



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

«Σύνθεση νέων βιοδραστικών μορίων και
ανάπτυξη συστημάτων εγκλεισμού τους σε
νανοφορείς»

Διδακτορική Διατριβή

Μπαϊρακτάρη Μαρία

MSc, MBA Χημικός ΕΚΠΑ

Αθήνα, 2023

«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ανωτάτη Σχολή Χημικών Μηχανικών του Ε.Μ.Πολυτεχνείου δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα (Ν.5343/1932, Άρθρο 202)»

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΣΥΝΘΕΣΗ ΝΕΩΝ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΜΟΡΙΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΤΟΥΣ ΣΕ ΝΑΝΟΦΟΡΕΙΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΔΕΤΣΗ ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ (ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ)

ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ
ΤΟΜΕΑΣ ΧΗΜΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΕΜΠ

ΦΥΛΑΚΤΑΚΙΔΟΥ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ

ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ Α.Π.Θ.

ΚΑΛΟΓΕΡΟΠΟΥΛΟΥ ΘΕΟΔΩΡΑ

ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ ΕΡΕΥΝΩΝ
ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΧΗΜΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΘΝΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΕΡΕΥΝΩΝ

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΔΕΤΣΗ ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ

ΦΥΛΑΚΤΑΚΙΔΟΥ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ

ΚΑΛΟΓΕΡΟΠΟΥΛΟΥ ΘΕΟΔΩΡΑ

ΠΑΥΛΑΤΟΥ ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ

ΧΑΜΗΛΑΚΗΣ ΣΤΥΛΙΑΝΟΣ

ΒΟΥΓΙΟΥΚΑ ΣΤΑΜΑΤΙΝΑ

ΠΡΟΥΣΗΣ ΚΥΡΙΑΚΟΣ

ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΕΜΠ
ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ Α.Π.Θ.
ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ ΕΡΕΥΝΩΝ
ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΧΗΜΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΘΝΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΕΡΕΥΝΩΝ
ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΕΜΠ
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΕΜΠ
ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΡΙΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΕΜΠ
ΕΡΕΥΝΗΤΗΣ Β'
ΕΘΝΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΕΡΕΥΝΩΝ

Στην οικογένεια μου,

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή αποτέλεσε για εμένα ένα δημιουργικό ταξίδι και μου πρόσφερε επιστημονικά και εκπαιδευτικά εφόδια αλλά και δημιουργικό τρόπο σκέψης που ήταν καθοριστικά και στην μετέπειτα πορεία μου.

Για την επίτευξη του στόχου αυτού αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιστημονική υπεύθυνη της διδακτορικής διατριβής, Καθηγήτρια της Σχολής Χημικών Μηχανικών Ε.Μ.Π., Αναστασία Δέτση. Ο ρόλος της ήταν καθοριστικός καθώς πάντοτε ήταν ανοικτή σε νέες επιστημονικές ιδέες και νέες προκλήσεις για την ανάπτυξη ενός επιστημονικού θέματος καθοριστικό για την παρούσα διατριβή. Πάντα ήταν κινητήριος δύναμη, θετική και αισιόδοξη για τα αποτελέσματα ενώ πάντοτε ήταν εύστοχη στην καθοδήγηση της.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα τα μέλη της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής για την συνεργασία που είχαμε, τις κρίσιμες παρατηρήσεις τους. Πιο συγκεκριμένα, ευχαριστώ βαθύτατα την Καθηγήτρια του Τμήματος Χημείας της Σχολής Θετικών Επιστημών Α.Π.Θ. για την συνεργασία που είχαμε, τις γνώσεις και τη βοήθεια που μου προσέφερε. Ακόμη την ευχαριστώ θερμά για την υποστήριξή της σχετικά με το βιολογικό μέρος της εργασίας και συγκεκριμένα των πειραματικών αποτελεσμάτων της ικανότητας των μορίων ως πιθανοί φωτοευαίσθητοποιητές όπου εκτελέστηκαν στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας με την καθοδήγησή της. Ευχαριστώ ακόμη θερμά την Διευθύντρια Ερευνών στο Ινστιτούτο Βιολογίας, Φαρμακευτικής Χημείας και Βιοτεχνολογίας του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών, Θεοδώρα Καλογεροπούλου για την αμέριστη προθυμία της, την βοήθειά της, της κρίσιμες παρατηρήσεις της και την κριτική ανάγνωση των κειμένων.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω όλα τα υπόλοιπα μέλη της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής για την συμμετοχή τους στην υποστήριξη της διδακτορικής διατριβής.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες αποδίδω στη Διδάκτορα Ανδρομάχη Τζάνη για την συνεργασία μας και την πολύτιμη βοήθειά της σε ότι επιστημονικό ζήτημα μας απασχολούσε. Θα ήθελα να ευχαριστήσω ακόμη τη Διδάκτορα Ελένη Καβέτσου για την καθημερινή μας συνεργασία. Δε θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω τη Διδάκτορα Ιωάννα Κωστοπούλου για την άψογη συνεργασία μας όλα αυτά τα χρόνια, την υποστήριξη της σε αυτή την διαδρομή και την ανταπόκρισή της σε κάθε ζήτημα. Ακόμη θα ήθελα να ευχαριστήσω την Διδάκτορα Αννίτα Κατωπόδη για την άψογη συνεργασία στη διάρκεια της κοινής μας πορείας. Τέλος, ευχαριστώ πολύ την Διδάκτορα Νεφέλη Ποντίλλο για την συνεργασία που είχαμε όλα αυτά τα χρόνια.

Δε θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας της Σχολής Χημικών Μηχανικών, προπτυχιακούς και μεταπτυχιακούς φοιτητές για την συνεργασία και το αρμονικό κλίμα που είχαμε όλα αυτά τα χρόνια. Ευχαριστώ έναν προς έναν τους Υποψήφιους Διδάκτορες Δημήτρη Κουκουζέλη, Ιωάννα Πιττερού, Αλέξανδρο Καλοσπύρο, Στέλλα Καλαφατέλη για το ευχάριστο καθημερινό κλίμα που είχαμε.

Ευχαριστίες αποδίδω στην κα Ζαμπία Κατσανεβάκη ΕΔΙΠ του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας ΕΜΠ για την πολύτιμη βοήθειά της και την αρμονική συνεργασία.

Ευχαριστώ θερμά όλα τα μέλη του Ινστιτούτου Βιολογίας, Φαρμακευτικής Χημείας και Βιοτεχνολογίας του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών για την υποστήριξή τους και την ανταπόκρισή τους κατά την συλλογή αποτελεσμάτων.

Ευχαριστώ επίσης την Υποψήφια Διδάκτορα Χρύσα Μίκρα για την συνεργασία μας στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Τμήματος Χημείας Α.Π.Θ.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες απευθύνω στο Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών (ΙΚΥ) για την χρηματοδότηση που παρείχε για την διδακτορική διατριβή στα πλαίσια της Πράξης «Ενίσχυση του ανθρώπινου ερευνητικού δυναμικού μέσω της υλοποίησης διδακτορικής έρευνας» (Β' Κύκλος) που συγχρηματοδοτείται από την Ελλάδα και την Ευρωπαϊκή Ένωση.

Τέλος, βαθιά ευγνωμοσύνη αποδίδω στην οικογένεια μου για την αμέριστη στήριξή τους και την βοήθειά τους, την υπομονή τους για την ολοκλήρωση της Διατριβής.

Μπαϊρακτάρη Μαρία,
Αθήνα 2023

«Το έργο συγχρηματοδοτείται από την Ελλάδα και την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Ανάπτυξη Ανθρώπινου Δυναμικού, Εκπαίδευση και Διά Βίου Μάθηση», στο πλαίσιο της Πράξης «Ενίσχυση του ανθρώπινου ερευνητικού δυναμικού μέσω της υλοποίησης διδακτορικής έρευνας» (MIS-5000432), που υλοποιεί το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών (ΙΚΥ)»



Επιχειρησιακό Πρόγραμμα
Ανάπτυξη Ανθρώπινου Δυναμικού,
Εκπαίδευση και Διά Βίου Μάθηση
Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο κλάδος της Φαρμακευτικής Χημείας συνεχώς στρέφει το ενδιαφέρον του στις φυσικής προέλευσης ενώσεις, καθώς για την βελτίωση της βιολογικής δράσης πραγματοποιεί δομικές τροποποιήσεις με απώτερο σκοπό την σύνθεση δομικών αναλόγων φυσικών προϊόντων με βελτιωμένα χαρακτηριστικά, λιγότερη τοξικότητα, βελτιωμένη δράση και λιγότερες παρενέργειες. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα αλκαλοειδή και συγκεκριμένα οι κιναζολινόνες, καθώς και οι οικογένεια των φλαβονοειδών και συγκεκριμένα η υποομάδα των χαλκονών και των ωρονών, οι οποίες συνολικά παρουσιάζουν ένα ευρύ φάσμα βιολογικών δράσεων. Οι δομικές τροποποιήσεις αυτών των αναλόγων κρίνονται σημαντικές για την αξιολόγηση της βιολογικής δράσης. Στην παρούσα διατριβή συντέθηκαν 100 ανάλογα κιναζολινονών και ωρονών και αξιολογήθηκαν ως προς την αλληλεπίδραση τους με το DNA και την ικανότητα τους να δράσουν ως φωτοευαισθητοποιητές. Η αξιολόγηση τους αποτέλεσε και τη βάση για την περαιτέρω αξιοποίηση τους με τον εγκλεισμό επιλεγμένων αναλόγων σε βιοδιασπώμενους νανοφορείς.

Επιπλέον, κρίθηκε σημαντικός ο σχεδιασμός και η ανάπτυξη νέων μεθοδολογιών σύνθεσης φιλικές προς το περιβάλλον που θα διέπουν της «Αρχές της Πράσινης Χημείας». Η «Πράσινη» Χημεία αποτελεί μία προσέγγιση των τελευταίων δεκαετιών που στόχος της είναι να συμβάλει στη βιώσιμη ανάπτυξη, αναπτύσσοντας εξολοκλήρου νέες χημικές διεργασίες ή τροποποιώντας της ώστε να μειώσουν τους περιβαλλοντικούς κινδύνους. Τα τελευταία χρόνια, προέκυψε μια νέα κατηγορία πράσινων διαλυτών με σημαντικές ιδιότητες και εύρος εφαρμογών, οι φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες (NaDES). Η ανάπτυξη των NaDES είναι ραγδαία καθώς αυτοί μπορούν να χαρακτηριστούν ως φιλικότεροι προς το περιβάλλον διαλύτες και ως μη τοξικοί διαλύτες χάρη στα φυσικά συστατικά από τα οποία προέρχονται. Στην παρούσα διατριβή συντέθηκαν 20 διαφορετικοί φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες και αξιολογήθηκαν ως προς την ικανότητα τους να δρουν ως διαλύτες και καταλύτες στις αντιδράσεις πολλαπλών συστατικών (MCRs) για την σύνθεση κιναζολινικών αναλόγων. Επιπλέον, δοκιμάστηκαν και ως διαλύτες σε βιολογικά μακρομόρια όπως το DNA και μελετήθηκε η αλληλεπίδραση NADES-DNA ώστε να μπορέσει να αποτελέσει διαλύτη τέτοιων συστημάτων ή συνδυαστική δράση ανάλογα από τα φυσικά συστατικά από τα οποία προέρχεται. Τέλος, η χρήση των διαλυτών δοκιμάστηκε και κατά την πορεία εγκλεισμού των ενώσεων σε επιλεγμένους φορείς καθώς έχει βρεθεί βιβλιογραφικά ότι θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως διαλύτες με βελτιωμένα χαρακτηριστικά.

Η νανοτεχνολογία είναι άλλος ένας κλάδος με σημαντικό ενδιαφέρον λόγω των διαφόρων εφαρμογών και των πλεονεκτημάτων που προσφέρει στην επεξεργασία, προστασία της εγκλεισμένης ένωσης από εξωγενείς παράγοντες, στην αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας των φαρμακευτικών ενώσεων. Οι διαφορετικοί νανοφορείς που επιλέγονται παρουσιάζουν ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών όπως στον τομέα των φαρμάκων, των τροφίμων και των καλλυντικών και στόχο έχουν να βελτιώνουν τα χαρακτηριστικά όπως η αύξηση της υδατοδιαλυτότητας, η στοχευμένη και ελεγχόμενη απελευθέρωση της δραστικής ουσίας, κ.α. Στην παρούσα διατριβή επιλέχθηκαν το πολύ(γαλακτικό οξύ)- PLA και η κυκλοδεξτρίνη. Κατά τη διεργασία εγκλεισμού των ενώσεων σε PLA δοκιμάστηκε και η χρήση NaDES ως διαλύτη της διεργασίας.

Μέρος της διδακτορικής διατριβής αποτέλεσε και η αλληλεπίδραση των συντιθέμενων ενώσεων με το DNA καθώς και των συντιθέμενων φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών. Η αλληλεπίδραση με το DNA συνδέεται με βιολογικές δράσεις όπως η αντικαρκινική. Τα αντικαρκινικά φάρμακα αλληλεπιδρούν με το DNA με πολλούς διαφορετικούς τρόπους, όπως παρεμβολή, μη ομοιοπολική σύνδεση στην αύλακα,

ομοιοπολική σύνδεση, διάσπαση του DNA και ενσωμάτωση νουκλεοτιδίου – αναλόγου. Ως αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης του DNA με την φαρμακευτική ουσία είναι η θερμοδυναμική σταθερότητα και οι αλλαγές στις λειτουργικές ιδιότητες του DNA.

Πιο συγκεκριμένα, το Πρώτο Κεφάλαιο της παρούσας διδακτορικής διατριβής περιλαμβάνει τα φυσικά προϊόντα των κινάζολινονών και των ωρονών, τη δομή, τα χαρακτηριστικά και τον βιολογικό τους ρόλο.

Το Δεύτερο Κεφάλαιο περιλαμβάνει το σχεδιασμό και την συνθετική πορεία βασισμένη σε νέες φιλικές προς το περιβάλλον διεργασίες. Στο κεφάλαιο αυτό, παρουσιάζεται και η ταυτοποίηση των ενώσεων (ανάλυση NMR) καθώς και τα συνολικά αποτελέσματα που προέκυψαν κατά την σύνθεση.

Το Τρίτο Κεφάλαιο αφορά το θεωρητικό μέρος των βιολογικών μεθοδολογιών που πραγματοποιήθηκαν, καθώς και στο δεύτερο μέρος του κεφαλαίου παρουσιάζεται το πειραματικό μέρος, δηλαδή τα αποτελέσματα και την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης, της αλληλεπίδραση των ενώσεων με το DNA και την πιθανότητα των ενώσεων αυτών να δράσουν ως νανοφορείς.

Το Τέταρτο Κεφάλαιο περιλαμβάνει το θεωρητικό υπόβαθρο των φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών (NaDES), τη δομή, τα χαρακτηριστικά και τις εφαρμογές τους.

Το Πέμπτο Κεφάλαιο αφορά την σύνθεση των φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών καθώς και την ανάλυση τους με NMR.

Το Έκτο Κεφάλαιο περιλαμβάνει τις εφαρμογές των φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών (NaDES) που πραγματοποιήθηκαν στην παρούσα διδακτορική διατριβή, δηλαδή την δράση τους ως διαλύτες και καταλύτες οργανικών αντιδράσεων πολλαπλών συστατικών. Επίσης, στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζεται η ανακύκλωση και η επαναχρησιμοποίηση των διαλυτών αυτών στις ίδιες αντιδράσεις. Ακόμη, παρουσιάζονται και τα αποτελέσματα των NADES ως προς την αλληλεπίδρασή τους με το DNA.

Το Έβδομο Κεφάλαιο αφορά την θεωρία της νανοτεχνολογίας, του εγκλεισμού των ενώσεων και των εφαρμογών του. Παρουσιάζονται οι μέθοδοι εγκλεισμού σε διαφορετικούς νανοφορείς όπως πολυγαλακτικό οξύ, PLA και κυκλοδετρίνη, βCD. Τέλος, στο Κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται όλα τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τον χαρακτηρισμό των νανοσωματιδίων.

Ολοκληρώνοντας την διδακτορική διατριβή παρουσιάζεται μια σύνοψη όλων των συμπερασμάτων καθώς και νέων προτάσεων για μελλοντική έρευνα.

Από τα αποτελέσματα της παρούσας διδακτορικής διατριβής προέκυψαν.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ ΜΕ ΚΡΙΤΕΣ

1. Chrysoula Mikra†, **Maria Bairaktari**†, Marina–Theodora Petridi, Anastasia Detsi, and Konstantina C. Fylaktakidou, “Green Process for the Synthesis of 3–Amino–2–Methyl–Quinazolin–4(3H)–one Synthones and Amides Thereof. DNA Photo–Disruptive and Molecular Docking Studies” *Processes* 2022, 10, 384
2. Andromachi Tzani, Styliani Kalafateli, Grigorios Tatsis, **Maria Bairaktari**, Ioanna Kostopoulou, Antonella R. N. Pontillo, Anastasia Detsi , Natural Deep Eutectic Solvents (NaDESs) as alternative green extraction media for ginger (*Zingiber officinale* Roscoe), *Sustain. Chem.* 2021, 2, 576–599, <https://doi.org/10.3390/suschem2040032>
3. Antonella R. N. Pontillo, Evangelia Konstanteli, **Maria M. Bairaktari** and Anastasia Detsi, “Encapsulation of the Natural Product Tyrosol in Carbohydrate Nanosystems and Study of Their Binding with ctDNA” *Polymers*, 2021, 13, 87, <https://doi.org/10.3390/polym13010087>

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ ΜΕ ΠΡΑΚΤΙΚΑ

1. **Maria Bairaktari**, Ioanna Kostopoulou, Andromachi Tzani and Anastasia Detsi, “Green Approaches towards the synthesis of quinazolinone derivatives” *The 2nd Advances on Green Chemistry*, Poznan, Poland, 16-18 April 2018, P-014/page 80, <https://agc2018.syskonf.pl/confdata/agc2018/files/Book%20of%20abstracts%20The%202nd%20Advances%20on%20Green%20Chemistry%20Poznan%202018.pdf>
2. **M. Bairaktari**, I. Kostopoulou, P. Gritzapis, K. Fylaktakidou, A. Detsi “Design Microwave Assisted Synthesis and DNA Photocleavage Activity of novel quinazolin4(3H)-one derivatives” *19th Tetrahedron Symposium Riva del Garda Lake Garda Italy, 26-29 June 2018*, https://elsevier.conferenceservices.net/programme.asp?conferenceID=4206&action=prog_categories
3. **Maria Bairaktari**, Ioanna Panteli, Eleni Kallinikou, Konstantina C. Fylaktakidou, and Anastasia Detsi “Green Synthesis of 2.3-dihydroquinazolinones analogues using natural deep eutectic solvents (NaDESs) as solvents and catalysts” *1st GREENERING International Conference*, in Costa da Caparica, Portugal, 15-17 February 2021
4. C. Mikra, **M. Bairaktari**, A. Detsi K.C. Fylaktakidou “3-Amido-2-MethylQuinazolinone Derivatives: Green Synthesis and Study of DNA Photodynamic Activatable Disruption” *European Chemical Biology Symposium Virtual 26-28 May 2021*, Poster Prize 1
5. **M. Bairaktari**, M. Miserli and A. Detsi “Inclusion Complexes of 3-amino-2- methyl-6-nitro quinazolinone with -cyclodextrins (-CDs) and CT-DNA binding studies” *European Symposium on Organic Chemistry Virtual July 5-6, 2021*
6. **M. Bairaktari**. V. Kotzaoustopoulos and A. Detsi “Green Synthesis of Quinazolinones Schiff Base Conjugates using Natural Deep Eutectic Solvent (NaDES) and DNA binding studies” *European Symposium on Organic Chemistry Virtual, July 5-6, 2021*
7. Ioanna Pitterou, Konstantinos Pallios, **Maria Bairaktari**, Eleni Kavetsou, Anastasia Detsi, “INCLUSION COMPLEXES OF THE NATURAL PRODUCT CURCUMIN IN VARIOUS NANOSYSTEMS AND STUDY OF THEIR BINDING WITH ctDNA” *European Symposium on Organic Chemistry Virtual July 5-6, 2021*

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ ΜΕ ΠΡΑΚΤΙΚΑ

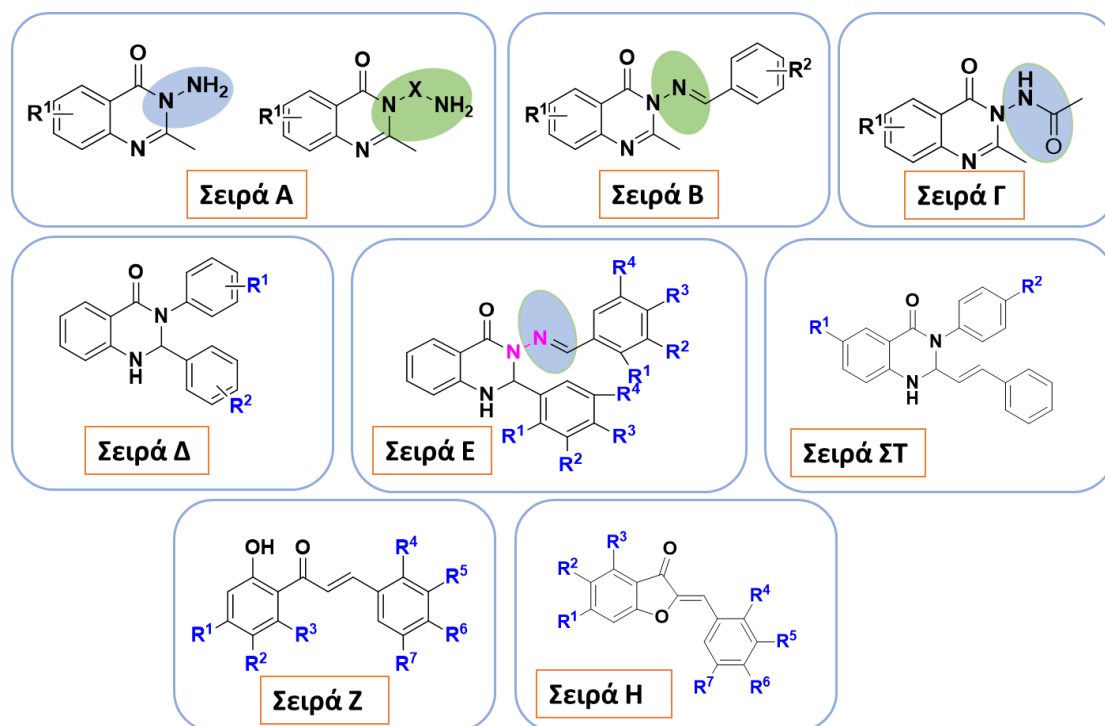
1. **Maria Bairaktari**, Theodore Tsimogiannis, Ioanna Kostopoulou, Andromachi Tzani Anastasia Detsi „Synthesis of quinazolinone derivatives using Natural Deep Eutectic Solvents (NaDESs)“ Conference on Advances in Chemistry, 30 Oct.-2 Nov. 2018, Athens, Greece, <http://acac2018.chem.uoa.gr>
2. **Maria Bairaktari**, Eleni Kallinikou, Ioanna Kostopoulou and Anastasia Detsi, „Natural Deep Eutectic Solvent (NaDES) mediated synthesis of 2,3-dihydroquinazolinones“ 12th Panhellenic Scientific Conference of Chemical Engineering, Athens, Greece, 29-31 May 2019
3. **Maria Bairaktari**, Pavlina Angeli Zheodoros Tsimogiannis Ioanna Kostopoulou and Anastasia Detsi „Design and synthesis of quinazolinone-aurone hybrids“ 12th Panhellenic Scientific Conference of Chemical Engineering, Athens, Greece, 29-31 May 2019
4. A. Papaioannou, A. R. N. Pontillo, **M. Bairaktari**, Th. Lymperopoulou, A. Detsi, “Optimization of a Green Extraction Method to obtain bioactive compounds from Wild Rose Hips” Green Chemistry and Sustainable Development Athens Greece 18-20 October 2019
5. **Maria Bairaktari**, Eleni Kallinikou, Laurie Gouriou, and Anastasia Detsi “One pot synthesis of quinazolinone and dihydroquinazolinone analogues using Natural Deep Eutectic Solvents (NaDESs) as solvents and catalysts” Green Chemistry and Sustainable Development, Athens, Greece, 18-20 October 2019 (Oral’s Presentation)
6. **Maria Bairaktari**, Konstantina C. Fylaktakidou and Anastasia Detsi “Synthesis of 2-methyl-3,6-bis-substituted quinazolinone derivatives, DNA binding studies and photocleavage activity” 18th Hellenic Symposium on Medicinal Chemistry Online Symposium, 25-27 February 2021
7. **Maria Bairaktari**, Marientina Kalantzi, Andromachi Tzani and Anastasia Detsi, “Natural Deep Eutectic solvents (NaDESs) and their ability to interact with ctDNA” 18th Hellenic Symposium on Medicinal Chemistry, Online Symposium, 25-27 February 2021

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Αντικείμενο της διδακτορικής διατριβής αποτέλεσε αρχικά η ανάπτυξη μιας «χημικής βιβλιοθήκης» με νέα συνθετικά ανάλογα της οικογένειας των κιναζολινονών και των ωρονών. Η «χημική βιβλιοθήκη αναπτύχθηκε με σκοπό τη μελέτη της σχέσης δομής-βιολογικής δράσης. Τα δομικά ανάλογα με την ισχυρότερη δράση αξιοποιήθηκαν περαιτέρω μέσω του εγκλεισμού τους σε επιλεγμένους νανοφορείς.

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή επιτεύχθηκε ο σχεδιασμός, η σύνθεση καθώς και ο χαρακτηρισμός κιναζολινικών αναλόγων και ωρονών, τα περισσότερα από αυτά νέα στην βιβλιογραφία. Οι ενώσεις που συντέθηκαν ταυτοποιήθηκαν μέσω της φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (^1H και ^{13}C NMR), φασματομετρία μάζας υψηλής ανάλυσης (HR-MS) και φασματοσκοπία υπερύθρου (FT-IR).

Συγκεκριμένα, σχεδιάστηκαν πέντε σειρές κιναζολινικών παραγώγων Α, Β, Γ, Δ και Ε. Η Σειρά Α περιλαμβάνει τα ανάλογα της 3-αμινο-2-μεθυλο-6,7 υποκατεστημένων κιναζολινονών τα οποία συντέθηκαν σε δύο στάδια με τη χρήση μικροκυματικής ακτινοβολίας ως μέθοδο φιλικότερη στο περιβάλλον. Η Σειρά Α εμπλουτίστηκε και με τα παράγωγα 2-μεθυλο-3,6,7 υποκατεστημένων κιναζολινονών τροποποιώντας την θέση 3 του κιναζολινικού δακτυλίου με τη χρήση διαμινών.



Η Σειρά Β περιλαμβάνει κιναζολινικά παράγωγα βάσεων Schiff με κύριο δομικό συστατικό την παρουσία διπλού δεσμού στη θέση 3 και σχεδιάστηκε ώστε να μελετηθεί η σχέση δομής-βιολογικής δράσης και συγκεκριμένα η παρουσία του διπλού δεσμού. Η σύνθεση των βάσεων Schiff περιλαμβάνει τρία στάδια αρχικά την κυκλοποίηση του ανθρανιλικού οξέος προς κατάλληλης υποκατεστημένης βενζοξαζινόνης. Έπειτα ακολουθεί η προσθήκη ένυδρης υδραζίνης και τέλος η προσθήκη κατάλληλα υποκατεστημένης βενζαλδεΐδης καταλυόμενη από πιπεριδίνη.

Η Σειρά Γ περιλαμβάνει αμιδικών κιναζολινικών παραγώγων με κύριο δομικό συστατικό την παρουσία αμιδικής ομάδας στην θέση 3. Η σύνθεση περιλαμβάνει 3 στάδια, αρχικά την κυκλοποίηση του ανθρανλικού οξέος προς κατάλληλης υποκατεστημένης βενζοξαζινόνης και έπειτα την προσθήκη ένυδρης υδραζίνης προς σχηματισμό των παραγώγων της Σειράς Α με χρήση μικροκυματικής ακτινοβολίας και τέλος την προσθήκη ακέτυλοχλωριδίου για την σύνθεση των παραγώγων της σειράς αυτής. Σημειώνεται ότι το τρίτο στάδιο σύμφωνα με τις βιβλιογραφικές αναφορές εκτελέστηκε με συμβατική θέρμανση αλλά μελετήθηκε και με την εισαγωγή της μικροκυματικής ακτινοβολίας.

Οι Σειρές Δ, Ε και ΣΤ περιλαμβάνει την δεύτερη μεγάλη οικογένεια κιναζολινικών παραγώγων των 2,3 διςυποκατεστημένων κιναζολινονών. Πιο συγκεκριμένα οι Σειρές αυτές περιλαμβάνουν κιναζολινικά παράγωγα που συντέθηκαν σε ένα στάδιο μέσω αντίδρασης πολλαπλών συστατικών (MCR) και την χρήση φυσικών βαθέως ευητηκτικών διαλυτών (NADES) ως διαλύτες και καταλύτες των αντιδράσεων αυτών και την χρήση τεχνικών υψηλής ενέργειας για την βελτιστοποίηση της μεθοδολογίας. Η χρήση των NADES επιλέχθηκε ως φιλικότερων προς το περιβάλλον διαλυτών, καθώς ως μη τοξικοί αντικαθιστούν τους τοξικούς οργανικούς διαλύτες ενώ παράλληλα λειτουργούν και ως καταλύτες βελτιώνοντας τις αποδόσεις των τελικών προϊόντων. Σημειώνεται ότι η μεθοδολογία αυτή που αναπτύχθηκε φέρει αρκετά πλεονεκτήματα και λόγω της αντίδρασης MCR όπου δίνεται η δυνατότητα από απλές πρώτες ύλες να παραχθούν χημικές βιβλιοθήκες βιοδραστικών μορίων χωρίς απομόνωση ενδιάμεσων ενώσεων, προσθήκη επιπλέον αντιδρώντων και διαλυτών κ.α.

Πιο συγκεκριμένα, για η Σειρά Δ περιλαμβάνει παράγωγα 2,3 διςυποκατεστημένων κιναζολινονών όπου συντέθηκαν σε ένα στάδιο με προσθήκη ισατοϊκού ανυδρίτη, κατάλληλα υποκατεστημένης ανιλίνης, κατάλληλα υποκατεστημένης βενζαλδεΐδης και NADES ως διαλύτη και καταλύτη της αντίδρασης. Σημειώνεται ότι πέρα από την ανάπτυξη της χημικής βιβλιοθήκης πραγματοποιήθηκε και μελέτη της καταλυτικής δράσης 20 διαφορετικών NADES ώστε να βρεθούν οι βέλτιστες συνθήκες για την μεθοδολογία αυτή.

Η Σειρά Ε αντίστοιχα περιλαμβάνει 2,3-διςυποκατεστημένες κιναζολινόνες οι οποίες συντέθηκαν σε ένα στάδιο με την προσθήκη ισατοϊκού ανυδρίτη ένυδρης υδραζίνης και κατάλληλα υποκατεστημένης αλδεΐδης. Για το σχεδιασμό μιας φιλικότερης προς το περιβάλλον μεθοδολογίας και εδώ πραγματοποιήθηκε η προσθήκη κατάλληλου NADES με την χρήση υπερήχων για βελτιστοποίηση της μεθοδολογίας.

Η Σειρά ΣΤ περιλαμβάνει αντίστοιχα παράγωγα τα οποία συντέθηκαν σε ένα στάδιο με την προσθήκη ισατοϊκού ανυδρίτη, κατάλληλα υποκατεστημένης ανιλίνης, κιναμικού χλωριδίου και επιλεγμένου NADES.

Τέλος, η Σειρά Η και Ζ περιλαμβάνει την σειρά των χαλκονών και ωρονών αντίστοιχα. Η σύνθεση επιλεγμένων χαλκονών και ωρονών επιλέχθηκε ώστε να μελετηθεί η σχέση δομής δράσης, καθώς οι ωρόνες έχουν την ικανότητα να αλληλεπιδρούν με το DNA ως παρεμβολείς του DNA. Έτσι κρίθηκε σκόπιμο να δοκιμαστούν και ως προς την πιθανή ικανότητά τους να φωτοδιασπών το DNA, ως ενδεχόμενοι φωτοευαισθητοποιητές. Αρχικά, η σύνθεση της Σειράς Η περιλαμβάνει την σύνθεση των χαλκονών μέσω

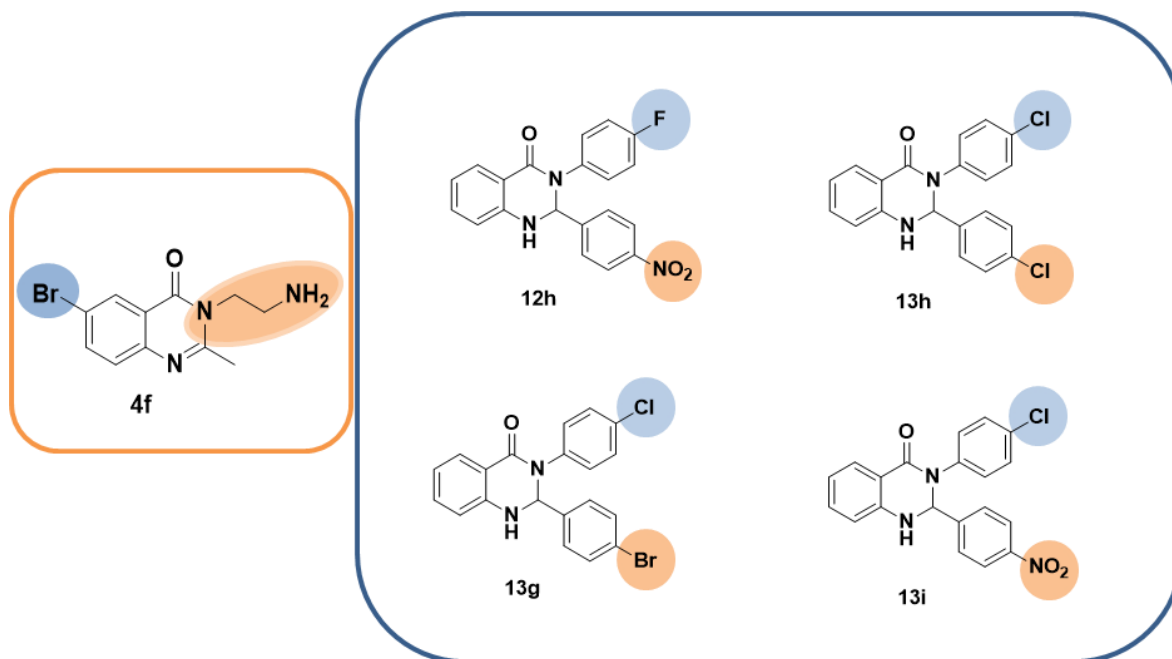
αντίδρασης συμπύκνωσης Claisen-Schmidt μεταξύ κατάλληλα υποκατεστημένων υδροξυ-ακετοφαινονών και κατάλληλα υποκατεστημένων βενζαλδεϋδών σε βασικές συνθήκες. Έπειτα ακολουθεί η σύνθεση της Σειράς Η που περιλαμβάνει την οξειδωτική κυκλοποίηση των αντίστοιχων χαλκονών χρησιμοποιώντας οξικό υδράργυρο (II) ως οξειδωτικό παράγοντα.

Στη συνέχεια για τα κιναζολινικά παράγωγα και τις ωρόνες που συντέθηκαν μελετήθηκε η σχέση δομής και *in vitro* βιολογικής δράσης. Πιο συγκεκριμένα, τα νέα παράγωγα αξιολογήθηκαν ως προς την ικανότητα να αλληλεπιδρούν με το DNA, την ικανότητα διάσπασης του DNA κάτω από την επίδραση ακτινοβολίας καθώς και της αντιοξειδωτικής τους δράσης μέσω της ικανότητας τους να αλληλεπιδρούν με την ελεύθερη ρίζα DPPH.

Από την αξιολόγηση προέκυψαν σημαντικά αποτελέσματα για τη σχέση δομής-βιολογικής δράσης. Ορισμένα από τα παράγωγα παρουσίασαν σημαντική αντιοξειδωτική δράση, πιο συγκεκριμένα τα παράγωγα της Σειράς Α, Δ, Ε που φέρουν υδρόξυ-ομάδα στον κιναζολινικό δακτύλιο φαίνεται να βελτιώνουν σημαντικά την αντιοξειδωτική δράση.

Ως προς την μελέτη της αλληλεπίδρασης τους με το DNA, τα υπολογιστικά αποτελέσματα και τα αποτελέσματα της τιτλοδότησης των μορίων και την αλληλεπίδραση τους με DNA θύμου αδένα (CT-DNA) φάνηκαν να είναι ανάλογα σημειώνοντας ότι τα κιναζολινικά ανάλογα παρουσιάζουν εξωτερική αλληλεπίδραση στην μικρή ή την μεγάλη αύλακα του DNA. Ως προς τη σχέση δομής-δράσης φαίνεται ότι οι υποκαταστάτες αλογο-ομάδων, νιτρο-ομάδων, υδρόξυ-ομάδων, μεθόξυ ομάδων σε ορισμένα παράγωγα να είναι καθοριστικοί για την αλληλεπίδραση τους με το DNA καθώς όπως φάνηκε και από τα υπολογιστικά δεδομένα εμφάνιζαν ισχυρότερη αλληλεπίδραση σχηματίζοντας δεσμούς υδρογόνου.

Επίσης, τα κιναζολινικά παράγωγα μελετήθηκαν και αξιολογήθηκαν ως προς την ικανότητα τους να φωτοδιασπούν το DNA ως ενδεχόμενοι φωτοευαίσθητοποιητές για την χρήση τους σε θεραπείες όπως καρκίνου, δερματικές παθήσεις (π.χ. ψωρίαση, ακμή) καθώς και ως αντιμικροβιακά. Συγκεκριμένα μελετήθηκαν τα κιναζολινικά παράγωγα ως προς τις θέσεις 3, 6 και των ρόλο των υποκαταστατών σε αυτές τις θέσεις. Συγκεκριμένα, μελετήθηκε η παρουσία και η απουσία αμινο-ομάδας στη θέση 3 καθώς και η επιμήκυνση της αλειφατικής ομάδας στη θέση αυτή, όπου φάνηκε καθοριστικός παράγοντας για την δράση. Ακόμη υποκαταστάτες στη θέση 6 όπως αλογο-ομάδα, νίτρο ομάδα, υδρόξυ ομάδα παρουσιάζουν υψηλά ποσοστά φωτοδιάσπασης. Για τις σειρές των διϋδροκιναζολινονών σημαντικός δομικός παράγοντας αποτέλεσε η ύπαρξη αλογόνων-ομάδων και νιτρο-ομάδων ως υποκαταστάτες των αρωματικών δακτυλίων της θέσης 2 και 3 του κιναζολινικού δακτυλίου. Παρακάτω παρουσιάζονται ορισμένα παράγωγα που μπορούν να αποτελέσουν μόρια οδηγό για την αλληλεπίδρασή τους και τον τρόπο δράσης τους με το DNA. Παρακάτω παρουσιάζονται ορισμένα από τα παράγωγα αυτά.



Παράλληλα, χρησιμοποιήθηκαν πράσινοι διαλύτες και συγκεκριμένα φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες για να βελτιώσουν τις αντιδράσεις σύνθεσης δίνοντας ένα πιο πράσινο χαρακτήρα στις αντιδράσεις αυτές. 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.

Στο πλαίσιο της παρούσας διδακτορικής διατριβής πραγματοποιήθηκε η σύνθεση και ο χαρακτηρισμός τριών διαφορετικών σειρών NaDES με βάση την χολίνη, την βεταΐνη και αμινοξέα καθώς και οργανικά οξέα. Πραγματοποιήθηκε συνολικά η σύνθεση 20 NaDES και αξιολογήθηκαν συγκριτικά ως προς την απολεσματικότητά τους κατά την σύνθεση κινάζολινικών 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 53 μόρια 2,3-διυδροκινάζολιν-4(1H)-ονών, ενώ παράλληλα εξετάστηκε συγκριτικά ο «πράσινος» χαρακτήρας της εκάστοτε σύνθεσης με χρήση ποσοτικών δεικτών και μελετήθηκε και η ανακύκλωση και η επαναχρησιμοποίηση των NaDES στις αντιδράσεις αυτές όπου εκτελέστηκαν έως και τρεις επαναλήψεις με επιτυχία και υψηλές αποδόσεις.

Επιπλέον, οι φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες (NADES) αξιολογήθηκαν και ως προς την ικανότητά τους να αλληλεπιδρούν με το DNA ώστε να μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εναλλακτικοί διαλύτες σε βιολογικές εφαρμογές. Μελετήθηκε και αξιολογήθηκε η δράση τόσο των πρώτων υλών, δηλαδή των φυσικών συστατικών που αποτελείται κάθε NaDES, τα 20 συντιθέμενα NaDES καθώς και τα φυσικά μίγματα. Από τα αποτελέσματα που πάρθηκαν φάνηκε ότι η χρήση NaDES με βάση την χλωριούχο χολίνη εμφάνιζαν ισχυρότερη αλληλεπίδραση σε σχέση με εκείνα που συντέθηκαν με βάση την βεταΐνη. Τέλος, επιλεγμένα κινάζολινικά παράγωγα εγκλείστηκαν με επιτυχία σε επιλεγμένους βιοδιασπώμενους φορείς με σκοπό να τροποποιηθούν οι φυσικοχημικές τους ιδιότητες

π.χ. αύξηση της υδατοδιαλυτότητας. Τα νανοσωματίδια χαρακτηρίστηκαν δομικά με φασματοσκοπία NMR και FT-IR, ως προς το μέγεθός τους και το ζ-δυναμικό με τη δυναμική σκέδαση φωτός (DLS), θερμικά με τις τεχνικές TGA και DSC και για την μορφολογία τους με ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM). Ειδικότερα, στην παρούσα διδακτορική εργασία πραγματοποιήθηκε ο εγκλεισμός των κινναζολινικών παραγώγων **4f**, **10d** σε μήτρες PLA και β-CD, ενώ για την ένωση οδηγό **3e** χρησιμοποιήθηκαν τρία είδη κυκλοδεξτρινών (β-CDs, Me-β-CD, HP-β-CD). Επιπλέον, επιτεύχθηκε η ανάπτυξη κατάλληλης μεθοδολογίας εγκλεισμού με PLA χρησιμοποιώντας διαύτη NaDES. Τέλος, πραγματοποιήθηκε μελέτη του προφίλ απελευθέρωσης των μορίων καθώς και μελέτη και αξιολόγηση των συμπλόκων ως προς την αλληλεπίδρασή τους με το DNA.

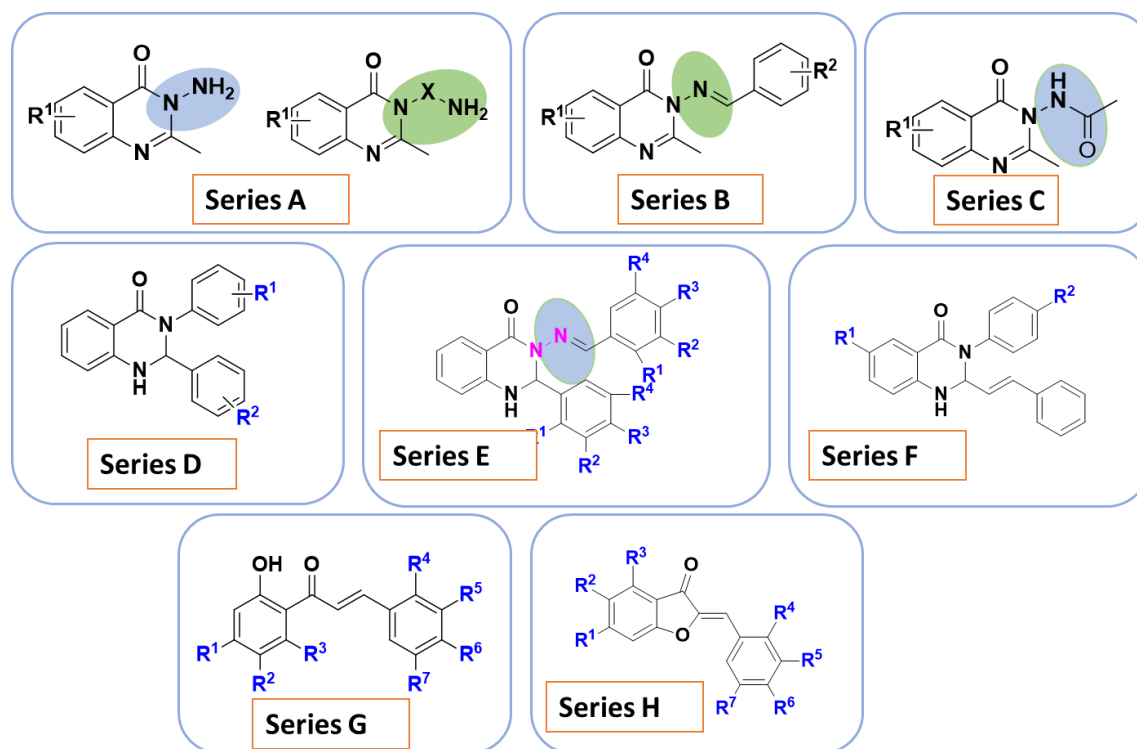
Λέξεις-κλειδιά: Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (DES), Φυσικοί Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (NADES), κινναζολινόνες, 2,3-διϋδροκινναζολινόνες, αντίδραση πολλών συστατικών (MCRs), υπέρηχοι, φωτοδιασπαστική ικανότητα του DNA, αλληλεπίδραση με το DNA θύμου αδένος (CT-DNA), DNA παρεμβολή, αντιοξειδωτική δράση, β-κυκλοδεξτρίνες (β-CDs), πολυγαλακτικό οξύ (PLA).

ABSTRACT

The aim of the doctoral thesis was initially the development of a “chemical library” of novel, synthetic analogues of quinazolinones family and aurones. The “chemical library” was developed to study the relationship between the chemical structure and biological activity. The structurally modified analogues that showed promising in vitro biological activity were then encapsulated in biodegradable carriers.

In the present PhD thesis the design, synthesis and characterization of quinazolinones and aurones analogues, most of them new to the literature, were achieved. The compounds were identified through nuclear magnetic resonance spectroscopy (^1H and ^{13}C NMR), high resolution mass spectrometry (HR-MS) and Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR).

Specifically, five series of quinazolinones derivatives A, B, C, D and E were designed. Series A includes the analogues of 3-amino-2-methyl-6,7-substituted quinazolinones which were synthesized in two steps using microwave irradiation as method more environmentally friendly. Series A was also enriched with 2-methyl-3,6,7-substituted quinazolinone derivatives by modifying the 3-position of the quinazoline ring using diamines.



Series B includes Schiff bases quinazolinone derivatives with the main structural component being the presence of a double bond at position 3 and was designed to study the structure-biological activity relationship, specifically the presence of the double bond. The synthesis of Schiff bases involves three steps initially the cyclization of anthranilic acid to a suitable substituted benzoxazinone. Then follows the addition of hydrazine hydrate and finally the addition of appropriately substituted benzaldehyde catalyzed by piperidine.

Series C comprises amide quinazolinone derivatives with the main structural component being the presence of an amide group in the 3-position. The synthesis involves 3 steps, first the cyclization of the anthranilic acid to an appropriate substituted benzoxazinone and then the addition of hydrazine hydrate to form the Series A derivatives using microwave radiation and finally the addition of acetyl chloride for the synthesis of the derivatives of this series. It is noted that the third stage according to the literature references was performed with conventional heating but was also studied with the introduction of microwave radiation.

Series D, E and F comprise the second major family of quinazoline derivatives of 2,3-disubstituted quinazolinones. More specifically, these Series include quinazoline derivatives synthesized in one step through a multicomponent reaction (MCR) and the use of natural deep eutectic solvents (NADES) as solvents and catalysts of these reactions and the use of high energy techniques to optimize the methodology. The use of NADES was chosen as more environmentally friendly solvents, since as non-toxic they replace toxic organic solvents while at the same time they also act as catalysts improving the yields of the final products. It is noted that this methodology developed has several advantages and due to the MCR reaction where it is possible to produce chemical libraries of bioactive molecules from simple raw materials without isolating intermediate compounds, adding extra reactants and solvents, etc.

More specifically, Series D includes derivatives of 2,3-disubstituted quinazolinones where they were synthesized in one step by addition of isoic anhydride, appropriately substituted aniline, appropriately substituted benzaldehyde and NADES as solvent and reaction catalyst. It is noted that in addition to the development of the chemical library, a study of the catalytic action of 20 different NADES was carried out in order to find the optimal conditions for this methodology.

Series E respectively comprises 2,3-disubstituted quinazolinones which were synthesized in one step by the addition of hydrazine isoic anhydride and an appropriately substituted aldehyde. For the design of a more environmentally friendly methodology, the addition of a suitable NADES was carried out using ultrasound to optimize the methodology.

Series F includes corresponding derivatives which were synthesized in one step by the addition of isoic anhydride, appropriately substituted aniline, cinnamic chloride and selected NADES.

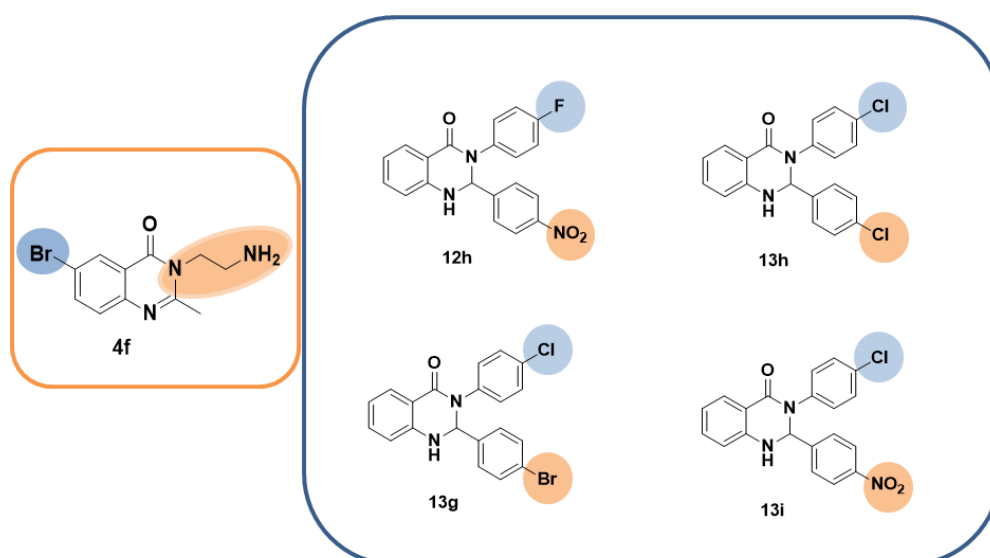
Finally, Series H and Z include the series of chalcones and aurones respectively. The synthesis of selected chalcones and auronwa was chosen to study the structure-activity relationship, as aurones have the ability to interact with DNA as DNA intercalators. Thus, it was considered appropriate to test them for their potential ability to photocleave DNA, as possible photosensitizers. Initially, the synthesis of Series H involves the synthesis of chalcones via a Claisen-Schmidt condensation reaction between appropriately substituted hydroxy-acetophenones and appropriately substituted benzaldehydes under basic conditions. Then, follows the synthesis of Series H involving the oxidative cyclization of the corresponding chalcones using mercury (II) acetate as an oxidizing agent.

Subsequently, the relationship between structure and *in vitro* biological activity was studied for the synthesized quinazoline derivatives and aurones. More specifically, the new derivatives were evaluated for their ability to interact with DNA, their ability to degrade DNA under the influence of radiation as well as their antioxidant activity through their ability to interact with the DPPH free radical.

The evaluation yielded significant results for the structure-biological activity relationship. Some of the derivatives showed significant antioxidant activity, more specifically the derivatives of Series A, D, E that carry a hydroxy group in the quinazolinone ring seem to significantly improve the antioxidant activity.

Regarding the study of their interaction with DNA, the computational results and the results of the titration of the molecules and their interaction with thymus DNA (CT-DNA) appeared to be similar noting that quinazolinone analogues show external interaction in the small or major groove of DNA. Regarding the structure-activity relationship, it seems that the substituents of halogen-groups, nitro-groups, hydroxy-groups, methoxy groups in some derivatives are decisive for their interaction with DNA as it was also seen from the computational data that they displayed a stronger interaction forming hydrogen bonds.

Also, quinazolinone derivatives were studied and evaluated for their ability to photocleave DNA as potential photosensitizers for use in treatments such as cancer, skin diseases (for examples psoriasis, acne etc.) as well as antimicrobials. In particular, the quinazoline derivatives were studied in terms of positions 3, 6 and the role of the substituents in these positions. In particular, the presence and absence of an amino group at position 3 was studied as well as the elongation of the aliphatic group at this position, where it appeared to be a determining factor for the activity. Also, substituents in position 6 such as halogen-group, nitro-group, hydroxy-group show high rates of photocleavage activity. For the series of dihydroquinazolinones, an important structural factor was the existence of halogen-groups and nitro-groups as substitutes for the aromatic rings in position 2 and 3 of the quinazoline ring. Below are some derivatives that can be “lead” molecule for their interaction and mode of action with DNA. Some of these derivatives are presented below.



At the same time, green solvents and specifically natural deep eutectic solvents (NaDES) were used to improve the synthesis reactions giving a greener character to these reactions. Deep Eutectic Solvents (DES) as well as Natural Deep Eutectic Solvents (NaDES) are mixtures of two or more components which are liquid at ambient temperature. They belong to the category of green solvents as they are characterized by low toxicity, they are recyclable and biodegradable. They have a variety of applications, one promising of which is their use as solvents and catalysts in the synthesis of organic compounds.

In the context of this PhD thesis, the synthesis and characterization of three different series of NaDES based on choline, betaine and amino acids as well as organic acids was carried out. A total of 20 NaDES were synthesized and comparatively evaluated for their degradability in the synthesis of quinazolinone analogues through a Multicomponent Reactions (MCRs) and the use of ultrasound. NaDES consisting of choline chloride and lactic acid showed higher efficiency and was therefore used in the majority of reactions.

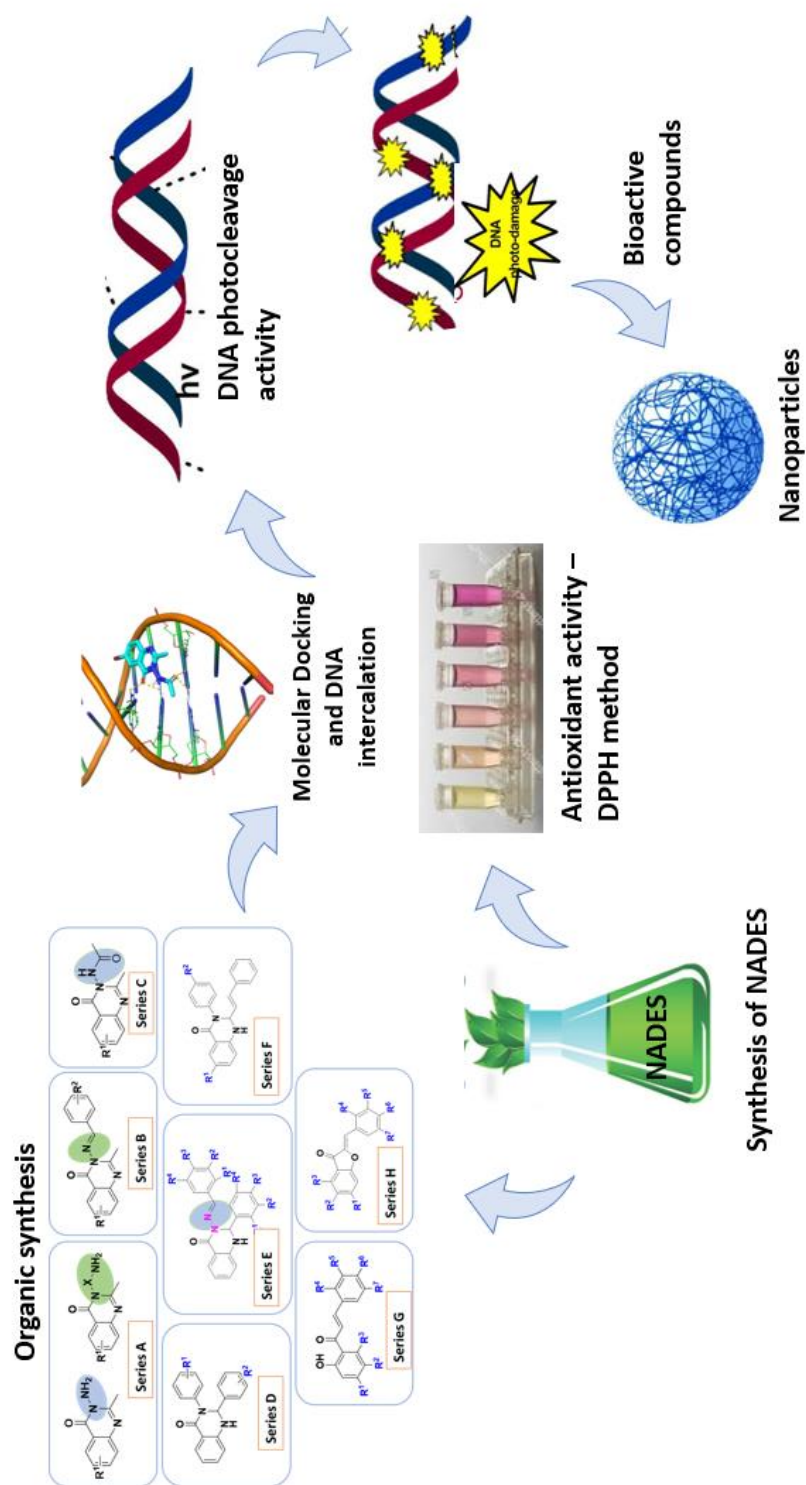
With the above methodology, 53 molecules of 2,3-dihydroquinazoline-4(1H)-ones were synthesized, while at the same time the "green" character of each composition was comparatively examined using quantitative indicators and the recycling and reuse of NaDES in these reactions where up to three replicates were performed with success and high yields.

In addition, natural deep eutectic solvents (NADES) were also evaluated for their ability to interact with DNA so that they could be used as alternative solvents in biological applications. The activity of both the raw materials, i.e. the natural components that synthesized each NaDES, the 20 synthesized NaDES as well as the natural mixtures were studied and evaluated. From the results obtained, it appeared that the use of NaDES based on choline chloride exhibited a stronger interaction with DNA than those synthesized on the basis of betaine.

Finally, selected quinazolinone derivatives were successfully encapsulated in selected biodegradable carriers in order to modify their physicochemical properties, e.g. increasing water solubility. The nanoparticles were characterized structurally by NMR and FT-IR spectroscopy, for their size and ζ -potential by dynamic light scattering (DLS), thermally by TGA and DSC techniques and for their morphology by scanning electron microscopy (SEM). In particular, in this PhD thesis, the encapsulation of the quinazolinone derivatives **4f**, **10d** in PLA and β -CD matrices was carried out, while for the lead compound **3e** three types of cyclodextrins were used (β -CDs, Me- β -CD, HP- β -CD). In addition, the development of a suitable encapsulation methodology with PLA using NaDES solvent was achieved. Finally, a study of the release profile of the molecules was carried out as well as a study and evaluation of the complexes in terms of their interaction with DNA.

Key-words: Deep Eutectic Solvents (DES), Natural Deep Eutectic Solvents (NaDES), Quinazolinones, 2,3-dihydroquinazolinones, multi-component reactions (MCRs), ultrasound technique, DNA photocleavage activity, DNA binding, DNA intercalation, antioxidant activity, β -cyclodextrins (β -CDs), polylactic acid (PLA).

GRAPHICAL ABSTRACT



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	xiv
ABSTRACT.....	ii
GRAPHICAL ABSTRACT.....	vi
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	vii
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ.....	x
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	xiv
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	xviii
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ	xxi
ΑΚΡΩΝΥΜΑ.....	xxii
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ^ο	1
ΦΥΣΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΩΣ ΠΗΓΗ ΕΜΠΙΝΕΥΣΗΣ ΣΤΗΝ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ	2
1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	2
1.2 ΚΙΝΑΖΟΛΙΝΟΝΕΣ.....	3
1.3 2,3 ΔΙΥΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝΟΝΕΣ.....	14
1.4 ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ-ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	18
1.5 ΩΡΟΝΕΣ.....	18
1.5 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ.....	25
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ^ο	32
ΒΑΘΕΩΣ ΕΥΤΗΚΤΙΚΟΙ ΔΙΑΛΥΤΕΣ, ΔΟΜΗ, ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ, ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΝΕΩΝ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΜΟΡΙΩΝ	33
2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	33
2.2 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ.....	53
2.3 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ, ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΒΑΘΕΩΣ ΕΥΤΗΚΤΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ (NADES)	61
2.4 ΣΥΝΘΕΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΒΑΘΕΩΣ ΕΥΤΗΚΤΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ (NADES)	63
2.5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ	71
2.6 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΦΥΣΙΚΩΝ ΒΑΘΕΩΣ ΕΥΤΗΚΤΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ (NADES) ΚΑΙ ΘΕΠΑΠΕΥΤΙΚΩΝ ΒΑΘΕΩΣ ΕΥΤΗΚΤΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ (THEDES)	80
2.7 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ NADES ΜΕ ΤΟ DNA.....	84
2.8 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	96
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ^ο	98
3.1 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΝΕΩΝ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΜΟΡΙΩΝ.....	99
3.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	111
3.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ	160
3.4 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	170

3.5 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ.....	171
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ^ο	173
4.1 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΝΕΩΝ ΚΙΝΑΖΟΛΙΝΙΚΩΝ ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΚΑΙ ΩΡΟΝΩΝ	174
4.1.1 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ.....	174
4.1.2 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕ ΤΟ DNA.....	175
4.1.3 ΦΩΤΟΔΙΑΣΠΑΣΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕ ΤΟ DNA.....	192
4.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	201
4.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ	206
4.4 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	259
4.5 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ.....	261
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 ^ο	268
5.1 ΜΕΛΕΤΗ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΜΟΡΙΩΝ ΣΕ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ.....	269
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	269
5.2 ΠΟΛΥΜΕΡΙΚΑ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ (Polymeric NPs)	274
5.3 ΚΥΚΛΟΔΕΕΤΡΙΝΕΣ.....	280
5.4 ΣΚΟΠΟΣ	287
5.5 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	290
5.5.1 ΥΛΙΚΑ.....	290
5.5.2 ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΜΕ ΠΟΛΥ(ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ) ΟΞΥ (PLA). ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΕΞΑΤΜΙΣΗ ΤΟΥ ΔΙΑΛΥΤΗ).....	290
5.5.3 ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΣΕ ΚΥΚΛΟΔΕΕΤΡΙΝΕΣ	292
5.5.4 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ	295
5.5.5 ΜΕΛΕΤΗ ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΣΗΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΤΩΝ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ PLA.....	297
5.5.6 ΜΕΛΕΤΗ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΜΕ ΤΟ DNA IN VITRO.....	298
5.6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	300
5.7 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ.....	336
5.7.1 ΜΕΛΕΤΗ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΣΕ β-CD ΜΕ ΤΟ DNA ΘΥΜΟΥ ΑΔΕΝΑ (CT-DNA)	336
5.7.2 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΠΟΛΥ(ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ) PLA.....	339
5.8 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	342
5.9 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ.....	343

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6ο ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ.....	347
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ.....	348
6.1 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	348
6.2 ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ.....	350

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1.1: Ενδεικτικές ετεροκυκλικές χημικές δομές που ανήκουν στην οικογένεια των αλκαλοειδών.....	3
Σχήμα 1.2: Επιλεγμένες φυσικές κιναζολινόνες.....	4
Σχήμα 1.3: Χημική δομή 2-κυανοκιναζολινόνης.....	5
Σχήμα 1.4: Χημικές δομές κιναζολινικών αναλόγων.....	5
Σχήμα 1.5: Ταυτομερικές δομές κιναζολινόνης.....	5
Σχήμα 1.6: Ενδεικτικά κιναζολινικά παράγωγα υποψήφια ως φάρμακα.....	6
Σχήμα 1.7: Χημικές δομές κιναζολινικών παραγώγων με αντικαρκινική δράση.....	7
Σχήμα 1.8: Χημικές δομές κιναζολινικών αναλόγων με ανθελονοσιακή δράση.....	7
Σχήμα 1.9: Ενδεικτικές δομές κιναζολινονών με αντιοξειδωτική δράση.....	8
Σχήμα 1.10: Χημικές δομές κιναζολινονών με αντιμικροβιακή δράση.....	8
Σχήμα 1.11: Κιναζολινικά παράγωγα που μελετήθηκαν για την θεραπεία της νόσου COVID-19.....	9
Σχήμα 1.12: Πιθανές θέσεις υποκαταστατών στο δακτύλιο της κιναζολινόνης.....	9
Σχήμα 1.13: Κιναζολινικά παράγωγα εγκεκριμένα από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA).....	13
Σχήμα 1.14: Φαρμακολογικές δράσεις παραγώγων 2,3-διϋδροκιναζολι-4(1H)-ονών.....	15
Σχήμα 1.15: Δομή των 2,3-διϋδροκιναζολιν-4(1H)-ονών.....	15
Σχήμα 1.16: 2,3-Διϋδροκιναζολιν-4(1H)-όνες καλοί αναστολείς ανάπτυξης κυτταρικών σειρών καρκίνου του μαστού (I-V) και καρκίνου του παγκρέατος (VI).....	16
Σχήμα 1.17: 2,3-Διϋδροκιναζολιν-4(1H)-όνες με αντιοξειδωτική δράση.....	16
Σχήμα 1.18: 2,3-Διϋδροκιναζολιν-4(1H)-όνες με αντιβακτηριακή δράση.....	17
Σχήμα 1.19: 2,3-Διϋδροκιναζολιν-4(1H)-όνες με ανασταλτική δράση του ενζύμου α-γλυκοζιδάση για τη δράση ενάντια του διαβήτη τύπου 2.....	17
Σχήμα 1.20: 2,3-Διϋδροκιναζολιν-4(1H)-όνη που δρα ως αναστολέας του TRPM2.....	18
Σχήμα 1.21: Βασική δομή φλαβονοειδών.....	18
Σχήμα 1.22: Βασική δομή ωρονών.....	19
Σχήμα 1.23: Ωρόνες με αντικαρκινική δράση.....	20
Σχήμα 1.24: Ένωση με αντικαρκινική δράση σύμφωνα με NCI.....	20
Σχήμα 1.25: Αναστολή των εξαρτώμενων από κυκλίνη κινάσεων CDK1, CDK2 και CDK4 από ωρόνες και φλαβοπιριδόλη (χρησιμοποιείται ως αναφορά).....	21
Σχήμα 1.26: Ωρόνες με αντιφλεγμονώδη δράση.....	22
Σχήμα 1.27: Ωρόνες που παρουσιάζουν χαμηλότερη τιμή IC ₅₀ από τη ντονεπεζίλη.....	23
Σχήμα 1.28: Ωρόνες με ισχυρή αντιλεϊσμανιακή δράση.....	23
Σχήμα 1.29: Ωρόνες με ενισχυμένη ικανότητα σύνδεσης σιδήρου.....	24
Σχήμα 1.30: Ωρόνες που λειτουργούν ως παρεμβολείς στο DNA.....	24
Σχήμα 2.1: Κοινοί δέκτες δεσμών υδρογόνου (HBA) και δότες δεσμών υδρογόνου (HBD) που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή των βάθως ευτηκτικών διαλυτών (DES).....	36
Σχήμα 2.2: Ενδεικτικά φυσικά συστατικά για τον σχηματισμό NaDESs.....	38
Σχήμα 2.3: Χημικές δομές ενδεικτικών ενεργών φαρμακευτικών συστατικών (active pharmaceutical ingredients, APIs).....	44
Σχήμα 2.4: Σύνθεση NaDES με βάση την χλωριούχο χολίνη.....	63
Σχήμα 2.5: Δομή του NaDES Χλωριούχος χολίνη/Γαλακτικό οξύ.....	72

Σχήμα 2.6: Δομή του NaDES12 (Be/LA) με αριθμημένες θέσεις.....	74
Σχήμα 2.7: Δομή του NADES16 (Προλίνη-Γαλακτικό οξύ.....	78
Σχήμα 2.8: Πρότυπη αντίδραση για τον εντοπισμό του κατάλληλου NaDES των αντιδράσεων πολλαπλών συστατικών για την σύνθεση διϋδροκιναζολινικών αναλόγων.....	81
Σχήμα 3.1: Γενική χημική δομή αναλόγων σειράς A.....	99
Σχήμα 3.2: Γενικές χημικές δομές Σειρών Β και Γ.....	100
Σχήμα 3.3: Γενικές δομές Σειρών Δ, Ε και ΣΤ.....	100
Σχήμα 3.4: Γενική δομή Σειρών Ζ και Η.....	101
Σχήμα 3.5: Συνθετική πορεία 2-μεθυλο-3-υποκατεστημένων κινάζολιν-4(3H)-ονών.....	102
Σχήμα 3.6: 3,3'-(ethane-1,2-diyl)bis (2-methylquinazolin-4(3H)-on.....	102
Σχήμα 3.7: Συνθετική πορεία αναλόγων Σειράς Β, (i) Ac ₂ O, MW (17–22 min), 250 W, T = 120–150 °C, (ii) N ₂ H ₄ ·H ₂ O, EtOH, MW (20–33 min), 250 W, T = 120–150 °C, (iii) σταγόνες πιπεριδίνης, EtOH, reflux.....	103
Σχήμα 3.8: Συνθετική πορεία των αναλόγων της σειράς Γ, (i) Ac ₂ O, MW (17–22 min), 250 W, T = 120–150 °C, (ii) N ₂ H ₄ ·H ₂ O, EtOH, MW (20–33 min), 250 W, T = 120–150 °C, (iii) AcOCl, dry toluene reflux, 12 h-24h.....	104
Σχήμα 3.9: Συνθετική πορεία αναλόγων σειράς Δ με την χρήση ισατοϊκού ανυδρίτη, κατάλληλων υποκατεστημένων βενζαλδεϋδών και ανιλίνης ως πρώτων υλών και χρήση φυσικών βαθέων ευτηκτικών διαλυτών ως διαλύτες και καταλύτες της αντίδρασης.....	105
Σχήμα 3.10: Συνθετική πορεία αναλόγων σειράς Δ με την χρήση ισατοϊκού ανυδρίτη, κατάλληλων υποκατεστημένων βενζαλδεϋδών και τολουιδίνης ως πρώτων υλών και χρήση φυσικών βαθέων ευτηκτικών διαλυτών ως διαλύτες και καταλύτες της αντίδρασης.....	105
Σχήμα 3.11: Συνθετική πορεία αναλόγων σειράς Δ με την χρήση ισατοϊκού ανυδρίτη, κατάλληλων υποκατεστημένων βενζαλδεϋδών και 4-φθόρο ανιλίνης ως πρώτων υλών και χρήση φυσικών βαθέων ευτηκτικών διαλυτών ως διαλύτες και καταλύτες της αντίδρασης.....	106
Σχήμα 3.12: Συνθετική πορεία αναλόγων σειράς Δ με την χρήση ισατοϊκού ανυδρίτη, κατάλληλων υποκατεστημένων βενζαλδεϋδών και 4-χλωρο-ανιλίνης ως πρώτων υλών και χρήση φυσικών βαθέων ευτηκτικών διαλυτών ως διαλύτες και καταλύτες της αντίδρασης.....	106
Σχήμα 3.13: Συνθετική πορεία αναλόγων σειράς Δ με την χρήση ισατοϊκού ανυδρίτη, κατάλληλων υποκατεστημένων βενζαλδεϋδών και 1,4 φαινυλενοδιαμίνης ως πρώτων υλών και χρήση φυσικών βαθέων ευτηκτικών διαλυτών ως διαλύτες και καταλύτες της αντίδρασης.....	107
Σχήμα 3.14: Συνθετική πορεία αναλόγων σειράς Δ με την χρήση ισατοϊκού ανυδρίτη, κυκλοπεντα-2,4διεν-1-καρβαλδεϋδης και κατάλληλα υποκατεστημένης ανιλίνης ως πρώτων υλών και χρήση φυσικών βαθέων ευτηκτικών διαλυτών ως διαλύτες και καταλύτες της αντίδρασης.....	107
Σχήμα 3.15: Προτεινόμενος μηχανισμός κατά την σύνθεση 2,3 διϋδροκιναζολινονών.....	108
Σχήμα 3.16: Συνθετική πορεία αναλόγων σειράς Ε.....	109
Σχήμα 3.17: Συνθετική πορεία αναλόγων σειράς ΣΤ.....	109

Σχήμα 3.18: Συνθετική πορεία αναλόγων σειράς Ζ.....	110
Σχήμα 3.19: Συνθετική πορεία αναλόγων σειράς Η.....	110
Σχήμα 3.20: Σύνθεση παραγώγων Σειράς Α.....	160
Σχήμα 3.21: Σύνθεση παραγώγων Σειράς Β.....	161
Σχήμα 3.22: Σύνθεση αναλόγων Σειράς Γ.....	163
Σχήμα 3.23: Σύνθεση αναλόγων Σειράς Δ.....	164
Σχήμα 3.24: Σύνθεση αναλόγων Σειράς Ε.....	165
Σχήμα 4.1: Δομή προφλαβίνης (αριστερά), δομή νογαλαμυκίνης (δεξιά).....	180
Σχήμα 4.2: Ενδεικτικές ενώσεις παρεμβολείς του DNA.....	183
Σχήμα 4.3: Φυσική και πρωτονιωμένη μορφή ellipticine.....	184
Σχήμα 4.4: Ακτινομυκίνη D.....	184
Σχήμα 4.5: R= NO ₂ Μιτοναφίδιο, R= NH ₂ Αμοναφίδιο.....	184
Σχήμα 4.6: (Αριστερά) διτερκαλίνιο, (δεξιά) ελιναφίδιο.....	185
Σχήμα 4.7: (Αριστερά) εχινομυκίνη, (δεξιά) τρόπος παρεμβολής εχινομυκίνης στο DNA.....	186
Σχήμα 4.8: Παραδείγματα χημικών δομών διαρυλαμιδινών.....	187
Σχήμα 4.9: Χημικές δομές των παραγώγων της διβενζιμιδαζόλης.....	187
Σχήμα 4.10: Χημική δομή ET-743.....	188
Σχήμα 4.11: Χημικές δομές αναλόγων πυρολοβενζοδιαπεζινών.....	188
Σχήμα 4.12: Χημική δομή της Δισταμυκίνη Α.....	189
Σχήμα 4.13: Χημικές δομές αναλόγων πλουραμυκίνης.....	189
Σχήμα 4.14: Χημικές δομές αναλόγων αφλατοξίνης.....	190
Σχήμα 4.15: Χημική δομή της Αζινομυκίνη Β.....	190
Σχήμα 4.16: Χημική δομή λειναμυκίνης πριν και μετά την βιολογική ενεργοποίηση της.....	191
Σχήμα 4.17: Χημική δομή της Νεοκαρζινοστατίνη.....	191
Σχήμα 4.18: Χημικές δομές αναλόγων αμινογλυκοσιδών.....	192
Σχήμα 4.19: Χημική δομή Ψωραλενίου.....	195
Σχήμα 4.20: Ενδεικτικές παραδείγματα φωτοδιασπαστών DNA, αλδοξίμες (I), οι κετοξίμες (II) και οι αμιδοξίμες (III).....	196
Σχήμα 4.21: Διάσπαση του DNA από ανάλογα φωτόλυσης εστέρων οξίμης (μινλική και καρβοξυλική ρίζα).....	196
Σχήμα 4.22: Διάσπαση του DNA από ανάλογα φωτόλυσης εστέρων αμιδοξίμης.....	196
Σχήμα 4.23: Ενδεικτικά κινάζολινικά ανάλογα ως φωτοδιασπαστικοί παράγοντες στο DNA.....	197
Σχήμα 4.24: Ενδεικτικά παραδείγματα πορφυρινικών φωτοευαισθητοποιητών.....	198
Σχήμα 4.25: Ενδεικτικά παραδείγματα μη - πορφυρινικών φωτοευαισθητοποιητών.....	198
Σχήμα 4.26: (Πάνω) χημική δομή της κουρκουμίνης, (κάτω) χημική δομή της φουρανοκουμαρίνης.....	199
Σχήμα 4.27: Χημική δομή πορφυρίνης.....	199
Σχήμα 4.28: Χημική δομή φθαλοκυανίνης.....	199
Σχήμα 4.29: Χημικές δομές 3e, 5g και 6e που εμφανίζουν ισχυρή αλληλεπίδραση με το DNA.....	228
Σχήμα 4.30: Γενικευμένη δομή κινάζολινονών 10e, 11e και 12g.....	229

Σχήμα 4.31: Γενικευμένη δομή κιναζολινικών αναλόγων 17a-17f.....	230
Σχήμα 4.32: Ένωση οδηγός 3e και σχεδιασμός νέων παραγώγων 4a-4p (παράγωγα της θέσης 3), 5a-5i (παράγωγα ιμινών), 6a-6g (παράγωγα ακεταμιδίων) ως πιθανοί φωτοευαίσθητοποιητές.....	232
Σχήμα 4.33: Χημικές δομές (α) 2-μεθυλο-3-αμινο-6-υποκατεστημένων κιναζολινονών. και (β) 2-μεθυλο-3,6-υποκατεστημένων κιναζολινονών.....	232
Σχήμα 4.34: Χημικές δομές 4f και 4i 6-βρωμο=2-μεθυλο-3-υποκατεστημένων κιναζολινονών.....	234
Σχήμα 4.35: Χημική δομή του μορίου 4n.....	235
Σχήμα 4.36: Χημικές δομές 4e και 4i.....	236
Σχήμα 4.37: Χημικές δομές της Σειράς A 4a-4o με ικονοποιητική δράση.....	240
Σχήμα 4.38: Χημικές δομές της Σειράς A 4a-4o που επιλέχθηκαν και μελετήθηκαν με φωτοβόληση στα 365 nm.....	242
Σχήμα 4.39: Χημικές δομές (α) 2-μεθυλο-3-αμινο-6-υποκατεστημένων κιναζολινονών. και (β) ιμινών.....	242
Σχήμα 4.40: Χημικές δομές ιμινών 5a-5g.....	243
Σχήμα 4.41: Χημικές δομές (α) 2-μεθυλο-3-αμινο-6-υποκατεστημένων κιναζολινονών. και (β) ακεταμιδίων.....	245
Σχήμα 4.42: Χημικές Δομές ακεταμιδίων. 6a-6e.....	246
Σχήμα 4.43: Χημική δομή διυδροκιναζολινικών αναλόγων.....	248
Σχήμα 4.44: Επιλεγμένες χημικές δομές διυδροκιναζολινικών αναλόγων που μελετήθηκαν.....	249
Σχήμα 4.45: Χημικά δομικά ανάλογα διυδροκιναζολινονών προς μελέτη της πιθανής ικανότητάς τους να διασπών το DNA κάτω από την επίδραση φωτοβόλησης.....	250
Σχήμα 4.46: Επιλεγμένα χημικά δομικά ανάλογα διυδροκιναζολινονών προς μελέτη της πιθανής ικανότητάς τους να διασπών το DNA κάτω από την επίδραση φωτοβόλησης.....	251
Σχήμα 4.47: Χημικά ανάλογα κιναζολινονών με ισχυρή δράση στην UVB φωτοβόληση.....	252
Σχήμα 4.48: Χημικά ανάλογα κιναζολινονών 18a-18c.....	254
Σχήμα 4.49: Χημικά ανάλογα διυδροκιναζολινονών με ισχυρή δράση στην UVA φωτοβόληση.....	256
Σχήμα 4.50: Μόρια οδηγοί για την ανάπτυξη νέων αναλόγων με ισχυρή δράση.....	260
Σχήμα 5.1.: Στερεοχημεία του γαλακτικού οξέος και των λακτιδίων.....	275
Σχήμα 5.2: Δομή PLA.....	276
Σχήμα 5.3: Μέθοδος σύνθεσης πολυ(γαλακτικού) οξέος με διάνοιξη δακτυλίου.....	277
Σχήμα 5.4: Οι πιο κοινές κυκλοδεξτρίνες: α-CD, β-CD, γ-CD.....	281
Σχήμα 5.5: Δομή β-κυκλοδεξτρίνης (R=H), μέθυλο-β-κυκλοδεξτρίνης(R=CH ₃) και 2-υδροξυπροπυλο-β-κυκλοδεξτρίνης (R=CH ₂ CH(OH)CH ₃).....	282
Σχήμα 5.6 : Χημική δομή της προς εγκλεισμό 3-(2-αμινοαιθυλο)-6-βρωμο-2-μεθυλοκιναζολιν-4(3H)-όνης, 4f.....	301
Σχήμα 5.7: Χημική δομή της προς εγκλεισμό 2-(4-μεθοξυφαινυλο)-3-φαινυλο-2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)-όνης (10d).....	305

Σχήμα 5.8: Χημική δομή της προς εγκλεισμό ένωσης 6-βρωμο-2-μεθυλο-3-αμινοκινναζολιν-4(3H)-όνη (3e).....	320
Σχήμα 6.1: Συνολικά παράγωγα που συντέθηκαν.....	348
Σχήμα 6.2: Ενδεικτικά νέα κινναζολινικά παράγωγα με αξιόλογη δράση.....	349

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1.1: Ενδεικτικά παραδείγματα φυσικών κινναζολινονών.....	4
Εικόνα 1.2.: <i>Ενδεικτικά ανθοφόρα φυτά που σχετίζονται με τις 4-δεοξυωρόνες (αριστερά) και 4-υδροξυωρόνες (δεξιά)</i>	19
Εικόνα 2.1: Σταθμοί στην ιστορία των βαθέως ευτηκτικών διαλυτών (DES)	34
Εικόνα 2.2: Τέσσερις τύποι βαθέων ευτηκτικών διαλυτών (DES) με βάση τον γενικό τύπο $Cat^+ X^-$ 3: Φάσμα 1H NMR ($CDCl_3$, 600MHz) της 3-αιθυλενοδιαμινο-2-μεθυλο-6-βρωμοκινναζολιν-4-όνη (4f) στην περιοχή 2.0-3.5 ppm.....	35
Εικόνα 2.3: Ενδεικτικά παραδείγματα πειραματικής διαλυτότητας APIs με την χρήση DES ως εναλλακτικών διαλυτών.....	45
Εικόνα 2.4: Ανάμιξη του DNA με ILs και DESs.....	52
Εικόνα 2.5: Απεικόνιση του συνδυασμού ενός δότη (HBD) και ενός δέκτη (HBA) πρωτονίου με σκοπό τη σύνθεση ενός ευτηκτικού μίγματος.....	62
Εικόνα 2.6: Φάσμα πρωτονίου 1H NMR (600 MHz, $DMSO-d_6$) του NaDES Χλωριούχος χολίνη/Γαλακτικό οξύ.....	72
Εικόνα 2.7: Φάσμα πρωτονίου 1H NMR (600 MHz, $DMSO-d_6$) του NaDES 12.....	75
Εικόνα 2.8: Φάσμα πρωτονίου FT-IR του NaDES12.....	76
Εικόνα 2.9: Φάσμα πρωτονίου 1H NMR (600MHz, $DMSO$) του NaDES 16.....	78
Εικόνα 2.10: Φάσμα FT-IR του NaDES16.....	79
Εικόνα 2.11: Αντιδράσεις πολλαπλών συστατικών (MCRs). Τρία ή περισσότερα συστατικά αντιδρούν σε ένα μόνο δοχείο αντίδρασης ώστε να παραχθεί ένα τελικό προϊόν.....	80
Εικόνα 2.12: Ανακύκλωση και επαναχρησιμοποίηση του NADES 5. (1) αρχικό NADES 5 πριν από χρήση, (2) NADES 5 μετά από την πρώτη ανακύκλωση, (3) NADES 5 μετά την δεύτερη ανακύκλωση.....	83
Εικόνα 2.13: Υπολογιστική μελέτη αλληλεπίδρασης τρυγικού οξέος - DNA.....	87
Εικόνα 2.14: Υπολογιστική μελέτη αλληλεπίδρασης γλυκερόλης - DNA.....	87
Εικόνα 2.15: Φάσματα UV απορρόφησης των φυσικών συστατικών (a) χλωριούχος χολίνη, (b) βεταΐνη, (c) προλίνη και (k) αλανίνη.....	93
Εικόνα 2.16: Φάσμα UV διαλύματος του NaDES5 συγκέντρωσης 100μM παρουσία CT-DNA σε διάφορες συγκεντρώσεις (0-400μM). Τα βέλη υποδηλώνουν την αύξηση της απορρόφησης με ταυτόχρονη μετατόπιση του λ_{max} προς μεγαλύτερα μήκη κύματος.....	94
Εικόνα 2.17: Φάσμα UV διαλύματος του φυσικού μίγματος χολίνης-γαλακτικού οξέος συγκέντρωσης 100μM παρουσία CT-DNA σε διάφορες συγκεντρώσεις (0-400μM).....	94
Εικόνα 2.18: Φάσματα απορρόφησης NaDES5 (αριστερά) και το NaDES12 (δεξιά).....	95
Εικόνα 3.1: Φάσμα 1H NMR ($CDCl_3$, 600MHz) της 3-αιθυλενοδιαμινο-2-μεθυλο-6-βρωμοκινναζολιν-4-όνη (5f).....	162
Εικόνα 3.2: Φάσμα πρωτονίου 1H NMR του κινναζολινικού αναλόγου 6c.....	163
Εικόνα 3.3: Φάσμα πρωτονίου 1H NMR (600 MHz, $DMSO$) της ένωσης 10i.....	165

Εικόνα 3.4: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 17b.....	166
Εικόνα 3.5: Υψηλά πεδία του φάσματος της ένωσης 17b.....	167
Εικόνα 3.6: Φάσμα MS του μορίου 17b.....	167
Εικόνα 3.7: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 19.....	168
Εικόνα 3.8: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 20a.....	169
Εικόνα 4.1: Η αντίδραση του DPPH με δεσμευτές ελεύθερων ριζών.....	174
Εικόνα 4.2: (A) εξωτερική συναρμογή στην μεγάλη αύλακα, (B) εξωτερική συναρμογή στην μικρή αύλακα, (C) εσωτερική παρεμβολή.....	176
Εικόνα 4.3: Σχηματική απεικόνιση των δύο διαμορφώσεων του DNA (-A και -B) και απεικόνιση του δότη/αποδέκτη δεσμού υδρογόνου στην μικρή και μεγάλη αύλακα, αντίστοιχα.....	179
Εικόνα 4.4: Βασικές εφαρμογές της μοριακής μοντελοποίησης (molecular docking).....	178
Εικόνα 4.5: Απεικόνιση του τρόπου δέσμευσης της προφλαβίνης και της νογαλμυκίνης στο DNA.....	181
Μηχανισμός Φωτοδυναμικής Θεραπείας μέσω διέγερσης του φωτοευαίσθητοποιητή (PS).....	193
Εικόνα 4.7: Δοκιμή DPPH.....	201
Εικόνα 4.8: Σχηματική απεικόνιση της δέσμευσης της 3e στην κρυσταλλική δομή του DNA που απεικονίζει την σταθεροποίησή της στην μικρή αύλακα. (a) Απεικόνιση της δομής του DNA και της 3e ως κινούμενα σχέδια, (b) Απεικόνιση της δομής του DNA και της 3g ως σφαίρες, (c) θέση σύνδεσης της 3g από μια οπτική πάνω από τον άξονα της έλικας, (d) απεικόνιση των δεσμών υδρογόνου με κίτρινες διακεκομμένες γραμμές και των νουκλεοτιδίων.....	215
Εικόνα 4.9: Σχηματική απεικόνιση της δέσμευσης της 5g στην κρυσταλλική δομή του DNA που απεικονίζει την σταθεροποίησή της στην μικρή αύλακα. (a) Απεικόνιση της δομής του DNA και της 5g ως κινούμενα σχέδια, (b) Απεικόνιση της δομής του DNA και της 5g ως σφαίρες, (c) θέση σύνδεσης της 5g από μια οπτική πάνω από τον άξονα της έλικας, (d) απεικόνιση των δεσμών υδρογόνου με κίτρινες διακεκομμένες γραμμές και των νουκλεοτιδίων.....	215
Εικόνα 4.10: Σχηματική απεικόνιση της δέσμευσης της 6e στην κρυσταλλική δομή του DNA που απεικονίζει την σταθεροποίησή της στην μικρή αύλακα. (a) Απεικόνιση της δομής του DNA και της 6e ως κινούμενα σχέδια, (b) Απεικόνιση της δομής του DNA και της 6e ως σφαίρες, (c) θέση σύνδεσης της 6e από μια οπτική πάνω από τον άξονα της έλικας, (d) απεικόνιση των δεσμών υδρογόνου με κίτρινες διακεκομμένες γραμμές και των νουκλεοτιδίων.....	217
Εικόνα 4.11: Σχηματική απεικόνιση της δέσμευσης της 10h στην κρυσταλλική δομή του DNA που απεικονίζει την σταθεροποίησή της στην μικρή αύλακα.....	218
Εικόνα 4.12: Σχηματική απεικόνιση της δέσμευσης της 10f στην κρυσταλλική δομή του DNA που απεικονίζει την σταθεροποίησή της στην μικρή αύλακα.....	218
Εικόνα 4.13: Αλληλεπίδραση των ενώσεων 3e (α), 5g (β), 6e (γ) με το DNA μέσω της τιτλοδότησης UV-Vis.....	229
Εικόνα 4.14: Φάσμα UV διαλύματος των ενώσεων 12g (α), 11e ($-\text{CH}_3$) (β) και 14a ($-\text{NH}_2$) (γ) συγκέντρωσης 25 μM παρουσία CT-DNA σε διάφορες συγκεντρώσεις (0-50 μM). Τα βέλη υποδηλώνουν τις μεταβολές που παρατηρούνται κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων DNA.....	230

Εικόνα 4.15: Φάσμα UV διαλύματος της ένωσης 17d σε διάφορες συγκεντρώσεις (0-100μM). Τα βέλη υποδηλώνουν τις μεταβολές που παρατηρούνται κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων DNA.....	231
Εικόνα 4.16: Μορφές πλασμιδιακού DNA: Μορφή I η οποία αντιστοιχεί στο (κυκλικό υπερελικωμένο πλασμίδιο), Μορφή II (Form II), (χαλαρή μορφή με τη θραύση στη μία αλυσίδα του DNA) και Μορφή III (Form III) (γραμμικό πλασμίδιο).....	233
Εικόνα 4.17: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm για επιλεγμένα παράγωγα της σειράς 4a-4o και ποσοστό μετατροπής %.....	234
Εικόνα 4.18: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm για την ένωση 4f σε διαφορετικές συγκεντρώσεις και ποσοστό μετατροπής %.....	232
Εικόνα 4.19: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm για την ένωση 4f σε διαφορετικές συγκεντρώσεις και ποσοστό μετατροπής %.....	233
Εικόνα 4.20: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm της ένωσης 4f σε συγκεντρώση 25 μM με διαφορετικές συνθήκες επίδρασης για την μελέτη του μηχανισμού δράσης.....	237
Εικόνα 4.21: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm.....	238
Εικόνα 4.22: Αποτελέσματα ακτινοβόλησης για τα παράγωγα 4e και 4i.....	239
Εικόνα 4.23: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365 nm.....	241
Εικόνα 4.24: Αποτελέσματα φωτοβόλησης ιμινών (5a-5h) με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm.....	243
Εικόνα 4.25: Αποτελέσματα φωτοβόλησης ιμινών (5a-5h) με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365 nm.....	244
Εικόνα 4.26: Αποτελέσματα φωτοβόλησης ακεταμιδίων (6a-6e) με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm.....	246
Εικόνα 4.27: Αποτελέσματα φωτοβόλησης ακεταμιδίων (6a-6e) με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365 nm.....	247
Εικόνα 4.28: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινικών αναλόγων με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm, σε απόσταση 15 cm και ποσοστό μετατροπής (%).....	249
Εικόνα 4.29: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινικών αναλόγων με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm, σε απόσταση 15 cm και ποσοστό μετατροπής (%).....	251
Εικόνα 4.30: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινονών με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm και ποσοστό μετατροπής %.....	253
Εικόνα 4.31: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινονών με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm και ποσοστό μετατροπής %.....	254
Εικόνα 4.32: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινονών με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365 nm και ποσοστό μετατροπής %.....	255
Εικόνα 4.33: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινονών με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365 nm και ποσοστό μετατροπής %.....	256
Εικόνα 4.34: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινονών με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365 nm και ποσοστό μετατροπής %.....	257
Εικόνα 4.35: Αποτελέσματα φωτοβόλησης χαλκονών-ωρονών με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365 nm και ποσοστό μετατροπής %.....	258
Εικόνα 5.1: Σύγκριση μεγεθών των νανοϋλικών.....	269
Εικόνα 5.2: Η κούπα του Λυκούργου. ο γυαλί εμφανίζεται πράσινο στο ανακλώμενο φως (A) και κόκκινο-μοβ στο μεταδιδόμενο φως (B).....	270

Εικόνα 5.3: Επίδραση των νανοσωματιδίων στα διαφορετικά χρώματα του βιτρό.....	271
Εικόνα 5.4: Χρονοδιάγραμμα έγκρισης θεραπευτικών νανο- και μικροσωματιδίων (NPs) από την FDA. Σημαντικοί σταθμοί για τις εφαρμογές της νανοτεχνολογίας στον τομέα της Ιατρικής.....	272
Εικόνα 5.5: Βιβλιογραφικές αναφορές. (α) Ετήσιος αριθμός νανοϊατρικών δημοσιεύσεων παγκοσμίως. (β) Διανομή δημοσιεύσεων μεταξύ των τομέων της νανοϊατρικής. (γ) Γεωγραφική κατανομή νανοϊατρικών δημοσιεύσεων.....	273
Εικόνα 5.6: Ενδεικτικά είδη νανοθεραπευτικών υλικών που χρησιμοποιούνται σε κλινικές δοκιμές.....	273
Εικόνα 5.7: Σύγκριση δομής νανοκάψουλας και νανοσφαίρας.....	274
Εικόνα 5.8: Δομή κυκλοδεξτρίνης.....	281
Εικόνα 5.9: Πιθανές αναλογίες φιλοξενούμενου μορίου/κυκλοδεξτρίνης προς σχηματισμό συμπλόκων.....	285
Εικόνα 5.10: Σχηματικό διάγραμμα εγκλεισμένου φωτοευαισθητοποιητή (PS) σε (Α) λιποσώματα, (Β) πολυμερικά νανοσωματίδια και (Γ) πολυμερικά μικκύλια.....	287
Εικόνα 5.11: Σχηματική παρουσίαση παθητικής στοχευμένης φωτοδυναμικής θεραπείας. (PDT). Οι φωτοευαισθητοποιητές (PS) που εγκλείονται σε νανοφορείς μπορούν να φτάσουν στους όγκους επιλεκτικά στο σημείο του όγκου.....	288
Εικόνα 5.12: Κατανομή μεγεθών του δείγματος 4f-NPs (νανοσωματίδια PLA με εγκλεισμένη την κιναζολινόνη 4f σε διαλύτη DMSO).....	302
Εικόνα 5.13: Κατανομή μεγεθών του δείγματος 4f-NPs-NADES5 (νανοσωματίδια PLA με εγκλεισμένη την κιναζολινόνη 4f σε διαλύτη NaDES5.....	303
Εικόνα 5.14: Κατανομή μεγεθών των νανοσωματιδίων PLA με εγκλεισμένη την κιναζολινόνη 4f σε διαλύτη NaDES20.....	303
Εικόνα 5.15: Μέγεθος κενών νανοσωματιδίων PLA, NPs-NADES5, με προσθήκη NaDES5.....	304
Εικόνα 5.16: Κατανομή μεγέθους κενών νανοσωματιδίων PLA, με προσθήκη NaDES20.....	304
Εικόνα 5.17: Κατανομή μεγεθών του δείγματος NPs PLA (νανοσωματίδια PLA με εγκλεισμένη την κιναζολινόνη 10d σε συμβατικό διαλύτη).....	307
Εικόνα 5.18: Κατανομή μεγεθών του δείγματος NPs-PLA (κενά νανοσωματίδια PLA).....	307
Εικόνα 5.19: Κατανομή μεγεθών NPs 10d-NPs-NADES5(νανοσωματίδια PLA με εγκλεισμένη την ένωση 10d με διαλύτη NaDES CC/LA 1:1.5).....	308
Εικόνα 5.20: Κατανομή μεγεθών του δείγματος 4f-NPs-NADES6 (νανοσωματίδια PLA με εγκλεισμένη την ένωση 10d με διαλύτη NaDES CC/OA 1:1).....	308
Εικόνα 5.21: Φάσματα FT-IR (KBr) (α) της κιναζολινόνης 4f, (β) των νανοσωματιδίων 4f-NPs-NADES5 και (γ) των κενών νανοσωματίδια PLA.....	310
Εικόνα 5.22: Φάσματα FT-IR (KBr) (α) της κιναζολινόνης 10d, (β) των νανοσωματιδίων 10d-NPs-NADES5 και (γ) των κενών νανοσωματίδια PLA.....	311
Εικόνα 5.23: Απεικόνιση SEM δειγμάτων NPs-PLA κενών νανοσωματιδίων αριστερά και 4f-NPs-NaDES5 δεξιά, μεγέθυνση x150.....	312
Εικόνα 5.24: Απεικόνιση SEM δειγμάτων NPs-PLA κενών νανοσωματιδίων αριστερά και 4f-NPs-NaDES5 δεξιά, μεγέθυνση x500.....	312

Εικόνα 5.25: Απεικόνιση SEM δειγμάτων NPs-PLA κενών νανοσωματιδίων αριστερά και 4f-NPs-NaDES5 δεξιά, μεγέθυνση x1000.....	312
Εικόνα 5.26: Κατανομή μεγεθών του δείγματος 4f-β-CD (σύμπλοκα της κιναζολινόνης 4f με β-CD).....	320
Εικόνα 5.27: Φάσμα πρωτονίου ¹ H NMR της 3-αμινο-2-μεθυλο-6-νιτρο-κιναζολιν-4(3H)-όνης (3e) (600 MHz, DMSO-d ₆).....	326
Εικόνα 5.28: Φάσμα πρωτονίου ¹ H NMR της β-CD και της 3e-β-CD (600 MHz, D ₂ O).....	327
Εικόνα 5.29: Στερεοχημική δομή της β-κυκλοδεξτρίνης (αριστερά) και απεικόνιση της τρισδιάστατης δομής του κοίλου κώνου με τα εσωτερικά και εξωτερικά πρωτόνια (δεξιά).....	328
Εικόνα 5.30: Φάσμα FT-IR της ένωσης 3-αμινο-2-μεθυλο-6-νιτρο-κιναζολιν-4(3H)-όνης (3e).....	329
Εικόνα 5.31: Φάσμα FT-IR της β-CD.....	329
Εικόνα 5.32: Φάσμα FT-IR του συμπλόκου εγκλεισμού 3e-β-CD.....	330
Εικόνα 5.33: Φάσμα UV-Vis μεταξύ της κιναζολινόνης 3e και του CT-DNA σε διαφορετικές συγκεντρώσεις (0-500 μM).....	338
Εικόνα 5.34: Φάσμα UV-Vis μεταξύ συμπλόκου 3e-HP-β-CD και CT-DNA σε διαφορετικές συγκεντρώσεις (0-500 μM).....	339
Εικόνα 5.35: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm της ένωσης 4f σε συγκέντρωση 25 μM (σειρές 9-12), των νανοσωματιδίων PLA (σειρές 3-6), και του διαλύτη NADES5 (σειρές 7-8).....	340

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1.1: Ενδεικτικός πίνακας με διαθέσιμα φάρμακα στην αγορά.....	11
Πίνακας 2.1: Σταθερότητα φαρμάκων με χρήση DES έναντι συμβατικών διαλυτών.....	47
Πίνακας 2.2: NaDES με βάση τη χλωριούχο χολίνη (Σειρά A).....	63
Πίνακας 2.3: NaDES με βάση τη βεταΐνη.....	67
Πίνακας 2.4: NaDES με βάση τα αμινοξέα, προλίνη και β-αλανίνη και το σάκχαρο γλυκόζη.....	69
Πίνακας 2.5: Αποδόσεις διαφορετικών NADES ως καταλύτες και διαλύτες της πρότυπης αντίδρασης.....	81
Πίνακας 2.6: Αποτελέσματα της υπολογιστικής μελέτης αλληλεπίδρασης (molecular docking).....	85
Πίνακας 2.7: Αποτελέσματα των υπό μελέτη φυσικών συστατικών από τη μέθοδο τιτλοδότησης ορατού – υπεριώδους.	88
Πίνακας 2.8: Αποτελέσματα των υπό μελέτη NADES από τη μέθοδο τιτλοδότησης ορατού – υπεριώδους.	89
Πίνακας 2.9: Αποτελέσματα των υπό μελέτη φυσικών μιγμάτων από τη μέθοδο τιτλοδότησης ορατού υπεριώδους.....	91
Πίνακας 4.1: Αποτελέσματα αντιοξειδωτικής δράσης των κιναζολινικών παραγώγων 3h, 4n, 4o της Σειράς A.....	206
Πίνακας 4.2: Αποτελέσματα αντιοξειδωτικής δράσης των κιναζολινικών παραγώγων 3h, 4n, 4o της Σειράς B.....	207
Πίνακας 4.3: Αποτελέσματα αντιοξειδωτικής δράσης των κιναζολινικών παραγώγων 3h, 4n, 4o της Σειράς Δ.....	208

Πίνακας 4.4: Αποτελέσματα αντιοξειδωτικής δράσης των κιναζολινικών παραγώγων 3h, 4n, 4o της Σειράς E.....	209
Πίνακας 4.5: Αποτελέσματα υπολογιστικής μελέτης (Molecular Docking) των ενώσεων που συντέθηκαν για την αξιολόγηση της αλληλεπίδρασής τους με το DNA.....	209
Πίνακας 4.6: Συγκριτικά αποτελέσματα για τα νιτρο-παραγωγα 3e, 5g, 6e.....	214
Πίνακας 4.7: Αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των ενώσεων 3a-5h της Σειράς A των κιναζολινικών παραγώγων με το DNA μέσω της τιτλοδότησης ορατού – υπεριώδους (UV-Vis).....	219
Πίνακας 4.8: Αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των ενώσεων 4a-4o της Σειράς A των κιναζολινικών παραγώγων με το DNA μέσω της τιτλοδότησης ορατού – υπεριώδους (UV-Vis).....	220
Πίνακας 4.9: Αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των ενώσεων 5a-5i της Σειράς B των κιναζολινικών παραγώγων με το DNA μέσω της τιτλοδότησης ορατού – υπεριώδους (UV-Vis).....	221
Πίνακας 4.10: Αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των ενώσεων 6a-6g της Σειράς Γ των κιναζολινικών παραγώγων με το DNA μέσω της τιτλοδότησης ορατού – υπεριώδους (UV-Vis).....	222
Πίνακας 4.11: Αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των ενώσεων 10a-10k της Σειράς Δ των κιναζολινικών παραγώγων με το DNA μέσω της τιτλοδότησης ορατού – υπεριώδους (UV-Vis).....	223
Πίνακας 4.12: Αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των ενώσεων 11a-11j της Σειράς Δ των κιναζολινικών παραγώγων με το DNA μέσω της τιτλοδότησης ορατού – υπεριώδους (UV-Vis).....	224
Πίνακας 4.13: Αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των ενώσεων 12a-12h της Σειράς Δ των κιναζολινικών παραγώγων με το DNA μέσω της τιτλοδότησης ορατού – υπεριώδους (UV-Vis).....	225
Πίνακας 4.14: Αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των ενώσεων 13a-13j της Σειράς Δ των κιναζολινικών παραγώγων με το DNA μέσω της τιτλοδότησης ορατού – υπεριώδους (UV-Vis).....	225
Πίνακας 4.15: Αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των ενώσεων 14-16 της Σειράς Δ των κιναζολινικών παραγώγων με το DNA μέσω της τιτλοδότησης ορατού – υπεριώδους (UV-Vis).....	226
Πίνακας 4.16: Αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των ενώσεων 17a-17f της Σειράς E των κιναζολινικών παραγώγων με το DNA μέσω της τιτλοδότησης ορατού – υπεριώδους (UV-Vis).....	227
Πίνακας 4.17: Αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των ενώσεων 18a-18c της Σειράς Z των κιναζολινικών παραγώγων με το DNA μέσω της τιτλοδότησης ορατού – υπεριώδους (UV-Vis).....	227
Πίνακας 4.18: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm.....	234
Πίνακας 4.19: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm.....	235
Πίνακας 4.20: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm της ένωσης 4f σε συγκεντρώσεις 1μM-50μM.....	236
Πίνακας 4.21: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm της ένωσης 4f σε συγκεντρώση 25 μM με διαφορετικές συνθήκες επίδρασης για την μελέτη του μηχανισμού δράσης.....	237
Πίνακας 4.22: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm.....	239

Πίνακας 4.23: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm για τις ενώσεις 4e, 4i.....	240
Πίνακας 4.24: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365 nm.....	241
Πίνακας 4.25: Αποτελέσματα φωτοβόλησης μιμών (5a-5h) με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm.....	244
Πίνακας 4.26: Αποτελέσματα φωτοβόλησης μιμών (5a-5h) με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365 nm.....	244
Πίνακας 4.27: Αποτελέσματα φωτοβόλησης ακεταμιδίων (6a-6e) με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm.....	246
Πίνακας 4.28: Αποτελέσματα φωτοβόλησης ακεταμιδίων (6a-6e) με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365nm.....	247
Πίνακας 4.29: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινικών αναλόγων με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm.....	249
Πίνακας 4.30: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινικών αναλόγων με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm.....	251
Πίνακας 4.31: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινονών με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm.....	253
Πίνακας 4.32: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινονών με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm.....	254
Πίνακας 4.33: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινονών με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365 nm.....	255
Πίνακας 4.34: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινονών με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365 nm.....	257
Πίνακας 4.35: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινονών με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365 nm.....	258
Πίνακας 4.36: Αποτελέσματα φωτοβόλησης χαλκονών-ωρονών με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365 nm.....	258
Πίνακας 5.1: Σύγκριση φυσικοχημικών ιδιοτήτων των L-PLA και DL-PLA.....	278
Πίνακας 5.2: Βασικά χαρακτηριστικά α -CD, β -CD, γ -CD.....	281
Πίνακας 5.3: Βιολογική Δράση των κιναζολινικών παραγώγων τα οποία επιλέχθηκαν προς εγκλεισμό.....	289
Πίνακας 5.4: Ποσότητες κιναζολινονης και β -κυκλοδεξτρινών για την παραγωγή συμπλόκων εγκλεισμού με την μέθοδο kneading.....	292
Πίνακας 5.5: Συγκεντρώσεις κιναζολινονης και κιναζολινονης/ β -CD και οι αντίστοιχες απορροφήσεις των δειγμάτων.....	293
Πίνακας 5.6: Ποσότητες κιναζολινονης και β -κυκλοδεξτρινών για την παραγωγή συμπλόκων εγκλεισμού με την μέθοδο solvent evaporation & freeze drying.....	294
Πίνακας 5.7: Ποσότητες για την παρασκευή νανοσωματιδίων 3-(2-αμινοαιθυλο)-6-βρωμο-2-μεθυλοκιναζολιν-4(3H)-όνης (Μόριο 3).....	301
Πίνακας 5.8: Αποτελέσματα DLS για τα δείγματα νανοσωματιδίων PLA με εγκλεισμένη την κιναζολινονη 4f.....	305
Πίνακας 5.9: Ποσότητες για την παρασκευή νανοσωματιδίων 2-(4-μεθοξυφαινυλο)-3-φαινυλο-2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)-όνης (10d).....	306
Πίνακας 5.10: Ποσότητες για την παρασκευή των κενών νανοσωματιδίων.....	306
Πίνακας 5.11: Αποτελέσματα DLS για τα δείγματα νανοσωματιδίων PLA με εγκλεισμένη την κιναζολινονη 10d.....	308
Πίνακας 5.12: Αποτελέσματα DLS των κενών νανοσωματιδίων PLA.....	309
Πίνακας 5.13: Πίνακας αποτελεσμάτων πειράματος DSC.....	314

Πίνακας 5.14: Αποτελέσματα και παράμετροι πειράματος TGA.....	316
Πίνακας 5.15: % Απόδοση εγκλεισμού % Ποσοστό φόρτωσης για τα νανοσωματίδια PLA με εγκλεισμένη την κινναζολινόνη 4f.....	316
Πίνακας 5.16: % Απόδοση εγκλεισμού % Ποσοστό φόρτωσης για τα νανοσωματίδια PLA με εγκλεισμένη την κινναζολινόνη 10d.....	316
Πίνακας 5.17: Πίνακας συνθηκών μέτρησης DLS σε β-CD σύμπλοκα.....	319
Πίνακας 5.18: Αποτελέσματα DLS μεγέθους (nm), δείκτη πολυδιασποράς (PDI) και δυναμικού ζ (mV) στα σύμπλοκα β-CD.....	319
Πίνακας 5.19: Αποδόσεις διεργασίας συμπλόκων εγκλεισμού που συντέθηκαν με την μέθοδο της υγρής λειοτριβήσης.....	321
Πίνακας 5.20: Αποδόσεις διεργασίας συμπλόκων εγκλεισμού που συντέθηκαν με την μέθοδο εξάτμισης διαλύτη και λυοφιλοποίησης.....	321
Πίνακας 5.21: Αποδόσεις εγκλεισμού των συμπλόκων που συντέθηκαν με την μέθοδο της υγρής λειοτριβήσης.....	322
Πίνακας 5.22: Αποδόσεις εγκλεισμού των συμπλόκων που συντέθηκαν με την μέθοδο της συγκαταβύθισης.....	323
Πίνακας 5.23: Μέγεθος, δείκτης πολυδιασποράς και ζ-δυναμικό για τα σύμπλοκα εγκλεισμού που παρασκευάστηκαν με την μέθοδο της υγρής λειοφιλοποίησης.....	324
Πίνακας 5.24: Μέγεθος, δείκτης πολυδιασποράς και ζ-δυναμικό για τα σύμπλοκα εγκλεισμού που παρασκευάστηκαν με την μέθοδο της συγκαταβύθισης.....	325
Πίνακας 5.25: Χημικές μετατοπίσεις των πρωτονίων της β-CD και του συμπλόκου 3e-β-CD (solvent evaporation & freeze drying 2:1).....	320
Πίνακας 5.26: Ταχεία απελευθέρωση (Burst effect) και πλατό (plateau) για κάθε σύμπλοκο εγκλεισμού ICs.....	332
Πίνακας 5.27: Συντελεστής R2 κινητικών μοντέλων για κάθε σύμπλοκο.....	333
Πίνακας 5.28: Εξισώσεις του κινητικού μοντέλου Korsmeyer – Peppas και μηχανισμοί απελευθέρωσης για κάθε σύμπλοκο εγκλεισμού.....	334
Πίνακας 5.29: Αποτελέσματα αλληλεπίδρασης methyl green, κινναζολινόνης και συμπλόκων εγκλεισμού με το DNA.....	336
Πίνακας 5.30: Περιγραφή των δειγμάτων και των συγκεντρώσεων που πραγματοποιήθηκε η φωτοβόληση 312 nm, σε απόσταση 15 cm και χρονική διάρκεια 30 min.....	340

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Διάγραμμα 2.1: Διάγραμμα TGA του NaDES Χλωριούχος χολίνη/Γαλακτικό οξύ.....	74
Διάγραμμα 2.2: Διάγραμμα TGA του NaDES 12.....	77
Διάγραμμα 5.1: Διάγραμμα Job's Plot για 3e-β-CD. Όπου ΔΑ η διαφορά απορροφήσεων κινναζολινόνης και μίγματος κινναζολινόνης και β-CD και $R = \frac{[3e]}{([3e] + [\beta\text{-CD}]})$	294
Διάγραμμα 5.2: Θερμογράμματα θέρμανσης-ψύξης σε ρυθμό 10.00 °C/min.....	314
Διάγραμμα 5.3: Θερμογράμματα θέρμανσης-μεταβολής μάζας σε ρυθμό 10.00 °C/min, των NPs-PLA (κενά), και 4f-NPs-NADES5.....	316
Διάγραμμα 5.4: Καμπύλες απελευθέρωσης συμπλόκων εγκλεισμού που παρασκευάστηκαν με την μέθοδο kneading.....	331
Διάγραμμα 5.5: Καμπύλες απελευθέρωσης συμπλόκων εγκλεισμού που παρασκευάστηκαν με την μέθοδο συγκαταβύθισης διαλύτη.....	331

ΑΚΡΩΝΥΜΑ

API	Δραστική ουσία	Φαρμακευτική	Active Ingredient	Pharmaceutical
β-CD	β-Κυκλοδεξτρίνη		B-Cyclodextrin	
CDCl₃	Δευτεριωμένο Χλωροφόρμιο		Deuterated Chloroform	
ChCl [CC]	Χλωριούχος Χολίνη		Choline Chloride	
DES	Βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες		Deep Eutectic solvents	
DMSO	Δευτεριωμένο διμεθυλοσουλφοξείδιο		Deuterates sulfuxide	dimethyl
DLS	Δυναμική Σκέδαση Φωτός		Dynamic Light Scattering	
DPPH	Ρίζα της 2,2-διφαινυλ-1-πικρυλδραζιλής		2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl	
DSC	Διαφορική Σάρωσης	Θερμιδομετρία	Differential Calometry	Scanning
ESI-MS	Φασματομετρία Ιονισμό Ηλεκτροψεκασμού	Μαζών με	Electrospray Calorimetry	Scanning
FDA	Οργανισμός Φαρμάκων ΗΠΑ	Τροφίμων και	Food Administration	and Drug
FT-IR	Φασματοσκοπία με μετασχηματισμό Fourier	Υπερύθρου	Fourier=transform infrared spectroscopy	
HBA	Δέκτης Δεσμών Υδρογόνου		Hydrogen Bond Acceptor	
HBD	Δότης Δεσμών Υδρογόνου		Hydrogen Bond Donor	
HR-MS	Φασματομετρία Υψηλής Απόδοσης	Μάζας	High Resolution Spectrometry	Mass
IC₅₀	Συγκέντρωση της ουσίας που μειώνει τη δράση στο 50%		The concentration of inhibitor required for inhibit an activity by 50%	

IL	Ιοντικό Υγρό (ΙΥ)	Ionic Liquid
MCR	Αντιδράσεις συστατικών	πολλαπλών Multi Component Reaction
NADES	Φυσικοί Βαθέως Διαλύτες	Ευτηκτικοί Natural Deep Eutectic Solvents
NMR	Φασματοσκοπία Μαγνητικού Συντονισμού	Πυρηνικού Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
PLA	Πολύ(γαλακτικό)οξύ	Polylactic acid
SEM	Ηλεκτρονική Σάρωσης	Μικροσκοπία Scanning Electron Microscopy
TLC	Χρωματογραφία Στιβάδας	Λεπτής Thin Layer Chromatography
TGA	Θερμοσταθμική Ανάλυση	Thermogravimetric Analysis
UV-A	Υπεριώδης ακτινοβολία A	Ultraviolet radiation A
UV-B	Υπεριώδης ακτινοβολία A	Ultraviolet radiation B
UV-Vis	Φασματοσκοπία Υπεριώδους	Ορατού- Ultraviolet-visible spectroscopy

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο

ΦΥΣΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΩΣ ΠΗΓΗ ΕΜΠΝΕΥΣΗΣ ΣΤΗΝ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ

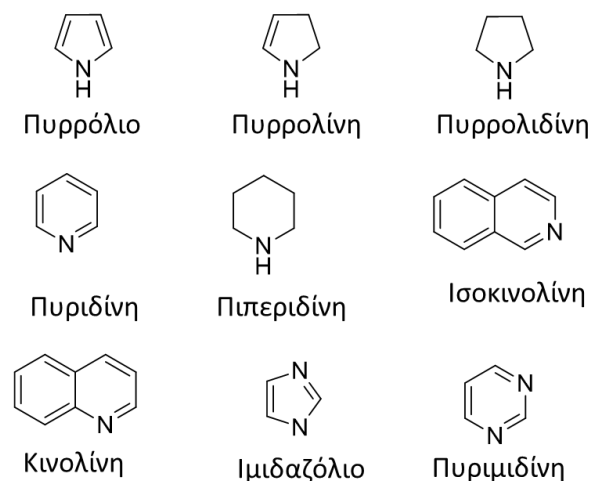
ΦΥΣΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΩΣ ΠΗΓΗ ΕΜΠΝΕΥΣΗΣ ΣΤΗΝ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Χαρακτηριστικό γνώρισμα των φυτών και άλλων οργανισμών για την καταπολέμηση παθογόνων, είναι η ικανότητά τους να συνθέτουν μια τεράστια ποικιλία χαμηλού μοριακού βάρους ενώσεων, τους λεγόμενους δευτερογενείς μεταβολίτες. Οι δευτερογενείς μεταβολίτες μπορούν να αλληλεπιδράσουν στενά με τους μοριακούς στόχους σε κύτταρα και ιστούς. Έτσι, τα φυτά παρέχουν ένα ευρύ φάσμα βιοδραστικών ουσιών. Αυτός είναι ο λόγος που είναι τόσα πολλά φυσικά προϊόντα που χρησιμοποιούνται σε διαφορετικούς κλάδους όπως στη βιοτεχνολογία, τη φαρμακευτική, τη γεωργία και την ιατρική. Η ποικιλομορφία των βιοσυνθετικών οδών στα φυτά έχει παράσχει μια ποικιλία χημικών δομών που έχουν χρησιμοποιηθεί στην ανάπτυξη φαρμάκων και οι οποίες εκτιμάται ότι αντιπροσωπεύουν περισσότερο από το 50% των τρεχόντων φαρμάκων. Το φυτικό βασίλειο παραμένει ακόμα ένας θησαυρός νέων μορίων με θεραπευτικό δυναμικό.

Τα φυτικά αλκαλοειδή, μια από τις μεγαλύτερες ομάδες φυσικών προϊόντων, αντιπροσωπεύουν μια ομάδα χημικών οντοτήτων με μεγάλη ποικιλία βιολογικής δραστηριότητας ενώ περιλαμβάνουν μια τεράστια κατηγορία περίπου 12.000 φυσικών προϊόντων. Τα αλκαλοειδή είναι μια ποικιλόμορφη ομάδα ενώσεων που περιέχει μια δομή δακτυλίου και ένα άτομο αζώτου. Στις περισσότερες περιπτώσεις, το άτομο αζώτου βρίσκεται μέσα στη δομή δακτυλίου σχηματίζοντας ετεροκυκλικές ενώσεις. Οι ετεροκυκλικές ενώσεις αποτελούν σημαντική πηγή έρευνας σε ποικίλους τομείς χημείας, όπως η οργανική, η φαρμακευτική και η αναλυτική. Στη φαρμακευτική βιομηχανία, περισσότερο από το 75% των διαθέσιμων και μη φαρμάκων έχουν ετεροκυκλικά μέρη στις δομές τους.

Σύμφωνα με την ταξινόμηση τους χωρίζονται στις ακόλουθες μεγάλες ομάδες, συμπεριλαμβανομένων: πυρρολιδίνη, πυριδίνη, κινολίνη, ισοκινολίνη, ινδόλη, κιναζολίνη, στεροειδές, διτερπενοειδή και άλλα αλκαλοειδή (Σχήμα 1.1). Κάθε μία από αυτές τις ομάδες υποδιαιρείται σε πολλές υποομάδες ανάλογα με τα δομικά χαρακτηριστικά των εκπροσώπων της. [1]-[3]

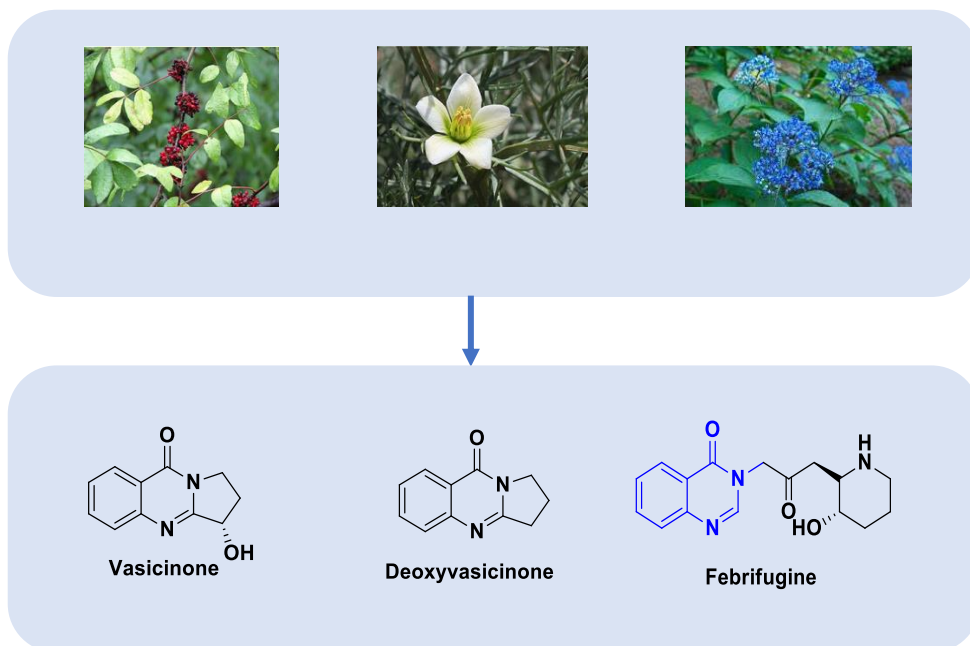


Σχήμα 1.1: Ενδεικτικές ετεροκυκλικές χημικές δομές που ανήκουν στην οικογένεια των αλκαλοειδών

Μια σημαντική κατηγορία ετεροκυκλικών ενώσεων είναι η κιναζολίνη που υποδιαιρέθηκε αργότερα στην υποομάδα των κιναζολινονών καθώς παρουσιάζουν πολλαπλές θέσεις υποκαταστατών με αποτέλεσμα να εμφανίζουν μεγάλη ποικιλία βιολογικών και θεραπευτικών δράσεων. Στη βιβλιογραφία, αναφέρεται ότι οι 4-(3H)-κιναζολινόνες, με διαφορετικούς υποκαταστάτες, σχετίζονται άμεσα με ένα ευρύ φάσμα βιολογικών ιδιοτήτων, όπως υπνωτικών, ηρεμιστικών, αντιβακτηριδιακών, αναλγητικών, αντιφλεγμονωδών, αντικαρκινικών και πολλών άλλων.

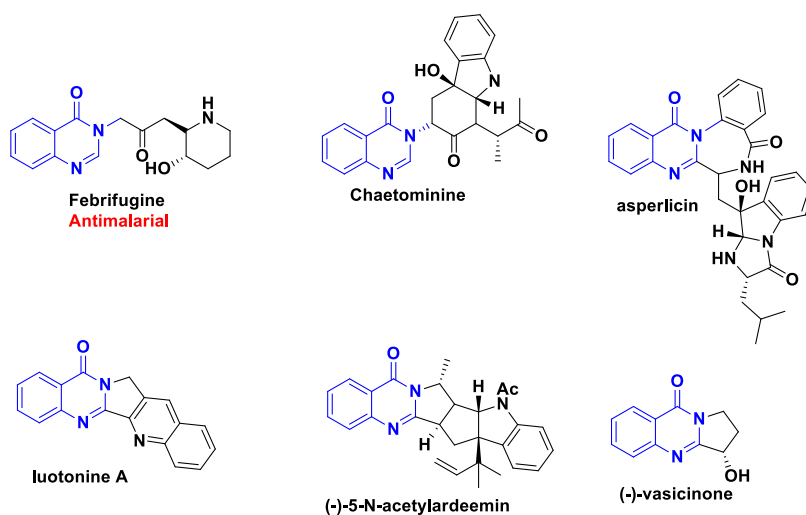
1.2 ΚΙΝΑΖΟΛΙΝΟΝΕΣ

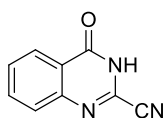
Οι κιναζολιν-4(3H)-όνες ανήκουν σε μια ομάδα συντηγμένων ετεροκυκλικών ενώσεων, που απαντώνται σε πληθώρα φυσικών αλκαλοειδών που έχουν απομονωθεί έως και σήμερα από διαφορετικές οικογένειες του φυτικού αλλά και ζωικού βασιλείου καθώς και μικροοργανισμών όπως *Boucharadia neurococca*, *Bacillus cereus*, *Dichroa febrifuga*, *Peganum nigellastrum* κ.α..[4] Η ονομασία «κιναζολινόνη» για πρώτη φορά προτάθηκε από τον Weddige, ο οποίος παρατήρησε ότι επρόκειτο για ισομερική μορφή των ενώσεων της κινξαλίνης και της κινολίνης. Παρότι η κιναζολίνη συντίθεται, σε καλές αποδόσεις, μέσω της οξείδωσης της 3,4-διυδρο-κιναζολίνης με αλκαλικό φερρικούανιούχο κάλιο, από το 1950 και μετέπειτα άρχισε να αναπτύσσεται το ενδιαφέρον των ερευνητών για αυτή την κατηγορία μορίων, ύστερα από την αποσαφήνιση μιας αλκαλοειδούς κιναζολινόνης - της 3-[β-κετο-γ-(3-υδροξυ-2-πιπεριδυλο)-προπυλο]-4-κιναζολινόνης. Αυτό το κιναζολινικό ανάλογο απομονώθηκε από το παραδοσιακό κινέζικο φυτό *Dichroa febrifuga* (Εικόνα 1.1), μελετήθηκε και κρίθηκε ως αποτελεσματικό φάρμακο κατά της ελονοσίας[5], [6].



Εικόνα 1.1: Ενδεικτικά παραδείγματα φυσικών κιναζολινονών

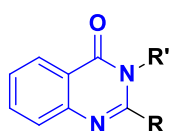
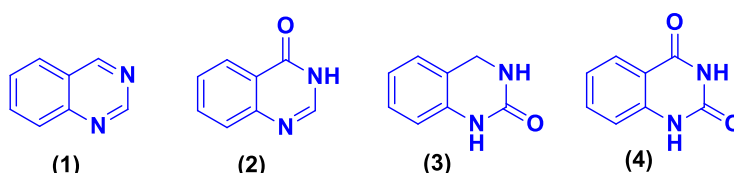
Γενικά, οι κιναζολινόνες είναι ευρέως διαδεδομένες τόσο σε φυσικά όσο και σε συνθετικά προϊόντα όπως η febrifugine, luotonine, vasicinone (Εικόνα 1.1, Σχήμα 1.2). Αυτά τα παράγωγα βρέθηκαν να παρουσιάζουν σημαντικές βιολογικές ιδιότητες, ιδίως αντικαρκινικές και ανθελονοσιακές δραστηριότητες. Λόγω του ενδιαφέροντος και του εύρους του βιολογικού τους προφίλ, έχουν προσελκύσει την προσοχή των ερευνητών εδώ και αρκετές δεκαετίες.





Σχήμα 1.3: Χημική δομή 2-κυανοκιναζολινόνη

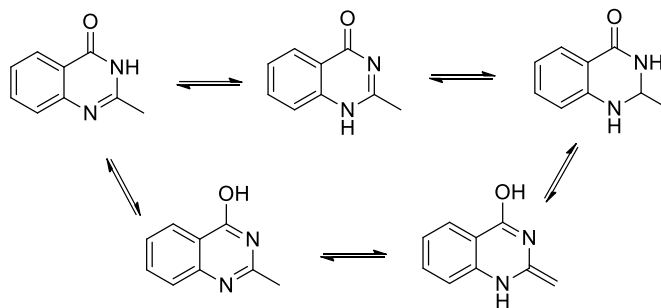
Με βάση τους διαφορετικούς υποκαταστάτες που μπορούν να φέρουν οι κιναζολινόνες ταξινομούνται στις υποκατηγορίες οι οποίες παρουσιάζονται παρακάτω (Σχήμα 1.4)[5].



2-substituted Quinazolines (5): R= Aryl/Alkyl and R'=H
 3-substituted Quinazolines (6): R=H and R'=Aryl/Alkyl
 2,3-substituted Quinazolines (7): R= R'=Aryl/Alkyl

Σχήμα 1.4: Χημικές δομές κιναζολινικών αναλόγων

Ταυτόχρονα τα κιναζολινικά παράγωγα παρουσιάζουν ισχυρή ταυτομερή αλληλεπίδραση μεταξύ λακτάμης και λακτίμης (Σχήμα 1.5). Αυτά τα αποτελέσματα των εκτεταμένων ταυτομερών μορφών είναι σημαντικά καθώς ενισχύουν την δραστηριότητα των διαφόρων υποκατεστημένων 4(3H)-κιναζολινονών [3][7].

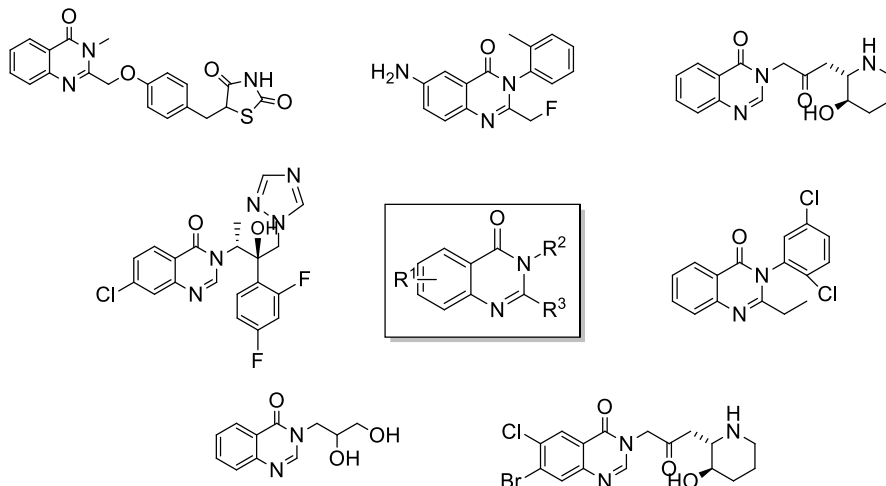


Σχήμα 1.5: Ταυτομερικές δομές κιναζολινόνης

Βιολογικές Δράσεις

Η χημική δομή των κιναζολινονών αποτελεί ένα κρίσιμο ικρίωμα με διάφορες θεραπευτικές και βιολογικές δράσεις όπως η αντικαρκινική, η ανθελονοσιακή, η αντιμικροβιακή, η αντιφυματική, η αντιυπερτασική, αντιφλεγμονώδη, αντι-HIV κ.α. (Σχήμα 1.6). Οι φυσικές κιναζολινόνες που χρησιμοποιούνται ευρέως στα παραδοσιακά φάρμακα είναι απομονωμένες από τα φυτά και τους μικροοργανισμούς ενώ κύρια κιναζολινικά ανάλογα προσεγγίζονται μέσω συνθετικής διαδικασίας με ορισμένες χημικές αντιδράσεις. Τα κιναζολινικά ανάλογα αποτελούν από τις πιο προνομιακές

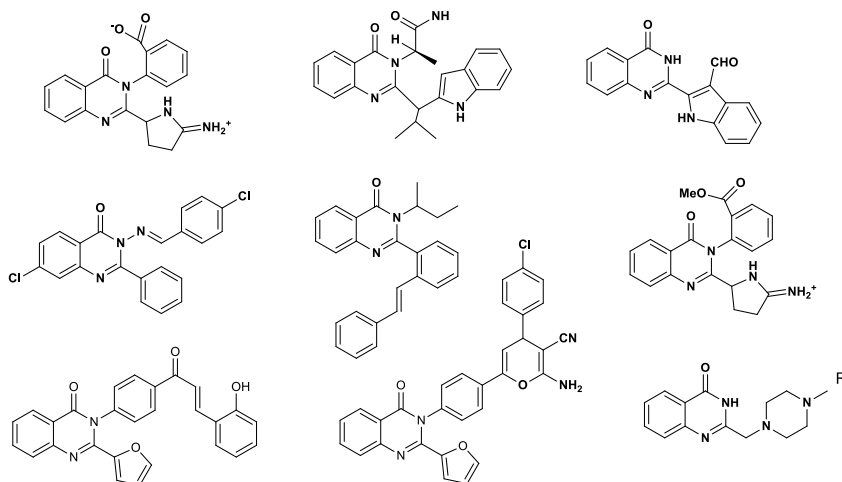
κατηγορίες βιολογικά ενεργών ετεροκυκλικών ενώσεων. Λόγω του ευρέος φάσματος βιολογικών ιδιοτήτων τους, οι κιναζολινόνες τόσο φυσικής όσο και συνθετικής προέλευσης είναι ερευνητικά ενδιαφέρουσες ενώσεις καθώς η χημική τους δομή είναι σημαντική για την ανάπτυξη υψηλής εκλεκτικής και ισχυρής φαρμακολογικής δράσης. [8]



Σχήμα 1.6: Ενδεικτικά κιναζολινικά παράγωγα υποψήφια ως φάρμακα

Αντικαρκινική δράση

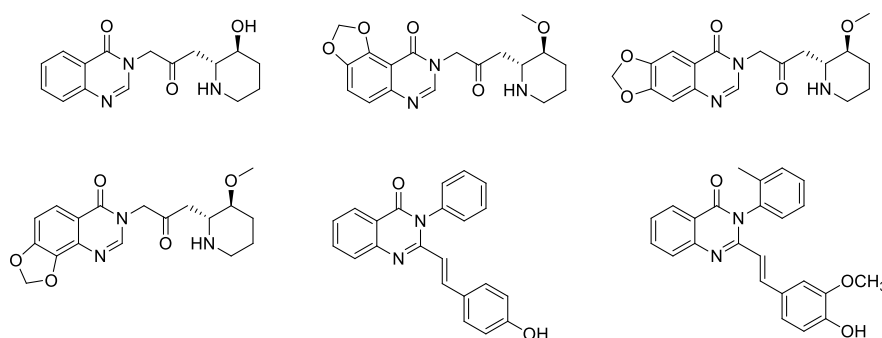
Οι φυσικές κιναζολινόνες παρουσιάζονται στο Σχήμα 1.7. Το κινέζικο φαρμακευτικό φυτό, Luotonin A, είναι ένα κυτταροτοξικό φυσικό αλκαλοειδές με πεντακυκλικό τμήμα συντηγμένης κιναζολινόνης. Αρχικά απομονώθηκε από το *Peganum nigellasstrum* το 1997 και χρησιμοποιείται κλινικά ως αντικαρκινικός παράγοντας, ως αναστολέας της τοποϊσομεράσης-I. Οι τοποϊσομεράσες είναι κύριοι στόχοι για τον σχεδιασμό αντικαρκινικών φαρμάκων, έτσι η λουοτίνη A χρησιμοποιήθηκε ως ένωση οδηγός για την ανάπτυξη αναλόγων με αυξημένη ισχύ. [2], [8]–[10]



Σχήμα 1.7: Χημικές δομές κιναζολινικών παραγώγων με αντικαρκινική δράση

Ανθελονοσιακή δράση

Το 1948, εξήχθη η φεβριφουγίνη ένα κινέζικο παραδοσιακό βότανο του φυτού *Dichroa febrifuga*. Έχει 50-100 φορές πιο ανθελονοσιακό από την κινίνη στο *in vivo* μοντέλο. Ανάλογα φεβριφουγίνης αναφέρθηκαν ως ισχυροί παράγοντες κατά της ελονοσίας. Όμως οι γαστρεντερικές παρενέργειες που έφερε αυτή η φυσικής προέλευσης φαρμακευτική ουσία οδήγησε στον περαιτέρω σχεδιασμό, ανάπτυξη και ανακάλυψη νέων ανθελονοσιακών φαρμάκων. Οι Birhan και οι συνεργάτες του έχουν συνθέσει παράγωγα 3-αρυλ 2-(υποκατεστημένης στυρυλ)-4(3H)-κιναζολινόνης ως ισχυροί ανθελονοσιακοί παράγοντες (Σχήμα 1.8).[11]-[16]

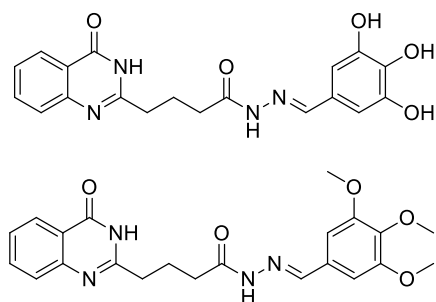


Σχήμα 1.8: Χημικές δομές κιναζολινικών αναλόγων με ανθελονοσιακή δράση

Αντιοξειδωτική Δράση

Λόγω της δράσης των ελεύθερων ριζών (ROS) που προκαλούνται στον άνθρωπο, η ανάγκη για νέους θεραπευτικούς παράγοντες, με ανώτερη αποτελεσματικότητα από το γνωστά φυσικά και συνθετικά αντιοξειδωτικά είναι ζωτικής σημασίας. Οι κιναζολιν-4-όνες είναι γνωστές για το ευρύ φάσμα βιολογικών δράσεων και οι φαινολικές ενώσεις

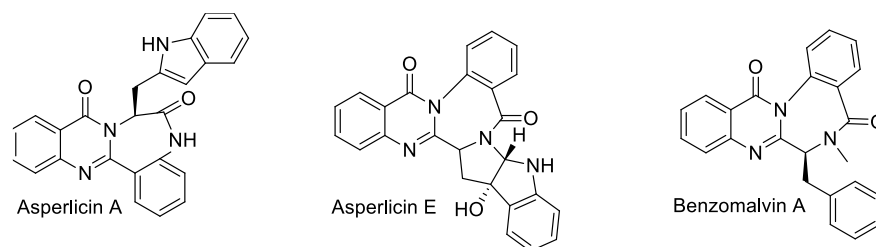
ως ισχυρά αντιοξειδωτικά μέσα (Σχήμα 1.9). Επομένως, η σύνδεση δύο ενεργών φαρμακοφόρων μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της αντιοξειδωτικής δράσης. Πρόσφατα, το 2022, ο Pele και οι συνεργάτες του συνέθεσαν τέσσερις σειρές νέων υβριδικών μορίων που φέρουν τα ικριώματα κιναζολιν-4-όνης και φαινόλης. Το αντιοξειδωτικό τους δυναμικό αξιολογήθηκε *in vitro*. Στην πραγματικότητα, αυτή η μελέτη θεωρείται ως βάση για μελλοντική έρευνα για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης αυτών των ενώσεων σε πειραματικά κυτταρικά μοντέλα και *in vivo* πειραματικά μοντέλα για αυτές τις ενώσεις που δείχνουν καλή δράση με έλλειψη τοξικότητας[7], [17].



Σχήμα 1.9: Ενδεικτικές δομές κιναζολινονών με αντιοξειδωτική δράση

Αντιμικροβιακή δράση

Πολλές μελέτες δείχνουν ότι οι 2,3 δις-υποκατεστημένες κιναζολινόνες (Σχήμα 1.10) έχουν πολύτιμες αντιμικροβιακές ιδιότητες. Οι μελέτες σχέσης δομής-δραστικότητας δείχνουν πως η θέση 3 πιθανόν να παρουσιάζει τα καλύτερα αποτελέσματα ως προς την αντιμικροβιακή δράση. Οι υποκαταστάσεις σε αυτή τη θέση περιλαμβάνουν φαινύλιο, ετεροκυκλικούς δακτυλίους, διαφορετικές αλειφατικές ομάδες.[11]–[16]

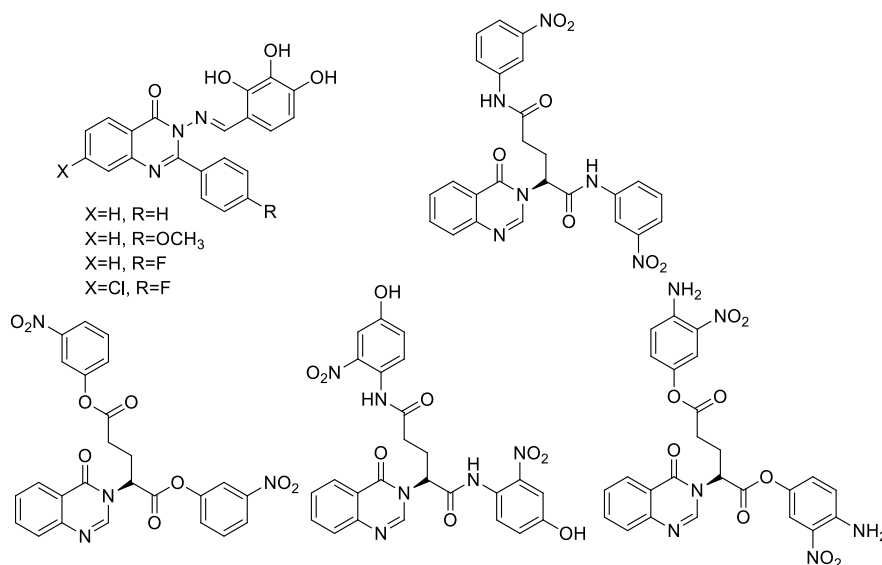


Σχήμα 1.10: Χημικές δομές κιναζολινονών με αντιμικροβιακή δράση

Αντιική δράση

Ο Wang και οι συνεργάτες του ανέφεραν παράγωγα κιναζολινόνης (Σχήμα 11) με ισχυρή αντιική δράση κατά του HIV και του TMV, ενώ ο Gao και οι συνεργάτες του έχουν συνθέσει μια σειρά από παράγωγα 2-αρυλ- ή 2-μεθυλ-3-(υποκατεστημένη βενζαλαμινο)-4(3H)-κιναζολινόνη και βρήκαν ότι οι ενώσεις αυτές επιδεικνύουν καλή αντιική δράση έναντι του TMV. Επίσης έχει αναφερθεί μια σειρά από 2-πυριδινυλ-3-υποκατεστημένες-κιναζολιν-4(3H)-όνες ως παράγοντες κατά του ιού της γρίπης A. Αυτά τα παράγωγα, αποκάλυψαν ισχυρή δράση καλύτερη από αυτή του κλινικά χρησιμοποιούμενου φαρμάκου, ριμπαβιρίνη. Τέλος, πρόσφατα με δύο μελέτες το 2020 και το 2023, τα

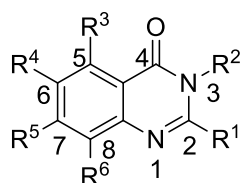
κιναζολινικά παράγωγα (Σχήμα 1.11) δοκιμάστηκαν για την θεραπεία της νόσου COVID-19. Αναφέρονται τα παράγωγα των βάσεων Schiff τα οποία μπορούν να λειτουργήσουν ως αναστολείς της φωσφοδιεστεράσης 4B (PDE 4B), ένα ένζυμο που παίζει ουσιαστικό ρόλο στα πρώιμα στάδια της πνευμονίας COVID-19. Έτσι και στις δύο ερευνητικές εργασίες μελετήθηκαν οι πιθανές δεσμευτικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κιναζολινικών παραγώγων με βασικές πρωτεΐνες του SARS-COV-2. [8], [18], [19]



Σχήμα 1.11: Κιναζολινικά παράγωγα που μελετήθηκαν για την θεραπεία της νόσου COVID-19

Σχέση Δομής –Δραστικότητα κιναζολινικών αναλόγων

Ανάμεσα σε εκατοντάδες αναλόγων κιναζολινόνης που παρασκευάζονται ετησίως παγκοσμίως, οι ενώσεις που περιλαμβάνονται σε αυτήν την ενότητα θα είναι μια ανασκόπηση για την κατανόηση της συμπεριφοράς μεταξύ δομής-δραστικότητας των κιναζολινικών αναλόγων σε διαφορετικούς βιολογικούς στόχους. Παρακάτω, δίνονται τα κύρια χαρακτηριστικά αυτής της ομάδας ενώσεων και πως μικρές τροποποιήσεις των υποκαταστατών της χημικής δομής αλλάζουν την βιολογική συμπεριφορά. Επομένως, η συμβολή κάθε θέσης στον δακτύλιο της κιναζολινόνης (Σχήμα 1.12) παίζει ουσιαστικό ρόλο στην βιολογική δραστικότητα.



Σχήμα 1.12: Πιθανές θέσεις υποκαταστατών στο δακτύλιο της κιναζολινόνης

- Θέση 2 και 3

Παρατηρώντας την γενική δομή των κιναζολινονών (Σχήμα 1.12) για κάθε ιατρική εφαρμογή θα πρέπει να εστιάσουμε στις θέσεις 2, 3 ή και τις δύο του κιναζολινικού δακτυλίου. Πράγματι, τα περισσότερα παράγωγα έχουν βρεθεί με υποκαταστάσεις στις θέσεις 2 και 3 του κιναζολινικού δακτυλίου. Ως εκ τούτου, αυτές οι θέσεις είναι πιθανό να είναι περισσότερο σημαντικές για διάφορες φαρμακολογικές δράσεις. Για την ανάπτυξη σχέσεων δομής-δραστικότητας συντέθηκε μεγάλος αριθμός 2,3 δι-υποκατεστημένων κιναζολινικών παραγώγων. Οι θέσεις 2 και 3 είναι σημαντικές για τα αντικαρκινικά παράγωγα καθώς διαφορετικοί ετερόκυκλοι χρησιμοποιούνται ως υποκαταστάσεις στις θέσεις αυτές. Από τις βιβλιογραφικές αναφορές, προσθήκη λιπόφιλου τμήματος στη θέση 2, όπως φουραν-2-υλιο στη χημική δομή της κιναζολινονης προσδίδει αντικαρκινική δράση ενώ αν μετακινηθεί στη θέση 3 φαίνεται να επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό την αντικαρκινική δράση. Επομένως, φάνηκε πως είναι σημαντική η ύπαρξη φουρανίου στη θέση 2. Έτσι, κρατώντας αυτόν τον υποκαταστάτη σταθερό πραγματοποιήθηκαν μελέτες με προσθήκη επιπλέον υποκαταστατών στις άλλες θέσεις του κιναζολινικού δακτυλίου. Επίσης, έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες με προσθήκη χημικών υποκαταστατών στη θέση του φουρανίου που έχουν αποδεδειγμένη αντικαρκινική δράση. Οι υποκαταστάτες αυτοί μπορεί να είναι χαλκόνες, πυραζόλη, πυριμιδίνη.

Επίσης, ενώσεις κατά της ελονοσίας και κατά της φυματίωσης αντικαθίστανται σε μία θέση, είτε 2 είτε 3, καθώς και στο εγκεκριμένο από την FDA φάρμακο, Halofuginone. Η άλλη θέση είτε αντικαθίσταται με μια μικρή ομάδα ή δεν έχει υποκατασταθεί εντελώς.

Επιπλέον, παρά ορισμένων εξαιρέσεων, ένα επιτυχημένο κυτταροτοξικό φάρμακο θα μπορούσε να ληφθεί όταν ένας δακτύλιος κιναζολινονης αντικατασταθεί στη θέση 2 με μια πλευρική αλυσίδα αλκυλίου και στη θέση 3 με μια ογκώδη πλευρική αλυσίδα όπως μια φαινυλο- ομάδα. Οι ομάδες που έχουν υποκατασταθεί στις θέσεις 2 και 3 επιπλέον των φαινυλο- ομάδων είναι κυρίως κετόνη, αιθέρας, αμίδιο ή καρβοξαμίδιο στην περίπτωση ενώσεων κατά της ελονοσίας και κατά της φυματίωσης. Ωστόσο, σε αντικαρκινικές ενώσεις, χρησιμοποιούνται κυρίως θειοαιθέρες όπως και οι αρύλο-κετόνες όπως φαίνεται με τις ενώσεις και τα ερευνητικά φάρμακα, Ispinesib και Naltrexed. Υποκατεστημένες ομάδες φαινυλίου ή βενζυλίου καθώς και μικρές και μακριές απλές ομάδες αλκυλίου, οι θειοαιθέρες και τα καρβοξαμίδια εμφανίζονται κυρίως με αντισπασμωδικές κιναζολινονες, ενώ οι αντιδιαβητικές ενώσεις περιέχουν μια υποκατεστημένη φαινοξυ- ομάδα στη θέση 2, όπως φαίνεται και στα δύο ερευνητικά φάρμακα Apabetalone και Balaglitazone.

- Θέση 6 και 7

Αυτές οι δύο θέσεις δεν είναι απαραίτητες για την παρουσία δραστηριότητας όπως πολλά παράγωγα κιναζολινονης είναι ενεργά απουσία της 6 και 7 ομάδας, καθώς και τα δύο εγκεκριμένα από την FDA φάρμακα, το Methaqualone και το Idelalisib, εκτός από το υπό έρευνα φάρμακο, Balaglitazone). Ωστόσο, παίζουν σημαντικό ρόλο στη φαρμακοκινητική δομή της ένωσης, ιδιαίτερα στη βιοδιαθεσιμότητα και διείσδυση στο ΚΝΣ. Από την άλλη πλευρά, οι αντικαταστάσεις στις θέσεις 6 ή 7 τροποποιούν την αντιδραστικότητα του δακτυλίου προς αντιδράσεις *in vitro*. Τα αλογονίδια, με την ιδιότητα έλξης ηλεκτρονίων

τους, αυξάνουν τη αντιδραστικότητα του δακτυλίου συνδυάζοντας με πολλές αντικαταστάσεις στις θέσεις 2 ή 3. Η μεθοξυομάδα, ωστόσο, προκαλεί το αντίθετο αποτέλεσμα, μειώνοντας την αντιδραστικότητα του δακτυλίου προς πολλές αντιδράσεις. Επομένως, *in vivo* προσθήκη ή η αφαίρεση τέτοιων ενώσεων θα μπορούσε να είναι ένα εργαλείο για την διαχείριση της τοξικότητας των κιναζολινονών.

- Θέση 5

Η θέση 5 υποκαθίσταται σπάνια, είναι ειδική για κυτταροτοξικά φάρμακα, συγκεκριμένα, του αναστολέα της πρωτεϊνικής κινάσης Idelalisib και τον αναστολέα της διυδροφολικής αναγωγάσης Nilotrexed. Θα μπορούσε να συνδέεται με μια ομάδα αιθέρα στη δομή της ένωσης που σκοτώνει ανθεκτικά στελέχη της ελονοσίας, ενώ η υποκατάσταση με μεθοξυομάδα δίνει την απαβηταλόλη, ένα καρδιαγγειακό αποτελεσματικό φάρμακο.

- Θέση 8

Η θέση 8 βρίσκεται σε τρεις ενώσεις με υποκαταστάτη βρωμίου και αντιυπερτασική δράση, ή αλκυλιωμένη σε τρεις ενώσεις με αντισπασμωδική δράση.[7]

Διαθέσιμα Φάρμακα στην Αγορά

Οι κιναζολινόνες περιέχουν φαρμακοφόρες ομάδες, ιδιαίτερα σημαντικές ως προς τις θεραπευτικές τους ιδιότητες. Ως εκ τούτου, έχει συντεθεί μεγάλος αριθμός κιναζολινονών, οι οποίες έχουν αξιολογηθεί ως προς τις ποικίλες βιολογικές τους δράσεις. Άμεσο συμπέρασμα της γρήγορης ανάπτυξης των μορίων των κιναζολινονών, είναι η ύπαρξη περισσότερων νεοσυντιθέμενων παραγώγων στο μέλλον. Το πρώτο διαθέσιμο φάρμακο κιναζολινόνης στο εμπόριο –η μεθακαλόνη– από το 1951 χρησιμοποιείται για την ηρεμιστική και υπνωτική του δράση. Μέχρι στιγμής, υπάρχει σημαντικός αριθμός κιναζολινικών αναλόγων, των οποίων έχει κατοχυρωθεί η πατέντα τους και είναι διαθέσιμα στην αγορά ως πιθανά φάρμακα για διάφορες ασθένειες. Στον Πίνακα 1.1 αναφέρονται ορισμένα φάρμακα κιναζολινικών αναλόγων που κυκλοφορούν στο εμπόριο με την αντίστοιχη βιολογική και θεραπευτική τους δράση.[8], [20], [21]

Πίνακας 1.1: Ενδεικτικός πίνακας με διαθέσιμα φάρμακα στην αγορά

No	Φάρμακο	Ονομασία	Βιολογική Δράση
1	Afloqualone	6-αμινο-2(φθορομεθυλ)-3-(2-μεθυλοφαινυλ) κιναζολιν-4-όνη	Καταπραϋντικό, Υπνωτικό, Αντικαρκινικό, Αντιαγχολυτικό
2	Albaconazole	7-χλωρο-3-(2R, 3R)-3-(2,4 διφθοροφαινυλο)-3-υδροξυ-4-(1.2.4-τριαζολ-1-υλ)βουταν-2-υλ κιναζολινον-4-όνη	Αντιμυκητιακό
3	Balaglitazone	5-[[4-[(3,4-διυδρο-3-μεθυλο-4-οξο-2-κιναζολινυλ) μεθοξυ]	Ενεργός υποδοχέας υπεροξισωμάτων (PPAR), γ αγωνιστής, αντιβιοτικό

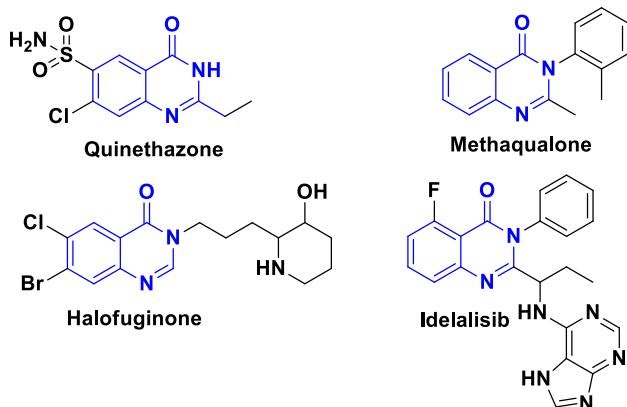
		φαινυλο]μεθυλο]-2,4-thiazolidinedione θιαζολιδινεδιόνη	
4	Cloroqualone	3-(2,6-διχλωροφαινυλο)-2-αιθυλο-4-κινναζολινονη	Ηρεμιστικό, Αντιβηχικό
5	Diproqualone	3-(2,3-διδροξυπροπυλο)-2-μεθυλο-κινναζολιν-4-όνη	Αγχολυτικό, Αναλγητικό, Αντισταμινικό, Ρευματοειδής αρθρίτιδα
6	Etaqualone	3-(2-αιθυλοφαινυλο)-2-μεθυλο-κινναζολιν-4-όνη	Κατασταλτικές ιδιότητες του νευρικού συστήματος
7	Fluproquazone	4-(4-φθοροφαινυλο)-7-μεθυλο-1-προπαν-2-κινναζολιν-2-όνη	Αντιπυρετικό, NSAID
8	Halofuginone	7-βρωμο-6-χλωρο-3-[3-[(2S,3R)-3-υδροξυ-2-πιπεριδινυλο]-2-οξοπροπυλο]-4-κινναζολινονη	Κοκκιδιοστατικό, Αντικαρκινικό, Αυτοάνοσες διαταραχές
9	Isaindigotone	3-[(3,5-διμεθοξυ-4-οξοκυκλο-2,5-διεν-1-λιδενο)μεθυλο]- 2,4-υδροξυ-1H-πυρολο[2,1-b]κινναζολιν-9-όνη	Ακετυλοχολινεστεράση και βουτυρυλοχολινεστεράση
10	Ispinesib	N-(3-αμινοπροπυλο)-N- [[1R]-1-[7-χλωρο-3,4-διδροξυ-4-οξο-3- (φαινυλομεθυλο)-2-κινναζονιλο]-2- μεθυλοπροπυλο]- 4-μεθυλο-βενζαμίδιο	Αντικαρκινικό
11	Methaqualone	2-μεθυλο-3-ο-τολυλο-4(3H)- κινναζολινονη	Υπνωτικό
12	Nolatrexed	2-αμινο-6-μεθυλο-5-(4-πυριδιλοθειο)- 1H-κινναζολιν-4-όνη	Αναστολέας θυμιδυλικής συνθάσης, Αντικαρκινικό
13	Piriqualone	3-(2-μεθυλοφαινυλο)-2-[(E)-2- πυριδινυλο]-2-αιθυλο]κινναζολιν-4- όνη	Αντισπασμωδικό
14	Quinethazone	7-χλωρο-2-αιθυλο-4-οξο-1,2,3,4- τετραυδροξυκινναζολινυλο-6- Σουλφαμίδιο	Αντιυπερτασικό
15	Raltitrexed	N-[(5-{μεθυλο[(2-μεθυλο-4-οξο-1,4- διδροξυκινναζολιν-6-υλο] μεθυλο]αμινο)-2- θειαινυλο]καρβονυλο]-L-γλουταμινικό οξύ	Αντικαρκινικό

16	Tempostatin	7-βρωμο-6-χλωρο-3-[3-[(2R,3S)-3-υδροξυ-2-πιπεριδυλο]-2-οξο=προπυλο]κιναζολιν-4-όνη	Αναστέλλοντας την εναπόθεση κολλαγόνου
17	Tiacrilast	(E)-3-[6-(μεθυλοθειο)-4-οξοκιναζολιν-3(4H)-υλ]προπενικό οξύ	Αντιαλλεργικό
18	Rutaecarpine	8,13-διυδροινδιολο[2',3':3,4]πυριδο[2,1-b]κιναζολιν-5(7H)-όνη	Alzheimer
19	Proquazone	1-Ισοπροπυλο-7-μεθυλο-4-φαινυλο-2(1H)-κιναζολινόνη	Μη στεροειδές, δυνητικό αντιφλεγμονώδες

Κιναζολινικά παράγωγα εγκεκριμένα από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA)

- Quinethazone (Κινεθαζόνη)

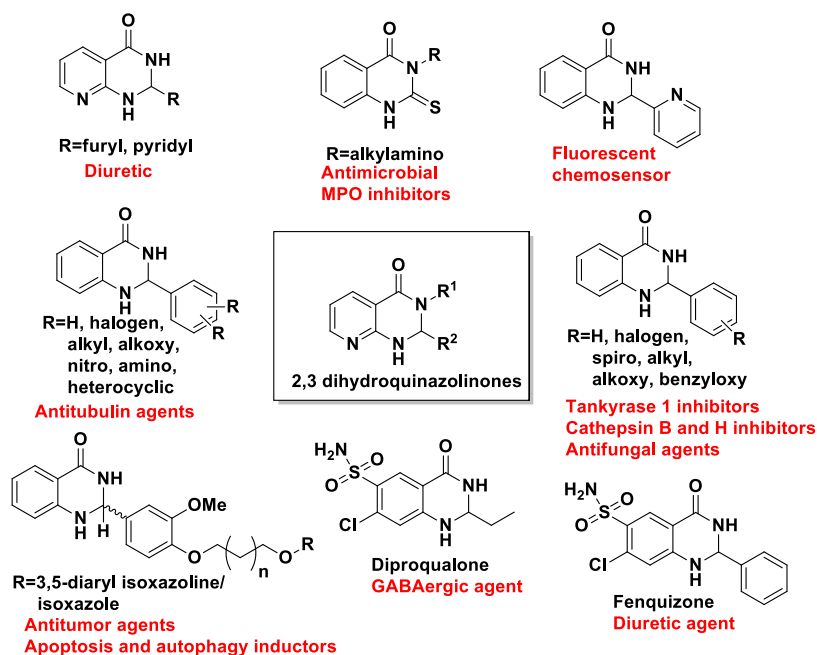
Η κινεθαζόνη (Σχήμα 1.13) είναι ένα θειαζιδικό διουρητικό που συνταγογραφείται για την θεραπεία της υπέρτασης. Αναπτύχθηκε από τους Lederle και PutYear και διατίθεται στην αγορά με την επωνυμία Hydromox® καθώς εγκρίθηκε από τον FDA το 1963. Αυτό το φάρμακο έχει μεγάλη αποτελεσματικότητα και καλό προφίλ ασφαλείας με λίγες παρενέργειες όπως ζάλη και ναυτία.



Σχήμα 1.13: Κιναζολινικά παράγωγα εγκεκριμένα από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA)

- Methaqualone (Μεθακαλόνη)

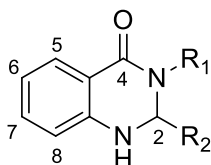
Η μεθακαλόνη (Σχήμα 1.13) είναι ένας καταπραϋντικός-υπνωτικός παράγοντας που είναι παρόμοιος σε ισχύ με τα βαρβιτουρικά φάρμακα, τα οποία χρησιμοποιούνταν για την αϋπνία. Στη δεκαετία του 1980, ταξινομήθηκε από τον FDA ως μια ουσία εξαιρετικά εθιστική και απαγορεύτηκε στην αγορά.



Σχήμα 1.14: Φαρμακολογικές δράσεις παραγώγων 2,3-διϋδροκιναζολιν-4(1H)-ονών

Δομή των 2,3-Διϋδροκιναζολιν-4(1H)-ονών

Οι 2,3-διϋδροκιναζολιν-4(1H)-όνες είναι ένα ικρίωμα που περιέχει άζωτο αποτελούμενο από ένα φαινολικό δακτύλιο συμπτυκνωμένο με έναν εξαμελή δακτύλιο με δύο άτομα αζώτου στις θέσεις 1 και 3 και μία κετο-ομάδα στον άνθρακα της θέσης 4 (Σχήμα 1.15), ενώ απουσιάζει ο διπλός δεσμός στη θέση 1 του κιναζολικού δακτυλίου. Τα περισσότερα ανάλογα των διϋδροκιναζολινονών υφίστανται υποκαταστάσεις στον χειρόμορφο άνθρακα της θέσης 2 αλλά και αντίστοιχες υποκαταστάσεις στη θέση 3. [24]



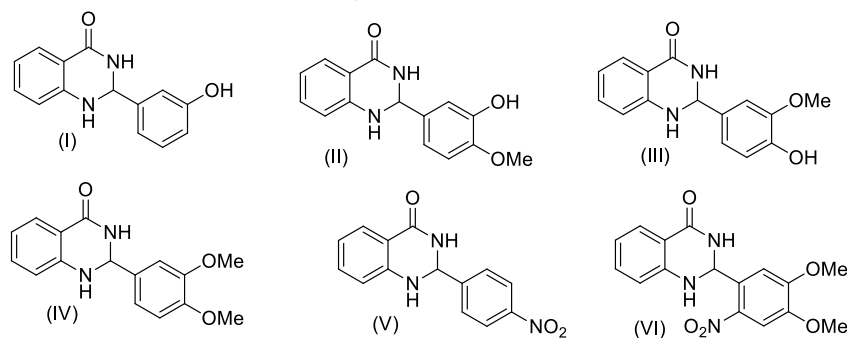
Σχήμα 1.15: Δομή των 2,3-διϋδροκιναζολιν-4(1H)-ονών

Βιολογικές δράσεις των 2,3-Διϋδροκιναζολιν-4(1H)-ονών

Όπως ήδη αναφέρθηκε, και οι 2,3-διϋδροκιναζολιν-4(1H)-όνες έχουν μια πληθώρα βιολογικών δράσεων μεταξύ των άλλων αντικαρκινική, αντιφλεγμονώδη, αντιμυκητιασική, αντιμικροβιακή, αντισπασμωδική, αντικαταθλιπτική, κ.α. Για το λόγο αυτό κρίνεται χρήσιμη η περαιτέρω μελέτη μεταξύ δομής και δραστηριότητά τους.

Αντικαρκινική δράση

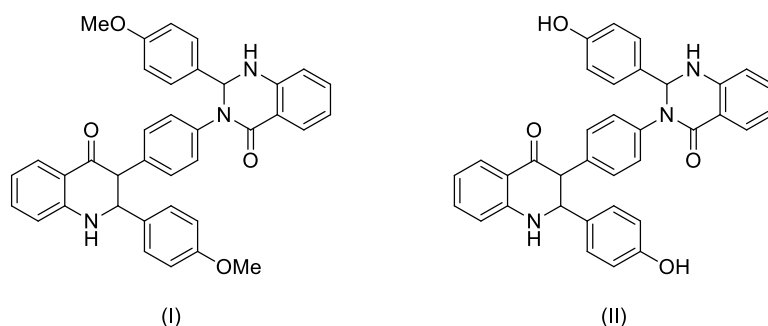
Μεταξύ άλλων οι 2,3-διϋδροκιναζολιν-4(1H)-όνες χαρακτηρίζονται και για την αντικαρκινική τους δράση. Πιο συγκεκριμένα, μια σειρά 2,3-διϋδροκιναζολιν-4(1H)-ονών που έχει δοκιμαστεί σε έξι κυτταρικές σειρές ανθρώπινου καρκίνου, δύο εκ των οποίων ήταν νευροβλαστώματος και οι υπόλοιπες τραχήλου, παγκρέατος, ήπατος και μαστού έδειξαν να έχουν ικανοποιητικά αποτελέσματα έναντι των καρκινικών σειρών. Ικανοποιητική δράση ως αναστολείς ανάπτυξης των κυτταρικών σειρών του μαστού παρουσίασαν τα κιναζολινικά παράγωγα (I-V) (Σχήμα 1.16) ενώ ενάντια στην ανάπτυξη των κυτταρικών σειρών του παγκρέατος καλή ανασταλτική δράση παρουσίασε η διϋδροκιναζολινόνη (VI) (Σχήμα 1.16). [25]



Σχήμα 1.16: 2,3-Διϋδροκιναζολιν-4(1H)-όνες καλοί αναστολείς ανάπτυξης κυτταρικών σειρών καρκίνου του μαστού (I-V) και καρκίνου του παγκρέατος (VI)

Αντιοξειδωτική δράση

Οι ελεύθερες ρίζες και οι δραστικές μορφές του οξυγόνου που παράγονται συνεχώς *in vivo* μέσω διαφόρων μεταβολικών διεργασιών, είναι ικανά να αλληλεπιδράσουν με βιολογικά μόρια όπως και το DNA προκαλώντας βλάβη σε αυτό. Αποτέλεσμα αυτής της βλάβης μπορεί να είναι μια πληθώρα ασθενειών συμπεριλαμβανομένου και του καρκίνου, αλλά και άλλων εκφυλιστικών νόσων του εγκεφάλου σχετιζόμενες με την ηλικία. Για αυτό το λόγο σκοπός των ερευνητικών ομάδων είναι η ανακάλυψη νέων συνθετικών ενώσεων με αντιοξειδωτικές ιδιότητες κάτι που έχει κερδίσει μεγάλο έδαφος τις τελευταίες δεκαετίες. Μια σειρά 2,3-διϋδροκιναζολιν-4(1H)-ονών οι οποίες συντέθηκαν και αξιολογήθηκαν με τη μέθοδο ελεύθερων ριζών DPPH έδειξαν καλή αντιοξειδωτική δράση με ικανοποιητικές τιμές του δείκτη IC₅₀ (Σχήμα 1.17). [26]

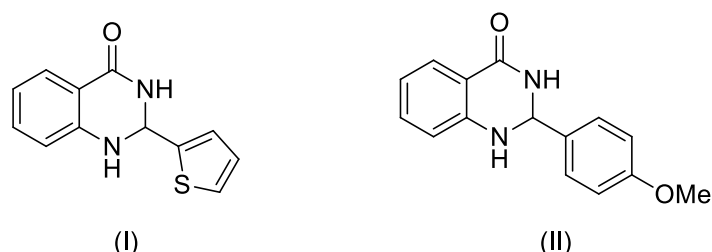


Σχήμα 1.17: 2,3-Διϋδροκιναζολιν-4(1H)-όνες με αντιοξειδωτική δράση

Αντιβακτηριακή δράση

Η αντιβακτηριακή δράση των μορίων συνδέεται πλήρως με τις ενώσεις οι οποίες καταστρέφουν επαρκώς τα βακτήρια ή ακόμη και να επιβραδύνουν τον ρυθμό ανάπτυξή τους χωρίς ταυτόχρονα να είναι εξαιρετικά τοξικές για τους ευρύτερους ιστούς. Με βάση

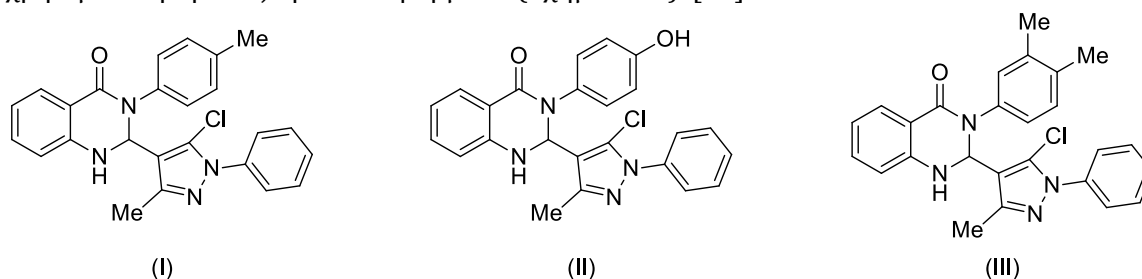
τα παραπάνω γίνεται αντιληπτή η σπουδαιότητα της αξιολόγησης της αντιβακτηριακής δράσης των ενώσεων. Έτσι, ορισμένες 2,3-διϋδροκινναζολιν-4(1H)-όνες έχουν αξιολογηθεί για την αντιβακτηριακή τους ισχύ ενάντια στα βακτήρια της *Escherichia coli* και του *Staphylococcus aureus*. Σημαντικό παράδειγμα αποτελεί η αποτελεσματική αναστολή ενάντια στο βακτήριο της *Escherichia coli* των διϋδροκινναζολινονών (I-II) (Σχήμα 1.18). [27]



Σχήμα 1.18: 2,3-Διϋδρο-κινναζολιν-4(1H)-όνες με αντιβακτηριακή δράση

Δράση κατά του διαβήτη

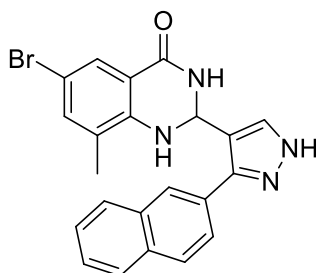
Η α-γλυκοζιδάση είναι ένα καταβολικό ένζυμο που ρυθμίζει τα επίπεδα της γλυκόζης στο πλάσμα του αίματος παρέχοντας ενέργεια και με στόχο τη διατήρηση της υγιούς λειτουργίας του οργανισμού. Τα φάρμακα που δρουν ως αναστολείς της α-γλυκοζιδάσης μειώνουν τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα στοχεύοντας με τον τρόπο αυτό στη θεραπεία του διαβήτη τύπου 2. Ορισμένα μόρια 2,3-διϋδροκινναζολιν-4(1H)-ονών (I-III) που συντέθηκαν κι αξιολογήθηκαν για το σκοπό αυτό έδειξαν καλή ανασταλτική ιδιότητα του ενζύμου, έχοντας ισχυρότερη ανασταλτική δράση σε σύγκριση με την ακαρβόζη που χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπο φάρμακο (Σχήμα 1.19). [28]



Σχήμα 1.19: 2,3-Διϋδρο-κινναζολιν-4(1H)-όνες με ανασταλτική δράση του ενζύμου α-γλυκοζιδάση για τη δράση ενάντια του διαβήτη τύπου 2

Δράση ενάντια σε νευρολογικές διαταραχές

Για την αντιμετώπιση των παθήσεων νευρολογικών διαταραχών, όπως για παράδειγμα το εγκεφαλικό επεισόδιο, η νόσος του Alzheimer, η νόσος του Parkinson, οι νευροπαθητικοί πόνοι, καθώς και η διπολική διαταραχή μέσω της αναστολής του υποδοχέα μελαστατίνης 2 (TRPM2) έχει βρεθεί ότι συμβάλλουν ορισμένα παράγωγα 2,3-διϋδροκινναζολιν-4(1H)-ονών μεταξύ άλλων το ανάλογο 6-βρωμο-8-μεθυλ-2-(3-(ναφθαλεν-1-υλ)-1H-πυραζολ-4-υλ)-2,3-διϋδροκινναζολιν-4(1H)-όνη παρουσιάζει ιδιαίτερη δράση έναντι του αναστολέα TRPM2 (Σχήμα 1.20). Το συγκεκριμένο ανάλογο της διϋδροκινναζολινόνη έχει βρεθεί ότι έχει εξειδικευμένη δράση στο κανάλι του υποδοχέα TRPM2 χωρίς να επηρεάζει άλλους υποδοχείς. [29] [30]

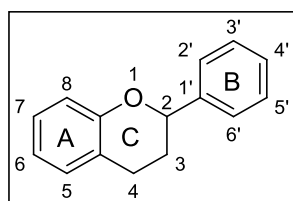


Σχήμα 1.20: 2,3-Διϋδροκριναζολιν-4(1H)-όνη που δρα ως αναστολέας του TRPM2

1.4 ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ-ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα φλαβονοειδή αποτελούν μια σημαντική κατηγορία φυσικών προϊόντων τα οποία ανήκουν στην κατηγορία δευτερογενών μεταβολιτών των φυτών που έχουν πολυφαινολική δομή. Αυτά συναντάται ευρέως σε φρούτα, λαχανικά και ορισμένα ποτά. Οι ενώσεις αυτές συνδέονται με ένα ευρύ φάσμα βιολογικών, φαρμακευτικών και ιατρικών εφαρμογών. Αυτό οφείλεται σε ένα ευρύ φάσμα βιολογικών δράσεων όπως η αντιοξειδωτική, η αντιφλεγμονώδης, η αντι-καρκινική σε συνδυασμό με την ικανότητά τους να ρυθμίζουν τις κυριότερες κυτταρικές και ενζυμικές λειτουργίες. Αποτελούν ακόμη ισχυροί αναστολείς για διάφορα ένζυμα, όπως της 3-κινάσης της φωσφοϊνοσιτιδής, οξειδάσης ξανθίνης (XO), της κυκλοοξυγονάσης (COX), κ.α.

Τα φλαβονοειδή μπορούν να χωριστούν σε διαφορετικές υποομάδες ανάλογα με τον άνθρακα του δακτυλίου C στον οποίο συνδέεται ο δακτύλιος B και τον βαθμό ακορεστότητας και οξείδωσης του δακτυλίου C (Σχήμα 1.21).

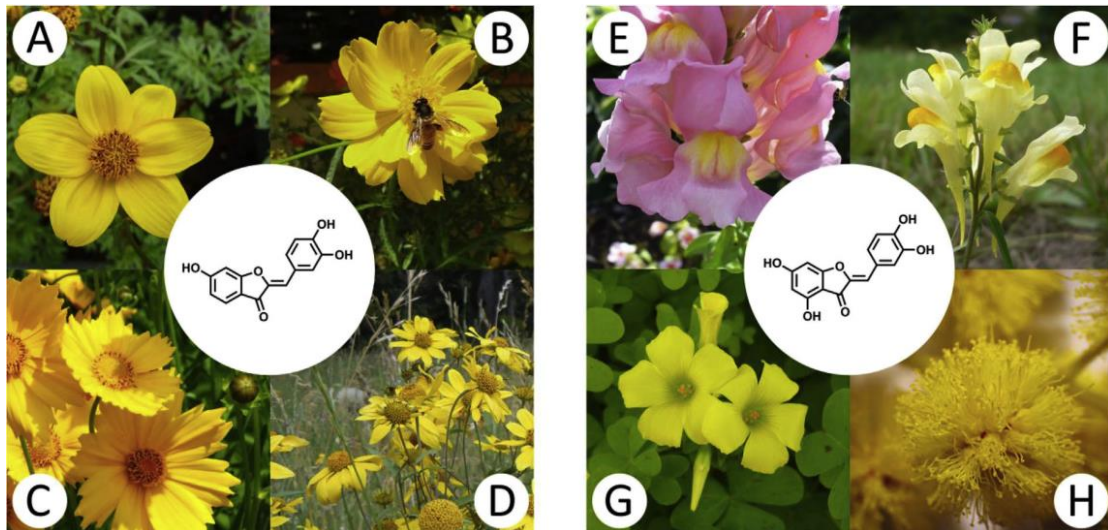


Σχήμα 1.21: Βασική δομή φλαβονοειδών

Στις υποομάδες των φλαβονοειδών περιλαμβάνονται μεταξύ άλλων οι χαλκόνες και οι ωρόνες, οι οποίες διαθέτουν ποικιλία βιολογικών και θεραπευτικών δράσεων.

1.5 ΩΡΟΝΕΣ

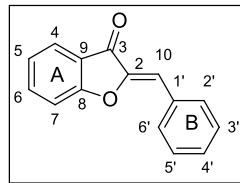
Οι ωρόνες ((Z)-2-βενζυλιδενοβενζοφουραν-3(2H)-όνες) ανήκουν στην κατηγορία των φλαβονοειδών. Η ονομασία «ωρόνη» προέρχεται από τη λατινική λέξη aurum (χρυσός) λόγω του χρυσο-κίτρινου χρώματος των χρωστικών που ορισμένες εμφανίζουν στα φυτά. Οι ωρόνες περιγράφονται και ως φυτοαλεξίνες καθώς χρησιμοποιούνται από τα φυτά στον αμυντικό μηχανισμό τους έναντι διαφόρων λοιμώξεων. Μπορούν να βρεθούν σε διάφορα άνθη της οικογένειας *Scrophulariaceae* (Εικόνα 1.2). [29]



Εικόνα 1.2: Ενδεικτικά ανθοφόρα φυτά που σχετίζονται με τις 4-δεοξυωρόνες (αριστερά) και 4-υδροξυωρόνες (δεξιά)

Δομή ωρόνης

Οι ωρόνες αποτελούνται από έναν δακτύλιο βενζοφουρανόνης συνδεδεμένο μέσω ενός διπλού δεσμού μεταξύ άνθρακα-άνθρακα και μια φαινυλομάδα. (Σχήμα 1.22). Οι ωρόνες μπορούν να υφίστανται σε δύο διαμορφώσεις (μορφή E-Z). Οι περισσότερες βρίσκονται σε (Z) -διαμόρφωση, η οποία παρουσιάζεται περισσότερο σταθερή.



Σχήμα 1.22: Βασική δομή ωρονών

Βιολογικές δράσεις ωρονών

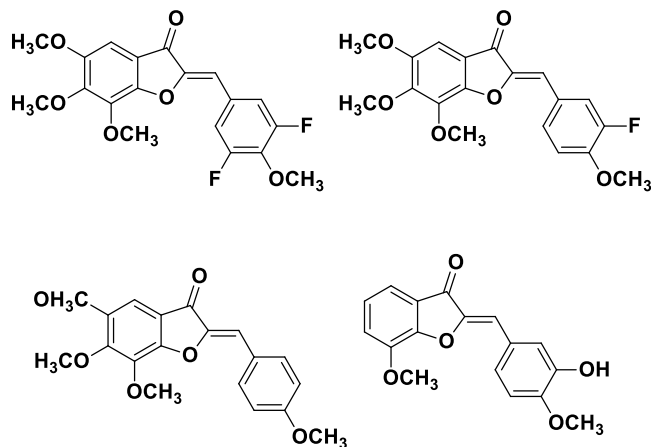
Οι φυσικές ωρόνες και τα συνθετικά ανάλογα τους παρουσιάζουν ένα ευρύ φάσμα βιολογικών δράσεων, όπως αντικαρκινική, αντιοξειδωτική, αντιπαρασιτική, αντιμικροβιακή κ.α. Επιπλέον, έχουν χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία της νόσου του Alzheimer ως αναστολείς της AChE.

Αντικαρκινική δράση

Ορισμένες ωρόνες διαθέτουν την ικανότητα να αναστέλουν ένζυμα τα οποία είναι εξαρτώμενα από την τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP) και πρωτεϊνών μέσω της μίμησης της αδενίνης του ATP, η οποία είναι απαραίτητη για τη λειτουργία ενζύμων και υποδοχέων. Συγκεκριμένα, η δομή της βενζοφουρανόνης των ωρονών μιμείται την αδενίνη της ATP γεγονός που παίζει ιδιαίτερο ρόλο στην αποτελεσματικότητα της δράσης των ωρονών.

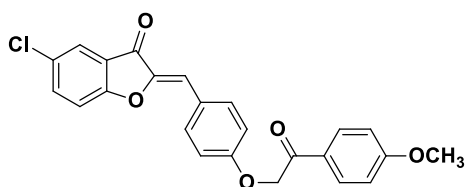
Ο Lawrence και οι συνεργάτες του ανέπτυξαν μια σειρά ωρονών και μελέτησαν τις ανασταλτικές ιδιότητες των ενώσεων αυτών στην ανάπτυξη των κυττάρων στην κυτταρική σειρά της ανθρώπινης χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας. Η μελέτη αυτή

αποκάλυψε ότι τα ανάλογα των ωρώνων (Σχήμα 1.23) παρουσίασαν ικανοποιητική δραστηριότητα. Η καλύτερη αντικαρκινική δραστηριότητα παρατηρήθηκε μέσω της ενσωμάτωσης 3-υδροξυλικών, 4-μεθοξυ ομάδων στο βενζυλένιο και της 7-μεθοξυ ομάδας στο δακτύλιο του βενζοφουρανίου όπως φαίνεται Σχήμα 1.23.



Σχήμα 1.23: Ωρόνες με αντικαρκινική δράση

Το 2015, ο Demirayak και οι συνεργάτες του ανέπτυξαν μια σειρά αναλόγων 2-[4-(2-αρυλο-2-οξοαιθοξυ) αρυλιδενο] βενζοφουραν-3-όνης όπου μελετήθηκαν και αξιολογήθηκαν ως προς τις αντικαρκινικές ιδιότητες τους από το Εθνικό Ινστιτούτο Καρκίνου (NCI) στις ΗΠΑ έναντι 60 διαφορετικών ανθρώπινων κυτταρικών σειρών. Οι ενώσεις εμφάνισαν ισχυρή δραστηριότητα έναντι του καρκίνου των ωθηκών και του μαστού, καθώς και της λευχαιμίας. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η 5-χλωροωρόνη επεκταταμένη με 4-μεθοξυφαινυλο-2-οξοαιθοξυομάδα μέσω του δακτυλίου Β (Σχήμα 1.24) φάνηκε ως η περισσότερο αποτελεσματική, παρουσιάζοντας την υψηλότερη αντικαρκινική δράση έναντι της λευχαιμίας.

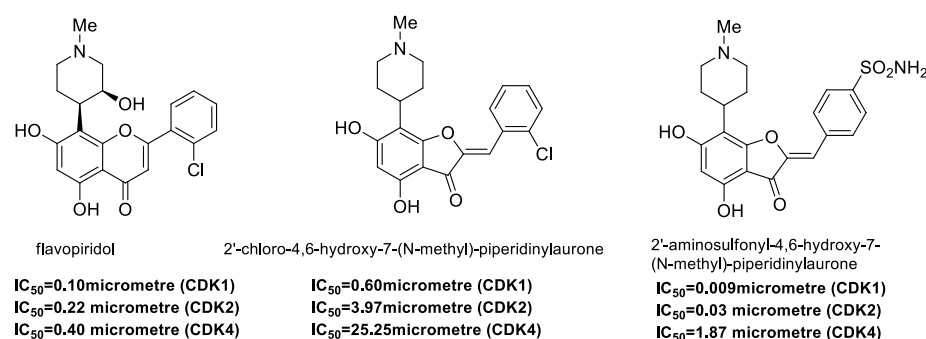


Σχήμα 1.24: Ένωση με αντικαρκινική δράση σύμφωνα με NCI

Οι εξαρτώμενες από την κυκλίνη κινάσες (CDK) αποτελούν βασικά ένζυμα για τον έλεγχο του κύκλου ζωής του κυττάρου. Η δραστηριότητά τους αλλάζει στα καρκινικά κύτταρα, γεγονός που προκαλεί γρήγορο κυτταρικό πολλαπλασιασμό, με αποτέλεσμα γονιδιωματική αλλά και χρωμοσωμική αστάθεια. Ωστόσο, καθώς οι κινάσες (CDK) παίζουν ζωτικό ρόλο σε υγιή κύτταρα, είναι ιδιαίτερα δύσκολο να προσεγγίσεις αυτά τα ένζυμα σε καρκινικά κύτταρα χωρίς να προκληθούν σημαντικές παράπλευρες βλάβες. Η ανάπτυξη επιλεκτικών αναστολέων για έναν τύπο κινάσων (CDK) θα επέτρεπε την ακριβέστερη στόχευση των καρκινικών κυττάρων. Ορισμένες ωρόνες παρουσιάζουν ικανοποιητική δράση συγκρίνοντας με την φλαβοπιριδόλη και υψηλότερη

εκλεκτικότητα προς όφελος των CDK1, σε σύγκριση με τις CDK2 και CDK4 (Σχήμα 1.25). Ομοίως, η κινάση της σφιγγοσίνης (SphK) είναι μια κινάση οι οποία ελέγχει τη σύνθεση των βιοδραστικών λιπιδίων στην κυτταρική μεμβράνη. Πολλές βιολογικές ενδείξεις παρουσιάζουν ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη όγκων, αλλά ο μικρός αριθμός αναστολέων δεν έχει επιτρέψει την χρήση του στόχου αυτού για την ανάπτυξη αντικαρκινικών φαρμάκων. Το 2003, μια μελέτη που επικεντρώνεται σε κατηγορίες ενώσεων οι οποίες είναι ικανές να αναστέλλουν την κινάση της σφιγγοσίνης (SphK) παρουσίασαν ότι η 3',4'-διυδροξυ-ωρόνη είναι ικανή να προκαλέσει ικανοποιητική δραστηριότητα *in vitro*, αλλά οδηγεί σε μια ικανοποιητική μείωση στην αύξηση του καρκινικού όγκου κατά τη διάρκεια των *in vivo* δοκιμασιών (50% μείωση μετά από την θεραπευτική αγωγή 18 ημερών).

Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν να επιβεβαιώνουν ότι η στόχευση της κινάσης της σφιγγοσίνης θα μπορούσε να αποτελεί μια πολύτιμη στρατηγική για την προώθηση της συρρίκνωσης καρκινικών όγκων.



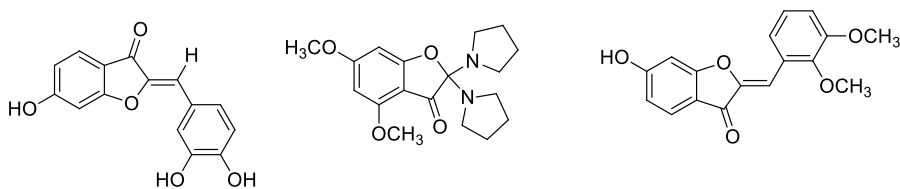
Σχήμα 1.25: Αναστολή των εξαρτώμενων από κυκλίνη κινάσεων CDK1, CDK2 και CDK4 από ωρόνες και φλαβοπιριδόλη (χρησιμοποιείται ως αναφορά)

Αντιφλεγμονώδης δράση

Η φλεγμονή αποτελεί αποτέλεσμα της ανοσολογικής αντίδρασης του οργανισμού έναντι επιβλαβών ερεθισμάτων, όπως η μόλυνση από παθογόνους οργανισμούς. Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας αυτής, τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος εκκρίνουν φυσικές χημικές ουσίες όπως κυτοκίνες, νιτρικό οξύ και προσταγλανδίνες, των οποίων η συσσώρευση μπορεί να οδηγήσει σε βλάβη των ιστών και σηπτικό σοκ. Συνεπώς, η ρύθμιση της παραγωγής των παραπάνω ουσιών έχει διεγείρει το ιατρικό και ερευνητικό ενδιαφέρον για τη θεραπεία των συνεπειών της φλεγμονής και ορισμένων αυτοάνοσων νοσημάτων. Η σουλφουρετίνη έχει ανακαλυφθεί ως μια από τις κυριότερες δραστικές φαρμακευτικές ενώσεις έναντι της φλεγμονής σε εκχυλίσματα εσωτερικά του ξύλου του φυτού *Rhus verniciflua*, ένα δέντρο το οποίο έχει χρησιμοποιηθεί παραδοσιακά στις ασιατικές χώρες για την αντιμετώπιση του καρκίνου.

Μερικές ωρόνες έχουν συντεθεί ως ανάλογα θειουρετίνης, ένα μόριο που έχει ήδη περιγραφεί ως αντιφλεγμονώδης παράγοντας ο οποίος είναι ικανός να μειώσει την παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου και προσταγλανδίνης E2, δύο προ-φλεγμονωδών μορίων. Τα αποτελέσματα έχουν αποκαλύψει ότι αυτές οι συντιθέμενες ενώσεις φαίνεται να είναι λιγότερο κυτταροτοξικές και ορισμένες να είναι περισσότερο αποτελεσματικές έναντι της σουλφουρετίνης. Για την μελέτη της σχέσης μεταξύ δομής- δράσης, η

παρουσία του υδροξυλίου στη θέση του άνθρακα 5 παρουσιάζει σημαντικό ενδιαφέρον για τη μείωση της σύνθεσης της προσταγλανδίνης *E2* ενώ οι μεθοξυ-ομάδες στο δακτύλιο *B* φαίνεται πως είναι απαραίτητες για τη μείωση της παραγωγής του μονοξειδίου του αζώτου (Σχήμα 1.26). [33]

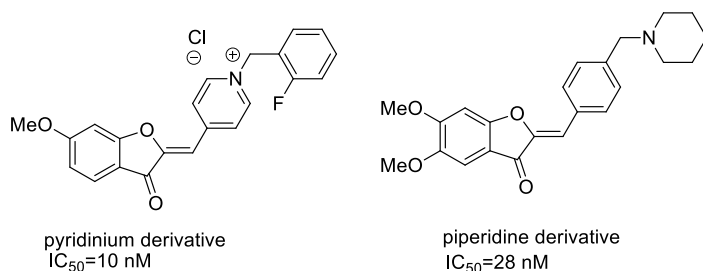


Σχήμα 1.26: Ωρόνες με αντιφλεγμονώδη δράση

Δράση κατά της νόσου του Alzheimer

Η νόσος Alzheimer αποτελεί μια νευροεκφυλιστική παθολογία, η οποία χαρακτηρίζεται από την προοδευτική απώλεια των ψυχικών λειτουργιών, συμπεριλαμβανομένων εκτός των άλλων και της μνήμης. Οι αναστολείς της ακετυλο-χολινεστεράσης αποτελούν την κυριότερη κατηγορία φαρμάκων για τη θεραπεία της νόσου Alzheimer. Αυτό το ένζυμο θεωρείται πως είναι υπεύθυνο για τα μειωμένα επίπεδα της ακετυλοχολίνης στον εγκέφαλο ενώ εμπλέκεται και στην απώλεια των χολινεργικών νευρώνων.

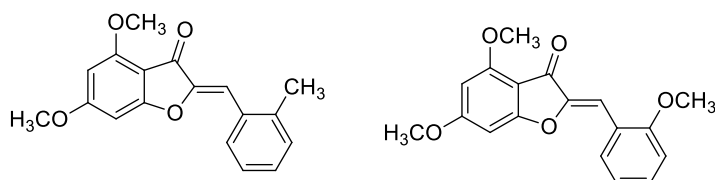
Παρότι οι αναστολείς αυτοί δεν σταματούν την εξέλιξη της νόσου Alzheimer, μπορούν όμως προσωρινά να βελτιώσουν τις νοητικές απώλειες αλλά και την ποιότητα ζωής των ασθενών. Οι υποκαταστημένες αμινομεθυλο-ωρόνες και ανάλογα ινδανονών έχουν παρουσιαστεί ως αναστολείς της ακετυλο-χολινεστεράσης (*AChE*) μέσω *in vitro* πειραμάτων και με τον τρόπο αυτόν μπορούν να αποτελέσουν χρήσιμα θεραπευτικά μόρια για τη θεραπεία της νόσου Alzheimer, όπως ήδη η ριβαστιγμίνη οι οποία αποτελεί εγκεκριμένο φάρμακο. Οι *in vitro* μελέτες των ωρονών παρουσίασαν ιδιαίτερη δράση καθώς ήταν γενικά περισσότερο δραστικές σε σύγκριση με την ριβαστιγμίνη ($IC_{50} = 0.082, 1.54 \mu M$ έναντι $2.07 \mu M$). Σύμφωνα με μελέτες μοριακής σύνδεσης, ένα ανάλογο της ινδανόνης οδήγησε σε μια ικανοποιητική σύνδεση στο ενεργό κέντρο της ακετυλο-χολινεστεράσης, σχηματίζοντας *π-π* αλληλεπιδράσεις. Η αντικατάσταση του δακτυλίου *B* των ωρονών από μια ομάδα *N*-βενζυλο-πυριδινίου φάνηκε να βελτιώνει σημαντικά τις *in vitro* δραστικότητες. Η παρουσία ενός 6-μεθοξυ- υποκαταστάτη, ενός ατόμου φθορίου στο βενζυλο- δακτύλιο και ενός κατάλληλου αντίθετου ιόντος, δίνουν ανάλογα με χαμηλότερη τιμή IC_{50} σε σύγκριση με τη ντονεπεζίλη, που αποτελεί φάρμακο αναφοράς ($IC_{50} = 10 \text{ nM}$ και $IC_{50} = 22 \text{ nM}$ έναντι $IC_{50} = 28 \text{ nM}$) (Σχήμα 1.27).



Σχήμα 1.27: Ωρόνες που παρουσιάζουν χαμηλότερη τιμή IC₅₀ από τη ντονεπεζίλη

Αντιπαρασιτική δράση

Τα παράγωγα ωρονών τα οποία εμφανίζουν μια ποικιλία υποκαταστατών στους δακτυλίους *A* και *B* έχουν αναπτυχθεί, μελετηθεί και αξιολογηθεί για την αντιπαρασιτική δραστηριότητα τους σε σχέση με την ενδοκυτταρική μορφή του *Leishmania infantum*. Η ηλεκτρονιακή φύση των υποκαταστατών αλλά και η θέση τους στο ικρίωμα της ωρόνης φαίνεται να παρουσιάζει ιδιαίτερο ρόλο ως προς την αντιπαρασιτική δράση. Τα αποτελέσματα απέδειξαν ότι οι ωρόνες οι οποίες φέρουν μεθοξυ- υποκαταστάτες στο δακτύλιο *A* αλλά και υποκαταστάτες όπως δότες ηλεκτρονίων στο δακτύλιο *B* παρουσίασαν σημαντική αντιπαρασιτική δράση. Οι ενώσεις οι οποίες φέρουν μια μεθυλο-ομάδα ή μια μεθοξυ-ομάδα στη θέση 2' του δακτυλίου *B* (Σχήμα 1.28) παρουσιάζουν ισχυρή αντιλεϊσμάνιακή δράση (IC₅₀ = 1.3 και 1.6 μM αντίστοιχα) σε σύγκριση με τη δραστηριότητα της αμφοτερικίνη *B* (IC₅₀ = 1.2 μM) το οποίο αποτελεί φάρμακο αναφοράς.



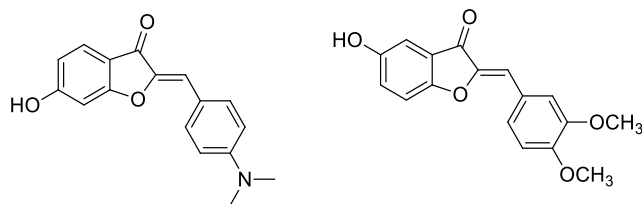
Σχήμα 1.28: Ωρόνες με ισχυρή αντιλεϊσμάνιακή δράση

Αντιοξειδωτική δράση

Το 2009, η Detsi και οι συνεργάτες της συνέθεσαν μια σειρά διαφορετικών παραγώγων ωρονών και εξέτασαν ταυτόχρονα την αντιοξειδωτική και ανασταλτική δράση της λιποξυγενάσης. Οι ενώσεις φάνηκε πως παρουσίασαν ανασταλτική δράση στην υπεροξειδωση λιπιδίων και τη δυνατότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών. Οι ενώσεις με μια μεθοξυ-ομάδα στη θέση 4' του δακτυλίου *B*, παρουσίασαν το αποτελεσματικότερο προφίλ αναστολής αντιοξειδωτικών - λιποξυγενασών, ενώ το ανάλογο που φέρει ως υποκαταστάτη ένα χλώριο παρήγαγε ένα λιγότερο ισχυρό παράγωγο.

Η αντιοξειδωτική δράση των διαφόρων παραγώγων ωρονών έχει μελετηθεί και αξιολογηθεί ως προς την δραστηριότητα χηλικοποίησης του σιδήρου. Οι ενώσεις (Σχήμα 1.29) παρουσίασαν ενισχυμένη ικανότητα σύνδεσης σιδήρου διαπιστώνοντας ότι η παρουσία ενώσεων οι οποίες αποτελούν δότες ηλεκτρονίων στο δακτύλιο *B* ενισχύουν

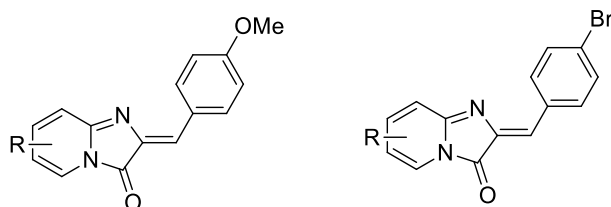
την αντιοξειδωτική δράση. Ακόμη, η αντιοξειδωτική ικανότητα όλων των συντιθέμενων ενώσεων βρέθηκε ότι είναι ισχυρότερη από το ασκορβικό οξύ, το οποίο αποτελεί ένωση αναφοράς στη δοκιμασία απομάκρυνσης του υπεροξειδίου του υδρογόνου.



Σχήμα 1.29: Ωρόνες με ενισχυμένη ικανότητα σύνδεσης σιδήρου

DNA παρεμβολείς

Ως προς την αποτελεσματικότητα της αλληλεπίδρασης μεταξύ ωρονών και DNA, έχει πραγματοποιηθεί έρευνα η οποία βασίζεται στην υπεριώδη ακτινοβολία για την *in vitro* δέσμευση του φαρμακευτικού μορίου στο DNA. Το φάσμα απορρόφησης του DNA εμφανίζεται στα 260 nm χωρίς την παρουσία φαρμακευτικού μορίου. Στην περίπτωση όπου το DNA έχει αλληλεπιδράσει με αυξανόμενες συγκεντρώσεις των φερόμενων μορίων (Σχήμα 1.30), παρουσιάζεται μια υποχρωμία στο φάσμα απορρόφησης γεγονός που υποδηλώνει την πιθανή δέσμευση των αναλόγων ωρονών στο DNA λόγω και της γεωμετρίας τους ως επίπεδη δομή που παρουσιάζουν οι ωρόνες.



Σχήμα 1.30: Ωρόνες που λειτουργούν ως παρεμβολείς στο DNA

1.5 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- [1] N. Brihi, "Pharmacological activity of Alkaloids: A Review Intestinal anti-inflammatory activity of alkaloids in DNBS, DSS and Acetic Acid Models View project Pharmacological activity of Alkaloids: A Review," *Asian Journal of Botany*, vol. 1, 2018, doi: 10.63019/ajb.v1i2.467.
- [2] J. J. Lu, J. L. Bao, X. P. Chen, M. Huang, and Y. T. Wang, "Alkaloids isolated from natural herbs as the anticancer agents," *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2012. 2012. doi: 10.1155/2012/485042.
- [3] Y. Yan, X. Li, C. Zhang, L. Lv, B. Gao, and M. Li, "antibiotics Review Research Progress on Antibacterial Activities and Mechanisms of Natural Alkaloids: A Review," 2021, doi: 10.3390/antibiotics.
- [4] S. B. Mhaske and N. P. Argade, "The chemistry of recently isolated naturally occurring quinazolinone alkaloids," *Tetrahedron*, vol. 62, no. 42, pp. 9787–9826, 2006, doi: 10.1016/j.tet.2006.07.098.
- [5] M. M. Reddy and A. Sivaramakrishna, "Remarkably flexible quinazolinones—synthesis and biological applications," *Journal of Heterocyclic Chemistry*, vol. 57, no. 3. HeteroCorporation, pp. 942–954, Mar. 01, 2020. doi: 10.1002/jhet.3844.
- [6] G. Mohammadi Ziarani, P. Gholamzadeh, A. Badiei, and V. Fathi Vavsari, "The role of pyruvic acid as starting material in some organic reactions in the presence of SBA-Pr-SO₃H nanocatalyst," *Research on Chemical Intermediates*, vol. 44, no. 1, pp. 277–288, Jan. 2018, doi: 10.1007/s11164-017-3103-4.
- [7] A. M. Alsibae, H. M. Al-Yousef, and H. S. Al-Salem, "Quinazolinones, the Winning Horse in Drug Discovery," *Molecules*, vol. 28, no. 3. MDPI, Feb. 01, 2023. doi: 10.3390/molecules28030978.
- [8] A. A. Radwan and F. K. Alanazi, "Biological Activity of Quinazolinones." [Online]. Available: www.intechopen.com
- [9] M. Mortazavi *et al.*, "Study of the anticancer effect of new quinazolinone hydrazine derivatives as receptor tyrosine kinase inhibitors," *Front Chem*, vol. 10, Nov. 2022, doi: 10.3389/fchem.2022.969559.
- [10] S. Long *et al.*, "Antitumor activity of quinazolinone alkaloids inspired by marine natural products," *Mar Drugs*, vol. 16, no. 8, Jul. 2018, doi: 10.3390/md16080261.
- [11] A. M. Alsibae, H. M. Al-Yousef, and H. S. Al-Salem, "Quinazolinones, the Winning Horse in Drug Discovery," *Molecules*, vol. 28, no. 3. MDPI, Feb. 01, 2023. doi: 10.3390/molecules28030978.
- [12] A. M. Alsibae, H. M. Al-Yousef, and H. S. Al-Salem, "Quinazolinones, the Winning Horse in Drug Discovery," *Molecules*, vol. 28, no. 3. MDPI, Feb. 01, 2023. doi: 10.3390/molecules28030978.

- [13] P. S. Auti, G. George, and A. T. Paul, "Recent advances in the pharmacological diversification of quinazoline/quinazolinone hybrids," *RSC Advances*, vol. 10, no. 68. Royal Society of Chemistry, pp. 41353–41392, Nov. 12, 2020. doi: 10.1039/d0ra06642g.
- [14] A. A. Radwan and F. K. Alanazi, "Biological Activity of Quinazolinones." [Online]. Available: www.intechopen.com
- [15] M. Asif, "Chemical Characteristics, Synthetic Methods, and Biological Potential of Quinazoline and Quinazolinone Derivatives," *Int J Med Chem*, vol. 2014, pp. 1–27, Nov. 2014, doi: 10.1155/2014/395637.
- [16] M. M. Reddy and A. Sivaramakrishna, "Remarkably flexible quinazolinones—synthesis and biological applications," *Journal of Heterocyclic Chemistry*, vol. 57, no. 3. HeteroCorporation, pp. 942–954, Mar. 01, 2020. doi: 10.1002/jhet.3844.
- [17] K. P. Rakesh, N. Darshini, T. Shubhavathi, and N. Mallesha, "Organic & Medicinal Chem IJ Biological Applications of Quinazolinone Analogues: A Review", doi: 10.19080/OMCIJ.2017.02.555585.
- [18] M. A. Mansour, A. M. Aboulmagd, and H. M. Abdel-Rahman, "Quinazoline-Schiff base conjugates:: In silico study and ADMET predictions as multi-target inhibitors of coronavirus (SARS-CoV-2) proteins," *RSC Adv*, vol. 10, no. 56, pp. 34033–34045, Sep. 2020, doi: 10.1039/d0ra06424f.
- [19] H. N. H. Giang *et al.*, "Quinazolinone-Peptido-Nitrophenyl-Derivatives as Potential Inhibitors of SARS-CoV-2 Main Protease," *Viruses*, vol. 15, no. 2, Feb. 2023, doi: 10.3390/v15020287.
- [20] B. Kumar Tiwary, K. Pradhan, A. Kumar Nanda, and R. Chakraborty, "Implication of Quinazoline-4(3H)-ones in Medicinal Chemistry: A Brief Review," *Journal of Chemical Biology & Therapeutics*, vol. 01, no. 02, 2016, doi: 10.4172/2572-0406.1000104.
- [21] P. V. Kumar, "Quinazoline Marketed drugs-A Review Carica papaya marketed formulation View project New Generation Peptide-Based Vaccine Prototype View project Selvam Tp," 2011. [Online]. Available: <https://www.researchgate.net/publication/235333319>
- [22] D. Peña-Solórzano, C. E. González Guilombo, and C. Ochoa-Puentes, "Rapid and eco-friendly high yield synthesis of dihydroquinazolinones mediated by urea/zinc chloride eutectic mixture," *Sustain Chem Pharm*, vol. 14, no. August, 2019, doi: 10.1016/j.scp.2019.100167.
- [23] Z. Xie, S. Zhang, G. Jiang, D. Sun, and Z. Le, "Green Chemistry Letters and Reviews The green synthesis of 2, 3- dihydroquinazolin-4 (1 H) -ones via direct cyclocondensation reaction under catalyst-free conditions," vol. 8253, 2015, doi: 10.1080/17518253.2015.1109145.
- [24] M. Badolato and F. Aiello, "RSC Advances," pp. 20894–20921, 2018, doi: 10.1039/c8ra02827c.
- [25] N. Ramesh, M. G. Rao, R. Varala, V. U. Rao, and B. H. Babu, "Mercuric chloride catalyzed synthesis of some anticancer 2-aryl-2,3-dihydroquinizolin-4(1H)-ones," *Medicinal*

- Chemistry Research*, vol. 25, no. 9, pp. 1945–1951, 2016, doi: 10.1007/s00044-016-1630-y.
- [26] P. Sivaguru, K. Parameswaran, and A. Lalitha, “Antioxidant, anticancer and electrochemical redox properties of new bis(2,3-dihydroquinazolin-4(1H)-one) derivatives,” *Mol Divers*, vol. 21, no. 3, pp. 611–620, 2017, doi: 10.1007/s11030-017-9748-5.
- [27] A. R. Shinde, Y. D. Mane, and D. B. Muley, “One-pot B(C₆F₅)₃ catalyzed cascade synthesis of 2-substituted-2,3-dihydroquinazolin-4(1H)-ones,” *Synth Commun*, vol. 50, no. 1, pp. 33–40, 2020, doi: 10.1080/00397911.2019.1679539.
- [28] A. Barmak, K. Niknam, and G. Mohebbi, “Synthesis, Structural Studies, and α -Glucosidase Inhibitory, Antidiabetic, and Antioxidant Activities of 2,3-Dihydroquinazolin-4(1 H)-ones Derived from Pyrazol-4-carbaldehyde and Anilines,” *ACS Omega*, vol. 4, no. 19, pp. 18087–18099, 2019, doi: 10.1021/acsomega.9b01906.
- [29] H. Zhang *et al.*, “AC SC,” *Eur J Med Chem*, vol. 4, 2018, doi: 10.1016/j.ejmech.2018.04.045.
- [30] J. C. Belrose and M. F. Jackson, “TRPM2: A candidate therapeutic target for treating neurological diseases,” *Acta Pharmacol Sin*, vol. 39, no. 5, pp. 722–732, 2018, doi: 10.1038/aps.2018.31.
- [31] A. Soni, P. Khurana, T. Singh, and B. Jayaram, “A DNA intercalation methodology for an efficient prediction of ligand binding pose and energetics,” *Bioinformatics*, vol. 33, no. 10, pp. 1488–1496, 2017, doi: 10.1093/bioinformatics/btx006.
- [32] S. Rauf *et al.*, “Electrochemical approach of anticancer drugs-DNA interaction,” *J Pharm Biomed Anal*, vol. 37, no. 2, pp. 205–217, 2005, doi: 10.1016/j.jpba.2004.10.037.
- [33] A. Mukherjee and W. D. Sasikala, *Drug-DNA intercalation: From discovery to the molecular mechanism*, 1st ed., vol. 92. Copyright © 2013 Elsevier Inc. All rights reserved., 2013. doi: 10.1016/B978-0-12-411636-8.00001-8.
- [34] L. Pinzi and G. Rastelli, “Molecular docking: Shifting paradigms in drug discovery,” *Int J Mol Sci*, vol. 20, no. 18, 2019, doi: 10.3390/ijms20184331.
- [35] K. M. Elokely and R. J. Doerksen, “Docking challenge: Protein sampling and molecular docking performance,” *J Chem Inf Model*, vol. 53, no. 8, pp. 1934–1945, 2013, doi: 10.1021/ci400040d.
- [36] S. Li, V. R. Cooper, T. Thonhauser, B. I. Lundqvist, and D. C. Langreth, “Stacking interactions and DNA intercalation,” *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 113, no. 32, pp. 11166–11172, 2009, doi: 10.1021/jp905765c.
- [37] P. G. Baraldi *et al.*, “DNA minor groove binders as potential antitumor and antimicrobial agents,” *Med Res Rev*, vol. 24, no. 4, pp. 475–528, 2004, doi: 10.1002/med.20000.
- [38] X. Cai, P. J. Gray, and D. D. Von Hoff, “DNA minor groove binders: Back in the groove,” *Cancer Treat Rev*, vol. 35, no. 5, pp. 437–450, 2009, doi: 10.1016/j.ctrv.2009.02.004.

- [39] P. L. Hamilton and D. P. Arya, "Natural product DNA major groove binders," *Nat Prod Rep*, vol. 29, no. 2, pp. 134–143, 2012, doi: 10.1039/c1np00054c.
- [40] R. Palchauthuri and P. J. Hergenrother, "DNA as a target for anticancer compounds: methods to determine the mode of binding and the mechanism of action," *Curr Opin Biotechnol*, vol. 18, no. 6, pp. 497–503, 2007, doi: 10.1016/j.copbio.2007.09.006.
- [41] A. Rescifina, C. Zagni, M. G. Varrica, V. Pistarà, and A. Corsaro, "Recent advances in small organic molecules as DNA intercalating agents: Synthesis, activity, and modeling," *Eur J Med Chem*, vol. 74, pp. 95–115, 2014, doi: 10.1016/j.ejmech.2013.11.029.
- [42] M. Karimi Goftar, N. M. Kor, and Z. M. Kor, "DNA intercalators and using them as anticancer drugs," *International journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, vol. 2, no. 3, pp. 811–822, 2014.
- [43] Y. Yu *et al.*, "Recent advances in delivery of photosensitive metal-based drugs," *Coord Chem Rev*, vol. 387, pp. 154–179, 2019, doi: 10.1016/j.ccr.2019.01.020.
- [44] T. Gheewala, T. Skwor, and G. Munirathinam, "Photosensitizers in prostate cancer therapy," *Oncotarget*, vol. 8, no. 18, pp. 30524–30538, 2017, doi: 10.18632/oncotarget.15496.
- [45] Z. Zarebska, E. Waszkowska, S. Caffieri, and F. Dall'Acqua, "PUVA (psoralen + UVA) photochemotherapy: Processes triggered in the cells," *Farmaco*, vol. 55, no. 8, pp. 515–520, 2000, doi: 10.1016/S0014-827X(00)00076-8.
- [46] H. C. Lai, C. S. Lin, C. S. Wu, and C. C. E. Lan, "The impact of irradiance on UVB-induced cutaneous immunosuppression: Implications on administering most efficient phototherapy," *J Dermatol Sci*, vol. 93, no. 2, pp. 116–122, 2019, doi: 10.1016/j.jdermsci.2019.01.003.
- [47] M. Widel, A. Krzywon, K. Gajda, M. Skonieczna, and J. Rzeszowska-Wolny, "Induction of bystander effects by UVA, UVB, and UVC radiation in human fibroblasts and the implication of reactive oxygen species," *Free Radic Biol Med*, vol. 68, pp. 278–287, 2014, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.12.021.
- [48] M. Pasolli *et al.*, "Pyridine and p-nitrophenyl oxime esters with possible photochemotherapeutic activity: Synthesis, DNA photocleavage and DNA binding studies," *Molecules*, vol. 21, no. 7, 2016, doi: 10.3390/molecules21070864.
- [49] P. Singla, V. Luxami, and K. Paul, "Quinazolinone-benzimidazole conjugates: Synthesis, characterization, dihydrofolate reductase inhibition, DNA and protein binding properties," *J Photochem Photobiol B*, vol. 168, pp. 156–164, 2017, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2017.02.009.
- [50] M. Pasolli *et al.*, "Pyridine and p-nitrophenyl oxime esters with possible photochemotherapeutic activity: Synthesis, DNA photocleavage and DNA binding studies," *Molecules*, vol. 21, no. 7, 2016, doi: 10.3390/molecules21070864.

- [51] S. Kwiatkowski *et al.*, "Photodynamic therapy – mechanisms, photosensitizers and combinations," *Biomedicine and Pharmacotherapy*, vol. 106, no. July, pp. 1098–1107, 2018, doi: 10.1016/j.biopha.2018.07.049.
- [52] J. Bhaumik, A. K. Mittal, A. Banerjee, Y. Chisti, and U. C. Banerjee, "Applications of phototheranostic nanoagents in photodynamic therapy," *Nano Res*, vol. 8, no. 5, pp. 1373–1394, 2015, doi: 10.1007/s12274-014-0628-3.
- [53] M. Lan, S. Zhao, W. Liu, C. S. Lee, W. Zhang, and P. Wang, "Photosensitizers for Photodynamic Therapy," *Adv Healthc Mater*, vol. 8, no. 13, pp. 1–37, 2019, doi: 10.1002/adhm.201900132.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο
ΒΑΘΕΩΣ ΕΥΤΗΚΤΙΚΟΙ ΔΙΑΛΥΤΕΣ, ΔΟΜΗ, ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ,
ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

ΒΑΘΕΩΣ ΕΥΤΗΚΤΙΚΟΙ ΔΙΑΛΥΤΕΣ, ΔΟΜΗ, ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

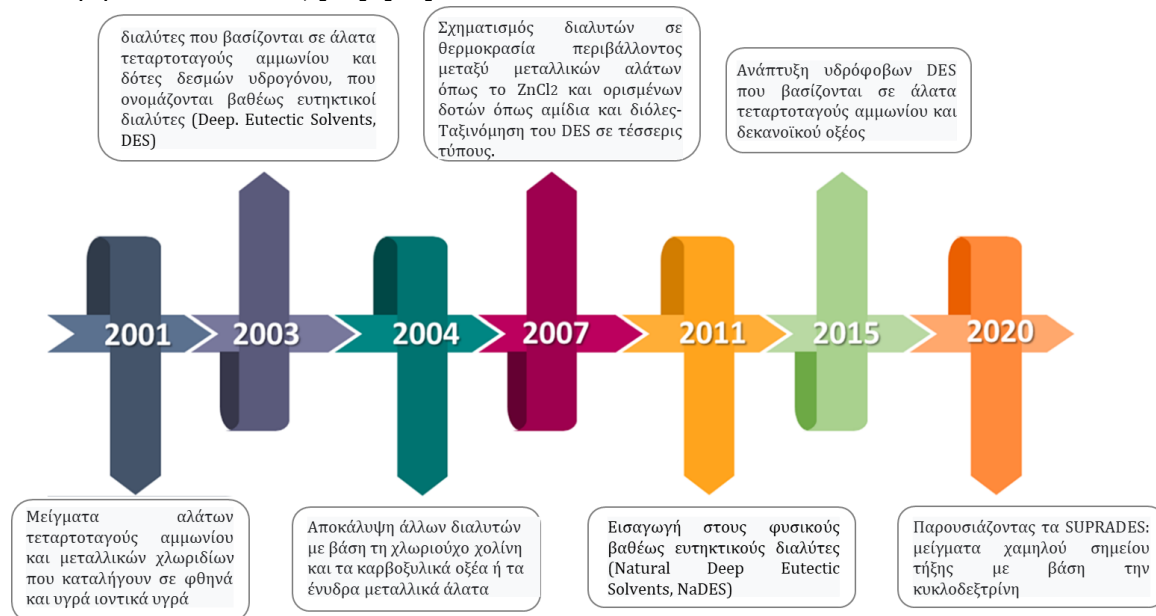
2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ανακάλυψη βαθέως ευτηκτικών διαλυτών (Deep Eutectic Solvents, DES) αποτέλεσε σημαντικό σταθμό για την Πράσινη Χημεία. Οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες, DES, ορίζονται συχνά ως δυαδικά ή τριμερή μείγματα ενώσεων που μπορούν να συνδέονται κυρίως μέσω δεσμών υδρογόνου, συνδυάζοντας αυτές τις ενώσεις σε μια ορισμένη μοριακή αναλογία και να μεταπίπτει σε ένα ευτηκτικό μείγμα. Η λέξη «ευτηκτικός» προέρχεται από την αρχαία ελληνική εϋτηκτος ή ευτηκτός, που σημαίνει «εύκολα λιώνει» και ένα ευτηκτικό σημείο αντιπροσωπεύει τη χημική σύνθεση και τη θερμοκρασία στην οποία ένα μείγμα δύο στερεών λιώνει πλήρως σε χαμηλότερη θερμοκρασία τήξης, σε σχέση με εκείνη της κάθε ένωσης. Ωστόσο, ο ορισμός ενός βαθέως ευτηκτικού διαλύτη εξακολουθεί να είναι ένα αμφιλεγόμενο θέμα και υπάρχουν διάφοροι αναφερόμενοι ορισμοί που στην πραγματικότητα δεν τους διακρίνουν από άλλα μείγματα, αφού όλα τα μείγματα μη αναμίξιμων στερεών ενώσεων παρουσιάζουν ευτηκτικό σημείο και λαμβάνοντας υπόψη ότι πολυάριθμες ενώσεις είναι ικανές να σχηματίσουν δεσμούς υδρογόνου όταν συνδυάζονται. Δεδομένου ότι η παρουσία ευτηκτικού σημείου ή δεσμού υδρογόνου μεταξύ των συστατικών δεν είναι επαρκής συνθήκη για να οριστεί ένας «βαθέως ευτηκτικός διαλύτης» και με τη σειρά για να διευκρινιστεί τι είναι ο βαθύς ευτηκτικός διαλύτης και τι τον κάνει ειδικό σε σύγκριση με άλλα μείγματα, πρόσφατα ορίζεται ο βαθύς ευτηκτικός διαλύτης ως «ένα μείγμα δύο ή περισσότερων καθαρών ενώσεων για τις οποίες η ευτηκτική θερμοκρασία είναι κάτω από αυτή ενός ιδανικού υγρού μείγματος, παρουσιάζοντας σημαντικές αρνητικές αποκλίσεις από την ιδανικότητα ($\Delta T_2 > 0$)», όπου ΔT_2 σημαίνει κατάπτωση της θερμοκρασίας που είναι η διαφορά μεταξύ του ιδανικού και του πραγματικού ευτηκτικού σημείου.

Αν και οι DES μελετήθηκαν εκτενώς, ειδικά την περασμένη δεκαετία, εξακολουθεί να υπάρχει έλλειψη στην κατανόηση της αρχής πίσω από τον σχηματισμό και τις ιδιότητες τους. Όλα ξεκίνησαν πριν από σχεδόν είκοσι χρόνια, όταν οι Abbott και οι συνεργάτες του, έψαχναν για υγρά που μπορούν να ξεπεράσουν την ευαισθησία στην υγρασία και το υψηλό κόστος ορισμένων κοινών ιοντικών υγρών (Abbott et al. 2001) (Εικόνα 2.1). Σε αυτή τη μελέτη, πολλά μείγματα που βασίζονται σε διαφορετικά άλατα τεταρτοταγούς αμμωνίου και μεταλλικών αλάτων δοκιμάστηκαν και αποδείχθηκε ότι η χλωριούχος χολίνη αναμειγνύεται με χλωριούχο ψευδάργυρο σε αναλογία 1:2. Η μοριακή αναλογία παρουσιάζει το χαμηλότερο σημείο πήξης (23–25 °C). Στη συνέχεια, οι ίδιοι συγγραφείς ερεύνησαν ευτηκτικά μείγματα αλάτων τεταρτοταγούς αμμωνίου και δότες δεσμών υδρογόνου και τους ονόμασαν «βαθέως ευτηκτικούς διαλύτες» (Abbott et al. 2003). Επιτεύχθηκε το χαμηλότερο σημείο πήξης (12 °C) με αναλογία 1:2 χλωριούχο χολίνη: ουρία. Αυτή η σημαντική κατάπτωση του σημείου πήξης, σε σύγκριση με αυτό της χλωριούχου χολίνης (302 °C) ή της ουρίας (133 °C), οφείλεται σε δεσμούς υδρογόνου μεταξύ μορίων ουρίας και ιόντος χλωρίου όπως αποδεικνύεται από την φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού. Αυτό που είναι ενδιαφέρον για αυτούς τους διαλύτες είναι ότι δεν είναι μόνο υγροί σε θερμοκρασία περιβάλλοντος αλλά και ρυθμίσιμο και εξαιρετικά διαλυτό.

Μετά από αυτό, άλλοι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες χαρακτηρίστηκαν με βάση την χλωριούχο χολίνη και τα καρβοξυλικά οξέα και επίσης αποδείχθηκε ότι έχουν σημαντική

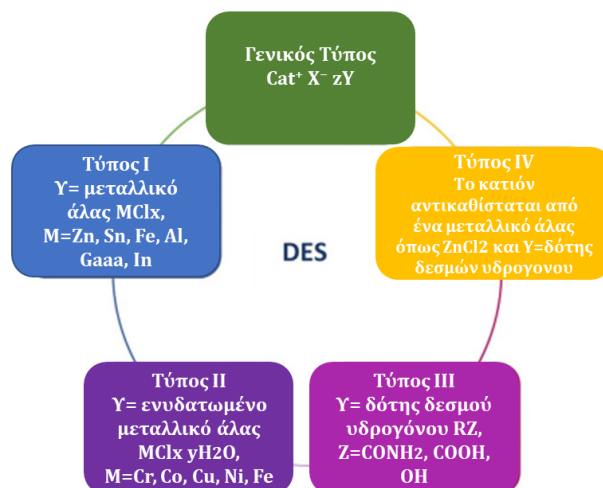
διαλυτοποιητική ικανότητα προς ορισμένα οξείδια μετάλλων. Άλλα υγρά ελήφθησαν επίσης κατά την ανάμιξη χλωριούχου χολίνης με ένα ενυδατωμένο μεταλλικό άλας όπως το χλωρίδιο του εξαένυδρο χρωμίου-(III). Αργότερα, μια επιπλέον κατηγορία διαλυτών θερμοκρασίας περιβάλλοντος με βάση μεταλλικά άλατα και δότες δεσμών υδρογόνου όπως αμίδια (π.χ. ουρία και ακεταμίδιο) και διόλες (αιθυλενογλυκόλη και 1,6-εξανοδιόλη) αναφέρθηκαν, αλλά αποδείχθηκε ότι μόνο περιορισμένο αριθμό μεταλλικών αλάτων και δότες δεσμών υδρογόνου μπορούν να οδηγήσουν στο σχηματισμό τους.[54] Λίγα χρόνια αργότερα, οι Choi και οι συνεργάτες του επινόησαν τον όρο «φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες», Natural Deep Eutectic Solvents (NaDES). Αυτή η κατηγορία καλύπτει τους βαθέως ευτηκτικούς διαλύτες που αποτελούνται από πρωτογενείς μεταβολίτες όπως οργανικά οξέα, αμινοξέα, σάκχαρα, πολυόλες και παράγωγα χολίνης κ.α. Εκτός αυτού, το νερό μπορεί επίσης να είναι μέρος του φυσικού μίγματος στην σύνθεση των βαθέως ευτηκτικών διαλυτών. Παρουσιάστηκαν ως ένας τρόπος για να εξηγηθεί η πανταχού παρουσία των μεταβολιτών σε υψηλές συγκεντρώσεις στα κύτταρα. Επιπλέον, η εξέτασή τους ενθαρρύνεται ιδιαίτερα λόγω των πλεονεκτημάτων που παρέχουν από περιβαλλοντική και οικονομική άποψη. Πράγματι, οι DES και οι NaDES βρίσκουν εφαρμογές μεταξύ άλλων και στην φαρμακευτική βιομηχανία ως φιλικό προς το περιβάλλον διαλύτες.[54], [55]



Εικόνα 2.1: Σταθμοί στην ιστορία των βαθέως ευτηκτικών διαλυτών (DES)

Ταξινόμηση Βαθέως Ευκτηκτικών Διαλυτών (DESS)

Για να γίνει διάκριση μεταξύ των πιθανών ευτηκτικών μειγμάτων, οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες ταξινομούνται σε τέσσερις βασικούς τύπους με τον γενικό τύπο «Cat⁺ X⁻ zY⁻», όπου Cat⁺ είναι γενικά αμμώνιο, φωσφόριο ή σουλφόριο, ενώ το X είναι μια βάση Lewis, συνήθως ένα ανιόν αλογονιδίου. Το Y αντιπροσωπεύει το οξύ Lewis ή οξύ κατά Brønsted και z είναι ο αριθμός των μορίων Y που αλληλεπιδρούν με το αντίστοιχο ανιόν (Εικόνα 2.2).

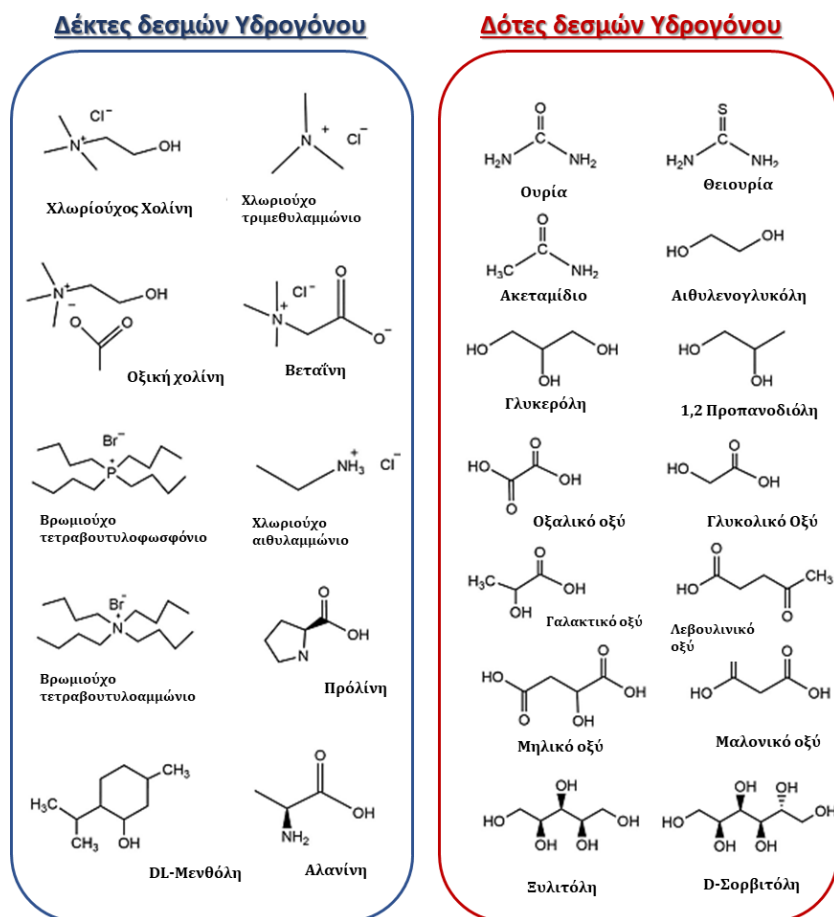


Εικόνα 2.2: Τέσσερις τύποι βαθέων ευτηκτικών διαλυτών (DES) με βάση τον γενικό τύπο $Cat^+ X^- zY$

Οι τύπου III (Εικόνα 2.2) είναι οι πιο μελετημένοι στην βιβλιογραφία και βασίζονται συνήθως στην χλωριούχο χολίνη και σε διάφορους δότες δεσμών υδρογόνου. Η χλωριούχος χολίνη μελετάται εκτενώς δεδομένου ότι είναι σχετικά φθηνή, μη τοξική και βιοδιασπώμενη, καθώς έχει εγκριθεί ως φυσικό πρόσθετο ζωοτροφών για πολλά ζωικά είδη. Στην πραγματικότητα ο πρώτος βαθέως ευτηκτικός διαλύτης τύπου III βασίστηκε κυρίως σε χολίνη. Από τότε πληθώρα ενώσεων έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία προς σχηματισμό τέτοιων διαλυτών. Οι δέκτες δεσμών υδρογόνου περιλαμβάνουν κυρίως τεταρτοταγές άλας αμμωνίου ή φωσφορίου, ενώ οι πιο συνηθισμένοι δότες δεσμών υδρογόνου είναι αμίδια, αλκοόλες και καρβοξυλικά οξέα. Επιπλέον, ενώσεις όπως τα σάκχαρα, τα αμινοξέα είναι ευρέως γνωστά για την παρασκευή φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών όπως παρουσιάζονται παρακάτω. Πιο πρόσφατα, εισήχθησαν υδρόφοβοι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες που βασίζονται στη χρήση υδρόφοβων ενώσεων όπως βρωμιούχο τετραβουτυλαμμώνιο, μενθόλη, θυμόλη και λιπαρά οξέα ως δέκτες δεσμών υδρογόνου μαζί με αλκοόλες μακρικής ανθρακικής αλυσίδας ως δέκτες δεσμών υδρογόνου.

Επιπλέον, οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες μπορούν να αποτελούνται από ενεργά φαρμακευτικά συστατικά όπως η ιβουπροφαίνη, η λιδοκαΐνη ή το φαινυλοξικό οξύ. Σε αυτήν την περίπτωση, οι διαλύτες αυτοί ονομάζονται θεραπευτικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες, Therapeutic deep eutectic systems (THEDES). Μερικοί από τους αντίστοιχους δέκτες δεσμών υδρογόνου που χρησιμοποιούνται συχνά απεικονίζονται στο Σχήμα 2.1. Από την άλλη πλευρά, αν και οι φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες μπορούν μερικές φορές να θεωρηθούν ως DES τύπου III δεν συμβαίνει πάντα.

Τέλος, δύο πρόσφατες μελέτες ανέφεραν την χρήση κυκλοδεξτρινών, οι οποίες είναι μη τοξικοί ολιγοσακχαρίτες, όπως και δέκτες δεσμών υδρογόνου με αποτέλεσμα το σχηματισμό υγρού υπερμοριακού μείγματος σε θερμοκρασία δωματίου. Τα σημαντικότερα γεγονότα που σηματοδοτούν την ανάπτυξη των βαθέως ευτηκτικών διαλυτών (DES) παρουσιάζονται παραπάνω στην Εικόνα 3.[54], [56], [57]



Σχήμα 2.1: Κοινός δέκτης δεσμών υδρογόνου (HBA) και δότες δεσμών υδρογόνου (HBD) που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή των βάθως ευτηκτικών διαλυτών (DES)

Μέθοδοι - Παρασκευές

Οι ερευνητές χρησιμοποιούν γενικά μία από τις δύο κύριες μεθόδους για την παρασκευή DES: α) τη μέθοδο της θέρμανσης και β) τη μέθοδο της λειοτριβήσης. Η μέθοδος της θέρμανσης συνίσταται στην ανάμιξη και στην θέρμανση των ενώσεων, υπό συνεχή ανάδευση, μέχρι να σχηματιστεί ομοιογενές υγρό. Η θερμοκρασία θέρμανσης συνήθως κυμαίνεται μεταξύ 50 και 100 °C. Ωστόσο, μια υψηλότερη θερμοκρασία θα μπορούσε δυνητικά να οδηγήσει σε αποικοδόμηση του βαθώς ευτηκτικού διαλύτη λόγω μιας αντίδρασης εστεροποίησης ανεξάρτητα με τη μέθοδο και την παρασκευή όπως παρουσιάστηκε σε διαλύτες μεταξύ χλωριούχου χολίνης και καρβοξυλικών οξέων.

Η μέθοδος λειοτριβήσης βασίζεται σε ανάμειξη των ενώσεων σε θερμοκρασία δωματίου, συνθλίβοντας στο γουδί τις δύο τουλάχιστον ενώσεις μέχρι να σχηματιστεί διαυγές υγρό. Το 2009, οι Gutierrez και οι συνεργάτες του ανέφεραν μια ακόμη μέθοδο η οποία βασίζεται στην λυοφιλοποίηση των υδατικών διαλυμάτων των συστατικών. Αντίστοιχα, οι Dai και οι συνεργάτες του αναφέρθηκαν στην μέθοδο της εξάτμισης η οποία βασίζεται στη διάλυση των συστατικών των βαθώς ευτηκτικών διαλυτών στο νερό και εξάτμιση σε θερμοκρασία γύρω στους 50 °C. Το 2018, οι Gomez και οι συνεργάτες του, λαμβάνοντας υπόψη τη βελτιστοποίηση της μεθοδολογίας, τη μείωση του χρόνου και της ενέργειας, πρότειναν τη χρήση μικροκυματικής ακτινοβολίας για την προετοιμασία φυσικών βαθώς ευτηκτικών διαλυτών μέσα σε λίγα δευτερόλεπτα.

Τέλος, αντίστοιχα έχει παρουσιαστεί και η χρήση υπερήχων για τον σχηματισμό φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών (NaDES).[54], [58]

Φυσικοί Βαθέως Ευκτηκτικοί Διαλύτες (NaDES)

Οι Φυσικοί Βαθέως Ευκτηκτικοί Διαλύτες (Natural Deep Eutectic Solvents, NaDES) παρουσιάζονται ως μια υποκατηγορία των DESs από τον Choi και τους συνεργάτες του για πρώτη φορά το 2011, στην προσπάθειά τους να μελετήσουν τη βιοσύνθεση των υδατοδιαλυτών μακρομορίων και την επιβίωση οργανισμών σε άνυδρα περιβάλλοντα με τη δημιουργία ευτηκτικών μειγμάτων. Συγκεκριμένα, παρατήρησαν ότι η ανάμειξη τουλάχιστον δύο φυσικών πρωτογενών μεταβολιτών, όπως για παράδειγμα αμινοξέων, καρβοξυλικών οξέων, σακχάρων κ.α., οι οποίοι παράγονται κατά τον κυτταρικό μεταβολισμό μπορεί να σχηματίσουν ένα νέο υγρό, ευτηκτικό μείγμα - τύπου DES - με εξαιρετικά πλεονεκτήματα, το οποίο τελικά ονόμασαν φυσικό βαθέως ευτηκτικό διαλύτη (NaDES) λόγω της φυσικής προέλευσης του. [59], [60]

Έκτοτε και μέχρι σήμερα, η έρευνα για τους φυσικούς βαθέως ευτηκτικούς διαλύτες NaDES παρουσιάζει εκθετική άνοδο υποδεικνύοντας τις πολλά υποσχόμενες δυνατότητες τους για εφαρμογές σε διάφορους τομείς έρευνας. Οι διαλύτες αυτοί αντιπροσωπεύουν τις αρχές της Πράσινης Χημείας, συμπεριλαμβανομένου και των πλεονεκτημάτων των ίδιων των συστατικών, καθώς είναι εύκολα διαθέσιμα, έχουν χαμηλό κόστος, είναι απλή η διαδικασία προετοιμασίας τους, έχουν χαμηλό προφίλ τοξικότητας, είναι φιλικό προς το περιβάλλον και βιοαποικοδομήσιμοι σε σχέση με τα ιοντικά υγρά (ILs) αλλά και τους βαθέως ευτηκτικούς διαλύτες (DES). Επιπλέον, στην παρασκευή τους δεν πραγματοποιείται κάποια χημική αντίδραση και επομένως η οικονομία ατόμου είναι 100%, ενώ ο θεωρητικός παράγοντας E είναι μηδενικός. Ακόμη, οι NaDES ως διαλύτες χαρακτηρίζονται από πολύ καλές φυσικοχημικές ιδιότητες όπως αμελητέα πτητικότητα, υγρή κατάσταση ακόμη σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες, ιξώδες το οποίο μπορεί να μεταβληθεί ανάλογα με την αναλογία παρασκευής, υψηλό βαθμό αντοχής στην διαλυτοποίηση διαφόρων ενώσεων. Λαμβάνοντας υπόψη τον μεγάλο συνδυασμό φυσικών συστατικών και τις διαφορετικές ιδιότητες που προσδίνουν στους διαλύτες αυτούς, δίνει την δυνατότητα ανάπτυξη αυτών των εξατομικευμένων διαλυτών για πληθώρα εφαρμογές. [61], [62]

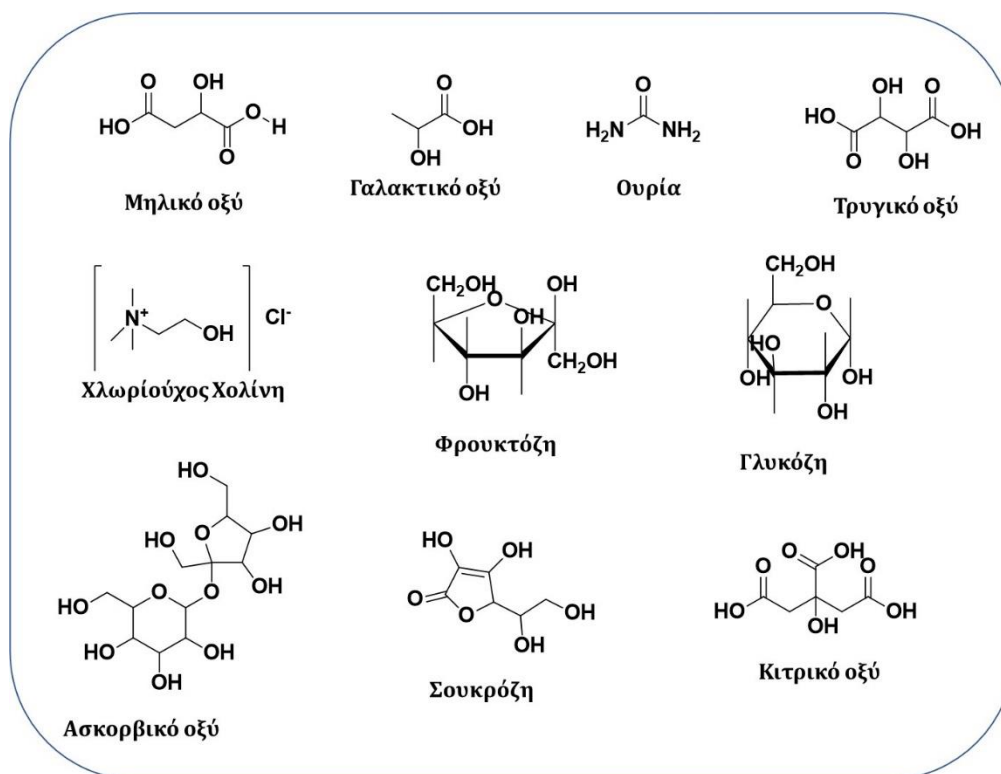
Δομή – Ταξινόμηση των NaDES

Οι φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες, NaDES αποτελούν μείγματα τουλάχιστον δύο συστατικών, όπως για παράδειγμα η χλωριούχος χολίνη ως κατιονικό άλας και αλκοόλες, οξέα, αμίδια, αμίνες ή σάκχαρα ως δότες δεσμών υδρογόνου. Η δομή τους είναι αποτέλεσμα της ανάπτυξης δεσμών υδρογόνου μεταξύ των μορίων του διαλύτη σε συνδυασμό με άλλες διαμοριακές αλληλεπιδράσεις (δυνάμεις ή δεσμοί *Van der Waals*). Οι δεσμοί αυτοί, οι οποίοι είναι ηλεκτροστατικής φύσεως, έχουν καθοριστικό ρόλο στη διαμόρφωση των φυσικοχημικών ιδιοτήτων των NaDES.

Για την μελέτη της αλληλεπίδρασης των φυσικών συστατικών των NaDES και τον σχηματισμό δεσμών υδρογόνου έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες σύγχρονες τεχνικές ανάλυσης, όπως η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR), η φασματομετρία μάζας με βομβαρδισμό δέσμης ταχέων ατόμων (FAB-MS), η

φασματοσκοπία υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (FT-IR) και κρυσταλλογραφικά δεδομένα για την ταυτοποίησή τους.

Ως φυσικά συστατικά για τον σχηματισμό των NaDES αποτελούν τα σάκχαρα (όπως γλυκόζη, σακχαρόζη, φρουκτόζη κ.α.), οργανικά οξέα (όπως γαλακτικό, μηλικό, κιτρικό οξύ κ.α.), διάφορα αμινοξέα και οι ουσίες όπως η χλωριούχος χολίνη ή ουρία. Η χημική δομή ενδεικτικών φυσικών συστατικών παρουσιάζονται παρακάτω στο Σχήμα 2.2. Οι NaDES είναι σε θέση να δίνουν ή να δέχονται ηλεκτρόνια προς τον σχηματισμό δεσμών υδρογόνου.



Σχήμα 2.2: Ενδεικτικά φυσικά συστατικά για τον σχηματισμό NaDESs

Βάσει των προερχόμενων συστατικών τους οι NADESs ταξινομούνται ως (i) μείγματα σακχάρων, (ii) παράγωγα οργανικών οξέων, (iii) παράγωγα χλωριούχου χολίνης και (iv) λοιποί συνδυασμοί.

Ο σχηματισμός και η σταθερότητα των NaDES εξαρτάται από διαφορετικούς παράγοντες συμπεριλαμβανομένου του αριθμού των δεσμών υδρογόνου που σχηματίζουν τα συστατικά, δηλαδή μεταξύ του δέκτη (HBA) και του δότη (HBD) δεσμών υδρογόνου, η θέση των δεσμών και η χωρική δομή των χημικών ομάδων που φέρουν τα συστατικά. Η ισχύς των δεσμών υδρογόνου σχετίζεται και με τη θερμοκρασία μεταβατικής φάσης, τις ιδιότητες και την σταθερότητα του NaDES. Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω φαίνεται πως εξαρτάται η ικανότητα σύνδεσης του υδρογόνου και όσο μεγαλύτερη είναι τόσο πιο μεγάλη η μείωση του σημείου πήξης.

Έχει μελετηθεί πως η υπερμοριακή δομή των NaDES μεταβάλλεται μετά την αραίωση αυτών με το νερό λόγω της προοδευτικής ρήξης δεσμών υδρογόνου. Επιπλέον, φυσικοχημικές ιδιότητες όπως είναι το ιξώδες, η αγωγιμότητα, η πυκνότητα, η

πολικότητα, η δραστηριότητα του νερού κ.α. ποικίλουν ανάλογα με την χημική φύση των ίδιων των συστατικών. [58], [63]

Ιδιότητες των NaDES

Οι ιδιότητες των NaDES, όπως το ιξώδες, η πυκνότητα, η δραστηριότητα, η πολικότητα, η αγωγιμότητα κ.α. ποικίλουν ανάλογα με τη χημική φύση των προερχόμενων συστατικών. Σημαντικός παράγοντας είναι ότι μπορούν να τροποποιηθούν με την προσθήκη νερού, ώστε να μειωθεί το ιξώδες ή η πυκνότητα τους ή να αυξηθεί η πολικότητά τους. Ωστόσο, έχει μελετηθεί ότι όταν η περιεκτικότητα σε νερό είναι υψηλότερη του 50% (v/v) προκαλείται προοδευτική ρήξη των δεσμών υδρογόνου με αποτέλεσμα την εξασθένηση ή και εξαφάνιση των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων του NaDES.

Οι NaDES γενικά διαθέτουν καλές φυσικοχημικές ιδιότητες, όπως αναφέρθηκε ήδη, η αμελητέα πτητικότητα, η μη αναφλεξιμότητα, η βιοαποικοδομησιμότητα και η χαμηλή έως μηδαμινή τοξικότητα. Οι περισσότεροι NaDES παρουσιάζουν πυκνότητες υψηλότερες από εκείνες του νερού (μεταξύ 1,1 και 1,4 g/cm³) και σημαντικά υψηλότερα ιξώδη από τους κοινούς οργανικούς διαλύτες, όσοι από αυτούς περιέχουν αμίδια, καρβοξυλικά οξέα και πολυόλες συνδυαστικά με οργανικά άλατα έχουν συχνά σημεία τήξης χαμηλότερα από τη θερμοκρασία δωματίου [63].

Αναλυτικότερα, η μελέτη των ιδιοτήτων των NaDES βασίζεται σε πεδία όπως της φυσικοχημείας και της θερμοδυναμικής. Οι σημαντικότερες από τις ιδιότητες αυτές παρουσιάζονται συνοπτικά παρακάτω [64], [65]:

- Ανανεωσιμότητα και βιοαποικοδομησιμότητα.

Μία από τις σημαντικότερες ιδιότητες των NaDES είναι ότι τα συστατικά τους προέρχονται όλα από φυσικές πρώτες ύλες. Έτσι, οι NaDESs μπορεί να βιοσυντεθούν βασιζόμενοι στο γεγονός ότι και τα φυσικά συστατικά μεταβολίζονται ουσιαστικά από τον οργανισμό, αιτιολογώντας για ποιο λόγο θεωρούνται «βιοσυμβατοί» διαλύτες. Σε σχέση με τα ιοντικά υγρά, ILs και τους οργανικούς διαλύτες η βιοδιασπασιμότητα τους βοηθά στην αποφυγή περιβαλλοντικών κινδύνων. Επομένως, οι NaDES θεωρούνται φιλικό ως προς το περιβάλλον και για αυτό το λόγο μπορούν να συμπεριληφθούν στους «πράσινους» διαλύτες. Επιπλέον, βασικό πλεονέκτημα των διαλυτών αυτών είναι ότι μπορούν να ανακυκλωθούν και να επαναχρησιμοποιηθούν σε πληθώρα εφαρμογών. Προκειμένου να διατηρηθεί η ποιότητα του επαναχρησιμοποιούμενου NaDES αλλά και οι ιδιότητές του μπορεί να αναλυθεί ποσοτικά με φασματοσκοπικές και φασματομετρικές μεθόδους όπως MS, IR ή NMR.

- Αγωγιμότητα και ιξώδες.

Γνωρίζοντας ότι η αγωγιμότητα και το ιξώδες επηρεάζονται από παρόμοιους φυσικοχημικούς παράγοντες συνήθως μπορούν να αναλυθούν και να μελετηθούν μαζί. Η θερμοκρασία αποτελεί έναν σημαντικό παράγοντα σε ένα ιοντικό διάλυμα που καθορίζει την αγωγιμότητα. Όσο η κινητική ενέργεια αυξάνεται τόσο η αγωγιμότητα ενός NaDES μπορεί να αυξηθεί σημαντικά, ενώ μπορεί να παρουσιάζουν κακή αγωγιμότητα εξαιτίας του υψηλού ιξώδους τους. Από την άλλη πλευρά, με την επίδραση της θερμοκρασίας, το

ιξώδες φαίνεται να μειώνεται, ενώ επιπλέον μπορεί να παρατηρηθεί μείωση και με αύξηση της ποσότητας του νερού στο ευτηκτικό μείγμα. Μεγάλη κινητική ενέργεια υπερνικά την ισχύ μεταξύ των διαμοριακών δυνάμεων και επομένως μπορεί να μειώσει το ιξώδες της μήτρας. Από τα παραπάνω, συμπερασματικά φαίνεται ότι η αγωγιμότητα είναι αντιστρόφως ανάλογη του ιξώδους.

- Πολικότητα.

Γενικά, όσο μεγαλύτερη είναι η διαμοριακή έλξη, όσο μεγαλύτερη είναι η πολικότητα, σημαντικός παράγοντας για την διαλυτοποίηση. Οι περισσότεροι NaDESs που περιγράφονται στη βιβλιογραφία βασίζονται σε πρωτογενείς μεταβολίτες (primary/primordial metabolites-PRIMs) και περιλαμβάνουν σάκχαρα, οργανικά οξέα, αμινοξέα και άλατα χολίνης, συστατικά τα οποία χαρακτηρίζονται από υψηλή πολικότητα και υδροφιλικότητα.

- Υδροφιλικότητα/Υδροφοβικότητα.

Τα συστήματα των NaDESs περιλαμβάνουν υδρόφιλα και λιπόφιλα συστατικά. Τα υδρόφιλα συστατικά με άκρως ηλεκτροαρνητικές ομάδες μπορούν να σχηματίσουν δεσμούς υδρογόνου μέσω των αλληλεπιδράσεων διπόλου-διπόλου. Αυτό εξηγεί και την τάση του υδρόφιλου μέρους του NaDES να είναι αναμίξιμο με πολικούς διαλύτες όπως το νερό και η μεθανόλη. Αντίθετα, λόγω των διαφορών στην ικανότητα τους να δεσμεύουν υδρογόνο μέσω των ηλεκτροστατικών δυνάμεων, οι λιπόφιλες/υδρόφοβες ενώσεις παραμένουν σχετικά παθητικές στο φαινόμενο της ισορροπίας υδροφιλίας/υδροφοβικότητας. Τα διαφορετικά είδη NaDESs μπορούν να επιδείξουν αξιοσημείωτη διαλυτοποιητική ικανότητα για μερικά λιπόφιλα φυσικά συστατικά.

- Ικανότητα διαλυτοποίησης και σταθεροποίησης. Οι διαλύτες μπορούν να έχουν μια επίδραση στη διαλυτότητα και τη σταθερότητα μιας διαλυμένης ουσίας προκαλώντας ή αποτρέποντας ορισμένες μοριακές ενώσεις. Λόγω των μοναδικών διαμοριακών τους αλληλεπιδράσεων, ορισμένοι NaDESs παρουσιάζουν πολύ υψηλή ικανότητα διαλυτοποίησης τόσο των πολικών όσο και των μη πολικών ενώσεων, ενώ κάποιοι μεταβολίτες είναι σημαντικά πιο διαλυτοί στους NaDESs από ότι στο νερό.
- Βιοσυμβατότητα.

Οι NaDESs αναγνωρίζονται ευρέως ως μη τοξικά μέσα. Ο βαθμός της βιοσυμβατότητάς τους εξαρτάται κυρίως από τα μεμονωμένα συστατικά τους και τις σχετικές συνεργιστικές δράσεις μεταξύ αυτών.

Σύνθεση των NaDESs

Οι NaDESs παρασκευάζονται από φυσικές ενώσεις, συμπεριλαμβανομένων σακχάρων, αμινοξέων και οργανικών οξέων, κ.α. οι οποίες υπάρχουν σε αφθονία, είναι χαμηλού κόστους και ευρέως διαθέσιμες. Οι ενώσεις αυτές καθίστανται υγρές όταν αναμιγνύονται σε συγκεκριμένη μοριακή αναλογία και ανάλογων συστατικών. Για παράδειγμα, μπορούν να συντεθούν από ένα συνδυασμό χλωριούχου χολίνης ως δέκτες δεσμού υδρογόνου και ενώσεων όπως γλυκόζη, ξυλιτόλη, ριβιτόλη, κιτρικό οξύ, οξαλικό οξύ, τρυγικό οξύ ή φρουκτόζη ως δότες δεσμού υδρογόνου.

Οι μέθοδοι σύνθεσης για τη σύνθεση ενός NaDES δεν διαφέρουν με την γενική κατηγορία των DES και είναι αντίστοιχη με την περιγραφή που δόθηκε παραπάνω.

Δομές των NaDESs, μετά την παρασκευή τους μελετούνται και ταυτοποιούνται με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (Nuclear Magnetic Resonance–NMR Spectroscopy) αποδεικνύοντας ότι οι NaDESs με ίδια σύσταση παρουσιάζουν το ίδιο χημικό προφίλ ανεξάρτητα από τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο σύνθεσης. Ωστόσο, η μέθοδος της θερμικής ανάμιξης θεωρείται πιο συχνά χρησιμοποιούμενη εάν και τα τελευταία χρόνια η ανάπτυξη μεθοδολογιών με την χρήση υπερήχων ή μικροκυμάτων φαίνεται να κερδίζει έδαφος.

Γενικά, παρότι οι παραδοσιακές μέθοδοι σύνθεσης NaDESs είναι αξιόπιστες και επιτυχείς, η εφαρμογή τους σε μεγάλη κλίμακα θα μπορούσε να καταστήσει αμφιλεγόμενο τον πράσινο χαρακτήρα τους, λόγω του ότι απαιτούν χρονοβόρες διαδικασίες με υψηλή ενεργειακή κατανάλωση. Δεδομένου ότι η εξοικονόμηση ενέργειας μέσω βελτιστοποίησης των χημικών διεργασιών είναι κρίσιμης σημασίας για την Πράσινη Χημεία, το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας στρέφεται στις εναλλακτικές τεχνικές σύνθεσης υψηλής ενέργειας, όπως είναι η χρήση υπερήχων και μικροκυμάτων. Συγκεκριμένα, η ακτινοβόληση με μικροκύματα αποτελεί μία από τις πιο ελπιδοφόρες τεχνικές, επειδή έχει αποδειχθεί ευκολότερη, οικονομικότερη και πιο «πράσινη» σε σύγκριση με τις παραδοσιακές διαδικασίες εξασφαλίζοντας υψηλότερες αποδόσεις, ήπιες συνθήκες αντίδρασης και σημαντικά μειωμένους χρόνους παρασκευής. Για παράδειγμα, ο χρόνος ανάδευσης από 30–90 λεπτά στην περίπτωση μια παραδοσιακής θερμικής ανάμιξης να περιορίζεται σε 20 δευτερόλεπτα με την χρήση μικροκυμάτων, ενώ ταυτόχρονα παρατηρείται αισθητή μείωση της κατανάλωσης ενέργειας, μειώνεται περίπου 650 φορές. [66]

Εφαρμογές των NaDESs

Οι NaDESs έχουν μελετηθεί ως διαλύτες εκχύλισης για ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών, ως διαλύτες για συνθετικές αντιδράσεις αλλά και ενζυμικές που περιλαμβάνουν ελάχιστα υδατοδιαλυτές ή λιποδιαλυτές ενώσεις, καθώς και ως μέσα για τη μεταφορά μεταβολιτών και τη διατήρηση βιο-μικρομορίων DNA, RNA ή πρωτεϊνών. Οι εφαρμογές των NaDESs δεν έχουν περιοριστεί στη χρήση τους ως διαλύτες εκχύλισης. Η σκοπιμότητα τους στην ενσωμάτωση σε σκευάσματα ως μέσα διαλυτοποίησης μη υδατοδιαλυτών φυσικών ενώσεων έχει επίσης μελετηθεί. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, το γεγονός ότι τα συστατικά των NaDESs είναι ασφαλή, μη τοξικά και ακόμη και βρώσιμα, επιτρέπει να ληφθούν υπόψη για εφαρμογές φαρμακευτικών, καλλυντικών και τροφίμων, καθώς τα NaDESs μπορούν εύκολα να συμμορφωθούν με τις αυστηρές απαιτήσεις για χρήση σε αυτές τις εφαρμογές. Λόγω της μη τοξικής τους φύσης, έχουν χρησιμοποιηθεί σε εφαρμογές για τρόφιμα, αγροχημικά, καλλυντικά και φαρμακευτικά προϊόντα. Παραδείγματα τέτοιων εφαρμογών NaDESs είναι η εξαγωγή δραστικών ενώσεων από φαρμακευτικά φυτά, η διαλυτοποίηση φαρμακευτικών προϊόντων, η παραγωγή φυτικών εκχυλισμάτων ως συστατικά καλλυντικών και ως πρόσθετα τροφίμων για την ενίσχυση της γεύσης. Άλλες εφαρμογές τους αφορούν στη βιοκατάλυση, στη χρωματογραφία και στη δέσμευση του ατμοσφαιρικού CO₂. [67]

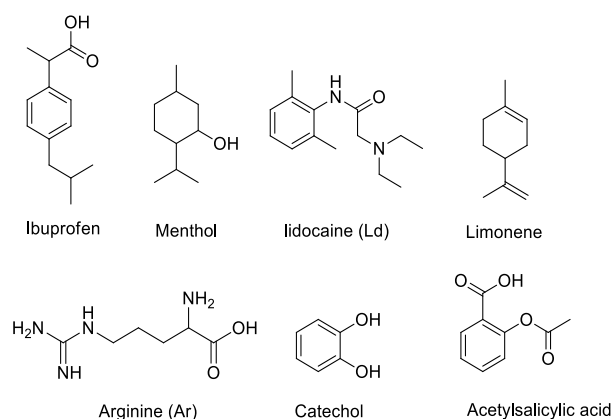
- Εκχυλιστικό μέσο: Καθώς τα είδη των NaDESs παρουσιάζουν υψηλή ικανότητα διαλυτοποίησης ενώσεων παρέχοντας τους ισχυρό πλεονέκτημα ως διαλύτες εκχύλισης. Έχουν υψηλή ικανότητα εκχύλισης φαινολικών συστατικών, η οποία σχετίζεται με τις αλληλεπιδράσεις και τους δεσμούς υδρογόνου που δημιουργούνται μεταξύ των ενώσεων αυτών και των NaDESs. Οι ιδιαίτερες φυσικοχημικές ιδιότητες των NaDESs, όπως η υγρή κατάσταση σε θερμοκρασία δωματίου και μερικές φορές ακόμη και κάτω από 0 °C, η πολικότητα και το ιξώδες που μπορούν να ρυθμιστούν εύκολα, η βιοαποικοδομησιμότητα, τους καθιστούν εξαιρετικούς εναλλακτικούς διαλύτες. Βελτιστοποιώντας όλες τις παραμέτρους (ιξώδες, πολικότητα και θερμοκρασία), οι αποδόσεις εκχύλισης διαφόρων συστατικών με NaDESs είναι σημαντικά υψηλότερες έναντι αυτών με κλασικούς διαλύτες, όπως το νερό και η αιθανόλη. Έχοντας την ικανότητα να διαλύουν τόσο πολικούς όσο και μη πολικούς μεταβολίτες, οι NaDESs μπορούν να χρησιμεύσουν για την εκχύλιση πολλών τύπων φυσικών ενώσεων ανάλογα με τις ειδικά τροποποιημένες φυσικοχημικές ιδιότητες του καθενός. Λόγω του πράσινου χαρακτήρα και της ασφάλειας ως προς τη χρήση τους, οι NaDESs προτιμώνται σε διεργασίες εκχύλισης φυσικών προϊόντων για φαρμακευτικές εφαρμογές. [68]–[75]
- Ως χρωματογραφικά μέσα: Λόγω της συμβατότητας των θερμοδυναμικών ιδιοτήτων των NaDESs με εκείνες των συστημάτων υγρής χρωματογραφίας (Liquid Chromatography–LC), οι NaDESs παρουσιάζουν αποτελεσματικότητα και επολεκτικότητα και θεωρούνται κατάλληλα μέσα για τον χρωματογραφικό διαχωρισμό. Συνολικά, οι NaDESs μπορούν να λειτουργήσουν ως κινητή φάση (mobile phase) στα πλαίσια διαφορετικών χρωματογραφικών προσεγγίσεων. Ορισμένα είδη NaDESs εμφανίζουν αποτελεσματική χρωματογραφική εκλεκτικότητα για το διαχωρισμό των φυσικών συστατικών (NPs) του μείγματος παρουσιάζοντας υψηλές αποδόσεις. Επίσης, λόγω της ανάπτυξης υδροφοβικών ειδών NADES, είναι πολύ πιθανή η προοδευτική χρήση τους ως διαλύτες έκλουσης.[64]
- Βιοτρική: Έρευνες της βιοσυμβατότητας των NaDESs έχουν δείξει ότι ορισμένα είδη μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μέσα διάλυσης σε βιολογικές αναλύσεις αντικαθιστώντας τους οργανικούς διαλύτες, όπως το διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO). Η σχετική ευκολία διάσπασης των NaDESs σε συνδυασμό με το χαρακτηριστικό της δυαδικότητάς τους (υδροφιλικότητα και λιποφιλικότητα) υποδηλώνει ότι μπορούν να διαδραματίζουν βοηθητικό ρόλο στην σύνθεση μικρών μορίων. Για παράδειγμα, ορισμένοι NaDESs μπορούν να μεταφέρουν λιποφιλικά βιοενεργά συστατικά σε ένα άλλο υδρόφιλο πολυμερές, όπως μια υδρογέλη. Ο συνδυασμός τους με άλλα βιοδραστικά μόρια όπως ιβουπροφαίνη, μενθόλη ή μανδελικό οξύ, βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή φυσικής βάσης και υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα (scCO₂), καθιστά τους NaDESs μια βιώσιμη εναλλακτική λύση για διάφορες βιοϊατρικές εφαρμογές, όπως δημιουργία ικριωμάτων ανάπλασης οστών και συστημάτων μεταφοράς φαρμακευτικών βιοδραστικών μορίων (Drug Delivery Systems–DDS) στη θέση δράσης τους. [64]
- Βιοκατάλυση. Λόγω του χαμηλού κόστους, της βιοαποικοδομησιμότητας και της βιοσυμβατότητάς τους, οι NaDESs αποτελούν διαλύτες επιλογής για βιοκαταλυτικές αντιδράσεις, ιδιαίτερα σε βιομηχανίες φαρμάκων, καλλυντικών και συμπληρωμάτων διατροφής όπου η βιοσυμβατότητα των προϊόντων αποτελεί ζήτημα κρίσιμης

σημασίας. Επίσης, NaDESs με βάση τη γλυκερόλη θεωρούνται ως ελπιδοφόρα επιλογή για τη βιοκαταλυτική παραγωγή του βιοντίζελ.

- Δέσμευση διοξειδίου του άνθρακα: Οι NaDESs με βάση τις αμίνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε συστήματα δέσμευσης του CO₂ αποτελώντας μια περιβαλλοντικά ασφαλή και χαμηλότερου κόστους εναλλακτική επιλογή σε σχέση με άλλες διαθέσιμες τεχνολογίες.
- Πολυμερισμός: Στην ανάπτυξη προϊόντων πολυμερούς, συχνά απαιτείται η χρήση εναλλακτικών διαλυτών για την παραγωγή νέων ή βελτιωμένων πολυμερών. Ενώ ορισμένα πολυμερή μπορούν να κατασκευαστούν καθαρά ή σε νερό, Η πλειοψηφία των πολυμερών παρασκευάζονται σε οργανικούς διαλύτες. Έτσι, μπορούν να είναι φιλικό προς το περιβάλλον με διαλύτες όπως οι NaDESs.[76], [77]
- Καταλύτες: Τόσο οι DESs όσο και οι NaDESs έχουν χρησιμοποιηθεί σε ένα μεγάλο αριθμό οργανικών αντιδράσεων ως διαλύτες και καταλύτες. Η ανάπτυξη τέτοιων αποτελεσματικών φιλικών προς το περιβάλλον πρωτοκόλλων έχει προσελκύσει αυξημένο ενδιαφέρον στις σύγχρονες οργανικές συνθέσεις εν όψει της αυξημένης ανησυχίας για το περιβάλλον. Ως μέρος αυτής της πράσινης ιδέας, οι DESs και οι NaDESs έχουν αναδειχθεί ως ενδιαφέρον τύπος διαλυτών και έχουν δείξει τη χρησιμότητά τους ως φιλική προς το περιβάλλον βιώσιμη εναλλακτική λύση έναντι των συμβατικών οργανικών διαλυτών στη συνθετική χημεία για την αύξηση της αποτελεσματικότητας των οργανικών μετασχηματισμών. Η συνθετική μεθοδολογία με τη χρήση του DES ως πράσινου διαλύτη είναι σημαντική καθώς διαθέτει ορισμένες ιδανικές ιδιότητες όπως ότι είναι φθηνός, βιοαποικοδομήσιμος, ανακυκλώσιμος καταλύτης, παρουσιάζει απλότητα ως προς την Παρασκευή του και μέγιστη συνθετική αποδοτικότητα. Στον τομέα της οργανικής χημείας παρουσιάζεται ως διαλύτης και καταλύτης σε ένα ευρύ φάσμα αντιδράσεων πολλαπλών συστατικών όπως στην σύνθεση κινολινών, οξαζολών, θειαζολών, διυδροπυριδινών, διυδροπυριμιδινών, ιμιδαζολών κ.α.[78]–[80]

Αλληλεπίδραση DES με APIs και δημιουργία Θεραπευτικών Βαθέως Ευτηκτικών Διαλυτών (TheDES)

Πιο πρόσφατα, η ανάπτυξη βιοενεργών ευτηκτικών συστημάτων που περιέχουν τουλάχιστον ένα ενεργό φαρμακευτικό συστατικό (active pharmaceutical ingredients, APIs), ως ένα από τα συστατικά του DES, αυξάνει περαιτέρω τις δυνατότητες αυτών των συστημάτων και ανοίγει ένα ευρύ φάσμα για μελλοντικές εξελίξεις σε βιοϊατρικές εφαρμογές. Τα συστήματα αυτά που βασίζονται σε ένα τουλάχιστον API ορίζονται στη συνέχεια ως θεραπευτικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες (THEDES) και η ανάπτυξη αυτής της κατηγορίας διαλυτών είναι ένα πεδίο έρευνας που δεν έχει διερευνηθεί εκτενώς. Οι βαθύς ευτηκτικοί διαλύτες (DES) έχουν χρησιμοποιηθεί σε φαρμακευτικές προσεγγίσεις για την αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας της διαλυτότητας, της διείσδυσης και της απορρόφησης του φαρμάκου. Μικρές οργανικές ενώσεις χρησιμοποιήθηκαν για ευτηκτικά μείγματα όπως βουπροφαίνη, μενθόλη, λιμονένιο, λιδοκαΐνη και καμφορά κ.α. (Σχήμα 2.3). Μελέτες έδειξαν ότι όταν ένα API χορηγείται σε ένα βιολογικό σύστημα υπό μορφή ευτηκτικού μίγματος, το σύστημα παρουσιάζει καλύτερη αποτελεσματικότητα σε σχέση με το αν δρούσε ως μεμονωμένο θεραπευτικό συστατικό.



Σχήμα 2.3: Χημικές δομές ενδεικτικών ενεργών φαρμακευτικών συστατικών (active pharmaceutical ingredients, APIs)

Η παρασκευή των THEDES με την ενσωμάτωση του ενεργού φαρμακευτικού συστατικού (API) στο σύστημα ή τη διάλυση του API σε προηγούμενο ευτηκτικό μείγμα, είναι μια βιώσιμη μέθοδος παρασκευής που θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για τη βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας των φαρμάκων, της σταθερότητάς τους και συνεπώς της καλύτερης αποτελεσματικότητας. Από φαρμακευτική άποψη, πολλά δραστικά συστατικά είναι είτε Δότες Δεσμών Υδρογόνου (HBD) είτε άλατα τεταρτοταγούς αμμωνίου. Τα API μπορούν επίσης να είναι Δέκτες Δεσμών Υδρογόνου (HBAs), καθώς πολλά είναι αμίνες που συντίθενται ως υδροχλωρικά άλατα για να βοηθήσουν στη διάλυση.

Στη δεκαετία του 1960, μία από τις πρώτες εφαρμογές των DESs με API ήταν οι διαφορές απορρόφησης μεταξύ σουλφατιαζόλης και του ευτηκτικού μίγματος με ουρία. Οι Sekiguchi και Ohi παρατήρησαν ότι αυτό το σύστημα, το οποίο διαλύθηκε στο DES, έδειξε υψηλότερη απορρόφηση και απέκκριση από ότι όταν χορηγήθηκε από το στόμα API. Το 1998, ο Stott και οι συνεργάτες του εισήγαγαν τη δυνατότητα να σχηματίσουν ένα DES με ένα API και να αναπτύξουν νέο τρόπο χορήγησης φαρμάκων. Ανέφεραν ότι η ιβουπροφαίνη δημιούργησε ευτηκτικά μείγματα με διαφορετικά τερπένια που αποδείχθηκε ότι προάγουν την αυξημένη διαπερατότητα του δέρματος, αυξάνοντας τη διαλυτότητα και την απορρόφησή τους.

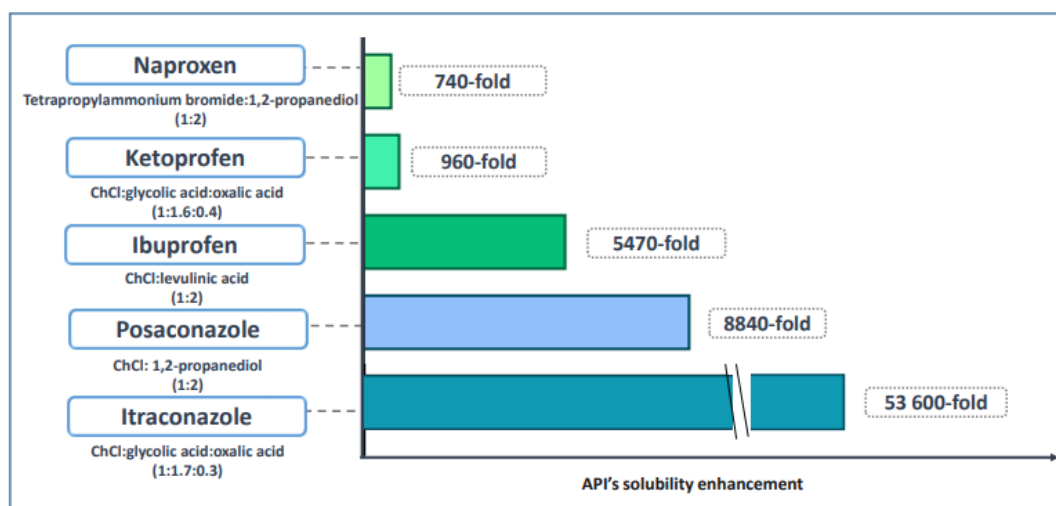
Συνοψίζοντας υπάρχουν δύο τύπους DES σε σχέση με τα APIs, εκείνους όπου το API είναι ένα ή περισσότερα από τα συστατικά του DES (είτε HBD είτε HBA) και εκείνων όπου το API διαλυτοποιήθηκε στους βαθείς ευτηκτικούς διαλύτες (DES).

Εφαρμογές

Τα DES βρίσκουν εφαρμογές κυρίως στον κλάδο της Φαρμακευτικής Χημείας, όπου είναι απαραίτητη η μελέτη της βιολογικής δραστηρότητάς τους καθώς και της βελτίωσης της βιοδιαθεσιμότητας των φαρμάκων που συμμετέχουν σε διάφορες θεραπείες. Πιο συγκεκριμένα, οι εφαρμογές τους μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ανάλογα με τις αλληλεπιδράσεις των DES με ένα βιολογικό σύστημα, τις φυσικοχημικές αλλαγές όπως είναι η βελτίωση της διαλυτότητας, την ελεγχόμενη απελευθέρωση φαρμάκου ή τη βελτίωση της βιολογικής δράσης των φαρμάκων λόγω της σύνθεσης ενός θεραπευτικού διαλύτη.

DES για την διαλυτοποίηση των API

Η σωστή επιλογή ενός διαλύτη για την υποβοήθηση της επεξεργασίας των υλικών και της διάλυσης του φαρμάκου είναι εξαιρετικής σημασίας για την ανάπτυξη των φαρμακευτικών προϊόντων και των συνθέσεων τους. Αν και το νερό είναι ο πιο επιθυμητός διαλύτης για τα φαρμακευτικά προϊόντα, η συντριπτική πλειοψηφία των API εμφανίζει χαμηλή διαλυτότητα στο νερό. Επομένως, η διερεύνηση εναλλακτικών διαλυτών έναντι των οργανικών διαλυτών για την διάλυση των API που μπορούν να ανταποκριθούν στις απαιτήσεις και να γίνουν αποδεκτές από την φαρμακευτική βιομηχανία παραμένει πρόκληση. Αυτή η πρόκληση μπορεί να αντιμετωπιστεί με την χρήση καλοήθων συνδυαλυτών όπως η γλυκερόλη, η προπυλενογλυκόλη και η πολυαιθυλενογλυκόλη μεταξύ άλλων. Ωστόσο, έχει αποδειχθεί ότι έχουν επιτευχθεί βελτιώσεις διαλυτότητας με τη χρήση αυτών των συνδυαλυτών όπως αναφέρεται για παράδειγμα με τα αντιφλεγμονώδη και αντιμυκητιακά φάρμακα. Τέτοια αποτελέσματα μπορούν να επαληθευτούν για την ενίσχυση της διαλυτότητας που επιτυγχάνεται για την ιβουπροφαίνη (περισσότερη από 5400 φορές διαλυτοποίηση) όταν χρησιμοποιείται χλωριούχος χολίνη-λεβουλινικό οξύ, σε σύγκριση με το νερό ως διαλύτη του API. Αντιθέτως, όταν η ιβουπροφαίνη διαλυτοποιείται σε ένα μείγμα μενθόλης-καμφοράς (1:1) επιτυγχάνεται μόνο τετραπλάσια αύξηση της διαλυτότητας, υπογραμμίζοντας την ανάγκη για έλεγχο κατά την προσπάθεια επιλογής του σωστού εναλλακτικού διαλύτη. Η διαλυτότητα των αντιφλεγμονωδών φαρμάκων όπως η ναπροξένη και η κετοπροφαίνη, μπορούν επίσης να αυξηθούν σε σύγκριση με την διαλυτότητα με την χρήση DES (έως 740 και 960 φορές αντίστοιχα). Βελτιώσεις υψηλής διαλυτότητας μπορούν επιπλέον να ληφθούν με την προσθήκη ενός τρίτου συστατικού στο μίγμα όπως συμβαίνει για το DES χλωριούχου χολίνης - γλυκονικού οξέος με την προσθήκη οξαλικού οξέος (1:1,7:0,3) (Εικόνα 2.3).



Εικόνα 2.3: Ενδεικτικά παραδείγματα πειραματικής διαλυτότητας APIs με την χρήση DES ως εναλλακτικών διαλυτών

Οι DES έχουν μελετηθεί ευρέως ως εναλλακτικοί διαλύτες για την ενίσχυση της διαλυτότητας αντιφλεγμονωδών, αντιπυρετικών, αναλγητικών και αντιμυκητιασικών φαρμάκων, και όσον αφορά τη διαλυτοποίηση θρεπτικών συστατικών. Τα ευτηκτικά αυτά μείγματα επιτρέπουν την ταχεία έναρξη της δράσης του φαρμάκου με σημαντική

αύξηση της βιοδιαθεσιμότητάς του. Πιο πρόσφατα, σε *in vivo* μελέτες έχουν αποκαλύψει την ικανότητα του DES να βελτιώνει την από του στόματος απορρόφηση των φαρμάκων-στόχων και να αυξάνει τη συγκέντρωσή τους στο αίμα. Οι υπολογιστικές μέθοδοι έχουν αποδείξει ότι είναι ένα ισχυρό εργαλείο για τη μελέτη της επίλυσης του DES και ικανό εργαλείο για την μελέτη των σχετικών μηχανισμών μοριακού επιπέδου, και μπορεί να είναι πολύ σημαντικό εργαλείο για την ανακάλυψη των καλύτερων συνδυασμών DES για τη διάλυση ενός συγκεκριμένου API.

Βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες, DES για τη βελτίωση της σταθερότητας των API

Συνήθως, η σταθερότητα του φαρμάκου αναφέρεται ως η ικανότητά του να διατηρεί τη μορφή του σε δεδομένο περιβάλλον, όπως σε βιολογικές συνθήκες. Αρκετοί παράγοντες επηρεάζουν τη σταθερότητα του φαρμάκου, όπως είναι δομικοί ή εξωτερικοί παράγοντες (φως, θερμοκρασία, pH, οξυγόνο). Για παράδειγμα, πολλά API που περιέχουν εστέρα, όπως η ασπιρίνη, μπορούν να υποστούν υδρόλυση μετά από μακρά περίοδο αποθήκευσης. Παρόλο που η χρήση οργανικών διαλυτών θα μπορούσε να αποφύγει την αποσύνθεση με τη μεσολάβηση του νερού, αυτό μπορεί να μην είναι κατάλληλη εναλλακτική για φαρμακευτικά σκευάσματα. Εκτός από τις βελτιώσεις διαλυτότητας, οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες DES αποδεικνύεται ότι είναι πολλά υποσχόμενοι διαλύτες για την ενίσχυση της χημικής σταθερότητας των API, όπως η ασπιρίνη, σε σύγκριση με τη σταθερότητά τους σε υδατικά μέσα. Ως παράδειγμα, η διάσπαση της ασπιρίνης σε σαλικυλικό και οξικό οξύ είναι 8,2 φορές πιο αργή στο DES χλωριούχου χολίνης-1,2-προπανοδιόλη (1:2) από ότι σε ένα υδατικό διάλυμα και ο ρυθμός διάσπασης μπορεί να μειωθεί τουλάχιστον κατά 3 φορές με τη χρήση υδατικού διαλύματος DES σε 50% (w/w), σε υψηλές θερμοκρασίες (80 °C).

Αντίστοιχα, τα αντιβιοτικά β-λακτάμης μπορεί να είναι πολύ ασταθή καθώς ο δακτύλιος β-λακτάμης ανοίγει ένα υδατικό μέσο οδηγώντας σε αποικοδόμηση, με αποτέλεσμα την απώλεια της αντιμικροβιακής δράσης του. Για να ξεπεραστεί αυτό το μειονέκτημα, μελετήθηκε το DES βεταΐνη-ουρία (1:2) με 2% (w/w) νερό για τη βελτίωση της σταθερότητας της ιμιπενέμης και του κλαβουλανικού οξέος. Αυτά τα σκευάσματα βελτίωσαν τη σταθερότητα των αντιβιοτικών κατά 7 φορές και 2,5 φορές, αντίστοιχα, σε σύγκριση με το νερό σε 7 ημέρες περίοδο αποθήκευσης σε θερμοκρασία δωματίου. Το DES επιτρέπει επίσης την πρόληψη της θερμικής και ελαφριάς αποικοδόμησης των φαρμακευτικών προϊόντων. Για παράδειγμα, οι πορφυρίνες εμφανίζουν φωτοφυσικές ιδιότητες ελκυστικές για την εφαρμογή τους στη φωτοδυναμική θεραπεία. Ωστόσο, η κακή φωτοσταθερότητά τους περιορίζει την εφαρμογή τους ως φωτοευαίσθητοποιητές στη θεραπεία βακτηριακών λοιμώξεων. Η φωτοσταθερότητα της ουδέτερης πορφυρίνης 5,10,15,20-τετράκις(4-υδροξυφαινυλ)-πορφυρίνη (THPP) μελετήθηκε σε κιτρικό οξύ, [Ch]Cl και DES με βάση τη γλυκόζη, και συγκρίθηκε με τη σταθερότητά του σε οργανικά μέσα μετά από 8 ώρες ακτινοβολήσης. Ο ρυθμός αποικοδόμησης της πορφυρίνης ήταν σημαντικά υψηλότερος σε μεθανόλη σε σύγκριση με τον DES. Ωστόσο, κατά την αραίωση του διαλύματος πορφυρίνης DES σε νερό (1:50), το προφίλ υποβάθμισης αντιστράφηκε. Ωστόσο, θα πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι η εφαρμογή μειγμάτων όπως το κιτρικό οξύ-γλυκόζη εξακολουθεί να είναι πολύ αμφιλεγόμενη για να θεωρείται ως DES λόγω της αποικοδόμησης των συστατικών κατά την προετοιμασία του DES, δηλαδή με οξειδωση του υδατάνθρακα σε όξινα μέσα.

Εκτός από τις πορφυρίνες, η κουρκουμίνη μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί ως φωτοευαισθητοποιητής. Επιπλέον, λόγω των πολύτιμων αντιοξειδωτικών, αντιφλεγμονωδών, αντιμικροβιακών και αντικαρκινικών ιδιοτήτων του, μπορούν να εξεταστούν και σε άλλες εφαρμογές.

Παρά τα πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα που επιτεύχθηκαν με τη χρήση των DESs για τη βελτίωση της σταθερότητας του φαρμάκου, όπως συνοψίζεται στον Πίνακα 2.1, απαιτούνται ακόμη εκτενέστερα δεδομένα για να μπορέσει ο σχεδιασμός τους να επιτευχθεί. Η ποικιλία των DES που μελετήθηκαν για το σκοπό αυτό είναι ακόμα περιορισμένη και η επίδραση της διακύμανσης της μοριακής τους αναλογίας είναι άγνωστη. Απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για να κατανοήσουν καλύτερα τις αλληλεπιδράσεις DES-API που προκαλούν αυτές τις δομικές διαφορές και διαφορετική ικανότητα διατήρησης.

Επιπλέον, μια συγκεκριμένη συγκέντρωση DES σε υδατικά μέσα, έχουν διερευνηθεί, χωρίς ολοκληρωμένη έρευνα στην πιο κατάλληλη σύνθεση DES-water-API.

Πίνακας 2.1: Σταθερότητα φαρμάκων με χρήση DES έναντι συμβατικών διαλυτών

API	Συμβατικός Διαλύτης	DES	Συνθήκες Αποθήκευσης	Σταθερότητα DES-API
Χημική Σταθερότητα				
Ασπιρίνη	Νερό	Χλωριούχος χολίνη-1,2 προπαμοδιόλη	14 ώρες στους 80 °C	Η Διάσπαση σε σαλικυλικό και οξικά οξέα είναι 8,2 φορές πιο αργή
Ιμπενέμη	Νερό	Βεταΐνη-ουρία	7 ημέρες στους 25C	7πλασια βελτιωμένη σταθερότητα
Κλαβουλανικό οξύ	Νερό			2,5 φορές περισσότερη βελτιωμένη σταθερότητα
Σταθερότητα στο φως				
5,10,15,20-τετρακίς(4-υδροξυφαινυλο)-πορφυρίνη (THPP)	Μεθανόλη	Κιτρικό οξύ-γλυκόζη	3-5 ώρες έκθεση στα 765 W·m ⁻² (310–800 nm) ακτινοβολία σε ένα τελικό σημείο των 8 ωρών που αντιστοιχούν σε 1.2 × 10 ⁶ lux·h (400–800 nm)	Χαμηλότερο ποσοστό της φωτοαποικοδόμησης

Κουρκουμίνη	Μεθανόλη	Χλωριούχος χολίνη- γλυκερόλη	2 ώρες έκθεση στο ηλιακό φως	Διατηρημένη σταθερότητα
Θερμική Σταθερότητα				
Χονδροϊτινάση ABCI	Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών αλάτων	Χλωριούχος χολίνη- γλυκερόλη Βεταΐνη- γλυκερόλη	15 ημέρες αποθήκευσης στους -20 °C	Η Ενζυμική δραστηριότητα διατηρείται στο 95% και 80%, αντίστοιχα, έναντι απώλειας δραστηριότητας μετά 5 μέρες και απουσία σταθερότητας
Ανθρώπινη ιντερφερόνη-α2	Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών αλάτων	Χολίνη - φρουκτόζη	Βραχυπρόθεσμα (2 ώρες) και μακροπρόθεσμα (3 μήνες) αποθήκευση στους 37 ° C	Διατήρηση δομικής ακεραιότητας και δραστικότητας

DES με βιολογική δραστικότητα

Λόγω της ποικιλίας των πιθανών συνδυασμών DES και συστατικών, μπορούν να σχεδιαστούν για να ενσωματώσουν ενώσεις με βιολογική δραστικότητα. Παρόλα αυτά, η δυνατότητα δεν έχει ακόμη διερευνηθεί σε μεγάλο βαθμό, αλλά σε γενικές γραμμές ο συνδυασμός ενός Des με βιολογική δραστικότητα μπορεί να είναι δυνητικά ευεργετική σε σύζευξη με ένα δεδομένο API. Για το σκοπό αυτό είναι σημαντικό να γνωρίζουν και να κατανοούν τη δραστικότητα κάθε DES. Μέχρι στιγμής έχουν αναφερθεί DES που παρουσιάζουν αντιμικροβιακές, αντιοξειδωτικές και αντικαρκινικές ιδιότητες. Η αντιμικροβιακή δράση μιας ποικιλίας DES με βάση την χλωριούχο χολίνη έχει αξιολογηθεί έναντι Gram-θετικών (*Staphylococcus aureus* και *Listeria monocytogenes*) και Gram-αρνητικών (*Escherichia coli* και *Salmonella enteritidis*) βακτηρίων. Δεδομένου του εύρους των DES που ερευνηθήκαν, είναι δυνατό να επαληθευτεί ότι οι DESs με βάση την αμίνη, την αλκοόλη και τη ζάχαρη δεν είναι τόσο αποτελεσματικοί για εξάλειψη βακτηρίων, καθώς αυτά τα συστατικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως θρεπτικά συστατικά και πηγή άζωτο ή άνθρακα για τα βακτήρια. Από την άλλη πλευρά, έχει αποδειχθεί ότι η επιλογή του DES με οργανικά οξέα μπορεί να οδηγήσει σε αναστολή της βακτηριακής ανάπτυξης, η οποία είναι επίσης αποτέλεσμα της μείωσης του pH. Οι DESs με υψηλή οξύτητα ή βασικότητα μπορεί πράγματι να μετουσιώσουν τις πρωτεΐνες που βρίσκονται στο κυτταρικό τοίχωμα, με αποτέλεσμα την κατάρρευση των κυττάρων και τον κυτταρικό θάνατο.

Η αντικαρκινική δράση των DESs έχει διερευνηθεί *in vitro* σε αρκετές κυτταρικές σειρές. Χλωριούχο χολίνη σε συνδυασμό με διαφορετικούς δότες δεσμών υδρογόνου, και

συγκεκριμένα γλυκερόλης, αιθυλενογλυκόλης, τριαιθυλενογλυκόλης και ουρίας διερευνήθηκαν και μελετήθηκε η επίδραση στον ανθρώπινο καρκίνο του προστάτη (PC3), ανθρώπινο κακοήγη μελάνωμα (A375), σε κυτταρικές σειρές αδenoκαρκινώματος (HT29) και στον ανθρώπινο καρκίνο του μαστού (MCF-7). Οι DESs ανέστειλαν την ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων σε ορισμένες δόσεις, παρουσιάζοντας χαμηλή επιλεκτικότητα ανάλογα με τη σύνθεση του DES,

Εκτός από την αντιμικροβιακή και την αντικαρκινική τους δράση, οι DESs παρουσιάζουν αποδεδειγμένη αντιοξειδωτική δράση. Παρά την πρόσφατη εφαρμογή αυτών των διαλυτών για τη βελτίωση της αντιοξειδωτικής δράσης των φυσικών εκχυλισμάτων, το αντιοξειδωτικό δυναμικό ορισμένων ίδιων DES είναι λιγότερο διερευνημένο. Μελέτες έχουν επιβεβαιώσει ότι οι DESs παρουσιάζουν συνήθως αντιοξειδωτική δράση εάν ένα από τα συστατικά τους παρουσιάζει επίσης αντιοξειδωτική ισχύ.

Συνθέσεις API/DES δημιουργία THEDES

Οι DESs μπορεί να σχεδιαστούν για να περιλαμβάνει το API ως συστατικό DES με στόχο ένα υγρό ως μορφή του φαρμάκου, ακολουθώντας τη στρατηγική API-DES, που αναφέρεται επίσης στη βιβλιογραφία ως θεραπευτικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες (THEDES). Η σωστή επιλογή του δεύτερου συστατικού παίζει κρίσιμο ρόλο στο σχηματισμό μιας υγρής μορφής API-DES (τουλάχιστον στη θερμοκρασία του ανθρώπινου σώματος) και στις θεραπευτικές ιδιότητες που προκύπτουν. Αυτές οι υγρές μορφές μπορεί να ληφθούν με το συνδυασμό των API με μια μεγάλη ποικιλία ενώσεων, συγκεκριμένα μεταβολίτες (π.χ. αμινοξέα, βιταμίνες, αλκοόλες ή οργανικά οξέα) ή ενισχυτές διείσδυσης (π.χ., μενθόλη και λιπαρά οξέα, μεταξύ άλλων). API-DES μπορούν επίσης να προετοιμαστούν με την επιλογή δύο διαφορετικών API, με αποτέλεσμα υγρές μορφές διπλής δράσης.

Τα περισσότερα API-DES που έχουν αναφερθεί μέχρι σήμερα εμφανίζουν θερμοκρασίες τήξης κοντά ή κάτω από τη θερμοκρασία του ανθρώπινου σώματος και συνήθως προβλέπουν τοπική και από του στόματος χορήγηση. Αρχικά, ηπλειοψηφία αυτών των υγρών μορφών σχεδιάστηκαν για διαδερμικούς σκοπούς και συμπεριλήφθηκαν ενισχυτές διείσδυσης, όπως τερπένια και λιπαρά οξέα. Το 1998, ο Stott και οι συνεργάτες του ανέφεραν μια σειρά API-DES με βάση την ιβουπροφαίνη και τη διαφορετική διείσδυση και ενίσχυση, με συστατικά όπως L-μενθόλη, L-μενθόνη θυμόλη, D-λιμονένιο, 1,8-κινεόλη και ρ-κυμένιο. Τα περιγραφόμενα μείγματα παρουσιάζουν θερμοκρασίες τήξης κάτω από τη θερμοκρασία του σώματος και, από τότε η ανακρυστάλλωση του API σε χαμηλότερες θερμοκρασίες μπορεί να αποφευχθεί, ενώ η σταθερότητα του API υπό αποθήκευση θα μπορούσε ενδεχομένως να βελτιωθεί. Λόγω της συνάφειάς του, ένας σημαντικός αριθμός εργασιών σχετίζονται με τον χαρακτηρισμό και την εφαρμογή χορήγησης φαρμάκων DES μενθόλη-ιβουπροφαίνη ($T_m = 13^\circ \text{C}$). Η διαλυτότητα της ιβουπροφαίνης σε υδατικά μέσα μπορεί να αυξηθεί 12 φορές μετατρέποντας το API στην υγρή του μορφή με μενθόλη. Επιπλέον, αυτό το API-DES επιτρέπει τη βελτίωση κατά 3 φορές της διαπερατότητας του δέρματος σε σύγκριση με το καθαρό API ιβουπροφαίνης.

Ένα σχετικό παράδειγμα, αξιοποιώντας την ικανότητα διαμόρφωσης βιολογικής δραστηριότητας DES ενώ χρησιμοποιείτε API όπως η ιβουπροφαίνη στη στρατηγική API-DES, είναι η πρόσφατη εξερεύνηση της αντικαρκινικής δράσης λιμονενίου-ιβουπροφαίνης (1:4). Το λιμονένιο παρουσιάζει αναφερόμενη αντικαρκινική δράση. Ωστόσο, η τοξικότητά του στα υγιή κύτταρα περιορίζει την ευρύτερη εφαρμογή του. Η σύνθεση αυτών των δραστικών συστατικών σε ένα API-DES επιτρέπει την αναστολή του

πολλαπλασιασμού HT29 χωρίς σημαντική κυτταρική τοξικότητα. Η μελέτη των αντικαρκινικών ιδιοτήτων λιμονενίου-ιβουπροφαίνης (1:4) αποκάλυψαν ότι το API-DES παρουσιάζει ένα διαφορετικό μηχανισμό δράσης από τα επιμέρους συστατικά, τονίζοντας τη συνεργική δυνατότητα αυτού του API-DES.

Παρά αυτά τα πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα, η μελέτη του API-DES (THEDES) βρίσκεται σε αρχικό στάδιο και οι θεμελιώδεις παραμέτροι, όπως η διαλυτότητα του φαρμάκου, ο ρυθμός διάλυσης, η βιοδιαθεσιμότητα, η κυτταροτοξικότητα και η θεραπευτική αποτελεσματικότητα πρέπει να αξιολογηθούν, ενώ πρέπει επίσης να πραγματοποιηθούν *in vivo* μελέτες έτσι ώστε η εφαρμογή τους στον φαρμακευτικό τομέα να γίνει πραγματικότητα.[81]

Βαθώς ευτηκτικοί διαλύτες και αλληλεπίδρασή τους με βιολογικά μακρομόρια

Έχουν πραγματοποιηθεί ορισμένες επιτυχημένες και απλές μέθοδοι για την απομόνωση των βιολογικών μορίων όπως πολυσακχαρίτες, DNA, RNA και πρωτεΐνες.

DES – Φωσφολιπίδια

Πρόσφατα, μια μελέτη διερεύνησε την ικανότητα σχηματισμού φωσφολιπιδικών κυστιδίων σε DES χλωριούχο χολίνη:ουρία χρησιμοποιώντας πειράματα διείσδυσης. Το πείραμα έδειξε ότι το DES χλωριούχου χολίνης:ουρίας είναι ικανό να διεισδύσει και να διαλυτοποιήσει λιπίδια που βασίζονται στη φωσφατιδυλοχολίνη (PC) (1,2-διμυριστοϋλ-sn-γλυκερο-3-φωσφοχολίνη (DMPC), 1,2-διπαλμιτοϋλ-sn-γλυκερο-3-φωσφοχολίνη (DPPC), 1,2-διστεαρϋλ-sn-γλυκερο-3-φωσφοχολίνη (DSPC), καθώς και PC με 1-παλμιτοϋλ-2-ελαϊολική-sn-γλυκερο-3-φωσφοχολίνη (POPC) ως κύριο συστατικό) σε απουσία νερού. Όπως φαίνεται το DES διογκώνει τα λιπίδια πάνω από τη θερμοκρασία διείσδυσης και σχηματίζεται αυθόρμητα μια φάση, η οποία μετατρέπεται σε κυστίδια με το χρόνο.

Όπως και στο νερό, η θερμοκρασία διείσδυσης επηρεάζεται από το μήκος της λιπιδικής αλκυλικής αλυσίδας, αλλά παρατηρήθηκαν υψηλότερες θερμοκρασίες διείσδυσης στο DES παρά στο νερό για λιπίδια μακράς αλκυλικής αλυσίδας. Αυτό αποδίδεται στη δέσμευση ιόντων χλωρίου στη λιπιδική μεμβράνη.

Πραγματοποιήθηκαν προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής για τη μελέτη της αλληλεπίδρασης των συστατικών DES με τη λιπιδική μεμβράνη σε μοριακό επίπεδο. Η αλληλεπίδραση μεταξύ έντεκα DES που βασίζεται σε χλωριούχο χολίνη (λαμβανομένων υπόψη των διαφορετικών HBD) και μιας διπλοστοιβάδας λιπιδίων διερευνήθηκε παρουσία 97,6 wt% νερού. Έτσι, το DES είναι σαφώς διαταραγμένο σε αυτό το στάδιο. Τα αναφερόμενα αποτελέσματα δείχνουν την παρουσία απομονωμένων ιόντων HBA και δότες δεσμών υδρογόνου σε υδατικό διάλυμα, και επομένως αλληλεπίδραση των ελεύθερων μορίων με την λιπιδική διπλοστοιβάδα. Η εισαγωγή δεσμού υδρογόνου παρατηρούνται για όλους τους εξεταζόμενους διαλύτες, ενώ ιόντα χλωρίου δεν εισάγονται και το κατιόν χολίνης εισάγεται, μόνο για ορισμένους από τους διαλύτες που μελετήθηκαν. Ο αριθμός των εισαγόμενων μορίων αυξάνονται με την υδροφοβικότητα του δότη του δεσμού υδρογόνου. Ωστόσο, η δομή της λιπιδικής διπλοστοιβάδας δεν υφίσταται μεγάλες αλλαγές κατά την εισαγωγή δεσμού υδρογόνου από τον δότη.

DES – Πρωτεΐνες

Έχουν πραγματοποιηθεί πολλές μελέτες σχετικά με τη βιοκατάλυση των πρωτεϊνών σε μη υδατικά μέσα, καθώς προσφέρει πολλά πλεονεκτήματα, όπως είναι η μεγαλύτερη διαλυτότητα του υποστρώματος ή βελτιωμένη σταθερότητα ενός ενζύμου. Οι βαθώς ευτηκτικοί διαλύτες, λόγω του πράσινου χαρακτήρα και της οικονομικής τιμής τους, θεωρούνται κατάλληλοι διαλύτες για επίτευξη βιοκαταλυτικών αντιδράσεων.

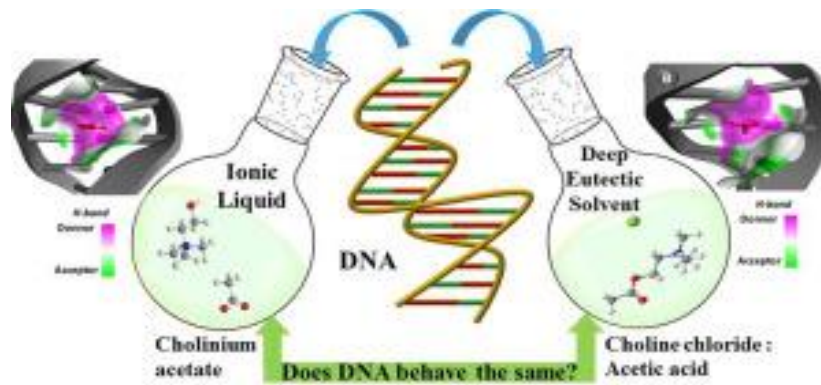
Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η επίδραση ενός DES στη σταθερότητα και δομή ενός ενζύμου, της υπεροξειδάσης του χρένου (HRP). Παρασκευάστηκε μια σειρά από DES, χρησιμοποιώντας ως άλας τη χλωριούχο χολίνη και ως δότη πρωτονίου την ουρία, τη γλυκερόλη, και την αιθυλενογλυκόλη σε αναλογίες 1:2, 1:1, 2:1 αντίστοιχα. Έπειτα το ευτηκτικό μίγμα διαλύθηκε σε ένα διάλυμα φωσφορικών σε διάφορες συγκεντρώσεις (έως 2M), και το pH του ρυθμίστηκε κοντά στο 7. Η παρουσία του DES είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της δράσης του ενζύμου HRP με ταυτόχρονη αύξηση της σταθερότητας της πρωτεΐνης.

DES – Νουκλεϊκά οξέα

Τα νουκλεϊκά οξέα χαρακτηρίζονται από χαμηλή σταθερότητα σε υδατικά διαλύματα. Για αυτόν τον λόγο, πραγματοποιήθηκαν προσπάθειες ανακάλυψης νέων εναλλακτικών διαλυτών, οι οποίοι θα αποτελούν ένα σταθερό μέσο για το DNA. Έπειτα από έρευνες διαπιστώθηκε ότι ορισμένα DES, όπως το ευτηκτικό μίγμα χλωριούχου χολίνης – ουρία, έχουν την ικανότητα να διατηρούν σταθερή τη δομή του DNA μέσω ειδικού διαχωρισμού. Βέβαια διαπιστώθηκε ότι τόσο το DNA όσο και το RNA είναι λιγότερο σταθερά στα DES από ότι είναι σε υδατικά διαλύματα, κυρίως λόγω των χαμηλών θερμοκρασιών τήξης. Έπειτα εξετάστηκε η διαλυτότητα του DNA σε διάφορα NaDES, η οποία είναι μεγαλύτερη στο μίγμα χλωριούχου χολίνης-μηλικού οξέος(1:1) συγκριτικά με το νερό. Επιπλέον ανάμεσα σε μεγάλο πλήθος DES που ερευνήθηκε, το μόριο του DNA διαλύεται εύκολα στο χλωριούχο χολίνη-γλυκερόλη και χλωριούχο χολίνη-αιθυλενογλυκόλη με περιεκτικότητες 2,5%w/w και 5,5%w/w αντίστοιχα, έπειτα από συνεχή ανάδευση περίπου έξι και δύο ωρών αντίστοιχα. Κρίνεται σημαντικό ότι δεν παρατηρήθηκε αποικοδόμηση του απομονωμένου DNA κατά τη διάλυσή του και στα δύο DES, ακόμα και μετά από έξι μήνες παραμονής τους σε θερμοκρασία δωματίου. Η διαλυτότητα και η σταθερότητα του DNA που παρατηρείται μέσα στο DES οφείλεται στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κατιόντων της χλωριούχου χολίνης και των φωσφορικών ομάδων του μορίου του DNA.

Η σταθερότητα του DNA με τους βαθώς ευτηκτικούς διαλύτες

Το DNA, όπως προαναφέρθηκε, περιέχει όλες τις γενετικές πληροφορίες ενός οργανισμού κάτι το οποίο το καθιστά ύψιστης σημασίας μόριο για την ανθρώπινη ζωή. Έτσι πραγματοποιούνται συνεχώς προσπάθειες εύρεσης εναλλακτικών διαλυτών για το συγκεκριμένο μόριο προκειμένου να διατηρηθεί η σταθερότητά του. Τα ιοντικά υγρά (ILs) και οι βαθώς ευτηκτικοί διαλύτες (DESs) έχει διαπιστωθεί ότι είναι δυο από τους πιο φιλικούς διαλύτες για το DNA, με το οποίο αλληλοεπιδρούν στην κύρια ή δευτερεύουσα αύλακα (Εικόνα 2.4).



Εικόνα 2.4: Ανάμιξη του DNA με ILs και DESs

Έχουν διεξαχθεί αρκετά πειράματα με φασματοσκοπικές μεθόδους για έλεγχο της δομής του DNA και RNA σε ένα DES αποτελούμενο από χλωριούχο χολίνη και ουρία σε αναλογία 1:2. Παρατηρήθηκαν λοιπόν χαμηλότερες θερμοκρασίες τήξης του DNA στο DES συγκριτικά με τα υδατικά διαλύματα, κάτι το οποίο υποδηλώνει χαμηλότερη σταθερότητα σε συνθήκες αφυδάτωσης και ιοντικής ισχύος. Ωστόσο, το DNA διατηρεί τη δομή της β-έλικας μέσα στο DES.

DES – Πολυσακχαρίτες

Οι πολυσακχαρίτες αντιπροσωπεύουν μια κατηγορία βιολογικών πολυμερών. Στους ζωντανούς οργανισμούς εντοπίζονται δύο κατηγορίες πολυσακχαριτών: οι πολυσακχαρίτες αποθήκευσης όπως είναι το άμυλο ή το γλυκογόνο, και οι δομές πολυσακχαριτών όπως είναι η κυτταρίνη. Εκτός από τις φυσικές τους ιδιότητες, τα συγκεκριμένα μακρομόρια έχουν προσελκύσει το ενδιαφέρον των επιστημόνων λόγω των φαρμακευτικών τους ιδιοτήτων.

Σύμφωνα με μελέτες τα DES χρησιμοποιούνται ως πράσινοι διαλύτες, για διαλυτοποίηση, εκχύλιση και πλαστικοποίηση πολλών πολυσακχαριτών. Για παράδειγμα εξετάστηκαν τρία διαφορετικά DES με βάση τη χλωριούχο χολίνη και ως δότη δεσμού υδρογόνου την ουρία, το κιτρικό και το ηλεκτρικό οξύ, ως πλαστικοποιητές για το άμυλο της πατάτας. Γενικά, οι πλαστικοποιητές χαρακτηρίζονται ως χαμηλού μοριακού βάρους μόρια, ικανά να διαταράξουν τους διαμοριακούς δεσμούς ενός πολυσακχαρίτη εξαιτίας του σχηματισμού δεσμών υδρογόνου με τις ομάδες υδροξυλίου του πολυσακχαρίτη.[82], [83]

2.2 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- [1] N. Bribi, "Pharmacological activity of Alkaloids: A Review Intestinal anti-inflammatory activity of alkaloids in DNBS, DSS and Acetic Acid Models View project Pharmacological activity of Alkaloids: A Review," *Asian Journal of Botany*, vol. 1, 2018, doi: 10.63019/ajb.v1i2.467.
- [2] J. J. Lu, J. L. Bao, X. P. Chen, M. Huang, and Y. T. Wang, "Alkaloids isolated from natural herbs as the anticancer agents," *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2012. 2012. doi: 10.1155/2012/485042.
- [3] Y. Yan, X. Li, C. Zhang, L. Lv, B. Gao, and M. Li, "antibiotics Review Research Progress on Antibacterial Activities and Mechanisms of Natural Alkaloids: A Review," 2021, doi: 10.3390/antibiotics.
- [4] S. B. Mhaske and N. P. Argade, "The chemistry of recently isolated naturally occurring quinazolinone alkaloids," *Tetrahedron*, vol. 62, no. 42, pp. 9787–9826, 2006, doi: 10.1016/j.tet.2006.07.098.
- [5] M. M. Reddy and A. Sivaramakrishna, "Remarkably flexible quinazolinones—synthesis and biological applications," *Journal of Heterocyclic Chemistry*, vol. 57, no. 3. HeteroCorporation, pp. 942–954, Mar. 01, 2020. doi: 10.1002/jhet.3844.
- [6] G. Mohammadi Ziarani, P. Gholamzadeh, A. Badiei, and V. Fathi Vavsari, "The role of pyruvic acid as starting material in some organic reactions in the presence of SBA-Pr-SO₃H nanocatalyst," *Research on Chemical Intermediates*, vol. 44, no. 1, pp. 277–288, Jan. 2018, doi: 10.1007/s11164-017-3103-4.
- [7] A. M. Alsibae, H. M. Al-Yousef, and H. S. Al-Salem, "Quinazolinones, the Winning Horse in Drug Discovery," *Molecules*, vol. 28, no. 3. MDPI, Feb. 01, 2023. doi: 10.3390/molecules28030978.
- [8] A. A. Radwan and F. K. Alanazi, "Biological Activity of Quinazolinones." [Online]. Available: www.intechopen.com
- [9] M. Mortazavi *et al.*, "Study of the anticancer effect of new quinazolinone hydrazine derivatives as receptor tyrosine kinase inhibitors," *Front Chem*, vol. 10, Nov. 2022, doi: 10.3389/fchem.2022.969559.
- [10] S. Long *et al.*, "Antitumor activity of quinazolinone alkaloids inspired by marine natural products," *Mar Drugs*, vol. 16, no. 8, Jul. 2018, doi: 10.3390/md16080261.
- [11] A. M. Alsibae, H. M. Al-Yousef, and H. S. Al-Salem, "Quinazolinones, the Winning Horse in Drug Discovery," *Molecules*, vol. 28, no. 3. MDPI, Feb. 01, 2023. doi: 10.3390/molecules28030978.
- [12] A. M. Alsibae, H. M. Al-Yousef, and H. S. Al-Salem, "Quinazolinones, the Winning Horse in Drug Discovery," *Molecules*, vol. 28, no. 3. MDPI, Feb. 01, 2023. doi: 10.3390/molecules28030978.

- [13] P. S. Auti, G. George, and A. T. Paul, "Recent advances in the pharmacological diversification of quinazoline/quinazolinone hybrids," *RSC Advances*, vol. 10, no. 68. Royal Society of Chemistry, pp. 41353–41392, Nov. 12, 2020. doi: 10.1039/d0ra06642g.
- [14] A. A. Radwan and F. K. Alanazi, "Biological Activity of Quinazolinones." [Online]. Available: www.intechopen.com
- [15] M. Asif, "Chemical Characteristics, Synthetic Methods, and Biological Potential of Quinazoline and Quinazolinone Derivatives," *Int J Med Chem*, vol. 2014, pp. 1–27, Nov. 2014, doi: 10.1155/2014/395637.
- [16] M. M. Reddy and A. Sivaramakrishna, "Remarkably flexible quinazolinones—synthesis and biological applications," *Journal of Heterocyclic Chemistry*, vol. 57, no. 3. HeteroCorporation, pp. 942–954, Mar. 01, 2020. doi: 10.1002/jhet.3844.
- [17] K. P. Rakesh, N. Darshini, T. Shubhavathi, and N. Mallesha, "Organic & Medicinal Chem IJ Biological Applications of Quinazolinone Analogues: A Review", doi: 10.19080/OMCIJ.2017.02.555585.
- [18] M. A. Mansour, A. M. Aboulmagd, and H. M. Abdel-Rahman, "Quinazoline-Schiff base conjugates:: In silico study and ADMET predictions as multi-target inhibitors of coronavirus (SARS-CoV-2) proteins," *RSC Adv*, vol. 10, no. 56, pp. 34033–34045, Sep. 2020, doi: 10.1039/d0ra06424f.
- [19] H. N. H. Giang *et al.*, "Quinazolinone-Peptido-Nitrophenyl-Derivatives as Potential Inhibitors of SARS-CoV-2 Main Protease," *Viruses*, vol. 15, no. 2, Feb. 2023, doi: 10.3390/v15020287.
- [20] B. Kumar Tiwary, K. Pradhan, A. Kumar Nanda, and R. Chakraborty, "Implication of Quinazoline-4(3H)-ones in Medicinal Chemistry: A Brief Review," *Journal of Chemical Biology & Therapeutics*, vol. 01, no. 02, 2016, doi: 10.4172/2572-0406.1000104.
- [21] P. V. Kumar, "Quinazoline Marketed drugs-A Review Carica papaya marketed formulation View project New Generation Peptide-Based Vaccine Prototype View project Selvam Tp," 2011. [Online]. Available: <https://www.researchgate.net/publication/235333319>
- [22] D. Peña-Solórzano, C. E. González Guilombo, and C. Ochoa-Puentes, "Rapid and eco-friendly high yield synthesis of dihydroquinazolinones mediated by urea/zinc chloride eutectic mixture," *Sustain Chem Pharm*, vol. 14, no. August, 2019, doi: 10.1016/j.scp.2019.100167.
- [23] Z. Xie, S. Zhang, G. Jiang, D. Sun, and Z. Le, "Green Chemistry Letters and Reviews The green synthesis of 2, 3- dihydroquinazolin-4 (1 H) -ones via direct cyclocondensation reaction under catalyst-free conditions," vol. 8253, 2015, doi: 10.1080/17518253.2015.1109145.
- [24] M. Badolato and F. Aiello, "RSC Advances," pp. 20894–20921, 2018, doi: 10.1039/c8ra02827c.

- [25] N. Ramesh, M. G. Rao, R. Varala, V. U. Rao, and B. H. Babu, "Mercuric chloride catalyzed synthesis of some anticancer 2-aryl-2,3-dihydroquinazolin-4(1H)-ones," *Medicinal Chemistry Research*, vol. 25, no. 9, pp. 1945–1951, 2016, doi: 10.1007/s00044-016-1630-y.
- [26] P. Sivaguru, K. Parameswaran, and A. Lalitha, "Antioxidant, anticancer and electrochemical redox properties of new bis(2,3-dihydroquinazolin-4(1H)-one) derivatives," *Mol Divers*, vol. 21, no. 3, pp. 611–620, 2017, doi: 10.1007/s11030-017-9748-5.
- [27] A. R. Shinde, Y. D. Mane, and D. B. Muley, "One-pot B(C₆F₅)₃ catalyzed cascade synthesis of 2-substituted-2,3-dihydroquinazolin-4(1H)-ones," *Synth Commun*, vol. 50, no. 1, pp. 33–40, 2020, doi: 10.1080/00397911.2019.1679539.
- [28] A. Barmak, K. Niknam, and G. Mohebbi, "Synthesis, Structural Studies, and α -Glucosidase Inhibitory, Antidiabetic, and Antioxidant Activities of 2,3-Dihydroquinazolin-4(1 H)-ones Derived from Pyrazol-4-carbaldehyde and Anilines," *ACS Omega*, vol. 4, no. 19, pp. 18087–18099, 2019, doi: 10.1021/acsomega.9b01906.
- [29] H. Zhang *et al.*, "AC SC," *Eur J Med Chem*, vol. 4, 2018, doi: 10.1016/j.ejmech.2018.04.045.
- [30] J. C. Belrose and M. F. Jackson, "TRPM2: A candidate therapeutic target for treating neurological diseases," *Acta Pharmacol Sin*, vol. 39, no. 5, pp. 722–732, 2018, doi: 10.1038/aps.2018.31.
- [31] A. Soni, P. Khurana, T. Singh, and B. Jayaram, "A DNA intercalation methodology for an efficient prediction of ligand binding pose and energetics," *Bioinformatics*, vol. 33, no. 10, pp. 1488–1496, 2017, doi: 10.1093/bioinformatics/btx006.
- [32] S. Rauf *et al.*, "Electrochemical approach of anticancer drugs-DNA interaction," *J Pharm Biomed Anal*, vol. 37, no. 2, pp. 205–217, 2005, doi: 10.1016/j.jpba.2004.10.037.
- [33] A. Mukherjee and W. D. Sasikala, *Drug-DNA intercalation: From discovery to the molecular mechanism*, 1st ed., vol. 92. Copyright © 2013 Elsevier Inc. All rights reserved., 2013. doi: 10.1016/B978-0-12-411636-8.00001-8.
- [34] L. Pinzi and G. Rastelli, "Molecular docking: Shifting paradigms in drug discovery," *Int J Mol Sci*, vol. 20, no. 18, 2019, doi: 10.3390/ijms20184331.
- [35] K. M. Elokely and R. J. Doerksen, "Docking challenge: Protein sampling and molecular docking performance," *J Chem Inf Model*, vol. 53, no. 8, pp. 1934–1945, 2013, doi: 10.1021/ci400040d.
- [36] S. Li, V. R. Cooper, T. Thonhauser, B. I. Lundqvist, and D. C. Langreth, "Stacking interactions and DNA intercalation," *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 113, no. 32, pp. 11166–11172, 2009, doi: 10.1021/jp905765c.
- [37] P. G. Baraldi *et al.*, "DNA minor groove binders as potential antitumor and antimicrobial agents," *Med Res Rev*, vol. 24, no. 4, pp. 475–528, 2004, doi: 10.1002/med.20000.

- [38] X. Cai, P. J. Gray, and D. D. Von Hoff, "DNA minor groove binders: Back in the groove," *Cancer Treat Rev*, vol. 35, no. 5, pp. 437–450, 2009, doi: 10.1016/j.ctrv.2009.02.004.
- [39] P. L. Hamilton and D. P. Arya, "Natural product DNA major groove binders," *Nat Prod Rep*, vol. 29, no. 2, pp. 134–143, 2012, doi: 10.1039/c1np00054c.
- [40] R. Palchaudhuri and P. J. Hergenrother, "DNA as a target for anticancer compounds: methods to determine the mode of binding and the mechanism of action," *Curr Opin Biotechnol*, vol. 18, no. 6, pp. 497–503, 2007, doi: 10.1016/j.copbio.2007.09.006.
- [41] A. Rescifina, C. Zagni, M. G. Varrica, V. Pistarà, and A. Corsaro, "Recent advances in small organic molecules as DNA intercalating agents: Synthesis, activity, and modeling," *Eur J Med Chem*, vol. 74, pp. 95–115, 2014, doi: 10.1016/j.ejmech.2013.11.029.
- [42] M. Karimi Goftar, N. M. Kor, and Z. M. Kor, "DNA intercalators and using them as anticancer drugs," *International journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, vol. 2, no. 3, pp. 811–822, 2014.
- [43] Y. Yu *et al.*, "Recent advances in delivery of photosensitive metal-based drugs," *Coord Chem Rev*, vol. 387, pp. 154–179, 2019, doi: 10.1016/j.ccr.2019.01.020.
- [44] T. Gheewala, T. Skwor, and G. Munirathinam, "Photosensitizers in prostate cancer therapy," *Oncotarget*, vol. 8, no. 18, pp. 30524–30538, 2017, doi: 10.18632/oncotarget.15496.
- [45] Z. Zarebska, E. Waszkowska, S. Caffieri, and F. Dall'Acqua, "PUVA (psoralen + UVA) photochemotherapy: Processes triggered in the cells," *Farmaco*, vol. 55, no. 8, pp. 515–520, 2000, doi: 10.1016/S0014-827X(00)00076-8.
- [46] H. C. Lai, C. S. Lin, C. S. Wu, and C. C. E. Lan, "The impact of irradiance on UVB-induced cutaneous immunosuppression: Implications on administering most efficient phototherapy," *J Dermatol Sci*, vol. 93, no. 2, pp. 116–122, 2019, doi: 10.1016/j.jdermsci.2019.01.003.
- [47] M. Widel, A. Krzywon, K. Gajda, M. Skonieczna, and J. Rzeszowska-Wolny, "Induction of bystander effects by UVA, UVB, and UVC radiation in human fibroblasts and the implication of reactive oxygen species," *Free Radic Biol Med*, vol. 68, pp. 278–287, 2014, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.12.021.
- [48] M. Pasolli *et al.*, "Pyridine and p-nitrophenyl oxime esters with possible photochemotherapeutic activity: Synthesis, DNA photocleavage and DNA binding studies," *Molecules*, vol. 21, no. 7, 2016, doi: 10.3390/molecules21070864.
- [49] P. Singla, V. Luxami, and K. Paul, "Quinazolinone-benzimidazole conjugates: Synthesis, characterization, dihydrofolate reductase inhibition, DNA and protein binding properties," *J Photochem Photobiol B*, vol. 168, pp. 156–164, 2017, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2017.02.009.
- [50] M. Pasolli *et al.*, "Pyridine and p-nitrophenyl oxime esters with possible photochemotherapeutic activity: Synthesis, DNA photocleavage and DNA binding studies," *Molecules*, vol. 21, no. 7, 2016, doi: 10.3390/molecules21070864.

- [51] S. Kwiatkowski *et al.*, "Photodynamic therapy – mechanisms, photosensitizers and combinations," *Biomedicine and Pharmacotherapy*, vol. 106, no. July, pp. 1098–1107, 2018, doi: 10.1016/j.biopha.2018.07.049.
- [52] J. Bhaumik, A. K. Mittal, A. Banerjee, Y. Chisti, and U. C. Banerjee, "Applications of phototheranostic nanoagents in photodynamic therapy," *Nano Res*, vol. 8, no. 5, pp. 1373–1394, 2015, doi: 10.1007/s12274-014-0628-3.
- [53] M. Lan, S. Zhao, W. Liu, C. S. Lee, W. Zhang, and P. Wang, "Photosensitizers for Photodynamic Therapy," *Adv Healthc Mater*, vol. 8, no. 13, pp. 1–37, 2019, doi: 10.1002/adhm.201900132.
- [54] T. El Achkar, H. Greige-Gerges, and S. Fourmentin, "Basics and properties of deep eutectic solvents: a review," *Environmental Chemistry Letters*, vol. 19, no. 4. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, pp. 3397–3408, Aug. 01, 2021. doi: 10.1007/s10311-021-01225-8.
- [55] Y. Liu, J. B. Friesen, J. B. McAlpine, D. C. Lankin, S. N. Chen, and G. F. Pauli, "Natural Deep Eutectic Solvents: Properties, Applications, and Perspectives," *J Nat Prod*, vol. 81, no. 3, pp. 679–690, 2018, doi: 10.1021/acs.jnatprod.7b00945.
- [56] T. El Achkar, S. Fourmentin, and H. Greige-Gerges, "Deep eutectic solvents: An overview on their interactions with water and biochemical compounds," *Journal of Molecular Liquids*, vol. 288. Elsevier B.V., Aug. 15, 2019. doi: 10.1016/j.molliq.2019.111028.
- [57] Q. Zhang, K. De Oliveira Vigier, S. Royer, and F. Jérôme, "Deep eutectic solvents: Syntheses, properties and applications," *Chem Soc Rev*, vol. 41, no. 21, pp. 7108–7146, Oct. 2012, doi: 10.1039/c2cs35178a.
- [58] M. Espino, M. de los Ángeles Fernández, F. J. V. Gomez, and M. F. Silva, "Natural designer solvents for greening analytical chemistry," *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, vol. 76. Elsevier B.V., pp. 126–136, Feb. 01, 2016. doi: 10.1016/j.trac.2015.11.006.
- [59] Y. H. Choi *et al.*, "Are natural deep eutectic solvents the missing link in understanding cellular metabolism and physiology?," *Plant Physiol*, vol. 156, no. 4, pp. 1701–1705, 2011, doi: 10.1104/pp.111.178426.
- [60] Y. Dai *et al.*, "Natural deep eutectic solvents in plants and plant cells: In vitro evidence for their possible functions," in *Advances in Botanical Research*, Academic Press Inc., 2021, pp. 159–184. doi: 10.1016/bs.abr.2020.09.012.
- [61] Y. Liu, J. B. Friesen, J. B. McAlpine, D. C. Lankin, S. N. Chen, and G. F. Pauli, "Natural Deep Eutectic Solvents: Properties, Applications, and Perspectives," *Journal of Natural Products*, vol. 81, no. 3. American Chemical Society, pp. 679–690, Mar. 23, 2018. doi: 10.1021/acs.jnatprod.7b00945.
- [62] Y. Dai, J. van Spronsen, G. J. Witkamp, R. Verpoorte, and Y. H. Choi, "Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology," *Anal Chim Acta*, vol. 766, pp. 61–68, Mar. 2013, doi: 10.1016/j.aca.2012.12.019.

- [63] N. Szczepanska, J. Plotka-Wasyłka, M. Rutkowska, O. Shyshchak, M. Bratychak, and J. Namiesnik, "Chemical Technology," 2016. [Online]. Available: <http://ena.lp.edu.ua>
- [64] Y. Liu, J. B. Friesen, J. B. McAlpine, D. C. Lankin, S. N. Chen, and G. F. Pauli, "Natural Deep Eutectic Solvents: Properties, Applications, and Perspectives," *Journal of Natural Products*, vol. 81, no. 3. American Chemical Society, pp. 679–690, Mar. 23, 2018. doi: 10.1021/acs.jnatprod.7b00945.
- [65] A. Paiva, R. Craveiro, I. Aroso, M. Martins, R. L. Reis, and A. R. C. Duarte, "Natural deep eutectic solvents - Solvents for the 21st century," *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, vol. 2, no. 5. American Chemical Society, pp. 1063–1071, May 05, 2014. doi: 10.1021/sc500096j.
- [66] A. Mišan *et al.*, "The perspectives of natural deep eutectic solvents in agri-food sector," *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 60, no. 15. Taylor and Francis Inc., pp. 2564–2592, Aug. 21, 2020. doi: 10.1080/10408398.2019.1650717.
- [67] H. Vanda, Y. Dai, E. G. Wilson, R. Verpoorte, and Y. H. Choi, "Green solvents from ionic liquids and deep eutectic solvents to natural deep eutectic solvents," *Comptes Rendus Chimie*, vol. 21, no. 6, pp. 628–638, Jun. 2018, doi: 10.1016/j.crci.2018.04.002.
- [68] P. Kalhor and K. Ghandi, "Deep eutectic solvents for pretreatment, extraction, and catalysis of biomass and food waste," *Molecules*, vol. 24, no. 22. MDPI AG, Nov. 06, 2019. doi: 10.3390/molecules24224012.
- [69] X. Li and K. H. Row, "Development of deep eutectic solvents applied in extraction and separation," *Journal of Separation Science*, vol. 39, no. 18. Wiley-VCH Verlag, pp. 3505–3520, Sep. 01, 2016. doi: 10.1002/jssc.201600633.
- [70] N. Rombaut, A. S. Tixier, A. Bily, and F. Chemat, "Green extraction processes of natural products as tools for biorefinery," *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, vol. 8, no. 4. John Wiley and Sons Ltd, pp. 530–544, 2014. doi: 10.1002/bbb.1486.
- [71] D. Skarpalezos and A. Detsi, "Deep eutectic solvents as extraction media for valuable flavonoids from natural sources," *Applied Sciences (Switzerland)*, vol. 9, no. 19. MDPI AG, Oct. 01, 2019. doi: 10.3390/app9194169.
- [72] D. Smink, S. R. A. Kersten, and B. Schuur, "Recovery of lignin from deep eutectic solvents by liquid-liquid extraction," *Sep Purif Technol*, vol. 235, Mar. 2020, doi: 10.1016/j.seppur.2019.116127.
- [73] B. Zhuang, L. L. Dou, P. Li, and E. H. Liu, "Deep eutectic solvents as green media for extraction of flavonoid glycosides and aglycones from *Platycladi Cacumen*," *J Pharm Biomed Anal*, vol. 134, pp. 214–219, Feb. 2017, doi: 10.1016/j.jpba.2016.11.049.
- [74] Y. Dai, E. Rozema, R. Verpoorte, and Y. H. Choi, "Application of natural deep eutectic solvents to the extraction of anthocyanins from *Catharanthus roseus* with high extractability and stability replacing conventional organic solvents," *J Chromatogr A*, vol. 1434, pp. 50–56, Feb. 2016, doi: 10.1016/j.chroma.2016.01.037.

- [75] E. Yuniarti, F. C. Saputri, and A. Mun'im, "Application of the natural deep eutectic solvent choline chloridesorbitol to extract chlorogenic acid and caffeine from green coffee beans (*Coffea canephora*)," *J Appl Pharm Sci*, vol. 9, no. 3, pp. 82–90, Mar. 2019, doi: 10.7324/JAPS.2019.90312.
- [76] A. V. Gómez, A. Biswas, C. C. Tadini, R. F. Furtado, C. R. Alves, and H. N. Cheng, "Use of natural deep eutectic solvents for polymerization and polymer reactions," *Journal of the Brazilian Chemical Society*, vol. 30, no. 4. Sociedade Brasileira de Quimica, pp. 717–726, 2019. doi: 10.21577/0103-5053.20190001.
- [77] A. Roda, A. A. Matias, A. Paiva, and A. R. C. Duarte, "Polymer science and engineering using deep eutectic solvents," *Polymers*, vol. 11, no. 5. MDPI AG, May 01, 2019. doi: 10.3390/polym11050912.
- [78] A. E. Ünlü, A. Arlkaya, and S. Takaç, "Use of deep eutectic solvents as catalyst: A mini-review," *Green Processing and Synthesis*, vol. 8, no. 1, pp. 355–372, Jan. 2019, doi: 10.1515/gps-2019-0003.
- [79] S. Khandelwal, Y. K. Tailor, and M. Kumar, "Deep eutectic solvents (DESs) as eco-friendly and sustainable solvent/catalyst systems in organic transformations," *Journal of Molecular Liquids*, vol. 215. Elsevier B.V., pp. 345–386, Mar. 01, 2016. doi: 10.1016/j.molliq.2015.12.015.
- [80] P. Liu, J. W. Hao, L. P. Mo, and Z. H. Zhang, "Recent advances in the application of deep eutectic solvents as sustainable media as well as catalysts in organic reactions," *RSC Advances*, vol. 5, no. 60. Royal Society of Chemistry, pp. 48675–48704, 2015. doi: 10.1039/c5ra05746a.
- [81] S. N. Pedro, C. S. R. Freire, A. J. D. Silvestre, and M. G. Freire, "Deep Eutectic Solvents and Pharmaceuticals," *Encyclopedia*, vol. 1, no. 3, pp. 942–963, Sep. 2021, doi: 10.3390/encyclopedia1030072.
- [82] J. K. U. Ling and K. Hadinoto, "Deep Eutectic Solvent as Green Solvent in Extraction of Biological Macromolecules: A Review," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 23, no. 6. MDPI, Mar. 01, 2022. doi: 10.3390/ijms23063381.
- [83] T. El Achkar, S. Fourmentin, and H. Greige-Gerges, "Deep eutectic solvents: An overview on their interactions with water and biochemical compounds," *Journal of Molecular Liquids*, vol. 288. Elsevier B.V., Aug. 15, 2019. doi: 10.1016/j.molliq.2019.111028.
- [84] N. K. Tolochko, "HISTORY OF NANOTECHNOLOGY."
- [85] S. Bayda, M. Adeel, T. Tuccinardi, M. Cordani, and F. Rizzolio, "The history of nanoscience and nanotechnology: From chemical-physical applications to nanomedicine," *Molecules*, vol. 25, no. 1. MDPI AG, 2020. doi: 10.3390/molecules25010112.
- [86] L. Leon, E. J. Chung, and C. Rinaldi, "A brief history of nanotechnology and introduction to nanoparticles for biomedical applications," in *Nanoparticles for Biomedical Applications: Fundamental Concepts, Biological Interactions and Clinical Applications*, Elsevier, 2019, pp. 1–4. doi: 10.1016/B978-0-12-816662-8.00001-1.

- [87] J. E. Hulla, S. C. Sahu, and A. W. Hayes, "Nanotechnology: History and future," *Human and Experimental Toxicology*, vol. 34, no. 12. SAGE Publications Ltd, pp. 1318–1321, Dec. 01, 2015. doi: 10.1177/0960327115603588.
- [88] B. Bhushan, "Introduction to Nanotechnology: History, Status, and Importance of Nanoscience and Nanotechnology Education," 2016, pp. 1–31. doi: 10.1007/978-3-319-31833-2_1.
- [89] F. Dekker, L. Kool, A. Bunschoten, A. H. Velders, and V. Saggiomo, "Syntheses of gold and silver dichroic nanoparticles; Looking at the Lycurgus cup colors," *Chemistry Teacher International*, vol. 3, no. 1, Mar. 2021, doi: 10.1515/cti-2019-0011.
- [90] R. Yu *et al.*, "Structural Coloring of Glass Using Dewetted Nanoparticles and Ultrathin Films of Metals," *ACS Photonics*, vol. 3, no. 7, pp. 1194–1201, Jul. 2016, doi: 10.1021/acsp Photonics.6b00090.
- [91] C. J. Batty, E. M. Bachelder, and K. M. Ainslie, "Forum Series: Bottlenecks and Breakthroughs in Molecular Medicine Historical Perspective of Clinical Nano and Microparticle Formulations for Delivery of Therapeutics."
- [92] M. H. Cai *et al.*, "Design and Development of Hybrid Hydrogels for Biomedical Applications: Recent Trends in Anticancer Drug Delivery and Tissue Engineering," *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, vol. 9. Frontiers Media S.A., Feb. 17, 2021. doi: 10.3389/fbioe.2021.630943.
- [93] E. P. Furlani, "Magnetic biotransport: Analysis and applications," *Materials*, vol. 3, no. 4, pp. 2412–2446, 2010, doi: 10.3390/ma3042412.
- [94] J. Shi, A. R. Votruba, O. C. Farokhzad, and R. Langer, "Nanotechnology in drug delivery and tissue engineering: From discovery to applications," *Nano Letters*, vol. 10, no. 9. pp. 3223–3230, Sep. 08, 2010. doi: 10.1021/nl102184c.
- [95] C. Zhang *et al.*, "Progress, challenges, and future of nanomedicine," *Nano Today*, vol. 35. Elsevier B.V., Dec. 01, 2020. doi: 10.1016/j.nantod.2020.101008.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.3 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ, ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΒΑΘΕΩΣ ΕΥΤΗΚΤΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ (NADES)

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο όρος φυσικός βαθέως ευτηκτικός διαλύτης (NaDES), που προτάθηκε αρχικά από τον Choi και τους συνεργάτες του είναι μια νέα κατηγορία μειγμάτων που σχηματίζονται από δύο ή περισσότερα υγρά ή στερεά σε μια ορισμένη στοιχειακή αναλογία. Το ευτηκτικό σημείο του NaDES είναι σημαντικά χαμηλότερο από αυτό των επιμέρους συστατικών που οφείλεται στο σχηματισμό δεσμών υδρογόνου μεταξύ των συστατικών. Στην εμφάνιση φαίνεται παχύρευστο, διαφανές υγρό. Το NaDES αποτελείται κυρίως από βιολογικούς μεταβολίτες όπως αμινοξέα, σάκχαρα, οργανικά οξέα και παράγωγα χολίνης και σε ορισμένα περιέχεται και μια ορισμένη αναλογία νερού.

Δομικά, οι NaDES αποτελούνται από δότες δεσμών υδρογόνου (HBDs) και δέκτες δεσμών υδρογόνου (HBAs) οι οποίοι συνδέονται μεταξύ τους με ορισμένη στοιχειακή αναλογία με δεσμούς υδρογόνου. Ως εκ τούτου, ο τύπος των HBD και HBAs, καθώς και η θέση και η ποσότητα παίζουν σημαντικό ρόλο στον σχηματισμό δεσμών υδρογόνου έχοντας επίδραση και στην σταθερότητα του NaDES. Ο φυσικός βαθέως ευτηκτικός διαλύτης (NADES) αποτελείται από μια ποικιλία δεσμών υδρογόνου δότες (HBD) και αποδέκτες δεσμών υδρογόνου (HBAs). Τα τυπικά HBA περιλαμβάνουν μη τοξικά άλατα τεταρτοταγούς αμμωνίου (π.χ. χλωριούχο χολίνη) και αμινοξέα (π.χ. αλανίνη, γλυκίνη, προλίνη, ιστιδίνη, γλυκίνη βεταΐνη), ενώ τα HBD περιλαμβάνουν κυρίως οργανικά οξέα (π.χ. οξαλικό οξύ, γαλακτικό οξύ, μηλικό οξύ) και υδατάνθρακες (π.χ. μαλτόζη, φρουκτόζη, γλυκόζη). Οι αλκοόλες, οι αμίνες, οι αλδεΐδες, οι κετόνες και οι καρβοξυλικές ομάδες έχουν διπλές ιδιότητες μπορεί να λειτουργήσει είτε ως HBA είτε ως HBD.

Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι η σύνθεση και ο χαρακτηρισμός φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών (NaDES) μέσω μια αντίδρασης μεταξύ ενός δότη (HBD) και ενός δέκτη (HBA) δεσμών υδρογόνου με στόχο την ανάπτυξη μιας «χημικής βιβλιοθήκης» NaDES. Η επιλογή των κατάλληλων συστατικών έγινε με τέτοιο τρόπο ώστε στη συνέχεια να μελετηθεί και η επίδραση των δομικών αλλαγών. Σημειώνεται ότι η σύνθεση των NaDES βασίστηκε και στον όξινο χαρακτήρα που πρέπει να έχουν ώστε να εφαρμοστούν ως διαλύτες και καταλύτες στην σύνθεση των κινολινικών παραγώγων.

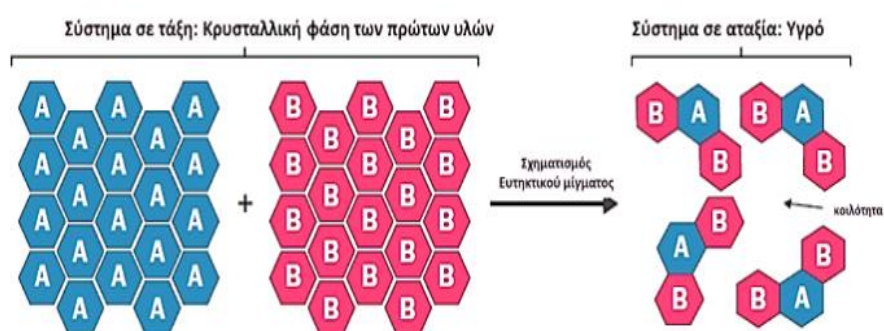
Όσον αφορά τον δέκτη δεσμού υδρογόνου (HBD) επιλέχθηκε η χλωριούχος χολίνη δημιουργώντας μια σειρά NaDES βασισμένα στην χλωριούχο χολίνη και ως δότες δεσμού υδρογόνου χρησιμοποιήθηκαν διάφορα καρβοξυλικά οξέα όπως γαλακτικό οξύ, τρυγικό οξύ, λεβουλινικό οξύ κ.α. αλλά και η γλυκερόλη. Η δεύτερη σειρά που σχηματίστηκε βασίστηκε στη βεταΐνη διατηρώντας την ίδια σειρά καρβοξυλικών οξέων και την γλυκερόλη ώστε να μελετηθεί αυτή η δομική διαφορά που έχουν κατά πόσο θα παίζει ρόλο στις εφαρμογές που θα πραγματοποιηθούν. Τέλος, με επιλεγμένα καρβοξυλικά οξέα δημιουργήθηκε και μια σειρά NaDES βασισμένα σε αμινοξέα ως δέκτη δεσμού υδρογόνου (HBD).

Ο χαρακτηρισμός της δομής των NaDES πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπικές μεθόδους όπως φασματοσκοπία υπερέυθρου (FT-IR), φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (πρωτονίου ^1H NMR και άνθρακα ^{13}C NMR)

Σύνθεση NaDES

Στην παρακάτω εικόνα (Εικόνα 2.5), απεικονίζεται η βασική μέθοδος σύνθεσης των DES και στη συνέχεια αναλύεται η κάθε μέθοδος που εφαρμόστηκε για τη σύνθεση όλων των ευτηκτικών μιγμάτων.

Η παρασκευή ενός DES μπορεί να πραγματοποιηθεί εύκολα με την ανάμιξη ενός δότη (HBD) και ενός δέκτη (HBA) δεσμού υδρογόνου σε θερμοκρασία δωματίου ή υψηλότερες θερμοκρασίες. Στην Εικόνα 2.5 απεικονίζεται ο τρόπος σχηματισμού ενός DES μεταξύ δύο συστατικών. Ωστόσο η στοχευμένη μελέτη των DES έχει οδηγήσει στην εύρεση ποικίλων μεθόδων παραγωγής τους. Συγκεκριμένα, παρουσιάζονται παρακάτω οι σημαντικότερες μέθοδοι.



Εικόνα 2.5: Απεικόνιση του συνδυασμού ενός δότη (HBD) και ενός δέκτη (HBA) πρωτονίου με σκοπό τη σύνθεση ενός ευτηκτικού μίγματος.

Γενική Μέθοδος Σύνθεσης NaDES (Μέθοδος I)- Σύνθεση με θέρμανση και ανάδευση

Τα DES παράγονται από το συνδυασμό τουλάχιστον δύο συστατικών σε συγκεκριμένες γραμμομοριακές 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. Κατά τη μέθοδο σύνθεσης, τα αρχικά συστατικά συστήνεται να είναι υψηλής καθαρότητας και χωρίς υγρασία. Επιπλέον, στην σύνθεση αυτών, μπορεί να προστεθεί και συγκεκριμένη αναλογία ως τρίτο συστατικό και το νερό είτε βοηθώντας σύνθεση είτε βελτιώνοντας το ιξώδες του διαλύτη. Οι παράγοντες των αντιδράσεων όπως είναι ο χρόνος και η θερμοκρασία μπορεί να ποικίλουν ανάλογα με τα συστατικά και το DES που θα χρειαστεί να παρασκευαστεί. Η θέρμανση μπορεί να πραγματοποιείται με υδατόλουτρο ή ελαιόλουτρο και η θερμοκρασία του επιλέγεται συνήθως να είναι χαμηλότερη από 50°C αλλά μπορεί να φτάσει και μέχρι 100°C ανάλογα από τα φυσικά συστατικά. Αυτή η μέθοδος δεν είναι μόνο φθηνότερη αλλά και ασφαλέστερη για συστατικά τα οποία είναι θερμικά ασταθή, όπως τα σάκχαρα ή τα αμινοξέα. Ταυτόχρονα, προσφέρει πλεονεκτήματα όπως ευκολία χρήση, απλότητα και ικανότητα παραγωγής μεγάλων ποσοτήτων διαλυτών.

Γενική Μέθοδος Σύνθεσης NaDES (Μέθοδος II)- 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.

Γενική Μέθοδος Σύνθεσης NaDES (Μέθοδος III)- Σύνθεση με λυοφιλοποίηση/κατάψυξη υπό κενό (freeze drying)

Κατάλληλη ποσότητα από το κάθε συστατικό του συστήματος, σύμφωνα με την επιθυμητή γραμμομοριακή αναλογία. Το κάθε συστατικό διαλύεται σε κατάλληλη ποσότητα νερού, τοποθετείται σε κρυσταλλωτήριο και καταψύχεται σε χαμηλές θερμοκρασίες. Στη συνέχεια ξηραίνεται υπό κατάψυξη (-50°C) για 48 ώρες όπου ο πάγος εξαχνώνεται και τελικά λαμβάνεται ένα διαυγές και παχύρευστο υγρό.

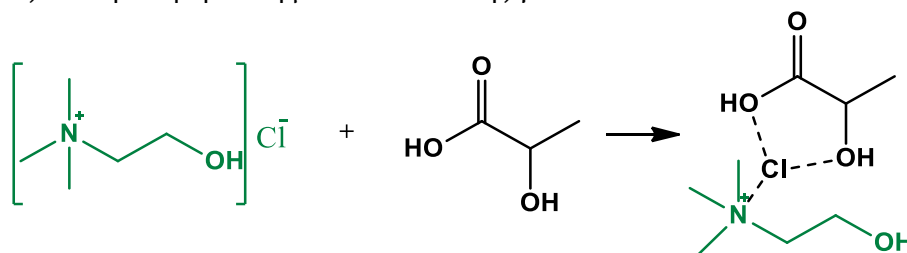
Γενική Μέθοδος Σύνθεσης NaDES (Μέθοδος IV)- Σύνθεση υποβοηθούμενη με υπερήχους

Τα συστατικά του NaDES αναμιγνύονται και ομογενοποιούνται με τη χρήση vortex και στη συνέχεια το μίγμα τοποθετείται σε λουτρό υπερήχων για 10 λεπτά. Το μίγμα ομογενοποιείται χρησιμοποιώντας το vortex, και ακολουθεί η ίδια διαδικασία για επόμενα 10 λεπτά στο λουτρό υπερήχων. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται έως ότου να παραληφθεί διαυγές παχύρευστο υγρό.

2.4 ΣΥΝΘΕΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΒΑΘΕΩΣ ΕΥΤΗΚΤΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ (NADES)

Σύνθεση Σειράς A

Στον Πίνακα 2.2 παρουσιάζονται τα NaDES που συντέθηκαν με βάση τη χλωριούχο χολίνη (Σειρά A) (Σχήμα 2.4) σημειώνοντας και τις διαφορετικές στοιχειακές μοριακές αναλογίες και τη διαφορετική μέθοδο σύνθεσης για καθένα από αυτά.



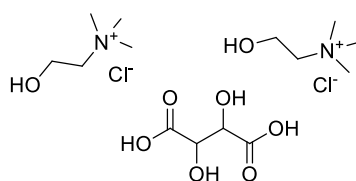
Σχήμα 2.4: Σύνθεση NaDES με βάση την χλωριούχο χολίνη

Πίνακας 2.2: NaDES με βάση τη χλωριούχο χολίνη (Σειρά A)

Κωδικός	Συστατικό 1	Συστατικό 2	Γραμμομοριακή Αναλογία	Μέθοδος Σύνθεσης
NADES 1	Χλωριούχος Χολίνη	Τρυγικό οξύ	2:1	I
NADES 2	Χλωριούχος Χολίνη	Λεβουλινικό οξύ	2:1	I

NADES 3	Χλωριούχος Χολίνη	Κιτρικό οξύ	1:1	III
NADES 4	Χλωριούχος Χολίνη	Κιτρικό οξύ	1:2	I
NADES 5	Χλωριούχος Χολίνη	Γαλακτικό οξύ	1:1	I
NADES 6	Χλωριούχος Χολίνη	Οξαλικό οξύ	1:1	I
NADES 7	Χλωριούχος Χολίνη	Ασκορβικό οξύ	2:1	I
NADES 8	Χλωριούχος Χολίνη	Γλυκερόλη	1:3	I

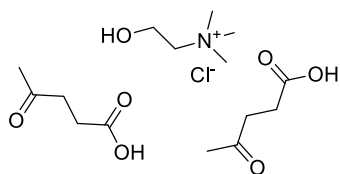
Χλωριούχος χολίνη - Τρυγικό οξύ (2:1) (NADES 1)



Αρχικά, η χλωριούχος χολίνη τοποθετείται σε μια αντλία για περίπου 2 ώρες για την απομάκρυνση μορίων νερού λόγω του υγροσκοπικού της χαρακτήρα. Έπειτα σύμφωνα με την Μέθοδο I αναμιγνύονται σε μια προζυγισμένη σφαιρική φιάλη η χλωριούχος χολίνη 500.0 mg (3.58 mmol) και το τρυγικό οξύ 268.6 mg (1.79 mmol) σε αναλογία 2:1 και ακολουθεί ήπια ανάδευση και θέρμανση στους 70°C για περίπου 24 ώρες.

¹H NMR (DMSO-d₆, 600 MHz): δ (ppm): 4.31 (2H, s, -CH tartaric acid), 3.8 (4H, br, (CH₃)₃-N-CH₂), 3.44 (4H, t, J = 5 Hz, CH₂-CH₂-OH), 3.15 (18 H, s, (CH₃)₃-N-CH₂).

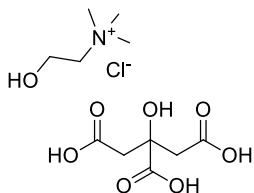
Χλωριούχος χολίνη - Λεβουλινικό οξύ (1:2) (NADES 2)



Η χλωριούχος χολίνη αρχικά τοποθετείται σε μια αντλία για περίπου 2 ώρες για την απομάκρυνση μορίων νερού λόγω του υγροσκοπικού της χαρακτήρα. Έπειτα σύμφωνα με την Μέθοδο I αναμιγνύονται σε μια προζυγισμένη σφαιρική φιάλη η χλωριούχος χολίνη 500.0 mg (3.58 mmol) και το λεβουλινικό οξύ 729.5 μL (7.16 mmol) σε αναλογία 1:2 και ακολουθεί ήπια ανάδευση και θέρμανση στους 50°C για περίπου 3 ώρες.

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ ppm 6.07 (s, 1H, (CH₃)₃N⁺CH₂CH₂OH), 3.93 (br, 2H, (CH₃)₃N⁺CH₂CH₂OH), 3.50 (t, J=3.0, 2H, (CH₃)₃N⁺CH₂CH₂OH), 3.20 (brs, 9H, (CH₃)₃N⁺CH₂-CH₂OH), 2.58 (t, J=6, 2H, CH₃COCH₂CH₂COO⁻), 2.30 (t, J=6, 2H, CH₃COCH₂CH₂COO⁻), 2.07 (brs, 3H, CH₃COCH₂CH₂COO⁻).

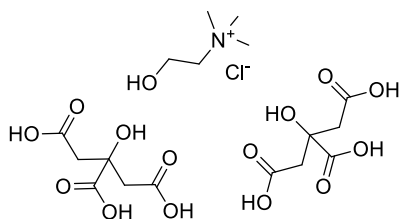
Χλωριούχος χολίνη - Κιτρικό οξύ 1:1 (NADES 3)



Η χλωριούχος χολίνη αρχικά τοποθετείται σε μια αντλία για περίπου 2 ώρες λόγω του υγροσκοπικού της χαρακτήρα. Έπειτα αναμιγνύονται σε μια προ ζυγισμένη σφαιρική φιάλη χλωριούχος χολίνη 500.0 mg (3.58 mmol) και κιτρικό οξύ 687.8 mg (3.58 mmol) σε αναλογία 1:1 και ακολουθεί διάλυση του μίγματος σε μικρή ποσότητα νερού (περίπου 1mL) και εξάτμιση με χρήση περιστροφικού εξατμιστήρα για περίπου μισή

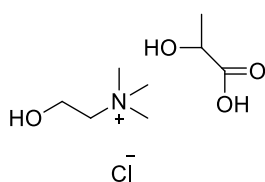
ώρα (Μέθοδος III).

Χλωριούχος χολίνη - Κιτρικό οξύ 1:2 (NADES 4)



Η χλωριούχος χολίνη αρχικά τοποθετείται σε μια αντλία για περίπου 2 ώρες λόγω του υγροσκοπικού της χαρακτήρα. Έπειτα αναμιγνύονται σε μια προ ζυγισμένη σφαιρική φιάλη χλωριούχος χολίνη 500.0 mg (3.58 mmol) και κιτρικό οξύ 1375.6 mg (7.16 mmol) σε αναλογία 1:2 και ακολουθεί ήπια ανάδευση και θέρμανση στους 80°C.

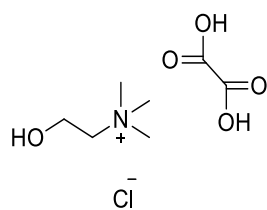
Χλωριούχος χολίνη - Γαλακτικό οξύ 1:1.5 (NADES 5)



Η χλωριούχος χολίνη αρχικά τοποθετείται σε μια αντλία για περίπου 2-3 ώρες λόγω του υγροσκοπικού της χαρακτήρα. Έπειτα αναμιγνύονται σε μια προ ζυγισμένη σφαιρική φιάλη χλωριούχος χολίνη 500 mg (3.58 mmol) και γαλακτικό οξύ (5.37 mmol) σε αναλογία 1:1.5 και ακολουθεί ήπια ανάδευση και θέρμανση στους 50°C.

¹H NMR (600 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 4.05-4.02(m, -CH [LA], 1H), 3.82(br, -CH₂ [CC], 2H), 3.42(t, J = 4.8Hz, -CH₂ [CC], 2H), 3.13(s, -CH₃ [CC], 9H), 1.22(d, J=7.2Hz, - CH₃ [LA], 3H).

Χλωριούχος χολίνη - Οξαλικό οξύ (NADES 6)

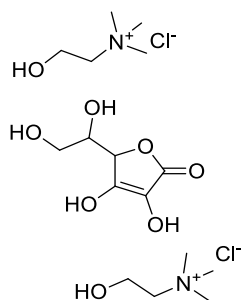


Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται κατάλληλες ποσότητες χλωριούχου χολίνης (Choline Chloride - CC) 500.0 mg (3.58 mmol) και οξαλικού οξέος (Oxalic Acid - OA) 451.1 mg (3.58 mmol) σε μοριακή αναλογία 1:1. Το μίγμα τοποθετείται υπό ήπια ανάδευση και θέρμανση (Μέθοδος I) στους 50°C για 1 h. Το τελικό NaDES είναι διαυγές και διάφανο. Αξίζει να σημειωθεί πως το NaDES αρχίζει να σχηματίζεται κατευθείαν έπειτα από την

ανάμειξη των συστατικών. Το NaDES συντέθηκε επιτυχώς και με τις υπόλοιπες προαναφερθείσες μεθόδους (II-IV) για συγκριτικούς λόγους.

¹H NMR (600 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 3.83-3.82(m, -CH₂ [CC], 2H), 3.41(t, J=5.1Hz, -CH₂ [CC], 2H), 3.12(s, -CH₃ [CC], 9H).

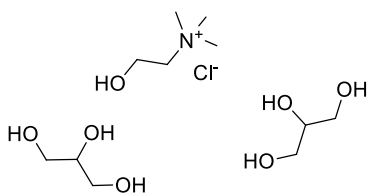
Χλωριούχος Χολίνη - Ασκορβικό οξύ 2:1 (NADES 7)



Η χλωριούχος χολίνη αρχικά τοποθετείται σε μια αντλία για περίπου 2 ώρες λόγω του υγροσκοπικού της χαρακτήρα. Έπειτα αναμιγνύονται σε μια προζυγισμένη σφαιρική φιάλη η χλωριούχος χολίνη [CC] 500.0 mg (3.58 mmol) και το ασκορβικό οξύ [AA] 315.3 mg (1.79 mmol) σε μοριακή αναλογία 2:1 και ακολουθεί ήπια ανάδευση και θέρμανση.

¹H NMR (DMSO-d₆, 600 MHz): δ (ppm) 5.50 ((HO-C₂) [AA], s, 1H), 4.90 ((HO-C₃) [AA], s, 1H), 4.70 ((HO-C₅) [AA], d, 1H), 3.70 ((HO-C₆) [AA], s, 1H), 3.83-3.82(-CH₂ [CC], m, 4H), 3.42-3.41(-CH₂ [CC], m, 4H), 3.13(-CH₃ [CC], s, 18H),

Χλωριούχος χολίνη [CC] - Γλυκερόλη [Gly] (1:2) (NADES 8)



Η χλωριούχος χολίνη αρχικά τοποθετείται σε μια αντλία για περίπου 2 ώρες λόγω του υγροσκοπικού της χαρακτήρα. Έπειτα αναμιγνύονται σε μια προ ζυγισμένη σφαιρική φιάλη χλωριούχος χολίνη 500.0 mg (3.58 mmol) και γλυκερόλη (7.16 mmol) σε αναλογία 1:2 και ακολουθεί ήπια ανάδευση και θέρμανση στους 50°C. Επιπλέον κατά την ανάδευση

εφαρμόζονται αδρανείς συνθήκες (ατμόσφαιρα αζώτου).

¹H NMR (DMSO-d₆, 600 MHz): δ (ppm) 5.51-5.50 (t, OH [CC], 1H), 4.54-4.53 (d, OH [Gly], 2H), 3.82-3.81(m, -CH₂ [CC], 2H), 3.43-3.41 (t, -CH₂ [CC], 2H), 3.40-3.39 (m, -CH [Gly], 2H), 3.37-3.33 (m, -CH₂ [Gly], 4H), 3.29-3.26 (m, -CH₂ [Gly], 4H), 3.13(s, -CH₃ [CC], 9H).

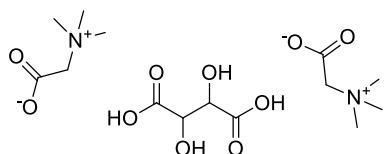
Σύνθεση Σειράς Β

Στον Πίνακα 2.3 παρουσιάζονται τα NaDES που συντέθηκαν με βάση τη βεταΐνη (Σειρά Β) σημειώνοντας και τις διαφορετικές στοιχειακές μοριακές αναλογίες και τη διαφορετική μέθοδο σύνθεσης για καθένα από αυτά.

Πίνακας 2.3: NaDES με βάση τη βεταΐνη.

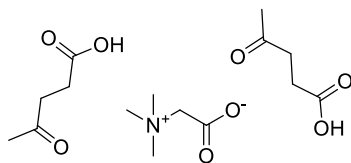
Κωδικός	Συστατικό 1	Συστατικό 2	Γραμμομοριακή Αναλογία	Μέθοδος Σύνθεσης
NADES 9	Βεταΐνη	Τρυγικό οξύ	2:1	I
NADES 10	Βεταΐνη	Λεβουλινικό οξύ	1:2	I
NADES 11	Βεταΐνη	Κιτρικό οξύ	1:1	I
NADES 12	Βεταΐνη	Γαλακτικό οξύ	1:2	I
NADES 13	Βεταΐνη	Οξαλικό οξύ	1:1	I
NADES 14	Βεταΐνη	Οξαλικό οξύ	1:2	III
NADES 15	Βεταΐνη	Γλυκερόλη	1:3	I

Βεταΐνη – Τρυγικό οξύ (2:1) (NADES 9)



Σε μια προ ζυγισμένη σφαιρική φιάλη αναμιγνύονται κατάλληλες ποσότητες βεταΐνης 500.0 mg (4.26 mmol) και τρυγικού οξέος 319.3 mg (2.13 mmol) σε αναλογία 2:1. Ακολουθεί ήπια ανάδευση και θέρμανση στους 60°C, υπό αδρανείς συνθήκες.

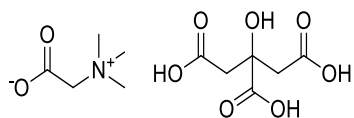
Βεταΐνη [BE] – Λεβουλινικό οξύ [LE] (1:2) (NADES 10)



Σε μια προ ζυγισμένη σφαιρική φιάλη αναμιγνύονται κατάλληλες ποσότητες βεταΐνης 500.0 mg (4.26 mmol) και λεβουλινικού οξέος 989.3 mg (8.52 mmol) σε αναλογία 1:2. Ακολουθεί ήπια ανάδευση και θέρμανση στους 50°C, υπό αδρανείς συνθήκες.

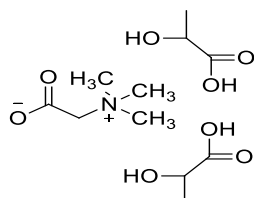
$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 10.29 (s, OH [LE], 2H), 4.03 (q, $J=6.6\text{Hz}$, -CH [LA], 2H), 3.89 (s, -CH₂ [Be], 2H), 3.26 (s, -CH₃ [Be], 9H), 2.69-2.67 (t, CH₂ [LE], 4H), 2.50-2.48 (t, CH₂ [LE], 4H), 2.12 (s, -CH₃ [LE], 6H).

Βεταΐνη – Κιτρικό οξύ (1:1) (NADES 11)



Σε μια προ ζυγισμένη σφαιρική φιάλη αναμιγνύονται κατάλληλες ποσότητες βεταΐνης 500.0 mg (4.26 mmol) και κιτρικού οξέος 818.4 mg (4.26 mmol) σε αναλογία 1:1. Ακολουθεί ήπια ανάδευση και θέρμανση στους 90°C, υπό αδρανείς συνθήκες.

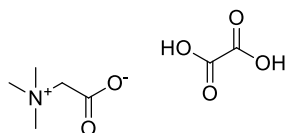
Βεταΐνη - Γαλακτικό οξύ (1:2) (NADES 12)



Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται κατάλληλες ποσότητες βεταΐνης (Betaine - Be) 500.0 mg (4.26 mmol) και γαλακτικού οξέος (Lactic Acid - LA) 767.5 mg (8.52 mmol) 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.

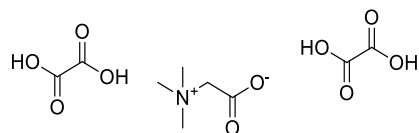
¹H NMR (DMSO-d₆, 600 MHz): δ (ppm) 4.03(q, J=6.6Hz, -CH [LA], 2H), 3.70(s, -CH₂ [Be], 2H), 3.15(s, -CH₃ [Be], 9H), 1.22(d, J=6.6Hz, -CH₃ [LA], 6H).

Βεταΐνη - Οξαλικό οξύ (1:1) (NADES 13)



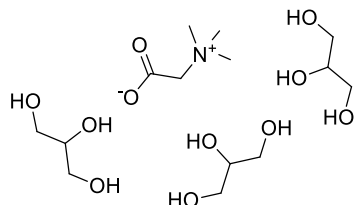
Σε μια προ ζυγισμένη σφαιρική φιάλη αναμιγνύονται κατάλληλες ποσότητες βεταΐνης 500.0 mg (4.26 mmol) και οξαλικού οξέος 536.8 mg (4.26 mmol) σε αναλογία 1:1. Ακολουθεί ήπια ανάδευση και θέρμανση στους 50°C, υπό αδρανής συνθήκες.

Βεταΐνη - Οξαλικό οξύ (1:2) (NADES 14)



Σε μια προ ζυγισμένη σφαιρική φιάλη αναμιγνύονται κατάλληλες ποσότητες βεταΐνης 500.0 mg (4.26 mmol) και οξαλικού οξέος 1073.5 mg (8.52 mmol) σε αναλογία 1:2. Ακολουθεί διάλυση του μίγματος σε μικρή ποσότητα νερού (περίπου 1mL) και εξάτμιση με χρήση περιστροφικού εξατμιστήρα για περίπου μισή ώρα (Μέθοδος III).

Βεταΐνη - Γλυκερόλη (1:3) (NADES 15)



Σε μια προ ζυγισμένη σφαιρική φιάλη αναμιγνύονται κατάλληλες ποσότητες βεταΐνης 500.0 mg (4.26 mmol) και γλυκερόλης (12.78 mmol) σε αναλογία 1:3. Ακολουθεί ήπια ανάδευση και θέρμανση στους 50°C για περίπου 24h, υπό αδρανείς συνθήκες

¹H NMR (600 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 4.03(q, J=6.6Hz, -CH [LA], 2H), 3.70(s, -CH₂ [Be], 2H), 3.15(s, -CH₃ [Be], 9H), 1.22(d, J=6.6Hz, -CH₃ [LA], 6H).

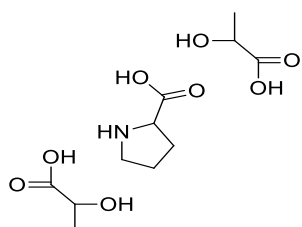
Σύνθεση Σειράς Γ

Στον Πίνακα 2.4 παρουσιάζονται τα NaDES που συντέθηκαν με βάση τα αμινοξέα β-αλανίνη, προλίνη και την γλυκόζη (Σειρά Γ) σημειώνοντας και τις διαφορετικές στοιχειακές μοριακές αναλογίες και τη διαφορετική μέθοδο σύνθεσης για καθένα από αυτά.

Πίνακας 2.4: NaDES με βάση τα αμινοξέα, προλίνη και β-αλανίνη και το σάκχαρο γλυκόζη

Κωδικός	Συστατικό 1	Συστατικό 2	Γραμμομοριακή ή Αναλογία	Μέθοδος Σύνθεσης
NaDES 16	Προλίνη	Γαλακτικό οξύ	1:2	I
NaDES 17	Προλίνη	Οξαλικό οξύ	1:1	I
NaDES 18	Προλίνη	Κιτρικό οξύ	2:1	II
NaDES 19	β - Αλανίνη	Γαλακτικό οξύ	1:2	I
NaDES 20	Γλυκόζη	Γαλακτικό οξύ	1:5	I

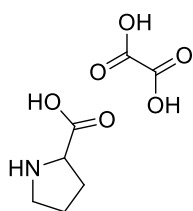
Προλίνη [PRO] - Γαλακτικό οξύ [LA] (1:2) (NADES 16)



Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται κατάλληλες ποσότητες προλίνης (L-proline: Pro) 500.0 mg (4.34 mmol) και γαλακτικού οξέος (Lactic Acid - LA) (8.68 mmol) 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.

¹H NMR (600MHz, DMSO, d₆): δ ppm 4.04-4.00 (d, OH [LA], 2H), 3.97-3.95 (t, CHCOOH[PRO], 1H), 3.24-3.20 (m, CH [PRO], 1H), 3.14-3.10 (m, CH [PRO], 1H), 2.15-2.09 (m, NH [PRO], 1H), 1.91-1.72(m, CH [PRO],3), 1.19-1.17 (d, CH₃ [LA], 6H)

Προλίνη [PRO] - Οξαλικό οξύ [OA] (1:1) (NADES 17)

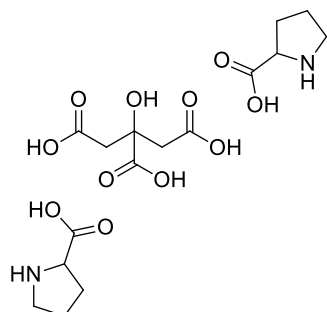


Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται κατάλληλες ποσότητες προλίνης (L-proline: Pro) 500.0 mg (4.34 mmol) και οξαλικού οξέος (Oxalic Acid - OA) 547.2 mg (4.34 mmol) σε μοριακή αναλογία moles 1:1. Το μίγμα τοποθετείται υπό ήπια ανάδευση και θέρμανση

στους 50°C για 4 h. Το τελικό NaDES είναι διαυγές και έχει πορτοκαλί χρώμα.

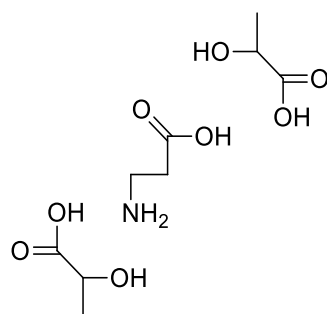
¹H NMR (600MHz, DMSO, d₆): δ ppm: 4.09-4.07 (t, CHCOOH[PRO], 1H), 3.24-3.20 (m, CH [PRO], 1H), 3.14-3.10 (m, CH [PRO], 1H), 2.21-2.15 (m, NH [PRO], 1H), 1.96-1.90(m, CH [PRO], 1H), 1.88-1.79 (m, OH [OA], 2H)

Προλίνη - Κιτρικό οξύ (2:1) (NADES 18)



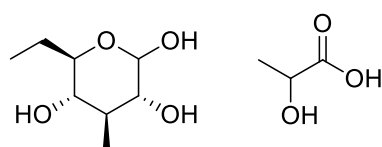
Σε μια προ ζυγισμένη σφαιρική φιάλη αναμιγνύονται κατάλληλες ποσότητες προλίνης 500.0 mg (4.34 mmol) και κιτρικού οξέος 416.9 mg (2,17 mmol) σε αναλογία 2:1. Ακολουθεί προσθήκη μικρής ποσότητας νερού (περίπου 3ml), και το τελικό μίγμα τοποθετείται σε ένα κρυσταλλωτήριο, το οποίο καταψύχεται σε χαμηλές θερμοκρασίες για περίπου δύο 24ωρα (Μέθοδος II).

Αλανίνη - Γαλακτικό οξύ (1:2) (NADES 19)



Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται κατάλληλες ποσότητες αλανίνης (L-alanine - Ala) 500.0 mg (5.61 mmol) και γαλακτικού οξέος (Lactic Acid - LA) (11.22mmol) 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.

Γλυκόζη-Γαλακτικό οξύ (1:5) (NADES 20)



Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούνται κατάλληλες ποσότητες γλυκόζης (Glucose, G) 500.0 mg (2.78 mmol) και γαλακτικού οξέος (Lactic acid, LA) 1252.1 mg (13.90 mmol) σε γραμμομοριακή αναλογία 1:5. Το μείγμα τοποθετείται υπό ήπια ανάδευση και χαμηλή θέρμανση στους 50 °C για

2-3 h. Το τελικό NaDES είναι διαυγές και καθαρό.

¹H NMR (600 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm): 4.05-4.02(m, -CH [LA], 1H), 3.82(br, -CH₂ [CC], 2H), 3.42 (t, J = 4.8Hz, -CH₂ [CC], 2H), 3.13 (s, -CH₃ [CC], 9H), 1.22(d, J=7.2Hz, - CH₃ [LA], 3H).

2.5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σύνθεση φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών (NaDES)

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή, πραγματοποιήθηκε η σύνθεση συνολικά 20 φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών (NaDES) όπου χρησιμοποιήθηκαν:

- i) ως διαλύτες και καταλύτες στην σύνθεση κιναζολινικών αναλόγων με αντιδράσεις ενός σταδίου
- ii) ως προς την αλληλεπίδραση τους με το δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ, DNA
- iii) ως διαλύτες και σταθεροποιητές στην σύνθεση πολυμερικών νανοσωματιδίων PLA, όπως παρουσιάζονται στο Κεφάλαιο 5.

Η επιλογή των φυσικών συστατικών που συνθέτουν τους NaDES, έγινε στοχευμένα ώστε στην συνέχεια με μελετηθούν ως προς την επίδραση των διαφορετικών συστατικών στις εφαρμογές που θα αναλυθούν εκτενέστερα στα επόμενα υποκεφάλαια.

Πιο συγκεκριμένα, οι NaDES χωρίστηκαν με βάση τους δότες δεσμών υδρογόνου (HBD) και τους δέκτες δεσμών υδρογόνου (HBA). Η Σειρά Α αποτελείται από NaDES βασισμένα στην χλωριούχο χολίνη ως δέκτη δεσμών υδρογόνου (HBA) και διαφορετικά είδη καρβοξυλικών οξέων ή γλυκερόλη ως δότη δεσμών υδρογόνου (HBD). Αντίστοιχα, η Σειρά Β αποτελείται από NaDES βασισμένα στην βεταΐνη ως δέκτη δεσμών υδρογόνου (HBA) και διαφορετικά είδη καρβουλικών οξέων ή γλυκερόλη ως δότη δεσμών υδρογόνου (HBD). Στην Σειρά Γ επιλέχθηκαν ορισμένα αμινοξέα (β-αλανίνη και προλίνη) καθώς και γλυκόζη ως δέκτες δεσμών υδρογόνου (HBA) ενώ ως δότες δεσμών υδρογόνου (HBD) χρησιμοποιήθηκαν ίδια τα καρβοξυλικά οξέα που χρησιμοποιήθηκαν και στις προηγούμενες σειρές για συγκριτικούς λόγους.

Προκειμένου να μελετηθεί η δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν ως διαλύτες και καταλύτες για τη σύνθεση κιναζολινικών αναλόγων τα NaDES που συντέθηκαν έχουν όξινο χαρακτήρα. Τα καρβοξυλικά οξέα που επιλέχθηκαν (κιτρικό οξύ, γαλακτικό οξύ, τρυγικό οξύ, οξαλικό οξύ κ.α.) αποτελούν φυσικά.

Μέθοδοι Σύνθεσης

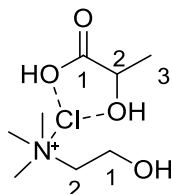
Όσον αφορά στις Γενικές Μεθόδους Σύνθεσης των φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών, NaDES, στην παρούσα διατριβή εφαρμόστηκαν τέσσερις μέθοδοι. Η πρώτη μέθοδος σύνθεσης (Μέθοδος I) είναι η πιο συχνά χρησιμοποιημένη στη βιβλιογραφία και ήταν αυτή που χρησιμοποιήθηκε κυρίως κατά την διαδικασία σύνθεσης. Όπου δεν ήταν δυνατή η σύνθεση των NaDES με την Μέθοδο I, έγινε επιλογή μεταξύ των Μεθόδων II-IV ώστε να επιτευχθεί η σύνθεση του κάθε NaDES. Οι μέθοδοι II-IV έχουν χρησιμοποιηθεί στην βιβλιογραφία με την Μέθοδο IV να είναι πιο πρόσφατα μελετώμενη, παράλα αυτά να εμφανίζει αρκετά πλεονεκτήματα όπως η μείωση χρόνου, αφού μπορεί να επιτευχθεί η σύνθεση των NaDES σε μερικά λεπτά και η μείωση της απαιτούμενης ενέργειας. Αυτά τα πλεονεκτήματα σε συνδυασμό και με την φύση των συστατικών αποτελούν σημαντικούς παράγοντες υπακούοντας στις αρχές της Πράσινης Χημείας.

Χαρακτηρισμός των NaDES

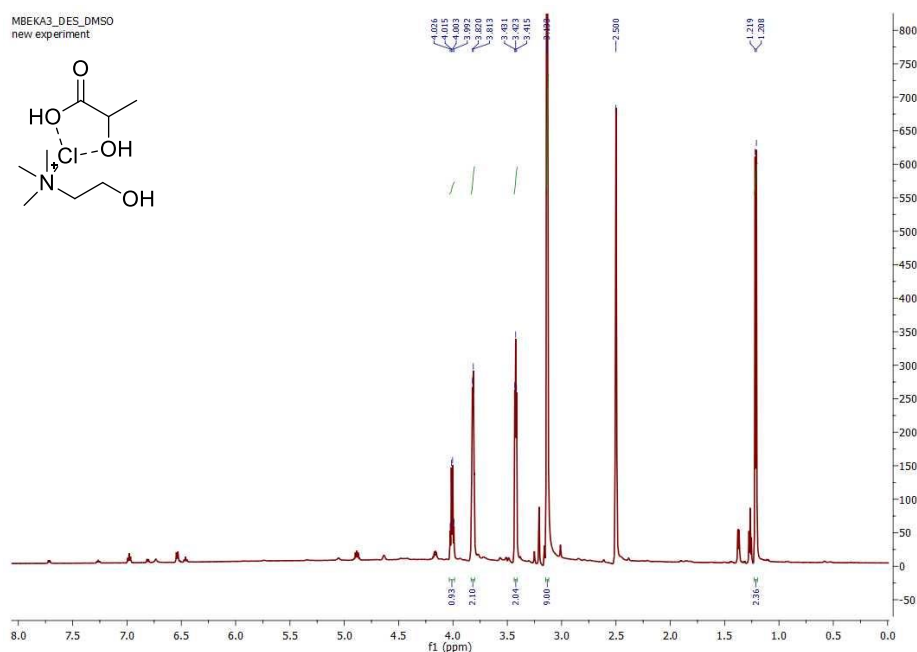
Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού $^1\text{H-NMR}$

Η ταυτοποίηση των ενώσεων πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού $^1\text{H-NMR}$. Παρακάτω αναλύονται επιλεγμένα NaDES, χλωριούχο χολίνη-γαλακτικό (1:1.5) (Σχήμα 2.5), βεταΐνη-γαλακτικό (1:2), προλίνη-γαλακτικό (1:2), προκειμένου να γίνει σύγκριση μεταξύ αυτών των NaDES.

Ταυτοποίηση NaDES5 (Χλωριούχος χολίνη/Γαλακτικό οξύ (1:1.5))



Σχήμα 2.5: Δομή του NaDES Χλωριούχος χολίνη/Γαλακτικό οξύ



Εικόνα 2.6: Φάσμα πρωτονίου $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO) του NaDES Χλωριούχος χολίνη/Γαλακτικό οξύ

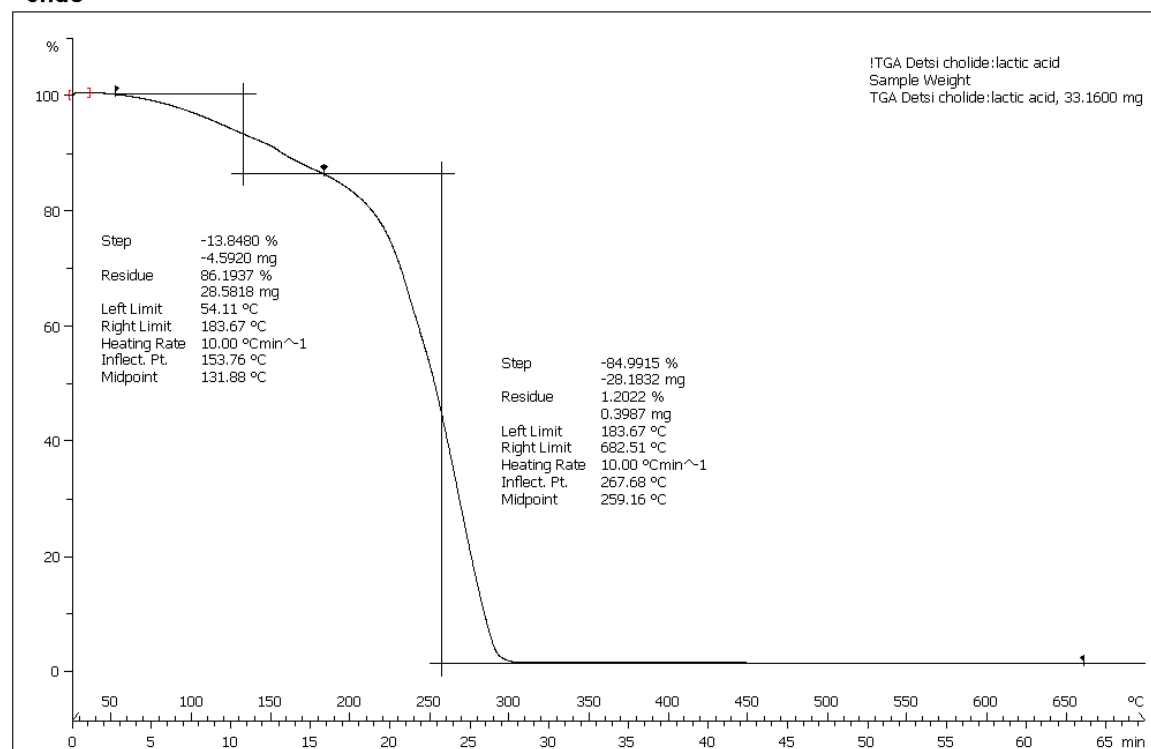
Στην Εικόνα 2.6 παρουσιάζεται το φάσμα πρωτονίου $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO) του NaDES Χλωριούχος χολίνη/Γαλακτικό οξύ. Πιο συγκεκριμένα, στα 4.03-3.99 ppm εμφανίζεται μια τετραπλή κορυφή με σταθερά σύζευξης $J=13.8$ Hz, η οποία ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχεί στον δεύτερο άνθρακα του γαλακτικού οξέος. Ακολουθεί μια διπλή κορυφή στα 3.82 ppm με σταθερά σύζευξης $J=4.2$ Hz, ενώ στα

3.42 ppm υπάρχει μια τριπλή κορυφή με σταθερά σύζευξης $J=4.8$ Hz, καθεμία από τις οποίες ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια και αντιστοιχούν στον πρώτο και δεύτερο άνθρακα της χλωριούχου χολίνης. Στα 3.13 ppm εντοπίζεται μια απλή κορυφή που ολοκληρώνεται για εννέα πρωτόνια και αντιστοιχεί στα εννέα ισοδύναμα πρωτόνια των τριών μεθυλίων του αζώτου της χλωριούχου χολίνης. Τέλος, στα 1.22 ppm υπάρχει μια διπλή κορυφή με σταθερά σύζευξης $J=6.6$ Hz, η οποία ολοκληρώνεται για τρία πρωτόνια και αντιστοιχεί στο μεθύλιο του γαλακτικού οξέος. Τα πρωτόνια των υδροξυλίων είναι ευκίνητα και για το λόγο αυτό δεν εμφανίζονται.

Θερμοσταθμική Ανάλυση (TGA)

Εφόσον το NaDES χρησιμοποιείται ως διαλύτης και καταλύτης σε αντιδράσεις οι οποίες πραγματοποιούνται υπό θέρμανση, κρίνεται χρήσιμη και η αναφορά στο διάγραμμα που απεικονίζει τη θερμοσταθμική ανάλυση (TGA) για το NaDES που αποτελείται από χλωριούχο χολίνη και γαλακτικό οξύ (Διάγραμμα 2.1). Έτσι με βάση το διάγραμμα αυτό προκύπτει η συμπεριφορά του NaDES κατά την καύση του είναι ιδιαίτερα ομαλή. Η θερμοκρασία αποικοδόμησης αυτών των διαλυτών είναι περίπου 250 °C, δηλαδή αρκετά υψηλή και συνεπώς τους καθιστούν διαλύτες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν χωρίς την ύπαρξη κινδύνου αποικοδόμησης, καθώς οι αντιδράσεις πραγματοποιούνται σε θερμοκρασίες κοντά στους 50 °C.

^endo



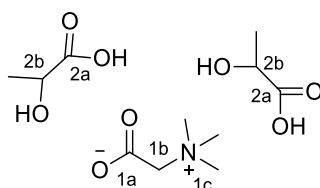
Lab: METTLER

STAR^e SW 9.20

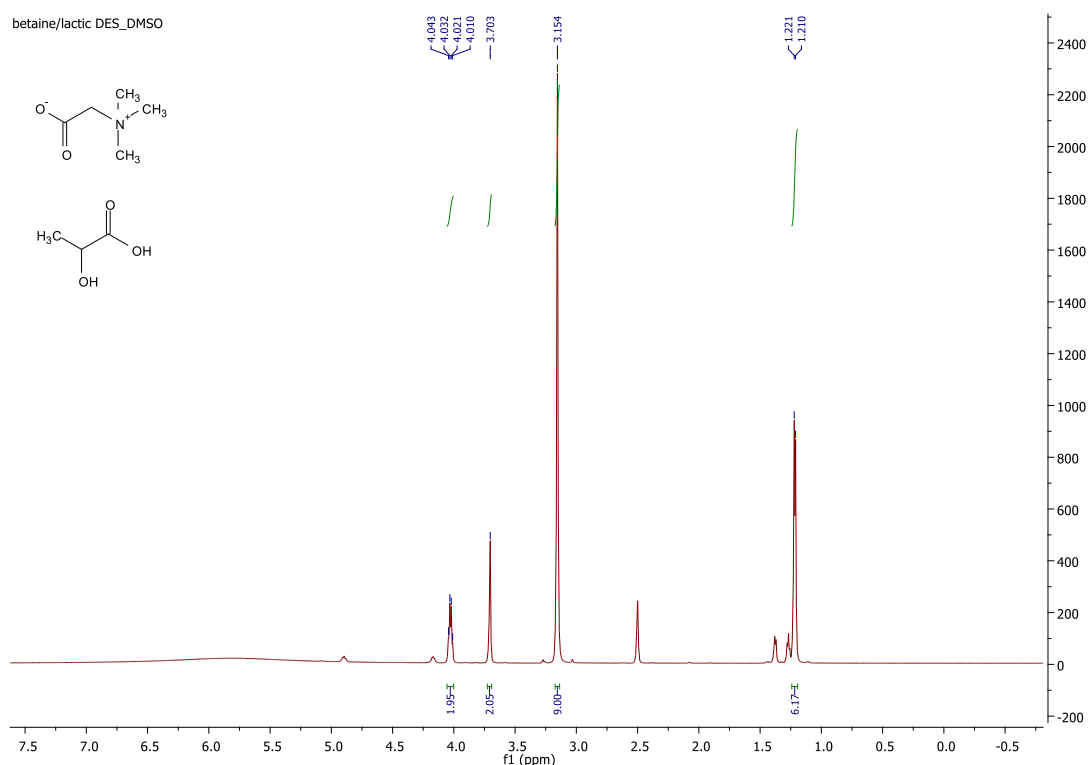
Διάγραμμα 2.1: Διάγραμμα TGA του NaDES Χλωριούχος χολίνη/Γαλακτικό οξύ

Ταυτοποίηση NaDES12 (Βεταΐνη/Γαλακτικό οξύ)

Χαρακτηρισμός **NADES12**, βεταΐνης- γαλακτικού σε μοριακή αναλογία 1:2 (Σχήμα 2.6).



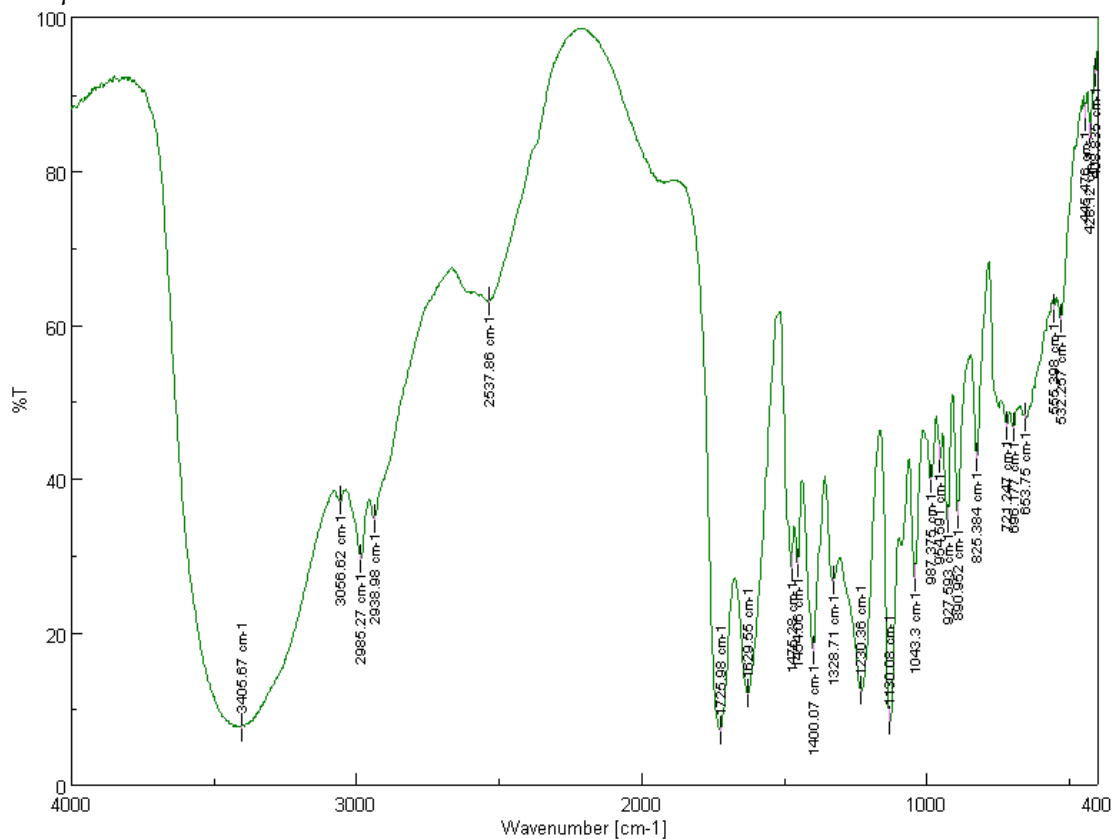
Σχήμα 2.6: Δομή του NaDES12 (Be/LA) με αριθμημένες θέσεις



Εικόνα 2.7: Φάσμα πρωτονίου ¹H NMR (600 MHz, DMSO-d₆) του NaDES 12

Στο φάσμα πρωτονίου που φαίνεται στην Εικόνα 2.7 εντοπίζονται τα πρωτόνια των δύο συστατικών του NaDES, βεταΐνη και γαλακτικό οξύ. 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 μόριο γαλακτικού οξέος στη θέση 2b. Ακολουθεί μια απλή κορυφή στα 3.70 ppm που ολοκληρώνεται για 2 πρωτόνια και αντιστοιχεί 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 για το λόγο αυτό δεν εμφανίζονται.

Φασματοσκοπία FTIR-ATR

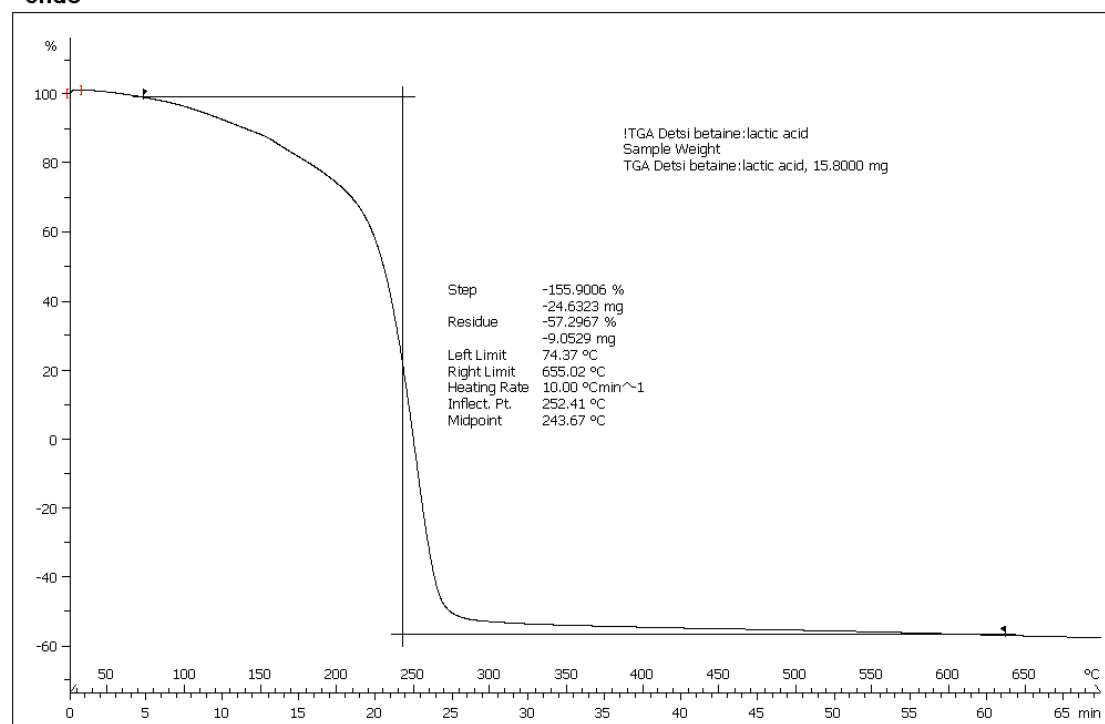


Εικόνα 2.8: Φάσμα πρωτονίου FT-IR του NaDES12

Το φάσμα FT-IR του NaDES12 εμφανίζει χαρακτηριστικές κορυφές για τη βεταΐνη και το γαλακτικό οξύ (Εικόνα 2.8), για κάποιες από τις οποίες θα γίνει προσπάθεια ταυτοποίησης. Η ευρεία κορυφή στα 3405.7 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 cm⁻¹ πιθανώς αποδίδεται σε δονήσεις μεθυλομάδων (-CH₃). Η κορυφή στα 1726.9 cm⁻¹ είναι χαρακτηριστική για την ασύμμετρη δόνηση τάσης C=O, ενώ στα 1130.1 cm⁻¹ παρατηρείται η ταλάντωση C-O των οξέων. Η κορυφή στα 1400.1 cm⁻¹ είναι χαρακτηριστική για τις δονήσεις τάσης αλειφατικών -CH₂. Επιπλέον υπάρχει πλήθος κορυφών στο εύρος 1300 – 880 cm⁻¹ οι οποίες μπορούν να αποδοθούν σε δονήσεις των ομάδων C-N⁺.

Θερμοσταθμική Ανάλυση (TGA)

^endo



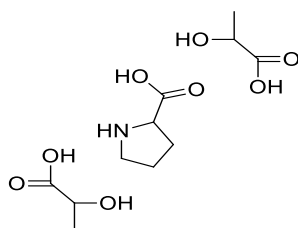
Lab: METTLER

STAR^e SW 9.20

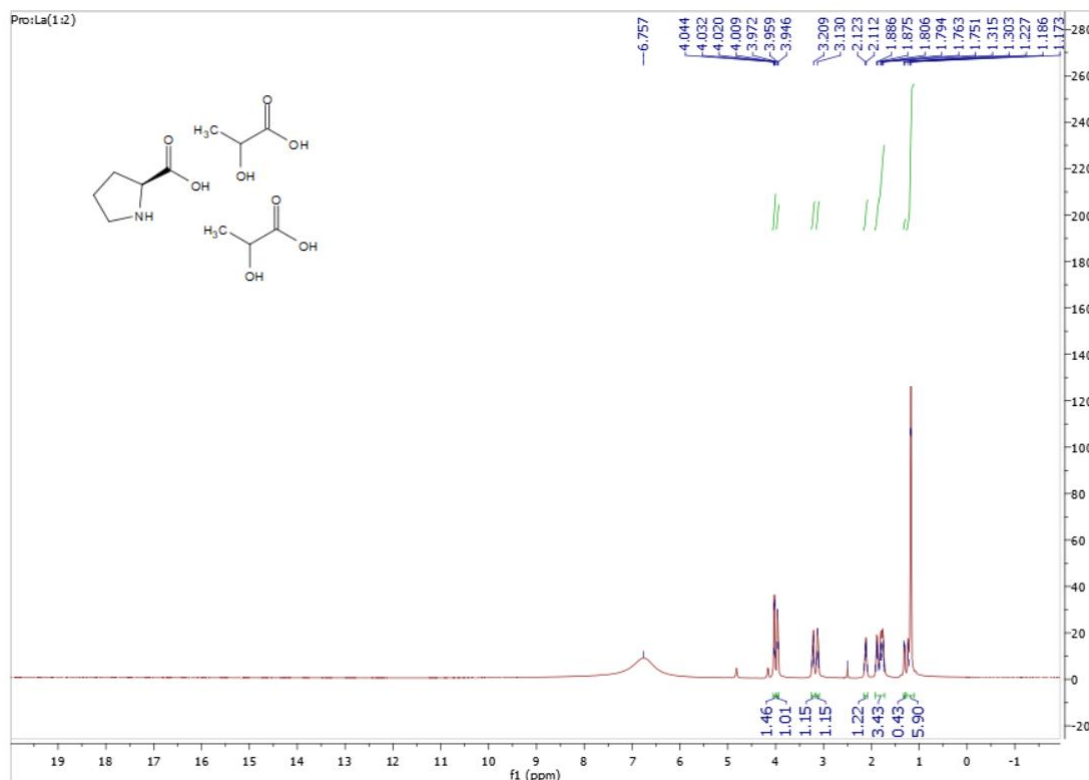
Διάγραμμα 2.2: Διάγραμμα TGA του NaDES 12

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 (Διάγραμμα 2.2) που απεικονίζει τη θερμοσταθμική ανάλυση (TGA) για το NaDES12. Με βάση το διάγραμμα αυτό προκύπτει η συμπεριφορά του NaDES κατά την καύση του είναι ιδιαίτερα ομαλή. Η θερμοκρασία αποικοδόμησής 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 αποικοδόμησης κοντά στους 250°C και συνεπώς μπορούν να χρησιμοποιηθούν χωρίς την ύπαρξη κινδύνου αποικοδόμησης.

Χαρακτηρισμός Προλίνης – Γαλακτικού οξέος



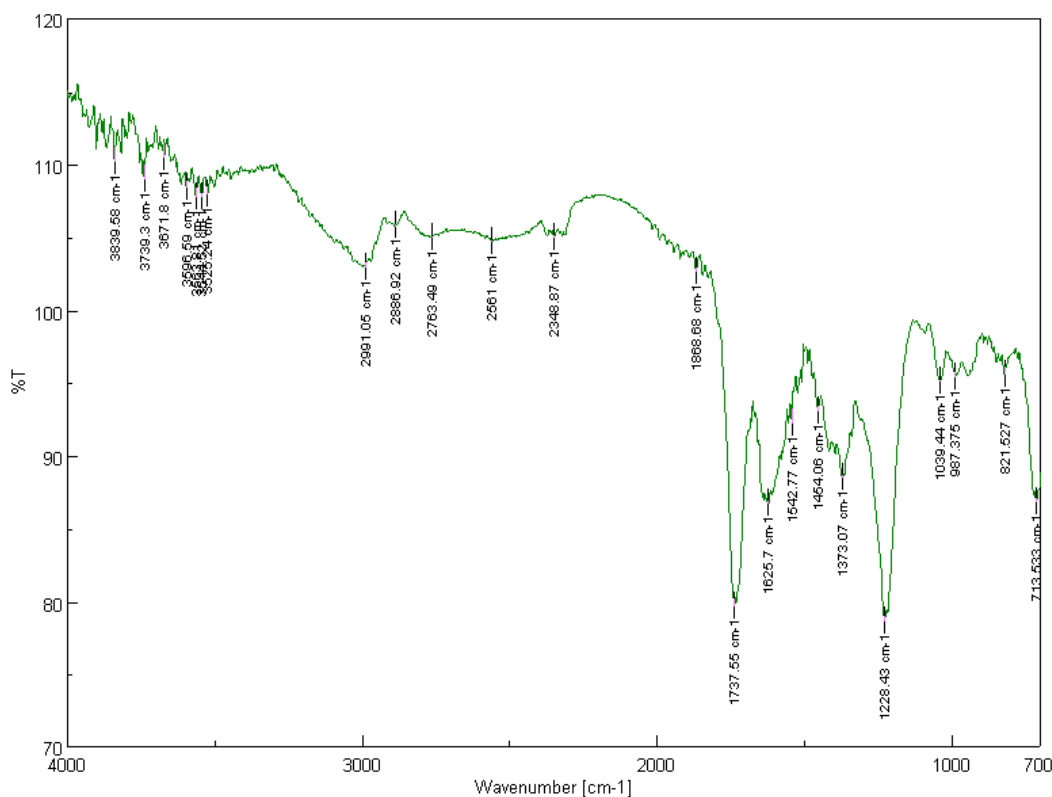
Σχήμα 2.7: Δομή του NADES16 (Προλίνη-Γαλακτικό οξύ)



Εικόνα 2.9: Φάσμα πρωτονίου ^1H NMR (600MHz, DMSO) του NaDES 16.

Στο φάσμα που απεικονίζεται στην Εικόνα 2.9, εντοπίζονται τα πρωτόνια των συστατικών που αποτελούν το NaDES16. Πιο συγκεκριμένα, στα 7.69 ppm εντοπίζεται μια απλή ευρεία κορυφή, η οποία ολοκληρώνεται για τέσσερα πρωτόνια που αναφέρονται στα πρωτόνια των τριών υδροξυλίων του NaDES και στο πρωτόνιο που είναι ενωμένο με το άζωτο του δακτυλίου της προλίνης. Στη συνέχεια στα 4.08 ppm εμφανίζεται μια τριπλή κορυφή που ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο και αποδίδεται στο οξυγονωμένο πρωτόνιο του δακτυλίου της προλίνης (θέση 2), με σταθερά σύζευξης $J=7.8$ Hz. Όσο κινούμαστε προς υψηλότερα πεδία, και συγκεκριμένα στα 3.22 ppm και 3.13 ppm απορροφούν τα πρωτόνια του άνθρακα στη θέση 5, όμως τα δυο αυτά πρωτόνια δεν είναι χημικά ισοδύναμα καθώς το χημικό περιβάλλον του καθενός διαφέρει από του άλλου, με αποτέλεσμα να αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και να μην εμφανίζονται με μια κοινή κορυφή στο φάσμα, αλλά με δυο πολλαπλές. Το ίδιο παρατηρείται και με τα πρωτόνια του άνθρακα στη θέση 3, τα οποία αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και εμφανίζονται με δυο διαφορετικές πολλαπλές κορυφές στα 2.18 ppm και 1.93 ppm. Τέλος, εμφανίζεται μια πολλαπλή κορυφή στα 1.83 ppm, η οποία

ολοκληρώνεται για δυο πρωτόνια που αντιστοιχούν στα πρωτόνια του άνθρακα της θέσης 4 του δακτυλίου.



Εικόνα 2.10: Φάσμα FT-IR του NaDES16

Στην Εικόνα 2.10 απεικονίζεται το φάσμα FT-IR του NaDES16, με συστατικά την προλίνη και το γαλακτικό οξύ. Συγκεκριμένα, οι πιο χαρακτηριστικές κορυφές του φάσματος εμφανίζονται στα 3620 cm⁻¹ όπου η κορυφή αποδίδεται στη δόνηση τάσης της χαρακτηριστικής ομάδας -OH. Οι κορυφές < 3000 cm⁻¹ αποδίδονται στις δονήσεις τάσεις των αλειφατικών δεσμών C-H. Η κορυφή στα 1737 cm⁻¹ αποδίδεται στη δόνηση τάσης χαρακτηριστικού δεσμού C=O. Η κορυφή στα 1228 cm⁻¹ αποδίδεται στη δόνηση τάσης χαρακτηριστικού δεσμού C-O. Τέλος, η κορυφή στα 1373 cm⁻¹ αποδίδεται στη δόνηση τάσης χαρακτηριστικού δεσμού C-N.

2.6 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΦΥΣΙΚΩΝ ΒΑΘΕΩΣ ΕΥΤΗΚΤΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ (NADES) ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΩΝ ΒΑΘΕΩΣ ΕΥΤΗΚΤΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ (THEDES)

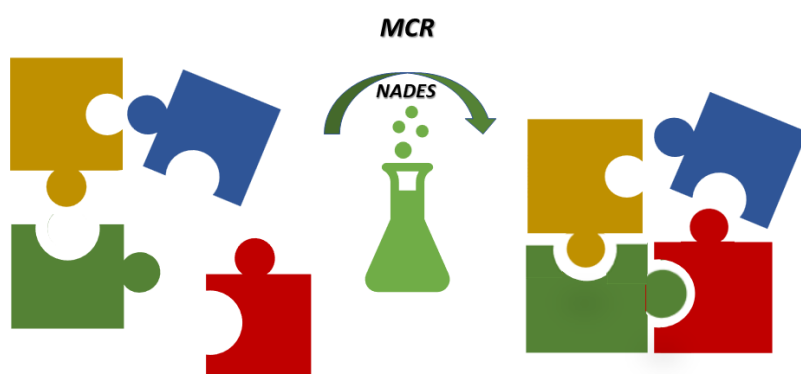
ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στα πλαίσια της «πράσινης» χημείας και της αειφόρου ανάπτυξης η έρευνα των τελευταίων δεκαετιών έχει στραφεί στην ανάπτυξη νέων φιλικότερων προς το περιβάλλον μεθοδολογιών και τεχνικών για την αντικατάσταση των οργανικών διαλυτών υψηλής επικινδυνότητας και την μείωση αυτών. Αρκετοί ερευνητές, προτείνουν ως εναλλακτική λύση την χρήση φυσικώ βαθέως ευτηκτικών διαλυτών (NADES) καθώς και νέων θεραπευτικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών (THEDES) σε αρκετές εφαρμογές τόσο στην συνθετική χημεία όσο και για χρήση τους ως διαλύτες σε βιολογικές εφαρμογές.

Με την πρόοδο της επιστήμης, αρκετοί είναι οι NADES που έχουν χρησιμοποιηθεί σε ποικίλες αντιδράσεις οργανικής σύνθεσης όπως ενδεικτικά αναφέρονται οι αντιδράσεις σύνθεσης ετεροκυκλικών ενώσεων, ακυλίωσης, βρωμίωσης εποξειδωσης, Michael, Heck καθώς και σε αντιδράσεις πολλαπλών συστατικών (MCRs). Φαίνεται ότι οι NADES κερδίζουν έδαφος στον τομέα της οργανικής σύνθεσης καθώς διαθέτουν όλα τα βασικά χαρακτηριστικά ώστε να αποτελούν δυνητικούς αποτελεσματικούς «πράσινους» διαλύτες και καταλύτες τέτοιων αντιδράσεων.

Τις τελευταίες δεκαετίες, η ανάπτυξη μεθοδολογιών για την σύνθεση οργανικών ενώσεων που περιέχουν ετεροκυκλικά συστήματα αποτελεί ένα ιδιαίτερο ερευνητικό πεδίο. Οι ετεροκυκλικοί δακτύλιοι αποτελούν ένα κύριο δομικό χαρακτηριστικό αρκετών φυσικών προϊόντων, όπως αλκαλοειδή κα με ευρύ φάσμα βιολογικών δράσεων.

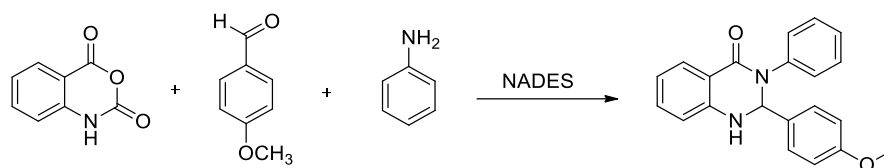
Στην παρούσα διδακτορική διατριβή μελετήθηκε η χρήση βαθέως ευτηκτικών διαλυτών ως διαλύτες και καταλύτες σε αντιδράσεις πολλαπλών συστατικών για την σύνθεση κιναζολινικών αναλόγων (Εικόνα 2.11).



Εικόνα 2.11: Αντιδράσεις πολλαπλών συστατικών (MCRs). Τρία ή περισσότερα συστατικά αντιδρούν σε ένα μόνο δοχείο αντίδρασης ώστε να παραχθεί ένα τελικό προϊόν.

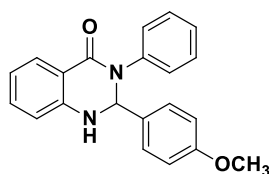
Για την εύρεση του αποτελεσματικότερου NaDES για την πραγματοποίηση της αντίδρασης πολλαπλών συστατικών με ισατοϊκό ανυδρίτη, κατάλληλα υποκατεστημένες βενζαλδεΰδες και ανιλίνες δοκιμάστηκαν συνολικά 20 NaDESs (Πίνακας 2.5) των τριών σειρών που συντέθηκαν. Η πρότυπη αντίδραση στην οποία σχεδιάστηκε η μελέτη της

χρήσης NaDES ως διαλύτη και καταλύτη αφορά την αντίδραση μεταξύ ισατοϊκού ανυδρίτη, 4-μεθοξυβενζαλδεύδης και ανιλίνης (Σχήμα 2,8).



Σχήμα 2.8: Πρότυπη αντίδραση για τον εντοπισμό του κατάλληλου NaDES των αντιδράσεων πολλαπλών συστατικών για την σύνθεση διϋδροκιναζολινικών αναλόγων

2-(4-μεθοξυφαινυλο)-3-φαινυλο-2,3-διϋδροκιναζολιν-4(1H)-όνης (10d)



Παρασκευάζεται με την μέθοδο των υπερήχων σε διάλυτη περίπου 2g του εκάστοτε NaDES (1-20) με τη χρήση 0.92 mmol (150 mg) ισατοϊκού ανυδρίτη, 1.38 mmol ανιλίνης και 0.92 mmol 4-μεθοξυβενζαλδεύδης. Συνθήκες λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειάς (80 W) για χρονική διάρκειά 10 λεπτών.

Σημείο Τήξης: 199-200 °C

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): 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, -OCH₃, 3H).

Πίνακας 2.5: Αποδόσεις διαφορετικών NaDES ως καταλύτες και διαλύτες της πρότυπης αντίδρασης

Κωδικός	Συστατικό 1	Συστατικό 2	Μοριακή Αναλογία	Απόδοση
NADES 1	Χλωριούχος Χολίνη	Τρυγικό οξύ	2:1	18
NADES 2	Χλωριούχος Χολίνη	Λεβουλινικό οξύ	2:1	0
NADES 3	Χλωριούχος Χολίνη	Κιτρικό οξύ	1:1	12
NADES 4	Χλωριούχος Χολίνη	Κιτρικό οξύ	1:2	21
NADES 5	Χλωριούχος Χολίνη	Γαλακτικό οξύ	1:1	78
NADES 6	Χλωριούχος Χολίνη	Οξαλικό οξύ	1:1	52

NADES 7	Χλωριούχος Χολίνη	Ασκορβικό οξύ	2:1	35
NADES 8	Χλωριούχος Χολίνη	Γλυκερόλη	1:3	0

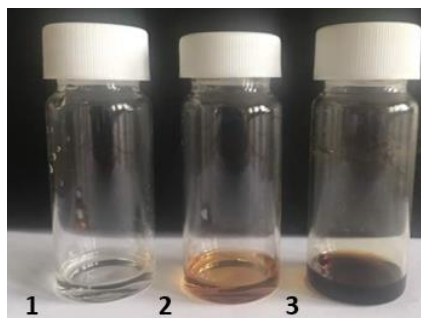
NADES 9	Βεταΐνη	Τρυγικό οξύ	2:1	
NADES 10	Βεταΐνη	Λεβουλικό οξύ	1:2	0
NADES 11	Βεταΐνη	Κιτρικό οξύ	1:1	20
NADES 12	Βεταΐνη	Γαλακτικό οξύ	1:2	24
NADES 13	Βεταΐνη	Οξαλικό οξύ	1:1	10
NADES 14	Βεταΐνη	Οξαλικό οξύ	1:2	12
NADES 15	Βεταΐνη	Γλυκερόλη	1:3	0
NaDES 16	Προλίνη	Γαλακτικό οξύ	1:2	15
NaDES 17	Προλίνη	Οξαλικό οξύ	1:1	13
NaDES 18	Προλίνη	Κιτρικό οξύ	2:1	26
NaDES 19	B – Αλανίνη	Γαλακτικό οξύ	1:2	21
NaDES 20	Γλυκόζη	Γαλακτικό οξύ	1:5	5

Αρχικά, η επιλογή των συστατικών για την παραγωγή των διαφορετικών NADES έγινε βάση του μηχανισμού της αντίδρασης πολλαπλών συστατικών συστατικών (MCR) όπως παρουσιάστηκε παραπάνω. Συγκεκριμένα, και βάση του πιθανού μηχανισμού φαίνεται πως η χρήση οξέος ως ένα από τα συστατικά των NADES είναι απαραίτητο καθώς συμμετέχει με τη δημιουργία δεσμών υδρογόνου με την καρβονυλική ομάδα του ισατοϊκού ανυδρίτη στο πρώτο στάδιο προς διάνοιξη αυτού. Έπειτα φαίνεται πως παίζει καθοριστικό ρόλο και στα επόμενα στάδια καθώς τελικά μέσω των δεσμών υδρογόνου που σχηματίζονται να σταθεροποιεί το τελικό κιναζολινικό παράγωγο.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.5 υψηλότερη απόδοση φαίνεται να εμφανίζει το NADES6 αποτελούμενο από χλωριούχο χολίνη και γαλακτικό οξύ σε γραμμομοριακή αναλογία 1:1.5 (1:1.2:0.3). Στη συνέχεια, μετά την μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκε για την ανάπτυξη μιας «χημικής βιβλιοθήκης» 2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)-ονών. Σημειώνεται ότι στην περίπτωση των παραγώγων 18a-18c δεν ήταν κατάλληλος διαλύτης και καταλύτης καθώς δεν ελήφθησαν προϊόντα. Έτσι στην περίπτωση αυτή επιλέχθηκε το δεύτερο κατά σειρά NADES το NADES6 αποτελούμενο από χλωριούχο χολίνη και οξαλικό οξύ σε γραμμομοριακή αναλογία 1:1.

Μελέτη Επαναχρησιμοποίησης διαλύτη – καταλύτη NADES

Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκε η ανακύκλωση και η επαναχρησιμοποίησης του NADES5 όπου ήταν το πλέον χρησιμοποιούμενο στις αντιδράσεις πολλαπλών συστατικών. Η επαναχρησιμοποίηση του έγινε έως και τρεις φορές. Στην Εικόνα 2.12, παρουσιάζονται ο διαλύτης NADES 5 μετά από δύο φορές ανακύκλωσής του.



Εικόνα 2.12: Ανακύκλωση και επαναχρησιμοποίηση του NADES 5. (1) αρχικό NADES 5 πριν από χρήση, (2) NADES 5 μετά από την πρώτη ανακύκλωση, (3) NADES 5 μετά την δεύτερη ανακύκλωση

Πιο συγκεκριμένα, η ανακύκλωση επιτεύχθηκε έπειτα από διαχωρισμό του μίγματος NADES 5-κιναζολινικού παραγώγου αρχικά με διήθηση ή με εκχύλιση για την απομάκρυνση του στερεού προϊόντος (κιναζολινικού αναλόγου). Έπειτα, για τον περαιτέρω καθαρισμό του NADES 5 από την αντίδραση ακολουθούσε εκχύλιση. Μετά από κάθε κύκλο ελήφθησαν για το χαρακτηρισμό τα φάσματα ^1H NMR ώστε να πιστοποιηθεί η καθαρότητά του.

Για την ανακύκλωση με χρήση NADES5 ως πρότυπη αντίδραση μοντέλο χρησιμοποιήθηκε η ίδια αντίδραση (Σχήμα 2.8).

Σε κάθε κύκλο αντίδρασης επιτεύχθη ανάκτηση της τάξεως του 98-100% και αμελητέα μείωση της καταλυτικής ικανότητας κάτι που υποδηλώνει την ικανότητα του NADES5 να λειτουργεί αποτελεσματικά ως διαλύτης και καταλύτης στις αντιδράσεις για την σύνθεση 2,3 διυδροκιναζολινονών. Αυτό αποτελεί σημαντικό πλεονέκτημα έναντι άλλων συστημάτων ή συμβατικών διαλυτών που χρησιμοποιούνται στην σύνθεση 2,3 διυδροκατεστημένων διυδροκιναζολινονών, καθώς με τη χρήση NADES γίνεται μείωση της χρήσης τοξικών (συμβατικών) διαλυτών, ανάκτηση και επαναχρησιμοποίηση μειώνοντας έτσι το περιβαλλοντικό αποτύπωμα αλλά και του κόστους κατά την σύνθεση οργανικών μορίων.

2.7 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ NADES ΜΕ ΤΟ DNA

Υπολογιστική Μελέτη (Molecular Docking)

Για τον σχεδιασμό των ενώσεων που θα εξεταστούν ως προς την αλληλεπίδρασή τους με το DNA χρησιμοποιείται το πρόγραμμα HyperChem 7.0 software (version 7.0, Hypercube, Inc, Gainesville, FL, USA, www.hyper.com). Επίσης για την απεικόνιση όλων των ενώσεων γίνεται χρήση του λογισμικού PyMol. Η βελτιστοποίηση των παραμέτρων σύνδεσης επιτυγχάνεται μέσω του AutoDock Vina software (The Scripps Research Institute, La Jolla, CA, USA), εφαρμόζοντας εμπειρική λειτουργία ελεύθερης ενέργειας. Η υπολογιστική μελέτη πραγματοποιείται στα φυσικά συστατικά των NADES καθώς δεν υπάρχει δυνατότητα του προγράμματος για μελέτη των μιγμάτων στο σύνολό τους.

Τιτλοδότηση ορατού – υπεριώδους (UV – Vis)

Η φασματοσκοπία ορατού – υπεριώδους φωτός αποτελεί μια μέθοδο, η οποία βασίζεται στην απορρόφηση ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας από μια διαλυμένη ουσία. Πραγματοποιείται μέσω ενός φασματοφωτόμετρου, το οποίο αποτελείται από την πηγή παραγωγής ακτινοβολίας και ένα τμήμα που διαχωρίζει το επιθυμητό μήκος κύματος από τα υπόλοιπα που παράγει η πηγή. Με αυτόν τον τρόπο παρέχεται στο δείγμα μονοχρωματική ακτινοβολία.

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή, η συγκεκριμένη φασματοσκοπική μέθοδος χρησιμοποιείται προκειμένου να ανιχνευθεί η ύπαρξη αλληλεπίδρασης μεταξύ των παραγόμενων NaDES και του CT – DNA (Calf thymus).

Ο υπολογισμός της K_b για κάθε δείγμα υπολογίζεται όπως παρουσιάζεται και στο Κεφάλαιο 4.

Πειραματική διαδικασία

Κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας παρασκευάστηκαν τα εξής:

Ρυθμιστικό διάλυμα Tris – HCl (10mM)

Ζυγίζονται περίπου 605.7mg Tris και αναμιγνύονται σε 500mL υπερκάθαρου νερού. Στη συνέχεια ρυθμίζεται το pH του διαλύματος κοντά στο 7.4 με τη χρήση σταγόνων HCl, περιεκτικότητας 10% v/v. Πρέπει να διατηρείται στο ψυγείο πριν χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή του διαλύματος DNA.

Διάλυμα CT-DNA (10mM)

Παρασκευάζεται διάλυμα DNA με διάλυση ινών φυσικού DNA από θύμο αδένος (CT-DNA) 1mg/mL, σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris – HCl. Πειραματικά ζυγίστηκαν 1.432 mg και διαλύθηκαν σε 1432 mL ρυθμιστικού διαλύματος. Το διάλυμα αναδεύεται για 24 ώρες υπό ψύξη και παραμένει στο ψυγείο προκειμένου να διατηρηθεί σε χαμηλή θερμοκρασία πριν τη χρήση του.

Συγκεντρώσεις CT- DNA από 0-400mM

Παρασκευάζονται διαφορετικές συγκεντρώσεις (C=0,5, 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 200, 300 και 400μM) CT-DNA. Ο όγκος του CT-DNA που πρέπει να προστεθεί σε κάθε δείγμα υπολογίζεται από τον νόμο της αραιώσης, για γνωστές συγκεντρώσεις και τελικό όγκο.

Συγκεντρώσεις για τα συστατικά, τα φυσικά μίγματα και τα NaDES

1.Συστατικά

Διαλύεται κατάλληλη ποσότητα κάθε συστατικού σε 1000μL ρυθμιστικού διαλύματος Tris-HCl. Ακολουθεί ανάδευση του δείγματος στη συσκευή vortex.

2.NaDES

Από κάθε DES, ζυγίζονται 10mg ένωσης τα οποία αναμιγνύονται σε 1000μL ρυθμιστικού διαλύματος Tris-HCl. Ακολουθεί ανάδευση σε συσκευή vortex.

3.Φυσικά μίγματα

Κάθε φυσικό μίγμα παρασκευάζεται με βάση τη μοριακή αναλογία των συστατικών που θα αποτελέσουν το ευτηκτικό μίγμα. Για παράδειγμα το φυσικό μίγμα χλωριούχου χολίνης – τρυγικού οξέος με αναλογία 2:1, παρασκευάζεται με την ανάμειξη 200μL χολίνης και 100μL τρυγικού οξέος, δηλαδή αναλογία όγκων. Ακολουθεί ανάδευση του δείγματος στη συσκευή vortex.

Στο τελικό στάδιο, κατασκευάζονται 12 δείγματα τα οποία αποτελούνται από ανάμειξη κάθε συγκέντρωσης CT-DNA και δείγματος (συστατικό, φυσικό μίγμα ή NaDES), καθώς ο τελικός όγκος του μίγματος έχει υπολογιστεί 1000μL και είναι σταθερός. Τα δείγματα τοποθετούνται σε αναδευτή με θέρμανση (Shaker), όπου παραμένουν για έναν απαιτούμενο χρόνο επώασης (περίπου 5 λεπτά), σε θερμοκρασία 37°C και σε ανάδευση 100 στροφών. Έπειτα γίνεται προετοιμασία του φασματοφωτόμετρου UV – VIS, και μετά από ρύθμιση των κατάλληλων παραμέτρων, γίνεται μελέτη κάθε δείγματος ξεχωριστά ως προς την αλληλεπίδρασή του με το DNA.

Μελέτη αλληλεπίδρασης με το DNA

Υπολογιστική μελέτη αλληλεπίδρασης (Molecular Docking)

Στον Πίνακα 2.6 αναγράφονται τα αποτελέσματα της μοριακής μοντελοποίησης (molecular docking), για κάθε συστατικό:

Πίνακας 2.6: Αποτελέσματα της υπολογιστικής μελέτης αλληλεπίδρασης (molecular docking).

Κωδικός	Ένωση	Ενέργεια Αλληλεπίδρασης	Δεσμοί Υδρογόνου	Νουκλεοτίδια
A	Χλωριούχος Χολίνη	-4.1	4	DC-11, DG-10, DG-16
b	Βεταΐνη	-4.5	4	DG-10, DG-16, DA-17
c	Οξαλικό οξύ	-4.5	4	DG-10, DG-16
d	Γαλακτικό οξύ	-4.2	8	DC-11, DG-10, DG-16, DA-17

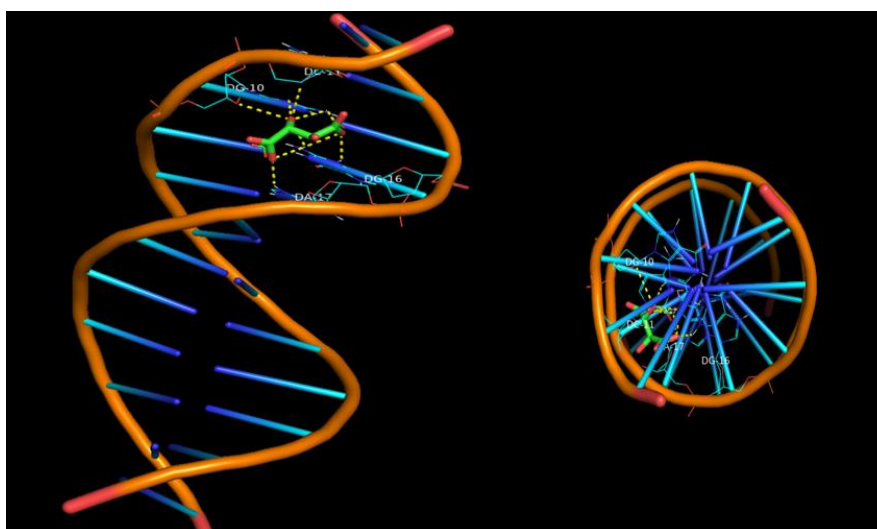
e	Λεβουλινικό οξύ	-4.8	5	DG-10, DG-16, DA-17
f	Τρυγικό οξύ	-5.8	8	DC-11, DG-10, DG-16, DA-17
g	Κιτρικό οξύ	-5.4	7	DG-10, DG-14, DC-15, DG-16
h	Γλυκερόλη	-4.2	9	DG-10, DG-16, DA-17
i	Ασκορβικό οξύ	-6.5	8	DC-11, DG-10, DG-16
g	Προλίνη	-4.5	3	DG-10, DG-16
k	β-Αλανίνη	-3.8	4	DG-10, DG-16, DA-17

Συγκρίνοντας όλα τα παραπάνω, προκύπτει το συμπέρασμα ότι το τρυγικό οξύ και η γλυκερόλη παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη δράση, καθώς εμφανίζουν αρκετά υψηλή ενέργεια αλληλεπίδρασης, καθώς και τον μέγιστο αριθμό δεσμών υδρογόνου. Με αυτόν τον τρόπο σταθεροποιείται ισχυρά η διπλή έλικα του DNA. Τα μόρια μικρού μεγέθους δεσμεύονται στη μικρή αύλακα κάτι το οποίο ενισχύει τη σημασία της μικρής αύλακας ως κυρίαρχη θέση δέσμευσης μορίων. Η σταθεροποίηση επιτυγχάνεται μέσω του σχηματισμού δεσμών υδρογόνου, πολικών και υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων.

Η υπολογιστική μελέτη των δυο συγκεκριμένων ενώσεων αναλύεται παρακάτω:

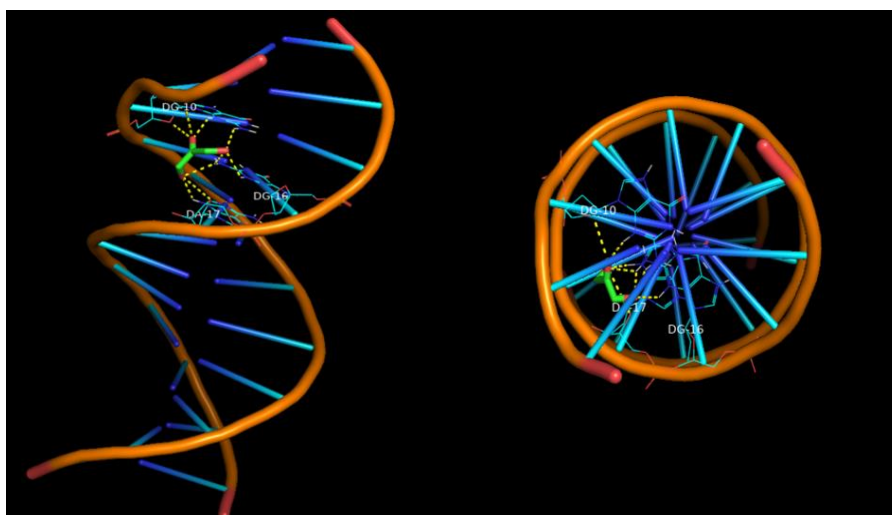
Τρυγικό οξύ

Στην Εικόνα 2.13 παρουσιάζεται η δέσμευση του τρυγικού οξέος στην κρυσταλλική δομή του DNA, απεικονίζοντας τη σταθεροποίησή του στη μικρή αύλακα (minor groove) του DNA. Πιο συγκεκριμένα, δυο δεσμοί υδρογόνου σχηματίζονται μεταξύ του καρβονυλίου (Θέση 4) του τρυγικού οξέος και της πουρίνης του νουκλεοτιδίου DG-16. Για το υδροξύλιο (Θέση 2), σχηματίζεται ένας δεσμός με την πεντόζη του νουκλεοτιδίου DC-11, ενώ σχηματίζονται δυο δεσμοί υδρογόνου με την πουρίνη και ένας δεσμός υδρογόνου με την πεντόζη του νουκλεοτιδίου DG-10. Επίσης σχηματίζεται ένας δεσμός υδρογόνου μεταξύ του υδροξυλίου και της πουρίνης του νουκλεοτιδίου DG-16. Τέλος, μεταξύ του καρβονυλίου (Θέση 1) και της πουρίνης του νουκλεοτιδίου DA-17 σχηματίζεται ακόμη ένας δεσμός υδρογόνου.



Εικόνα 2.13: Υπολογιστική μελέτη αλληλεπίδρασης τρυγικού οξέος – DNA.

Γλυκερόλη



Εικόνα 2.14: Υπολογιστική μελέτη αλληλεπίδρασης γλυκερόλης - DNA.

Στην Εικόνα 2.14 παρουσιάζεται η δέσμευση της γλυκερόλης στην κρυσταλλική δομή του DNA, απεικονίζοντας τη σταθεροποίησή της στη μικρή αύλακα (minor groove) του DNA. Όπως παρατηρείται, συνολικά συμμετέχουν εννέα δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των νουκλεοτιδίων DG-16, DG-10 και DA-17 και του μορίου της γλυκερόλης. Πιο αναλυτικά, δυο δεσμοί σχηματίζονται μεταξύ του υδροξυλίου (Θέση 1) και του νουκλεοτιδίου DA-17, ο ένας με την πουρίνης και ο άλλος με την πεντόζη. Επίσης ένας δεσμός σχηματίζεται μεταξύ του υδροξυλίου (Θέση 1) και της πουρίνης του νουκλεοτιδίου DG-16. Στη συνέχεια εντοπίζονται τρεις δεσμοί μεταξύ του υδροξυλίου (Θέση 2) και του νουκλεοτιδίου DG-10 (δύο με την πεντόζη και ένας με την πουρίνη) και τέλος τρεις δεσμοί μεταξύ του υδροξυλίου (Θέση 3), δύο με την πουρίνη του νουκλεοτιδίου DG-16 και ένας με την πουρίνη του νουκλεοτιδίου DG-10.

Τιτλοδότηση ορατού – υπεριώδους (UV-Vis)

Η συγκεκριμένη μέθοδος χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της αλληλεπίδρασης του CT-DNA με την κάθε ένωση ξεχωριστά, μέσω φασματοσκοπίας απορρόφησης υπεριώδους – ορατού. Η υποχρωμία και η υπερχρωμία παίζουν καθοριστικό ρόλο για τη μελέτη των αλλαγών που παρατηρούνται στη διπλή ελικοειδή μορφή του DNA. Λόγω των ισχυρών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μορίων και των ζευγών αζωτούχων βάσεων του DNA, παρατηρείται μεταβολή της απορρόφησης.

Στους παρακάτω πίνακες αναγράφονται τα αποτελέσματα ανάλυσης για τα επιμέρους συστατικά, για τα NaDES και για τα φυσικά τους μίγματα, τα οποία αλληλεπιδρούν με το CT-DNA:

1. Επιμέρους Συστατικά των NADES

Πίνακας 2.7: Αποτελέσματα των υπό μελέτη φυσικών συστατικών από τη μέθοδο τιτλοδότησης ορατού – υπεριώδους.

Κωδικός	Ένωση	λ_{\max} absent (nm)	λ_{\max} present (nm)	$\Delta\lambda$ (nm)	Υποχρωμία (%)	Υπερχρωμία (%)	$K_b \cdot 10^4$ (M ⁻¹)
	Ροδαμίνη	554.2	552	2.2	44.3	-	9.19
	Methyl Green	254.8	258	3.2	-	80.1	0.83
A	Χλωριούχος Χολίνη	341.8	259	82	-	99.9	2.16
B	Βεταΐνη	268.4	258.8	9.6	-	98.8	1.46
C	Οξαλικό οξύ	341.8	259	82.8	-	-	-
D	Γαλακτικό οξύ	256.2	258.8	2.6	-	98.9	0.61
E	Λεβουλινικό οξύ	298.8	259	39.8	-	-	-
F	Τρυγικό οξύ	230	259.2	29.2	-	97.9	1.32
G	Κιτρικό οξύ	263.8	259	4.8	-	-	-
H	Γλυκερόλη	263.6	258.8	4.8	-	96.8	0.75
I	Προλίνη	250	259.4	9.4	-	93.6	2.59

K	B- Αλανίνη	250	259.4	9.4	-	98.3	0.54
----------	------------	-----	-------	-----	---	------	------

λ_{\max} absent: μήκος κύματος που απορροφά η ένωση στη μέγιστη συγκέντρωση DNA

λ_{\max} present: μήκος κύματος που απορροφά η ένωση στη μηδενική συγκέντρωση DNA

K_b : σταθερά αλληλεπίδρασης της ένωσης με το DNA

2. NADES

Πίνακας 2.8: Αποτελέσματα των υπό μελέτη NADES από τη μέθοδο τιτλοδότησης ορατού – υπεριώδους.

Κωδικός	Συστατικά	$\Delta\lambda$ (nm)	Υποχρωμία (%)	Υπερχρωμία (%)	$K_b \cdot 10^4$ (M ⁻¹)
	Ροδαμίνη	2.2	44.3	-	9.19
	Methyl Green	3.2	-	80.1	0.83
NADES 1	Χλωριούχος Χολίνη- Τρυγικό οξύ	6.2	-	97	5.29
NADES 2	Χλωριούχος Χολίνη Λεβουλινικό οξύ	3.4		82	8.44
NADES 3	Χλωριούχος Χολίνη-	-2.3	-	8.32	5.44
NADES 4	Κιτρικό οξύ	-2.9	-	15.61	1.87
NADES 5	Χλωριούχος Χολίνη- Γαλακτικό οξύ	1.4	-	70.9	13.18
NADES 6	Χλωριούχος Χολίνη- Οξαλικό οξύ	1.2	-	73.1	10.55

NADES 7	Χλωριούχος Χολίνη- Ασκορβικό οξύ	-2.2	-	31.2	5.40
NADES 8	Χλωριούχος Χολίνη- Γλυκερόλη	-2.6	-	16.9	0.13

NADES 9	Βεταΐνη- Τρυγικό οξύ	48.8	-	97.4	0.25
NADES 10	Βεταΐνη- Λεβουλινικό οξύ	-	-	-	-
NADES 11	Βεταΐνη- Κιτρικό οξύ	-	-	-	-
NADES 12	Βεταΐνη- Γαλακτικό οξύ	-5.2	-	66.4	1.09
NADES 13	Βεταΐνη-	-	-	-	-
NADES 14	Οξαλικό οξύ	-	-	-	-
NADES 15	Βεταΐνη- Γλυκερόλη	-	-	-	-
NaDES 16	Προλίνη- Γαλακτικό οξύ	8.4	-	97.5	0.42
NaDES 17	Προλίνη- Οξαλικό οξύ	9.2	-	98.2	0.25
NaDES 18	Προλίνη- Κιτρικό οξύ	-	-	-	-

NaDES 19	B – Αλανίνη- Γαλακτικό οξύ	9.2	-	97.4	0.21
NaDES 20	Γλυκόζη- Γαλακτικό οξύ	1:5	-	-	-

λ_{\max} absent: μήκος κύματος που απορροφά η ένωση στη μέγιστη συγκέντρωση DNA

λ_{\max} present: μήκος κύματος που απορροφά η ένωση στη μηδενική συγκέντρωση DNA

K_b : σταθερά αλληλεπίδρασης της ένωσης με το DNA

3. Φυσικά Μίγματα

Πίνακας 2.9: Αποτελέσματα των υπό μελέτη φυσικών μιγμάτων από τη μέθοδο τιτλοδότησης ορατού – υπεριώδους.

Ένωση	λ_{\max} absent (nm)	λ_{\max} present (nm)	$\Delta\lambda$ (nm)	Υποχρωμία	Υπερχρωμία	$K_b 10^4$ (M ⁻¹)
Ροδαμίνη	554.2	552	2.2	44.3	-	9.19
Methyl Green	254.8	258	3.2	-	90.1	0.83
Χλωριούχος χολίνη- Κιτρικό οξύ	252	259	7		99.3	0.36
Χλωριούχος χολίνη- Γαλακτικό οξύ	230	258.8	28.8	-	99.9	1.05
Χλωριούχος χολίνη- Λεβουλινικό οξύ	303.8	259.8	44	-	93.5	3.98
Βεταΐνη- Γλυκερόλη	254	258.8	4.8	-	95.1	0.60

Βεταΐνη-Γαλακτικό οξύ	280.6	258.8	21.8	-	82.4	0,79
Βεταΐνη-Λεβουλινικό οξύ	252.6	258.8	6.2	-	92.3	1.05
Βεταΐνη-Τρυγικό οξύ	250	258.8	8.8	-	89.2	0.57
Προλίνη-Οξαλικό οξύ	250	259.6	9.6	-	91.5	0.06
B- Αλανίνη-Γαλακτικό οξύ	250	259.2	9.2	-	97.4	0.21
Γλυκόζη						

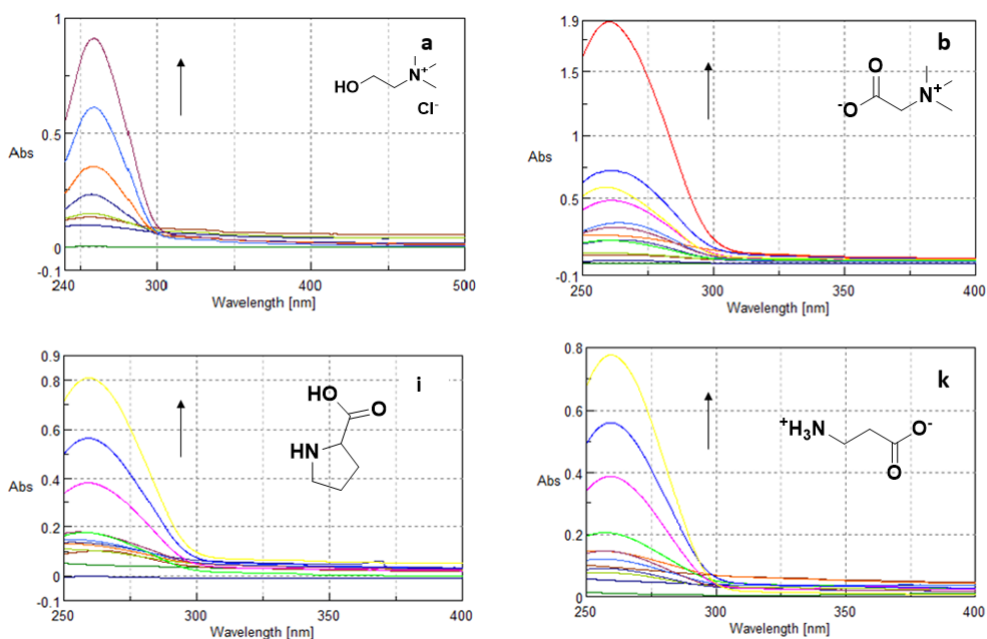
λ_{\max} absent: μήκος κύματος που απορροφά η ένωση στη μέγιστη συγκέντρωση DNA

λ_{\max} present: μήκος κύματος που απορροφά η ένωση στη μηδενική συγκέντρωση DNA

K_b : σταθερά αλληλεπίδρασης της ένωσης με το DNA

Η τιτλοδότηση ορατού – υπεριώδους (UV-Vis) εφαρμόστηκε για όλα τα NaDES που συντέθηκαν (Πίνακας 2.8) ενώ αντίστοιχα μελετήθηκαν τόσο τα επιμέρους συστατικά (Πίνακας 2.7) όσο και τα φυσικά μίγματα αυτών (Πίνακας 2.9). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες με βάση την χλωριούχο χολίνη καθώς αλληλεπιδρούν ικανοποιητικά με το CT-DNA, καθώς εμφάνισαν υψηλές τιμές της σταθεράς αλληλεπίδρασης K_b συγκριτικά και με τις πρότυπες ενώσεις που χρησιμοποιήθηκαν. Πιο συγκεκριμένα, τα NADES1, NADES2, NADES3, NADES5, NADES6, NADES7 με βάση την χλωριούχο χολίνη εμφάνισαν ικανοποιητική τιμή της σταθεράς αλληλεπίδρασης ενώ παρατηρώντας τα επιμέρους συστατικά και τα φυσικά μίγματα δεν εμφανίστηκε η ίδια εικόνα.

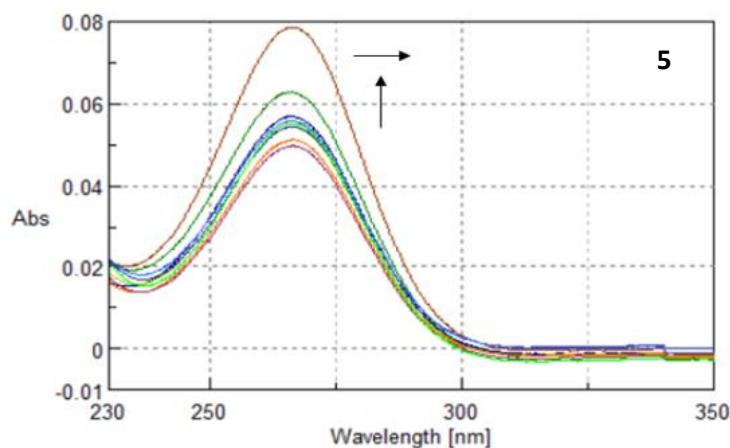
Στην Εικόνα 2.15 φαίνεται πως τα επιμέρους συστατικά χλωριούχος χολίνη (**a**), βεταΐνη (**b**), προλίνη (**i**) και αλανίνη (**k**) (Σχήμα 2.9) που χρησιμοποιήθηκαν ως δέκτες πρωτονίου (χλωριούχος χολίνη, βεταΐνη, προλίνη και αλανίνη), παρουσιάζουν υπερχρωμία, δηλαδή αύξηση της απορρόφησης με ταυτόχρονη μετατόπιση του λ_{\max} προς μικρότερα μήκη κύματος (κυανή μετατόπιση). Αυτό υποδηλώνει πως οι συγκεκριμένες ενώσεις δεσμεύονται με εξωτερική συναρμογή στη μικρή αύλακα του DNA, συμβαδίζοντας με τα αποτελέσματα που λάβαμε από την υπολογιστική μελέτη.



Εικόνα 2.15: Φάσματα UV απορρόφησης των φυσικών συστατικών (a) χλωριούχος χολίνη, (b) βεταΐνη, (c) προλίνη και (k) αλανίνη.

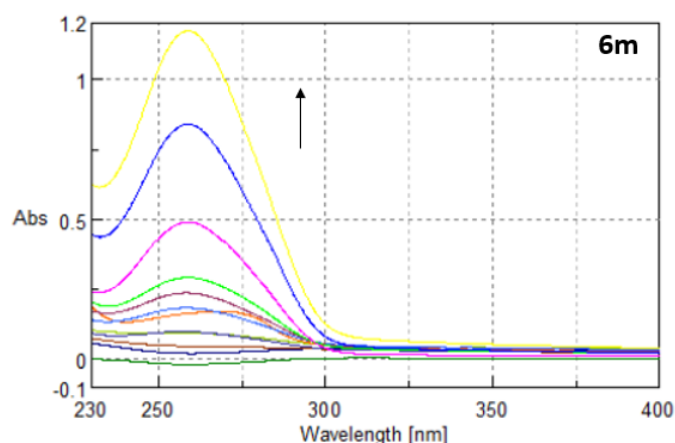
Επιπλέον παρατηρείται διαφορετική συμπεριφορά των NaDES και των αντίστοιχων φυσικών μιγμάτων ως προς την αλληλεπίδρασή τους με το CT-DNA. Για παράδειγμα, το **NaDES2** με συστατικά τη χλωριούχο χολίνη και το λεβουλνικό οξύ με σταθερά αλληλεπίδρασης $k_b = 8,44 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ εμφανίζει αλληλεπίδραση ενώ στο αντίστοιχο φυσικό μίγμα του δεν παρατηρείται αντίστοιχη αλληλεπίδραση. Αυτό είναι και το επιθυμητό αποτέλεσμα, καθώς κρίνεται σημαντικό το DES να επιδρά με το μόριο του DNA, ως μια θεραπευτική ουσία (TheDES) ή ως εναλλακτικός διαλύτης για την σταθεροποίηση του DNA.

Από τους Πίνακες 2.7, 2.8 και 2.9 συμπεραίνεται ότι το **NaDES5** με συστατικά τη χλωριούχο χολίνη και το γαλακτικό οξύ εμφανίζει την ισχυρότερη αλληλεπίδραση με το DNA. Συγκεκριμένα, εμφανίζει αρκετά υψηλή τιμή σταθεράς αλληλεπίδρασης ($K_b = 13,18 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$), πλησιάζοντας αρκετά την τιμή της ένωσης που λαμβάνεται ως πρότυπη, δηλαδή της Ροδαμίνης ($K_b = 9,19 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$). Επιπλέον, παρατηρείται αύξηση του μήκους κύματος κατά $\Delta\lambda = 1,4 \text{ nm}$, δηλαδή ύπαρξη ερυθρής μετατόπισης (βαθυχρωμία), που συνεπάγεται εξωτερική συναρμογή στη μεγάλη αύλακα του DNA προκαλώντας σταθεροποίησή της. Στην Εικόνα 2.16 απεικονίζεται το φάσμα UV-Vis του **NaDES5**, όπου με αύξηση της συγκέντρωσης του DNA παρατηρείται αύξηση της απορρόφησης και μετατόπιση προς μεγαλύτερα μήκη κύματος.



Εικόνα 2.16: Φάσμα UV διαλύματος του NaDES5 συγκέντρωσης 100 μ M παρουσία CT-DNA σε διάφορες συγκεντρώσεις (0-400 μ M). Τα βέλη υποδηλώνουν την αύξηση της απορρόφησης με ταυτόχρονη μετατόπιση του λ_{max} προς μεγαλύτερα μήκη κύματος.

Στην Εικόνα 2.17 απεικονίζεται το φάσμα UV-Vis του αντίστοιχου μίγματος, το οποίο εμφανίζει μικρότερη αλληλεπίδραση συγκριτικά με το αντίστοιχο NaDES.

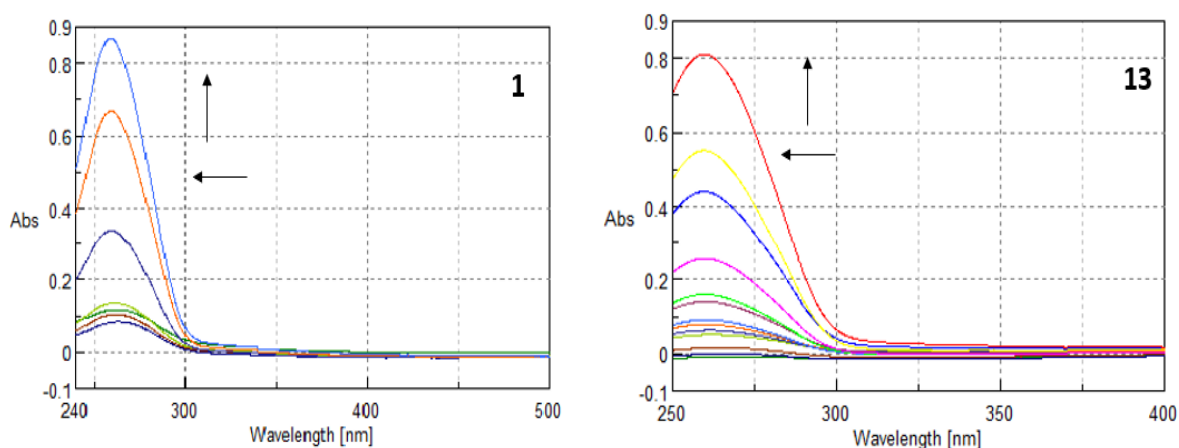


Εικόνα 2.17: Φάσμα UV διαλύματος του φυσικού μίγματος χολίνης-γαλακτικού οξέος συγκέντρωσης 100 μ M παρουσία CT-DNA σε διάφορες συγκεντρώσεις (0-400 μ M).

Τόσο το **NaDES5** όσο και το αντίστοιχο φυσικό μίγμα εμφανίζουν αύξηση της απορρόφησης με δέσμευση της κάθε μιας στην εξωτερική επιφάνεια του DNA. Επίσης αναφορικά με τη μετατόπιση της θέσης του λ_{max} , παρατηρείται και στις δυο περιπτώσεις ερυθρή μετατόπιση, κάτι το οποίο μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι δεσμεύονται στην κύρια αύλακα του DNA, η οποία σταθεροποιείται. Τέλος, είναι αξιοσημείωτο ότι τόσο το γαλακτικό οξύ όσο και η χλωριούχος χολίνη δεν εμφανίζουν μεγάλη σταθερά αλληλεπίδρασης ως μεμονωμένα συστατικά, ενώ το ευτηκτικό μίγμα τους αλληλεπιδρά σε μεγάλο βαθμό με το DNA.

Τέλος, παρατηρείται πιο ικανοποιητική αλληλεπίδραση των NaDES με βάση τη χλωριούχο χολίνη συγκριτικά με αυτά που έχουν ως βάση τη βεταΐνη ή τα αμινοξέα προλίνη και β-αλανίνη. Συγκρίνοντας το **NaDES5** και το **NaDES12**, που

έχουν και τα δυο ως δότη πρωτονίου το γαλακτικό οξύ, εμφανίζεται αρκετά ισχυρότερη η δράση του **NaDES5** σε σχέση με το **NaDES12**, κάτι το οποίο οφείλεται πιθανότατα στο ανιόν του χλωρίου στο μόριο της χολίνης το οποίο αλληλεπιδρά μέσω ηλεκτροστατικών δυνάμεων με το DNA και ιδιαίτερα σε μορφή ευτηκτικού μίγματος συνδέεται ισχυρά με αυτό. Και στα δυο NaDES παρατηρείται υπερχρωμία με μετατόπιση του λ_{\max} προς μικρότερα μήκη κύματος (κυανή μετατόπιση). Επομένως, τα **NaDES5** και **NaDES12** δεσμεύονται με εξωτερική συναρμογή στη μικρή αύλακα του DNA. Το φάσμα τιτλοδότησης ορατού - υπεριώδους αυτών των ενώσεων παρουσιάζεται στην Εικόνα 2.18.



Εικόνα 2.18: Φάσματα απορρόφησης **NaDES5** (αριστερά) και **NaDES12** (δεξιά)

2.8 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα μελέτη, επετεύχθη η σύνθεση και ο δομικός χαρακτηρισμός 20 φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών (NaDES). Ο δομικός χαρακτηρισμός πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπικές μεθόδους NMR και FTIR, ενώ πραγματοποιήθηκε και η θερμοσταθμική ανάλυση (TGA).

Κατά τον σχεδιασμό και την σύνθεση των NaDES η επιλογή βασίστηκε στη φυσική προέλευση των συστατικών καθώς επίσης ήταν απαραίτητη η χρήση καρβοξυλικών οξέων ως δότη δεσμού υδρογόνου (HBD) καθώς είναι απαραίτητη η υπάρξει αυτών κατά τον μηχανισμό της σύνθεσης των κιναζολινικών παραγώγων που θα αναλυθεί στο επόμενο κεφάλαιο.

Η προτεινόμενη μεθοδολογία μπορεί να χαρακτηριστεί ως «πράσινη» καθώς σχεδιάστηκε πληρώντας τους παρακάτω στόχους:

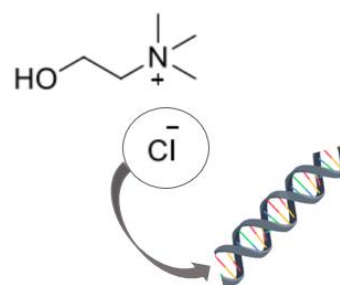
1. Χρήση εναλλακτικών διαλυτών. Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν ανήκουν στους φυσικούς βαθέως ευτηκτικούς διαλύτες, οι οποίοι προερχόμενοι από φυσικές πρώτες ύλες είναι φιλικόι προς το περιβάλλον, ανακυκλώσιμοι και επαναχρησιμοποιήσιμοι έως και τρεις φορές χωρίς να χάνουν την καταλυτική τους δράση για την συγκεκριμένη μεθοδολογία σύνθεσης. Δεν είναι πτητικοί κάτι που τους προσδίδει ένα επιπλέον χαρακτηριστικό καθώς δεν αποτελούν ατμοσφαιρικό ρύπο όπως οι συνήθεις πτητικοί οργανικοί διαλύτες.
2. Δράση ως διαλύτες και καταλύτες. Οι NADES μπορούν να δράσουν ταυτόχρονα ως διαλύτες και καταλύτες και επομένως επιτυγχάνεται αυξημένη απόδοση του τελικού προϊόντος αλλά ταυτόχρονα μειώνοντας τη χρήση πρώτων υλών.
3. Ανάπτυξη μεθοδολογίας ενός σταδίου. Σημαντικοί παράγοντες για την ανάπτυξη της προτεινόμενης μεθόδου αποτελούν η οικονομία ατόμου που μπορεί να επιτευχθεί και οι αντιδράσεις ενός σταδίου χωρίς την παραγωγή παραπροϊόντων. Όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα, τα παραγόμενα κιναζολινικά ανάλογα συντέθηκαν από αντιδράσεις πολλαπλών συστατικών (Multi Component Reactions- MCRs) σε ένα στάδιο.
4. Σχεδιασμός για ενεργειακή αποδοτικότητα. Κατά την ανάπτυξη της μεθοδολογίας, κρίσιμο παράγοντα αποτέλεσε η χρήση ηπιότερων συνθηκών μειώνοντας την ενεργειακή κατανάλωση. Πραγματοποιήθηκε βελτιστοποίηση ως προς το χρόνο αλλά και την αντικατάσταση της συμβατικής μεθόδου (θερμοκρασίας έως 80°C reflux) με την μεθοδολογία των υπερήχων.
5. Σχεδιασμός διεργασίας χαμηλού κόστους. Η μεθοδολογία που προτείνεται μπορεί να θεωρηθεί χαμηλού κόστους καθώς η χρήση NADES όπως χολίνης/γαλακτικό προέρχεται από χαμηλού κόστους πρώτες ύλες. Επίσης, σε συνδυασμό με την ανακύκλωση και την επαναχρησιμοποίηση του NADES είναι ένας επιπλέον παράγοντας μείωσης του συνολικού κόστους της διεργασίας καθώς μπορεί να χρησιμοποιηθεί τουλάχιστον για τρεις κύκλους χωρίς να χάνει την απόδοσή τους ως διαλύτης και καταλύτης των αντιδράσεων αυτών.

Σημειώνεται ότι οι παραπάνω στόχοι αποτελούν μέρος των δώδεκα αρχών της πράσινης χημείας όπως αναφέρθηκε για πρώτη φορά ο Paul Anastas.

Οι ενώσεις που συντέθηκαν με την παραπάνω προτεινόμενη μεθοδολογία ελέγχθηκαν ως προς την αλληλεπίδραση τους με το DNA, την πιθανή ικανότητά τους να διασπούν το DNA κάτω από την επίδραση ακτινοβολίας καθώς και την αντιοξειδωτική τους δράση, όπως αναφέρονται στο Κεφάλαιο 4.

Η αξιολόγηση της βιολογικής δράσης των NaDES που συντέθηκαν στο εργαστήριο πραγματοποιήθηκε τόσο μέσω υπολογιστικής μελέτης (Molecular Docking) όσο και μέσω τιτλοδότησης ορατού – υπεριώδους (UV-Vis Titration). Τα αποτελέσματα που προέκυψαν και από τις δυο αναλύσεις ήταν σε συμφωνία για την πλειοψηφία των φυσικών συστατικών που χρησιμοποιήθηκαν. Σημειώνεται ότι η πειραματική μέθοδος (UV-Vis Titration) απαιτεί βελτιστοποίηση, καθώς διαπιστώθηκαν ορισμένα σφάλματα κυρίως όσον αφορά τη σταθερά αλληλεπίδρασης K_b .

Επιπλέον παρατηρήθηκε ότι τα NaDES με βάση τη χλωριούχο χολίνη εμφανίζουν ισχυρότερη αλληλεπίδραση με το DNA και είναι περισσότερο συγκριτικά με τα εκείνα που συντέθηκαν με βάση τη βεταΐνη και τα αμινοξέα. Αυτό είναι πιθανό να οφείλεται στην ύπαρξη του ιόντος χλωρίου ($-Cl^-$) στο μόριο της χολίνης, το οποίο αλληλοεπιδρά ισχυρά με το μόριο του DNA μέσω δεσμών υδρογόνου καθώς και μέσω ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων. Επιπλέον, τα NaDES που δεν εμφάνισαν κάποιου είδους αλληλεπίδραση με το DNA μπορούν να φυλαχθούν υπό ψύξη και να λειτουργήσουν ως μέσα σταθεροποίησής του. Η μακροχρόνια αποθήκευση και σταθερότητα του DNA είναι ύψιστης σημασίας σε πολλές βιοϊατρικές εφαρμογές.



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο
ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΝΕΩΝ
ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΜΟΡΙΩΝ

3.1 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΝΕΩΝ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΜΟΡΙΩΝ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στόχος της παρούσας διατριβής αποτέλεσε η ανάπτυξη μιας «χημικής βιβλιοθήκης» κιναζολινικών αναλόγων και ωρονών προκειμένου να μελετηθεί η σχέση δομής-βιολογικής δράσης. Οι υποκαταστάσεις που πραγματοποιήθηκαν και εντέλει τα μόρια που δημιουργήθηκαν, επιλέχθηκαν με βάση ορισμένα χαρακτηριστικά που πρέπει να πληρούν ως

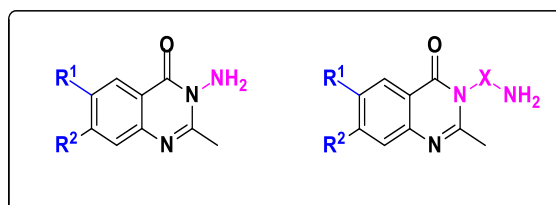
α) Ισχυρά αντιοξειδωτική δράση (υποκαταστάσεις στις θέσεις 2, 3 και 6 όπως αναφέρεται παραπάνω και στη βιβλιογραφία).

β) Αλληλεπίδραση των μορίων με την μικρή ή την μεγάλη αύλακα του DNA

γ) Φωτοδιασπαστικοί παράγοντες (ο σχεδιασμός των μορίων που θα μελετηθούν ως προς τη φωτοδιασπαστική τους ικανότητα με το DNA βασίστηκε σε αποτελέσματα προηγούμενης μεταπτυχιακής εργασίας, όπου πραγματοποιήθηκε μελέτη της δράσης της 3-άμινο-κιναζολινόνης

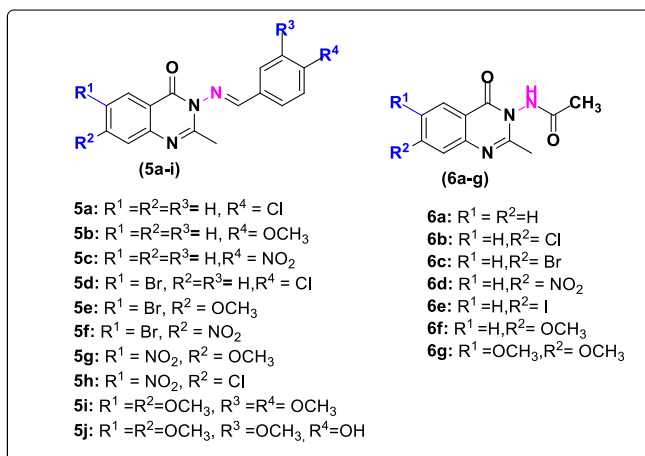
Η σύνθεση των μορίων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση μικροκυματικής ενέργειας, υπερήχων και με συμβατική θέρμανση (reflux) καθώς πραγματοποιήθηκε συγκριτική μελέτη των μεθόδων σύνθεσης.

Με το σκεπτικό αυτό, η σύνθεση της Σειράς Α πραγματοποιήθηκε με σκοπό τη μελέτη της επίδρασης του είδους και της θέσης του υποκαταστάτη (θέση 3 και 6 του κιναζολινικού δακτυλίου) στη βιολογική δράση (Σειρά Α- Σχήμα 3.1).



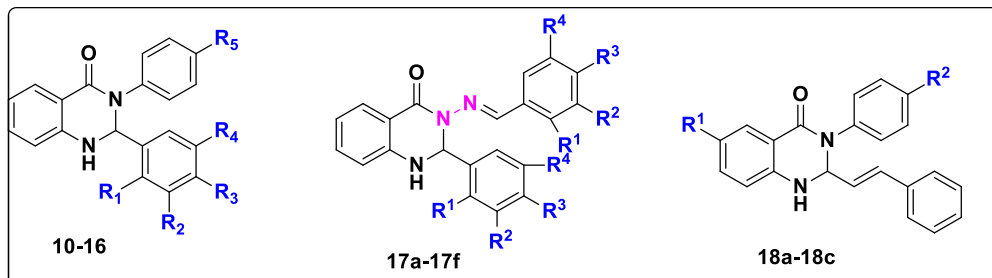
Σχήμα 3.1: Γενική χημική δομή αναλόγων σειράς Α

Η Σειρά Β των κιναζολινικών αναλόγων (Σχήμα 3.2, 5a-5j) καθώς και η Σειρά Γ (Σχήμα 3.2, 6a-6g) σχεδιάστηκαν με βάση μόρια οδηγούς που έχουν συντεθεί σε προηγούμενες μελέτες. Συγκεκριμένα, ο ρόλος της αμινομάδας στη θέση 3 του κιναζολινικού δακτυλίου τόσο από την βιβλιογραφία όσο και από προηγούμενες μελέτες φαίνεται να παίζει καθοριστικό ρόλο στην αλληλεπίδραση του με το DNA και στην πιθανή ικανότητα των ενώσεων να διασπούν το DNA. Επομένως κρίθηκε απαραίτητο να σχεδιαστούν επιλεγμένα παράγωγα ιμινών (Σειρά Β) καθώς και αμιδίων (Σειρά Γ) ώστε να μελετηθεί περαιτέρω ο μηχανισμός δράσης των συγκεκριμένων αναλόγων.



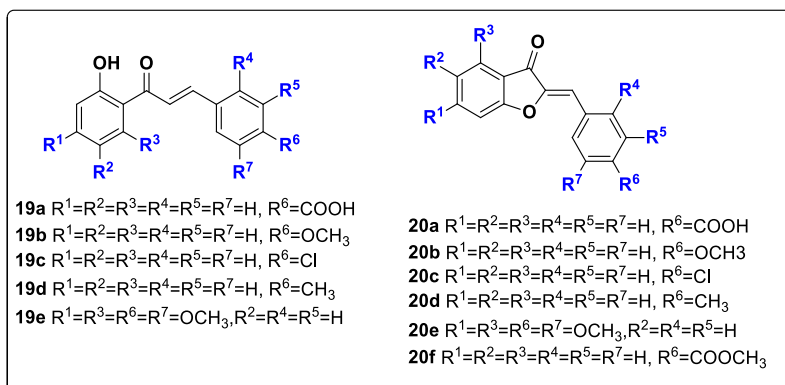
Σχήμα 3.2: Γενικές χημικές δομές Σειρών Β και Γ

Οι Σειρές Δ (Σχήμα 3.3, 10-16), Ε (Σχήμα 3.3, 17a-f) και ΣΤ (Σχήμα 3.3, 18a-c) σχεδιάστηκαν με έμπνευση τα βιβλιογραφικά δεδομένα καθώς οι 2,3 δις υποκατεστημένες διυδροκιναζολινόνες μπορούν να συντεθούν με την χρήση νέων πράσινων μεθοδολογιών. Στην παρούσα διατριβή χρησιμοποιήθηκαν φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες (NaDES) ως διαλύτες και καταλύτες και μέσω αντιδρασεις πολλαπλών συστατικών παράχθηκαν τα επιθυμητά ανάλογα.



Σχήμα 3.3: Γενικές δομές Σειρών Δ, Ε και ΣΤ

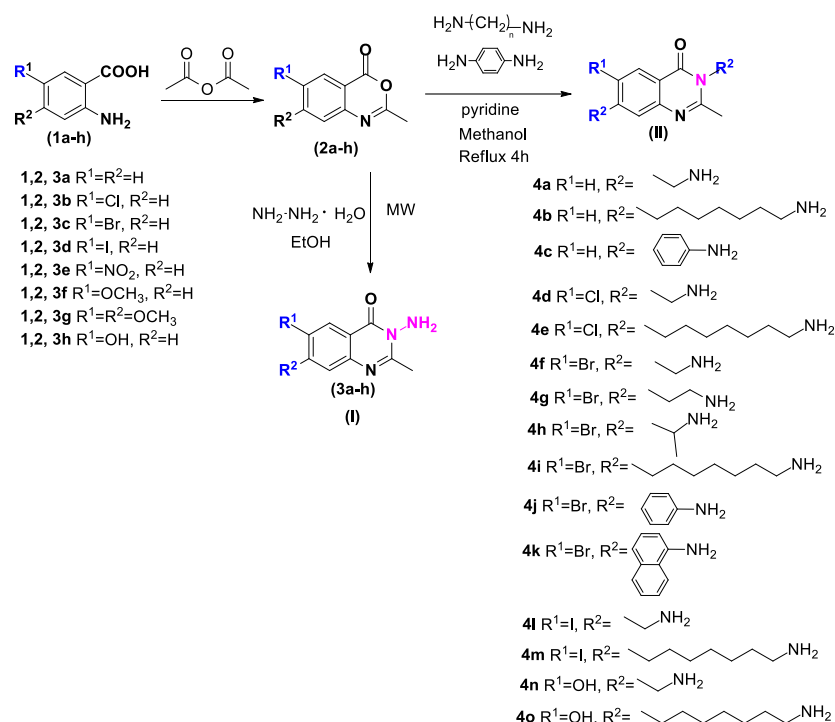
Τέλος, οι Σειρές Ζ και Η (Σχήμα 3.4) σχεδιάστηκαν και συντέθηκαν με βάση μόρια-οδηγούς, τα οποία έχουν συντεθεί σε προηγούμενες μελέτες του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου και έχουν επιδείξει αξιόλογη βιοδραστικότητα καθώς έχουν μελετηθεί ως προς την ικανότητα αλληλεπίδραση τους με το DNA. Έτσι κρίθηκε απαραίτητο να αξιολογηθούν για πρώτη φορά ως προς την πιθανή ικανότητά τους να φωτοδιασπούν το DNA ως πιθανοί φωτοευαισθητοποιητές.



Σχήμα 3.4: Γενική δομή Σειρών Ζ και Η

Σύνθεση των αναλόγων της Σειράς Α

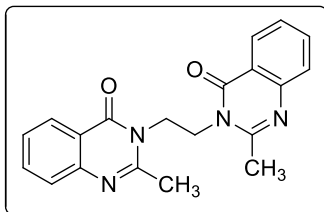
Η σύνθεση των 2-μεθυλο-3-αμινο-κιναζολιν-4(3H)-ονών (I) πραγματοποιήθηκε σε δύο στάδια με τη χρήση μικροκυματικής ακτινοβολίας όπου τα προϊόντα εμφάνιζαν υψηλές αποδόσεις και υψηλή καθαρότητα σε μικρούς χρόνους αντίδρασης. Για τη σύνθεση των 2-μεθυλο-3-υποκατεστημένων-κιναζολιν-4(3H)-ονών (II) πραγματοποιήθηκε μελέτη της αντίδρασης μεταξύ των κατάλληλα υποκατεστημένων βενζοξαζινονών και της αντίστοιχης υποκατεστημένης διαμίνης. Δοκιμάστηκε η επίδραση διαφόρων παραγόντων που επηρεάζουν την πορεία της αντίδρασης (θερμοκρασία, διαλύτης, χρόνος αντίδρασης) και τελικά προσδιορίστηκαν οι βέλτιστες συνθήκες (Σχήμα 3.5, Μέθοδος (II)).



Σχήμα 3.5: Συνθετική πορεία 2-μεθυλο-3-υποκατεστημένων κιναζολιν-4(3H)-ονών

Για τα παραπάνω κιναζολινικά παράγωγα (Σχήμα 3.5, μέθοδος II) έγιναν αρκετές επαναλήψεις και χρησιμοποιήθηκαν διάφορες μέθοδοι για τη σύνθεση των παραπάνω μορίων.

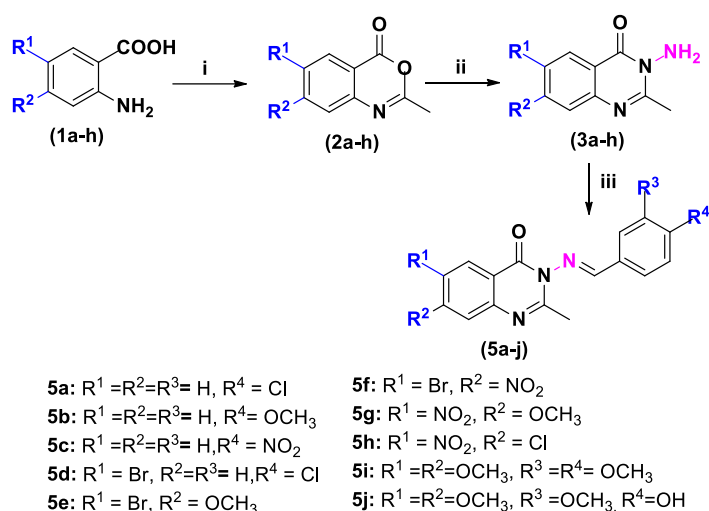
Αρχικά, κατά τη σύνθεση των 2-μεθυλο-3-υποκατεστημένων κιναζολιν-4(3H)-ονών με κατάλληλα υποκατεστημένες βενζοξαζινόνες και διαμίνες σε διαλύτη τολουόλιο προέκυψε ένα νέο μόριο (Σχήμα 3.6) στο οποίο δύο μόρια κιναζολινόνης ενώνονται μέσω αλυσίδας δύο ανθράκων. Η δυνατότητα εφαρμογής της μεθόδου για τη σύνθεση αναλόγων μορίων είναι υπό διερεύνηση.



Σχήμα 3.6: 3,3'-(ethane-1,2-diyl)bis(2-methylquinazolin-4(3H)-one

Τελικά, μέσω αλλαγής της μεθόδου επιτεύχθηκε η σύνθεση των 2-μεθυλο-3-υποκατεστημένων κιναζολιν-4(3H)-ονών με κατάλληλα υποκατεστημένες βενζοξαζινόνες και διαμίνες σε διαλύτη μεθανόλη και καταλυτική ποσότητα πυριδίνης (Σχήμα 3.5).

Σύνθεση των αναλόγων της Σειράς Β

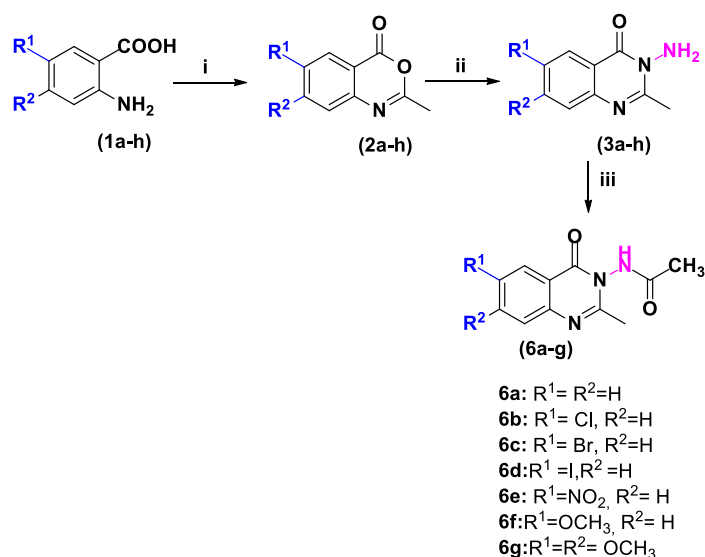


Σχήμα 3.7: Συνθετική πορεία αναλόγων Σειράς Β, (i) Ac₂O, MW (17–22 min), 250 W, T = 120–150 °C, (ii) N₂H₄·H₂O, EtOH, MW (20–33 min), 250 W, T = 120–150 °C, (iii) σταγόνες πιπεριδίνης, EtOH, reflux

Στο δεύτερο μέρος της σύνθεσης ακολούθησε η υποκατάσταση στη θέση 3 της αμινομάδας της 3-άμινο-6,7-υποκατεστημένη-2-μέθυλο-κιναζολιν-4(3H)-όνης προς σχηματισμό των Schiff βάσεων (Σχήμα 3.7). Η σύνθεση περιλαμβάνει τρία στάδια: κυκλοποίηση, προσθήκη υδραζίνης και τέλος συμπύκνωση για τον σχηματισμό των Schiff βάσεων. Έτσι το ανθρανιλικό οξύ υποβλήθηκε σε επεξεργασία με οξικό ανυδρίτη (i) μέσω μικροκυματικής ακτινολογίας για βελτίωση της μεθοδολογίας σύνθεσης. Στο δεύτερο στάδιο, κατάλληλη ποσότητα υποκατεστημένης βενζοξαζιόννης αντιδρά με την προσθήκη ένυδρης υδραζίνης για τον σχηματισμό της σειράς **3a-h** των κιναζολινικών αναλόγων. Στο τρίτο στάδιο, τα παράγωγα που συντέθηκαν **3a-h** με κατάλληλη προσθήκη υποκατεστημένων βενζαλδεϋδών σε κατάλληλη ποσότητα αιθανόλης και καταλυτική ποσότητα πιπεριδίνης, οδήγησαν στον σχηματισμό των **5a-j** Schiff βάσεων.

Σύνθεση των αναλόγων της σειράς Γ

Στο τρίτο μέρος της σύνθεσης ακολούθησε με ανάλογο τρόπο η υποκατάσταση στη θέση 3 της αμινομάδας της 3-άμινο-6,7-υποκατεστημένη-2-μέθυλο-κιναζολιν-4(3H)-όνης προς σχηματισμό ακετυλο-αμιδίων (Σχήμα 3.8). Η σύνθεση περιλαμβάνει τρία στάδια: κυκλοποίηση, προσθήκη υδραζίνης και τέλος σχηματισμό των υποκατεστημένων αμιδίων. Έτσι το ανθρανιλικό οξύ υποβλήθηκε σε επεξεργασία με οξικό ανυδρίτη (i) μέσω μικροκυματικής ακτινολογίας για βελτίωση της μεθοδολογίας σύνθεσης. Στο δεύτερο στάδιο, κατάλληλη ποσότητα υποκατεστημένης βενζοξαζιόννης αντιδρά με την προσθήκη ένυδρης υδραζίνης για τον σχηματισμό της σειράς **3a-h** των κιναζολινικών αναλόγων. Στο τρίτο στάδιο, τα παράγωγα που συντέθηκαν **3a-h** με κατάλληλη προσθήκη ακετυλοχλωριδίου σε κατάλληλη ποσότητα μεθανόλης, οδήγησαν στον σχηματισμό των **6a-g** ακετυλο-αμιδίων.

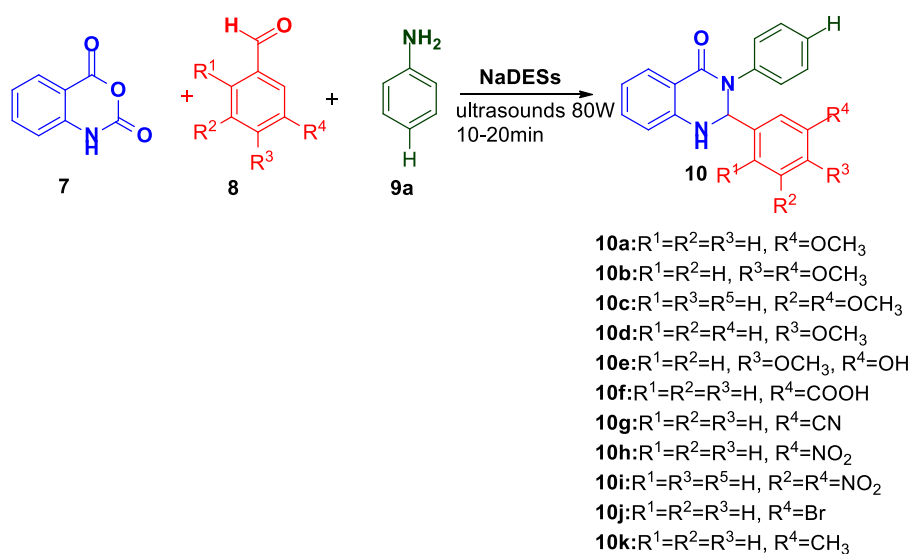


Σχήμα 3.8: Συνθετική πορεία των αναλόγων της σειράς Γ, (i) Ac₂O, MW (17–22 min), 250 W, T = 120–150 °C, (ii) N₂H₄·H₂O, EtOH, MW (20–33 min), 250 W, T = 120–150 °C, (iii) AcOCl, dry toluene reflux, 12 h-24h

Σύνθεση των αναλόγων της σειράς Δ

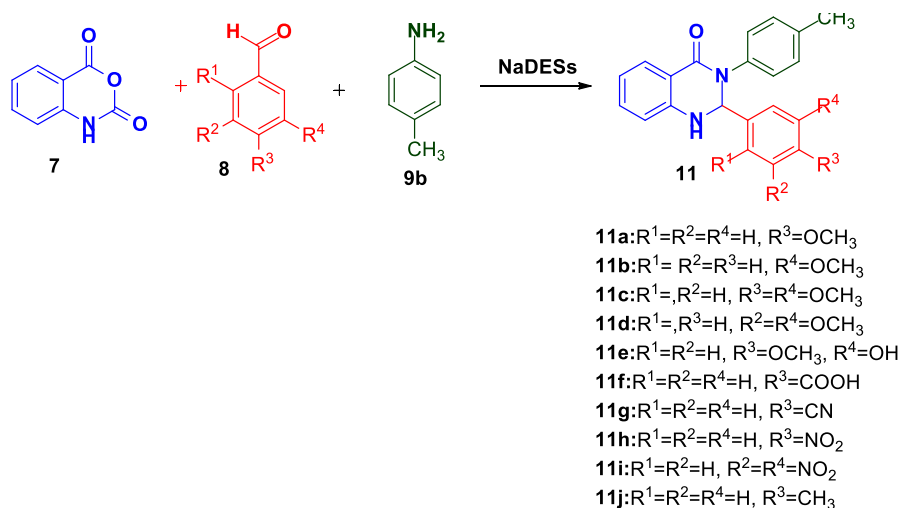
Η ανάπτυξη φιλικότερων προς το περιβάλλον μεθοδολογιών σύνθεσης έχει λάβει εντυπωσιακή πρόοδο κατά την διάρκεια των τελευταίων ετών και στο πλαίσιο ανάπτυξης μιας χημικής βιβλιοθήκης 2,3 διυδροποκατεστημένων κιναζολινικών παραγώγων χρησιμοποιήθηκε ως εναλλακτική λύση η χρήση ευτηκτικών διαλυμάτων λόγω μη τοξικότητάς του, της χαμηλής τιμής του και των φιλικών προς το περιβάλλον ιδιοτήτων του όπως η ανακύκλωση και η επαναχρησιμοποίηση του. Η σύνθεση και η ανάπτυξη της «χημικής βιβλιοθήκης» των διϋδροκιναζολινονών (Σχήμα 42) πραγματοποιήθηκε μέσω αντίδρασης πολλών συστατικών (Multi-Component Reaction, MCR) μεταξύ του ισατοϊκού ανυδρίτη, κατάλληλα υποκατεστημένης βενζαλδεΐδης και αρωματικής αμίνης. Η μεθοδολογία της σύνθεσης βασίστηκε στη χρήση ευτηκτικού μίγματος (NaDES) ως διαλύτη και καταλύτη της αντίδρασης πολλαπλών συστατικών ενώ μελετήθηκε και η ανακύκλωση και η επαναχρησιμοποίηση του διαλύτη.

Στο Σχήμα 3.9 πραγματοποιήθηκε η σύνθεση της σειράς **10a-k** μεταξύ ισατοϊκού ανυδρίτη **7**, κατάλληλης υποκατεστημένης βενζαλδεΐδης **8** και ανιλίνης **9a** με την χρήση του κατάλληλου NaDES καθώς επίσης δοκιμάστηκε η χρήση υπέρυχης ακτινοβολίας για βελτιστοποίηση της μεθοδολογίας. Οι συνθήκες της αντίδρασης βρέθηκαν μέσω μιας αντίδρασης όπου μελετήθηκε η χρήση διαφορετικών NaDES και συνθηκών ώστε να βρεθούν οι βέλτιστες συνθήκες. Η μελέτη των βαθέως ευτηκτικών διαλυμάτων αναλύεται στο Κεφάλαιο 2.



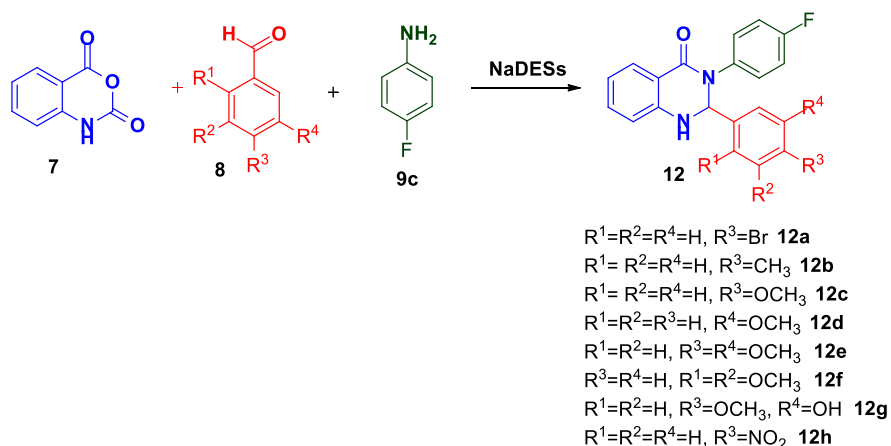
Σχήμα 3.9: Συνθετική πορεία αναλόγων σειράς Δ με την χρήση ισατοϊκού ανυδρίτη, κατάλληλων υποκατεστημένων βενζαλδεϋδών και ανιλίνης ως πρώτων υλών και χρήση φυσικών βαθέων ευτηκτικών διαλυτών ως διαλύτες και καταλύτες της αντίδρασης

Ακολούθως, πραγματοποιήθηκε η σύνθεση της σειράς **11a-i** με χρήση τολουιδίνης **9b** για την υποκατάσταση στην θέση 3 του κιναζολινικού δακτυλίου (Σχήμα 3.10).



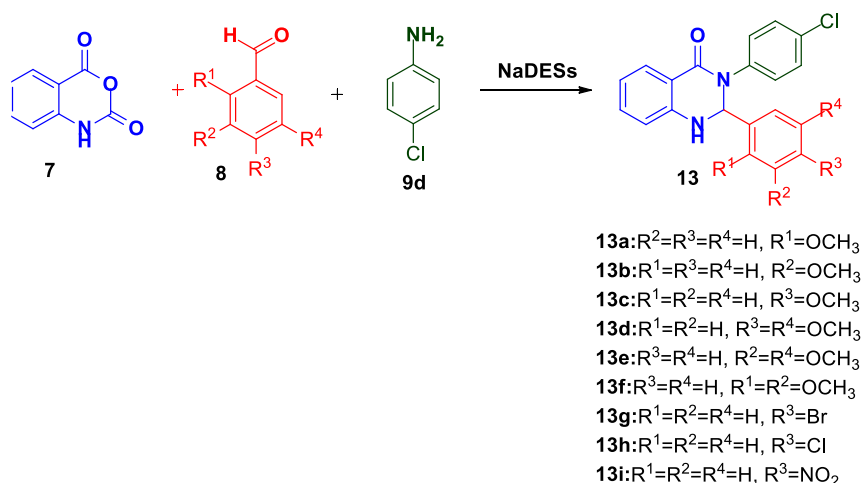
Σχήμα 3.10: Συνθετική πορεία αναλόγων σειράς Δ με την χρήση ισατοϊκού ανυδρίτη, κατάλληλων υποκατεστημένων βενζαλδεϋδών και τολουιδίνης ως πρώτων υλών και χρήση φυσικών βαθέων ευτηκτικών διαλυτών ως διαλύτες και καταλύτες της αντίδρασης

Στη συνέχεια, ακολούθησε η σύνθεση της σειράς **12a-h** με χρήση 4-φθορο-ανιλίνης **9c** για την υποκατάσταση στη θέση 3 του κιναζολινικού δακτυλίου (Σχήμα 3.11).



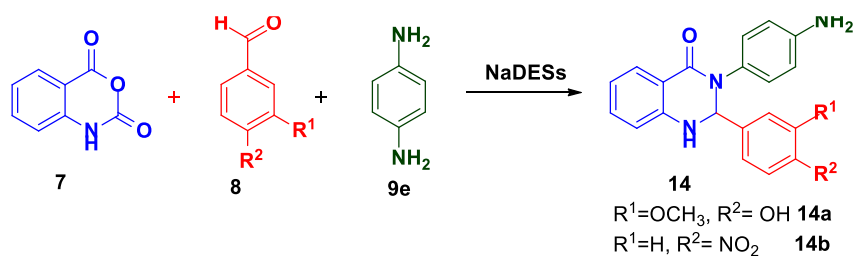
Σχήμα 3.11: Συνθετική πορεία αναλόγων σειράς Δ με την χρήση ισατοϊκού ανυδρίτη, κατάλληλων υποκατεστημένων βενζαλδεϋδών και 4-φθόρο ανιλίνης ως πρώτων υλών και χρήση φυσικών βαθέων ευτηκτικών διαλυτών ως διαλύτες και καταλύτες της αντίδρασης

Αντιστοίχως, συντέθηκαν δέκα κιναζολινικά παράγωγα **13a-j** όπως παρουσιάζονται στο Σχήμα 3.12 με χρήση 4-χλώρο ανιλίνης **9d** ισατοϊκού ανυδρίτη και κατάλληλης υποκατεστημένης βενζαλδεϋδης.



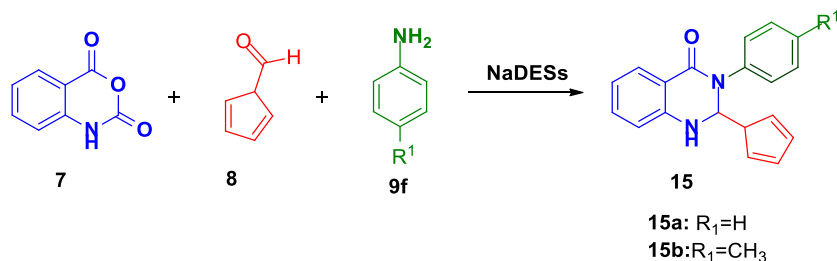
Σχήμα 3.12: Συνθετική πορεία αναλόγων σειράς Δ με την χρήση ισατοϊκού ανυδρίτη, κατάλληλων υποκατεστημένων βενζαλδεϋδών και 4-χλώρο-ανιλίνης ως πρώτων υλών και χρήση φυσικών βαθέων ευτηκτικών διαλυτών ως διαλύτες και καταλύτες της αντίδρασης

Τέλος, με την χρήση 1,4 φαινυλενοδιαμίνης **9e** παρασκευάστηκε η ένωση **14** (Σχήμα 3.13).



Σχήμα 3.13: Συνθετική πορεία αναλόγων σειράς Δ με την χρήση ισατοϊκού ανυδρίτη, κατάλληλων υποκατεστημένων βενζαλδεϋδών και 1,4 φαινυλενοδιαμίνης ως πρώτων υλών και χρήση φυσικών βαθέων ευτηκτικών διαλυτών ως διαλύτες και καταλύτες της αντίδρασης

Ενδεικτικά, δοκιμάστηκε και η χρήση της κυκλοπεντα-2,4διεν-1-καρβαλδεϋδης **8** για την σύνθεση των κιναζολινικών παραγώγων **15** με τις ίδιες συνθήκες αντίδρασης (Σχήμα 3.14).

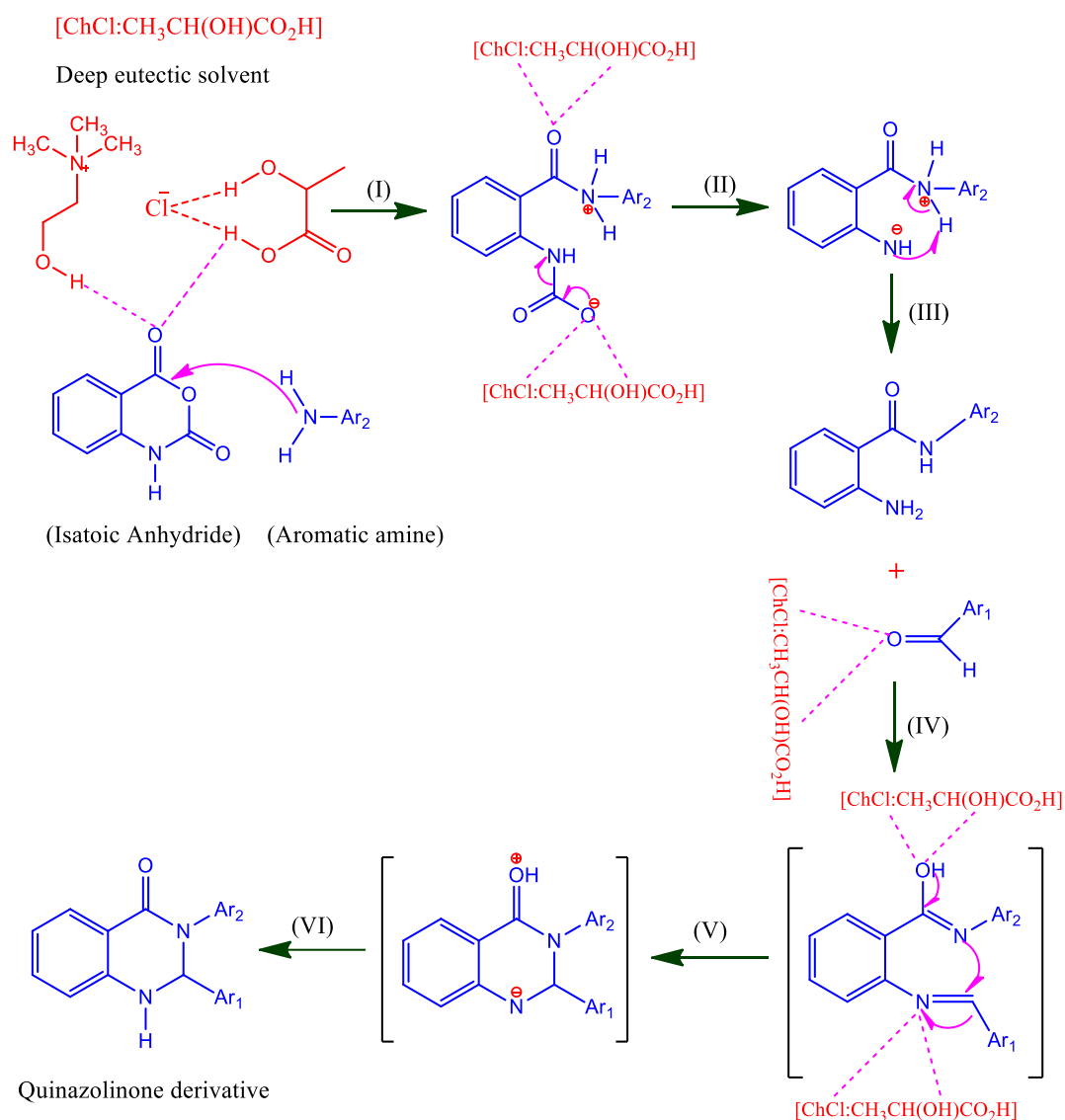


Σχήμα 3.14: Συνθετική πορεία αναλόγων σειράς Δ με την χρήση ισατοϊκού ανυδρίτη, κυκλοπεντα-2,4διεν-1-καρβαλδεϋδης και κατάλληλα υποκατεστημένης ανιλίνης ως πρώτων υλών και χρήση φυσικών βαθέων ευτηκτικών διαλυτών ως διαλύτες και καταλύτες της αντίδρασης

Μηχανισμός αντίδρασης 2,3 διυδρο-υποκατεστημένων κιναζολινονών

Η χρήση φυσικά βαθέως ευτηκτικών διαλυτών (NaDES) ως καταλυτών στην αντίδραση σύνθεσης κιναζολινονών αποτελεί ένα τρόπο διεξαγωγής της αντίδρασης σύμφωνα με τις αρχές της πράσινης χημείας. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 3.15, η πορεία του μηχανισμού της αντίδρασης διακρίνεται σε έξι στάδια. Έτσι, αρχικά περιλαμβάνει την πυρηνόφιλη προσβολή του αζώτου της αρωματικής αμίνης στην καρβονυλική ομάδα του ισατοϊκού ανυδρίτη (Στάδιο I). Ακολουθεί αποκαρβοξυλίωση καθώς και μετακίνηση ηλεκτρονίων και διάνοιξη του δακτυλίου του ισατοϊκού ανυδρίτη (Στάδιο II). Στη συνέχεια, πραγματοποιείται και πάλι μετακίνηση ηλεκτρονίων (Στάδιο III), ενώ η αντίδραση συνεχίζεται με την προσθήκη κατάλληλης υποκατεστημένης βενζαλδεϋδης (Στάδιο IV). Ύστερα από την προσβολή του αζώτου στον ολεφινικό άνθρακα, σχηματίζεται ο δακτύλιος της κιναζολινόνης (Στάδιο V). Τέλος, ακολουθεί μετακίνηση ηλεκτρονίων και σχηματισμός του τελικού παραγώγου κιναζολινόνης (Στάδιο VI). Το NaDES βοηθά στη

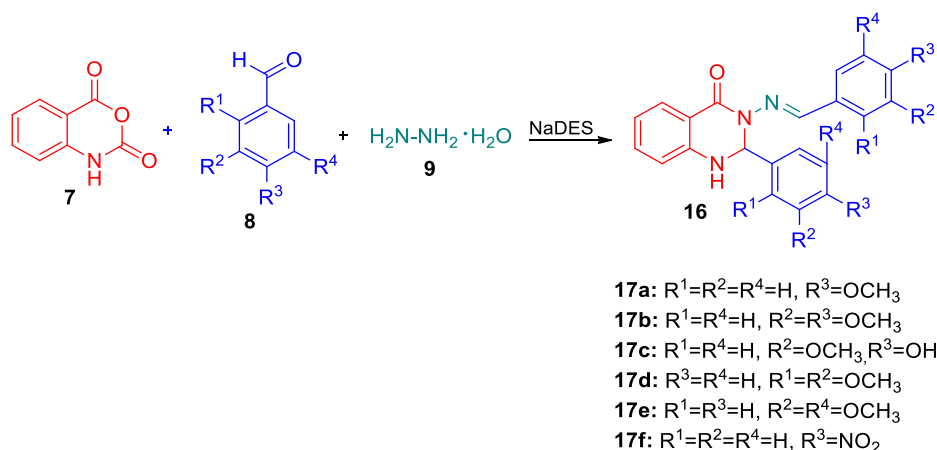
βελτίωση της αντιδραστικότητας της αρωματικής αλδεΐδης και τελικά στην προαγωγή της κυκλοποίησης προς σχηματισμό του πυρήνα της κιναζολινόνης (Στάδια IV και V).



Σχήμα 3.15: Προτεινόμενος μηχανισμός κατά την σύνθεση 2,3 διυδροκιναζολινόνων

Σύνθεση των αναλόγων της σειράς E

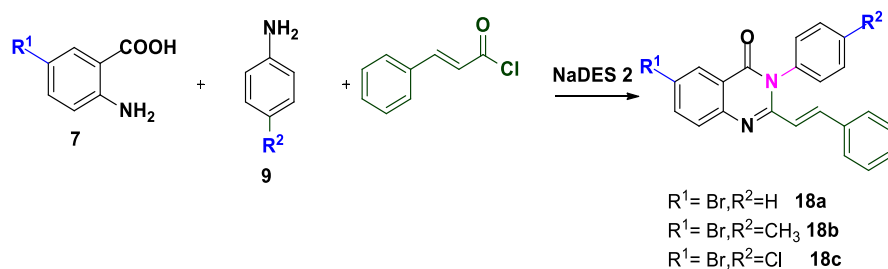
Η σύνθεση των 2,3 διυδροκιναζολιν-4(1H)-ονών βάσεων του Schiff έγινε με διάφορες υποκαταστάσεις και χρήση του προαναφερόμενου NaDES ως διαλύτη και καταλύτη (Σχήμα 3.16) παραγώγων μέσω αντιδράσεων πολλαπλών συστατικών (Multi-Component Reaction, MCR). Για τις αντιδράσεις της σύνθεσης ως αντιδραστήρια χρησιμοποιήθηκαν ισατοϊκός ανυδρίτης **7**, υποκατεστημένες βενζαλδεΐδες **8** και ένυδρη υδραζίνη **9** όπου οδήγησαν στον σχηματισμό των κιναζολινικών παραγώγων **17a-f**.



Σχήμα 3.16: Συνθετική πορεία αναλόγων σειράς E

Σύνθεση των αναλόγων της σειράς ΣΤ

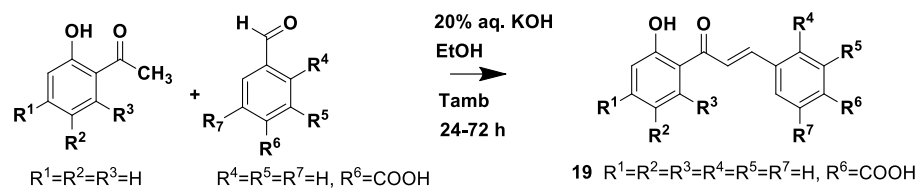
Η σύνθεση των 2,3 διυδροκιναζολιν-4(1H)-ονών έγινε με διάφορες υποκαταστάσεις και χρήση του προαναφερόμενου NaDES ως διαλύτη και καταλύτη (Σχήμα 3.17) παραγώγων μέσω αντιδράσεων πολλαπλών συστατικών (Multi-Component Reaction, MCR). Για τις αντιδράσεις της σύνθεσης ως αντιδραστήρια χρησιμοποιήθηκαν κατάλληλα υποκατεστημένο ανθρανικό οξύ, κατάλληλα υποκατεστημένη ανιλίνη και κινναμικό χλωρίδιο όπου οδήγησαν στον σχηματισμό των κιναζολινικών παραγώγων.



Σχήμα 3.17: Συνθετική πορεία αναλόγων σειράς ΣΤ

Σύνθεση των αναλόγων Σειρά Z

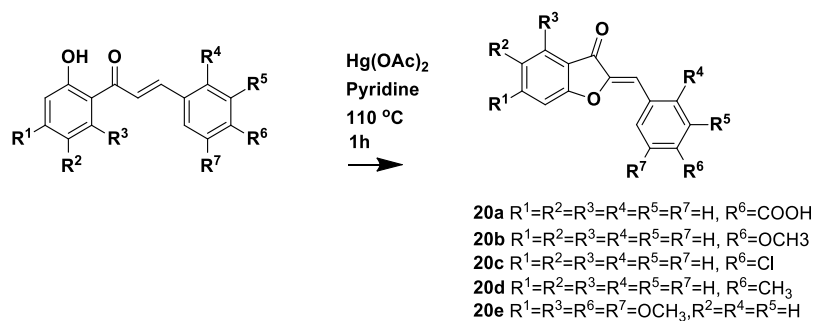
Η σύνθεση των χαλκωνών πραγματοποιήθηκε μέσω της αντίδρασης συμπύκνωσης Claisen-Schmidt (Σχήμα 3.18) μεταξύ κατάλληλα υποκατεστημένων υδροξυ-ακετοφαινονών και βενζαλδεϋδών σε βασικές συνθήκες (20% υδατικό διάλυμα KOH σε αιθανόλη).



Σχήμα 3.18: Συνθετική πορεία αναλόγων σειράς Z

Σύνθεση των αναλόγων Σειρά H

Η σύνθεση των ωρονών πραγματοποιήθηκε μέσω οξειδωτικής κυκλοποίησης των αντίστοιχων χαλκονών χρησιμοποιώντας οξικό υδράργυρο (II) ως οξειδωτικό παράγοντα (Σχήμα 3.19).



Σχήμα 3.19: Συνθετική πορεία αναλόγων σειράς H

3.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Οργανολογία-Υλικά

Μετά την σύνθεση των μορίων πραγματοποιήθηκε η ταυτοποίηση αυτών μέσω φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) πρωτονίου (^1H NMR) και άνθρακα (^{13}C NMR), φασματοσκοπία υπερύθρου Μετασχηματισμού Fourier (FT-IR), φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού (UV-VIS) και φασματομετρία μάζας υψηλής ανάλυσης (ESI-HRMS). Τα φάσματα πάρθηκαν με τα όργανα Varian 300 MHz και Varian 600 MHz του Ινστιτούτου Βιολογίας, Φαρμακευτικής Χημείας και Βιοτεχνολογίας του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών. Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν δευτεριωμένο διμεθυλοσουλφοξείδιο (d_6 -DMSO) και δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3).

Τα φάσματα HRMS καταγράφηκαν με το όργανο UHPLC-MSn Orbitrap Velos-Thermo του Ινστιτούτου Βιολογίας, Φαρμακευτικής Χημείας και Βιοτεχνολογίας του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών. Για την Παρασκευή όλων των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης η μεθανόλη (MeOH – MS).

Ο προσδιορισμός του σημείου τήξης μια ένωσης είναι ένας εύκολος τρόπος για να ελεγχθεί η καθαρότητά του. Μια καθαρή ουσία έχει συνήθως μικρή διαφορά μεταξύ θερμοκρασίας όπου το δείγμα αρχίζει να λιώνει μέχρι την στιγμή που ολοκληρώνεται, ενώ παρατηρείται να διευρύνεται αυτό το εύρος όταν η ουσία μπορεί να περιέχει προσμίξεις. Η διαδικασία πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της συσκευής Gallenkamp καθώς τα δείγματα είχαν τοποθετηθεί σε τριχοειδείς σωλήνες.

Συμπληρωματικά για την ταυτοποίηση των ενώσεων πραγματοποιήθηκε ο χαρακτηρισμός με φασματοσκοπία υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (FT-IR) ώστε να διευρευνηθεί η δομή τους. Το όργανο που χρησιμοποιήθηκε ήταν το φασματοφωτόμετρο FT-IR 4000 Jasco της Σχολής Χημικών Μηχανικών. Πιο συγκεκριμένα μικρή ποσότητα ένωσης λιοτριβείται με ξηρό βρωμιούχο κάλιο (KBr) και εφαρμόζεται δύναμη 10 tn στην πρέσα για την παρασκευή των δειγμάτων. Στην συνέχεια, πραγματοποιείται η μελέτη της αλληλεπίδρασης με την υπέρυθρη ακτινοβολία στο εύρος $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$.

Για τον περαιτέρω χαρακτηρισμό των νέων φυσικών αναλόγων χρησιμοποιήθηκε η φασματοσκοπία υπεριώδους – ορατού (UV-VIS) και καταγράφηκαν οι τιμές των απορροφήσεων των μορίων. Το όργανο που χρησιμοποιήθηκε ήταν το φασματοφωτόμετρο UV-VIS V-770 UV-VIS/NIR Jasco του εργαστηρίου Οργανικής Χημείας της Σχολής Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ. Η μελέτη της αλληλεπίδρασης των δειγμάτων με την ακτινοβολία πραγματοποιείται σε μήκος κύματος 200-600 nm.

Η χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC) χρησιμοποιήθηκε για την παρακολούθηση των αντιδράσεων των επιθυμητών μορίων αλλά και για την καθαρότητά τους. Οι κηλίδες που σημειώθηκαν στην κάθε περίπτωση εμφανίστηκαν με την χρήση λάμπας UV και με εμποτισμό των πλακών (Silica gel) σε διάλυμα φωσφομολυβδαινικού οξέος (PMA).

Όσον αφορά την σύνθεση των μορίων των κιναζολινικών παραγωγών υποβοηθούμενη με τεχνικές υψηλής ενέργειας χρησιμοποιήθηκαν η συσκευή υπερήχων με probe Vibra – Cell VCX 750, Sonics and Materials Inc για την χρήση υπέρυθρης ακτινοβολίας και την συσκευή Start SYNTH-Microwave Synthesis Labstation με το δοχείο αντίδρασης τύπου

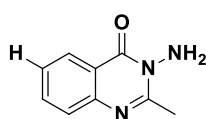
QUARTZ Q20SPER για την χρήση μικροκυματικής ακτινοβολίας. Κατά την συμβατική μέθοδο αντιδράσεις που περιείχαν είτε ευαίσθητες ουσίες είτε άνυδρους διαλύτες στις συνθήκες περιβάλλοντος πραγματοποιήθηκαν σε αδρανείς συνθήκες παρουσία αερίου αζώτου, N₂.

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν καθώς και οι διαλύτες ήταν υψηλής καθαρότητας από τις εταιρίες Sigma-Aldrich, Fluka, Acros, Alfa-Aesar.

Σύνθεση αναλόγων Σειράς A με την Μέθοδο I

Στο κατάλληλο δοχείο – γυάλινο σωλήνα που χρησιμοποιείται στις αντιδράσεις με χρήση μικροκυματικής ακτινοβολίας εισάγεται ποσότητα της εκάστοτε βενζοξαζινόνης μαζί με την κατάλληλη ποσότητα ένυδρης υδραζίνης και 5-10 mL καθαρής αιθανόλης. Οι συνθήκες στις οποίες πραγματοποιείται το πείραμα είναι 250 W, 140 – 150 °C και συνεχής ανάδευση για 27-37 λεπτά, ανάλογα με την αντίδραση. Μετά την αντίδραση το δείγμα ψύχεται και παρατηρείται σταδιακός σχηματισμός στερεού. Ακολουθεί διήθηση και έκπλυση με παγωμένη αιθανόλη, όπου το στερεό τοποθετείται σε ξηραντήρα και το διήθημα στην κατάψυξη. Σε περίπτωση επανακαθίωσης στερεού η διαδικασία της διήθησης επαναλαμβάνεται. Ο έλεγχος της πορείας της αντίδρασης πραγματοποιείται με ανάλυση χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (χρησιμοποιούμενο σύστημα διαλυτών πετρελαϊκός αιθέρας – οξικός αιθυλεστέρας σε αναλογία 6:4). Τέλος, πραγματοποιείται ανακρυστάλλωση για περαιτέρω καθαρισμό των προϊόντων.

3-AMINO-2-MEΘΥΛΟ-KINAZOLIN-4(3H)-ONH (3a)



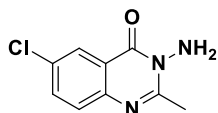
Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 1 mmol (700 mg) 2-μέθυλο-4H-βενζο[d][1,3]οξαζιν-4-όνης και 3 mmol ένυδρης υδραζίνης.

Απόδοση: 51%, **Σημείο τήξης:** 142-143 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 140-142 °C [1]

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 8.08 (d, 1H, H₅), 7.63- 7.61 (m, 2H), 7.36-7.31 (m, 1H), 5.15 (s, 2H, NH₂), 2.66 (s, 3H, CH₃),

UV-VIS: λ_{max}=273 nm

3-AMINO-6-ΧΛΩΡΟ-2-MEΘΥΛΟ-KINAZOLIN-4(3H)-ONH (3b)



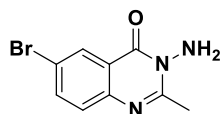
Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 4 mmol (782 mg) 6-χλώρο-2-μέθυλο-4H-βενζο[d][1,3]οξαζιν-4-όνης και 12 mmol ένυδρης υδραζίνης. Παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση: 42 %, **Σημείο τήξης:** 174-175 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 169-171 °C [2]

¹H NMR (DMSO-d₆, 600 MHz): δ 8.03 (d, J= 2.28 Hz, 1H, H₅), 7.80 (dd, J= 8.7, 2.4 Hz, 1H, H₇), 7.63 (d, J= 8.76 Hz, 1H, H₈), 5.84 (s, 2H, NH₂), 2.58 (s, 3H, CH₃)

UV-VIS: λ_{max}=274nm

3-AMINO-6-BΡΩΜΟ-2-ΜΕΘΥΛΟ-ΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(3H)-ΟΝΗ (3c)



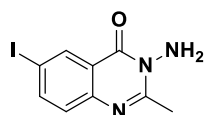
Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 1 mmol (308 mg) 6-βρώμο-2-μέθυλ-4H-βενζο[d][1,3]οξαζιν-4-όνης και 3 mmol ένυδρης υδραζίνης.

Απόδοση: 69 %, **Σημείο τήξης:** 187-189 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 182 °C [3]

¹H NMR (DMSO-d₆, 600 MHz): δ (ppm) 8.17 (d, 1H, ArH₅), 7.92-7.90(dd, J₁=8.7 Hz, J₂=2.34 Hz, 1H, ArH₇), 7.56-7.54(d, J=8.7, 1H, ArH₈), 5.83(s, 2H, NH₂), 2.57(s, 3H, CH₃)

UV-VIS: λ_{max}=274 nm

3-AMINO-6-ΙΩΔΟ-2-ΜΕΘΥΛΟ-ΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(3H)-ΟΝΗ (3d)



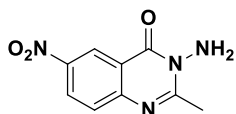
Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 3 mmol (821 mg) 6-ίωδο-2-μέθυλ-4H-βενζο[d][1,3]οξαζιν-4-όνης και 9 mmol ένυδρης υδραζίνης.

Απόδοση: 70 %, **Σημείο τήξης:** 186-187 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 210-213 °C [4]

¹H NMR (DMSO-d₆, 600MHz): δ 8.36 (d, J=2.1 Hz, 1H, H₅), 8.04 (dd, J= 8.6, 2.1 Hz, 1H, H₇), 7.39 (d, J=8.6 Hz, 1H, H₈), 5.8238 (s, 2H, NH₂), 2.56 (s, 3H, CH₃)

UV-VIS: λ_{max}=279 nm

3-AMINO-2-ΜΕΘΥΛΟ-6-ΝΙΤΡΟ-ΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(3H)-ΟΝΗ (3e)



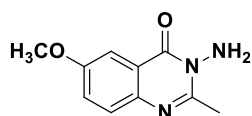
Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 1 mmol (360.7 mg) 2-μέθυλο-6-νιτρο-4H-βενζο[d][1,3]οξαζιν-4-όνης και 3 mmol ένυδρης υδραζίνης.

Απόδοση: 94 %, **Σημείο τήξης:** 178-180 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 221-223 °C [5]

¹H NMR (DMSO -d₆, 600 MHz): δ (ppm) 8.79 (d, J=2.28 Hz, 1H, H₅), 8.49 (dd, J=9.06, 2.4 Hz, 1H, H₇), 7.78 (d, J= 8.94 Hz, 1H, H₈), 5.92 (s, 2H, NH₂), 2.64 (s, 3H, CH₃)

UV-VIS: λ_{max}=326 nm

3-AMINO-6-MΕΘΟΞΥ-2-MΕΘΥΛΟ-KINAZOLIN-4(3H)-ONH (3f)

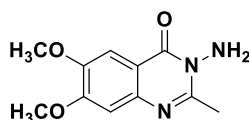


Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 1 mmol (1867 mg) 6-μέθοξυ-2-μέθυλ-4H-βενζο[d][1,3]οξαζιν-4-όνης και 3 mmol ένυδρης υδραζίνης.

Απόδοση: 36 %, **Σημείο τήξης:** 192-194 °C,

¹H NMR (DMSO-d₆, 600 MHz): δ(ppm) 8.76 (d, J=2.4 Hz, 1H, H₅), 8.47 (d, J=8.4 Hz, 1H, H₇), 7.78 (d, J= 8.4 Hz, 1H, H₈), 5.75 (s, 2H, NH₂), 3.88 (s, 3H, OCH₃), 2.53 (s, 3H, CH₃)

3-AMINO-6,7-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2-MΕΘΥΛΟ-KINAZOLIN-4(3H)-ONH (3g)



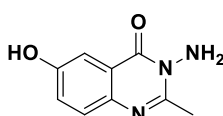
Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 1 mmol (1820 mg) 6,7-διμέθοξυ-2-μέθυλ-4H-βενζο[d][1,3]οξαζιν-4-όνης και 3 mmol ένυδρης υδραζίνης.

Απόδοση: 50 %, **Σημείο τήξης:** 216 – 217 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 219-220 °C [6]

¹H NMR (DMSO-d₆, 600 MHz): δ(ppm) 7.38 (s, 1H, H₅), 7.00 (s, 1H, H₈), 5.77 (s, 2H, NH₂), 3.88 (s, 3H, OCH₃), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 2.54 (s, 3H, CH₃)

UV-VIS: λ_{max}= 310 nm

3-AMINO-2-MΕΘΥΛΟ-6-ΥΔΡΟΞΥ-KINAZOLIN-4(3H)-ONH (3h)



Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 1 mmol (691,9 mg) 6-υδροξυβενζοξιαζινο-4-όνης και 3 mmol ένυδρης υδραζίνης. Η θερμοκρασία που εκτελείται το πείραμα στα μικροκύματα είναι 120 °C, για χρονικό διάστημα 33 λεπτών.

Απόδοση: 36%, **Σημείο τήξης:** 294-296 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 337 °C [7]

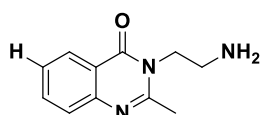
¹H NMR (DMSO-d₆, 600MHz): δ 9.98 (s,1H, OH), 7.46 (d, J=8,4 Hz, 1H, H₈), 7.36 (d, J=1.8 Hz, 1H, H₅), 7.23 (dd, J=8.4 ,1.8 Hz, 1H, H₇), 5.75 (s, 2H, NH₂), 2.52 (s, 3H, CH₃),

UV-VIS: λ_{max}=274 nm

Σύνθεση αναλόγων Σειράς A με την Μέθοδο II

Η σύνθεση των παραγώγων κιναζολινόνης πραγματοποιήθηκε κατά τη συμβατική μέθοδο, με θέρμανση υπό κάθετο ψυκτήρα χρησιμοποιώντας ένα ελαιόλουτρο (reflux). Για τη σύνθεση των μορίων προβλέπεται η αντίδραση οξαζινόνης με την εκάστοτε διαμίνη (eq 1:1.5). Η οξαζινόνη διαλύεται σε MeOH σε αναλογία 0.8332mmol/1ml. Τέλος προστίθενται καταλυτική ποσότητα πυριδίνης. Τα μόρια ανακρυσταλλώνονται με τη χρήση μεθανόλης ή αιθανόλης. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται αρχικά με την ανάλυση χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (τα δείγματα διαλύονται σε μείγμα μεθανόλης/ διχλωρομεθανίου ενώ το σύστημα διαλυτών στο TLC είναι: οξικός αιθυλεστέρας 60% και πετρελαϊκός αιθέρας 40%) και έπειτα η ταυτοποίηση της ένωσης γίνεται με τη χρήση φασματοσκοπίας ^1H NMR.

3-(2-AMINOΕΘΥΛ)-2-ΜΕΘΥΛΟ-ΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(3H)-ΟΝΗ (4a)



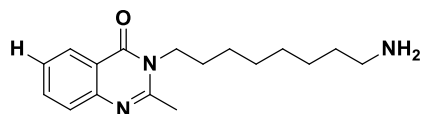
Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 500 mg (3 mmol) βενζοξαζινόνης διαλύονται σε 3.7 ml μεθανόλης μέσα σε σφαιρική φιάλη.

Στη συνέχεια προστίθενται 0.3 ml αιθυλενοδιαμίνης (4.5 mmol) σε καταλυτική ποσότητα πυριδίνης. Το διάλυμα θερμαίνεται για 24 h στους 65°C, στη συνέχεια εξατμίζεται και εκχυλίζεται με νερό και οξικό αιθυλεστέρα. Τέλος πραγματοποιείται ανακρυστάλλωση με μεθανόλη. Παραλαμβάνεται στερεό γκρίζου χρώματος.

Απόδοση: 41% **Σημείο τήξης:** 100-102°C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 170 °C [8]

^1H NMR (CDCl₃, 600MHz): 8.23-8.22 (dd, $J_1=6$ Hz, $J_2=0.66$ Hz, 1H, ArH₅), 7.72-7.69 (t, $J_1=6$ Hz, $J_2=1.32$ Hz, 1H, ArH₆), 7.60-7.59 (d, $J=6$ Hz, 1H, ArH₈), 7.44-7.41 (dt, $J_1=6$ Hz, $J_2=0.66$ Hz, 1H, ArH₇), 4.18-4.16 (t, $J=6$ Hz, 2H, CH₂), 3.09-3.07 (t, $J=6$ Hz, 2H, CH₂), 2.68 (s, 3H, CH₃), 1.73 (s, 2H, NH₂)

3-(8-AMINOΟΚΤΥΛ)-2-ΜΕΘΥΛΟ-ΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(3H)-ΟΝΗ (4b)



Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 1g (6 mmol) βενζοξαζινόνης διαλύεται σε 7.5 ml τολουόλιου μέσα σε σφαιρική φιάλη. Στη συνέχεια προστίθεται 1.34 g 1,8-

διαμινοοκτάνιο (9 mmol). Το διάλυμα θερμαίνεται για 24h στους 110°C. Τέλος το δείγμα διηθείται με τη χρήση νερού, ενώ γίνεται ανακρυστάλλωση με αιθανόλη. Παραλαμβάνονται 160.5mg στερεού, γκρίζου χρώματος.

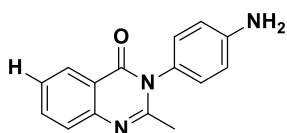
Απόδοση: 21%, **Σημείο τήξης:** 204-206°C

^1H NMR (CDCl₃, 600MHz): 7.85-7.84 (d, $J=6$ Hz, 1H, ArH₅), 7.38-7.36 (t, $J=6$ Hz, 1H, ArH₇), 7.24-7.23 (d, $J=6$ Hz, 1H, ArH₈), 7.10-7.07 (, $J_1=12$ Hz, $J_2=6$ Hz, 1H, ArH₆), 3.74- 3.71 (m, 2H, CH₂), 2.40-2.37 (m, 2H, CH₂), 3.31 (s, 1H, CH₃), 1.39-0.96 (m, 14H)

ESI-MS (m/z): 288 [M+1]⁺

UV-Vis: λ_{\max} =208 nm

3-(4-AMINOΦΑΙΝΥΛ)-2-ΜΕΘΥΛΟ-KINAZOLIN-4(3H)-ONH (4c)



Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 1g (6 mmol) βενζοξαζινόνης διαλύεται σε 7.6ml μεθανόλης μέσα σε σφαιρική φιάλη. Στη συνέχεια προστίθεται 1.36 g p-φαινυλενοδιαμίνης (9 mmol) σε καταλυτική ποσότητα πυριδίνης. Το διάλυμα θερμαίνεται για 24h στους 65°C. Τέλος το δείγμα εξατμίζεται, πραγματοποιείται διήθηση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη. Παραλαμβάνεται στερεό μαύρου χρώματος.

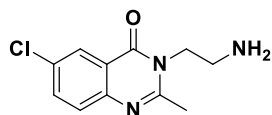
Απόδοση: 62% **Σημείο τήξης:** 206-210°C σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 205-206 °C

¹H NMR (CDCl₃, 600MHz): 8.27-8.26 (d, J=6 Hz, 1H, ArH₅), 7.79-7.76 (m, 2H), 7.50- 7.47 (t, J₁=12 Hz, J₂=6 Hz, 1H, ArH₆), 7.01-6.99 (d, J=12 Hz, 2H, H₁₀,H₁₄), 6.80-6.79 (d, J=6 Hz, 2H, H₁₁,H₁₃), 2.36 (s, 3H, CH₃)

ESI-MS (m/z): 252 [M+1]⁺, 274 [M+23]⁺

UV-Vis: λ_{\max} =208 nm

3-(2- AMINOΕΘΥΛ)-6-ΧΛΩΡΟ-2-ΜΕΘΥΛΟ-KINAZOLIN-4(3H)-ONH (4d)



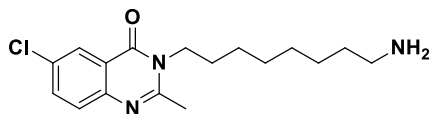
Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 200 mg (1 mmol) χλωροβενζοξαζινόνης διαλύεται σε 2 ml μεθανόλης μέσα σε σφαιρική φιάλη. Στη συνέχεια προστίθεται 0.14 mL αιθυλενοδιαμίνης (1.5 mmol) και καταλυτική ποσότητα πυριδίνης. Το διάλυμα θερμαίνεται για 24h στους 65°C. Τέλος, το δείγμα εξατμίζεται, πραγματοποιείται διήθηση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη. Παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση: 58%, **Σημείο τήξης:** 210-211°C

¹H NMR (DMSO-d₆, 600MHz): 8.01-8.02 (d, J=2.4 Hz, 1H, ArH₅), 7.80-7.78 (dd, J₁=2.4 Hz, J₂=10.8 Hz, 1H, ArH₇), 7.60-7.59 (d, J=8.4 Hz, 1H, ArH₈), 4.04-4.01 (t, 2H, CH₂), 2.84-2.82 (t, 2H, CH₂), 2.65 (s, 1H, CH₃)

UV-Vis: λ_{\max} =211 nm

3-(8- AMINOΟΚΤΥΛ)-6-ΧΛΩΡΟ-2- ΜΕΘΥΛΟ-ΚΙΝΑΖΟΛΙΝ -4(3H)- ΟΝΗ (4e)



Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας, 274 mg (1.5 mmol) χλωροβενζοξαζινόνης διαλύεται σε 2 ml μεθανόλης μέσα σε σφαιρική φιάλη. Στη συνέχεια προστίθεται 404 mg 1, 8

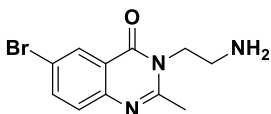
διαμινοοκτάνιο (2,25 mmol) και καταλυτική ποσότητα πυριδίνης. Το διάλυμα θερμαίνεται για 24h στους 65°C. Τέλος το δείγμα εξατμίζεται, πραγματοποιείται διήθηση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη. Παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος

Απόδοση: 64% **Σημείο τήξης:** 202-203°C

¹H NMR (DMSO-d₆, 600MHz): 8.02 (s, 1H, ArH₅), 7.81-7.79 (d, J=9 Hz, 1H, ArH₇), 7.61-7.60 (d, J=8.4 Hz, 1H, ArH₈), 4.02- 4.00 (m, 2H, CH₂), 2.610 (s, 1H, CH₃), 1.64-1.63 (m, 2H, CH₂), 1.64-1.63 (m, 2H, CH₂), 1.34-1.24 (m, 12H)

UV-Vis: λ_{max}=210 nm

3-(2- AMΙΝΟΕΘΥΛ)-6-ΒΡΩΜΟ-2-ΜΕΘΥΛΟ-ΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(3H)-ΟΝΗ (4f)



Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 350 mg (1.5 mmol) 6-βρωμοβενζοξαζινόνης διαλύονται σε 1.8 ml μεθανόλης μέσα σε σφαιρική φιάλη. Στη συνέχεια προστίθενται 0.14 ml αιθυλενοδιαμίνης (2.25 mmol) σε καταλυτική ποσότητα πυριδίνης. Το διάλυμα θερμαίνεται για 24h στους 65°C, στη συνέχεια εξατμίζεται και εκχυλίζεται με νερό και οξικό αιθυλεστέρα. Τέλος πραγματοποιείται ανακρυστάλλωση με μεθανόλη. Παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

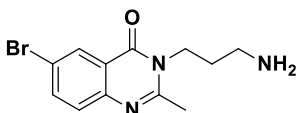
Απόδοση: 67% **Σημείο τήξης:** 116-120 °C

¹H NMR (CDCl₃, 600MHz): 8.42-8.41 (d, J=9 Hz, 1H, ArH₅), 7.76-7.74 (d, J=2.22 Hz, 1H, ArH₈), 7.46-7.44 (dd, J₁=2.28 Hz, J₂=9 Hz, 1H, ArH₇), 3.43-3.40 (m, 2H, CH₂), 2.91-2.89 (m, 2H, CH₂), 2.48 (s, 3H, CH₃), 2.11-2.09 (m, 2H, NH₂)

HRMS calcd for C₁₁H₁₃ON₃Br (M+H)⁺:m/z: 282.02346, found:282.02350

UV-Vis (MeOH): λ_{max}=221 nm

3-(3-ΑΜΙΝΟΠΡΟΠΥΛ)-6-ΒΡΩΜΟ-2-ΜΕΘΥΛΟ-ΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(3H)-ΟΝΗ (4g)



Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 150 mg (1 mmol) 6-βρωμοβενζοξαζινόνης σε 3 mL μεθανόλης και λίγες

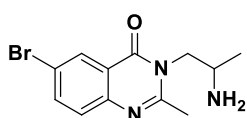
σταγόνες πυριδίνης. Προστίθενται 0.09 mL (1.5 mmol) 1,3 διαμινοπροπάνιο. Το πείραμα εκτελείται σε T=65°C για 24h.

Απόδοση: 46% **Σημείο τήξης:** 140-142°C

¹H NMR (CDCl₃, 600MHz): δ 8.35 (d, J=1.8 Hz, 1H, H₅), 7.77 (dd, J₁=1.8 Hz, J₂=1.8 Hz, 1H, H₇), 7.46 (d, J=8.4 Hz, 1H, H₈), 4.19 (t, J= 7.8 Hz, 2H, -CH₂), 2.80 (t, J=6.6 Hz, 2H, -CH₂), 2.65 (s, 3H, -CH₃), 1.86 (m, 2H, -NH₂)

UV-VIS: λ_{max}= 276 nm

3-(3-AMINOΙΣΟΠΡΟΠΥΛ)-6-ΒΡΩΜΟ-2-ΜΕΘΥΛΟ-ΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(3H)-ΟΝΗ (4h)



Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 150.0 mg (1 mmol) 6-βρωμοβενζοξαζινόνης σε 3 mL μεθανόλης και λίγες σταγόνες πυριδίνης. Προστίθενται 0.16 mL (1.5 mmol) 1,2 διαμινοπροπάνιο. Το πείραμα εκτελείται σε T=65°C

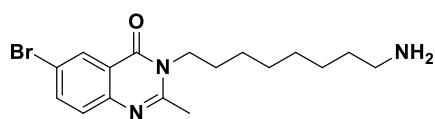
για 24h.

Απόδοση: 45,1% **Σημείο τήξης:** 140-143°C

¹H NMR (CDCl₃, 600MHz): δ 8.64-8,63 (d, J=9 Hz, 1H, H₅), 7.77 (d, J=1.8 Hz, 1H, H₈), 7.46 (dd, J₁=8.4 Hz, J₂=8.4 Hz, 1H, H₇), 4.19 (t, J= 7.8 Hz, 2H, -CH₂), 2.80 (t, J=6.6 Hz, 2H, -CH₂), 2.65 (s, 3H, -CH₃), 1.86 (m, 2H, -NH₂)

UV-VIS: λ_{max}= 277 nm

3-(8- AMINOΟΚΤΥΛ)-6-ΒΡΩΜΟ-2- ΜΕΘΥΛΟ-ΚΙΝΑΖΟΛΙΝ -4(3H)- ΟΝΗ (4i)



Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 500mg (2.08 mmol) 6-βρωμοβενζοξαζινόνης διαλύονται σε 2.5ml μεθανόλης μέσα σε σφαιρική φιάλη. Στη συνέχεια προστίθενται 450mg 1.8-διαμινοοκτάνιου (3.12mmol) και 5 σταγόνες πυριδίνης. Το διάλυμα θερμαίνεται για 24h στους 65°C, στη συνέχεια εξατμίζεται και εκχυλίζεται με νερό και οξικό αιθυλεστέρα. Τέλος πραγματοποιείται ανακρυστάλλωση με αιθανόλη. Παραλαμβάνεται στερεό γκρίζου χρώματος.

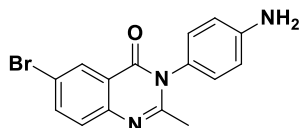
Απόδοση: 46% **Σημείο τήξης:** 90-95°C

¹H NMR (CDCl₃, 600MHz): 8.35(s, 1H, ArH₅), 7.77-7.76 (dd, J₁=2.04 Hz, J₂=6 Hz, 1H, ArH₇), 7.47-7.45 (d, J=12 Hz, 1H, ArH₈), 4.06-4.04(m, 2H, CH₂), 2.66(t, 2H, CH₂), 2.62(s, 3H, CH₃), 2.16(s, 2H, NH₂), 1.73-1.31(m, 12H)

HRMS calcd for C₁₇H₂₅ON₃Br (M+H)⁺:m/z: 366.11756, found:366.11760

UV-Vis (MeOH): λ_{\max} =226 nm

3-(4-AMINOΦΑΙΝΥΛ)-3-ΒΡΩΜΟ-2-ΜΕΘΥΛΟ-KINAZOLIN-4(3H)-ONH (4j)



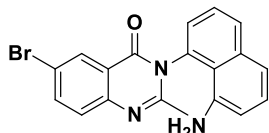
Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 2 mmol (560 mg) 6-βρωμοβενζοξαζινόνης διαλύονται σε 2.8ml μεθανόλης μέσα σε σφαιρική φιάλη. Στη συνέχεια προστίθενται 379 mg p-φαινυλενοδιαμίνης (3 mmol) και καταλυτική ποσότητα πυριδίνης. Το διάλυμα θερμαίνεται για 24 h στους 65 °C. Τέλος το δείγμα εξατμίζεται, πραγματοποιείται διήθηση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη. Παραλαμβάνεται στερεό μαύρου χρώματος.

Απόδοση: 64% **Σημείο τήξης:** 228-230 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 232 °C

¹H NMR (CDCl₃, 600MHz): 8.38 (s, 1H, ArH₅), 7.82-7.81 (d, J=12 Hz 1H, ArH₇), 7.54- 7.53 (d, J=12 Hz 1H, ArH₈), 6.99-6.98 (d, J=6 Hz, 2H, H₁₀, H₁₄), 6.80-6.79 (d, J=6 Hz, 2H, H₁₁, H₁₃), 2.26 (s, 3H, CH₃), 1.58 (s, 2H, NH₂)

UV-Vis: λ_{\max} =211 nm

3-(8-AMINO ΝΑΦΘΑΛΕΝ-1-ΥΛΟ)-6-ΒΡΩΜΟ-2-ΜΕΘΥΛΟ KINAZOLIN-4(3H)-ONH (4k)



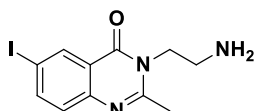
Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 450 mg (1 mmol) 6-βρωμοβενζοξαζινόνης σε 3 mL μεθανόλης και λίγες σταγόνες πυριδίνης. Προστίθενται 280 mg (1.5 mmol) 1,8 διαμινο-ναφθαλένιο. Το πείραμα εκτελείται σε T=65°C για 24h.

Απόδοση: 78%, **Σημείο τήξης:** 217-219 °C

¹H NMR (DMSO-d₆, 600MHz): δ 7,75 (d, J= 1.8 Hz, 1H, H₅), 7.34 (dd, J₁=2.4 Hz, J₂=9 Hz, 1H, H₇), 7.09 (t, J=7.8Hz, 2H, 2 ArH), 6.97 (d, J=8.4 Hz, 2 ArH), 6.72 (d, J= 9 Hz, 1H, H₈), 6.37 (d, J=6 Hz, 2 ArH), 2.00 (s, 3H, -CH₃)

UV-VIS: λ_{\max} = 329 nm

3-(2- AMINOΕΘΥΛ)-6-ΙΩΔΟ -2-ΜΕΘΥΛΟ-KINAZOLIN-4(3H)-ONH (4l)



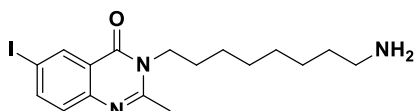
Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 400 mg (1 mmol) 6-ιωδοβενζοξαζινόνης σε 2,8 mL μεθανόλης και λίγες σταγόνες πυριδίνης. Προστίθενται 1.5 mmol 1,2 διαμιναιθάνιο. Το πείραμα εκτελείται σε T=65°C για 24h. Παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση: 57% **Σημείο τήξης:** 178-179°C

¹H NMR (DMSO-d₆, 600MHz): δ 8.44 (s, 1H, H₅), 7.94 (d, J=9Hz 1H, H₇), 6.85 (d, J=10.8 Hz, 1H, H₈), 2.68 (t, 2H, -CH₂), 2.00 (s, 3H, -CH₃)

UV-VIS: λ_{max}= 264 nm

3-(8- AMINOΟΚΤΥΛ)-6-ΙΩΔΟ-2- ΜΕΘΥΛΟ-ΚΙΝΑΖΟΛΙΝ -4(3H)- ΟΝΗ (4m)



Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 200 mg (1 mmol) 6-ιωδοβενζοξαζινόνης σε 3 mL μεθανόλης και λίγες σταγόνες πυριδίνης. Προστίθενται 1.5 mmol 1,8

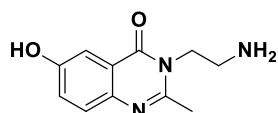
διαμινooκτάνιο. Το πείραμα εκτελείται σε T=65°C για 24h. Παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση: 43% **Σημείο τήξης:** 179-181°C

¹H NMR (DMSO-d₆, 600MHz): δ 8.35 (s, 1H, H₅), 8.06-8.04 (d, J=8,4Hz, 1H, H₇), 7,37-7,36 (d, J=8,4 Hz, 1H, H₈), 4,00 (m, 2H, -CH₂), 2.59 (s, 3H, -CH₃) 2.06 (m, 2H, -CH₂), 1.25 (m, 10H, -CH₂)

UV-VIS: λ_{max}= 262 nm

3-(2-AMINOΑΙΘΥΛ)-6-ΥΔΡΟΞΥ-2-ΜΕΘΥΛΟ-ΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(3H)-ΟΝΗ (4n)



Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 200 mg (1 mmol) 6-υδροξυβενζοξαζινόνης σε 3 mL μεθανόλης και λίγες σταγόνες πυριδίνης. Προστίθενται 0.2 mL (1.5 mmol) 1,2 διαμινooιθάνιο. Το πείραμα εκτελείται σε T=65°C για 24h.

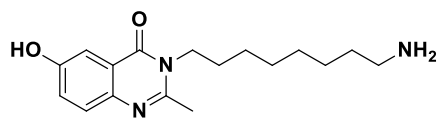
Παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση: 57% **Σημείο τήξης:** 180-182 °C

¹H NMR (DMSO-d₆, 600MHz): δ 10.48 (s, 1H, -OH), 8.44 (s, 1H, H₅), 7.94 (d, J=9Hz 1H, H₇), 6.85 (d, J=10.8 Hz, 1H, H₈), 2.68 (t, 2H, -CH₂), 2.00 (s, 3H, -CH₃)

UV-VIS: λ_{max}= 262 nm

3-(8- AMINOΟΚΤΥΛ)-6- ΥΔΡΟΞΥ -2- ΜΕΘΥΛΟ-ΚΙΝΑΖΟΛΙΝ -4(3H)- ΟΝΗ (4o)



Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 200 mg (1 mmol) βενζοξαζινόνης 2c σε 1,10mL μεθανόλης και λίγες σταγόνες πυριδίνης. Προστίθενται 1.5 mmol 1,8

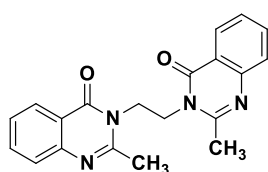
διαμινοοκτάνιο. Το πείραμα εκτελείται σε T=65°C για 24h. Παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση: 42% **Σημείο τήξης:** 176-179°C

¹H NMR (DMSO-d₆, 600MHz): δ 10.51 (s, 1H, -OH), 8.43 (s, 1H, H₅), 7.92 (d, J=9Hz 1H, H₇), 6.83 (d, J=10.8 Hz, 1H, H₈), 4,00 (m, 2H, -CH₂), 2.53 (s, 3H, -CH₃) 2.02 (m, 2H, -CH₂), 1.22 (m, 10H, -CH₂)

UV-VIS: λ_{max}= 262 nm

Σύνθεση αναλόγων Σειράς A- με την Μέθοδο ΙΙΙ (4p)



Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 1g (6 mmol) βενζοξαζινόνης διαλύεται σε 7.5ml τολουόλιου μέσα σε σφαιρική φιάλη. Στη συνέχεια προστίθενται 0.6 ml (9 mmol) αιθυλενοδιαμίνης. Το διάλυμα θερμαίνεται για 24 h στους 110° C. Τέλος το δείγμα διηθείται με τη χρήση νερού. Παραλαμβάνονται στερεό

γκρίζου χρώματος.

Απόδοση: 17% **Σημείο τήξης:** 302-304°C

¹H NMR (CDCl₃, 600MHz): 8.18-8.17(d, J=6 Hz, 2H, ArH₅₋₁₃), 7.99-7.97(t, J=6Hz, 2H, ArH₆₋₁₄), 7.77- 7.75(t, J=12 Hz, 2H, ArH₈₋₁₆), 7.67-7.65 (t, J=6Hz, 2H, ArH₇₋₁₅), 4.44(s, 4H, 2-CH₂), 2.98(s, 6H, 2-CH₃)

ESI-MS (m/z): 347 [M+1]⁺, 369 [M+23]⁺

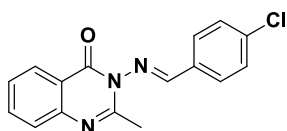
Σύνθεση αναλόγων Σειράς B με την μέθοδο ΙV

Στο τρίτο μέρος της σύνθεσης ακολούθησε αντίδραση της αμινομάδας των 3-αμινο-6-υποκατεστημένων-2-μεθυλο-κιναζολιν-4(3H)-ονών (**3a-3h**) με κατάλληλα υποκατεστημένες βενζαλδεΐδες, με στόχο τη σύνθεση παραγώγων ιμινών.

Η σύνθεση των ενώσεων πραγματοποιείται με συμβατικές μεθόδους (reflux για 4h στους 78°C). Προβλέπεται η αντίδραση κιναζολινόνης με αλδεΐδη σε αναλογία 1:1 eq. Τα μόρια **3a-3h** διαλύονται σε αιθανόλη με αναλογία 1mmol:5ml ενώ προστίθεται καταλυτική ποσότητα πιπεριδίνης. Το δείγμα που παραλαμβάνεται ψύχεται για περίπου 1 ώρα και ακολουθεί διήθηση και έκπλυση με παγωμένη αιθανόλη. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται αρχικά με την ανάλυση χρωματογραφίας λεπτής

στιβάδας (το δείγμα διαλύεται σε μεθανόλη ενώ το σύστημα διαλυτών στο TLC είναι: οξικός αιθυλεστέρας 80% και πετρελαϊκός αιθέρας 20%). Ακολουθείται ανακρυστάλλωση και έπειτα η ταυτοποίηση της ένωσης γίνεται με τη χρήση φασματοσκοπίας ^1H NMR.

(E)-3-((4-ΧΛΩΡΟ-BENZYΛΙΔΕΝΟ)AMINO)-2-MEΘΥΛΟ-KINAZOLIN-4(3H)-ONH (5a)



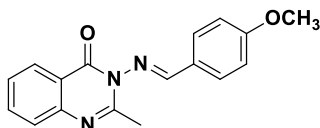
Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 150 mg (1 mmol) μορίου 3a διαλύονται σε 5 mL αιθανόλης μέσα σε σφαιρική φιάλη. Στη συνέχεια προστίθενται 121 mg 4-χλωρο βενζαλδεΰδης (1 mmol) και καταλυτική ποσότητα πιπεριδίνης. Πραγματοποιείται ανακρυστάλλωση με αιθανόλη. Τέλος, έπειτα από ανακρυστάλλωση με αιθανόλη, παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση: 38%, **Σημείο τήξης:** 203-205 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 204-206 °C [9]

^1H NMR (DMSO, 600MHz): 9.03 (s, 1H, N=CH), 8.16-8.15 (d, 1H, Ar_H, H₅), 8.00-7.79 (d, 2H, 2Ar_H, H₁₁, H₁₅), 7.85-7.82 (td, 1H, Ar_H, H₆), 7.67-7.66 (m, 3H, 3Ar_H, H₇, H₁₂, H₁₄), 7.54-7.52 (t, 1H, 1Ar_H, H₈), 2.53 (s, 3H, CH₃)

UV-Vis: λ_{max} =272 nm

(E)-3-((4-MEΘΟΞΥ-BENZYΛΙΔΕΝΟ)AMINO)-2-MEΘΥΛΟ-KINAZOLIN-4(3H)-ONH (5b)



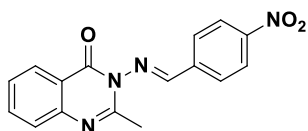
Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 150 mg (1 mmol) μορίου 3a διαλύονται σε 5 mL αιθανόλης μέσα σε σφαιρική φιάλη. Στη συνέχεια προστίθενται 0.1 mL 4-ανισαλδεΰδης (1 mmol) και καταλυτική ποσότητα πιπεριδίνης. Τέλος, έπειτα από ανακρυστάλλωση με αιθανόλη, παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση: 47%, **Σημείο τήξης:** 182-183 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 182-183 °C [10]

^1H NMR (CDCl₃, 600MHz): 8.86 (s, 1H, N=CH), 8.29-8.28 (d, 1H, 1Ar_H, H₅), 7.86-7.85 (d, 2H, 2Ar_H, J= 9Hz, H₁₁, H₁₅), 7.76-7.73 (td, J₁=0.6 Hz, J₂=7.8 Hz, 1H, 1Ar_H, H₆), 7.70-7.68 (d, 1H, Ar_H, J= 8.4 Hz, H₈), 7.48-7.45 (t, 1H, 1Ar_H, J= 7.2 Hz, H₇), 7.01-7.00 (d, 2H, 2Ar_H, H₁₂, H₁₄), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 2.66 (s, 3H, CH₃).

UV-Vis: λ_{max} =301 nm

(E)-3-((4-ΝΙΤΡΟ-ΒΕΝΖΥΛΙΔΕΝΟ)ΑΜΙΝΟ)-2-ΜΕΘΥΛΟ-ΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(3H)-ΟΝΗ (5c)



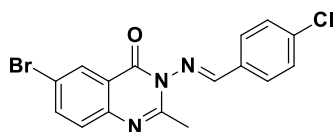
Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 300 mg (2 mmol) μορίου 3a διαλύονται σε 6 mL αιθανόλης μέσα σε σφαιρική φιάλη. Στη συνέχεια προστίθενται 260 mg 4-νίτρο-βενζαλδεΐδης (2 mmol) και καταλυτική ποσότητα πιπεριδίνης. Πραγματοποιείται ανακρυστάλλωση με αιθανόλη. Τέλος παραλαμβάνεται στερεό κίτρινου χρώματος.

Απόδοση: 52% **Σημείο τήξης:** 215-217 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 215-216 °C [9]

¹H NMR (CDCl₃, 600MHz): 9.47 (s, 1H, N=CH), 8.36-8.35 (d, 2H, 2Ar_H, J= 9 Hz, H₁₁, H₁₅), 8.30-8.28 (d, 1H, 1Ar_H, J= 7.2 Hz, H₅), 8.07-8.05 (d, 2H, 2Ar_H, J= 9 Hz, H₁₂, H₁₄), 7.79-7.76 (t, J= 7.8 Hz, 1H, 1Ar_H, H₆), 7.00-7.69 (d, 1H, Ar_H, J= 8.4 Hz, H₈), 7.51-7.48 (t, J= 7.2 Hz, 1H, 1Ar_H, H₇), 2.73 (s, 3H, CH₃)

UV-Vis: λ_{max}=280 nm

(E)-6-ΒΡΩΜΟ-3-((4-ΧΛΩΡΟ-ΒΕΝΖΥΛΙΔΕΝΟ)ΑΜΙΝΟ)-2-ΜΕΘΥΛΟ-ΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(3H)-ΟΝΗ (5d)



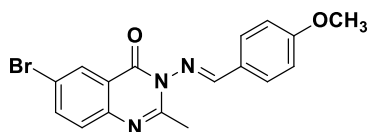
Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 154 mg (1 mmol) μορίου 3c διαλύονται σε 3 mL αιθανόλης μέσα σε σφαιρική φιάλη. Στη συνέχεια προστίθενται 85 mg 4-χλωρο-βενζαλδεΐδης (1 mmol) και καταλυτική ποσότητα πιπεριδίνης. Πραγματοποιείται ανακρυστάλλωση με αιθανόλη. Τέλος, παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση: 58%, **Σημείο τήξης:** 208-209 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 178 °C [11]

¹H NMR (CDCl₃, 600MHz): 9.04 (s, 1H, N=CH), 8.40 (d, J= 2.4 Hz, 1H, 1Ar_H, H₅), 7.84-7.81 (m, 3H, 3Ar_H, H₇, H₁₁, H₁₅), 7.55-7.53 (d, 1H, Ar_H, J= 8.4 Hz, H₈), 7.50-7.48 (d, 2H, 2Ar_H, J= 8.4 Hz, H₁₂, H₁₄), 2.65 (s, 3H, CH₃)

UV-Vis: λ_{max}=276 nm

(E)-6-ΒΡΩΜΟ-3-((4-ΜΕΘΟΞΥ-ΒΕΝΖΥΛΙΔΕΝΟ)ΑΜΙΝΟ)-2-ΜΕΘΥΛΟ-ΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(3H)-ΟΝΗ (5e)



Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 171 mg (1 mmol) μορίου 3b διαλύονται σε 3 mL αιθανόλης μέσα σε σφαιρική φιάλη. Στη συνέχεια προστίθενται 0.1 mL 4-ανισαλδεΐδης (1 mmol) και καταλυτική ποσότητα πιπεριδίνης. Τέλος, έπειτα από ανακρυστάλλωση με αιθανόλη,

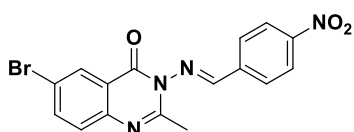
παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση: 87%, **Σημείο τήξης:** 213-216°C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 155 °C [11]

¹H NMR (CDCl₃, 600MHz): 8.81 (s, 1H, N=CH), 8.40 (d, 1H, 1Ar_H, J= 1.8Hz, H₅), 7.86-7.85 (d, 2H, 2Ar_H, J= 8,4 Hz, H₁₁, H₁₅), 7.81-7.79 (dd, J₁=2.4 Hz, J₂=9 Hz, 1H, 1Ar_H, H₇), 7.54-7.53 (d, 1H, Ar_H, J= 8.4 Hz, H₈), 7.01-7.00 (d, 2H, 2Ar_H, J= 8.4 Hz, H₁₂, H₁₄), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 2.62 (s, 3H, CH₃)

UV-Vis: λ_{max}=307 nm

(E)-6-ΒΡΩΜΟ-3-((4-ΝΙΤΡΟ-ΒΕΝΖΥΛΙΔΕΝΟ)ΑΜΙΝΟ)-2-ΜΕΘΥΛΟ-ΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(3H)-ΟΝΗ (5f)



Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 152 mg (1 mmol) μορίου **3c** διαλύονται σε 3 mL αιθανόλης μέσα σε σφαιρική φιάλη. Στη συνέχεια προστίθενται 96 mg 4-νίτρο-βενζαλδεΐδης (1 mmol) και καταλυτική ποσότητα πιπεριδίνης. Πραγματοποιείται ανακρυστάλλωση με αιθανόλη. Τέλος, έπειτα από ανακρυστάλλωση με αιθανόλη, παραλαμβάνεται στερεό κίτρινο χρώματος.

Απόδοση: 57%, **Σημείο τήξης:** 225-227°C

¹H NMR (CDCl₃, 600MHz): 8.81 (s, 1H, N=CH), 8.40 (d, 1H, 1Ar_H, J= 1.8Hz, H₅), 7.86-7.85 (d, 2H, 2Ar_H, J= 8,4 Hz, H₁₁, H₁₅), 7.81-7.79 (dd, J₁=2.4 Hz, J₂=9 Hz, 1H, 1Ar_H, H₇), 7.54-7.53 (d, 1H, Ar_H, J= 8.4 Hz, H₈), 7.01-7.00 (d, 2H, 2Ar_H, J= 8.4 Hz, H₁₂, H₁₄), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 2.62 (s, 3H, CH₃)

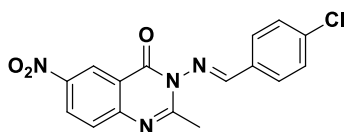
¹³C NMR (CDCl₃, 600 MHz): δ (ppm) 162.02, 158.09, 154.74, 150.05, 145.17, 138.81, 138.04, 129.92, 129.92, 129.56, 129.05, 124.32, 123.00, 120.40, 23.21

HRMS calcd for C₁₆H₁₂O₃N₄Br(M+H)⁺:m/z: 387.0103, found:387.0087

FT-IR, ν ~ /cm⁻¹: 1625-1620 (C=N), 1678- 1685 (CO), 2875-2985 (CH_{aliph}), and 3080-3098 (CH arom).

UV-Vis: λ_{max}=281 nm

(E)-6-NITRO-3-((4-NITRO-BENZYLIDENO)AMINO)-2-MΕΘΥΛΟ-KINAZOLIN-4(3H)-ONH (5g)



Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 170 mg (1 mmol) μορίου **3e** διαλύονται σε 3 mL αιθανόλης μέσα σε σφαιρική φιάλη. Στη συνέχεια προστίθενται 0.1 mL 4-χλωροβενζαλδεΐδης (1 mmol) και καταλυτική ποσότητα πιπεριδίνης. Πραγματοποιείται ανακρυστάλλωση με αιθανόλη. Τέλος, παραλαμβάνονται στερεό κίτρινου χρώματος.

Απόδοση: 77% , **Σημείο τήξης:** 213-215°C

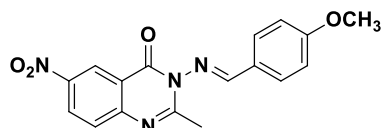
¹H NMR (CDCl₃, 600MHz): δ (ppm) 9.15 (s, 1H, N=CH), 8.54-7.26 (m, 8H, ArH), 2.71 (s, 3H, CH₃)

FT-IR, ν ~ /cm⁻¹: 1625-1620 (C=N), 1678- 1685 (CO), 2875-2985 (CH_{aliph}), and 3080-3098 (CH_{arom}),

HRMS calcd for C₁₆H₁₂O₃N₄Cl (M+H)⁺:m/z: 343.0587, found:343.0592

UV-Vis: λ_{max}= 345 nm

(E)-6-NITRO-3-((4-NITRO-BENZYLIDENO)AMINO)-2-MΕΘΥΛΟ-KINAZOLIN-4(3H)-ONH (5h)



Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 171 mg (1 mmol) μορίου **3e** διαλύονται σε 3 mL αιθανόλης μέσα σε σφαιρική φιάλη. Στη συνέχεια προστίθενται 0.1mL 4-ανισαλδεΐδης (1 mmol) και καταλυτική ποσότητα πιπεριδίνης. Πραγματοποιείται ανακρυστάλλωση με αιθανόλη. Τέλος παραλαμβάνονται στερεό κίτρινου χρώματος.

Απόδοση: 83%, **Σημείο τήξης:** 215-217 °C

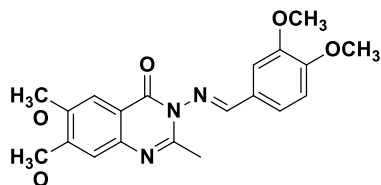
¹H NMR (CDCl₃, 600MHz): δ (ppm) 9.16 (s, 1H, N=CH), 8.82 (s, 1H, 1Ar_H, H₅), 8.52-8.51 (d, J=6 Hz, 1H, 1Ar_H, H₇), 7.87-7.86 (d, 2H, 2Ar_H, J= 6.6 Hz, H₁₁, H₁₅), 7.78-7.77 (d, 1H, Ar_H, J= 9 Hz, H₈), 7.03-7.02 (d, 2H, 2Ar_H, J= 7.8 Hz, H₁₂, H₁₄), 3.91 (s, 3H, OCH₃), 2.69 (s, 3H, CH₃)

FT-IR, ν ~ /cm⁻¹: 1589-1606 (C=N), 1675 (CO), 2844 (CH_{aliph}), and 3082 (CH_{arom}), 3456 (NH).

HRMS calcd for C₁₇H₁₅O₄N₄ (M+H)⁺:m/z: 339.1084, found:339.1088

UV-Vis: λ_{\max} = 348 nm

(E)-6,7-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-3-((3,4-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-BENZΥΛΙΔΕΝΟ)AMINO)-2-ΜΕΘΥΛΟ-KINAZOLIN-4(3H)-ONH (5i)



Παρασκευάζεται κατά την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 150mg (0.6 mmol) 3-αμινο-6,7-διμεθοξυ-2-μεθυλο-κιναζολιν-4(3H)-όνη και 0.6 mmol 3,4-διμεθοξυβενζαλδεΐδη. Έπειτα από ανακρυστάλλωση με αιθανόλη παραλαμβάνεται στερεό λευκού

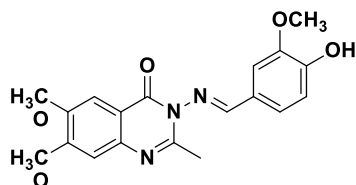
χρώματος.

Απόδοση: 42%, Σημείο τήξης: 206-211 °C

¹H NMR (CDCl₃, 600MHz): 8.80 (s, 1H, N=CH), 8.39 (d, 1H, 1Ar_H, J = 2,4 Hz, H₅), 7.76-7.74 (m, 3H, 3Ar_H, H₁₁, H₁₄, H₁₅), 7.53-7.51 (d, 1H, Ar_H, J = 8.4 Hz, H₈), 3.88 (s, 6H, OCH₃), 3.85 (s, 6H, OCH₃), 2.62 (s, 3H, CH₃)

UV-Vis: λ_{\max} = 308 nm

(E)-6,7-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-3-((3-ΜΕΘΟΞΥ-4-ΥΔΡΟΞΥ-BENZΥΛΙΔΕΝΟ)AMINO)-2-ΜΕΘΥΛΟ-KINAZOLIN-4(3H)-ONH (5j)



Παρασκευάζεται κατά την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 150 mg (0.6 mmol) 3-αμινο-6,7-διμεθοξυ-2-μεθυλο-κιναζολιν-4(3H)-όνη και 0.6 mmol βανιλίνης. Έπειτα από ανακρυστάλλωση με αιθανόλη παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση: 34%, Σημείο τήξης: 215-218 °C

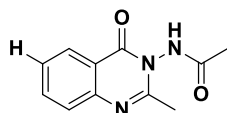
¹H NMR (CDCl₃, 600MHz): 8.80 (s, 1H, N=CH), 8.40 (d, 1H, 1Ar_H, J = 2.4 Hz, H₅), 7.87-7.84 (m, 3H, 3Ar_H, H₁₁, H₁₄, H₁₅), 7.53-7.52 (d, 1H, Ar_H, J = 8.4 Hz, H₈), 3.87 (s, 6H, OCH₃), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 2.62 (s, 3H, CH₃)

Σύνθεση αναλόγων Σειράς Γ με την μέθοδο V

Σε σφαιρική φιάλη εισάγεται ποσότητα της εκάστοτε κιναζολινόνης (1 mmol) μαζί με την ανάλογη ποσότητα ξηρού τολουολίου (5 mL) και αφήνεται λίγα λεπτά για ανάδευση. Στην συνέχεια προστίθενται το ακετυλοχλωρίδιο (2 mmol) και σταγόνες τριαιθυλαμίνης. Η αντίδραση αφήνεται στους 110 °C overnight. Ο έλεγχος της πορείας της αντίδρασης πραγματοποιείται με ανάλυση χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (χρησιμοποιούμενο

σύστημα διαλυτών πετρελαϊκός αιθέρας – οξικός αιθυλεστέρας σε αναλογία 6:4). Ακολουθεί είτε εκχύλιση και εξάτμιση του διαλύτη (οξικός αιθυλεστέρας), είτε διήθηση με διαιθυλεθέρα για την παραλαβή του προϊόντος. Τέλος, πραγματοποιείται ανακρυστάλλωση με διαλύτη αιθανόλη για τον περαιτέρω καθαρισμό του.

N-(2-ΜΕΘΥΛΟ-4-ΟΞΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-3(4H)-ΥΛ) ΑΚΕΤΑΜΙΔΙΟ (6a)



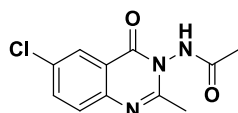
Παρασκευάζεται κατά την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 800 mg (5 mmol) 3-αμινο-2-μεθυλο-κιναζολιν-4(3H)-όνη (**3a**), 0.7 mL (9 mmol) ακετυλοχλωρίδιο και 25 mL τολουόλιο. Τέλος, πραγματοποιείται ανακρυστάλλωση με διαλύτη αιθανόλη και παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση: 87 %, **Σημείο τήξης:** 224-226 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 230 °C [12]

¹H NMR (CDCl₃, 300MHz): δ (ppm) 8.80 (s, 1H, NHCO), 8.19 (d, J= 7.8 Hz, 1H, H₅), 7.76 (t, J=8.1 Hz, 1H), 7.65 (d, J= 8.4Hz, 1H), 7.45 (t, J=7.5 Hz, 1H), 2.54 (s, 3H, COCH₃), 2.26 (s, 3H, CH₃)

UV-Vis: λ_{max} = 305 nm

N-(6-ΧΛΩΡΟ-2-ΜΕΘΥΛΟ-4-ΟΞΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-3(4H)-ΥΛ) ΑΚΕΤΑΜΙΔΙΟ (6b)



Παρασκευάζεται κατά την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 0,7 mmol (150 mg) 3-αμινο-6-χλωρο-2-μεθυλο-κιναζολιν-4(3H)-όνη, 1,4 mmol (0,11 mL) ακετυλοχλωρίδιο και 3,6 mL τολουόλιο. Τέλος, πραγματοποιείται ανακρυστάλλωση με διαλύτη αιθανόλη και παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση: 45 %, **Σημείο τήξης:** 206-208 °C

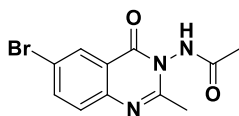
¹H NMR (DMSO-d₆, 300MHz): δ (ppm) 11.09 (s, 1H, NHCO), 8.04 (d, J=2.4 Hz, 1H, H₅), 7.90-7.86 (dd, J₁=2.4 Hz, J₂=8.7 Hz, 1H, H₇), 7.67 (d, J= 8.7 Hz, 1H, H₈), 2.38 (s, 3H, COCH₃), 2.11 (s, 3H, CH₃)

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 125 MHz): δ 169.1, 158.0, 156.8, 145.3, 135.1, 130.9, 129.2, 125.3, 121.9, 21.1, 20.4;

HRMS calcd for C₁₁H₁₁O₂N₃Cl (M+H)⁺:m/z: 252.0529, found:252.0534

UV-Vis: λ_{max}= 315 nm

N-(6-ΒΡΩΜΟ-2-ΜΕΘΥΛΟ-4-ΟΞΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-3(4H)-ΥΛ) ΑΚΕΤΑΜΙΔΙΟ (6c)



Παρασκευάζεται κατά την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 1230 mg (5 mmol) 3-αμινο-6-βρωμο-2-μεθυλο-κιναζολιν-4(3H)-όνη, 2,6 mL (10 mmol) ακετυλοχλωρίδιο και 25 mL τολουόλιο. Τέλος, πραγματοποιείται ανακρυστάλλωση με διαλύτη αιθανόλη και παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

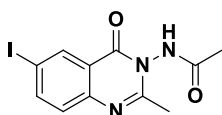
Απόδοση: 74 %, **Σημείο τήξης:** 228-230 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 215 °C [12]

¹H NMR (DMSO-d₆, 600 MHz): δ (ppm) 8.25 (d, J = 3.6 Hz, 1H, H₅), 8.06-8.03 (dd, J₁= 3.6 MHz, J₂ = 13.2 MHz, 1H, H₇), 7.70-7.68 (d, J = 13.2 Hz, 1H, H₈), 2.66 (s, 3H, CH₃), 2.09 (s, 3H, CH₃)

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 125 MHz): δ 162.1, 157.8, 157.0, 145.6, 137.8, 129.3, 128.4, 122.2, 119.0, 21.1, 20.5

UV-Vis: λ_{max} = 315 nm

N-(6-ΙΩΔΟ-2-ΜΕΘΥΛΟ-4-ΟΞΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-3(4H)-ΥΛ) ΑΚΕΤΑΜΙΔΙΟ (6d)



Παρασκευάζεται κατά την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 150 mg (0,5 mmol) 3-αμινο-6-ιωδο-2-μεθυλο-κιναζολιν-4(3H)-όνη, 0,08 mL (1,0 mmol) ακετυλοχλωρίδιο και 3 mL τολουόλιο. Τέλος, πραγματοποιείται ανακρυστάλλωση με διαλύτη αιθανόλη και παραλαμβάνεται στερεό μπεζ χρώματος.

Απόδοση: 42 %, **Σημείο τήξης:** 182-184 °C

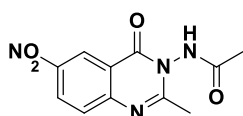
¹H NMR (DMSO-d₆, 300MHz): δ (ppm) 11.17 (s, 1H, NHCO), 8.79 (d, J=1.8 Hz, 1H, H₅), 8.15-8.12 (dd, J₁=1.8 Hz, J₂=8.4 Hz, 1H, H₇), 7.44 (d, J= 8.7 Hz, 1H, H₈), 2.37 (s, 3H, COCH₃), 2.10 (s, 3H, CH₃),

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 125 MHz): δ 169.1, 157.7, 157.0, 145.9, 143.3, 134.5, 129.1, 122.4, 91.6, 21.1, 20.5;

HRMS calcd for C₁₁H₁₁O₂N₃I (M+H)⁺:m/z: 343.9884, found:343.9890

UV-Vis: λ_{max}= 318 nm

N-(6-NITPO-2-ΜΕΘΥΛΟ-4-ΟΞΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-3(4H)-ΥΛ) ΑΚΕΤΑΜΙΔΙΟ (6e)



Παρασκευάζεται κατά την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 150 mg (0,5 mmol) 3-αμινο-6-νιτρο-2-μεθυλο-κιναζολιν-4(3H)-όνη, 0,08 mL (1,0 mmol) ακετυλοχλωρίδιο και 3 mL τολουόλιο. Τέλος, πραγματοποιείται ανακρυστάλλωση με διαλύτη

αιθανόλη και παραλαμβάνεται στερεό κίτρινου χρώματος.

Απόδοση: 76 %, **Σημείο τήξης:** 242-244 °C

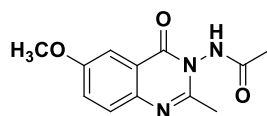
¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ (ppm) 11.21 (s, 1H, NHCO), 8.78 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, H₅), 8.58 (dd, *J* = 9.0, 2.7 Hz, 1H, H₇), 7.84 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, H₈), 2.45 (s, 3H, CH₃), 2.13 (s, 3H, CH₃)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 169.2, 160.2, 158.2, 150.6, 145.0, 129.0, 128.8, 122.5, 120.7, 21.4, 20.4

HRMS calcd for C¹¹H₁₁O₄N₄ (M+H)⁺: m/z: 26.0768, found: 263.0772

UV-Vis: λ_{max} = 329 nm

N-(6-ΜΕΘΟΞΥ-2-ΜΕΘΥΛΟ-4-ΟΞΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-3(4H)-ΥΛ) ΑΚΕΤΑΜΙΔΙΟ (6f)



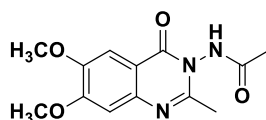
Παρασκευάζεται κατά την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 390 mg (2 mmol) 3-αμινο-6-μεθοξυ-2-μεθυλο-κιναζολιν-4(3H)-όνη, 0,3 mL (4 mmol) ακετυλοχλωρίδιο και 10 mL τολουόλιο. Τέλος, πραγματοποιείται ανακρυστάλλωση με διαλύτη αιθανόλη και παραλαμβάνεται στερεό λευκού

χρώματος.

Απόδοση: 72 % **Σημείο τήξης:** 216-218 °C

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz): δ(ppm) 11.08 (s, 1H, NHCO), 7.80 (s, 1H, H₅), 7.41-7.40 (d, 1H, *J*=7.8 Hz, H₇), 7.15-7.14 (d, 1H, *J*=8 Hz, H₈), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 2.54 (s, 3H, CH₃), 2.10 (s, 3H, CH₃)

N-(6,7-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2-ΜΕΘΥΛΟ-4-ΟΞΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-3(4H)-ΥΛ) ΑΚΕΤΑΜΙΔΙΟ (6g)



Παρασκευάζεται κατά την γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 150 mg (0,6 mmol) 3-αμινο-6,7-διμεθοξυ-2-μεθυλο-κιναζολιν-4(3H)-όνη, 0,1 mL (1,2 mmol) ακετυλοχλωρίδιο και 3,2 mL τολουόλιο. Τέλος, πραγματοποιείται ανακρυστάλλωση με διαλύτη αιθανόλη και παραλαμβάνεται στερεό λευκού

χρώματος.

Απόδοση: 70 % **Σημείο τήξης:** 222-225 °C

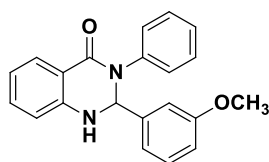
¹H NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz): δ(ppm) 11.11 (s, 1H, NHCO), 7.39 (s, 1H, H₅), 7.16 (s, 1H, H₈), 3.91 (s, 3H, OCH₃), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 2.38 (s, 3H, CH₃), 2.10 (s, 3H, CH₃)

UV-Vis: λ_{\max} = 311 nm

Σύνθεση αναλόγων Σειράς Δ με την μέθοδο VI

Κατά την σύνθεση των αναλόγων της Σειράς Δ ακολουθήθηκαν δύο μέθοδοι με την χρήση φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών, τόσο η συμβατική μέθοδος με θέρμανση στους 50-70 °C υπό κάθετο ψυκτήρα όσο και με τη μέθοδο υποβοηθούμενη από υπέρηχη ακτινοβολία. Για τη μέθοδο σύνθεσης με υπερήχους προστίθεται σε ποτήρι ζέσεως 5 mL, κατάλληλη ποσότητα NaDES (~2g), καθώς και κατάλληλες ποσότητες ισατοϊκού ανυδρίτη, ένυδρης υδραζίνης και υποκατεστημένης βενζαλδεΐδης. Η αντίδραση πραγματοποιείται στη συσκευή υπερήχων σε συνθήκες 80 W για χρόνο 2-15 λεπτών. Μετά το πέρας του χρόνου, στο ποτήρι ζέσεως προστίθεται νερό ώστε να σταματήσει η αντίδραση και κατόπιν το μείγμα αφήνεται για ψύξη. Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον καθαρισμό της επιθυμητής ένωσης. Στη συνέχεια παρουσιάζονται οι ενώσεις που συντέθηκαν με τη μέθοδο των υπερήχων.

2-(3-ΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(*p*-ΤΟΛΥΛΟ)-2,3-ΔΙΪΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1*H*)-ΟΝΗ (10a)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο IV με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 150 mg (1.5 mmol) *p*-τολουιδίνης και 128 mg (1 mmol) 3-μεθοξυβενζαλδεΐδης. Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον καθαρισμό της επιθυμητής ένωσης. Παραλαμβάνεται στερεό λευκού

χρώματος.

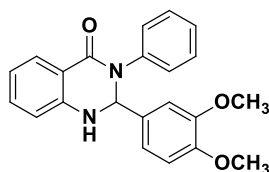
Απόδοση: 77%, **Σημείο τήξης:** 178-181 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 186-188 °C [13]

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 8.19 (dd, *J*=7.8 Hz, 1H), 7.48-7.44 (dt, *J*=8.4 Hz, 2H), 7.35 (t, *J*=7.8 Hz, 1H), 7.10-7.04 (m, 3H), 6.98 (dd, *J*=8.4 Hz, 1H), 6.79 (d, *J*=7.8 Hz, 1H), 6.20 (s, -CH, 1H), 4.94 (s, -NH, 1H), 3.88 (s, -OCH₃, 3H), 2.46 (s, -CH₃, 3H),

FT-IR (KBr): ν / cm⁻²¹: ν = 3300, 1637, 1613, 1512, 1487, 1389, 1258, 1155, 1036, 756 cm⁻¹

UV-Vis: λ_{\max} =260 nm

2-(3,4-ΔΙΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-ΦΑΙΝΥΛΟ-2,3-ΔΙΪΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1*H*)-ΟΝΗ (10b)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο IV με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 139 mg (1.5 mmol) ανιλίνης και 154 mg (1 mmol) 3,4-διμεθοξυβενζαλδεΐδης. Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον καθαρισμό της επιθυμητής ένωσης. Παραλαμβάνεται στερεό μπεζ

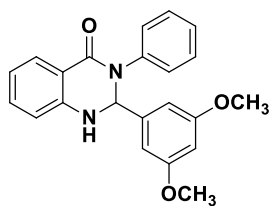
χρώματος.

Απόδοση: 65% **Σημείο τήξης:** 231-233 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 233-235 °C [14]

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 8.02 (d, J=7.8 Hz, 1H), 7.32 (t, J=7.2 Hz, 1H), 7.28 (d, J=7.8 Hz, 1H), 7.18 (d, J=7.8 Hz, 3H), 6.91-6.85 (m, 3H), 6.71 (d, J=7.8 Hz, 1H), 6.65 (d, J=8.4 Hz, 1H), 6.07 (s, -CH, 1H), 4.72 (s, -NH, 1H), 3.82 (s, -OCH₃, 3H), 3.74 (s, -OCH₃, 3H)

UV-Vis: λ_{max}=260 nm

2-(3,5-ΔΙΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-ΦΑΙΝΥΛΟ-2,3-ΔΙΪΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (10c)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο IV με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 139 mg (1.5 mmol) ανιλίνης και 153 mg (1 mmol) 3,5-διμεθοξυβενζαλδεΰδης. Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον καθαρισμό της επιθυμητής ένωσης. Παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

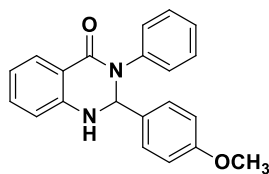
Απόδοση: 58%, **Σημείο τήξης:** 187-190 °C

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 9.91 (s, 1H), 8.02 (dd, J=7.2 Hz, 1H), 7.33-7.29 (m, 2H), 7.24-7.18 (m, 2H), 7.02 (d, J=1.8 Hz, 1H), 6.90 (t, J=7.2 Hz, 1H), 6.72-6.71 (m, 1H), 6.66 (d, J=8.4 Hz, 1H), 6.50 (d, J=1.8 Hz, 1H), 6.34 (t, J=1.8 Hz, 1H), 6.02 (s, -CH, 1H), 3.85 (s, -OCH₃, 2H), 3.68 (s, -OCH₃, 3H)

ESI-MS (m/z): 361.1, [M]⁺ 20%

UV-Vis: λ_{max}=203 nm

2-(4-ΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-ΦΑΙΝΥΛΟ-2,3-ΔΙΪΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (10d)



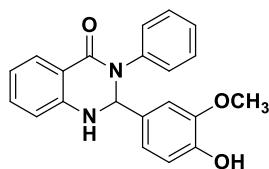
Παρασκευάζεται με τη μέθοδο IV με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 139 mg (1.5 mmol) ανιλίνης και 127 mg (1 mmol) 4-μεθοξυβενζαλδεΰδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 40% της ενέργειας (160 W) για χρονική διάρκεια 2 λεπτών. Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον καθαρισμό της επιθυμητής ένωσης. Παραλαμβάνεται στερεό μπεζ χρώματος.

Απόδοση: 70% **Σημείο τήξης:** 199-200 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 201-203 °C [13], [15]

¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz): δ 8.02 (d, J=7.2 Hz, 1H), 7.32-7.27 (m, 3H), 7.17 (d, J=8.4 Hz, 3H), 6.88 (t, J=7.2 Hz, 1H), 6.77 (d, J=8.4 Hz, 2H), 6.63 (d, J=7.8 Hz, 1H), 6.06 (s, -CH, 1H), 4.74 (s, -NH, 1H), 3.74 (s, -OCH₃, 3H)

UV-Vis: λ_{\max} =260 nm

2-(4-ΥΔΡΟΞΥ-3-ΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-ΦΑΙΝΥΛΟ-2,3-ΔΙΪΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (10e)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο IV με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 139 mg (1.5 mmol) ανιλίνης και 155 mg (1 mmol) 4-υδροξυ-3-μεθοξυβενζαλδεΐδης. Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον καθαρισμό της επιθυμητής ένωσης. Παραλαμβάνεται στερεό πορτοκαλί χρώματος.

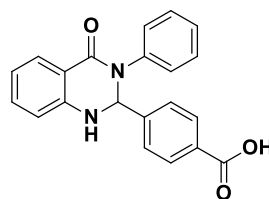
Απόδοση: 90% **Σημείο τήξης:** 205-207 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 209-211 °C [16]

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 9.02 (s, -OH, 1H), 7.71 (d, J=7.8 Hz, 1H), 7.48 (s, -4H, 1H), 8.14 (d, J=8.4 Hz, 2H), 7.56 (t, J=7.2 Hz, 1H), 7.53 (d, J=7.8 Hz, 2H), 7.47 (t, J=7.2 Hz, 1H), 7.16 (d, J=7.8 Hz, 2H), 7.13 (d, J=7.8 Hz, 1H), 3.65 (s, -OCH₃, 3H);

FT-IR (KBr): ν (cm⁻¹) 3295, 1616, 1508, 1452, 1263, 1028, 752 cm⁻¹

UV-Vis: λ_{\max} =258 nm

4-(4-ΟΞΟ-3-ΦΑΙΝΥΛΟ-1,2,3,4-ΤΕΤΡΑΪΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-2-ΥΛ)ΒΕΝΖΟΪΚΟ ΟΞΥ (10f)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο IV με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 139 mg (1.5 mmol) ανιλίνης και 148 mg (1 mmol) 4-φορμυλβενζοϊκού οξέος (4-καρβοξυβενζαλδεΐδης). Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον καθαρισμό της επιθυμητής ένωσης.

Παραλαμβάνεται στερεό καφέ χρώματος.

Απόδοση: 92%, **Σημείο τήξης:** 148-150 °C

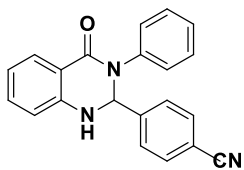
¹H NMR (DMSO-d₆, 600 MHz): δ 8.04 (dt, J=8.4 Hz, J=9 Hz, 1H), 7.86 (d, J=7.8 Hz, 2H), 7.72 (t, J=7.8 Hz, 2H), 7.50 (d, J=7.8 Hz, 2H), 7.35-7.25 (m, 5H), 7.20 (t, J=7.2 Hz, 1H), 6.77-6.72 (m, 2H), 6.38 (s, -CH, 1H), 2.27 (s, 3H)

¹³C NMR (DMSO-d₆, 600 MHz): δ 167.38, 162.62, 146.77, 145.76, 141.02, 134.34, 131.23, 129.86, 129.14, 128.46, 127.26, 126.69, 72.71

HRMS calcd for C₂₁H₁₇O₃N₂ (M+H)⁺:m/z: 345.1229, found:345.1234

UV-Vis: λ_{\max} =259 nm

4-(4-ΟΞΟ-3-ΦΑΙΝΥΛΟ-1,2,3,4-ΤΕΤΡΑΪΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-2-ΥΛ)ΒΕΝΖΟΝΙΤΡΙΑΙΟ (10g)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο IV με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 139 mg (1.5 mmol) ανιλίνης και 131 mg (1 mmol) 4-φορμυλβενζονιτριλίου (4-κυανοβενζαλδεΐδης). Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον καθαρισμό της επιθυμητής ένωσης. Παραλαμβάνεται

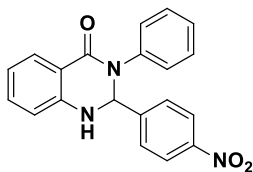
στερεό καφέ χρώματος.

Απόδοση: 30%, **Σημείο τήξης:** 188-190 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 201-202 °C [17]

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 10.80 (s, -CH, 1H), 8.57 (s, -NH, 1H), 8.43 (d, J=7.8 Hz, 1H), 8.08 (d, J=7.8 Hz, 2H), 7.87 (d, J=7.8 Hz, 2H), 7.64 (d, J=7.8 Hz, 2H), 7.57 (t, J=7.8 Hz, 1H), 7.48 (t, J=7.8 Hz, 1H), 7.35 (t, J=7.8 Hz, 2H), 7.12 (d, J=5.4 Hz, 2H)

ESI- MS (m/z): 326.1 [M]⁺ 60%

2-(4-ΝΙΤΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-3-ΦΑΙΝΥΛΟ-2,3-ΔΙΪΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (10h)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο IV με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 139 mg (1.5 mmol) ανιλίνης και 149 mg (1 mmol) 4-νιτροβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 7 λεπτών. Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον καθαρισμό της

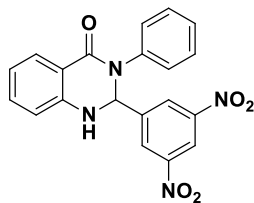
επιθυμητής ένωσης. Παραλαμβάνεται στερεό κίτρινου χρώματος.

Απόδοση: 38%, **Σημείο τήξης:** 159-161 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 191-192 °C [18]

¹H NMR (600 MHz, DMSO-d₆): δ 10.48 (s, -CH, 1H), 8.83 (s, -NH, 1H), 8.38 (d, J=9 Hz, 2H), 8.21 (d, J=8.4 Hz, 2H), 7.83 (d, J=7.8 Hz, 1H), 7.69 (d, J=7.8 Hz, 2H), 7.62 (t, J=7.2 Hz, 1H), 7.44 (t, J=7.2 Hz, 1H), 7.38 (d, J=7.8 Hz, 1H), 7.32 (t, J=7.8 Hz, 2H), 7.07 (t, J=7.2 Hz, 1H)

UV-Vis: λ_{max}=261 nm

2-(2,4-ΔΙΝΙΤΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-3-ΦΑΙΝΥΛΟ-2,3-ΔΙΪΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (10i)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο IV με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 139 mg (1.5 mmol) ανιλίνης και 190 mg (1 mmol) 2,4-δινιτροβενζαλδεΐδης. Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον καθαρισμό της επιθυμητής ένωσης. Παραλαμβάνεται στερεό πορτοκαλί χρώματος.

Απόδοση: 37%, **Σημείο τήξης:** 174-177 °C

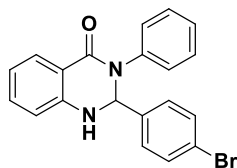
¹H NMR (600 MHz, DMSO-d₆): δ 10.40 (s, -CH, 1H), 8.99 (s, -NH, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.64 (d, J=7.8 Hz, 1H), 8.35 (d, J=7.8 Hz, 1H), 7.76 (d, J=7.2 Hz, 1H), 7.70 (d, J=7.8 Hz, 2H), 7.64 (t, J=7.2 Hz, 1H), 7.47 (t, J=7.2 Hz, 1H), 7.33 (d, J=7.2 Hz, 3H), 7.08 (t, J=6.6 Hz, 1H)

FT-IR (KBr): ν/ cm⁻¹: ν= 3243, 3097, 1661, 1593, 1524, 1341, 767 cm⁻¹

HRMS calcd for C₂₀H₁₅O₅N₄ (M+H)⁺: m/z: 391.1033, found: 391.1037

UV-Vis: λ_{max}=260 nm

2-(4-ΒΡΩΜΟΦΑΙΝΥΛΟ)-3-ΦΑΙΝΥΛΟ-2,3-ΔΙΪΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (10j)



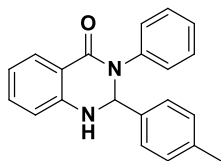
Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση 0.92 mmol (150 mg) 1H-βενζο[d][1,3]οξαζιν-2,4-διόνης (ισατοϊκού ανυδρίτη), 1.38 mmol (128.45 mg) ανιλίνης και 0.92 mmol (170.13 mg) 4-βρωμοβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 7 λεπτών. Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον καθαρισμό της επιθυμητής ένωσης. Παραλαμβάνεται στερεό μπεζ χρώματος.

Απόδοση: 49% **Σημείο τήξης:** 212-214 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 216-218 °C [18]

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 7.94 (d, J=7.8 Hz, 1H), 7.88 (d, J=9 Hz, 1H), 7.68 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.62 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.53 (t, J=7.8 Hz, 1H), 7.30 (d, J=8.4 Hz, 2H), 7.23-7.18 (m, 6H), 7.12-7.08 (m, 5H), 6.75 (t, J=7.8 Hz, 1H), 6.61 (d, J=7.8 Hz, 1H), 6.00 (s, -CH, 1H)

UV-Vis: λ_{max}=219 nm

2-(4-ΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-ΦΑΙΝΥΛΟ-2,3-ΔΙΪΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (10k)

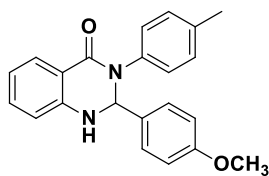


Παρασκευάζεται με τη μέθοδο IV με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 139 mg (1.5 mmol) ανιλίνης και 136 mg (1 mmol) 4-μεθοξυβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 10 λεπτών. Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον καθαρισμό της επιθυμητής ένωσης. Παραλαμβάνεται στερεό μπεζ χρώματος.

Απόδοση: 74 % **Σημείο τήξης:** 211-212 °C

¹H NMR (DMSO-d₆, 600 MHz): δ 7.71 (d, J=7.2 Hz, 1H), 7.58 (s, -NH, 1H), 7.32 (t, J=7.8 Hz, 2H), 7.25 (d, J= 7.8 Hz, 5H), 7.18 (t, J=7.2 Hz, 1H), 7.10 (d, J=7.8 Hz, 2H), 6.75-6.69 (m, 2H), 6.22 (s, -CH, 1H), 2.22 (s, -CH₃, 3H)

2-(4-ΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(*p*-ΤΟΛΥΛΟ)-2,3-ΔΙΪΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (11a)

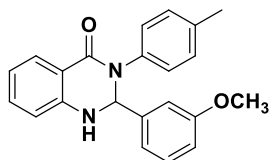


Παρασκευάζεται με τη μέθοδο IV με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 400 mg (2.5 mmol), 404 mg (3.75 mmol) *p*-τολουιδίνης και 334 mg (2.5 mmol) 4-μεθοξυβενζαλδεΐδης. Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον καθαρισμό της επιθυμητής ένωσης. Παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση: 55%, **Σημείο τήξης:** 231-233 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 241-243 °C [19]

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 7.86 (d, J=7.8 Hz, 1H), 7.19 (d, J=8.4 Hz, 3H), 6.99-6.95 (q, J=13.2 Hz, 4H), 6.73 (t, J=7.2 Hz, 1H), 6.67 (d, J=8.4 Hz, 2H), 6.58 (d, J=7.8 Hz, 1H), 5.94 (s, -CH, 1H), 5.50 (s, -NH, 1H), 3.65 (s, -OCH₃, 3H), 2.19 (s, -CH₃, 3H)

2-(3-ΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(*p*-ΤΟΛΥΛΟ)-2,3-ΔΙΪΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (11b)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 161 mg (1.5 mmol) *p*-τολουιδίνης και 136 mg (1 mmol) 3-μεθοξυβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 15 λεπτών. Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον καθαρισμό της επιθυμητής ένωσης. Παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση: 77 % **Σημείο τήξης:** 179-181 °C

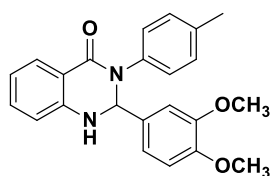
¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz): δ 8.19 (dd, J=7.8 Hz, 1H), 7.48-7.44 (dt, J=8.4 Hz, 1H), 7.35 (t, J=7.8 Hz, 1H), 7.10-7.04 (m, 3H), 6.98 (dd, J=8.4 Hz, 1H), 6.79 (d, J=7.8 Hz, 1H), 6.20 (s, -CH, 1H), 4.94 (s, -NH, 1H), 3.88 (s, -OCH₃, 3H), 2.46 (s, -CH₃, 3H),

¹³C NMR (DMSO-d₆, 600 MHz): δ 162.15, 159.15, 146.50, 142.45, 138.29, 135.22, 133.64, 129.45, 129.06, 127.87, 125.98, 118.67, 117.47, 115.40, 114.72, 113.26, 112.65, 72.51, 54.98, 20.52

HRMS calcd for C₂₂H₂₁O₂N₂ (M+H)⁺:m/z: 345.1588, found:345.1598

UV-Vis: λ_{max}=259 nm

2-(3,4-ΔΙΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(*p*-ΤΟΛΥΛΟ)-2,3-ΔΙΨΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1*H*)-ΟΝΗ (11c)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 161 mg (1.5 mmol) *p*-τολουιδίνης και 166 mg (1 mmol) 3,4-διμεθοξυβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 15 λεπτών. Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον καθαρισμό της επιθυμητής ένωσης. Παραλαμβάνεται στερεό μπεζ χρώματος.

Απόδοση: 45% **Σημείο τήξης:** 190-193 °C

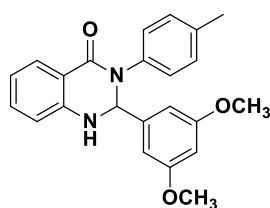
¹H NMR (600 MHz, DMSO-d₆): δ 11.73 (s, 2H), 7.92 (d, J=6.6 Hz, 2H), 7.74-7.70 (m, 3H), 7.50 (s, 1H), 7.25 (t, J=7.2, 3H), 7.16-7.13 (m, 6H), 7.00 (s, -NH, 1H), 6.83 (s, 2H), 6.75-6.70 (m, 2H), 6.16 (s, -CH, 1H), 3.67 (s, -OCH₃, 3H), 3.65 (s, -OCH₃, 3H), 2.26 (s, -CH₃, 3H)

FT-IR (KBr): ν/ cm⁻¹: ν= 3298, 1633, 1613, 1513, 1487, 1363, 1262, 1010, 766, cm⁻¹

HRMS calcd for C₂₃H₂₃O₃N₂ (M+H)⁺:m/z: 375.1697, found:375.1703

UV-Vis: λ_{max}=259 nm

2-(3,5-ΔΙΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(*p*-ΤΟΛΥΛΟ)-2,3-ΔΙΨΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1*H*)-ΟΝΗ (11d)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 161 mg (1.5 mmol) *p*-τολουιδίνης και 166 mg (1 mmol) 3,5-διμεθοξυβενζαλδεΐδης. Ανάδευση σε θερμοκρασία 50 °C για χρονική διάρκεια 5 ωρών. Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον καθαρισμό της

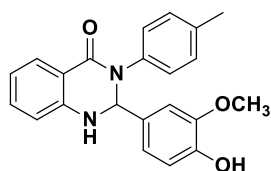
επιθυμητής ένωσης. Παραλαμβάνεται στερεό μπεζ χρώματος.

Απόδοση: 50% **Σημείο τήξης:** 175-176 °C

¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz): δ 9.91 (s, 1H), 8.02 (d, J=7.8 Hz, 1H), 7.29 (t, J=8.4 Hz, 1H), 7.10 (s, 4H), 7.02 (s, 1H), 6.88 (t, J=7.2 Hz, 1H), 6.71 (d, J=1.8 Hz, 1H), 6.62 (d, J=7.8 Hz, 1H), 6.49 (s, 2H), 6.34 (s, -CH, 1H), 5.98 (s, -NH, 1H), 3.85 (s, -OCH₃, 3H), 3.68 (s, -OCH₃, 6H), 2.29 (s, -CH₃, 3H)

UV-Vis: λ_{max}=203 nm

2-(4-ΥΔΡΟΞΥ-3-ΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(*p*-ΤΟΛΥΛΟ)-2,3-ΔΙΥΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (11e)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 161 mg (1.5 mmol) *p*-τολουιδίνης και 156 mg (1 mmol) βανιλίνης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 15 λεπτών. Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον καθαρισμό της επιθυμητής ένωσης. Παραλαμβάνεται

στερεό υποκίτρινου χρώματος.

Απόδοση: 44%, **Σημείο Τήξης:** 197-201 °C

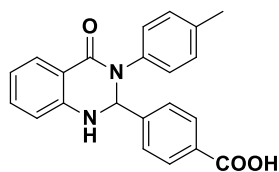
¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz): δ (ppm) 9.17(s, -OH, 1H), 7.85(dd, J₁=8.1Hz, J₂=2.1Hz, 1H), 7.58(d, J=2.4Hz, -NH, 1H), 7.43-7.40(m, 1H), 7.28-7.24(m, 4H), 7.09(d, J=3Hz, 1H), 6.92-6.83(m, 3H), 6.78(d, J=8.4Hz, 1H), 6.25(d, J=2.4Hz, -CH, 1H), 3.8(s, -OCH₃, 3H), 2.4 (s, -CH₃, 3H).

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

HRMS calcd for C₂₂H₁₉O₃N₂ (M+H)⁺:m/z: 359.1392, found: 359.1435

UV-Vis: λ_{max}=259 nm

**4-(4-ΟΞΟ-3-(*p*-ΤΟΛΥΛΟ)-1,2,3,4-ΤΕΤΡΑΪΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-2-ΥΛ)ΒΕΝΖΟΪΚΟ ΟΞΥ
(11f)**



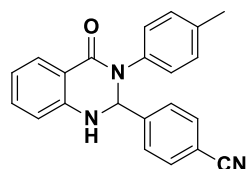
Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 161 mg (1.5 mmol) *p*-τολουιδίνης και 150 mg (1 mmol) 4-φορμυλβενζοϊκού οξέος. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 8 λεπτών. Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον καθαρισμό της επιθυμητής ένωσης. Παραλαμβάνεται στερεό υποκίτρινου χρώματος.

Απόδοση: 42% **Σημείο τήξης:** 193-195 °C

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11.72 (s, -CH, 2H), 8.72 (s, -NH, 1H), 8.02-8.07 (q, J=17.4 Hz, 4H), 7.92 (d, J=7.8 Hz, 2H), 7.74 (t, J=8.4 Hz, 2H), 7.25 (t, J=7.8 Hz, 6H), 7.16 (d, J=7.8 Hz, 2H), 2.33 (s, -CH₃, 3H)

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz): δ 166.95, 159.92, 158.93, 148.36, 147.34, 141.42, 139.81, 136.96, 132.82, 129.79, 128.96, 128.59, 123.54, 121.17, 115.36, 110.30, 20.66

**4-(4-ΟΞΟ-3-(*p*-ΤΟΛΥΛΟ)-1,2,3,4-ΤΕΤΡΑΪΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-2-ΥΛ)ΒΕΝΖΟΝΙΤΡΙΛΙΟ
(11g)**



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 161 mg (1.5 mmol) *p*-τολουιδίνης και 130 mg (1 mmol) 4-φορμυλβενζονιτριλίου (4-κυανοβενζαλδεΐδης). Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 10 λεπτών. Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον καθαρισμό της επιθυμητής ένωσης. Παραλαμβάνεται στερεό κίτρινου χρώματος.

Απόδοση: 80% **Σημείο τήξης:** 208-210 °C

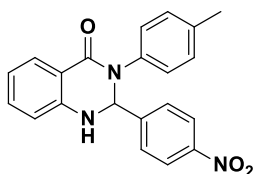
¹H NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz): δ 10.42 (s, -CH, 1H), 8.76 (d, J=7.2 Hz, 1H), 8.13 (d, J=7.8 Hz, 2H), 8.02 (d, J=7.8 Hz, 2H), 7.83 (d, J=7.2 Hz, 1H), 7.60 (t, J=7.8 Hz, 1H), 7.56 (d, J=8.4 Hz, 2H), 7.42 (t, J=7.8 Hz, 1H), 7.35 (d, J=7.8 Hz, 1H), 7.25 (s, -NH, 1H), 7.13 (d, J=8.4 Hz, 2H), 2.26 (s, -CH₃, 3H)

FT-IR (KBr): ν/ cm⁻¹: ν= 2229, 1661, 1602, 1548, 1516, 1322, 835, 805, 763, 689 cm⁻¹

ESI-MS (m/z): 340.1 [M]⁺ 100%

UV-Vis: λ_{max}=268 nm

**2-(4-ΝΙΤΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(*p*-ΤΟΛΥΛΟ)-2,3-ΔΙΪΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝΟΝ-4(1*H*)-ΟΝΗ
(11h)**



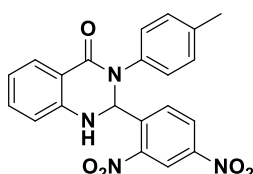
Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 161 mg (1.5 mmol) *p*-τολουιδίνης και 151 mg (1 mmol) 4-νιτροβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 10 λεπτών. Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον καθαρισμό της επιθυμητής ένωσης. Παραλαμβάνεται στερεό κίτρινου χρώματος.

Απόδοση: 80% **Σημείο τήξης:** 201-204 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 205-208 °C [20]

¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz): δ 10.70 (s, -CH, 1H), 8.61 (s, -NH, 1H), 8.41 (d, J=8.4 Hz, 3H), 8.14 (d, J=8.4 Hz, 2H), 7.56 (t, J=7.2 Hz, 1H), 7.53 (d, J=7.8 Hz, 2H), 7.47 (t, J=7.2 Hz, 1H), 7.16 (d, J=7.8 Hz, 2H), 7.13 (d, J=7.8 Hz, 1H), 2.32 (s, -CH₃, 3H)

UV-Vis: λ_{max}=264 nm

**2-(2,4-ΔΙΝΙΤΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(*p*-ΤΟΛΥΛΟ)-2,3-ΔΙΪΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1*H*)-ΟΝΗ
(11i)**



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 161 mg (1.5 mmol) *p*-τολουιδίνης και 196 mg (1 mmol) 2,4-δινιτροβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 10 λεπτών. Παραλαμβάνεται στερεό πορτοκαλί χρώματος.

Απόδοση: 85% **Σημείο τήξης:** 178-182 °C

¹H NMR (600 MHz, DMSO-d₆): δ 10.31 (s, -CH, 1H), 8.99 (d, J=7.2 Hz, 2H), 8.83 (d, J=5.4 Hz, 1H), 8.64 (d, J=9 Hz, 2H), 8.43 (d, J=9 Hz, 1H), 8.35 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.76 (d, J=7.2 Hz, 1H), 7.63 (t, J=7.2 Hz, 1H), 7.58 (d, J=7.8 Hz, 2H), 7.46 (t, J=7.2 Hz, 1H), 7.33-7.27 (m, 5H), 7.13 (d, J=7.8 Hz, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.26 (s, -CH₃, 3H)

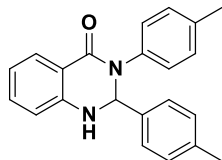
¹³C NMR (DMSO-d₆, 600 MHz): δ 164.74, 160.64, 149.16, 148.34, 141.07, 136.41, 132.54, 131.67, 130.39, 129.90, 129.23, 129.18, 126.80, 124.16, 119.58, 119.15, 20.47

FT-IR (KBr): ν/ cm⁻¹: ν= 3247, 3109, 1663, 1595, 1540, 1342, 832 cm⁻¹

HRMS calcd for C₂₁H₁₇O₅N₄ (M+H)⁺:m/z: 405.1190, found:405.1193

UV-Vis: λ_{max}=260 nm

2-(4-NITΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(*p*-ΤΟΛΥΛΟ)-2,3-ΔΙΪΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝΟΝ-4(1*H*)-ΟΝΗ (11j)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 161 mg (1.5 mmol) *p*-τολουιδίνης και 120 mg (1 mmol) 4-μεθυλοβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 10 λεπτών. Παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

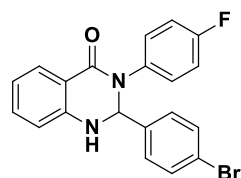
Απόδοση: 73% Σημείο τήξης: 233-234 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 242-243 °C [15]

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11.70 (s, -CH, 1H), 8.71 (s, -NH, 1H), 7.71-7.70 (d, J=8.4 Hz, 2H), 7.55-7.53 (d, J=7.8 Hz, 1H), 7.23-7.20 (m, 3H), 7.13-7.10 (m, 4H), 7.26 (s, 4H), 7.09-7.07 (m, 2H), 2.25 (s, -CH₃,3H), 2.22 (s, -CH₃,3H)

FT-IR spectrum (cm⁻¹): 3302, 1637, 1608, 1512, 1485, 1390, 1109, 818 cm⁻¹

UV-Vis: λ_{max}=350 nm

2-(4-ΒΡΩΜΟΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(4-ΦΘΟΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΪΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1*H*)-ΟΝΗ (12a)

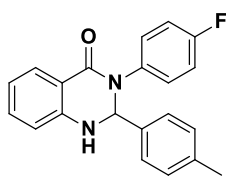


Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 167 mg (1.5 mmol) 4-φθοροανιλίνης και 185 mg (1 mmol) 4-βρωμοβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 10 λεπτών. Παραλαμβάνεται στερεό μπεζ χρώματος.

Απόδοση: 65% Σημείο τήξης: 239-241 °C

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 11.10 (s, -CH, 1H), 8.49 (s, -NH, 1H), 8.42 (d, J=7.8 Hz, 1H), 7.83 (d, J=8.4 Hz, 2H), 7.73 (d, J=8.4 Hz, 2H), 7.62-7.60 (m, 2H), 7.57-7.54 (td, J=7.8 Hz, 1H), 7.45 (t, J=7.8 Hz, 1H), 7.11 (d, J=7.8 Hz, 1H), 7.03 (t, J=8.4 Hz, 2H)

2-(4-ΜΕΘΥΛΟΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(4-ΦΘΟΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΪΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1*H*)-ΟΝΗ (12b)

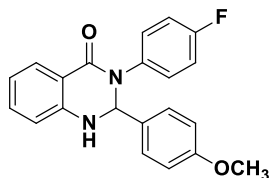


Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 167 mg (1.5 mmol) 4-φθοροανιλίνης και 120 mg (1 mmol) 4-μεθυλοβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 10 λεπτών. Παραλαμβάνεται στερεό μπεζ Παραλαμβάνεται στερεό μπεζ χρώματος.

Απόδοση: 90% **Σημείο τήξης:** 222-223 °C

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): 11.51 (s, -CH, 1H), 8.70 (s, -NH, 1H), 7.71-7.70 (d, J= 9 Hz, 1H), 7.54-7.52 (d, J=7.8 Hz, 1H), 7.25-7.20 (m, 5H), 7.14-7.10 (m, 2H), 7.09-7.07 (m, 2H), 6.73-6.72 (d, 1H), 2.29 (s, -CH₃, 3H)

2-(4-ΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(4-ΦΘΟΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΪΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (12c)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 167 mg (1.5 mmol) 4-φθοροανιλίνης και 136 mg (1 mmol) 4-μεθοξυβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 10 λεπτών. Παραλαμβάνεται στερεό λευκού

χρώματος.

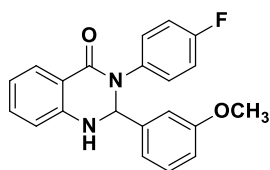
Απόδοση: 57% **Σημείο τήξης:** 248-249 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 257-560 °C [21]

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): 11.48 (s, -CH, 1H), 8.70 (s, -NH, 1H), 7.71-7.70 (d, J= 8,8 Hz, 1H), 7.50-7.49 (d, J=7.8 Hz, 1H), 7.25-7.21 (m, 4H), 7.14-7.11 (m, 2H), 6,85-6,83 (m, 2H), 6.76-6.72 (m, 2H), 3.66(s, -OCH₃, 3H)

FTIR spectrum (cm⁻¹): 3460, 3300, 2931, 2839. 1643. 1602, 1504. 1308, 837 cm⁻¹

UV-vis: λ_{max}=350 nm

2-(3-ΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(4-ΦΘΟΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΪΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (12d)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 167 mg (1.5 mmol) 4-φθοροανιλίνης και 136 mg (1 mmol) 3-μεθοξυβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 10 λεπτών. Παραλαμβάνεται στερεό λευκού

χρώματος.

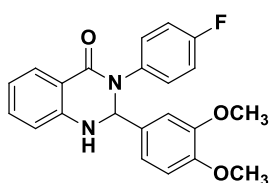
Απόδοση: 56% **Σημείο τήξης:** >250 °C

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): 11.50 (s, -CH, 1H), 8.70 (s, -NH, 1H), 7.71-7.70 (d, J= 9 Hz, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.29-7.26 (m, 3H), 7.22-7.20 (t, 1H), 7.17-7.15 (m, 2H), 6.95-6.91 (m, 2H), 6.84-6.82 (d, 2H), 6.76-6.75 (d, 1H), 6.73-6.72 (t, 1H), 3.66(s, -OCH₃,3H)

FTIR spectrum (cm⁻¹): 3309, 3061, 2833, 1641, 1608, 1504, 1385, 835 cm⁻¹

UV-vis: λ_{max}=351 nm

2-(3,4-ΔΙΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(4-ΦΘΟΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΪΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (12e)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 167 mg (1.5 mmol) 4-φθοροανιλίνης και 166 mg (1 mmol) 3,4-διμεθοξυβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 10 λεπτών. Παραλαμβάνεται στερεό μπεζ

Παραλαμβάνεται στερεό μπεζ χρώματος. Παραλαμβάνεται στερεό ανοιχτόχρωμου κίτρινου χρώματος.

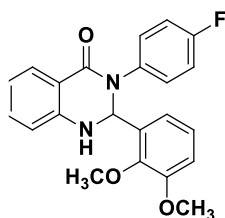
Απόδοση: 65% **Σημείο τήξης:** 200-201 °C

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): 11.48 (s, -CH, 1H), 8.70 (s, -NH, 1H), 7.71-7.70 (d, J= 9 Hz, 1H), 7.50-7.49 (d, J=8 Hz, 1H), 7.27-7.23 (m, 3H), 7.29-7.26 (m, 3H), 7.15-7.13 (m, 2H), 7.01 (s, 1H), 6.84-6.82 (m, 2H), 6.77-6.75 (m, 2H), 3.68(s, -OCH₃,3H), 3.66(s, -OCH₃,3H)

FTIR spectrum (cm⁻¹): 3300, 2956, 2833, 1632, 1610, 1501, 1389, 835 cm⁻¹

UV-vis: λ_{max}=350 nm

2-(2,3-ΔΙΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(4-ΦΘΟΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΪΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (12f)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 167 mg (1.5 mmol) 4-φθοροανιλίνης και 166 mg (1 mmol) 2,3-διμεθοξυβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 10 λεπτών. Παραλαμβάνεται στερεό μπεζ χρώματος.

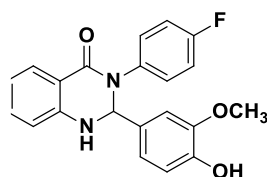
Απόδοση: 51 % **Σημείο τήξης:** 187-189 °C

¹H NMR (600 MHz, DMSO): 11.50 (s, -CH, 1H), 8.74 (s, -NH, 1H), 7.99-7.97 (d, J= 7,8 Hz, 1H), 7.31-7.29 (m, 2H), 7.24-7.23 (t, 1H), 7.03-7.00 (m, 3H), 6.98-6.96 (t, 1H), 6.87-6.85 (d, 1H), 6.83-6.81 (t, 1H), 6.54-6.52 (d, 1H), 3.68(s, -OCH₃,3H), 3.66(s, -OCH₃,3H)

FTIR spectrum (cm⁻¹): 3325, 2933, 2833, 1643, 1508, 1393, 995 cm⁻¹

UV-vis (nm): λ_{max}=352 nm

2-(3-ΜΕΘΟΞΥ-4-ΥΔΡΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(4-ΦΘΟΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΥΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (12g)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 167 mg (1.5 mmol) 4-φθοροανιλίνης και 152 mg (1 mmol) βανιλίνης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 20 λεπτών. Τέλος, μετά την ανακρυστάλλωση με μεθανόλη παραλαμβάνεται στερεό μπεζ χρώματος.

Απόδοση: 53%, **Σημείο Τήξης:** 189-191°C

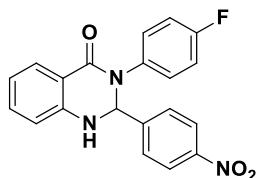
¹H NMR (600, MHz, CDCl₃): δ (ppm) 9.59(s, -OH, 1H), 8.25(dd, J₁=7.8Hz, J₂=1.2Hz, 1H), 7.97(d, J=1.8Hz, 1H), 7.84-7.81(m, 1H), 7.79-7.76(m, 2H), 7.68-7.64(m, 2H), 7.49(d, J=2.4Hz, -NH, 1H), 7.31(d, J=7.8Hz, 1H), 7.28-7.25(m, 2H), 7.17(d, J=8.4Hz, 1H), 6.69(d, J=2.4Hz, -CH, 1H), 4.2(s, -OCH₃, 3H).

FT-IR (KBr): ν (cm⁻¹) 3309.3(N-H, O-H), 2941.9, 2843.5, 1619.9(C=O), 1508.1, 1450.21, 1028.8, 752.1

HRMS calcd for C₂₂H₁₈O₃N₂F (M+H)⁺:m/z:363.1140, found:363.1150

UV-Vis: λ_{max}=259nm

2-(4-ΝΙΤΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(4-ΦΘΟΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΥΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (12h)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 167 mg (1.5 mmol) 4-φθοροανιλίνης και 151 mg (1 mmol) 4-νιτροβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 10 λεπτών. Παραλαμβάνεται στερεό κίτρινου χρώματος.

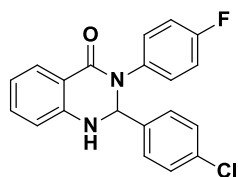
Απόδοση: 94 % **Σημείο τήξης:** 139-140 °C

¹H NMR (600 MHz, DMSO): 11.51 (s, -CH, 1H), 8.83 (s, -NH, 1H), 8.38-8.36 (d, 2H), 8.18 (d, 2H), 7.92-7.90 (d, 1H), 7.75-7.73 (t, 1H), 7.44-7.42 (d, 1H), 7.31-7.30 (d, 1H), 7.27-7.24 (t, 1H), 7.17-7.15 (d, 1H)

FTIR spectrum (cm⁻¹): 3440, 3290, 2922, 1728, 1639, 1510, 1350, 829 cm⁻¹

UV-vis: λ_{max}=351 nm

2-(4-ΧΛΩΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(4-ΦΘΟΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΥΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (12i)



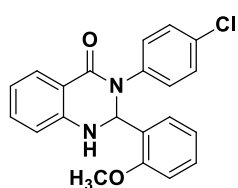
Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 167 mg (1.5 mmol) 4-φθοροανιλίνης και 141 mg (1 mmol) 4-χλωροβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 10 λεπτών. Παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση: 46 % **Σημείο τήξης:** 208-210 °C

¹H NMR (600 MHz, DMSO): 10.61 (s, -NH, 1H), 8.83 (s, -NH, 1H), 8.66-8.62 (d, 2H), 7.98-7.89 (m, 2H), 7.71-7.66 (m, 2H), 7.60-7.56 (m, 1H), 7.35-7.31 (m, 1H), 7.14-7.12 (m, 1H), 6.74-6.71 (t, 1H), 6.57-6.55 (t, 1H), 6.28 (s, -CH, 1H)

UV-vis: λ_{max}=261 nm

2-(2-ΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(4-ΧΛΩΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΥΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (13a)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 192 mg (1.5 mmol) 4-χλωροανιλίνης και 136 mg (1 mmol) 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%, **Σημείο Τήξης:** 145-147 °C

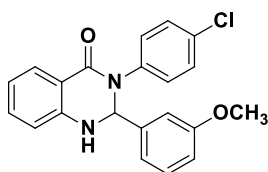
¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 7.92(d, J=7.8Hz, 1H), 7.73(m, 1H), 7.37(d, J=8.7Hz, 2H), 7.24 (m, 4H), 7.16(d, J=8.4Hz, 1H), 6.99 (d, J=8.1Hz, 1H), 6.89-6.84(m, 1H), 6.79-6.69(m, 2H), 6.43(s, -CH, 1H), 3.75(s, -OCH₃, 3H).

FT-IR (KBr): ν (cm⁻¹) 3336.3(N-H), 2926.5, 2832.9, 1644.9(C=O), 1494.6, 1396.2, 1157.1, 757.9

HRMS calcd for C₂₆H₁₆O₂N₂Cl (M+H)⁺:m/z: 363.0901, found:363.0906

UV-Vis: λ_{\max} =259 nm

2-(3-ΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(4-ΧΛΩΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΥΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1Η)-ΟΝΗ (13b)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 192 mg (1.5 mmol) 4-χλωροανιλίνης και 170 μ L (1 mmol) 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%, **Σημείο Τήξης:** 172-175 °C

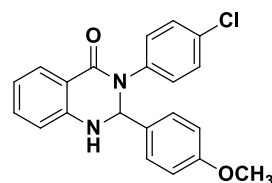
¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 7.72(d, J=7.7Hz, 1H), 7.65(s, -NH, 1H), 7.39(d, J=8.4Hz, 2H), 7.30-7.19(m, 4H), 6.92(m, 2H), 6.85-6.72(m, 3H), 6.27(s, -CH, 1H), 3.68(s, -OCH₃, 3H).

FT-IR (KBr): ν (cm⁻¹) 3273.6(N-H), 2941.9, 2837.7, 1644.9(C=O), 1489.7, 1385.6, 1201.2, 1152.3, 820.5, 753.1

HRMS calcd for C₂₁H₁₆O₂N₂Cl (M+H)⁺:m/z: 363.0905, found:363.0906

UV-Vis: λ_{\max} =276 nm

2-(4-ΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(4-ΧΛΩΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΥΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1Η)-ΟΝΗ (13c)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 192 mg (1.5 mmol) 4-χλωροανιλίνης και 140 μ L (1 mmol) 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.

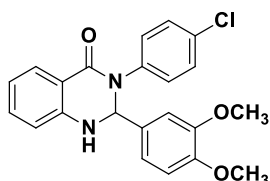
Απόδοση: 48%, **Σημείο Τήξης:** 244-246 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 244-246 °C [22]

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): 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, -OCH₃, 3H).

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

UV-Vis: λ_{\max} =268 nm

2-(3,4-ΔΙΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(4-ΧΛΩΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΥΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (13d)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 192 mg (1.5 mmol) 4-χλωροανιλίνης και 166 mg (1 mmol) 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 λευκού χρώματος.

Απόδοση: 81%, **Σημείο Τήξης:** 212-213°C

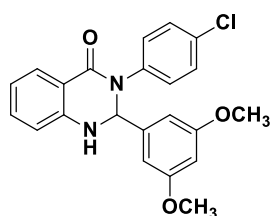
¹H NMR (600 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 7.71(d, J=7.8Hz, H₅, 1H), 7.56(s, -NH, 1H), 7.38(m, 2H), 7.29-7.27(m, 3H), 7.02(s, H₁₀, 1H), 6.84-6.81(m, 2H), 6.77(d, J=8.4Hz, H₈, 1H), 6.72(t, J=7.2Hz, H₆, 1H), 6.23(s, -CH, 1H), 3.67(s, -OCH₃, 3H), 3.66(s, -OCH₃, 3H).

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

HRMS calcd for C₂₂H₁₈O₃N₂Cl (M+H)⁺:m/z: 393.10063, found:393.10110

UV-Vis: λ_{\max} =260 nm

2-(3,5-ΔΙΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(4-ΧΛΩΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΥΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (13e)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 192 mg (1.5 mmol) 4-χλωροανιλίνης και 166 mg (1 mmol) 3,5-διμεθοξυβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 15 λεπτών. Έπειτα από ανακρυστάλλωση με μεθανόλη παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση: 46% **MW:** 394.85 **Σημείο Τήξης:** 184-186 °C

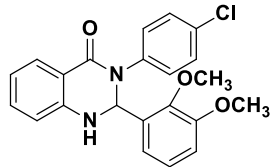
¹H NMR (600 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 7.71(d, J=7.8Hz, H₅, 1H), 7.65(s, -NH, 1H), 7.41(m, 2H), 7.31-7.27(m, 3H), 6.77(d, J=7.8Hz, 1H), 6.72(t, J=7.5Hz, 1H), 6.59(s, 2H), 6.4(s, 1H), 6.21(s, -CH, 1H), 3.65(s, -OCH₃, 6H).

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

HRMS calcd for C₂₂H₁₈O₃N₂Cl (M+H)⁺:m/z: 393.1006, found:393.1000

UV-Vis: λ_{\max} =259 nm

2-(2,3-ΔΙΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(4-ΧΛΩΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΥΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (13f)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 192 mg (1.5 mmol) 4-χλωροανιλίνης και 166 mg (1 mmol) 2,3-διμεθόξυβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 15 λεπτών. Έπειτα από ανακρυστάλλωση με μεθανόλη παραλαμβάνεται στερεό

λευκού χρώματος.

Απόδοση: 47%, **Σημείο Τήξης:** 182-184 °C

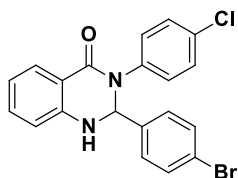
¹H NMR (600 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 7.73 (d, J=7.2Hz, 1H), 7.38 (m, 2H), 7.27-7.23 (m, 4H), 6.98(m, 2H), 6.94-6.92(m, 1H), 6.75(dd, J₁=7.8Hz, J₂=3Hz, 1H), 6.72 (m, 1H), 6.46(s, -CH, 1H), 3.76(s, -OCH₃, 3H), 3.62(s, -OCH₃, 3H).

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

HRMS calcd for C₂₂H₁₈O₃N₂Cl (M+H)⁺:m/z: 393.1006, found:393.1011

UV-Vis: λ_{\max} =258nm

2-(4-ΒΡΩΜΟΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(4-ΧΛΩΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΥΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (13g)



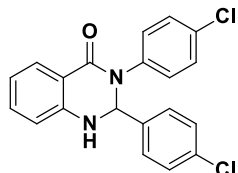
Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 192 mg (1.5 mmol) 4-χλωροανιλίνης και 177 mg (1 mmol) 4-βρωμοβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 15 λεπτών. Έπειτα από ανακρυστάλλωση με αιθανόλη παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση: 53%, **Σημείο Τήξης:** 179-181°C

¹H NMR (600 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 11.72(s, 1H), 8.64(s, 1H), 7.92(dd, J₁=7.8Hz, J₂=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_{max}=276 nm

2,3-ΔΙΣ(4-ΧΛΩΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΥΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (13h)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 192 mg (1.5 mmol) 4-χλωροανιλίνης και 128 mg (1 mmol) 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

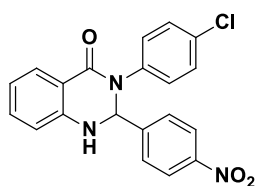
στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση: 41%, **Σημείο Τήξης:** 179-180 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 249-252 °C [22]

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): 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 (m, 2H), 6.34(d, J=2.1Hz, -CH, 1H).

UV-Vis: λ_{max}=269 nm

2-(4-ΝΙΤΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(4-ΧΛΩΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΥΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (13i)



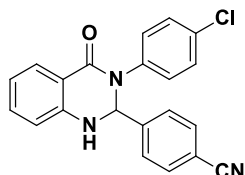
Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 192 mg (1.5 mmol) 4-χλωροανιλίνης και 151 mg (1 mmol) 4-νιτροβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 15 λεπτών. Έπειτα από ανακρυστάλλωση με αιθανόλη παραλαμβάνεται στερεό κίτρινου χρώματος.

Απόδοση: 64%, **Σημείο Τήξης:** 185-188 °C

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): 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_{max}=318 nm

2-(4-ΚΥΑΝΟΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(4-ΧΛΩΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΥΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (13j)



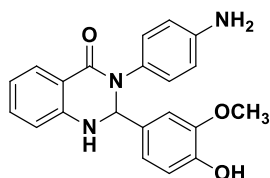
Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 192 mg (1.5 mmol) 4-χλωροανιλίνης και 131 mg (1 mmol) 4-κυανοβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 15 λεπτών. Έπειτα από ανακρυστάλλωση με αιθανόλη παραλαμβάνεται στερεό κίτρινου χρώματος.

Απόδοση: 64%, **Σημείο Τήξης:** 185-188°C

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): 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_{max}=271 nm

3-(4-ΑΜΙΝΟΦΑΙΝΥΛΟ)-2-(4-ΥΔΡΟΞΥ-3-ΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΥΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (14a)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 192 mg (1.5 mmol) 4-χλωροανιλίνης και 152 mg (1 mmol) 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.

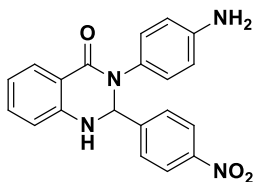
Απόδοση: 22%, **Σημείο Τήξης:** 196-198 °C

¹H NMR (600 MHz, DMSO-d₆): 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, -OCH₃, 3H).

FT-IR (KBr): ν (cm⁻¹) 3478.3(N-H, O-H), 3259.1, 3199.3, 2932.2, 2862.8, 1765.5(C=O), 1362.5, 1020.2, 752.1

UV-Vis: λ_{max}=324nm

3-(4-ΑΜΙΝΟΦΑΙΝΥΛΟ)-2-(4-ΝΙΤΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΥΔΡΟΚΙΝΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (14b)



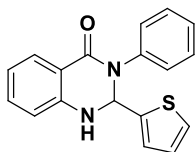
Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 108 mg (1.5 mmol) βενζολο-1,4-διαμίνης και 151 mg (1 mmol) 4-νιτροβενζαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 10 λεπτών. Παραλαμβάνεται στερεό καφέ χρώματος.

Απόδοση: 88%, **Σημείο τήξης:** 185-186 °C

¹H NMR (600 MHz, DMSO-d₆): δ 10.47 (s, -CH, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 8.38 (d, J=7.8 Hz, 3H), 8.22 (d, J=8.4 Hz, 3H), 7.83 (d, J=7.2 Hz, 1H), 7.64-7.60 (m, 3H), 7.49 (s, 1H), 7.44 (t, J=7.8 Hz, 1H), 7.38 (d, J=7.8 Hz, 1H)

UV-Vis: λ_{max}=293 nm

3-ΦΑΙΝΥΛΟ-2-(ΘΕΙΟΦΑΙΝ-2-ΥΛΟ)-2,3-ΔΙΪΔΡΟΚΙΝΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (15a)



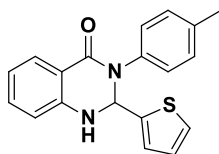
Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 139 mg (1.5 mmol) ανιλίνης και 110μL (1 mmol) θειοφαινο-2-καρβαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 10 λεπτών. Παραλαμβάνεται στερεό μπεζ χρώματος.

Απόδοση: 71% **Σημείο τήξης:** 197-199 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 197- 199 °C [23]

¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz): δ 8.04 (dd, J₁=0.6 Hz, J₂=8.4 Hz, ArH₅, 1H), 7.36-7.33 (m, 3H), 7.29-7.28 (m, 2H), 7.25-7.23 (m, 1H, H₇), 7.16-7.15 (d, J=4.2 Hz, 1H, H₁₂), 6.95-6.93 (t, J=7.2 Hz, 1H), 6.92-6.91 (d, J= 3Hz, 1H), 6.84-6.82 (td, J₁=3.6 Hz, J₂=1.2 Hz, ArH₆, 1H), 6.72-6.70 (d, J=7.8 Hz, 1H, H₈), 4.89 (s, -CH, 1H),

UV-Vis: λ_{max}=278 nm

3-ΦΑΙΝΥΛΟ-2-(ΘΕΙΟΦΑΙΝ-2-ΥΛΟ)-2,3-ΔΙΪΔΡΟΚΙΝΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (15b)



Παρασκευάζεται με τη μέθοδο των υπερήχων με τη χρήση κατάλληλης ποσότητας ισατοϊκού ανυδρίτη 163 mg (1 mmol), 161 mg (1.5 mmol) τολουιδίνη και 110μL (1 mmol) θειοφαινο-2-καρβαλδεΐδης. Λειτουργία της συσκευής υπερήχων στο 20% της ενέργειας (80 W) για χρονική διάρκεια 10 λεπτών. Παραλαμβάνεται στερεό μπεζ χρώματος

Απόδοση: 78% **Σημείο τήξης:** 180-181 °C

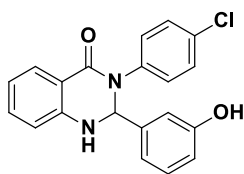
¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11.39 (s, -NH, 1H), 7.91-7.90 (d, J=7.8 Hz, 3H), 7.58-7.50 (m, 3H), 7.10-7.01 (m, 6H), 2.5 (s, -CH, 1H), 2.43 (s, -CH₃, 1H),

UV-Vis: λ_{max}=274 nm

Αποπροστασία των μεθοξυ-ομάδων

Σε δίλαιμη σφαιρική φυάλη των 50 mL προστίθεται η επιθυμητή ποσότητα της κινάζολινόνης 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 (BBr₃) σε διαλύτη CH₂Cl₂ σε κατάλληλη αναλογία (5 moles BBr₃ : 1mole -OCH₃). Το μίγμα αφήνεται προς ανάδευση για 3h. 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.

2-(3-ΥΔΡΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(4-ΧΛΩΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΥΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (16a)



Παρασκευάζεται μέσω αποπροστασίας της ένωσης **13b** με χρήση 0.4 mmol αυτής (134 mg) και 0.2 mL τριβρωμιδίου του βορίου (2 mmol). Έπειτα από ανακρυστάλλωση με μεθανόλη παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

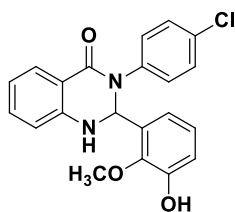
Απόδοση: 43%, **Σημείο Τήξης:** 245-247°C

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 9.46(s, -OH, 1H), 7.71(dd, J₁=7.8Hz, J₂=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).

FT-IR (KBr): ν (cm⁻¹) 3310.2(N-H, O-H), 1629.6(C=O), 1489.7, 1509.1, 862, 757.9

UV-Vis: λ_{max}=280 nm

2-(2-ΜΕΘΟΞΥ-3-ΥΔΡΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-(4-ΧΛΩΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΥΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (16b)



Παρασκευάζεται μέσω αποπροστασίας της ένωσης **13f** με χρήση 0.4 mmol αυτής (145 mg) και 0.2 mL τριβρωμιδίου του βορίου (2 mmol). Έπειτα από ανακρυστάλλωση με μεθανόλη παραλαμβάνεται στερεό ροζ χρώματος.

Απόδοση: 28%, **Τήξης:** 215-216°C

¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz): 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, -OCH₃, 3H).

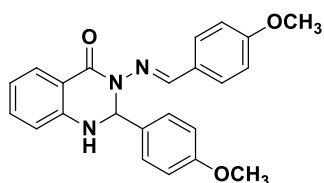
FT-IR (KBr): ν (cm⁻¹) 3393.1(N-H, O-H), 2931.3, 2832.9, 1649.8(C=O), 1489.7, 1390.4, 1074.2, 862, 757.9

UV-Vis: λ_{max}=280 nm

Σύνθεση αναλόγων Σειράς E με την μέθοδο VII

Αντιστοίχως, εξετάστηκε η χρήση των φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυμάτων (NaDES) και των υπερήχων για την σύνθεση των αναλόγων της Σειράς E. Για τη μέθοδο σύνθεσης με υπερήχους προστίθεται σε ποτήρι ζέσεως 5 mL, κατάλληλη ποσότητα NaDES (~2g), καθώς και κατάλληλες ποσότητες ιστατοϊκού ανυδρίτη, ένυδρης υδραζίνης και υποκατεστημένης βενζαλδεΐδης. Η αντίδραση πραγματοποιείται στη συσκευή υπερήχων σε συνθήκες 80 W για χρόνο 15 λεπτών. Μετά το πέρας του χρόνου, στο ποτήρι ζέσεως προστίθεται νερό ώστε να σταματήσει η αντίδραση και κατόπιν το μείγμα αφήνεται για ψύξη. Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον καθαρισμό της επιθυμητής ένωσης. Στη συνέχεια παρουσιάζονται οι ενώσεις που συντέθηκαν με τη μέθοδο των υπερήχων.

(E)-3-((4-ΜΕΘΟΞΥΒΕΝΖΥΛΙΔΕΝΟ)ΑΜΙΝΟ)-2-(4-ΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΥΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (17a)

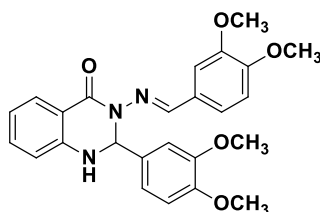


Η σύνθεση της ένωσης πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο VII και συγκεκριμένα 163 mg (1 mmol) ιστατοϊκού ανυδρίτη, 15 μL (0.5 mmol) ένυδρης υδραζίνης και 136 mg (1 mmol) 4-μεθοξυβενζαλδεΐδης. Οι συνθήκες λειτουργίας της συσκευής υπερήχων ήταν 80 W για χρόνο 15 λεπτών. Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον καθαρισμό της επιθυμητής ένωσης. Παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση αντίδρασης: 61 %, **Σημείο τήξης:** 185-186 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 224-225°C [24]

¹H NMR (DMSO-d₆, 600 MHz): δ (ppm) 11.69 (s, -NH, 1H), 9.84 (s, -N=CH, 1H), 8.60 (s, -CH, 1H), 7.89 (d, J=7.8 Hz, 1H, C₅), 7.85-7.83 (m, 2H), 7.79-7.77 (m, 2H), 7.71 (t, J=7.8 Hz, 1H), 7.22 (t, J=7.8 Hz, 2H), 7.13-7.09 (m, 4H), 7.03 (m, 1H), 3.84 (s, -OCH₃, 3H), 3.80 (s, -OCH₃, 3H)

(E)-3-((4-ΜΕΘΟΞΥΒΕΝΖΥΛΙΔΕΝΟ)ΑΜΙΝΟ)-2-(3,4-ΔΙΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΥΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (17b)



Η σύνθεση της ένωσης πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο VII και συγκεκριμένα 163 mg (1 mmol) ισατοϊκού ανυδρίτη, 15 μL (0.5 mmol) ένυδρης υδραζίνης και 166 mg (1 mmol) 3,4-διμεθοξυβενζαλδεΐδης. Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον καθαρισμό της επιθυμητής ένωσης. Παραλαμβάνεται

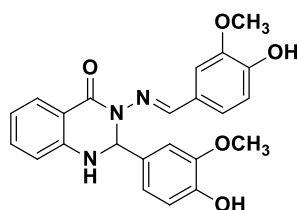
στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση αντίδρασης: 62 %, **Σημείο τήξης:** 185-186 °C

¹H NMR (DMSO-d₆, 600 MHz): δ(ppm) 11.72 (s, -NH, 1H), 8.63 (s, -N=CH, 1H), 7.92 (dd, J₁=0.6Hz, J₂=7.8 Hz, 1H, C₅), 7.75-7.72 (t, J=8.4 Hz, 1H, C₇), 7.48 (d, J= 1.2 Hz, 2H), 7.37 (dd, J₁=1.8 Hz, J₂=8.4 Hz, 1H), 7.25 (t, J=7.2 Hz, 1H C₆), 7.15 (d, J=8.4 Hz 2H), 7.07 (d, J=8.4 Hz 1H C₈), 3.83 (s, 2-OCH₃, 6H), 3.82 (s, 2-OCH₃, 6H),

UV-Vis: λ_{max} = 326 nm

(E)-3-((4-ΜΕΘΟΞΥΒΕΝΖΥΛΙΔΕΝΟ)ΑΜΙΝΟ)-2-(3-ΜΕΘΟΞΥ-4-ΥΔΡΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΥΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (17c)



Η σύνθεση της ένωσης πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο VII και συγκεκριμένα 163 mg (1 mmol) ισατοϊκού ανυδρίτη, 15 μL (0.5 mmol) ένυδρης υδραζίνης και 152 mg (1 mmol) 4-υδροξυ-3-μεθοξυ-βενζαλδεΐδης. Οι συνθήκες λειτουργίας της συσκευής υπερήχων ήταν 80 W για χρόνο 15 λεπτών. Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον

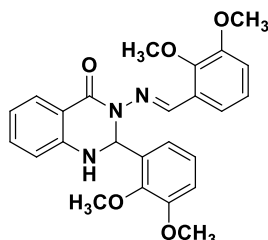
καθαρισμό της επιθυμητής ένωσης. Παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση αντίδρασης: 33 %, **Σημείο τήξης:** 192-193 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 190-192 °C [25]

¹H NMR (DMSO-d₆, 600 MHz): δ(ppm) 11.75 (s, -NH, 1H), 8.59 (s, -N=CH, 1H), 7.91 (d, J=5.7 Hz, 1H, C₅), 7.74 (t, J=6 Hz, 1H, C₆), 7.47(s, -CH, 1H), 7.25 (m, 4H), 7.17 (d, J=6,3 Hz, 2H), 6.88 (d, J=6.6 Hz, 1H, C₆), 3.83 (s, -OCH₃, 6H)

UV-Vis: λ_{max} = 332 nm

(E)-3-((4-MEΘOΞYBENZYLIDENO)AMINO)-2-(2,3-DIMEΘOΞYΦAINYΛO)-2,3-DIYΔPOKINAZOΛIN-4(1H)-ONH (17d)



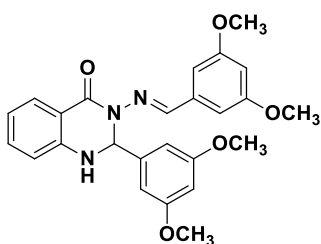
Η σύνθεση της ένωσης πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο VII και συγκεκριμένα 163 mg (1 mmol) ισατοϊκού ανυδρίτη, 15 μL (0.5 mmol) ένυδρης υδραζίνης και 166 mg (1 mmol) 2,3-διμεθοξυβενζαλδεΐδης. Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον καθαρισμό της επιθυμητής ένωσης. Παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση αντίδρασης: 60 %, **Σημείο τήξης:** 181-182 °C

¹H NMR (DMSO-d₆, 600 MHz): δ(ppm) 11.71 (s, -NH, 1H), 8.63 (s, -N=CH, 1H), 7.93 (d, J=9Hz, 1H, C₅), 7.74 (t, J=6 Hz, 1H, C₆), 7.25 (t, J= 5.7 Hz, 1H, C₇), 7.15 (d, J=6 Hz, 1H), 7.25 (t, J=7.2 Hz, 1H), 7.15 (d, J=6 Hz 1H), 7.05 (m, 4H), 6.65 (s, 2H) 3.80 (s, -OCH₃, 12H)

UV-Vis: λ_{max} = 306 nm

(E)-3-((3,5-DIMEΘOΞYBENZYLIDENIO)AMINO)-2-(3,5-DIMEΘOΞYΦAINYΛO)-2,3-DIYΔPOKINAZOΛIN-4(1H)-ONH (17e)



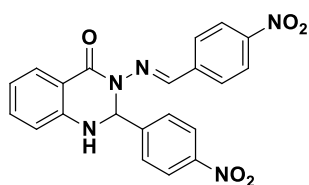
Η σύνθεση της ένωσης πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο VII και συγκεκριμένα 163 mg (1 mmol) ισατοϊκού ανυδρίτη, 15 μL (0.5 mmol) ένυδρης υδραζίνης και 166 mg (1 mmol) 3,5-διμεθοξυβενζαλδεΐδης. Οι συνθήκες λειτουργίας της συσκευής υπερήχων ήταν 80 W για χρόνο 15 λεπτών. Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον καθαρισμό της επιθυμητής ένωσης. Παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση αντίδρασης: 41 % , **Σημείο τήξης:** 148-150 °C

¹H NMR (DMSO-d₆, 600 MHz): δ(ppm) 11.72 (s, -NH, 1H), 8.63 (s, -N=CH, 1H), 7.92 (dd, J₁=0.6Hz, J₂=7.8 Hz, 1H, C₅), 7.75-7.72 (t, J=8.4 Hz, 1H, C₇), 7.48 (d, J= 1.2 Hz, 2H), 7.37 (dd, J₁=1.8 Hz, J₂=8.4 Hz, 1H), 7.25 (t, J=7.2 Hz, 1H C₆), 7.15 (d, J=8.4 Hz 2H), 7.07 (d, J=8.4 Hz 1H C₈), 3.83 (s, 2-OCH₃, 6H), 3.82 (s, 2-OCH₃, 6H),

UV-Vis: λ_{max} = 317 nm

(E)-3-((4-ΜΕΘΟΞΥΒΕΝΖΥΛΙΔΕΝΟ)ΑΜΙΝΟ)-2-(4-ΝΙΤΡΟΦΑΙΝΥΛΟ)-2,3-ΔΙΥΔΡΟΚΙΝΑΖΟΛΙΝ-4(1H)-ΟΝΗ (17f)



Η σύνθεση της ένωσης πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο VII και συγκεκριμένα 163 mg (1 mmol) ισατοϊκού ανυδρίτη, 15 μ L (0.5 mmol) ένυδρης υδραζίνης και 151 mg (1 mmol) 4-νιτροβενζαλδεΐδης. Οι συνθήκες λειτουργίας της συσκευής υπερήχων ήταν 80 W για χρόνο 15 λεπτών. Ακολουθεί διήθηση, έκπλυση με νερό και ανακρυστάλλωση με μεθανόλη για τον καθαρισμό της επιθυμητής ένωσης. Παραλαμβάνεται στερεό κίτρινου χρώματος.

Απόδοση αντίδρασης: 40 %, **Σημείο τήξης:** 209-211 $^{\circ}$ C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)= 209-211 $^{\circ}$ C [25]

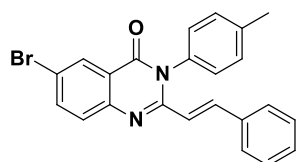
1 H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 11.72 (s, -NH, 1H), 8.89 (s, -N=CH, 1H), 8.36 (d, J=6 Hz, 1H, C₅), 8.16 (d, J=5.7 Hz, 1H), 7.91 (d, J=6.3 Hz, 2H, C₁₃, C₁₅), 7.74 (m, 3H), 7.26 (m, 3H), 7.16 (d, J=6.9 Hz, 2H)

UV-Vis: λ_{\max} = 318 nm

Σύνθεση σειράς ΣΤ με τη μέθοδο VIII

Κατά τη συμβατική μέθοδο, σε προζυγισμένη σφαιρική φιάλη των 10mL ζυγίζονται αρχικά 2g του NaDES (1:1 CC/OA) καθώς και η κατάλληλη ποσότητα ανθρανιλικού οξέος (150 mg, 0.7 mmol). Παράλληλα, ζυγίζεται και η κατάλληλη ποσότητα της αρωματικής αμίνης και του κιναιμικού χλωριδίου. Στη συνέχεια προστίθεται μαγνήτης για ανάδευση και τοποθετείται σε συσκευή μαγνητικού αναδευτήρα. Το μίγμα θερμαίνεται σε ελαιόλουτρο έως 10h στους 70 $^{\circ}$ C υπό κάθετο ψυκτήρα. Μετά το τέλος της αντίδρασης, προστίθεται νερό στη σφαιρική φιάλη και το μίγμα αφήνεται προς ψύξη. Έπειτα ακολουθεί διήθηση και έκπλυση με παγωμένο νερό, ενώ τέλος πραγματοποιείται ανακρυστάλλωση με μεθανόλη.

(E)-6-ΒΡΩΜΟ-2-ΣΤΥΡΥΛΟ-3-(p-ΤΟΛΥΛΟ)κινιαζολιν-4(3H)-όνη (18a)



λευκού χρώματος.

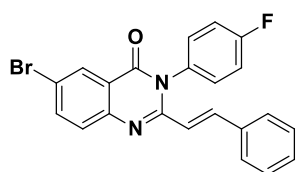
Απόδοση: 25%, **Σημείο Τήξης:** 197-198 $^{\circ}$ C

¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz): 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, -CH₃, 3H)

FT-IR (KBr): ν (cm⁻¹) 3046(=C-H), 2950.6(-CH₃), 1673.9(C=O), 1613.2(C=C), 1511.9, 1287.3, 936.3, 806.1, 691.4

UV-Vis: λ_{max}=259nm

(E)-6-βρωμο-3-(4-φθοροφαινυλο)-2-στυρυλοκιναζολιν-4(3H)-ονη (18b)



Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο VIII με τη χρήση 150 mg (0.7 mmol) 5-βρωμοανθρανιλικού οξέος, 83 mg (0.8 mmol) 4-φθοροανιλίνης και 124.99 mg (0.8 mmol) κιναμικού χλωριδίου. Αναδεύεται σε θερμοκρασία 70°C για χρονική διάρκεια 8 ωρών. Έπειτα από ανακρυστάλλωση με μεθανόλη παραλαμβάνεται

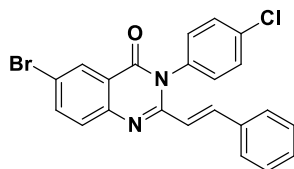
στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση: 44%, **Σημείο Τήξης:** 185-186 °C

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ (ppm) 12.50 (s, 1H), 8.54 (d, J=8.8 Hz, 1H), 8.10 (m, 1H), 7.83-7.81(d, J=9Hz, 1H), 6.99-7.95(m, 5H), 6.55=6.52(d, J=8.7Hz, 5H).

UV-Vis: λ_{max}=262nm

(E)-6-βρωμο-3-(4-χλωροφαινυλο)-2-στυρυλοκιναζολιν-4(3H)-ονη (18c)



Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο VIII με τη χρήση 150 mg (0.7 mmol) 5-βρωμοανθρανιλικού οξέος, 96 mg (0.8 mmol) 4-χλωροανιλίνης και 125 mg (0.8 mmol) κιναμικού χλωριδίου. Αναδεύεται σε θερμοκρασία 70°C για χρονική διάρκεια 8 ωρών. Έπειτα από ανακρυστάλλωση με μεθανόλη παραλαμβάνεται στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση: 38%, **Σημείο Τήξης:** 186-188 °C

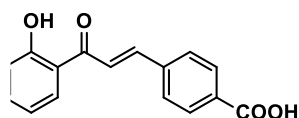
¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ (ppm) 12.45(s, 1H), 8.55(d, J=8.7Hz, 1H), 8.09(m, 1H), 7.84 (dd, J₁=9.2Hz, J₂=2.3Hz, 1H), 6.99(d, J=8.7Hz, 5H), 6.53(d, J=8.7Hz, 5H).

UV-Vis: λ_{max}=260nm

Σύνθεση σειράς Z με τη μέθοδο IX

Σε σφαιρική φιάλη προστίθενται, παρουσία καθαρής αιθανόλης, ισομοριακές ποσότητες υποκατεστημένης 2-υδρόξυ-ακετοφαινόνης, μιας υποκατεστημένης βενζαλδεΐδης (και τέλος κατάλληλη αναλογία υδατικού διαλύματος KOH 20% w/v. Το μίγμα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου από 24 μέχρι 72 ώρες. Η ολοκλήρωση της αντίδρασης ελέγχεται με την ανάλυση της χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (σύστημα διαλυτών οξικός αιθυλεστέρας 40% και πετρελαϊκός αιθέρας 60%). Το τελικό προϊόν ψύχεται στους 0 °C με παγόλουτρο και στη συνέχεια οξινίζεται με υδατικό διάλυμα HCl 10% v/v, όπου παρατηρείται καταβύθιση κίτρινου ιζήματος. Έπειτα, το διάλυμα είτε διηθείται υπό κενό με HCl είτε ακολουθεί εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα με στόχο την απομόνωση του στερεού, το οποίο οδηγείται στον ξηραντήρα. Απαραίτητη κρίθηκε η ανακρυστάλλωση του στερεού προϊόντος με μεθανόλη. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία ¹H NMR.

(E)-4-(3-(2-ΥΔΡΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-ΟΞΟΠΡΟΠ-1-ΕΝ-1-ΥΛΟ)ΒΕΝΖΟΪΚΟ ΟΞΥ (19)



Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο, χρησιμοποιώντας 2 g (15 mmol) 2-υδρόξυ-ακετοφαινόνης και 2,2 g (15 mmol) 4-καρβόξυ-βενζαλδεΐδης. Το πείραμα εκτελείται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος υπό ανάδευση με παροχή N₂ για

χρονικό διάστημα 24-72 ωρών.

Απόδοση: 30,2%, **Σημείο τήξης:** 232-234 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)=253-255°C [26]

¹H NMR (CDCl₃, 600MHz): δ 12.36 (s, 1H, -OH), 7.77 (d, J=7.8 Hz, 2H, H₃, H₅), 7.71 (d, J=7.8 Hz, 1H, H₆), 7.59 (d, J=15.6 Hz, 1H, H_b), 7.51 (d, J=15.6 Hz, 1H, H_a), 7.46 (d, J=7.8 Hz, 2H, H₂, H₆), 7.21 (t, J=7.2 Hz, 1H, H₅), 6.67 (q, J=8.4 Hz, 2H, H₃, H₄)

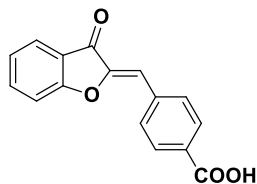
UV-VIS: λ_{max}=321 nm

Σύνθεση σειράς H με τη μέθοδο IX

Σε σφαιρική φιάλη στην οποία προσαρμόζονται κάθετος ψυκτήρας και παροχή αζώτου για τη δημιουργία αδρανών συνθηκών, προστίθενται κάθε φορά, παρουσία διαλύτη πυριδίνης, τα εξής αντιδρώντα: οι χαλκόνες, από τις οποίες οι είχαν ήδη παρασκευαστεί από προηγούμενη διπλωματική εργασία και ο οξικός υδράργυρος σε ισομοριακές ποσότητες. Το μίγμα αναδεύεται στους 110 °C για 1 ώρα. Η ολοκλήρωση της αντίδρασης ελέγχεται με την ανάλυση της χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (σύστημα διαλυτών οξικός αιθυλεστέρας 40% και πετρελαϊκός αιθέρας 60%). Το τελικό προϊόν ψύχεται στους 0 °C με παγόλουτρο και στη συνέχεια οξινίζεται με υδατικό διάλυμα HCl 10% v/v, όπου παρατηρείται καταβύθιση κίτρινου ιζήματος. Ακολουθεί εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα και στη συνέχεια ξήρανση σε άνυδρο θειικό νάτριο (Na₂SO₄). Τέλος, το μίγμα εξατμίζεται υπό κενό και τοποθετείται σε αντλία υψηλού κενού. Ακολουθεί ανακρυστάλλωση του προϊόντος σε μεθανόλη για τον καθαρισμό του. Το θερμό μίγμα ψύχεται, έως ότου παρατηρηθεί καταβύθιση στερεού προϊόντος. Τέλος,

πραγματοποιείται διήθηση υπό κενό σε κρύα μεθανόλη. Η ταυτοποίηση των ενώσεων γίνεται με τη χρήση φασματοσκοπίας ^1H NMR.

(Z)-4-((3-ΟΞΟΒΕΝΖΟΦΟΥΡΑΝ-2-(3H)-ΥΛΙΔΕΝΟ)ΜΕΘΥΛΟ)ΒΕΝΖΟΪΚΟ ΟΞΥ (20a)



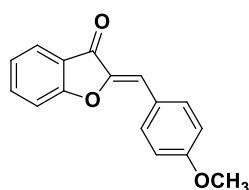
Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης ωρονών με οξειδωτική κυκλοποίηση με τη χρήση 283 mg (1 mmol) 4-καρβόξυ-2'-υδροξύ-χαλκόνης και 336 mg (1 mmol) οξικού υδραργύρου σε 11 mL διαλύτη πυριδίνης. Η θερμοκρασία εκτέλεσης του πειράματος είναι 110°C για χρονικό διάστημα 1 ώρας.

Απόδοση: 55 %, **Σημείο τήξης:** >250°C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)=250-251°C [27]

^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz): 8.10 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H_3, H_5), 8.05 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H_2, H_6), 7.84 (m, 2H H_4, H_5), 7.60 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H H_7), 7.35 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H H_6), 7.00 (s, 1H H_{10})

UV-VIS: $\lambda_{\text{max}}=315$ nm

(Z)-2-(4-ΜΕΘΟΞΥΒΕΝΖΥΛΙΔΕΝΟ)ΒΕΝΖΟΦΟΥΡΑΝ-3-(2H)-ΟΝΗ (20b)



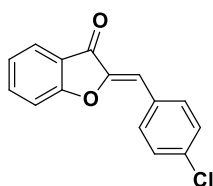
Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης ωρονών με οξειδωτική κυκλοποίηση χρησιμοποιώντας 561 mg (2 mmol) 4-μεθόξυ-2'-υδροξύ-χαλκόνης και 706 mg (2 mmol) οξικού υδραργύρου σε 22 mL διαλύτη πυριδίνης σε θερμοκρασία 110 °C υπό ανάδευση για 1 ώρα.

Απόδοση: 99 %, **Σημείο τήξης:** 126-128 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)=133-134 °C [28]

^1H NMR (CDCl $_3$, 600MHz): δ 7.90 (d, $J=9$ Hz, 2H, H_3, H_5), 7.81 (d, $J=7.2$ Hz, 1H, H_4), 7.64 (t, $J=8.4$ Hz, 1H, H_5), 7.33 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, H_7), 7.21 (t, $J=7.2$ Hz, 1H, H_6), 6.99 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, H_2, H_6), 6.89 (s, 1H, H_{10}), 3.87 (s, 3H, -OCH $_3$)

UV-VIS: $\lambda_{\text{max}}=397$ nm

(Z)-2-(4-ΧΛΩΡΟΒΕΝΖΥΛΙΔΕΝΟ)ΒΕΝΖΟΦΟΥΡΑΝ-3-(2H)-ΟΝΗ (20c)



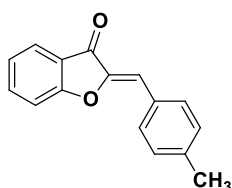
Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης ωρονών με οξειδωτική κυκλοποίηση χρησιμοποιώντας 230 mg (0,9 mmol) 4-χλώρο-2'-υδρόξυ-χαικόνης και 282 mg (0,9 mmol) οξικού υδραργύρου σε 9 mL διαλύτη πυριδίνης σε θερμοκρασία 110 °C υπό ανάδευση για 1 ώρα.

Απόδοση: 64 % **Σημείο τήξης:** 157-159 °C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)=154-160 °C [29]

¹H NMR (CDCl₃, 600MHz): δ 7.86 (d, J=9 Hz, 2H, H₄, H₇), 7.81 (d, J=7.8 Hz, 1H, H₆'), 7.67 (m, 1H, H₅), 7.43 (d, J=8.4 Hz, 2H, H₂', H₃'), 7.34 (d, J=8.4 Hz, 1H, H₅'), 7.24 (t, J=7.2 Hz, 1H, H₆), 6.84 (s, 1H, H₁₀)

UV-VIS: λ_{max}=383 nm

(Z)-2-(4-ΜΕΘΥΛΟΒΕΝΖΥΛΙΔΕΝΟ)ΒΕΝΖΟΦΟΥΡΑΝ-3-(2H)-ΟΝΗ (20d)



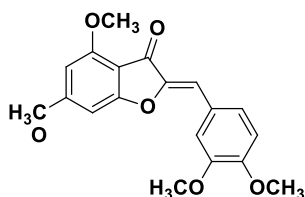
Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης ωρονών με οξειδωτική κυκλοποίηση χρησιμοποιώντας 348 mg (1,5 mmol) 4-μέθυλο-2'-υδρόξυ-χαικόνης και 462 mg (1,5 mmol) οξικού υδραργύρου σε 14 mL διαλύτη πυριδίνης σε θερμοκρασία 110 °C υπό ανάδευση για 1 ώρα.

Απόδοση: 91 %, **Σημείο τήξης:** 90-95°C, σ.τ. (βιβλιογραφίας)=92 °C [30]

¹H NMR (CDCl₃, 600MHz): δ 7.84 (d, J=8.4 Hz, 2H, H₄, H₇), 7.82 (s, 1H, H₂'), 7.67 (t, J=7.8 Hz, 1H, H₅), 7.35 (d, J=7.8 Hz, 1H, H₆'), 7.29 (d, J=7.8 Hz, 2H, H₃', H₅'), 7.24 (t, J=7.8 Hz, 1H, H₆), 6.91 (s, 1H, H₁₀), 2.43 (s, 3H, -CH₃)

UV-VIS: λ_{max}=390 nm

(Z)-2-(3,4-ΔΙΜΕΘΟΞΥΒΕΝΖΥΛΙΔΕΝΟ)-3,4-ΔΙΜΕΘΟΞΥΒΕΝΖΟΦΟΥΡΑΝ-3-(2H)-ΟΝΗ (20e)



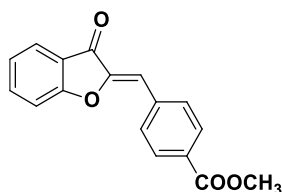
Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης ωρονών με οξειδωτική κυκλοποίηση χρησιμοποιώντας 0,2mmol (90,0 mg) 4',6',4,5-τετραμεθόξυ-2'υδρόξυ-χαικόνης και 0,26mmol (83,3 mg) οξικού υδραργύρου σε 2,6mL διαλύτη πυριδίνης σε θερμοκρασία 110 °C υπό ανάδευση για 1 ώρα.

Απόδοση: 78%, **Σημείο τήξης:** 161-164 °C

¹H NMR (CDCl₃, 600MHz): δ 7.44 (q, J=3.6 Hz, 2H, H₂, H₃'), 6.92 (d, J=7.8, 1H, H₅), 6.74 (s, 1H, H₁₀), 6.35 (d, J=1.8 Hz, 1H, H₇), 6.13 (d, J=1.8 Hz, 1H, H₆'), 3.96 (s, 3H, -OCH₃), 3.95 (s, 3H, -OCH₃), 3.93 (s, 3H, -OCH₃), 3.91 (s, 3H, -OCH₃)

UV-VIS: λ_{max}=384 nm

**(Z)-4-((3-ΟΞΟΒΕΝΖΟΦΟΥΡΑΝ-2-(3H)-ΥΛΙΔΕΝΟ)ΜΕΘΥΛΟ)ΒΕΝΖΟΪΚΟΣ ΕΣΤΕΡΑΣ
(21)**



Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης εστεροποιημένων ωρονών χρησιμοποιώντας 0,6 mmol (149 mg) 4'-καρβόξυ-ωρόνης, 15 mL μεθανόλης και 1,5 mL θειικού οξέος σε θερμοκρασία 70 °C υπό ανάδευση για 24 ώρες.

Απόδοση: 68 %, Σημείο τήξης: 180-184 °C

¹H NMR (CDCl₃, 600MHz): δ 8.11 (d, J=8.4 Hz, 2H, H₃', H₅'), 7.97 (d, J=8.4 Hz, 2H, H₂', H₆'), 7.82 (d, J=7.2 Hz, 1H, H₄), 7.69 (t, J=8.4 Hz, 1H, H₅), 7.36 (d, J=8.4 Hz, 1H, H₇), 7.24 (d, J=7.8 Hz, 1H, H₆), 6.89 (s, 1H, H₁₀), 3.95 (s, 3H, -CH₃)

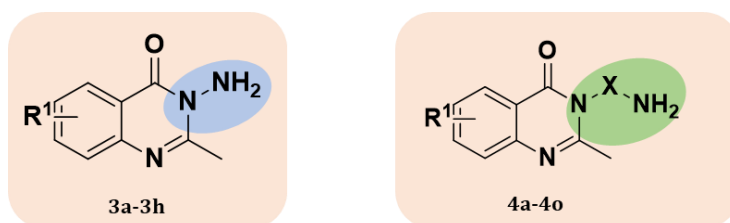
UV-VIS: λ_{max}=315 nm

3.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή σχεδιάστηκαν 8 σειρές (Α, Β, Γ Δ, Ε ΣΤ, Ζ , Η) κιναζολινικών αναλόγων καθώς και ωρονών και συντέθηκαν συνολικά 101 ανάλογα, ακολουθώντας τις βασικές μεθόδους που περιγράφηκαν παραπάνω.

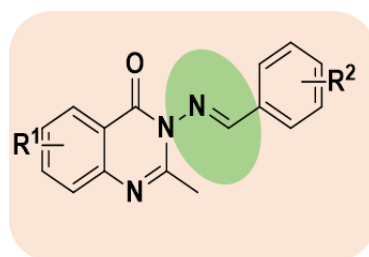
Τα νέα παράγωγα που συντέθηκαν ταυτοποιήθηκαν και χαρακτηρίστηκαν δομικά μέσω φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR (^1H και ^{13}C).

Αρχικά, η Σειρά Α (Σχήμα 3.20) αποτελείται από 2-μεθυλο-3,6 υποκατεστημένων κιναζολινικών παραγώγων. Πιο συγκεκριμένα χωρίζονται στην πορεία Ι όπου πραγματοποιήθηκε η σύνθεση 3-αμινο-2-μεθυλο-6-υποκατεστημένων κιναζολινονών (**3a-3h**) μέσω αντίδρασης κυκλοποίησης του κατάλληλα υποκατεστημένου ανθρανιλικού οξέος. Τα δύο στάδια της αντίδρασης πραγματοποιήθηκαν με την χρήση μικροκυματικής ακτινοβολίας για την βελτίωση της αντίδρασης (είχε μελετηθεί σε προηγούμενη εργασία του εργαστηρίου). Η μεθοδολογία σύνθεσης προσφέρει λιγότερο χρόνο αντίδρασης, καθαρότερα προϊόντα (μείωση παραπροϊόντων) και υψηλές αποδόσεις αντίδρασης. Στην Μέθοδο ΙΙ συντέθηκαν τα 2-μεθυλο-3,6- κιναζολινικά παράγωγα (**4a-4o**) με τον πρώτο στάδιο να είναι αντίστοιχο της πορείας Ι δηλαδή η κυκλοποίηση του κατάλληλα υποκατεστημένου ανθρανιλικού οξέος στις αντίστοιχες βενζοξαζινόνες. Έπειτα ακολούθησε η σύνθεση με την συμβατική μέθοδο, προσθέτοντας κατάλληλα υποκατεστημένη διαμίνη. Σημειώνεται ότι έγιναν προσπάθειες για την αλλαγή της μεθοδολογίας και την χρήση μικροκυματικής ακτινοβολίας αλλά υπήρχαν παρεμποδίσεις που δεν βελτίωσαν την μέθοδο. Συνολικά, στην Σειρά Α (Μέθοδος ΙΙ) ελήφθησαν δώδεκα νέα παράγωγα ύστερα από ανακρυστάλλωση σε ικανοποιητικές αποδόσεις.



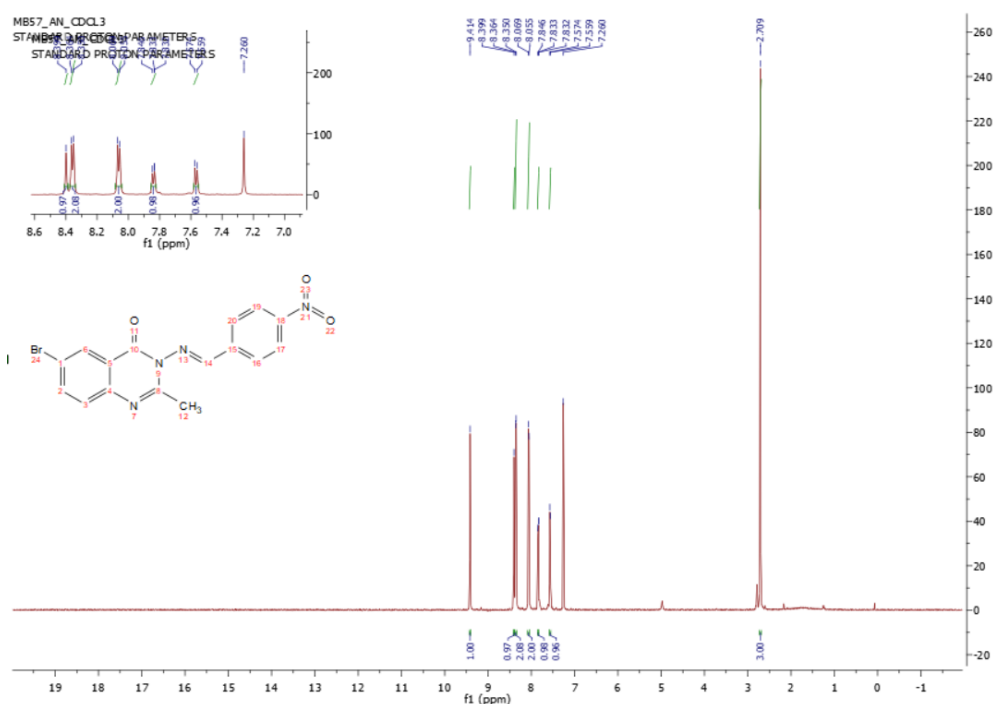
Σχήμα 3.20: Σύνθεση παραγώγων Σειράς Α

Η Σειρά Β αποτελείται από τα παράγωγα των ιμινών (Σχήμα 3.21). Αρχικά, συντέθηκαν η 6,7-υποκατεστημένες κιναζολινόνες (**3a-3h**), ενώ στο τρίτο στάδιο η αντιδράση της αμινομάδας και η δημιουργία διπλού δεσμού πραγματοποιήθηκε με την χρήση διαφόρων κατάλληλα υποκατεστημένων βενζαζαλδευδών.



Σχήμα 3.21: Σύνθεση παραγώγων Σειράς Β

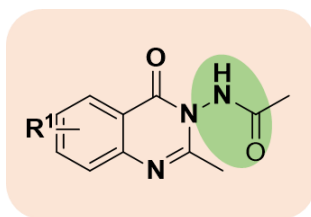
Στην Εικόνα 3.1 παρουσιάζεται το φάσμα ^1H NMR της ένωσης **5f** σε διαλύτη δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3). Συγκεκριμένα, στα χαμηλότερα πεδία ως περισσότερο αποπροστατευμένο εμφανίζεται με μία απλή κορυφή που ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο, του άνθρακα του ιμινικού δεσμού $\text{N}=\text{C}$ -. Στην περιοχή 8.40-7.28 ppm απορροφούν τα αρωματικά πρωτόνια του κιναζολινικού δακτυλίου καθώς και το δακτύλιο του ιμινικού δεσμού. Συγκεκριμένα, στα 8.40 ppm εμφανίζεται μία απλή κορυφή που ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο της θέσης 5 του κιναζολινικού δακτυλίου H-5. Στη συνέχεια, στα 8.36-8.35 ppm εμφανίζεται μία διπλή κορυφή με $J = 8.4$ Hz που ολοκληρώνεται για 2 πρωτόνια των H-12 και H-13. Στα 8.07-8.06 ppm εμφανίζεται μία διπλή κορυφή με $J = 8.4$ Hz που ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια των H-12, H16. Στα 7.85-7.83 ppm εμφανίζεται μια διπλή κορυφή με $J = 7.8$ Hz που ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο της θέσης 7 του κιναζολινικού δακτυλίου. Στα 7.57-7.56 εμφανίζεται μια διπλή κορυφή με $J = 9$ Hz που ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο της θέσης 8.



Εικόνα 3.1: Φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 , 600MHz) της 3-αιθυλενοδιαμινο-2-μεθυλο-6-βρωμο κιναζολιν -4-όνη (**5f**)

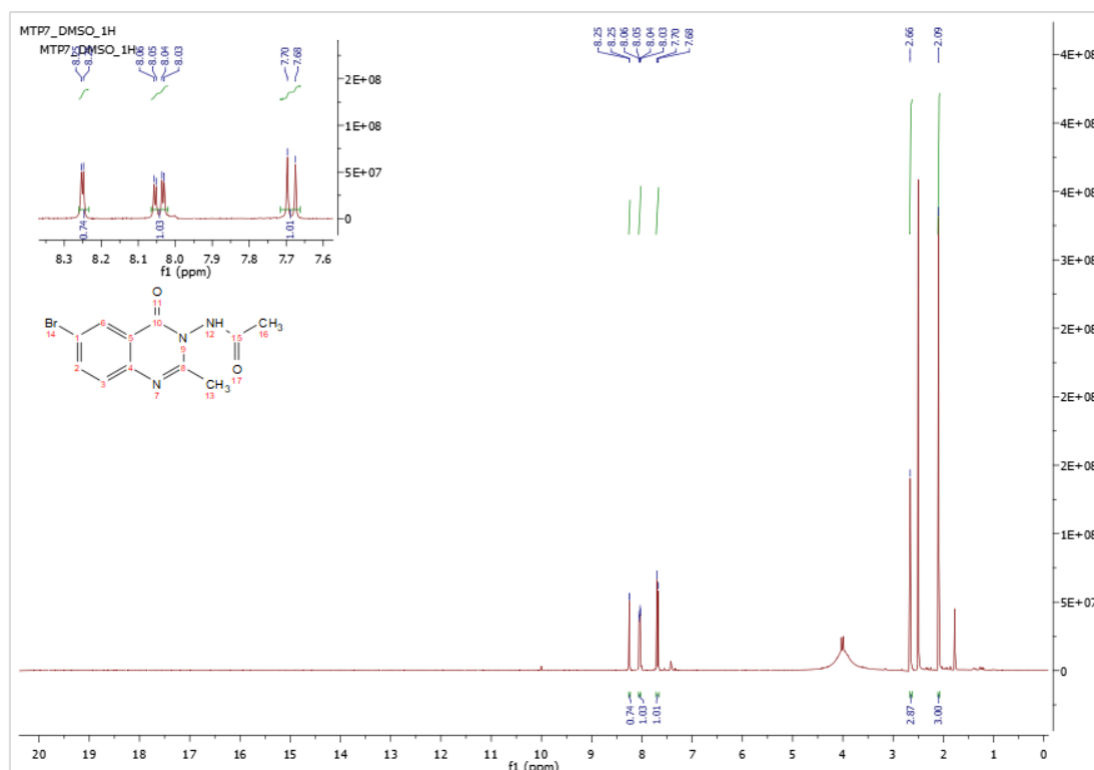
Τέλος, στα υψηλότερα πεδία, ως περισσότερο προστατευμένα εμφανίζονται τα τρία ισοδύναμα πρωτόνια της ομάδας του μεθυλίου της θέσης 2. Αυτά εμφανίζονται με μια απλή κορυφή στα 2.71 ppm.

Η Σειρά Γ αποτελείται από τα παράγωγα των αμιδίων (Σχήμα 3.22). Αρχικά, συντέθηκαν η 6,7-υποκατεστημένες κιναζολινόνες (**3a-3h**), ενώ στο τρίτο στάδιο η αντιδράση της αμινομάδας με ακετυλο-χλωρίδιο οδήγησε στην σειρά των ακετυλοαμιδικών κιναζολινικών παραγώγων.



Σχήμα 3.22: Σύνθεση αναλόγων Σειράς Γ

Στην Εικόνα 3.2 παρουσιάζεται ενδεικτικά το φάσμα ^1H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) της ένωσης **6c** σε δευτεριωμένο διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO-d_6).

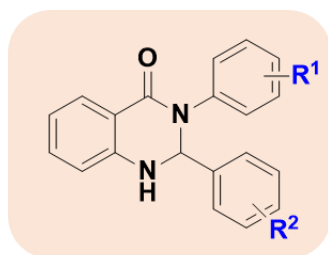


Εικόνα 3.2: Φάσμα πρωτονίου ^1H NMR του κιναζολινικού αναλόγου **6c**

Συγκεκριμένα, στα χαμηλά πεδία του φάσματος, στην περιοχή 8.25–7.68 ppm εμφανίζονται τα ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχεί στο αρωματικό πρωτόνιο της θέσης C-7. Τέλος, στα 7.70-7.68 ppm εμφανίζεται μια διπλή κορυφή με $J=13.2$ MHz που ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχεί στο αρωματικό πρωτόνιο της θέσης C-8. Στα υψηλότερα πεδία του φάσματος, αναμένεται να εμφανιστούν τα πιο προστατευμένα πρωτόνια. Συγκεκριμένα, παρατηρούνται τα τρία ισοδύναμα πρωτόνια του μεθυλίου της ακετυλομάδας με μια απλή κορυφή στα 2.66 ppm. Αντίστοιχα, εμφανίζονται με μια απλή κορυφή τα τρία ισοδύναμα πρωτόνια του μεθυλίου της θέσης 2.

Η Σειρά Δ αποτελείται από τις 2,3 διϋδροκιναζολινόνες (Σχήμα 3.23) όπου συντίθενται μέσω αντιδράσεων πολλαπλών συστατικών με καταλύτη και διαλύτη την χρήση NADES. Προκειμένου να συντεθούν όλα τα παράγωγα της Σειράς Δ πραγματοποιήθηκε

διερεύνηση των συνθηκών της αντίδρασης, με την μελέτη 20 διαφορετικών NaDES, ώστε να προσδιοριστεί η βέλτιστη συνθετική οδός, τα αποτελέσματα αυτά παρουσιάζονται στο Κεφάλαιο 2.

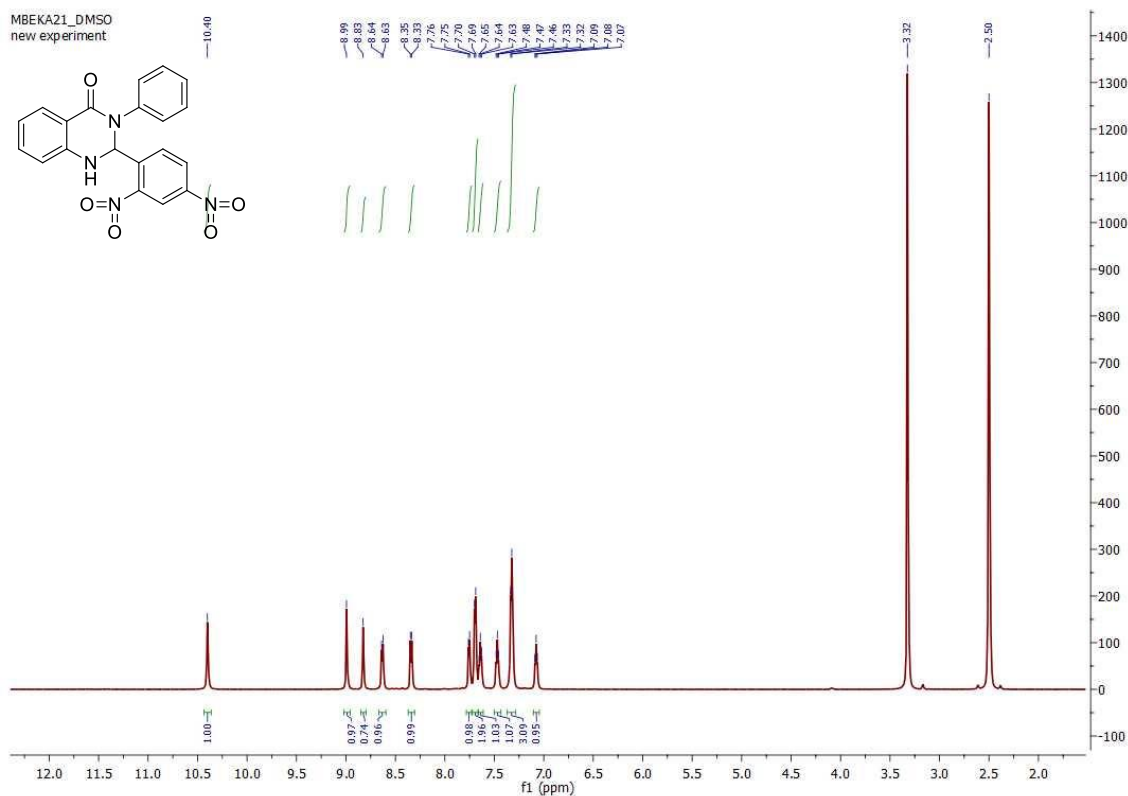


Σχήμα 3.23: Σύνθεση αναλόγων Σειράς Δ

Ενδεικτικά στην Εικόνα 3.3 παρουσιάζεται το φάσμα ^1H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) της ένωσης **10i** σε δευτεριωμένο διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO-d_6).

Στα χαμηλότερα πεδία του φάσματος παρουσιάζονται τα αρωματικά πρωτόνια της ένωσης και συγκεκριμένα μεταξύ 7.08-8.64 ppm. Στα 10.40 ppm εμφανίζεται μια απλή κορυφή, η οποία ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχεί στην ομάδα -NH της ένωσης. Ακολουθεί και πάλι μία απλή κορυφή στα 8.99 ppm που επίσης ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχεί στο πρωτόνιο της θέσης C-2 της ένωσης (CH).

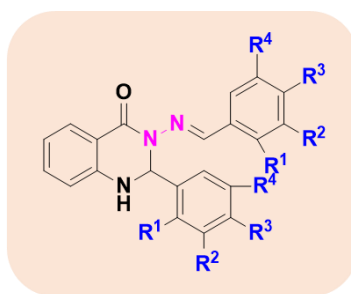
Ακολούθως εμφανίζεται μία απλή κορυφή στα 8.83 ppm που ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο της θέσης C-5. Ακολουθούν ακόμη δύο διπλές κορυφές, στα 8.64 ppm και στα 8.35 ppm, η καθεμία από τις οποίες έχει σταθερά σύζευξης $J=7.8$ Hz και ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο. Οι κορυφές αυτές αντιστοιχούν στα ισοδύναμα πρωτόνια του para-συστήματος των θέσεων C-16 και C-20.



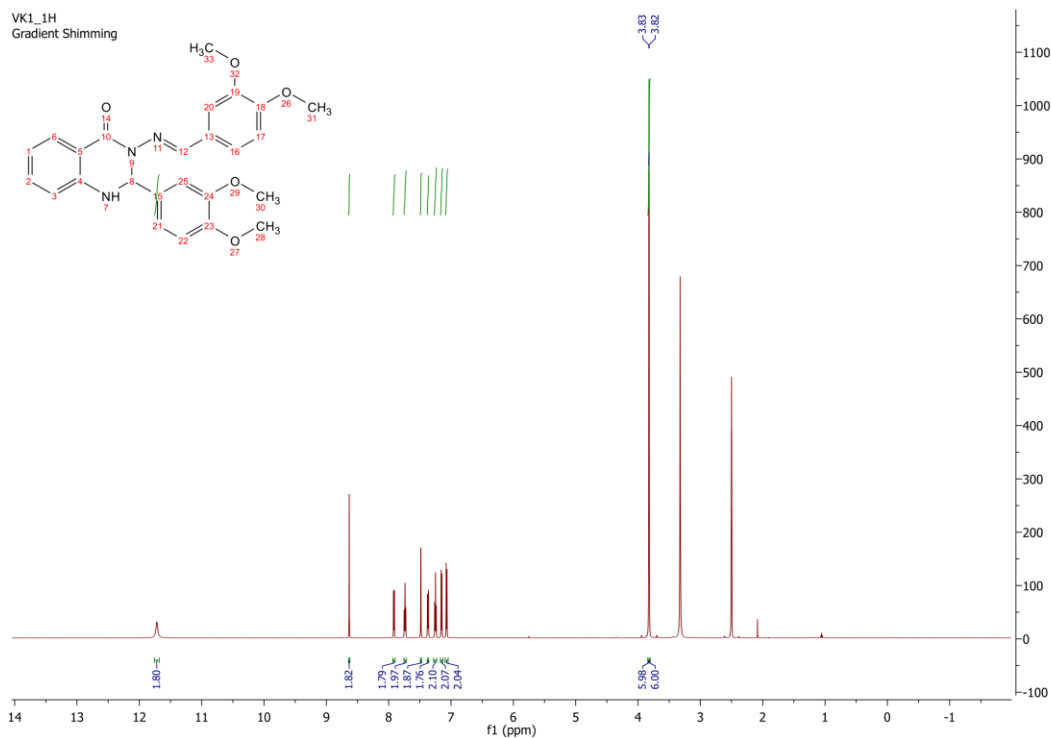
Εικόνα 3.3: Φάσμα πρωτονίου ^1H NMR (600 MHz, DMSO) της ένωσης 10i

Στη υψηλότερα πεδία του φάσματος, παρουσιάζεται μια διπλή κορυφή στα 7.76 ppm, με σταθερά σύζευξης $J=7.2$ Hz, η οποία ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχεί στην θέση C-14 της ένωσης. Στα 7.70 ppm εντοπίζεται μία ακόμη διπλή κορυφή, με $J=7.8$ Hz που ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια και αντιστοιχεί στο para-σύστημα των θέσεων C-11 και C-13. Ακολουθούν δύο τριπλές κορυφές, στα 7.64 ppm και 7.47 ppm, με $J=7.2$ Hz, οι οποίες ολοκληρώνονται για ένα πρωτόνιο η καθεμία και αντιστοιχούν στα αρωματικά πρωτόνια των θέσεων C-5 και C-8. Στα 7.33 ppm εμφανίζεται μία διπλή κορυφή με $J=7.2$ Hz, η οποία ολοκληρώνεται για τρία πρωτόνια και αντιστοιχεί στα αρωματικά πρωτόνια των θέσεων C-6, C-7 και C-18 της ένωσης. Τέλος, υπάρχει μία απλή κορυφή, η οποία ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο αντιστοιχεί στο πρωτόνιο του C-2.

Η Σειρά E αποτελείται από τις βάσεις Schiff διυδροκιναζολινονών (Σχήμα 3.24) που συντέθηκαν και ενδεικτικά παρουσιάζεται το φάσμα ^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz) (Εικόνα 3.4) της ένωσης **17b** σε δευτεριωμένο διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO- d_6).



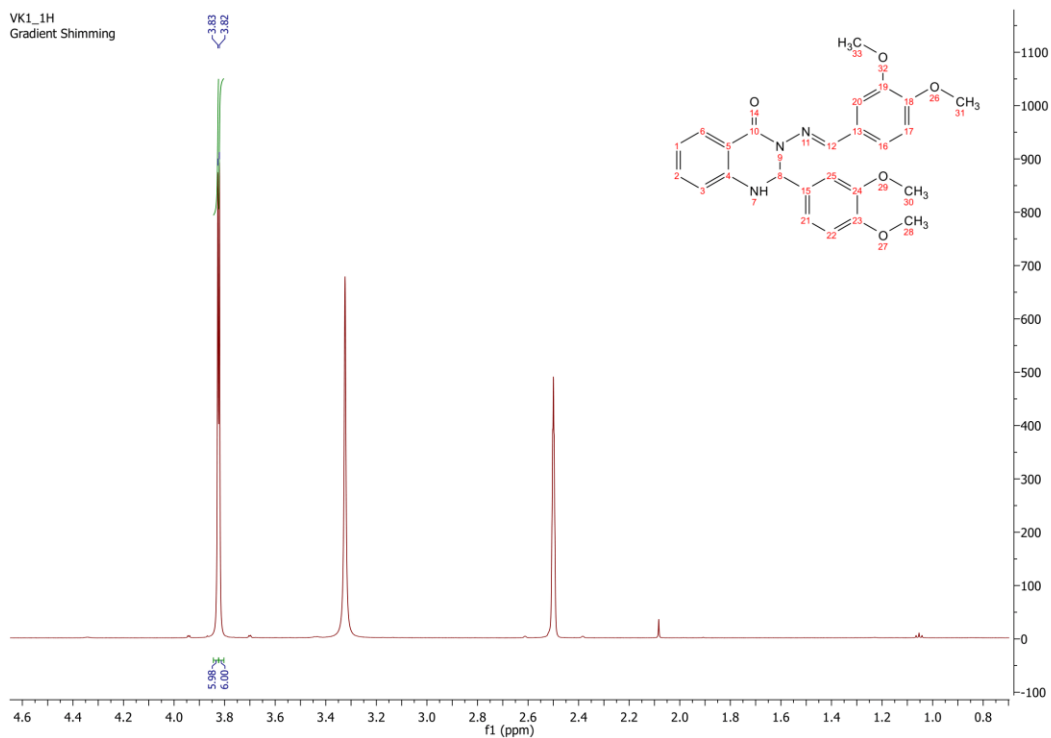
Σχήμα 3.24: Σύνθεση αναλόγων Σειράς E



Εικόνα 3.4: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 17b

Στα χαμηλότερα πεδία (Εικόνα 3.5) ως πιο αποπροστατευμένο εμφανίζονται το πρωτόνιο του αζώτου της θέσης C-1 και το πρωτόνιο του διπλού δεσμού (N=CH) στη θέση C-9. Στην περιοχή μεταξύ 7.92-7.06 ppm, εντοπίζονται τα αρωματικά πρωτόνια. Πιο συγκεκριμένα, στα 7.92 ppm εμφανίζεται μια διπλή διπλών κορυφή με σταθερά σύζευξης $J_1=0.6\text{Hz}$, $J_2=7.8\text{ Hz}$, η οποία ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχεί στο αρωματικό πρωτόνιο της θέσης C-5. Στη συνέχεια, στα 7.75-7.72 ppm εντοπίζεται μια τριπλή κορυφή που ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχεί στο αρωματικό πρωτόνιο της θέσης C-7. Αντίστοιχα στα 7.48 ppm εμφανίζεται μια διπλή κορυφή η οποία ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια που αντιστοιχούν στις θέσεις C-11, καθώς και στο πρωτόνιο της θέσης C-2. Στα 7.37 ppm εμφανίζεται μια διπλή διπλών κορυφή με $J_1=1.8\text{ Hz}$ και $J_2=8.4\text{ Hz}$, που ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο της θέσης C-17. Στα 7.25 ppm εμφανίζεται μια τριπλή κορυφή που ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο της θέσης C-6, ενώ στα 7.15 ppm εμφανίζεται μια διπλή κορυφή που ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια των θέσεων C-14, C-15. Τέλος, στα 7.07 ppm εμφανίζεται μια απλή κορυφή που ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο της θέσης C-8.

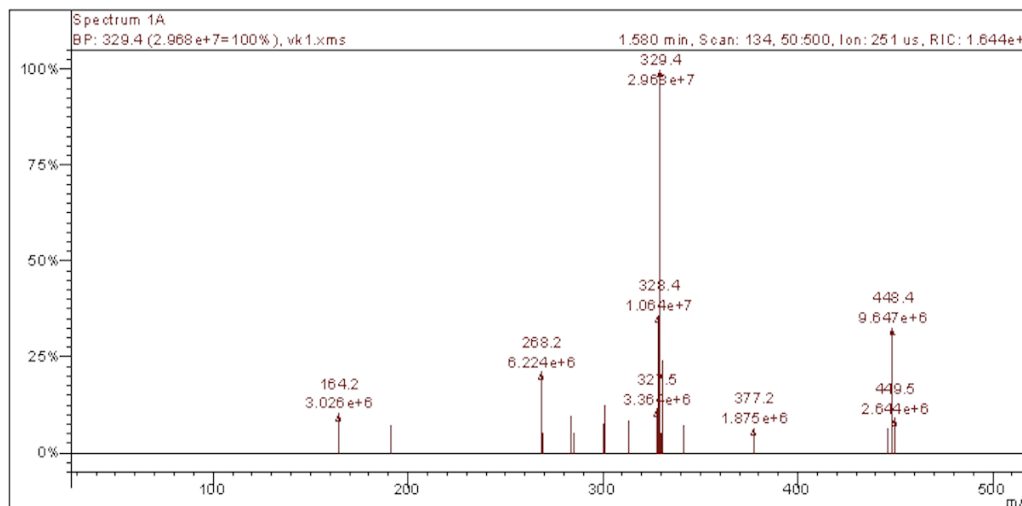
Στα υψηλότερα πεδία του φάσματος της ένωσης εμφανίζεται μια απλή κορυφή που ολοκληρώνεται για έξι πρωτόνια των δύο μεθόξυ-ομάδων ($-\text{OCH}_3$) καθώς αντίστοιχα στα 3.82 ppm εμφανίζεται μια απλή κορυφή που ολοκληρώνεται για έξι πρωτόνια των δύο επιπλέον μεθόξυ-ομάδων.



Εικόνα 3.5: Υψηλά πεδία του φάσματος της ένωσης **17b**

Στην Εικόνα 3.6 παρουσιάζεται το φάσμα MS της ένωσης **17b**.

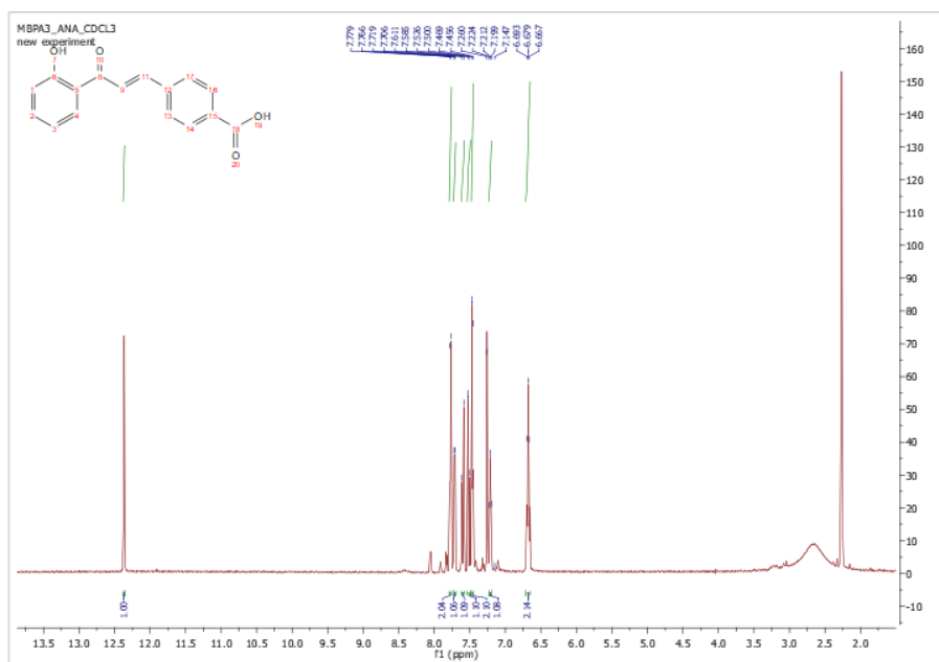
Scan 134 from c:\varianws\data\detsi 2021\vk1.xms



Εικόνα 3.6: Φάσμα MS του μορίου **17b**

Για την πλήρη ταυτοποίηση του μορίου, αναλύσαμε και το φάσμα μάζας του (Εικόνα 3.6). Η ένωση **17b** έχει μοριακό βάρος 447 g/mol. Συναντάμε, λοιπόν, μία κορυφή m/z 448 $[M+1]^+$, η οποία αντιστοιχεί στο μοριακό ιόν, ενώ το ιόν βάσης συναντάται με μια κορυφή με m/z 329.

Η Σειρά Z αφορά την σύνθεση χαλκωνών, και συγκεκριμένα στην Εικόνα 3.7 παρουσιάζεται το φάσμα πρωτονίου ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) της ένωσης **19** σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3).



Εικόνα 3.7: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης **19**

Χαρακτηριστικό των χαλκωνών αποτελεί το ενολικό υδροξύλιο που εμφανίζεται σε πολύ χαμηλά πεδία, γεγονός το οποίο οφείλεται στο σχηματισμό ενός δεσμού υδρογόνου μεταξύ του υδρογόνου του υδροξυλίου της θέσης 2' και του οξυγόνου του καρβονυλίου. Ο δεσμός υδρογόνου σταθεροποιεί την ενολική μορφή καθώς μειώνει την ηλεκτρονιακή πυκνότητα γύρω από το πρωτόνιο, αποπροστατεύοντας το πρωτόνιο και μετατοπίζοντας το σε χαμηλότερα πεδία. Συγκεκριμένα στο φάσμα ^1H NMR που εμφανίζεται στα 12,36 ppm ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο της θέσης 2'.

Δεύτερο χαρακτηριστικό του φάσματος ^1H NMR των χαλκωνών αποτελούν τα βινυλικά υδρογόνα τα οποία εμφανίζονται με μία διπλή κορυφή το καθένα. Τα πρωτόνια (H_a , H_b) παρουσιάζουν μεγάλες σταθερές σύζευξης ($J=15\text{-}16$ Hz), στοιχείο το οποίο αποδεικνύει το σχηματισμό χαλκόνης E-γεωμετρικής διάταξης. Συγκεκριμένα, στα 7,59 ppm και στα 7,51 ppm εμφανίζονται δύο διπλές κορυφές που ολοκληρώνονται για ένα πρωτόνιο η κάθε μια με $J=15,6$ Hz που αντιστοιχούν στα βινυλικά πρωτόνια b και a αντίστοιχα, επιβεβαιώνοντας την E-γεωμετρική διάταξη των δύο πρωτονίων.

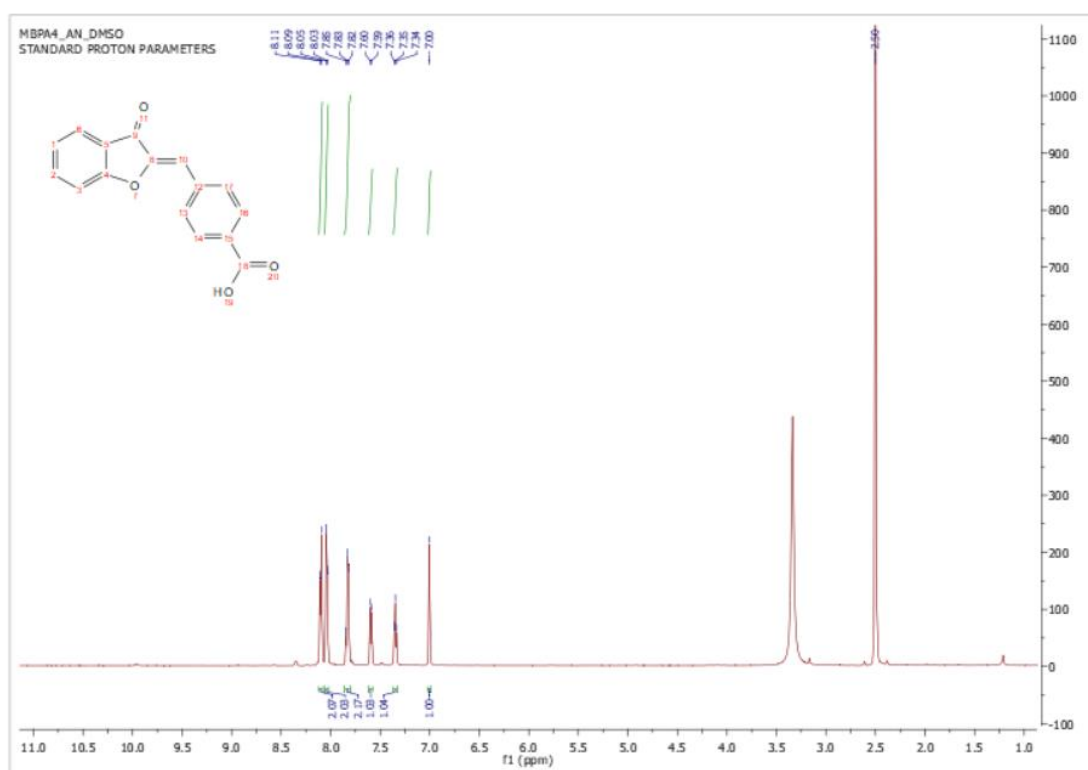
Στη συνέχεια του φάσματος, τα πιο αποπροστατευμένα πρωτόνια της ένωσης που εμφανίζονται στην περιοχή 7,77-6,67 ppm αντιστοιχούν στα αρωματικά πρωτόνια. Συγκεκριμένα, στα 7,77 ppm εμφανίζεται μια διπλή κορυφή με $J= 7,8$ Hz, η οποία ολοκληρώνεται για τα πρωτόνια H_3 και H_5 . Στα 7,71 ppm εμφανίζεται μια διπλή κορυφή $J= 7,8$ Hz που οφείλεται στο πρωτόνιο H_6' . Στα 7,46 ppm εμφανίζεται μια διπλή κορυφή που ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια που αντιστοιχούν στα πρωτόνια H_2 και H_6 . Στα 7,21 ppm εμφανίζεται μια τριπλή κορυφή που ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο που

αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H₅. Στα 6,67 ppm εμφανίζεται μια τετραπλή κορυφή η οποία ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια που αντιστοιχούν στα πρωτόνια H3' και H4'.

Η Σειρά H αφορά την σύνθεση των ωρονών όπου πραγματοποιήθηκε μέσω οξειδωτικής κυκλοποίησης των αντίστοιχων χαλκονών χρησιμοποιώντας οξικό υδράργυρο (II) ως οξειδωτικό παράγοντα. Συγκεκριμένα στην Εικόνα 3.10 παρουσιάζεται το φάσμα πρωτονίου ¹H NMR (600 MHz, DMSO-d₆) της ένωσης **20a** σε δευτεριωμένο διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO-d₆).

Χαρακτηριστικό των ωρονών αποτελεί η ύπαρξη ενός πρωτονίου του διπλού δεσμού στη σύνδεση του βενζοφουρανικού με τον αρωματικό δακτύλιο B, όπου εμφανίζεται με μια απλή κορυφή στα 7,0 ppm. (Εικόνα 3.8).

Συνεχίζοντας στο φάσμα εμφανίζονται τα αρωματικά πρωτόνια, στα 8,10 ppm εμφανίζεται μια διπλή κορυφή με J= 8,4 Hz, η οποία ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια των H3' και H5'. Στα 8,05 ppm εμφανίζεται μια διπλή κορυφή με J= 8,4 Hz η οποία ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια, των H2' και H6'. Στα 7,84 ppm εμφανίζεται μια κορυφή που ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια, τα πρωτόνια H4 και H5. Στα 7,60 ppm εμφανίζεται μια διπλή κορυφή που ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο αυτό της θέσης 7. Στα 7,35 ppm εμφανίζεται μια τριπλή κορυφή που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H6 λόγω σύζευξης με τα πρωτόνια H5 και H7 με J= 7,2 Hz



Εικόνα 3.8: Φάσμα ¹H NMR της ένωσης **20a**

3.4 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι νέες χημικές δομές που σχεδιάστηκαν και συντέθηκαν χαρακτηρίζονται από καινοτόμο χαρακτήρα τόσο για τον τρόπο σύνθεσης που επιλέχθηκε όσο για τα δομικά χαρακτηριστικά που φέρουν για την βιολογική δράση. Τα παράγωγα που σχεδιάστηκαν και συντέθηκαν στις Σειρές (A-...) ελήφθησαν σε ικανοποιητικές αποδόσεις και υψηλής καθαρότητας σύμφωνα με την ταυτοποίησή τους με φασματοσκοπικές μεθόδους. Τελικός στόχος αποτελεί η αξιολόγηση της βιολογικής δράσης (αντιοξειδωτική, αλληλεπίδραση με το DNA, φωτοδιασπαστική ικανότητα των ενώσεων με το DNA) και η ανάπτυξη μιας χημικής βιβλιοθήκης που θα παρέχει πληροφορίες μεταξύ δομής και βιολογικής δράσης.

3.5 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- [1] Farag, Doaa Boshra; Farag, Nahla A.; Esmat, Ahmed; Abuelezz, Sally A.; Abdel-Salam Ibrahim, Eman; Abou El Ella, Dalal A., *MedChemComm*, 2015, vol. 6, # 2, p. 283 – 299
- [2] Dighe et al., *Current Science*, 1964, vol. 33, p. 78
- [3] Ossman, Abdel Rahman El Nasser; Safwat, H. M.; Aziza, Mohsen A., *Indian Journal of Chemistry - Section B Organic and Medicinal Chemistry*, 1985, vol. 24, p. 333 – 335
- [4] Babu, Yarlagadda Rajesh; Bhagavanraju, Mantripragada; Reddy, Gade Deepak; Peters, Godefridus J.; Prasad, Velivela V. S. Rajendra, *Archiv der Pharmazie*, 2014, vol. 347, # 9, p. 624 – 634
- [5] Patel, Vijay H.; Patel, Manish P.; Patel, Ranjan G., *Heterocyclic Communications*, 2001, vol. 7, # 6, p. 599 – 606
- [6] Lempert-Sreter et al., *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 1977, vol. 94, p. 391,397
- [7] Ponomarev; Razorenov; Petrovskii, *Russian Chemical Bulletin*, 2009, vol. 58, # 11, p. 2376 - 2384][*Izv. Akad. Nauk, Ser. Khim.*, 2009, # 11, p. 2300 - 2308
- [8] Dash, B.; Dora, E. K.; Panda, C. S., *Journal of the Indian Chemical Society*, 1980, vol. 57, # 8, p. 835 – 836
- [9] Kolchagova; Zhelyazkov, *Trudove na Nauchnoizsledovatelskiya Khimikofarmatsevtichen Institut*, 1972, vol. 8, p. 121,124, *Chem.Abstr.*, 1973, vol. 78, # 147902q
- [10] Muraveva, *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 1971, vol. 5, # 6, p. 339, *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*, 1971, vol. 5, # 6, p. 25
- [11] Kumar, Ashok; Rajput, Chatrasal Singh, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2009, vol. 44, # 1, p. 83 – 90
- [12] Archana; Srivastava; Chandra, Ramesh; Kumar, Ashok, *Indian Journal of Chemistry - Section B Organic and Medicinal Chemistry*, 2002, vol. 41, # 11, p. 2371 – 2375
- [13] FaniMoghadam, Hamidreza; Dekamin, Mohammad G.; Rostami, Negin, *Research on Chemical Intermediates*, 2022, vol. 48, # 7, p. 3061 – 3089
- [14] Sattarova, O. E.; Kozhevnikov, Yu. V.; Zalesov, V. S.; Nikulina, S. N., *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 1984, vol. 18, # 10, p. 702 – 704, *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*, 1984, vol. 18, # 10, p. 1208 – 1210
- [15] Razavi, Nasrin; Akhlaghinia, Batool, *New Journal of Chemistry*, 2016, vol. 40, # 1, p. 447 – 457
- [16] Zhang, Jin; Ren, Decheng; Ma, Yangmin; Wang, Weitao; Wu, Hao, *Tetrahedron*, 2014, vol. 70, # 34, p. 5274 – 5282
- [17] Mahesha, Chikkagundagal K.; Borade, Somnath Arjun; Tank, Disha; Bajaj, Kiran; Bhambri, Himanshi; Mandal, Sanjay K.; Sakhuja, Rajeev, *Journal of Organic Chemistry*, 2023, vol. 88, # 3, p. 1457 – 1468
- [18] Liu, Cheng-Hang; Wang, Qiong; Xu, Zenglai; Li, Dongling; Zheng, Yuhong, *Synthetic Communications*, 2022, vol. 52, # 13-14, p. 1537 – 1545
- [19] Safari, Javad; Gandomi-Ravandi, Soheila, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 2013, vol. 371, p. 135 – 140

- [20] Wang; Zhang; Gao; Liang, *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 2012, vol. 48, # 6, p. 897 - 902][*Khim. Geterotsikl. Soedin.*, 2012, vol. 48, # 6, p. 965 - 971,7
- [21] Li, Shaokang; Zhang, Qianqian; Peng, Yanqing *Monatshefte für Chemie*, 2015, vol. 146, # 11, p. 1859 - 1864
- [22] Rezaei, Narjes; Sheikhi, Ehsan; Ranjbar, Parviz Rashidi, *Synlett*, 2018, vol. 29, # 7, art. no. ST-2017-D0853-L, p. 912 - 917
- [23] Ahmadian, Fatemeh; Barmak, Alireza; Ghaderi, Esmali; Bavadi, Masoumeh; Raanaei, Hossein; Niknam, Khodabakhsh, *Journal of the Iranian Chemical Society*, 2019, vol. 16, # 12, p. 2647 - 2658
- [24] Khachatryan; Belus; Misyurin; Baryshnikova; Kolotaev; Matevosyan, *Russian Chemical Bulletin*, 2017, vol. 66, # 6, p. 1044 - 1058][*Izv. Akad. Nauk, Ser. Khim.*, 2017, # 6, p. 1044 - 1058,15
- [25] Hricovíiová, Zuzana; Hricovíni, Michal; Kozics, Katarína, *Chemical Papers*, 2018, vol. 72, # 4, p. 1041 - 1053
- [26] Detsi, Anastasia; Hadjipavlou-Litina, Dimitra; Karadendrou, Maria-Anna; Kostopoulou, Ioanna; Kritsi, Eftichia; Liargkova, Thalia; Polyzos, Nestor-Ioannis; Pontiki, Eleni; Tzani, Andromachi; Zoumpoulakis, Panagiotis, *Molecules*, 2021, vol. 26, # 9, art. no. 2777
- [27] Bdzhola, V. G.; Bilokin, Y. V.; Borysenko, I. P.; Lukashov, S. S.; Protopopov, M. V.; Prykhod'ko, A. O.; Starosyla, S. A.; Vdovin, V. S.; Yarmoluk, S. M., *Bioorganic Chemistry*, 2020, vol. 102
- [28] Wang, Zhi-Peng; Xiang, Sichuan; Shao, Pan-Lin; He, Yun, *Journal of Organic Chemistry*, 2018, vol. 83, # 18, p. 10995 - 11007
- [29] Malbari, Khushboo; Saha, Priyanka; Chawla-Sarkar, Mamta; Dutta, Shanta; Rai, Swita; Joshi, Mamata; Kanyalkar, Meena, *Bioorganic Chemistry*, 2021, vol. 114, art. no. 105139
- [30] Badavath, Vishnu Nayak; Nath, Chandrani; Ganta, Narayana Murthy; Ucar, Gulberk; Sinha, Barij Nayan; Jayaprakash, Venkatesan, *Chinese Chemical Letters*, 2017, vol. 28, # 7, p. 1528 - 1532

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο
ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΝΕΩΝ ΚΙΝΑΖΟΛΙΝΙΚΩΝ
ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΚΑΙ ΩΡΟΝΩΝ

4.1 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΝΕΩΝ ΚΙΝΑΖΟΛΙΝΙΚΩΝ ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΚΑΙ ΩΡΟΝΩΝ

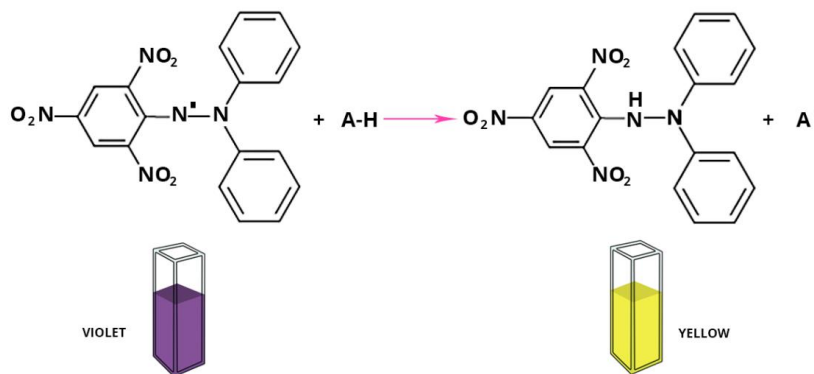
4.1.1 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Αντιοξειδωτικά

Τα αντιοξειδωτικά είναι μια σημαντική κατηγορία μορίων, τα οποία αναστέλλουν το οξειδωτικό στρες στο σώμα καταστρέφοντας τις ελεύθερες ρίζες. Οι ελεύθερες ρίζες είναι άτομα ή ομάδες που παράγονται κατά τη διαδικασία της οξείδωσης και είναι υπεύθυνες για την κυτταρική βλάβη στους ζώντες οργανισμούς. Τα τελευταία χρόνια το ενδιαφέρον των ερευνητών έχει στραφεί προς το σχεδιασμό νέων αντιοξειδωτικών λόγω των φαρμακευτικών ιδιοτήτων τους, καθώς χρησιμοποιούνται για διάφορες θεραπείες ασθενειών όπως της γήρανσης, των καρδιαγγειακών νόσων, του διαβήτη, του καρκίνου και μια ποικιλία άλλων ασθενειών. Η αντιοξειδωτική δράση μπορεί να προσδιοριστεί μέσω διαφόρων μεθόδων οι οποίες έχουν αναπτυχθεί. Χαρακτηρική μέθοδος είναι η μέθοδος δέσμευσης της σταθερής ελεύθερης ρίζας, DPPH που εκφράζει την ικανότητα των μορίων να μπορούν να δεσμεύουν την ελεύθερη ρίζα DPPH.

Μέθοδος δέσμευσης της σταθερής ελεύθερης ρίζας (DPPH)

Η μέθοδος δέσμευσης της σταθερής ελεύθερης ρίζας, DPPH χρησιμοποιείται εκτεταμένα για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ιδιότητας τόσο φυσικών όσο και συνθετικών ενώσεων. Οι Brand-Williams και οι συνεργάτες του ανέφεραν αρχικά την ανάπτυξη της μεθόδου όπου χρησιμοποιείται ευρέως για την αξιολόγηση φυσικών ή συνθετικών μορίων. Βασίζεται στην αντίδραση της ένωσης 2,2-διφαινυλ-1-πικρυλυδραζύλη (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl), DPPH με δότες υδρογόνου για την παραγωγή ενός σταθερού προϊόντος, προκαλώντας αλλαγή χρώματος από μωβ σε αχνό κίτρινο (Εικόνα 4.1). Όπως παρουσιάζεται και στην Εικόνα 4.1 η ελεύθερη ρίζα DPPH παρουσιάζει ένα μονήρες ζεύγος ηλεκτρονίων και σε διάλυμα παρουσιάζει μωβ χρώμα όπου μπορεί να μετρηθεί και φωτομετρικά στην περιοχή των 517 nm. Παρουσία ενώσεων όπου αυτές είναι ικανές να δώσουν τουλάχιστον ένα υδρογόνο παρουσιάζεται μεταβολή του χρώματος σε υποκίτρινο χρώμα. Με τον τρόπο αυτό, μέσω της μεταβολής της έντασης της απορρόφησης κατά την αντίδραση λειτουργεί ως ένδειξη της ικανότητας των μορίων να δρουν ως δεσμευτές των ελεύθερων ριζών και άρα να παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση.[1]-[3]



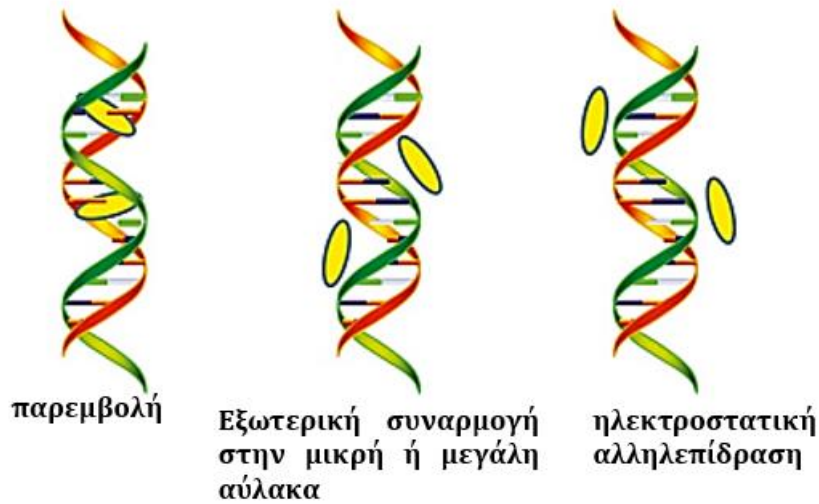
Εικόνα 4.1: Η αντίδραση του DPPH με δεσμευτές ελεύθερων ριζών. [3]

4.1.2 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕ ΤΟ DNA

Το DNA (δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ) έχει ιδιαίτερη σημασία, καθώς είναι γνωστό ότι μπορεί να μεταφέρει τη γενετική πληροφορία και μέσω της αντιγραφής, της μεταγραφής και της μετάφρασης των γενετικών πληροφοριών να οδηγεί στην πρωτεϊνοσύνθεση σε ζωντανά κύτταρα. Αρκετές δεκαετίες, έρευνες ως προς την αλληλεπίδραση φυσικών ή συνθετικών μορίων έχουν αναγνωρισθεί ως ένα από τα βασικά ζητήματα, καθώς έχουν συσχετιστεί με την διάγνωση και τη θεραπεία διαφόρων ασθενειών. Πιο αναλυτικά, για την κατανόηση των δομικών ιδιοτήτων του DNA, αλλά και του σχεδιασμού, της σύνθεσης και του μηχανισμού δράσης διαφόρων φαρμακευτικών μορίων, όπως μόρια με αντικαρκινική δράση, μελετώνται ευρέως ως προς την αλληλεπίδραση τους με το DNA. Για το σκοπό αυτό έχουν αναπτυχθεί χρήσιμα εργαλεία και διάφορες μέθοδοι *in vitro*. Επομένως, η αλληλεπίδραση συνθετικών ή φυσικών μορίων με το DNA είναι πολύ σημαντική για τον σχεδιασμό νέων, αποτελεσματικότερων ενώσεων για την αντιμετώπιση διαφόρων γενετικών ασθενειών.

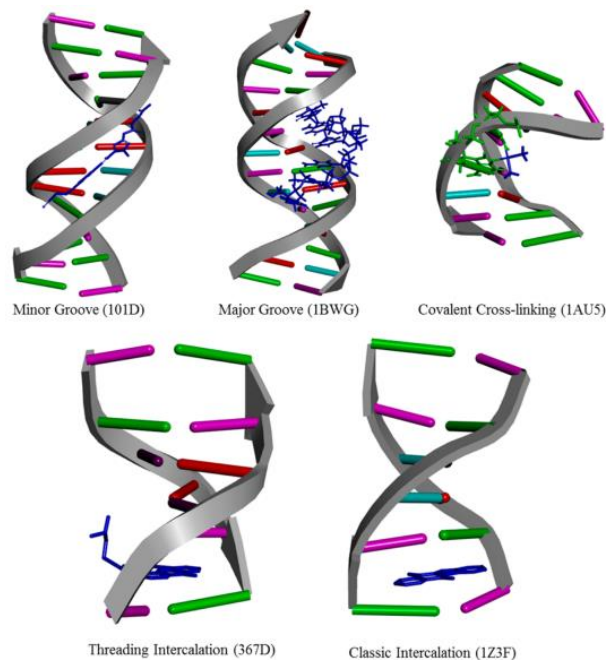
Πιο συγκεκριμένα, είναι γνωστό ότι τα αντικαρκινικά φάρμακα μπορούν να αλληλεπιδράσουν με το DNA με διαφορετικά είδη αλληλεπιδράσεων, όπως ενδεικτικά παρουσιάζονται στην Εικόνα 4.2. Για παράδειγμα τέτοια μόρια μπορούν να αλληλεπιδράσουν με διαφορετικούς τρόπους όπως με ομοιοπολική σύνδεση ή μη ομοιοπολική σύνδεση στην αύλακα, παρεμβολή, διάσπαση του DNA και ενσωμάτωση του μορίου/αναλόγου. Αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης του DNA με το αλληλεπιδρών μόριο είναι οι διαφοροποιήσεις στις λειτουργικές ιδιότητες και η θερμοδυναμική σταθερότητα του DNA.

Όσον αφορά την αλληλεπίδραση με το DNA διαφόρων αντικαρκινικών φαρμάκων, παρουσιάζονται τρεις κύριες μορφές αλληλεπίδρασης. Η πρώτη αφορά τον έλεγχο των πολυμερασών και των μεταγραφικών παραγόντων στο οποίο το μόριο αλληλεπιδρά με πρωτεΐνες οι οποίες συνδέονται με το DNA. Η δεύτερη αφορά την σύνδεση του RNA με την διπλή έλικα του DNA προκειμένου να σχηματιστούν δομές τριπλής έλικας νουκλεϊκών οξέων, ή με σχηματίζουν μονόκλωνο DNA με έκθεση των υβριδίων DNA-RNA, που πιθανώς να επεμβαίνουν στην μεταγραφική δραστηριότητα. Η τρίτη αφορά τρόπο σύνδεσης μικρών αρωματικών μορίων προσδέματος στις έλικες του DNA. Γενικότερα, η σύνδεση μικρών μορίων με το DNA, περιλαμβάνει παρεμβολή επίπεδων μορίων και αλληλεπίδραση μεταξύ των αζωτούχων βάσεων, ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση με το αρνητικά φορτισμένο νουκλεϊκό οξύ, DNA, και εξωτερικές αλληλεπιδράσεις στην μικρή ή στην μεγάλη αύλακα του DNA. [4]-[8]



Εικόνα 4.2: Κυριότεροι τρόποι αλληλεπίδρασης μορίων με το DNA.[9]

Πέραν της κλασικής παρεμβολής μπορεί να συμβεί δέσμευση ενός μέρους του αλληλεπιδρώντος μορίου όπως παρουσιάζεται και στην Εικόνα 4.3. Επιπλέον, μια μεμονωμένη ένωση μπορεί να εμφανίσει περισσότερους από ένα τρόπους δέσμευσης (π.χ. παρεμβολή και ομοιοπολική δέσμευση). Μπορεί επίσης να συμβεί δέσμευση στη ραχοκοκαλιά σακχαροφωσφορικών αλλά είναι λιγότερο συχνή.



Εικόνα 4.3: Τρόποι δέσμευσης μορίων με το DNA.[10]

Η δομή του δεοξυριβονουκλεϊκού οξέος, DNA αποτελείται από νουκλεοτιδικές αζωτούχες βάσεις οι οποίες είναι συνδεδεμένες με μια πεντόζη και τα δεοξυριβονουκλεοτίδια συνδέονται μεταξύ τους με φωσφοδιεστερικούς δεσμούς. Η διπλή έλικα του DNA δημιουργείται λόγω της συμπληρωματικότητας των αζωτούχων βάσεων του DNA μέσω ενδομοριακών δυνάμεων και είναι μεγάλου μήκους και μικρής διαμέτρου, με αποτέλεσμα να δημιουργούνται οι διαμορφώσεις, με τις μορφές -A, -B ή -Z. Δύο βασικές μορφές

αλληλεπίδρασης μεταξύ των μικρών μορίων και του DNA είναι είτε μέσω μη ομοιοπολικής σύνδεσης είτε μέσω ομοιοπολικής σύνδεσης. Συνήθως, η ομοιοπολική σύνδεση πραγματοποιείται με συνδυασμό ενώσεων συντονισμού μεταβατικών μετάλλων ή οργανικών μορίων, τα οποία αλληλεπιδρούν με το δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ με ανασταλτική δράση. Σε αντίθεση, η σύνδεση και η αλληλεπίδραση των μορίων στην αύλακα του DNA με παρεμβολή είναι πιο συχνή και μη αντιστρέψιμη μορφή μη ομοιοπολικής σύνδεσης μικρών μορίων. Η αλληλεπίδραση των μορίων στη μικρή αύλακα ευνοεί την ανάπτυξη κυρίως δεσμών υδρογόνου και δεσμών Van der Waals.

Η επικρατέστερη δομή θεωρείται η B-μορφή, η οποία παρουσιάζει μια χαρακτηριστική μεγάλη αύλακα εναλλασσόμενη με μια μικρή αύλακα. Αυτές οι αυλακώσεις διαφέρουν τόσο ως προς το μέγεθος (η μεγάλη αύλακα είναι ευύτερη και βαθύτερη) όσο και στα δεσμυτικά στοιχεία. Ενώ και οι δύο αυλακώσεις αλληλεπιδρούν με τους αντίστοιχους υποκαταστάτες τους μέσω σχηματισμού δεσμών υδρογόνου, στην μεγάλη αύλακα υπάρχουν εκτεθειμένες ομάδες μεθυλίου που βρίσκονται στην θυμίνη. Αυτές οι διαφορές οδηγούν σε επιλεκτικότητα της αύλακας όπου μεγάλα μόρια και πρωτεΐνες συνήθως συνδέονται στην μεγάλη αύλακα. Τα μικρά μόρια μπορούν να συνδεθούν και στις δύο αυλακώσεις (π.χ. ο αντικαρκινικός παράγοντας πυριπλατίνη δεσμεύεται στην μεγάλη (κύρια) αύλακα ενώ ο αντιϊικός παράγοντας νετροπίνη δεσμεύεται στην μικρή αύλακα). Ακόμη μικρά μόρια δεσμεύονται κατά προτίμηση στην μικρή αύλακα.

Αντίθετα, η παρεμβολή διαφόρων φαρμακευτικών μορίων στο DNA, αφορά την παρεμβολή ολόκληρου του μορίου ή μέρους μεταξύ των γειτονικών αζωτούχων βάσεων του DNA, γνωστή και ως διαδικασία αναστολής διαφόρων λειτουργιών του DNA.[5], [10]–[14]

Το δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ, DNA αποτελεί άμεσος βιολογικός, φαρμακευτικός αλλά και θεραπευτικός στόχος, παρόλα αυτά δεν υπάρχουν πολλά διαθέσιμα λογισμικά για την μελέτη, την ανάλυση και την απεικόνιση του τρόπου σύνδεσης μεταξύ του φαρμακευτικού μορίου και του DNA, πάντα σε σύγκριση με τα διαθέσιμα προγράμματα των αλληλεπιδράσεων μεταξύ πρωτεΐνης-φαρμακευτικού μορίου.

Τις τελευταίες δύο δεκαετίες, περισσότερες από 60 διαφορετικές βάσεις δεδομένων έχουν αναπτυχθεί, εργαλεία και προγράμματα τόσο για ακαδημαϊκή όσο και για εμπορική χρήση, όπως ενδεικτικά το Dock, AutoDock, FlexX, Surflex, GOLD, ICM, Glide, Cdocker, LigandFit, MCDock, AutoDock Vina κ.α. Αν και οι στρατηγικές στην τοποθέτηση του συνδέτη (ορισμού του χώρου) μπορεί να διαφέρουν, αυτά τα προγράμματα κατηγοριοποιούνται ευρέως για τον σταδιακό σχεδιασμό του συνδέτη, τον τρόπο σύνδεσης και δέσμευσης ενός συνδέτη.[4]–[6], [11], [12], [15]–[18]

Υπολογιστική μελέτη (Μοριακή μοντελοποίηση – molecular docking)

Λαμβάνοντας υπόψη τις πρόσφατες εξελίξεις στην τεχνολογία των υπολογιστών και την ταχεία αύξηση των δομικών, χημικών και βιολογικών δεδομένων που είναι διαθέσιμα σε ένα συνεχώς αυξανόμενο αριθμό θεραπευτικών στόχων, είναι κατανοητό πως η χρήση των *in silico* προσεγγίσεων όπως η χημειοπληροφορική (cheminformatics), η μοριακή μοντελοποίηση και η τεχνητή νοημοσύνη (AI) έχει σημαντική αύξηση τις τελευταίες δεκαετίες. Πράγματι, οι *in silico* προσεγγίσεις επιτρέπουν πλέον την απεικόνιση μεγάλου αριθμού ενώσεων σε προσιτό χρόνο, μειώνοντας έτσι το αρχικό κόστος της σύνθεσης και

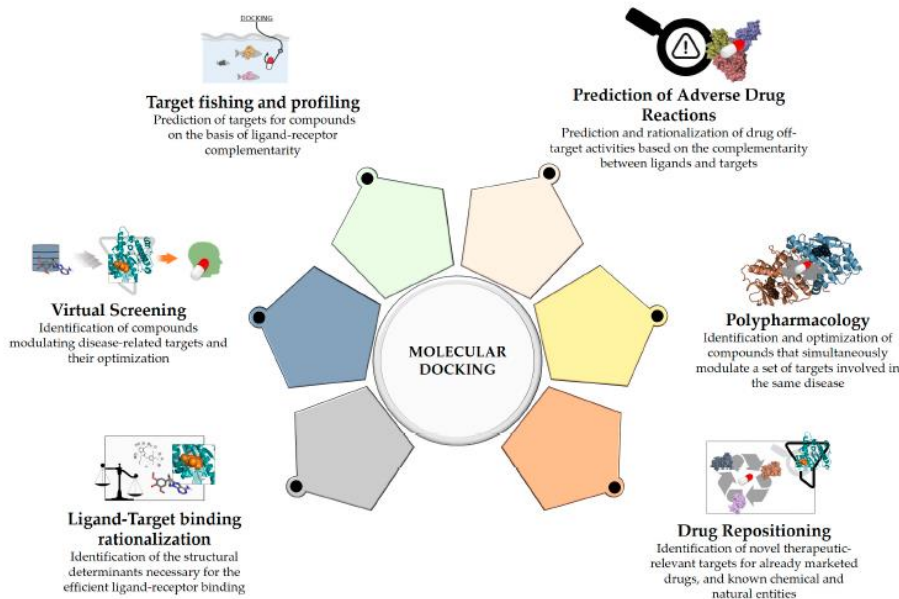
της αξιολόγησης των μορίων και αυξάνοντας την πιθανότητα εύρεσης των επιθυμητών υποψήφιων φαρμάκων. Προς το παρόν, υπάρχουν αρκετές διαθέσιμες διαθέσιμες τεχνικές μοντελοποίησης για τη διευκόλυνση των εργασιών ανακάλυψης νέων φαρμάκων, που οι περισσότερες από αυτές ταξινομούνται με βάση τη δομή και τα μόρια οδηγούς. Οι μέθοδοι βασίζονται στις πληροφορίες της τρισδιάστατης δομής ενός στόχου ενδιαφέροντος, και επιτρέπουν την κατάταξη των βάσεων δεδομένων μορίων σύμφωνα και με τα δομικά χαρακτηριστικά και την ηλεκτρονική συμπληρωματικότητα των προσδεμάτων σε ένα δεδομένο στόχο. Σε αυτό το πλαίσιο, η μοριακή σύνδεση είναι μια από τις πιο δημοφιλείς και επιτυχημένες μεθόδους που βασίζονται σε δομές *in silico*, οι οποίες βοηθούν στην πρόβλεψη των αλληλεπιδράσεων που συμβαίνουν μεταξύ των μορίων και των βιολογικών στόχων.

Δεδομένης της δυνατότητας που προσφέρουν οι μέθοδοι αυτοί, αυξημένες προσπάθειες έχουν κατευθυνθεί προς την βελτίωση των αλγορίθμων και την υπέρβαση των εγγενών περιορισμών τους. Η εφαρμογή της σύνδεσης στο σχεδιασμό φαρμάκων περιορίζεται σε βιολογικούς στόχους, των οποίων οι κρυσταλλικές δομές είναι γνωστές. Έχουν υιοθετηθεί αρκετές προσεγγίσεις ώστε να ξεπεραστεί αυτός ο περιορισμός. Οι μέθοδοι αυτοί, χρησιμοποιούν παράλληλα και τη μοριακή δυναμική για την περαιτέρω βελτίωση στη μοντελοποίηση των συμπλεγμάτων. Παρόλα αυτά η πρόσφατη πρόοδος στη δομική βιολογία και στον προσδιορισμό κρυσταλλικών δομών σίγουρα βοηθάει στην βελτίωση των μεθόδων αυτών.

Στις *in silico* προσεγγίσεις, συμπεριλαμβανομένης και της μοριακής δυναμικής, έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί ευρέως για την εξερεύνηση των διαμορφώσεων των φαρμακευτικών μορίων, των προσδεμάτων και των συμπλόκων μεταξύ συνδέτη-βιολογικού στόχου, με αποτέλεσμα την καλύτερη αξιολόγηση της δυναμικής συμπεριφοράς των συμπλόκων μορίου-στόχου και την βελτίωση των αποτελεσμάτων της μοριακής μοντελοποίησης.

Επιπλέον, έχουν αναπτυχθεί πιο αυστηρές μεθοδολογίες απεικόνισης για την βελτίωση των προβλέψεων μεταξύ φαρμακευτικού μορίου και βιολογικού στόχου.

Αρχικά, στόχος της ανάπτυξης των μεθόδων και των τεχνικών μοριακής μοντελοποίησης ήταν η διερεύνηση της μοριακής αναγνώρισης μεταξύ μικρών ή μεγάλων μορίων. Επιπλέον, όμως φαίνεται να συνεισφέρει στην συνεχή ανακάλυψη νέων φαρμακευτικών μορίων αλλά παράλληλα να βελτιώνει την σύνθεση νέων μορίων τα οποία αλληλεπιδρούν με το στόχο πιο στοχευμένα. Οι μέθοδοι της μοριακής μοντελοποίησης βοηθούν στην κατανόηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των φαρμακευτικών μορίων και των διαφόρων βιολογικών στόχων, που πιθανώς εμπλέκονται σε μία ασθένεια ή βιολογική δράση. Αυτό το γεγονός, είναι ιδιαίτερα σημαντικό για την πολυφαρμακολογία και τον σύγχρονο τρόπο ανακάλυψης νέων φαρμακευτικών μορίων (Εικόνα 4.4). [19]



Εικόνα 4.4: Παραδείγματα εφαρμογών της μοριακής μοντελοποίησης (molecular docking).[4], [19]

Ειδικότερα, η χρήση τέτοιων μεθόδων και τεχνικών έχει οδηγήσει στην ανακάλυψη νέων φαρμακευτικών ουσιών, όπου τροφοδοτούνται από τη συνεχή βελτίωση αλγορίθμων και από την αύξηση της προσβασιμότητας στους ερευνητές πληροφοριών σχετικές με τους δεσμούς και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ ενώσεων-στόχων. Συγκεκριμένα, Οι τεχνικές της μοριακής μοντελοποίησης έχουν επίσης ενσωματωθεί σε πρωτόκολλα διαλογής μεγάλης κλίμακας για την αναγνώριση π.χ. (i) θέσεις δέσμευση πρωτεϊνών στις οποίες θα μπορούσαν να συνδεθούν τα φαρμακευτικά μόρια, (ii) νέοι μοριακοί στόχοι γνωστών φαρμακευτικών μορίων, (iii) πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες των φαρμάκων και (iv) φαρμακευτικά μόρια με νέους ενεργούς χημειό-τυπους έναντι δεδομένου στόχου ή ενός συνόλου επιθυμητών στόχων .[19]

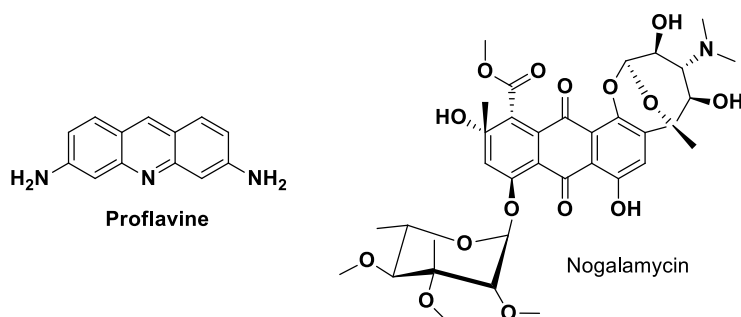
Οι μέθοδοι της μοριακής μοντελοποίησης πια χρησιμοποιούνται ευρέως για να βοηθήσουν στην ανακάλυψη νέων φαρμάκων, με την επιτυχή αναγνώρισή τους, την βελτιστοποίηση και επανατοποθέτηση του φαρμάκου, την εκ των υστέρων ταυτοποίηση του στόχου (αντίστροφη εξέταση), σχεδιασμό φαρμάκων με δράση του έναντι πολλαπλών στόχων. Επιπλέον, η σύνδεση επιτρέπει την κατανόηση μεταξύ των διαφορετικών μοριακών στόχων που εμπλέκονται σε μια δεδομένη ασθένεια.

Για την μελέτη μοριακής μοντελοποίησης, η κύρια βάση δεδομένων η οποία λειτουργεί ως πηγή των μακρομορίων, όπως των νουκλεϊικών οξέων, των πρωτεϊνών κ.α, είναι η βάση δεδομένων RSCB Protein Data Bank (PDB). Συνήθως, τα υποψήφια φαρμακευτικά μόρια στις διεργασίες μοριακής μοντελοποίησης είναι μικρά μόρια. Η ανάπτυξη της συνδυαστικής χημείας, είχε ως αποτέλεσμα την ταχεία αύξηση του αριθμού των διαθέσιμων «χημικών βιβλιοθηκών», όπου αυτό οδήγησε στην αύξηση της ζήτησης για την ταχεία και την οικονομική ανάπτυξη μεθοδολογιών για τη μελέτη των αλληλεπιδράσεων μεταξύ φαρμακευτικών μορίων και μοριακών στόχων. Ο αυξανόμενος αριθμός των καταχωρήσεων στην βάση δεδομένων PDB, σε συνδυασμό με το έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον για πρόβλεψη των μορφών αλλά και της μεταξύ τους συγγένειας, οδήγησε στην αποδοχή της χρήσης των μεθόδων της τεχνητής μοντελοποίησης. Στις μεθόδους μοριακής μοντελοποίησης, διάφοροι αλγόριθμοι είναι διαθέσιμοι ώστε να

προβλέπονται και αξιολογούνται οι δεσμοί οι οποίοι αναπτύσσονται στην κάθε μια περίπτωση. Η εφαρμογή τέτοιου είδους μεθοδολογιών απαιτεί την ύπαρξη αλγορίθμων για συγκεκριμένους υποκαταστάτες ώστε να μελετηθούν οι διαφορετικές διαθέσιμες θέσεις πρόσδεσης.[20]

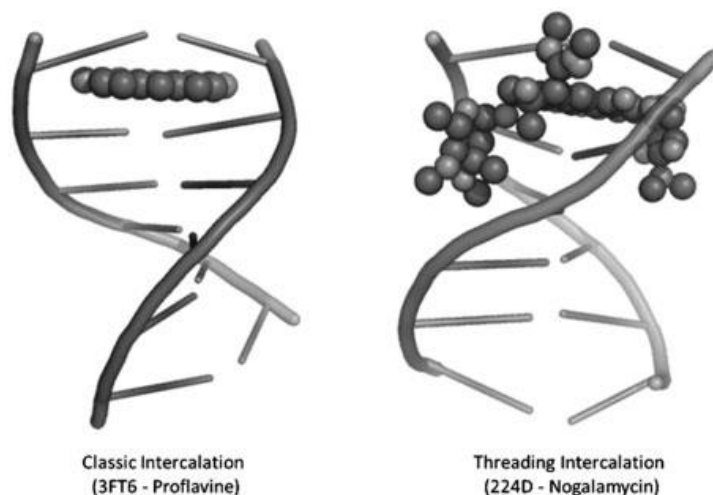
Παρεμβολείς DNA (DNA intercalation)

Ως παρεμβολείς του DNA συνήθως μπορούν να δράσουν ουσίες οι οποίες περιέχουν επίπεδους πολυαρωματικούς δακτυλίους ή/και κατιονικούς υποκαταστάτες, έτσι ώστε να μπορούν να εισχωρήσουν μεταξύ των αζωτούχων βάσεων του DNA διασπώντας τους δεσμούς μεταξύ των αζωτούχων βάσεων. Οι πιο γνωστοί τύποι μορίων παρεμβολέων είναι οι ενδοπαρεμβολείς και οι παρεμβολείς σπειρώματος. Ένα γνωστό παράγωγο που δρα ως παρεμβολέας στο DNA αποτελεί η προφλαβίνη (Σχήμα 4.1) η οποία θεωρείται ως ένας γνωστός και κοινός παρεμβολέας και παρατηρώντας την χημική της δομή χαρακτηρίζεται από επίπεδα αρωματικά συστήματα κάνοντας το μόριο αυτό επίπεδο, οδηγώντας έτσι στην ενδοπαρεμβολή. [6], [21]–[23]



Σχήμα 4.1: Χημικές δομές προφλαβίνης και νογαλαμυκίνης.

Η νογαλαμυκίνη (Σχήμα 4.1) θεωρείται ένας παρεμβολέας σπειρώματος λόγω της χημικής της δομής, αποτελείται από πλευρικές ομάδες κατά μήκος άξονα παρεμβολής της, με αποτέλεσμα αυτό το κομμάτι του μορίου να δεσμεύεται στο DNA τόσο με παρεμβολή ενός μέρους του όσο και με ταυτόχρονη δέσμευση είτε στη μικρή είτε στη μεγάλη αύλακα του DNA (Εικόνα 4.5). Επιπλέον, η διάκριση των παρεμβολέων μπορεί να γίνει με βάση τον προσανατολισμό του τμήματος του μορίου το οποίο παρεμβάλλεται μεταξύ των ζευγών των αζωτούχων βάσεων του DNA.[24], [25]



Εικόνα 4.5: Απεικόνιση του τρόπου δέσμευσης της προφλαβίνης και της νογαλμυκίνης στο DNA.[25]

Η παρεμβολή στο DNA θεωρείται ως η εισαγωγή ενός μέρους του μορίου ή και ολόκληρου του μορίου μεταξύ των ζευγών των αζωτούχων βάσεων της έλικας του DNA, για τον σχηματισμό σταθερών δομών. Το αποτέλεσμα αυτής της δέσμευσης είναι μεταβολές στην έλικα του DNA με αρχική διάσπαση των δεσμών μεταξύ των αζωτούχων βάσεων και το σχηματισμό νέων δεσμών μεταξύ του φαρμακευτικού μορίου και του DNA προς τον σχηματισμό ενός τελικού συμπλόκου μορίου-DNA. Η παρεμβολή πραγματοποιείται όταν η αλυσίδα του DNA μειώνει την ελικοειδή της περιστροφή, προκαλώντας ταυτόχρονο ξετύλιγμα (τοπική παραμόρφωση) της αλυσίδας του DNA. Η μεταβολή αυτή στην δομή του DNA που παρατηρείται αλλά και η μεταβολή των μηχανικών ιδιοτήτων του DNA μπορεί να διαταράσσει διάφορες βιολογικές λειτουργίες ή/και διεργασίες, όπως είναι για παράδειγμα οι διεργασίες της αντιγραφής, μεταγραφής, μετάφρασης και της επιδιόρθωσης του DNA, οδηγώντας στον πιθανό κυτταρικό θάνατο. Για το λόγο αυτό, η εισαγωγή των παρεμβολέων και η χρήση τους σε μεθόδους σύνθεσης και βελτίωσης των φαρμακευτικών μορίων (π.χ. με αντικαρκινική δράση) αποτελεί ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την μελέτη και την αξιολόγηση της βιολογικής τους δράσης.

Ως DNA παρεμβολείς μπορούν να θεωρηθούν πολυκυκλικά, αρωματικά ή/και επίπεδα μόρια, όπου η παρεμβολή τέτοιων μορίων στο DNA θεωρείται ως μια κατηγορία αρωματικών αλληλεπιδράσεων στοίβαξης με την ενέργεια διασποράς να παίζει σημαντικό ρόλο. Γενικά, έχουν μελετηθεί και αξιολογηθεί πειραματικά αρκετά συστήματα παρεμβολής, όπου συνήθως, τα μόρια παρεμβολής μπορεί να έχουν πλευρικές αλυσίδες διαφόρων μεγεθών.

Ακόμη, η παρεμβολή εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως για παράδειγμα την υγρασία, την αναδίπλωση του DNA, τα εντροπικά φαινόμενα κ.α. Οι θερμοδυναμικές διεργασίες μπορούν να προσομοιωθούν με υπολογιστική μελέτη, όπως μέσω της μοριακής δυναμικής. “Όμως τα αποτελέσματα αυτά είναι σε πλήρη εξάρτηση από τις εμπειρικές ιδιότητες που παίζουν σημαντικό ρόλο από το σύστημα. Για την απόκτηση πιο αξιόπιστων αποτελεσμάτων, μέσω της διεργασίας της παρεμβολής, είναι επιθυμητή η ανάπτυξη μιας περισσότερο αποτελεσματικής υπολογιστικής μεθόδου.[6], [8], [13], [14], [22], [23], [25]-[29]

Δέσμευση στη μικρή ή στη μεγάλη αύλακα (minor or major groove binding)

Μέσω της ομοιοπολικής αλληλεπίδρασης προκαλείται μόνιμη αλλαγή στη έλικα του DNA, σε αντίθεση με τη μη ομοιοπολική, η οποία μπορεί να προκαλέσει αναστρέψιμη κατάσταση στη δομή του DNA. Γενικά, οι διαφορετικοί τρόποι δέσμευσης των μορίων μη ομοιοπολικά στο DNA μπορεί να είναι μέσω ηλεκτροστατικής αλληλεπίδρασης, παρεμβολής, αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ζευγών των αζωτούχων βάσεων είτε στην μικρή είτε στη μεγάλη αύλακα.

Τα τελευταία χρόνια, η αλληλεπίδραση των μικρών οργανικών μορίων στην μικρή αύλακα του DNA έχει μελετηθεί ευρέως, ενώ αντίστοιχα στην μεγάλη αύλακα οι μελέτες είναι πιο περιορισμένες. Υπάρχουν αρκετά παραδείγματα φυσικών προϊόντων τα οποία στοχεύουν ή αλληλεπιδρούν στην μικρή αύλακα του DNA όπως είναι η D- ακτινομυκίνη, η χρωμομυκίνη, και η νετροψίνη. Σε αντίστοιχη περίπτωση, υπάρχουν και βιολογικά μακρομόρια, όπως για παράδειγμα είναι οι πρωτεΐνες, οι οποίες αλληλεπιδρούν επιλεκτικά μέσω δεσμών υδρογόνου του δότη και του αποδέκτη στην μεγάλη αύλακα του DNA, τονίζοντας ότι η μεγάλη αύλακα θεωρείται ως ένας σημαντικός στόχος των φαρμακευτικών μορίων. Γενικά, οι πρωτεΐνες έχουν την ικανότητα να αναγνωρίζουν τους δότες και τους αποδέκτες των δεσμών υδρογόνου, αλλά και τις υδρόφοβες ομάδες.

Μόρια τα οποία αλληλεπιδρούν στην εξωτερική μικρή αύλακα του DNA, αποτελούν μια σημαντική κατηγορία και των αντικαρκινικών παραγώγων. Ορισμένα από τα μόρια αυτά σχηματίζουν μη ομοιοπολικά σύμπλοκα με το DNA, ενώ ανίσοιχως άλλα μόρια τα δεσμεύουν το DNA και προκαλούν διάσπαση της δομής του. Η μικρή αύλακα του DNA αποτελεί ερευνητικό ενδιαφέρον για τον σχεδιασμό, την ανάπτυξη νέων φαρμακευτικών παραγώγων, καθώς η μικρή αύλακα αποτελεί κατάλληλη θέση για τις μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις μεγάλης αλληλουχίας. Τα μικρά οργανικά μόρια τα οποία μπορούν να συνδέονται στην μικρή αύλακα του DNA θεωρούνται ως μια από τις πιο γνωστές κατηγορίες ενώσεων που εμφανίζουν υψηλό βαθμό εξειδίκευσης στην αλληλεπίδρασή τους με το DNA και παίζουν καθοριστικό ρόλο σε διάφορες βιολογικές δράσεις όπως για παράδειγμα τέτοια ανάλογα μπορούν να χαρακτηριστούν ως αντικαρκινικοί, αντικοί και αντιβακτηριακοί παράγοντες.

Οι τρόποι σύνδεσης μεταξύ του φαρμακευτικού μορίου και του DNA, που έχουν μελετηθεί, μπορούν να παρέχουν αρκετές πληροφορίες σχετικά με τη δομή και τα λειτουργικά χαρακτηριστικά που συμβάλλουν στην επιλεκτικότητα της σύνδεσης. Όσον αφορά τον προσδιορισμό αυτής της επιλεκτικότητας σύνδεσης στο DNA, είναι σημαντική η ύπαρξη κατάλληλων πειραματικών τεχνικών, όπως για παράδειγμα μέσω κρυσταλλογραφίας ακτίνων X, φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) και μοριακής μοντελοποίησης, όπου διευκολύνουν την κατανόηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ της ένωσης και του DNA και των χημικών αντιδράσεων που πραγματοποιούνται μέχρι τον σχηματισμό του συμπλόκου.

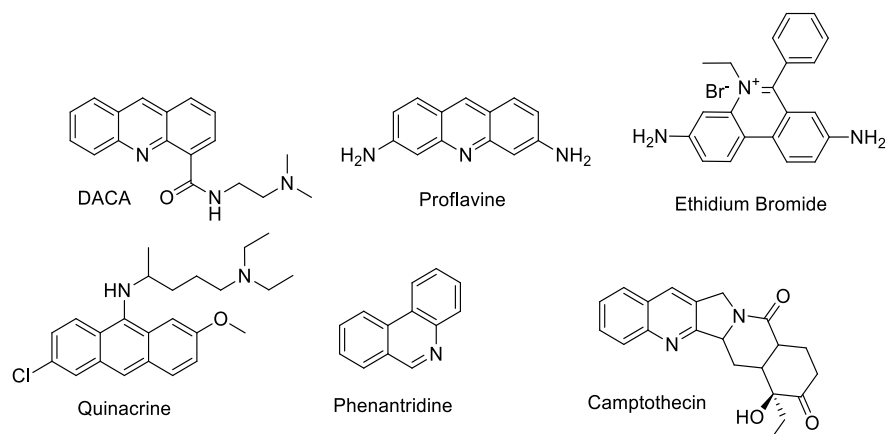
Ενώσεις οι οποίες αλληλεπιδρούν στην μικρή αύλακα του DNA παρουσιάζουν αποδεδειγμένη αντικαρκινική δράση, και πιο συγκεκριμένα λευχαιμιών, καρκίνο του μαστού, καρκίνο των ωοθηκών, σαρκωμάτων και μελανωμάτων. Για να μπορέσει να χαρακτηριστεί ένα φαρμακευτικό μόριο ως αποτελεσματικός αντικαρκινικός παράγοντας θα πρέπει να συνδεθεί ομοιοπολικά στην μικρή αύλακα, έτσι ώστε να προκαλούνται μη αναστρέψιμες μεταβολές στην διπλή έλικα του DNA. Ορισμένα

ανάλογα, εκτός από τις θεραπευτικές τους ιδιότητες, είναι χρήσιμα για παράδειγμα στην ανάλυση των χρωμοσωμάτων, καθότι μόρια που στοχεύουν στην μικρή αύλακα αναστέλλουν στο στάδιο της μίτωσης την χρωμοσωμική συμπύκνωση, όπως και μεταβάλλουν την επίδραση της έκφρασης των γονιδίων. Παραδείγματα τέτοιους είδους αναλόγων που έχουν χαρακτηριστεί σε αυτή την περίπτωση, διακρίνονται για τον υψηλό βαθμό εξειδίκευσης τους στην αλληλουχία με το DNA και ενδεικτικά αναφέρονται όπως οι διαρυλαμιδίνες που είναι γνωστές για την αποτελεσματικότητά τους για την θεραπεία της λεισμανίασης αλλά και της τρυπανοσωμίας.[30][31][32]

Ενδεικτικά παραδείγματα ενώσεων που αλληλεπιδρούν με το DNA

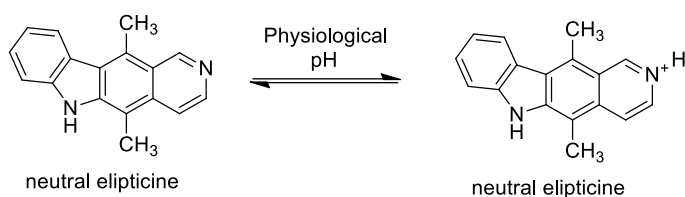
Ενώσεις παρεμβολείς (intercalating agents)

Γενικά, η παρεμβολή έχει συνδεθεί με τυπικά μόρια τα οποία περιέχουν συντηγμένες δομές δι- ή τρι-κυκλικού δακτυλίου, μη τυπικοί παρεμβολείς, απουσία συντηγμένων δακτυλίων όπου είναι πιθανόν να θεωρηθούν αυτά περισσότερο διαδεδομένα και αποτελεσματικά (Σχήμα 4.2). Στην πλειονότητα τους οι παρεμβολείς του DNA χρησιμοποιούνται ως αντιβιοτικοί, αντικαρκινικοί, αντινεοπλασματικοί και αντιμυκητιασικοί παράγοντες. Παρότι, δεν έχουν χαρακτηριστεί όλοι οι παρεμβολείς ως γονιδιοτοξικοί, καθότι έχουν βασική προϋπόθεση την παρουσία χαρακτηριστικών ομάδων, όπως βασικών, κατιονικών ή ηλεκτροφιλικών λειτουργικών ομάδων έτσι ώστε να χαρακτηριστούν με τον τρόπο αυτόν.[33][34]



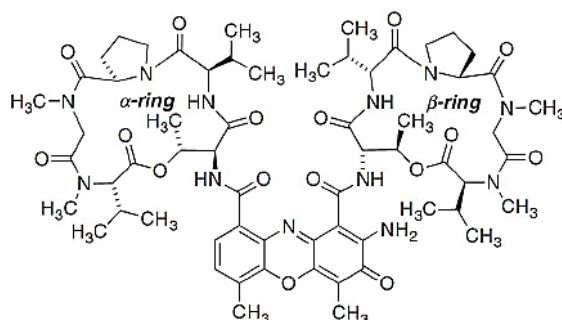
Σχήμα 4.2: Ενδεικτικές ενώσεις παρεμβολείς του DNA

Ένα αρκετά ερευνητικά μελετημένο μόριο αποτελεί η ελλiptικίνη (Ellipticine), η οποία ανήκει στην οικογένεια των αλκαλοειδών, ενώ είναι γνωστό ότι απομονώνεται από τα φύλλα του φυτού *Ochrosia elliptica* ή του φυτού *Aprocynaceae*. Όσον αφορά τη χημική της δομή αυτή βασίζεται σε ένα σύστημα πυριδοκαρβαζόλης, ενώ αλληλεπιδρά με το DNA ως παρεμβολέας με αποτέλεσμα να εμφανίζει ένα ευρύ φάσμα αντικαρκινικής δράσης (Σχήμα 4.3).[35]



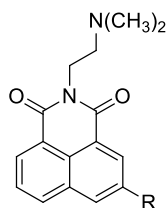
Σχήμα 4.3: Φυσική και πρωτονιωμένη μορφή ellipticine.

Η ακτινομυκίνη D (Σχήμα 4.4), η οποία ανήκει στην οικογένεια των ενώσεων της ακτινομυκίνης και έχει απομονωθεί από διάφορα στελέχη του *Streptomyces*. Ως προς τη χημική της δομή περιέχει ένα χρωμοφόρο μόριο φαινοξαζίνης συνδεδεμένο με δύο κυκλικά διπεπτίδια, που περιέχουν πέντε υπολείμματα αμινοξέων. Μπορεί να θεωρηθεί ως ένωση υβρίδιο που συμπεριφέρεται τόσο ως παρεμβολέας όσο και ως παράγοντας δέσμησης της μικρής αύλακας του DNA. Αν και διαφέρει από τα περισσότερα φάρμακα με τη δράση του ως παρεμβολέα, καθώς έχει θετικό φορτίο, αυτό αντισταθμίζεται από την υψηλή διπολική ροπή του, που προκύπτει από μια συμμετρική κατανομή πολικών υποκαταστατών. Η ακτινομυκίνη D χρησιμοποιείται για τη θεραπεία σαρκωμάτων, παιδιατρικού όγκου, καρκινικών κυττάρων γεννητικών οργάνων και χοριοκαρκίνωμα. [35]



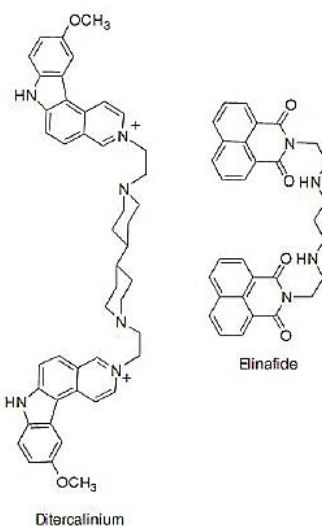
Σχήμα 4.4: Ακτινομυκίνη D.

Τα παράγωγα των ναφθαλιμιδίων, όπως για παράδειγμα είναι το μιτοναφίδιο και το αμωναφίδιο (Σχήμα 4.5) τα οποία στη χημική τους δομή φέρουν αμινοαλκυλική πλευρική αλυσίδα, παρουσιάζουν αξιόλογη κυτταροτοξική δράση, η οποία οφείλεται στην αλληλεπίδρασή τους με το DNA ως παρεμβολείς του με ταυτόχρονη ανασταλτική δράση της τοποϊσομεράσης II. [35]



Σχήμα 4.5: R= NO₂ Μιτοναφίδιο, R= NH₂ Αμωναφίδιο

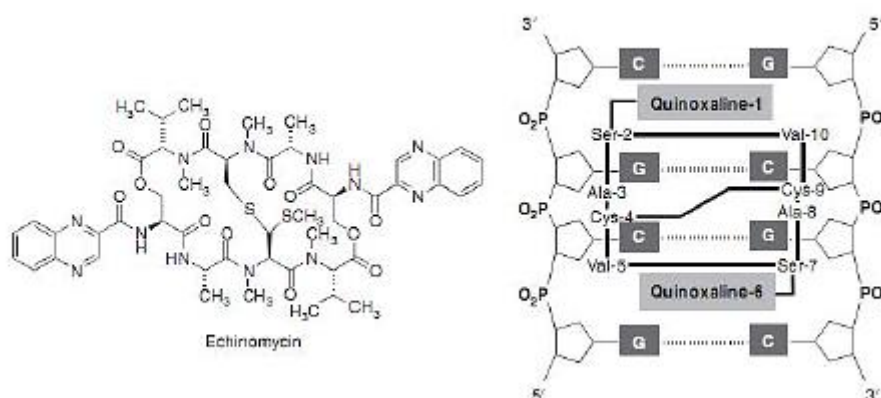
Το διτερκαλίνιο (Σχήμα 4.6) είναι ένα ενδιαφέρον μόριο που λειτουργεί ως παρεμβολέας το οποίο προέρχεται από το ελλειπτίνιο με ένα μηχανισμό δράσης διαφορετικό του μονομερούς του αφού η αναστολή των ενζύμων της τοποϊσομεράσης II δεν είναι εμπλεγμένη. Το διτερκαλίνιο προκαλεί την αναστολή των ενζύμων που εντοπίζουν και εντοπίζουν και επιδιορθώνουν περιοχές κατεστραμμένου DNA και ειδικά το σύστημα επιδιόρθωσης νουκλεοτιδίων, λόγω της αποστοίβαξης και κάμψης που προκαλεί στο DNA λόγω της ακαμψίας της συνδετικής αλυσίδας. Ως προς την χημική του δομή το ελιναφίδιο (Σχήμα 4.7) προέρχεται από το φαρμακοφόρο μόριο της ναφθαλιμίδης, που εμφάνισε εξαιρετική αντικαρκινική δράση, φτάνοντας σε κλινικές δοκιμές Φάσης II, παρουσιάζοντας αντινεοπλασματική δράση στον καρκίνο των ωοθηκών και στον καρκίνο του μαστού.[35]



Σχήμα 4.6: (Αριστερά) διτερκαλίνιο, (δεξιά) ελιναφίδιο.

Η εχινομυκίνη είναι ένα αντινεοπλασματικό αντιβιοτικό που απομονώθηκε από το φυτό *S. Echinatus*, το οποίο αποτελείται από δύο χρωμοφόρα κινοξαζίνης προσαρτημένα σε ένα κυκλικό οκταδιπεπτικό δακτύλιο με μια διασταυρωμένη θειοακετάλη. Λόγω της ισχυρής αντικαρκινικής δράσης, αυτή η ένωση έχει προωθηθεί σε πολλές κλινικές μελέτες Φάσης II, αν και τελικά αποσύρθηκε από περαιτέρω κλινικές δοκιμές επειδή έδειξε υψηλή τοξικότητα χωρίς κάποιο αξιόλογο θεραπευτικό όφελος. Πιο πρόσφατα, η εχινομυκίνη έχει χαρακτηριστεί ως ένας πολύ ισχυρός αναστολέας της δέσμευσης του παράγοντα του HIF-1 στο DNA. Αυτό είναι ένα ενδιαφέρον χαρακτηριστικό καθώς ο HIF-1 είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας που ελέγχει τα γονίδια που εμπλέκονται σε

διαδικασίες σημαντικές για την εξέλιξη του όγκου και την μετάσταση, συμπεριλαμβανομένης της αγγειογένεσης, της μετανάστευσης και της εισβολής. (Σχήμα 4.7).[35]



Σχήμα 4.7: (Αριστερά) εχινομυκίνη, (δεξιά) τρόπος παρεμβολής εχινομυκίνης στο DNA.

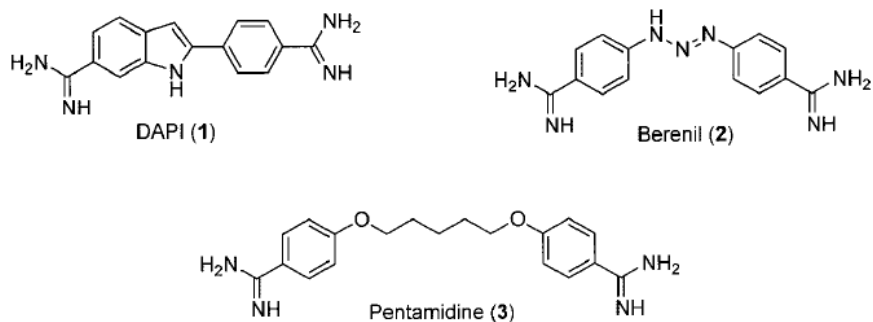
Αρκετές μελέτες έχουν αποδείξει ότι αμφότεροι οι δακτύλιοι κινολινης της εχινομυκίνης ενώνονται μεταξύ τους με το DNA με επιλεκτικότητα κυτοσίνης-γουανίνης (CG), ενώ το εσωτερικό μέρος του διπεπτιδίου δημιουργεί δεσμούς υδρογόνου με τις αζωτούχες βάσεις του DNA της περιοχής της μικρής αύλακας των δύο ζευγών αζωτούχων βάσεων που περιλαμβάνονται μεταξύ των χρωμοφόρων. [21]

Μόρια δέσμευσης στη μικρή αύλακα (DNA minor groove binders)

Στην παράγραφο αυτή παρουσιάζονται χαρακτηριστικά ενδεικτικά φαρμακευτικά μόρια τα οποία προσδέονται εξωτερικά στην μικρή αύλακα του DNA.

Διαρυλαμιδίνες (Diarylamidines)

Από το 1930, η αποτελεσματικότητα των διαρυλαμιδινών είναι γνωστή για τη (Σχήμα 4.8) τη θεραπεία πρωτοζωικών ασθενειών, όπως είναι η λεισμανίαση και η τρυπανοσωμίαση. Στις αρχές της δεκαετίας του 1970, ένας μεγάλος αριθμός παραγώγων διαρυλαμιδίνης συντέθηκαν σε μια προσπάθεια να βρεθούν ακόμη πιο αποτελεσματικά αντιπαρασιτικά φάρμακα, ειδικά κατά των τρυπανοσωμάτων. Ως αποτέλεσμα ενώσεις όπως το DAPI, berenil και πενταμιδίνη αποδείχθηκαν θεραπευτικά χρήσιμοι παράγοντες έναντι αρκετών ασθενειών πρωτοζώων. Η DAPI αποδείχθηκε ως πολύ χρήσιμος και αποτελεσματικός παράγοντας κατά του τρυπανοσώματος αλλά περιορίστηκε λόγω ανεπιθύμητων παρενεργειών. Παράλληλα όμως, η DAPI αποδείχθηκε ότι αναστέλλει την DNA και RNA πολυμεράση και η ίδια ένωση δεσμεύεται ειδικά σε πλούσιες σε αδενίνη-θυμίνη (AT) περιοχές του δίκλωνου DNA. Η DAPI διαθέτει ένα φθορίζον τμήμα του μορίου και λόγω των ιδιοτήτων αυτού χρησιμοποιείται για χρώση χρωμοσωμάτων για την αναγνώριση χρωμοσωμικών ανωμαλιών σε νεοπλασίες. Η DAPI συνδέεται με τη μικρή αύλακα του DNA με τους δακτυλίους φαινυλίου και ινδόλης παράλληλα με τα τοιχώματα της αυλάκωσης, που καλύπτουν την ακολουθία των τριών ζευγών βάσεων ATT.

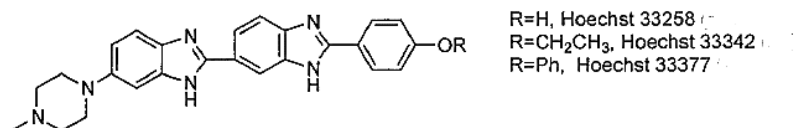


Σχήμα 4.8: Παραδείγματα χημικών δομών διαρυλαμιδινών.

Η Berenil (Σχήμα 4.8) είναι μια αρωματική διαμιδίνη, η οποία εμφανίζει τρυπανοκτόνο και βακτηριοκτόνο δράση και χρησιμοποιείται στην κτηνιατρική για τη θεραπεία της τρυπανοσωμιάσης. Η βιολογική της δραστηριότητα έχει συσχετιστεί με την επιλεκτική αναστολή των κινητοπλαστών, εξειδικευμένων περιοχών που περιέχουν μιτοχondριακό DNA. Αυτή η ένωση χαρακτηρίζεται από υψηλή συγγένεια για αλληλουχίες πλούσιες σε AT όπου η δέσμευση είναι μια αλληλουχία τριών βάσεων ATT.

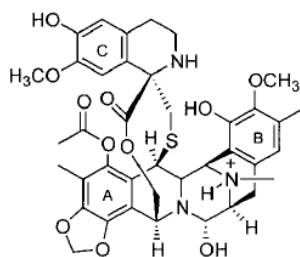
Η πενταμιδίνη είναι μια αρωματική διαμιδίνη δραστική έναντι μιας ποικιλίας πρωτοζώων, συμπεριλαμβανομένου του τρυπανοσώματος και της λεισμανίασης και χρησιμοποιείται κλινικά για λοιμώξεις που προκαλούνται από αυτούς τους μικροοργανισμούς. Συγκεκριμένα, η πενταμιδίνη είναι αποτελεσματική στην θεραπεία της πνευμονίας *P. Carinii* (PCP) σε ασθενείς με σύνδρομο επίκτητης ανοσοανεπάρκειας (AIDS) που δεν ανέχονται την κο-τριμοξαζόλη.¹¹ Το φάρμακο χορηγείται επίσης με εισπνοή από το στόμα για πρόληψη της πνευμονίας *P. Carinii* σε οροθετικούς ασθενείς υψηλού κινδύνου ή για ήπιες λοιμώξεις.

Άλλη μια ομάδα αναλόγων που παρουσιάζουν ενδιαφέρον είναι τα ανάλογα της διβενζιμιδαζόλης. Σημειώνεται ότι ανάλογα όπως η πιβενζιμόλη είναι έντονα φθορίζουσα ένωση κατά την σύνδεση και αλληλεπίδρασή της με το DNA. Τα παράγωγα αυτά, προσφέρουν ένα πρότυπο προστασίας έναντι της καταστροφής του DNA. Με δομικές τροποποιήσεις της ένωσης πιβενζιμόλη παρουσιάστηκαν παράγωγα όπως που παρουσιάζονται στο Σχήμα 4.9, τα οποία εμφανίζουν μεγαλύτερη κυτταροτοξικότητα, καθώς μπορούν να διαπεράσουν την κυτταρική και την πυρηνική μεμβράνη. Αυτό το γεγονός μπορεί να προκαλέσει την συσσώρευσή τους στον πυρήνα και σε συνέχεια την αναστολή της δέσμευσης των ρυθμιστικών πρωτεϊνών.



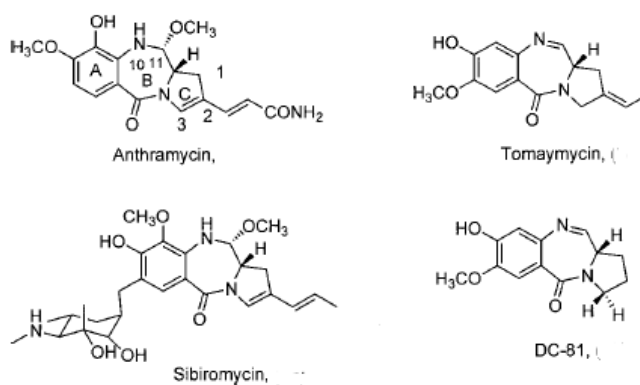
Σχήμα 4.9: Χημικές δομές των παραγώγων της διβενζιμιδαζόλης .

Η ET-743 (τετραϋδροϊσοκινολίνη εκτενασκιδίνη 743) (Σχήμα 4.10) ανήκει στην οικογένεια των αλκαλοειδών και αποτελεί άλλο ένα ακόμη παράδειγμα για την κατηγορία αυτή. Η ένωση αυτή παράγεται από το *Ecteinascidia turbinata*, ενώ θεωρείται ένας ισχυρός αντικαρκινικός παράγοντας.



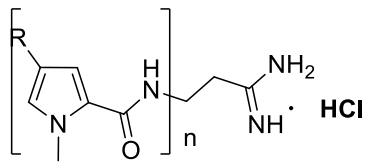
Σχήμα 4.10: Χημική δομή ET-743

Μια νέα κατηγορία φυσικών ενώσεων με την ονομασία πυρολοβενζοδιαζεπίνες (PBDs). Ανακαλύφθηκε ανακαλύφθηκε το 1963. Αυτή η κατηγορία ενώσεων απομονώθηκαν, και χαρακτηρίστηκαν ενώ συντέθηκαν και διάφορα συνθετικά ανάλογα τους, αποδεικνύοντας ότι τα παράγωγα PBDs αλληλεπιδρούν και συνδέονται στο DNA, αλλά όχι στο RNA, ενώ σχηματίζονται ομοιοπολικοί δεσμοί μεταξύ του φαρμακοφόρου μορίου και του DNA. Η ανθραμυκίνη, η τομαμυκίνη, η σιβηρομυκίνη και η DC-81 (Σχήμα 4.11) αποτελούν ενδεικτικά ισχυρά ανάλογα τα οποία αλληλεπιδρούν εξωτερικά με την μικρή αύλακα του DNA.



Σχήμα 4.11: Χημικές δομές αναλόγων πυρολοβενζοδιαζεπινών.

Το 1962 απομονώθηκε η δισταμυκίνη A (Σχήμα 4.12) από τις καλλιέργειες του *Streptomyces distallicus*, η οποία αποτελεί έναν φυσικό αντιβιοτικό παράγοντα. Η ένωση αυτή παρουσιάζει ισχυρή αντιβακτηριακή και αντιϊκή δράση. Σημαντική αντιϊκή δράση παρουσιάζει κατά ιών που περιέχουν DNA όπως για παράδειγμα ο έρπης, ενώ αντίθετα δεν παρουσιάζει δράση έναντι RNA ιών. Ακόμη, η δισταμυκίνη παρουσιάζει και αντιπρωτοζωική δράση, για ανθεκτικά στελέχη του *Plasmodium falciparum*. [36], [37]

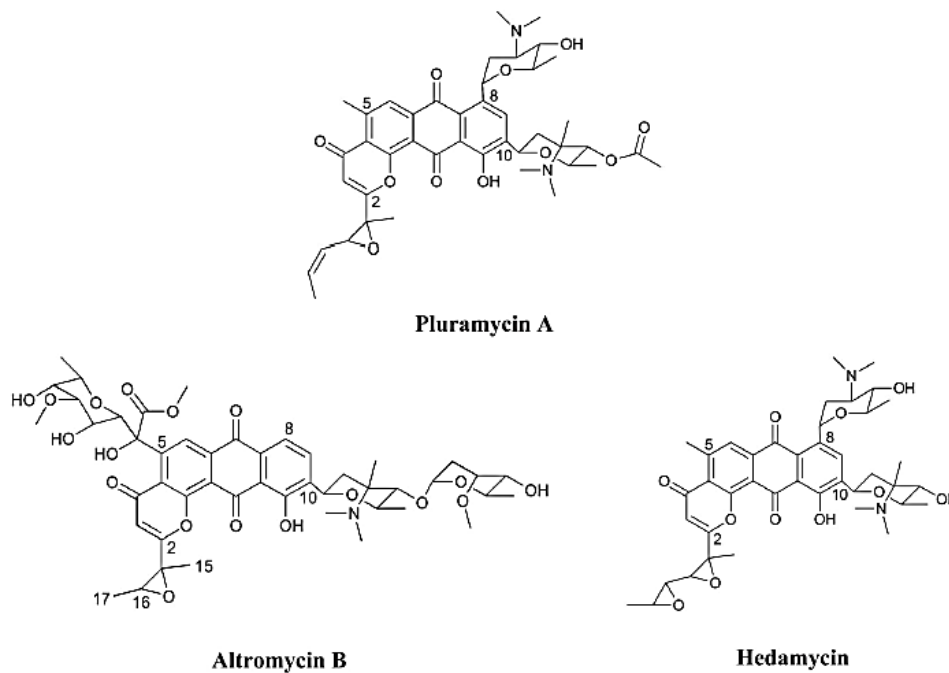


(distamycin A) $n=3$, $R=NHCHO$

Σχήμα 4.12: Χημική δομή της ισταμυκίνη Α.

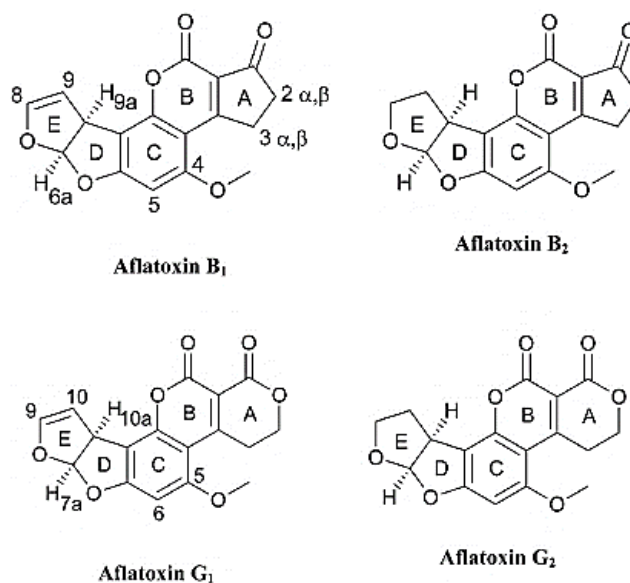
Μόρια δέσμευσης στη μεγάλη αύλακα (DNA major groove binders)

Παράγωγα τα οποία παρουσιάζουν ιδιαίτερη αντιβιοτική και αντικαρκινική δράση είναι η αλτρομυκίνη Β και η εδαμυκίνη τα οποία ανήκουν στην οικογένεια των πλουραμικινών (Σχήμα 4.13). Αλκυλίωση της θέσης N7 στην μεγάλη αύλακα των βάσεων πουρίνης εμφανίζεται όταν έρχονται σε άμεση γειτνίαση με τους δακτυλίους εποξειδίου αυτών των φυσικών προϊόντων. Το προϊόν προσθήκης αλτρομυκίνης στο Β-DNA φαίνεται ότι αλληλεπιδρά στην κύρια αύλακα του DNA. [32]



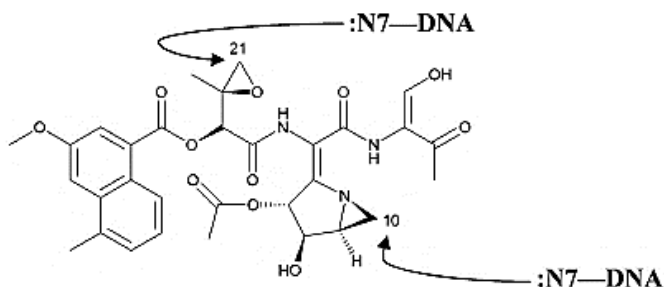
Σχήμα 4.13: Χημικές δομές αναλόγων πλουραμυκίνης.

Αντιστοίχως, οι αφλατοξίνες παρουσιάζουν παρόμοιες δομικές ομοιότητες με την οικογένεια των πλουραμικινών στο σύστημα του συντηγμένου δακτυλίου που διαθέτουν. Από την ταυτοποίησή τους μέσω μαγνητικού πυρηνικού συντονισμού (NMR) έχει διαπιστωθεί ότι οι αφλατοξίνες Β1, Β2, G1 και G2 (Σχήμα 4.14) παρεμβάλλονται μεταξύ των ζευγών των αζωτούχων βάσεων του DNA τοποθετώντας έναν δακτύλιο εποξειδίου σε κοντινή απόσταση από την θέση N7 στην κύρια αύλακα για διευκόλυνση της ομοιοπολικής δέσμευσης.[32]



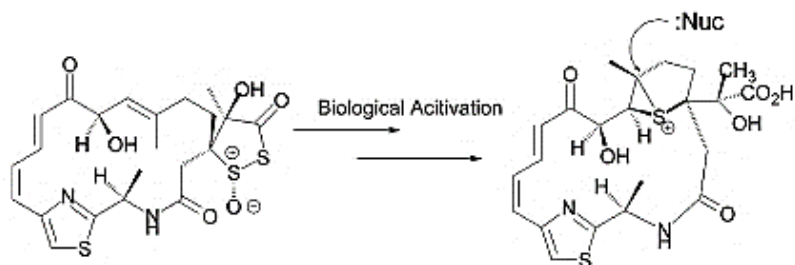
Σχήμα 4.14: Χημικές δομές αναλόγων αφλατοξίνης.

Η αζινομυκίνη Β (Σχήμα 4.15) είναι μια φυσική ένωση η οποία απομονώθηκε αρχικά από το στέλεχος *Streptomyces sahachiroi* και δεκαετίες αργότερα μαζί με την καρσινοφιλίνη Α και την αζινομυκίνη Α απομονώθηκαν από το στέλεχος *Streptomyces S. griseofuscus*. Η αζινομυκίνη Β αλληλεπιδρά με το δίκλωνο DNA, μέσω του σχηματισμού διασταυρωμένων συνδέσμων.[32]



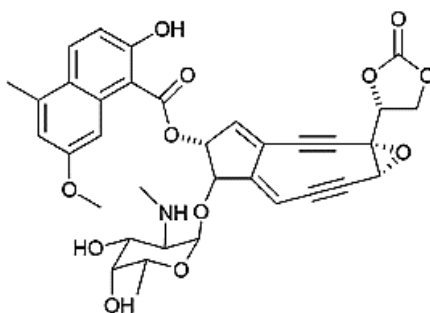
Σχήμα 4.15: Χημική δομή της Αζινομυκίνη Β.

Στα τέλη της δεκαετίας του 1980, η λείναμυκίνη απομονώθηκε από το στέλεχος *Streptomyces*. Η λείναμυκίνη υφίσταται βιολογική ενεργοποίηση πριν παρουσιάσει αλκυλιωτικές ιδιότητες (Σχήμα 4.16) και το ενεργοποιημένο μόριο που παράγεται από προσβολή στον ετεροκυκλικό οξείδιο της 1,2-διθειολάνο-3-όνης. Η λείναμυκίνη θα μπορούσε να είναι ένας αναστρέψιμος παράγοντας αλκυλίωσης του DNA λόγω του σύντομου χρόνου ημιζωής του συμπλέγματος και η παρατήρηση ότι απελευθερώνεται υδρολυμένη λείναμυκίνη. Τέλος, εκτεταμένες μελέτες έδειξαν ότι το εκτεταμένο ρ-σύστημα της λείναμυκίνης είναι απαραίτητο για μη ομοιοπολική σύνδεση με την διπλή έλικα του DNA. [32]



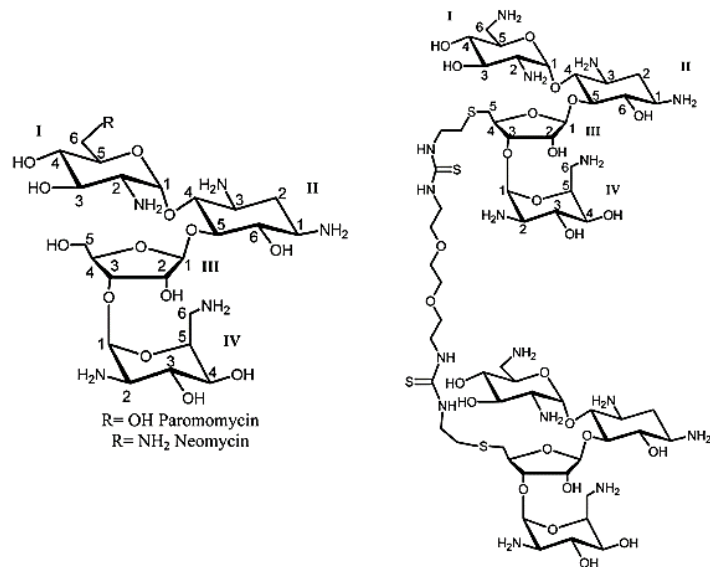
Σχήμα 4.16: Χημική δομή λείναμκίνης πριν και μετά την βιολογική ενεργοποίησή της.

Αρχικά, η νεοκαρζινοστατίνη απομονώθηκε ως μη ομοιοπολικά συνδεδεμένο μόριο σε μια πρωτεΐνη. Η βιολογικά ενεργή χρωμοφόρα νεοκαρζινοστατίνη ανήκει στην κατηγορία της ενεδιίνης με αντιβιοτική δράση (Σχήμα 4.17). Παρουσιάζεται κυκλοποίηση Bergman μόλις επιτευχθούν ευνοϊκές συνθήκες μετά το άνοιγμα του δακτυλίου του εποξειδίου που οδηγεί σε διάσπαση του δίκλωνου DNA. Το ενδιάμεσο που σχηματίζεται κατά την κυκλοποίηση Bergman ξεκινά τη διάσπαση που προκύπτει από τη δεοξυριβόζη με άντληση υδρογόνου. [32]



Σχήμα 4.17: Χημική δομή της Νεοκαρζινοστατίνης.

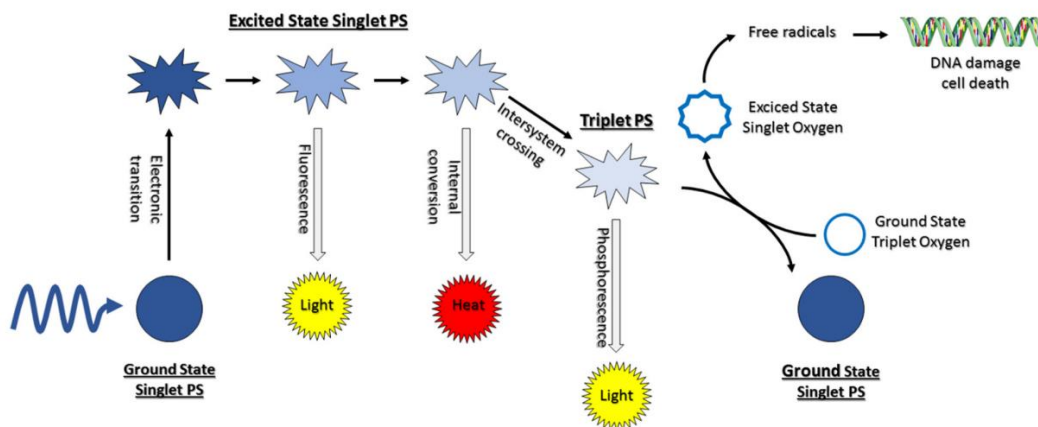
Οι αμινογλυκοσίδες παρουσιάζουν αντιβιοτική δράση ως αμινοσάκχαρα οι οποίες συνδέονται μέσω γλυκοσιδικών δεσμών. Η μη αρωματική φύση των δομών, όπως η νεομυκίνη και η παρομυκίνη (Σχήμα 4.18), περιορίζει την δέσμευσή τους στις αυλακώσεις του νουκλεϊκού οξέος ή στην φωσφορική ραχοκοκαλιά, αν και οι χημικές τροποποιήσεις ωστόσο επέτρεψαν άλλους τρόπους δέσμευσης που συνδέονται με τους γνωστούς μηχανισμούς δέσμευσής τους. [32]



Σχήμα 4.18: Χημικές δομές αναλόγων αμινογλυκοσιδών.

4.1.3 ΦΩΤΟΔΙΑΣΠΑΣΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕ ΤΟ DNA

Συχνό φαινόμενο επιστημονικών μελετών αποτελεί η χρήση του φωτός για την προαγωγή αλλά και τον έλεγχο των αντιδράσεων καθότι προσφέρει αρκετά πλεονεκτήματα σε τομείς έρευνας όπως είναι η βιοϊατρική, η χημεία και η βιολογία. Χρησιμοποιείται κυρίως για θεραπευτικές εφαρμογές βασιζόμενες στην ευαισθητοποίηση των φαρμακευτικών μορίων στην ακτινοβολία σε συγκεκριμένο μήκος κύματος. Ενδεικτικά παραδείγματα τέτοιων θεραπευτικών εφαρμογών είναι για τη θεραπεία του καρκίνου μέσω της φωτοδυναμικής θεραπείας (PDT), για αντιμικροβιακές θεραπείες κ.α. Υπάρχουν περιπτώσεις όπου μπορεί να γίνει συνδυασμός και με άλλες τεχνολογικές προσεγγίσεις όπως είναι η νανοτεχνολογία. Όσον αφορά την φωτοδυναμική θεραπεία αποτελεί μια φωτοενεργοποιημένη μέθοδο για την αντιμετώπιση διαφόρων μορφών καρκίνου και είναι γνωστή και ως θεραπεία της φωτοακτινοβολίας. Μπορεί να θεωρηθεί ως μια μη επεμβατική, κλινικά εγκεκριμένη μέθοδος για την εφαρμογή ασθενειών οι οποίες βρίσκονται σε πρώιμο στάδιο. Πιο αναλυτικά, στη μέθοδο αυτή τα δραστικά παράγωγα οξυγόνου (ROS) τα οποία παράγονται με την βοήθεια της ακτινοβολίας και συγκεκριμένα της ενεργοποίησης ενός φωτοευαισθητοποιητή (Εικόνα 4.6), ελέγχεται χωρικά και χρονικά ώστε να καταστραφούν επιλεκτικά μόνο τα καρκινικά κύτταρα. Η φωτοδυναμική θεραπεία αλλά και η χημειοθεραπεία μπορούν να θεωρηθούν ως λιγότερο επεμβατικές μέθοδοι για την θεραπεία διαφόρων ασθενειών, εφόσον χρησιμοποιηθεί ακτινοβολία κατάλληλου μήκους κύματος, παρουσία ενός φωτοευαίσθητου φαρμακευτικού μορίου (Εικόνα 4.6) Αυτές οι μέθοδοι έχουν εφαρμογές είτε σε θεραπευτικά μέσα τα οποία μπορούν να ενεργοποιηθούν *in vivo* με επιφανειακή έκθεση ως μη παρεμβατική θεραπεία για παράδειγμα σε καρκινικούς όγκους, είτε μη ογκογόνων καταστάσεων σε αντμικροβιακές και αντιμικροβιακές θεραπείες όπως παράδειγμα ακμή, έρπη κ.α. [38] [39] [40]



Εικόνα 4.6: Μηχανισμός Φωτοδυναμικής Θεραπείας μέσω διέγερσης του φωτοευαισθητοποιητή (PS)[41]

Εφαρμογές της ακτινοβολίας για θεραπευτικούς σκοπούς

Γενικότερα, η υπεριώδης ακτινοβολία χρησιμοποιείται για διάφορες θεραπευτικές προσεγγίσεις, καθώς μπορεί να αλληλεπιδράσει με μόρια/τμήματα του δεοξυριβονουκλεϊκού οξέος, DNA προκαλώντας βλάβη και καταστροφή αυτού του μορίου/τμήματος. Παρόλα αυτά, ο τρόπος δράσης των φωτοενεργοποιημένων μορίων εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το μήκος κύματος και την απορρόφηση των μορίων αυτών στην υπεριώδη ακτινοβολία. Είναι γνωστό ότι το φάσμα της υπεριώδους ακτινοβολίας παρουσιάζει μήκη κύματος μεταξύ 40 nm και 400 nm, ενώ διακρίνεται σε τρεις παρακάτω ζώνες.

- Στα 320-400 nm εμφανίζεται η UVA ακτινοβολία, η οποία χρησιμοποιείται κυρίως για διάφορες δερματικές ασθένειες με την εφαρμογή της φωτοχημειοθεραπείας [42]
- Στα 290-320 nm εμφανίζεται η μεσαίου μήκους κύματος UVB ακτινοβολία η οποία χρησιμοποιείται για τη θεραπεία ορισμένων δερματικών ασθενειών/διαταραχών μέσω της φωτοθεραπείας. Τα πιο συχνά μήκη κύματος της ακτινοβολίας που χρησιμοποιούνται είναι η στενή ζώνη της UVB ακτινοβολίας στα 311 nm και το φως του διηγεργμένου διατομικού μορίου στα 308 nm [43] και τέλος
- Στα 40-290 nm εμφανίζεται η μικρού μήκους κύματος UVC ακτινοβολία η οποία αποτελεί και το πιο ενεργό μέρος της υπεριώδους ακτινοβολίας. [44]

Στα μεγαλύτερα μήκη κύματος, δηλαδή από 400 nm έως 800 nm, εμφανίζεται το ορατό φως, όπου χρησιμοποιείται στη φωτοδυναμική θεραπεία. Αυτές τις ζώνες του μήκους κύματος της ακτινοβολίας αξιοποιούνται για διαφορετικές θεραπευτικές προσεγγίσεις. Η φωτοδυναμική θεραπεία (PDT) και η φωτοχημειοθεραπεία θεωρούνται ελάχιστα επεμβατικές προσεγγίσεις, σε σύγκριση με τις συνήθεις θεραπείες για παράδειγμα ορισμένων μορφών καρκίνων αλλά και άλλων μη κακοηθών ασθενειών. Παρόλα αυτά, εξαρτώνται κυρίως από την δράση του φαρμακευτικού μορίου, καθώς βασίζεται στη διέγερση του μορίου αυτού, που καλείται «φωτοευαισθητοποιητής». Ο φωτοευαισθητοποιητής απορροφά αρχικά ακτινοβολία συγκεκριμένου μήκους κύματος ενώ ακολουθεί η ενεργοποίησή του με μια σειρά χημικών αντιδράσεων, που μπορούν να

καταστρέφουν προσωρινά ή μόνιμα τους βιολογικούς στόχους. Γενικά, στην φαρμακευτική χημεία, η αλληλεπίδραση διαφόρων φαρμακευτικών μορίων με το DNA θεωρείται σημαντική ώστε να μπορεί να μελετηθεί ο μηχανισμός δράσης των ενώσεων αυτών, αλλά και για τον σχεδιασμό και την ανάπτυξη νέων φαρμακευτικών μορίων που να λειτουργούν ως πιθανοί φωτοευαισθητοποιητές.

Γενικότερα, η αποτελεσματικότητα αυτών των θεραπευτικών προσεγγίσεων εξαρτάται από τις ιδιότητες του φωτοευαισθητοποιητή, αλλά και από τα χαρακτηριστικά της περιοχής ακτινοβολίας και της επιλογής του κατάλληλου μήκους κύματος. Πιο συγκεκριμένα χρησιμοποιούνται συχνά οι παρακάτω περιοχές ακτινοβολίας:

α) UVC (100 έως 290 nm), β) UVB (290 έως 315 nm), γ) UVA (315 έως 400 nm), και δ) ορατού φωτός (400 έως 800 nm). Τονίζεται ότι ως εκτεταμένη εφαρμογή ως προς τη UVA ακτινοβολία έχει η δερματολογία, αλλά και UVB ακτινοβολία ή και συνδυασμός των δύο. Άλλα παραδείγματα θεραπειών μέσω των παραπάνω μεθόδων αποτελούν η θεραπεία της ψωρίασης, της ακμής, της λεύκης, της πιτυρίασης και άλλων.

Τα πλεονεκτήματα της φωτοδυναμικής θεραπείας (PDT) έναντι των άλλων θεραπευτικών προσεγγίσεων περιλαμβάνουν: α) τη χαμηλή συστηματική τοξικότητα, β) την ελάχιστη ή μη επεμβατικότητα, γ) την έλλειψη αντίστασης κατά την έναρξη της θεραπείας, δ) το χαμηλό μεταλλαξιγόνο δυναμικό, ε) την αποτελεσματική αδρανοποίηση στελεχών στην περίπτωση της αντικής θεραπείας, στ) το ευρύτερο φάσμα θεραπευτικής δράσης και ζ) στην περίπτωση αντιμικροβιακής θεραπείας, έλλειψη παραγωγής φωτοανθεκτικών μικροβιακών κυττάρων μετά από πολλαπλές θεραπείες.[45]

Τα βασικά χαρακτηριστικά ενός επαρκή φωτοευαισθητοποιητή (PS) προκειμένου να επιδειχθεί υψηλή αντιμικροβιακή αποτελεσματικότητα περιλαμβάνουν: α) χαμηλή τοξικότητα στα κύτταρα, β) υψηλή κβαντική απόδοση 1O_2 , γ) φωτοσταθερότητα, δ) στην περίπτωση αντικροβιακής θεραπείας εμφανίζουν ένα ευρύ φάσμα δράσης (βακτήρια, μύκητες, παράσιτα), ε) υψηλή συγγένεια δέσμευσης για μικροοργανισμούς, στ) μηδαμινή μεταλλαξιγόνο επίδραση, ζ) υψηλή υδατοδιαλυτότητα.[45]

Φωτοενεργοποιημένοι παράγοντες διάσπασης DNA

Οι παράγοντες διάσπασης και καταστροφής του DNA καθώς αυτοί διεγείρονται υπό την επίδραση του φωτός μπορούν να ταξινομηθούν σε δύο βασικές κατηγορίες, τους φυσικούς παράγοντες όπου ανήκει η οικογένεια των φωτονουκλεασών και τους χημικούς παράγοντες, όπου σε αυτήν την κατηγορία ανήκουν οι φωτοδιασπαστές.

Φωτονουκλεάσες

Οι φωτονουκλεάσες παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον σε διάφορους τομείς έρευνας όπως η χημεία, η βιολογία και η ιατρική. Αυτές οι ουσίες διεγείρονται με τη βοήθεια της υπεριώδους ακτινοβολίας ή στην περιοχή του ορατού φωτός προκαλώντας διάνοιξη του δίκλωνου DNA και καταστροφή αυτού μέσω διαφόρων μηχανισμών όπως οι δημιουργία ελεύθερων ριζών, η μεταφορά ηλεκτρονίων και η μεταφορά απλού οξυγόνου. Οι ενώσεις είναι φυσικές ενώ η ηλεκτρονικά διεγερμένη του κατάσταση είναι αυτή που προκαλεί την άμεση διάρρηξη του νουκλεϊκού οξέος (DNA). Για να θεωρηθεί ένα πιθανό μόριο ως νουκλεάση θα πρέπει να λειτουργεί καταλυτικά, όπου το κριτήριο αυτό το πληρούν ελάχιστες τέτοιες ενώσεις και για αυτό το λόγο σημειώνεται ότι στην πλειοψηφία των ενώσεων ανήκουν κυρίως στην κατηγορία των φωτοδιασπαστών που παρουσιάζονται και παρακάτω. [46]

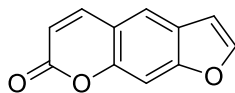
Φωτοδιασπαστές

Υπάρχουν αρκετές κατηγορίες ενώσεων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πιθανοί φωτοδιασπαστές και μπορεί να είναι είτε μικρά οργανικά μόρια είτε ανόργανες ενώσεις (όπως ανόργανα σύμπλοκα). Τις τελευταίες δεκαετίες, έχουν μελετηθεί και αναγνωρισθεί μικρά συνθετικά οργανικά μόρια και έχουν χαρακτηριστεί ως ικανά εργαλεία ενάντι των δομικών αλλαγών αλλά και της διάσπασης του νουκλεϊκού οξέος, DNA. [46]

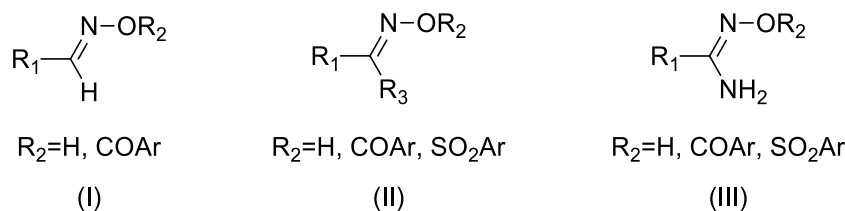
Από τους παράγοντες διάσπασης του DNA, εκείνοι που κατά την επίδραση του φωτός σε συγκεκριμένο μήκος κύματος μπορούν να προκαλέσουν την έναρξη μιας σειράς χημικών αντιδράσεων οι οποίες θα οδηγήσουν στη διάσπαση του DNA, ονομάζονται φωτοδιασπαστές. Σημαντικό πλεονέκτημα των φωτοδιασπαστών είναι πως η αντίδραση της ένωσης με το DNA δεν ξεκινά παρά μόνο όταν εφαρμοστεί ακτινοβολία. Έτσι, η αντίδραση μπορεί να ελέγχεται απόλυτα τόσο χρονικά όσο και χωρικά, σε αντίθεση με τα διάφορα χημειοθεραπευτικά φάρμακα. Οι φωτοδιασπαστές διαθέτουν μια ποικιλία εφαρμογών που περιλαμβάνει τη χρήση τους ως ζιζανιοκτόνα, εντομοκτόνα, εφαρμογές σε μέσα που ενεργοποιούνται *in vivo* με επιφανειακή έκθεση (σε περιπτώσεις καρκινικών όγκων), καθώς και σε μή ογκογόνες καταστάσεις όπως σε αντιιικές θεραπείες (έρπης), ακμή, ψωρίαση αλλά και άλλες. [47] Παρακάτω παρουσιάζονται οι διάφορες κατηγορίες των φωτοδιασπαστών. [41], [48]

Οργανικές ενώσεις

Μικρά οργανικά μόρια με φωτοδιασπαστική δράση στο DNA συναντώνται συχνά σε διάφορες πτυχές, όπως τόσο για την διάγνωση μιας ασθένειας όσο και για τη θεραπεία συμπεριλαμβανομένων και των γονιδιακών θεραπειών, θεραπείες κατά διαφόρων μορφών καρκίνου. Επιπλέον, συναντώνται ως DNA μεταφορείς ενέργειας και ηλεκτρονίων αλλά και στο σχεδιασμό στοχευμένων φαρμάκων για την αλληλεπίδρασή τους στο DNA. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αυτής της κατηγορίας αποτελεί το ψωραλένιο, το οποίο αποτελεί ένα φωτοευαίσθητο φαρμακευτικό μόριο με τη μητρική ένωση του να ανήκει στην οικογένεια των φυσικών οργανικών ενώσεων και συγκεκριμένα στις φουρανοκουμαρίνες. Έχει χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία της λεύκης (Σχήμα 4.19). Με βάση διάφορες μελέτες έχει εξαχθεί το συμπέρασμα ότι οι κινάζολινόνες συνδέονται με το DNA ως τυπικοί παρεμποδιστικοί παράγοντες. Έτσι, εφόσον παρουσιάζεται καλή ικανότητα αλληλεπίδρασης των ενώσεων με το DNA είναι καλύτερη και η κυτταροτοξικότητα καθώς και η φωτοδιασπαστική δραστηριότητα. [49]

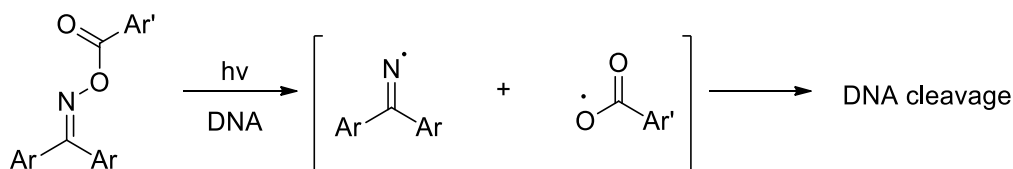


Σχήμα 4.19: Χημική δομή του ψωραλενίου



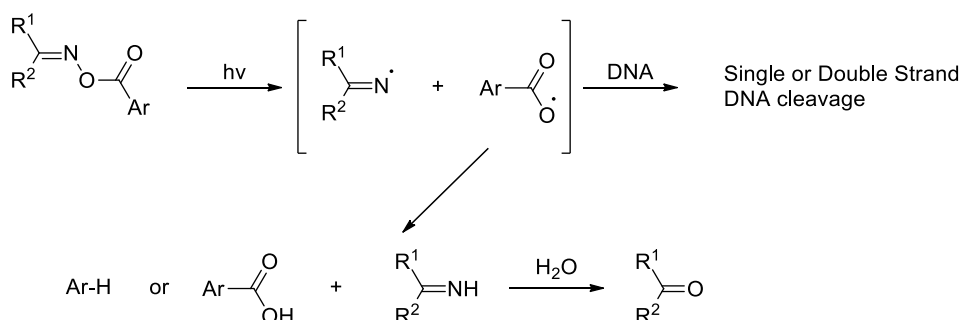
Σχήμα 4.20: Ενδεικτικές παραδείγματα φωτοδιασπαστών DNA, αλδοξίμες (I), οι κετοξίμες (II) και οι αμιδοξίμες (III).

Άλλες χαρακτηριστικές οικογένειες ενώσεων που έχουν βρεθεί είναι οι αλδοξίμες (I), οι κετοξίμες (II) και οι αμιδοξίμες (III), οι οποίες αποτελούν φαρμακευτικά μόρια που συμμετέχουν ως πρόδρομες ενώσεις σε μεγάλο μέρος μετασχηματισμών οδηγώντας σε ανάλογα με μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον (Σχήμα 4.20). Πιο συγκεκριμένα, οι καρβοξυλικές οξίμες μπορούν να δράσουν ως φωτοδιασπαστές, καθότι πειραματικά μέσω του μηχανισμού δράσης παρατηρήθηκε ομολυτική φωτοδιάσπαση του δεσμού N-O ενώ ενώσεις που φέρουν αρυλο-σύζευξη παρουσιάζουν ισχυρότερη δράση. Επιπλέον, σε μια πιο πρόσφατη ερευνητική εργασία βρέθηκε ότι τα παράγωγα αλκυλ- και αρυλ-κετοξίμες και οι αμιδοξίμες παρουσιάζουν σημαντική δράση ως φωτοδιασπαστικοί παράγοντες του DNA. Παράλληλα, έχουν μελετηθεί και η οικογένεια των εστέρων των οξιμών όπου μελετήθηκε ο μηχανισμός δράσης και η ομόλυση του δεσμού N-O διαπιστώνοντας ότι μπορεί να σπάσει επιλεκτικά ώστε να δημιουργηθούν οι καρβοξυλικές και οι μινιλικές ρίζες οι οποίες μπορούν να προκαλέσουν στη συνέχεια διάρρηξη του δίκλωνου DNA (Σχήμα 4.21). [47], [50], [51]



Σχήμα 4.21: Διάσπαση του DNA από ανάλογα φωτόλυσης εστέρων οξίμης (μινιλική και καρβοξυλική ρίζα)

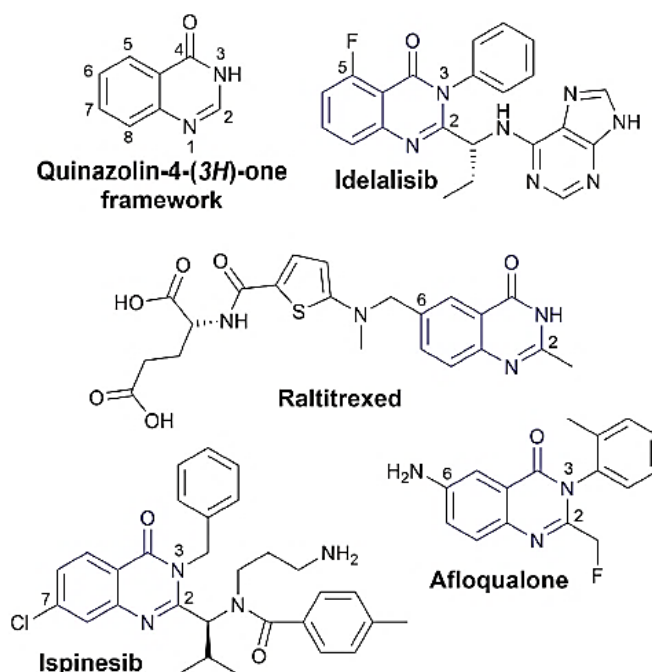
Ακολουθώς, η φωτοδιάσπαση του DNA με την βοήθεια των αμιδοξιμών ακολουθεί αντιστοίχα την ίδια διεργασία με τις αλδοξίμες [50], [52], [53], όπως απεικονίζεται παρακάτω (Σχήμα 4.22):



Σχήμα 4.22: Διάσπαση του DNA από ανάλογα φωτόλυσης εστέρων αμιδοξίμης

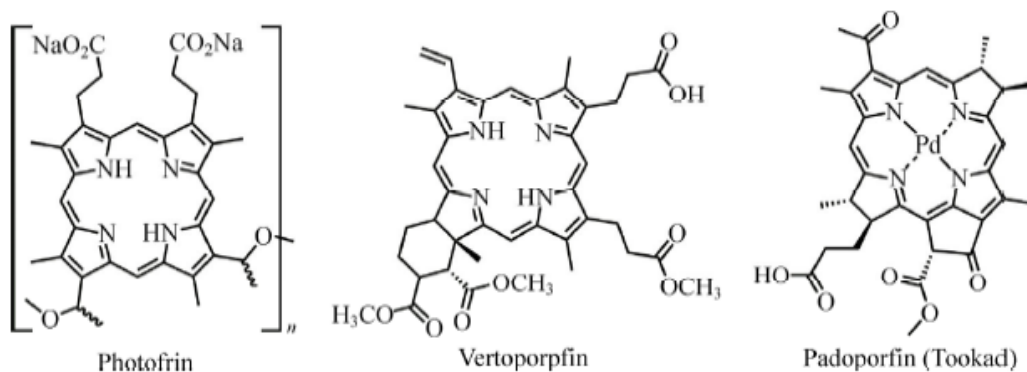
Μικρά μόρια οργανικών μορίων έχουν αναγνωριστεί ως προς την δράση τους ως φωτοδιασπαστικοί παράγοντες στο DNA, όπως είναι κινολίνες, οξιμίτες, παράγωγα φαινυλδροξυλαμίνης, παράγωγα πυραζόλης κ.α. Οι κινολίνες, θεωρούνται προνομιακές δομές και αντιπροσωπεύουν την φαρμακευτική χημεία, καθώς έχουν χρησιμοποιηθεί ως δομικά συστατικά για πάνω από 150 φυσικών αλκαλοειδών, ενώ έχουν κυκλοφορήσει πάνω από 10 φάρμακα στο εμπόριο έχοντας ως φαρμακοφόρο τμήμα την κινολίνη, όπως είναι ένα από τα πιο γνωστά η αφλοκαλόνη. Ως αποτέλεσμα των παραπάνω προσεγγίσεων είναι οι ποικίλες βιολογικές δράσεις που εμφανίζουν, όπως αντικαρκινική, αντιφλεγμονώδης, αντιυπερτασική, αντιμικροβιακή, κ.ά.

Η φωτοσταθερότητα των φαρμακευτικών μορίων είναι η πολύ σημαντική ώστε να αποφεύγονται τυχόν παρενέργειες, καθώς για την επιτυχία των φωτοθεραπευτικών εφαρμογών είναι απαραίτητη. Βιβλιογραφικά, αναφέρονται αρκετά παραδείγματα κινολινικών αναλόγων τα οποία δρουν ως φωτοδιασπαστές (Σχήμα 4.23), εκ των οποίων πολύ σημαντικό από τα πρώτα με ισχυρή δράση είναι η αφλοκαλόνη. Πιο συγκεκριμένα, η αφλοκαλόνη είναι ένα φαρμακευτικό μόριο με μυοχαλαρωτική δράση του κεντρικού νευρικού συστήματος, προκαλώντας φωτοευαίσθητες δερματικές αντιδράσεις. [54]

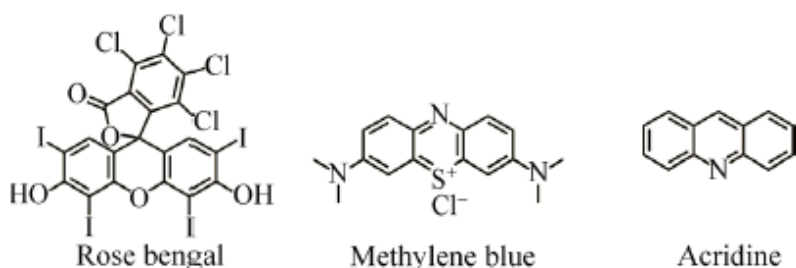


Σχήμα 4.23: Ενδεικτικά κινολινικά ανάλογα ως φωτοδιασπαστικοί παράγοντες στο DNA.

Αρκετοί φωτοευαισθητοποιητές είναι παράγωγα πορφυρινών. Οι πορφυρίνες είναι τετραπυρρολικές έγχρωμες μακροκυκλικές ενώσεις και εμφανίζονται ευρέως στην φύση. Ορισμένοι εκ των φωτοευαισθητοποιητών με βάση την πορφυρίνη που χρησιμοποιούνται σε κλινικό επίπεδο είναι τα Photofrin, Padoporfin και Vertoporfin (Σχήμα 4.24). Από την άλλη ορισμένα παραδείγματα μη - πορφυρινικών, πιθανών φωτοευαισθητοποιητών περιλαμβάνουν το μπλε του μεθυλενίου, το τριαντάφυλλο βεγγάλη και διάφορες χρωστικές ακριδίνης (Σχήμα 4.25).



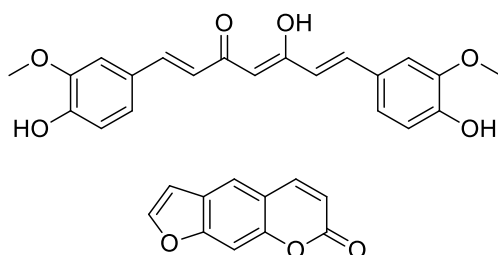
Σχήμα 4.24: Ενδεικτικά παραδείγματα πορφυρινικών φωτοευαισθητοποιητών.



Σχήμα 4.25: Ενδεικτικά παραδείγματα μη - πορφυρινικών φωτοευαισθητοποιητών.

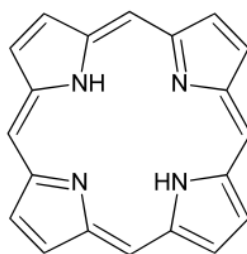
Τις τελευταίες δεκαετίες, η έρευνα επικεντρώθηκε στον έλεγχο φυτικών ουσιών (φαρμακευτικών φυτών) για τον προσδιορισμό των χημειοθεραπευτικών τους ιδιοτήτων αφού είναι περιβαλλοντικά βιώσιμες και έχουν ελάχιστες παρενέργειες. Ωστόσο, πολλοί δραστικοί φαρμακευτικοί αντικαρκινικοί παράγοντες που είναι απομονωμένοι από φαρμακευτικά φυσικά φυτά δεν έχουν ελεγχθεί για φωτοδραστικές ιδιότητες. Η φύση παρέχει μια πολύτιμη δεξαμενή φαρμακευτικών φυτών (πηγή φυσικών ενώσεων) που έχουν τη δυνατότητα να συντεθούν και να χρησιμοποιηθούν ως φαρμακευτικοί αντικαρκινικοί παράγοντες. Λίγες μελέτες έχουν προσπαθήσει να εντοπίσουν νέες φωτοδραστικές χημικές ουσίες από εκχυλίσματα φαρμακευτικών φυτών που θα μπορούσαν να είναι ισχυρά νέοι φυσικοί φωτοευαισθητοποιητές, PSs. Η έρευνα σε φυσικές ενώσεις έχει δείξει ότι μερικοί φωτοδραστικοί παράγοντες σε διάφορα φαρμακευτικά φυτά είναι εξίσου αποτελεσματικοί με τους παραδοσιακούς

φωτοευαισθητοποιητές, PS. Αυτές οι μελέτες υποδηλώνουν ότι οι φυσικές ενώσεις με φωτοευαισθητοποιητικές ικανότητες μπορούν να απομονωθούν από φυσικά εκχυλίσματα και έχουν τη δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν ως εναλλακτική λύση έναντι των συμβατικών φωτοευαισθητοποιητών που χρησιμοποιούνται στη φωτοδυναμική θεραπεία, PDT. Ενδεικτικά παραδείγματα φυσικών φωτοευαισθητοποιητών αποτελούν οι κουμαρίνες, οι βενζοφουράνες, οι φουρανοκουμαρίνες, οι ανθρακινόνες, η κουρκουμίνη αλλά και διάφορα παράγωγα φλαβονοειδών (Σχήμα 4.26).[55]–[57]

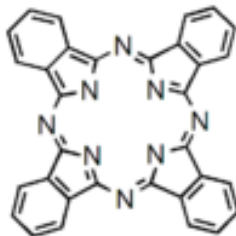


Σχήμα 4.26: (Πάνω) χημική δομή της κουρκουμίνης, (κάτω) χημική δομή της φουρανοκουμαρίνης.

Όσον αφορά την κατηγορία των χημικών φωτοευαισθητοποιητών, παρουσιάζονται είτε οργανικοί είτε ανόργανοι. Από την αρχική εφαρμογή τους μέχρι τώρα τονίζεται ότι υπάρχουν τρεις γενιές φωτοευαισθητοποιητών. Όπου ενδεικτικά παραδείγματα τέτοιων ενώσεων φωτοευαισθητοποιητών είναι οι πορφυρίνες (1^{ης} γενιάς) (Σχήμα 4.27) και οι φθαλοκυανίνες (2^{ης} γενιάς) (Σχήμα 4.28).



Σχήμα 4.27: Χημική δομή της πορφυρίνης.



Σχήμα 4.28: Χημική δομή της φθαλοκυανίνης.

Νανοσωματίδια και φωτοδυναμική θεραπεία

Τέλος, αναφέρεται ότι τα τελευταία χρόνια ο κλάδος της νανοτεχνολογίας και οι χρήσιμα νανοσωματιδίων παρουσιάζει σημαντικό ερευνητικό ενδιαφέρον για τον σχεδιασμό και την ανακάλυψη νέων μορίων με πιθανή δράση τους ως φωτοευαισθητοποιητές. Σύμφωνα με ερευνητικές μελέτες, τα νανοσωματίδια θεωρούνται ιδιαίτερα αποτελεσματικά ως αντικαρκινικοί παράγοντες, ενώ παράλληλα ορισμένα από αυτά μπορεί να εμφανίζουν και αντιμικροβιακή δράση. Όσον αφορά την φωτοδυναμική θεραπεία, έχουν χρησιμοποιηθεί κυρίως νανοσωματίδια χρυσού, νανοσωματίδια πυριτίου και νανοσωλήνες άνθρακα ή πολυμερικά συστήματα όπως πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG), [58], [59] πολυγαλακτικού οξέος (PLA) [59], [60] ή συμπολυμερή πολυγαλακτικού-γλυκολιδικού οξέος (PLA-co-PLGA). [60], [61][62]

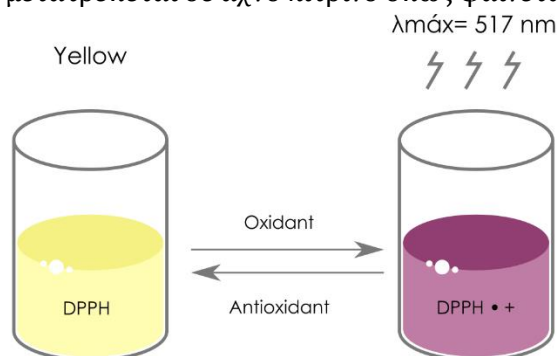
Τέτοια συστήματα φωτοευαισθητοποιητών που βασίζονται σε νανοσωματίδια ικανοποιούν τις περισσότερες απαιτήσεις για τον ιδανικό φωτοευαισθητοποιητή. Σε αυτά τα συστήματα οι φωτοευαισθητοποιητές είναι είτε ενθυλακωμένοι μέσα είτε ακινητοποιημένοι σε νανοσωματίδια μέσω ομοιοπολικών/μη ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων. Ένα σημαντικό πλεονέκτημα τέτοιων συστημάτων είναι η απόδοση της υψηλής αναλογίας της επιφάνειας προς τον όγκο και η πιθανότητα υψηλής φόρτωσης των φαρμακευτικών μορίων. Πιο συγκεκριμένα, η νανοτεχνολογία είναι ελκυστική για εφαρμογές στην φωτοδυναμική θεραπεία για τρεις κύριους λόγους: α) Η δυνατότητα στόχευσης ενισχύει την συγκέντρωση του φωτοευαισθητοποιητή στην επιθυμητή θέση και μειώνει την τοξικότητα και τις επιδράσεις στους φυσιολογικούς ιστούς/κύτταρα, β) Τα νανοσωματίδια μπορούν να βελτιώσουν την διαλυτότητα των υδρόφοβων φωτοευαισθητοποιητών και γ) Ο σταθερός ρυθμός παροχής φωτοευαισθητοποιητή έχει ως αποτέλεσμα την κινητική απελευθέρωσης μηδενικής τάξης, διατηρώντας έτσι την σταθερή θεραπευτική δόση στο σημείο δράσης. Αυτοί οι φορείς φωτοευαισθητοποιητών νανοκλίμακας μπορούν να ταξινομηθούν περαιτέρω όπως έχει ήδη αναφερθεί σε οργανικά ή ανόργανα νανοσωματίδια. [63], [64]

4.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΜΕΘΟΔΟΙ

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-picryl-hydrazyl: DPPH) με δότες υδρογόνου για την παραγωγή ενός σταθερού προϊόντος. Η 2,2-διφαινυλ-1-πικρυλυδραζίλη (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl: DPPH) είναι μια από τις λίγες σταθερές και εμπορικά διαθέσιμες οργανικές ρίζες αζώτου. 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 4.7.



Εικόνα 4.7: Δοκιμή DPPH

Αρχικά για την παρασκευή του διαλύματος DPPH περιλαμβάνεται η ζύγιση των 2.5 mg που στη συνέχεια διαλύεται σε 100 mL (EtOH) αιθανόλη και φυλάσσεται σε σκοτεινό μέρος, όπου αφήνεται να αναδευτεί για 30 λεπτά έως ότου επιτευχθεί πλήρης διάλυση του DPPH.

Παράλληλα, οι προς εξέταση κινάζολινονες διαλύονται σε διαλύτη διμεθυλοσουλφοξειδίου (DMSO) με αρχική συγκέντρωση στα 4 mM. Ακολουθούν διαδοχικές αραιώσεις, με την προσθήκη διαλύτη DMSO, προς παρασκευή τελικών συγκεντρώσεων τις ακόλουθες 3 mM, 2 mM, 1 mM και 0.2 mM. Για κάθε ένωση τοποθετούνται στο δειγματοφορέα 5 μ L ένωσης και 195 μ L από το διάλυμα του DPPH, ενώ η ίδια διαδικασία επαναλαμβάνεται για όλες τις συγκεντρώσεις. Για την μέτρηση της απορρόφησης σε συγκέντρωση 0 mM τοποθετείται αντίστοιχα 195 μ L DPPH και 5 μ L DMSO. Ενώ για τα τυφλά δείγματα (blank) προστίθονται στον δειγματοφορέα 195 μ L EtOH και 5 μ L DMSO. Τέλος, ο δειγματοφορέας αφήνεται σε σκοτεινό μέρος και τα δείγματα επωάζονται σε χρόνους των 30 λεπτών και 60 λεπτών αντίστοιχα.

Η απορρόφηση του κάθε διαλύματος μετράται μέσω της φασματοσκοπίας υπεριώδους-ορατού (UV-Vis) στα 515 nm σε χρόνους 30 και 60 λεπτών αντίστοιχα.

Βάσει των τιμών των απορροφήσεων υπολογίζεται το ποσοστό της αναστολής της δράσης των ελεύθερων ριζών προς την παραγωγή ενός σταθερού προϊόντος (% Inhibition) και η αποτελεσματική συγκέντρωση της μετρούμενης ένωσης ώστε να εξουδετερωθεί το 50% των ελεύθερων ριζών (IC50), ενώ όσο χαμηλότερη είναι η συγκέντρωση παρατηρηθεί για την ένωση τόσο πιο ισχυρή αντιοξειδωτική δράση θα παρουσιάζει η ένωση. Παράλληλα για συγκριτικούς λόγους και για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιείται ως πρότυπο διάλυμα γνωστό για την αντιοξειδωτική δράση, το γαλλικό οξύ (GA).

Οι υπολογισμοί για την μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης πραγματοποιούνται αρχικά μέσω των μετρούμενων απορροφήσεων (A_{obs}) των δειγμάτων ενώ αφαιρείται η απορρόφηση των τυφλών δειγμάτων (A_{blank}).

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

Όσον αφορά το ποσοστό αναστολής υπολογίζεται σύμφωνα με την εξίσωση που παρουσιάζεται για κάθε δείγμα διαφορετικής συγκέντρωσης του εκάστοτε κινναζολινικού αναλόγου.

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

όπου A_0 : η απορρόφηση για 0 mM ένωσης

Το IC50 υπολογίζεται έπειτα από την γραμμική προσαρμογή των δεδομένων των συγκεντρώσεων και του ποσοστού αναστολή με τη μέθοδο των ελάχιστων τετραγώνων ($\%Inhibition = a \cdot C + b$). [1], [2], [65]–[67]

$$IC50 = \frac{50\% - b}{a}$$

Προσδιορισμός της αλληλεπίδρασης των ενώσεων με το DNA μέσω Υπολογιστικής Μελέτης (Molecular docking)

Η υπολογιστική μελέτη του τρόπου αλληλεπίδρασης των ενώσεων με το DNA πραγματοποιείται μέσω της κρυσταλλικής δομής του DNA (PDB ID: 1bna), η οποία παραλαμβάνεται από το RSCB Protein Data Bank (PDB). Οι ενώσεις σχεδιάζονται με χρήση του προγράμματος HyperChem 7.0 software (version 7.0, Hypercube, Inc, Gainesville, FL, USA, www.hyper.com). Η βελτιστοποίηση των παραμέτρων σύνδεσης πραγματοποιείται μέσω του AutoDock Vina software (The Scripps Research Institute, La Jolla, CA, USA), εφαρμόζοντας εμπειρική λειτουργία ελεύθερης ενέργειας. Σημειώνεται ότι μέσω του AutoDock Tools προστίθενται μόνο πολικά υδρογόνα στο DNA. Τέλος, για την απεικόνιση των παραπάνω χρησιμοποιείται το λογισμικό PyMol. Το όνομα και ο αριθμός των νουκλεοτιδίων σχεδιάζονται σύμφωνα με το λογισμικό αυτό. [68], [69]

Προσδιορισμός της αλληλεπίδρασης των ενώσεων με το DNA μέσω της Τιτλοδότησης Υπεριώδους – Ορατού (Ultraviolet – Visible spectroscopy, UV– Vis)

Η αλληλεπίδραση των ενώσεων με το DNA όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα, 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 διδακτορική διατριβή εξετάζεται η πρώτη μέθοδος. Αυτή χρησιμοποιείται για να ληφθούν αρχικές πληροφορίες σχετικά με την με την ύπαρξη οποιασδήποτε αλληλεπίδρασης της ουσίας με το DNA θύμου αδένου (Calf thymus, CT-DNA) και τον βαθμό της επίδρασης σε αυτό (υπολογίζεται η σταθερά σύνδεσης με το DNA, K_b).

Αρχικά μελετώνται οι μεταβολές των φασμάτων UV διαλύματος CT DNA, το οποίο είναι Β-μορφής, στην περιοχή $\lambda_{\max} = 200-400$ nm με την προσθήκη σε αυξανόμενες ποσότητες της ένωσης που μελετάται σε διάφορες αναλογίες $[\text{ένωσης}]/[\text{DNA}]$ (r). Πιο συγκεκριμένα, εξετάζεται η μεταβολή της απορρόφησης της ταινίας με $\lambda_{\max} = 258-260$ nm καθώς και πιθανές μεταβολές στο λ_{\max} της παραπάνω ταινίας. Έτσι, εξετάζεται αν και με ποιο τρόπο η ένωση μπορεί να αλληλεπιδράσει με το CT DNA.

Η εμφάνιση οποιασδήποτε μεταβολής της απορρόφησης στο λ_{\max} αποτελεί ένδειξη αλληλεπίδρασης. Συγκεκριμένα, κατά την παρεμβολή της ένωσης στο CT-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. Η μετατόπιση της θέσης του λ_{\max} δείχνει σταθεροποίηση ή μη της έλικας του CT DNA μετά την αλληλεπίδραση με την ένωση. Η βαθυχρωμία (red-shift) δείχνει σταθεροποίηση της ελικοειδούς δομής DNA λόγω αλληλεπίδρασης με την ένωση. Η ένταση της απορρόφησης του μεγίστου της ταινίας του CT DNA μπορεί να αυξάνεται λόγω έκθεσης των πουρινών (αδενίνη, γουανίνη) και πυριμιδινών (θυμίνη, κυτοσίνη) του CT DNA [70] εξαιτίας της δράσης των ενώσεων στο DNA. Η υπερχρωμία σ' αυτή την περίπτωση αποτελεί ένδειξη καταστροφής δεσμών υδρογόνου μεταξύ των βάσεων, άρα και της δευτεροταγούς δομής του DNA.

Στο δεύτερο στάδιο μελετώνται οι μεταβολές που λαμβάνουν χώρα στα φάσματα UV διαλύματος της ένωσης με την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων του CT-DNA σε διάφορες αναλογίες $[\text{ένωσης}]/[\text{DNA}]$ ($=r$), όπου καταγράφονται οι μεταβολές τόσο της απορρόφησης και όσο της τιμής του λ_{\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 $\frac{[DNA]}{(\epsilon_A - \epsilon_f)}$ σε συνάρτηση με τη $[DNA]$ με βάση την εξίσωση:
$$\frac{[DNA]}{\epsilon_A - \epsilon_f} = \frac{[DNA]}{\epsilon_b - \epsilon_f} + \frac{1}{K_b (\epsilon_b - \epsilon_f)} \quad (1)$$

όπου $[DNA]$ είναι η συγκέντρωση του DNA, ϵ_A ισούται με το λόγο της απορρόφησης προς την συγκέντρωση της ένωσης σε κάθε μέτρηση ($= [A]/[\text{ένωση}]$), ϵ_f είναι ο συντελεστής μοριακής απορρόφησης της ελεύθερης ένωσης, ϵ_b είναι ο συντελεστής μοριακής απορρόφησης της πλήρως δεσμευμένης ένωσης στο DNA και K_b είναι η σταθερά ισχύος σύνδεσης της ένωσης με το DNA.

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 αδένια 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.

Οι παραγόμενες κιναζολινόνες 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 μ M. Διατηρώντας σταθερή τη συγκέντρωση της εξεταζόμενης κιναζολινόνης μεταβάλλεται η συγκέντρωση του CT-DNA (0-50 μ M). 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 λ_{\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:

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

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.[70]–[73]

Προσδιορισμός της Φωτοδιασπαστικής Ικανότητας των ενώσεων με το DNA

Τα πειράματα της φωτοβόλησης πραγματοποιούνται στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Τμήματος Χημείας του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης.

Προετοιμασία διαλυμάτων

Παρασκευή διαλύματος Tris buffer 25 μ M

Αρχικά, διαλύονται 6 mg 2-αμινο-2-(υδροξυμέθυλο)-1,3-προπανοδιόλης (Trizma base, SIGMA) σε 20 mL αποστειρωμένου νερού (διάλυμα A). Ακολουθεί αραιώση 1:10 με τελικό όγκο 20 mL (διάλυμα B με συγκέντρωση 250 μ M). Τέλος, το διάλυμα B αραιώνεται 10 φορές ώστε η συγκέντρωση να γίνει 25 μ M σε τελικό όγκο 20 mL και στη συνέχεια γίνεται μέτρηση του pH, με τιμή 6.8.

Παρασκευή διαλυμάτων των ενώσεων

Οι ενώσεις που μελετώνται διαλύονται σε DMSO (διμεθυλοσουλφοξείδιο) σε αρχική συγκέντρωση 5 mM. Αυτό αραιώνεται δίνοντας τελική συγκέντρωση 500 μ M και συγκέντρωση DMSO 10%.

Παρασκευή διαλύματος TBE (Tris Boric EDTA) 10 X και 1 X

Για το διάλυμα 10X, σε 700 ml αποστειρωμένου νερού προστίθενται 108 g Tris, 55 g βορικό οξύ και 40 ml EDTA 0.5 M. Το μίγμα αναδεύεται έως ότου τα υλικά διαλυθούν και

το διάλυμα γίνει διαυγές. Στη συνέχεια γίνεται μέτρηση του pH και ρύθμισή του αν είναι απαραίτητο στο 8.3. Συμπληρώνεται και η υπόλοιπη ποσότητα νερού μέχρι όγκου ενός λίτρου και ακολουθεί φιλτράρισμα με χαρτί whatman, αν θεωρηθεί απαραίτητο. Για το διάλυμα TBE 1X γίνεται αραίωση 1:10 με τελικό όγκο 1 L, οπότε σε 900 ml απιονισμένου νερού προσθέτουμε 100 ml TBE 10X.

Παρασκευή πηκτώματος αγαρόζης

Για την πηκτή αγαρόζης 1 % διαλύονται 500 mg αγαρόζης σε 50 ml διαλύματος TBE 1X με θέρμανση σε φούρνο μικροκυμάτων για 1 λεπτό. Στη συνέχεια, αφού το διάλυμα γίνει διαυγές ψύχεται για 1-2 λεπτά και τότε προσθέτουμε 5 μ L βρωμιούχου αιθιδίου (αραίωση 1:10.000). Τοποθετούμε το διάλυμα στο κατάλληλο εκμαγείο ώστε να δημιουργηθούν οι θέσεις τοποθέτησης των διαλυμάτων. Αφού το διάλυμα στερεοποιηθεί μετά την πάροδο 30 λεπτών μπορεί να τοποθετηθεί στην συσκευή ηλεκτροφόρησης.[50], [51], [53], [74]–[76]

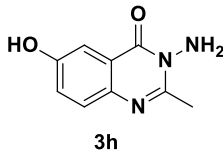
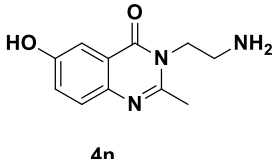
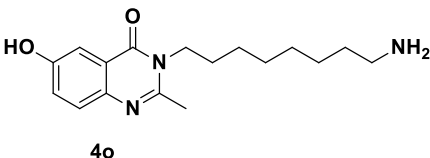
4.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Αξιολόγηση Αντιοξειδωτικής Δράσης

Τα κιναζολινικά παράγωγα εξετάστηκαν ως προς την αναγωγική τους ικανότητα και στην αλληλεπίδρασή τους με την ελεύθερη ρίζα DPPH (Μέθοδος DPPH). Ως πρότυπη ένωση χρησιμοποιήθηκε το Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) ως ισχυρό αντιοξειδωτικό.

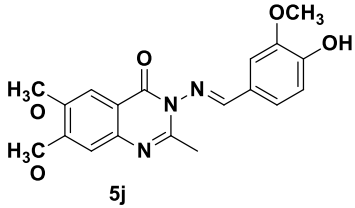
Οι περισσότερες ενώσεις από αυτές που εξετάστηκαν δεν έδειξαν ικανότητα αλληλεπίδρασης με την ελεύθερη ρίζα DPPH. Τα αποτελέσματα για τις ενώσεις που εμφάνισαν αλληλεπίδραση με τη ρίζα DPPH παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.1. Αξιολογώντας τα παράγωγα της Σειράς Α παρατηρήθηκε ότι μόνο για τα παράγωγα **3h** (51% δέσμευση DPPH 0.1 mM, 60min), **4n** (73% δέσμευση DPPH 0.1 mM, 60min) και **4o** (45% δέσμευση DPPH 0.1 mM, 60min) τα οποία φέρουν μια υδροξυλομάδα στη θέση 6 εμφανίζουν σχετική ικανοποιητική δράση.

Πίνακας 4.1: Αποτελέσματα αντιοξειδωτικής δράσης των κιναζολινικών παραγώγων **3h**, **4n**, **4o** της Σειράς Α

Δομή	%δέσμευση DPPH (0.1 mM) 30/60 min
 3h	47/51
 4n	67/73
 4o	28/45

Όσον αφορά τη Σειρά Β των ιμινικών παραγώγων δεν φαίνεται να έχουν αξιόλογη δράση, εκτός από το παράγωγο **5j** (36% δέσμευση DPPH 0.1 mM, 60min) (Πίνακας 4.2) που φέρει υδροξυλομάδα στο δακτύλιο του ιμινικού δεσμού φαίνεται να παρουσιάζει μια μικρή δράση.

Πίνακας 4.2: Αποτελέσματα αντιοξειδωτικής δράσης των κιναζολινικών παραγώγων 3h, 4n, 4o της Σειράς B

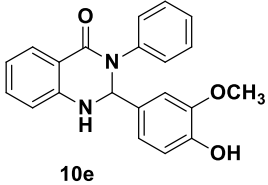
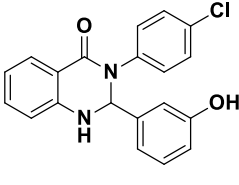
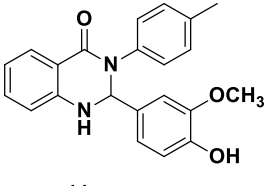
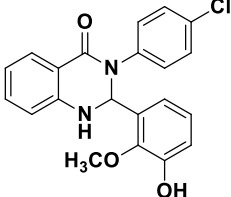
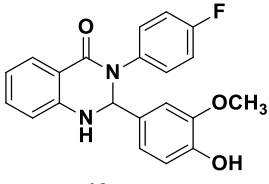
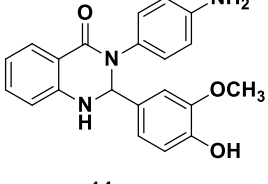
Δομή	%δέσμευση DPPH (0.1 mM) 30/60 min
	27/36

Όσον αφορά τα παράγωγα της Σειράς Δ των διυδροκιναζολινονών αυτά που εμφάνισαν ικανοποιητική δράση είναι τα παράγωγα **10e**, **11e**, **12g**, **14a**, **16a**, **16b** (Πίνακας 4.3). Πιο συγκεκριμένα, το παράγωγο **10e** (40% δέσμευση DPPH 0.1 mM, 60min) φέρει μια μεθοξυ και μια υδροξυ ομάδα στον βενζολικό δακτύλιο της θέσης 2, ενώ αντίστοιχα στο παράγωγο **11e** (68% δέσμευση DPPH 0.1 mM, 60min) φέρει μια μεθοξυ και μια υδροξυ ομάδα στον βενζολικό δακτύλιο της θέσης 2 και μια μεθυλο ομάδα στο βενζολικό δακτύλιο της θέσης 3.

Αντίστοιχα, το παράγωγο **12g** (60% δέσμευση DPPH 0.1 mM, 60min) φέρει μια μεθοξυ και μια υδροξυ ομάδα στον βενζολικό δακτύλιο της θέσης 2 και έναν υποκαταστάτη φθόριο στον βενζολικό δακτύλιο της θέσης 3. Το παράγωγο **14a** (41% δέσμευση DPPH 0.1 mM, 60min) φέρει μια αμινο-ομάδα στον βενζολικό δακτύλιο της θέσης 3 και μια μεθοξυ-ομάδα και υδροξυ-ομάδα στον βενζολικό δακτύλιο της θέσης 2.

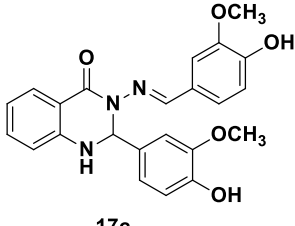
Το παράγωγο **16a** (32% δέσμευση DPPH 0.1 mM, 60min) φέρει μια υδροξυ ομάδα στον βενζολικό δακτύλιο της θέσης 2 και μια φθορο ομάδα στον βενζολικό δακτύλιο της θέσης 3 και το παράγωγο **16b** (71% δέσμευση DPPH 0.1 mM, 60min) φέρει μια υδροξυ ομάδα και μια μεθοξυ στον βενζολικό δακτύλιο της θέσης 2 και μια φθορο ομάδα στον βενζολικό δακτύλιο της θέσης 3. Η παρουσία υδροξυλο ομάδας φαίνεται ότι να είναι απαραίτητη ώστε να υπάρχει δράση αλλά και η παρουσία μεθοξυ ομάδας στον ίδιο δακτύλιο που βρίσκεται η υδροξυλομάδα φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο. Σημειώνεται ότι η παρουσία αλογόνου (φθόριο ή χλώριο) στον δακτύλιο της θέσης 3 φαίνεται ότι ενισχύει την δράση.

Πίνακας 4.3: Αποτελέσματα αντιοξειδωτικής δράσης των κιναζολινικών παραγώγων 3h, 4n, 4o της Σειράς Δ

Δομή	%δέσμευσ η DPPH (0.1 mM) 30/60 min	Δομή	%δέσμευσ η DPPH (0.1 mM) 30/60 min
 <p>10e</p>	27/40	 <p>16a</p>	19/32
 <p>11e</p>	45/68	 <p>16b</p>	49/71
 <p>12g</p>	41/60	 <p>14a</p>	37/41

Αντίστοιχα, όσον αφορά την Σειρά Ε των μινικών παραγώγων της οικογένειας των διυδροκιναζολινικών παραγώγων δεν φαίνεται να έχουν αξιόλογη δράση, εκτός από το παράγωγο **5j** (48% δέσμευση DPPH 0.1 mM, 60min) (Πίνακας 4.4) που φέρει υδροξυλομάδα στο δακτύλιο του μινικού δεσμού φαίνεται να παρουσιάζει μια μικρή δράση.

Πίνακας 4.4: Αποτελέσματα αντιοξειδωτικής δράσης των κιναζολινικών παραγώγων 3h, 4n, 4o της Σειράς E

Δομή	%δέσμευση DPPH (0.1 mM) 30/60 min
 <p>17c</p>	27/48

Αξιολόγηση της αλληλεπίδρασης των ενώσεων με το DNA μέσω Υπολογιστικής Μελέτης (Molecular Docking)

Αρχικά παρουσιάζεται η υπολογιστική μελέτη (Molecular Docking) για την αλληλεπίδραση των ενώσεων με το DNA (Πίνακας 4.5).

Πίνακας 4.5: Αποτελέσματα υπολογιστικής μελέτης (Molecular Docking) των ενώσεων που συντέθηκαν για την αξιολόγηση της αλληλεπίδρασής τους με το DNA

Δομή	Ενέργεια αλληλεπίδρασης (kcal/mol)	Δεσμοί Υδρογόνου	Νουκλεοτίδια
3a	-6.1	4	DC-11, DG-10, DG-16
3b	-6.6	4	DC-11, DG-10, DG-16
3c	-6.6	5	DC-11, DG-10, DG-16
3d	-6.5	4	DC-11, DG-10, DG-16
3e	-7.2	4	DA-17, DG-10, DG-16
3f	-6.7	4	DA-5, DA-6, DC-21, DG-4
3g	-6.8	-	-
3h	-6.5	4	DC-11, DG-10, DG-16

Δομή	Ενέργεια αλληλεπίδρασης (kcal/mol)	Δεσμοί Υδρογόνου	Νουκλεοτίδια
4a	-6.9	2	DG-10, DG-16
4b	-6.6	2	DG-10, DG-16
4c	-6.6	3	DC-11, DG-10, DG-16
4d	-6.8	3	DC-11, DG-10, DG-16
4e	-6.2	3	DG-10, DG-16
4f	-6.9	3	DG-10, DG-16
4g	-6.4	3	DG-10, DG-16
4h	-6.6	3	DG-10, DG-16
4i	-6.8	3	DG-10, DG-16
4j	-6.2	3	DG-10, DG-16
4k	-6.1	2	DG-10, DG-16
4l	-6.6	3	DG-10, DG-16
4m	-6.8	3	DG-10, DG-16
4n	-6.7	3	DG-10, DG-16
4o	-6.3	3	DG-10, DG-16

Δομή	Ενέργεια αλληλεπίδρασης (kcal/mol)	Δεσμοί Υδρογόνου	Νουκλεοτίδια
5a	-7.8	2	DG10, DG16
5b	-7.9	2	DG10, DG16
5c	-7.9	2	DG10, DG16
5d	-8.0	3	DG10, DG16
5e	-7.8	3	DG10, DG16
5f	-8.2	3	DG10, DG16
5g	-8.9	3	DG10, DG16

5h	-8.0	3	DG10, DG16
5i	-8.0	3	DG10, DG16

Δομή	Ενέργεια Αλληλεπίδρασης (kcal/mol)	Δεσμοί Υδρογόνου	Νουκλεοτίδια
6a	-7.5	6	DA-17, DC-11, DG-10, DG-16
6b	-7.8	6	DA-17, DC-11, DG-10, DG-16
6c	-7.8	6	DA-17, DC-11, DG-10, DG-16
6d	-7.7	6	DA-17, DC-11, DG-10, DG-16
6e	-8.6	7	DA-17, DC-11, DG-10, DG-14, DG-16
6f	-8.8	7	DC-11, DG-10, DG-16
6g	-8.0	7	DA-17, DC-11, DG-10, DG-16

Δομή	Ενέργεια αλληλεπίδρασης (kcal/mol)	Δεσμοί Υδρογόνου	Νουκλεοτίδια
10a	-6.8	2	DG-22, DG-4
10b	-7.4	2	DG-22, DG-4
10c	-6.8	1	DG-4
10d	-7.5	1	DG-22
10e	-7.6	3	DG-22, DC-23
10f	-7.8	3	DG-12, DG-16, DA-17
10g	-7.9	3	DG-12, DG-16, DA-17
10h	-8.6	3	DG-12, DG-16, DA-17
10i	-8.9	4	DG-12, DG-16, DA-17, DG-22
10j	-8.1	3	DG-22, DG-12, DG-16
10k	-7.5	1	DG-10

Δομή	Ενέργεια αλληλεπίδρασης (kcal/mol)	Δεσμοί Υδρογόνου	Νουκλεοτίδια
11a	-7.1	2	DG-4, DA-5
11b	-6.9	2	DG-4, DA-5
11c	-7.7	3	DG-22, DG-4
11d	-7.6	2	DA-17, DG-16
11e	-7.9	2	DG-4, DA-5
11f	-8.2	3	DG-22, DG-4
11g	-7.6	2	DA-17, DG-16
11h	-8.7	3	DG-12, DG-4, DA-5
11i	-8.9	3	DG-12, DG-4, DA-5
11j	-7.6	1	DG-5

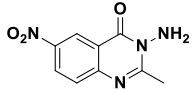
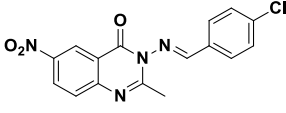
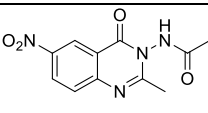
Δομή	Ενέργεια αλληλεπίδρασης (kcal/mol)	Δεσμοί Υδρογόνου	Νουκλεοτίδια
12a	-7.4	2	DC21, DC23
12b	-6.8	2	DC21, DC23
12c	-6.6	2	DC21, DC23
12d	-6.8	2	DC21, DC23
12e	-7.0	2	DC21, DC23
12f	-7.1	2	DC21, DC23
12g	-7.4	2	DC21, DC23
12h	-8.1	3	DG-16, DC21, DC23

Δομή	Ενέργεια αλληλεπίδρασης (kcal/mol)	Δεσμοί Υδρογόνου	Νουκλεοτίδια
13a	-7.4	2	DC21, DC23
13b	-6,6	1	DC21
13c	-6,8	1	DA-5
13d	-7.5	2	DC21, DC23
13e	-7.4	2	DG-10, DA-5
13f	-6,8	1	DA-10
13g	-8.0	2	DC21, DC23
13h	-8.2	3	DG-4, DC21, DC23
13i	-9.0	4	DG-4, DA-5, DC21, DC23
13j	-7.6	2	DA-17, DG-16
14a	-7.4	2	DC21, DC23
14b	-7.9	3	DG-4, DG-5, DC21
15a	-7.8	3	DC-11, DG-10, DG-16
15b	-7.4	2	DC21, DC23
16a	-7.2	2	DC21, DC23
16b	-7.8	2	DC21, DC23

Δομή	Ενέργεια αλληλεπίδρασης (kcal/mol)	Δεσμοί Υδρογόνου	Νουκλεοτίδια
17a	-8.2	2	DG-10, DG-16
17b	-7.8	3	DA-5, DG-4
17c	-8.2	2	DA-5, DG-22
17d	-8.0	3	DG-10, DG-16
17e	-8.1	1	DG-16
17f	-8.8	3	DC-9,

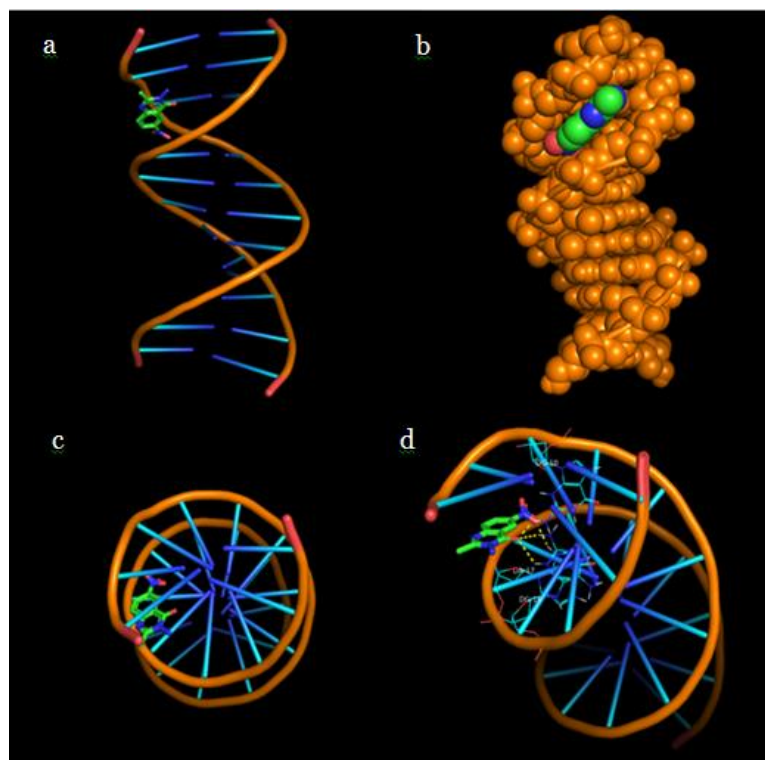
Στον Πίνακα 4.6 παρουσιάζονται τα παράγωγα από τα παράγωγα **3e**, **5g**, **6e** τα οποία φέρουν μια νιτρο-ομάδα στην θέση 6 του κιναζολινικού δακτυλίου, μια μεθυλο-ομάδα στην θέση 2 και διαφορετική υποκατάσταση στην θέση 3. Παρατηρείται ότι η ενέργεια αλληλεπίδρασης των μορίων καθώς και οι δεσμοί υδρογόνου να είναι αυξημένοι στο παράγωγο **6e** όπου παρουσιάζει έναν αμιδικό δεσμό στην θέση 3 του κιναζολινικού δακτυλίου έναντι της αμινομάδας του παραγώγου **3e** και του ιμινικού δεσμού του παραγώγου **5g** στην ίδια θέση.

Πίνακας 4.6: Συγκριτικά αποτελέσματα για τα νιτρο-παράγωγα **3e**, **5g**, **6e**

	Χημική Δομή	Binding Energy (kcal/mol)	Δεσμοί Υδρογόνου	Nucleotides
3e		-7.2	4	DG-10, DA-17, DG-16
5g		-8.9	3	DG-10, DG-16
6e		-8.6	7	DG-10, DG-11, DG-14, DG-16, DG17

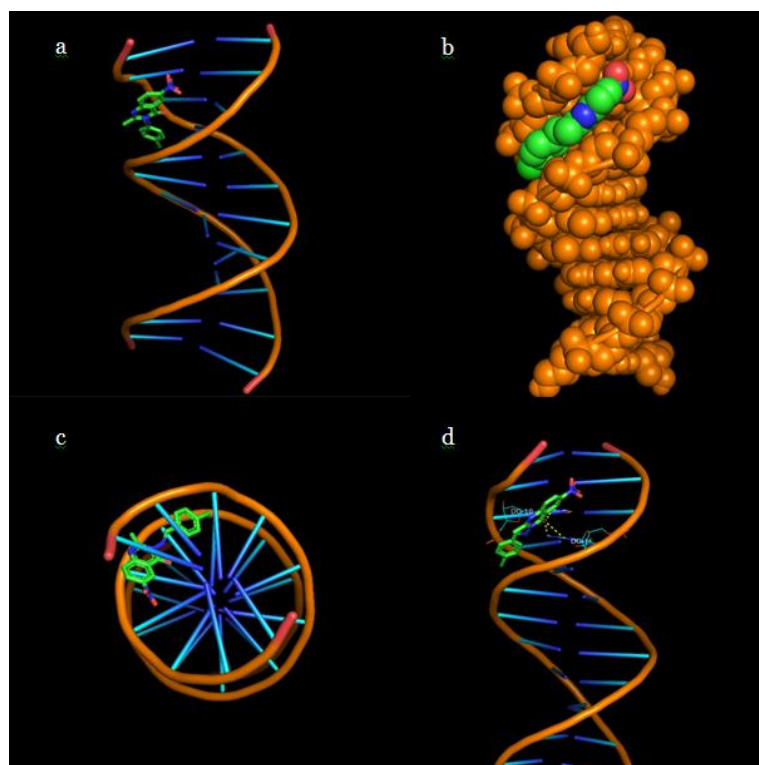
Στις παρακάτω εικόνες παρουσιάζεται η αρχιτεκτονική της δέσμευσης των ενδεικτικών προσδεμάτων (παράγωγα **3e**, **5g**, **6e**) στην κρυσταλική δομή του DNA (PDB:1bna) που απεικονίζουν τη σταθεροποίηση του στην κοιλότητα δέσμευσης της μικρής αύλακας.

Στην Εικόνα 4.8, παρουσιάζεται η δέσμευση της 3-αμινο-2-μεθυλο-6-νιτρο-κιναζολιν-4(3H)-όνης (**3g**) στην κρυσταλλική δομή του DNA, απεικονίζοντας την σταθεροποίησή της στην μικρή αύλακα (minor groove) του DNA. Η μικρή αύλακα όντας μικρότερη σε μέγεθος από την μεγάλη πλεονεκτεί στην δέσμευση μικρών μορίων. Οι περισσότερες εκ των αντικαρκινικών και φαρμακευτικών ουσιών είναι μικρά μόρια, με αποτέλεσμα η μικρή αύλακα να καθίσταται πολύ σημαντική ως κύρια θέση δέσμευσής τους. Η σταθεροποίηση του συμπλόκου επιτυγχάνεται με το σχηματισμό δεσμών υδρογόνου (Εικόνα 19), πολικών και υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων. Από τους τέσσερις δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των νουκλεοτιδίων DA-17, DG-10 και DG-16, τρεις δεσμοί υδρογόνου σχηματίζονται μεταξύ του οξυγόνου της καρβονυλομάδας και των πουρινών των αζωτούχων βάσεων των νουκλεοτιδίων DA-17, DG-10 και DG-16. Τέλος, σχηματίζεται ένας δεσμός υδρογόνου μεταξύ της νιτρο-ομάδας του αρωματικού δακτυλίου και της πουρίνης του νουκλεοτιδίου DA-17.



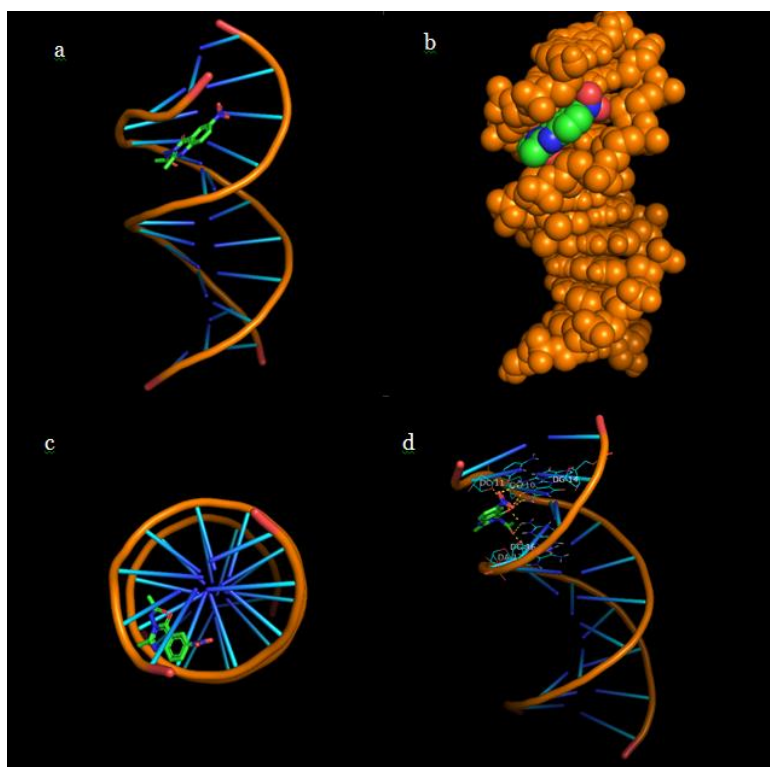
Εικόνα 4.8: Σχηματική απεικόνιση της δέσμευσης της 3e στην κρυσταλλική δομή του DNA που απεικονίζει την σταθεροποίησή της στην μικρή αύλακα. (a) Απεικόνιση της δομής του DNA και της 3e ως κινούμενα σχέδια, (b) Απεικόνιση της δομής του DNA και της 3g ως σφαίρες, (c) θέση σύνδεσης της 3g από μια οπτική πάνω από τον άξονα της έλικας, (d) απεικόνιση των δεσμών υδρογόνου με κίτρινες διακεκομμένες γραμμές και των νουκλεοτιδίων.

Στην Εικόνα 4.9, παρουσιάζεται η δέσμευση του N-(2-μεθυλο-6-νιτρο-4-οξοκινολιν3(4H)-υλ βάσης Schiff (**5g**) στην κρυσταλλική δομή του DNA, απεικονίζοντας την σταθεροποίησή του στην μικρή αύλακα του DNA. Η σταθεροποίηση του συμπλόκου επιτυγχάνεται με το σχηματισμό δεσμών υδρογόνου, πολικών και υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων. Από τους τρεις δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των νουκλεοτιδίων DG-10 και DG-16, δυο δεσμοί υδρογόνου σχηματίζονται μεταξύ του οξυγόνου της καρβonyλομάδας και των πουρινών των αζωτούχων βάσεων του νουκλεοτιδίου DG-10. Ένας ακόμη δεσμός υδρογόνου σχηματίζεται μεταξύ του οξυγόνου του αμιδικού δεσμού και των πουρινών των αζωτούχων βάσεων του νουκλεοτιδίου DG-16.



Εικόνα 4.9: Σχηματική απεικόνιση της δέσμησης της 5g στην κρυσταλλική δομή του DNA που απεικονίζει την σταθεροποίησή της στην μικρή αύλακα. (a) Απεικόνιση της δομής του DNA και της 5g ως κινούμενα σχέδια, (b) Απεικόνιση της δομής του DNA και της 5g ως σφαίρες, (c) θέση σύνδεσης της 5g από μια οπτική πάνω από τον άξονα της έλικας, (d) απεικόνιση των δεσμών υδρογόνου με κίτρινες διακεκομμένες γραμμές και των νουκλεοτιδίων

Στην Εικόνα 4.10, παρουσιάζεται η δέσμηση του N-(2-μεθυλο-6-νιτρο-4-οξοκιναζολιν-3-(4H)-υλ) ακεταμιδίου (**6e**) στην δομή του DNA, απεικονίζοντας την σταθεροποίησή του στην μικρή αύλακα του DNA. Η σταθεροποίηση του συμπλόκου επιτυγχάνεται με το σχηματισμό δεσμών υδρογόνου (Εικόνα 21), πολικών και υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων. Από τους επτά δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των νουκλεοτιδίων DA-17, DC-11, DG-10, DG-14 και DG-16, τέσσερις δεσμοί υδρογόνου σχηματίζονται μεταξύ του οξυγόνου της καρβονυλομάδας και των πουρινών των αζωτούχων βάσεων των νουκλεοτιδίων DC-11 και DG-10. Δύο ακόμη δεσμοί υδρογόνου σχηματίζονται μεταξύ του οξυγόνου του αμιδικού δεσμού και των πουρινών των αζωτούχων βάσεων των νουκλεοτιδίων DA-17 και DG-16. Τέλος, σχηματίζεται ένας δεσμός υδρογόνου μεταξύ της νιτρο-ομάδας του αρωματικού δακτυλίου και της πουρίνης του νουκλεοτιδίου DG-14.



Εικόνα 4.10: Σχηματική απεικόνιση της δέσμευσης της *le* στην κρυσταλλική δομή του DNA που απεικονίζει την σταθεροποίησή της στην μικρή αύλακα. (a) Απεικόνιση της δομής του DNA και της *le* ως κινούμενα σχέδια, (b) Απεικόνιση της δομής του DNA και της *le* ως σφαίρες, (c) θέση σύνδεσης της *le* από μια οπτική πάνω από τον άξονα της έλικας, (d) απεικόνιση των δεσμών υδρογόνου με κίτρινες διακεκομμένες γραμμές και των νουκλεοτιδίων

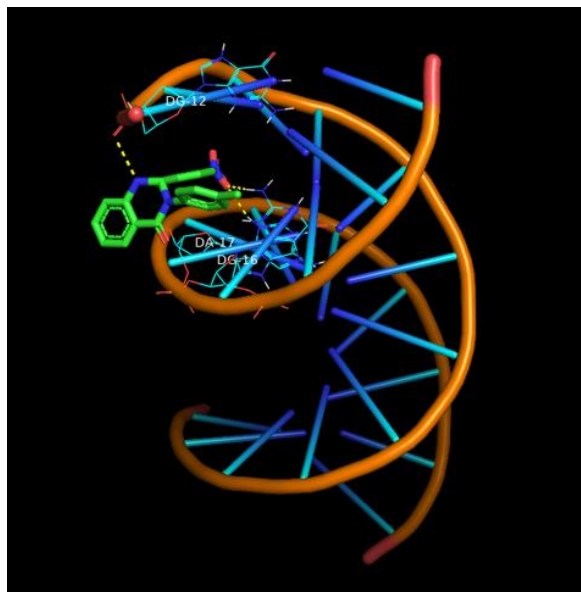
Από τα αντίστοιχα ανάλογα των διυδροκιναζολινονών τα παράγωγα που εμφανίζουν αξιόλογη δράση αξιόλογη δράση είναι εκείνα που φέρουν NO_2 ομάδα κάτι που φαίνεται να είναι σημαντικό για την αλληλεπίδραση μορίου-DNA, καθώς σχηματίζει επιπλέον δεσμούς υδρογόνου κατά την αλληλεπίδραση των μορίων αυτών με το DNA με σκοπό την σταθεροποίηση του συμπλόκου μορίου-DNA. Πιο συγκεκριμένα, τα ανάλογα **10h**, **10i**, **11h**, **11i**, **12h**, **13i** φέρουν ένα ή δύο νίτρο ομάδες πάνω στον βενζολικό δακτύλιο της θέσης 2. Η παρουσία νίτρο- ομάδων φαίνεται πως είναι βασική προϋπόθεση για την ύπαρξη επιπλέον δεσμών υδρογόνου αλληλεπιδρώντας το μόριο πιο ισχυρά με το DNA. Μεταξύ των ενώσεων **10h**, **10i** φαίνεται ότι η ύπαρξη επιπλέον νίτροομάδας στο **10i** ενισχύει την αλληλεπίδραση καθώς και η δεύτερη νίτρο-ομάδα αλληλεπιδρά με τα νουκλεοτίδια του DNA σχηματίζοντας επιπλέον δεσμούς υδρογόνου.

Όσον αφορά και τους υπόλοιπους υποκαταστάτες στα μόρια αυτά φαίνεται πως η ύπαρξη μεθοξυ- ή υδρο- ομάδων δεν βοηθάει στην αύξηση της αλληλεπίδρασης του μορίου με το DNA.

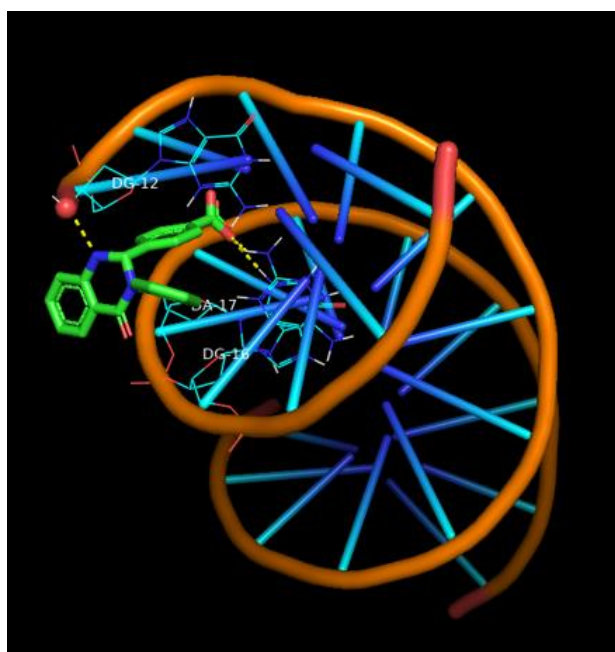
Επιπλέον, η ύπαρξη καρβοξυλομάδας φαίνεται να δίνει ικανοποιητική δράση λόγω της επιπλέον αλληλεπίδρασης της καρβοξυλομάδας με τα νουκλεοτίδια του DNA. Ενδεικτικά παρακάτω παρουσιάζονται οι ενώσεις **10h**, **10f** με νίτρο- και καρβοξυομάδα αντίστοιχα.

Όλα τα κινολινικά ανάλογα τα οποία εξετάστηκαν φαίνεται να αλληλεπιδρούν με το DNA στην μικρή αύλακα αλληλεπιδρώντας έτσι εξωτερικά στην μικρή του DNA ως groove binders.

Στην Εικόνα 4.11, παρουσιάζεται η δέσμευση του μορίου **10h** στην κρυσταλλική δομή του DNA, απεικονίζοντας την σταθεροποίησή του στην μικρή αύλακα του DNA. Η σταθεροποίηση του συμπλόκου αυτού επιτυγχάνεται με τον σχηματισμό δεσμών υδρογόνου, πολικών και υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων. Οι τρεις δεσμούς υδρογόνου που σχηματίζονται μεταξύ των νουκλεοτιδίων DG-10 και DG-16, DA-17, και πιο συγκεκριμένα δυο δεσμοί υδρογόνου σχηματίζονται μεταξύ του οξυγόνου της νιτρο ομάδα των πουρινών των αζωτούχων βάσεων του νουκλεοτιδίου DG-16. DA-17. Ένας ακόμη δεσμός υδρογόνου σχηματίζεται μεταξύ της ομάδας NH της θέσης 1 του κιναζολινικού και των πουρινών των αζωτούχων βάσεων του νουκλεοτιδίου DG-12.



Εικόνα 4.11: Σχηματική απεικόνιση της δέσμευσης της 10h στην κρυσταλλική δομή του DNA που απεικονίζει την σταθεροποίησή της στην μικρή αύλακα.



Εικόνα 4.12: Σχηματική απεικόνιση της δέσμευσης της 10f στην κρυσταλλική δομή του DNA που απεικονίζει την σταθεροποίησή της στην μικρή αύλακα.

Αντίστοιχα, στην Εικόνα 4.12, παρουσιάζεται η δέσμευση του μορίου **10f** στην κρυσταλλική δομή του DNA, απεικονίζοντας την σταθεροποίησή του στην μικρή αύλακα του DNA. Η σταθεροποίηση του συμπλόκου επιτυγχάνεται με το σχηματισμό δεσμών υδρογόνου, πολικών και υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων. Οι τρεις δεσμούς υδρογόνου σχηματίζονται μεταξύ των νουκλεοτιδίων DG-10 και DG-16, DA-17 και πιο συγκεκριμένα δυο δεσμοί υδρογόνου σχηματίζονται μεταξύ του οξυγόνου της καρβοξυλομάδας και των πουρινών των αζωτούχων βάσεων του νουκλεοτιδίου DG-16, DA-17. Επιπλέον ακόμη ένας δεσμός υδρογόνου σχηματίζεται μεταξύ της ομάδας -NH της θέσης 1 του κιναζολινικού δακτυλίου και των πουρινών των αζωτούχων βάσεων του νουκλεοτιδίου DG-12.

Αξιολόγηση της αλληλεπίδρασης των ενώσεων με το DNA μέσω της τιτλοδότησης Ορατού- Υπεριώδους (UV-Vis)

Η συγκεκριμένη μέθοδος χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της αλληλεπίδρασης του CT-DNA με τις εκάστοτε ενώσεις, μέσω φασματοσκοπίας απορρόφησης υπεριώδους – ορατού. Στην φασματοσκοπία απορρόφησης, η υποχρωμία και η υπερχρωμία αποτελούν βασικά χαρακτηριστικά μελέτης των αλλαγών της διπλής ελικοειδούς μορφής του DNA. Λόγω των ισχυρών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μορίων και των ζευγών βάσεων του DNA, παρατηρείται μεταβολή της απορρόφησης, έχοντας ως αποτέλεσμα την ανάδειξη της εγγύτητας του εκάστοτε μορίου στα ζεύγη βάσεων του DNA.

Από τα αποτελέσματα για την αλληλεπίδραση του DNA μέσω τιτλοδότησης UV-Vis φάνηκε πως η επίδραση συγκεκριμένων υποκαταστατών όπως καρβοξυλομάδα, νιτρο-ομάδα, αλογονο-ομάδα και υδροξυ-ομάδα είναι αυτές που παίζουν καθοριστικό ρόλο για την επίδραση τους στο DNA. Αυτό φαίνεται πως είναι σε συνέχεια και με τα υπολογιστικά δεδομένα που πάρθηκαν και παρουσιάστηκαν παραπάνω.

Πιο συγκεκριμένα, για τις 2-μέθυλο-3,6-διυποκατεστημένες κιναζολινόνες, **3a-3h** (Πίνακας 4.7), φαίνεται ότι ισχυρότερη σταθερά αλληλεπίδρασης, k_b , με τιμή $9,67 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$, που φέρει το ανάλογο με μια νιτρο-ομάδα στη θέση 6 (**3e**), ενώ ακολουθούν τα παράγωγα **3f** ($k_b=3,90 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$) που φέρει μια μεθοξυ ομάδα στην θέση 6 και το ανάλογο **3h** που φέρει μια υδροξυ-ομάδα στην θέση 6.

Πίνακας 4.7: Αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των ενώσεων 3a-5h της Σειράς A των κιναζολινικών παραγώγων με το DNA μέσω της τιτλοδότησης ορατού – υπεριώδους (UV-Vis).

Δομή	λ_{max} absent (nm)	λ_{max} present (nm)	$\Delta\lambda$ (nm)	Υποχρωμία	Υπερχρωμία	$k_b \cdot 10^4$ (M^{-1})
Ροδαμίνη	554.2	552	2.2	44.3	-	13.59
3a	264.0	272.0	8.0	-	34.8	2.53

3b	267.2	274.0	6.8	-	71.2	2.24
3c	270.2	274.2	4.0	-	50.4	2.33
3d	274.2	274.2	0.0	-	12.3	0.82
3e	323.4	323.6	0.2	-	77.3	9.67
3f	267.0	274.4	7.4	-	70.3	3.90
3g	310.0	310.0	0	-	7.2	0.35
3h	274	276.2	2.2		45.6	2.65

Ακολούθως, μελετήθηκε η σειρά των αντίστοιχων αναλόγων **4a-4o** (Πίνακας 4.8), που περιέχουν υποκαταστάτη στη θέση 3. Τα ανάλογα τα οποία είχαν υποκαταστάτη ένα βρώμιο στην θέση 6 δίνουν υψηλότερη τιμή της σταθεράς αλληλεπίδρασης k_b . Συγκεκριμένα το παράγωγο **4h** εμφάνισε $k_b = 3,54 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ και παρατηρήθηκε αύξηση της απορρόφησης, δηλαδή υπερχρωμία, και μετατόπιση του λ_{max} προς τα μεγαλύτερα μήκη κύματος από $\lambda_{\text{max}}=277,0 \text{ nm}$ σε $\lambda_{\text{max}}=279,6 \text{ nm}$, δηλαδή βαθυχρωμία (ερυθρή μετατόπιση). Στην ίδια σειρά ακολουθεί και το ανάλογο 4j όπου εμφάνισε $k_b = 3,32 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ ενώ παρατηρήθηκε αντίστοιχα αύξηση της απορρόφησης, δηλαδή υπερχρωμία, και μετατόπιση του λ_{max} προς τα μεγαλύτερα μήκη κύματος από $\lambda_{\text{max}}=211,2 \text{ nm}$ σε $\lambda_{\text{max}}=213,6$, δηλαδή βαθυχρωμία (ερυθρή μετατόπιση).

Αυτό υποδηλώνει πιθανή συναρμογή της ένωσης στην εξωτερική επιφάνεια του DNA και αποσταθεροποίηση της έλικας εξωτερική συναρμογή).

Πίνακας 4.8: Αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των ενώσεων 4a-4o της Σειράς A των κινναζολινικών παραγώγων με το DNA μέσω της τιτλοδότησης ορατού - υπεριώδους (UV-Vis).

Δομή	λ_{max} absent (nm)	λ_{max} present (nm)	$\Delta\lambda$ (nm)	Υποχρωμία	Υπερχρωμία	$k_b \cdot 10^4$ (M^{-1})
Ροδαμίνη	554.2	552	2.2	44.3	-	13.59
4a	211.1	-	-	-	-	-
4b	208.2	-	-	-	-	-
4c	208.4	-	-	-	-	-
4d	211.0	213.6	2.6	-	97.0	1.09
4e	210.4	211.8	1.4	-	82.6	1.62

4f	221.2	228.2	7.0	-	81.9	2.43
4g	276.3	278.6	2.3	-	86.9	1.52
4h	277.0	279.6	1.6	-	93.7	3.54
4i	225.9	228.8	2.9	-	95.3	0.34
4j	211.2	213.6	2.4	-	86.3	3.32
4k	329.0	-	-	-	-	-
4l	264.0	267.2	3.2	-	60.1	0.39
4m	262.0	264.6	2.6	-	80.7	1.16
4n	262.4	264.6	2.2	-	53.1	0.87
4o	263.3	264.8	1.5	-	90.3	2.60

Για τα παράγωγα των μινών (Πίνακας 4.9) φαίνεται πως σημαντικό ρόλο παίζει και εδώ ο υποκαταστάτης της θέσης 6, καθώς παρατηρείται ότι τα παράγωγα με -H στη θέση 6 δεν παρουσιάζουν καλή αλληλεπίδραση με το DNA και δεν υπολογίζεται η k_b ενώ μεταξύ υποκαταστάτη βρωμίου και νιτρο- υποκαταστάτη, η νιτρο-ομάδα εμφανίζεται να έχει ισχυρότερη αλληλεπίδραση. Όμως καθοριστικό ρόλο φαίνεται να παίζει και ο δακτύλιος της θέσης 2 και οι υποκαταστάτες -OCH₃, -NO₂, -Cl καθώς τελικά την βέλτιστη k_b εμφάνισε το παράγωγο **5g** που φέρει μια νιτρο-ομάδα στη θέση 6 και μια -Cl ομάδα στο αρωματικό δακτύλιο που φέρει στον μινικό δεσμό. Συγκεκριμένα το παράγωγο **5g** εμφάνισε $k_b = 6.48 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ και παρατηρήθηκε αύξηση της απορρόφησης, δηλαδή υπερχρωμία, και μετατόπιση του λ_{\max} προς τα μεγαλύτερα μήκη κύματος από $\lambda_{\max}=257,0 \text{ nm}$ σε $\lambda_{\max}=258.8 \text{ nm}$, δηλαδή βαθυχρωμία (ερυθρή μετατόπιση).

Πίνακας 4.9: Αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των ενώσεων 5a-5i της Σειράς Β των κινναζολινικών παραγώγων με το DNA μέσω της τιτλοδότησης ορατού - υπεριώδους (UV-Vis).

Δομή	λ_{\max} absent (nm)	λ_{\max} present (nm)	$\Delta\lambda$ (nm)	Υποχρωμία	Υπερχρωμία	$k_b \cdot 10^4 \text{ (M}^{-1}\text{)}$
Ροδαμίνη	554.2	552	2.2	44.3	-	13.59
5a	272.2	-	-	-	-	-
5b	301.0	-	-	-	-	-
5c	280.2	281.2	1.0	-	83.9	2.74

5d	276.0	277.4	1.4	-	-	-
5e	307.1	308.6	1.5	-	52.9	0.57
5f	281.0	306.1	25.1		55.2	3.42
5g	257.0	258.8	1.8	-	35.9	6.48
5h	308.0	323.6	15.6	-	59.0	1.31
5i	268.2	268.8	0.6	-	70.4	1.2

Επιπλέον μελετήθηκε και η σειρά των ακεταμιδίων **6a-6g** (Πίνακας 4.10) ώστε να βρεθεί αν υπάρχει σχέση μεταξύ δομής και δράσης και εάν τελικά είναι απαραίτητη η ύπαρξη αμινομάδας (-NH₂) στην θέση 3. Όπως φαίνεται και για τα παράγωγα των ακεταμιδίων, το παράγωγο με την νιτρο-ομάδα στη θέση 6 (**6e**) φαίνεται να έχει την ισχυρότερη αλληλεπίδραση σε σχέση με τα υπόλοιπα παράγωγα. Συγκεκριμένα, η σταθερά αλληλεπίδρασης είναι $k_b = 8.74 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ και παρατηρήθηκε αύξηση της απορρόφησης, δηλαδή υπερχρωμία, και μια μικρή μετατόπιση του λ_{\max} προς τα μικρότερα μήκη κύματος από $\lambda_{\max} = 312,6 \text{ nm}$ σε $\lambda_{\max} = 312,4 \text{ nm}$, δηλαδή βαθυχρωμία (κυανή μετατόπιση).

Πίνακας 4.10: Αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των ενώσεων 6a-6g της Σειράς Γ των κινναζολινικών παραγώγων με το DNA μέσω της τιτλοδότησης ορατού - υπεριώδους (UV-Vis).

Δομή	λ_{\max} absent (nm)	λ_{\max} present (nm)	$\Delta\lambda$ (nm)	Υποχρωμία	Υπερχρωμία	$k_b \cdot 10^4 (\text{M}^{-1})$
Ροδαμίνη	554.2	552	2.2	44.3	-	13.59
6a	260.4	262.6	2.2	-	57.9	4.43
6b	266.8	267.6	0.8	-	44.4	6.09
6c	268.0	268.8	0.8	-	45.7	0.81
6d	274.6	277.8	3.2	-	57.5	6.33
6e	312.6	312.4	0.2	-	62.6	8.74
6f	268.0	271.8	3.8	-	70.5	6.38
6g	-	310.8	-	-	-	-

Ακολουθώντας, μελετήθηκε η Σειρά Δ των διυδροκιναζολινονών όπου τα παράγωγα **10a-10k** (Πίνακας 4.11) αξιόλογη δράση εμφάνισαν τα παράγωγα **10f, 10h, 10i**. Συγκεκριμένα το παράγωγο **10f** εμφάνισε $k_b = 4,39 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ και παρατηρήθηκε αύξηση της απορρόφησης, δηλαδή υπερχρωμία, και μετατόπιση του λ_{max} προς τα μεγαλύτερα μήκη κύματος από $\lambda_{\text{max}} = 337,0 \text{ nm}$ σε $\lambda_{\text{max}} = 337,8 \text{ nm}$, δηλαδή βαθυχρωμία (ερυθρή μετατόπιση). Στην ίδια σειρά ακολουθεί και το ανάλογο **10h** όπου εμφάνισε $k_b = 3,39 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ ενώ παρατηρήθηκε αντίστοιχα αύξηση της απορρόφησης, δηλαδή υπερχρωμία, και μετατόπιση του λ_{max} προς τα μεγαλύτερα μήκη κύματος από $\lambda_{\text{max}} = 261,4 \text{ nm}$ σε $\lambda_{\text{max}} = 262,6$, δηλαδή βαθυχρωμία (ερυθρή μετατόπιση). Τέλος, ακολουθεί και το ανάλογο **10i** όπου εμφάνισε $k_b = 4,38 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ ενώ παρατηρήθηκε αντίστοιχα αύξηση της απορρόφησης, δηλαδή υπερχρωμία, και μετατόπιση του λ_{max} προς τα μεγαλύτερα μήκη κύματος από $\lambda_{\text{max}} = 260,1 \text{ nm}$ σε $\lambda_{\text{max}} = 262,0$, δηλαδή βαθυχρωμία (ερυθρή μετατόπιση).

Πίνακας 4.11: Αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των ενώσεων 10a-10k της Σειράς Δ των κινναζολινικών παραγώγων με το DNA μέσω της τιτλοδότησης ορατού - υπεριώδους (UV-Vis).

Δομή	λ_{max} absent (nm)	λ_{max} present (nm)	$\Delta\lambda$ (nm)	Υποχρωμία	Υπερχρωμία	$k_b \cdot 10^4 \text{ (M}^{-1}\text{)}$
Ροδαμίνη B	554.2	552	2.2	44.3	-	13.59
10a	260	-	-	-	-	-
10b	259.8	-	-	-	-	-
10c	274	273.2	0.8	-	89.6	1.77
10d	260.0	-	-	-	--	-
10e	323.6	323.4	0.2	-	74.1	1.69
10f	337.0	337.8	0.8	-	40.4	4.39
10g	279.0	-	-	-	-	-
10h	261.4	262.6	1.2	-	64.2	3.39
10i	260.1	262.0	1.9	-	84.4	4.38
10j	219.3	221	1.7	-	54.7	2.57
10k	220.3	-	-	-	-	-

Επιπλέον, στην ίδια σειρά μελετήθηκαν τα παράγωγα **11a-11j** (Πίνακας 4.12) αξιολογή δρᾶση εμφάνισαν τα παράγωγα **11h, 11i**. Συγκεκριμένα, το ανάλογο **11h** όπου εμφάνισε $k_b = 4,98 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ ενώ παρατηρήθηκε αντίστοιχα αύξηση της απορρόφησης, δηλαδή υπερχρωμία, και μετατόπιση του λ_{max} προς τα μικρότερα μήκη κύματος από $\lambda_{\text{max}}=270,2 \text{ nm}$ σε $\lambda_{\text{max}}=265,4$, δηλαδή υψιχρωμία (κυανή μετατόπιση). Τέλος, ακολουθεί και το ανάλογο **11i** όπου εμφάνισε $k_b = 5,28 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ ενώ παρατηρήθηκε αντίστοιχα αύξηση της απορρόφησης, δηλαδή υπερχρωμία, και μετατόπιση του λ_{max} προς τα μεγαλύτερα μήκη κύματος από $\lambda_{\text{max}}=260,1 \text{ nm}$ σε $\lambda_{\text{max}}=262,6$, δηλαδή βαθυχρωμία (ερυθρή μετατόπιση).

Πίνακας 4.12: Αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των ενώσεων **11a-11j** της Σειράς **Δ** των κινναζολινικών παραγώγων με το DNA μέσω της τιτλοδότησης ορατού - υπεριώδους (UV-Vis).

Δομή	λ_{max} absent (nm)	λ_{max} present (nm)	$\Delta\lambda$ (nm)	Υποχρωμία	Υπερχρωμία	$k_b \cdot 10^4 \text{ (M}^{-1}\text{)}$
Ροδαμίνη B	554.2	552	2.2	44.3	-	13.59
11a	258.8	-	-	-	-	-
11b	259.0	-	-	-	-	-
11c	280.8	280.6	0.2	-	31.5	2.08
11d	203.2	-	-	-	-	-
11e	259.0	261.6	2.6	-	57.4	2.28
11f	262.3	264.6	2.3	-	79.7	2.70
11g	268.4	-	-	-	-	-
11h	270.2	265.4				4.98
11i	260.1	262.6	2.5	-	75.7	5.28
11j	350.2	-	-	-	-	-

Ακολούθως, για τα παράγωγα **12a-12h** (Πίνακας 4.13) τα οποία φέρουν υποκαταστάτη φθόριο στον αρωματικό δακτύλιο της θέσεις 3 παρατηρείται μείωση της αλληλεπίδρασης τους με το DNA. Έτσι μόνο τα παράγωγα **12a** ($k_b = 5,28 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$), **12g** ($k_b = 5,28 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$), **12h** ($k_b = 5,28 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$) εμφάνισαν μειωμένη δράση.

Πίνακας 4.13: Αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των ενώσεων 12a-12h της Σειράς Δ των κιναζολινικών παραγώγων με το DNA μέσω της τιτλοδότησης ορατού - υπεριώδους (UV-Vis).

Δομή	λ_{\max} absent (nm)	λ_{\max} present (nm)	$\Delta\lambda$ (nm)	Υποχρωμία	Υπερχρωμία	$k_b \cdot 10^4$ (M ⁻¹)
Ροδαμίνη	554.2	552	2.2	44.3	-	13.59
12a	272.1	273.6	1.5	-	75.7	2.48
12b	268.6	-	-	-	-	-
12c	350.4	-	-	-	-	-
12d	351.2	-	-	-	-	-
12e	350.1	-	-	-	-	-
12f	351.8	-	-	-	--	-
12g	258.6	255	-3.6	-	87.9	2.24
12h	351.6	354.8	3.2	-	61.8	2.58

Πίνακας 4.14: Αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των ενώσεων 13a-13j της Σειράς Δ των κιναζολινικών παραγώγων με το DNA μέσω της τιτλοδότησης ορατού - υπεριώδους (UV-Vis).

Δομή	λ_{\max} absent (nm)	λ_{\max} present (nm)	$\Delta\lambda$ (nm)	Υποχρωμία	Υπερχρωμία	$k_b \cdot 10^4$ (M ⁻¹)
Ροδαμίνη B	554.2	552	2.2	44.3	-	13.59
13a	258.7	-	-	-	-	-
13b	276.0	-	-	-	-	-
13c	268.2	-	-	-	-	-
13d	260.1	-	-	-	-	-
13e	259.3	-	-	-	-	-
13f	258.0	-	-	-	-	-
13g	276.0	278.0	2.0	-	45.9	2.77

13h	269.3	273.7	4.4	-	77.3	1.91
13i	318	315.5	-2.5	-	80.1	1.65
13j	270.1	-	-	-	-	-

Πίνακας 4.15: Αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των ενώσεων 14-16 της Σειράς Δ των κινναζολινικών παραγώγων με το DNA μέσω της τιτλοδότησης ορατού - υπεριώδους (UV-Vis).

Δομή	λ_{\max} absent (nm)	λ_{\max} present (nm)	$\Delta\lambda$ (nm)	Υποχρωμία	Υπερχρωμία	$k_b \cdot 10^4 (M^{-1})$
Ροδαμίνη B	554.2	552	2.2	44.3	-	13.59
14a	323.6	323.6	0.0	-	57.7	1.69
14b	293.0	294.8	1.8	-	81.1	2.72
15a	278.1	-	-	-	-	-
15b	274.3	-	-	-	--	-
16a	280.4	283.5	3.1	-	21.5	2.14
16b	280.0	283.7	3.7	-	69.4	2.37

Η ίδια εικόνα παρατηρήθηκε στα παράγωγα **13a-13j** (Πίνακας 4.14) και **16a-16b** (Πίνακας 4.15) τα οποία φέρουν υποκαταστάτη χλωρίου στον αρωματικό δακτύλιο της θέσεις 3 και στα παράγωγα **14a-14b** (Πίνακας 4.15) τα οποία φέρουν μια αμινο-ομάδα στον αρωματικό δακτύλιο της θέσεις 3.

Ακολούθως, μελετήθηκε η Σειρά Ε των ιμινικών παραγώγων όπου τα παράγωγα **17a-17f** (Πίνακας 4.12) αξιόλογη δράση εμφάνισε τα παράγωγα **17a, 17d**. Συγκεκριμένα το παράγωγο **17a** εμφάνισε $k_b = 6,94 \cdot 10^4 M^{-1}$ και παρατηρήθηκε αύξηση της απορρόφησης, δηλαδή υπερχρωμία, και μετατόπιση του λ_{\max} προς τα μικρότερα μήκη κύματος από $\lambda_{\max} = 281.8 \text{ nm}$ σε $\lambda_{\max} = 265.2 \text{ nm}$, δηλαδή υψιχρωμία (κυανή μετατόπιση). Στην ίδια σειρά ακολουθεί και το ανάλογο **17d** όπου εμφάνισε $k_b = 14,91 \cdot 10^4 M^{-1}$ ενώ παρατηρήθηκε αντίστοιχα αύξηση της απορρόφησης, δηλαδή υπερχρωμία, και μετατόπιση του λ_{\max} προς τα μικρότερα μήκη κύματος από $\lambda_{\max} = 305,6 \text{ nm}$ σε $\lambda_{\max} = 304,6$, δηλαδή υψιχρωμία (κυανή μετατόπιση).

Πίνακας 4.16: Αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των ενώσεων 17a-17f της Σειράς E των κιναζολινικών παραγώγων με το DNA μέσω της τιτλοδότησης ορατού - υπεριώδους (UV-Vis).

Δομή	λ_{\max} absent (nm)	λ_{\max} present (nm)	$\Delta\lambda$ (nm)	Υποχρωμία	Υπερχρωμία	$k_b \cdot 10^4$ (M ⁻¹)
Ροδαμίνη B	554.2	552	2.2	44.3	-	13.59
17a	281.8	265.2	16.6	-	65.14	6.94
17b	324.4	327.2	2.6	-	9.19	-
17c	331.8	333.0	1.2	17.96	-	-
17d	305.6	304.6	1	-	33.45	14.91
17e	317.4	319.8	2.4	-	22.60	-
17f	317.6	317	0.6	19.90	-	-

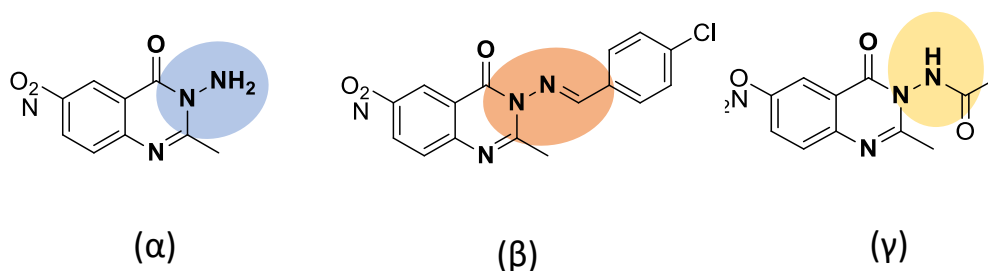
Ακολούθως, μελετήθηκε η Σειρά E των ιμινικών παραγώγων όπου τα παράγωγα **18a-18c** (Πίνακας 4.17) αξιόλογη δράση εμφάνισε τα παράγωγα και τα τρία παράγωγα με την ισχυρότερη αλληλεπίδραση να εμφανίζει το παράγωγο 18b. Συγκεκριμένα, το παράγωγο **18b** εμφάνισε $k_b = 5,30 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ και παρατηρήθηκε αύξηση της απορρόφησης, δηλαδή υπερχρωμία, και μετατόπιση του λ_{\max} προς τα μεγαλύτερα μήκη κύματος από $\lambda_{\max}=261,8 \text{ nm}$ σε $\lambda_{\max}=265.2 \text{ nm}$, δηλαδή βαθυχρωμία (ερυθρή μετατόπιση).

Πίνακας 4.17: Αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των ενώσεων 18a-18c της Σειράς Z των κιναζολινικών παραγώγων με το DNA μέσω της τιτλοδότησης ορατού - υπεριώδους (UV-Vis).

Δομή	λ_{\max} absent (nm)	λ_{\max} present (nm)	$\Delta\lambda$ (nm)	Υποχρωμία	Υπερχρωμία	$k_b \cdot 10^4$ (M ⁻¹)
Ροδαμίνη B	554.2	552	2.2	44.3	-	13.59
18a	259	261.6	2.6	-	79.7	2.00
18b	261.8	265.2	3.4	-	78.8	5.39
18c	259.8	262.6	2.8	-	56.9	4.30

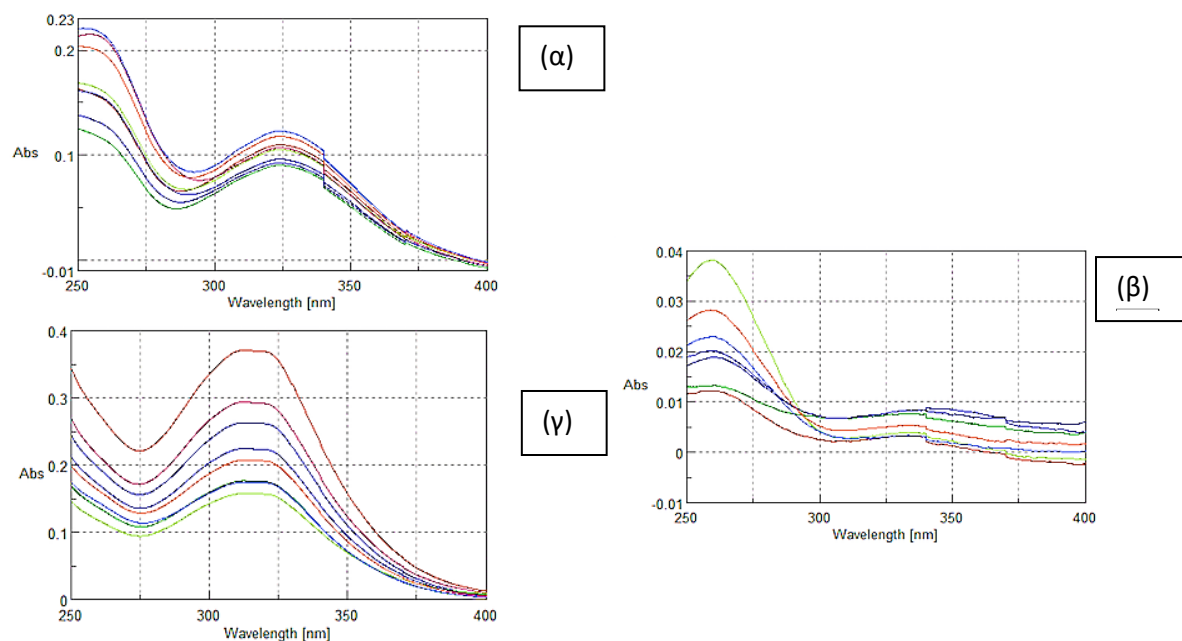
Παρακάτω παρουσιάζονται επιλεγμένα παραδείγματα από τα παράγωγα που εμφάνισαν αξιόλογη δράση, ενώ μελετάτε η σχέση χημικής δομής-δράσης.

Ενδεικτικά, στην Εικόνα 4.13 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της απορρόφησης των ενώσεων **3e**, **5g** και **6e** ενώ στο Σχήμα 4.29 παρουσιάζονται οι αντίστοιχες χημικές δομές.



Σχήμα 4.29: Χημικές δομές **3e**, **5g** και **6e** που εμφανίζουν ισχυρή αλληλεπίδραση με το DNA

Όπως είδαμε και νωρίτερα η ύπαρξη NO₂ στη θέση 6 του κιναζολινικού δακτυλίου φαίνεται να αποτελεί σημαντικό δομικό χαρακτηριστικό για το μηχανισμό δράσης. Όπως παρατηρήθηκε η αλληλεπίδραση παραμένει σταθερή κρατώντας σταθερό τον υποκαταστάτη της νιτρο-ομάδας στη θέση 6 και κάνοντας δομικές αλλαγές στη θέση 2 με τον σχηματισμό του διπλού δεσμού N=N=C για την παραγωγή ιμινών και με τον σχηματισμό των ακεταμιδίων (N-C=O).

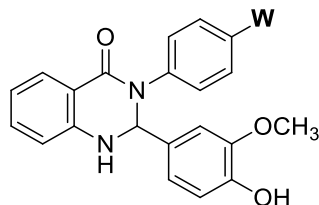


Εικόνα 4.13: Αλληλεπίδραση των ενώσεων **3e** (α), **5g** (β), **6e** (γ) με το DNA μέσω της τιτλοδότησης IIV-Vic

Παράλληλα με την ίδια μέθοδο μελετήθηκαν τα διϋδροκιναζολινικά παράγωγα **10a-10k**, **11a-11j**, **12a-12h**, **13a-13j**, **14a-14b**, **16a-16b**, **17a-17f**, **18a-18c**. Όπως παρατηρήθηκε από τα αποτελέσματα η ύπαρξη υποκαταστατών όπως νιτρο-ομάδα, η

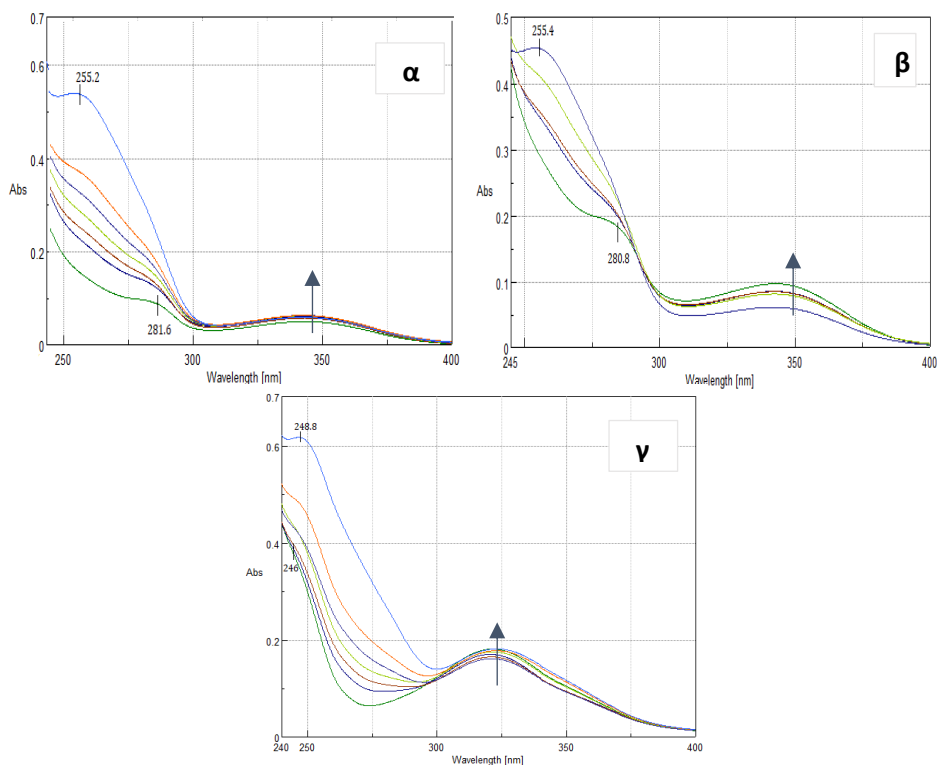
αλογονο-ομάδα, η υδροξυ-ομάδα και η καρβοξυλο-ομάδα εμφανίζουν ικανοποιητική δράση ενώ ομάδες όπως οι μεθοξυ- φαίνεται να μην εμφανίζουν αισθητή δράση ενώ καθοριστικό ρόλο παίζει και η θέση του υποκαταστάτη για την βέλτιστη αλληλεπίδραση μορίου DNA. Σημειώνεται ότι ο συνδυασμός υποκαταστατών τόσο στο δακτύλιο της θέσεις 2, όσο και στον δακτύλιο της θέσης 3 δημιουργούν το κατάλληλο υπόστρωμα για την καλύτερη δράση.

Πιο συγκεκριμένα, με την παρούσα μέθοδο παρουσιάζεται αρχικά πώς επηρεάζεται η αλληλεπίδραση με το DNA εξετάζοντας διάφορες υποκαταστάσεις στη θέση W της διυδροκιναζολινόνης (Σχήμα 4.30).



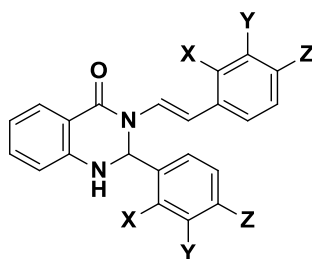
Σχήμα 4.30: Γενικευμένη δομή κιναζολινονών **10e**, **11e** και **12g**.

Στην Εικόνα 4.14 φαίνεται πως στα φάσματα των κιναζολινονών **11e**, **12g**, **14a** παρατηρείται αύξηση της απορρόφησης, δηλαδή υπερχρωμία, και μετατόπιση του λ_{\max} προς τα μικρότερα μήκη κύματος, υψιχρωμία. Αυτό υποδηλώνει πιθανή συναρμογή της ένωσης στην εξωτερική επιφάνεια του DNA και αποσταθεροποίηση της έλικας. Στην κιναζολινόνη **11e** παρατηρείται επίσης υπερχρωμία με ερυθρή όμως μετατόπιση, δηλαδή μετατόπιση του λ_{\max} προς τα μεγαλύτερη μήκη κύματος, γεγονός που δείχνει σταθεροποίηση της ελικοειδούς δομής του DNA λόγω αλληλεπίδρασης με την ένωση. Ταυτόχρονα, υποκαταστάσεις με αλογόνα όπως το φθόριο (**-F**) (ή αντίστοιχα το **-Cl**, παράγωγα σειρά **13a - 13i**) διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αλληλεπίδραση με το DNA, ενώ αντίστοιχες με αμινομάδες (**-NH₂**) ή υδρογόνο (**-H**) στον αρωματικό δακτύλιο της θέσης 3 ίσως δεν συμβάλλουν ιδιαίτερα.



Εικόνα 4.14: Φάσμα UV διαλύματος των ενώσεων 12g (α), 11e (-CH₃) (β) και 14a (-NH₂) (γ) συγκέντρωσης 25μM παρουσία CT-DNA σε διάφορες συγκεντρώσεις (0-50μM). Τα βέλη υποδηλώνουν τις μεταβολές που παρατηρούνται κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων DNA.

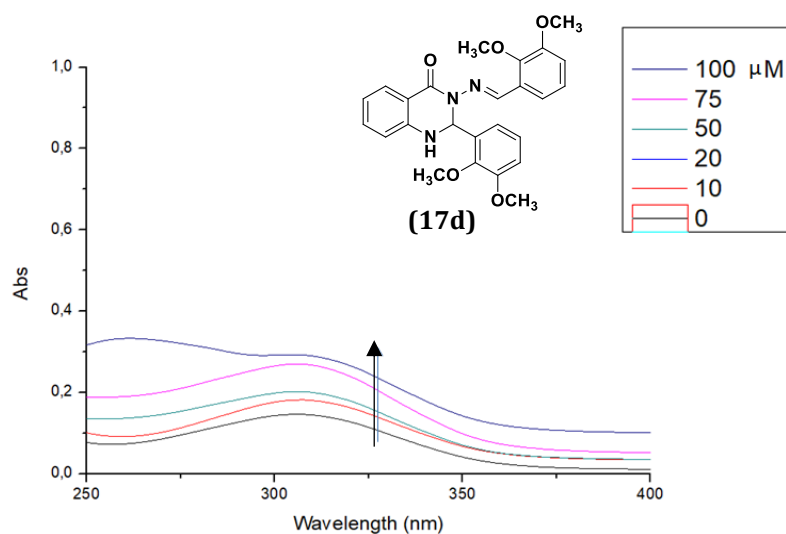
Στη συνέχεια εξετάζεται η επίδραση διαφόρων υποκαστάσεων από τον δακτύλιο της βενζαδεΐδης (X,Y,Z) (Σχήμα 4.31) στην αλληλεπίδραση της κιναζολινόνης με το DNA για τα παράγωγα **17a-17f**.



Σχήμα 4.31: Γενικευμένη δομή κιναζολινικών αναλόγων 17a-17f.

Συγκεκριμένα όπως παρουσιάζεται στην Εικόνα 4.15 την καλύτερη αλληλεπίδραση με το DNA από τις διυδροκιναζολινόνες εμφανίζει η ένωση **17d** (Εικόνα 4.15), καθώς διαθέτει την υψηλότερη σταθεράς αλληλεπίδρασης $k_b = 14.91 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ (Πίνακας 4.16), ενώ παρατηρείται μετατόπιση του μήκους κύματος κατά $\Delta\lambda = 1 \text{ nm}$ δηλαδή ύπαρξη κυανής

μετατόπισης και κατ'επέκταση πιθανότητα εξωτερικής αλληλεπίδρασης στην μικρή αύλακα του DNA.

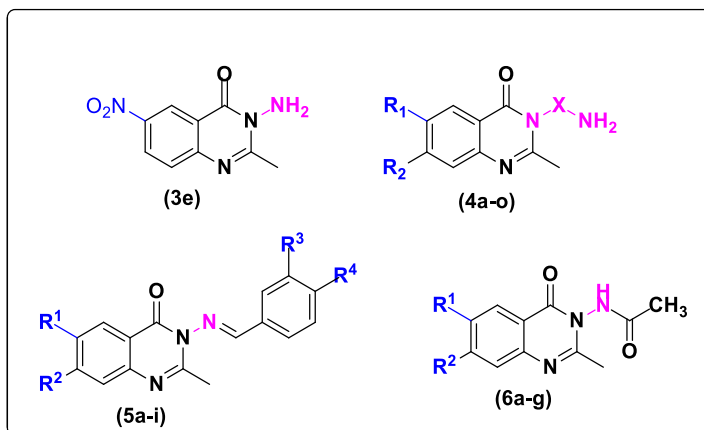


Εικόνα 4.15: Φάσμα UV διαλύματος της ένωσης 17d σε διάφορες συγκεντρώσεις (0-100μM). Τα βέλη υποδηλώνουν τις μεταβολές που παρατηρούνται κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων DNA.

Όσον αφορά το είδος των υποκαταστατών φαίνεται πως η θέση των μεθοξυ-ομάδων παίζει άμεσο ρόλο στην σταθεροποίηση του συμπλόκου γεγονός που παρατηρείται μεταξύ των ενώσεων **17a-17e** όπου φαίνεται να αλληλεπιδρά.

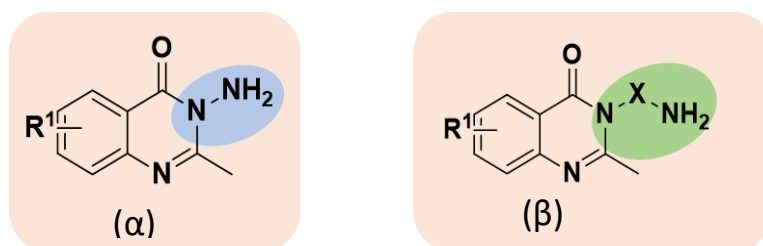
Αξιολόγηση της ικανότητας των ενώσεων να φωτοδιασπούν το DNA

Ως συνέχεια προηγούμενης εργασίας μελετήθηκαν για πρώτη φορά οι σειρές **4a-4o**, **5a-5i**, **6a-6g** καθώς και επιλεγμένα μόρια από τις σειρές **10-17** και τέλος τα μόρια **20a-20e**. Οι ενώσεις που επιλέχθηκαν βασίστηκαν στην ένωση **3e** (Σχήμα 4.33) καθώς βρέθηκε να παρουσιάζει ικανοποιητική δράση στην UVA και UVB ακτινοβολία. Καθώς μελετήθηκε ο μηχανισμός δράσης του **3e**, κρίθηκε σημαντικό για την περαιτέρω ανάλυση του μηχανισμού να μελετηθεί η θέση 3 της αμινομάδας σε συνδυασμό με επιλεγμένους υποκαταστάτες στην θέση 6 που επιδεικνύουν καλή δράση (όπως -Cl, Br, -I, -NO₂) ή δεν επιδεικνύουν καθόλου δράση (-H). Πιο συγκεκριμένα, με ένωση οδηγό την 3-αμινο-2-μεθυλο-6-νιτροκινολιν-4-(3H)-όνη (**3e**) σχεδιάστηκαν και συντέθηκαν οι σειρές **4a-4p** (παράγωγα της θέσης 3), **5a-5i** (παράγωγα ιμινών), **6a-6g** (παράγωγα ακεταμιδίων).



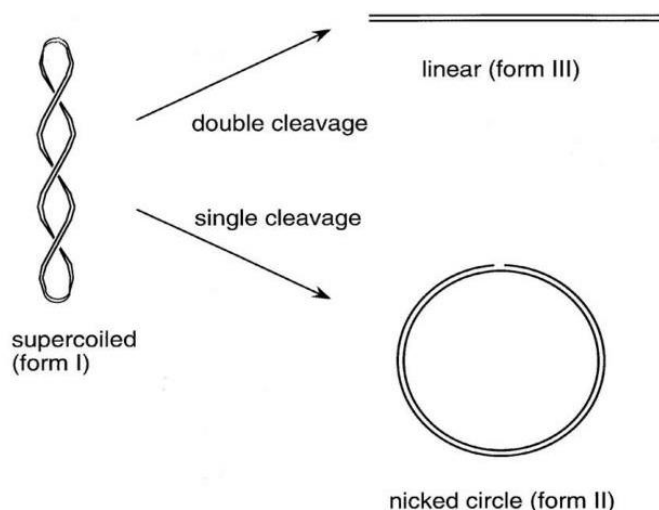
Σχήμα 4.32: Ένωση οδηγός 3e και σχεδιασμός νέων παραγώγων 4a-4p (παράγωγα της θέσης 3), 5a-5i (παράγωγα ιμινών), 6a-6g (παράγωγα ακεταμιδίων) ως πιθανοί φωτοευαίσθητοποιητές.

Αξιολόγηση των 2-μεθυλο-3,6 υποκατεστημένων κιναζολινονών



Σχήμα 4.33: Χημικές δομές (α) 2-μεθυλο-3-αμινο-6-υποκατεστημένων κιναζολινονών. και (β) 2-μεθυλο-3,6-υποκατεστημένων κιναζολινονών.

Αρχικά, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των 2-μεθυλο-3,6 υποκατεστημένων κιναζολινονών (Σχήμα 4.33). Το πλασμίδιο που χρησιμοποιείται εμφανίζεται στις παρακάτω τρεις μορφές, στη μορφή I η οποία αντιστοιχεί στο κυκλικό υπερελικωμένο πλασμίδιο, στη μορφή II (Form II), η οποία αντιστοιχεί στην 'χαλαρή' μορφή με τη θραύση στη μία αλυσίδα του DNA και στη μορφή III (Form III) δηλαδή το γραμμικό πλασμίδιο (Εικόνα 4.16).

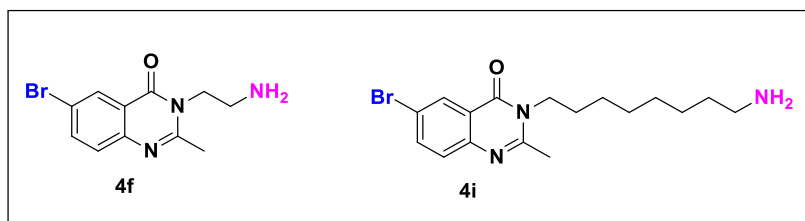


Εικόνα 4.16: Μορφές πλασμιδιακού DNA: Μορφή I η οποία αντιστοιχεί στο (κυκλικό υπερελικωμένο πλασμίδιο), Μορφή II (Form II), (χαλαρή μορφή με τη θραύση στη μία αλυσίδα του DNA) και Μορφή III (Form III) (γραμμικό πλασμίδιο),

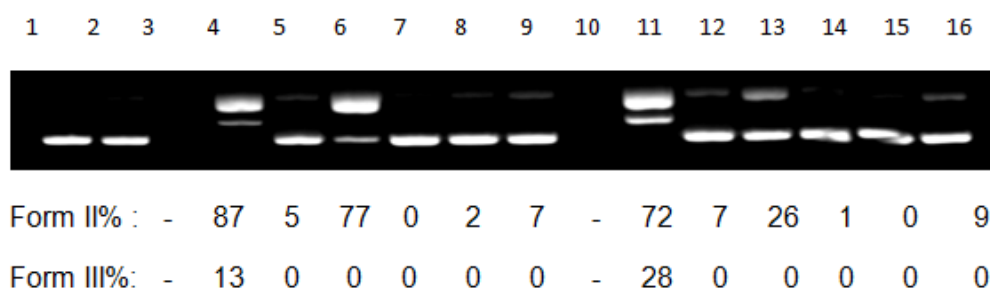
Φωτοβόληση UV-B

Η UV-B ακτινοβολία κυμαίνεται μεταξύ 280-315 nm. Το πείραμα εκτελείται στα 312 nm, σε απόσταση 15 cm και για χρονικό διάστημα 30 λεπτών με τελική συγκέντρωση των ενώσεων στο διάλυμα φωτοβόλησης στα 500μM. Η επιλογή της φωτοβόλησης βασίστηκε σε προηγούμενα αποτελέσματα του εργαστηρίου Οργανικής Χημείας, Τμήμα Χημείας ΑΠΘ καθώς είχε βρεθεί ικανοποιητική δράση της ένωσης **3e** στην αντίστοιχη σειρά 3 που είχε μελετηθεί. Η δράση φαίνεται να συνδέεται άμεσα με την απορρόφηση των ενώσεων και καθώς οι ενώσεις χαρακτηρίστηκαν και ως προς την απορρόφηση τους μέσω φασματοφωτομετρίας UV-Vis κρίθηκε σημαντικό για την σειρά **4a-4p** να μελετηθεί στη UV-B ακτινοβολία και συγκεκριμένα στα 312nm.

Στην Εικόνα 4.17 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από τα επιλεγμένα παράγωγα της σειράς **4a-4p** και πιο συγκεκριμένα παράγωγα με -H στη θέση 6 και αντίστοιχα παράγωγα με Br- στην θέση 6. Η τελική συγκέντρωση των ενώσεων στο διάλυμα είναι 500 μM και ο τελικός όγκος της διεργασίας 20μl (Πίνακας 4.18). Από την Εικόνα 4.17 φαίνεται πως τα παράγωγα **4f** και **4i** (Σχήμα 4.34) εμφανίζουν υψηλή ικανότητα φωτοδιάσπασης του DNA. Συγκεκριμένα, το παράγωγο **4f** σε συγκέντρωση 500μM κατακερματίζει το DNA, άρα θα πρέπει να μελετηθεί περαιτέρω για την δράση του σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις για να βρεθεί η βέλτιστη. Αντίστοιχα, το παράγωγο **4i** παρουσιάζει ένα ποσοστό διάσπασης στην μια έλικα 72% ενώ και στις δύο έλικες στα 28%



Σχήμα 4.34: Χημικές δομές 4f και 4i 6-βρωμο-2-μεθυλο-3-υποκατεστημένων κιναζολινονών.



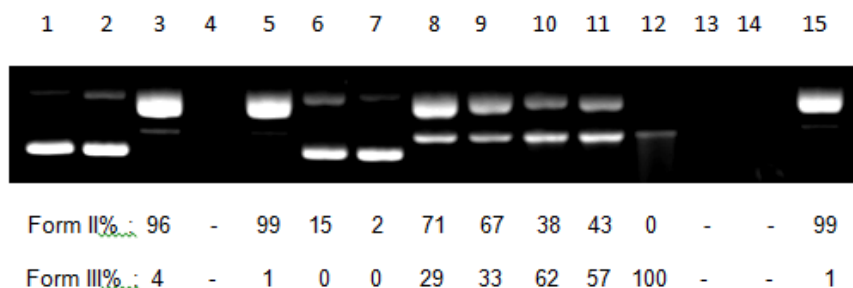
Εικόνα 4.17: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm για επιλεγμένα παράγωγα της σειράς 4a-4o και ποσοστό μετατροπής %

Πίνακας 4.18: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm

Σειρά	Περιγραφή	Σειρά	Περιγραφή
1	DNA+Tris	9	DNA+ 500μM 4p
2	DNA+Tris+UV	10	DNA+ 500μM 4f
3	DNA+ 500μM 4f	11	DNA+ 500μM 4i
4	DNA+ 500μM 4i	12	DNA+ 500μM 4j
5	DNA+ 500μM 4j	13	DNA+ 500μM 4a
6	DNA+ 500μM 4a	14	DNA+ 500μM 4b
7	DNA+ 500μM 4b	15	DNA+ 500μM 4c
8	DNA+ 500μM 4c	16	DNA+ 500μM 4p

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον από τα παραπάνω αποτελέσματα παρουσίασε η ένωση **4f** (Εικόνα 4.17, Σειρά 3, 10) που φέρει υποκαταστάτη βρώμιο στη θέση 6 και μια αιθυλο-αμινοομάδα στη θέση 3. Για την περαιτέρω μελέτη του τρόπου δράσης κρίθηκε σημαντικό η μελέτη της ικανότητας φωτοδιάσπασης του DNA σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση.

Παρακάτω στην Εικόνα 4.18 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ένωσης **4f** στα 312 nm, 15cm στα 30min.



Εικόνα 4.18: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm για την ένωση **4f** σε διαφορετικές συγκεντρώσεις και ποσοστό μετατροπής %

Για την μελέτη της τοξικότητας της ένωσης **4f** κρίθηκε σημαντικό να μελετηθεί σε συνάρτηση με την συγκέντρωση. Συγκεκριμένα επιλέχθηκαν οι συγκεντρώσεις 50 -500 μM (Πίνακας 4.19), όπου επειδή φάνηκε ότι είχαν υψηλό ποσοστό μετατροπής κρίθηκε απαραίτητη και η μελέτη για χαμηλότερες συγκεντρώσεις.

Πίνακας 4.19: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm

Σειρά	Περιγραφή	Σειρά	Περιγραφή
1	DNA+Tris	9	DNA+ 100μM 4f
2	DNA+Tris+UV	10	DNA+ 250μM 4f
3	DNA+ 500μM	11	DNA+ 50μM 4f
4	DNA+ 500μM 3c	12	DNA+ 100μM 4f
5	DNA+ 500μM 4i	13	DNA+ 250μM 4f
6	DNA+ 500μM 4j	14	DNA+ 500μM 4f
7	DNA+ 500μM 4a	15	DNA+ 500μM 3c
8	DNA+ 50μM 4f		

Προχωρώντας στα αποτελέσματα, μελετήθηκε περαιτέρω η επίδραση της συγκέντρωσης της **4f** (Πίνακας 4.20) στην φωτοδιάσπαση του DNA.



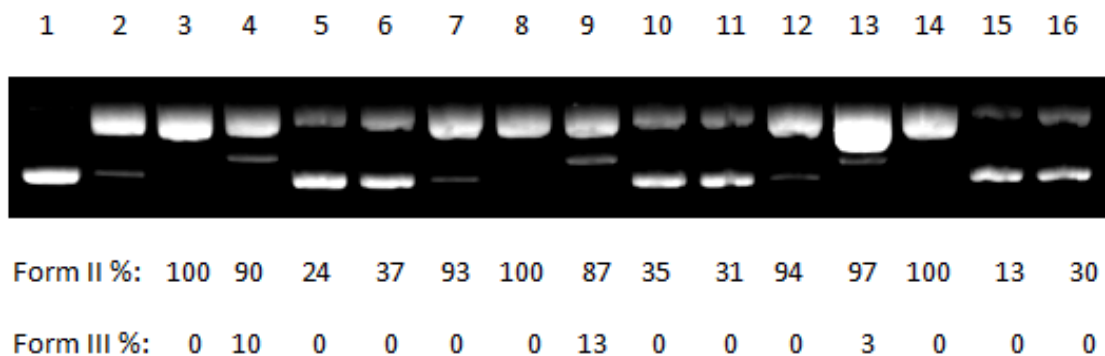
Εικόνα 4.19: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm για την ένωση 4f σε διαφορετικές συγκεντρώσεις και ποσοστό μετατροπής %

Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι η βέλτιστη συγκέντρωση για φωτοδιάσπαση του 50% του DNA (IC₅₀) βρέθηκε στα 25 μM (Εικόνα 4.19, Σειρά 14) (Πίνακας 4.20).

Πίνακας 4.20: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm της ένωσης 4f σε συγκεντρώσεις 1μM-50μM

Σειρά	Περιγραφή	Σειρά	Περιγραφή
1	DNA+Tris	9	DNA+ 10μM 4f
2	DNA+Tris+UV	10	DNA+ 25μM 4f
3	DNA+ 1μM 4f	11	DNA+ 1μM 4f
4	DNA+ 5μM 4f	12	DNA+ 5μM 4f
5	DNA+ 10μM 4f	13	DNA+ 10μM 4f
6	DNA+ 25μM 4f	14	DNA+ 25μM 4f
7	DNA+ 1μM 4f	15	DNA+ 50μM 4f
8	DNA+ 5μM 4f		

Για την κατανόηση του μηχανισμού δράσης της ένωσης 4f πραγματοποιήθηκε και το μηχανιστικό μέρος στην βέλτιστη συγκέντρωση 25μM (Εικόνα 4.20, Πίνακας 4.21).



Εικόνα 4.20: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm της ένωσης 4f σε συγκεντρώση 25 μM με διαφορετικές συνθήκες επίδρασης για την μελέτη του μηχανισμού δράσης

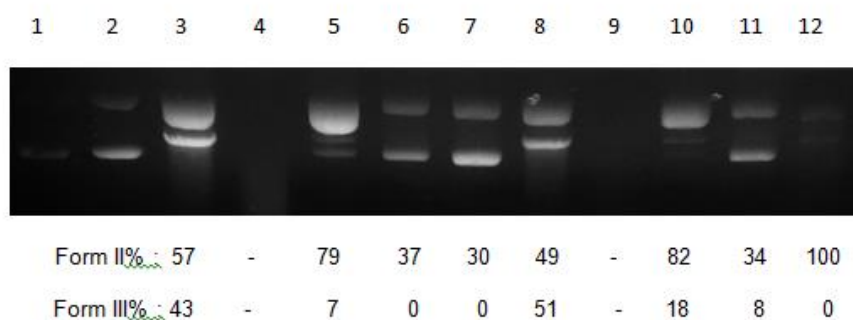
Πίνακας 4.21: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm της ένωσης 4f σε συγκεντρώση 25 μM με διαφορετικές συνθήκες επίδρασης για την μελέτη του μηχανισμού δράσης.

Σειρά	Περιγραφή
1	Plasmid
2	4f (C=25 μM)
3	4f (C=25 μM) +argon
4	4f (C=25 μM) +250uM KI
5	4f (C=25 μM) + 20mM NaN ₃
6	4f (C=25 μM) + D ₂ O
7	4f (C=25 μM) +1500uM L-cyst
8	4f (C=25 μM) +argon
9	4f (C=25 μM) +250uM KI
10	4f (C=25 μM) + 20mM NaN ₃
11	4f (C=25 μM) + D ₂ O
12	4f (C=25 μM) +1500uM L-cyst
13	4f (C=25 μM) +argon
14	4f (C=25 μM) +250uM KI
15	4f (C=25 μM) + 20mM NaN ₃
16	4f (C=25 μM) + D ₂ O

Από τα αποτελέσματα του μηχανιστικού μέρους (Εικόνα 4.19), φαίνεται ότι η ένωση **4f** φωτοδιασπά με την ίδια αποτελεσματικότητα στον αέρα όσο και υπό από την επίδραση αργού (Εικόνα 4.20, σειρά 4). Σημαντικό ότι μπορεί να δράσει είτε παρουσία είτε απουσία O₂ οπότε μπορεί να υποθεθεί ότι ο τρόπος δράσης υπό αναερόβιες συνθήκες περιλαμβάνει ομόλυση του δεσμού C-Br και το σχηματισμό ριζών αρυλίου και βρωμίου. Αντίθετα, η μείωση της δραστηριότητας υπό αερόβιες συνθήκες παρουσία NaN₃ έδειξε ότι ο σχηματισμός μονήρους οξυγόνου είναι μια παράλληλη μηχανιστική οδός που εμπλέκεται.

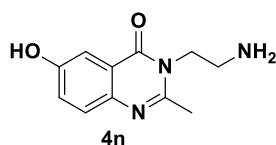
Σε συνέχεια των αποτελεσμάτων της ίδιας σειράς **4a-4o** μελετήθηκαν συγκριτικά τα αποτελέσματα που πάρθηκαν με υποκαταστάτη βρώμιο στη θέση 6 σχέση με υποκαταστάτες όπως -Cl, -OH.

Ακολούθως, μελετήθηκαν τα ανάλογα (Πίνακας 4.22) που φέρουν βρώμο- χλώρο- και υδροξύ ομάδα. Όπως φαίνεται από την Εικόνα 4.21 και το αντίστοιχο χλωρο-παράγωγο εμφάνισε υψηλή ικανότητα φωτοδιάσπασης του DNA και όπως αντίστοιχα και το βρωμο-παράγωγο κατακερματίζει το DNA σε συγκέντρωση 500 μM. Πιθανόν ο μηχανισμός να είναι αντίστοιχος και να οφείλεται στην ομόλυση του δεσμού C-Cl.



Εικόνα 4.21: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm

Επίσης, με μικρότερη αλλά σημαντική δράση παρατηρούμε και το παράγωγο **4n** που φέρει υδροξύ-ομάδα (OH) στη θέση 6 (Σχήμα 4.35) όπου διασπά σε ποσοστό περίπου 50% τον ένα κλώνο και περίπου 50% και τους δύο κλώνους του DNA.

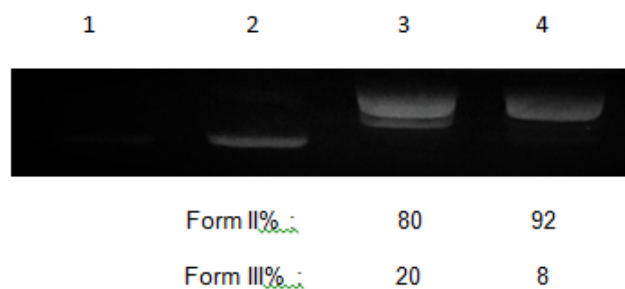


Σχήμα 4.35: Χημική δομή του μορίου 4n

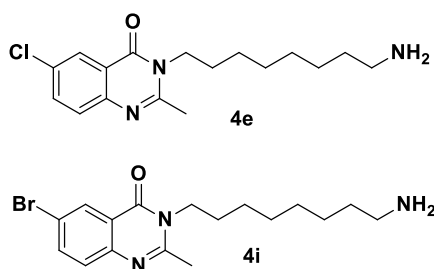
Πίνακας 4.22: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm

Σειρά	Περιγραφή	Σειρά	Περιγραφή
1	DNA+Tris	9	DNA+ 500μM 4d
2	DNA+Tris+UV	10	DNA+ 500μM 4f
3	DNA+ 500μM 4n	11	DNA+ 500μM 4h
4	DNA+ 500μM 4d	12	DNA+ 500μM 4k
5	DNA+ 500μM 4f		
6	DNA+ 500μM 4h		
7	DNA+ 500μM 4k		
8	DNA+ 500μM 4n		

Από τα αποτελέσματα της Εικόνας 4.22 φαίνεται πως η δράση παραμένει ανεξάρτητα από το αν το ανάλογο στη θέση 6 είναι βρώμιο ή χλώριο .



Εικόνα 4.22: Αποτελέσματα ακτινοβόλησης για τα παράγωγα 4e και 4i

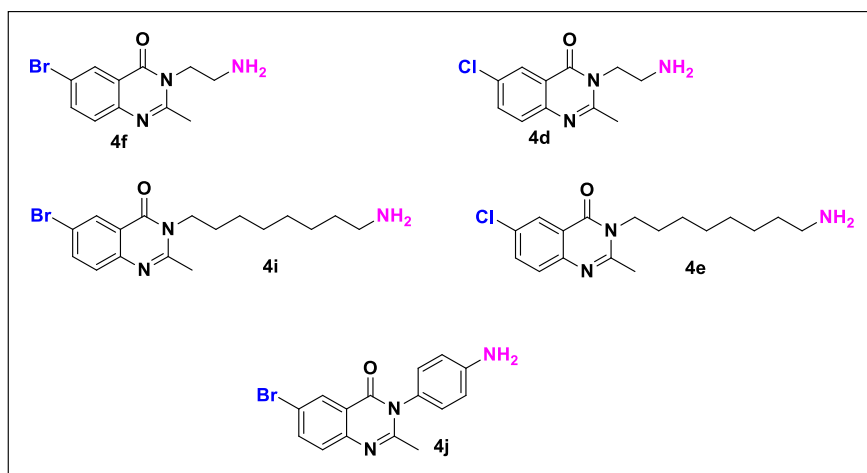


Σχήμα 4.36: Χημικές δομές 4e και 4i

Πίνακας 4.23: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm για τις ενώσεις 4e, 4i

Σειρά	Περιγραφή
1	DNA+Tris
2	DNA+Tris+UV
3	DNA+ 500μM 4i
4	DNA+ 500μM 4e

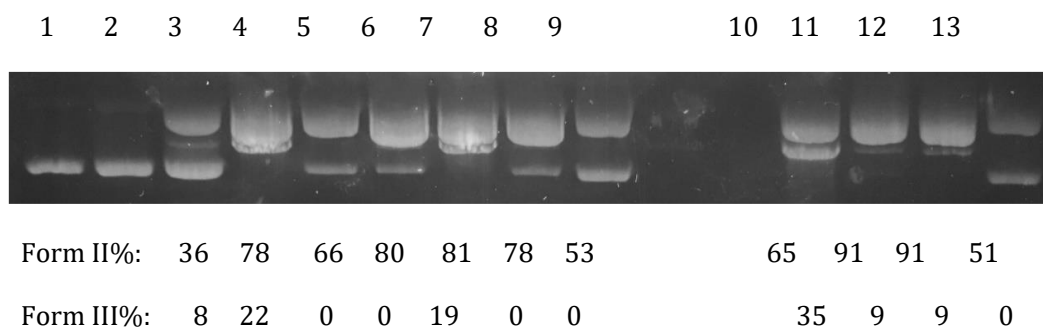
Συμπερασματικά, για την σειρά αυτή στην φωτοβόληση UV-B (312 nm) φαίνεται πως κρίνεται απαραίτητη για την ικανότητα φωτοδιάσπασης του DNA η παρουσία αλογόνου στη θέση 6. Η αλειφατική αλυσίδα στη θέση 3 φαίνεται πως δεν επηρεάζει την δράση καθώς η αιθυλο- (παράγωγα **4d**, **4f**) ή οκτυλο-αμινο-ομάδα (**4e**, **4i**) παρουσιάζουν παρόμοια δράση. Όμως αντικατάσταση της αλειφατικής ομάδας με αρωματικό δακτύλιο (**4j**) φαίνεται να μειώνει αρκετά την δράση.



Σχήμα 4.37: Χημικές δομές της Σειράς A 4a-4o με ικσνοποιητική δράση

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, με τελική συγκέντρωση των ενώσεων στο διάλυμα φωτοβόλησης στα 500μM.

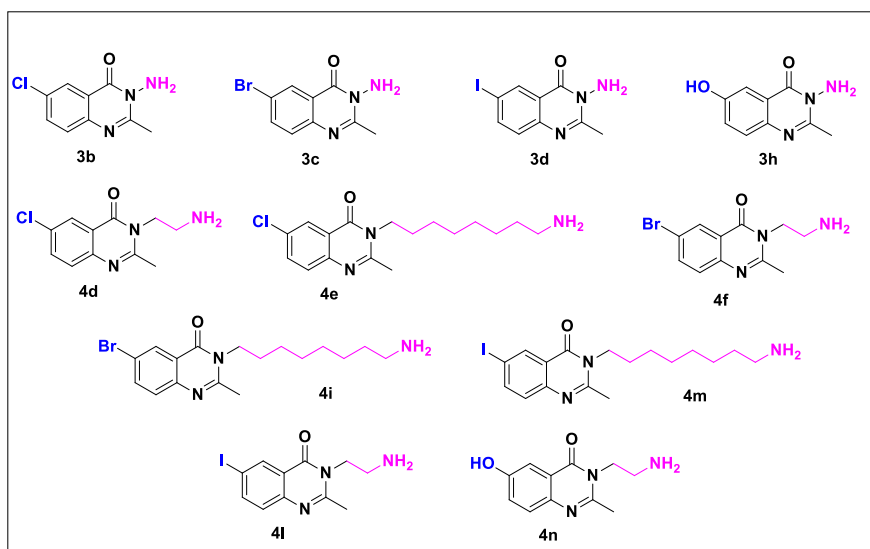


Εικόνα 4.23: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365 nm

Οι ενώσεις που επιλέχθηκαν για φωτοβόληση από τη Σειρά A (Σχήμα 4.38) στα 365 nm (Πίνακας 13, Εικόνα 4.23) έγινε με βάση ως κριτήριο την απορρόφηση που εμφανίζουν στην περιοχή UV-A. Τα αποτελέσματα φάνηκε ότι ήταν σημαντικά καθώς αρχικά μεταξύ των χλωρο-αναλόγων **3b** (Εικόνα 4.23 σειρά 3), **4d** (Εικόνα 4.23 σειρά 4) παρατηρείται αύξηση του ποσοστού τόσο της μορφής 2 όσο και της 3. Συγκεκριμένα παρατηρείται για το παράγωγο **3b** ποσοστό διάσπασης στον έναν κλώνο κατά 36% (Form II) ενώ στους δύο κλώνους προς την γραμμική μορφή του DNA κατά 8% (Form III). Αντίστοιχα τα ποσοστά για το παράγωγο **4d** είναι 78% (Form II) και 22% (Form III). Ανάλογα αποτελέσματα φαίνεται να παρουσιάζουν τα ανάλογα με έναν βρώμο υποκαταστάτη στην θέση 6 (**3c**, **4f**, **4i**) διατηρώντας την δράση και κόβοντας το DNA προς την μορφή 2 σε ποσοστό έως 81% (Εικόνα 4.22, γραμμή 6-8). Επομένως, παρατηρείται ότι η αύξηση της ανθρακικής αλυσίδας στην θέση 3 να μην προκαλεί ιδιαίτερη μεταβολή ενώ ταυτόχρονα παρατηρείται ότι η προσθήκη υποκαταστάτη βρωμίου στη θέση 6 να είναι σημαντική πιθανόν λόγω ομόλυσης του δεσμού C-Br. Τέλος για τα παράγωγα που φέρουν μια υδροξυ-ομάδα φαίνεται να διατηρούν την δράση (Εικόνα 4.23, γραμμή 11 και 12) υποδηλώνοντας ότι η αλλειφατική ομάδα να μην παίζει πιθανό ρόλο στο μηχανισμό δράσης.

Πίνακας 4.24: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365 nm

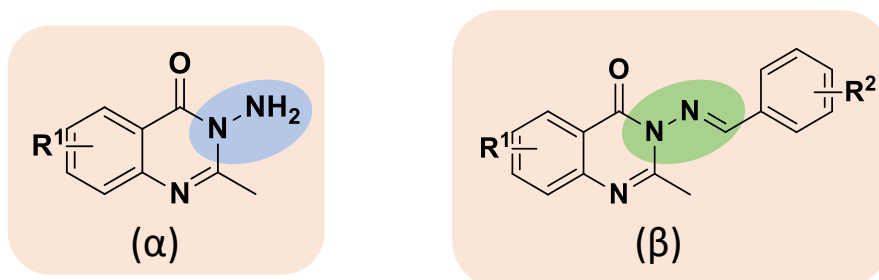
Σειρά	Περιγραφή	Σειρά	Περιγραφή
1	DNA+Tris	9	DNA+ 500μM 3d
2	DNA+Tris+UV	10	DNA+ 500μM 4l
3	DNA+ 500μM 3b	11	DNA+ 500μM 4m
4	DNA+ 500μM 4d	12	DNA+ 500μM 3h
5	DNA+ 500μM 4e	13	DNA+ 500μM 4n
6	DNA+ 500μM 3c		
7	DNA+ 500μM 4f		
8	DNA+ 500μM 4i		



Σχήμα 4.38: Χημικές δομές της Σειράς A 4a-4o που επιλέχθηκαν και μελετήθηκαν με φωτοβόληση στα 365 nm.

Συγκεντρωτικά αποτελέσματα φωτοβόλησης ιμινών (5α-5i)

Οι ιμίνες (Σχήμα 4.39, β) επιλέχθηκαν για την αποσαφήνιση του μηχανισμού δράσης των **3α-3h** (Σχήμα 4.39, α) και συγκεκριμένα για να εξεταστεί η συμμετοχή της αμινομάδας της θέσης 3 στον μηχανισμό φωτοδιάσπασης του DNA που ακολουθείται. Έτσι, τα παράγωγα των ιμινών σχεδιάστηκαν και συντέθηκαν με σκοπό την μελέτη δομής-δράσης και την σύγκριση των αποτελεσμάτων με την σειρά **3α-3h**.

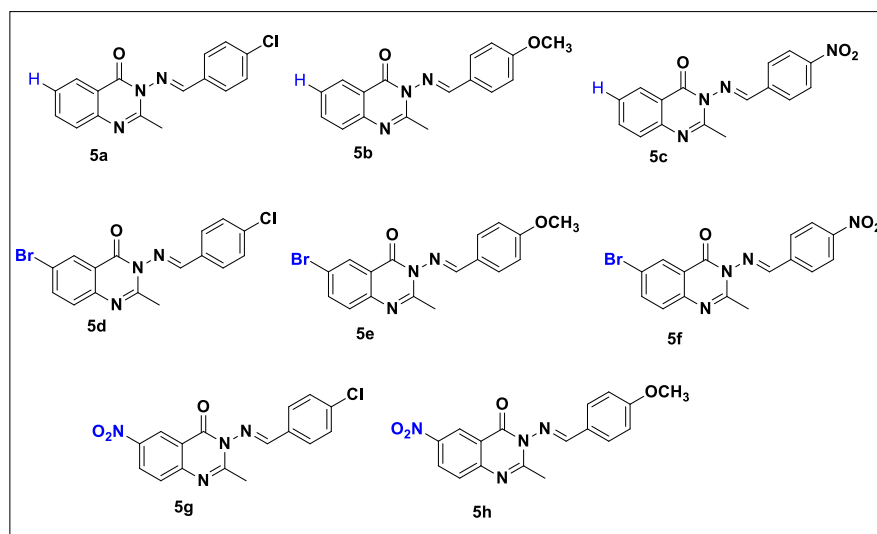


Σχήμα 4.39: Χημικές δομές (α) 2-μεθυλο-3-αμινο-6-υποκατεστημένων κιναζολινονών, και (β) ιμινών

Φωτοβόληση UV-B

Αρχικά, ο σχεδιασμός και η επιλογή υποκαταστατών στην θέση 6 έγινε βάσει των προηγούμενων αποτελεσμάτων όπου επιλέχθηκαν για συγκριτικούς λόγους μόρια που είχαν έναν υποκαταστάτη -H (και τα οποία δεν εμφάνιζαν δράση) και μόρια που είχαν υποκαταστάτες όπως ομάδες -NO₂ ή αλογόνου π.χ. -Br που παρουσίασαν ισχυρή δράση.

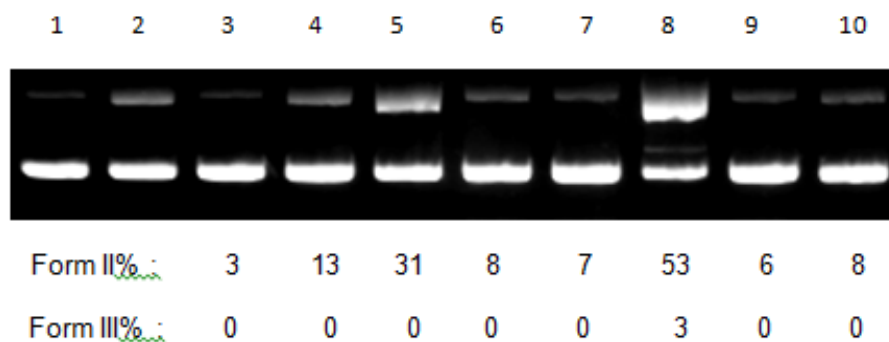
Έτσι επιλέχθηκαν για την μελέτη τα οκτώ παράγωγα (**5a-5g**) (Σχήμα 4.40). Η τελική συγκέντρωση των ενώσεων στο διάλυμα φωτοβόλησης είναι στα 500μM (Πίνακας 4.25).



Σχήμα 4.40: Χημικές δομές μιμών **5a-5g**

Αρχικά μελετήθηκε η δράση των μορίων με ακτινοβόληση τους με UV-B στα 312 nm, σε απόσταση 15 cm και για χρονικό διάστημα 30 λεπτών.

Όπως παρουσιάζεται στην Εικόνα 4.24 η δράση των μιμών μειώνεται αισθητά, επομένως φαίνεται πως η ελεύθερη αμινομάδα στη θέση 3 να είναι απαραίτητη όπως διαπιστώσαμε στην σειρά **3a-4h** και **4a-4p**.



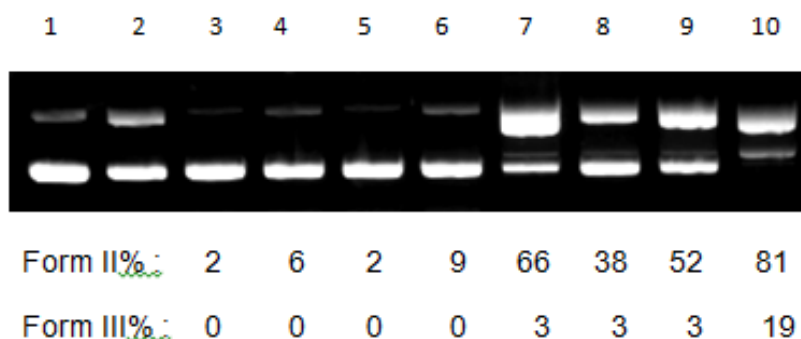
Εικόνα 4.24: Αποτελέσματα φωτοβόλησης μιμών (**5a-5h**) με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm

Πίνακας 4.25: Αποτελέσματα φωτοβόλησης ιμινών (5a-5h) με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm

Σειρά	Περιγραφή	Σειρά	Περιγραφή
1	DNA+Tris	7	DNA+ 500μM 5c
2	DNA+Tris+UV	8	DNA+ 500μM 5f
3	DNA+ 500μM 5a	9	DNA+ 500μM 5h
4	DNA+ 500μM 5d	10	DNA+ 500μM 5g
5	DNA+ 500μM 5b		
6	DNA+ 500μM 5e		

Φωτοβόληση UV-A

Από τη φωτοβόληση των ενώσεων στην UV-A παρατηρήθηκε αύξηση της φωτοδιασπαστικής ικανότητας ορισμένων ιμινών και συγκεκριμένα το μεγαλύτερο ποσοστό μετατροπής εμφάνισε το μόριο **5g** (Εικόνα 4.25, Πίνακας 4.26) και ακολούθησε το μόριο **5h** που οφείλεται και στην ικανότητα της ένωσης να απορροφά σε εκείνη την περιοχή μηκών κύματος.



Εικόνα 4.25: Αποτελέσματα φωτοβόλησης ιμινών (5a-5h) με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365 nm

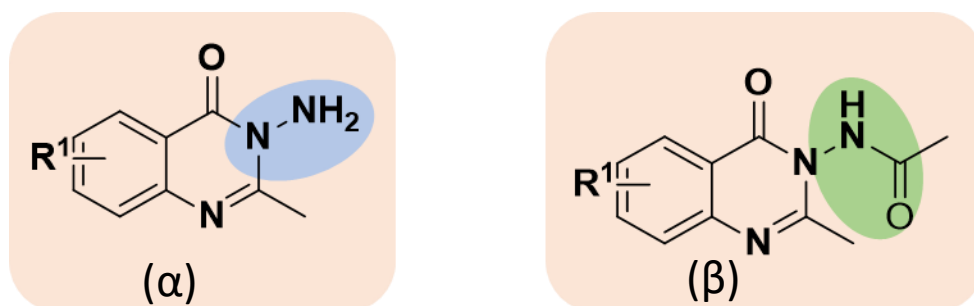
Πίνακας 4.26: Αποτελέσματα φωτοβόλησης ιμινών (5a-5h) με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365 nm

Σειρά	Περιγραφή	Σειρά	Περιγραφή
1	DNA+Tris	7	DNA+ 500μM 5c
2	DNA+Tris+UV	8	DNA+ 500μM 5f
3	DNA+ 500μM 5a	9	DNA+ 500μM 5h

4	DNA+ 500μM 5d	10	DNA+ 500μM 5g
5	DNA+ 500μM 5b		
6	DNA+ 500μM 5e		

Συγκεντρωτικά αποτελέσματα φωτοβόλησης ακεταμιδίων (6α-6g)

Τα παράγωγα ακεταμιδίων **6α-6g** (Σχήμα 4.41, β) επιλέχθηκαν για την αποσαφήνιση του μηχανισμού δράσης των **3α-3h** (Σχήμα 4.41, α) και συγκεκριμένα την συμμετοχή της αμινομάδας της θέσης 3 στον μηχανισμό φωτοδιάσπασης του DNA που ακολουθείται και σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα των μινών να βρεθεί ο μηχανισμός δράσης αυτών. Τα παράγωγα των ακεταμιδίων σχεδιάστηκαν και συντέθηκαν με σκοπό την μελέτη δομής-δράσης και την σύγκριση των αποτελεσμάτων με την σειρά **3α-3h**.



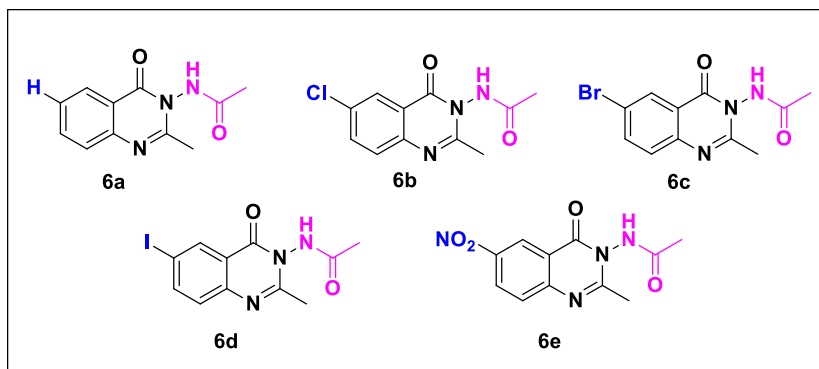
Σχήμα 4.41: Χημικές δομές (α) 2-μεθυλο-3-αμινο-6-υποκατεστημένων κιναζολινονών. και (β) ακεταμιδίων.

Φωτοβόληση UV-B

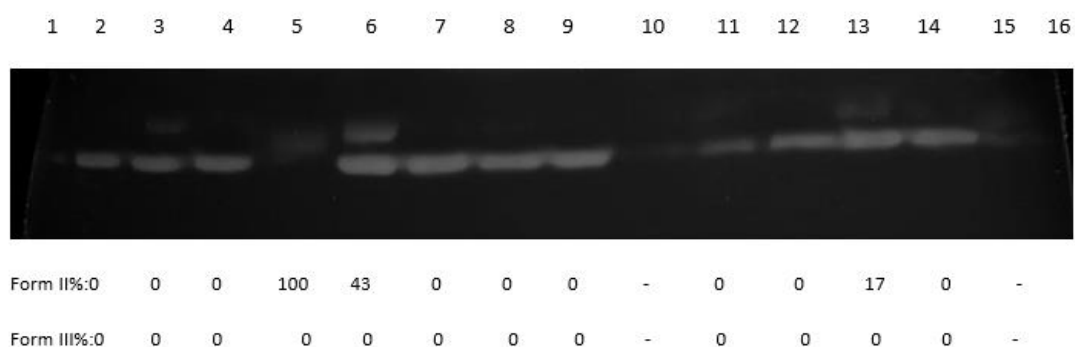
Επιλέχθηκαν για την μελέτη οκτώ παράγωγα (**6α-6e**) (Σχήμα 4.42). Η τελική συγκέντρωση των ενώσεων στο διάλυμα φωτοβόλησης είναι στα 500μM. Αρχικά μελετήθηκε η δράση των μορίων με ακτινοβόληση τους με UV-B στα 312 nm, σε απόσταση 15 cm και για χρονικό διάστημα 30 λεπτών (Πίνακας 4.27).

Όπως παρουσιάζεται στην Εικόνα 4.26, το ανάλογο με μια νιτρο-ομάδα στη θέση 6 (**6e**), εμφάνισε αξιόλογη δράση κατακερματίζοντας το DNA ενώ τα υπόλοιπα παράγωγα φαίνεται να χάνουν την δράση τους ως ακεταμίδια.

Η δράση του **6e** ανάλογο πιθανόν να οφείλεται στην ομόλυση του δεσμού N-O της νιτρο-ομάδας της θέση 6, καθώς η αμιδική ομάδα της θέσης 3 φαίνεται να λειτουργεί αρνητικά στα υπόλοιπα παράγωγα.



Σχήμα 4.42: Χημικές Δομές ακεταμιδίων. 6a-6e



Εικόνα 4.26: Αποτελέσματα φωτοβόλησης ακεταμιδίων (6a-6e) με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm

Πίνακας 4.27: Αποτελέσματα φωτοβόλησης ακεταμιδίων (6a-6e) με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm

Σειρά	Περιγραφή	Σειρά	Περιγραφή
1	DNA+Tris+UV	9	DNA+ 500μM 6b
2	DNA+ 500μM 6a (-H)	10	DNA+ 500μM 6e
e3	DNA+ 500μM 6c (-Br)	11	DNA+ 500μM 6d
4	DNA+ 500μM 6b (-Cl)	12	DNA+ 500μM 6a
5	DNA+ 500μM 6e (-NO ₂)	13	DNA+ 500μM 6c
6	DNA+ 500μM 6d (-I)	14	DNA+ 500μM 6b
7	DNA+ 500μM 6a	15	DNA+ 500μM 6e
8	DNA+ 500μM 6c	16	DNA+ 500μM 6d

Φωτοβόληση UV-A

Από τα αποτελέσματα στην φωτοβόληση των ενώσεων στην UV-A παρατηρείται η ισχυρή δράση του **6e** αναλόγου (Εικόνα 4.27, Πίνακας 4.28) ενώ στα υπόλοιπα ανάλογα φαίνεται να μειώνεται η δράση. Η ισχυρή δράση του **6e** αναλόγου οφείλεται και στην απορρόφηση του στην περιοχή ακτινοβόλησής του και στην πιθανή ομόλυση του δεσμού N-O όπως αναφέρθηκε και στην περίπτωση της UV-B ακτινοβολίας.

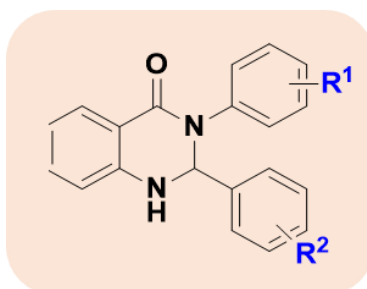


Εικόνα 4.27: Αποτελέσματα φωτοβόλησης ακεταμιδίων (6a-6e) με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365 nm

Πίνακας 4.28: Αποτελέσματα φωτοβόλησης ακεταμιδίων (6a-6e) με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365nm

Σειρά	Περιγραφή	Σειρά	Περιγραφή
1	DNA+Tris+UV	9	DNA+ 500µM 6b
2	DNA+ 500µM 6a (-H)	10	DNA+ 500µM 6e
3	DNA+ 500µM 6c (-Br)	11	DNA+ 500µM 6d
4	DNA+ 500µM 6b (-Cl)	12	DNA+ 500µM 6a
5	DNA+ 500µM 6e (-NO ₂)	13	DNA+ 500µM 6c
6	DNA+ 500µM 6d (-I)	14	DNA+ 500µM 6b
7	DNA+ 500µM 6a	15	DNA+ 500µM 6e
8	DNA+ 500µM 6c	16	DNA+ 500µM 6d

Σειρά Διυδροκιναζολινονών



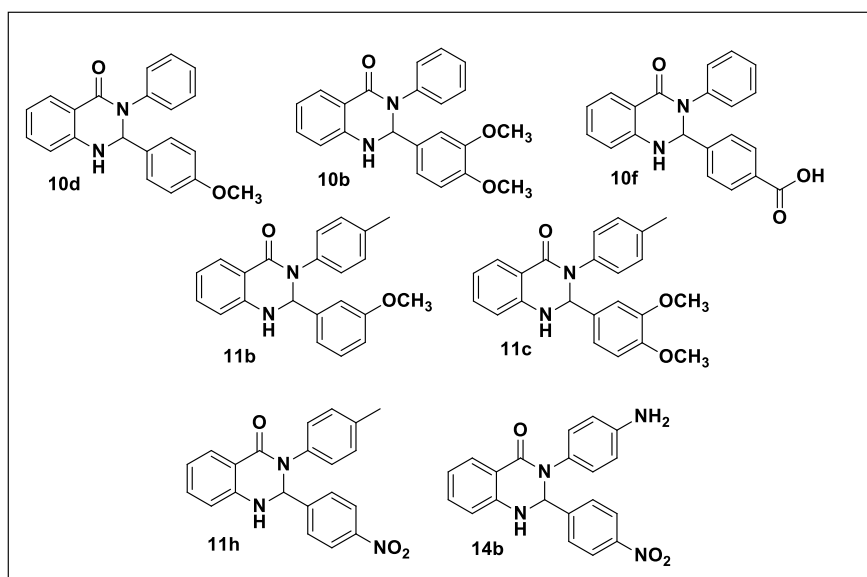
Σχήμα 4.43: Χημική δομή διυδροκιναζολινικών αναλόγων

Σημειώνεται ότι η σειρά των διυδροκιναζολινικών αναλόγων δοκιμάστηκε για πρώτη φορά ως πιθανός φωτοευαίσθητοποιητής. Όπως είδαμε τα κιναζολινικά παραγωγα παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον ως προς τον μηχανισμό δράσης τους και την ικανότητα τους να φωτοδιασπών το DNA. Οι διυδροκιναζολιόνες με την σειρά τους παρουσιάζουν ενδιαφέρον καθώς φέρουν μια ομάδα NH στη θέση 1, το υδρογόνο (-CH) στη θέση 2 καθώς και μεγάλο αριθμό υποκαταστατών στους αρωματικούς δακτυλίους της θέσης 2, 3 (Σχήμα 4.43). Έτσι παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον για την μελέτη δομής - βιολογικής δράσης.

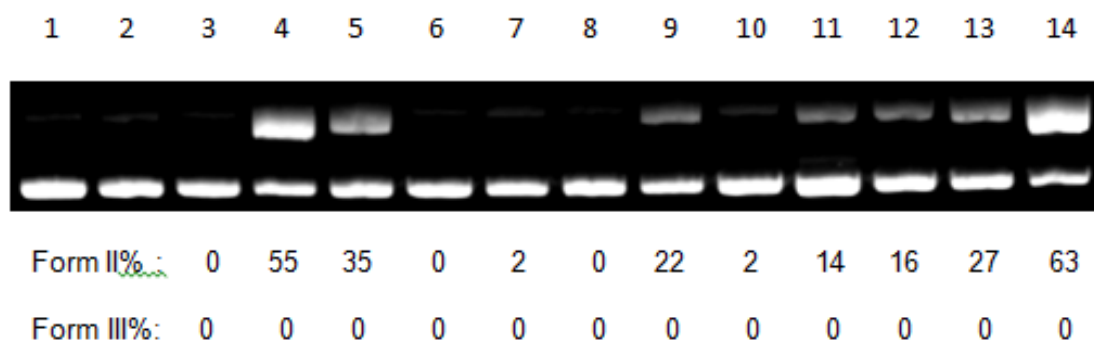
Φωτοβόληση UV-B

Αρχικά, επιλέγει η UV-B ακτινοβολία που κυμαίνεται στο κενό μεταξύ 280-315 nm. Το πείραμα εκτελείται στα 312 nm, σε απόσταση 15cm, για χρονικό διάστημα 30 λεπτών. Σημειώνεται ότι οι ενώσεις (Σχήμα 4.44) στα παρακάτω πηκτώματα αγαρόζης (gels) επελέγησαν με βάση τα χαρακτηριστικά των υποκαταστατών που φέρουν και την απορρόφηση των ενώσεων (να απορροφούν στην περιοχή που μελετώνται) ώστε να μελετηθεί η σχέση δομής-βιολογικής δράσης.

Αρχικά στον Πίνακα 4.29 παρουσιάζονται τα μόρια που επιλέχθηκαν καθώς και οι συγκεντρώσεις τους. Συγκεκριμένα, η συγκέντρωση των μορίων στο τελικό διάλυμα είναι στα 500 μM.



Σχήμα 4.44: Επιλεγμένες χημικές δομές διυδροκιναζολινικών αναλόγων που μελετήθηκαν



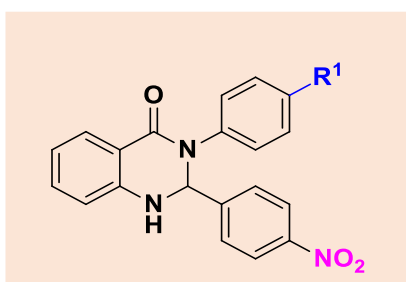
Εικόνα 4.28: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινικών αναλόγων με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm, σε απόσταση 15 cm και ποσοστό μετατροπής (%)

Πίνακας 4.29: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινικών αναλόγων με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm

Σειρά	Περιγραφή	Σειρά	Περιγραφή
1	DNA+Tris	8	DNA+ 500μM 10d
2	DNA+Tris+UV	9	DNA+ 500μM 10b
3	DNA+ 500μM 10d	10	DNA+ 500μM 10f
4	DNA+ 500μM 10b	11	DNA+ 500μM 11b

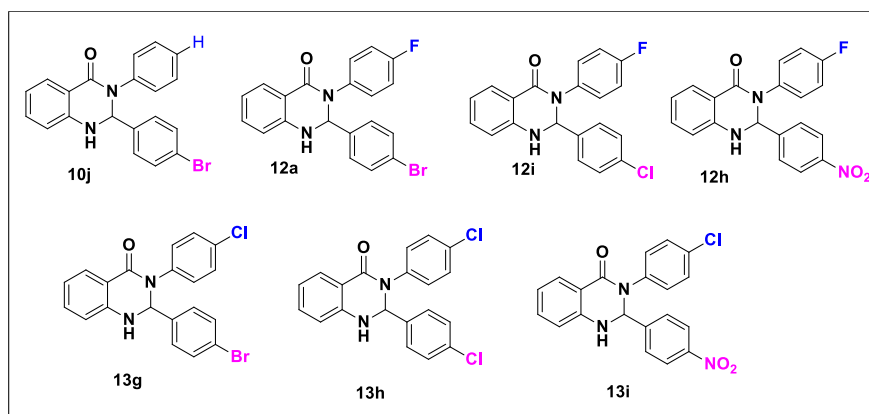
5	DNA+ 500μM 10f	12	DNA+ 500μM 11c
6	DNA+ 500μM 11b	13	DNA+ 500μM 11h
7	DNA+ 500μM 11c	14	DNA+ 500μM 14b

Από τα αποτελέσματα παρατηρείται πως η παρουσία υποκαταστατών στον αρωματικό δακτύλιο της θέσης 2 δεν φαίνεται να βοηθά στη δράση με εξαίρεση τα παράγωγα **10d**, **10b** που παρουσιάζουν μικρή δράση κόβοντας τον ένα κλώνο του DNA και δημιουργώντας την κυκλική μορφή (Form II) (Εικόνα 4.28, γραμμή 4-5). Ενδιαφέρον παρουσιάζει η ένωση **14b** με μια νιτρο-ομάδα στον αρωματικό δακτύλιο της θέσης 2 και μια αμινο-ομάδα στον αρωματικό δακτύλιο της θέσης 3. Συγκεκριμένα εμφανίζει ποσοστό μετατροπής 63% για την κυκλική μορφή (form II), αξιόλογο αρχικό αποτέλεσμα για το είδος των υποκαταστατών. Πιθανόν η δράση αυτή να οφείλεται στην ομόλυση του δεσμού N-O για αυτό το λόγο κρίθηκε σκόπιμο να μελετηθεί η NO₂ ομάδα στην ίδια θέση και με άλλα παράγωγα όπως φαίνεται στο Σχήμα 4.44, καθώς φαίνεται να επηρεάζεται και από την υποκατάσταση του αρωματικού δακτυλίου στην θέση 3 γιατί όπως παρατηρήθηκε το παράγωγο με μια NO₂ ομάδα στον αρωματικό δακτύλιο της θέσης 2 και μια μεθυλο-ομάδα στον αρωματικό δακτύλιο της θέσης 3 (**11h**) έχει μειωμένη δράση σε σχέση με το παράγωγο **14b**.

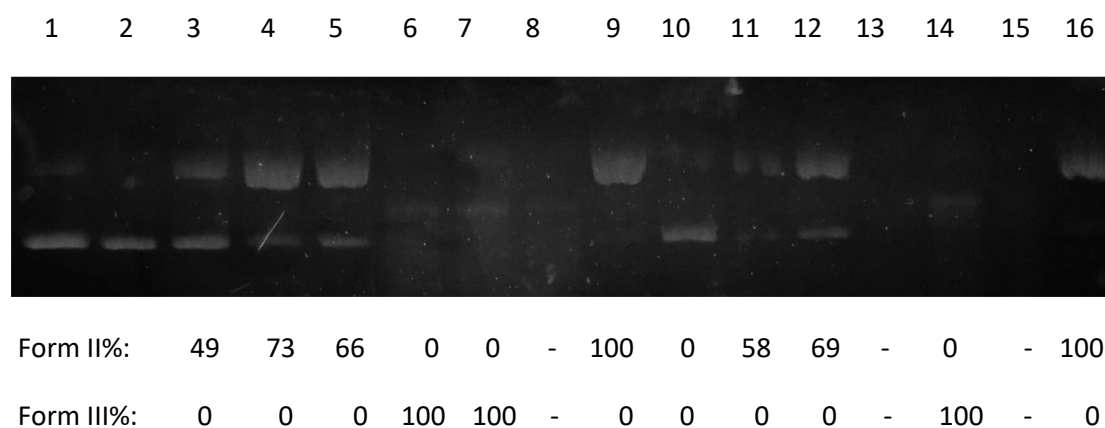


Σχήμα 4.45: Χημικά δομικά ανάλογα διυδροκινναζολινονών προς μελέτη της πιθανής ικανότητάς τους να διασπούν το DNA κάτω από την επίδραση φωτοβόλησης.

Παρακάτω μελετώνται τόσο νέα ανάλογα διυδροκινναζολινονών που φέρουν μια NO₂ ομάδα στον αρωματικό δακτύλιο της θέσης 2 (Σχήμα 4.45) όσο και παράγωγα τα οποία φέρουν μια τουλάχιστον αλογονο- ομάδα (-F, -Cl, -Br) στον αρωματικό δακτύλιο της θέσης 2 ή/και της θέσης 3 (Σχήμα 4.46). Το πείραμα εκτελείται στα 312 nm, σε απόσταση 15cm, για χρονικό διάστημα 30 λεπτών σε συγκέντρωση 500 μM (Πίνακας 4.30).



Σχήμα 4.46: Επιλεγμένα χημικά δομικά ανάλογα διυδροκιναζολινονών προς μελέτη της πιθανής ικανότητάς τους να διασπών το DNA κάτω από την επίδραση φωτοβόλησης.



Εικόνα 4.29: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινικών αναλόγων με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm, σε απόσταση 15 cm και ποσοστό μετατροπής (%)

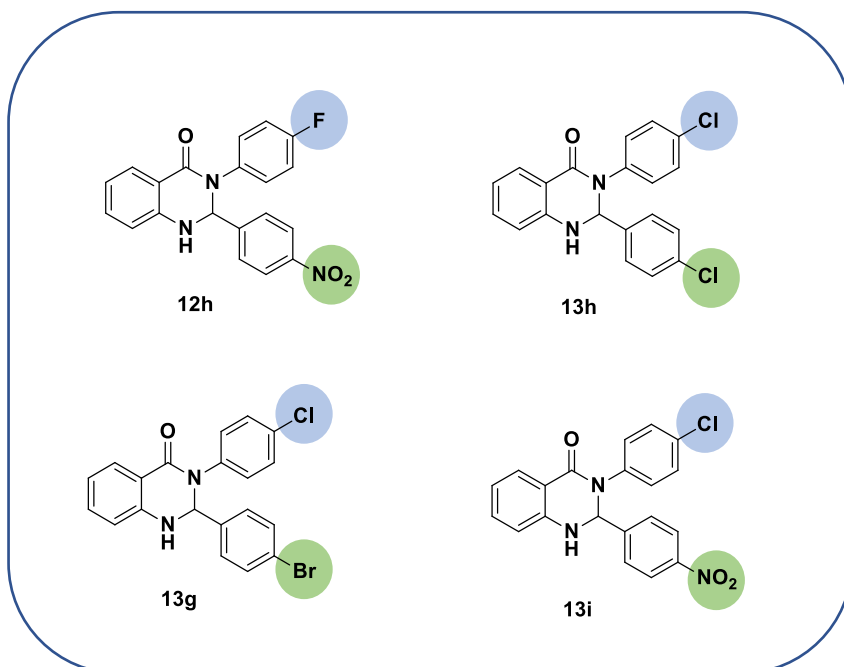
Πίνακας 4.30: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινικών αναλόγων με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm

Σειρά	Περιγραφή	Σειρά	Περιγραφή
1	DNA+Tris	9	DNA+ 500μM 12h
2	DNA+Tris+UV	10	DNA+ 500μM 10j
3	DNA+ 500μM 10j	11	DNA+ 500μM 12a
4	DNA+ 500μM 12a	12	DNA+ 500μM 12i

5	DNA+ 500μM 12i	13	DNA+ 500μM 13g
6	DNA+ 500μM 13g	14	DNA+ 500μM 13h
7	DNA+ 500μM 13h	15	DNA+ 500μM 13i
8	DNA+ 500μM 13i	16	DNA+ 500μM 12h

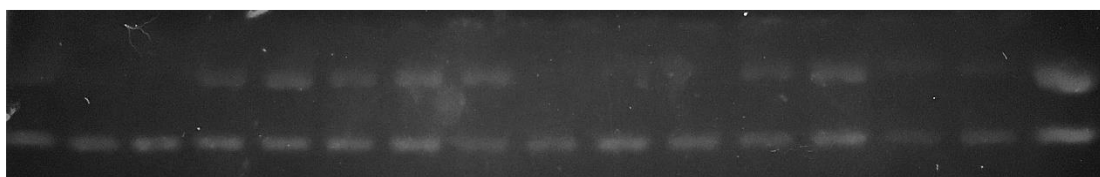
Από τα αποτελέσματα παρατηρήθηκε πως η ταυτόχρονη προσθήκη υποκαταστατών -F, -Cl, -Br στους αρωματικούς δακτυλίους στις θέσεις 2 και 3 ενισχύει την δράση. Όλα τα παράγωγα εμφανίζουν είτε διάσπαση στον ένα κλώνο προς κυκλικό DNA (Form II) όπως τα παράγωγα **10j**, **12a**, **12i** είτε διάσπαση και στους δύο κλώνους προς γραμμικό DNA (Form III) (Εικόνα 4.29). Συγκεκριμένα, τα ανάλογα με την πιο αξιόλογη δράση φαίνεται να είναι τα **13g**, **13h**, **13i**, **12h**, τα οποία είτε κατακερματίζουν το DNA (ανάλογα **13g**, **13i**) είτε δίνουν γραμμικό DNA διασπώντας και τους δύο κλώνους (ανάλογα **13h**, **12h**) (Σχήμα 4.47). Από τα αποτελέσματα διαπιστώθηκε ότι η προσθήκη αλογόνου στον δακτύλιο της θέσης 3 ενισχύει την δράση των αναλόγων που φέρουν νιτρο-ομάδα στην θέση 2. Αυτό πιθανόν να οφείλεται τόσο στην ομόλυση του δεσμού N-O όσο και στην αντίστοιχη ομόλυση του δεσμού C-X, όπου X αλογόνο.

Επίσης, πιθανότατα λόγω της ομόλυσης του δεσμού C-X (όπου X: -F, -Cl, -Br) παρατηρήθηκε ισχυρή δράση από τα παράγωγα **13g**, **13h**.



Σχήμα 4.47: Χημικά ανάλογα κιναζολινονών με ισχυρή δράση στην UVB φωτοβόληση

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16



Form II%: 0 33 39 34 43 45 0 0 0 38 38 30 24 50

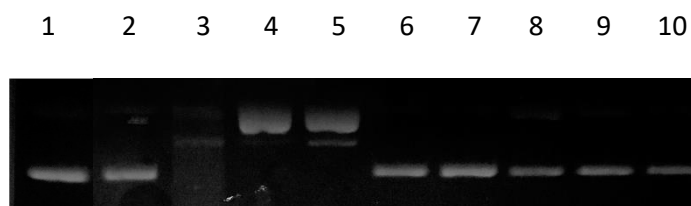
Form III%: 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

Εικόνα 4.30: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινονών με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm και ποσοστό μετατροπής %

Αντίστοιχα, και ανάλογα την ομάδα που φέρουν μελετήθηκαν τα παράγωγα των διυδροκιναζολινονών που συντέθηκαν. Από αυτά, παρατηρήθηκε μια μικρή δράση από τα παράγωγα **13a, 13b, 13c, 13d, 13f**, τα οποία διασπών τον ένα κλώνο προς κυκλικό DNA (Form II%) μέχρι ποσοστό 50% (Εικόνα 4.30, Πίνακας 4.30).

Πίνακας 4.31: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινονών με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm

Σειρά	Περιγραφή	Σειρά	Περιγραφή
1	DNA+Tris	9	DNA+ 500μM 13e
2	DNA+Tris+UV	10	DNA+ 500μM 16b
3	DNA+ 500μM 16a	11	DNA+ 500μM 16a
4	DNA+ 500μM 13a	12	DNA+ 500μM 13a
5	DNA+ 500μM 13b	13	DNA+ 500μM 13b
6	DNA+ 500μM 13c	14	DNA+ 500μM 13c
7	DNA+ 500μM 13f	15	DNA+ 500μM 13f
8	DNA+ 500μM 13d	16	DNA+ 500μM 13d

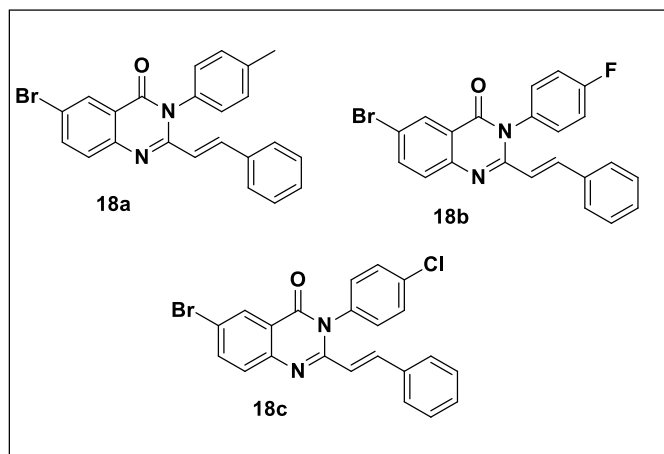


Form II%:	4	36	92	83	0	0	9	0	0
Form III%:	0	64	8	17	0	0	0	0	0

Εικόνα 4.31: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινονών με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm και ποσοστό μετατροπής %

Πίνακας 4.32: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινονών με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm

Σειρά	Περιγραφή	Σειρά	Περιγραφή
1	DNA+Tris+UV	6	DNA+ 500μM 10e
2	DNA+ 500μM 18a	7	DNA+ 500μM 11e
3	DNA+ 500μM 18c	8	DNA+ 500μM 12g
4	DNA+ 500μM 13h	9	DNA+ 500μM 16b
5	DNA+ 500μM 13j	10	DNA+ 500μM 14a



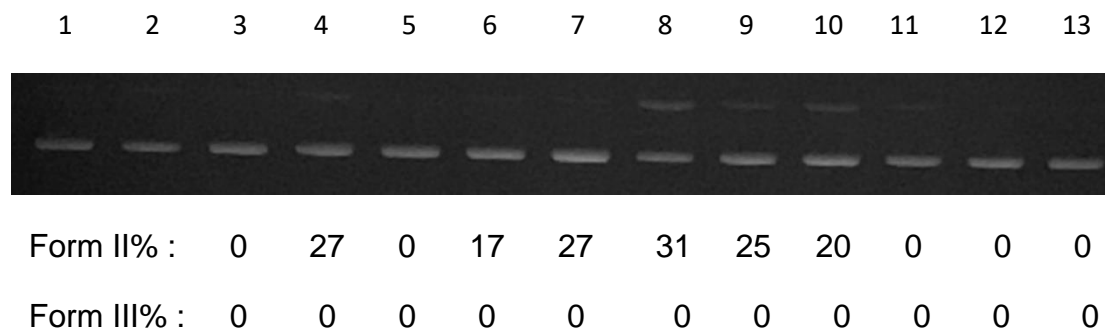
Σχήμα 4.48: Χημικά ανάλογα κινάζολινονών 18a-18c

Για τα παράγωγα των διυδροκιναζολινονών που φέρουν μινικό δεσμό, της Σειράς 18 (Σχήμα 4.48), φάνηκε πως τα παράγωγα **18a**, **18c** εμφάνισαν ικανοποιητική δράση (Εικόνα 4.31, Πίνακας 4.32). Ιδιαίτερα το παράγωγο **18c** διασπά το DNA και στους δύο

κλώνους προς γραμμικό DNA σε ποσοστό 64% έναντι 36% για την διάσπαση στον ένα κλώνο (κυκλικό DNA). Τέλος, ικανό να διασπά τον ένα κλώνο φάνηκε και το ανάλογο **13j** σε ποσοστό 83% έναντι 17% για την διάσπαση και στους δύο κλώνους.

Φωτοβόληση UV-A

Από τα αποτελέσματα στην φωτοβόληση των ενώσεων στην UV-B, επιλέχθηκαν οι διυδροκιναζολινόνες ανάλογα με την δραστηκότητά τους αλλά και με την απορρόφηση τους, καθώς η απορρόφηση των ενώσεων φαίνεται να παίζει καθοριστικό ρόλο στον μηχανισμό δράσης. .



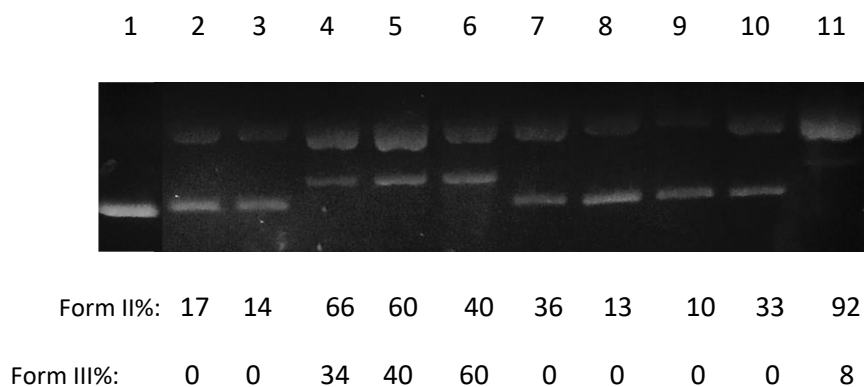
Εικόνα 4.32: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινονών με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365 nm και ποσοστό μετατροπής %

Στα παράγωγα που εξετάστηκαν (Εικόνα 4.32) παρατηρήθηκε μείωση της φωτοδιασπαστικής ικανότητας των διυδροκιναζολινονών στα 365nm όπου πιθανόν να οφείλεται και στην μειωμένη απορρόφηση των ενώσεων του Πίνακα 4.33 την περιοχή της UV-A ακτινοβολίας.

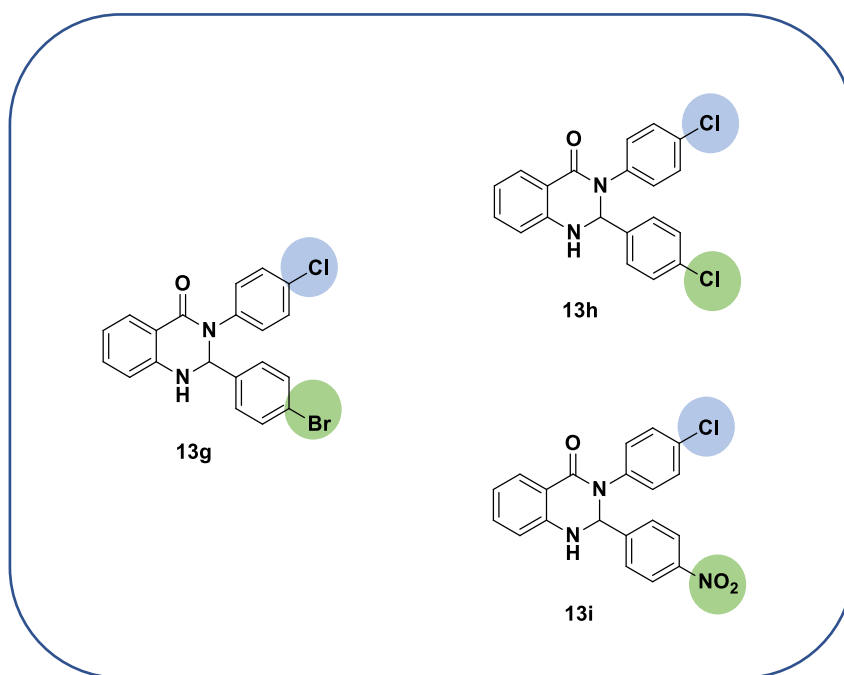
Πίνακας 4.33: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινονών με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365 nm

Σειρά	Περιγραφή	Σειρά	Περιγραφή
1	DNA+Tris	8	DNA+ 500μM 12f
2	DNA+Tris+UV	9	DNA+ 500μM 10e
3	DNA+ 500μM 10b	10	DNA+ 500μM 11h
4	DNA+ 500μM 11c	11	DNA+ 500μM 14b
5	DNA+ 500μM 10c	12	DNA+ 500μM 10i
6	DNA+ 500μM 11d	13	DNA+ 500μM 11i
7	DNA+ 500μM 12e		

Στην Εικόνα 4.33, ακολουθεί η μελέτη επιλεγμένων διϋδροκιναζολινονών που είχαν εμφανίσει ικανοποιητικά αποτελέσματα και στην UVB ακτινοβολία όπως αναφέρθηκε παραπάνω. Πιο συγκεκριμένα τα παράγωγα **13g**, **13h**, **13i** (Σχήμα 4.49) εμφανίζουν αξιόλογη δράση καθώς διασπών το DNA είτε στον ένα κλώνο προς κυκλικό DNA (Form II%) με ποσοστά από 40-66%, είτε διασπών τους δύο κλώνους προς γραμμικό DNA (Form III%) με ποσοστά από 34-60%.



Εικόνα 4.33: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διϋδροκιναζολινονών με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365 nm και ποσοστό μετατροπής %



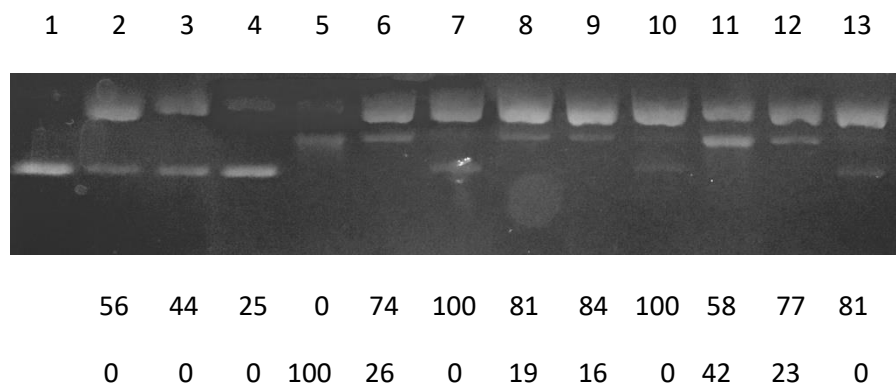
Σχήμα 4.49: Χημικά ανάλογα διϋδροκιναζολινονών με ισχυρή δράση στην UVA φωτοβόληση

Η δραστηριότητα των αναλόγων αυτών πιθανόν να οφείλεται στην ομόλυση του δεσμού άνθρακα-αλογόνου (C-X) για τα ανάλογα **13g** και **13h** αλλά και N-O για το ανάλογο **13i**.

Πίνακας 4.34: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινονών με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365 nm

Σειρά	Περιγραφή	Σειρά	Περιγραφή
1	DNA+Tris+UV	9	DNA+ 500μM 12h
2	DNA+ 500μM 12a	10	DNA+ 500μM 12a
3	DNA+ 500μM 12i	11	DNA+ 500μM 12i
4	DNA+ 500μM 13g	12	DNA+ 500μM 12h
5	DNA+ 500μM 13h	13	DNA+ 500μM 13g
6	DNA+ 500μM 13i	14	

Για την περαιτέρω ανάλυση της δραστηριότητας των αναλόγων **13g**, **13h**, **13i** πραγματοποιήθηκε μελέτη σε συνάρτηση με την συγκέντρωση όπου οι ενώσεις μελετήθηκαν για συγκεντρώσεις 100-500 μM. Για την μελέτη της τοξικότητας, η βέλτιστη συγκέντρωση βρίσκεται βάσει του 50% διάσπασης του DNA. Στην Εικόνα 4.34 παρατηρείται ότι η βέλτιστη συγκέντρωση για την **13h** φαίνεται να εμφανίζεται στα 250 μM (Πίνακας 4.35). Για την **13g** κρίνεται σκόπιμο η περαιτέρω μείωση της συγκέντρωσης καθώς παρατηρούνται πολύ υψηλά ποσοστά φωτοδιάσπασης και στα 100 μM. Αντίστοιχα, για τις ενώσεις εμφανίζουν υψηλά ποσοστά φωτοδιάσπασης και στα 100μM.



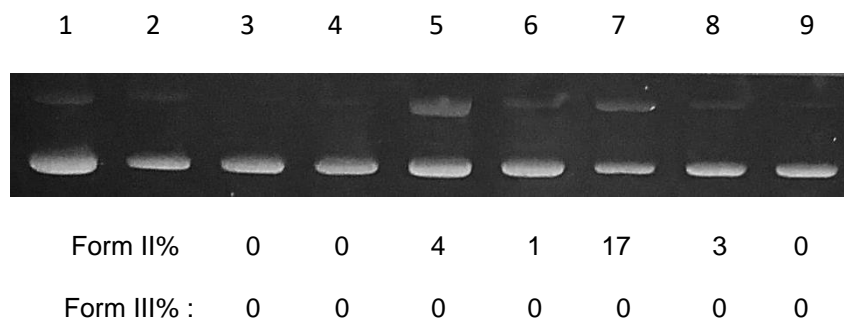
Εικόνα 4.34: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινονών με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365 nm και ποσοστό μετατροπής %

Πίνακας 4.35: Αποτελέσματα φωτοβόλησης διυδροκιναζολινονών με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365 nm

Σειρά	Περιγραφή	Σειρά	Περιγραφή
1	DNA+UV	8	DNA+ 500 μM 13j
2	DNA+ 500 μM 13h	9	DNA+ 250 μM 13j
3	DNA+ 250 μM 13h	10	DNA+ 100 μM 13j
4	DNA+ 100 μM 13h	11	DNA+ 500 μM 13i
5	DNA+ 500 μM 13g	12	DNA+ 250 μM 13i
6	DNA+ 250 μM 13g	13	DNA+ 100 μM 13i
7	DNA+ 100 μM 13g		

Συγκεντρωτικά Αποτελέσματα Χαλκονών-Ωρονών

Φωτοβόληση UV-A



Εικόνα 4.35: Αποτελέσματα φωτοβόλησης χαλκονών-ωρονών με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365 nm και ποσοστό μετατροπής %

Πίνακας 4.36: Αποτελέσματα φωτοβόλησης χαλκονών-ωρονών με υπεριώδη ακτινοβολία στα 365 nm

Σειρά	Περιγραφή
1	DNA+Tris
2	DNA+Tris+UV
3	DNA+Tris+500μM 19
4	DNA+Tris+500μM 20a
5	DNA+Tris+500μM 21

6	DNA+Tris+500μM 20b
7	DNA+Tris+500μM 20e
8	DNA+Tris+500μM 20d
9	DNA+Tris+500μM 20c

Από τα ανάλογα των χαλκονών-ωρονών που συντέθηκαν δοκιμάστηκαν για πρώτη φορά ως προς την ικανότητα τους να διασπούν το DNA με φωτοβόληση UVA(Εικόνα 4.35, Πίνακας 4.36). Παρότι οι ενώσεις αυτές μπορούν να απορροφούν στην περιοχή αυτή δεν φάνηκε να έχουν ιδιαίτερη δράση καθώς δεν φάνηκε να διασπούν το DNA σε αυτήν την περιοχή ακτινοβόλησης. Αυτό ίσως οφείλεται στο είδος των υποκαταστατών που φέρουν αλλά και στον μηχανισμό δράσης τους.

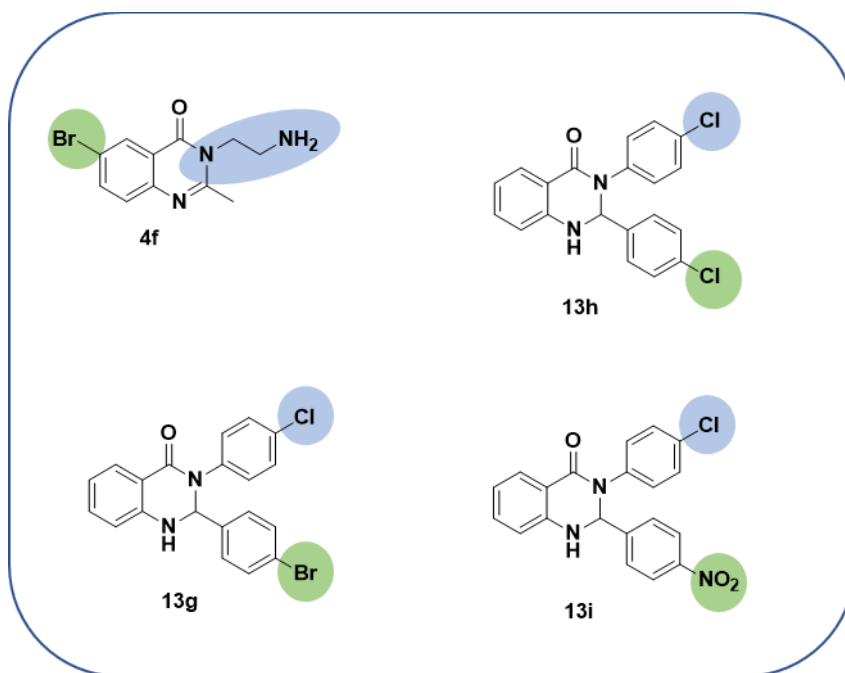
4.4 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ορισμένα από τα κιναζολινικά παράγωγα που συντέθηκαν και μελετήθηκαν ως προς την βιολογική τους δράση φαίνεται να έχουν αξιόλογη δραστηριότητα, στις δοκιμασίες με τις οποίες εξετάστηκαν. Συνολικά εξετάστηκαν 85 κιναζολινικά παράγωγα ως προς την αντιοξειδωτική δράση και την ικανότητας των ενώσεων να αλληλεπιδρούν με το DNA ενώ επιλεγμένα παράγωγα τόσο των κιναζολινονών όσο και των ωρονών μελετήθηκαν ως προς τη ικανότητά τους να φωτοδιασπούν το DNA και να δράσουν ως πιθανοί φωτοδιασπαστές.

Από τα αποτελέσματα της Σειράς A των κιναζολινικών αναλόγων αξιόλογο αποτέλεσμα είχε το ανάλογο **4f** (Σχήμα 4.50) όπου από την μελέτη αλληλεπίδρασης τόσο την υπολογιστική όσο και με την τιτλοδότηση μέσω UV-Vis φάνηκε να αλληλεπιδρά με το DNA στην εξωτετική αύλακα. Επιπλέον, το μόριο **4f** εμφάνισε ικανοποιητική δράση ως προς την ικανότητα να διασπά το DNA υπό την επίδραση ακτινοβολίας. Από το μηχανιστικό μέρος, παρατηρήθηκε πως η ένωση συνεχίζει και δρα απουσία O₂ κάτι που είναι σημαντικό καθώς μπορεί να δράσει σε περιβάλλοντα με αναερόβιες συνθήκες.

Αντίστοιχα, οι διυδροκιναζολινόνες δοκιμάστηκαν για πρώτη φορά ως προς την ικανότητά τους να διασπούν το DNA υπό την επίδραση ακτινοβολίας και ορισμένα παράγωγα εμφάνισαν ικανοποιητικά αποτελέσματα. Πιο συγκεκριμένα, τα παράγωγα **13g, 13h, 13i** (Σχήμα 4.50) εμφάνισαν υψηλή δραστηριότητα τόσο στην UVB όσο και στην UVA ακτινοβολία με διάσπαση ή κατακερματισμό του DNA. Για τα παράγωγα αυτά φάνηκε πως η παρουσία υποκαταστατών όπως αλογονο-ομάδων ή νιτρο-ομάδων στην θέση 2,3 των αρωματικών δακτυλίων των διυδροκιναζολινονών είναι σημαντική καθώς παρουσίαζαν ικανοποιητική δράση. Μηχανιστικά αυτό μπορεί να οφείλεται σε πιθανή ομόλυση του δεσμού C-X (X= -F, -Cl, -Br) ή C-N.

Τα μόρια αυτά θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν περαιτέρω ως μόρια οδηγό (Σχήμα 4.49) για την ανάπτυξη νέων φωτοευαίσθητοποιητών και αντικαρκινικών παραγόντων.



Σχήμα 4.50: Μόρια οδηγό για την ανάπτυξη νέων αναλόγων με ισχυρή δράση

4.5 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- [1] H. A. Moharram and M. M. Youssef, "Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review," 2014.
- [2] I. G. Munteanu and C. Apetrei, "Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, no. 7. MDPI AG, Apr. 01, 2021. doi: 10.3390/ijms22073380.
- [3] "sirivibulkovit2018".
- [4] L. Pinzi and G. Rastelli, "Molecular docking: Shifting paradigms in drug discovery," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 20, no. 18. MDPI AG, Sep. 01, 2019. doi: 10.3390/ijms20184331.
- [5] J. Fan, A. Fu, and L. Zhang, "Progress in molecular docking," *Quantitative Biology*, vol. 7, no. 2. Higher Education Press, pp. 83–89, Jun. 01, 2019. doi: 10.1007/s40484-019-0172-y.
- [6] Y. Gilad and H. Senderowitz, "Docking studies on DNA intercalators," *J Chem Inf Model*, vol. 54, no. 1, pp. 96–107, Jan. 2014, doi: 10.1021/ci400352t.
- [7] S. Agarwal and R. Mehrotra, "An overview of Molecular Docking," *JSM Chem*, vol. 4, no. 2, p. 1024, 2016, [Online]. Available: <https://www.researchgate.net/publication/303897563>
- [8] S. Rauf *et al.*, "Electrochemical approach of anticancer drugs-DNA interaction," *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 37, no. 2. Elsevier, pp. 205–217, Feb. 23, 2005. doi: 10.1016/j.jpba.2004.10.037.
- [9] Y. Sha, X. Chen, B. Niu, and Q. Chen, "The Interaction Mode of Groove Binding Between Quercetin and Calf Thymus DNA Based on Spectrometry and Simulation," *Chem Biodivers*, vol. 14, no. 10, Oct. 2017, doi: 10.1002/cbdv.201700133.
- [10] Y. Gilad and H. Senderowitz, "Docking studies on DNA intercalators," *J Chem Inf Model*, vol. 54, no. 1, pp. 96–107, Jan. 2014, doi: 10.1021/ci400352t.
- [11] M. Mohanty and P. S. Mohanty, "Molecular docking in organic, inorganic, and hybrid systems: a tutorial review," *Monatshefte fur Chemie*, vol. 154, no. 7. Springer, pp. 683–707, Jul. 01, 2023. doi: 10.1007/s00706-023-03076-1.
- [12] G. Chen, A. J. Seukep, and M. Guo, "Recent Advances in Molecular Docking for the Research and Discovery of Potential Marine Drugs," *Marine Drugs*, vol. 18, no. 11. MDPI, Nov. 01, 2020. doi: 10.3390/md18110545.
- [13] C. G. Ricci and P. A. Netz, "Docking studies on DNA-ligand interactions: Building and application of a protocol to identify the binding mode," *J Chem Inf Model*, vol. 49, no. 8, pp. 1925–1935, Aug. 2009, doi: 10.1021/ci9001537.

- [14] Y. Gilad and H. Senderowitz, "Docking studies on DNA intercalators," *J Chem Inf Model*, vol. 54, no. 1, pp. 96–107, Jan. 2014, doi: 10.1021/ci400352t.
- [15] K. M. Elokely and R. J. Doerksen, "Docking challenge: Protein sampling and molecular docking performance," *J Chem Inf Model*, vol. 53, no. 8, pp. 1934–1945, Aug. 2013, doi: 10.1021/ci400040d.
- [16] A. Paul and S. Bhattacharya, "Chemistry and biology of DNA-binding small molecules," 2012. [Online]. Available: <https://www.researchgate.net/publication/266464686>
- [17] S. Das *et al.*, "EnzyDock: Protein-Ligand Docking of Multiple Reactive States Along a Reaction Coordinate in Enzymes Corresponding Author."
- [18] L. A. Rodríguez-Lumbreras, B. Jiménez-García, S. Giménez-Santamarina, and J. Fernández-Recio, "pyDockDNA: A new web server for energy-based protein-DNA docking and scoring," *Front Mol Biosci*, vol. 9, Oct. 2022, doi: 10.3389/fmolb.2022.988996.
- [19] L. Pinzi and G. Rastelli, "Molecular docking: Shifting paradigms in drug discovery," *Int J Mol Sci*, vol. 20, no. 18, 2019, doi: 10.3390/ijms20184331.
- [20] K. M. Elokely and R. J. Doerksen, "Docking challenge: Protein sampling and molecular docking performance," *J Chem Inf Model*, vol. 53, no. 8, pp. 1934–1945, 2013, doi: 10.1021/ci400040d.
- [21] M. Karimi Goftar, N. M. Kor, and Z. M. Kor, "DNA intercalators and using them as anticancer drugs," 2014. [Online]. Available: <http://www.ijabbr.com>
- [22] J. Zhao, W. Li, R. Ma, S. Chen, S. Ren, and T. Jiang, "Design, synthesis and DNA interaction study of new potential DNA bis-intercalators based on glucuronic acid," *Int J Mol Sci*, vol. 14, no. 8, pp. 16851–16865, 2013, doi: 10.3390/ijms140816851.
- [23] Q. Yang *et al.*, "DNA Intercalators: Cutting plasmids in half."
- [24] A. Soni, P. Khurana, T. Singh, and B. Jayaram, "A DNA intercalation methodology for an efficient prediction of ligand binding pose and energetics," *Bioinformatics*, vol. 33, no. 10, pp. 1488–1496, 2017, doi: 10.1093/bioinformatics/btx006.
- [25] A. Soni, P. Khurana, T. Singh, and B. Jayaram, "A DNA intercalation methodology for an efficient prediction of ligand binding pose and energetics," *Bioinformatics*, vol. 33, no. 10, pp. 1488–1496, May 2017, doi: 10.1093/bioinformatics/btx006.
- [26] S. Li, V. R. Cooper, T. Thonhauser, B. I. Lundqvist, and D. C. Langreth, "Stacking interactions and DNA intercalation," *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 113, no. 32, pp. 11166–11172, 2009, doi: 10.1021/jp905765c.

- [27] S. Li, V. R. Cooper, T. Thonhauser, B. I. Lundqvist, and D. C. Langreth, "Stacking interactions and DNA intercalation," *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 113, no. 32, pp. 11166–11172, Aug. 2009, doi: 10.1021/jp905765c.
- [28] D. Gibson, "Drug-DNA interactions and novel drug design," *Pharmacogenomics Journal*, vol. 2, no. 5, pp. 275–276, 2002, doi: 10.1038/sj.tpj.6500133.
- [29] A. Soni, P. Khurana, T. Singh, and B. Jayaram, "A DNA intercalation methodology for an efficient prediction of ligand binding pose and energetics," *Bioinformatics*, vol. 33, no. 10, pp. 1488–1496, May 2017, doi: 10.1093/bioinformatics/btx006.
- [30] P. G. Baraldi *et al.*, "DNA minor groove binders as potential antitumor and antimicrobial agents," *Med Res Rev*, vol. 24, no. 4, pp. 475–528, 2004, doi: 10.1002/med.20000.
- [31] X. Cai, P. J. Gray, and D. D. Von Hoff, "DNA minor groove binders: Back in the groove," *Cancer Treat Rev*, vol. 35, no. 5, pp. 437–450, 2009, doi: 10.1016/j.ctrv.2009.02.004.
- [32] P. L. Hamilton and D. P. Arya, "Natural product DNA major groove binders," *Nat Prod Rep*, vol. 29, no. 2, pp. 134–143, 2012, doi: 10.1039/c1np00054c.
- [33] R. Palchoudhuri and P. J. Hergenrother, "DNA as a target for anticancer compounds: methods to determine the mode of binding and the mechanism of action," *Curr Opin Biotechnol*, vol. 18, no. 6, pp. 497–503, 2007, doi: 10.1016/j.copbio.2007.09.006.
- [34] A. Rescifina, C. Zagni, M. G. Varrica, V. Pistarà, and A. Corsaro, "Recent advances in small organic molecules as DNA intercalating agents: Synthesis, activity, and modeling," *Eur J Med Chem*, vol. 74, pp. 95–115, 2014, doi: 10.1016/j.ejmech.2013.11.029.
- [35] M. Karimi Goftar, N. M. Kor, and Z. M. Kor, "DNA intercalators and using them as anticancer drugs," *International journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, vol. 2, no. 3, pp. 811–822, 2014.
- [36] P. G. Baraldi *et al.*, "DNA minor groove binders as potential antitumor and antimicrobial agents," *Medicinal Research Reviews*, vol. 24, no. 4, pp. 475–528, Jul. 2004. doi: 10.1002/med.20000.
- [37] X. Cai, P. J. Gray, and D. D. Von Hoff, "DNA minor groove binders: Back in the groove," *Cancer Treatment Reviews*, vol. 35, no. 5, pp. 437–450, Aug. 2009. doi: 10.1016/j.ctrv.2009.02.004.
- [38] N. P. Andreou *et al.*, "Alkyl and aryl sulfonyl p-pyridine ethanone oximes are efficient DNA photo-cleavage agents," *J Photochem Photobiol B*, vol. 158, pp. 30–38, 2016, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2016.02.017.
- [39] Y. Yu *et al.*, "Recent advances in delivery of photosensitive metal-based drugs," *Coord Chem Rev*, vol. 387, pp. 154–179, 2019, doi: 10.1016/j.ccr.2019.01.020.

- [40] T. Gheewala, T. Skwor, and G. Munirathinam, "Photosensitizers in prostate cancer therapy," *Oncotarget*, vol. 8, no. 18, pp. 30524–30538, 2017, doi: 10.18632/oncotarget.15496.
- [41] S. Kwiatkowski *et al.*, "Photodynamic therapy – mechanisms, photosensitizers and combinations," *Biomedicine and Pharmacotherapy*, vol. 106. Elsevier Masson SAS, pp. 1098–1107, Oct. 01, 2018. doi: 10.1016/j.biopha.2018.07.049.
- [42] Z. Zarebska, E. Waszkowska, S. Caffieri, and F. Dall'Acqua, "PUVA (psoralen + UVA) photochemotherapy: Processes triggered in the cells," *Farmaco*, vol. 55, no. 8, pp. 515–520, 2000, doi: 10.1016/S0014-827X(00)00076-8.
- [43] H. C. Lai, C. S. Lin, C. S. Wu, and C. C. E. Lan, "The impact of irradiance on UVB-induced cutaneous immunosuppression: Implications on administering most efficient phototherapy," *J Dermatol Sci*, vol. 93, no. 2, pp. 116–122, 2019, doi: 10.1016/j.jdermsci.2019.01.003.
- [44] M. Widel, A. Krzywon, K. Gajda, M. Skonieczna, and J. Rzeszowska-Wolny, "Induction of bystander effects by UVA, UVB, and UVC radiation in human fibroblasts and the implication of reactive oxygen species," *Free Radic Biol Med*, vol. 68, pp. 278–287, 2014, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.12.021.
- [45] S. López-Molina *et al.*, "antibiotics Alkaloids as Photosensitisers for the Inactivation of Bacteria," 2021, doi: 10.3390/antibiotics.
- [46] N. Jain, P. K. Sharma, A. Banik, and V. Bhardwaj, "Applications of photosensitizer in therapy," *Pharmacognosy Journal*, vol. 3, no. 22. Pharmacognosy Network Worldwide, pp. 11–17, 2011. doi: 10.5530/pj.2011.22.3.
- [47] M. Pasolli *et al.*, "Pyridine and p-nitrophenyl oxime esters with possible photochemotherapeutic activity: Synthesis, DNA photocleavage and DNA binding studies," *Molecules*, vol. 21, no. 7, 2016, doi: 10.3390/molecules21070864.
- [48] R. R. Allison, G. H. Downie, R. Cuenca, X. H. Hu, C. J. H. Childs, and C. H. Sibata, "Photosensitizers in clinical PDT," *Photodiagnosis Photodyn Ther*, vol. 1, no. 1, pp. 27–42, 2004, doi: 10.1016/S1572-1000(04)00007-9.
- [49] P. Singla, V. Luxami, and K. Paul, "Quinazolinone-benzimidazole conjugates: Synthesis, characterization, dihydrofolate reductase inhibition, DNA and protein binding properties," *J Photochem Photobiol B*, vol. 168, pp. 156–164, 2017, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2017.02.009.
- [50] A. Papastergiou *et al.*, "Evaluation of O-alkyl and aryl sulfonyl aromatic and heteroaromatic amidoximes as novel potent DNA photo-cleavers," *Photochemical and Photobiological Sciences*, vol. 15, no. 3, pp. 351–360, 2016, doi: 10.1039/c5pp00439j.

- [51] P. S. Gritzapis *et al.*, “p -Pyridinyl oxime carbamates : synthesis , DNA binding , DNA photocleaving activity and theoretical photodegradation studies,” 2020, doi: 10.3762/bjoc.16.33.
- [52] P. Karamtzioti *et al.*, “O-Benzoyl pyridine aldoxime and amidoxime derivatives: Novel efficient DNA photo-cleavage agents,” *Medchemcomm*, vol. 6, no. 4, pp. 719–726, 2015, doi: 10.1039/c4md00548a.
- [53] N. P. Andreou *et al.*, “Alkyl and aryl sulfonyl p-pyridine ethanone oximes are efficient DNA photo-cleavage agents,” *J Photochem Photobiol B*, vol. 158, pp. 30–38, 2016, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2016.02.017.
- [54] M. Pasolli *et al.*, “Pyridine and p-nitrophenyl oxime esters with possible photochemotherapeutic activity: Synthesis, DNA photocleavage and DNA binding studies,” *Molecules*, vol. 21, no. 7, 2016, doi: 10.3390/molecules21070864.
- [55] “photosensitizers-in-antibacterial-photodynamic-therapy-an-overvi-2018”.
- [56] B. Aziz *et al.*, “An Overview of Potential Natural Photosensitizers in Cancer Photodynamic Therapy,” *Biomedicines*, vol. 11, no. 1. MDPI, Jan. 01, 2023. doi: 10.3390/biomedicines11010224.
- [57] E. Polat and K. Kang, “Natural photosensitizers in antimicrobial photodynamic therapy,” *Biomedicines*, vol. 9, no. 6, 2021, doi: 10.3390/biomedicines9060584.
- [58] S. Pramual *et al.*, “Polymer-lipid-PEG hybrid nanoparticles as photosensitizer carrier for photodynamic therapy,” *J Photochem Photobiol B*, vol. 173, pp. 12–22, Aug. 2017, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2017.05.028.
- [59] X. Feng *et al.*, “Tumor-Homing and Penetrating Peptide-Functionalized Photosensitizer-Conjugated PEG-PLA Nanoparticles for Chemo-Photodynamic Combination Therapy of Drug-Resistant Cancer,” *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 8, no. 28, pp. 17817–17832, Jul. 2016, doi: 10.1021/acsami.6b04442.
- [60] D. Bechet, P. Couleaud, C. Frochot, M. L. Viriot, F. Guillemin, and M. Barberi-Heyob, “Nanoparticles as vehicles for delivery of photodynamic therapy agents,” *Trends in Biotechnology*, vol. 26, no. 11. pp. 612–621, Nov. 2008. doi: 10.1016/j.tibtech.2008.07.007.
- [61] J. Bhaumik, A. K. Mittal, A. Banerjee, Y. Chisti, and U. C. Banerjee, “Applications of phototheranostic nanoagents in photodynamic therapy,” *Nano Res*, vol. 8, no. 5, pp. 1373–1394, 2015, doi: 10.1007/s12274-014-0628-3.
- [62] M. Lan, S. Zhao, W. Liu, C. S. Lee, W. Zhang, and P. Wang, “Photosensitizers for Photodynamic Therapy,” *Adv Healthc Mater*, vol. 8, no. 13, pp. 1–37, 2019, doi: 10.1002/adhm.201900132.

- [63] T. A. Debele, S. Peng, and H. C. Tsai, "Drug carrier for photodynamic cancer therapy," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 16, no. 9. MDPI AG, pp. 22094–22136, Sep. 14, 2015. doi: 10.3390/ijms160922094.
- [64] Y. Yu *et al.*, "Recent advances in delivery of photosensitive metal-based drugs," *Coordination Chemistry Reviews*, vol. 387. Elsevier B.V., pp. 154–179, May 15, 2019. doi: 10.1016/j.ccr.2019.01.020.
- [65] A. M. Soliman, H. M. Karam, M. H. Mekawy, and M. M. Ghorab, "Antioxidant activity of novel quinazolinones bearing sulfonamide : Potential radiomodulatory effects on liver tissues via NF- k B / PON1 pathway," *Eur J Med Chem*, vol. 197, p. 112333, 2020, doi: 10.1016/j.ejmech.2020.112333.
- [66] P. Sivaguru, K. Parameswaran, and A. Lalitha, "Antioxidant , anticancer and electrochemical redox properties of new bis (2 , 3-dihydroquinazolin-4 (1 H) -one) derivatives," *Mol Divers*, vol. 21, no. 3, pp. 611–620, 2017, doi: 10.1007/s11030-017-9748-5.
- [67] A. Barmak, K. Niknam, and G. Mohebbi, "Synthesis, Structural Studies, and α -Glucosidase Inhibitory, Antidiabetic, and Antioxidant Activities of 2,3-Dihydroquinazolin-4(1H)-ones Derived from Pyrazol-4-carbaldehyde and Anilines," *ACS Omega*, vol. 4, pp. 18087–18099, 2019, doi: 10.1021/acsomega.9b01906.
- [68] B. Tang *et al.*, "DNA-binding, molecular docking studies and biological activity studies of ruthenium(II) polypyridyl complexes," *RSC Adv*, vol. 7, no. 56, pp. 34945–34958, 2017, doi: 10.1039/c7ra05103d.
- [69] T. A. de Oliveira *et al.*, "Evaluation of Docking Machine Learning and Molecular Dynamics Methodologies for DNA-Ligand Systems," *Pharmaceuticals*, vol. 15, no. 2, Feb. 2022, doi: 10.3390/ph15020132.
- [70] P. Singla, V. Luxami, and K. Paul, "Quinazolinone-benzimidazole conjugates: Synthesis, characterization, dihydrofolate reductase inhibition, DNA and protein binding properties," *J Photochem Photobiol B*, vol. 168, pp. 156–164, Mar. 2017, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2017.02.009.
- [71] M. Sayed, G. K. Gubbala, and H. Pal, "Contrasting interactions of DNA-intercalating dye acridine orange with hydroxypropyl derivatives of β -cyclodextrin and γ -cyclodextrin hosts," *New Journal of Chemistry*, vol. 43, no. 2, pp. 724–736, 2019, doi: 10.1039/c8nj04067b.
- [72] A. R. N. Pontillo, E. Konstanteli, M. M. Bairaktari, and A. Detsi, "Encapsulation of the natural product tyrosol in carbohydrate nanosystems and study of their binding with ctDNA," *Polymers (Basel)*, vol. 13, no. 1, pp. 1–24, Jan. 2021, doi: 10.3390/polym13010087.

- [73] A. Tzani *et al.*, "Natural Deep Eutectic Solvents (NaDESs) as Alternative Green Extraction Media for Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe)," *Sustainable Chemistry*, vol. 2, no. 4, pp. 576–599, Oct. 2021, doi: 10.3390/suschem2040032.
- [74] C. Kakoulidou, A. G. Hatzidimitriou, K. C. Fylaktakidou, and G. Psomas, "Interaction of manganese(II) with the hybrid molecule (E)-4-(2-(pyridin-2-ylmethylene)hydrazinyl)quinazoline: Structure and biological profile," *Polyhedron*, vol. 195, p. 114986, 2021, doi: 10.1016/j.poly.2020.114986.
- [75] N. Andreou *et al.*, "Journal of Photochemistry & Photobiology , B : Biology Alkyl and aryl sulfonyl p -pyridine ethanone oximes are efficient DNA photo-cleavage agents," *JPB*, vol. 158, pp. 30–38, 2016, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2016.02.017.
- [76] C. Mikra, M. Bairaktari, M. T. Petridi, A. Detsi, and K. C. Fylaktakidou, "Green Process for the Synthesis of 3-Amino-2-methyl-quinazolin-4(3H)-one Synthones and Amides Thereof:DNA Photo-Disruptive and Molecular Docking Studies," *Processes*, vol. 10, no. 2, Feb. 2022, doi: 10.3390/pr10020384.

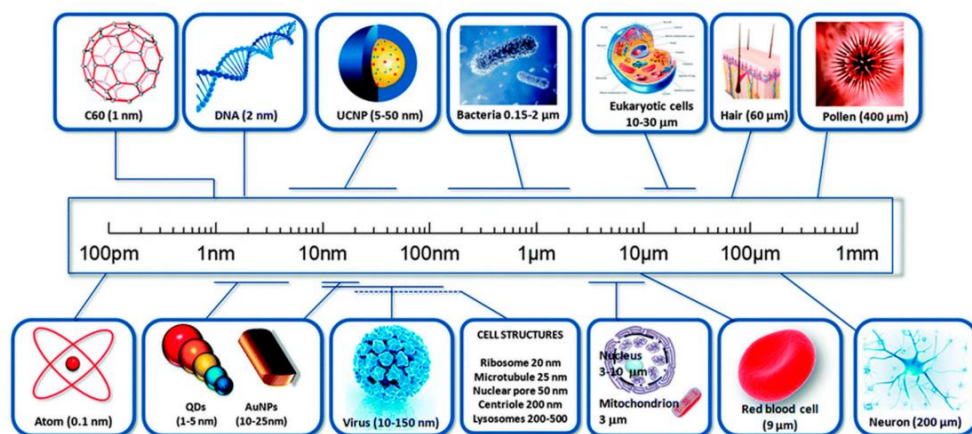
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο
ΜΕΛΕΤΗ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΜΟΡΙΩΝ ΣΕ
ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ

5.1 ΜΕΛΕΤΗ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΜΟΡΙΩΝ ΣΕ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το πρόθεμα «νάνο» αναφέρεται ως ελληνικό πρόθεμα που σημαίνει «νάνος» ή κάτι πολύ μικρό και απεικονίζει χίλια εκατομμυριοστά του μέτρου (10^{-9} m). Η νανοεπιστήμη είναι η μελέτη δομών και μορίων σε κλίμακες νανομέτρων που κυμαίνονται μεταξύ 1 και 100 nm και η τεχνολογία που το χρησιμοποιεί σε πρακτικές εφαρμογές όπως συσκευές κλπ. ονομάζεται νανοτεχνολογία. Ως σύγκριση, πρέπει να συνειδητοποιήσει κανείς ότι μια μόνο ανθρώπινη τρίχα έχει πάχος 60.000 nm ενώ η διπλή έλικα του DNA έχει ακτίνα 1 nm (Εικόνα 5.1). Η ανάπτυξη της νανοεπιστήμης μπορεί να εντοπιστεί στην εποχή των Ελλήνων και του Δημόκριτου τον 5ο αιώνα π.Χ. όταν οι επιστήμονες εξέτασαν το ερώτημα εάν η ύλη είναι συνεχής, και επομένως απεριόριστα διαιρετή σε μικρότερα κομμάτια, που αποτελούνται από μικρά, αδιαίρετα και άφθαρτα σωματίδια, τα οποία οι επιστήμονες τώρα καλούν άτομα.

Η νανοτεχνολογία είναι μια από τις υποσχόμενες τεχνολογίες του 21^{ου} αιώνα. Ο Εθνικός Οργανισμός Νανοτεχνολογίας στις Ηνωμένες Πολιτείες ορίζει την Νανοτεχνολογία ως την τεχνολογία που διεξάγεται σε νανοκλίμακα, όπου οι μοναδικές ιδιότητες των υλικών αυτών επιτρέπουν νέες εφαρμογές σε ένα ευρύ φάσμα πεδίων από την χημεία, την φυσική και την βιολογία μέχρι και την ιατρική, τη μηχανική και την ηλεκτρονική. Αυτός ο ορισμός υποδηλώνει την παρουσία δύο συνθηκών για την νανοτεχνολογία. Το πρώτο είναι ένα ζήτημα ως προς την κλίμακα: η νανοτεχνολογία ασχολείται με την χρήση των δομών ελέγχοντας το σχήμα και το μέγεθός τους σε κλίμακα νανομέτρων. Το δεύτερο ζήτημα αφορά την καινοτομία: η νανοτεχνολογία πρέπει να με την κλίμακα των νανομέτρων με τρόπο ώστε να εκμεταλλεύεται ορισμένες ιδιότητες του υλικού λόγω της νανοκλίμακας. [1]–[5]



Εικόνα 5.1: Σύγκριση μεγεθών των νανοϋλικών.[2]

Ιστορία της Νανοτεχνολογίας

Τα νανοςωματίδια και οι δομές τους έχουν χρησιμοποιηθεί μόλις τον 4^ο αιώνα μ.Χ. από τους Ρωμαίους που κατέδειξαν ένα από τα πιο ενδιαφέροντα παραδείγματα νανοτεχνολογίας στον αρχαίο κόσμο.

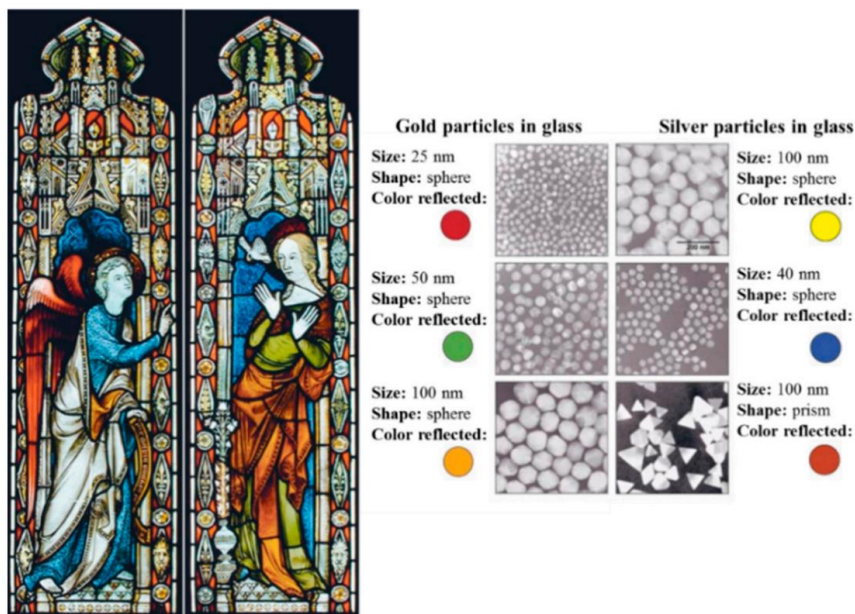
Στη δεκαετία του 1950, το Βρετανικό Μουσείο απέκτησε ένα αρχαίο γυάλινο ποτήρι που ονομάζεται Κύπελλο του Λυκούργου, εξαιτίας της απεικόνισης στην εξωτερική του πλευρά του θριάμβου του Διονύσου επί του βασιλιά Λυκούργου της Θράκης που είναι μπλεγμένος στα αμπέλια του (ο μύθος του βασιλιά Λυκούργου από το έκτο βιβλίο της Ιλιάδας του Ομήρου). Το κύπελλο του Λυκούργου αντιπροσωπεύει ένα από τα πιο σημαντικά επιτεύγματα στην αρχαία βιομηχανία γυαλιού. Είναι το παλαιότερο δείγμα διχρωμικού γυαλιού. Η διχρωμία του γυαλιού παρατηρείται λόγω δύο διαφορετικών τύπων γυαλιού που αλλάζουν χρώμα σε ορισμένες συνθήκες φωτισμού. Αυτό σημαίνει ότι το Κύπελλο του Λυκούργου έχει δύο διαφορετικά χρώματα: το κύπελλο φαίνεται πράσινο στο άμεσο φως και κόκκινο όταν η ακτίνα φωτός κτυπήσει εσωτερικά του γυαλιού (Εικόνα 5.2). [1]–[6]



Εικόνα 5.2: Η κούπα του Λυκούργου. ο γυαλί εμφανίζεται πράσινο στο ανακλώμενο φως (A) και κόκκινο-μοβ στο μεταδιδόμενο φως (B).[2]

Το 1990, οι επιστήμονες ανέλυσαν το κύπελλο χρησιμοποιώντας ένα ηλεκτρονικό μικροσκόπιο μετάδοσης (TEM) για να εξηγήσουν το φαινόμενο της διχρωμίας. Η παρατηρούμενη διχρωμία οφείλεται στην παρουσία νανοσωματιδίων με διάμετρο 50-100nm. Η ανάλυση ακτίνων X έδειξε ότι τα νανοσωματίδια αυτά είναι κράμα αργύρου-χρυσού (Ag-Au) σε αναλογία Ag:Au 7:3 που περιέχει επιπλέον περίπου 10% χαλκό, Cu, διασκορπισμένο στην γυάλινη μήτρα. Τα νανοσωματίδια Au παράγουν το κόκκινο χρώμα ως αποτέλεσμα της απορρόφησης του φωτός (~520 nm). Το κόκκινο χρώμα οφείλεται στην απορρόφηση από τα μεγαλύτερα σε μέγεθος σωματίδια ενώ το πράσινο χρώμα αποδίδεται στη σκέδαση φωτός από τις κolloειδείς διασπορές των νανοσωματιδίων αργύρου με μέγεθος >40nm. Το κύπελλο του Λυκούργου αναγνωρίζεται ως ένα από τα παλαιότερα συνθετικά νανοϋλικά.

Ένα παρόμοιο αποτέλεσμα παρατηρείται στα παράθυρα των εκκλησιών του ύστερου μεσαίωνα που φωτίζονται με κόκκινο και κίτρινο χρώμα λόγω της σύντηξης των νανοσωματιδίων Au και Ag στο γυαλί. Στην Εικόνα 5.3, παρουσιάζεται ένα παράδειγμα της επίδρασης αυτών των νανοσωματιδίων με διαφορετικά μεγέθη στα βιτρό παράθυρα. [2], [7]

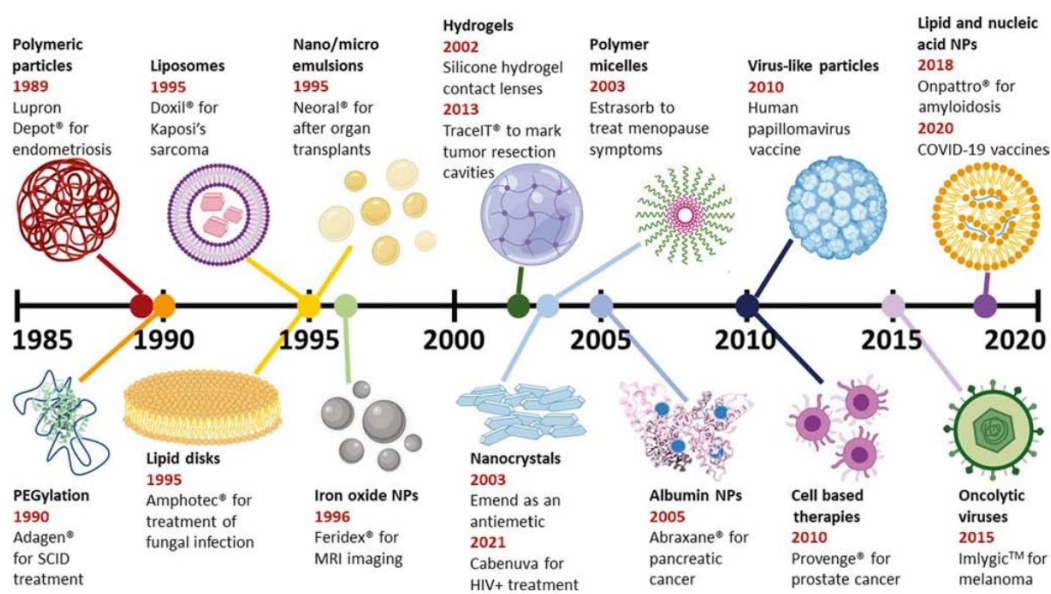


Εικόνα 5.3: Επίδραση των νανοσωματιδίων στα διαφορετικά χρώματα του βιτρό. [2]

Τις τελευταίες δεκαετίες, η ικανότητα σχηματισμού και μελέτης υλικών στην νανο- (1-100nm) και μικρο- κλίμακα (100nm-100μm) αυξήθηκε ραγδαία ενώ η ακρίβεια των μεθόδων οδήγησε σε εκπληκτική πρόοδο σε μια σειρά από πεδία συμπεριλαμβανομένης και της ιατρικής. Θεραπευτικές μέθοδοι οι οποίες προηγουμένως συμπεριλάμβαναν μικρομοριακά φάρμακα ή βιολογικά μακρομοριακά, τώρα περιλαμβάνουν νανο/μικροσωματίδια (NPs) (Εικόνα 5.4) με τη θεραπευτική δράση τους να οφείλεται στην μοριακή διάταξη σε νανοκλίμακα. Αυτές οι θεραπευτικές προσεγγίσεις συχνά αποτελούνται από λιπίδια, πολυμερή ή/και επιφανειοδραστικές ουσίες σχηματίζοντας μια ποικιλία NPs που έχουν πολλά πλεονεκτήματα. Επιπλέον τα NPs έχουν μοναδικές φυσικοχημικές ιδιότητες που οδηγούν σε ένα πιο επιθυμητό φαρμακοκινητικό προφίλ, αυξημένη διαλυτότητα του φαρμάκου, βελτιωμένη σταθερότητα των φαρμάκων, καλύτερη κυτταρική διακίνηση, καθώς έλεγχος του χρόνου και του χώρου της θεραπευτικής απελευθέρωσης και συνεπώς μειωμένη τοξικότητα.[8]–[10]

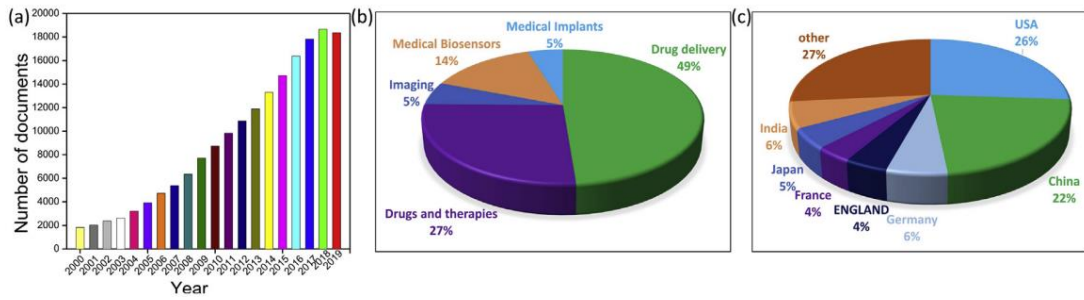
Η ιστορική πρόοδος στη νανοϊατρική μπορεί να χωριστεί σε τρία βασικά στάδια. Το πρώτο στάδιο περιλαμβάνει 30 χρόνια έρευνας που καλύπτει την ανακάλυψη της δομής των λιποσωμάτων το 1964 για την έγκριση το 1995 του πρώτου νανοθεραπευτικού—λιποσωμικού φαρμάκου doxorubicin (εμπορικές ονομασίες: Doxil, Adriamycin, Lipodox)—από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA). Το πρώτο εγκεκριμένο συνθετικό NP από τον FDA ήταν το Lupron Depot® για τον καλύτερο έλεγχο της απελευθέρωσης της λευπρορελίνης το οποίο αποτελούνταν από σφαιρικά σωματίδια κατασκευασμένα από πολυ(γαλακτικό-γλυκολικό οξύ) (PLGA). PLGA είναι ένα υδρόφοβο πολυεστερικό πολυμερές το οποίο υδρολυτικά αποικοδομείται σε γαλακτικό οξύ και γλυκολικό οξύ, απελευθερώνοντας ενθυλακωμένο φορτίο μέσω υποβάθμισης και διάχυσης. Το Lupron Depot® επιτρέπει την ενδομυϊκή χορήγηση σε μηνιαία ή μεγαλύτερα διαστήματα σε αντίθεση με την καθημερινή χορήγηση που απαιτείται με το συμβατικό σκεύασμα. Αυτή η ιδέα των σκευασμάτων μικροσωματιδίων PLGA παρατεταμένης αποδέσμευσης έχει οδηγήσει σε πάνω από δέκα εγκεκριμένα από το FDA σκευάσματα.

Το δεύτερο στάδιο (1995-2007) περιλάμβανε την κλινική επικύρωση και την εμπορευματοποίηση ορισμένων νανοβιούλικών. Το τρίτο στάδιο (2008 -μέχρι σήμερα) έχει παρατηρηθεί ταχεία πρόοδος στην επέκταση των νανοθεραβιοϋλικών νέου τύπου, ιδιαίτερα των έξυπνων νανοθεραπευτικών. Αν και τα νανοσκευάσματα συχνά παρουσιάζουν καλύτερα κλινικά αποτελέσματα από τα συμβατικά μικρά μοριακά φάρμακα, τόσο τα νανο-θεραπευτικά όσο και τα συμβατικά φάρμακα συχνά αποτυγχάνουν να ισορροπήσουν την εξάλειψη του παθολογικού ιστού και την προστασία του υγιούς ιστού. [8], [11], [12]



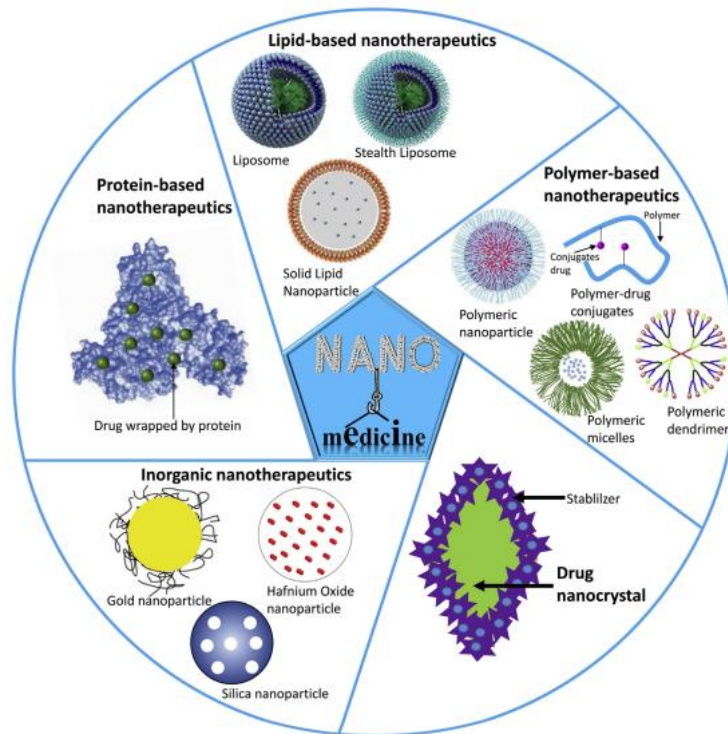
Εικόνα 5: Χρονοδιάγραμμα έγκρισης θεραπευτικών νανο- και μικροσωματιδίων (NPs) από την FDA. Σημαντικοί σταθμοί για τις εφαρμογές της νανοτεχνολογίας στον τομέα της Ιατρικής. [8]

Μια βιβλιομετρική ανάλυση του Web of Science Core Collection δείχνει ότι η νανοϊατρική έρευνα έχει αυξηθεί ραγδαία τα τελευταία χρόνια, ενώ παρατηρείται ο αριθμός των ετήσιων δημοσιεύσεων να έχει δεκαπλασιαστεί από το 2000 έως το 2019 (Εικόνα 5.5α). Η χορήγηση φαρμάκων είναι ένα από τους μεγαλύτερους ερευνητικούς τομείς στην νανοϊατρική, που αντιπροσωπεύουν το 49 % των δημοσιεύσεων τα τελευταία 20 χρόνια και η έρευνα για τη χορήγηση φαρμάκων και τα φάρμακα/θεραπείες αντιπροσωπεύουν το 76 % της συνολικής νανοϊατρικής έρευνας (Εικόνα 5.5β). Οι Ηνωμένες Πολιτείες εξακολουθούν να είναι ο κυρίαρχος ηγέτης στη νανοϊατρική έρευνα, με το 26 % όλων των επιστημονικών δημοσιεύσεων σε αυτόν τον τομέα να υπερβαίνει τα τελευταία 20 χρόνια, ενώ η Κίνα ακολουθεί στενά με 22 % (Εικόνα 5.5γ). [12]



Εικόνα 5.5: Βιβλιογραφικές αναφορές. (α) Ετήσιος αριθμός νανοϊατρικών δημοσιεύσεων παγκοσμίως. (β) Διανομή δημοσιεύσεων μεταξύ των τομέων της νανοϊατρικής. (γ) Γεωγραφική κατανομή νανοϊατρικών δημοσιεύσεων.

Ένας μεγάλος αριθμός από τα νανοθεραπευτικά έχουν λάβει έγκριση για εμπορευματοποίηση ή βρίσκονται σε κλινικές δοκιμές. Τα νανοθεραπευτικά ταξινομούνται με βάση τα νανοϋλικά που χρησιμοποιούνται στις συνθέσεις τους, τα οποία περιλαμβάνουν λιποσώματα, πολυμερή νανοϋλικά, νανοσωματίδια με βάση πρωτεΐνες (NPs), νανοκρυστάλλους και ανόργανα NPs (Εικόνα 5.6).[12]



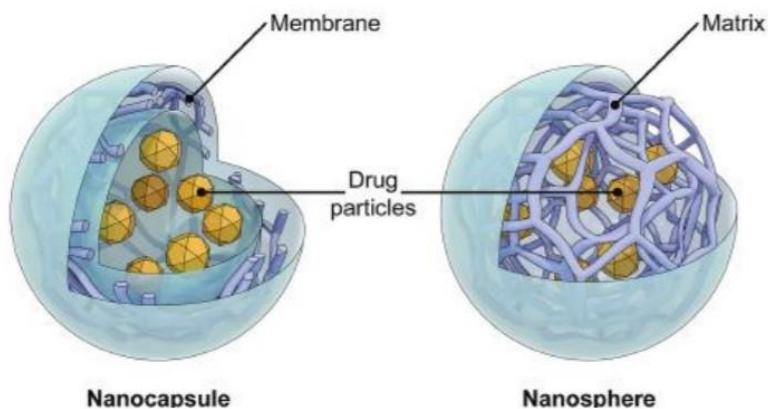
Εικόνα 5.6: Ενδεικτικά είδη νανοθεραπευτικών υλικών που χρησιμοποιούνται σε κλινικές δοκιμές.

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5.2 ΠΟΛΥΜΕΡΙΚΑ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ (Polymeric NPs)

Εισαγωγή

Τα πολυμερικά νανοσωματίδια είναι σωματίδια με διάμετρο μικρότερη του 1 μm , όπου ταξινομούνται σε νανοκάψουλες, νανοσφαίρες και πολυμερικά μικκύλια ανάλογα με τη δομή που φέρουν. Παρασκευάζονται από φυσικά ή συνθετικά πολυμερή, κυρίως από βιοαποικοδομήσιμα και βιοσυμβατά πολυμερή όπως για παράδειγμα το πολύ(γαλακτικό οξύ, (PLA), το συμπολυμερές πολύ(γαλακτικό-γλυκολικό) οξύ, (PLGA), η πολυ(καπρολακτόνη), (PCL), η χιτοζάνη κ.α. Οι νανοσφαίρες είναι νανοσωματίδια μήτρας όπου ολόκληρη η μάζα τους είναι ομοιογενής. Σε αντίθεση, οι νανοκάψουλες διαθέτουν υγρό πυρήνα που οδηγεί σε φουσαλιδώδη δομή (Εικόνα 5.7). Αντίστοιχα, τα πολυμερικά μικκύλια είναι αμφίφυλα συμπολυμερή, όπου διατάσσονται αυθόρμητα μέσα σε υδατικό περιβάλλον στη δομή μικκυλίου. Τα πολυμερικά νανοσωματίδια είναι ικανά να εγκλείσουν είτε υδρόφοβα μικρά μόρια είτε μόρια με χαμηλή διαλυτότητα, αλλά και μακρομόρια όπως τις πρωτεΐνες ή τα νουκλεϊκά οξέα, ενώ ακόμη και υδρόφιλα μόρια για τη στοχευμένη μεταφορά του φαρμάκου. Η δραστική ουσία μπορεί να εγκλωβιστεί, και στη συνέχεια να διασπαρθεί, να διαλυθεί και να προσροφηθεί στα νανοσωματίδια ανάλογα με τη μέθοδο εγκλεισμού που θα επιλεγεί. Πιο συγκεκριμένα, στις νανοκάψουλες το βιοδραστικό μόριο μπορεί να εγκλειστεί στην κοιλότητα του υγρού πυρήνα ενώ στις νανοσφαίρες μπορεί να εγκλωβιστεί ομοιόμορφα στη μήτρα του πολυμερούς.



Εικόνα 5.7: Σύγκριση δομής νανοκάψουλας και νανοσφαίρας.

Ένα από τα κύρια πλεονεκτήματα των πολυμερικών νανοσωματιδίων είναι ότι επιτρέπουν την αργή και ελεγχόμενη απελευθέρωση του φαρμακευτικού μορίου στο βιολογικό στόχο, με αποτέλεσμα η διεργασία να ελέγχεται χωρικά και χρονικά. Συγκεκριμένα, η αρχιτεκτονική δομή τους, τους δίνει την ικανότητα να μεταφέρουν αποτελεσματικά το φαρμακευτικό μόριο στα κύτταρα στόχους, ενώ τα ίδια μπορούν να ενισχυθούν με ειδικούς προσδέτες, ώστε να μπορεί να ενισχύσει την αυξημένη πρόσληψη της ουσίας.

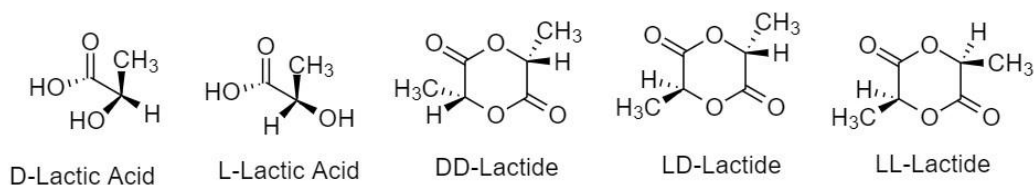
Στις νανοσφαίρες, η αποδέσμευση μπορεί να συμβεί είτε λόγω αποικοδόμησης είτε λόγω υδρόλυσης του ίδιου του πολυμερούς. Το προφίλ απελευθέρωσης συνήθως χαρακτηρίζεται από μία έντονη τάση αποδέσμευσης, η οποία στη συνέχεια ακολουθείται από μία διαρκή και ελεγχόμενη ροή του φαρμάκου σε χρονικό διάστημα μερικών ωρών ή ημερών. Αυτό το γεγονός επηρεάζεται σημαντικά συνήθως από τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ φαρμάκου-πολυμερούς, στη επιφάνεια του πολυμερούς. Αντίστοιχα, το προφίλ απελευθέρωσης στις νανοκάψουλες εξαρτάται κυρίως από την ικανότητα διάχυσης του φαρμακευτικού μορίου διαμέσου του στρώματος του πολυμερούς.

Πολύ(γαλακτικό οξύ) (PLA)

Το πολυ(γαλακτικό οξύ) (PLA) είναι ένα βιοδιασπώμενο και βιοδραστικό πολυμερές που ανήκει στην οικογένεια των αλειφατικών πολυεστέρων. Αποτελείται κυρίως από α-υδροξυοξέα όπως το πολυ(γλυκολικό οξύ) (PGA), τα οποία θεωρούνται βιοδιασπώμενα και βιοσυμβατά υλικά. Μπορεί να παρασκευαστεί από ανανεώσιμες πηγές ενέργειας όπως το ζαχαροκάλαμο, το καλαμπόκι, και άλλα, αποτελεί φιλική προς το περιβάλλον εναλλακτική χρήση σε σύγκριση με τα πετροχημικά πολυμερή και είναι ανακυκλώσιμο. Μορφολογικά είναι διαφανές σε άμορφη κατάσταση, ενώ με την αύξηση της κρυσταλλικότητας μειώνεται η διαφάνεια του αποκτώντας μια υπόλευκη απόχρωση.

Δομή

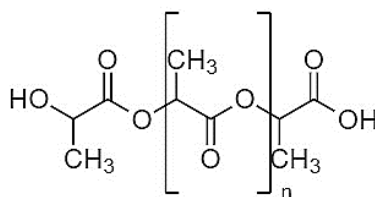
Υπάρχουν δύο ισομερή του γαλακτικού οξέος, το L- και D- γαλακτικό οξύ, λόγω της ύπαρξης στερεογονικού κέντρου του άνθρακα. Καθώς εμφανίζεται εναντιομέρεια στα μονομερή του γαλακτικού οξέος, μπορούν να περιστρέφουν το επίπεδο πόλωσης του φωτός σε αντίθετες κατευθύνσεις. Έτσι, όταν παράγεται το λακτίδιο από το οπτικά ενεργό γαλακτικό οξύ, υπάρχουν τρία διαφορετικά στερεοδομικά ανάλογα: Το LL-λακτίδιο, το οποίο προκύπτει από L-γαλακτικό οξύ, το DD-λακτίδιο που προέρχεται από D-γαλακτικό οξύ και το LD-λακτίδιο (μέσο-λακτίδιο), το οποίο σχηματίζεται από το συνδυασμό μίας L- και μίας D-λακτιδικής μονάδας (Σχήμα 5.1). Οι ιδιότητες και τα χαρακτηριστικά του παραγόμενου πολυμερούς, εξαρτώνται από την αναλογία των στερεοδομών, που αναφέρθηκαν παραπάνω (Σχήμα 5.1).



Σχήμα 5.1: Στερεοχημεία του γαλακτικού οξέος και των λακτιδίων.[13]

Τα πολυμερή του γαλακτικού οξέος, τα οποία προέρχονται είτε από το καθαρό L- είτε από το καθαρό D- γαλακτικό οξύ ονομάζονται L-PLA και D-PLA αντίστοιχα. Ο πολυμερισμός του μέσο-λακτιδίου (L, D-λακτιδίου) σχηματίζει το γαλακτικό DL-PLA το οποίο είναι άμορφο. Τα εμπορικά διαθέσιμα πολυμερή του γαλακτικού οξέος (PLA) είναι συνήθως με υψηλότερη συγκέντρωση σε L-ισομερές διότι τα βακτήρια κατά τη ζύμωση παράγουν κυρίως το L-γαλακτικό οξύ.[13], [14]

Η δομή του πολυ(γαλακτικού οξέος) PLA, το οποίο είναι ένα χειρόμορφο πολυμερές, παρουσιάζεται στο Σχήμα 5.2.



PLA

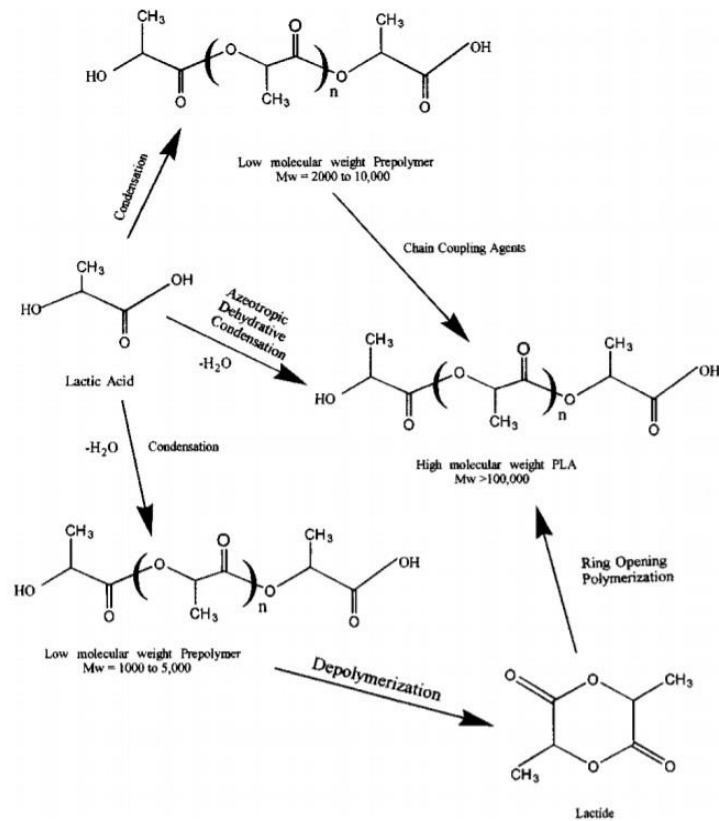
Σχήμα 5.2: Δομή PLA

Σύνθεση

Για την σύνθεση του πολύ(γαλακτικού) οξέος (PLA) σε υψηλά μοριακά βάρη ($MW > 100,000$) πραγματοποιείται με δύο κύριες μεθόδους.

A) Με τη μέθοδο της διάνοιξης του δακτυλίου του λακτιδίου. Με τη μέθοδο αυτή, το γαλακτικό οξύ μετατρέπεται στο αφυδατωμένο κυκλικό διμερές και μέσω συμπύκνωσης πολυμερισμό ακολουθεί ο σχηματισμός του λακτιδίου με διάνοιξη δακτυλίου, με τη χρήση μεταλλικών καταλυτών. Αυτή η διεργασία μπορεί να διεξαχθεί με πολυμερισμό διαλύματος, αιωρήματος ή τήγματος. Για τον μηχανισμό του πολυμερισμού μπορεί να είναι ιοντικός, συντονισμού ή ελευθέρων ριζών, ανάλογα με τον καταλύτη που θα χρησιμοποιηθεί.

B) Με τη μέθοδο της άμεσης πολυσυμπύκνωσης του γαλακτικού οξέος. Αυτή η μέθοδος περιλαμβάνει δύο βασικά στάδια. Στο πρώτο στάδιο, σχηματίζεται το oligομερές μέσω της αντίδρασης εστεροποίησης. Στο δεύτερο στάδιο, ακολουθεί η πολυσυμπύκνωση παρουσία καταλύτη, σε χαμηλές πιέσεις και υψηλές θερμοκρασίες. Καταλύτες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν με τη μέθοδο αυτή είναι ευρέως ενώσεις με κασσίτερο (IV) οι οποίες εμφανίζουν χαμηλή τοξικότητα, αλλά και τιτάνιο (IV) όπως η ένωση τετραβουτοξειδίου του τιτανίου ($Ti(BuO)_4$).



Σχήμα 5.3: Μέθοδος σύνθεσης πολυ(γαλακτικού) οξέος με διάνοιξη δακτυλίου

Η μέθοδος που εφαρμόζεται κυρίως εμπορικά είναι η σύνθεση με διάνοιξη δακτυλίου (Σχήμα 5.3) αλλά απαιτεί σχετικά μεγάλο κόστος λόγω της δυσκολίας στη κατεργασία και καθαρισμό του λακτιδίου, ενώ η χαμηλή καθαρότητα υποβαθμίζει τις μηχανικές ιδιότητες του πολυλακτιδίου αλλά και την ποιότητα του τελικού πολυμερούς.

Από την άλλη πλευρά, η μέθοδο της πολυσυμπύκνωσης είναι λιγότερο δαπανηρή διεργασία, όμως και σε αυτή την μέθοδο παρουσιάζονται ορισμένα μειονεκτήματα. Πιο συγκεκριμένα, λόγω των υψηλών θερμοκρασιών αλλά και της απότομης αύξησης του ιξώδους, τα τελικά προϊόντα που σχηματίζονται έχουν μειωμένα μοριακά βάρη. Για την βελτίωση της μεθόδου και την παραλαβή υψηλότερου μοριακού βάρους L-PLA αναπτύχθηκε μια επιπλέον νέα διεργασία, που αναφέρεται ως πολυσυμπύκνωση τήγματος, η οποία πραγματοποιείται με σχετικά χαμηλό κόστος. Σημειώνεται ότι οι ιδιότητες του πολυ(γαλακτικού οξέος), PLA και των συμπολυμερών του, τα οποία συντίθενται με τη μέθοδο της πολυσυμπύκνωσης, δεν διαφέρουν ιδιαίτερα από εκείνες των πολυμερών, τα οποία λαμβάνονται μέσω πολυμερισμού του λακτιδίου.

Ιδιότητες και Χαρακτηριστικά πολύ(γαλακτικού) οξέος, PLA

Ο βαθμός κρυσταλλικότητας καθορίζεται από διάφορους παράγοντες, όπως είναι το μοριακό βάρος, η θερμοκρασία και ο χρόνος ανόπτησης. Ανάλογα με την κρυσταλλική δομή διαφέρουν οι μηχανικές ιδιότητες του υλικού και ο ρυθμός αποικοδόμησης. Γενικότερα, παρατηρείται μεγαλύτερη σταθεροποίηση των μηχανικών και των θερμικών ιδιοτήτων του L-PLA για μοριακά βάρη μεγαλύτερα των 70,000. Συνοπτικά, οι κυριότερες ιδιότητες του πολύ(γαλακτικού) οξέος L-PLA και DL-PLA παρουσιάζονται παρακάτω (Πίνακας 5.1).

Πίνακας 5.1: Σύγκριση φυσικοχημικών ιδιοτήτων των L-PLA και DL- PLA.

ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ	L-PLA	D, L-PLA
Σημείο υαλώδους μετάπτωσης (T_g)	60-65 °C	50-60 °C
Σημείο τήξεως (T_m)	184 °C	άμορφο
Ειδικό βάρος	1.24	1.25
Αντοχή σε εφελκυσμό (MPa)	55-82	28-41
Επιμήκυνση (%)	5-10	3-10
Μέτρο ελαστικότητας (MPa)	2758-4137	1379-2758
Εσωτερικό ιξώδες (dl/g)	0.90-1.2	0.55-0.75

Η διαλυτότητα του PLA εξαρτάται σημαντικά από την μοριακή μάζα, τον βαθμό κρυσταλλικότητας, αλλά και από την παρουσία διαφορετικών μονομερών μέσα στο πολυμερές. Για το L-εναντιομερές του πολύ(γαλακτικού) οξέος, L-PLA, καλοί διαλύτες μπορούν να θεωρηθούν οι χλωριωμένοι ή φθοριωμένοι οργανικοί διαλύτες, το διοξάνιο και το φουράνιο. Αντιθέτως, για το άμορφο DL-PLA, καλή διαλυτότητα εμφανίζει σε οργανικούς διαλύτες, όπως η ακετόνη, το διμεθυλο σουλφοξείδιο, η πυριδίνη, το τετραϋδροφουράνιο και ο οξικός αιθυλεστέρας.

Ως προς τις θερμικές τους ιδιότητες, το L-PLA εναντιομερές είναι ένα ημικρυσταλλικό, θερμοπλαστικό πολυμερές με κρυσταλλικότητα περίπου στο 37%, θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης είναι $T_g=60-65$ °C και η θερμοκρασία τήξης είναι $T_m=173-184$ °C, η οποία επιτρέπει και την εύκολη επεξεργασία του. Μπορεί να μορφοποιηθεί εύκολα με εκβολή και έγχυση σε καλούπι και να μορφοποιηθεί, σε ίνες, φιλμ, μπουκάλια.

Η αποικοδόμηση του μπορεί να πραγματοποιηθεί με θερμική επεξεργασία πάνω από 200 °C, με υδρόλυση του εστερικού δεσμού προς γαλακτικό οξύ, ενώ υπόκειται σε οξειδωτική διάσπαση της κύριας αλυσίδας αλλά και σε αντιδράσεις διεστεροποίησης. Ο ρυθμός αποικοδόμησης του πολύ(γαλακτικού) οξέος, PLA, είναι σχετικά χαμηλός κάτι που εξαρτάται και από την κρυσταλλικότητα, το ρυθμό διάχυσης του νερού μέσα στο πολυμερές, το μοριακό βάρος, τη μορφολογία, και την αναλογία του σε στερεοϊσομερή.

Ως προς τις μηχανικές του ιδιότητες, διαθέτει ένα εύρος ως προς την ελαστικότητα, από εύκαμπτα έως και μεγάλης ελαστικότητας πολυμερή, αλλά και σκληρά και ανθεκτικά πολυμερή. Η ελαστικότητα του πολυμερούς μπορεί να ελεγχθεί στερεοχημικά και να μεταβληθεί ανάλογα με την αναλογία των L- και D- ισομερών που θα επιλεγεί κατά τον πολυμερισμό, ώστε να πραγματοποιηθεί σύνθεση υψηλού μοριακού βάρους, σε άμορφα ή κρυσταλλικά πολυμερή.[13]–[17]

Εφαρμογές του πολύ(γαλακτικού) οξέος, PLA, στην φωτοδυναμική θεραπεία

Η επιλογή του πολύ(γαλακτικού) οξέος, PLA, ως μια πολυμερική μήτρα σε συστήματα μεταφοράς φωτοευαίσθητων ουσιών είναι μία καινοτόμα προσέγγιση, η οποία μπορεί να συμβάλλει στη βελτιστοποίηση των μεθοδολογιών και των εφαρμογών της φωτοδυναμικής θεραπείας (PDT), της θεραπείας του καρκίνου αλλά και άλλων χρόνιων νοσημάτων με την χρήση του φωτός.

Το πολύ(γαλακτικό) οξύ, PLA, είναι σχετικά υδρόφοβο μόριο, έχοντας ως αποτέλεσμα τη χαμηλή του συγγένεια με τα κύτταρα και πιθανή πρόκληση φλεγμονώδους αντίδρασης σε ζωντανό οργανισμό. Επιπλέον, και συγκεκριμένα στην περίπτωση που δεν υποστεί επιφανειακή τροποποίηση, το PLA είναι βιοσυμβατό και χημικά αδρανές ώστε να ελεγχθεί ταυτόχρονα και ο ρυθμός αποικοδόμησης.

Η υπερικίνη είναι μια φυσική ένωση προερχόμενη από το φυτό *Hypericum perforatum* γνωστό και ως βάλσαμο και ανήκει στην οικογένεια των ναφθοδιανθρονών. Είναι μία φυσική ουσία με ικανότητα να λειτουργεί ως φωτοευαίσθητοποιητής, έχοντας και αντικαρκινική δράση. Παρόλα αυτά, ένα μειονέκτημά της είναι η υδροφοβικότητα της ώστε να γίνει αποτελεσματική η χορήγησή της στα κύτταρα στόχους. Για να ξεπεραστεί το εμπόδιο αυτό, έχει πραγματοποιηθεί ο εγκλεισμός της υπερικίνης σε νανοσωματίδια πολύ(γαλακτικού) οξέος, PLA, τα οποία παρουσίασαν μέγεθος των σωματιδίων μεταξύ 200-300 nm, ενώ το ποσοστό φόρτωσης φαρμάκου κυμαίνεται μεταξύ 0.03 με 0.15% (w/w). Παράλληλα, η *in vitro* μελέτη της ικανότητας της ένωσης να λειτουργεί ως φωτοευαίσθητοποιητής σε καρκινικές σειρές κυττάρων των ωοθηκών NuTu-19 έδειξε ότι τα νανοσωματίδια εμφάνισαν υψηλότερη δράση σε σύγκριση με την καθαρή ένωση. Για την μελέτη της φωτοδιασπαστικής ικανότητας, κύριος παράγοντας αποτελεί η κατάλληλη συγκέντρωση της βιοδραστικής ουσίας η οποία εγκλείεται.

Ακόμη έχουν πραγματοποιηθεί προκλινικές μελέτες, για την διάγνωση και τη θεραπεία της ραγοειδίτιδας, με χοριοειδική νεοαγγείωση, μιας αρκετά σπάνιας φλεγμονής που σχετίζεται με τον εκφυλισμό της ωχράς κηλίδας. Πιο συγκεκριμένα, έχει πραγματοποιηθεί ο εγκλεισμός πορφυρινών σε νανοσωματίδια PLA ως ενώσεις που μπορούν να θεωρηθούν μόρια - φωτοευαίσθητοποιητές. Από την σειρά που έχει μελετηθεί η ουσία με τα πιο ενθαρρυντικά αποτελέσματα ήταν η meso-τετραφαινυλοπορφυρίνη (TPP). με χρήση χωριοαλλαντοϊκής μεμβράνης εμβρύου κοτόπουλου (chick chorioallantoic membrane) ως *in vivo* μελέτη, μελετήθηκε η επίδραση της λιποφιλικότητας της ουσίας αυτής στην απόδοση εγκλεισμού αλλά και η ικανότητα φωτοθρόμβωσης και οι επιπτώσεις εξαγγείωσης.[18], [19]

5.3 ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΕΣ

Εισαγωγή

Οι κυκλοδεξτρίνες (CDs) ανήκουν στην οικογένεια των κυκλικών, υδατοδιαλυτών ολιγοσακχαριτών, οι οποίες αποτελούνται από μονάδες D-γλυκόζης συνδεδεμένες μεταξύ τους με α-D-(1,4)-γλυκοζυτικούς δεσμούς. Μπορούν να παραχθούν ύστερα από την κατεργασία του αμύλου μέσω του ενζύμου γλυκοζυλοτρανσφεράση της κυκλοδεξτρίνης (CGTase), το οποίο προέρχεται από μικροοργανισμούς.

Πιο συγκεκριμένα, η τρισδιάστατη δομή των κυκλοδεξτρινών είναι ένας κοίλος κόλουρος κώνος, όπου οι κυκλοδεξτρίνες παρουσιάζουν μια υδρόφιλη εξωτερική επιφάνεια, η οποία μπορεί να αλληλεπιδράσει με μόρια νερού και μια μη πολική κοιλότητα εσωτερικά. Αυτή η δομή έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός ετερογενούς περιβάλλοντος, που τις καθιστά ιδιαίτερα ελκυστικές ως επιλογές για τον εγκλεισμό μορίων, καθώς μπορούν να σχηματίσουν σύμπλοκα εγκλεισμού με μια πληθώρα υδρόφοβων ουσιών.

Εμφανίζουν μια πληθώρα εφαρμογών λόγω των πλεονεκτημάτων που έχουν όπως της προέλευσης τους από φυσικές πηγές, του σχετικά χαμηλού κόστους της διεργασίας, τις διαφορετικές τροποποιήσεις που μπορούν να υποστούν και τη βιοαποικοδομησιμότητα τους. Ακόμη, μπορούν να χαρακτηριστούν ως μη τοξικές ουσίες εφόσον δεν μπορούν να απορροφηθούν από τον γαστρεντερικό σωλήνα, ενώ μπορούν να μεταβολιστούν από την μικροχλωρίδα του εντέρου.

Ιστορικά, ο γάλλος επιστήμονας Antoine Villiers στα τέλη του 19^{ου} αιώνα, ανέφερε για πρώτη φορά τις κυκλοδεξτρίνες, ο οποίος απομόνωσε μια κρυσταλλική δομή από καλλιέργεια *bacillus amylobacter* παρουσία αμύλου, την οποία ονόμασε “cellulosine”. Αργότερα, ο F. Schardinger απομόνωσε έναν καινούργιο μικροοργανισμό, τον *Bacillus macerans*, ικανό να παράγει ακετόνη και αιθυλική αλκοόλη από φυτική ύλη που περιέχει ζάχαρη και αιθυλική αλκοόλη.

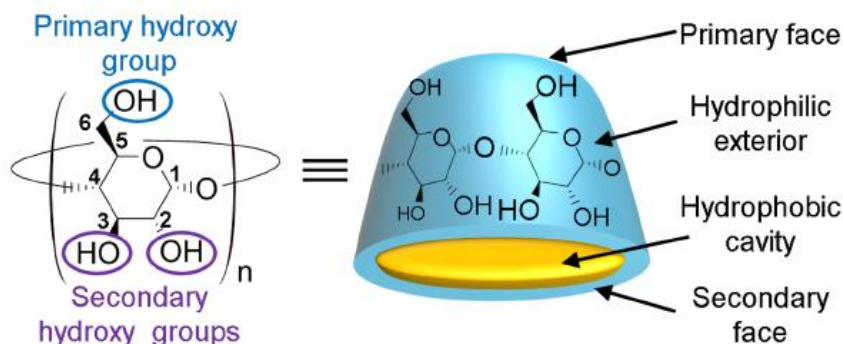
Αργότερα παρατηρήθηκε ότι ο μικροοργανισμός αυτός έχει την δυνατότητα να παράγει σε μεγάλες ποσότητες γύρω στο 25-30% δύο κρυσταλλικές ουσίες από το άμυλο. Ο F. Schardinger ονόμασε τα δύο κρυσταλλικά παράγωγα ως “κρυσταλλική δεξτρίνη α” και ως “κρυσταλλική δεξτρίνη β”. Το 1935, ο επιστήμονας Freudenberg απομόνωσε και μελέτησε μια παρόμοια ουσία, όπου ονομάστηκε “γ-δεξτρίνη”. Οι κυκλικές δομές των τριών αναλόγων δεξτρινών προσδιορίστηκαν με κρυσταλλογραφίας ακτινών X και βρέθηκε ότι μπορούν να σχηματίσουν σύμπλοκα εγκλεισμού.

Στην Ιαπωνία, το 1976, κυκλοφόρησε το πρώτο εμπορικά διαθέσιμο σκεύασμα κυκλοδεξτρίνης, που περιείχε εγκλεισμένα μόρια προσταλαγδίνης.

Δομή κυκλοδεξτρινών

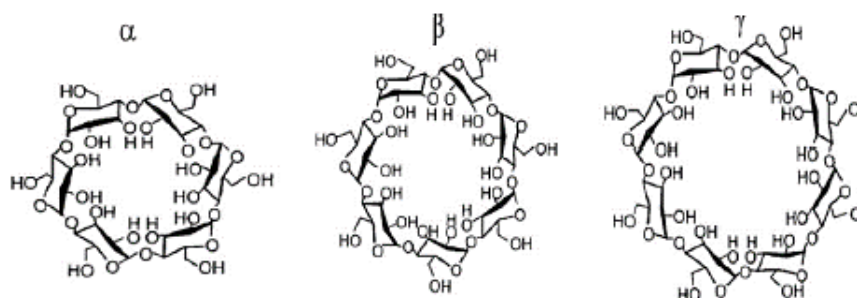
Οι κυκλοδεξτρίνες ανήκουν στην οικογένεια των κυκλικών, υδατοδιαλυτών ολιγοσακχαριτών (Εικόνα 5.8) οι οποίες παράγονται από την αποικοδόμηση και την κυκλοποίηση του αμύλου, μέσω της δράσης του ενζύμου γλυκοζυλοτρανσφεράση της κυκλοδεξτρίνης (CGTase). Οι κυκλοδεξτρίνες αποτελούνται από μονάδες D-γλυκόζης που συνδέονται με α-D-(1,4)-γλυκοζυτικούς δεσμούς, δημιουργώντας μια τρισδιάστατη δομή κοίλου κόλουρου κώνου. Χαρακτηρίζονται ως προς το ετερογενές τους περιβάλλον, καθώς αποτελούνται εσωτερικά από μια πολική, υδρόφοβη κοιλότητα και εξωτερικά

από μια μη πολική, υδρόφοβη επιφάνεια. Επομένως, οι κυκλοδεξτρίνες είναι υδατοδιαλυτές ενώσεις, αλλά είναι ικανές στο εσωτερικό τους να εγκλείσουν υδρόφοβα μόρια σχηματίζοντας σύμπλοκα εγκλεισμού. Αυτή η ιδιότητα τις καθιστά προνομιούχες δομές και ιδιαίτερα ελκυστικές επιλογές για διάφορες εφαρμογές.



Εικόνα 5.8: Δομή κυκλοδεξτρίνης [20]

Οι πιο κοινές χημικές δομές κυκλοδεξτρινών (CDs) αποτελούνται από έξι, επτά και οχτώ μονάδες D-γλυκόζης συνδεδεμένες με α -D-(1,4)-γλυκοζυτικούς δεσμούς και είναι αντίστοιχα οι α -CDs, β -CDs και γ -CDs (Σχήμα 5.4). Σε καθεμία από τις τρεις κατηγορίες, το ύψος της κοιλότητας είναι το ίδιο, ανεξάρτητο από το πλήθος των μορίων γλυκόζης, ενώ η διάμετρος τους είναι διαφορετική και καθορίζεται από τις μονάδες γλυκόζης που φέρουν. Βασικά χαρακτηριστικά των τριών κύριων κατηγοριών κυκλοδεξτρινών παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.2.[21]–[23]



Σχήμα 5.4: Οι πιο κοινές κυκλοδεξτρίνες: α -CD, β -CD, γ -CD [23]

Πίνακας 5.2: Βασικά χαρακτηριστικά α -CD, β -CD, γ -CD

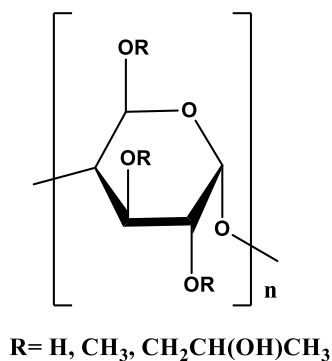
Χαρακτηριστικά	α -CD	β -CD	γ -CD
Μονάδες γλυκόζης	6	7	8
Μοριακό βάρος	972	1135	1297
Διάμετρος κοιλότητας (Å)	4.7-5.3	6.0-6.5	7.5-8.3
Ύψος κοιλότητας (Å)	7.9	7.9	7.9
Εξωτερική διάμετρος (Å)	14.6	15.4	17.5

Όγκος της κοιλότητας (Å ³)	174	262	427
Διαλυτότητα στο νερό στους 25°C (g/100 mL)	14.5	1.85	23.2

Από τις παραπάνω τρεις κατηγορίες φυσικών κυκλοδεξτρινών, η β-κυκλοδεξτρίνη χρησιμοποιείται περισσότερο καθώς έχει πλεονεκτήματα έναντι των άλλων όπως το χαμηλότερο κόστος παραγωγής αλλά επιπλέον χρησιμοποιείται ευρέως στα αρχικά στάδια φαρμακευτικών εφαρμογών λόγω του μεγέθους της κοιλότητάς της, που την καθιστά καταλληλότερη έναντι των υπόλοιπων κυκλοδεξτρινών για τον εγκλεισμό διαφόρων φαρμακευτικών μορίων. Ταυτόχρονα, όμως παρατηρείται ότι μεγαλύτερη διαλυτότητα εμφανίζουν οι α- και γ-κυκλοδεξτρίνες σε σχέση με την διαλυτότητα της β-κυκλοδεξτρίνης (Πίνακας 5.2). Η αλλαγή στην διαλυτότητα συμβαίνει καθώς τα υδροξύλια προσανατολίζονται με κατάλληλο τρόπο, τα οποία επιτρέπουν τον σχηματισμό διαμοριακών δεσμών υδρογόνου.

Παρόλα αυτά, η φυσική β-CD αποτελεί η πιο συχνή επιλογή για την δημιουργία χημικά τροποποιημένων κυκλοδεξτρινών. Συνήθως, οι τροποποιημένες κυκλοδεξτρίνες παράγονται με αντικατάσταση των πρωτοταγών ή δευτεροταγών υδροξυλίων. Με την αντικατάσταση των υδροξυλίων, οι τροποποιημένες β-κυκλοδεξτρίνες σπάνε τους διαμοριακούς δεσμούς υδρογόνου αυξάνοντας έτσι την διαλυτότητα.

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή χρησιμοποιήθηκαν, εκτός από την β-CD, δύο τροποποιημένες κυκλοδεξτρίνες, η μεθυλο-β-κυκλοδεξτρίνη (Me-β-CD) και η 2-υδροξυπροπυλο-β-κυκλοδεξτρίνη (HP-β-CD) (Σχήμα 5.5).[23]–[27]



Σχήμα 5.5: Δομή β-κυκλοδεξτρίνης (R=H), μέθυλο-β-κυκλοδεξτρίνης(R=CH₃) και 2-υδροξυπροπυλο-β-κυκλοδεξτρίνης (R=CH₂CH(OH)CH₃)[23]

Παραγωγή κυκλοδεξτρινών

Οι κυκλοδεξτρίνες παράγονται κυρίως από την ενζυμική αποικοδόμηση του αμύλου μέσω του ενζύμου γλυκοζυλοτρανσφεράση της κυκλοδεξτρίνης (CGTase). Η πρώτη ενζυμική διεργασία παραγωγής κυκλοδεξτρινών από άμυλο αφορούσε στέλεχος του μικροοργανισμού *Bacillus macerans*, που χρησιμοποίησε το ένζυμο CGTase. Η CGTase

είναι εξωκυτταρική και έχει εντοπιστεί και σε διάφορα άλλα βακτήρια εκτός από το γένος *Bacillus*, όπως για παράδειγμα τα βακτήρια *Paenibacillus*, *Klebsiella*, *Actinomyces* και *Thermoanaerobacterium*.

Ως προς τη βιομηχανική κλίμακα ακολουθούνται δύο κύριοι τρόποι παραγωγής κυκλοδεξτρινών. Ο πιο διαδεδομένος είναι η παραγωγή με τη χρήση διαλυτών, όπου ένας οργανικός παράγοντας συμπλοκοποίησης καθιζάνει επιλεκτικά τον επιθυμητό τύπο της κυκλοδεξτρίνης και κατευθύνει την αντίδραση του ενζύμου για την παραγωγή ακριβώς αυτού του τύπου.

Πιο συγκεκριμένα τα βήματα που ακολουθούνται είναι τα εξής: σε πρώτο στάδιο, πραγματοποιείται σε υψηλή θερμοκρασία η ρευστοποίηση του αμύλου. Ακολουθεί η ψύξη ως την θερμοκρασία δράσης του ενζύμου CGTase και έπειτα η προσθήκη των οργανικών παραγόντων συμπλοκοποίησης. Το ένζυμο CGTase ξεκινάει την διαδικασία σύνθεσης των κυκλοδεξτρινών, από τις οποίες ο επιθυμητός τύπος θα δημιουργήσει ένα σύμπλεγμα μαζί με τους παράγοντες συμπλοκοποίησης και θα καθιζάνει. Αυτό το σύμπλεγμα που δημιουργείται, ύστερα απομακρύνεται από το διάλυμα είτε με φυγοκέντρηση είτε με διήθηση, εκπλένεται και αποστάζεται για την απομάκρυνση περίσσειας των παραγόντων συμπλοκοποίησης. Έπειτα, επαναδιασπείρεται σε νερό και διασπάται με θέρμανση. Μέσω απόσταξης με ατμό ή με εκχύλιση απομακρύνεται ο παράγοντας συμπλοκοποίησης και το διάλυμα των κυκλοδεξτρινών παραλαμβάνεται, το οποίο συμπυκνώνεται και τέλος κρυσταλλοποιείται.

Ο δεύτερος τρόπος παραγωγής κυκλοδεξτρινών δεν απαιτεί τους παράγοντες συμπλοκοποίησης παράγοντας ένα μίγμα κυκλοδεξτρινών. Σε πρώτο στάδιο, πραγματοποιείται η ρευστοποίηση του αμύλου και η ενζυματική μετατροπή, αντίστοιχα της πρώτης μεθόδου. Η διαφορά στην περίπτωση αυτή έγκειται στο ότι δεν χρησιμοποιούνται οι παράγοντες συμπλοκοποίησης. Στο τέλος της μετατροπής, το ένζυμο CGTase απενεργοποιείται και πραγματοποιείται η προσθήκη γλυκοαμυλάσης, η οποία μετατρέπει το υπόλειμμα του αμύλου και άκυκλες κυκλοδεξτρίνες σε γλυκόζη και μαλτόζη. Στη συνέχεια, το διάλυμα διηθείται και συμπυκνώνεται, ενώ ακολουθεί η κρυστάλλωση της και το καταβυθισμένο μίγμα κυκλοδεξτρινών απομονώνεται, εκπλένεται, φυγοκεντρείται και τέλος ξηραίνεται.

Τοξικότητα κυκλοδεξτρινών

Λόγω της υψηλής μοριακής τους μάζας, οι κυκλοδεξτρίνες δεν απορροφώνται από τον γαστρεντερικό σωλήνα και μπορούν να θεωρηθούν ως μη τοξικές, στην περίπτωση χορήγησης από το στόμα. Ως την παρεντερική χορήγηση, τα υδρόφιλα παράγωγα κυκλοδεξτρινών, όπως είναι η 2-υδροξυπροπυλο-β-κυκλοδεξτρίνη, HP-β-CD, θεωρούνται ασφαλή. Αυτό συμβαίνει, διότι μετά την χορήγηση μεταβολίζονται γρήγορα από την συστηματική κυκλοφορία και κατανέμονται σε διάφορους ιστούς του σώματος, όπως στα νεφρά, στο συκώτι και στην ουροδόχο κύστη. Σε αντίθεση με τα λιπόφιλα παράγωγα όπως η μεθυλο-β-κυκλοδεξτρίνη Me-β-CD όπου έχει αποδειχθεί, είναι τοξικά μετά από παρεντερική χρήση.

Εφαρμογές κυκλοδεξτρινών

Λόγω της υδροφοβικής κοιλότητας τους αλλά και της υδροφιλικής εξωτερικής επιφάνειάς τους, οι κυκλοδεξτρίνες, παρουσιάζουν την ικανότητα να αλληλεπιδρούν με

υδροφοβικά βιοενεργά μόρια εγκλείοντας τα μόρια αυτά στο εσωτερικό τους. Με τον τρόπο αυτό δημιουργούνται τα σύμπλοκα εγκλεισμού, γνωστά και με τον όρο "host-guest inclusion complexes" (ICs). Εφαρμογές των κυκλοδεξτρινών εκτός των άλλων είναι ως φορείς εγκλεισμού για διάφορες ενώσεις όπως αλκοόλες, αλδεύδες, κετόνες, αμίνες, οργανικά και λιπαρά οξέα, αρωματικές ενώσεις ή αλειφατικές ενώσεις και αλογόνα.

Άλλες εφαρμογές των κυκλοδεξτρινών είναι η συχνή χρήση τους σε φαρμακευτικά σκευάσματα, καθώς μπορούν να τροποποιήσουν και να βελτιώσουν τις φυσικές και χημικές ιδιότητες φαρμακευτικών ουσιών. Μια από τις κύριες τροποποιήσεις αυτών έχει ως στόχο την αύξηση της διαλυτότητας πολλών φαρμακευτικών ουσιών στο νερό, γεγονός που βελτιώνει την βιοδιαθεσιμότητα τους, αυξάνοντας την φαρμακολογική δράση τους και επιτρέποντας την μείωση της δόσης που ήδη χορηγείται. Πιο συγκεκριμένα, μπορούν να διατηρούν και να προστατεύουν μέσω της υδροφιλίας τους τις φαρμακευτικές ενώσεις σε υδατικό διάλυμα, ενώ τις μεταφέρουν στην επιφάνεια των βιολογικών μεμβρανών. Με τον τρόπο αυτό, έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς σε υδατικά δερματικά σκευάσματα, υδατικά στοματικά διαλύματα, οφθαλμολογικές σταγόνες και ρινικά συστήματα χορήγησης φαρμάκου. [21], [27]–[29]

Σύμπλοκα εγκλεισμού

Όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα, οι κυκλοδεξτρίνες χαρακτηρίζονται από την ικανότητά τους να δημιουργούν σύμπλοκα εγκλεισμού με υδρόφοβα μόρια (υγρής, στερεής ή αέριας μορφής), λόγω της εσωτερικής υδρόφοβης κοιλότητας που παρουσιάζουν. Η κινητήρια δύναμη για την έναρξη του σχηματισμού των συμπλόκων εγκλεισμού, όταν οι κυκλοδεξτρίνες βρίσκονται σε υδατικό διάλυμα, είναι η απελευθέρωση μορίων νερού από την εσωτερική κοιλότητα τους και η αντικατάστασή τους με περισσότερο μη πολικά μόρια. Με την απομάκρυνση των μορίων νερού, που χαρακτηρίζονται από υψηλή ενθαλπία, επιτυγχάνεται μια σταθερή κατάσταση χαμηλότερης ενέργειας.

Η δημιουργία των συμπλόκων εγκλεισμού επιτυγχάνεται σε συνάρτηση δύο κύριων παραγόντων. Ο πρώτος παράγοντας που παίζει σημαντικό ρόλο είναι το μέγεθος του εγκλεισμένου μορίου, καθώς θα πρέπει να μπορεί να αλληλεπιδράσει και να παγιωθεί εσωτερικά της κοιλότητας της κυκλοδεξτρίνης. Επομένως, οι α-κυκλοδεξτρίνες είναι περισσότερο κατάλληλες να εγκλείσουν μόρια μικρού μοριακού βάρους, οι β-κυκλοδεξτρίνες είναι ιδανικές για αρωματική ετεροκυκλικά μόρια, ενώ οι γ-κυκλοδεξτρίνες είναι ιδανικές για μεγάλα μόρια, όπως για παράδειγμα για εγκλεισμό στεροειδών. Άλλος ένας παράγοντας είναι οι θερμοδυναμικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ της κυκλοδεξτρίνης, του διαλύτη αλλά και της εγκλεισμένης ένωσης, οι οποίες θα πρέπει να δημιουργούν ένα ενεργειακά ευνοϊκό ώστε να πραγματοποιηθεί ο εγκλεισμός. Επομένως, τα σύμπλοκα εγκλεισμού οφείλονται κυρίως στις υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις ή τις αλληλεπιδράσεις van der Waals και ο σχηματισμός τους αποτελεί μια αναστρέψιμη κατάσταση δυναμικής ισορροπίας.

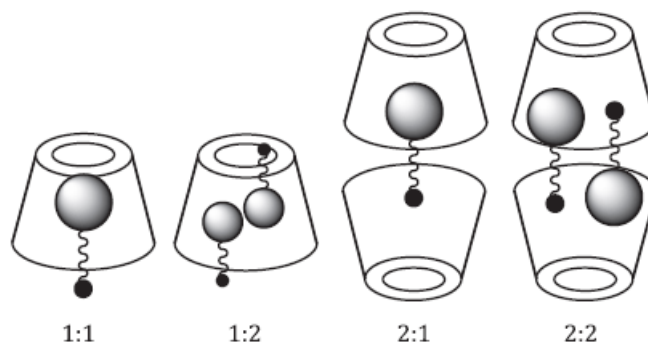
Τα υδρόφοβα (μη πολικά) εγκλεισμένα μόρια (guest – molecules) με τον εγκλεισμό τους σε κυκλοδεξτρίνες, υφίστανται επιθυμητές τροποποιήσεις στα φυσικοχημικά τους χαρακτηριστικά. Οι τροποποιήσεις που μπορούν να πραγματοποιηθούν είναι με κύριο στόχο την ενίσχυση της διαλυτότητας και επομένως της βιοδιαθεσιμότητας της εγκλεισμένης ένωσης. Άλλες ιδιότητες που μπορούν να μεταβληθούν μέσω των δυνατών

τροποποιήσεων είναι η σταθεροποίηση των ασταθών μορίων και την προστασία τους από εξωτερικούς παράγοντες όπως είναι η θερμότητα, το οξυγόνο και το φως, ο έλεγχος της πηκτικότητας των ουσιών αυτών, η επικάλυψη ανεπιθύμητων γεύσεων ή/και οσμών, η ελεγχόμενη απελευθέρωση της δραστικής ουσίας που έχει εγκλειστεί κ.α.

Υπολογισμός στοιχειομετρίας του φιλοξενούμενου μορίου με την κυκλοδεξτρίνη

Για τον σχηματισμό συμπλόκων, η αναλογία του φιλοξενούμενου μορίου με την κυκλοδεξτρίνη μπορεί να διαφέρει σημαντικά. Βασικό εργαλείο για την πρόβλεψη της επιθυμητής αναλογίας είναι η μέθοδος Job's Plot. Με την μέθοδο αυτή, υπολογίζεται η απορρόφηση δειγμάτων που περιέχουν την φιλοξενούμενη ένωση μαζί με την κυκλοδεξτρίνη σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Κατασκευάζεται το διάγραμμα $\Delta A \times R$ συναρτήσει του R, όπου ΔA η διαφορά της απορρόφησης της ένωσης παρουσία και απουσία της κυκλοδεξτρίνης, ενώ το μέγεθος R ισούται με το κλάσμα συγκεντρώσεων $\frac{[ένωση]}{[ένωση] + [CD]}$.

Το μέγεθος R που αντιστοιχεί στην μέγιστη τιμή του $\Delta A \times R$ καθορίζει την στοιχειομετρία των συστατικών των συμπλόκων εγκλεισμού. Πιο συγκεκριμένα, όταν η τιμή R είναι ίση με 0.5 αφορά σύμπλοκα με αναλογία 1:1, όταν η τιμή R είναι ίση με 0.33 αφορά σύμπλοκα με 2:1 ενώ όταν το R είναι ίσο με 0.66 σύμπλοκα 1:2 (Εικόνα 5.9).



Εικόνα 5.9: Πιθανές αναλογίες φιλοξενούμενου μορίου/κυκλοδεξτρίνης προς σχηματισμό συμπλόκων.[23]

Μέθοδοι Συμπλοκοποίησης

Οι μέθοδοι που έχουν χρησιμοποιηθεί βιβλιογραφικά για τον σχηματισμό των συμπλόκων εγκλεισμού είναι:

- i) Η Μέθοδος υγρής λειοτρίβησης με σχηματισμό πάστας (Μέθοδος Kneading)
- ii) Η Μέθοδος συγκαταβύθισης (Co-precipitation)
- iii) Η Μέθοδος εξάτμισης διαλύτη (Solvent evaporation)
- iv) Η Λυοφιλοποίηση (freeze drying/ lyophilization) και
- v) Η Ξήρανση με ψεκασμό (spray drying)

- i) Σχηματισμός συμπλόκων με υγρή λειοτρίβηση και σχηματισμό πάστας (μέθοδος kneading)

Η προς εγκλεισμό ένωση σε διαφορετική γραμμομοριακή αναλογία αναμιγνύεται με την κυκλοδεξτρίνη στο γουδί με προσθήκη μικρής ποσότητας νερού και κονιοτοποιούνται

μέχρις ότου δημιουργηθεί μια μορφή πάστας. Ακολουθεί, η τοποθέτηση του δείγματος σε ξηραντήρα θαλάμου κενού ώστε να απομακρυνθεί η υγρασία.

ii) Σχηματισμός των συμπλόκων με συγκαταβύθιση (μέθοδος co-precipitation)

Με την μέθοδο αυτή, η προς εγκλεισμό ένωση διαλύεται σε οργανικό διαλύτη, ενώ η κυκλοδεξτρίνη διαλυτοποιείται σε νερό σχηματίζοντας υδατικό διάλυμα. Τα δύο διαλύματα αναμειγνύεται μεταξύ τους με κατάλληλη ανάδευση και θέρμανση για τον σχηματισμό ενός κορεσμένου διαλύματος. Εν συνεχεία, ακολουθεί ψύξη και έκπλυση με τον οργανικό διαλύτη ώστε να παραληφθούν τα σύμπλοκα εγκλεισμού.

iii) Σχηματισμός των συμπλόκων μέσω της εξάτμισης διαλύτη (μέθοδος solvent evaporation)

Η προς εγκλεισμό ένωση και η κυκλοδεξτρίνη διαλύονται σε διαφορετικούς διαλύτες, οι οποίοι όμως είναι αναμειξιμοί. Μετά την ανάμειξη τους, σχηματίζεται ένα μίγμα με διασπορά και τόσο της κυκλοδεξτρίνης όσο και της ένωσης. Ακολουθεί η απομάκρυνση των διαλυτών με εξάτμιση υπό κενό σε κατάλληλη θερμοκρασία και τέλος παραλαμβάνεται μια συμπαγής συμπυκνωμένη σκόνη στερεής πούδρας, η οποία περιέχει τα τελικά σύμπλοκα εγκλεισμού.

iv) Σχηματισμός συμπλόκων με λυοφιλοποίηση (freeze drying/ lyophilization)

Αυτή η μέθοδος θεωρείται καταλληλότερη για τον σχηματισμό συμπλόκων εγκλεισμού κυκλοδεξτρίνης, όταν η προς εγκλεισμό ένωση είναι θερμοευαίσθητη. Σύμφωνα με την μέθοδο αυτή, η ένωση και η κυκλοδεξτρίνη διαλυτοποιούνται σε κατάλληλο διαλύτη με ανάδευση και στην συνέχεια λυοφιλοποιούνται. Η λυοφιλοποίηση είναι η διαδικασία της ψυχρής ξήρανσης του δείγματος, κατά την οποία τα μόρια του νερού εξαχνώνονται. Ακολουθεί, η απομάκρυνση του διαλύτη με εξάτμιση υπό κενό και τέλος λαμβάνονται τα σύμπλοκα εγκλεισμού.

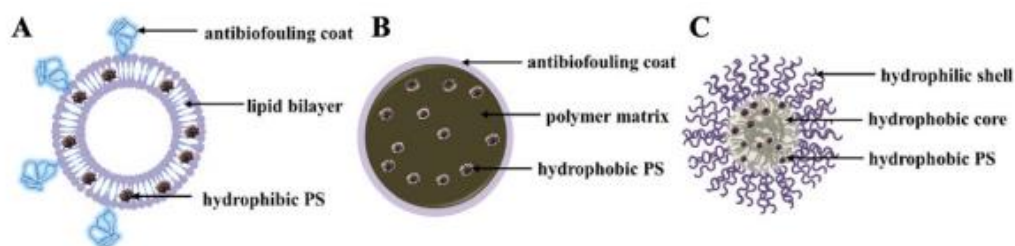
v) Σχηματισμός συμπλόκων με ξήρανση με ψεκασμό (spray drying)

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην διαλυτοποίηση της εγκλειόμενης ένωσης και της κυκλοδεξτρίνη σε κοινό διαλύτη και έπειτα ακολουθεί ξήρανση με χρήση ψεκαστήρα. Το μέγεθος των συμπλόκων ελέγχεται από διαφορετικές παραμέτρους, όπως είναι το μέγεθος του ακροφυσίου του ψεκαστήρα, ο ρυθμός τροφοδοσίας του δείγματος και η θερμοκρασία. [20], [23], [25]–[27], [30]–[32]

5.4 ΣΚΟΠΟΣ

Τα κινολογινικά παράγωγα που αξιολογήθηκαν για την *in vitro* βιολογική δράση στην παρούσα διδακτορική διατριβή και παρουσίασαν ικανοποιητικά αποτελέσματα, επιλέχθηκαν για τον εγκλεισμό τους σε βιοδιασπώμενους νανοφορείς. Οι βιοδιασπώμενες μήτρες που επιλέχθηκαν στην παρούσα διατριβή ως φορείς κινολογινικών αναλόγων ήταν το πολύ(γαλακτικό οξύ) PLA και β-κυκλοδεξτρίνες. Επιπλέον, σημαντικός παράγοντας της επιλογής των ενώσεων αποτέλεσε και η περιορισμένη διαλυτότητα των ενώσεων αυτών στο νερό. Για το λόγο αυτό κρίθηκε απαραίτητη η ανάπτυξη της κατάλληλης μεθοδολογίας παρασκευής νανοσωματιδίων ένωσης-φορέα.

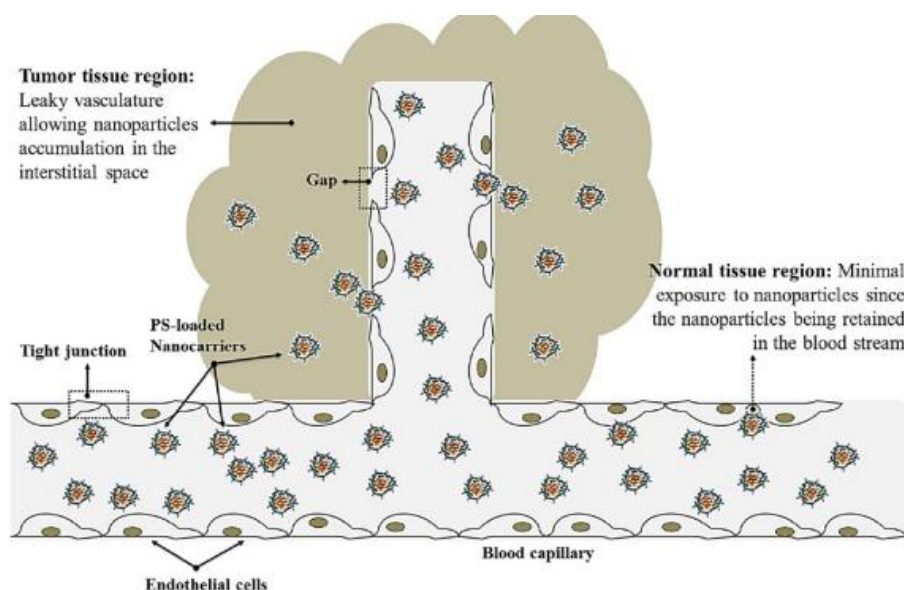
Ο εγκλεισμός κινολογινικών αναλόγων σε διάφορους βιοδιασπώμενους φορείς έχει αποτελέσει αντικείμενο μελέτης και άλλων ερευνητικών ομάδων. Η El-Menshawe και η ομάδα της ανέφεραν τον εγκλεισμό ενός νέου παραγώγου κινολογινόνης σε στερεά λιπιδικά νανοσωματίδια (solid lipid nanoparticles) και μελετήθηκαν σε πειραματικές σειρές καρκινικών κυττάρων. Άλλο ένα παράδειγμα αποτελεί η δημιουργία νανοσωματιδίων πολυπυρρόλης/χιτοζάνης όπου αξιολογήθηκαν ως φορέας αμινοκινολογινικών παραγώγων.[14]



Εικόνα 5.10: Σχηματικό διάγραμμα εγκλεισμένου φωτοευαίσθητοποιητή (PS) σε (Α) λιποσώματα, (Β) πολυμερικά νανοσωματίδια και (Γ) πολυμερικά μικκύλια.[15]

Παράλληλα τις τελευταίες δεκαετίες, μια ποικιλία νανοφορέων όπως τα λιποσώματα, τα πολυμερικά νανοσωματίδια και τα μικκύλια έχουν διερευνηθεί για την πιθανή εφαρμογή τους ως φωτοευαίσθητοποιητές (Εικόνα 5.10), οι οποίοι μπορούν να προσφέρουν μια αποτελεσματική λύση για να ξεπεραστούν οι ελλείψεις από τους φωτοευαίσθητοποιητές που σχετίζονται με την ενδοφλέβια χορήγηση και την επιλεκτική παροχή του φωτοευαίσθητοποιητή στις θέσεις του όγκου. Τα ευεργετικά αποτελέσματα αυτών των νανοφορέων έγκεινται στην εξαιρετική τους κολλοειδή διασπορά στο νερό που επιτρέπει την διαλυτοποίησή του υδρόφοβου φωτοευαίσθητοποιητή σε φυσιολογική κατάσταση και την ενισχυμένη συσσώρευση στα σημεία του όγκου μέσω ενισχυμένης επίδρασης διαπερατότητας και κατακράτησης (Εικόνα 5.11). Γενικά ο φωτοευαίσθητοποιητής μπορεί να ενθυλακωθεί χρησιμοποιώντας αυτούς τους φορείς από δύο φυσικές μεθόδους που χρησιμοποιούν υδρόφοβες ή ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ φωτοευαίσθητοποιητή, και χημικών μεθόδων που χρησιμοποιούν διάφορες αντιδράσεις σύζευξης των

φωτοευαισθητοποιητών σε πολυμερή και νανοσωματίδια. Κοινό χαρακτηριστικό γνώρισμα αυτών των εφαρμογών είναι ότι μπορούν να ενσωματώσουν και να παραδώσουν τον φωτοευαισθητοποιητή από την φωτοδυναμικά ανενεργή κατάσταση στην ενεργή μορφή και να δράσουν μόνο στην θέση-περιοχή του όγκου.[15]



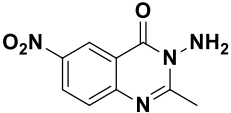
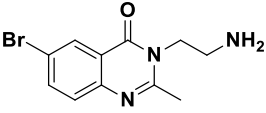
Εικόνα 5.11: Σχηματική παρουσίαση παθητικής στοχευμένης φωτοδυναμικής θεραπείας (PDT). Οι φωτοευαισθητοποιητές (PS) που εγκλείονται σε νανοφορείς μπορούν να φτάσουν στους όγκους επιλεκτικά στο σημείο του όγκου.[15]

Ενδεικτικά, ο Pramuai και η ομάδα του ανέφεραν ότι τα υβριδικά νανοσωματίδια πολυμερούς-λιπιδίου-PEG ως φορείς του φωτοευαισθητοποιητή (PS), 5,10,15,20-τετρακίς(4-υδροξυ-φαινυλο) 21H,23H-πορφυρίνη (pTHPP) για χρήση τους στη φωτοδυναμική θεραπεία (PDT). Παράδειγμα επίσης αποτελεί ο εγκλεισμός φωτοευαισθητοποιητών σε συστήματα PLGA και PLA. Στις δύο συγκριτικές εργασίες, οι Ricci Junior και Marchetti μελέτησαν φορτωμένα νανοσωματίδια PLGA με τον φωτοευαισθητοποιητή ο οποίος ήταν υδρόφοβο μόριο. Λόγω του υδρόφοβου χαρακτήρα, η συστηματική χορήγηση του φωτοευαισθητοποιητή είναι προβληματική. Η *in vitro* τοξικότητα φωτοκυττάρων των νανοσωματιδίων έδειξε ότι εξαρτάται από τη συγκέντρωση του φωτοευαισθητοποιητή και, επιπλέον, ποικίλλει ανάλογα με την αναλογία γαλακτικού προς γλυκολικό. Σε αυτή την περίπτωση, χρησιμοποιήθηκαν νανοσωματίδια PLA τα οποία ήταν πιο αποτελεσματικά από τα νανοσωματίδια PLGA, υποδηλώνοντας μια πολύ γρήγορη απελευθέρωση, η οποία οδήγησε σε υψηλότερη φωτοδραστικότητα σε σύγκριση με το φωτοευαισθητοποιητή. [15][16]

Τέλος, με στόχο την δέσμευση και στην συνέχεια τη φωτοδιάσπαση του DNA ο Cheng και η ομάδα του παρουσίασαν ένα σύστημα τροποποιημένης β-κυκλοδεξτρίνης βελτιώνοντας ένα φωτοευαισθητοποιητή ρουθινίου. Μελέτησαν τις ικανότητές του ως προς τη δέσμευση του DNA και τη φωτοδιάσπαση του. [17]

Στον Πίνακα 5.3 παρουσιάζονται τα *in vitro* αποτελέσματα των κινολινικών παραγώγων τα οποία επιλέχθηκαν προς εγκλεισμό, όπως αυτά προέκυψαν από την αξιολόγηση που παρουσιάστηκε στο Κεφάλαιο 4 της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

Πίνακας 5.3: Βιολογική Δράση των κιναζολινικών παραγώγων τα οποία επιλέχθηκαν προς εγκλεισμό

Κωδικός	Χημική δομή	Σταθερά Αλληλεπίδρασης, $k_B, 10^4 (M^{-1})$	% Form II/Form III (312 nm)	% Form II/Form III (365 nm)
3e		9.67	Κατακερματισμός του DNA στα 500μM	Κατακερματισ- μός του DNA στα 500μM
4f		2.43	Κατακερματισμός του DNA στα 500μM	Κατακερματισ- μός του DNA στα 500μM
	Ροδαμίνη (B)	13.59	-	-

Η επιλογή της ένωσης **3e** βασίστηκαν και σε προηγούμενα αποτελέσματα όπου παρατηρήθηκε υψηλή φωτοδιασπαστική ικανότητα της ένωσης αυτής με το DNA, μελετήθηκε ο μηχανισμός δράσης της και θεωρήθηκε ως μόριο οδηγός για τον σχεδιασμό των κιναζολινικών αναλόγων των σειρών που παρουσιάστηκαν στην παρούσα διδακτορική διατριβή. Αντίστοιχα, τόσο η **3e** όσο και η **4f** επιλέχθηκαν λόγω ισχυρής φωτοδιασπαστικής δράσης, αφού σε συγκέντρωση 500 μM κατάφεραν να κατακερματίζουν πλήρως το DNA τόσο στην UVA όσο και στην UVB, ενώ ακολούθησε όπως έχει αναφερθεί και στο Κεφάλαιο 4 μελέτη του μηχανισμού των ενώσεων αυτών.

Παράλληλα, για την σειρά των διυδροκιναζολινικών αναλόγων επιλέχθηκε η ένωση **10d** καθώς δοκιμάστηκε για την βελτίωση της διαλυτότητάς της.

5.5 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5.5.1 ΥΛΙΚΑ

Το πολύ(γαλακτικό οξύ) (PLA) και η πολύ(βινυλική) αλκοόλη είναι εμπορικά διαθέσιμα προϊόντα. Το πολύ(γαλακτικό οξύ) (PLA) που χρησιμοποιήθηκε είναι μέσου μοριακού βάρους 46000 g/mol. Η πολύ(βινυλική) αλκοόλη που χρησιμοποιήθηκε ως γαλακτωματοποιητής είναι μέσου μοριακού βάρους 88.000-97.000 g/mol και 87-89% υδρολυμένο (AlfaAesar).

Η β-κυκλοδεξτρίνη (β-CD) καθώς και οι υποκατεστημένες β-κυκλοδεξτρίνες, μέθυλο-β-κυκλοδεξτρίνη (Me-β-CD) και την 2-υδροξυπροπυλο-β-κυκλοδεξτρίνη (HP-β-CD) είναι χημικώς καθαρά προϊόντα υψηλής καθαρότητας.

Όλοι οι οργανικοί διαλύτες, καθώς και οι φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες (NaDES) που χρησιμοποιήθηκαν είναι υψηλής καθαρότητας.

Τα κιναζολινικά παράγωγα που συντέθηκαν χρησιμοποιήθηκαν σε υψηλή καθαρότητα.

5.5.2 ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΜΕ ΠΟΛΥΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ (PLA) - ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΕΞΑΤΜΙΣΗ ΤΟΥ ΔΙΑΛΥΤΗ

Ο εγκλεισμός κιναζολινονικών αναλόγων σε νανοσωματίδια πολύ(γαλακτικού)οξέος, PLA βασίστηκε στη μέθοδο της γαλακτωματοποίησης-εξάτμισης διαλύτη (encapsulation and solvent evaporation technique). Κατά τον σχηματισμό των νανοσωματιδίων με προσθήκη φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών, NaDES, τροποποιήθηκε η μέθοδος χρησιμοποιώντας σε κατάλληλη ποσότητα NaDES ως διαλύτη (για τη διάλυση του κιναζολινικού αναλόγου) και ταυτόχρονα και ως γαλακτωματοποιητή και όχι συμβατικούς διαλύτες και πολύ(βινυλική) αλκοόλη.

Μέθοδοι

Αυτή η μέθοδος εγκλεισμού πραγματοποιήθηκε με δύο διαφορετικούς τρόπους, αναλόγως εάν ο διαλύτης της ένωσης είναι συμβατικός, οργανικός διαλύτης (Μέθοδος I) ή φυσικός βαθέως ευτηκτικός διαλύτης (Natural Deep Eutectic Solvents, NaDES) (Μέθοδος II).

I) Κατά τη Μέθοδο I, αρχικά παρασκευάζεται το υδατικό διάλυμα της πολυ(βινυλικής) αλκοόλης, PVA με περιεκτικότητα 1% w/v όπου χρησιμοποιείται ως υδατική-συνεχή φάση κατά το σχηματισμό του γαλακτώματος. Για το στάδιο αυτό, αναλυτικότερα, σε κωνική φιάλη προστίθεται κατάλληλη ποσότητα της πολυ(βινυλικής) αλκοόλης, PVA και κατάλληλη ποσότητα υπερκάθαρου νερού υπό ανάδευση και σε θερμοκρασία γύρω στους 40-45°C μέχρι την πλήρη διάλυση του πολυμερούς. Έπειτα, το διάλυμα φυλάσσεται και για περαιτέρω χρήση.

Παράλληλα, η προς εγκλεισμό ένωση διαλύεται σε DMSO ή ακετόνη και ανάλογα με το επιθυμητό ποσοστό φόρτωσής της, σε σφαιρική φιάλη διαλύεται ορισμένη ποσότητα του προς εγκλεισμό μορίου σε κατάλληλη ποσότητα διαλύτη.

Αντίστοιχα σε σφαιρική φιάλη διαλύεται σε ακετόνη ορισμένη ποσότητα του πολύ(γαλακτικού) οξέος, PLA ώστε να προκύψει διάλυμα 10 (mg/mL).. Τα δύο διαλύματα αναμιγνύονται, λίγο πριν το στάδιο της γαλακτωματοποίησης.

Στη συνέχεια, με τη χρήση συσκευής υπερήχων (Vibra Cell probe sonicator, 400W, Sonics and Materials Inc Company), προστίθεται η οργανική φάση στην υδατική με το διάλυμα PVA 1%(w/v), σε αναλογία ένα προς πέντε (1:5, οργανικής/υδατικής φάσης) και ακολουθεί για 6 λεπτά με ανάδευση στα 160 W σε πάγο υπό ψύξη.

Στη συνέχεια, σε συσκευή Shaker (Temperature Controlled Shaker –Gallenkamp) το γαλάκτωμα αφήνεται για 24 h, στους 40°C υπό ανάδευση στα 60 rpm, προκειμένου να πραγματοποιηθεί η ήπια και πλήρη εξάτμιση του διαλύτη. Σε επόμενο στάδιο, ακολουθεί η επεξεργασία και η παραλαβή των νανοσωματιδίων. Για το σκοπό αυτό τα νανοσωματίδια που προκύπτουν εκπλένονται και φυγοκεντρώνονται στις 17000 rpm για 20 min και θερμοκρασία 4°C, ενώ η διαδικασία επαναλαμβάνεται για τρεις φορές. Πιο συγκεκριμένα, παραλαμβάνεται το στερεό και επαναδιασπείρεται σε υπερκάθαρο νερό, ενώ εάν χρειαστεί, η επαναδιασπορά υποβοηθάται στο λουτρό υπερήχων (bath).

Μετά το τέλος των τριών φυγοκέντρων, τα νανοσωματίδια επαναδιασπείρονται σε υπερκάθαρο νερό ακολουθώντας λυοφιλοποίηση (freeze-drying). Τέλος, τα νανοσωματίδια παραλαμβάνονται ως λευκό στερεό με αφράτη υφή (fluffy mass) και ακολουθεί η αποθήκευσή τους στους 4°C.

Τα κενά (blank) νανοσωματίδια παρασκευάζονται με την ίδια διεργασία, χωρίς την προσθήκη της προς εγκλεισμό δραστικής ουσίας.

II) Κατά τη Μέθοδο II, δοκιμάστηκε η διάλυση επιλεγμένων βιοδραστικών μορίων σε επιλεγμένους φυσικούς βαθέως ευτηκτικούς διαλύτες (NaDES). Στη μέθοδο αυτή ακολουθούνται τα ίδια βήματα με την μέθοδο, αλλά βασική διαφορά είναι η διάλυση της ένωσης στο κατάλληλο NaDES και η απουσία του διαλύματος της πολύ(βινυλικής) αλκοόλης, PVA. Το διάλυμα της προς εγκλεισμό ουσίας με NaDES προστίθεται μαζί με το διάλυμα του PLA που παρασκευάζεται με τον ίδιο τρόπο όπως στην μέθοδο I. Κατά τη την ανάμιξη, χωρίς την προσθήκη του διαλύτος PVA σχηματίζεται ένα λευκό ομοιογενές γαλάκτωμα.

Αντίστοιχα, παρασκευάζονται και τα νανοσωματίδια που δεν περιέχουν εγκλεισμένη την ένωση (blank NPs), με προσθήκη της ίδιας ποσότητας διαλύτη NaDES με σκοπό την ανάμιξη με το διάλυμα PLA και τον σχηματισμό γαλακτώματος.

Μετά την παραλαβή του γαλακτώματος, το διάλυμα αφήνεται σε συσκευή Shaker (Temperature Controlled Shaker –Gallenkamp) το γαλάκτωμα αφήνεται για 24 h, στους 40°C υπό ανάδευση στα 60 rpm, για ήπια εξάτμιση του διαλύτη. Σημειώνεται ότι το NaDES που χρησιμοποιήθηκε δεν απομακρύνεται σε αυτό το στάδιο.

Έπειτα ακολουθούν ο καθαρισμός και η απομάκρυνση και του NaDES με τρεις φυγοκέντρους με την ίδια διαδικασία που ακολουθήθηκε και στην Μέθοδο I. Τέλος, τα νανοσωματίδια παραλαμβάνονται, επαναδιασπείρονται και λυοφιλοποιούνται όπως πραγματοποιήθηκε και στην Μέθοδο I.[33]–[35]

5.5.3 ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΣΕ ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΕΣ

1^η Μέθοδος -συγκαταβύθιση με διαλύτη ακετόνη

Ο εγκλεισμός των επιλεγμένων βιοδραστικών μορίων πραγματοποιήθηκε σε β-κυκλοδεξτρίνη (β-CD) με την μέθοδο της συγκαταβύθισης.

Πιο συγκεκριμένα, κατάλληλη ποσότητα της β-CD (0.1 mmol) διαλύεται σε 100 mL ακετόνης. Αντίστοιχα, κατάλληλη ποσότητα του προς εγκλεισμό μορίου διαλύονται σε ακετόνη και ακολουθεί η προσθήκη αυτού στο διάλυμα της β-CD σε γραμμομοριακή αναλογία 1:1. Στη συνέχεια, το διάλυμα τοποθετείται σε λουτρό υπερήχων (bath) για 5 min και έπειτα αφήνεται υπό μαγνητική ανάδευση για 1 ώρα, στις 200 rpm και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Ακολουθεί, η επεξεργασία και η παραλαβή των συμπλόκων εγκλεισμού, όπου το δείγμα φυγοκεντρείται αρχικά για 15 min στις 4000 rpm, και έπειτα για άλλα 10 min. Το υπερκείμενο που περιέχει τα σύμπλοκα κινναζολιόνης-β-CD, φιλτράρεται με μέγεθος πόρων 0.45 μm ώστε να απομακρυνθεί η αδέσμευτη ποσότητα του δραστικού μορίου. Τέλος, πραγματοποιείται λυοφιλοποίηση για την παραλαβή των συμπλόκων εγκλεισμού.

2^η Μέθοδος- Μέθοδος Υγρής Λειοτρίβησης με σχηματισμό πάστας (Μέθοδος Kneading)

Με την μέθοδο αυτή πραγματοποιείται σε γουδί προσθήκη κατάλληλης ποσότητας β-κυκλοδεξτρίνης, ανάλογη ποσότητα κινναζολινικού αναλόγου σε γραμμομοριακή αναλογία 1:1, 1:2 (ανάλογα με την επιλογή της β-CDs) και υποβοήθηση με λίγες σταγόνες διαλύτη αιθανόλης/νερού (30% αιθανόλη/70% νερό) (Πίνακας 5.4).

Ακολουθεί, η ανάμιξη και λειοτρίβηση που διαρκεί για περίπου μια ώρα, μέχρι να απομακρυνθεί το μεγαλύτερο ποσοστό υγρασίας. Στη συνέχεια, η πάστα που σχηματίστηκε μεταφέρεται σε αντλία υψηλού κενού Edwards για την πλήρη απομάκρυνση της υγρασίας. Αναλυτικότερα, οι ποσότητες αναγράφονται στον Πίνακα 5.4 κάθε συμπλόκου, οι οποίες βασίστηκαν στον υπολογισμό της βέλτιστης αναλογίας μέσω της κατασκευής του διαγράμματος Job's Plot.[27], [36]

Πίνακας 5.4: Ποσότητες κινναζολιόνης και β-κυκλοδεξτρινών για την παραγωγή συμπλόκων εγκλεισμού με την μέθοδο kneading

Σύμπλοκο εγκλεισμού	Αναλογία κινναζολιόνης/κυκλοδεξτρίνης	Ποσότητα κυκλοδεξτρίνης (mg)	Ποσότητα κινναζολιόνης (mg)
3e-β-CD	2:1	200	77.5
3e-Me-β-CD	2:1	100	33.6
	1:1	100	16.8

3e-HP-β-CD	2:1	100	30.2
	1:1	100	15.1

Στην συγκεκριμένη μέθοδο παρασκευάστηκε το σύμπλοκο εγκλεισμού κιναζολινόνης-β-κυκλοδεξτρίνης (3e-β-CD) μόνο για την γραμμομοριακή αναλογία 2:1, έπειτα από κατασκευή του διαγράμματος Job's Plot, ενώ για τις υποκατεστημένες β-CDs δοκιμάστηκε και η γραμμομοριακή αναλογία 1:1.

Διάγραμμα Job's Plot για 3e-β-CD

Παρασκευάστηκαν διαλύματα διαφορετικών συσκεντρώσεων, κατάλληλων ποσοτήτων κιναζολινόνης **3e** και της β-κυκλοδεξτρίνης (β-CD) σε διαλύτη αιθανόλη. Οι αντίστοιχες απορροφήσεις των διαλυμάτων της κιναζολινόνης **3e**, της β-CD και των διαλυμάτων του μίγματος κιναζολινόνης και κυκλοδεξτρίνης παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.5, ενώ κατασκευάστηκε και το Διάγραμμα 5.1.

Πίνακας 5.5: Συγκεντρώσεις κιναζολινόνης και κιναζολινόνης/β-CD και οι αντίστοιχες απορροφήσεις των δειγμάτων

Κιναζολινόνη 3e (μM)	A _{quin} (Abs)	β-CD (μM)	3e-β-CD (Abs)
0	0	1000	0
100	0.043	900	0
200	0.087	800	0.0072
300	0.16	700	0.050
400	0.18	600	0.062
500	0.23	500	0.092
600	0.27	400	0.13
700	0.32	300	0.20
800	0.36	200	0.27
900	0.40	100	0.36
1000	0.45	0	0.45



Διάγραμμα 5.1: Διάγραμμα Job's Plot για 3e-β-CD. Όπου ΔΑ η διαφορά απορροφήσεων κιναζολινόνης και μίγματος κιναζολινόνης και β-CD και $R = [3e]/([3e] + [\beta\text{-CD}])$.

Από το Διάγραμμα 5.1 προκύπτει ότι $R \approx 0.66$, επομένως και η βέλτιστη γραμμομοριακή αναλογία του συμπλόκου εγκλεισμού κιναζολινόνης είναι η 2:1.

3^η Μέθοδος – Μέθοδος συγκαταβύθισης με διαλύτη αιθανόλη

Κατά την μέθοδο αυτή, σε κωνική φιάλη προστίθεται ορισμένη ποσότητα β-κυκλοδεξτρίνης (β-CD) (100 mg) όπου διαλύονται σε 20mL νερού. Αντίστοιχα, κατάλληλη ποσότητα της κιναζολινόνης διαλύεται στην μικρότερη δυνατή ποσότητα αιθανόλης και στην συνέχεια προστίθενται στο διάλυμα κυκλοδεξτρίνης σε ορισμένη γραμμομοριακή αναλογία (Πίνακας 5.6).

Στη συνέχεια, το διάλυμα τοποθετείται για 5 λεπτά σε λουτρό υπερήχων (bath) και ακολουθεί ανάδευση για 1 ώρα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Ακολουθεί φυγοκέντρηση σε 4000 rpm για 15 λεπτά και το υπερκείμενο υγρό απομονώνεται, λυοφιλοποιείται και αποθηκεύεται στους 4°C και έπειτα σε ξηραντήρα.

Πίνακας 5.6: Ποσότητες κιναζολινόνης και β-κυκλοδεξτρινών για την παραγωγή συμπλόκων εγκλεισμού με την μέθοδο solvent evaporation & freeze drying

Σύμπλοκο εγκλεισμού	Αναλογία κιναζολινόνης/κυκλοδεξτρίνης	Ποσότητα κυκλοδεξτρίνης (mg)	Ποσότητα κιναζολινόνης (mg)
3e-β-CD	2:1	100	38.8
	1:1	100	19.4
3e-Me-β-CD	2:1	100	33.6
	1:1	100	16.8
3e-HP-β-CD	2:1	100	30.2
	1:1	100	15.1

5.5.4 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ

Απόδοση διεργασίας/σχηματισμού των συμπλόκων εγκλεισμού με β-κυκλοδεξτρίνης

Η απόδοση διεργασία των νανοσωματιδίων/συμπλόκων εγκλεισμού υπολογίζεται από την συνολικά μάζα του συμπλόκου που παραλήφθηκε προς την συνολική ποσότητα φορέα (mg) και ουσίας (mg) (αρχικές ποσότητες της κιναζολινόνης και της κυκλοδεξτρίνης) (Εξίσωση 5.1).

$$\text{Απόδοση διεργασίας} = \frac{\text{μάζα συμπλόκου εγκλεισμού μετά την ξήρανση [mg]}}{\text{μάζα ουσίας [mg] + μάζα φορέα [mg]}} \times 100\% \quad \text{Εξ.5.1}$$

Απόδοση εγκλεισμού των συμπλόκων εγκλεισμού β-κυκλοδεξτρίνης

Η απόδοση εγκλεισμού υπολογίζεται από το ποσοστό της ουσίας που εγκλείστηκε στο σχηματισμένο σύμπλοκο εγκλεισμού σχετικά με την συνολική ποσότητα της βιοδραστικής ουσίας που χρησιμοποιήθηκε.

Μέσω της φασματοσκοπίας υπεριώδους-ορατού (UV-Vis) (UV-Vis/NIR Jasco V-770, διπλής δέσμης, Japan Spectroscopic Company, Tokyo, Japan) προσδιορίζεται η απόδοση εγκλεισμού έμμεσα. Μέσω της απορρόφησης και με το σχεδιασμό πρότυπης καμπύλης απορρόφησης - συγκέντρωσης δραστικού μορίου, προσδιορίζεται η ποσότητα της ουσίας, η οποία έχει εγκλειστεί στο σύμπλοκο και αναγωγικά σε όλο το σύμπλοκο.

Για την προετοιμασία του δείγματος χρησιμοποιείται κατάλληλη ποσότητα του συμπλόκου το οποίο διαλύεται σε DMSO ώστε να σχηματιστεί ένα διάλυμα 1mg/mL. Το διάλυμα αφήνεται υπό μαγνητική ανάδευση μέχρι να ομογενοποιηθεί και έπειτα τοποθετείται για 5 λεπτά σε λουτρό υπερήχων.

Απόδοση Εγκλεισμού (Encapsulation Efficiency, EE)

Η % Απόδοση εγκλεισμού υπολογίζεται μέσω της Εξίσωσης 5.2, όπου η ποσότητα της ουσίας που εγκλείστηκε στους φορείς υπολογίστηκε μέσω της καμπύλης αναφοράς όπως περιεγράφηκε παραπάνω.

$$\% \text{Απόδοση εγκλεισμού} = \frac{\text{μάζα εγκλεισμένης ουσίας [mg]}}{\text{αρχική μάζα κιναζολινόνης [mg] προς εγκλεισμό}} \times 100\% \quad \text{Εξ.5.2}$$

Προσδιορισμός απόδοσης εγκλεισμού μέσω των υπερκείμενων διαλυμάτων ((Encapsulation Efficiency, EE)

Αντίστοιχα, μπορεί να πραγματοποιηθεί και ο έμμεσος προσδιορισμός της απόδοσης εγκλεισμού των συμπλόκων από τα υπερκείμενα διαλύματα ($\Delta 1$, $\Delta 2$, $\Delta 3$) που συλλέγονται στην επεξεργασία των τριών φυγοκέντρων. Στη συνέχεια ογκομετρούνται και μέσω UV-Vis και των σχετικών απορροφήσεων που λαμβάνονται υπολογίζεται η ποσότητα της ουσίας για κάθε υπερκείμενο. Το άθροισμα αυτών των μετρήσεων δίνει και την συνολική ποσότητα της ουσίας που δεν εγκλείστηκε και παρέμεινε στα

υπερκείμενα. Τελικά με αφαίρεση από την αρχική ποσότητα υπολογίζεται η ποσότητα της ουσίας που φορτώθηκε.

$$\% \text{Απόδοση εγκλεισμού} = \frac{\text{Αρχική μάζα της ουσίας [mg] προς εγκλεισμό} - \text{μάζα μη εγκλεισμένης ουσίας [mg]}}{\text{αρχική μάζα κινάζολιόνης [mg] προς εγκλεισμό}} \times 100\%$$

Ποσοστό Φόρτωσης (Drug Loading, DL%)

Ο υπολογισμός του ποσοστού φόρτωσης των νανοσωματιδίων βασίζεται στο πηλίκο της δραστικής ουσίας η οποία εγκλείστηκε προς τη συνολική ποσότητα του υλικού που ζυγίζεται στο τελικό ξηρό προϊόν. Στην παρούσα διδακτορική διατριβή, οι ποσότητες υπολογίστηκαν για θεωρητικό ποσοστό φόρτωσης 40%. Σημαντικό είναι ότι το θεωρητικό και το πραγματικό ποσοστό φόρτωσης να συγκλίνουν, καθώς το ποσοστό φόρτωσης επηρεάζει σημαντικά και το προφίλ απελευθέρωσης της δραστικής ουσίας. Το πραγματικό ποσοστό φόρτωσης, υπολογίζεται με βάση την Εξίσωση 5.3:

$$\% \text{ Ποσοστό Φόρτωσης} = \frac{\text{mg εγκλεισμένης δραστικής ουσίας}}{\text{Συνολικά mg νανοσωματιδίων}} \% \quad \text{Εξ.5.3}$$

Προσδιορισμός μεγέθους, δείκτη πολυδιασποράς PDI και ζ-δυναμικού

Ο προσδιορισμός του μεγέθους των νανοσωματιδίων/συμπλόκων εγκλεισμού (υδροδυναμική διάμετρος, d_H), τον δείκτη πολυδιασποράς και το ζ-δυναμικό πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο δυναμικής σκέδασης φωτός (DLS). Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκε το όργανο Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Malvern, UK).

Για τον υπολογισμό κάθε δείγματος, παρασκευάζονται υδατικές διασπορές από τα ξηρά νανοσωματίδια σε συγκέντρωση 0,05 mg/mL με διαλύτη υπερκάθαρο νερό. Η κυψελίδα που χρησιμοποιήθηκε κατά την μέτρηση του κάθε δείγματος ήταν τύπου (DTS 1070, Malvern, UK). Οι μετρήσεις πραγματοποιούνται σε θερμοκρασία δωματίου. Πραγματοποιούνται τρεις τουλάχιστον επαναλήψεις των μετρήσεων για κάθε δείγμα και οι τιμές για το μέγεθος δίνονται ως μέσος όρος των τιμών.

Μελέτη δομής συμπλόκων εγκλεισμού μέσω Φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού ($^1\text{H-NMR}$)

Τα σύμπλοκα εγκλεισμού που παρασκευάστηκαν, μελετήθηκαν δομικά χρησιμοποιώντας τη φασματοσκοπία μαγνητικού συντονισμού NMR (^1H) προκειμένου να βρεθούν πιθανές αλληλεπιδράσεις μεταξύ του φιλοξενούμενου βιοδραστικού μορίου και του φορέα, καθώς και να επιβεβαιωθεί και ο επιτυχής εγκλεισμός των μορίων.

Τα φάσματα καταγράφηκαν με τα όργανα Varian 600 MHz και Varian 300 MHz του Ινστιτούτου Βιολογίας, Φαρμακευτικής Χημείας και Βιοτεχνολογίας του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών.

Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν το δευτεριωμένο νερό (D_2O), δευτεριωμένο διμεθυλο-σουλφοξείδιο (DMSO-d_6).

Η επεξεργασία των δεδομένων καθώς και η φασματοσκοπική ανάλυση πραγματοποιήθηκε μέσω του λογισμικού MNOVA.

Μελέτη Δομής μέσω Φασματοσκοπία υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (FT-IR)

Τα σύμπλοκα εγκλεισμού που σχηματίστηκαν, οι φορείς καθώς και οι καθαρές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν για εγκλεισμό μελετήθηκαν δομικά και με χρήση της φασματοσκοπίας υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (FT-IR), με τη χρήση είτε της τεχνικής ATR είτε σχηματίζοντας δισκία βρωμιούχου καλίου (KBr pellets). Όλα τα φάσματα καταγράφηκαν με το όργανο JASCO FT-IR-4200 (Japan Spectroscopic Company, Tokyo, Japan) με εύρος που κυμαίνεται $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$.

Μελέτη μορφολογίας μέσω Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας Σάρωσης (Scanning Electron Microscopy, SEM)

Με ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM) πραγματοποιήθηκε μελέτη της μορφολογίας των νανοσωματιδίων PLA. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε με το όργανο NanoSEM230 (FEI Company, Hillsboro, OR, USA) με ανιχνευτή ETD (Everhart Thornley Detector) και TLD (Through Lens Detector).

Για να ληφθούν καθαρές εικόνες και να εξασφαλιστεί η αγωγιμότητα στην επιφάνεια των σωματιδίων πραγματοποιείται επιχρύσωση των δειγμάτων πάχους 7 nm με τη χρήση του οργάνου EMS 550 X Sputter Coater (Hat Field, PA, USA).

Θερμοβαρυστρική Ανάλυση (Thermogravimetric analysis, TGA)

Για την μελέτη της θερμικής συμπεριφοράς των νανοσωματιδίων και συμπλόκων εγκλεισμού πραγματοποιήθηκε θερμοβαρυστρική ανάλυση με το όργανο TGA/DSC 1 STAR^e System Thermobalance, Mettler, Toledo Company. Η μελέτη πραγματοποιείται για τα δείγματα των συμπλόκων εγκλεισμού και των νανοσωματιδίων, των προς εγκλεισμό μορίων και των φορέων που χρησιμοποιήθηκαν. Συγκεκριμένα, τα δείγματα θερμαίνονται σε θερμοκρασίες από 25°C έως 600°C με ροή αζώτου $10\text{ mL} / \text{min}$ και ρυθμό θέρμανσης $10^{\circ}\text{C} / \text{min}$.

5.5.5 ΜΕΛΕΤΗ ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΣΗΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΤΩΝ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ PLA

Μελέτη απελευθέρωσης των κινολογικών αναλόγων από τα νανοσωματίδια PLA

Για την μελέτη απελευθέρωσης των κινολογικών αναλόγων από τον πολυμερικό φορέα PLA, αρχικά παρασκευάστηκαν ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών αλάτων (K_2HPO_4 και KH_2PO_4) σε pH 7.4. Πιο συγκεκριμένα, 10 mg των ξηρών νανοσωματιδίων διασπείρονται σε 4 mL του ρυθμιστικού διαλύματος και το διάλυμα αναδεύεται στους 37°C . Για συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα επαναλαμβάνονται μετρήσεις όπου κάθε φορά η διασπορά φυγοκεντρείται στις 12000 rpm και χρόνο 15 min. Κάθε φορά μετά την κάθε φυγοκέντρηση τα υπερκείμενα απομακρύνονται και τα νανοσωματίδια επαναδιασπείρονται με χρήση ίδιου όγκου ρυθμιστικού διαλύματος και τοποθετούνται σε μαγνητική ανάδευση για πλήρη ομοιογένεια.

Μελέτη απελευθέρωσης των κιναζολινικών αναλόγων από τις β-κυκλοδεξτρίνες

Ως προς την μελέτη απελευθέρωσης των συντιθέμενων κιναζολινονών από τις β-κυκλοδεξτρίνες, αρχικά παρασκευάζεται ρυθμιστικό διάλυμα των φωσφορικών αλάτων, K_2HPO_4 και KH_2PO_4 σε $pH = 7.4$. Παρασκευάζονται τα δείγματα σε γυάλινα φιαλίδια των 3 mL προστίθενται 2,5 mg συμπλόκου και 1mL ρυθμιστικού διαλύματος. Τα δείγματα τοποθετούνται σε επωαστήρα με ανάδευση στις 100 rpm και θερμοκρασία σταθερή στους 37°C, σε συγκεκριμένους χρόνους όπου πραγματοποιείται η δειγματοληψία. Πριν από κάθε μέτρηση, προστίθεται 500μL διαλύτη διμεθυλοσουλφοξειδίου (DMSO) σε κάθε δείγμα ώστε να διαλυτοποιηθεί η κιναζολινονή. Έπειτα, λαμβάνονται 50μL από το δείγμα και τοποθετούνται σε κυψελίδα ενώ παράλληλα αραιώνονται με ρυθμιστικό διάλυμα τελικού όγκου 3 mL.

Μέσω της φασματοσκοπίας υπεριώδους-ορατού, UV-Vis, αρχικά πραγματοποιήθηκε η κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς του κάθε κιναζολινικού αναλόγου και προσδιορίζεται η συγκέντρωση του κάθε μορίου, που έχει διαλυτοποιηθεί σε κάθε δείγμα. Ακολουθούν οι κατάλληλοι υπολογισμοί και υπολογίζεται η συγκέντρωση του μορίου η οποία έχει απελευθερωθεί για κάθε δείγμα για τα αντίστοιχα χρονικά διαστήματα. Από τις συγκεντρώσεις που πάρθηκαν, κατασκευάζονται τα διαγράμματα του ρυθμού απελευθέρωσης και τα διαγράμματα των αντίστοιχων κινητικών μοντέλων απελευθέρωσης.

5.5.6 ΜΕΛΕΤΗ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΜΕ ΤΟ DNA IN VITRO

Για την μελέτη της αλληλεπίδρασης των συμπλόκων εγκλεισμού με το DNA θύμου αδένος (CT-DNA) ακολουθείται η μεθοδολογία μέσω τιτλοδότησης με φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού (UV-Vis).

Πιο συγκεκριμένα, παρασκευάζεται ένα αρχικό ρυθμιστικό διάλυμα Tris-HCl (10 mM). Για την παρασκευή αυτού του ρυθμιστικού διαλύματος ζυγίζονται 605.7 mg Tris και διαλύονται σε 500 mL υπερκάρου νερού. Παράλληλα, ρυθμίζεται και το pH του διαλύματος στα 7.4 με τη χρήση σταγόνων HCl (10% v/v). Στη συνέχεια, παρασκευάζεται το διάλυμα DNA με διάλυση ινών φυσικού DNA από θύμο αδένος βοοειδούς (CT-DNA), συγκέντρωσης 1mg/mL σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris-HCl (10 mM), το οποίο αναδεύεται για 24 ώρες υπό ψύξη (4°C).

Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης του διαλύματος CT-DNA ανά νουκλεοτίδιο υπολογίζεται μέσω φασματοσκοπίας απορρόφησης από το πηλίκο της απορρόφησης του διαλύματος στα 260 nm, που είναι $6600 M^{-1}cm^{-1}$. Ο λόγος της απορρόφησης είναι 1.8-1.9:1, που υποδηλώνει ότι το DNA είναι ελεύθερο από πρωτεΐνες. Το διάλυμα μπορεί να παραμείνει στο ψυγείο έως και 4 μέρες όπου πριν την κάθε επαναχρησιμοποίηση του ελέγχεται με φάσμα ηλεκτρονικής απορρόφησης.

Στη συνέχεια, αραιώνοντας κατάλληλες ποσότητες με το ρυθμιστικό διάλυμα Tris σε τελικό όγκο 10mL, παρασκευάζονται διαλύματα DNA διαφορετικών συγκεντρώσεων από το πυκνό διάλυμα DNA συγκέντρωσης 1mg/mL. Πιο αναλυτικά, παρασκευάζονται διαλύματα DNA συγκεντρώσεων 0, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 200, 300, 400 και 500 μM.

Παράλληλα, παρασκευάζονται διαλύματα των κινάζολινικών αναλόγων και των β-κυκλοδεξτρινών με συγκέντρωση 10mM ως δείγματα «blank», με σκοπό την μελέτη αλληλεπίδρασής τους με το DNA. Κατάλληλη ποσότητα του βιοδραστικού μορίου διαλυτοποιείται σε 1mL διμεθυλοσουλφοξειδίου (DMSO), ενώ αντίστοιχα τα διαλύματα των β-κυκλοδεξτρινών παρασκευάζονται χρησιμοποιώντας ως διαλύτη το ρυθμιστικό Tris. Το τελικό προς μέτρηση δείγμα παρασκευάζεται με ποσότητα του 1μL από τα διαλύματα 10mM και αραιώνεται με διάλυμα DNA, διαφορετικής συγκέντρωσης για κάθε μέτρηση, σε τελικό όγκο 1mL. Έπειτα, το κάθε δείγμα τοποθετείται στον επωαστήρα για 30 λεπτά, με ανάδευση στις 100 rpm και σε θερμοκρασία 37 °C και ακολουθεί η ανάλυση στο όργανο UV-Vis.

Αντίστοιχη διαδικασία ακολουθείται και για τα σύμπλοκα εγκλεισμού. Πιο συγκεκριμένα, κατάλληλη ποσότητα του συμπλόκου διαλύεται σε 1mL ρυθμιστικού διαλύματος Tris, τοποθετούνται για επώαση στους 37 °C και για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα, το οποίο έχει βρεθεί μέσω της μελέτης απελευθέρωσης του κάθε συμπλόκου, ώστε να επιτευχθεί σε ικανοποιητικό βαθμό το ποσοστό απελευθέρωσης του βιοδραστικού μορίου και έπειτα μικρή ποσότητα του 1μL αναμειγνύεται με διαφορετικές συγκεντρώσεις κάθε φορά από το DNA, σε τελικό όγκο 1mL. Στη συνέχεια, αφήνεται για επώαση 5 λεπτά στις 100rpm και σε θερμοκρασία 37 °C και τέλος ακολουθεί τιτλοδότηση μέσω της φασματοσκοπίας υπεριώσους-ορατού UV-Vis.

Μελετώνται και καταγράφονται οι μεταβολές της απορρόφησης και του μήκους κύματος (λ_{max}) που λαμβάνουν χώρα στα φάσματα UV σε εύρος που κυμαίνεται στα 250-400 nm των δειγμάτων με την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων του CT-DNA.

Οι παρατηρούμενες μεταβολές μπορούν να δώσουν αξιόπιστα συμπεράσματα σε σχέση με το είδος της αλληλεπίδρασης των μορίων με το DNA. Παράλληλα, η σταθερά αλληλεπίδρασης, K_b , της ένωσης με το CT-DNA προσδιορίζεται από τον λόγο της τεταγμένης επί της αρχής προς την κλίση της ευθείας ελαχίστων τετραγώνων, συναρτήσει με την συγκέντρωση του CT-DNA με βάση την εξίσωση Benesi - Hildebrand.

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

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. [30], [32], [37]–[39]

Υπολογιστική μελέτη αλληλεπίδρασης - molecular docking

Με σκοπό την υπολογιστική μελέτη αλληλεπίδρασης των κινάζολινικών αναλόγων με το DNA, χρησιμοποιήθηκε αρχικά η κρυσταλλική δομή του DNA μέσα από την βιβλιοθήκη του RSCB Protein Data Bank (PDB ID: 1bna), ενώ αντίστοιχα οι ενώσεις σχεδιάζονται μέσω του προγράμματος HyperChem 8.0.

Για την βελτιστοποίηση των παραμέτρων σύνδεσης χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα AutoDock Vina μέσω της εφαρμογής εμπειρικής λειτουργίας ελεύθερης ενέργειας. Με το AutoDock Tools προστίθενται μόνο πολικά υδρογόνα στο DNA. Για την απεικονιστική μελέτη της αλληλεπίδρασης μορίου-DNA, χρησιμοποιείται το λογισμικό PyMol, σύμφωνα με το οποίο σχεδιάζονται τα νουκλεοτίδια που συμμετέχουν στην αλληλεπίδραση αυτή,

ενώ μπορούν να απεικονιστούν και πιθανοί δεσμοί υδρογόνου που σχηματίζονται μεταξύ μορίων-DNA.

5.6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο δομικός και ο μορφολογικός χαρακτηρισμός των νανοσωματιδίων καθώς και ο προσδιορισμός των θερμικών τους ιδιοτήτων πραγματοποιείται με τις τεχνικές που αναφέρθηκαν στο πειραματικό μέρος.

Συγκεκριμένα, το μέγεθος, η κατανομή του μεγέθους και το ζ-δυναμικό των νανοσωματιδίων καθορίζουν την ικανότητά τους και της χρήσης τους σε εφαρμογές. Είναι σημαντικές παράμετροι καθώς το μέγεθος επηρεάζει τις ιδιότητες των νανουσυστημάτων και τα επιφανειακά χαρακτηριστικά τους. Επίσης, ο δείκτης πολυδιασποράς (PDI) αντιπροσωπεύει την κατανομή του μεγέθους και είναι ένα μέτρο της ομοιομορφίας των νανοσωματιδίων και οι τιμές που λαμβάνει είναι από $0.1 < PDI < 1$. Όσο αυξάνεται η τιμή του PDI αυξάνεται και η ανομοιομορφία ενώ τιμές $PDI < 0.5$ υποδηλώνουν ομοιογενείς διασπορές.

Αντίστοιχα, το ζ-δυναμικό αποτελεί σημαντικό δείκτη για την σταθερότητα των νανοσωματιδίων σε υδατικό μέσω διασποράς. Συγκεκριμένα, όσο αυξάνεται η απόλυτη τιμή αυτού, τόσο σταθερότερες διασπορές εμφανίζονται, καθώς λόγω αυξημένων απωστικών δυνάμεων μειώνεται η τάση να συσσωματωθούν. Οι σταθερές διασπορές χαρακτηρίζονται αυτές με ζ-δυναμικό ± 30 mV.

Στην περίπτωση των συμπλόκων εγκλεισμού, η μελέτη της δομής των συμπλόκων πραγματοποιείται κυρίως με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR (1H NMR) και φασματοσκοπία υπερύθρου μέσω μετασχηματισμού Fourier (FT-IR).

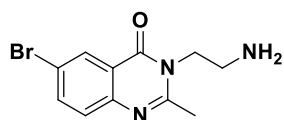
Ακόμη, η μελέτη της μορφολογίας προσφέρει πληροφορίες για την αποτελεσματικότητα της διεργασίας καθορίζοντας την μορφή της φορτωμένης ουσίας.

Τέλος, η μελέτη του προφίλ απελευθέρωσης των βιοδραστικών ενώσεων από τα νανοσωματίδια πραγματοποιείται προκειμένου να εκτιμηθεί η αποτελεσματικότητα του εγκλεισμού καθώς επίσης να μας δώσει πληροφορίες χρήσιμες για την μετέπειτα εφαρμογή τους.

Εγκλεισμός Επιλεγμένων κινναζολινικών αναλόγων με PLA

1. Εγκλεισμός 3-(2-αμινοαιθυλο)-6-βρωμο-2-μεθυλοκινναζολιν-4(3H)-όνης (4f).

Πραγματοποιήθηκε η παρασκευή των δειγμάτων όπως παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.6. Ως διαλύτης της ένωσης **4f** (Σχήμα 5.6) επιλέχθηκε και χρησιμοποιήθηκε το διμέθυλοσουλφοξείδιο (DMSO) κατά την μέθοδο I παρασκευής των νανοσωματιδίων. Παράλληλα, μέσω της μεθόδου II επιλέχθηκαν φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες (NaDES) ως διαλύτες της ένωσης **4f** ώστε να επιτευχθεί βέλτιστη διαλυτότητα (Πίνακας 5.7) αλλά και να χρησιμοποιηθεί και ως μέσο γαλακτοματοποίησης στο στάδιο της παρασκευής των νανοσωματιδίων όπως έχει ήδη αναφερθεί.



Σχήμα 5.6 : Χημική δομή της προς εγκλεισμό 3-(2-αμινοαιθυλο)-6-βρωμο-2-μεθυλοκιναζολιν-4(3H)-όνης, **4f**

Πίνακας 5.7: Ποσότητες για την παρασκευή νανοσωματιδίων 3-(2-αμινοαιθυλο)-6-βρωμο-2-μεθυλοκιναζολιν-4(3H)-όνης (Μόριο 3).

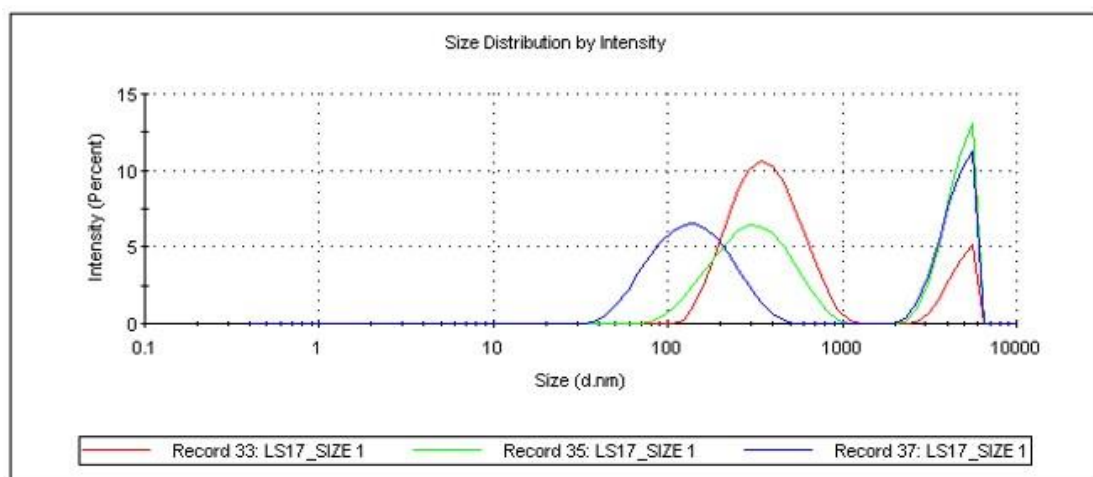
No	Δείγμα	Διαλύτης
1	4f-NPs	DMSO
2	4f-NPs-NaDES5	NaDES5 [Χλωριούχος χολίνη/Γαλακτικό οξύ (1:1.5)]
3	4f-NPs-NaDES6	NaDES6 [Χλωριούχος χολίνη/οξαλικό οξύ (1:1)]
4	4f-NPs-NaDES20	NaDES20 [Γλυκόζη/Γαλακτικό οξύ (1:5)]

Τα νανοσωματίδια PLA που σχηματίστηκαν με εγκλεισμένο το κινναζολινικό ανάλογο **4f**, έχουν μέγεθος που κυμαίνεται κυρίως στην περιοχή των 300 nm. Ο δείκτης πολυδιασποράς PDI παρουσιάζει ικανοποιητική ομοιογένεια μεγεθών στην υδατική διασπορά (τιμές <0.5). Σε ορισμένες περιπτώσεις, οι διασπορές παρουσίασαν μία δεύτερη χαμηλότερης έντασης κορυφή στα 4.5-5.5 μm, που ένδειξη είτε συσσωμάτωσης του ξηρού προϊόντος είτε διόγκωσης των νανοσωματιδίων λόγω της επεξεργασίας μέχρι την παραλαβή τους ως ξηρά νανοσωματίδια. Φαίνεται ότι αυτή η τάση συσσωμάτωσης να μην είναι επικρατέστερη στο δείγμα και μπορεί να ελαχιστοποιηθεί βελτιώνοντας την επεξεργασία και τον τρόπο καθαρισμού των νανοσωματιδίων μέχρι την παραλαβή τους, Για παράδειγμα, θα μπορούσε να γίνει προσθήκη σταθεροποιητικού ή αντιδιογκωτικού παράγοντα. Λόγω των εστερικών ομάδων του πολύ(γαλακτικού) οξέος, PLA, το δυναμικό ζ παρουσιάζει αρνητικές χαμηλές τιμές, το οποίο επιβεβαιώθηκε από τα πειραματικά δεδομένα και από την τιμή του δυναμικού ζ για τα κενά νανοσωματίδια NPs-PLA. Παράλληλα όμως, παρατηρείται αύξηση των τιμών του δυναμικού ζ στις αρνητικές τιμές στα εγκλεισμένα νανοσωματίδια PLA NPs, το οποίο υποδηλώνει εντονότερη τάση απώθησης μεταξύ των νανοσωματιδίων. Αυτό μπορεί να οφείλεται και στην χρήση φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών, NaDES.

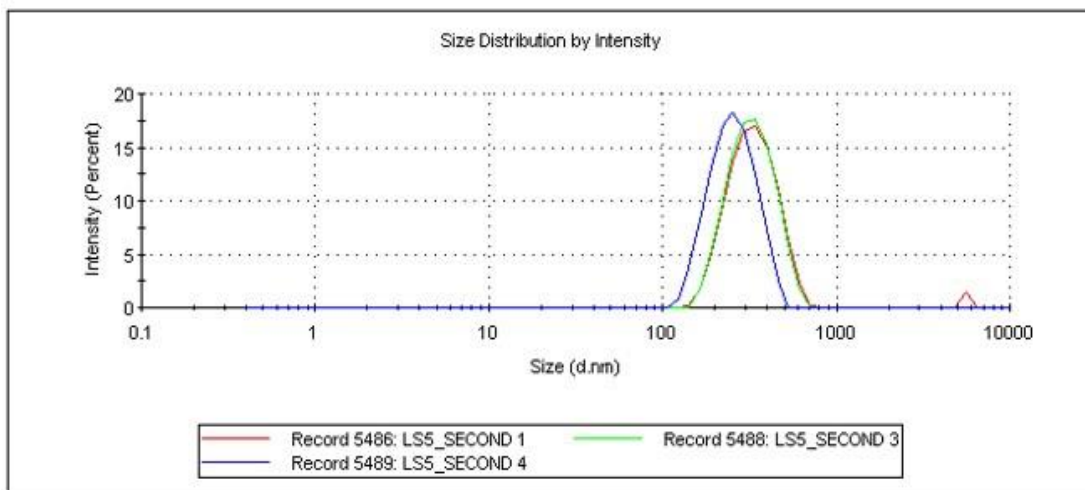
Τα νανοσωματίδια πολύ(γαλακτικού) οξέος PLA όπου χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης διμεθυλοσουλφοξείδιο, DMSO (**4f-NPs**) σύμφωνα με τη πρώτη μέθοδο γαλακτωματοποίησης-εξάτμισης διαλύτη, παρατηρήθηκε ότι παρουσίασαν τάση συσσωμάτωσης, με μια δεύτερη κορυφή μεγέθους κοντά στα 4500 nm καθώς και εμφανή πολυδιασπορά μεγεθών, στην κύρια κορυφή των 300 nm (Εικόνα 5.12).

Παράλληλα, στα δείγματα **4f-NPs-NaDES5** (Εικόνα 5.13) και **4f-NPs-NaDES20** (Εικόνα 5.14), στα οποία πραγματοποιήθηκε εγκλεισμός με χρήση των φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών και συγκεκριμένα του NaDES5 Χλωριούχος χολίνη / Γαλακτικό οξύ

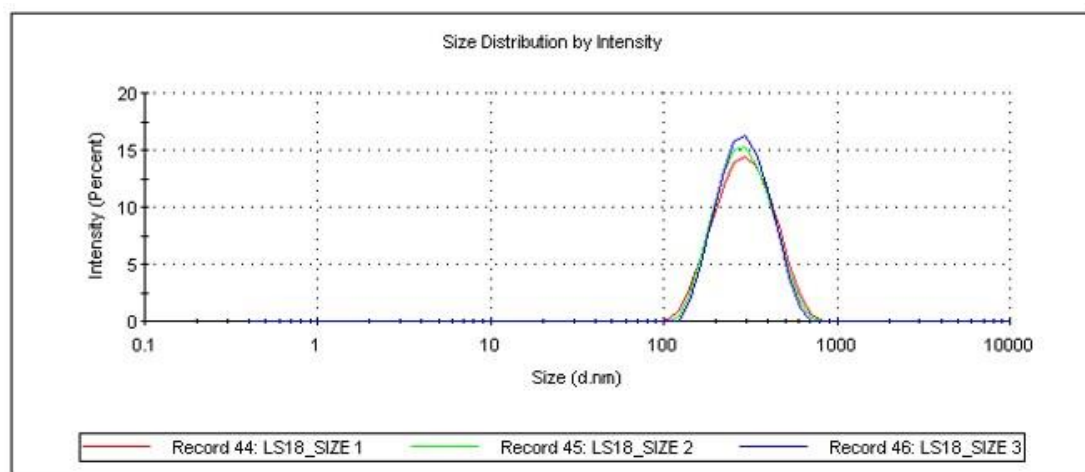
1:1.5 και του NaDES20 Γλυκόζη / Γαλακτικό οξύ 1:5 αντίστοιχα, παρατηρήθηκε τάση εξάλειψης της συσσωμάτωσης και πιο ικανοποιητική κατανομή μεγεθών. Οι συγκεκριμένες μετρήσεις ελήφθησαν από τη διασπορά των νανοσωματιδίων NPs πριν την επεξεργασία τους με λυοφιλοποίηση. Πιο αναλυτικά, το δείγμα **4f-NPs-NaDES20** διαθέτει τη μεγαλύτερη ομοιομορφία, το οποίο υποδεικνύει ότι η γλυκόζη (η οποία υπάρχει μέσα στα συστατικά του NaDES20) βοηθάει στη διασπορά των νανοσωματιδίων λόγω μεγάλης διαλυτότητας στο υδατικό περιβάλλον, με αποτέλεσμα να υπάρχει καλύτερη ομοιογένεια. Πιθανότατα, να σταθεροποιείται με αλληλεπιδράσεις όπως δεσμούς υδρογόνου, με τις αλυσίδες του πολυμερούς. Συμπεραίνοντας, φαίνεται ότι η τροποποιημένη μέθοδος της γαλακτωματοποίησης/εξάτμισης διαλύτη με προσθήκη NaDES, θα μπορούσε να βελτιώσει ορισμένα χαρακτηριστικά των νανοσωματιδίων που σχηματίζονται με το διαλύτη DMSO, όπως αναφέρθηκε το μέγεθος και η ομοιογένεια. Επιπλέον, ενδιαφέρον θα παρουσίαζε και η χρήση του NaDES ως επιφανειοδραστικός παράγοντας κατά το στάδιο της γαλακτωματοποίησης, παρόλα αυτά, είναι δύσκολο να αντικαταστήσει τη δράση του PVA.



Εικόνα 5.12: Κατανομή μεγεθών του δείγματος 4f-NPs (νανοσωματίδια PLA με εγκλεισμένη την κινναζολινόνη 4f σε διαλύτη DMSO).



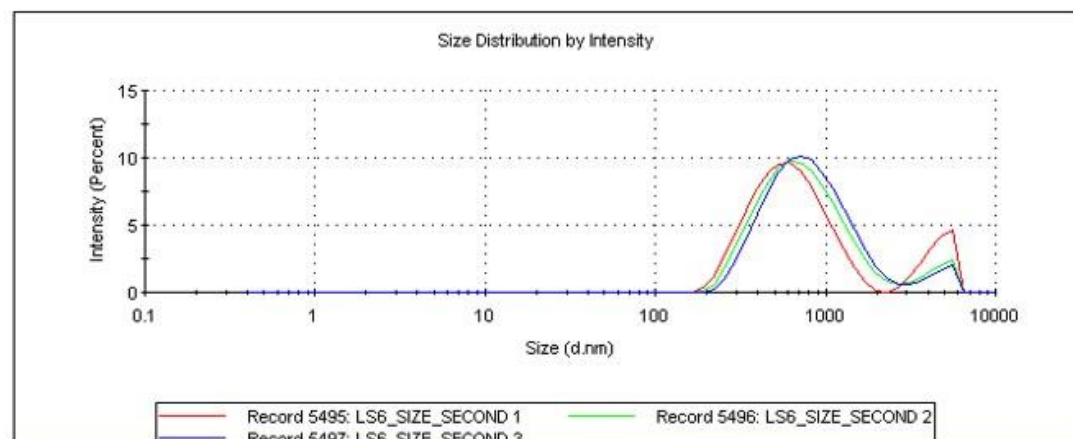
Εικόνα 5.13: Κατανομή μεγεθών του δείγματος 4f-NPs-NADES5 (νανοσωματίδια PLA με εγκλεισμένη την κιναιζολινόνη 4f σε διαλύτη NaDES5



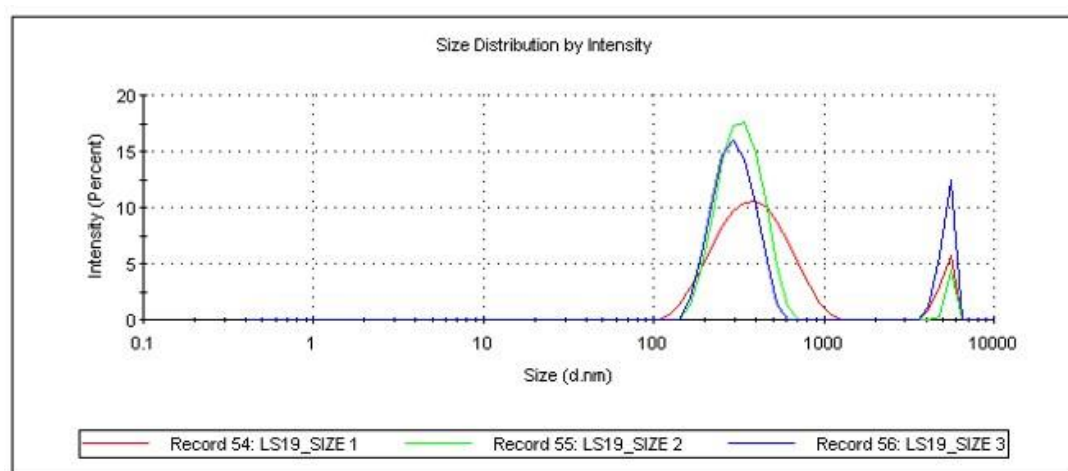
Εικόνα 5.14: Κατανομή μεγεθών των νανοσωματιδίων PLA με εγκλεισμένη την κιναιζολινόνη 4f σε διαλύτη NaDES20

Σύγκριση κενών νανοσωματιδίων με νανοσωματίδια PLA που περιέχουν εγκλεισμένη ουσία

Τα κενά δείγματα των νανοσωματιδίων **NPs-NaDES5** (Εικόνα 5.15) που περιέχουν διαλύτη NaDES5 (Χλωριούχος χολίνη/Γαλακτικό οξύ 1:1.5) και των νανοσωματιδίων **NPs-NaDES20** (Εικόνα 5.16), που περιέχουν αντίστοιχα NaDES20 Γλυκόζη/Γαλακτικό οξύ 1:5 παρουσίασαν μια δεύτερη κορυφή λόγω συσσωμάτωσης στην περιοχή των μμ.



Εικόνα 5.15: Μέγεθος κενών νανοσωματιδίων PLA, NPs-NaDES5, με προσθήκη NaDES5.



Εικόνα 5.16: Κατανομή μεγέθους κενών νανοσωματιδίων PLA, με προσθήκη NaDES20.

Σύγκριση νανοσωματιδίων PLA με εγλεισμένη την κινναζολινόνη 4f διαλυμένη σε διαφορετικά NaDES

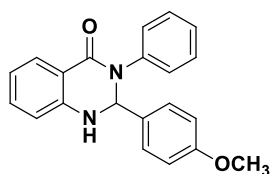
Τόσο τα νανοσωματίδια με το NaDES5 (**4f-NPs-NaDES5**) όσο και με το NaDES20 (**4f-NPs-NaDES20**) δείχνουν να επιδρούν θετικά στη βελτίωση του μεγέθους των νανοσωματιδίων και του δείκτη πολυδιασποράς. Οι DLS μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν και σε νανοσωματίδια με NaDES, Χλωριούχος χολίνη / Οξαλικό οξύ 1:1 (**4f-NPs-NaDES6**) όπου στο ξηρό προϊόν παρουσίασαν έντονη πολυδιασπορά ως προς το μέγεθος. Συνοπτικά, στον παρακάτω πίνακα, παρουσιάζονται οι μετρήσεις του DLS ως προς το μέγεθος (nm), το δείκτη πολυδιασποράς (PDI) και το δυναμικό ζ (mV), οι μέσοι όροι (M.O.) αυτών, και οι τυπικές αποκλίσεις των μεγεθών (S.T.D.) για τα νανοσωματίδια με εγλεισμένες την ένωση 3-(2-αμινοαιθυλο)-6-βρωμο-2-μεθυλοκινναζολιν-4(3H)-όνη (**4f**) (Πίνακας 5.8)

Πίνακας 5.8: Αποτελέσματα DLS για τα δείγματα νανοσωματιδίων PLA με εγκλεισμένη την κινναζολινόνη 4f.

No	Δείγμα	Μέγεθος (nm)	M.O.	PDI	M.O.	Δυναμικός ζ (mV)	M.O.
1	4f-NPs-(DMSO)	390.9	291.9±137.8	0.350	0.465	-17.5	-16.3±6.36
		333.4		0.613		-29.8	
		151.3		0.431		-1.61	
2	4f-NPs-NaDES5	340.0	311.9±93.4	0.410	0.374	-15.4	-14.8±4.16
		261.1		0.347		-12.5	
		334.7		0.364		-16.5	
3	4f-NPs-NaDES6	340,0	371.1±127.8	0.347	0.374	-18.7	-15.1±7.11
		438.7		0.410		-14.2	
		334.7		0.364		-12.5	
4	4f-NPs-NaDES20	310.5	306.3±108.2	0.119	0.117	-0.999	-2.27±4.58
		304.6		0.115		-0.630	
		303.8		0.118		-0.645	

2.Εγκλεισμός 2-(4-μεθοξυφαινυλο)-3-φαινυλο-2,3-διυδροκινναζολιν-4(1H)-όνης (**10d**)

Αντίστοιχα, πραγματοποιήθηκε ο εγκλεισμός της 2-(4-μεθοξυφαινυλο)-3-φαινυλο-2,3-διυδροκινναζολιν-4(1H)-όνης (**10d**) (Σχήμα 5.7) σε νανοσωματίδια PLA για την βελτίωση της διαλυτότητας της. Για τον σκοπό αυτό, στον Πίνακα 5.9 παρουσιάζονται τα δείγματα που παρασκευάστηκαν.



Σχήμα 5.7: Χημική δομή της προς εγκλεισμό 2-(4-μεθοξυφαινυλο)-3-φαινυλο-2,3-διυδροκινναζολιν-4(1H)-όνης (**10d**)

Αντίστοιχα, έγινε χρήση ενός συμβατικού διαλύτη (ακετόνη) για την διάλυση της ένωσης 10d (Πίνακας 5.9), ενώ αντίστοιχα χρησιμοποιήθηκαν συγκριτικά και εναλλακτικοί φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες, NaDES.

Πίνακας 5.9: Ποσότητες για την παρασκευή νανοσωματιδίων 2-(4-μεθοξυφαινυλο)-3-φαινυλο-2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)-όνης (10d).

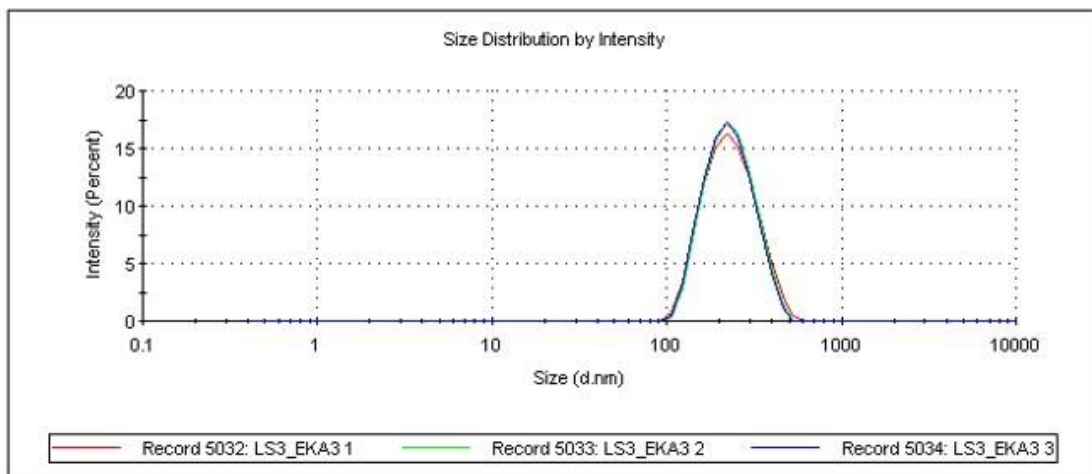
No	Δείγμα	Διαλύτης
1	10d-NPs	Ακετόνη
2	10d-NPs-NaDES5	NADES5 [Χλωριούχος χολίνη/Γαλακτικό οξύ (1:1.5)]
3	10d-NPs-NaDES6	NADES6 [Χλωριούχος χολίνη/οξαλικό οξύ (1:1)]

Επιπλέον, με την χρήση διαφορετικών εναλλακτικών διαλυτών NADES παρασκευάστηκαν και τα αντίστοιχα κενά νανοσωματίδια του πολυ(γαλακτικού) οξέος, PLA NPs (Πίνακας 5.10).

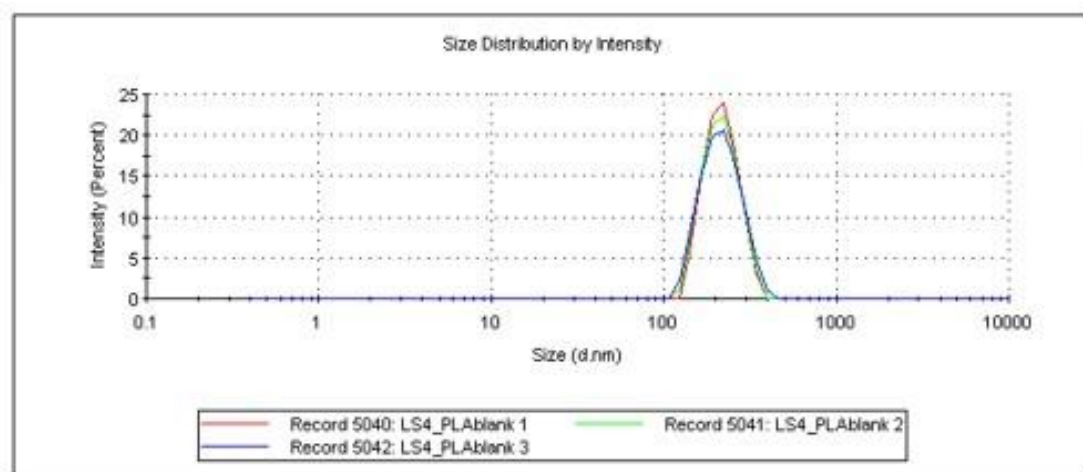
Πίνακας 5.10: Ποσότητες για την παρασκευή των κενών νανοσωματιδίων.

No	Κενά NPs	Διαλύτης
1	NPs PLA	-
2	NPs-NaDES5	NaDES5 [Χλωριούχος χολίνη/Γαλακτικό οξύ (1:1.5)]
3	NPs-NaDES6	NaDES6 [Χλωριούχος χολίνη/οξαλικό οξύ (1:1)]

Τα ξηρά νανοσωματίδια **10d-NPs-NaDES5** με εγκλεισμένη την ένωση 2-(4-μεθοξυφαινυλο)-3-φαινυλο-2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)-όνη (**10d**), αξιολογήθηκαν ως ιδιαίτερα ομοιογενή με τιμές του δείκτη πολυδιασποράς κάτω από 0.1 και αντίστοιχου μεγέθους στην περιοχή των 200 nm (Εικόνα 5.17). Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν την επιτυχία της μεθόδου γαλακτωματοποίησης-εξάτμισης διαλύτη για το συγκεκριμένο κινάζολινικό ανάλογο, ενώ η επεξεργασία μέχρι του ξηρού προϊόντος δε φαίνεται να επηρεάζει ιδιαίτερα τα χαρακτηριστικά των νανοσωματιδίων αυτών. Σημειώνεται ότι συγκρίνοντας τα κενά νανοσωματίδια **NPs PLA** με το δείγμα κενών νανοσωματιδίων χωρίς NaDES και των κενών με NaDES (**NPs-NaDES5**), παρατηρήθηκε ότι δε μεταβάλλονται ιδιαίτερα το μέγεθος, ο δείκτης πολυδιασποράς και το δυναμικό ζ των νανοσωματιδίων (Εικόνα 5.18).

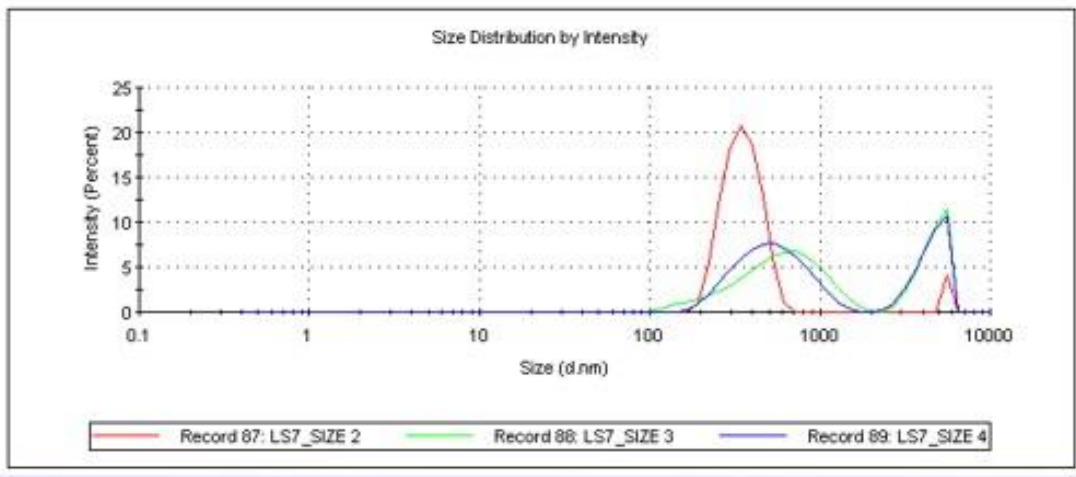


Εικόνα 5.17: Κατανομή μεγεθών του δείγματος NPs PLA (νανοσωματίδια PLA με εγκλεισμένη την κινναζολινόνη 10d σε συμβατικό διαλύτη).

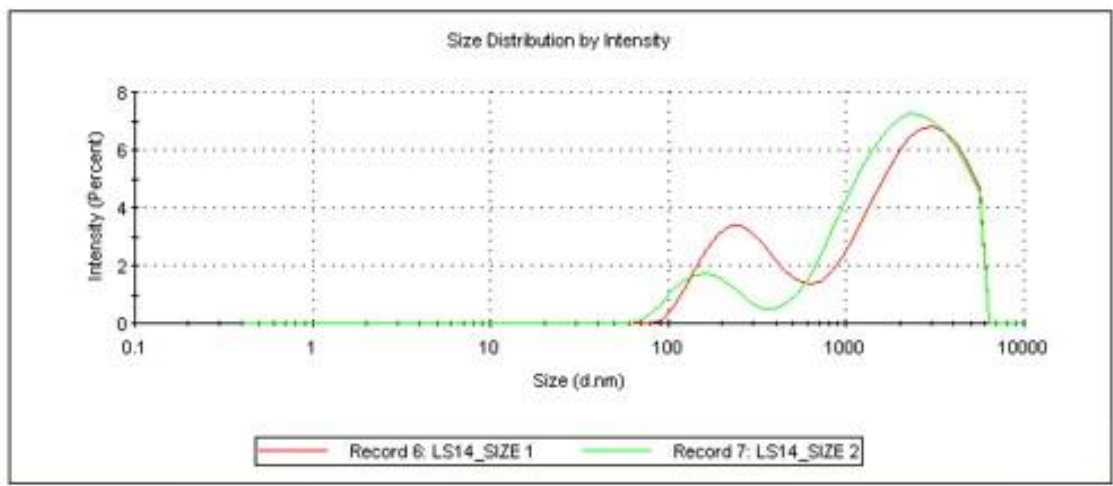


Εικόνα 5.18: Κατανομή μεγεθών του δείγματος NPs-PLA (κενά νανοσωματίδια PLA).

Η κινναζολινόνη **10d** εγκλείστηκε και με τη χρήση του διαλύτη NaDES5 με χλωριούχο χολίνη/γαλακτικό οξύ (1:1.5) (**10d-NPs-NaDES5**) και τα αποτελέσματα στα αντίστοιχα ξηρά νανοσωματίδια παρουσίασαν τάση συσσωμάτωσης και πολυδιασπορά (Εικόνα 5.19). Αντίστοιχα, το προφίλ του δείγματος (**4f-NPs-NaDES6**) με χλωριούχο χολίνη/οξαλικό οξύ (1:1) ως διαλύτη του κινναζολινικού αναλόγου **10d**, παρουσίασε μια γενική τάση συσσωμάτωσης (Εικόνα 5.20). Συνολικά, η μέθοδος με τη χρήση των NaDES ως διαλύτες για την πραγματοποίηση του εγκλεισμού της ένωσης 10d, δεν παρουσιάζει μία γενικευμένη τάση, όμως θα πρέπει να πραγματοποιηθούν περισσότερες δοκιμές εγκλεισμού με τη χρήση τέτοιων εναλλακτικών διαλυτών (NaDES), ώστε να καταστεί σαφέστερη η κατεύθυνση των βελτιώσεων.



Εικόνα 5.19: Κατανομή μεγεθών NPs 10d-NPs-NADES5(νανοσωματίδια PLA με εγκλεισμένη την ένωση 10d με διαλύτη NaDES CC/LA 1:1.5).



Εικόνα 5.20: Κατανομή μεγεθών του δείγματος 4f-NPs-NADES6 (νανοσωματίδια PLA με εγκλεισμένη την ένωση 10d με διαλύτη NaDES CC/OA 1:1).

Στη συνέχεια, παρουσιάζονται συνοπτικά οι μετρήσεις του DLS ως προς το μέγεθος (nm), το δείκτη πολυδιασποράς (PDI) και το δυναμικό ζ (mV), οι μέσοι όροι (M.O.) αυτών, και οι τυπικές αποκλίσεις των μεγεθών (S.T.D.) για τα νανοσωματίδια με εγκλεισμένη την ένωση 2-(4-μεθοξυφαινυλο)-3-φαινυλο-2,3-διυδροκινναζολιν-4(1H)-όνη (**10d**) (Πίνακας 5.11) καθώς και τα αποτελέσματα των αντίστοιχων κενών νανοσωματιδίων (Πίνακας 5.12).

Πίνακας 5.11: Αποτελέσματα DLS για τα δείγματα νανοσωματιδίων PLA με εγκλεισμένη την κινναζολιόνη 10d.

No	Δείγμα	Μέγεθος (nm)	M.O.	PDI	M.O.	Δυναμικό ζ (mV)	M.O.
1	10d-NPs-PLA (Ακετόνη)	215.7	225.5±75.8	0.1	0.086	-3.03	-2.75±4.6
		217.5		0.081		-2.36	

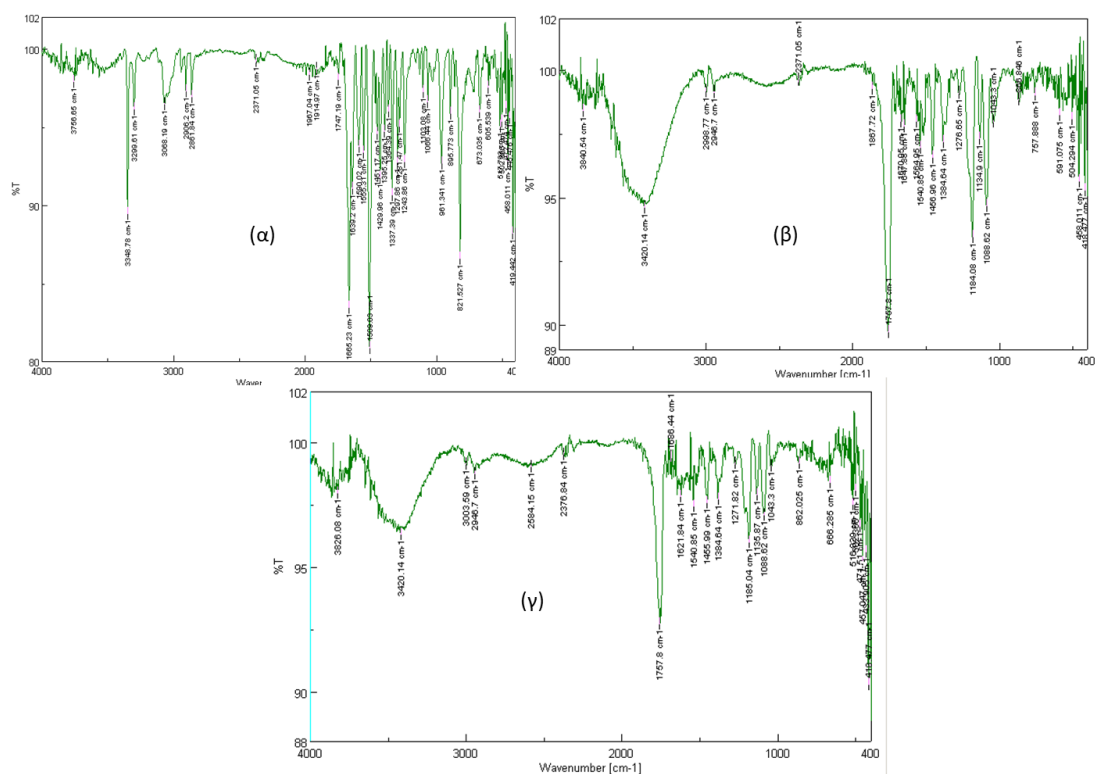
		234.4		0.076		-2.86	
2	10d-NPs-NaDES5	640.2	518.0±94.4	0.646	0.674	-36.9	-34.3±5.1
		558.1		0.589		-32.6	
		355.7		0.788		-33.3	
2	10d-NPs-NaDES6	287.7	236.0±104.9	0.945	0.914	-19.6	-20.3±4.8
		184.2		0.884		-19.6	
		-		-		-21.8	

Πίνακας 5.12: Αποτελέσματα DLS των κενών νανοσωματιδίων PLA.

No	Κενά NPs PLA	Μέγεθος (nm)	M.O.	PDI	M.O.	Δυναμικό ζ (mV)	M.O.
1	10d-NPs-NaDES5	219.4	219.03±51.98	0.045	0.039	-3.09	-2.80±5.21
		217.8		0.030		-2.44	
		219.9		0.042		-2.88	
2	10d-NPs-NaDES6	786.5	840.3±268.1	0.155	0.119	-9.67	-25.1±3.22
		859.7		0.065		-11.7	
		874.8		0.139		-3.76	

Υπέρυθρη Φασματοσκοπία μετασχηματισμού Fourier (FTIR)

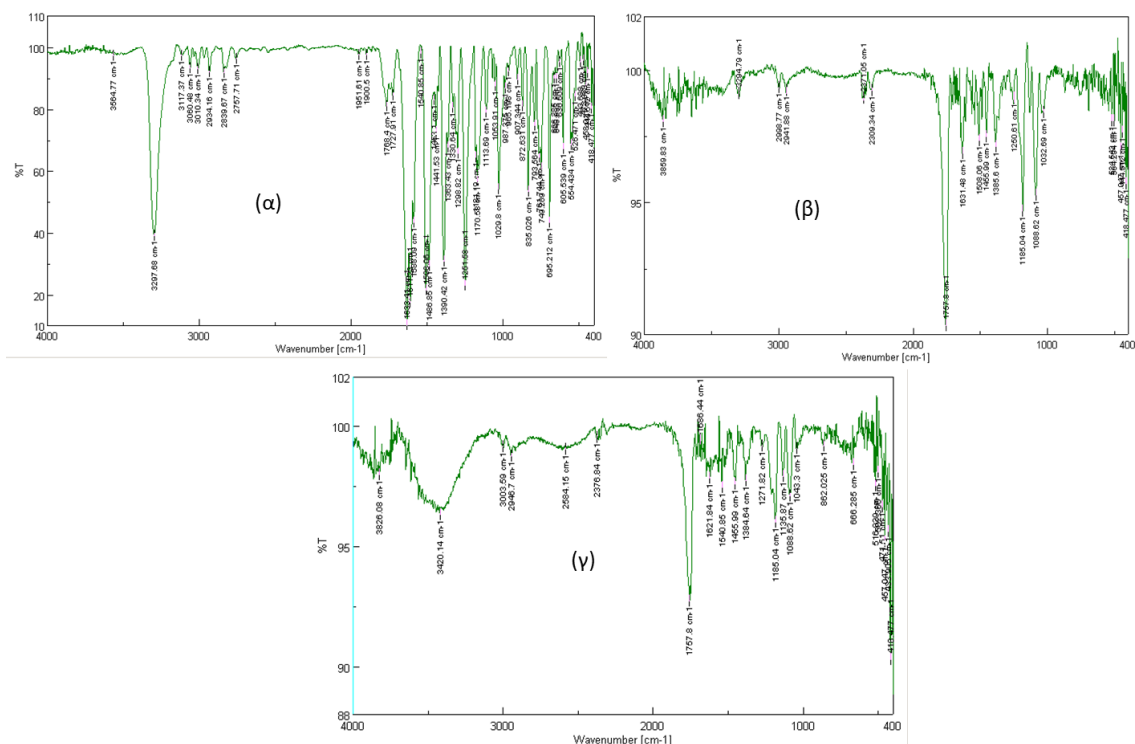
Λαμβάνονται φάσματα IR για την ένωση 3-(2-αμινοαιθυλο)-6-βρωμο-2-μεθυλοκιναζολιν-4(3H)-όνη **4f** και την 2-(4-μεθοξυφαινυλο)-3-φαινυλο-2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)-όνη **10d**, των νανοσωματιδίων PLA **4f-NPs-NaDES5**, των κενών νανοσωματιδίων PLA **NPs-NaDES5** με NaDES (χλωριούχο χολίνη/γαλακτικό οξύ, 1:1.5), και των νανοσωματιδίων PLA **10d-NPs-NaDES5**. Στην Εικόνα 5.21 και στην Εικόνα 5.22 παρουσιάζονται συγκεντρωτικά τα φάσματα IR, προκειμένου να γίνει σύγκριση μεταξύ του φορέα εγκλεισμού, των καθαρών κιναζολινικών αναλόγων και των νανοσωματιδίων με εγκλεισμένο το επιλεγμένο βιοδραστικό μόριο.



Εικόνα 5.21: Φάσματα FT-IR (KBr) (α) της κιναζολινόνης 4f, (β) των νανοσωματιδίων 4f-NPs-NADES5 και (γ) των κενών νανοσωματιδία PLA.

Στο φάσμα FT-IR των κενών νανοσωματιδίων **NPs-NaDES5**, οι κορυφές που οφείλονται στην αλυσίδα του πολυμερούς, του πολύ(γαλακτικού) οξέος PLA εμφανίζονται στα 2946.7 cm^{-1} και 3003.59 cm^{-1} , λόγω δόνησης τάσης του δεσμού C-H, ενώ αντίστοιχα το καρβονύλιο C=O εμφανίζει έντονη απορρόφηση λόγω δόνηση τάσης που εντοπίζεται με μια κορυφή στα 1757.8 cm^{-1} . Μια χαρακτηριστική κορυφή της τάσης δεσμού της εστερικής ομάδας C-(C=O)-O διακρίνεται στα 1185.04 cm^{-1} . Παράλληλα, παρατηρείται μια ευρεία κορυφή γύρω στα 3420 cm^{-1} όπου αποδίδεται στην τάση δεσμού του O-H μεταξύ των άκρων της πολυμερικής αλυσίδας του πολύ(γαλακτικού) οξέος, PLA.

Συγκριτικά, παρατηρώντας τα φάσματα FT-IR είναι εμφανές ότι το φάσμα των νανοσωματιδίων **4f-NPs-NaDES5** με εγκλεισμένη την ένωση εγκλεισμένη την ένωση **4f** και των κενών νανοσωματιδίων **NPs-NaDES5** παρουσιάζουν τις ίδιες κορυφές, με αποτέλεσμα να αποδεικνύει ότι η ένωση έχει εγκλειστεί επιτυχώς και αποτελεσματικά στο εσωτερικό του φορέα του πολύ(γαλακτικού) οξέος, PLA. Σε αρκετές περιπτώσεις, παρατηρείται ότι οι κορυφές της ένωσης και της μήτρας αλληλεπικαλύπτονται, κυρίως στην περιοχή του δακτυλικού αποτυπώματος, δυσκολεύοντας την αποτίμηση στο δείγμα των σωματιδίων με εγκλεισμένη την ένωση **4f-NPs-NaDES5**.

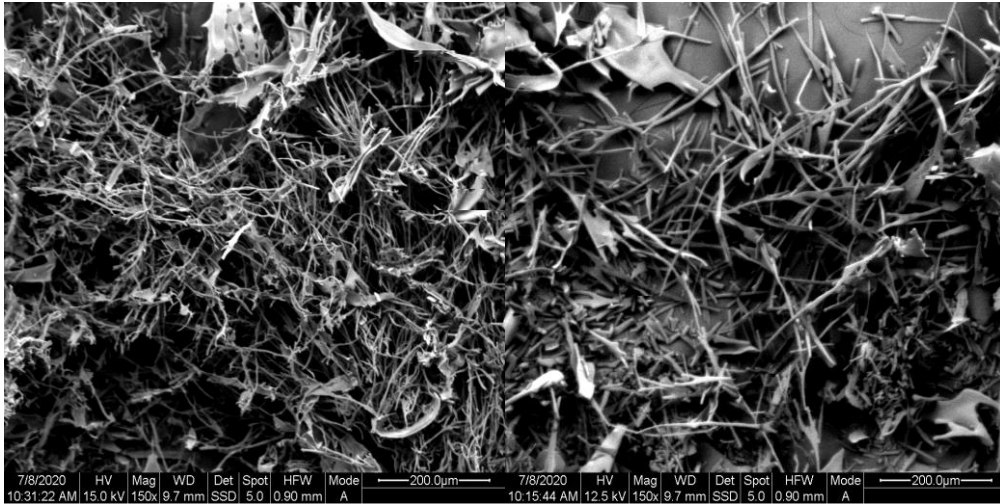


Εικόνα 5.22: Φάσματα FT-IR (KBr) (α) της κιναζολινόνης **10d**, (β) των νανοσωματιδίων **10d-NPs-NaDES5** και (γ) των κενών νανοσωματιδία **PLA**.

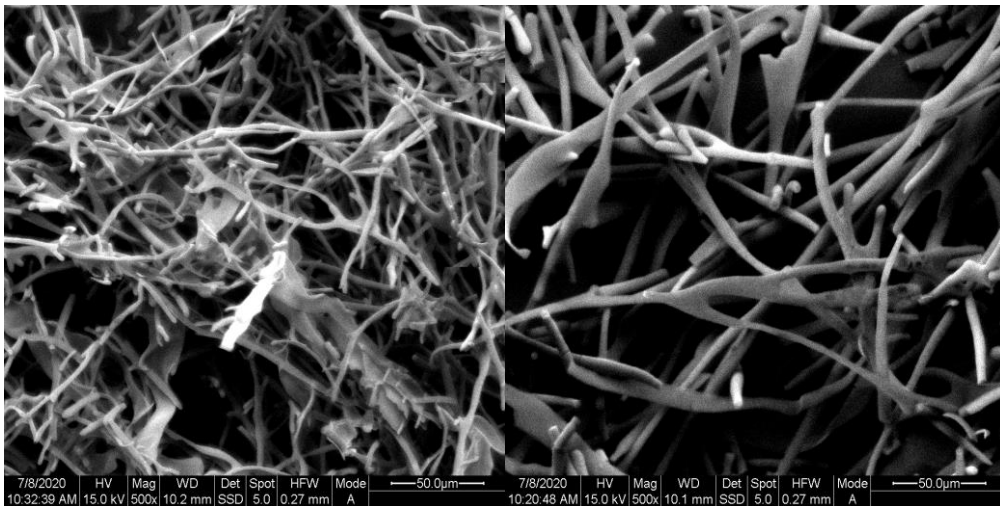
Αντίστοιχα, στην Εικόνα 5.22, παρατηρώντας το φάσμα FTIR της ένωσης **10d**, διακρίνεται μία έντονη κορυφή στα 3297 cm^{-1} της δόνησης τάσης του δεσμού N-H, καθώς και τις κορυφές στα 3010 και 3060 cm^{-1} της δόνησης τάσης του δεσμού C-H στους αρωματικούς δακτυλίους της ένωσης **10d**. Επιπλέον, χαρακτηριστική είναι η απορρόφηση της τάσης του δεσμού του καρβονυλίου (C=O) που εντοπίζεται στα 1633.41 cm^{-1} . Αντίστοιχα, οι οξείες κορυφές στα 1251 cm^{-1} και στα 1170 cm^{-1} προκύπτουν από τάσεις των δεσμών C-N στον αρωματικό δακτύλιο της ένωσης.

Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης (SEM) για τα νανοσωματίδια PLA

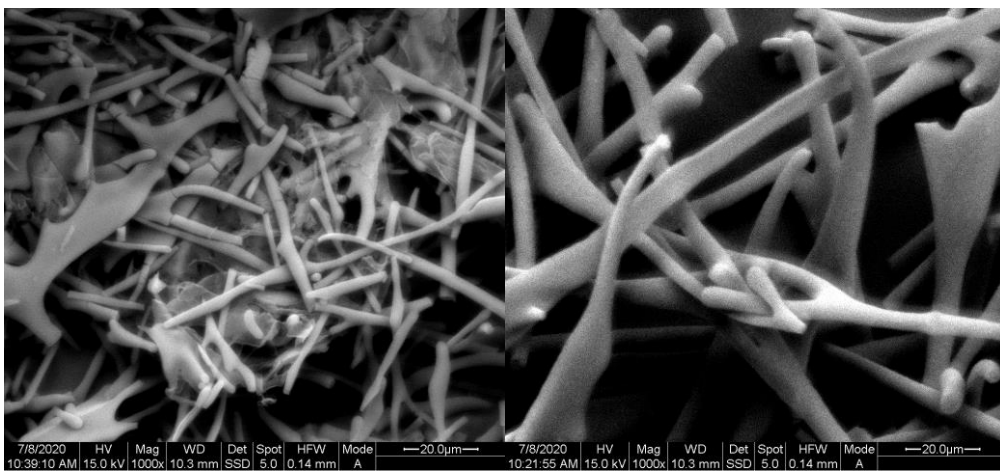
Η μορφολογία των ξηρών νανοσωματιδίων **PLA 4f-NPs-NaDES5** με εγκλεισμένη την 3-(2-αμινοαιθυλο)-6-βρωμο-2-μεθυλοκιναζολιν-4(3H)-όνη (**4f**) και των κενών νανοσωματιδίων **NPs-PLA** εξετάστηκε μέσω ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης (SEM), έπειτα από επιχρύσωση. Στις Εικόνες παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του SEM με σύγκριση των δύο δοκιμίων. Η μεγέθυνση των εικόνων είναι: Εικόνα 5.23: x150, Εικόνα 5.24: x500, Εικόνα 5.25: x1000, αντίστοιχα.



Εικόνα 5.23: Απεικόνιση SEM δειγμάτων NPs-PLA κενών νανοσωματιδίων αριστερά και 4f-NPs-NaDES5 δεξιά, μεγέθυνση x150.



Εικόνα 5.24: Απεικόνιση SEM δειγμάτων NPs-PLA κενών νανοσωματιδίων αριστερά και 4f-NPs-NaDES5 δεξιά, μεγέθυνση x500.



Εικόνα 5.25: Απεικόνιση SEM δειγμάτων NPs-PLA κενών νανοσωματιδίων αριστερά και 4f-NPs-NaDES5 δεξιά, μεγέθυνση x1000.

Παρατηρήθηκε η μορφολογία και η μικροδομή στην κλίμακα των μm λόγω μη αποτελεσματικής επιχρύσωσης των νανοσωματιδίων. Από τις παραπάνω εικόνες είναι φανερό ότι τα νανοσωματίδια διαθέτουν ινώδη δομή, σχηματίζοντας ένα ινώδες πλέγμα, ενώ η επιφάνεια των δομών που σχηματίζονται παρατηρείται λεία, χωρίς πορώδες.

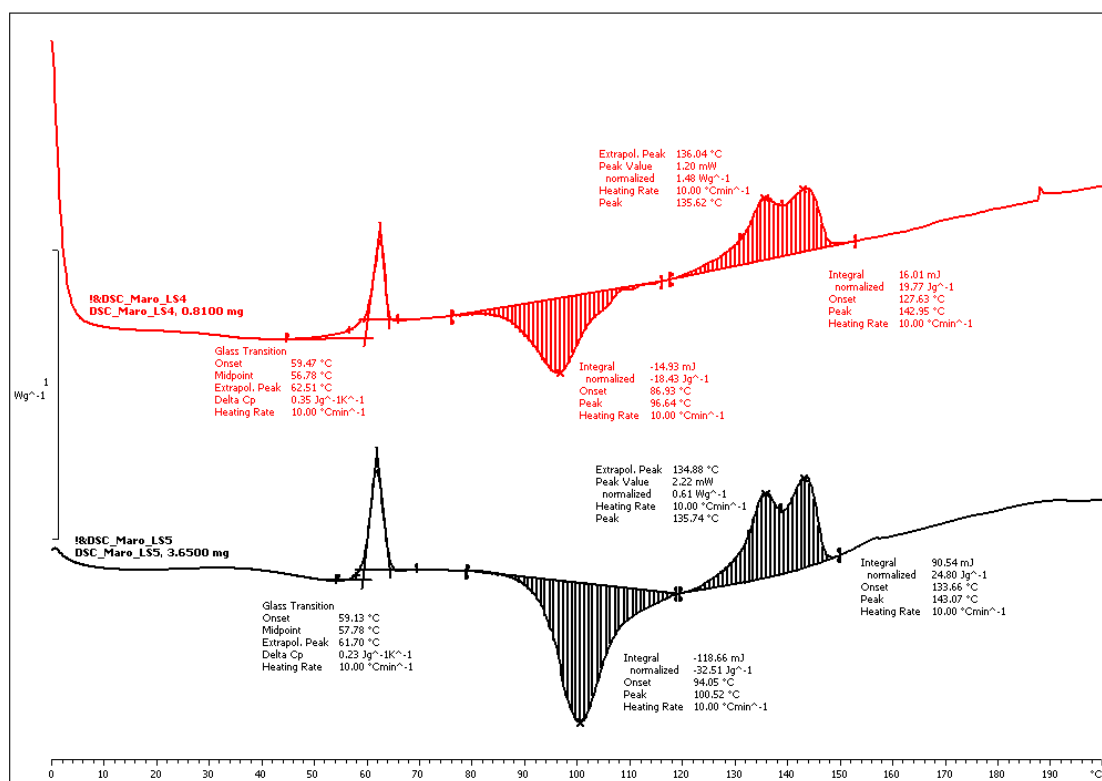
Σε ορισμένες περιοχές, παρατηρείται ότι το δείγμα έχει συσσωματωθεί. Με αύξηση της διακριτικής ικανότητας, παρατηρήθηκαν ορισμένες αστοχίες στα ινίδια του υλικού, το οποίο ενδεχομένως να δικαιολογείται από το μεγάλο μήκος που εμφανίζουν οι νανοδομές αυτών. Επιπλέον, σημειώνεται ότι κατά την διαδικασία της επιχρύσωσης δεν ήταν απόλυτα επιτυχής, με αποτέλεσμα την παρατηρούμενη θραύση του υλικού σε ορισμένες περιοχές.

Τα νανοσωματίδια που μελετήθηκαν και αναλύθηκαν υπέστησαν επεξεργασία με υπερφυγοκέντρηση και έπειτα ξήρανση με λυοφιλίωση. Οι δύο αυτές διεργασίες επηρεάζουν την μορφολογία, λόγω της διόγκωσης των νανοσωματιδίων και της παρατηρούμενης ανομοιόμορφης κατανομής των μεγεθών, σε σχέση με τα αρχικώς παρασκευασμένα νανοσωματίδια, μετά την διεργασία της γαλακτωματοποίησης και εξάτμισης του διαλύτη. Γενικά για κάθε περίπτωση, το επιθυμητό αποτέλεσμα της μορφολογίας των νανοσωματιδίων που αναμένεται μετά τη γαλακτωματοποίηση, είναι σφαιρικής δομής και ομοιόμορφης κατανομής μεγεθών.

Συγκρίνοντας τις Εικόνες μεταξύ κενών νανοσωματιδίων NPs-PLA και νανοσωματιδίων με εγκλεισμένη την κινναζολινόνη **10d**, δε φαίνεται να μεταβάλλεται ιδιαίτερα η μορφολογία των νανοσωματιδίων λόγω του εγκλεισμού της ένωσης ή της χρήσης φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών, NaDES, γεγονός ιδιαίτερα επιθυμητό για το τελικό προϊόν.

Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC)

Πραγματοποιήθηκε θερμική ανάλυση με DSC στα κενά νανοσωματίδια χωρίς την παρουσία του NaDES (NPs-PLA) και στα νανοσωματίδια με εγκλεισμένη ένωση την 3-(2-αμινοαιθυλο)-6-βρωμο-2-μεθυλοκινναζολιν-4(3H)-όνη (**4f**) με διαλύτη NaDES5 (χλωριούχος χολίνη/γαλακτικό, 1 : 1.5) (**4f-NPs-NaDES5**). Το Διάγραμμα 5.2 είναι παρεχόμενη ισχύς (σε W/g) συναρτήσει της θερμοκρασίας (°C). Ο ρυθμός θέρμανσης των δειγμάτων ρυθμίστηκε στους 10.00 °C/min.



Lab: METTLER

STAR^e SW 9.20

Διάγραμμα 5.2: Θερμογράμματα θέρμανσης-ψύξης σε ρυθμό 10.00°C/min.

Τα αποτελέσματα της θερμικής ανάλυσης με DSC παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.13.

Πίνακας 5.13: Πίνακας αποτελεσμάτων πειράματος DSC.

Δείγμα	T _g (°C)	ΔC _p (J/gK)	T _{m1} (°C)	T _{m2} (°C)	ΔH _m (J/g)	x _c %	T _c (°C)	Ρυθμός θέρμανσης- ψύξης (°C/min)
κενά NPs-PLA	59.47	0.35	135.62	142.95	19.77	21.23	96.64	10.00
4f-NPs- NADES5	59.13	0.23	135.74	143.07	24.80	26.63	100.52	10.00

Θέρμανση

Σε ένα σύστημα με εγκλεισμένη τη δραστική ουσία σε πολυμερές, είναι δυνατό να υπάρχουν, η άμορφη ουσία σε άμορφο ή κρυσταλλικό πολυμερές, ή/και η κρυσταλλική ένωση σε άμορφο ή κρυσταλλικό πολυμερές. Με τη θέρμανση, αρχικά από τη θερμοκρασία περιβάλλοντος, το ημικρυσταλλικό PLA μεταβαίνει από την υαλώδη στην ελαστομερή κατάσταση. Σταδιακά αρχίζουν να κινούνται τμήματα των αλυσίδων του άμορφου υλικού, χωρίς να μετακινείται συνολικά η αλυσίδα. Κατά την ενδόθερμη μετάβαση εντοπίζεται η θερμοκρασία της υαλώδους μετάπτωσης (T_g), όπου για τα κενά νανοσωματίδια **NPs-PLA (κενά)** είναι T_g = 59.47 °C, ενώ αντίστοιχη τιμή εμφανίζεται

και για το δείγμα με εγκλεισμένη ένωση **4f-NPs-NaDES5** όπου είναι $T_g = 59.13$ °C. Αυτή η διαφορά η οποία παρατηρείται πριν και μετά την υαλώδη μετάπτωση δείχνει τη μεταβολή στην ειδική θερμοχωρητικότητα υπό σταθερή πίεση, ΔC_p (J/gK). Για τα κενά νανοσωματίδια **NPs-PLA**, είναι $\Delta C_p = 0.35$ J/gK ενώ για τα νανοσωματίδια με εγκλεισμένη την ένωση **4f-NPs-NaDES5** είναι $\Delta C_p = 0.23$ J/gK. Αυτή η παρατηρούμενη μείωση της απαιτούμενης ενέργειας για την υαλώδη μετάβαση στο δείγμα με εγκλεισμό της ένωσης **4f**, οδηγεί στο συμπέρασμα ότι κατά τη διεργασία του εγκλεισμού του μορίου, ένα μεγάλο ποσοστό του πολυμερούς αποκτά κρυσταλλικότητα. Αυτό το αποτέλεσμα φαίνεται να συμφωνεί με το προφίλ των νανοσωματιδίων με εγκλεισμένη ένωση καθώς παρατηρείται αύξηση στην κρυσταλλικότητα, όπου είναι λογικό να οφείλεται στην προσθήκη της δραστικής ουσίας.

Με συνέχεια στην αύξηση της θερμοκρασίας, τα δείγματα παρουσιάζουν δύο γειτονικές ενδόθερμες κορυφές. Στην περιοχή αυτή, το υλικό τήκεται. Επιπλέον, πιθανότατα λόγω της παρουσίας δύο διαφορετικών ειδών με διαφορετική κρυστάλλωση, εμφανίζονται δύο θερμοκρασίες τήξης T_m για κάθε δείγμα. Η τήξη αφορά ένα αποκλειστικά θερμοδυναμικό φαινόμενο, όπου η ροή της θερμότητας οδηγεί στο σπάσιμο των δεσμών και στην τήξη των κρυστάλλων. Για τα κενά νανοσωματίδια **NPs-PLA**, οι δύο θερμοκρασίες τήξης είναι $T_{m1} = 135.62$ °C και $T_{m2} = 142.95$ °C, ενώ αντίστοιχα για το δείγμα με εγκλεισμένη την ένωση **4f-NPs-NaDES5**, οι τιμές είναι αντίστοιχα $T_{m1} = 135.74$ °C και $T_{m2} = 143.07$ °C. Για τον υπολογισμό της μεταβολής ενθαλπίας του συστήματος κατά την τήξη ΔH_m (J/g) υπολογίζεται ποσοτικά από το εμβαδό της περιοχής κάτω από την καμπύλη. Για τα κενά νανοσωματίδια **NPs-PLA**, η πειραματική τιμή της ενθαλπίας τήξης βρέθηκε $\Delta H_m = 19.77$ J/g και βαθμού κρυσταλλικότητας, $x_c = 21.23\%$. Για τα νανοσωματίδια με εγκλεισμένη την ένωση **4f-NPs-NaDES5** υπολογίστηκε με εμφανώς υψηλότερη τιμή $\Delta H_m = 24.80$ J/g και βαθμού κρυσταλλικότητας $x_c = 26.63\%$, γεγονός που ενισχύει την υπόθεση της μικρής αύξησης του βαθμού κρυσταλλικότητας κατά τον εγκλεισμό.

Ψύξη

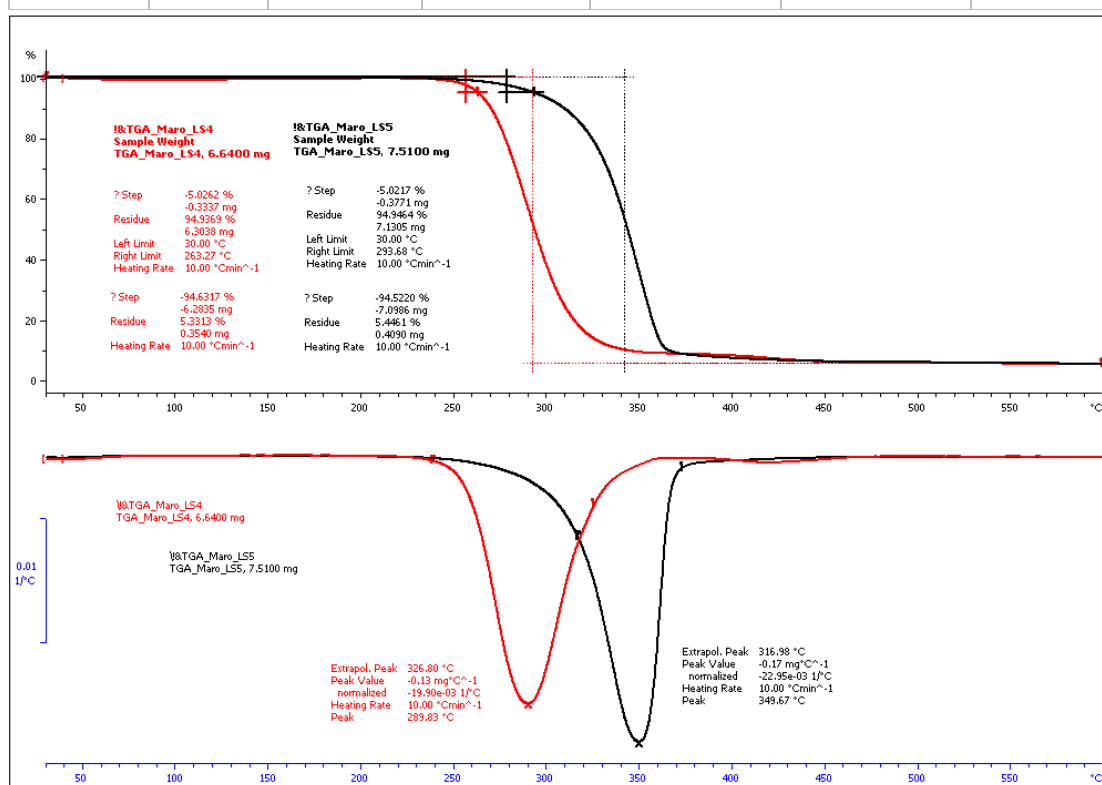
Καθώς το πολυμερές αρχίζει να ψύχεται εμφανίζεται μία έντονη εξώθερμη κορυφή. Στην περιοχή αυτή, το ποσοστό του άμορφου πολυμερούς επανακρυσταλλώνεται στη θερμοκρασία κρυστάλλωσης, T_c . Η κρυστάλλωση εκτός από θερμοδυναμικό φαινόμενο θεωρείται και κινητικό. Αυτό σημαίνει ότι η T_c μεταβάλλεται ανάλογα με το ρυθμό ψύξης ώστε να αναπτύσσονται και να σχηματίζονται οι πυρήνες των κρυστάλλων. Για τον ίδιο ρυθμό ψύξης, οι θερμοκρασίες που κρυσταλλώνονται στα δύο δείγματα είναι αντίστοιχα για το κενά νανοσωματίδια **NPs-PLA**, $T_c = 96.64$ °C και για τα νανοσωματίδια με εγκλεισμένη την ένωση **4f-NPs-NaDES5**, $T_c = 100.52$ °C.

Θερμοβαρυτική Ανάλυση (TGA)

Η θερμοβαρυμετρική ανάλυση είναι μία αναλυτική μέθοδος στην οποία καταγράφεται η μεταβολή της μάζας με τη γραμμική αύξηση της θερμοκρασίας σε σχέση με το χρόνο. Στον Πίνακα 5.14, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του πειράματος TGA, για τα κενά νανοσωματίδια **NPs-PLA** και για τα νανοσωματίδια με εγκλεισμένη την ένωση **4f-NPs-NaDES5**.

Πίνακας 5.14: Αποτελέσματα και παράμετροι πειράματος TGA.

Κωδικός	Αρχική μάζα (mg)	Υπόλοιπο %	Ρυθμός θέρμανσης (°C/min)	T _{αρχ} αποδόμησης (°C)	T _{τελ} αποδόμησης (°C)	Μέση T αποδόμησης (°C)
NPs-PLA	6.6400	5.3313	10.00	263.27	370	289.83
4f-NPs-NADES5	7.5100	5.4461	10.00	293.68	370	349.67



Lab: METTLER

STAR^e SW 9.20

Διάγραμμα 5.3: Θερμογράμματα θέρμανσης-μεταβολής μάζας σε ρυθμό 10.00 °C/min, των NPs-PLA (κενά), και 4f-NPs-NADES5.

Στο Διάγραμμα 5.3, παρατηρείται το θερμόγραμμα TGA του δείγματος **4f-NPs-NADES5** το οποίο περιέχει την εγκλεισμένη ένωση 3-(2-αμινοαιθυλο)-6-βρωμο-2-μεθυλοκιναζολιν-4(3H)-όνη (**4f**) σε σχέση με τα κενά νανοσωματίδια PLA, **NPs-PLA**. Στο Διάγραμμα 5.3 παρατηρείται τα δείγματα ακολουθούν ομοιόμορφα το βήμα ως προς τη μεταβολή μάζας, γεγονός που υποδεικνύει ότι η ένωση **4f** έχει εγκλειστεί με ομοιόμορφο τρόπο στο εσωτερικό της μήτρας του πολυμερούς. Παράλληλα, η θερμική σταθερότητα του δείγματος **4f-NPs-NADES5** παρουσιάζεται αυξημένη σε σχέση με τα κενά νανοσωματίδια **NPs-PLA**. Συγκεκριμένα, παρατηρείται ότι καθυστερεί η αποδόμηση του δείγματος **4f-NPs-NADES5** καθώς αρχίζει να συμβαίνει σε υψηλότερη θερμοκρασία από το δείγμα των κενών νανοσωματιδίων **NPs-PLA**, με θερμοκρασίες 263.27 °C και 293.68 °C αντίστοιχα, παρόλο που ο ρυθμός θέρμανσης είναι ο ίδιος. Η ενιαία εικόνα του βήματος κατά την αποδόμηση του υλικού, ενδεχομένως να σχετίζεται με τις αλληλεπιδράσεις οι

οποίες επικρατούν μεταξύ της κιναζολινόνης **4f** και του πολυμερούς PLA, οι οποίες δεν είναι πλήρως γνωστές.

Τα αποτελέσματα ως προς την % απόδοση εγκλεισμού και το % ποσοστό φόρτωσης των συντιθέμενων νανοσωματιδίων για την ένωση **4f** παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.15 ενώ για την ένωση **10d** στον Πίνακα 5.16.

Πίνακας 5.15: % Απόδοση εγκλεισμού % Ποσοστό φόρτωσης για τα νανοσωματίδια PLA με εγκλεισμένη την κιναζολινόνη 4f.

Δείγμα	Διαλύτης	% Απόδοση Εγκλεισμού	% Ποσοστό φόρτωσης
4f-NPs	DMSO	43	21
4f-NPs-NaDES5	NaDES5 Χλωριούχος χολίνη/γαλακτικό οξύ (1:1.5)	55	42
4f-NPs-NaDES6	NaDES6 Χλωριούχος χολίνη/οξαλικό οξύ (1:1)	49	24
4f-NPs-NaDES20	NaDES20 Γλυκόζη/γαλακτικό οξύ (1:5)	52	28

Στον Πίνακα 5.15 παρατηρείται αρκετά ικανοποιητική απόδοση εγκλεισμού καθώς και το ποσοστό φόρτωσης όταν χρησιμοποιείται κατά την μέθοδο το NADES5 συγκριτικά με το DMSO.

Πίνακας 5.16: % Απόδοση εγκλεισμού % Ποσοστό φόρτωσης για τα νανοσωματίδια PLA με εγκλεισμένη την κιναζολινόνη 10d.

Δείγμα	Διαλύτης	% Απόδοση Εγκλεισμού	% Πειραματικό Ποσοστό φόρτωσης
10d-NPs	Ακετόνη	74	41
10d-NPs-NaDES5	NaDES5	49	17

	Χλωριούχος χολίνη/γαλακτικό οξύ (1:1.5)		
10d-NPs- NaDES6	NaDES6 Χλωριούχος χολίνη/οξαλικό οξύ (1:1)	-	-

Το δείγμα των νανοσωματιδίων με τη χρήση διαλύτη NaDES5 (Χλωριούχος χολίνη/γαλακτικό οξύ (1:1.5)) (**4f-NPs-NaDES5**) με εγκλεισμένη την κινναζολινόνη **4f**, δίνει τα πιο ικανοποιητικά αποτελέσματα στην απόδοση εγκλεισμού και το ποσοστό φόρτωσης, σε σύγκριση με τα υπόλοιπα δείγματα με NaDES. Στην περίπτωση του **4f-NPs-NaDES20 με τη χρήση διαλύτη NaDES20** (γλυκόζη/γαλακτικό οξύ, (1:5)) παρατηρείται υψηλή απόδοση εγκλεισμού (Πίνακας 5.15). Μάλιστα, οι αποδόσεις εγκλεισμού όλων των δειγμάτων με NaDES στην ένωση **4f**, είναι υψηλότερες σε σχέση με τη μέθοδο εγκλεισμού με διαλύτη DMSO (**4f-NPs**). Επομένως, φαίνεται ότι η τροποποιημένη μέθοδος με τη χρήση φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών, NaDES να επιτρέπει τον εγκλεισμό των κινναζολινονών που μελετήθηκαν στην παρούσα διδακτορική διατριβή, χωρίς να υποβαθμίζεται η ικανότητα φόρτωσης των νανοσωματιδίων NPs.

Η μέθοδος εγκλεισμού της ένωσης **10d** με διαλύτη ακετόνη (**10d-NPs**), παρουσιάζει τη μεγαλύτερη απόδοση εγκλεισμού, με 74 % (Πίνακας 5.16). Το γεγονός αυτό, επιβεβαιώνει την επιτυχία της μεθόδου γαλακτωματοποίησης-εξάτμισης διαλύτη στον εγκλεισμό της κινναζολινόνης **10d**, με τις συνθήκες που επιλέχθηκαν.

Σημειώνεται ότι η έμμεση μέθοδος προσδιορισμού, δεν είναι πάντα κατάλληλη για τον υπολογισμό των αποδόσεων, ιδιαίτερα με τη χρήση των φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών NaDES καθώς είναι πιθανό οι προσδιοριζόμενες ενώσεις να αλληλεπιδρούν με τα συστατικά του ευτηκτικού μείγματος και να προκύπτουν μεταβολές στο μήκος κύματος που απορροφούν αλλά και στη τιμή συγκέντρωσης η οποία μετράται στα υπερκείμενα με φασματοσκοπία ορατού-υπεριώδους UV/Vis..

Για το δείγμα **10d-NPs-NaDES5**, όπου η ένωση **10d** εγκλείστηκε με NaDES6 (χλωριούχος χολίνη/ οξαλικό οξύ, (1:1)), δεν ήταν εφικτός ο υπολογισμός της απόδοσης εγκλεισμού με έμμεσο τρόπο.

Αντίστοιχα προβλήματα μετατόπισης του μήκους κύματος κοντά στα 275 nm, παρουσίασε το κινναζολινικό ανάλογο **10d** και στο δείγμα **10d-NPs-NaDES5**, με το NaDES5 (χλωριούχος χολίνη/γαλακτικό οξύ, (1:1.5)). Παρόλα αυτά στην περίπτωση αυτή, ήταν εφικτή η μέτρηση της απόδοσης εγκλεισμού.

Σύμπλοκα Εγκλεισμού Κιναζολινόνης-βCD

1. Σύμπλοκο εγκλεισμού με της 3-(2-αμινοαιθυλο)-6-βρωμο-2-μεθυλοκιναζολιν-4(3H)-όνη (**4f**)

Με την μέθοδο της συγκαταβύθισης συντέθηκαν σύμπλοκα εγκλεισμού με την ένωση 3-(2-αμινοαιθυλο)-6-βρωμο-2-μεθυλοκιναζολιν-4(3H)-όνη (**4f**) σε β-CD.

Δυναμική Σκέδαση Φωτός (Dynamic Light Scattering, DLS)

Για το σύμπλοκο **4f-β-CD** που παρασκευάστηκε, μετρήθηκαν με DLS το μέγεθός τους, το PDI και το ζ-δυναμικό.

Για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκαν συγκεκριμένες συνθήκες (Standar Operation Procedure, SOP) όπως παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.17.

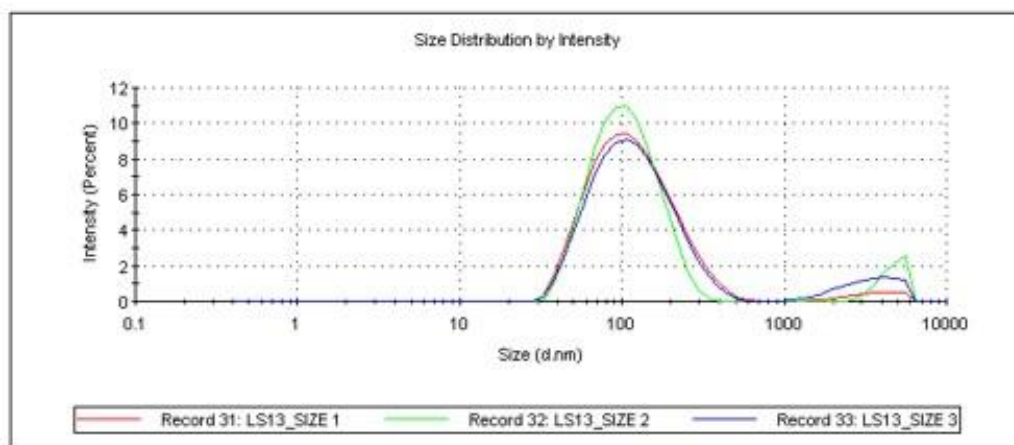
Πίνακας 5.17: Πίνακας συνθηκών μέτρησης DLS σε β-CD σύμπλοκα.

Μέτρηση	Δείκτης Διάθλασης	Απορρόφηση	Θερμοκρασία	Χρόνος σταθεροποίησης	Διηλεκτρική Σταθερά
Size	1.332	0.0157 (633 nm)	25 °C	120 sec	-
Zeta Potential	1.332	0.0157 (633 nm)	25 °C	120 sec	78.5

Παρασκευάστηκαν τα σύμπλοκα εγκλεισμού ICs της ένωσης 3-(2-αμινοαιθυλο)-6-βρωμο-2-μεθυλοκιναζολιν-4(3H)-όνης (**4f**) με β-κυκλοδεξτρίνη (β-CD) με τη μέθοδο της συγκαταβύθισης, και μετρήθηκαν με DLS. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων παρουσιάζονται παρακάτω, στον Πίνακα 5.18.

Πίνακας 5.18: Αποτελέσματα DLS μεγέθους (nm), δείκτη πολυδιασποράς (PDI) και δυναμικού ζ (mV) στα σύμπλοκα β-CD.

ICs	Μέγεθος (nm)	M.O.	PDI	M.O.	Δυναμικό ζ (mV)	M.O.
(4f)-β-CD	131.4	124.5±68.9	0.287	0.284	-12.1	-12.72±9.05
	112.2		0.205		-19.5	
	129.9		0.359		-6.55	

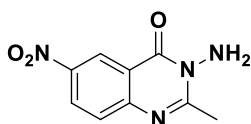


Εικόνα 5.26: Κατανομή μεγεθών του δείγματος 4f-β-CD (σύμπλοκα της κιναζολινόνης 4f με β-CD).

Από την Εικόνα 5.26, παρατηρείται ότι με εγκλεισμό της κιναζολινόνης **4f** με β-κυκλοδεξτρίνη (β-CD) με τη μέθοδο της συγκαταβύθισης προκύπτει ιδιαίτερα ικανοποιητικό μέγεθος του σχηματιζόμενου συμπλόκου, με μέση ακτίνα 124.5 nm (Πίνακας 5.17). Το ζ-δυναμικό είναι αρνητικό, μέσου μεγέθους -12.7 mV, το οποίο είναι ένδειξη ενός αρκετά σταθερού συστήματος εγκλεισμού. Επιπλέον, παρατηρείται μία κορυφή πολύ χαμηλής έντασης κοντά στα 4000 nm.

2. Σύμπλοκα εγκλεισμού με την 6-βρωμο-2-μεθυλο-3-αμινο-κιναζολιν-4(3H)-όνη (**3e**)

Παράλληλα σχηματίστηκαν τα σύμπλοκα εγκλεισμού για την δραστική ένωση 6-βρωμο-2-μεθυλο-3-αμινο-κιναζολιν-4(3H)-όνη (**3e**) (Σχήμα 5.8) όπου επιλέχθηκε λόγω της δράσης της ως ένωση οδηγός ως προς την ικανότητά της να φωτοδιασπά το πλασμιδιακό DNA.



Σχήμα 5.8: Χημική δομή της προς εγκλεισμό ένωσης 6-βρωμο-2-μεθυλο-3-αμινο-κιναζολιν-4(3H)-όνη (**3e**)

Στην συγκεκριμένη περίπτωση παρασκευάστηκαν και μελετήθηκαν τόσο η β-κυκλοδεξτρίνη (β-CD) όσο και δύο υποκατεστημένες β-κυκλοδεξτρίνες της μεθυλο-β-κυκλοδεξτρίνης (β-Me) και της 2-υδροξυπροπυλο-β-κυκλοδεξτρίνης (β-HP).

Στον Πίνακα 5.19 παρουσιάζονται οι αποδόσεις διεργασίας των συμπλόκων που συντέθηκαν με την μέθοδο υγρής λειοτριβής.

Πίνακας 5.19: Αποδόσεις διεργασίας συμπλόκων εγκλεισμού που συντέθηκαν με την μέθοδο της υγρής λειοτρίβησης

No	Σύμπλοκα	Γραμμοριακή αναλογία κιναζολινόνης/ β -CDs	Μάζα νανοσωματιδίων που συλλέχθηκε (mg)	Αρχική μάζα συστατικών (mg)	Απόδοση διεργασίας (%)
1	3e - β -CD	2:1	185.9	277.5	67
2	3e -Me- β -CD	2:1	113.5	133.9	85
3	3e-Me- β -CD	1:1	92.9	117.3	79
4	3e-HP- β -CD	2:1	93.9	130.3	72
5	3e -HP- β -CD	1:1	90.3	115.1	79

Αντίστοιχα, στον Πίνακα 5.20 παρουσιάζονται οι αποδόσεις διεργασίας των συμπλόκων που παρασκευάστηκαν με την μέθοδο της συγκαταβύθισης.

Πίνακας 5.20: Αποδόσεις διεργασίας συμπλόκων εγκλεισμού που συντέθηκαν με την μέθοδο της συγκαταβύθισης.

No	Σύμπλοκα	Γραμμοριακή αναλογία κιναζολινόνης/ β -CDs	Μάζα νανοσωματιδίων που συλλέχθηκε (mg)	Αρχική μάζα συστατικών (mg)	Απόδοση διεργασίας (%)
1	3e - β -CD	2:1	95.5	138.8	69
2	3e - β -CD	1:1	108.1	119.4	91
3	3e -Me- β -CD	2:1	111.0	133.6	83
4	3e -Me- β -CD	1:1	99.6	116.9	85
5	3e -HP- β -CD	2:1	102.7	130.4	79
6	3e -HP- β -CD	1:1	96.8	115.7	84

Συγκρίνοντας τις αποδόσεις και των δύο μεθόδων, παρατηρείται ότι δεν εμφανίζουν ιδιαίτερες διαφορές. Πιο συγκεκριμένα, με την μέθοδο υγρής λειοτρίβησης (μέθοδος kneading), οι αποδόσεις διεργασίας κυμαίνονται από 67% έως 85%, ενώ κατά την μέθοδο της συγκαταβύθισης εμφανίζονται αποδόσεις μεταξύ 69% - 90%.

Αναφορικά με την μέθοδο kneading, η μεγαλύτερη απόδοση 85 % παρατηρείται στο σύμπλοκο **3e-Me-β-CD** με γραμμοριακή αναλογία αναλογία 2:1.

Αναφορικά με τη δεύτερη μέθοδο της συγκαταβύθισης παρουσιάζεται μεγαλύτερη απόδοση 91% για το σύμπλοκο **3e-β-CD** με γραμμομοριακή αναλογία 1:1.

Παρακάτω στον Πίνακα 5.21 παρουσιάζονται οι αποδόσεις εγκλεισμού των συμπλόκων που παρασκευάστηκαν με την μέθοδο υγρής λειοτρίβησης.

Πίνακας 5.21: Αποδόσεις εγκλεισμού των συμπλόκων που συντέθηκαν με την μέθοδο της υγρής λειοτρίβησης

No	Σύμπλοκα	Γραμμομοριακή αναλογία κινναζολινόνης/ β-CDs	Απορρόφηση	Μάζα ουσίας που εγκλείστηκε στο σύμπλοκο (mg)	Αρχική μάζα ουσίας προς εγκλεισμό (mg)	Απόδοση εγκλεισμού (%)
1	3e -β-CD	2:1	0.63	64.0	77.5	83
2	3e -Me-β-CD	2:1	0.80	18.4	33.8	54
3	3e -Me-β-CD	1:1	0.61	11.6	16.9	69
4	3e -HP-β-CD	2:1	0.81	15.4	30.2	51
5	3e -HP-β-CD	1:1	0.50	9.3	15.1	62

Στον Πίνακα 5.21 παρουσιάζονται οι αποδόσεις διεργασίας των συμπλόκων που παρασκευάστηκαν με την μέθοδο της συγκαταβύθισης.

Πίνακας 5.22: Αποδόσεις εγκλεισμού των συμπλόκων που συντέθηκαν με την μέθοδο της συγκαταβύθισης

No	Σύμπλοκα	Γραμμομοριακή αναλογία κιναζολινόνης/ β-CDs	Απορρόφηση	Μάζα ουσίας που εγκλείστηκε στο σύμπλοκο (mg)	Αρχική μάζα ουσίας προς εγκλεισμό (mg)	Απόδοση εγκλεισμού (%)
1	3e -β-CD	2:1	0.77	24.1	38.8	62
2	3e -β-CD	1:1	0.72	13.9	19.4	72
3	3e -Me-β-CD	2:1	0.86	19.3	33.6	57
4	3e -Me-β-CD	1:1	0.60	12.4	16.9	73
5	3e -HP-β-CD	2:1	0.77	16.1	30.2	53
6	3e -HP-β-CD	1:1	0.67	13.2	15.2	87

Από τους Πίνακες 5.21 και 5.22, παρατηρείται ότι οι αποδόσεις εγκλεισμού κυμαίνονται μεταξύ 51-87%. Για τα σύμπλοκα **3e-Me-β-CD** και **3e-HP-β-CD** οι αποδόσεις εγκλεισμού είναι μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες που εμφανίζει η μέθοδος υγρής λειοτρίβησης (μέθοδος kneading). Κάτι τέτοιο δεν ισχύει για το σύμπλοκο **3e -β-CD** με γραμμομοριακή αναλογία 2:1.

Συνολικά, η μεγαλύτερη απόδοση εγκλεισμού για τα σύμπλοκα της μεθόδου kneading εμφανίζεται στο σύμπλοκο **3e -β-CD** με γραμμομοριακή αναλογία 2:1 και με τιμή 83 % (Πίνακας 5.21). Αντίστοιχα, για τα σύμπλοκα της δεύτερης μεθόδου της συγκαταβύθισης (Πίνακας 5.22), η μεγαλύτερη απόδοση εμφανίζεται στα 87% και παρατηρείται για το σύμπλοκο **3e-HP-β-CD** με γραμμομοριακή αναλογία 1:1.

Υπολογισμός του μεγέθους, της κατανομή μεγέθους και του ζ-δυναμικό μέσω της μεθόδου δυναμικής σκέδασης φωτός (DLS) για τα σύμπλοκα εγκλεισμού ICs

Για το χαρακτηρισμό των συμπλόκων εγκλεισμού ICs υπολογίστηκε το μέγεθος, ο δείκτης πολυδιασποράς (PDI) και το ζ-δυναμικό. Στον Πίνακα 5.23 παρουσιάζονται τα παραπάνω μεγέθη για κάθε ένα από τα σύμπλοκα που συντέθηκαν.

Πίνακας 5.23: Μέγεθος, δείκτης πολυδιασποράς και ζ-δυναμικό για τα σύμπλοκα εγκλεισμού που παρασκευάστηκαν με την μέθοδο της υγρής λειοφιλοποίησης

No	Σύμπλοκα, ICs	Γραμμομοριακή αναλογία κινολιζονίνης/β-CDs	Μέγεθος (nm)	Δείκτης πολυδιασποράς (PDI)	ζ-δυναμικό (mV)
1	3e -β-CD	2:1	194.8 ± 4.2	0.518 ± 0.022	-20.4 ± 1.2
2	3e -Me-β-CD	2:1	311.6 ± 8.5	0.394 ± 0.040	-4.4 ± 0.5
3	3e -Me-β-CD	1:1	434.3 ± 25.6	0.453 ± 0.028	-7.6 ± 1.3
4	3e -HP-β-CD	2:1	313.1 ± 22.2	0.372 ± 0.043	-16.0 ± 2.2
5	3e -HP-β-CD	1:1	283.7 ± 55.3	0.462 ± 0.095	-28.4 ± 4.6

Από τα αποτελέσματα του Πίνακα 5.23, το μέγεθος των συμπλόκων εγκλεισμού, ICs που συντέθηκαν με την μέθοδο υγρής λειοτριβήσης (μέθοδος kneading) κυμαίνεται στην περιοχή 200-400 nm. Επομένως, το μέγεθος των συμπλόκων εγκλεισμού θεωρείται ικανοποιητικό. Αντίστοιχα, ο δείκτης πολυδιασποράς εμφανίζει τιμές από 0.372 έως 0.518 γεγονός που επιβεβαιώνει την ομοιόμορφη κατανομή του μεγέθους. Επιπλέον, το ζ-δυναμικό παρουσιάζει αρνητικές τιμές σε εύρος από -28.4 έως -4.4mV, συμπεραίνοντας ότι αυτό οφείλεται στην παρουσία των υδροξυλίων πάνω στην επιφάνεια των β-κυκλοδεξτρινών. Η απόλυτη τιμή ζ-δυναμικού στην περιοχή των 30mV υποδεικνύει ηλεκτρικά σταθερή διασπορά συμπλόκων χωρίς τάση προς συσσωμάτωση. Αντιθέτα, στην περίπτωση όπου το ζ-δυναμικό είναι σχετικά χαμηλό η έλξη μεταξύ των συμπλόκων υπερβαίνει την άπωση με αποτέλεσμα τη δημιουργία συσσωματωμάτων. Συνοψίζοντας, τα σύμπλοκα εγκλεισμού, ICs εμφανίζουν υψηλές τιμές ζ-δυναμικού και επομένως να εμφανίζουν σταθερότητα σε υδατική διασπορά. Εξαιρεση αποτελούν τα σύμπλοκα 3e-Me-β-CD, όπου εμφανίζουν σχετικά χαμηλές (κατ' απόλυτη τιμή) τιμές του ζ-δυναμικού.

Πίνακας 5.24: Μέγεθος, δείκτης πολυδιασποράς και ζ-δυναμικό για τα σύμπλοκα εγκλεισμού που παρασκευάστηκαν με την μέθοδο της συγκαταβύθισης

No	Σύμπλοκα, ICs	Γραμμομοριακή αναλογία κινναζολινόνης/ β-CDs	Μέγεθος (nm)	Δείκτης πολυδιασποράς (PDI)	ζ-δυναμικό (mV)
1	3e -β-cd	2:1	226.6 ± 18.4	0.636 ± 0.059	-22.2 ± 1.3
2	3e -β-cd	1:1	199.4 ± 10.0	0.313 ± 0.049	-20.3 ± 0.7
3	3e -me-β-cd	2:1	647.8 ± 88.4	0.568 ± 0.100	-15.5 ± 1.7
4	3e- me-β-cd	1:1	334.2 ± 19.0	0.549 ± 0.084	-16.5 ± 3.2
5	3e -HP-β-cd	2:1	390.0 ± 19.2	0.436 ± 0.016	-12.2 ± 2.9
6	3e -HP-β-cd	1:1	422.3 ± 55.4	0.579 ± 0.133	-13.4 ± 2.5

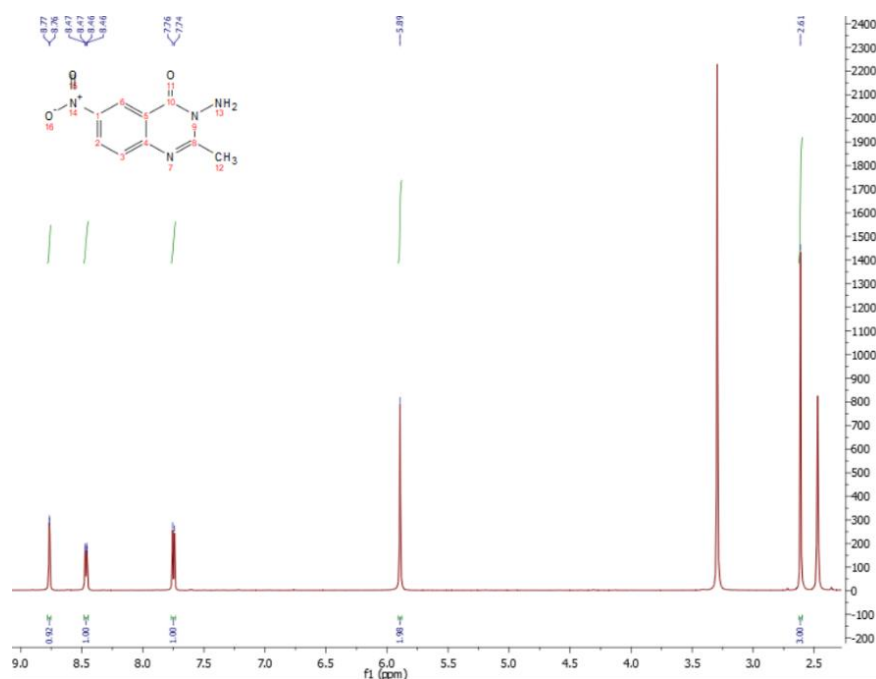
Σύμφωνα με τον Πίνακα 5.24, στην μέθοδο της συγκαταβύθισης, το μέγεθος των συμπλόκων ICs κυμαίνεται στην περιοχή των 200 nm έως 650 nm όπου χαρακτηρίζεται ικανοποιητικό. Για τον δείκτη πολυδιασποράς (PDI) παρατηρούνται τιμές από 0.313 έως 0.636, κάτι που υποδεικνύει την ομοιόμορφη κατανομή των συμπλόκων εγκλεισμού. Τέλος, τα σύμπλοκα παρουσιάζουν (κατά απόλυτη τιμή) μεγάλες τιμές ζ-δυναμικού, συμπεραίνοντας ότι τα σύμπλοκα παρουσιάζουν σταθερή διασπορά και αποφυγή δημιουργίας συσσωμάτων.

Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού ($^1\text{H NMR}$)

Η ταυτοποίηση και ο χαρακτηρισμός της δομής τόσο των ενώσεων όσο και των συμπλόκων εγκλεισμού (ICs) πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού $^1\text{H NMR}$. Συγκεκριμένα, ελήφθησαν τα φάσματα NMR των καθαρών β-κυκλοδεξτρινών που χρησιμοποιήθηκαν, της κινναζολινόνης 3e και των συμπλόκων εγκλεισμού (ICs).

Τα συμπεράσματα των πιθανών αλληλεπιδράσεων μεταξύ της κινναζολινόνης 3e (φιλοξενούμενο μόριο) και των β-κυκλοδεξτρινών (φορείς εγκλεισμού) προκύπτουν από την συγκριτική μελέτη των φασμάτων και τις χημικές μετατοπίσεις που εντοπίζονται στις κορυφές πρωτονίων στα φάσματα $^1\text{H NMR}$.

Φάσμα NMR της κιναζολινόνης 3e



Εικόνα 5.27: Φάσμα πρωτονίου ^1H NMR της 3-αμινο-2-μεθυλο-6-νιτρο-κιναζολιν-4(3H)-όνης (3e) (600 MHz, DMSO-d_6)

Η δομή της 3-άμινο-2-μέθυλο-6-νίτρο-κιναζολιν-4(3H)-όνης παρουσιάζεται στην Εικόνα 5.27 με το φάσμα πρωτονίου.

Αρχικά, στα χαμηλά πεδία του φάσματος αναμένεται να εμφανιστούν τα πιο αποπροστατευμένα πρωτόνια της ένωσης και συγκεκριμένα, στην περιοχή των 7.70-8.80 ppm εμφανίζονται τρεις κορυφές που αντιστοιχούν στα αρωματικά πρωτόνια της ένωσης. Η κορυφή που εμφανίζεται στα 8.77 ppm και ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο, αντιστοιχεί στο πρωτόνιο της θέσης C-5 του κιναζολινικού δακτυλίου. Στα 8.75 ppm εμφανίζεται μια διπλή κορυφή, η οποία ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο που οφείλεται στο πρωτόνιο της θέσης C-7.

Στη συνέχεια του φάσματος, εμφανίζεται μια διπλή κορυφή που εμφανίζεται στα 8.46 ppm και η οποία ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο όπου αντιστοιχεί στο πρωτόνιο της θέσης C-8.

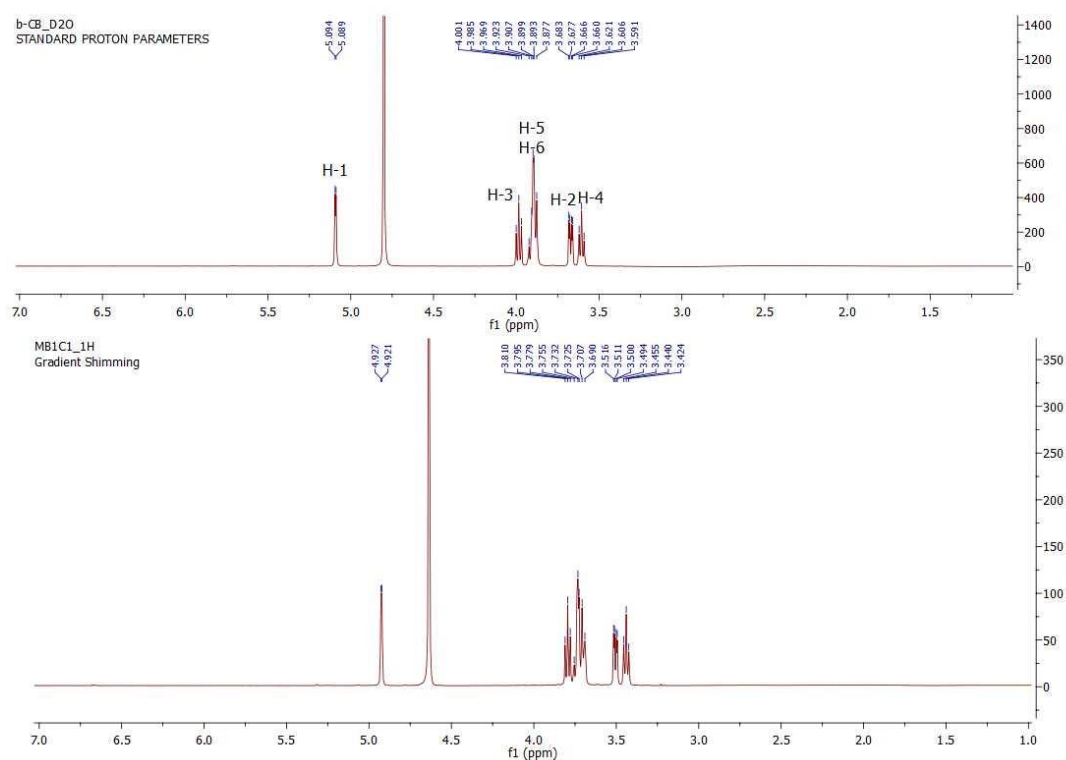
Επιπλέον, εντοπίζεται μια απλή κορυφή, η οποία ολοκληρώνεται για τα δύο ισοδύναμα πρωτόνια της ομάδας $-\text{NH}_2$ στα 5.89 ppm.

Τέλος, στα υψηλά πεδία του φάσματος αναμένεται να εμφανιστούν τα πιο προστατευμένα πρωτόνια της ένωσης. Συγκεκριμένα, παρατηρούνται τα τρία ισοδύναμα πρωτόνια της ομάδας του μεθυλίου με μια απλή κορυφή στα 2.61 ppm.

Οι κορυφές που εμφανίζονται στα 2.5 ppm και 3.3 ppm αφορούν τον διαλύτη διμεθυλοσουλφοξειδίου (DMSO) και το H_2O (υγρασία) που εμφανίζεται αντίστοιχα.

Φάσματα πρωτονίου ^1H NMR της $\beta\text{-CD}$ και συμπλόκου $3e\text{-}\beta\text{-CD}$

Τα συγκριτικά φάσματα ^1H NMR της $\beta\text{-CD}$ και του συμπλόκου $3e\text{-}\beta\text{-CD}$ παρουσιάζονται στην Εικόνα 5.28.



Εικόνα 5.28: Φάσμα πρωτονίου ^1H NMR της $\beta\text{-CD}$ και της $3e\text{-}\beta\text{-CD}$ (600 MHz, D_2O)

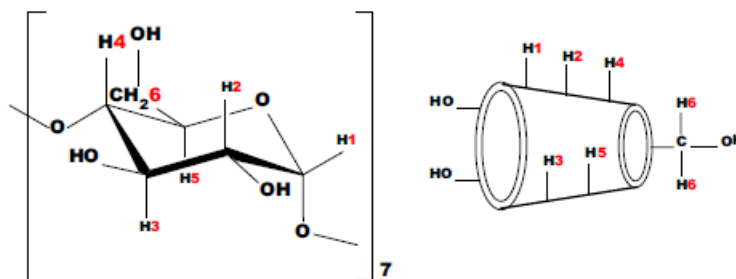
Με βάση τα φάσματα που πάρθηκαν πραγματοποιήθηκε ο υπολογισμός των χημικών μετατοπίσεων της καθαρής $\beta\text{-CD}$ και του συμπλόκου κινναζολινόνης $3e\text{-}\beta\text{-CD}$.

Πίνακας 5.25: Χημικές μετατοπίσεις των πρωτονίων της $\beta\text{-CD}$ και του συμπλόκου $3e\text{-}\beta\text{-CD}$ (solvent evaporation & freeze drying 2:1)

Πρωτόνια	Χημικές μετατοπίσεις των πρωτονίων της $\beta\text{-CD}$, δ_1 (ppm)	Χημικές μετατοπίσεις των πρωτονίων του $3e\text{-}\beta\text{-CD}$, δ_2 (ppm)	$\Delta\delta = \delta_2 - \delta_1$
H-1	5.091	4.924	-0.167
H-2	3.672	3.505	-0.167
H-3	3.985	3.795	-0.190
H-4	3.606	3.440	-0.166

H-5	3.900	3.723	-0.177
H-6	3.900	3.723	-0.177

Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα των μετατοπίσεων της καθαρής β-CD και του συμπλόκου 3e -β-CD, παρατηρούνται διαφορές στις μετατοπίσεις σε όλα τα πρωτόνια (Πίνακας 5.25).



Εικόνα 5.29: Στερεοχημική δομή της β-κυκλοδεξτρίνης (αριστερά) και απεικόνιση της τρισδιάστατης δομής του κοίλου κώνου με τα εσωτερικά και εξωτερικά πρωτόνια (δεξιά)

Όπως παρουσιάζεται και στην Εικόνα 5.29, τα πρωτόνια H-3 και H-5 βρίσκονται στο εσωτερικά της υδρόφοβης κοιλότητας της β-κυκλοδεξτρίνης (β-CD) ενώ το H-6 βρίσκεται κοντά σε αυτήν. Συνεπώς, οι χημικές μετατοπίσεις που παρατηρούνται σε αυτά τα πρωτόνια είναι σημαντικές καθώς υποδεικνύουν την αλληλεπίδραση του κινναζολινικού αναλόγου 3e εσωτερικά στην υδρόφοβη (μη πολική) κοιλότητα της β-CD και επομένως τον επιτυχή σχηματισμό του συμπλόκου εγκλεισμού.

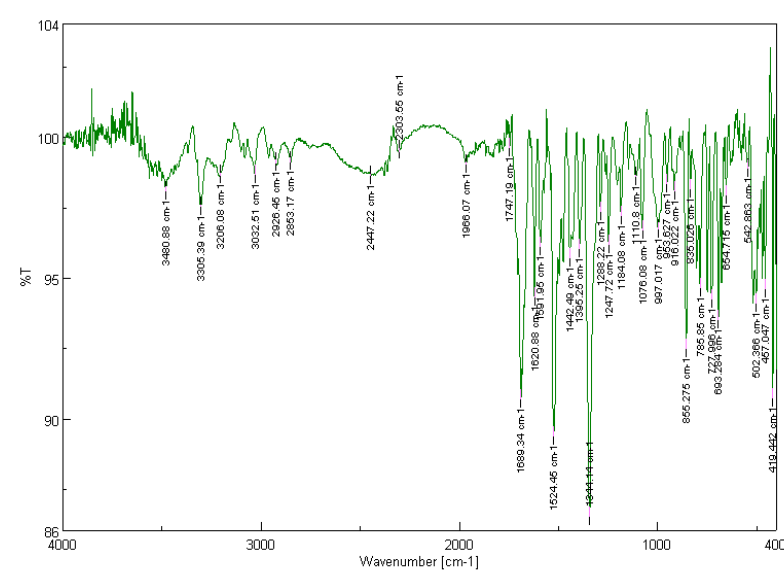
Επιπλέον, παρατηρούνται διαφορές μετατοπίσεων και στα πρωτόνια H-1, H-2 και H-4 που βρίσκονται εξωτερικά στην υδρόφιλη επιφάνεια της β-CD. Αυτή η παρατήρηση μπορεί να οφείλεται στο ότι στα συντιθέμενα σύμπλοκα εγκλεισμού, η κινναζολινόνη πιθανότατα να προσκολλάται και εξωτερικά στην επιφάνεια της β-κυκλοδεξτρίνης. Αυτό ίσως μπορεί να εξηγήσει και τον χρωματισμό των συμπλόκων με το χαρακτηριστικό κίτρινο χρώμα, το οποίο προσδίδει η ένωση 3-αμινο-2-μεθυλο-6-νιτροκινναζολινόνη (3e).

Φασματοσκοπία υπερύθρου FT-IR

Συνδυαστικά με τα φάσματα ^1H NMR, η μελέτη και ο χαρακτηρισμός της δομής των συμπλόκων πραγματοποιείται και με φασματοσκοπία FT-IR.

Πραγματοποιείται ο χαρακτηρισμός των συμπλόκων εγκλεισμού ICs, της καθαρής ένωσης, 3e, των β-κυκλοδεξτρινών που χρησιμοποιήθηκαν κατά τον σχηματισμό των συμπλόκων εγκλεισμού.

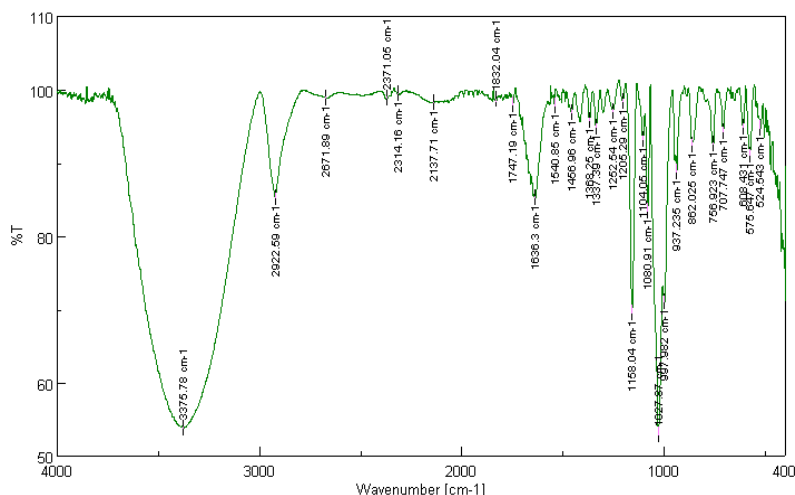
Φάσμα FT-IR της κιναζολινόνης **3e**



Εικόνα 5.30: Φάσμα FT-IR της ένωσης 3-αμινο-2-μεθυλο-6-νιτρο-κιναζολιν-4(3H)-όνης (3e**)**

Από το φάσμα της ένωσης (Εικόνα 5.30), παρατηρείται ότι αρχικά στα 3480.88 cm⁻¹, εμφανίζεται μια κορυφή που αποδίδεται στην δόνηση τάσης του δεσμού N-H. Στα 1689.34 cm⁻¹ παρουσιάζεται η κορυφή η οποία είναι χαρακτηριστική της δόνησης τάσης του καρβονυλίου (C=O). Ακολουθεί μια κορυφή στα 1524.45 cm⁻¹, η οποία είναι χαρακτηριστική της δόνησης τάσης του δεσμού C=C. Τέλος, στα 1344.14 cm⁻¹, παρατηρείται μια κορυφή χαρακτηριστική της δόνησης τάσης του δεσμού N-O της νιτροομάδας.

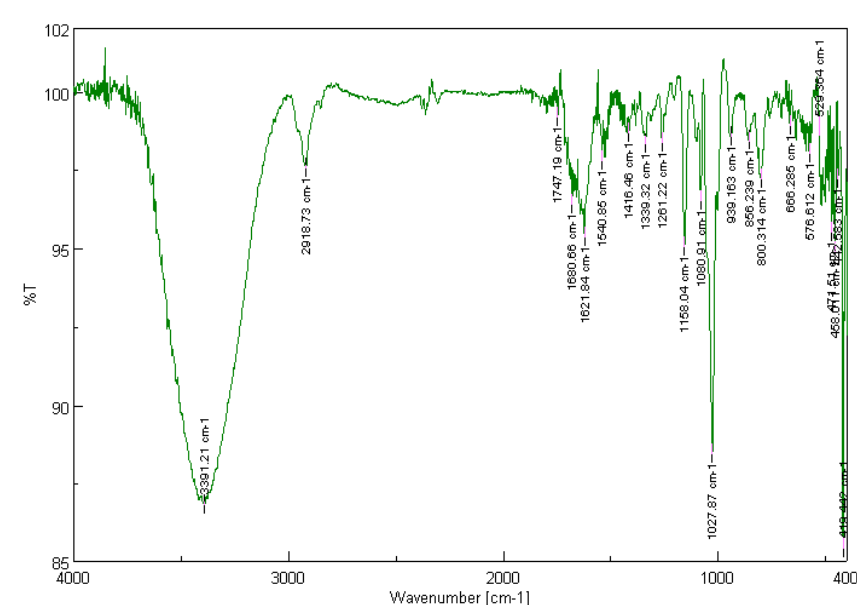
Φάσματα β-CD και συμπλόκου **3e**-β-CD



Εικόνα 5.31: Φάσμα FT-IR της β-CD

Από το φάσμα της β-κυκλοδεξτρίνης (Εικόνα 5.31), παρατηρείται αρχικά η εμφάνιση μιας κορυφής στα 3375.78 cm⁻¹, η οποία είναι χαρακτηριστική της δόνηση τάσης του δεσμού O-H του υδροξυλίου. Στην συνέχεια του φάσματος και συγκεκριμένα στα 2922.59

cm^{-1} , εμφανίζεται μια κορυφή που αποδίδεται στην δόνηση τάσης του δεσμού C-H. Ακολουθεί η κορυφή η οποία εμφανίζεται στα 1636.3 cm^{-1} και αποδίδεται στην ασύμμετρη δόνηση τάσης της ομάδας του $-\text{CH}_2$, ενώ η κορυφή στα 1158.04 cm^{-1} , αποδίδεται αντίστοιχα στην δόνηση κάμψης του δεσμού O-H. Τέλος, η κορυφή στα 1027.87 cm^{-1} , αποδίδεται στην δόνηση τάσης του δεσμού C-O των ομάδων των δευτεροταγών αλκοολών.



Εικόνα 5.32: Φάσμα FT-IR του συμπλόκου εγκλεισμού 3e-β-CD

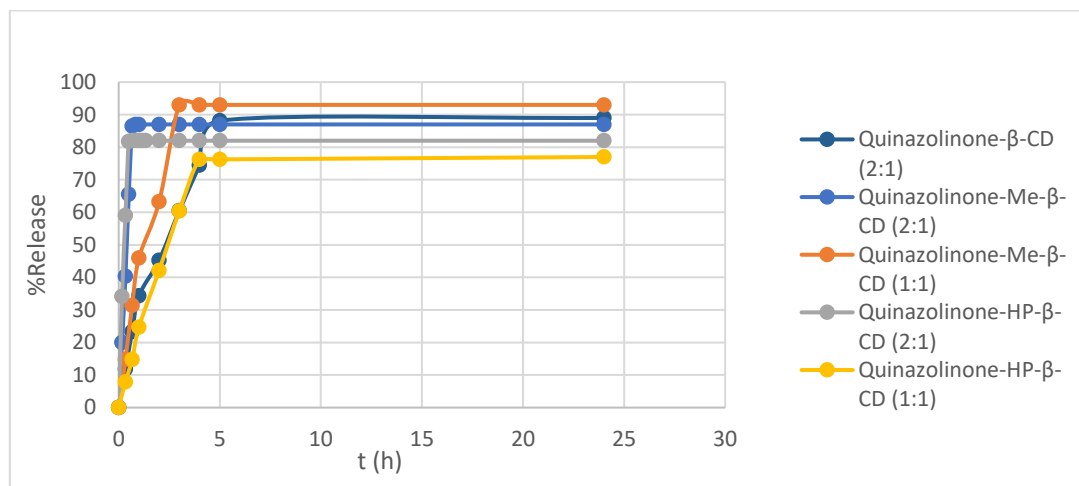
Αντίστοιχα από το φάσμα του συμπλόκου εγκλεισμού 3e-β-CD (Εικόνα 5.32) παρατηρούνται αρχικά, οι κορυφές στα 3391.21 cm^{-1} και στα 2918.73 cm^{-1} αντίστοιχα, αποδίδονται στην β-κυκλοδεξτρίνη και φαίνονται εμφανώς μετατοπισμένες σε σχέση με την β-CD όπου οι κορυφές εμφανίζονταν στα 3375.78 cm^{-1} και στα 2922.59 cm^{-1} αντίστοιχα.

Η κορυφή της κινολίνης 3e που μελετήθηκε προηγουμένως στα 1689.34 cm^{-1} , η οποία οφείλεται στην δόνηση τάσης C=O, μετατοπίζεται στο σύμπλοκο στα 1680.66 cm^{-1} . Τέλος, οι κορυφές στα 1158.04 cm^{-1} και στα 1027.87 cm^{-1} παρατηρείται ότι δεν εμφανίζουν κάποιου είδους μετατόπιση.

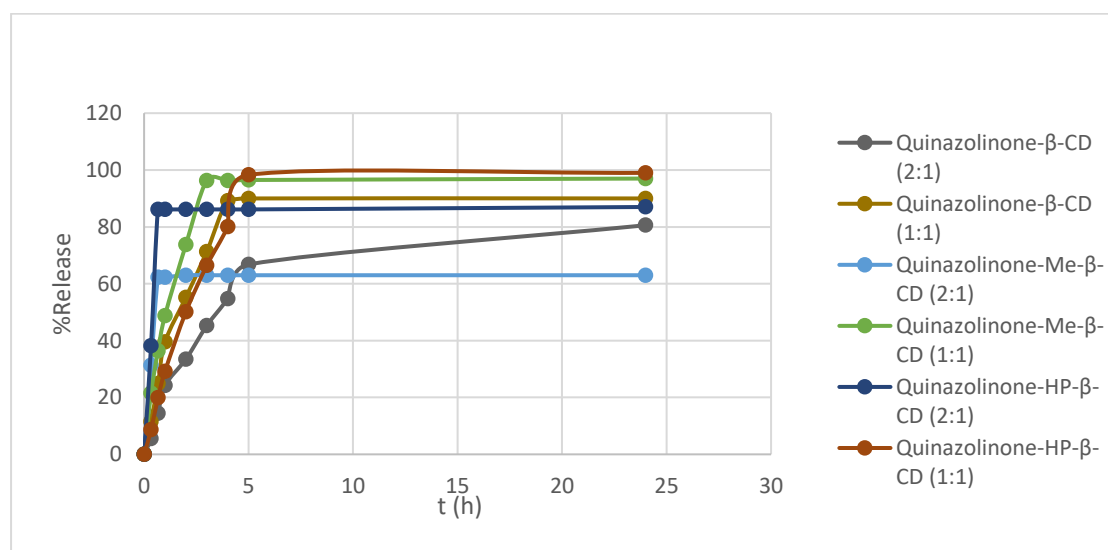
Οι μετατοπίσεις που βρέθηκαν είναι ενδεικτικές των αλληλεπιδράσεων που λαμβάνουν χώρα ανάμεσα στην κινολίνη 3e και στην β-κυκλοδεξτρίνη. Η παρουσία της χαρακτηριστικής κορυφής της κινολίνης 3e, στα 1680.66 cm^{-1} στο φάσμα του συμπλόκου εγκλεισμού ICs υποδεικνύει τον σχηματισμό του συμπλόκου.

Μελέτη απελευθέρωσης της κιναζολινόνης 3e από τα σύμπλοκα εγκλεισμού ICs

Όπως παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 5.4 και στο Διάγραμμα 5.5 που ακολουθούν, φαίνονται συγκριτικά τα προφίλ απελευθέρωσης των συμπλόκων εγκλεισμού ICs 3e-β-CD, 3e-Me-β-CD και 3e-HP-β-CD.



Διάγραμμα 5.4: Καμπύλες απελευθέρωσης συμπλόκων εγκλεισμού που παρασκευάστηκαν με την μέθοδο kneading



Διάγραμμα 5.5: Καμπύλες απελευθέρωσης συμπλόκων εγκλεισμού που παρασκευάστηκαν με την μέθοδο συγκαταβύθισης διαλύτη

Στα περισσότερα από τα προφίλ απελευθέρωσης των παραπάνω συμπλόκων εγκλεισμού ICs φαίνεται να παρουσιάζουν μια ταχεία απελευθέρωση, «burst effect» στις 2 με 4 ώρες, η οποία αρχίζει να σταθεροποιείται όπως φαίνεται το πλατό, «plateau». Εξαιρεση φαίνεται να αποτελούν τα σύμπλοκα ICs των υποκατεστημένων κυκλοδεξτρινών με γραμμομοριακή αναλογία 2:1 και συγκεκριμένα τα 3e-Me-β-CD και τα 3e-HP-β-CD, στα οποία παρατηρείται πολύ πιο σύντομη και ταχεία απελευθέρωση στα πρώτα 30 και 60 λεπτά αντίστοιχα.

Πιο συγκεκριμένα, στον Πίνακα 5.26 αναγράφονται τα αποτελέσματα της ταχείας απελευθέρωσης (burst effect) και το πλατό (plateau) για κάθε σύμπλοκο εγκλεισμού ICs των β-κυκλοδεξτρινών που παρασκευάστηκαν.

Πίνακας 5.26: Ταχεία απελευθέρωση (Burst effect) και πλατό (plateau) για κάθε σύμπλοκο εγκλεισμού ICs

3e-β-CD 2:1		
	<i>Kneading</i>	<i>Solvent evaporation & freeze drying</i>
Burst effect	4h, 74%	4h, 54%
Plateau	89%	80%
3e-β-CD 1:1		
		<i>Solvent evaporation & freeze drying</i>
Burst effect		3h, 71%
Plateau		90%
3e-Me-β-CD 2:1		
	<i>Kneading</i>	<i>Solvent evaporation & freeze drying</i>
Burst effect	1h, 86%	1h, 62%
Plateau	87%	63%
3e-Me-β-CD 1:1		
	<i>Kneading</i>	<i>Solvent evaporation & freeze drying</i>
Burst effect	2h, 63%	2h, 74%
Plateau	93%	97%
3e-HP-β-CD 2:1		
	<i>Kneading</i>	<i>Solvent evaporation & freeze drying</i>
Burst effect	30min, 81%	40min, 86%
Plateau	82%	87%
3e-HP-β-CD 1:1		

	<i>Kneading</i>	<i>Solvent evaporation & freeze drying</i>
Burst effect	3h, 60%	4h, 80%
Plateau	77%	99%

Κατά την ταχεία απελευθέρωση (Burst Effect), η μεγαλύτερη ποσοστιαία απελευθέρωση παρουσιάζεται στα σύμπλοκα ICs με τη μεθόδου της συγκαταβύθισης και γραμμομοριακής αναλογίας 1:1. Η μεγαλύτερη απελευθέρωση εμφανίζεται στα σύμπλοκα ICs (3e-HP-β-CD), όπου απελευθερώνεται περίπου το 99% της εγκλεισμένης κινιζολινόνης 3e. Ακολουθούν με μικρή διαφορά μεταξύ τους τα σύμπλοκα 3e-Me-β-CD όπου απελευθερώνεται το 97% και τα σύμπλοκα 3e-β-CD, όπου απελευθερώνεται το 90% του εγκλεισμένου κινιζολινικού αναλόγου 3e.

Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε και η μαθηματική μοντελοποίηση με σκοπό να αναλυθεί το κινητικό μοντέλο της απελευθέρωσης της κινιζολινόνης 3e από τα σύμπλοκα εγκλεισμού ICs. Τα κινητικά μοντέλα απελευθέρωσης που μελετήθηκαν και εφαρμόστηκαν παρουσιάζονται συνοπτικά παρακάτω:

- Μηδενικής τάξης (zero order)
- Πρώτης τάξης (first order)
- Higuchi
- Korsmeyer – Peppas

Από τα παραπάνω κινητικά μοντέλα, το βέλτιστο κινητικό μοντέλο το οποίο μπορεί να περιγράψει αποτελεσματικότερα το προφίλ απελευθέρωσης επιλέγεται με βάση τον συντελεστή R². Στον Πίνακα 5.27 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του συντελεστή R² για κάθε σύμπλοκο εγκλεισμού.

Πίνακας 5.27: Συντελεστής R² κινητικών μοντέλων για κάθε σύμπλοκο

Σύμπλοκο		Zero order, R ²	First order, R ²	Higuchi, R ²	Korsmeyer – Peppas, R ²
3e-β-CD (2:1)	kneading	0.5393	0.5815	0.9804	0.9927
3e-Me-β-CD (2:1)		0.9983	0.7863	0.8983	0.9978
3e-Me-β-CD (1:1)		0.9687	0.5912	0.9582	0.9944
3e-HP-β-CD (2:1)		0.9905	0.7624	0.9678	0.9844
3e-HP-β-CD (1:1)		0.9946	0.6985	0.9433	0.9932

3e-β-CD (2:1)	Solvent evaporation & freeze drying	0.5822	0.663	0.9685	0.9822
3e-β-CD (1:1)		0.5857	0.6023	0.9681	0.9941
3e-Me-β-CD (2:1)		1	0.8708	0.9474	0.9995
3e-Me-β-CD (1:1)		0.9606	0.5421	0.984	0.9874
3e-HP-β-CD (2:1)		0.9957	0.8817	0.9123	1
3e-HP-β-CD (1:1)		0.9855	0.6503	0.9659	0.9956

Παρατηρείται (Πίνακας 5.27) ότι οι υψηλότερες τιμές των συντελεστών R^2 εμφανίζονται ανά περιπτώσεις για τα μοντέλα τάξης (zero order) και Korsmeyer – Peppas. Το μοντέλο μηδενικής τάξης (zero order) σε ορισμένα σύμπλοκα εγκλεισμού παρουσιάζει τον υψηλότερο συντελεστή R^2 , ενώ σε άλλα παρουσιάζει πολύ χαμηλή τιμή.

Σε αντίθεση το μοντέλο Korsmeyer – Peppas (Πίνακας 5.28) παρουσιάζει καλή και ικανοποιητική γραμμικότητα συνολικά για όλα τα σύμπλοκα που παρασκευάστηκαν.

Πίνακας 5.28: Εξισώσεις του κινητικού μοντέλου Korsmeyer – Peppas και μηχανισμοί απελευθέρωσης για κάθε σύμπλοκο εγκλεισμού

Σύμπλοκο		Korsmeyer – Peppas, R^2	Εξίσωση	Εκθέτης n	Μηχανισμός απελευθέρωσης
3e-β- CD (2:1)	kneading	0.9927	$y=0.7818x+0.0482$	0.7818	Μη Fickian διάχυση
3e- Me-β- CD (2:1)		0.9978	$y=1.2166x+0.0227$	1.2166	Super Case II
3e- Me-β- CD (1:1)		0.9944	$y=0.8805x+0.0266$	0.8805	Μη Fickian διάχυση
3e- HP-β-		0.9844	$y=1.3286x+0.0494$	1.3286	Super Case II

CD (2:1)					
3e- HP-β- CD (1:1)		0.9932	$y=0.7994x-0.0518$	0.7994	Μη Fickian διάχυση
3e-β- CD (2:1)	Solvent evaporation &freeze drying	0.9822	$y=0.7553x-0.0562$	0.7553	Μη Fickian διάχυση
3e-β- CD (1:1)		0.9941	$y=0.8249x+0.0253$	0.8249	Μη Fickian διάχυση
3e- Me-β- CD (2:1)		0.9995	$y=1.129x+0.0043$	1.129	Super Case II
3e- Me-β- CD (1:1)		0.9874	$y=0.8898x+0.06687$	0.8898	Μη Fickian διάχυση
3e- HP-β- CD (2:1)		1	$y=1.2102x+0.0011$	1.2102	Super Case II
3e- HP-β- CD (1:1)		0.9956	$y=0.8161x-0.0252$	0.8161	Μη Fickian διάχυση

Ως προς τον μηχανισμό απελευθέρωσης για κάθε σύμπλοκο εγκλεισμού, σύμφωνα με τον μηχανισμό μη Fickian διάχυσης, το φαινόμενο διόγκωσης και το φαινόμενο διάχυσης φαίνεται να είναι παρόμοια, ενώ κατά τον μηχανισμό Super Case II παρουσιάζεται χαλάρωση και διάβρωση του συμπλόκου.

Πιο συγκεκριμένα, παρατηρείται ότι τα σύμπλοκα 3e-Me-β-CD με γραμμομοριακή αναλογία 2:1 και 3e-HP-β-CD με γραμμομοριακή αναλογία 2:1, εμφανίσαν ταχύτατη απελευθέρωση και χαρακτηρίζονται από τον μηχανισμό απελευθέρωσης Super Case II.

5.7 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ

5.7.1 ΜΕΛΕΤΗ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΣΕ β -CD ΜΕ ΤΟ DNA ΘΥΜΟΥ ΑΔΕΝΑ (CT-DNA)

Αποτελέσματα της Μελέτης αλληλεπίδρασης των συμπλόκων εγκλεισμού ICs με το DNA μέσω τιτλοδότησης φασματοσκοπίας υπεριώδους-ορατού (UV-Vis)

Τα σύμπλοκα εγκλεισμού που συντέθηκαν και χαρακτηρίστηκαν χρησιμοποιήθηκαν για να μελετηθεί και να αξιολογηθεί η αλληλεπίδρασή με το DNA θύμου αδένου βοδιού (calf thymus DNA, CT-DNA). Συγκριτικά, πραγματοποιήθηκε μελέτη της αλληλεπίδρασης των φορέων, της καθαρής ένωσης 3e και των συμπλόκων εγκλεισμού. Αναλυτικότερα, πραγματοποιήθηκαν οι τιτλοδοτήσεις υπεριώδους-ορατού (UV-Vis) για διαφορετικές συγκεντρώσεις του DNA. Τα φάσματα μελετήθηκαν ως προς τη μεταβολή της απορρόφησης αλλά και τη μεταβολή του μήκους κύματος, όπου αντιστοιχεί η μέγιστη απορρόφηση, λ_{\max} . Από τα δεδομένα αυτά, διαπιστώνεται το είδος της αλληλεπίδρασης αλλά και το εάν το DNA σταθεροποιείται ή αποσταθεροποιείται. Επιπλέον, πραγματοποιείται και ο υπολογισμός της σταθεράς σύνδεσης με το CT-DNA K_b , με βάση την εξίσωση Benesi- Hildebrand.

Στον Πίνακα 5.29 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των δειγμάτων με το DNA. Για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων ως πρότυπη ουσία χρησιμοποιήθηκε το Methyl Green. Όπως παρατηρείται στον Πίνακα 5.29, παρουσιάζεται μια εξωτερική συναρμογή στην έλικα του DNA μέσω της αλληλεπίδρασης μεταξύ των συμπλόκων ή της ένωσης με το DNA ενώ από τις τιμές των σταθερών αλληλεπίδρασης, K_b των συμπλόκων εγκλεισμού οι τιμές κυμαίνονται από $0,10 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ έως $1,45 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ συγκρίσιμες με την σταθερά αλληλεπίδρασης της πρότυπης ένωσης, Methyl Green όπου εμφανίζει $0,83 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$.

Αρχικά, για να διαπιστωθεί ο τρόπος σύνδεσης και η ισχύς της με το DNA, μελετήθηκε η πρότυπη ουσία, Methyl-Green, η οποία σύμφωνα με τα βιβλιογραφικά δεδομένα εμφανίζει εξωτερική συναρμογή στη μικρή αύλακα του DNA. Παράλληλα, μέσω της εξίσωσης Benesi- Hildebrand υπολογίστηκε η τιμή της σταθεράς αλληλεπίδρασης, $K_b=0.83 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$.

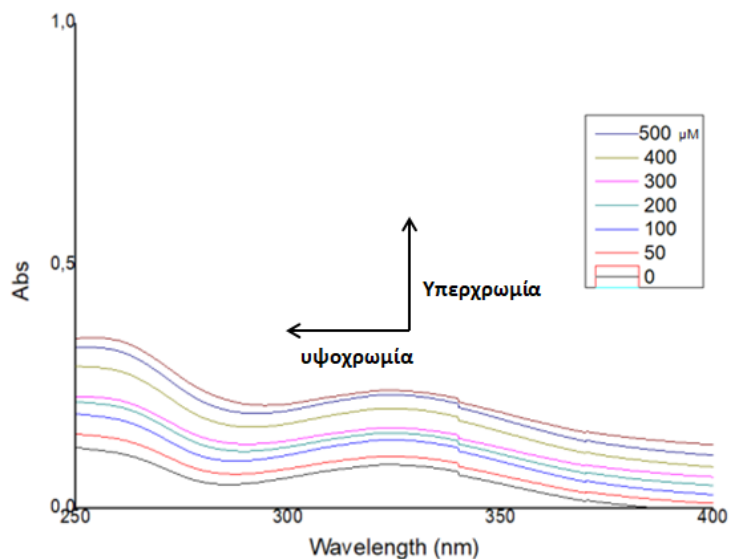
Πίνακας 5.29: Αποτελέσματα αλληλεπίδρασης methyl green, κιναζολινόνης και συμπλόκων εγκλεισμού με το DNA.

Δείγμα	Μέθοδος	λ_{\max} absent (nm)	λ_{\max} presen t (nm)	$\Delta\lambda$ (nm)	Υποχρω μία (%)	Υπερχρω μία (%)	$K_b \cdot 10^4$ (M^{-1})
Methyl Green		254.8	258.0	3.2	-	80	0.83
3e		323.6	323.4	0.2	-	77	9.67
3e- β -CD 2:1	kneading	259.8	258.2	1.6	-	44	0.48

3e-Me-β-CD 2:1		259.4	259.2	0.2	-	36	-
3e-Me-β-CD 1:1		258.0	259.8	1.8	-	23	-
3e-HP-β-CD 2:1		259.4	259.0	0.4	-	50	0.66
3e-HP-β-CD 1:1		259.4	259.8	0.4	-	24	0.41
3e-β-CD 2:1		259.8	257.6	2.2	-	51	0.62
3e-β-CD 1:1		261	258.8	2.2	-	40	0.92
3e-Me-β-CD 2:1	Solvent evaporati on & freeze drying	256.4	258.8	2.4	-	56	0.10
3e-Me-β-CD 1:1		259.4	263.0	3.6	-	32	0.39
3e-HP-β-CD 2:1		257	258.6	1.6	-	53	1.45
3e-HP-β-CD 1:1		258.8	258.8	0.0	-	25	0.32

Ενδεικτικά, στην Εικόνα 5.33 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της τιτλοδότησης της κιναζολινόνης 3e όπου σύμφωνα με τον Πίνακα 5.29 εμφάνισε υψηλή σταθερά αλληλεπίδρασης k_b με τιμή $9.67 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ όπως προέκυψε από την εξίσωση Benesi-Hildebrand. Επιπλέον, στον Πίνακα 5.39 για την κιναζολινόνη 3e παρουσιάζεται υπερχρωμία σε ποσοστό 77%, ενώ παρατηρείται και αύξηση της απορρόφησης κατά την αύξηση της συγκέντρωσης του DNA (0-500μM) υποδηλώνοντας εξωτερική συναρμογή στην αύλακα του DNA. Παράλληλα, παρατηρήθηκε μετατόπιση του μήκους κύματος, λ_{\max} προς μικρότερα μήκη κύματος όπου καλείται υψοχρωμία κάτι που δείχνει πρόσδεση στη μικρή αύλακα και ταυτόχρονα αποσταθεροποίηση της έλικας του DNA.

Από τη σύγκριση των τιμών της σταθεράς αλληλεπίδρασης K_b μεταξύ της πρότυπης ουσίας Methyl-Green και της κιναζολινόνης 3e φαίνεται πως η δεύτερη εμφανίζει ισχυρότερη σύνδεση με το DNA.

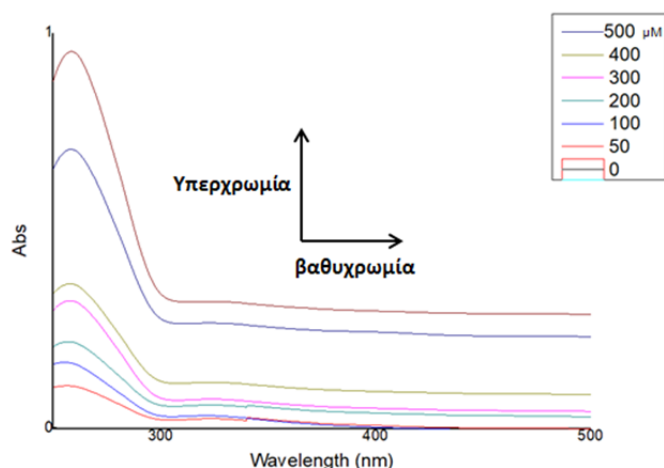


Εικόνα 5.33: Φάσμα UV-Vis μεταξύ της κιναζολινόνης 3e και του CT-DNA σε διαφορετικές συγκεντρώσεις (0-500 μ M).

Παράλληλα, ως προς την μελέτη της αλληλεπίδρασης των β -κυκλοδεξτρινών με το DNA, αυτές αναμένεται να εμφανίσουν πιο ασθενή αλληλεπίδραση, λόγω του μεγάλου μεγέθους τους. Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνεται πειραματικά, καθώς παρατηρείται στα φάσματα τιτλοδότησης UV-Vis χαμηλότερες μεταβολές της απορρόφησης και του μήκους κύματος, λ_{max} , στις διαφορετικές συγκεντρώσεις του DNA (0-500 μ M) και παράλληλα χαμηλότερες τιμές των σταθερών αλληλεπίδρασης, K_b .

Ως προς την μελέτη της αλληλεπίδρασης των συμπλόκων εγκλεισμού ICs με το DNA, αρχικά τα δείγματα επώαστηκαν για συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα σύμφωνα με τα αποτελέσματα των κινητικών μοντέλων απελευθέρωσης, ώστε να απελευθερωθεί ικανοποιητική ποσότητα της ένωσης 3e και στην συνέχεια να μπορέσει αυτή να αλληλεπιδράσει με το DNA. Για τις συνθήκες επώασης με το DNA ακολουθήθηκαν τα ίδια πειραματικά δεδομένα με τη μελέτη της απελευθέρωσης της κιναζολινόνης όπου pH=7.4 και T=37°C..

Στην Εικόνα 5.34 παρουσιάζεται το φάσμα του συμπλόκου εγκλεισμού 3e-HP- β -CD σε γραμμομοριακή αναλογία 2:1 το οποίο παρασκευάστηκε με την μέθοδο της συγκαταβύθισης, Όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 5.29, το συγκεκριμένο σύμπλοκο παρουσίασε την υψηλότερη σταθερά αλληλεπίδρασης, $K_b=1.45 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$, ενώ το ποσοστό υπερχρωμίας άγγιξε το 53%. Πιο συγκεκριμένα, το δείγμα 3e-HP- β -CD παρουσίασε εξωτερική αλληλεπίδραση στην μεγάλη αύλακα καθώς παρατηρήθηκε ταυτόχρονα βαθυχρωμία ενώ η ίδια η ένωση 3e εμφανίζει εξωτερική αλληλεπίδραση στην μικρή αύλακα του DNA, δηλαδή υψοχρωμία. Αυτό μπορεί να δικαιολογηθεί βιβλιογραφικά καθώς ενώσεις μικρού μοριακού βάρους συνήθως εμφανίζουν αλληλεπίδραση στην μικρή αύλακα ενώ αντιθέτως ενώσεις μεγάλου μοριακού βάρους πιθανόν να αλληλεπιδρούν στην μεγάλη αύλακα του DNA. Για το σύμπλοκο 3e-HP- β -CD συνδεδεμένο με το DNA πιθανόν η βαθυχρωμία να οφείλεται στην αλληλεπίδραση που μπορεί να εμφανίζεται λόγω του φορέα της β -κυκλοδεξτρίνης (μόριο μεγάλου μοριακού βάρους).



Εικόνα 5.34: Φάσμα UV-Vis μεταξύ συμπλόκου 3e-HP-β-CD και CT-DNA σε διαφορετικές συγκεντρώσεις (0-500 μM).

5.7.2 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΠΟΛΥ(ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ) PLA

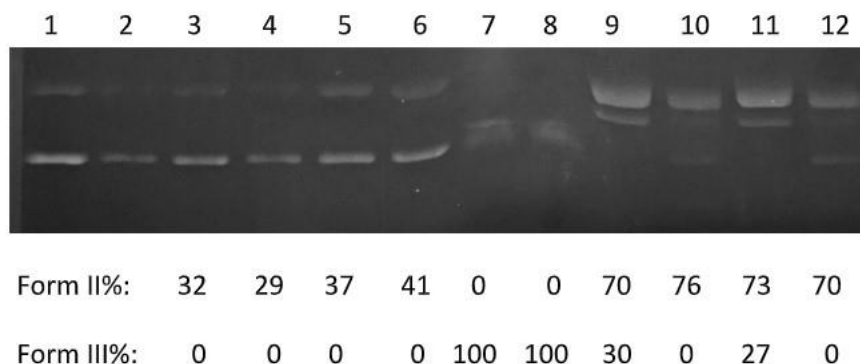
Μελέτη της ικανότητας των νανοςωματιδίων να διασπούν το DNA με την επίδραση υπεριώδους ακτινοβολίας

Ο σχεδιασμός των νανοςωματιδίων PLA βασίστηκε στα αποτελέσματα που βρέθηκαν για την ένωση **4f**, όπου παρατηρήθηκαν υψηλά ποσοστά φωτοδιάσπασης πλασμιδιακού DNA, από την 3-(2-αμινοαιθυλο)-6-βρωμο-2-μεθυλοκινναζολιν-4(3H)-όνη (**4f**), που φέρει βρωμο-ομάδα στη θέση C-6. Πιο συγκεκριμένα, όπως παρουσιάστηκαν στο Κεφάλαιο 4, η ένωση **4f** εμφάνισε πιθανή ικανότητα να διασπά το DNA κατά την διέγερσή της στην UVA και UVB ακτινοβολία.

Για το σκοπό αυτό μελετήθηκε η πιθανή ικανότητα των νανοςωματιδίων 4f-NPs-NADES5, με εγκλεισμένη την 3-(2-αμινοαιθυλο)-6-βρωμο-2-μέθυλο-κινναζολινόνη-4(3H)-όνη, **4f**. Για την βελτίωση της μεθοδολογίας δοκιμάστηκε και η διάλυση της ένωσης 4f σε φυσικό βαθέως ευτηκτικό διαλύτη NaDES5 (χλωριούχος χολίνη/γαλακτικό οξύ (1:1.5)) αντί του DMSO που χρησιμοποιείται για την παρασκευή των διαλυμάτων των ενώσεων. Όπως παρουσιάζεται στην Εικόνα 5.35, μελετήθηκε τόσο η δράση των νανοςωματιδίων 4f-NPs-NADES5, όσο και των κενών νανοςωματιδίων, αλλά και του διαλύτη NaDES5, ενώ γίνεται σύγκριση με τη φωτοδιασπαστική ικανότητα της ένωσης **4f** στο DNA τόσο με διαλύτη DMSO όσο και του εναλλακτικού διαλύτη NaDES5.

Αρχικά πραγματοποιήθηκε φωτοβόληση στην UVB ακτινοβολία των δειγμάτων, η οποία κυμαίνεται στο εύρος μεταξύ 280-315 nm. Πιο συγκεκριμένα, το πείραμα εκτελέστηκε στα 312 nm, σε απόσταση 15 cm, για χρονικό διάστημα 30 λεπτών. Η επιλογή της φωτοβόλησης σε μήκος κύματος των 312 nm πραγματοποιήθηκε μετά από την μελέτη που είχε προηγηθεί για την κινναζολινόνη **4f**, η οποία είχε δώσει υψηλά ποσοστά φωτοδιάσπασης και στους δύο κλώνους σε συγκέντρωση 25 μM .

Το pH που χρησιμοποιείται για τη φωτοδιάσπαση του DNA είναι 6.8 σε Tris buffer. Τα δείγματα που φωτοβολήθηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.30.



Εικόνα 5.35: Αποτελέσματα φωτοβόλησης με υπεριώδη ακτινοβολία στα 312 nm της ένωσης **4f** σε συγκέντρωση 25 μM (σειρές 9-12), των νανοσωματιδίων PLA (σειρές 3-6), και του διαλύτη NADES5 (σειρές 7-8).

Πίνακας 5.30: Περιγραφή των δειγμάτων και των συγκεντρώσεων που πραγματοποιήθηκε η φωτοβόληση 312 nm, σε απόσταση 15 cm και χρονική διάρκεια 30 min.

Σειρά	Περιγραφή	Σειρά	Περιγραφή
1	DNA+Tris	9	DNA+ 25 μM 4f (DMSO)
2	DNA+Tris+UV	10	DNA+ 25 μM 4f (DES)
3	DNA+ 25 μM Blank NPs PLA	11	DNA+ 25 μM 4f (DMSO)
4	DNA+ 25 μM Blank NPs PLA	12	DNA+ 25 μM 4f (DES)
5	DNA+ 25 μM 4f-NPs-NADES5		
6	DNA+ 25 μM 4f-NPs-NADES5		
7	DNA+ DES (20%)		
8	DNA+ DES		

Η συγκέντρωση των 25 μM επιλέχθηκε καθώς στα 500 μM , η δράση της ένωσης **4f** ήταν πολύ υψηλή και κατακερμάτισε πλήρως το DNA, με αποτέλεσμα να γίνει μελέτη του IC_{50} της ένωσης όπως παρουσιάστηκε στο Κεφάλαιο 4.

Στα 312 nm μηχανισμός της φωτοδιάσπαστικής ικανότητας της ένωσης **4f**, αν και δεν έχει εξακριβωθεί πλήρως, πιθανόν να περιλαμβάνει την ομολυτική διάσπαση του δεσμού C-Br στη θέση 6 του κινολινικού δακτυλίου και τον σχηματισμό της φαινυλικής ρίζας, η οποία μπορεί να αλληλεπιδράσει πάνω στη διπλή έλικα σπάζοντας το υπερελικωμένο

DNA. Αναλόγως εάν σπάσει τη μία ή και τις δύο έλικες του υπερελικωμένου DNA, θα προκύψει αντίστοιχα είτε κυκλική μορφή (Form II) είτε γραμμική μορφή (Form III) του.

Παρατηρώντας την Εικόνα 5.35, στη στήλη 3 και 4, παρουσιάζεται η δράση των κενών νανοσωματιδίων PLA, Blank NPs PLA, όπου φαίνεται να έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον, καθώς τα κενά νανοσωματίδια PLA δίνουν μικρό ποσοστό κοντά στο 30%, κυκλικού DNA. Κάτι που θα πρέπει να μελετηθεί διεξοδικά στον τρόπο και στον μηχανισμό της αλληλεπίδρασης μεταξύ του πολυμερούς και του DNA, αλλά και αξιολόγηση του πολυμερούς κατά τον σχηματισμό των νανοσωματιδίων με διαλύτη NaDES. Στη συνέχεια, στις θέσεις 5 και 6 παρατηρείται η φωτοδιασπαστική δράση των νανοσωματιδίων **4f-NPs-NADES5** με προσθήκη της εγκλεισμένης ένωσης **4f**, από τα οποία προκύπτει ποσοστό, περίπου 40% του κυκλικού DNA. Σημειώνεται ότι κατά την προσθήκη του δείγματος των νανοσωματιδίων με εγκλεισμένη την ένωση **4f**, πραγματοποιήθηκε σε πρώτο στάδιο η απελευθέρωση της ένωσης σε χρονικό διάστημα όπως είχε μελετηθεί στο προφίλ απελευθέρωσης και έπειτα πραγματοποιήθηκε η προσθήκη του DNA στο δείγμα. Συγκεκριμένα, τα νανοσωματίδια PLA NPs, **4f-NPs-NADES5**, πριν τη φωτοβόληση επώαστηκαν για 3 ώρες, σε ρυθμιστικό διάλυμα pH=6.8, προκειμένου να απελευθερωθεί η ένωση. Ένα ικανοποιητικό αποτέλεσμα της πιθανής ικανότητας των δειγμάτων να διασπούν το DNA κατά την διέγερση των μορίων μετά από φωτοβόληση, είναι η δράση του NaDES5 (χλωριούχος χολίνη/γαλακτικό οξύ (1:1.5)), το οποίο έδειξε να κατακερματίζει το πλασμιδιακό DNA, στα 500 μM. Αυτό το αποτέλεσμα ανοίγει προοπτικές για την μελέτη τέτοιων διαλυτών και της χρήσης τους στην συγκεκριμένη μεθοδολογία και την δράση τους ως πιθανοί διαλύτες ή ως πιθανοί φωτοδιασπαστές του DNA. Επιπλέον, συγκρίθηκε η δράση της 3-(2-αμινοαιθυλο)-6-βρωμο-2-μεθυλοκιναζολινόνη-4(3H)-όνης, **4f** διαλυμένης σε DMSO και σε NADES5. Τα αποτελέσματα της ένωσης **4f** σε DMSO στις θέσεις 9 και 11 δίνουν πολύ υψηλή δράση με 70% κυκλικό και 30% γραμμικό DNA. Παράλληλα όμως παρατηρείται ότι με διάλυση της **4f** σε NADES5 (στήλη 10, 12), προκύπτει πολύ ικανοποιητική δράση, με 70% ποσοστό κυκλικού DNA, αντίστοιχο με αυτό του διαλύτη DMSO. Αυτό το αποτέλεσμα είναι πολύ ενθαρρυντικό, καθώς θα μπορούσε να ανοίξει νέους δρόμους για την εισαγωγή νέων εναλλακτικών διαλυτών και αντικατάσταση οργανικών διαλυτών όπως το DMSO, με αποτέλεσμα την αποφυγή της τοξικότητας τέτοιων διαλυτών.

5.8 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή, πραγματοποιήθηκε ο εγκλεισμός επιλεγμένων κιναζολινικών αναλόγων που εμφάνισαν ισχυρή βιολογική δράση, ή ο εγκλεισμός τους επιλέγει για την ενίσχυση της διαλυτότητάς τους. Συγκεκριμένα, τα κιναζολινικά ανάλογα 3-(2-αμινοαιθυλο)-6-βρωμο-2-μεθυλοκιναζολιν-4(3H)-όνη (**4f**) και 2-(4-μεθοξυφαινυλο)-3-φαινυλο-2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)-όνη (**10d**) εγκλείστηκαν τόσο σε νανοσωματίδια PLA όσο και σύμπλοκα εγκλεισμού με β -CD.

Τα νανοσωματίδια PLA παρασκευάστηκαν επιτυχώς με τη μέθοδο γαλακτωματοποίησης-εξάτμισης διαλύτη για τις 3-(2-αμινοαιθυλο)-6-βρωμο-2-μεθυλοκιναζολιν-4(3H)-όνη, **4f** και 2-(4-μεθοξυφαινυλο)-3-φαινυλο-2,3-διυδροκιναζολιν-4(1H)-όνη, **10d**, οι οποίες είναι καινούργιες και μελετώνται για πρώτη φορά.

Από τα αποτελέσματα για τον χαρακτηρισμό των νανοσωματιδίων PLA, φαίνεται πως αυτά διογκώνονται μέσω της επεξεργασίας τους με φυγοκεντρίσεις και λυοφιλίωση και παρουσιάζουν τάση συσσωμάτωσης. Έτσι, αθίσταται επιθυμητή η προσθήκη ενός σταθεροποιητικού παράγοντα (π.χ. γλυκόζη, σακχαρόζη, τρεχαλόζη). Σε αυτή την περίπτωση σημειώνεται πως η μέθοδος θα μπορούσε να βελτιωθεί με τη χρήση για παράδειγμα γλυκόζης όπου μπορεί να συμβάλει στη σταθεροποίηση της δομής των νανοσωματιδίων ενώ βοηθάει στη διασπορά τους με δεσμούς υδρογόνου.

Παράλληλα, δοκιμάστηκε και ο εγκλεισμός των ενώσεων 4f, 10d και 3e σε β -κυκλοδεξτρίνη όσο και σε υποκατεστημένες β -κυκλοδεξτρίνης (Me-b-CD και HP- β -CD). Σε αυτή την περίπτωση, δοκιμάστηκαν και συγκρίθηκαν δύο μέθοδοι εγκλεισμού η υγρή λειοτρίβηση και η μέθοδος της συγκαταβύθισης, όπου συγκριτικά και στις δύο μεθόδους παρατηρήθηκαν ικανοποιητικές αποδόσεις διεργασίας και εγκλεισμού. Επιπλέον, μέσω της μελέτης με φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR (^1H NMR) επιβεβαιώθηκαν οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ της κιναζολινόνης 3e και των β -κυκλοδεξτρινών. Αντίστοιχα παρουσιάστηκαν ικανοποιητικά μεγέθη συμπλόκων και σχηματισμός σταθερών διασπορών με σχετικά καλή ομοιομορφία.

Ως προς την αλληλεπίδραση των μορίων και των συμπλόκων με το DNA μέσω της τιτλοδότηση με φασματοσκοπία υπεριώδους ορατού (UV-Vis), τόσο οι ενώσεις όσο και τα σύμπλοκα φάνηκε να αλληλεπιδρούν στην εξωτερική αύλακα του DNA (groove binding).

5.9 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- [1] N. K. Tolochko, "HISTORY OF NANOTECHNOLOGY."
- [2] S. Bayda, M. Adeel, T. Tuccinardi, M. Cordani, and F. Rizzolio, "The history of nanoscience and nanotechnology: From chemical-physical applications to nanomedicine," *Molecules*, vol. 25, no. 1. MDPI AG, 2020. doi: 10.3390/molecules25010112.
- [3] L. Leon, E. J. Chung, and C. Rinaldi, "A brief history of nanotechnology and introduction to nanoparticles for biomedical applications," in *Nanoparticles for Biomedical Applications: Fundamental Concepts, Biological Interactions and Clinical Applications*, Elsevier, 2019, pp. 1–4. doi: 10.1016/B978-0-12-816662-8.00001-1.
- [4] J. E. Hulla, S. C. Sahu, and A. W. Hayes, "Nanotechnology: History and future," *Human and Experimental Toxicology*, vol. 34, no. 12. SAGE Publications Ltd, pp. 1318–1321, Dec. 01, 2015. doi: 10.1177/0960327115603588.
- [5] B. Bhushan, "Introduction to Nanotechnology: History, Status, and Importance of Nanoscience and Nanotechnology Education," 2016, pp. 1–31. doi: 10.1007/978-3-319-31833-2_1.
- [6] F. Dekker, L. Kool, A. Bunschoten, A. H. Velders, and V. Saggiomo, "Syntheses of gold and silver dichroic nanoparticles; Looking at the Lycurgus cup colors," *Chemistry Teacher International*, vol. 3, no. 1, Mar. 2021, doi: 10.1515/cti-2019-0011.
- [7] R. Yu *et al.*, "Structural Coloring of Glass Using Dewetted Nanoparticles and Ultrathin Films of Metals," *ACS Photonics*, vol. 3, no. 7, pp. 1194–1201, Jul. 2016, doi: 10.1021/acsphotonics.6b00090.
- [8] C. J. Batty, E. M. Bachelder, and K. M. Ainslie, "Forum Series: Bottlenecks and Breakthroughs in Molecular Medicine Historical Perspective of Clinical Nano and Microparticle Formulations for Delivery of Therapeutics."
- [9] M. H. Cai *et al.*, "Design and Development of Hybrid Hydrogels for Biomedical Applications: Recent Trends in Anticancer Drug Delivery and Tissue Engineering," *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, vol. 9. Frontiers Media S.A., Feb. 17, 2021. doi: 10.3389/fbioe.2021.630943.
- [10] E. P. Furlani, "Magnetic biotransport: Analysis and applications," *Materials*, vol. 3, no. 4, pp. 2412–2446, 2010, doi: 10.3390/ma3042412.
- [11] J. Shi, A. R. Votruba, O. C. Farokhzad, and R. Langer, "Nanotechnology in drug delivery and tissue engineering: From discovery to applications," *Nano Letters*, vol. 10, no. 9, pp. 3223–3230, Sep. 08, 2010. doi: 10.1021/nl102184c.
- [12] C. Zhang *et al.*, "Progress, challenges, and future of nanomedicine," *Nano Today*, vol. 35. Elsevier B.V., Dec. 01, 2020. doi: 10.1016/j.nantod.2020.101008.

- [13] S. Saeidlou, M. A. Huneault, H. Li, and C. B. Park, "Poly(lactic acid) crystallization," *Progress in Polymer Science*, vol. 37, no. 12. Elsevier Ltd, pp. 1657–1677, 2012. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2012.07.005.
- [14] E. Castro-Aguirre, F. Iñiguez-Franco, H. Samsudin, X. Fang, and R. Auras, "Poly(lactic acid)—Mass production, processing, industrial applications, and end of life," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 107. Elsevier B.V., pp. 333–366, Dec. 15, 2016. doi: 10.1016/j.addr.2016.03.010.
- [15] H. Moaddel and R. Ameri, "Synthesis of Poly(," vol. 14, no. 10, pp. 849–854, 2005.
- [16] A. Kumari, S. K. Yadav, and S. C. Yadav, "Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 75, no. 1. pp. 1–18, Jan. 01, 2010. doi: 10.1016/j.colsurfb.2009.09.001.
- [17] M. Roussaki *et al.*, "Encapsulation of the natural antioxidant aureusidin in biodegradable PLA nanoparticles," *Polym Degrad Stab*, vol. 108, pp. 182–187, 2014, doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2014.08.004.
- [18] X. Feng *et al.*, "Tumor-Homing and Penetrating Peptide-Functionalized Photosensitizer-Conjugated PEG-PLA Nanoparticles for Chemo-Photodynamic Combination Therapy of Drug-Resistant Cancer," *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 8, no. 28, pp. 17817–17832, Jul. 2016, doi: 10.1021/acsami.6b04442.
- [19] D. Bechet, P. Couleaud, C. Frochot, M. L. Viriot, F. Guillemin, and M. Barberi-Heyob, "Nanoparticles as vehicles for delivery of photodynamic therapy agents," *Trends in Biotechnology*, vol. 26, no. 11. pp. 612–621, Nov. 2008. doi: 10.1016/j.tibtech.2008.07.007.
- [20] L. Leclercq, "Interactions between cyclodextrins and cellular components: Towards greener medical applications?," *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, vol. 12. Beilstein-Institut Zur Forderung der Chemischen Wissenschaften, pp. 2644–2662, Dec. 07, 2016. doi: 10.3762/bjoc.12.261.
- [21] M. Kotronia, E. Kavetsou, S. Loupassaki, S. Kikionis, S. Vouyiouka, and A. Detsi, "Encapsulation of oregano (*Origanum onites* L.) essential oil in β -cyclodextrin (β -CD): Synthesis and characterization of the inclusion complexes," *Bioengineering*, vol. 4, no. 3, Sep. 2017, doi: 10.3390/bioengineering4030074.
- [22] C. López-Castillo, C. Rodríguez-Fernández, M. Córdoba, and J. J. Torrado, "Permeability characteristics of a new antifungal topical amphotericin B formulation with γ -cyclodextrins," *Molecules*, vol. 23, no. 12, Dec. 2018, doi: 10.3390/molecules23123349.
- [23] M. N. Roy, S. Saha, M. Kundu, B. C. Saha, and S. Barman, "Exploration of inclusion complexes of neurotransmitters with β -cyclodextrin by physicochemical techniques," *Chem Phys Lett*, vol. 655–656, pp. 43–50, Jul. 2016, doi: 10.1016/j.cplett.2016.05.031.

- [24] B. Tian, S. Hua, and J. Liu, "Cyclodextrin-based delivery systems for chemotherapeutic anticancer drugs: A review," *Carbohydrate Polymers*, vol. 232. Elsevier Ltd, Mar. 15, 2020. doi: 10.1016/j.carbpol.2019.115805.
- [25] P. F. Garrido *et al.*, "The Lord of the NanoRings: Cyclodextrins and the battle against SARS-CoV-2," *Int J Pharm*, vol. 588, Oct. 2020, doi: 10.1016/j.ijpharm.2020.119689.
- [26] J. Wu, X. Du, J. Ma, Y. Zhang, Q. Shi, and L. Luo, "derivatives in aqueous media with β -cyclodextrin-," pp. 3210–3217, 2014, doi: 10.1039/c3gc42400f.
- [27] M. Chatzidaki *et al.*, " β -Cyclodextrin as carrier of novel antioxidants: A structural and efficacy study," *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*, vol. 603, Oct. 2020, doi: 10.1016/j.colsurfa.2020.125262.
- [28] N. Cheng, Y. Chen, J. Yu, J. J. Li, and Y. Liu, "Enhanced DNA Binding and Photocleavage Abilities of β -Cyclodextrin Appended Ru(II) Complex through Supramolecular Strategy," *Bioconjug Chem*, vol. 29, no. 6, pp. 1829–1833, Jun. 2018, doi: 10.1021/acs.bioconjchem.8b00191.
- [29] N. Cheng, Y. Chen, J. Yu, J. J. Li, and Y. Liu, "Enhanced DNA Binding and Photocleavage Abilities of β -Cyclodextrin Appended Ru(II) Complex through Supramolecular Strategy," *Bioconjug Chem*, vol. 29, no. 6, pp. 1829–1833, 2018, doi: 10.1021/acs.bioconjchem.8b00191.
- [30] J. C. B. Rocha, E. F. Silva, M. F. Oliveira, F. B. Sousa, A. V. N. C. Teixeira, and M. S. Rocha, " β -Cyclodextrin polymer binding to DNA: Modulating the physicochemical parameters," *Phys Rev E*, vol. 95, no. 5–1, p. 052416, 2017, doi: 10.1103/PhysRevE.95.052416.
- [31] T. Moufawad *et al.*, "First Evidence of Cyclodextrin Inclusion Complexes in a Deep Eutectic Solvent," *ACS Sustain Chem Eng*, vol. 7, no. 6, pp. 6345–6351, Mar. 2019, doi: 10.1021/acssuschemeng.9b00044.
- [32] P. S. Alves, O. N. Mesquita, and M. S. Rocha, "Controlling Cooperativity in β -Cyclodextrin-DNA Binding Reactions," *Journal of Physical Chemistry Letters*, vol. 6, no. 18, pp. 3549–3554, 2015, doi: 10.1021/acs.jpcllett.5b01603.
- [33] M. Kesente *et al.*, "Encapsulation of olive leaves extracts in biodegradable PLA nanoparticles for use in cosmetic formulation," *Bioengineering*, vol. 4, no. 3, 2017, doi: 10.3390/bioengineering4030075.
- [34] M. Roussaki *et al.*, "Encapsulation of the natural antioxidant aureusidin in biodegradable PLA nanoparticles," *Polym Degrad Stab*, vol. 108, pp. 182–187, 2014, doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2014.08.004.
- [35] T. S. H. Leong, G. J. O. Martin, and M. Ashokkumar, "Ultrasonic encapsulation – A review," *Ultrasonics Sonochemistry*, vol. 35. Elsevier B.V., pp. 605–614, Mar. 01, 2017. doi: 10.1016/j.ultsonch.2016.03.017.

- [36] M. Kotronia, E. Kavetsou, S. Loupassaki, S. Kikionis, S. Vouyiouka, and A. Detsi, "Encapsulation of oregano (*Origanum onites* L.) essential oil in β -cyclodextrin (β -CD): Synthesis and characterization of the inclusion complexes," *Bioengineering*, vol. 4, no. 3, pp. 1–15, 2017, doi: 10.3390/bioengineering4030074.
- [37] S. Chakraborty, P. Ghosh, B. Basu, and A. Mandal, "Inclusion complex of β -cyclodextrin with tetrabutylammonium bromide: Synthesis, characterization and interaction with calf thymus DNA," *J Mol Liq*, vol. 293, Nov. 2019, doi: 10.1016/j.molliq.2019.111525.
- [38] A. R. N. Pontillo, E. Konstanteli, M. M. Bairaktari, and A. Detsi, "Encapsulation of the natural product tyrosol in carbohydrate nanosystems and study of their binding with ctDNA," *Polymers (Basel)*, vol. 13, no. 1, pp. 1–24, Jan. 2021, doi: 10.3390/polym13010087.
- [39] M. Sayed, G. K. Gubbala, and H. Pal, "Contrasting interactions of DNA-intercalating dye acridine orange with hydroxypropyl derivatives of β -cyclodextrin and γ -cyclodextrin hosts," *New Journal of Chemistry*, vol. 43, no. 2, pp. 724–736, 2019, doi: 10.1039/c8nj04067b.

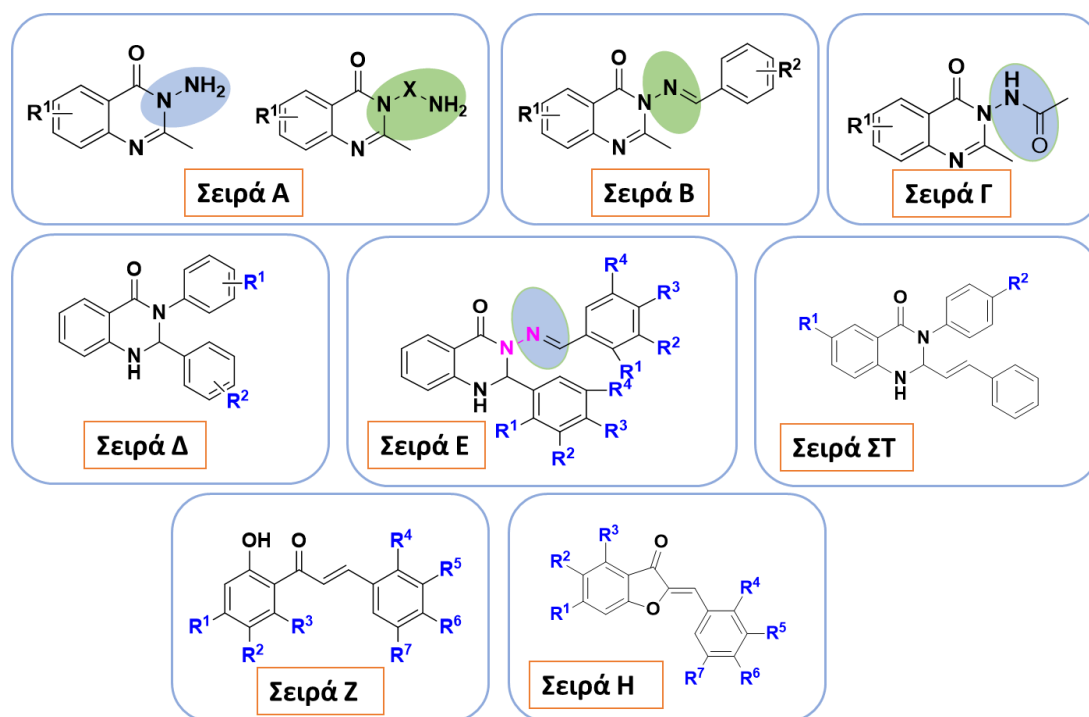
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6^ο
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

6.1 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή, τα φυσικά προϊόντα αποτέλεσαν πηγή έμπνευσης για τον σχεδιασμό και την σύνθεση νέων παραγώγων, παρέχοντας νέους δομικούς σκελετούς για την αξιοποίησή τους ως νέες φαρμακευτικές δομές. Οι νέες ενώσεις που συντέθηκαν είναι κυρίως ανάλογα κιναζολινονών και μελετήθηκαν με σκοπό την σχέση δομής – βιολογικής δράσης. Τα κιναζολινικά παράγωγα που εμφάνισαν την ισχυρότερη δράση επιλέχθηκαν ώστε να αξιοποιηθούν μέσω του εγκλεισμού τους σε βιοδιασπώμενους φορείς.

Πιο συγκεκριμένα, στην παρούσα διδακτορική διατριβή αναπτύχθηκε μια «χημική βιβλιοθήκη» αποτελούμενη από συνολικά 104 κιναζολινικά παράγωγα και παράγωγα ωρώνων. Από αυτά, 64 νέα παράγωγα ταυτοποιήθηκαν δομικά μέσω της φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού NMR (^1H και ^{13}C), φασματοσκοπίας υπερύθρου μετασχηματισμού Fourier (FT-IR) και της φασματομετρίας μάζας υψηλής ανάλυσης (HR-MS). Συγκεκριμένα, σχεδιάστηκαν και συντέθηκαν συνολικά 6 σειρές κιναζολινικών παραγώγων, Α, Β, Γ Δ,Ε, ΣΤ (Σχήμα 109) και μια σειρά ωρώνων.



Σχήμα 6.1: Συνολικά παράγωγα που συντέθηκαν

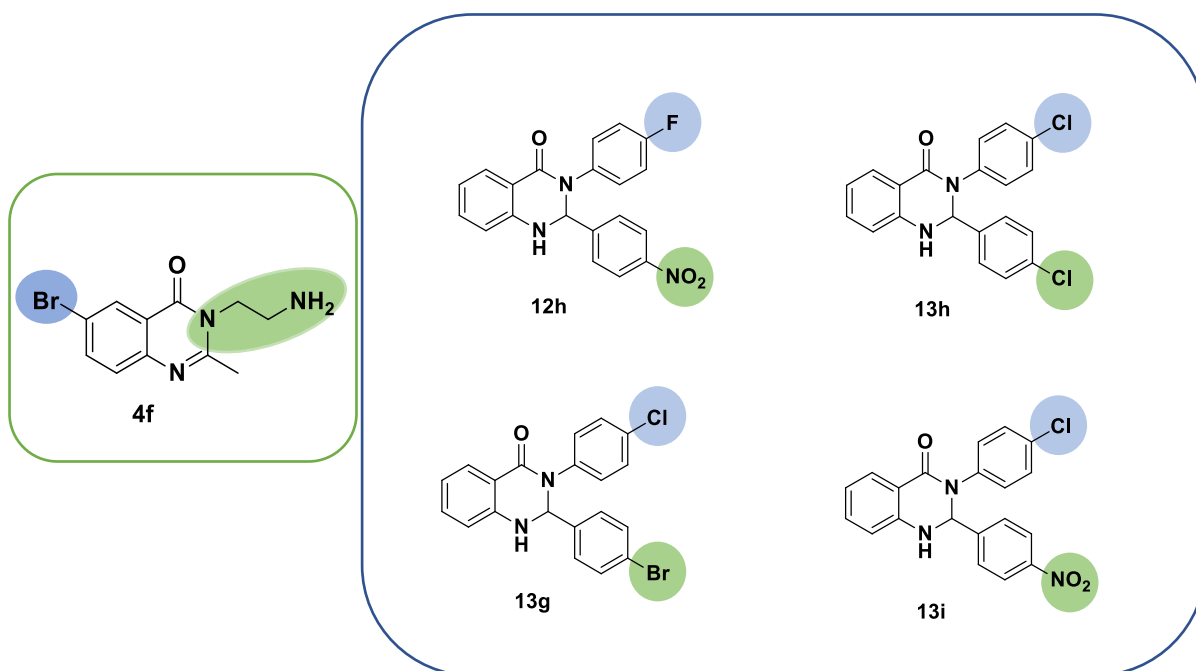
Σημειώνεται ότι για την σύνθεση των Σειρών Α (Μέθοδος Ι) χρησιμοποιήθηκε η χρήση μικροκυματικής ακτινοβολίας ενώ για τις Σειρές Δ, Ε, ΣΤ, χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης και καταλύτης φυσικά βαθέως ευτηκτικός διαλύτης NADES και υπέρηχη ακτινοβολία για την σύνθεση των σειρών αυτών, υπακούοντας στις αρχές της «πράσινης» χημείας, καθώς είναι μια πιο φιλική προς το περιβάλλον μεθοδολογία έναντι της συμβατικής μεθόδου.

Ακόμη έγινε αξιολόγηση διαφόρων NADES ως προς την χρήση τους σε αντιδράσεις πολλαπλών συστατικών. Για την σειρά Δ που συντέθηκε με την χρήση 20 διαφορετικών NADES την πιο αξιόλογη δράση ως καταλύτης και διαλύτης της αντίδρασης αυτής έδειξε το NADES5 με συστατικά χλωριούχου χολίνης και γαλακτικού οξέος σε αναλογία 1:1,5.

Επιπλέον, οι NADES μελετήθηκαν ως προς την αλληλεπίδρασή τους με το DNA ώστε να μελετηθούν τόσο ως φυσικοί διαλύτες όσο και αν μπορούν ταυτόχρονα να έχουν κάποια επιπλέον δράση. Πιο συγκεκριμένα από τις σειρές των NADES που μελετήθηκαν η σειρά με βάση την χλωριούχο χολίνη έδειξαν ισχυρότερη δράση έναντι των σειρών της βεταΐνης και των αμινοξέων.

Ακόμη το **NADES5** επιλέχθηκε να δοκιμαστεί και ως διαλύτης κατά την διεργασία του δείγματος πριν την φωτοβόληση ώστε να βρεθεί εάν παρουσιάζει ικανότητα να φωτοδιασπά το DNA. Πράγματι φάνηκε πως παρουσιάζει ισχυρή δράση κατακερματίζοντας το DNA και κρίνεται σκόπιμο να γίνει σχεδιασμός για αναλυτικότερη μελέτη.

Για τα παράγωγα που συντέθηκαν ακολούθησε η αξιολόγηση τους ως προς την αντιοξειδωτική δράση, την ικανότητά τους να αλληλεπιδρούν με το DNA καθώς και την ικανότητά τους να φωτοδιασπούν το DNA. Βρέθηκαν έτσι παράγωγα που εμφανίζουν αξιόλογη δράση όπως το παράγωγο **4f** της Σειράς Α όσο και τα παράγωγα της Σειράς Δ **12h, 13g, 13h, 13i** (Σχήμα 110).



Σχήμα 6.2: Ενδεικτικά νέα κιναζολινικά παράγωγα με αξιόλογη δράση.

Στην παρούσα διατριβή πραγματοποιήθηκε η μελέτη, η ανάπτυξη και ο χαρακτηρισμός συστημάτων εγκλεισμού χρησιμοποιώντας βιοσυμβατούς φορείς όπως β-CDs και PLA. Οι ενώσεις που εγκλείστηκαν σε νανοφορείς επιλέχθηκαν είτε ως προς τα αξιόλογα βιολογικά αποτελέσματα ώστε να γίνει περαιτέρω μελέτη, είτε επιλέχθηκαν ώστε να βελτιωθεί η διαλυτότητά τους ώστε να μπορέσει να μελετηθεί ευκολότερα το βιολογικό

τους προφιλ. Ταυτόχρονα έγινε μια προσπάθεια να σχεδιαστεί μια μέθοδος που εισάγει τους φυσικούς βαθώς ευτηκτικούς διαλύτες στη σύνθεση νανοσωματιδίων PLA. Πράγματι επιτεύχθηκε με επιτυχία ενώ ακολούθησε και αξιολόγηση των συντιθέμενων νανοσωματιδίων και ως προς την ικανότητά τους να φωτοδιασπών το DNA.

6.2 ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Από τα αποτελέσματα της παρούσας διδακτορικής διατριβής προέκυψαν σημαντικά και αξιόλογα αποτελέσματα τα οποία μπορούν να αποτελέσουν τη βάση για περαιτέρω έρευνα και μελέτη στους τομείς της Οργανικής και Συνθετικής Χημείας, Πράσινη Χημείας, Φαρμακευτικής Χημείας και Νανοτεχνολογίας.

Όσον αφορά την Συνθετική και φαρμακευτική χημεία οι δομικές τροποποιήσεις που πραγματοποιήθηκαν προκειμένου να μελετηθεί η σχέση δομής-οδράσης οδήγησαν στον προσδιορισμό νέων μορίων οδηγών με δυνατότητα για την περαιτέρω ανάπτυξή τους και μελέτη τους.

Ταυτόχρονα, η ανάπτυξη μιας νέας μεθοδολογίας που αφορά την σύνθεση κινολογικών αναλόγων με την χρήση NADES δίνει πλεονεκτήματα στην μέθοδο σύνθεσης, υπακούοντας στις αρχές της πράσινης χημείας. Έτσι, δυνατότητα ανάπτυξης μιας χημικής «βιβλιοθήκης» με μία φιλικότερη προς το περιβάλλον μεθοδολογία. Επιπλέον, από την μελέτη των NaDEs ως προς την αλληλεπίδρασή τους με το DNA πάρθηκαν αξιόλογα αποτελέσματα που οδηγούν στο συμπέρασμα ότι μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως διαλύτες σε εφαρμογές με το DNA αντικαθιστώντας οργανικούς διαλύτες.

Τέλος αναπτύχθηκε μια μεθοδολογία επιτυχής σύνθεσης νανοσωματιδίων με χρήση ως διαλύτη επιλεγμένα NaDEs όπου δίνει τη δυνατότητα ανάπτυξης νέων νανοσυστημάτων για τον εγκλεισμό μικρών οργανικών φαρμακευτικών μορίων. Επίσης όσον αφορά τον εγκλεισμό επιλεγμένων κινολογικών κρίνεται απαραίτητη η περαιτέρω αξιολόγηση των νανοσυστημάτων που συντέθηκαν.