



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

**ΔΙΔΡΥΜΑΤΙΚΟ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΟΡΓΑΝΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΣΤΗ ΧΗΜΙΚΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ»**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Σύνθεση, φασματοσκοπική και υπολογιστική μελέτη
παραγώγων θειοσεμικαρβαζόνης και θεικαρβοϋδραζόνης**

**ΝΙΚΗΤΑΣ ΓΕΩΡΓΙΟΥ
ΧΗΜΙΚΟΣ**

Επιβλέπων: Θωμάς Μαυρομουστάκος, Καθηγητής

**ΑΘΗΝΑ
ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2022**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Σύνθεση, φασματοσκοπική και υπολογιστική μελέτη παραγώγων
θειοσεμικαρβαζόνης και θειοκαρβοϋδραζόνης

ΝΙΚΗΤΑΣ ΓΕΩΡΓΙΟΥ

A.M.: 201504

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:

Θωμάς Μαυρομούστακος, Καθηγητής ΕΚΠΑ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ: Θωμάς Μαυρομούστακος, Καθηγητής

Σταματία Βασιλείου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια

Δήμητρα Τζέλη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ : 02/02/2022

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ταυτοποίηση και η διαμορφωτική ανάλυση των θειοσεμικαρβαζονών και των θειοκαρβοϋδραζονών πραγματοποιήθηκε μέσω φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR) και κβαντομηχανικών υπολογισμών μέσω θεωρίας συναρτησιοειδούς της πυκνότητας (ή συναρτησιακής πυκνότητας) (DFT). Συγκεκριμένα, ελήφθησαν ομοπυρηνικά (2D COSY, και 2D NOESY) και ετεροπυρηνικά (2D HSQC και 2D HMBC) φάσματα NMR. Μέσω αυτών ταυτοποιήθηκαν οι τιμές συντονισμού των υδρογόνων και ανθράκων που τα απαρτίζουν. Μετά την ταυτοποίηση των ενώσεων, επικεντρώθηκε η ερευνητική εργασία στη θειοσεμικαρβαζόνη ΚΚ115 και στη θειοκαρβοϋδραζόνη ΚΚ118. Έτσι υπολογίσθηκαν διάφορες διαμορφώσεις μέσω της θεωρίας DFT. Τα δύο μόρια παρουσίαζαν τις πιο σταθερες ενεργειακά διαμορφώσεις όταν οι δύο διπλοί τους δεσμοί υιοθετούσαν διαμόρφωση *E*. Οι διαμορφώσεις αυτές ήταν συμβατές με τους χωρικούς συσχετισμούς που παρατηρήθηκαν στο φάσμα 2D-NOESY. Επιπλέον, λόγω των διαφόρων ισομερών που προέκυψαν, έγινε ο υπολογισμός της ενέργειας των μεταβατικών καταστάσεων από το ένα ισομερές στο άλλο. Τέλος, έγιναν πειράματα μοριακής πρόσδεσης για να ανιχνευθούν πιθανοί στόχοι για τις θειοσεμικαρβαζόνες και τις θειοκαρβοϋδραζόνες. Τα *in silico* πειράματα μοριακής πρόσδεσης έδειξαν ευνοϊκές τιμές ενέργειας πρόσδεσης και για τα τέσσερα ένζυμα που μελετήθηκαν. Οι ισχυρότερες προσδέσεις παρατηρήθηκαν στο ένζυμο της βουτυρυλοχολινεστεράσης. Από τις συγκρίσεις που έγιναν παρατηρήθηκε ότι η προσθήκη υποκαταστατών στους αρωματικούς δακτυλίους αυξάνει την ισχύ πρόσδεσης τους. Τελευταίος στόχος της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν ο σχεδιασμός δύο ενώσεων που φέρουν ηλεκτραρνητικό υποκαταστάτη και στους δύο αρωματικούς δακτύλιους. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η προσθήκη αυτή δεν είναι συνεργιστική και δεν αποφέρει βελτιωμένη μοριακή πρόσδεση.

ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ: Μοριακή Μοντελοποίηση, Υπολογιστικός σχεδιασμός φαρμάκων

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: Θειοσεμικαρβαζόνες, θειοκαρβοϋδραζόνες, NMR φασματοσκοπία, κβαντική χημεία, μοριακή πρόσδεση, DFT

ABSTRACT

The structure assignment and conformational analysis of thiosemicarbazone and thiocarbohydrazone derivatives were performed through Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy and quantum mechanics (QM) calculations using Functional Density Theory (DFT). Specifically, homonuclear (2D-COSY, 2D-NOESY) and heteronuclear (2D-HSQC, 2D-HMBC) spectra were obtained. Through them, the resonant values of the hydrogens and their constituent carbons were identified. After the identification of the compounds, the research focused on thiosemicarbazone KKI15 and thiocarbohydrazone KKI18. Thus, various configurations of the two compounds were calculated using DFT. The two molecules showed the most energy-favorable configurations when their two double bonds adopted *E* configuration. These configurations were compatible with the spatial correlations observed in the 2D-NOESY spectrum. In addition, due to the various isomers that occurred, the energy of the transition states from one isomer to another was calculated. Finally, molecular binding experiments were performed to detect potential targets for thiosemicarbazones and thiocarbohydrazones. *In silico* molecular binding experiments showed favorable binding energy values for all four enzymes studied. The strongest binding energy was observed in the enzyme butyrylcholinesterase. From the comparisons made, it was observed that the addition of substituents to the aromatic rings increases their binding energy. The final goal of this project was to design two compounds having an electronegative substituent on both aromatic rings. The results showed that this addition is not synergistic and does not improve molecular binding.

SUBJECT AREA: Molecular Modelling, Computational Drug Design

KEYWORDS: thiosemicarbazones, thiocarbohydrazones, NMR spectroscopy, quantum mechanics, molecular binding, DFT

Αφιερωμένο στην
οικογένειά μου
και στους φίλους μου
για τη στήριξή τους
όλα τα χρόνια
της εκπαίδευσής μου

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κ. Θωμά Μαυρομούστακο για την ανάθεση του θέματος, αλλά και για τη συνεχή βοήθεια και την επιστημονική καθοδήγηση κατά τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας διπλωματικής εργασίας, καθώς και για τις ευκαιρίες που μου έδινε κατά τη διάρκεια της διπλωματικής μου, σε μια αρκετά δύσκολη περίοδο για όλους, λόγω της έξαρσης της πανδημίας Covid-19. Επιπλέον, θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και για την ευκαιρία να εργαστώ υπό την επίβλεψή του.

Στη συνέχεια, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια του Τμήματος Χημείας, κ. Δήμητρα Τζέλη, για την ευκαιρία που μου έδωσε να πραγματοποιήσω ένα μέρος της ερευνητικής μου εργασίας υπό την επίβλεψή της, αλλά και για την πολύτιμη καθοδήγησή της καθ' όλη τη διάρκεια της παραμονής μου εκεί.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, κ. Σταματία Βασιλείου που αποτελεί μέλος της τριμελούς επιτροπής της διπλωματικής μου για την πολύτιμη βοήθεια ως προς το τμήμα της σύνθεσης, αλλά και για τη βοήθεια πραγματοποίησης ορισμένων πειραμάτων NMR στο εργαστήριό του τμήματος Χημείας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα την Υποψήφια Διδάκτορα του εργαστηρίου, Ελένη Χοντζοπούλου, για τη συνεχή επιστημονική βοήθειά της, τη στήριξη και κυρίως για την άφογη συνεννόηση και συνεργασία στο εργαστήριο.

Επιπροσθέτως, θα ήθελα να ευχαριστήσω τις δύο Μεταπτυχιακές Φοιτήτριες στο εργαστήριο Χημείας της κ. Βασιλείου για τη βοήθειά τους και για τη σύνθεση των υπό μελέτη ενώσεων, Κατερίνα Κατσόγιαννου και Δανάη Κάρτα.

Για το ευχάριστο κλίμα και την καλή συνεργασία θα ήθελα να ευχαριστήσω και τα υπόλοιπα μέλη του εργαστηρίου μας: Καλλιόπη Μόσχοβου, Αγγελική Συριοπούλου, Νικολέτα Ζουπάνου, Γιούλη Μαυροειδή, Αχιλλέα Ζαφείρη, Βασιλική Βακάλη, Γιώργο Σκουφά και Βασιλική Πάλλη.

Για το ευχάριστο κλίμα που δημιουργήθηκε εκτός εργαστηρίου, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους συμφοιτητές και συμφοιτήτριες του τομέα Οργανικής Χημείας που γνώρισα κατά τη διάρκεια των μαθημάτων του μεταπτυχιακού προγράμματος.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους φίλους μου που αφειδώς πάντα με στηρίζουν και την οικογένειά μου για τη στήριξή της και την ενθάρρυνσή της όσον αφορά την πραγματοποίηση αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	xxii
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	2
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	2
1.1 ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΑ ΟΞΕΑ.....	2
1.2 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ.....	3
1.2.1 ΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑ ΤΗΣ ΦΥΜΑΤΙΩΣΗΣ	4
1.2.2 ΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑ ΤΗΣ ΕΛΟΝΟΣΙΑΣ	4
1.2.3 ΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΩΝ ΠΑΘΗΣΕΩΝ	6
1.2.4 ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ	7
1.2.5 ΑΝΤΙΔΙΑΒΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	8
1.3 ΧΑΛΚΟΝΕΣ	10
1.4 ΘΕΙΟΣΕΜΙΚΑΡΒΑΖΟΝΕΣ	12
1.4.1 ΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑ ΤΗΣ ΑΣΘΕΝΕΙΑΣ CHAGAS	12
1.4.2 ΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ	14
1.5 ΘΕΙΟΚΑΡΒΟΪΔΡΑΖΟΝΕΣ	14
1.6 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΦΑΡΜΑΚΩΝ	16
1.7 ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΦΑΡΜΑΚΩΝ.....	18
1.8 ΜΟΡΙΑΚΗ ΠΡΟΣΔΕΣΗ.....	19
1.9 ΛΟΓΙΣΜΙΚΟ ΑΥΤΟΔΟCK	21
1.10 Συναρτησιακή Θεωρία Πυκνότητας (DFT-Density Functional Theory).....	23
1.11 ΛΟΓΙΣΜΙΚΟ GAUSSIAN	24
1.12 ΠΡΟΒΛΕΨΗ ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΤΩΝ ΜΟΡΙΩΝ	28
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	35
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 : ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ	36
2.1 Σκοπός ερευνητικής εργασίας.....	36

2.2	Υλικά και Μέθοδοι	37
2.2.1	Φασματοσκοπική μελέτη των ενώσεων	37
2.2.2	Διαμορφωτική Ανάλυση	37
2.2.3	Ενέργεια ενεργοποίησης και ενδιάμεσες δομές	38
2.2.4	Υπολογισμός φορτίων.....	38
2.2.5	Μοριακή Πρόσδεση.....	38
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 : Παρουσίαση Αποτελεσμάτων.....		39
3.1	Παρουσίαση στρατηγικών ταυτοποίησης.....	39
3.2	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ	91
3.3	Αποτελέσματα διαμορφωτικής ανάλυσης	94
3.4	Αποτελέσματα ενέργειας μεταβατικών δομών.....	105
3.5	ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΦΟΡΤΙΩΝ	109
3.6	ΜΟΡΙΑΚΗ ΠΡΟΣΔΕΣΗ.....	110
ΓΕΝΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ		142
ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ		146
ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ.....		147
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1 : ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΑ ΦΑΣΜΑΤΑ ΤΗΣ ΕΝΩΣΗΣ ΚΚΙ15.....		149
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2 : ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΑ ΦΑΣΜΑΤΑ ΤΗΣ ΕΝΩΣΗΣ ΚΚΙ19.....		154
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 3 : ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΑ ΦΑΣΜΑΤΑ ΤΗΣ ΕΝΩΣΗΣ ΚΚΙ19.....		159
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 4 : ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΑ ΦΑΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΚΙ27.....		163
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 5 : ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΑ ΦΑΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΚΙ22.....		166
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 6 : ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΑ ΦΑΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΚΙ16.....		170
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 7 : ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΑ ΦΑΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΚΙ21.....		173
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 8 : ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΑ ΦΑΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΚΙ18.....		177
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 9 : ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΑ ΦΑΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΚΙ23.....		180
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 10 : ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΑ ΦΑΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΚΙ25.....		185

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 11 :ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΩΝ ΦΑΣΜΑΤΩΝ ΓΙΑ ΤΙΣ ΠΙΟ ΣΤΑΘΕΡΕΣ ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΕΙΣ ΤΩΝ ΚΚΙ15 ΚΑΙ ΚΚΙ18.....	188
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 12 : ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΥ ΦΟΡΤΙΩΝ	191
ΑΝΑΦΟΡΕΣ	194

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1: Δομή κινναμωμικού οξέος. ¹	2
Σχήμα 2: Δομή <i>trans</i> (I) και <i>cis</i> (II) κινναμωμικών οξέων. ¹	3
Σχήμα 3: Παράγωγα του κινναμωμικού οξέος με θεραπευτική δράση. ²	3
Σχήμα 4: Δομή κινναμικού αιθυλίου (1), κινναμικού νατρίου (2) και βενζυλικού κινναμικού (3). ⁶	4
Σχήμα 5: Δομές οσλοπόνης, 3-Ο βενζοϋλοσλοπόνης, και 3-Ο-κινναμουλοσλοπόνης. ⁶ ...	6
Σχήμα 6: Δομές ενώσεων με δράση κατά των καρδιαγγειακών παθήσεων. ⁶	7
Σχήμα 7: Δομή του 4-υδροξυκινναμωμικού παραγώγου. ¹	8
Σχήμα 8: Δομές κινναμωμικών οξέων με αντιδιαβητική δράση. ¹	9
Σχήμα 9: Δομές μαλτάση και σακχαρόζης, αντίστοιχα. ¹	10
Σχήμα 10: Δομή χαλκόνης σε <i>trans</i> και <i>cis</i> διαμόρφωση αντίστοιχα. ^{10,12}	11
Σχήμα 11: Δομή βουτεΐνης.....	11
Σχήμα 12: Δομές δύο παραγώγων της χαλκόνης που έχουν εγκριθεί ως φάρμακα. ¹² ..	12
Σχήμα 13: Δομή θειοσεμικαρβαζόνης από χαλκόνη. ¹⁸	12
Σχήμα 14: Θειοσεμικαρβαζόνες με δράση κατά της ασθένειας Chagas . ¹⁸	14
Σχήμα 15: Θειοσεμικαρβαζόνη με δράση κατά του καρκίνου του ήπατος. ¹⁰	14
Σχήμα 16: Ταυτομερή θειοκαρβουδραζόνης (a) θειοκέτο μορφή (b) <i>sin</i> -θειοενόλη και (c) <i>trans</i> -θειοενόλη.....	15
Σχήμα 17: Θειοσεμικαρβαυδραζόνη με βιολογική δράση. ²²	16
Σχήμα 18: Ένα τυπικό διάγραμμα εργασίας για μοριακή πρόσδεση. ²⁹	21
Σχήμα 19: Γενικές εφαρμογές του Gaussian.	26
Σχήμα 20: Απεικόνιση Στόχων Μεταπτυχιακής Εργασίας	36
Σχήμα 21: Δομή του μορίου KKI15 με αριθμημένους τους άνθρακες του.....	39
Σχήμα 22: Δομή του μορίου KKI24 με αριθμημένους τους άνθρακες του.....	49
Σχήμα 23: Δομή του μορίου KKI19 με αριθμημένους τους άνθρακες του.....	53
Σχήμα 24: Δομή του μορίου KKI27 με αριθμημένους τους άνθρακες του.....	57

Σχήμα 25: Δομή του μορίου KKI22 με αριθμημένους τους άνθρακες του	61
Σχήμα 26: Δομή του μορίου KKI16 με αριθμημένους τους άνθρακες του	65
Σχήμα 27: Δομή του μορίου KKI21 με αριθμημένους τους άνθρακες του	69
Σχήμα 28: Δομή του μορίου KKI18 με αριθμημένους τους άνθρακες του	73
Σχήμα 29: Δομή του μορίου KKI23 με αριθμημένους τους άνθρακες του	83
Σχήμα 30: Δομή του μορίου KKI25 με αριθμημένους τους άνθρακες του	87
Σχήμα 31: Ενώσεις που μελετήθηκαν με φασματοσκοπία NMR	91
Σχήμα 32: Δομές συντονισμού του χλωροβενζολίου	92
Σχήμα 33: Δομές συντονισμού του φθοροβενζολίου	92
Σχήμα 34: Δομές συντονισμού της φαινόλης	92
Σχήμα 35: Δομές συντονισμού της ανισόλης	93
Σχήμα 36: Κύρια διαμόρφωση της KKI15 όπως προέκυψε από DFT υπολογισμούς. .	101
Σχήμα 37: Διαμόρφωση της KKI18 όπως προέκυψε με βάση DFT υπολογισμούς.	103

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Δομή του μύκητα <i>Pyronema</i> sp. ¹	8
Εικόνα 2: Φυτό <i>Butea Frontosa</i>	11
Εικόνα 3: Απεικόνιση του μοντέλου κλειδιού-κλειδαριάς.....	20
Εικόνα 4: Απεικόνιση μοντέλου επαγωγίμης προσαρμογής (induced fit).	20
Εικόνα 5: Γραφικό περιβάλλον του Autodock.	23
Εικόνα 6: Γραφικό περιβάλλον του προγράμματος Gaussian.	27
Εικόνα 7: Σελίδα υποβολής της ένωσης στο SwissADME.....	30
Εικόνα 8: Οι τιμές των υπολογιζόμενων παραμέτρων για το βενζόλιο, ομαδοποιημένες σε κατηγορίες	31
Εικόνα 9: Το βραστό αυγό	32
Εικόνα 10: Μεγεθυμένο φάσμα 2D-COSY, όπου εμφανίζονται οι συσχετισμοί H13-H14, H15-H14 και H10-H11	40
Εικόνα 11: Μεγεθυμένο φάσμα 2D-NOESY, όπου εμφανίζονται οι συσχετισμοί H13-H14, H15-H14, H7'-H9, H6-H14, H1'-H3, H7'-H13 και H10-H7'	41
Εικόνα 12: Μεγεθυμένο φάσμα 2D-COSY, όπου εμφανίζονται οι συσχετισμοί H13-H14, H15-H14 και H10-H11	42
Εικόνα 13: Μεγεθυμένο φάσμα 2D-NOESY, όπου παρατηρούνται οι συσχετισμοί H13-H14, H15-H14 και H10-H11.....	43
Εικόνα 14: Μεγεθυμένο φάσμα 2D-HMBC, όπου εμφανίζονται οι συσχετισμοί H7-C5, H6-C5, H9-C7, H15-C14, H13-C12 και H6-H8.....	44
Εικόνα 15: Ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης για την ένωση KKI15.....	45
Εικόνα 16: Ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης για την ένωση KKI24.....	50
Εικόνα 17: Ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης για την ένωση KKI19.....	54
Εικόνα 18: Ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης για την ένωση KKI27.....	58
Εικόνα 19: Ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης για την ένωση KKI22.....	62

Εικόνα 20: Ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης για την ένωση ΚΚΙ16.....	66
Εικόνα 21: Ολικό διάγραμμα ταυτοποίησης για την ένωση ΚΚΙ21	70
Εικόνα 22: Μεγεθυμένο φάσμα 2D-COSY, όπου εμφανίζονται οι συσχετισμοί H15-H16, H15-H14 και H7-H8.	74
Εικόνα 23: Μεγεθυμένο φάσμα 2D-NOESY, όπου παρατηρούνται οι συσχετισμοί H10-H8, H8-H8', H7-H7' και H1-H1'	75
Εικόνα 24: Μεγεθυμένο φάσμα 2D-COSY, όπου εμφανίζονται οι συσχετισμοί H15-H16, H15-H14 και H10-H11.	76
Εικόνα 25: Μεγεθυμένο φάσμα 2D-NOESY, όπου εμφανίζονται οι συσχετισμοί H1-H4 και H1-H2.	77
Εικόνα 26: Μεγεθυμένο φάσμα 2D-HMBC, όπου εμφανίζονται οι συσχετισμοί H1-C3, H6-C7, H8-C9, H14-C13, H11-C12 και H10-H8.	79
Εικόνα 27: Ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης για την ένωση ΚΚΙ18.....	80
Εικόνα 28: Ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης για την ένωση ΚΚΙ23.....	84
Εικόνα 29: Ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης για την ένωση ΚΚΙ25.....	88
Εικόνα 30: Οι διπλοί δεσμοί των δύο ενώσεων όπως προέκυψαν μέσω απεικόνισης με το GaussView.	95
Εικόνα 31: Αλληλεπιδράσεις του παραγώγου ΚΚΙ21 με την ακετυλοχολινεστεράση ...	136
Εικόνα 32: Αλληλεπιδράσεις του παραγώγου ΚΚΙ27 με την αδενοσίνη Α1.	137
Εικόνα 33: Αλληλεπιδράσεις του παραγώγου ΚΚΙ24 με την ακετυλοχολινεστεράση ...	138
Εικόνα 34:Αλληλεπιδράσεις του παραγώγου ΚΚΙ27 με την ακετυλοχολινεστεράση	138
Εικόνα 35:Αλληλεπιδράσεις του παραγώγου ΚΚΙ16 με την ακετυλοχολινεστεράση	139
Εικόνα 36:Αλληλεπιδράσεις του παραγώγου ΚΚΙ21 με την βουτυρυλοχολινεστεράση.	140
Εικόνα Π1.1: Φάσμα 1H του μορίου ΚΚΙ15 σε DMSO στην περιοχή 6,2-11,2 ppm.....	149
Εικόνα Π1.2: Φάσμα 2D-COSY του μορίου ΚΚΙ15 σε DMSO στην περιοχή 5-11,5 ppm.	150
Εικόνα Π1.3: Φάσμα 2D-COSY του μορίου ΚΚΙ15 σε DMSO στην περιοχή 5-11,5 ppm.	151

Εικόνα Π1.4: Φάσμα ¹³ C του μορίου ΚΚΙ15 σε DMSO στην περιοχή 0-190 ppm.....	152
Εικόνα Π1.5: Φάσμα 2D-HSQC του μορίου ΚΚΙ15 σε DMSO στην περιοχή 2-9 ppm .	152
Εικόνα Π1.6: Φάσμα 2D-HSQC του μορίου ΚΚΙ15 σε DMSO στην περιοχή 2-9 ppm .	153
Εικόνα Π2.1: Φάσμα ¹ H του μορίου ΚΚΙ24 σε DMSO στην περιοχή 5,5-11,5 ppm.....	154
Εικόνα Π2.2: Φάσμα 2D-COSY του μορίου ΚΚΙ24 σε DMSO στην περιοχή 5,5-8,5 ppm.	155
Εικόνα Π2.3: Φάσμα 2D-NOESY του μορίου ΚΚΙ24 σε DMSO στην περιοχή 4-11,5 ppm.	155
Εικόνα Π2.4: Φάσμα ¹³ C του μορίου ΚΚΙ24 σε DMSO στην περιοχή 10-200ppm.....	156
Εικόνα Π2.5: Φάσμα 2D-HSQC του μορίου ΚΚΙ24 σε DMSO στην περιοχή 4,5-8,5 ppm.	157
Εικόνα Π2.6: Φάσμα 2D-HMBC του μορίου ΚΚΙ24 σε DMSO στην περιοχή 4,5-11,5 ppm.	158
Εικόνα Π3.1: Φάσμα ¹ H του μορίου ΚΚΙ19 σε DMSO στην περιοχή 6-11,5 ppm.....	159
Εικόνα Π3.2: Φάσμα 2D-COSY του μορίου ΚΚΙ19 σε DMSO στην περιοχή 5,5-11,5 ppm.	160
Εικόνα Π3.3: Φάσμα 2D-NOESY του μορίου ΚΚΙ19 σε DMSO στην περιοχή 2,5-11,5 ppm.	160
Εικόνα Π3.4: Φάσμα ¹³ C του μορίου ΚΚΙ19 σε DMSO στην περιοχή 0-200 ppm.....	161
Εικόνα Π3.5: Φάσμα 2D-HSQC του μορίου ΚΚΙ19 σε DMSO στην περιοχή 3-9 ppm.	162
Εικόνα Π3.6: Φάσμα 2D-HMBC του μορίου ΚΚΙ19 σε DMSO στην περιοχή 4-9 ppm.	162
Εικόνα Π4.1: Φάσμα ¹ H του μορίου ΚΚΙ27 σε DMSO στην περιοχή 6-11,5 ppm.....	163
Εικόνα Π4.2: Φάσμα 2D-COSY του μορίου ΚΚΙ27 σε DMSO στην περιοχή 4-11,5 ppm.	164
Εικόνα Π4.3: Φάσμα 2D-NOESY του μορίου ΚΚΙ27 σε DMSO στην περιοχή 5-11,5 ppm.	164
Εικόνα Π4.4: Φάσμα ¹³ C του μορίου ΚΚΙ27 σε DMSO στην περιοχή 110-180 ppm...	165
Εικόνα Π4.5: Φάσμα 2D-HSQC του μορίου ΚΚΙ27 σε DMSO στην περιοχή 4,5-9 ppm.	165

Εικόνα Π4.6: Φάσμα 2D-HMBC του μορίου ΚΚΙ27 σε DMSO στην περιοχή 4-11 ppm.	166
Εικόνα Π5.1: Φάσμα 1H του μορίου ΚΚΙ22 σε DMSO στην περιοχή 6-11,2 ppm.....	166
Εικόνα Π5.2: Φάσμα 2D-COSY του μορίου ΚΚΙ22 σε DMSO στην περιοχή 5-11,5 ppm.	167
Εικόνα Π5.3: Φάσμα 2D-NOESY του μορίου ΚΚΙ22 σε DMSO στην περιοχή 0-12 ppm.	167
Εικόνα Π5.4: Φάσμα 13C του μορίου ΚΚΙ22 σε DMSO στην περιοχή 95-190 ppm.....	168
Εικόνα Π5.5: Φάσμα 2D-HSQC του μορίου ΚΚΙ22 σε DMSO στην περιοχή 0-11 ppm.	168
Εικόνα Π5.6: Φάσμα 2D-HMBC του μορίου ΚΚΙ22 σε DMSO στην περιοχή 0-12 ppm	169
Εικόνα Π6.1: Φάσμα 1H του μορίου ΚΚΙ16 σε DMSO στην περιοχή 10-200 ppm.....	170
Εικόνα Π6.2: Φάσμα 2D-COSY του μορίου ΚΚΙ16 σε DMSO στην περιοχή 0,5-9 ppm.	171
Εικόνα Π6.3: Φάσμα 2D-NOESY του μορίου ΚΚΙ16 σε DMSO στην περιοχή 0,5-9,5 ppm.	171
Εικόνα Π6.4: Φάσμα 13C του μορίου ΚΚΙ16 σε DMSO στην περιοχή 10-190 ppm.....	172
Εικόνα Π6.5: Φάσμα 2D-HSQC του μορίου ΚΚΙ16 σε DMSO στην περιοχή 0-8,5 ppm	172
Εικόνα Π6.6: Φάσμα 2D-HMBC του μορίου ΚΚΙ16 σε DMSO στην περιοχή 1,5-12 ppm	173
Εικόνα Π7.1: Φάσμα 1H του μορίου ΚΚΙ21 σε DMSO στην περιοχή 1-11,5 ppm.....	173
Εικόνα Π7.2: Φάσμα 2D-COSY του μορίου ΚΚΙ21 σε DMSO στην περιοχή 5-11 ppm.	174
Εικόνα Π7.3: Φάσμα 2D-NOESY του μορίου ΚΚΙ21 σε DMSO στην περιοχή 4-11,5 ppm.	174
Εικόνα Π7.4: Φάσμα 13C του μορίου ΚΚΙ21 σε DMSO στην περιοχή 0-190 ppm.....	175
Εικόνα Π7.5: Φάσμα 2D-HSQC του μορίου ΚΚΙ21 σε DMSO στην περιοχή 3,5-8,5 ppm	175

Εικόνα Π7.6: Φάσμα 2D-HMBC του μορίου ΚΚΙ21 σε DMSO στην περιοχή 5-11 ppm	176
Εικόνα Π8.1: Φάσμα 1H του μορίου ΚΚΙ18 σε DMSO στην περιοχή 0-13 ppm.....	177
Εικόνα Π8.2: Φάσμα 13C του μορίου ΚΚΙ18 σε DMSO στην περιοχή 10-190 ppm.....	178
Εικόνα Π8.3: Φάσμα 2D-HSQC του μορίου ΚΚΙ18 σε DMSO στην περιοχή 3-9 ppm .	179
Εικόνα Π9.1: Φάσμα 1H του μορίου ΚΚΙ23 σε DMSO στην περιοχή 0-13 ppm.....	180
Εικόνα Π9.2: Φάσμα 2D-COSY του μορίου ΚΚΙ23 σε DMSO στην περιοχή 5-10 ppm.	181
Εικόνα Π9.3: Φάσμα 2D-NOESY του μορίου ΚΚΙ23 σε DMSO στην περιοχή 5,5-11,5 ppm.	182
Εικόνα Π9.4: Φάσμα 13C του μορίου ΚΚΙ23 σε DMSO στην περιοχή 30-190 ppm.....	183
Εικόνα Π9.5: Φάσμα 2D-HSQC του μορίου ΚΚΙ23 σε DMSO στην περιοχή 4-10 ppm.	184
Εικόνα Π9.6: Φάσμα 2D-HMBC του μορίου ΚΚΙ23 σε DMSO στην περιοχή 6-11 ppm.	185
Εικόνα Π10.1: Φάσμα 1H του μορίου ΚΚΙ25 σε DMSO στην περιοχή 0-13 ppm.....	185
Εικόνα Π10.2: Φάσμα 2D-COSY του μορίου ΚΚΙ25 σε DMSO στην περιοχή 2,5-10 ppm.	186
Εικόνα Π10.3: Φάσμα 2D-NOESY του μορίου ΚΚΙ25 σε DMSO στην περιοχή 2,5-11,5 ppm.	186
Εικόνα Π10.4: Φάσμα 13C του μορίου ΚΚΙ25 σε DMSO στην περιοχή 10-190 ppm...	187
Εικόνα Π10.5: Φάσμα 2D-HSQC του μορίου ΚΚΙ25 σε DMSO στην περιοχή 3-9 ppm	187
Εικόνα Π10.6: Φάσμα 2D-HMBC του μορίου ΚΚΙ25 σε DMSO στην περιοχή 1,5-12 ppm	188

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: ^1H και ^{13}C χημικές μετατοπίσεις της ένωσης ΚΚΙ15 όπως προέκυψαν μέσω συνδυασμού 1D and 2D NMR φασμάτων.	47
Πίνακας 2: ^1H και ^{13}C χημικές μετατοπίσεις της ένωσης ΚΚΙ24 όπως προέκυψαν μέσω συνδυασμού 1D and 2D NMR φασμάτων.	51
Πίνακας 3: ^1H και ^{13}C χημικές μετατοπίσεις της ένωσης ΚΚΙ19 όπως προέκυψαν μέσω συνδυασμού 1D and 2D NMR φασμάτων.	55
Πίνακας 4: ^1H και ^{13}C χημικές μετατοπίσεις της ένωσης ΚΚΙ27 όπως προέκυψαν μέσω συνδυασμού 1D and 2D NMR φασμάτων.	59
Πίνακας 5: ^1H και ^{13}C χημικές μετατοπίσεις της ένωσης ΚΚΙ22 όπως προέκυψαν μέσω συνδυασμού 1D and 2D NMR φασμάτων.	63
Πίνακας 6: ^1H και ^{13}C χημικές μετατοπίσεις της ένωσης ΚΚΙ16 όπως προέκυψαν μέσω συνδυασμού 1D and 2D NMR φασμάτων.	67
Πίνακας 7: ^1H και ^{13}C χημικές μετατοπίσεις της ένωσης ΚΚΙ21 όπως προέκυψαν μέσω συνδυασμού 1D and 2D NMR φασμάτων.	71
Πίνακας 8: ^1H και ^{13}C χημικές μετατοπίσεις της ένωσης ΚΚΙ18 όπως προέκυψαν μέσω συνδυασμού 1D and 2D NMR φασμάτων.	81
Πίνακας 9: ^1H και ^{13}C χημικές μετατοπίσεις της ένωσης ΚΚΙ23 όπως προέκυψαν μέσω συνδυασμού 1D and 2D NMR φασμάτων.	85
Πίνακας 10: ^1H και ^{13}C χημικές μετατοπίσεις της ένωσης ΚΚΙ25 όπως προέκυψαν μέσω συνδυασμού 1D and 2D NMR φασμάτων.	89
Πίνακας 11: Αποτελέσματα υπολογισμών ελαχιστοποίησης της ενέργειας. Οι τιμές δίνονται σε Hartree για την απόλυτη τιμή, ενώ για τη διαφορά τους από τη σταθερότερη δομή (m_2) της ΚΚΙ15 σε kcal/mol.	98
Πίνακας 12: Τιμές σε μοίρες, των δίεδρων γωνιών, των ελαχιστοποιημένων δομών για τις ΚΚΙ15 και ΚΚΙ18	99
Πίνακας 13: Πίνακας των σημάτων που παρατηρήθηκαν στο 2D-NOESY μαζί με τις μετρούμενες αποστάσεις τους για την ΚΚΙ15.	102
Πίνακας 14: Πίνακας των σημάτων που παρατηρήθηκαν στο 2D-NOESY μαζί με τις μετρούμενες αποστάσεις τους για την ΚΚΙ18.	104

Πίνακας 15: Πίνακας αποτελεσμάτων για την κινητική ισομερείωση μεταξύ cis-trans για την ένωση KKI15	105
Πίνακας 16: Πίνακας αποτελεσμάτων για την κινητική ισομερείωση μεταξύ cis-trans για την KKI18.....	107
Πίνακας 17: Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της KKI15	112
Πίνακας 18: Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της KKI18	113
Πίνακας 19: Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της KKI19	114
Πίνακας 20: Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης του KKI21.....	115
Πίνακας 21: Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της KKI22	116
Πίνακας 22:Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της KKI24	117
Πίνακας 23: Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της KKI25	118
Πίνακας 24: Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της KKI27	119
Πίνακας 25: Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της KKI16	120
Πίνακας 26: Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της KKI23	121
Πίνακας 27: Συγκεντρωτικός Πίνακας αποτελεσμάτων μοριακής πρόσδεσης μεταξύ των ενώσεων και του 5UEN	122
Πίνακας 28: Συγκεντρωτικός Πίνακας αποτελεσμάτων μοριακής πρόσδεσης μεταξύ των ενώσεων και του 5DYW.....	124
Πίνακας 29: Συγκεντρωτικός Πίνακας αποτελεσμάτων μοριακής πρόσδεσης μεταξύ των ενώσεων και του 4EY7	126
Πίνακας 30: Συγκεντρωτικός Πίνακας αποτελεσμάτων μοριακής πρόσδεσης μεταξύ των ενώσεων και του 1YK8	129
Πίνακας 31: Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης test1 με τα 4 μακρομόρια.	133
Πίνακας 32: Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης test2 με τα 4 μακρομόρια.	134
Πίνακας 33: Αλληλεπιδράσεις των ενώσεων με τα αμινοξέα του ενεργού κέντρου συγκεκριμένων ενζύμων.	140

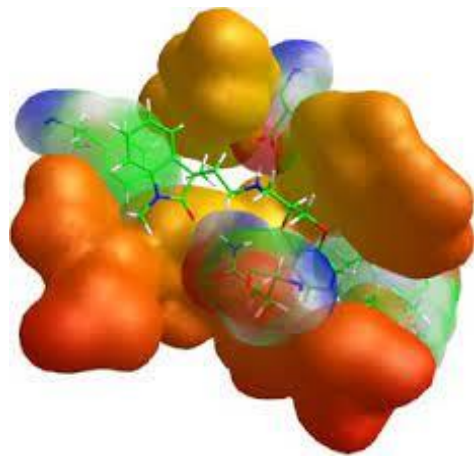
Πίνακας 34: Πίνακας ορολογίας με τις αντιστοιχίσεις των ελληνικών και ξενόγλωσσων όρων.....	146
Πίνακας 35: Αποτελέσματα υπολογισμού φορτίου για την ένωση ΚΚΙ18	191
Πίνακας 36: Αποτελέσματα υπολογισμού φορτίου για την ένωση ΚΚΙ15	192

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα ερευνητική εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του Διαπανεπιστημιακού Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών «Οργανική Σύνθεση και Εφαρμογές της στη Χημική Βιομηχανία». Τα *in silico* πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Πανεπιστημίου Αθηνών, μαζί με το συνθετικό μέρος και τα πειράματα NMR.

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

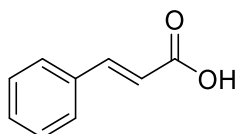


ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

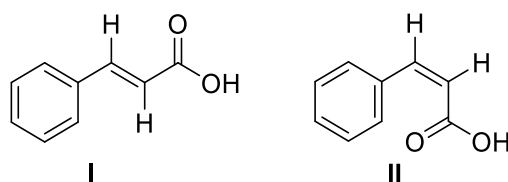
1.1 ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΑ ΟΞΕΑ

Τα κινναμωμικά οξέα (**Σχήμα 1**) είναι φυσικά ακόρεστα καρβοξυλικά οξέα που βρίσκονται ευρέως στα φυτά, όπως το *Cinnatomum cassia* (κινέζικη κανέλα) καθώς επίσης και σε φρούτα, λαχανικά και το μέλι. Ο όρος κινναμωμικό έχει προέλθει από την κανέλα μπαχαρικών (*Cinnatomum zeilanicum*), η οποία έχει χρησιμοποιηθεί από την αρχαιότητα ως αρωματικός παράγοντας καθώς και για τις αντισηπτικές και εντομοκτόνες ιδιότητές του. Τα τελευταία δέκα χρόνια παρατηρείται αύξηση ενδιαφέροντος από τους ερευνητές για τα κινναμωμικά οξέα, με αποτέλεσμα να έχει αυξηθεί και ο αριθμός δημοσιεύσεων οι οποίες αναφέρονται σ' αυτά.¹



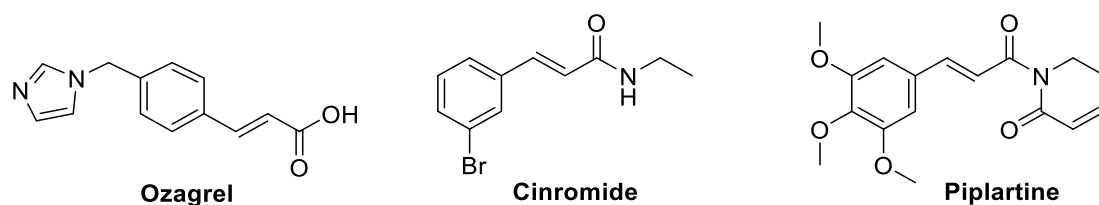
Σχήμα 1: Δομή κινναμωμικού οξέος.¹

Η παρουσία μιας ακρυλικής ομάδας υποκατεστημένης στον αρωματικό δακτύλιο, παράγει κινναμωμικά οξέα σε *cis* είτε σε *trans* διαμόρφωση, με το τελευταίο να είναι το επικρατέστερο (**Σχήμα 2**). Σε ερευνητικές μελέτες έχει αναφερθεί ότι τα κινναμωμικά οξέα παρουσιάζουν πολλές βιολογικές ιδιότητες όπως αντικαρκινικές, αντιδιαβητικές και κατά της φυματίωσης οι οποίες θα αναλυθούν στη συνέχεια. Επίσης χρησιμοποιούνται και ως αρωματικά συστατικά σε απορρυπαντικά και καλλυντικά. Τα κινναμωμικά οξέα είναι επίσης άμεσα διαθέσιμα από κόκκους καφέ, τσάι, κακάο, μήλα και αχλάδια, μούρα, εσπεριδοειδή, σταφύλια, σπανάκι, παντζάρια, αγκινάρες, πατάτες, ντομάτες, σέλινο, φασόλια και δημητριακά.^{1,2}



Σχήμα 2: Δομή *trans* (I) και *cis* (II) κινναμωμικών οξέων.¹

Εκτός από τα κινναμωμικά παράγωγα που υπάρχουν στη φύση, η τροποποίηση του αρωματικού δακτυλίου καθώς και του ακρυλικού οξέος καθιστά εφικτή τη δημιουργία πολλών κινναμωμικών παραγώγων με ποικίλες βιολογικές και φαρμακολογικές ιδιότητες. Για παράδειγμα, το Ozagrel³ (**Σχήμα 3**) είναι ένας αναστολέας της συνθάσης της θρομβοξάνης A₂. Πρόκειται για ένα υποκατεστημένο κινναμωμικό οξύ που χρησιμοποιείται ως φάρμακο για τη θεραπεία του οξέος ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου. Το Cinromide⁴ (**Σχήμα 3**) είναι μία ένωση που μελετήθηκε σε κλινικές δοκιμές τη δεκαετία του 1980 ως αντιεπιληπτικό πειραματικό φάρμακο, όμως εμφάνισε σημαντική τοξικότητα. Τέλος, το Piplartine⁵ (**Σχήμα 3**) είναι ένα υποκατεστημένο κινναμωμικό αμίδιο με πολλά υποσχόμενη αντικαρκινική δράση.²



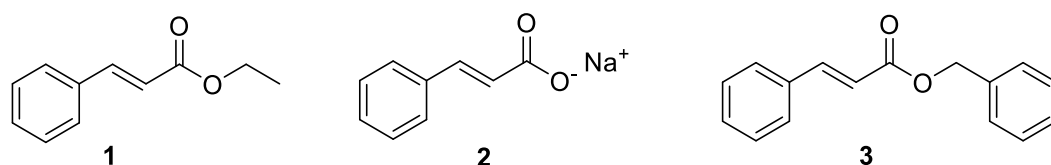
Σχήμα 3: Παράγωγα του κινναμωμικού οξέος με θεραπευτική δράση.²

1.2 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ

Τα κινναμωμικά οξέα και τα παράγωγά τους εμφανίζονται σε πλήθος φαρμάκων, λόγω των ποικίλων διαφορετικών βιολογικών δράσεων, τις οποίες παρουσιάζουν. Το ευρύ φάσμα αυτού του φαρμακολογικού τους προφίλ μπορεί να ταξινομηθεί στις κατηγορίες βιολογικών δράσεων που παρουσιάζονται στη συνέχεια.

1.2.1 ΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑ ΤΗΣ ΦΥΜΑΤΙΩΣΗΣ

Η φυματίωση είναι μια ασθένεια που αποτελεί απειλή για τη δημόσια υγεία παγκοσμίως. Παρόλο που υπάρχει πληθώρα φαρμάκων για την αντιμετώπισή της, έχει προκαλέσει τον θάνατο σε περισσότερα από τρία εκατομμύρια του πληθυσμού για όλα τα χρόνια. Η υψηλή ευαισθησία του ανθρώπου στην ασθένεια και η εμφάνιση στελεχών ανθεκτικών σε πολλά φάρμακα είχε ως αποτέλεσμα να καταστεί αυτή η ασθένεια το επίκεντρο ερευνητικής δράσης. Για τον λόγο αυτό, έχει αυξηθεί η ανάγκη για ανακάλυψη νέας κατηγορίας χημικών ενώσεων που δρουν με διαφορετικούς μηχανισμούς από αυτούς που χρησιμοποιούνται σήμερα. Παρά το γεγονός ότι το κινναμωμικό οξύ και τα παράγωγα έχουν μια μεγάλη ιστορία ως παράγοντες κατά της φυματίωσης, ο κινναμωμικός αιθυλεστέρας (1, Σχήμα 4), το κινναμωμικό νάτριο (2, Σχήμα 4) και ο κινναμωμικός βενζυλεστέρας (3, Σχήμα 4) αναφέρθηκαν να είναι ακόμα πιο αποτελεσματικά για δράση κατά της φυματίωσης. Παρ' όλα αυτά, η κατηγορία αυτή των ενώσεων έχει μείνει αχρησιμοποίητη.⁶



Σχήμα 4: Δομή κινναμωμικού αιθυλεστέρα (1), κινναμωμικού νατρίου (2) και κινναμωμικού βενζυλεστέρα (3).⁶

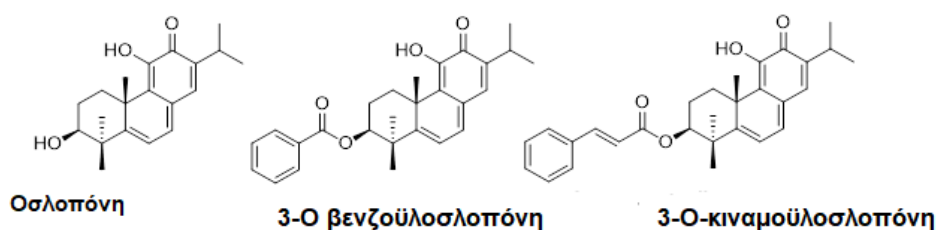
1.2.2 ΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑ ΤΗΣ ΕΛΟΝΟΣΙΑΣ

Η ελονοσία παραμένει μία από τις πιο σοβαρές απειλές για την υγεία στον κόσμο, επηρεάζοντας 300-400 εκατομμύρια ανθρώπους και απειλώντας περίπου 3 εκατομμύρια ζωές κάθε χρόνο. Η ελονοσία γενικά προκαλείται από τέσσερα είδη, τα *Plasmodium falciparum*, *P. Vivax*, *P. Ovale* και *P. Malariae*. Για μεγάλο χρονικό διάστημα του εικοστού αιώνα, η ελονοσία θεραπευόταν με

ταχείας δράσης και φθηνά φάρμακα όπως η χλωροκίνη και η πυριμεθαμίνη-σουλφαδοξίνη. Στις αρχές της δεκαετίας του 1990, η ελονοσία, σε ορισμένες περιοχές της Αφρικής αντιπροσώπευε σχεδόν το 50% των θανάτων. Επί του παρόντος, η μόνη πλήρως αποτελεσματική κατηγορία φαρμάκων κατά της φυματίωσης είναι οι αρτεμισινίνες (artemisinins).

Ως αποτέλεσμα της αυξανόμενης αντοχής σε πολλά φάρμακα των παρασίτων ελονοσίας, η ανακάλυψη και χρήση μη παραδοσιακών φαρμάκων κατά της ελονοσίας με νέους μηχανισμούς δράσης, καθίσταται επείγουσα. Τα κινναμωμικά παράγωγα από φυσικές ή συνθετικές πηγές αποτελούν μια κατηγορία υποψηφίων φαρμάκων τα οποία θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως απαρχή για την αντιμετώπιση της ελονοσίας.

Το 1992, ο Nkunya και οι συνεργάτες του απομόνωσαν δύο νέα παράγωγα οσλοπόνης (**Σχήμα 5**), την 3-Ο βενζοϋλοσλοπόνη (**Σχήμα 5**), και την 3-Ο-κινναμοϋλοσλοπόνη (**Σχήμα 5**), από τον φλοιό ρίζας του φυτού *Hoslundia opposita Vahl*, που παράγεται στην Ανατολική και Δυτική Αφρική. Το τρίτο κινναμωμικό παράγωγο του **Σχήματος 5** έδειξε πολύ ισχυρή βιολογική δράση έναντι της ελονοσίας. Το ισχυρό αυτό αποτέλεσμα οφείλεται στην παρουσία της κινναμωμικής ομάδας. Αυτή η ομάδα είναι πιθανό ότι δίνει αντίδραση Michael με πυρηνόφιλες θέσεις στα μόρια του παρασιτικού κυττάρου DNA, έτσι αναστέλλοντας την ανάπτυξη του *P. Falciparum*.⁶

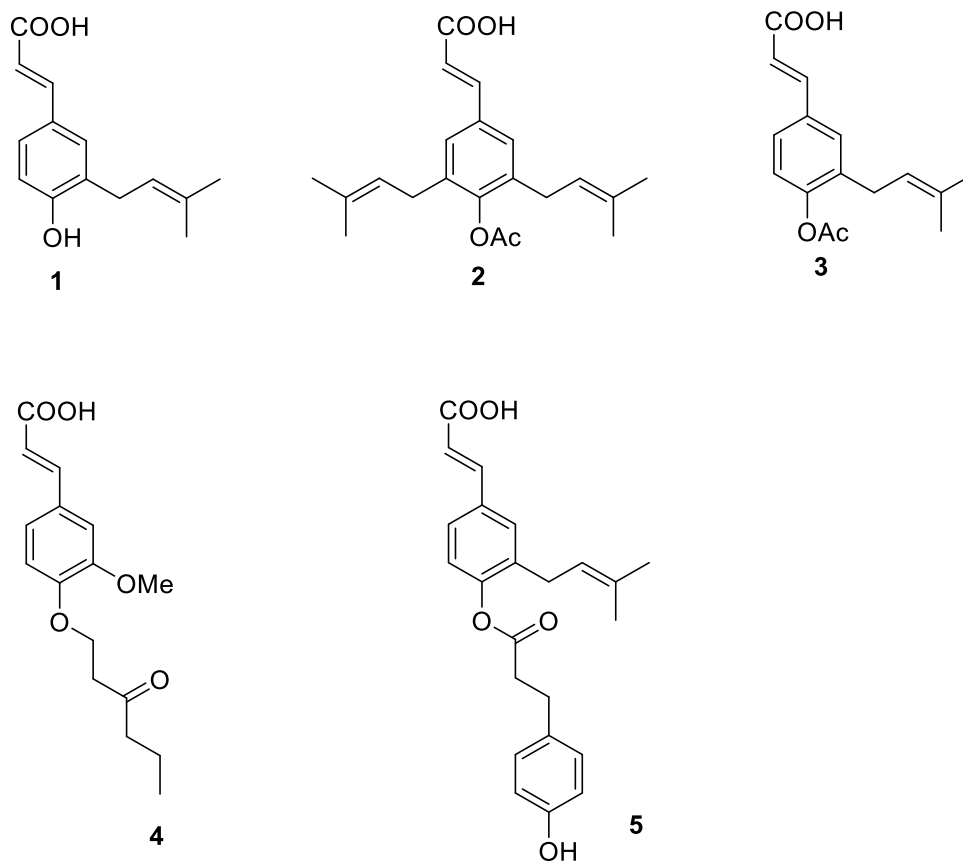


Σχήμα 5: Δομές οσλοπόνης, 3-O βενζοϋλοσλοπόνης , και 3-O-κιναμοϋλοσλοπόνης.⁶

1.2.3 ΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΩΝ ΠΑΘΗΣΕΩΝ

Καρδιακές παθήσεις ή καρδιαγγειακές παθήσεις είναι οι παθήσεις που αφορούν την καρδιά ή τα αιμοφόρα αγγεία (αρτηρίες και φλέβες). Ενώ ο όρος τεχνικά αναφέρεται σε οποιαδήποτε ασθένεια επηρεάζει το καρδιαγγειακό σύστημα, χρησιμοποιείται συνήθως για να αναφέρεται στα σχετιζόμενα με αθηροσκλήρωση (αρτηριακές παθήσεις). Αυτές οι ασθένειες παρουσιάζουν παρόμοιες αιτίες, μηχανισμούς και θεραπείες. Οι περισσότερες χώρες αντιμετωπίζουν υψηλά και αυξανόμενα ποσοστά καρδιαγγειακών παθήσεων. Σε μια μεγάλη ιστολογική μελέτη έχει αποδειχθεί ότι αγγειακή βλάβη συσσωρεύεται από την εφηβεία, καθιστώντας τις πρωτογενείς προσπάθειες πρόληψης απαραίτητες από την παιδική ηλικία. Μέχρι να εντοπιστούν τα καρδιακά προβλήματα, η υποκείμενη αιτία (αθηροσκλήρωση) είναι συνήθως αρκετά προχωρημένη. Συνεπώς, δίνεται μεγαλύτερη έμφαση σχετικά με την πρόληψη της αθηροσκλήρωσης με τροποποίηση παραγόντων κινδύνου, όπως η υγιεινή διατροφή, η άσκηση και αποφυγή καπνίσματος.

Το οξειδωτικό στρες, συνέπεια ανισορροπίας προοξειδωτικών και αντιοξειδωτικών στον οργανισμό αναγνωρίζεται ως βασικό φαινόμενο σε χρόνιες ασθένειες όπως οι φλεγμονώδεις και καρδιακές παθήσεις, η υπέρταση και ορισμένες μορφές καρκίνου. Μία από τις συνέπειες του οξειδωτικού στρες είναι η υπεροξειδωση των λιπιδίων. Συγκεκριμένα, είναι μια σειρά από αντιδράσεις οξειδωτικής αποικοδόμησης των λιπιδίων με την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου, που μπορούν να προκαλέσουν καταστροφή των κυττάρων. Τα κιναμωμικά παράγωγα έδειξαν να αναστέλλουν την υπεροξειδωση των λιπιδίων, όπως είναι η δρουπανίνη (1, **Σχήμα 6**) και το 4-ακετυλο-3,5-διπρενυλοκιννημικό οξύ (2, **Σχήμα 6**) Η ισχυρότερη βιολογική δράση εξασκείτο από τις ενώσεις 3 (3, **Σχήμα 6**), 5 (5, **Σχήμα 6**) και 4 (4, **Σχήμα 6**).⁶

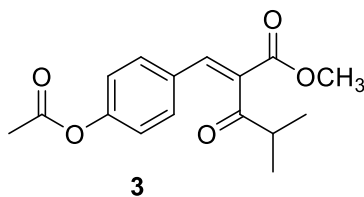


Σχήμα 6: Δομές ενώσεων με δράση κατά των καρδιαγγειακών παθήσεων.⁶

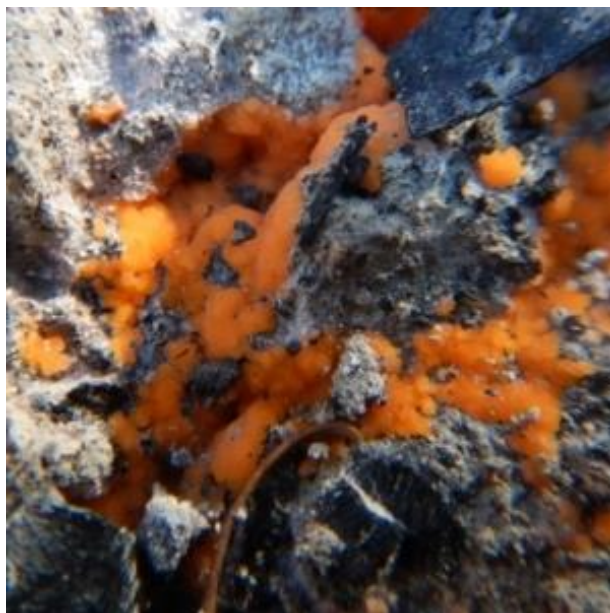
1.2.4 ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) αναγνωρίζει μολυσματικές ασθένειες που προκαλούνται από βακτήρια, ιούς και μύκητες ως παγκόσμια απειλή για την υγεία, ειδικά στις αναπτυσσόμενες και φτωχές χώρες. Περίπου 3,5 εκατομμύρια άνθρωποι πεθαίνουν από μολυσματικές ασθένειες ετησίως. Το 2018, ο ΠΟΥ ανέφερε 37,9 εκατομμύρια ανθρώπους που ζουν με τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV) παγκοσμίως με 770.000 να πεθαίνουν από ασθένειες που σχετίζονται με το AIDS. Ο Deng και οι συνεργάτες του απομόνωσαν ένα παράγωγο 4-υδροξυκινναμικού οξέος, τον 2-((E)-2-[4-(φορμυλοξυ) φαινύλιο] αιθενυλο)-4-μεθυλο-3-οξοπεντανοϊκό μεθυλεστέρα (Σχήμα 7) από τον ενδοφυτικό μύκητα *Pyronema sp.* Η βιολογική δραστηριότητα της ένωσης αξιολογήθηκε *in vitro* σε μυκοβακτηρίδιο, *Mycobacterium marinum*, υπεύθυνο για τις λοιμώξεις του

δέρματος. Η ένωση παρουσίασε ένα καλό ανασταλτικό αποτέλεσμα με IC₅₀ 64 μΜ.¹



Σχήμα 7: Δομή του 4-υδροξυκινναμωμικού παραγώγου.¹



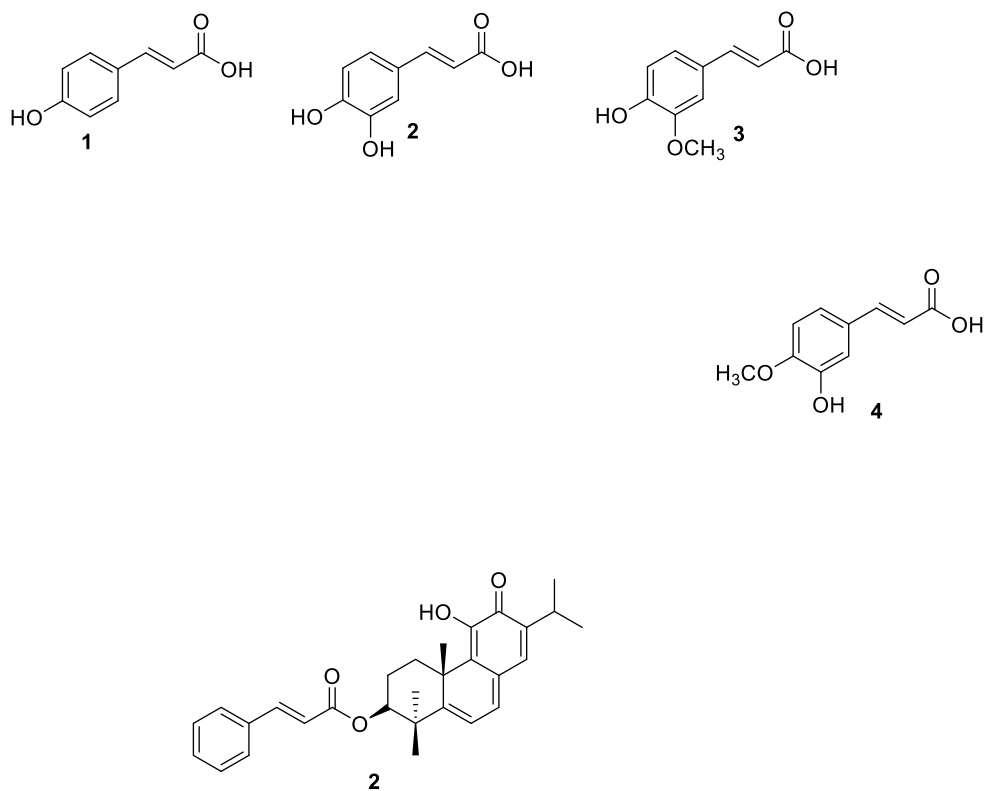
Εικόνα 1: Δομή του μύκητα *Pyronema* sp.¹

1.2.5 ΑΝΤΙΔΙΑΒΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

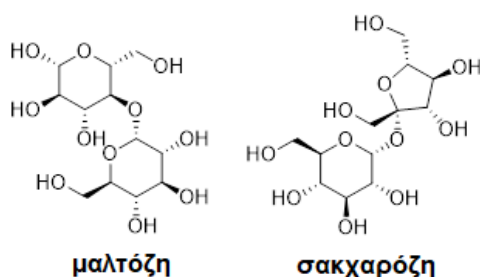
Ο σακχαρώδης διαβήτης χαρακτηρίζεται ως μεταβολική διαταραχή που προκύπτει από ένα ελάττωμα στη δράση της ινσουλίνης, στην έκκριση ή και στα δύο. Η Διεθνής Ομοσπονδία Διαβήτη εκτίμησε ότι ο διαβήτης θα απειλήσει 591 εκατομμύρια ανθρώπους έως το 2035 από 382 εκατομμύρια που αναφέρθηκαν το 2013. Η αδυναμία ρύθμισης της γλυκόζης αίματος προκαλεί επίσης πολλές επιπλοκές όπως αγγειοπάθεια, αμφιβληστροειδοπάθεια και νευροπάθεια. Η ανασταλτική επίδραση των παραγώγων του κινναμωμικού οξέος στην πρωτεΐνη φωσφατάση τυροσίνης 1B (PTP1B) ήταν ένας από τους πολλούς τρόπους ρύθμισης της γλυκόζης στο αίμα.

Ο Amalan και οι συνεργάτες του ανέφεραν επίσης την ικανότητα της ένωσης 1 (1, Σχήμα 8) στη μείωση της γλυκόζης στο αίμα και στη βελτίωση των

επιπέδων της ινσουλίνης. Μια άλλη ερευνητική ομάδα εξέτασε μια σειρά ενώσεων για την ικανότητα τους να αναστέλλουν την α-γλυκοσιδάση (μαλτάση και σακχαρόζη). Τα πιο αποτελεσματικά φάνηκαν να είναι οι ενώσεις (2, 3 και 4, Σχήμα 8) που παρουσίασαν μια μη ανταγωνιστική αναστολή, ισχυρότερη σε σχέση με τη σακχαρόζη και τη μαλτόζη.¹



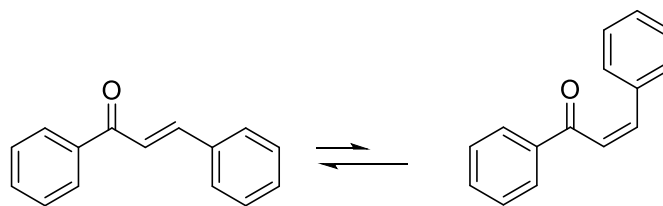
Σχήμα 8: Δομές κινναμωμικών οξέων με αντιδιαβητική δράση.¹



Σχήμα 9: Δομές μαλτόζης και σακχαρόζης, αντίστοιχα.¹

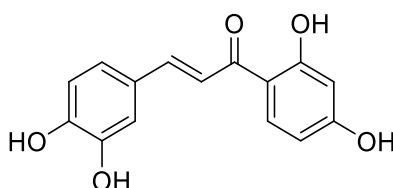
1.3 ΧΑΛΚΟΝΕΣ

Οι χαλκόνες (1,3-διαρυλο-2-προπεν-1-όνες) αποτελούν σημαντική κατηγορία φυσικών προϊόντων που ανήκουν στην οικογένεια των φλαβονοειδών⁷, και παρουσιάζουν ενδιαφέρουσες βιολογικές δραστηριότητες, όπως αντιφλεγμονώδη, αντιβακτηριακή, αντιοξειδωτική, και αντικαρκινική δράση.⁸ Λόγω της αφθονίας τους στα φυτά και της ευκολίας σύνθεσής τους, αυτή η κατηγορία ενώσεων έχει δημιουργήσει μεγάλο ενδιαφέρον για πιθανές θεραπευτικές χρήσεις. Αποτελούνται από μία ανθρακική αλυσίδα, όπου οι δύο αρωματικοί δακτύλιοι ενώνονται μεταξύ τους με ένα ακόρεστο καρβονυλικό σύστημα (**Σχήμα 10**). Έχουν μεγάλη σημασία στη βιοσύνθεση των φλαβονοειδών, των οποίων θεωρούνται πρόδρομες ενώσεις. Εμφανίζουν πολύ έντονο κίτρινο χρώμα και βρίσκονται κυρίως στα άνθη. Χαρακτηριστικός εκπρόσωπος είναι η βουτεΐνη (**Σχήμα 11**), που ανευρίσκεται ως γλυκοζίτης στα λουλούδια του φυτού *Butea frontosa* (**Εικόνα 2**).⁹ Είναι επίσης αποτελεσματικές *in vivo* ως αναστολείς πολλαπλασιασμού κυττάρων, προαγωγή αντικαρκινικών και χημειοπροληπτικοί παράγοντες.^{10,11}



Χαλκόνη

Σχήμα 10: Δομή χαλκόνης σε *trans* και *cis* διαμόρφωση αντίστοιχα.^{10,12}



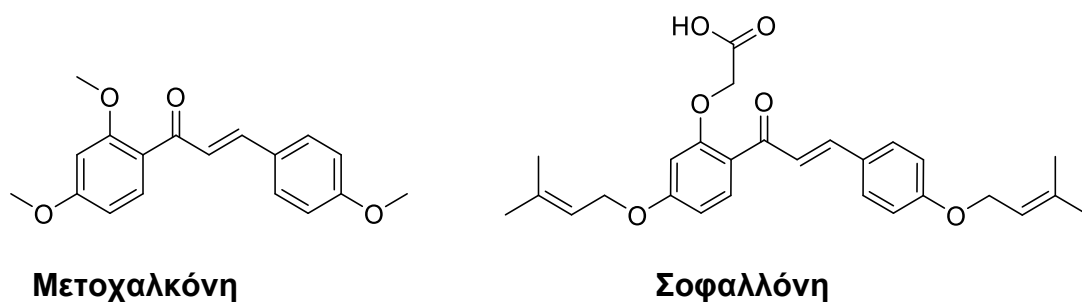
Σχήμα 11: Δομή βουτεΐνης.



Εικόνα 2: Φυτό Butea Frontosa.

Η χαλκόνη είναι ένα απλό χημικό μόριο και ανήκει στη γενικότερη κατηγορία των φυσικών προϊόντων που έχουν ευρεία κατανομή σε λαχανικά, φρούτα, τσάγια και άλλα φυτά. Η χαλκόνη προέρχεται από την ελληνική λέξη «χαλκός» και το χρώμα των περισσότερων χαλκονοειδών ενώσεων είναι μπρούτζινο. Οι ενώσεις χαλκόνης περιέχουν μια κοινή χημική ουσία την 1,3-διαρυλο-2-προπεν-1-όνη, επίσης γνωστή ως χαλκονοειδές, που υπάρχει ως *trans* και *cis* ισομερή, με το *trans* ισομερές να είναι θερμοδυναμικά πιο σταθερό (**Σχήμα 10**). Παρά τη μεγάλη εφαρμογή των εν λόγω ενώσεων στη βιολογία και τη φαρμακολογία, ο ακριβής μηχανισμός τους σε διάφορους βιολογικούς στόχους δεν είναι ακόμα ακριβής. Παρόλα αυτά υπάρχουν κάποια παράγωγα

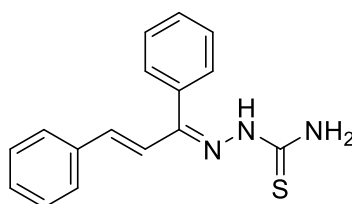
της χαλκόνης που έχουν κυκλοφορήσει ως φάρμακα, όπως για παράδειγμα η Μετοχαλκόνη που κυκλοφόρησε ως φάρμακο κατά της χολέρας και η Σοφαλλόνη που κυκλοφόρησε ως αντιελκικό και βλεννοπροστατευτικό φάρμακο.¹²



Σχήμα 12: Δομές δύο παραγώγων της χαλκόνης που έχουν εγκριθεί ως φάρμακα.¹²

1.4 ΘΕΙΟΣΕΜΙΚΑΡΒΑΖΟΝΕΣ

Μια άλλη σημαντική κατηγορία οργανικών ενώσεων, που είναι παρεμφερής των κινναμωμικών παραγώγων, και έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον στους ερευνητές είναι οι θειοσεμικαρβαζόνες οι οποίες συντίθενται από χαλκόνες (Σχήμα 13).^{13,14} Είναι μια μεγάλη ομάδα παραγώγων θειουρίας και έχουν αξιολογηθεί ως αντιικά, αντιμικροβιακά και αντικαρκινικά φάρμακα.¹⁵ Η ομάδα ($\text{NH}_2\text{-CS-NH-NH}_2$) φαίνεται να είναι θεμελιώδης για την αντικαρκινική δράση των εν λόγω ενώσεων.^{10,16,17}

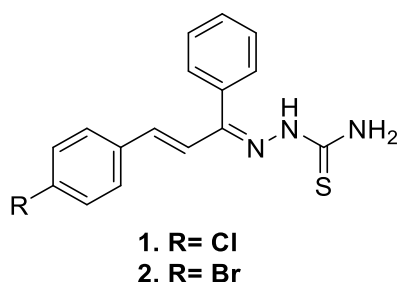


Σχήμα 13: Δομή θειοσεμικαρβαζόνης από χαλκόνη.¹⁸

1.4.1 ΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑ ΤΗΣ ΑΣΘΕΝΙΑΣ CHAGAS

Η ασθένεια Chagas (CD) είναι μια παραμελημένη ασθένεια, η οποία προκαλείται από το πρωτόζωο *Trypanosoma cruzi* (TC). Αυτή η ασθένεια

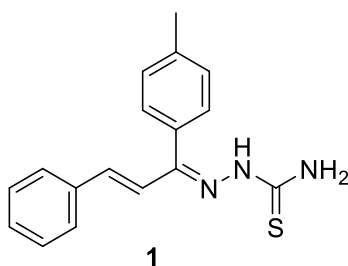
εμφανίζεται κυρίως σε χώρες της Κεντρικής και Νότιας Αμερικής, αλλά, τις τελευταίες δεκαετίες ο αριθμός των περιπτώσεων CD αυξάνεται σε άλλες χώρες, όπως στα νότια των Ηνωμένων Πολιτειών της Αμερικής, στον Καναδά, στη Δυτική Μεσόγειο και στο Δυτικό Ειρηνικό. Υπολογίζεται ότι περίπου 6 με 7 εκατομμύρια άνθρωποι είναι δυνητικά μολυσμένοι από TC, ο οποίος προκαλεί περίπου 20.000 θανάτους ετησίως και είναι η κύρια αιτία μολυσματικής μυοκαρδίτιδας. Οι οξείες λοιμώξεις είναι συνήθως ασυμπτωματικές, αλλά το ένα τρίτο των χρόνιων λοιμώξεων εξελίσσεται σε θάνατο, παρουσιάζοντας ποικίλες εκδηλώσεις που επηρεάζουν την καρδιά, τα έντερα και το νευρικό σύστημα. Αν και η ασθένεια Chagas εντοπίστηκε πριν από 100 χρόνια, οι τρέχουσες θεραπευτικές επιλογές είναι περιορισμένες μόνο σε δύο νιτροετεροκυκλικά φάρμακα: τη Βενζιδαζόλη (BZN) και τη Νιφουριτιμόξη (NFX). Σε ορισμένες χώρες, το NFX διακόπηκε λόγω σοβαρών παρενεργειών, όπως η νευροπάθεια και η ανορεξία, μεταξύ άλλων. Το BZN είναι αποτελεσματικό μόνο στο οξύ στάδιο, με χαμηλή ίαση λοίμωξης (low cure infection) αλλά η αποτελεσματικότητά του, στη χρόνια φάση της νόσου, παραμένει αμφισβητήσιμη. Επίσης έχει βρεθεί να προκαλεί παρενέργειες και για αυτό τον λόγο η ανακάλυψη νέων ενώσεων για την αντιμετώπιση της ασθένειας αυτής είναι ένα επίκαιρο θέμα. Έχουν δοκιμαστεί πολλές ενώσεις και συγκεκριμένα οι θειοσεμικαρβαζόνες αποδείχθηκαν βιοδραστικές και η δράση τους σχετίζεται με την αναστολή βασικών ενζύμων που σχετίζονται με την επιβίωση του παράσιτου αυτού. Για την αξιολόγηση του δυναμικού αυτών των ενώσεων ως θεραπευτικούς παράγοντες για τη θεραπεία της νόσου Chagas, προκαταρκτικές βιολογικές δοκιμές πραγματοποιήθηκαν στην ενδοκυτταρική μορφή του *Trypanosoma cruzi* για να προσδιοριστεί η κυτταροτοξικότητά τους. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ένωση **1** παρουσιάζει μια πολύ ισχυρή δράση έναντι αυτού του μύκητα και μάλιστα συγκρίνοντάς την με την ένωση **2**, παρατηρήθηκε ότι ενώσεις που περιέχουν ισχυρά ηλεκτραρνητικά άτομα είναι τρεις φορές πιο αποτελεσματικές σε σχέση με τις υπόλοιπες ενώσεις.¹⁸



Σχήμα 14: Θειοσεμικαρβαζόνες με δράση κατά της ασθένειας Chagas .¹⁸

1.4.2 ΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

Το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα (HCC) είναι το πιο συχνό φαινόμενο πρωτοπαθούς καρκίνου του ήπατος και είναι ένας από τους καρκίνους με την υψηλότερη συχνότητα στον κόσμο. Οι περισσότεροι ασθενείς που διαγνώστηκαν με HCC παρουσιάζουν χαμηλά ποσοστά αποκατάστασης και οι διαθέσιμες θεραπείες είναι σπάνια ευεργετικές. Η ανθρώπινη κυτταρική σειρά ηπατώματος HepG2, που εισήχθη το 1979, είναι η κυτταρική σειρά με τη συχνότερη χρήση σε σχέση με άλλες ηπατοτοξικές σειρές και έχει χρησιμοποιηθεί για την εξέταση διαφόρων μηχανισμών ηπατοτοξικότητας. Μια σειρά από θειοσεμικαρβαζόνες δοκιμάστηκαν για τη βιολογική τους δράση έναντι της αναστολής του κυττάρου του ήπατος HepG2. Η ένωση **1** (Σχήμα 15) απέδειξε την πιο ισχυρή ανασταλτική δράση έναντι του εν λόγω κυττάρου.¹⁰

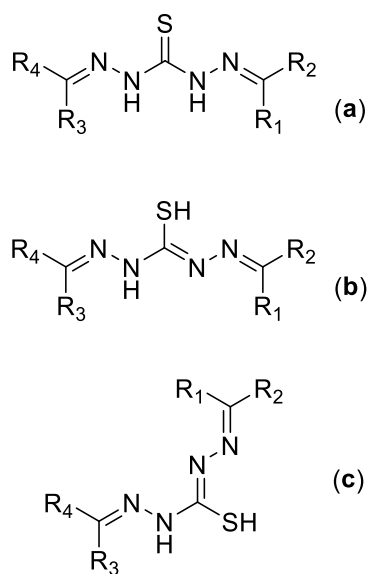


Σχήμα 15: Θειοσεμικαρβαζόνη με δράση κατά του καρκίνου του ήπατος.¹⁰

1.5 ΘΕΙΟΚΑΡΒΟΥΔΡΑΖΟΝΕΣ

Εκτός από τις θειοσεμικαρβαζόνες, έχει αρχίσει και διεγείρεται το ενδιαφέρον των ερευνητών ως προς τις θειοκαρβουδραζόνες. Η πρώτη σύνθεση αυτών

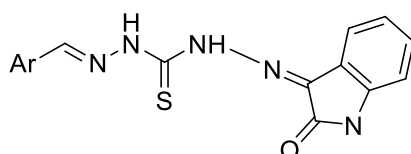
των ενώσεων χρονολογείται στο 1925. Από δομική άποψη, μπορούν να χωριστούν σε συμμετρικές και ασύμμετρες. Οι ενώσεις αυτές αποτελούν χρήσιμα συστήματα για προσδέτες που μπορεί να παρουσιάσουν ποικίλες βιολογικές εφαρμογές. Συνήθως δρουν ως ουδέτεροι ή αρνητικά φορτισμένοι προσδέτες που συνδέονται με μέταλλα μέσω του ατόμου θείου και του αζώτου του διπλού δεσμού. Μια τέτοια ιδιότητα είναι αποτέλεσμα της ταυτομερικής ισορροπίας μεταξύ της θειοκετο και της θειοενόλης (Σχήμα 16).^{19,20}



Σχήμα 16: Ταυτομερή θειοκαρβοϋδραζόνης (a) θειοκέτο μορφή (b) *sin*-θειοενόλη και (c) *trans*-θειοενόλη

Οι θειοκαρβοϋαζόνες ήταν οι πρώτες αντιπικτικές ενώσεις που αναγνωρίστηκαν να διαθέτουν αντιπικκή δράση έναντι μιας σειράς DNA και RNA ιών. Μέχρι στιγμής υπάρχουν λίγες αναφορές για τη βιολογική δραστηριότητα των εν λόγω ενώσεων, και φαρμακολογικές δοκιμές γίνονται σποραδικά, δίνοντας κυρίως έμφαση στην αντιπικτική δραστηριότητά τους. Ενώ οι θειοσεμικαρβαζόνες έχουν χρησιμοποιηθεί για τη σύνθεση συμπλόκων με αντικαρκινικές και άλλες χρήσιμες βιολογικές δράσεις, οι θειοκαρβοϋδραζόνες πολύ λίγο μελετήθηκαν. Αυτό είναι κάτι που εκπλήσσει αρκετούς, λόγω της πολύ αυξημένης ομοιότητας μεταξύ αυτών των δύο τάξεων ενώσεων. Σε παλαιότερες αναφορές έχει περιγραφεί η αντιπικτική δράση της ισατίνης-β-θειοσεμικαρβαζόνης και της ισατίνης-β-ημικαρβοϋδραζόνης έναντι

διαφορετικών πικτών στελεχών. Ωστόσο, η βιολογική δραστηριότητα της ισατίνης-β-θειοκαρβουϋδραζόνης και της ισατίνης-β-υδατανθραζόνης δεν έχουν αξιολογηθεί έναντι των ιών DNA και RNA.¹⁹



Σχήμα 17: Θειοκαρβουϋδραζόνη με βιολογική δράση.²²

1.6 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΦΑΡΜΑΚΩΝ

Ας εξετάσουμε μια εξαιρετικά υπεραπλουστευμένη πλευρά των στατιστικών στοιχείων του σχεδιασμού φαρμάκων. Έχει υπολογιστεί ότι υπάρχουν περίπου 500.000 πρωτεΐνες όπως προκύπτουν από το ανθρώπινο γονιδίωμα. Περίπου οι 10.000 από αυτές έχουν χαρακτηριστεί κρυσταλλογραφικά. Πολύ απλά, αυτό σημαίνει ότι απομένουν 490.000 άγνωστες πρωτεΐνες που μπορεί να παρουσιάζουν οποιοδήποτε ερευνητικό ενδιαφέρον. Τα στοιχεία αυτά μας δείχνουν πόσο δύσκολη μπορεί να είναι η έρευνα η οποία αφορά τον ορθολογικό σχεδιασμό νέων φαρμάκων αφού θα πρέπει να βασιστεί σε μη κρυσταλλογραφημένες πρωτεΐνες. Είναι γεγονός ότι μια φαρμακευτική εταιρία μπορεί να προσλαμβάνει σε εργασία 10-100 ερευνητές που να εργάζονται στον ορθολογικό σχεδιασμό φαρμάκων. Αφού σχεδιασθεί και συντεθεί το υποψήφιο μόριο για φάρμακο σε περίπου χρονικό διάστημα 2-10 ετών δοκιμάζεται *in vitro* και *in vivo* και προχωρά σε κλινικές μελέτες.

Στην πορεία του υπολογιστικού ορθολογικού σχεδιασμού φαρμάκων, οι ερευνητές θα πρέπει να αντιμετωπίσουν μια σειρά από δύσκολα προβλήματα, όπως είναι η αποτελεσματικότητα, η δραστηριότητα, η τοξικότητα, η βιοδιαθεσιμότητα, ακόμη και η πνευματική ιδιοκτησία. Με τη συνολική διαδικασία ανάπτυξης φαρμάκων να κοστίζει εκατομμύρια δολάρια, και με τεράστια χρηματικά ποσά να ξοδεύονται κάθε μέρα, οι χημικοί που ασχολούνται με τον ορθολογικό σχεδιασμό και σύνθεση φαρμάκων είναι υπό απερίγραπτη πίεση για να παράγουν επιτυχή αποτελέσματα. Έτσι, είναι

απαραίτητο να χρησιμοποιούν αποτελεσματικά κάθε υπολογιστικό εργαλείο που μπορεί να βοηθήσει για να δώσουν επιτυχημένα αποτελέσματα.

Γενικά η ανακάλυψη φαρμάκων είναι ένα ακριβό οικονομικά πρόβλημα με την τιμή ανακάλυψης να ανέρχεται από 300 εκατομμύρια έως 1,7 δισεκατομμύρια. Ορισμένα τυπικά κόστη αναφέρονται στον **Πίνακα 1**.

Πίνακας 1: Τυπικά κόστη ανά πείραμα.

Πείραμα	Τυπικό κόστος ανά ένωση (\$)
Υπολογιστική χημεία	10
Βιοχημική δοκιμή	400
Δοκιμή σε κυτταρική καλλιέργεια	4.000
Τοξικότητα σε ποντίκια	12.000
Κρυσταλλική δομή πρωτεΐνης	100.000
Δοκιμή αποτελεσματικότητας σε ποντίκια	300.000
Διεισδυτικές δοκιμές τοξικότητας σε ποντίκια	800.000
Ανθρώπινες κλινικές δοκιμές	500.000.000

Δεν υπάρχει βέλτιστη υπολογιστική τεχνική ορθολογικού σχεδιασμού φαρμάκων. Χημειο-πληροφορικές τεχνικές χρησιμοποιούνται ώστε να επιλεγούν ενώσεις από διαθέσιμες πηγές για να δοκιμαστούν για τη δράση τους. Όταν βρεθούν κάποιες ενώσεις που είναι ενεργές έναντι σε ένα στόχο, τότε με τη βοήθεια υπολογιστικών προγραμμάτων μπορούν να προβλεφθούν

παρεμφερείς ενώσεις για τον ίδιο στόχο. Καθώς ταυτοποιούνται μεγάλες συλλογές δραστικότερων ενώσεων, οι υπολογιστικοί χημικοί θα μεταβούν σε ακριβέστερες τεχνικές, όπως τις ποσοτικές σχέσεις δομής δράσης (3D QSAR), ή αναζήτηση φαρμακοφόρων και τα εργαλεία σχεδιασμού φαρμάκων που βασίζονται στη δομή όπως είναι η μοριακή πρόσδεση.

1.7 ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΦΑΡΜΑΚΩΝ

Οι μεθοδολογίες σχεδιασμού φαρμάκων με τη βοήθεια υπολογιστή διαδραματίζουν συνεχώς αυξανόμενο ρόλο στην ανακάλυψη τους που είναι κρίσιμης σημασίας για τον οικονομικά αποδοτικό προσδιορισμό υποσχόμενων υποψηφίων φαρμάκων. Ένα μεγάλο πλεονέκτημα είναι ότι στις υπολογιστικές μεθόδους γίνεται περιορισμός της χρήσης ζωικών μοντέλων στην έρευνα φαρμάκων.^{21,22}

Με την ταχεία ανάπτυξη τόσο των μηχανικών εξαρτημάτων των υπολογιστών (hardware) όσον και των λογισμικών που ενσωματώνονται σε αυτόν (software), ο έλεγχος φαρμάκων και ο ορθολογικός σχεδιασμός τους έχουν επωφεληθεί πολύ από διάφορες υπολογιστικές μεθόδους που μειώνουν σημαντικά τον χρόνο και το κόστος ανάπτυξης τους. Σε γενικές γραμμές, η βιοπληροφορική μπορεί να βοηθήσει στην αποκάλυψη των βασικών γονιδίων από μια μαζική ποσότητα γονιδιωματικών δεδομένων και, συνεπώς παρέχει πιθανές πρωτεΐνες-στόχους για τον έλεγχο και τον σχεδιασμό φαρμάκων. Επίσης μπορεί να γίνει πρόβλεψη των πρωτεϊνικών δομών με λογική ακρίβεια. Οι βιομοριακές προσομοιώσεις με μοντέλα πολλαπλών κλιμάκων επιτρέπουν να γίνουν έρευνες δομικών και θερμοδυναμικών χαρακτηριστικών των πρωτεϊνών στόχων σε διαφορετικά επίπεδα, τα οποία είναι χρήσιμα για τον εντοπισμό θέσεων δέσμευσης φαρμάκων και τη διεκρίνιση των μηχανισμών δράσης φαρμάκων. Με τη χρήση της εικονικής σάρωσης (Virtual Screening) αναζητούνται τότε χημικές βιβλιοθήκες για να εξευρεθούν πιθανές υποψήφιες ενώσεις δυνάμει φάρμακα με βάση τις θέσεις πρόσδεσης τους στις πρωτεΐνες στόχους. Με πολύ μειωμένη ποσότητα πιθανών υποψηφίων φαρμάκων, πειράματα κυττάρων *in vitro* μπορούν να αξιολογήσουν περαιτέρω την αποτελεσματικότητα αυτών των μορίων. Εκτός από τον

εικονικό έλεγχο, οι μέθοδοι σχεδιασμού, που παράγουν συνθετικά μικρά μόρια με υψηλή συγγένεια πρόσδεσης, παρέχουν άλλου τύπου κατεύθυνση σχεδιασμού φαρμάκων με τη βοήθεια υπολογιστή. Η τεχνητή νοημοσύνη, π.χ. μηχανική μάθηση και η βαθιά μάθηση, διαδραματίζει όλο και πιο σημαντικό ρόλο στην προαναφερθείσα υπολογιστική μέθοδο και συνεπώς στην ανάπτυξη φαρμάκων.²³⁻²⁵

1.8 ΜΟΡΙΑΚΗ ΠΡΟΣΔΕΣΗ

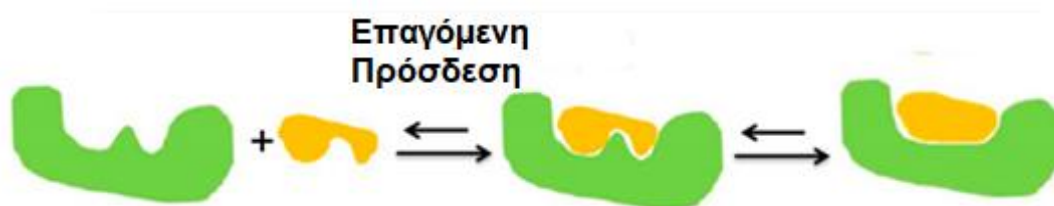
Ένα από τα πιο κοινά πειράματα στη βιοχημεία και την κυτταρική και μοριακή βιολογία είναι η μεταξύ δύο μορίων αλληλεπίδραση. Αυτό περιλαμβάνει δύο πρωτεΐνες που προσδέονται μεταξύ τους, ένα μικρό μόριο που συνδέεται με μια πρωτεΐνη, ή μια πρωτεΐνη που συνδέεται με ένα νουκλεϊκό οξύ. Παρά την προφανή απλότητα, πολλά πειράματα είναι κακώς σχεδιασμένα και υπολείπονται της εξαγωγής όλων των χρήσιμων πληροφοριών που είναι διαθέσιμες από τη βιβλιογραφία που συλλέχθηκαν για να γίνει το πείραμα. Συγκεκριμένα, πολλά πειράματα αποτυγχάνουν να μετρήσουν τη συγγένεια πρόσδεσης. Το πεδίο της υπολογιστικής μοριακής πρόσδεσης εμφανίστηκε τις τελευταίες τρεις δεκαετίες με γνώμονα τις ανάγκες της δομικής μοριακής βιολογίας και της ανακάλυψης φαρμάκων με βάση τη δομή. Έχει αναπτυχθεί σε μεγάλο βαθμό από τη δραματική αύξηση της διαθεσιμότητας και της ισχύος των υπολογιστών, και την αυξανόμενη ευκολία πρόσβασης σε βάσεις δεδομένων μικρών μορίων και πρωτεϊνών. Ο στόχος του αυτοματοποιημένου μοριακού λογισμικού πρόσδεσης είναι η κατανόηση και η πρόβλεψη, τόσο δομικά με την εύρεση πιθανών θέσεων σύνδεσης, όσο και ενεργειακά με τη πρόβλεψη της συγγένειας πρόσδεσης. Η μοριακή πρόσδεση πραγματοποιείται συνήθως μεταξύ ενός μικρού μορίου και ενός μακρομορίου-στόχου. Το μικρό μόριο συχνά αναφέρεται ως ligand-προσδέτης πρωτεΐνης, αλλά υπάρχει αυξανόμενο ενδιαφέρον για τη πρόσδεση πρωτεΐνης - πρωτεΐνης. Το μοντέλο αυτό της μοριακής πρόσδεσης ονομάζεται μοντέλο

κλειδιού-κλειδαριάς, το οποίο προτάθηκε από τον Fischer. Συγκεκριμένα, ο υποδοχέας (πρωτεΐνη) είναι η κλειδαριά και ο προσδέτης είναι το κλειδί, ο οποίος εφαρμόζει στο ενεργό κέντρο του υποδοχέα.²⁶



Εικόνα 3: Απεικόνιση του μοντέλου κλειδιού-κλειδαριάς.

Μεταγενέστερα, η υπόθεση της επαγωγίμης προσαρμογής (induced fit hypothesis) που πρότεινε ο Koshland, άλλαξε τα δεδομένα επειδή εξοστράκισε το μοντέλο κλειδιού κλειδαριάς. Σε αυτό το μοντέλο θεωρείται ότι η σύνδεση ενός προσδέτη στο ενεργό κέντρο ενός ενζύμου ή μιας πρωτεΐνης οδηγεί στην αλλαγή διαμόρφωσης του κέντρου δράσης ή του προσδέτη ή και των δύο.



Εικόνα 4: Απεικόνιση μοντέλου επαγωγίμης προσαρμογής (induced fit).

Η μοριακή πρόσδεση παρουσιάζει μεγάλη ποικιλία χρήσεων και εφαρμογών στην ανακάλυψη φαρμάκων. Συγκεκριμένα, γίνεται μελέτη δομής-δραστικότητας με αποτέλεσμα να βρεθούν πιθανές ενώσεις-οδηγοί. Αν τα αποτελέσματα δείξουν καλές τιμές ενέργειας πρόσδεσης, τότε υποβάλλονται σε βιολογικά πειράματα για να ακολουθήσει η σύνθεσή τους.

Πολλές φορές είναι ανάγκη να κάνουμε σύγκριση αποτελεσμάτων από διάφορα προγράμματα μοριακής πρόσδεσης για να αποφανθούμε ποιος αλγόριθμος δίνει συμβατά αποτελέσματα με τα πειραματικά.²⁷



Σχήμα 18: Ένα τυπικό διάγραμμα εργασίας για μοριακή πρόσδεση.²⁹

1.9 ΛΟΓΙΣΜΙΚΟ AUTODOCK

Υπάρχουν πολλά λογισμικά τα οποία χρησιμοποιούνται για υπολογισμούς μοριακής πρόσδεσης. Στη συγκεκριμένη μεταπτυχιακή εργασία έγινε χρήση ενός από αυτά, του AutoDock. Βασικά πλεονεκτήματά του είναι η δωρεάν πρόσβαση (free access) και η ευκολία στη χρήση. Το πακέτο μοριακής

πρόσδεσης AutoDock αναπτύχθηκε στο Ινστιτούτο Έρευνας Scripps των ΗΠΑ.²⁸⁻³⁰

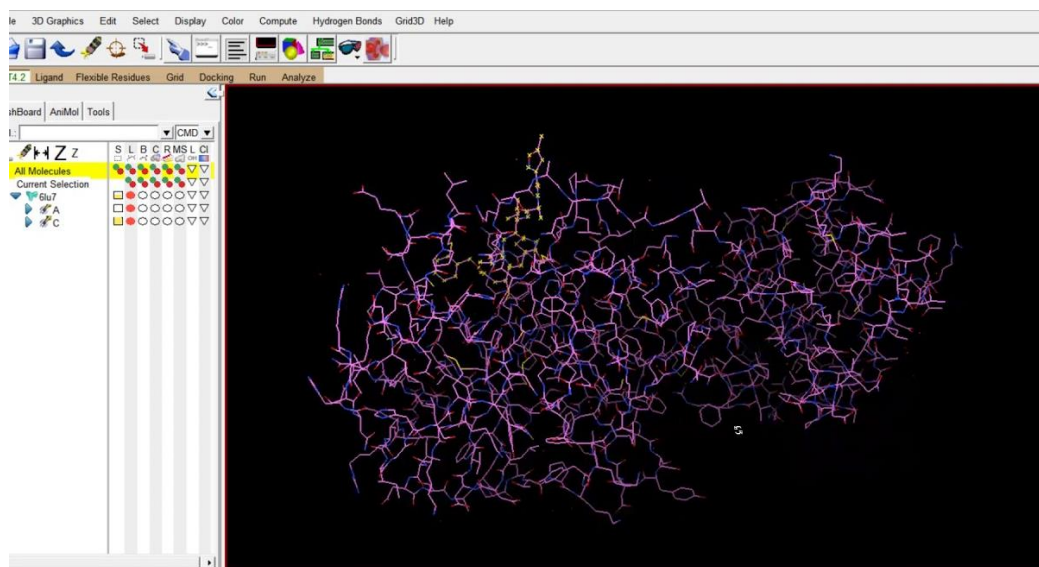
Το Autodock είναι ένα λογισμικό που αναπτύχθηκε τα τελευταία χρόνια, το οποίο συνδυάζει μεγάλη τεχνική λεπτομέρεια και εύχρηστο γραφικό περιβάλλον. Το AutoDock 4 επιτρέπει πλήρως ευέλικτη μοντελοποίηση συγκεκριμένων τμημάτων της πρωτεΐνης, με παρόμοιο τρόπο, όπως ο προσδέτης. Ο χρήστης επιλέγει να χρησιμοποιήσει συγκεκριμένες πλευρικές αλυσίδες της πρωτεΐνης, ως ευέλικτες. Με άλλα λόγια, επιλέγει ποιο τμήμα της πρωτεΐνης θα έχει ευελιξία και εκεί θα διεξαχθεί ο υπολογισμός. Το Autodock έχει εφαρμοστεί με εξαιρετική επιτυχία στην πρόβλεψη διαμορφώσεων συμπλεγμάτων ενζύμου-αναστολέα, συμπλεγμάτων πεπτιδίων-αντισωμάτων και ακόμη σε αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνών.³¹

Όσον αφορά το AutoDock4, χρησιμοποιεί το Lamarckian Genetic Algorithm ως κύριο αλγόριθμο αναζήτησης. Η «Λαμαρκιανή-Lamarckian» διάσταση είναι ένα πρόσθετο χαρακτηριστικό στον συγκεκριμένο αλγόριθμο αναζήτησης, που επιτρέπει στις μεμονωμένες διαμορφώσεις να αναζητούν από μόνες τους τον διαμορφωτικό χώρο τους, να βρίσκουν τα τοπικά ελάχιστα και στη συνέχεια να μεταδίδουν την πληροφορία στην επόμενη γενιά. Στην έκδοση AutoDock 4 του προγράμματος, είναι διαθέσιμοι και άλλοι αλγόριθμοι αναζήτησης, όπως ο γενετικός αλγόριθμος και ο αλγόριθμος προσομοιωμένης ανόπτησης.

Έχοντας εκτελέσει μια σειρά από προσδέσεις, είναι απαραίτητο να αναλυθούν τα αποτελέσματα. Στο συγκεκριμένο πρόγραμμα γίνεται αναζήτηση διαφόρων διαμορφώσεων και προσανατολισμών του προσδέτη στο ενεργό κέντρο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να παραχθούν διάφορες πόζες. Μετά τη μοριακή πρόσδεση βαθμονομούνται και ανιχνεύονται οι πιο ευνοϊκές διαμορφώσεις του προσδέτη με τον υποδοχέα που προέκυψαν κατά τη διάρκεια των υπολογισμών.

Η πιο ευνοϊκή διαμόρφωση χαρακτηρίζεται από διαμοριακή ενέργεια (intramolecular energy), εσωτερική ενέργεια (internal energy) και ενέργεια στρέψης (torsional energy). Οι δύο πρώτες δίνουν την ενέργεια σύνδεσης (docking energy), ενώ η πρώτη και η τρίτη δίνουν την ενέργεια πρόσδεσης (binding energy). Το AutoDock διασπά επίσης αυτή την ενέργεια σε ενέργεια van de Walls και ηλεκτροστατική ενέργεια.²⁸

$\Delta G_{\text{binding}} = \Delta G_{\text{vdW}} + \Delta G_{\text{elec}} + \Delta G_{\text{hbond}} + \Delta G_{\text{desolv}} + \Delta G_{\text{tors}}$ (Όροι αξιολόγησης αποτελεσμάτων από το Autodock)



Εικόνα 5: Γραφικό περιβάλλον του Autodock.

1.10 Συναρτησιακή Θεωρία Πυκνότητας (DFT-Density Functional Theory)

Συνήθως οι κβαντομηχανικοί υπολογισμοί μορίων βασίζονται στον υπολογισμό της μοριακής κυματοσυνάρτησης, ενώ η DFT απαιτεί τον υπολογισμό της συνολικής ηλεκτρονιακής πυκνότητας και τεχνικά δεν απαιτεί τον υπολογισμό κυματοσυνάρτησης. Στην πράξη, η DFT χρησιμοποιεί κυματοσυναρτήσεις για τον υπολογισμό ενός μέρους της ενέργειας και την ηλεκτρονική πυκνότητα για τον υπολογισμό ενός άλλου μέρους της ενέργειας. Η ταχύτητά του μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον υπολογισμό πάρα πολλών ενεργειών με την εξέλιξη του χρόνου. Πλήρως κλασικές προσομοιώσεις Μοριακής Δυναμικής βασισμένες σε εμπειρικά πεδία δύναμης είχαν τραβήξει το ενδιαφέρον στις βιομοριακές επιστήμες. Οι παραλλαγές που βασίζονται σε DFT παρουσιάζουν το πρόσθετο όφελος υψηλότερης προγνωστικής ισχύος

πέρα από την εγκυρότητα ενός πεδίου δυνάμεων και ανοίγουν τη δυνατότητα μελέτης χημικών αντιδράσεων από τις πρώτες αρχές. Οι προσομοιώσεις Μοριακής Δυναμικής με βάση τη DFT επιτρέπουν μια πιο ρεαλιστική περιγραφή των μοριακών συστημάτων και των χημικών διεργασιών, με πλήρη περιγραφή δυναμικών συνόλων δεδομένης θερμοκρασίας, μιμούμενοι περισσότερο έτσι τις πραγματικές πειραματικές συνθήκες.^{32,33}

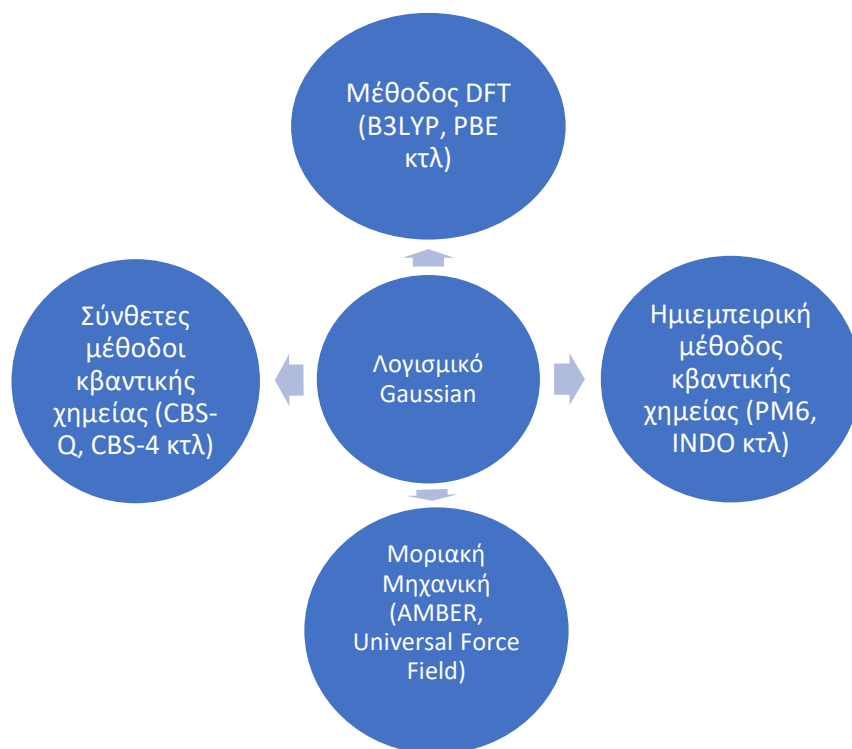
Σε σχέση με άλλα προγράμματα που χρησιμοποιούνται για διαμορφωτική ανάλυση, όπως είναι το maestro της Schrodinger, η DFT παρουσιάζει κάποια πλεονεκτήματα. Συγκεκριμένα, δίνει μαθηματικώς ακριβείς υπολογισμούς, τη δυνατότητα υπολογισμού μεταβατικών και διεγερμένων καταστάσεων καθώς και τον υπολογισμό των ηλεκτρονιακών ιδιοτήτων. Σε αντίθεση με τη μοριακή μηχανική η DFT χρησιμοποιείται για μικρά συστήματα (μερικές δεκάδες ατόμων). Το χαμηλό υπολογιστικό κόστος της DFT έχει οδηγήσει σε μια σταθερή αύξηση της χρήσης της συναρτησιακής θεωρίας της πυκνότητας και για μεγαλύτερα μόρια.

Με τα χρόνια η DFT έχει χρησιμοποιηθεί σε πολλές εφαρμογές. Αυτή τη στιγμή η DFT χρησιμοποιείται για να λύσει προβλήματα που αφορούν τη μοριακή και ατομική φυσική, όπως για παράδειγμα η μελέτη φασμάτων δόνησης, και η μελέτη χημικών αντιδράσεων, η δομή των βιομορίων καθώς και η μελέτη των ενεργών κέντρων στους καταλύτες.

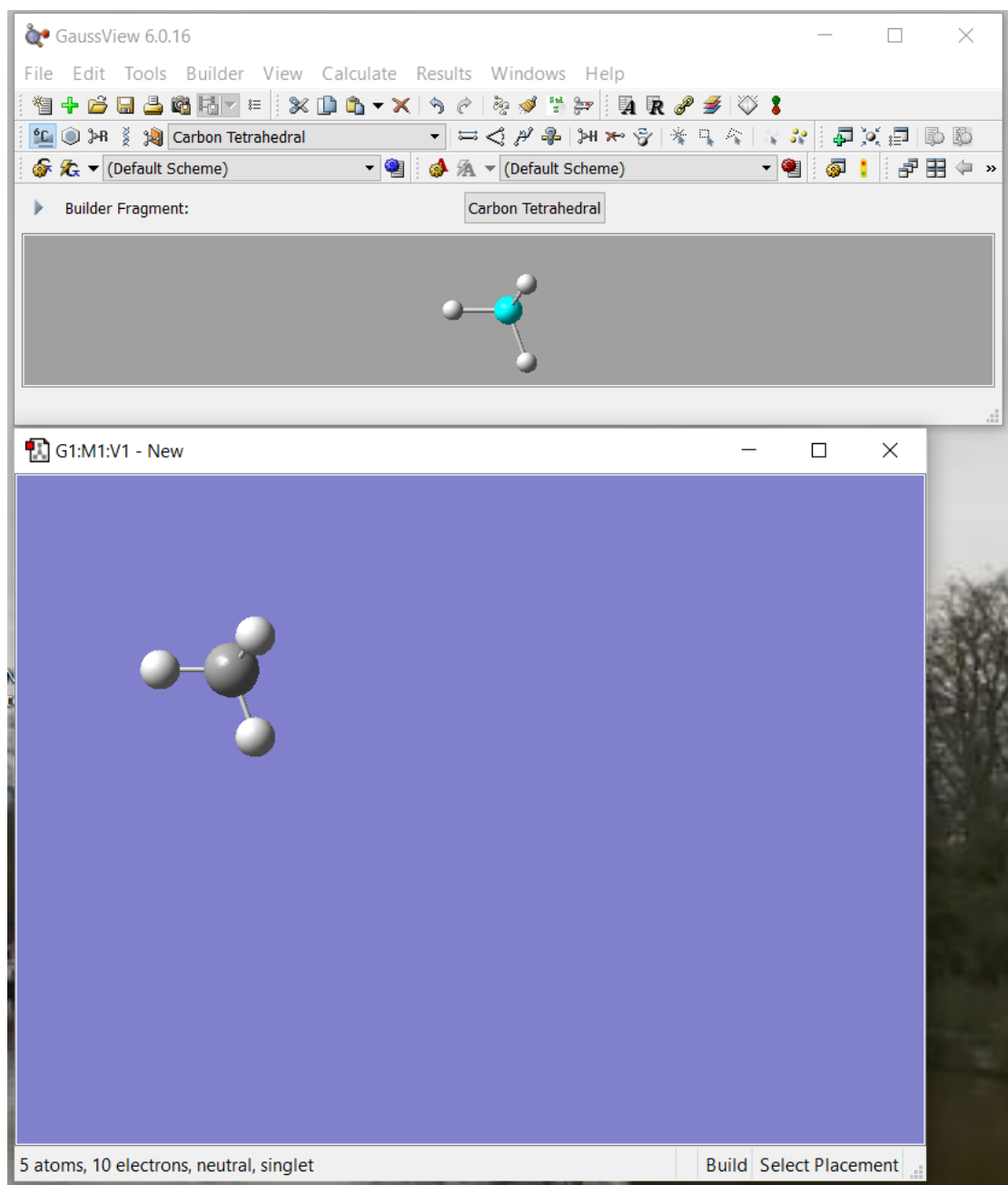
1.11 ΛΟΓΙΣΜΙΚΟ GAUSSIAN

Το Gaussian είναι ένα πρόγραμμα κβαντομηχανικών υπολογισμών που έχει αναπτυχθεί και αναθεωρηθεί περισσότερο από 40 χρόνια. Παράλληλα έχει υπάρξει και ένα άλλο λογισμικό που ονομάζεται GaussView, που είναι πιο φιλικό για τον χρήστη, χρησιμοποιείται εναλλακτικά για τη ρύθμιση και τον έλεγχο των υπολογισμών καθώς και για οπτικοποίηση των αποτελεσμάτων. Το GaussView 6 είναι το πιο προηγμένο και ισχυρό γραφικό περιβάλλον που διατίθεται για το Gaussian 16. Με το GaussView, δίνεται η δυνατότητα στον χρήστη, να σχεδιάσει και να εισάγει μοριακές δομές, να τις επεξεργαστεί καθώς επίσης να ξεκινήσει, να παρακολουθήσει και να ελέγξει τους υπολογισμούς του Gaussian και να δει τα προβλεπόμενα αποτελέσματα. Το GaussView 6 περιλαμβάνει πολλά νέα χαρακτηριστικά που έχουν σχεδιαστεί

για να διεκπεραιωθεί η υπολογιστική εργασία εύκολα και γρήγορα. Συγκεκριμένα, εκτός από *ab initio* υπολογισμούς που χρησιμοποιήθηκαν στη παρούσα διπλωματική εργασία, το Gaussian μπορεί να χρησιμοποιηθεί για υπολογισμούς μοριακής μηχανικής. Ένα παράδειγμα είναι η AMBER (**Assisted Model Building with Energy Refinement**). Η AMBER είναι μια οικογένεια πεδίων δυνάμεων που χρησιμοποιείται για μοριακή δυναμική μεγάλων βιομορίων και αναπτύχθηκε από την ερευνητική ομάδα του Peter Kollman στο Πανεπιστήμιο της Καλιφόρνια. Το λογισμικό της AMBER είναι γραμμένο στις γλώσσες προγραμματισμού Fortran 90 και C. Εκτός αυτών, μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για ημι-εμπειρικούς υπολογισμούς όπως η PM6 (**Parametric Method 6**). Όλες οι κβαντικές μέθοδοι βασίζονται σε μία μέθοδο προσεγγιστικής λύσης της εξίσωσης Schrodinger για την κάθε υπό μελέτη ένωση. Οι σύγχρονες ημιεμπειρικές μέθοδοι παρά τη μειωμένη ακρίβεια των αποτελεσμάτων τους λόγω των προσεγγίσεων-παραμετροποιήσεων που πραγματοποιούνται, δίνουν τη δυνατότητα μελέτης, βελτιστοποίησης και εύρεσης της δομής και γεωμετρίας πολύ μεγάλων μορίων. Επιπρόσθετα, μπορούν να χρησιμοποιηθούν συνδυαστικά με άλλες άλλες μεθοδολογίες πιο ακριβείς ή λιγότερο.



Σχήμα 19: Γενικές εφαρμογές του Gaussian.



Εικόνα 6: Γραφικό περιβάλλον του προγράμματος Gaussian.

1.12 ΠΡΟΒΛΕΨΗ ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΤΩΝ ΜΟΡΙΩΝ

Η ανάπτυξη νέων φαρμάκων έχει γίνει όλο και περισσότερο απαιτητική, δαπανηρή και επικίνδυνη προσπάθεια, με μικρό ποσοστό επιτυχίας. Η συντριπτική πλειοψηφία των δυνάμει φαρμάκων που αξιολογήθηκαν σε κλινικές δοκιμές δεν φτάνουν στην αγορά είτε λόγω έλλειψης αποτελεσματικότητας είτε λόγω ανεπιθύμητων παρενεργειών. Στα αρχικά στάδια ανακάλυψης φαρμάκων πολλά προγράμματα, επικεντρώνονται στον εντοπισμό μορίων που προσδένονται με έναν στόχο ενδιαφέροντος. Ενώ η ισχύς είναι ο παράγοντας οδήγησης σε αυτά τα πρώιμα στάδια, τελικά οι φαρμακοκινητικές και τοξικές ιδιότητες υπαγορεύουν εάν αυτό θα προχωρήσει σε αποτελεσματική θεραπεία. Το φαρμακοκινητικό προφίλ μιας ένωσης καθορίζει την απορρόφηση, την κατανομή, το μεταβολισμό και την απέκκρισή του (Absorption-Diffusion-Metabolism-Excretion-ADME).³⁴

Υπάρχουν πολλές *in silico* μέθοδοι για τον υπολογισμό των φαρμακοκινητικών και τοξικών ιδιοτήτων των ενώσεων με το καθένα να έχει τα δικά του πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα. Τα πιο γνωστά είναι το SwissADME, το pro-TOX και το pkCSM.

SwissADME

Το SwissADME είναι ένα ελεύθερο πρόγραμμα, προσβάσιμο μέσα από την ιστοσελίδα <http://www.swissadme.ch/index.php> και είναι αρκετά φιλικό προς το χρήστη, με εύκολη ανάλυση των αποτελεσμάτων. Κάποια από τα πλεονεκτήματα αυτού του προγράμματος είναι η δυνατότητα να επεξεργαστεί κάποιος και να αποθηκεύσει τα αποτελέσματα για κάθε μόριο ξεχωριστά. Επίσης ένα βασικό πλεονέκτημα σε σχέση με άλλα προγράμματα είναι ότι δίνει τη δυνατότητα στον χρήστη να βρει κάποιους πιθανούς στόχους που μπορεί να προσδεθεί το μόριο που μελετάται κάθε φορά.³⁵

Εκτός από όλα αυτά υπάρχει και μια ξεχωριστή κατηγορία που λέγεται «Βραστό Αυγό» (Boiled Egg) που χρησιμοποιείται για την παθητική γαστρεντερική απορρόφηση και για να προβλεφθεί εάν περνάει η ένωση τον

αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Όπως παριστάνεται και κάτω στην εικόνα αυτή η κατηγορία περιλαμβάνει τον κρόκο και το ασπράδι, εξού και το όνομα. Ο κρόκος δηλώνει την υψηλή πιθανότητα διαπερατότητας του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, ενώ το ασπράδι την υψηλή πιθανότητα για γαστρεντερική απορρόφηση (**Εικόνα 9**). Η εξωτερική γκρίζα περιοχή δηλώνει μόρια τα οποία παρουσιάζουν μικρές πιθανότητες για γαστρεντερική απορρόφηση και να περάσουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Τέλος, οι δημιουργοί του προγράμματος επωφελήθηκαν από αυτό και δημιούργησαν ένα γραφικό αποτέλεσμα για να προβλέψουν αν μπορούν να είναι υποστρώματα P-gr, που αποτελεί το σημαντικότερο ενεργό μηχανισμό εκροής που εμπλέκεται σε αυτά τα βιολογικά εμπόδια. Έτσι, ο χρήστης αποκτά στο ίδιο γράφημα αποτελέσματα που αφορούν τη παθητική απορρόφηση του μορίου που εξετάζεται (μέσα/έξω από το ασπράδι), την πρόσβαση στον εγκέφαλο (μέσα/έξω από τον κρόκο) καθώς και για ενεργή εκροή από το Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ) με χρωματική κωδικοποίηση: μπλε κουκκίδες για υποστρώματα P-gr (PGP+) και κόκκινες κουκκίδες για μη-υποστρώματα P-gr (PGP-).^{36,37}

Μοριακός Σκίτσογράφος: Ζωγραφική, επεξεργασία ή άνοιγμα μιας ένωσης από ένα αρχείο

Μετατροπή της ένωσης που έχει σχεδιασθεί σε SMILES

Enter a list of SMILES here:

Λίστα SMILES

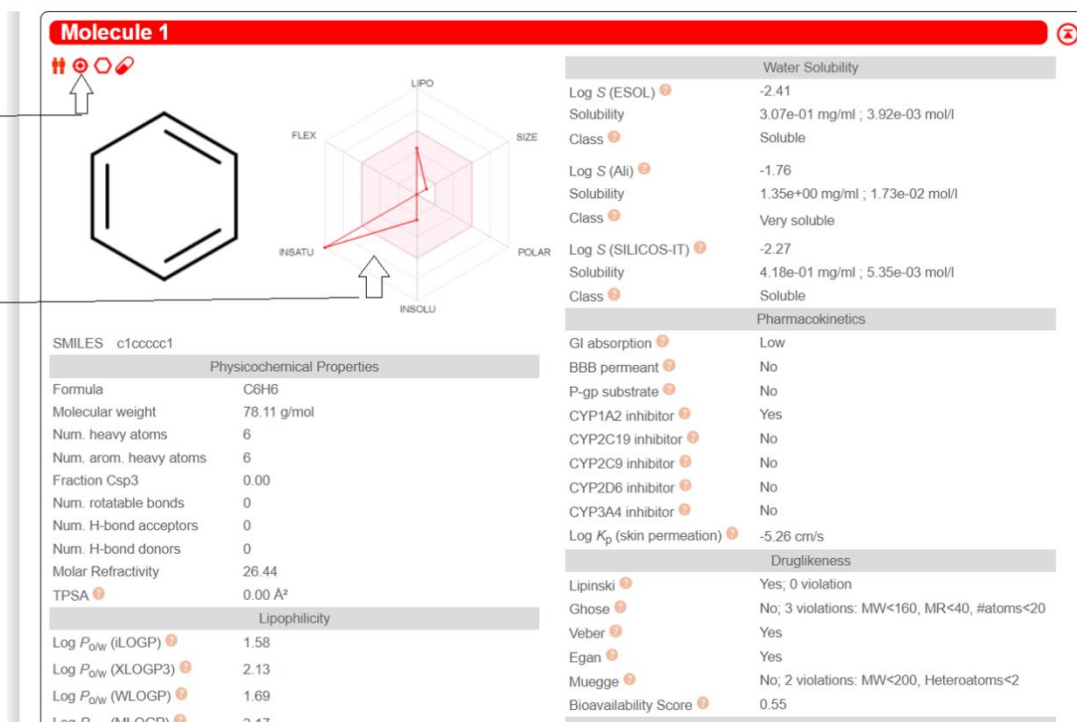
Τρέξιμο υπολογισμών

Run!

Εικόνα 7: Σελίδα υποβολής της ένωσης στο SwissADME.

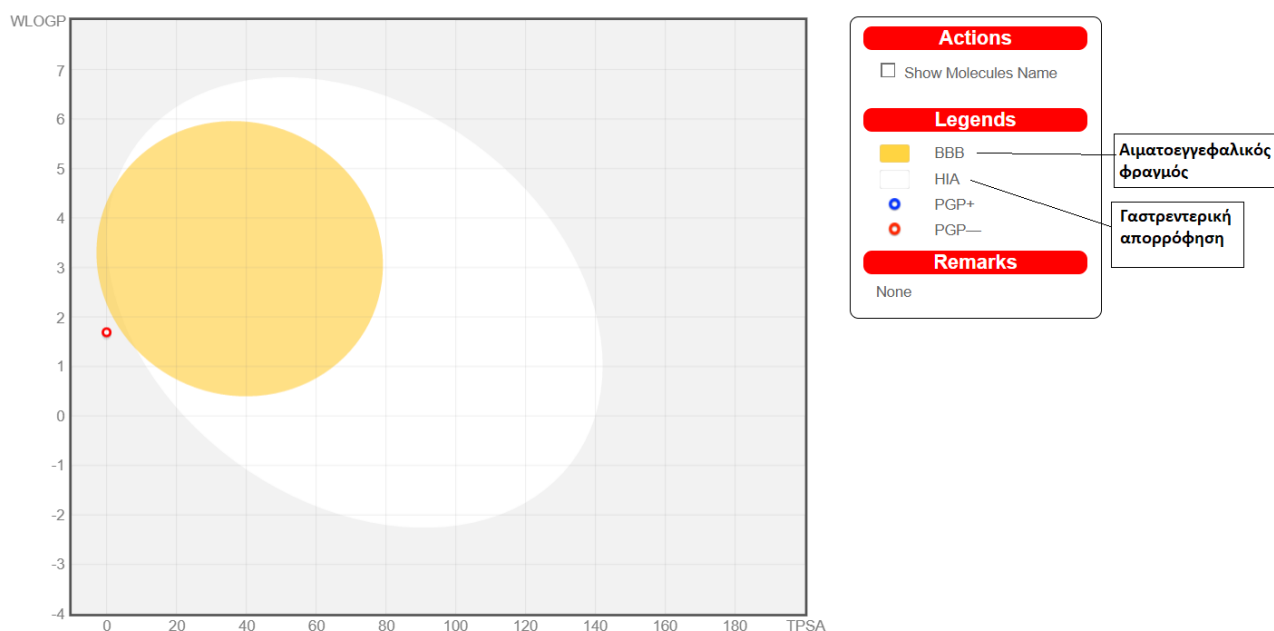
Υποβολή του μορίου σε άλλες διαδικασίες μοριακής μοντελοποίησης για την έρευνα πιθανού στόχου

Ραντάρ Βιοδιαθεσιμότητας



Πήγαινε στο πάνω μέρος της σελίδας

Εικόνα 8: Οι τιμές των υπολογιζόμενων παραμέτρων για το βενζόλιο, ομαδοποιημένες σε κατηγορίες



Εικόνα 9: Το βραστό αυγό

ΑΙΜΑΤΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟΣ ΦΡΑΓΜΟΣ

Ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός είναι μία από τις σημαντικότερες μεμβράνες, καθώς περικλείει τα τριχοειδή αγγεία του κυκλοφορικού συστήματος στον εγκέφαλο και τον προστατεύει από τη παθητική διάχυση ανεπιθύμητων πολικών ενώσεων από την κυκλοφορία του αίματος. Αποτελεί μια εξαιρετικά προφυλακτική μεμβράνη, αλλά ορισμένες φορές δυσκολεύει τη μεταφορά των απαραίτητων φαρμάκων στο κεντρικό νευρικό σύστημα.

pkCSM³⁴

Εδώ χρησιμοποιείται η έννοια της δομής υπογραφής με βάση το γράφημα (graph-based signatures) για μελέτη και πρόβλεψη εύρους ADMET ιδιοτήτων. Αυτές οι υπογραφές έχουν δείχθει να είναι ένας ισχυρός και κλιμακούμενος τρόπος για να παρουσιάσουν τις φυσικοχημικές ιδιότητες των μορίων και έχουν χρησιμοποιηθεί για διάφορους σκοπούς, όπως για παράδειγμα στις

λειτουργίες των διαμορφώσεων μιας πρωτεΐνης. Στο συγκεκριμένο πρόγραμμα χρησιμοποιείται ο αλγόριθμος Cutoff Scanning³⁸ για να αναπαραστήσει τη δομή των μορίων και να προβλέψει με αυτό τον τρόπο τις φυσικοχημικές και τοξικολογικές ιδιότητες τους, δομώντας με αυτό τον τρόπο 30 προβλέψεις που χωρίζονται σε 5 κύριες τάξεις: Απορρόφηση (7 προβλέψεις), Κατανομή (4 προβλέψεις), Μεταβολισμός (7 προβλέψεις), Απέκκριση (2 προβλέψεις) και Τοξικότητα (10 προβλέψεις).

ProTOX-II³⁹

Μια έγκαιρη εκτίμηση των τοξικών ιδιοτήτων για μια χημική ουσία δεν είναι σημαντική μόνο στον τομέα της ανακάλυψης νέων φαρμάκων, αλλά και για τα ρυθμιστικά όργανα λήψης αποφάσεων όπως π.χ. Ευρωπαϊκός Οργανισμός Φαρμάκων (European Medicines Agency-EMA), Food and Drug Administration (FDA) των ΗΠΑ και οργανισμούς προστασίας της περιβαλλοντικής υγείας, όπως ο Οργανισμός Προστασίας Περιβάλλοντος των ΗΠΑ, (Environmental Protection Agency-EPA) και Ευρωπαϊκός Οργανισμός Περιβάλλοντος (European Environment Agency-EEA) .

Με τον συνεχώς αυξανόμενο αριθμό χημικών ουσιών και τον εκτεταμένο αριθμό των συνδυασμών τους ως μείγματα, η έκθεση μας στα χημικά αυξάνεται επίσης. Η αλληλεπίδραση με τα χημικά είναι αναπόσπαστο μέρος της καθημερινής μας ζωής καθώς ζούμε σε ένα ιδιαίτερα ενεργό χημικό περιβάλλον που περιλαμβάνει το φαγητό που τρώμε, τα φάρμακα που παίρνουμε, τα καλλυντικά που χρησιμοποιούμε, τον αέρα που αναπνέουμε". Ωστόσο, αυτή η έκθεση στα χημικά μπορεί να είναι αναλόγως είτε επιζήμια είτε αποδοτική, ανάλογα και με τη διάρκεια παραμονής μας στην έκθεση αυτή. Ως εκ τούτου, είναι σημαντικό να αξιολογηθεί η τοξικότητα των χημικών ενώσεων.

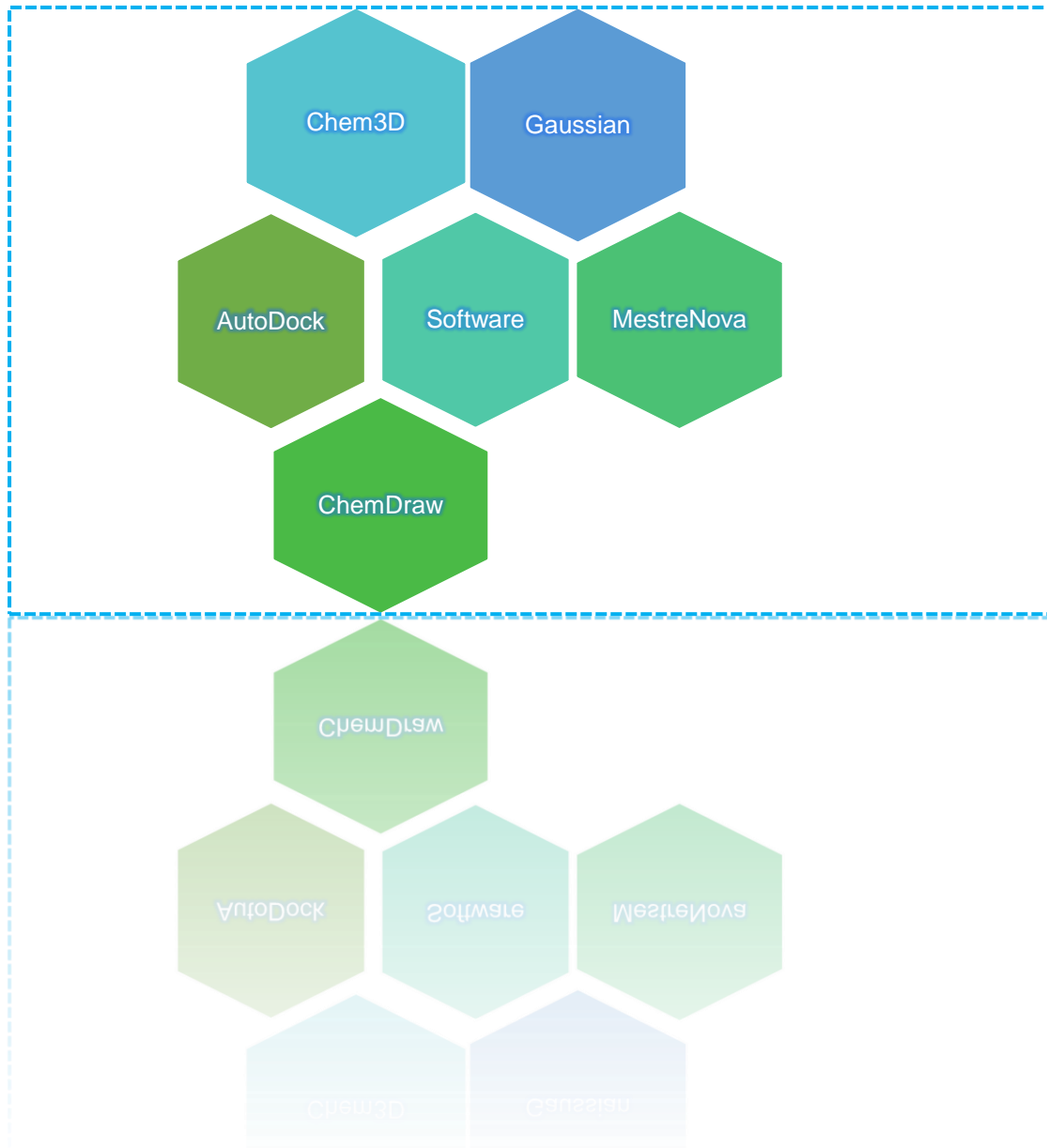
Μια πλατφόρμα που χρησιμοποιείται για τη μέτρηση της τοξικότητας των χημικών ενώσεων είναι η proTOX-II. Παρέχει πολλά πλεονεκτήματα, όπως ότι παρέχει χημικές και μοριακές γνώσεις στόχου. Επίσης, η πρόβλεψη τοξικότητας ταξινομείται σε διάφορα επίπεδα, όπως είναι η τοξικότητα του στόματος (oral toxicity), τοξικότητα των οργάνων (hepatotoxicity) τοξικολογικά τελικά σημεία (όπως μεταλλαξιogenese, καρκινοτοξικότητα, κυτταροτοξικότητα και ανοσοτοξικότητα), τοξικολογικές οδοί (Adverse outcome pathways-AOP)

και στόχοι τοξικότητας παρέχοντας έτσι πληροφορίες για τον πιθανό μοριακό μηχανισμό σε τέτοια τοξική απόκριση.

Κάποιες από τις τοξικολογικές παραμέτρους που υπολογίζει είναι:

- *Ηπατοτοξικότητα*: Η ηπατοτοξικότητα που προκαλείται από τα φάρμακα είναι σημαντική αιτία οξείας ηπατικής ανεπάρκειας και μία από τις κύριες αιτίες για την απόσυρση των φαρμάκων στην αγορά. Η ηπατική βλάβη που προκαλείται από τα φάρμακα μπορεί να είναι είτε μια χρόνια διεργασία είτε ένα σπάνιο γεγονός. Οπότε η πρόβλεψη για την οξεία ηπατική ανεπάρκεια είναι σημαντική και μία από τις κύριες ανησυχίες για την ασφάλεια των αναπτυσσόμενων φαρμάκων.
- *Καρκινογένεση*: Οι χημικές ουσίες που μπορούν να προκαλέσουν όγκους ή να αυξήσουν την εμφάνιση των όγκων αναφέρονται ως καρκινογόνες. Τα δεδομένα για τη πρόβλεψη της καρκινογένεσης συλλέγονται από τη Βάση Δεδομένων Καρκινογένεσης (Carcinogenic Potency Database-CPDB).
- *Μεταλλαξιγένεση*: Οι χημικές ουσίες που προκαλούν μη φυσιολογικές γενετικές μεταλλάξεις, όπως οι αλλαγές στο DNA ενός κυττάρου, αναφέρονται ως μεταλλαξιγόνα. Τέτοιες αλλαγές μπορούν να προκαλέσουν αλλαγές στα κύτταρα προκαλώντας διάφορες σοβαρές ασθένειες όπως ο καρκίνος.

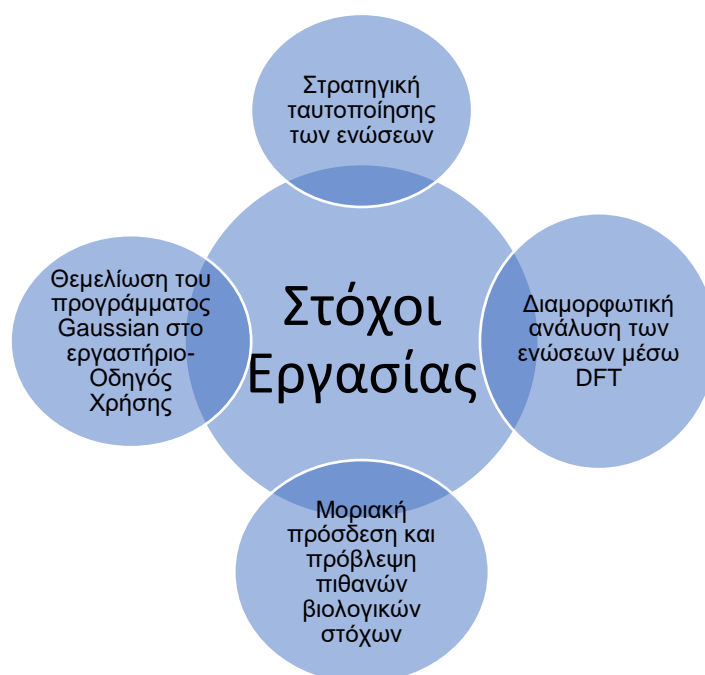
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 : ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

2.1 Σκοπός ερευνητικής εργασίας

Στη συγκεκριμένη εργασία μελετήθηκε η ταυτοποίηση και διαμορφωτική ανάλυση της δομής ορισμένων θειοσεμικαρβαζονών και θειοκαρβουδραζονών μέσω της χρήσης της φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR). Λόγω της πολυπλοκότητας της δομής τους εφαρμόστηκε στρατηγική ταυτοποίησης η οποία συνδύαζε τις πληροφορίες που μπορούσαν να ληφθούν από τα ομοπυρηνικά και ετεροπυρηνικά φάσματα μίας και δύο διαστάσεων NMR. Ακολούθως έγινε διαμορφωτική ανάλυση των ενώσεων αυτών μέσω του πειράματος 2D NOESY καθώς και μέσω DFT. Τέλος, εκτελέστηκαν *in silico* πειράματα μοριακής πρόσδεσης (molecular docking), ώστε να βρεθούν κατάλληλοι βιολογικοί στόχοι των ενώσεων αυτών για περαιτέρω βιολογική και φαρμακολογική μελέτη.



Σχήμα 20: Απεικόνιση Στόχων Μεταπτυχιακής Εργασίας

2.2 Υλικά και Μέθοδοι

2.2.1 Φασματοσκοπική μελέτη των ενώσεων

Αρχικό βήμα αποτέλεσε η εφαρμογή φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR) και η θεωρητική στρατηγική ταυτοποίησης της δομής. Οι ενώσεις που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία συντέθηκαν στο εργαστήριο της Αναπληρώτρια Καθηγήτριας Σταματίας Βασιλείου. Οι ουσίες αυτές διαλύθηκαν στον κατάλληλο διαλύτη για την λήψη των αντίστοιχων φασμάτων. Συγκεκριμένα, σε αυτή τη μελέτη χρησιμοποιήθηκε διαλύτης διμεθυλοσουλφοξείδιο-d6 (Dimethyl sulfoxide-DMSO-d6). Με την κατάλληλη προετοιμασία των δειγμάτων εφαρμόστηκε στην συνέχεια φασματοσκοπία NMR. Για την εφαρμογή αυτής της μεθόδου χρησιμοποιήθηκε φασματογράφος ισχύος 400MHz (Bruker Avance spectrometer-Bruker Biospin GmbH, Reinsteten, Germany), το οποίο είναι εγκατεστημένο στο Τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Αθηνών. Παρά την πολυπλοκότητα των μορίων, προέκυψαν φάσματα τα οποία ήταν διαχειρίσιμα ως προς την ταυτοποίηση των ατόμων που τα απαρτίζουν. Κατά την διάρκεια των πειραμάτων έγινε λήψη 1D και 2D φασμάτων. Συγκεκριμένα, για όλα τα μόρια ελήφθησαν ετεροπυρηνικά 2D HMBC, 2D HSQC και ομοπυρηνικά 2D NOESY, 2D COSY φάσματα αντίστοιχα. Με βάση τα πειράματα αυτά εφαρμόστηκε η ανάλογη μεθοδολογία και στρατηγική που οδήγησε στην πλήρη ταυτοποίηση της δομής. Η επεξεργασία των φασμάτων καθώς και η ανάλυση τους έγινε μέσω του λογισμικού MestreNova⁴⁰. Με τη βοήθεια αυτού του λογισμικού πραγματοποιήθηκαν βασικές διεργασίες για την ανάλυση των φασμάτων όπως η εύρεση της ακριβούς τιμής συντονισμού κάθε ενεργού πυρήνα (peak by peak), διόρθωση βάσης και φάσης και ολοκλήρωσης των κορυφών.

2.2.2 Διαμορφωτική Ανάλυση

Στη συνέχεια, η μελέτη προχώρησε με τη διαμορφωτική ανάλυση και την εύρεση της ακριβούς θέσης των θέσεων πρωτονίων-άνθρακα στον χώρο.

Από τους διάφορους τρόπους υπολογισμού που υπάρχουν, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος DFT. Για την εκτέλεση των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκε το συναρτησιακό (ή συναρτησιοειδές) B3LYP^{41,42} με σύνολο βάσης 6-31+g(d,p)⁴³, για λήψη ικανοποιητικά αναλυτικών αποτελεσμάτων. Ακόμα, όλοι οι υπολογισμοί έγιναν λαμβάνοντας ως διαλύτη το DMSO, για να γίνει άμεσα η σύγκριση με τα αποτελέσματα που λήφθηκαν από το NMR.

2.2.3 Ενέργεια ενεργοποίησης και ενδιάμεσες δομές

Λόγω της εύρεσης πολλών ισομερών των υπό μελέτη ενώσεων, μελετήθηκε η κινητική ισομερίωσης ανάμεσα στα ισομερή, με χρήση υπολογισμών για την εύρεση της διεγερμένης κατάστασης, χρησιμοποιώντας ως ενδιάμεση διαμόρφωση-οδηγό, διαμόρφωση με γωνία ω , ίση με 90 μοίρες. Οι υπολογισμοί έγιναν πάλι με χρήση του συναρτησιακού B3LYP^{41,42} με σύνολο βάσης 6-31+g(d,p)⁴³.

2.2.4 Υπολογισμός φορτίων

Για τη διευκόλυνση στην ταυτοποίηση των μορίων, έγινε υπολογισμός των φορτίων για τις ενώσεις KKI15 και KKI18 και συγκεκριμένα στα πρωτόνια και τους άνθρακες του διπλού δεσμού C=C, για να φανεί πιο από τα δύο πρωτόνια θα είναι πιο αποπροασπισμένο. Οι υπολογισμοί έγιναν με 3 συναρτησιακά (B3LYP, M06-2X, wB97-XD) και 3 βασικά σύνολα (6-311G(d,p), 6-311+G(d,p), και 6-311++G(d,p)). Τα βασικά σύνολα διαφέρουν μόνο στο εάν περιείχουν συναρτήσεις διάχυσης. Δηλαδή, το "++" σημαίνει ότι υπάρχουν συναρτήσεις διάχυσης για όλα τα άτομα, "+" σημαίνει ότι υπάρχουν συναρτήσεις διάχυσης για όλα τα άτομα πλην του υδρογόνου, και απουσία "+" ότι δεν υπάρχουν συναρτήσεις διάχυσης.

2.2.5 Μοριακή Πρόσδεση

Στην παρούσα ερευνητική εργασία, για τους υπολογισμούς μοριακής πρόσδεσης χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό AutoDock και πιο συγκεκριμένα ο Λαμαρκιανός-Γενετικός αλγόριθμος. Οι κρυσταλλικές δομές των πρωτεϊνών, χρησιμοποιήθηκαν από τη διαδικτυακή βάση δεδομένων «Protein Data Bank - PDB» και μεταφορτώθηκαν απευθείας στο πρόγραμμα AutoDock προς μελέτη. Οι ενώσεις που χρησιμοποιήθηκαν ως προσδέτες σχεδιάστηκαν με τη

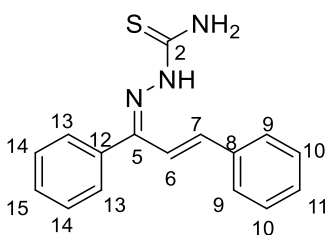
βοήθεια του προγράμματος ChemOffice⁴⁴ και με χρήση του ίδιου προγράμματος έγινε η ελαχιστοποίηση της ενέργειας τους με πεδίο δυνάμεων MM2 (MM2 force field). Στη συνέχεια, για οπτικοποίηση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα Autodock.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 : Παρουσίαση Αποτελεσμάτων

3.1 Παρουσίαση στρατηγικών ταυτοποίησης

Στρατηγική ταυτοποίησης του παραγώγου ΚΚΙ15

Στο **Σχήμα 21**, παρουσιάζεται η χημική δομή της ένωσης ΚΚΙ15, με την ανάλογη αρίθμηση των ατόμων άνθρακα και πρωτονίων αντίστοιχα, όπως αυτή χρησιμοποιήθηκε για την ταυτοποίηση.



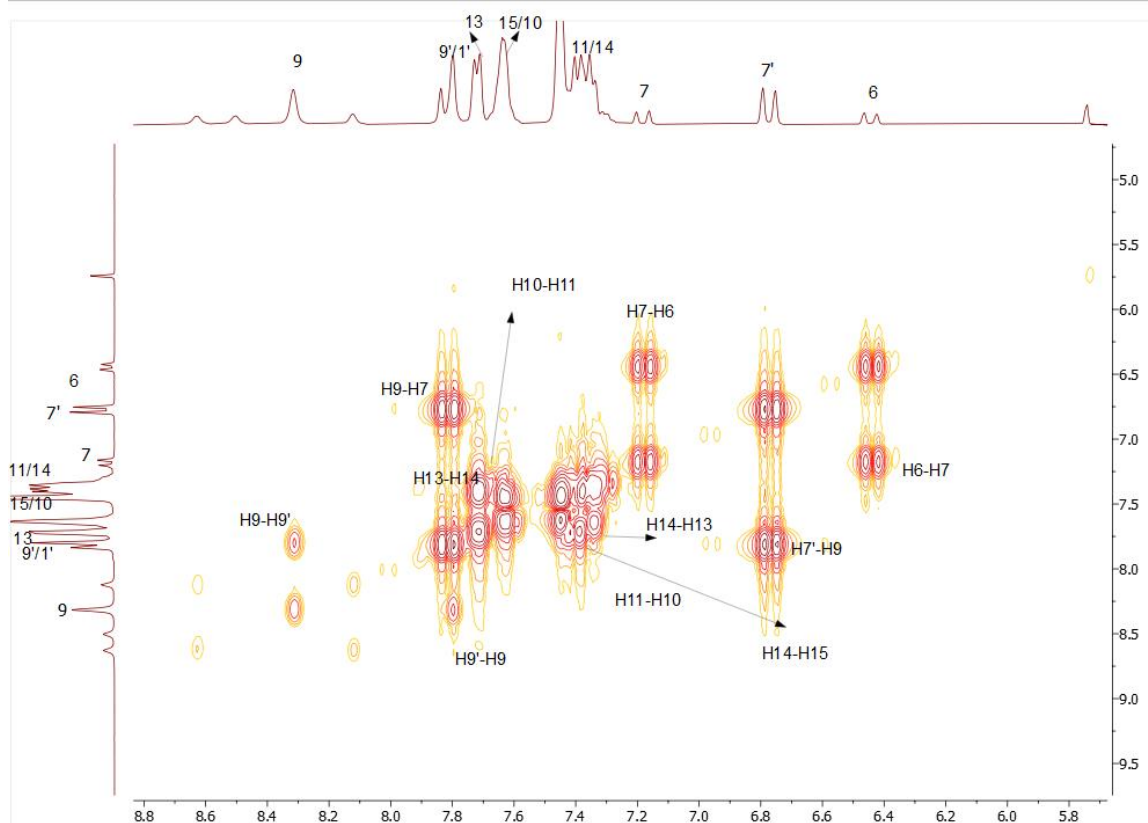
Σχήμα 21: Δομή του μορίου ΚΚΙ15 με αριθμημένους τους άνθρακες του.

Η στρατηγική ταυτοποίησης ξεκίνησε με τις διπλές κορυφές στην περιοχή 6-7 ppm. Παρατηρείται ότι το H6 συντονίζεται σε 6,46 ppm και το H7 συντονίζεται σε 6,79 και 7,20 ppm. Επειδή υπάρχουν δύο σήματα για το H7, αυτό οφείλεται σε δύο διαμορφώσεις του (**Εικόνα 10**). Μέσω του 2D-HSQC, ταυτοποιούνται και οι C6 και C7, γιατί παρουσιάζουν ¹J_{C-H} σύζευξη με τα H6 και H7 αντίστοιχα. Συνοπτικά οι ταυτοποιήσεις των H6, H7, C6 και C7 καταγράφονται ως Βήμα 1^ο.

ΒΗΜΑ 1^ο

H6 (6,46 ppm) $\xrightarrow{\text{2D-HSQC}}$ C6 (137,00 ppm)

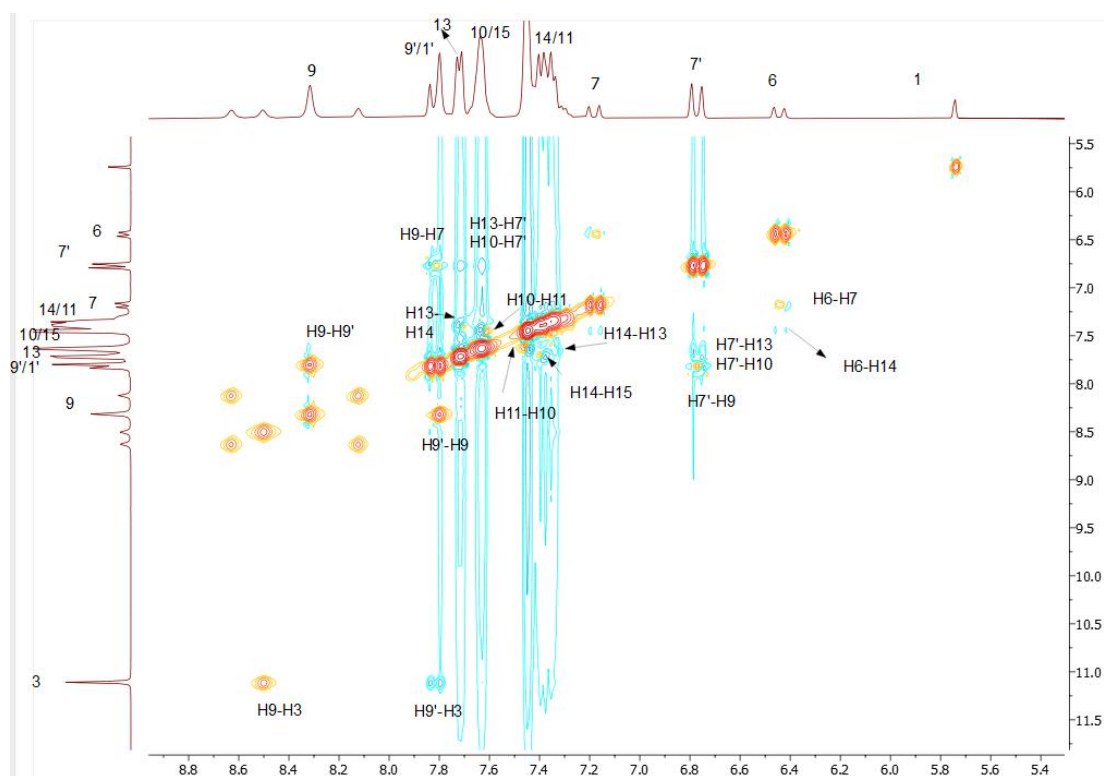
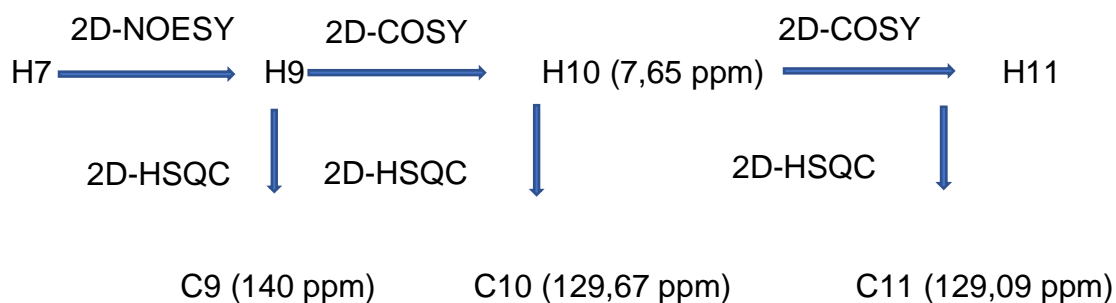
H7 (6.79/7,20 ppm) $\xrightarrow{\text{2D-HSQC}}$ C7 (136,00/128,77 ppm)



Εικόνα 10: Μεγεθυμένο φάσμα 2D-COSY, όπου εμφανίζονται επιλεγμένοι συσχετισμοί H13-H14, H15-H14 και H10-H11

Η στρατηγική ταυτοποίησης συνεχίστηκε λαμβάνοντας περισσότερες πληροφορίες από την ταυτοποίηση του πρωτονίου H7. Κάνοντας χρήση, των φασμάτων 2D COSY και 2D NOESY, ταυτοποιείται το H9 να συντονίζεται σε 7,83 και 8,31 ppm καθώς συσχετίζεται με το H7. Έπειτα ταυτοποιούνται και τα πρωτόνια 10 και 11 μέσω του 2D-COSY (**Εικόνα 11**). Μέσω του 2D-HSQC, ταυτοποιούνται και οι C9, C10 και C11, επειδή παρουσιάζουν $^1J_{C-H}$ σύζευξη με τα H9, H10 και H11 αντίστοιχα. Συνοπτικά οι ταυτοποιήσεις των H9, H10, H11, C9, C10 και C11 καταγράφονται ως Βήμα 2^ο.

BHMA 2°

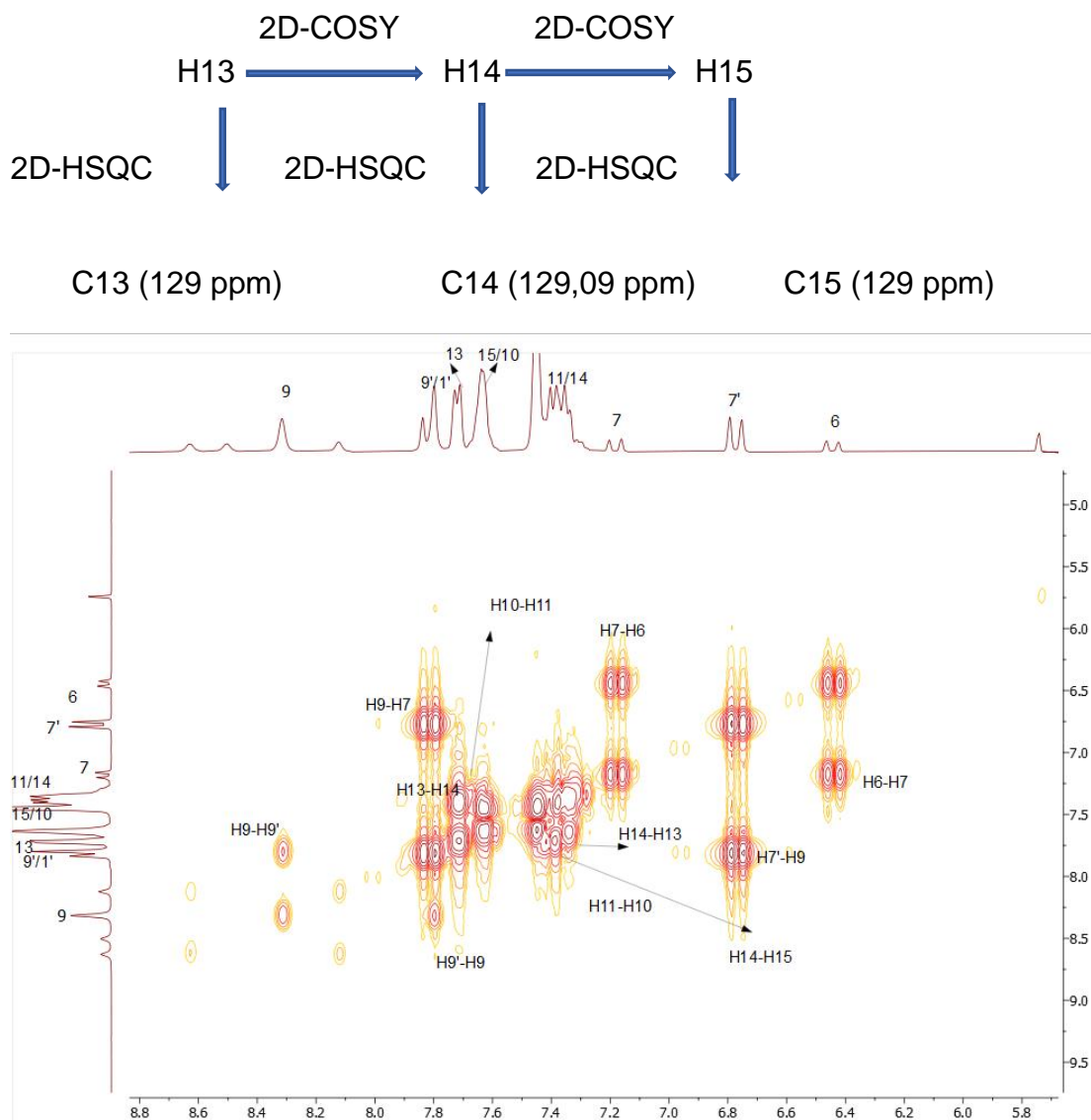


Εικόνα 11:Μεγεθυμένο φάσμα 2D-NOESY, όπου εμφανίζονται οι επιλεγμένοι συσχετισμοί H13-H14, H15-H14, H7'-H9, H6-H14, H1'-H3, H7'-H13 και H10-H7'

Με τη βοήθεια του 2D-COSY, ταυτοποιούνται και τα H13, H14 και H15. Μέσω του 2D-HSQC, ταυτοποιούνται και οι C13, C14 και C15, γιατί παρουσιάζουν $^1J_{C-H}$ σύζευξη με τα H13, H14 και H15 αντίστοιχα (**Εικόνα**

12). Συνοπτικά οι ταυτοποιήσεις των H13, H14, H15, C13, C14 και C15 καταγράφονται ως Βήμα 3°.

ΒΗΜΑ 3°

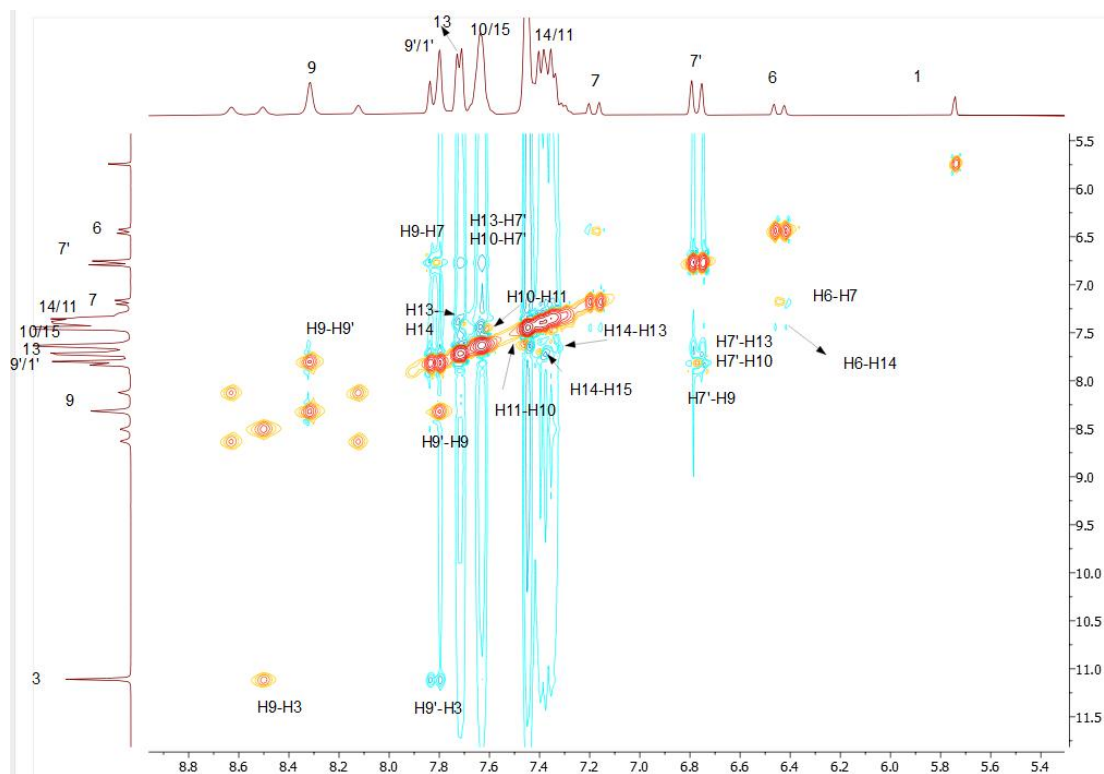


Εικόνα 12: Μεγεθυμένο φάσμα 2D-COSY, όπου εμφανίζονται οι επιλεγμένοι συσχετισμοί H13-H14, H15-H14 και H10-H11

Τα πρωτόνια που είναι απευθείας συνδεδεμένα με τα ηλεκτραρνητικά άζωτα θα είναι τα πιο αποπροασπισμένα. Το NH συντονίζεται σε 11,10 ppm. Μέσω του 2D-NOESY ταυτοποιείται και το NH₂ σε 7,80 ppm (**Εικόνα 13**). Οι ταυτοποιήσεις των NH και NH₂ περιγράφονται συνοπτικά στο Βήμα 4°.

BHMA 4^o

2D-NOESY
NH \longrightarrow NH₂ (7,80 ppm)



Εικόνα 13: Μεγεθυμένο φάσμα 2D-NOESY, όπου παρατηρούνται οι επιλεγμένοι συσχετισμοί H13-H14, H15-H14 και H10-H11

Από το φάσμα δύο διαστάσεων ¹³C-¹H 2D HSQC του εξεταζόμενου μορίου ταυτοποιούνται όλοι οι άνθρακες που απαρτίζουν το μόριο εκτός από τους τεταρτοταγείς και τους άνθρακες των καρβονυλίων. Δηλαδή μέχρις στιγμής έχουν ταυτοποιηθεί οι άνθρακες με αρίθμηση 6, 7, 9, 10, 11, 13, 14 και 15. Οι υπόλοιποι άνθρακες μπορούν να ταυτοποιηθούν μέσω του ¹³C-¹H 2D HMBC. Συγκεκριμένα, παρατηρείται ότι το H7 εμφάνισε ³J_{C-H} συσχετισμό με τον C5, το H6 εμφάνισε ³J_{C-H} συσχετισμό με το C8, το H13 εμφάνισε ²J_{C-H} συσχετισμό με τον C12 και τέλος το NH εμφάνισε ²J_{C-H} με τον C2 (**Εικόνα 14**). Οι ταυτοποιήσεις των C5, C8, C12 και C2 περιγράφονται συνοπτικά στο Βήμα 5^o.

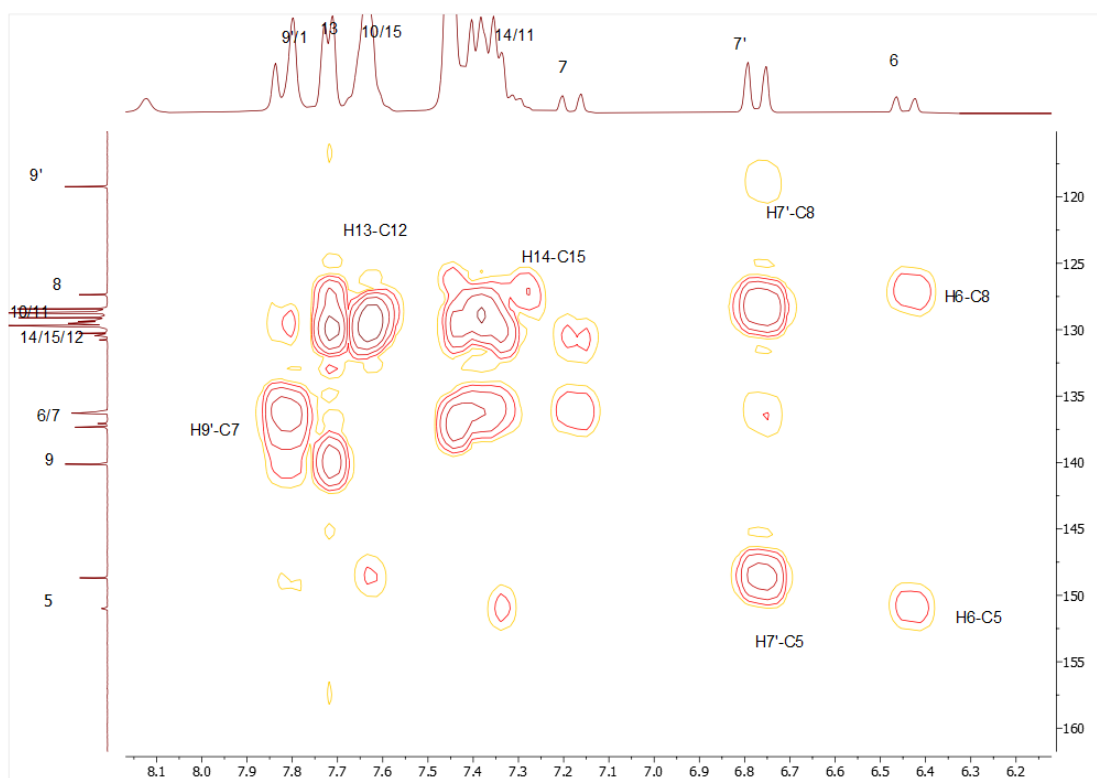
BHMA 5°

2D-HSQC
H6 —————> C5 (149 ppm)

2D-HSQC
H6 —————> C8 (129,52 ppm)

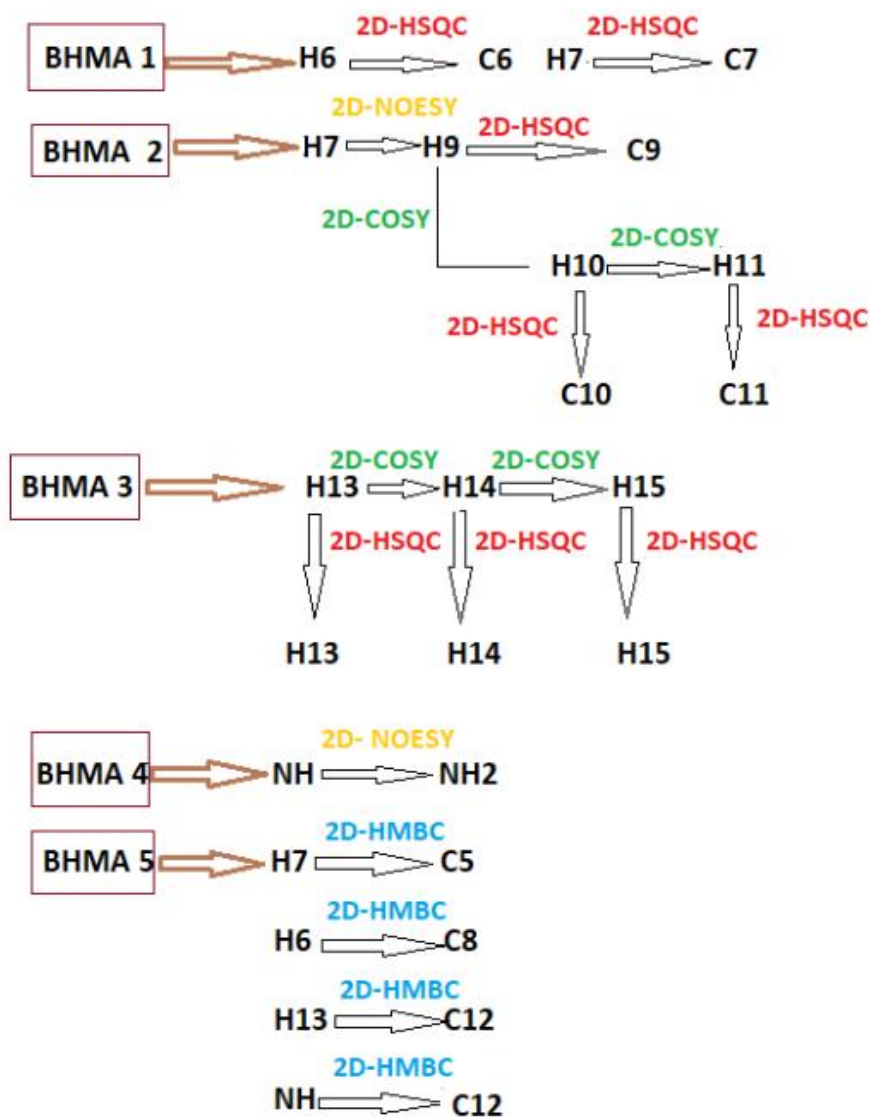
2D-HSQC
H13 —————> C12 (128.43 ppm)

2D-HSQC
NH —————> C2 (179.40 ppm)



Εικόνα 14: Μεγεθυμένο φάσμα 2D-HMBC, όπου εμφανίζονται οι επιλεγμένοι συσχετισμοί H7-C5, H6-C5, H9-C7, H15-C14, H13-C12 και H6-H8.

Πιο κάτω περιγράφεται το ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης του μορίου ΚΚ15 το οποίο περιλαμβάνει τα βήματα 1 μέχρι 5 τα οποία αναλύθηκαν πιο πάνω.



Εικόνα 15: Ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης για την ένωση KK115

Η διαμορφωτική ανάλυση του μορίου KK115 θα συζητηθεί στο επόμενο κεφάλαιο.

Παρακάτω δίνεται πίνακας στον οποίο περιγράφονται οι χημικές μετατοπίσεις όπως προέκυψαν από τον συνδυασμό ομοπυρηνικών και ετεροπυρηνικών φασμάτων. Στο Παράρτημα 1 (Π1.1-Π1.3) παρέχονται επιπρόσθετα φάσματα μίας και δύο διαστάσεων τα οποία χρησίμευσαν για την ταυτοποίηση του μορίου. Συγκεκριμένα εμφανίζονται τα φάσματα ^1H (Π1.1), ^{13}C (Π1.2) και 2D-HSQC(Π1.3).

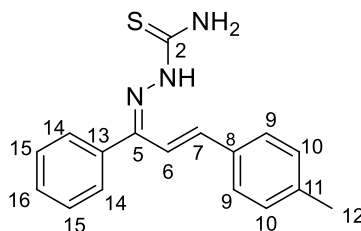
Πίνακας 1: ¹H και ¹³C χημικές μετατοπίσεις της ένωσης ΚΚΙ15 όπως προέκυψαν μέσω συνδυασμού 1D and 2D NMR φασμάτων.

Θέση	¹ H	COSY	NOESY	HSQC	HMBC	¹³ C
1	7,80	H-3	H-3	-	C-2	-
2	-	-	-	-	H-1/H-3	179,40
3	11,10	H-1	H-1	-	C-2/C-5	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	H-13/H-6/H-7	148,68
6	6,46	H-7	H-7	H-6	H-5/H-12/H-7/C-8	137,83
7	6,79/7,20	H-6	H-6/H-9	H-7	C-5/C-6/C-8/C-9	136,22/12 8,74
8	-	-	-	-	H-6/H-7/H-9/H-10	129,52
9	7,83/8,31	H-10	H-7/H-10	H-9	H-10/H-11/C-8/H-7	140,13
10	7,65	H-9/H-11	H-9/H-11	H-10	C-8/H-9/H-11	129,67

11	7,35	H-10	H-10	H-11	H-10/H-9	129,09
12	-	-	-	-	H-13/H-14/H-6/C-5	129,37
13	7,73	H-14	H-14	H-13	H-14/ H-15/ C-12/C-5	128,43
14	7,42	H-13/H-15	H-13/H-15	H-14	H-15/H-13/C-12	129,09
15	7,65	H-14	H-14	H-15	H-14/H-13	129,67

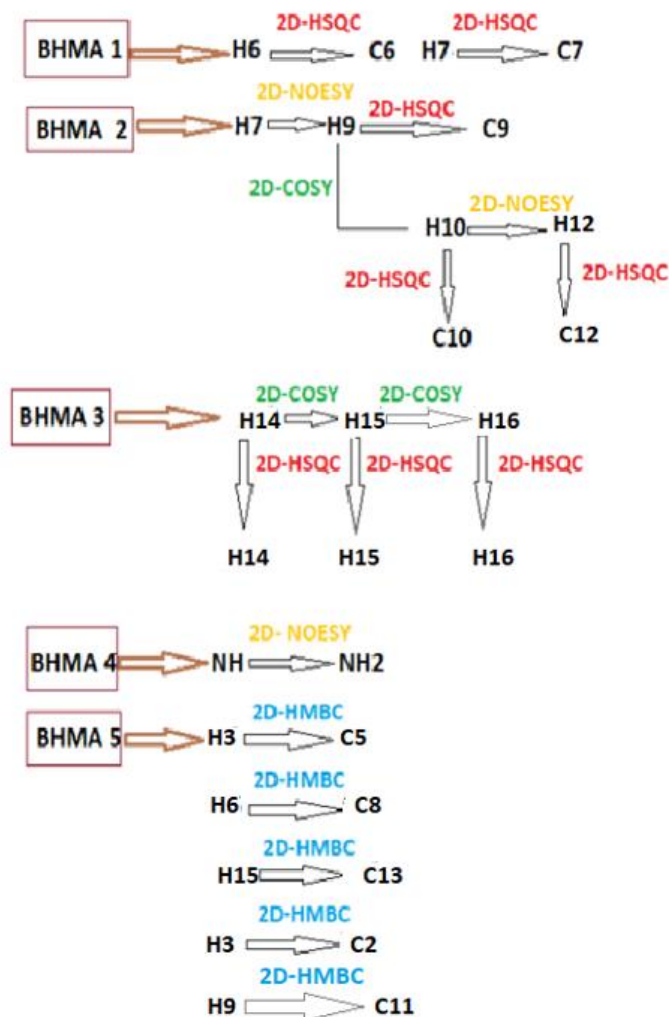
Στρατηγική ταυτοποίησης του παραγώγου ΚΚΙ24

Στο **Σχήμα 22**, παρουσιάζεται η χημική δομή της ένωσης ΚΚΙ24, με την ανάλογη αρίθμηση των ατόμων άνθρακα και πρωτονίων αντίστοιχα, όπως αυτή χρησιμοποιήθηκε για την ταυτοποίηση. Η στρατηγική που ακολουθήθηκε είναι παρόμοια με αυτή της ΚΚΙ15.



Σχήμα 22: Δομή του μορίου ΚΚΙ24 με αριθμημένους τους άνθρακες του.

Πιο κάτω περιγράφεται το ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης του μορίου ΚΚΙ24 το οποίο περιλαμβάνει τα βήματα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την ταυτοποίηση των πρωτονίων και ανθράκων που απαρτίζουν το μόριο.



Εικόνα 16: Ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης για την ένωση ΚΚ124.

Παρακάτω δίνεται πίνακας στον οποίο περιγράφονται οι χημικές μετατοπίσεις όπως προέκυψαν από τον συνδυασμό ομοπυρηνικών και ετεροπυρηνικών φασμάτων. Στο Παράρτημα 2 (Π2.1-Π2.6) παρέχονται επιπρόσθετα φάσματα μίας και δύο διαστάσεων τα οποία χρησίμευσαν για την ταυτοποίηση του μορίου. Συγκεκριμένα εμφανίζονται τα φάσματα ^1H (Π2.1), 2D-COSY (Π2.2), 2D-NOESY (Π2.3), ^{13}C (Π2.4), 2D-HMBC (Π2.5) και 2D-HSQC (Π2.6).

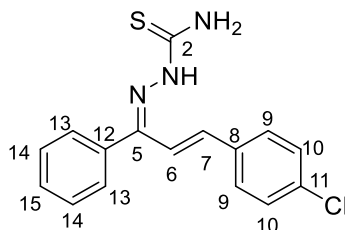
Πίνακας 2: ¹H και ¹³C χημικές μετατοπίσεις της ένωσης ΚΚΙ24 όπως προέκυψαν μέσω συνδυασμού 1D and 2D NMR φασμάτων.

Θέση	¹ H	COSY	NOESY	HSQC	HMBC	¹³ C
1	7,76	H-3	H-3	-	C-2	-
2	-	-	-	-	H-1/H-3	179,38
3	11,09/8,30	H-1	H-1	-	C-2/C-5	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	H-13/H-6/H-7	151,19
6	6,38	H-7	H-7	H-6	H-5/H-12/H-7/C-8	140,19
7	6,71/7,14	H-6	H-6/H-9	H-7	C-5/C-6/C-8/C-9	148,53
8	-	-	-	-	H-6/H-7/H-9/H-10	127,31
9	7,76/8,3	H-10	H-7/H-10	H-9	H-10/H-11/C-8/H-7	118,16

	0					
10	7,42	H-9/H-12	H-9/H-12	H-10	C-8/H-9/H-12	128,71
11	-	-	-	-	H-10/H-12/H-9	133,45
12	2,27	-	H-10	H-12	C-11/H-10	21,21
13	-	-	-	-	H-14/ H-15/ H-6	137,41
14	7,59	H-15	H-15	H-14	H-15/H-16/C-13/C-5	129,35
15	7,31	H-14/H-16	H-14/H-16	H-15	H-14/H-16/C-13	128,87
16	7,19	H-15	H-15	H-16	H-15/H-14	133,45

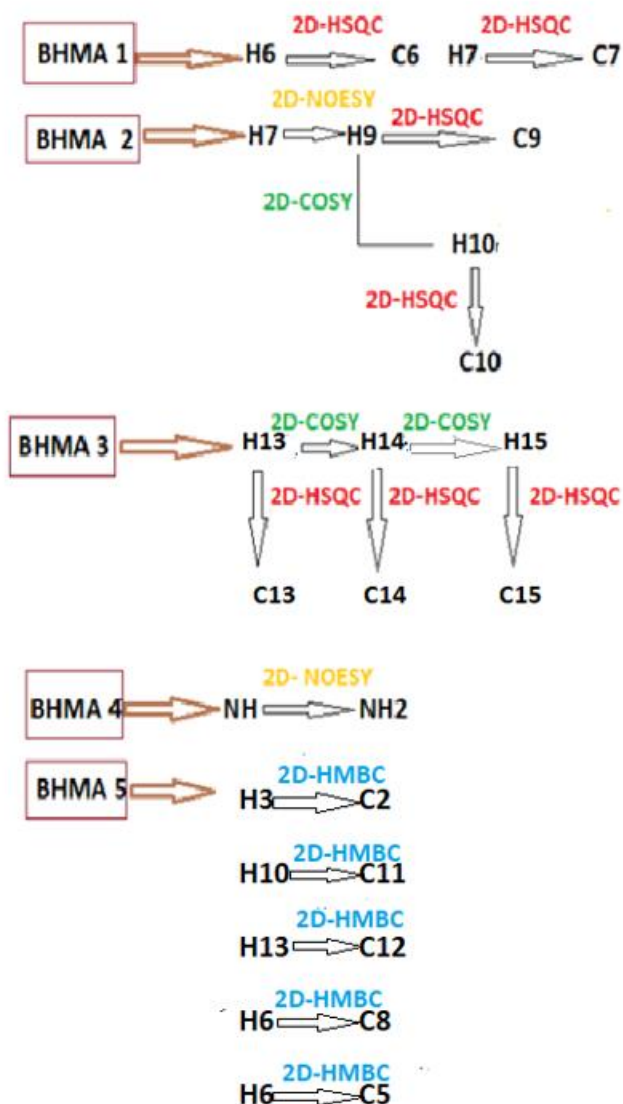
Στρατηγική ταυτοποίησης του παραγώγου ΚΚΙ19

Στο **Σχήμα 23**, παρουσιάζεται η χημική δομή της ένωσης ΚΚΙ19, με την ανάλογη αρίθμηση των ατόμων άνθρακα και πρωτονίων αντίστοιχα, όπως αυτή χρησιμοποιήθηκε για την ταυτοποίηση. Η στρατηγική που ακολουθήθηκε είναι παρόμοια με αυτή της ΚΚΙ24.



Σχήμα 23: Δομή του μορίου ΚΚΙ19 με αριθμημένους τους άνθρακες του.

Πιο κάτω περιγράφεται το ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης του μορίου ΚΚΙ19 το οποίο περιλαμβάνει τα βήματα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την για την ταυτοποίηση των πρωτονίων και ανθράκων που απαρτίζουν το μόριο.



Εικόνα 17: Ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης για την ένωση KK119.

Παρακάτω δίνεται πίνακας στον οποίο περιγράφονται οι χημικές μετατοπίσεις όπως προέκυψαν από τον συνδυασμό ομοπυρηνικών και ετεροπυρηνικών φασμάτων. Στο Παράρτημα 3 (Π3.1-Π3.6) παρέχονται επιπρόσθετα φάσματα μίας και δύο διαστάσεων τα οποία χρησίμευσαν για την ταυτοποίηση του μορίου. Συγκεκριμένα εμφανίζονται τα φάσματα ^1H (Π3.1), 2D-COSY (Π3.2), 2D-NOESY (Π3.3), ^{13}C (Π3.4), 2D-HMBC (Π3.5) και 2D-HSQC (Π3.6).

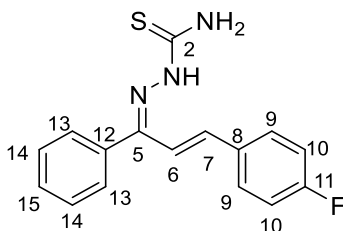
Πίνακας 3: ¹H και ¹³C χημικές μετατοπίσεις της ένωσης KKI19 όπως προέκυψαν μέσω συνδυασμού 1D and 2D NMR φασμάτων.

Θέση	¹ H	COSY	NOESY	HSQC	HMBC	¹³ C
1	7,83	H-3	H-3	-	C-2	-
2	-	-	-	-	H-1/H-3	179,42
3	11,14/8,3 3	H-1	H-1	-	C-2/C-5	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	H-13/H-6/H-7	148,26
6	6,41	H-7	H-7	H-6	H-5/H-12/H-7/C-8	135,50
7	6,75/7,16	H-6	H-6/H-9	H-7	C-5/C-6/C-8/C-9	138,56
8	-	-	-	-	H-6/H-7/H-9/H-10	129,52
9	7,82,8,32	H-10	H-7/H-10	H-9	H-10/H-11/C-8/H-7	119,95
10	7,45	H-9/H-12	H-9/H-12	H-10	C-8/H-9/H-12	129,66

11	-	-	-	-	H-10/H-12/H-9	128,74
12	-	-	-	-	H-14/H-13	129,11
13	7,64	H-14	H-14	C-13	H-14/ H-15	130,09
14	7,43	H-15/H-13	H-15/H-13	H-14	H-15/C-12/H-13	129,04
15	7,45	H-14	H-14	H-15	H-14/H-13	129,66

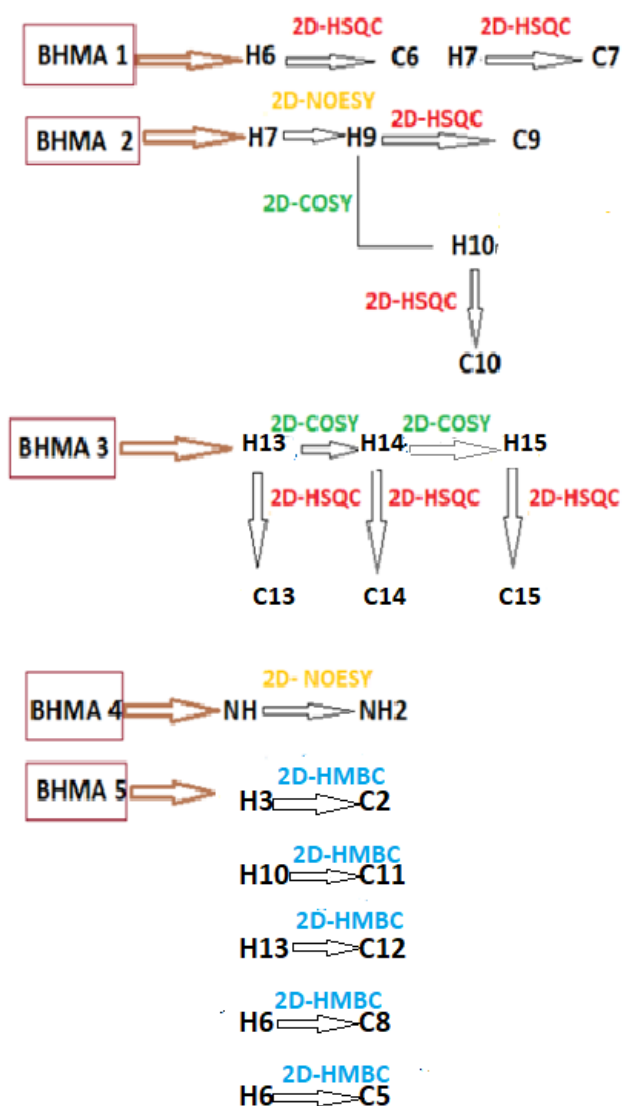
Στρατηγική ταυτοποίησης του παραγώγου ΚΚΙ27

Στο **Σχήμα 24**, παρουσιάζεται η χημική δομή της ένωσης ΚΚΙ27, με την ανάλογη αρίθμηση των ατόμων άνθρακα και πρωτονίων αντίστοιχα, όπως αυτή χρησιμοποιήθηκε για την ταυτοποίηση. Η στρατηγική που ακολουθήθηκε είναι παρόμοια με αυτή της ΚΚΙ19.



Σχήμα 24: Δομή του μορίου ΚΚΙ27 με αριθμημένους τους άνθρακες του.

Πιο κάτω περιγράφεται το ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης του μορίου ΚΚΙ27 το οποίο περιλαμβάνει τα βήματα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την ταυτοποίηση των πρωτονίων και ανθράκων που απαρτίζουν το μόριο.



Εικόνα 18: Ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης για την ένωση KK127.

Παρακάτω δίνεται πίνακας στον οποίο περιγράφονται οι χημικές μετατοπίσεις όπως προέκυψαν από τον συνδυασμό ομοπυρηνικών και ετεροπυρηνικών φασμάτων. Στο Παράρτημα 4 (Π4.1-Π4.6) παρέχονται επιπρόσθετα φάσματα μίας και δύο διαστάσεων τα οποία χρησίμευσαν για την ταυτοποίηση του μορίου. Συγκεκριμένα εμφανίζονται τα φάσματα ^1H (Π4.1), 2D-COSY (Π4.2), 2D-NOESY (Π4.3), ^{13}C (Π4.4), 2D-HMBC (Π4.5) και 2D-HSQC (Π4.6).

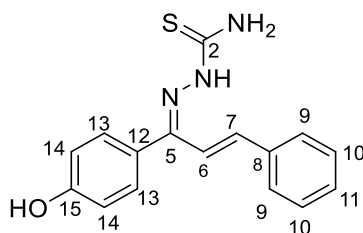
Πίνακας 4: ¹H και ¹³C χημικές μετατοπίσεις της ένωσης ΚΚΙ27 όπως προέκυψαν μέσω συνδυασμού 1D and 2D NMR φασμάτων.

Θέση	¹ H	COSY	NOESY	HSQC	HMBC	¹³ C
1	7,76	H-3	H-3	-	C-2	-
2	-	-	-	-	H-1/H-3	179,36
3	11,08/8,3 1	H-1	H-1	-	C-2/C-5	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	H-13/H-6/H-7	148,47
6	6,47	H-7	H-7	H-6	H-5/H-12/H-7/C-8	137,26
7	6,80/7,14	H-6	H-6/H-9	H-7	C-5/C-6/C-8/C-9	138,79
8	-	-	-	-	H-6/H-7/H-9/H-10	130,55
9	7,76	H-10	H-7/H-10	H-9	H-10/H-11/C-8/H-7	119,07/13 0,55

10	7,43	H-9/H-12	H-9/H-12	H-10	C-8/H-9/H-12	115,93
11	-	-	-	-	H-10/H-12/H-9	164,36
12	-	-	-	-	H-14/H-13	132,96
13	7,61	H-14	H-14	C-13	H-14/ H-15	129,67
14	7,26	H-15/H-13	H-15/H-13	H-14	H-15/C-12/H-13	129,67
15	7,61	H-14	H-14	H-15	H-14/H-13	128,65

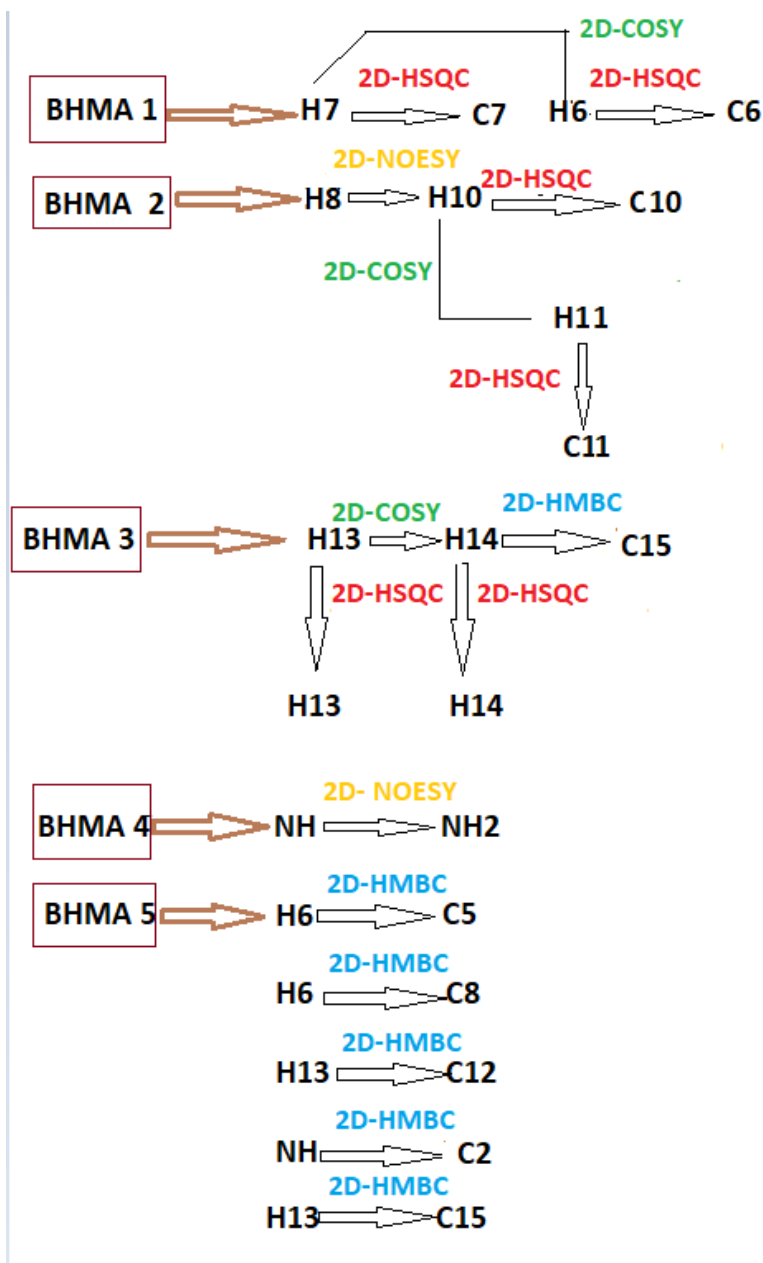
Στρατηγική ταυτοποίησης του παραγώγου ΚΚΙ22

Στο **Σχήμα 25**, παρουσιάζεται η χημική δομή της ένωσης ΚΚΙ22, με την ανάλογη αρίθμηση των ατόμων άνθρακα και πρωτονίων αντίστοιχα, όπως αυτή χρησιμοποιήθηκε για την ταυτοποίηση. Η στρατηγική που ακολουθήθηκε είναι παρόμοια με αυτή της ΚΚΙ15.



Σχήμα 25: Δομή του μορίου ΚΚΙ22 με αριθμημένους τους άνθρακες του

Πιο κάτω περιγράφεται το ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης του μορίου ΚΚΙ15 το οποίο περιλαμβάνει τα βήματα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την ταυτοποίηση των πρωτονίων και ανθράκων που απαρτίζουν το μόριο.



Εικόνα 19: Ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης για την ένωση KKI22.

Παρακάτω δίνεται πίνακας στον οποίο περιγράφονται οι χημικές μετατοπίσεις όπως προέκυψαν από τον συνδυασμό ομοπυρηνικών και ετεροπυρηνικών φασμάτων. Στο Παράρτημα 5 (Π5.1-Π5.6) παρέχονται επιπρόσθετα φάσματα μίας και δύο διαστάσεων τα οποία χρησίμευσαν για την ταυτοποίηση του μορίου. Συγκεκριμένα εμφανίζονται τα φάσματα ^1H (Π5.1), 2D-COSY (Π5.2), 2D-NOESY (Π5.3), ^{13}C (Π5.4), 2D-HMBC (Π5.5) και 2D-HSQC (Π5.6).

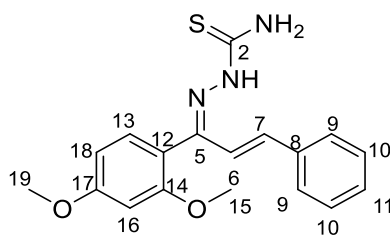
Πίνακας 5: ¹H και ¹³C χημικές μετατοπίσεις της ένωσης ΚΚΙ22 όπως προέκυψαν μέσω συνδυασμού 1D and 2D NMR φασμάτων.

Θέση	¹ H	COSY	NOESY	HSQC	HMBC	¹³ C
1	7,73	H-3	H-3	-	C-2	-
2	-	-	-	-	H-1/H-3	178,99
3	11,04/9,2 6	H-1	H-1	-	C-2/C-5	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	H-13/H-6/H-7	161,37
6	6,48	H-7	H-7	H-6	H-5/H-12/H-7/C-8	136,37
7	6,82/7,17	H-6	H-6/H-9	H-7	C-5/C-6/C-8/C-9	139,97/130 ,47
8	-	-	-	-	H-6/H-7/H-9/H-10	128,34
9	7,73/9,23	H-10	H-7/H-10	H-9	H-10/H-11/C-8/H-7	128,41/119

						,52
10	7,39	H-9/H-11	H-9/H-11	H-10	C-8/H-9/H-11	129,19
11	7,02	H-10	H-10	H-11	H-10/H-9	116,97
12	-	-	-	-	H-13/H-14/H-6/C-5	130,47
13	7,03	H-14	H-14	H-13	H-14/ C-15/ C-12/C-5	115,50
14	7,48	H-13/H-15	H-13/H-15	H-14	C-15/H-13/C-12	128,34
15	-	-	-	-	H-14/H-13	158,98

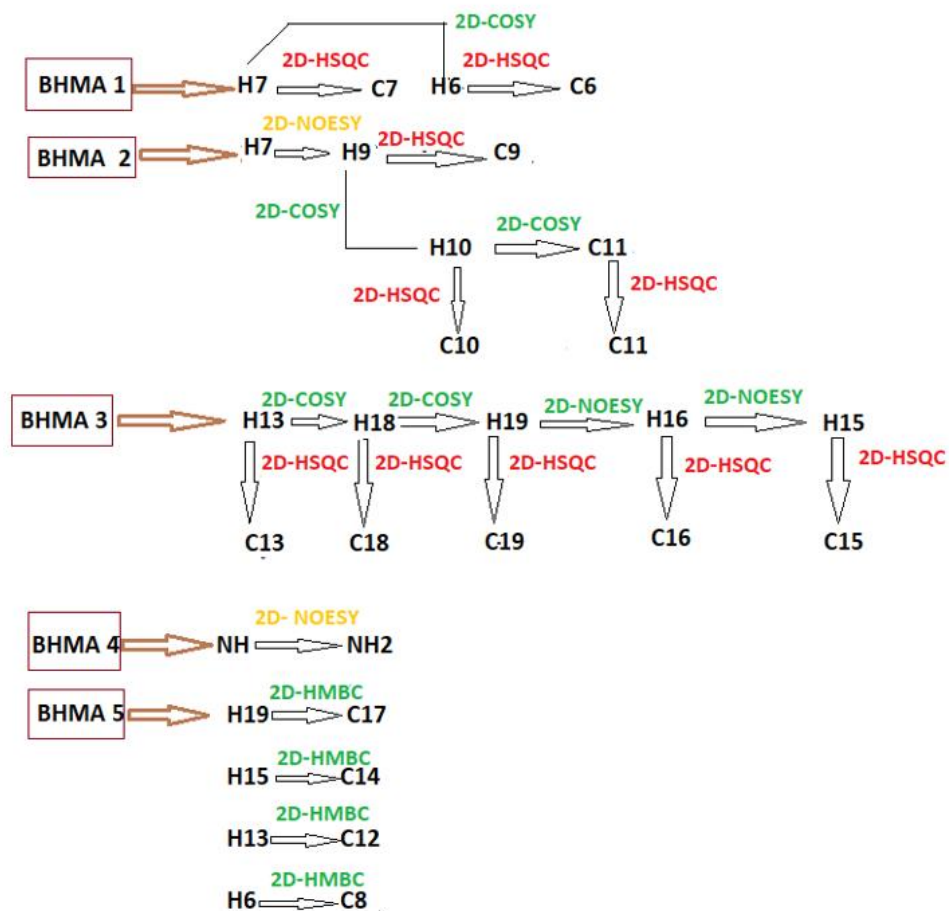
Στρατηγική ταυτοποίησης του παραγώγου ΚΚΙ16

Στο **Σχήμα 26**, παρουσιάζεται η χημική δομή της ένωσης ΚΚΙ16, με την ανάλογη αρίθμηση των ατόμων άνθρακα και πρωτονίων αντίστοιχα, όπως αυτή χρησιμοποιήθηκε για την ταυτοποίηση.



Σχήμα 26: Δομή του μορίου ΚΚΙ16 με αριθμημένους τους άνθρακες του.

Πιο κάτω περιγράφεται το ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης του μορίου ΚΚΙ16 το οποίο περιλαμβάνει τα βήματα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την ταυτοποίηση των πρωτονίων και ανθράκων που απαρτίζουν το μόριο.



Εικόνα 20: Ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης για την ένωση KK116.

Παρακάτω δίνεται πίνακας στον οποίο περιγράφονται οι χημικές μετατοπίσεις όπως προέκυψαν από τον συνδυασμό ομοπυρηνικών και ετεροπυρηνικών φασμάτων. Στο Παράρτημα 6 (Π6.1-Π6.6) παρέχονται επιπρόσθετα φάσματα μίας και δύο διαστάσεων τα οποία χρησίμευσαν για την ταυτοποίηση του μορίου. Συγκεκριμένα εμφανίζονται τα φάσματα ^1H (Π6.1), 2D-COSY (Π6.2), 2D-NOESY (Π6.3), ^{13}C (Π6.4), 2D-HMBC (Π6.5) και 2D-HSQC (Π6.6).

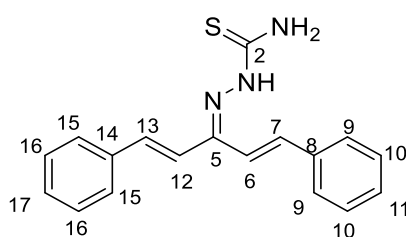
Πίνακας 6: ¹H και ¹³C χημικές μετατοπίσεις της ένωσης ΚΚΙ16 όπως προέκυψαν μέσω συνδυασμού 1D and 2D NMR φασμάτων.

Θέση	¹ H	COSY	NOESY	HSQC	HMBC	¹³ C
1	5,75	H-3	H-3	-	C-2	-
2	-	-	-	-	H-1/H-3	178,07
3	11,21/8,3 6	H-1	H-1	-	C-2/C-5	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	H-13/H-6/H-7	148,80
6	7,13	H-7	H-7	H-6	H-5/H-12/H-7/C-8	129
7	6,41/6,75	H-6	H-6/H-9	H-7	C-5/C-6/C-8/C-9	106/13 6
8	-	-	-	-	H-6/H-7/H-9/H-10	129,56
9	8,03/7,59	H-10	H-7/H-10	H-9	H-10/H-11/C-8/H-7	127,29

10	7,37	H-9/H-11	H-9/H-11	H-10	C-8/H-9/H-11	129,28
11	7,13	H-10	H-10	H-11	H-10/H-9	127,25
12	-	-	-	-	H-13/H-14/H-6/C-5	-
13	7,09	H-18	H-18	H-13	H-18/ C-17/ C-12/C-5	131,01
14	-	-	-	-	H-15/H-16	152,60
15	3,77	-	H-16	H-15	C-14	56,39
16	6,82	-	H-19	H-16	C-14/C-17	106,91
17	-	-	-	-	H-18/H-13/H-19/H-16	155,98
18	6,82	H-13	H-13/H-19	H-18	C-13/C-12/C-17	99,91
19	3,88	-	H-16/H-18	H-19	C-17	56,39

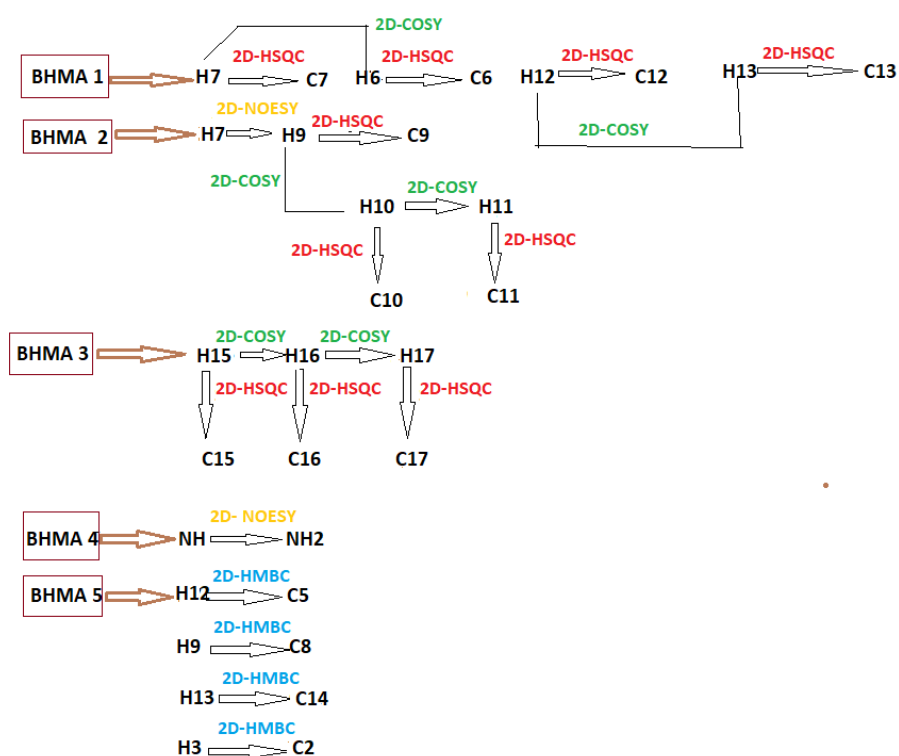
Στρατηγική ταυτοποίησης του παραγώγου ΚΚΙ21

Στο **Σχήμα 27**, παρουσιάζεται η χημική δομή της ένωσης ΚΚΙ21, με την ανάλογη αρίθμηση των ατόμων άνθρακα και πρωτονίων αντίστοιχα, όπως αυτή χρησιμοποιήθηκε για την ταυτοποίηση. Η ταυτοποίηση έγινε με βάση αυτή της ένωσης ΚΚΙ15.



Σχήμα 27: Δομή του μορίου ΚΚΙ21 με αριθμημένους τους άνθρακες του.

Πιο κάτω περιγράφεται το ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης του μορίου ΚΚΙ21 το οποίο περιλαμβάνει τα βήματα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την ταυτοποίηση των πρωτονίων και ανθράκων που απαρτίζουν το μόριο.



Εικόνα 21: Ολικό διάγραμμα ταυτοποίησης για την ένωση KKI21

Παρακάτω δίνεται πίνακας στον οποίο περιγράφονται οι χημικές μετατοπίσεις όπως προέκυψαν από τον συνδυασμό ομοπυρηνικών και ετεροπυρηνικών φασμάτων. Στο Παράρτημα 7 (Π7.1-Π7.6) παρέχονται επιπρόσθετα φάσματα μίας και δύο διαστάσεων τα οποία χρησίμευσαν για την ταυτοποίηση του μορίου. Συγκεκριμένα εμφανίζονται τα φάσματα ^1H (Π7.1), 2D-COSY (Π7.2), 2D-NOESY (Π7.3), ^{13}C (Π7.4), 2D-HMBC (Π7.5) και 2D-HSQC (Π7.6).

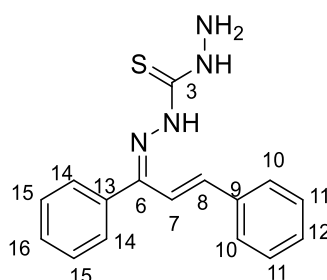
Πίνακας 7: ¹H και ¹³C χημικές μετατοπίσεις της ένωσης ΚΚΙ21 όπως προέκυψαν μέσω συνδυασμού 1D and 2D NMR φασμάτων.

Θέση	¹ H	COSY	NOESY	HSQC	HMBC	¹³ C
1	8,37/8,04	H-3	H-3	-	C-2	-
2	-	-	-	-	H-1/H-3	179,04
3	11,06/8,37	H-1	H-1	-	C-2/C-5	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	H-13/H-6/H-7	144,50
6	7,23	H-7	H-7	H-6	H-5/H-12/H-7/C-8	134,15
7	7,47	H-6	H-6/H-9	H-7	C-5/C-6/C-8/C-9	137,76
8	-	-	-	-	H-6/H-7/H-9/H-10	137,20
9	7,83	H-10	H-7/H-10	H-9	H-10/H-11/C-8/H-7	129,59
10	7,69	H-9/H-11	H-9/H-11	H-10	C-8/H-9/H-11	127,62

11	7,42	H-10	H-10	H-11	H-10/H-9	129,07
12	7,23	H-13	H-13	H-12	C-13/C-14/C-6/C-5	123,73
13	7,47	H-12	H-12/H-15	H-13	C-15/ C-14/ C-12/C-5	118,77
14	-	-	-	-	C-15/C-13/C-12	136,73
15	7,83	H-16	H-16/H-13	H-15	C-14/C-13/C-16/C-17	129,59
16	7,69	H-17/H-15	H-17/H-15	H-16	C-15/C-17	127,66
17	7,42	H-16	H-16	H-17	C-16/C-15	128,41

Στρατηγική ταυτοποίησης του παραγώγου ΚΚΙ18

Στο **Σχήμα 28**, παρουσιάζεται η χημική δομή της ένωσης ΚΚΙ18, με την ανάλογη αριθμηση των ατόμων άνθρακα και πρωτονίων αντίστοιχα, όπως αυτή χρησιμοποιήθηκε για την ταυτοποίηση. Η ταυτοποίηση που έγινε ήταν παρόμοια με αυτής της ΚΚΙ15.



Σχήμα 28: Δομή του μορίου ΚΚΙ18 με αριθμημένους τους άνθρακες του.

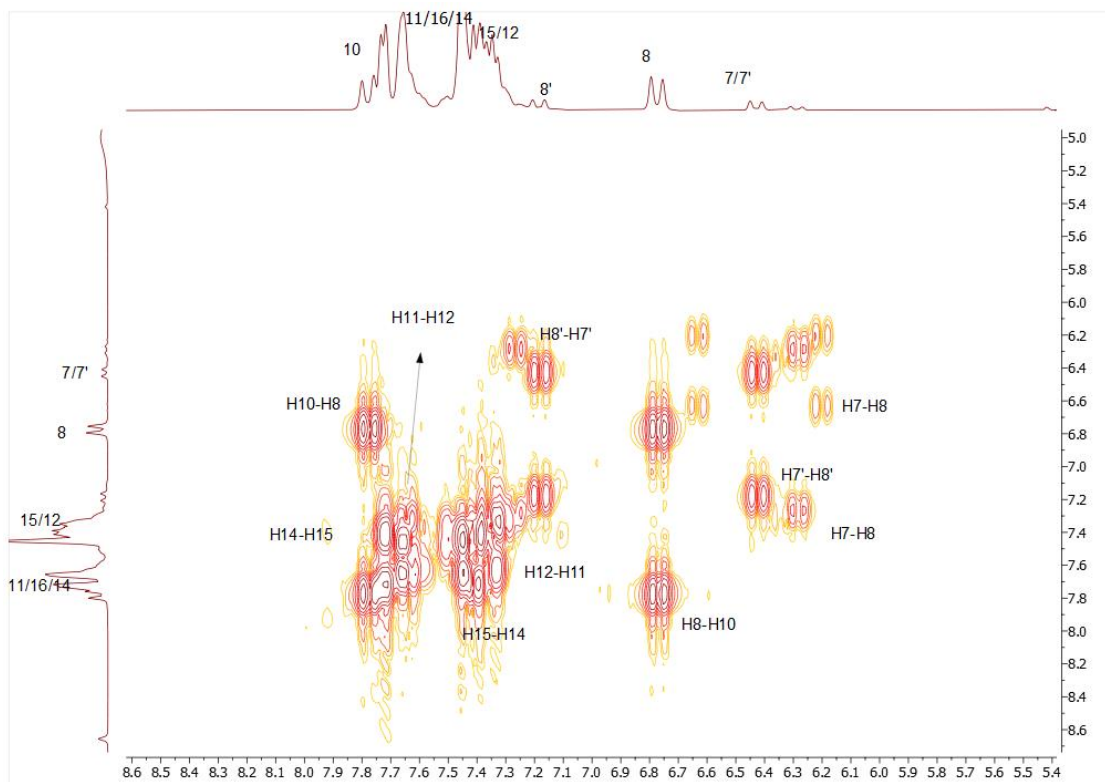
Η στρατηγική ταυτοποίησης ξεκίνησε παρατηρώντας τις διπλές κορυφές στην περιοχή 6-7 ppm. Παρατηρείται ότι το H7 συντονίζεται σε 6,46 και 6,30 ppm, ενώ το H8 συντονίζεται σε 6,79 και 7,17 ppm.

Λογικό το H8 να είναι πιο αποπροασπισμένο από το H7 γιατί με συντονισμό αποκτά θετικό φορτίο. Επειδή υπάρχουν δύο σήματα για το H7 και για το H8, αυτό οφείλεται σε δύο διαμορφώσεις τους (**Εικόνα 22**). Μέσω του 2D-HSQC, ταυτοποιούνται και οι C7 και C8, γιατί παρουσιάζουν $^1J_{C-H}$ σύζευξη με τα H7 και H8 αντίστοιχα. Συνοπτικά οι ταυτοποιήσεις των H7, H8, C7 και C8 καταγράφονται ως Βήμα 1^ο.

ΒΗΜΑ 1^ο

H7 (6,41/6,10 ppm) $\xrightarrow{\text{2D-HSQC}}$ C7 (137,27 ppm)

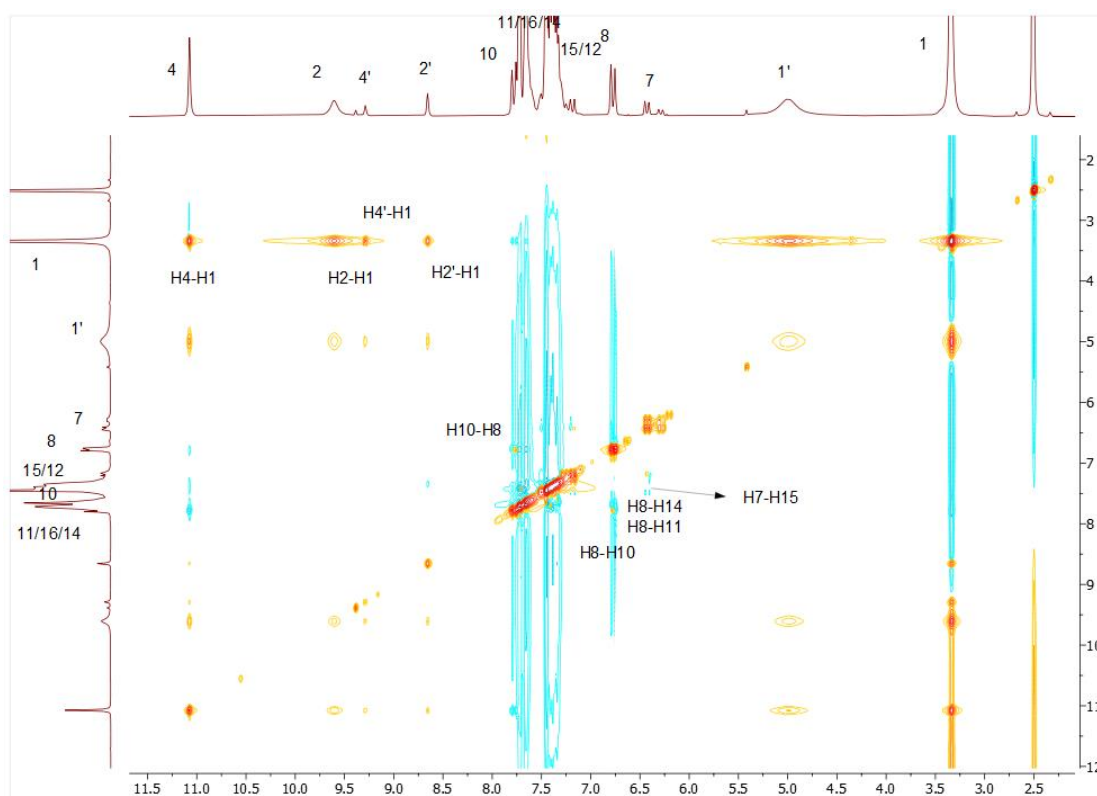
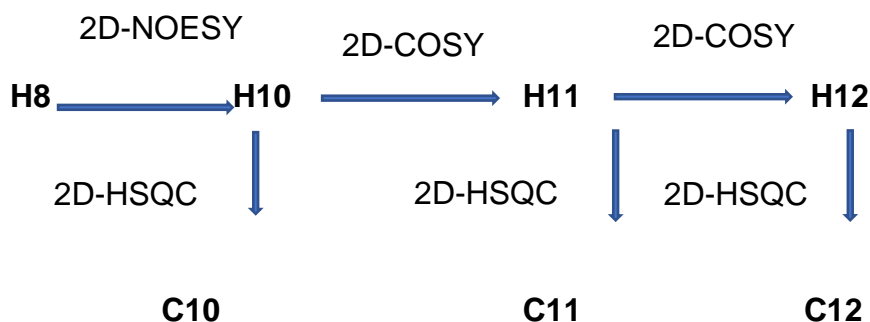
H8 (6.79/7,10 ppm) $\xrightarrow{\text{2D-HSQC}}$ C8 (136,32 ppm)



Εικόνα 22: Μεγεθυμένο φάσμα 2D-COSY, όπου εμφανίζονται οι συσχετισμοί H15-H16, H15-H14 και H7-H8.

Η στρατηγική ταυτοποίησης συνεχίστηκε λαμβάνοντας περισσότερες πληροφορίες από το H8. Κάνοντας χρήση, των 2D COSY και 2D NOESY, ταυτοποιείται το H10 σε 7,83 ppm καθώς συσχετίζεται με το H8. Έπειτα ταυτοποιείται και το πρωτόνιο 11 και 12 μέσω του 2D-COSY (**Εικόνα 23**). Μέσω του 2D-HSQC, ταυτοποιούνται και οι C10 και C11, C12 γιατί παρουσιάζουν $^1J_{C-H}$ σύζευξη με τα H10, H11, H12 αντίστοιχα. Συνοπτικά οι ταυτοποιήσεις των H10, H11, C10, C11 και C12 καταγράφονται ως Βήμα 2^ο.

BHMA 2°

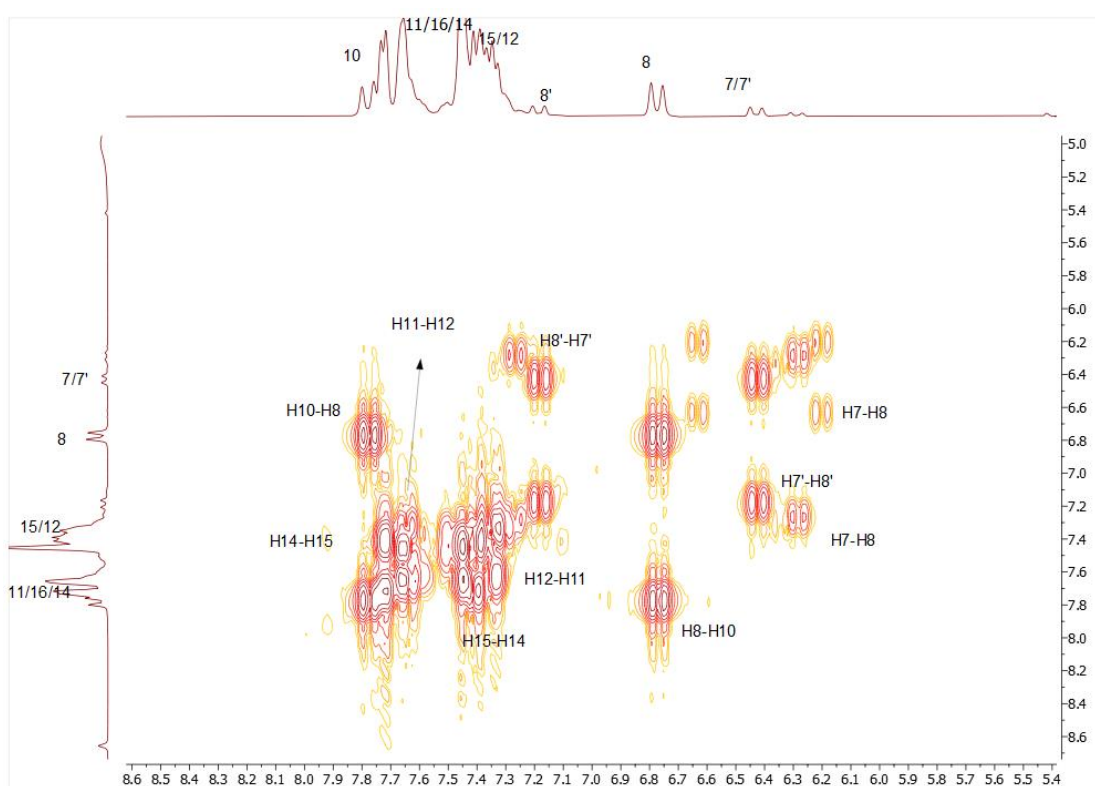
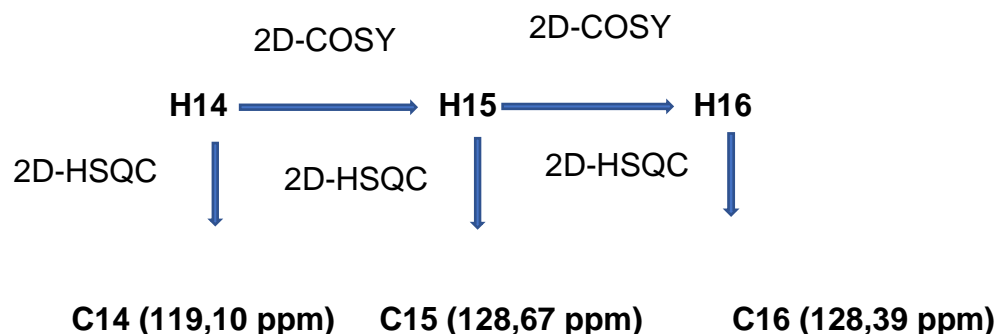


Εικόνα 23: Μεγεθυμένο φάσμα 2D-NOESY, όπου παρατηρούνται οι συσχετισμοί H10-H8, H8-H8', H7-H7' και H1-H1'.

Με τη βοήθεια του 2D-COSY, ταυτοποιούνται και τα H14, H15 και H16. Μέσω του 2D-HSQC, ταυτοποιούνται και οι C14, C15 και C16, γιατί παρουσιάζουν $^1J_{C-H}$ σύζευξη με τα H14, H15 και H16 αντίστοιχα (**Εικόνα**

24). Συνοπτικά οι ταυτοποιήσεις των H14, H15, H16, C14, C15 και C16 καταγράφονται ως Βήμα 3°.

ΒΗΜΑ 3°



Εικόνα 24: Μεγεθυμένο φάσμα 2D-COSY, όπου εμφανίζονται οι συσχετισμοί H15-H16, H15-H14 και H10-H11.

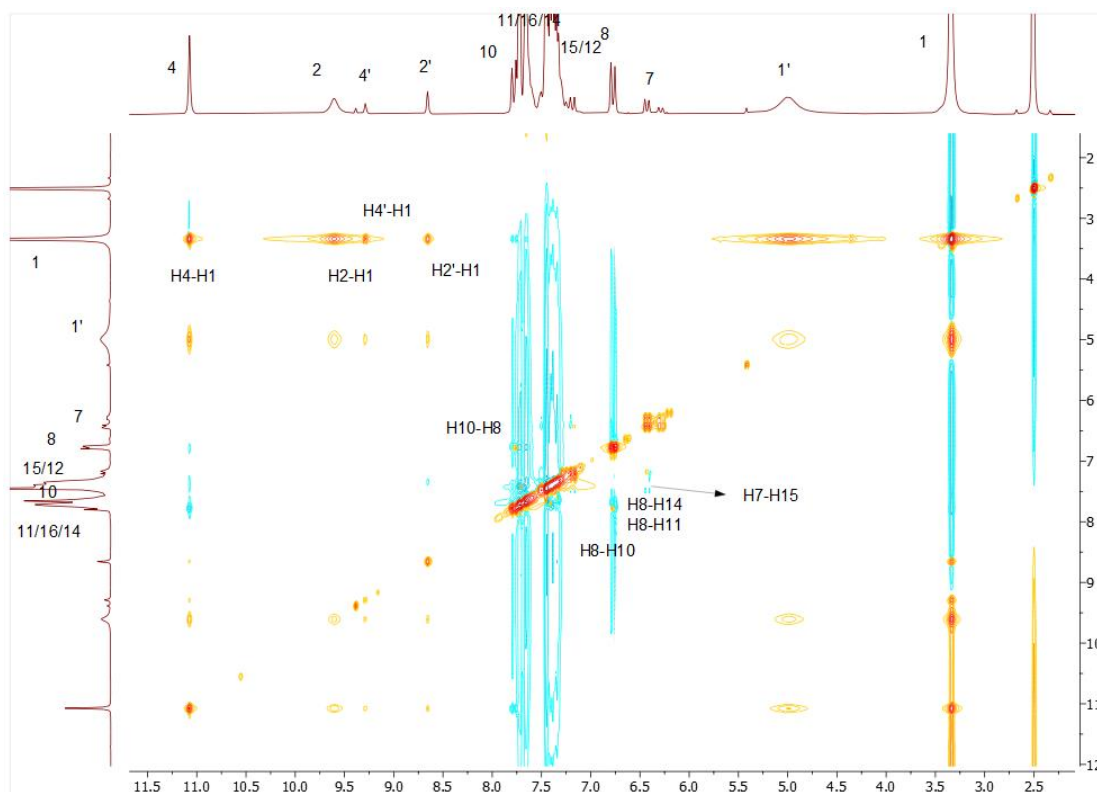
Τα πρωτόνια που είναι απευθείας συνδεδεμένα με τα άζωτα θα είναι τα πιο αποπροασπισμένα, λόγω του ότι συνδέονται με ηλεκτραρνητικό άτομο. Το NH (4) συντονίζεται σε 11 και 9,62 ppm, ενώ μέσω του 2D-NOESY ταυτοποιείται και το NH₂ σε 3,33 και 5,02 ppm (**Εικόνα 25**). Τέλος μέσω του 2D-NOESY ταυτοποιείται και το NH (2) καθώς συσχετίζεται με το NH₂. Το NH λογικό να είναι πιο αποπροασπισμένο λόγω του ότι

βρίσκεται δίπλα σε δύο ηλεκτραρνητικά άτομα. Οι ταυτοποιήσεις των NH και NH₂ φαίνονται συνοπτικά στο Βήμα 4°.

ΒΗΜΑ 4°

2D-NOESY

NH₂ → NH (8,65/9,60 ppm)/ NH (11,07/ 9,38 ppm)



Εικόνα 25: Μεγεθυμένο φάσμα 2D-NOESY, όπου εμφανίζονται οι συσχετισμοί H1-H4 και H1-H2.

Από το φάσμα δύο διαστάσεων ¹³C-¹H 2D HSQC του εξεταζόμενου μορίου ταυτοποιούνται όλοι οι άνθρακες που απαρτίζουν το μόριο εκτός από τους τεταρτοταγείς και τους άνθρακες των καρβονυλίων. Δηλαδή μέχρις στιγμής έχουν ταυτοποιηθεί οι άνθρακες με αρίθμηση 7, 8, 10, 11, 12, 14, 15 και 16. Οι υπόλοιποι άνθρακες μπορούν να ταυτοποιηθούν μέσω του ¹³C-¹H 2D HMBC. Συγκεκριμένα, παρατηρείται ότι το H1 εμφάνισε ³J_{C-H}

συσχετισμό με τον C3, το H7 εμφάνισε $^2J_{C-H}$ συσχετισμό με το C6, το H8 εμφάνισε $^2J_{C-H}$ συσχετισμό με τον C9, το H14 εμφάνισε $^2J_{C-H}$ συσχετισμό με τον C13 και τέλος το H11 εμφάνισε $^2J_{C-H}$ με τον C12 (**Εικόνα 26**). Οι ταυτοποιήσεις των C3, C6, C9, C13 και C12 φαίνονται συνοπτικά στο Βήμα 5^ο.

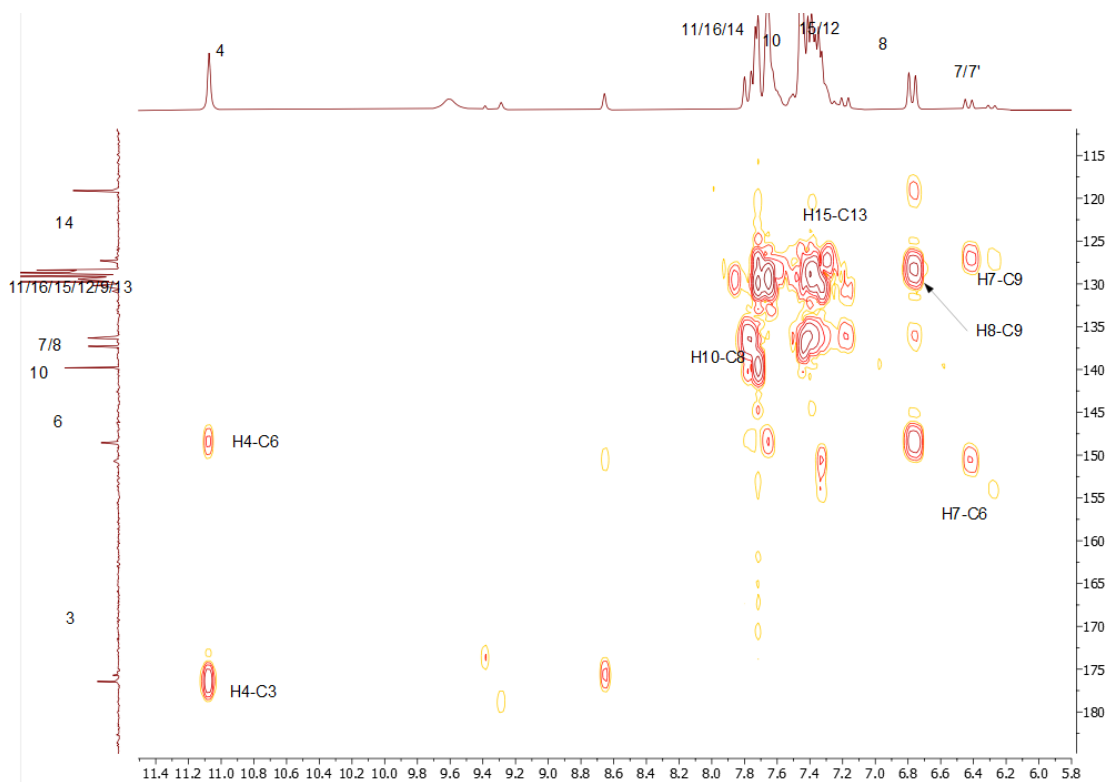
ΒΗΜΑ 5^ο

2D-HSQC
H4 \longrightarrow C3 (176.44 ppm)

2D-HSQC
H7 \longrightarrow C6 (148.55 ppm)

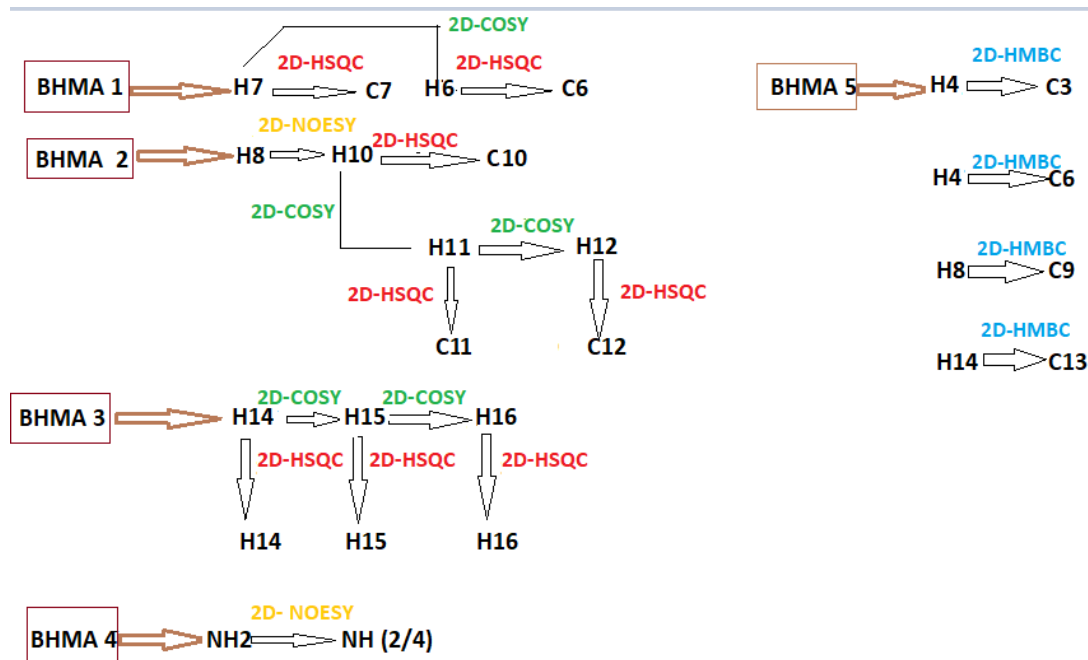
2D-HSQC
H8 \longrightarrow C9 (129.45 ppm)

2D-HSQC
H14 \longrightarrow C13 (129.44 ppm)



Εικόνα 26: Μεγεθυμένο φάσμα 2D-HMBC, όπου εμφανίζονται οι συσχετισμοί H1-C3, H6-C7, H8-C9, H14-C13, H11-C12 και H10-H8.

Πιο κάτω περιγράφεται το ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης του μορίου ΚΚ118 το οποίο περιλαμβάνει τα βήματα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την ταυτοποίηση των πρωτονίων και ανθράκων που απαρτίζουν το μόριο.



Εικόνα 27: Ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης για την ένωση KK118.

Παρακάτω δίνεται πίνακας στον οποίο περιγράφονται οι χημικές μετατοπίσεις όπως προέκυψαν από τον συνδυασμό ομοπυρηνικών και ετεροπυρηνικών φασμάτων. Στο Παράρτημα 8 (Π8.1-Π8.6) παρέχονται επιπρόσθετα φάσματα μίας και δύο διαστάσεων τα οποία χρησίμευσαν για την ταυτοποίηση του μορίου. Συγκεκριμένα εμφανίζονται τα φάσματα ^1H (Π8.1), 2D-COSY (Π8.2), 2D-NOESY (Π8.3), ^{13}C (Π8.4), 2D-HMBC (Π8.5) και 2D-HSQC (Π8.6).

Η διαμορφωτική ανάλυση για την KK118 θα συζητηθεί σε επόμενο κεφάλαιο.

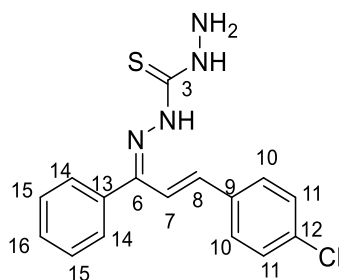
Πίνακας 8: ¹H και ¹³C χημικές μετατοπίσεις της ένωσης ΚΚΙ18 όπως προέκυψαν μέσω συνδυασμού 1D and 2D NMR φασμάτων.

Θέση	¹ H	COSY	NOESY	HSQC	HMBC	¹³ C
1	3,34/4,99	H-2	H-2	-	C-3	-
2	8,65/9,60	H-1	H-1	-	C-3	-
3	-	-	-	-	H-1/H-2/H-4	176,44
4	11,07/9,38	-	-	-	C-3	-
5	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	H-7/H-8/H-14	148,55
7	6,41/6,10	H-8	H-8	H-7	C-13/C-6/C-8/C-9	137,27
8	6,79/7,10	H-7	H-7/H-10	H-8	C-6/C-7/C-9/C-10	136,32
9	-	-	-	-	H-10/H-11/H-8/H-7	129,45
10	7,76	H-11	H-8/H-11	H-10	C-12/H-8/H-11	139,73

11	7,59	H-10	H-10	H-11	C-12/C-9/C-10	129,75
12	-	-	-	-	H-11/H-10	129,11
13	-	-	-	-	H-14/ H-15	129,44
14	7,59	H-15	H-15	H-14	C-15/C-16/C-13/C-6	119,10
15	7,32	H-14/H-16	H-14/H-16	H-15	C-16/C-14/C-13	128,67
16	7,59	H-15	H-15	H-16	C-15/C-14	128,39

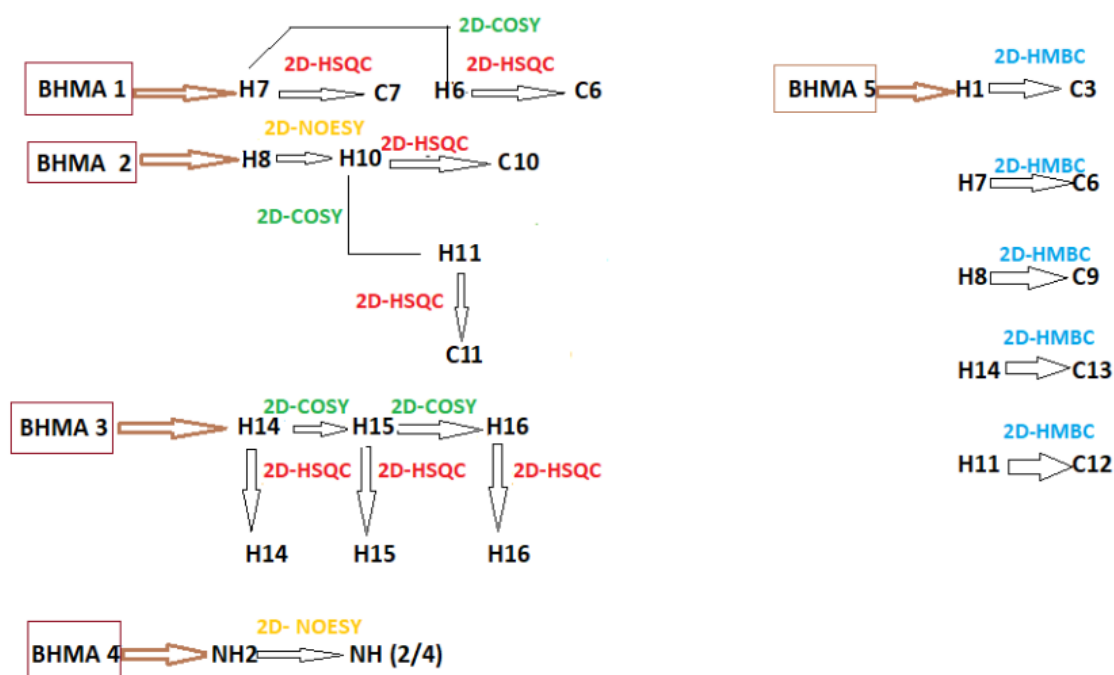
Στρατηγική ταυτοποίησης του παραγώγου ΚΚΙ23

Η επόμενη ένωση στην οποία εφαρμόστηκε η φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR), με στόχο την ταυτοποίησή της είναι η ΚΚΙ23. Στο **Σχήμα 29**, παρουσιάζεται η χημική δομή της ένωσης ΚΚΙ23, με την ανάλογη αρίθμηση των ατόμων άνθρακα και πρωτονίων αντίστοιχα, όπως αυτή χρησιμοποιήθηκε για την ταυτοποίηση.



Σχήμα 29: Δομή του μορίου ΚΚΙ23 με αριθμημένους τους άνθρακες του.

Πιο κάτω περιγράφεται το ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης του μορίου ΚΚΙ23 το οποίο περιλαμβάνει τα βήματα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την ταυτοποίηση των πρωτονίων και ανθράκων που απαρτίζουν το μόριο.



Εικόνα 28: Ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης για την ένωση KKI23.

Παρακάτω δίνεται πίνακας στον οποίο περιγράφονται οι χημικές μετατοπίσεις όπως προέκυψαν από τον συνδυασμό ομοπυρηνικών και ετεροπυρηνικών φασμάτων. Στο Παράρτημα 9 (Π9.1-Π9.6) παρέχονται επιπρόσθετα φάσματα μίας και δύο διαστάσεων τα οποία χρησίμευσαν για την ταυτοποίηση του μορίου. Συγκεκριμένα εμφανίζονται τα φάσματα ^1H (Π9.1), 2D-COSY (Π9.2), 2D-NOESY (Π9.3), ^{13}C (Π9.4), 2D-HMBC (Π9.5) και 2D-HSQC (Π9.6).

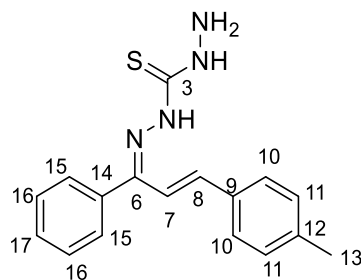
Πίνακας 9: ¹H και ¹³C χημικές μετατοπίσεις της ένωσης ΚΚΙ23 όπως προέκυψαν μέσω συνδυασμού 1D and 2D NMR φασμάτων.

z	¹H	COSY	NOESY	HSQC	HMBC	¹³C
1	3,33/5,02	H-2	H-2	-	C-3	-
2	10/9,30	H-1	H-1	-	C-3	-
3	-	-	-	-	H-1/H-2/H-4	176,38
4	11/9,62	-	-	-	C-3	-
5	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	H-7/H-8/H-14	148,12
7	6,46/6,30	H-8	H-8	H-7	C-13/C-6/C-8/C-9	138,24
8	6,79/7,17	H-7	H-7/H-10	H-8	C-6/C-7/C-9/C-10	130,07
9	-	-	-	-	H-10/H-11/H-8/H-7	128,94
10	7,80	H-11	H-8/H-11	H-10	C-12/H-8/H-11	119,85/130,07

11	7,45	H-10	H-10	H-11	C-12/C-9/C-10	129,10
12	-	-	-	-	H-11/H-10	135,35
13	-	-	-	-	H-14/ H-15	129,45
14	7,45	H-15	H-15	H-14	C-15/C-16/C-13/C-6	129,74
15	7,64	H-14/H-16	H-14/H-16	H-15	C-16/C-14/C-13	128,68
16	7,64	H-15	H-15	H-16	C-15/C-14	128,68

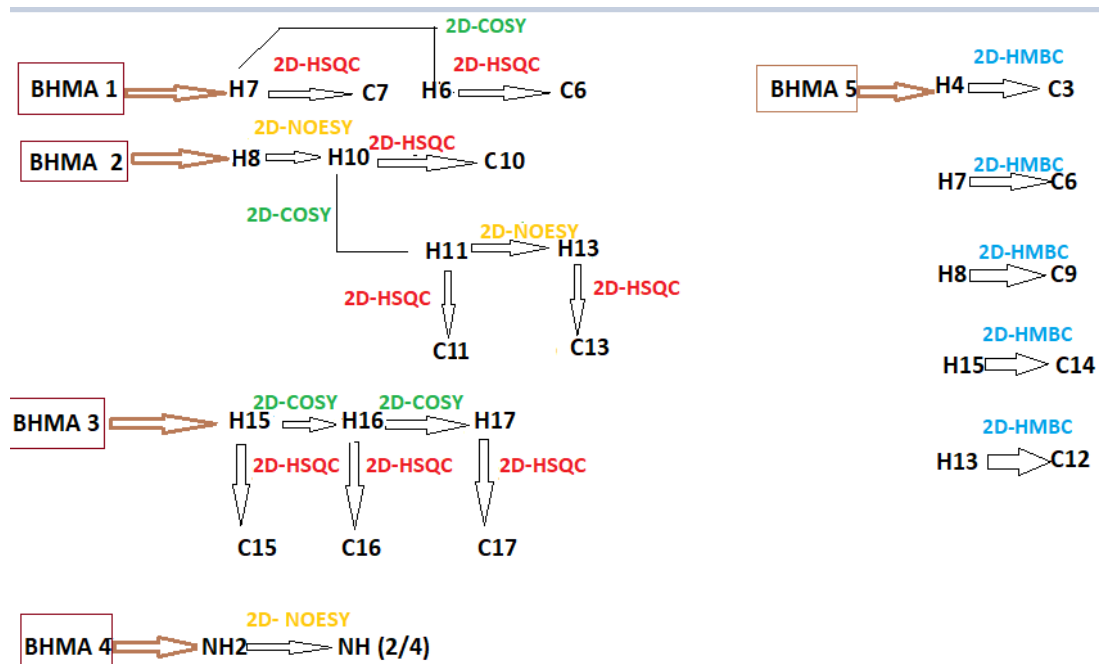
Στρατηγική ταυτοποίησης του παραγώγου ΚΚΙ25

Στο **Σχήμα 30**, παρουσιάζεται η χημική δομή της ένωσης ΚΚΙ25, με την ανάλογη αρίθμηση των ατόμων άνθρακα και πρωτονίων αντίστοιχα, όπως αυτή χρησιμοποιήθηκε για την ταυτοποίηση. Η στρατηγική που ακολουθήθηκε ήταν παρόμοια με αυτή της ΚΚΙ23.



Σχήμα 30: Δομή του μορίου ΚΚΙ25 με αριθμημένους τους άνθρακες του.

Πιο κάτω περιγράφεται το ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης του μορίου ΚΚΙ25 το οποίο περιλαμβάνει τα βήματα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την ταυτοποίηση των πρωτονίων και ανθράκων που απαρτίζουν το μόριο.



Εικόνα 29: Ολικό διάγραμμα στρατηγικής ταυτοποίησης για την ένωση KKI25.

Παρακάτω δίνεται πίνακας στον οποίο περιγράφονται οι χημικές μετατοπίσεις όπως προέκυψαν από τον συνδυασμό ομοπυρηνικών και ετεροπυρηνικών φασμάτων. Στο Παράρτημα 10 (Π10.1-Π10.6) παρέχονται επιπρόσθετα φάσματα μίας και δύο διαστάσεων τα οποία χρησίμευσαν για την ταυτοποίηση του μορίου. Συγκεκριμένα εμφανίζονται τα φάσματα ^1H (Π10.1), 2D-COSY (Π10.2), 2D-NOESY (Π10.3), ^{13}C (Π10.4), 2D-HMBC (Π10.5) και 2D-HSQC (Π10.6).

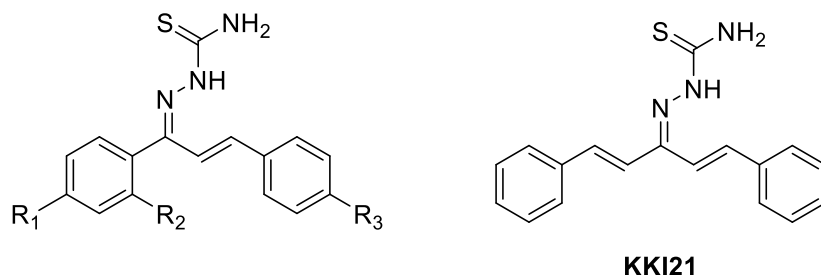
Πίνακας 10: ¹H και ¹³C χημικές μετατοπίσεις της ένωσης ΚΚΙ25 όπως προέκυψαν μέσω συνδυασμού 1D and 2D NMR φασμάτων.

Θέση	¹ H	COSY	NOESY	HSQC	HMBC	¹³ C
1	3,33/4,9 6	H-2	H-2	-	C-3	-
2	8,61/9,5 6	H-1	H-1	-	C-3	-
3	-	-	-	-	H-1/H-2/H-4	176,47
4	11,05/9, 26	-	-	-	C-3	-
5	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	H-7/H-8/H-14	150,93
7	6,41/6,2 7	H-8	H-8	H-7	C-13/C-6/C-8/C-9	133,61
8	6,75	H-7	H-7/H-10	H-8	C-6/C-7/C-9/C-10	138,84

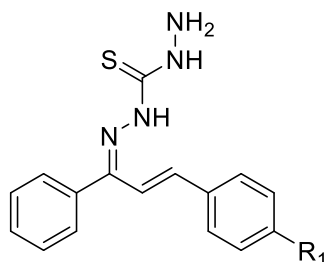
9	-	-	-	-	H-10/H-11/H-8/H-7	127,24
10	7,76	H-11	H-8/H-11	H-10	C-12/H-8/H-11	118,04
11	7,21	H-10	H-10	H-11	C-12/C-9/C-10	129,71
12	-	-	-	-	H-11/H-10	137,85
13	2,33	-	H-11	H-13	C-12/C-11	21,44
14	-	-	-	-	C-15/C-16	130,18
15	7,62	H-14	H-14	H-15	C-16/C-14/C-17	129,37
16	7,45	H-15/H-17	H-15/H-17	H-16	C-15/C-17/C-14	128,64
17	7,45	H-16	H-16	H-17	C-16/C-15	128,38

3.2 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ

Εφαρμόστηκε φασματοσκοπία 1D και 2D NMR για την ταυτοποίηση των πρωτονίων και ανθράκων των μορίων που περιγράφονται στο Σχήμα 23.



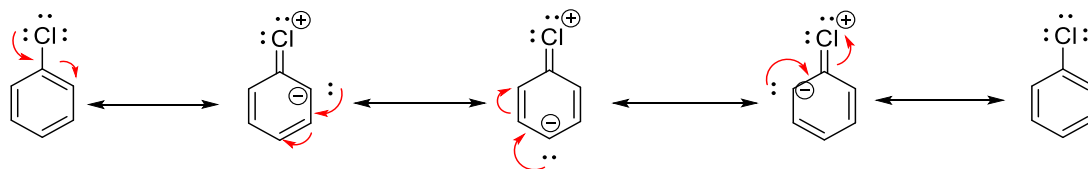
- KKI15:** R₁= H, R₂= H, R₃= H
KKI16: R₁=OMe, R₂= OMe, R₃= H
KKI19: R₁= H, R₂= H, R₃= Cl
KKI22: R₁= OH, R₂= H, R₃= H
KKI24: R₁= H, R₂= H, R₃= Me
KKI27: R₁= H, R₂=H, R₃= F



- KKI15:** R₁= H
KKI23: R₁= Cl
KKI25: R₁= Me

Σχήμα 31: Ενώσεις που μελετήθηκαν με φασματοσκοπία NMR

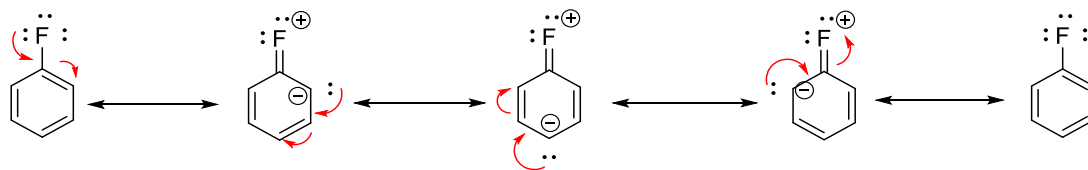
Γενικά οι τιμές που συντονίζονται τα πρωτόνια του αζώτου και του διπλού δεσμού C=C στις δέκα μελετηθείσες ενώσεις παραμένουν σταθερές. Διαφορές παρατηρούνται στους άνθρακες που είναι ενωμένοι με κάποιον υποκαταστάτη καθώς και στα γεινιάζοντα πρωτόνια. Για παράδειγμα στην ένωση KKI19 που φέρει χλώριο στη θέση 15, το H10 που βρίσκεται σε όρθο θέση συντονίζεται σε χαμηλότερα ppm σε σχέση με αυτό της KKI15, γιατί αναπτύσσεται αρνητικό φορτίο λόγω συντονισμού.



Σχήμα 32: Δομές συντονισμού του χλωροβενζολίου

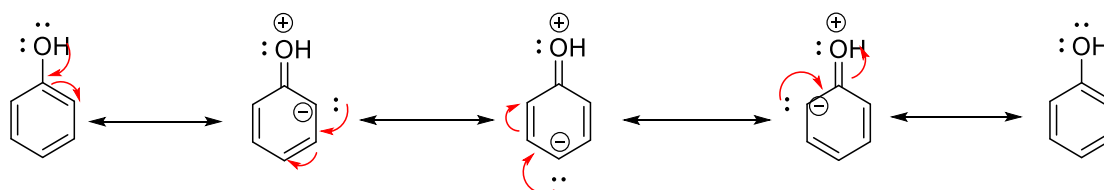
Στην ένωση ΚΚΙ24, λόγω του υποκαταστάτη του μεθυλίου, τα πρωτόνια Η9 και Η10 συντονίζονται σε χαμηλότερα ppm σε σχέση με αυτά της ΚΚΙ15. Αυτό συμβαίνει γιατί η μεθυλο ομάδα είναι ένας ασθενής ηλεκτρονιοδότης και ενεργοποιεί τον δακτύλιο παρέχοντας του ηλεκτρονική πυκνότητα.

Όσον αφορά το φθόριο, ισχύουν παρόμοιες παρατηρήσεις με αυτά που παρατηρήθηκαν και για το χλώριο. Εδώ επίσης ο C11 συντονίζεται σε πολύ υψηλές τιμές ppm, λόγω του ότι συνδέεται απευθείας με πολύ ηλεκτραρνητικό άτομο.



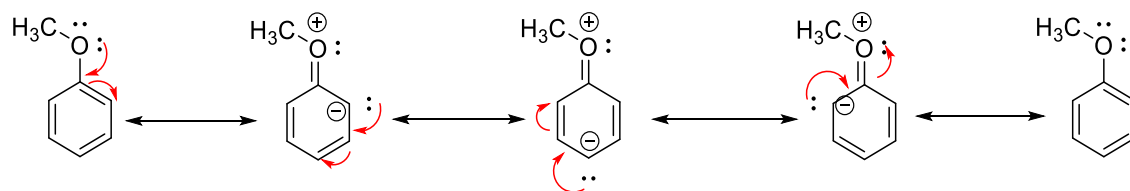
Σχήμα 33: Δομές συντονισμού του φθοροβενζολίου

Όσον αφορά την ένωση ΚΚΙ22, όπου υπάρχει υδροξύλιο ως υποκαταστάτης στη θέση 15, παρατηρείται υψηλή τιμή στον C15, λόγω του ότι το υδροξύλιο είναι ισχυρός ηλεκτρονιοδότης. Επίσης λόγω συντονισμού το Η14 είναι πιο προασπισμένο σε σύγκριση με το Η13.



Σχήμα 34: Δομές συντονισμού της φαινόλης

Στην ΚΚΙ16 που υπάρχουν δύο μεθόξυ ομάδες, οι άνθρακες 14 και 17 είναι πιο αποπροασπισμένοι, γιατί συνδέονται απευθείας με ηλεκτραρνητικό άτομο, σε σύγκριση με τους άνθρακες 13 και 15 της ΚΚΙ15. Επίσης και τα πρωτόνια 16 και 18 συντονίζονται σε χαμηλότερες τιμές ppm, λόγω του ότι αποκτούν αρνητικό φορτίο από συντονισμό.



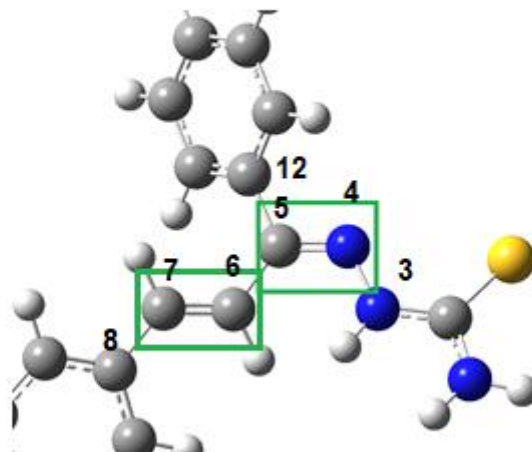
Σχήμα 35: Δομές συντονισμού της ανισόλης

Οι ίδιες παρατηρήσεις ισχύουν και για τις θειοκαρβουδραζόνες.

3.3 Αποτελέσματα διαμορφωτικής ανάλυσης

Για τη διαμορφωτική ανάλυση των μορίων επιλέχθηκε η μέθοδος DFT, καθώς αποτελεί την ακριβέστερη και είναι η δημοφιλέστερη μέθοδος για τη διαμορφωτική ανάλυση οργανικών μορίων. Για την εκτέλεση των υπολογισμών χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα Gaussian 16, το συναρτησιακό B3LYP, με σύνολο βάσης 6-31+G(d,p), όπως έχει προταθεί από βιβλιογραφικά δεδομένα^{45,46}. Όλοι οι υπολογισμοί εκτελέστηκαν λαμβάνοντας υπόψη το DMSO ως διαλύτη, ώστε τα αποτελέσματα να είναι συμβατά με αυτά που λήφθηκαν από το NMR.

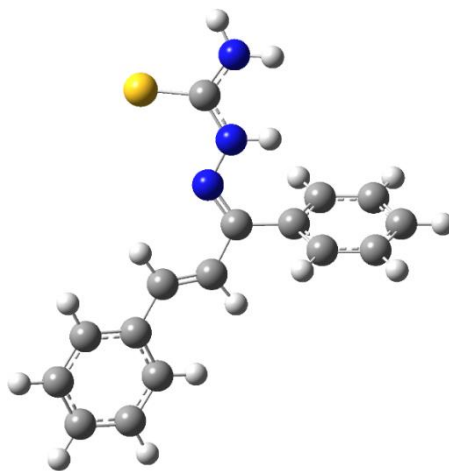
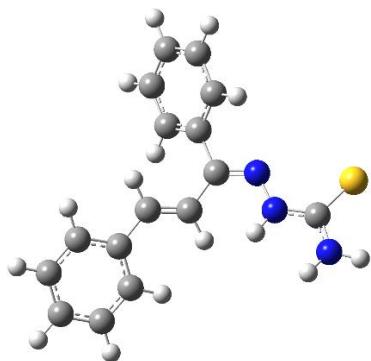
Για την εξαγωγή των συμπερασμάτων, επιλέχθηκαν 4 διέδρες γωνίες και έγινε τυχαία περιστροφή αυτών. Οι διέδρες γωνίες που επιλέχθηκαν είναι αυτές που σχηματίζονται από τα άτομα 5-6-7-8 (**τ1**), 3-4-5-6 (**τ2**), 3-4-5-12 (**τ3**) και 8-7-6-5 (**τ4**) για την ένωση KKI15 και 6-7-8-9 (**τ1'**), 4-5-6-7 (**τ2'**), 4-5-6-13 (**τ3'**) και 9-8-7-6 (**τ4'**) για την ένωση KKI18. Έτσι, εκτός από τις 4 βασικές διαμορφώσεις που αναφέρονται παρακάτω (*E-E/Z-Z/E-Z/Z-E*), σχεδιάστηκαν λίγες ακόμα με σκοπό να επιβεβαιωθεί η προβλεπόμενη διαμορφωτική ανάλυση των υπό μελέτη μορίων και η μελέτη να παρουσιάζει πληρότητα. Συγκεκριμένα, σχεδιάστηκαν 8 συνολικά διαμορφώσεις για την ένωση KKI15 και KKI18. Επειδή από τις διάφορες τυχαίες διαμορφώσεις που ελαχιστοποιήθηκαν κάποιες οδηγούσαν στα ίδια αποτελέσματα, στο παρών κεφάλαιο περιγράφονται συνολικά οι 4 βασικές και διακριτές διαμορφώσεις που προέκυψαν για την κάθε ένωση. Στη συνέχεια υπολογίστηκαν οι συχνότητές τους για να εξετάσουμε αν είναι πραγματικό ελάχιστο ή κατάσταση μετάπτωσης (transition state). Στην **Εικόνα 33** διακρίνονται οι δύο διπλοί δεσμοί που χρησιμοποιήθηκαν για τη συστηματική αναζήτηση για τις ενώσεις KKI15 και KKI18.



Εικόνα 30: Οι διπλοί δεσμοί των δύο ενώσεων όπως προέκυψαν μέσω απεικόνισης με το GaussView.

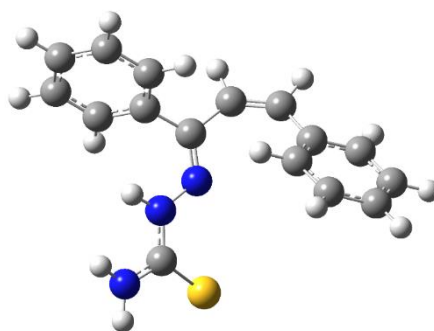
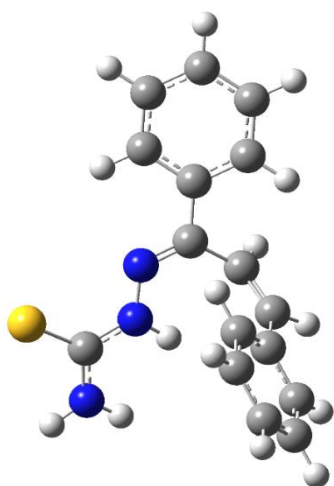
Τα αποτελέσματα παριστάνονται παρακάτω:

KKI15



EΔ1

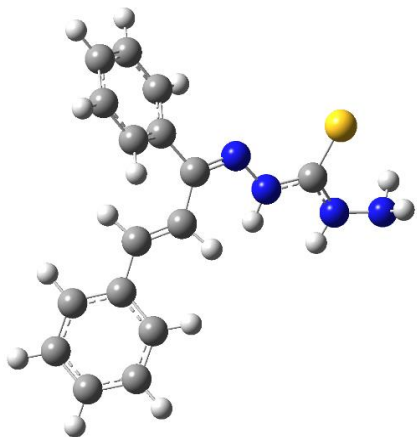
EΔ2



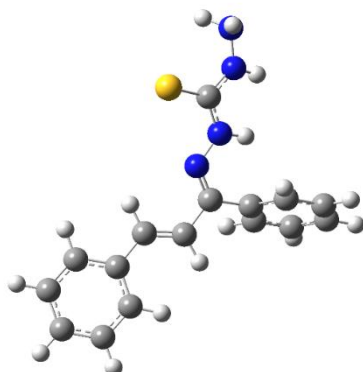
EΔ3

EΔ4

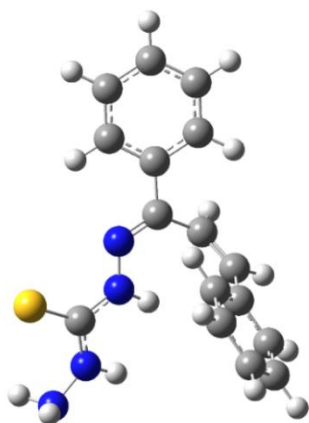
KKI18



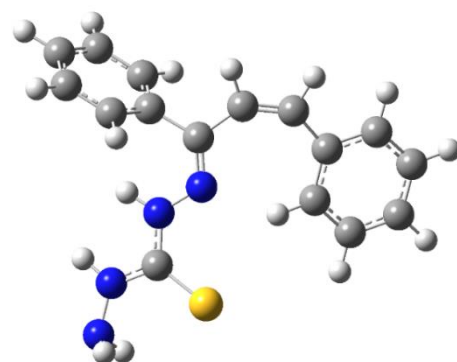
EΔ5



EΔ6



EΔ7



EΔ8

Ένα μέτρο για να ελέγξουμε τη σταθερότητα της δομής είναι ο υπολογισμός της σχετικής ενέργειας. Όπως φαίνεται στον **πίνακα 11**, η τιμή της ενέργειας κάθε δομής έχει άμεση εξάρτηση από την ισομέρεια της. Στη συνέχεια στον **πίνακα 12** εμφανίζονται οι τιμές των δίδρων γωνιών για τις ΚΚΙ15 και ΚΚΙ18.

Πίνακας 11: Αποτελέσματα υπολογισμών ελαχιστοποίησης της ενέργειας. Οι απόλυτες ενέργειες δίνονται σε Hartree οι ενεργειακές διαφορές τους από τη σταθερότερη δομή (ΕΔ1) της ΚΚΙ15 και (ΕΔ5) της ΚΚΙ18 σε kcal/mol.

<u>ΚΚΙ15</u>	<u>Ενέργεια (Hartree)</u>	<u>Διαφορά Ενέργειας(kcal/mol)</u>	<u>Ισομέρεια διπλού δεσμού</u>	<u>Ισομέρεια δεσμού ιμίνης</u>
<u>ΕΔ1</u>	-1181,400589	0	<i>E</i>	<i>E</i>
<u>ΕΔ2</u>	-1181,399336	0,79	<i>E</i>	<i>Z</i>
<u>ΕΔ3</u>	-1181,395748	3,04	<i>Z</i>	<i>E</i>
<u>ΕΔ4</u>	-1181,389886	6,72	<i>Z</i>	<i>Z</i>
<u>ΚΚΙ18</u>	<u>Ενέργεια (Hartree)</u>	<u>Διαφορά Ενέργειας(kcal/mol)</u>	<u>Ισομέρεια διπλού δεσμού</u>	<u>Ισομέρεια δεσμού ιμίνης</u>
<u>ΕΔ5</u>	-1236.733710	0	<i>E</i>	<i>E</i>
<u>ΕΔ6</u>	-1236.732421	0,81	<i>E</i>	<i>Z</i>

<u>ΕΔ7</u>	-1236.728965	2,98	Z	E
<u>ΕΔ8</u>	-1236.723104	6,66	Z	Z

Πίνακας 12: Τιμές σε μοίρες, των διέδρων γωνιών, των ελαχιστοποιημένων δομών για τις ΚΚ15 και ΚΚ18

Ένωση	Ισομέρεια διπλού δεσμού/αμιδικού δεσμού	Διέδρη γωνία (μοίρες)	Διέδρη γωνία (μοίρες)
ΕΔ1	E/E	$\tau_1 = 179,56$	$\tau_2 = -6,97$
ΕΔ2	E/Z	$\tau_1 = 179,12$	$\tau_3 = -4,53$
ΕΔ3	Z/E	$\tau_4 = -3,93$	$\tau_2 = 1,69$
ΕΔ4	Z/Z	$\tau_4 = -6,54$	$\tau_2 = -5,76$
ΕΔ5	E/E	$\tau_1' = -179,50$	$\tau_2' = 6,97$
ΕΔ6	E/Z	$\tau_1' = -179,07$	$\tau_3' = 4,38$
ΕΔ7	Z/E	$\tau_4' = -4,22$	$\tau_2' = 2,14$

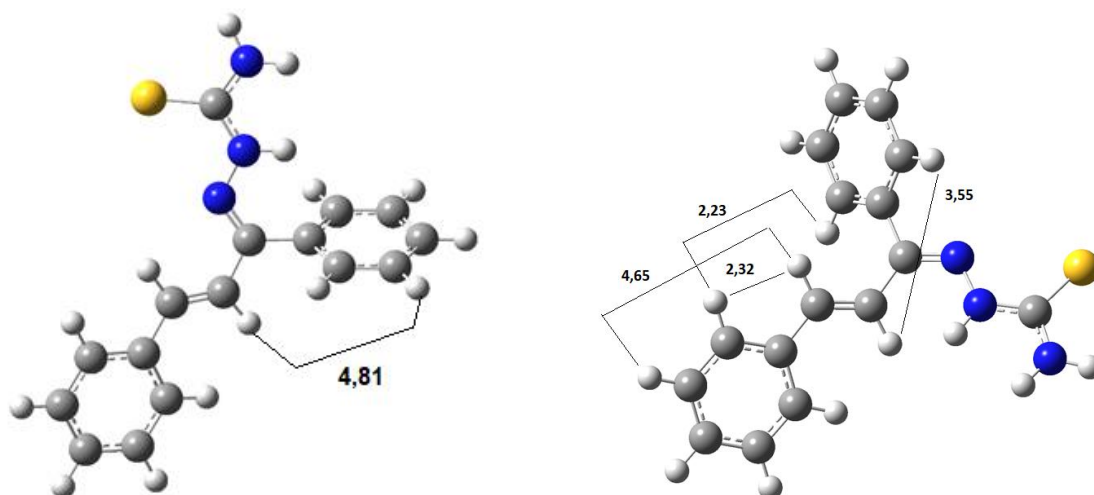
ΕΔ8	Z/Z	$\tau_4' = 0,95$	$\tau_2' = -177,57$
-----	-----	------------------	---------------------

Στον **Πίνακα 12**, οι τιμές των διέδρων γωνιών, των ελαχιστοποιημένων καταστάσεων, παρουσιάζουν διαφορετική συμπεριφορά σε κάθε ισομερές. Αν και η θεωρητική τιμή της διέδρης γωνίας πρέπει να είναι 0° ή 180° , παρατηρούνται κάποιες μικρές αποκλίσεις από τις τιμές αυτές. Αυτό μπορεί να οφείλεται λόγω στερεοχημικών παρεμποδίσεων.

Στον **Πίνακα 11**, φαίνεται ξεκάθαρα η σχέση ενέργειας-δομής ως προς τους δύο διπλούς δεσμούς, με τα *E* ισομερή να λαμβάνουν στο σύνολο τους μικρότερες τιμές ενέργειας σε σχέση με τα *Z*. Σύγκριση των ενεργειών των μορίων με τις τρισδιάστατες δομές τους, δίνει την απάντηση στις ενεργειακές διαφορές, καθώς η διαμόρφωση *E* μειώνει σε μεγάλο βαθμό τις στερεοχημικές παρεμποδίσεις σε σχέση με το *Z*.

Λαμβάνοντας υπόψη τις τιμές της προβλεπόμενης ενέργειας, τις δομές των ενώσεων, τις προβλέψεις για τα φάσματα NMR μέσω της πρόβλεψης GIAO, οι δομές ΕΔ1 και ΕΔ5 λαμβάνονται ως οι πιο πιθανές διαμορφώσεις για την ένωση ΚΚ15 και ΚΚ18 αντίστοιχα.

Οι διαμορφώσεις που είναι οι πιο συμβατές για την ένωση ΚΚ15 και με βάση τα φασματοσκοπικά δεδομένα είναι αυτές που φαίνονται παρακάτω. Μετά τη διαμορφωτική ανάλυση, υπολογίστηκαν οι αποστάσεις των πρωτονίων που έδωσαν σήμα συσχετισμού στον χώρο στο 2D-NOESY. Έτσι, οι αποστάσεις αυτές έδειξαν ότι τα συγκεκριμένα πρωτόνια όντως βρίσκονται σε χωρική εγγύτητα και δικαιολογούν τους παρατηρούμενους NOE χωρικούς συσχετισμούς. Επίσης στον **Πίνακα 13** περιγράφονται οι συσχετισμοί πρωτονίων που παρατηρήθηκαν μέσω 2D-NOESY για την ένωση ΚΚ15, μαζί με τις αντίστοιχες αποστάσεις τους.

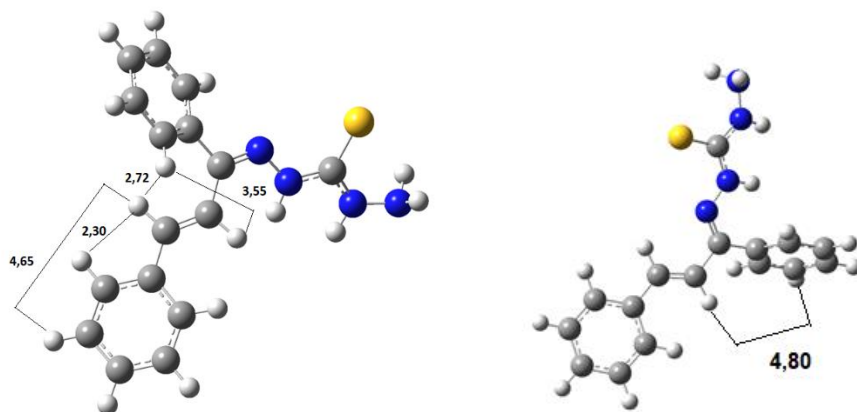


Σχήμα 36: Κύρια διαμόρφωση της KKI15 όπως προέκυψε από DFT υπολογισμούς.

Πίνακας 13: Πίνακας των σημάτων που παρατηρήθηκαν στο 2D-NOESY μαζί με τις μετρούμενες αποστάσεις τους για την ΚΚΙ15.

ΠΑΡΑΤΗΡΟΥΜΕΝΟ ΣΗΜΑ ΣΤΟ ΦΑΣΜΑ 2D-NOESY	ΑΠΟΣΤΑΣΗ ΣΕ Å ΒΑΣΗ ΤΗΣ DFT	ΙΣΧΥΣ ΣΗΜΑΤΟΣ
H7-H13	2,23	S
H7-H10	4,65	W
H7-H9	2,32	S
H6-H14	4,81	W

Οι διαμορφώσεις που είναι οι πιο πιθανές να ταιριάζουν για την ΚΚΙ18 και με βάση τα φασματοσκοπικά δεδομένα είναι αυτές που φαίνονται παρακάτω. Και σε αυτή την περίπτωση τα πρωτόνια έδειξαν κοντινές αποστάσεις με αποτέλεσμα να δικαιολογείται το γεγονός ότι παρατηρούνται στο NMR. Επίσης στον **Πίνακα 14** περιγράφονται οι συσχετισμοί πρωτονίων που παρατηρήθηκαν μέσω 2D-NOESY για την ΚΚΙ18, μαζί με τις αντίστοιχες αποστάσεις τους.



Σχήμα 37: Διαμόρφωση της KKI18 όπως προέκυψε με βάση των DFT υπολογισμούς.

Πίνακας 14: Πίνακας των σημάτων που παρατηρήθηκαν στο 2D-NOESY μαζί με τις μετρούμενες αποστάσεις τους για την ΚΚ18.

ΠΑΡΑΤΗΡΟΥΜΕΝΟ ΣΗΜΑ ΣΤΟ ΦΑΣΜΑ 2D-NOESY	ΑΠΟΣΤΑΣΗ ΣΕ Å ΒΑΣΗ ΤΗΣ DFT	ΙΣΧΥΣ ΣΗΜΑΤΟΣ
H8-H14	2,72	S
H8-H11	4,65	W
H8-H10	2,30	S
H7-H15	4,80	W

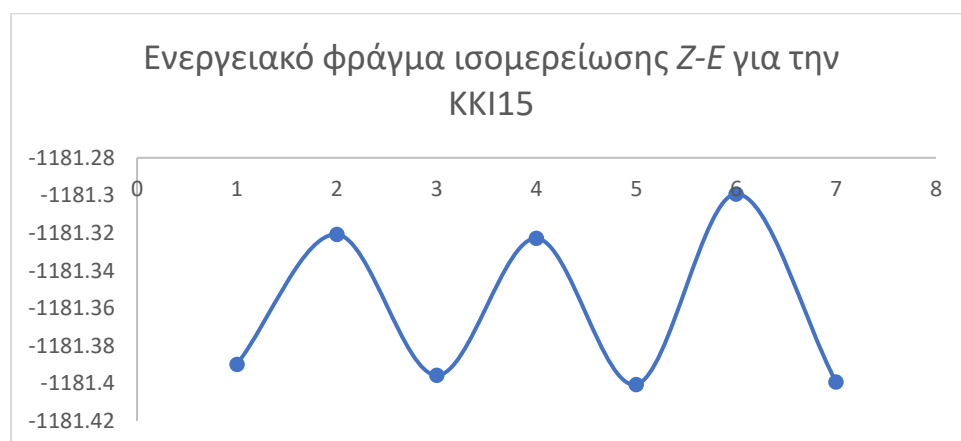
3.4 Αποτελέσματα ενέργειας μεταβατικών δομών

Τα αποτελέσματα των υπολογισμών σε επίπεδο B3LYP 6-31+G(d,p) για την ΚΚΙ15 παρουσιάζονται στον Πίνακα 15:

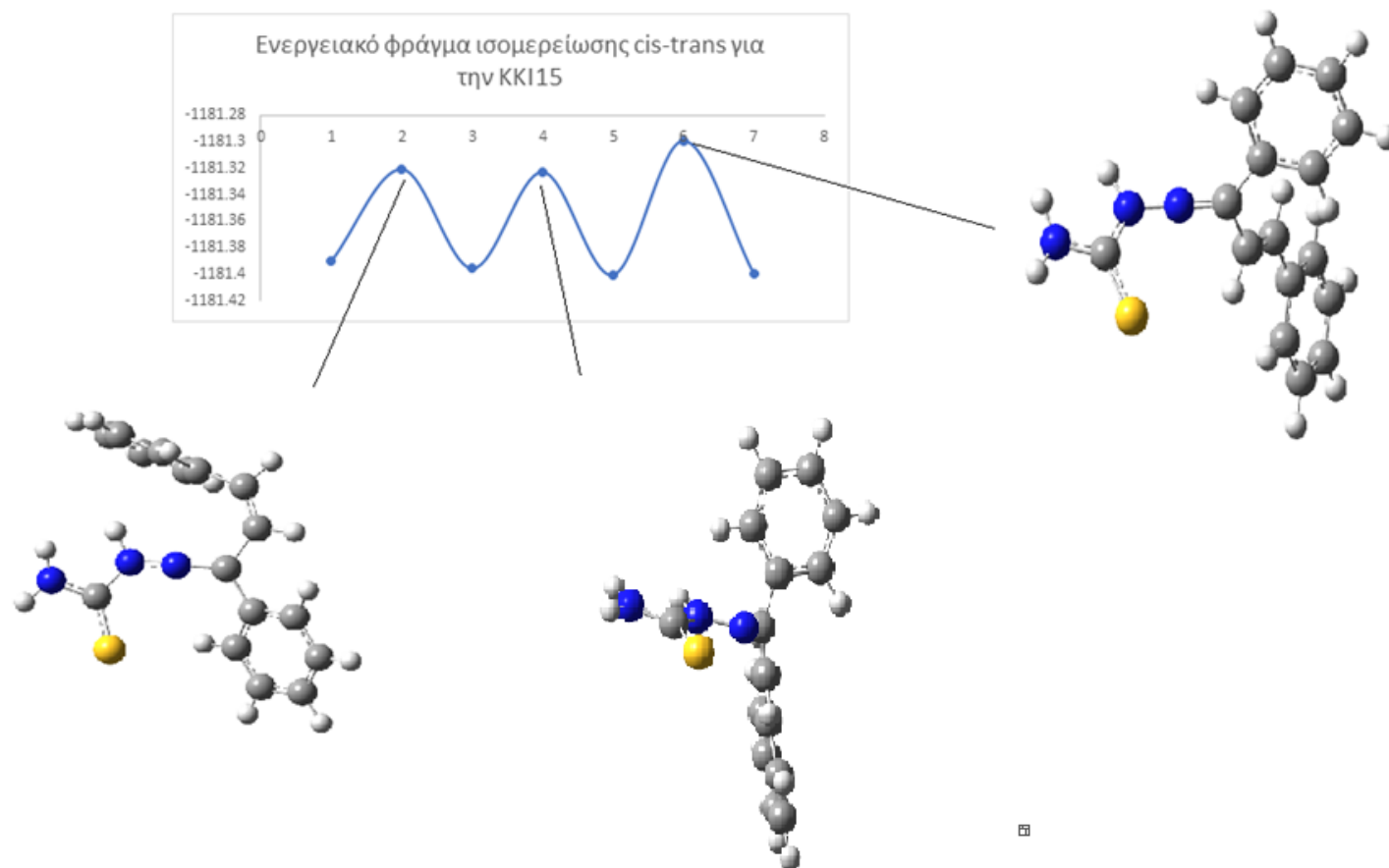
Πίνακας 15: Πίνακας αποτελεσμάτων για την κινητική ισομερείωση μεταξύ Z-E για την ένωση ΚΚΙ15

Διαμόρφωση	Ενέργεια(Hartree)	Ενέργεια(kcal/mol)	Δίεδρη Γωνία(°)
ΕΔ4	-1181.389886	6.72	
ts1	-1181.320772	50.09	119,80
ΕΔ3	-1181.395748	3.04	
ts2	-1181.32284	48.79	-98.41
ΕΔ1	-1181.400589	0.00	
ts3	-1181.29924	63.60	-102,23
ΕΔ2	-1181.399336	0.79	

Στα **σχήματα 38 και 39** παρουσιάζονται τα διαγράμματα για το ενεργειακό φράγμα ισομερείωσης *cis-trans* για την ένωση ΚΚΙ15.



Σχήμα 38: Σχηματική αναπαράσταση του ενεργειακού φράγματος ισομερείωσης μεταξύ Z-E.

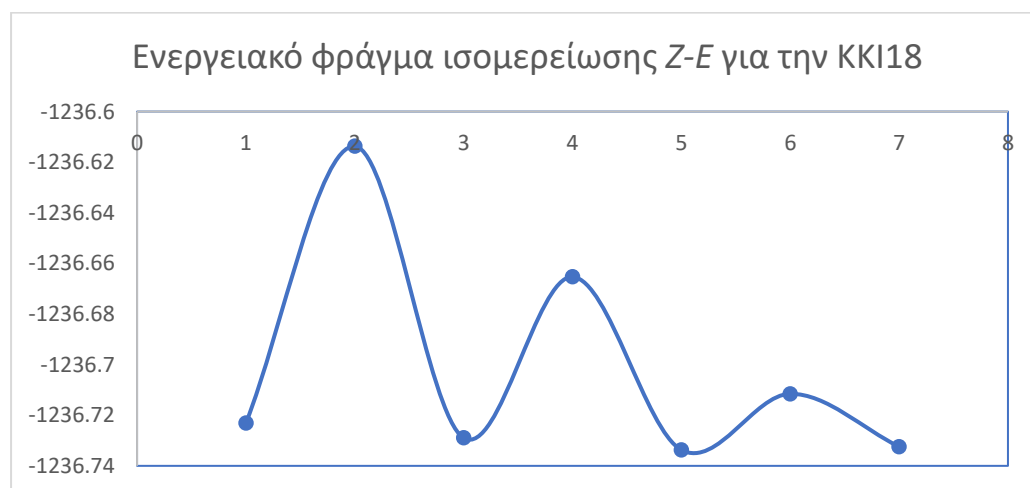


Σχήμα 39: Σχηματική αναπαράσταση κινητικής *ισομερείωσης Z-E* για την ΚΚΙ15.

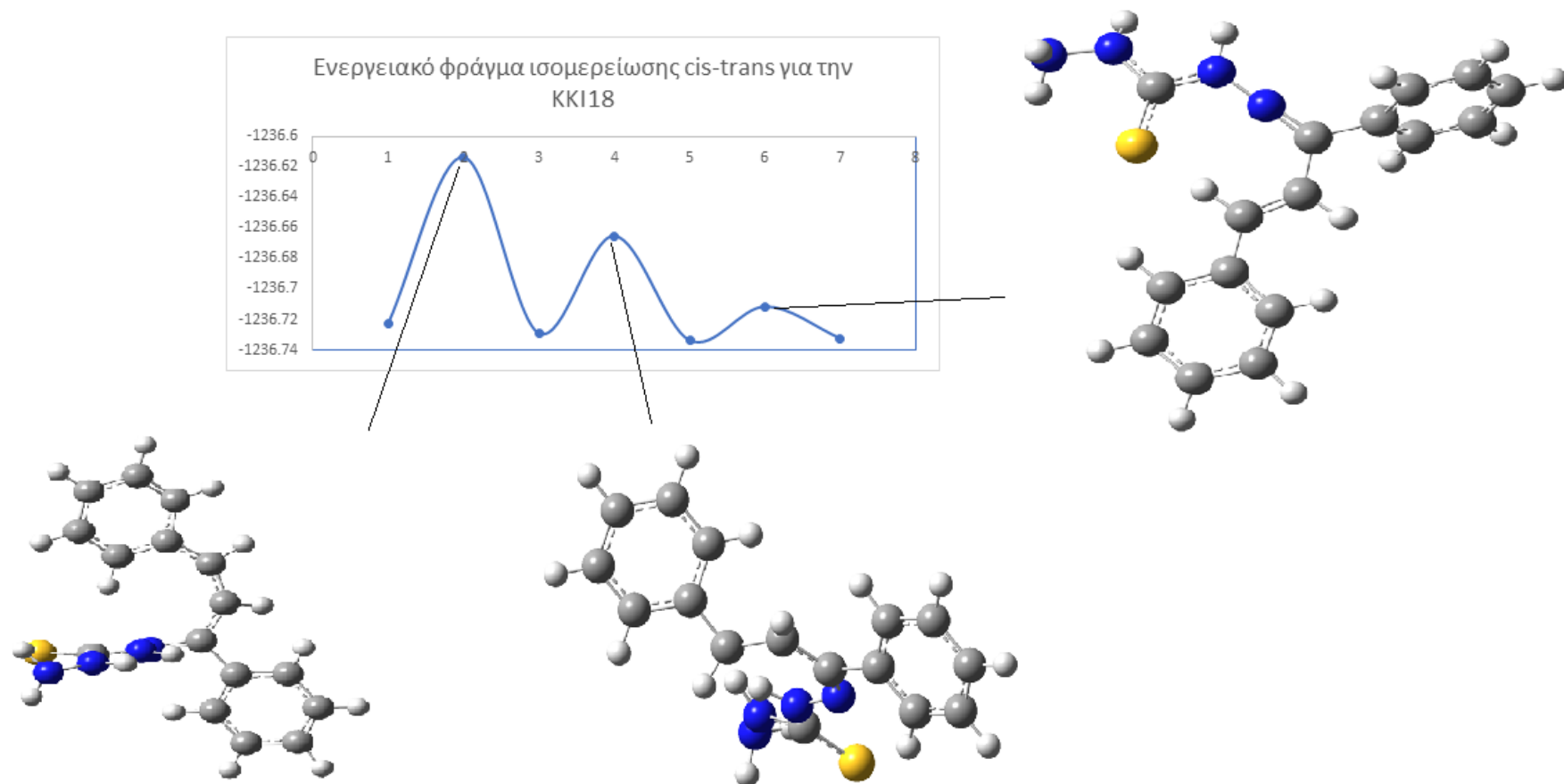
Στον **Πίνακα 16** παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μεταβατικών καταστάσεων για την ΚΚΙ18. Ακολούθως στα **σχήματα 3 και 4** φαίνονται τα διαγράμματα που προέκυψαν για την ένωση ΚΚΙ18.

Πίνακας 16: Πίνακας αποτελεσμάτων για την κινητική ισομερείωση μεταξύ Z-E για την ΚΚΙ18

Διαμόρφωση	Ενέργεια(Hartree)	Ενέργεια(kcal/mol)	Δίεδρη Γωνία (°)
ΕΔ8	-1236.723104	6.66	
ts1	-1236.613718	75.30	-131,29
ΕΔ7	-1236.728965	2.98	
ts2	-1236.665324	42.91	168,91
ΕΔ5	-1236.73371	0.00	
ts3	-1236.711543	13.91	41,50
ΕΔ6	-1236.732421	0.81	



Σχήμα 40: Σχηματική αναπαράσταση του ενεργειακού φράγματος ισομερείωσης μεταξύ Z-E.



Σχήμα 41: Σχηματική αναπαράσταση κινητικής ισομερείωσης Z-E για την ΚΚΙ18.

Οι ενέργειες των μεταβατικών καταστάσεων όπως αυτές προσδιορίστηκαν παρουσιάζουν μεγάλες τιμές, μεγαλύτερες από 20 kcal/mol. Αυτή η μεγάλη διαφορά στο ενεργειακό χάσμα σε σχέση με τη σταθερότερη δομή μπορεί να εξηγήσει τον λόγο που παραλαμβάνουμε μόνο το ένα ισομερές και όχι και τα δύο. Παρόλα αυτά παρατηρείται στην ΚΚ118 ανάμεσα στην ΕΔ5 και ΕΔ6 μικρή διαφορά ενέργειας στη μεταβατική κατάσταση και αυτό είναι που εξηγεί γιατί παρατηρούνται και οι δύο διαμορφώσεις στο NMR.

Στη συνέχεια υπολογίστηκε το ποσοστό που υπάρχει η κάθε διαμόρφωση για την ΚΚ115 και ΚΚ118, βάση της εξίσωσης 1 και έγινε σύγκριση με αυτό που βρέθηκε πειραματικά με τις ολοκληρώσεις από το NMR στους 25°C. Τελικά και υπολογιστικά και πειραματικά βρέθηκαν παρόμοια αποτελέσματα καθώς στη μία περίπτωση έδωσε 41% ενώ πειραματικά έδωσε 28% για τη μία διαμόρφωση (ΕΔ1).

$$P_i = 100 * e^{(-\Delta E_i / RT)}$$

Εξίσωση 1

Συγκεκριμένα για την ΚΚ115 χρησιμοποιήθηκε $\Delta E_i = -102,23$ kcal/mol, $R = 8,3145$ J/mol*K και $T = 298$ K.

Οι ίδιες παράμετροι χρησιμοποιήθηκαν και για την ΚΚ118 με εξαίρεση το ΔE , όπου χρησιμοποιήθηκε $\Delta E_i = 41,50$ kcal/mol.

3.5 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΦΟΡΤΙΩΝ

Για να γίνει πιο εύκολη η ταυτοποίηση των μορίων έγινε υπολογισμός φορτίων για τις ενώσεις ΚΚ115 και ΚΚ118 για τα πρωτόνια του διπλού δεσμού C6=C7 και C7=C8 αντίστοιχα. Με αυτό τον τρόπο θα υπολογισθεί πιο από τα δύο είναι πιο θετικό και συνεπώς πιο αποπροασπισμένο. Όσον αφορά τα εν λόγω πρωτόνια οι υπολογισμοί έδειξαν ότι τα πρωτόνια έχουν παρόμοια φορτία. Συγκεκριμένα, η CM5 δείχνει λίγο πιο θετικό το πρωτόνιο 7 από το 6, ενώ η NBO δείχνει λίγο πιο θετικό το πρωτόνιο 6. Περνώντας στους άνθρακες, η CM5 δείχνει πιο θετικό τον άνθρακα 7 κατά 0.01, ενώ οι NBO και η Mulliken, δείχνει πιο αρνητικό τον άνθρακα 6 σε σχέση με τον 7 κατά 0.08 και 0.14 αντίστοιχα. Άρα ο C7 είναι περισσότερο θετικός σε σχέση με τον C6, απλά η NBO και η Mulliken δίνουν αρνητικό αριθμό στους άνθρακες, ενώ η

CM5 δείχνει σχεδόν 0. Λόγω της πολύ μικρής διαφοράς των φορτίων δεν μπορεί να εξαχθεί κάποιο ακλόνητο συμπέρασμα για την ταυτοποίηση. Η διαφορά των φορτίων στους άνθρακες κυμαίνεται από 0.01-0.1 ανάλογα με τη μέθοδο. Τα αποτελέσματα καταγράφονται στον πίνακα του **Παραρτήματος 12**.

3.6 ΜΟΡΙΑΚΗ ΠΡΟΣΔΕΣΗ

Στο τμήμα το οποίο αναφέρεται στα υλικά και τις μεθόδους έγινε αναφορά στην πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε για τους υπολογισμούς μοριακής πρόσδεσης τόσο των παραγώγων θειοσεμικαρβαζόνης όσο και των παραγώγων θειοκαρβουδραζόνης. Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται τα *in silico* αποτελέσματα των υπολογισμών αυτών καθώς επίσης και οι εικόνες από τα συμπλέγματα ενώσεων που εμφάνισαν τις ευνοϊκότερες τιμές ενέργειας πρόσδεσης. Η οπτικοποίηση των αποτελεσμάτων έγινε με χρήση του προγράμματος Autodock.

Μελετήθηκαν 4 μακρομόρια που βρέθηκαν με χρήση του προγράμματος SwissADME ως πιθανοί στόχοι για τα κιναμμωμικά παράγωγα. Οι παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν ήταν ίδιοι σε όλα τα υποστρώματα. Επειδή και τα 4 μακρομόρια είχαν συν-κρυσταλλωθεί με κάποιο μόριο, χρησιμοποιήθηκαν οι συντεταγμένες του μορίου αυτού, για να πραγματοποιηθούν στη συνέχεια τα πειράματα μοριακής πρόσδεσης με τα κιναμμωμικά παράγωγα. Για τη δημιουργία της περιοχής πλέγματος (Grid Box), οι συντεταγμένες που χρησιμοποιήθηκαν για όλα τα πειράματα ήταν οι εξής:

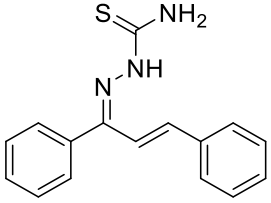
- Οι τιμές για τον αριθμό των σημείων πλέγματος: X= 40, Y= 40, Z= 40 (προεπιλογή).
- Η απόσταση των κουκκίδων: 0,375 Å (προεπιλογή).

Στη συνέχεια, όσον αφορά τις συντεταγμένες για το κέντρο του πλέγματος, χρησιμοποιήθηκαν οι συντεταγμένες από το κάθε μόριο που ήταν ήδη προσδεμένο με το κάθε μακρομόριο, όπως αναφέρθηκε και πριν. Συγκεκριμένα:

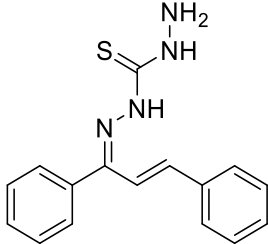
- 5DYW⁴⁴: X= 14,209 , Y= 26,367 , Z= -41,477
- 4EY7⁴⁵: X= -18,53 , Y= -41,928 , Z= 24,258
- 5UEN⁴⁶: X= 52,632 , Y= 56,381 , Z= 141,281
- 1YK8⁴⁷: X= 71,977, Y= 12,669, Z= 131,026

Παρακάτω στους **Πίνακες 17-30** παρατίθενται τα αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης για την κάθε μία ένωση ξεχωριστά μαζί με τα 4 μακρομόρια.

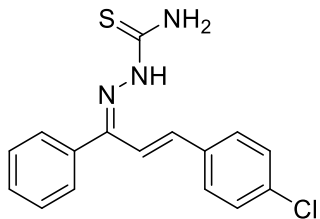
Πίνακας 17: Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της KKI15

KKI15	Binding Energy (kcal/mol)	Inhibition Constant
		
5UEN (Adenosine A1 receptor)	-7.46±0.5	3.38±0.5 μM
5DYW (Butyrylcholinesterase)	-8.24±0.5	0.917±0.5 μM
4EY7 (Acetylcholinesterase)	-8.6±0.5	0.499±0.5 μM
1YK8 (Cathepsin K)	-5.73±0.5	63.07±0.5 μM

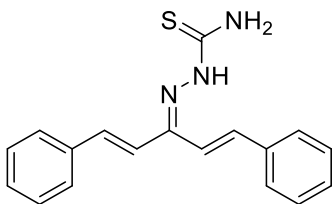
Πίνακας 18: Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της KKI18

KKI18	Ενέργεια Δέσμευσης (kcal/mol)	Σταθερά Αναστολής
		
5UEN (Adenosine A1 receptor)	-7.46±0.5	3.38 μM±0.5
5DYW (Butyrylcholinesterase)	-7.75±0.5	2.1 μM±0.5
4EY7 (Acetylcholinesterase)	-9.08±0.5	0.221 μM±0.5
1YK8 (Cathepsin K)	-6.05±0.5	0.037 μM±0.5

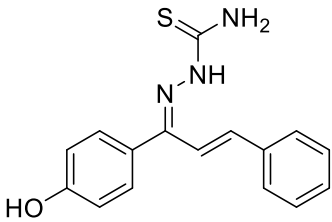
Πίνακας 19: Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ΚΚΙ19

ΚΚΙ19	Ενέργεια Δέσμευσης (kcal/mol)	Σταθερά Αναστολής
		
5UEN (Adenosine A1 receptor)	-8.14±0.5	1.08 μM±0.5
5DYW (Butyrylcholinesterase)	-8.47±0.5	0.623 μM±0.5
4EY7 (Acetylcholinesterase)	-9.29±0.5	0.154 μM±0.5
1YK8 (Cathepsin K)	-5.99±0.5	40.79 μM±0.5

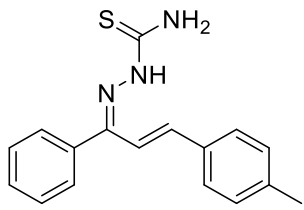
Πίνακας 20: Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης του KKI21.

KKI21	Ενέργεια Δέσμευσης (kcal/mol)	Σταθερά Αναστολής
		
5UEN (Adenosine A1 receptor)	-8.22±0.5	0.938±0.5 μM
5DYW (Butyrylcholinesterase)	-9.52±0.5	0.105±0.5 μM
4EY7 (Acetylcholinesterase)	-9.96±0.5	0.050±0.5 μM
1YK8 (Cathepsin K)	-7.05±0.5	6.77±0.5 μM

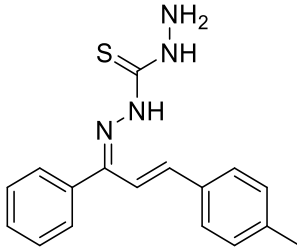
Πίνακας 21: Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ΚΚΙ22

ΚΚΙ22	Ενέργεια Δέσμευσης (kcal/mol)	Σταθερά Αναστολής
		
5UEN (Adenosine A1 receptor)	-7.79±0.5	1.95±0.5 μM
5DYW (Butyrylcholinesterase)	-7.92±0.5	1.57±0.5 μM
4EY7 (Acetylcholinesterase)	-9±0.5	0.251±0.5 μM
1YK8 (Cathepsin K)	-5.94±0.5	44.28±0.5 μM

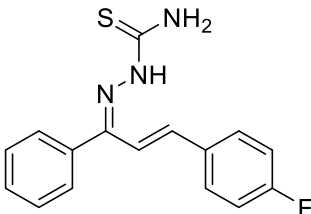
Πίνακας 22: Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ΚΚΙ24

ΚΚΙ24	Ενέργεια Δέσμευσης (kcal/mol)	Σταθερά Αναστολής
		
5UEN (Adenosine A1 receptor)	-7.94±0.5	1.52±0.5 μM
5DYW (Butyrylcholinesterase)	-8.48±0.5	0.608±0.5 μM
4EY7 (Acetylcholinesterase)	-9.22±0.5	0.175±0.5 μM
1YK8 (Cathepsin K)	-6.12±0.5	32.5±0.5 μM

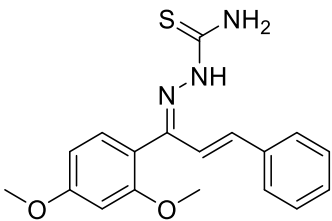
Πίνακας 23: Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ΚΚΙ25

ΚΚΙ25	Ενέργεια Δέσμευσης (kcal/mol)	Σταθερά Αναστολής
		
5UEN (Adenosine A1 receptor)	-7.92±0.5	1.57±0.5 μM
5DYW (Butyrylcholinesterase)	-8.52±0.5	0.373±0.5 μM
4EY7 (Acetylcholinesterase)	-9±0.5	0.252±0.5 μM
1YK8 (Cathepsin K)	-6.33±0.5	22.88±0.5 μM

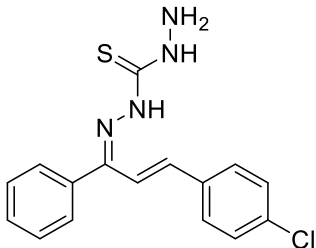
Πίνακας 24: Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ΚΚΙ27

ΚΚΙ27	Ενέργεια Δέσμευσης (kcal/mol)	Σταθερά Αναστολής
		
5UEN (Adenosine A1 receptor)	-9.74±0.5	0.072±0.5 μM
5DYW (Butyrylcholinesterase)	-7.93±0.5	1.54±0.5 μM
4EY7 (Acetylcholinesterase)	-9.02±0.5	0.243±0.5 μM
1YK8 (Cathepsin K)	-5.85±0.5	51.38±0.5 μM

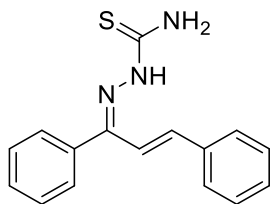
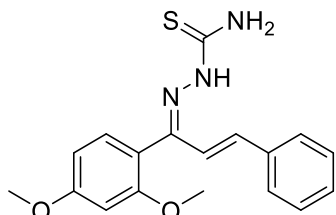
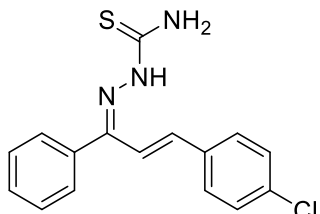
Πίνακας 25: Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της KKI16

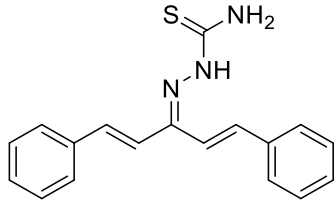
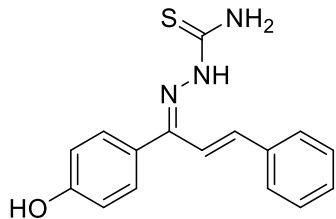
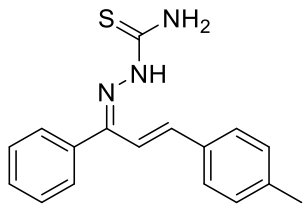
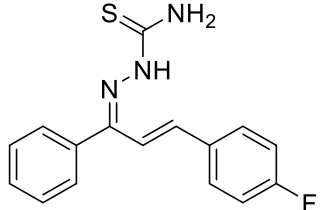
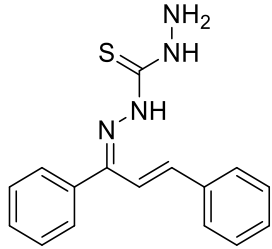
KKI16	Ενέργεια Δέσμευσης (kcal/mol)	Σταθερά Αναστολής
		
5UEN (Adenosine A1 receptor)	-8.24±0.5	0.905±0.5 μM
5DYW (Butyrylcholinesterase)	-8.28±0.5	0.848±0.5 μM
4EY7 (Acetylcholinesterase)	-9.23±0.5	0.172±0.5 μM
1YK8 (Cathepsin K)	-5.66±0.5	70.69±0.5 μM

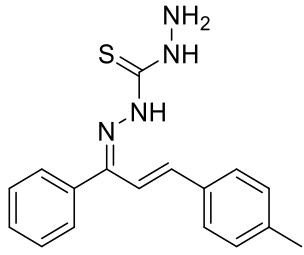
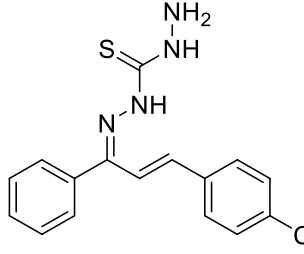
Πίνακας 26: Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ΚΚΙ23

ΚΚΙ23	Ενέργεια Δέσμευσης (kcal/mol)	Σταθερά Αναστολής
		
5UEN (Adenosine A1 receptor)	-8.03±0.5	1.31±0.5 μM
5DYW (Butyrylcholinesterase)	-8.14±0.5	1.08±0.5 μM
4EY7 (Acetylcholinesterase)	-9.3±0.5	0.153±0.5 μM
1YK8 (Cathepsin K)	-6.29±0.5	24.36±0.5 μM

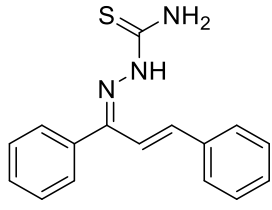
Πίνακας 27: Συγκεντρωτικός Πίνακας αποτελεσμάτων μοριακής πρόσδεσης μεταξύ των ενώσεων και του 5UEN

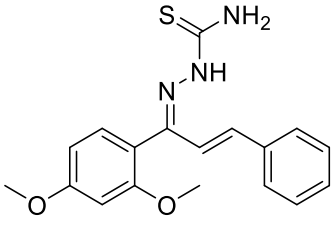
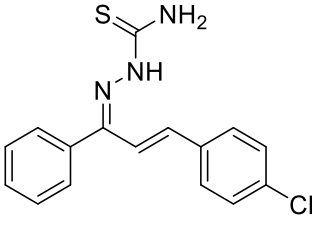
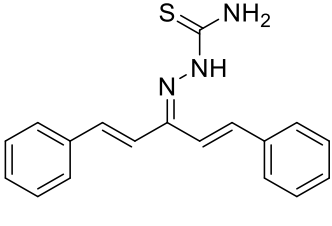
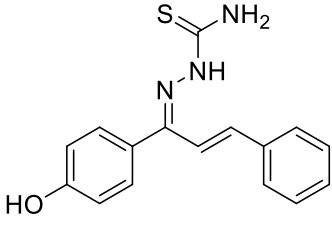
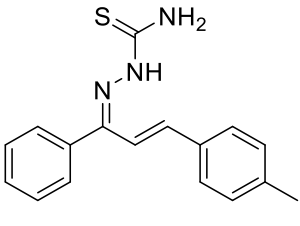
5UEN (Adenosine A1 receptor)	ΕΝΕΡΓΕΙΑ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ (kcal/mol)	ΣΤΑΘΕΡΑ ΑΝΑΣΤΟΛΗΣ
KKI15 	-7.46±0.5	3.38±0.5 μM
KKI16 	-8.24±0.5	0.905±0.5 μM
KKI19 	-8.14±0.5	1.08 μM±0.5
KKI21	-8.22±0.5	0.938±0.5 μM

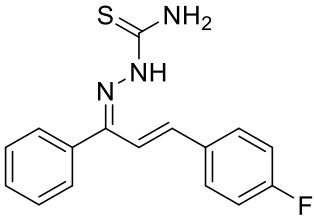
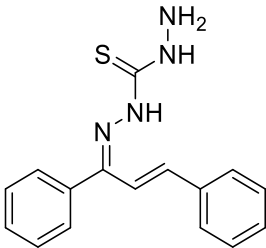
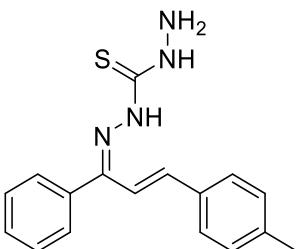
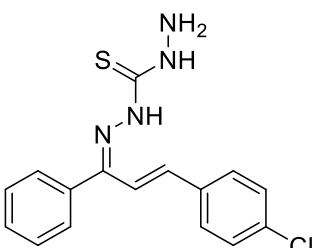
		
<p>KKI22</p> 	<p>-7.79±0.5</p>	<p>1.95±0.5 μM</p>
<p>KKI24</p> 	<p>-7.94±0.5</p>	<p>1.52±0.5 μM</p>
<p>KKI27</p> 	<p>-9.74±0.5</p>	<p>0.072±0.5 μM</p>
<p>KKI18</p> 	<p>-7.46±0.5</p>	<p>3.38 μM±0.5</p>
<p>KKI25</p>	<p>-7.92±0.5</p>	<p>1.57±0.5 μM</p>

		
KKI23 	-8.03±0.5	1.31±0.5 μM

Πίνακας 28: Συγκεντρωτικός Πίνακας αποτελεσμάτων μοριακής πρόσδεσης μεταξύ των ενώσεων και του 5DYW

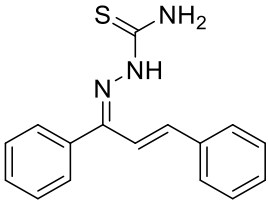
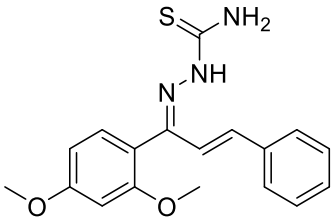
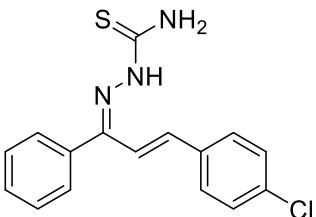
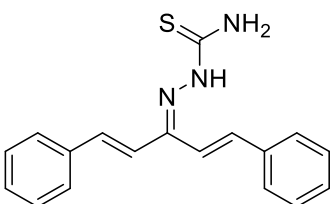
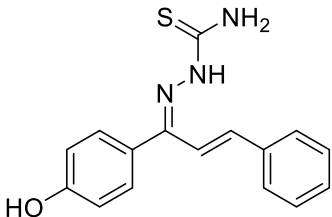
5DYW (Butyrylcholinesterase)	ΕΝΕΡΓΕΙΑ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ (kcal/mol)	ΣΤΑΘΕΡΑ ΑΝΑΣΤΟΛΗΣ
KKI15 	-8.24±0.5	0.917±0.5 μM
KKI16	-8.24±0.5	0.905±0.5 μM

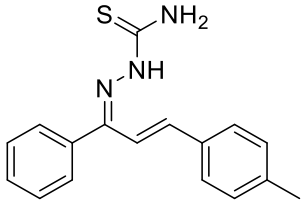
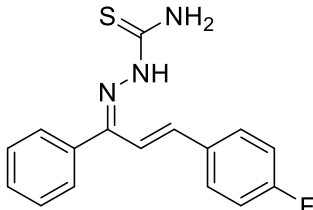
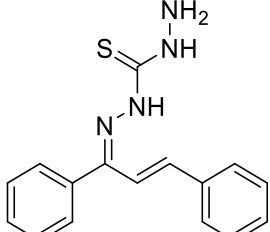
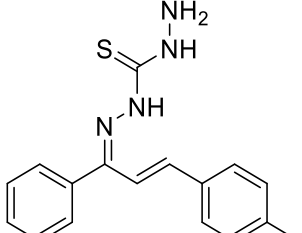
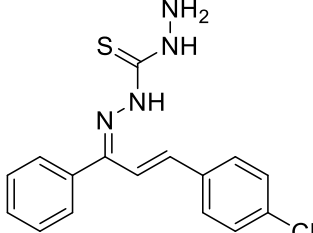
		
<p>KKI19</p> 	<p>-8.47±0.5</p>	<p>0.623 μM±0.5</p>
<p>KKI21</p> 	<p>-9.52±0.5</p>	<p>0.105±0.5 μM</p>
<p>KKI22</p> 	<p>-7.92±0.5</p>	<p>1.57±0.5 μM</p>
<p>KKI24</p> 	<p>-7.94±0.5</p>	<p>1.52±0.5 μM</p>
<p>KKI27</p>	<p>-9.74±0.5</p>	<p>0.072±0.5 μM</p>

		
KKI18 	-7.75±0.5	2.1 μM±0.5
KKI25 	-7.92±0.5	1.57±0.5 μM
KKI23 	-8.14±0.5	1.08±0.5 μM

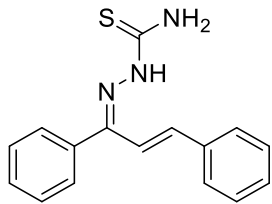
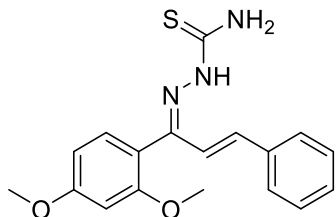
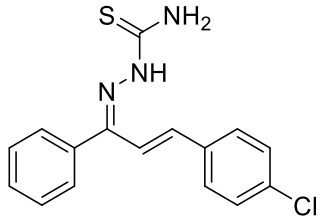
Πίνακας 29: Συγκενρωτικός Πίνακας αποτελεσμάτων μοριακής πρόσδεσης μεταξύ των ενώσεων και του 4EY7

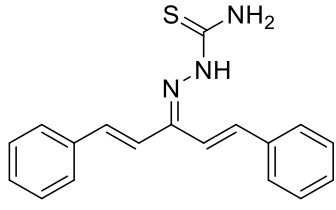
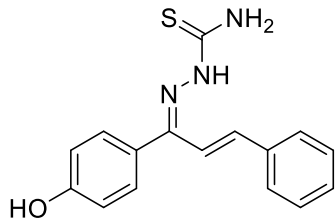
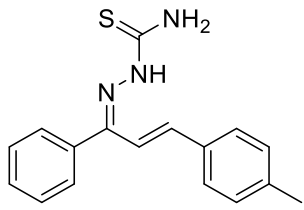
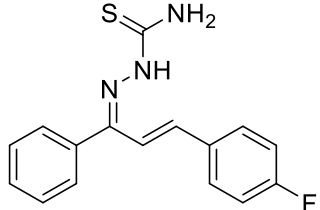
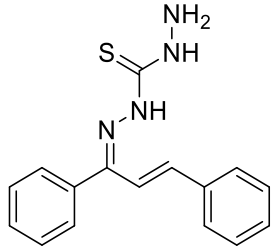
4EY7 (Acetylcholinesterase)	ΕΝΕΡΓΕΙΑ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ(kcal/mol)	ΣΤΑΘΕΡΑ ΑΝΑΣΤΟΛΗΣ
KKI15	-8.6±0.5	0.499±0.5 μM

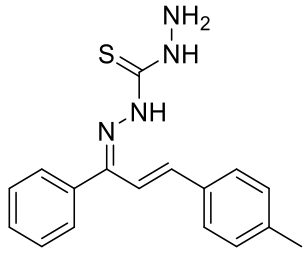
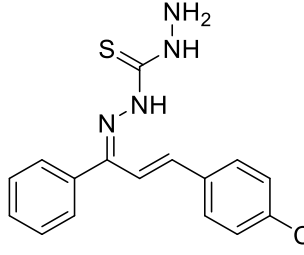
		
<p>KKI16</p> 	<p>-9.23±0.5</p>	<p>0.172±0.5 μM</p>
<p>KKI19</p> 	<p>-9.29±0.5</p>	<p>0.154 μM±0.5</p>
<p>KKI21</p> 	<p>-9.96±0.5</p>	<p>0.050±0.5 μM</p>
<p>KKI22</p> 	<p>-9±0.5</p>	<p>0.251±0.5 μM</p>
<p>KKI24</p>	<p>-9.22±0.5</p>	<p>0.175±0.5 μM</p>

		
<p>KKI27</p> 	<p>-9.02±0.5</p>	<p>0.243±0.5 μM</p>
<p>KKI18</p> 	<p>-9.08±0.5</p>	<p>0.221 μM±0.5</p>
<p>KKI25</p> 	<p>-9±0.5</p>	<p>0.252±0.5 μM</p>
<p>KKI23</p> 	<p>-9.3±0.5</p>	<p>0.153±0.5 μM</p>

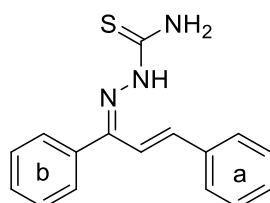
Πίνακας 30: Συγκεντρωτικός Πίνακας αποτελεσμάτων μοριακής πρόσδεσης μεταξύ των ενώσεων και του 1YK8

1YK8 (Cathepsin K)	ΕΝΕΡΓΕΙΑ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ (kcal/mol)	ΣΤΑΘΕΡΑ ΑΝΑΣΤΟΛΗΣ
KKI15 	-6.29±0.5	24.36±0.5 μM
KKI16 	-5.66±0.5	70.69±0.5 μM
KKI19 	-5.85±0.5	51.38±0.5 μM
KKI21	-7.05±0.5	6.77±0.5 μM

		
<p>KKI22</p> 	<p>-5.94±0.5</p>	<p>44.28±0.5 μM</p>
<p>KKI24</p> 	<p>-6.12±0.5</p>	<p>32.5±0.5 μM</p>
<p>KKI27</p> 	<p>-6.33±0.5</p>	<p>22.88±0.5 μM</p>
<p>KKI18</p> 	<p>-6.05±0.5</p>	<p>0.037 μM±0.5</p>
<p>KKI25</p>	<p>-6.33±0.5</p>	<p>22.88±0.5 μM</p>

		
<p>KKI23</p> 	<p>-6.29±0.5</p>	<p>24.36±0.5 μM</p>

Για την εξαγωγή των συμπερασμάτων θεωρούμε τους δακτυλίους a και b όπως παριστάνονται στο **Σχήμα 42**, καθώς επίσης ότι οι ενώσεις ταξινομούνται σε δύο ομάδες την α για τις θειοσεμικαρβαζόνες και τη β για τις θειοκαρβουδραζόνες.



Σχήμα 42: Δομή με αριθμημένους τους δακτυλίους όπως χρησιμοποιήθηκαν για την εξαγωγή συμπερασμάτων

Όσον αφορά το μακρομόριο 5UEN, οι τιμές ενέργειας πρόσδεσης κυμαίνονται από -7,46 kcal/mol έως -9,74 kcal/mol. Για την α κατηγορία ενώσεων, παρατηρείται ότι όσο αυξάνονται οι υποκαταστάτες στον a δακτύλιο τόσο πιο ισχυρά προσδένεται η ένωση. Επίσης όσο αυξάνεται η ηλεκτραρνητικότητα του υποκαταστάτη τόσο πιο ισχυρά προσδένεται η ένωση. Τα ίδια ισχύουν και για τη β κατηγορία ενώσεων. Συγκεκριμένα, η ένωση της α κατηγορίας KKI27 (-9.74±0.5 kcal/mol) που φέρει στον δακτύλιο a φθόριο προσδένεται πιο ισχυρά σε σχέση με την ένωση KKI19 της ίδιας κατηγορίας που φέρει στον δακτύλιο b χλώριο (-8.14±0.5 kcal/mol).

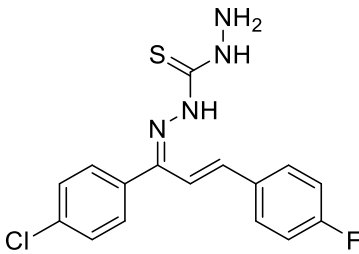
Παρόμοια αποτελέσματα ισχύουν και για το μακρομόριο 5DYW. Οι τιμές ενέργειας πρόσδεσης κυμαίνονται από -7,75 kcal/mol έως -9,74 kcal/mol. Εδώ ισχύουν πάλι τα ίδια συμπεράσματα όπως και με το μακρομόριο 5UEN, δηλαδή η προσθήκη υποκαταστατών στον α δακτύλιο αυξάνει και την ενέργεια πρόσδεσης.

Προχωρώντας στο μακρομόριο 4EY7, εκεί παρατηρήθηκε ότι όλες οι ενώσεις έδωσαν ισχυρές προσδέσεις (<-9 kcal/mol). Οι τιμές ενέργειας πρόσδεσης κυμαίνονταν από -8,6 kcal/mol έως -9,96 kcal/mol. Προσθήκη υποκαταστάτη ή υποκαταστατών στον α ή b δακτύλιο οδηγεί σε ισχυρότερη πρόσδεση.

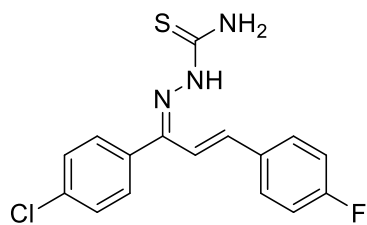
Στο τελευταίο μακρομόριο, οι ενώσεις δεν προσδέονται ισχυρά. Συγκεκριμένα έδωσαν τιμές από -5,66 kcal/mol έως -7,05 kcal/mol. Η μόνη ένωση που έδωσε υποσχόμενο αποτέλεσμα είναι η KKI21, που ανήκει στην α κατηγορία ενώσεων. Σε αντίθεση με τα άλλα μακρομόρια η προσθήκη υποκαταστατών στον α ή b δακτύλιο οδηγεί σε λιγότερο ευνοϊκή πρόσδεση.

Μετά την εξαγωγή των παραπάνω συμπερασμάτων σχεδιάστηκαν μέσω της πλατφόρμας ChemDraw ένα μόριο θειοσεμικαρβαζόνης και ένα μόριο θειοκαρβουδραζόνης που φέρουν έναν ηλεκτραρνητικό υποκαταστάτη και στον b δακτύλιο με σκοπό να ελεγχθεί και η επιρροή αυτού του δακτυλίου. Τα αποτελέσματα φαίνονται στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 31: Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης test1 με τα 4 μακρομόρια.

test1	Ενέργεια δέσμευσης (kcal/mol)	Σταθερά Αναστολής
		
5UEN (Adenosine A1 receptor)	-8.89±0.5	0,304±0.5 μM
5DYW (Butyrylcholinesterase)	0,06±0.5	Δεν προσδέεται
4EY7 (Acetylcholinesterase)	-9.62±0.5	0,089±0.5 μM
1YK8 (Cathepsin K)	-5,78±0.5	57,93±0.5 μM

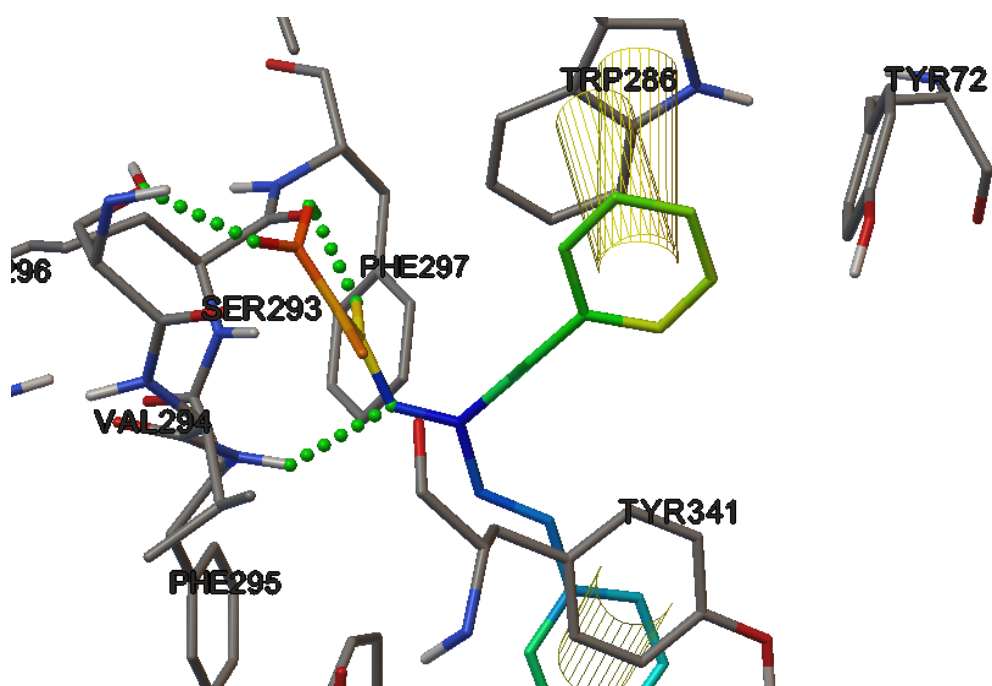
Πίνακας 32: Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης test2 με τα 4 μακρομόρια.

test2 	Ενέργεια δέσμευσης (kcal/mol)	Σταθερά Αναστολής
5UEN (Adenosine A1 receptor)	-8.89±0.5	0,305±0.5 μM
5DYW (Butyrylcholinesterase)	-0.24±0.5	670.000±0.5 μM
4EY7 (Acetylcholinesterase)	-9.75±0.5	71.11±0.5 μM
1YK8 (Cathepsin K)	-5,58±0.5	81,85±0.5 μM

Συνοψίζοντας προκύπτει ότι για τα μακρομόρια 5UEN και 4EY7 και στις δύο κατηγορίες ενώσεων δίνουν ισχυρές προσδέσεις. Δηλαδή η προσθήκη ηλεκτραρνητικών υποκαταστατών και στον b δακτύλιο μπορεί να οδηγήσει σε ενώσεις που προσδέονται ισχυρά στα εν λόγω ένζυμα. Δεν παρουσιάζουν όμως προσθετική ικανότητα καθώς παρεμφερείς δομικά ενώσεις δίνουν ισχυρότερες προσδέσεις. Όσον αφορά το ένζυμο 5DYW, οι ενώσεις δεν προσδέονται σχεδόν καθόλου με αποτέλεσμα η προσθήκη ηλεκτραρνητικών υποκαταστατών στον b δακτύλιο να εξασθενεί την πρόσδεση στη βουτυρυλοχολινεστεράση. Το ίδιο συμβαίνει και για το μακρομόριο 1YK8.

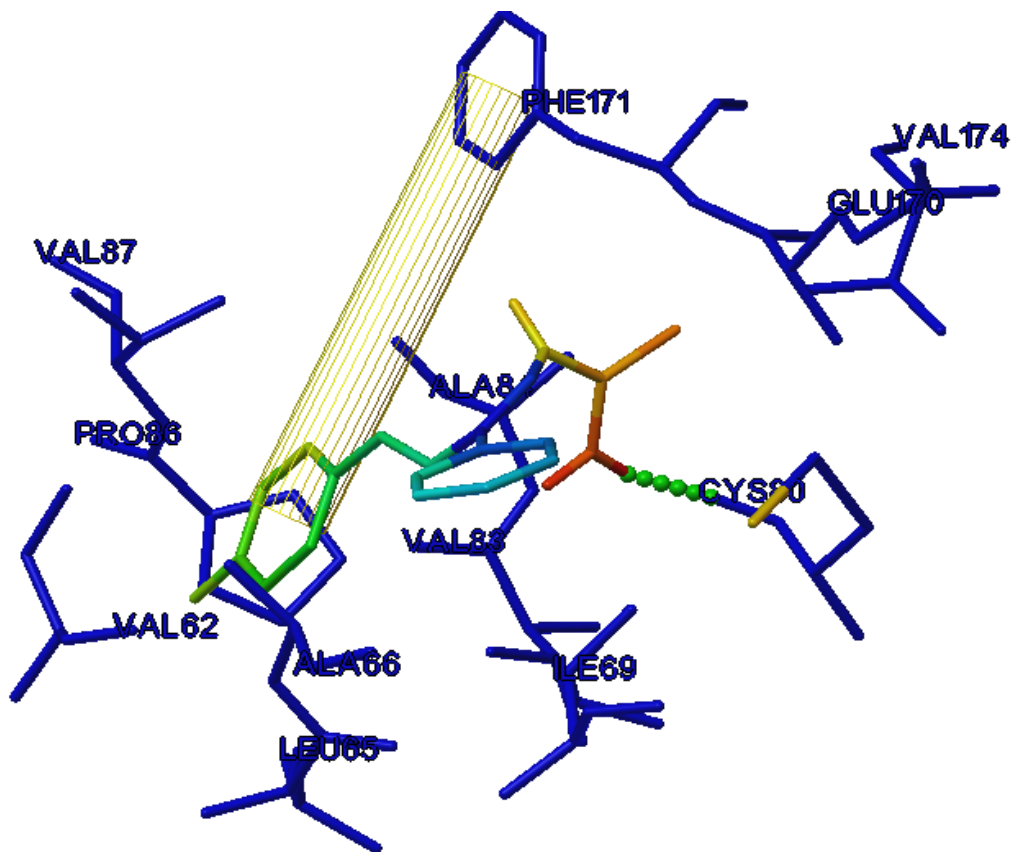
Οι δεσμοί ανάμεσα στους προσδέτες και στους υποδοχείς καλύπτουν όλο το εύρος των χημικών δεσμών, μπορεί δηλαδή να είναι ομοιοπολικοί δεσμοί, ιοντικοί δεσμοί, αλληλεπιδράσεις διπόλου-διπόλου, δεσμοί υδρογόνου, δεσμοί μεταφοράς φορτίου, υδροφοβικοί δεσμοί και δεσμοί Van der Waals. Οι δεσμοί αυτοί θεωρείται ότι σχηματίζονται στιγμιαία όταν ο προσδέτης φτάσει σε κατάλληλη απόσταση από τον υποδοχέα για το σχηματισμό του δεσμού. Επίσης, αξίζει να αναφερθεί ότι όταν η ενέργεια πρόσδεσης (ΔG_{bind}) του μορίου με τον υποδοχέα είναι μικρότερη από -7 kcal/mol ($<-7 \text{ kcal/mol}$) θεωρείται η πρόσδεση αρκετά ισχυρή, ενώ όταν η ενέργεια πρόσδεσης κυμαίνεται μεταξύ -6 kcal/mol και -7 kcal/mol , η πρόσδεση χαρακτηρίζεται μέτρια ευνοϊκή. Όταν η πρόσδεση είναι μεγαλύτερη από -6 kcal/mol , θεωρείται ότι το μόριο δεν προσδέεται ικανοποιητικά στον υποδοχέα.

Στη συνέχεια οπτικοποιούνται τα αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης των μορίων που παρουσίασαν τις καλύτερες τιμές ενέργειας πρόσδεσης.



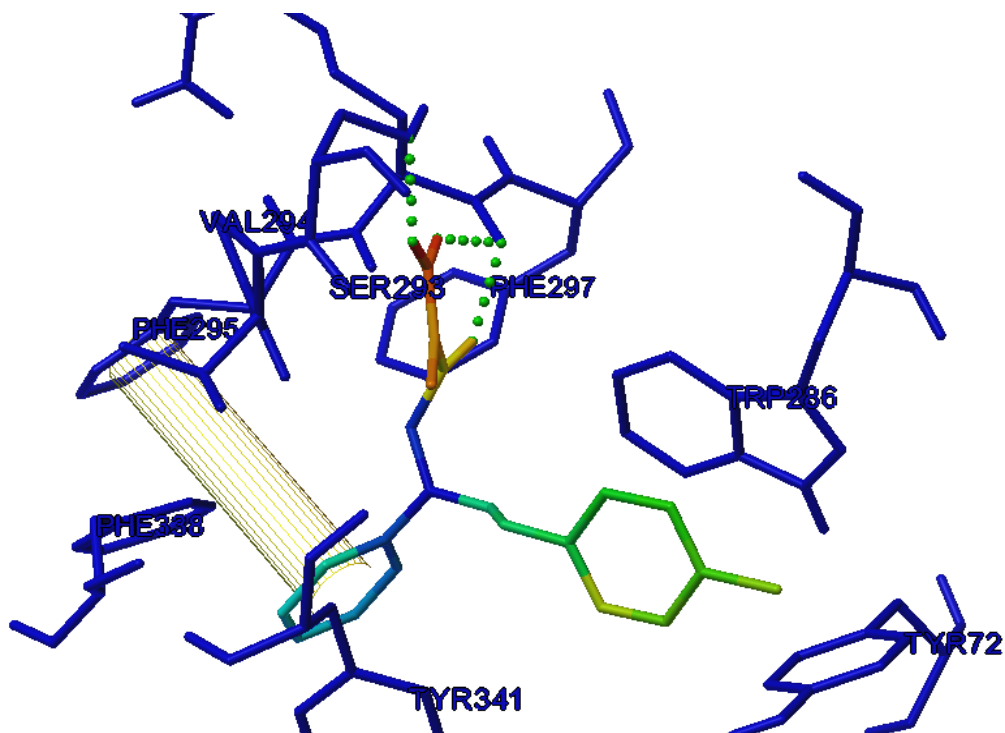
Εικόνα 31: Αλληλεπιδράσεις του παραγώγου KKI21 με την ακετυλοχολινεστεράση

Όπως φαίνεται και από τη παραπάνω εικόνα η KKI21 παρουσιάζει τρεις δεσμούς υδρογόνου με τα αμινοξέα SER293, PHE297 και VAL294. Επίσης παρουσιάζει δύο π-π αλληλεπιδράσεις με τους αρωματικούς δακτυλίους του αμινοξέος TYR341 και TRP286.



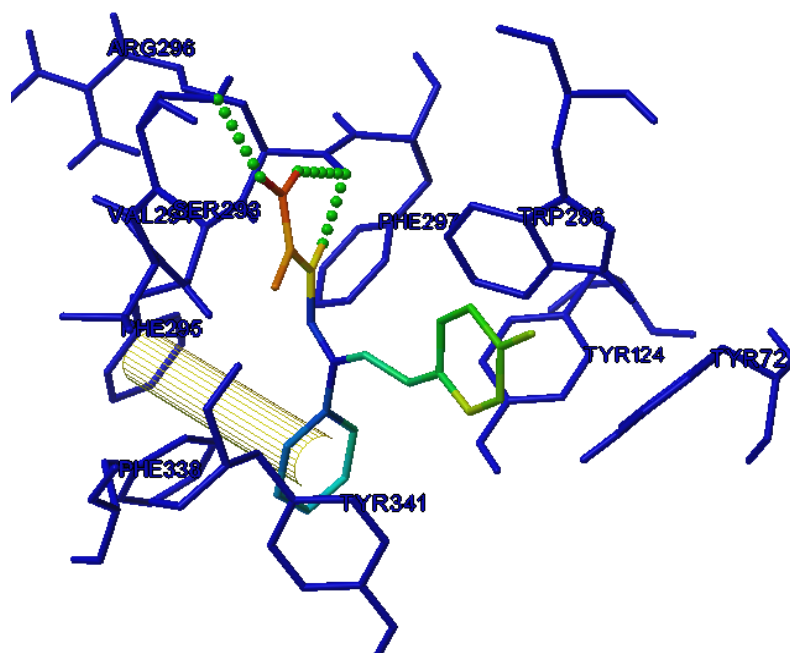
Εικόνα 32: Αλληλεπιδράσεις του παραγώγου KKI27 με την αδενοσίνη A1.

Όπως φαίνεται από τη παραπάνω εικόνα η KKI27 παρουσιάζει έναν δεσμό υδρογόνου με το αμινοξύ CYS80 και μία π-π αλληλεπίδραση με το αρωματικό δακτύλιο του αμινοξέος PHE171.



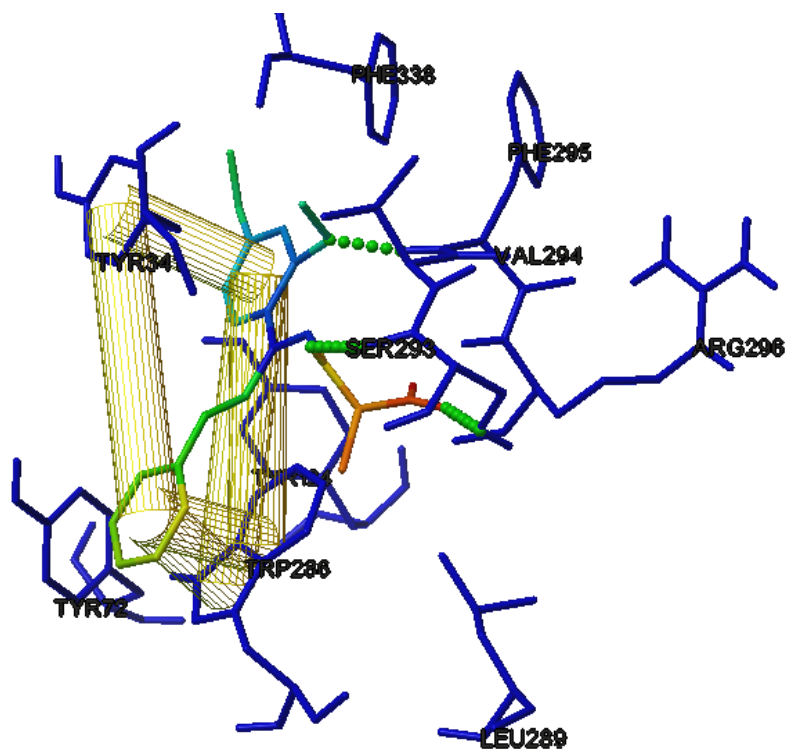
Εικόνα 33: Αλληλεπιδράσεις του παραγώγου KKI24 με την ακετυλοχολινεστεράση

Όπως φαίνεται από τη παραπάνω εικόνα η KKI24 παρουσιάζει δύο δεσμούς υδρογόνου με τα αμινοξέα PHE297 και SER295 και μία π-π αλληλεπίδραση με τον αρωματικό δακτύλιο του αμινοξέος PHE295.



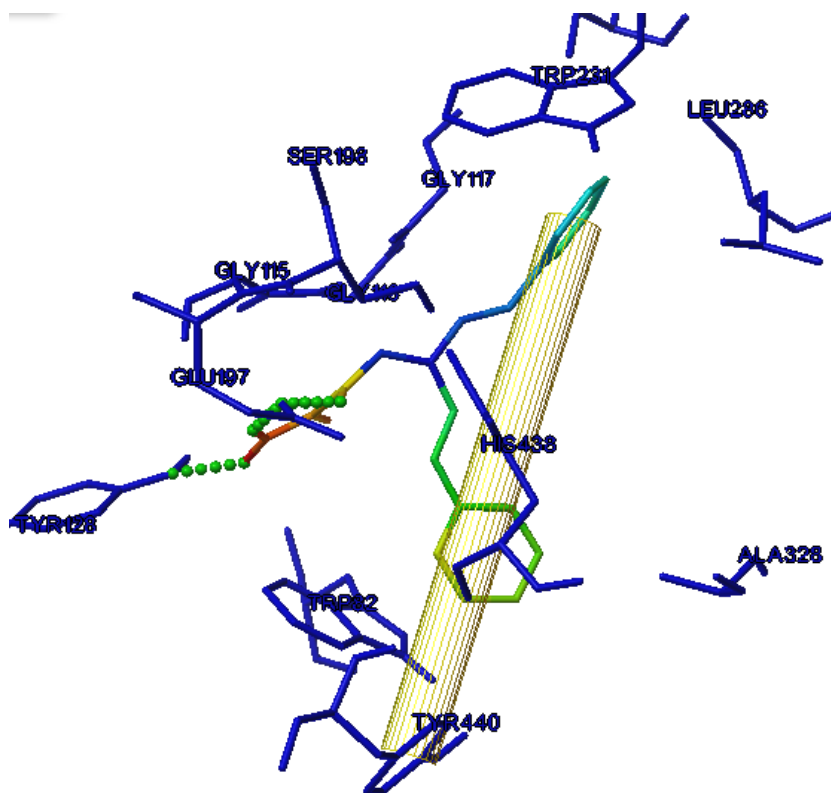
Εικόνα 34: Αλληλεπιδράσεις του παραγώγου KKI27 με την ακετυλοχολινεστεράση

Όπως φαίνεται από την παραπάνω εικόνα η KKI24 παρουσιάζει δύο δεσμούς υδρογόνου με τα αμινοξέα PHE297, ARG296 και SER295 και μία π-π αλληλεπίδραση με τον αρωματικό δακτύλιο του αμινοξέος PHE295.



Εικόνα 35:Αλληλεπιδράσεις του παραγώγου KKI16 με την ακετυλοχολινεστεράση

Όπως φαίνεται από την παραπάνω εικόνα η KKI16 παρουσιάζει δύο δεσμούς υδρογόνου με τα αμινοξέα PHE295 και SER293 και τέσσερις π-π αλληλεπιδράσεις με τους αρωματικούς δακτυλίους των αμινοξέων TYR34 και TRP286.



Εικόνα 36: Αλληλεπιδράσεις του παραγώγου ΚΚΙ21 με την βουτυρυλοχολινεστεράση.

Όπως φαίνεται από τη παραπάνω εικόνα η ΚΚΙ21 παρουσιάζει τρεις δεσμούς υδρογόνου με τα αμινοξέα TYR128 και GLU197 και μία π-π αλληλεπίδραση με τον αρωματικό δακτύλιο του αμινοξέος TYR440.

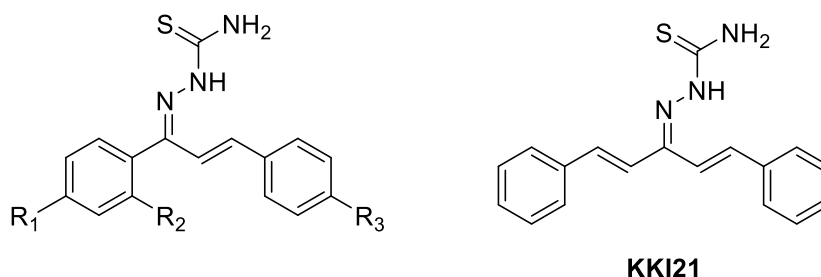
Πίνακας 33: Αλληλεπιδράσεις των ενώσεων με τα αμινοξέα του ενεργού κέντρου συγκεκριμένων ενζύμων.

Ένωση	Ένζυμο	Δεσμοί Υδρογόνου	Αλληλεπιδράσεις π-π
ΚΚΙ16	Ακετυλοχολινεστεράση	VAL294, SER293, ARG296	TYR34, TRP286
ΚΚΙ21	Βουτυρυλοχολινεστεράση	TYR128, GLU197	TYR440

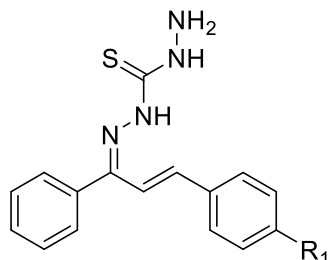
ΚΚΙ21	Ακετυλοχολινεστεράση	SER293, PHE297, VAL294	TYR341, TRP286
ΚΚΙ24	Ακετυλοχολινεστεράση	PHE297, SER293	PHE295
ΚΚΙ27	Ακετυλοχολινεστεράση	PHE297, SER293 ARG296	PHE295
ΚΚΙ27	Αδενοσίνη A1	CYS80	PHE171

4 ΓΕΝΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στη μεταπτυχιακή αυτή εργασία κύριο αντικείμενο μελέτης αποτέλεσε η φασματοσκοπική ανάλυση για την ταυτοποίηση και τη διαμορφωτική ανάλυση παραγώγων θειοσεμικαρβαζόνης και θειοκαρβουδραζόνης (**Σχήμα 1**).



KKI15: $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = H$
KKI16: $R_1 = OMe, R_2 = OMe, R_3 = H$
KKI19: $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = Cl$
KKI22: $R_1 = OH, R_2 = H, R_3 = H$
KKI24: $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = Me$
KKI27: $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = F$



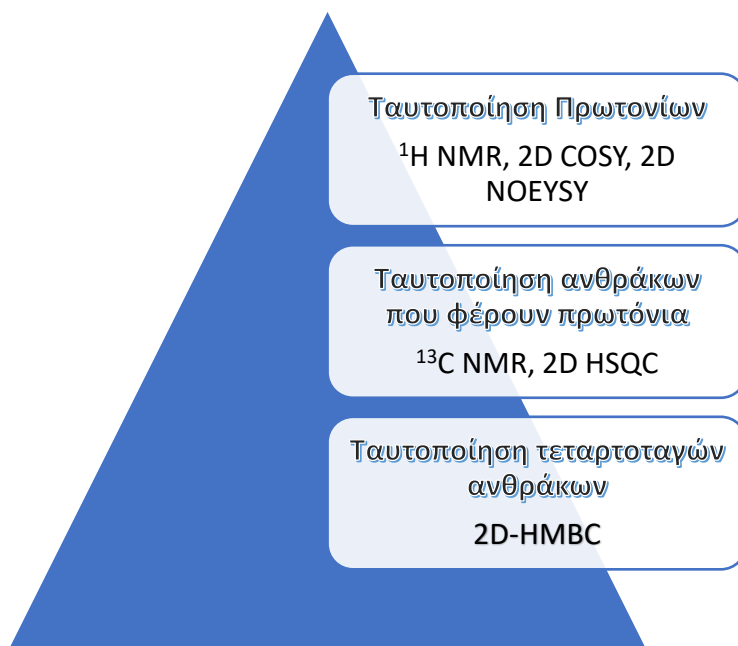
KKI15: $R_1 = H$
KKI23: $R_1 = Cl$
KKI25: $R_1 = Me$

Σχήμα 43: Δομές θειοσεμικαρβαζόνης και θειοκαρβουδραζόνης

Αφού παρασκευάστηκαν τα δείγματα εφαρμόσθηκε ομοπυρηνική και ετεροπυρηνική φασματοσκοπία NMR και ελήφθησαν τα αποτελέσματα των πειραμάτων 1D και 2D NMR. Παρά την πολυπλοκότητα των μορίων, τα φάσματα 2D COSY, 2D NOESY, 2D HSQC και 2D HMBC παρείχαν την πλήρη ταυτοποίηση της δομής των μορίων. Συγκεκριμένα, τα μόρια μελετήθηκαν ξεχωριστά, και η κάθε στρατηγική ταυτοποίησης που ακολουθήθηκε είχε ως αποτέλεσμα την εύρεση της τιμής συντονισμού-χημικής μετατόπισης του κάθε ατόμου πρωτονίου και άνθρακα από τα οποία

απαρτιζόταν. Αρχική πορεία στρατηγικής ταυτοποίησης ήταν ο α,β ακόρεστος διπλός δεσμός που υπάρχει και στα κινναμωμικά παράγωγα. Ακολούθως υπολογίστηκαν τα φορτία για τα πρωτόνια και τους άνθρακες αυτού του διπλού δεσμού με στόχο να βρεθεί πιο από τα δύο πρωτόνια είναι πιο αποπροασπισμένο και να ξεκινήσει η στρατηγική ταυτοποίησης. Τελικά, οι διάφορες μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό των φορτίων δεν βοήθησαν, αφού απέδωσαν παρόμοιες τιμές. Ακολούθως, μετά τη στρατηγική ταυτοποίησης που ακολουθήθηκε όπως αναφέρθηκε στο Κεφάλαιο 2.1 παρουσιάζονται όλες οι τιμές συντονισμού ανθράκων-πρωτονίων στους Πίνακες αυτού του Κεφαλαίου.

ΠΟΡΕΙΑ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΜΟΡΙΩΝ



Στη συνέχεια, και αφού ολοκληρώθηκε η ταυτοποίηση τους, ακολούθησε η διαμορφωτική ανάλυση για τις ενώσεις ΚΚ115 και ΚΚ118 καθώς είναι αυτές που αποτελούν μια ισχυρή βάση για την περαιτέρω μελέτη και των υπόλοιπων 8 ενώσεων, αφού είναι απλές ενώσεις χωρίς υποκαταστάτη. Με τη μελέτη του 2D NOESY φάσματος και τη διεξαγωγή διεργασιών όπως η ελαχιστοποίηση της δομής των μορίων και ο υπολογισμός της απόστασης που απέχουν τα άτομα πρωτονίου μεταξύ τους στο μόριο, διαπιστώθηκε η

ευνοϊκότερη ενεργειακά διαμόρφωση τους. Για την εύρεση της διαμόρφωσης, έγινε συστηματική αναζήτηση περιστρέφοντας κατάλληλα τις διέδρες γωνίες που είναι υπεύθυνες για την αλλαγή E/E σε E/Z , Z/E και Z/Z των μορίων ΚΚΙ15 και ΚΚΙ18. Για τις ενώσεις ΚΚΙ15 βρέθηκε ότι οι δύο διαμορφώσεις που παρατηρούνται και στο NMR είναι οι E/E και E/Z . Η επικρατέστερη διαμόρφωση που προέκυψε είναι αυτή με στερεοχημεία E/E στους δύο διπλούς δεσμούς. Παρόμοια αποτελέσματα ισχύουν και για τις υπόλοιπες δομές.

Στη συνέχεια λόγω των πολλών ισομερών μελετήθηκε η κινητική ισομερείωσης από το ένα ισομερές στο άλλο για την εύρεση της ενέργειας που απαιτείται για τη δημιουργία της μεταβατικής κατάστασης. Λόγω της μεγάλης ενέργειας που απαιτείται συμπεραίνεται, ότι είναι δύσκολο να γίνει ισομερείωση από τη (E,E) σε (Z,Z) διαμόρφωση και ως εκ τούτου δεν γίνεται να βρίσκονται και σε E,E και σε Z,Z διαμόρφωση αλλά προσλαμβάνουν την ενεργειακά ευνοϊκότερη E/E διαμόρφωση καθώς και την E/Z . Στη συνέχεια αφού υπολογίστηκε η Διαφορά Ενέργειας μεταξύ των ισομερών ενώσεων, υπολογίστηκε με βάση την **εξίσωση 1** το ποσοστό που υπάρχει η κάθε διαμόρφωση και έγινε σύγκριση με το πειραματικό μέσω των ολοκληρώσεων στο NMR. Για την ΚΚΙ15, το αποτέλεσμα από την εξίσωση έδειξε ότι βρίσκεται η μία διαμόρφωση σε 41% ενώ στο πειραματικό NMR βρέθηκε ότι βρίσκεται η μία σε 28%. Αυτό αποδεικνύει μια μικρή απόκλιση των θεωρητικών αποτελεσμάτων με τα πειραματικά.

$$P_i = 100 * e^{(-\Delta E_i / RT)}$$

Εξίσωση 1

Συγκεκριμένα για την ΚΚΙ15 χρησιμοποιήθηκε $\Delta E_i = -102,23 \text{ kcal/mol}$, $R = 8,3145 \text{ J/mol} \cdot \text{K}$ και $T = 298 \text{ K}$.

$$P_i = 100 * e^{(-102,23 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1} / (8,3145 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1} \cdot 298 \text{ K}))} * 4186,8 \text{ J}$$

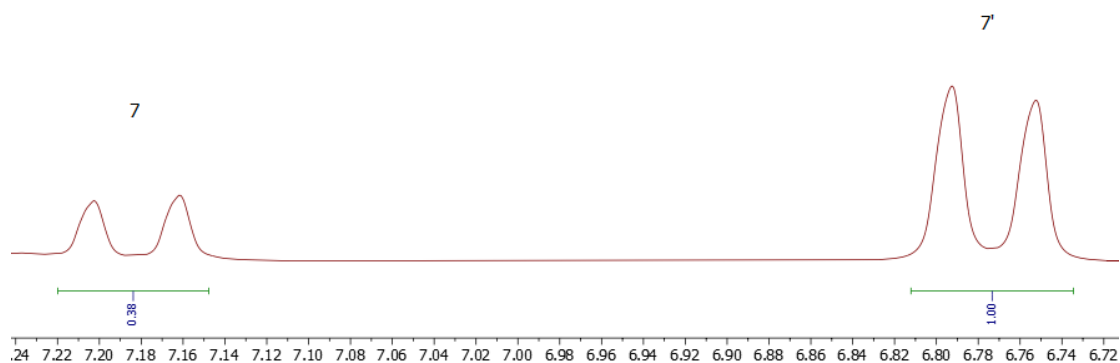
$$P_i = 41\%$$

Οι ίδιες παράμετροι χρησιμοποιήθηκαν και για την ΚΚΙ18 με $\Delta E_i = 41,50 \text{ kcal/mol}$.

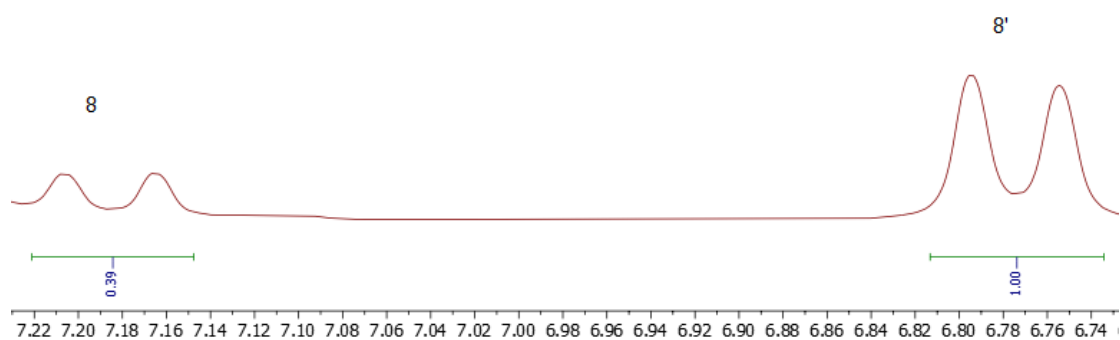
$$P_i = 100 * e^{(-41,50 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1} / (8,3145 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1} \cdot 298 \text{ K}))} * 4186,8 \text{ J}$$

Pi = 42%

Οι ολοκληρώσεις φαίνονται και στις παρακάτω εικόνες.



Εικόνα 37: Φάσμα πρωτονίου της ένωσης KK115 που φαίνονται οι ολοκληρώσεις



Εικόνα 38: Φάσμα πρωτονίου της ένωσης KK118 που φαίνονται οι ολοκληρώσεις

Στο τελευταίο τμήμα της παρούσας ερευνητικής εργασίας ελέγχθηκαν και οι 10 ενώσεις για την ικανότητα πρόσδεσής τους σε 4 πιθανούς υποδοχείς που αποκαλύφθηκαν μέσω του προγράμματος SwissADME. Για την εξαγωγή των συμπερασμάτων οι ενώσεις χωρίστηκαν σε δύο κατηγορίες, Συγκεκριμένα η α κατηγορία ενώσεων ήταν οι θειοσεμικαρβαζόνες και η β κατηγορία ενώσεων οι θειοκαρβοϋδραζόνες. Από τα *in silico* πειράματα μοριακής πρόσδεσης, βρέθηκε ότι μπορούν να αναστείλουν ισχυρά την ακετυλοχολινεστεράση καθώς οι περισσότερες ενώσεις παρήγαγαν ενέργεια πρόσδεσης (ΔG) μικρότερη του -9 kcal/mol. Επίσης έδειξαν ότι σχηματίζουν αλληλεπιδράσεις με τα αμινοξέα του ενεργού κέντρου και στα τέσσερα ένζυμα. Επιπλέον, για τη βουτυρυλιχολινεστεράση και την αδενοσίνη παρατηρήθηκε ότι όσο υπάρχουν υποκαταστάτες στον α δακτύλιο και όσο πιο ηλεκτραρνητικοί είναι τόσο πιο

ισχυρά προσδένονται στα εν λόγω ένζυμα. Αντιθέτως, παρατηρήθηκε ότι με την Καθεψίνη Κ δεν προσδέεται καμία ένωση, Τέλος, σχεδιάσθηκαν δύο νέες ενώσεις μία για την κάθε τάξη ενώσεων που φέρουν ηλεκτραρνητικό υποκαταστάτη και στον β δακτύλιο. Τα αποτελέσματα έδειξαν και για τις δύο κατηγορίες ενώσεων, ότι για την Καθεψίνη Κ παραμένει η ίδια ασθενής πρόσδεση όπως και όταν υπάρχει μόνο ένας υποκαταστάτης στον α δακτύλιο και ότι στη βουτυρολοχολινεστεράση δεν προσδένονται σχεδόν καθόλου. Αντιθέτως για την Ααδενοσίνη και την ακετυλολοχολινεστεράση έδειξαν ευνοϊκά αποτελέσματα, χωρίς όμως κάποιο να ξεπερνάει το βέλτιστο που είχε βρεθεί με τις προηγούμενες ενώσεις οι οποίες περιείχαν μόνο υποκαταστάτη στον α δακτύλιο. .

Οι ενώσεις αυτές είναι υποσχόμενες και μπορούν να αποτελέσουν ένα ισχυρό ξεκίνημα για τη σύνθεση νέων τέτοιων ενώσεων, οι οποίες θα αποτιμηθούν βιολογικά και φαρμακολογικά για να εξετασθεί εάν μπορούν να αποτελέσουν φάρμακα κατά νευρολογικών ασθενειών, όπως η Αλτσχάιμερ (Alzheimer).

ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ

Πίνακας 34: Πίνακας ορολογίας με τις αντιστοιχίσεις των ελληνικών και ξενόγλωσσων όρων

Ξενόγλωσσος όρος	Ελληνικός Όρος
Free Access	Δωρεάν Πρόσβαση

Induced Fit	Επαγώγιμη Προσαρμογή
In silico	Με τη βοήθεια υπολογιστή
In vitro	Διεξαγωγή πειράματος σε αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες έξω από τους οργανισμούς
In vivo	Διεξαγωγή πειράματος σε έναν έμβιο οργανισμό
Virtual Screening	Εικονική Σάρωση

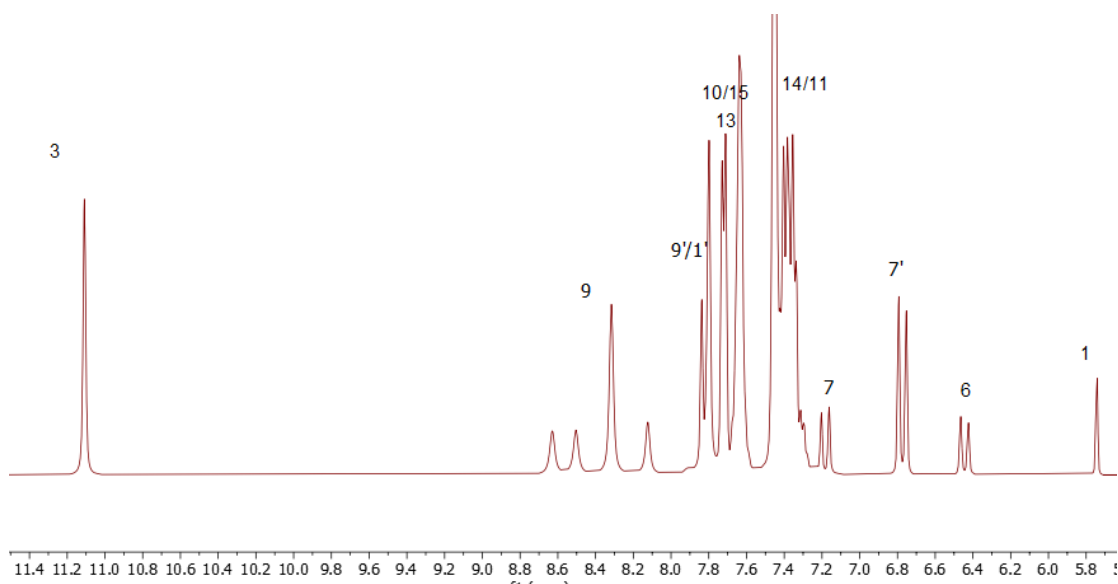
ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ

Ακρωνύμια και ανάπτυξή τους

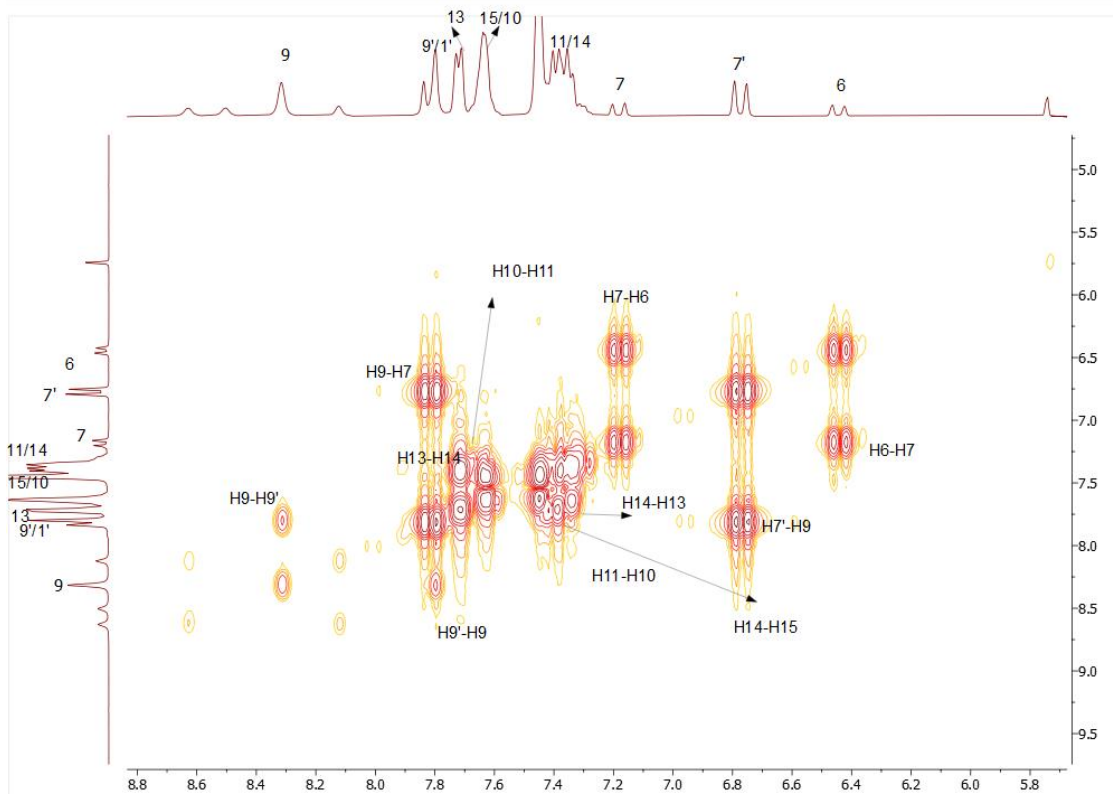
ΑΔΜΕΤ	Απορρόφηση, Διανομή, Μεταβολισμός, Απέκκριση, Τοξικότητα
AOP	Adverse Outcome Pathways
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
AMBER	Assisted Model Building with Energy Refinement
ARG	Arginine
BZN	Benznidazole
COSY	Correlated Spectroscopy
CPDB	Carcinogenic Potency Database
CYS	Cysteine
2D	Two Dimensional
DFT	Density Functional Theory
DMSO	Dimethyl sulfoxide
DNA	Deoxyribonucleic Acid
EEA	European Environment Agency
EPA	European Protection Agency
FDA	Food and Drug Administration
GLU	Glutamate
HCC	Hepatocellular Carcinoma
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence

ΚΝΣ	Κ εντρικό Ν ευρικό Σ ύστημα
NFX	N ifurtimox
NMR	N uclear M agnetic R esonance
NOESY	N uclear O verhauser E ffect S pectroscopy
ΠΟΥ	Π αγκόσμιος Ο ργανισμός Υ γείας
PDB	P rotein D ata B ank
PHE	P henylalanine
PM6	P arameterization M ethod 6
QSAR	Q uantitative s tructure– a ctivity relationship
RNA	R ibonucleic acid
SER	S erine
TC	T rypanosoma C ruzi
TRP	T ryptophan
TYR	T yrosine
VAL	V aline

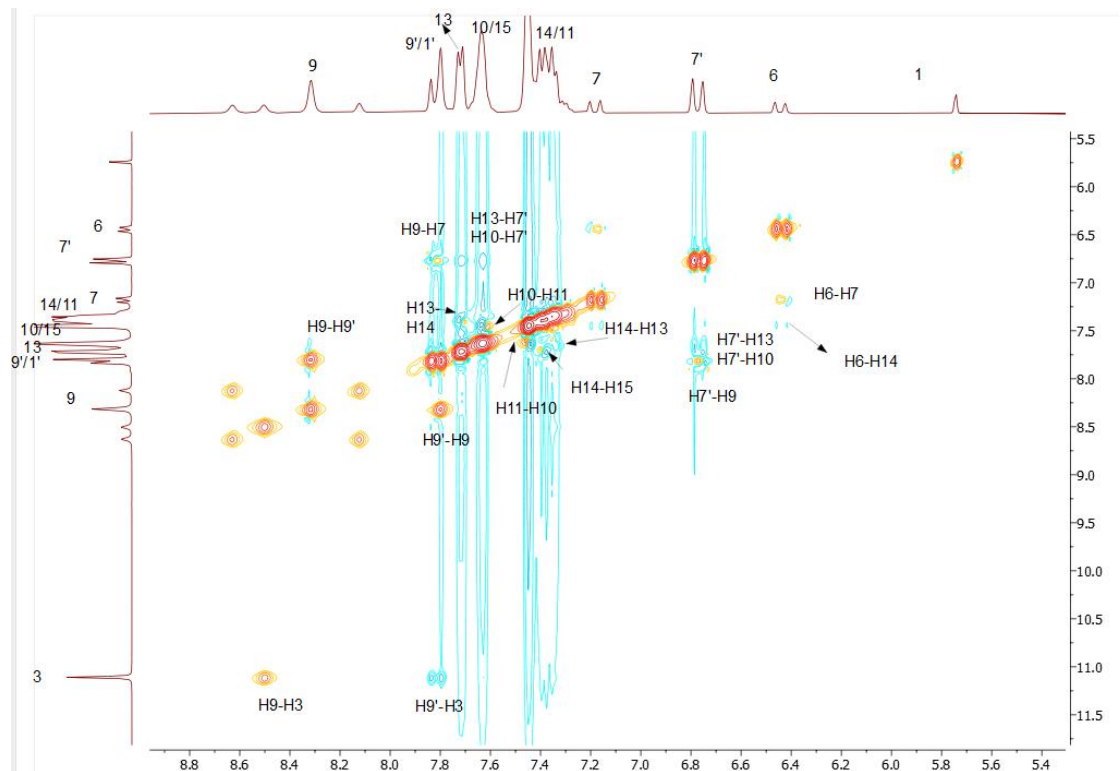
**ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1 : ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΑ ΦΑΣΜΑΤΑ ΤΗΣ ΕΝΩΣΗΣ
ΚΚΙ15**



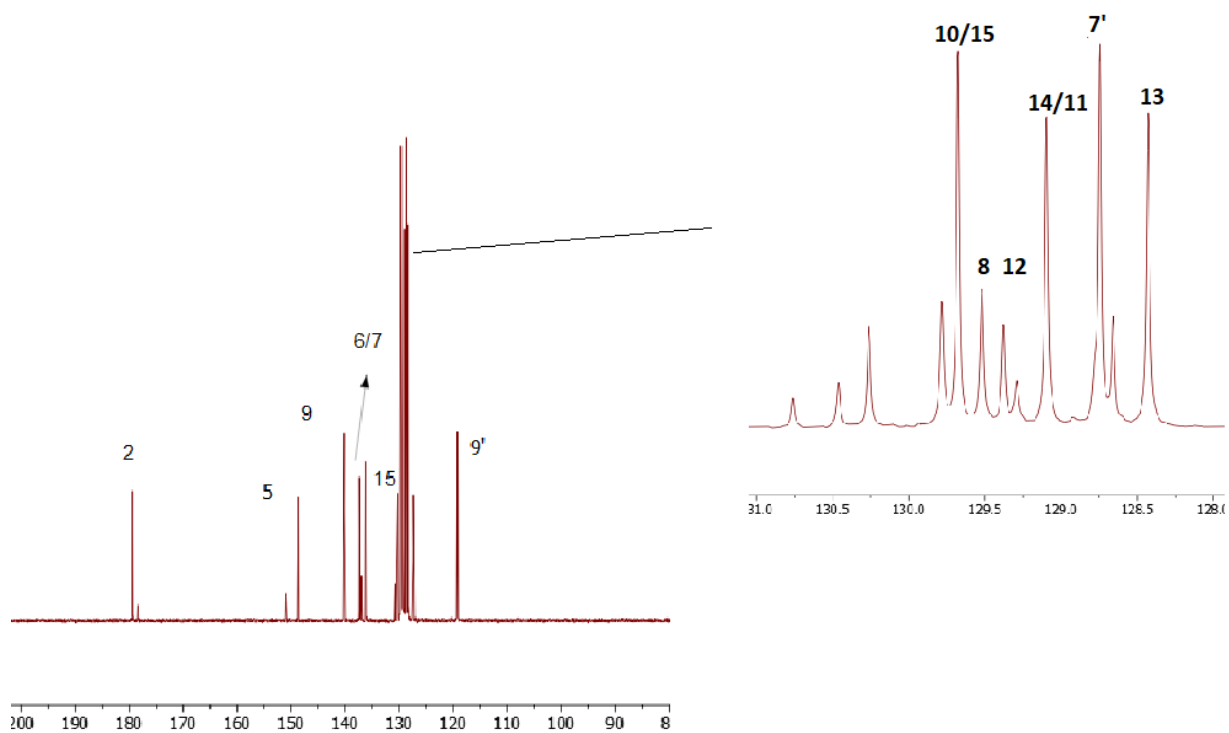
Εικόνα Π1.1: Φάσμα ¹H του μορίου ΚΚΙ15 σε DMSO στην περιοχή 6,2-11,2 ppm.



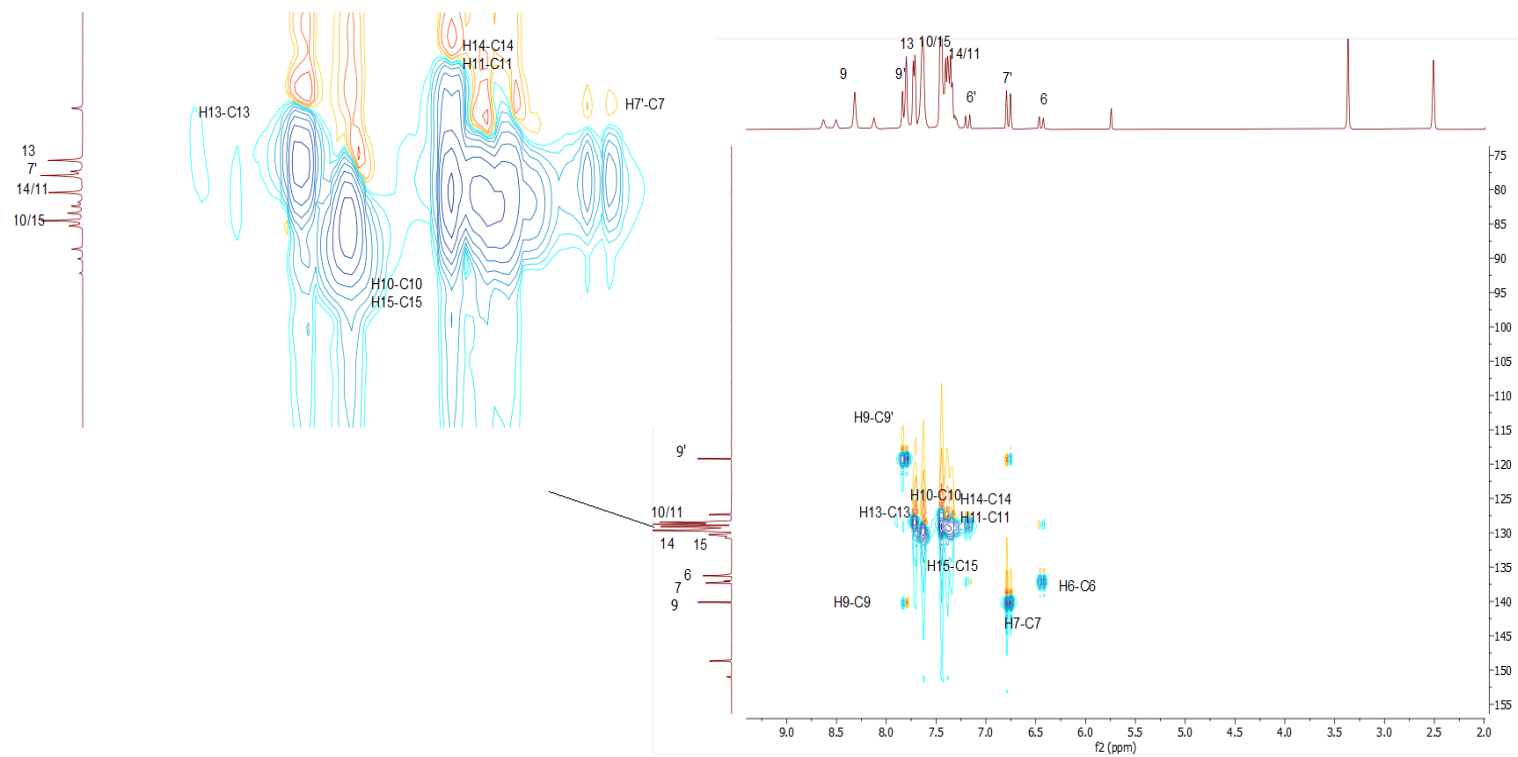
Εικόνα Π1.2: Φάσμα 2D-COSY του μορίου ΚΚ15 σε DMSO στην περιοχή 5-11,5 ppm.



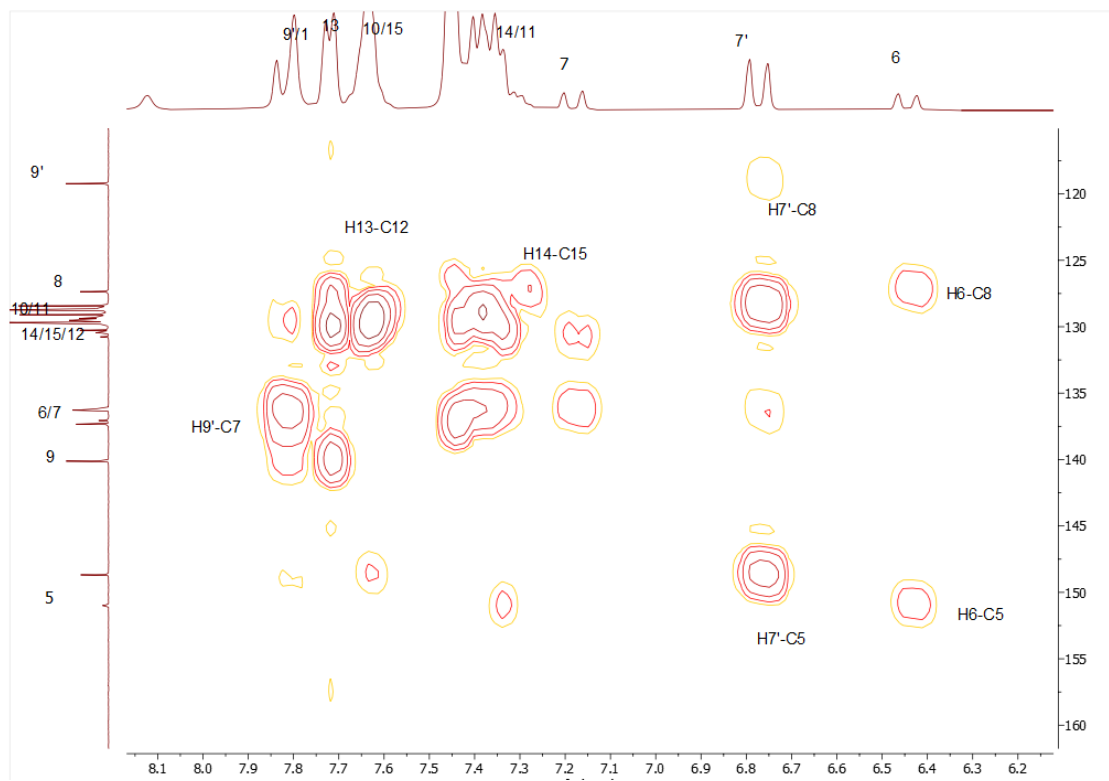
Εικόνα Π1.3: Φάσμα 2D-COSY του μορίου ΚΚ15 σε DMSO στην περιοχή 5-11,5 ppm.



Εικόνα Π1.4: Φάσμα ¹³C του μορίου ΚΚ115 σε DMSO στην περιοχή 0-190 ppm.

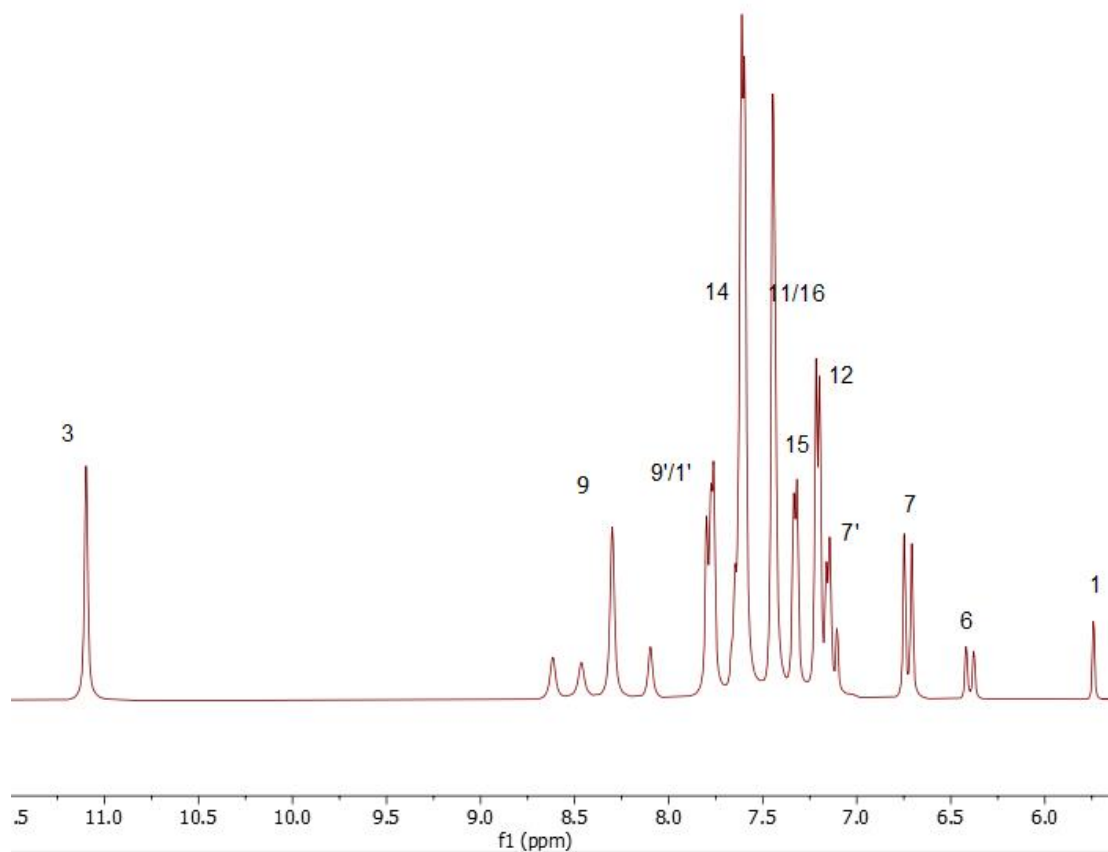


Εικόνα Π1.5: Φάσμα 2D-HSQC του μορίου ΚΚΙ15 σε DMSO στην περιοχή 2-9 ppm

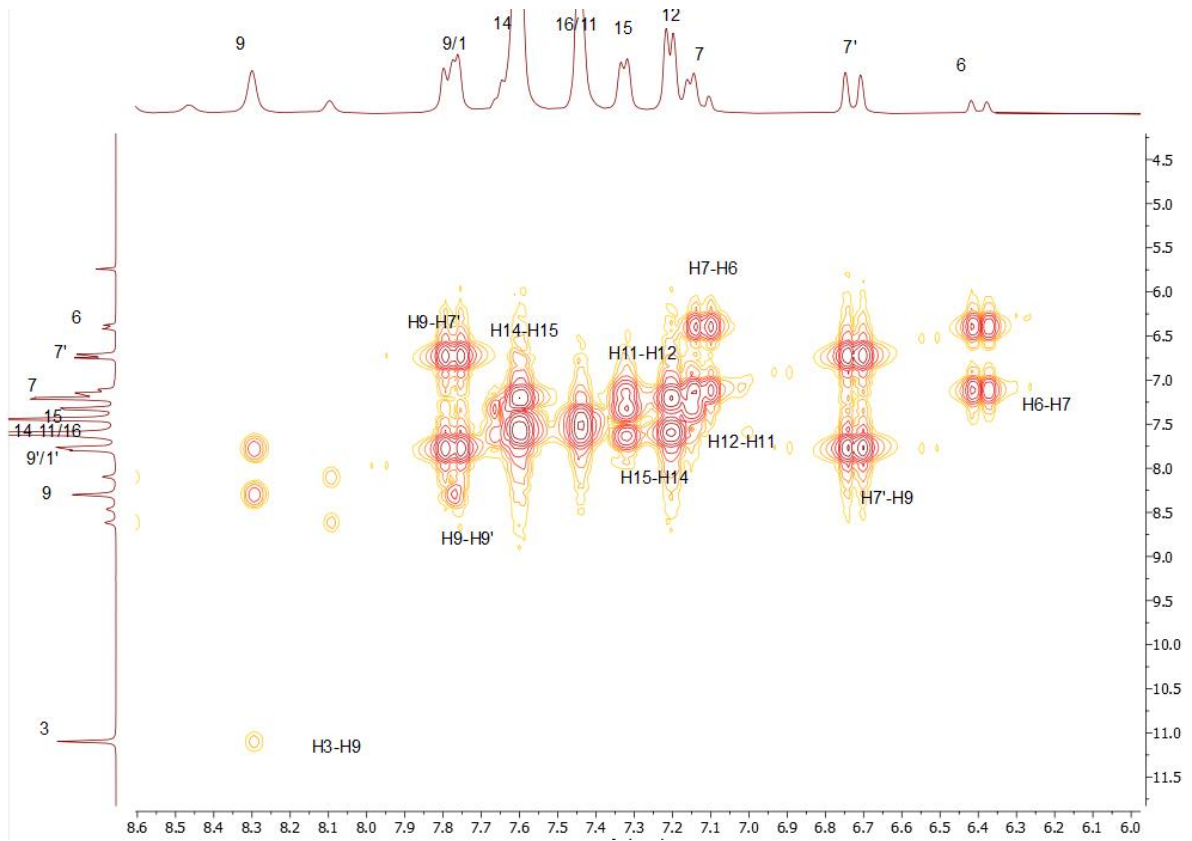


Εικόνα Π1.6: Φάσμα 2D-HSQC του μορίου KKI15 σε DMSO στην περιοχή 2-9 ppm

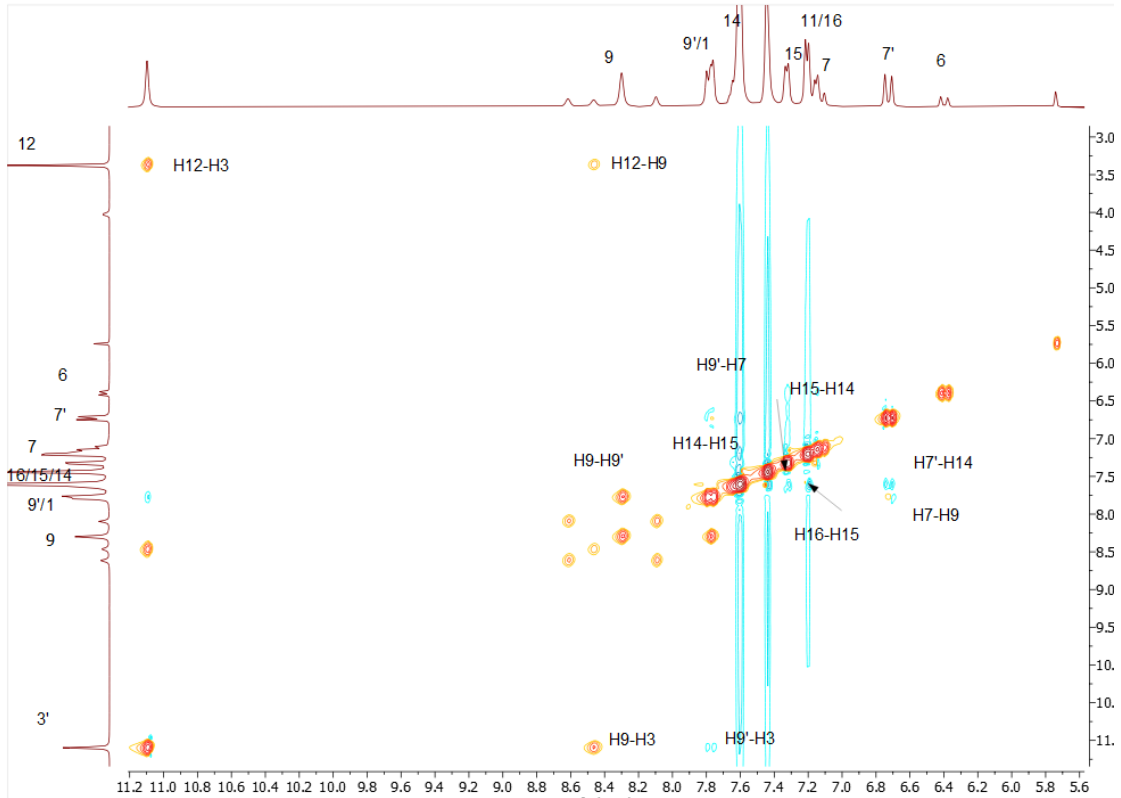
**ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2 : ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΑ ΦΑΣΜΑΤΑ ΤΗΣ ΕΝΩΣΗΣ
ΚΚΙ19**



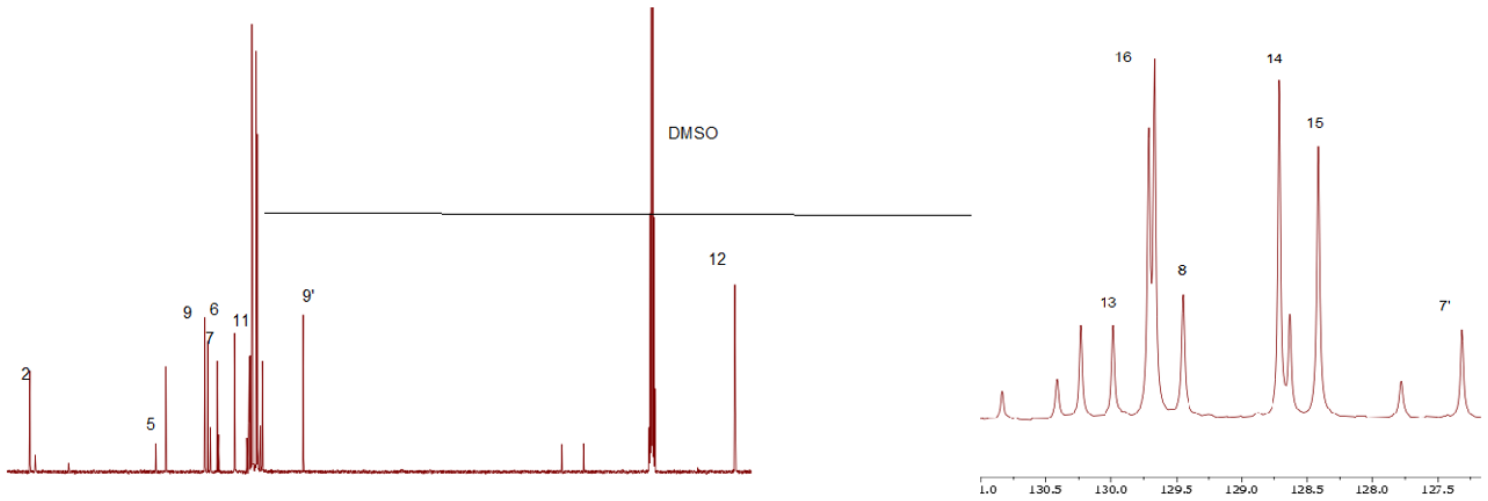
Εικόνα Π2.1: Φάσμα ¹H του μορίου ΚΚΙ24 σε DMSO στην περιοχή 5,5-11,5 ppm.



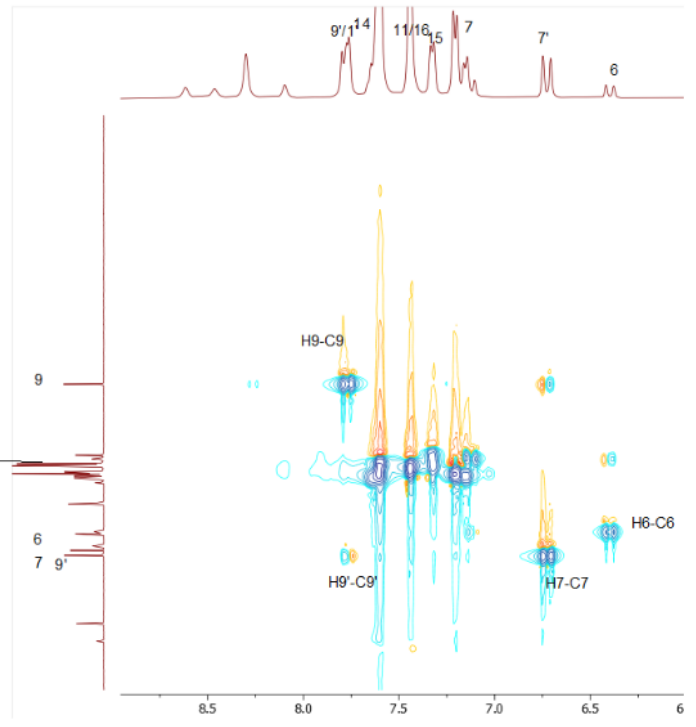
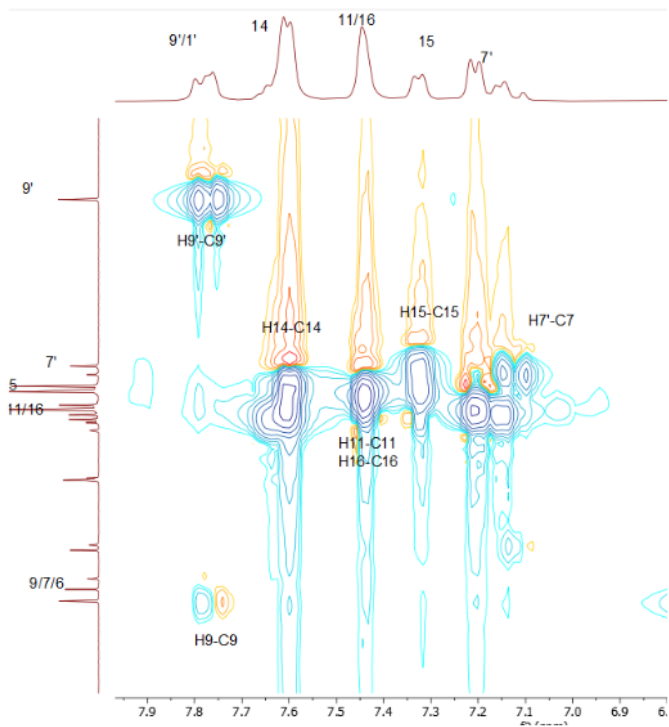
Εικόνα Π2.2: Φάσμα 2D-COSY του μορίου ΚΚ124 σε DMSO στην περιοχή 5,5-8,5 ppm.



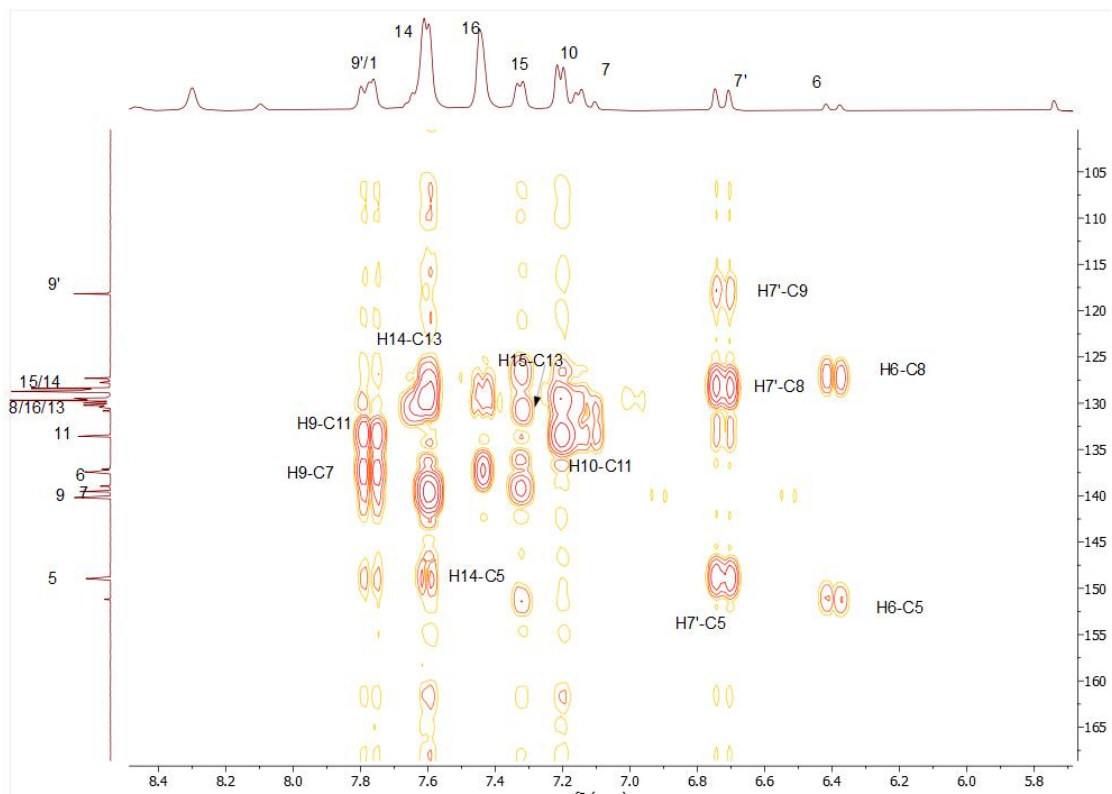
Εικόνα Π2.3: Φάσμα 2D-NOESY του μορίου ΚΚ124 σε DMSO στην περιοχή 4-11,5 ppm.



Εικόνα Π2.4: Φάσμα ¹³C του μορίου ΚΚΙ24 σε DMSO στην περιοχή 10-200ppm.

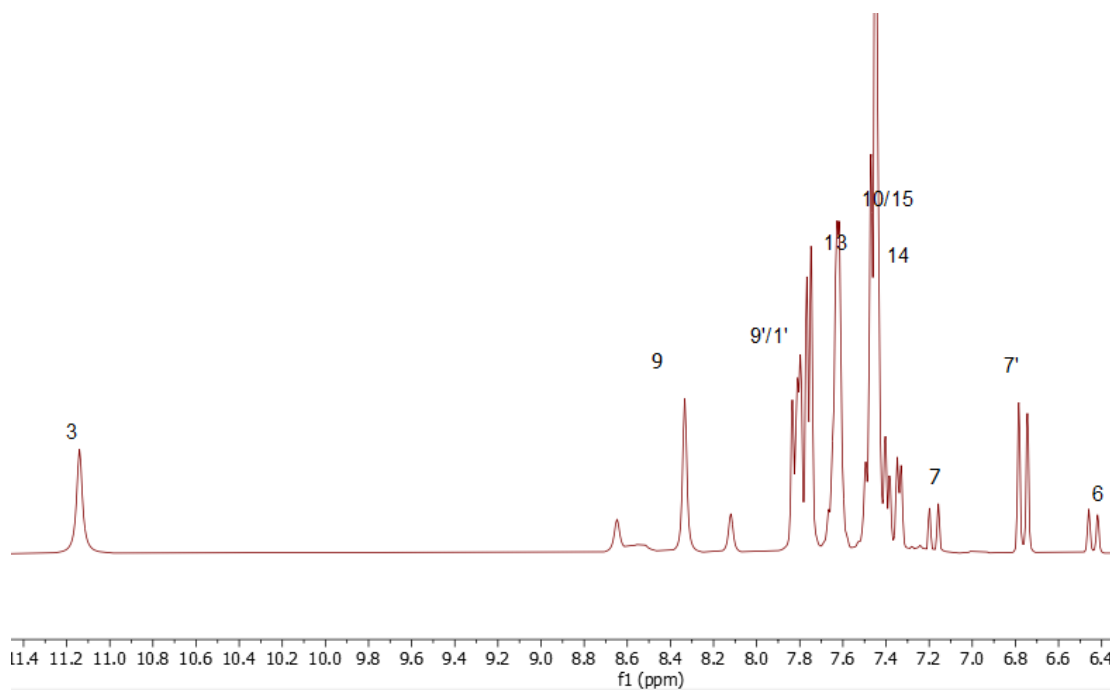


Εικόνα Π2.5: Φάσμα 2D-HSQC του μορίου ΚΚ124 σε DMSO στην περιοχή 4,5-8,5 ppm.

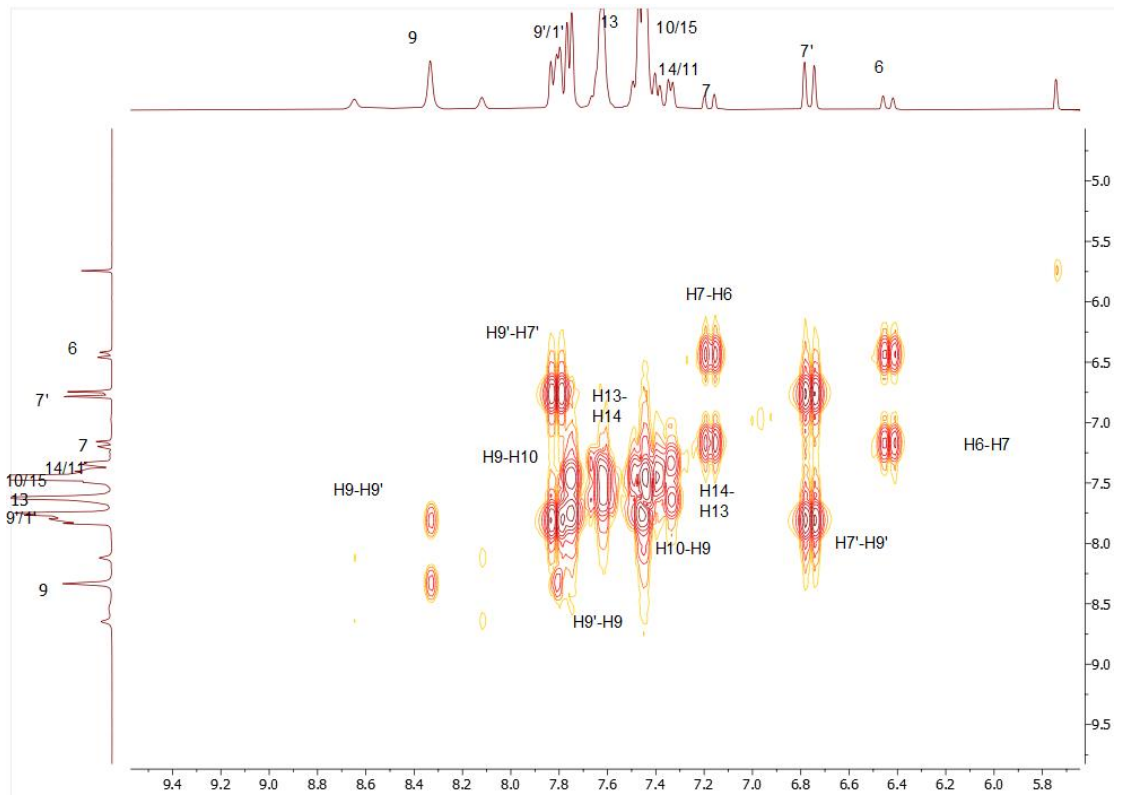


Εικόνα Π2.6: Φάσμα 2D-HMBC του μορίου ΚΚ124 σε DMSO στην περιοχή 4,5-11,5 ppm.

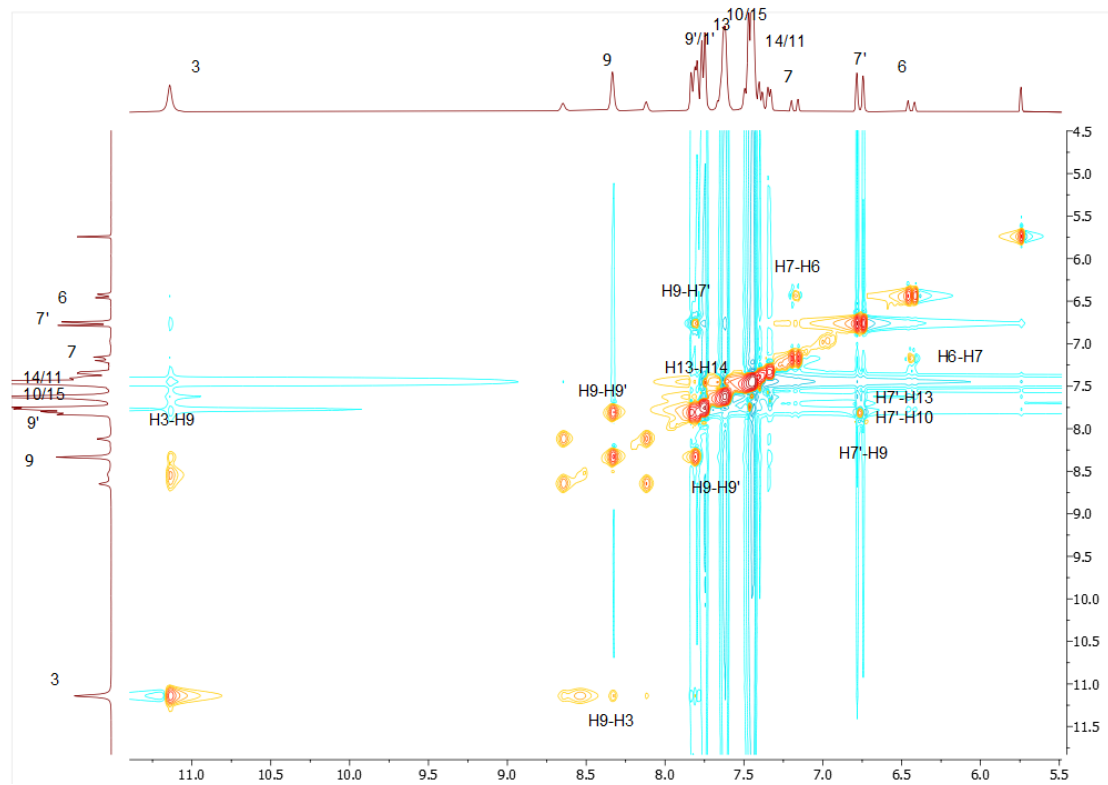
**ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 3 : ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΑ ΦΑΣΜΑΤΑ ΤΗΣ ΕΝΩΣΗΣ
ΚΚΙ19**



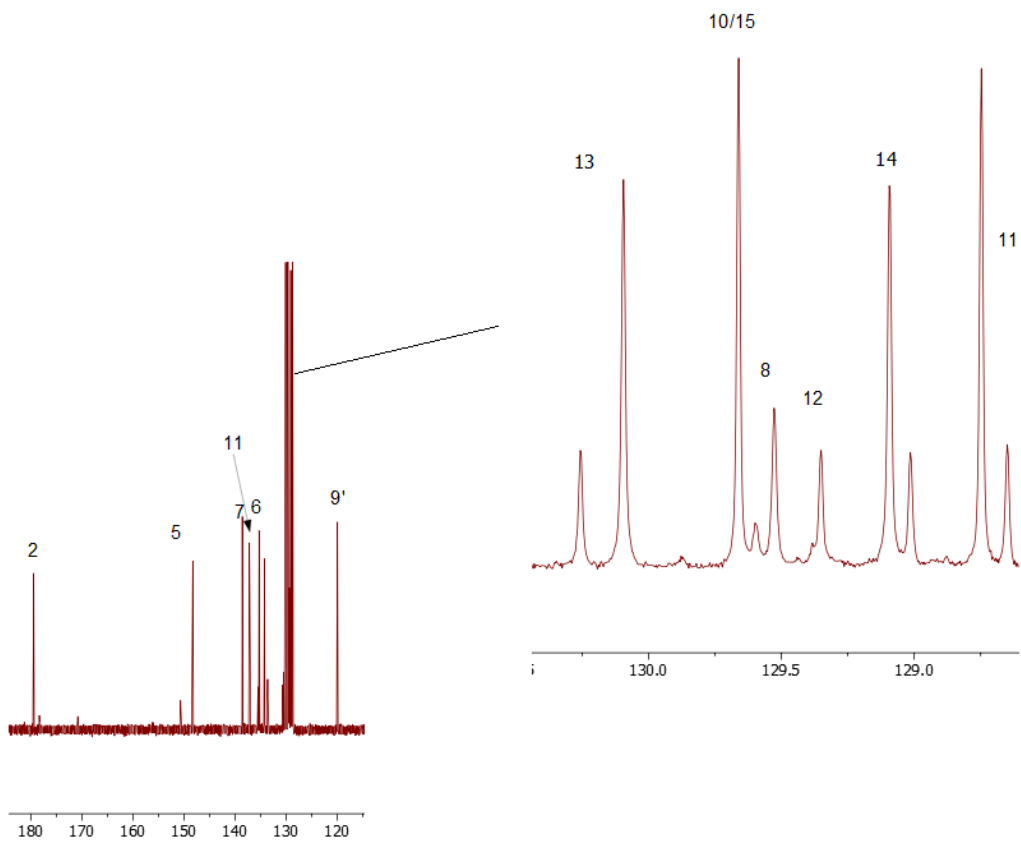
Εικόνα Π3.1: Φάσμα 1H του μορίου ΚΚΙ19 σε DMSO στην περιοχή 6-11,5 ppm.



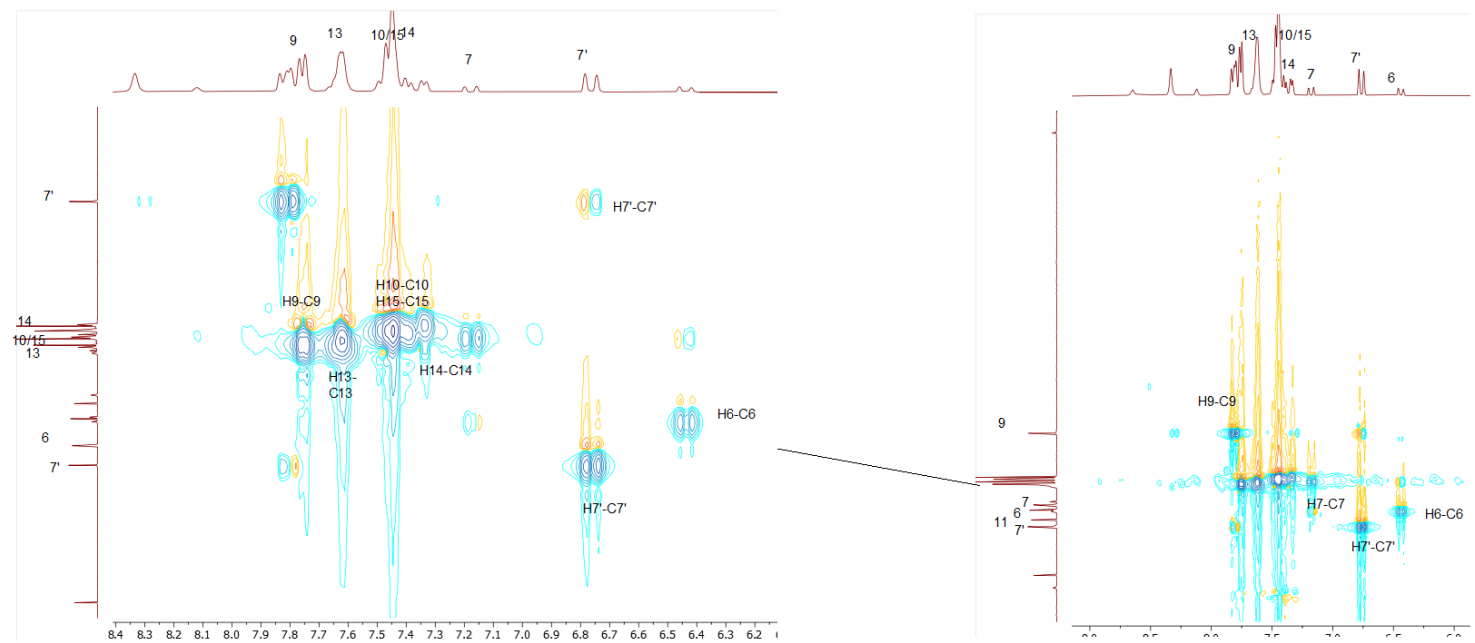
Εικόνα Π3.2: Φάσμα 2D-COSY του μορίου ΚΚ19 σε DMSO στην περιοχή 5,5-11,5 ppm.



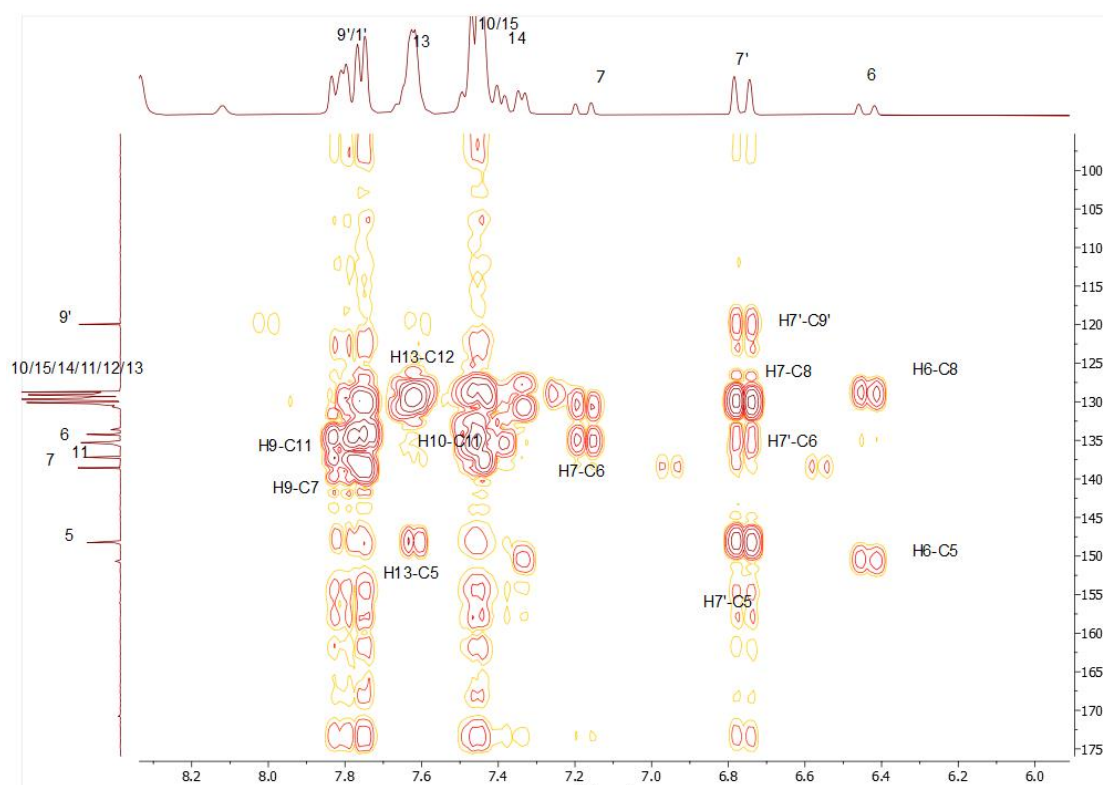
Εικόνα Π3.3: Φάσμα 2D-NOESY του μορίου ΚΚ19 σε DMSO στην περιοχή 2,5-11,5 ppm.



Εικόνα Π3.4: Φάσμα ¹³C του μορίου ΚΚ119 σε DMSO στην περιοχή 0-200 ppm.

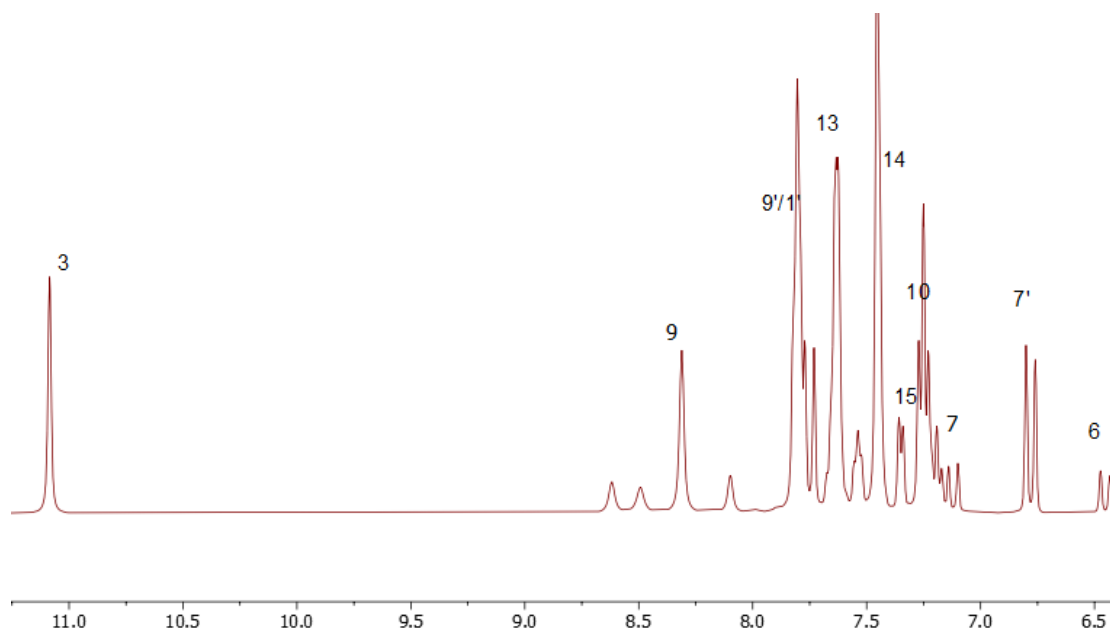


Εικόνα Π3.5: Φάσμα 2D-HSQC του μορίου ΚΚ119 σε DMSO στην περιοχή 3-9 ppm.

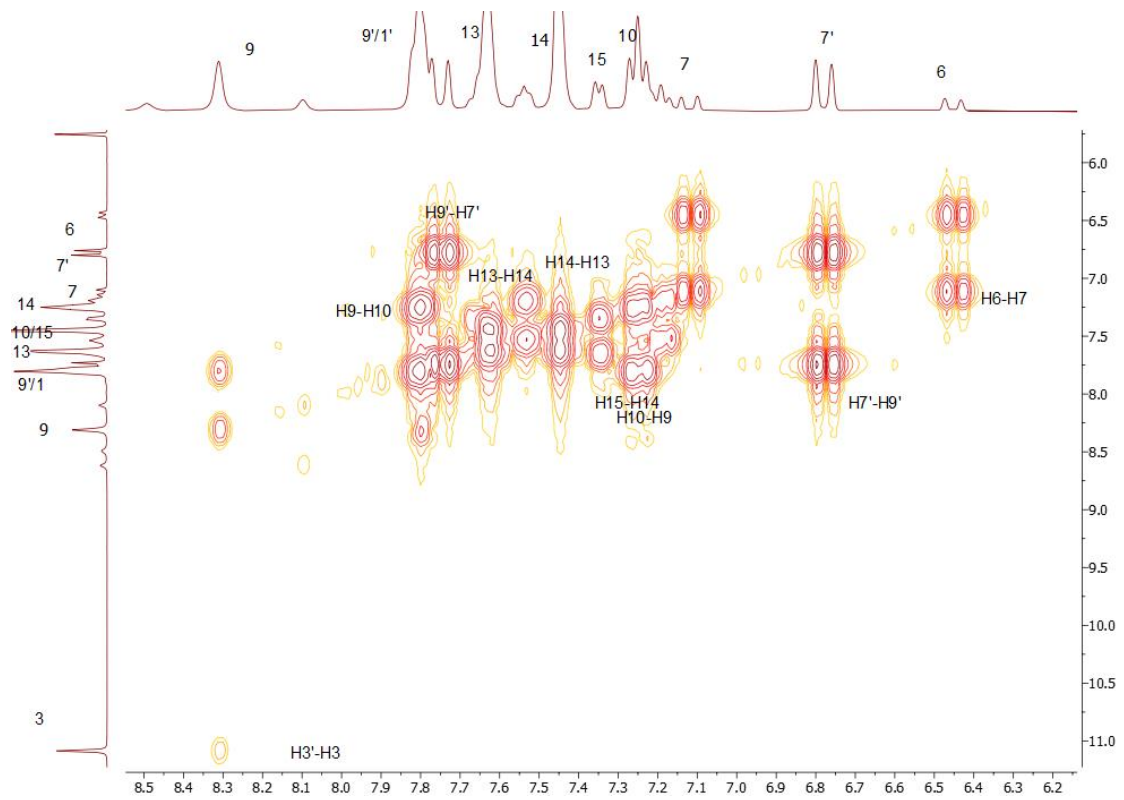


Εικόνα Π3.6: Φάσμα 2D-HMBC του μορίου ΚΚ119 σε DMSO στην περιοχή 4-9 ppm.

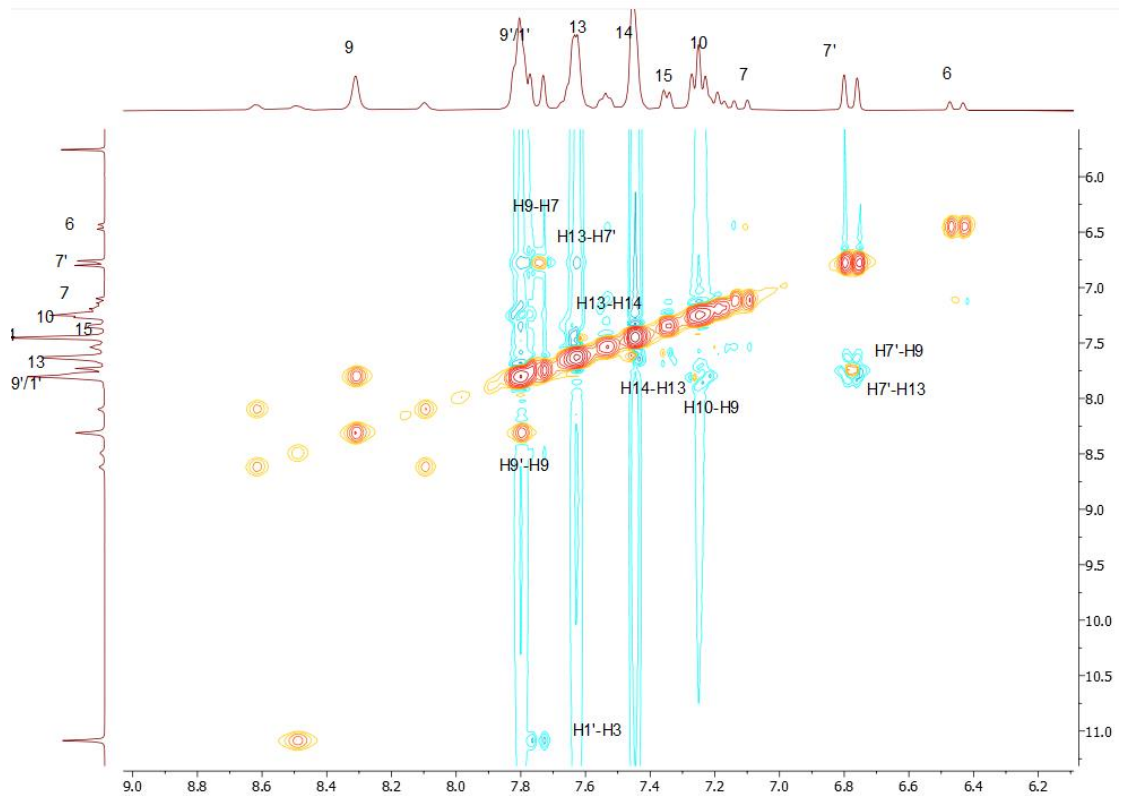
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 4 : ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΑ ΦΑΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΚΙ27



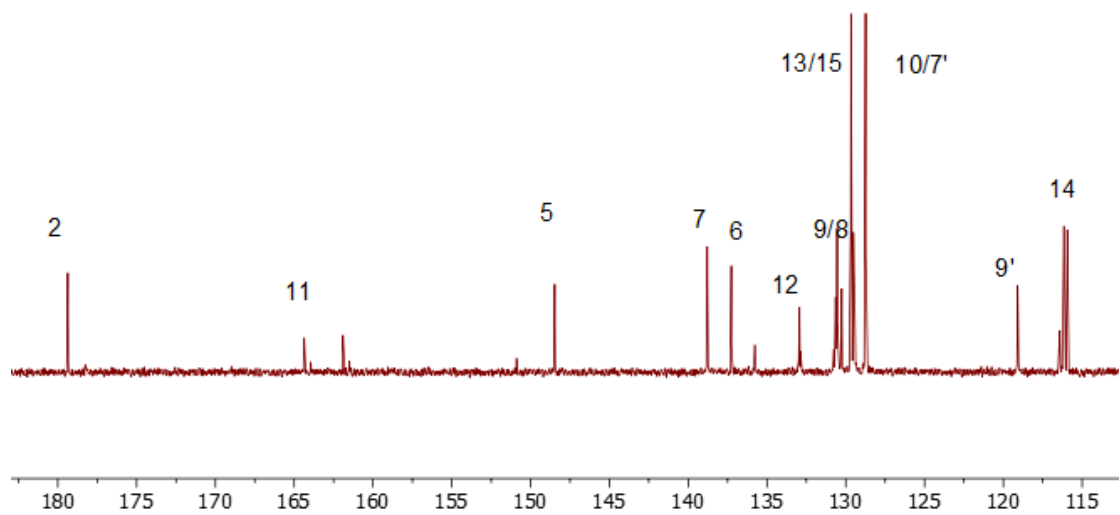
Εικόνα Π4.1: Φάσμα 1H του μορίου ΚΚΙ27 σε DMSO στην περιοχή 6-11,5 ppm.



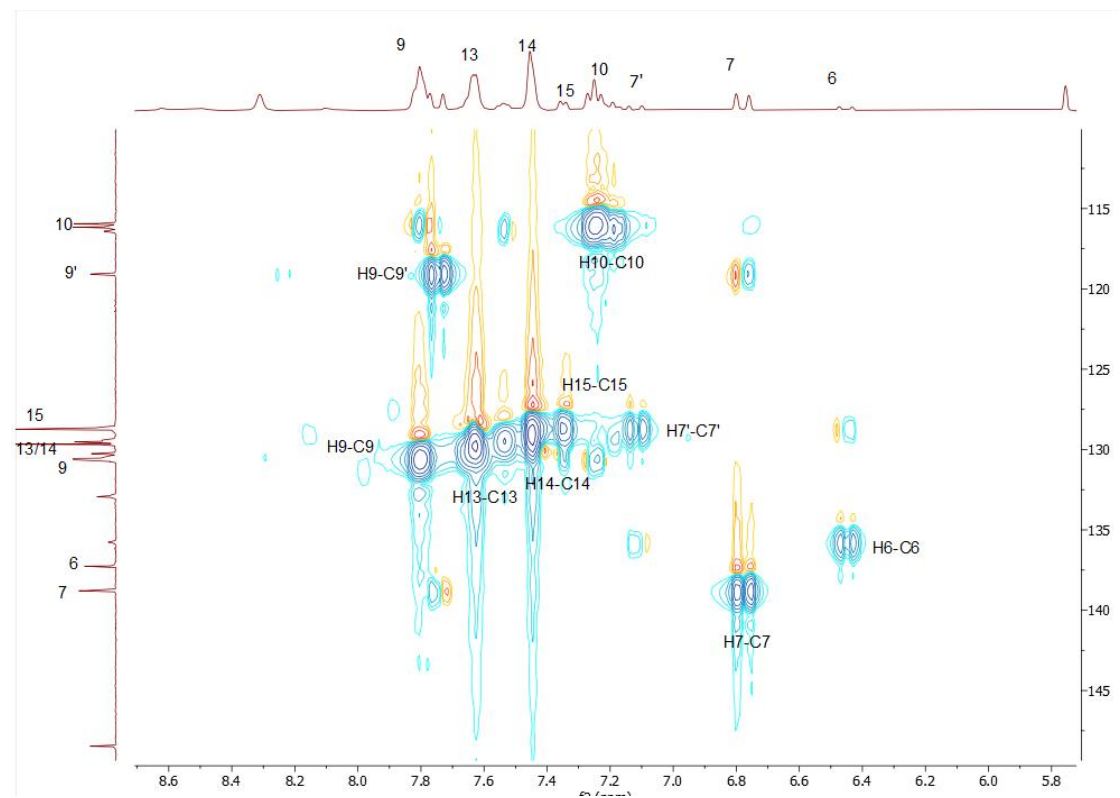
Εικόνα Π4.2: Φάσμα 2D-COSY του μορίου ΚΚ127 σε DMSO στην περιοχή 4-11,5 ppm.



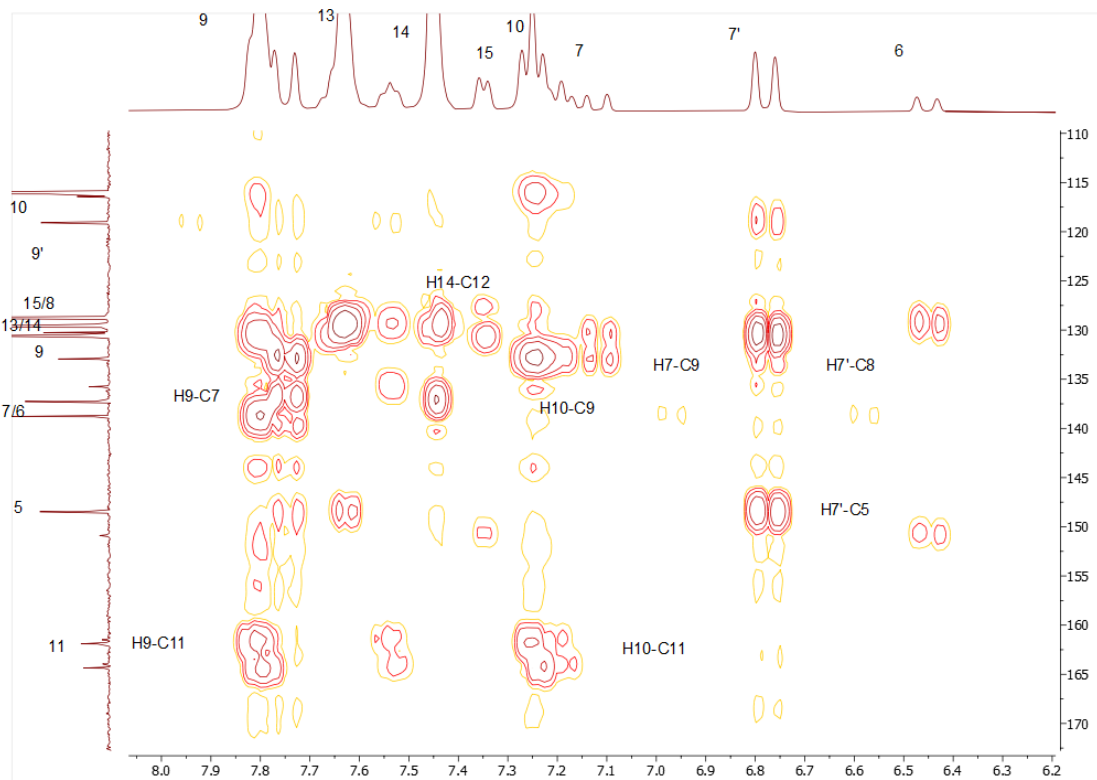
Εικόνα Π4.3: Φάσμα 2D-NOESY του μορίου ΚΚ127 σε DMSO στην περιοχή 5-11,5 ppm.



Εικόνα Π4.4: Φάσμα 13C του μορίου ΚΚΙ27 σε DMSO στην περιοχή 110-180 ppm.

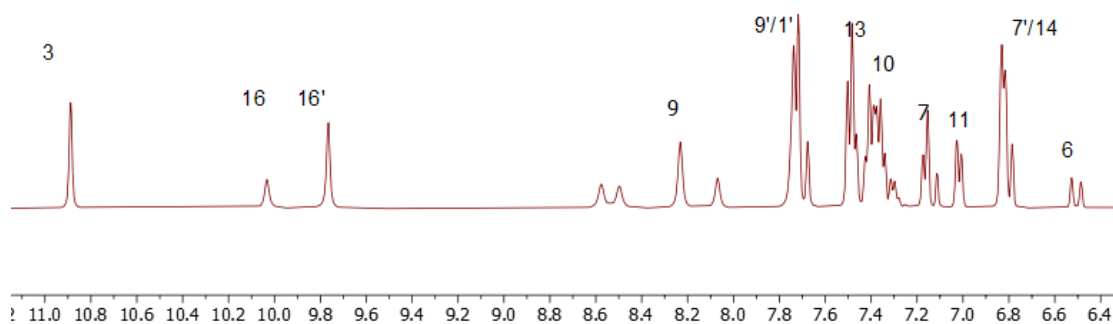


Εικόνα Π4.5: Φάσμα 2D-HSQC του μορίου ΚΚΙ27 σε DMSO στην περιοχή 4,5-9 ppm.

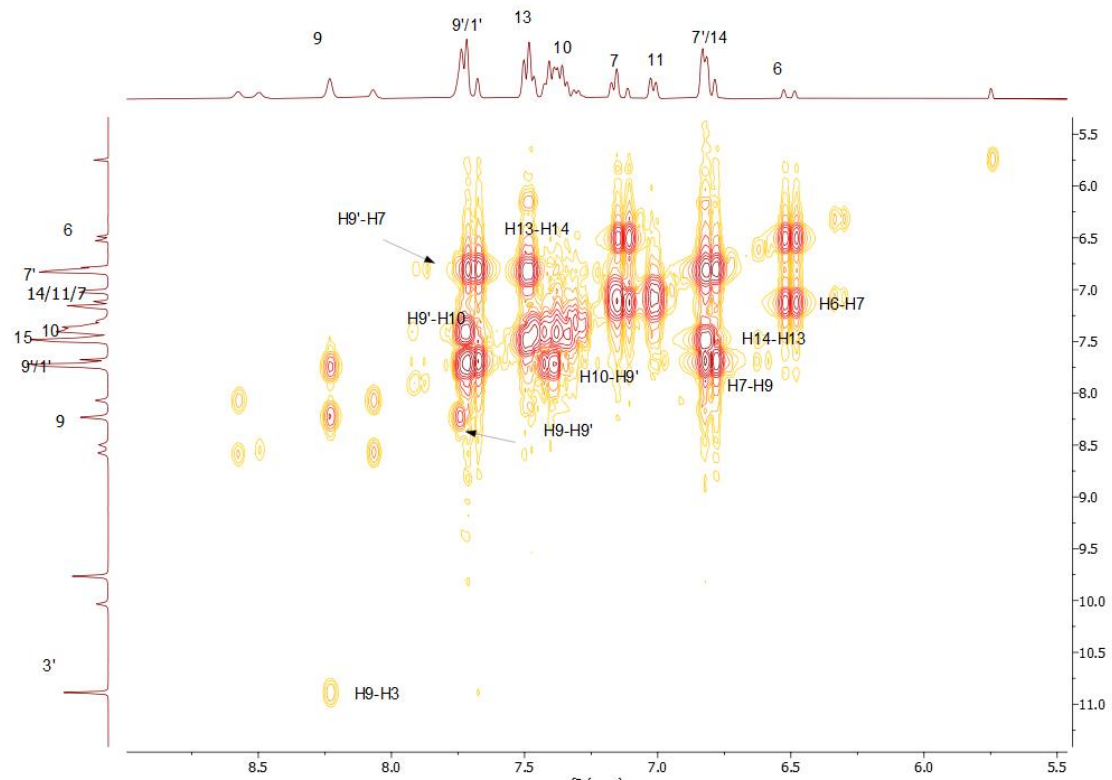


Εικόνα Π4.6: Φάσμα 2D-HMBC του μορίου ΚΚΙ27 σε DMSO στην περιοχή 4-11 ppm.

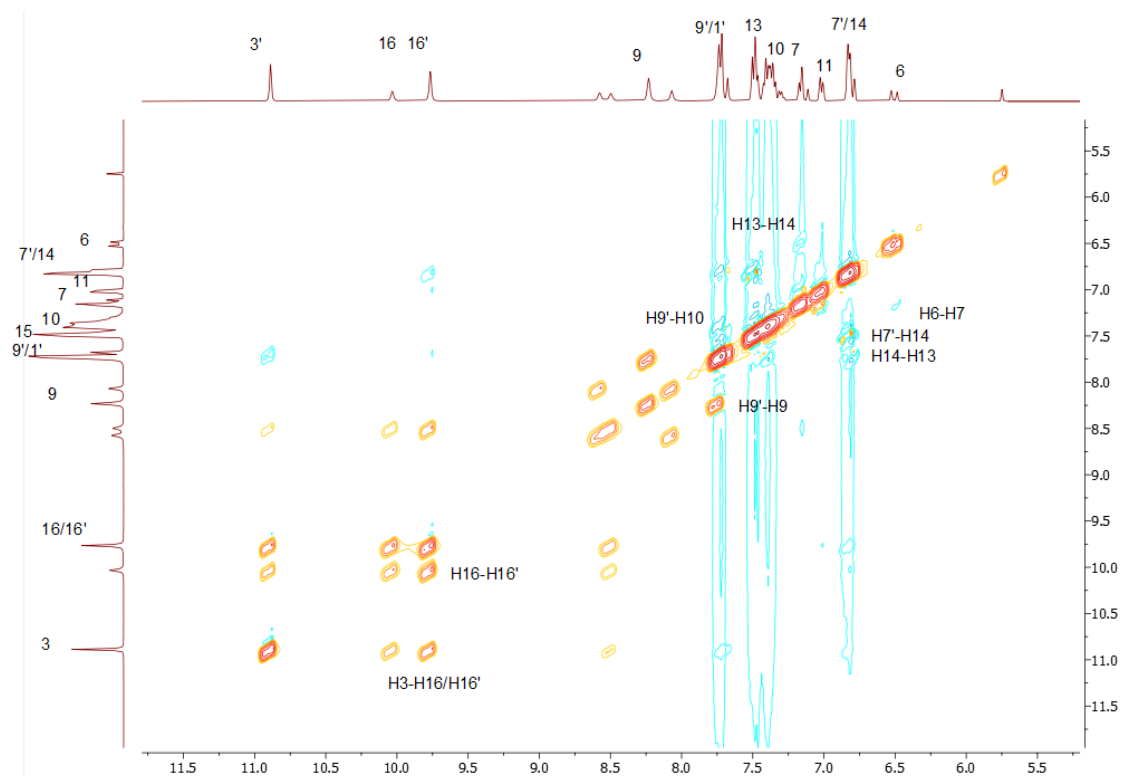
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 5 : ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΑ ΦΑΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΚΙ22



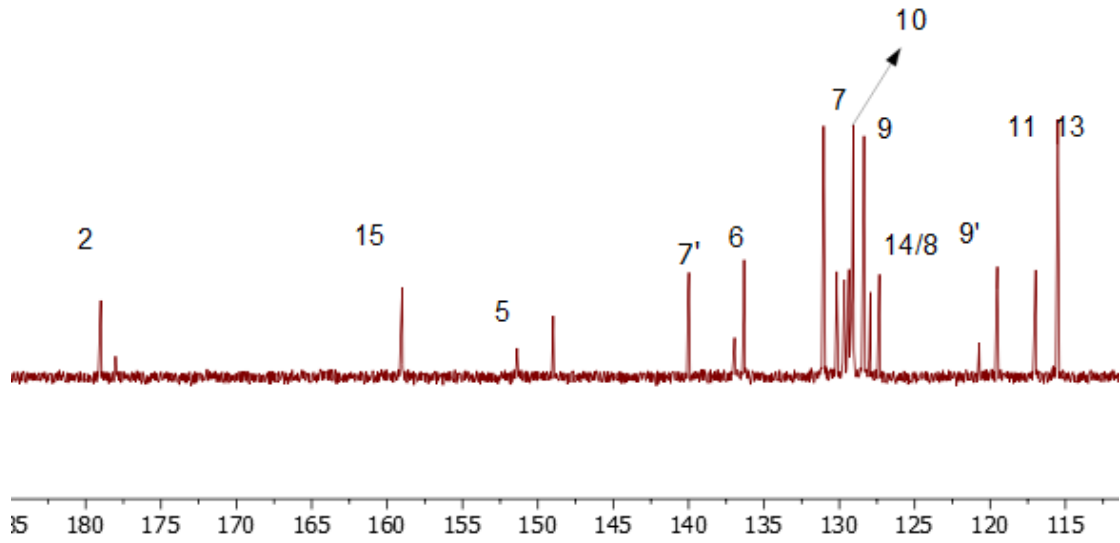
Εικόνα Π5.1: Φάσμα 1H του μορίου ΚΚΙ22 σε DMSO στην περιοχή 6-11,2 ppm.



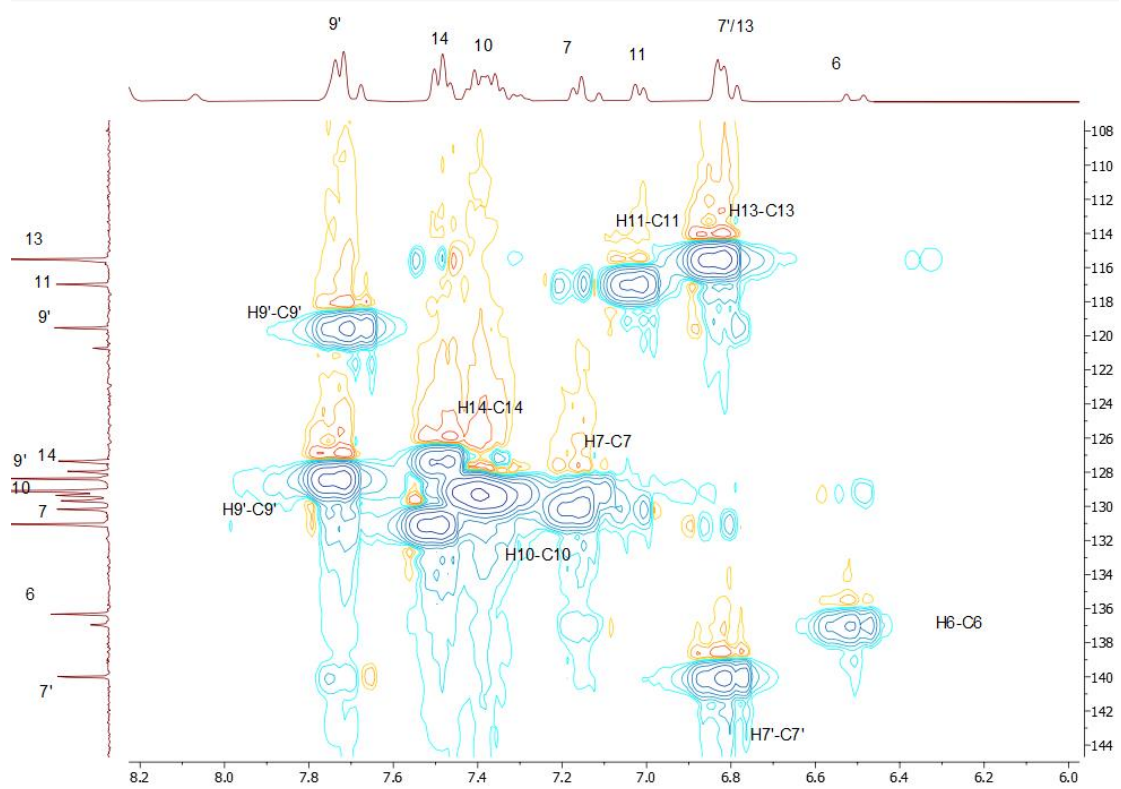
Εικόνα Π5.2: Φάσμα 2D-COSY του μορίου ΚΚ122 σε DMSO στην περιοχή 5-11,5 ppm.



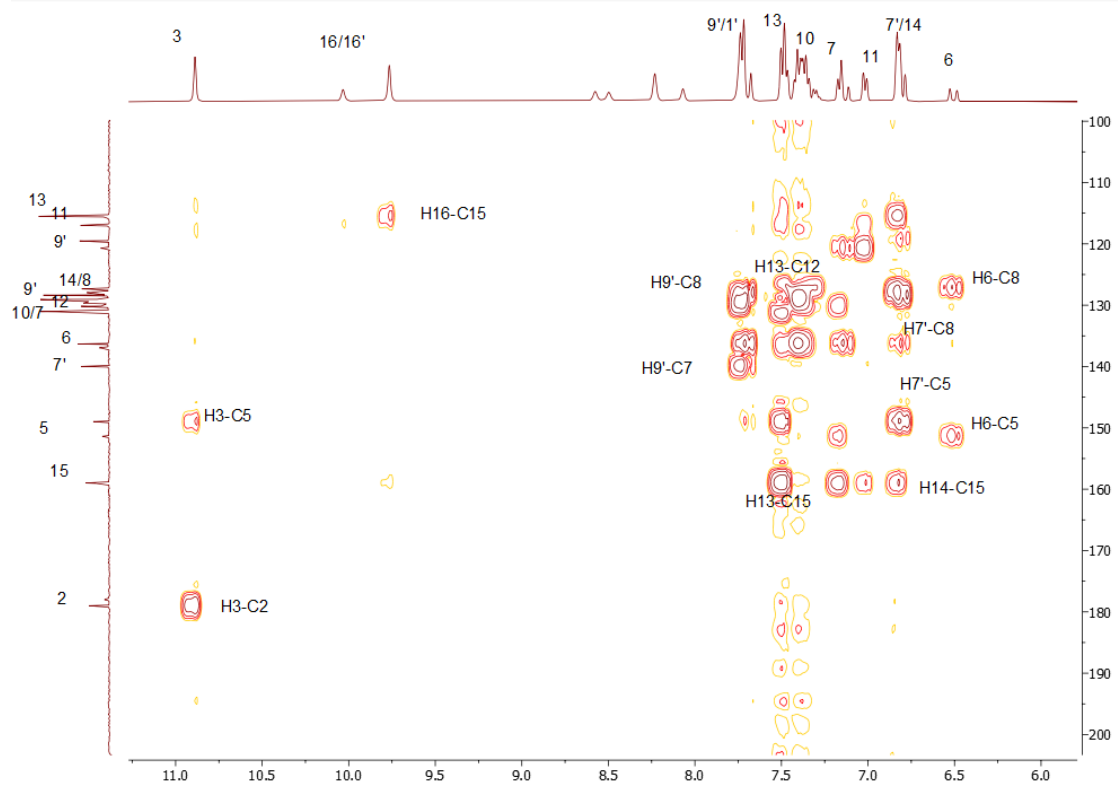
Εικόνα Π5.3: Φάσμα 2D-NOESY του μορίου ΚΚ122 σε DMSO στην περιοχή 0-12 ppm.



Εικόνα Π5.4: Φάσμα ¹³C του μορίου ΚΚΙ22 σε DMSO στην περιοχή 95-190 ppm.

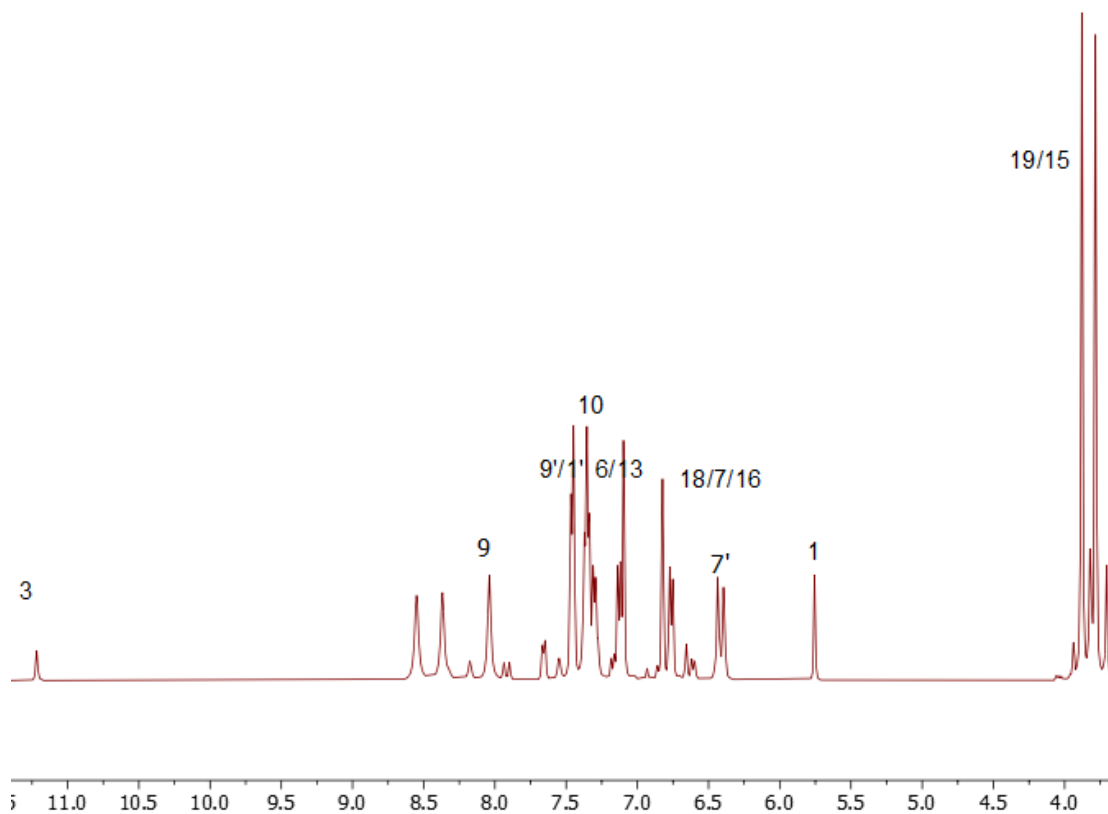


Εικόνα Π5.5: Φάσμα 2D-HSQC του μορίου ΚΚΙ22 σε DMSO στην περιοχή 0-11 ppm.

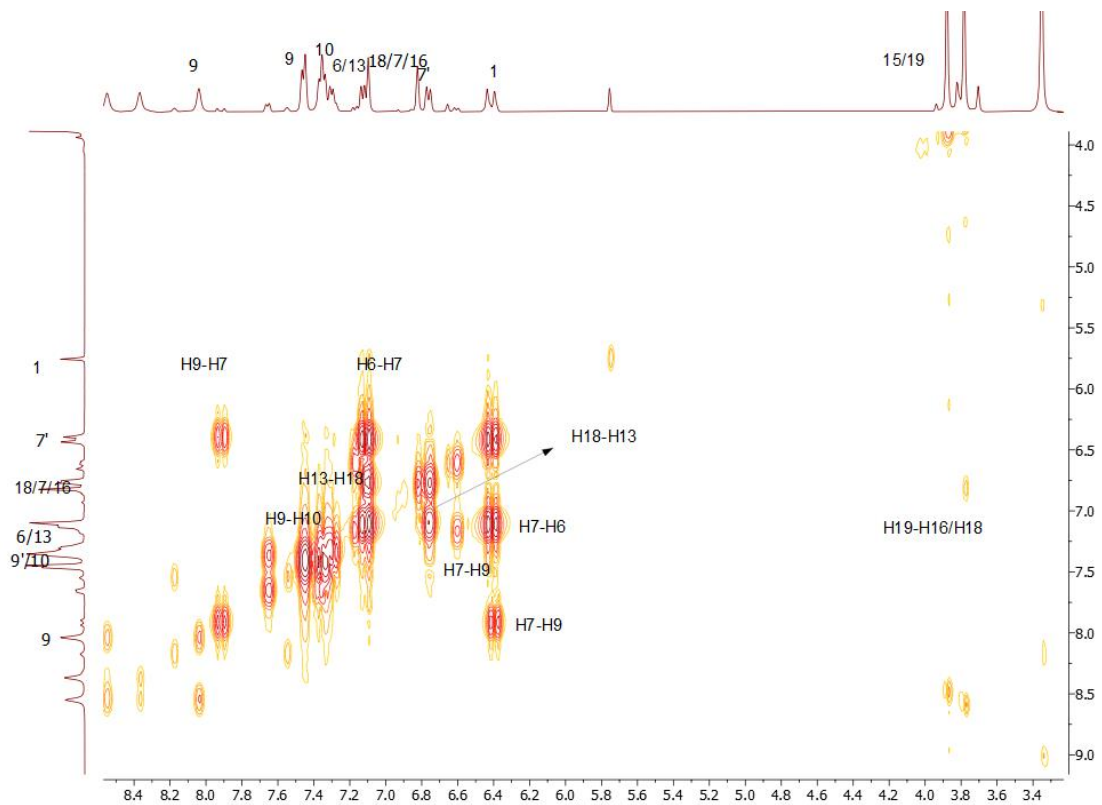


Εικόνα Π5.6: Φάσμα 2D-HMBC του μορίου ΚΚ122 σε DMSO στην περιοχή 0-12 ppm

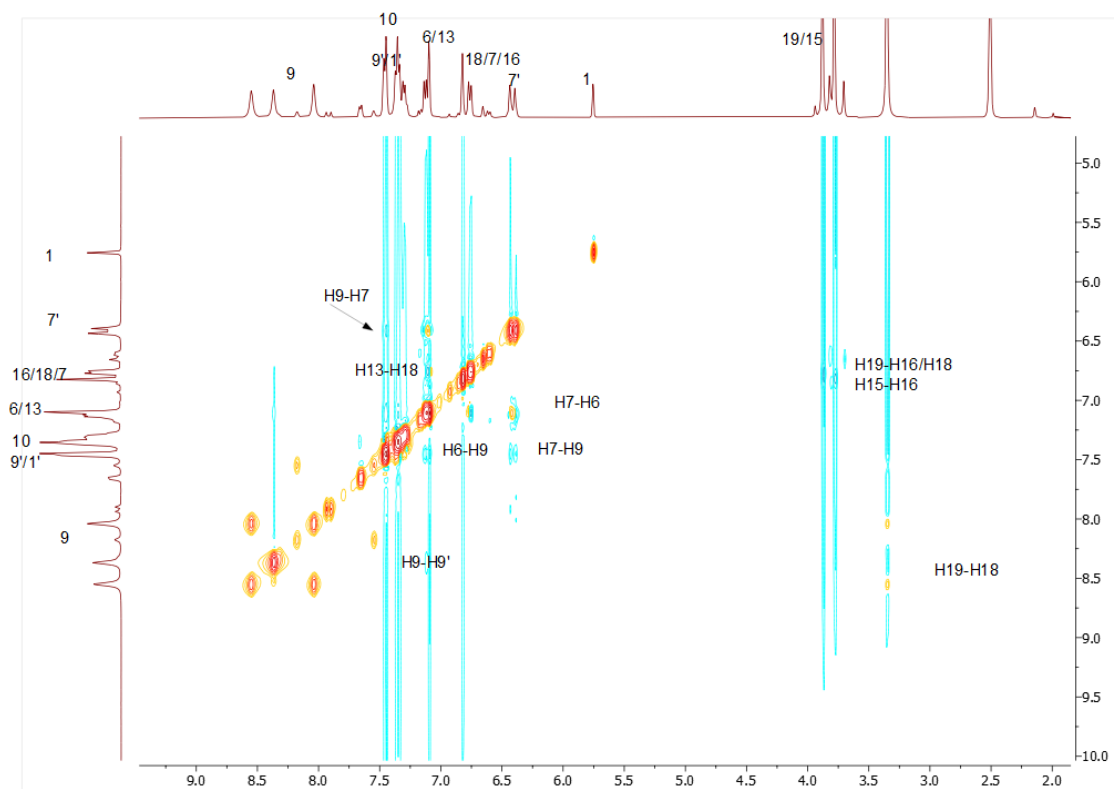
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 6 : ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΑ ΦΑΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΚΙ16



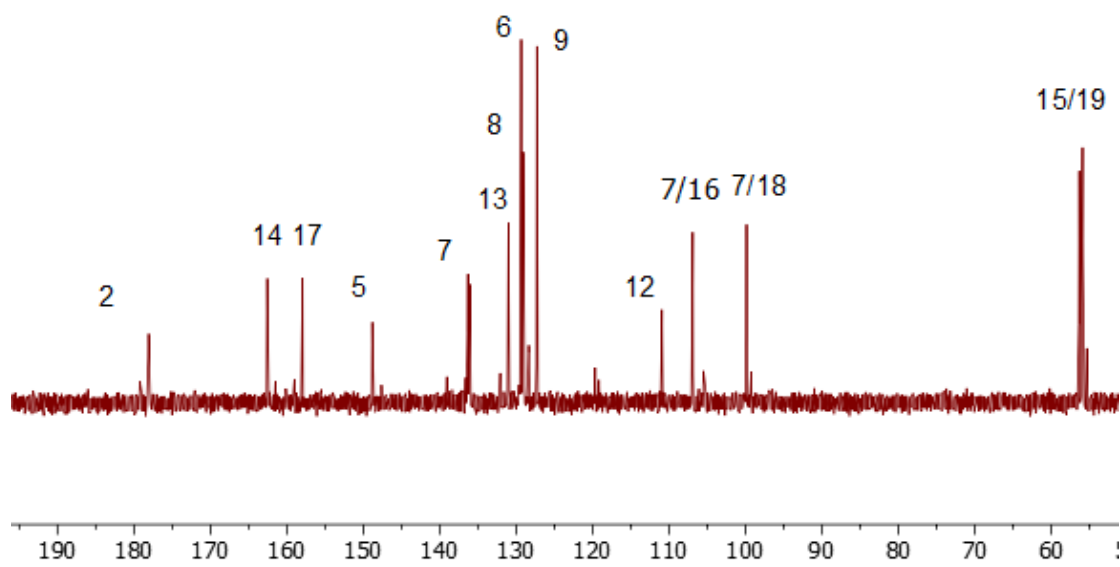
Εικόνα Π6.1: Φάσμα 1H του μορίου ΚΚΙ16 σε DMSO στην περιοχή 10-200 ppm.



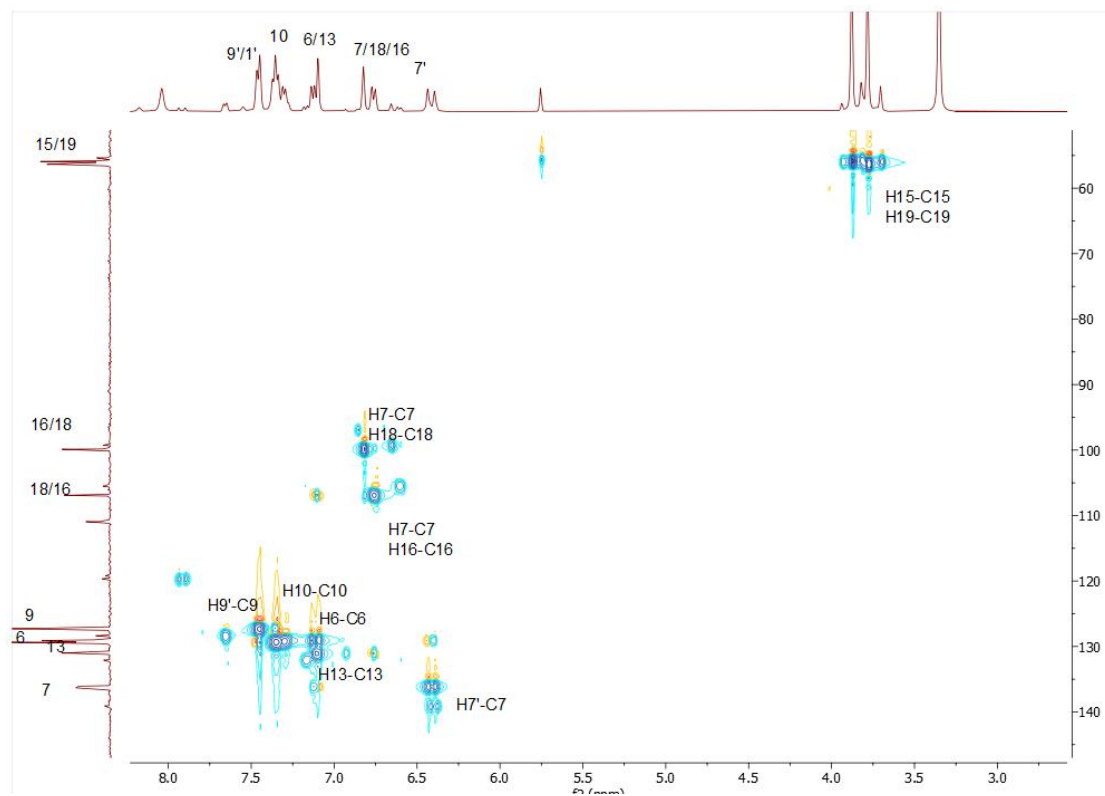
Εικόνα Π6.2: Φάσμα 2D-COSY του μορίου ΚΚ116 σε DMSO στην περιοχή 0,5-9 ppm.



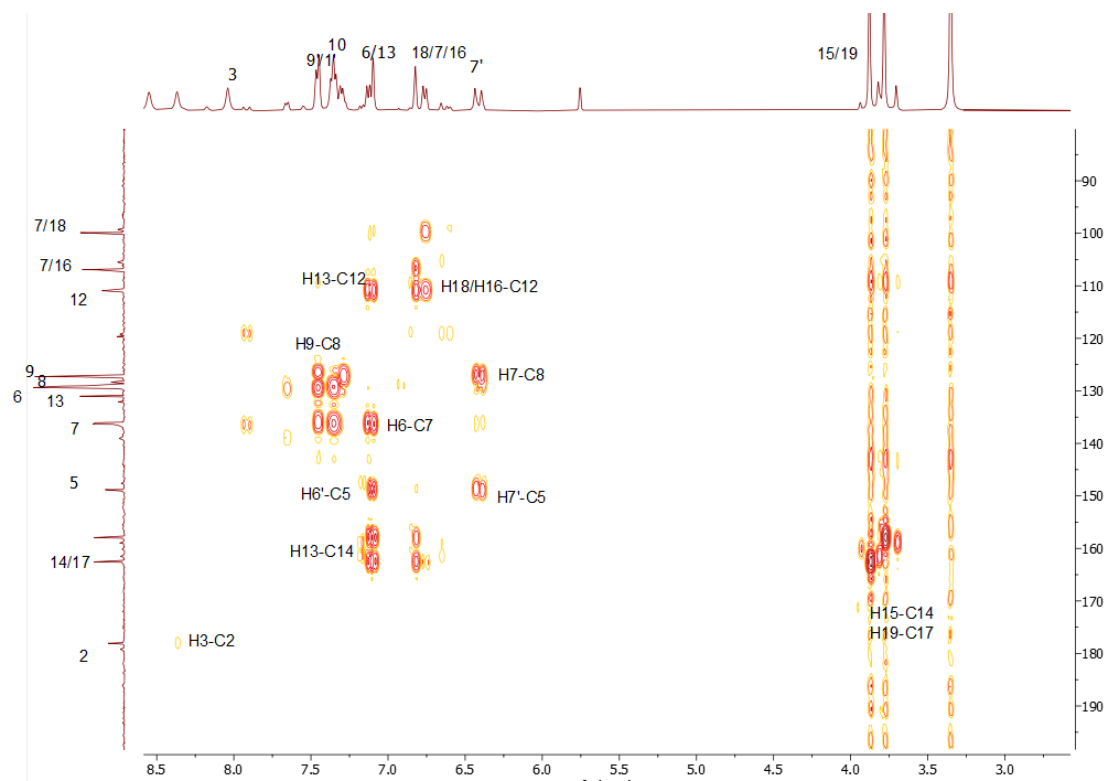
Εικόνα Π6.3: Φάσμα 2D-NOESY του μορίου ΚΚ116 σε DMSO στην περιοχή 0,5-9,5 ppm.



Εικόνα Π6.4: Φάσμα 13C του μορίου ΚΚΙ16 σε DMSO στην περιοχή 10-190 ppm.

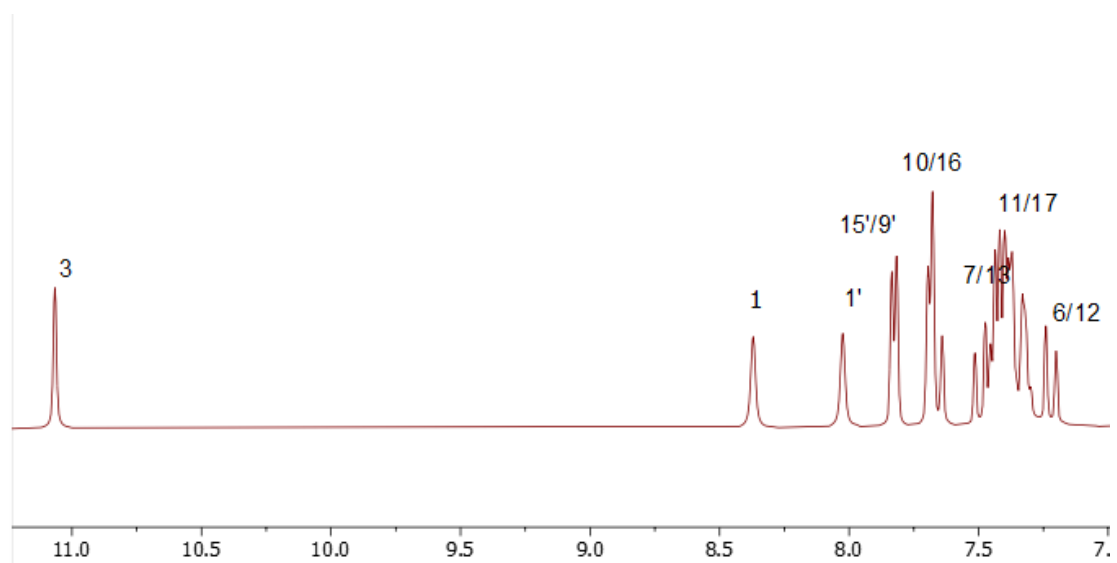


Εικόνα Π6.5: Φάσμα 2D-HSQC του μορίου ΚΚΙ16 σε DMSO στην περιοχή 0-8,5 ppm

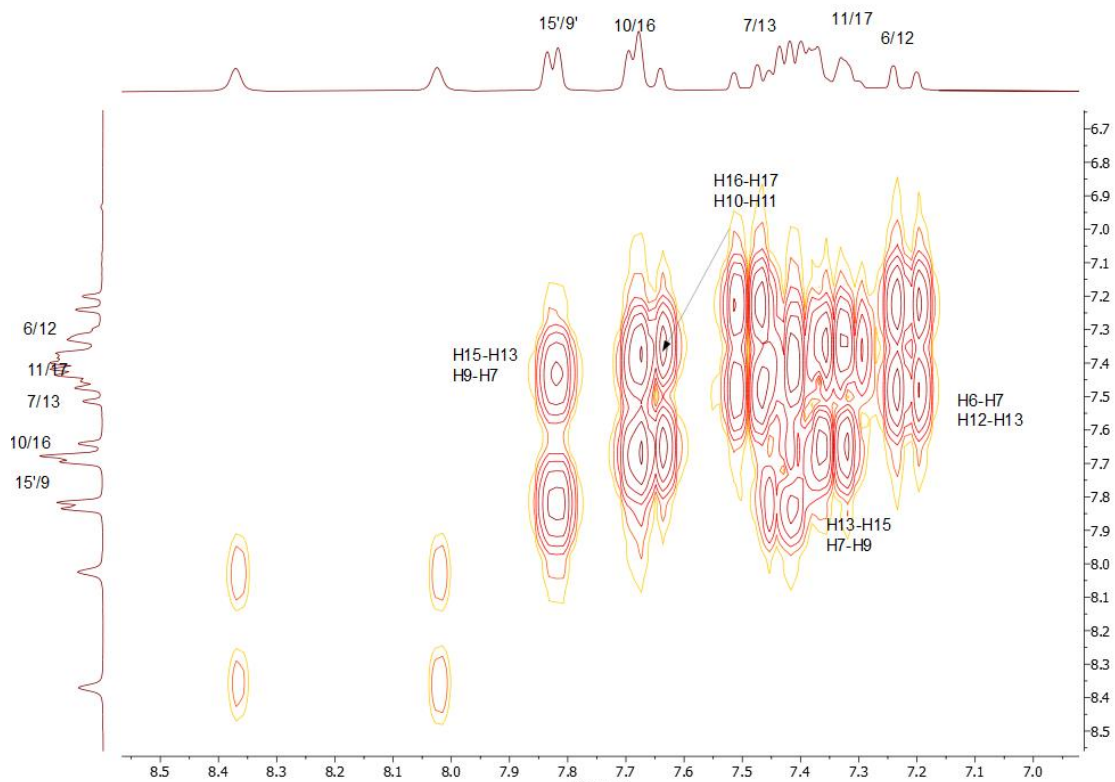


Εικόνα Π6.6: Φάσμα 2D-HMBC του μορίου ΚΚ116 σε DMSO στην περιοχή 1,5-12 ppm

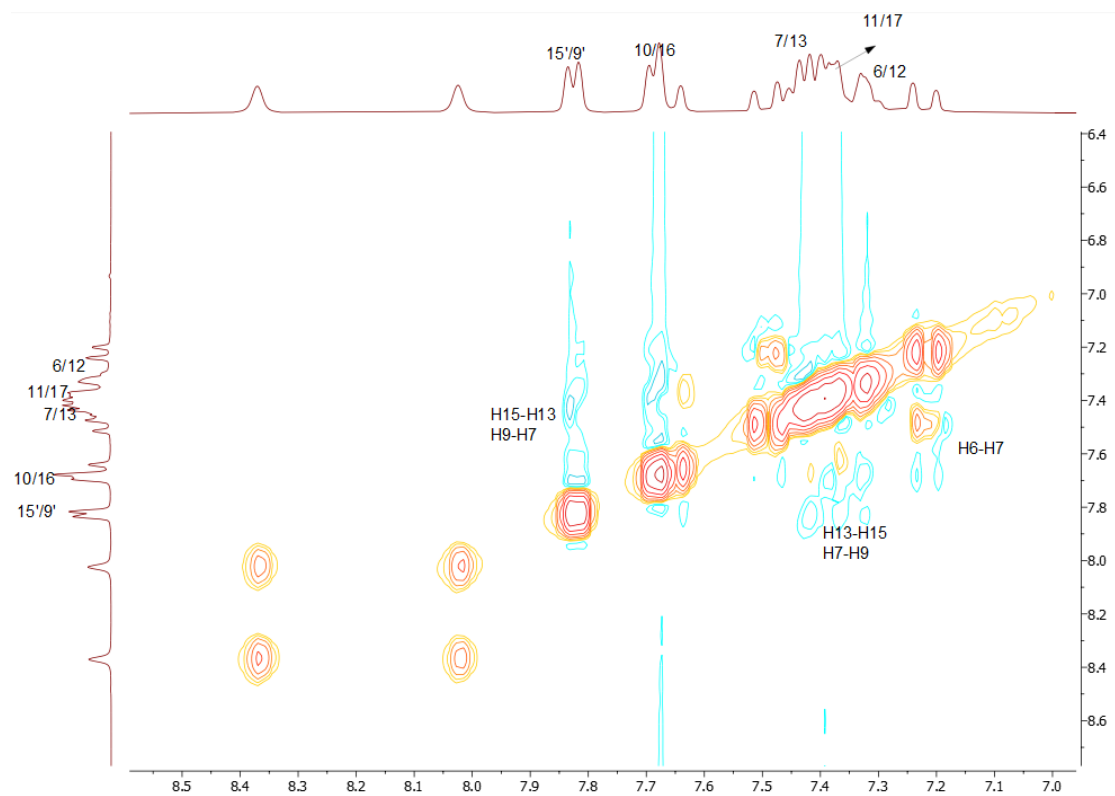
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 7 : ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΑ ΦΑΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΚ121



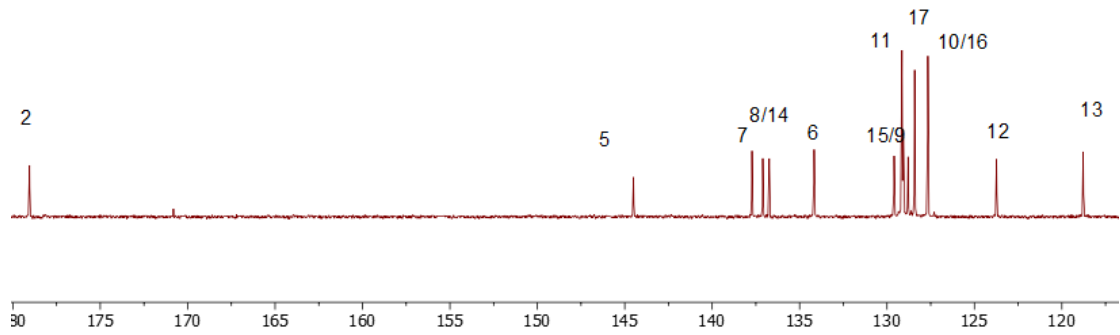
Εικόνα Π7.1: Φάσμα 1H του μορίου ΚΚ121 σε DMSO στην περιοχή 1-11,5 ppm.



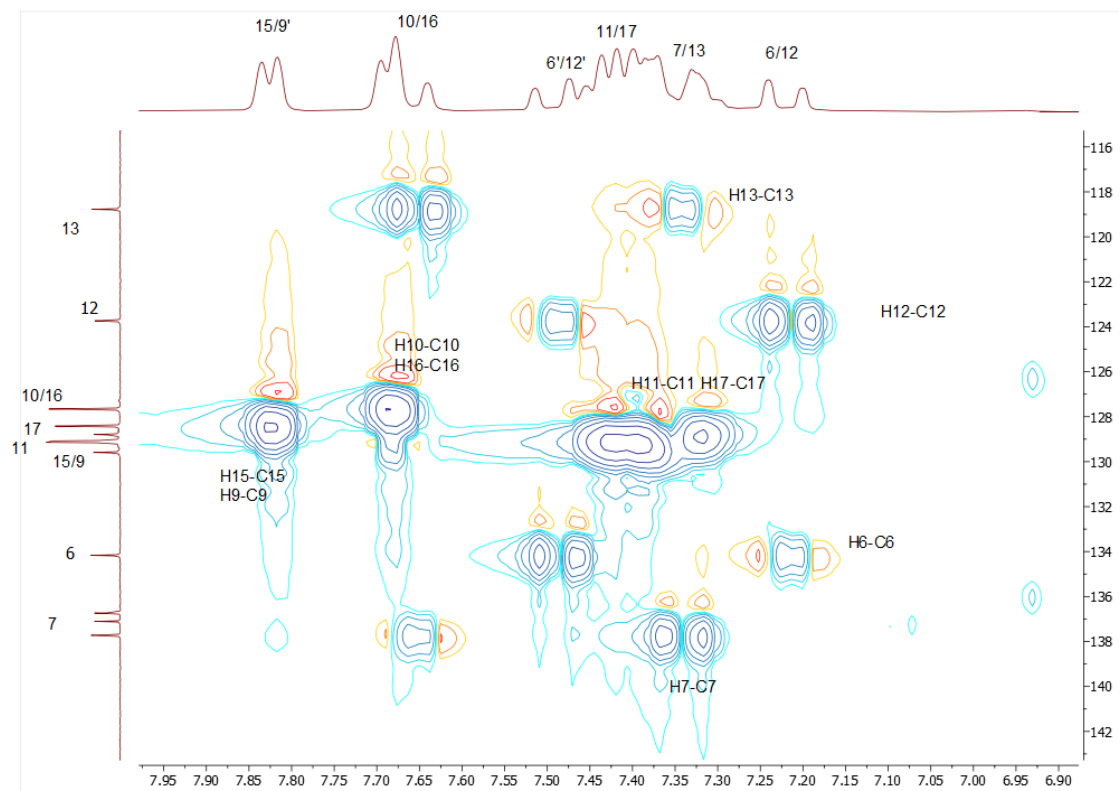
Εικόνα Π7.2: Φάσμα 2D-COSY του μορίου ΚΚ121 σε DMSO στην περιοχή 5-11 ppm.



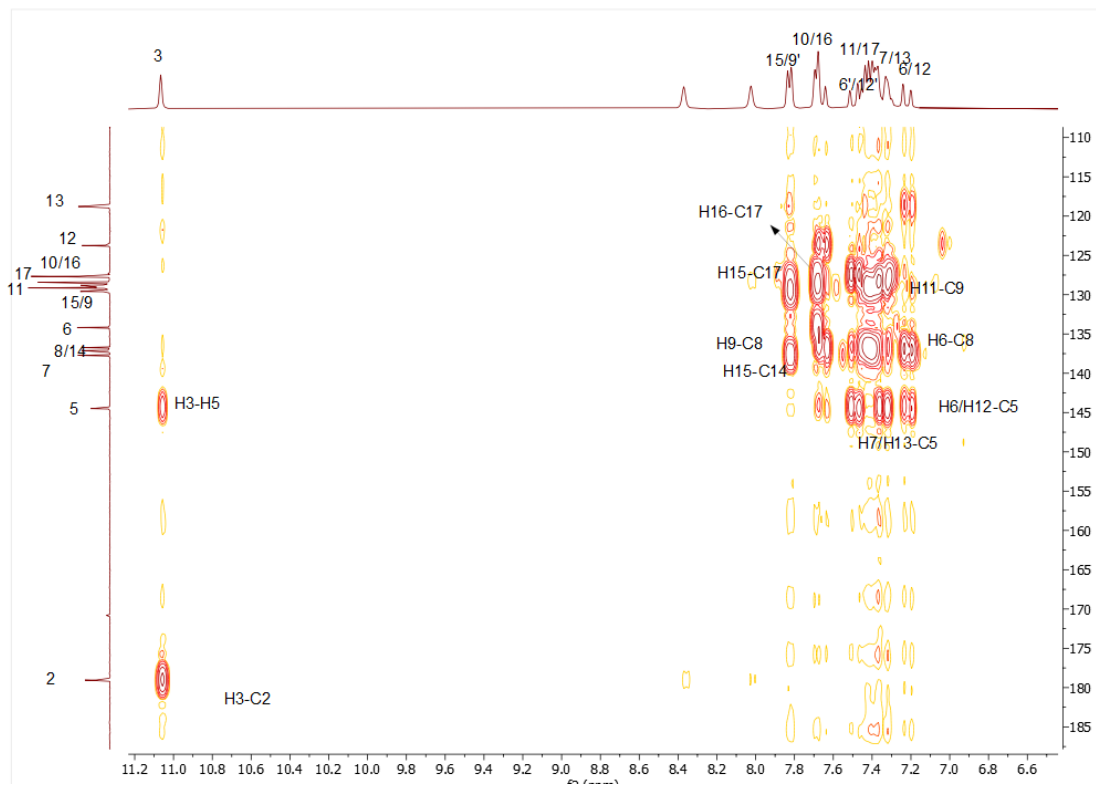
Εικόνα Π7.3: Φάσμα 2D-NOESY του μορίου ΚΚ121 σε DMSO στην περιοχή 4-11,5 ppm.



Εικόνα Π7.4: Φάσμα ^{13}C του μορίου ΚΚΙ21 σε DMSO στην περιοχή 0-190 ppm.

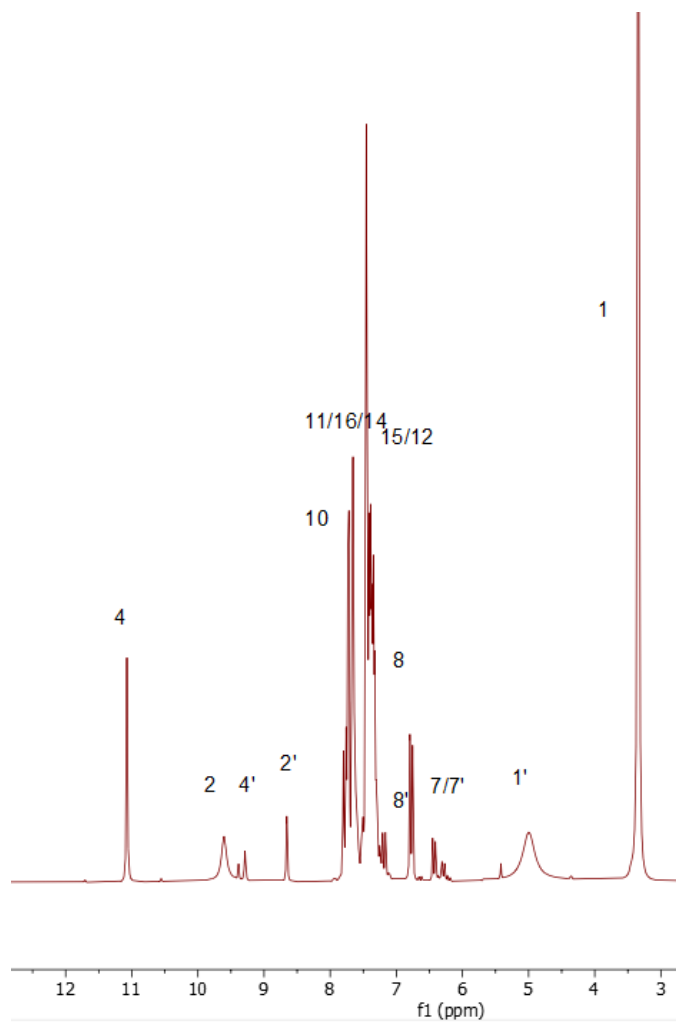


Εικόνα Π7.5: Φάσμα 2D-HSQC του μορίου ΚΚΙ21 σε DMSO στην περιοχή 3,5-8,5 ppm

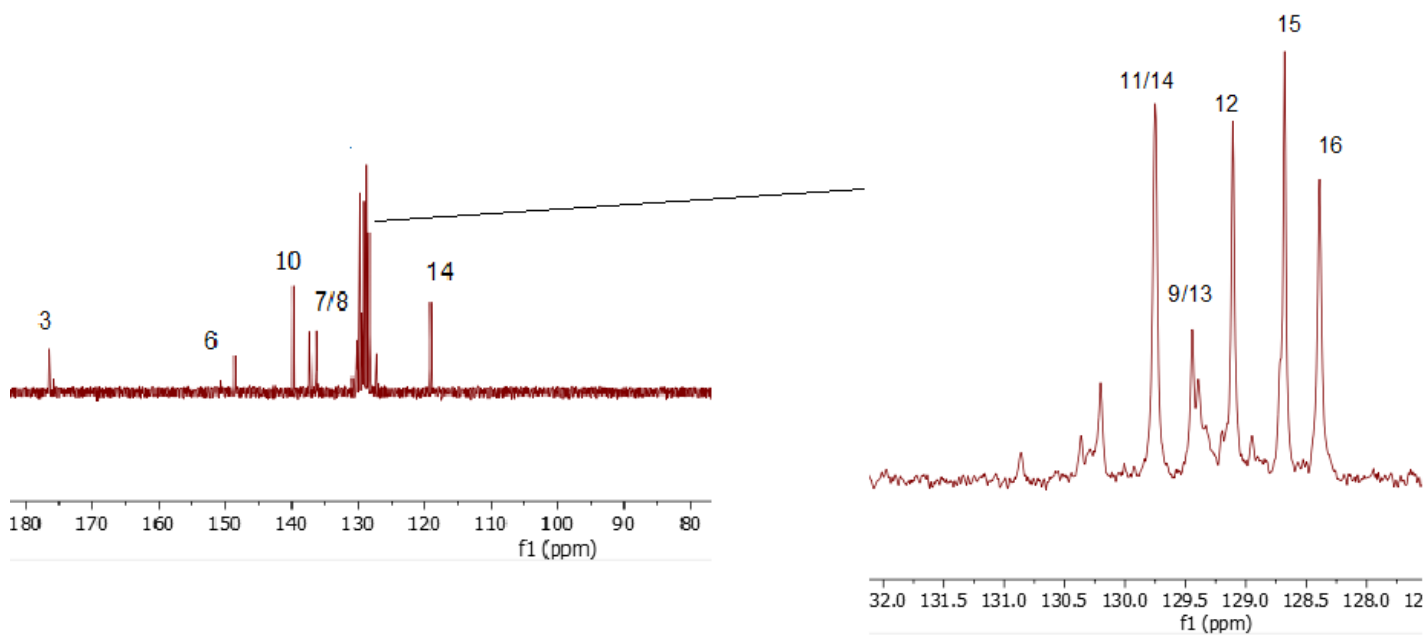


Εικόνα Π7.6: Φάσμα 2D-HMBC του μορίου ΚΚ121 σε DMSO στην περιοχή 5-11 ppm

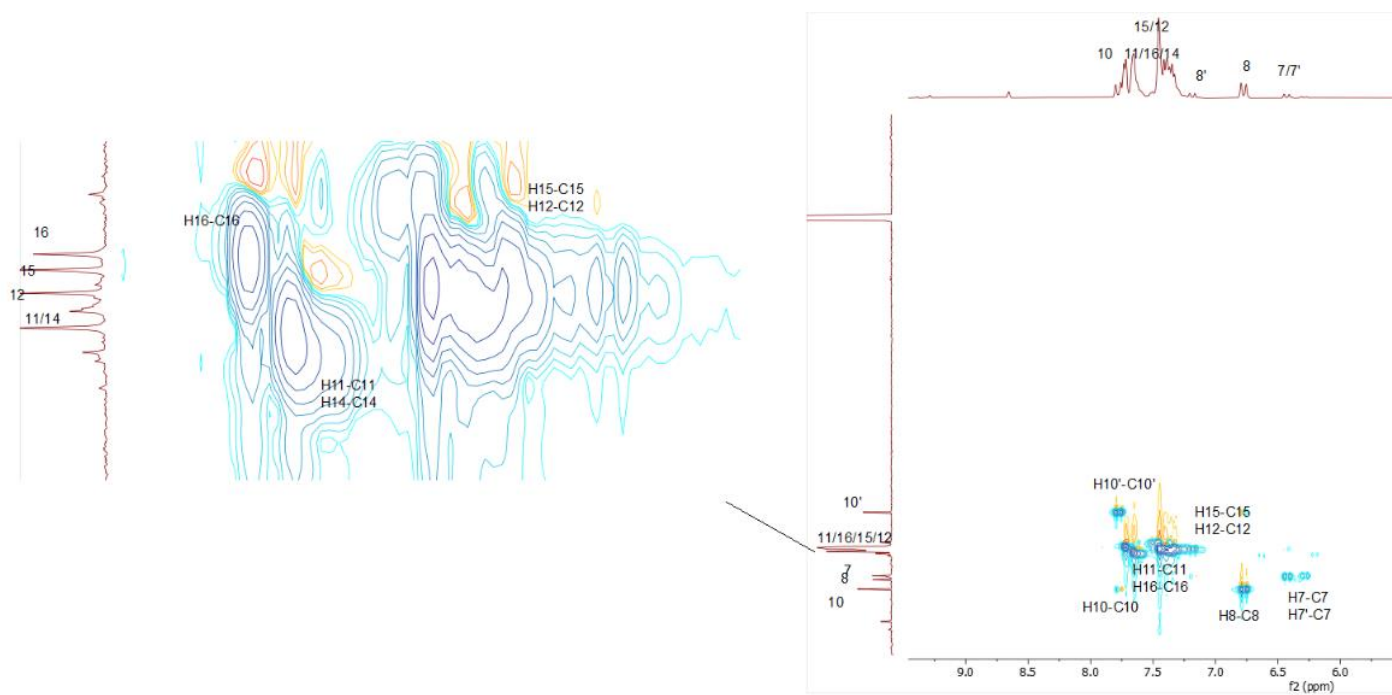
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 8 : ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΑ ΦΑΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΚΙ18



Εικόνα Π8.1: Φάσμα ¹H του μορίου ΚΚΙ18 σε DMSO στην περιοχή 0-13 ppm.

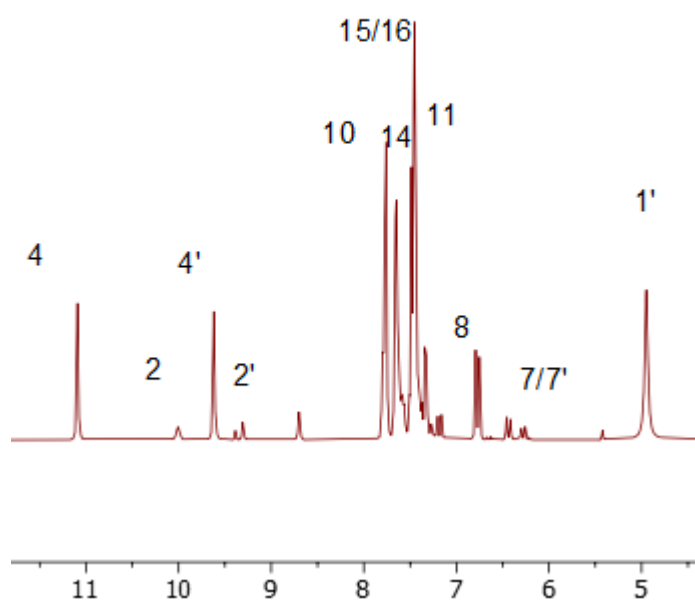


Εικόνα Π8.2: Φάσμα ^{13}C του μορίου ΚΚ118 σε DMSO στην περιοχή 10-190 ppm.

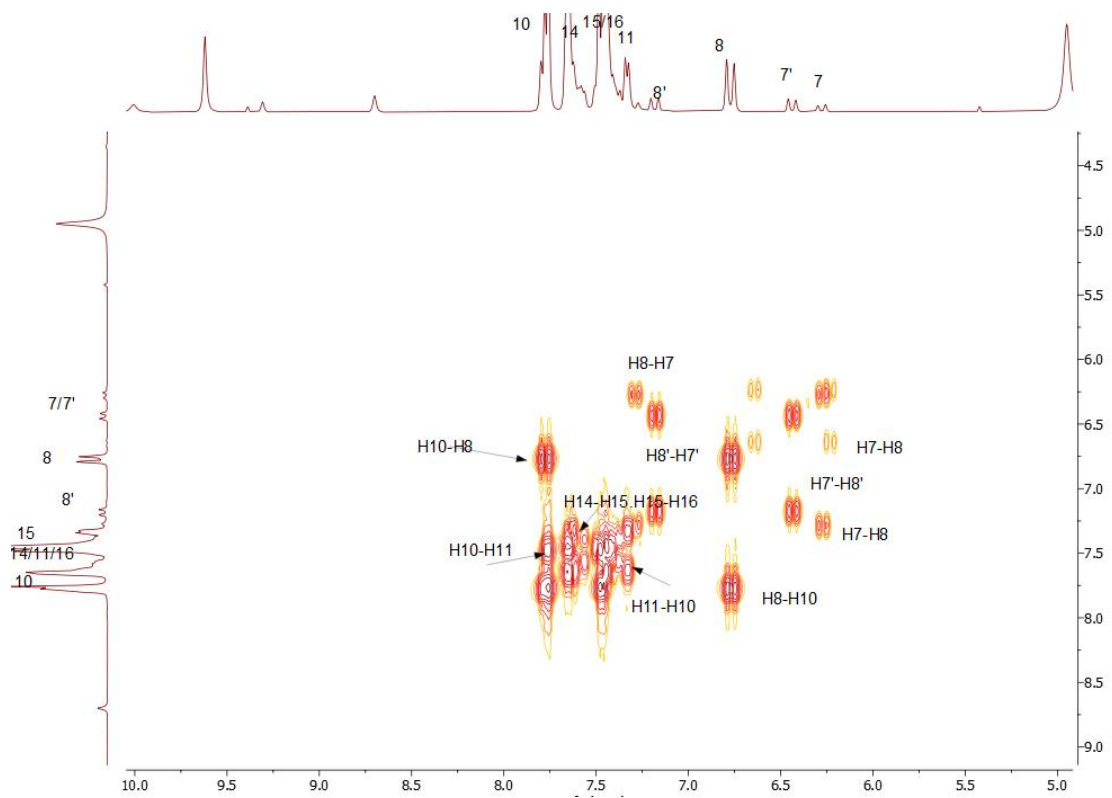


Εικόνα Π8.3: Φάσμα 2D-HSQC του μορίου ΚΚ118 σε DMSO στην περιοχή 3-9 ppm

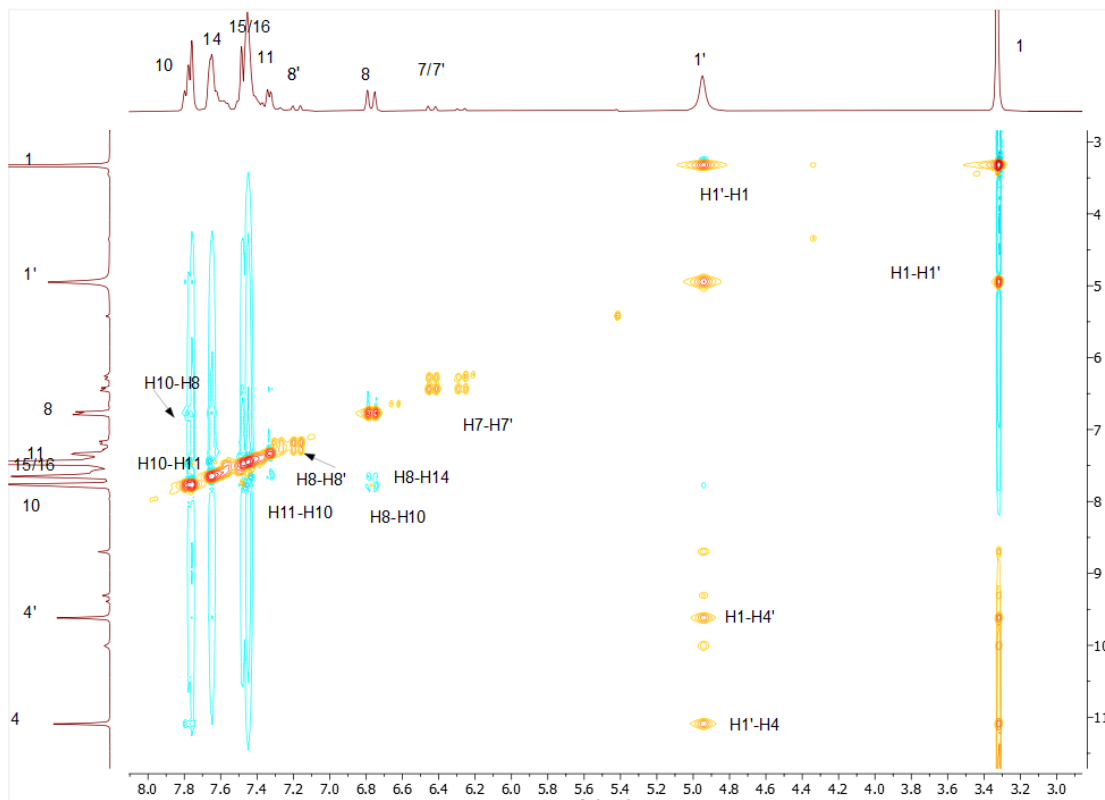
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 9 : ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΑ ΦΑΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΚΙ23



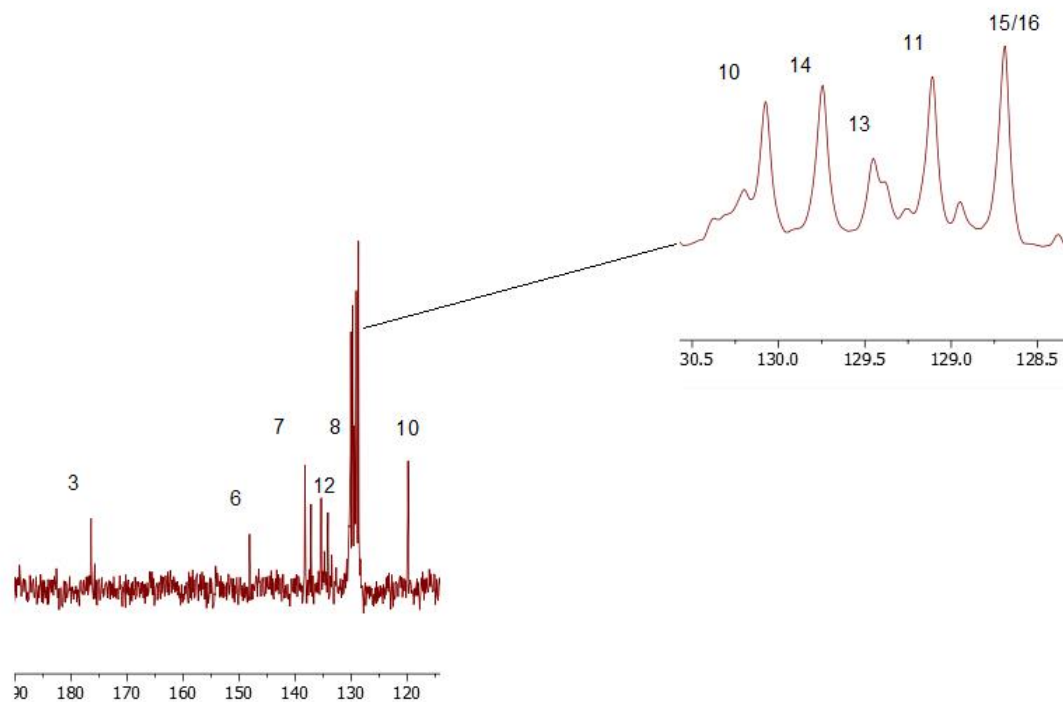
Εικόνα Π9.1: Φάσμα 1H του μορίου ΚΚΙ23 σε DMSO στην περιοχή 0-13 ppm.



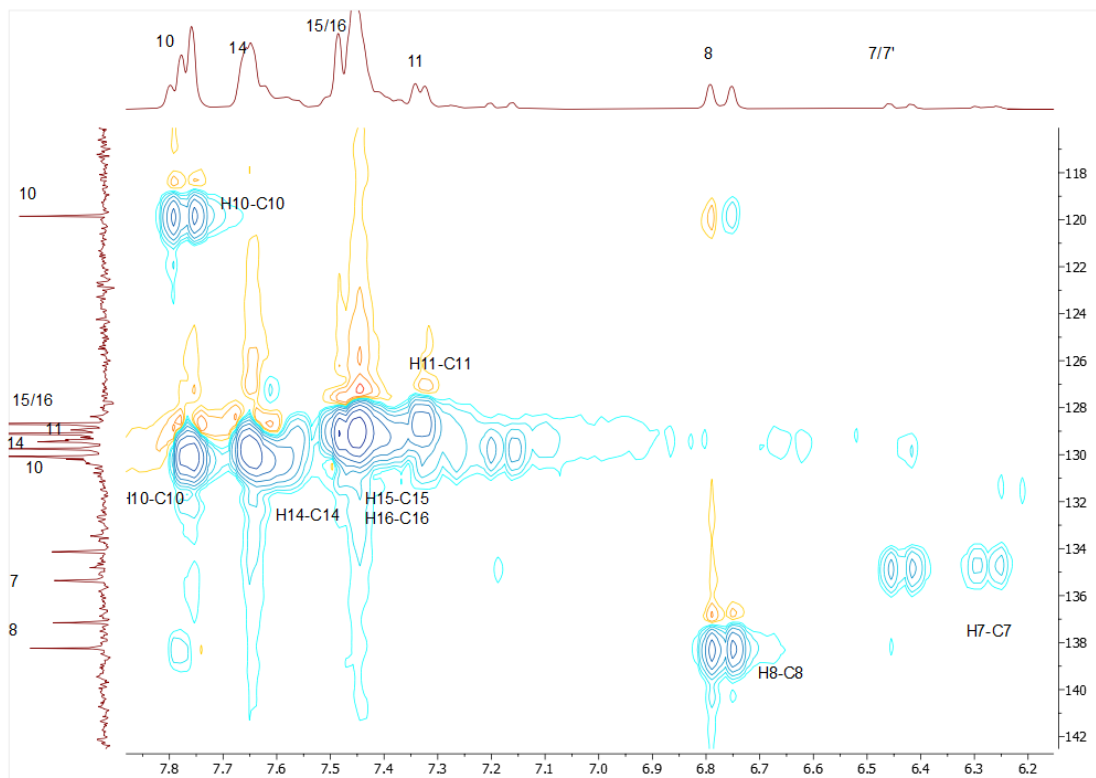
Εικόνα Π9.2: Φάσμα 2D-COSY του μορίου ΚΚ123 σε DMSO στην περιοχή 5-10 ppm.



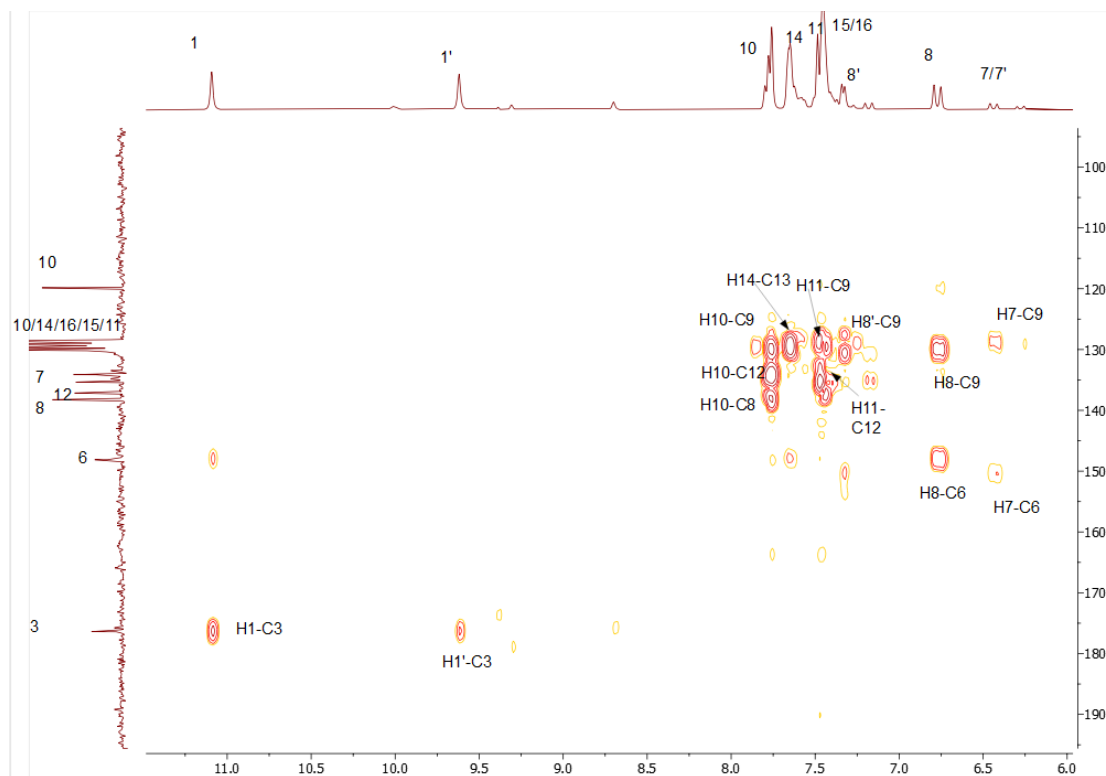
Εικόνα Π9.3: Φάσμα 2D-NOESY του μορίου KKI23 σε DMSO στην περιοχή 5,5-11,5 ppm.



Εικόνα Π9.4: Φάσμα ^{13}C του μορίου KKI23 σε DMSO στην περιοχή 30-190 ppm.

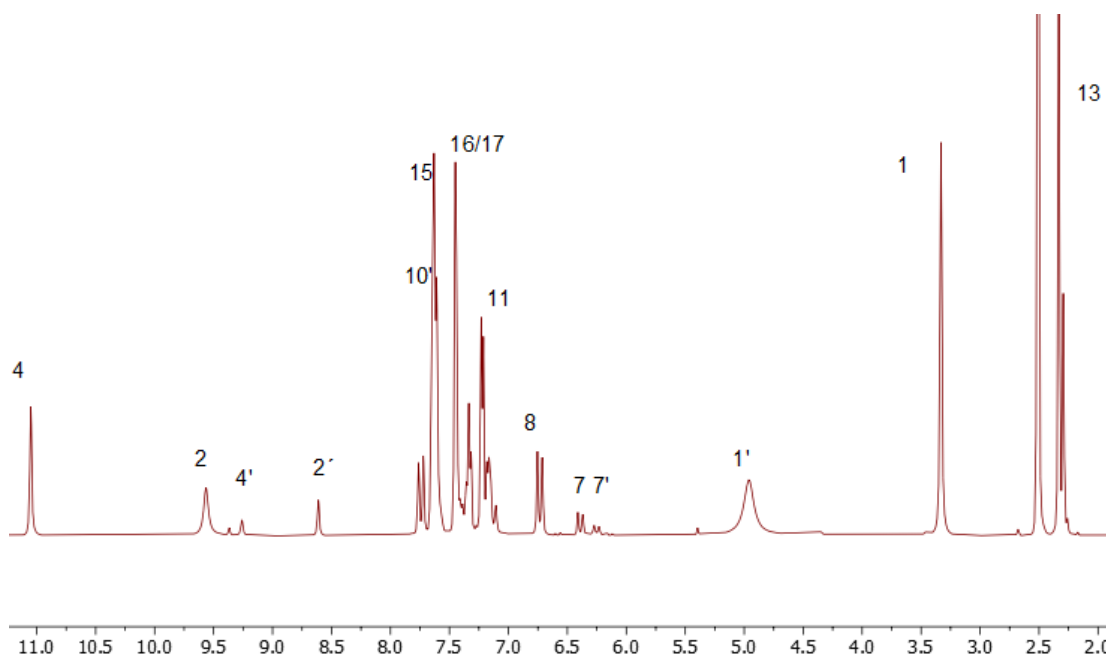


Εικόνα Π9.5: Φάσμα 2D-HSQC του μορίου ΚΚ123 σε DMSO στην περιοχή 4-10 ppm.

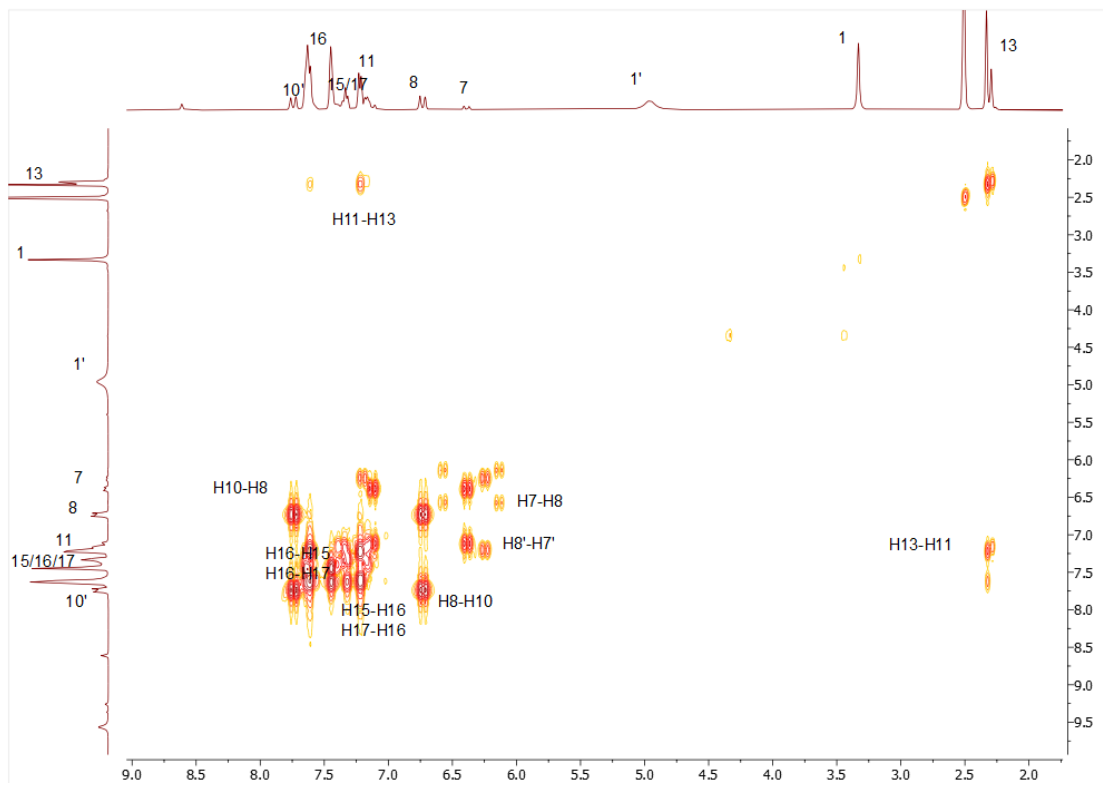


Εικόνα Π9.6: Φάσμα 2D-HMBC του μορίου ΚΚΙ23 σε DMSO στην περιοχή 6-11 ppm.

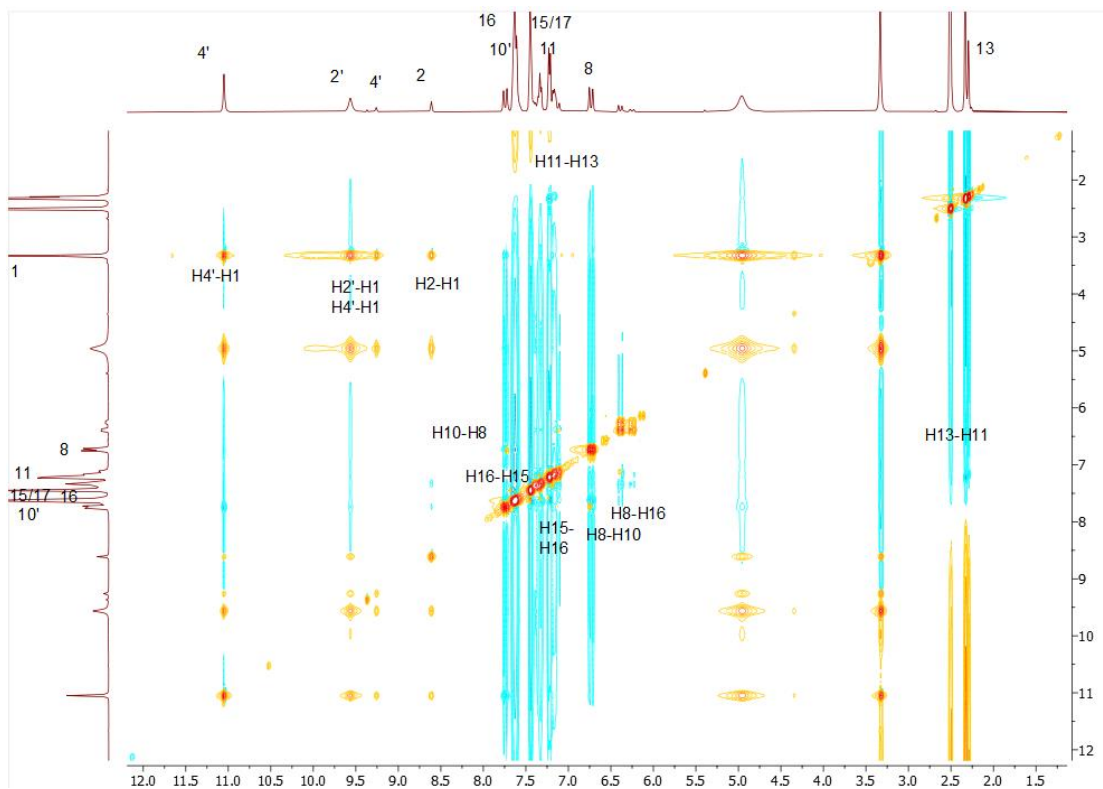
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 10 : ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΑ ΦΑΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΚΙ25



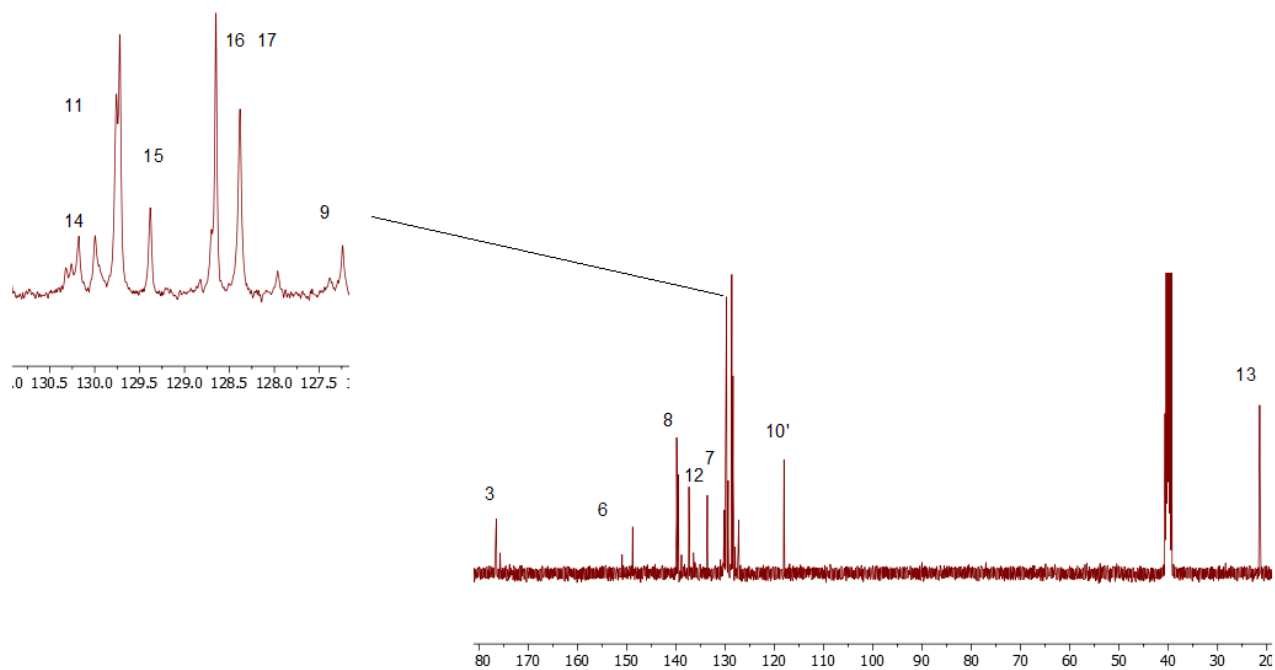
Εικόνα Π10.1: Φάσμα 1H του μορίου ΚΚΙ25 σε DMSO στην περιοχή 0-13 ppm.



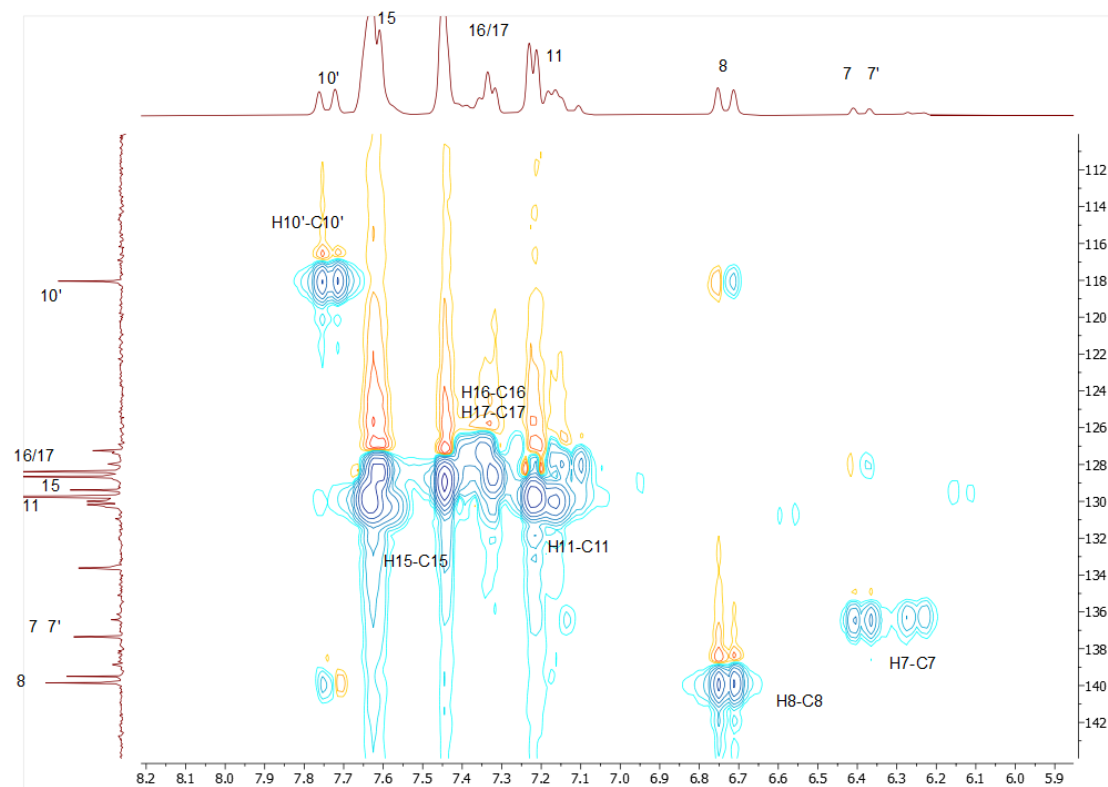
Εικόνα Π10.2: Φάσμα 2D-COSY του μορίου ΚΚ125 σε DMSO στην περιοχή 2,5-10 ppm.



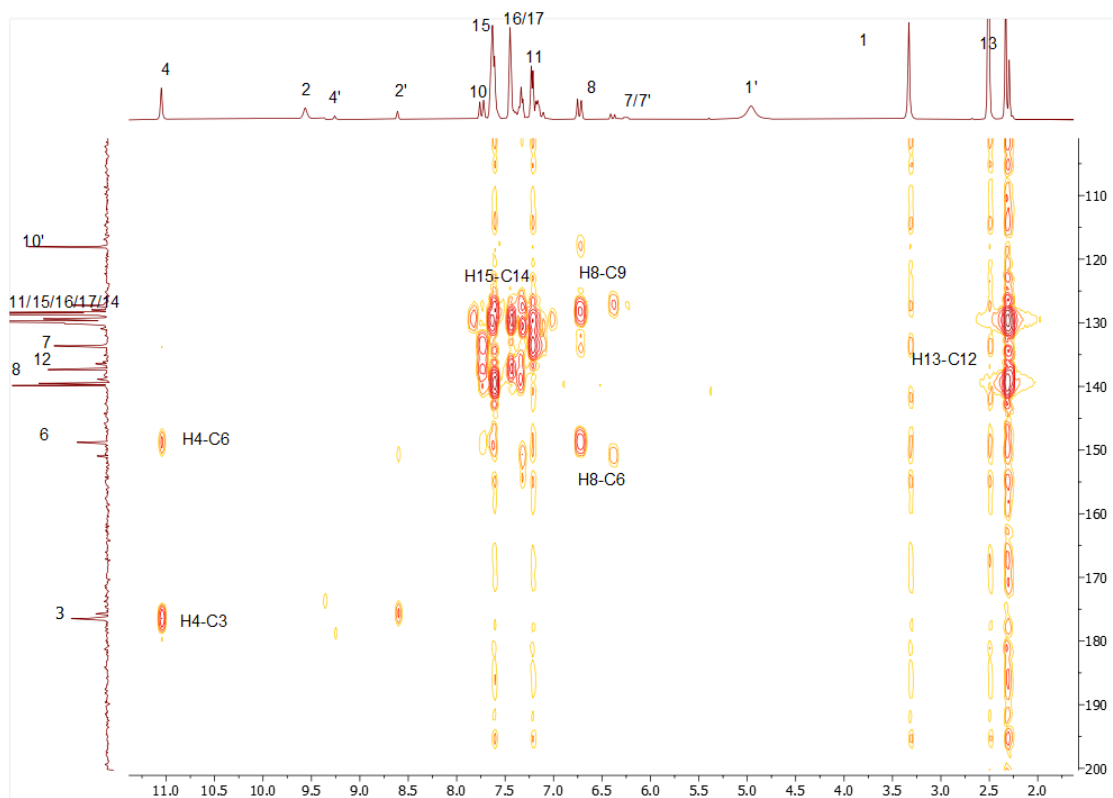
Εικόνα Π10.3: Φάσμα 2D-NOESY του μορίου ΚΚ125 σε DMSO στην περιοχή 2,5-11,5 ppm.



Εικόνα Π10.4: Φάσμα ^{13}C του μορίου ΚΚΙ25 σε DMSO στην περιοχή 10-190 ppm.

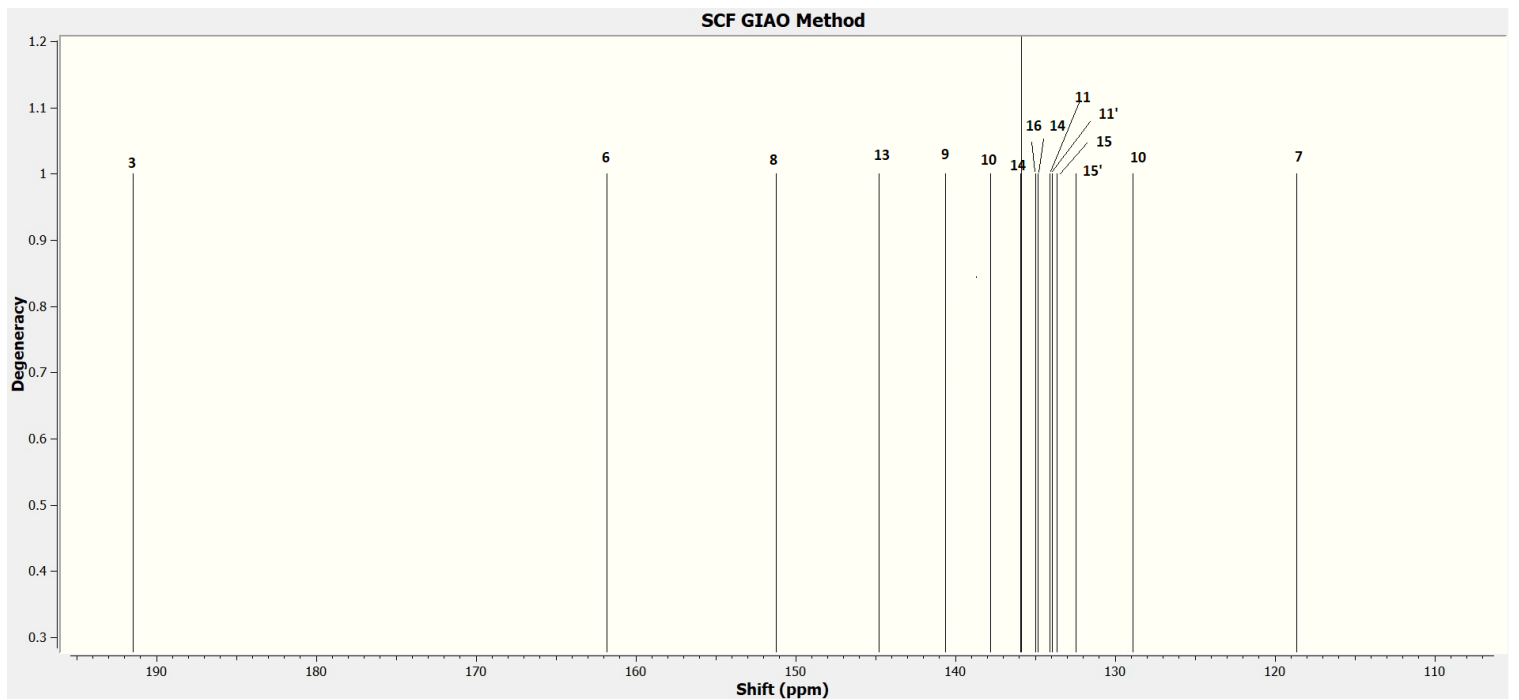
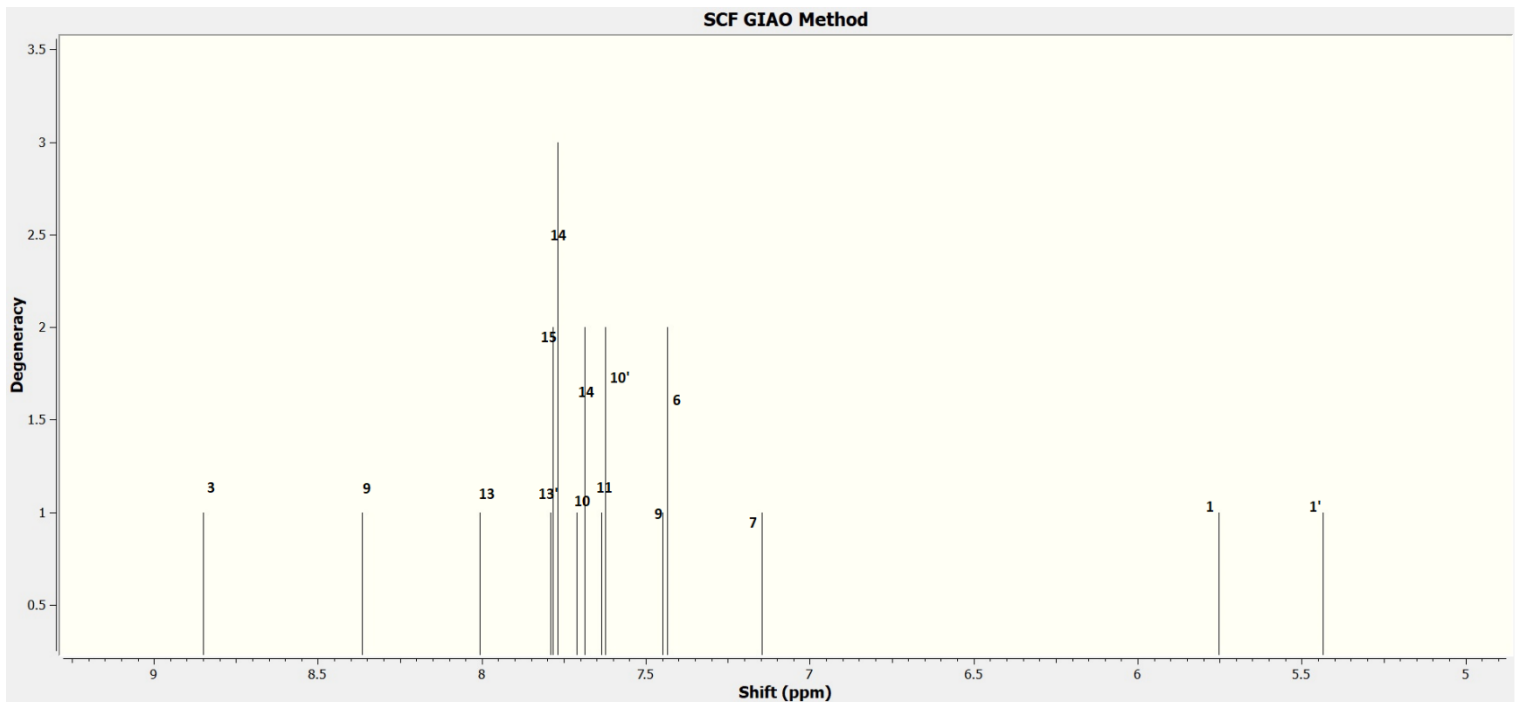


Εικόνα Π10.5: Φάσμα 2D-HSQC του μορίου ΚΚΙ25 σε DMSO στην περιοχή 3-9 ppm

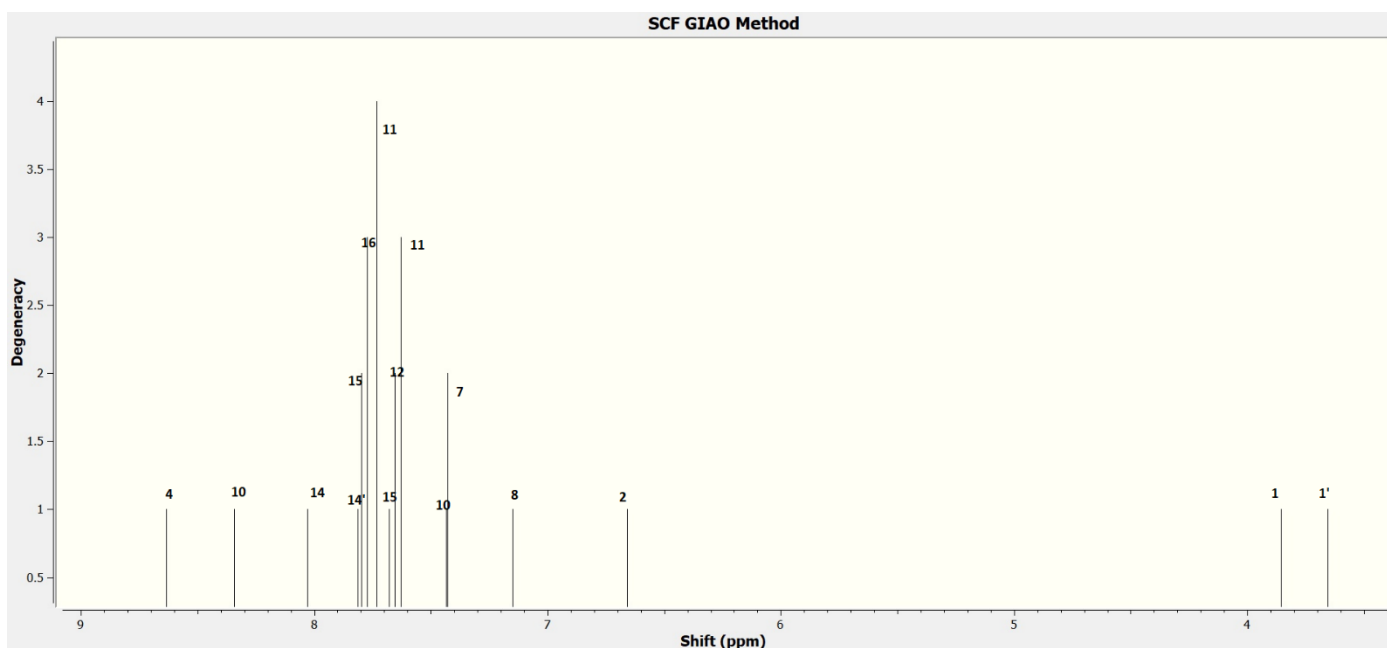


Εικόνα Π10.6: Φάσμα 2D-HMBC του μορίου ΚΚΙ25 σε DMSO στην περιοχή 1,5-12 ppm

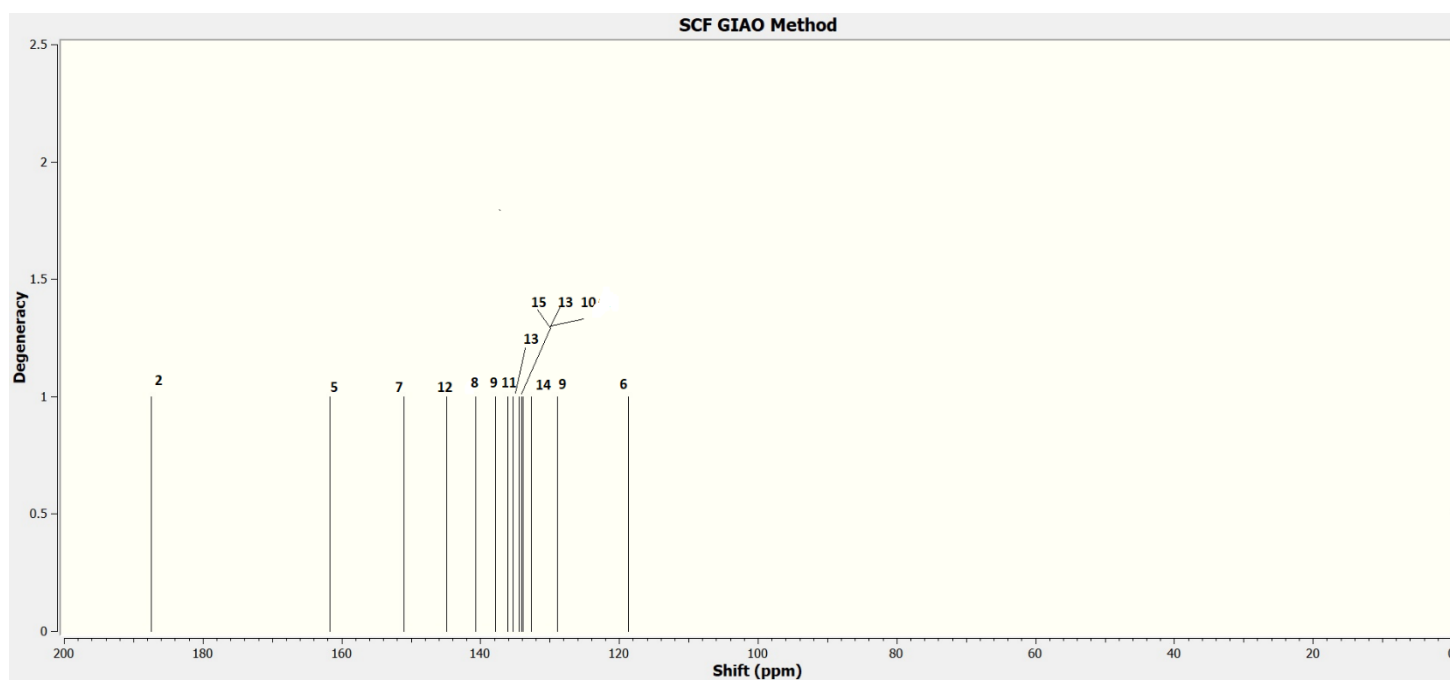
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 11 :ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΩΝ ΦΑΣΜΑΤΩΝ ΓΙΑ ΤΙΣ ΠΙΟ ΣΤΑΘΕΡΕΣ ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΕΙΣ ΤΩΝ ΚΚΙ15 ΚΑΙ ΚΚΙ18



Εικόνα 40: Αποτελέσματα υπολογιστικού φάσματος άνθρακα DFT για την ΚΚΙ15



Εικόνα 42: Αποτελέσματα υπολογιστικού φάσματος πρωτονίου για την ΚΚΙ18



Εικόνα 41: Αποτελέσματα υπολογιστικού φάσματος άνθρακα για την ΚΚΙ18

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 12 : ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΥ ΦΟΡΤΙΩΝ

Πίνακας 35: Αποτελέσματα υπολογισμού φορτίου για την ένωση ΚΚ118

ΚΚ118	H(27)								
	b3lyp/6-311G(d,p)	b3lyp/6-311+G(d,p)	b3lyp/6-311++G(d,p)	M062X/6-311G(d,p)	M062X/6-311+G(d,p)	wB97xd/6-311G(d,p)	M062X/6-311++G(d,p)	wB97xd/6-311+G(d,p)	wB97xd/6-311++G(d,p)
Mull	0.128	0.144	0.186	0.170	0.171	0.168	0.199	0.168	0.214
NBO	0.208	0.213	0.210	0.216	0.219	0.218	0.217	0.218	0.215
CM5	0.102	0.102	0.102	0.104	0.104	0.105	0.105	0.105	0.105
ΚΚ118	H(28)								
	b3lyp/6-311G(d,p)	b3lyp/6-311+G(d,p)	b3lyp/6-311++G(d,p)						
Mull	0.121	0.144	0.244	0.163	0.178	0.172	0.26	0.172	0.276
NBO	0.203	0.205	0.205	0.209	0.212	0.211	0.211	0.211	0.209
CM5	0.104	0.103	0.104	0.106	0.106	0.107	0.106	0.107	0.107
ΚΚ118	C(8)								
	b3lyp/6-311G(d,p)	b3lyp/6-311+G(d,p)	b3lyp/6-311++G(d,p)						
Mull	-0.195	0.172	0.082	-0.239	0.279	0.162	0.138	0.162	0.037
NBO	-0.248	-0.240	-0.246	-0.256	-0.249	-0.249	-0.255	-0.249	-0.254

CM5	0.012	0.012	0.012	0.015	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013
KKI18	C(9)								
	b3lyp/6-311G(d,p)	b3lyp/6-311+G(d,p)	b3lyp/6-311++G(d,p)						
Mull	-0.076	-0.339	-0.496	-0.108	-0.421	-0.363	-0.478	-0.363	-0.532
NBO	-0.174	-0.172	-0.156	-0.175	-0.172	-0.170	-0.158	-0.17	-0.156
CM5	0.023	0.023	0.024	0.026	0.026	0.027	0.026	0.027	0.027

Πίνακας 36: Αποτελέσματα υπολογισμού φορτίου για την ένωση KKI15

KKI15	H(27)								
	b3lyp/6-311G(d,p)	b3lyp/6-311+G(d,p)	b3lyp/6-311++G(d,p)	M062X/6-311G(d,p)	M062X/6-311+G(d,p)	wB97xd/6-311G(d,p)	M062X/6-311++G(d,p)	wB97xd/6-311+G(d,p)	wB97xd/6-311++G(d,p)
Mull	0.122	0.146	0.255	0.165	0.180	0.173	0.273	0.173	0.289
NBO	0.203	0.207	0.205	0.209	0.213	0.211	0.211	0.211	0.208
CM5	0.105	0.105	0.105	0.107	0.107	0.108	0.107	0.108	0.108
KKI15	H(26)								
	b3lyp/6-311G(d,p)	b3lyp/6-311+G(d,p)	b3lyp/6-311++G(d,p)						
Mull	0.129	0.147	0.187	0.171	0.174	0.171	0.201	0.171	0.216
NBO	0.209	0.214	0.212	0.216	0.221	0.219	0.218	0.219	0.216
CM5	0.103	0.103	0.103	0.105	0.105	0.106	0.105	0.106	0.106
KKI15	C(8)								
	b3lyp/6-	b3lyp/6-	b3lyp/6-						

	311G(d,p)	311+G(d,p)	311++G(d,p)						
Mull	-0.198	0.097	0.111	-0.241	0.187	0.088	0.167	0.088	0.079
NBO	-0.249	-0.243	-0.249	-0.258	-0.252	-0.252	-0.258	-0.252	-0.256
CM5	0.013	0.013	0.013	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014
KKI15	C(9)								
	b3lyp/6- 311G(d,p)	b3lyp/6- 311+G(d,p)	b3lyp/6- 311++G(d,p)						
Mull	-0.077	-0.317	-0.462	-0.109	-0.401	-0.351	-0.449	-0.351	-0.507
NBO	-0.175	-0.171	-0.156	-0.175	-0.172	-0.171	-0.158	-0.171	-0.136
CM5	0.025	0.025	0.025	0.026	0.027	0.028	0.027	0.028	0.028

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- (1) Ruwizhi, N.; Aderibigbe, B. A. Cinnamic Acid Derivatives and Their Biological Efficacy. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21* (16), 5712. <https://doi.org/10.3390/ijms21165712>.
- (2) Guzman, J. Natural Cinnamic Acids, Synthetic Derivatives and Hybrids with Antimicrobial Activity. *Molecules* **2014**, *19* (12), 19292–19349. <https://doi.org/10.3390/molecules191219292>.
- (3) Zhang, J.; Yang, J.; Chang, X.; Zhang, C.; Zhou, H.; Liu, M. Ozagrel for Acute Ischemic Stroke: A Meta-Analysis of Data from Randomized Controlled Trials. *Neurol. Res.* **2012**, *34* (4), 346–353. <https://doi.org/10.1179/1743132812Y.0000000022>.
- (4) Soroko, F. E.; Grivsky, E.; Maxwell, R. A. Cinromide (3-Bromo- N -Ethylcinnamide), a Novel Anticonvulsant Agent. *J. Pharm. Pharmacol.* **2011**, *33* (1), 741–743. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1981.tb13921.x>.
- (5) Henrique, T.; Zanon, C. de F.; Girol, A. P.; Stefanini, A. C. B.; Contessoto, N. S. de A.; da Silveira, N. J. F.; Bezerra, D. P.; Silveira, E. R.; Barbosa-Filho, J. M.; Cornélio, M. L.; Oliani, S. M.; Tajara, E. H. Biological and Physical Approaches on the Role of Piplartine (Piperlongumine) in Cancer. *Sci. Rep.* **2020**, *10* (1), 22283. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78220-6>.
- (6) Prithwiraj De; Florence Bedos-Belval; Corinne Vanucci-Bacque; Michel Baltas. Cinnamic Acid Derivatives in Tuberculosis, Malaria and Cardiovascular Diseases - A Review. *Curr. Org. Chem.* **2012**, *16* (6), 747–768. <https://doi.org/10.2174/138527212799958020>.
- (7) Panche, A. N.; Diwan, A. D.; Chandra, S. R. Flavonoids: An Overview. *J. Nutr. Sci.* **2016**, *5*, e47. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>.
- (8) Kozlowski, D.; Trouillas, P.; Calliste, C.; Marsal, P.; Lazzaroni, R.; Duroux, J. L. Density Functional Theory Study of the Conformational,

- Electronic, and Antioxidant Properties of Natural Chalcones. *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111* (6), 1138–1145. <https://doi.org/10.1021/jp066496+>.
- (9) Ιγνατιάδου-Ραγκούση, Β. *Χημεία Φυσικών Προϊόντων*; 1998.
- (10) Zhang, H.-J.; Qian, Y.; Zhu, D.-D.; Yang, X.-G.; Zhu, H.-L. Synthesis, Molecular Modeling and Biological Evaluation of Chalcone Thiosemicarbazide Derivatives as Novel Anticancer Agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46* (9), 4702–4708. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.07.016>.
- (11) Mellado, M.; Madrid, A.; Martínez, Ú.; Mella, J.; Salas, C. O.; Cuellar, M. Hansch's Analysis Application to Chalcone Synthesis by Claisen–Schmidt Reaction Based in DFT Methodology. *Chem. Pap.* **2018**, *72* (3), 703–709. <https://doi.org/10.1007/s11696-017-0316-3>.
- (12) Zhuang, C.; Zhang, W.; Sheng, C.; Zhang, W.; Xing, C.; Miao, Z. Chalcone: A Privileged Structure in Medicinal Chemistry. *Chem. Rev.* **2017**, *117* (12), 7762–7810. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00020>.
- (13) Fabra, D.; Matesanz, A. I.; Herrero, J. M.; Alvarez, C.; Balsa, L. M.; Leon, I. E.; Quiroga, A. G. Two Different Thiosemicarbazone Tauto-Conformers Coordinate to Palladium (II). Stability and Biological Studies of the Final Complexes. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2021**, *2021* (11), 1041–1049. <https://doi.org/10.1002/ejic.202001066>.
- (14) Oliveira, C. G.; Romero-Canelón, I.; Silva, M. M.; Coverdale, J. P. C.; Maia, P. I. S.; Batista, A. A.; Castelli, S.; Desideri, A.; Sadler, P. J.; Deflon, V. M. Palladium(II) Complexes with Thiosemicarbazones Derived from Pyrene as Topoisomerase IB Inhibitors. *Dalt. Trans.* **2019**, *48* (44), 16509–16517. <https://doi.org/10.1039/C9DT02570G>.
- (15) Gomha, S. M.; Abdelhady, H. A.; Hassain, D. Z. H.; Abdelmonsef, A. H.; El-Naggar, M.; Elaasser, M. M.; Mahmoud, H. K. Thiazole-Based Thiosemicarbazones: Synthesis, Cytotoxicity Evaluation and Molecular Docking Study. *Drug Des. Devel. Ther.* **2021**, *Volume 15*, 659–677. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S291579>.

- (16) Oza, C. K.; Jain, M.; Jain, N.; Verma, D. Synthesis, Characterization, Antimicrobial Activities, and Structural Studies of Lanthanide (III) Complexes with 1-(4-Chlorophenyl)-3-(4-Fluoro/Hydroxyphenyl)Prop-2-En-1-Thiosemicarbazone. *Phosphorus. Sulfur. Silicon Relat. Elem.* **2010**, *185* (2), 377–386. <https://doi.org/10.1080/10426500902797483>.
- (17) Venkatachalam, T. K.; Pierens, G. K.; Reutens, D. C. Synthesis, NMR Structural Characterization and Molecular Modeling of Substituted Thiosemicarbazones and Semicarbazones Using DFT Calculations to Prove the Syn/Anti Isomer Formation. *Magn. Reson. Chem.* **2014**, *52* (3), 98–105. <https://doi.org/10.1002/mrc.4041>.
- (18) da Silva, A. A.; Maia, P. I. da S.; Lopes, C. D.; de Albuquerque, S.; Valle, M. S. Synthesis, Characterization and Antichagasic Evaluation of Thiosemicarbazones Prepared from Chalcones and Dibenzalacetones. *J. Mol. Struct.* **2021**, *1232*, 130014. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130014>.
- (19) Braibanti, A.; Tiripicchio, A.; Camellini, M. T. Crystal and Molecular Structure of Thiocarbohydrazide. *Acta Crystallogr. Sect. B Struct. Crystallogr. Cryst. Chem.* **1969**, *25* (11), 2286–2290. <https://doi.org/10.1107/S0567740869005589>.
- (20) Bonaccorso, C.; Marzo, T.; La Mendola, D. Biological Applications of Thiocarbohydrazones and Their Metal Complexes: A Perspective Review. *Pharmaceuticals* **2019**, *13* (1), 4. <https://doi.org/10.3390/ph13010004>.
- (21) Brogi, S.; Ramalho, T. C.; Kuca, K.; Medina-Franco, J. L.; Valko, M. Editorial: In Silico Methods for Drug Design and Discovery. *Front. Chem.* **2020**, *8* (August), 1–5. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00612>.
- (22) Meng, X. Y., Zhang, H. X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *Current Computer-Aided Drug Design. Curr. Comput. Aided Drug Des.* **2011**, *7* (2), 146–157.
- (23) Lin, X.; Li, X.; Lin, X. A Review on Applications of Computational

- Methods in Drug Screening and Design. *Molecules* **2020**, *25* (6), 1375. <https://doi.org/10.3390/molecules25061375>.
- (24) Ekins, S.; Mestres, J.; Testa, B. In Silico Pharmacology for Drug Discovery: Methods for Virtual Ligand Screening and Profiling. *Br. J. Pharmacol.* **2007**, *152* (1), 9–20. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707305>.
- (25) Terstappen, G. C.; Reggiani, A. In Silico Research in Drug Discovery. *Trends Pharmacol. Sci.* **2001**, *22* (1), 23–26. [https://doi.org/10.1016/S0165-6147\(00\)01584-4](https://doi.org/10.1016/S0165-6147(00)01584-4).
- (26) Pollard, T. D. A Guide to Simple and Informative Binding Assays. *Mol. Biol. Cell* **2010**, *21* (23), 4061–4067. <https://doi.org/10.1091/mbc.e10-08-0683>.
- (27) Schleinkofer, K.; Wang, T.; Wade, R. C. Molecular Docking. In *Encyclopedic Reference of Genomics and Proteomics in Molecular Medicine*; Springer Berlin Heidelberg, 2006; Vol. 443, pp 1149–1153. https://doi.org/10.1007/3-540-29623-9_3820.
- (28) Morris, G. M.; Huey, R.; Olson, A. J. Using AutoDock for Ligand-Receptor Docking. *Curr. Protoc. Bioinforma.* **2008**, *24* (1), 1–40. <https://doi.org/10.1002/0471250953.bi0814s24>.
- (29) Rizvi, S. M. D.; Shakil, S.; Haneef, M. A Simple Click by Click Protocol to Perform Docking: Autodock 4.2 Made Easy for Non-Bioinformaticians. *EXCLI J.* **2013**, *12*, 830–857. <https://doi.org/10.17877/DE290R-11534>.
- (30) Goodsell, D. S. Computational Docking of Biomolecular Complexes with AutoDock. *Cold Spring Harb. Protoc.* **2009**, *2009* (5), pdb.prot5200-pdb.prot5200. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot5200>.
- (31) GARRETT M. MORRIS, 1 DAVID S. GOODSSELL, 1; ROBERT S. HALLIDAY, 2 RUTH HUEY, 1 WILLIAM E. HART, 3; RICHARD K. BELEW, 4 ARTHUR J. OLSON¹. Automated Docking Using a Lamarckian Genetic Algorithm and an Empirical Binding Free Energy Function. *J. Comput. Chem.* **2009**, *19* (14), 1639–1662. <https://doi.org/10.1002/jcc>.

- (32) van Mourik, T.; Bühl, M.; Gaigeot, M.-P. Density Functional Theory across Chemistry, Physics and Biology. *Philos. Trans. R. Soc. A Math. Phys. Eng. Sci.* **2014**, *372* (2011), 20120488. <https://doi.org/10.1098/rsta.2012.0488>.
- (33) Baseden, K. A.; Tye, J. W. Introduction to Density Functional Theory: Calculations by Hand on the Helium Atom. *J. Chem. Educ.* **2014**, *91* (12), 2116–2123. <https://doi.org/10.1021/ed5004788>.
- (34) Pires, D. E. V.; Blundell, T. L.; Ascher, D. B. PkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. *J. Med. Chem.* **2015**, *58* (9), 4066–4072. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00104>.
- (35) Daina, A.; Michielin, O.; Zoete, V. SwissADME: A Free Web Tool to Evaluate Pharmacokinetics, Drug-Likeness and Medicinal Chemistry Friendliness of Small Molecules. *Sci. Rep.* **2017**, *7* (1), 42717. <https://doi.org/10.1038/srep42717>.
- (36) Daina, A.; Zoete, V. A BOILED-Egg To Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules. *ChemMedChem* **2016**, *11* (11), 1117–1121. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201600182>.
- (37) Daina, A.; Michielin, O.; Zoete, V. ILOGP: A Simple, Robust, and Efficient Description of n -Octanol/Water Partition Coefficient for Drug Design Using the GB/SA Approach. *J. Chem. Inf. Model.* **2014**, *54* (12), 3284–3301. <https://doi.org/10.1021/ci500467k>.
- (38) Pires, D. E. V.; de Melo-Minardi, R. C.; dos Santos, M. A.; da Silveira, C. H.; Santoro, M. M.; Meira, W. Cutoff Scanning Matrix (CSM): Structural Classification and Function Prediction by Protein Inter-Residue Distance Patterns. *BMC Genomics* **2011**, *12* (SUPPL. 4), S12. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-S4-S12>.
- (39) Banerjee, P.; Eckert, A. O.; Schrey, A. K.; Preissner, R. ProTox-II: A Webserver for the Prediction of Toxicity of Chemicals. *Nucleic Acids Res.* **2018**, *46* (W1), W257–W263. <https://doi.org/10.1093/nar/gky318>.
- (40) Willcott, M. R. MestRe Nova. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (36),

- 13180–13180. <https://doi.org/10.1021/ja906709t>.
- (41) Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G. Development of the Colle-Salvetti Correlation-Energy Formula into a Functional of the Electron Density. *Phys. Rev. B* **1988**, *37* (2), 785–789. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.37.785>.
- (42) Becke, A. D. A New Mixing of Hartree–Fock and Local Density-functional Theories. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98* (2), 1372–1377. <https://doi.org/10.1063/1.464304>.
- (43) Curtiss, L. A.; McGrath, M. P.; Blaudeau, J.; Davis, N. E.; Binning, R. C.; Radom, L. Extension of Gaussian-2 Theory to Molecules Containing Third-row Atoms Ga–Kr. *J. Chem. Phys.* **1995**, *103* (14), 6104–6113. <https://doi.org/10.1063/1.470438>.
- (44) Cousins, K. R. ChemDraw Ultra 9.0. CambridgeSoft, 100 CambridgePark Drive, Cambridge, MA 02140. [Www. Cambridgesoft.Com](http://www.cambridgesoft.com). See Web Site for Pricing Options. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (11), 4115–4116. <https://doi.org/10.1021/ja0410237>.
- (45) Ando, S. Efficient Hybrid Functional and Basis Set Functions for DFT Calculation of Refractive Indices and Abbe Numbers of Organic Compounds. *Chem. Lett.* **2018**, *47* (12), 1494–1497. <https://doi.org/10.1246/cl.180732>.
- (46) Tirado-Rives, J.; Jorgensen, W. L. Performance of B3LYP Density Functional Methods for a Large Set of Organic Molecules. *J. Chem. Theory Comput.* **2008**, *4* (2), 297–306. <https://doi.org/10.1021/ct700248k>.
- (47) Košak, U.; Brus, B.; Knez, D.; Šink, R.; Žakelj, S.; Trontelj, J.; Pišlar, A.; Šlenc, J.; Gobec, M.; Živin, M.; Tratnjek, L.; Perše, M.; Sałat, K.; Podkova, A.; Filipek, B.; Nachon, F.; Brazzolotto, X.; Więckowska, A.; Malawska, B.; Stojan, J.; Raščan, I. M.; Kos, J.; Coquelle, N.; Colletier, J.-P.; Gobec, S. Development of an In-Vivo Active Reversible Butyrylcholinesterase Inhibitor. *Sci. Rep.* **2016**, *6* (1), 39495. <https://doi.org/10.1038/srep39495>.

- (48) Cheung, J.; Rudolph, M. J.; Burshteyn, F.; Cassidy, M. S.; Gary, E. N.; Love, J.; Franklin, M. C.; Height, J. J. Structures of Human Acetylcholinesterase in Complex with Pharmacologically Important Ligands. *J. Med. Chem.* **2012**, *55* (22), 10282–10286. <https://doi.org/10.1021/jm300871x>.
- (49) Glukhova, A.; Thal, D. M.; Nguyen, A. T.; Vecchio, E. A.; Jörg, M.; Scammells, P. J.; May, L. T.; Sexton, P. M.; Christopoulos, A. Structure of the Adenosine A1 Receptor Reveals the Basis for Subtype Selectivity. *Cell* **2017**, *168* (5), 867-877.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.01.042>.
- (50) Barrett, D. G.; Deaton, D. N.; Hassell, A. M.; McFadyen, R. B.; Miller, A. B.; Miller, L. R.; Payne, J. A.; Shewchuk, L. M.; Willard, D. H.; Wright, L. L. Acyclic Cyanamide-Based Inhibitors of Cathepsin K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15* (12), 3039–3043. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2005.04.032>.