MW:** 394.85

**Σημείο Τήξης:** 182-184°C

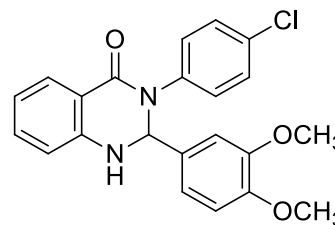
**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ (ppm) 7.73(d, J=7.2Hz, 1H), 7.38(m, 2H), 7.27-7.23(m, 4H), 6.98(m, 2H), 6.94-6.92(m, 1H), 6.75(dd, J<sub>1</sub>=7.8Hz, J<sub>2</sub>=3Hz, 1H), 6.72(m, 1H), 6.46(s, -CH, 1H), 3.76(d, J=3Hz, -OCH<sub>3</sub>, 3H), 3.62(d, J=3Hz, -OCH<sub>3</sub>, 3H).

**UV-Vis:** λ<sub>max</sub>=257.8nm

**FT-IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>) 3284.2(N-H), 2936.1, 2834.9, 1633.4(C=O), 1483.9, 1387.5, 1159, 1015.5, 754.9

**3-(4-χλωροφαινυλο)-2-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)-2,3-διυδροκινναζολιν-4(1H)-όνη (5e)**

Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων σε διαλύτη 5g του NaDES 1 (1:1.5 CC/LA) με τη χρήση 3.14 mmol (512 mg) ισατοϊκού ανυδρίτη, 4.71 mmol (596.2 mg) 4-χλωροανιλίνης και 3.14 mmol (525.3 mg) 3,4-διμεθόξυβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική



διάρκεια 28 λεπτών. Έπειτα από ανακρυστάλλωση με μεθανόλη παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

**Απόδοση:** 81%

**MW:** 394.85

**Σημείο Τήξης:** 212-212.6°C

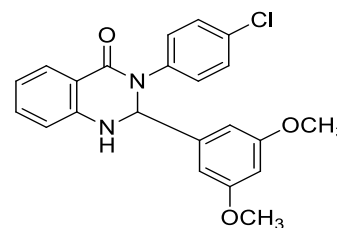
**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ (ppm) 7.71(d, J=7.8Hz, H<sub>5</sub>, 1H), 7.56(s,-NH, 1H), 7.38(m, 2H), 7.29-7.27(m, 3H), 7.02(s, H<sub>10</sub>, 1H), 6.84-6.81(m, 2H), 6.77(d, J=8.4Hz, H<sub>8</sub>, 1H), 6.72(t, J=7.2Hz, H<sub>6</sub>, 1H), 6.23(s, -CH, 1H), 3.67(s, -OCH<sub>3</sub>, 3H), 3.66(s, -OCH<sub>3</sub>, 3H).

**UV-Vis:** λ<sub>max</sub>=258.8nm

**FT-IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>) 3302.6(N-H), 2937.1, 2832.9, 1633.4(C=O), 1488.8, 1385.6, 1164.8, 1024.9, 761.7

### **3-(4-χλωροφαινυλο)-2-(3,5-διμεθοξυφαινυλο)-2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)-όνη (5f)**

Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων σε διαλύτη 5g του **NaDES 1** (1:1.5 CC/LA) με τη χρήση 3.03 mmol (494 mg) ισατοϊκού ανυδρίτη, 4.54 mmol (573.4 mg) 4-χλωροανιλίνης και 3.03 mmol (504.9 mg) 3,5-διμεθόξυβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 20 λεπτών. Έπειτα από ανακρυστάλλωση με μεθανόλη παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.



**Απόδοση:** 46%

**MW:** 394.85

**Σημείο Τήξης:** 184-185.5°C

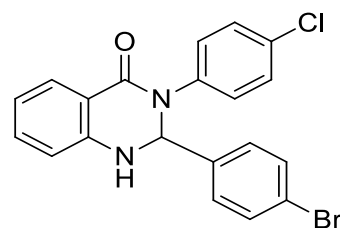
**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ (ppm) 7.71(d, J=7.8Hz, H<sub>5</sub>, 1H), 7.65(s,-NH, 1H), 7.41(m, 2H), 7.31-7.27(m, 3H), 6.77(d, J=7.8Hz, 1H), 6.72(t, J=7.5Hz, 1H), 6.59(s, 2H), 6.4(s, 1H), 6.21(s, -CH, 1H), 3.65(s, -OCH<sub>3</sub>, 6H).

**UV-Vis:** λ<sub>max</sub>=259nm

**FT-IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>) 3301.6(N-H), 2937.1, 2837.7, 1634.3(C=O), 1494.6, 1395.3, 1203.36, 1159.9, 754.03

### 2-(4-βρωμοφαινυλο)-3-(4-χλωροφαινυλο)-2,3-διυδροκινναζολιν-4(1H)-όνη (5g)

Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων σε διαλύτη 2g του NaDES 1 (1:1.5 CC/LA) με τη χρήση 0.97 mmol (158.4 mg) ισατοϊκού ανυδρίτη, 1.46 mmol (185.8 mg) 4-χλωροανιλίνης και 0.97 mmol (176.7 mg) 4-βρωμοβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 15 λεπτών. Έπειτα από ανακρυστάλλωση με αιθανόλη παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.



**Απόδοση:** 53%

**MW:** 413.69

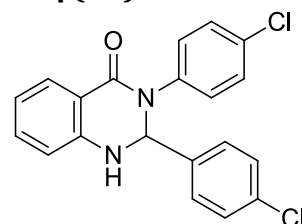
**Σημείο Τήξης:** 178-181°C

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ (ppm) 11.72(s, 1H), 8.64(s, 1H), 7.92(dd, J<sub>1</sub>=7.8Hz, J<sub>2</sub>=1.2Hz, 1H), 7.88(d, J=8.4Hz, 2H), 7.75-7.73(m, 3H), 7.47(d, J=9Hz, 2H), 7.31(d, J=9Hz, 2H), 7.26-7.24(m, 1H), 7.15(d, J=7.8Hz, -CH, 1H)

**UV-Vis:** λ<sub>max</sub>=276.4nm

### 2,3-δισ(4-χλωροφαινυλο)-2,3-διυδροκινναζολιν-4(1H)-όνη (5h)

Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων σε διαλύτη 2g του NaDES 1 (1:1.5 CC/LA) με τη χρήση 1.44 mmol (235.3 mg) ισατοϊκού ανυδρίτη, 2.16 mmol (276.0 mg) 4-χλωροανιλίνης και 1.44 mmol (202.7 mg) 4-χλωροβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 18 λεπτών. Έπειτα από ανακρυστάλλωση με μεθανόλη και κατόπιν με αιθανόλη παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.



**Απόδοση:** 41%

**MW:** 369.24

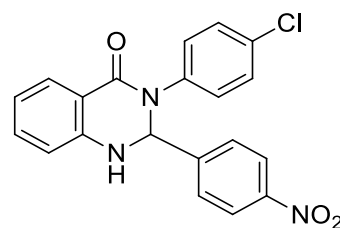
**Σημείο Τήξης:** 250-252°C

**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ (ppm) 7.96(d, J=8.4, 1H), 7.75(t, J=8.6Hz, 2H), 7.43-7.38(m, 5H), 7.29-7.27(m, 3H), 7.75(q, J=6.2Hz, 2H), 6.34(d, J=2.1Hz, -CH, 1H).

**UV-Vis:** λ<sub>max</sub>=269.2nm

### 3-(4-χλωροφαινυλο)-2-(4-νιτροφαινυλο)-2,3-διυδροκινναζολιν-4(1H)-όνη (5i)

Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων σε διαλύτη 2g του **NaDES 1** (1:1.5 CC/LA) με τη χρήση 0.9 mmol (147.1 mg) ισατοϊκού ανυδρίτη, 1.35 mmol (172.6 mg) 4-χλωροανιλίνης και 0.9 mmol (136.3 mg) 4-νιτροβενζαλδεΰδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 15 λεπτών. Έπειτα από ανακρυστάλλωση με αιθανόλη παραλαμβάνεται στερεό κίτρινου χρώματος.



**Απόδοση:** 64%

**MW:** 379.8

**Σημείο Τήξης:** 185-187.5°C

**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ (ppm) 11.73(s, 1H), 8.83(s, 1H), 8.37(d, J=8.7Hz, 2H), 8.19(d, J=8.7Hz, 2H), 8.91(d, J=7.2Hz, 1H), 7.77-7.71(m, 1H), 7.52(d, J=8.7Hz, 2H), 7.39(d, J=8.4Hz, 2H), 7.25(t, J=7.2Hz, 1H), 7.15(d, J=8.1Hz, -CH, 1H).

**UV-Vis:** λ<sub>max</sub>=318.2nm

#### 4.4.2.3. Αποπροστασία των μεθοξυ-ομάδων

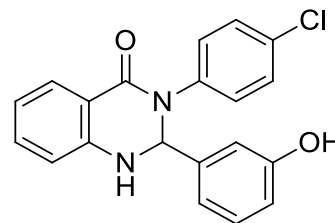
Σε δίλαιμη σφαιρική φυάλη των 50 mL προστίθεται η επιθυμητή ποσότητα της κινναζολινόνης που είναι προς αποπροστασία και 2-3 mL διχλωρομεθάνιο (DCM). Το μίγμα αναδεύεται σε μαγνητικό αναδευτήρα έως ότου να διαλυθεί πλήρως το στερεό. Στη συνέχεια προστίθεται με σύριγγα διάλυμα τριβρωμιδίου του βορίου (BBr<sub>3</sub>) σε διαλύτη CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> σε κατάλληλη αναλογία (5 moles BBr<sub>3</sub> : 1mole -OCH<sub>3</sub>). Το μίγμα αφήνεται προς ανάδευση για 3h (Εικόνα 4.7). Έπειτα προστίθεται νερό με πάγο ώστε να εξουδετερωθεί η περίσσεια του τριβρωμιδίου του βορίου. Ακολουθεί εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα και το προϊόν παραλαμβάνεται έπειτα από εξάτμιση διαλύτη από την οργανική φάση. Ακολουθεί ανακρυστάλλωση με μεθανόλη.



Εικόνα 4.7: Αποπροστασία των μεθοξυ-ομάδων

### 3-(4-χλωροφαινυλο)-2-(3-υδροξυφαινυλο)-2,3-διυδροκινναζολιν-4(1H)-όνη (6a)

Παρασκευάζεται μέσω αποπροστασίας της ένωσης **4b** με χρήση 0.37 mmol αυτής (132.9 mg) και περίπου 2 mmol τριβρωμιδίου του βορίου (0.2 mL). Έπειτα από ανακρυστάλλωση με μεθανόλη παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.



**Απόδοση:** 43%

**MW:** 350.80

**Σημείο Τήξης:** 246-246.6°C

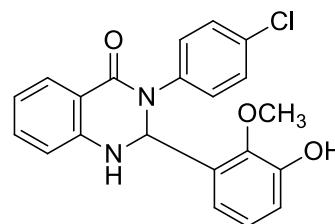
**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ (ppm) 9.46(s, -OH, 1H), 7.71(dd, J<sub>1</sub>=7.8Hz, J<sub>2</sub>=1.2Hz, 1H), 7.61(d, J=2.7Hz, -NH, 1H), 7.41-7.38(m, 2H), 7.30-7.25(m, 3H), 7.11-7.06 (m, 1H), 6.79-6.62(m, 5H), 6.18 (d, J=2.7Hz, -CH, 2H).

**UV-Vis:** λ<sub>max</sub>=279.8nm

**FT-IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>) 3310.2(N-H, O-H), 1629.6(C=O), 1489.7, 1509.1, 862, 757.9

### 3-(4-χλωροφαινυλο)-2-(3-υδροξυ-2-μεθοξυφαινυλο)-2,3-διυδροκινναζολιν-4(1H)-όνη (6b)

Παρασκευάζεται μέσω αποπροστασίας της ένωσης **4d** με χρήση 0.37 mmol αυτής (145.2 mg) και περίπου 2 mmol τριβρωμιδίου του βορίου (0.2 mL). Έπειτα από ανακρυστάλλωση με μεθανόλη παραλαμβάνεται στερεό ροζ χρώματος.



**Απόδοση:** 28%

**MW:** 380.82

**Σημείο Τήξης:** 215-216°C

**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ (ppm) 9.14(s, -OH, 1H), 7.73(d, J=7.8Hz, 1H), 7.37(d, J=8.7Hz, 2H), 7.24(m, 3H), 7.15(s, -NH, 1H), 6.85 (m, 2H), 6.77(d, J=8.1Hz, 1H), 6.73-6.65(m, 2H), 6.44(s, -CH, 1H), 3.76(s, -OCH<sub>3</sub>, 3H).

**UV-Vis:** λ<sub>max</sub>=279.8nm

**FT-IR (KBr):** ν (cm<sup>-1</sup>) 3393.1(N-H, O-H), 2931.3, 2832.9, 1649.8(C=O), 1489.7, 1390.4, 1074.2, 862, 757.9

## 4.4.3. Ταυτοποίηση κινναζολινονών

### 4.4.3.1. Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC)

Η χρωματογραφία λεπτής στιβάδας χρησιμοποιείται για να ταυτοποιηθεί αν έχει παραχθεί το επιθυμητό τελικό προϊόν και αν απαιτείται περαιτέρω επεξεργασία. Συγκεκριμένα, τοποθετούνται κηλίδες (spots) για τα αντιδρώντα (3), για το προϊόν (1) και ένα "co-spot" με όλα τα προηγούμενα σε πλάκα TLC. Το



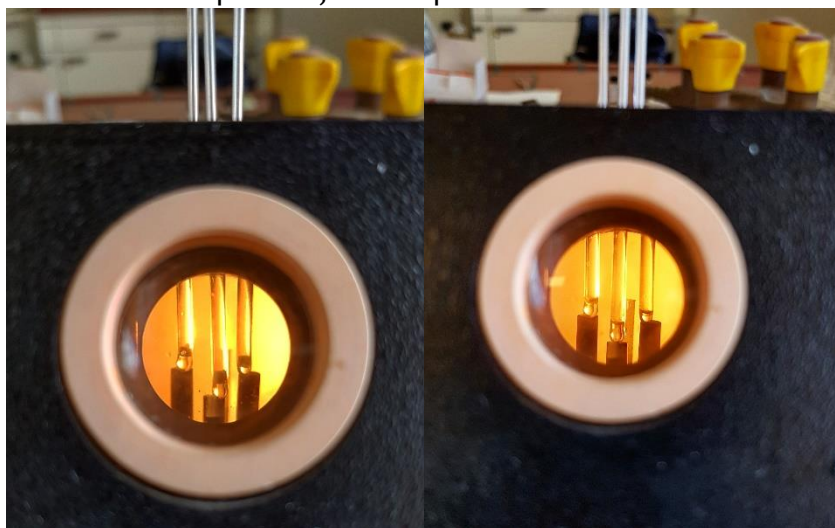
πλακίδιο εμβαπτίζεται σε θάλαμο ανάπτυξης, στον οποίο περιέχονται πετρελαϊκός αιθέρας και οξικός αιθυλεστέρας σε αναλογία 6:4 ή 8:2 αναλόγως της πολικότητας των ενώσεων. Έπειτα, ακολουθεί έκθεση σε UV ακτινοβολία και σημειώνεται μέχρι ποιο σημείο έχει φθάσει ο διαλύτης. Το σημείο αυτό είναι μοναδικό για κάθε ένωση που δεν περιέχει προσμίξεις. Έπειτα από εμποτισμό με PMA (Phosphomolybdic acid) παρατηρείται εάν υπάρχει περαιτέρω χρωματισμός των σημείων, όπως παρουσιάζεται και στην Εικόνα 4.8.



Εικόνα 4.8: TLC της κινεζολιμόνης 4d έπειτα από ανακρυστάλλωση

#### 4.4.3.2. Μέτρηση Σημείου Τήξης

Ο προσδιορισμός του σημείου τήξης μιας ένωσης είναι ένας τρόπος για να ελεγχθεί αν μια ουσία είναι καθαρή. Μια καθαρή ουσία έχει συνήθως ένα εύρος τήξης ενός ή δύο βαθμών, δηλαδή διαφορά μεταξύ της θερμοκρασίας όπου το δείγμα αρχίζει να λιώνει και της θερμοκρασίας όπου η τήξη έχει ολοκληρωθεί. Οι ακαθαρσίες τείνουν να διευρύνουν το εύρος τήξης έτσι με αποτέλεσμα η εξεταζόμενη ουσία να έχει υψηλότερο εύρος τήξης συγκριτικά με την αντίστοιχη καθαρή. Η διαδικασία παρουσιάζεται στην Εικόνα 4.9.



Εικόνα 4.9: Προσδιορισμός σημείου τήξης κινεζολιμόνων· αριστερά παρουσιάζονται οι ενώσεις πριν την τήξη τους, ενώ δεξιά μετά από αυτή.

#### **4.4.3.3. Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (H-NMR)**

Για την ταυτοποίηση της εκάστοτε ένωσης απαιτείται φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR όπου 4-10 mg των ενώσεων διαλύονται στον κατάλληλο δευτεριωμένο διαλύτη. Ως διαλύτης φάσματος  $^1\text{H}$  NMR, χρησιμοποιείται δευτεριωμένο διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO- $d_6$ ) και δευτεριωμένο χλωροφόρμιο ( $\text{CDCl}_3$ ). Η ανάλυση των ενώσεων και του εκχυλίσματος πραγματοποιήθηκε σε φασματογράφο 300 και 600 MHz.

#### **4.4.3.4. Φασματομετρία μάζας (MS)**

Για την ταυτοποίηση των ενώσεων χρησιμοποιείται και φασματομετρία μάζας. Για την προετοιμασία των δειγμάτων ζυγίζεται 1 mg για την κάθε εξεταζόμενη ένωση και διαλύεται σε 1 mL μεθανόλη (MeOH). Σε αυτό προστίθενται 1  $\mu\text{L}$  οξικού οξέος και τοποθετούνται σε γυάλινη σύριγγα που συνδέεται στο φασματοφωτόμετρο MS.

#### **4.4.3.5. Φασματοσκοπία υπέρυθρου (FT-IR)**

Για τον χαρακτηρισμό των νέων κιναζολινικών αναλόγων ελέγχονται με φασματοσκοπία υπέρυθρου με μετασχηματισμό Fourier (FT-IR). Αρχικά, πρέπει παρασκευάζεται στερεή παστίλια από κάθε ένωση. Πιο συγκεκριμένα, μικρή ποσότητα ένωσης (κάποιοι κόκκοι) λιωτριβείται με ξηρό βρωμιούχο κάλιο (KBr) που διατηρείται σε ξηραντήρα καθ' όλη τη διάρκεια της διαδικασίας με εφαρμογή δύναμης στην πρέσα 10 tn. Στη συνέχεια, πραγματοποιείται η μελέτη της αλληλεπίδρασης με την υπέρυθη ακτινοβολία στο εύρος 4000–400  $\text{cm}^{-1}$ .

#### **4.4.3.6. Φασματοσκοπία υπεριώδους (UV-Vis)**

Για τον περαιτέρω χαρακτηρισμό των νέων κιναζολινικών αναλόγων ελέγχονται με φασματοσκοπία υπεριώδους και ορατού (UV-Vis). 10 mg της κάθε ένωσης ζυγίζεται και τοποθετείται σε vials και διαλύονται σε 1 mL διμεθυλοσουλφοξειδίου (DMSO). Για καλύτερη ανάμειξη χρησιμοποιείται vortex. Με χρήση αυτόματης πιπέτας τοποθετούνται 5  $\mu\text{L}$  του διαλύματος σε κυψελίδα και τοποθετείται στο φασματοφωτόμετρο UV-Vis. Πραγματοποιείται η μελέτη της αλληλεπίδρασης με την ακτινοβολία μήκους κύματος 200-600 nm.

## 4.5. Βιολογικές δοκιμές

### 4.5.1. Μελέτη αλληλεπίδρασης με το DNA

#### 4.5.1.1. Τιτλοδότηση ορατού-υπεριώδους (UV-Vis titration)

Η αλληλεπίδραση των ενώσεων με το DNA όπως αναφέρθηκε και στην ενότητα 3.2. προκαλεί δομικές αλλαγές στο DNA που οδηγούν πολλές φορές σε μερικό ξετύλιγμα της έλικας και επιμήκυνση του μορίου, με συνέπεια να προκαλούνται εμφανείς αλλαγές στην υδροδυναμική συμπεριφορά του πολυμερούς, όπως μεταβολή του ιξώδους και αλλαγή της ηλεκτροφορητικής ευκινησίας. Έτσι η αλληλεπίδραση ενός μορίου με το DNA θα μπορούσε να εξεταστεί με διάφορες μεθόδους όπως είναι η φασματοσκοπία απορρόφησης UV, μετρήσεις ιξώδους και ηλεκτροφόρησης. Στην παρούσα εργασία εξετάζεται η πρώτη μέθοδος. Αυτή χρησιμοποιείται για να ληφθούν αρχικές πληροφορίες σχετικά με την με την ύπαρξη οποιασδήποτε αλληλεπίδρασης της ουσίας με το CT-DNA (Calf thymus) και τον βαθμό της επίδρασης σε αυτό (υπολογίζεται η σταθερά σύνδεσης με το DNA,  $K_b$ ).<sup>49</sup>

Η μελετώμενη ένωση λοιπόν αλληλεπιδρά με το μόριο του DNA και εμφανίζονται αλλαγές στην απορρόφηση ή/και μετατόψεις στο μήκος κύματος. Συγκεκριμένα, κατά την παρεμβολή της ένωσης στο DNA παρατηρείται μείωση της απορρόφησης (υποχρωμία) με ταυτόχρονη μετατόπιση της απορρόφησης σε μεγαλύτερα μήκη κύματος (βαθυχρωμία, red-shift). Σε περίπτωση συναρμογής της ένωσης στην εξωτερική επιφάνεια του DNA (external binding ή groove binding) παρατηρείται υπερχρωμία της ταινίας. Επίσης η υπερχρωμία σε κάποιες περιπτώσεις αποτελεί ένδειξη καταστροφής δεσμών υδρογόνου μεταξύ των βάσεων, άρα και της δευτεροταγούς δομής του DNA. Η μετατόπιση της θέσης του  $\lambda_{max}$  δείχνει σταθεροποίηση ή μη της έλικας του DNA μετά την αλληλεπίδραση με την ένωση. Η βαθυχρωμία ή ερυθρή μετατόπιση (red-shift) δείχνει σταθεροποίηση της ελικοειδούς δομής DNA λόγω αλληλεπίδρασης με την ένωση. Αντίθετα, μετατόπιση προς μικρότερα μήκη κύματος, υψιχρωμία ή κυανή μετατόπιση (blue-shift), δείχνει αποσταθεροποίηση της έλικας του DNA.<sup>50</sup>

Για την εφαρμογή της μεθόδου παρασκευάζεται αρχικά ρυθμιστικό διάλυμα Tris-HCl (10 mM). Ζυγίζονται 605.7 mg Tris και διαλύονται σε 500 mL υπερκάθαρου νερού. Το pH του διαλύματος ρυθμίζεται στα 7.4 με τη χρήση σταγόνων HCl (10% v/v).

Κατόπιν παρασκευάζεται διάλυμα DNA με διάλυση ινών φυσικού DNA από θύμο αδένα βοοειδούς (CT-DNA), 1mg /mL σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris-HCl (10 mM), το οποίο αναδεύεται για 24 ώρες υπό ψύξη (4 °C). Η συγκέντρωση του διαλύματος DNA ανά νουκλεοτίδιο υπολογίζεται με φασματοσκοπία απορρόφησης και υπολογίζεται από το πηλίκο της απορρόφησης του διαλύματος στα 260 προς τον συντελεστή μοριακής απορρόφησης της κορυφής στα 260 nm, που είναι  $6600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ . Ο λόγος της UV απορρόφησης στα 260:280 nm είναι 1.8-1.9:1, κάτι που υποδηλώνει ότι το DNA είναι ελεύθερο από πρωτεΐνες. Το διάλυμα μπορεί να παραμείνει στο ψυγείο το πολύ για 4 ημέρες και πριν την επαναχρησιμοποίηση του ελέγχεται με φάσμα ηλεκτρονικής απορρόφησης.<sup>51</sup>

Οι παραγόμενες κινάζολινόνες εξετάστηκαν ως προς την αλληλεπίδρασή τους με το DNA. Αυτές διαλύονται σε διμεθυλοσουλφοξειδίου (DMSO) προς συγκέντρωση

10 mM και στη συνέχεια αραιώνονται με το ρυθμιστικό διάλυμα Tris-HCl προς συγκέντρωση 25 μM. Διατηρώντας σταθερή τη συγκέντρωση της εξεταζόμενης κινολογίνης μεταβάλλεται η συγκέντρωση του CT-DNA (0-50 μM). Το μίγμα ένωσης-DNA επωάζεται για 5 λεπτά πριν τη μέτρηση στο φασματοφωτόμετρο. Μελετώνται οι μεταβολές που λαμβάνουν χώρα στα φάσματα UV (200-400 nm) διαλύματος της ένωσης με την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων του CT-DNA και καταγράφονται οι μεταβολές τόσο της απορρόφησης και όσο της τιμής του  $\lambda_{max}$ .

Οι παρατηρούμενες μεταβολές μπορούν να οδηγήσουν σε αξιόπιστα συμπεράσματα σχετικά με το είδος της αλληλεπίδρασης. Η σταθερά σύνδεσης,  $K_b$ , της ένωσης με το CT-DNA προσδιορίζεται από το λόγο της τεταγμένης επί της αρχής προς την κλίση της ευθείας ελαχίστων τετραγώνων που προσδιορίζεται σε διαγράμματα του λόγου σε συνάρτηση με τη [DNA] με βάση την εξίσωση Benesi-Hildebrand:

$$\frac{1}{A_f - A_{obs}} = \frac{1}{A_f - A_{fc}} + \frac{K_b}{(A_f - A_{fc}) \cdot [DNA]}$$

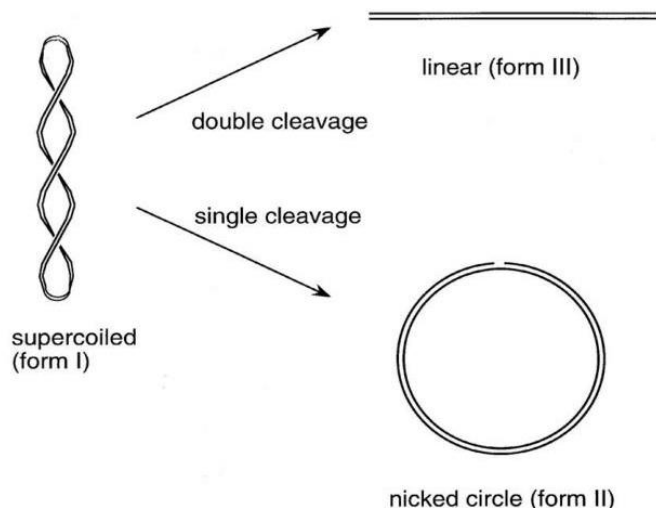
όπου  $K_b$ : η σταθερά ισχύος σύνδεσης της ένωσης με το DNA,  $A_f$ : η απορρόφηση της ελεύθερης ένωσης,  $A_{obs}$ : η παρατηρούμενη απορρόφηση της δεσμευμένης ένωσης,  $A_{fc}$ : η απορρόφηση κορεσμού.<sup>49</sup>

#### 4.5.1.2. Υπολογιστική μελέτη αλληλεπίδρασης (Molecular docking)

Για τον σχεδιασμό των ενώσεων χρησιμοποιήθηκε το HyperChem 7.0 software (version 7.0, Hypercube, Inc, Gainesville, FL, USA, [www.hyper.com](http://www.hyper.com)). Για την υπολογιστική μελέτη χρησιμοποιείται το AutoDockTools 1.5.7, ενώ για την απεικονιστική μελέτη χρησιμοποιείται το PyMOL Software.

#### 4.5.1.3. Φωτοβόληση ενώσεων παρουσία πλασμιδιακού DNA

Η ικανότητα φωτοδιάσπασης του DNA διερευνάται χρησιμοποιώντας υπερελικομένο DNA πλασμιδίου pBR322 απουσία και παρουσία υπεριώδους ακτινοβολίας. Η διάσπαση του DNA έπεται από την προσθήκη της ένωσης φωτοδιασπαστή μπορεί να γίνει ορατή με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης. Το υπερελικομένο DNA πλασμιδίου (Μορφή I) μετατρέπεται σε κυκλικό DNA (Μορφή II) με σχάσεις στον ένα κλώνο και σε γραμμικό DNA (Μορφή III) με σχάσεις του διπλού κλώνου (Εικόνα 4.10). Εκτεταμένη σχάση του διπλού κλώνου οδηγεί σε αποικοδόμηση του DNA.<sup>35,42</sup>



Εικόνα 4.10: Φωτοδιάσπαση περιελυκομένου DNA πλασμιδίου

Αρχικά γίνεται παρασκευή ρυθμιστικού διαλύματος Tris 25 mM. Συγκεκριμένα διαλύονται 6 mg σκόνης 2-αμινο-2-(υδροξυμέθυλο)-1,3-προπανοδιόλης (Trizma base) σε 20 mL αποστειρωμένου νερού (διάλυμα Α) ενώ ακολουθεί αραιώση 1:10 με τελικό όγκο 20 mL (διάλυμα Β με συγκέντρωση 250 mM). Το διάλυμα Β αραιώνεται 10 φορές ώστε η συγκέντρωση να γίνει 25 mM σε τελικό όγκο επίσης 20 mL και γίνεται ρύθμιση του pH σε τιμή 6.8.

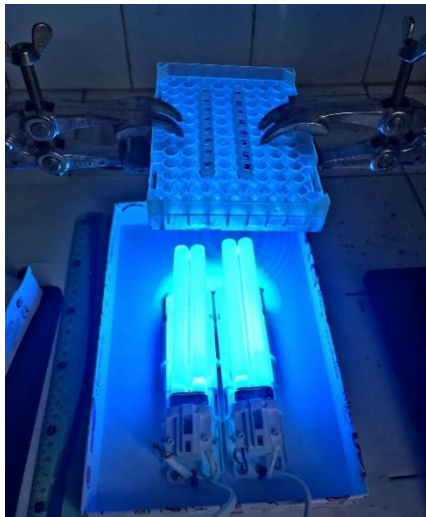
Στη συνέχεια παρασκευάζεται διάλυμα TBE (Tris Boric EDTA) 10 X και 1 X. Σε 700 mL αποστειρωμένου νερού προστίθενται 108 g Tris, 55 g βορικού οξέος και 40 mL EDTA 0.5 M. Το διάλυμα αναδεύεται έως ότου να γίνει διαυγές και εν συνεχεία γίνεται μέτρηση του pH και ρύθμισή του αν αυτό είναι απαραίτητο. Συμπληρώνεται και η υπόλοιπη ποσότητα νερού μέχρι τον όγκο του ενός λίτρου και ακολουθεί φιλτράρισμα με χαρτί whatman. Για το διάλυμα TBE 1 X γίνεται αραιώση 1:10 με τελικό όγκο 1 L, οπότε σε 900 mL απιονισμένου νερού προσθέτουμε 100 mL TBE 10 X.

Για την παρασκευή πηκτώματος αγαρόζης 1 % χρησιμοποιείται σκόνη αγαρόζης (Invitrogen). Διαλύουμε 500 mg αγαρόζης σε 50 mL διαλύματος TBE 1 X με θέρμανση σε φούρνο μικροκυμάτων για ένα λεπτό. Στη συνέχεια, αφού το διάλυμα γίνει διαυγές ψύχεται κάτω από τρεχούμενο νερό για 1 λεπτό και τότε προσθέτουμε 5 mL βρωμιούχου αιθιδίου (αραιώση 1: 10.000). Τοποθετούμε το διάλυμα στο κατάλληλο εκμαγείο ώστε να δημιουργηθούν οι θέσεις τοποθέτησης των διαλυμάτων. Αφού το διάλυμα στερεοποιηθεί μπορεί να τοποθετηθεί στην συσκευή ηλεκτροφόρησης προσθέτοντας TBE μέχρι να καλυφθεί η πηκτική δημιουργώντας έτσι κύκλωμα ώστε το ρεύμα να διέρχεται από το TBE και την πηκτική.

Οι κινζολινόνες που μελετώνται ως προς τη φωτοδιάσπαση διαλύονται σε DMSO (διμεθυλοσουλφοξείδιο) σε αρχική συγκέντρωση 5 mM. Αυτό αραιώνεται δίνοντας τελική συγκέντρωση 100-500  $\mu$ M.

Για την διαδικασία της φωτοβόλησης (Εικόνα 4.11) παρασκευάζονται διαλύματα τα οποία περιέχουν την κατάλληλη ποσότητα της εκάστοτε ουσίας ανάλογα με τη ζητούμενη συγκέντρωση, 500 ng πλασμιδίου και διάλυμα Tris. Αυτά

τοποθετούνται σε γυάλινα φιαλίδια σε τελικό όγκο 20  $\mu\text{L}$ . Η φωτοβόλησή τους πραγματοποιείται για την κατάλληλη ώρα και απόσταση ανάλογα με τις ανάγκες του πειράματος με υπεριώδη ακτινοβολία 312 nm ή 365 nm. Ειδικότερα, στα 312 nm η φωτοβόληση πραγματοποιήθηκε σε ύψος 15 cm και για χρονικό διάστημα 30 λεπτών ενώ στα 365 nm πραγματοποιήθηκε σε ύψος 10 cm και για χρονικό διάστημα 2 ωρών.



Εικόνα 4.11: Διαδικασία φωτοβόλησης δειγμάτων παρουσία πλασμιδιακού DNA

Κατά τη φόρτωση των διαλυμάτων στην πηκτή, προσθέτουμε στο φιαλίδιο 4  $\mu\text{L}$  χρωστικής Orange Loading Dye 6 X (Fermentas) και τοποθετούμε όλο το διάλυμα στη θέση φόρτωσης και ακολουθεί ηλεκτροφόρηση των δειγμάτων για 1 ώρα στα 70W (Εικόνα 4.12). Για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων, η πηκτή αγαρόζης φωτογραφίζεται από ειδική κάμερα σε ακτινοβολία UV.



Εικόνα 4.12: Ηλεκτροφόρηση δειγμάτων σε πηκτή αγαρόζης

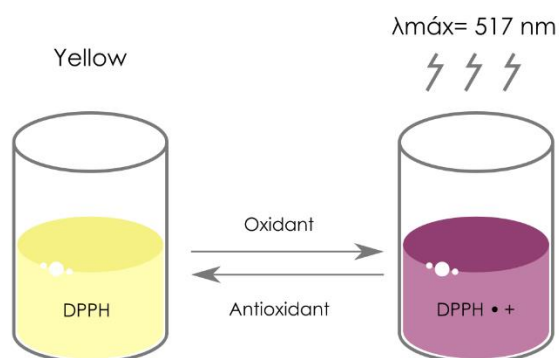
Η επεξεργασία των εικόνων πραγματοποιείται με το πρόγραμμα «Image J» (<http://rsb.info.nih.gov/ij/download.html>). Μέσω αυτού επιλέγονται οι ζητούμενες ζώνες και έπειτα από κατάλληλη διαδικασία ορίζεται η ένταση της εκάστοτε ζώνης και στη συνέχεια με τη χρήση «Microsoft Excel» υπολογίζεται το ποσοστό μετατροπής της μορφής I στην μορφή II και III του DNA. Σημειώνεται

πως σε κάθε ουσία αφαιρείται η μέτρηση της σειράς «control» (δηλαδή της σειράς με τα ίδια αντιδραστήρια που υποβάλλεται σε ακτινοβολή αλλά χωρίς την ουσία) για τη μορφή II.



#### 4.5.2. Δοκιμή DPPH

Για την μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης μία ουσίας έχει αναπτυχθεί πληθώρα μεθόδων. Μία από τις πιο διαδεδομένες *in vitro* δοκιμασίες είναι η μέθοδος δέσμευση ελεύθερης ρίζας η οποία χρησιμοποιείται εκτεταμένα για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ιδιότητας φυσικών ή συνθετικών ενώσεων. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην αντίδραση του DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl: DPPH) με δότες υδρογόνου για την παραγωγή ενός σταθερού προϊόντος. Σε περίπτωση αντίδρασης σε μεγάλο ποσοστό η αλλαγή είναι ορατή στο μάτι καθώς το διάλυμα, που λόγω του DPPH έχει χρώμα μωβ, αποχρωματίζεται και μετατρέπεται σε αχνό κίτρινο όπως φαίνεται στην Εικόνα 4.13.<sup>47</sup>



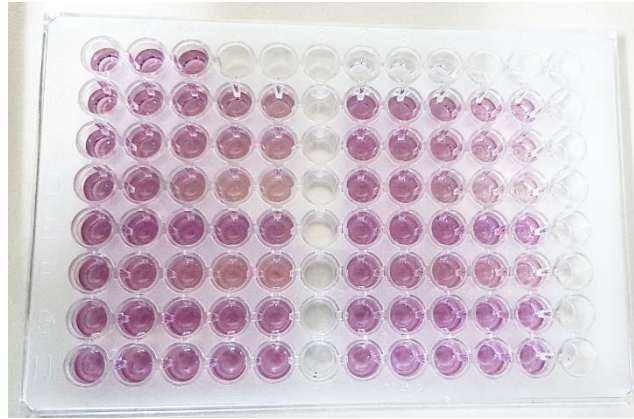
Εικόνα 4.13: Δοκιμή DPPH

Η παρασκευή του διαλύματος DPPH περιλαμβάνει τη ζύγιση 2.5 mg το οποίο στη συνέχεια διαλύεται σε 100 mL αιθανόλη (EtOH) και φυλάσσεται σε σκοτεινό μέρος, όπου αφήνεται να αναδευτεί για τριάντα λεπτά μέχρι να επιτευχθεί πλήρης διάλυση του DPPH.

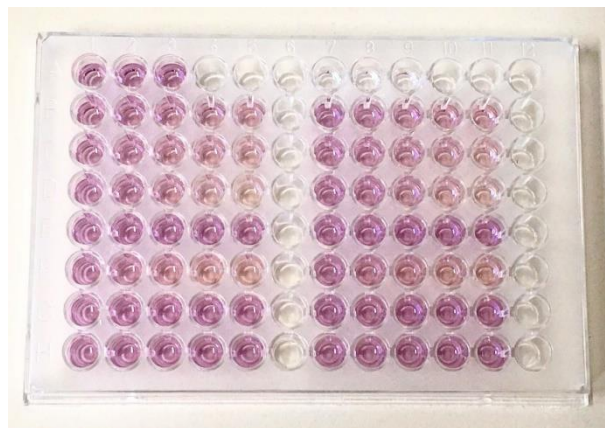
Οι κινολίνες που εξετάζονται για την αντιοξειδωτική τους δράση διαλύονται σε διμεθυλοσουλφοξειδίου (DMSO) προς συγκέντρωση 4 mM. Ακολουθούν διαδοχικές αραιώσεις, με διαλύτη DMSO, με τελικές συγκεντρώσεις τα 3 mM, 2 mM, 1 mM και 0.2 mM. Για κάθε ένωση τοποθετούνται στο δειγματοφορέα 5  $\mu$ L ένωσης και 195  $\mu$ L από το διάλυμα του DPPH, το οποίο επαναλαμβάνεται για όλες τις συγκεντρώσεις της κάθε ένωσης. Για την μέτρηση της απορρόφησης σε συγκέντρωση 0 mM τοποθετούνται 195  $\mu$ L DPPH και 5  $\mu$ L DMSO. Επιπλέον, τοποθετούνται και τρία τυφλά δείγματα (blank) που να περιέχουν 195  $\mu$ L EtOH και 5  $\mu$ L DMSO. Κατόπιν ο δειγματοφορέας αφήνεται σε σκοτεινό μέρος και τα μίγματα επωάζονται.

Η απορρόφηση του κάθε διαλύματος μετράται μέσω φασματοσκοπίας υπεριώδους-ορατού (UV-Vis) στα 515 nm σε χρονικό διάστημα 30 (Εικόνα 4.14) και 60 λεπτά (Εικόνα 4.15) από τη στιγμή που θα τοποθετηθεί το τελευταίο δείγμα.





Εικόνα 4.14: Επώαση ενώσεων-DPPH στον δειγματοφορέα για 30 min



Εικόνα 4.15: Επώαση ενώσεων-DPPH στον δειγματοφορέα για 60 min

Βάσει των μετρήσεων υπολογίζεται το ποσοστό αναστολής της δράσης των ελεύθερων ριζών προς την παραγωγή ενός σταθερού προϊόντος (% Inhibition) και το IC<sub>50</sub>, δηλαδή η αποτελεσματική συγκέντρωση της μετρούμενης ένωσης ώστε να εξουδετερωθεί το 50% των ελεύθερων ριζών. Όσο χαμηλότερη είναι η συγκέντρωση τόσο πιο καλή αντιοξειδωτική δράση έχει η ένωση. Στη συνέχεια γίνεται σύγκριση αυτής της τιμής με την αντίστοιχη ευρέως χρησιμοποιούμενης αντιοξειδωτικής ουσίας, το Trolox. Το Trolox είναι υδατοδιαλυτό ανάλογο βιταμίνης E το οποίο χρησιμοποιείται ως αντιοξειδωτικό σε βιολογικές ή βιοχημικές εφαρμογές.<sup>48</sup>

Οι υπολογισμοί για την μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης πραγματοποιούνται ως εξής. Κατ' αρχάς στις παρατηρούμενες απορροφήσεις ( $A_{obs}$ ) των δειγμάτων αφαιρείται αυτή των τυφλών δειγμάτων ( $A_{blank}$ ).

$$A = A_{obs} - A_{blank}$$

Το ποσοστό αναστολής υπολογίζεται σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση για κάθε αραιώση του εκάστοτε κιναζολινικού αναλόγου.

$$\%Inhibition = \frac{A_0 - A}{A_0} \cdot 100\%$$

όπου  $A_0$ : η απορρόφηση για 0 mM ένωσης

Το IC<sub>50</sub> υπολογίζεται έπειτα από την γραμμική προσαρμογή των δεδομένων των συγκεντρώσεων και του ποσοστού αναστολή με τη μέθοδο των ελάχιστων τετραγώνων (%Inhibition = a · C + b).

$$IC_{50} = \frac{50\% - b}{a}$$

Επίσης για συγκριτικούς λόγους μπορεί να χρησιμοποιηθεί ο δείκτης TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) ο οποίος εκφράζεται ως εξής:

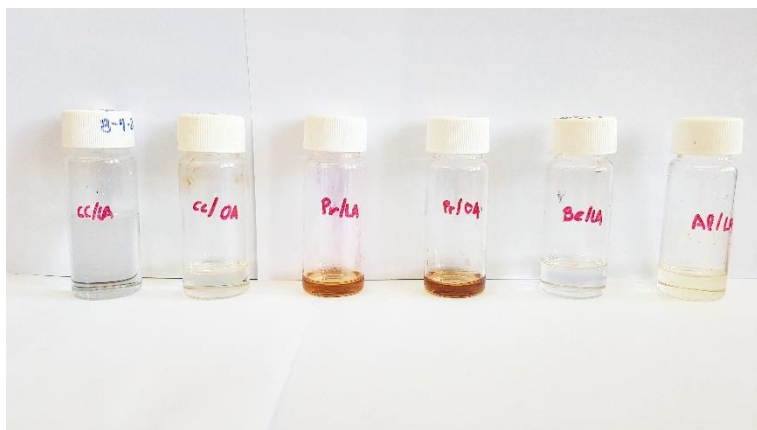
$$TEAC = \frac{IC_{50}(\text{Trolox})}{IC_{50}(\text{sample})}$$

Όσο μεγαλύτερος είναι αυτός ο δείκτης, τόσο καλύτερη αντιοξειδωτική δράση έχει η εκάστοτε ένωση.

## 5. Αποτελέσματα - Συζήτηση

### 5.1. Σύνθεση NaDES

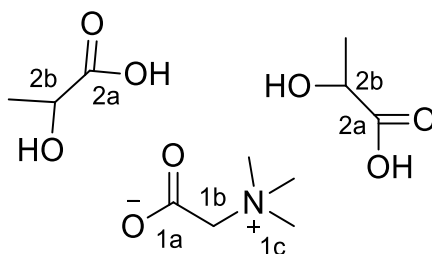
Στην Εικόνα 5.1 απεικονίζονται τα NaDES που παράχθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν ως διαλύτες και καταλύτες στην παρούσα διπλωματική για την σύνθεση κιναζολινικών αναλόγων.



Εικόνα 5.1: Παρουσίαση παραχθέντων NaDES.

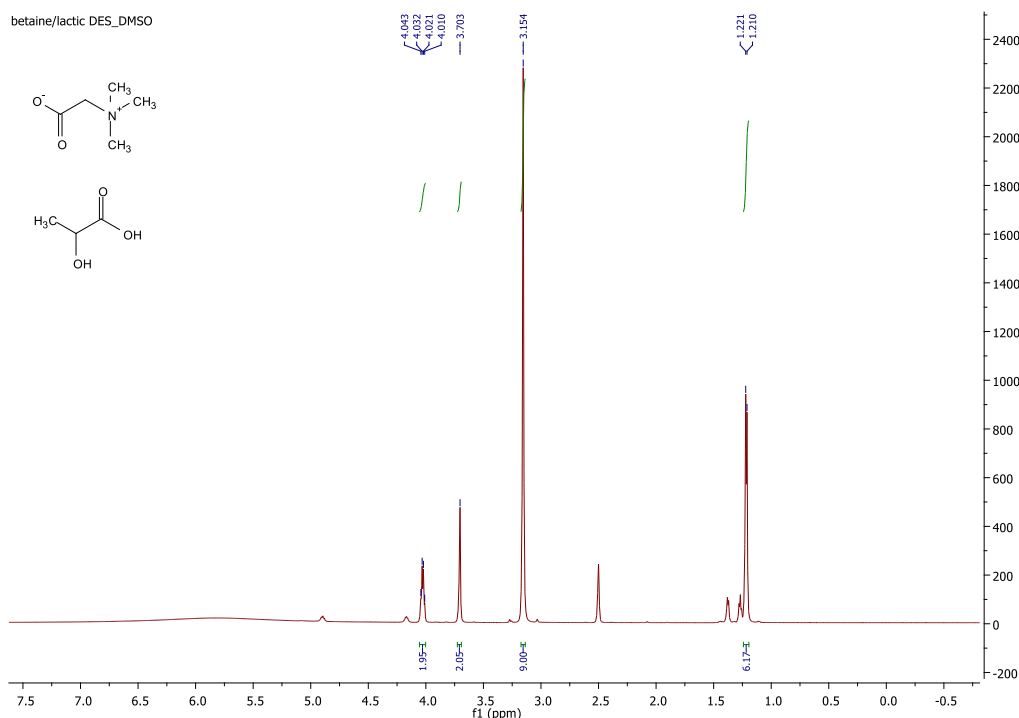
#### 5.1.1. Χαρακτηρισμός NaDES 3

Χάριν ευκολίας επιλέχθηκε η αναλυτική παρουσίαση ενός από τα NaDES, του **NaDES 3**, το οποίο περιέχει βεταΐνη και γαλακτικό οξύ σε αναλογία 1:2.



Σχήμα 5.1: Δομή του **NaDES 3** (Be/LA) με αριθμημένες θέσεις

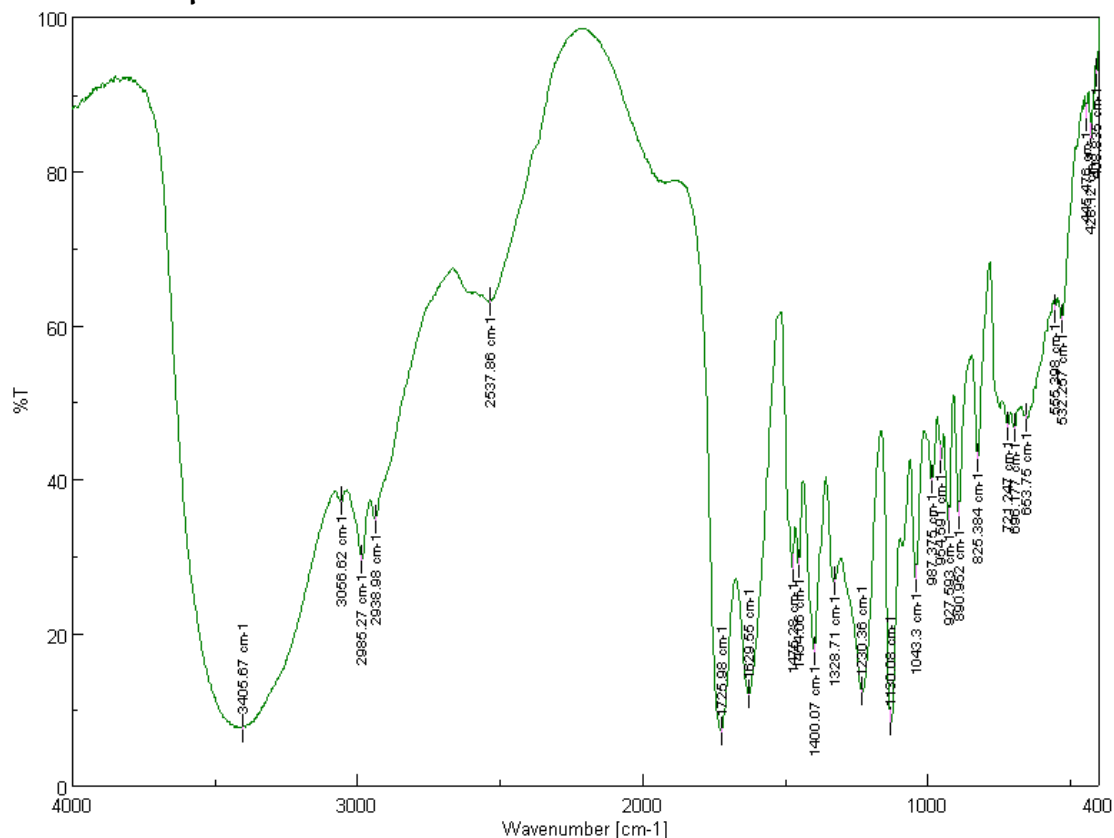
### 5.1.1.1. Φασματοσκοπία H-NMR



Εικόνα 5.2: Φάσμα πρωτονίου <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) του NaDES 3

Στο φάσμα που φαίνεται στην Εικόνα 5.2 εντοπίζονται τα πρωτόνια των δύο συστατικών του NaDES, βεταΐνη και γαλακτικό οξύ. Αυτά αναμένεται να βρίσκονται στα υψηλά πεδία καθώς είναι αλειφατικά. Συγκεκριμένα, στα 4.03 ppm εμφανίζεται μια τετραπλή κορυφή με σταθερά σύζευξης  $J=6.6$  Hz, η οποία ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια, ένα για κάθε ομάδα μεθινίου (θέση 2b) σε κάθε μόριο γαλακτικού οξέος. Ακολουθεί μια απλή κορυφή στα 3.70 ppm που ολοκληρώνεται για 2 πρωτόνια και αντιστοιχεί στην ομάδα μεθυλενίου στη θέση 1b του μορίου βεταΐνης. Στα 3.15 ppm εντοπίζεται μια απλή κορυφή που ολοκληρώνεται για εννέα πρωτόνια και αντιστοιχεί στα εννέα ισοδύναμα πρωτόνια των μεθυλίων του αζώτου (θέση 1c) της βεταΐνης. Τέλος, στα 1.22 ppm υπάρχει μια διπλή κορυφή με σταθερά σύζευξης  $J=6.6$  Hz, η οποία ολοκληρώνεται για έξι πρωτόνια και αντιστοιχεί στο μεθύλιο του κάθε μορίου γαλακτικού οξέος. Τα πρωτόνια των υδροξυλίων είναι πιο αποπροστατευμένα και ευκίνητα και εμφανίζονται ως ευρεία, χαμηλής έντασης κορυφή στην περιοχή (7-5ppm).

### 5.1.1.2. Φασματοσκοπία FTIR-ATR

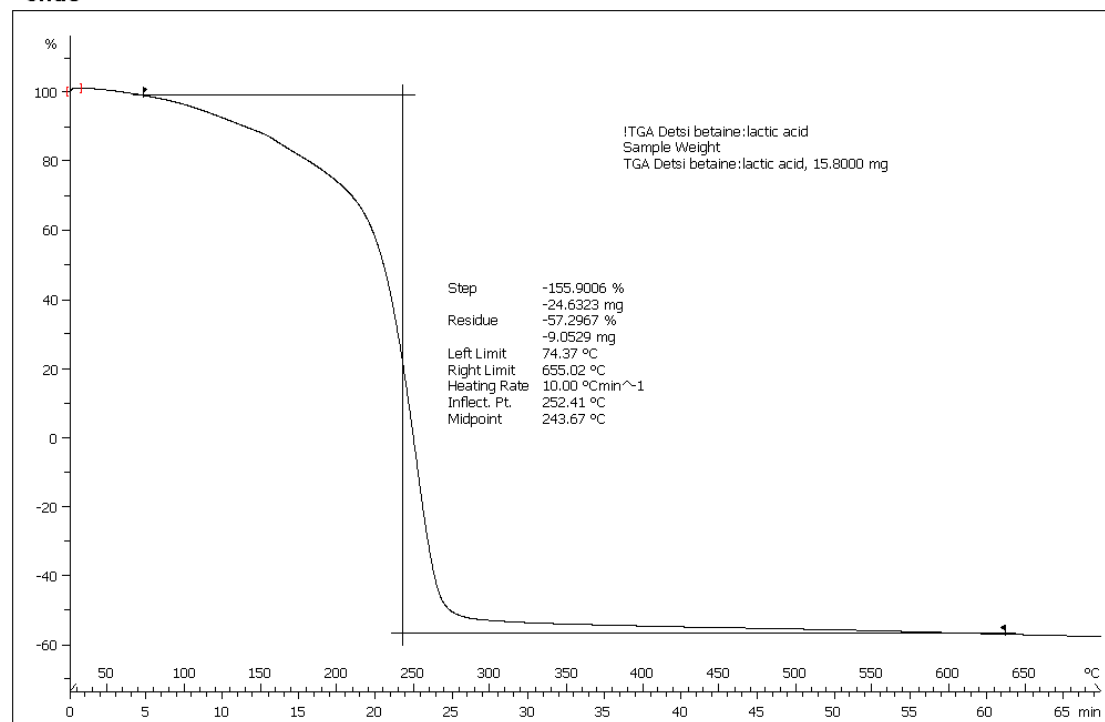


Εικόνα 5.3: Φάσμα πρωτονίου FT-IR του **NaDES 3**

Το φάσμα FT-IR του **NaDES 3** (Εικόνα 5.3) εμφανίζει χαρακτηριστικές κορυφές για τη βεταΐνη και το γαλακτικό οξύ, για κάποιες από τις οποίες θα γίνει προσπάθεια ταυτοποίησης. Η ευρεία κορυφή στα  $3405.7\text{ cm}^{-1}$  προέρχεται από μια αλληλοεπικάλυψη των χαρακτηριστικών κορυφών δονήσεων τάσης των αμινομάδων (-NR) καθώς και υδροξυλίων (O-H) με που συμμετέχουν σε διαμοριακούς δεσμούς υδρογόνου. Στα  $2985.3\text{ cm}^{-1}$  πιθανώς αποδίδεται σε δονήσεις μεθυλομάδων (-CH<sub>3</sub>). Η κορυφή στα  $1726.9\text{ cm}^{-1}$  είναι χαρακτηριστική για την ασύμμετρη δόνηση τάσης C=O, ενώ στα  $1130.1\text{ cm}^{-1}$  παρατηρείται η ταλάντωση C-O των οξέων. Η κορυφή στα  $1400.1\text{ cm}^{-1}$  είναι χαρακτηριστική για τις δονήσεις τάσης αλειφατικών -CH<sub>2</sub>. Επιπλέον υπάρχει πλήθος κορυφών στο εύρος  $1300 - 880\text{ cm}^{-1}$  οι οποίες μπορούν να αποδοθούν σε δονήσεις των ομάδων C-N<sup>+</sup>.

### 5.1.1.3. Θερμοσταθμική Ανάλυση (TGA)

^endo



Lab: METTLER

STAR<sup>e</sup> SW 9.20

Εικόνα 5.4: Διάγραμμα TGA του NaDES 3

Εφόσον τα NaDES στην παρούσα εργασία χρησιμοποιούνται για τη διττή φύση τους ως διαλύτες και καταλύτες σε αντιδράσεις οι οποίες πραγματοποιούνται με προσφορά ενέργειας στο σύστημα, κρίνεται χρήσιμη και η αναφορά στο διάγραμμα (Εικόνα 5.4) που απεικονίζει τη θερμοσταθμική ανάλυση (TGA) για το **NaDES 3**. Έτσι με βάση το διάγραμμα αυτό προκύπτει η συμπεριφορά του NaDES κατά την καύση του είναι ιδιαίτερα ομαλή. Η θερμοκρασία αποδόμησής του είναι κοντά στους 243°C, δηλαδή αρκετά υψηλή συγκριτικά με τις ήπιες συνθήκες που χρησιμοποιούνται για την σύνθεση. Όλοι οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν έχουν θερμοκρασία αποδόμησης κοντά στους 250°C, όπως φαίνεται στο παράρτημα 8.6, και συνεπώς μπορούν να χρησιμοποιηθούν χωρίς την ύπαρξη κινδύνου αποδόμησης.

### 5.1.2. Σύγκριση μεθόδων σύνθεσης

Στον παρακάτω Πίνακα (Πίνακας 5.1) και στην Εικόνα 5.5 παρουσιάζονται συγκριτικά οι μέθοδοι σύνθεσης των NaDES (I: Θέρμανση & Ανάδευση, II: Εξάτμιση, III: Λυοφιλοποίηση, IV: Υπέρηχοι) που εξετάστηκαν για την σύνθεση ίδιας ποσότητας **NaDES 5** (CC/OA).

Πίνακας 5.1: Συγκριτική παρουσίαση των μεθόδων σύνθεσης για το **NaDES 5**.

Μέθοδος	Θερμοκρασία	Χρόνος	Οικονομία Ατόμων	Factor E
I	50 °C	50 min	100%	0
II	60 °C	20 min	100%	2.5
III	-50 °C	48 h	100%	2.4
IV	-	30 min	100%	0



Εικόνα 5.5: Παρουσίαση **NaDES 5** με τις μεθόδους I-IV

Σημειώνεται πως τα NaDES που παράγονται με τη μέθοδο II και III (εξάτμιση, λυοφιλοποίηση) φαίνονται πιο ιξώδη από τα άλλα δύο. Αυτό ίσως οφείλεται στην απομάκρυνση του νερού που γίνεται σε αυτές τις δύο μεθόδους μέσω εξάτμισης και εξάχνωσης αντίστοιχα. Στα άλλα NaDES πιθανώς να έχουν εγκλωβιστεί μόρια νερού στο μίγμα καθώς η χλωριούχος χολίνη που χρησιμοποιείται ως HBA (δέκτης δεσμού υδρογόνου) είναι υγροσκοπική.

Εξετάζοντας τον πράσινο χαρακτήρα των μεθόδων φαίνεται αρχικά πως εξασφαλίζουν όλες οικονομία ατόμου 100% καθώς ενσωματώνουν τα αντιδρώντα στο τελικό προϊόν. Ο παράγοντας E, που είναι ενδεικτικός των αποβλήτων της διεργασίας, είναι μηδενικός στις μεθόδους I και IV ενώ για τις μεθόδους II και III είναι χαμηλός καθώς χρησιμοποιείται μικρή ποσότητα νερού ως διαλύτης. Πιο ενεργοβόρα φαίνεται να είναι η μέθοδος της λυοφιλοποίησης καθώς είναι χρονοβόρα και απαιτεί θερμοκρασίες κατάψυξης. Στην εργαστηριακή κλίμακα οι υπόλοιπες μέθοδοι φαίνεται να μην διαφέρουν σημαντικά από πλευράς χρόνου και ενέργειας.

### 5.1.3. Μελέτη pH

Μελετήθηκε το pH των NaDES σε διαλύματα συγκεκριμένης περιεκτικότητας σε νερό (50, 70, 95, 96.5% w/w). Η παράμετρος αυτή θεωρήθηκε σημαντική καθώς ανατρέχοντας στη βιβλιογραφία εντοπίστηκε πως η οξύτητα των NaDES διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην καταλυτική τους δράση. Αρχικά στον παρακάτω Πίνακα (Πίνακας 5.2) παρουσιάζεται το pH των NaDES χωρίς να έχουν υποστεί αραίωση. Σημειώνεται πως στους διαλύτες με το οξαλικό οξύ δεν λαμβάνεται τέτοια μέτρηση λόγω αυξημένου ιζώδους.

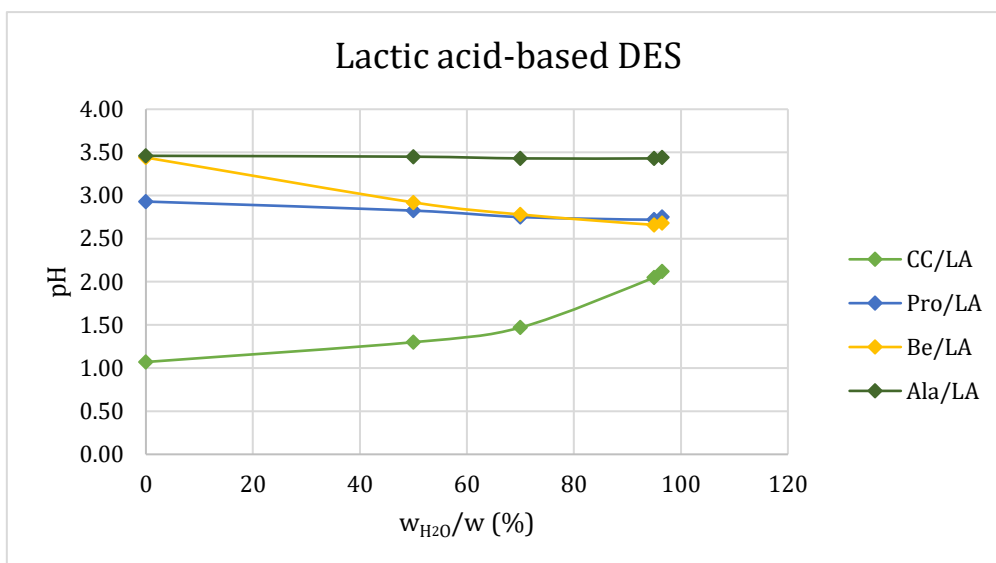
Πίνακας 5.2: Συγκεντρωτικός πίνακας για τα NaDES και το pH τους.

Κωδικός	NaDES	Αναλογία	pH
NaDES 1	(CC/LA)	1:1.5	1.07
NaDES 2	(Pro/LA)	1:2	2.93
NaDES 3	(Be/LA)	1:2	3.44
NaDES 4	(Ala/LA)	1:2	3.46
NaDES 5	(CC/OA)	1:1	-
NaDES 6	(Pro/OA)	1:1	-

Τα δεδομένα που λαμβάνονται από τις μετρήσεις του pH εξετάζονται συγκριτικά για τα NaDES με HBD (δότης δεσμού υδρογόνου) το γαλακτικό οξύ (Εικόνα 5.6) και το οξαλικό οξύ (Εικόνα 5.7).

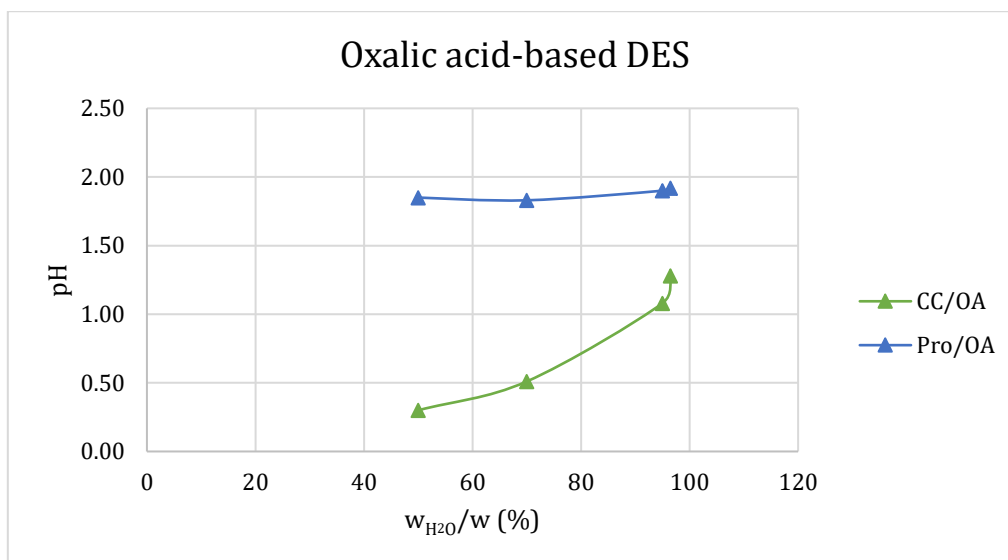
Σύμφωνα με την Εικόνα 5.6, φαίνεται πως στο **NaDES 1** (CC/LA), η προσθήκη νερού οδηγεί στην μείωση της οξύτητας του, ενώ αντίθετη συμπεριφορά φαίνεται να έχει το **NaDES 3** (Be/LA). Στην περίπτωση του **NaDES 3** με την προσθήκη νερού πιθανώς να καταστρέφεται το δίκτυο δεσμών υδρογόνου του NaDES και να απελευθερώνονται τα μόρια του οξέος με αποτέλεσμα να παρατηρείται μείωση του pH. Τα **NaDES 2,4** που έχουν ως HBA αμινοξέα, προλίνη και αλανίνη αντίστοιχα δεν παρουσιάζουν σημαντική μεταβολή στο pH τους. Ενδεχομένως αυτή η συμπεριφορά να οφείλεται στη δημιουργία σταθερού συστήματος λόγω ισχυρών ηλεαλληλεπιδράσεων μεταξύ των μορίων. Συνολικά φαίνεται πως ο συνδυασμός χολίνης γαλακτικού οξέος οδηγεί σε διαλύτη με το πιο όξινο pH.





Εικόνα 5.6: Συγκριτική μελέτη pH των NaDES με γαλακτικό οξύ.

Σύμφωνα με την Εικόνα 5.7 φαίνεται πως όσο υψηλότερη περιεκτικότητα έχει το υδατικό διάλυμα σε **NaDES 5** (CC/OA) τόσο χαμηλότερο pH έχει, όπως είναι παρατηρηθεί και στον αντίστοιχο διαλύτη με το γαλακτικό οξύ. Ομοίως το pH **NaDES 6**, που περιέχει προλίνη, δεν μεταβάλλεται αισθητά. Πιο όξινο είναι και σε αυτή την περίπτωση το NaDES με την χλωριούχο χολίνη. Παράλληλα εξετάζοντας την οξύτητα των NaDES που περιέχουν οξαλικό οξύ με τα αντίστοιχα που περιέχουν γαλακτικό φαίνεται πως τα πρώτα είναι πιο όξινα. Αυτό αποδίδεται λογικά στην δομή των οξέων, αφού το οξαλικό οξύ διαθέτει 2 καρβοξυλομάδες, ενώ το γαλακτικό μία.

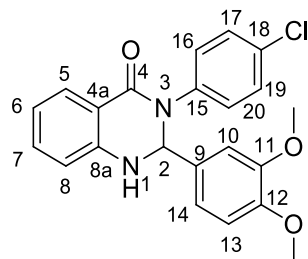


Εικόνα 5.7: Συγκριτική μελέτη pH των NaDES με οξαλικό οξύ.

## 5.2. Σύνθεση κιναζολινονών

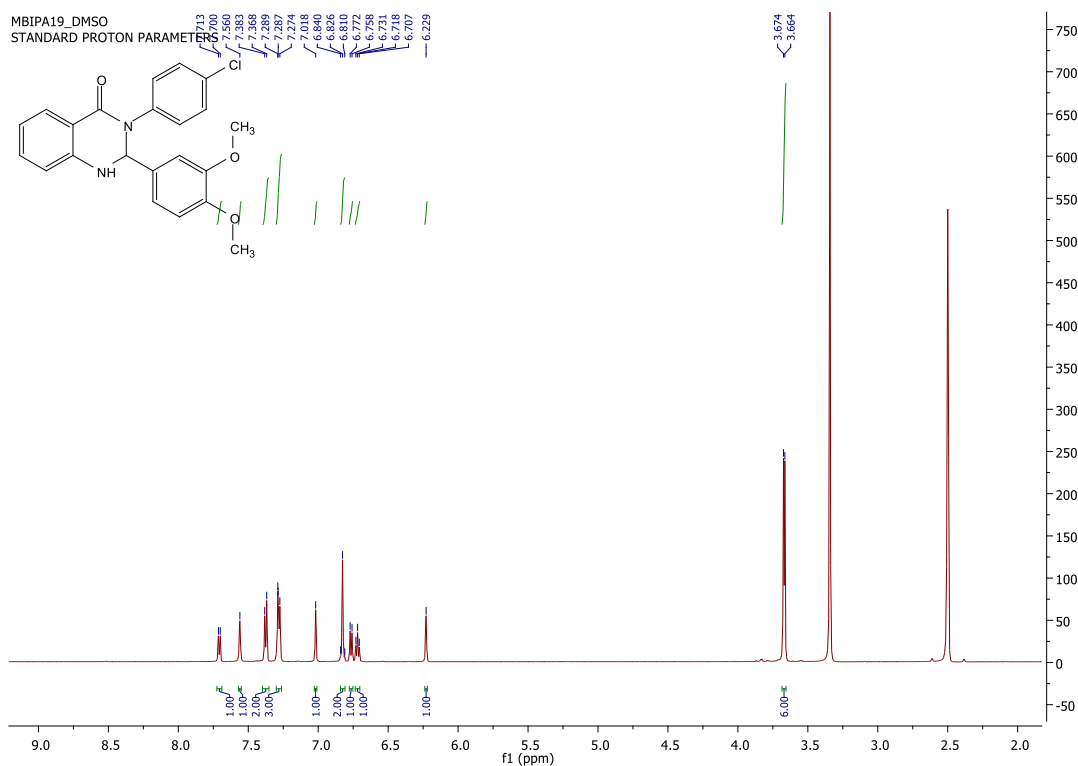
### 5.2.1. Ταυτοποίηση ένωσης 5e

Χάριν ευκολίας επιλέχθηκε η αναλυτική παρουσίαση της ταυτοποίησης μίας εκ των παραχθέντων διυδροκιναζολινών, της **5e**.



Σχήμα 5.2: Δομή της ένωσης **5e** με αριθμημένες θέσεις

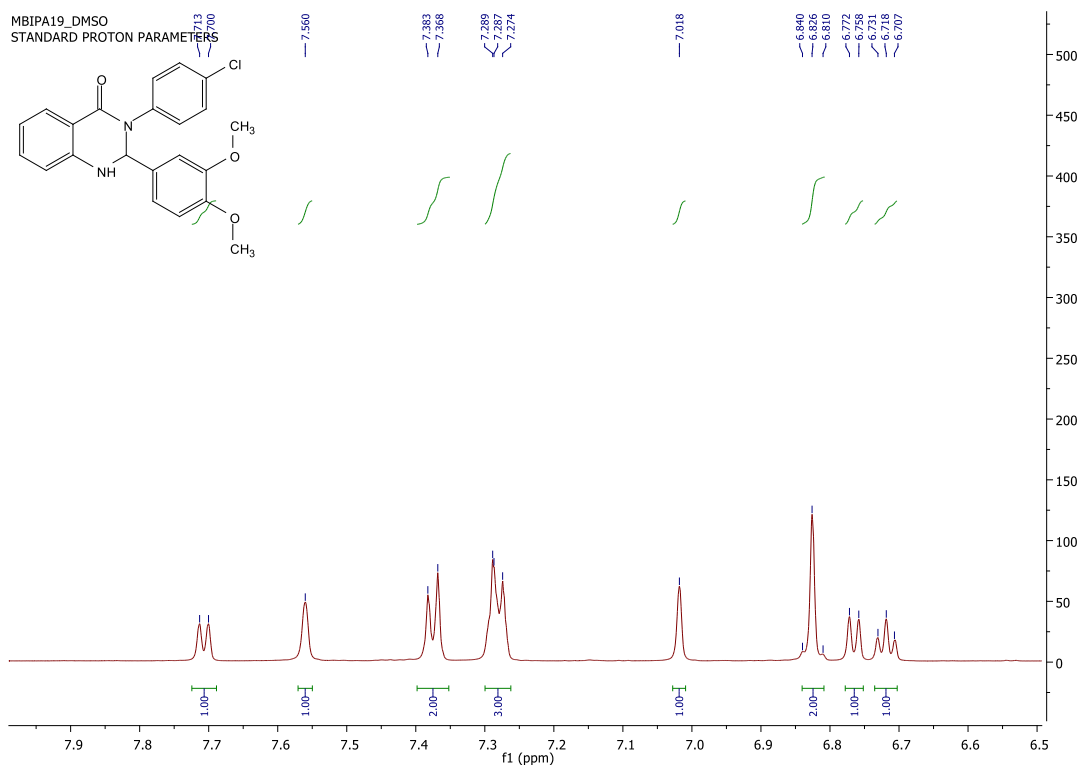
#### 5.2.1.1. Φασματοσκοπία H-NMR



Εικόνα 5.8: Φάσμα πρωτονίου  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) της ένωσης **5e**

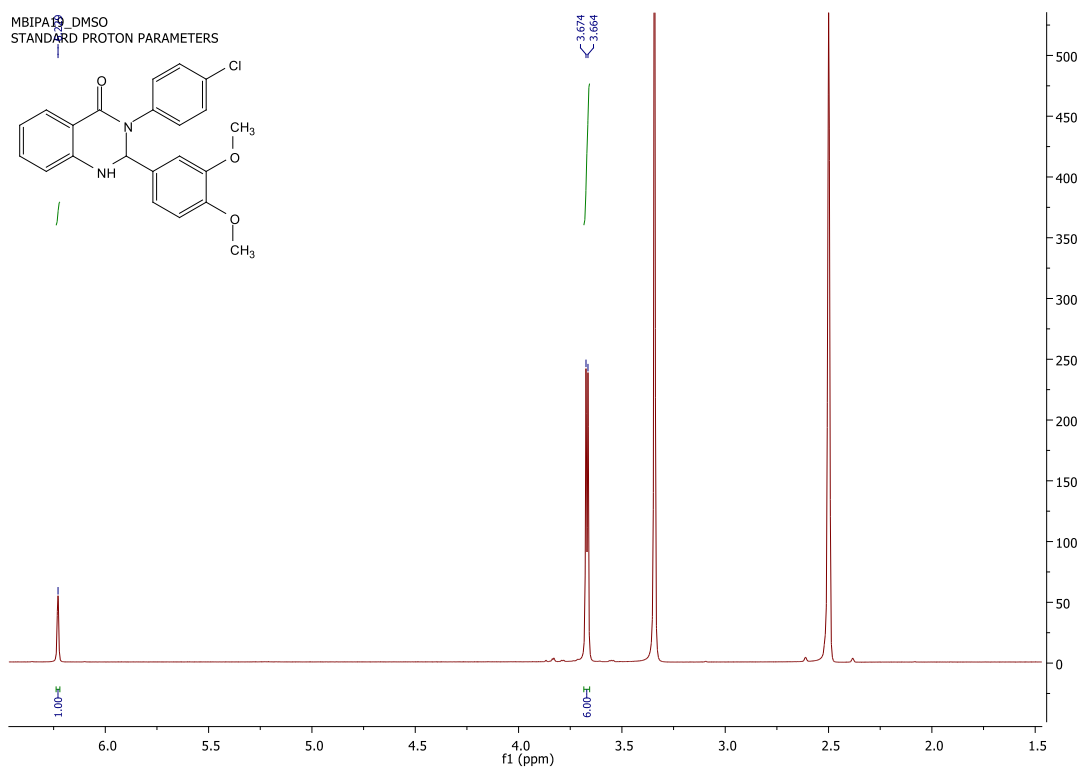
Στα χαμηλότερα πεδία (Εικόνα 5.9) του φάσματος εντοπίζονται τα αρωματικά πρωτόνια. Συγκεκριμένα στα 7.71 ppm εμφανίζεται μια διπλή κορυφή με σταθερά σύζευξης  $J=7.8$  Hz, η οποία ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχεί στο αρωματικό πρωτόνιο της θέσης C-5 καθώς βρίσκεται κοντά στο οξυγόνο και είναι το πιο αποπροστατευμένο. Στη συνέχεια, στα 7.56 ppm εντοπίζεται μια απλή κορυφή που ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχεί στο πρωτόνιο της θέσης C-1 της ένωσης (-NH). Στη συνέχεια εντοπίζεται μια πολλαπλή κορυφή, στα 7.38 ppm, η οποία ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια και αντιστοιχεί στις θέσεις C-17, C-19 και αμέσως μετά ακολουθεί άλλη μία πολλαπλή κορυφή, στα 7.29-7.27 ppm, η οποία ολοκληρώνεται για 3 πρωτόνια στις θέσεις C-7, C-16, C-20. Στα 7.02 ppm υπάρχει μία απλή κορυφή που

αντιστοιχεί στη θέση C-10, η οποία δεν έχει γειτονικά πρωτόνια που θα προκαλούσαν σχάση. Ακολουθεί μια πολλαπλή κορυφή, στα 6.84-6.81 ppm, η οποία ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια και αντιστοιχεί στα πρωτόνια των θέσεων C-13 και C-14. Στα 6.77 ppm παρουσιάζεται μια διπλή κορυφή με σταθερά σύζευξης  $J=8.4\text{Hz}$  που ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχεί στη θέση C-6 της ένωσης.



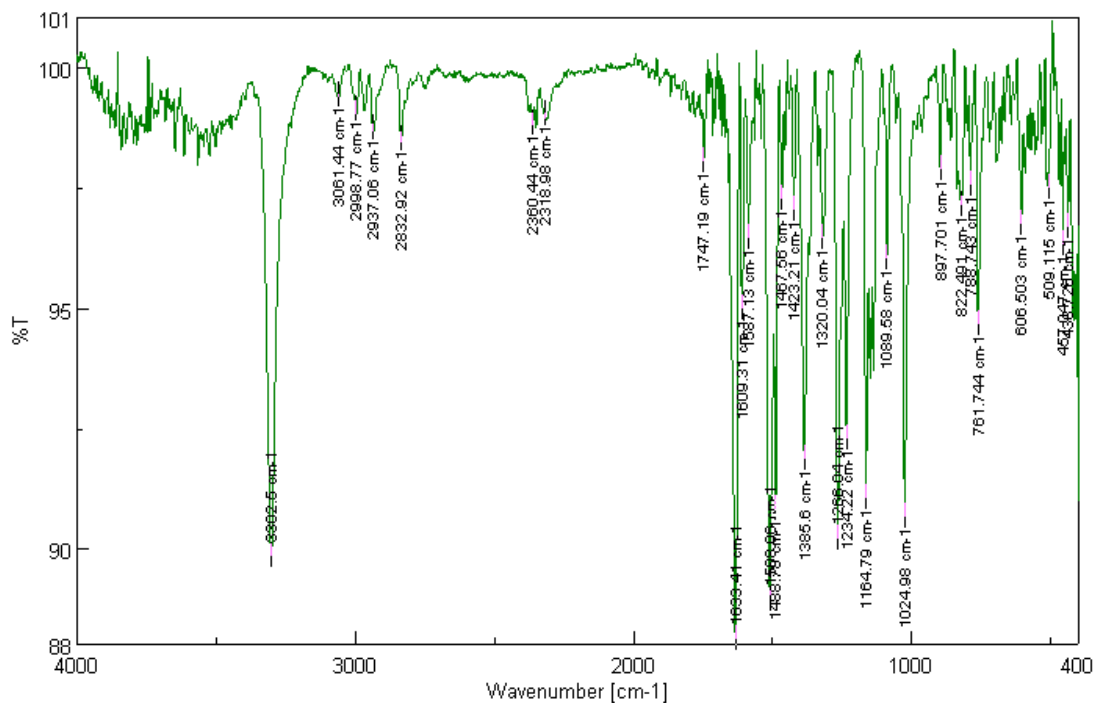
Εικόνα 5.9: Χαμηλά πεδία του φάσματος της ένωσης **5e**

Στα υψηλότερα πεδία του φάσματος της ένωσης (Εικόνα 5.10) εμφανίζεται μια απλή κορυφή στα 6.23 ppm, η οποία ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχεί στον C-2 της ένωσης. Τέλος, στα 3.67 ppm διακρίνεται μια διπλή κορυφή που ολοκληρώνεται για έξι πρωτόνια και αντιστοιχούν στα τρία ισοδύναμα πρωτόνια των δύο μεθόξυομάδων (-OCH<sub>3</sub>) της ένωσης που είναι πιο προστατευμένα. Η κορυφή που εμφανίζεται στα 3.3 ppm αντιστοιχεί στην υγρασία που έχει ο διαλύτης, ενώ αυτή στα 2.5 ppm είναι η κορυφή του χρησιμοποιούμενου διαλύτη, DMSO.



Εικόνα 5.10: Υψηλά πεδία του φάσματος της ένωσης **5e**

### 5.2.1.2. Φασματοσκοπία FT-IR



Εικόνα 5.11: Φάσμα FT-IR της ένωσης **5e**

Στην Εικόνα 5.11 παρουσιάζεται το φάσμα FT-IR της ένωσης **5e**. Η κορυφή στα  $33202.6 \text{ cm}^{-1}$  αποτελεί κορυφή δονήσεων τάσης των αμινομάδων (N-H) που έχει

η ένωση στη θέση 1. Οι κορυφές στο εύρος 3000-3100  $\text{cm}^{-1}$  αποδίδονται στις δονήσεις του απλού δεσμού άνθρακα (C-C) στους αρωματικούς δακτυλίους. Η ασθενής κορυφή που βρίσκεται στα 2832.9  $\text{cm}^{-1}$  είναι χαρακτηριστική για τον δεσμό μεταξύ άνθρακα και υδρογόνου (C-H) στις μεθόξυ-ομάδες. Η κορυφή στα 1633.4  $\text{cm}^{-1}$  είναι χαρακτηριστική για την ασύμμετρη δόνηση τάσης C=O. Δονήσεις μεταξύ 1450-1600  $\text{cm}^{-1}$  μπορούν να αποδοθούν στις δονήσεις του διπλού δεσμού άνθρακα (C=C) στους αρωματικούς δακτυλίους. Οι κορυφές στα 1164.8 και 1024.9  $\text{cm}^{-1}$  θα μπορούσαν να αντιστοιχούν σε δεσμούς με τις μεθόξυ-ομάδες και συγκεκριμένα στους δεσμούς -OCH<sub>3</sub> και O-CH<sub>3</sub> αντίστοιχα. Τέλος στα 700-800  $\text{cm}^{-1}$  αναμένεται η δόνηση τάσης του δεσμού με το χλώριο (C-Cl), η κορυφή της οποίας πιθανόν να είναι στα 761.7  $\text{cm}^{-1}$ .

### 5.2.2. Πράσινοι δείκτες

Οι παραγόμενες κιναζολινόνες εξετάζονται όπως φαίνεται στον παρακάτω Πίνακα (Πίνακας 5.3) για την αποδοτικότητα αλλά και τον πράσινο χαρακτήρα της μεθόδου σύνθεσης τους χρησιμοποιώντας κάποιους από τους πράσινους δείκτες που περιγράφονται στην υποενότητα 1.2.

Πίνακας 5.3: Πράσινοι δείκτες για τις παραγόμενες κιναζολινόνες

Κωδικός	Απόδοση (α)	Οικονομία Ατόμου (ΑΕ)	Πειραματική Οικονομία Ατόμου (ΑΕ <sub>exp</sub> )	Αποδοτικότητα Μάζας (ΑΜΑ)	Factor E
<b>1a</b>	25%	85%	77%	19%	126.3
<b>1b</b>	38%	86%	77%	29%	87.7
<b>3a</b>	53%	85%	76%	40%	51.9
<b>3b</b>	44%	85%	75%	33%	57.2
<b>3c</b>	22%	85%	75%	16%	130.6
<b>4a</b>	14%	87%	77%	11%	215.9
<b>5a</b>	31%	85%	74%	23%	62.0
<b>5b</b>	48%	85%	74%	35%	40.5
<b>5c</b>	48%	85%	74%	36%	38.4
<b>5d</b>	47%	86%	76%	36%	37.8
<b>5e</b>	81%	86%	76%	62%	21.0
<b>5f</b>	46%	86%	76%	35%	38.9
<b>5g</b>	53%	87%	77%	41%	43.3
<b>5h</b>	41%	86%	75%	31%	61.0
<b>5i</b>	64%	86%	75%	48%	42.0

Δεν συμπεριλαμβάνονται στη μελέτη των πράσινων δεικτών οι ενώσεις **6a** και **6b** καθώς η χρησιμοποιούμενη μέθοδος δεν έχει πράσινο χαρακτήρα. Σημειώνεται πως για τους διάφορους υπολογισμούς δεν λαμβάνεται υπόψη η χρησιμοποιούμενη ποσότητα συγκεκριμένων διαλυτών όπως το NaDES και ο οξικός αιθυλεστέρας, καθώς αυτοί μπορούν να ανακυκλωθούν και να επαναχρησιμοποιηθούν. Όπως φαίνεται στον παραπάνω Πίνακα (Πίνακας 5.3) οι παραγόμενες κιναζολινόνες με τη μέθοδο των υπερήχων εξασφαλίζει υψηλή οικονομία ατόμων, ωστόσο η απόδοση ανάλογα με τις επιλεγόμενες υποκαταστάσεις την αντιδρώντων ποικίλλει. Ιδιαίτερα αποτελέσματα εμφανίζει

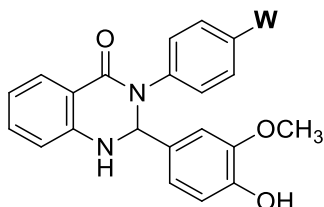
η ένωση **4a**, η οποία διαφέρει στην υποκατάσταση στη θέση 1, όπου περιέχει αιθυλο-ομάδα. Η απόδοση του μηχανισμού σύνθεσής της είναι εξαιρετικά χαμηλή, γεγονός που οδηγεί και σε μεγάλη ποσότητα αποβλήτων (Παράγοντας E). Σημειώνεται πως ο Παράγοντας E δεν είναι κοντά στο 0 όπως θα ήταν επιθυμητό, αλλά είναι αναμενόμενο στη φαρμακευτική βιομηχανία καθώς παράγονται μικρές ποσότητες ουσιών σε υψηλή καθαρότητα.

## 5.3. Αξιολόγηση βιολογικής δράσης κιναζολινονών

### 5.3.1. Μελέτη αλληλεπίδρασης με το DNA

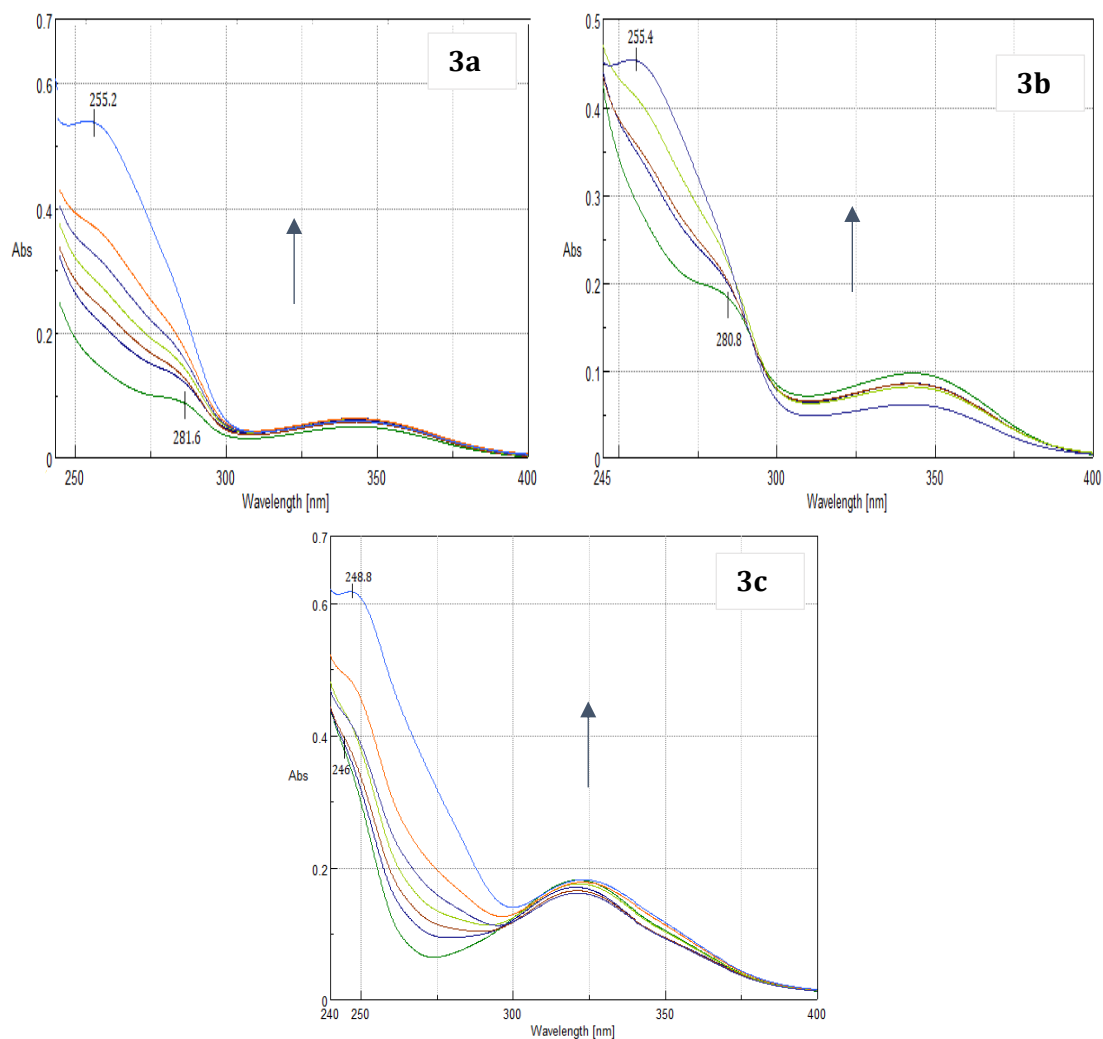
#### 5.3.1.1. Τιτλοδότηση ορατού-υπεριώδους

Με την παρούσα μέθοδο παρουσιάζεται αρχικά πώς επηρεάζεται η αλληλεπίδραση με το DNA εξετάζοντας διάφορες υποκαταστάσεις στη θέση W της διυδροκιναζολινόνης.

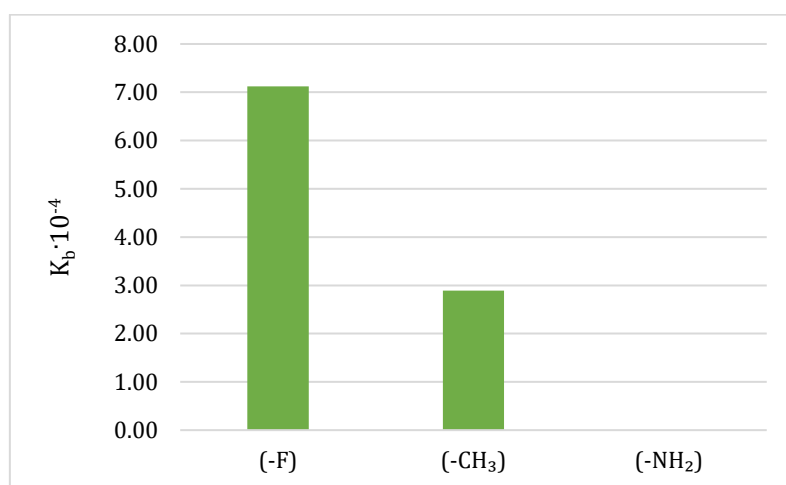


Σχήμα 5.3: Γενικευμένη δομή κιναζολινονών **3a**, **3b** και **3c**.

Στην Εικόνα 5.12 φαίνεται πως στα φάσματα των κιναζολινών **3a** και **3b** (-F και -CH<sub>3</sub>) παρατηρείται αύξηση της απορρόφησης, δηλαδή υπερχρωμία, και μετατόπιση του λ<sub>max</sub> προς τα μικρότερα μήκη κύματος, υψοχρωμία. Αυτό υποδηλώνει πιθανή συναρμογή της ένωσης στην εξωτερική επιφάνεια του DNA και αποσταθεροποίηση της έλικας. Στην κιναζολινόνη **3c** παρατηρείται επίσης υπερχρωμία με ερυθρή όμως μετατόπιση, δηλαδή μετατόπιση του λ<sub>max</sub> προς τα μεγαλύτερη μήκη κύματος, γεγονός που δείχνει σταθεροποίηση της ελικοειδούς δομής του DNA λόγω αλληλεπίδρασης με την ένωση. Ταυτόχρονα όπως φαίνεται στην Εικόνα 5.13, υποκαταστάσεις με αλογόνα σαν το φθόριο (-F) διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αλληλεπίδραση με το DNA, ενώ αντίστοιχες με αμινομάδες (-NH<sub>2</sub>) ίσως δεν συμβάλλουν ιδιαίτερα.



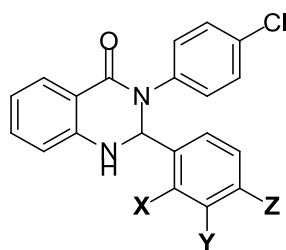
Εικόνα 5.12: Φάσμα UV διαλύματος των ενώσεων **3a** (-F), **3b** (-CH<sub>3</sub>) και **3c** (-NH<sub>2</sub>) συγκέντρωσης 25μM παρουσία CT-DNA σε διάφορες συγκεντρώσεις (0-50μM). Τα βέλη υποδηλώνουν τις μεταβολές που παρατηρούνται κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων DNA.



Εικόνα 5.13: Σταθερά σύνδεσης των ενώσεων **3a**, **3b**, **3c** με το DNA.

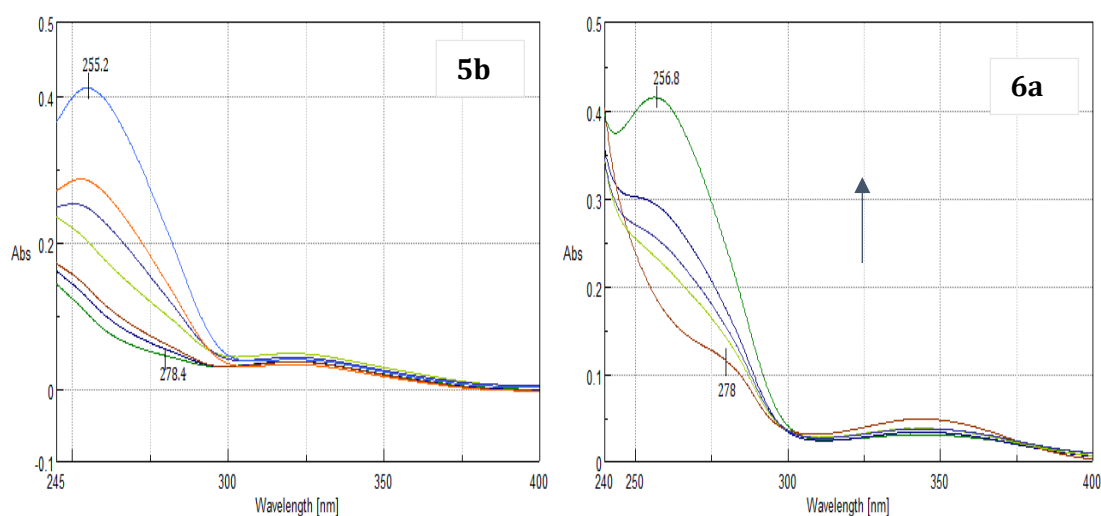


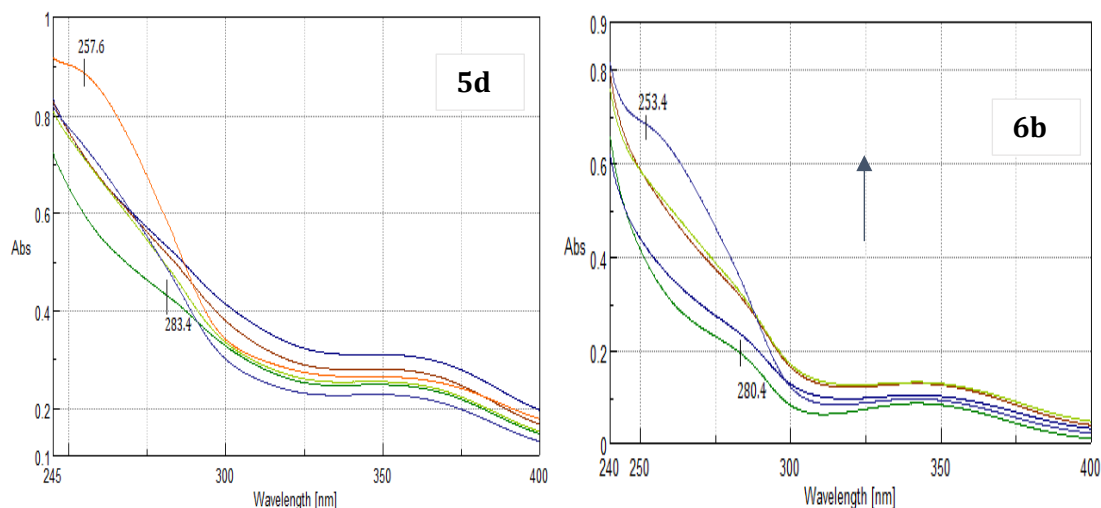
Σε δεύτερο χρόνο εξετάζεται η επίδραση διαφόρων υποκαταστάσεων από τον δακτύλιο της βενζαλδεΐδης (X,Y,Z) στην αλληλεπίδραση της κιναζολινόνης με το DNA.



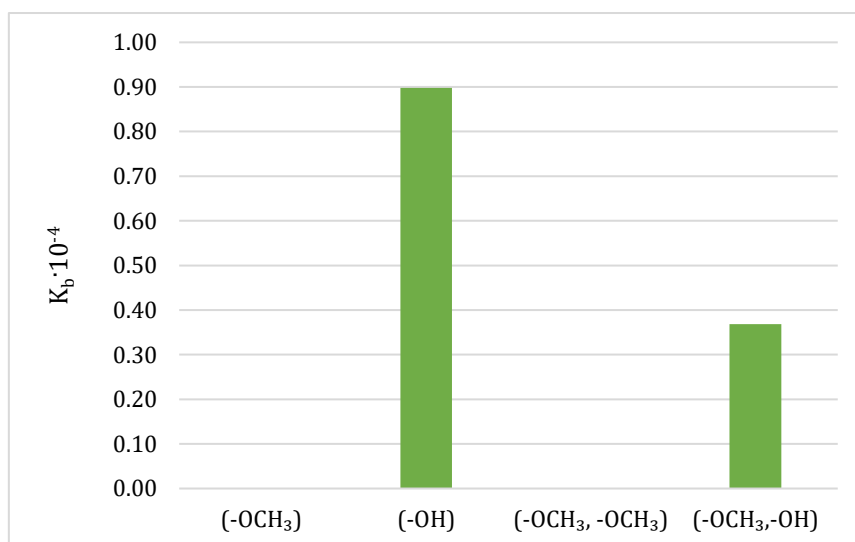
Σχήμα 5.4: Γενικευμένη δομή κιναζολινονών **5b**, **5d**, **6a** και **6b**

Όπως φαίνεται στην Εικόνα 5.14 στα φάσματα των κιναζολινών **6a** (-OH) και **6b** (-OCH<sub>3</sub>, -OH), εμφανίζεται υπερχρωμία και κυανή μετατόπιση, χαρακτηριστικά της δέσμησης στην αύλακα του DNA. Ταυτόχρονα με τη βοήθεια του διαγράμματος στην Εικόνα 5.15 συγκρίνονται οι αποπροστατευμένες κιναζολινόνες με τις αντίστοιχες προστατευμένες αλλά και μεταξύ τους. Φαίνεται λοιπόν πως οι μεθόξυ- υποκαταστάσεις δεν οδηγούν σε αλληλεπίδραση με το DNA. Αντίθετα οι υδρόξυ- ομάδες ίσως επικουρούν στην σύνδεση με το DNA και διαπιστώνεται μάλιστα πως η σταθερά σύνδεσης (K<sub>b</sub>) είναι υψηλότερη στην περίπτωση ύπαρξης μόνο της υδρόξυ-ομάδας συγκριτικά με τη συνύπαρξη υδρόξυ- και μεθοξυ- ομάδας.





Εικόνα 5.14: Φάσμα UV διαλύματος των ενώσεων **5b**, **5d** και των αντίστοιχων αποπροστατευμένων **6a**, **6b** συγκέντρωσης 25μΜ παρουσία CT-DNA σε διάφορες συγκεντρώσεις (0-50μΜ). Τα βέλη υποδηλώνουν τις μεταβολές που παρατηρούνται κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων DNA.



Εικόνα 5.15: Σταθερά σύνδεσης των ενώσεων **5b**, **5d**, **6a** και **6b** με το DNA.

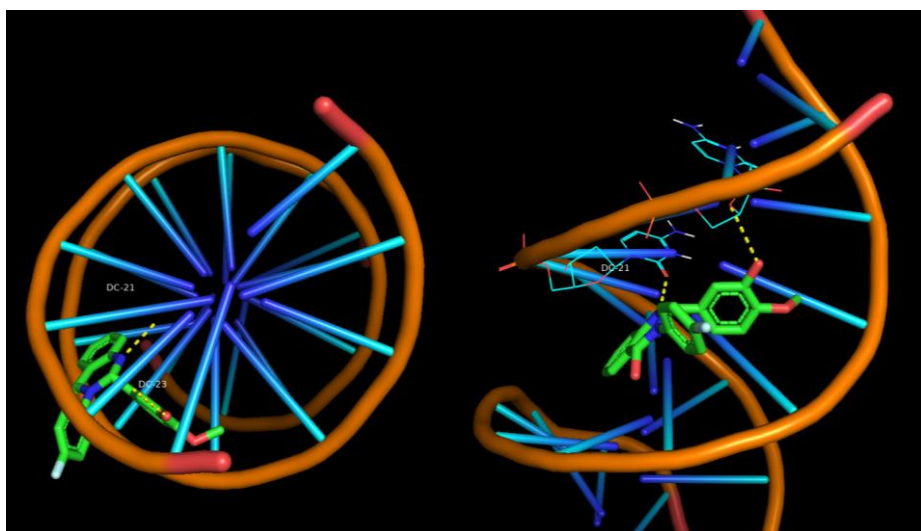
Συνολικά στον παρακάτω Πίνακα (Πίνακας 5.4) υπολογίζεται συγκεντρωτικά για κάθε ένωση ο βαθμός επίδρασης με το DNA ( $K_b$ ), όπως αναφέρεται στην υποενότητα 4.5.1, από τα δεδομένα που λαμβάνονται από τα φάσματα UV.

Πίνακας 5.4: Σταθερά σύνδεσης με το DNA

Ένωση	$K_b$ (M <sup>-1</sup> )
<b>3a</b>	$7.12 \cdot 10^{-4}$
<b>3b</b>	$2.89 \cdot 10^{-4}$
<b>3c</b>	-
<b>5b</b>	-
<b>5d</b>	-
<b>6a</b>	$0.90 \cdot 10^{-4}$
<b>6b</b>	$0.37 \cdot 10^{-4}$

### 5.3.1.2. Υπολογιστική μελέτη αλληλεπίδρασης

Στην υποενότητα 5.3.1.1 φαίνεται πως η ένωση με την καλύτερη αλληλεπίδραση με το DNA είναι **3a**. Αυτή στην παρούσα ενότητα εξετάζεται θεωρητικά με τη χρήση υπολογιστικής μελέτης (molecular docking). Παρατηρήθηκε να έχει εξωτερική αλληλεπίδραση παρουσία δύο δεσμών υδρογόνου και ενέργεια -7.4 kcal/mol (Πίνακας 5.5). Ο ένας εντοπίζεται μεταξύ της ομάδας -NH της ένωσης **3a** και της βάσης DC21, ενώ ο δεύτερος μεταξύ της ομάδας -OH της ένωσης και της αζωτούχας βάσης DC23 (Εικόνα 5.16).



Εικόνα 5.16: Υπολογιστική μελέτη αλληλεπίδρασης **3a**-DNA

Πίνακας 5.5: Αποτελέσματα υπολογιστικής μελέτης

Ένωση	Δομή	Ενέργεια αλληλεπίδρασης (kcal/mol)	Δεσμοί Υδρογόνου	Νουκλεοτίδια
<b>3a</b>		-7.4	2	DC21, DC23

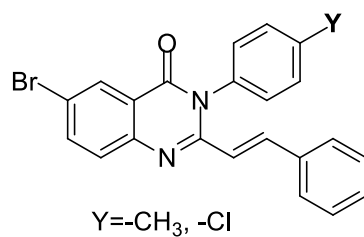
### 5.3.1.3. Φωτοβόλση παρουσία πλασμιδιακού DNA

Οι ενώσεις που μελετήθηκαν με αυτή τη δοκιμή ομαδοποιήθηκαν και εξετάστηκαν συγκριτικά ώστε να διαπιστωθεί ο ρόλος των υποκαταστατών στην φωτοδιάσπαση του DNA. Υπενθυμίζεται πως στη μέθοδο αυτή είναι επιθυμητή η καταστροφή της υπερελικομένης μορφής του πλασμιδιακού DNA προς τον σχηματισμό κυκλικού (Form II) ή γραμμικού DNA (Form III).

#### Φωτοβόλση UV-B

Η UV-B ακτινοβολία κυμαίνεται στο κενό μεταξύ 280-315 nm. Το πείραμα εκτελείται στα 312 nm, σε απόσταση 15cm, για χρονικό διάστημα 30 λεπτών.

Στο Πείραμα 1 οι δομές που εξετάστηκαν είχαν την εξής δομή:

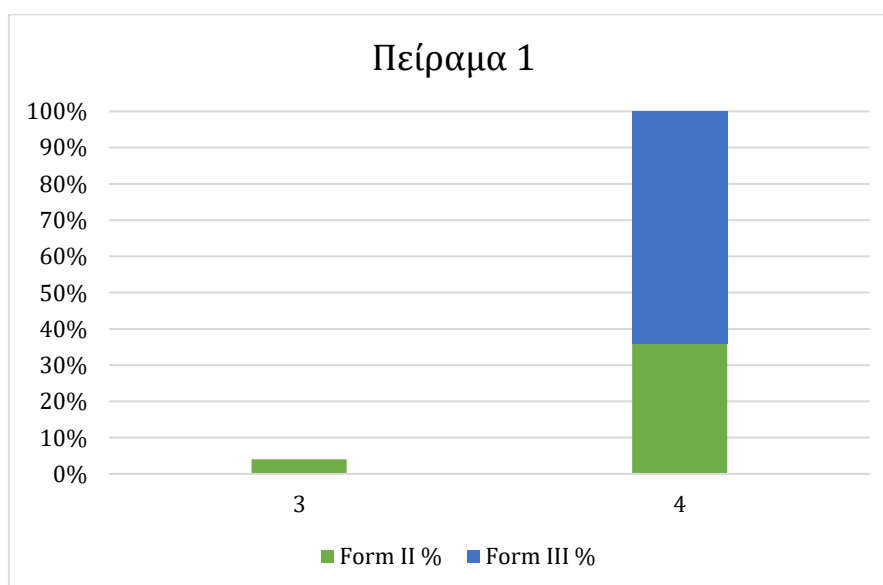
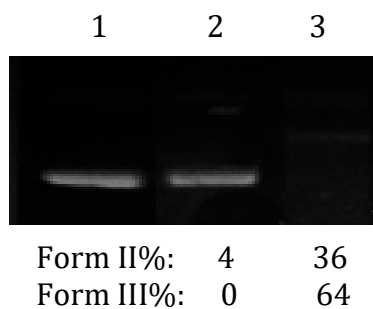


Σχήμα 5.5: Γενικευμένη δομή κιναζολινονών για το Πείραμα 1 (UV-B).

Πίνακας 5.6: Πείραμα 1 - Φωτοβόληση UV-B

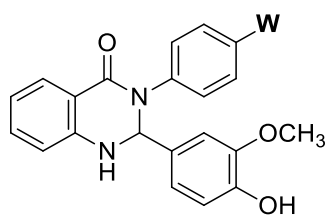
Σειρά	Περιγραφή
1	DNA + Tris+UV
2	DNA + 500μM <b>1a</b> (-CH <sub>3</sub> )
3	DNA + 500μM <b>1b</b> (-Cl)

Όπως παρατηρείται στην Εικόνα 5.17 σημαντική επίδραση στη φωτοδιασπαστική δράση έχει η ύπαρξη υποκατάστασης ηλεκτρονιοδέκτη (-Cl) έναντι δότη ηλεκτρονίων (-CH<sub>3</sub>). Συγκεκριμένα σε αυτή τη δομή η ύπαρξη αλογόνου στον δακτύλιο οδηγεί στην καταστροφή όλου του υπερελικομένου DNA προς τον σχηματισμό γραμμικού και κυκλικού DNA.



Εικόνα 5.17: Αποτελέσματα φωτοβόλησης UV-B (312 nm) – Πείραμα 1

Στο Πείραμα 2 οι δομές που εξετάστηκαν είχαν την εξής δομή:



W=-H, -F, -CH<sub>3</sub>

Σχήμα 5.6: Γενικευμένη δομή κιναζολινονών για το Πείραμα 2 (UV-B).

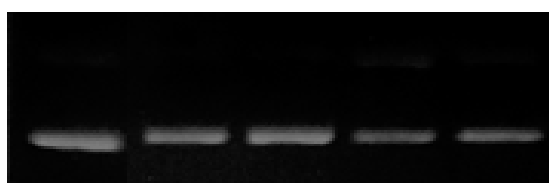
Πίνακας 5.7: Πείραμα 2 - Φωτοβόληση UV-B

Σειρά	Περιγραφή
1	DNA + Tris+UV
2	DNA + 500μM <b>q</b> * (-H)
3	DNA + 500μM <b>3b</b> (-CH <sub>3</sub> )
4	DNA + 500μM <b>3a</b> (-F)
5	DNA + 500μM <b>3c</b> (-NH <sub>2</sub> )

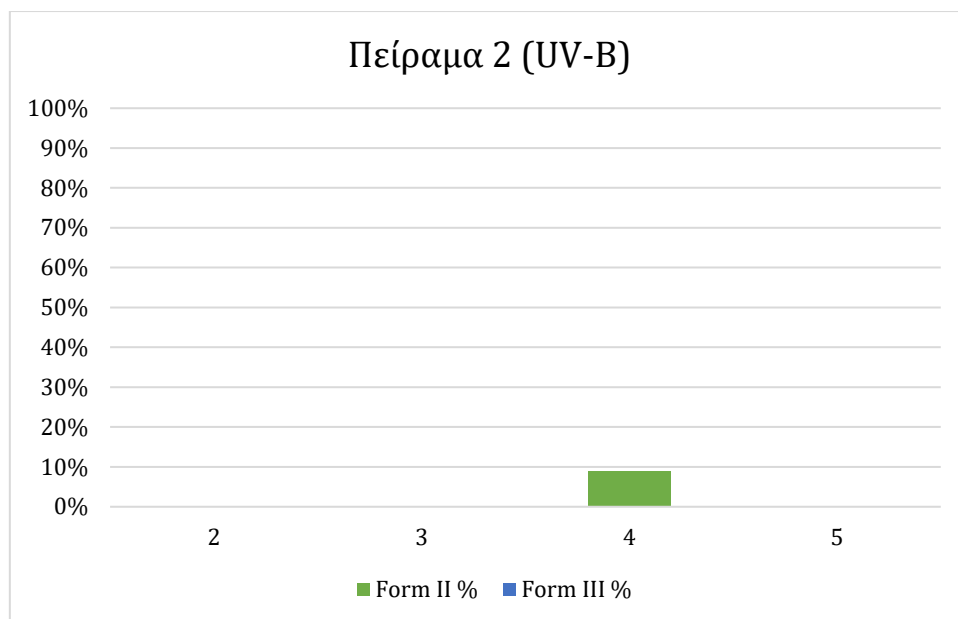
\*Η ένωση **q** είχε συντεθεί και μελετηθεί στο παρελθόν στο εργαστήριο και χρησιμοποιείται στην παρούσα δοκιμή για συγκριτικούς λόγους

Όπως παρατηρείται στην Εικόνα 5.18 οι ενώσεις που εξετάστηκαν δεν έχουν σημαντική δράση, στοιχείο το οποίο πιθανώς να οφείλεται στην ύπαρξη του υδροξυλίου. Η παρουσία όμως του αλογόνου (-F) φαίνεται να ενισχύει μερικώς τη δράση του φωτοδιασπαστή προς τον σχηματισμό κυκλικού μορίου.

1      2      3      4      5

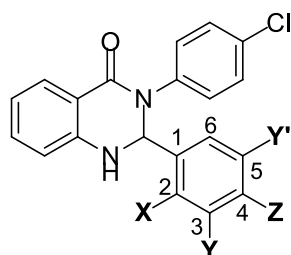


Form II%:	0	0	9	0
Form III%:	0	0	0	0



Εικόνα 5.18: Αποτελέσματα φωτοβόλησης UV-B (312 nm) – Πείραμα 2

Στο Πείραμα 3 οι δομές που εξετάστηκαν είχαν την εξής δομή:



Σχήμα 5.7: Γενικευμένη δομή κιναζολινονών για το Πείραμα 3 (UV-B).

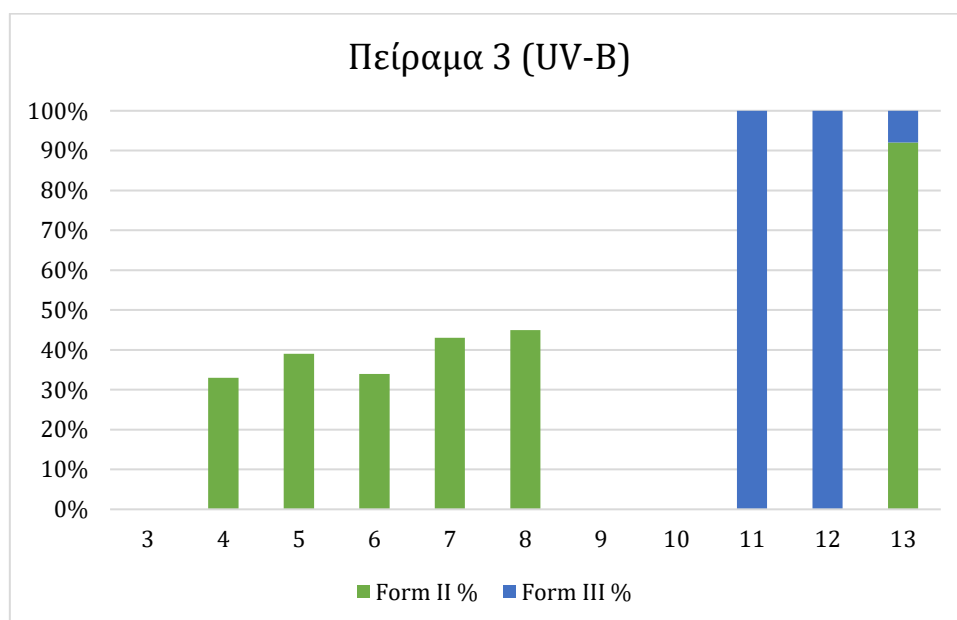
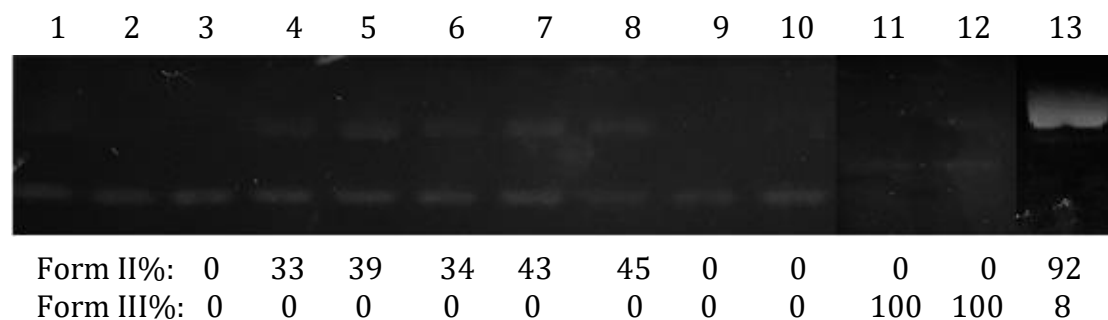
Πίνακας 5.8: Πείραμα 3 - Φωτοβόληση UV-B

Σειρά	Περιγραφή
<b>1</b>	DNA + Tris
<b>2</b>	DNA + Tris + UV
<b>3</b>	DNA + 500μM <b>6a</b> (3-OH)
<b>4</b>	DNA + 500μM <b>5a</b> (2-OCH <sub>3</sub> )
<b>5</b>	DNA + 500μM <b>5b</b> (3-OCH <sub>3</sub> )
<b>6</b>	DNA + 500μM <b>5c</b> (4-OCH <sub>3</sub> )
<b>7</b>	DNA + 500μM <b>5d</b> (2,3-di-OCH <sub>3</sub> )
<b>8</b>	DNA + 500μM <b>5e</b> (3,4-di-OCH <sub>3</sub> )
<b>9</b>	DNA + 500μM <b>5f</b> (3,5-di-OCH <sub>3</sub> )
<b>10</b>	DNA + 500μM <b>6b</b> (2-OCH <sub>3</sub> ,3-OH)
<b>11</b>	DNA + 500μM <b>4g</b> (4-Br)
<b>12</b>	DNA + 500μM <b>4i</b> (-NO <sub>2</sub> )

Στα αποτελέσματα του Πειράματος 2 (Εικόνα 5.19) διαπιστώνεται πως παρουσία ομάδας αλογόνου (-Cl) οι κιναζολινόνες που περιέχουν μεθόξυ- ομάδες δρουν ως φωτοδιασπαστές σχηματίζοντας 30-40% κυκλικό DNA. Εξαιρέση αποτελεί η **5f** η οποία περιέχει 2 μεθόξυ-ομάδες σε συμμετρικές θέσεις. Σε αυτή την περίπτωση η

στεreoχημεία του μορίου πιθανώς δυσχεραίνει τη φωτοδιασπαστική του ικανότητα. Επίσης, ενώσεις που δεν εμφανίζουν δράση είναι η **6a** και **6b**, οι οποίες φέρουν υδροξυ-ομάδες.

Οι κινολινόνες που φέρουν υποκαταστάτες ομάδες που είναι δέκτες ηλεκτρονίων (-Cl, -Br, -NO<sub>2</sub>) είναι εξαιρετικά δραστικές και κατακερματίζουν το DNA, οδηγώντας στον σχηματισμό γραμμικού DNA. Για αυτόν το λόγο εξετάζονται και για την φωτοδιασπαστική τους δράση στα 365 nm.

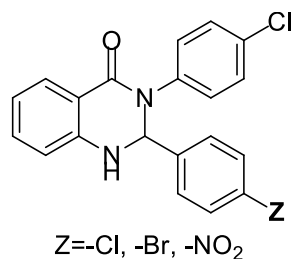


Εικόνα 5.19: Αποτελέσματα φωτοβόλησης UV-B (312 nm) – Πείραμα 3

### Φωτοβόληση UV-A

Η UV-A ακτινοβολία κυμαίνεται στο κενό μεταξύ 315-400 nm. Το πείραμα εκτελείται στα 365 nm, σε απόσταση 10cm, για χρονικό διάστημα 2 ωρών. Η διαδικασία πραγματοποιείται μεταβάλλοντας τη συγκέντρωση της εξεταζόμενης ένωσης 100-500μM.

Οι δομές που εξετάστηκαν είχαν την εξής δομή:



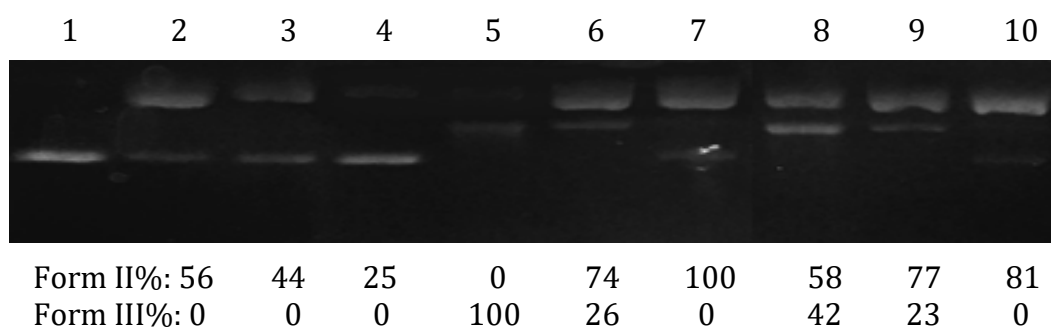
Σχήμα 5.8: Γενικευμένη δομή κινάζολινονών για το Πείραμα με UV-A ακτινοβολία.

Πίνακας 5.9: Πείραμα φωτοβόλησης UV-A

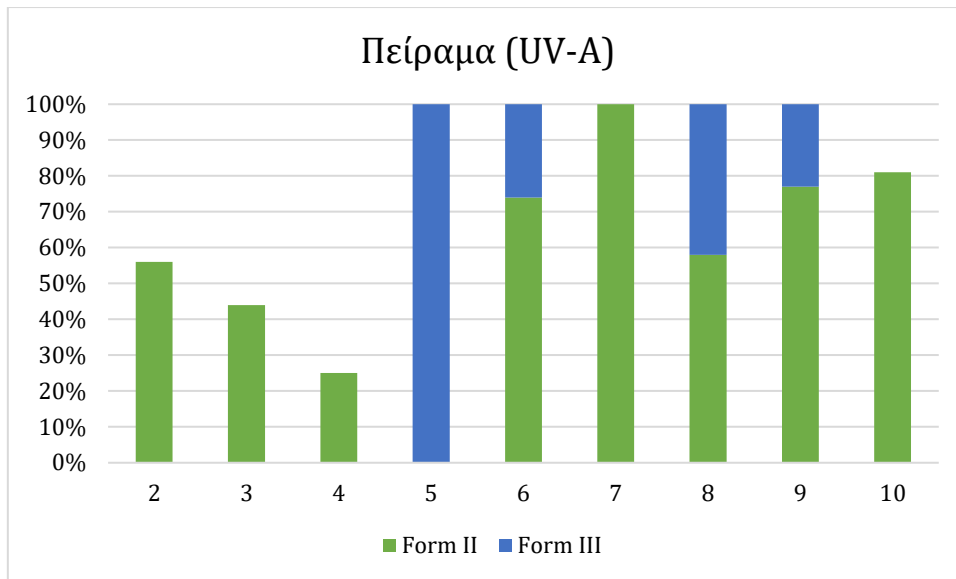
Σειρά	Περιγραφή
<b>1</b>	DNA + Tris + UV
<b>2</b>	DNA + 500μM <b>5h</b> (-Cl)
<b>3</b>	DNA + 250μM <b>5h</b> (-Cl)
<b>4</b>	DNA + 100μM <b>5h</b> (-Cl)
<b>5</b>	DNA + 500μM <b>5g</b> (-Br)
<b>6</b>	DNA + 250μM <b>5g</b> (-Br)
<b>7</b>	DNA + 100μM <b>5g</b> (-Br)
<b>8</b>	DNA + 500μM <b>5i</b> (-NO <sub>2</sub> )
<b>9</b>	DNA + 250μM <b>5i</b> (-NO <sub>2</sub> )
<b>10</b>	DNA + 100μM <b>5i</b> (-NO <sub>2</sub> )

Σε αυτή την περίπτωση όλο το πλασμιδιακό DNA κόβεται και μετατρέπεται σε γραμμικό και κυκλικό. Η ένωση **5g** που έχει βρωμο-ομάδα στη δομή της φαίνεται να έχει την καλύτερη φωτοδιασπαστική ικανότητα.

Είναι αξιόλογο να μελετηθεί επίσης η δράση σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις ώστε να βρεθεί η κατάλληλη συγκέντρωση για κατακερματισμό τουλάχιστον του 50% του DNA. Συγκεκριμένα για την 5h βέλτιστη συγκέντρωση είναι ανάμεσα στα 250-500μM. Η 5g και η 5i φαίνεται να έχουν ισχυρή δράση οπότε είναι σημαντικό να μελετηθούν και σε συγκεντρώσεις χαμηλότερες των 100μM.





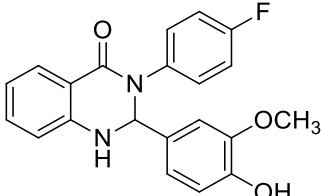
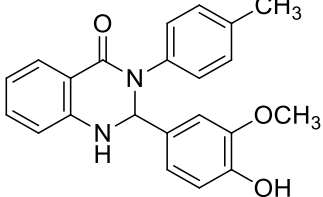
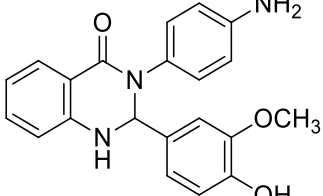
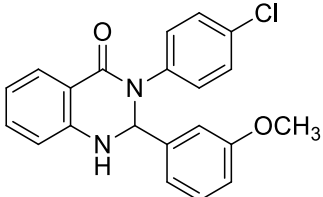
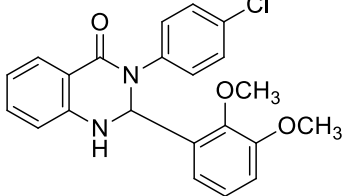
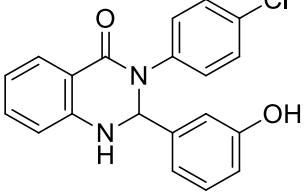


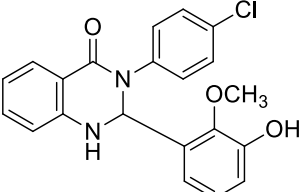
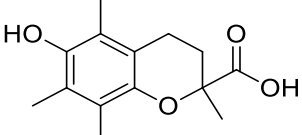
Εικόνα 5.20: Αποτελέσματα φωτοβόλησης UV-A (365 nm)

### 5.3.2. Αξιολόγηση αντιοξειδωτικής ικανότητας

Για την μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης χρησιμοποιήθηκε η δοκιμή DPPH για επιλεγμένες ενώσεις κινολινόνες που φέρουν υδρόξυ-ομάδες στη δομή τους. Για συγκριτικούς λόγους εξετάστηκαν και οι ενώσεις **5b** και **5d** που φέρουν μεθόξυ-ομάδες στην θέση των υδρόξυ- στις ενώσεις **6a** και **6b** αντίστοιχα. Επίσης χρησιμοποιήθηκε ως ουσία αναφοράς το αντιοξειδωτικό Trolox .

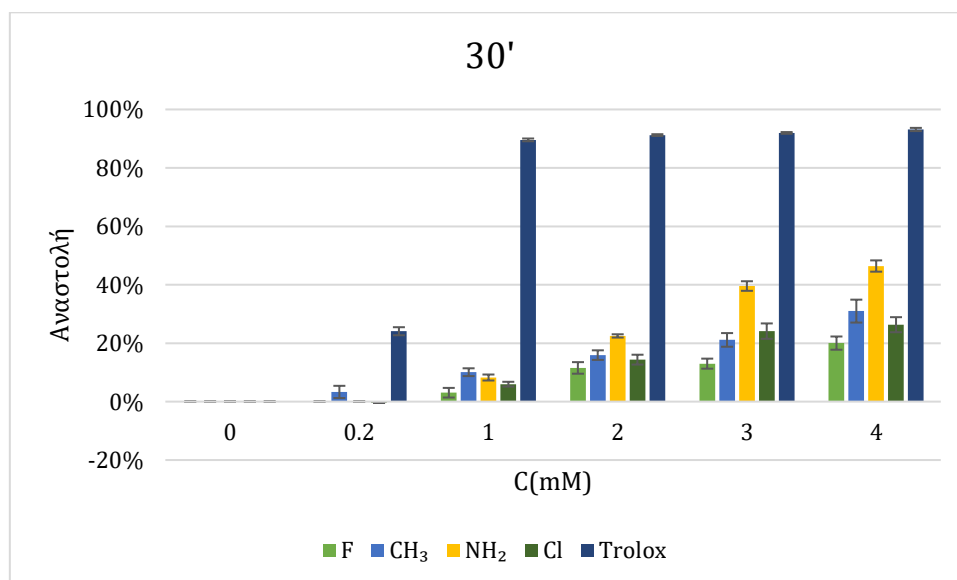
Πίνακας 5.10: Αποτελέσματα δοκιμής DPPH.

Ένωση	Δομή	30 min		60 min	
		Αναστολή	IC <sub>50</sub> (mM)	Αναστολή	IC <sub>50</sub> (mM)
<b>3a</b>		ναι	10±1	ναι	6.0±0.3
<b>3b</b>		ναι	6.8±0.7	ναι	4.5±0.4
<b>3c</b>		ναι	4.1±0.1	ναι	3.7±0.1
<b>5b</b>		όχι	-	όχι	-
<b>5d</b>		όχι	-	όχι	-
<b>6a</b>		όχι	-	όχι	-

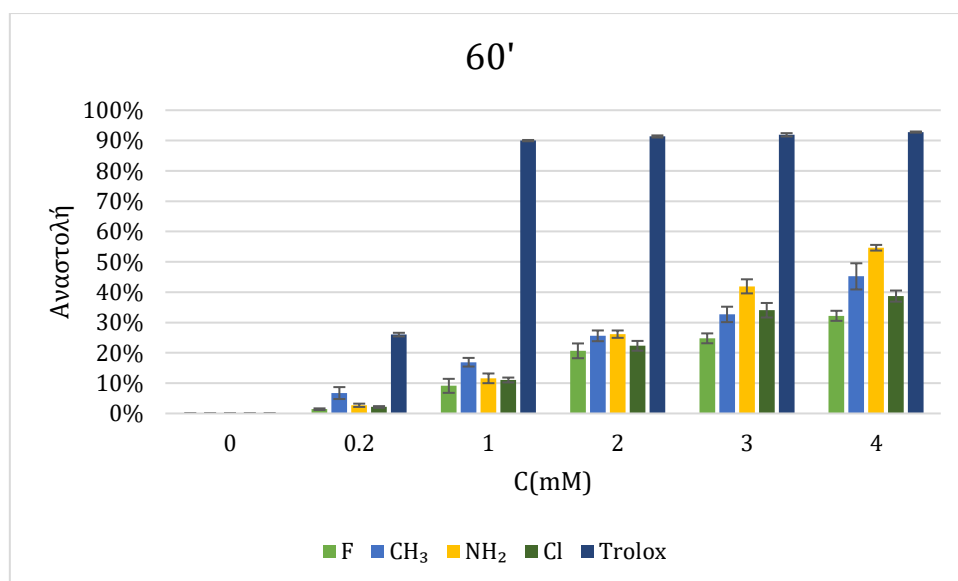
<b>6b</b>		ναι	7.1±0.7	ναι	4.9±0.3
<b>Trolox</b>		ναι	1.0	ναι	0.9

Τα αποτελέσματα εξετάστηκαν συγκριτικά ώστε να βρεθεί η επίδραση των υποκαταστατών στην ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας. Παρατηρείται πως από τις παραχθέντες ενώσεις δράση εμφάνισαν αυτές που περιείχαν τον συνδυασμό υδρόξυ- και μεθόξυ- ομάδας στον αρωματικό δακτύλιο. Η έλλειψη αυτού του συνδυασμού φαίνεται να είναι παρεμποδιστικός παράγοντας καθώς όπως φαίνεται οι ενώσεις **5b**, **5d** και **6a** δεν έχουν αντιοξειδωτική δράση σύμφωνα με την εξεταζόμενη μέθοδο.

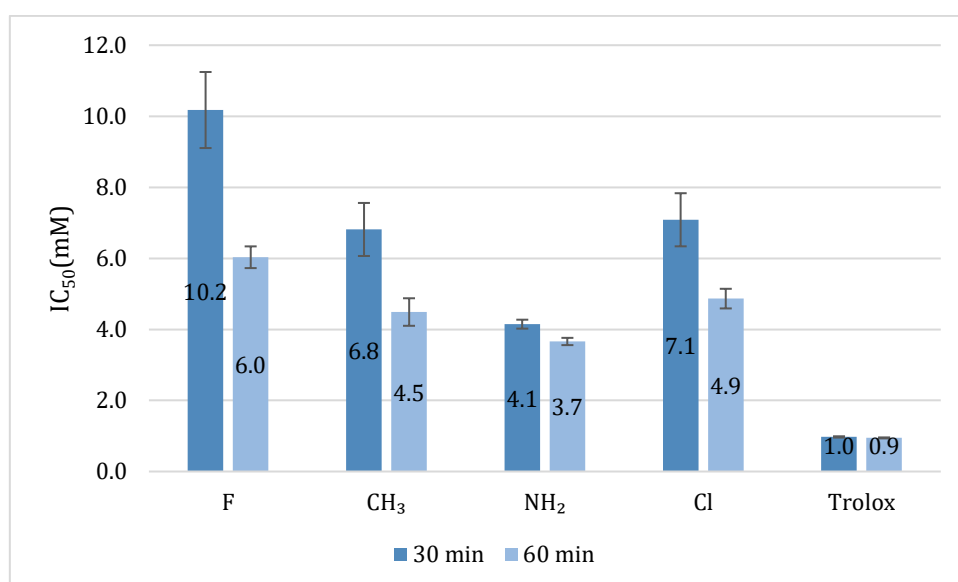
Στις ενώσεις που έδειξαν αντιοξειδωτική δράση μελετήθηκε η συμβολή των υποκαταστατών που βρίσκονται στην θέση W (-F, CH<sub>3</sub>, -NH<sub>2</sub>, Cl) του αρωματικού δακτυλίου. Παρακάτω γίνεται συγκριτική απεικόνιση (Εικόνα 5.21 - Εικόνα 5.23) της αναστολής δράσης και IC<sub>50</sub> στα 30 και 60 λεπτά. Παρατηρείται πως η κιναζολινόνη με -NH<sub>2</sub> υποκατάσταση επιτυγχάνει τα καλύτερα αποτελέσματα αντιοξειδωτικής δράσης, δηλαδή το μεγαλύτερο ποσοστό αναστολής της δράσης των ελεύθερων ριζών και το μικρότερο IC<sub>50</sub>. Παράλληλα τα αλογόνα (-F,-Cl) φαίνεται πως δεν συμβάλλουν ιδιαίτερα στη δράση αυτή.



Εικόνα 5.21: Συγκριτική απεικόνιση της αναστολής της δράσης των ελεύθερων ριζών στα 30 λεπτά για τις κιναζολινόνες με υποκατάσταση W=F, Cl, CH<sub>3</sub> και NH<sub>2</sub> και για το αντιοξειδωτικό Trolox κατά αύξουσα συγκέντρωση (0-4 mM).



Εικόνα 5.22: Συγκριτική απεικόνιση της αναστολής της δράσης των ελεύθερων ριζών στα 60 λεπτά για τις κιναζολινόνες με υποκατάσταση W=F, Cl, CH<sub>3</sub> και NH<sub>2</sub> και για το αντιοξειδωτικό Trolox κατά αύξουσα συγκέντρωση (0-4 mM).



Εικόνα 5.23: Συγκριτική απεικόνιση του IC<sub>50</sub> για τις κιναζολινόνες με υποκατάσταση W=F, Cl, CH<sub>3</sub> και NH<sub>2</sub> και για το αντιοξειδωτικό Trolox.

Από την Εικόνα 5.23 μπορεί επίσης να γίνει αντιληπτό πως η δράση των κιναζολινονών αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου καθώς όπως φαίνεται από τις μετρήσεις που λαμβάνονται στα 30 και 60 λεπτά υπάρχει αύξηση της αντιοξειδωτικής τους δράσης. Συγκεκριμένα στην ένωση **3a** (-F) παρατηρήθηκε αύξηση της τάξεως του 40%, στις ενώσεις **3b** και **6b** (-CH<sub>3</sub> και -Cl) 30%-35% και στην **3c** (-NH<sub>2</sub>) 10%. Αυτό υποδηλώνει πως ως αντιοξειδωτικά έχουν αργή δράση μέχρι να επέλθει ισορροπία στην αντίδραση με το DPPH. Το πιο γρήγορο εξ αυτών φαίνεται να είναι η ένωση **3c**.

Τέλος εξετάζοντας τις ενώσεις που έχουν αντιοξειδωτική δράση με το Trolox φαίνεται πως η δράση τους είναι σημαντικά μικρότερη από αυτό, καθώς απαιτείται πολλαπλάσια ποσότητα αυτών για να πετύχουν ίδια δράση. Η δράση τους είναι και πιο αργή αφού φαίνεται πως η αντίδραση του Trolox με το DPPH φαίνεται να έρχεται σε ισορροπία στο πρώτο μισάωρο επώασης. Στον παρακάτω Πίνακα (Πίνακας 5.11) παρουσιάζεται ο δείκτης TEAC, ο οποίος επιβεβαιώνει τις παραπάνω παρατηρήσεις, καθώς οι ενώσεις εμφανίζουν χαμηλή τιμή, την υψηλότερη εξ αυτών φαίνεται να έχει η **3c**.

Στην σύγκριση που πραγματοποιείται πρέπει να ληφθεί υπόψιν πως το Trolox είναι ισχυρό αντιοξειδωτικό του οποίου η δομή διαφέρει ελαφρώς με αυτή των εξεταζόμενων κινολινονών.

Πίνακας 5.11: Σύγκριση της αντιοξειδωτικής δράσης των κινολινονών με το Trolox μέσω του δείκτη TEAC.

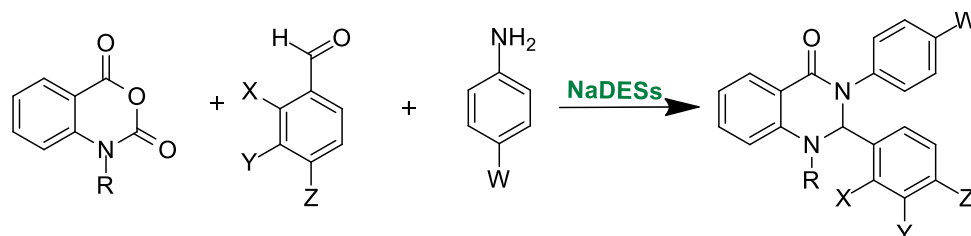
Κωδικός	TEAC	
	30 min	60 min
<b>3a</b>	0.10	0.16
<b>3b</b>	0.14	0.21
<b>3c</b>	0.23	0.26
<b>6b</b>	0.14	0.19

## 6. Συμπεράσματα

### 6.1. Σύνθεση

Στην παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε η σύνθεση 6 διαφορετικών NaDES καθώς και 18 κιναζολονικών αναλόγων, εκ των οποίων οι 15 είναι άγνωστες. Η σύνθεση αυτή πραγματοποιείται με κύριο γνώμονα τον σχεδιασμό μεθοδολογιών φιλικών προς το περιβάλλον. Αυτό επιτυγχάνεται αρχικά με τη χρήση των NaDES ως καταλύτες και διαλύτες στις αντιδράσεις σύνθεσης. Τα συστατικά των NaDES που παράχθηκαν βρίσκονται σε αφθονία στη φύση και τόσο αυτά όσο και το σύστημα που δημιουργούν έχει χαμηλή τοξικότητα και είναι ασφαλές προς χρήση συγκριτικά με τους συμβατικούς οργανικούς διαλύτες. Για την παραγωγή των NaDES χρησιμοποιούνται ήπιες συνθήκες.

Τα σχηματιζόμενα NaDES εξετάζονται συγκριτικά σε αντίδραση σύνθεσης κιναζολινόνης (Σχήμα 6.1) και διαπιστώνεται πως υψηλότερη απόδοση έχει το **NaDES 1** (CC/LA). Μελετώντας την επίδραση της οξύτητας των διαλυτών συναρτήσει της αποδοτικότητάς τους, φαίνεται πως αυτή διαδραματίζει κάποιο ρόλο. Συγκεκριμένα τα NaDES με βάση τη χολίνη εμφάνιζαν υψηλότερες αποδόσεις όντας παράλληλα πιο όξινα συγκριτικά με τα υπόλοιπα. Ωστόσο είναι εμφανές πως η απόδοση των NaDES ως διαλύτες/καταλύτες στις αντιδράσεις εξαρτάται από πληθώρα ακόμα παραγόντων όπως οι φυσικοχημικές τους ιδιότητες αλλά και η στερεοχημική τους δομή.



Σχήμα 6.1: Σύνθεση 2,3-διυδροκιναζολονονών με χρήση NaDES

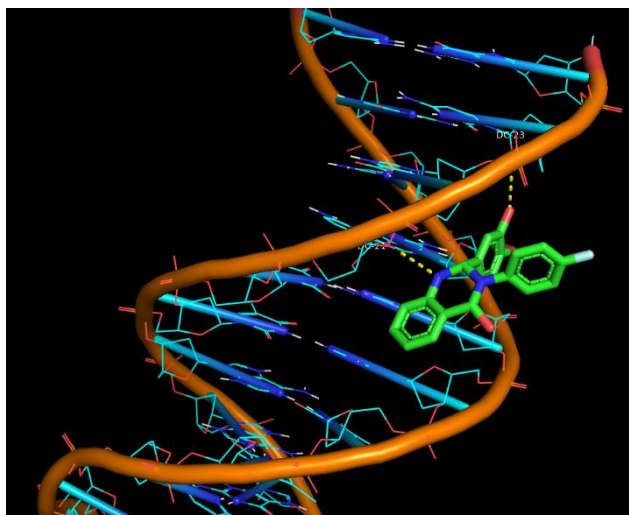
Η σύνθεση των κιναζολινονών με συμβατική θέρμανση όσο και με τη χρήση υπερήχων πραγματοποιείται μέσω αντίδρασης πολλών συστατικών, η οποία επιτυγχάνει υψηλή οικονομία ατόμου και συνεπώς ενσωμάτωση των αντιδρώντων στο τελικό προϊόν σε υψηλό ποσοστό (>80%). Παράλληλα διαπιστώνονται υψηλότερες αποδόσεις και χαμηλότερο ποσοστό αποβλήτων (Factor E) όταν υπάρχει υποκατάσταση αλογόνου στον δακτύλιο (-F, -Cl, -Br). Στη σύνθεση διυδροκιναζολινονών ο πράσινος χαρακτήρας της χρησιμοποιούμενης μεθοδολογίας ενισχύθηκε μέσω της χρήσης της υπερηχητικής ακτινοβολίας. Αντίθετα η αποπροστασία των μεθόξυ-ομάδων, που χρησιμοποιείται για την σύνθεση διυδροκιναζολινονών με -OH υποκαταστάσεις, δεν είναι φιλική προς το περιβάλλον καθώς έχει χαμηλές αποδόσεις, υψηλή ποσότητα αποβλήτων και χρήση τοξικών αντιδραστηρίων.

## 6.2. Βιολογική Δράση

### 6.2.1. Αλληλεπίδραση με το DNA

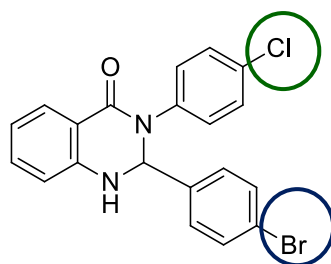
Η αλληλεπίδραση των παραγόμενων κιναζολινονών με το DNA εξετάστηκε με δύο μεθόδους, την τιτλοδότηση ορατού-υπεριώδους παρουσία ct-DNA και την φωτοβόληση παρουσία πλασμιδιακού DNA σε UV-A και UV-B ακτινοβολία. Σημειώνεται πως η πρώτη μέθοδος πραγματοποιήθηκε δοκιμαστικά και χρήζει βελτιστοποίησης καθώς διαπιστώθηκαν σφάλματα κατά την εφαρμογή της. Για αυτόν το λόγο τα αποτελέσματά της εξετάστηκαν με ορισμένη επιφύλαξη.

Από την τιτλοδότηση ορατού-υπεριώδους φαίνεται πως η αλληλεπίδραση των εξεταζόμενων διυδροκιναζολινονών με το DNA δεν είναι παρεμβολικής φύσεως, αλλά πιθανώς να γίνεται με εξωτερική συναρμογή με τον τρόπο που φαίνεται στην Εικόνα 6.1. Ομάδες όπως τα αλογόνα (-F,-Cl) στον κιναζολινικό δακτύλιο συμβάλλουν στην εμφάνιση αλληλεπιδράσεων με το DNA. Παρακάτω παρουσιάζεται σχηματικά η αλληλεπίδραση της κιναζολινόνης **3a**, η οποία εμφάνισε την καλύτερη δράση.



Εικόνα 6.1: Μηχανισμός αλληλεπίδρασης της κιναζολινόνης **3a** με το DNA.

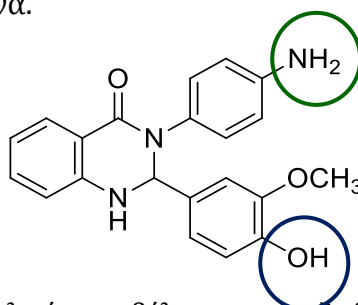
Στην δοκιμή φωτοβόλησης πραγματοποιήθηκε μελέτη των κιναζολινονών ως προς την πιθανότητα πρόκλησης φωτοδιάσπασης στο DNA αρχικά στα 312 nm (UV-B ακτινοβολία). Στην δράση αυτή φαίνεται να έχει σημαντικό ρόλο η στερεοχημεία του εξεταζόμενου μορίου αλλά και οι υποκαταστάσεις που φέρει στη δομή του. Συγκεκριμένα εμφανίζεται αύξηση της φωτοδιασπαστικής δράσης κιναζολινονών όταν στον φαινολικό δακτύλιο υπάρχουν υποκαταστάτες που είναι δέκτες ηλεκτρονίων, όπως είναι τα αλογόνα (-F, -Cl, -Br) και η νιτρο-ομάδα (-NO<sub>2</sub>). Υψηλή δραστηριότητα εμφάνισαν μάλιστα ενώσεις που φέραν δύο εξ αυτών των υποκαταστατών κατακερματίζοντας το υπερελικομένο πλασμιδιακό DNA (Σχήμα 6.2). Μελετώντας αυτή την ομάδα κιναζολινονών στα 365 nm (UV-A ακτινοβολία), φαίνεται πως εμφανίζουν υψηλά ποσοστά φωτοδιάσπασης. Η διαπίστωση αυτή είναι ιδιαίτερα σημαντική καθώς η UV-A ακτινοβολία είναι λιγότερο τοξική για τους ανθρώπους. Συνεπώς τέτοιου είδους ενώσεις θα μπορούσαν να είναι υποψήφιος για μελέτες σε ιατρικές εφαρμογές.



Σχήμα 6.2: Κιναζολινόνη με βέλτιστη φωτοδιασπαστική δράση (**5g**)

### 6.2.2. Αντιοξειδωτική δράση

Από την δοκιμή DPPH φαίνεται πως σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση αντιοξειδωτικής δράσης διαδραματίζει η ύπαρξη ομάδας υδροξυλίου(-OH) παρουσία μεθόξυ-υποκατάστασης (-OCH<sub>3</sub>) στον αρωματικό δακτύλιο της κιναζολινόνης. Επιπλέον παρατηρήθηκε συγκριτικά η δράση των κιναζολινονών με διαφορετική υποκατάσταση στη θέση 3 του κιναζολινικού δακτυλίου παρουσία μίας υδρόξυ-ομάδας και μίας μεθόξυ-ομάδας στον υποκαταστάση της θέσης 2. Διαπιστώθηκε πως καλύτερα αποτελέσματα εμφάνιζε η κιναζολινόνη με -NH<sub>2</sub> υποκατάσταση (Σχήμα 6.3), ενώ τα χειρότερα εμφάνιζαν αυτές που φέραν υποκαταστάσεις με αλογόνα.



Σχήμα 6.3: Κιναζολινόνη με βέλτιστη αντιοξειδωτική δράση (**3c**)

Παρακάτω (Σχήμα 6.4) παρουσιάζονται οι υποκαταστάτες σε σειρά αυξανόμενης αντιοξειδωτικής δράσης.



Σχήμα 6.4: Παρουσίαση υποκαταστατών σε σειρά αυξανόμενης αντιοξειδωτικής δράσης



## 7. Προτάσεις για μελλοντική έρευνα

Η μελλοντική έρευνα στην σύνθεση κιναζολινικών αναλόγων θα πρέπει να κινηθεί σε τρεις πυλώνες: την πράσινη μεθοδολογία σύνθεσής τους, την επιλογή των κατάλληλων υποκαταστάσεων τους και την μελέτη της βιολογικής δραστηριότητά τους.

Ειδικότερα εστιάζοντας στην πράσινη χημεία, καίρια σημασία έχει η διεύρυνση της μελέτης των NaDES. Αυτή περιλαμβάνει εκτεταμένη μελέτη των φυσικοχημικών τους ιδιοτήτων και της στεροεχημικής τους δομής ώστε να βρεθούν οι παράγοντες που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητά τους. Βάσει αυτών των αποτελεσμάτων θα μπορούσαν να σχεδιαστούν αποδοτικότερα NaDES με κατάλληλα συστατικά και μοριακές αναλογίες.

Στο σχεδιασμό και τη σύνθεση των κιναζολινονών στόχος είναι ο εμπλουτισμός της "χημικής βιβλιοθήκης" τους με ενώσεις ασφαλείς και χαμηλής τοξικότητας. Την ίδια στιγμή είναι εξίσου σημαντικό τα ίδια χαρακτηριστικά να διαθέτουν και να μέσα που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή τους (διαλύτες, αντιδρώντα). Υπό αυτό το πρίσμα η αποποροστασία των μεθόξυ- ομάδων των διυδροκιναζολινονών θα μπορούσε να μετατραπεί σε πιο πράσινη εξετάζοντας την χρήση βιοκαταλυτών.

Αναφορικά με την μελέτη της βιολογικής δράσης των κιναζολινονών, η έρευνα θα μπορούσε να εστιαστεί στην αλληλεπίδραση τους με το DNA και την αντιοξειδωτική τους δράση. Στην πρώτη περίπτωση θα πρέπει να μελετηθεί πιο εκτεταμένα η αλληλεπίδραση με το ct-DNA με χρήση περαιτέρω μεθόδων, όπως μετρήσεις του ιξώδους και ηλεκτροφόρησης. Παράλληλα επιθυμητή είναι η δοκιμή υποκαταστάσεων, όπως -NO<sub>2</sub> και αλογόνων που φαίνεται να βοηθούν την ανάπτυξη αλληλεπίδρασης. Στη δεύτερη περίπτωση, δηλαδή τη μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης, θα μπορούσαν να μελετηθούν εκτενέστερα υποκαταστάσεις -NH<sub>2</sub>, -OH και αλκυλικών αλυσίδων μεγάλου μήκους. Ταυτόχρονα ενδιαφέρον θα ήταν να βρεθεί η κινητική της δράσης αυτών των ενώσεων ως αντιοξειδωτικά ώστε να βρεθούν οι δομές αυτές που επιτυγχάνουν ταχύτερη δράση.

## 8. Παραρτήματα

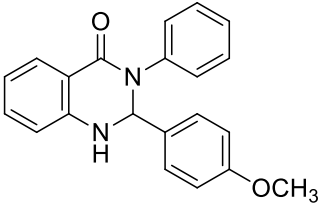
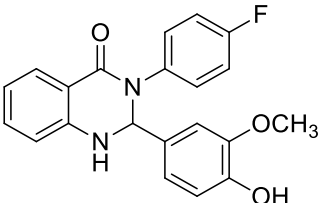
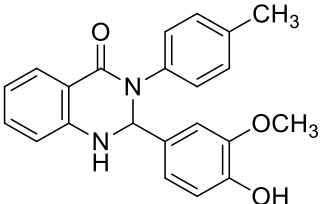
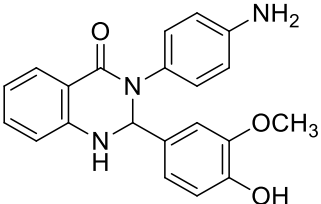
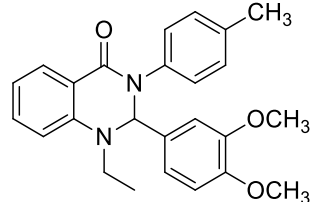
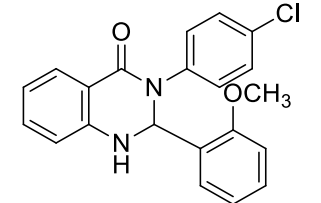
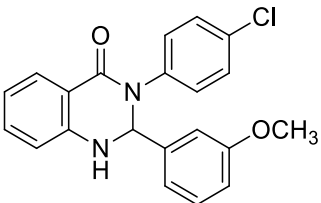
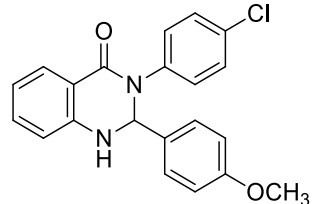
### 8.1. Κατάλογος ενώσεων

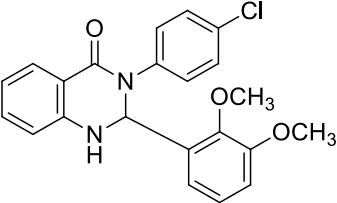
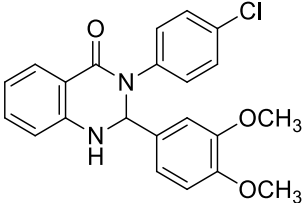
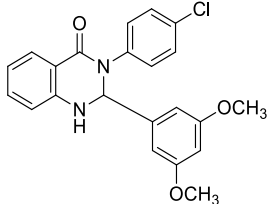
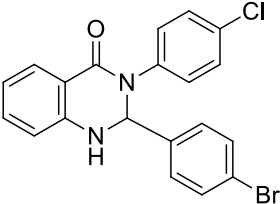
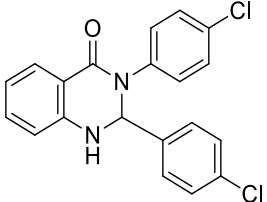
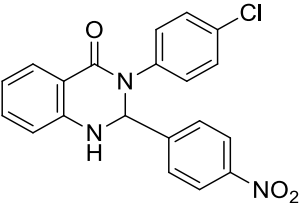
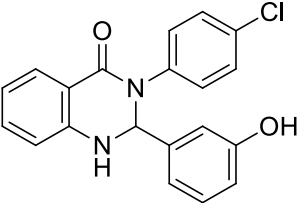
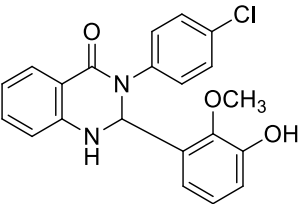
Πίνακας 8.1: Τα NaDES που συντέθηκαν και οι αντίστοιχοι κωδικοί τους.

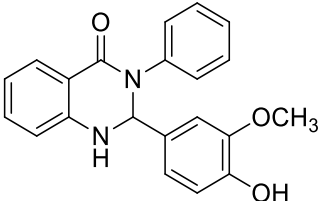
Κωδικός	Δομή
NaDES 1	
NaDES 2	
NaDES 3	
NaDES 4	
NaDES 5	
NaDES 6	

Πίνακας 8.2: Οι ενώσεις που συντέθηκαν και οι αντίστοιχοι κωδικοί τους.

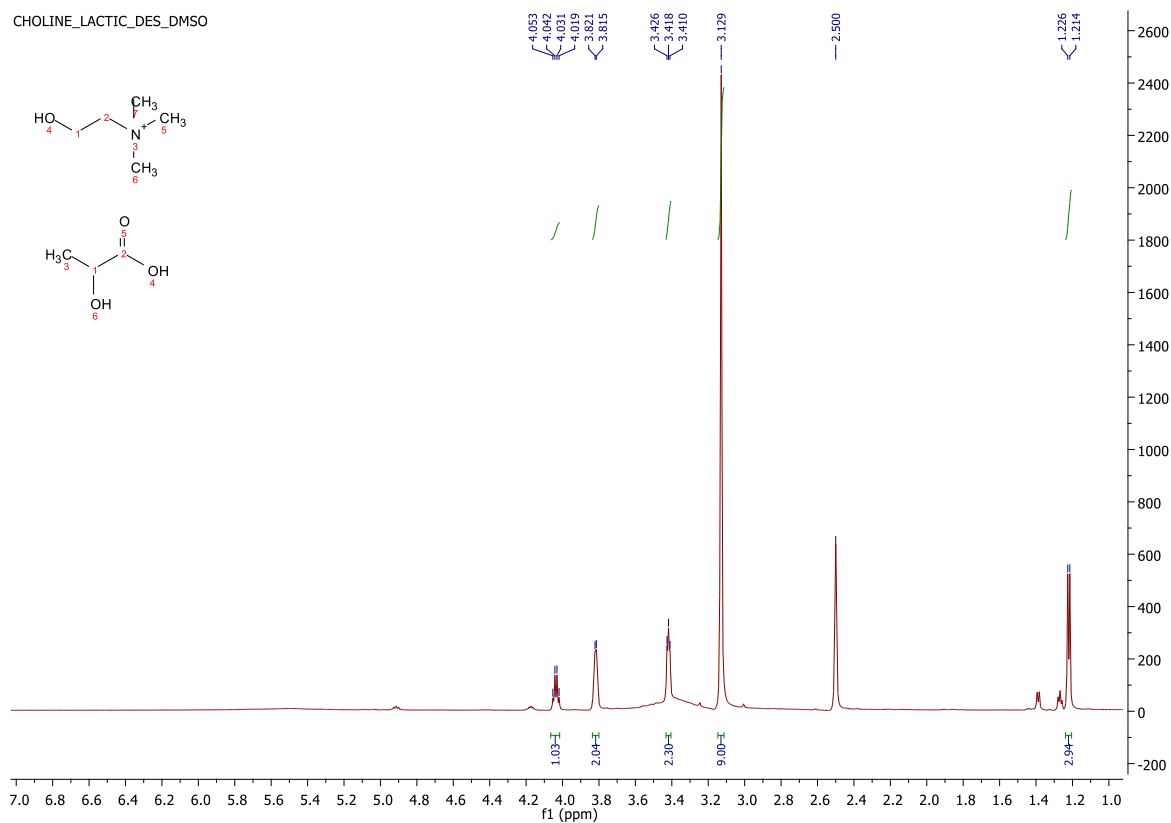
Κωδικός	Δομή	Μέθοδος
1a		Συμβατική
1b		Συμβατική

2a		Υπέρηχοι
3a		Υπέρηχοι
3b		Υπέρηχοι
3c		Υπέρηχοι
4a		Υπέρηχοι
5a		Υπέρηχοι
5b		Υπέρηχοι
5c		Υπέρηχοι

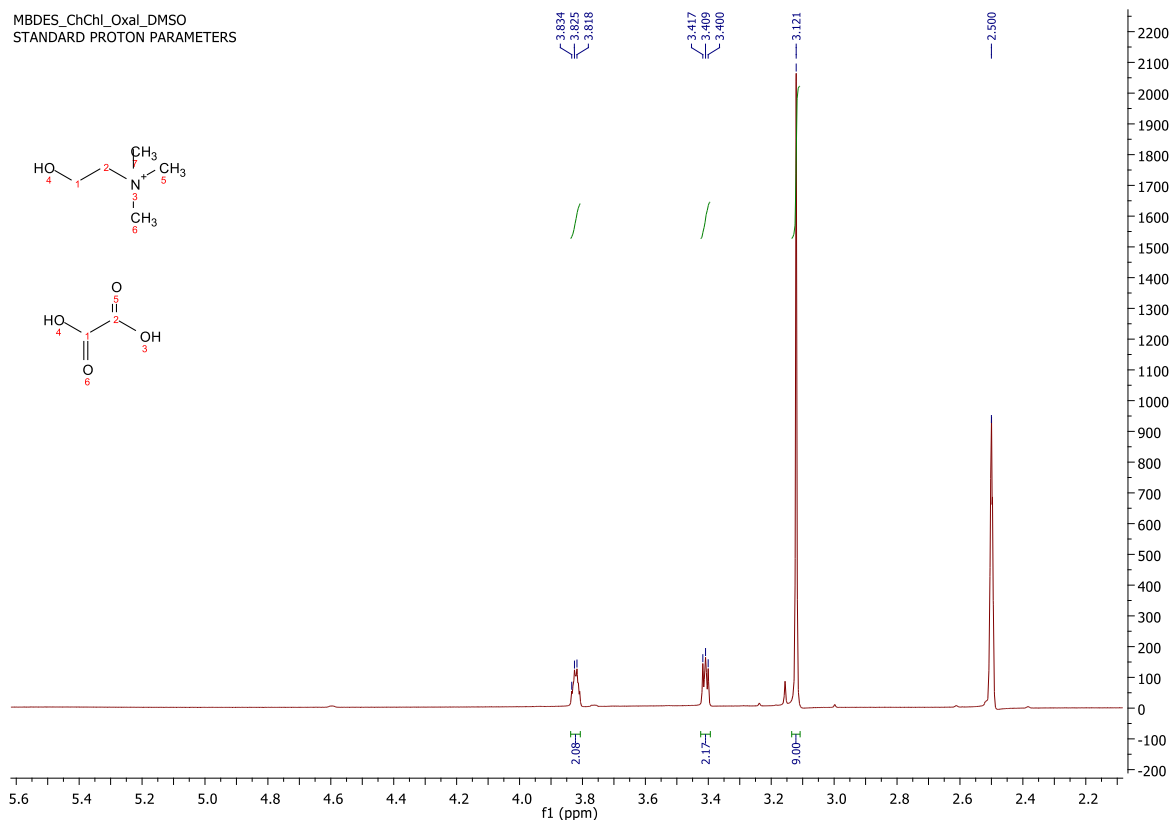
5d		Υπέρηχοι
5e		Υπέρηχοι
5f		Υπέρηχοι
5g		Υπέρηχοι
5h		Υπέρηχοι
5i		Υπέρηχοι
6a		Αποπροστασία
6b		Αποπροστασία

<b>q</b>	 <chem>COC1=CC=C(C=C1)C2=NC(=O)C3=CC=CC=C3N2C4=CC=CC=C4</chem>	Υπέρηχοι
----------	---	----------

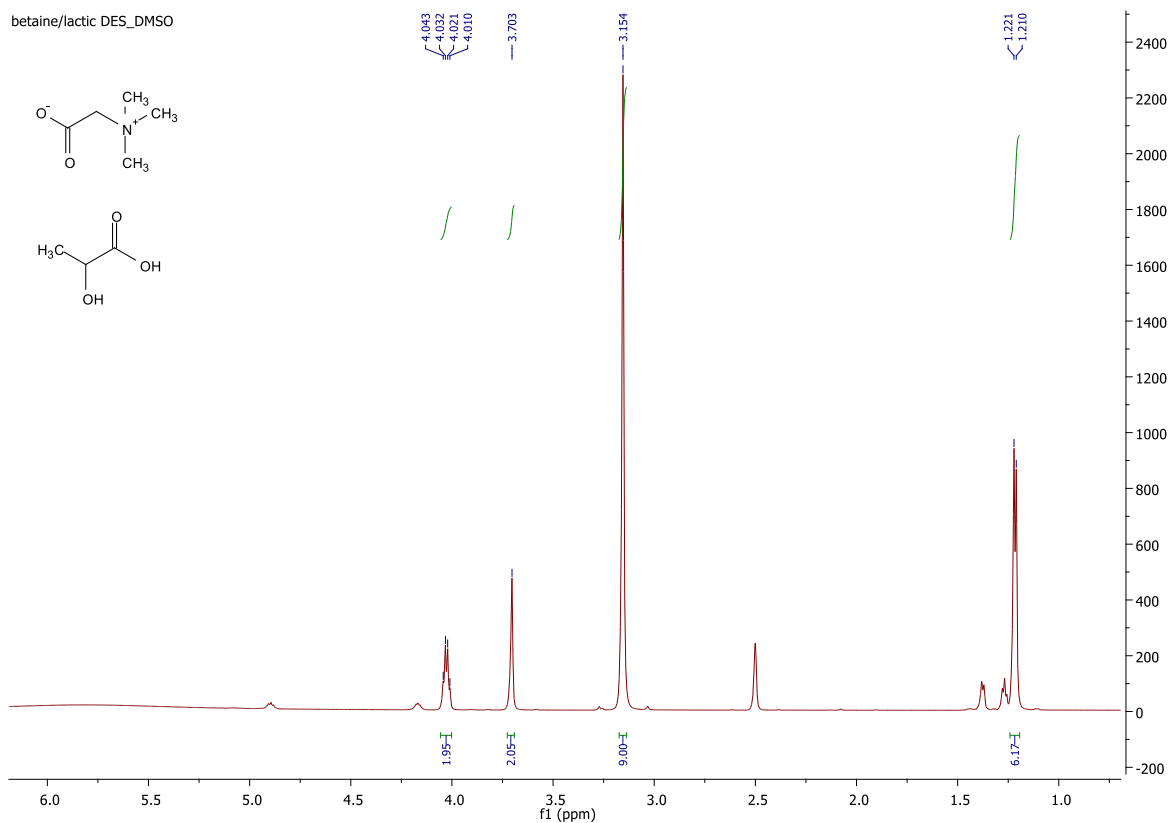
## 8.2. Φάσματα H-NMR



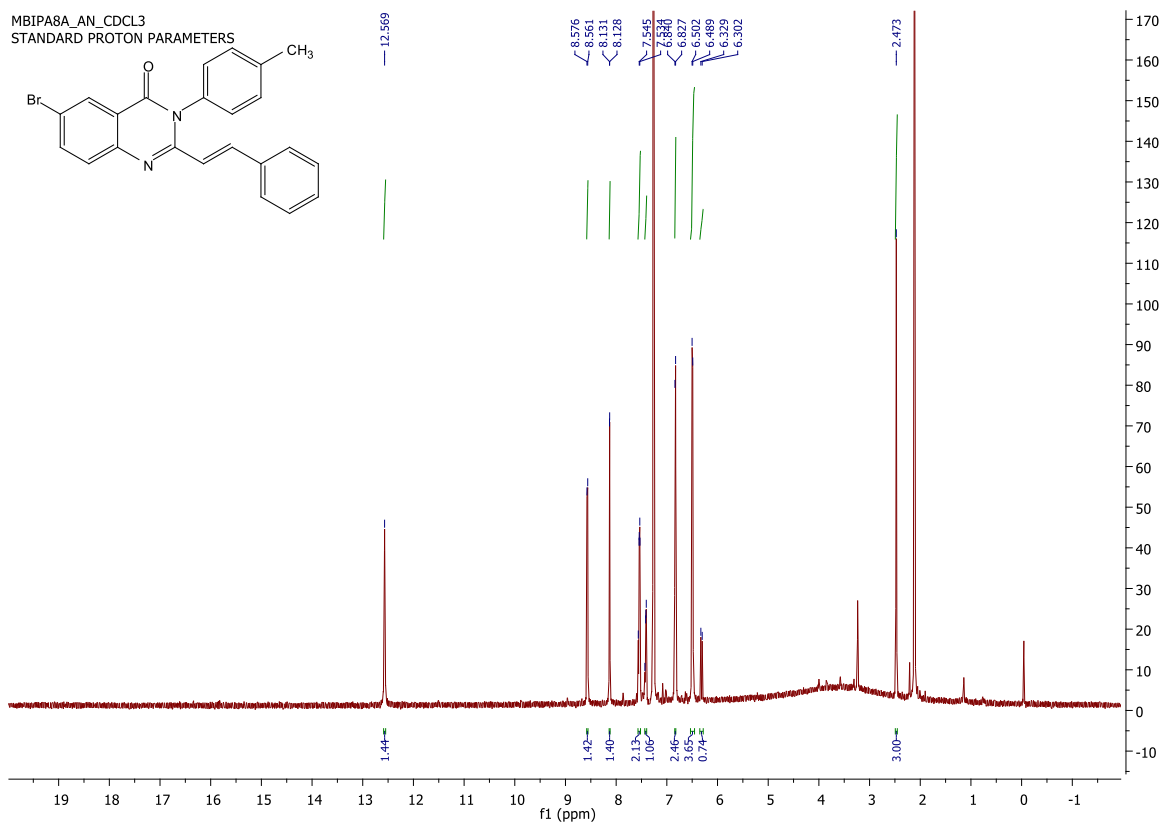
Εικόνα 8.1: Φάσμα πρωτονίου <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) του NaDES 1



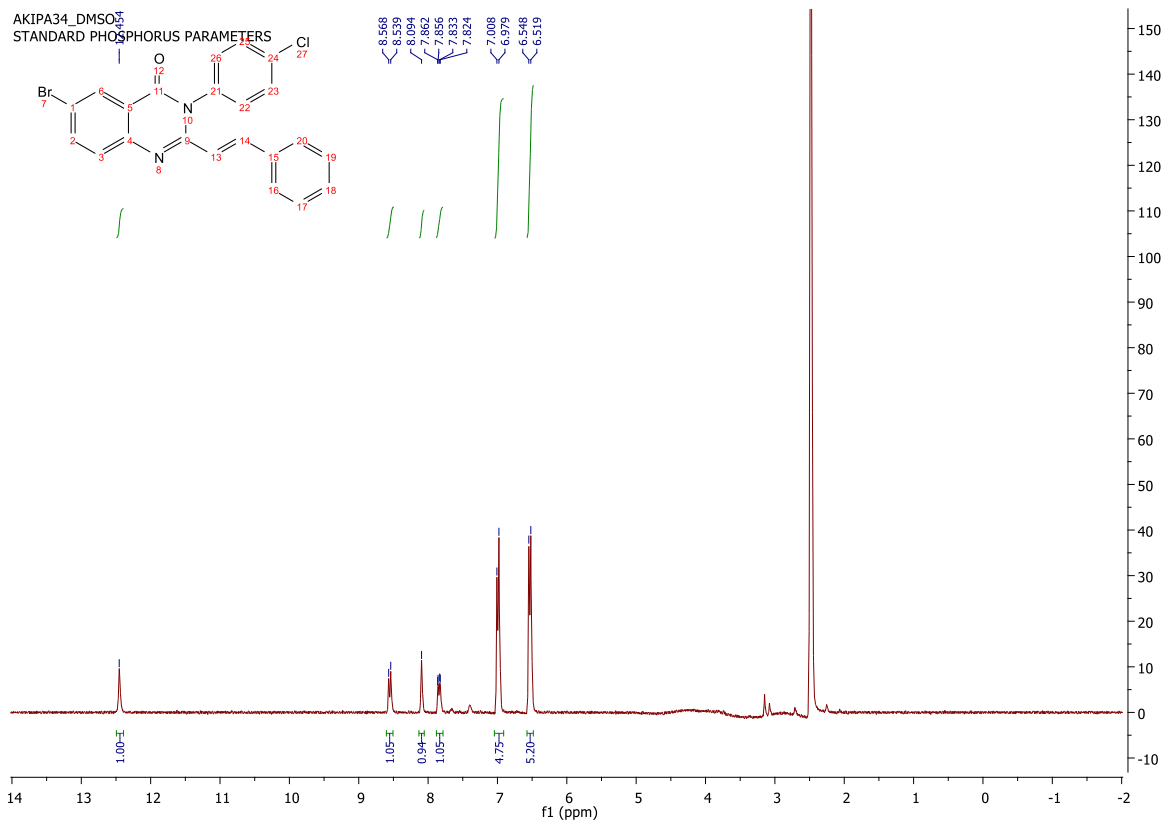
Εικόνα 8.2: Φάσμα πρωτονίου <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) του NaDES 2



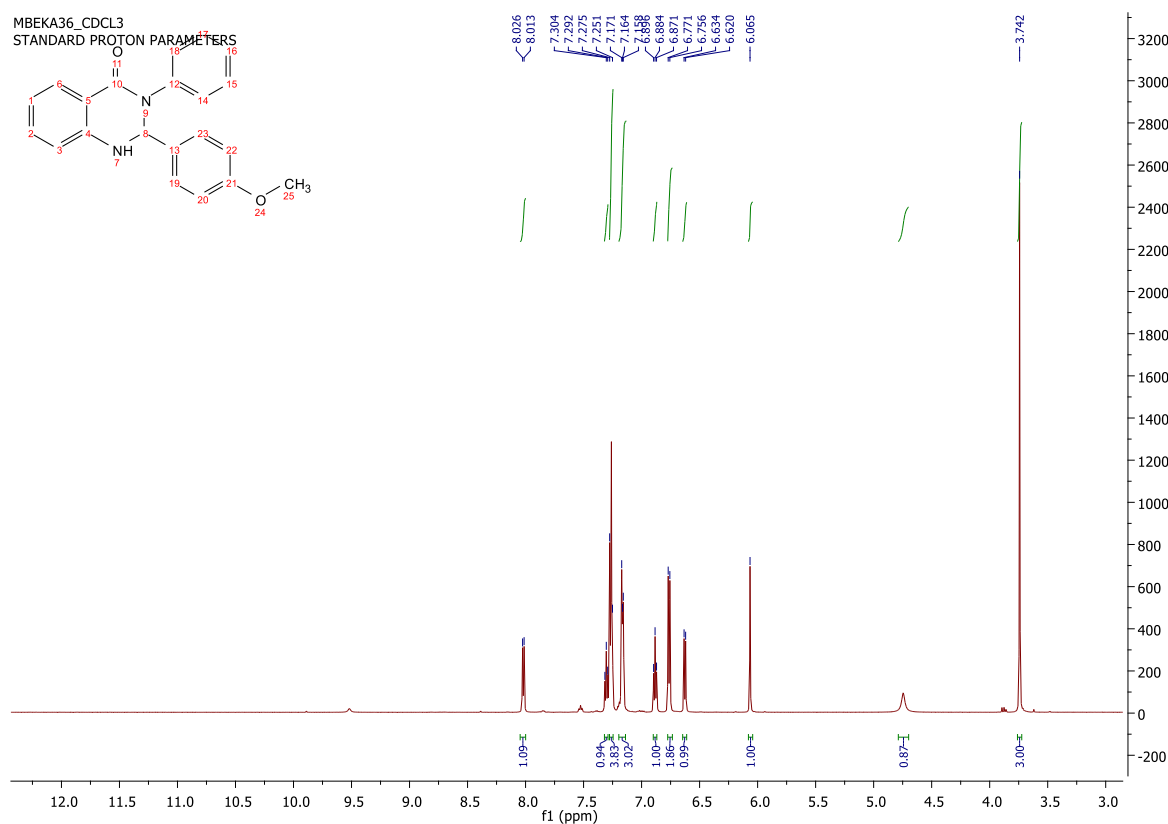
Εικόνα 8.3: Φάσμα πρωτονίου  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) του **NaDES 5**



Εικόνα 8.4: Φάσμα πρωτονίου  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) της ένωσης **1a**

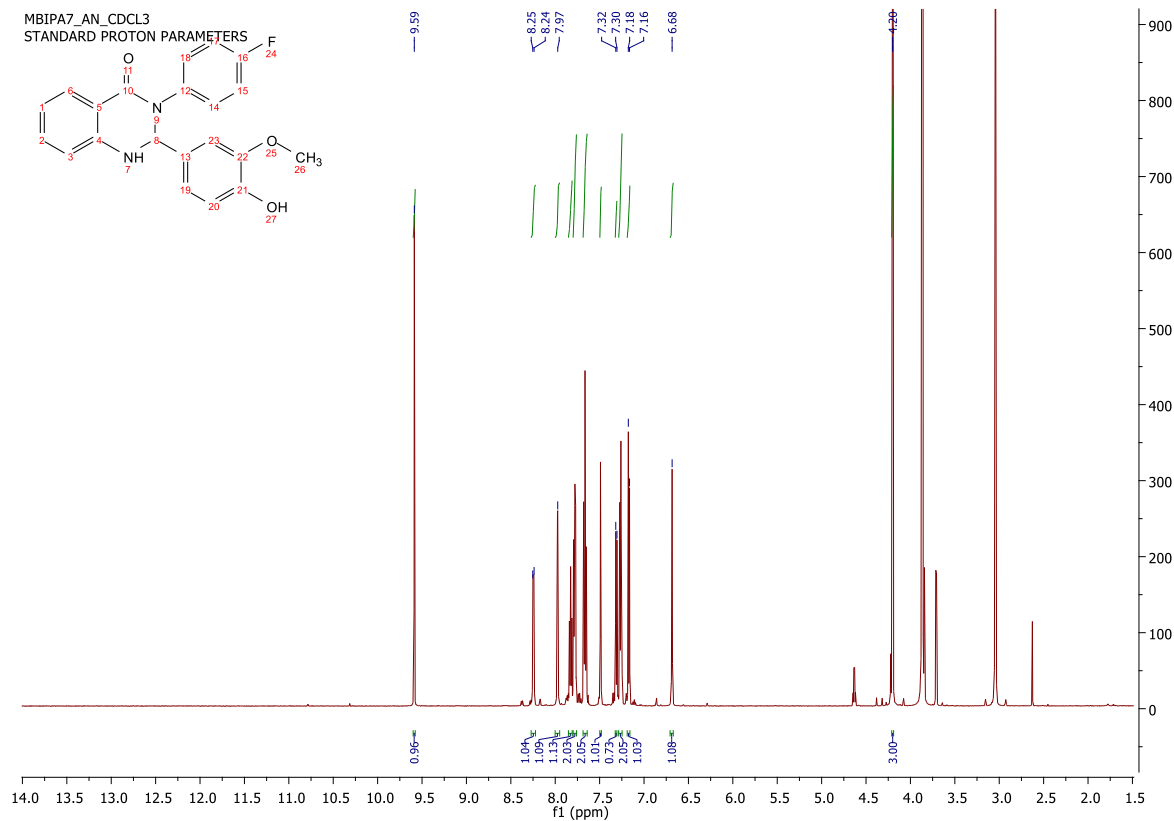


Εικόνα 8.5: Φάσμα πρωτονίου <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) της ένωσης **1b**

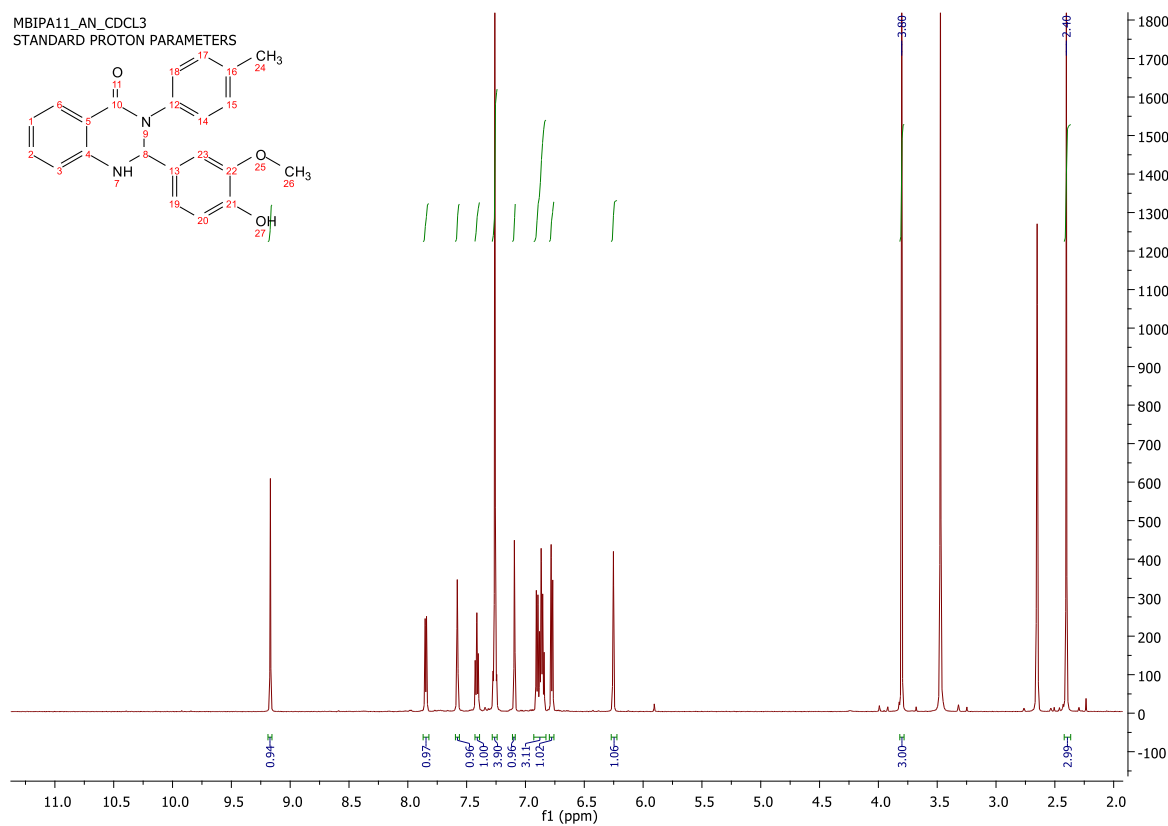


Εικόνα 8.6: Φάσμα πρωτονίου <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) της ένωσης **2a**

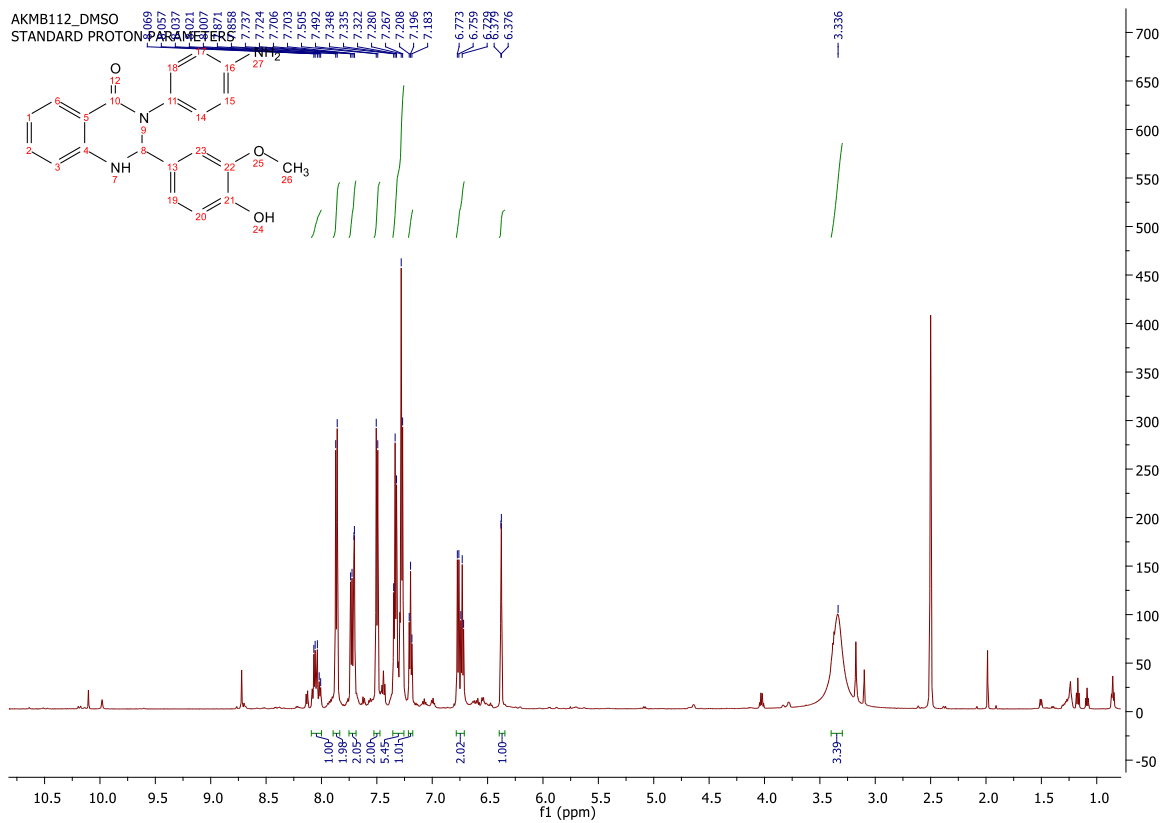




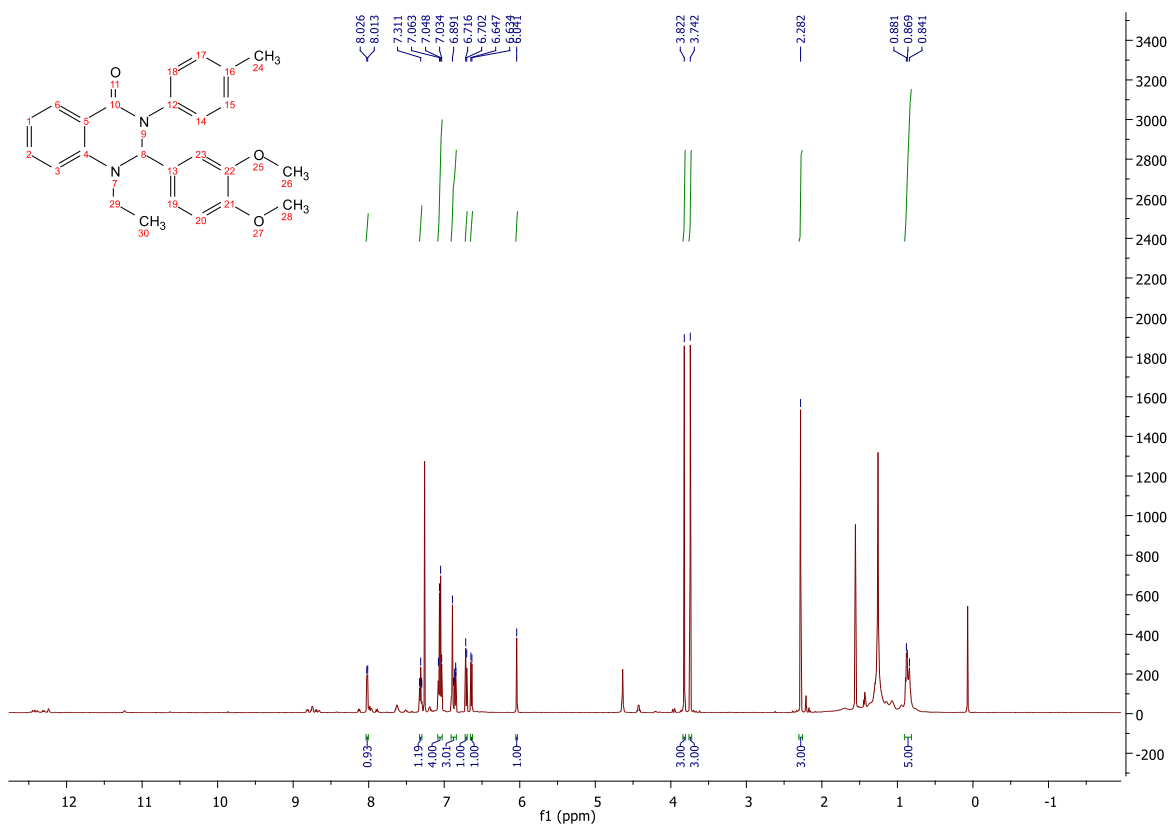
Εικόνα 8.7: Φάσμα πρωτονίου  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) της ένωσης **3a**



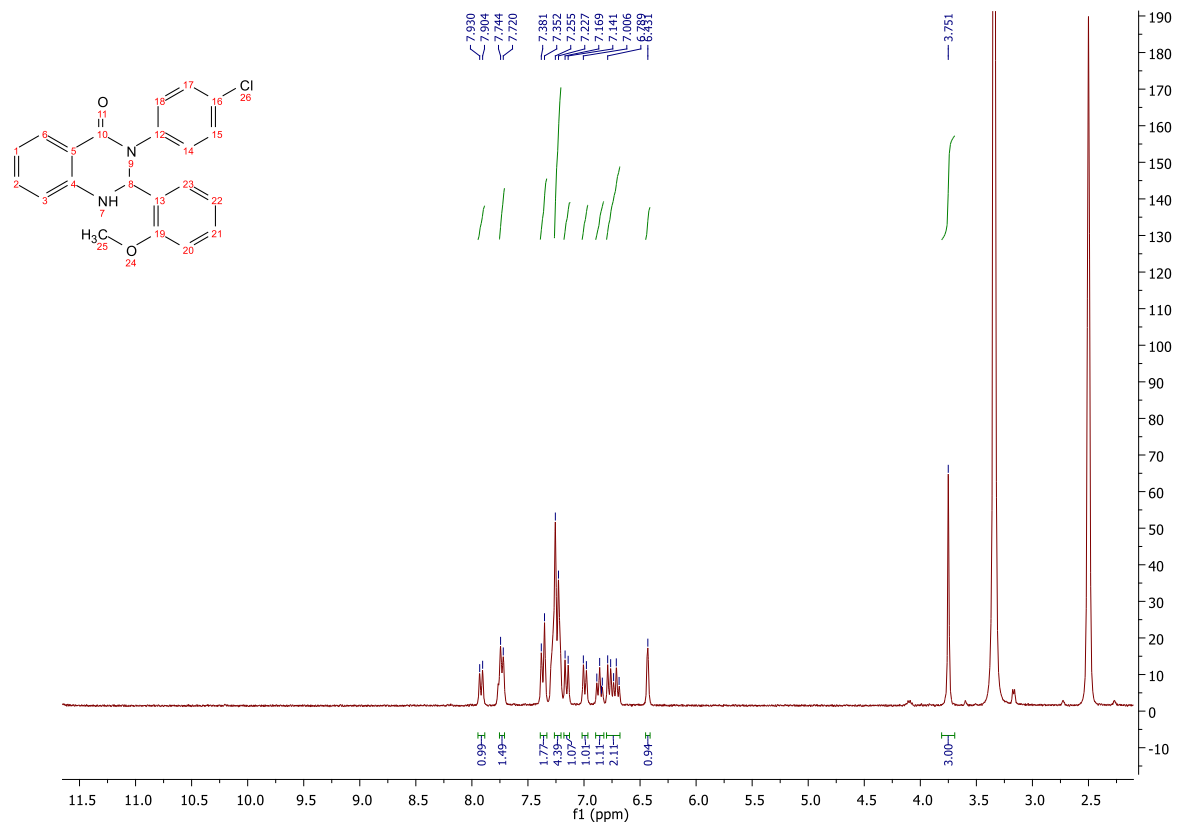
Εικόνα 8.8: Φάσμα πρωτονίου  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) της ένωσης **3b**



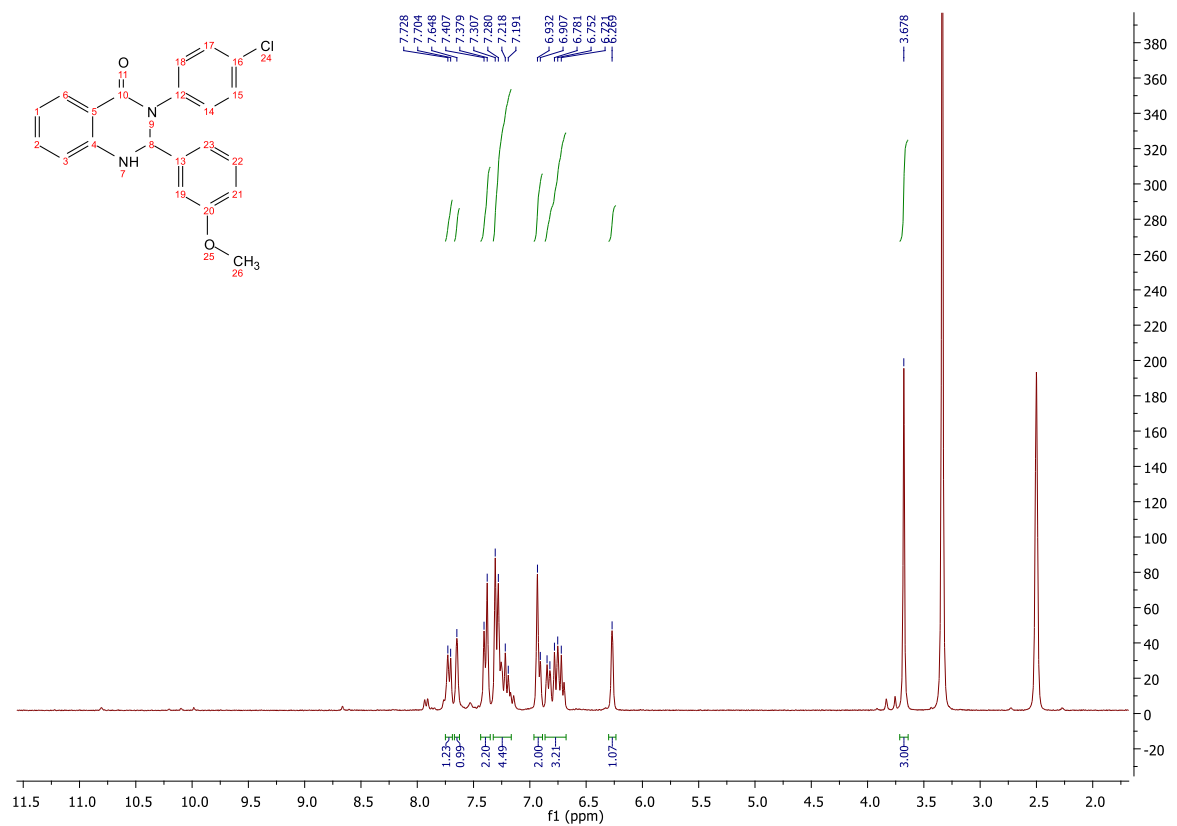
Εικόνα 8.9: Φάσμα πρωτονίου  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) της ένωσης **3c**



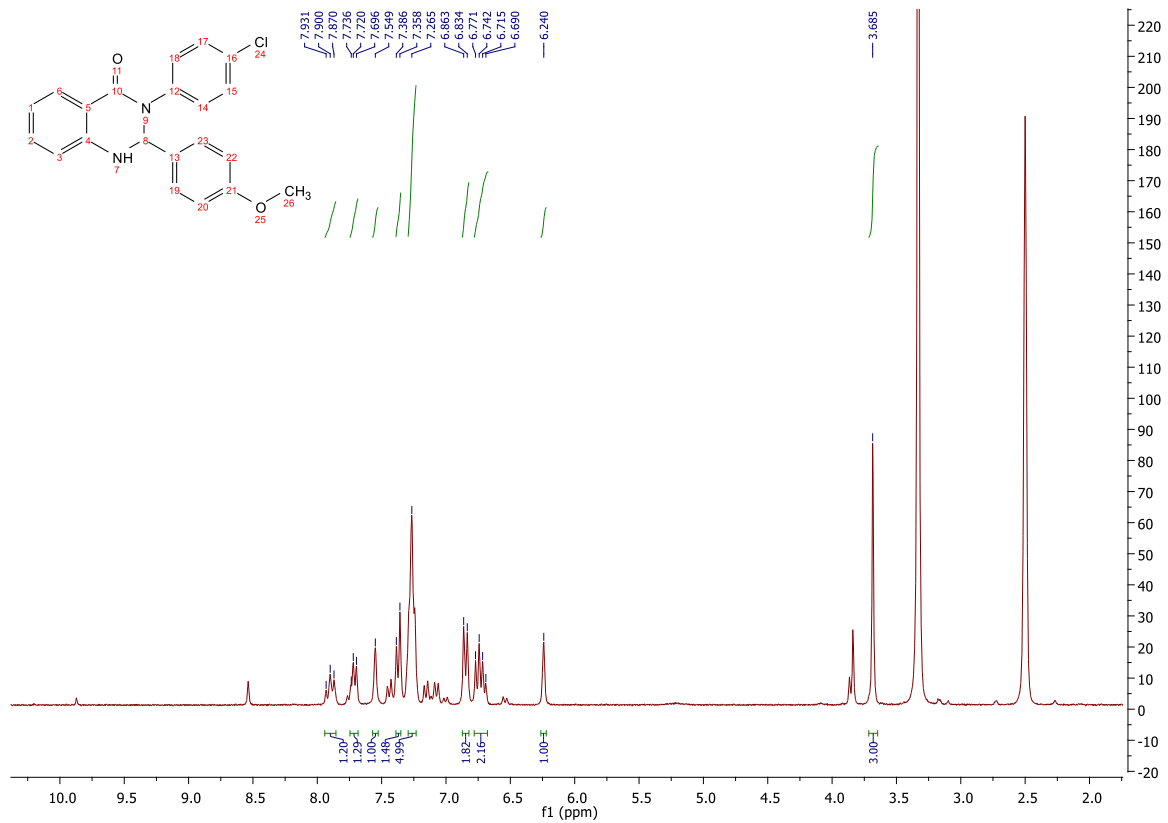
Εικόνα 8.10: Φάσμα πρωτονίου  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) της ένωσης **4a**



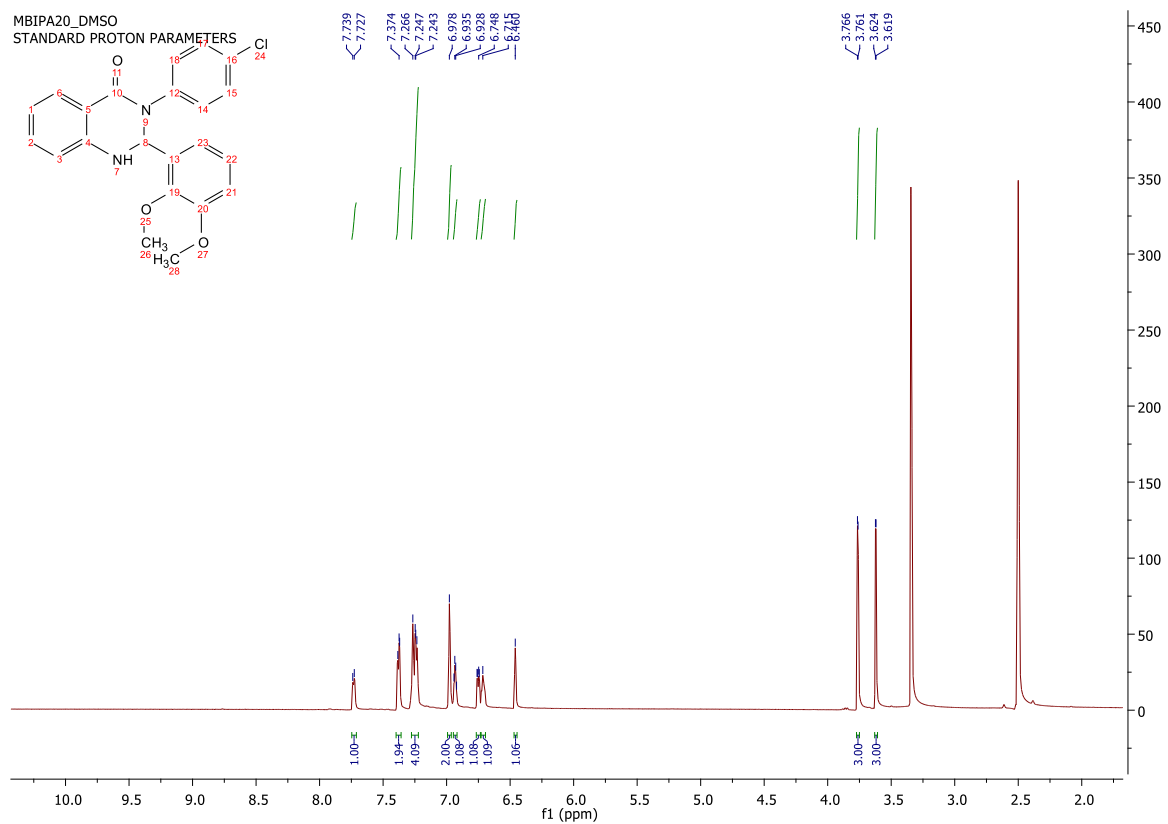
Εικόνα 8.11: Φάσμα πρωτονίου <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) της ένωσης 5a



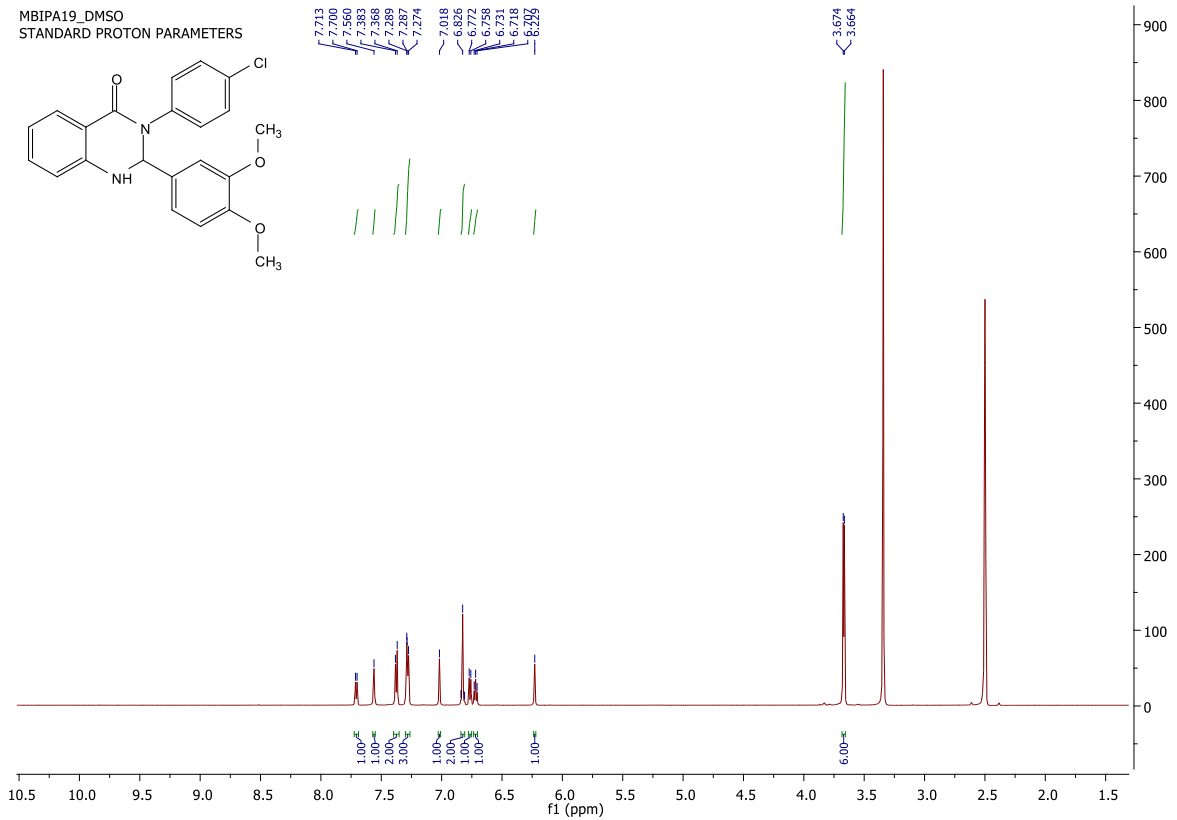
Εικόνα 8.12: Φάσμα πρωτονίου <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) της ένωσης 5b



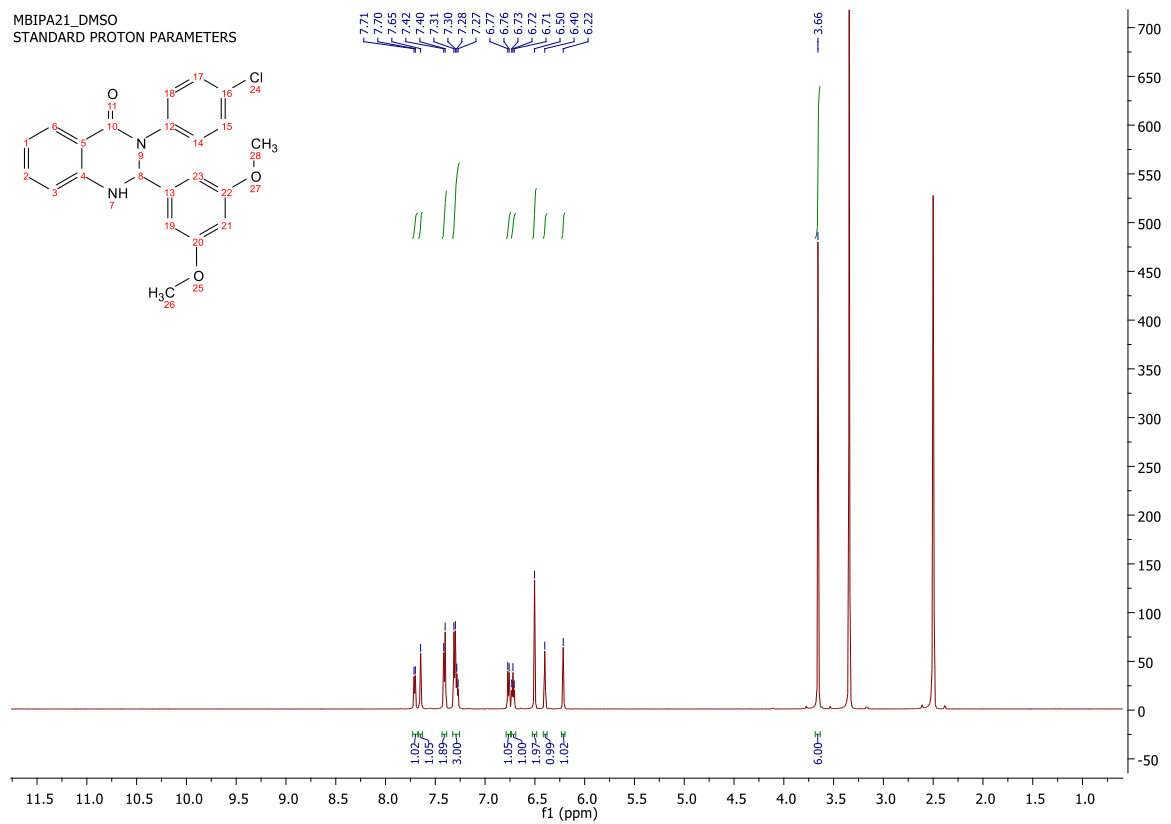
Εικόνα 8.13: Φάσμα πρωτονίου  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) της ένωσης 5c



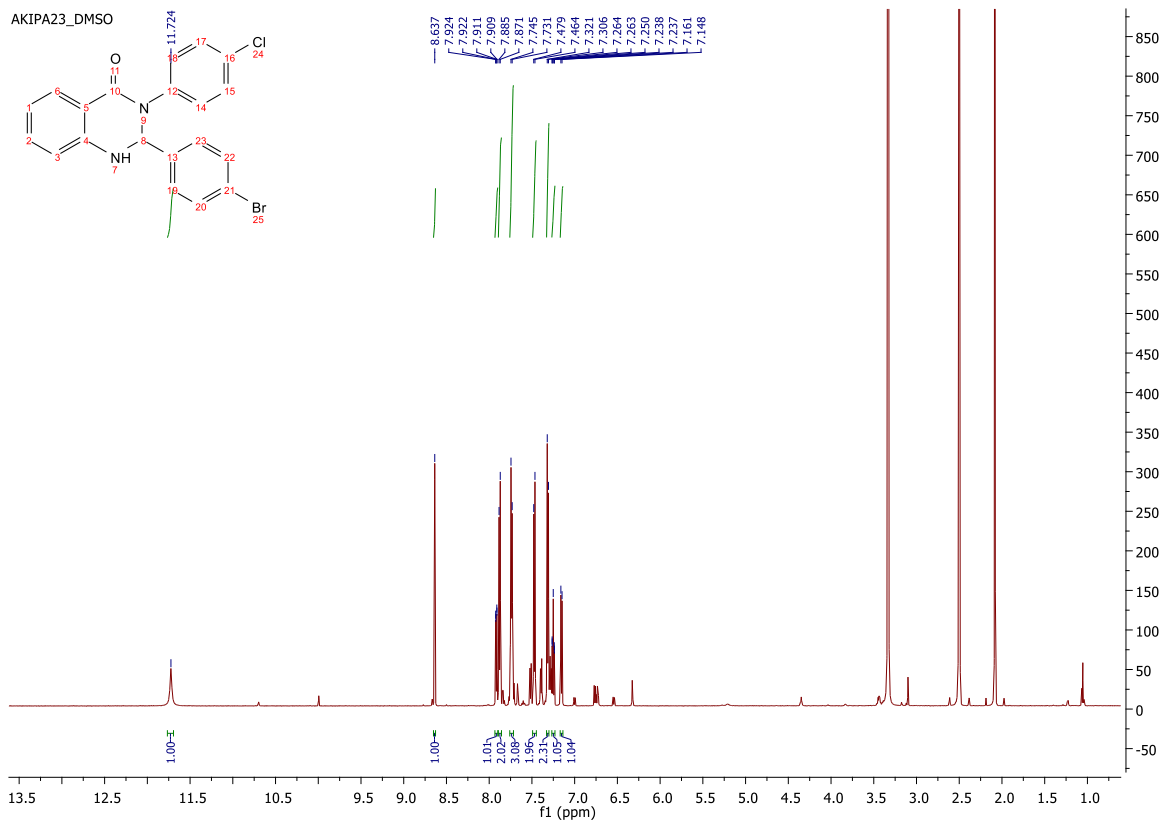
Εικόνα 8.14: Φάσμα πρωτονίου  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) της ένωσης 5d



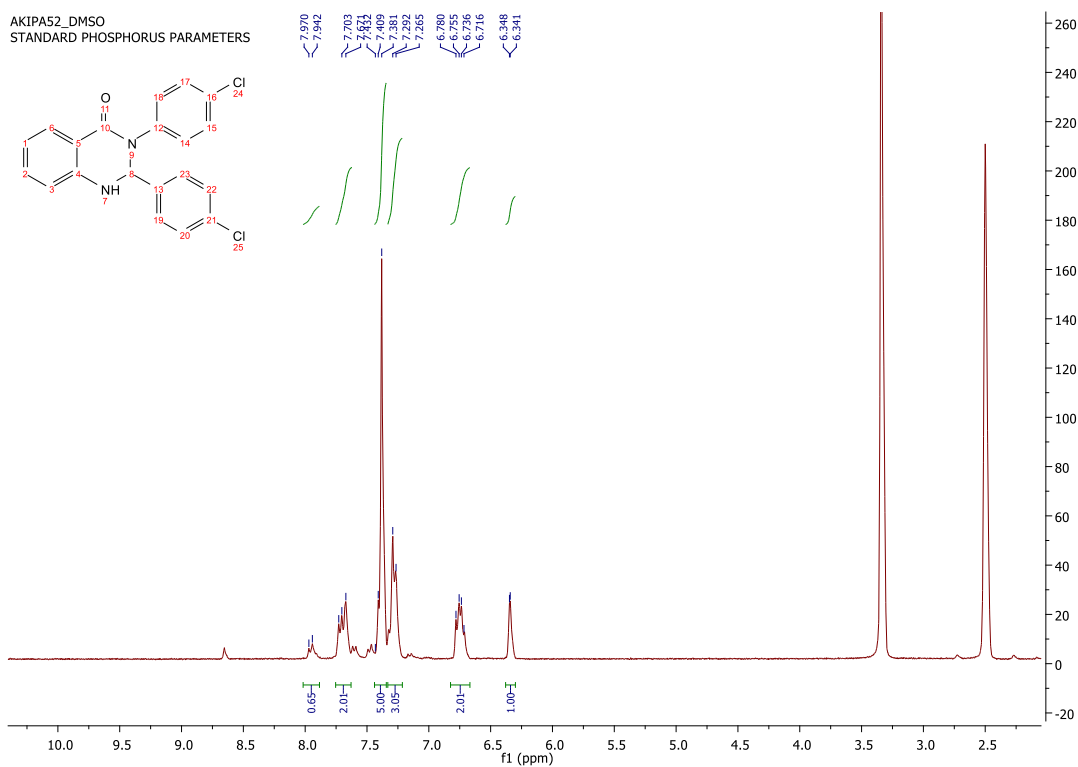
Εικόνα 8.15: Φάσμα πρωτονίου <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) της ένωσης **5e**



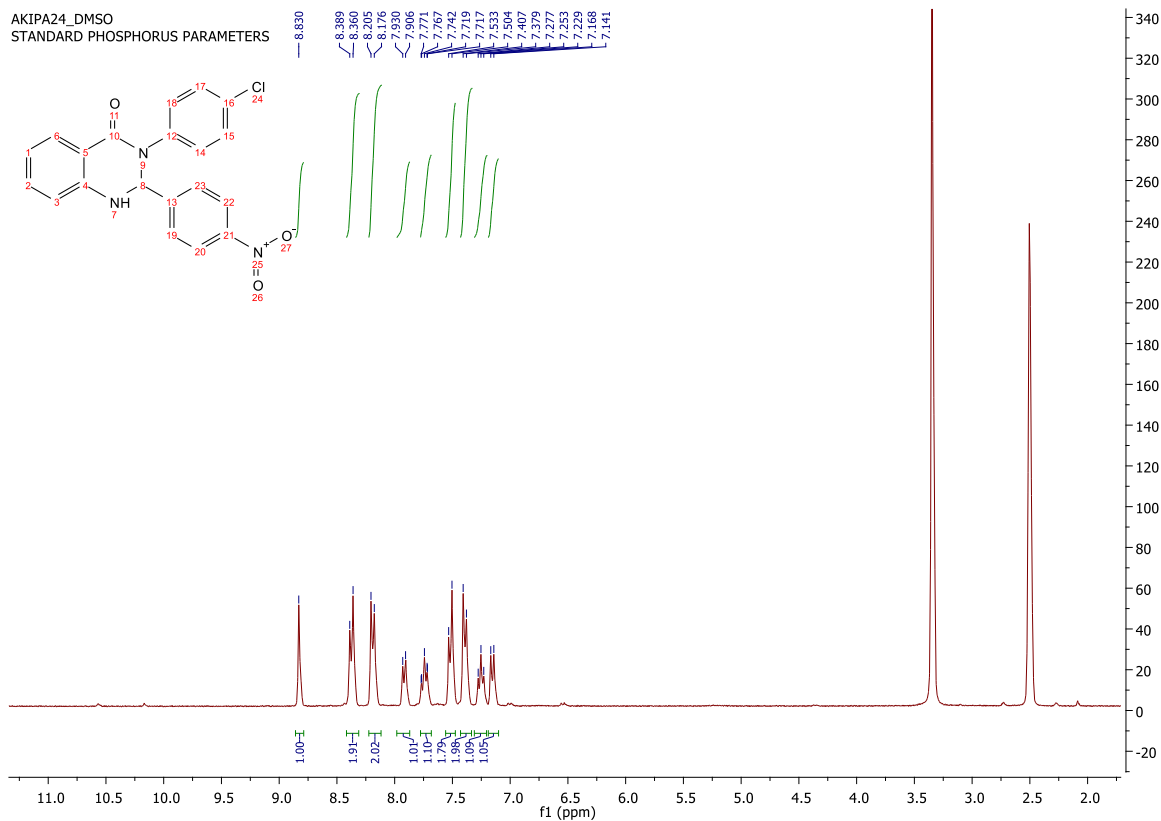
Εικόνα 8.16: Φάσμα πρωτονίου <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) της ένωσης **5f**



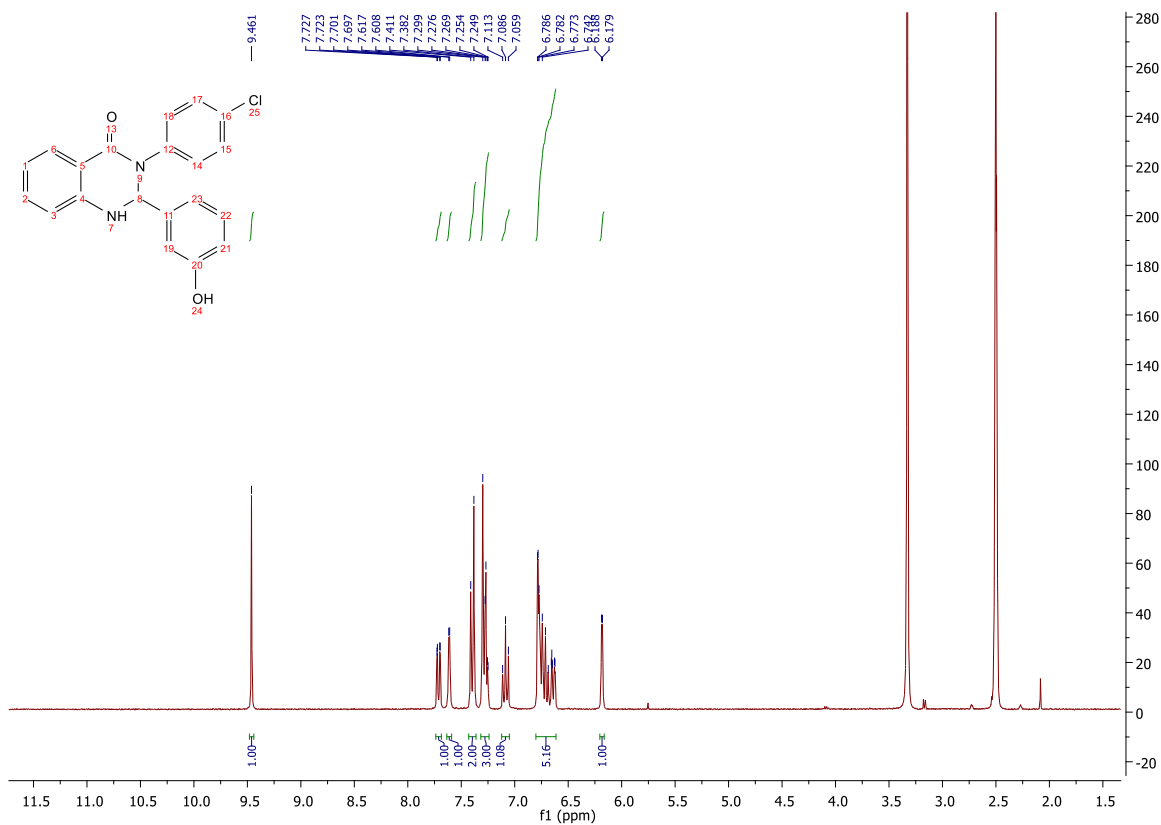
Εικόνα 8.17: Φάσμα πρωτονίου  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) της ένωσης **5g**



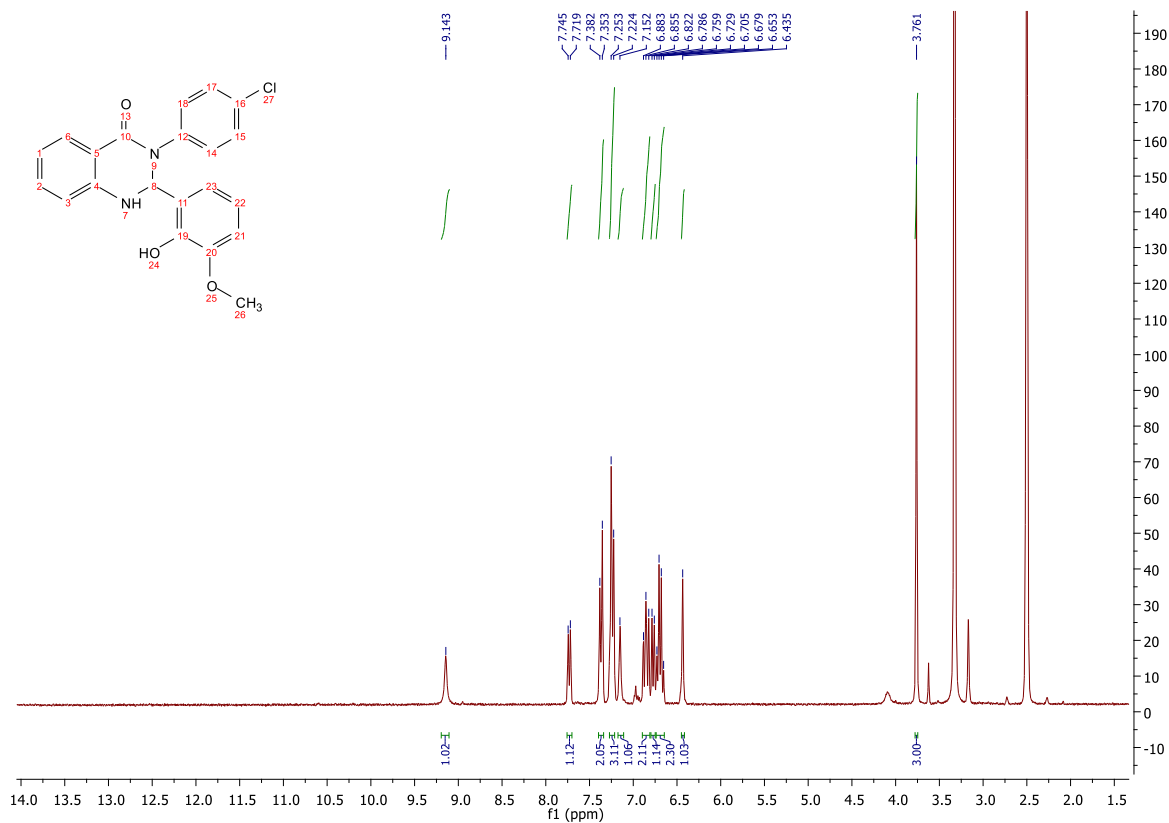
Εικόνα 8.18: Φάσμα πρωτονίου  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) της ένωσης **5h**



Εικόνα 8.19: : Φάσμα πρωτονίου  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) της ένωσης **5i**



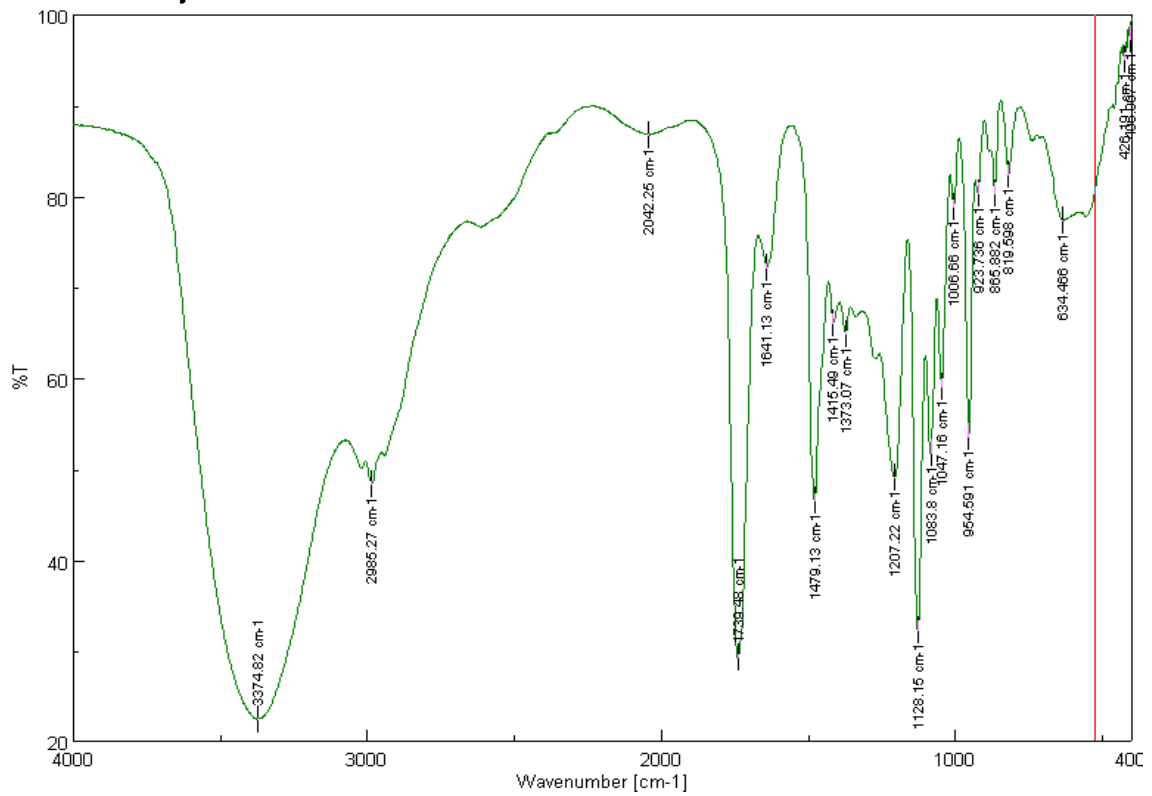
Εικόνα 8.20: Φάσμα πρωτονίου  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) της ένωσης **6a**



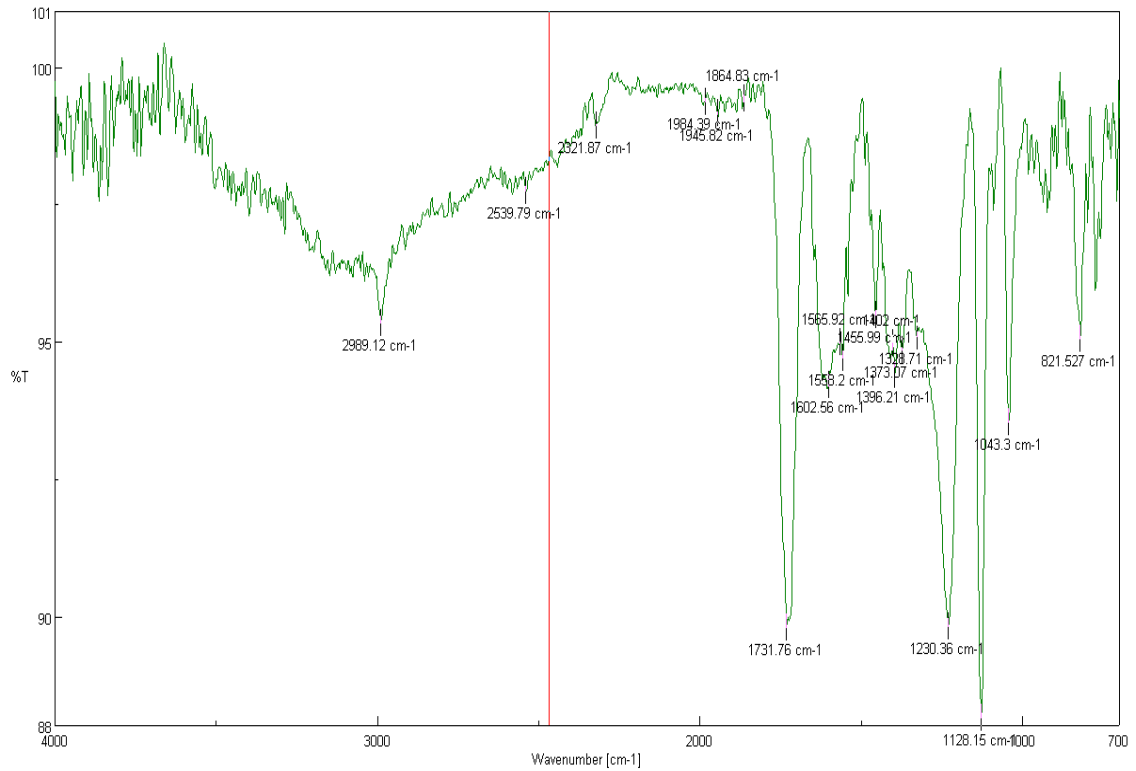
Εικόνα 8.21: Φάσμα πρωτονίου  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) της ένωσης **6b**



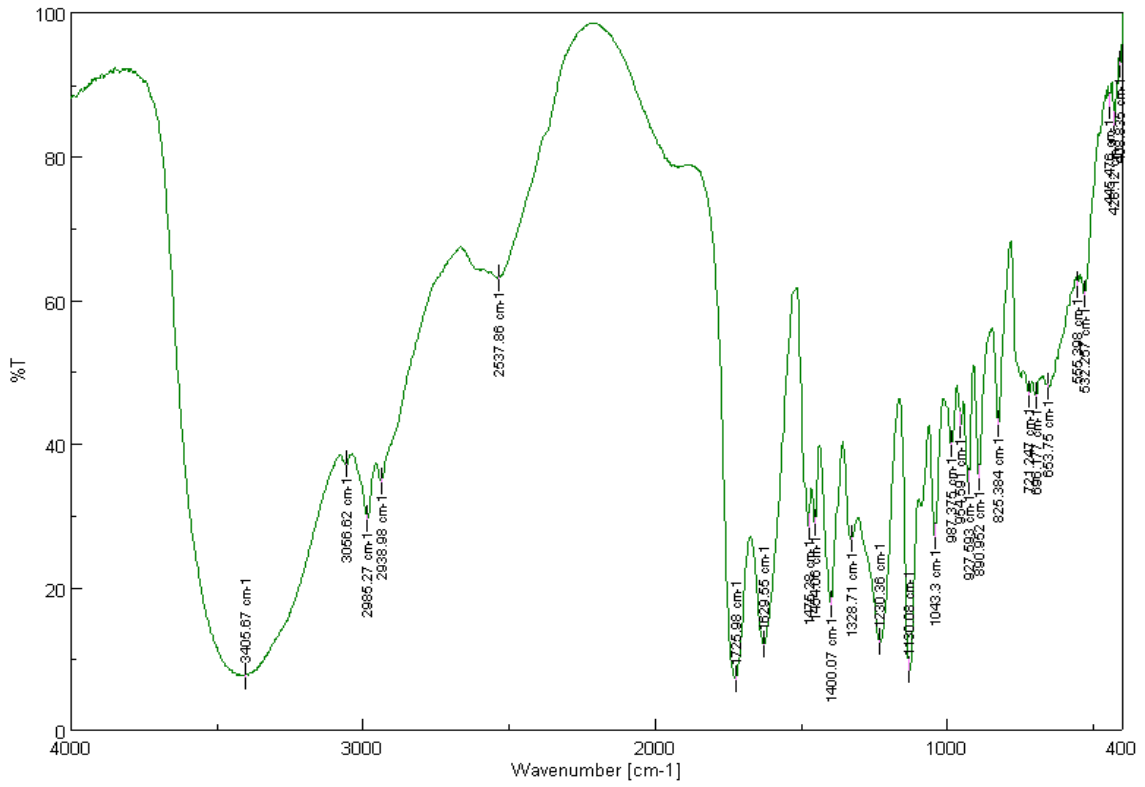
### 8.3. Φάσματα FT-IR



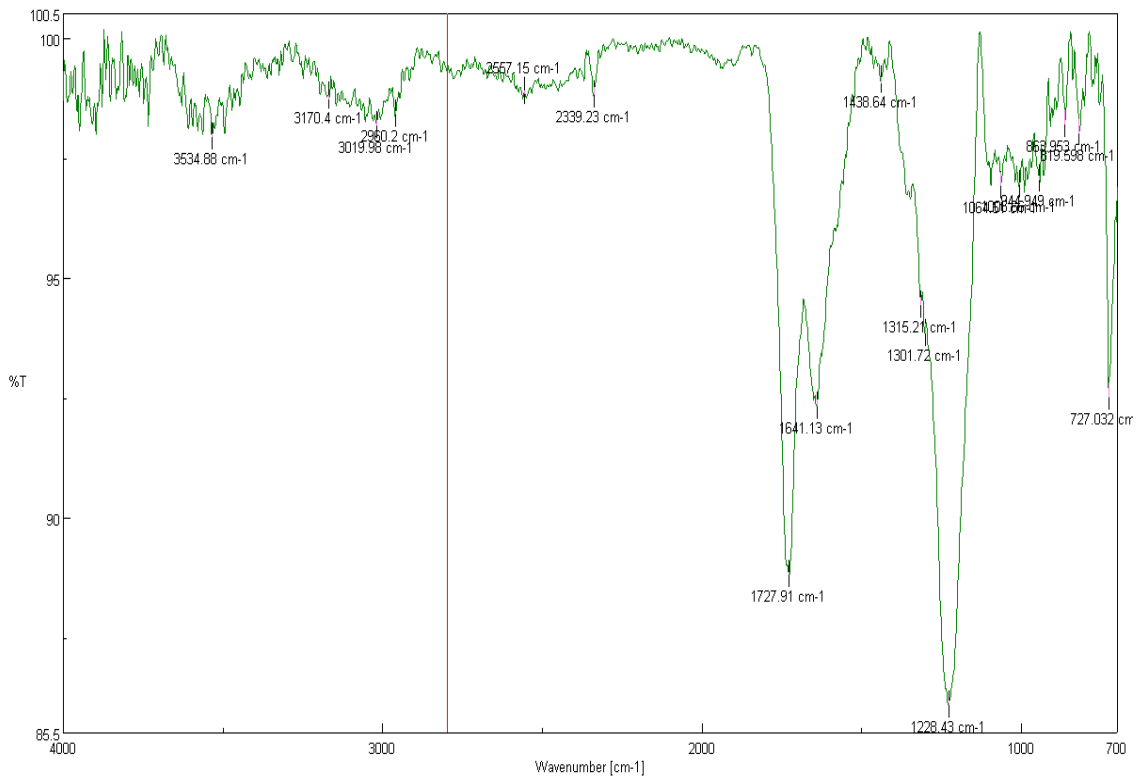
Εικόνα 8.22: Φάσμα FT-IR του NaDES 1



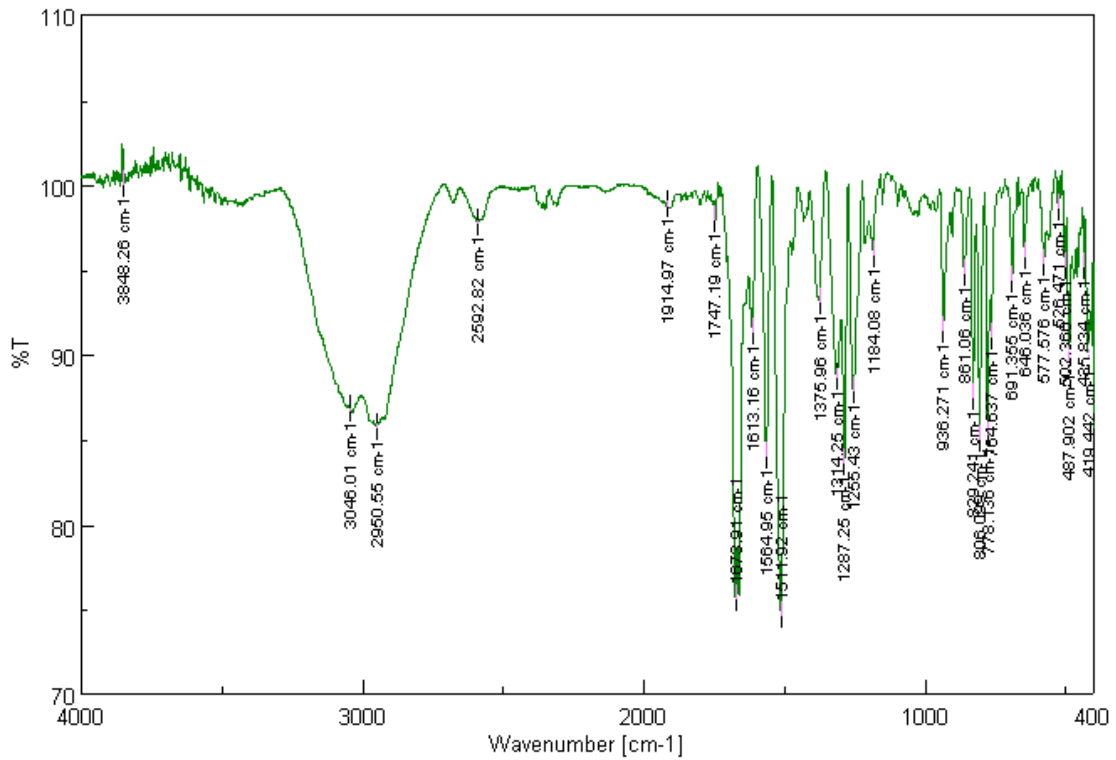
Εικόνα 8.23: Φάσμα FT-IR του NaDES 2



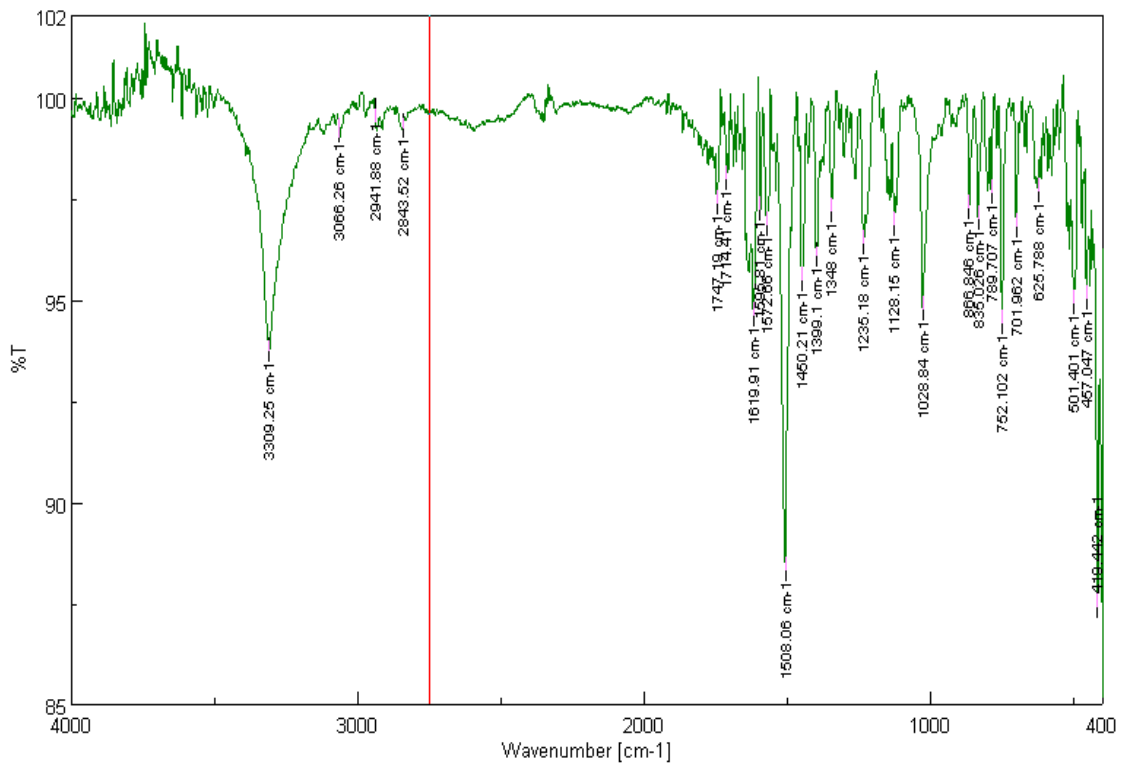
Εικόνα 8.24: Φάσμα FT-IR του NaDES 3



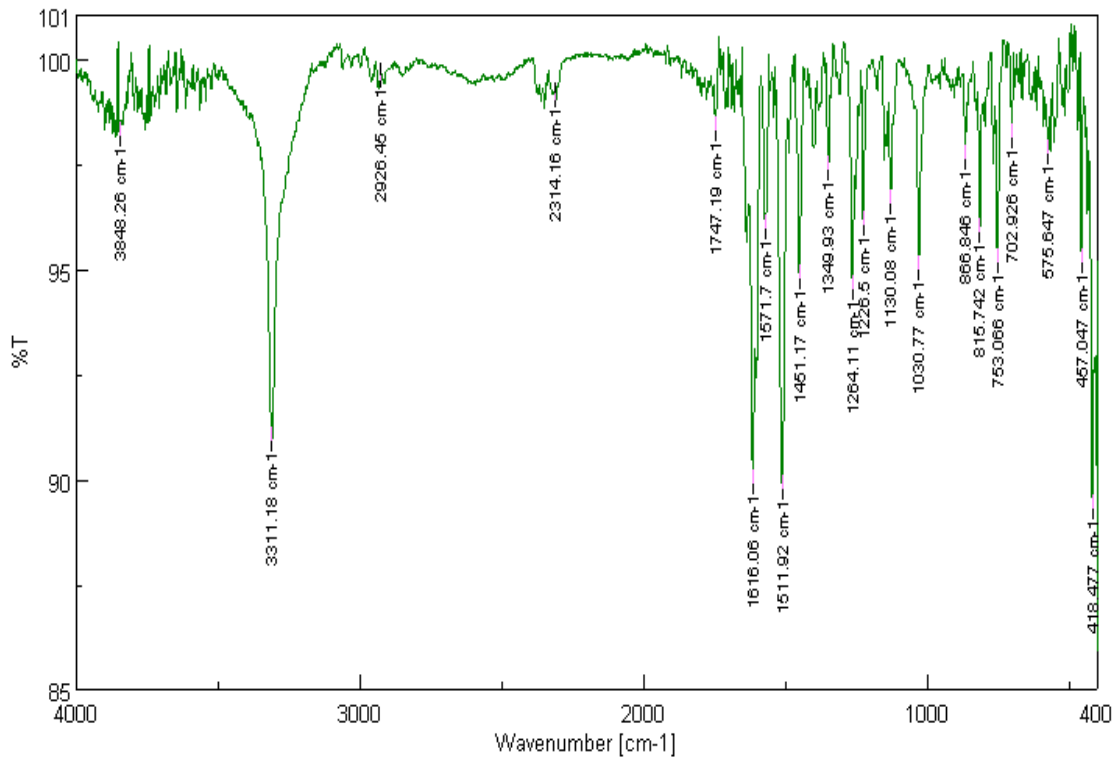
Εικόνα 8.25: Φάσμα FT-IR του NaDES 6



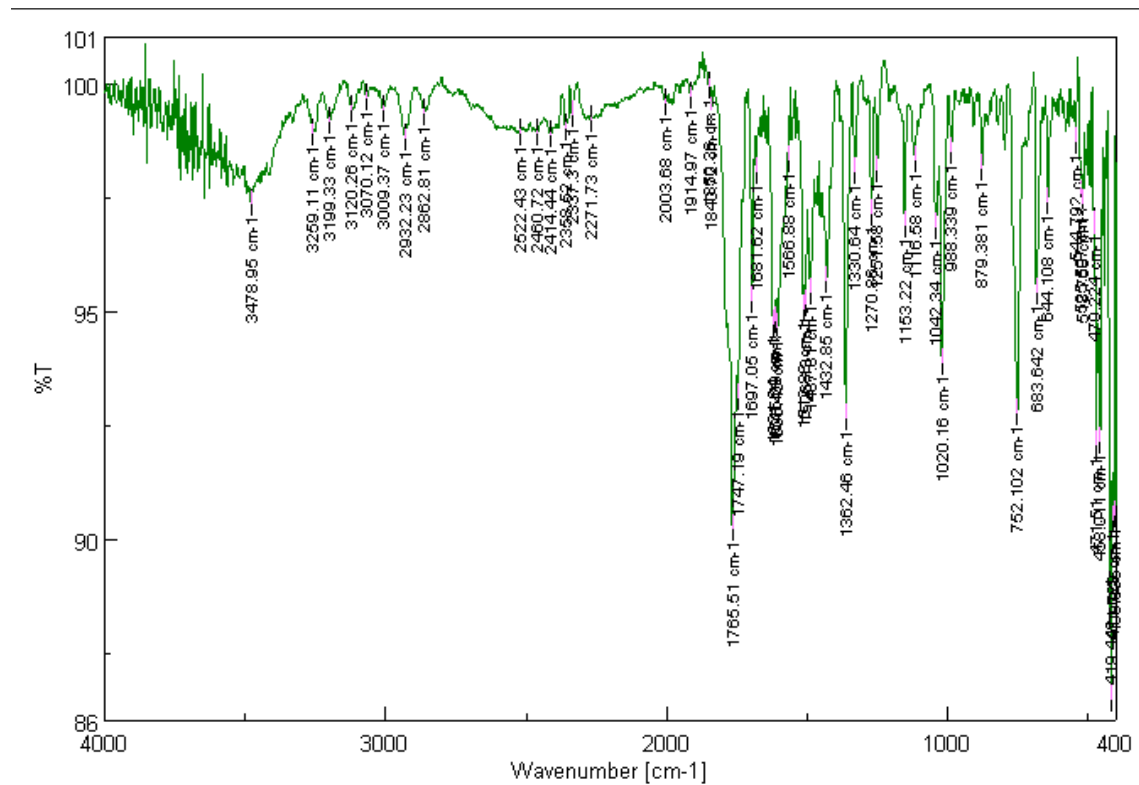
Εικόνα 8.26: Φάσμα FT-IR της ένωσης 1a



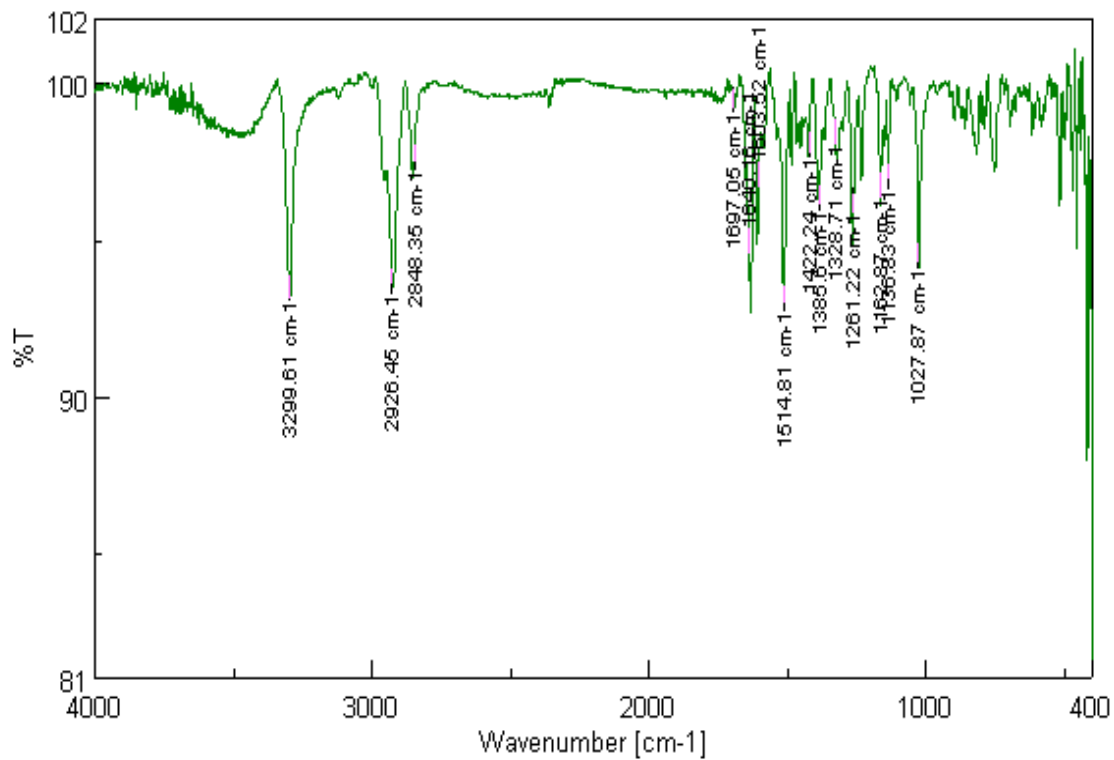
Εικόνα 8.27: Φάσμα FT-IR της ένωσης 3a



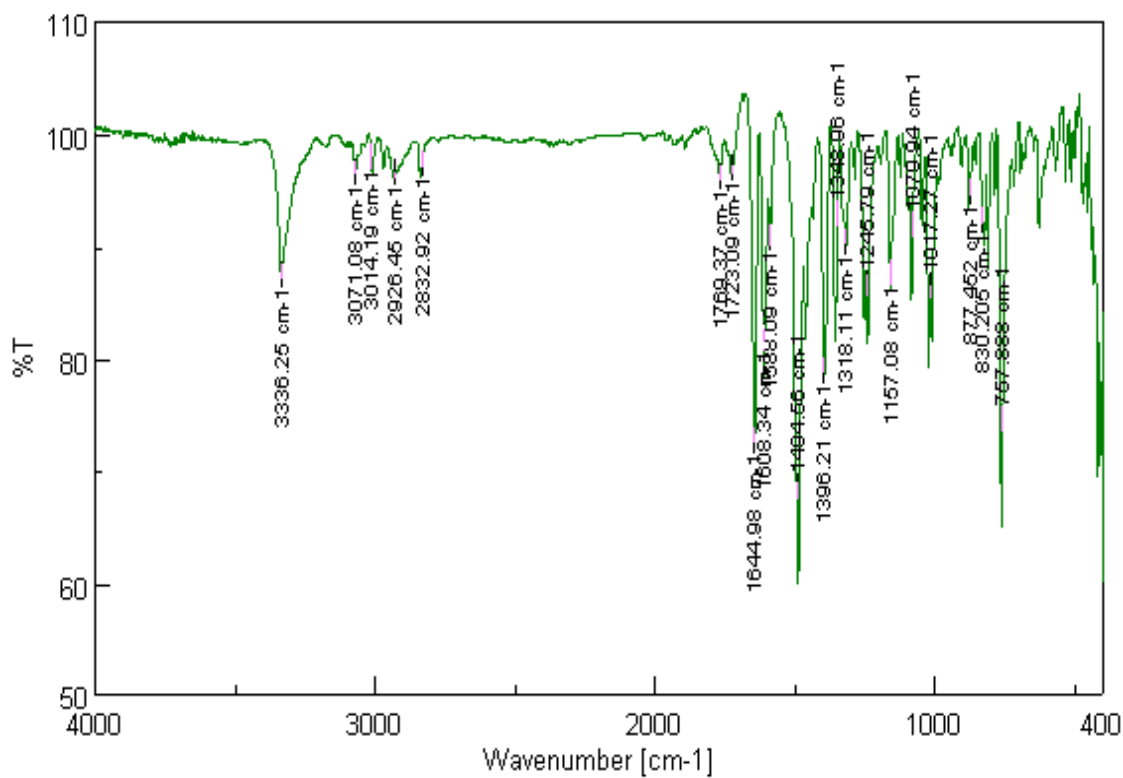
Εικόνα 8.28: Φάσμα FT-IR της ένωσης 3b



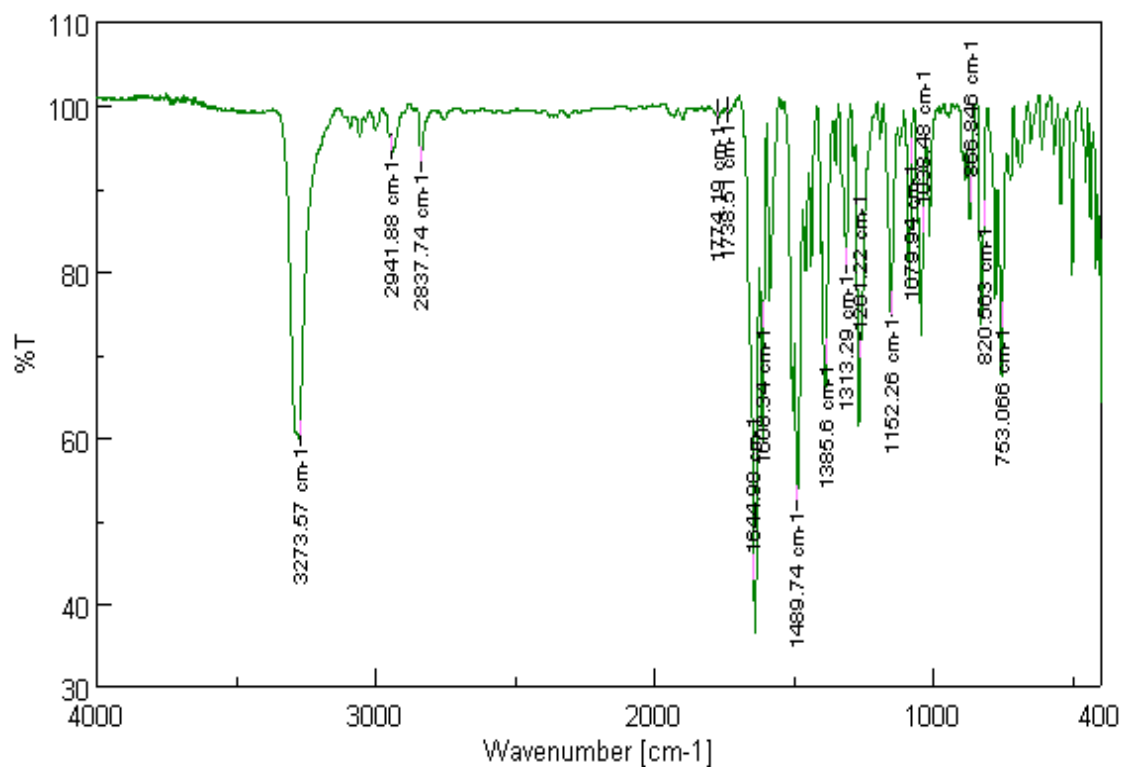
Εικόνα 8.29: Φάσμα FT-IR της ένωσης 3c



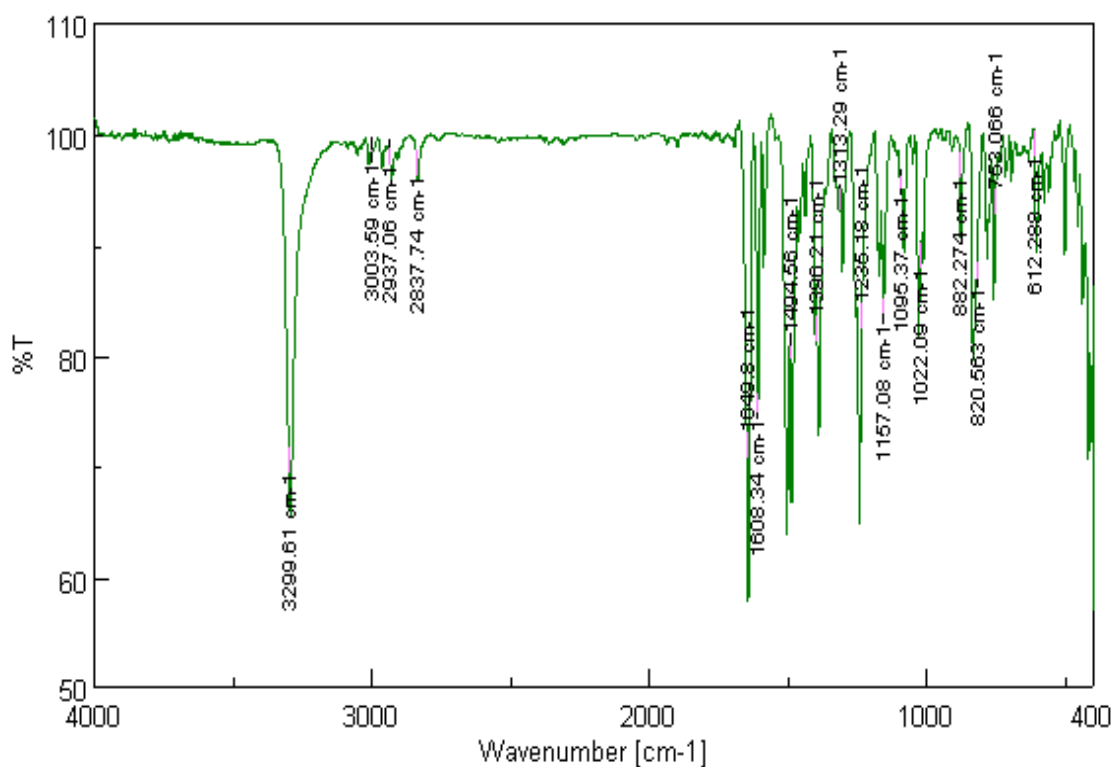
Εικόνα 8.30: Φάσμα FT-IR της ένωσης 4a



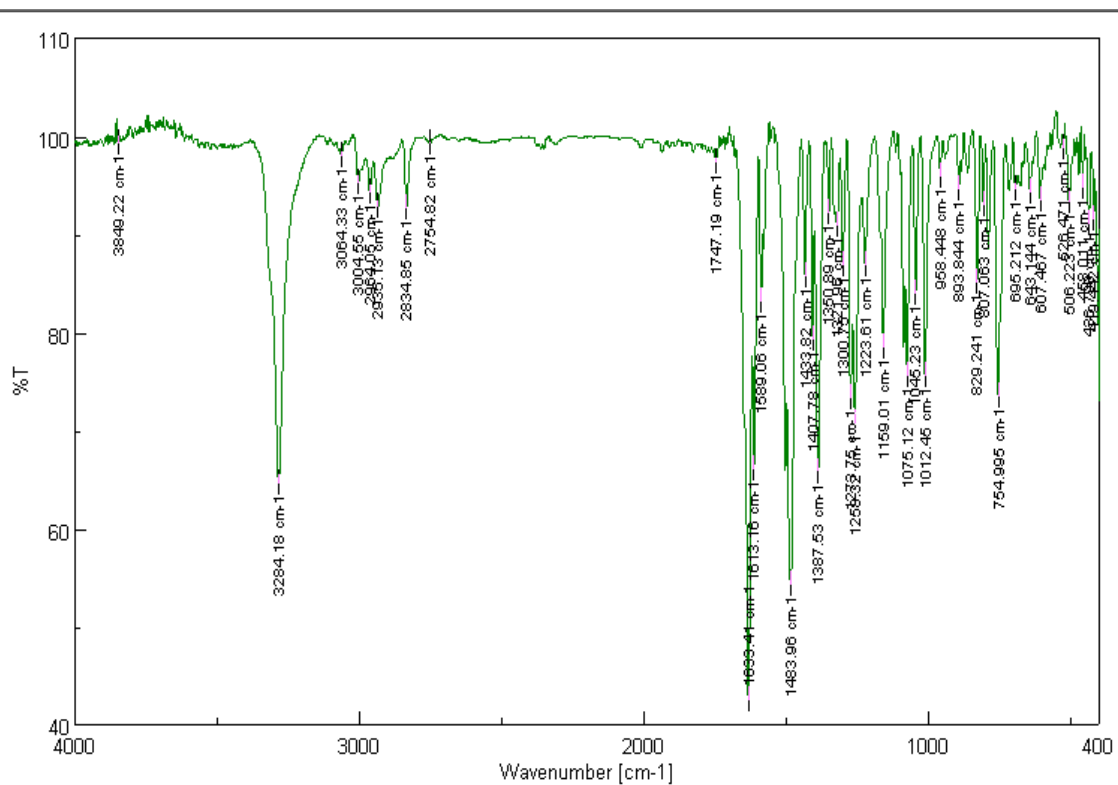
Εικόνα 8.31: Φάσμα FT-IR της ένωσης 5a



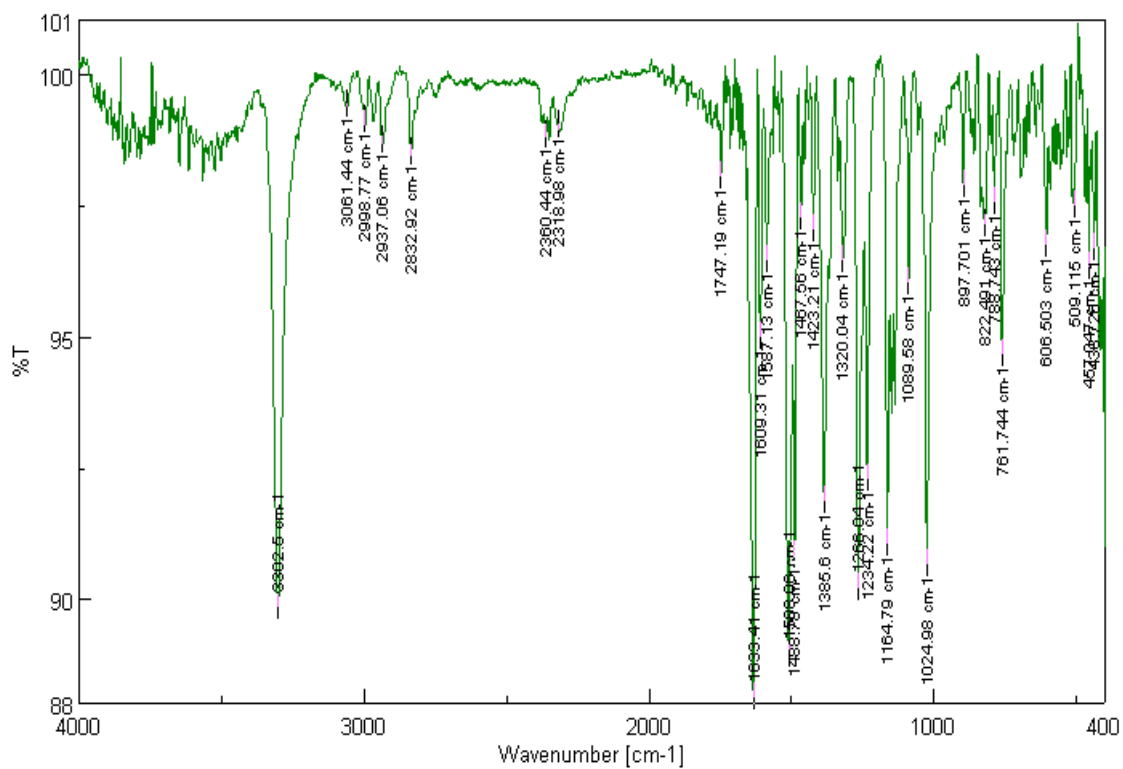
Εικόνα 8.32: Φάσμα FT-IR της ένωσης 5b



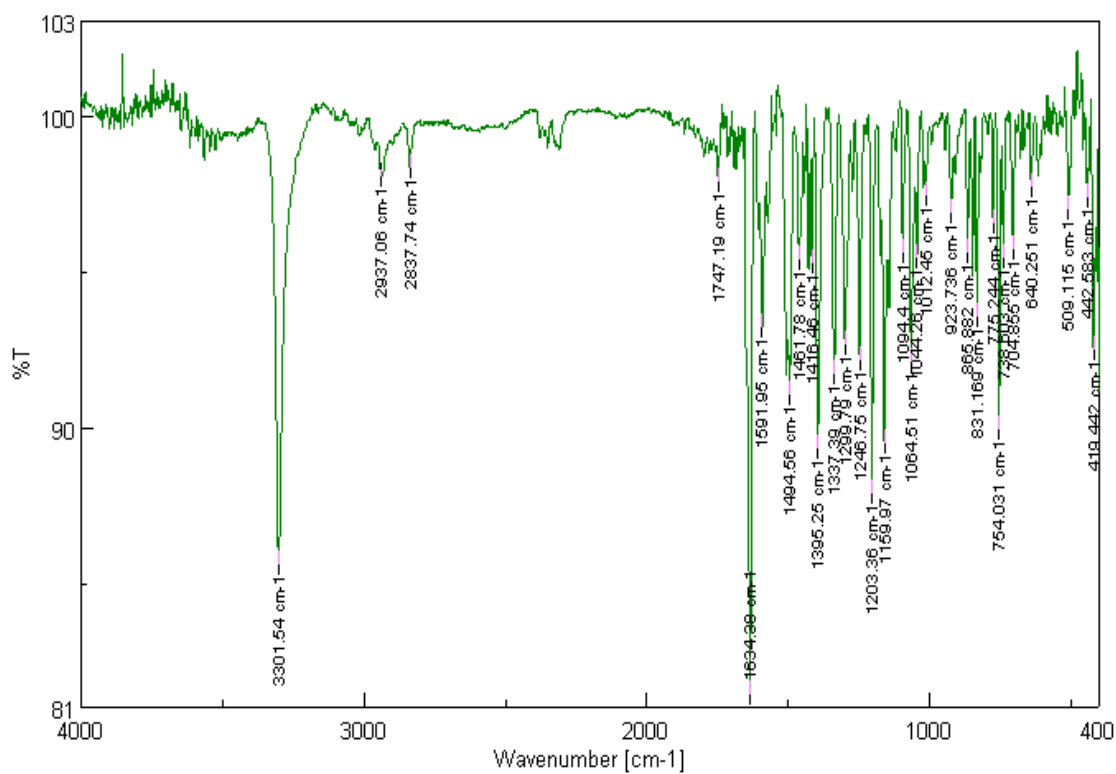
Εικόνα 8.33: Φάσμα FT-IR της ένωσης 5c



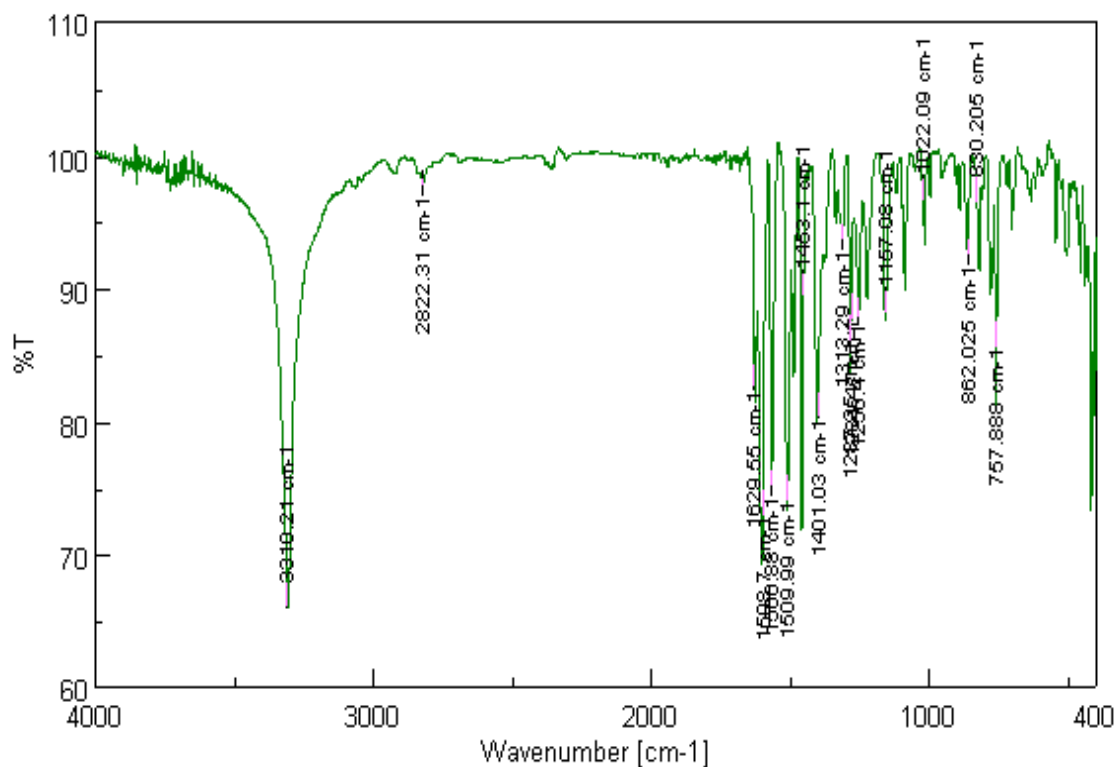
Εικόνα 8.34: Φάσμα FT-IR της ένωσης 5d



Εικόνα 8.35: Φάσμα FT-IR της ένωσης 5e

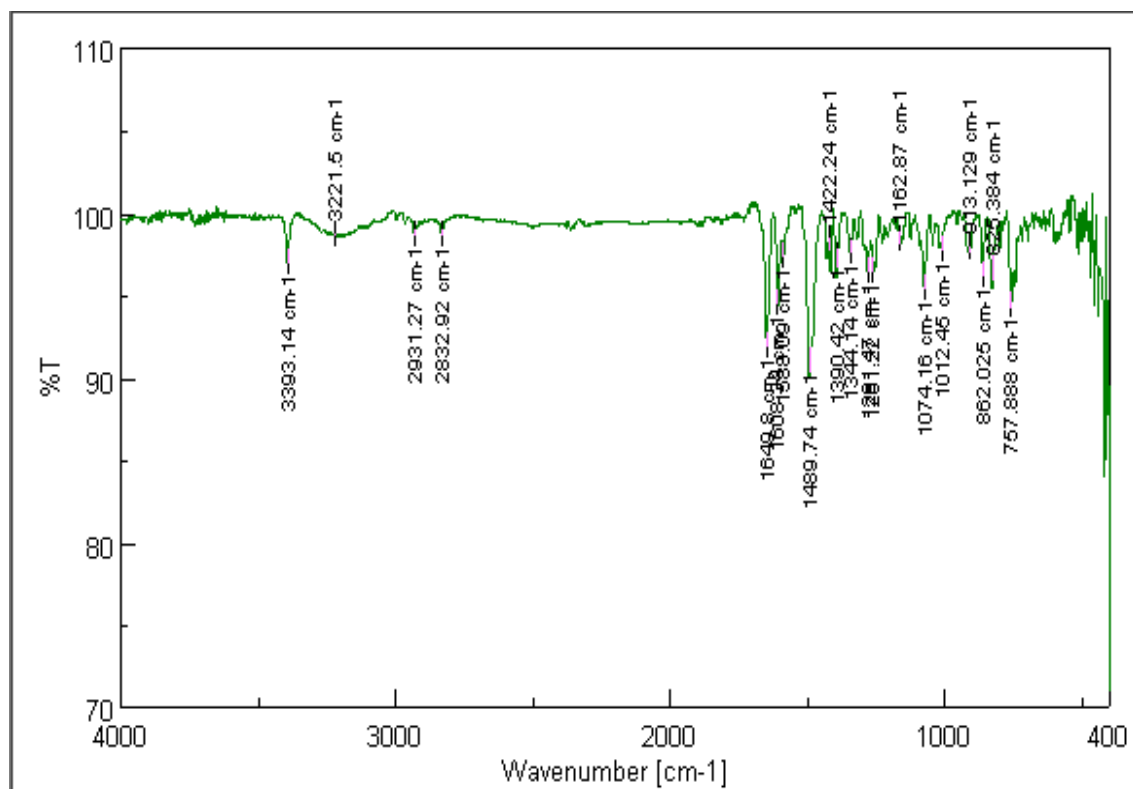


Εικόνα 8.36: Φάσμα FT-IR της ένωσης 5f



Εικόνα 8.37: Φάσμα FT-IR της ένωσης 6a

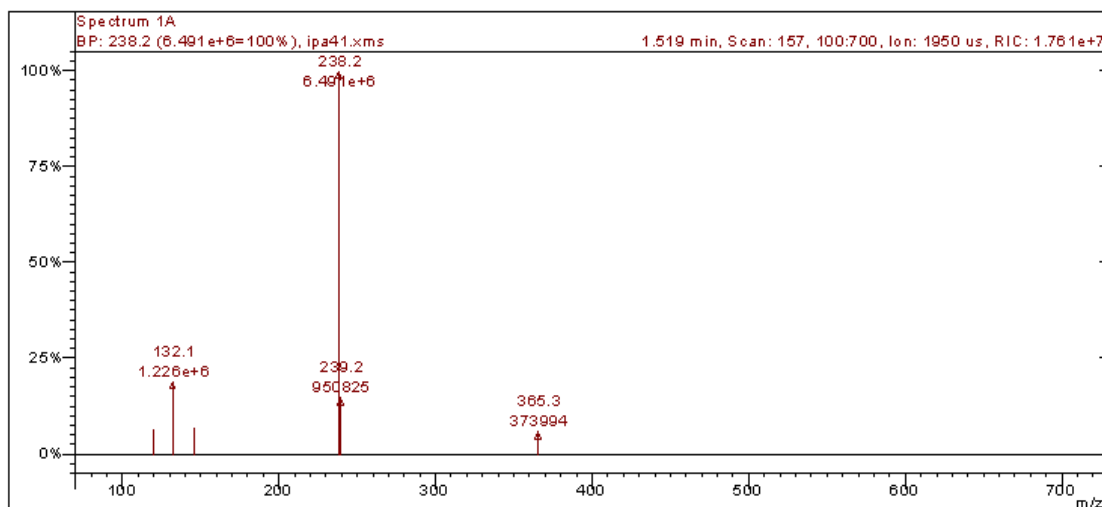




Εικόνα 8.38: Φάσμα FT-IR της ένωσης **6b**

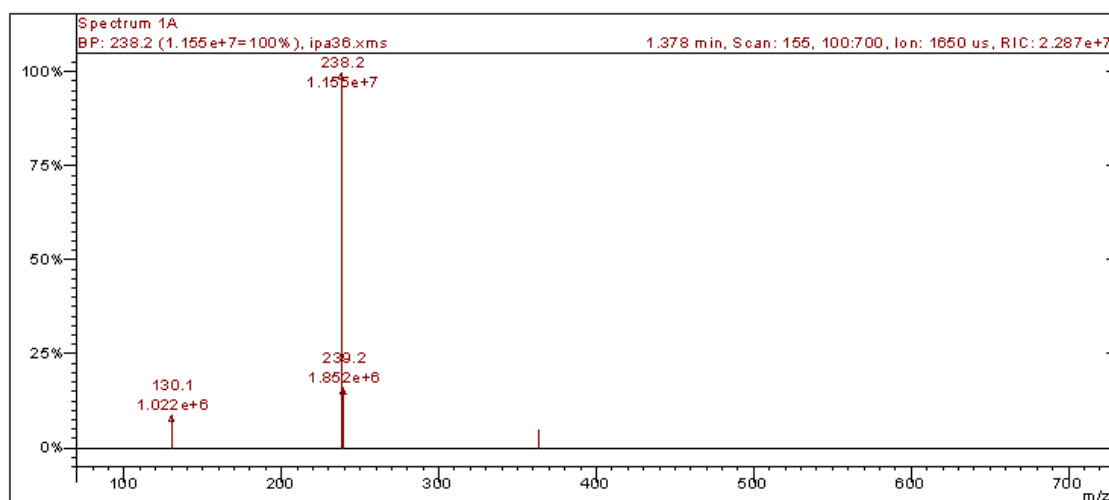
## 8.4. Φάσματα MS

Scan 157 from c:\varianws\data\detsh 2020\ipa41.xms



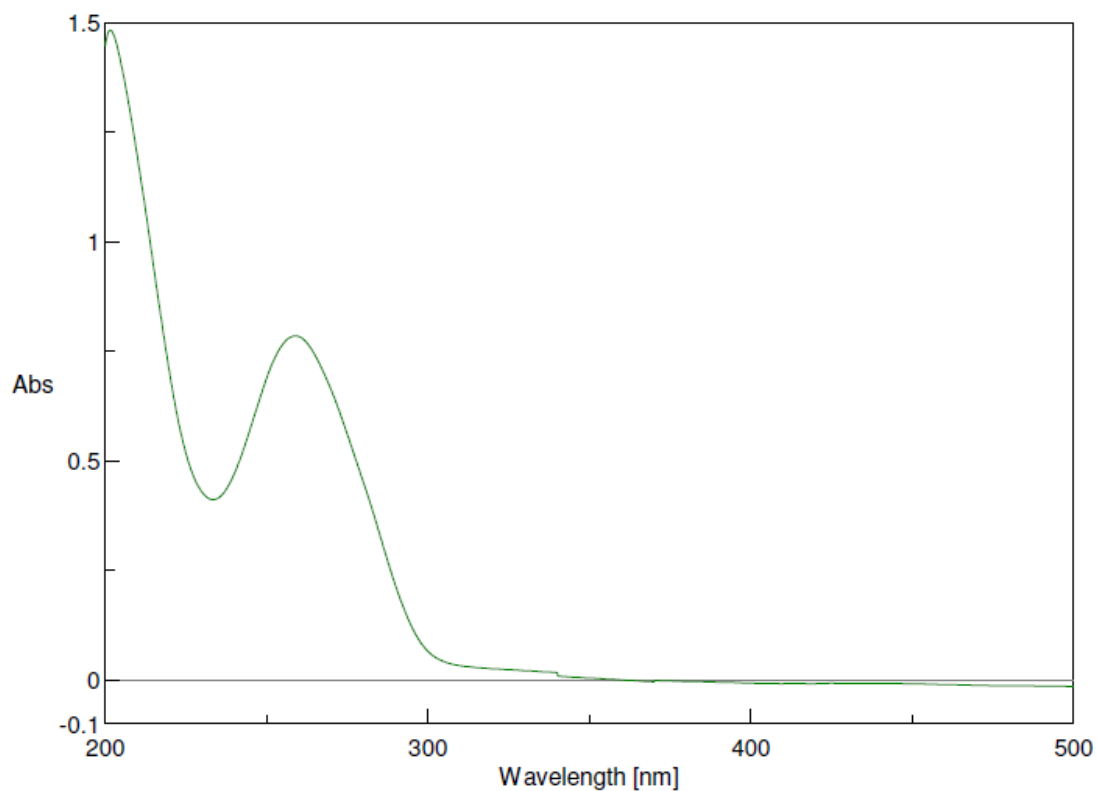
Εικόνα 8.39: Φάσμα MS της ένωσης 5a

Scan 155 from c:\varianws\data\detsh 2020\ipa36.xms

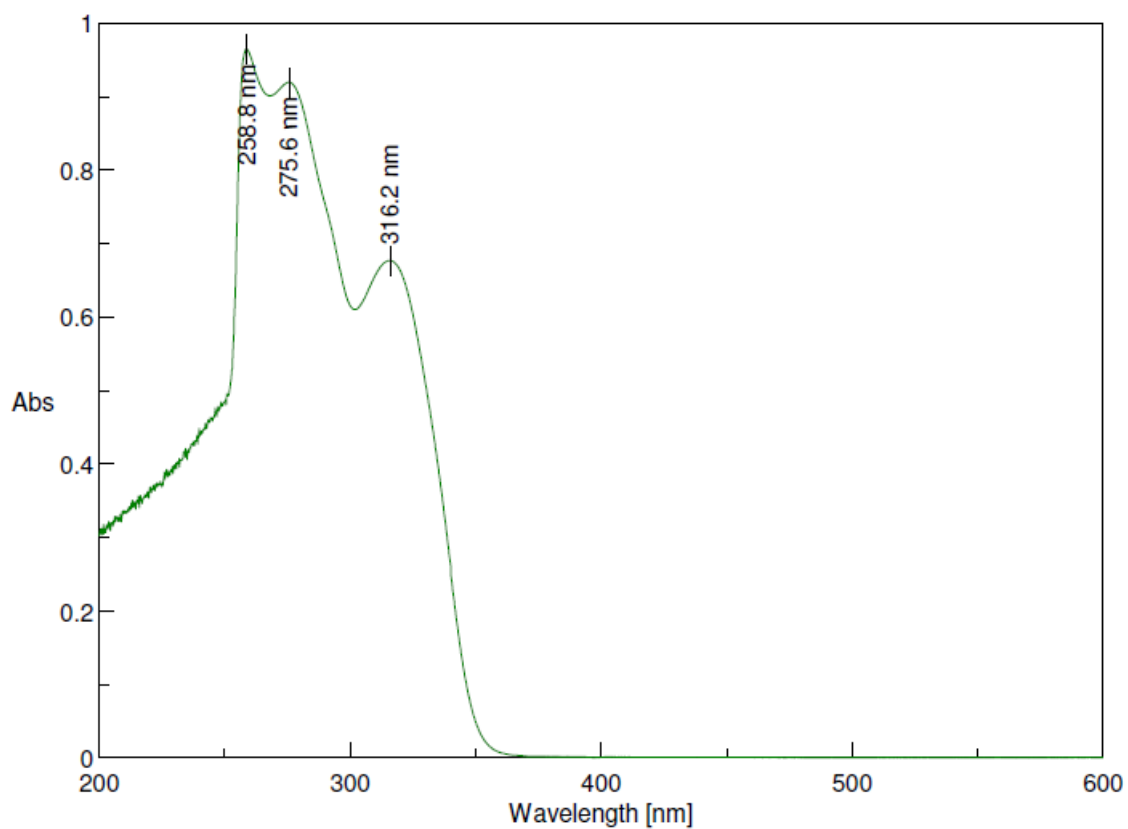


Εικόνα 8.40: Φάσμα MS της ένωσης 5b

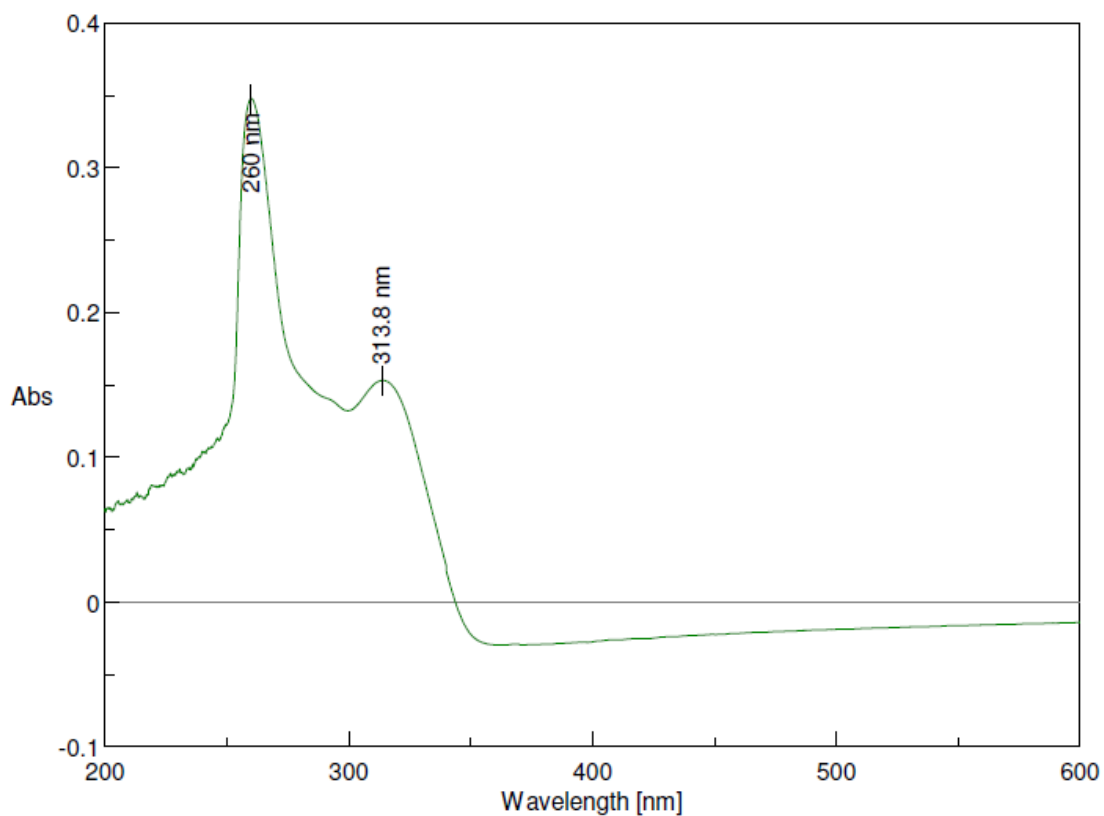
## 8.5. Φάσματα UV-Vis



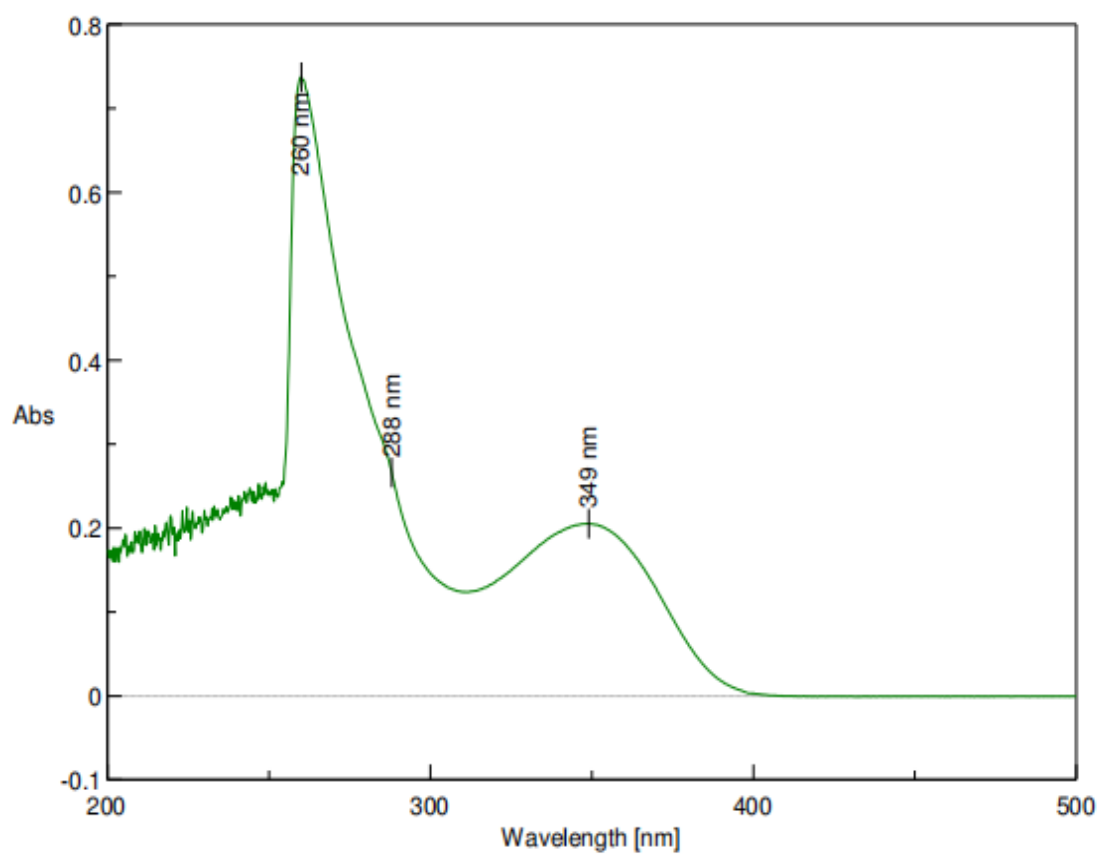
Εικόνα 8.41: Φάσμα UV-Vis του ct-DNA



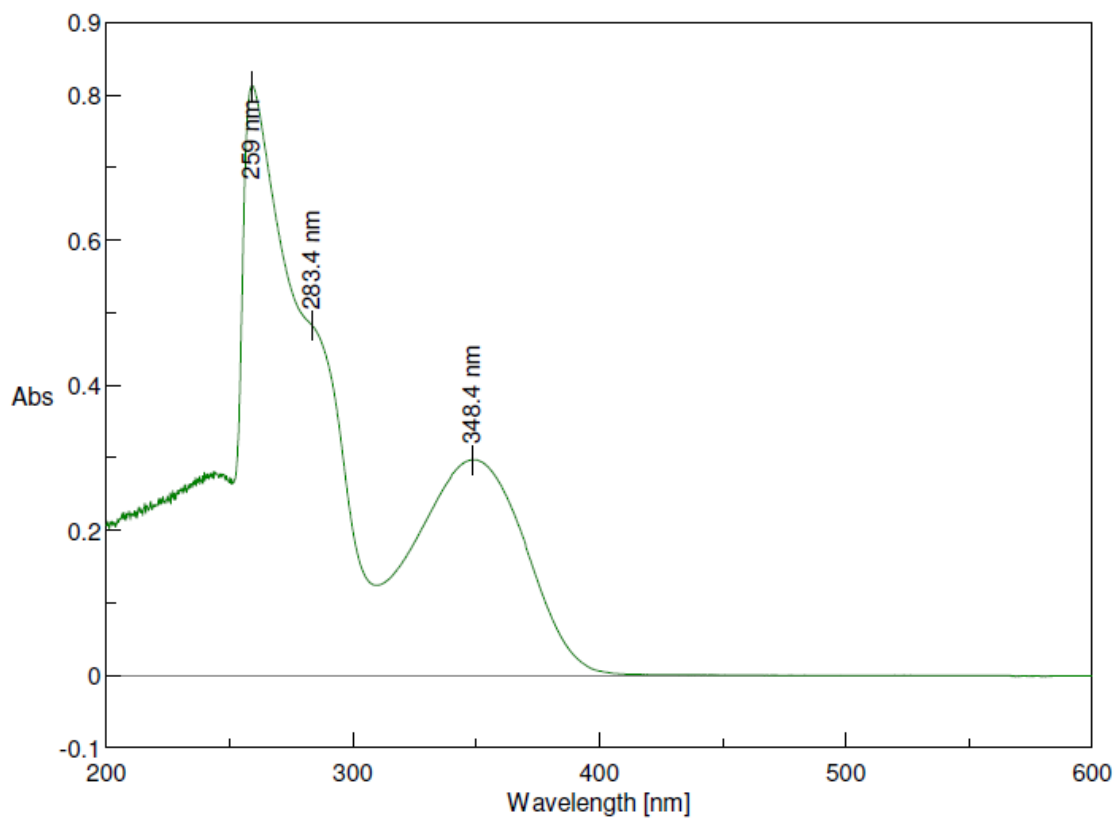
Εικόνα 8.42: Φάσμα UV-Vis της ένωσης 1a



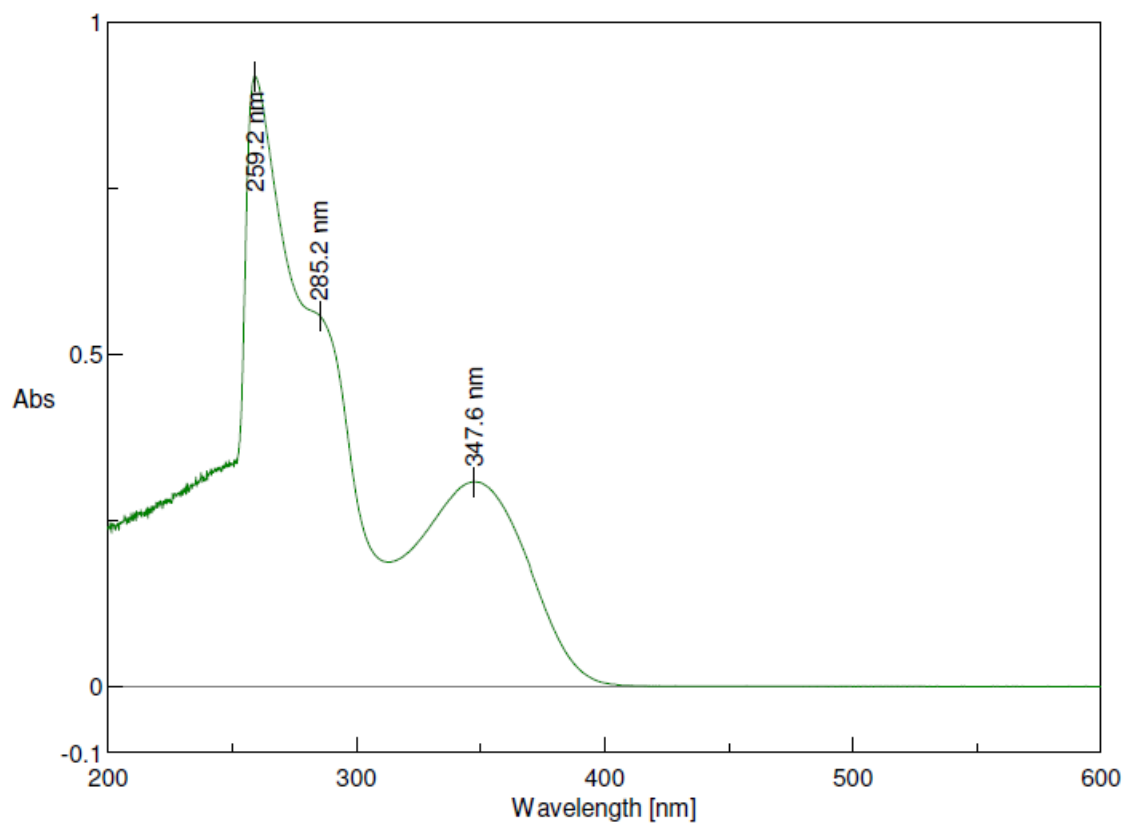
Εικόνα 8.43: Φάσμα UV-Vis της ένωσης **1b**



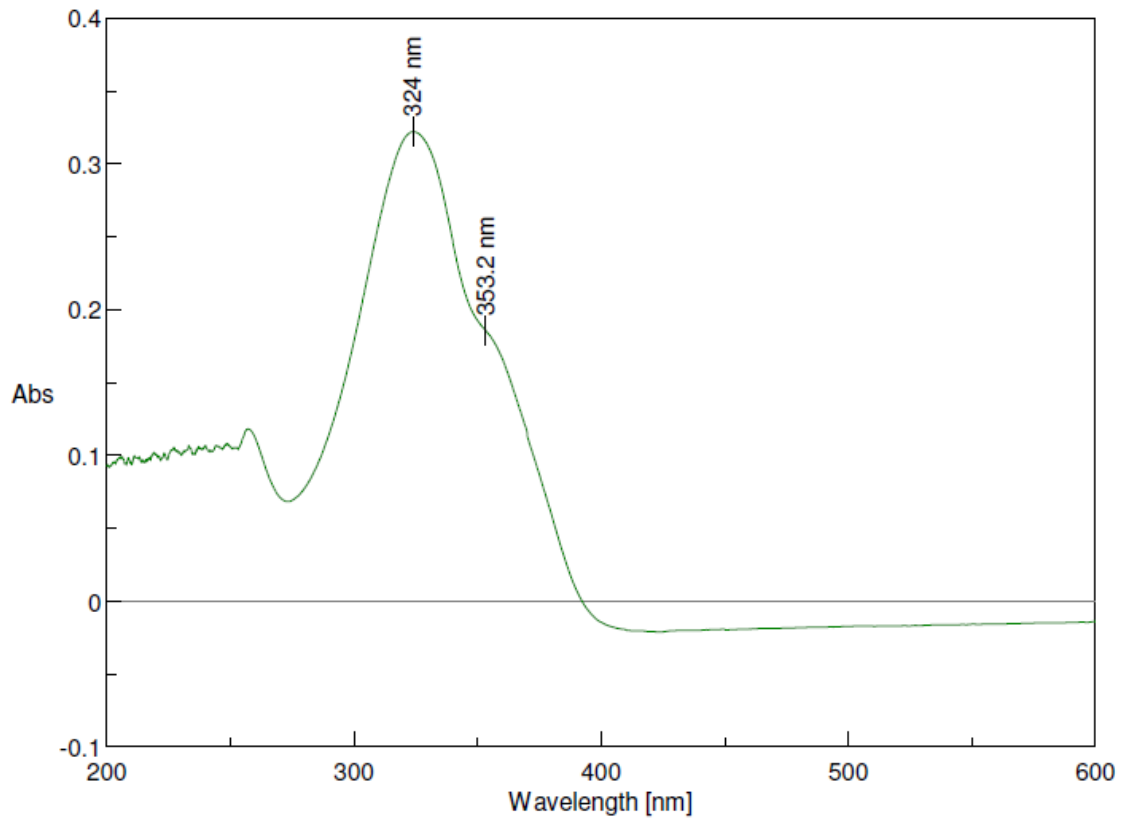
Εικόνα 8.44: Φάσμα UV-Vis της ένωσης **2a**



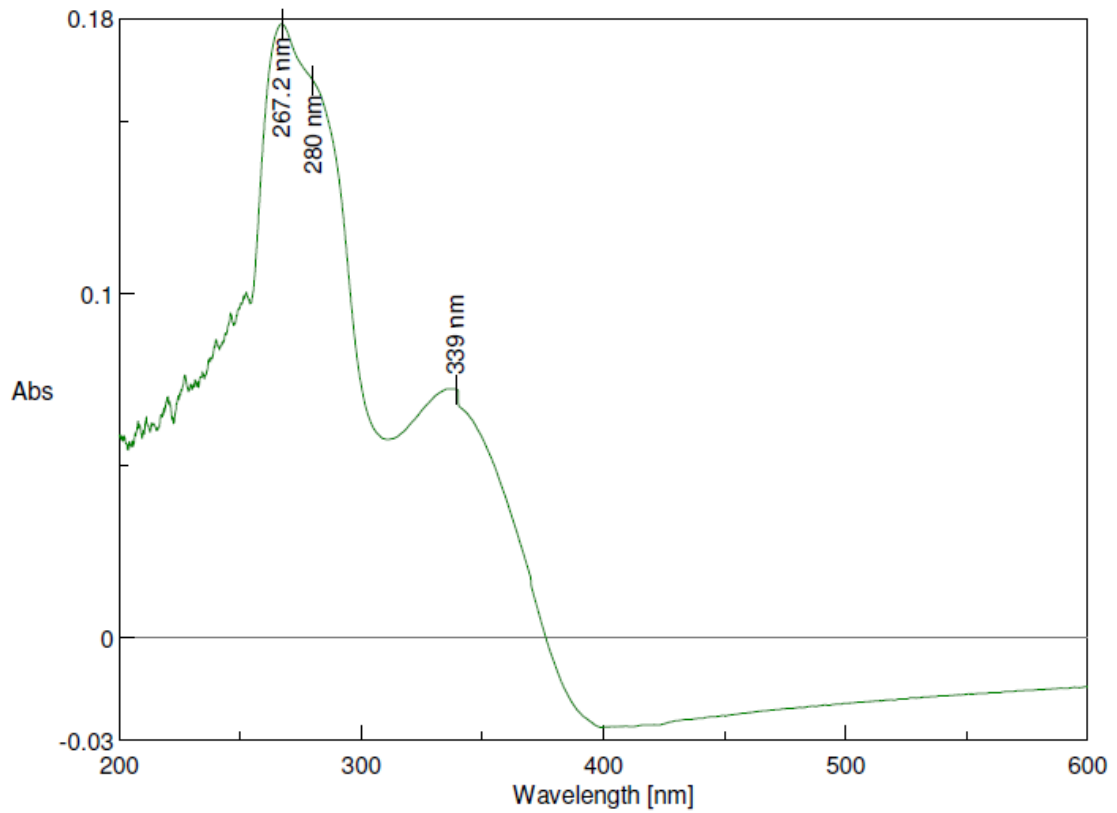
Εικόνα 8.45: Φάσμα UV-Vis της ένωσης **3a**



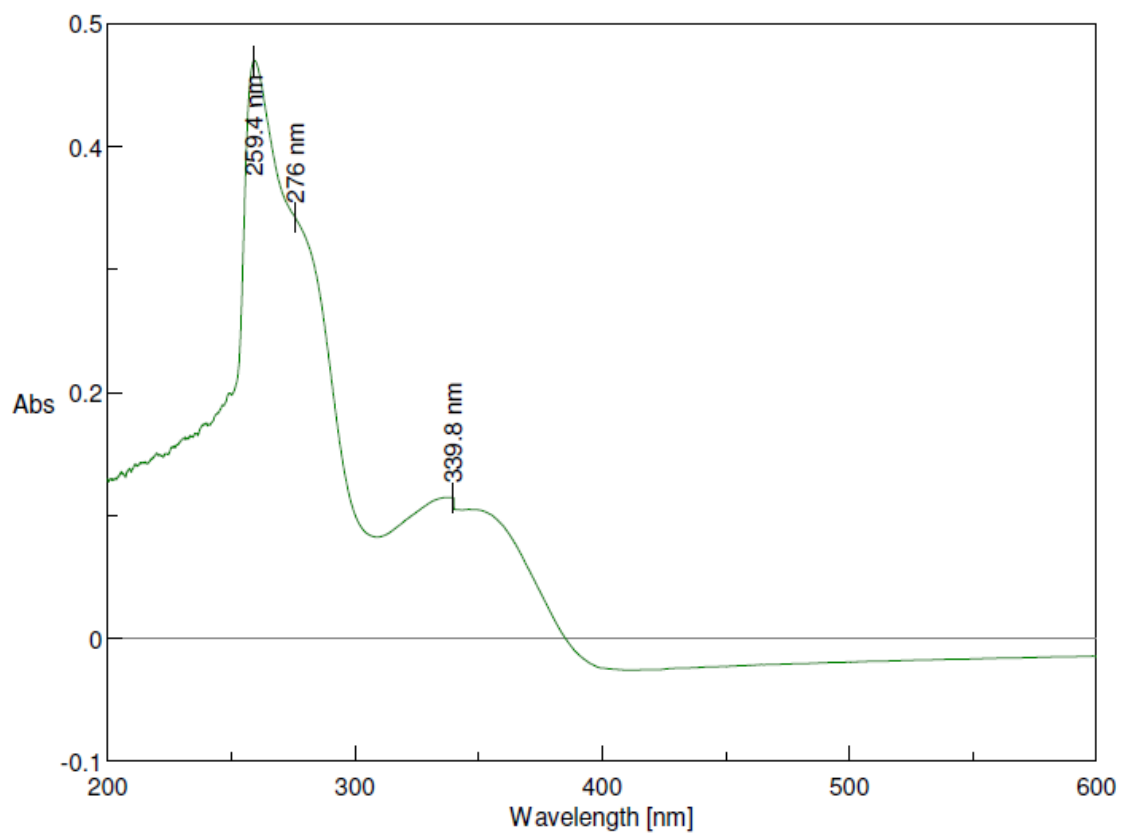
Εικόνα 8.46: Φάσμα UV-Vis της ένωσης **3b**



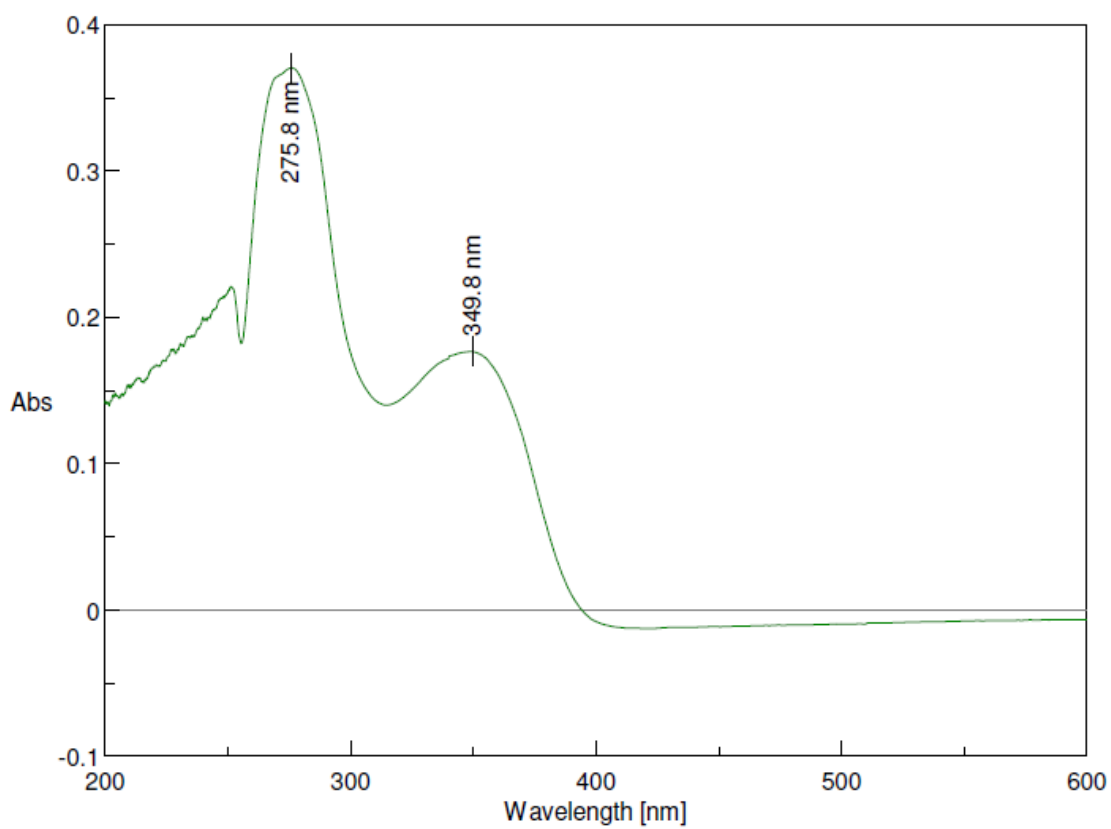
Εικόνα 8.47: Φάσμα UV-Vis της ένωσης **3c**



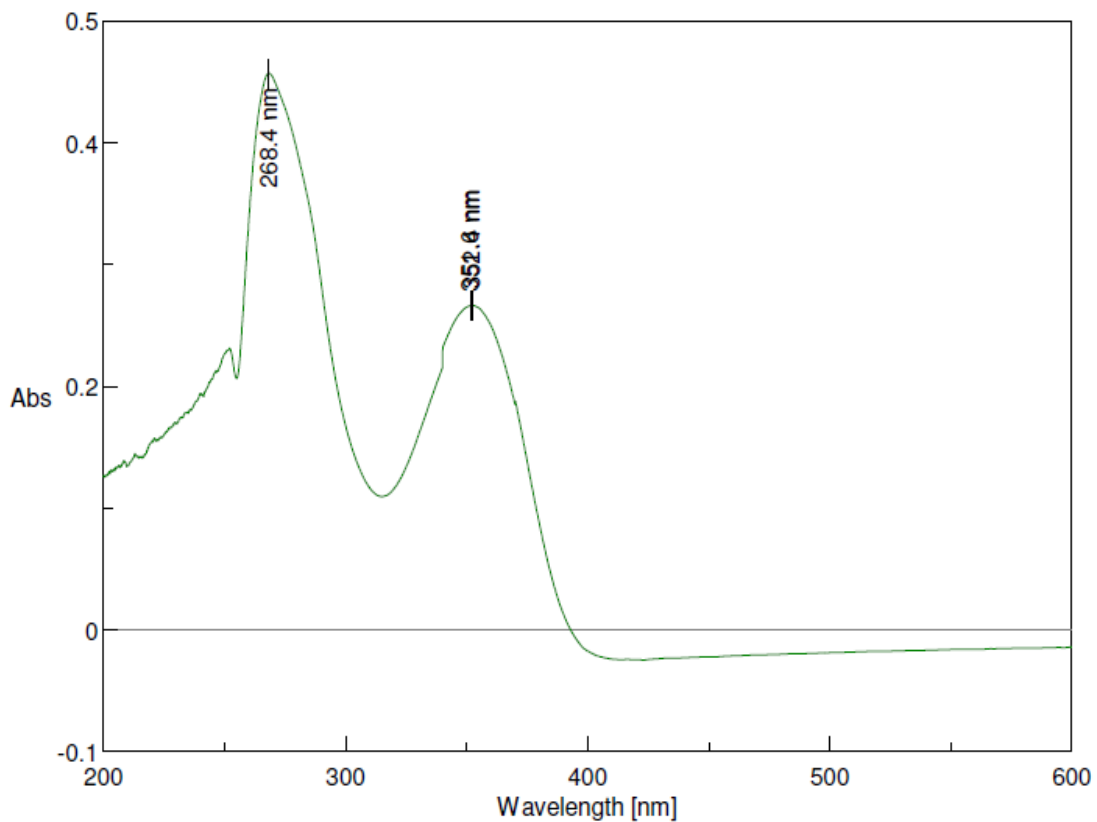
Εικόνα 8.48: Φάσμα UV-Vis της ένωσης **4a**



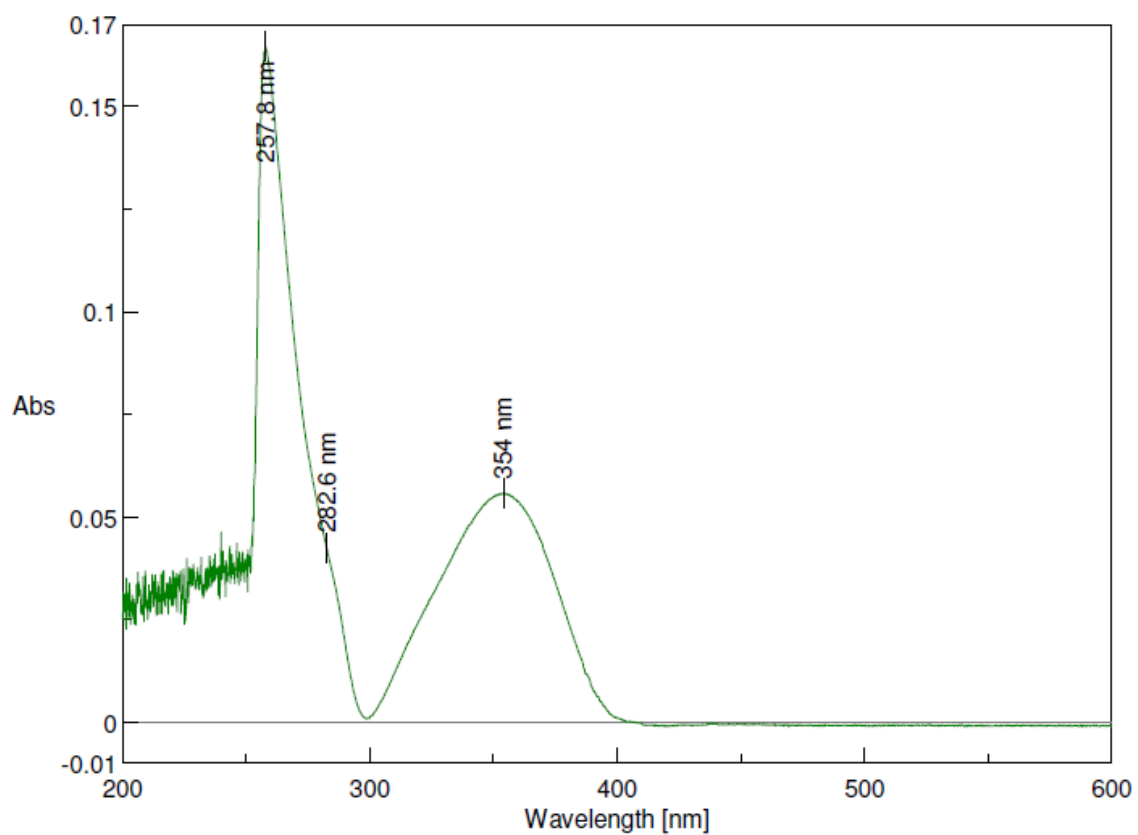
Εικόνα 8.49: Φάσμα UV-Vis της ένωσης **5a**



Εικόνα 8.50: Φάσμα UV-Vis της ένωσης **5b**

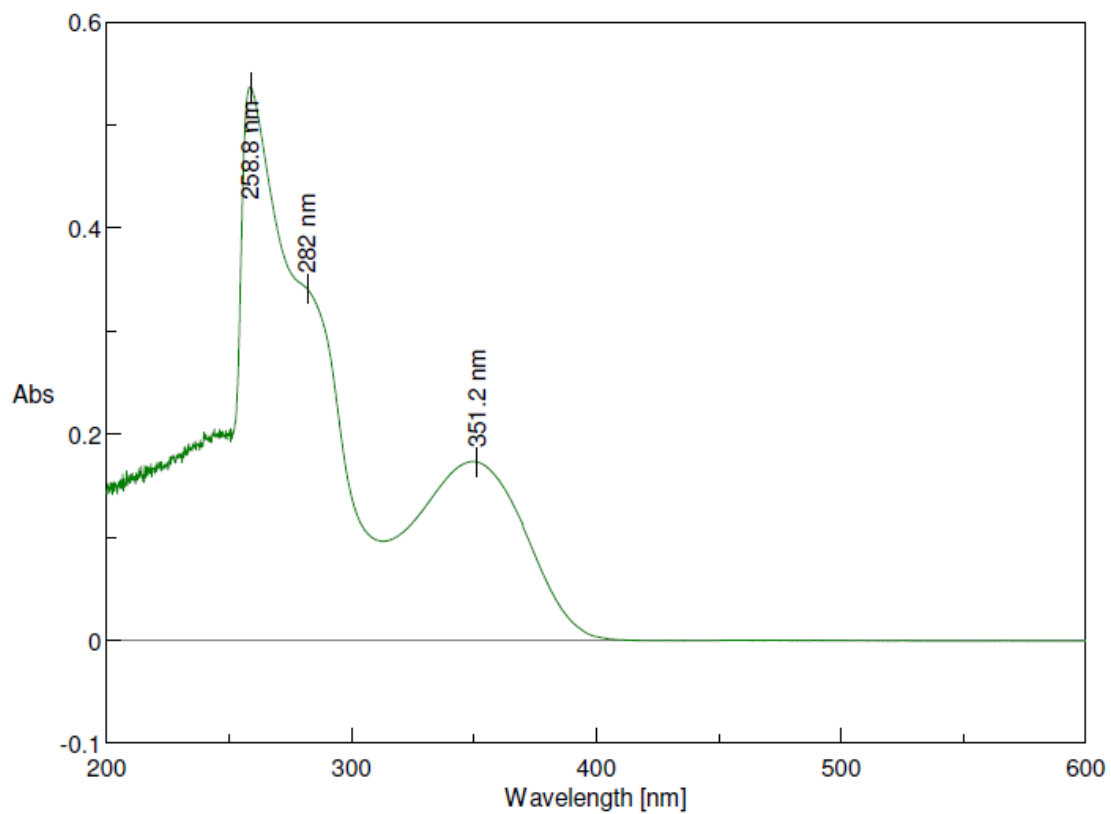


Εικόνα 8.51: Φάσμα UV-Vis της ένωσης 5c

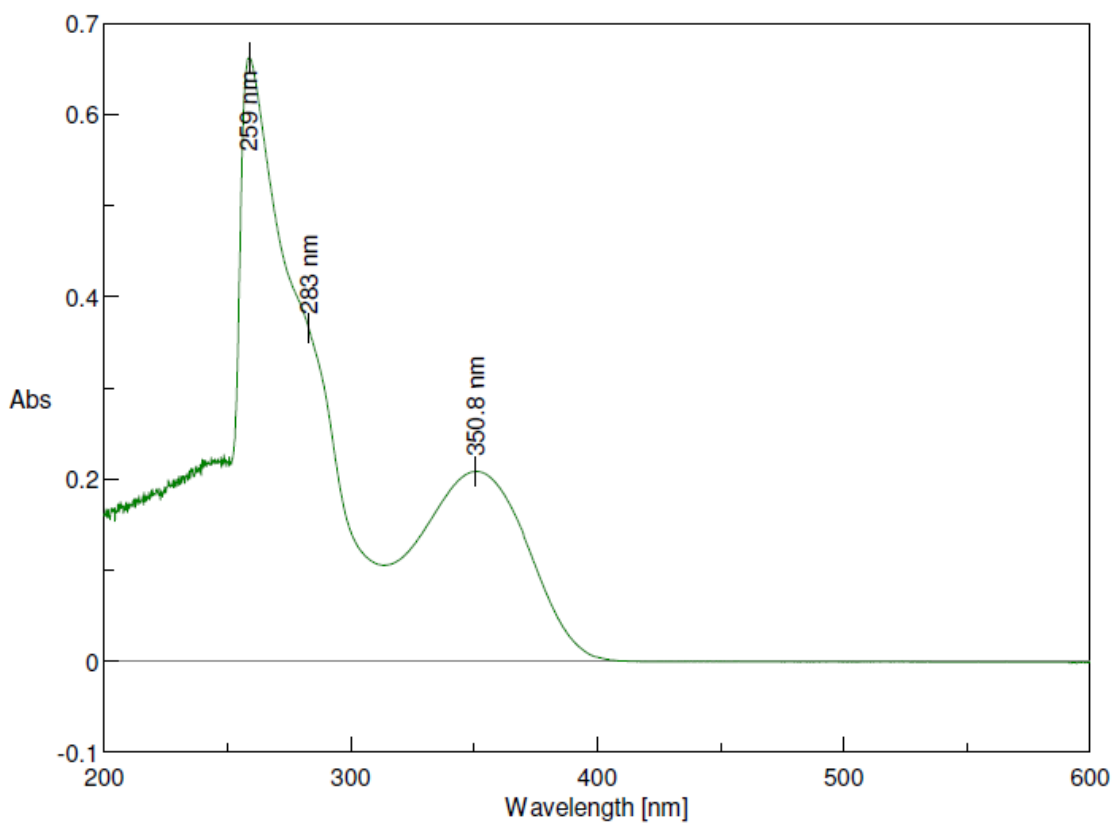


Εικόνα 8.52: Φάσμα UV-Vis της ένωσης 5d

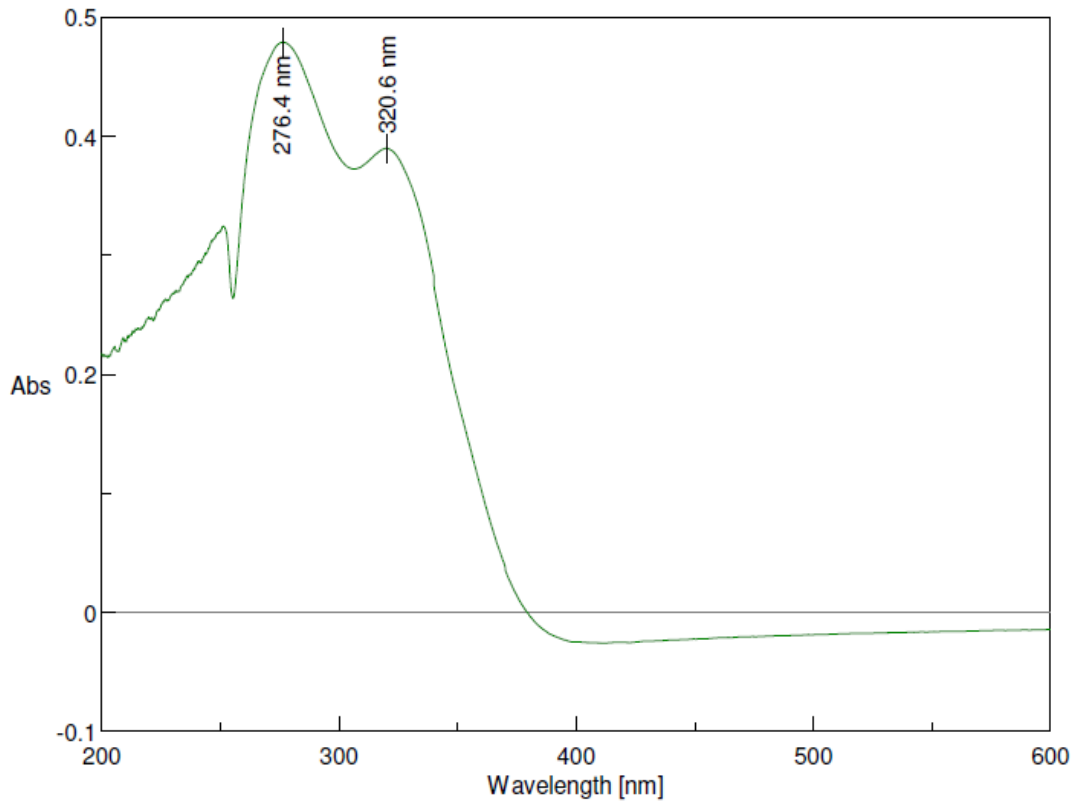




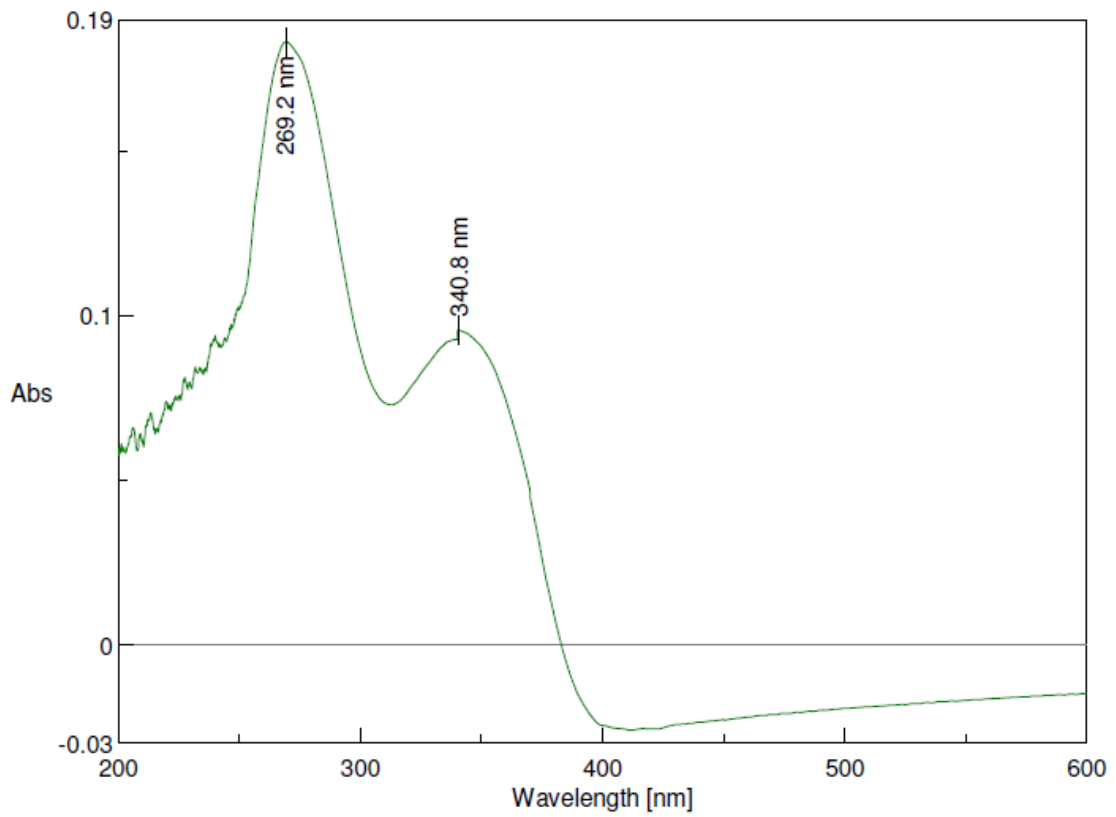
Εικόνα 8.53: Φάσμα UV-Vis της ένωσης **5e**



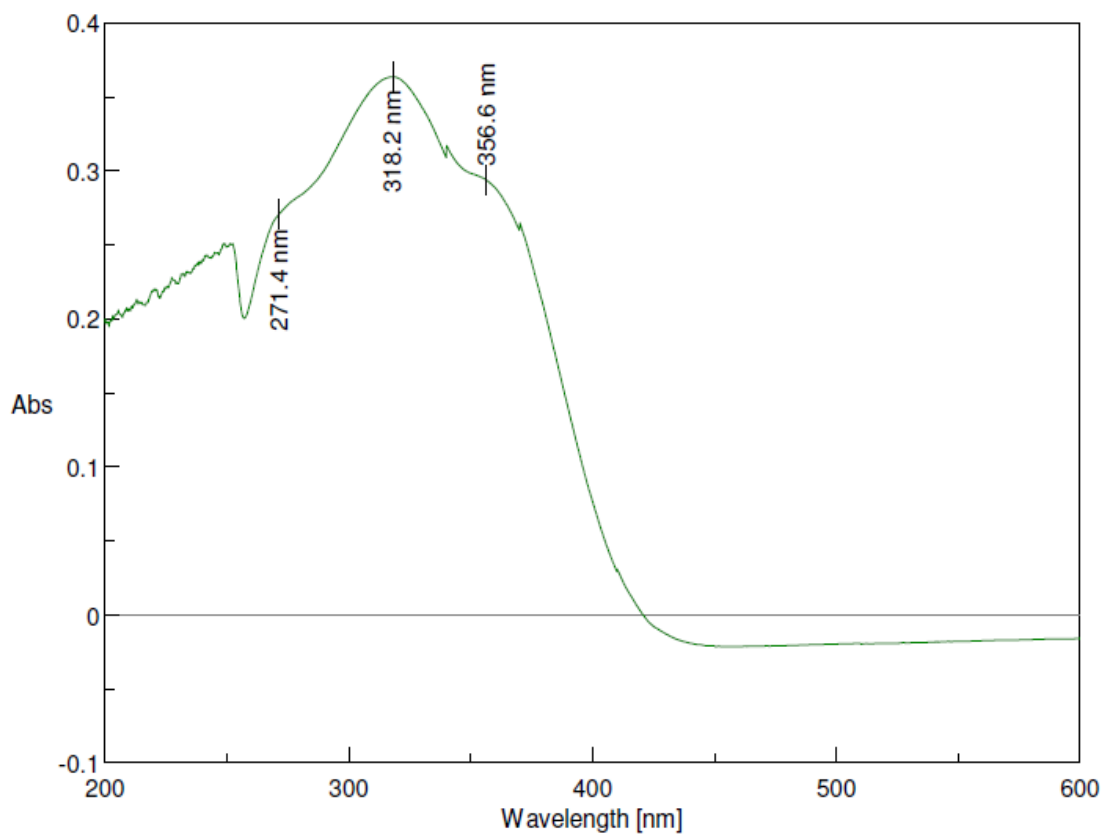
Εικόνα 8.54: Φάσμα UV-Vis της ένωσης **5f**



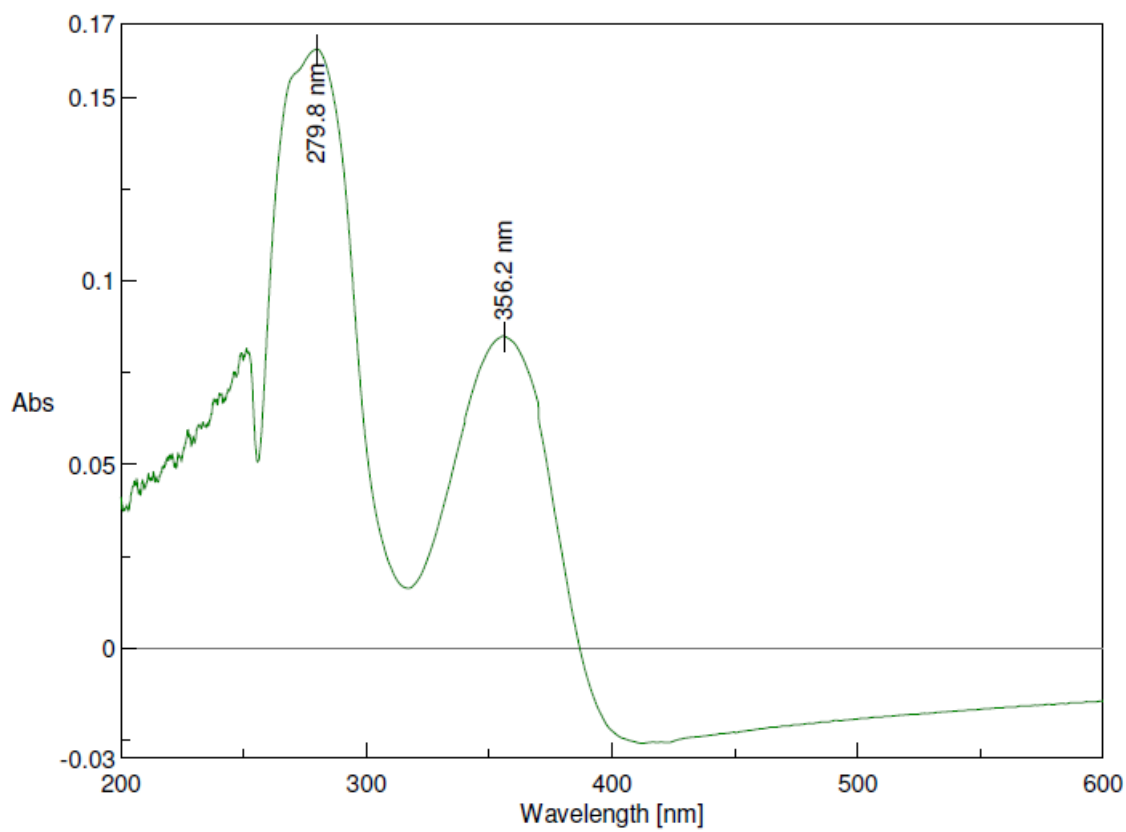
Εικόνα 8.55: Φάσμα UV-Vis της ένωσης **5g**



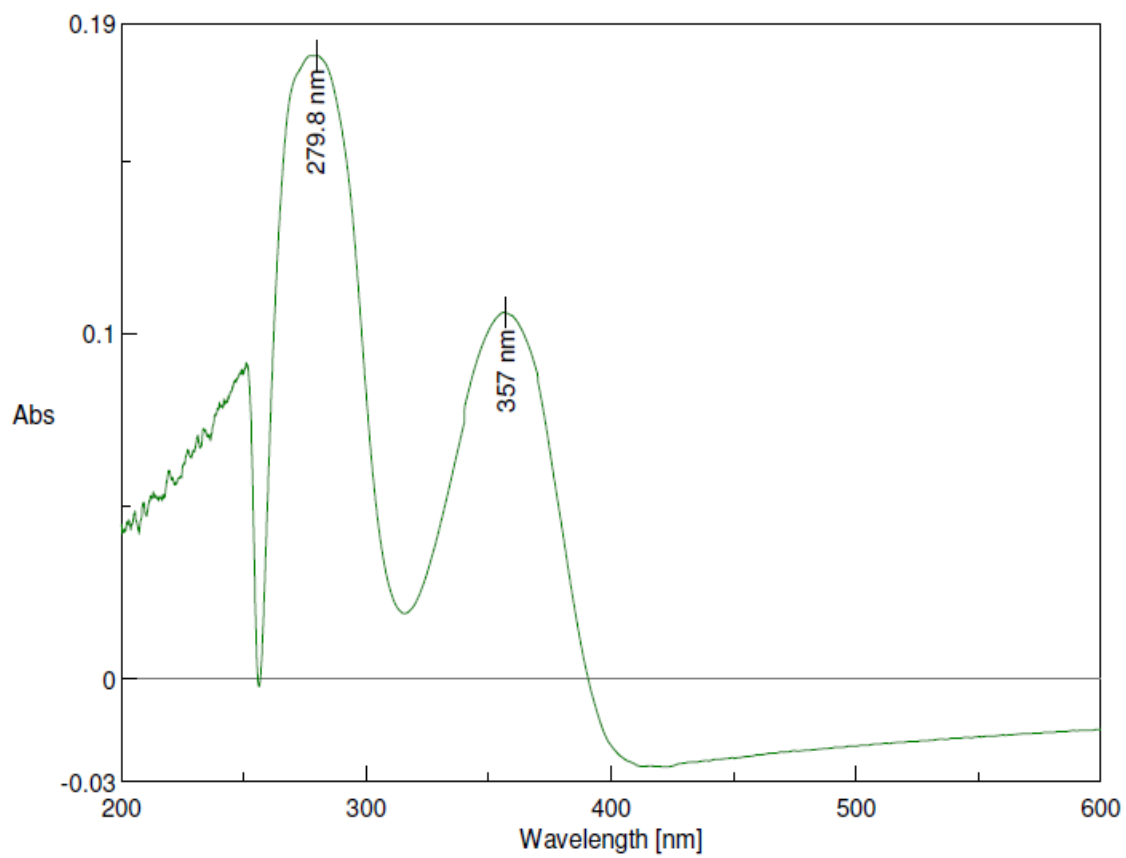
Εικόνα 8.56: Φάσμα UV-Vis της ένωσης **5h**



Εικόνα 8.57: Φάσμα UV-Vis της ένωσης **5i**



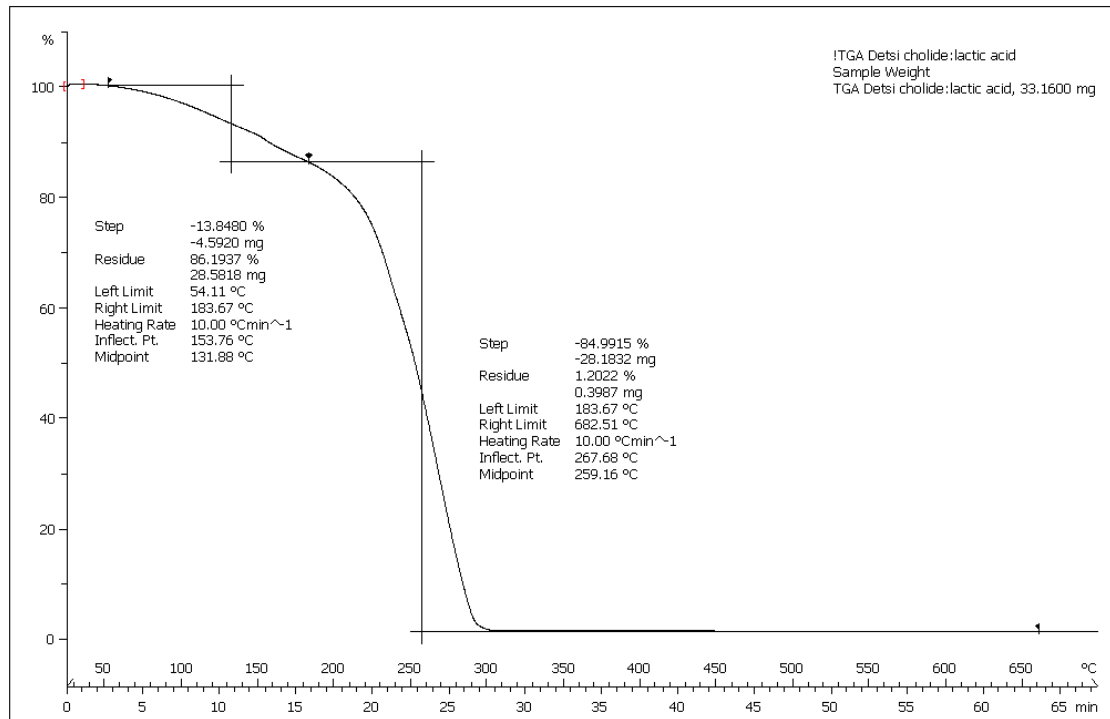
Εικόνα 8.58: Φάσμα UV-Vis της ένωσης **6a**



Εικόνα 8.59: Φάσμα UV-Vis της ένωσης **6b**

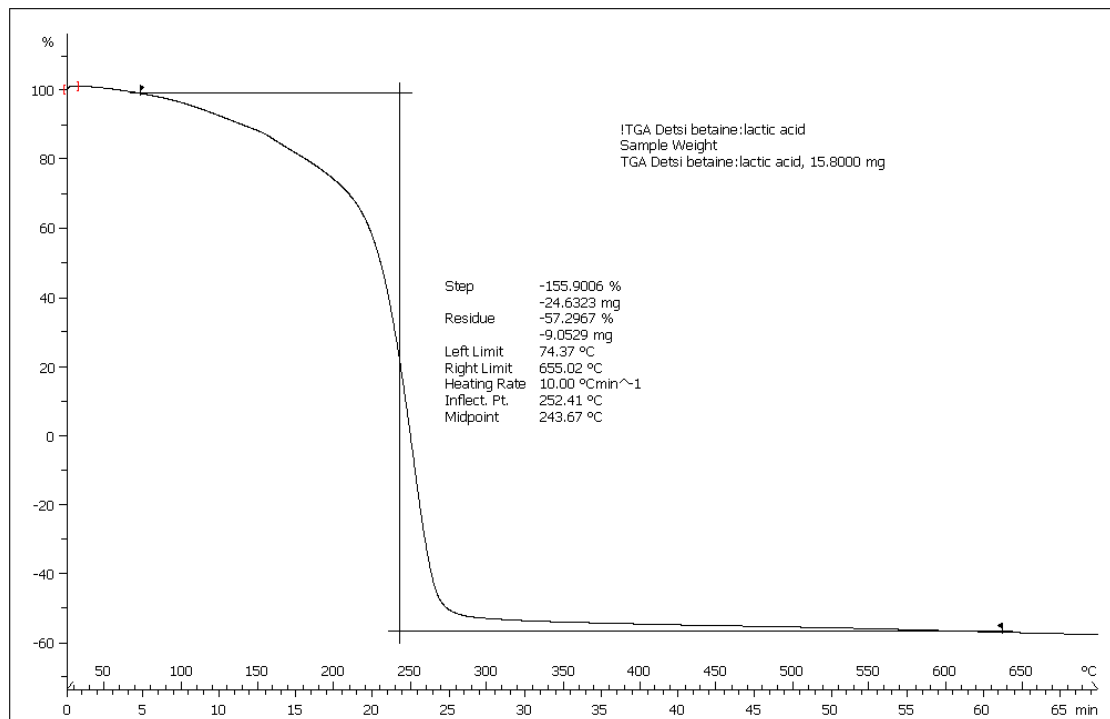
## 8.6. Διαγράμματα TGA

^endo



Εικόνα 8.60: Διάγραμμα TGA για το NaDES 1

^endo



Εικόνα 8.61: Διάγραμμα TGA για το NaDES 3

## Βιβλιογραφία

- (1) Ζουμπούλης, Α.; Πελέκα, Ε.; Τριανταφυλλίδης, Κ. *Πράσινη Χημεία Και Τεχνολογία Στη Βιώσιμη Ανάπτυξη*; Αθήνα, 2015.
- (2) Anastas, P.; Eghbali, N. Green Chemistry: Principles and Practice. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39* (1), 301–312. <https://doi.org/10.1039/b918763b>.
- (3) de Marco, B. A.; Rechelo, B. S.; Tótolí, E. G.; Kogawa, A. C.; Salgado, H. R. N. Evolution of Green Chemistry and Its Multidimensional Impacts: A Review. *Saudi Pharm. J.* **2019**, *27* (1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2018.07.011>.
- (4) Andraos, J. *The Algebra of Organic Synthesis*; 2016. <https://doi.org/10.1201/b11442>.
- (5) Paiva, A.; Craveiro, R.; Aroso, I.; Martins, M.; Reis, R. L.; Duarte, A. R. C. Natural Deep Eutectic Solvents - Solvents for the 21st Century. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2014**, *2* (5), 1063–1071. <https://doi.org/10.1021/sc500096j>.
- (6) Ghosh, S. K.; Nagarajan, R. Deep Eutectic Solvent Mediated Synthesis of Quinazolinones and Dihydroquinazolinones: Synthesis of Natural Products and Drugs. *RSC Adv.* **2016**, *6* (33), 27378–27387. <https://doi.org/10.1039/c6ra00855k>.
- (7) Zainal-Abidin, M. H.; Hayyan, M.; Hayyan, A.; Jayakumar, N. S. New Horizons in the Extraction of Bioactive Compounds Using Deep Eutectic Solvents: A Review. *Anal. Chim. Acta* **2017**, *979*, 1–23. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.05.012>.
- (8) Skarpalezos, D.; Detsi, A. Deep Eutectic Solvents as Extraction Media for Valuable Flavonoids from Natural Sources. *Appl. Sci.* **2019**, *9* (19). <https://doi.org/10.3390/app9194169>.
- (9) Maleki, A.; Aghaei, M.; Hafizi-Atabak, H. R.; Ferdowsi, M. Ultrasonic Treatment of CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-SiO<sub>2</sub> as a New Hybrid Magnetic Composite Nanostructure and Catalytic Application in the Synthesis of Dihydroquinazolinones. *Ultrason. Sonochem.* **2017**, *37*, 260–266. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.01.022>.
- (10) Smith, E. L.; Abbott, A. P.; Ryder, K. S. Deep Eutectic Solvents (DESS) and Their Applications. *Chem. Rev.* **2014**, *114* (21), 11060–11082. <https://doi.org/10.1021/cr300162p>.
- (11) Choi, Y. H.; van Spronsen, J.; Dai, Y.; Verberne, M.; Hollmann, F.; Arends, I. W. C. E.; Witkamp, G. J.; Verpoorte, R. Are Natural Deep Eutectic Solvents the Missing Link in Understanding Cellular Metabolism and Physiology? *Plant Physiol.* **2011**, *156* (4), 1701–1705. <https://doi.org/10.1104/pp.111.178426>.
- (12) Koutsoukos, S.; Tsiaka, T.; Tzani, A.; Zoumpoulakis, P.; Detsi, A. Choline Chloride and Tartaric Acid, a Natural Deep Eutectic Solvent for the Efficient Extraction of Phenolic and Carotenoid Compounds. *J. Clean. Prod.*

- 2019**, 241. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118384>.
- (13) Dai, Y.; van Spronsen, J.; Witkamp, G. J.; Verpoorte, R.; Choi, Y. H. Natural Deep Eutectic Solvents as New Potential Media for Green Technology. *Anal. Chim. Acta* **2013**, 766, 61–68. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.12.019>.
- (14) Santana, A. P. R.; Mora-Vargas, J. A.; Guimarães, T. G. S.; Amaral, C. D. B.; Oliveira, A.; Gonzalez, M. H. Sustainable Synthesis of Natural Deep Eutectic Solvents (NADES) by Different Methods. *J. Mol. Liq.* **2019**, 293. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.111452>.
- (15) Dai, Y.; Witkamp, G. J.; Verpoorte, R.; Choi, Y. H. Tailoring Properties of Natural Deep Eutectic Solvents with Water to Facilitate Their Applications. *Food Chem.* **2015**, 187, 14–19. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.123>.
- (16) Duarte, A. R. C.; Ferreira, A. S. D.; Barreiros, S.; Cabrita, E.; Reis, R. L.; Paiva, A. A Comparison between Pure Active Pharmaceutical Ingredients and Therapeutic Deep Eutectic Solvents: Solubility and Permeability Studies. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2017**, 114, 296–304. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2017.02.003>.
- (17) Abbott, A. P.; Ahmed, E. I.; Prasad, K.; Qader, I. B.; Ryder, K. S. Liquid Pharmaceuticals Formulation by Eutectic Formation. *Fluid Phase Equilib.* **2017**, 448, 2–8. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2017.05.009>.
- (18) Aroso, I. M.; Silva, J. C.; Mano, F.; Ferreira, A. S. D.; Dionísio, M.; Sá-Nogueira, I.; Barreiros, S.; Reis, R. L.; Paiva, A.; Duarte, A. R. C. Dissolution Enhancement of Active Pharmaceutical Ingredients by Therapeutic Deep Eutectic Systems. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2016**, 98, 57–66. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.11.002>.
- (19) Zhang, Q.; De Oliveira Vigier, K.; Royer, S.; Jérôme, F. Deep Eutectic Solvents: Syntheses, Properties and Applications. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, 41 (21), 7108–7146. <https://doi.org/10.1039/c2cs35178a>.
- (20) Lobo, H. R.; Singh, B. S.; Shankarling, G. S. Bio-Compatible Eutectic Mixture for Multi-Component Synthesis: A Valuable Acidic Catalyst for Synthesis of Novel 2,3-Dihydroquinazolin-4(1H)-One Derivatives. *Catal. Commun.* **2012**, 27, 179–183. <https://doi.org/10.1016/j.catcom.2012.07.020>.
- (21) Gutiérrez, M. C.; Ferrer, M. L.; Mateo, C. R.; Monte, F. Del. Freeze-Drying of Aqueous Solutions of Deep Eutectic Solvents: A Suitable Approach to Deep Eutectic Suspensions of Self-Assembled Structures. *Langmuir* **2009**, 25 (10), 5509–5515. <https://doi.org/10.1021/la900552b>.
- (22) Arafa, W. A. A. Deep Eutectic Solvent for an Expendious Sono-Synthesis of Novel Series of Bis-Quinazolin-4-One Derivatives as Potential Anti-Cancer Agents. *R. Soc. Open Sci.* **2019**, 6 (3). <https://doi.org/10.1098/rsos.182046>.
- (23) Shishov, A.; Bulatov, A.; Locatelli, M.; Carradori, S.; Andruch, V. Application of Deep Eutectic Solvents in Analytical Chemistry. A Review. *Microchem. J.*

- 2017, 135, 33–38. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.07.015>.
- (24) Emami, S.; Shayanfar, A. Deep Eutectic Solvents for Pharmaceutical Formulation and Drug Delivery Applications. *Pharm. Dev. Technol.* **2020**, 25 (7), 779–796. <https://doi.org/10.1080/10837450.2020.1735414>.
- (25) Trujillo, E.; Molotch, N. P. Snowpack Regimes of the Western United States. *Water Resour. Res.* **2014**, 50 (7), 5611–5623. <https://doi.org/10.1002/2013WR014753>.
- (26) He, L.; Li, H.; Chen, J.; Wu, X. F. Recent Advances in 4(3H)-Quinazolinone Syntheses. *RSC Adv.* **2014**, 4 (24), 12065–12077. <https://doi.org/10.1039/c4ra00351a>.
- (27) Safari, J.; Gandomi-Ravandi, S. Application of the Ultrasound in the Mild Synthesis of Substituted 2,3-Dihydroquinazolin-4(1H)-Ones Catalyzed by Heterogeneous Metal-MWCNTs Nanocomposites. *J. Mol. Struct.* **2014**, 1072 (1), 173–178. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2014.05.002>.
- (28) Connolly, D. J.; Cusack, D.; O'Sullivan, T. P.; Guiry, P. J. Synthesis of Quinazolinones and Quinazolines. *Tetrahedron* **2005**, 61 (43), 10153–10202. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2005.07.010>.
- (29) Komar, M.; Molnar, M.; Jukić, M.; Glavaš-Obrovac, L.; Opačak-Bernardi, T. Green Chemistry Approach to the Synthesis of 3-Substituted-Quinazolin-4(3H)-Ones and 2-Methyl-3-Substituted-Quinazolin-4(3H)-Ones and Biological Evaluation. *Green Chem. Lett. Rev.* **2020**, 13 (2), 93–101. <https://doi.org/10.1080/17518253.2020.1741694>.
- (30) Gholap, A. V. A.; Maity, S.; Schulzke, C.; Maiti, D.; Kapdi, A. R. Synthesis of Cu-Catalysed Quinazolinones Using a Csp<sup>3</sup>-H Functionalisation/Cyclisation Strategy. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, 15 (34), 7140–7146. <https://doi.org/10.1039/c7ob01723e>.
- (31) Khan, I.; Zaib, S.; Batool, S.; Abbas, N.; Ashraf, Z.; Iqbal, J.; Saeed, A. Quinazolines and Quinazolinones as Ubiquitous Structural Fragments in Medicinal Chemistry: An Update on the Development of Synthetic Methods and Pharmacological Diversification. *Bioorganic Med. Chem.* **2016**, 24 (11), 2361–2381. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.03.031>.
- (32) Abdel-Jalil, R. J.; Voelter, W.; Saeed, M. A Novel Method for the Synthesis of 4(3H)-Quinazolinones. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45 (17), 3475–3476. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2004.03.003>.
- (33) Chen, J.; Wu, D.; He, F.; Liu, M.; Wu, H.; Ding, J.; Su, W. Gallium(III) Triflate-Catalyzed One-Pot Selective Synthesis of 2,3-Dihydroquinazolin-4(1H)-Ones and Quinazolin-4(3H)-Ones. *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49 (23), 3814–3818. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2008.03.127>.
- (34) Wang, M.; Zhang, T. T.; Song, Z. G. Eco-Friendly Synthesis of 2-Substituted-2,3-Dihydro-4(1H)-Quinazolinones in Water. *Chinese Chem. Lett.* **2011**, 22 (4), 427–430. <https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2010.10.038>.



- (35) Pasolli, M.; Dafnopoulos, K.; Andreou, N. P.; Gritzapis, P. S.; Koffa, M.; Koumbis, A. E.; Psomas, G.; Fylaktakidou, K. C. Pyridine and P-Nitrophenyl Oxime Esters with Possible Photochemotherapeutic Activity: Synthesis, DNA Photocleavage and DNA Binding Studies. *Molecules* **2016**, *21* (7). <https://doi.org/10.3390/molecules21070864>.
- (36) Gritzapis, P. S.; Varras, P. C.; Andreou, N. P.; Katsani, K. R.; Dafnopoulos, K.; Psomas, G.; Peitsinis, Z. V.; Koumbis, A. E.; Fylaktakidou, K. C. P-Pyridinyl Oxime Carbamates: Synthesis, DNA Binding, DNA Photocleaving Activity and Theoretical Photodegradation Studies. *Beilstein J. Org. Chem.* **2020**, *16*, 337–350. <https://doi.org/10.3762/bjoc.16.33>.
- (37) Patra, A. K.; Nethaji, M.; Chakravarty, A. R. Synthesis, Crystal Structure, DNA Binding and Photo-Induced DNA Cleavage Activity of (S-Methyl-L-Cysteine)Copper(II) Complexes of Heterocyclic Bases. *J. Inorg. Biochem.* **2007**, *101* (2), 233–244. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2006.09.018>.
- (38) Da Ros, T.; Spalluto, G.; Boutorine, A. S.; Bensasson, R. V.; Prato, M. DNA-Photocleavage Agents. *Curr. Pharm. Des.* **2005**, *7* (17). <https://doi.org/10.2174/1381612013397140>.
- (39) Yu, Y.; Xu, Q.; He, S.; Xiong, H.; Zhang, Q.; Xu, W.; Ricotta, V.; Bai, L.; Zhang, Q.; Yu, Z.; Ding, J.; Xiao, H.; Zhou, D. Recent Advances in Delivery of Photosensitive Metal-Based Drugs. *Coord. Chem. Rev.* **2019**, *387*, 154–179. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2019.01.020>.
- (40) Gheewala, T.; Skwor, T.; Munirathinam, G. Photosensitizers in Prostate Cancer Therapy. *Oncotarget* **2017**, *8* (18), 30524–30538. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.15496>.
- (41) Cheng, L.; Yang, K.; Chen, Q.; Liu, Z. Organic Stealth Nanoparticles for Highly Effective in Vivo Near-Infrared Photothermal Therapy of Cancer. *ACS Nano* **2012**, *6* (6), 5605–5613. <https://doi.org/10.1021/nn301539m>.
- (42) Biyiklioglu, Z.; Barut, B.; Özel, A. Synthesis, DNA/BSA Binding and DNA Photocleavage Properties of Water Soluble BODIPY Dyes. *Dye. Pigment.* **2018**, *148*, 417–428. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2017.09.051>.
- (43) Mukherjee, A.; Sasikala, W. D. Drug-DNA Intercalation: From Discovery to the Molecular Mechanism. In *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*; 2013; Vol. 92, pp 1–62. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411636-8.00001-8>.
- (44) Palchaudhuri, R.; Hergenrother, P. J. DNA as a Target for Anticancer Compounds: Methods to Determine the Mode of Binding and the Mechanism of Action. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2007**, *18* (6), 497–503. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2007.09.006>.
- (45) Rakesh, K. P.; Kumara, H. K.; Manukumar, H. M.; Channe Gowda, D. Anticancer and DNA Binding Studies of Potential Amino Acids Based Quinazolinone Analogs: Synthesis, SAR and Molecular Docking. *Bioorg. Chem.* **2019**, *87*, 252–264. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.03.038>.

- (46) Reddy, B. S. P.; Sondhi, S. M.; Lown, J. W. Synthetic DNA Minor Groove-Binding Drugs. *Pharmacol. Ther.* **1999**, *84* (1), 1–111. [https://doi.org/10.1016/S0163-7258\(99\)00021-2](https://doi.org/10.1016/S0163-7258(99)00021-2).
- (47) Almehizia, A. A.; Abuelizz, H. A.; Taie, H. A. A.; ElHassane, A.; Marzouk, M.; Al-Salahi, R. Investigation the Antioxidant Activity of Benzo[g]Triazoloquinazolines Correlated with a DFT Study. *Saudi Pharm. J.* **2019**, *27* (1), 133–137. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2018.09.006>.
- (48) Rakesh, K. P.; Manukumar, H. M.; Gowda, D. C. Schiff's Bases of Quinazolinone Derivatives: Synthesis and SAR Studies of a Novel Series of Potential Anti-Inflammatory and Antioxidants. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2015**, *25* (5), 1072–1077. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.01.010>.
- (49) Singla, P.; Luxami, V.; Paul, K. Quinazolinone-Benzimidazole Conjugates: Synthesis, Characterization, Dihydrofolate Reductase Inhibition, DNA and Protein Binding Properties. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* **2017**, *168*, 156–164. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.02.009>.
- (50) Lutterman, D. A.; Chouai, A.; Liu, Y.; Sun, Y.; Stewart, C. D.; Dunbar, K. R.; Turro, C. Intercalation Is Not Required for DNA Light-Switch Behavior. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130* (4), 1163–1170. <https://doi.org/10.1021/ja071001v>.
- (51) Liu, G. D.; Liao, J. P.; Fang, Y. Z.; Huang, S. S.; Sheng, G. L.; Yu, R. Q. Interaction of Bis(Ethylene)Tin(Bis(Salicylidene)Ethylenediamine) with DNA. *Anal. Sci.* **2002**, *18* (4), 391–395. <https://doi.org/10.2116/analsci.18.391>.