

ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

Τομέας (I) Χημικών Επιστημών



**«Σύνθεση νέων βιοδραστικών κουμαρινικών παραγώγων και
εγκλεισμός επιλεγμένων κουμαρινών σε β-κυκλοδεξτρίνη»**

Διπλωματική εργασία

Αννίτα Κατωπόδη

Επιβλέπουσα

Αναστασία Δέτση

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ε.Μ.Π.

Εργαστήριο Οργανικής Χημείας

Αθήνα 2017

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας της σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου κατά το ακαδημαϊκό έτος 2016-2017, υπό την επίβλεψη της Δρ. Αναστασίας Δέτση, Αναπληρώτριας Καθηγήτριας Ε.Μ.Π.

Πρωτίστως, οφείλω να ευχαριστήσω βαθύτατα την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ε.Μ.Π. κα. Αναστασία Δέτση, για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με ένα τόσο ενδιαφέρον θέμα, αλλά κυρίως για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγησή της καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας. Οι συμβουλές της και η παροιμιώδης εμπιστοσύνη που επέδειξε προς το πρόσωπο μου αποτέλεσαν καταλυτικό παράγοντα για την ολοκλήρωση της διπλωματικής μου εργασίας επιτυχώς, αλλά κυρίως συντέλεσαν στο να αγαπήσω το αντικείμενο της οργανικής σύνθεσης με το οποίο ασχολήθηκα.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να αποδώσω στον Δρ. Ευάγγελο Τόπακα, Επίκουρο Καθηγητή Ε.Μ.Π. και στον Δρ. Κωνσταντίνο Μαγουλά, Καθηγητή Ε.Μ.Π. για τη συμμετοχή τους στην τριμελή εξεταστική επιτροπή και τον χρόνο που διέθεσαν για την κριτική ανάγνωση της εργασίας μου.

Δε θα μπορούσα να παραλείψω τις ευχαριστίες στην Ελένη Καβέτσου, υποψήφια διδάκτορα του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας Ε.Μ.Π. για την αέναη στήριξή της, τη βοήθειά της στην επίλυση οποιουδήποτε προβλήματος κι αν αντιμετώπισα κατά την εκπόνηση της εργασίας μου με τις γνώσεις και την επιστημονική της εμπειρία και κυρίως για την άψογη συνεργασία που είχαμε.

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

Ευχαριστώ επίσης την Καθηγήτρια Δήμητρα Χατζηπαύλου-Λίτινα, στον Τομέα Φαρμακευτικής Χημείας του Τμήματος Φαρμακευτικής του Αριστοτέλειου Πανεπιστήμιου Θεσσαλονίκης, για την διεξαγωγή των *in vitro* βιοδοκιμασιών για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής και αντιφλεγμονώδους δράσης των νέων κουμαρινικών παραγώγων.

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

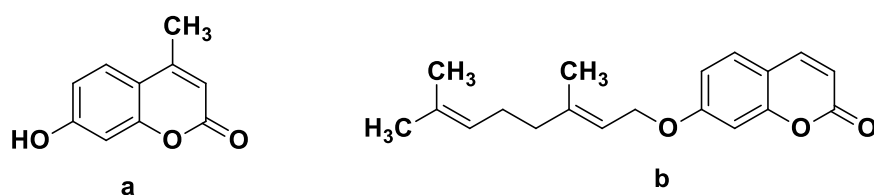
ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι κουμαρίνες ανήκουν στην οικογένεια των βενζοπυρονών και έχουν βρεθεί σε πολλά είδη φυτών είτε σε ελεύθερη μορφή είτε υπό μορφή γλυκοζιτών. Παρουσιάζουν ένα ευρύ φάσμα βιολογικών δράσεων, όπως είναι η αντιοξειδωτική, η αντιφλεγμονώδης, η αντιμικροβιακή κι η αντικαρκινική δράση.

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η σύνθεση κι ο χαρακτηρισμός νέων κουμαρινικών αναλόγων καθώς κι η μελέτη εγκλεισμού επιλεγμένων κουμαρινικών παραγώγων στο φυσικό ολιγοσακχαρίτη β-κυκλοδεξτρίνη.

Για το σκοπό αυτό συντέθηκαν σε ικανοποιητικές αποδόσεις, έξι νέα ακετυλοξυ-κουμαρινικά παράγωγα, πέντε νέα υδροξυ-παράγωγα τα οποία στη συνέχεια μέσω αντίδρασης αλκυλίωσης οδήγησαν στα αντίστοιχα γερανυλοξυ-παράγωγα. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε η σύνθεση δύο νέων υβριδικών μορίων κουμαρινών-χαλκονών τόσο συμβατικά όσο και με χρήση μικροκυματικής ακτινοβολίας με την οποία επιτεύχθηκε μείωση του χρόνου της αντίδρασης από 48 ώρες σε 90 λεπτά. Η δομή των ενώσεων ταυτοποιήθηκε μέσω φασματοσκοπίας Μαγνητικού Πυρηνικού Συντονισμού ^1H και ^{13}C NMR.

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε εγκλεισμός σε β-κυκλοδεξτρίνη της 4-μεθυλο-ουμπελιφερόνης, καθώς και της ωραπτένης, φυσικών προϊόντων που έχουν συντεθεί στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας Ε.Μ.Π. κι έχουν εμφανίσει αξιόλογη αντιοξειδωτική και κυτταροτοξική δράση καθώς και ικανότητα αναστολής του ενζύμου της λιποξυγονάσης από σόγια.

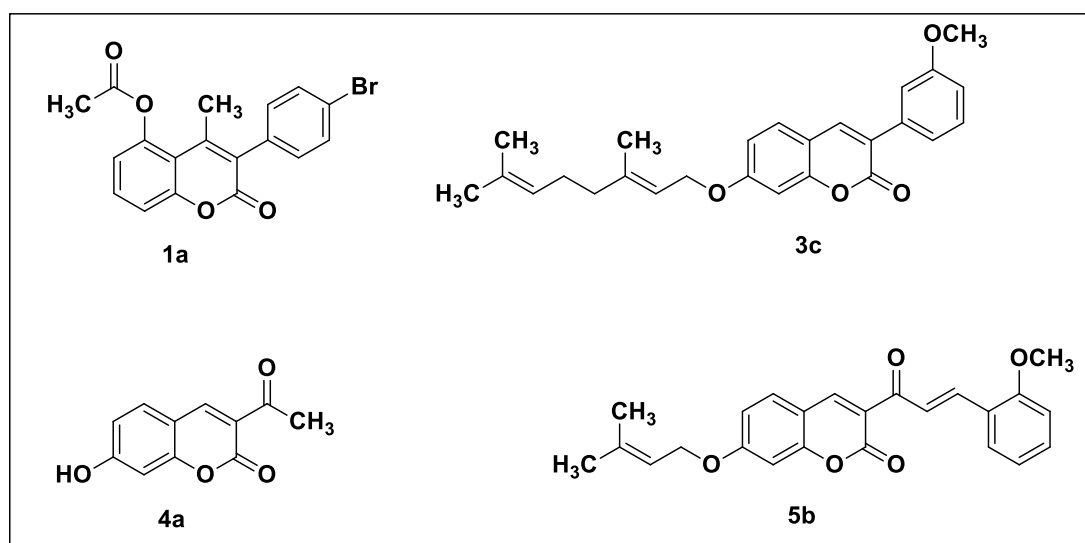


Εικόνα 1. Χημική δομή της **a**: 4-μεθυλο-ουμπελιφερόνης και **b**: της ωραπτένης.

Ακολούθησε χαρακτηρισμός των νανοσωματιδίων ως προς το μέγεθος, το δείκτη πολυδιασποράς και το ζ-δυναμικό τους μέσω της μεθόδου Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (DLS) και βρέθηκε ότι το σύμπλοκο της 4-μεθυλο-ουμπελιφερόνης με τη β-κυκλοδεξτρίνη σχηματίζει νανοσωματίδια μεγέθους 450 nm και εξαιρετικά σταθερή, αλλά μέτριας ομοιομορφίας διασπορά. Το σύμπλοκο της ωραπτένης με τη β-κυκλοδεξτρίνη σχηματίζει νανοσωματίδια μεγαλύτερης διαμέτρου κατά περίπου 100nm, γεγονός που πιθανώς οφείλεται στο μέγεθος της γερανυλο-αλυσίδας της θέσης 7- του κουμαρινικού δακτυλίου της ωραπτένης. Το σύμπλοκο αυτό επίσης υπέδειξε εξαιρετικά σταθερή, αλλά μέτριας ομοιομορφίας διασπορά.

Ακόμη, πραγματοποιήθηκε μελέτη της δομής των συμπλόκων μέσω φασματοσκοπίας ^1H και ^{13}C NMR και FT-IR, όπου και διαπιστώθηκε η επιτυχής δημιουργία συμπλόκων μεταξύ της β -κυκλοδεξτρίνης και των ενώσεων.

Τέλος, τα νέα παράγωγα αξιολογήθηκαν *in vitro* για την αντιοξειδωτική τους δράση, καθώς και για την ικανότητά τους να αναστέλλουν το ένζυμο λιποξυγονάση από σόγια, ως ένδειξη της αντιφλεγμονώδους δράσης τους. Από τα αποτελέσματα προέκυψε ότι τα παράγωγα **1b**, **3c**, **4a** και **5b**, καθώς και το σύμπλοκο β -κυκλοδεξτρίνης-4-μεθυλο-ουμπελιφερόνης διαθέτουν συνδυασμένη βιολογική δράση.



Εικόνα 2. Χημική δομή παραγώγων με συνδυασμένη βιολογική δράση.

Επιστημονική περιοχή: Σύνθεση νέων βιοδραστικών αναλόγων και νανοεγκλεισμός.

Λέξεις κλειδιά: κουμαρίνες, πρενυλοξυ-παράγωγα, χαλκόνες, β -κυκλοδεξτρίνη (β -CD), σύμπλοκα.

ABSTRACT

Coumarins belong to the family of benzopyrones and they have been found in many varieties of plants either in free state or as glucosides. Coumarins possess an extraordinary range of biological activities, such as antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial and anticancer activity.

The aim of the present diploma thesis is the synthesis and structure identification of new coumarin analogues, as well as the encapsulation of selected coumarin derivatives in the matrix of the natural oligosaccharide β -cyclodextrin.

For this purpose, six new acetoxy-derivatives, five new hydroxy-derivatives and the corresponding geranyloxy-derivatives were synthesized in satisfactory yields. In addition, two new coumarin-chalcones hybrids were synthesized both conventionally and by microwave irradiation. A significant reaction time reduction was observed using microwave irradiation (from 48 hours to 90 minutes). The structure of all the compounds was identified by ^1H and ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy (NMR).

Furthermore, the encapsulation of 4-methyl-umbelliferone and auraptene, two natural occurring coumarins previously synthesized in the Laboratory of Organic Chemistry of N.T.U.A., in β -cyclodextrin was accomplished.

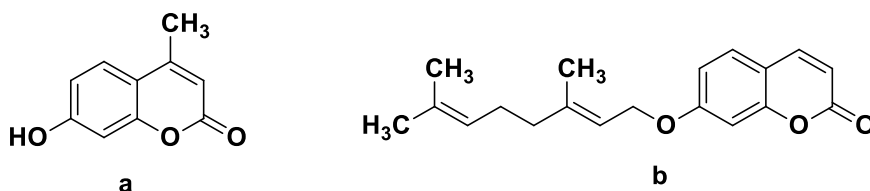


Image 1. Chemical structure of **a**: 4-methyl-umbelliferone and **b**: auraptene.

The nanoparticles were evaluated for their size, polydispersity index and ζ -potential by using the Dynamic Light Scattering method (DLS). The complex of β -CD and 4-methyl-umbelliferone formed nanoparticles of 450 nm with moderate size distribution, but the value of particle stability in the dispersion system is high. The complex of β -CD and auraptene formed particles which possess larger diameter by 100 nm and they also exhibit moderate size distribution, but high stability in the dispersion system. The ^1H and ^{13}C NMR and the FT-IR spectroscopy indicated a successful synthesis of a complex between β -CD and the compounds.

Finally, the compounds were evaluated *in vitro* for their antioxidant activity as well as for their ability to inhibit soybean lipoxygenase, as an indication of their potential anti-inflammatory activity. As a result, the compounds **1b**, **3c**, **4a** and **5b**, as well as the complex β -CD-4-methyl-

umbelliferone combine a satisfactory lipoxygenase inhibitory activity with potent antioxidant activity.

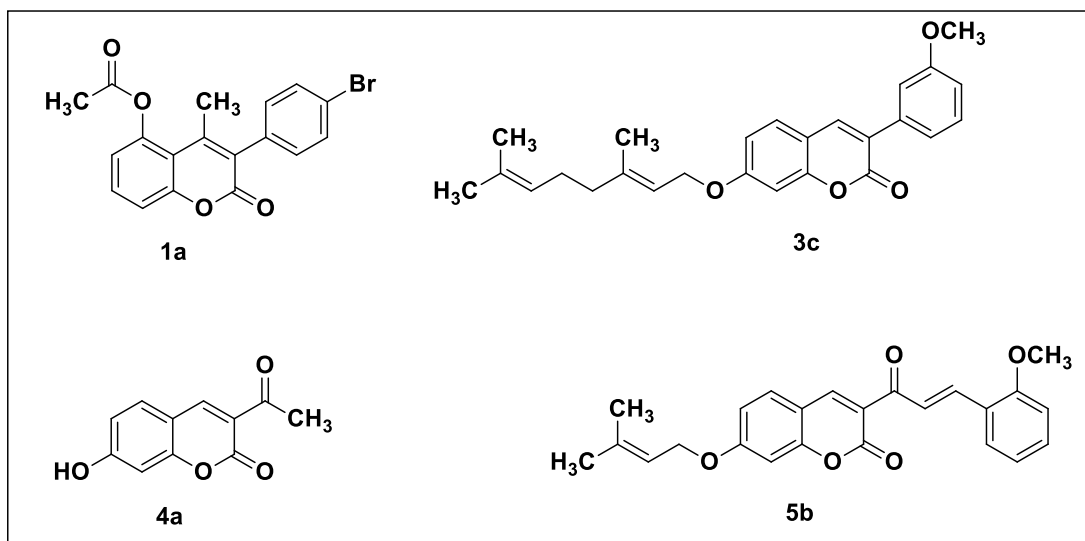


Image 2. Chemical structure of the compounds which possess a satisfactory lipoxygenase inhibitory activity and potent antioxidant activity.

Scientific area: Synthesis of novel bioactive analogues and nanoencapsulation.

Keywords: coumarins, prenyloxy-derivatives, chalcones, β -cyclodextrin (β -CD), complexes.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	1
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	2
ABSTRACT	4
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	8
1. Κουμαρίνες.....	8
1.1. Προέλευση κουμαρινών.....	8
1.2. Χημική δομή και ταξινόμηση κουμαρινών.....	9
1.3. Φαρμακευτικές δράσεις των κουμαρινών.....	10
1.4. Φαρμακευτικό προφίλ πρενυλοξυ-κουμαρινών	15
2. Χαλκόνες.....	18
3. Σύνθεση μέσω μικροκυμάτων	20
4. Κυκλοδεξτρίνες.....	21
4.1. Προέλευση, δομή και χαρακτηριστικά	21
4.2. Σχηματισμός συμπλόκων εγκλεισμού	23
4.3. Πλεονεκτήματα χρήσης των κυκλοδεξτρινών ως φορείς εγκλεισμού.....	25
4.4. Χαρακτηρισμός συμπλόκων	26
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	29
ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ, ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ	31
1. Σχεδιασμός νέων παραγώγων.....	31
1.1. Σύνθεση των 5- ή 7- ακετυλοξυ-3-αρυλο-κουμαρινών (1a-1f).....	31
1.2. Σύνθεση των 3-αρυλο-5- ή 7-υδροξυ-κουμαρινών (2a-2e).....	31
1.3. Σύνθεση των 3-αρυλο-5- ή 7- γερανυλοξυ-κουμαρινών (3a-3e)	32
1.4. Σύνθεση της 3-ακετυλο-7-υδροξυ-κουμαρίνης (4a)	32
1.5. Σύνθεση της 3-ακετυλο-7-πρενυλοξυ-κουμαρίνης (4b).....	32
1.6. Σύνθεση κουμαρινών-χαλκονών (5a-5b).....	33
2. Μηχανισμοί αντιδράσεων	34
2.1. Μηχανισμός σύνθεσης ακετυλοξυ-κουμαρινών.....	34
2.2. Μηχανισμός σύνθεσης πρενυλοξυ-κουμαρινών.....	34
2.3. Μηχανισμός σύνθεσης κουμαρινών-χαλκονών.....	35
3. Ταυτοποίηση ενώσεων.....	36
3.1. Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού.....	36
3.2. Χαρακτηριστικά φασμάτων NMR.....	37
3.3. Εφαρμογές φασματοσκοπίας NMR.....	39
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	40

1. Σύνθεση κουμαρινικών αναλόγων	40
1.1. Όργανα και συσκευές	40
1.2. Συνθετική πορεία ακετυλοξυ-, υδροξυ- και πρενυλοξυ- κουμαρινικών αναλόγων	41
1.3. Συνθετική πορεία κουμαρινών-χαλκονών.....	50
2. Σχηματισμός συμπλόκων επιλεγμένων κουμαρινών με β-κυκλοδεξτρίνη	54
2.1. Υλικά.....	54
2.2. Όργανα & Συσκευές.....	54
2.3. Μέθοδος σχηματισμού συμπλόκων.....	54
2.4. Χαρακτηρισμός συμπλόκων	55
2.5. Μελέτη δομής συμπλόκων μέσω φασματομετρίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR).....	57
2.6. Μελέτη δομής συμπλόκων μέσω Υπέρυθρης φασματομετρίας (FT-IR).....	59
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	60
1. Αποτελέσματα σύνθεσης και φασματοσκοπική μελέτη των νέων κουμαρινικών αναλόγων	60
2. Χαρακτηρισμός των συμπλόκων.....	73
2.1. Υπολογισμός απόδοσης εγκλεισμού και διεργασίας.....	73
2.2. Μέγεθος, κατανομή μεγέθους και ζ-δυναμικό των συμπλόκων.....	76
2.3. Μελέτη δομής συμπλόκων μέσω φασματομετρίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR).....	77
2.4. Μελέτη δομής συμπλόκων μέσω Υπέρυθρης φασματομετρίας (FT-IR).....	87
3. Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής κι αντιφλεγμονώδους δράσης.....	91
3.1. Αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης – Μέθοδος APPH	91
3.2. Προσδιορισμός της αναγωγής της σταθερής ρίζας DPPH	91
3.3. Αναστολή του ενζύμου λιποξυγονάση από σόγια	92
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	97
ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ.....	99
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	100
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΑΣΜΑΤΩΝ	104
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΠΙΝΑΚΩΝ	113
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	114
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΣΧΗΜΑΤΩΝ.....	118
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ	119
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ.....	120

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Κουμαρίνες

1.1. Προέλευση κουμαρινών

Οι κουμαρίνες αρχικά ανακαλύφθηκαν σε φυτά και η ονομασία τους προέρχεται από το φυτικό είδος *Coumarouna odorata*. Παρόλο που η πρώτη ένωση κουμαρίνης απομονώθηκε το 1820 από τους καρπούς (tonka beans) του φυτού αυτού (*Dipteryx odorata* Willd) από τον Vogel, ενδιαφέρον σχετικά με τις κουμαρίνες αλλά και τις παράγωγες ενώσεις τους αναπτύχθηκε σχεδόν έναν αιώνα μετά όταν ανακαλύφθηκαν κάποιες από τις ευεργετικές τους ιδιότητες.



Εικόνα 3. *Dipteryx odorata* (tonka beans).

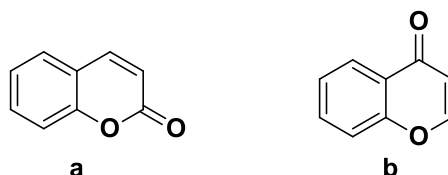
Μέχρι στιγμής, πάνω από χίλιες παράγωγες ενώσεις κουμαρινών έχουν ανακαλυφθεί, οι οποίες ποικίλουν από απλές κουμαρίνες με αλκυλο- ή υδροξυ-πλευρικές αλυσίδες μέχρι και πιο σύνθετες με βενζολικούς, φουρανολικούς, πυρανολικούς ή ακόμη αλκυλοφωσφορικούς υποκαταστάτες.

Οι κουμαρίνες έχουν βρεθεί σε πολλά είδη φυτών, στις ρίζες, στα φύλλα, στα κλαδιά, αλλά και στα έλαιά τους όπως στο λάδι από φλοιό κανέλας καθώς και στο λάδι λεβάντας. Επιπλέον, βρίσκονται σε φρούτα όπως το μύρτιλλο, αλλά και στο πράσινο τσάι και στα ραδίκια. ^[1] Έχουν επίσης απομονωθεί από μικροοργανισμούς και ζώα. Χάρη στο ευχάριστο άρωμά τους, χρησιμοποιούνταν συχνά σαν πρόσθετες αρωματικές ενώσεις τόσο σε τρόφιμα όσο και σε καλλυντικά έως ότου ανακαλύφθηκε η ηπατοτοξική τους δράση. Παρά το γεγονός ότι αυτό οδήγησε στην απαγόρευση της χρήσης των κουμαρινών σαν πρόσθετο τροφίμων στις περισσότερες χώρες, οδήγησε στη σύνθεση κουμαρινικών παραγώγων για πιθανούς μικροβιακούς ελέγχους.

Απλές παράγωγες ενώσεις των κουμαρινών έχουν βρεθεί σε φυτά είτε σε ελεύθερη κατάσταση είτε ως γλυκοζίτες. Συχνά, βρίσκονται 5-10 διαφορετικές κουμαρίνες σ' ένα φυτό, όμως συνήθως μόνο ένα είδος παράγωγης ένωσης βρίσκεται σ' ένα είδος φυτού. Επιπλέον, η περιεχόμενη ποσότητα εξαρτάται και από το στάδιο ανάπτυξης του φυτού. Σε ορισμένα φυτά βρίσκονται σε μεγάλες ποσότητες κατά τη βλάστησή τους, ενώ συνήθως περιέχονται σε μεγαλύτερη ποσότητα σε νεότερα φύλλα φυτών απ' ότι σε παλαιότερα. Ο ρόλος τους δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως· πιθανώς εμποδίζουν τη βλάστηση και την ανάπτυξη ή διευκολύνουν την ωρίμανση των σπόρων. Ίσως ακόμη να είναι αναγκαίες για την προστασία των φυτών ενάντια σε ορισμένες ασθένειες. [2]

1.2. Χημική δομή και ταξινόμηση κουμαρινών

Οι κουμαρίνες ανήκουν στην οικογένεια των βενζοπυρονών, οι οποίες αποτελούνται από ένα βενζολικό δακτύλιο συνδεδεμένο με μία ομάδα πυρόνης (pyrone). Οι βενζοπυρόνες διακρίνονται στις βενζο-α-πυρόνες, στις οποίες ανήκουν κι οι κουμαρίνες και στις βενζο-γ-πυρόνες, στις οποίες ανήκουν άλλες ομάδες όπως τα φλαβονοειδή. [3]

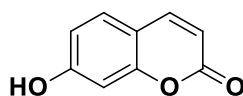


Εικόνα 4. Χημική δομή **a**: βενζο-α-πυρονών και **b**: βενζο-γ-πυρονών.

Οι κουμαρίνες ονομάζονται και 2*H*-Chromen-2-one ή 1,2-benzopyrone, κατά IUPAC και η τυπική δομή μίας κουμαρίνης είναι αυτή μίας βενζο-α-πυρόνης, όπως φαίνεται στην εικόνα 4.

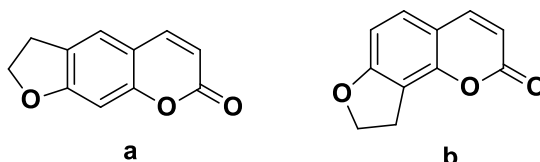
Οι κουμαρίνες διακρίνονται σε 4 υποκατηγορίες:

- i. Απλές κουμαρίνες: Η κατηγορία αυτή αποτελείται από τα υδροξυ-, αλκοξυ- και αλκυλο- υποκατεστημένα στον αρωματικό δακτύλιο παράγωγα της κουμαρίνης, καθώς και τους αντίστοιχους γλυκοζίτες. Χαρακτηριστική κουμαρίνη της κατηγορίας αυτή αποτελεί η 7-υδρόξυ κουμαρίνη ή αλλιώς ουμπελιφερόνη (umbelliferone).



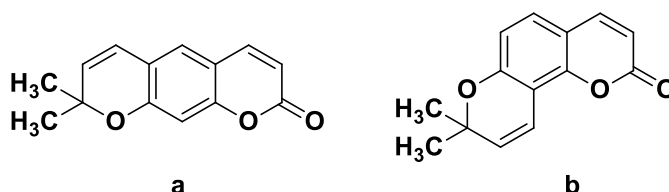
Εικόνα 5. Χημική δομή ουμπελιφερόνης.

- ii. Φουρανοκουμαρίνες: Οι φουρανοκουμαρίνες αποτελούνται από ένα πενταμελή φουρανικό δακτύλιο συνδεδεμένο με τον πυρήνα μίας κουμαρίνης. Ο δακτύλιος αυτός μπορεί να είναι συνδεδεμένος είτε γραμμικά είτε υπό γωνία με τον πυρήνα της κουμαρίνης, στον οποίο μένουν δύο θέσεις προς υποκατάσταση. Τα δύο πιο γνωστά παράγωγα είναι το μόριο του ψωραλενίου (psoralen) και της αγγελικίνης (angelicin)



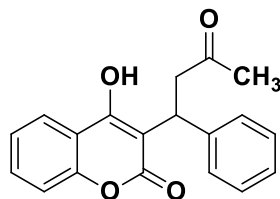
Εικόνα 6. Χημική δομή **a**: ψωραλενίου και **b**: αγγελικίνης.

- iii. Πυρανοκουμαρίνες: Οι πυρανοκουμαρίνες είναι παρόμοιες δομικά με τις φουρανοκουμαρίνες, με τη διαφορά ότι αποτελούνται από έναν εξαμελή πυρανικό δακτύλιο συνδεδεμένο με τον πυρήνα μίας κουμαρίνης. Παραδείγματα αποτελούν η ξανθυλετίνη (xanthyletin) και η σεσελίνη (seselin).^[4]



Εικόνα 7. Χημική δομή **a**: ξανθυλετίνης και **b**: σεσελίνης.

- iv. Κουμαρίνες υποκατεστημένες στον πυρονικό δακτύλιο: Περιλαμβάνονται οι υποκατεστημένες κουμαρίνες στην 3- ή στην 4- ή και στις δύο θέσεις του δακτυλίου, καθώς και οι 3,4-συμπυκνωμένες κουμαρίνες. Μία από τις πιο σημαντικές κουμαρίνες αυτής της κατηγορίας είναι η βαρφαρίνη (warfarin) η οποία εμπεριέχεται σε αντιπηκτικά σκευάσματα.



Εικόνα 8. Χημική δομή βαρφαρίνης.

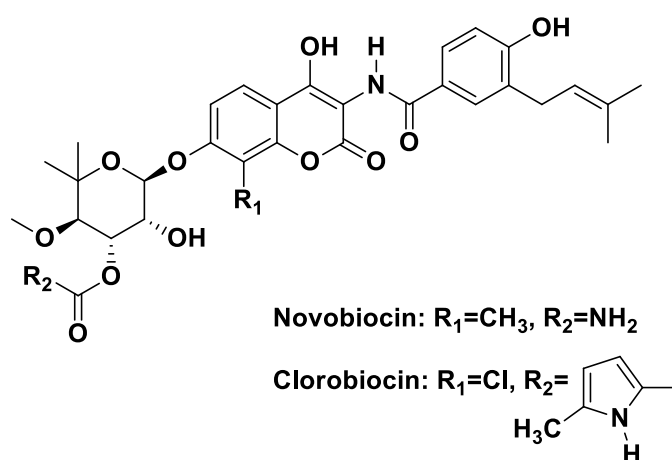
1.3. Φαρμακευτικές δράσεις των κουμαρινών

Οι κουμαρίνες και τα παράγωγά τους είναι βιολογικά και φαρμακευτικά ενεργές ενώσεις με ένα ευρύ φάσμα ιδιοτήτων όπως αντιμικροβιακές, αντιμυκητιακές, αντιφλεγμονώδεις, αντικές, αντικαρκινικές, αντιπηκτικές και αντιοξειδωτικές.^[5]

1.3.1. Αντιμικροβιακή δράση

Η συνεχής δημιουργία στελεχών βακτηρίων ανθεκτικών στα κλασσικά αντιβιοτικά οδήγησε στην ανακάλυψη και ανάπτυξη νέων υβριδικών ενώσεων που δρουν με διαφορετικούς μηχανισμούς. [6]

Η απλή κουμαρίνη έχει χαμηλή αντιμικροβιακή δράση. Όμως, ορισμένα φυσικά παράγωγά της εμφανίζουν ισχυρότερη δράση. [2] Το novobiocin, που απομονώθηκε ως μεταβολίτης από τους μύκητες *Streptomyces niveus* και *Str. Spheroides* και το clorobiocin αποτελούν κουμαρινικά αντιβιοτικά τα οποία δρουν ως αναστολείς της DNA γυράσης κι έτσι δρουν εναντίον θετικών κατά gram βακτηρίων, όπως ο *Staphylococcus aureus*· ακόμη και εναντίον ανθεκτικών σε μεθυκυλλίνη, στελεχών του βακτηρίου αυτού.



Εικόνα 9. Χημική δομή Novobiocin και Clorobiocin.

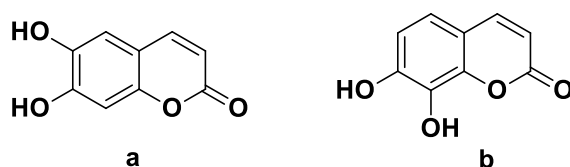
Ωστόσο, η ανάπτυξη προβλημάτων κυρίως διαλυτότητας, τοξικότητας, αλλά και εμφάνιση ανθεκτικότητας των βακτηρίων, οδήγησε στη σύνθεση νέων κουμαρινικών αναλόγων. Με στόχο, κατά κύριο λόγο, την αναστολή της δράσης της βακτηριακής DNA γυράσης, συντέθηκαν νέα κουμαρινικά ανάλογα που «μιμούνται» τη δομή και τη δράση του novobiocin εμφανίζοντας όμως ένα καλύτερο φαρμακευτικό προφίλ.

Μελετήθηκαν με την πάροδο του χρόνου λοιπόν, διάφορα παράγωγα της οικογένειας των κουμαρινών σε μία προσπάθεια συσχέτισης της δομής τους με πιθανή αντιμικροβιακή δράση. Έχει βρεθεί παραδείγματος χάριν ότι 4-υποκατεστημένες κουμαρίνες, όπως η 4-χλωρο-κουμαρίνη, έχουν ισχυρή αντιμικροβιακή δράση. [7]

Ακόμη, κάποια γενικά συμπεράσματα που έχουν διατυπωθεί αποτελούν τα εξής. Ένας υποκαταστάτης καρβοξυλικού οξέος ή εστέρα στον κουμαρινικό δακτύλιο είναι σημαντικός για την αντιμικροβιακή δράση ενάντια σε θετικά και αρνητικά κατά gram βακτήρια, ενώ η παρουσία υδροξυλίου ή φαινολικού

υποκαταστάτη ή/ και καρβοξυλικού οξέος στο δακτύλιο ενισχύει τη δράση εναντίον του ελικοβακτηριδίου του πυλωρού. [8]

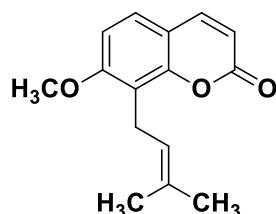
Επιπροσθέτως, σε έρευνα που έγινε από τον Liang Yang και τους συνεργάτες του [9] για τη δράση των υδροξυ-κουμαρινών κατά του βακτηρίου *Ralstonia solanacearum*, το οποίο μολύνει φυτά, βρέθηκε άμεση συσχέτιση της δομής τους με την αντιβακτηριακή τους δράση. Πιο συγκεκριμένα, η ουμπελιφερόνη (7-υδροξυ-κουμαρίνη) έχει ισχυρή αντιβακτηριακή δράση, ενώ ένα επιπλέον υδροξύλιο στη θέση 6 του δακτυλίου (esculetin) ενισχύει ακόμη περισσότερο τη δράση αυτή. Τέλος, η 7,8-διυδροξυ-κουμαρίνη (daphnetin) βρέθηκε ότι έχει τη μέγιστη αντιβακτηριακή δράση. Μάλιστα, ο μηχανισμός της δράσης των esculetin και daphnetin έγκειται στην καταστροφή της μεμβράνης του βακτηρίου.



Εικόνα 10. Χημική δομή **a**: 6,7-διυδροξυ-κουμαρίνης και **b**: 7,8-διυδροξυ-κουμαρίνης.

1.3.2. Αντιμυκητιακή δράση

Οι ολοένα και αυξανόμενες μυκητιακές μολύνσεις που παρατηρούνται στις μέρες μας, η δημιουργία μυκήτων ανθεκτικών στα υπάρχοντα φάρμακα, καθώς και η τοξικότητα και το υψηλό κόστος αυτών, οδήγησε στην ενίσχυση της έρευνας για φυσικά προϊόντα με αντιμυκητιακή δράση. [10] Τέτοια προϊόντα λοιπόν, αποτελούν κι οι κουμαρίνες και μάλιστα η οσθόλη (7-μεθοξυ-8-πρενυλοκουμαρίνη), αποτελεί παραδοσιακό βότανο που χρησιμοποιείται στην Κίνα εδώ και πολλά χρόνια εναντίον φυτοπαθογόνων μυκήτων, όπως ο *Rhizoctonia solani*. [11]



Εικόνα 11. Χημική δομή οσθόλης.

Επιπροσθέτως, σε έρευνα του Rodrigo S. A. de Araújo και των συνεργατών του [10] όπου μελετάται η σχέση της δομής της 6-υδροξυ-κουμαρίνης και της 7-υδροξυ-κουμαρίνης, καθώς και των αντίστοιχων υποκατεστημένων κουμαρινών από πρενυλο-, γερανυλο- και αλλυλο- ομάδες, με

τη δράση τους κατά των μυκήτων *Aspergillus fumigatus* και *A. flavus*, βρέθηκε ότι στην περίπτωση της 6-υδροξυ-κουμαρίνης, η υποκατάστασή της με μία από τις παραπάνω ομάδες δεν οδήγησε σε ενίσχυση της αντιμυκητιακής της δράσης. Αντιθέτως, στην περίπτωση της 7-υδροξυ-κουμαρίνης, η μείωση του μεγέθους της πλευρικής αλυσίδας οδηγεί σε βελτιωμένη δράση. Συνεπώς, η 7-γερανυλοξυ-κουμαρίνη θεωρείται ανενεργή, η 7-πρενυλοξυ-κουμαρίνη έχει μέτρια προς ισχυρή δράση, ενώ η ένωση με τη μικρότερη αλειφατική αλυσίδα έδειξε και τη μεγαλύτερη ενεργότητα. Η έρευνα αυτή επομένως κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η Ο-υποκατάσταση είναι απαραίτητη για ενίσχυση της αντιμυκητιακής δράσης, ενώ η ύπαρξη μίας ηλεκτρονιόφιλης ομάδας, όπως NO₂ ή ακετυλομάδας, ενισχύει ακόμη περισσότερο τη δράση αυτή.

Τέλος, η αμμορεζινόλη (*ammosesinol*) ή 3-φαρνεσυλο-4,7-διυδροξυ-κουμαρίνη κι η *ostruthin* (6-γερανυλο-7-υδροξυ-κουμαρίνη) έχουν ισχυρή αντιμικροβιακή δράση απέναντι σ' ένα πλήθος θετικών κατά gram βακτηρίων, μεταξύ των οποίων ανήκουν οι *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Micrococcus lysodeikticus*, *Bacillus megaterium*. [12]

1.3.3. Αντιφλεγμονώδης δράση

Η φλεγμονή είναι μία αντίδραση αυτό-προστασίας του οργανισμού που περιλαμβάνει φυσικές αναπροσαρμογές με στόχο τη μείωση της βλάβης του ιστού και τον περιορισμό του φλεγμονώδους ερεθίσματος. Μπορεί να προκληθεί από πολλούς διαφορετικούς παράγοντες, όπως μολύνσεις, αντισώματα και τραυματισμούς. Ανεξάρτητα από το αίτιο από το οποίο προκαλείται, τα συμπτώματα περιλαμβάνουν πόνο, ζέστη, ερυθρότητα και οίδημα.

Η ικανότητα δημιουργίας φλεγμονώδους αντίδρασης είναι απαραίτητη για την αντιμετώπιση παθογόνων μικροοργανισμών και τραυματισμών. Ωστόσο, σε ορισμένες περιπτώσεις και ασθένειες η αντίδραση αυτή μπορεί να είναι συνεχής και σε υπερβολικό βαθμό χωρίς εμφανές όφελος, αλλά ακόμη και με σοβαρές δυσμενείς επιπτώσεις.

Οι κουμαρίνες έχουν επιδείξει αντιφλεγμονώδη δράση και χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση του οιδήματος. Πιο συγκεκριμένα, αφαιρούν τις πρωτεΐνες και το υγρό του οιδήματος από τον τραυματισμένο ιστό προκαλώντας φαγοκυττάρωση, παραγωγή ενζύμων και συνεπώς πρωτεόλυση. [13]

Σύμφωνα με την έρευνα του Gaurav Kayal και των συνεργατών του^[4], η υποκατάσταση των κουμαρινών στις θέσεις C-3, C-6, C-7 είναι πολύ σημαντική για την αντιφλεγμονώδη δράση. Μάλιστα, η απουσία υποκαταστάτη στη θέση C-6 οδηγεί σε κατακόρυφη μείωση ή και εξαφάνιση της δράσης αυτής. Επίσης, η υποκατάσταση της θέσης C-5 με οποιαδήποτε άλλη ομάδα πέρα από H ή F

προκαλεί απώλεια της δράσης. Επιπλέον, βρέθηκε ότι οι θειοκουμαρίνες έχουν καλύτερη αντιφλεγμονώδη δράση από τις αντίστοιχες οξυγονωμένες κουμαρίνες.

1.3.4. Αντιοξειδωτική δράση

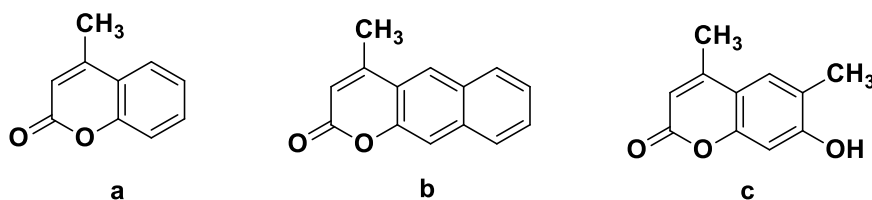
Οι ελεύθερες ρίζες είναι άτομα, μόρια ή ιόντα που διαθέτουν μονήρη ηλεκτρόνια κι είναι πολύ δραστικές καθώς εύκολα αντιδρούν με άλλα χημικά είδη οδηγώντας στη δημιουργία αλυσιδωτών αντιδράσεων. Στα βιολογικά συστήματα, συνήθως προέρχονται από μόρια που περιέχουν, άζωτο, οξυγόνο και θείο. Αυτές οι ελεύθερες ρίζες ανήκουν σε ομάδες μορίων που ονομάζονται δραστικές μορφές οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS), δραστικές μορφές αζώτου (Reactive Nitrogen Species, RNS) και δραστικές μορφές θείου (Reactive Sulphur Species, RSS). Παραδείγματα ελευθέρων ριζών που ανήκουν στις ROS αποτελούν το ανιόν του υπεροξειδίου O_2^- , η ρίζα υδροξυλίου $HO\cdot$, αλλά και το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2). Οι ROS παράγονται κατά τη διάρκεια του κυτταρικού μεταβολισμού κι έχουν σημαντικό ρόλο σε αντιδράσεις μεταγωγής σήματος στις κυτταρικές αλληλεπιδράσεις, στην έκφραση γονιδίων, στη μεταφορά ιόντων, αλλά και σε άλλες λειτουργίες του οργανισμού. Ωστόσο, εάν οι συγκεντρώσεις του αυξηθούν σημαντικά μπορεί να έχουν αρνητικές επιδράσεις σε πολλά μόρια, όπως σε πρωτεΐνες, λιπίδια, μόρια DNA ή RNA καθώς είναι μικρά και πολύ δραστικά μόρια. Με στόχο τη μείωση ή και την αποφυγή τέτοιων επιπτώσεων, τόσο ο ανθρώπινος οργανισμός όσο και άλλοι οργανισμοί έχουν αναπτύξει ένα αντιοξειδωτικό σύστημα που εξουδετερώνει αυτές τις ρίζες.

Τα αντιοξειδωτικά, λοιπόν, είναι μόρια που εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες, καθώς αποδέχονται ή προσφέρουν ηλεκτρόνια ώστε να εξαλείψουν την ύπαρξη μονήρων ηλεκτρονίων. Μπορεί να αντιδρούν απευθείας με τις ελεύθερες ρίζες και να μετατρέπονται τα ίδια σε ελεύθερες ρίζες, που είναι όμως λιγότερο δραστικές κι επικίνδυνες. Στη συνέχεια μπορεί κι αυτές να εξουδετερωθούν από νέα αντιοξειδωτικά. [14]

Σήμερα υπάρχει ένα ολοένα κι αυξανόμενο ενδιαφέρον για τα αντιοξειδωτικά, είτε αυτά αποσκοπούν στο να αποτρέψουν πιθανές τοξικές επιδράσεις ελευθέρων ριζών στο ανθρώπινο σώμα είτε αποτρέπουν την οξείδωση των λιπαρών κι άλλων συστατικών των τροφίμων. Επιπλέον, έρευνες έχουν δείξει ότι τα αντιοξειδωτικά μειώνουν τον κίνδυνο εμφάνισης χρόνιων ασθενειών όπως είναι ο καρκίνος ή καρδιακά νοσήματα. Σε όλες τις περιπτώσεις, υπάρχει μία προτίμηση για αντιοξειδωτικά που προέρχονται από φυσικές πηγές. Κυριότερες φυσικές πηγές αντιοξειδωτικών αποτελούν τα δημητριακά ολικής άλεσης, τα φρούτα και τα λαχανικά. Επομένως, τα περισσότερα αντιοξειδωτικά σε μία τυπική διατροφή είναι φυτικής

προελεύσεως και ανήκουν σε πολλές διαφορετικές οικογένειες ενώσεων. Οι κουμαρίνες αποτελούν χημικές ενώσεις που όπως προαναφέρθηκε, προέρχονται από φυτά και διαθέτουν ποικίλες φαρμακευτικές δράσεις, μεταξύ των οποίων και αντιοξειδωτική. [15]

Ο Ravi. S. κι οι συνεργάτες του^[16] συνέθεσαν τρία διαφορετικά παράγωγα της 4-μέθυλο-κουμαρίνης με αξιόλογη αντιοξειδωτική δράση.



Εικόνα 12. Χημική δομή **a**: 4-μεθυλο-κουμαρίνης, **b**: 4-μεθυλο-βενζο-γ-κουμαρίνης και **c**: 4,6-διμεθυλο-7-υδροξυ-κουμαρίνης.

Η αντιοξειδωτική δράση των παραγώγων αυτών μπορεί να αποδοθεί στην πυρηνόφιλη φύση των υποκαταστών -OH, -CH₃, C₆H₅ στον κουμαρινικό σκελετό, που μειώνει έτσι τον αριθμό των ελευθέρων ριζών και άρα και τις καταστροφικές επιπτώσεις τους στα κύτταρα. Επομένως, όσο περισσότεροι οι δότες ηλεκτρονίων, τόσο ισχυρότερη η αντιοξειδωτική δράση.

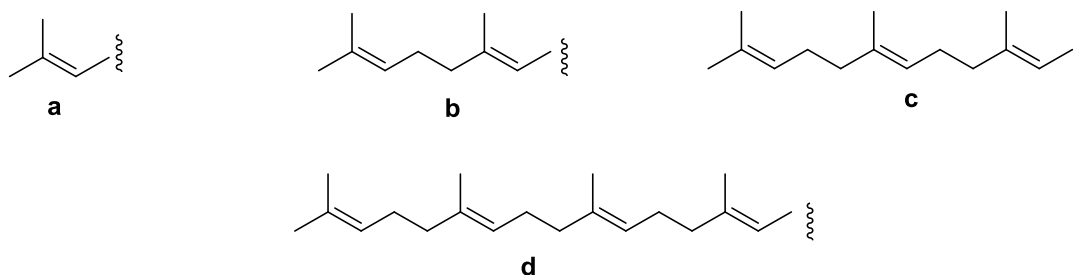
Ακόμη, οι Roussaki και συνεργάτες^[17] εξέτασαν την αντιοξειδωτική δράση 3-αρυλο-κουμαρινών, οι περισσότερες εκ των οποίων υπέδειξαν χαμηλή ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH. Ωστόσο, καλή αντιοξειδωτική δράση έδειξαν τα παράγωγα με κατεχολική δομή, υποδεικνύοντας ότι η ύπαρξη του κατεχολικού συστήματος είναι ουσιαστικής σημασίας για τη δράση αυτή.

1.4. Φαρμακευτικό προφίλ πρενυλοξυ-κουμαρινών

Η πρενυλίωση είναι μία χημική προσθήκη μίας υδρόφοβης, ισοπρενοειδούς¹ πλευρικής αλυσίδας σ' ένα μόριο (ένα άλλο τερεπενοειδές μόριο, μία αρωματική ένωση κ.α.). Η πρενυλίωση ενός αρωματικού δευτερογενούς μεταβολίτη είναι μία σημαντική διεργασία που αποτελεί μέρος της βιοσύνθεσης πολλών βιολογικά ενεργών ενώσεων σε φυτά και ζώα. Οι αρωματικοί δευτερογενείς μεταβολίτες είναι μία κατηγορία σπάνιων φυσικών προϊόντων, παρόλο που στις μέρες μας ανακαλύπτονται ολοένα και περισσότερα τέτοια προϊόντα και τα οποία βρίσκονται κατά κύριο λόγο σε φυτά που ανήκουν κυρίως στις οικογένειες Apiaceae, Umbelliferae, Boraginaceae, Piperaceae, Compositae και Leguminosae.

¹Ισοπρενοειδή: Φυσικά προϊόντα και σχετικές ενώσεις τυπικά προερχόμενα από μονάδες ισοπρενίου.

Οι πρενυλο-πλευρικές αλυσίδες είναι διαφορετικού μήκους. Έχουν βρεθεί τέσσερις τύποι πρενυλο-αλυσίδων που βασίζονται στον αριθμό των ανθράκων που αποτελούν την αλυσίδα: C5 (ισοπεντενυλο-), C10 (γερανυλο-), C15 (φαρνεσυλο-) και C20 γερανυλογερανυλο-). Παράγωγα με μία ισοπεντενυλο- ή γερανυλο- πλευρική αλυσίδα είναι πιο συχνά απαντώμενα στη φύση σε σχέση με αυτά που διαθέτουν μία φαρνεσυλο- ή γερανυλογερανυλο- πλευρική αλυσίδα. Ο πρενυλο-σκελετός συνδέεται απευθείας με έναν από τους άνθρακες του αρωματικού δακτυλίου ή μέσω ενός ατόμου οξυγόνου, αζώτου ή θείου. Οι δύο τελευταίες περιπτώσεις είναι και οι πιο σπάνιες.

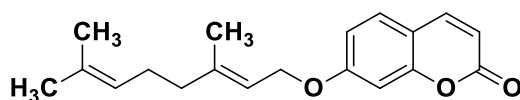


Εικόνα 13. **a:** ισοπεντενυλο-αλυσίδα, **b:** γερανυλο-αλυσίδα, **c:** φαρνεσυλο-αλυσίδα, **d:** γερανυλογερανυλο-αλυσίδα.

Οι χημικές τροποποιήσεις, όπως η πρενυλίωση οδηγούν στην αύξηση των πιθανών δομών των κουμαρινικών παραγώγων κι επομένως αυτά τα φυσικά προϊόντα πλέον αποτελούν ένα νέο σύνορο στην ανάπτυξη καινοτόμων φαρμακευτικών προϊόντων. Οι κουμαρίνες που διαθέτουν ισοπρενοειδείς αλυσίδες σε διάφορες θέσεις στο βενζοπυρανικό δακτύλιο, συχνά αποτελούν τις δραστικές ενώσεις φυτών που χρησιμοποιούνται για φαρμακευτικούς σκοπούς., [18], [19]

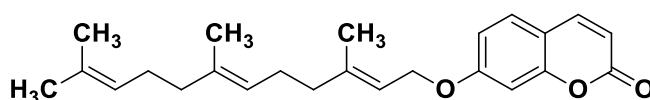
Ωστόσο, οι πρενυλοξυ-κουμαρίνες, που βρίσκονται κατά κύριο λόγο σε φυτά κι ανήκουν στις οικογένειες των Rutaceae και Umbelliferae, για χρόνια αντιμετωπίζονταν ως βιοσυνθετικά ενδιάμεσα των C-πρενυλιωμένων παραγώγων και μόλις την τελευταία δεκαετία, αναγνωρίστηκαν ως ενδιαφέροντα και πολύτιμα βιολογικώς ενεργά παράγωγα.

Πολλές από αυτές τις κουμαρίνες έχει βρεθεί ότι έχουν αξιόλογες φαρμακολογικές ιδιότητες. Η ωραπτίνη (auraptene) ή αλλιώς 7-γερανυλοξυ-κουμαρίνη που είναι η πρώτη που απομονώθηκε από τη φλούδα των εσπεριδοειδών φρούτων (*Citrus natsudaidai* Hayata) έχει επιδείξει σημαντικές χημειοπροληπτικές επιδράσεις σε περίπτωση χημικά προκαλούμενης καρκινογένεσης. Η ωραπτίνη είναι ένας πολλά υποσχόμενος χημειοπροληπτικός φορέας εναντίον του καρκίνου του δέρματος, της γλώσσας, του οισοφάγου και του παχέως εντέρου σε τρωκτικά και μπορεί να ρυθμίσει το μεταβολισμό των λιπών.



Εικόνα 14. Χημική δομή της ωραπτένης.

Μία άλλη φυσική πρενυλοξυ-κουμαρίνη είναι η ουμπελιπρενίνη (umbelliprenin) ή αλλιώς 7-φαρνεσυλοξυ-κουμαρίνη, η οποία αποτελεί την πρώτη κουμαρίνη που ανήκει στα σεσκιτερπένια και συντέθηκε από την οικογένεια *Ferula*. Πολλές *in vitro* και *in vivo* έρευνες έχουν δείξει ότι διαθέτει αξιολογημένη αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη, αντιγενετοξική και χημειοπροληπτική δράση, καθώς και δρα ως αναστολέας της ακετυλοχολινεστεράσης. [18], [20], [21]

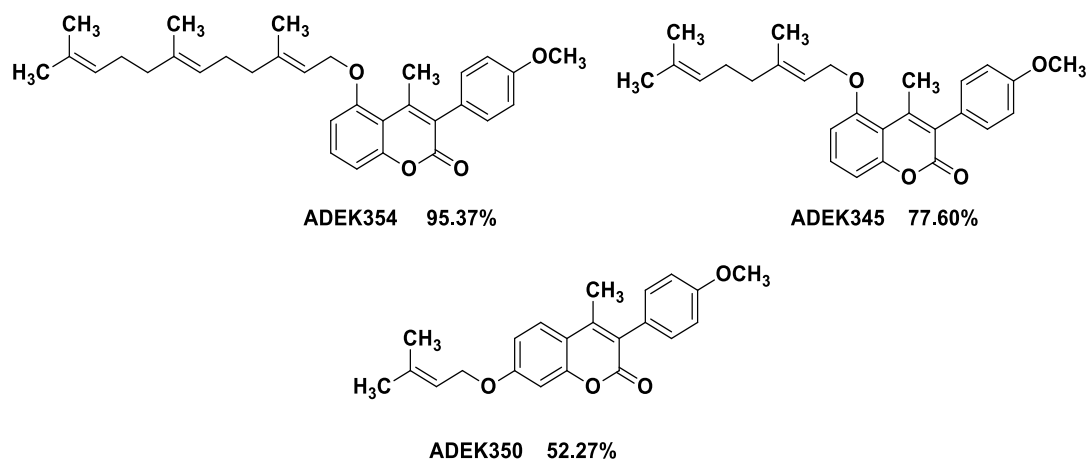


Εικόνα 15. Χημική δομή 7-φαρνεσυλοξυ-κουμαρίνης.

Τόσο η ωραπτένη όσο κι η ουμπελιπρενίνη έχουν μελετηθεί σε κυτταρικές σειρές του ανθρώπινου νευροβλαστώματος (SK-N-SH) και του ανθρώπινου ηπατώματος (HepG2). Η ωραπτένη επέδειξε αξιολογημένη κυτταροτοξική δράση και στα δύο είδη κυτταροτοξικών σειρών, ενώ η ουμπελιπρενίνη μόνο στην κυτταρική σειρά SK-N-SH. [21]

Επιπροσθέτως, σε προηγούμενη μελέτη του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας [22] εξετάστηκε η ικανότητα αναστολής του μεταγραφικού παράγοντα NF-kB από πρενυλοξυ-κουμαρινικά παράγωγα. Ο φυσιολογικός ρόλος του παράγοντα NF-kB είναι να ρυθμίζει τα γονίδια που κωδικοποιούν τα αντι-αποπτωτικά μόρια, να ελέγχει την έκφραση διαφόρων μορίων προσκόλλησης κ.α. Η συστηματική ωστόσο δραστηριότητα του NF-kB φαίνεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στις χρόνιες φλεγμονώδεις νόσους. Η ενεργοποίηση του NF-kB στη χρόνια φλεγμονή ενδέχεται να συμμετέχει στην απαρχή όγκων, εφόσον τα αντι-αποπτωτικά γονίδια που ενεργοποιούνται, συνεισφέρουν στην επιβίωση κυττάρων που θα έπρεπε κανονικά να ακολουθήσουν το αποπτωτικό μονοπάτι. Ο NF-kB αναστέλλει την απόπτωση είτε μέσω της επαγωγής των αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών είτε με την καταστολή των προ-αποπτωτικών γονιδίων. [23], [24]

Επομένως, λόγω της πιθανής συσχέτισης του παράγοντα NF-kB με τις χρόνιες φλεγμονές και τον καρκίνο, εξετάστηκε η ικανότητα αναστολής του από τα ακόλουθα πρενυλοξυ- παράγωγα : 5-φαρνεσυλοξυ-3-(4-μεθοξυφαινυλο)-4-μεθυλο-κουμαρίνη (ADEK354), 5-γερανυλοξυ-3-(4-μεθοξυφαινυλο)-4-μεθυλο-κουμαρίνη (ADEK345) και 7-πρενυλοξυ-3-(4-μεθοξυφαινυλο)-4-μεθυλο-κουμαρίνη (ADEK350).

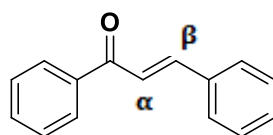


Εικόνα 16. Χημική δομή και ανασταλτική ικανότητα του παράγοντα NF-kB, σε συγκέντρωση 50μM, των ADEK354, ADEK345 και ADEK350.

Παρατηρείται ότι η ADEK354 που περιέχει φαρσενυλοξυ-υποκαταστάτη είναι πολύ πιο αποδοτική σε σχέση με την ADEK345 που διαθέτει γερανυλοξυ-υποκαταστάτη. Η διαφορά αυτή πιθανώς να οφείλεται στο πιο μεγάλο μήκος της πρενυλο-αλυσίδας, το οποίο καθιστά την ένωση περισσότερο λιπόφιλη. Τέλος, η ADEK350 επέδειξε χαμηλότερη αναστολή του μεταγραφικού παράγοντα NF-kB, γεγονός που υποδεικνύει το ρόλο που παίζει το μήκος της πρενυλο-αλυσίδας, αλλά κι η θέση του υποκατάστατη στην εξεταζόμενη δράση. [21]

2. Χαλκόνες

Οι χαλκόνες ή αλλιώς 1,3-διφαινυλο-2-προπεν-1-όνες, αποτελούνται από δύο αρωματικούς δακτυλίους που ενώνονται μέσω ενός α, β ακόρεστου καρβονυλικού συστήματος τριών ανθράκων. Είναι φυσικά προϊόντα που βρίσκονται σε πληθώρα φυτικών ειδών όπως *Angelica*, *Glycyrrhiza*, *Humulus* και *Scutellaria*, τα οποία χρησιμοποιούνται παραδοσιακά σα γιατροσόφια. Οι χαλκόνες αποτελούν ενδιάμεσα της βιοσύνθεσης των φλαβονοειδών, που είναι ενώσεις ευρέως διαδεδομένες σε φυτικούς οργανισμούς και διαθέτουν ένα μεγάλο φάσμα βιολογικών ιδιοτήτων.



Εικόνα 17. Χημική δομή της 1,3-διφαινυλο-2-προπεν-1-όνης.

Οι χαλκόνες έχουν επιδείξει σημαντική αντιμυκητιακή, αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη και αντικαρκινική δράση, καθώς και δράση εναντίον της φυματίωσης, της ελονοσίας και της λείσμανιάσης. Επιπλέον, αποτελούν πολύ

χρήσιμα μόρια καθώς χρησιμοποιούνται για τη σύνθεση ετεροκυκλικών συστημάτων με έντονο φαρμακολογικό ενδιαφέρον, όπως οι πυραζολίνες. [25]

Μόρια κουμαρινών-χαλκονών

Τα φυσικά και συνθετικά υβριδικά μόρια συνδυάζουν σ' ένα μοριακό σκελετό, δύο ή και περισσότερες φαρμακοφόρες ομάδες που διαθέτουν διαφορετικές ιδιότητες. Παρουσιάζουν πολλαπλές βιολογικές δράσεις, υψηλή εκλεκτικότητα και αξιόλογες φαρμακοκινητικές ιδιότητες κι επομένως αποτελούν πολύ ενδιαφέροντα μόρια για περαιτέρω μελέτη πάνω στην ανακάλυψη φαρμάκων.

Οι πολλές βιολογικές δράσεις τόσο των κουμαρινών, όσο και των χαλκονών τις καθιστούν ιδανικά μόρια για τη σύνθεση υβριδικών μορίων κουμαρινών-χαλκονών με ενδιαφέρουσες φαρμακολογικές ιδιότητες. Επιπλέον, έχουν βρεθεί και αρκετά φυσικά υβριδικά μόρια κουμαρινών-χαλκονών σε πολλά είδη φυτών.

Η σύνθεση των υβριδικών μορίων κουμαρινών χαλκονών δύναται να πραγματοποιηθεί με δύο τρόπους: a. Σύνδεση μεταξύ ολόκληρου του κουμαρινικού δακτυλίου και του δακτυλίου της χαλκόνης, b: Σύνδεση μεταξύ ολόκληρου του κουμαρινικού δακτυλίου και τμήματος του δακτυλίου της χαλκόνης.

Έτσι, έχουν γίνει πολλές έρευνες σύμφωνα με τις οποίες επιβεβαιώνονται οι θεραπευτικές ιδιότητες αυτών των μορίων, αλλά και μελέτες συσχέτισης δομής και βιολογικής δράσης (SAR: Structure-activity relationship). Παραδείγματος χάριν, σε έρευνα των Han Wei και συνεργατών^[26] που αφορά την αντικαρκινική δράση των μορίων αυτών, βρέθηκε συσχέτιση της δράσης τους με την υποκατάσταση της θέσης 3- του κουμαρινικού δακτυλίου. Πιο συγκεκριμένα, τα παράγωγα που διέθεταν ομάδες εστέρων στη θέση 3- επέδειξαν αξιόλογη αντικαρκινική δράση σε σχέση με εκείνα που διέθεταν ομάδες κετονών.

Ακόμη, βρέθηκε ότι μια χλωρο-υποκατάσταση στην *παρα*- θέση του δακτυλίου της χαλκόνης μειώνει την εκλεκτικότητα του μορίου ως προς τα καρκινικά κύτταρα, ενώ αντίθετα η υποκατάσταση του δακτυλίου της χαλκόνης από μεθυλο- υποκαταστάτες, ενισχύει την αντικαρκινική δράση των μορίων. Ωστόσο, το αντίθετο αποτέλεσμα ισχύει στην περίπτωση της δράσης κατά της ελονοσίας, καθώς παρατηρήθηκε ότι η ύπαρξη *παρα*- υποκαταστατών που αποτελούν ισχυρούς δέκτες ηλεκτρονίων, όπως είναι οι χλωρο-ομάδες, ευνοεί περισσότερο τη δράση αυτή σε σχέση με υποκατάσταση από ομάδες δότες ηλεκτρονίων όπως είναι τα μεθύλια.

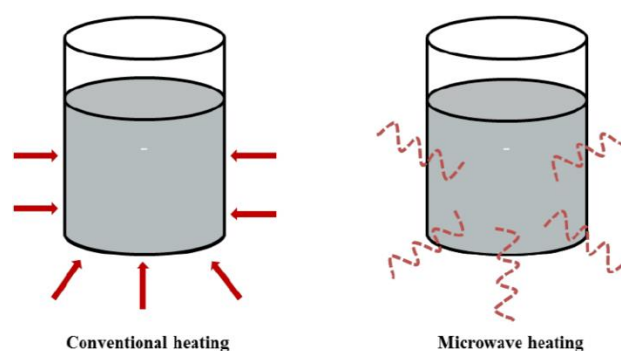
3. Σύνθεση μέσω μικροκυμάτων

Με την πάροδο του χρόνου, έχουν αναπτυχθεί διάφορες καινοτόμοι μέθοδοι ώστε να επιταχυνθεί η σύνθεση των χημικών αντιδράσεων. Στη σύγχρονη εποχή, η εξέλιξη της τεχνολογίας κατευθύνεται προς τις περισσότερο οικολογικές και φιλικές προς το περιβάλλον μεθόδους.

Η χρήση μικροκυματικής ακτινοβολίας για την επιτάχυνση των χημικών αντιδράσεων αποτελεί μια μέθοδο ολοένα και αυξανόμενου ενδιαφέροντος. Η μέθοδος αυτή στηρίζεται στην ικανότητα ορισμένων υγρών και στερεών να μετατρέπουν την ηλεκτρομαγνητική ενέργεια σε θερμική και παρουσιάζει σημαντικά πλεονεκτήματα έναντι της συμβατικής μεθόδου.

Πρώτα απ' όλα, αντιδράσεις σύνθεσης μορίων που απαιτούν πολύ χρόνο, ώρες ή και μέρες για την πραγματοποίησή τους συμβατικά, μπορούν να ολοκληρωθούν σε αρκετά μειωμένο χρόνο –σε μόλις λίγα λεπτά– μέσω της μικροκυματικής ακτινοβολίας, καθώς η συσκευή μικροκυμάτων μπορεί να επιτύχει ακόμη υψηλότερες θερμοκρασίες.

Στην περίπτωση της συμβατικής μεθόδου, οι ηλεκτρικοί μανδύες θέρμανσης ή οι μανδύες λαδιού αυξάνουν αρχικά τη θερμοκρασία του δοχείου του αντίδρασης, οπότε και καθυστερεί η διάδοση της θερμότητας εντός του μίγματος, ενώ παράλληλα μπορεί να προκληθεί αποσύνθεση κάποιου προϊόντος λόγω της ανομοιόμορφης κατανομής της θερμοκρασίας. Αντίθετα, η μικροκυματική ακτινοβολία διαπερνά το κατάλληλο υλικό από το οποίο είναι κατασκευασμένο το δοχείο της αντίδρασης κι έρχεται σε άμεση επαφή με τα αντιδρώντα και το διαλύτη, οδηγώντας σε μία ομοιόμορφη θέρμανση.



Εικόνα 18. Σύγκριση προσφοράς θερμότητας στην περίπτωση της συμβατικής μεθόδου (αριστερά) και της χρήσης μικροκυματικής ακτινοβολίας (δεξιά).

Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με το ότι στην περίπτωση της μικροκυματικής ακτινοβολίας οι συνθήκες της αντίδρασης είναι περισσότερο ελεγχόμενες οδηγεί στην αποφυγή της αποσύνθεσης των αντιδρώντων ή και της σύνθεσης παραπροϊόντων. Ως αποτέλεσμα της αποφυγής της σύνθεσης παραπροϊόντων, τα προϊόντα που λαμβάνονται είναι υψηλότερης καθαρότητας κι έτσι σε πολλές περιπτώσεις λαμβάνονται σε μεγαλύτερες αποδόσεις.

Τέλος, ορισμένες αντιδράσεις που πραγματοποιούνται με τη χρήση μικροκυμάτων, μπορούν να επιτευχθούν και χωρίς την προσθήκη διαλύτη, κάτι το οποίο αποτελεί σπουδαίο πλεονέκτημα μιας και οι διαλύτες πολλές φορές είναι τοξικοί, ακριβοί ή δημιουργούν άλλα προβλήματα.

Ωστόσο, η χρήση της μικροκυματικής ακτινοβολίας για την πραγματοποίηση χημικών αντιδράσεων έχει περιορισμένο πεδίο εφαρμογών, καθότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο για τη θέρμανση υλικών τα οποία την απορροφούν. Επιπλέον, θα πρέπει να ελέγχονται αυστηρά οι εφαρμοζόμενες συνθήκες ανάλογα με τη φύση της αντίδρασης. Παραδείγματος χάριν, υψηλές τιμές πίεσης μπορεί να οδηγήσουν σε ανεξέλεγκτες αντιδράσεις κι εκρήξεις. Ακόμη, η συνεχής έκθεση του ανθρώπινου οργανισμού σε μικροκυματική ακτινοβολία, μπορεί να έχει δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία του. [27], [28], [29]

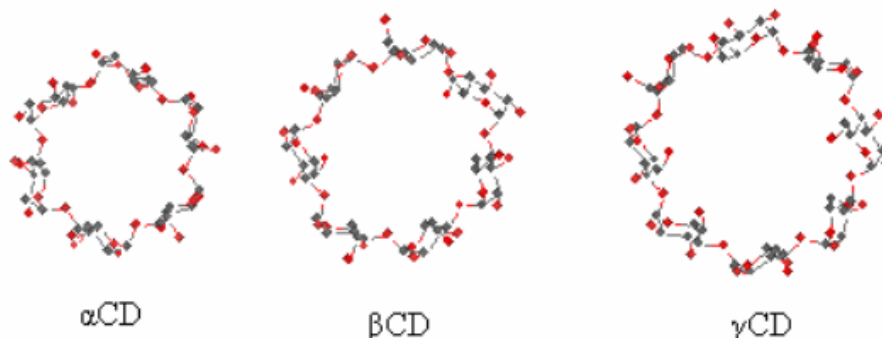
4. Κυκλοδεξτρίνες

4.1. Προέλευση, δομή και χαρακτηριστικά

Οι κυκλοδεξτρίνες (cyclodextrin-CD) ανακαλύφθηκαν στα τέλη του 19^{ου} από το Γάλλο επιστήμονα Villiers, ο οποίος κατάφερε να προσδιορίσει τη χημική δομή και ορισμένες από τις ιδιότητές τους. Έπειτα, στις αρχές του 20^{ου} αιώνα, ο Schardinger απομόνωσε το είδος βακτηρίων *Bacillus macerans*, στα οποία πραγματοποιείται η σύνθεση των κυκλοδεξτρινών σε κρυσταλλική μορφή μέσω μίας αντίδρασης σύνθεσης ακετόνης και αιθυλικής αλκοόλης από σάκχαρα και άμυλο που υπάρχουν σε φυτικούς οργανισμούς, από το ένζυμο κυκλοδεξτρίνη-γλυκοζυλοτρανσφεράση (CGTase). Ονόμασε το κρυσταλλικό αυτό προϊόν ως «κρυσταλλικές δεξτρίνες α» και «κρυσταλλικές δεξτρίνες β», ενώ το 1395 απομονώθηκαν και οι γ-κυκλοδεξτρίνες.

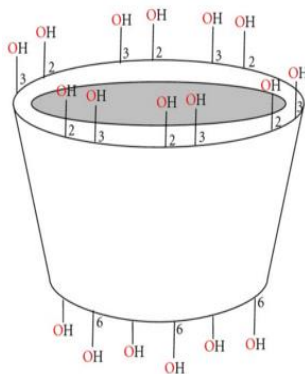
Οι κυκλοδεξτρίνες είναι μία οικογένεια κυκλικών ολιγοσακχαριτών αποτελούμενες από μονομερή σακχάρων (α-D-γλυκοπυρανόζη) συνδεδεμένων μεταξύ τους με α-1,4-γλυκοσιδικούς δεσμούς. Είναι επίσης γνωστές ως κυκλοαμυλάσες, κυκλομαλτόζες ή σαν δεξτρίνες του Schardinger.

Οι φυσικές κυκλοδεξτρίνες α, β, γ αποτελούνται, αντίστοιχα, από 6, 7 ή 8 μονάδες γλυκόζης. Ενώ το 1961 ανακαλύφθηκε η ύπαρξη φυσικών δ-, ζ-, ξ- και η- κυκλοδεξτρινών οι οποίες αποτελούνται από 9-12 μονάδες γλυκόζης αντίστοιχα.



Εικόνα 19. Δομή α-, β-, γ- κυκλοδεξτρίνης.

Μόλις ανακαλύφθηκε η κυκλική δομή των μορίων των κυκλοδεξτρινών, έγιναν έρευνες σχετικά με την ικανότητά τους να εγκλείουν ενώσεις στην κοιλότητά τους. Το γεγονός ότι αποτελούνται από μονάδες γλυκοκυρανοζών ενωμένων μέσω α-1,4-γλυκοσιδικών δεσμών τους προσδίδει σημαντικά πλεονεκτήματα. Η διάταξη των μονομερών στα μόρια κυκλοδεξτρίνης είναι τέτοια που μπορεί να προσομοιωθεί μ' έναν κώνο το εξωτερικό του οποίου είναι υδρόφιλο, ενώ στο εσωτερικό του οι υδρόφοβοι άνθρακες των μονομερών δημιουργούν ένα υδροφοβικό περιβάλλον. Αυτό το δομικό χαρακτηριστικό τους, τους προσδίδει μία μοναδική ικανότητα να δημιουργούν σύμπλοκα εγκλεισμού με τα φιλοξενούμενα μόρια στο εσωτερικό της κοιλότητας τους μέσω αλληλεπιδράσεων «ξενιστή»- «φιλοξενούμενου μορίου» (“guest-host” interactions). [30], [31]



Εικόνα 20. Τρισδιάστατη απεικόνιση της κυκλοδεξτρίνης.

Ακολουθεί πίνακας (Πιν. 1) με τα βασικά χαρακτηριστικά των α-, β- και γ-κυκλοδεξτρινών.

Πίνακας 1. Βασικά χαρακτηριστικά α-, β-, γ- κυκλοδεξτρινών.

Τύπος κυκλοδεξτρίνης	Διάμετρος της κοιλότητας (Å)	Μοριακό βάρος (g/mol)	Διαλυτότητα στους 25 °C (g/100mL)
α-CD	4.7-5.3	972	14.2
β-CD	6.0-6.5	1135	1.85
γ-CD	7.5-8.3	1297	23.2

Η μικρή διαλυτότητα της β-κυκλοδεξτρίνης στο νερό, δυσκολεύει τις εφαρμογές της. Ωστόσο, διαθέτει κατάλληλη τιμή διαμέτρου και σε συνδυασμό με τη μικρή διάμετρο της α-κυκλοδεξτρίνης που αποτρέπει τον εγκλεισμό πολλών μορίων στο εσωτερικό της και την υψηλή τιμή της γ-κυκλοδεξτρίνης, χρησιμοποιείται ευρέως σε φαρμακευτικές έρευνες. [32]

Εκτός από τις φυσικές κυκλοδεξτρίνες, υπάρχουν και οι συνθετικές, οι οποίες προέρχονται συνήθως από αντιδράσεις αμίνωσης, εστεροποίησης ή αιθεροποίησης των ομάδων των υδροξυλίων των φυσικών κυκλοδεξτρινών. Ανάλογα με τον υποκαταστάτη, τα συνθετικά παράγωγα των κυκλοδεξτρινών εμφανίζουν διαφορετική διαλυτότητα από τη φυσική κυκλοδεξτρίνη από την οποία προήλθαν. Επιπλέον, διαφέρουν συνήθως ως προς τον όγκο της υδρόφοβης κοιλότητας κι επομένως αυτές οι τροποποιήσεις μπορούν να βελτιώσουν τη διαλυτότητα και τη σταθερότητά τους στο φως ή το οξυγόνο και να βοηθήσουν στη διατήρηση της χημικής δράσης των εγκλεισμένων μορίων.

Οι κυκλοδεξτρίνες περιέχονται τόσο σε εδώδιμα προϊόντα όσο και σε πολλά προϊόντα περιποίησης, αλλά και σε φαρμακευτικά προϊόντα. [30], [31]

4.2. Σχηματισμός συμπλόκων εγκλεισμού

Το πιο σπουδαίο χαρακτηριστικό των κυκλοδεξτρινών είναι η ικανότητά τους να σχηματίζουν στερεάς μορφής σύμπλοκα εγκλεισμού με ένα πλήθος στερεών, υγρών καθώς κι αέριων ενώσεων. Σε αυτά τα σύμπλοκα, το «φιλοξενούμενο» μόριο συγκρατείται εντός της κοιλότητας του μορίου της κυκλοδεξτρίνης. Η λιπόφιλη κοιλότητα των κυκλοδεξτρινών δημιουργεί ένα μικροπεριβάλλον μέσα στο οποίο δύναται να εισχωρήσουν άπολα μόρια κατάλληλου μεγέθους κι έτσι να σχηματιστούν σύμπλοκα εγκλεισμού.

Κινητήρια δύναμη για το σχηματισμό των συμπλόκων εγκλεισμού αποτελεί η απελευθέρωση μορίων νερού, υψηλής ενθαλπίας, από την κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης. Τα μόρια νερού αντικαθίστανται από τα περισσότερο υδρόφοβα «φιλοξενούμενα» μόρια και οδηγούν σε μια πιο σταθερή κατάσταση, χαμηλότερης ενέργειας.

Οι δεσμοί που σχηματίζονται μεταξύ του «φιλοξενούμενου» μορίου και του «ξενιστή» -κυκλοδεξτρίνη- δεν είναι μόνιμοι, αλλά πρόκειται για μία κατάσταση δυναμικής ισορροπίας. Η σταθερότητα του συμπλόκου εξαρτάται και από τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ατόμων της επιφάνειας.

Επιπλέον, η ικανότητα της κυκλοδεξτρίνης να σχηματίσει σύμπλοκο εγκλεισμού με ένα μόριο εξαρτάται από δύο παράγοντες «κλειδιά». Πρώτο παράγοντα αποτελεί η στερεοχημεία και το μέγεθος του προς εγκλεισμό μορίου ή ορισμένων υδρόφοβων ομάδων αυτού. Ο δεύτερος κρίσιμος παράγοντας είναι οι θερμοδυναμικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των διαφορετικών «συστατικών» του συστήματος (κυκλοδεξτρίνη, «φιλοξενούμενο μόριο», διαλύτης).

Υπάρχουν τέσσερις ενεργειακά ευνοούμενες αλληλεπιδράσεις οι οποίες βοηθούν ώστε να σχηματιστούν σύμπλοκα εγκλεισμού:

1. Η απομάκρυνση των πολικών μορίων του νερού από τη μη πολική κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης,
2. Ο αυξημένος αριθμός δεσμών υδρογόνου που σχηματίζονται όταν τα μόρια νερού επιστρέψουν από την κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης στον κύριο όγκο του διαλύτη,
3. Η μείωση των απωστικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των υδρόφοβων μορίων και του υδατικού περιβάλλοντος και τέλος,
4. Η αύξηση των υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων καθώς τα «φιλοξενούμενα» μόρια εισέρχονται στη μη πολική κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης. [30]

Ωστόσο, παρά το γεγονός ότι τα σύμπλοκα εγκλεισμού (inclusion complexes) αποτελούν την πιο γνωστή και συχνά απαντώμενη μορφή αλληλεπίδρασης μεταξύ των κυκλοδεξτρινών και των «φιλοξενούμενων» μορίων, σε πολλές περιπτώσεις έχει παρατηρηθεί η δημιουργία συμπλόκων μη εγκλεισμού (non-inclusion complexes), στα οποία το «φιλοξενούμενο» μόριο δε βρίσκεται εντός της κοιλότητας της κυκλοδεξτρίνης, αλλά εξωτερικά αυτής. Πιο συγκεκριμένα, η δημιουργία των συμπλόκων αυτών οφείλεται κατά κύριο λόγο σε διαμοριακές δυνάμεις, όπως είναι οι δυνάμεις van der Waals, ηλεκτροστατικές δυνάμεις και δεσμούς υδρογόνου. Τέλος, έχει παρατηρηθεί ότι δύναται να σχηματιστούν τόσο σύμπλοκα εγκλεισμού, όσο και μη-εγκλεισμού μεταξύ της κυκλοδεξτρίνης κι ενός μορίου ταυτόχρονα. [33], [34], [35]

4.3. Πλεονεκτήματα χρήσης των κυκλοδεξτρινών ως φορείς εγκλεισμού

Οι κυκλοδεξτρίνες χρησιμοποιούνται ευρέως ως φορείς εγκλεισμού, ειδικά στη φαρμακευτική βιομηχανία για τους εξής λόγους:

1. Βελτίωση της διαλυτότητας: Οι κυκλοδεξτρίνες αυξάνουν τη διαλυτότητα στο νερό πολλών ελαφρώς διαλυτών φαρμακευτικών σκευασμάτων, σχηματίζοντας σύμπλοκα εγκλεισμού με κάποια από τα άπολα μόρια ή ομάδες που αυτά διαθέτουν. Το αποτέλεσμα είναι ο σχηματισμός ενός διαλυτού στο νερό συμπλόκου κυκλοδεξτρίνης-φαρμάκου.
2. Βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας: Σημαντική προϋπόθεση για την απορρόφηση ενός φαρμάκου που χορηγείται από στόματος, αποτελεί η απελευθέρωση του σε διαλυτή μορφή όταν φτάσει στο στόχο. Όταν ένα φάρμακο είναι εγκλεισμένο σε κυκλοδεξτρίνη μειώνεται η υδροφοβικότητά του κι άρα βελτιώνονται ο βαθμός διάλυσης και απορρόφησής του.
3. Βελτίωση της σταθερότητας: Τα σύμπλοκα κυκλοδεξτρίνης βελτιώνουν τη χημική, φυσική και θερμική σταθερότητα των φαρμάκων. Για να αποσυντεθεί ή να υποβαθμισθεί η ποιότητα ενός φαρμάκου θα πρέπει να εκτεθεί σε οξυγόνο, νερό, ακτινοβολία ή υψηλές θερμοκρασίες ή να συμβεί κάποια χημική αντίδραση. Όταν ένα μόριο είναι «παγιδευμένο» στο εσωτερικό των κυκλοδεξτρινών, είναι πολύ δύσκολο για τα αντιδρώντα να διαχυθούν εντός της κοιλότητας και να αντιδράσουν με το προστατευόμενο «φιλοξενούμενο» μόριο.
4. Μείωση διαταραχών: Τα φάρμακα συχνά προκαλούν ερεθισμούς στο στομάχι, το δέρμα ή τα μάτια, ανάλογα με τον τρόπο χορήγησής τους. Ο σχηματισμός συμπλόκων με τις κυκλοδεξτρίνες οδηγεί στη σταδιακή απελευθέρωσή και απορρόφησή τους κι άρα βρίσκονται σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις σε ελεύθερη μορφή.
5. Αποφυγή φαινομένων ασυμβατότητας: Οι χημικές ενώσεις που περιέχονται σ' ένα φαρμακευτικό σκεύασμα είναι συχνά μη-συμβατές μεταξύ τους και για αυτό η δημιουργία ο εγκλεισμός ενός εκ των συστατικών αποτρέπει τις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις και συνεπώς σταθεροποιεί το φαρμακευτικό σκεύασμα.
6. Βελτίωση της γεύσης και του αρώματος: Η δυσάρεστη γεύση και οσμή ενός φαρμακευτικού σκευάσματος, μπορεί να μειωθεί σε σημαντικό βαθμό ή και να εξαφανισθεί μέσα από τον εγκλεισμό του σε σύμπλοκο με κυκλοδεξτρίνη κι άρα την «απόκρυψη» του από τους αισθητήριους υποδοχείς.

7. Καλύτερος χειρισμός υλικών: Ουσίες που βρίσκονται σε ελαιώδη μορφή σε θερμοκρασία περιβάλλοντος μπορεί να είναι δύσκολες στο χειρισμό και στο να διαμορφωθούν σταθερές δόσεις φαρμάκου σε στερεή μορφή για τον ασθενή. Ωστόσο, ο σχηματισμός συμπλόκων του φαρμάκου σε φορέα κυκλοδεξτρίνη μπορεί να μετατρέψει τέτοιου είδους ουσίες σε μικροκρυσταλλικές ή άμορφες σκόνες. [36]

4.4. Χαρακτηρισμός συμπλόκων

4.4.1. Μέγεθος (size)

Ένα από τα πιο σημαντικά χαρακτηριστικά των νανοσωματιδίων αποτελεί το μέγεθός τους. Ο όρος νανοσωματίδια χρησιμοποιείται για να περιγράψει στερεά κολλοειδή σωματίδια με διάμετρο που κυμαίνεται από 10 nm έως 1000 nm, ενώ τα σωματίδια με διάμετρο από 1 μm έως 1000 μm, ονομάζονται μικροσωματίδια.

Το μέγεθος των σχηματιζόμενων σωματιδίων εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως την κατάλληλη επιλογή της μεθόδου σχηματισμού τους και του φορέα εγκλεισμού, τη γραμμομοριακή αναλογία του «φιλοξενούμενου» μορίου, του «ξενιστή» καθώς και του διαλύτη και τέλος από τη δραστική ουσία που εγκλείστηκε.

Ακόμη, το μέγεθος των σωματιδίων επηρεάζει τη φύση και τα χαρακτηριστικά των συμπλόκων, όπως τα επιφανειακά χαρακτηριστικά και τη φυσικοχημική σταθερότητά τους, αλλά ακόμη και την απελευθέρωση και τη στοχευμένη δράση της εγκλεισμένης ένωσης.

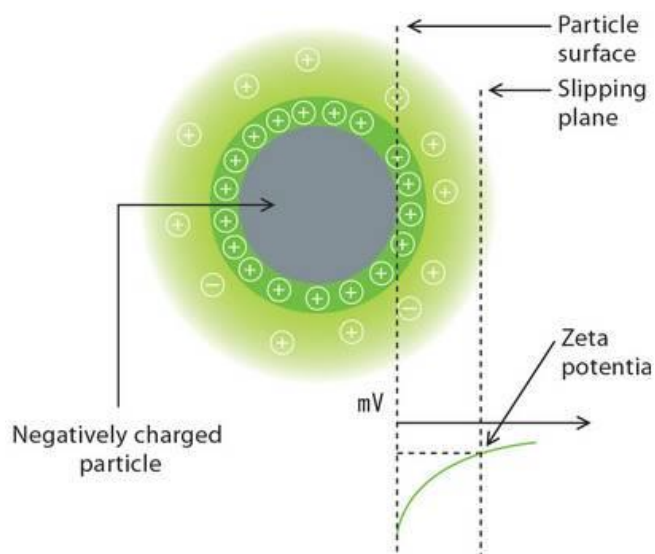
Ωστόσο, δεν υπάρχει βέλτιστη τιμή μεγέθους νανοσωματιδίων, καθώς το επιθυμητό μέγεθος των σωματιδίων ποικίλλει ανάλογα με το εκάστοτε πεδίο εφαρμογής τους και ειδικά σε φαρμακευτικές εφαρμογές όπου υπάρχουν αυστηροί περιορισμοί, η νανοκλίμακα αφορά κυρίως σωματίδια που η διάμετρός τους κυμαίνεται από 1 έως 100 nm. Γενικά, σωματίδια με μικρό μέγεθος (<300nm) καθίστανται ιδιαίτερος εύχρηστα, καθώς το μέγεθός τους είναι συγκρίσιμο με αυτό των βιολογικών συστημάτων όπως το κύτταρο, οι πρωτεΐνες και τα γονίδια. [37], [38]

4.4.2. Δείκτης πολυδιασποράς (PDI)

Ο δείκτης πολυδιασποράς αποτελεί ένα μέτρο της ομοιομορφίας του μεγέθους των σωματιδίων κι επομένως είναι ενδεικτικό και της ομοιομορφίας των χαρακτηριστικών του συμπλόκου. Μία τιμή κοντά στο μηδέν υποδεικνύει μικρή διακύμανση στο μέγεθος των σωματιδίων (μονοδιασπορά). Ενώ τιμές μεγαλύτερες από 0.20 υποδεικνύουν ευρεία κατανομή μεγέθους των σωματιδίων (πολυδιασπορά). Στην περίπτωση της μονοδιασποράς, το σύστημα πλεονεκτεί στο ότι μπορεί να παρέχει μια σταθερή ποσότητα της ένωσης, σε σύγκριση με ένα μίγμα από πολυδιασπαρμένα σωματίδια, με διαφορετικές ικανότητες φόρτωσης. [37], [38]

4.4.3. ζ-δυναμικό (ζ-potential)

Το ζ-δυναμικό είναι μία ακόμη παράμετρος που αφορά το χαρακτηρισμό των νανοσωματιδίων και ορίζεται ως η διαφορά δυναμικού μεταξύ της σταθερά δεσμευμένης στιβάδας ιόντων στην επιφάνεια των σωματιδίων και της ηλεκτρικά ουδέτερης περιοχής του διαλύματος. Υπολογίζεται με μετρήσεις κινητικότητας των σωματιδίων, παρουσία ηλεκτρικού πεδίου.



Εικόνα 21. Σχηματική απεικόνιση του τρόπου υπολογισμού του ζ-δυναμικού.

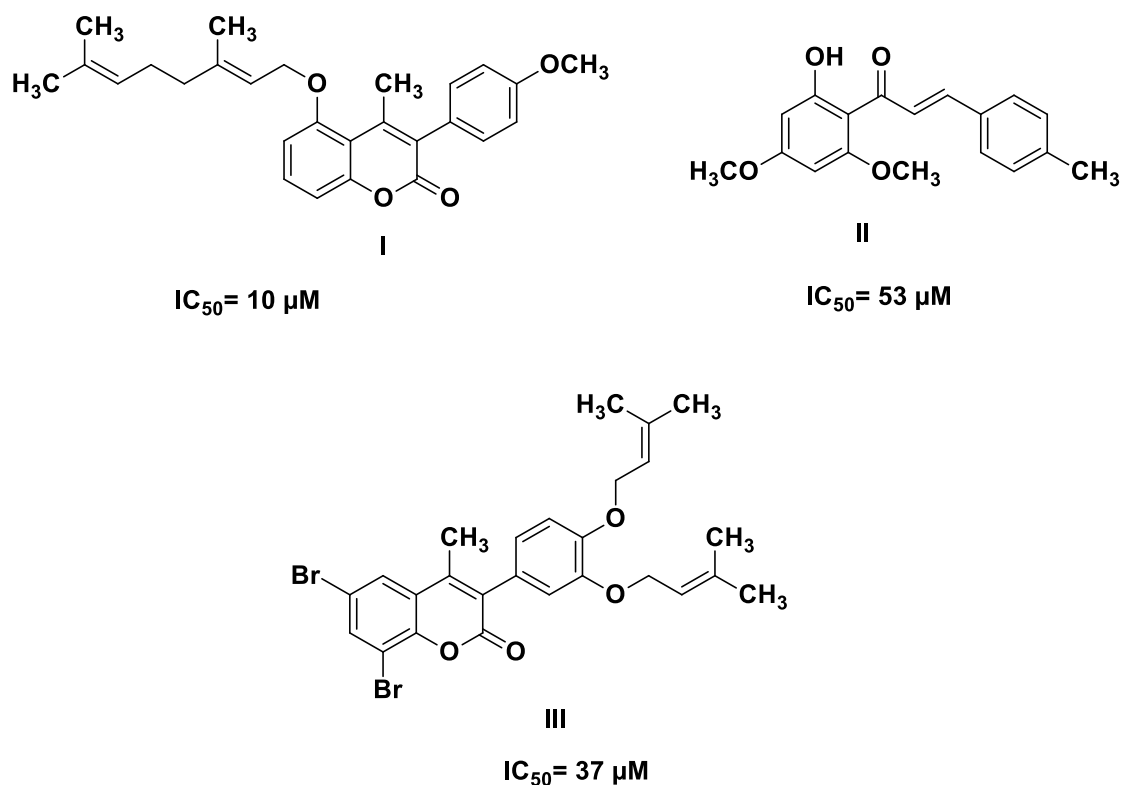
Όταν η τιμή του ζ-δυναμικού είναι υψηλά αρνητική ή υψηλά θετική, τότε τα σωματίδια έχουν την τάση να απωθούν το ένα το άλλο κι έτσι αποφεύγονται συσσωματώσεις. Αυτό αποτελεί μία ένδειξη σταθερότητας των νανοσωματιδίων. Γενικά διασπορές με ζ-δυναμικό μεγαλύτερο από +30 mV ή από -30 mV, θεωρούνται σταθερές.

Τέλος, η τιμή του ζ-δυναμικού επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, όπως από το φορτίο των διαφορετικών συστατικών των νανοσωματιδίων, τη θερμοκρασία, το μέσο διασποράς και τη μορφολογία της επιφάνειάς του, αλλά κυρίως από το pH του μέσου. [37], [39], [40]

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπό της παρούσας διπλωματικής εργασίας αποτελεί ο σχεδιασμός, η σύνθεση κι ο χαρακτηρισμός νέων πρενυλοξυ-κουμαρινικών αναλόγων, αλλά και νέων μορίων κουμαρινών-χαλκονών, καθώς κι η αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής και αντιφλεγμονώδους δράσης τους σε ειδικές *in vitro* βιοδοκιμές.

Η επιλογή των κουμαρινικών αναλόγων στηρίχτηκε σε μόρια-οδηγούς που έχουν παρασκευαστεί σε προηγούμενες εργασίες της ερευνητικής μας ομάδας και έχουν παρουσιάσει αξιόλογη αντιοξειδωτική, αλλά και αντιφλεγμονώδη δράση. [19],[41] Χαρακτηριστικά η 5-γερανυλοξυ-3-(4-μεθοξυφαινυλο)-4-μεθυλο-κουμαρίνη (I) αποτέλεσε μόριο οδηγό (Εικόνα 22) για τη σύνθεση νέων μορίων, δομικά τροποποιημένων στο φαινολικό δακτύλιο της θέσης 3- του κουμαρινικού δακτυλίου, προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση του υποκαταστάτη στη βιολογική δράση των νέων κουμαρινών.



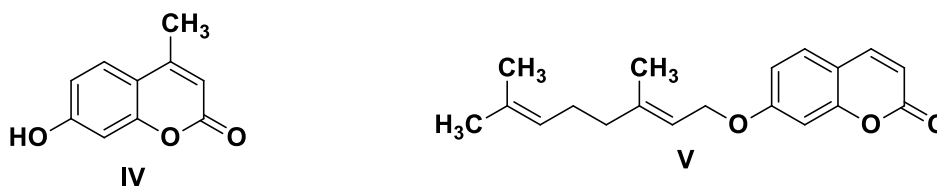
Εικόνα 22. Μόρια οδηγό με αξιόλογη ικανότητα αναστολής του ενζύμου λιποξυγονάση (LO) από σόγια.

Ειδικότερα, πραγματοποιήθηκε η σύνθεση των 5- ή 7-ακετυλοξυ-κουμαρινικών αναλόγων που περιέχουν φαινυλο- ή / και αλκυλο-υποκαταστάτες. Χρησιμοποιήθηκαν έξι διαφορετικά υποκατεστημένα φαινυλοξικά οξέα για τη δημιουργία δομικά τροποποιημένων κουμαρινικών αναλόγων. Στη συνέχεια, μέσω μίας αντίδρασης απακετυλίωσης, συντέθηκαν τα

αντίστοιχα 5- ή 7-υδροξυ-κουμαρινικά παράγωγα, από τα οποία προέκυψαν μέσω αντίδρασης αλκυλίωσης τα 5- ή 7- γερανυλοξυ κουμαρινικά παράγωγα.

Πραγματοποιήθηκε επίσης η σύνθεση νέων παραγώγων που συνδυάζουν το ετεροκυκλικό σύστημα της κουμαρίνης με το α, β-ακόρεστο καρβονυλικό σύστημα της χαλκόνης σε ένα μόριο. Ο συνδυασμός αυτός αποτελεί μια καινοτόμο προσέγγιση στην ανάπτυξη νέων μορίων με βελτιωμένη και συνδυασμένη αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση. Για το σκοπό αυτό, αναπτύχθηκε συνθετική μεθοδολογία με δύο τρόπους: (α) με συμβατική μέθοδο θέρμανσης και (β) με μικροκυματική ακτινοβολία ώστε να επιτευχθεί μία πιο σύντομη, αλλά και περισσότερο φιλική ως προς το περιβάλλον σύνθεση.

Ακόμη, στηριζόμενοι στα αποτελέσματα του εργαστηρίου και σε ενώσεις που αποτελούν φυσικά προϊόντα με αξιολογη βιολογική δράση (αντιοξειδωτική και κυτταροτοξική δράση -μελέτη σε κυτταρικές σειρές του ανθρώπινου νευροβλαστώματος (SK-N-SH) και του ανθρώπινου ηπατώματος (HepG2)-) [20] πραγματοποιήθηκε ο εγκλεισμός της 4-μεθυλο-ουμπελιφερόνης και της ωραπτένης σε β-κυκλοδεξτρίνη. Ακολούθησε ο χαρακτηρισμός των συμπλόκων και η μελέτη της δομής τους μέσω φασματοσκοπίας NMR και FT-IR.



Εικόνα 23. Μόριο IV : 4-μεθυλο-ουμπελιφερόνη (% Αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης (LP) (100 μ M) = 93%), **Μόριο V** : ωραπτένη (% Αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης (LP) (100 μ M) = 52%, HO \cdot (%) (100 μ M) = 100, SK-N-SH IC₅₀=14.1 μ M, HepG2 IC₅₀=78.4 μ M).

Τέλος, τα μόρια αυτά αξιολογήθηκαν τόσο για την αντιοξειδωτική τους δράση μέσω της ικανότητας δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH και της αναστολής της λιπιδικής υπεροξειδωσης που επάγεται από την ελεύθερη ρίζα AAPH όσο και για την αντιφλεγμονώδη δράση τους όπως αυτή εκφράζεται μέσω της ικανότητάς τους να αναστέλλουν τη δράση του ενζύμου λιποξυγονάση από σόγια.

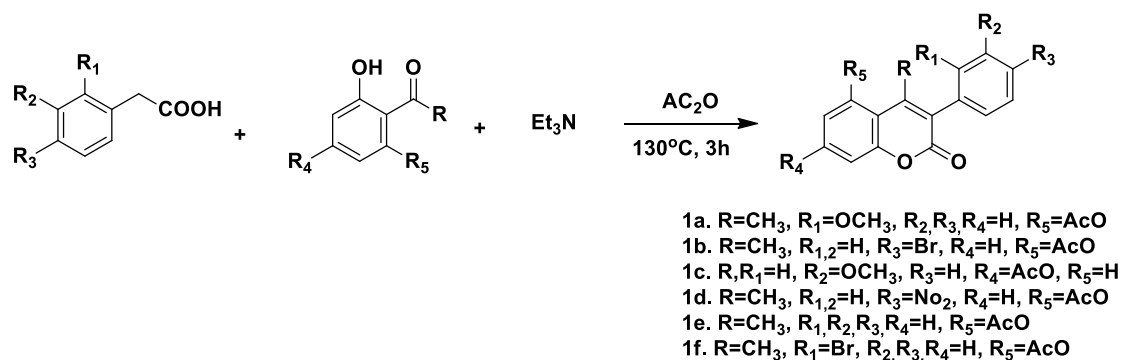
ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ, ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

1. Σχεδιασμός νέων παραγώγων

Στο παρόν υποκεφάλαιο παρουσιάζονται ο σχεδιασμός και η συνθετική πορεία που ακολουθήθηκε για τη σύνθεση των νέων κουμαρινικών αναλόγων.

1.1. Σύνθεση των 5- ή 7- ακετυλοξυ-3-αρυλο-κουμαρινών (1a-1f)

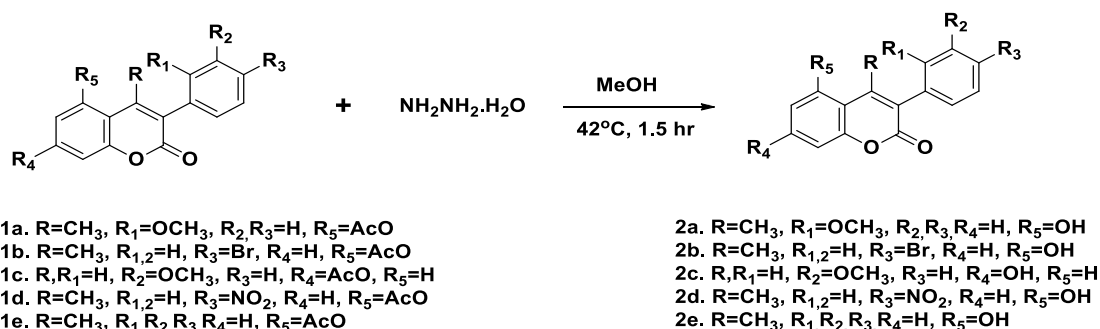
Η σύνθεση των ακετυλοξυ-κουμαρινικών παραγώγων, τα οποία διαθέτουν υποκαταστάτες -Br, -OCH₃ ή -NO₂ σε θέσεις *ορθο*-, *μετα*- και *παρα*- του αρωματικού δακτυλίου της θέσης 3-, πραγματοποιήθηκε μέσω ενδομοριακής συμπύκνωσης μεταξύ του κατάλληλα υποκατεστημένου φαινυλοξικού οξέος, και της 2,6-διυδροξυ-ακετοφαινόνης ή της 2,4-διυδροξυ-βενζαλδεΐδης παρουσία οξικού ανυδρίτη (AC₂O) και τριεθυλαμίνης ως βάση. Ως αποτέλεσμα προέκυψαν έξι ακετυλοξυ-κουμαρινικά ανάλογα (1a-1f) (Σχ. 1).



Σχήμα 1. Συνθετική πορεία 5 ή 7- ακετυλοξυ-3-αρυλο-κουμαρινών.

1.2. Σύνθεση των 3-αρυλο-5- ή 7-υδροξυ-κουμαρινών (2a-2e)

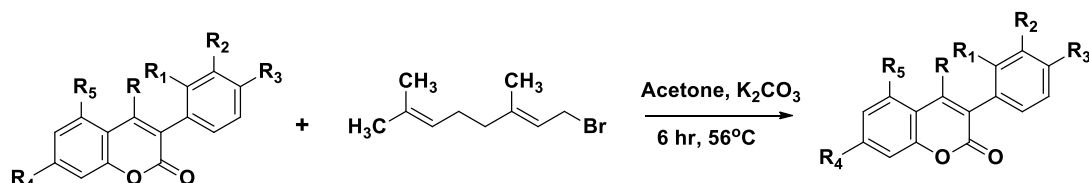
Η σύνθεση των υδροξυ-κουμαρινών επιτεύχθηκε μέσω μίας αντίδρασης απακετυλίωσης / αποπροστασίας των αντίστοιχων ακετυλοξυ-κουμαρινών (1a-1e). Οι κατάλληλα υποκατεστημένες ακετυλοξυ-κουμαρίνες αντιδρούν με μονοένυδρη υδραζίνη σε διαλύτη μεθανόλη και προκύπτουν τα νέα παράγωγα 2a-2e (Σχ. 2).



Σχήμα 2. Συνθετική πορεία 3-αρυλο-5- ή 7- υδροξυ-κουμαρινών.

1.3. Σύνθεση των 3-αρυλο-5- ή 7- γερανυλοξυ-κουμαρινών (3a-3e)

Η σύνθεση των γερανυλοξυ-κουμαρινών πραγματοποιήθηκε μέσω της σύνθεσης αιθέρων κατά Williamson μεταξύ μιας κατάλληλα υποκατεστημένης υδροξυ-κουμαρίνης (**2a-2e**) και του γερανυλο-βρωμιδίου σε περίσσεια, παρουσία ακετόνης ως διαλύτη και βάσης K_2CO_3 . Ως αποτέλεσμα, προέκυψαν τα πέντε γερανυλοξυ-παράγωγα **3a-3e** (Σχ. 3).



2a. R=CH₃, R₁=OCH₃, R₂,R₃,R₄=H, R₅=OH

2b. R=CH₃, R_{1,2}=H, R₃=Br, R₄=H, R₅=OH

2c. R,R₁=H, R₂=OCH₃, R₃=H, R₄=OH, R₅=H

2d. R=CH₃, R_{1,2}=H, R₃=NO₂, R₄=H, R₅=OH

2e. R=CH₃, R₁,R₂,R₃,R₄=H, R₅=OH

3a. R=CH₃, R₁=OCH₃, R₂,R₃,R₄=H, R₅=C₁₀H₁₇Br

3b. R=CH₃, R_{1,2}=H, R₃=Br, R₄=H, R₅=C₁₀H₁₇Br

3c. R,R₁=H, R₂=OCH₃, R₃=H, R₄=C₁₀H₁₇Br, R₅=H

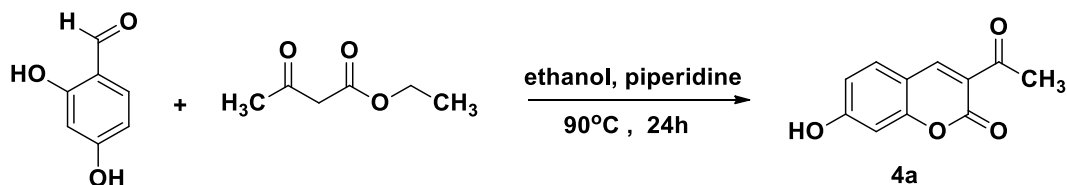
3d. R=CH₃, R_{1,2}=H, R₃=NO₂, R₄=H, R₅=C₁₀H₁₇Br

3e. R=CH₃, R₁,R₂,R₃,R₄=H, R₅=C₁₀H₁₇Br

Σχήμα 3. Συνθετική πορεία 3-αρυλο- 5 ή 7-γερανυλοξυ-κουμαρινών.

1.4. Σύνθεση της 3-ακετυλο-7-υδροξυ-κουμαρίνης (4a)

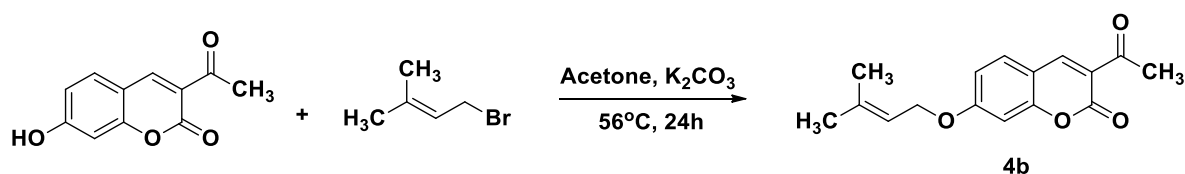
Η σύνθεση της 3-ακετυλο-7-υδροξυ-κουμαρίνης επιτεύχθηκε μέσω αντίδρασης μεταξύ της 2,4-διυδροξυ-βενζαλδεΐδης και του ακετοξικού αιθυλεστέρα σε στοιχειομετρική αναλογία 1:1 σε διαλύτη αιθανόλη, παρουσία πιπεριδίνης (Σχ. 4).



Σχήμα 4. Συνθετική πορεία της 3-ακετυλο-7-υδροξυ-κουμαρίνης.

1.5. Σύνθεση της 3-ακετυλο-7-πρενυλοξυ-κουμαρίνης (4b)

Η σύνθεση της 3-ακετυλο-7-πρενυλοξυ-κουμαρίνης πραγματοποιήθηκε μέσω της σύνθεσης αιθέρων κατά Williamson μεταξύ της 3-ακετυλο-7-υδροξυ-κουμαρίνης (**4a**) και του πρενυλο-βρωμιδίου σε περίσσεια, παρουσία ακετόνης ως διαλύτη και βάσης K_2CO_3 (Σχ. 5).



Σχήμα 5. Συνθετική πορεία της 3-ακετυλο-7-πρενυλοξυ-κουμαρίνης.

1.6. Σύνθεση κουμαρινών-χαλκονών (5a-5b)

Για την επίτευξη της σύνθεσης των υβριδικών μορίων κουμαρινών-χαλκονών μέσω αλδολικής συμπύκνωσης εξετάστηκαν τρεις εναλλακτικές πορείες σύνθεσης μελετώντας τις παραμέτρους της αντίδρασης, όπως φαίνεται και στον Πίνακα 2. Σε κάθε περίπτωση, οι αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν μεταξύ της 3-ακετυλο-7-υδροξυ-κουμαρίνης (**4a**) και της 2,4,5-τριμεθοξυ-βενζαλδεΰδης σε στοιχειομετρική αναλογία 1:1. Η διαφορά μεταξύ των εναλλακτικών πορειών έγκειται στη χρησιμοποιούμενη βάση, αλλά και στις συνθήκες της εκάστοτε αντίδρασης.

Πίνακας 2. Μελέτη συνθηκών αντίδρασης σύνθεσης κουμαρινών-χαλκονών.

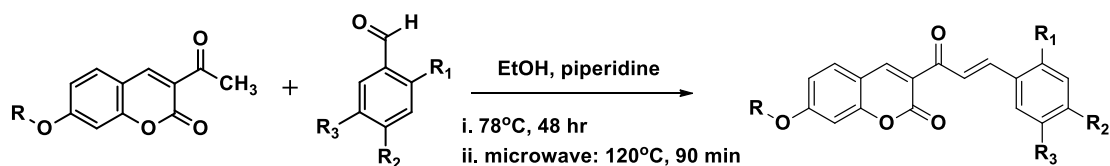
Συνθετική πορεία	3-ακετυλο-7-υδροξυ-κουμαρίνη	2,4,5-τριμεθοξυ-βενζαλδεΰδη	Διαλύτης	Βάση	Συνθήκες	Απόδοση
1	1 eq	1 eq	Ξηρό DMF	NaH 60% w/w	25 °C, 48 hr	ίχνη
2	1 eq	1 eq	EtOH	KOH 20% w/v	78 °C, 24 hr	ίχνη
3	1 eq	1 eq	EtOH	Πιπεριδίνη	78 °C, 24 hr	30%

Παρατηρήθηκε λοιπόν, ότι η σύνθεση του επιθυμητού μορίου **5a** κουμαρίνης-χαλκόνης από την 3-ακετυλο-7-υδροξυ-κουμαρίνη (**4a**) και την 2,4,5-τριμεθοξυ-βενζαλδεΰδη επιτεύχθηκε σε ικανοποιητική απόδοση μέσω της τρίτης μεθόδου. Ακόμη, με την ίδια μέθοδο συντέθηκε και το μόριο κουμαρίνης-χαλκόνης **5b**, από την 3-ακετυλο-7-πρενυλοξυ-κουμαρίνη (**4b**) και την 2-μεθοξυ-βενζαλδεΰδη.

Σε μία προσπάθεια βελτιστοποίησης του χρόνου αντίδρασης, αλλά και μείωσης της καταναλισκόμενης ενέργειας πραγματοποιήθηκε επιτυχώς η σύνθεση του ίδιου μορίου (**5a**), χρησιμοποιώντας τις ίδιες στοιχειομετρικές ποσότητες αντιδρώντων, διαλύτη και βάσης με τη χρήση όμως μικροκυμάτων.

Πιο συγκεκριμένα, η **5a** συντέθηκε με τη χρήση μικροκυματικής ακτινοβολίας, με αποτέλεσμα τη μείωση του χρόνου της αντίδρασης και της

καταναλισκόμενης ενέργειας. Συνεπώς, επιτεύχθηκε σύνθεση του μορίου κουμαρίνης-χαλκόνης με μία μέθοδο περισσότερο φιλική προς το περιβάλλον.



4a. R=H
4b. R=C₅H₉Br

5a. R=H, R_{1,2,3}=OCH₃ (i & ii)
5b. R=C₅H₉Br, R₁=OCH₃, R_{2,3}=H (i)

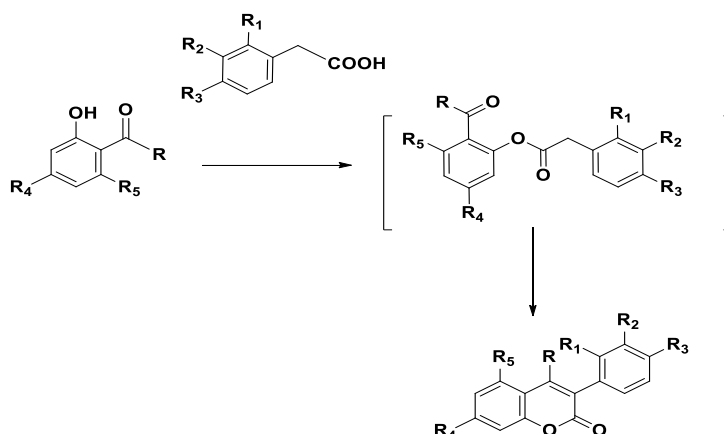
Σχήμα 6. Συνθετική πορεία κουμαρινών-χαλκονών.

Συνοψίζοντας, στην πρώτη περίπτωση, η αντίδραση πραγματοποιείται με τη συμβατική μέθοδο (i) στους 78 °C σε 48 ώρες, ενώ με τη δεύτερη μέθοδο (ii) η αντίδραση πραγματοποιείται με τη χρήση μικροκυματικής ακτινοβολίας στους 120 °C σε 90 λεπτά.

2. Μηχανισμοί αντιδράσεων

2.1. Μηχανισμός σύνθεσης ακετυλοξυ-κουμαρινών

Ο μηχανισμός της αντίδρασης περιλαμβάνει μία πυρηνόφιλη προσβολή από το μη δεσμικό ζεύγος ηλεκτρονίων του υδροξυλίου της θέσης 2- της ακετοφαινόνης/ βενζαλδεΐδης στο καρβονύλιο του φαινυλοξικού οξέος, οπότε και σχηματίζονται οι αντίστοιχοι ενδιάμεσοι εστέρες οι οποίοι στις συνθήκες της αντίδρασης δεν απομονώνονται, αλλά υφίστανται ενδομοριακή αντίδραση συμπύκνωσης προς τις επιθυμητές κουμαρίνες (Σχ. 7).

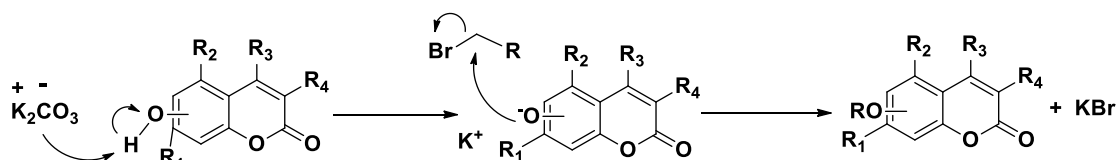


Σχήμα 7. Μηχανισμός σύνθεσης ακετυλοξυ-κουμαρινών.

2.2. Μηχανισμός σύνθεσης πρενυλοξυ-κουμαρινών

Οι πρενυλοξυ-κουμαρίνες συντίθενται μέσω αντίδρασης σύνθεσης αιθέρων κατά Williamson με S_N2 μηχανισμό. Αρχικά, η βάση που

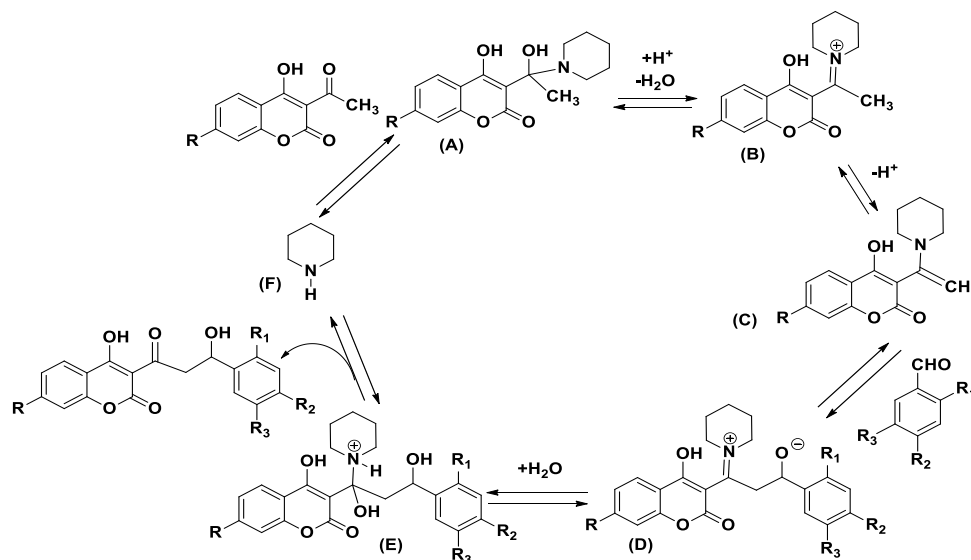
χρησιμοποιείται, στη συγκεκριμένη περίπτωση το K_2CO_3 , αποσπά ένα πρωτόνιο από την κατάλληλα υποκατεστημένη υδροξυ-κουμαρίνη, δημιουργώντας έτσι ένα αλκοξείδιο. Το πυρηνόφιλο αλκοξείδιο προσβάλλει τον ηλεκτρονιόφιλο άνθρακα του βρωμιδίου και μέσω πυρηνόφιλης υποκατάστασης οδηγεί στη δημιουργία του επιθυμητού προϊόντος (Σχ. 8).



Σχήμα 8. Μηχανισμός σύνθεσης πρενυλοξυ-κουμαρινών.

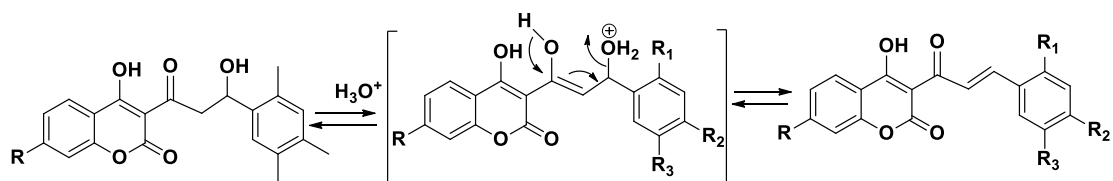
2.3. Μηχανισμός σύνθεσης κουμαρινών-χαλκονών

Η σύνθεση κουμαρινών-χαλκονών πραγματοποιείται μέσω αλδολικής συμπύκνωσης και καταλύεται από την πιπεριδίνη. Ο καταλυτικός κύκλος περιλαμβάνει τον ενδιάμεσο σχηματισμό καρβινολαμίνης (A), ιόντος ιμινίου (B) και εναμίνης (C). Στη συνέχεια, πραγματοποιείται πυρηνόφιλη προσθήκη στην αλδεΐδη οπότε σχηματίζεται ο νέος δεσμός C – C (D). Ο κύκλος ολοκληρώνεται με την προσθήκη H_2O προς το σχηματισμό μιας νέας καρβινολαμίνης (E) και διάσπασή της προς το προϊόν αλδολικής συμπύκνωσης και απελευθέρωση της αμίνης (F) (Σχ. 9).



Σχήμα 9. Μηχανισμός καταλυόμενης από πιπεριδίνη αλδολικής συμπύκνωσης.

Ωστόσο, δε δύναται να απομονωθεί το προϊόν της αλδολικής συμπύκνωσης διότι η όξινη κατεργασία του μίγματος της αντίδρασης οδηγεί στην αφυδάτωση του προϊόντος και στο σχηματισμό της επιθυμητής χαλκόνης, όπως φαίνεται στο σχήμα 10.



Σχήμα 10. Μηχανισμός αφυδάτωσης του προϊόντος αλδολικής συμπύκνωσης.

3. Ταυτοποίηση ενώσεων

3.1. Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού

Η φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR)) βασίζεται σε διεγέρσεις μαγνητικών πυρήνων, οι οποίοι βρίσκονται σε ισχυρό ομογενές μαγνητικό πεδίο. Η συχνότητα της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας που προκαλεί αυτές τις διεγέρσεις, βρίσκεται στην περιοχή των ραδιοσυχνοτήτων.

Επειδή οι ατομικοί πυρήνες έχουν φορτίο και αυτοπεριστρέφονται γύρω από τον πυρηνικό τους άξονα, δημιουργούν ένα μαγνητικό δίπολο, που έχει μαγνητική ροπή, μ , κατά μήκος αυτού του άξονα. Η γωνιακή στροφορμή του αυτοπεριστρεφόμενου πυρήνα (I) χαρακτηρίζεται από έναν κβαντικό αριθμό αυτοστροφής (spin), που παίρνει τιμές 0, $\frac{1}{2}$, $\frac{2}{2}$, $\frac{3}{2}$ κ.ο.κ., σε μονάδες $h/2\pi$, ανάλογα με το είδος του πυρήνα.

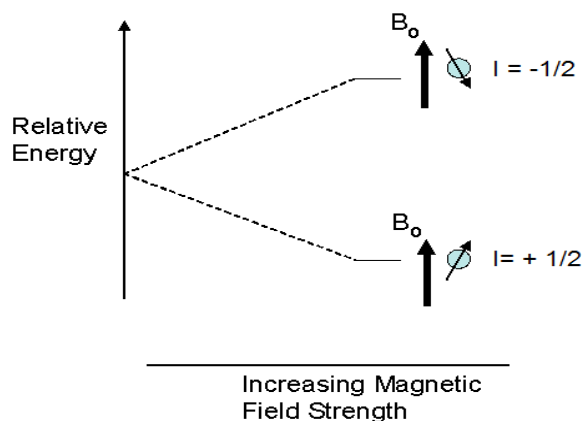
Υπάρχουν τρεις βασικές ομάδες πυρήνων:

- 1) Πυρήνες που έχουν άρτιο ατομικό και μαζικό αριθμό, όπως ^{13}C , ^{16}O , ^{32}S , δεν παρουσιάζουν γωνιακή στροφορμή ($I=0$), δεν εκδηλώνουν μαγνητικές ιδιότητες και δε δίνουν φάσματα NMR.
- 2) Πυρήνες που έχουν περιττό μαζικό αριθμό και περιττό ή άρτιο ατομικό αριθμό, όπως ^1H , ^{13}C , ^{19}F , παρουσιάζουν αριθμούς spin που είναι περιττά ακέραια πολλαπλάσια του $\frac{1}{2}$.
- 3) Πυρήνες που έχουν άρτιο μαζικό αριθμό και περιττό ατομικό αριθμό, όπως ^2H , ^{14}N , παρουσιάζουν ακέραιους αριθμούς spin.

Πυρήνες με $I>0$, όταν βρεθούν σε εξωτερικό, ομογενές και στατικό μαγνητικό πεδίο, B_0 , συμπεριφέρονται όπως μία μαγνητική ράβδος και το άνυσμα της στροφικής ορμής τους παίρνει $2I+1$ προσανατολισμούς ως προς τη διεύθυνση του πεδίου. Σε κάθε προσανατολισμό αντιστοιχεί μία ορισμένη τιμή ενέργειας E .

Για τους πυρήνες με $I=\frac{1}{2}$, οι οποίοι παρουσιάζουν συμμετρική σφαιρική κατανομή του φορτίου τους κι είναι οι πλέον ενδιαφέροντες στη φασματοσκοπία NMR, είναι δυνατοί δύο προσανατολισμοί,

παράλληλα ($I=+1/2$) και αντιπαράλληλα ($I=-1/2$) προς τη διεύθυνση του πεδίου.



Εικόνα 24. Ενεργειακή Διαφορά ΔE μεταξύ πυρήνων με παράλληλο και αντιπαράλληλο spin σε σχέση με το εφαρμοζόμενο μαγνητικό πεδίο (B_0).

Ο παράλληλος προσανατολισμός αποτελεί τη βασική κατάσταση χαμηλής ενέργειας, ενώ ο αντιπαράλληλος τη διεγερμένη κατάσταση υψηλής ενέργειας. Στην τάση για προσανατολισμό των πυρήνων, αντιτίθεται η θερμική κίνηση. Τα φάσματα NMR προκύπτουν από διεγέρσεις από τη βασική στη διεγερμένη κατάσταση κατά την επίδραση ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας ικανής να προκαλέσει συντονισμό.

3.2. Χαρακτηριστικά φασμάτων NMR

Τα φάσματα NMR βασίζονται στην ύπαρξη χημικής μετατόπισης, που συνίσταται στην εξάρτηση της συχνότητας συντονισμού των μαγνητικών πυρήνων από το χημικό τους περιβάλλον και στο φαινόμενο της spin-spin συζεύξεως (spin-spin coupling), δηλαδή του διαχωρισμού μίας κορυφής συντονισμού σε ομάδα πολλαπλών συμμετρικών κορυφών, που οφείλεται στην αλληλεπίδραση των spin των γειτονικών πυρήνων.

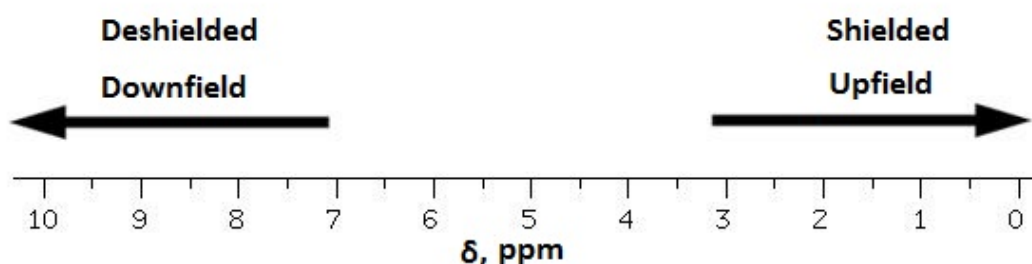
Τα πρωτόνια συντονίζονται σε διαφορετικές συχνότητες, ανάλογα με το είδος του δεσμού H-X και την ύπαρξη στο μόριο ομάδων, που επηρεάζουν τη συμπεριφορά των πρωτονίων. Το φαινόμενο αυτό οφείλεται στο ότι τα ηλεκτρόνια «προστατεύουν» ή «θωρακίζουν» τον πυρήνα (διαμαγνητική θωράκιση), δημιουργώντας με την επίδραση του εφαρμοζόμενου μαγνητικού πεδίου ένα μικρό τοπικό μαγνητικό πεδίο αντίθετης κατευθύνσεως από το εφαρμοζόμενο.

Σε δεσμούς H→X, όπου X είναι δέκτης ηλεκτρονίων, η ηλεκτρονιακή πυκνότητα στον πυρήνα υδρογόνου είναι ελαττωμένη, με επακόλουθο τη μειωμένη ηλεκτρονική προστασία και τη μετατόπιση του σήματος συντονισμού

σε μικρότερες τιμές πεδίου. Αντίθετα, σε δεσμούς H←Y, όπου Y είναι δότης ηλεκτρονίων, η ηλεκτρονική πυκνότητα στον πυρήνα υδρογόνου θα είναι αυξημένη και η συχνότητα συντονισμού μετατοπισμένη σε μεγαλύτερες τιμές πεδίου.

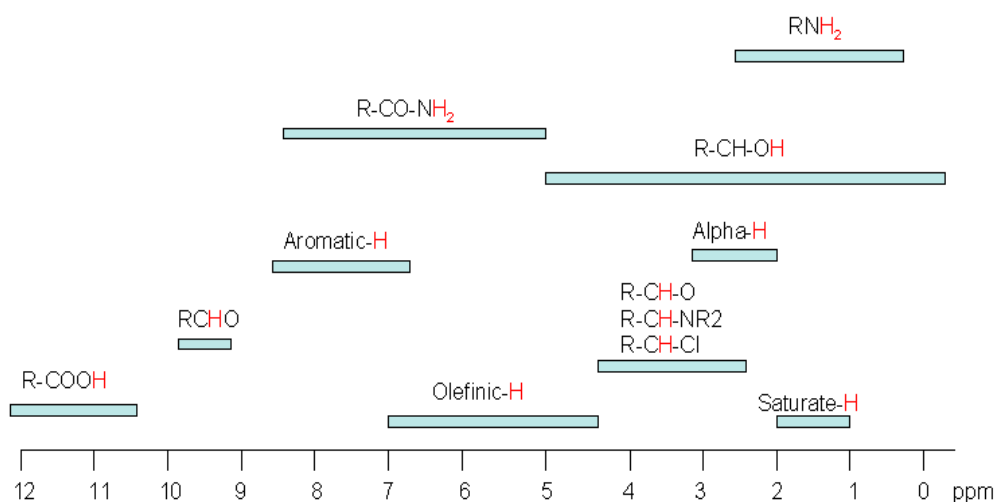
Εκτός από την ηλεκτρονική πυκνότητα, τη θωράκιση του πρωτονίου επηρεάζει κι η ύπαρξη πολλαπλών δεσμών (π-ηλεκτρόνια), λόγω της εμφανίσεως διαμαγνητικής ανισotropίας, δηλαδή λόγω της δυνατότητας περιστροφής των π-ηλεκτρονίων μόνο σε ορισμένες κατευθύνσεις.

Η θέση συντονισμού ενός πρωτονίου εκφράζεται σε σχέση με μία πρότυπη ένωση. Εάν ν_δ και ν_σ είναι οι συχνότητες συντονισμού του εξεταζόμενου πρωτονίου (ή ομάδας πρωτονίων) του δείγματος και της ουσίας αναφοράς αντίστοιχα και ν_o η βασική συχνότητα λειτουργίας του φασματομέτρου (σε Hz), τότε η χημική μετατόπιση εκφράζεται με την κλίμακα δ , όπου $\delta = \frac{\nu_\delta - \nu_\sigma}{\nu_o} 10^6$ ppm.



Εικόνα 25. Άξονας φάσματος NMR.

Πρωτόνια που έχουν το ίδιο χημικό περιβάλλον και είναι χημικώς ισότιμα (ισοδύναμα), είναι συνήθως και μαγνητικώς ισότιμα. Επομένως, τα πρωτόνια αυτά δίνουν μία μόνο κορυφή. Όταν τα πρωτόνια είναι μεν χημικώς ισοδύναμα, αλλά όχι μαγνητικώς, παρατηρούνται διαφορετικά σήματα συντονισμού. Παραδείγματος χάριν, τα πρωτόνια μίας μεθοξυ-ομάδας υφίστανται μεγαλύτερη αποθωράκιση λόγω του ηλεκτρονιόφιλου οξυγόνου σε σχέση με τα μεθυλικά.



Εικόνα 26. Χημικές μετατοπίσεις των κυριότερων χαρακτηριστικών ομάδων στο φάσμα ^1H NMR.

Σε πολλά φάσματα ^1H NMR οι κορυφές συντονισμού διαχωρίζονται σε συμμετρικές πολλαπλές ομάδες κορυφών (διπλές, τριπλές, κλπ.) λόγω της αλληλεπιδράσεως των spin γειτονικών πρωτονίων. Η πολλαπλότητα αυτή καλείται spin spin σύζευξη και οφείλεται στην αλληλεπίδραση των spin γειτονικών μαγνητικών πυρήνων, η οποία διαδίδεται όχι μέσω του χώρου, αλλά μέσω δεσμών του μορίου. Η σύζευξη μεταξύ δύο πυρήνων (ή δύο ομάδων ισότιμων πυρήνων) χαρακτηρίζεται από τη σταθερά συζεύξεως J , που είναι η απόσταση σε Hz των επιμέρους κορυφών κι είναι ανεξάρτητη από την ένταση του μαγνητικού πεδίου.

Όταν μία ομάδα μαγνητικής ισότιμων ^1H , δηλαδή πρωτονίων με ίδιο J , έχει n ισότιμα γειτονικά ^1H , τα ^1H της ομάδας δίνουν μία σύνθετη κορυφή στο φάσμα NMR με πολλαπλότητα $(n+1)$.

3.3. Εφαρμογές φασματοσκοπίας NMR

- 1) Προσδιορισμός της δομής μίας ένωσης: Απ' όλα τα είδη φασμάτων, τα φάσματα NMR δίνουν τις περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τη δομή μίας ένωσης. Για το σκοπό αυτό γίνεται συνήθως συσχετισμός και με δεδομένα που λαμβάνονται από άλλες τεχνικές όπως είναι η φασματομετρία μάζας.
- 2) Ποιοτική ανάλυση: Σύμφωνα με την Εικόνα 26 μπορούν να βρεθούν τα είδη των χαρακτηριστικών ομάδων του μορίου, αλλά και να ανιχνευθούν πιθανές προσμίξεις.
- 3) Ποσοτική ανάλυση: Χρησιμοποιείται κυρίως για τον υπολογισμό της καθαρότητας της ένωσης. [42], [43]

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Σύνθεση κουμαρινικών αναλόγων

1.1. Όργανα και συσκευές

Στην παράγραφο αυτή, γίνεται αναφορά στα όργανα, αλλά και στις συσκευές που χρησιμοποιήθηκαν για την παρακολούθηση των αντιδράσεων κι εν τέλει για τον χαρακτηρισμό των προϊόντων, αλλά και την εύρεση κάποιων ιδιοτήτων τους.

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

Για τις αντιδράσεις που πραγματοποιήθηκαν μέσω μικροκυματικής ακτινοβολίας χρησιμοποιήθηκε η συσκευή «Start SYNTH-Microwave Synthesis Labstation».

Έπειτα, ο χαρακτηρισμός των νέων προϊόντων κι ο έλεγχος της καθαρότητάς τους επιτεύχθηκε μέσω φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR). Τα φάσματα ^1H (πρωτονίου), αλλά και ^{13}C (άνθρακα) NMR, έχουν καταγραφεί με τα όργανα Varian V300 MHz και V600 MHz του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών. Ως διαλύτης χρησιμοποιήθηκε τόσο δευτεριωμένο² χλωροφόρμιο (CDCl_3) όσο και δευτεριωμένο διμεθυλο-σουλφοξείδιο ($\text{DMSO}-d_6$). Οι τιμές των χημικών μετατοπίσεων δίνονται σε ppm, ενώ η πολλαπλότητα των σημάτων στα φάσματα ^1H NMR αναφέρεται ως: s (singlet, απλό), d (doublet, διπλό), t (triplet, τριπλό), q (quartet, τετραπλό), m (multiplet, πολλαπλό), br (broad, ευρύ), dd (doublet of doublets, διπλή διπλών), tt (triplet of triplets, τριπλή τριπλών) και td (triplet of doublets, τριπλή διπλών). Οι σταθερές συζεύξεως, J, δίνονται σε Hz.

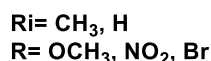
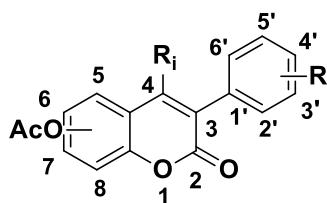
Τέλος, ο προσδιορισμός των σημείων τήξης έγινε σε ανοικτούς τριχοδιαμετρικούς σωλήνες σε μια συσκευή Gallenkamp, ενώ για τη συμπύκνωση των διαλυμάτων χρησιμοποιήθηκε περιστροφικός εξατμιστήρας (Buchi Rotavapor® R-210).

² Δευτέριο: Σταθερό ισότοπο του υδρογόνου, που παριστάνεται με το σύμβολο D. Έχει διπλάσια ατομική μάζα από το υδρογόνο καθότι ο πυρήνας του αποτελείται από ένα νετρόνιο κι ένα πρωτόνιο σε αντίθεση με τον πυρήνα του υδρογόνου που αποτελείται μόνο από ένα πρωτόνιο.

Όλα τα αντιδραστήρια αγοράστηκαν από τις εταιρίες Sigma-Aldrich, Fluka, Alfa Aesar και Acros και χρησιμοποιήθηκαν χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

1.2. Συνθετική πορεία ακετυλοξυ-, υδροξυ- και πρενυλοξυ-κουμαρινικών αναλόγων

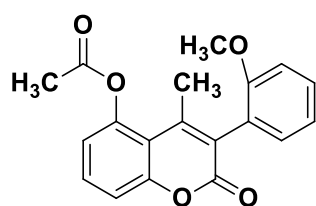
1.2.1. Γενική μέθοδος παρασκευής ακετυλοξυ-κουμαρινών (1a-1f)



Κατάλληλη ποσότητα 2-, 3- ή 4-υποκατεστημένου-φαινυλοξικού οξέος (1 eq) προστίθεται σε σφαιρική φιάλη μαζί με κατάλληλη ποσότητα 2,6-διυδροξυ-ακετοφαινόνης (1.05 eq) ή 2,4-διυδροξυ-βενζαλδεΰδης (1.05 eq) και τριεθυλαμίνης (Et₃N) (3.1 eq) παρουσία οξικού ανυδρίτη [(CH₃CO)₂O]. Το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση στους 130°C για περίπου 3 ώρες, παρουσία κάθετου ψυκτήρα, υπό αδρανείς συνθήκες.

Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται μέσω χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC) σε σύστημα διαλυτών 70% (PE)/ 30% (EtOAc). Μετά το πέρας της αντίδρασης, προστίθεται νερό στο μίγμα και πραγματοποιείται εκχύλιση της υδατικής στιβάδας με διχλωρομεθάνιο, ενώ το οργανικό εκχύλισμα ξηραίνεται με θειικό νάτριο (Na₂SO₄) και έπειτα εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση. Ακολουθεί προσθήκη αιθέρα υπό ψύξη και καταβύθιση στερεού, το οποίο παραλαμβάνεται με διήθηση υπό κενό. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία ¹H και ¹³C NMR.

5-ακετυλοξυ-3-(2-μεθοξυφαινυλο)-4-μεθυλο-2H-χρωμεν-2-όνη (1a)



Σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης ακετυλοξυ-κουμαρινών, σε 2 mL οξικού ανυδρίτη και 819 μL Et₃N προστίθενται 1.81 mmol (300 mg) 2-μεθοξυφαινυλοξικού οξέος και 1.90 mmol (288.4 mg) 2,6-διυδροξυ-ακετοφαινόνης. Παραλαμβάνεται λευκό στερεό.

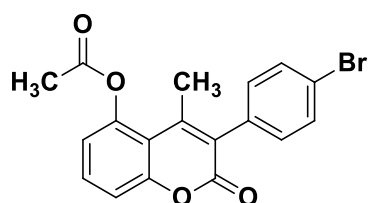
Απόδοση: 35%

Σημείο τήξης: 150.8-152.5 °C

¹H NMR (600MHz, CDCl₃): δ (ppm) 7.49 (t, J=8.4Hz, 1H, H-7), 7.39 (pseudotriplet, H-4'), 7.29 (d, J=8.4Hz, 1H, H-8), 7.14 (d, J=7.2Hz, 1H, H-6), 7.04 (t, J=7.2Hz, 1H,

H-3'), 6.98 (m, 2H, H-2' & H-5'), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 2.34 (s, 3H, CH₃-4), 2.29 (s, 3H, CH₃-5)

5-ακετυλοξυ-3-(4-βρωμοφαινυλο)-4-μεθυλο-2H-χρωμεν-2-όνη (1b)



Σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης ακετυλοξυ-κουμαρινών, σε 4.1 mL οξικού ανυδρίτη και 1.6 mL Et₃N προστίθενται 3.72 mmol (800 mg) 4-βρωμο-φαινυλοξικού οξέος και 3.91 mmol (594.3 mg) 2,6-διυδροξυ-ακετοφαινόνης. Παραλαμβάνεται λευκό στερεό.

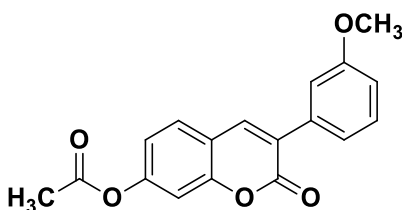
Απόδοση: 50%

Σημείο Τήξης: 173-175 °C

¹H NMR (600MHz, CDCl₃): δ (ppm) 7.59 (d, J=7.8Hz, 2H, H-3', H-5'), 7.53 (t, J=8.4Hz, 1H, H-7), 7.30 (dd, J=8.4Hz, J=1.2Hz, 1H, H-8), 7.15 (d, J=7.8 Hz, 2H, H-2' & H-6'), 6.99 (dd, J=8.4 Hz, J=1.2 Hz, 1H, H-6), 2.36 (s, 3H, CH₃-5), 2.35(s, 3H, CH₃-4)

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 169.28, 159.87, 153.84, 148.10, 146.80, 133.35, 131.96, 131.86, 131.17, 128.02, 122.84, 120.06, 115.42, 114.51, 21.55, 20.40

7-ακετυλοξυ-3-(3-μεθοξυφαινυλο)-2H-χρωμεν-2-όνη (1c)



Σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης ακετυλοξυ-κουμαρινών, σε 5.3 mL οξικού ανυδρίτη και 2.0 mL Et₃N προστίθενται 4.81 mmol (800 mg) 4-νιτρο-φαινυλοξικού οξέος και 5.06 mmol (698.2 mg) 2,4-διυδροξυ-ακετοφαινόνης. Το στερεό που προκύπτει ανακρυσταλλώνεται με κατάλληλη ποσότητα μεθανόλης και διχλωρομεθανίου. Παραλαμβάνεται υποκίτρινο στερεό.

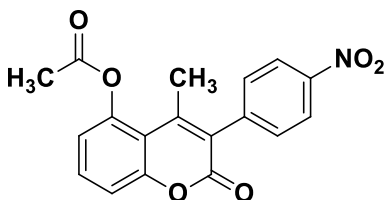
Απόδοση: 35%

Σημείο Τήξης: 146-148 °C (Σ.Τ. βιβλιογραφίας^[44]: 167 °C)

¹H NMR (600MHz, CDCl₃): δ (ppm) 7.80 (s, 1H, H-4), 7.54 (d, J=8.4Hz, 1H, H-5), 7.36 (t, J=8.4Hz, 1H, H-3'), 7.26 (m, 2H, H-2' & H-6'), 7.15 (br, 1H, H-8), 7.07 (dd,

$J=8.4\text{Hz}$, $J=1.2\text{Hz}$, 1H, H-6), 6.96 (d, $J=8.4\text{Hz}$, H-4'), 3.86 (s, 3H, OCH₃-5'), 2.35 (s, 3H, CH₃-7)

5-ακετυλοξυ-3-(4-νιτροφαινυλο)-4-μεθυλο-2H-χρωμεν-2-όνη (1d)



Σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης ακετυλοξυ-κουμαρινών, σε 4.9 mL οξικού ανυδρίτη και 1.9 mL Et₃N προστίθενται 4.42 mmol (800 mg) 4-νιτρο-φαινυλοξικού οξέος και 4.64 mmol (705.5 mg) 2,6-διυδροξυ-ακετοφαινόνης. Το στερεό που προκύπτει ανακρυσταλλώνεται με κατάλληλη ποσότητα μεθανόλης και διχλωρομεθανίου. Παραλαμβάνεται καφέ σκούρο στερεό.

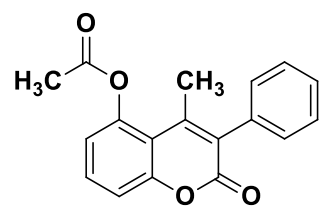
Απόδοση: 40%

Σημείο Τήξης: 193-195 °C

¹H NMR (600MHz, CDCl₃): δ (ppm) 8.32 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H, H-3' & H-5'), 7.57 (t, $J=8.4\text{Hz}$, 1H, H-7), 7.48 (d, $J=9\text{Hz}$, 2H, H-2' & H-6'), 7.32 (dd, $J=8.4\text{Hz}$, $J=0.6\text{Hz}$, 1H, H-8), 7.02 (dd, $J=8.4\text{Hz}$, $J=0.6\text{Hz}$, 1H, H-6), 2.37 (d, $J=1.8\text{Hz}$, 6H, CH₃-4 & CH₃-5)

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 169.19, 159.41, 153.92, 148.28, 147.89, 147.60, 141.36, 131.72, 127.07, 123.91, 120.30, 115.50, 114.19, 21.55, 20.46

5-ακετυλοξυ-3-φαινυλο-4-μεθυλο-2H-χρωμεν-2-όνη (1e)



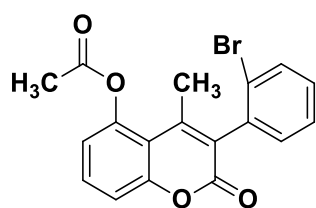
Σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης ακετυλοξυ-κουμαρινών, σε 6.5 mL οξικού ανυδρίτη και 2.5 mL Et₃N προστίθενται 5.87 mmol (800 mg) φαινυλοξικού οξέος προστίθενται 6.16 mmol (937.8 mg) 2,6-διυδροξυ-ακετοφαινόνης. Το στερεό που προκύπτει ανακρυσταλλώνεται με κατάλληλη ποσότητα μεθανόλης και διχλωρομεθανίου. Παραλαμβάνεται λευκό στερεό.

Απόδοση: 46%

Σημείο Τήξης: 147.2-149 °C (Σ.Τ. βιβλιογραφίας^[45]: 150-152 °C)

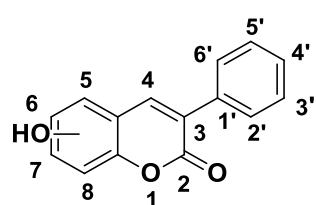
¹H NMR (600MHz, CDCl₃): δ (ppm) 7.50 (t, $J=8.4\text{Hz}$ - 7.8Hz , 1H, H-7), 7.44 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 2H, H-3' & H-5'), 7.39 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 1H, H-4'), 7.29 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H, H-8), 7.25 (d, $J=6.6\text{Hz}$, 2H, H-2' & 6'), 6.97 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H, H-6), 2.34 (s, 6H, CH₃-4, CH₃-5)

5-ακετυλοξυ-3-(2-βρωμοφαινυλο)-4-μεθυλο-2H-χρωμεν-2-όνη (1f)



Σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης ακετυλοξυ-κουμαρινών, σε 4.1 mL οξικού ανυδρίτη και 1.6 mL Et₃N προστίθενται 3.72 mmol (800 mg) 2-βρωμοφαινυλοξικού οξέος προστίθενται 3.91 mmol (594.3 mg) 2,6-διυδροξυ-ακετοφαινόνης. Το προϊόν παραλήφθηκε σε ελαιώδη μορφή και σύμφωνα με το φάσμα ¹H NMR απαιτείται καθαρισμός με τη μέθοδο χρωματογραφίας στήλης.

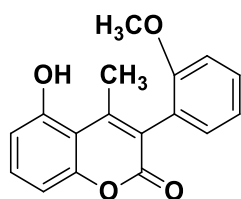
1.2.2. Γενική μέθοδος απακετυλίωσης κουμαρινών (2a-2e)



Κατάλληλη ποσότητα της υποκατεστημένης ακετυλοξυ-κουμαρίνης (1 eq) προστίθεται σε σφαιρική φιάλη μαζί με μονοένυδρη υδραζίνη (NH₂NH₂·H₂O) (5 eq) σε διαλύτη μεθανόλη. Η αντίδραση αφήνεται για περίπου 1.5 ώρα στους 42°C υπό συνεχή ανάδευση, παρουσία κάθετου ψυκτήρα, υπό αδρανείς συνθήκες.

Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται μέσω χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC) σε σύστημα διαλυτών 70% (PE)/ 30% (EtOAc). Μετά το πέρας της αντίδρασης, προστίθεται νερό στο μίγμα και πραγματοποιείται εκχύλιση της υδατικής στιβάδας με διάλυμα οξικού αιθυλεστέρα. Στη συνέχεια, το οργανικό εκχύλισμα ξηραίνεται με Na₂SO₄ κι έπειτα εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση έως την παραλαβή στερεού. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία ¹H και ¹³C NMR.

5-υδροξυ-3-(2-μεθοξυφαινυλο)-4-μεθυλο-2H-χρωμεν-2-όνη (2a)



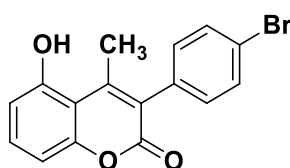
Σύμφωνα με τη γενική μέθοδο απακετυλίωσης κουμαρινών, σε μια σφαιρική φιάλη προστίθενται 0.51 mmol (164.6 mg) 5-ακετυλοξυ-3-(2-μεθοξυφαινυλο)-4-μεθυλο-κουμαρίνης, 2.54 mmol (121 μL) μονοένυδρης υδραζίνης και 8.2 mL μεθανόλης. Παραλαμβάνεται υποκίτρινο στερεό.

Απόδοση: 79%

Σημείο Τήξης: 252.1-255.7 °C

¹H NMR (600MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 10.65 (br, 1H, OH-), 7.38 (m, 2H, H-2' & H-5'), 7.14 (dd, J=7.2Hz, J=1.2Hz, 1H, H-6), 7.09 (d, J=8.4Hz, 1H, H-8), 7.01, (t, J=7.2Hz, 1H, H-7), 6.8 (t, J=7.2Hz, 2H, H-3' & H-4'), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 2.32 (s, 3H, CH₃)

5-υδροξυ-3-(4-βρωμοφαινυλο)-4-μεθυλο-2H-χρωμεν-2-όνη (2b)



Σύμφωνα με τη γενική μέθοδο απακετυλίωσης κουμαρινών, σε μια σφαιρική φιάλη προστίθενται 1.76 mmol (569.4 mg), 5-ακετυλοξυ-3-(4-βρωμοφαινυλο)-4-μεθυλο-κουμαρίνης, 8.78 mmol (418 μ L) μονοένυδρης υδραζίνης και 28.5 mL μεθανόλης. Τέλος, το προϊόν που προκύπτει ανακρυσταλλώνεται με κατάλληλη ποσότητα διχλωρομεθανίου και μεθανόλης. Παραλαμβάνεται υποκίτρινο στερεό.

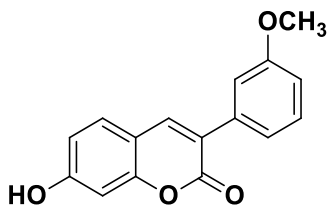
Απόδοση: 50%

Σημείο Τήξης: 228 °C (decomp.)

$^1\text{H NMR}$ (600MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) 10.72 (br, 1H, OH), 7.64 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H, H-3' & H-5'), 7.39 (t, $J=8.4\text{Hz}$, 1H, H-7), 7.25 (d, $J=7.8\text{Hz}$, 2H, H-2' & H-6'), 6.82 (t, $J=8.4\text{Hz}$, 2H, H-6 & H-8), 2.40 (s, 3H, CH_3)

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm) 159.51, 157.12, 153.77, 149.99, 134.50, 132.56, 131.88, 131.19, 123.67, 121.05, 111.63, 109.11, 107.09, 21.31, 21.29

7-υδροξυ-3-(3-μεθοξυφαινυλο)-2H-χρωμεν-2-όνη (2c)



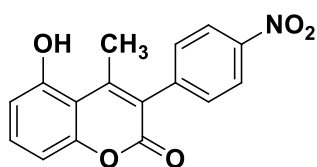
Σύμφωνα με τη γενική μέθοδο απακετυλίωσης κουμαρινών, σε μια σφαιρική φιάλη προστίθενται 1.57 mmol (487.7 mg) 7-ακετυλοξυ-3-(3-μεθοξυφαινυλο)-κουμαρίνης, 7.86 mmol (375 μ L) μονοένυδρης υδραζίνης και 25.5 mL μεθανόλης. Παραλαμβάνεται υποκίτρινο στερεό.

Απόδοση: 57%

Σημείο Τήξης: 1730-178 °C (Σ.Τ. βιβλιογραφίας^[44]: 205 °C)

$^1\text{H NMR}$ (600MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) 10.62 (br, 1H, OH), 8.18 (s, 1H, H-4), 7.60 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H, H-5), m (3H, H-2' & 3' & 6'), 6.96 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H, H-6), 6.82 (dd, $J=8.4\text{Hz}$, $J=2.4-1.8\text{Hz}$, 1H, H-8), 6.75 (d, $J=1.8\text{Hz}$, 1H, H-4'), 3.80 (s, 3H, OCH_3)

5-υδροξυ-3-(4-νιτροφαινυλο)-4-μεθυλο-2H-χρωμεν-2-όνη (2d)



Σύμφωνα με τη γενική μέθοδο απακετυλίωσης κουμαρινών, σε μια σφαιρική φιάλη προστίθενται 1.52 mmol (514.4 mg) 5-ακετυλοξυ-3-(4-νιτροφαινυλο)-4-μεθυλο-κουμαρίνης, 7.58 mmol (361 μ L) μονοένυδρης υδραζίνης και 24.6 mL μεθανόλης. Παραλαμβάνεται

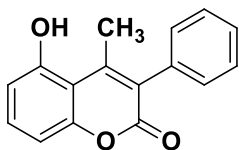
καφέ στερεό.

Απόδοση: 56%

Σημείο Τήξης: 282 (decomp.) °C

¹H NMR (600MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 10.76 (br, 1H, OH), 8.30 (dd, *J*=8.4Hz, *J*=1.8Hz, 2H, H-3' & H-5'), 7.61 (dd, *J*=8.4Hz, *J*=1.8Hz, 2H, H-2' & H-6'), 7.42 (td, *J*=7.8Hz, *J*=3.4Hz, 1H, H-7), 6.85 (dd, *J*=3.6Hz, *J*=0.6Hz, 1H, H-6), 6.83 (d, *J*=7.8Hz, 1H, H-8), 2.4 (s, 3H, CH₃)

5-υδροξυ-3-φαινυλο-4-μεθυλο-2H-χρωμεν-2-όνη (2e)



Σύμφωνα με τη γενική μέθοδο απακετυλίωσης κουμαρινών, σε μια σφαιρική φιάλη προστίθενται 2.35 mmol (691.9 mg) 5-ακετυλοξυ-3-φαινυλο-4-μεθυλο-κουμαρίνης, 11.76 mmol (560 μ L) μονοένυδρης υδραζίνης και 38.1 mL μεθανόλης.

Παραλαμβάνεται λευκό στερεό.

Απόδοση: 49%

Σημείο Τήξης: 277.2-278.1 °C (Σ.Τ. βιβλιογραφίας^[42]: 276-278 °C)

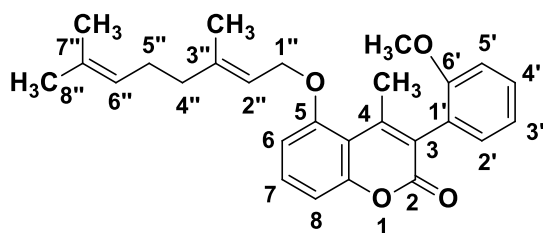
¹H NMR (600MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 10.65 (br, 1H, OH), 7.44 (t, *J*=7.8Hz, 2H, H-3' & H-5'), 7.38 (t, *J*=7.8Hz, 2H, H-7 & H-4'), 7.27 (d, *J*=7.2Hz, 2H, H-2' & H-6'), 6.82 (t, *J*=7.8Hz, 2H, H-6 & H-8), 2.40 (s, 3H, CH₃)

1.2.3. Γενική μέθοδος σύνθεσης πρενυλοξυ-κουμαρινών (3a-3e)

Σε μία σφαιρική φιάλη προστίθενται ποσότητα της κατάλληλα υποκατεστημένης υδροξυ-κουμαρίνης και του πρενυλο-βρωμιδίου σε στοιχειομετρία 1:1.2, παρουσία ξηρού ανθρακικού καλίου (K₂CO₃) και σε διαλύτη ακετόνη κι αφήνονται υπό συνεχή ανάδευση στους 56°C παρουσία κάθετου ψυκτήρα, υπό αδρανείς συνθήκες.

Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται μέσω χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC) σε σύστημα διαλυτών 90% (PE)/ 10% (EtOAc). Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση, πραγματοποιείται διήθηση υπό κενό κι εκπλύσεις με ακετόνη με στόχο την παραλαβή του οργανικού διηθήματος. Στη συνέχεια, το διήθημα εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση με στόχο την απομάκρυνση της ακετόνης και το προϊόν που λαμβάνεται υφίσταται διεργασίες καθαρισμού. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία ^1H και ^{13}C NMR.

5-γερανυλοξυ-3-(2-μεθοξυφαινυλο)-4-μεθυλο-2H-χρωμεν-2-όνη (3a)



Σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης των πρενυλοξυ-κουμαρινών, σε μία σφαιρική φιάλη προστίθενται 0.28 mmol (79.4 mg) 5-υδροξυ-3-(2-μεθοξυφαινυλο)-4-μεθυλο-κουμαρίνης σε 3.9 mL ακετόνης. Στη συνέχεια προστίθενται 0.28 mmol (38.9 mg) K_2CO_3 και τέλος 0.34 mmol (67.0 μL) γερανυλο-βρωμιδίου.

Μετά το πέρας της αντίδρασης, πραγματοποιείται καθαρισμός του προϊόντος με τη μέθοδο χρωματογραφίας στήλης σε σύστημα διαλυτών 90 % (PE) : 10% (EtOAc). Το προϊόν που λαμβάνεται είναι στερεό λευκού χρώματος.

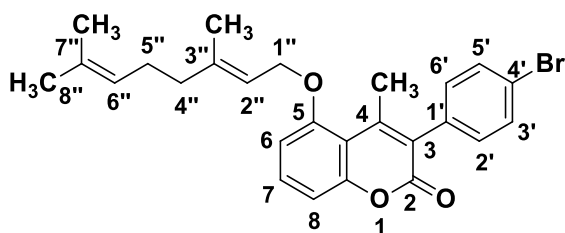
Απόδοση: 96%

Σημείο Τήξης: 80-90 °C

^1H NMR (600MHz, CDCl_3): δ (ppm) 7.37 (m, 2H, H-7 & H4'), 7.15 (dd, $J=7.8\text{Hz}$, $J=1.2-1.8\text{Hz}$, 1H, H-5'), 7.03 (t, $J=7.8\text{Hz}$, 1H, H-3'), 6.98 (m, 2H, H-6 & H-8), 6.75 (d, $J=7.8\text{Hz}$, 1H, H-2'), 5.49 (t, $J=6.6\text{Hz}$, 1H, H-2''), 5.06 (t, $J=6.6\text{Hz}$, 1H, H-6''), 4.62 (d, $J=6.6\text{Hz}$, 2H, H-1''), 3.78 (s, 3H, OCH_3), 2.09 (m, 4H, H-4'' & H-5''), 1.74 (s, 3H, CH_3 -3''), 1.65 (s, 3H, CH_3 -8''), 1.59 (s, 2H, CH_3 -7'')

^{13}C NMR (75MHz, CDCl_3): δ (ppm) 160.54, 157.81, 157.40, 154.61, 150.74, 141.84, 132.04, 131.65, 130.89, 129.96, 129.54, 124.32, 123.45, 120.90, 119.02, 118.95, 111.57, 111.34, 109.79, 107.50, 107.28, 66.06, 55.82, 39.56, 25.80, 24.40, 21.87, 21.55

5-γερανυλοξυ-3-(4-βρωμοφαινυλο)-4-μεθυλο-2H-χρωμεν-2-όνη (3b)



Σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης των πρενυλοξυ-κουμαρινών, σε μία σφαιρική φιάλη προστίθενται 0.40 mmol (149.2 mg) 5-υδροξυ-3-(4-βρωμοφαινυλο)-4-μεθυλο-κουμαρίνης

σε 6 mL ακετόνης. Στη συνέχεια προστίθενται 0.40 mmol (55.3 mg) K₂CO₃ και τέλος 0.48 mmol (95.2 μL) γερανυλο-βρωμιδίου.

Μετά το πέρας της αντίδρασης, πραγματοποιείται καθαρισμός του προϊόντος με τη μέθοδο χρωματογραφίας στήλης σε σύστημα διαλυτών 90 % (PE) : 10% (EtOAc). Το προϊόν που λαμβάνεται είναι υποκίτρινο στερεό.

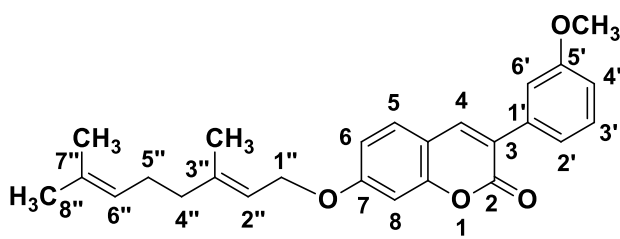
Απόδοση: 89%

Σημείο Τήξης: 91-95 °C

¹H NMR (600MHz, CDCl₃): δ (ppm) 7.57 (d, J=8.4Hz, 2H, H-3' & H-5'), 7.42 (t, J=8.4Hz, 1H, H-7), 7.16 (d, J=8.4Hz, 2H, H-2' & H-6'), 6.97 (d, J=8.4Hz, 1H, H-8), 6.77 (d, J=8.4Hz, 1H, H-6), 5.49 (t, J=6.6Hz, 1H, H-2''), 5.06 (t, J=6.6Hz, 1H, H-6''), 4.63 (d, J=6.6Hz, 2H, H-1''), 2.46 (s, 3H, CH₃-4), 2.10 (m, 4H, H-4'' & H-5''), 1.74 (s, 3H, CH₃-3''), 1.65 (s, 3H, CH₃-8''), 1.59 (s, 3H, CH₃-7'')

¹³C NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm) 160.68, 157.91, 154.39, 150.49, 142.14, 134.24, 132.27, 132.02, 131.87, 131.58, 131.42, 125.41, 123.89, 123.42, 122.27, 118.80, 111.35, 109.76, 107.72, 107.50, 66.12, 39.56, 26.35, 22.38, 22.03

7-γερανυλοξυ-3-(3-μεθοξυφαινυλο)-2H-χρωμεν-2-όνη (3c)



Σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης των πρενυλοξυκουμαρινών, σε μία σφαιρική φιάλη προστίθενται 0.53 mmol (150.3 mg) 7-υδροξυ-3-(3-μεθοξυφαινυλο)-κουμαρίνης σε

7.5 mL ακετόνης. Στη συνέχεια προστίθενται 0.53 mmol (73.6 mg) K₂CO₃ και τέλος 0.64 mmol (127 μL) γερανυλο-βρωμιδίου.

Μετά το πέρας της αντίδρασης, πραγματοποιείται καθαρισμός του προϊόντος με τη μέθοδο χρωματογραφίας στήλης σε σύστημα διαλυτών 90 % (PE) : 10% (EtOAc). Το προϊόν που λαμβάνεται είναι στερεό λευκού χρώματος.

Απόδοση: 61%

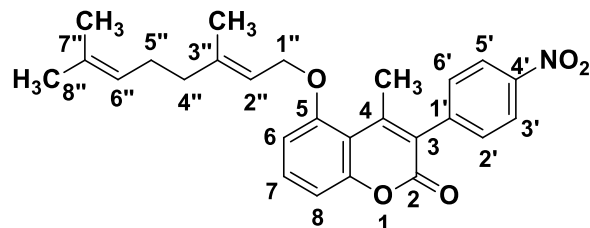
Σημείο Τήξης: 82-86 °C

¹H NMR (600MHz, CDCl₃): δ (ppm) 7.77 (s, 1H, H-4), 7.42 (d, J=8.4Hz, 1H, H-5), 7.35 (t, J=8.4Hz, 1H, H-3'), 7.26 (br, 2H, H-2' & H-6') 6.93 (dd, J=8.4Hz, J=1.2Hz, 1H, H-6), 6.87 (dd, J=10.8Hz, J=1.8Hz, 2H, H-8 & H-4'), 5.48 (t, J=6.6Hz, 1H, H-2''), 5.09 (t, J=7.2Hz, 1H, H-6''), 4.62 (d, J=6.6Hz, 2H, H-1''), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 2.12

(m, 4H, H-4'' & H-5''), 1.78 (s, 3H, CH₃-3''), 1.68 (s, 3H, CH₃-8''), 1.61 (s, 3H, CH₃-7'')

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 142.46, 140.33, 140.31, 136.55, 132.08, 129.53, 128.94, 127.74, 124.59, 123.78, 123.74, 120.93, 118.61, 118.59, 114.25, 114.22, 113.58, 113.31, 101.30

5-γερανυλοξυ-3-(4-νιτροφαινυλο)-4-μεθυλο-2H-χρωμεν-2-όνη (3d)



Σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης των πρενυλοξυκουμαρινών, σε μία σφαιρική φιάλη προστίθενται 0.52 mmol (153.1 mg) 5-υδροξυ-3-(4-νιτροφαινυλο)-4-μεθυλο-κουμαρίνης σε 7.2 mL

ακετόνης. Στη συνέχεια προστίθενται 0.52 mmol (71.2 mg) K₂CO₃ και τέλος 0.62 mmol (123 μL) γερανυλο-βρωμιδίου.

Μετά το πέρας της αντίδρασης, πραγματοποιείται καθαρισμός του προϊόντος με τη μέθοδο χρωματογραφίας στήλης σε σύστημα διαλυτών 90% (PE) : 10% (EtOAc). Το προϊόν που λαμβάνεται είναι υποκίτρινο στερεό.

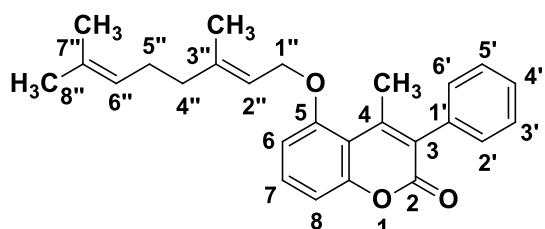
Απόδοση: 46%

Σημείο Τήξης: 104-107 °C

¹H NMR (600MHz, CDCl₃): δ (ppm) 8.30 (d, J=8.4Hz, 2H, H-3' & H-5'), 7.46 (m, 3H, H-2' & H-6' & H-7), 6.99 (d, J=7.8Hz, 1H, H-8), 6.80 (d, J=8.4Hz, 1H, H-6), 5.49 (t, J=6.6Hz, 1H, H-2''), 5.06 (br, 1H, H-6''), 4.65 (d, J=6.6Hz, 2H, H-1''), 2.47 (s, 3H, CH₃-4), 2.10 (m, 4H, H-4'' & H-5''), 1.75 (s, 3H, CH₃-3''), 1.65 (s, 3H, CH₃-8''), 1.59 (s, 3H, CH₃-7'')

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 160.19, 158.09, 154.52, 151.24, 147.59, 142.42, 142.38, 132.22, 132.08, 131.69, 127.73, 124.45, 123.77, 123.65, 123.60, 118.61, 118.59, 111.04, 109.78, 107.80, 66.22, 66.19, 66.17, 39.55, 26.33, 25.79, 22.28, 22.26, 17.83, 16.80, 16.80

5-γερανυλοξυ-3-φαινυλο-4-μεθυλο-2H-χρωμεν-2-όνη (3e)



Σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης των πρενυλοξυκουμαρινών, σε μία σφαιρική φιάλη προστίθενται 0.76

mmol (191.1 mg) 5-υδροξυ-3-φαινυλο-4-μεθυλο-κουμαρίνης σε 10.6 mL ακετόνης. Στη συνέχεια προστίθενται 0.76 mmol (104.6 mg) K₂CO₃ και τέλος 0.91 mmol (180 μL) γερανυλο-βρωμιδίου.

Μετά το πέρας της αντίδρασης, πραγματοποιείται καθαρισμός του προϊόντος με τη μέθοδο χρωματογραφίας στήλης σε σύστημα διαλυτών 90 % (PE) : 10% (EtOAc). Το προϊόν που λαμβάνεται είναι υποκίτρινο.

Απόδοση: 95%

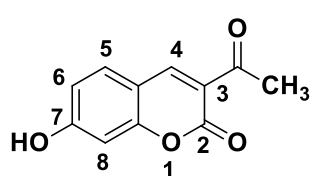
Σημείο Τήξης: Στερεό χαμηλού σημείου τήξης

¹H NMR (600MHz, CDCl₃): δ (ppm) 7.40 (m, 4H, H-7 & H-3' & H-4' & H-5'), 7.28 (br, 2 H, H-2' & H-6') 6.98 (d, J=8.4Hz, 1H, H-8), 6.77 (d, J=8.4Hz, 1H, H-6), 5.49 (t, J=6Hz, 1H, H-2''), 5.06 (br, 1H, H-6''), 4.6 (d, J=6.6Hz, 2H, H-1''), 2.46 (s, 3H, CH₃-4), 2.10 (m, 4H, H-4'' & H-5''), 1.74 (s, 3H, CH₃-3''), 1.65 (s, 3H, CH₃-8''), 1.59 (s, 3H, CH₃-7'')

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 160.97, 157.89, 154.44, 150.10, 142.04, 135.36, 132.07, 131.34, 130.30, 128.57, 128.02, 127.75, 126.62, 123.70, 123.66, 118.88, 118.86, 111.57, 109.77, 107.55, 107.54, 66.12, 66.10, 66.07, 39.57, 26.36, 25.79, 22.16, 17.85, 16.79

1.3. Συνθετική πορεία κουμαρινών-χαλκονών

1.3.1. Σύνθεση της 3-ακετυλο-7-υδροξυ-κουμαρίνης (4a)



Σε σφαιρική φιάλη προστίθενται 7.24 mmol (1 g) 2,4-διυδροξυ-βενζαλδεΰδης και 7.24 mmol (923 μL) ακετοξικού αιθυλεστέρα, καθώς και 20 mL αιθανόλης και 108 μL πιπεριδίνης κι αφήνονται στους 90 °C για 24 ώρες υπό συνεχή ανάδευση, παρουσία κάθετου

ψυκτήρα κι υπό αδρανείς συνθήκες. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται μέσω χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC) σε σύστημα διαλυτών 70% (PE)/30% (EtOAc). Μετά το πέρας της αντίδρασης ακολουθεί εξάτμιση υπό ελαττωμένη πίεση για απομάκρυνση του διαλύτη έως ότου παρατηρηθεί εναπόθεση στερεού προϊόντος στα τοιχώματα της σφαιρικής φιάλης. Τέλος, το προϊόν που προκύπτει ανακρυσταλλώνεται με κατάλληλη ποσότητα μεθανόλης και διχλωρομεθανίου και λαμβάνεται υπό τη μορφή καφέ στερεού. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία ¹H και ¹³C NMR.

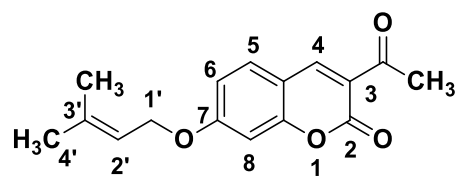
Απόδοση: 47%

Σημείο τήξης: 233-236 °C (Σ.Τ. βιβλιογραφίας^[46]: 238 °C)

Φθορίζον αποτύπωμα (Εμφάνιση σε UV)

¹H NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm) 8.37 (s, 1H, H-10), 7.37 (d, J=4.5 Hz, 1H, H-5), 6.75 (dd, J=4.2 Hz, J=0.9 Hz, 1H, H-6), 6.72 (s, 1H, H-8), 2.57 (s, 3H, CH₃)

1.3.2. Σύνθεση της 3-ακετυλο-7-πρενυλοξυ-κουμαρίνης (4b)



Σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης των πρενυλοξυ-κουμαρινών (υποκεφάλαιο 1.2.3.), 1.47 mmol (300mg) 3-ακετυλο-7-υδροξυ-κουμαρίνης προστίθενται σε 20.6 mL ακετόνης. Ακολουθεί προσθήκη 1.47 mmol

(203.1 mg) K₂CO₃ και 1.76 mmol (204 μL) 3,3-διμεθυλο-αλλυλο-βρωμιδίου (πρενυλο-βρωμίδιο). Το προϊόν που προκύπτει ανακρυσταλλώνεται με κατάλληλη ποσότητα μεθανόλης και διχλωρομεθανίου και λαμβάνεται υπό τη μορφή κίτρινου στερεού.

Απόδοση: 49%

Σημείο τήξης: 147.5-149.5 °C (Σ.Τ. βιβλιογραφίας^[47]: 208-210 °C)

¹H NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm) 8.48 (s, 1H, H-4), 7.52 (d, J=8.7 Hz, 1H, H-5), 6.89 (dd, J=8.7Hz, J=2.4Hz, 1H, H-6), 6.82 (d, J=2.4 Hz, 1H, H-8), 5.48 (tt, J=6.6Hz, J=1.2Hz, 1H, H-2'), 4.63 (d, J=6.6Hz, 2H, H-1'), 2.73 (s, 3H, CH₃-3), 1.84 (s, 3H, CH₃-3'), 1.80 (s, 3H, CH₃-4')

1.3.3. Σύνθεση κουμαρινών-χαλκονών (5a-5b)

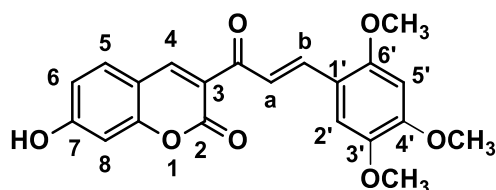
Κατάλληλη ποσότητα της 3-ακετυλο-7-υποκατεστημένης-κουμαρίνης (1 eq) αντιδρά με ισομοριακή ποσότητα βενζαλδεΰδης (1 eq) σε αιθανόλη και πιπεριδίνη. Η αντίδραση αυτή δύναται να πραγματοποιηθεί με δύο μεθόδους:

- Συμβατικά: Το μίγμα αφήνεται στους 78°C για 24hr, παρουσία κάθετου ψυκτήρα.
- Με τη χρήση μικροκυμάτων: Το μίγμα αφήνεται στους 120°C για 90min σε 250W.

Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται μέσω χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC) σε σύστημα διαλυτών 90% (PE)/ 10% (EtOAc). Μετά το πέρας της αντίδρασης, πραγματοποιείται οξίνιση υπό ψύξη με προσθήκη διαλύματος υδροχλωρικού οξέος (HCl 10%). Σε περίπτωση καταβύθισης στερεού πραγματοποιείται διήθηση υπό κενό. Εναλλακτικά, πραγματοποιείται εκχύλιση

με διάλυμα οξικού αιθυλεστέρα και ξήρανση του διηθήματος με Na₂SO₄ ενώ ακολουθεί εξάτμιση υπό ελαττωμένη πίεση και την παραλαβή στερεού προϊόντος. Τέλος, για τον καθαρισμό του προϊόντος πραγματοποιείται ανακρυστάλλωση με κατάλληλη ποσότητα μεθανόλης και διχλωρομεθανίου σε κάθε περίπτωση. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία ¹H και ¹³C NMR.

7-υδροξυ-3-(3-(2,4,5-τριμεθοξυφαινυλ)ακρυλοϋλ)-2H-χρωμεν-2-όνη (5a)



Η **5a** συντέθηκε τόσο με συμβατική μέθοδο θέρμανσης (i) όσο και με χρήση μικροκυματικής ακτινοβολίας (ii).

i) Σύνθεση μέσω συμβατικής μεθόδου θέρμανσης

Σε μία σφαιρική φιάλη προστίθενται 0.73 mmol (149.4 mg) 3-ακετυλο-7-υδροξυ-κουμαρίνης, 0.73 mmol (143.6 mg) 2,4,5-τριμεθοξυ-βενζαλδεΰδης καθώς και 2.9 mL αιθανόλης και 6 σταγόνες πιπεριδίνης. Μετά το πέρας της αντίδρασης, πραγματοποιείται εκχύλιση της υδατικής στιβάδας και το προϊόν που λαμβάνεται ανακρυσταλλώνεται με κατάλληλη ποσότητα διχλωρομεθανίου και μεθανόλης. Παραλαμβάνεται κόκκινο στερεό.

Απόδοση: 30%

Σημείο Τήξης: 247 °C (decomp.)

¹H NMR (600MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 11.07 (br, 1H, OH), 8.59 (s, 1H, H-4), 7.94 (d, J=15.6Hz, 1H, H-b), 7.78 (d, J=8.4Hz, 1H, H-5), 7.67 (d, J=15.6Hz, 1H, H-a), 7.24 (s, 1H, H-2'), 6.86 (dd, J=8.4Hz, J=1.8Hz, 1H, H-6), 6.77 (d, J=1.8Hz, 1H, H-8), 6.75 (s, 1H, H-5'), 6.77 (d, J=1.8Hz, 1h, H-8), 6.75 (s, 1H, H-5'), 3.89 (s, 3H, OCH₃-3'), 3.87 (s, 3H, OCH₃-4'), 3.77 (s, 3H, OCH₃-6')

ii) Σύνθεση με χρήση μικροκυματικής ακτινοβολίας

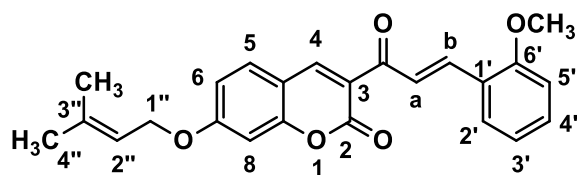
Σε ειδικό σκεύος (QV-50S quartz vessel) προστίθενται 1.23 mmol (251.1 mg) 3-ακετυλο-7-υδροξυ-κουμαρίνης, 1.23 mmol (241.3 mg) 2,4,5-τριμεθοξυ-βενζαλδεΰδης καθώς και 5 mL αιθανόλης και 10 σταγόνες πιπεριδίνης. Μετά το πέρας της αντίδρασης, πραγματοποιείται εκχύλιση της υδατικής στιβάδας και το προϊόν που λαμβάνεται ανακρυσταλλώνεται με κατάλληλη ποσότητα διχλωρομεθανίου και μεθανόλης. Παραλαμβάνεται κόκκινο στερεό.

Απόδοση: 20%

¹H NMR (600MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 11.07 (br, 1H, OH), 8.59 (s, 1H, H-4), 7.94 (d, J=16.2Hz, 1H, H-b), 7.78 (d, J=9Hz, 1H, H-5), 7.67 (d, J=16.2Hz, 1H, H-a), 7.24 (s, 1H, H-2'), 6.86 (dd, J=8.4Hz, J=1.8Hz, 1H, H-6), 6.76 (m, 2H, H-8 & H-5'), 3.88 (d, J=12Hz, 6H, OCH₃-3' & OCH₃-4'), 3.77 (s, 3H, OCH₃-6')

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 186.39, 158.99, 156.95, 154.47, 152.93, 147.58, 142.99, 138.02, 132.24, 122.00, 114.24, 111.25, 111.05, 97.66, 97.64, 56.40, 56.38, 56.22, 56.19, 55.87, 55.85

3-(3-(2-μεθοξυφαινυλ)ακρυλοϋλ)-7-((3-μεθυλοβουτ-2-εν-1-υλ)οξυ)-2H-χρωμεν-2-όνη (5b)



Σε μία σφαιρική φιάλη προστίθενται 0.59 mmol (159.9 mg) 3-ακετυλο-7-πρενυλοξυ-κουμαρίνης, 0.59 mmol (79.9 mg) 2-μεθοξυ-βενζαλδεΐδης καθώς και 2.4 mL αιθανόλης και 4

σταγόνες πιπεριδίνης.

Μετά το πέρας της αντίδρασης και την οξίνιση, παρατηρείται καταβύθιση στερεού κι έτσι πραγματοποιείται διήθηση υπό κενό. Τέλος, πραγματοποιείται ανακρυστάλλωση με κατάλληλη ποσότητα μεθανόλης και διχλωρομεθανίου. Παραλαμβάνεται κίτρινο στερεό.

Απόδοση: 33%

Σημείο Τήξης: 130-132 °C

¹H NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm) 8.56 (s, 1H, H-4), 8.21 (d, J=15.9Hz, 1H, H-b), 8.05 (d, J=15.9Hz, 1H, H-a), 7.71 (dd, J=7.8Hz, J=1.2Hz, 1H, H-2'), 7.54 (d, J=8.7Hz, 1H, H-5), 6.91 (m, 4H, H-6 & H-8 & H-3' & H-5'), 7.37 (pseudotriplet, 1H, H-4'), 5.48 (t, J=6.6Hz, 1H, H-2''), 4.61 (d, J=6.9Hz, 2H, H-1'') 3.91 (s, 3H, -OCH₃), 1.80 (d, J=12Hz, 6H, CH₃-3'' & CH₃-4'')

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 186.96, 164.48, 159.96, 159.10, 157.70, 148.35, 139.93, 132.04, 131.30, 129.43, 124.76, 124.21, 121.75, 120.86, 118.43, 114.42, 112.46, 111.30, 101.15, 66.87, 55.68, 55.67, 25.95, 18.46

2. Σχηματισμός συμπλόκων επιλεγμένων κουμαρινών με β-κυκλοδεξτρίνη

2.1. Υλικά

Στο παρόν υποκεφάλαιο, παρουσιάζονται τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για το σχηματισμό, αλλά και το χαρακτηρισμό των συμπλόκων:

- β-κυκλοδεξτρίνη 98%, MW=1134.98 g/mol, Fluka
- 4-μεθυλο-7-υδροξυ-κουμαρίνη ή 4-μεθυλο-ομπελιφερόνη (4-MU)*, MW=176.17 g/mol
- 7-γερανυλοξυ-κουμαρίνη ή ωραπτίνη (AUR)*, MW= 298.38 g/mol
- Ακετόνη 99.5%, AppliChem Panreac
- Αιθανόλη 99.5%, Merck
- Οξικός αιθελεστέρας ACS grade, Chem-Lab
- Υπερκάθαρο νερό³

**Τα κουμαρινικά παράγωγα έχουν συντεθεί και ταυτοποιηθεί από το Εργαστήριο Οργανικής Χημείας Ε.Μ.Π.*

2.2. Όργανα & Συσκευές

Τα όργανα και οι συσκευές που χρησιμοποιήθηκαν για το σχηματισμό, αλλά και το χαρακτηρισμό των συμπλόκων, παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα.

Πίνακας 3. Όργανα και συσκευές της πειραματικής διαδικασίας.

Όργανα και συσκευές	Μοντέλο	Κατασκευαστής
Περιστροφικός εξατμιστήρας	Rotavapor R-114	Buchi
Αντλία υψηλού κενού		Edwards
Φασματοφωτόμετρο UV-vis	V-770 UV-VIS	Jasco
Συσκευή DLS	Zetasizer Nano ZS	Malvern
Φασματόμετρο NMR	600 MHz	Varian
Φασματόμετρο FT-IR	FT-IR - 4200	Jasco

2.3. Μέθοδος σχηματισμού συμπλόκων

Για το σχηματισμό των συμπλόκων πραγματοποιήθηκε προσθήκη κατάλληλης ποσότητας β-κυκλοδεξτρίνης και κατάλληλα υποκατεστημένης κουμαρίνης σε γραμμομοριακή αναλογία 1:1, καθώς και κατάλληλης ποσότητας

³ Ο όρος υπερκάθαρο νερό αναφέρεται σε νερό από το οποίο έχουν απομακρυνθεί όλα τα διαλυτά στερεά και έτσι η αγωγιμότητα κυμαίνεται κάτω από 0,1 μS/cm.

ακετόνης, σε μία σφαιρική φιάλη. [48] Το μίγμα αφήνεται σε μαγνητική ανάδευση για περίπου 30 λεπτά, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Ακολουθεί ήπια εξάτμιση της ακετόνης στους 45°C υπό ελαττωμένη πίεση. Το σύμπλοκο τοποθετείται στην αντλία υψηλού κενού για την πλήρη απομάκρυνση της ακετόνης και την παραλαβή του ξηρού συμπλόκου σε μορφή λευκής σκόνης. Τέλος, ζυγίζεται η ποσότητα του ξηρού συμπλόκου που παραλαμβάνεται.

Στον πίνακα που ακολουθεί παρατίθενται οι ποσότητες του φορέα εγκλεισμού, β-CD, και της ένωσης που χρησιμοποιήθηκε κάθε φορά, 4-μεθυλοουμπελιφερόνη και ωραπτίνη, καθώς κι η ποσότητα που ανακτήθηκε από το ξηρό σύμπλοκο (Πιν. 4).

Πίνακας 4. Χρησιμοποιούμενες ποσότητες για την παρασκευή των συμπλόκων και ποσότητα ανακτώμενου συμπλόκου.

	Σύμπλοκο β-CD-4-MU	Σύμπλοκο β-CD-AUR
	Ποσότητα	
β-CD	113.5 mg (0.1 mmol)	113.5 mg (0.1 mmol)
Κουμαρίνη	17.6 mg (0.1 mmol)	29.8 mg (0.1 mmol)
Ανακτώμενο ξηρό σύμπλοκο	113.1 mg	133.7 mg

Η απόδοση της διεργασίας υπολογίζεται από την ακόλουθη Εξίσωση 1:

$$\text{Απόδοση διεργασίας} = \frac{\text{μάζα ξηρών μοριακών συμπλόκων (mg)}}{\text{μάζα β-CD (mg)} + \text{μάζα ένωσης (mg)}} * 100\% \quad (1)$$

2.4. Χαρακτηρισμός συμπλόκων

2.4.1. Προσδιορισμός της ποσότητας της ένωσης που εγκλείστηκε στα σύμπλοκα β-κυκλοδεξτρίνης

Για τον προσδιορισμό της ποσότητας της ένωσης που εγκλείστηκε στα σύμπλοκα β-κυκλοδεξτρίνης, χρησιμοποιήθηκε η φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού (UV-VIS).

Αρχικά, έγινε προσθήκη 10 mg ξηρού συμπλόκου β-κυκλοδεξτρίνης-επιλεγμένης κουμαρίνης και 10 mL κατάλληλου διαλύτη, σε ένα γυάλινο φιαλίδιο. Το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση για περίπου 48 ώρες. Στη συνέχεια, για να επιτευχθεί ο προσδιορισμός της ποσότητας της ένωσης που εγκλείστηκε στο σύμπλοκο απομονώνονται 3 mL από το μίγμα, τα οποία φιλτράρονται με φίλτρο 200 μm και λαμβάνεται το φάσμα απορρόφησης σε εύρος 200-550 nm με χρήση κυψελίδας χαλαζία. Λόγω υψηλής συγκέντρωσης της ένωσης στο διάλυμα –απορρόφηση μεγαλύτερη από 1- πραγματοποιείται αραιώση 1:30.

Στον παρακάτω πίνακα (Πιν. 5) παρουσιάζονται οι τιμές της απορρόφησης που προέκυψαν για την κάθε ένωση, καθώς και το μήκος κύματος στο οποίο απορροφούν.

Πίνακας 5. Μήκος κύματος και τιμές απορρόφησης των επιλεγμένων κουμαρινικών παραγώγων.

	4-μεθυλο-ουμπελιφερόνη	Ωραπτένη
Μήκος κύματος (nm)	323	321
Απορρόφηση	0.3417	0.3211

Από την τιμή της απορρόφησης που προκύπτει και μέσω πρότυπης καμπύλης αναφοράς, προσδιορίζεται η ποσότητα της κουμαρίνης που έχει εγκλειστεί στο σύμπλοκο κι έτσι υπολογίζεται η απόδοση με βάση την Εξίσωση 2.

$$\text{Απόδοση εγκλεισμού} = \frac{\text{μάζα ουσίας που εγκλείστηκε (mg)}}{\text{αρχική μάζα ένωσης (mg)}} * 100\% \quad (2)$$

Η καμπύλη αναφοράς απεικονίζει τη συσχέτιση της απορρόφησης ενός διαλύματος με τη συγκέντρωσή του. Πιο αναλυτικά, για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς, μετρήθηκε η απορρόφηση προτύπων διαλυμάτων γνωστών συγκεντρώσεων κατάλληλα υποκατεστημένης κουμαρίνης και διαλύτη.

2.4.2. Προσδιορισμός μεγέθους, κατανομής μεγέθους (ή δείκτη πολυδιασποράς, PDI) και ζ-δυναμικού

Τα σύμπλοκα χαρακτηρίστηκαν ως προς το μέγεθος τον δείκτη πολυδιασποράς και το ζ-δυναμικό μέσω της μεθόδου δυναμικής σκέδασης φωτός (DLS) με χρήση του οργάνου Zetasizer Nano ZS.

Αρχικά, σε ένα γυάλινο φιαλίδιο προστίθενται 1 mg ξηρού συμπλόκου β-κυκλοδεξτρίνης - κατάλληλα υποκατεστημένης κουμαρίνης και 20 mL υπερκάθαρου νερού και αφήνονται υπό μαγνητική ανάδευση για 48 ώρες. Πριν την εισαγωγή του δείγματος στο όργανο πραγματοποιείται ανάδευση για 2 λεπτά σε αναδευτήρα τύπου Vortex, προκειμένου να επιτευχθεί καλή διασπορά των συμπλόκων εγκλεισμού. Ακολουθεί προσθήκη του δείγματος στην κυψελίδα τύπου U (DTS1070) και εισαγωγή της στο όργανο Zetasizer Nano ZS.

Με τη χρήση κατάλληλου λογισμικού λαμβάνονται οι μετρήσεις που αφορούν το μέγεθος, το δείκτη πολυδιασποράς και το ζ-δυναμικό. Για κάθε ένα από τα μεγέθη πραγματοποιούνται τρεις μετρήσεις και λαμβάνεται ο μέσος όρος αυτών.

Πριν από τη μέτρηση του μεγέθους και του ζ-δυναμικού απαιτείται η δημιουργία μίας τυποποιημένης διαδικασίας λειτουργίας (Standard Operating Procedure ή SOP). Δημιουργείται ένα αρχείο SOP για το μέγεθος και ένα για το ζ-δυναμικό. Στα αρχεία SOP συμπληρώνονται πληροφορίες για το δείγμα, την κυψελίδα και το πρωτόκολλο μέτρησης.

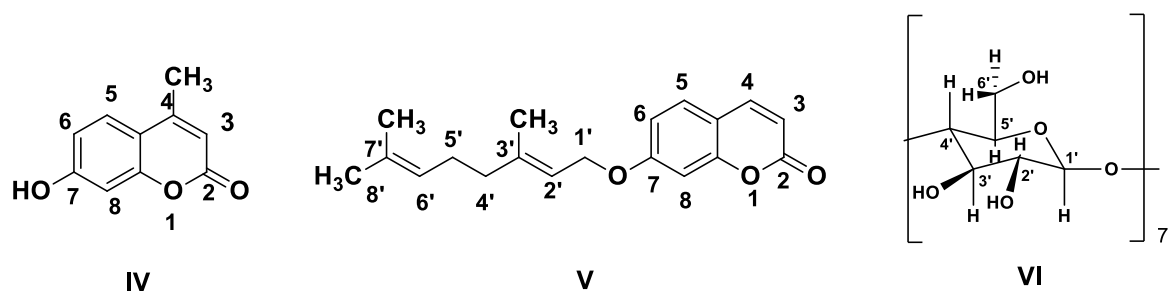
Πιο συγκεκριμένα, απαιτείται μέτρηση του pH της διασποράς μέσω πεχαμετρικού χαρτιού, μέτρηση του δείκτη διάθλασης και προσδιορισμός της απορρόφησης της διασποράς στο συγκεκριμένο μήκος κύματος που εκπέμπει το laser της συσκευής (633 nm) μέσω φασματοφωτομετρίας ορατού-υπεριώδους. Τα παραπάνω στοιχεία παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.

Πίνακας 6. Στοιχεία που εισάγονται για κάθε σύμπλοκο στο σύστημα SOP.

	Σύμπλοκο β-CD-4-MU	Σύμπλοκο β-CD-AUR
pH	7	7
Δείκτης διάθλασης	1.3329	1.3327
Απορρόφηση στα 633nm	0.022	0.0252
Θερμοκρασία (°C)	25±1	25±1
Κυψελίδα	DTS1070	DTS1070
Αριθμός μετρήσεων	3	3
Αριθμός επαναλήψεων	Αυτόματη επιλογή οργάνου	Αυτόματη επιλογή οργάνου

2.5. Μελέτη δομής συμπλόκων μέσω φασματομετρίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)

Η δομή των συμπλόκων μελετήθηκε με χρήση φασματοσκοπίας ^1H και ^{13}C NMR σε δευτεριωμένο διμεθυλο-σουλφοξείδιο ($\text{DMSO-}d_6$). Ακολουθεί αποτίμηση των φασμάτων της β-κυκλοδεξτρίνης, αλλά και των συμπλόκων.



Εικόνα 27. Χημική δομή της 4-μεθυλο-ουμπελιφερόνης (**IV**), της ωραπτένης (**V**), καθώς και της β-κυκλοδεξτρίνης (**VI**).

Αποτίμηση φασμάτων της β-κυκλοδεξτρίνης:

¹H NMR (600MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 5.72 (d, J=4.2Hz, 1H, OH-2'), 5.67 (s, 1H, OH-3'), 4.83 (d, J=3.6 Hz, 1H, H-1'), 4.45 (t, J=6-5.4Hz, 1H, OH-6'), 3.63 (m, 3H, H-3' & H-6'), 3.56 (d, J=9.6Hz, 1H, H-5'), 3.37 (br, 1H, H-4'), 3.30 (br, 1H, H-2')

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 101.97, 82.09, 73.27, 72.12, 59.60

Αποτίμηση φασμάτων της 4-μεθυλο-ουμπελιφερόνης:

¹H NMR (600MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 10.50 (s, 1H, OH), 7.58 (d, J=8.4Hz, 1H, H-5), 6.79 (dd, J=8.4Hz, J=2.4Hz, 1H, H-6), 6.70 (d, J=2.4Hz, 1H, H-8), 6.12 (s, 1H, H-3), 2.35 (s, 3H, CH₃)

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 161.13, 160.25, 154.82, 153.49, 126.59, 112.83, 112.00, 110.23, 102.16, 18.08

Αποτίμηση φασμάτων της ωραπτένης:

¹H NMR (600MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 7.98 (d, J=9.6Hz, 1H, H-4), 7.61 (d, J=8.4Hz, 1H, H-5), 6.97 (d, J=2.4Hz, 1H, H-8), 6.93 (dd, J=8.4Hz, J=3.6-2.4Hz, 1H, H-6), 6.27 (d, J=9Hz, 1H, H-3), 5.43 (t, J=6.6-6Hz, 1H, H-2'), 5.04 (t, J=6.6Hz, 1H, H-6'), 4.65 (d, J=6.6Hz, 2H, H-1'), 1.72 (s, 3H, CH₃-3'), 1.60 (s, 3H, CH₃-7'), 1.55 (s, 3H, CH₃-8')

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 161.61, 160.27, 155.34, 144.31, 141.12, 131.02, 129.36, 123.68, 118.94, 112.93, 112.34, 112.22, 101.34, 65.14, 25.72, 25.40, 23.76, 17.53, 16.37

Αποτίμηση φασμάτων του συμπλόκου β-κυκλοδεξτρίνης- 4-μεθυλο-ουμπελιφερόνης:

¹H NMR (600MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 10.50 (br, 1H, OH), 7.60 (d, J=9Hz, 1H, H-5), 6.80 (dd, J=9Hz, J=2.4Hz, 1H, H-6), 6.70 (d, J=2.4Hz, 1H, H-8), 6.13 (br, 1H, H-3), 5.71 (d, J=7.2Hz, 1H, OH-), 5.66 (d, J=2.4Hz, 1H, OH-), 4.83 (d, J=3.6Hz, H-1'), 4.44 (t, J=5.4Hz, 1H, H-3'), 3.64 (m, 3H, H-5' & H-6'), 3.56 (d, J=9.6Hz, 1H, H-2') 3.35 (t, J=9.6Hz, 1H, H-4'), 2.37 (s, 3H, CH₃), 2.05 (m, 4H, H-4' & H-5'), 1.72 (s, 3H, CH₃-3'), 1.60 (s, 3H, CH₃-7'), 1.55 (s, 3H, CH₃-8')

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 161.16, 160.28, 154.84, 153.55, 126.62, 112.89, 112.01, 110.23, 102.17, 101.93, 81.54, 73.04, 72.03, 59.91, 18.10

Αποτίμηση φασμάτων του συμπλόκου β-κυκλοδεξτρίνης-ωραπτένης:

¹H NMR (600MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 7.99 (d, J=9.6Hz, 1H, H-4), 7.61 (d, J=9Hz, 1H, H-5), 6.98 (d, J=1.8Hz, 1H, H-8), 6.94 (dd, J=8.4Hz, J=2.4Hz, 1H, H-6), 6.28 (d, J=9.6Hz, 1H, H-3), 5.71 (d, J=6.6Hz, 1H, OH-), 5.66 (d, J=2.4Hz, 1H, OH-), 5.43 (t, J=7.2Hz, 1H, H-2'), 5.05 (t, J=6.6Hz, 1H, H-6'), 4.83 (d, J=3Hz, 1H, H-1''), 4.66 (d, J=6.6Hz, 1H, H-1'), 4.44 (t, J=5.4-6Hz, 1H, H-3'), 3.64 (m, 3H, H-5' & H-6), 3.57 (d, J=9.6Hz, 1H, H-2'), 3.35 (t, J=9.6Hz, 1H, H-4'), 2.06 (m, 4H, H-4' & H-5'), 1.72 (s, 3H, OCH₃-3'), 1.60 (s, 3H, OCH₃-8'), 1.56 (s, 3H, OCH₃-7')

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 161.64, 160.32, 155.36, 144.37, 141.18, 131.06, 129.41, 123.71, 118.96, 112.97, 112.37, 112.25, 101.94, 101.37, 81.54, 73.05, 73.04, 65.17, 59.91, 25.74, 25.40, 23.81, 17.57, 16.41

2.6. Μελέτη δομής συμπλόκων μέσω Υπέρυθρης φασματομετρίας (FT-IR)

Η ανάλυση FT-IR της β-κυκλοδεξτρίνης, των ενώσεων και των συμπλόκων πραγματοποιήθηκε στο όργανο JASCO FT/IR-4200 με χρήση δισκίων βρωμιούχου καλίου (KBr). Αξιολογώντας τις μετατοπίσεις των χαρακτηριστικών κορυφών της β-κυκλοδεξτρίνης και των ενώσεων, λαμβάνονται πληροφορίες για τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ του “φιλοξενούμενου” μορίου και του μορίου «ξενιστή» (“host-guest” interactions).

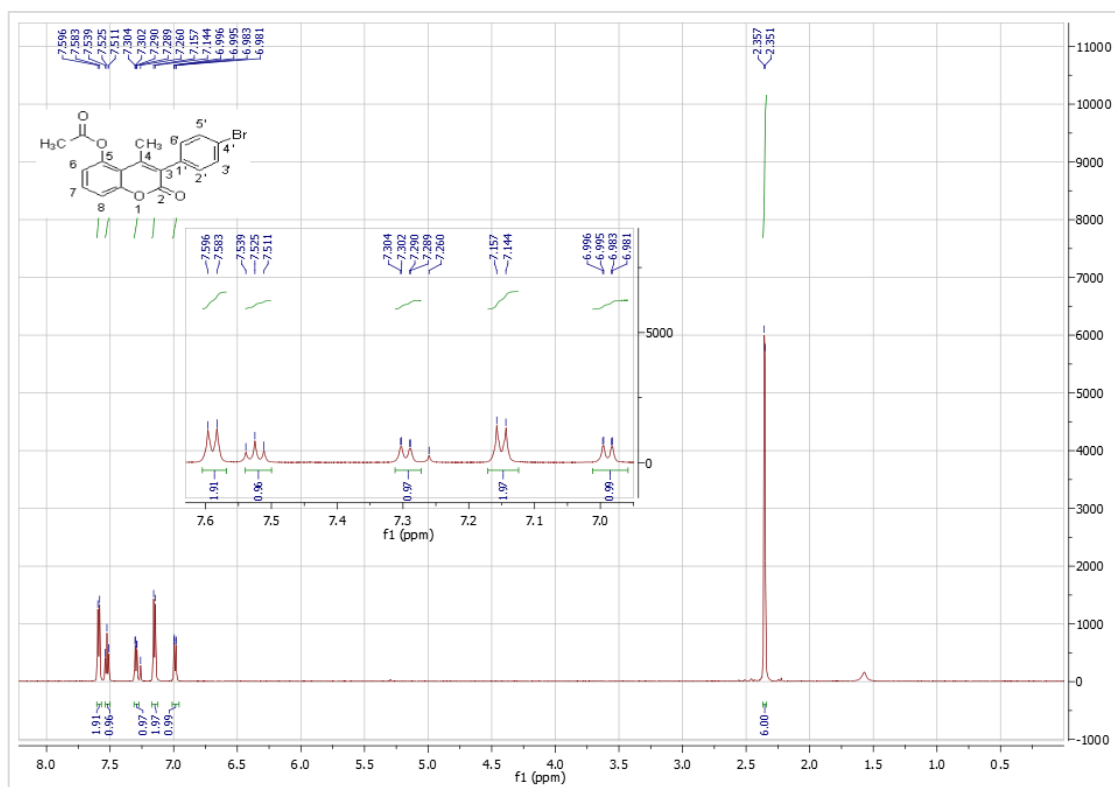
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

1. Αποτελέσματα σύνθεσης και φασματοσκοπική μελέτη των νέων κουμαρινικών αναλόγων

Στην παρούσα διπλωματική εργασία συντέθηκαν είκοσι νέα κουμαρινικά παράγωγα και ταυτοποιήθηκαν μέσω φασματοσκοπίας ^1H και ^{13}C NMR. Τα έξι ακετυλοξυ-παράγωγα συντέθηκαν σε ικανοποιητικές αποδόσεις μέσω αντίδρασης ακετυλίωσης και ακολούθησε καθαρισμός τους με μέθοδο ανακρυστάλλωσης. Τα πέντε νέα υδροξυ-κουμαρινικά παράγωγα συντέθηκαν σε υψηλές αποδόσεις μέσω μεθόδου αποπροστασίας των ακετυλοξυ-παραγώγων, απαιτώντας καθαρισμό με μέθοδο χρωματογραφίας στήλης. Ακόμη, τα πέντε αντίστοιχα νέα γερανυλοξυ-παράγωγα, που απαιτούν τρία στάδια αντιδράσεων για τη σύνθεσή τους, συντέθηκαν σε υψηλές αποδόσεις μέσω αντίδρασης αλκυλίωσης και στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε καθαρισμός τους μέσω μεθόδου χρωματογραφίας στήλης.

Έπειτα, εξετάστηκε η κατάλληλη συνθετική πορεία για τη σύνθεση νέων μορίων κουμαρινών-χαλκονών (**5a**, **5b**) και μελετήθηκαν οι παράμετροι που επηρεάζουν την αντίδραση, όπως η θερμοκρασία ή η χρησιμοποιούμενη βάση. Επιπροσθέτως, επιτεύχθηκε η σύνθεση του μορίου κουμαρίνης-χαλκόνης **5a** και με χρήση μικροκυματικής ακτινοβολίας με αποτέλεσμα τη μείωση του χρόνου της αντίδρασης σε 90 λεπτά από 48 ώρες. Ωστόσο, παρατηρήθηκαν χαμηλές αποδόσεις και στις δυο περιπτώσεις, γεγονός το οποίο πιθανώς να οφείλεται στην παρουσία μίγματος αντιδρώντων στο προϊόν, τα οποία όμως στη συνέχεια απομακρύνθηκαν μέσω ανακρυστάλλωσης. Η αύξηση του χρόνου της αντίδρασης ή της ενέργειας που προσδόθηκε μέσω μικροκυμάτων πιθανώς να οδηγούσε σε μεγαλύτερη απόδοση.

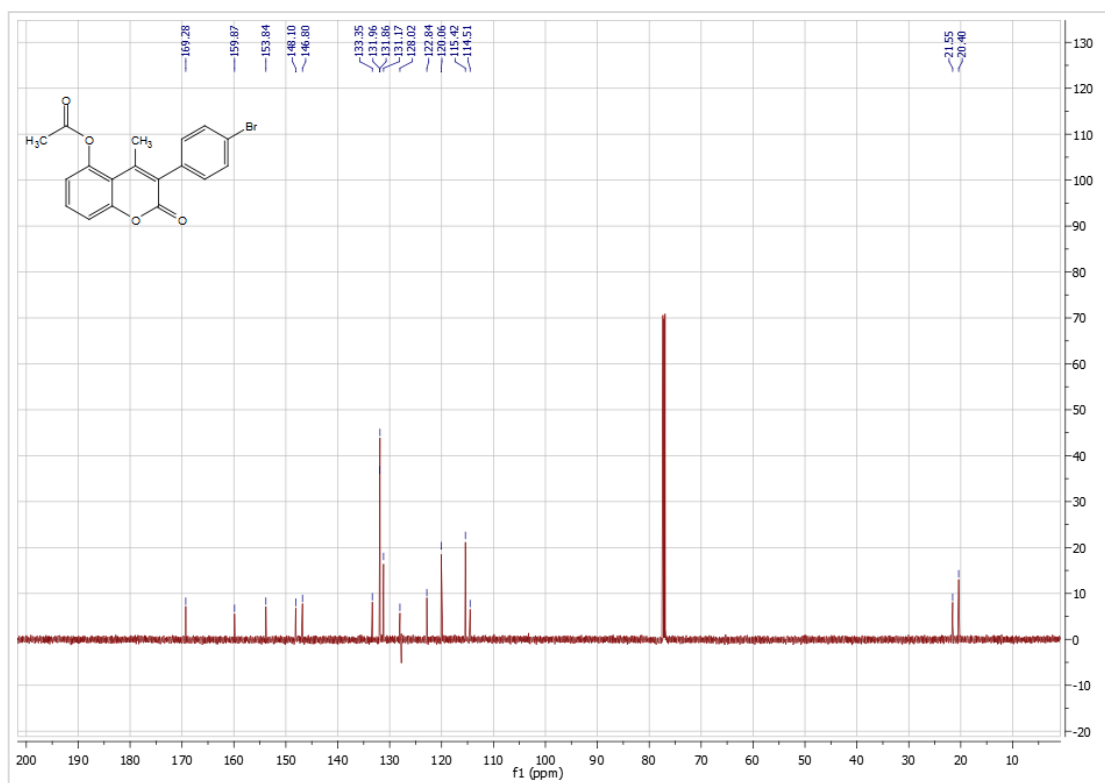
Ακολουθεί φασματοσκοπική μελέτη των κυριότερων μορίων που προαναφέρθηκαν. Πιο συγκεκριμένα, θα αναλυθούν τα φάσματα ^1H και ^{13}C NMR των ενώσεων (**1b**), (**2b**), (**3b**), (**4a**), (**4b**), (**5a**) και (**5b**).



Εικόνα 28. Φάσμα ^1H NMR της 5-ακετυλοξυ-3-(4-βρωμοφαινυλο)-4-μεθυλοκουμαρίνης (CDCl_3).

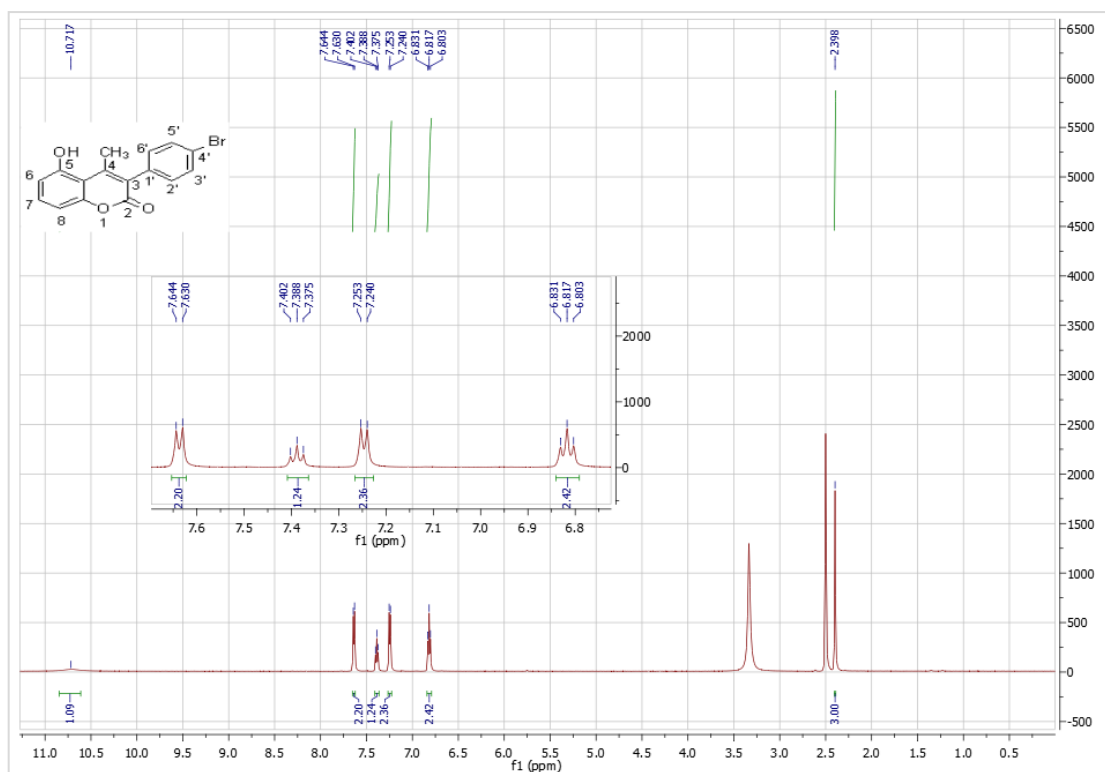
Το φάσμα αυτό χαρακτηρίζεται από την παρουσία μιας απλής κορυφής στα 2.35 ppm που οφείλεται στα πρωτόνια της ακετυλο-ομάδας, και μιας απλής στα 2.36 που ολοκληρώνεται για 3 πρωτόνια κι αποδίδεται στα πρωτόνια της μεθυλο-ομάδας της θέσης 4. Στη συνέχεια, στα 6.99 ppm εμφανίζεται μία διπλή διπλών κορυφή η οποία αποδίδεται στο H-6, καθώς διαθέτει ένα γειτονικό μη ισοδύναμο πρωτόνιο, όμως επηρεάζεται από το H-8.

Στα 7.15 ppm εμφανίζεται μία διπλή κορυφή, η οποία ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια, το H-2' και το H-6' και στα 7.30 ppm εμφανίζεται μία διπλή διπλών, η οποία αποδίδεται στο H-8. Έπειτα, στα 7.53 ppm εμφανίζεται μία τριπλή κορυφή που αποδίδεται στο H-7, καθώς έχει δύο μη ισοδύναμα γειτονικά πρωτόνια. Τέλος, στα 7.59 εμφανίζεται μία διπλή κορυφή που αποδίδεται στα H-3' και H-5'.



Εικόνα 29. Φάσμα ¹³C NMR της 5-ακετυλοξυ-3-(4-βρωμοφαινυλο)-4-μεθυλοκουμαρίνης (CDCl₃).

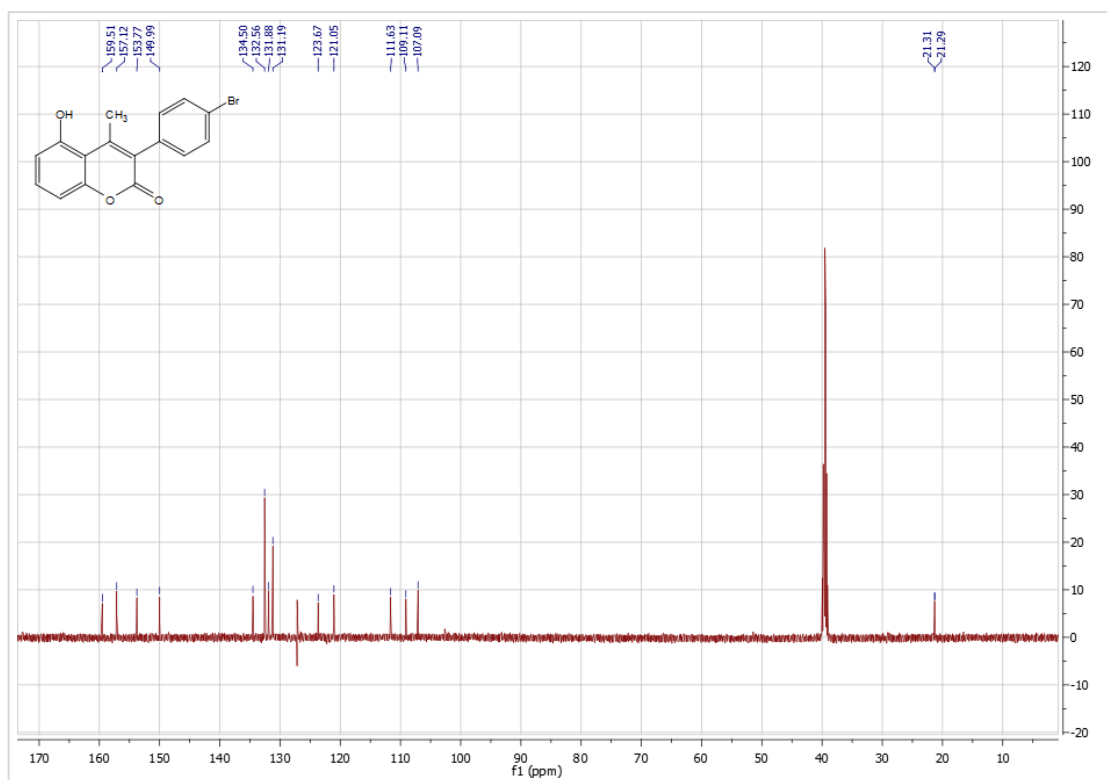
Στο φάσμα ¹³C NMR της ίδιας ένωσης (Εικόνα 29) παρατηρούμε μία κορυφή σε χαμηλό μαγνητικό πεδίο, στα 169.28ppm, η οποία αποδίδεται στον καρβονυλικό άνθρακα της ακετυλο-ομάδας και στη συνέχεια μια κορυφή στα 159.87 ppm που αποδίδεται στον αποπροστατευμένο καρβονυλικό άνθρακα της θέσης 2- του μορίου. Η κορυφή που αποδίδεται στην πιο προστατευμένη ομάδα του άνθρακα της μεθυλο-ομάδας τη 4 θέσης, εμφανίζεται στα 21.55 ppm. Τέλος, ο άνθρακας της ακετυλο-ομάδας συντονίζεται στα 20.40 ppm.



Εικόνα 30. Φάσμα ¹H NMR της 5-υδροξυ-3-(4-βρωμοφαινυλο)-4-μεθυλο-κουμαρίνης (DMSO - *d*₆).

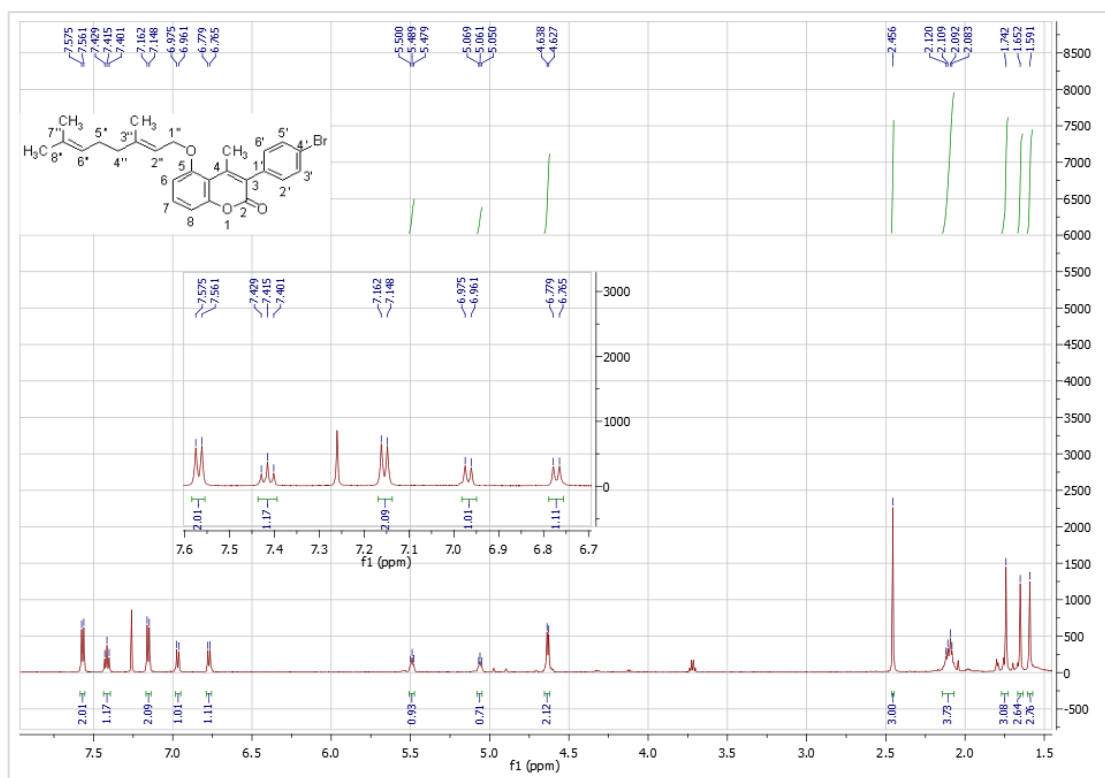
Το φάσμα αυτό χαρακτηρίζεται από την παρουσία μιας απλής κορυφής στα 2.40 ppm που οφείλεται στα τρία ισοδύναμα πρωτόνια της μεθυλο-ομάδας της θέσης 4-. Στη συνέχεια, στα 6.82 ppm εμφανίζεται μία τριπλή κορυφή η οποία αποδίδεται στα H-6 και H-8.

Στα 7.25 ppm εμφανίζεται μία διπλή κορυφή που οφείλεται στα H-2' και H-6', ενώ στα 7.39 ppm εμφανίζεται μία τριπλή κορυφή η οποία αποδίδεται στο H-7, καθώς διαθέτει δύο μη ισοδύναμα γειτονικά πρωτόνια. Έπειτα, στα 7.64 ppm εμφανίζεται μία διπλή η οποία οφείλεται στα H-3' και H-5'. Τέλος, στα 10.72 ppm εμφανίζεται μία ευρεία κορυφή που αντιστοιχεί στο υδροξύλιο της θέσης 5.



Εικόνα 31. Φάσμα ^{13}C NMR της 5-υδροξυ-3-(4-βρωμοφαινυλο)-4-μεθυλο-κουμαρίνης (DMSO – d_6).

Στο φάσμα ^{13}C NMR της 5-υδροξυ-3-(4-βρωμοφαινυλο)-4-μεθυλο-κουμαρίνης (Εικόνα 31) παρατηρούμε μία κορυφή σε χαμηλό μαγνητικό πεδίο, στα 159.51 ppm, η οποία αποδίδεται στον αποπροστατευμένο καρβονυλικό άνθρακα της θέσης 2- του μορίου. Η κορυφή που αποδίδεται στον άνθρακα της μεθυλομάδας τη 4 θέσης, εμφανίζεται στα 21.30 ppm.



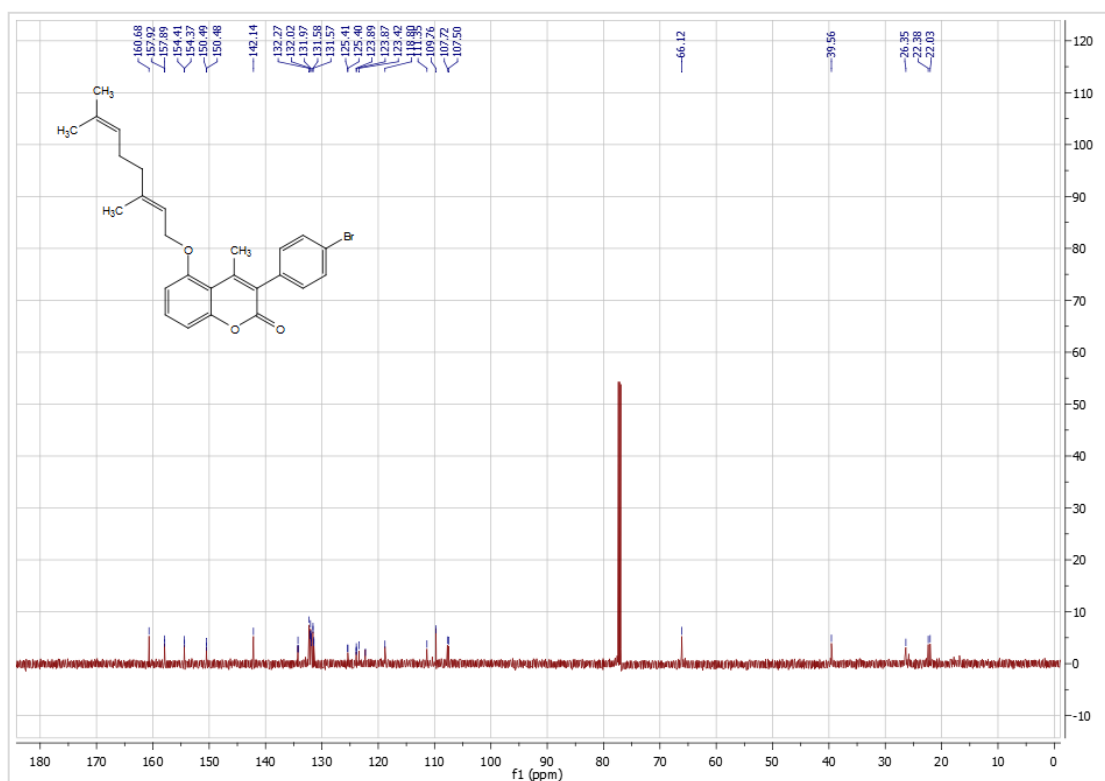
Εικόνα 32. Φάσμα ^1H NMR της 5-γερανυλοξυ-3-(4-βρωμοφαινυλο)-4-μεθυλοκουμαρίνης (CDCl_3).

Το φάσμα αυτό χαρακτηρίζεται από την παρουσία μιας απλής κορυφής στα 1.59 ppm, μίας απλής στα 1.65 ppm κι άλλης μίας απλής κορυφής στα 1.74 ppm που ολοκληρώνονται για τρία πρωτόνια η κάθε μία και οφείλονται στις μεθυλοομάδες των θέσεων 7''-, 8''- και 3''- αντίστοιχα της γερανυλο-αλυσίδας.

Στη συνέχεια, στα 2.10 ppm εμφανίζεται μία πολλαπλή κορυφή που ολοκληρώνεται για τέσσερα πρωτόνια κι άρα αποδίδεται στα H-4'' και H-5''. Στα 2.46 ppm εμφανίζεται μια απλή κορυφή που οφείλεται στα τρία ισοδύναμα πρωτόνια της μεθυλο-ομάδας της θέσης 4-. Ακολουθούν τα υπόλοιπα πρωτόνια που ανήκουν στη γερανυλο-αλυσίδα. Πιο συγκεκριμένα, στα 4.63 ppm εμφανίζεται μία διπλή κορυφή η οποία αποδίδεται στα δύο πρωτόνια H-1''. Στα 5.06 ppm εμφανίζεται μία τριπλή κορυφή που οφείλεται στο H-6'', καθώς διαθέτει δύο μη ισοδύναμα γειτονικά πρωτόνια. Στα 5.49 ppm εμφανίζεται επίσης μία τριπλή κορυφή που οφείλεται στο H-2'', καθώς διαθέτει δύο μη ισοδύναμα γειτονικά πρωτόνια.

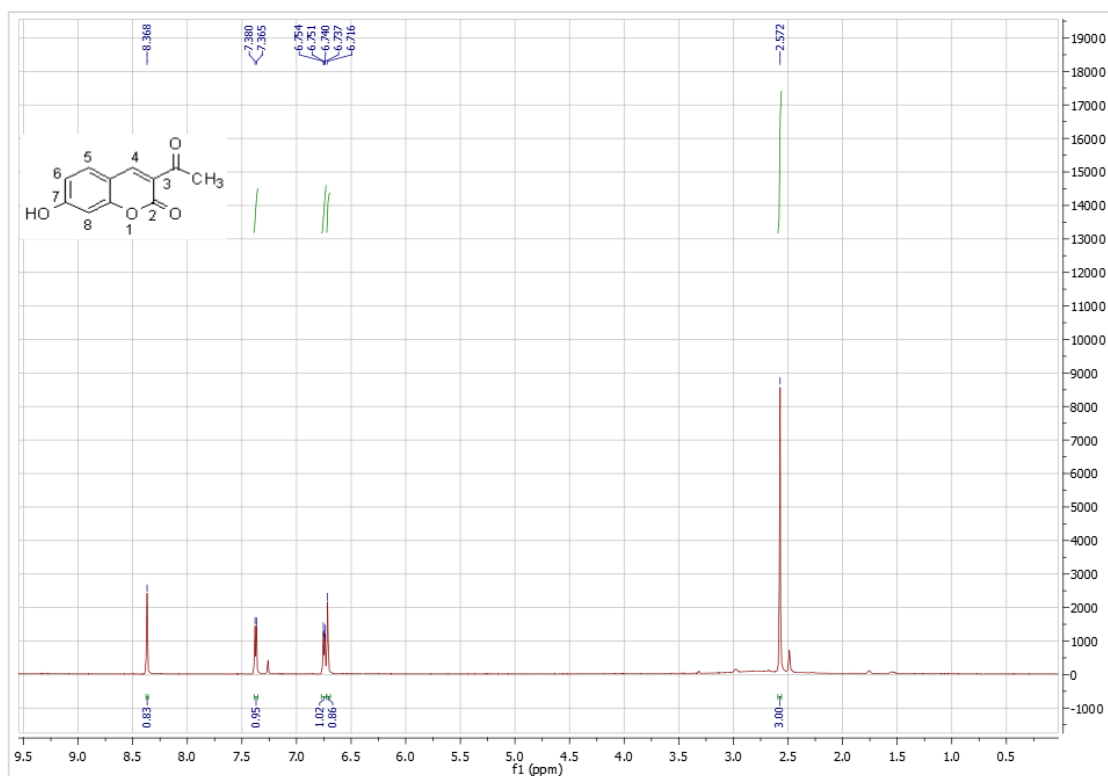
Ακολουθούν τα αρωματικά πρωτόνια του κουμαρινικού και φαινολικού δακτυλίου. Στα 6.77 εμφανίζεται μία διπλή κορυφή η οποία οφείλεται στο H-6. Στα 6.97 ppm εμφανίζεται μία διπλή κορυφή, επίσης, η οποία αποδίδεται στο H-8. Στη συνέχεια, στα 7.16 ppm εμφανίζεται άλλη μία διπλή κορυφή, η οποία ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια κι άρα οφείλεται στα H-2' και H-6'. Στα 7.42 ppm εμφανίζεται μία τριπλή που οφείλεται στο H-7, καθώς έχει δύο μη

ισοδύναμα γειτονικά πρωτόνια. Τέλος, στα 7.57 ppm εμφανίζεται μία διπλή κορυφή, η οποία ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια κι οφείλεται στα H-3' και H-5'.



Εικόνα 33. Φάσμα ^{13}C NMR της 5-γερανυλοξυ-3-(4-βρωμοφαινυλο)-4-μεθυλοκουμαρίνης (CDCl_3).

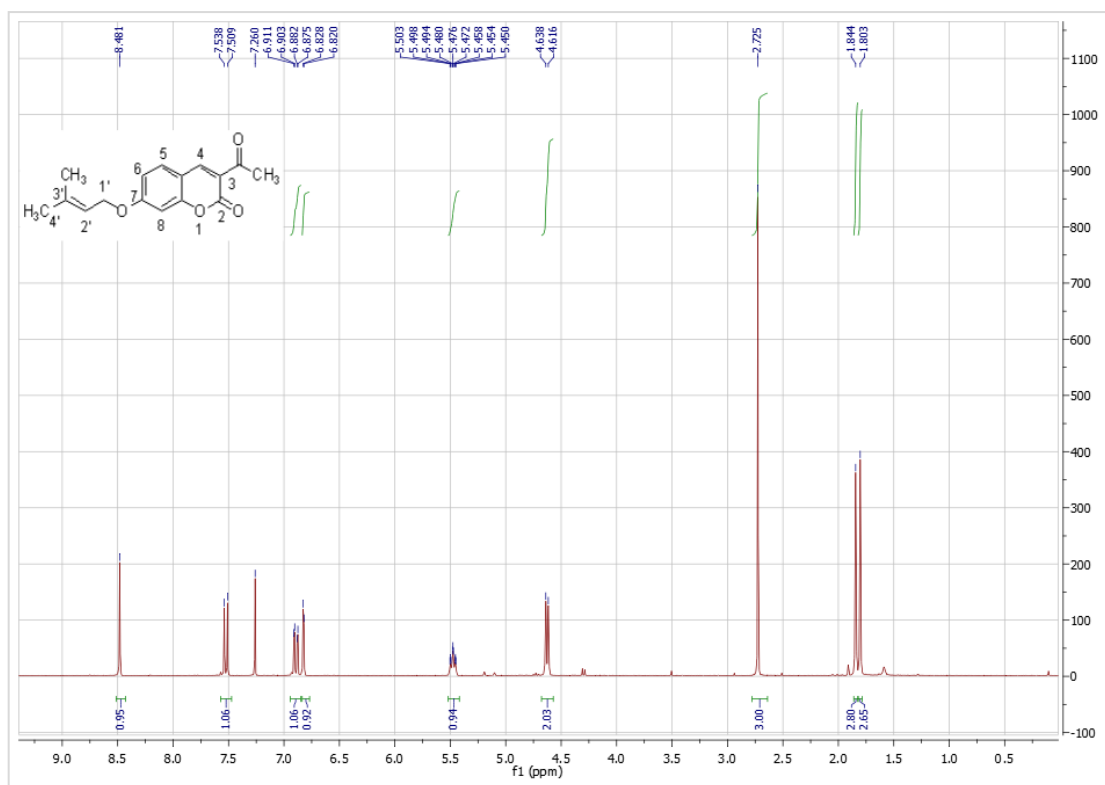
Στο φάσμα ^{13}C NMR της 5-γερανυλοξυ-3-(4-βρωμοφαινυλο)-4-μεθυλοκουμαρίνης (Εικόνα 33) παρατηρούμε μία κορυφή σε χαμηλό μαγνητικό πεδίο, στα 66.12 ppm, η οποία αποδίδεται στον αποπροστατευμένο καρβονυλικό άνθρακα της θέσης 2- του μορίου. Οι κορυφές που εμφανίζονται στα 39.56, 26.35, 22.38 και 22.03 αποδίδονται στη μεθυλο-ομάδα της θέσης 4- του κουμαρινικού δακτυλίου και στις μεθυλο-ομάδες της γερανυλο-αλυσίδας.



Εικόνα 34. Φάσμα ¹H NMR της 3-ακετυλο-7-υδροξυ-κουμαρίνης (CDCl₃).

Το φάσμα αυτό χαρακτηρίζεται από την παρουσία μιας απλής κορυφής στα 2.57 ppm που οφείλεται στα τρία ισοδύναμα πρωτόνια της ακετυλο-ομάδας. Στα 6.72 ppm εμφανίζεται μία απλή κορυφή που οφείλεται στο H-8, το οποίο δεν έχει γειτονικά αρωματικά πρωτόνια.

Έπειτα, στα 6.75 ppm εμφανίζεται μία διπλή διπλών, η οποία αποδίδεται στο H-6, το οποίο διαθέτει γειτονικό αρωματικό πρωτόνιο (H-5), επηρεάζεται όμως κι από το H-8. Στα 7.37 ppm εμφανίζεται μία διπλή κορυφή που αποδίδεται στο H-5, καθώς διαθέτει ένα γειτονικό μη ισοδύναμο πρωτόνιο. Τέλος, στα 8.37 ppm εμφανίζεται μία απλή κορυφή που αποδίδεται στο H-4, διότι δε διαθέτει γειτονικά πρωτόνια.

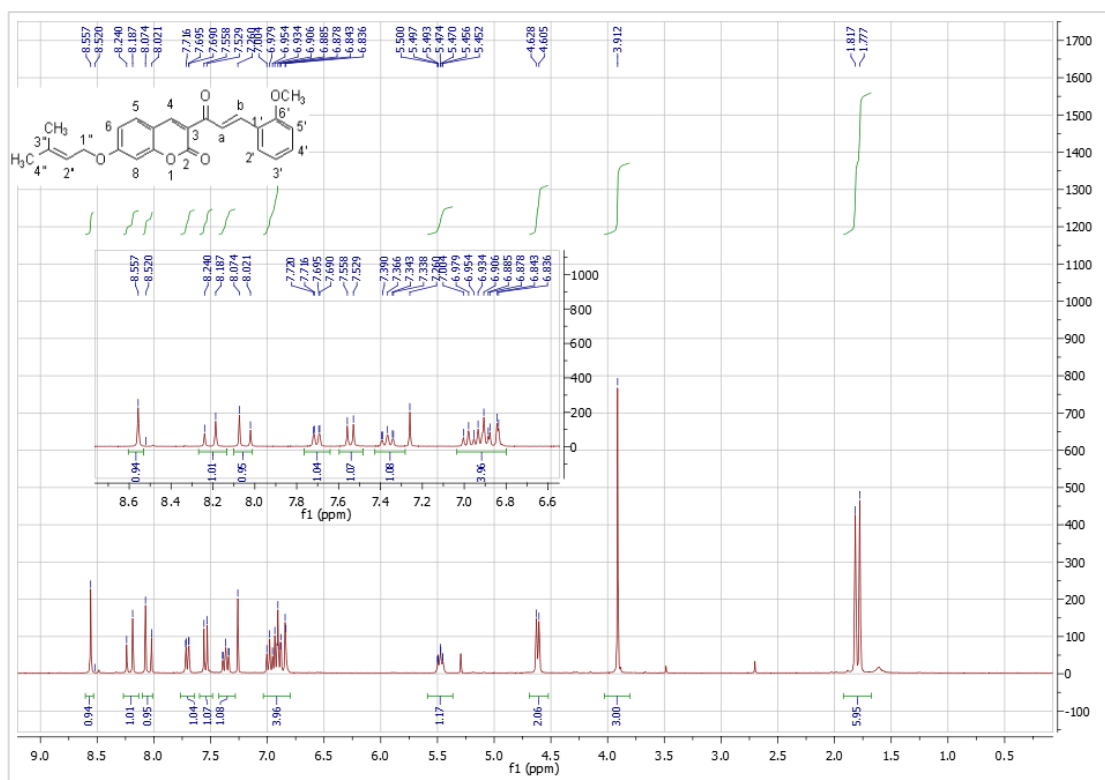


Εικόνα 35. Φάσμα ^1H NMR της 3-ακετυλο-7-πρενυλοξυ-κουμαρίνης (CDCl_3).

Το φάσμα αυτό χαρακτηρίζεται από την παρουσία μιας απλής κορυφής στα 1.80 ppm που οφείλεται στα τρία ισοδύναμα πρωτόνια της μεθυλο-ομάδας της θέσης 4', μίας απλής στα 1.84 ppm που οφείλεται στα τρία ισοδύναμα πρωτόνια της μεθυλο-ομάδας της θέσης 3' της πρενυλο-αλυσίδας κι άλλης μίας απλής στα 2.73 ppm που οφείλεται τρία ισοδύναμα πρωτόνια της ακετυλο-ομάδας.

Ακολουθούν τα υπόλοιπα πρωτόνια που ανήκουν στην πρενυλο-αλυσίδα. Ειδικότερα, στα 4.63 ppm εμφανίζεται μία διπλή κορυφή η οποία αποδίδεται στα δύο πρωτόνια H-1'. Και στα 5.48 ppm εμφανίζεται μία τριπλή τριπλών κορυφή η οποία οφείλεται στο H-2'.

Έπειτα, εμφανίζονται τα αρωματικά πρωτόνια του κουμαρινικού δακτυλίου. Στα 6.82 ppm εμφανίζεται μία διπλή κορυφή που οφείλεται στο H-8. Στα 6.89 εμφανίζεται μία διπλή διπλών κορυφή, η οποία οφείλεται στο H-6. Στα 7.52 ppm εμφανίζεται μία διπλή κορυφή, η οποία αποδίδεται στο H-5, καθώς διαθέτει ένα μη ισοδύναμο γειτονικό πρωτόνιο. Τέλος, στα 8.48 ppm εμφανίζεται μία απλή κορυφή του H-4.



Εικόνα 36. Φάσμα ^1H NMR της 3-(3-(2-μεθοξυφαινυλ)ακρυλοϋλ)-7-((3-μεθυλοβουτ-2-εν-1-υλ)οξυ)-2H-χρωμεν-2-όνης (CDCl_3).

Το φάσμα αυτό χαρακτηρίζεται από την παρουσία μιας διπλής κορυφής στα 1.80 ppm που οφείλεται στα έξι πρωτόνια της μεθυλο-ομάδας της θέσης 3' και της θέσης 4' της πρενυλο-αλυσίδας και μίας απλής στα 3.91 ppm που οφείλεται στα τρία ισοδύναμα πρωτόνια της μεθοξυ-ομάδας της θέσης 6'.

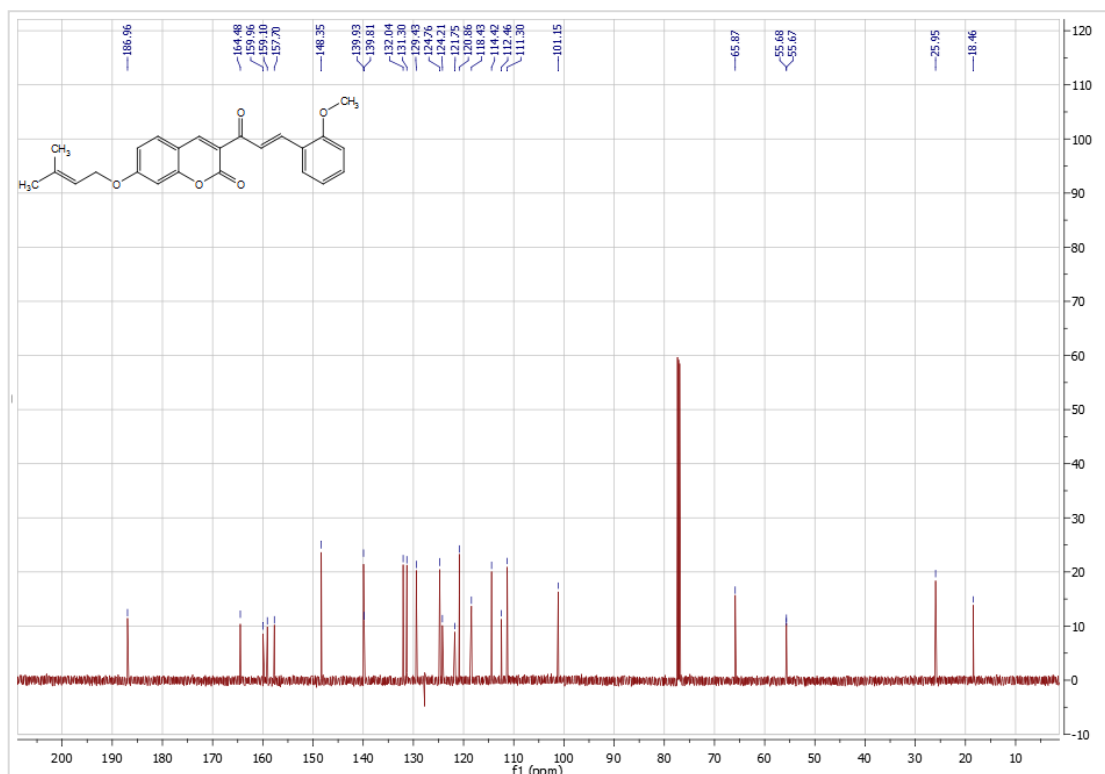
Στη συνέχεια, στα 4.61 ppm εμφανίζεται μία διπλή κορυφή, η οποία αποδίδεται στα δύο πρωτόνια $\text{H}-1''$ και στα 5.48 ppm εμφανίζεται μια τριπλή τριπλών κορυφή που οφείλεται στο $\text{H}-2''$, κορυφές που ανήκουν σε πρωτόνια της πρενυλο-αλυσίδας.

Στα 6.91 ppm εμφανίζεται μία πολλαπλή κορυφή που ολοκληρώνεται για τέσσερα πρωτόνια, τα $\text{H}-6$, $\text{H}-8$, $\text{H}-3'$ και $\text{H}-5'$. Στα 7.37 ppm εμφανίζεται μία ψευδο-τριπλή κορυφή η οποία αποδίδεται στο $\text{H}-4''$. Έπειτα, στα 7.54 ppm εμφανίζεται διπλή κορυφή που οφείλεται στο $\text{H}-5$, διότι διαθέτει ένα γειτονικό και μη ισοδύναμο πρωτόνιο. Στα 7.71 εμφανίζεται μία διπλή διπλών κορυφή η οποία οφείλεται στο $\text{H}-2'$.

Ακόμη, στα 8.05 ppm εμφανίζεται μία διπλή κορυφή, επίσης με $J=15.9\text{Hz}$, η οποία αποδίδεται στο $\text{H}-a$, καθότι η σταθερά σύζευξης των βινυλικών⁴ πρωτονίων κυμαίνεται συνήθως κοντά στην τιμή αυτή και διότι παρατηρούμε ότι η ίδια τιμή προκύπτει και στα 8.21 ppm, όπου εμφανίζεται άλλη μία διπλή

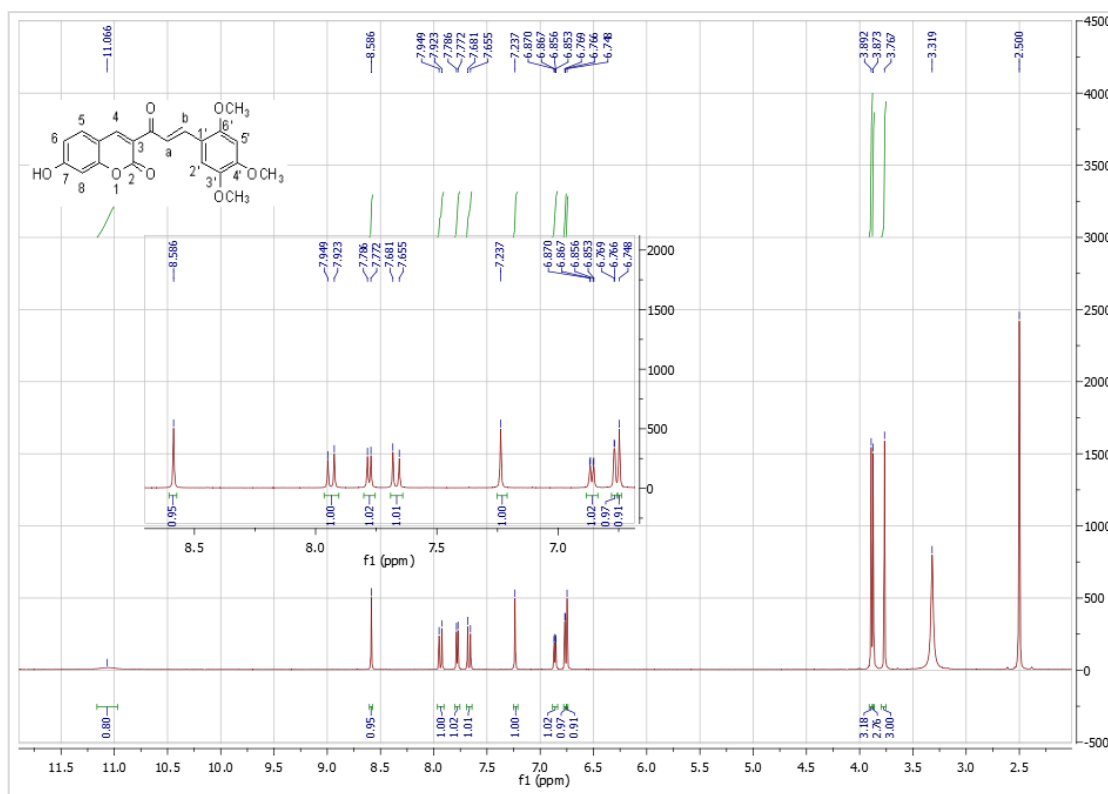
⁴ Πρωτόνια σε άνθρακες διπλού δεσμού.

κορυφή με $J=15.9\text{Hz}$ και αποδίδεται στο H-b. Η τιμή των σταθερών σύζευξης των βινυλικών πρωτονίων, αποδεικνύει την *trans* διευθέτησή τους κι άρα και τη στερεοεκλεκτικότητα της αντίδρασης. Τέλος, στα 8.56 ppm εμφανίζεται μία απλή που οφείλεται στο H-4, καθώς δε διαθέτει γειτονικά αρωματικά πρωτόνια.



Εικόνα 37. Φάσμα ^{13}C NMR της 3-(3-(2-μεθοξυφαινυλ)ακρυλοϋλ)-7-((3-μεθυλοβουτ-2-εν-1-υλ)οξυ)-2H-χρωμεν-2-όνης (CDCl_3).

Στο φάσμα ^{13}C NMR της ίδιας ένωσης (Εικόνα 37) παρατηρούμε μία κορυφή σε χαμηλό μαγνητικό πεδίο, στα 186.96 ppm, η οποία αποδίδεται στον καρβονυλικό άνθρακα του α , β ακόρεστου συστήματος. Στη συνέχεια, στα 164.48 ppm εμφανίζεται ο άνθρακας της θέσης 7- και στα 159.96 ppm ο αποπροστατευμένος καρβονυλικός άνθρακας της θέσης 2- του μορίου. Η κορυφή που εμφανίζεται στα 55.68 ppm, αποδίδεται στον άνθρακα της μεθοξο-ομάδας. Οι άνθρακες των μεθυλο-ομάδων της πρενυλο-αλυσίδας συντονίζονται στα 25.95 και 18.46 ppm. Η κορυφή που αποδίδεται στην πιο προστατευμένη ομάδα του άνθρακα της μεθυλο-ομάδας τη 4 θέση, εμφανίζεται στα 20.14 ppm. Τέλος, ο άνθρακας της ακετυλο ομάδας συντονίζεται στα 21.25 ppm.

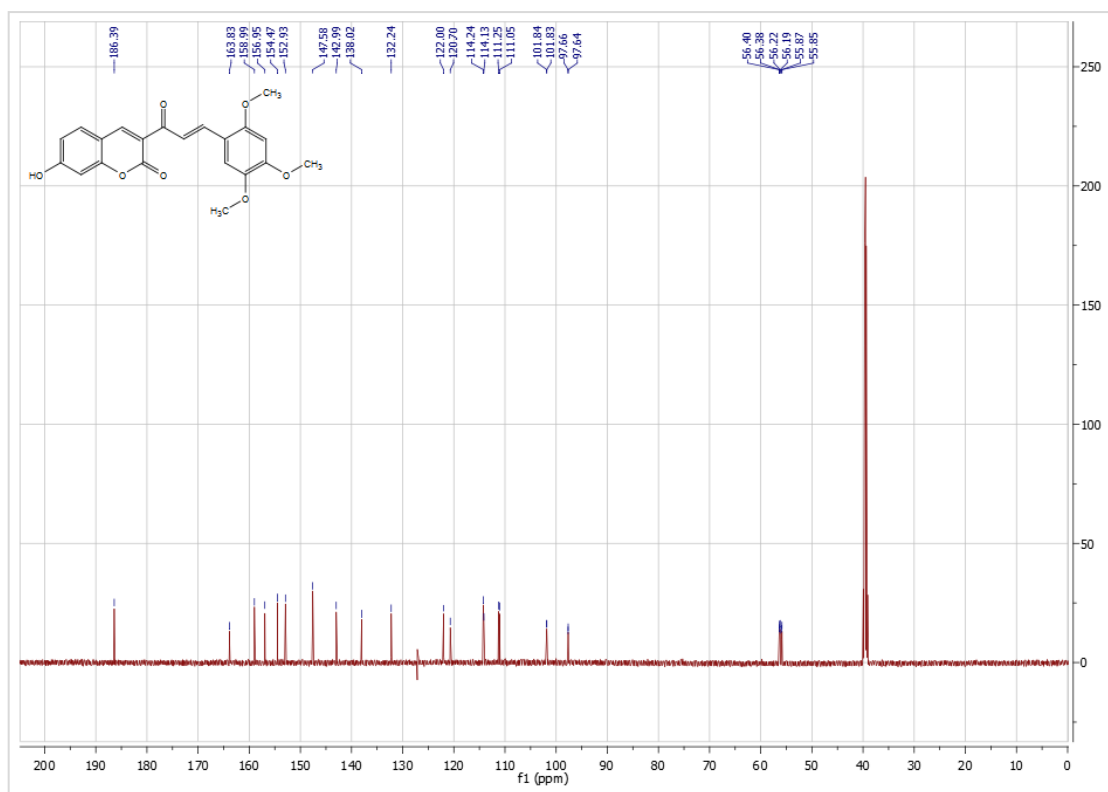


Εικόνα 38. Φάσμα ^1H NMR της 7-υδροξυ-3-(3-(2,4,5,-τριμεθοξυφαινυλ)ακρυλοϋλ)-2H-χρωμεν-2-όνης ($\text{DMSO} - d_6$).

Το φάσμα αυτό χαρακτηρίζεται από μία απλή κορυφή στα 3.77 ppm που οφείλεται στα τρία ισοδύναμα πρωτόνια της μεθοξυ-ομάδας της θέσης 4'. Στα 3.89 ppm και στα 3.87 ppm εμφανίζονται δύο απλές κορυφές που ολοκληρώνονται για 3 πρωτόνια η κάθε μία και αποδίδονται στα πρωτόνια των μεθοξυ-ομάδων των θέσεων 6' και 3'.

Στα 6.75 ppm εμφανίζεται μία απλή κορυφή που αποδίδεται στο πρωτόνιο H-5'. Στα 6.77 ppm εμφανίζεται μία διπλή κορυφή, η οποία αποδίδεται στο H-8, το οποίο δε διαθέτει γειτονικά αρωματικά πρωτόνια, όμως επηρεάζεται από το H-6. Στη συνέχεια, στα 6.86 ppm εμφανίζεται μία διπλή διπλών κορυφή, που οφείλεται στο H-6. Στα 7.24 ppm εμφανίζεται μία απλή κορυφή που οφείλεται στο H-2' που δε διαθέτει γειτονικά αρωματικά πρωτόνια.

Στα 7.67 ppm εμφανίζεται μία διπλή κορυφή που οφείλεται στο H-a. Έπειτα, στα 7.78 ppm εμφανίζεται μία διπλή κορυφή που οφείλεται στο H-5, καθώς διαθέτει ένα μη ισοδύναμο γειτονικό πρωτόνιο. Στα 7.94 ppm εμφανίζεται μία διπλή κορυφή που οφείλεται στο H-b και στα 8.59 ppm εμφανίζεται μία απλή κορυφή που αποδίδεται στο H-4. Τέλος, στα 11.07 ppm εμφανίζεται μία ευρεία κορυφή που αντιστοιχεί στο -OH.



Εικόνα 39. Φάσμα ^{13}C NMR της 7-υδροξυ-3-(3-(2,4,5,-τριμεθοξυφαινυλ)ακρυλοϋλ)-2H-χρωμεν-2-όνης ($\text{DMSO} - d_6$).

Στο φάσμα ^{13}C NMR της ίδιας ένωσης (Εικόνα 39) παρατηρούμε μία κορυφή σε χαμηλό μαγνητικό πεδίο, στα 186.39 ppm, η οποία αποδίδεται στον καρβονυλικό άνθρακα του α, β ακόρεστου συστήματος. Στη συνέχεια, στα 158.99 ppm εμφανίζεται ο ο αποπροστατευμένος καρβονυλικός άνθρακας της θέσης 2- του μορίου και στα 156.95 ppm ο άνθρακας της θέσης 7. Οι άνθρακες των μεθοξυ-ομάδων συντονίζονται στα 56.39, 56.21 και 55.86 ppm αντίστοιχα.

2. Χαρακτηρισμός των συμπλόκων

Στο υποκεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται τα αποτελέσματα απόδοσης, αλλά και τα αποτελέσματα της μεθόδου DLS που χαρακτηρίζουν τα νανοσωματίδια ως προς το μέγεθος, το δείκτη πολυδιασποράς και το ζ-δυναμικό τους. Τέλος, ακολουθεί μελέτη της δομής των συμπλόκων μέσω φασματομετρίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR) και φασματοσκοπίας Υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (FT-IR).

2.1. Υπολογισμός απόδοσης εγκλεισμού και διεργασίας

Με βάση τις αρχικές ποσότητες της β-κυκλοδεξτρίνης και της ένωσης που χρησιμοποιήθηκαν καθώς και την ποσότητα του ξηρού συμπλόκου που ανακτήθηκε, μπορεί να υπολογιστεί η απόδοση διεργασίας (Πιν. 7) χρησιμοποιώντας την Εξίσωση 1.

$$\text{Απόδοση διεργασίας} = \frac{\text{μάζα ξηρών μοριακών συμπλόκων (mg)}}{\text{μάζα } \beta\text{-CD (mg)} + \text{μάζα ένωσης (mg)}} * 100\% \quad (1)$$

Πίνακας 7. Πίνακας υπολογισμού αποδόσεων διεργασίας.

	Αρχική ποσότητα β-CD (mg)	Αρχική ποσότητα ένωσης (mg)	Συνολική ποσότητα συστήματος (mg)	Ποσότητα ανακτώμενου συμπλόκου (mg)	Απόδοση διεργασίας
β-CD-4-MU	113.5	17.6	131.1	89.8	69%
β-CD-AUR	113.5	29.8	133.7	85.8	60%

Για τον υπολογισμό της απόδοσης εγκλεισμού απαιτείται η κατασκευή της καμπύλης αναφοράς της κάθε ένωσης. Στον πίνακα που ακολουθεί (Πιν. 8) παρουσιάζονται τόσο ο διαλύτης όσο και το μήκος κύματος στα οποία κατασκευάστηκαν οι καμπύλες αναφοράς για την κάθε ένωση.

Πίνακας 8. Επιλογή διαλυτών και μήκους κύματος για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς.

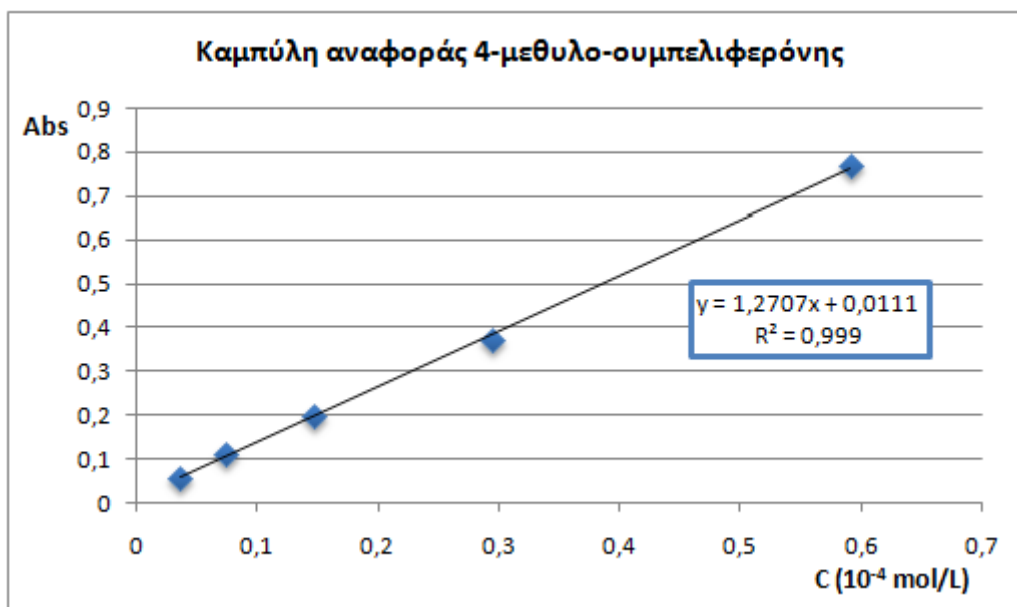
	4-μεθυλο-ουμπελιφερόνη	Ωραπτίνη
Διαλύτης	Αιθανόλη	Οξικός αιθυλεστέρας
Μήκος κύματος (nm)	323	321

Για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς της 4-μεθυλο-ουμπελιφερόνης παρασκευάστηκαν διαλύματα της ένωσης σε αιθανόλη γνωστής συγκέντρωσης και μετρήθηκε η απορρόφηση τους στα 323 nm (Πιν. 9).

Πίνακας 9. Τιμές απορρόφησης διαλυμάτων γνωστής συγκέντρωσης της 4-μεθυλο-ουμπελιφερόνης σε αιθανόλη.

Συγκέντρωση (10^{-4} mol/L)	Απορρόφηση (Abs)
0.591	0.7689
0.296	0.3714
0.148	0.2003
0.074	0.1113
0.037	0.0592

Από τις παραπάνω μετρήσεις, κατασκευάζεται η καμπύλη αναφοράς της 4-μεθυλο-ουμπελιφερόνης (Διάγραμμα 1).



Διάγραμμα 1. Καμπύλη αναφοράς της 4-μεθυλο-ουμπελιφερόνης (323 nm).

Επομένως, η συγκέντρωση της 4-μεθυλο-ουμπελιφερόνης στο σύμπλοκο υπολογίζεται από την εξίσωση: $Abs = 1.2707 C + 0.0111$ (3)

όπου Abs= απορρόφηση του δείγματος στα 321nm

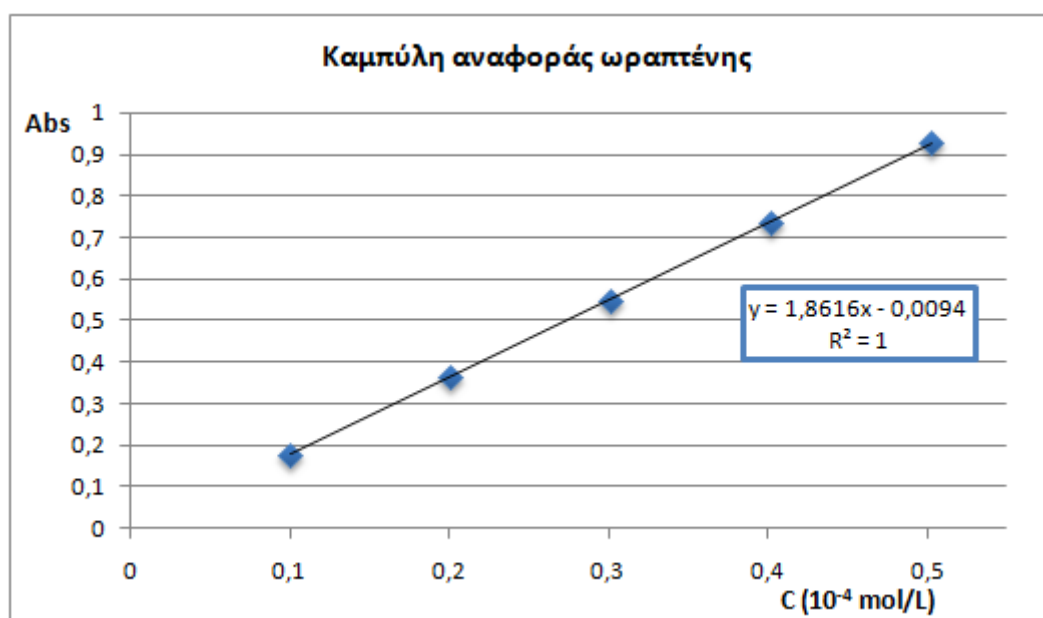
C= συγκέντρωση της ένωσης, mol/L.

Για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς της ωραπτένης παρασκευάστηκαν διαλύματα της ένωσης σε οξικό αιθυλεστέρα γνωστής συγκέντρωσης και μετρήθηκε η απορρόφηση τους στα 321 nm (Πιν. 10).

Πίνακας 10. Τιμές απορρόφησης διαλυμάτων γνωστής συγκέντρωσης της ωραπτένης σε οξικό αιθυλεστέρα.

Συγκέντρωση (10^{-4} mol/L)	Απορρόφηση (Abs)
0.503	0.9284
0.402	0.7375
0.302	0.5501
0.201	0.3667
0.101	0.1780

Από τις παραπάνω μετρήσεις, κατασκευάζεται η καμπύλη αναφοράς της ωραπτένης (Διάγραμμα 2).



Διάγραμμα 2. Καμπύλη αναφοράς της ωραπτένης (321 nm).

Επομένως, η συγκέντρωση της ωραπτένης στο σύμπλοκο υπολογίζεται από την εξίσωση: $Abs = 1.8616 C - 0.0094$ (4)

όπου Abs= απορρόφηση του δείγματος στα 321nm

C= συγκέντρωση της ένωσης, mol/L.

Έτσι, δύναται να υπολογιστεί η ποσότητα της ένωσης που εγκλείστηκε στα σύμπλοκα με β-κυκλοδεξτρίνη από τις εξισώσεις (3) και (4), αλλά κι η απόδοση εγκλεισμού από την εξίσωση (2).

$$\text{Απόδοση εγκλεισμού} = \frac{\text{μάζα ουσίας που εγκλείστηκε (mg)}}{\text{αρχική μάζα ένωσης (mg)}} * 100\% \quad (2)$$

Τα αποτελέσματα που προκύπτουν παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα (Πιν. 11).

Πίνακας 11. Πίνακας υπολογισμού αποδόσεων εγκλεισμού.

	Απορρόφηση	Συγκέντρωση C (mol/L)	Ποσότητα (mg)	Απόδοση εγκλεισμού
β-CD-4-MU	0.3417	$2.45 \cdot 10^{-5}$	10.7	65%
β-CD-AUR	0.3211	$1.78 \cdot 10^{-5}$	14.3	45%

2.2. Μέγεθος, κατανομή μεγέθους και ζ-δυναμικό των συμπλόκων

Επόμενο βήμα για τον πλήρη χαρακτηρισμό των συμπλόκων που σχηματίστηκαν αποτελεί ο υπολογισμός του μεγέθους, του δείκτη πολυδιασποράς (PDI), καθώς και του ζ-δυναμικού των συμπλόκων μέσω της μεθόδου δυναμικής σκέδασης φωτός (DLS).

Για κάθε ένα από τα προαναφερθέντα μεγέθη λαμβάνονται τρεις μετρήσεις. Στον πίνακα που ακολουθεί παρουσιάζονται όλες οι μετρήσεις, καθώς κι ο μέσος όρος κι η τυπική απόκλιση τους.

Πίνακας 12. Τιμές διαμέτρου, δείκτη πολυδιασποράς και ζ-δυναμικού συμπλόκων.

	Μέση υδροδυναμική διάμετρος (nm)		Δείκτης πολυδιασποράς (PDI)		ζ-δυναμικό (mV)	
β-CD-4-MU	460.7	457.4±128.0	0.420	0.423±0.0036	-30.9	-31.13±4.73
	460.2		0.418		-33.6	
	451.2		0.421		-28.9	
β-CD-AUR	630.6	597.5±74.5	0.559	0.530±0.0217	-43	-41.87±4.79
	591.5		0.523		-41.4	
	570.5		0.507		-41.2	

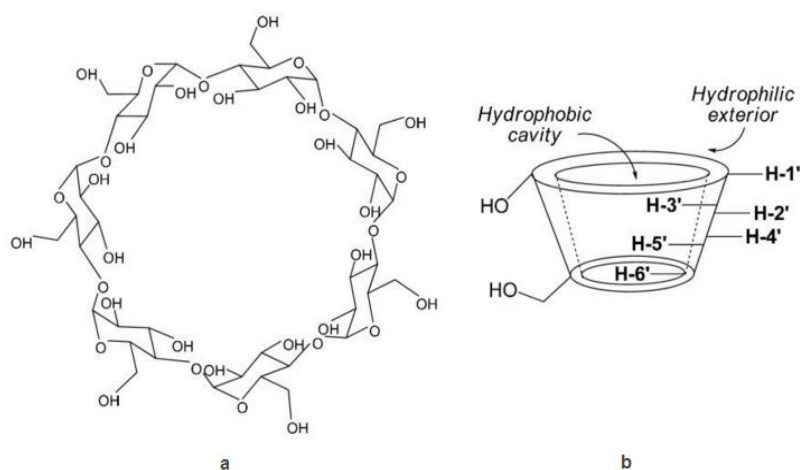
Στον Πίνακα 12 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του DLS για τα σύμπλοκα των ενώσεων με τη β-κυκλοδεξτρίνη. Παρατηρείται ότι στην περίπτωση του συμπλόκου β-CD-4-MU το μέσο μέγεθος είναι 450 nm με δείκτη πολυδιασποράς 0.423 υποδηλώνοντας μέτρια ομοιομορφία στη διασπορά. Το σύμπλοκο β-CD-AUR παρουσίασε μέση υδροδυναμική διάμετρο 597 nm και δείκτη πολυδιασποράς 0.53 παρουσιάζοντας επίσης μέτρια ομοιομορφία στη διασπορά. Στην περίπτωση αυτού του συμπλόκου παρατηρείται αύξηση του μέσου μεγέθους, περίπου στα 100 nm, η οποία πιθανώς να οφείλεται στην παρουσία της γερανυλο-ομάδας στο μόριο της ωραπτένης.

Το ζ-δυναμικό του συμπλόκου β-CD-4-MU παρουσιάζει υψηλή απόλυτη τιμή, 31 mV, υποδηλώνοντας σταθερή διασπορά και μειωμένη τάση προς

συσσωμάτωση των νανοσωματιδίων. [37] Στην περίπτωση του συμπλόκου β-CD-AUR το ζ-δυναμικό παρουσιάζει υψηλή απόλυτη τιμή, 42 mV, υποδηλώνοντας εξαιρετικά σταθερή διασπορά.

2.3. Μελέτη δομής συμπλόκων μέσω φασματομετρίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)

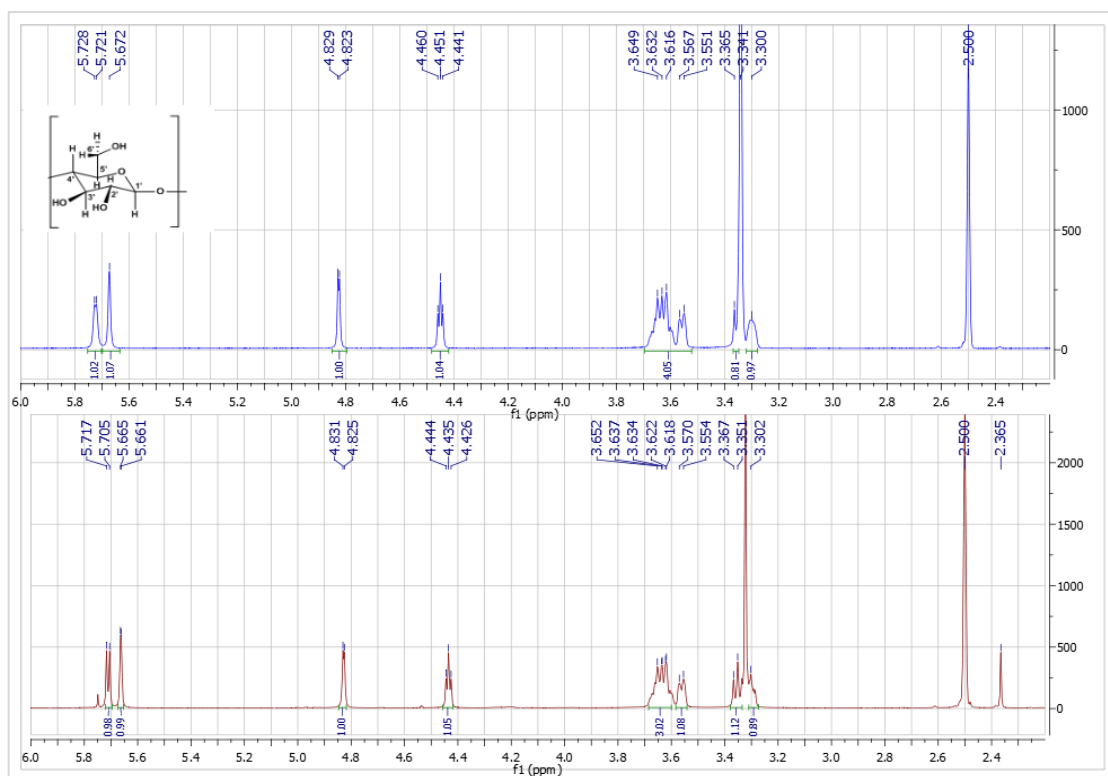
Στο υποκεφάλαιο αυτό, πραγματοποιείται συγκριτική μελέτη των φασμάτων ^1H και ^{13}C NMR της β-κυκλοδεξτρίνης, των ενώσεων καθώς και των συμπλόκων. Ειδικότερα, υπολογίζεται η διαφορά των χημικών μετατοπίσεων των κορυφών των πρωτονίων και των ανθράκων της β-κυκλοδεξτρίνης και της επιλεγμένης κουμαρίνης σε ελεύθερη μορφή και σε μορφή συμπλόκου βοηθώντας στην κατανόηση των πιθανών αλληλεπιδράσεων μεταξύ του φιλοξενούμενου μορίου και του μορίου ξενιστή.



Εικόνα 40. a: Χημική δομή της β-CD και **b:** Αναπαράσταση της τρισδιάστατης δομής της β-CD.

2.3.1 Σύμπλοκο β-CD-4-MU

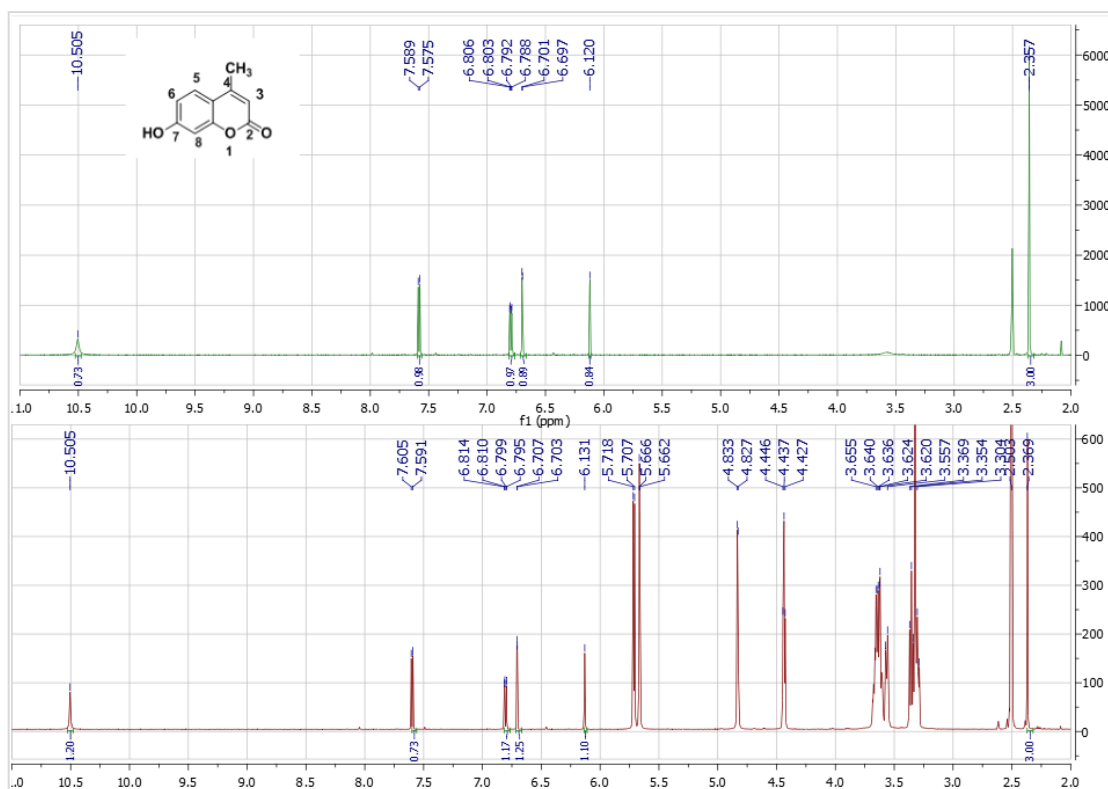
Αρχικά, εξετάζονται συγκριτικά τα φάσματα ^1H NMR της β-κυκλοδεξτρίνης (β-CD), της 4-μεθυλο-ουμπελιφερόνης (4-MU), καθώς και του συμπλόκου αυτών (β-CD-4-MU) (Εικόνες 41, 42).



Εικόνα 41. Συγκριτικό φάσμα ¹H NMR της β-CD και του συμπλόκου β-CD-4MU (DMSO-*d*₆).

Πίνακας 13. Διαφορά χημικών μετατοπίσεων (ppm) της β-κυκλοδεξτρίνης σε ελεύθερη μορφή και στο σύμπλοκο β-CD-4MU.

Πρωτόνια	Χημικές μετατοπίσεις των H της β-CD δ ₁ (ppm)	Χημικές μετατοπίσεις των H της β-CD στο σύμπλοκο δ ₂ (ppm)	Διαφορά χημικών μετατοπίσεων δ ₁ -δ ₂ (ppm)
H-1'	4.826	4.827	-0.001
H-2'	3.365	3.366	-0.001
H-3'	3.632	3.636	-0.003
H-4'	3.330	3.301	-0.001
H-5'	3.559	3.562	-0.003
H-6'	3.632	3.635	-0.003
OH-2'	5.725	5.710	0.015
OH-3'	5.672	5.661	0.012
OH-6'	4.451	4.434	0.017

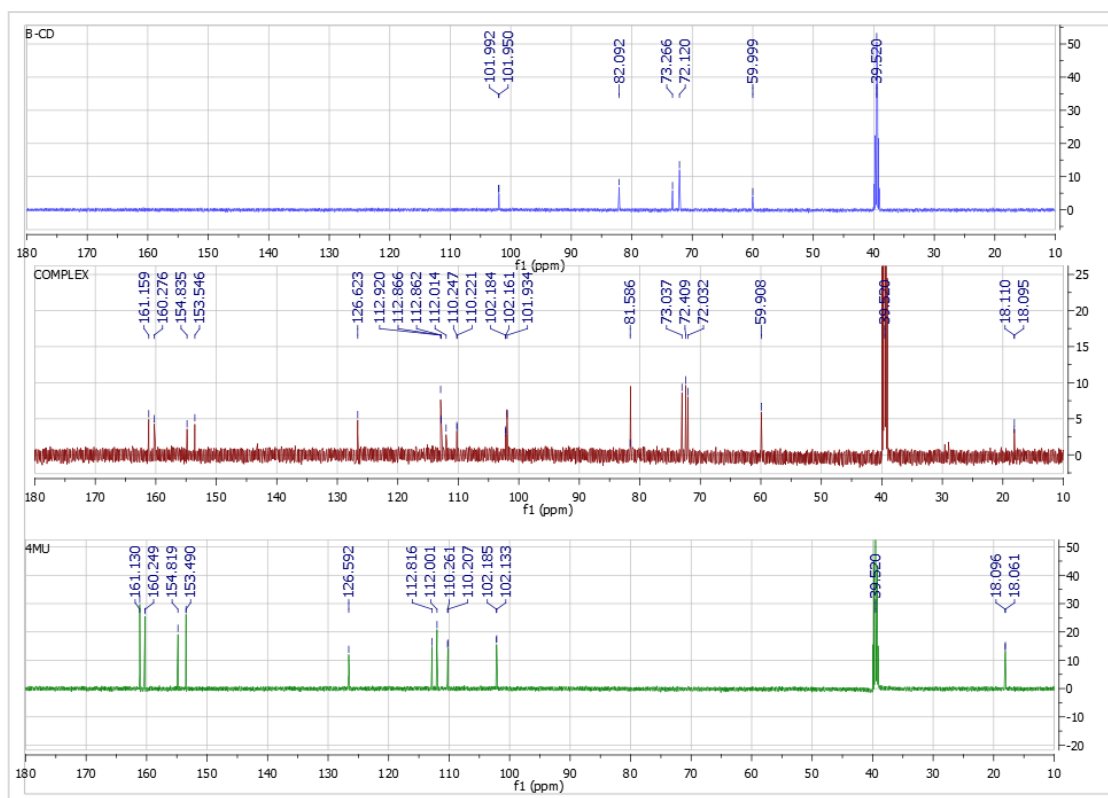


Εικόνα 42. Συγκριτικό φάσμα ¹H NMR της 4-MU και του συμπλόκου β-CD-4-MU (DMSO-*d*₆).

Πίνακας 14. Διαφορά χημικών μετατοπίσεων (ppm) της 4-μεθυλοουμπελιφερόνης σε ελεύθερη μορφή και στο σύμπλοκο β-CD-4MU.

Πρωτόνια	Χημικές μετατοπίσεις των H της 4-MU δ ₁ (ppm)	Χημικές μετατοπίσεις των H της 4-MU στο σύμπλοκο δ ₂ (ppm)	Διαφορά χημικών μετατοπίσεων δ ₁ -δ ₂ (ppm)
H-3	6.117	6.280	-0.011
H-5	7.579	7.595	-0.016
H-6	6.794	6.802	-0.007
H-8	6.705	6.705	0
-OH	10.502	10.502	0
-CH ₃	2.354	2.366	-0.012

Στη συνέχεια, πραγματοποιείται συγκριτική μελέτη των φασμάτων ¹³C NMR (Εικόνα 43).

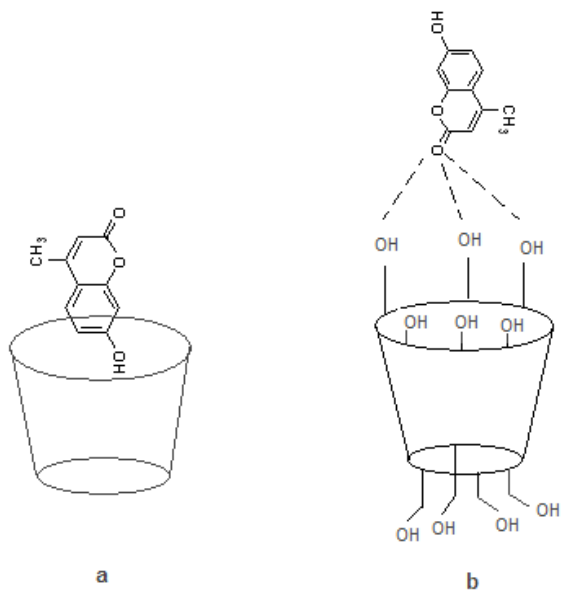


Εικόνα 43. Συγκριτικό φάσμα ^{13}C NMR της β -CD, του συμπλόκου β -CD-4MU και της 4-MU ($\text{DMSO-}d_6$).

Συνοψίζοντας, παρατηρείται ότι οι μεγαλύτερες διαφορές μετατοπίσεων αφορούν τα πρωτόνια των υδροξυλίων της β -CD των θέσεων 2'-, 3'- και 6'-, ενώ τα πρωτόνια των θέσεων 3'- και 5'-, τα οποία βρίσκονται εντός της κοιλότητας της β -CD παρουσιάζουν ελαφρώς μεγαλύτερες διαφορές μετατοπίσεων από τα υπόλοιπα. Ακόμη, όσον αφορά τη σύγκριση μεταξύ των πρωτονίων της 4-MU και του συμπλόκου β -CD-4-MU, παρατηρείται μεγάλη διαφορά μετατοπίσεων των πρωτονίων της θέσης 3- του κουμαρινικού δακτυλίου, καθώς και των πρωτονίων του μεθυλίου, ενώ εκείνα της θέσης 8- και του υδροξυλίου δε μετατοπίζονται. Τέλος, παρατηρείται από το συγκριτικό φάσμα ^{13}C NMR ότι οι άνθρακες που μετατοπίζονται περισσότερο, είναι εκείνοι των θέσεων 3- και 4-, ενώ αρκετά μετατοπίζεται και ο άνθρακας του καρβονυλίου της θέσης 2- του ετεροκυκλικού δακτυλίου (Πιν 18. Παράρτημα Πινάκων).

Σύμφωνα με όλα τα παραπάνω, ένα μικρό μέρος της 4-MU πιθανώς να έχει εισχωρήσει εντός της κοιλότητας της β -CD, όπως υποδεικνύουν οι μετατοπίσεις των H-3' και H-5', ενώ το μεγαλύτερο μέρος της ένωσης πιθανώς προσανατολίζεται προς το μόριο της β -CD, όπως φαίνεται στην Εικόνα 44, σχηματίζοντας δεσμούς υδρογόνου. Πιο συγκεκριμένα, οι δεσμοί υδρογόνου σχηματίζονται μεταξύ του καρβονυλίου του κουμαρινικού δακτυλίου και των υδροξυλίων της β -CD. Ο σχηματισμός δεσμών υδρογόνου εξηγεί τη μετατόπιση

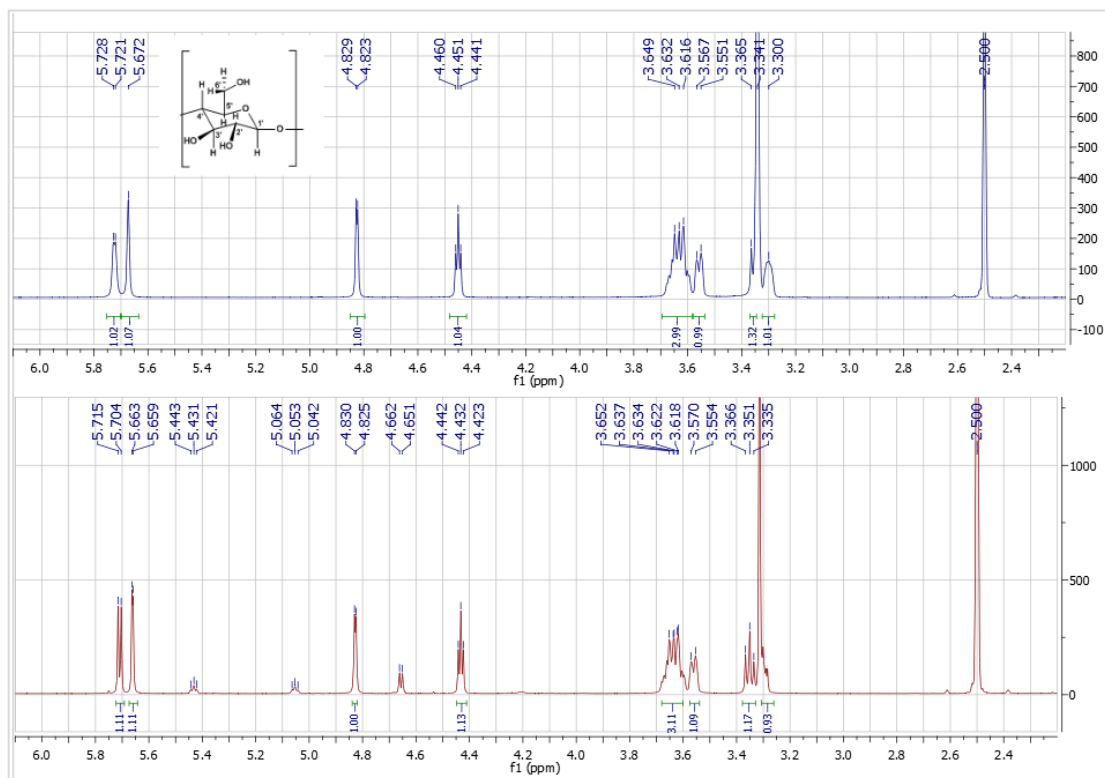
των H-3, H-5 και των πρωτονίων του CH₃, του κουμαρινικού δακτυλίου, καθώς μειώνει την ηλεκτρονιακή πυκνότητα γύρω από το καρβονύλιο και άρα αποπροστατεύει τα γειτονικά πρωτόνια, τα οποία εμφανίζονται σε χαμηλότερα πεδία.



Εικόνα 44. **a.** Εισχώρηση μορίου της 4-MU εντός της κοιλότητας της β-CD και **b.** Δημιουργία δεσμών υδρογόνου μεταξύ του καρβονυλίου της 4-MU και των υδροξυλίων της β-CD.

2.3.2. Σύμπλοκο β-CD-AUR

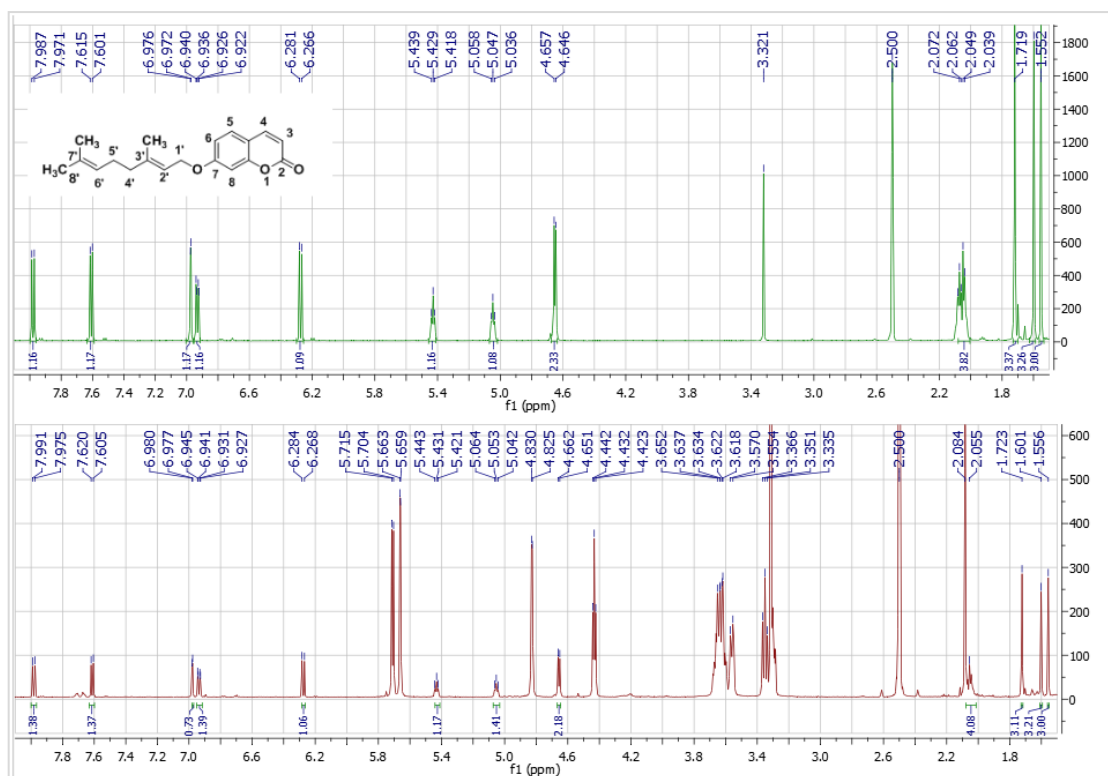
Στη συνέχεια, εξετάζονται τα φάσματα ^1H NMR της β-κυκλοδεξτρίνης (β-CD), της ωραπτίνης (AUR), καθώς και του συμπλόκου αυτών (β-CD-AUR) (Εικόνες 45, 46).



Εικόνα 45. Συγκριτικό φάσμα ^1H NMR της β-CD και του συμπλόκου β-CD-AUR ($\text{DMSO-}d_6$).

Πίνακας 15. Διαφορά χημικών μετατοπίσεων (ppm) της β-κυκλοδεξτρίνης σε ελεύθερη μορφή και στο σύμπλοκο β-CD-AUR.

Πρωτόνια	Χημικές μετατοπίσεις των H της β-CD δ_1 (ppm)	Χημικές μετατοπίσεις των H της β-CD στο σύμπλοκο δ_2 (ppm)	Διαφορά χημικών μετατοπίσεων $\delta_1 - \delta_2$ (ppm)
H-1'	4.826	4.828	-0.002
H-2'	3.365	3.366	-0.001
H-3'	3.632	3.636	-0.004
H-4'	3.300	3.301	-0.001
H-5'	3.559	3.562	-0.003
H-6'	3.632	3.636	-0.004
OH-2'	5.725	5.710	0.015
OH-3'	5.672	5.661	0.011
OH-6'	4.451	4.432	0.019

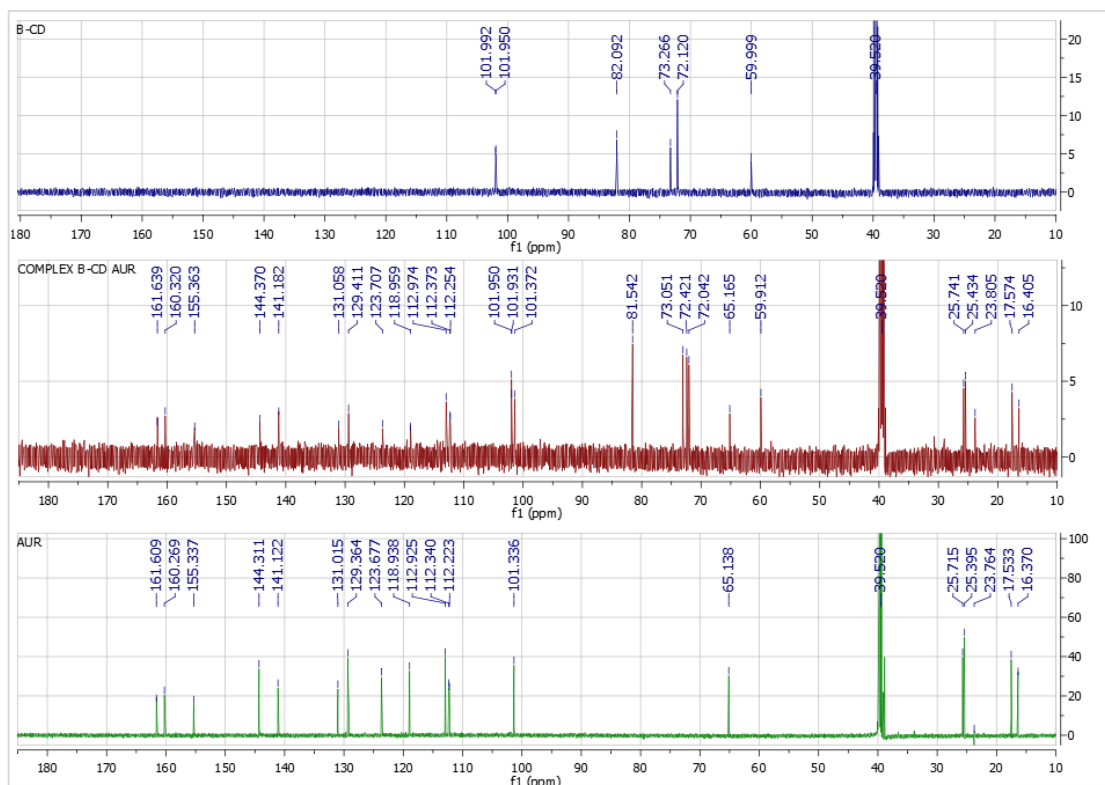


Εικόνα 46. Συγκριτικό φάσμα ^1H NMR της AUR και του συμπλόκου $\beta\text{-CD-AUR}$ ($\text{DMSO-}d_6$).

Πίνακας 16. Διαφορά χημικών μετατοπίσεων (ppm) της ωραπτίνης σε ελεύθερη μορφή και στο σύμπλοκο $\beta\text{-CD-AUR}$.

Πρωτόνια	Χημικές μετατοπίσεις των H της AUR δ_1 (ppm)	Χημικές μετατοπίσεις των H της AUR στο σύμπλοκο δ_2 (ppm)	Διαφορά χημικών μετατοπίσεων $\delta_1-\delta_2$ (ppm)
H-3	6.274	6.276	-0.002
H-4	7.979	7.983	-0.004
H-5	7.608	7.613	-0.005
H-6	6.931	6.936	-0.005
H-8	6.974	6.979	-0.005
H-1'	4.652	4.657	-0.005
H-2'	5.429	5.432	-0.003
H-4'	2.049	2.055	-0.006
H-5'	2.049	2.055	-0.006
H-6'	5.047	5.053	-0.006
CH ₃ -3'	1.719	1.723	-0.004
CH ₃ -7'	1.598	1.601	-0.003
CH ₃ -8'	1.552	1.556	-0.004

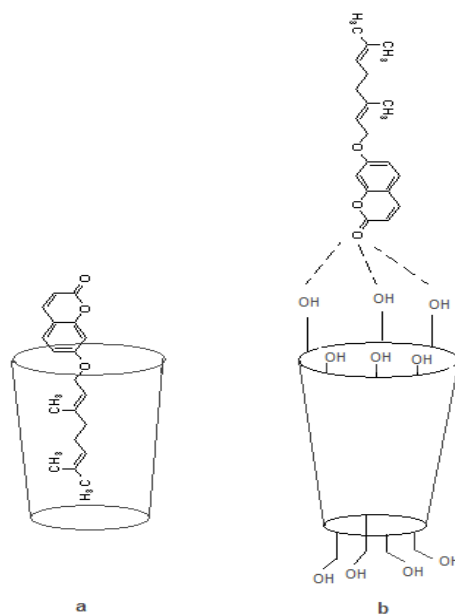
Έπειτα, πραγματοποιείται συγκριτική μελέτη των φασμάτων ^{13}C NMR (Εικόνα 47).



Εικόνα 47. Συγκριτικό φάσμα ^{13}C NMR της $\beta\text{-CD}$, του συμπλόκου $\beta\text{-CD-AUR}$ και της AUR ($\text{DMSO-}d_6$).

Συνοψίζοντας, παρατηρείται ότι οι μεγαλύτερες διαφορές μετατοπίσεων αφορούν τα πρωτόνια των υδροξυλίων των θέσεων 2'-, 3'- και 6'- της $\beta\text{-CD}$, ενώ τα πρωτόνια των θέσεων 3'- και 5'- τα οποία βρίσκονται εντός της κοιλότητάς της, παρουσιάζουν ελαφρώς μεγαλύτερες διαφορές μετατοπίσεων από τα υπόλοιπα. Ακόμη, όσον αφορά τη σύγκριση μεταξύ των πρωτονίων της AUR και του συμπλόκου $\beta\text{-CD-AUR}$, παρατηρείται μία ελαφρώς μεγαλύτερη μετατόπιση των πρωτονίων της γερανυλο-ομάδας, καθώς και των γειτονικών πρωτονίων H-6 και H-8 του κουμαρινικού δακτυλίου, ενώ τη μικρότερη μετατόπιση εμφανίζουν τα πρωτόνια H-3 και H-4. Οι μετατοπίσεις αυτές δεν είναι ιδιαίτερα σημαντικές, όπως στην περίπτωση της 4-MU, διότι η γερανυλο-αλυσίδα αποτελεί μία αλειφατική, μη πολική αλυσίδα που επομένως δε μπορεί να αλληλεπιδράσει ισχυρά με τη $\beta\text{-κυκλοδεξτρίνη}$, παρά μόνο με διαμοριακές δυνάμεις. [49] Τέλος, παρατηρείται από το συγκριτικό φάσμα ^{13}C NMR ότι οι άνθρακες που μετατοπίζονται περισσότερο, είναι εκείνοι των θέσεων 3- και 4- και 5-, ενώ αρκετά μετατοπίζεται και ο άνθρακας του καρβονυλίου της θέσης 2- του ετεροκυκλικού δακτυλίου (Πιν 19. Παράρτημα Πινάκων).

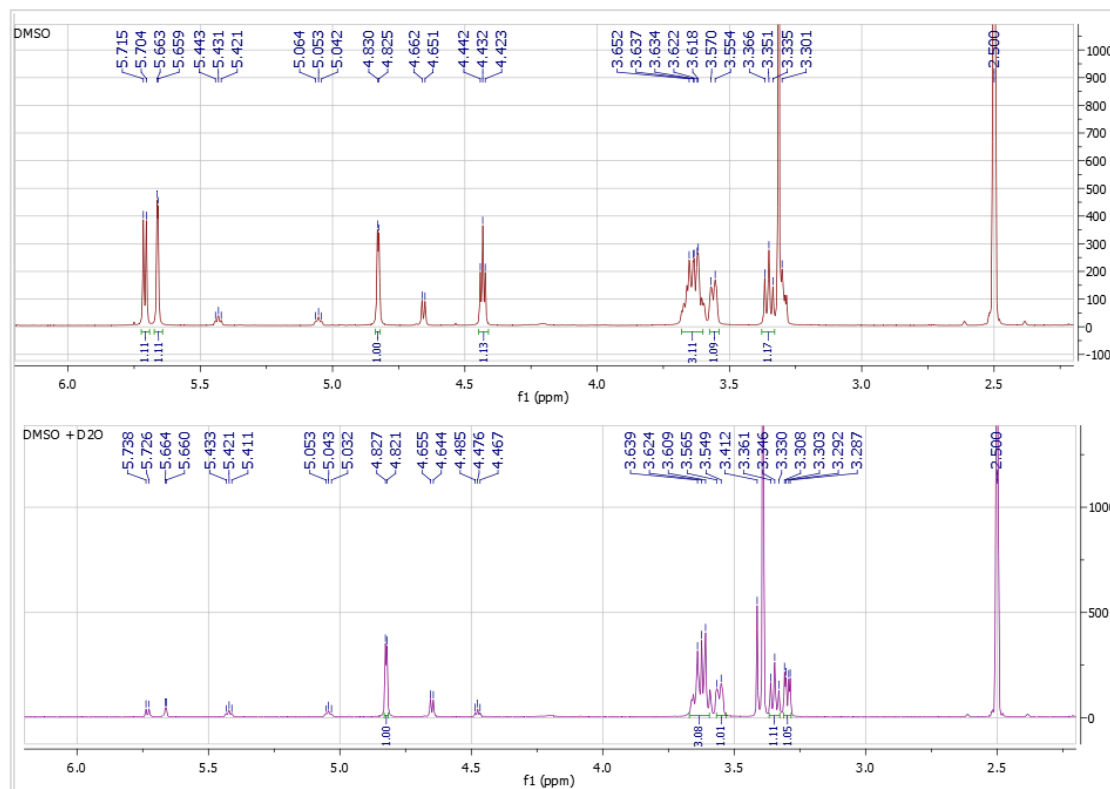
Σύμφωνα με όλα τα παραπάνω, ένα μέρος της AUR πιθανώς να έχει εισχωρήσει εντός της κοιλότητας της β -CD, όπως υποδεικνύουν οι μετατοπίσεις των H-3' και H-5' της β -CD, αλλά και των πρωτονίων της γερανυλο-ομάδας. Μάλιστα, ο εγκλεισμός του μορίου εντός της κοιλότητας της β -CD πραγματοποιείται σύμφωνα με τον τρόπο που φαίνεται στην Εικόνα 48, καθώς η γερανυλο-αλυσίδα είναι υδρόφοβη και άρα ευνοείται η απομάκρυνση μορίων νερού από το εσωτερικό της κοιλότητας της β -CD κι ο σχηματισμός συμπλόκου εγκλεισμού μέσω διαμοριακών δυνάμεων τύπου van der Waals μεταξύ της γερανυλο-αλυσίδας και του υδρόφοβου εσωτερικού της κοιλότητας της β -CD. Το υπόλοιπο μέρος της ένωσης πιθανώς προσανατολίζεται προς το μόριο της β -CD, όπως φαίνεται στην Εικόνα 48, σχηματίζοντας δεσμούς υδρογόνου. Πιο συγκεκριμένα, οι δεσμοί υδρογόνου σχηματίζονται μεταξύ του καρβονυλίου του κουμαρινικού δακτυλίου και των υδροξυλίων της β -CD. Ο σχηματισμός δεσμών υδρογόνου εξηγεί τη μεγαλύτερη τιμή μετατόπισης των υδροξυλίων της β -CD, αλλά και των γειτονικών ανθράκων του καρβονυλίου. [50], [51]



Εικόνα 48. **a.** Εισχώρηση μορίου της AUR εντός της κοιλότητας της β -CD και **b.** Δημιουργία δεσμών υδρογόνου μεταξύ του καρβονυλίου της AUR και των υδροξυλίων της β -CD.

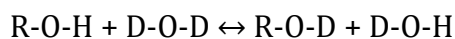
Συγκριτική μελέτη φάσματος ^1H NMR του συμπλόκου $\beta\text{-CD-AUR}$

Τέλος, επειδή οι χημικές μετατοπίσεις των πρωτονίων $-\text{OH}$ εξαρτώνται από τη συγκέντρωση και το διαλύτη, είναι συχνά δύσκολο να επιβεβαιωθεί αν μία συγκεκριμένη κορυφή αντιστοιχεί σε τέτοιου είδους πρωτόνιο, όπως στην περίπτωση του φάσματος της $\beta\text{-CD}$ σε $\text{DMSO-}d_6$. Για το σκοπό αυτό, το φάσμα του συμπλόκου β -κυκλοδεξτρίνης-ωραπτίνης λήφθηκε και σε διαλύτη $\text{DMSO-}d_6$ με προσθήκη σταγόνων D_2O . (Εικόνα 49)



Εικόνα 49. Συγκριτικό φάσμα ^1H NMR του συμπλόκου β -κυκλοδεξτρίνης-ωραπτίνης σε DMSO και σε $\text{DMSO} + \text{D}_2\text{O}$.

Η λήψη του φάσματος του συμπλόκου β -κυκλοδεξτρίνης-ωραπτίνης και σε διαλύτη $\text{DMSO-}d_6$ με προσθήκη D_2O , οδηγεί σε ανταλλαγή των υδρογόνων των ομάδων $-\text{OH}$ με το δευτέριο του D_2O .

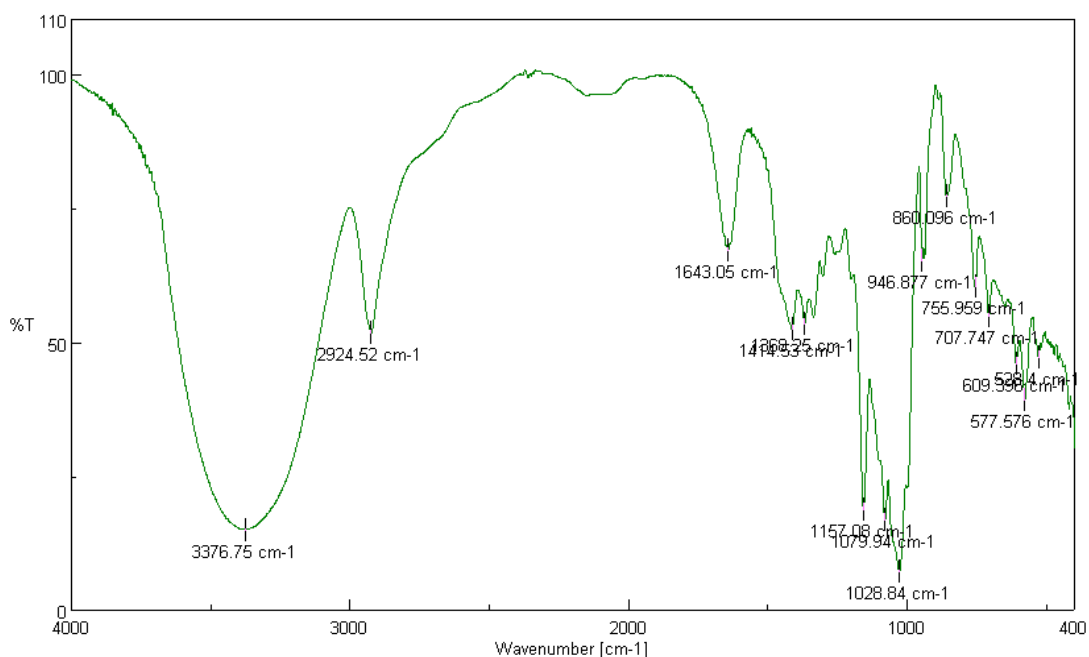


Συνεπώς, επιβεβαιώνεται η υπόθεση ότι οι κορυφές του συμπλόκου στα 5.73 ppm, 5.67 ppm και 4.45 ppm κι άρα και οι αντίστοιχες στο φάσμα της $\beta\text{-CD}$, ανήκουν στα υδροξύλια των θέσεων 2'-, 3'- και 6'- της β -κυκλοδεξτρίνης, καθώς οι κορυφές των υδροξυλίων προκύπτουν πολύ χαμηλότερης έντασης στο νέο φάσμα. Στην περίπτωση προσθήκης παραπάνω ποσότητας D_2O , οι κορυφές των υδροξυλίων της $\beta\text{-CD}$ δε θα εμφανίζονταν.

2.4. Μελέτη δομής συμπλόκων μέσω Υπέρυθρης φασματομετρίας (FT-IR)

Η φασματοσκοπία FT-IR χρησιμοποιείται συχνά για την ανίχνευση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ «φιλοξενούμενου» μορίου και «ξενιστή». Στο παρόν υποκεφάλαιο, πραγματοποιείται συγκριτική μελέτη των φασμάτων FT-IR της β-κυκλοδεξτρίνης, των ενώσεων, καθώς και του συμπλόκου.

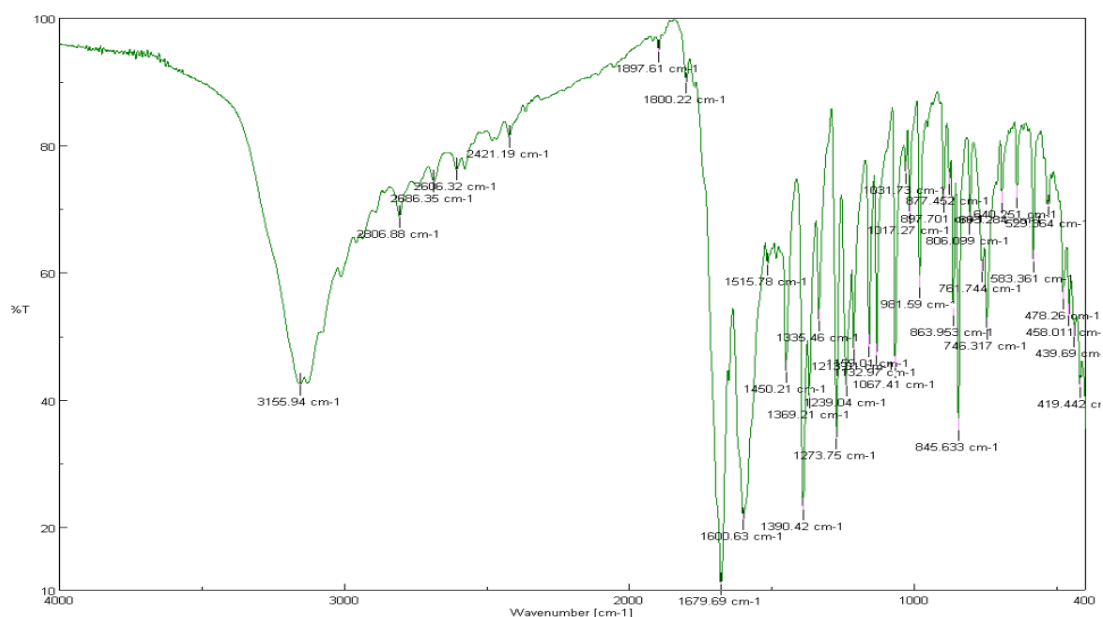
Το φάσμα FT-IR της β-κυκλοδεξτρίνης παρουσιάζεται στην Εικόνα 50.



Εικόνα 50. Φάσμα FT-IR της β-CD.

Οι πιο χαρακτηριστικές κορυφές του φάσματος της β-CD εμφανίζονται στα 3376.75 cm⁻¹, κορυφή που αποδίδεται στην O-H δόνηση τάσης, στα 2924.52 cm⁻¹ η οποία αποδίδεται στην C-H δόνηση τάσης και στα 1643.05 cm⁻¹ που οφείλεται στην ασύμμετρη δόνηση τάσης του -CH₂, ενώ η κορυφή στους 1414.53 cm⁻¹ αποδίδεται στην O-H δόνηση κάμψης. Τέλος, η χαρακτηριστική κορυφή στα 1028.84 cm⁻¹ αποδίδεται στην C-O δόνηση τάσης των ομάδων των δευτεροταγών αλκοολών που υπάρχουν στο μόριο της β-κυκλοδεξτρίνης.

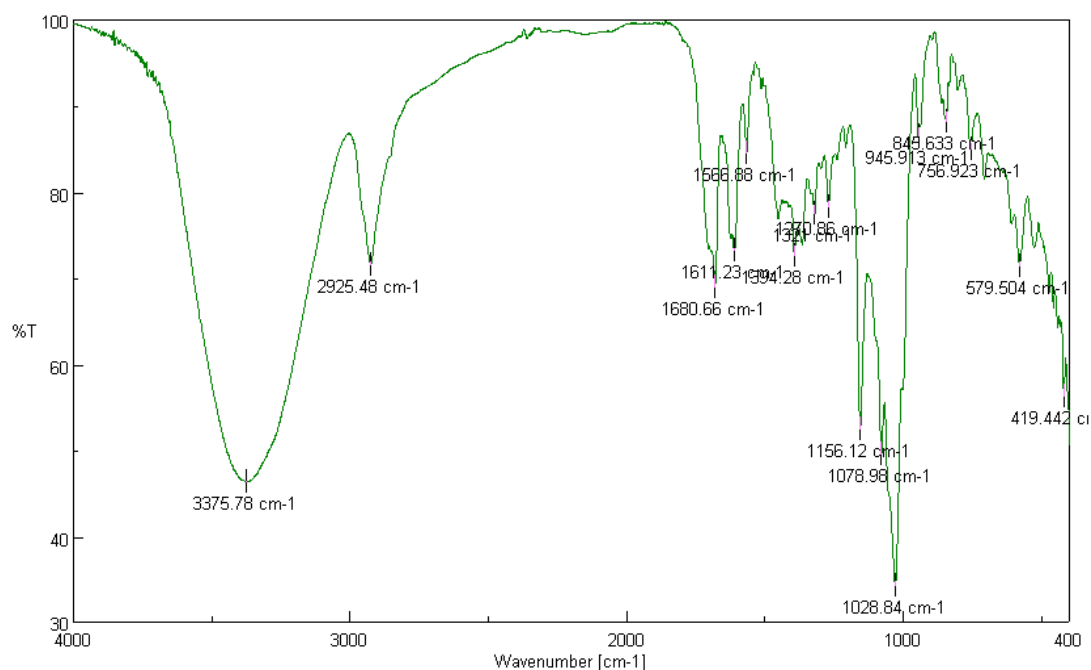
Το φάσμα FT-IR της 4-μεθυλο-ουμπελιφερόνης παρουσιάζεται στην Εικόνα 51.



Εικόνα 51. Φάσμα FT-IR της 4-MU.

Οι πιο χαρακτηριστικές κορυφές του φάσματος της 4-MU εμφανίζονται στα 3155.94 cm^{-1} , κορυφή η οποία αποδίδεται στην O-H δόνηση τάσης, στα 1679.69 cm^{-1} που αποδίδεται στην C=O δόνηση τάσης του καρβονυλίου της κουμαρίνης, στα 1600.63 cm^{-1} η οποία οφείλεται στη C=C δόνηση τάσης και στα 1390.42 cm^{-1} που αποδίδεται στην O-H δόνηση κάμψης. Τέλος, η κορυφή που εμφανίζεται στα 1067.41 cm^{-1} αποδίδεται στην C-O δόνηση τάσης της φαινόλης.

Στη συνέχεια, εξετάζεται το φάσμα του συμπλόκου β-CD-4-μεθυλοουμπελιφερόνης (Εικόνα 52).

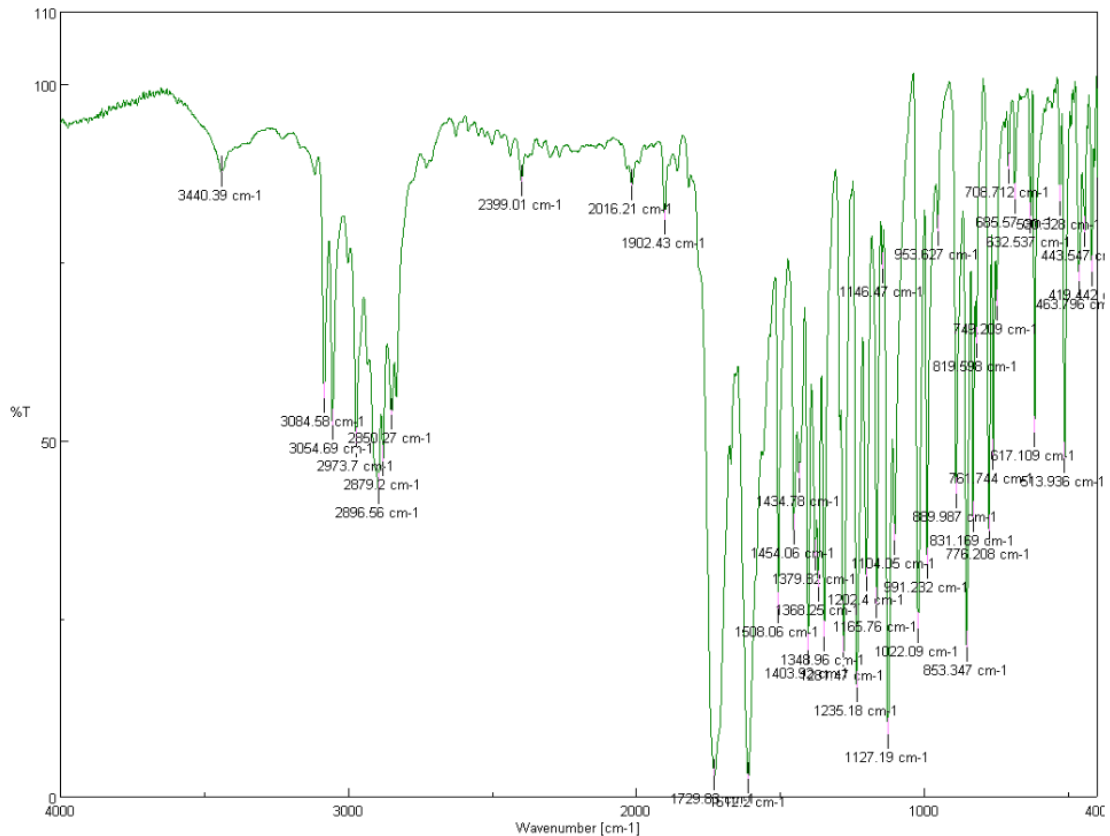


Εικόνα 52. Φάσμα FT-IR του συμπλόκου β-CD-4-MU.

Στο φάσμα του συμπλόκου, παρατηρείται ότι οι κορυφές στα 3376.75 cm^{-1} , στα 2924.52 cm^{-1} που αντιστοιχούν στη β-κυκλοδεξτρίνη μετατοπίζονται ελαφρώς στα 3375.78 cm^{-1} και στα 2925.48 cm^{-1} αντίστοιχα. Η κορυφή που εμφανίζεται στα 1680.66 cm^{-1} προκύπτει από τη μετατόπιση της κορυφής στα 1679.69 cm^{-1} της 4-MU, η οποία αποδίδεται στην C=O δόνηση τάσης. Ωστόσο, η κορυφή στα 1611.23 cm^{-1} προκύπτει από τη μετατόπιση της κορυφής που εμφανίζεται στα 1600.63 cm^{-1} στο φάσμα της 4-MU κι επομένως οφείλεται στη C=C δόνηση τάσης. Επιπλέον, μεγάλη μετατόπιση εμφανίζεται στα 1453.1 cm^{-1} , κορυφή η οποία αποδίδεται στην O-H δόνηση κάμψης που εμφανίζεται στα 1414.53 cm^{-1} στο φάσμα της β-CD. Τέλος, παρατηρείται ότι η κορυφή στα 1028.84 cm^{-1} δε μετατοπίζεται.

Οι παραπάνω μετατοπίσεις των χαρακτηριστικών κορυφών των δύο μορίων είναι ενδεικτικές των αλληλεπιδράσεων «φιλοξενούμενου» μορίου-«ξενιστή». Ακόμη, η παρουσία ορισμένων κορυφών της 4-μεθυλοουμπελιφερόνης στο φάσμα του συμπλόκου σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα της φασματοσκοπίας NMR αποδεικνύουν το σχηματισμό συμπλόκων μη-εγκλεισμού.

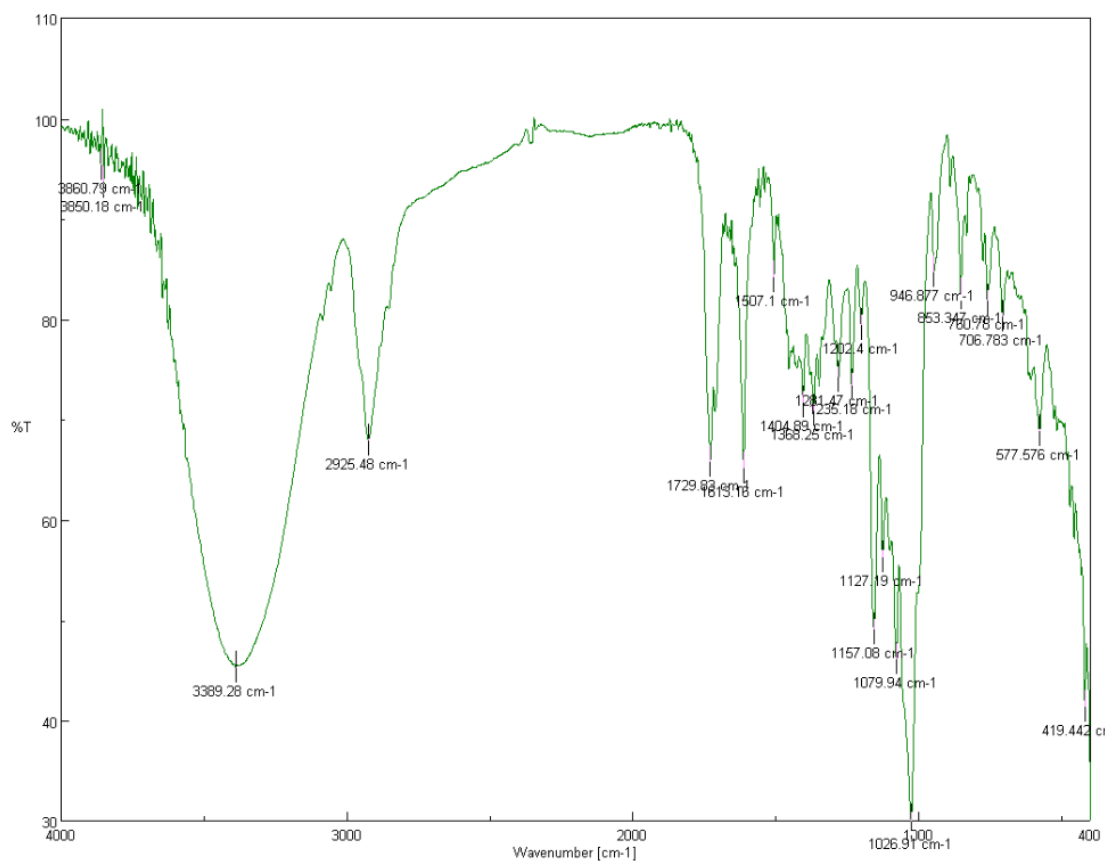
Το φάσμα FT-IR της ωραπτένης παρουσιάζεται στην Εικόνα 53.



Εικόνα 53. Φάσμα FT-IR της AUR.

Οι πιο χαρακτηριστικές κορυφές του φάσματος της AUR εμφανίζονται μεταξύ των 2850.27 cm^{-1} - 3084.58 cm^{-1} κι αποδίδονται στις δονήσεις τάσης των αρωματικών C-H, στα 1729.83 cm^{-1} που αποδίδεται στην C=O δόνηση τάσης του καρβονυλίου της κουμαρίνης και στα 1612.21 cm^{-1} που αποδίδεται στην C=C δόνηση τάσης.

Στη συνέχεια, εξετάζεται το φάσμα του συμπλόκου β-CD-ωραπτένης (Εικόνα 54).



Εικόνα 54. Φάσμα FT-IR του συμπλόκου β-CD-AUR.

Στο φάσμα του συμπλόκου β-CD-AUR παρατηρείται η απουσία των κορυφών των δονήσεων των αρωματικών C-H της ωραπτένης. Ακόμη, η κορυφή στα 3376.75 cm^{-1} της O-H δόνησης τάσης της β-CD μετατοπίζεται στα 3389.28 cm^{-1} , ενώ η κορυφή στα 2924.52 cm^{-1} της β-κυκλοδεξτρίνης μετατοπίζεται ελαφρώς στα 2925.48 cm^{-1} . Ακόμη, παρατηρείται ότι δε μετατοπίζεται η κορυφή της C=C δόνησης τάσης της ωραπτένης. Τέλος, η κορυφή στα 1404.89 cm^{-1} προκύπτει από τη μετατόπιση της κορυφής που εμφανίζεται στα 1414.53 cm^{-1} στο φάσμα της β-CD κι επομένως οφείλεται στην O-H δόνηση κάμψης.

Εν κατακλείδι, οι παραπάνω μετατοπίσεις των χαρακτηριστικών κορυφών των δύο μορίων είναι ενδεικτικές των αλληλεπιδράσεων

«φιλοξενούμενου» μορίου-«ξενιστή». Ακόμη, η παρουσία ορισμένων κορυφών της 4-μεθυλο-ουμπελιφερόνης στο φάσμα του συμπλόκου σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα της φασματοσκοπίας NMR αποδεικνύουν το σχηματισμό συμπλόκων μη-εγκλεισμού.

3. Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής κι αντιφλεγμονώδους δράσης

3.1. Αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης – Μέθοδος AAPH

Το AAPH είναι ένα υδατοδιαλυτό αζω-παράγωγο, η διάσπαση του οποίου οδηγεί στο σχηματισμό αζώτου και άνθρακα. Οι ρίζες άνθρακα είτε αντιδρούν μεταξύ τους προς σχηματισμό σταθερών προϊόντων, είτε αντιδρούν με μοριακό οξυγόνο προς σχηματισμό ριζών υπεροξειδίου, οι οποίες έχουν την ικανότητα να προκαλούν λιπιδική υπεροξειδωση. Το AAPH επομένως χρησιμοποιείται για την παραγωγή ελευθέρων ριζών, κυρίως κατά τη μελέτη της λιπιδικής υπεροξειδωσης, και το χαρακτηρισμό μορίων με αντιοξειδωτική δράση.

Τα νέα παράγωγα, λοιπόν, αξιολογήθηκαν για την ικανότητά τους να αναστέλλουν τη λιπιδική υπεροξειδωση (Πιν. 17), την οξειδωτική δηλαδή δράση των ελευθέρων ριζών στα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα που αποτελούν τα βασικά δομικά συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών.

Για τη μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο του AAPH, χρησιμοποιήθηκε ως ένωση αναφοράς το Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), ένα ικανό αντιοξειδωτικό ανάλογο της βιταμίνης E, το οποίο παρουσιάζει 88% αναστολή σε συγκέντρωση 0.1 mM.

3.2. Προσδιορισμός της αναγωγής της σταθερής ρίζας DPPH

Η ρίζα DPPH είναι η ελεύθερη ρίζα της 2,2- διφαινυλ-1-πικρυλυδραζιλής. Χαρακτηριστικό της είναι ότι εξαιτίας του μονήρες ηλεκτρονίου που διαθέτει, εμφανίζει ισχυρή απορρόφηση στα 517 nm. Όταν το ηλεκτρόνιο συζευχθεί (π.χ. παρουσία μιας ένωσης δότη υδρογόνου), η απορρόφηση ελαττώνεται στοιχειομετρικά σε σχέση με τον αριθμό των ηλεκτρονίων που προσλαμβάνονται, με αποτέλεσμα την εξασθένηση του πορφυρού χρώματος του διαλύματος. Η μεταβολή της έντασης απορρόφησης που παρατηρείται (στα 517 nm) κατά την αντίδραση, χρησιμοποιείται για τη μελέτη της ικανότητας των μορίων να δρουν ως δεσμευτές ελευθέρων ριζών σε συστήματα που δεν περιέχουν σίδηρο.

Το μοντέλο δέσμευσης της σταθερής ελεύθερης ρίζας DPPH χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης των νέων κουμαρινικών παραγώγων (Πιν. 17). Ως ένωση αναφοράς για τη μελέτη της

αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο του DPPH χρησιμοποιήθηκε το νορ-διυδρογουαϊαρετικό οξύ NDGA (Nordihydroguaiaretic acid).

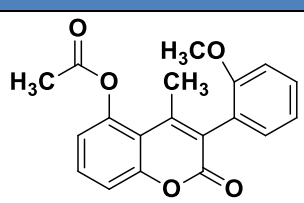
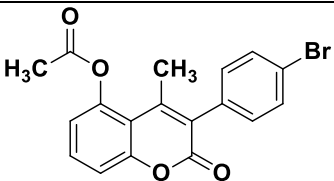
3.3. Αναστολή του ενζύμου λιποξυγονάση από σόγια

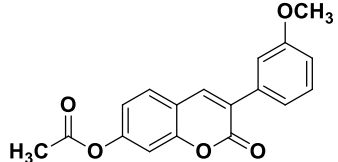
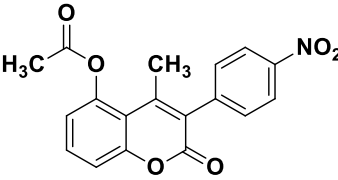
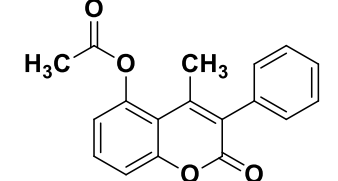
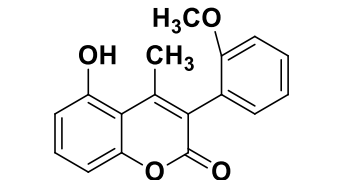
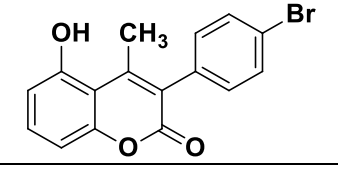
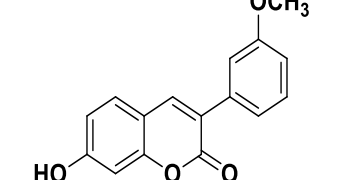
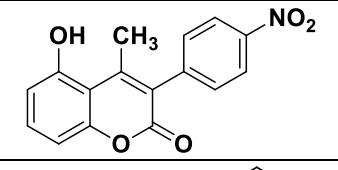
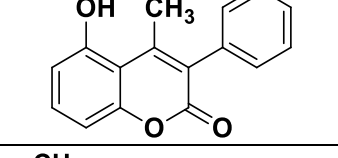
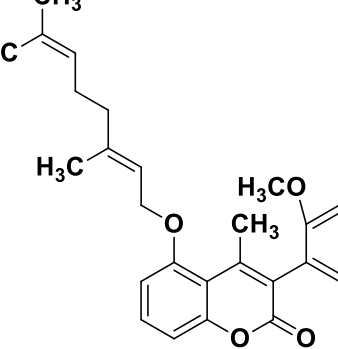
Οι λιποξυγονάσες είναι ένζυμα που περιέχουν ένα άτομο σιδήρου στο ενεργό τους κέντρο, συμμετέχουν στο μεταβολισμό των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων και διαδραματίζουν ρόλο- κλειδί στη βιομετατροπή του αραχιδονικού οξέος. Οι μεταβολίτες που προκύπτουν από την πιο πάνω αντίδραση, όπως είναι τα λευκοτριένια, προκαλούν την εμφάνιση της φλεγμονής στον ανθρώπινο οργανισμό, η οποία πολλές φορές σχετίζεται με τον καρκίνο ή και με χρόνιες παθήσεις.

Έχει βρεθεί ότι πολλά κουμαρινικά παράγωγα αναστέλλουν τη λιποξυγονάση από σόγια, η οποία διαθέτει δύο περιοχές ίδιας ακολουθίας αμινοξέων με την ανθρώπινη. Αυτή η αναστολή σχετίζεται με την ικανότητά τους να ανάγουν τις μορφές σιδήρου του ενεργού κέντρου σε καταλυτικά ανενεργές σιδηρούχες μορφές.

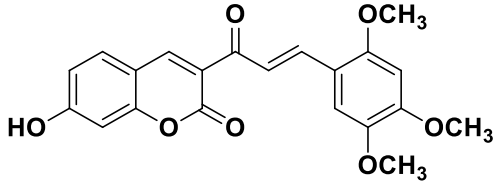
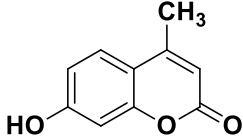
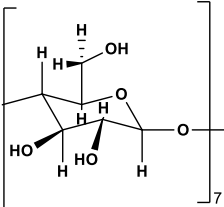
Τα μόρια της παρούσας εργασίας μελετήθηκαν *in vitro* ως προς την ικανότητά τους να αναστέλλουν τη δράση της 5-LOX λιποξυγονάσης από σόγια (Πιν. 17). Τα αποτελέσματα από αυτή τη δοκιμασία μπορούν να χρησιμοποιηθούν για μια πρώτη διερεύνηση της αντιφλεγμονώδους δράσης των νέων μορίων.

Πίνακας 17. Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης [% αλληλεπίδραση με την ελεύθερη ρίζα DPPH και % αναστολή της υπεροξειδωσης του λινελαϊκού οξέος (AAPH)] καθώς και της αντιφλεγμονώδους δράσης των νέων κουμαρινικών παραγώγων όπως αυτή επάγεται από την ικανότητα αναστολής του ενζύμου λιποξυγονάση από σόγια.

Παράγωγο	Δομή	%DPPH, (0.1mM), 20min	%DPPH, (0.1mM), 60min	%AAPH (0.1mM)	% LOX (0.1mM)
1a		no	no	25.3	no
1b		no	no	87.7	81.3

1c		no	no	9.3	no
1d		no	no	no	no
1e		no	no	no	no
2a		4.9	no	no	88.0
2b		3.6	10.1	65.9	7.3
2c		no	no	100	no
2d		no	no	24.0	100
2e		no	no	100	no
3a		no	no	25.3	59.7

3b		no	no	38.3	76.9
3c		no	no	58.9	100
3d		no	no	93.1	35.5
3e		no	no	54.4	no
4a		4.9	1.8	94.1	71.1
4b		no	no	no	91.0
5b		7.8	no	66.7	94.9

5a		no	no	15.8	no
4-MU		no	no	93	no
β-CD		no	no	18.3	87.4
β-CD-4-MU				100	70.7
NDGA		88	96		93
Trolox				88	

Παρατηρείται λοιπόν ότι κανένα από τα παράγωγα δε διαθέτει σημαντική ικανότητα δέσμωσης της ελεύθερης ρίζας DPPH, το οποίο μπορεί να αποδοθεί αφενός στην έλλειψη φαινολικών υδροξυλίων και αφετέρου στην ύπαρξη των ακετυλο-, πρενυλο- ή γερανυλο- ομάδων, οι οποίες μπορεί να αποτρέπουν την αλληλεπίδραση των μορίων με τις ρίζες DPPH λόγω στερεοχημικής παρεμπόδισης.

Όσον αφορά την αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης, παρατηρείται ότι από τα ακετυλοξυ- παράγωγα, αξιόλογη δράση εμφανίζει μόνο το παράγωγο **1b** (87.7%) το οποίο διαθέτει βρωμο-υποκαταστάτη στη θέση 4- του φαινολικού δακτυλίου της θέσης 3- της κουμαρίνης. Στην περίπτωση των υδροξυ-παραγώγων, η αποπροστασία του παραγώγου **1b** φαίνεται να οδηγεί σε μείωση της δράσης [προϊόν **2b** (65.9%)], ενώ την καλύτερη δράση παρουσιάζουν τα παράγωγα **2c** (100%) και **2e** (100%). Ακόμη, σημαντική δράση παρουσιάζει και το γερανυλοξυ- παράγωγο **3d** (93.1%) με νιτρο-υποκαταστάτη στη θέση 4- του φαινολικού δακτυλίου της κουμαρίνης κι επομένως από δυο ανενεργά παράγωγα οδηγηθήκαμε στη σύνθεση ενός μορίου με αξιόλογη ικανότητα αναστολής της λιπιδικής υπεροξειδωσης.

Επιπλέον, αξιόλογη δράση εμφανίζει και η 3-ακετυλο-7-υδροξυ-κουμαρίνη (**4a**) (94.1%), ενώ το μόριο κουμαρίνης-χαλκόνης, **5a**, εμφανίζει σημαντικά μειωμένη δράση. Ακόμη, ενώ η 3-ακετυλο-7-πρενυλοξυ-κουμαρίνη

(**4b**) εμφανίζεται ανενεργή, η σύνθεση του μορίου κουμαρίνης-χαλκόνης **5b** οδηγεί σε βελτίωση της δράσης στο 66.7%.

Όσον αφορά την ικανότητα αναστολής της δράσης του ενζύμου λιποξυγονάση από σόγια, αξιολογημένη δράση εμφανίζουν τα παράγωγα **1b** (81.3%), **2a** (88.0%), **2d** (100%) και **3c** (100%). Ακόμη, παρατηρείται ότι το μόριο κουμαρίνης-χαλκόνης, **5b** (94.9%), εμφανίζει ελαφρώς βελτιωμένη δράση σε σχέση με την αντίστοιχη κουμαρίνη (**4b**) (91%).

Τέλος, συνδυασμένη αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση εμφανίζουν τα παράγωγα **1b**, **3c**, **4a** και **5b**.

Αξιολόγηση της βιολογικής δράσης του συμπλόκου β-CD-4-MU

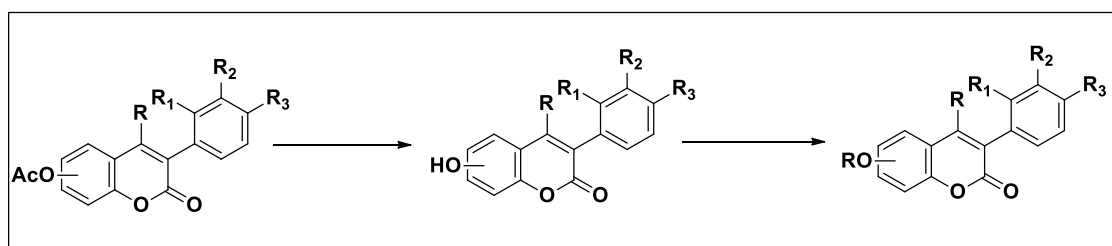
Στην περίπτωση του συμπλόκου, αξιολογημένη ικανότητα αναστολής της λιπιδικής υπεροξειδωσης εμφανίζει τόσο η **4-MU** (93%) όσο και το σύμπλοκο **β-CD-4-MU** (100%). Επομένως, συμπεραίνουμε ότι το σύμπλοκο **β-CD-4-MU** παρουσιάζει βελτιωμένη δράση σε σχέση με την **4-MU** σε ελεύθερη μορφή (93%).

Επιπροσθέτως, το σύμπλοκο **β-CD-4-MU** παρουσιάζει αξιολογημένη ικανότητα αναστολής της λιποξυγονάσης (70.7%), σε αντίθεση με την ελεύθερη μορφή της **4-MU** η οποία δεν παρουσιάζει αντιφλεγμονώδη δράση.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα κουμαρινικά παράγωγα είναι ευρέως διαδεδομένα στη φύση ως δευτερογενείς μεταβολίτες που προέρχονται κατά κύριο λόγο από φυτά και έχουν παρουσιάσει αξιόλογες βιολογικές δράσεις. Για το λόγο αυτό, στις μέρες μας, η δομική τροποποίησή τους αποτελεί πολύ σημαντικό τμήμα του κλάδου της Χημείας Φυσικών Προϊόντων. [52] Παράδειγμα αποτελούν τα πρενυλοξυ-παράγωγα, τα οποία άρχισαν να κινούν το ερευνητικό ενδιαφέρον μόλις την τελευταία δεκαετία επιδεικνύοντας επίσης αξιόλογες βιολογικές δράσεις.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία, πραγματοποιήθηκε η σύνθεση και ο χαρακτηρισμός είκοσι νέων κατάλληλα δομικά τροποποιημένων κουμαρινικών αναλόγων, τα οποία ταυτοποιήθηκαν μέσω φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού ^1H και ^{13}C NMR. Αρχικά, συντέθηκαν έξι νέα ακετυλοξυ-κουμαρινικά παράγωγα σε ικανοποιητικές αποδόσεις της τάξης του 40%. Στη συνέχεια, μέσω μεθόδου απακετυλίωσης συντέθηκαν πέντε νέα υδροξυ-κουμαρινικά παράγωγα σε υψηλές αποδόσεις της τάξης του 60% και τέλος συντέθηκαν τα αντίστοιχα νέα γερανυλοξυ-παράγωγα σε αποδόσεις που κυμαίνονταν από 46 έως 96%.



Εικόνα 55. Συνθετική πορεία κουμαρινικών παραγώγων.

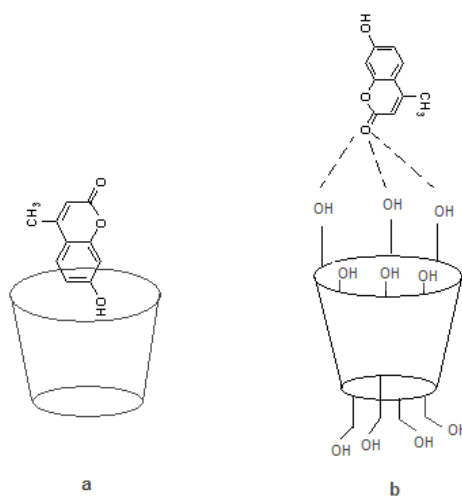
Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε η σύνθεση μορίων κουμαρινών-χαλκόνων, τα οποία συνδυάζουν το α , β -ακόρεστο καρβονυλικό σύστημα της χαλκόνης με το ετεροκυκλικό σύστημα της κουμαρίνης σε ένα μόριο κι αποτελούν μια καινοτόμο προσέγγιση στην ανάπτυξη νέων μορίων με βελτιωμένη και συνδυασμένη βιολογική δράση. Για το σκοπό αυτό, εξετάστηκαν οι συνθήκες που επηρεάζουν την αντίδραση και βρέθηκε η κατάλληλη συνθετική πορεία για τη σύνθεση δυο νέων υβριδικών μορίων κουμαρινών-χαλκόνων σε ικανοποιητικές αποδόσεις. Επιπλέον, μελετήθηκε η σύνθεση του ίδιου μορίου κουμαρίνης-χαλκόνης (**5a**) και με χρήση μικροκυματικής ακτινοβολίας, επιτυγχάνοντας σημαντική μείωση του χρόνου της αντίδρασης (90 λεπτά από 48 ώρες) μέσω μίας μεθόδου υψηλής ενέργειας.

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε ο εγκλεισμός δύο φυσικών προϊόντων-κουμαρινικών παραγώγων τα οποία έχουν επιδείξει αξιόλογη αντιοξειδωτική, κυτταροτοξική δράση και ικανότητα αναστολής του ενζύμου λιποξυγονάση από σόγια (LO)- σε β -κυκλοδεξτρίνη, η οποία αποτελεί επίσης ένα φυσικό, μη τοξικό, κυκλικό ολιγοσακχαρίτη. Πιο συγκεκριμένα, για το σύμπλοκο β -CD-4-μεθυλο-

ουμπελιφερόνης υπολογίστηκε απόδοση διεργασίας 69% κι απόδοση εγκλεισμού 65%, ενώ για το σύμπλοκο β-CD-ωραπτένης υπολογίστηκε απόδοση διεργασίας 60% κι απόδοση εγκλεισμού 45%.

Τα νανοσωματίδια που σχηματίστηκαν χαρακτηρίστηκαν μέσω μεθόδου Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (DLS) ως προς το μέγεθος, το δείκτη πολυδιασποράς και το ζ-δυναμικό τους. Έτσι, βρέθηκε ότι στην περίπτωση του συμπλόκου β-CD-4-μεθυλο-ουμπελιφερόνης το μέσο μέγεθος είναι 450 nm, ενώ στην περίπτωση του συμπλόκου β-CD-ωραπτένης παρατηρείται αύξηση του μεγέθους, περίπου στα 100 nm, η οποία μπορεί να οφείλεται στην παρουσία της γερανυλο-αλυσίδας στο μόριο της ωραπτένης. Και στις δύο περιπτώσεις σχηματίζονται εξαιρετικά σταθερές διασπορές (-31mV και -42mV αντίστοιχα), μέτριας ωστόσο ομοιομορφίας.

Ακόμη, η δομή των συμπλόκων μελετήθηκε μέσω φασματοσκοπίας ^1H και ^{13}C NMR και FT-IR. Πιο συγκεκριμένα, από τη διαφορά των χημικών μετατοπίσεων των πρωτονίων και των ανθράκων της β-κυκλοδεξτρίνης και των ενώσεων, σε ελεύθερη μορφή και σε μορφή συμπλόκου, αλλά και από τη μετατόπιση των χαρακτηριστικών κορυφών του φάσματος FT-IR, διαπιστώθηκε η επιτυχής δημιουργία των συμπλόκων β-CD-επιλεγμένης κουμαρίνης. Μάλιστα, σχηματίστηκαν τόσο σύμπλοκα εγκλεισμού (inclusion complexes) μεταξύ της β-CD και των ενώσεων, όσο και σύμπλοκα μη εγκλεισμού (non-inclusion complexes) μέσω δεσμών υδρογόνου μεταξύ των υδροξυλίων της β-κυκλοδεξτρίνης και του καρβονυλίου του κουμαρινικού δακτυλίου.



Εικόνα 56. a. Σχηματισμός συμπλόκου εγκλεισμού, **b:** Σχηματισμός δεσμών υδρογόνου της ένωσης με τη β-CD.

Τέλος, τα νέα κουμαρινικά παράγωγα εξετάστηκαν *in vitro* ως προς την αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση τους. Διαπιστώθηκε ότι ορισμένα παράγωγα όπως το **2c** διαθέτουν αξιόλογη αντιοξειδωτική δράση, ορισμένα παράγωγα όπως το **2d** διαθέτουν αξιόλογη αντιφλεγμονώδη δράση, ενώ τα

παράγωγα **1b**, **3c**, **4a** και **5b**, καθώς και το σύμπλοκο β-CD-4-MU διαθέτουν συνδυασμένη βιολογική δράση.

ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Άμεσο στόχο για την ολοκλήρωση της παρούσας ερευνητικής εργασίας αποτελεί η αξιολόγηση της κυτταροτοξικής δράσης σε κυτταρικές σειρές του ανθρώπινου νευροβλαστώματος (SK-N-SH) και του ανθρώπινου ηπατώματος (HepG2) των νέων κουμαρινικών παραγώγων.

Επιπλέον, επικείμενο στόχο αποτελεί η μελέτη των παραμέτρων της διεργασίας εγκλεισμού σε νανοσωματίδια με σκοπό τη βελτίωση της απόδοσης, αλλά κι ο καθορισμός του προφίλ απελευθέρωσης των ενώσεων από τα σύμπλοκα σε pH 7.5 και σε θερμοκρασία 37 °C, συνθήκες που θα προσομοιάζουν το κυτταρικό περιβάλλον. Στη συνέχεια, θα είχε ιδιαίτερο ενδιαφέρον η αξιολόγηση της κυτταροτοξικής δράσης των συμπλόκων σε κυτταρικές σειρές SK-N-SH και HepG2, προκειμένου να μελετηθεί συγκριτικά η δράση των κουμαρινών στην ελεύθερη μορφή τους και σε μορφή συμπλόκου.

Όσον αφορά τη σύνθεση νέων κουμαρινικών αναλόγων, προτείνεται η σύνθεση νέων πρενυλοξυ-κουμαρινικών παραγώγων, τροποποιώντας το μέγεθος της πρενυλο-αλυσίδας (ισοπεντυλοξυ-, φαρνεσυλοξυ-) στις θέσεις 5- και 7- του κουμαρινικού δακτυλίου. Ακόμη, θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί περαιτέρω δομική τροποποίηση του φαινολικού δακτυλίου της θέσης 3- του κουμαρινικού δακτυλίου με βάση τα μόρια οδηγούς.

Επιπροσθέτως, προτείνεται η σύνθεση νέων δομικά τροποποιημένων υβριδικών μορίων κουμαρινών-χαλκονών, τα οποία παρουσιάζουν σημαντικό φαρμακολογικό ενδιαφέρον με περιορισμένες όμως αναφορές στην παγκόσμια βιβλιογραφία, καθώς κι η περαιτέρω μελέτη των συνθηκών που επηρεάζουν την αντίδραση μέσω μικροκυματικής ακτινοβολίας με στόχο τη μεγαλύτερη μείωση του χρόνου της αντίδρασης και την αύξηση της απόδοσης.

Παράλληλα, τα νέα κουμαρινικά παράγωγα προτείνεται να μελετηθούν με Φασματομετρία Μάζας Υψηλής Ανάλυσης (HR-MS) προκειμένου να προσδιορισθεί με ακρίβεια το μοριακό βάρος των ενώσεων.

Τέλος, μελλοντικό στόχο αποτελεί ο εγκλεισμός σε β-κυκλοδεξτρίνη των κουμαρινικών παραγώγων που επέδειξαν αξιόλογη βιολογική δράση από τα *in vitro* πειράματα ώστε να υπάρχει μια πρώτη εκτίμηση της δυνατότητας παρασκευής ενός συστήματος μεταφοράς του βιοδραστικού μορίου για μελλοντικές εφαρμογές στη φαρμακευτική βιομηχανία.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

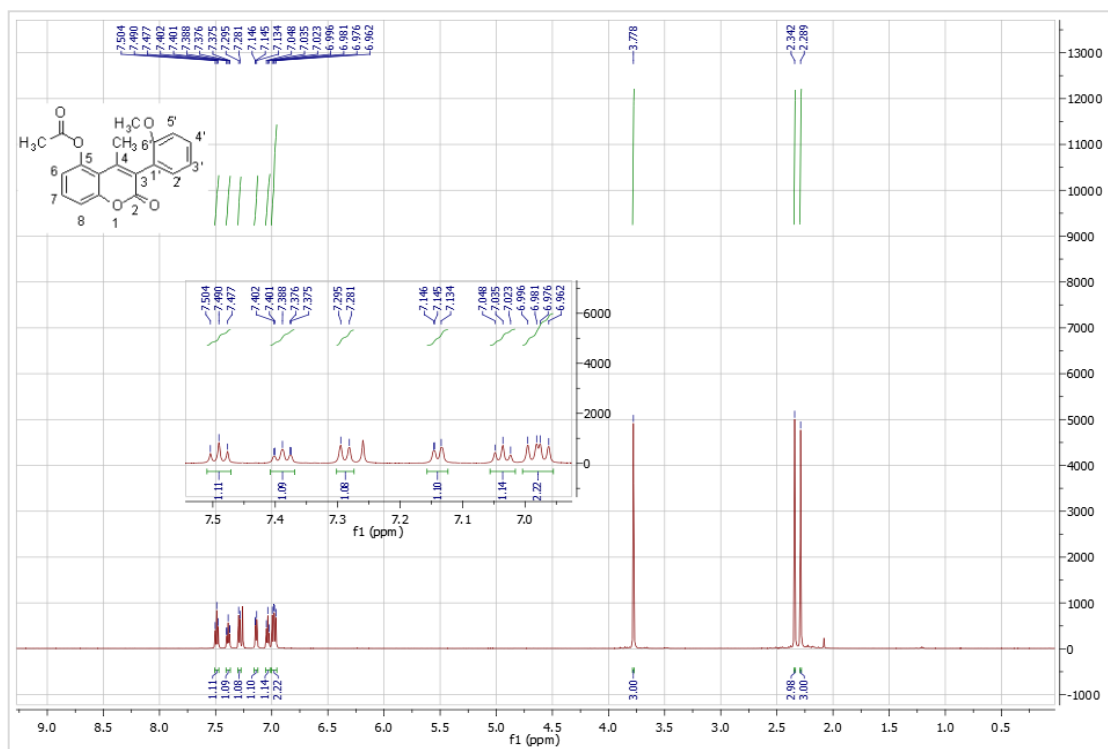
- [1] Singh, D.; Pathak, D. P., COUMARINS: AN OVERVIEW OF MEDICINAL CHEMISTRY. POTENTIAL FOR NEW DRUG MOLECULES. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* **2016**,*7* (2), 482.
- [2] Feuer, G., 3 The Metabolism and Biological Actions of Coumarins. *Progress in medicinal chemistry* **1974**,*10*, 85-158.
- [3] Rohini, K.; Srikumar, P., Therapeutic role of coumarins and coumarin-related compounds. *Journal of Thermodynamics & Catalysis* **2014**,*5* (2), 1.
- [4] Kayal, G.; Jain, K.; Malviya, S.; Kharia, A., Comparative SAR of synthetic coumarin derivatives for their anti-inflammatory activity. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* **2014**,*5* (9), 3577.
- [5] Vahabi, V.; Hatamjafari, F., Microwave assisted convenient one-pot synthesis of coumarin derivatives via Pechmann condensation catalyzed by FeF₃ under solvent-free conditions and antimicrobial activities of the products. *Molecules* **2014**,*19* (9), 13093-13103.
- [6] Al-Majedy, Y. K.; Kadhum, A. A. H.; Al-Amiery, A. A.; Mohamad, A. B., Coumarins: The Antimicrobial agents. *Systematic Reviews in Pharmacy* **2017**,*8* (1), 62.
- [7] Matos, M. J.; Vazquez-Rodriguez, S.; Santana, L.; Uriarte, E.; Fuentes-Edfuf, C.; Santos, Y.; Muñoz-Crego, A., Synthesis and structure-activity relationships of novel amino/nitro substituted 3-arylcoumarins as antibacterial agents. *Molecules* **2013**,*18* (2), 1394-1404.
- [8] Borges, F.; Roleira, F.; Milhazes, N.; Santana, L.; Uriarte, E., Simple Coumarins and Analogues in Medicinal Chemistry: Occurrence, Synthesis and Biological Activity. *Current Medicinal Chemistry* **2005**, *12* (8), 887-916.
- [9] Yang, L.; Ding, W.; Xu, Y.; Wu, D.; Li, S.; Chen, J.; Guo, B., New insights into the antibacterial activity of hydroxycoumarins against *Ralstonia solanacearum*. *Molecules* **2016**,*21* (4), 468.
- [10] De Araújo, R. S.; Guerra, F. Q.; de O Lima, E.; De Simone, C. A.; Tavares, J. F.; Scotti, L.; Scotti, M. T.; De Aquino, T. M.; De Moura, R. O.; Mendonça, F. J., Synthesis, structure-activity relationships (SAR) and in silico studies of coumarin derivatives with antifungal activity. *International journal of molecular sciences* **2013**,*14* (1), 1293-1309.
- [11] Zhang, M.-Z.; Zhang, Y.; Wang, J.-Q.; Zhang, W.-H., Design, Synthesis and Antifungal Activity of Coumarin Ring-Opening Derivatives. *Molecules* **2016**,*21* (10), 1387.
- [12] Venugopala, K. N.; Rashmi, V.; Odhav, B., Review on natural coumarin lead compounds for their pharmacological activity. *BioMed research international* **2013**,*2013*.

- [13] Piller, N., A comparison of the effectiveness of some anti-inflammatory drugs on thermal oedema. *British journal of experimental pathology* **1975**,*56* (6), 554.
- [14] Lü, J. M.; Lin, P. H.; Yao, Q.; Chen, C., Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *Journal of cellular and molecular medicine* **2010**,*14* (4), 840-860.
- [15] Al-Ayed, A. S., Synthesis of new substituted chromen [4, 3-c] pyrazol-4-ones and their antioxidant activities. *Molecules* **2011**,*16* (12), 10292-10302.
- [16] Al-Majedy, Y.; Al-Amiery, A.; Kadhum, A. A.; BakarMohamad, A., Antioxidant Activity of Coumarins. *Systematic Reviews in Pharmacy* **2017**,*8* (1), 24.
- [17] Roussaki, M.; Kontogiorgis, C. A.; Hadjipavlou-Litina, D.; Hamilakis, S.; Detsi, A., A novel synthesis of 3-aryl coumarins and evaluation of their antioxidant and lipoxygenase inhibitory activity. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* **2010**,*20* (13), 3889-3892.
- [18] Alhassan, A. M.; Abdullahi, M. I.; Uba, A.; Umar, A., Prenylation of aromatic secondary metabolites: a new frontier for development of novel drugs. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* **2014**,*13* (2), 307-314.
- [19] Roussaki, M.; Zelianaios, K.; Kavetsou, E.; Hamilakis, S.; Hadjipavlou-Litina, D.; Kontogiorgis, C.; Liargkova, T.; Detsi, A., Structural modifications of coumarin derivatives: determination of antioxidant and lipoxygenase (LOX) inhibitory activity. *Bioorganic & medicinal chemistry* **2014**,*22* (23), 6586-6594.
- [20] Kavetsou, E.; Gkionis, L.; Galani, G.; Gkolfinopoulou, C.; Argyri, L.; Pontiki, E.; Chroni, A.; Hadjipavlou-Litina, D.; Detsi, A., Synthesis of prenyloxy coumarin analogues and evaluation of their antioxidant, lipoxygenase (LOX) inhibitory and cytotoxic activity. *Medicinal Chemistry Research* **2017**,*26* (4), 856-866.
- [21] Shakeri, A.; Iranshahy, M.; Iranshahi, M., Biological properties and molecular targets of umbelliprenin—a mini-review. *Journal of Asian natural products research* **2014**,*16* (8), 884-889.
- [22] Ιωαννίδη Ελεονώρα Νέες ετεροκυκλικές ενώσεις ως αναστολείς του μεταγραφικού παράγοντα NF-κΒ, Διπλωματική εργασία, Αθήνα **2017**.
- [23] Pahl, H. L., Activators and target genes of Rel/NF-κB transcription factors. *Oncogene* **1999**,*18* (49).
- [24] Ben-Neriah, Y.; Karin, M., Inflammation meets cancer, with NF-[kappa] B as the matchmaker. *Nature immunology* **2011**,*12* (8), 715-723.
- [25] Chavan, B.; Gadekar, A.; Mehta, P.; Vawhal, P.; Kolsure, A.; Chabukswar, A., Synthesis & Medicinal Significance of Chalcones-A Review. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences* **2016**,*6* (56), 01.
- [26] Wei, H.; Ruan, J.; Zhang, X., Coumarin-chalcone hybrids: promising agents with diverse pharmacological properties. *RSC Advances* **2016**,*6* (13), 10846-10860.
- [27] Srivastava, Y., Ecofriendly microwave assisted synthesis of some chalcones. *Rasayan J. Chem* **2008**,*1* (4), 884-886.

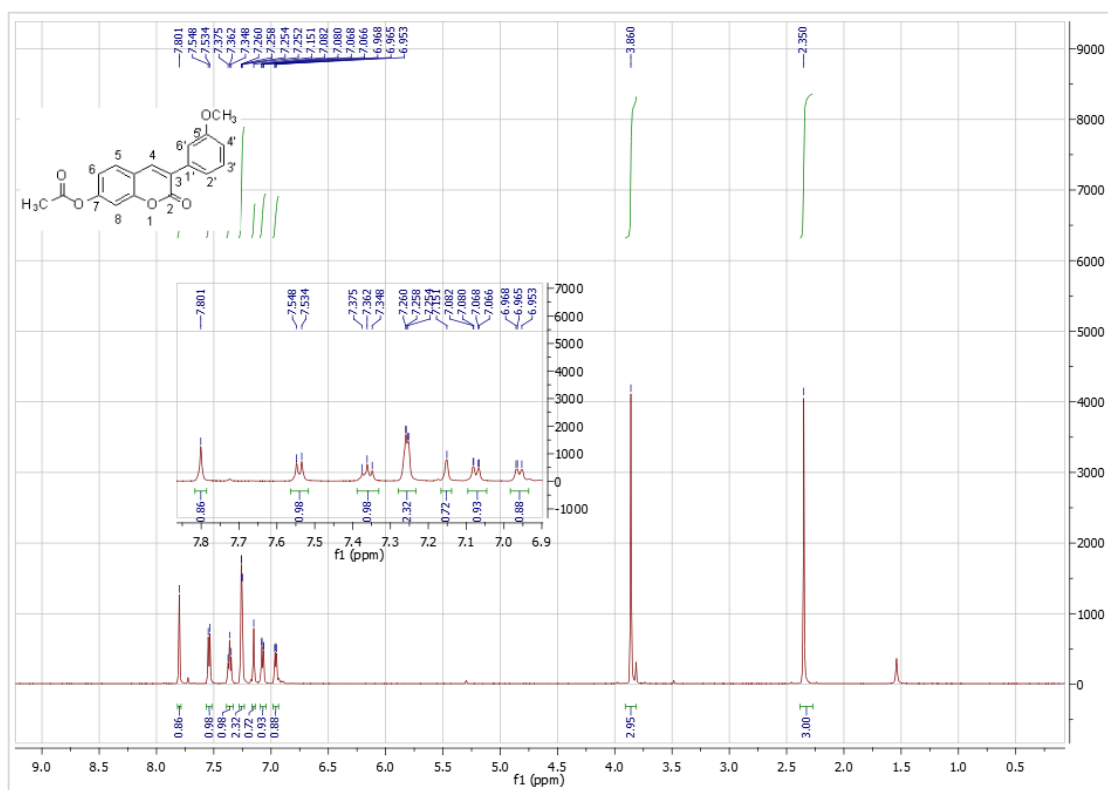
- [28] Nayak, Jan Devi, Ch Vidyapeeth, Lal, Microwave assisted synthesis : a green chemistry approach, *International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences (IRJPAS)*, **2016**, 3 (5), 278-285.
- [29] Shah, J.; Mohanraj, K., Comparison of conventional and microwave-assisted synthesis of benzotriazole derivatives. *Indian journal of pharmaceutical sciences* **2014**,76 (1), 46.
- [30] Del Valle, E. M., Cyclodextrins and their uses: a review. *Process biochemistry* **2004**,39 (9), 1033-1046.
- [31] Kurkov, S. V.; Loftsson, T., Cyclodextrins. *International journal of pharmaceutics* **2013**,453 (1), 167-180.
- [32] Arias J., Nanotechnology and drug delivery. Volume 1, Nanoplatforms in drug delivery, **2014**, 368.
- [33] Jin Zheng-Yu. Cyclodextrin chemistry: Preparation and application. World Scientific, **2013**.
- [34] M. de Jesus; L. Fraceto, L. F. et al. Non-inclusion complexes between riboflavin and cyclodextrins. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **2012**, 64(6), 832-842.
- [35] Loftsson, T.; Brewster, M. E. Cyclodextrins as functional excipients: methods to enhance complexation efficiency. *Journal of pharmaceutical sciences* **2012**, 101(9), 3019-3032.
- [36] Tiwari, G.; Tiwari, R.; Rai, A. K., Cyclodextrins in delivery systems: Applications. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences* **2010**,2 (2), 72.
- [37] Kotronia, M.; Kavetsou, E.; Loupassaki, S.; Kikionis, S.; Vouyiouka, S.; Detsi, A. Encapsulation of Oregano (*Origanum onites* L.) Essential Oil in β -Cyclodextrin (β -CD): Synthesis and Characterization of the Inclusion Complexes, *Bioengineering* **2017**, 4 (3), 74.
- [38] Zigoneanu, I. G.; Astete, C. E.; Sabliov, C. M., Nanoparticles with entrapped α -tocopherol: synthesis, characterization, and controlled release. *Nanotechnology* **2008**,19 (10), 105606.
- [39] Hunter, R. J., *Zeta potential in colloid science: principles and applications*. Academic press: **2013**; Vol. 2.
- [40] Lu, G. W.; Gao, P., Emulsions and microemulsions for topical and transdermal drug delivery. *Handbook of Non-Invasive Drug Delivery Systems*. William Andrew Publishing, Boston **2010**, 59-94.
- [41] Detsi, A.; Majdalani, M.; Kontogiorgis, C. A.; Hadjipavlou-Litina, D.; Kefalas, P., Natural and synthetic 2'-hydroxy-chalcones and aurones: synthesis, characterization and evaluation of the antioxidant and soybean lipoxygenase inhibitory activity. *Bioorganic & medicinal chemistry* **2009**,17 (23), 8073-8085.
- [42] Χατζηιωάννου Θ.Π., Κούππαρη Μ.Α., Ενόργανη Ανάλυση, Εκδ. Πανεπιστημίου Αθηνών, **2003**.
- [43] Παππά Α., "Φυσικές μέθοδοι ανάλυσης, Χρωματογραφικές, Θερμικές, ηλεκτρομετρικές, Φασματομετρίας μάζας.", Εκδ. ΕΜΠ, **2004**.

- [44] Kirkiacharian, S.; Lormier, A.; Resche-Rigon, M.; Bouchoux, F.; Cerede, E. In *Synthesis and binding affinity of 3-aryl-7-hydroxycoumarins to human alpha and beta estrogen receptors*, *Annales pharmaceutiques francaises*, **2003**; pp 51-56.
- [45] Seshadri; Varadarajan *Proceedings - Indian Academy of Sciences, Section A*; nb. 5; (**1952**); p. 75,80.
- [46] Pereira, T. M.; Vitório, F.; Amaral, R. C.; Zanoni, K. P. S.; Iha, N. Y. M.; Kümmerle, A. E., Microwave-assisted synthesis and photophysical studies of novel fluorescent N-acylhydrazone and semicarbazone-7-OH-coumarin dyes. *New Journal of Chemistry* **2016**,*40* (10), 8846-8854.
- [47] Kumar, J. Ashok; Saidachary; Mallesham; Sridhar; Jain, Nishant; Kalivendi, Shashi Vardhan; Rao, V. Jaya-thirtha; Raju, B. China; *European Journal of Medicinal Chemistry*; **2013**, *65*, 389 - 402.
- [48] Tanaka, T.; de Azevedo, M.; Durán, N.; Alderete, J. B.; Epifano, F.; Genovese, S.; Tanaka, M.; Tanaka, T.; Curini, M., Colorectal cancer chemoprevention by 2 β -cyclodextrin inclusion compounds of auraptene and 4'-geranyloxyferulic acid. *International journal of cancer* **2010**,*126* (4), 830-840.
- [49] Schneider; H. J.; Hacket, F.; Rüdiger, V.; Ikeda, H. NMR studies of cyclodextrins and cyclodextrin complexes. *Chemical Reviews* **1998**, *98*(5), 1755-1786.
- [50] Chatterjee, A.; Seth, D., Photophysical Properties of 7-(diethylamino) Coumarin-3-carboxylic Acid in the Nanocage of Cyclodextrins and in Different Solvents and Solvent Mixtures. *Photochemistry and photobiology* **2013**,*89* (2), 280-293.
- [51] Mineo, P.; A porphyrin/ β -cyclodextrin conjugated nano-system having a pan-lid molecular structure for smart drug carrier applications. *Organic & biomolecular chemistry* **2014**,*12* (22), 3663-3670.
- [52] Kostova, I.: Synthetic and natural coumarins as antioxidants. *Mini reviews in medicinal chemistry* **2006**,*6* (4), 365-374.

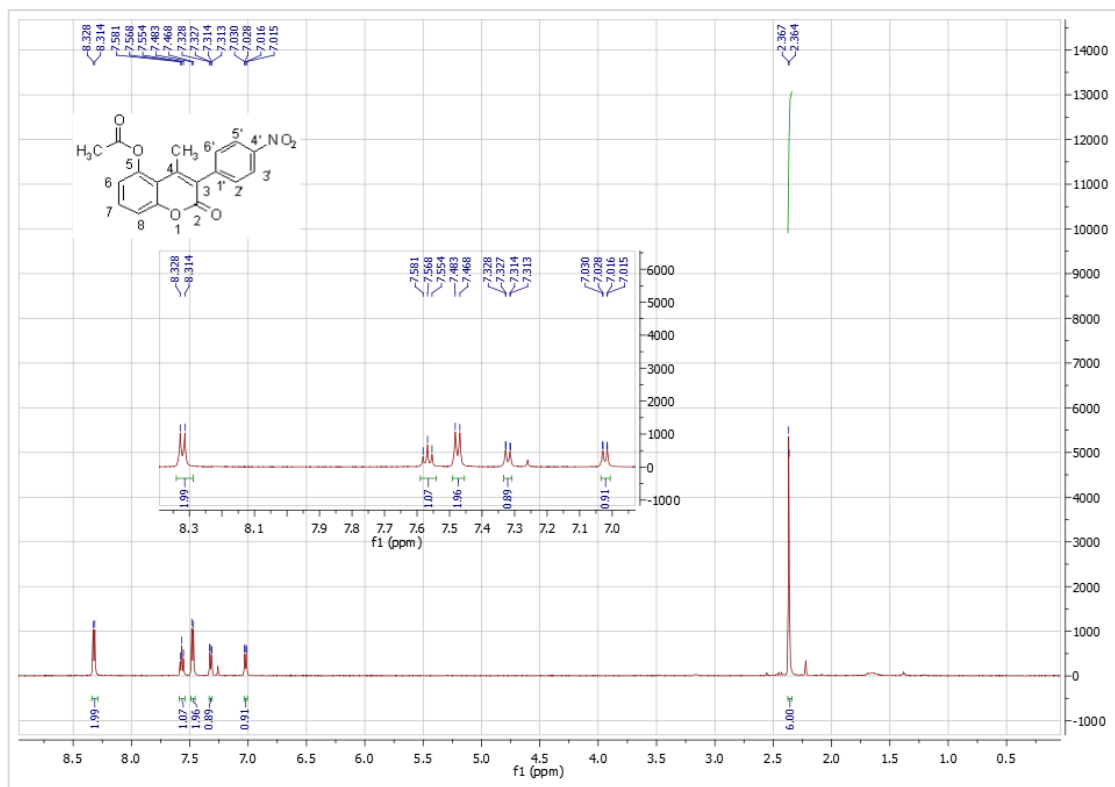
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΑΣΜΑΤΩΝ



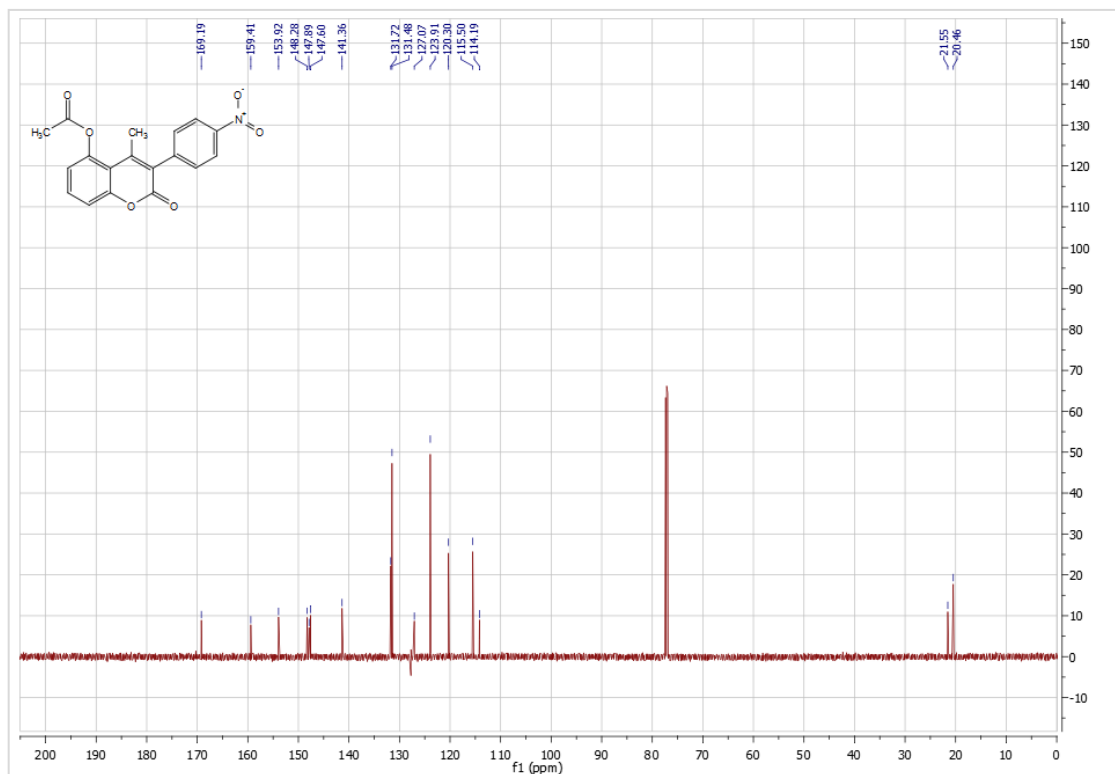
Εικόνα 57. Φάσμα ¹H NMR της 5-ακετυλοξυ-3-(2-μεθοξυφαινυλο)-4-μεθυλοκουμαρίνης.



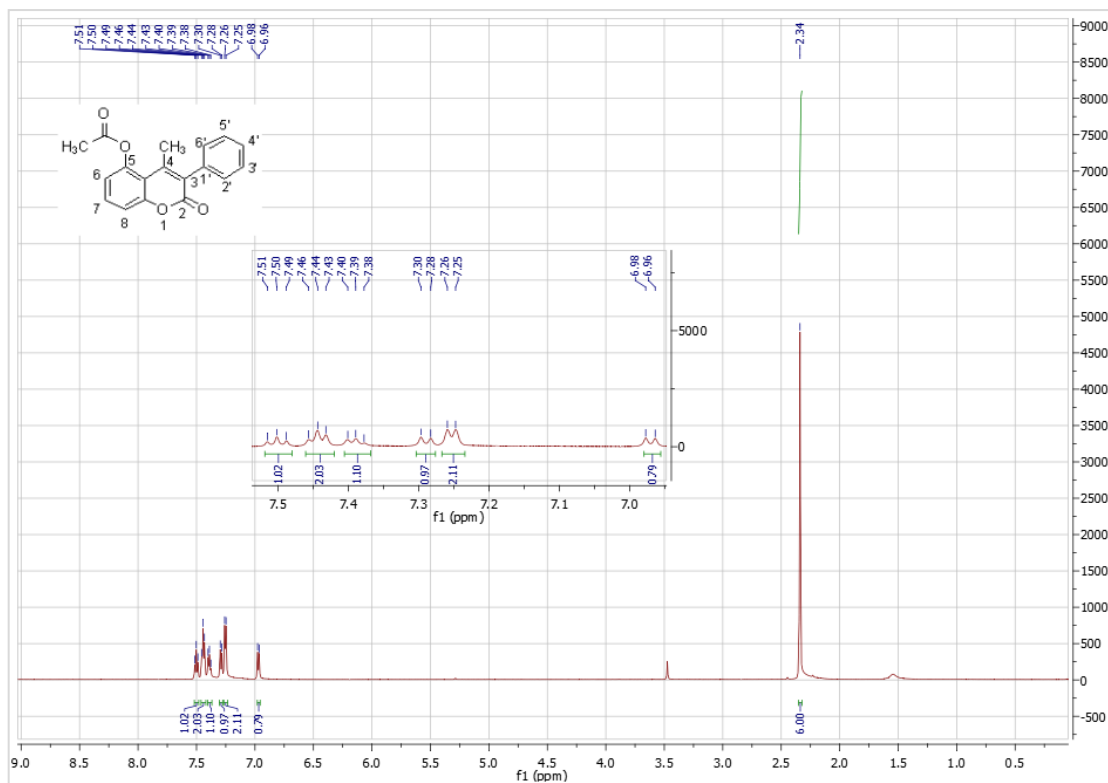
Εικόνα 58. Φάσμα ¹H NMR της 7-ακετυλοξυ-3-(3-μεθοξυφαινυλο)-κουμαρίνης.



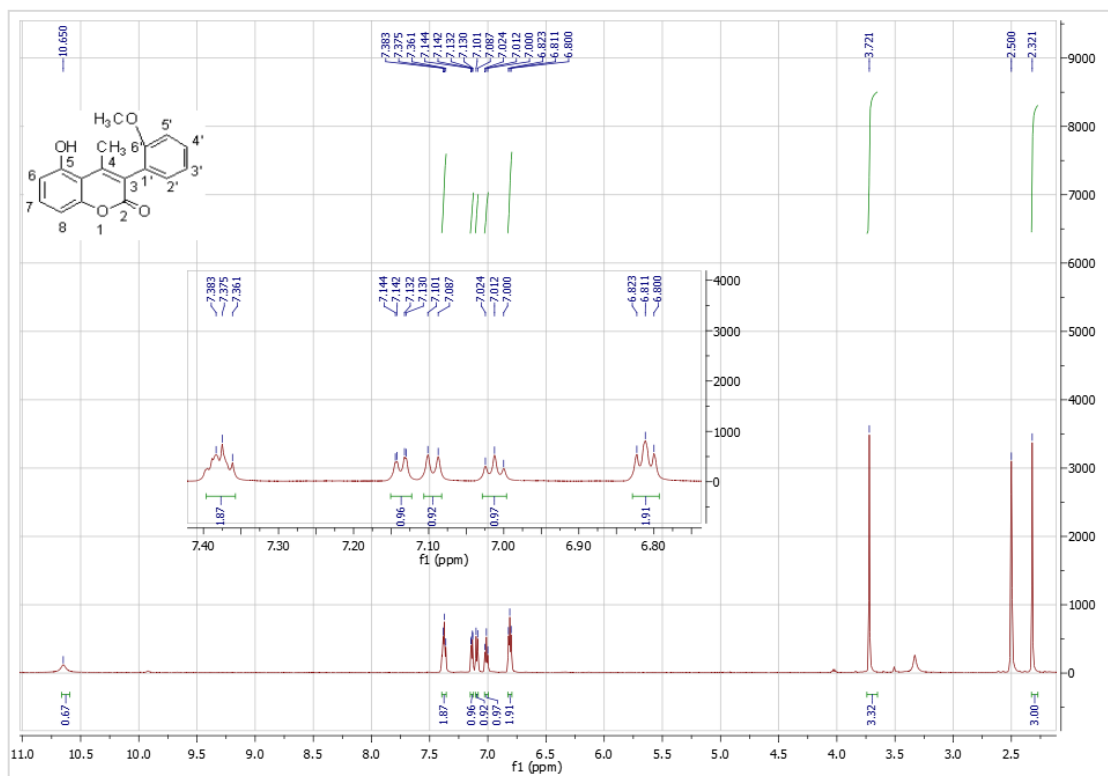
Εικόνα 59. Φάσμα ¹H NMR της 5-ακετυλοξυ-3-(4-νιτροφαιλυλο)-4-μεθυλο-κουμαρίνης.



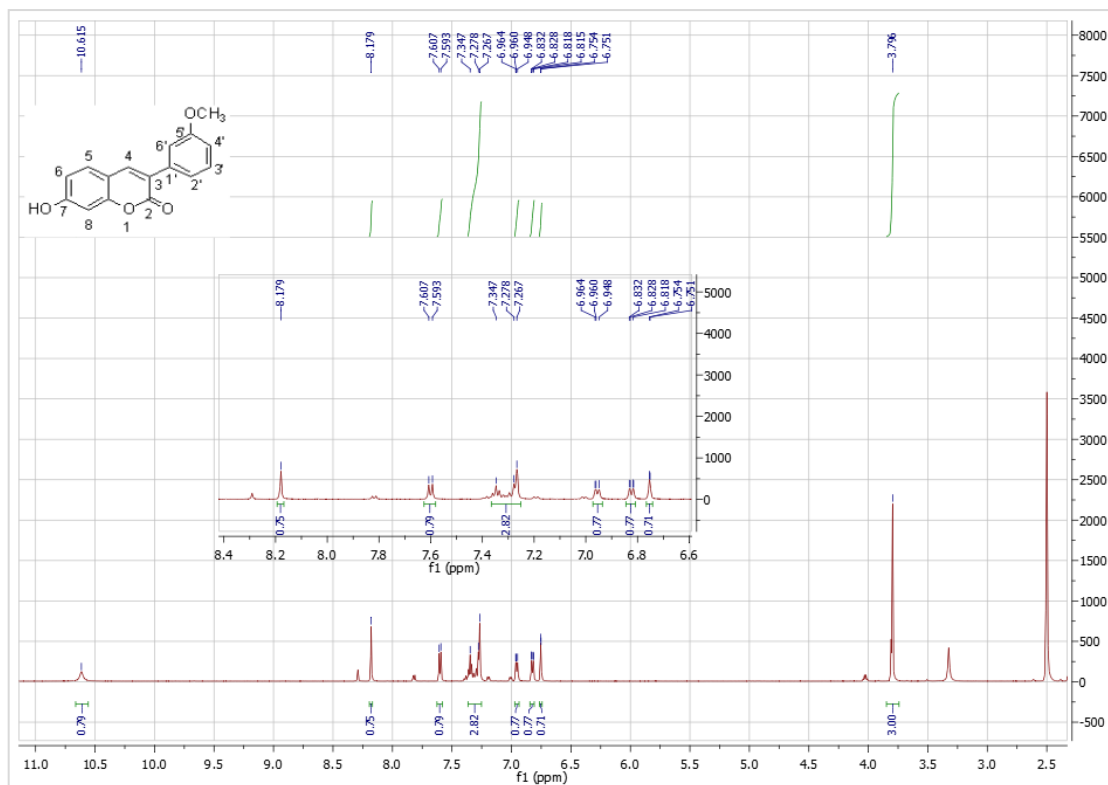
Εικόνα 60. Φάσμα ¹³C NMR της 5-ακετυλοξυ-3-(4-νιτροφαιλυλο)-4-μεθυλο-κουμαρίνης.



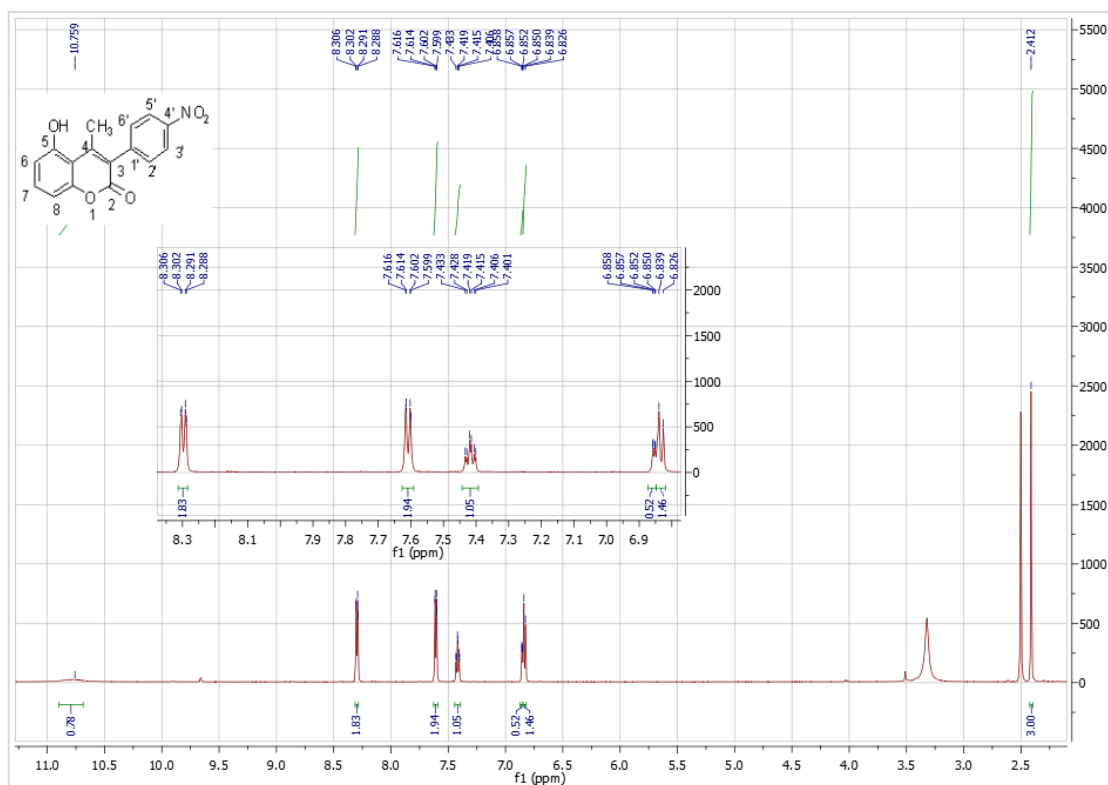
Εικόνα 61. Φάσμα ¹H NMR της 5-ακετυλοξυ-3-φαινυλο-4-μεθυλο-κουμαρίνης.



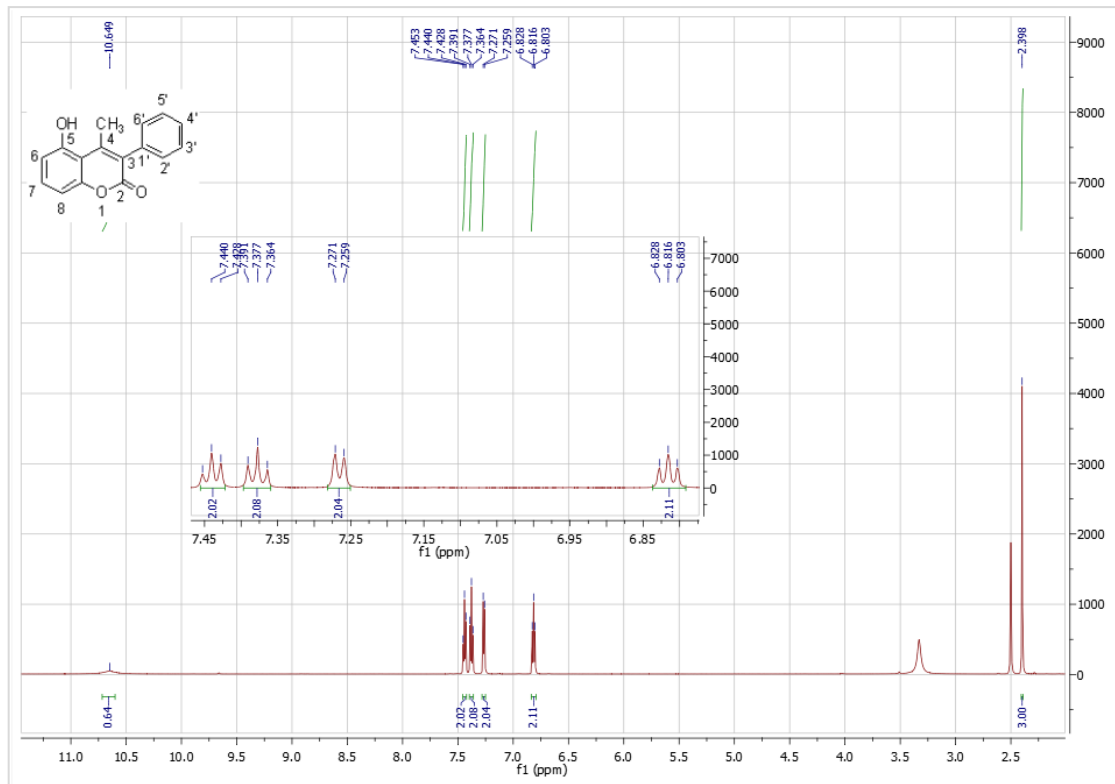
Εικόνα 62. Φάσμα ¹H NMR της 5-υδροξυ-3-(2-μεθοξυφαινυλο)-4-μεθυλο-κουμαρίνης.



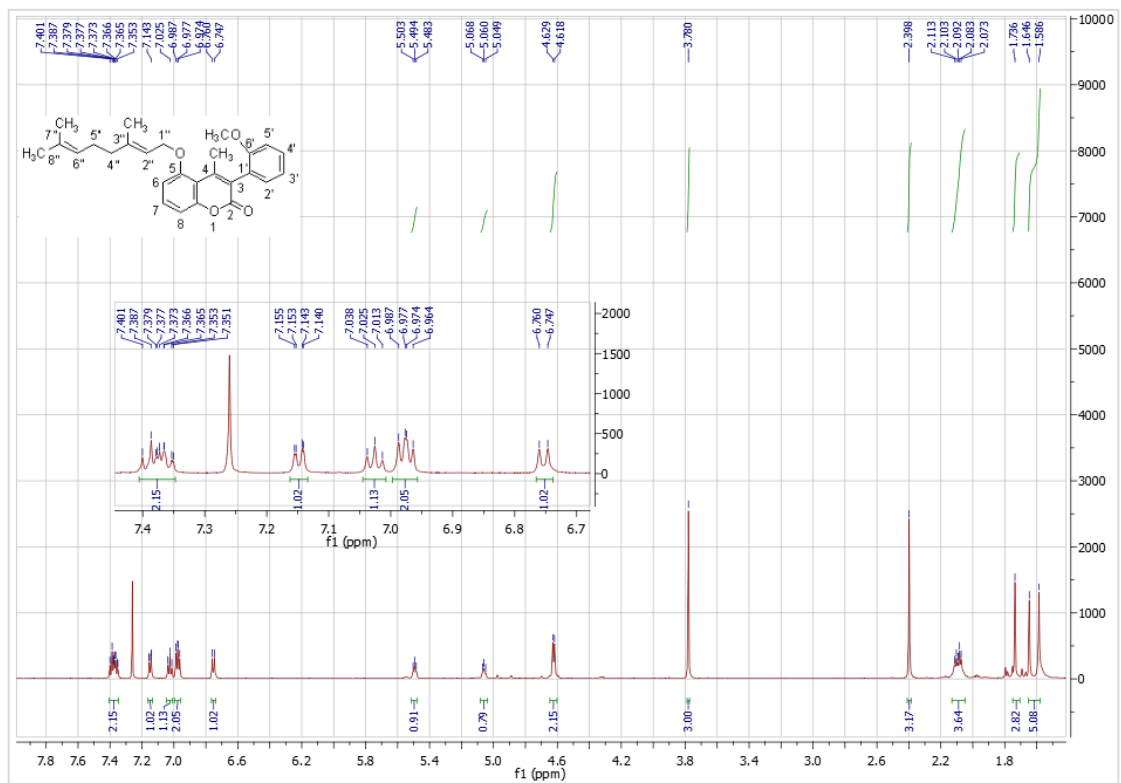
Εικόνα 63. Φάσμα ¹H NMR της 7-υδροξυ-3-(3-μεθοξυφαινυλο) -κουμαρίνης.



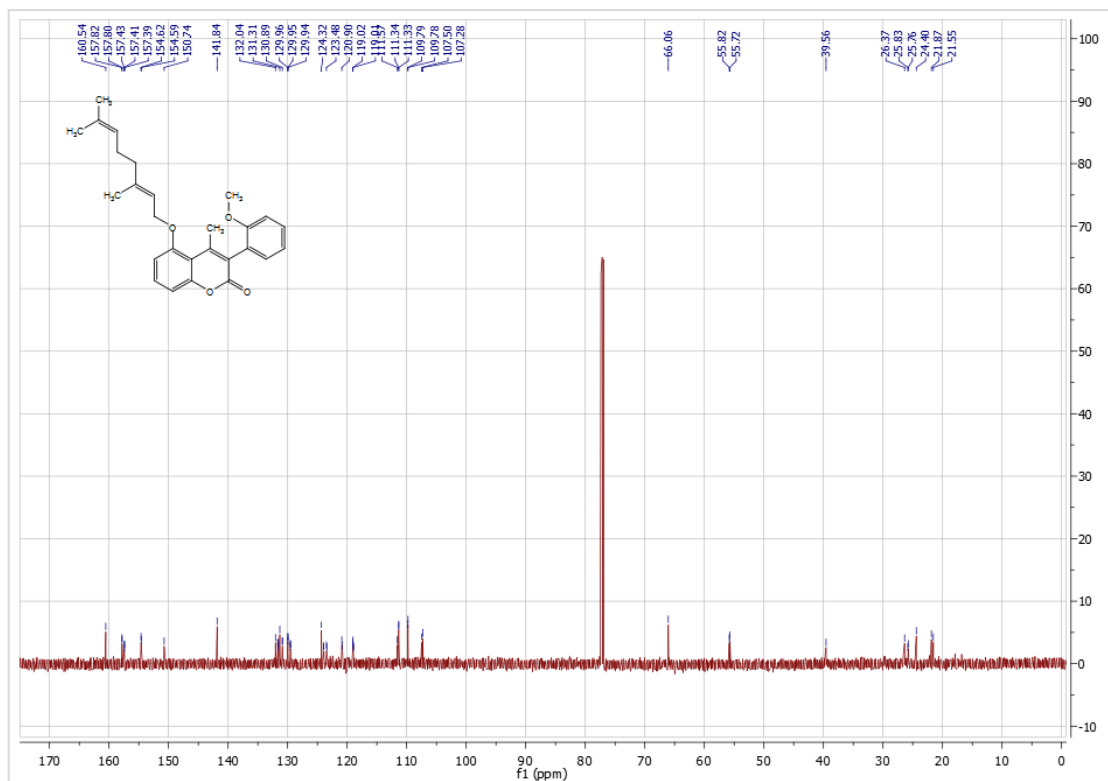
Εικόνα 64. Φάσμα ¹H NMR της 5-υδροξυ-3-(4-νιτροφαινυλο)-4-μεθυλο-κουμαρίνης.



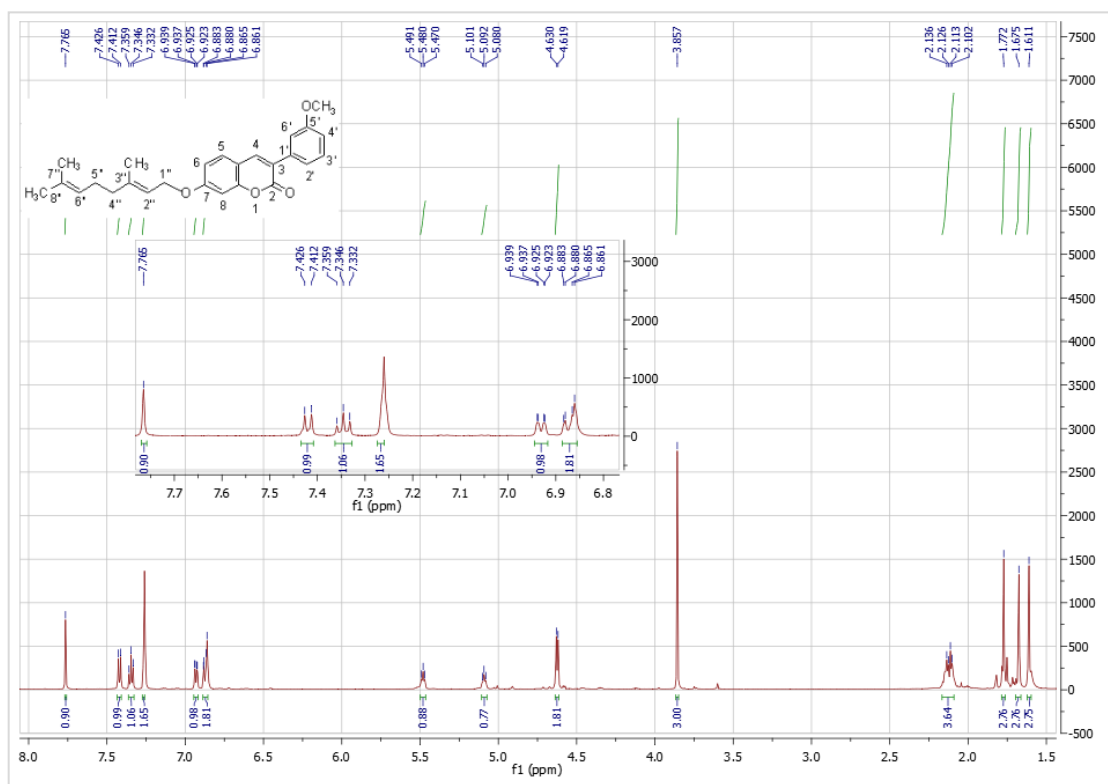
Εικόνα 65. Φάσμα ¹H NMR της 5-υδροξυ-3-φαινυλο-4-μεθυλο-κουμαρίνης.



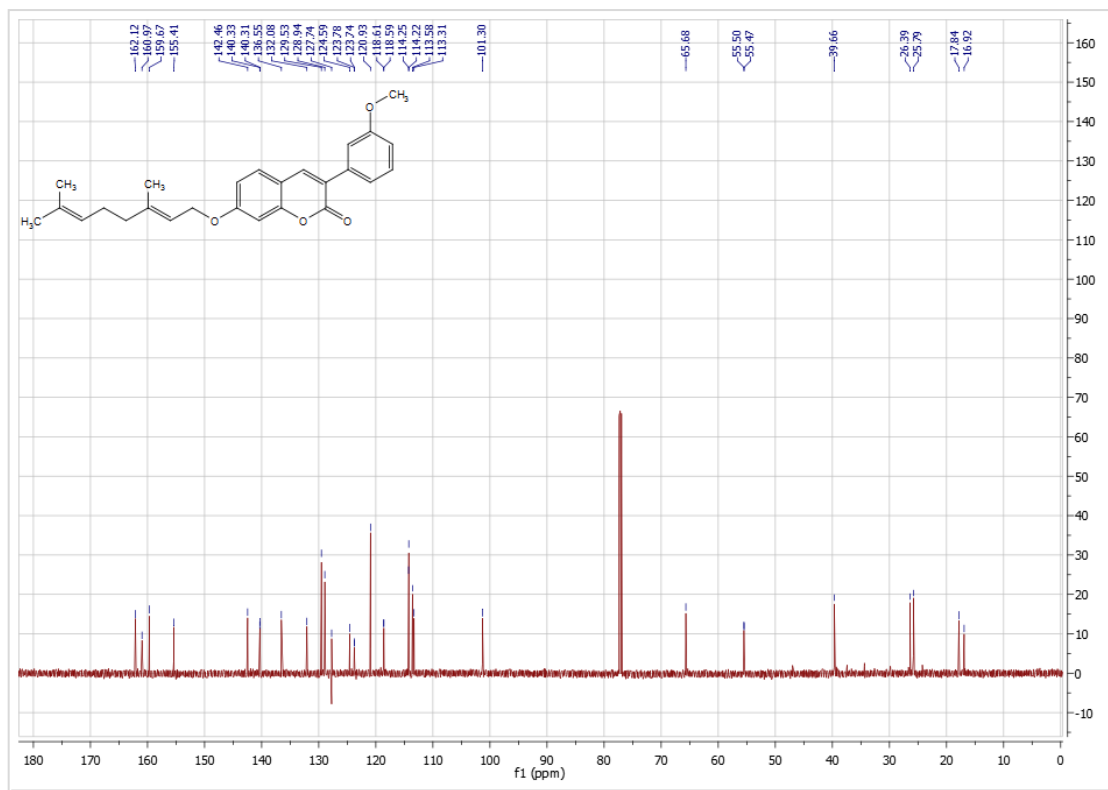
Εικόνα 66. Φάσμα ¹H NMR της 5-γερανυλοξυ-3-(2-μεθοξυφαινυλο)-4-μεθυλο-κουμαρίνης.



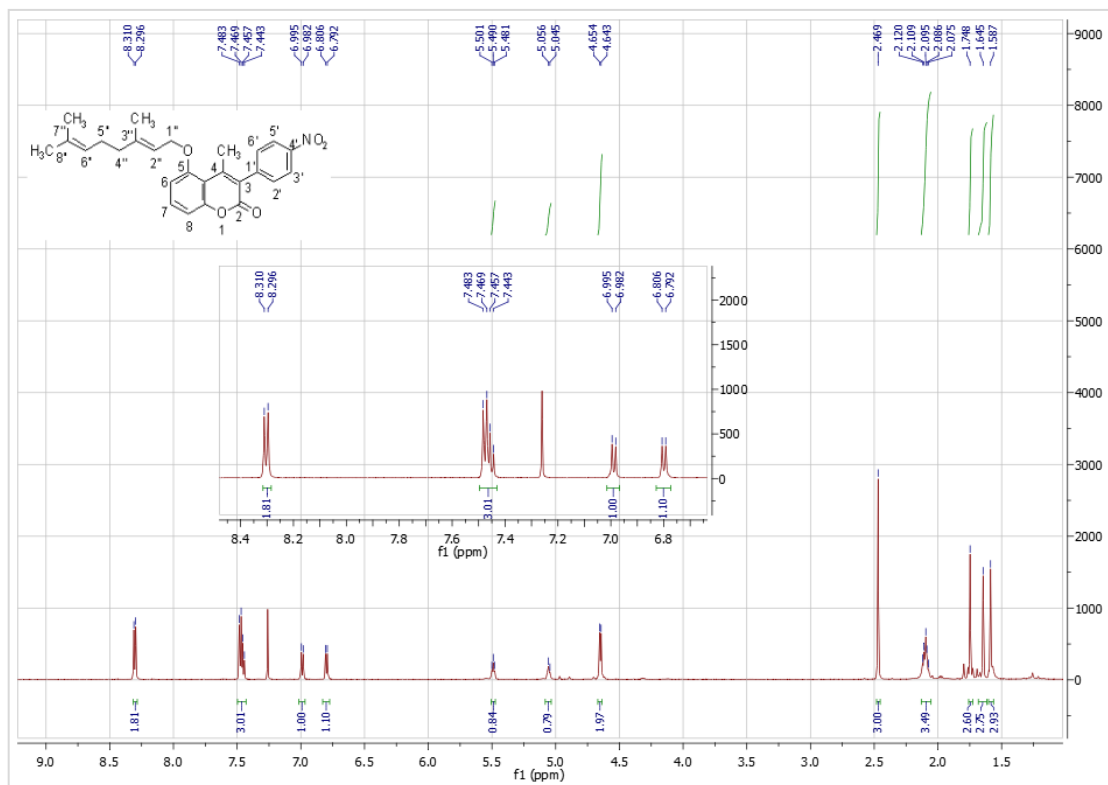
Εικόνα 67. Φάσμα ^{13}C NMR της 5-γερανυλοξυ-3-(2-μεθοξυφαινυλο)-4-μεθυλοκουμαρίνης.



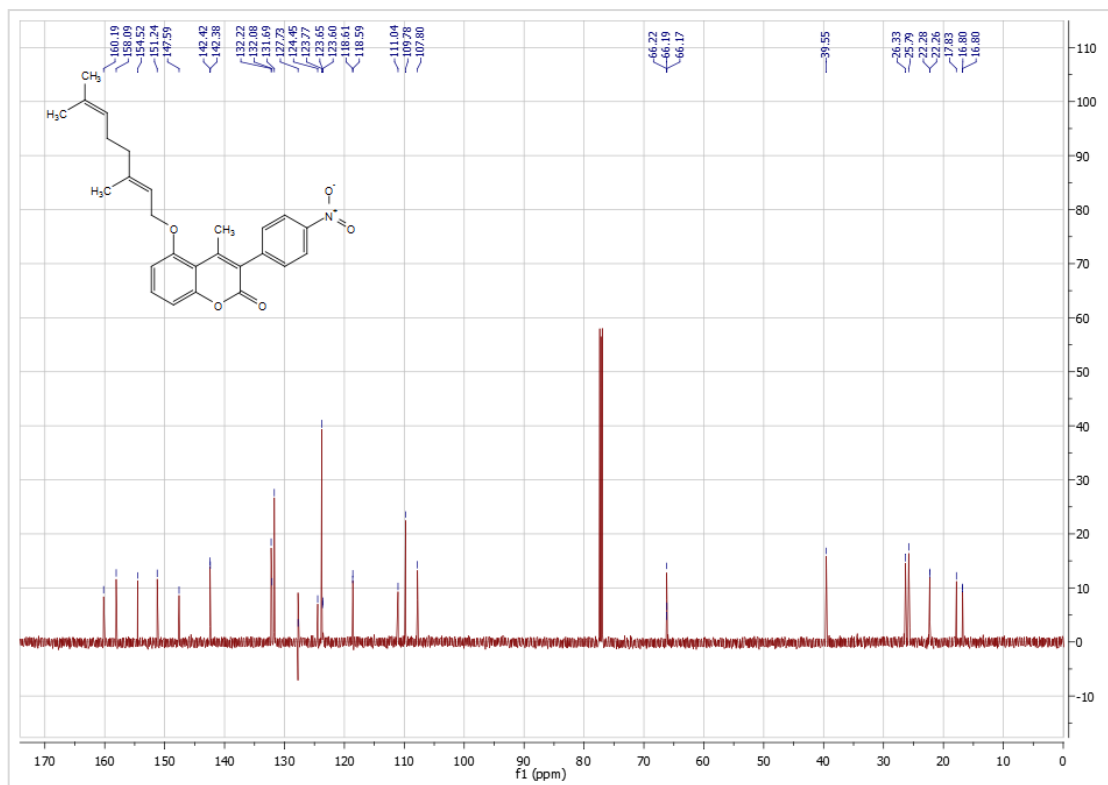
Εικόνα 68. Φάσμα ^1H NMR της 7-γερανυλοξυ-3-(3-μεθοξυφαινυλο)-κουμαρίνης.



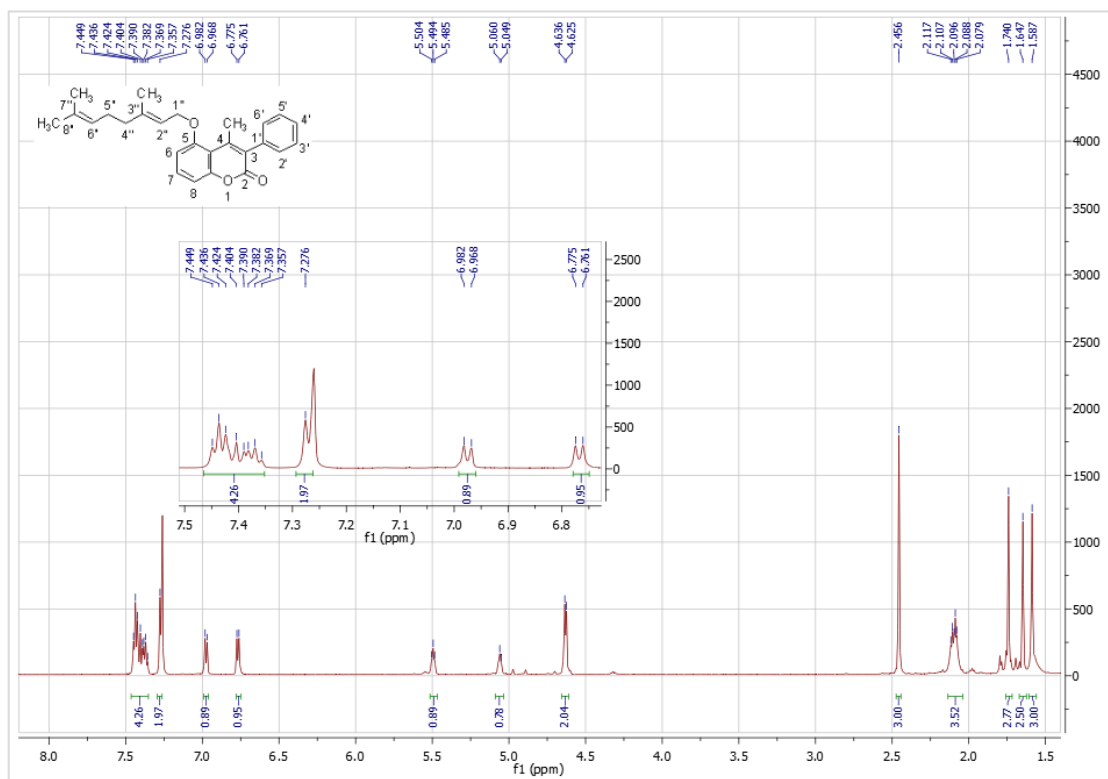
Εικόνα 69. Φάσμα ^{13}C NMR της 7-γερανυλοξ-3-(3-μεθοξυφαινυλο)-κουμαρίνης.



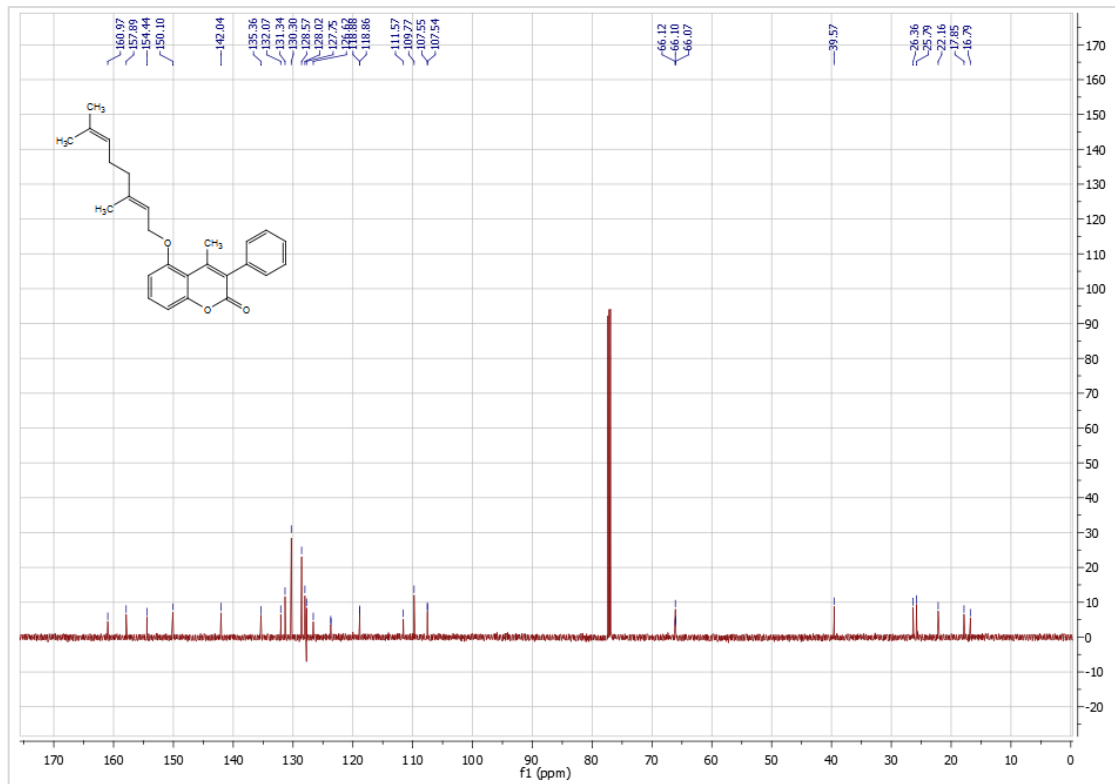
Εικόνα 70. Φάσμα ^1H NMR της 5-γερανυλοξ-3-(4-νιτροφαινυλο)-4-μεθυλοκουμαρίνης.



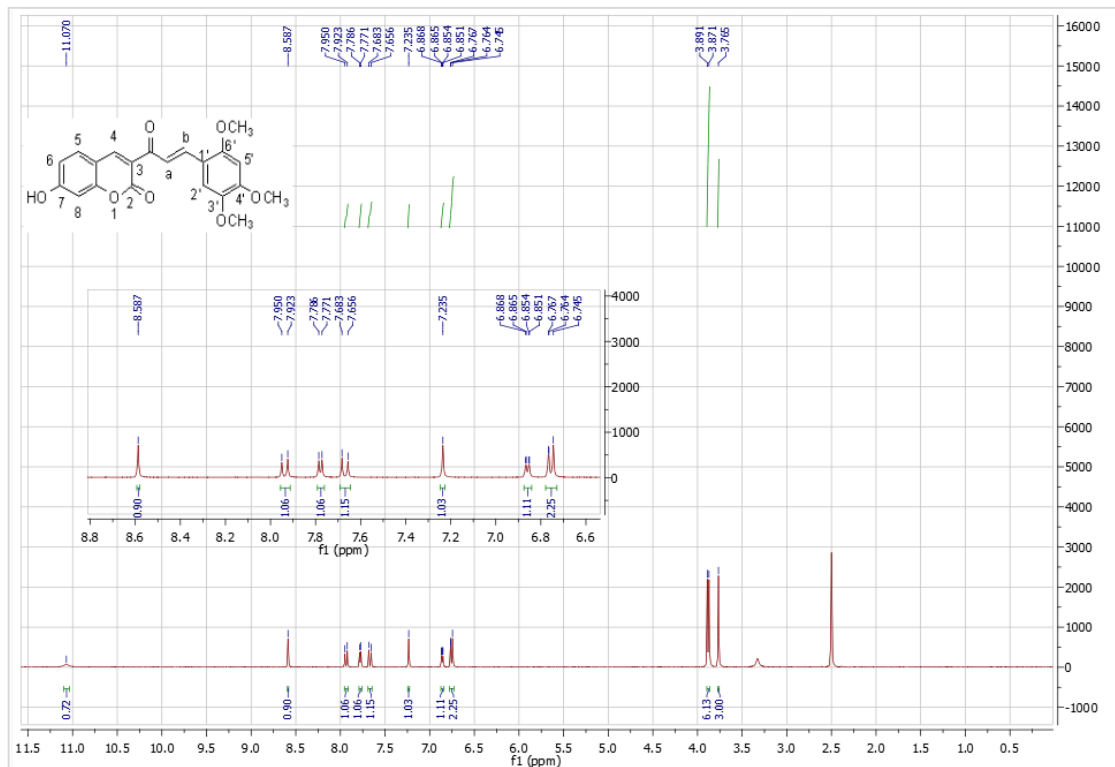
Εικόνα 71. Φάσμα ^{13}C NMR της 5-γερανυλοξυ-3-(4-νιτροφαινυλο)-4-μεθυλοκουμαρίνης.



Εικόνα 72. Φάσμα ^1H NMR της 5-γερανυλοξυ-3-φαινυλο-κουμαρίνης.



Εικόνα 73. Φάσμα ¹³C NMR της 5-γερανυλοξυ-3-φαινυλο-κουμαρίνης.



Εικόνα 74. Φάσμα ¹H NMR της 7-υδροξυ-3-(3-(2,4,5-τριμεθοξυφαινυλ)ακρυλοϋλ)-2H-χρωμεν-2-όνης (μέσω μικροκυματικής ακτινοβολίας).

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 18. Διαφορά χημικών μετατοπίσεων (ppm) στο φάσμα ^{13}C NMR της 4-μεθυλο-ουμπελιφερόνης σε ελεύθερη μορφή και στο σύμπλοκο.

Χημικές μετατοπίσεις των C της 4-MU δ_1 (ppm)	Χημικές μετατοπίσεις των C της 4-MU στο σύμπλοκο δ_2 (ppm)	Διαφορά χημικών μετατοπίσεων $\delta_1 - \delta_2$ (ppm)	Κυριότεροι C
161.130	161.159	-0.029	C-2
160.249	160.276	-0.027	
154.819	154.835	-0.016	
153.490	153.546	-0.056	C-4
126.592	126.623	-0.031	
112.8325	112.891	-0.0585	C-3
112.001	112.014	-0.013	
110.234	110.234	0	
102.159	102.1725	-0.0135	
18.0785	18.1025	-0.024	

Πίνακας 19. Διαφορά χημικών μετατοπίσεων (ppm) στο φάσμα ^{13}C NMR της ωραπτένης σε ελεύθερη μορφή και στο σύμπλοκο.

Χημικές μετατοπίσεις των C της AUR δ_1 (ppm)	Χημικές μετατοπίσεις των C της AUR στο σύμπλοκο δ_2 (ppm)	Διαφορά χημικών μετατοπίσεων $\delta_1 - \delta_2$ (ppm)	Κυριότεροι C
161.609	161,639	-0.030	
160.269	160.320	-0.051	C-2
155.337	155.363	-0.026	
144.311	144.370	-0.059	C-4
141.122	141.182	-0.060	
131.015	131.058	-0.043	
129.364	129.411	-0.047	C-5
123.677	123.707	-0.030	
118.938	118.959	-0.021	
112.925	112.974	-0.049	C-3
112.34	112.373	-0.033	
112.223	112.254	-0.031	
101.336	101.372	-0.036	

65.138	65.165	-0.027	
25,715	25.741	-0.026	
25.395	25.434	-0.039	
23.764	23.805	-0.041	
17.533	17.574	-0.041	
16.370	16.405	-0.035	

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1. Χημική δομή της a : 4-μεθυλο-ουμπελιφερόνης και b : της ωραπτένης..2	
Image 1. Chemical structure of a : 4-methyl-umbelliferone and b : auraptene.....4	
Εικόνα 2. Χημική δομή παραγώγων με συνδυασμένη βιολογική δράση.....3	
Image 2. Chemical structure of the compounds which possess a satisfactory lipoxygenase inhibitory activity and potent antioxidant activity.....5	
Εικόνα 3. <i>Dipteryx odorata</i> (tonka beans).....8	
Εικόνα 4. Χημική δομή a : βενζο-α-πυρονών και b : βενζο-γ-πυρονών.....9	
Εικόνα 5. Χημική δομή ουμπελιφερόνης.....10	
Εικόνα 6. Χημική δομή a : ψωραλενίου και b : αγγελικίνης.....10	
Εικόνα 7. Χημική δομή a : ξανθυλετίνης και b : σεσελίνης.....10	
Εικόνα 8. Χημική δομή βαρφαρίνης.....10	
Εικόνα 9. Χημική δομή Novobiocin και Clorobiocin.....11	
Εικόνα 10. Χημική δομή a : 6,7-διυδροξυ-κουμαρίνης και b : 7,8-διυδροξυ-κουμαρίνης.....12	
Εικόνα 11. Χημική δομή οσθόλης.....12	
Εικόνα 12. Χημική δομή a : 4-μεθυλο-κουμαρίνης, b : 4-μεθυλο-βενζο-γ-κουμαρίνης και c : 4,6-διμεθυλο-7-υδροξυ-κουμαρίνης.....15	
Εικόνα 13. a : ισοπεντενυλο-αλυσίδα, b : γερανυλο-αλυσίδα, c : φαρνεσυλο-αλυσίδα, d : γερανυλογερανυλο-αλυσίδα.....16	
Εικόνα 14. Χημική δομή της ωραπτένης.....17	
Εικόνα 15. Χημική δομή 7-φαρνεσυλοξυ-κουμαρίνης.....17	

Εικόνα 16. Χημική δομή και ανασταλτική ικανότητα σε συγκέντρωση 50μM των ADEK354, ADEK345 και ADEK350.....	18
Εικόνα 17. Χημική δομή της 1,3-διφαινυλο-2-προπεν-1-όνης.....	18
Εικόνα 18. Σύγκριση προσφοράς θερμότητας στην περίπτωση της συμβατικής μεθόδου (αριστερά) και της χρήσης μικροκυματικής ακτινοβολίας (δεξιά).....	20
Εικόνα 19. Δομή α-, β-, γ- κυκλοδεκτρίνης.....	22
Εικόνα 20. Τρισδιάστατη απεικόνιση της κυκλοδεκτρίνης.....	22
Εικόνα 21. Σχηματική απεικόνιση του τρόπου υπολογισμού του ζ-δυναμικού..	27
Εικόνα 22. Μόρια οδηγό με αξιόλογη ικανότητα αναστολής του ενζύμου λιποξυγονάση (LO).....	29
Εικόνα 23. Μόριο IV : 4-μεθυλο-ουμπελιφερόνη (% Αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης (LP) (100 μM) = 93%), Μόριο V : ωραπτένη (% Αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης (LP) (100 μM) = 52%, HO• (%) (100μM) = 100, SK-N-SH IC ₅₀ =14.1μM, HepG2 IC ₅₀ =78.4μM.....	30
Εικόνα 24. Ενεργειακή Διαφορά ΔΕ μεταξύ πυρήνων με παράλληλο και αντιπαράλληλο spin σε σχέση με το εφαρμοζόμενο μαγνητικό πεδίο (Bo).....	37
Εικόνα 25. Άξονας φάσματος NMR.....	38
Εικόνα 26. Χημικές μετατοπίσεις των κυριότερων χαρακτηριστικών ομάδων στο φάσμα ¹ H-NMR.....	39
Εικόνα 27. Χημική δομή της β-κυκλοδεκτρίνης και των ενώσεων που εγκλείστηκαν σε αυτή.....	57
Εικόνα 28. Φάσμα ¹ H NMR της 5-ακετυλοξυ-3-(4-βρωμοφαινυλο)-4-μεθυλοκουμαρίνης (CDCl ₃).....	61
Εικόνα 29. Φάσμα ¹³ C NMR της 5-ακετυλοξυ-3-(4-βρωμοφαινυλο)-4-μεθυλοκουμαρίνης (CDCl ₃).....	62
Εικόνα 30. Φάσμα ¹ H NMR της 5-υδροξυ-3-(4-βρωμοφαινυλο)-4-μεθυλοκουμαρίνης (DMSO - d ₆).....	63
Εικόνα 31. Φάσμα ¹³ C NMR της 5-υδροξυ-3-(4-βρωμοφαινυλο)-4-μεθυλοκουμαρίνης (DMSO - d ₆).....	64
Εικόνα 32. Φάσμα ¹ H NMR της 5-γεραυλοξυ-3-(4-βρωμοφαινυλο)-4-μεθυλοκουμαρίνης (CDCl ₃).....	65

Εικόνα 33. Φάσμα ^{13}C NMR της 5-γερανυλοξυ-3-(4-βρωμοφαινυλο)-4-μεθυλοκουμαρίνης (CDCl_3).....	66
Εικόνα 34. Φάσμα ^1H NMR της 3-ακετυλο-7-υδροξυ-κουμαρίνης (CDCl_3).....	67
Εικόνα 35. Φάσμα ^1H NMR της 3-ακετυλο-7-πρενυλοξυ-κουμαρίνης (CDCl_3)..	68
Εικόνα 36. Φάσμα ^1H NMR της 3-(3-(2-μεθοξυφαινυλο)ακρυλοϋλο)-7-((3-μεθυλοβουτ-2-εν-1-υλο)οξυ)-2H-χρωμεν-2-όνης (CDCl_3).....	69
Εικόνα 37. Φάσμα ^{13}C NMR της 3-(3-(2-μεθοξυφαινυλο)ακρυλοϋλο)-7-((3-μεθυλοβουτ-2-εν-1-υλο)οξυ)-2H-χρωμεν-2-όνης (CDCl_3).....	70
Εικόνα 38. Φάσμα ^1H NMR της 7-υδροξυ-3-(3-(2,4,5,-τριμεθοξυφαινυλο)ακρυλοϋλο)-2H-χρωμεν-2-όνης ($\text{DMSO} - d_6$).....	71
Εικόνα 39. Φάσμα ^{13}C NMR της 7-υδροξυ-3-(3-(2,4,5,-τριμεθοξυφαινυλο)ακρυλοϋλο)-2H-χρωμεν-2-όνης ($\text{DMSO} - d_6$).....	72
Εικόνα 40. a: Χημική δομή της β -CD και b: Αναπαράσταση της τρισδιάστατης δομής της β -CD.....	77
Εικόνα 41. Συγκριτικό φάσμα ^1H NMR της β -CD και του συμπλόκου β -CD-4MU ($\text{DMSO}-d_6$).....	78
Εικόνα 42. Συγκριτικό φάσμα ^1H NMR της 4-MU και του συμπλόκου β -CD-4-MU ($\text{DMSO}-d_6$).....	79
Εικόνα 43. Συγκριτικό φάσμα ^{13}C NMR της β -CD, του συμπλόκου β -CD-4MU και της 4-MU ($\text{DMSO}-d_6$).....	80
Εικόνα 44. a. Εισχώρηση μορίου της 4-MU εντός της κοιλότητας της β -CD και b. Δημιουργία δεσμών υδρογόνου μεταξύ του καρβονυλίου της 4-MU και των υδροξυλίων της β -CD.....	81
Εικόνα 45. Συγκριτικό φάσμα ^1H NMR της β -CD και του συμπλόκου β -CD-AUR ($\text{DMSO}-d_6$).....	82
Εικόνα 46. Συγκριτικό φάσμα ^1H NMR της AUR και του συμπλόκου β -CD-AUR ($\text{DMSO}-d_6$).....	83
Εικόνα 47. Συγκριτικό φάσμα ^{13}C NMR της β -CD, του συμπλόκου β -CD-AUR και της AUR ($\text{DMSO}-d_6$).....	84
Εικόνα 48. a. Εισχώρηση μορίου της AUR εντός της κοιλότητας της β -CD και b. Δημιουργία δεσμών υδρογόνου μεταξύ του καρβονυλίου της AUR και των υδροξυλίων της β -CD.....	85

Εικόνα 49. Συγκριτικό σάσμα ^1H NMR του συμπλόκου β -κυκλοδεξτρίνης-ωραπτένης σε DMSO και σε DMSO + D ₂ O.....	86
Εικόνα 50. Φάσμα FT-IR της β -CD.....	87
Εικόνα 51. Φάσμα FT-IR της 4-MU.....	88
Εικόνα 52. Φάσμα FT-IR του συμπλόκου β -CD-4-MU.....	88
Εικόνα 53. Φάσμα FT-IR της AUR.....	89
Εικόνα 54. Φάσμα FT-IR του συμπλόκου β -CD-AUR.....	90
Εικόνα 55. Συνθετική πορεία κουμαρινικών παραγώγων.....	92
Εικόνα 56. a. Σχηματισμός συμπλόκου εγκλεισμού, b: Σχηματισμός δεσμών υδρογόνου της ένωσης με τη β -CD.....	93
Εικόνα 57. Φάσμα ^1H NMR της 5-ακετυλοξυ-3-(2-μεθοξυφαινυλο)-4-μεθυλοκουμαρίνης.....	104
Εικόνα 58. Φάσμα ^1H NMR της 7-ακετυλοξυ-3-(3-μεθοξυφαινυλο)-κουμαρίνης.....	104
Εικόνα 59. Φάσμα ^1H NMR της 5-ακετυλοξυ-3-(4-νιτροφαινυλο)-4-μεθυλοκουμαρίνης.....	105
Εικόνα 60. Φάσμα ^{13}C NMR της 5-ακετυλοξυ-3-(4-νιτροφαινυλο)-4-μεθυλοκουμαρίνης.....	105
Εικόνα 61. Φάσμα ^1H NMR της 5-ακετυλοξυ-3-φαινυλο-4-μεθυλοκουμαρίνης.....	106
Εικόνα 62. Φάσμα ^1H NMR της 5-υδροξυ-3-(2-μεθοξυφαινυλο)-4-μεθυλοκουμαρίνης.....	106
Εικόνα 63. Φάσμα ^1H NMR της 7-υδροξυ-3-(3-μεθοξυφαινυλο) -κουμαρίνης.....	107
Εικόνα 64. Φάσμα ^1H NMR της 5-υδροξυ-3-(4-νιτροφαινυλο)-4-μεθυλοκουμαρίνης.....	107
Εικόνα 65. Φάσμα ^1H NMR της 5-υδροξυ-3-φαινυλο-4-μεθυλο-κουμαρίνης...108	108
Εικόνα 66. Φάσμα ^1H NMR της 5-γερανυλοξυ-3-(2-μεθοξυφαινυλο)-4-μεθυλοκουμαρίνης.....	108
Εικόνα 67. Φάσμα ^{13}C NMR της 5-γερανυλοξυ-3-(2-μεθοξυφαινυλο)-4-μεθυλοκουμαρίνης.....	109

Εικόνα 68. Φάσμα ^1H NMR της 7-γερανυλοξυ-3-(3-μεθοξυφαινυλο)-κουμαρίνης.....	109
Εικόνα 69. Φάσμα ^{13}C NMR της 7-γερανυλοξυ-3-(3-μεθοξυφαινυλο)-κουμαρίνης.....	110
Εικόνα 70. Φάσμα ^1H NMR της 5-γερανυλοξυ-3-(4-νιτροφαινυλο)-4-μεθυλοκουμαρίνης.....	110
Εικόνα 71. Φάσμα ^{13}C NMR της 5-γερανυλοξυ-3-(4-νιτροφαινυλο)-4-μεθυλοκουμαρίνης.....	111
Εικόνα 72. Φάσμα ^1H NMR της 5-γερανυλοξυ-3-φαινυλο-κουμαρίνης.....	111
Εικόνα 73. Φάσμα ^{13}C NMR της 5-γερανυλοξυ-3-φαινυλο-κουμαρίνης.....	112
Εικόνα 74. Φάσμα ^1H NMR της 7-υδροξυ-3-(3-(2,4,5,-τριμεθοξυφαινυλ)ακρυλοϋλ)-2H-χρωμεν-2-όνης (μέσω μικροκυματικής ακτινοβολίας).....	112

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1. Συνθετική πορεία 5 ή 7-ακετυλοξυ-3-αρυλο-κουμαρινών.....	31
Σχήμα 2. Συνθετική πορεία 3-αρυλο-5- ή 7-υδροξυ-κουμαρινών.....	32
Σχήμα 3. Συνθετική πορεία 3-αρυλο-5 ή 7-γερανυλοξυ-κουμαρινών.....	32
Σχήμα 4. Συνθετική πορεία της 3-ακετυλο-7-υδροξυ-κουμαρίνης.....	32
Σχήμα 5. Συνθετική πορεία της 3-ακετυλο-7-πρενυλοξυ-κουμαρίνης.	33
Σχήμα 6. Συνθετική πορεία κουμαρινών-χαλκονών.....	34
Σχήμα 7. Μηχανισμός σύνθεσης ακετυλοξυ-κουμαρινών.....	34
Σχήμα 8. Μηχανισμός σύνθεσης πρενυλοξυ-κουμαρινών.....	35
Σχήμα 9. Μηχανισμός καταλύμενης από πιπεριδίνη αλδολικής συμπύκνωσης.....	35
Σχήμα 10. Μηχανισμός αφυδάτωσης του προϊόντος αλδολικής συμπύκνωσης.....	36

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Βασικά χαρακτηριστικά α -, β -, γ - κυκλοδεκτρινών.....	23
Πίνακας 2. Μελέτη συνθηκών αντίδρασης σύνθεσης κουμαρινών-χαλκονών...	33
Πίνακας 3. Όργανα και συσκευές της πειραματικής διαδικασίας.....	54
Πίνακας 4. Χρησιμοποιούμενες ποσότητες για την παρασκευή των συμπλόκων εγκλεισμού και ποσότητα ανακτώμενου συμπλόκου.....	55
Πίνακας 5. Μήκος κύματος και τιμές απορρόφησης ενώσεων εγκλεισμού.....	56
Πίνακας 6. Στοιχεία που εισάγονται για κάθε σύμπλοκο στο σύστημα SOP.....	57
Πίνακας 7. Πίνακας υπολογισμού αποδόσεων διεργασίας.....	73
Πίνακας 8. Επιλογή διαλυτών και μήκους κύματος για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς.....	73
Πίνακας 9. Τιμές απορρόφησης διαλυμάτων γνωστής συγκέντρωσης της 4-μεθυλο-ουμπελιφερόνης σε αιθανόλη.....	74
Πίνακας 10. Τιμές απορρόφησης διαλυμάτων γνωστής συγκέντρωσης της ωραπτένης σε οξικό αιθυλεστέρα.....	75
Πίνακας 11. Πίνακας υπολογισμού αποδόσεων εγκλεισμού.....	76
Πίνακας 12. Τιμές διαμέτρου, δείκτη πολυδιασποράς και ζ-δυναμικού συμπλόκων εγκλεισμού.....	76
Πίνακας 13. Διαφορά χημικών μετατοπίσεων (ppm) της β -κυκλοδεξτρίνης σε ελεύθερη μορφή και στο σύμπλοκο β -CD-4MU.....	78
Πίνακας 14. Διαφορά χημικών μετατοπίσεων (ppm) της 4-μεθυλο-ουμπελιφερόνης σε ελεύθερη μορφή και στο σύμπλοκο β -CD-4MU.....	79
Πίνακας 15. Διαφορά χημικών μετατοπίσεων (ppm) της β -κυκλοδεξτρίνης σε ελεύθερη μορφή και στο σύμπλοκο β -CD-AUR.....	82
Πίνακας 16. Διαφορά χημικών μετατοπίσεων (ppm) της ωραπτένης σε ελεύθερη μορφή και στο σύμπλοκο β -CD-AUR.....	83
Πίνακας 17. Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης [% αλληλεπίδραση με την ελεύθερη ρίζα DPPH και % αναστολή της υπεροξειδωσης του λινελαϊκού οξέος (AAPH)] καθώς και της αντιφλεγμονώδους δράσης των νέων κουμαρινικών παραγώγων όπως αυτή επάγεται από την ικανότητα αναστολής του ενζύμου λιποξυγονάση από σόγια.....	92

Πίνακας 18. Διαφορά χημικών μετατοπίσεων (ppm) στο φάσμα ^{13}C NMR της 4-μεθυλο-ουμπελιφερόνης σε ελεύθερη μορφή και στο σύμπλοκο.....113

Πίνακας 19. Διαφορά χημικών μετατοπίσεων (ppm) στο φάσμα ^{13}C NMR της ωραπτένης σε ελεύθερη μορφή και στο σύμπλοκο.....113

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Διάγραμμα 1. Καμπύλη αναφοράς της 4-μεθυλο-ουμπελιφερόνη (323 nm).....74

Διάγραμμα 2. Καμπύλη αναφοράς της ωραπτένης (321 nm).....75