



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

Τομέας Χημικών Επιστημών

**ΣΥΝΘΕΣΗ ΝΕΩΝ ΧΑΛΚΟΝΩΝ ΚΑΙ ΩΡΟΝΩΝ
ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΤΟΥΣ ΜΕ
ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ
ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ (^1H NMR)**

Διπλωματική εργασία

Στυλιανός Χ. Ιατρόπουλος

Επιβλέπουσα

Αναστασία Δέτση

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ε.Μ.Π.

Εργαστήριο Οργανικής Χημείας

ΑΘΗΝΑ 2017

Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου υπό την επίβλεψη της Αναπληρώτριας Καθηγήτριας Ε.Μ.Π κας Αναστασίας Δέτση κατά το ακαδημαϊκό έτος 2016 - 2017. Η ολοκλήρωση της παρούσας διπλωματικής εργασίας σηματοδοτεί το κλείσιμο του πενταετούς κύκλου σπουδών μου στη Σχολή Χημικών Μηχανικών του Ε.Μ.Π. Ως εκ τούτου, θα ήθελα να ευχαριστήσω ορισμένους ανθρώπους, των οποίων η βοήθεια υπήρξε σημαντική σε αυτήν την προσπάθειά μου.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα καθηγήτριά μου, κα Αναστασία Δέτση, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ε.Μ.Π, για τον χρόνο της, τις συμβουλές της και την γενικότερη καθοδήγησή της, προκειμένου να ολοκληρωθεί επιτυχώς η διπλωματική μου εργασία.

Ευχαριστώ επίσης τον Καθηγητή Δημήτριο Χατζηαβραμίδα και τον Λέκτορα Φώτιο Τσόπελα για την συμμετοχή τους στην τριμελή εξεταστική επιτροπή και τον χρόνο που διέθεσαν για την κριτική ανάγνωση της εργασίας μου.

Ευχαριστίες απευθύνω και στην Ανδρομάχη Τζάνη, υποψήφια διδάκτορα στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας, για την αρμονική συνεργασία, τη βοήθεια και το φιλικό κλίμα που υπήρχε.

Τέλος, ιδιαίτερες ευχαριστίες αρμόζουν στον πιο σημαντικό και πιο ανιδιοτελή υποστηρικτή της όλης μου προσπάθειας, καθ'όλα τα χρόνια της φοίτησής μου και όχι μόνο, την οικογένειά μου.

Στυλιανός Ιατρόπουλος

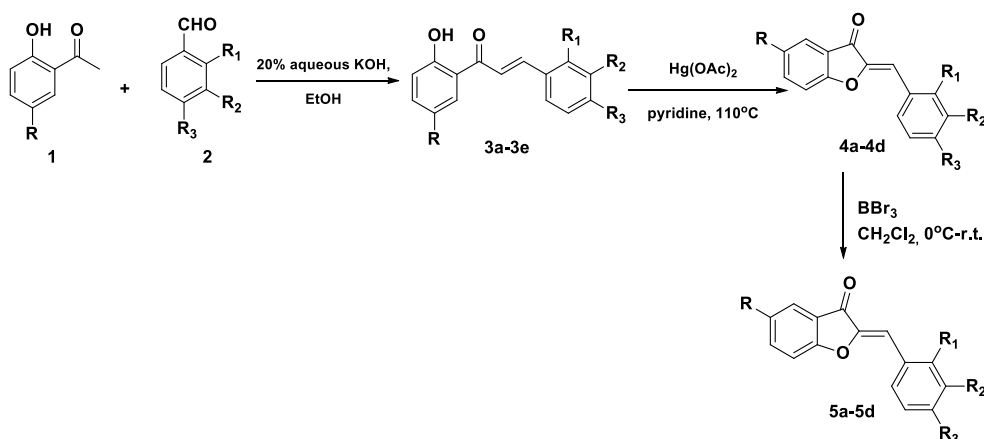
Αθήνα 2017

Περίληψη

Οι χαλκόνες και οι ωρόνες ανήκουν στην κατηγορία των φλαβονοειδών. Είναι φυσικά προϊόντα με σημαντική βιολογική δράση αλλά και αποτελούν πρόδρομες ενώσεις άλλων κατηγοριών φλαβονοειδών. Απαντώνται σε πολλά μέρη των φυτών αλλά κατά κύριο λόγο στα άνθη τους και είναι υπεύθυνα για το λαμπερό κίτρινο χρώμα κάποιων λουλουδιών.

Τόσο οι χαλκόνες όσο και οι ωρόνες, παρουσιάζουν ευεργετική αντιοξειδωτική, αντικαρκινική, αντιφλεγμονώδη, αντι-HIV, αντιμικροβιακή, αντιμυκητιακή και ανθελονοσιακή δράση. Συνεπώς, χάρη στις ελπιδοφόρες θεραπευτικές ιδιότητές τους, το ερευνητικό ενδιαφέρον έχει στραφεί στη μελέτη και στην ανάπτυξη μεθόδων σύνθεσης νέων αναλόγων με απώτερο σκοπό την ανάπτυξη πιο αποτελεσματικών φαρμάκων για τη θεραπεία θανάσιμων ασθενειών.

Στόχος της παρούσας διπλωματικής εργασίας, είναι η σύνθεση νέων αναλόγων χαλκονών και ωρονών και η ταυτοποίηση της δομής τους. Αρχικά συντέθηκαν πέντε νέα ανάλογα χαλκονών (**3a-e**) μέσω της αντίδρασης συμπύκνωσης Claisen-Schmidt μεταξύ κατάλληλα υποκατεστημένων 2-υδροξυ-ακετοφαινονων και βενζαλδεϋδών. Οι αποδόσεις των αντιδράσεων αυτών ήταν ικανοποιητικές καθώς κυμαίνονται από 43% έως 70%. Ακολούθως, μέσω της αντίδρασης οξειδωτικής κυκλοποίησης των χαλκονών **3a-3d** συντέθηκαν τέσσερα ανάλογα ωρονών (**4a-d**) σε υψηλή καθαρότητα και αποδόσεις που κυμαίνονται από 50% έως 72%. Επί προσθέτως, συντέθηκαν τέσσερα ανάλογα αποπροστατευμένων ωρονών (**5a-d**) σε υψηλές αποδόσεις (80-90%) μέσω της αντίδρασης αποπροστασίας των ωρονών **4a-4d**, ώστε να είναι δυνατή η μελέτη της επίδρασης των φαινολυκόν ομάδων στην αντιοξειδωτική τους δράση. Τέλος η μελέτη και η ταυτοποίηση της δομής των νέων αναλόγων χαλκονών και ωρονών πραγματοποιήθηκε με χρήση της μεθόδου φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού $^1\text{H NMR}$.



Σχήμα 0-1 Σύνθεση φλαβονοειδών ενώσεων όπως χαλκονών (**3a-3e**), ωρονών (**4a-4d**) και απόπροστατευμένων ωρονών (**5a-5d**)

Λέξει Κλειδιά : Χαλκόνες, Ωρόνες, Φλαβονοειδή, Σύνθεση Claisen-Schmidt, Οξειδωτική Κυκλοποίηση

Abstract

Both chalcones and aurones belong to the category of flavonoids. They are widely regarded as natural products with significant biological valency and they constitute precursory compounds of other categories of flavonoids. They can be located in multiple parts of plants and particularly in their blossoms; they are responsible for the luminous yellow color of some flowers.

Chalcones as well as aurones display beneficial antioxidant, anticancer, anti-inflammatory, anti-HIV, antibacterial, antifungal and antimalarial activities. Therefore, due to their promising therapeutic qualities, the research interest has emphasized on the study and development of synthesis' methods of novel analogues which focus on the advancement of more effective drugs for the treatment of fatal diseases.

The aim of the present diploma thesis is the synthesis of new analogue chalcones and aurones and the identification of their structure. At first, five new chalcone analogues (**3a-e**) were composed via the Claisen-Schmid condensation reaction between appropriately substituted 2'-hydroxy-acetophenones and benzaldehydes. The efficiencies of these reactions were satisfactory as they ranged between 43% and 70%. Consequently, though the oxidative cyclization reaction of the chalcones 3a-3d four aurone analogues(**4a-d**) of high purity and an efficiency range between 50% and 72% were synthesized. In addition, four deprotected aurones analogues(**5a-d**) of high efficiency (80-90%) were synthesized though the deprotection reaction of aurones 4a-4d. This procedure facilitated the research of the effect of the phenyl groups in antioxidant activity.

Finally, the study and identification of the structure of the novel chalcones and aurones analogues was accomplished via the method of nuclear magnetic resonance spectroscopy ^1H NMR.

Key Words: Chalcones, Aurones, Flavonoids, Claisen-Schmid Condensation Synthesis, Oxidative Cyclization

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες.....	1
Περίληψη.....	2
Abstract.....	3
Κατάλογος Σχημάτων.....	6
Κατάλογος Εικόνων.....	8
Κατάλογος Πινάκων.....	8
Θεωρητικό Μέρος.....	9
1 Χαλκόνες.....	9
1.1 Γενικά στοιχεία.....	9
1.2 Δομή και σύνθεση Χαλκονών.....	9
1.3 Βιολογική Δράση.....	12
2 Ωρόνες.....	24
2.1 Γενική στοιχεία.....	24
2.2 Δομικά χαρακτηριστικά – Σύνθεση ωρονών.....	25
2.3 Βιολογική δράση ωρονών.....	27
3 Αντιοξειδωτικά.....	34
3.1 Ελεύθερες ρίζες και η σημασία τους.....	34
3.2 Ελεύθερες ρίζες Και δραστικά είδη οξυγόνου.....	34
3.3 Εξουδετέρωση ΔΕΟ στον οργανισμό μας – Αντιοξειδωτικά.....	35
3.4 Επίδραση των ΔΕΟ στην υγεία.....	35
3.5 Δοκιμές εκτίμησης δραστηριότητας αντιοξειδωτικών.....	36
4 Γενικές μέθοδοι σύνθεσης νέων αναλόγων χαλκονών και ωρονών.....	38
4.1 Εισαγωγή.....	38
4.2 Σύνθεση χαλκονών - Αντίδραση συμπύκνωσης Claisen-Schmidt.....	38
4.3 Γενική μέθοδος σύνθεσης χαλκονών 3a-3e.....	40
4.4 Αντίδραση οξειδωτικής κυκλοποίησης.....	41
4.4.1 Γενική Μέθοδος Σύνθεσης Ωρονών 4a-4g.....	41
4.5 Αντίδραση αποπροστασίας ωρονών.....	42
Πειραματικό Μέρος.....	43
5 Σύνθεση νέων αναλόγων χαλκονών και ωρονών.....	43
5.1 Εισαγωγή.....	43
5.1.1 Σκοπός.....	43

5.1.2	Γενικά.....	44
5.1.3	Όργανα και συσκευές	44
5.2	Σύνθεση χαλκονών 3a-3e	45
5.2.1	(E)-1-(5-βρωμο-2-υδροξυφαινυλο)-3-(3,4-διμεθοξυ-φαινυλο)προπ-2-εν-1-όνη (3a).....	45
5.2.2	(E)-1-(5-βρωμο-2-υδροξυφαινυλο)-3-(2,3-διμεθοξυ-φαινυλο)προπ-2-εν-1-όνη (3b).....	46
5.2.3	(E)-1-(5-χλωρο-2-υδροξυφαινυλο)-3-(2,3-διμεθοξυ-φαινυλο)προπ-2-εν-1-όνη (3c).....	47
5.2.4	(E)-1-(5-χλωρο-2-υδροξυφαινυλο)-3-(3,4-διμεθοξυ-φαινυλο)προπ-2-εν-1-όνη (3d).....	48
5.2.5	(E)-4-(3-(2-υδροξυφαινυλο)-3-οξοπροπ-1-εν-1-υλ)βενζοϊκό οξύ (3e) .	49
5.3	Σύνθεση ωρονών 4a-d.....	50
5.3.1	(Z)-7-βρωμο-2-(3,4-διμεθοξυβενζυλιδενο)-4-υδροξυβενζοφουραν-3(2H)-όνη (4a)	50
5.3.2	(Z)-7-βρωμο-2-(2,3-διμεθοξυβενζυλιδενο)-4-υδροξυ-βενζοφουραν-3(2H)-όνη (4b)	51
5.3.3	(Z)-7-χλωρο-2-(2,3-διμεθοξυβενζυλιδενο)-4-υδροξυβενζοφουραν-3(2H)-όνη (4c)	52
5.3.4	(Z)-7-χλωρο-2-(3,4-διμεθοξυβενζυλιδενο)-4-υδροξυ-βενζοφουραν-3(2H)-όνη (4d)	53
5.4	Σύνθεση αποπροστατευμένων ωρονών 5a-d.....	54
5.4.1	(Z)-7-βρωμο-2-(3,4-διυδροξυβενζυλιδενο)-4-υδροξυ-βενζοφουραν-3(2H)-όνη (5a)	54
5.4.2	(Z)-7-βρωμο-2-(2,3-διυδροξυβενζυλιδενο)-4-υδροξυ-βενζοφουραν-3(2H)-όνη (5b)	55
5.4.3	(Z)-7-χλωρο-2-(2,3-διυδροξυβενζυλιδενο)-4-υδροξυ-βενζοφουραν-3(2H)-όνη (5c)	56
5.4.4	(Z)-7-χλωρο-2-(3,4-διυδροξυβενζυλιδενο)-4-υδροξυ-βενζοφουραν-3(2H)-όνη (5d)	57
6	Αποτελέσματα και Συζήτηση	58
6.1	Σύνθεση φλαβονοειδών ενώσεων	58
6.2	Φασματοσκοπία ¹ H NMR	60
6.2.1	Φάσμα ¹ H NMR της (E)-1-(5-χλωρο-2-υδροξυφαινυλο)-3-(2,3-διμεθοξυφαινυλο)προπ-2-εν-1-ονης (3b).....	61
6.2.2	Φάσμα NMR της (Z)-7-χλωρο-2-(2,3-διμεθοξυ-βενζυλιδενο)-4-υδροξυβενζοφουραν-3(2H)-όνης.....	64
6.2.3	Φάσμα NMR της (Z)-7-χλωρο-2-(2,3-διυδροξυ-βενζυλιδενο)-4-υδροξυ-βενζοφουραν-3(2H)-όνη	66

7	Συμπεράσματα	68
8	Προτάσεις για μελλοντική έρευνα	70
9	Βιβλιογραφία	71
10	Παράρτημα.....	74

Κατάλογος Σχημάτων

Σχήμα 0-1	Σύνθεση φλαβονοειδών ενώσεων όπως χαλκονών (3a–3e), ωρονών (4a–4d) και απόπροστατευμένων ωρονών (5a–5d)	2
Σχήμα 1-1	Γενική Δομή Χαλκονών	10
Σχήμα 1-2	Πιο ισχυρά παράγωγα ως αναστολείς ABCG2	14
Σχήμα 1-3	Παράγωγα Χαλκονών ως αναστολείς της HDAC	15
Σχήμα 1-4	Παράγωγα Χαλκονών για ανθελονοσιακή Δράση.....	16
Σχήμα 1-5	Χημική Δομή αναλόγων χαλκονών με πιθανή ανθελονοσιακή δράση.....	16
Σχήμα 1-6	Παράγωγα Χαλκονών με Αντιμικροβιακή Δράση.....	18
Σχήμα 1-7	Δομή με Αντιμικροβιακή και Αντιμυκητιακή Δράση.....	18
Σχήμα 1-8	Δομή Νιτρο-υποκατεστημένων Χαλκονών.....	19
Σχήμα 1-9	Δομές Χαλκονών με Αντεφλεγμονώδες Δράση	20
Σχήμα 1-10	Δομές Χαλκονών με Αντι-HIV Δράση	21
Σχήμα 1-11	Χαλκόνη με Αντιοξειδωτική Δράση	21
Σχήμα 1-12	Δομές 2'-υδροξυχαλκονών με αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση	23
Σχήμα 2-1	Γενική Μορφή Ωρονών.....	24
Σχήμα 2-2	Οξειδωτική κυκλοποίηση χαλκονών.....	26
Σχήμα 2-3	Μέθοδοι Χημικής Σύνθεσης Ωρονών	27
Σχήμα 2-4	Δομές Ωρονών με Αντικαρκινικές Δράσεις.....	28
Σχήμα 2-5	Δομές Ωρονών με Αντιοξειδωτική Δράση (α).....	29
Σχήμα 2-6	Δομές Ωρονών με Αντιοξειδωτική Δράση (β).....	29
Σχήμα 2-7	Δομή 3',4'-διμεθοξυ-ωρόνης με αντιοξειδωτική δράση.....	30
Σχήμα 2-8	Δομές Ωρονών με Αντιϊκή δράση.....	30
Σχήμα 2-9	Δομές Ωρονών με Αντιλεϊσμμανιακή Δράση	31
Σχήμα 2-10	Δομές με Αντι-AD Δράση.....	32
Σχήμα 2-11	Δομή Ωρονών με Ισχυρή Δραστηριότητα κατά της Νόσου Alzheimer.....	32
Σχήμα 2-12	Δομές Αναλόγων Σουλφουρετίνης με Ισχυρή Ααντιφλεγμονώδη Δράση	33
Σχήμα 2-13	Ενώσεις Ωρονών με Αντιμυκητιακή δραστηριότητα	33
Σχήμα 3-1	Δομή DPPH.....	36
Σχήμα 4-1	Απόσπαση όξινου υδρογόνου από την ακετοφαινόνη προς σχηματισμό ενολικού ιόντος.....	39
Σχήμα 4-2	Πυρηνόφιλη προσθήκη του ενολικού ιόντος στον ηλεκτρονιόφιλο C του C=O.....	39

Σχήμα 4-3 Αντίδραση οξέος- βάσεως και σχηματισμός του προϊόντος αλδολικής συμπίκνωσης. Απόσπαση όξινου υδρογόνου και αφυδάτωση προς σχηματισμό της τελικής χαλκόνης	39
Σχήμα 4-4Σύνθεση χαλκονών 3a-e	40
Σχήμα 4-5Σύνθεση των ωρονών 4a-d.....	41
Σχήμα 4-6 Σύνθεση των αποπροστατευμένων ωρονών 5a-d	42
Σχήμα 5-1 Χημικός τύπος της 3a.....	45
Σχήμα 5-2 Χημικός τύπος της 3b	46
Σχήμα 5-3 Χημικός τύπος της 3c.....	47
Σχήμα 5-4Χημικός τύπος της 3d	48
Σχήμα 5-5 Χημικός τύπος της 3e.....	49
Σχήμα 5-6 Γενική δομή ωρονών.....	50
Σχήμα 5-7 Χημικός τύπος της 4a.....	50
Σχήμα 5-8 Χημικός τύπος της 4b	51
Σχήμα 5-9 Χημικός τύπος της 4c.....	52
Σχήμα 5-10 Χημικός τύπος της 4d	53
Σχήμα 5-11Αριθμημένη δομή αποπροστατευμένων ωρονών.....	54
Σχήμα 5-12 Χημικός τύπος της 5a.....	54
Σχήμα 5-13 Χημικός τύπος της 5d	55
Σχήμα 5-14 Χημικός τύπος της 5c.....	56
Σχήμα 5-15 Χημικός τύπος της 5d	57
Σχήμα 6-1Σύνθεση φλαβονοειδών ενώσεων όπως χαλκονών (3a–3e), ωρονών (4a–4d) και απόπροστατευμένων ωρονών (5a-5d)	58
Σχήμα 6-2Γενική δομή χαλκονών.....	61
Σχήμα 6-3 Γενική δομή ωρονών.....	64
Σχήμα 6-4 Γενική δομή ωρόνης.....	66

Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα 1-1 Μηχανισμός Σχηματισμού χαλκονών μέσω της αλδολικής συμπύκνωσης (Claisen-Schmidt) – καταλυόμενη από βάση	11
Εικόνα 1-2 Χαλκόνες ως αναστολείς της ABCG2	13
Εικόνα 1-3 Ακετυλίωση- Αποακετυλίωση των Ιστονών	14
Εικόνα 6-1 Φάσμα ^1H NMR της (E)-1-(5-χλώρο-2-υδροξυφαινυλο)-3-(2,3-διμεθοξυφαινυλ)προπ-2-εν-1-ονης (3c) σε διαλύτη CDCl_3	61
Εικόνα 6-2 Φάσμα ^1H NMR της της (Z)-7-χλωρο-2-(2,3-διμεθοξυβενζυλιδενο)-4-υδροξυβενζοφουραν-3(2H)-όνης (4c) σε διαλύτη CDCl_3	65
Εικόνα 6-3 Φάσμα ^1H NMR της της (Z)-7-χλωρο-2-(2,3-διυδροξυ-βενζυλιδενο)-4-υδροξυ-βενζοφουραν-3(2H)-όνη (5b) σε διαλύτη $\text{DMSO}-d_6$	66
Εικόνα 9-1 Φάσμα ^1H NMR της (E)-1-(5-βρωμο-2-υδροξυφαινυλο)-3-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)προπ-2-εν-1-όνη (3a) σε διαλύτη CDCl_3).....	74
Εικόνα 9-2 Φάσμα ^1H NMR της (E)-1-(5-βρωμο-2-υδροξυφαινυλο)-3-(2,3-διμεθοξυφαινυλο)προπ-2-εν-1-όνη (3b) σε διαλύτη CDCl_3	75
Εικόνα 9-3 Φάσμα ^1H NMR της (E)-1-(5-χλώρο-2-υδροξυφαινυλ)-3-(2,3-διμεθοξυφαινυλ)προπ-2-εν-1-όνη (3c) σε διαλύτη CDCl_3	76
Εικόνα 9-4 Φάσμα ^1H NMR της (E)-1-(5-χλώρο-2-υδροξυφαινυλ)-3-(3,4-διμεθοξυφαινυλ)προπ-2-εν-1-όνη (3d) σε διαλύτη CDCl_3	77
Εικόνα 9-5 Φάσμα ^1H NMR της (E)-4-(3-(2-υδροξυφαινυλο)-3-οξοπροπ-1-εν-1-υλ)βενζοϊκό οξύ (3e) σε διαλύτη $\text{DMSO}-d_6$	78
Εικόνα 9-6 Φάσμα ^1H NMR της (E)-1-(5-βρωμο-2-υδροξυφαινυλ)-3-(3,4-διμεθοξυφαινυλ)προπ-2-εν-1-όνη (4a) σε διαλύτη CDCl_3	79
Εικόνα 9-7 Φάσμα ^1H NMR της (Z)-7-βρωμο-2-(2,3-διμεθοξυβενζυλιδενο)-4-υδροξυβενζοφουραν-3(2H)-όνη (4b) σε διαλύτη CDCl_3	80
Εικόνα 9-8 Φάσμα ^1H NMR της (Z)-7-χλωρο-2-(2,3-διμεθοξυβενζυλιδενο)-4-υδροξυβενζοφουραν-3(2H)-όνη (4c) σε διαλύτη CDCl_3	81
Εικόνα 9-9 Φάσμα ^1H NMR της (Z)-7-χλωρο-2-(3,4-διμεθοξυβενζυλιδενο)-4-υδροξυβενζοφουραν-3(2H)-όνη (4d) σε διαλύτη CDCl_3	82
Εικόνα 9-10 ^1H NMR της (Z)-7-βρωμο-2-(2,3-διυδροξυβενζυλιδενο)-4-υδροξυ-βενζοφουραν-3(2H)-όνη (5b) σε διαλύτη $\text{DMSO}-d_6$	83
Εικόνα 9-11 Φάσμα ^1H NMR της (Z)-7-χλωρο-2-(2,3-διυδροξυβενζυλιδενο)-4-υδροξυ-βενζοφουραν-3(2H)-όνη (5c) σε διαλύτη $\text{DMSO}-d_6$	84
Εικόνα 9-12 Φάσμα ^1H NMR της (Z)-7-χλωρο-2-(3,4-διυδροξυβενζυλιδενο)-4-υδροξυ-βενζοφουραν-3(2H)-όνη (5d) σε διαλύτη MeOD	85

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1 Αντιοξειδωτική Δράση Χαλκονης 38	22
Πίνακας 2 Φλαβονοειδείς ενώσεις που παρήχθησαν	59
Πίνακας 3 Κορυφές(σε ppm) των βινυλικών πρωτονίων χαλκονών	63

Θεωρητικό Μέρος

1 Χαλκόνες

1.1 Γενικά στοιχεία

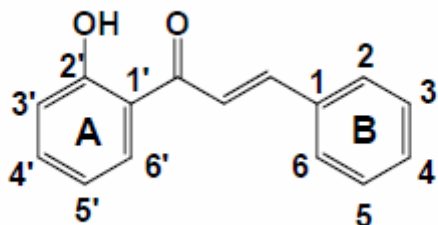
Οι χαλκόνες, φυσικά και συνθετικά μόρια, είναι σημαντικά μέλη μιας μεγάλης ομάδας βιολογικά ενεργών μορίων. Αποτελούν σημαντικό συστατικό των φυσικών προϊόντων. Πέραν της βιοσυνθετικής τους σημασίας, οι χαλκόνες διαδραματίζουν οικολογικό ρόλο αναφορικά με το χρώμα των φυτών. Οι συγκεκριμένες ενώσεις, που συνήθως έχουν έντονο κίτρινο χρώμα, βρίσκονται σε πολλά μέρη του φυτού, αλλά εμφανίζονται περισσότερο στα άνθη. Με σκοπό την ανάπτυξη πιο ισχυρών και πιο αποτελεσματικών φαρμάκων για τη θεραπεία πολλών θανάσιμων ασθενειών, το ερευνητικό ενδιαφέρον έχει στραφεί στην μελέτη και ανάπτυξη μεθόδων σύνθεσης καθώς και απομόνωσης των χαλκονών από φυσικές πηγές όπως τα φυτά. Τα τελευταία χρόνια, υπάρχει πληθώρα δημοσιεύσεων όπου τονίζεται η δράση των χαλκονών έναντι ασθενειών όπως ο καρκίνος, ο διαβήτης, το HIV, η φυματίωση, η ελονοσία κ.ά. ^(2,5)

1.2 Δομή και σύνθεση Χαλκονών

Οι χαλκόνες αποτελούν φλαβονοειδή ανοιχτής αλυσίδας στην οποία οι δύο αρωματικοί δακτύλιοι συνδέονται με ένα α,β-ακόρεστο καρβονυλικό σύστημα τριών ανθράκων. Οι απαντώμενες στη φύση χαλκόνες είναι όλες υδροξυλιωμένες, άλλες σε μεγαλύτερο ή μικρότερο βαθμό. Εκτός από την υδροξυ-ομάδα, οι φυσικές χαλκόνες είναι δυνατόν να περιέχουν μεθοξυ-, πρενυλο-, και μεθυλο- ομάδες ως υποκαταστάτες στους αρωματικούς δακτυλίους Α και Β.

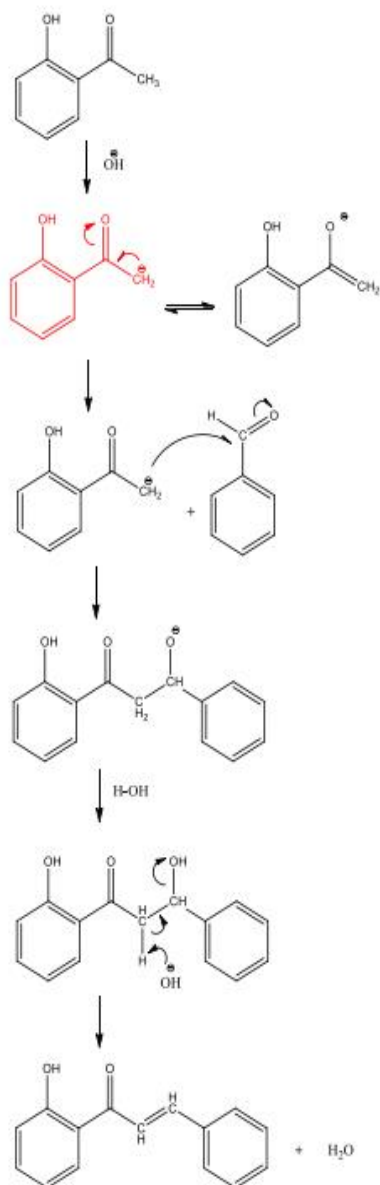
Η αρίθμηση των χαλκονών είναι διαφορετική από το σύστημα αρίθμησης των υπόλοιπων φλαβονοειδών. Στην αρίθμηση των θέσεων υποκατάστασης στον πυρήνα της χαλκόνης, στον Α-δακτύλιο οι θέσεις αριθμούνται 2'-6' και στο Β-δακτύλιο

αριθμούνται 2-6. (Σχήμα 1.1) (Η ονομασία των ενώσεων στην παρούσα εργασία θα γίνει κατά IUPAC.) Τα μόρια τείνουν να εμφανίζουν τόσο cis- όσο και trans-δομές.^(2,3)



Σχήμα 1-1 Γενική Δομή Χαλκονών

Οι συνθετικές οδοί για τη σύνθεση των χαλκονών είναι ποικίλες όμως η βασικότερη μέθοδος σύνθεσης είναι μέσω αντιδράσεων συμπύκνωσης Claisen-Schmidt υπό ομοιογενείς συνθήκες παρουσία οξέος ή βάσης (Εικόνα..). Γενικά, για τη σύνθεσή τους έχουν χρησιμοποιηθεί ισχυρά αλκαλικά μέσα, όπως φυσικά φωσφορικά, $Ba(OH)_2$, KOH , $NaOH$ κ.ά., όπως επίσης και οξέα συμπεριλαμβανομένων του p-τολουολο-σουλφονικού οξέος, $AlCl_3$, BF_3 , $RuCl_3$ και ξηρού HCl .^(5,6)



Απόσπαση όξινου Η της ακετοφαινόνης από το HO^- και σχηματισμός **ενολικού ιόντος**

Πυρηνόφιλη προσθήκη του **ενολικού ιόντος** στον ηλεκτρονιόφιλο άνθρακα του καρβονυλίου ($\text{C}=\text{O}$)

Αντίδραση οξέος - βάσεως και σχηματισμός του προϊόντος αλδολικής συμπύκνωσης

Απόσπαση όξινου Η και αφυδάτωση με συνέπεια το σχηματισμό της τελικής χαλκόνης

Εικόνα 1-1 Μηχανισμός Σχηματισμού χαλκονών μέσω της αλδολικής συμπύκνωσης (Claisen-Schmidt) – καταλυόμενη από βάση

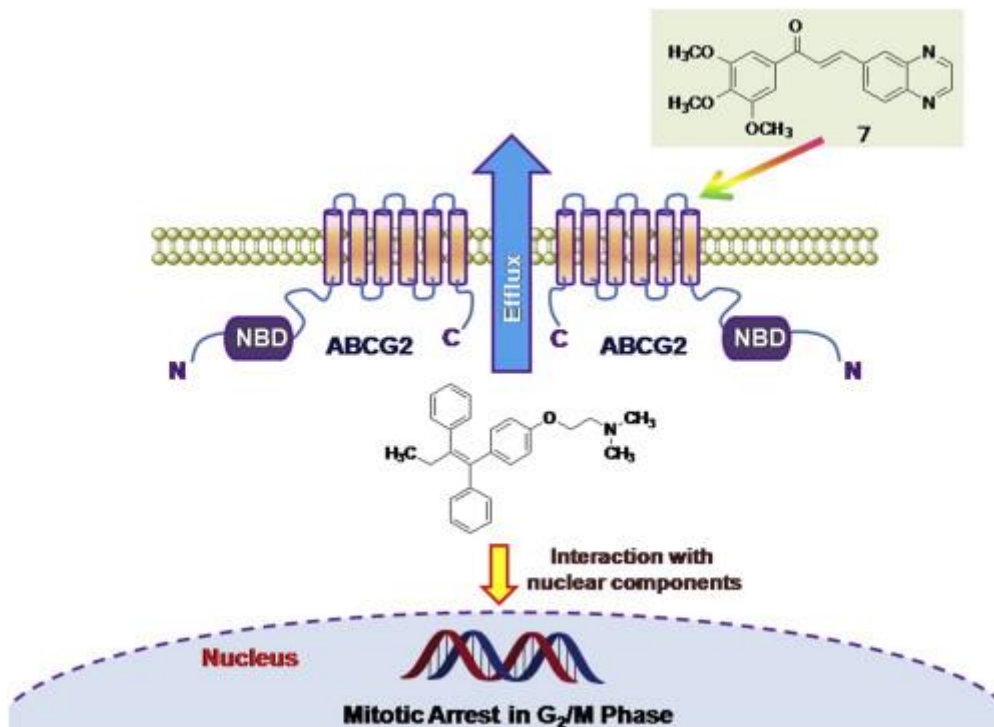
1.3 Βιολογική Δράση

Αντικαρκινική Δράση

Ο καρκίνος είναι η δεύτερη κύρια αιτία θνησιμότητας και νοσηρότητας μετά τις καρδιακές παθήσεις σε ολόκληρο τον κόσμο, οι οποίες έπληξαν 14,1 εκατομμύρια ζώες το 2012 . Παρά τις τεράστιες προσπάθειες για την ανάπτυξη νέων οδηγών και νέων χημικοθεραπευτικών στρατηγικών για τη θεραπεία διαφόρων μορφών καρκίνου, παρέμεινε το βασικό μέλημα σε ολόκληρο τον κόσμο. Η αναζήτηση εναλλακτικών ή ανεξερευνητών κατηγοριών ουσιών κατά των καρκινικών κυττάρων προσέλευσε την προσοχή των επιστημόνων παγκοσμίως. Επομένως, η αναγνώριση των ρυθμιστών κυτταρικού κύκλου για την καταπολέμηση των καρκινικών κυττάρων αντιπροσωπεύει μια ελκυστική στρατηγική για την ανακάλυψη και ανάπτυξη πιθανών αντικαρκινικών παραγόντων. Η παρουσία παραγώγων χαλκόνων ως κύριο συστατικό, σε βιοδραστικές ενώσεις αποτελεί έρεισμα για τη σύνθεση νέων ενώσεων με στόχο την αντιμετώπιση του καρκίνου. Την τελευταία πενταετία έχουν συντεθεί πολλά μόρια τα οποία εμφανίζουν ελπιδοφόρα αποτελέσματα. Γενικά, έχει παρατηρηθεί ότι τα μόρια που περιέχουν δύο φαρμακοφόρες ουσίες εμφανίζουν πολύ αξιόλογες ιδιότητες αναφορικά με την αντιμετώπιση του καρκίνου. ^(8,5)

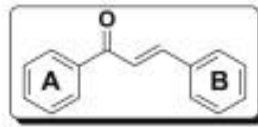
Χαλκόνες ως αναστολείς ABCG2

Η ανθρώπινη πρωτεΐνη ABCG2 είναι γνωστό ότι συμβάλλει στην αντίσταση του οργανισμού ενάντια των φαρμάκων (Multi-Drug Resistance, MDR) που χρησιμοποιούνται στη χημειοθεραπεία του καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του μαστού (Εικόνα 2). Μεταξύ των μεταφορέων που είναι γνωστό ότι προκαλούν MDR, το ABCG2 παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τον ενδεχόμενο ρόλο του στην προστασία των καρκινικών βλαστοκυττάρων.



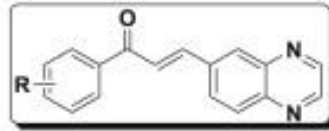
Εικόνα 1-2 Χαλκόνες ως αναστολείς της ABCG2

Μια σειρά χαλκονών που περιέχουν μια μονάδα κιννοξαλίνης στον Β-δακτύλιο έχουν αναφερθεί ως δυνητικοί αναστολείς του ABCG2, εκ των οποίων τα πιο ισχυρά παράγωγα ήταν οι ενώσεις 2 έως 7 οι οποίες παρουσιάζονται στο Σχήμα 1.2. Σύμφωνα με τη μέθοδο SAR απαιτούνται τουλάχιστον δύο ομάδες μεθοξυλίου για βέλτιστη αναστολή του ABCG2, σε σύγκριση με ένωση/ενώσεις με μόνο μία ή καμία μεθοξυ ομάδα. Τα καλύτερα ανασταλτικά αποτελέσματα παρήχθησαν από ενώσεις που περιείχαν τουλάχιστον δύο μεθοξυ ομάδες στον Β-δακτύλιο, ενώ η υποκατάσταση των μεθοξυ ομάδων από ομάδες που είναι δότες ηλεκτρονίων όπως Cl, Br, είχε ως αποτέλεσμα μειωμένη δραστηριότητα. Η υδρόφιλη υδροξυλομάδα στη θέση 4 του δακτυλίου Α παρήγαγε δεκαπλάσια μείωση της δραστηριότητας των χαλκονών.⁽⁸⁾



(1)

(General structure of chalcone)

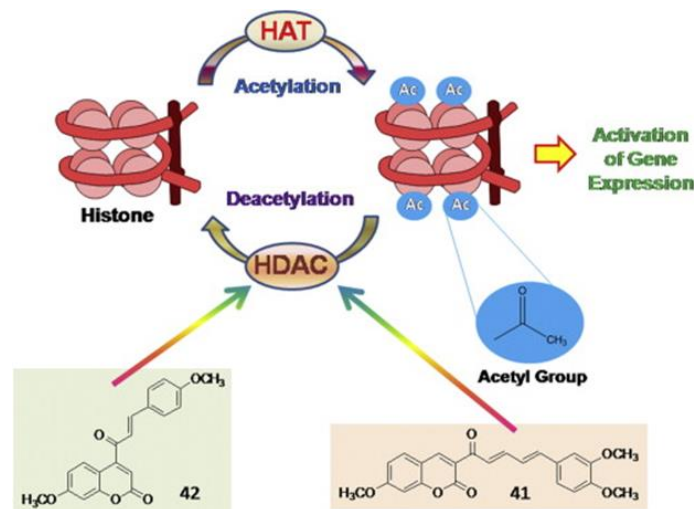


(2) R = 2, 4- OCH₃ (3) R = 2, 4, 5- OCH₃ (4) R = 2, 5- OCH₃ (5) R = 3, 4- OCH₃ (6) R = 3, 5- OCH₃ (7) R = 3, 4, 5- OCH₃

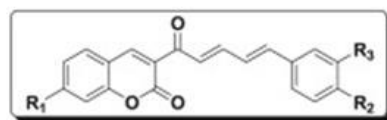
Σχήμα 1-2 Πιο ισχυρά παράγωγα ως αναστολείς ABCG2

Χαλκόνες ως αναστολείς των HDAC

Ορισμένα παράγωγα χαλκονών έχουν δείξει ανασταλτική δράση ενάντια των ιστονών αποακετυλίωσης (HDACs) (Σχήμα 1.3). Η ακετυλίωση των ιστονών συνδέεται με την έναρξη της διαδικασίας της κυτταρικής μεταγραφής, ενεργοποιώντας την έκφραση του γονιδιώματος. Αντίθετα οι αποακετυλάσες ιστονών (HDACs) συμβάλουν στην διαδικασία της αποακετυλίωσης των ιστονών, αφαιρώντας την ακετυλομάδα από το υπόλειμμα λυσίνης, με αποτέλεσμα τη διακοπή της μεταγραφικής διαδικασίας. Η ενεργοποίηση των HDAC έχει ως αποτέλεσμα την υπερακετυλίωση των ιστονών, η οποία επηρεάζει την γονιδιακή έκφραση (Εικόνα 3).

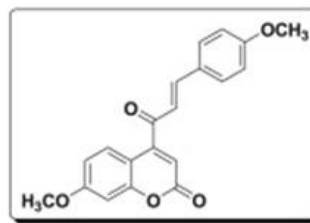


Εικόνα 1-3 Ακετυλίωση- Αποακετυλίωση των Ιστονών

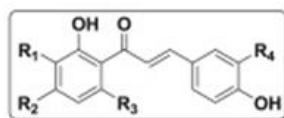


(8) $R_1 = R_2 = \text{OCH}_3, R_3 = \text{H}$

(9) $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OCH}_3$



(10)



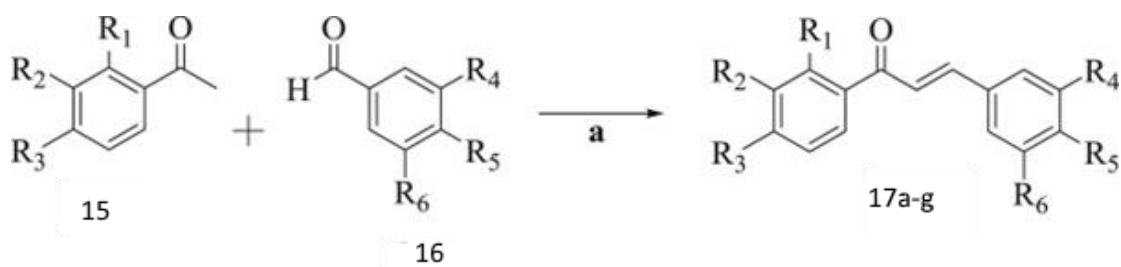
11 $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{H}, R_4 = \text{H}$ 12 $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{H}, R_4 = \text{OH}$ 13 $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{H}, R_4 = \text{OCH}_3$ 14 $R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{O-Glu}, R_3 = \text{OH}, R_4 = \text{OH}$

Σχήμα 1-3 Παράγωγα Χαλκονών ως αναστολείς της HDAC

Ανθελονοσιακή δράση

Η ελονοσία είναι ασθένεια η οποία προκαλείται από πρωτοζωικά παράσιτα του γένους *Plasmodium*. Ιδίως σε τροπικές χώρες αποτελεί σημαντική αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας. Το 2015 σημειώθηκαν παγκοσμίως περίπου 212 εκατομμύρια κρούσματα και 429.000 θάνατοι από ελονοσία με τις περισσότερες περιπτώσεις στην περιοχή της Αφρικής (92%), ακολουθούμενη από την περιοχή της Νοτιοανατολικής Ασίας (6%) και την περιοχή της Ανατολικής Μεσογείου (2%). Η εξάλειψη της ελονοσίας είναι ένας από τους στόχους που συμπεριλήφθηκαν στο πρόγραμμα της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας (Π.Ο.Υ.) στο πλαίσιο των Αναπτυξιακών Στόχων της Χιλιετίας (MGDs), ακολουθούμενοι από τους στόχους της Αειφόρου Ανάπτυξης (SDG), παράλληλα με την εξάλειψη άλλων ασθενειών όπως ο HIV / AIDS και η φυματίωση.^(9, 10)

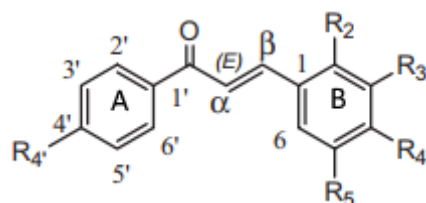
Για το λόγο αυτό παρασκευαστήκαν επιτυχώς επτά παράγωγα χαλκόνης (Σχήμα 1.4) με μεγάλη ανθελονοσιακή δραστηριότητα. Έχει αποκαλυφθεί ότι οι αλλυλοξυ, υδροξυ και αλκοξυ λειτουργικές ομάδες θα μπορούσαν να αυξήσουν την ανθελονοσιακή δραστηριότητα των παραγώγων χαλκόνης. Η καλύτερη ανθελονοσιακή δραστηριότητα των παρασκευασμένων ενώσεων είχε το 17b με τιμή IC_{50} 0.59 μM .⁽⁹⁾



- 17a $R_1 = \text{OH}; R_2 = R_4 = R_6 = \text{H}; R_3 = \text{OCH}_3; R_5 = \text{Diethylamine}$
 17b $R_1 = \text{OH}; R_2 = R_6 = \text{H}; R_3 = \text{OCH}_3; R_4 = R_5 = \text{OH}$
 17c $R_1 = R_2 = R_4 = \text{H}; R_3 = \text{Cl}; R_5 = \text{OH}; R_6 = \text{OCH}_3$
 17d $R_1 = R_2 = R_4 = \text{H}; R_3 = \text{Cl}; R_5 = \text{O-Allyl}; R_6 = \text{OCH}_3$
 17e $R_1 = R_2 = R_4 = \text{H}; R_3 = \text{Cl}; R_5 = R_6 = \text{OCH}_3$
 17f $R_1 = R_6 = \text{H}; R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = \text{OCH}_3$
 17g $R_1 = \text{H}; R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = \text{OCH}_3; R_6 = \text{Cl}$

Σχήμα 1-4 Παράγωγα Χαλκονών για ανθελονοσιακή Δράση

Σύμφωνα με έρευνες που έχουν διεξαχθεί και δημοσιευτεί οι χαλκόνες παρουσιάζουν ανθελονοσιακή δράση. Αναλυτικότερα ο Yadan κι οι συνεργάτες του συνέθεσαν 27 νέα ανάλογα χαλκονών (Σχήμα 1.5) και αξιολόγησαν *in vitro* την ανθελονοσιακή δράση τους ενάντια στο παράσιτο *P. Falciparum*. Τα 27 ανάλογα χαλκονών συντέθηκαν μέσω της αντίδρασης συμπύκνωσης Claisen-Schmidt. Σύμφωνα με την έρευνα η παρουσία δύο μεθοξυ ομάδων στις θέσεις 2 και 4 του δακτυλίου B επέδειξαν τη βέλτιστη δράση εναντίον της ελονοσίας. Αντίθετα τα ανάλογα χαλκονών που φέρουν μεθόξυ ομάδες στις θέσεις 3, 4 και 5 του δακτυλίου B εμφάνισαν λιγότερο ικανοποιητικά αποτελέσματα, πιθανόν λόγω της στερεοχημικής παρεμπόδισης του ενεργού κέντρου του ενζύμου πρωτεάση κυστεΐνης.^(5,10)



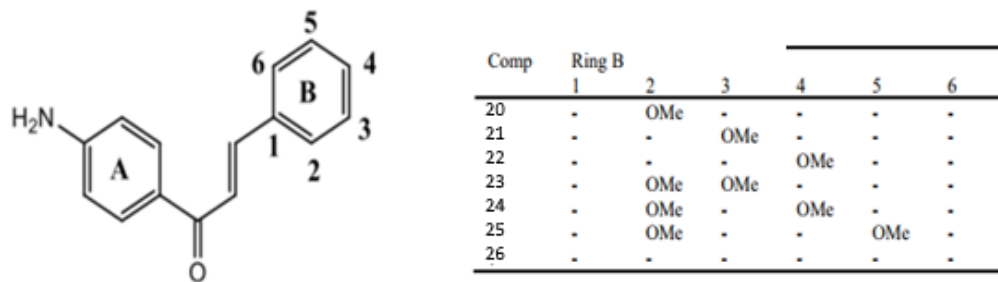
Σχήμα 1-5 Χημική Δομή αναλόγων χαλκονών με πιθανή ανθελονοσιακή δράση

Αντιμικροβιακή και αντιμυκητιακή δράση

Η αντοχή των μικροβίων σε φάρμακα με πολλαπλές δράσεις αποτελεί μία από τις κυριότερες αιτίες για την ανησυχητική αύξηση των μολυσματικών ασθενειών ανά τον κόσμο. Συνεπώς, η ανακάλυψη νέων φαρμάκων με ισχυρή αντιμικροβιακή δράση, κι ιδιαίτερος έναντι σε ανθεκτικά στελέχη, είναι αναγκαία. Αρκετές πρόσφατες δημοσιεύσεις αποδεικνύουν ότι οι χαλκόνες και τα παράγωγά τους παρουσιάζουν ευεργετική αντιμικροβιακή και αντιμυκητιακή δράση.

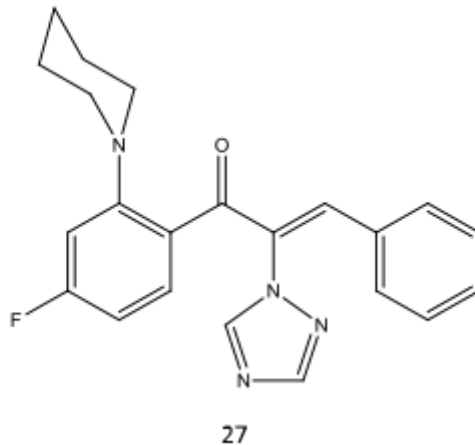
Ο Suwito και οι συνεργάτες του συνέθεσαν 7 ανάλογα χαλκονών (Σχήμα 1.6) χρησιμοποιώντας την αντίδραση Claisen-Schmidt. Με βάση τη στατιστική ανάλυση (τεστ Kruskal-Wallis) ενάντια στο στέλεχος *E. Coli*, η σουλφαδιαζίνη έδειξε την ισχυρότερη αναστολή, ακολουθούμενη από την σουλφαμεραζίνη, την ένωση 26 και έπειτα την ένωση 23. Εν τούτοις αποδείχτηκε ότι η ικανότητα αναστολής των ενώσεων 26 και 23 δεν διέφερε σημαντικά από αυτή της σουλφαμεραζίνη. Η στατιστική ανάλυση της αντιμικροβιακής δράσης ως προς το στέλεχος *S. aureus* έδειξε ότι η ένωση 23 παρουσίασε την ισχυρότερη δραστηριότητα. Ωστόσο, η δραστηριότητα της ένωσης δεν διέφερε σημαντικά από τη σουλφαμεραζίνη. Επίσης η ικανότητα αναστολής των ενώσεων 26, 20, 24, 22 και 21 δεν διαφέρουν σημαντικά από τη σουλφαδιαζίνη. Τέλος η ανάλυση της ικανότητας αναστολής του στελέχους *C. albicans* έδειξε ότι η σουλφαδιαζίνη είχε την ισχυρότερη δραστηριότητα, αν και η δραστηριότητα της δεν διέφερε σημαντικά από τις ενώσεις 24, 22 και 23.

Η ανάλυση της σχέσης δομής-δραστηριότητας με τη χρήση του test Kruskal-Wallis έδωσε πληροφορίες ότι η αμινομάδα έπαιξε σημαντικό ρόλο στην αντιμικροβιακή δράση, ενώ η μεθοξυ ομάδα στον δακτύλιο Β των χαλκονών, έπαιξε λιγότερο σημαντικό ρόλο. Μεταξύ των εξεταζομένων ενώσεων, η ένωση 4, (E) -1- (4-αμινοφαινυλ) -3- (2,3-διμεθοξυφαινυλ) προπ- 2- εν- παρουσίασε ένα ελπιδοφόρο ευρύ φάσμα αντιμικροβιακής δράσης.^(5,16)



Σχήμα 1-6 Παράγωγα Χαλκονών με Αντιμικροβιακή Δράση

Η ερευνητική ομάδα του Ben-Tao Yin συνέθεσε και αξιολόγησε τη δράση α-τριαζολυλ- χαλκονών έναντι μιας σειράς βακτηριακών στελεχών (MRSA, *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Bacillus typhi*, *P. aeruginosa*, *Bacillus proteus*) και στελεχών μυκήτων (*Candida albicans*, *Candida mycoderma*). Το πιο δραστικό μόριο 27 (Σχήμα 1.7) εμφάνισε τη μέγιστη δραστικότητα ενάντια στα στελέχη MRSA, *M. luteus* και *C. mycoderma* και τα αποτελέσματα ήταν συγκρίσιμα έως και καλύτερα από τα ήδη εφαρμόσιμα φάρμακα (*Chloromycin*, *Norfloxacin* και *Fluconazole*).^(5,11)

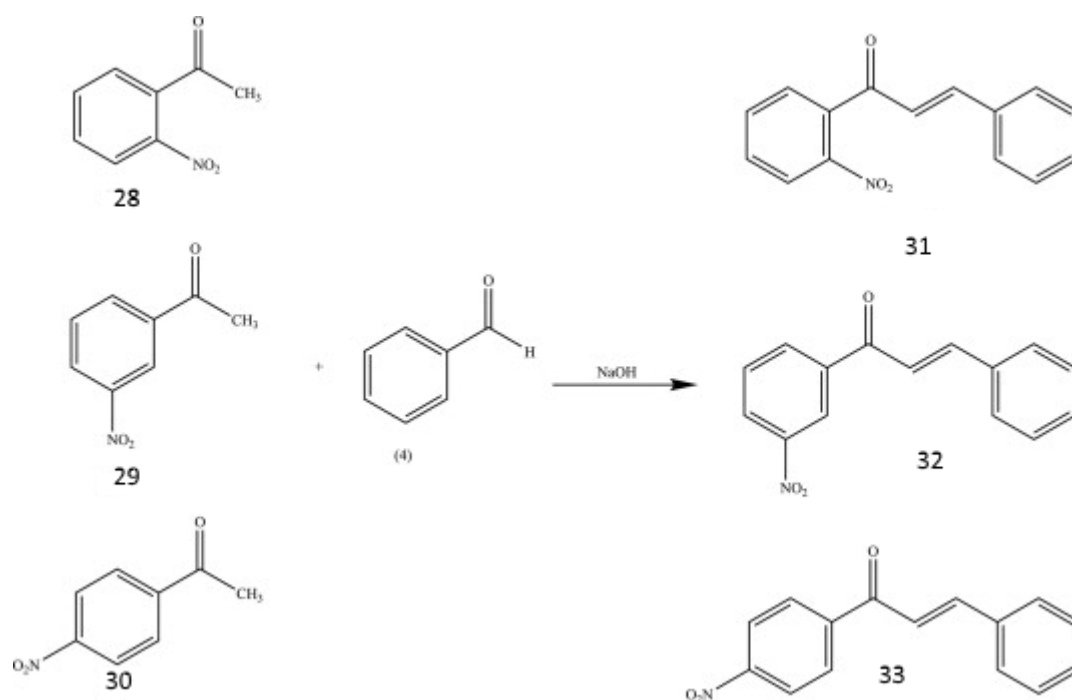


Σχήμα 1-7 Δομή με Αντιμικροβιακή και Αντιμυκητιακή Δράση

Αντιφλεγμονώδης δράση

Η φλεγμονή είναι το αποτέλεσμα της ανοσολογικής απόκρισης του σώματος έναντι επιβλαβών ερεθισμάτων, όπως τα εγκαύματα, οι αλλεργίες ή η μόλυνση από παθογόνους οργανισμούς.

Η σύνθεση νέων ανάλογων χαλκονών αυξάνεται σήμερα, λόγω της πιθανής αντιφλεγμονώδους δράσης που μπορεί να παρουσιάσουν, γεγονός που τις καθιστά ελκυστικές υποψήφιες για τη θεραπεία χρόνιων ασθενειών που περιλαμβάνουν φλεγμονώδεις διεργασίες, όπως για παράδειγμα, τον σακχαρώδη διαβήτη. Για το σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκε η σύνθεση τριών νιτρο-υποκατεστημένων χαλκονών (Σχήμα 1.8) και η αξιολόγηση της αντιφλεγμονώδους δράσης τους στο μοντέλο οιδήματος που προκαλείται από καρραγενάνες σε αρουραίο.

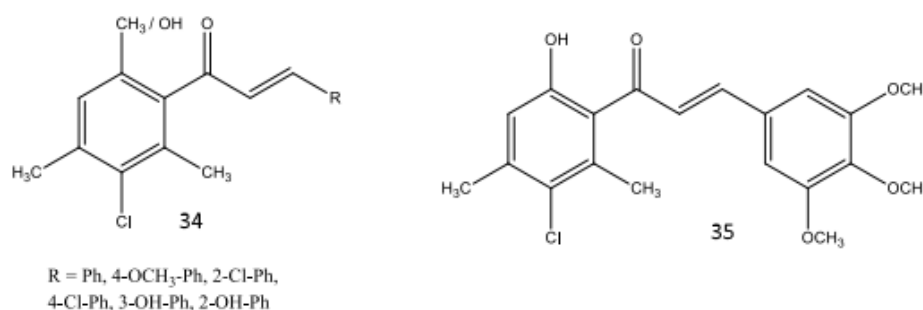


Σχήμα 1-8 Δομή Νιτρο-υποκατεστημένων Χαλκονών

Οι φασματοσκοπικοί χαρακτηρισμοί των τριών νιτρο-χαλκονών (31, 32 και 33)(Σχήμα 1.8), συμφωνούν με τις αναμενόμενες δομές. Αυτές οι χαλκόνες έδειξαν αντιφλεγμονώδη δράση όταν χορηγήθηκαν από το στόμα ή από την ενδοπεριτοναϊκή οδό. Η χαλκόνη με τη νίτρο ομάδα στην ορθο-θέση βρέθηκε ότι είναι η πιο

αποτελεσματική, χωρίς σημαντική διαφορά σε σύγκριση με ένα φάρμακο αναφοράς (μελοξικάμη).^(4,12)

Οι Bano και οι συνεργάτες του συνέθεσαν νέες χαλκόνες (34-35) (Σχήμα 1.9) και αξιολόγησαν την αντιφλεγμονώδη τους δράση, η οποία σύμφωνα με τα αποτελέσματα αποδείχθηκε συγκρίσιμη με εκείνη της ινδομεθακίνης (φάρμακο που είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί ως αναφορά). Παράλληλα, μελέτες έδειξαν ότι η ύπαρξη υποκαταστατών -NO₂, -OCH₃, -Cl σε όρθο- ή πάρα- θέσεις υποβάθμισε σημαντικά τη δραστηριότητα, ενώ η υποκατάσταση της μέτα- θέσης με μεθοξυ-ομάδα ενίσχυσε την δραστηριότητα ενώσεων. Η χαλκόνη 35 (Σχήμα 9), η οποία φέρει τρι-μεθοξυ-φαινυλ-δακτύλιο, εμφάνισε την υψηλότερη αντιφλεγμονώδη δράση.^(5,15)



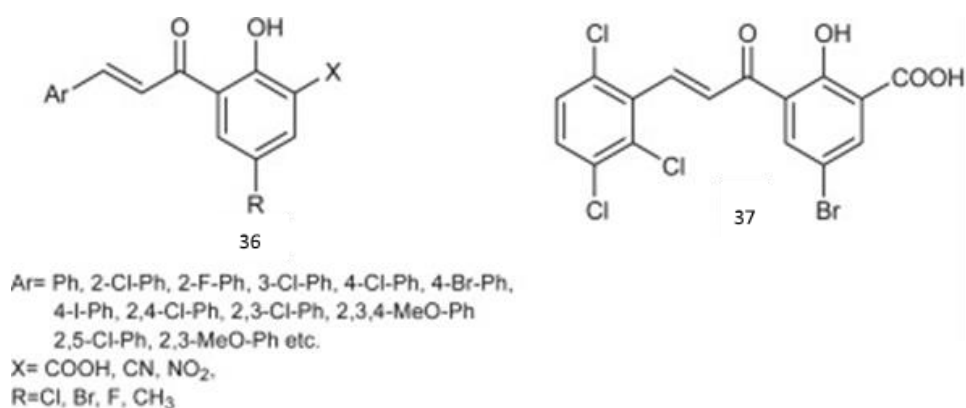
Σχήμα 1-9 Δομές Χαλκόνων με Αντεφλεγμονώδες Δράση

Αντί-HIV δράση

Οι συνέπειες του συνδρόμου επίκτητης ανοσολογικής ανεπάρκειας (AIDS) είναι γνωστές και οι προσπάθειες εύρεσης θεραπείας της νόσου εντείνονται όλο και περισσότερο με το πέρασ των χρόνων. Ο ιός HIV (ιός ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας) είναι υπεύθυνος για την πρόκληση της νόσου, παρεμβαίνοντας στο ανοσοποιητικό σύστημα και παρεμποδίζοντας τη λειτουργία του. Τα παρόντα διατιθέμενα φάρμακα δεν είναι επαρκώς αποτελεσματικά και συνεπώς είναι απαραίτητη η έρευνα προς ανακάλυψη νέων και ισχυρών φαρμάκων κατά του ιού.

Οι Sharma et al. σχεδίασαν, συνέθεσαν νέα 3-κετο-σαλικυλικά οξέα-παράγωγα χαλκονών (36) (Σχήμα 1.10) κι εξέτασαν τη δραστηριότητα τους ως αντι-HIV παράγοντες μέσω παρεμπόδισης του ενζύμου HIV-1 integrase, το οποίο είναι απαραίτητο για την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό του ιού. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι γενικά οι ενώσεις που φέρουν βρώμιο ως υποκαταστάτη αποτέλεσαν τις

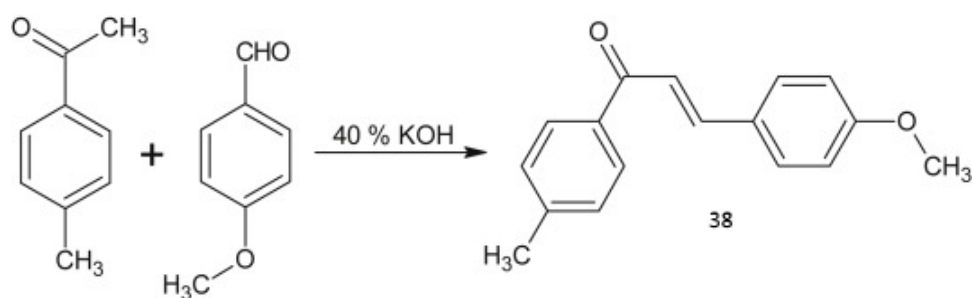
πιο ισχυρές, ακολουθούμενες από τις ενώσεις με φθόριο ως υποκαταστάτη και τέλος τις ενώσεις που φέρουν χλώριο. Η αντικατάσταση του Br με μεθυλο-ομάδα μείωσε σημαντικά τη δραστηριότητα των παραγόμενων ενώσεων. Το 5-βρωμο-2-υδροξυ-3-(3-(2,3,6-τριχλωροφαινυλ)ακρυλοϋλ)βενζοϊκό οξύ (37) (Σχήμα 10) εμφάνισε τα καλύτερα αποτελέσματα.^(5,13)



Σχήμα 1-10 Δομές Χαλκόνων με Αντι-HIV Δράση

Αντιοξειδωτική δράση

Κατά την οξείδωση ελευθέρων ριζών οξυγόνου είναι δυνατόν να αλλοιωθούν DNA, πρωτεΐνες, λιπίδια κ.τ.λ. με αποτέλεσμα τη γήρανση και την εμφάνιση ασθενειών που σχετίζονται με τον καρκίνο και την αθηροσκλήρυνση. Κατά συνέπεια, η απομάκρυνση των ελευθέρων ριζών από τον οργανισμό διαδραματίζει σημαντικό ρόλο για τη διατήρηση της ομοιόστασής του. Τα αντιοξειδωτικά έχουν την τάση να δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες κι οι χαλκόνες έχει αποδειχθεί ότι αποτελούν ελπιδοφόρες αντιοξειδωτικές ενώσεις.



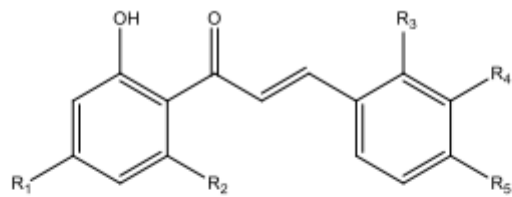
Σχήμα 1-11 Χαλκόνη με Αντιοξειδωτική Δράση

Η *in vitro* αντιοξειδωτική δράση της χαλκόνης που παρουσιάζεται στο Σχήμα 1.11 (Ένωση 38) αξιολογήθηκε φασματοφωτομετρικά χρησιμοποιώντας τις μεθόδους DPPH και H₂O₂ σε σύγκριση με το πρότυπο ασκορβικό οξύ. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 1. Οι τιμές εκφράζονται σε IC₅₀, δηλ. Η ποσότητα του δείγματος που απαιτείται για τη μείωση της συγκέντρωσης των ελεύθερων ριζών κατά 50%. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η χαλκόνη στην παρούσα μελέτη παρουσιάζει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση και στις δύο μεθόδους. Η παρουσία μεθύλ και μεθόξυ ομάδων στην παρά θέση και στα δύο συστήματα φαινυλίου της χαλκόνης μπορεί να αντισταθμίσει την ελεύθερη ρίζα που δημιουργείται κατά τη διάρκεια της οξείδωσης.⁽¹⁴⁾

Πίνακας 1 Αντιοξειδωτική Δράση Χαλκονης 38

Ένωση	IC ₅₀ (μg/mL) – DPPH ^a	IC ₅₀ (μg/mL) ^a – H ₂ O ₂
Χαλκόνη 38 (Σχήμα 11)	12.23 ± 0.53	15.62 ± 0.98
Ασκορβικό Οξύ	17.32 ± 0.44	19.07 ± 0.35

Η Α. Detsi κι οι συνεργάτες της συνέθεσαν 2'-υδροξυ-χαλκόνες (Σχήμα 1.12) κι αξιολόγησαν τόσο την αντιοξειδωτική τους δράση μέσω της δοκιμασίας DPPH όσο και την αντιφλεγμονώδη τους δράση με βάση την αναστολή του ενζύμου της λιποξυγονάσης (LOX). Τα αποτελέσματα των δοκιμασιών επέδειξαν ότι η υψηλή παγίδευση της ρίζας DPPH δεν συνοδεύεται πάντα από υψηλή ανασταλτική δράση της λιποξυγονάσης. Η χαλκόνη 39 εμφάνισε ευεργετικά αποτελέσματα όσον αφορά στην αντιοξειδωτική της δράση και είναι δυνατόν να αποδοθεί στο γεγονός ότι αποτελεί πολυφαινολική ένωση. Αναφορικά με την αντιφλεγμονώδη δράση των συντιθέμενων ενώσεων, οι χαλκόνες 40 και 41 επέδειξαν ισχυρή δραστηριότητα έναντι του ενζύμου της λιποξυγονάσης αλλά χαμηλή έως μέτρια αντιοξειδωτική δράση. Σε δομικό επίπεδο η χαλκόνη 42, η οποία φέρει μεθοξυ-ομάδες στις θέσεις 2' και 4' του Α-δακτυλίου, εμφάνισε την πιο ελπιδοφόρα συνδυαστική αντιοξειδωτική-αντιφλεγμονώδη δράση.⁽¹⁾

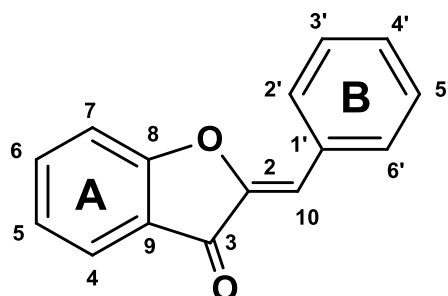


	R₁	R₂	R₃	R₄	R₅
39	OH	OH	H	OH	OH
40	H	H	H	H	CH ₃
41	H	H	H	H	Cl
42	OCH ₃	OCH ₃	H	H	CH ₃

Σχήμα 1-12 Δομές 2'-υδροξυχαλκονών με αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση

2 Ωρόνες

2.1 Γενική στοιχεία



Σχήμα 2-1 Γενική Μορφή Ωρονών

Οι ωρόνες, ((Z) -2-βενζυλιδενοβενζοφουραν-3- (2H) -όνες) (Σχήμα 2.1), αποτελούν μια λιγότερο μελετημένη υποκατηγορία των ελασσόνων φλαβονοειδών. Αναφέρθηκαν για πρώτη φορά το 1943 από τους Geissman και Heaton, οι οποίοι απομόνωσαν ωρόνες από τα άνθη των λουλουδιών *Coreopsis grandiflora*. Οι εν λόγω ενώσεις απαντώνται σπάνια στη φύση. Μέχρι σήμερα έχουν αναφερθεί περίπου 500 ωρόνες προερχόμενες από φυσικές πηγές, κυρίως από ανθοφόρα φυτά, μερικά είδη φτέρης, βρύα και θαλάσσια καφέ φύκια. Οι ωρόνες είναι υπεύθυνες για το λαμπερό κίτρινο χρώμα μερικών δημοφιλών διακοσμητικών λουλουδιών όπως το snapdragon, το cosmos και dahlia. Αντιπροσωπευτικές φυσικές ωρόνες είναι η ωρεοσιδίνη (aureusidin), η σουλφουρετίνη (sulfuretin) κι η μαριτιμετίνη (maritimetin).^(1,17,18)

Βάση βιβλιογραφικών πηγών οι ωρόνες παρουσιάζουν ελπιδοφόρες θεραπευτικές ιδιότητες λόγω της αντιοξειδωτικής, αντικαρκινικής, αντιμικροβιακής, αντι-ιικής, αντι-ορμονικής, αντιφλεγμονώδους και αντιδιαβητικής δράσης. Επιπλέον αποτελούν αποτελούν πιθανούς αποτελεσματικούς παράγοντες για τη θεραπεία της παχυσαρκίας και της νόσου του Alzheimer. Κατά συνέπεια, τα τελευταία χρόνια υπάρχει πρόοδος αναφορικά με την έρευνα των ωρονών ως πιθανά φάρμακα για τις θεραπευτικές περιοχές που αναφερθήκαν παραπάνω.^(17,18)

2.2 Δομικά χαρακτηριστικά – Σύνθεση ωρονών

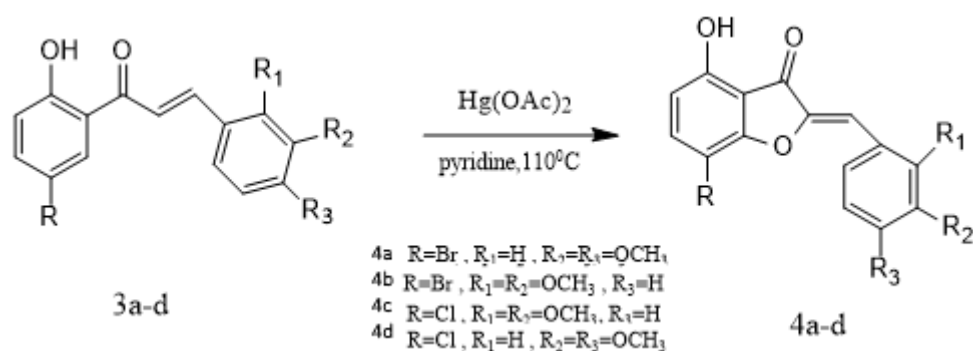
Η δομή των ωρονών βασίζεται στη δομή των 2-βενζυλιδενοκουμαρονών. Το συμβατικό σύστημα αρίθμησης των ωρονών προτείνει την αρίθμηση των θέσεων 4 έως 7 στον Α- δακτύλιο, όπου η θέση 4 είναι βιοσυνθετικά ισοδύναμη με τη θέση 5 στα συνήθη φλαβονοειδή και τη θέση 2' στις χαλκόνες.

Βιοσύνθεση Ωρονών

Γενικά είναι ευρέως γνωστές δύο βιοσυνθετικές οδοί για την παρασκευή των ωρονών από πρόδρομα μόρια χαλκονών. Η μία οδός πραγματοποιείται μέσω ενός ενζύμου φυτικής πολυφαινολικής οξειδάσης (συνήθως συνθάση της ωρεοσιδίνης) κι η δεύτερη μέσω ενός ενζύμου υπεροξειδάσης. Χαρακτηριστικά παραδείγματα βιοσύνθεσης ωρονών είναι για την πρώτη μέθοδο: η παρασκευή της ωρεοσιδίνης και για τη δεύτερη οδό: η σύνθεση της ισπιδόλης (hispidol).^(17,19)

Χημική σύνθεση ωρονών

Οι βιοσυνθετικοί μηχανισμοί των ωρονών από χαλκόνες αποτέλεσαν έρεισμα για τους χημικούς στην προσπάθεια σύνθεσης ωρονών, προσαρμόζοντας τις βιοσυνθετικές πορείες σε μεθόδους χημικής σύνθεσης στο εργαστήριο. Η γενική μέθοδος σύνθεσης ωρονών είναι η οξειδωτική κυκλοποίηση των χαλκονών (Σχήμα 2-2). Η συγκεκριμένη μέθοδος έχει πραγματοποιηθεί υπό διάφορες συνθήκες, χρησιμοποιώντας οξικό υδράργυρο (II) (mercury (II) acetate), νιτρικό θάλλιο (II) (thallium (II) nitrate), τριβρωμίδιο του τετραβουτυλαμμωνίου (tetrabutylammonium tribromide) ή βρωμίδιο του χαλκού (II) (copper(II) bromide). Τα παραπάνω αντιδραστήρια, ωστόσο, έχουν περιορισμένη χρήση, δεδομένου ότι είναι απαραίτητη η ύπαρξη μερικών συγκεκριμένων δομικών χαρακτηριστικών στις πρόδρομες χαλκόνες.

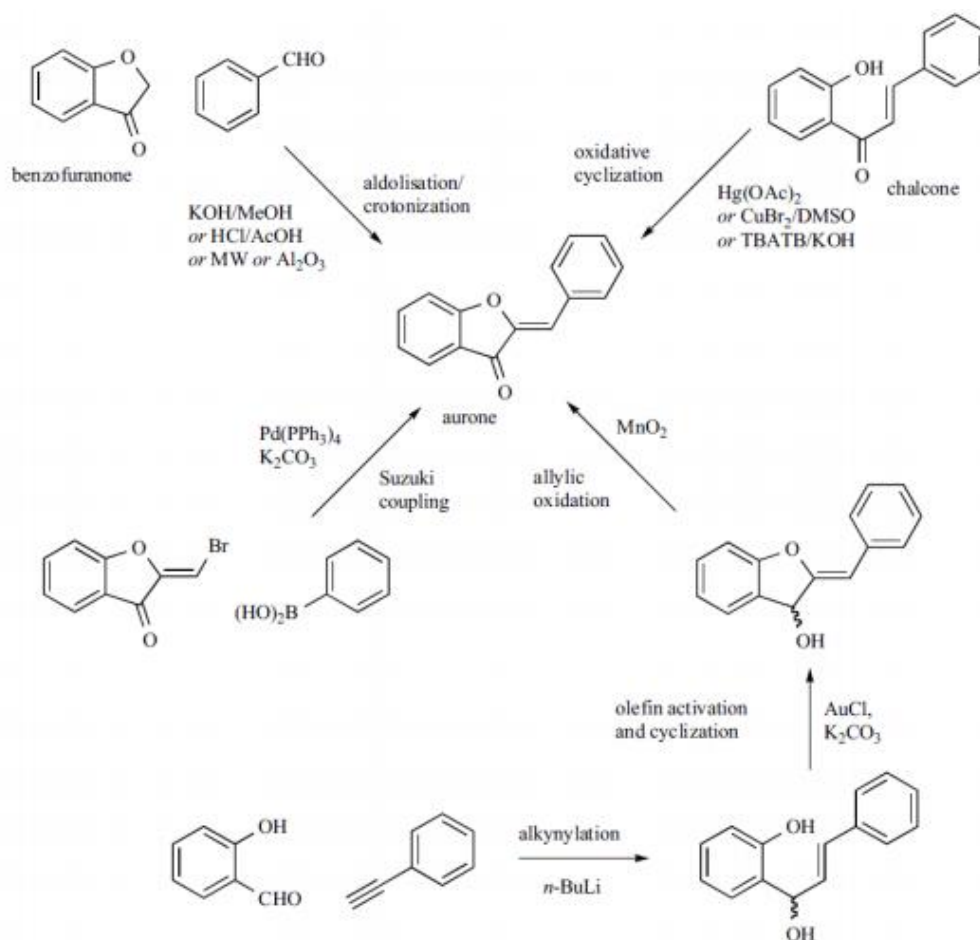


Σχήμα 2-2 Οξειδωτική κυκλοποίηση χαλκονών

Στην πραγματικότητα, η ευρύτερα χρησιμοποιούμενη μέθοδος σύνθεσης ωρονών είναι η αλδολική συμπύκνωση μιας βενζοφουραν-3(2H)-όνης σε ένα παράγωγο βενζαλδεΐδης. Η προαναφερθείσα αντίδραση είναι δυνατόν να πραγματοποιηθεί υπό βασικό ή οξικό περιβάλλον ή χωρίς διαλύτη σε μικροκυματικές συνθήκες (microwave conditions), οι οποίες μάλιστα οδηγούν σε καλές αποδόσεις. Η συγκεκριμένη συνθετική οδός είναι κατάλληλη για ένα ευρύ φάσμα μορίων, συμπεριλαμβανομένων των πιο ευαίσθητων.

Τέλος, μια πρόσφατη μέθοδος περιλαμβάνει σύζευξη Suzuki μεταξύ μιας 2-(βρωμομεθυλεν)-βενζοφουραν-3(2H)-όνης και ενός φαινυλοβορονικού οξέος. Η συγκεκριμένη μέθοδος βέβαια έχει χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή ενός μόνο μορίου (μιας τριμεθοξυ-ωρόνης) και συνεπώς είναι δύσκολο να αξιολογηθεί η ευελιξία της.⁽¹⁸⁾

Στο Σχήμα 2.2 παρουσιάζονται και παραστατικά οι χημικές μέθοδοι σύνθεσης ωρονών.⁽¹⁸⁾



Σχήμα 2-3 Μέθοδοι Χημικής Σύνθεσης Ωρονών

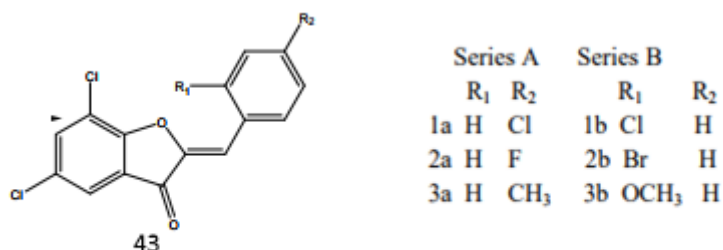
2.3 Βιολογική δράση ωρονών

Αντικαρκινική δράση

Τα παράγωγα των ωρονών (Σχήμα 2.3) δοκιμάστηκαν για την *in vitro* αντικαρκινική τους δράση έναντι των κυττάρων HL-60 και HT-29. Όλα τα παράγωγα έδειξαν ισχυρότερη κυτταροτοξικότητα έναντι του κυττάρου HL-60 και έδειξαν καλύτερες ανασταλτικές δραστηριότητες προς την κατεύθυνση του HT-29.

Επιπλέον τα παράγωγα της ωρόνης (43) (Σχήμα 2.3) της σειράς A και B δοκιμάστηκαν *in vitro* για την αντικαρκινική τους δραστηριότητα κατά τον

ανθρώπινο ορθοκολικό όγκο (HCT 116), την χρόνια μυελογενής λευχαιμία (K 562) και την εξαρτημένη ορμόνη του καρκίνου του μαστού (MCF-7). Οι ενώσεις της σειράς B έδειξαν υψηλότερη κυτταροτοξική επίδραση σε καρκινικά κύτταρα σε σύγκριση με τις ενώσεις της σειράς A. ⁽²⁰⁾

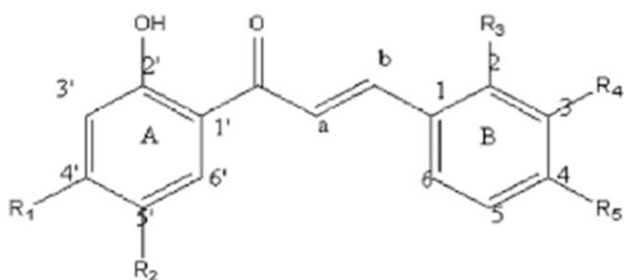


Σχήμα 2-4 Δομές Ωρονών με Αντικαρκινικές Δράσεις

Αντιοξειδωτική δράση

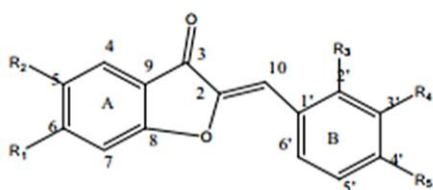
Οι ωρόνες κατέχουν υψηλή αντιοξειδωτική δράση. Είναι γνωστό ότι αναστέλλουν την τυροσινάση, ένζυμο που εμπλέκεται στη σύνθεση μελανίνης. Μια σειρά από υποκατεστημένες ωρόνες δοκιμάστηκαν για την αντιοξειδωτική τους δράση.

Όλες οι ενώσεις που συντέθηκαν (Σχήμα 2.4-2.5) αξιολογήθηκαν για την *in vitro* αντιοξειδωτική τους δράση. Μεταξύ των ενώσεων που δοκιμάστηκαν την καλύτερη ικανότητα δέσμευσης ριζών DPPH (1,1-διφαινυλ-2-πικρυλυδραζυλ) παρουσίασε η ωρόνη 50 (Σχήμα 2.4) που περιέχει *p*-διμεθυλαμινομάδα. Επίσης, η ωρόνη 53 και η ωρόνη 45 (Σχήμα 2.4) παρουσίασαν υψηλότερη δραστηριότητα ως προς την ένωση αναφοράς, δηλαδή το ασκορβικό οξύ. Οι ενώσεις 44 και 45 (Σχήμα 2.4) παρουσίασαν ικανοποιητική δράση δέσμευσης ριζών σε σχέση με την ένωση αναφοράς. Η δραστηριότητα φαίνεται να αυξάνεται με την παρουσία υποκαταστατών, στο B- δακτύλιο, που δίνουν ηλεκτρόνια. ⁽²¹⁾



S no.	Compounds	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
44	2',5'-Dihydroxy-3,4-dimethoxy chalcone	H	OH	H	OCH ₃	OCH ₃
45	2',4'-Dihydroxy-4-dimethylamino chalcone	OH	H	H	H	N(CH ₃) ₂
48	2',4'-Dihydroxy-4-chloro chalcone	OH	H	H	H	Cl
50	2',5'-Dihydroxy-4-dimethylamino chalcone	H	OH	H	H	N(CH ₃) ₂
53	2',4'-Dihydroxy-3,4-dimethoxy chalcone	OH	H	H	OCH ₃	OCH ₃

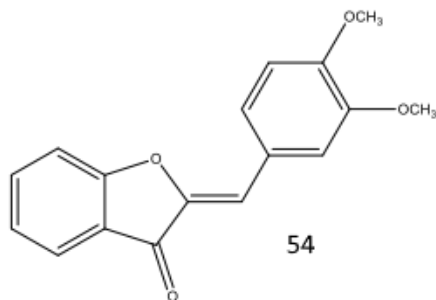
Σχήμα 2-5 Δομές Ωρονών με Αντιοξειδωτική Δράση (α)



S no.	Compounds	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
46	6-Hydroxy-4'-dimethylamino aurone	OH	H	H	H	N(CH ₃) ₂
47	6-Hydroxy-4'-chloro aurone	OH	H	H	H	Cl
49	5-Hydroxy-3',4'-dimethoxy aurone	H	OH	H	OCH ₃	OCH ₃
51	5-Hydroxy-4'-dimethylamino aurone	H	OH	H	H	N(CH ₃) ₂
52	6-Hydroxy-3',4'-dimethoxy aurone	OH	H	H	OCH ₃	OCH ₃

Σχήμα 2-6 Δομές Ωρονών με Αντιοξειδωτική Δράση (β)

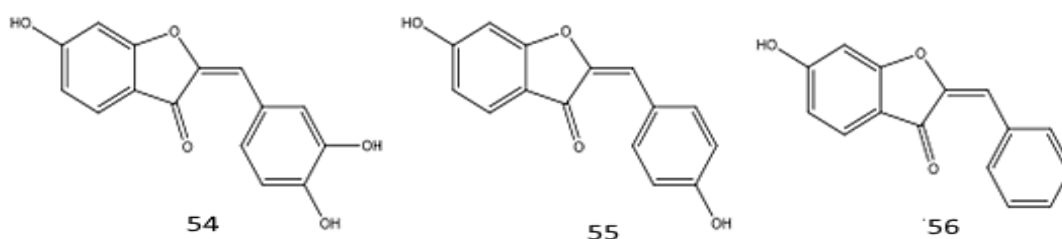
Η Α. Detsi και οι συνεργάτες της συνέθεσαν χαλκόνες και ωρόνες τις οποίες στη συνέχεια αξιολόγησαν ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση. Παρά το γεγονός ότι σχεδόν όλες οι ενώσεις βρέθηκαν αδρανείς, η 3',4' διμεθοξυ-ωρόνη (54) (Σχήμα 2.6) επέδειξε ικανοποιητική δραστηριότητα. ⁽¹⁾



Σχήμα 2-7 Δομή 3',4'-διμεθοξυ-ωρόνης με αντιοξειδωτική δράση

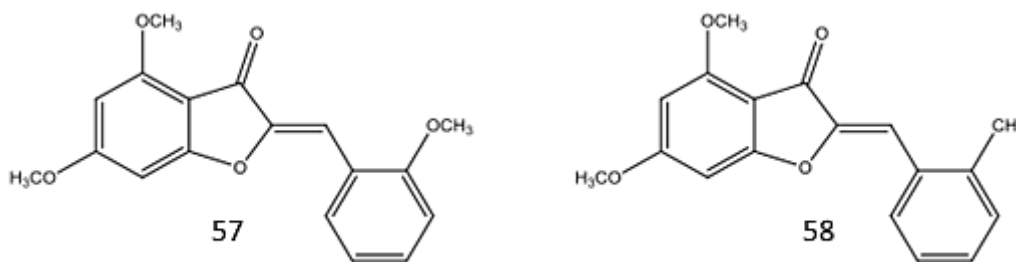
Αντιμικροβιακή και αντι-ική δράση

Οι Liu και οι συνεργάτες του απέδειξαν ότι μερικά παράγωγα της σουλφουρετίνης (54) αποτελούν ισχυρούς αναστολείς των νευραμινιδασών των ιών της γρίπης Α και Β και τους ισχυρότερους αναστολείς συγκριτικά με τα υπόλοιπα φλαβονοειδή που εξετάστηκαν. Οι νευραμινιδάσες είναι ένζυμα τα οποία σχετίζονται με την απελευθέρωση ιών από τα μολυσμένα κύτταρα- ξενιστές. Κατά συνέπεια, η αναστολή των συγκεκριμένων ενζύμων έχει προσελκύσει το επιστημονικό ενδιαφέρον αφού είναι δυνατόν να αποτρέψει την εξάπλωση της μόλυνσης. Τα μόρια 54-56 που εμφάνισαν τα πιο ενθαρρυντικά αποτελέσματα παρουσιάζονται στο σχήμα 2.7 και όπως εύκολα παρατηρείται είναι όλα υδροξυλιωμένα. ^(18,22)



Σχήμα 2-8 Δομές Ωρονών με Αντιϊική δράση

Όσον αφορά την αντιπαρασιτική δράση κι ειδικά την αντιλεισμανιακή δράση των ωρονών, η M. Roussaki κι οι συνεργάτες της συνέθεσαν ανάλογα ωρονών κι αξιολόγησαν την δραστικότητά τους κατά της λεισμανίασης. Οι ωρόνες 57 και 58 (Σχήμα 2.8) επέδειξαν την ισχυρότερη αντιλεισμανιακή δραστικότητα και παράλληλα εμφάνισαν χαμηλή κυτταροτοξικότητα. ^(18,23)

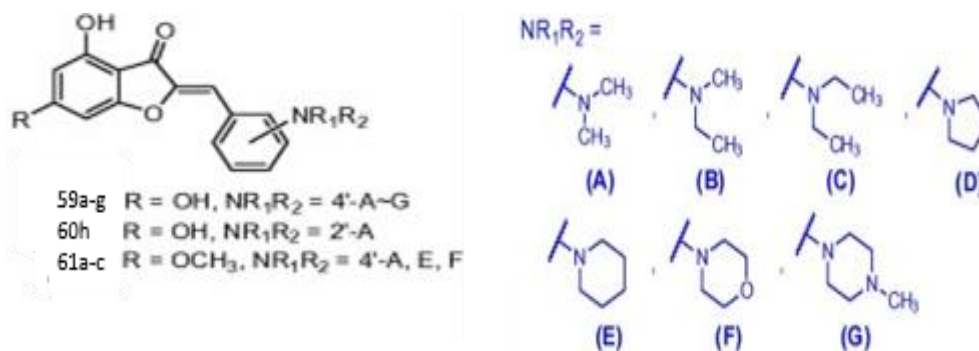


Σχήμα 2-9 Δομές Ωρονών με Αντιλεϊσμανιακή Δράση

Δράση κατά της νόσου Alzheimer

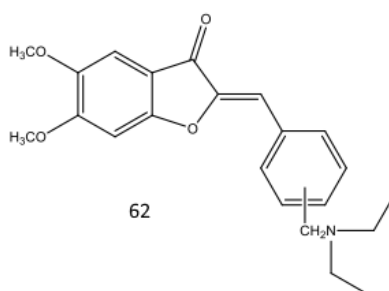
Η νόσος του Αλτσχάιμερ (AD), μια νευροεκφυλιστική διαταραχή του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ) που σχετίζεται με την ηλικία, χαρακτηρίζεται από εμφάνιση απώλειας μνήμης, προοδευτική νοητική χειροτέρευση, βλάβη καθημερινών δραστηριοτήτων και απώλεια ανεξάρτητης λειτουργίας. Επιπλέον, Το 50-80% των ασθενών με AD πάσχει από ψυχολογικά συμπτώματα όπως κατάθλιψη και ψύχωση. Παρόλο που δεν έχει διασαφηνιστεί ακόμα η ακριβής αιτία που προκαλεί τη νόσο AD, πολλαπλοί παράγοντες όπως η εναπόθεση β-αμυλοειδούς, η συσσωμάτωση τ-πρωτεϊνών, το οξειδωτικό στρες και τα μειωμένα επίπεδα ακετυλοχολίνης θεωρούνται ότι παίζουν ζωτικό ρόλο στην εκδήλωση της νόσου.

Μια σειρά παραγώγων ωρόνης (Σχήμα 2.9) σχεδιάστηκαν, συντέθηκαν και αξιολογήθηκαν ως πολυλειτουργικοί παράγοντες για τη θεραπεία της AD. Παρατηρήθηκε ότι όλες οι ενώσεις εμφάνισαν μέτριες έως καλές ανασταλτικές δραστηριότητες. Όλα τα εξετασθέντα παράγωγα έδειξαν υψηλή αντιοξειδωτική δράση αποτελώντας ελπιδοφόρα μόρια για τη μείωση της οξειδωτικής βλάβης. Επιπλέον, οι αντιπροσωπευτικές ενώσεις 60e και 61b έδειξαν καλές ιδιότητες διαπερατότητας. Αυτή η ιδιότητα υποδεικνύει ότι τα παράγωγα ωρονών μπορούν να παρέχουν ένα καλό πρότυπο για την ανάπτυξη νέων πολυλειτουργικών παραγόντων αντι-Αλτσχάιμερ.⁽²⁴⁾



Σχήμα 2-10 Δομές με Αντι-AD Δράση

Ο Sheng και οι συνεργάτες του σχεδίασαν, συνέθεσαν και αξιολόγησαν ανάλογα ωρονών ως προς τη δράση τους κατά της νόσου του Alzheimer. Οι περισσότερες ενώσεις που συντέθηκαν επέδειξαν ικανοποιητικά αποτελέσματα κι η ένωση 62 (Σχήμα 2.10) εμφάνισε την ισχυρότερη δραστηριότητα. ^(18,25)

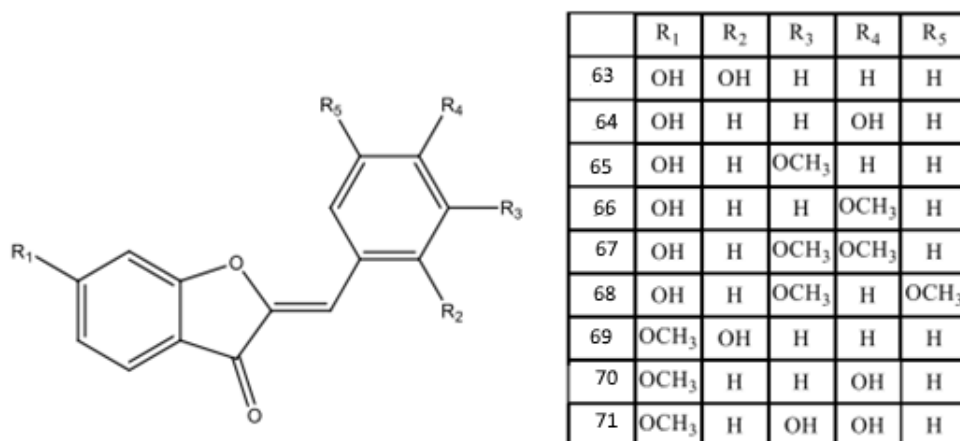


Σχήμα 2-11 Δομή Ωρονών με Ισχυρή Δραστηριότητα κατά της Νόσου Alzheimer

Αντιφλεγμονώδης δράση

Η φλεγμονή είναι το αποτέλεσμα της ανοσολογικής απόκρισης του σώματος έναντι επιβλαβών ερεθισμάτων, όπως τα εγκαύματα, οι αλλεργίες ή η μόλυνση από παθογόνους οργανισμούς.

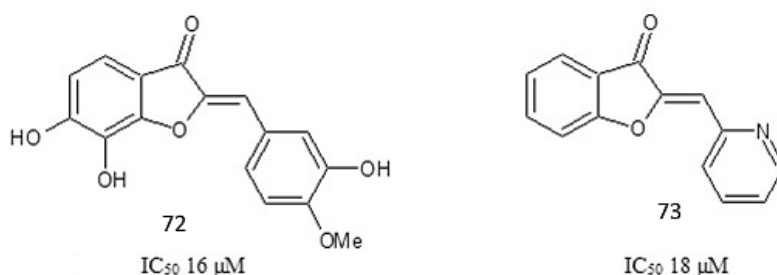
Οι Shin και οι συνεργάτες του εξέτασαν την επιρροή της υποκατάστασης του Β-δακτυλίου ωρονών, κι ιδιαίτερα ανάλογων της σουλφουρετίνης, στην δραστηριότητά τους κατά της φλεγμονής. Σε διάφορες δοκιμασίες οι ενώσεις 67-71 (Σχήμα 2.11) επέδειξαν υψηλή αντιφλεγμονώδη δράση. Η κατανομή των υδροξυ-ομάδων ή μεθοξυ-ομάδων στα ενεργά μόρια ποικίλει επομένως δεν είναι δυνατή η εξαγωγή αξιόπιστου συμπεράσματος αναφορικά με την σχέση δραστηριότητας και της δομής των ωρονών. ^(18,26)



Σχήμα 2-12 Δομές Αναλόγων Σουλφουρετίνης με Ισχυρή Αντιφλεγμονώδη Δράση

Αντιμυκητιακή δραστηριότητα

Τα νέα αντιμυκητιακά είναι σε μεγάλη ζήτηση, καθώς υπάρχει αυξανόμενη αντίσταση στα αντιμυκητιακά που χρησιμοποιούνται μέχρι σήμερα. Συγκεκριμένα, οι μυκητιακές λοιμώξεις που προκαλούνται από το μύκητα *Candida spp* αυξάνονται μετά από χημειοθεραπείες, διαδικασίες εμφύτευσης και σε ασθενείς με HIV / AIDS. Μια σειρά απλών αναλόγων ωρονών συντέθηκαν και υποβλήθηκαν για την αντιμυκητιακή τους δράση έναντι του στελέχους *Candida spp*. Αρκετές ενώσεις έδειξαν αντιμυκητιακή δράση στα 100 μM, και δύο από αυτές (Σχήμα 2.12) παρουσίασαν τιμές IC₅₀ κάτω από 20 μM για τρία είδη του στελέχους *Candida*. Μία από τις ενώσεις που δοκιμάστηκε παρουσιάζει επίσης δραστηριότητα αντι-βιοφίλμ για ανάπτυξη μέσης ωρίμανσης.⁽²⁷⁾



Σχήμα 2-13 Ενώσεις Ωρονών με Αντιμυκητιακή δραστηριότητα

3 Αντιοξειδωτικά

Όπως έχει αναφερθεί βιβλιογραφικά οι χαλκόνες και οι ωρόνες παρουσιάζουν ευεργετική αντιοξειδωτική δράση. Για το λόγο αυτό αξίζει να γίνει μια εκτενέστερη αναφορά στις ελεύθερες ρίζες, στον μηχανισμό δέσμευσης τους καθώς και στις στατιστικές μεθόδους ανάλυσης για τη μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης,

3.1 Ελεύθερες ρίζες και η σημασία τους

Ένα άτομο ή μόριο με ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια και ανεξάρτητη παρουσία λέγεται ελεύθερη ρίζα και συμμετέχει πολύ εύκολα σε αντιδράσεις οξειδοαναγωγής με γειτονικά μόρια. Κατά τις αντιδράσεις αυτές όχι μόνο μεταβάλλονται σημαντικά τα γειτονικά μόρια στόχοι, αλλά μερικές φορές μεταβιβάζονται τα ασύζευκτα ηλεκτρόνια από στόχο σε στόχο, δημιουργώντας έτσι μία δεύτερη, τρίτη κ.ο.κ. ελεύθερη ρίζα υπό μορφή αλυσιδωτής αντίδρασης. Η πολύ μεγάλη βλαπτική επίδραση των ελευθέρων ριζών οφείλεται ακριβώς στον πολλαπλασιασμό των μεταβολών που προκαλούνται από παρόμοιες αλυσιδωτές αντιδράσεις. ^(28,29)

3.2 Ελεύθερες ρίζες Και δραστικά είδη οξυγόνου

Οι πλέον σημαντικές ελεύθερες ρίζες, είναι μοριακά είδη με κέντρο το οξυγόνο και μερικές φορές το άζωτο ή τον άνθρακα. Το ίδιο το οξυγόνο που αναπνέουμε αποτελεί μία ελεύθερη ρίζα, αφού περιέχει δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια που βρίσκονται σε δύο διαφορετικά τροχιακά. Συνολικά όλα τα μοριακά είδη που περιλαμβάνουν οξυγόνο, είτε είναι ελεύθερες ρίζες είτε όχι, ονομάζονται δραστικά είδη οξυγόνου (ΔΕΟ). Τα κυριότερα ΔΕΟ είναι: η ρίζα σουπεροξειδίου, η ρίζα υδροξυλίου (OH), η ρίζα υπεροξειδίου (ROO), το O₂ απλής κατάστασης, το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H₂O₂) και το υπο-χλωριώδες οξύ (HOCl). ⁽²⁸⁾

3.3 Εξουδετέρωση ΔΕΟ στον οργανισμό μας – Αντιοξειδωτικά

Σε κάθε βιολογικό σύστημα πρέπει να διατηρείται η ισορροπία μεταξύ του σχηματισμού και της απομάκρυνσης των ΔΕΟ. Η αύξηση των οξειδώσεων από τα ΔΕΟ οδηγεί τα κύτταρα σε μία κατάσταση που λέγεται οξειδωτικό στρες και είναι παράγοντας πρόκλησης ασθενειών. Λόγω της συνεχούς έκθεσης σε ΔΕΟ και για την πρόληψη του οξειδωτικού στρες, ο οργανισμός μας, όπως όλα τα φυτά και τα ζώα, έχει αναπτύξει για προστασία διάφορους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς στους οποίους παίρνουν μέρος αντιοξειδωτικές ουσίες. Χαρακτηρίζουμε ως αντιοξειδωτική ουσία κάθε ουσία η οποία βρίσκεται σε μικρές συγκεντρώσεις σε σύγκριση με το υπόστρωμα που οξειδώνεται και η οποία καθυστερεί σημαντικά ή αποτρέπει την οξείδωση του υποστρώματος αυτού. Τα αντιοξειδωτικά γενικά λειτουργούν με δύο τρόπους: (1) είτε παρεμποδίζουν τη δημιουργία ΔΕΟ, (2) είτε σταματούν τη διάδοση των ελεύθερων ριζών που προκαλείται από τις αλυσιδωτές αντιδράσεις.⁽²⁸⁾

Ιδιαίτερη θέση ανάμεσα στα φυσικά αντιοξειδωτικά κατέχουν τα φλαβονοειδή, τα οποία απαντώνται ως συστατικά σε όλα τα φυτά και είναι από τις πιο σύνθετες κατηγορίες χημικών της φύσης. Οι χαλκόνες κι οι ωρόνες όπως έχει αναφερθεί παραπάνω ανήκουν στην γενική κατηγορία των φλαβονοειδών και συνεπώς τα τελευταία χρόνια υπάρχει έντονη ερευνητική δραστηριότητα όσον αφορά στην μελέτη της αντιοξειδωτικής τους δράση όπως και άλλων βιολογικών τους δράσεων.⁽²⁹⁾

3.4 Επίδραση των ΔΕΟ στην υγεία

Έχει γίνει πλέον επιστημονικά αποδεκτό ότι η παραβίαση της απαραίτητης οξειδοαναγωγικής ισορροπίας των κυττάρων μας προς την κατάσταση του οξειδωτικού στρες έχει ως αποτέλεσμα την εκδήλωση διαφόρων παθολογικών καταστάσεων ενώ επιπλέον συμμετέχει και στη διαδικασία της γήρανσης. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι το οξειδωτικό στρες οδηγεί σε οξείδωση των βασικών βιοχημικών συστατικών του κυττάρου, όπως τα λιπίδια, οι πρωτεΐνες και το DNA με αποτέλεσμα τη μεταβολή των δομικών και λειτουργικών τους ιδιοτήτων. Ο

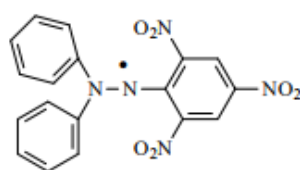
κατάλογος των ασθενειών για τις οποίες έχουν ενοχοποιηθεί σε μεγαλύτερο ή μικρότερο βαθμό τα ΔΕΟ αυξάνεται συνεχώς και περιλαμβάνει καρδιαγγειακές παθήσεις, τον καρκίνο, νευροεκφυλιστικές ασθένειες (Alzheimer και Parkinson), τον καταρράκτη, τον διαβήτη και διάφορες αυτοάνοσες ασθένειες. ^(28,31)

3.5 Δοκιμές εκτίμησης δραστηριότητας αντιοξειδωτικών

Δεδομένου ότι κατά τη διάρκεια της δοκιμής η σύσταση της εξεταζόμενης ουσίας είναι δυνατόν να διαφοροποιείται, η δοκιμή εκτίμησης της δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών πρέπει να είναι ταχεία. Οι δοκιμές αφορούν κατά κύριο λόγο τους δεσμευτές ελευθέρων ριζών και βασίζονται στη χρήση έγχρωμων εμπορικά διαθέσιμων ριζών. Τα προϊόντα αναγωγής τους από τα αντιοξειδωτικά είναι άχρωμα προϊόντα γεγονός που επιτρέπει τη φωτομετρική παρακολούθηση των αντιδράσεων. Χρησιμοποιώντας τις καμπύλες μείωσης της απορρόφησης σε συγκεκριμένα μήκη κύματος είναι δυνατόν να εξαχθούν χρήσιμα συμπεράσματα όσον αφορά στην κινητική δέσμευσης των ριζών από τα αντιοξειδωτικά καθώς και στη στοιχειομετρία των αντιδράσεων. Δύο χαρακτηριστικές δοκιμές είναι η δοκιμή DPPH και η δοκιμή FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), οι οποίες αναλύονται ακολούθως. ⁽²⁹⁾

Δοκιμή DPPH

Το DPPH (2,2-δι(4-tert-οκτυλφαινυλο)-1-πυκριλυδραζίλιο) αποτελεί μία από τις λίγες σταθερές και εμπορικά διαθέσιμες οργανικές ρίζες αζώτου. Η κατανάλωσή του από τα αντιοξειδωτικά, έχει ως αποτέλεσμα την εξασθένηση του πορφυρού χρώματος του διαλύματός του, η οποία παρακολουθείται στα 515 nm, όπου παρατηρείται το μέγιστο του φάσματος του μορίου της ρίζας.



DPPH

Σχήμα 3-1 Δομή DPPH

Η μέθοδος DPPH είναι τεχνικά απλή αλλά παρουσιάζει μερικά μειονεκτήματα που περιορίζουν τη χρήση της. Το DPPH αποτελεί μία πολύ σταθερή ρίζα αζώτου, που δεν δείχνει όμως ομοιότητα με τις πολύ ενεργές υπεροξυ-ρίζες που παίρνουν μέρος στην λιπιδική υπεροξειδωση. Πολλά αντιοξειδωτικά που θα αντιδρούσαν γρήγορα με υπεροξυ-ρίζες, αντιδρούν αργά ή καθόλου με το DPPH. Αυτό εκφράζεται με τις τιμές του T_{IC50} που κυμαίνονται μεταξύ 1,15 min για το ασκορβικό οξύ και 103 min για την ρουτίνη (rutin). Συνεπώς, η αντιοξειδωτική ενεργότητα ενός μίγματος αντιοξειδωτικών δεν μπορεί να ρυθμιστεί ή να προβλεφθεί. Επίσης, η κινητική μεταξύ του DPPH και των αντιοξειδωτικών δεν είναι γραμμική σε σχέση με τις συγκεντρώσεις του DPPH. Για το λόγο αυτό είναι προτιμότερο να εκφράζεται η αντιοξειδωτική ενεργότητα με χρήση της IC_{50} .⁽³⁰⁾

4 Γενικές μέθοδοι σύνθεσης νέων αναλόγων χαλκονών και ωρονών

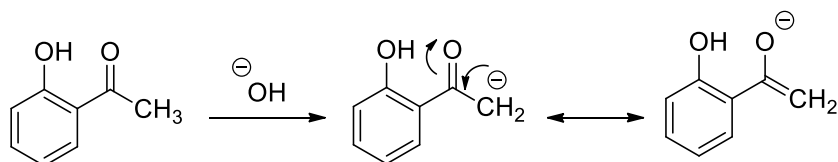
4.1 Εισαγωγή

Η σύνθεση των νέων αναλόγων χαλκονών και ωρονών απαιτεί από ένα ως και τέσσερα συνθετικά στάδια. Η σύνθεση νέων χαλκονών επιτυγχάνεται μέσω αντίδρασης συμπύκνωσης τύπου Claisen-Schmidt. Τα προϊόντα αυτών των αντιδράσεων συμπύκνωσης μπορούν να υποβληθούν σε αντίδραση οξειδωτικής κυκλοποίησης για να δώσουν τις αντίστοιχες ωρόνες. Στις ωρόνες που προκύπτουν, πραγματοποιείται απομάκρυνση της μεθυλο-ομάδας από τους μεθοξυ-υποκαταστάτες τους για την παραγωγή επιπλέον αναλόγων ωρονών.

4.2 Σύνθεση χαλκονών - Αντίδραση συμπύκνωσης Claisen-Schmidt

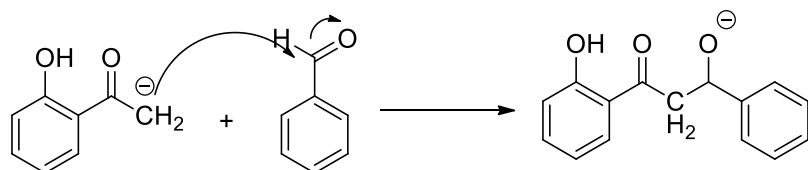
Η σύνθεση των χαλκονών πραγματοποιήθηκε μέσω αντίδρασης συμπύκνωσης τύπου Claisen – Schmidt μεταξύ κατάλληλα υποκατεστημένων 2-υδροξυ-ακετοφαινονών και βενζαλδεϋδών. Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιείται αντίδραση συμπύκνωσης μεταξύ μιας κετόνης και μιας βενζαλδεϋδης σε πολικό διαλύτη αιθανόλη και χρησιμοποιώντας ως καταλύτη το υδροξείδιο του καλίου (KOH). Η αλδολική συμπύκνωση, κατηγορία στην οποία ανήκει και η αντίδραση Claisen-Schmidt, βασίζεται στη δραστηριότητα του καρβονυλίου για τη δημιουργία ενός νέου δεσμού άνθρακα- άνθρακα.

Αρχικά, το ισχυρά βασικό ανιόν HO⁻ αποσπά ένα όξινο υδρογόνο από το CH₃ της ακετοφαινόνης, και σχηματίζεται το αντίστοιχο ενολικό ιόν (Σχήμα 4-1).



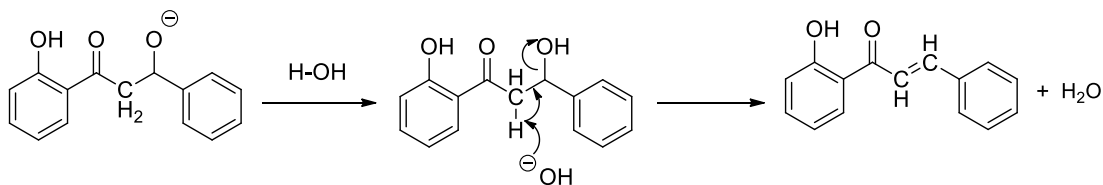
Σχήμα 4-1 Απόσπαση όξινου υδρογόνου από την ακετοφαινόνη προς σχηματισμό ενολικού ιόντος

Μέσω αντίδρασης πυρηνόφιλης προσθήκης, το ενολικό ιόν προσβάλλει τον ηλεκτρονιόφιλο άνθρακα του καρβονυλίου της βενζαλδεΐδης και σχηματίζεται το ενδιάμεσο αλδολικό προϊόν (β-υδροξυ-κετόνη) (Σχήμα 4-2).



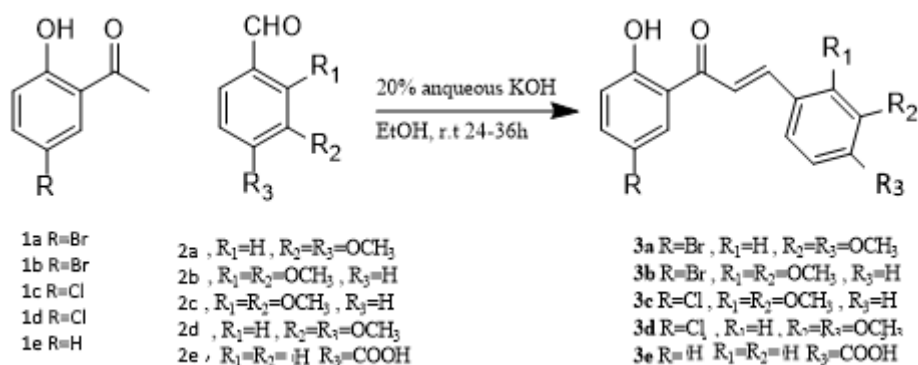
Σχήμα 4-2 Πυρηνόφιλη προσθήκη του ενολικού ιόντος στον ηλεκτρονιόφιλο C του C=O

Στο βασικό περιβάλλον της αντίδρασης πραγματοποιείται στη συνέχεια απόσπαση ενός μορίου H₂O οπότε σχηματίζεται το τελικό προϊόν της αλδολικής συμπύκνωσης, η α,β-ακόρεστη κετόνη (Σχήμα 4-3).



Σχήμα 4-3 Αντίδραση οξέος- βάσεως και σχηματισμός του προϊόντος αλδολικής συμπύκνωσης. Απόσπαση όξινου υδρογόνου και αφυδάτωση προς σχηματισμό της τελικής χαλκόνης

Στο Σχήμα 5 παρουσιάζονται συνοπτικά οι συντιθέμενες στην παρούσα διπλωματική εργασία χαλκόνες (3a-e) (Σχήμα 4-4). Οι 2-υδροξυ-ακετοφαινόνες και οι βενζαλδεΐδες που χρησιμοποιούνται, λαμβάνονται είτε ως εμπορικά αντιδραστήρια ενώ οι χαλκόνες που παράγονται, χρησιμοποιούνται στη συνέχεια σε αντιδράσεις οξειδωτικής κυκλοποίησης προς σύνθεση ωρονών.



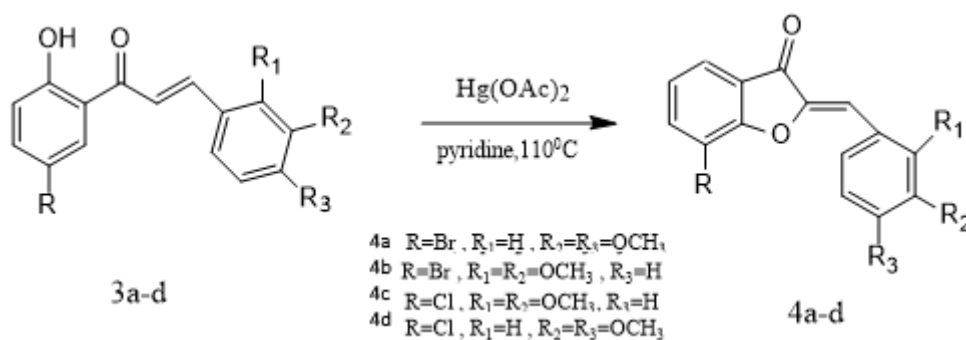
Σχήμα 4-4 Σύνθεση χαλκονών 3a-e

4.3 Γενική μέθοδος σύνθεσης χαλκονών 3a-3e

Η αντίδραση λαμβάνει χώρα σε βασικό περιβάλλον (αιθανόλη - 20% υδατικό διάλυμα KOH). Τα δύο αντιδρώντα **1** και **2**, και το KOH (υπό την μορφή υδατικού διαλύματος 20%) προστίθενται σε γραμμομοριακή αναλογία 1:1:3, ενώ ανά 1 mol αντιδρώντος χρησιμοποιούνται 18 mL αιθανόλης ως διαλύτης. Η αντίδραση πραγματοποιείται υπό ανάδευση, υπό αδρανής συνθήκες (παροχή N₂) και διαρκεί 24 h σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC). Μετά το πέρας της αντίδρασης, το μίγμα οξινίζεται με υδατικό διάλυμα HCl 10% ως pH=1 και παρατηρείται καταβύθιση του προϊόντος υπό την μορφή στερεού, το οποίο και παραλαμβάνεται μετά από διήθηση υπό κενό, με έκπλυση του ιζήματος με υδατικό διάλυμα HCl 10%. Σε περίπτωση μη καταβύθισης στερεού, πραγματοποιείται εκχύλιση του μίγματος με οξικό αιθυλεστέρα (3 x 15 mL). Τα οργανικά εκχυλίσματα ενώνονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄ και ακολουθεί εξάτμιση υπό κενό του διαλύτη. Απαιτείται ξήρανση του στερεού σε ξηραντήρα για να απομακρυνθεί όλη η υγρασία. Η χαλκόνη που παράγεται είναι σχετικά υψηλής καθαρότητας. Η αντιδράσεις έχουν αποδόσεις 43-70%. Προκειμένου να επιτευχθεί καθαρισμός του ιζήματος πραγματοποιείται ανακρυστάλλωση με μεθανόλη και διχλωρομεθάνιο στους 65°C και ψύξη του μίγματος έως ότου καταβυθιστούν οι κρύσταλλοι του τελικού προϊόντος. Το στερεό προϊόν της ανακρυστάλλωσης διηθείται υπό κενό και εκπλένεται με μεθανόλη. Στη συνέχεια τοποθετείται σε αντλία υψηλού κενού με σκοπό την απομάκρυνση της εναπομένουσας υγρασίας και φυλάσσεται σε ξηραντήρα.

4.4 Αντίδραση οξειδωτικής κυκλοποίησης

Η σύνθεση των ωρονών **4a-4d** πραγματοποιήθηκε μέσω αντίδρασης οξειδωτικής κυκλοποίησης χρησιμοποιώντας ως πρώτη ύλη τις χαλκόνες **3a-d**. Η παρασκευή των ωρονών γίνεται μέσω αντίδρασης χαλκόνων με οξικό υδράργυρο σε γραμμομοριακή αναλογία 1:1.25 σε διαλύτη πυριδίνη. Για κάθε mmol χαλκόνης χρησιμοποιούνται 10 mL πυριδίνης. Η αντίδραση πραγματοποιείται στους 110 °C, υπό ανάδευση και αδρανείς συνθήκες. (Σχήμα 4-5).



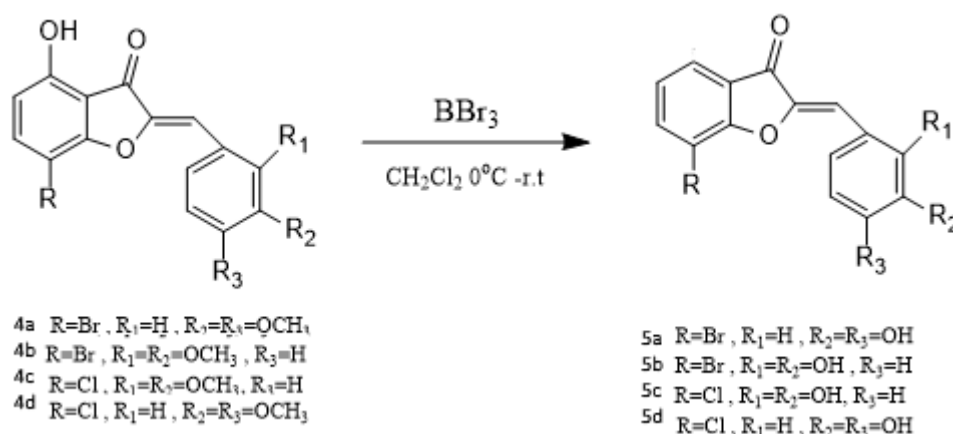
Σχήμα 4-5 Σύνθεση των ωρονών **4a-d**

4.4.1 Γενική Μέθοδος Σύνθεσης Ωρονών **4a-4g**

Η αντίδραση πραγματοποιείται σε διαλύτη πυριδίνη με χρήση οξικού υδραργύρου ως καταλύτη, σε αναλογία αντιδρώντος-καταλύτη 1:1,25 ή και μεγαλύτερη αναλογία καταλύτη, κατά περίπτωση. Το μίγμα της αντίδρασης θερμαίνεται στους 110 °C με ανάδευση για 1h, ή και για περισσότερο χρόνο (η εξέλιξη της αντίδρασης παρακολουθείται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας, TLC). Μετά το πέρας της αντίδρασης, το μίγμα ψύχεται με την απόχυση αυτού σε διάλυμα πάγου και νερού και κατόπιν οξινίζεται με υδατικό διάλυμα HCl 10% ως pH=1. Στο οξινισμένο μίγμα γίνεται εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο (DCM) και η οργανική φάση, αφού πρώτα υποβληθεί σε ξήρανση με Na₂SO₄, εξατμίζεται υπό κενό και το προϊόν λαμβάνεται υπό την μορφή στερεού. Οι αντιδράσεις έχουν τις περισσότερες φορές ικανοποιητικές αποδόσεις της τάξεως των 50-72%. Για μεγαλύτερου βαθμού καθαρότητας προϊόν, γίνεται ανακρυστάλλωση αυτού με μεθανόλη/διχλωρομεθάνιο.

4.5 Αντίδραση αποπροστασίας ωρονών

Με απωτέρο στόχο τη διερεύνηση της επίδρασης της παρουσίας φαινολικών υδροξυλίων στη βιολογική δράση των ωρονών, πραγματοποιήθηκε απομάκρυνση της μεθυλο-ομάδας από τους μεθοξυ-υποκαταστάτες των ωρονών **4a-d** (Σχήμα 4-6).



Σχήμα 4-6 Σύνθεση των αποπροστατευμένων ωρονών **5a-d**

Η αντίδραση λαμβάνει χώρα υπό την επίδραση τριβρωμιούχου βορίου, σε αναλογία 5mol BBr₃ ανά mol μεθόξυ ομάδας σε διαλύτη διχλωρομεθάνιο. Το μίγμα της αντίδρασης τοποθετείται σε παγόλουτρο (0°C) με ανάδευση για 24 h. Μετά το πέρας της αντίδρασης, το μίγμα της αντίδρασης, το οποίο έχει ιώδες χρώμα, αναμειγνύεται με μίγμα νερού και πάγου ως που να αποκτήσει κίτρινο χρώμα, τυπικά για 15-30 min. Κατόπιν, το προκύπτον μίγμα εκχυλίζεται με οξικό αιθυλεστέρα (EtOAc) και η οργανική φάση, αφού πρώτα υποβληθεί σε ξήρανση με Na₂SO₄, εξατμίζεται υπό κενό και το προϊόν λαμβάνεται υπό την μορφή στερεού. Οι αποδόσεις σε προϊόν στις περισσότερες περιπτώσεις είναι λίαν ικανοποιητικές από 36% έως 95%.

Πειραματικό Μέρος

5 Σύνθεση νέων αναλόγων χαλκονών και ωρονών

5.1 Εισαγωγή

5.1.1 Σκοπός

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι ο σχεδιασμός και η σύνθεση νέων αναλόγων χαλκονών και ωρονών καθώς και η μελέτη και ταυτοποίηση της δομής τους μέσω φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού ($^1\text{H NMR}$). Από την κατηγορία των φλαβονοειδών, επελέχθη η σύνθεση αναλόγων χαλκονών και ωρονών καθώς αποτελούν μόρια τα οποία απαντώνται ως συστατικά στα φυτά και έχουν μεγάλη βιοσυνθετική σημασία καθώς είναι πρόδρομες ενώσεις άλλων κατηγοριών φλαβονοειδών. Επιπλέον, οι χαλκόνες και οι ωρόνες, παρουσιάζουν ελπιδοφόρες θεραπευτικές ιδιότητες όπως αντιοξειδωτική, αντιμικροβιακή, αντικαρκινική, αντι-HIV, αντιφλεγμονώδη δράση. Για το λόγο αυτό το ερευνητικό ενδιαφέρον έχει στραφεί στη μελέτη και στην ανάπτυξη μεθόδων σύνθεσης νέων αναλόγων με σκοπό την ανάπτυξη πιο ισχυρών και αποτελεσματικών φαρμάκων για τη θεραπεία πολλών θανάσιμων ασθενειών.

Πιο αναλυτικά, οι στόχοι της εν λόγω διπλωματικής εργασίας είναι οι εξής :

- ✓ Η σύνθεση νέων αναλόγων χαλκονών μέσω της αντίδρασης συμπύκνωσης Claisen-Schmidt μεταξύ κατάλληλα υποκατεστημένων 2-υδροξυ-ακετοφαινονών και βενζαλδεϋδών.
- ✓ Η σύνθεση νέων αναλόγων ωρονών μέσω της αντίδραση οξειδωτικής κυκλοποίησης των αντίστοιχων χαλκονών.

- ✓ Η αποπροστασία των συντιθέμενων ωρονών ώστε να προκύψουν αποπροστατευμένα ανάλογα και η μελέτη της επίδρασης των φαινολικών ομάδων στην αντιοξειδωτική δράση των ενώσεων.
- ✓ Η ταυτοποίηση της δομής των νέων αναλόγων χαλκονών και ωρονών μέσω φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού ($^1\text{H NMR}$)

Επιπλέον στόχο αποτελεί η μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης των συντιθέμενων φλαβονοειδών. Τα πειράματα προσδιορισμού αντιοξειδωτικής δράσης βρίσκονται σε εξέλιξη στο Τμήμα Φαρμακευτικής του Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.

5.1.2 Γενικά

Στο παρόν κεφάλαιο, περιγράφεται αναλυτικά η σύνθεση νέων αναλόγων χαλκονών, ωρονών που πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του ΕΜΠ και η ταυτοποίησή τους μέσω φασματοσκοπίας NMR που πραγματοποιήθηκε στο Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών.

Για έκαστο μόριο δίνεται η αναλυτική μεθοδολογία σύνθεσής του, η απόδοση καθώς και φασματοσκοπικά δεδομένα ($^1\text{H NMR}$) και το σημείο τήξεως του προϊόντος που προέκυψε. Σημειώνεται πως η πρόοδος όλων των αντιδράσεων που ακολουθούν ελέγχθηκε κατά την σύνθεση στο εργαστήριο με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC).

5.1.3 Όργανα και συσκευές

Ο χαρακτηρισμός κι η ταυτοποίηση της δομής των ενώσεων που συντέθηκαν πραγματοποιήθηκε μέσω φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού $^1\text{H NMR}$.

Για τη λήψη των φασμάτων πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού, $^1\text{H NMR}$, χρησιμοποιήθηκε το όργανο Varian MHz του Εθνικού Ιδρύματος Έρευνών.

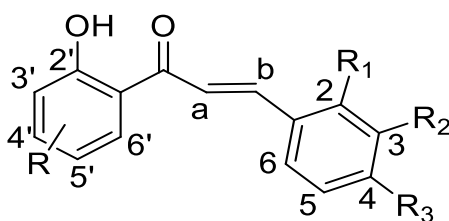
Οι τιμές των χημικών μετατοπίσεων δίνονται σε ppm. Η πολλαπλότητα των σημάτων στα φάσματα $^1\text{H NMR}$ αναφέρονται ως: s (singlet, απλό), d (doublet, διπλό), t (triplet,

τριπλό), q (quartet, τετραπλό), m (multiplet, πολλαπλό), br(broad, ευρύ). Οι σταθερές συζεύξεως J δίνονται σε Hz.

Τα σημεία τήξης έχουν ληφθεί σε ανοικτούς τριχοδιαμετρικούς σωλήνες σε συσκευή Gallenkamp και δεν έχουν διορθωθεί.

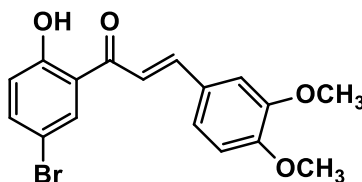
Ο έλεγχος της καθαρότητας των ενώσεων και η παρακολούθηση της πορείας των αντιδράσεων έγινε με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC) σε πλάκες αλουμινίου, επιστρωμένες με Silica gel F254 της εταιρίας Merck. Οι κηλίδες των χρωματογραφημάτων TLC εμφανίστηκαν με λυχνία υπεριώδους (UV) ακτινοβολίας στα 254 nm και με εμποτισμό σε διάλυμα φωσφομολυβδαινικού οξέος (PMA) σε αναλογία (αιθανολικό διάλυμα PMA 7% /EtOH 1:2).

5.2 Σύνθεση χαλκονών 3a-3e



Σχήμα 5-Γενική δομή χαλκονών

5.2.1 (E)-1-(5-βρωμο-2-υδροξυφαινυλο)-3-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)προπ-2-εν-1-όνη (3a)



Σχήμα 5-1 Χημικός τύπος της 3a

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη Γενική Μέθοδο σύνθεσης χαλκονών, με την προσθήκη 2.32 mmol (500 mg) της 5-βρώμο-2-υδροξυ-ακετοφαινόνης **1a** και 2,32 mmol (500 mg) της βενζαλδεΰδης **2a** σε 6 mL αιθανόλης και 2 mL υδατικού διαλύματος KOH. Το μίγμα αναδεύεται επί 24 h σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Η

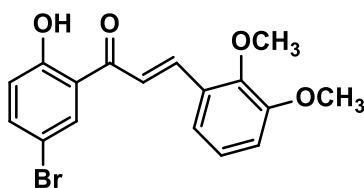
πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με TLC (διαλύτης ανάπτυξης: P.E./EtOH 8:2) Κατόπιν, το μίγμα της αντίδρασης οξινίζεται με υδατικό διάλυμα HCl 10% ως pH=1 και παρατηρείται καταβύθιση του προϊόντος υπό την μορφή στερεού, το οποίο και παραλαμβάνεται μετά από διήθηση υπό κενό, με έκπλυση του ιζήματος με υδατικό διάλυμα HCl 10%. Το ίζημα, το οποίο είναι φαιοκίτρινο στερεό, παραλαμβάνεται και καθαρίζεται μέσω ανακρυστάλλωσης με μεθανόλη και ελάχιστη ποσότητα διγλωρομεθανίου.

Απόδοση: 43%

Σημείο τήξεως: 171-174 °C

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): 12,84 ppm (s, 1H, -OH) , 7.906 ppm (d, 1H, $J_{b,a}=15.3\text{Hz}$, Hb), 7.404 ppm (d, 1H, $J_{a,b}=15.3\text{ Hz}$, Ha), 8.006 ppm (d, 1H, $J_{6',4'}=2,4\text{ Hz}$, H-6'), 7.550 ppm (dd, 1H, $J_{4',6'} = 2,4\text{ Hz}$ $J_{4',3'} = 8,7\text{ Hz}$, H-4') , 7.292 (dd , 1H, $J_{6,2} = 1,8\text{ Hz}$ $J_{6,5} = 8,4\text{ Hz}$, H-6) , 7,179 ppm (d , 1H , $J_{2,6} = 1,8\text{ Hz}$, H-2), 6,935 ppm (d , 1H, $J_{3',4'} = 9\text{ Hz}$, H-3') , 6,928 ppm (d , 1H , $J_{5,6} = 8.4\text{ Hz}$, H-5), 4.010 ppm (s , 3H , -OCH₃) , 3.970 ppm (s, 3H , -OCH₃)

5.2.2 (E)-1-(5-βρωμο-2-υδροξυφαινυλο)-3-(2,3-διμεθοξυφαινυλο)προπ-2-εν-1-όνη (3b)



Σχήμα 5-2 Χημικός τύπος της 3b

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη Γενική Μέθοδο σύνθεσης χαλκονών, με την προσθήκη 2.32 mmol (500 mg) της 5-βρώμο-2-υδροξυ-ακετοφαινόνης **1b** και 2,32 mmol (500 mg) της βενζαλδεΐδης **2b** σε 6 mL αιθανόλης και 2 mL υδατικού διαλύματος KOH. Το μίγμα αναδεύεται επί 24 h σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με TLC (διαλύτης ανάπτυξης: P.E./EtOH 8:2) Κατόπιν, το μίγμα της αντίδρασης οξινίζεται με υδατικό διάλυμα HCl 10% ως pH=1 και παρατηρείται καταβύθιση του προϊόντος υπό την μορφή στερεού, το οποίο και

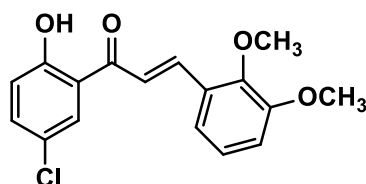
παραλαμβάνεται μετά από διήθηση υπό κενό, με έκπλυση του ιζήματος με υδατικό διάλυμα HCl 10%. Το ίζημα, το οποίο είναι φαιοκίτρινο στερεό, παραλαμβάνεται και καθαρίζεται μέσω ανακρυστάλλωσης με μεθανόλη και ελάχιστη ποσότητα διχλωρομεθανίου.

Απόδοση: 70%

Σημείο τήξεως: 141 – 143,5 °C

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): 12,740 ppm (s, 1H, -OH), 8.224 ppm (d, 1H, $J_{b,a} = 15,3$ Hz, H_b), 7.998 ppm (d, 1H, $J_{6',4'} = 2,4$ Hz, H-6'), 7.648 ppm (d, 1H, $J_{a,b} = 15,6$ Hz, H_a), 7.563 ppm (dd, 1H, $J_{4',6'} = 2,4$ Hz $J_{4',3'} = 9$ Hz, H-4'), 7.309 (dd, 1H, $J_{6,5} = 7,8$ Hz $J_{6,4} = 1,5$ Hz, H-6), 7,131 ppm (t, 1H, $J_{5,6,4} = 8$ Hz, H-5), 7,083 ppm (dd, 1H, $J_{4,6} = 1,5$ Hz $J_{4,5} = 8,7$ Hz, H-4), 6,940 ppm (d, 1H, $J_{3',4'} = 9$ Hz, H-3'), 3.939 ppm (s, 3H, -OCH₃) 3,926 ppm (s, 3H, -OCH₃)

5.2.3 (E)-1-(5-χλωρο-2-υδροξυφαινυλο)-3-(2,3-διμεθοξυφαινυλο)προπ-2-εν-1-όνη (3c)



Σχήμα 5-3 Χημικός τύπος της 3c

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη Γενική Μέθοδο σύνθεσης χαλκονών, με την προσθήκη 2 mmol (341,2 mg) της 5-χλωρο-2-υδροξυ-ακετοφαινόνης **1c** και 2mmol (332,36 mg) της βενζαλδεΐδης **2c** σε 6 mL αιθανόλης και 2 mL υδατικού διαλύματος KOH. Το μίγμα αναδεύεται επί 24 h σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με TLC (διαλύτης ανάπτυξης: P.E./EtOH 8:2) Κατόπιν, το μίγμα της αντίδρασης οξινίζεται με υδατικό διάλυμα HCl 10% ως pH=1 και παρατηρείται καταβύθιση του προϊόντος υπό την μορφή στερεού, το οποίο και παραλαμβάνεται μετά από διήθηση υπό κενό, με έκπλυση του ιζήματος με υδατικό διάλυμα HCl 10%. Το ίζημα, το οποίο είναι φαιοκίτρινο στερεό, παραλαμβάνεται και

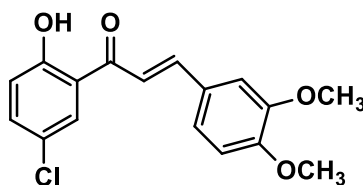
καθαρίζεται μέσω ανακρυστάλλωσης με μεθανόλη και ελάχιστη ποσότητα διχλωρομεθανίου.

Απόδοση: 61%

Σημείο τήξεως: 126,6-128 °C

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): 12.726 ppm (s, 1H, -OH), 8.227 ppm (d, 1H, J_{b,a} = 15,3 Hz, H_b), 7.857 ppm (d, 1H, J_{6',4'} = 2,4 Hz, H-6'), 7.651 ppm (d, 1H, J_{a,b} = 15,3 Hz, H_a), 7.435 ppm (dd, 1H, J_{4',6'} = 2,4 Hz, J_{4',3'} = 8,7 Hz, H-4'), 7.304 ppm (dd, 1H, J_{6,4} = 1,8 Hz, J_{6,5} = 7,5 Hz, H-6), 7.128 ppm (t, 1H, J_{5,4,6} = 8 Hz, H-5), 7.029-6.973 ppm (m, 2H, H-3, H-4'), 3.940 ppm (s, 3H, -OCH₃), 3.925 ppm (s, 3H, -OCH₃)

5.2.4 (E)-1-(5-χλωρο-2-υδροξυφαινυλο)-3-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)προπ-2-εν-1-όνη (3d)



Σχήμα 5-4 Χημικός τύπος της 3d

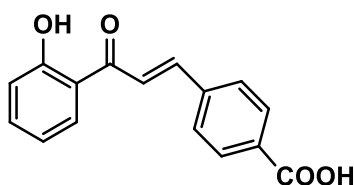
Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη Γενική Μέθοδο σύνθεσης χαλκονών, με την προσθήκη 2 mmol (341,2 mg) της 5-χλωρο-2-υδροξυ-ακετοφαινόνης (1d) και 2mmol (332,36 mg) της βενζαλδεΐδης **2d** σε 6 mL αιθανόλης και 2 mL υδατικού διαλύματος KOH. Το μίγμα αναδεύεται επί 24 h σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με TLC (διαλύτης ανάπτυξης: P.E./EtOH 8:2). Κατόπιν, το μίγμα της αντίδρασης οξινίζεται με υδατικό διάλυμα HCl 10% ως pH=1 και παρατηρείται καταβύθιση του προϊόντος υπό την μορφή στερεού, το οποίο και παραλαμβάνεται μετά από διήθηση υπό κενό, με έκπλυση του ιζήματος με υδατικό διάλυμα HCl 10%. Το ίζημα, το οποίο είναι φαιοκίτρινο στερεό, παραλαμβάνεται και καθαρίζεται μέσω ανακρυστάλλωσης με μεθανόλη και ελάχιστη ποσότητα διχλωρομεθανίου.

Απόδοση: 51%

Σημείο τήξεως: 169.9-171.1 °C

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): 12.813 ppm (s, 1H, -OH) , 7.904 ppm (d , 1H , J_{b,a} = 15,3 Hz , H_b) , 7.868 ppm (d , 1H , J_{6',4'} = 2,7 Hz, H-6') , 7.410 ppm (d , 1H , J_{a,b} = 15.3 Hz , H_a) , 7.420 ppm (dd , 1H , J_{4',6'} = 2,4 Hz J_{4',3'} = 9 Hz , H-4') , 7.280 ppm (dd , 1H , J_{6,2} = 2,1 Hz J_{6,5} = 8,1 Hz , H-6) , 7.177 ppm (d, 1H , J_{2,6} = 2.1 Hz , H-2) , 6.942 ppm (dd , 1H , J_{3',4'} = 9 Hz, H-3') , 6.924 ppm (dd , 1H , J_{5,6} = 8,1 Hz , H-5) , 4.004 ppm (s, 3H, -OCH₃) , 3.968 ppm (s, 3H, -OCH₃)

5.2.5 (E)-4-(3-(2-υδροξυφαινυλο)-3-οξοπροπ-1-εν-1-υλ)βενζοϊκό οξύ (3e)



Σχήμα 5-5 Χημικός τύπος της 3e

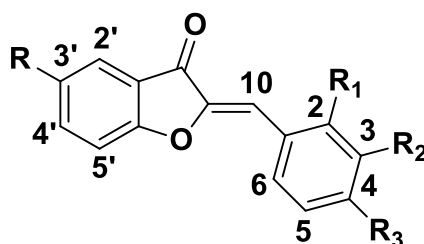
Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο σύνθεσης χαλκονών, με την προσθήκη 7,34 mmol (1000 mg) της 2-υδροξυ-ακετοφαινόνης (1e) και 7,34 mmol (1102 mg) της βενζαλδεΐδης 2e σε 18,0 mL αιθανόλης και 6,0 mL υδατικού διαλύματος KOH. Το μίγμα αναδεύεται επί 24 h σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Κατόπιν, το μίγμα της αντίδρασης ψύχεται σε παγόλουτρο και οξινίζεται με υδατικό διάλυμα HCl 10% ως pH=1 και παρατηρείται καταβύθιση του προϊόντος (κίτρινο ίζημα) υπό την μορφή στερεού, το οποίο και παραλαμβάνεται μετά από διήθηση υπό κενό, με έκπλυση του ιζήματος με υδατικό διάλυμα HCl 10%. Το ίζημα, το οποίο είναι κίτρινο στερεό, παραλαμβάνεται και καθαρίζεται με ανακρυστάλλωση από σύστημα διαλυτών μεθανόλη-διχλωρομεθάνιο.

Απόδοση: 25%

Σημείο τήξεως: 248,5-250 °C

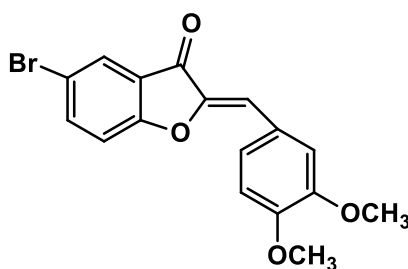
^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): 13.157 ppm (s, 1H, -COOH), 12.337 ppm (s, 1H, -OH), 8.251 ppm (dd, 1H, $J_{3',5'} = 0,9$ Hz $J_{3',4'} = 4,2$ Hz, H-3'), 8.128 ppm (d, 1H, $J_{b,a} = 7,8$ Hz, H_b), 8.031-7.995 ppm (m, 4H, H-3, H-5, H-5', H-6'), 7.861 ppm (d, 1H, $J_{a,b} = 7,8$ Hz, H_a), 7.614 ppm (d t, 1H, $J = 0,6$ Hz, $J = 3,6$ Hz), 7.031 – 7.008 ppm (m, 2H, H-2, H-6)

5.3 Σύνθεση ωρονών 4a-d



Σχήμα 5-6 Γενική δομή ωρονών

5.3.1 (Z)-7-βρωμο-2-(3,4-διμεθοξυβενζυλιδενό)-4-υδροξυβενζοφουραν-3(2H)-όνη (4a)



Σχήμα 5-7 Χημικός τύπος της 4a

Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο σύνθεσης ωρονών, με την προσθήκη 0,28 mmol (100 mg) χαλκόνης **3a** και 0,35 mmol (110 mg) $\text{Hg}(\text{OAc})_2$ σε 2,8 mL πυριδίνης. Το μίγμα της αντίδρασης θερμαίνεται στους 110 °C με ανάδευση για 1 h. Κατόπιν, το μίγμα ψύχεται με την προσθήκη πάγου και εν συνεχεία οξινίζεται με υδατικό διάλυμα HCl 10% ως pH=1. Στο οξινισμένο μίγμα γίνεται εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο (3x15 mL). Τα οργανικά εκχυλίσματα ενώνονται, ξηραίνονται με Na_2SO_4 και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση. Παραλαμβάνεται στερεό

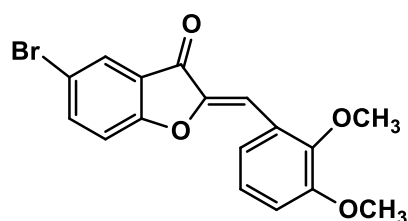
φαιοκίτρινου χρώματος, το οποίο καθαρίζεται μέσω ανακρυστάλλωσης σε σύστημα μεθανόλης/διχλωρομεθανίου.

Απόδοση: 72%

Σημείο τήξεως: 198.6-199 °C

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): 7.912 ppm (d, 1H, J_{2',4'} = 1,5 Hz, H-2'), 7.772 ppm (dd, 1H, J_{4',2'} = 1,5 Hz J_{4',5'} = 8,7 Hz, H-4'), 7.497-7.476 ppm (m, 2H, H-5', H-10), 7.215 ppm (d, 1H, J_{5',4'} = 8,7 Hz, H-5'), 6.945 ppm (d, 1H, J_{6,5} = 8,7 Hz, H-6), 6,890 ppm (s, 1H, H-2), 3.987 ppm (s, 3H, - OCH₃), 3.967 ppm (s, 3H, - OCH₃)

5.3.2 (Z)-7-βρωμο-2-(2,3-διμεθοξυβενζιλιδενο)-4-υδροξυ-βενζοφουραν-3(2H)-όνη (4b)



Σχήμα 5-8 Χημικός τύπος της **4b**

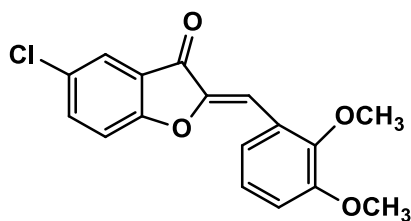
Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο σύνθεσης ωρονών, με την προσθήκη 0,28 mmol (100 mg) χαλκόνης **3b** και 0,35 mmol (110 mg) Hg(OAc)₂ σε 2,8 mL πυριδίνης. Το μίγμα της αντίδρασης θερμαίνεται στους 110 °C με ανάδευση για 1 h. Κατόπιν, το μίγμα ψύχεται με την προσθήκη πάγου και εν συνεχεία οξινίζεται με υδατικό διάλυμα HCl 10% ως pH=1. Στο οξινισμένο μίγμα γίνεται εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο (3x15 mL). Τα οργανικά εκχυλίσματα ενώνονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄ και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση. Παραλαμβάνεται στερεό φαιοκίτρινου χρώματος, το οποίο καθαρίζεται μέσω ανακρυστάλλωσης σε σύστημα μεθανόλης/διχλωρομεθανίου.

Απόδοση: 50%

Σημείο τήξεως: 152,9-154,4 °C

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): 7.901 ppm (d, 1H, J_{2',3'} = 2,1 Hz, H-1'), 7.860 ppm (dd, 1H, J_{4',2'} = 1,2 Hz, J_{4',5'} = 8,1 Hz, H-4'), 7.771 ppm (dd, 1H, J_{6,4} = 2,1 Hz, J_{6,5} = 8,7 Hz, H-6), 7.382 ppm (s, 1H, H-10), 7.212 ppm (d, 1H, J_{4,5} = 8,7 Hz, H-4), 7.140 ppm (t, 1H, J_{5,4,6} = 8,1 Hz, H-5), 6.980 ppm (d, 1H, J_{5',4'} = 8.1 Hz, H-5'), 3.915 ppm (s, 3H, -OCH₃), 3.895 ppm (s, 3H, -OCH₃).

5.3.3 (Z)-7-χλωρο-2-(2,3-διμεθοξυβενζυλιδενο)-4-υδροξυβενζοφουραν-3(2H)-όνη (4c)



Σχήμα 5-9 Χημικός τύπος της 4c

Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο σύνθεσης ωρονών, με την προσθήκη 0,33 mmol (104 mg) χαλκόνης **3c** και 0,40 mmol (129 mg) Hg(OAc)₂ σε 3,3 mL πυριδίνης. Το μίγμα της αντίδρασης θερμαίνεται στους 110 °C με ανάδευση για 1 h. Κατόπιν, το μίγμα ψύχεται με την προσθήκη πάγου και εν συνεχεία οξινίζεται με υδατικό διάλυμα HCl 10% ως pH=1. Στο οξινισμένο μίγμα γίνεται εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο (3x15 mL). Τα οργανικά εκχυλίσματα ενώνονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄ και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση. Παραλαμβάνεται στερεό ανοιχτού κίτρινου χρώματος, το οποίο καθαρίζεται μέσω ανακρυστάλλωσης σε σύστημα μεθανόλης/διχλωρομεθανίου.

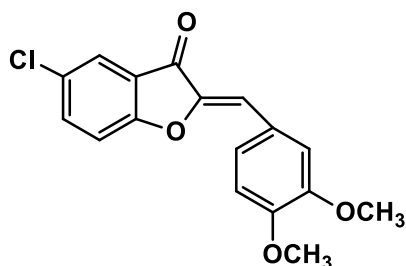
Απόδοση: 62%

Σημείο τήξεως: 138,8-140,5 °C

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): 7.880 ppm (d, 1H, J_{4',5'} = 7,8 Hz, H-4'), 7.770 ppm (s, 1H, H-2'), 7.591 ppm (d, 1H, J_{4,5} = 8,7 Hz, H-4), 7.406 ppm (s, 1H, H-10), 7.274 ppm (d, 1H, J_{6,5} = 8,7 Hz, H-6), 7.162 ppm (t, 1H, J_{5,4,6} = 8 Hz, H-5), 6.992 ppm

(d, 1H, $J_{5',4'} = 7,8$ Hz , H-5') , 3.939 ppm (s , 3H , -OCH₃), 3.917 ppm (s , 3H , -OCH₃).

5.3.4 (Z)-7-χλωρο-2-(3,4-διμεθοξυβενζιλιδενο)-4-υδροξυ-βενζοφουραν-3(2H)-όνη (4d)



Σχήμα 5-10 Χημικός τύπος της 4d

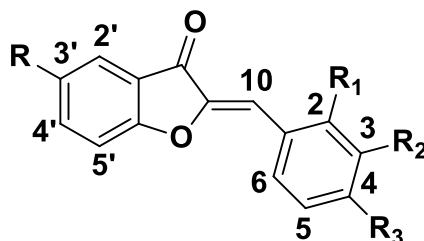
Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο σύνθεσης ωρονών, με την προσθήκη 0,33 mmol (104 mg) χαλκόνης **3d** και 0,40 mmol (129 mg) Hg(OAc)₂ σε 3,3 mL πυριδίνης. Το μίγμα της αντίδρασης θερμαίνεται στους 110 °C με ανάδευση για 1 h. Κατόπιν, το μίγμα ψύχεται με την προσθήκη πάγου και εν συνεχεία οξινίζεται με υδατικό διάλυμα HCl 10% ως pH=1. Στο οξινισμένο μίγμα γίνεται εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο (3x15 mL). Τα οργανικά εκχυλίσματα ενώνονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄ και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση. Παραλαμβάνεται στερεό ανοιχτού κίτρινου χρώματος, το οποίο καθαρίζεται μέσω ανακρυστάλλωσης σε σύστημα μεθανόλης/διχλωρομεθανίου.

Απόδοση: 70%

Σημείο τήξεως: 191-192 °C

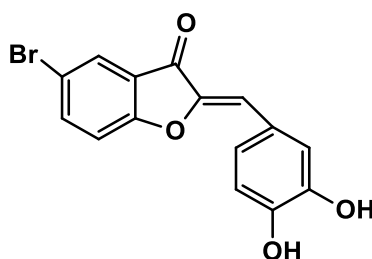
¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): 7.735 ppm (s , 1H, H-2'), 7.564 ppm (d , 1H , $J_{4',5'} = 8,4$ Hz, H-4'), 7.477-7.455 ppm (m , 2H ,H-10, H-5), 6.925 ppm (d, 1H , $J_{6,5} = 3$ Hz , H-6), 6.925 ppm (d , 1H , $J_{5',4'} = 8,4$ Hz, H-5') , 6.869 ppm (s , 1H, H-2) , 3.968 ppm (s , 3H , -OCH₃), 3.948 ppm (s , 3H , -OCH₃).

5.4 Σύνθεση αποπροστατευμένων ωρονών 5a-d



Σχήμα 5-11 Αριθμημένη δομή αποπροστατευμένων ωρονών

5.4.1 (Z)-7-βρωμο-2-(3,4-διδροξυβενζυλιδενο)-4-υδρόξυ-βενζοφουραν-3(2H)-όνη (5a)



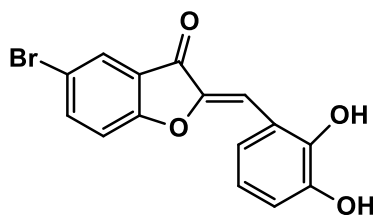
Σχήμα 5-12 Χημικός τύπος της 5a

Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο αποπροστασίας ωρονών, με την προσθήκη 0.1274 mmol (46 mg) ωρόνης **4a** και 1.274 mL διαλύματος BBr₃ μοριακότητας 1 M σε 1.7 mL ξηρό διχλωρομεθάνιο. Το μίγμα της αντίδρασης διατηρείται στους 0 °C με ανάδευση για 24 h. Κατόπιν, το μίγμα της αντίδρασης, το οποίο έχει ιώδες χρώμα, αναμειγνύεται με μίγμα νερού και πάγου, για περίπου 20 min και αποκτά κίτρινο χρώμα. Εν συνεχεία, το προκύπτον μίγμα υποβάλλεται σε εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα (EtOAc) (3x15 mL). Τα οργανικά εκχυλίσματα ενώνονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄ και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση. Παραλαμβάνεται στερεό έντονου πορτοκαλί χρώματος.

Απόδοση: 36%

Σημείο τήξεως: τήξη με αποσύνθεση > 230 °C

5.4.2 (Z)-7-βρωμο-2-(2,3-διυδροξυβενζυλιδενο)-4-υδροξύ-βενζοφουραν-3(2H)-όνη (5b)



Σχήμα 5-13 Χημικός τύπος της 5d

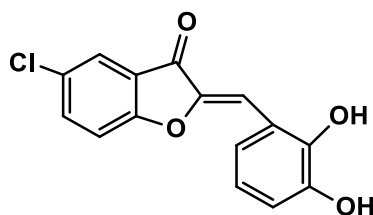
Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο αποπροστασίας ωρονών, με την προσθήκη 0.1868 mmol (67.5 mg) ωρόνης **4b** και 1.868 mL διαλύματος BBr_3 μοριακότητας 1 M σε 2.4 mL ξηρό διχλωρομεθάνιο. Το μίγμα της αντίδρασης διατηρείται στους 0 °C με ανάδευση για 24 h. Κατόπιν, το μίγμα της αντίδρασης, το οποίο έχει ιώδες χρώμα, αναμειγνύεται με μίγμα νερού και πάγου, για περίπου 20 min και αποκτά κίτρινο χρώμα. Εν συνεχεία, το προκύπτον μίγμα υποβάλλεται σε εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα (EtOAc) (3x15 mL). Τα οργανικά εκχυλίσματα ενώνονται, ξηραίνονται με Na_2SO_4 και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση. Παραλαμβάνεται στερεό έντονου πορτοκαλί χρώματος.

Απόδοση: 90%

Σημείο τήξεως: τήξη με αποσύνθεση > 170 °C

^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz): 9.746 ppm (s, 1H, -OH), 9.416 ppm (s, 1H, -OH), 9.959 ppm (s, 1H, H-1'), 7.935 ppm (d, 1H, $J_{4',5'} = 8,4$ Hz, H-4'), 7.626 ppm (d, 1H, $J_{6,5} = 7,8$ Hz, H-6), 7.561 ppm (d, 1H, $J_{5',4'} = 9$ Hz, H-5'), 7.310 ppm (s, 1H, H-10), 6.896 ppm (d, 1H, $J_{4,5} = 7,8$ Hz, H-4), 7.789 ppm (t, 1H, $J_{5,4,6} = 8,1$ Hz, H-5)

5.4.3 (Z)-7-χλωρο-2-(2,3-διυδροξυβενζυλιδενο)-4-υδροξυβενζοφουραν-3(2H)-όνη (5c)



Σχήμα 5-14 Χημικός τύπος της 5c

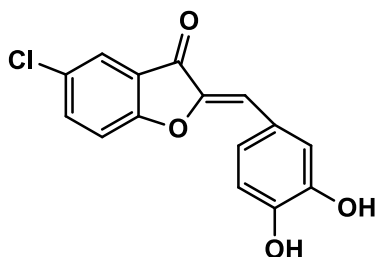
Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο αποπροστασίας ωρονών, με την προσθήκη 0.1452 mmol (46 mg) ωρόνης **4c** και 1.452 mL διαλύματος BBr_3 μοριακότητας 1 M σε 1.85 mL ξηρό διχλωρομεθάνιο. Το μίγμα της αντίδρασης διατηρείται στους 0 °C με ανάδευση για 24 h. Κατόπιν, το μίγμα της αντίδρασης, το οποίο έχει ιώδες χρώμα, αναμειγνύεται με μίγμα νερού και πάγου, για περίπου 20 min και αποκτά κίτρινο χρώμα. Εν συνεχεία, το προκύπτον μίγμα υποβάλλεται σε εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα (EtOAc) (3x15 mL). Τα οργανικά εκχυλίσματα ενώνονται, ξηραίνονται με Na_2SO_4 και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση. Παραλαμβάνεται στερεό έντονου πορτοκαλί χρώματος, το οποίο καθαρίζεται μέσω ανακρυστάλλωσης με μεθανόλη. Μετά από τον καθαρισμό προκύπτει στερεό κίτρινου χρώματος.

Απόδοση: 95%

Σημείο τήξεως: τήξη με αποσύνθεση > 170 °C

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): 9.749 ppm (s, 1H, -OH), 9.407 ppm (s, 1H, -OH), 7.840 ppm (d, 1H, $J_{2',6'} = 1,2$ Hz, H-2'), 7.821 ppm (dd, 1H, $J_{4',2'} = 1,2$ Hz $J_{4',5'} = 4,2$ Hz, H-4'), 7.640 – 7.606 ppm (m, 2H, H-5', H-6), 7.311 ppm (s, 1H, H-10), 6.896 ppm (dd, 1H, $J_{4,6} = 0,6$ Hz $J_{4,5} = 3,9$ Hz, H-4), 6.790 ppm (t, 1H, $J_{5,4,6} = 3,9$ Hz, H-5)

5.4.4 (Z)-7-χλωρο-2-(3,4-διυδροξυβενζυλιδενο)-4-υδρόξυ-βενζοφουραν-3(2H)-όνη (5d)



Σχήμα 5-15 Χημικός τύπος της 5d

Παρασκευάζεται σύμφωνα με την γενική μέθοδο αποπροστασίας ωρονών, με την προσθήκη 0.1357 mmol (43 mg) ωρόνης **4d** και 1.357 mL διαλύματος BBr_3 μοριακότητας 1 M σε 1.8 mL ξηρό διχλωρομεθάνιο. Το μίγμα της αντίδρασης διατηρείται στους 0 °C με ανάδευση για 24 h. Κατόπιν, το μίγμα της αντίδρασης, το οποίο έχει ιώδες χρώμα, αναμειγνύεται με μίγμα νερού και πάγου, για περίπου 20 min και αποκτά κίτρινο χρώμα. Εν συνεχεία, το προκύπτον μίγμα υποβάλλεται σε εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα (EtOAc) (3x15 mL). Τα οργανικά εκχυλίσματα ενώνονται, ξηραίνονται με Na_2SO_4 και ο διαλύτης εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση. Παραλαμβάνεται στερεό έντονου πορτοκαλί χρώματος, το οποίο καθαρίζεται μέσω ανακρυστάλλωσης με μεθανόλη. Μετά από τον καθαρισμό προκύπτει στερεό κίτρινου χρώματος.

Απόδοση: 39%

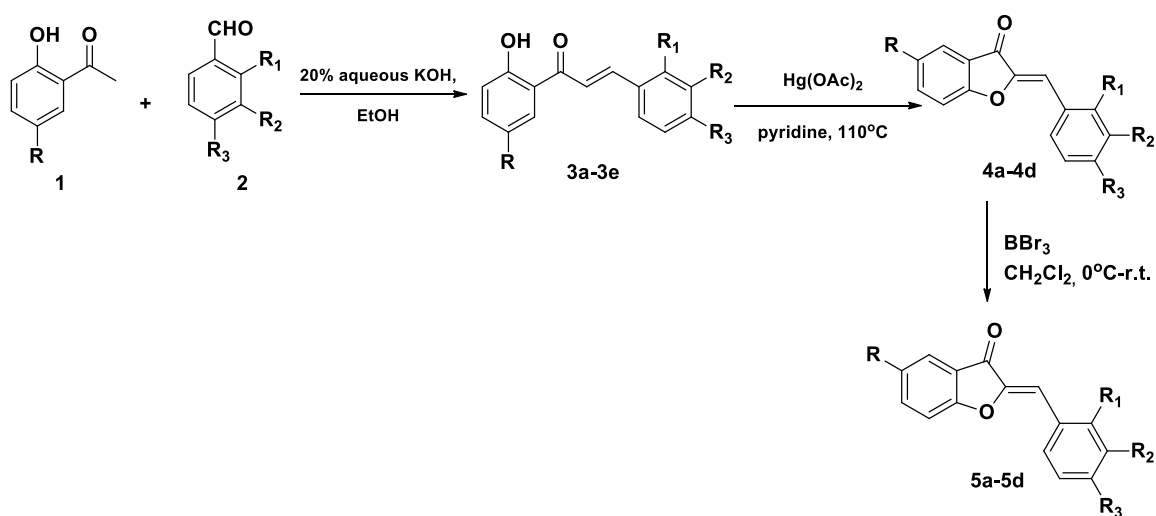
^1H NMR (MeOD, 300 MHz): 7.724 ppm (s, 1H, H-2'), 7.767 ppm (d, 1H, $J_{4',5'} = 2,1$ Hz, H=4'), 7.528 ppm (s, 1H, H-10), 7.417 ppm (d, 1H, $J_{6,5} = 8,7$ Hz, H-6), 7.280 ppm (d, 1H, $J_{5,6} = 7,8$ Hz, H-5), 6.844-6.827 ppm (m, 2H, H-2, H-5')

6 Αποτελέσματα και Συζήτηση

Στην παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε η σύνθεση και ο δομικός χαρακτηρισμός δεκατριών συνολικά φλαβονοειδών ενώσεων με πιθανή σημαντική βιολογική δράση. Πιο συγκεκριμένα συντέθηκαν πέντε χαλκόνες (**3a–3e**), τέσσερις ωρόνες (**4a–4d**) και τέσσερις αποπροστατευμένες ωρόνες (**5a–5d**).

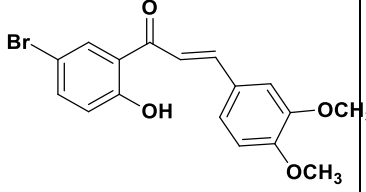
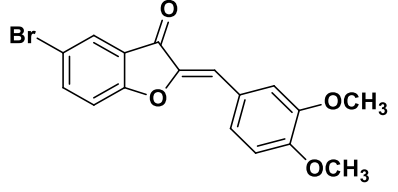
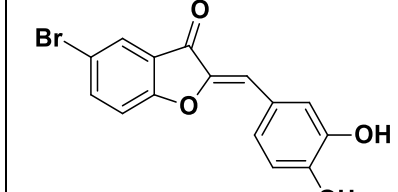
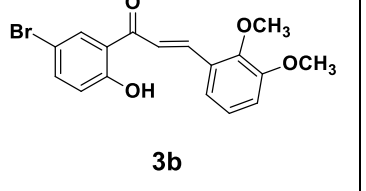
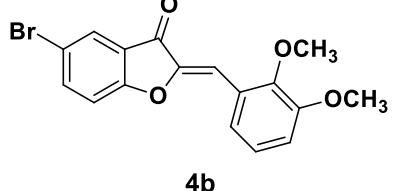
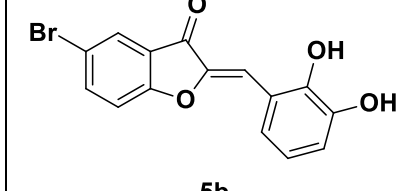
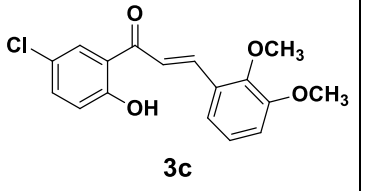
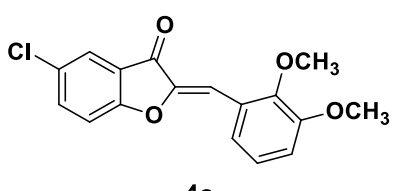
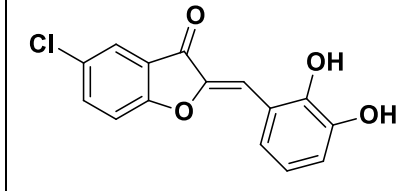
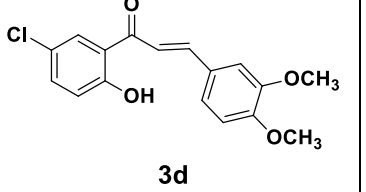
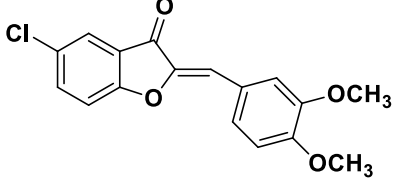
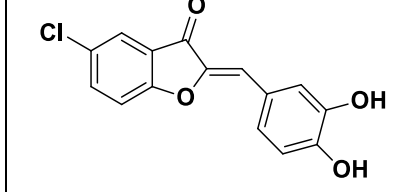
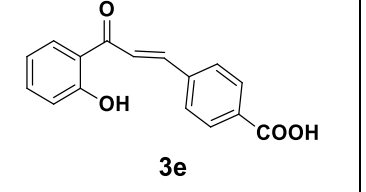
6.1 Σύνθεση φλαβονοειδών ενώσεων

Αρχικά συντέθηκαν πέντε χαλκόνες (**3a–3e**) μέσω της αντίδρασης συμπύκνωσης Claisen-Schmidt, μεταξύ ακετοφαινονών (**1**) και κατάλληλα υποκατεστημένων βενζαλδεϊδών (**2**). Ακολούθως μέσω μια αντίδρασης οξειδωτικής κυκλοποίησης συντέθηκαν τέσσερις προστατευμένες ωρόνες (**4a–4d**). Στο τελικό στάδιο πραγματοποιείται η αποπροστασία των μεθόξυ ομάδων των ωρονών **4a–4d** ώστε να συντεθούν τελικά τέσσερις αποπροστατευμένες ωρόνες (**5a–5d**). (Σχήμα 6-1)



Σχήμα 6-1 Σύνθεση φλαβονοειδών ενώσεων όπως χαλκονών (**3a–3e**), ωρονών (**4a–4d**) και απόπροστατευμένων ωρονών (**5a–5d**)

Πίνακας 2 Φλαβονοειδείς ενώσεις που παρήχθησαν

Χαλκόνες (3a-3e)	Ωρόνες (4a-4d)	Αποπροστατευμένες Ωρόνες (5a-5d)
 <p>3a</p>	 <p>4a</p>	 <p>5a</p>
* $\alpha.C.S.$ = 43%	** $\alpha.O.K.$ = 72%	*** $\alpha.A.\Omega$ = 36%
 <p>3b</p>	 <p>4b</p>	 <p>5b</p>
$\alpha.C.S.$ = 60%	$\alpha.O.K.$ = 50%	$\alpha.A.\Omega$ = 90%
 <p>3c</p>	 <p>4c</p>	 <p>5c</p>
$\alpha.C.S.$ = 71%	$\alpha.O.K.$ = 62%	$\alpha.A.\Omega$ = 95%
 <p>3d</p>	 <p>4d</p>	 <p>5d</p>
$\alpha.C.S.$ = 51%	$\alpha.O.K.$ = 70%	$\alpha.A.\Omega$ = 39%
 <p>3e</p>		
$\alpha.C.S.$ = 25%		

* $\alpha.C.S.$ = απόδοση αντίδρασης Claisen-Schmidt

** $\alpha.O.K.$ = απόδοση αντίδραση οξειδωτικής κυκλοποίησης

*** $\alpha.A.\Omega$ = απόδοση αποπροστασίας ωρονών

Οι αποδόσεις των αντιδράσεων συμπύκνωσης Claisen-Schmidt, μέσω των οποίων συντέθηκαν οι χαλκόνες **3a–3e**, υπολογίστηκαν αφού πραγματοποιήθηκε ανακρυστάλλωση των χαλκονών, προς περαιτέρω καθαρισμό. Αντίστοιχα προσδιορίστηκε η απόδοση της αντίδρασης οξειδωτικής κυκλοποίησης μέσω της οποίας συντέθηκαν οι προστατευμένες ωρόνες **4a–4d**. Τέλος προσδιορίστηκε η απόδοση της αντίδρασης αποπροστασίας για την σύνθεση των τελικών αποπροστατευμένων ωρονών **5a–5d** χωρίς να πραγματοποιηθεί περαιτέρω καθαρισμός τους.

Γενικά συμπεραίνεται ότι οι αποδόσεις όλων των συντιθέμενων προϊόντων είναι ικανοποιητικές καθώς οι αποδόσεις των αντιδράσεων συμπύκνωσης Claisen-Schmidt κυμαίνονται από 25% μέχρι 70%, οι οξειδωτικής κυκλοποίησης από 50% έως 70% και τέλος οι αποπροστασίας είναι από 36% έως 95%

Σημαντικό είναι το γεγονός ότι, ως επι το πλείστον, τα παραχθέντα προϊόντα παραλήφθηκαν σε υψηλή καθαρότητα έπειτα από απλή επεξεργασία ανακρυστάλλωσης κάτι που ταυτοποιήθηκε μέσω της φασματοσκοπίας $^1\text{H NMR}$.

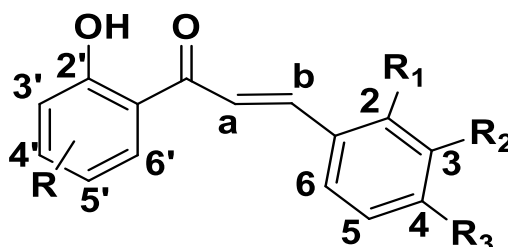
Τέλος, τα συντιθέμενα φλαβονοειδή προϊόντα έχουν ήδη αποσταλεί για μελέτη της αντιοξειδωτικής τους δράσης στη Φαρμακευτική σχολή του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης. Από αυτή τη μελέτη αναμένεται να προκύψει και κάποια συζήτηση ως προς τη συσχέτιση δομής-αντιοξειδωτικής δράσης των χαλκονών και των ωρονών.

6.2 Φασματοσκοπία $^1\text{H NMR}$

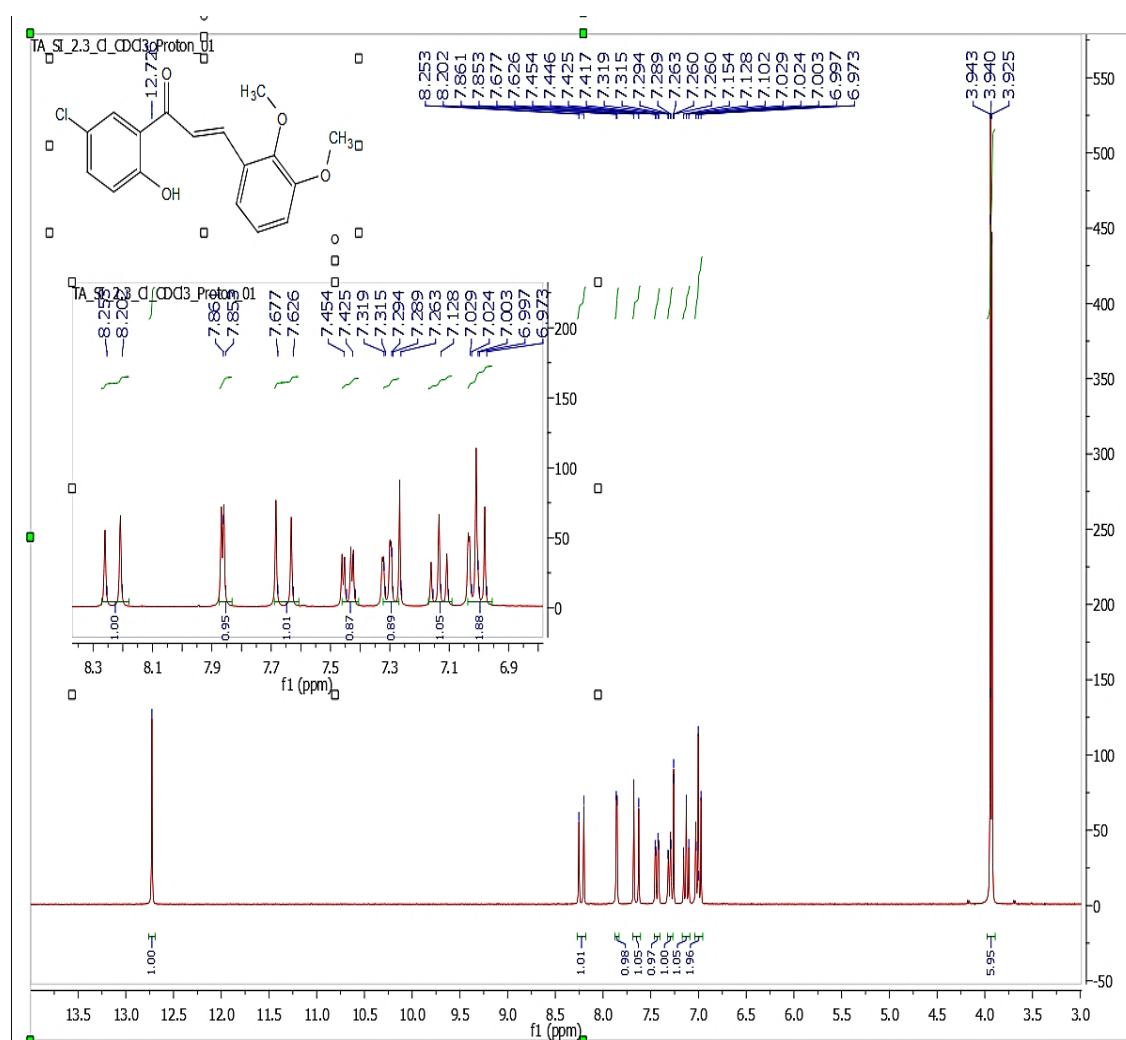
Η ταυτοποίηση και ο χαρακτηρισμός της δομής των παραγώγων που συντέθηκαν κατά την εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής εργασίας, πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού πρωτονίου NMR ($^1\text{H NMR}$), τα οποία ελήφθησαν στο Φασματογράφο NMR NMR Varian 300 MHz του Ινστιτούτου Βιολογίας, Φαρμακευτικής Χημείας και Βιοτεχνολογίας του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών (ΕΙΕ).

Στη συνέχεια πραγματοποιείται ανάλυση κάποιων χαρακτηριστικών φασμάτων των συντιθέμενων φλαβονοειδών ενώσεων.

6.2.1 Φάσμα ^1H NMR της (E)-1-(5-χλωρο-2-υδροξυφαινυλο)-3-(2,3-διμεθοξυφαινυλο)προπ-2-εν-1-ονης (3b)



Σχήμα 6-2 Γενική δομή χαλκονών



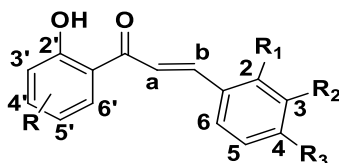
Εικόνα 6-1 Φάσμα ^1H NMR της (E)-1-(5-χλωρο-2-υδροξυφαινυλο)-3-(2,3-διμεθοξυφαινυλο)προπ-2-εν-1-ονης (3c) σε διαλύτη CDCl_3

Στο φάσμα ^1H NMR της (E)-1-(5-χλωρο-2-υδροξυφαινυλο)-3-(2,3-διμεθοξυφαινυλο)προπ-2-εν-1-όνης **3b** (Εικόνα 6.1) στα 12.72 ppm εμφανίζεται ως απλή κορυφή το πρωτόνιο της θέσης 2' λόγω της συμμετοχής του σε δεσμό υδρογόνου με το γειτονικό καρβονύλιο. Στα 8.227 ppm και στα 7,651 ppm εμφανίζονται δύο διπλές κορυφές που αντιπροσωπεύουν τα βινυλικά πρωτόνια β και α αντίστοιχα με $J = 15.3$ Hz. Η τιμή 15.3Hz των σταθερών σύζευξης των κορυφών των βινυλικών πρωτονίων επιβεβαιώνει την E-γεωμετρική διάταξη των δύο πρωτονίων. Η κορυφή στα 7.26 ppm αντιστοιχεί στο διαλύτη CDCl_3 . Στα 7.857 ppm εμφανίζεται μια διπλή κορυφή με $J=2.4$ Hz που οφείλεται στο πρωτόνιο H-6' λόγω σύζευξης με το πρωτόνιο H-4'. Το πρωτόνιο H-4' εμφανίζεται στα 7.435 ppm ως διπλή διπλών κορυφών λόγω σύζευξης με το πρωτόνιο H-6' με $J=2.4$ Hz και με το πρωτόνιο H-3' με $J=8.7$ Hz. Το πρωτόνιο H-6 εμφανίζεται στα 7,304 ppm ως διπλή κορυφή λόγω σύζευξης με το πρωτόνιο H-5 με $J= 7.5$ Hz. Στα 7.128 ppm εμφανίζεται μια τριπλή κορυφή που αντιπροσωπεύει το πρωτόνιο H-5 λόγω σύζευξης των πρωτονίων H-4 και H-6 με $J= 8\text{Hz}$. Στα εμφανίζεται μια πολλαπλή κορυφή που αντιπροσωπεύει τα πρωτόνια H-3' και H-4. Εδώ παρατηρείται μια επικάλυψη στις κορυφές καθώς θα περιμέναμε τα πρωτόνια H-3' και H-4 να εμφανίζονται σαν δύο ξεχωριστές διπλές κορυφές λόγω σύζευξης με τα πρωτόνια H-4' και H-5 αντίστοιχα. Τέλος, οι δύο απλές κορυφές στα 3.94 ppm και 3.925 ppm αποδίδονται στα 6 πρωτόνια των δύο $-\text{OCH}_3$ ομάδων και ολοκληρώνονται για τρία και πρωτόνια η κάθε μια.

Βινυλικά πρωτόνια στα φασματα NMR

Ένα σημαντικό στοιχείο που λαμβάνουμε από τα φάσματα ^1H NMR είναι οι κορυφές των βινυλικών υδρογόνων (H_α και H_β) καθώς είναι χαρακτηριστικές κορυφές των χαλκονών που πραγματοποιήθηκαν μέσω της αντίδρασης συμπήκνωσης Claisen-Schmidt. Τα πρωτόνια αυτά εμφανίζονται με τη μορφή δύο διπλών κορυφών, οι οποίες έχουν μεγάλες σταθερές σύζευξης ($J=15-16$ Hz), ενδεικτικό του σχηματισμού ενός ισομερούς με E-γεωμετρία. Ειδικότερα, από τις τιμές των σταθερών σύζευξης προκύπτει ότι πρόκειται και για ένα trans ισομερές, έχει δηλαδή τα βινυλικά υδρογόνα σε αντίθετες πλευρές του διπλού δεσμού.

Στα φάσματα όλων των χαλκονών που μελετήθηκαν η διπλή κορυφή του H_{β} εμφανίζεται πάντα σε χαμηλότερο πεδίο από τη διπλή κορυφή του H_{α} (Πίνακας 3). Το φαινόμενο αυτό πιθανώς οφείλεται στην πόλωση του διπλού δεσμού από το καρβονύλιο με αποτέλεσμα την ελάττωση της ηλεκτρονιακής πυκνότητας στη θέση β και αντίστοιχα αύξησή της στη θέση α .



Πίνακας 3 Κορυφές(σε ppm) των βινυλικών πρωτονίων χαλκονών

Χαλκόνη	H_{β} (ppm)	H_{α} (ppm)	Θέσεις Υποκαταστατών -OCH ₃	Υποκαταστάτης R
3a	7.906	7.404	3-4	-Br στη θέση 3'
3b	8.224	7.998	2-3	-Br στη θέση 2'
3c	8.227	7.857	2-3	-Cl στη θέση 2'
3d	7.904	7.410	3-4	-Cl στη θέση 3'

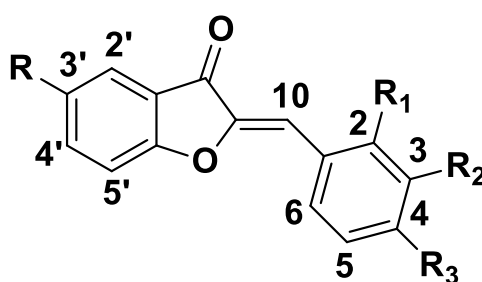
Μια επιπλέον ενδιαφέρουσα παρατήρηση αφορά στη διαφοροποίηση των σημάτων των βινυλικών πρωτονίων στα φάσματα 1H NMR των χαλκονών που περιέχουν υποκαταστάτη στη θέση 2 και 3 του δακτυλίου B σε σχέση με αυτά των αντίστοιχων χαλκονών που περιέχουν τον ίδιο υποκαταστάτη στη θέση 3 και 4 του δακτυλίου B. Εφόσον υπάρχει πάντα ένας υποκαταστάτης στη θέση 3 του δακτυλίου B καθοριστικό ρόλο καταλαμβάνουν οι υποκαταστάτες στις θέσεις 2 και 4. Όπως φαίνεται στον Πίνακα 3, στην περίπτωση που ο υποκαταστάτης βρίσκεται στη θέση 2 του δακτυλίου B (ορθο-θέση) τα βινυλικά πρωτόνια εμφανίζονται σε χαμηλότερο πεδίο ($\Delta\delta=0,318-0,323$ ppm για το H_{β} και $\Delta\delta= 0,447-0,594$ για το H_{α}).

Το φαινόμενο αυτό εμφανίζεται στις περιπτώσεις ορθο-υποκατεστημένων βενζολικών παραγώγων και ονομάζεται 'ορθο-φαινόμενο'. Τα ορθο-υποκατεστημένα βενζόλια είναι πιο πολύπλοκα συστήματα από τα αντίστοιχα μετα- και παρα-υποκατεστημένα. Η εγγύτητα των υποκαταστατών μπορεί να προκαλέσει μεταβολές στις γωνίες, τα μήκη δεσμών και στην επίπεδη δομή του δακτυλίου. Η έκταση της

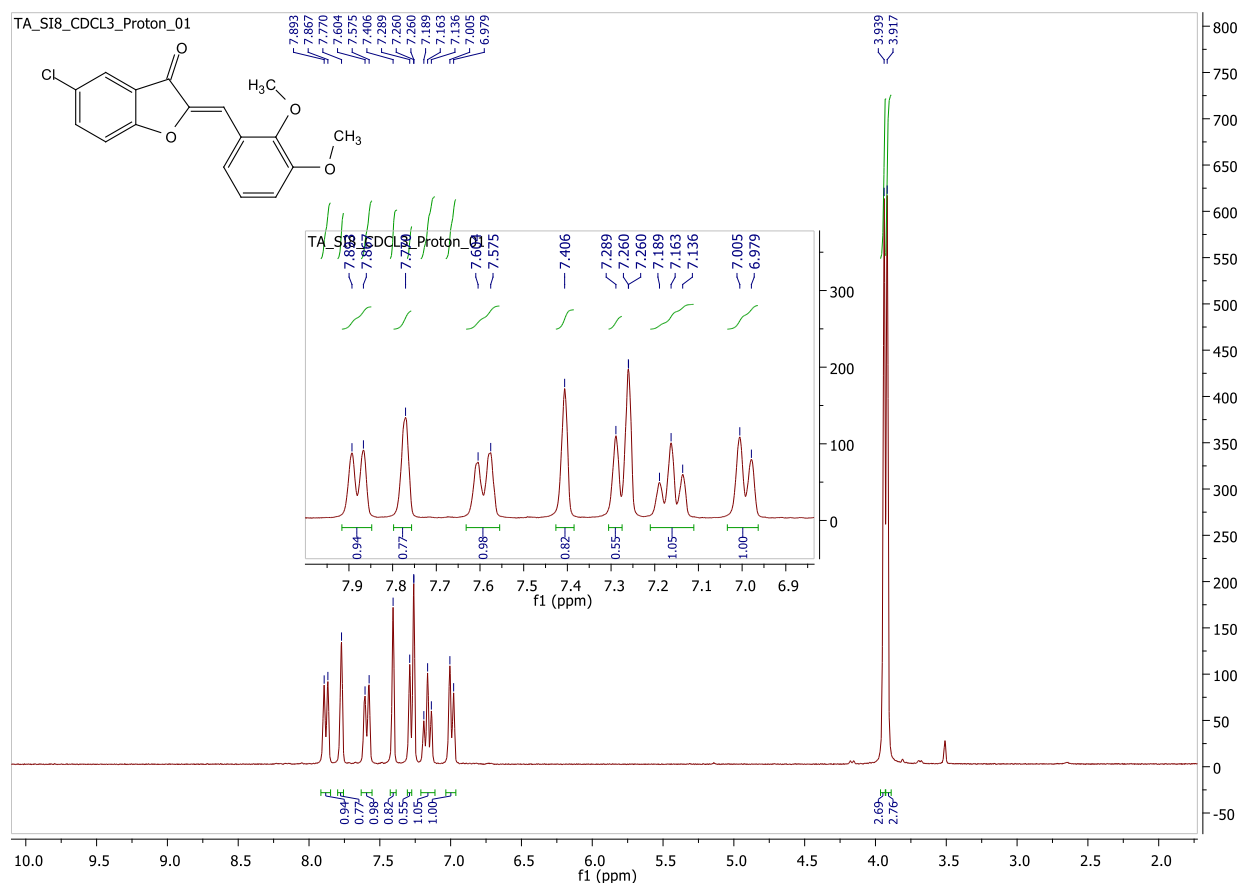
επίδρασης του ‘ορθο-φαινομένου’ εξαρτάται από τις ιδιότητες του υποκαταστάτη. Το ‘ορθο-φαινόμενο’ επηρεάζει με τους εξής τρόπους:

- Ηλεκτρονικά φαινόμενα, τα οποία εμφανίζονται επιπρόσθετα των συνήθων ηλεκτρονικών φαινομένων του υποκαταστάτη και διακρίνονται σε εντοπισμένα και σε φαινόμενα συντονισμού.
- Στερεοχημικά φαινόμενα, τα οποία είναι συνάρτηση του όγκου και του μεγέθους του υποκαταστάτη
- Ενδομοριακοί δεσμοί, οι οποίοι περιλαμβάνουν τους δεσμούς υδρογόνου, τις αλληλεπιδράσεις διπόλου-διπόλου και μεταφοράς φορτίου

6.2.2 Φάσμα NMR της (Z)-7-χλωρο-2-(2,3-διμεθοξυβενζυλιδενο)-4-υδροξυβενζοφουραν-3(2H)-όνης



Σχήμα 6-3 Γενική δομή ωρονών

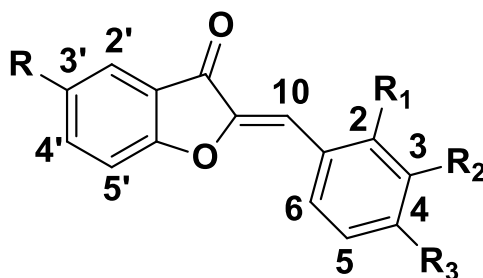


Εικόνα 6-2 Φάσμα ^1H NMR της της (Z)-7-χλωρο-2-(2,3-διμεθοξυβενζυλιδενο)-4-υδροξυβενζοφουραν-3(2H)-όνης (4c) σε διαλύτη CDCl_3

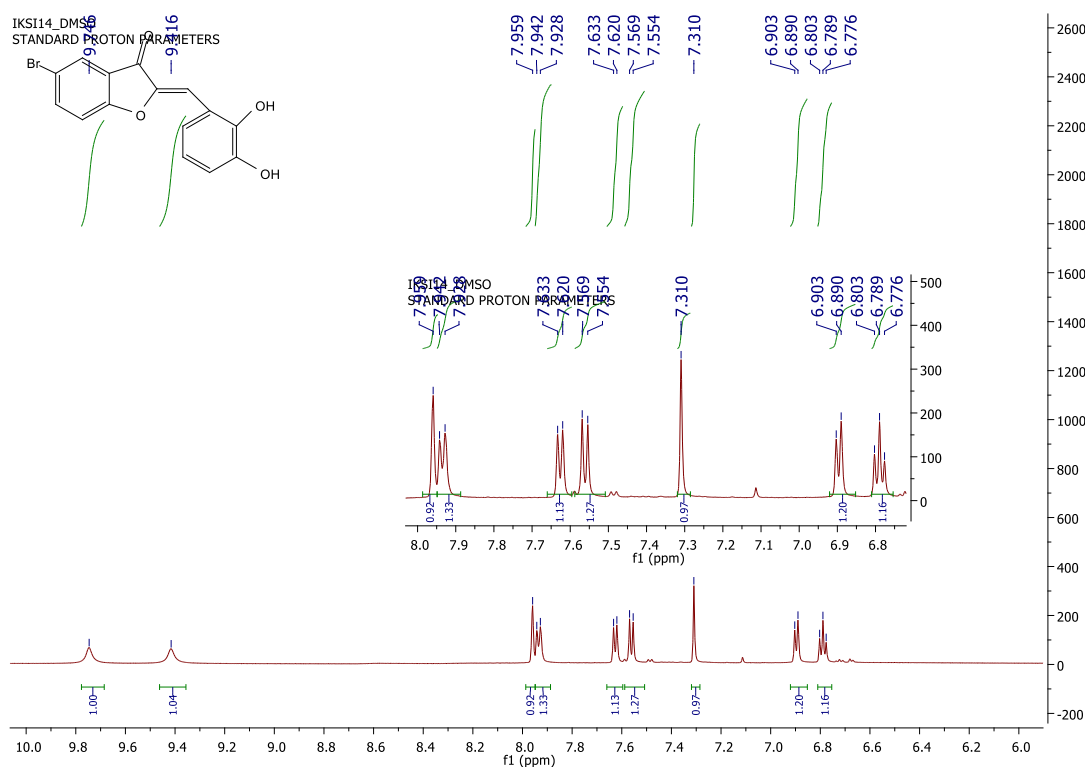
Στο φάσμα ^1H NMR της (Z)-7-χλωρο-2-(2,3-διμεθοξυβενζυλιδενο)-4-υδροξυβενζοφουραν-3(2H)-όνης **4b** (Εικόνα 6.2) στα 7.880 ppm ως διπλή κορυφή το πρωτόνιο H-4' λόγω σύζευξης με το πρωτόνιο H-5' με $J=7.8$ Hz. Το πρωτόνιο H-2' εμφανίζεται στα 7.770 ppm ως απλή κορυφή. Στη συνέχεια στα 7.591 ppm εμφανίζεται μια διπλή κορυφή που αντιπροσωπεύει το H-4 λόγω σύζευξης με το πρωτόνιο H-5 με $J=7.2$ Hz. Μια απλή κορυφή εμφανίζεται 7.406 ppm που αντιπροσωπεύει το πρωτόνιο H-10. Η κορυφή στα 7.26 ppm αντιστοιχεί στο διαλύτη CDCl_3 . Στα 7.274 εμφανίζεται μια διπλή κορυφή η οποία οφείλεται στο πρωτόνιο H-6 λόγω σύζευξης με το πρωτόνιο H-5 με $J= 8.7$ Hz. Στα 7.162 ppm εμφανίζεται μια τριπλή κορυφή που αντιπροσωπεύει τα πρωτόνια H-5 που οφείλεται στη σύζευξη με τα πρωτόνια H-6 και H-4 με $J= 8$ Hz. Στα 6.992 ppm εμφανίζεται μια διπλή κορυφή που οφείλεται στο πρωτόνιο H-5' λόγω σύζευξης με το πρωτόνιο H-4' με $J=7.8$ Hz. Τέλος, στα υψηλότερα πεδία, στα 3.946 ppm και στα 3.924 ppm εμφανίζονται ως τα πιο προστατευμένα πρωτόνια τα ισοδύναμα πρωτόνια του μεθοξυ- υποκαταστάτη

(-OCH₃) δίνοντας δύο απλές κορυφές που ολοκληρώνονται για τρία και τρία πρωτόνια εφόσον έχουμε δύο μεθόξυ- υποκαταστάτες.

6.2.3 Φάσμα NMR της (Z)-7-χλωρο-2-(2,3-διυδροξυ-βενζυλιδανο)-4-υδρόξυ-βενζοφουραν-3(2H)-όνη



Σχήμα 6-4 Γενική δομή ωρόνης



Εικόνα 6-3 Φάσμα 1H NMR της της (Z)-7-χλωρο-2-(2,3-διυδροξυ-βενζυλιδανο)-4-υδρόξυ-βενζοφουραν-3(2H)-όνη (5b) σε διαλύτη DMSO-d₆

Στο φάσμα ^1H NMR της (Z)-7-χλωρο-2-(2,3-διυδροξυ-βενζιλενο)-4-υδροξυ-βενζοφουραν-3(2H)-όνη **5c** (Εικόνα 7) στα 9.746 ppm και στα 9.416 ppm εμφανίζονται δύο απλές κορυφές που αντιπροσωπεύουν τις δύο υδροξυ ομάδες στις θέσεις 2 και 3. Η απλή κορυφή στα 7.959 ppm αντιπροσωπεύει το πρωτόνιο H-2'. Στα 7.935 ppm εμφανίζεται μια διπλή κορυφή η οποία οφείλεται στο πρωτόνιο H-4' λόγω σύζευξης με το πρωτόνιο H-5' με $J = 8,4$ Hz. Στα 7.626 ppm εμφανίζεται μια διπλή κορυφή που οφείλεται στο H-4 λόγω σύζευξης με το πρωτόνιο H-5 με $J = 7.8$ Hz. Στα 7.561 ppm παρουσιάζεται μια διπλή κορυφή που αποδίδεται στο πρωτόνιο H-5' και οφείλεται στη σύζευξη με το πρωτόνιο H-4' με $J = 9$ Hz. Μια απλή κορυφή παρουσιάζεται στα 7.310 ppm λόγω του πρωτονίου H-10. Στα 6.896 υπάρχει μια διπλή κορυφή που αποδίδεται στο πρωτόνιο H-6 λόγω σύζευξης με το πρωτόνιο H-4 με $J = 7,8$ Hz. Τέλος, παρουσιάζεται στα 7.789 μια τριπλή κορυφή που οφείλεται στο πρωτόνιο H-5 λόγω σύζευξης με τα πρωτόνια H-4 και H-6 με $J = 8,1$ Hz.

Σημαντικό είναι να επισημανθεί η παρουσία των δύο απλών κορυφών στα χαμηλά πεδία (9.746 ppm, 9.416 ppm) που ολοκληρώνονται για ένα πρωτόνιο η κάθε μια και αντιστοιχούν στα πρωτόνια των υδροξυλομάδων καθώς επίσης και να τονιστεί η απουσία των κορυφών μεθόξυ ομάδων στα υψηλότερα πεδία (3.946 ppm, 3.924 ppm). Η παρουσία των δύο πρώτων και οι απουσία των δύο τελευταίων κορυφών, είναι ενδεικτική της επιτυχούς αποπροστασίας της ένωσης **4c**.

7 Συμπεράσματα

Οι χαλκόνες και οι ωρόνες ανήκουν στην κατηγορία των φλαβονοειδών. Είναι φυσικά προϊόντα με σημαντική βιολογική δράση ενώ επίσης αποτελούν πρόδρομες ενώσεις άλλων κατηγοριών φλαβονοειδών. Τόσο οι χαλκόνες όσο και οι ωρόνες, παρουσιάζουν ευεργετική αντιοξειδωτική, αντικαρκινική, αντιφλεγμονώδη, αντι-HIV, αντιμικροβιακή, αντιμυκητιακή και ανθελονοσιακή δράση. Συνεπώς, χάρη στις ελπιδοφόρες θεραπευτικές ιδιότητές τους, το ερευνητικό ενδιαφέρον έχει στραφεί στη μελέτη και στην ανάπτυξη μεθόδων σύνθεσης νέων αναλόγων με απώτερο σκοπό την ανάπτυξη πιο αποτελεσματικών φαρμάκων για τη θεραπεία θανάσιμων ασθενειών. Στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας της Σχολής Χημικών Μηχανικών, όπου διεξάγεται η εν λόγω διπλωματική εργασία, έχει ήδη συντεθεί μια σειρά αναλόγων χαλκονών και ωρονών με σημαντική βιολογική δράση. Ως εκ τούτου η πειραματική αυτή εργασία έχει ως στόχο τη σύνθεση νέων αναλόγων χαλκονών και ωρονών με διαφορετικούς υποκαταστάτες στους δακτύλιους A και B ώστε στη συνέχεια να μελετηθεί η αντιοξειδωτική τους δράση και να συνετελέσει με αυτόν τον τρόπο στην ανάπτυξη μιας βιβλιοθήκης βιοδραστικών φλαβονοειδών ενώσεων.

Συμπερασματικά, στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας, πραγματοποιήθηκε σύνθεση πέντε νέων αναλόγων χαλκονών (**3a** – **3e**) μέσω της αντίδρασης συμπύκνωσης Claisen –Schmidt. Οι αποδόσεις των αντιδράσεων συμπύκνωσης κυμαίνονται από 43% έως 71%. Στη συνέχεια συντέθηκαν τέσσερα νέα ανάλογα ωρονών (**4a-4d**), μέσω της αντίδρασης οξειδωτικής κυκλοποίησης των χαλκονών (**3a-3d**), με αποδόσεις που κυμαίνονται 50% έως 72%. Τέλος συντέθηκαν τέσσερα νέα ανάλογα ωρονών (**5a-5d**) μέσω αντίδρασης αποπροστασίας των ωρονών (**4a-4d**). Οι αποδόσεις των αντιδράσεων αποπροστασίας κυμαίνονται από 36% έως 95%. Η ταυτοποίηση δομής και αξιολόγηση της καθαρότητας όλων των νέων αναλόγων, πραγματοποιήθηκε μέσω φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (¹H NMR).

Από αυτή τη μελέτη, όσον αφορά στην καθαρότητα των προϊόντων, προέκυψε ότι οι χαλκόνες **3a** έως **3e** όσο και οι ωρόνες **4a** έως **4d** παρουσιάζουν υψηλή καθαρότητα

έπειτα από επεξεργασία καθαρισμού (ανακρυστάλλωση). Επίσης, οι ωρόνες **5a -5d** παρουσιάζουν ικανοποιητική καθαρότητα χωρίς όμως να πραγματοποιηθεί περαιτέρω διεργασία καθαρισμού.

Αξιοσημείωτα συμπεράσματα προκύπτουν από την ταυτοποίηση δομής όλων των αναλόγων όπως προκύπτει από την ανάλυση των φασμάτων $^1\text{H NMR}$. Αρχικά διαπιστώθηκε ότι τα βινυλικά πρωτόνια ($\text{H}_a\text{-H}_b$) των χαλκονών (**3a-3e**) εμφανίζουν μεγάλες σταθερές σύζευξης ($J=15\text{-}16\text{ Hz}$), ενδεικτικό του σχηματισμού ενός ισομερούς με E-γεωμετρία. Σημαντική είναι η διαφοροποίηση των σημάτων των βινυλικών πρωτονίων στα φάσματα $^1\text{H NMR}$ των χαλκονών ανάλογα με τη θέση των υποκαταστατών στον αρωματικό δακτύλιο B. Ειδικότερα, όταν ο υποκαταστάτης βρίσκεται στη θέση 2 (όρθο θέση), οι κορυφές των βινυλικών πρωτονίων εμφανίζονται σε χαμηλότερα πεδία, ενώ όταν ο υποκαταστάτης βρίσκεται στη θέση 4 (πάρα θέση), οι κορυφές των βινυλικών πρωτονίων εμφανίζονται σε υψηλότερα πεδία. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται "όρθο φαινόμενο".

8 Προτάσεις για μελλοντική έρευνα

Οι χαλκόνες και οι ωρόνες αποτελούν μόρια με ιδιαίτερο ενδιαφέρον, καθώς συνδυάζουν ποικίλες βιολογικές δράσεις όπως αντιοξειδωτική, αντιμικροβιακή, αντιφλεγμονώδη και αντιμυκητιακή κ.α.. Συνεπώς υπάρχει έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον γύρω από την ανάπτυξη μεθόδων σύνθεσης νέων αναλόγων χαλκονών και ωρονών με σκοπό την ανάπτυξη πιο αποτελεσματικών φαρμάκων για την αντιμετώπιση ασθενειών όπως ο καρκίνος, το Alzheimer και το AIDS.

Από την παρούσα διπλωματική εργασία προέκυψαν νέα ανάλογα φλαβονοειδών τα οποία χαρακτηρίστηκαν δομικά μέσω φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (^1H NMR). Η πειραματική αυτή εργασία συνετέλεσε στην ανάπτυξη μιας βιβλιοθήκης βιοδραστικών φλαβονοειδών ενώσεων.

Αρχικά, μια πρόταση για περαιτέρω έρευνα, αποτελεί η αναζήτηση διαφορετικών πειραματικών συνθηκών με απώτερο στόχο την αύξηση της απόδοσης της αντίδρασης συμπύκνωσης Claisen –Schmidt.

Επιπλέον σκόπιμη θα ήταν η σύνθεση νέων αναλόγων χαλκονών και ωρονών με διαφορετικούς υποκαταστάτες (τόσο δότες όσο και δέκτες ηλεκτρονίων) και σε διαφορετικές θέσεις του αρωματικού δακτυλίου με στόχο τη συσχέτιση δομής-βιολογικής δράσης.

Τέλος όπως έχει ήδη αναφερθεί τα νέα ανάλογα χαλκονών και ωρονών που συντέθηκαν έχουν σταλεί ήδη στη Φαρμακευτική σχολή του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης για τη μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης τους. Ωστόσο, αξίζει να μελετηθούν τα συντιθέμενα φλαβονοειδή και για άλλες πιθανές βιολογικές δράσεις όπως αντιμικροβιακή, αντικαρκινική και αντιφλεγμονώδη.

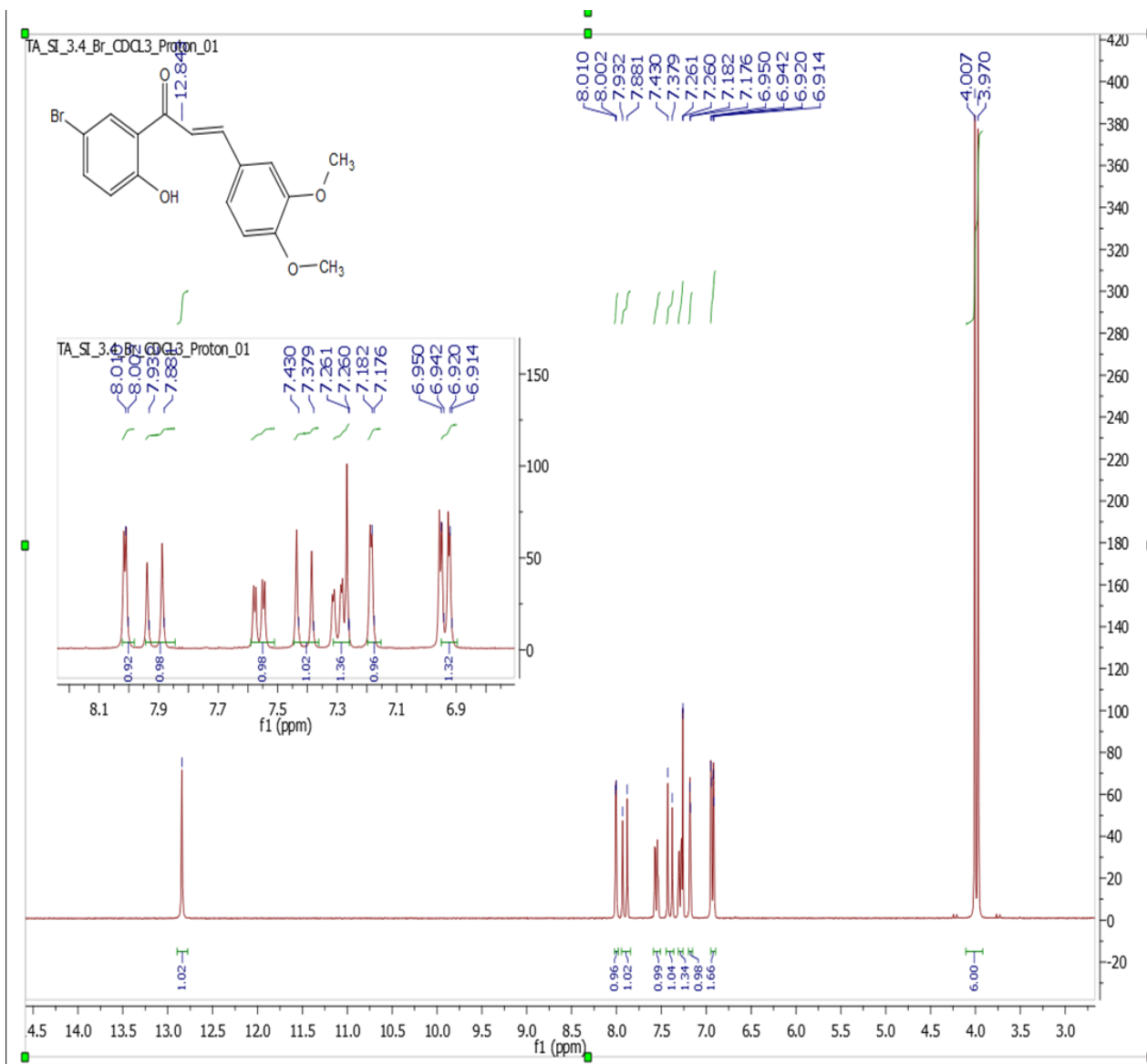
9 Βιβλιογραφία

1. 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 Med. Chem.* 17, **2009**. 8073–8085
2. Liew Suk, Joazaizulfazli Jamalis, Al-Maqtari, Mohd Mustaqim Rosli , Murugesan Sankaranarayanan, Subhash Chander, Hoong-Kun Fun, Synthesis, characterization, antifungal activities and crystal structure of thiophene-based heterocyclic chalcones. *Chemical Data Collections*, **2017**,104-113,
3. Harborne, J. B. *The Flavonoids: advances in research since 1986.* (Boca Raton: Chapman & Hall/CRC).
4. Grotewold, E. *The Science of Flavonoids.* **2006**,Springer,.
5. Singh, P., Anand, A. & Kumar, V. Recent developments in biological activities of chalcones : A mini review. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**,85, 758–777.
6. Katsori, A. M., & Hadjipavlou-Litina, D. Chalcones in cancer: understanding their role in terms of QSAR. *Current medicinal chemistry*,**2009**, 16(9), 1062-1081.
7. Sashidhara, K. V, Kumar, A., Kumar, M., Sarkar, J. & Sinha, S. Synthesis and in vitro evaluation of novel coumarin-chalcone hybrids as potential anticancer agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 20, 7205–11
8. Mahapatra, D. K., Bharti, S. K., & Asati, V.. Anti-cancer chalcones: Structural and molecular target perspectives. *European journal of medicinal chemistry.* **2010**,98, 69-114.
9. Syahri, J., Yuanita, E., Nurohmah, B. A., Armunanto, R., & Purwono, B. . Chalcone analogue as potent anti-malarial compounds against Plasmodium falciparum: Synthesis, biological evaluation, and docking simulation study. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.*, **2017**
10. Yadav, N. et al. Antimalarial Activity of Newly Synthesized Chalcone Derivatives In Vitro. *Chem. Biol. Drug Des.***2012**, 80, 340–347
11. Yin, B.-T. et al. Synthesis and biological evaluation of α -triazolyl chalcones as a new type of potential antimicrobial agents and their interaction with calf

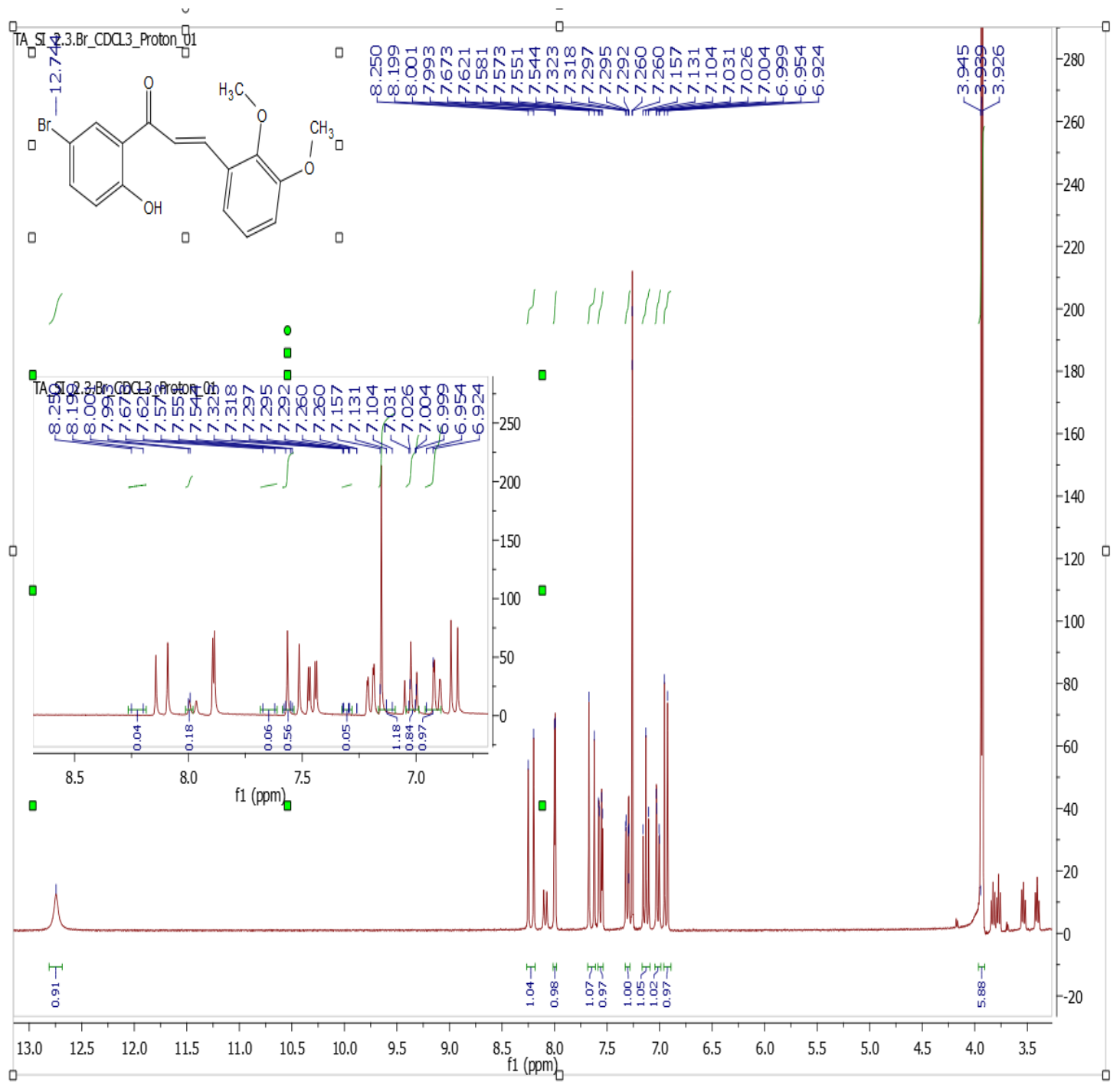
- thymus DNA and human serum albumin. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, 71, 148–59.
12. Abraham, G. Synthesis and anti-inflammatory activity of three nitro chalcones; *J. Bioorg and Med. Chem. Lett*, **2003**, 23, 5519.
 13. Sharma, H. et al. Synthesis, biological evaluation and 3D-QSAR studies of 3-keto salicylic acid chalcones and related amides as novel HIV-1 integrase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, 19, 2030–45 .
 14. Mathew, B., Adeniyi, A. A., Joy, M., Mathew, G. E., Singh-Pillay, A., Sudarsanakumar, C., ... & Suresh, J. Anti-oxidant behavior of functiolised chalcone-a combined quantum chemical and crystallographic structural investigation. *Journal of Molecular Structure*. **2017**.
 15. Bano, S. et al. Synthesis of some novel chalcones, flavanones and flavones and evaluation of their anti-inflammatory activity. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, 65, 51–9 .
 16. Suwito, H., Kristanti, A. N., Hayati, S., Dewi, S. R., Amalina, I., & Puspaningsih, N. N. T. Antimicrobial activities and in silico analysis of methoxy amino chalcone derivatives. *Procedia Chemistry*, 2016, 18, 103-111.
 17. Muzychka, O. V., Kobzar, O. L., Popova, A. V., Frasinuk, M. S., & Vovk, A. I. Carboxylated aurone derivatives as potent inhibitors of xanthine oxidase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2017**, 25(14), 3606-3613.
 18. Haudecoeur, R. & Boumendjel, A. Recent Advances in the Medicinal Chemistry of Aurones. 2012, 2861–2875.
 19. Boucherle, B., Peuchmaur, M., Boumendjel, A., & Haudecoeur, R. Occurrences, biosynthesis and properties of aurones as high-end evolutionary products. *Phytochemistry*, **2017**, 142, 92-111.
 20. Jagtap, S. V., & Khan, A. A. (2016). Synthesis and biological activities of aurones: A Review. *Int. J. Pure App. Biosci*, 4(2), 137-155.
 21. Narsinghani, T., Sharma, M. C., & Bhargav, S. Synthesis, docking studies and antioxidant activity of some chalcone and aurone derivatives. *Medicinal Chemistry Research*, **2013**, 22(9), 4059-4068.
 22. Liu, A.-L., Wang, H.-D., Lee, S. M., Wang, Y.-T. & Du, G.-H. Structure–activity relationship of flavonoids as influenza virus neuraminidase inhibitors and their in vitro anti-viral activities. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16, 7141–7147.

23. Roussaki, M. et al. Aurones : A Promising Heterocyclic Scaffold for the Development of Potent Antileishmanial Agents. **2012**.
24. Li, Y., Qiang, X., Luo, L., Li, Y., Xiao, G., Tan, Z., & Deng, Y. Synthesis and evaluation of 4-hydroxyl aurone derivatives as multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorganic & medicinal chemistry*,**2016**, 24(10), 2342-2351.
25. Sheng, R. et al. Design, synthesis and AChE inhibitory activity of indanone and aurone derivatives.**2009**, Eur. J. Med. Chem. 44, 7–17.
26. Shin, J.-S. et al. Sulfuretin isolated from heartwood of *Rhus verniciflua* inhibits LPS-induced inducible nitric oxide synthase, cyclooxygenase-2, and proinflammatory cytokines expression via the down-regulation of NF- κ B in RAW 264.7 murine macrophage cells. *Int. Immunopharmacol.***2010**,10, 943–950.
27. Sutton, C. L., Taylor, Z. E., Farone, M. B., & Handy, S. T. Antifungal activity of substituted aurones. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*,**2017** , 27(4), 901-903.
28. Σωτηρούδης, Θ. Γ. Ελεύθερες ρίζες, αντιοξειδωτικά και υγεία. **2004** .
29. Antolovich M, Prenzler PD, Patsalides E, McDonald S, R. K. Methods for testing antioxidant activity. **2002** , Analyst 3, 183–198.
30. Μηνιώτη, Α. Σ. Ανάπτυξη νέων μεθόδων προσδιορισμού ολικής αντιοξειδωτικής ενεργότητας και εφαρμογή στο ελαιόλαδο. **2010** .
31. P. Molyneux, The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, Songklanakarin J. Sci. Tech., 2004, Vol. 26, 211-219
32. Garcia-Campana A.M., Bayens W. R. G., Historical evolution of chemiluminescence. In 'Chemiluminescence in Analytical Chemistry'. Marcel Dekker. New York, **2001**,
33. Yildiz G., Demiryurek A. T., Ferrous iron-induced luminol chemiluminescence: a method for hydroxyl radical study. *J. Pharm. Toxicol. Methods.* **1998**, 39, 179- 184.

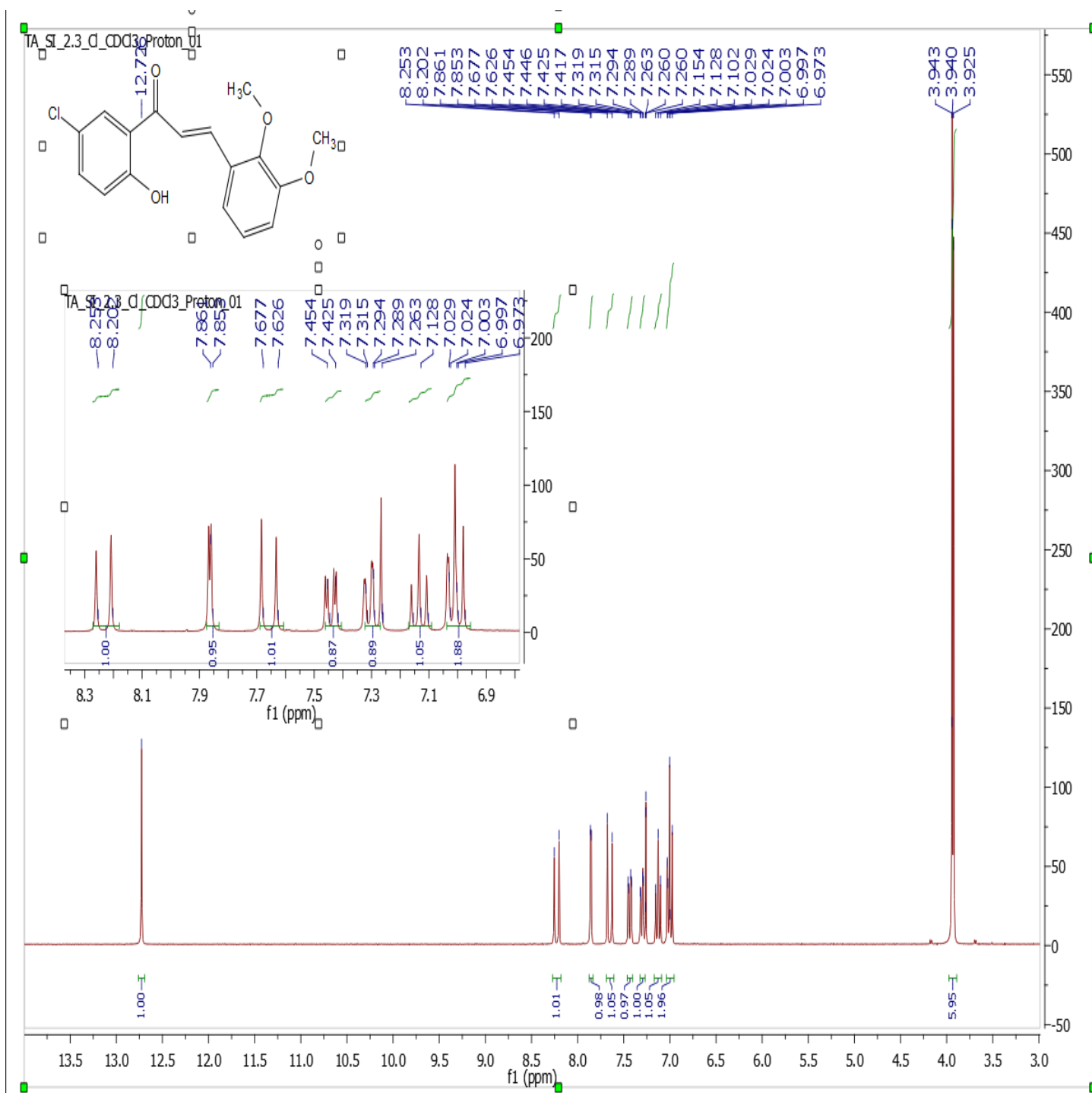
10 Παράρτημα



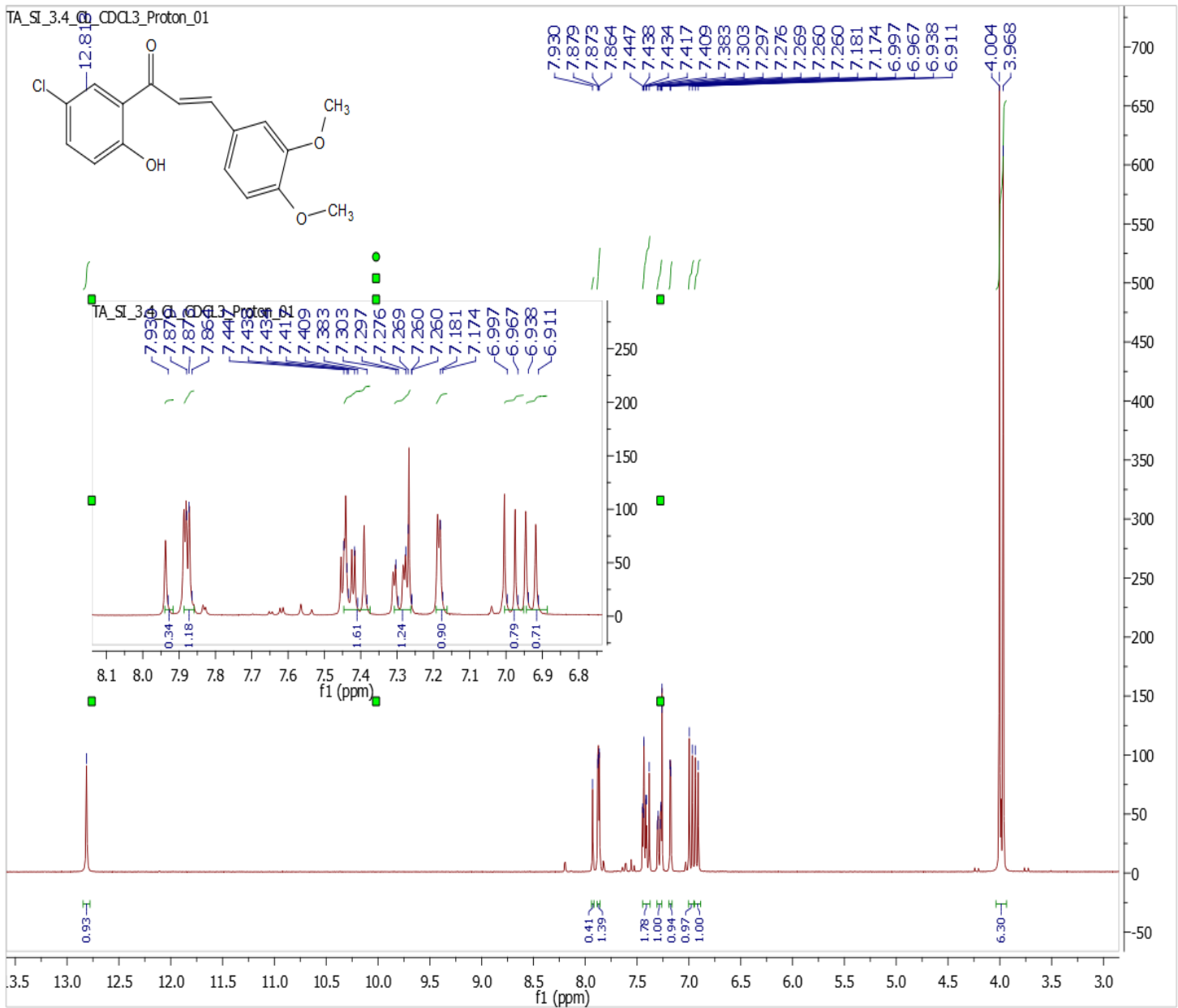
Εικόνα 10-1 Φάσμα ^1H NMR της (E)-1-(5-βρωμο-2-υδροξυφαινυλο)-3-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)προπ-2-εν-1-όνη (3a) σε διαλύτη CDCl_3



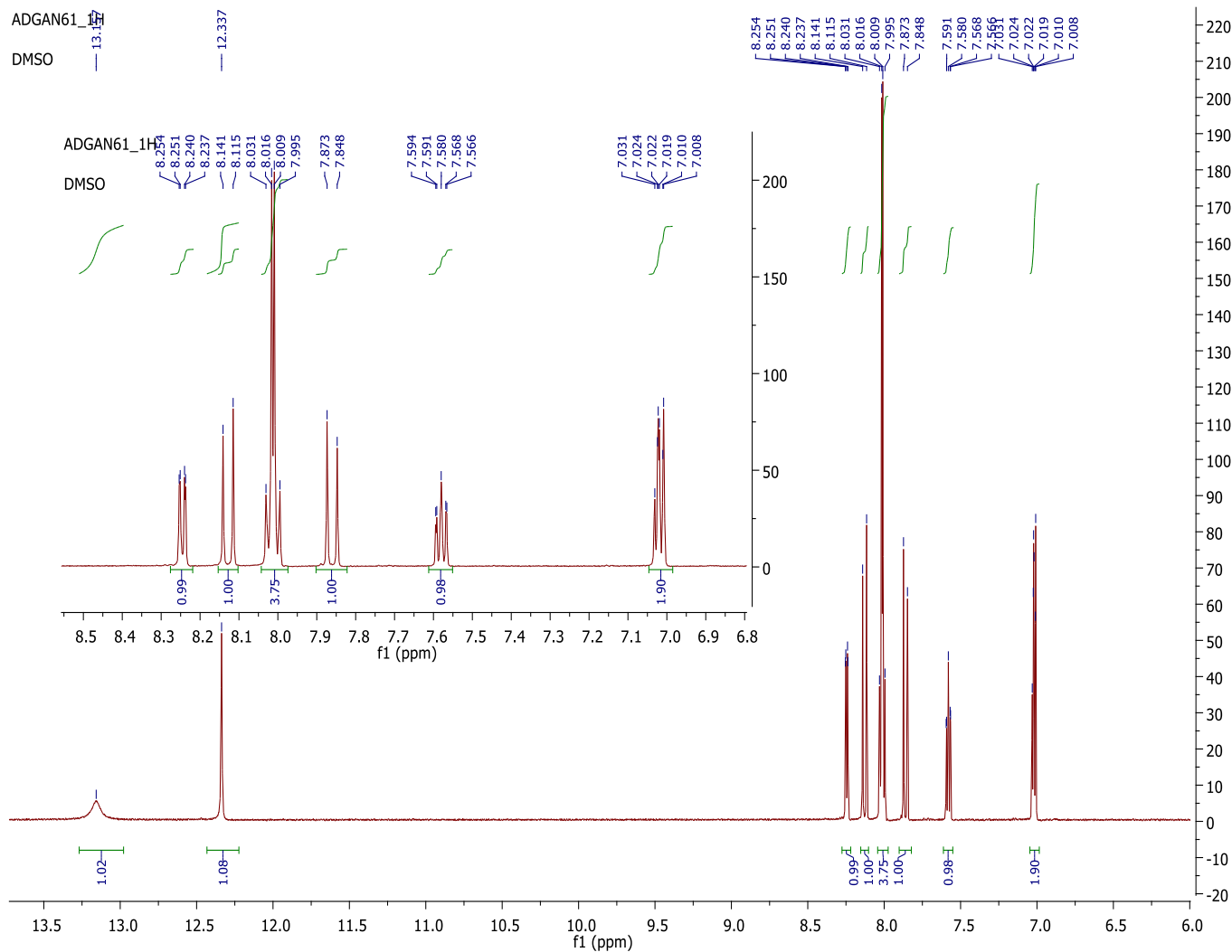
Εικόνα 10-2 Φάσμα ¹H NMR της (E)-1-(5-βρωμο-2-υδροξυφαινυλο)-3-(2,3-διμεθοξυφαινυλο)προπ-2-εν-1-όνη (3b) σε διαλύτη CDCl₃



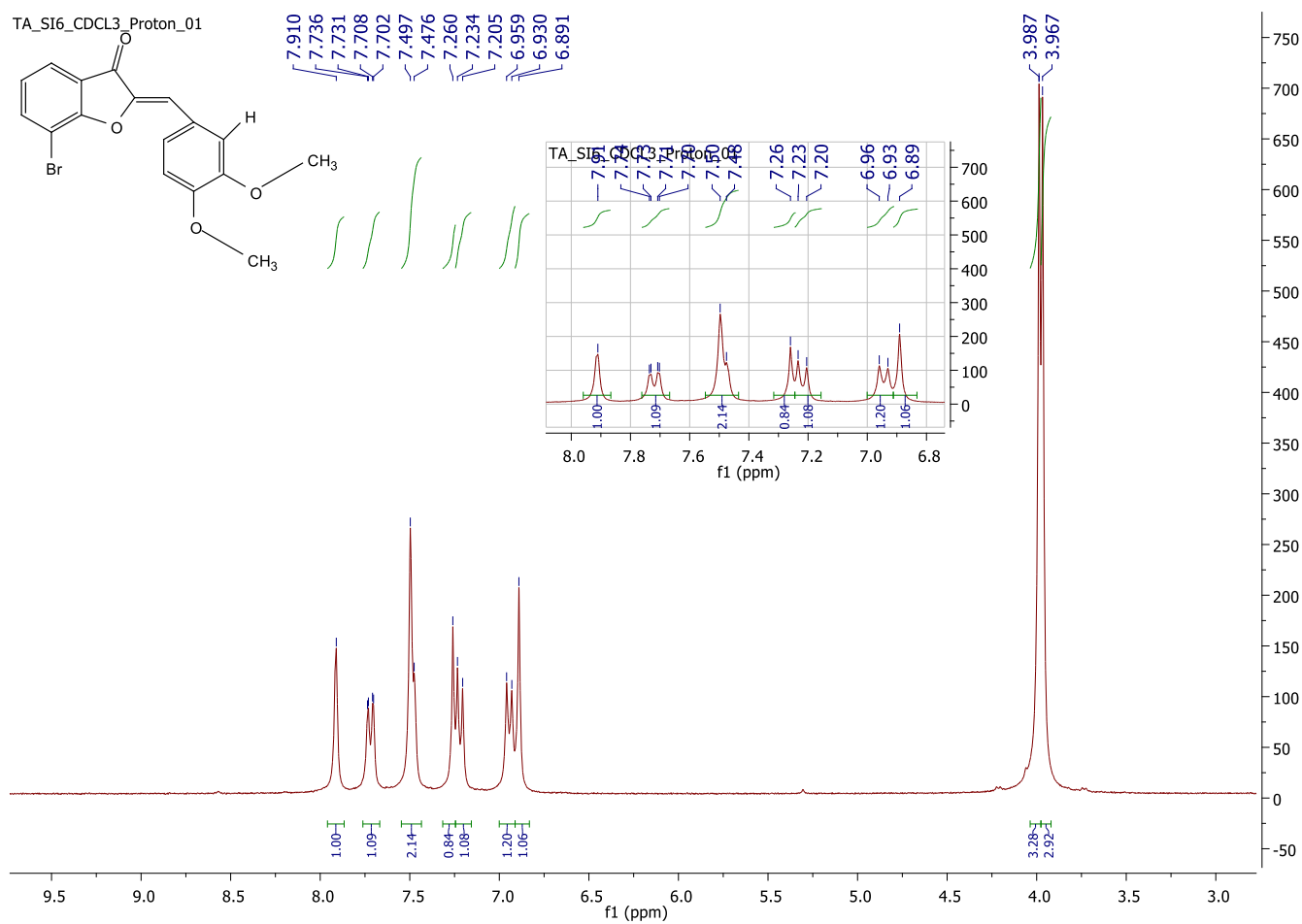
Εικόνα 10-3 Φάσμα ^1H NMR της (E)-1-(5-χλωρο-2-υδροξυφαινυλ)-3-(2,3-διμεθοξυφαινυλ)προπ-2-εν-1-όνη (3c) σε διαλύτη CDCl_3



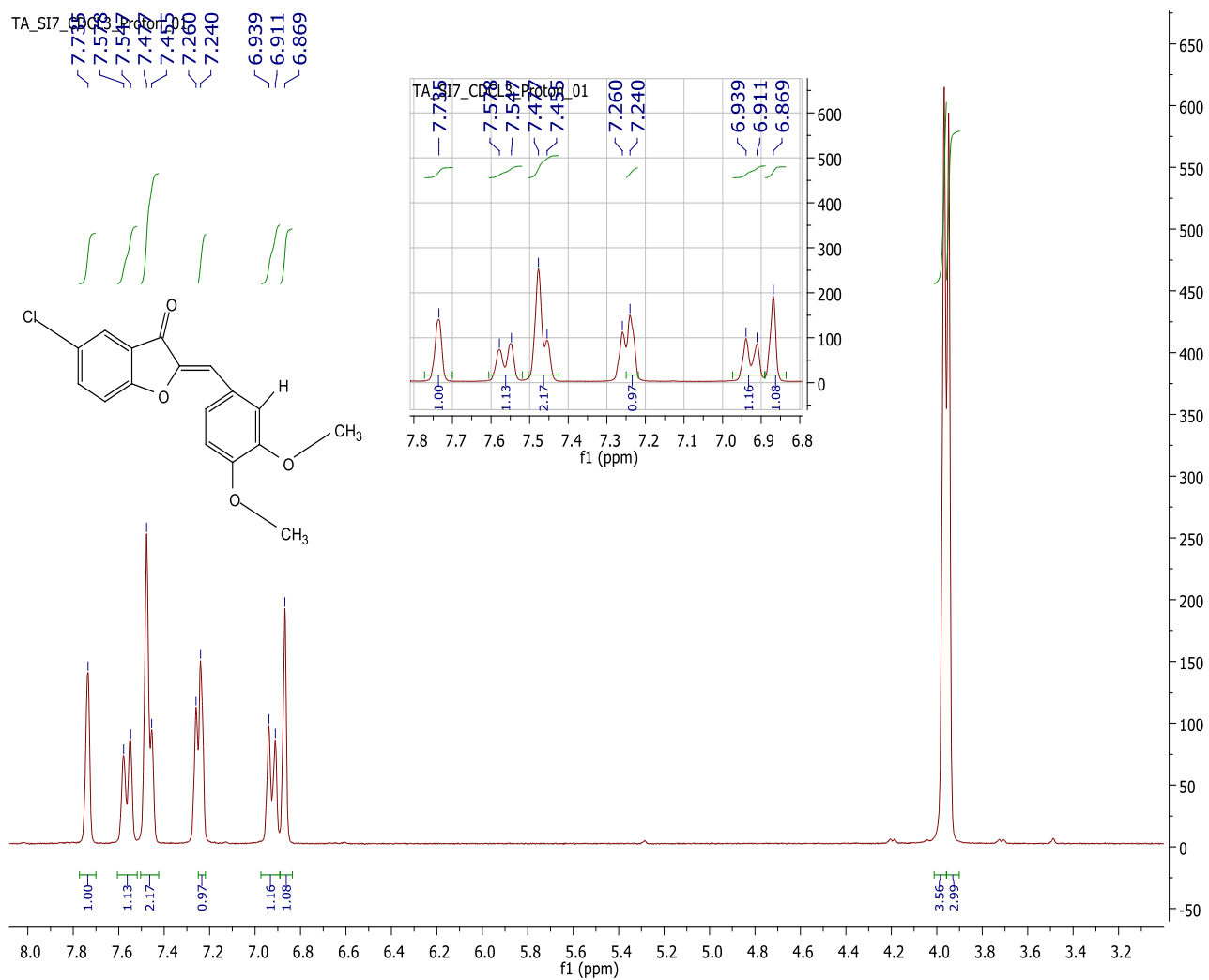
Εικόνα 10-4 Φάσμα ¹H NMR της (E)-1-(5-χλωρο-2-υδροξυφαινυλ)-3-(3,4-διμεθοξυφαινυλ)προπ-2-εν-1-όνη (3d) σε διαλύτη CDCl₃



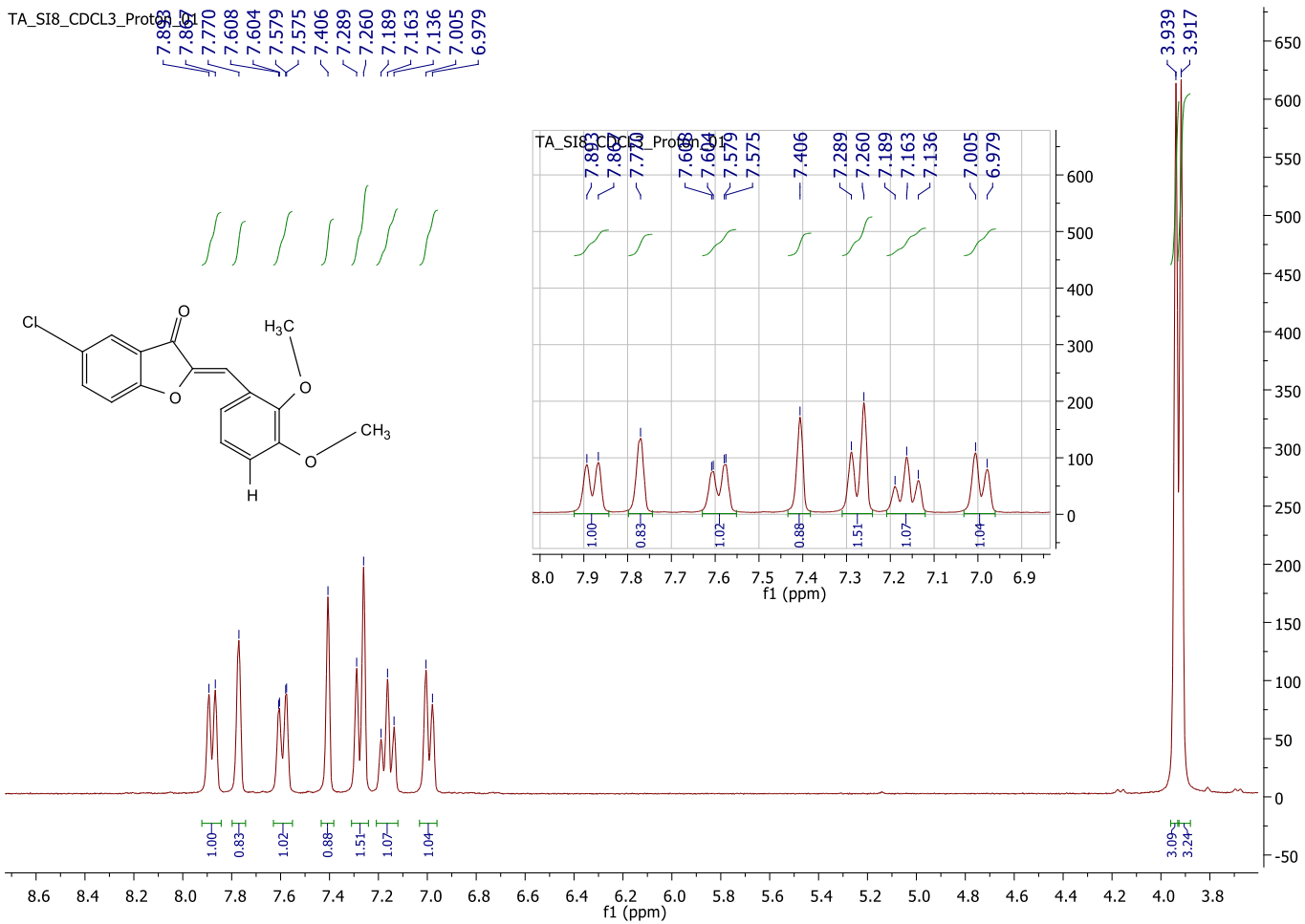
Εικόνα 10-5 Φάσμα ^1H NMR της (E)-4-(3-(2-υδροξυφαινυλο)-3-οξοπροπ-1-εν-1-υλ)βενζοϊκό οξύ (3e) σε διαλύτη DMSO-d_6



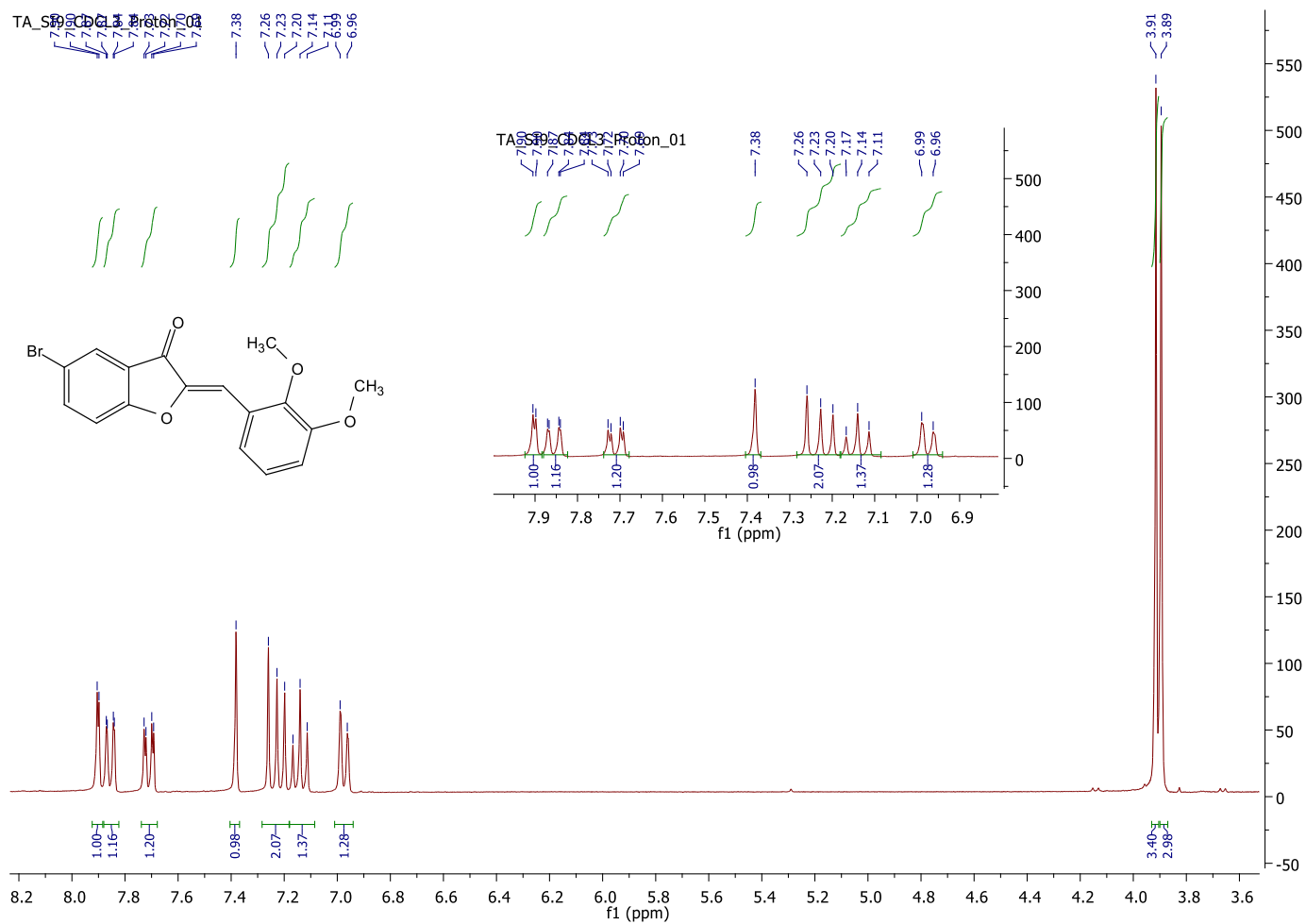
Εικόνα 10-6 Φάσμα ¹H NMR της (E)-1-(5-βρωμο-2-υδροξυφαινυλ)-3-(3,4-διμεθοξυφαινυλ)προπ-2-εν-1-όνη (4a) σε διαλύτη CDCl₃



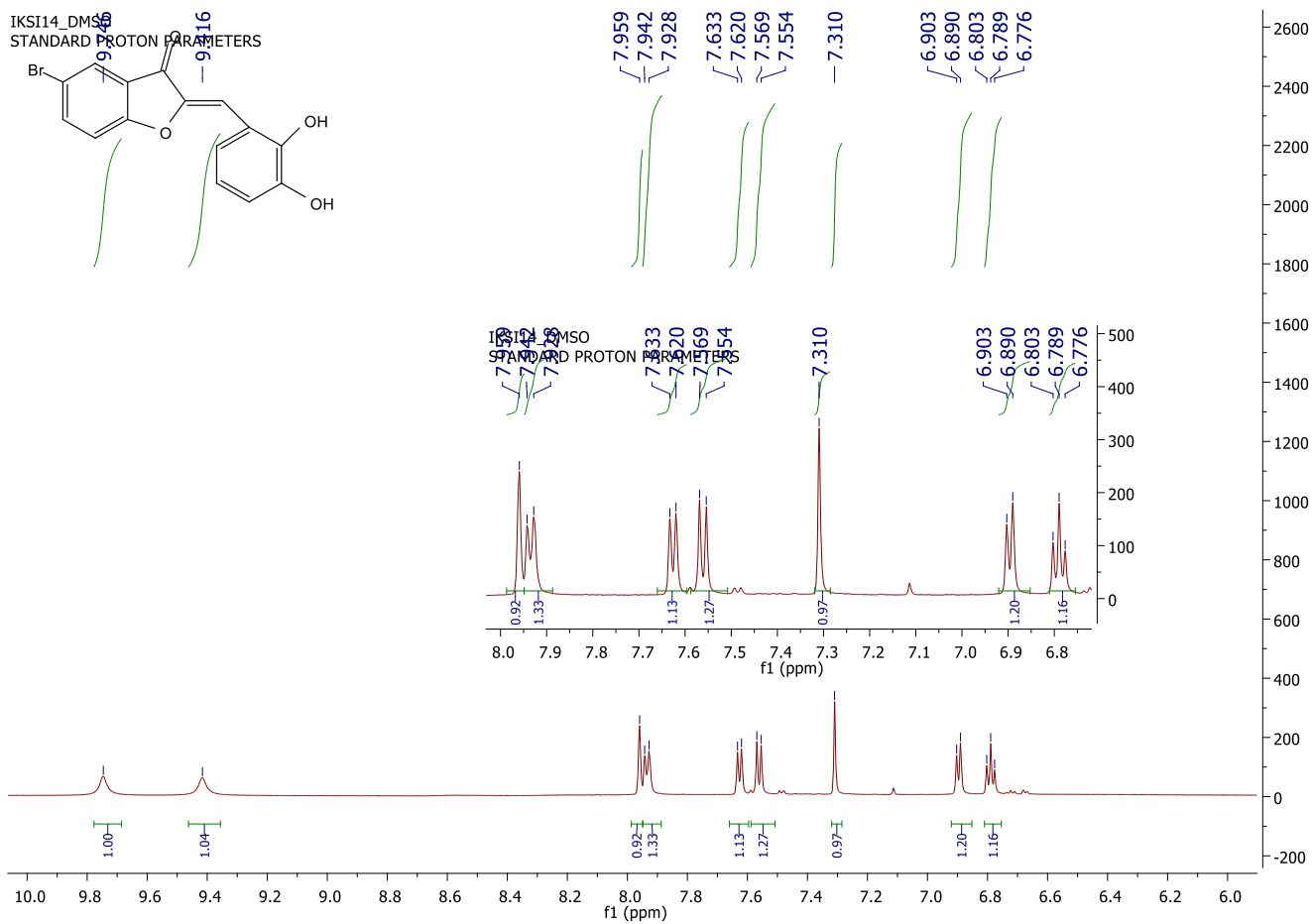
Εικόνα 10-7 Φάσμα ^1H NMR της (Z)-7-βρωμο-2-(2,3-διμεθοξυβενζυλιδενο)-4-υδροξυβενζοφουραν-3(2H)-όνη (4b) σε διαλύτη CDCl_3



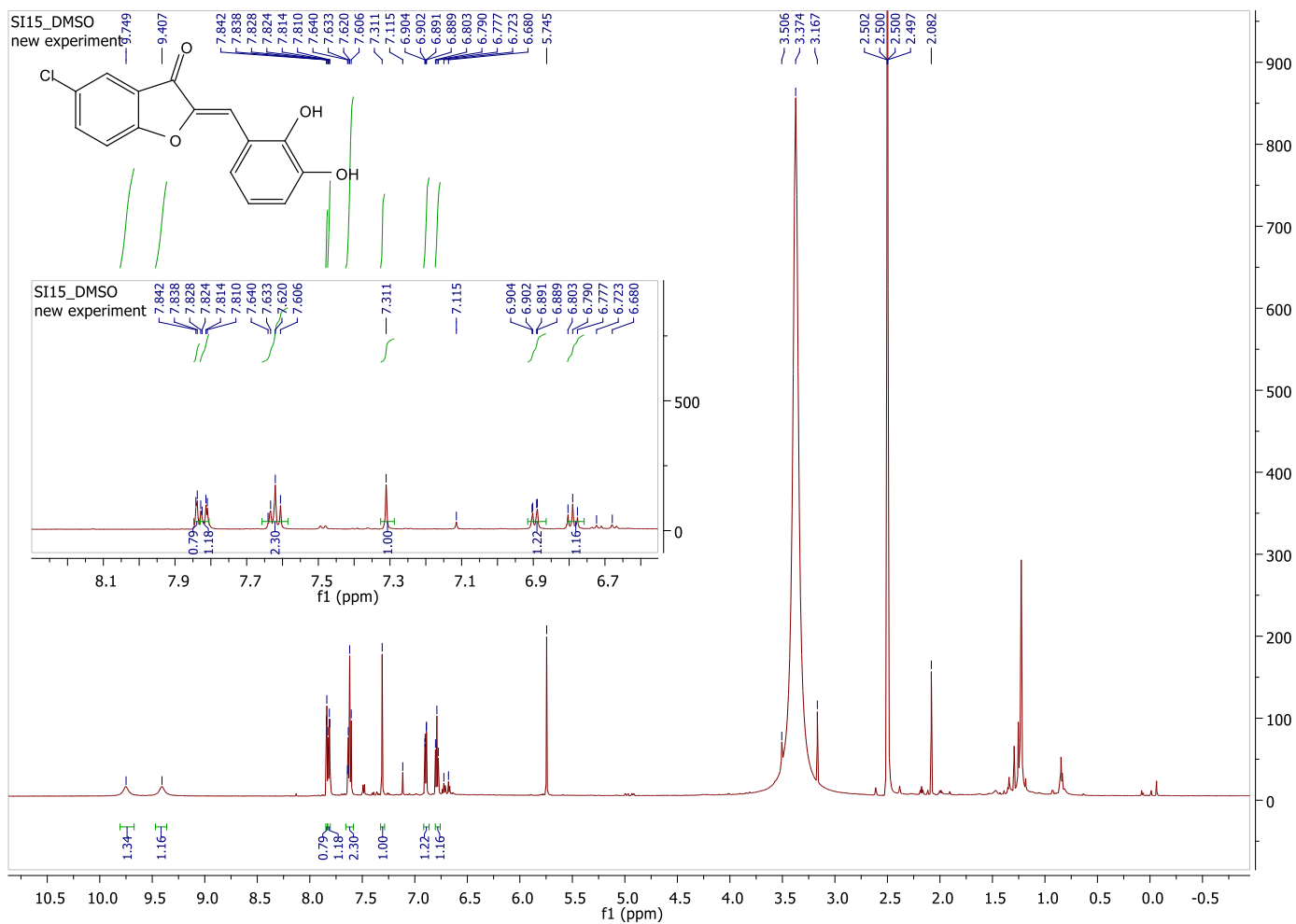
Εικόνα 10-8 Φάσμα ^1H NMR της (Z)-7-χλωρο-2-(2,3-διμεθοξυβενζυλιδENO)-4-υδροξυβενζοφουραν-3(2H)-όνη (4c) σε διαλύτη CDCl_3



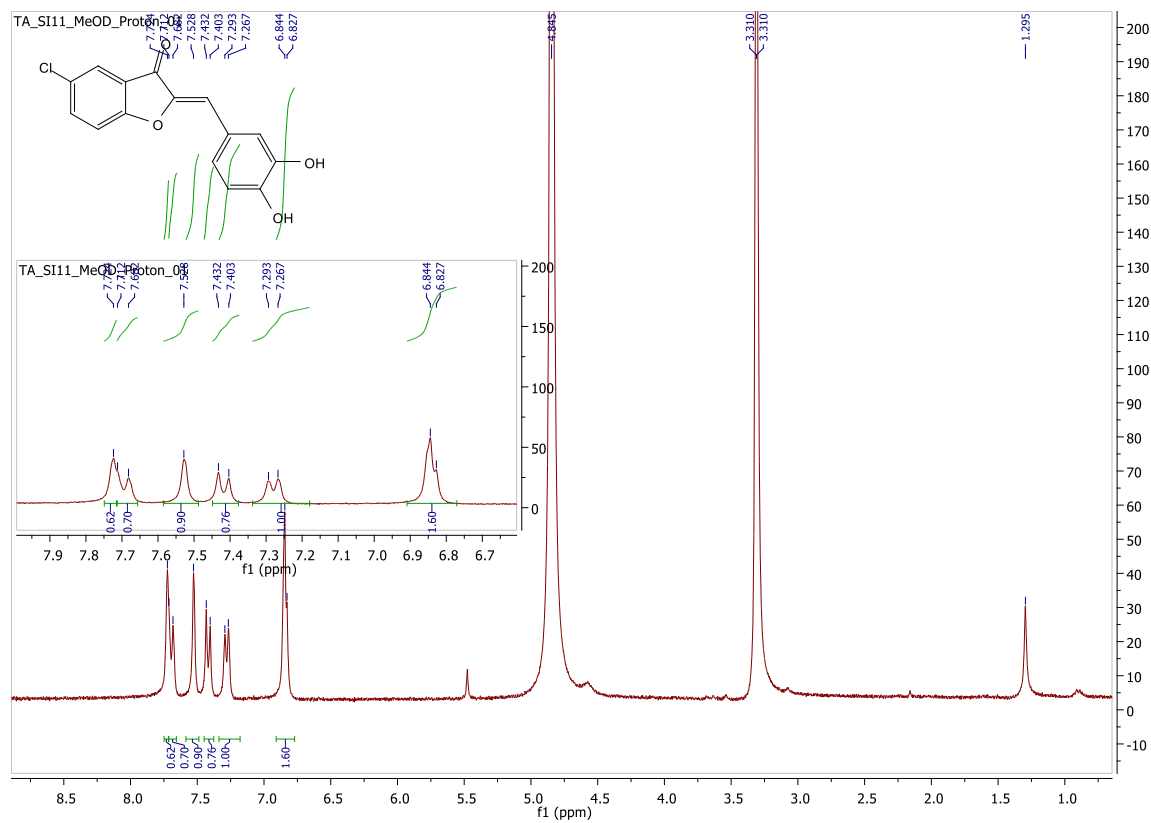
Εικόνα 10-9 Φάσμα ¹H NMR της (Z)-7-χλωρο-2-(3,4-διμεθοξυβενζυλιδενο)-4-υδροξυβενζοφουραν-3(2H)-όνη (4d) σε διαλύτη CDCl₃



Εικόνα 10-10¹H NMR της (Z)-7-βρωμο-2-(2,3-διυδροξυβενζυλιενο)-4-υδροξυ-βενζοφουραν-3(2H)-όνη (5b) σε διαλύτη DMSO--d₆



Εικόνα 10-11 Φάσμα ^1H NMR της (Z)-7-χλωρο-2-(2,3-διυδροξυβενζυλινο)-4-υδροξυβενζοφουραν-3(2H)-όνη (5c) σε διαλύτη DMSO-d_6



Εικόνα 10-12 Φάσμα ¹H NMR της (Z)-7-χλωρο-2-(3,4-διυδροξυβενζυλιενο)-4-υδροξυβενζοφουραν-3(2H)-όνη (5d) σε διαλύτη MeOD