



**Σύνθεση υβριδικών μορίων πυραζολινών-κινολινονών και
συμπλόκων εγκλεισμού τους σε β- και γ-κυκλοδεξτρίνη**

Διπλωματική εργασία

Βασιλάκη Μαρία

Επιβλέπουσα
Αναστασία Δέτση
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ε.Μ.Π.

Εργαστήριο Οργανικής Χημείας
Αθήνα 2019

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής εργασίας έλαβε χώρα στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, κατά το ακαδημαϊκό έτος 2018-2019. Για την πραγματοποίηση και ολοκλήρωση αυτής της ερευνητικής εργασίας θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες στην Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ε.Μ.Π κα. Αναστασία Δέτση, η οποία μου έδωσε την ευκαιρία να ασχοληθώ με ένα τόσο ενδιαφέρον ερευνητικό αντικείμενο και της οποίας η ουσιαστική βοήθεια και καθοδήγηση έπαιξαν καταλυτικό ρόλο στην επιτυχή περάτωση αυτής της εργασίας.

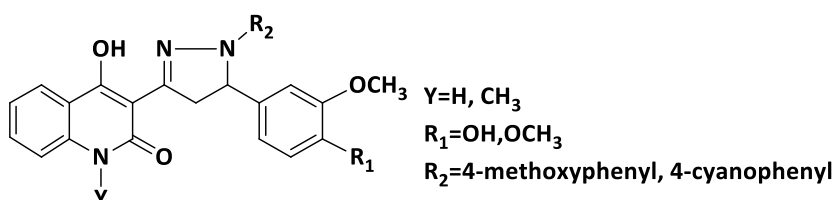
Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να αποδώσω και στην υποψήφια διδάκτορα του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας Ε.Μ.Π. Κωστοπούλου Ιωάννα τόσο για την συνεχή επίβλεψη της σε όλη την διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας όσο και για την ουσιαστική στήριξη και βοήθεια που μου παρείχε απλόχερα σε όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας.

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

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπό της παρούσας ερευνητικής εργασίας αποτελεί η σύνθεση κι ο δομικός χαρακτηρισμός δύο διαφορετικών πυραζολινικών αναλόγων με καλή αποδεδειγμένη αντιοξειδωτική δράση, καθώς και η μελέτη εγκλεισμού αυτών στους φυσικούς ολιγοσακχαρίτες β- και γ-κυκλοδεξτρίνη.

Για την επίτευξη του στόχου, πραγματοποιήθηκε σύνθεση κατάλληλα υποκατεστημένων υβριδικών μορίων κινολινονών-χαλκονών, μέσω αντίδρασης αλδολικής συμπύκνωσης, καθώς και η χημική τροποποίησή τους προς σχηματισμό των τελικών πυραζολινικών αναλόγων (Εικόνα 1). Η δομή των νέων ενώσεων ταυτοποιήθηκε μέσω φασματοσκοπίας Μαγνητικού Πυρηνικού Συντονισμού ^1H και ^{13}C NMR, φασματοσκοπίας υπέρυθρου (IR) και μάζας (Hr-MS).



Εικόνα 1. Χημική δομή των πυραζολινικών αναλόγων

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε μελέτη εγκλεισμού των δύο πυραζολινών σε β- και γ-κυκλοδεξτρίνη, εξετάζοντας διαφορετικές μεθόδους εγκλεισμού, αναλογίες και συνθήκες. Ακολούθησε χαρακτηρισμός των συμπλόκων εγκλεισμού ως προς το μέγεθος, το δείκτη πολυδιασποράς και το ζ-δυναμικό τους μέσω της μεθόδου Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (DLS). Τα σύμπλοκα της β-κυκλοδεξτρίνης αποδείχθηκε να σχηματίζουν νανοσωματίδια μεγέθους 500-600nm, μέτριας ομοιομορφίας διασποράς (PDI: 0.5-0.6), και ζ-δυναμικό από -30 έως -35mV ενδεικτικό της σταθερότητας της διασποράς. Τα σύμπλοκα εγκλεισμού με τη γ-κυκλοδεξτρίνη εμφάνισαν πολύ μεγαλύτερο διαμέτρο (>1000nm), δείκτη πολυδιασποράς PDI ~1 και ζ-δυναμικό -20mV. Η βελτιστοποίηση του σχηματισμού των συμπλόκων εγκλεισμού σε γ-κυκλοδεξτρίνη είναι υπό εξέλιξη.

Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε μελέτη της δομής των συμπλόκων μέσω φασματοσκοπίας ^1H NMR και FT-IR, όπου και διαπιστώθηκε η επιτυχής δημιουργία συμπλόκων μεταξύ των κυκλοδεξτρινών και των ενώσεων.

Τέλος, οι πυραζολίνες που συντέθηκαν καθώς και τα σύμπλοκα εγκλεισμού αξιολογήθηκαν *in vitro* ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση, όπου προέκυψαν πολύ ικανοποιητικά αποτελέσματα σε κάθε περίπτωση.

Επιστημονική περιοχή: Οργανική Χημεία, Φαρμακευτική χημεία, νανοτεχνολογία

Λέξεις-Κλειδιά: πυραζολίνες, κινολινόνες-χαλκόνες, β-κυκλοδεξτρίνη, γ-κυκλοδεξτρίνη, σύμπλοκα εγκλεισμού, αντιοξειδωτική δράση.

ABSTRACT

The present work aims at the synthesis and the structural characterization of two different pyrazoline analogues possessing significant antioxidant activity, as well as their inclusion in natural β - and γ -cyclodextrin oligosaccharides.

For this purpose, suitably substituted hybrid quinolinone-chalcones were synthesized, via an aldol condensation reaction, and were chemically modified in order to form the final pyrazoline analogues (Figure 1). The structure of the new compounds was identified by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy ^1H and ^{13}C NMR, Infrared (IR) and High-resolution Mass Spectroscopy (Hr-MS).

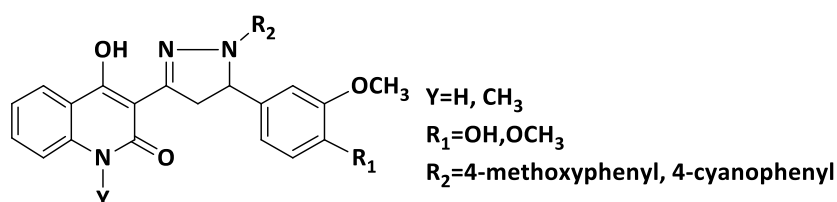


Figure 1. Chemical structure of synthesized pyrazoline analogues

Furthermore, the encapsulation of two pyrazolines in β - and γ -cyclodextrin was investigated, through different methods, molar ratios and conditions.

The inclusion complexes were evaluated for their size, polydispersity index and ζ -potential using the Dynamic Light Scattering method (DLS). The β -cyclodextrin complexes formed nanoparticles of 500-600nm size, moderate polydispersity index (PDI: 0.5-0.6), and ζ -potential from -30 to -35mV, which was indicative of the formation of stable dispersions. The complexes of γ -cyclodextrin exhibited much bigger diameter (>1000nm), PDI~1 and ζ -potential -20mV. Optimization of γ -cyclodextrin inclusion complexes is underway.

In addition, the evaluation of ^1H NMR and FT-IR spectra indicated a successful formation of a complex between β - and γ - CD and the compounds.

Finally, the synthesized pyrazolines as well as the inclusion complexes were evaluated in vitro for their antioxidant activity, providing very satisfactory results.

Scientific area: Organic Chemistry, Pharmaceutical Chemistry, Nanotechnology

Keywords: pyrazolines, quinolinone-chalcones, β -cyclodextrin, γ -cyclodextrin, complexes, antioxidant activity.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	3
ABSTRACT	5
1.ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	15
1.1 ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ.....	15
1.1.1. Γενικά.....	15
1.1.2 Δομή.....	15
1.1.2 Βιολογική δραστηριότητα.....	16
➤ Αντιοξειδωτική δράση.....	17
➤ Αντιφλεγμονώδης δράση.....	17
➤ Αντιβακτηριακή δράση.....	18
➤ Αντικαρκινική δράση.....	19
1.2 ΧΑΛΚΟΝΕΣ.....	20
1.2.1 Γενικά.....	20
1.2.2 Δομή.....	20
1.2.3 Βιολογική δραστηριότητα.....	20
1.2.4 Μέθοδοι σύνθεσης.....	22
1.3 ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΕΣ	25
1.3.1 ΔΟΜΗ.....	25
1.3.2 Βιολογική δραστηριότητα.....	26
1.3.3 Μέθοδοι σύνθεσης πυραζολινών.....	29
1.4 ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΕΣ	31
1.4.1 Γενικά.....	31
1.4.2 Ιστορική αναδρομή.....	31
1.4.3 Δομή.....	32

1.4.3	Σύνθεση κυκλοδεξτρινών.....	33
1.4.4	Εφαρμογές	34
1.4.5.	Σχηματισμός συμπλόκων εγκλεισμού	34
1.4.6	Πλεονεκτήματα συμπλόκων εγκλεισμού	35
➤	Ενίσχυση της διαλυτότητας:	35
➤	Βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας:.....	35
➤	Βελτίωση της σταθερότητας:	36
➤	Μείωση του ερεθισμού:.....	36
➤	Πρόληψη ασυμβατότητας:.....	36
➤	Οσμή και γεύση:	36
➤	Πλεονεκτήματα χειρισμού υλικών:	37
1.4.7	Τεχνικές σχηματισμού μοριακών συμπλόκων.....	37
➤	Μέθοδος φυσικής ανάμιξης / λείανσης:	37
➤	Μέθοδος ζύμωσης(kneading)	37
➤	Μέθοδος συγκαταβύθισης.....	37
➤	Μέθοδος εξουδετέρωσης.....	38
➤	Ξήρανση με ψεκασμό	38
➤	Μέθοδος λυοφίλισης / ξήρανσης με κατάψυξη:.....	38
1.4.8	Χαρακτηρισμός συμπλόκων.....	38
1.4.8.1	Μέγεθος (size).....	38
1.4.8.2	Δείκτης πολυδιασποράς (PDI)	39
1.4.8.3	ζ-δυναμικό (zeta potential)	39
2.	ΣΧΕΔΙΑΜΟΣ, ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ.....	40
2.1	Σύνθεση 3-υποκατεστημένων-4-υδροξυ-2-κινολινονών.....	40
2.1.1	Σύνθεση της 2-μεθυλο-4-Η-3,1-βενζοξαζιν-4-όνης.....	40

2.1.3	Σύνθεση της 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-(1H)-κινολινόνης (3)	40
2.1.4	Σύνθεση της 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-(1CH ₃)-κινολινόνης	41
2.2	Σύνθεση υβριδικών μορίων κινολινών-χαλκόνων.....	41
2.3	Πυραζολινικά ανάλογα	42
2.4	Αντιοξειδωτική δράση	43
3.	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	46
3.1	ΟΡΓΑΝΑ ΚΑΙ ΣΥΣΚΕΥΕΣ.....	46
3.2	ΣΥΝΘΕΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ	47
3.2.1	2-μεθυλο-4H-3,1-βενζοξαζιν-4-όνη (1).....	47
3.2.2	α-ακετυλο-2-(ακετυλαμινο)-β-οξο-βενζολο προπανοϊκός αιθυλεστέρας (2).47	
3.2.3	3-ακετυλο-4-υδροξυ-2(1H)-κινολινόνη (3)	48
3.2.4	βενζολοκαρβοξυλικός μεθυλεστέρας (4).....	48
3.2.5	3-ακετυλο-4-υδροξυ-2(1CH ₃)-κινολινόνη (5).....	49
3.2.6	Γενική μέθοδος σύνθεσης υβριδικών μορίων κινολινονο-χαλκόνων.....	49
3.2.6.1	4-υδροξυ-3-[3-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)-1-οξο-2-προπεν-1-υλο]-2(1H)-κινολινόνη.....	50
3.2.6.2	4-υδροξυ-3-[3-(3-μεθοξυ-4-υδροξυφαινυλο)-1-οξο-2-προπεν-1-υλο]-2(1CH ₃)-κινολινόνη.....	50
3.2.7	Γενική μέθοδος σύνθεσης πυραζολινικών αναλόγων.....	51
3.2.7.1	5-(4-υδροξυ-3-μεθοξυφαινυλο)-1-(4-κυανοφαινυλο)-3-(4,5-διυδρο-1H-πυραζολ-3-υλ)-4-υδροξυ-2-(1CH ₃)-κινολινόνη (6).....	51
3.2.7.2	5-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)-1-(4-μεθοξυ)-3-(4,5-διυδρο-1H-πυραζολ-3-υλ)-4-υδροξυ-2-(1H)-κινολινόνη (7)	52
3.3	Σχηματισμός συμπλόκων πυραζολινών με β και γ-κυκλοδεξτρίνη.	53
3.3.1	Υλικά.....	53
3.3.2	Όργανα και Συσκευές.....	53

3.3.3	Μέθοδος σχηματισμού συμπλόκων	54
3.3.4	Χαρακτηρισμός συμπλόκων	57
3.3.4.1	Προσδιορισμός της ποσότητας ένωσης που εγκλείστηκε σε κάθε σύμπλοκο	57
3.3.4.2	Προσδιορισμός μεγέθους, κατανομής μεγέθους (ή δείκτη πολυδιασποράς, PDI) και ζ-δυναμικού	59
4.	ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ, ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	60
4.1	ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΝΕΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΩΝ	60
4.1.1	Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR).....	60
4.2	Χαρακτηρισμός των συμπλόκων.....	65
4.2.1	Μέγεθος, κατανομή μεγέθους και ζ-δυναμικό των συμπλόκων.....	65
4.3.3	Μελέτη δομής συμπλόκων μέσω φασματομετρίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)	69
4.3.3.1	Σύμπλοκο MBA 20	70
4.3.3.2	Σύμπλοκο MBA 21	71
4.3.3.3	Σύμπλοκο MBA 22	72
4.3.3.4	Σύμπλοκο MBA 27	73
4.3.3.5	Σύμπλοκο MBA 29	74
4.3.3.6	Σύμπλοκο MBA 28	77
4.3.3.7	Σύμπλοκο MBA 30	78
4.3.4	Μελέτη δομής συμπλόκων μέσω Υπέρυθρης φασματομετρίας (FT-IR)	81
4.3.4.1	Σύμπλοκο MBA20	82
4.3.4.2	Σύμπλοκο MBA22	83
4.3.4.3	Σύμπλοκο MBA27	84
4.4	Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης	85
	Προσδιορισμός της αναγωγής της σταθερής ρίζας DPPH	85

4.4.1 Προσδιορισμός της αναγωγής της σταθερής ρίζας DRPH της πυραζολίνης (6) και (7).....	86
4.4.2 Προσδιορισμός της αναγωγής της σταθερής ρίζας DRPH των συμπλόκων.....	87
5.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	88
ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ.....	89
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	90
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι.....	95

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Χαρακτηριστικά κυκλοδεξτρινών.....	33
Πίνακας 2: Δεδομένα εγκλεισμού πυραζολίνης (6) με β-κυκλοδεξτρίνη.....	55
Πίνακας 3: Δεδομένα εγκλεισμού συμπλόκων πυραζολίνης (7) με β-CD.....	56
Πίνακας 4: Δεδομένα εγκλεισμού πυραζολινών 6 και 7 σε γ-κυκλοδεξτρίνη.....	56
Πίνακας 5: Δεδομένα μεγέθους, δείκτη πολυδιασποράς (PDI) και του ζ-δυναμικού των συμπλόκων.....	65
Πίνακας 6: Διαφορά χημικών μετατοπίσεων (ppm) της β-κυκλοδεξτρίνης σε ελεύθερη μορφή και στο σύμπλοκο MBA 20.....	70
Πίνακας 7: Διαφορά χημικών μετατοπίσεων (ppm) της β-κυκλοδεξτρίνης σε ελεύθερη μορφή και στο σύμπλοκο MBA 21.....	71
Πίνακας 8: Διαφορά χημικών μετατοπίσεων (ppm) της β-κυκλοδεξτρίνης σε ελεύθερη μορφή και στο σύμπλοκο MBA 22.....	73
Πίνακας 9: Διαφορά χημικών μετατοπίσεων (ppm) της β-κυκλοδεξτρίνης σε ελεύθερη μορφή και στο σύμπλοκο MBA 27.....	74
Πίνακας 10: Διαφορά χημικών μετατοπίσεων (ppm) της β-κυκλοδεξτρίνης σε ελεύθερη μορφή και στο σύμπλοκο MBA 29.....	75

Πίνακας 11: Διαφορά χημικών μετατοπίσεων (ppm) της γ-κυκλοδεξτρίνης σε ελεύθερη μορφή και στο σύμπλοκο MBA 28.	77
Πίνακας 12: Διαφορά χημικών μετατοπίσεων (ppm) της γ-κυκλοδεξτρίνης σε ελεύθερη μορφή και στο σύμπλοκο MBA 30.	78
Πίνακας 13: Δεδομένα αντιοξειδωτικής δράσης για τις πυραζολίνες (6) και (7)	86
Πίνακας 14: Δεδομένα αντιοξειδωτικής δράσης για τα συμπλοκα	87

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: βασική δομή φλαβονοειδών.....	15
Εικόνα 2: Δομές Φλαβονοειδών	16
Εικόνα 3: Φλαβονοειδή με αντιβακτηριακή δράση	18
Εικόνα 4: Φλαβονοειδή με δραστηριότητα κατά του καρκίνου.....	19
Εικόνα 5: Δομή χαλκονών.....	20
Εικόνα 6: Χαλκόνες με χαρακτηριστικές φαρμακευτικές δράσεις	21
Εικόνα 7: Σύνθεση χαλκονών μέσω αντίδρασης αλδολικής συμπύκνωσης Claisen-Schmidt	22
Εικόνα 8: Μηχανισμός αλδολικής συμπύκνωσης Claisen – Schmidt.....	23
Εικόνα 9: Σύνθεση χαλκονών μέσω μικροκυμάτων	23
Εικόνα 10: Μονοπάτια σύνθεσης χαλκονών μέσω της αντίδρασης Suzuki-Miyaura.....	24
Εικόνα 11: Mukaiyama αλδολική συμπύκνωση	25
Εικόνα 12: Πυραζολινικός δακτύλιος	25
Εικόνα 13: Τα τρία είδη πυραζολινών σε ισορροπία μεταξύ τους.	26
Εικόνα 14: Φαιναζόνη	26
Εικόνα 15: ινδοξακάρβη.....	26
Εικόνα 16: Δομή κυκλοδεξτρινών	32
Εικόνα 17: Τρισδιάστατη απεικόνιση της κυκλοδεξτρίνης	33

Εικόνα 18: Σύνθεση της 2-μεθυλο-4H-3,1-βενζοξαζιν-4-όνης.....	40
Εικόνα 19 συνθεση της 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-(1H)-κινολινόνης (3).....	41
Εικόνα 20: συνθεση της 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-(1CH3)-κινολινόνης (5)	41
Εικόνα 21: Σύνθεση κινολινονο-χαλκονών	42
Εικόνα 22: Αντιδράση σχηματισμού πυραζολινικών παραγώγων.	42
Εικόνα 23: Μηχανισμός σχηματισμού πυραζολίνης.	43
Εικόνα 24: 1,1-διφαινυλο-2-πικρυλυδραζυλική ρίζα (DPPH).....	44
Εικόνα 25: Αντίδραση αντιοξειδωτικού και ελεύθερης ρίζας DPPH.....	45
Εικόνα 26: καμπυλη αναφοράς πυραζολινης (6) σε dmsο	59
Εικόνα 27: καμπυλη αναφοράς πυραζολινης (7) σε dmsο	59
Εικόνα 28: Φάσμα ¹ H NMR για την πυραζολίνη (6).....	62
Εικόνα 29: Αρίθμηση δακτυλίων της πυραζολίνης 6	62
Εικόνα 30: φασμα ¹³ C NMR της πυραζολίνης 6.....	63
Εικόνα 31: φασμα FTIR πυραζολίνης (6).....	64
Εικόνα 32: Διάγραμμα χαρακτηρισμού μεγέθους για το σύμπλοκο MBA 27	68
Εικόνα 33: Διάγραμμα χαρακτηρισμού ζ-δυναμικού για το σύμπλοκο MBA 27	69
Εικόνα 34: Διάγραμμα χαρακτηρισμού μεγέθους για το σύμπλοκο MBA 30	69
Εικόνα 35: Διάγραμμα χαρακτηρισμού ζ-δυναμικού για το σύμπλοκο MBA 30	69
Εικόνα 36: Συγκριτικό φάσμα ¹ H NMR της β-CD και του συμπλόκου MBA20 (DMSO- <i>d</i> ₆).	70
Εικόνα 37: Συγκριτικό φάσμα ¹ H NMR της β-CD και του συμπλόκου MBA21 (DMSO- <i>d</i> ₆).	71
Εικόνα 38: Συγκριτικό φάσμα ¹ H NMR της β-CD και του συμπλόκου MBA22 (DMSO- <i>d</i> ₆).	72
Εικόνα 39: Συγκριτικό φάσμα ¹ H NMR της β-CD και του συμπλόκου MBA29 (DMSO- <i>d</i> ₆).	75

Εικόνα 40: Συγκριτικό φάσμα ^1H NMR της γ -CD και του συμπλόκου MBA28 (DMSO- d_6).	77
Εικόνα 41: Συγκριτικό φάσμα ^1H NMR της γ -CD και του συμπλόκου MBA30 (DMSO- d_6).	78
Εικόνα 42: a : Χημική δομή της β -CD και b : Αναπαράσταση της τρισδιάστατης δομής της β -CD.....	81
Εικόνα 43: Φάσμα IR της β -CD.....	82
Εικόνα 44: Φάσμα IR συμπλόκου MBA 20.....	82
Εικόνα 45: Φάσμα IR συμπλόκου MBA 22.....	83
Εικόνα 46: Φάσμα IR συμπλόκου MBA 27.....	84

1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

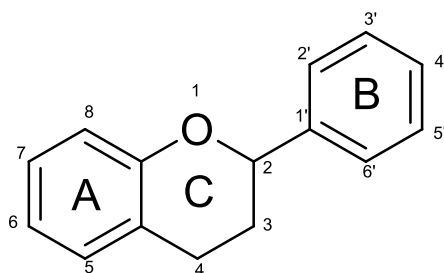
1.1 ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ

1.1.1. Γενικά

Τα φλαβονοειδή είναι μια κατηγορία ενώσεων που εμφανίζονται ευρέως στη φύση. Ο όρος "flavone" προέρχεται από τη λατινική λέξη flavus που σημαίνει κίτρινο. Τα ποικίλα κερδοφόρα βιοδραστικά οφέλη τους, συμπεριλαμβανομένων των αντι-ιικών, αντιβακτηριακών, αντιφλεγμονωδών, καρδιοπροστατευτικών και αντικαρκινικών έχουν αποτελέσει αντικείμενο εκτεταμένης έρευνας.[1-4] Μέχρι τώρα, περισσότερα από 9000 φλαβονοειδή έχουν αναφερθεί και η ημερήσια πρόσληψή τους κυμαίνεται μεταξύ 20 mg και 500 mg. Σημαντικές πηγές φλαβονοειδών στη διατροφή είναι το τσάι, το κόκκινο κρασί, μήλο, η ντομάτα, το κεράσι, το κρεμμύδι, το θυμάρι, ο μαϊντανός, η σόγια, καθώς και άλλα όσπρια και φρούτα. [5]

1.1.2 Δομή

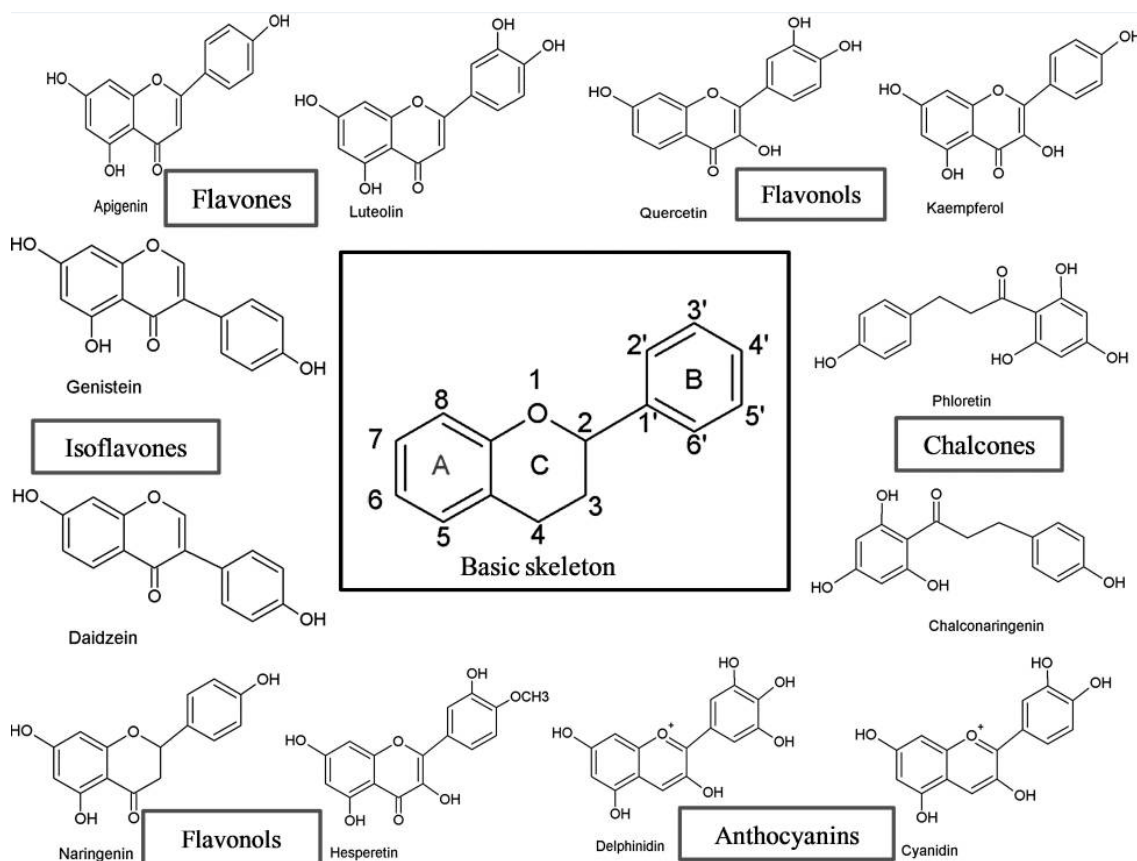
Η χημική φύση των φλαβονοειδών εξαρτάται από τις δομικές τους ιδιότητες, τον βαθμό υδροξυλίωσης, άλλες υποκαταστάσεις και συζεύξεις καθώς και τον βαθμό πολυμερισμού. Ο βασικός σκελετός των φλαβονοειδών αποτελείται από 15 άτομα άνθρακα σε μία διάταξη δύο αρωματικών δακτυλίων με έξι άτομα άνθρακα (δακτύλιοι A και B) με ένα ενδιάμεσο ετεροκυκλικό πυρανικό δακτύλιο (δακτύλιο C).



ΕΙΚΟΝΑ 1: ΒΑΣΙΚΗ ΔΟΜΗ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ

Τα φλαβονοειδή μπορούν να υποδιαιρεθούν σε διαφορετικές υποομάδες ανάλογα με τον άνθρακα του δακτυλίου C στον οποίο συνδέεται ο δακτύλιος B και τον βαθμό ακορεστότητας και οξειδωσης του δακτυλίου C (εικόνα1). Τα φλαβονοειδή στα οποία

συνδέεται ο δακτύλιος B στη θέση 3 του δακτυλίου C ονομάζονται ισοφλαβόνες. Αυτά στα οποία ο δακτύλιος B συνδέεται στη θέση 4 ονομάζονται νεοφλαβονοειδή, ενώ εκείνα στα οποία ο δακτύλιος B συνδέεται στη θέση 2 μπορούν να υποδιαιρεθούν περαιτέρω σε διάφορες υποομάδες με βάση τα δομικά χαρακτηριστικά του δακτυλίου C. Αυτές οι υποομάδες είναι: φλαβόνες, φλαβονόλες, φλαβανόνες, φλαβανόλες ή κατεχίνες, ανθοκυανίνες και χαλκόνες. [6], [7]



ΕΙΚΟΝΑ 2: ΔΟΜΕΣ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ

1.1.2 Βιολογική δραστηριότητα

Τα φλαβονοειδή προσδίδουν ποικίλες βιολογικές δραστηριότητες σε φυτά, ζώα και βακτήρια. Είναι γνωστό ότι προστατεύουν τα φυτά από διάφορες βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις και δρουν ως μοναδικά φίλτρα υπεριώδους ακτινοβολίας. Διάφοροι ερευνητές μελετώντας τα φλαβονοειδή, ανακάλυψαν πως μία πολύ σημαντική ιδιότητά τους είναι η παγίδευση των ελευθέρων ριζών οξυγόνου. Μια πληθώρα επιδημιολογικών μελετών έδειξε μια αρνητική συσχέτιση μεταξύ της

κατανάλωσης φαρμακευτικών φλαβονοειδών και της ανάπτυξης διαφόρων νόσων. [8-10] Φλαβονοειδή με τυπικές δομές μπορούν να αλληλεπιδράσουν με τα εμπλεκόμενα συστήματα ενζύμων σε κρίσιμες οδούς, παρουσιάζοντας αποτελεσματικές φαρμακολογικές συμπεριφορές. [11, 12] Ακόμη, *in vitro* πειραματικά συστήματα έδειξαν ότι τα φλαβονοειδή διαθέτουν αντιφλεγμονώδη, αναλγητική, αντιμικροβιακή και αντικαρκινική δράση. [5]

➤ **Αντιοξειδωτική δράση**

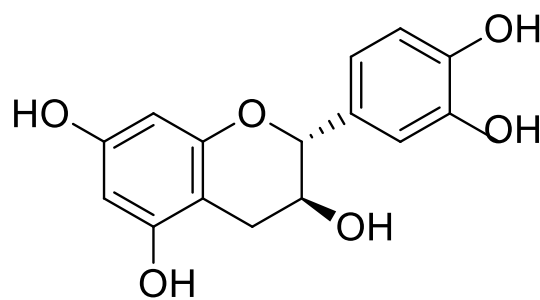
Σχεδόν κάθε ομάδα φλαβονοειδών έχει την ικανότητα να δρα αντιοξειδωτικά. Έχει αναφερθεί ότι οι φλαβόνες και οι κατεχίνες φαίνεται να είναι τα πιο ισχυρά φλαβονοειδή για την προστασία του σώματος έναντι των δραστικών ριζών οξυγόνου. Τα κύτταρα του σώματος και οι ιστοί απειλούνται συνεχώς από τις βλάβες που προκαλούνται από τις ελεύθερες ρίζες και τις δραστικές ρίζες οξυγόνου, τα οποία παράγονται κατά τη διάρκεια του φυσιολογικού μεταβολισμού οξυγόνου ή προκαλούνται από εξωγενή βλάβη. Τα φλαβονοειδή μπορούν να αποτρέψουν τη ζημιά που προκαλείται στο κύτταρο με διάφορους τρόπους. Ένας από αυτούς είναι η άμεση δέσμευση των ελευθέρων ριζών. Πιο συγκεκριμένα, η υψηλής δραστηριότητας ομάδα υδροξυλίου των φλαβονοειδών αντιδρά με τις ελεύθερες ρίζες, καθιστώντας τις ανενεργές.

➤ **Αντιφλεγμονώδης δράση**

Το 1930 ο Szant Györgi απέδειξε ότι εκχυλίσματα από τα είδη του γένους Citrus αυξάνουν την αντοχή των τριχοειδών αιμοφόρων αγγείων. Αργότερα, μελετώντας αρκετά φλαβονοειδή, διάφοροι ερευνητές έδειξαν ότι αυτά έχουν αντιφλεγμονώδη δράση, η οποία πιθανώς να οφείλεται στην αναστολή μερικών ενζυμικών συστημάτων τα οποία εμπλέκονται κατά το σχηματισμό και εξέλιξη της φλεγμονής. Διαπιστώθηκε με αυτό τον τρόπο ότι ορισμένα φλαβονοειδή, όπως η κερκετίνη και οι προκυανιδίνες, αναστέλλουν την ελεύθερη ισταμίνη, ελέγχουν τη σύνθεση των προσταγλαδινών και λευκοτριενίων και μειώνουν τη διαπερατότητα και ευθραυστότητα των τοιχωμάτων των τριχοειδών αιμοφόρων αγγείων.

➤ Αντιβακτηριακή δράση

Τα φλαβονοειδή είναι γνωστό ότι συντίθενται από τα φυτά σε περίπτωση μικροβιακής μόλυνσης οπότε δεν θα έπρεπε να προκαλεί έκπληξη το γεγονός ότι έχουν αποδειχθεί *in vitro* ως αποτελεσματικές αντιμικροβιακές ουσίες έναντι ευρέος φάσματος μικροοργανισμών. Τα φυτικά εκχυλίσματα, από διάφορα είδη φυτών που είναι πλούσια σε φλαβονοειδή παρουσιάζουν αντιβακτηριακή δράση. Τα αντιβακτηριακά φλαβονοειδή έχουν συνήθως πολλαπλούς κυτταρικούς στόχους και όχι μια συγκεκριμένη θέση δράσης. Μία από τις μοριακές τους δράσεις είναι να σχηματίζουν σύμπλοκο με πρωτεΐνες μέσω μη ειδικών δυνάμεων όπως οι δεσμοί υδρογόνου και οι υδρόφοβες επιδράσεις, καθώς και μέσω σχηματισμού ομοιοπολικού δεσμού. Έτσι, ο τρόπος της αντιμικροβιακής τους δράσης μπορεί να σχετίζεται με την ικανότητά τους να αδρανοποιούν μικροβιακές προσκολλητικές ουσίες (adhesins), ένζυμα, πρωτεΐνες μεταφοράς κυττάρων κ.ο.κ. Οι κατεχίνες έχουν διερευνηθεί εκτενώς λόγω της αντιμικροβιακής τους δράσης. Αυτές οι ενώσεις αναφέρονται για την *in vitro* αντιβακτηριακή τους δράση έναντι των βακτηριδίων *Vibrio cholerae*, *Streptococcus mutans*, *Shigella* και άλλων. Οι κατεχίνες έχουν αποδειχθεί ότι αδρανοποιούν την τοξίνη της χολέρας στο στέλεχος *Vibrio cholera* και αναστέλλουν τις απομονωμένες βακτηριακές γλυκοζυλοτρανσφεράσες στο *S. mutans*, πιθανώς λόγω δραστηριοτήτων συμπλοκοποίησης. [7]



Κατεχίνες

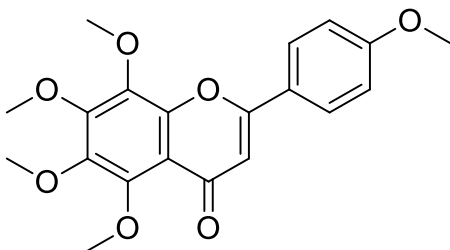
ΕΙΚΟΝΑ 3:ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ ΜΕ ΑΝΤΙΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ

➤ Αντικαρκινική δράση

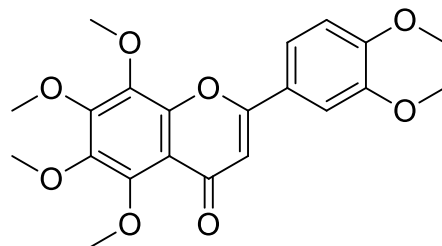
Οι διατροφικοί παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο στην πρόληψη του καρκίνου. Τα φρούτα και τα λαχανικά που είναι πλούσια σε φλαβονοειδή έχουν αναφερθεί ως παράγοντες χημειοπροφύλαξης του καρκίνου. Διάφοροι μηχανισμοί έχουν προταθεί για την επίδραση των φλαβονοειδών στα στάδια έναρξης και προώθησης της καρκινογένεσης. Κύριοι μοριακοί μηχανισμοί δράσης φλαβονοειδών δίδονται ως εξής:

- Ρύθμιση προς τα κάτω της μεταλλαγμένης πρωτεΐνης p53,
- Διακοπή κυτταρικού κύκλου,
- Αναστολή κινάσης τυροσίνης,
- Αναστολή πρωτεϊνών θερμικού σοκ,
- Ικανότητα δέσμευσης υποδοχέα οιστρογόνου,
- Αναστολή της έκφρασης των πρωτεϊνών Ras. [7]

Τα φλαβονοειδή του γένους Citrus ιδίως τα πολυμεθυλιωμένα όπως η τανγεριτίνη (tangeritin) και νοβιλετίνη (nobiletin), τα οποία υπάρχουν στα εσπεριδοειδή παρουσιάζουν έντονη ανασταλτική δράση στους καρκινικούς όγκους από ότι τα υδροξυλιωμένα παράγωγα. [13]



Τανγεριτίνη



Νοβιλετίνη

ΕΙΚΟΝΑ 4:ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ ΜΕ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΤΑ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ.

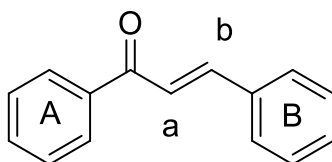
1.2 ΧΑΛΚΟΝΕΣ

1.2.1 Γενικά

Οι χαλκόνες είναι μια σημαντική κατηγορία φυσικών προϊόντων και θεωρούνται οι πρόδρομοι των φλαβονοειδών και των ισοφλαβονοειδών. Το όνομα χαλκόνες δόθηκε για πρώτη φορά από τους Kostanecki και Tambor το 1899 και προέρχεται από την ελληνική λέξη «χαλκός», θέλοντας να δώσουν έμφαση στο χαρακτηριστικό χάλκινο χρώμα των ενώσεων αυτών.

1.2.2 Δομή

Από χημική άποψη, οι χαλκόνες (1,3-διαρυλο-2-προπεν-1-όνες) είναι ενώσεις στις οποίες δύο αρωματικοί δακτύλιοι ή υποκατεστημένοι αρωματικοί δακτύλιοι συνδέονται μεταξύ τους μέσω ενός α,β -ακόρεστου καρβονυλικού συστήματος τριών ατόμων άνθρακα. Πιο συγκεκριμένα, οι χαλκόνες είναι α,β -ακόρεστες καρβονυλικές ενώσεις οι οποίες χαρακτηρίζονται από την παρουσία μιας γέφυρας με τρία άτομα άνθρακα με ένα διπλό δεσμό (Εικόνα 3).



ΕΙΚΟΝΑ 5: ΔΟΜΗ ΧΑΛΚΟΝΩΝ

Από συνθετική άποψη, οι χαλκόνες θεωρούνται πολύ προνομιούχες δομές, καθώς πρόκειται για ενώσεις που μπορούν να τροποποιηθούν δομικά με μεγάλη ποικιλία υποκαταστατών. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη διαφοροποίηση της βιολογικής δράσης τους και φυσικά μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα για τη σχέση δομής-βιολογικής δραστηριότητας. Το πλεονέκτημα αυτό, σε συνδυασμό με τις απλές συνθετικές μεθοδολογίες που οδηγούν στη σύνθεσή τους, καθιστά τις χαλκόνες ελκυστικές ενώσεις-στόχους στην οργανική και φαρμακευτική χημεία. [14], [15]

1.2.3 Βιολογική δραστηριότητα

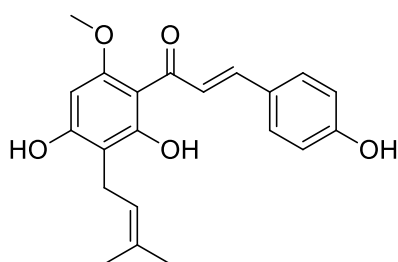
Οι Χαλκόνες και τα παράγωγά τους, είτε είναι φυσικά είτε συνθετικά αποτελούν μια ενδιαφέρουσα και σημαντική ομάδα μορίων καθώς διαθέτουν ένα ευρύ φάσμα

βιολογικών και φαρμακολογικών δραστηριοτήτων όπως αντιφλεγμονώδεις, αντιμικροβιακές, αντιμυκητιασικές, αντιβακτηριακές, αντιοξειδωτικές, αντικαρκινικές, κατά της ελονοσίας, κατά της φυματίωσης και ούτω καθεξής. [16-19]

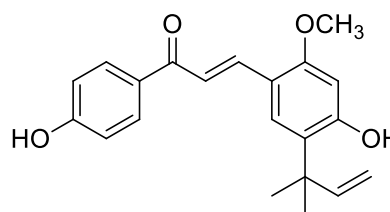
Χαρακτηριστικά παραδείγματα βιοδραστικών χαλκονών είναι η ξανθοουμόλη (xanthohumol), ένα βιοενεργό αντιοξειδωτικό φλαβονοειδές μόριο που βρέθηκε στο φυτό λυκίσκο και σχετίζεται με την προστασία της καρδιάς και των αιμοφόρων αγγείων και χαρακτηρίζεται ως παράγοντας χημειοπροφύλαξης του καρκίνου *in vitro*. [20]

Επιπρόσθετα, η Λικοχαλκόνη Α (Licochalcone A), μια χαλκόνη απομονωμένη από κινεζική γλυκόριζα της *Glycyrrhiza glabra*, έχει δείξει αξιοσημείωτες αντικαρκινικές, αντιβακτηριακές και αντι-ιικές ιδιότητες *in vitro*. [21]

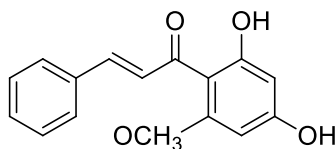
Τέλος, η καρδαμονίνη (cardamonin), μια υδροξυχαλκόνη απομονωμένη από ένα είδος φυτού του γένους *zingiberous*, διαθέτει αντιμυκητιασικές, αγγειοδιασταλτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. [22]



Xanthohumol



Licochalcone A

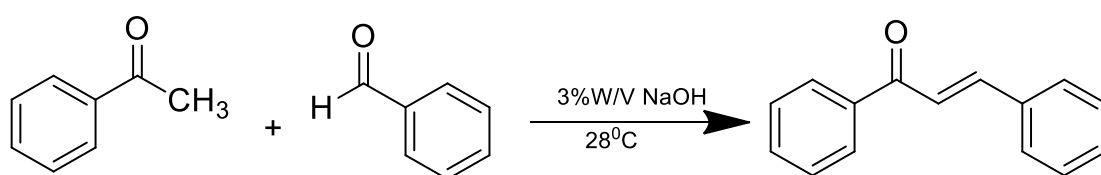


Cardamonin

ΕΙΚΟΝΑ 6: ΧΑΛΚΟΝΕΣ ΜΕ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΕΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ

1.2.4 Μέθοδοι σύνθεσης

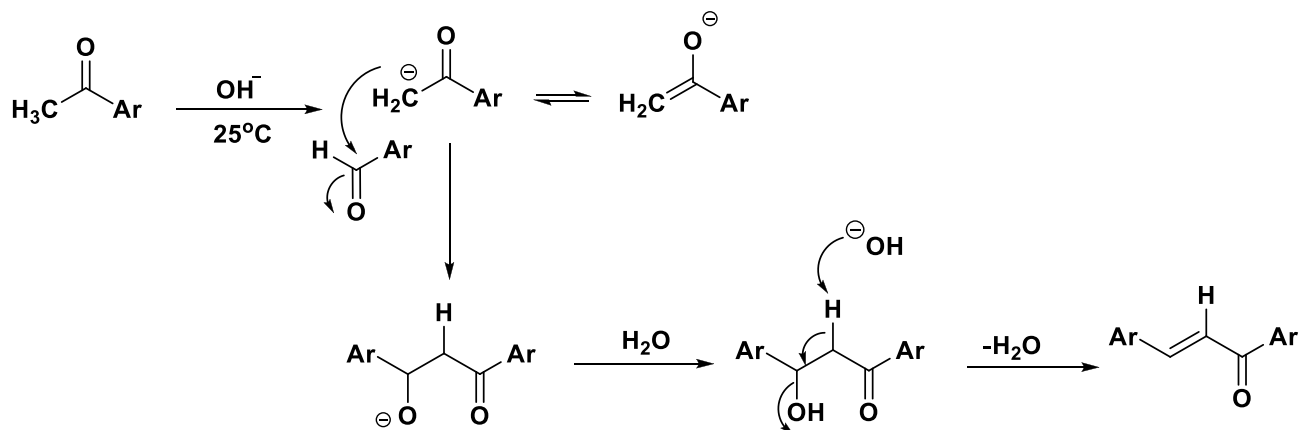
Παραδοσιακά, οι χαλκόνες συντίθενται μέσω της αντίδρασης μικτής αλδολικής συμπύκνωσης Claisen-Schmidt ανάμεσα σε καρβονυλικές ενώσεις η οποία αναπτύχθηκε το 1881. Η αντίδραση αυτή είναι ιδιαίτερα σημαντική στην οργανική σύνθεση, καθώς παρέχει έναν αποδοτικό τρόπο σχηματισμού δεσμών άνθρακα-άνθρακα. Απαιτεί ήπιες συνθήκες, χωρίς σχηματισμό παραπροϊόντων, ενώ η απομόνωση των τελικών προϊόντων πραγματοποιείται χωρίς επίπονους τρόπους καθαρισμού και σε υψηλές συνήθως αποδόσεις. [23]



ΕΙΚΟΝΑ 7: ΣΥΝΘΕΣΗ ΧΑΛΚΟΝΩΝ ΜΕΣΩ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΑΛΔΟΛΙΚΗΣ ΣΥΜΠΥΚΝΩΣΗΣ CLAISEN-SCHMIDT

Στη συγκεκριμένη αντίδραση, γενικά χρησιμοποιείται βάση ως καταλύτης. Ωστόσο, έχουν αναφερθεί περιπτώσεις στις οποίες συναντάμε οξέα- καταλύτες ή η αντίδραση πραγματοποιείται υποβοηθούμενη από μικροκύματα. Οι Χαλκόνες είναι χρήσιμοι πρόδρομοι για τη σύνθεση μιας ευρείας ποικιλίας ετεροκυκλικών παραγώγων, μέσω αντιδράσεων κλεισίματος δακτυλίου με υδραζίνη, φαινυλυδραζίνη, γουανιδίνη, ουρία κλπ. [14]

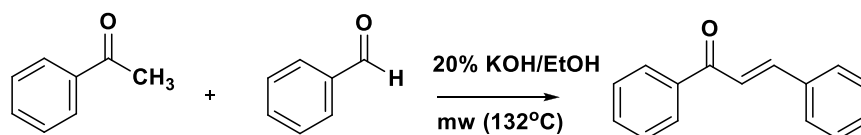
Η αλδολική συμπύκνωση αποτελεί μια οργανική αντίδραση στην οποία μία ενόλη ή ένα ενολικό ιόν αντιδρά με μία καρβονυλική ένωση για να σχηματιστεί μια β-υδροξυαλδεΐδη ή β-υδροξυκετόνη. Ακολουθεί μία αντίδραση αφυδάτωσης προς σχηματισμό μιας συζευγμένης ενόνης. Πιο συγκεκριμένα, κατά το πρώτο στάδιο της αντίδρασης, ένα α-υδρογόνο από ένα μόριο αλδεΐδης ή κετόνης αποσπάται από ισχυρή βάση, σχηματίζοντας ένα σταθεροποιημένο λόγω συντονισμού ενολικό ιόν. Στη συνέχεια, το ενολικό ιόν προσβάλλει ένα δεύτερο καρβονυλικό μόριο, σε μια αντίδραση πυρηνόφιλης προσθήκης, για να σχηματιστεί ένα τερταεδρικό ιόν αλκοξειδίου ως ενδιάμεσο. Τέλος, με πρωτονίωση του ενδιάμεσου ιόντος αλκοξειδίου, σχηματίζονται οι α,β-ακόρεστες χαλκόνες και αποσπάται ένα μόριο νερού.



ΕΙΚΟΝΑ 8: ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΑΛΔΟΛΙΚΗΣ ΣΥΜΠΥΚΝΩΣΗΣ CLAISEN – SCHMIDT

Η αλδολική συμπύκνωση, θεωρείται η πιο διαδεδομένη, κοινή μέθοδος για την σύνθεση χαλκονών, με συμβατική συνθετική πορεία. Ωστόσο, αυτή η μέθοδος απαιτεί σκληρές συνθήκες αντίδρασης, τοξικά αντιδραστήρια, ισχυρά όξινα ή βασικά συνθήκες και παρατεταμένο χρόνο αντίδρασης. Επιπλέον, έχει σχετικά χαμηλή απόδοση και χαμηλή επιλεκτικότητα. Αν και, έχουν γίνει αρκετές τροποποιήσεις για την αντιμετώπιση αυτών των προβλημάτων, υπάρχει ακόμη ανάγκη για την ανάπτυξη καλύτερων στρατηγικών για τη σύνθεση α, β-ακόρεστων καρβονυλικών ενώσεων.

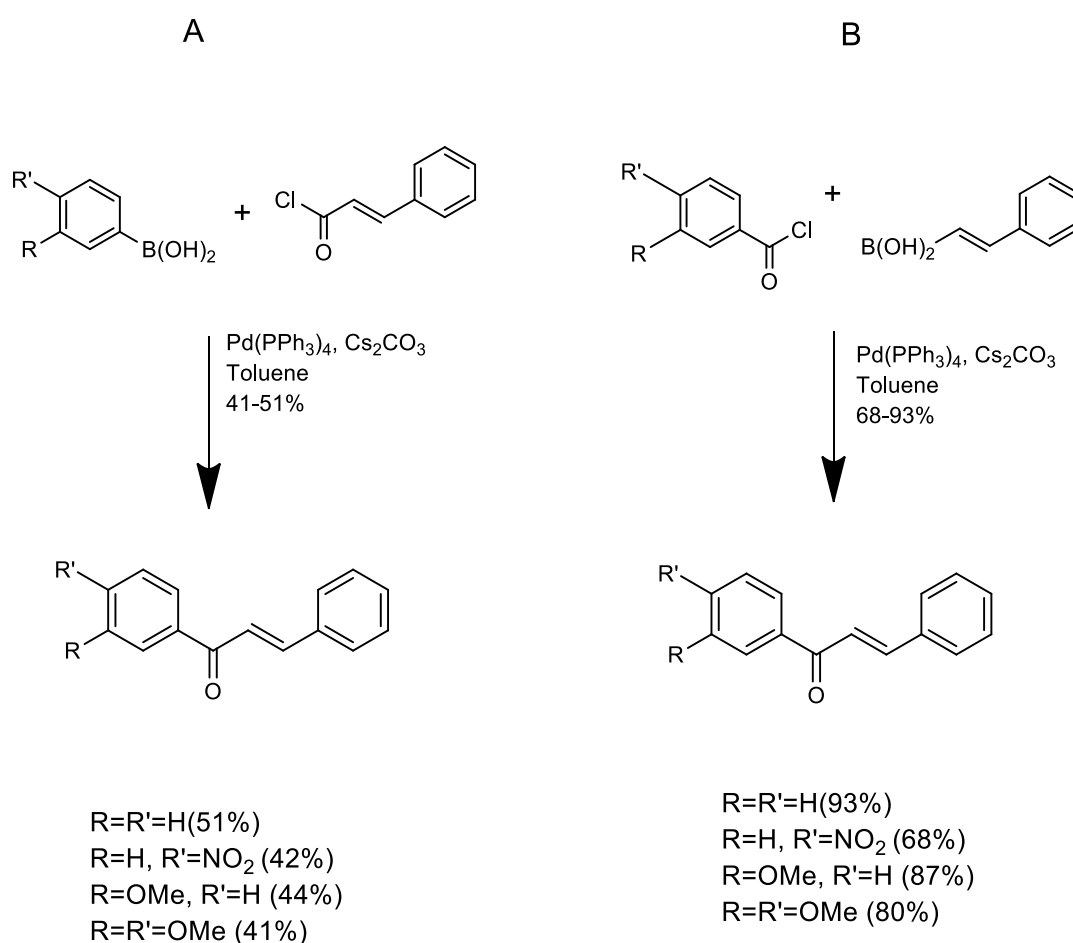
Τα τελευταία χρόνια, νέες μη συμβατικές μέθοδοι σύνθεσης χαλκονών έχουν αναπτυχθεί χρησιμοποιώντας ακτινοβολία μικροκυμάτων με εξίσου ικανοποιητικά αποτελέσματα. Πρόσφατα, η μικροκυματική ακτινοβολία έχει κερδίσει την προσοχή των χημικών λόγω των μοναδικών πλεονεκτημάτων της, όπως μικρότεροι χρόνοι αντίδρασης, καθαρότερα προϊόντα, υψηλότερες αποδόσεις και καλύτερες επιλογές. Πρόκειται για μια πολύτιμη εναλλακτική λύση που επιτυγχάνει πιο αποτελεσματικές συνθέσεις μιας ποικιλίας οργανικών ενώσεων με σημαντική απλότητα λειτουργίας και πιο ήπιες συνθήκες αντίδρασης.[24-27]



ΕΙΚΟΝΑ 9: ΣΥΝΘΕΣΗ ΧΑΛΚΟΝΩΝ ΜΕΣΩ ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΩΝ

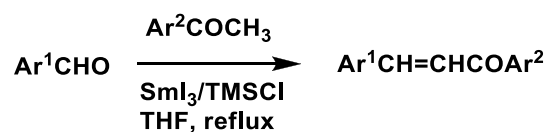
Επιπρόσθετα, η σύνθεση των χαλκονών είναι δυνατό να επιτευχθεί και μέσω της

αντίδρασης Suzuki-Miyaura. Η σύνθεση των χαλκονών με την αντίδραση Suzuki-Miyaura επιδείχθηκε για πρώτη φορά από τον Eddarir και τους συνεργάτες του το 2006. Η στρατηγική τους βασιζόταν σε δύο μονοπάτια. Το πρώτο αφορούσε στη σύζευξη του αρυλβορονικού οξέος (1) με χλωρίδιο κινναμωμικού οξέος(2), ενώ η δεύτερη οδός περιλάμβανε σύζευξη του στυρυλοβορονικού οξέος (5) με βενζοϋλοχλωρίδια (4) (Εικόνα 9). Μέσες αποδόσεις (41-51%) χαλκονών ελήφθησαν από το πρώτο, όταν χρησιμοποιήθηκαν οι συνθήκες Haddach και McCarthy [άνυδρο τολουόλιο, Pd (PPh₃)₄, Cs₂CO₃]. Οι ίδιες συνθήκες έδωσαν στις χαλκόνες καλές έως εξαιρετικές αποδόσεις (68-93%) μέσω του δεύτερου δρόμου. [28, 29]



ΕΙΚΟΝΑ 10: ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΧΑΛΚΟΝΩΝ ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ SUZUKI-ΜΙΥΑΥΡΑ

Τέλος, η αλδολική συμπύκνωση τύπου Mukaiyama μεταξύ μη κυκλικών κετονών και βενζαλδεΐδων, παρουσία ιωδιούχου σαμαρίου και τριμεθυλοσιλυλοχλωριδίου, είναι μία ακόμη μέθοδος σύνθεσης χαλκονών. Η συγκεκριμένη μέθοδος χρησιμοποιείται κυρίως για τη σύνθεση προϊόντων μικτής αλδολικής συμπύκνωσης, οδηγώντας στην απομόνωση μόνο των trans ισομερών. [30]

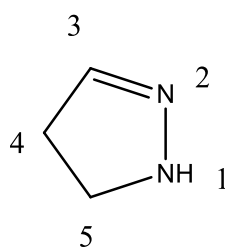


ΕΙΚΟΝΑ 11: ΜΥΚΑΙΥΑΜΑ ΑΛΔΟΛΙΚΗ ΣΥΜΠΥΚΝΩΣΗ

1.3 ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΕΣ

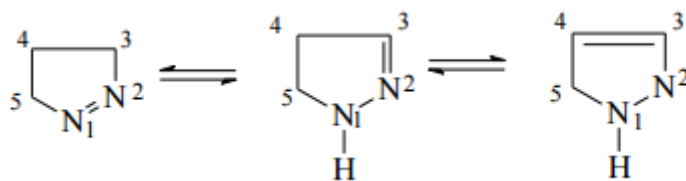
1.3.1 ΔΟΜΗ

Η πυραζολίνη αποτελεί μία πολύ γνωστή πενταμελή ετεροκυκλική ένωση που διαθέτει δύο γειτονικά άτομα αζώτου στον δακτύλιο και μόνο ένα ενδοκυκλικό διπλό δεσμό. Το άτομο του άνθρακα 5 παρεκκλίνει από το επίπεδο του σχεδόν επιπέδου συστήματος των υπόλοιπων τεσσάρων ατόμων του ετεροκυκλικού δακτυλίου και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της θεωρίας της ετεροκυκλικής χημείας.



ΕΙΚΟΝΑ 12: ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΙΚΟΣ ΔΑΚΤΥΛΙΟΣ

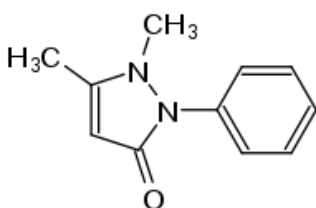
Ανάλογα με τη θέση του διπλού δεσμού, υπάρχουν τρεις πιθανές ανηγμένες μορφές δομής πυραζολίνης, οι οποίες είναι συγκεκριμένα η 1-πυραζολίνη, η 2-πυραζολίνη και η 3-πυραζολίνη και υπάρχουν σε ισορροπία μεταξύ τους. Μεταξύ αυτών, η 2-Πυραζολίνη εμφανίζει τον χαρακτήρα μονοαμινοξειδίου και ως εκ τούτου είναι πιο σταθερή από τις υπόλοιπες ανηγμένες μορφές, ενώ φαίνεται να είναι εκείνη που έχει μελετηθεί περισσότερο. Για την παρασκευή αυτής της κατηγορίας ενώσεων, έχουν αναφερθεί ποικίλες μέθοδοι. Ωστόσο, παρά την πιθανή χρησιμότητά τους, μερικές από τις αναφερόμενες μεθόδους παρουσιάζουν σημαντικά μειονεκτήματα όπως η πολύωρη αντίδραση, η δυσκολία στην διαδικασία απομόνωσης του προϊόντος καθώς και κάποιες περιβαλλοντικές ανησυχίες. [31], [32], [33]



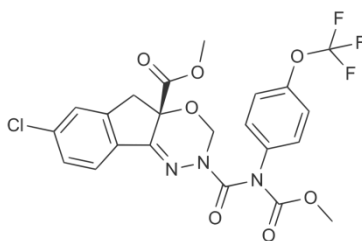
ΕΙΚΟΝΑ 13: ΤΑ ΤΡΙΑ ΕΙΔΗ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΩΝ ΣΕ ΙΣΟΡΡΟΠΙΑ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥΣ.

1.3.2 Βιολογική δραστηριότητα

Οι πυραζολίνες είναι μια σπουδαία κατηγορία φαρμακοφόρων ενώσεων. Λόγω της ενδιαφέρουσας δραστηριότητας των διαφόρων υποκατεστημένων πυραζολινών ως βιολογικών παραγόντων, ιδιαίτερη προσοχή έχει δοθεί σε αυτή την κατηγορία. Η φαρμακευτική σημασία αυτών των ενώσεων έγκειται στο γεγονός ότι μπορούν να χρησιμοποιηθούν αποτελεσματικά ως αντιμικροβιακοί [34],[35], αντι-ιικοί, αντιπαρασιτικοί και εντομοκτόνοι παράγοντες. Μερικές από αυτές τις ενώσεις έχουν επίσης αντιφλεγμονώδεις, αναλγητικές [36], αντιοξειδωτικές [37],[38] και αντικαταθλιπτικές ιδιότητες. [34, 39]



ΕΙΚΟΝΑ 14: ΦΑΙΝΑΖΟΝΗ



ΕΙΚΟΝΑ 15: ΙΝΔΟΞΑΚΑΡΒΗ

Ως εκ τούτου, μια σειρά από φαρμακολογικές δραστηριότητες τεκμηριώνονται τα τελευταία χρόνια για αυτή την κατηγορία ενώσεων και εξακολουθεί να είναι ένας ενεργός τομέας έρευνας. [40]

Το 2017, η ερευνητική ομάδα των Upadhyay et.al. πραγματοποίησαν τη σύνθεση μίας νέας σειράς παραγώγων 1,3,5-τρεις-υποκατεστημένης-2-πυραζολίνης μέσω μίας

αντίδρασης τριών βημάτων, συγκρίνοντας την συμβατική προς την μικροκυματική μέθοδο που προσεγγίζει την «πράσινη» χημεία. Τα δεκαέξι νέα ανάλογα αναλύθηκαν ως προς τα νευροφαρμακολογικά χαρακτηριστικά τους, χρησιμοποιώντας τεχνικές *in vivo* και *in silico*. Τα αποτελέσματα ήταν πολύ ελπιδοφόρα για όλα τα παράγωγα της πυραζολίνης, τα οποία παρουσίαζαν σημαντικές αντικαταθλιπτικές και αγχολυτικές ιδιότητες, αφού τα συνθετικά παράγωγα ήταν δυνητικοί αναστολείς της πρωτεΐνης MAO-A, η οποία παίζει κεντρικό ρόλο στη διαχείριση της κατάθλιψης και των διαταραχών άγχους. [41]

Τον ίδιο χρόνο, οι Mashooq Ahmad Bhat et.al., συνέθεσαν ένδεκα νέα παράγωγα πυραζολίνης μέσω μιας αντίδρασης χαλκονών με κυκλοεξυλο/φαινυλοθειοημικαρβαζίδιο παρουσία αιθανόλης και οξικού οξέος. Όλες οι ενώσεις αξιολογήθηκαν ως προς την αντιμυκητιασική τους δραστηριότητα έναντι διαφόρων στελεχών *Candida* και συγκρίθηκαν με το πρότυπο φάρμακο ιτρακοναζόλη. Μία από τις ενώσεις που συντέθηκαν βρέθηκε ότι είναι ο πιο ισχυρός αντιμυκητιασικός παράγων έναντι στελεχών *Candida*. Φαίνεται ότι η παρα-μεθοξυ υποκατάσταση σε έναν δακτύλιο φαινυλίου και η μετα-μεθοξυ υποκατάσταση σε άλλο δακτύλιο φαινυλίου του τμήματος πυραζολίνης συνέβαλε σημαντικά στην δράση κατά των στελεχών *Candida* σε αυτή τη σειρά πυραζολινών. [42]

Το 2018, οι Shadma C. et.al. συνέθεσαν 10 πρωτογενή παράγωγα πυραζολίνης με σκοπό την αξιολόγηση της βιολογικής τους δραστηριότητας. Τα παράγωγα πυραζολίνης συντέθηκαν χημικά μέσω μιας αντίδρασης κυκλοποίησης χαλκόνης με ισονιαζίδιο και διμεθυλοφορμαμίδιο. Για τη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν αρσενικοί αρουραίοι οποιουδήποτε φύλου και βάρους μεταξύ 180-250 g. Στην εξέταση αντιφλεγμονώδους δράσης, ως πρότυπο φάρμακο κατά του οιδήματος του ποδιού του αρουραίου που προκαλείται από καρραγενάνη χρησιμοποιήθηκε η ινδομεθακίνη. Για την αξιολόγηση της αντιβακτηριακής δράσης τα νέα παράγωγα ελέγχθηκαν ως αναστολείς των στελεχών *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *E.coli*, και *Pseudomonas Aeruginosa* και η σιπροφλοξασίνη χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπο φάρμακο. Στα αποτελέσματα, και οι δύο δοκιμές παρουσίασαν σημαντικό επίπεδο αντιφλεγμονώδους και αντιβακτηριακής δράσης συγκρίσιμης με το πρότυπο. Μέσα από αυτή τη μελέτη φαίνεται ότι ορισμένα παράγωγα πυραζολίνης μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως

πρότυπο για τον σχεδιασμό πιο ισχυρών θεραπευτικών παραγόντων με ορισμένες τροποποιήσεις. [43]

Οι Sagar A .Jadhav et.al., το 2018 συνέθεσαν νέα παράγωγα πυραζολίνης μέσω αντίδρασης κυκλοποίησης υποκατεστημένων παραγώγων χαλκόνης παρουσία 2, 4 δινιτρο-φαινυλδραζίνης. Τα πέντε παράγωγα που συντέθηκαν ελέγχθηκαν για τις αντικαρκινικές τους ιδιότητες με δοκιμασία MTT και συγκρίθηκαν με πρότυπο φάρμακο. Από τα αποτελέσματα μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι οι τροποποιημένες πυραζολίνες παρουσίασαν αξιόλογη αντικαρκινική δραστηριότητα. [44]

Τον ίδιο χρόνο, μία σειρά από είκοσι νέες πυραζολίνες συντέθηκαν από τους Lokesh BVS et.al. και αξιολογήθηκαν ως προς την *in vitro* αντιφυματική τους δράση έναντι του στελέχους *M. tuberculosis* H37Rv καθώς και ως προς την *in vitro* αντικαρκινική δραστηριότητα έναντι κυττάρων καρκίνου του προστάτη DU-145. Αποδείχθηκε ότι αυτές οι νέες πυραζολίνες αποτελούν ισχυρούς αναστολείς του στελέχους *Mycobacterium tuberculosis* καθώς και πιθανούς αντικαρκινικούς παράγοντες κατά του καρκίνου του προστάτη και άλλων τύπων καρκίνου. [45]

Τέλος, το 2018 οι B.C. Revanasiddappa et. Al. παρασκεύασαν μια νέα σειρά δέκα χαλκονών με αντίδραση υποκατεστημένων αλδευδών και κετονών σε μέσο αλκοόλης παρουσία NaOH. Οι χαλκόνες υποβλήθηκαν σε εκλεκτική κυκλοποίηση με βενζυδραζίδιο για να δώσουν τις 1, 3, 5-τριυποκατεστημένες πυραζολίνες. Οι νεοσυντιθέμενες ενώσεις υποβλήθηκαν σε εξέταση για την *in vitro* αντιοξειδωτική τους δράση με τις μεθόδους DPPH, υπεροξειδίου και νιτρικού οξειδίου. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι τα δοκιμασμένα παράγωγα πυραζολινών παρουσίασαν μέτρια έως ασθενή δραστηριότητα και στις τρεις μεθόδους, σε σύγκριση με το πρότυπο αντιοξειδωτικό ασκορβικό οξύ. Καμία από τις εξεταζόμενες ενώσεις δεν βρέθηκε ισχυρή σε σύγκριση με το πρότυπο. Η μελέτη απαιτεί περαιτέρω δομικές τροποποιήσεις αυτών των ενώσεων, ώστε να καταστούν έγκυρες ενώσεις, οι οποίες θα έχουν καλύτερη δραστηριότητα και μπορεί να είναι πολύ χρήσιμες για τις φαρμακευτικές βιομηχανίες. [46]

1.3.3 Μέθοδοι σύνθεσης πυραζολινών

Η πρώτη σύνθεση πυραζολίνης μέσω της αντίδρασης μιας α , β -ενόνης με ένα παράγωγο υδραζίνης δημοσιεύθηκε από τους Fischer και Knoevenagel το 1887. [47] Η σύνθεση αυτή επιτεύχθηκε μέσω αντίδρασης της φαινυλιδραζίνης με την ακρολεΐνη και αποτελεί και το πρώτο παράδειγμα σχηματισμού πυραζολίνης μέσω αντίδρασης μιας α,β -ακόρεστης καρβονυλικής ένωσης με παράγωγο υδραζίνης. Στη συνέχεια, η αντίδραση των α , β -ακόρεστων αλδεύδων και κετονών με παράγωγα υδραζίνης έγινε μια από τις πιο δημοφιλείς μεθόδους για την σύνθεση πυραζολινών [54, 55]. Σε αυτή τη μέθοδο, σχηματίζονται υδραζόνες ως ενδιάμεσα, τα οποία μπορούν στη συνέχεια να κυκλοποιηθούν σε 2-πυραζολίνες παρουσία ενός κατάλληλου παράγοντα κυκλοποίησης όπως το οξικό οξύ. Μέχρι στιγμής, αυτή η απλή και βολική διαδικασία παραμένει μία από τις πιο δημοφιλείς μεθόδους για την παρασκευή 2-πυραζολινών και έχουν αναφερθεί τροποποιημένες εκδόσεις αυτής της συνθετικής στρατηγικής. [48]

Η ανάπτυξη νέων, γρήγορων και καθαρών συνθετικών διαδρομών για τις ετεροκυκλικές ενώσεις που περιέχουν άζωτο είναι επιτακτική ανάγκη. Στη βιβλιογραφία, έχουν αναφερθεί ποικίλες διαδικασίες για το σχεδιασμό και την ανάπτυξη νέων ετεροκυκλικών ενώσεων (παράγωγα πυραζόλης και πυραζολίνης) μέσω αντιδράσεων πολλαπλών σταδίων [49], αντιδράσεων που καταλύονται με μέταλλα [50], αντιδράσεων domino των 2-ακυλαζιριδινών με τα διπολικά ιόντα Huisgen [51] και 1,3-διπολικών αντιδράσεων κυκλοπροσθήκης [52, 53] με σκοπό την πρόσβαση σε σημαντικά ετεροκυκλικά άλατα.

Επιπρόσθετα, η κυκλοποίηση χαλκονών, που οδηγεί σε παράγωγα πυραζολίνης, αποτελεί ένα ανεπτυγμένο πεδίο στον τομέα της ετεροκυκλικής χημείας, λόγω του ευρέος φάσματος της βιολογικής δραστηριότητας των προϊόντων. Αυτές οι παρατηρήσεις οδήγησαν στη σύνθεση των χαλκονών και της αντίστοιχης πυραζολίνης τους, εξερευνώντας απλές διαδικασίες. [54, 55]

Τέλος, η τεχνική ακτινοβολίας υπερήχων χρησιμοποιείται συχνά, όχι μόνο για τη μείωση των χρόνων αντίδρασης, αλλά και για την βελτίωση της απόδοσης σε μια μεγάλη ποικιλία πολυλειτουργικών ετεροκυκλικών ενώσεων. Σε σύγκριση με την παραδοσιακή μέθοδο, αυτή η μέθοδος είναι πιο βολική και πιο εύκολο να ελεγχθεί. Μέσω των αντιδράσεων υπερήχων, μπορεί να διεξαχθεί ένας μεγάλος αριθμός

οργανικών αντιδράσεων σε βραχύτερο χρόνο, με υψηλότερη απόδοση και πιο ήπιες συνθήκες.[56-58]

Στο πλαίσιο της "Πράσινης Χημείας", οι ερευνητές αντιμετωπίζουν τη νέα πρόκληση της σύνθεσης των παραγώγων πυραζολίνης υιοθετώντας νέες συνθήκες αντίδρασης που μειώνουν τη χρήση πτητικών οργανικών διαλυτών και επικίνδυνων τοξικών χημικών ουσιών. Μια νέα καταλυτική εφαρμογή του θειικού οξέος βολταμιδίου (TSA) ως καταλύτη υψηλής αποδοτικότητας και πράσινου στερεού οξέος για τη σύνθεση πυραζολών προτάθηκε.[59]

Το κυτταρινικό σουλφονικό οξύ (CSA) ευρέθη επίσης ότι είναι ικανό να κυκλοποιήσει α, β-ακόρεστες υδραζόνες σε πυραζολίνες σε εξαιρετικές αποδόσεις υπό πράσινες συνθήκες αντιδράσεως. [60]Τα παραδείγματα συνθέσεως παραγώγων 2-πυραζολίνης υπό συνθήκες χωρίς διαλύτη, με την τεχνική αλέσεως, την ακτινοβολία υπερήχων για την παραγωγή φθοριωμένων πυραζολίων και την τεχνική ακτινοβολίας μικροκυμάτων (MW) με σύντομη διαδικασία επεξεργασίας, μας κατευθύνουν προς μια θετική πορεία προς πράσινες εναλλακτικές μεθόδους, έναντι της συμβατικής σύνθεσης.[48]

1.4ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΕΣ

1.4.1 Γενικά

Οι κυκλοδεξτρίνες είναι φυσικοί κυκλικοί ολιγοσακχαρίτες που ανακαλύφθηκαν περίπου πριν από 100 χρόνια, αλλά μόνο τα τελευταία χρόνια οι καθαρές κυκλοδεξτρίνες είναι διαθέσιμες ως φαρμακευτικά έκδοχα. Στη φαρμακευτική βιομηχανία, οι κυκλοδεξτρίνες χρησιμοποιούνται κυρίως ως παράγοντες συμπλόκων με σκοπό την αύξηση της υδατοδιαλυτότητας, της βιοδιαθεσιμότητας και της σταθερότητας ορισμένων φαρμάκων. Επιπλέον, οι κυκλοδεξτρίνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να μειώσουν ερεθισμούς του γαστρεντερικού συστήματος, να μετατρέψουν υγρά φάρμακα σε μικροκρυσταλλικά ή άμορφη σκόνη και να αποτρέψουν τις αλληλεπιδράσεις φαρμάκου-εκδόχου. [61]

1.4.2 Ιστορική αναδρομή

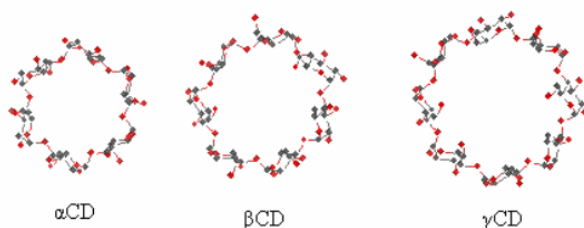
Το 1904, ο Schardinger απομόνωσε έναν καινούργιο οργανισμό ικανό να παράγει ακετόνη και αιθυλική αλκοόλη από την ζάχαρη και το άμυλο. Το 1911, διαπίστωσε ότι αυτό το στέλεχος, που ονομάζεται *Bacillus macerans*, παράγει επίσης μεγάλες ποσότητες κρυσταλλικών δεξτρινών από άμυλο (25-30%). Ο Schardinger ονόμασε αυτά τα κρυσταλλικά προϊόντα «κρυσταλλικές δεξτρίνες α» και «κρυσταλλικές δεξτρίνες β». Το 1935 απομονώθηκαν για πρώτη φορά οι δεξτρίνες. Μέχρι τότε η δομή των ενώσεων αυτών ήταν ακόμα αβέβαιη. Όμως το 1942 η δομή της α- και β-κυκλοδεξτρίνης προσδιορίστηκε μέσω της κρυσταλλογραφίας ακτινών Χ. Στην συνέχεια το 1948 ακολούθησε η ανακάλυψη της δομής της γ-κυκλοδεξτρίνης και έγινε επίσης γνωστή η ικανότητα των κυκλοδεξτρινών να σχηματίζουν μοριακά σύμπλοκα. Η α-, β-, και γ-κυκλοδεξτρίνη αποτελούνται από 6, 7 και 8 μονάδες γλυκόζης αντίστοιχα. Το 1961 βρέθηκαν στοιχεία που φανέρωναν την φυσική ύπαρξη των δ-, ζ-, ξ- και η-κυκλοδεξτρινών. Οι κυκλοδεξτρίνες αυτές αποτελούνται από 9 έως 12 μονάδες γλυκόζης αντίστοιχα. [62], [63]

Οι κυκλοδεξτρίνες (cyclodextrin-CD) ανακαλύφθηκαν στα τέλη του 19^{ου} από το Γάλλο επιστήμονα Villiers, ο οποίος κατάφερε να προσδιορίσει τη χημική δομή και ορισμένες από τις ιδιότητές τους. Αμέσως μετά την ανακάλυψή τους, οι κυκλοδεξτρίνες θεωρήθηκαν δηλητηριώδεις ουσίες και η ικανότητά τους να σχηματίσουν μοριακά

σύμπλοκα ήταν μόνο μια επιστημονική περιέργεια. Αργότερα όμως, μετά την έρευνα που έγινε πάνω στις κυκλοδεξτρίνες, αποδείχθηκε ότι δεν είναι μόνο μη τοξικές αλλά μπορούν να φανούν χρήσιμες για την προστασία αρωμάτων, βιταμινών φυσικών χρωμάτων και πολλών άλλων ουσιών. [64]

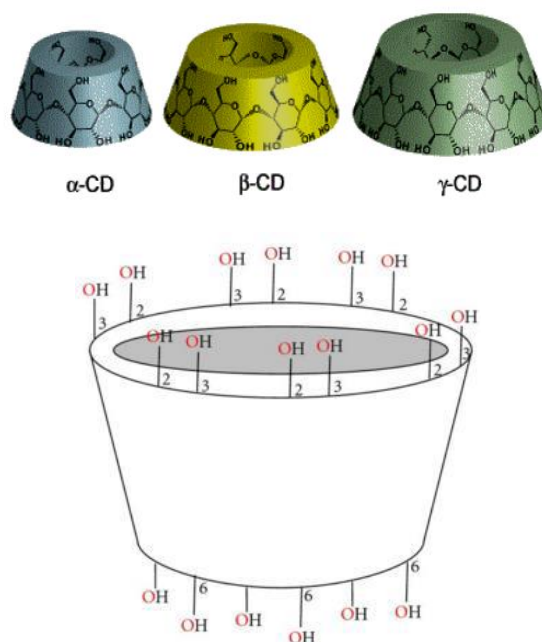
1.4.3 Δομή

Οι κυκλοδεξτρίνες είναι κυκλικοί ολιγοσακχαρίτες, αποτελούμενοι από έξι, επτά ή οκτώ μονάδες γλυκοπυρανόζης στην α-κυκλοδεξτρίνη, β-κυκλοδεξτρίνη και γ-κυκλοδεξτρίνη αντίστοιχα, οι οποίες συνδέονται με α-(1,4) δεσμούς. Η δομή της α,β και γ κυκλοδεξτρίνης παρουσιάζεται ακολούθως (εικόνα 14). Είναι επίσης γνωστές ως κυκλοαμυλάσες, κυκλομαλτόζες ή σαν δεξτρίνες του Schardinger.



ΕΙΚΟΝΑ 16: ΔΟΜΗ ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΩΝ

Η διάταξη των μονομερών στα μόρια κυκλοδεξτρίνης είναι τέτοια που μπορεί να προσομοιωθεί μ' έναν κώνο το εξωτερικό του οποίου είναι υδρόφιλο, ενώ στο εσωτερικό του οι υδρόφοβοι άνθρακες των μονομερών δημιουργούν ένα υδροφοβικό περιβάλλον. Αυτό το δομικό χαρακτηριστικό τους, τους προσδίδει μία μοναδική ικανότητα να δημιουργούν σύμπλοκα εγκλεισμού με τα φιλοξενούμενα μόρια στο εσωτερικό της κοιλότητας τους μέσω αλληλεπιδράσεων «ξενιστή»- «φιλοξενούμενου μορίου» (“guest-host” interactions). Λόγω της ιδιαίτερης δομής τους η οποία αποτελείται από μία υδρόφοβη εσωτερική κοιλότητα και μία υδρόφιλη εξωτερική επιφάνεια, οι κυκλοδεξτρίνες είναι γνωστές για την ικανότητά τους να δρουν ως φορείς λιπόφιλων μορίων, σχηματίζοντας υδατοδιαλυτά μοριακά σύμπλοκα. Παρακάτω απεικονίζεται τρισδιάστατα το μόριο της κυκλοδεξτρίνης. (εικόνα 15) [62], [65]



ΕΙΚΟΝΑ 17: ΤΡΙΣΔΙΑΣΤΑΤΗ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΤΗΣ ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗΣ

Τα τρία διαφορετικά μόρια κυκλοδεξτρίνης διαφέρουν ως προς το μέγεθος του δακτυλίου και την διαλυτότητά τους όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΩΝ.

Είδος κυκλοδεξτρίνης	Διάμετρος κοιλότητας A	Μοριακό Βάρος	Διαλυτότητα (g/100ml)
α -CD	4.7-5.3	972	14.5
β -CD	6.0-6.5	1135	1.85
γ -CD	7.5-8.3	1297	23.2

1.4.3 Σύνθεση κυκλοδεξτρινών

Η παραγωγή κυκλοδεξτρινών είναι σχετικά απλή και περιλαμβάνει την κατεργασία άμυλου με ένα σύνολο εύκολα διαθέσιμων ενζύμων. Συνήθως η cyclodextrin Glycosyltransferase (CGTases) συνδυάζεται με την α -αμυλάση. Πρώτα το άμυλο υγροποιείται είτε με θερμική επεξεργασία είτε με χρήση α -αμυλάσης και στη συνέχεια προστίθεται η CGTase για την ενζυματική μετατροπή. Οι CGTases μπορούν να

συνθέτουν όλες τις μορφές κυκλοδεξτρίνων, έτσι το προϊόν της μετατροπής έχει ως αποτέλεσμα το μίγμα των τριών κύριων τύπων κυκλικών μορίων, σε αναλογίες που εξαρτώνται από το χρησιμοποιούμενο ένζυμο. Η κάθε CGTase έχει τη δική της χαρακτηριστική αναλογία σύνθεσης α: β: γ κυκλοδεξτρίνης. Για τον καθαρισμό των τριών τύπων κυκλοδεξτρίνης εκμεταλλεύονται τη διαφορετική υδατοδιαλυτότητα των μορίων. Η β-CD που είναι πολύ λίγο υδατοδιαλυτή μπορεί να ανακτηθεί εύκολα με κρυστάλλωση ενώ οι πιο διαλυτές α-γ-CD διαχωρίζονται συνήθως με ακριβές και χρονοβόρες χρωματογραφικές τεχνικές. [61]

1.4.4 Εφαρμογές

Οι κυκλοδεξτρίνες χρησιμοποιούνται ευρέως για την βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας και της σταθερότητας υδρόφοβων ενώσεων, μέσω σχηματισμού μοριακών συμπλόκων και για να μετατρέψουν υγρά δραστικά μόρια σε σταθερά ξηρά σύμπλοκα, σε μορφή πούδρας. Επιπλέον βρίσκουν ευρεία εφαρμογή στην προστασία πτητικών ενώσεων από παράγοντες όπως το οξυγόνο, η θερμότητα και το φως. Τέλος μέσω του σχηματισμού μοριακών συμπλόκων επιτυγχάνεται ελεγχόμενη αποδέσμευση του φιλοξενούμενου μορίου. Η χρήση των κυκλοδεξτρίνων ως φορείς λιπόφιλων μορίων, μέσω σχηματισμού μοριακών συμπλόκων, βρίσκει εφαρμογή σε διάφορους τομείς, όπως στα τρόφιμα, στα φάρμακα, στην βιοϊατρική, στα καλλυντικά, στην συσκευασία και στην αγροτική βιομηχανία. [66], [67]

1.4.5. Σχηματισμός συμπλόκων εγκλεισμού

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, οι κυκλοδεξτρίνες έχουν την ικανότητα να σχηματίζουν σύμπλοκα εγκλεισμού με ποικίλες ενώσεις σε στερεή, υγρή ή αέρια μορφή. Αυτό συμβαίνει διότι η λιπόφιλη κοιλότητα των κυκλοδεξτρίνων δημιουργεί περιβάλλον μέσα στο οποίο δύναται να εισχωρήσουν άπολα μόρια κατάλληλου μεγέθους τα οποία συγκρατούνται εντός της κοιλότητας του μορίου κυκλοδεξτρίνης κι έτσι σχηματίζονται τα σύμπλοκα εγκλεισμού.

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

Οι δεσμοί που σχηματίζονται μεταξύ κυκλοδεξτρίνης και του μορίου που εγκλείεται δεν είναι μόνιμοι. Πρόκειται για μία κατάσταση δυναμικής ισορροπίας κατά την οποία η σταθερότητα του συμπλόκου εξαρτάται από τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ατόμων της επιφάνειας. Ο εγκλεισμός υδρόφοβων ενώσεων λαμβάνει χώρα κυρίως από υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των φιλοξενούμενων μορίων και των τοιχωμάτων της κοιλότητας της κυκλοδεξτρίνης. Ωστόσο, άλλες δυνάμεις, όπως οι van der Waals και οι αλληλεπιδράσεις διπόλου-διπόλου, μπορεί να εμπλέκονται στη δέσμευση του επισκέπτη. Παρά τον αριθμό των παραγόντων και τις διαφορετικές δυνάμεις που εμπλέκονται στην συμπλοκοποίηση με κυκλοδεξτρίνες, η παραγωγή συμπλοκών είναι μια μάλλον απλή διαδικασία. Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι για τον σχηματισμό συμπλοκών κυκλοδεξτρίνης-φιλοξενούμενων μορίων ανάλογα με τις ιδιότητες του φιλοξενούμενου και τη φύση της επιλεγμένης κυκλοδεξτρίνης. [68-72]

1.4.6 Πλεονεκτήματα συμπλόκων εγκλεισμού

➤ *Ενίσχυση της διαλυτότητας:*

Οι κυκλοδεξτρίνες αυξάνουν την υδατοδιαλυτότητα πολλών ελάχιστα διαλυτών φαρμάκων σχηματίζοντας σύμπλοκα εγκλεισμού με τα άπολα μόρια αυτών. Το προκύπτον σύμπλοκο κρύβει το μεγαλύτερο μέρος των υδρόφοβων ομάδων στην εσωτερική κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης, ενώ οι υδρόφιλες ομάδες υδροξυλίου στην εξωτερική επιφάνεια παραμένουν εκτεθειμένες στο περιβάλλον. Το αποτέλεσμα είναι ο σχηματισμός ενός υδατοδιαλυτού συμπλόκου φαρμάκου-κυκλοδεξτρίνης.

➤ *Βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας:*

Όταν η κακή βιοδιαθεσιμότητα οφείλεται σε χαμηλή διαλυτότητα, οι κυκλοδεξτρίνες είναι εξαιρετικής αξίας. Προϋποθέσεις για την απορρόφηση ενός από το στόματος χορηγούμενου φαρμάκου είναι η απελευθέρωσή του από τη σύνθεση σε διαλυμένη μορφή. Όταν το φάρμακο συμπλέκεται με κυκλοδεξτρίνη, ο ρυθμός διάλυσης και, συνεπώς, η απορρόφηση ενισχύεται. Εκτός από τη βελτίωση της διαλυτότητας, οι κυκλοδεξτρίνες αποτρέπουν επίσης την κρυστάλλωση των δραστικών συστατικών με τη συμπλοκή μεμονωμένων μορίων φαρμάκου.

➤ **Βελτίωση της σταθερότητας:**

Τα σύμπλοκα κυκλοδεξτρίνης έχουν τεράστια εφαρμογή στη βελτίωση της χημικής, φυσικής και θερμικής σταθερότητας των φαρμάκων. Για να αποικοδομηθεί ένα ενεργό μόριο κατά την έκθεση σε οξυγόνο, νερό, ακτινοβολία ή θερμότητα, πρέπει να πραγματοποιηθούν χημικές αντιδράσεις. Όταν ένα μόριο παγιδεύεται μέσα στην κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης, είναι δύσκολο για τα αντιδρώντα να διαχέονται μέσα στην κοιλότητα και να αντιδρούν με τον προστατευόμενο επισκέπτη.

➤ **Μείωση του ερεθισμού:**

Φαρμακευτικές ουσίες που ερεθίζουν το στομάχι, το δέρμα ή τα μάτια μπορούν να ενθυλακωθούν μέσα σε μια κοιλότητα κυκλοδεξτρίνης για να μειώσουν την ερεθιστικότητα τους. Η συμπλοκοποίηση με κυκλοδεξτρίνη μειώνει την τοπική συγκέντρωση του ελεύθερου φαρμάκου, κάτω από το όριο ερεθισμού. Καθώς το σύμπλοκο σταδιακά αποσυνδέεται και το φάρμακο απελευθερώνεται, αυτό απορροφάται από το σώμα και ελεύθερη συγκέντρωσή του παραμένει πάντα κάτω από τα επίπεδα που μπορεί να είναι ερεθιστικά για τον βλεννογόνο.

➤ **Πρόληψη ασυμβατότητας:**

Τα φάρμακα είναι συχνά ασυμβίβαστα μεταξύ τους ή με άλλα αδρανή συστατικά που υπάρχουν σε ένα σκεύασμα. Ο εγκλεισμός ενός από τα ασυμβίβαστα συστατικά μέσα σε ένα μόριο κυκλοδεξτρίνης σταθεροποιεί το σκεύασμα με φυσικό διαχωρισμό των συστατικών με σκοπό την αποτροπή αλληλεπιδράσεων φαρμάκου-φαρμάκου.

➤ **Οσμή και γεύση:**

Η δυσάρεστη οσμή και η πικρή γεύση των φαρμάκων μπορούν να καλυφθούν μέσω συμπλοκοποίησης με κυκλοδεξτρίνη. Μόρια ή λειτουργικές ομάδες που προκαλούν δυσάρεστες γεύσεις ή οσμές μπορούν να αποκρύπτονται από τους αισθητήριους υποδοχείς με τον εγκλεισμό τους μέσα στην κοιλότητα κυκλοδεξτρίνης. Τα προκύπτοντα σύμπλοκα δεν έχουν κακή γεύση ή οσμή και είναι πολύ πιο αποδεκτά από τον ασθενή.

➤ **Πλεονεκτήματα χειρισμού υλικών:**

Οι ουσίες που είναι ελαιώδεις ή υγρές σε θερμοκρασία δωματίου μπορεί να είναι δύσκολο να χειριστούν και να διαμορφωθούν σε σταθερές μορφές στερεάς δοσολογίας. Η συμπλοκοποίηση με κυκλοδεξτρίνη μπορεί να μετατρέπει τέτοιες ουσίες σε μικροκρυσταλλικές ή άμορφες σκόνες οι οποίες μπορούν εύκολα να διακινούνται και να τυποποιούνται σε στερεές μορφές δοσολογίας με συμβατικές διαδικασίες παραγωγής και εξοπλισμό.[70]

1.4.7 Τεχνικές σχηματισμού μοριακών συμπλόκων

Χρησιμοποιούνται πολλές τεχνικές για τη διαμόρφωση συμπλόκων με κυκλοδεξτρίνη, όπως η λειοτρίβηση, η ζύμωση, η συνκαταβίθωση, η στερεή διασπορά (solid dispersion), η εξουδετέρωση, η ξήρανση με ψεκασμό (spray drying, freeze drying) κ.λπ. Το ίδιο το όνομα περιγράφει την διαδικασία σχηματισμού συμπλόκων.

➤ **Μέθοδος φυσικής ανάμιξης / λείανσης:**

Τα σύμπλοκα μπορούν να παρασκευαστούν μέσω της απλής άλεσης/λειοτρίβησης του φαρμάκου με κυκλοδεξτρίνη σε γουδί, σε μικρή κλίμακα, ενώ σε μεγάλη κλίμακα, η προετοιμασία των συμπλόκων βασίζεται στην εκτεταμένη ανάμειξη του φαρμάκου με κυκλοδεξτρίνη σε κοκκοποιητή συνήθως για 30 λεπτά.

➤ **Μέθοδος ζύμωσης (kneading)**

Πάστα κυκλοδεξτρίνης παρασκευάζεται με μικρή ποσότητα νερού όπου το φάρμακο προστίθεται χωρίς διαλύτη ή σε μικρή ποσότητα αιθανόλης. Μετά το σχηματισμό πάστας, ο διαλύτης εξατμίζεται και παραλαμβάνεται σύμπλοκο σε σκόνη. Σε εργαστηριακή κλίμακα αυτή η μέθοδος μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση γουδιού ενώ σε μεγαλύτερη κλίμακα απαιτείται η χρήση εξωθητήρων και άλλων μηχανών.

➤ **Μέθοδος συγκαταβύθισης**

Η κυκλοδεξτρίνη διαλύεται σε νερό ή διαλύτη και το φάρμακο προστίθεται ενώ αναδεύεται το διάλυμα κυκλοδεξτρίνης. Το διάλυμα πρέπει να ψύχεται υπό ανάδευση πριν δημιουργηθεί ένα ίζημα. Το ίζημα μπορεί να συλλεχθεί με απόχυση, φυγοκέντρωση ή διήθηση και στη συνέχεια να εκπλυθεί.

➤ **Μέθοδος εξουδετέρωσης**

Το φάρμακο και η κυκλοδεξτρίνη διαλύονται ξεχωριστά σε 0.1 N υδροξειδίου του νατρίου, αναμιγνύονται και αναδεύονται για περίπου μισή ώρα, ενώ καταγράφεται το pH και 0,1N HCl προστίθεται στάγδην με ανάδευση μέχρις ότου το pH φτάσει στο 7,5, όπου το σύμπλοκο καθιζάνει. Το υπόλειμμα διηθείται και εκπλένεται έως ότου είναι ελεύθερο από χλώριο. Ξηραίνεται στους 250° C για 24 ώρες και αποθηκεύεται σε ξηραντήρα.

➤ **Ξήρανση με ψεκασμό**

Σε αυτή τη μέθοδο, πρώτα επιτυγχάνεται ένα μονοφασικό διάλυμα φαρμάκου και κυκλοδεξτρίνης, το οποίο παρασκευάζεται χρησιμοποιώντας ένα κατάλληλο διαλυτικό μέσο. Στη συνέχεια το διάλυμα αναδεύεται μέχρι την επίτευξη της ισορροπίας μετά την οποία ο διαλύτης αφαιρείται με ξήρανση με ψεκασμό.

➤ **Μέθοδος λυοφίλισης / ξήρανσης με κατάψυξη:**

Σύμφωνα με αυτή τη διαδικασία, το σύστημα διαλύτη εξαλείφεται από το διάλυμα μέσω πρωτογενούς κατάψυξης και επακόλουθης ξήρανσης του διαλύματος που περιέχει φάρμακο και κυκλοδεξτρίνη σε μειωμένη πίεση. Οι θερμοευαίσθητες ουσίες μπορούν να κατασκευαστούν με επιτυχία σε σύμπλοκα με αυτή τη μέθοδο.[61]

1.4.8 Χαρακτηρισμός συμπλόκων

1.4.8.1 Μέγεθος (size)

Ο όρος νανοσωματίδια χρησιμοποιείται για να περιγράψει στερεά κolloειδή σωματίδια με διάμετρο που κυμαίνεται από 10 nm έως 1000 nm. Το μέγεθος των νανοσωματιδίων αποτελεί μία πολύ σημαντική παράμετρο η οποία εξαρτάται από πολλούς παράγοντες. Κατ'αρχάς, η επιλογή της μεθόδου σχηματισμού των συμπλόκων σχηματισμού επηρεάζει το μέγεθος των νανοσωματιδίων. Ακόμη, η γραμμομοριακή αναλογία του «φιλοξενούμενου» μορίου, καθώς και του διαλύτη μπορούν να διαφοροποιήσουν το μέγεθος των νανοσωματιδίων όπως επίσης και η δραστική ουσία που εγκλείεται.

Το μέγεθος των σωματιδίων επηρεάζει τη φύση και τα χαρακτηριστικά των συμπλόκων, όπως τα επιφανειακά χαρακτηριστικά και τη φυσικοχημική σταθερότητά τους, αλλά ακόμη και την απελευθέρωση και τη στοχευμένη δράση της εγκλεισμένης ένωσης. Ωστόσο, δεν υπάρχει βέλτιστη τιμή μεγέθους νανοσωματιδίων, καθώς το επιθυμητό μέγεθος των σωματιδίων ποικίλλει ανάλογα με τις εφαρμογές τους και ειδικά σε φαρμακευτικές εφαρμογές όπου υπάρχουν αυστηροί περιορισμοί, η νανοκλίμακα αφορά κυρίως σωματίδια που η διάμετρός τους κυμαίνεται από 1 έως 100 nm. [73-75]

1.4.8.2 Δείκτης πολυδιασποράς (PDI)

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

1.4.8.3 ζ-δυναμικό (zeta potential)

Το ζ -δυναμικό ορίζεται ως η διαφορά δυναμικού μεταξύ της δεσμευμένης στιβάδας ιόντων στην επιφάνεια των σωματιδίων και της ηλεκτρικά ουδέτερης περιοχής του διαλύματος. Υπολογίζεται με μετρήσεις κινητικότητας των σωματιδίων, παρουσία ηλεκτρικού πεδίου. Όταν η τιμή του ζ-δυναμικού είναι υψηλά αρνητική ή υψηλά θετική, τότε τα σωματίδια έχουν την τάση να απωθούν το ένα το άλλο κι έτσι αποφεύγονται συσσωματώσεις. Αυτό αποτελεί μία ένδειξη σταθερότητας των νανοσωματιδίων. Γενικά διασπορές με ζ- δυναμικό μεγαλύτερο από +30 mV ή από -30 mV, θεωρούνται σταθερές. Η τιμή του ζ-δυναμικού επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, όπως από το φορτίο των διαφορετικών συστατικών των νανοσωματιδίων, τη θερμοκρασία, το μέσο διασποράς και τη μορφολογία της επιφάνειάς του, αλλά κυρίως από το pH του μέσου.

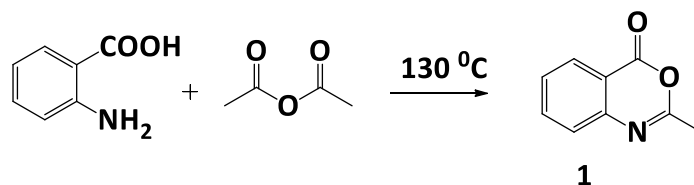
2. ΣΧΕΔΙΑΜΟΣ, ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

2.1 Σύνθεση 3-υποκατεστημένων-4-υδροξυ-2-κινολινονών

Η μέθοδος η οποία χρησιμοποιείται για τη σύνθεση μιας κατάλληλα 3-υποκατεστημένης-4-υδροξυ-2-κινολινόνης έχει αναπτυχθεί παλαιότερα στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας και βασίζεται σε αντιδράσεις C-ακυλίωσης ενώσεων ενεργού μεθυλίου με επιλογή των κατάλληλων ακυλιωτικών μέσων, ώστε να επιτευχθεί η σύνθεση του επιθυμητού κάθε φορά ετεροκυκλικού καρβονυλικού παραγώγου.

2.1.1 Σύνθεση της 2-μεθυλο-4H-3,1-βενζοξαζιν-4-όνης

Για τη σύνθεση της αρχικής ένωσης, 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-(1H)-κινολινόνης (**3**), χρησιμοποιήθηκε ως ακυλιωτικό μέσο η 2-μεθυλο-4H-3,1-βενζοξαζιν-4-όνη (**1**), η οποία παρασκευάζεται με θέρμανση του ανθρανιλικού οξέος με οξικό ανυδρίτη (Σχήμα 30).



ΕΙΚΟΝΑ 18: ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΗΣ 2-ΜΕΘΥΛΟ-4H-3,1-BENZOΞΑΖΙΝ-4-ΟΝΗΣ

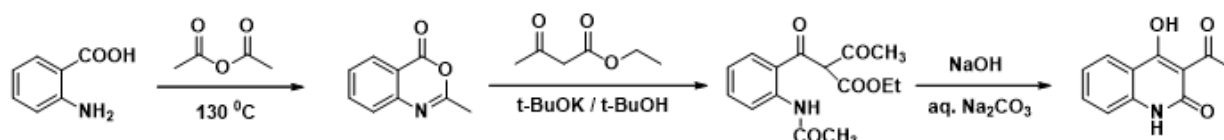
Η 2-μεθυλο-4H-3,1-βενζοξαζιν-4-όνη δεν είναι ιδιαίτερα σταθερή με αποτέλεσμα να πρέπει να χρησιμοποιείται άμεσα, καθώς εκτεθειμένη στην ατμόσφαιρα μετατρέπεται προς N-ακέτυλο ανθρανιλικό οξύ.

2.1.3 Σύνθεση της 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-(1H)-κινολινόνης (**3**)

Με αντίδραση C-ακυλίωσης του ακετοξικού αιθυλεστέρα με ακυλιωτικό μέσο τη 2-μεθυλο-4H-3,1-βενζοξαζιν-4-όνη σε βασικό περιβάλλον (διάλυμα tert-βουτοξυκαλίου σε διαλύτη tert-βουτυλική αλκοόλη) και ανάδευση 1.5 – 2 ώρες σε θερμοκρασία

περιβάλλοντος απομονώνεται το αντίστοιχο προϊόν C-ακυλίωσης, το οποίο λαμβάνεται σε καθαρή στερεή μορφή και υψηλή απόδοση (70-90 %).

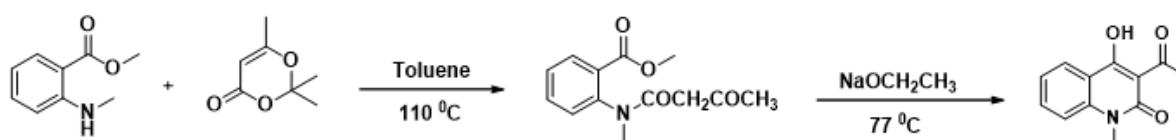
Με αντίδραση κυκλοποίησης του προϊόντος C-ακυλίωσης σε αλκαλικό περιβάλλον ($\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaOH}$), υπό ανάδευση 2 ωρών και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, λαμβάνεται σε στερεή μορφή η 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-(1H)-κινολινόνη, χωρίς να απαιτεί περαιτέρω διεργασίες καθαρισμού.



ΕΙΚΟΝΑ 19 ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΗΣ 3-ΑΚΕΤΥΛΟ-4-ΥΔΡΟΞΥ-2-(1H)-ΚΙΝΟΛΙΝΟΝΗΣ (3)

2.1.4 Σύνθεση της 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-(1H)-κινολινόνης

Για να διερευνηθεί ο ρόλος του υποκαταστάτη ο οποίος συνδέεται με το άζωτο του ετεροκυκλικού δακτυλίου, συντέθηκε η κινολινόνη **5**, η οποία φέρει μεθυλομάδα στη θέση αυτή, μέσω αντίδρασης ακυλίωσης δευτεροταγούς αμίνης χρησιμοποιώντας 2,2,6-τριμεθυλ-1,3-διοξόνη-4-όνη ως παράγοντα ακυλίωσης, ακολουθούμενη από αντίδραση κυκλοποίησης του ενδιάμεσου προϊόντος ακυλίωσης (**4**), σε βασικό περιβάλλον.

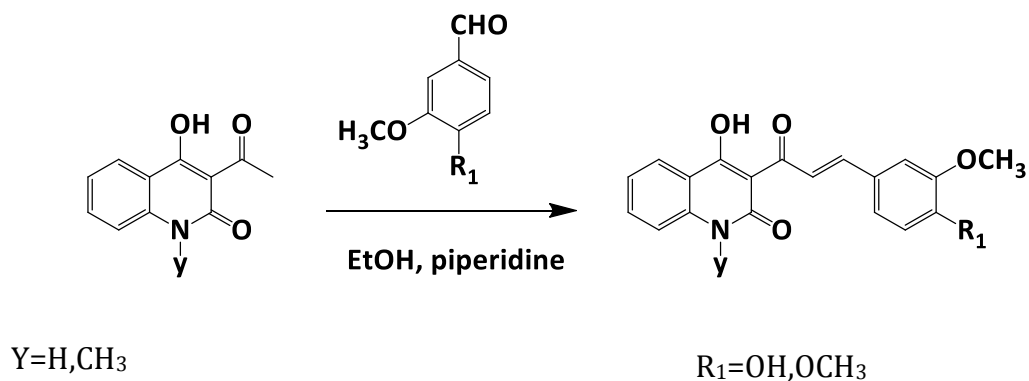


ΕΙΚΟΝΑ 20: ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΗΣ 3-ΑΚΕΤΥΛΟ-4-ΥΔΡΟΞΥ-2-(1H)-ΚΙΝΟΛΙΝΟΝΗΣ (5)

2.2 Σύνθεση υβριδικών μορίων κινολινονών-χαλκόνων

Η σύνθεση των κινολινονών-χαλκόνων πραγματοποιήθηκε μέσω αλδολικής συμπύκνωσης (Claisen - Schmidt condensation) της 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-(1H)-κινολινόνης και της 1-μεθυλο-3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-(1H)-κινολινόνης με κατάλληλα

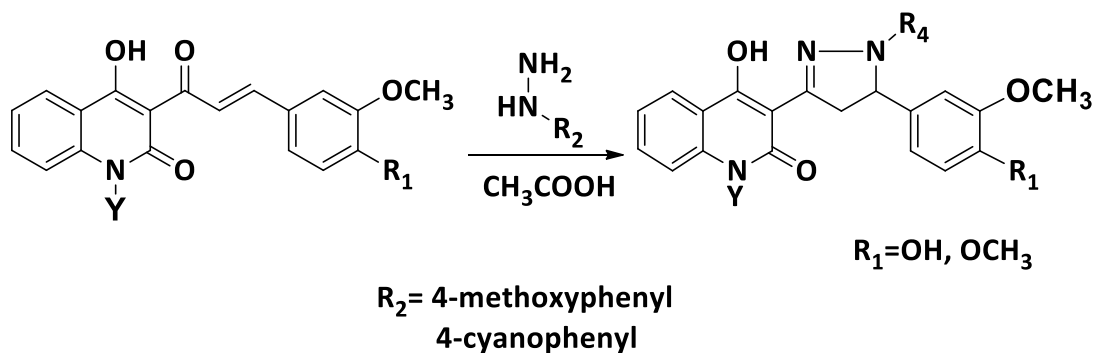
υποκατεστημένες αρωματικές αλδεΐδες, παρουσία καταλυτικής ποσότητας πιπεριδίνης με θέρμανση στους 78⁰C. (βλ.κεφάλαιο 1.2.4, εικόνα 8)



ΕΙΚΟΝΑ 21: ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΙΝΟΛΙΝΟΝΟ-ΧΑΛΚΟΝΩΝ

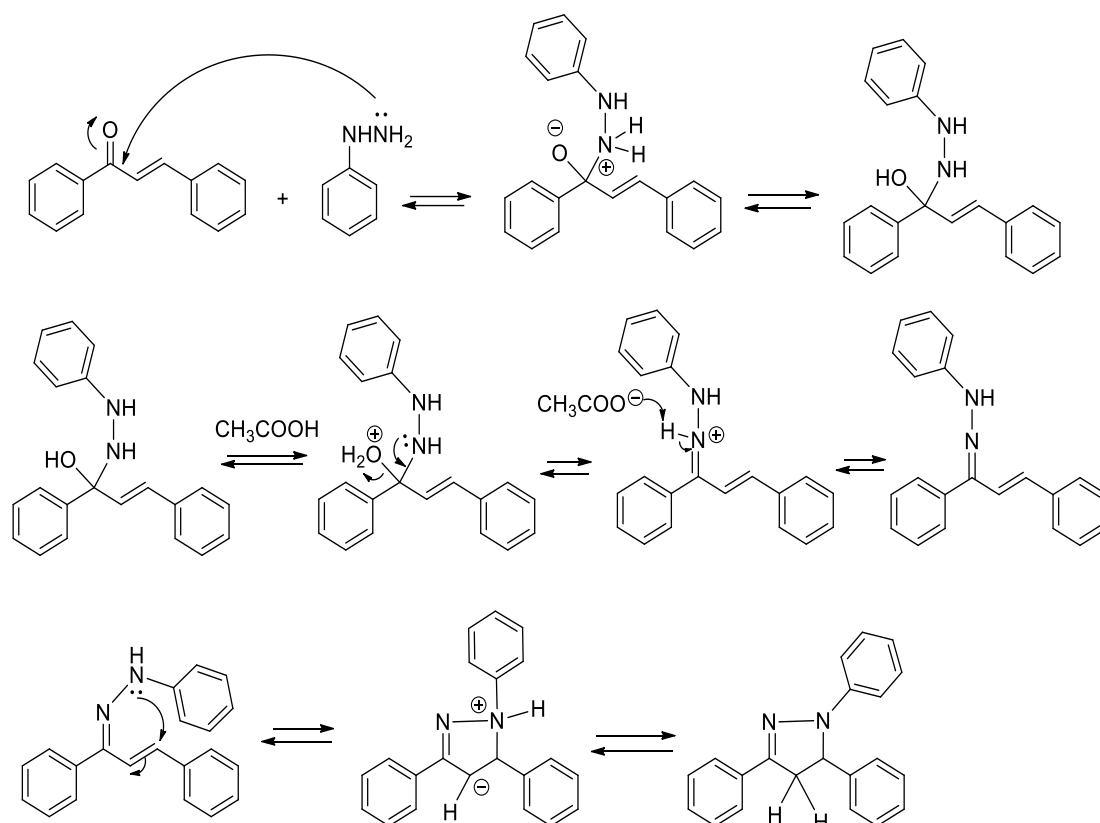
2.3 Πυραζολινικά ανάλογα

Η χημική τροποποίηση του α,β-ακόρεστου καρβονυλικού συστήματος των χαλκόνων περιλαμβάνει την αντίδραση με παράγωγα υδραζίνης, η οποία οδηγεί στο σχηματισμό ετεροκυκλικών πυραζολινικών αναλόγων.



ΕΙΚΟΝΑ 22: ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ.

Η τελική κύκλωση των ενδιάμεσων μορίων προς τον σχηματισμό των τελικών προϊόντων πραγματοποιείται λόγω των δύο ηλεκτρονιόφιλων κέντρων στο α,β-ακόρεστο καρβονυλικό σύστημα χαλκόνης.



ΕΙΚΟΝΑ 23: ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΗΣ.

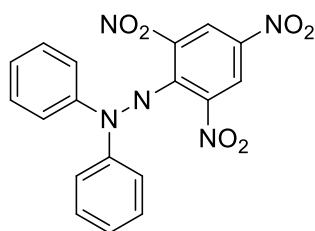
Αρχικά με πυρηνόφιλη προσθήκη της υδραζίνης (ή της φαινυλυδραζίνης) στον άνθρακα της καρβonyλομάδας της χαλκόνης, που ακολουθείται από μεταφορά ενός πρωτονίου από το άζωτο στο οξυγόνο, σχηματίζεται μια ενδιάμεση ενολική ένωση. Η πρωτονίωση του υδροξυλίου από τον όξινο καταλύτη το μετατρέπει σε καλύτερη αποχωρούσα ομάδα. Με αποβολή νερού λόγω του μονήρους ζεύγους ηλεκτρονίων του αζώτου σχηματίζεται ένα ενδιάμεσο κατιόν. Η απόσπαση ενός πρωτονίου από το άζωτο του διπλού δεσμού, οδηγεί στην αναγέννηση του όξινου καταλύτη και στο σχηματισμό μιας ένωσης η οποία στη συνέχεια υφίσταται κυκλοποίηση. Το προϊόν της κυκλοποίησης είναι η ζητούμενη πυραζολίνη.

2.4 Αντιοξειδωτική δράση

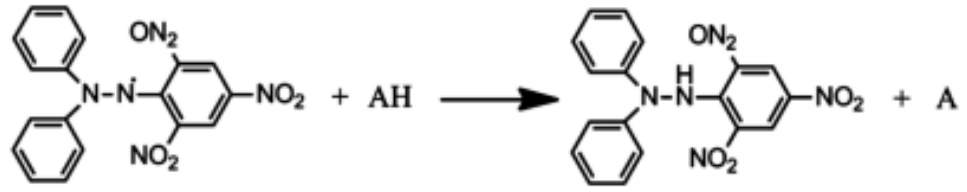
Οι ελεύθερες ρίζες παίζουν καθοριστικό ρόλο σε πολλές φυσιολογικές και μη καταστάσεις στον ανθρώπινο οργανισμό, όπως είναι ο καρκίνος, η φλεγμονή, η γήρανση κ.τ.λ. Κατά συνέπεια, αυτονόητο είναι πως η πιθανή κυτταροπροστατευτική

δράση κάποιας ένωσης θα ενισχυόταν σημαντικά από την παράλληλη ικανότητα για αντιοξειδωτική δράση. Οι περισσότερες ελεύθερες ρίζες είναι δραστηκότητα μόρια με μικρό χρόνο ζωής. Δραστηκότερες όλων είναι οι ρίζες υδροξυλίου με ημιπερίοδο ζωής 10-9 sec. Μια χρήσιμη παράμετρος που σχετίζεται με την αντιοξειδωτική δράση των ενώσεων είναι η ικανότητά τους να αλληλεπιδρούν με οξειδωτικές ελεύθερες ρίζες, οι οποίες βρίσκονται επικεντρωμένες στο άτομο του αζώτου, εκφράζοντας έτσι έμμεσα και την αναγωγική ικανότητά τους.

Η ρίζα DPPH είναι η ελεύθερη ρίζα της 2,2- διφαινυλ-1-πικρυλυδραζιλής. Η ρίζα αυτή παρουσιάζει μεγάλη σταθερότητα, λόγω μεσομέρειας κατά την οποία το μονήρες ηλεκτρόνιο βρίσκεται καταναμημένο σε ευρύτερη περιοχή. Όπως φαίνεται, πρόκειται για λιπόφιλο μόριο με το ασύζευκτο ηλεκτρόνιο επικεντρωμένο στο άζωτο, όμως, λόγω εκτεταμένης συζυγίας στο μόριο εμφανίζεται ιδιαίτερα σταθερό, αφού το ηλεκτρόνιο κατανέμεται σε μεγάλη περιοχή. Λόγω του ηλεκτρονίου που κατέχει η ρίζα DPPH, παρουσιάζει μεγάλη απορρόφηση στα 517 nm (περιοχή του ορατού με βαθύ πορφυρό χρώμα). Κατά την αναγωγή της, η ρίζα προσλαμβάνει ένα πρωτόνιο και μετατρέπεται σε σταθερό διαμαγνητικό μόριο χάνοντας το έντονο χρώμα της. Ο αποχρωματισμός που προκύπτει είναι στοιχειομετρικός με τον αριθμό των ηλεκτρονίων που προσλαμβάνονται και παρουσιάζεται όταν το ασύζευκτο μονήρες ηλεκτρόνιο συζεύγνυται, ενώ επιπλέον είναι αντιπροσωπευτικός της ικανότητας των ενώσεων να σαρώνουν τις σταθερές ελεύθερες ρίζες, ανεξάρτητα από οποιαδήποτε ενζυμική δραστηριότητα. Σε αυτήν την ιδιότητα του DPPH βασίζεται και ο χρωματομετρικός προσδιορισμός της αναγωγικής ικανότητας των εξεταζόμενων ενώσεων. [76, 77]



ΕΙΚΟΝΑ 24:1,1-ΔΙΦΑΙΝΥΛΟ-2-ΠΙΚΡΥΛΥΔΡΑΖΥΛΙΚΗ ΡΙΖΑ (DPPH)



ΕΙΚΟΝΑ 25: ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΚΑΙ ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΡΙΖΑΣ DPPH.

Στην παραπάνω εικόνα, το AH είναι ένα αντιοξειδωτικό μόριο-δότης και το A είναι η ελεύθερη ρίζα που παράγεται.

3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1 ΟΡΓΑΝΑ ΚΑΙ ΣΥΣΚΕΥΕΣ

Παρακάτω αναφέρονται τα όργανα και οι συσκευές που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια της εξέλιξης των πειραμάτων για την παρακολούθηση των αντιδράσεων αλλά και για τον χαρακτηρισμό των προϊόντων που προέκυψαν.

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

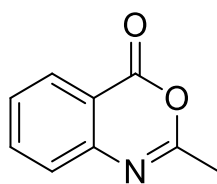
Για τον δομικό χαρακτηρισμό των νέων προϊόντων χρησιμοποιήθηκε η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητισμού συντονισμού NMR και η φασματοσκοπία υπερύθρου IR. Τα φάσματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού, NMR ^1H και ^{13}C έχουν καταγραφεί με το όργανο Varian Gemini 600 MHz του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών. Ως διαλύτης χρησιμοποιήθηκε δευτεριωμένο διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO- d_6).

Οι τιμές των χημικών μετατοπίσεων δίνονται σε ppm. Η πολλαπλότητα των σημάτων στα φάσματα ^1H 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.

Ο προσδιορισμός των σημείων τήξης (Σ.Τ.) έγινε σε ανοικτούς τριχοδιαμετρικούς σωλήνες σε μια συσκευή Gallenkamp και οι τιμές τους δεν έχουν διορθωθεί.

3.2 ΣΥΝΘΕΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

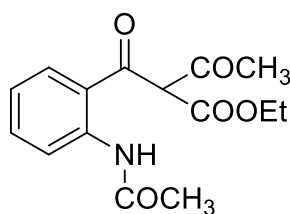
3.2.1 2-μεθυλο-4H-3,1-βενζοξαζιν-4-όνη (1)



0.015 mol (2 g) ανθρανιλικού οξέος προστίθενται σε 20 ml οξικού ανυδρίτη και το μίγμα αναδεύεται στους 130 °C για περίπου μία ώρα, υπό αδρανείς συνθήκες αζώτου μέχρι να διαλυθεί πλήρως το στερεό. Η πορεία της αντίδρασης $[C_9H_7NO_2]$ 161,16 παρακολουθείται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC). Το σύστημα διαλυτών που χρησιμοποιείται για αυτόν το σκοπό είναι πετρελαϊκός αιθέρας: οξικός αιθυλεστέρας - 6:4. Στη συνέχεια, το διάλυμα ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου και ο διαλύτης εξατμίζεται σε περιστροφικό συμπυκνωτήρα υπό ελατούμενη πίεση. Στο μπεζ στερεό ίζημα που σχηματίζεται, προστίθεται πετρελαϊκός αιθέρας και το ίζημα διηθείται υπό κενό και εκπλένεται με πετρελαϊκό αιθέρα. Έτσι λαμβάνεται η 2-μεθυλο-4H-3,1-βενζοξαζιν-4-όνη, με τη μορφή καφέ στερεού. Το προϊόν που λαμβάνεται είναι ασταθές και χρησιμοποιείται απευθείας στην επόμενη αντίδραση, χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

[Απόδοση: 90% , Σ.Τ: 70-75°C]

3.2.2 α-ακετυλο-2-(ακετυλαμινο)-β-οξο-βενζολο προπανοϊκός αιθυλεστέρας (2)

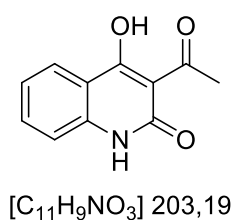


$[C_{15}H_{17}NO_5]$ 291,30

0.017 mol (2.8g) 2-μεθυλο-4H-3,1-βενζοξαζιν-4-όνης (1) προστίθενται στο μίγμα βάσης ενώσεως ενεργού μεθυλενίου, το οποίο αποτελείται από 0.034 mol (3.81 g) t-BuOK και 0.034 mol (4.43 g) ακετοξικού αιθυλεστέρα σε 85 ml t-BuOH. Στη συνέχεια, το μίγμα που προκύπτει αναδεύεται για περίπου 2 ώρες, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και υπό αδρανείς συνθήκες αζώτου. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC). Στο διάλυμα, έπειτα, προστίθεται ποσότητα νερού και αιθέρα, ενώ ακολουθεί εκχύλιση απ' όπου συλλέγεται η υδατική φάση. Το προκύπτον διάλυμα οξινίζεται με ποσότητα HCl 10% υπό ψύξη. Με αυτόν τον τρόπο παρατηρείται καταβύθιση στερεού λευκού χρώματος το οποίο και παραλαμβάνεται μέσω διήθησης υπό κενό και τοποθετείται σε ξηραντήρα.

[Απόδοση:86%, Σ.Τ: 90°C ,Σημείο τήξης 88,8°C]

3.2.3 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2(1H)-κινολινόνη (3)

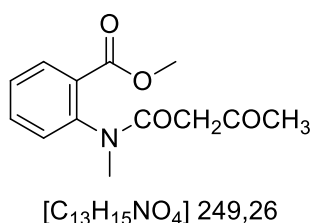


0.0096 mol (2.8 g) της ένωσης (2) διαλύονται σε 104 ml υδατικού διαλύματος ανθρακικού νατρίου 7% και το προκύπτον μίγμα προστίθεται σε 26 ml υδατικού διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου 45%. Το παραπάνω μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC). Τελικά, προστίθεται ποσότητα νερού και το διάλυμα οξινίζεται με σημαντική ποσότητα HCl 10% υπό ψύξη και έτσι παρατηρούμε καταβύθιση στερεού μπεζ χρώματος το οποίο παραλαμβάνεται με διήθηση υπό κενό και τοποθετείται σε ξηραντήρα. Το προϊόν της αντίδρασης υπόκειται σε περαιτέρω καθαρισμό μέσω κατεργασίας με μεθανόλη και διχλωρομεθάνιο και τελικά παραλαμβάνεται σε μορφή λευκού στερεού υψηλής καθαρότητας.

[Απόδοση: 51,07%, Σημείο τήξης: 261°C]

¹HNMR: (600 MHz, DMSO-d₆) δ 16.82 (s, 1H, OH), 11.30 (s, 1H, NH), 7.76 (d, 1H, J=7.8Hz), 7.46 (t, 1H, J=7.8Hz), 7.07 (d, 1H, J=8.4Hz), 7.01 (t, 1H, J=7.2Hz), 2.30 (s, 3H, COCH₃)

3.2.4 βενζολοκαρβοξυλικός μεθυλεστέρας (4)

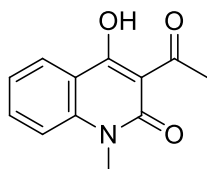


0,0121 mol (1,76 ml) διμεθυλ-ανθρανιλικού εστέρα (dimethylanthranilate) και 0,013 mol (1,76 ml) 2,2,6τριμεθυλ-1,3-διοξιν-4-όνη (trimethyldioxine) προστίθενται σε 20 ml τολουολίου. Το διάλυμα αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία 110 °C για 5 ώρες υπό αδρανείς συνθήκες αζώτου. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC). Στη συνέχεια, ακολουθεί εξάτμιση του τολουολίου υπό ελαττούμενη πίεση σε περιστροφικό συμπυκνωτήρα στους 70-80 °C. Το προκύπτον ελαιώδες

υπόλειμμα θεωρείται ότι παραλήφθηκε σε 100% απόδοση και χρησιμοποιείται απευθείας στην επόμενη αντίδραση.

[απόδοση:100%]

3.2.5 1-μεθυλο-3-ακετυλο-4-υδροξυ-2(1H)-κινολινόνη (5)



[C₁₂H₁₁NO₃] 217,22

0.00605 mol της ένωσης (4) διαλύονται σε διάλυμα αιθοξειδίου του νατρίου το οποίο αποτελείται από 1,65g Na σε 40 ml EtOH. Το διάλυμα αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία 77 °C για 2 ώρες.

Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC). Στη συνέχεια, το διάλυμα εξατμίζεται μέχρι ξηρού και οξινίζεται με σημαντική ποσότητα HCl 10% υπό ψύξη. Έτσι παρατηρούμε καταβύθιση στερεού μπεζ χρώματος το οποίο παραλαμβάνεται με διήθηση υπό κενό και τοποθετείται σε ξηραντήρα.

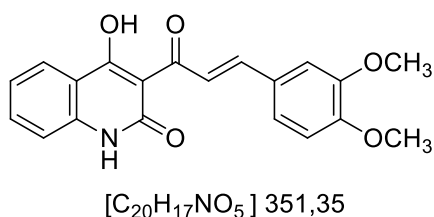
[απόδοση: 80%]

¹HNMR: (600 MHz, DMSO-d₆) δ 16,86 (s,1H,OH), 8.05 (d,J=8.4Hz,1H), 7.78(t,J=8.4 Hz,1H), 7.50(d,J=9.0 Hz,1H), 7.30 (t,J=7.2Hz,1H), 3.52 (s,3H,N-CH₃), 2.70(s,3H,O=C-CH₃)

3.2.6 Γενική μέθοδος σύνθεσης υβριδικών μορίων κινολινονών-χαλκονών.

Ισομοριακές ποσότητες της 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-κινολινονης και της κατάλληλης βενζαλδεύδης διαλύονται σε συγκεκριμένη ποσότητα καθαρής αιθανόλης. Στο διάλυμα προστίθεται καταλυτική ποσότητα πιπεριδίνης η οποία του προσδίδει χαρακτηριστικό κίτρινο χρώμα και αυτό αφήνεται υπό ανάδευση για 4 ώρες σε θερμοκρασία 78°C με τη βοήθεια κάθετου ψυκτήρα και σε αδρανείς συνθήκες αζώτου. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC). Μετά το τέλος της αντίδρασης, το μίγμα ψύχεται σε παγόλουτρο και οξινίζεται με υδατικό διάλυμα HCl 10% w/v. Το προϊόν λαμβάνεται από το οξινισμένο υδατικό διάλυμα με τη μορφή στερεού και υπόκειται σε καθαρισμό μέσω κατεργασίας με μεθανόλη- διχλωρομεθάνιο.

3.2.6.1 4-υδροξυ-3-[3-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)-1-οξο-2-προπεν-1-υλο]-2(1H)-κινολινόνη

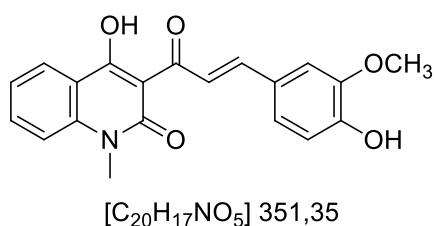


0,00084 mol (0,17g) της 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2(1H)-κινολινόνης (3) αναμειγνύονται με 0,000084 mol (0,14g) της 3,4-διμεθοξυβενζαλδεΐδης παρουσία 3,4 ml καθαρής αιθανόλης, και προστίθενται 7 σταγόνες πιπεριδίνης. Μετά το τέλος της αντίδρασης, το μίγμα επεξεργάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο και το τελικό καθαρό προϊόν παραλαμβάνεται σε μορφή κίτρινου στερεού.

[απόδοση:56% Σημείο τήξης:252⁰C]

¹HNMR: (600 MHz, DMSO-d₆) δ 18.32(s,1H,OH), 11.44 (s,1H,NH), 8.54 (d, J=15.6Hz, 1H, Ar-CH=CH-C=O), 8.00 (d, J=6Hz, 1H), 7.94(d, J=15.6, 1H, Ar-CH=CH-C=O), 7.67 (t, J=7.2 Hz, 1H), 7.37 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.29 (m, 2H), 7.23(br, 1H), 7.08(d, J=8.4, 1H), 3.84 (s, 6H, 2xOCH₃)

3.2.6.2 1-μεθυλο-4-υδροξυ-3-[3-(3-μεθοξυ-4-υδροξυφαινυλο)-1-οξο-2-προπεν-1-υλο]-2(1H)-κινολινόνη



Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 0,00276 mol (0,6g) της ένωσης (5), 0,00276 mol (0,42g) βανιλίνης, 22 σταγόνες πιπεριδίνης και 11 ml καθαρής αιθανόλης. Το μίγμα αφήνεται overnight υπό ανάδευση στους 78 0C. Μετά το τέλος της αντίδρασης, το μίγμα επεξεργάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο και το τελικό καθαρό προϊόν παραλαμβάνεται σε μορφή πορτοκαλί στερεού.

[απόδοση: 54%]

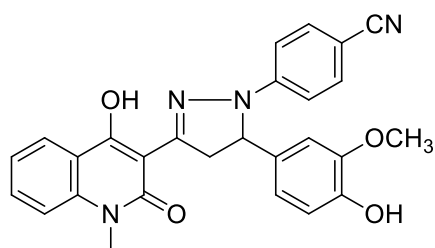
¹HNMR: (600 MHz, DMSO-d₆) δ 18.25(s, 1H, OH), 9.92((s, 1H, Ar-OH), 8.45(d, J=15Hz, 1H, Ar-CH=CH-C=O), 8.12(d, J=7.8, 1H), 7.91(d, J=16.2, 1H, Ar-CH=CH-C=O), 7.79 (t, J=12, 1H), 7.53(d, J=8.4,1H), 7.32(t, J=7.2, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.26 (d, J=7.8, 1H), 6.89 (d, J=7.8, 1H), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 3.58 (s, 3H, NCH₃)

¹³C NMR (600MHz, DMSO-d₆): δ 193.030, 175.664, 160.651, 150.444, 147.998, 146.079, 141.410, 135.355, 126.290, 125.271, 123.715, 122.144, 121.076, 116.015, 115.197, 112.318, 104.864, 55.651, 29.062

3.2.7 Γενική μέθοδος σύνθεσης πυραζολινικών αναλόγων

Η τελική ένωση παρασκευάζεται από την κινολινόνη-χαλκόνη και την αντίστοιχη υδραζίνη σε αναλογία 1:2,5. Αρχικά, σε γυάλινο φιαλίδιο και σε κατάλληλη ποσότητα οξικού οξέος διαλύεται η κινολινονη-χαλκόνη. Σε σφαιρική φιάλη και σε κατάλληλη ποσότητα καθαρής αιθανόλης διαλύεται η υδραζίνη. Στη συνέχεια, το διάλυμα του οξικού οξέος με την κινολινονη-χαλκόνη προστίθεται στάγδην στη σφαιρική με το διάλυμα της καθαρής αιθανόλης με την υδραζίνη. Το προκύπτον διάλυμα τίθεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία 120 °C για 24 ώρες, υπό αδρανείς συνθήκες αζώτου. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC). Το διάλυμα που προκύπτει αποχύνεται σε ποτήρι ζέσεως με πάγο, οπότε καταβυθίζεται στερεό, το οποίο διηθείται υπό κενό. Η καθαρότητα του στερεού που προκύπτει ελέγχεται με φασματοσκοπία NMR. Τυχόν προσμίξεις στο στερεό απομακρύνονται με ανακρυστάλλωση σε διάλυμα MeOH/DCM.

3.2.7.1 5-(4-υδροξυ-3-μεθοξυφαινυλο)-1-(4-κυανοφαινυλο)-3-(4,5-διυδρο-1H-πυραζολ-3-υλ)-1-μεθυλο-4-υδροξυ-2-(1H)-κινολινόνη (6)



[C₂₇H₂₂N₄O₄] 466,49

Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη Γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 0,00142 mol (0,24g) της 4-κυανοφαινυλυδραζίνης σε 1,56 ml καθαρής αιθανόλης τα οποία αφήνονται σε ανάδευση για λίγα λεπτά. Στη συνέχεια, στο παραπάνω διάλυμα προστίθεται στάγδην μίγμα 0,00057 mol (0,2g) της ένωσης (5) σε 3,12 ml οξικού οξέος. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC). Το σύστημα διαλυτών που χρησιμοποιείται για αυτόν το σκοπό είναι πετραλαϊκός αιθέρας: οξικός αιθυλεστέρας - 6:4. Μετά το πέρας της αντίδρασης το μίγμα επεξεργάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο και το

τελικό καθαρό στερεό παραλαμβάνεται ύστερα από κατεργασία σε MeOH/DCM με τη μορφή κίτρινου στερεού.

[απόδοση: 40%]

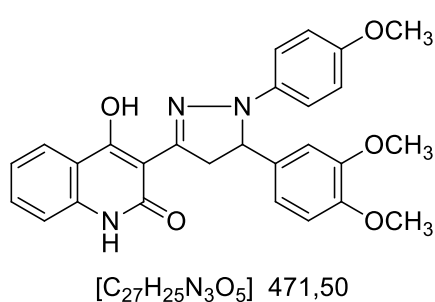
¹H NMR: (600 MHz, DMSO-d₆) δ 13.083 (s,1H), 9.020 (s,1H), 8.067(d,J=7.2, 1H) ,7.69(t, J=14.4,1H), 7.609(d,J=8.4,2H), 7.499(d,J=8.4,2H), 7.328 (t, J=15,1H), 6.96(d,J=8.4 ,2H), 6.901(s,1H),6.703(d,J=8.4,1H),6.599(d,J=7.8,1H),5.401(dd,J=17.4,1H),4.195(dd,J=7.2,1H), 3.726(s,3H), 3.579(dd,J=5.4,1H), 3.539(s,3H)

¹³C NMR: (600MHz, DMSO-d₆) δ 162.214, 160.776, 154.393, 148.482, 146.536, 145.978, 139.707, 133.879, 133.136, 132.319, 124.276, 122.529, 120.223, 118.159, 116.348, 115.249, 115.029, 113.067, 110.406, 101.275, 99.994, 61.019, 56.064, 47.430, 29.440;

HRMS calcd for C₂₇H₂₂N₄O₄: m/z: 466.1641, found: 465.15552.

IR: 3336 cm⁻¹ ν̄ OH, >3000 cm⁻¹ ν̄ C-H (aliphatic), <3000 cm⁻¹ ν̄ C-H (aromatic), 2221 cm⁻¹ ν̄ CN, 1631 cm⁻¹ ν̄ C=O, 1514 cm⁻¹ ν̄ C=N, 1274 cm⁻¹ ν̄ C-N, 1121 cm⁻¹ ν̄ C-O

3.2.7.2 5-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)-1-(4-μεθοξυ)-3-(4,5-διυδρο-1H-πυραζολ-3-υλ)-4-υδροξυ-2-(1H)-κινολινόνη (7)



Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη Γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 0,0013 mol (0,226g) 4-μεθοξυφαινυλ-υδραζίνης σε 1,42 ml καθαρής αιθανόλης. Στη συνέχεια στο παραπάνω διάλυμα προστίθεται σταγδιν μίγμα 0,00052 mol (0,183g) της ένωσης 4 σε 2,84 ml οξικού οξέος. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC). Το σύστημα διαλυτών που χρησιμοποιείται για αυτόν το σκοπό είναι πετραλαϊκός αιθέρας: οξικός αιθυλεστέρας - 5:5. Μετά το πέρας της αντίδρασης το μίγμα υπόκειται σε επεξεργασία σύμφωνα με τη γενική μέθοδο και το τελικό καθαρό στερεό παραλαμβάνεται ύστερα από κατεργασία σε MeOH/DCM με τη μορφή πράσινου στερεού.

[απόδοση: 35%]

¹H NMR: (600 MHz, DMSO-d₆) δ 13.544(s,1H), 11.547(s,1H), 7.96(d,J=6.6,1H), 7.553(s,1H), 7.264(t,J=7.8, 2H), 6.989(s,1H), 6.893-6.822(m,6H), 5.166(s,1H), 4.192(t,J=10.8,1H), 3.718(s,6H), 3.665(s,3H),3.449(m,1H)

¹³C NMR (600MHz, DMSO-d₆) δ 162.214, 160.776, 154.393, 148.482, 146.536, 145.978, 139.707, 133.879, 133.136, 132.319, 124.276, 122.529, 120.223, 118.159, 116.348, 115.249, 115.029, 113.067, 110.406, 101.275, 99.994, 61.019, 56.064, 47.430, 29.440;

HRMS calcd for C₂₇H₂₂N₄O₄: m/z: 466.1641, found: 465.15552.

IR: 3434 cm⁻¹ ν̄ N-H, >3000 cm⁻¹ ν̄ C-H (aliphatic), <3000 cm⁻¹ ν̄ C-H (aromatic), 1658 cm⁻¹ ν̄ C=O, 1508 cm⁻¹ ν̄ C=N, 1239 cm⁻¹ ν̄ C-N, 1132 cm⁻¹ ν̄ C-O

3.3 Σχηματισμός συμπλόκων εγκλεισμού πυραζολινών με β και γ-κυκλοδεξτρίνη.

3.3.1 Υλικά

Για τον σχηματισμό των νέων συμπλόκων χρειάστηκε να χρησιμοποιηθούν τα ακόλουθα υλικά:

- β-κυκλοδεξτρίνη MW=1134.98 g/mol,
- γ-κυκλοδεξτρίνη MW=1297.12,
- Πυραζολίνη 6
- Πυραζολίνη 7
- Ακετόνη 99.5%,
- Αιθανόλη 99.5%,
- Διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO)
- Υπερκάθαρο νερό.(νερό από το οποίο έχουν απομακρυνθεί όλα τα διαλυτά στερεά και έτσι η αγωγιμότητα κυμαίνεται κάτω από 0,1 μS/cm.)

3.3.2 Όργανα και Συσκευές

Τα όργανα κι οι συσκευές που χρησιμοποιήθηκαν για το σχηματισμό, αλλά και το χαρακτηρισμό των συμπλόκων είναι τα ακόλουθα:

- Περιστροφικός εξατμιστήρας, Rotavapor R-114
- Αντλία υψηλού κενού
- Φασματοφωτόμετρο UV-vis, V-770 UV-VIS
- Συσκευή DLS, Zetasizer Nano ZS
- Φασματόμετρο NMR 600 MHz
- Φασματόμετρο FT-IR, FT-IR – 4200

3.3.3 Μέθοδος σχηματισμού συμπλόκων

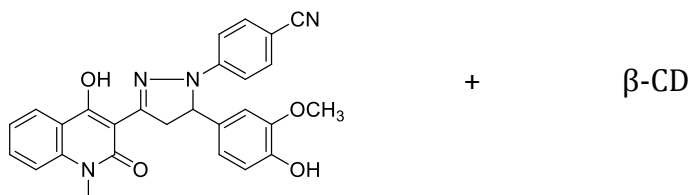
Τα περισσότερα από τα σύμπλοκα συντέθηκαν με την μέθοδο της συγκαταβίθισης και με διαλύτη μίγμα αιθανόλης- υπερκάθαρου νερού σε αναλογία 1:2. Για τον σχηματισμό των συμπλόκων, πραγματοποιήθηκε προσθήκη κατάλληλης ποσότητας β ή γ-κυκλοδεξτρίνης και διαλύματος αιθανόλης-υπερκάθαρου νερού σε μία κωνική φιάλη. Η αναλογία κυκλοδεξτρίνης-διαλύματος που χρησιμοποιήθηκε είναι 10:1. Το μίγμα αφήνεται σε μαγνητική ανάδευση για περίπου 20 λεπτά έως ότου διαλυθεί η κυκλοδεξτρίνη, σε θερμοκρασία 55°C. Στη συνέχεια προστίθεται η πυραζολίνη σε κατάλληλη αναλογία και αφήνεται για ανάδευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για περίπου 4 ώρες και φυλάσσεται στο ψυγείο overnight. Ακολουθεί διήθηση υπό κενό χρησιμοποιώντας ηθμό με πορώδες 0.3 (pore size 0.3). Το σύμπλοκο που παραλαμβάνεται αφήνεται για ξήρανση στην αντλία υψηλού κενού και έπειτα ζυγίζεται.

Επιπλέον, σχηματίστηκε ένα σύμπλοκο με τη μέθοδο της συγκαταβίθισης και χρησιμοποιώντας ως διαλύτη ακετόνη. Για αυτή την μέθοδο πραγματοποιείται προσθήκη β-κυκλοδεξτρίνης και πυραζολίνης σε γραμμομοριακή αναλογία 1:2, καθώς και κατάλληλης ποσότητας ακετόνης, σε μία σφαιρική φιάλη. Το μίγμα αφήνεται σε μαγνητική ανάδευση για περίπου 30 λεπτά, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Ακολουθεί ήπια εξάτμιση της ακετόνης στους 45°C υπό ελαττωμένη πίεση. Το σύμπλοκο τοποθετείται στην αντλία υψηλού κενού για την πλήρη απομάκρυνση της ακετόνης και την παραλαβή του ξηρού συμπλόκου.

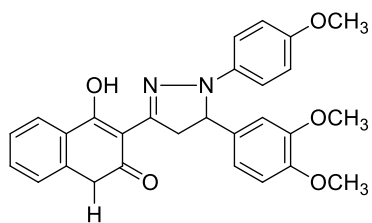
Τέλος, έγινε δοκιμή και της μεθόδου εγκλεισμού μέσω λειοτριβήσης (kneading) κατά την οποία προστίθενται οι ποσότητες της πυραζολίνης και β-κυκλοδεξτρίνης σε αναλογία 1:8 σε κατάλληλο γουδί. Ως διαλύτης χρησιμοποιείται και πάλι μικρή ποσότητα (περίπου 5 σταγόνες) διαλύματος αιθανόλης-υπερκάθαρου νερού σε αναλογία 1:2. Το μίγμα λειοτριβείται για περίπου 30 λεπτά μέσα στο γουδί από όπου παραλαμβάνεται το σύμπλοκο σε μορφή πάστας. Το προϊόν αυτό τοποθετείται στην αντλία κενού και έπειτα ζυγίζεται η ποσότητα συμπλόκου που παραλαμβάνεται.

Στους πίνακες που ακολουθούν παρατίθενται οι ποσότητες του φορέα εγκλεισμού και της πυραζολίνης που χρησιμοποιήθηκε, η μέθοδος που ακολουθήθηκε σε κάθε περίπτωση, καθώς και η ποσότητα ξηρού συμπλόκου που παραλήφθηκε.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2: ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΗΣ (6) ΜΕ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗ



Σύμπλοκα	mba20		mba21	mba22	mba31
Μέθοδος εγκλεισμού	Συγκαταβύθιση με διαλύτη ακετόνη		Συγκαταβύθιση με διαλύτη αιθανόλη-νερό		
Χρόνος ανάδευσης	4 ώρες				Overnight
Αναλογία β-CD-ένωσης	1:2	1:2	1:4	1:8	1:8
Ποσότητα β-CD (mg)	56.75		100	100	100
Ποσότητα ένωσης	23.33mg		25mg	12.5mg	12.5mg
Ποσότητα ξηρού συμπλόκου	60.4mg		67.6mg	62.8mg	63.2mg



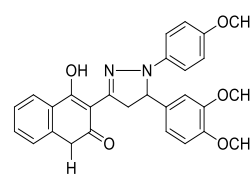
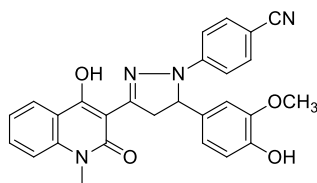
+ β -CD

Σύμπλοκα	mba 27	mba 29
Μέθοδος εγκλεισμού	Συγκαταβίθωση με διαλύτη αιθανόλη-νερό	Μέθοδος kneading
Χρόνος ανάδευσης (ώρες)	4	4
Αναλογία β -CD- ένωσης	1:8	1:8
Ποσότητα β -CD(mg)	100	100
Ποσότητα ένωσης(mg)	12.5	12.5
Ποσότητα ξηρού συμπλόκου(mg)	95.1	98.6

ΠΙΝΑΚΑΣ 3: ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΗΣ (7) ΜΕ β -CD.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4: ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΩΝ 6 ΚΑΙ 7 ΣΕ γ -ΚΥΚΛΟΔΕΕΤΡΙΝΗ

γ -CD



Σύμπλοκα	mba 28	mba32	mba 30
Μέθοδος εγκλεισμού	Συγκαταβύθιση με διαλύτη αιθανόλη-νερό		

Χρόνος ανάδευσης	4 ώρες	overnight	4 ώρες
Αναλογία ένωσης- γ-CD	1:8	1:8	1:8
Ποσότητα γ-CD(mg)	100	100	100
Ποσότητα ένωσης(mg)	12.5	12.5	12.5
Ποσότητα ξηρού συμπλόκου(mg)	65.6	10	45.9

Η απόδοση της διεργασίας υπολογίζεται από την ακόλουθη Εξίσωση :

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

3.3.4 Χαρακτηρισμός συμπλόκων

3.3.4.1 Προσδιορισμός της ποσότητας ένωσης που εγκλείστηκε σε κάθε σύμπλοκο

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

Αρχικά, έγινε προσθήκη 10 mg ξηρού συμπλόκου και 10 mL κατάλληλου διαλύτη, σε ένα γυάλινο φιαλίδιο. Το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση για περίπου 48 ώρες. Στη συνέχεια, για να επιτευχθεί ο προσδιορισμός της ποσότητας της ένωσης που εγκλείστηκε στο σύμπλοκο απομονώνονται 3 mL από το μίγμα, τα οποία φιλτράρονται με φίλτρο 200 μm και λαμβάνεται το φάσμα απορρόφησης με χρήση κυψελίδας

χαλαζία. Λόγω υψηλής συγκέντρωσης της ένωσης στο διάλυμα (απορρόφηση μεγαλύτερη από 1) συνήθως πραγματοποιείται κατάλληλη αραιώση.

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

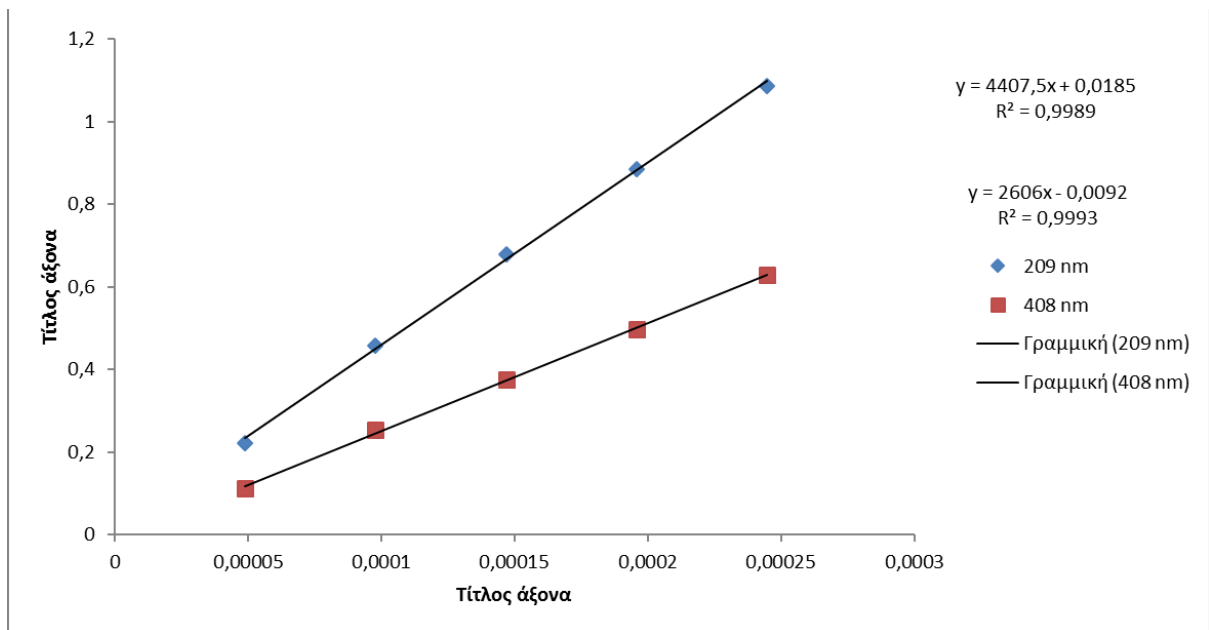
Σύμπλοκο	Μήκος κύματος			Απορρόφηση		
mba20	413nm			290nm		
				0.5970	0.4983	
mba21	413nm			290nm		
				0.4712	0.3938	
mba22	413nm			290nm		
				0.1643	0.1772	
mba31	413nm			290nm		
				0.786	0.6517	
mba27	257nm	283nm	415nm	0.3359	0.4522	0.2261
mba29	257nm	283nm	415nm	0.2297	0.2705	0.2503
mba28	413nm		290nm		0.4908	
					0.4122	
mba30	257nm	283nm	415nm	0.1836	0.2092	0.1892

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

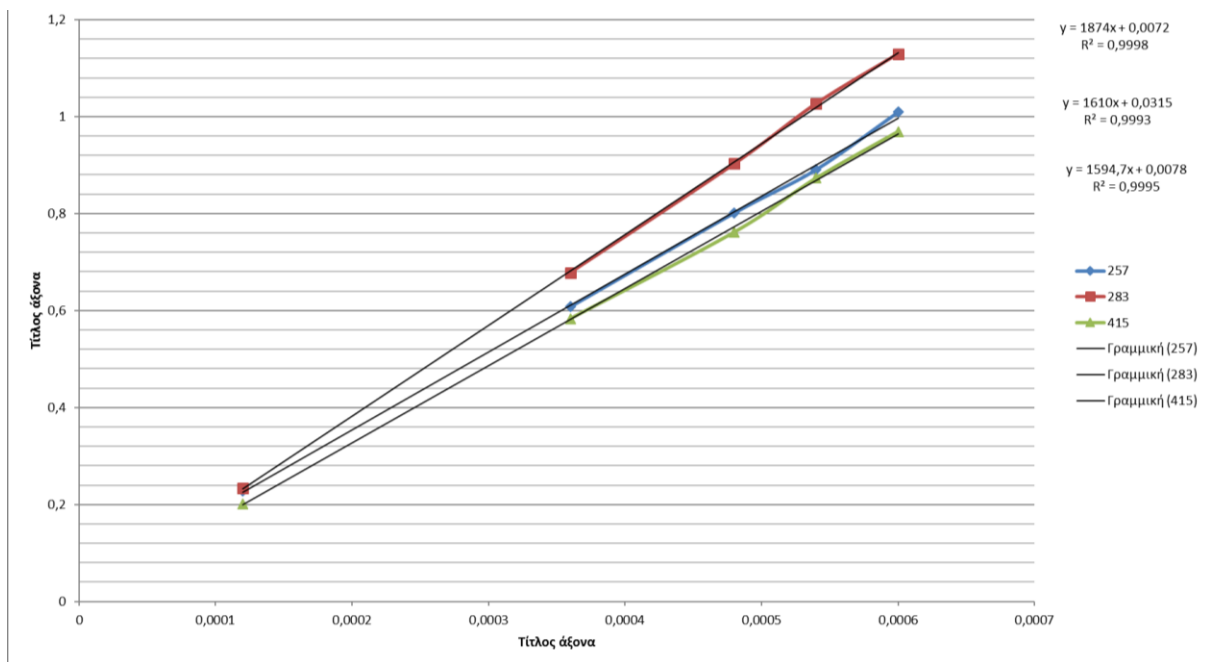
$$\text{Απόδοση εγκλεισμού} = \frac{\text{μάζα ουσίας που εγκλείστηκε (mg)}}{\text{αρχική μάζα ένωσης (mg)}} * 100\% \quad (2)$$

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

Στη συνέχεια, παρουσιάζονται οι καμπύλες αναφοράς των πυραζολινών **6** και **7** σε DMSO.



ΕΙΚΟΝΑ 26: ΚΑΜΠΥΛΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΗΣ (6) ΣΕ DMSO



ΕΙΚΟΝΑ 27: ΚΑΜΠΥΛΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΗΣ (7) ΣΕ DMSO

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

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

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

Μέσω του οργάνου, λαμβάνονται οι μετρήσεις που αφορούν το μέγεθος, το δείκτη πολυδιασποράς και το ζ-δυναμικό. Για κάθε ένα από τα μεγέθη πραγματοποιούνται τρεις μετρήσεις και λαμβάνεται ο μέσος όρος αυτών.

Πριν από τη μέτρηση, απαιτείται η συμπλήρωση συγκεκριμένων πληροφοριών για το δείγμα. Πιο συγκεκριμένα, απαιτείται μέτρηση του δείκτη διάθλασης και προσδιορισμός της απορρόφησης του δείγματος στο συγκεκριμένο μήκος κύματος που εκπέμπει το laser της συσκευής (633 nm) μέσω φασματοφωτομετρίας ορατού-υπεριώδους.

4. ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ, ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

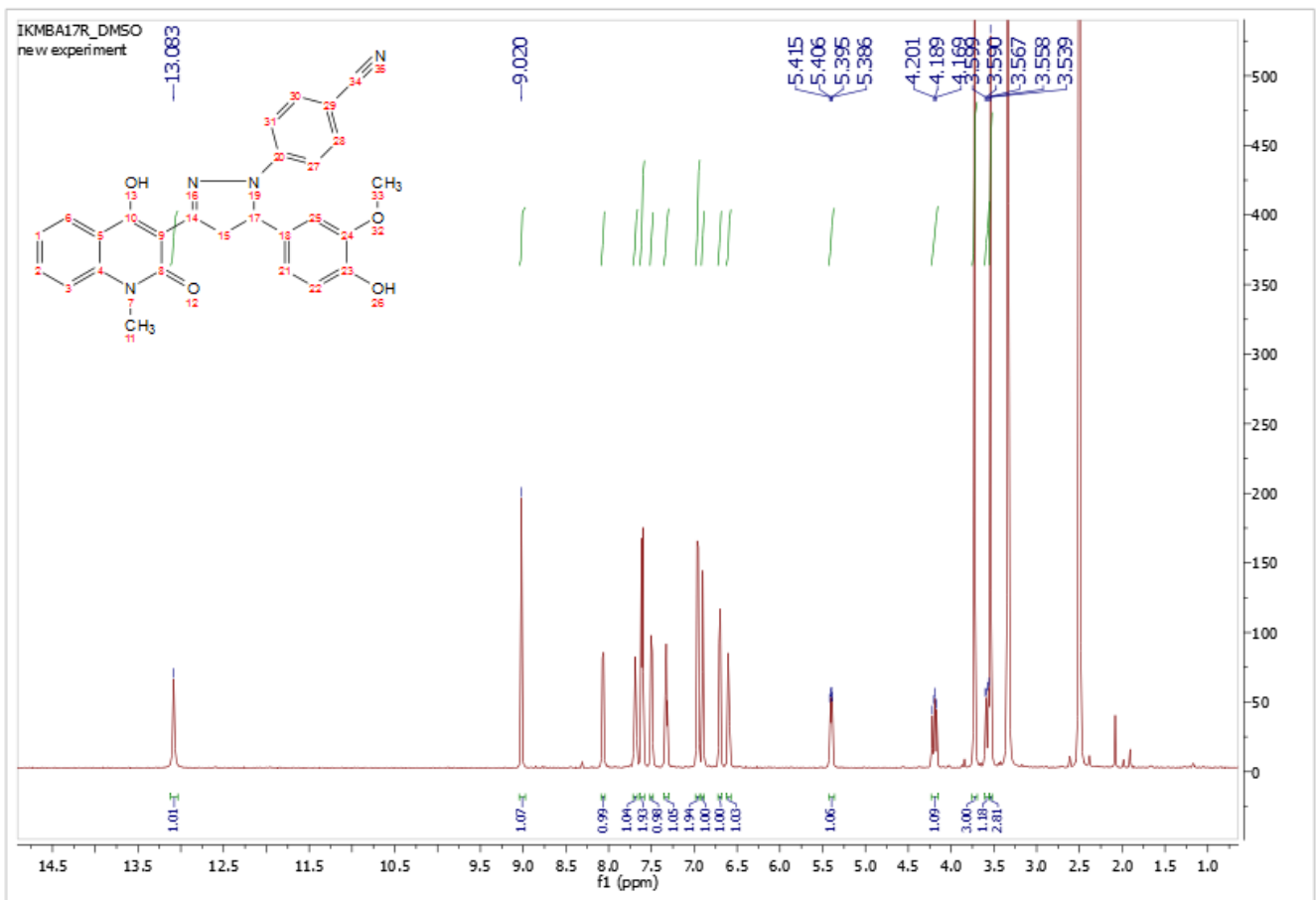
4.1 ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΝΕΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΩΝ

4.1.1 Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)

Η ταυτοποίηση της δομής των νέων ενώσεων πραγματοποιήθηκε με Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR) μίας διάστασης. Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν τα φάσματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού πρωτονίου των πυραζολινικών αναλόγων σε διαλύτη δευτεριωμένο διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO – d₆) τα οποία ελήφθησαν στο Φασματογράφο NMR Varian Gemini 600 του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών.

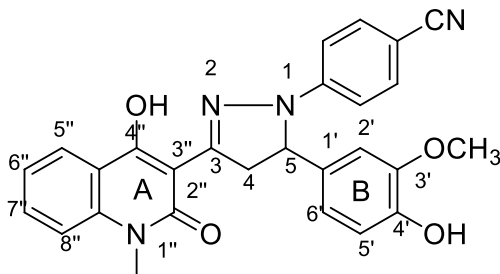
Στην Εικόνα 28 παρουσιάζεται το φάσμα πρωτονίου ¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆) της πυραζολίνης (**6**) σε διαλύτη δευτεριωμένο διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO –d₆). Στα χαμηλά πεδία του φάσματος, τα πιο αποπροστατευμένα πρωτόνια εμφανίζονται με δύο

απλές κορυφές, οι οποίες ολοκληρώνονται για ένα πρωτόνιο η κάθεμία. Πιο συγκεκριμένα, στα 13.083 ppm απορροφά το πρωτόνιο της 4'' θέσης του δακτυλίου A. Στα 9.020 ppm απορροφά το πρωτόνιο της θέσης 4' του δακτυλίου B. Στη συνέχεια, στο εύρος χημικών μετατοπίσεων από 8.076 ppm έως 6.592 ppm εμφανίζονται όλα τα αρωματικά πρωτόνια της ένωσης. Το σήμα του πρωτονίου της θέσης 5 του πυραζολινικού δακτυλίου αναμένεται να εμφανίζεται με τη μορφή μιας κορυφής διπλής διπλών (dd), λόγω της σύζευξης με τα γειτονικά υδρογόνα της θέσης 4 του πυραζολινικού δακτυλίου, τα οποία είναι διαστερεοτοπικά και επομένως δεν είναι χημικά ισοδύναμα. Πράγματι, όπως φαίνεται στην Εικόνα 28, στα 5.40 ppm υπάρχει μια κορυφή αυτής της μορφής που ολοκληρώνεται για 1H και αντιστοιχεί στο πρωτόνιο της θέσης 5. Τα σήματα που οφείλονται στα διαστερεοτοπικά πρωτόνια της θέσης 4 εμφανίζονται επίσης με τη μορφή κορυφών dd στα 4.19 και 3.58 ppm. Τέλος, τα πιο προστατευμένα πρωτόνια απορροφούν στα 3.73 και 3.54 ppm, όπου εμφανίζονται δύο απλές κορυφές οι οποίες ολοκληρώνονται για 3 H η κάθεμία. Η πρώτη κορυφή στα 3.726 ppm αντιστοιχεί στα πρωτόνια της μεθοξυ ομάδας της 3' θέσης του δακτυλίου B ενώ η δεύτερη στα πρωτόνια του μεθυλίου της 1'' θέσης του δακτυλίου A.



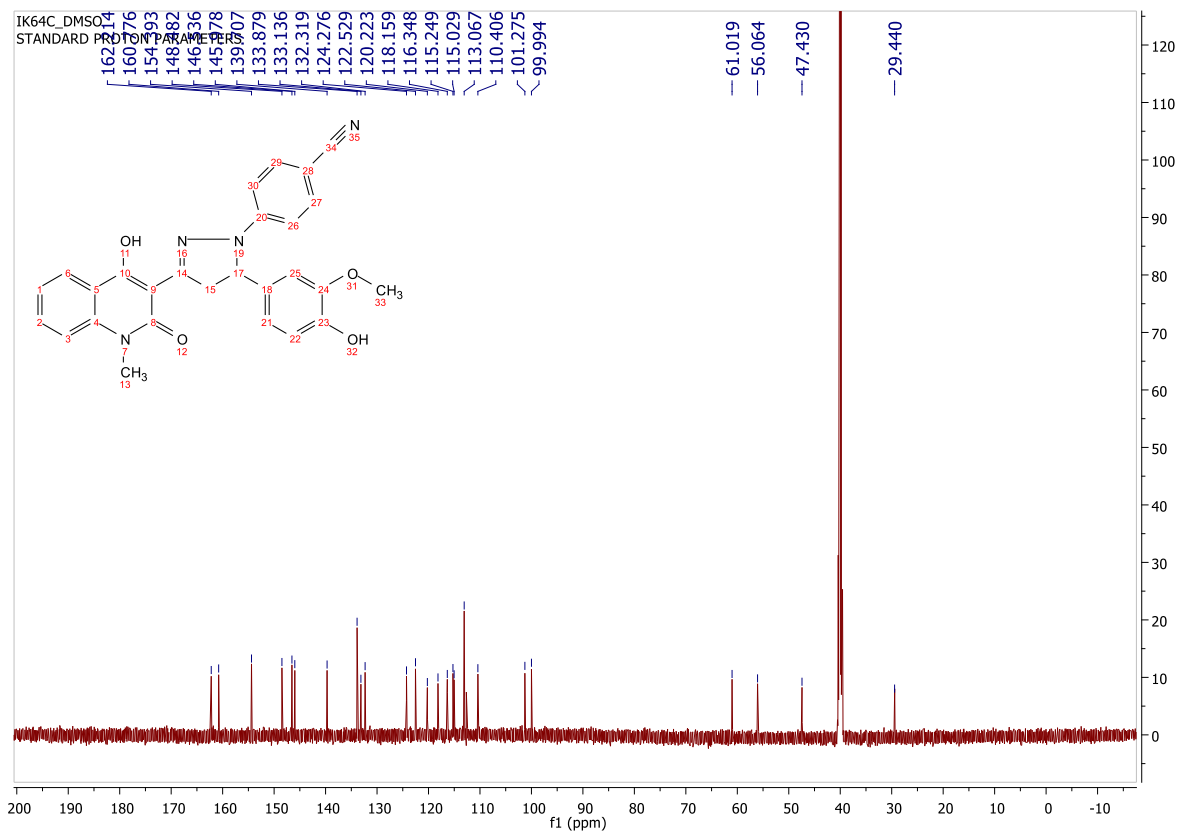
ΕΙΚΟΝΑ 28: ΦΑΣΜΑ ^1H NMR ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΗ (6)

Στο παρακάτω σχήμα παρουσιάζεται η αρίθμηση που χρησιμοποιήθηκε για την ένωση **6** του φάσματος.



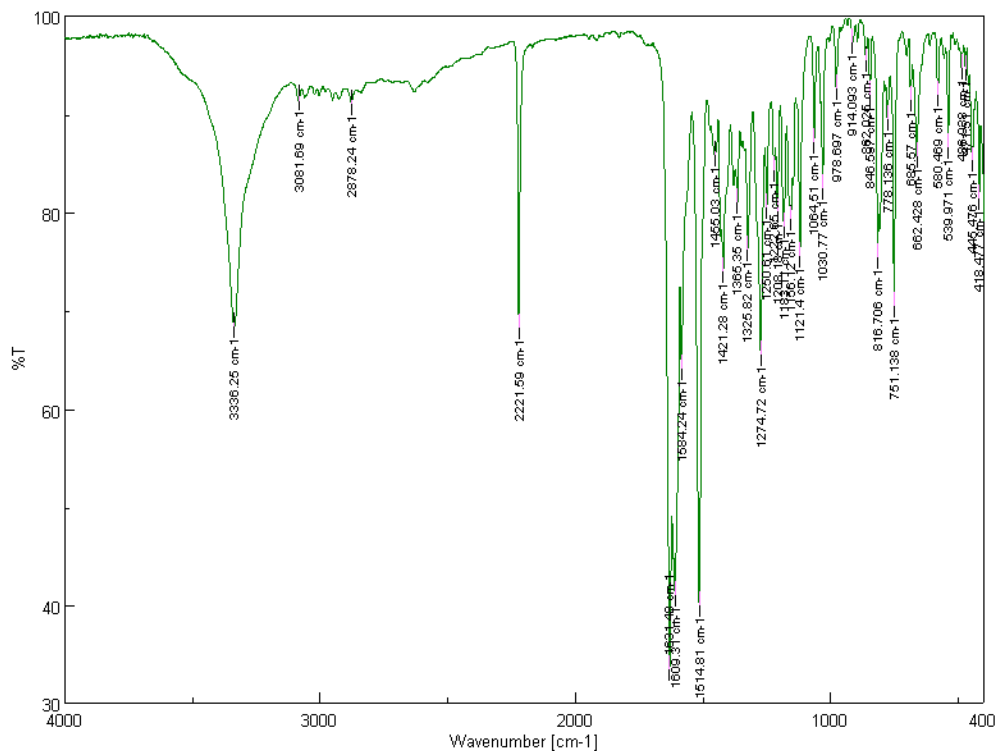
ΕΙΚΟΝΑ 29: ΑΡΙΘΜΗΣΗ ΔΑΚΤΥΛΙΩΝ ΤΗΣ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΗΣ 6

Επιπλέον, στην παρακάτω εικόνα παρουσιάζεται το φάσμα ^{13}C NMR της πυραζολίνης **6** σε διαλύτη $\text{DMSO } d_6$. Παρατηρούμε πως όλες οι κορυφές του φάσματος αντιστοιχούν στους άνθρακες της ένωσης. Χαρακτηριστικά, στα πιο χαμηλά πεδία του φάσματος και στα 162.21 ppm απορροφά ο άνθρακας του καρβονυλίου του δακτυλίου της κινολινόνης, ενώ στα πιο ψηλά πεδία φαίνονται τα δύο οξυγονωμένα μεθύλια της ένωσης (O-CH₃ στα 61.02ppm και N-CH₃ στα 56.06ppm) καθώς και οι άνθρακες των θέσεων 4 και 5 του δακτυλίου της πυραζολίνης (29.44ppm και 47.43ppm).



ΕΙΚΟΝΑ 30: ΦΑΣΜΑ ^{13}C NMR ΤΗΣ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΗΣ 6

Στην παρακάτω εικόνα (30) παρουσιάζεται το φάσμα IR της ίδιας πυραζολίνης.



ΕΙΚΟΝΑ 31: ΦΑΣΜΑ FTIR ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΗΣ (6)

Στη συνέχεια αναφέρονται αναλυτικά οι δονήσεις τάσης της πυραζολίνης (6):

3336 cm⁻¹ δόνηση τάσης $\tilde{\nu}$ OH

>3000 cm⁻¹ δόνηση τάσης $\tilde{\nu}$ C-H (aliphatic)

<3000 cm⁻¹ δόνηση τάσης $\tilde{\nu}$ C-H (aromatic)

2221 cm⁻¹ δόνηση τάσης $\tilde{\nu}$ CN

1631 cm⁻¹ δόνηση τάσης $\tilde{\nu}$ C=O

1514 cm⁻¹ δόνηση τάσης $\tilde{\nu}$ C=N

1274 cm⁻¹ δόνηση τάσης $\tilde{\nu}$ C-N

1121 cm⁻¹ δόνηση τάσης $\tilde{\nu}$ C-O

4.2 Χαρακτηρισμός των συμπλόκων εγκλεισμού

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

4.2.1 Μέγεθος, κατανομή μεγέθους και ζ-δυναμικό των συμπλόκων

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

Για κάθε ένα από τα προαναφερθέντα μεγέθη λαμβάνονται τρεις μετρήσεις. Στον πίνακα που ακολουθεί παρουσιάζονται όλες οι μετρήσεις, καθώς κι ο μέσος όρος αυτών για κάθε σύμπλοκο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5: ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΜΕΓΕΘΟΥΣ, ΔΕΙΚΤΗ ΠΟΛΥΔΙΑΣΠΟΡΑΣ (PDI) ΚΑΙ ΤΟΥ Ζ-ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ

	Μέση υδροδυναμική διάμετρος (nm)		Δείκτης πολυδιασποράς (PDI)		ζ-δυναμικό (mV)	
MBA 20	669.3	586.5	0.588	0.545	-38.4	-40.3
	394.3		0.422		-43.4	
	696		0.625		-38.9	
MBA 21	1221	1247.7	0.81	0.926	-37	-35.16
	843.2		0.972		-32.9	
	1679		1		-35.6	
MBA 22	489.4	568.8	0.525	0.633	-43.3	-34.6
	495.4		0.552		-30.1	
	721.6		0.822		-30.6	

MBA 27	418.2	393.3	0.579	0.555	-32.2	-30.16
	387		0.444		-29.2	
	374.6		0.644		-29.1	
MBA 28	1438	1750	0.872	0.957	-24.5	-23.3
	1907		1		-24.8	
	1906		1		-20.6	
MBA 29	663.5	602.6	0.498	0.488	-30.8	-28.6
	613.5		0.525		-26.9	
	531		0.441		-28.1	
MBA 30	2596	2208	0.994	0.998	-18.1	-22.9
	2068		1		-23.4	
	1962		1		-27.2	
MBA 31	955.6	726.8	0.798	0.656	-13.5	-9.08
	601		0.57		-7.64	
	623.8		0.6		-6.1	
MBA 32	1240	959.43	1	0.82	-14.6	-19
	870.5		0.761		-21.1	
	767.8		0.701		-21.3	

Συνοψίζοντας, παρατηρείται ότι τα σύμπλοκα β-κυκλοδεξτρίνης παρουσιάζουν μια ευρεία κατανομή μεγέθους. Σε ορισμένα από τα σύμπλοκα μάλιστα το μέγεθός τους ξεπερνάει το 1 μ m. Το γεγονός αυτό οφείλεται στην τάση των συμπλόκων β-κυκλοδεξτρίνης να συσσωματωθούν όταν βρίσκονται σε υδατικό περιβάλλον. Επιπλέον, η ευρεία αυτή κατανομή μεγέθους έχει ως αποτέλεσμα, ο δείκτης πολυδιασποράς (PDI), που είναι μέτρο της ομοιομορφίας του μεγέθους, να παρουσιάζει σχετικά υψηλές τιμές.

Ειδικότερα οι τιμές του δείκτη πολυδιασποράς κυμαίνονται από 0.488 έως 0.998 και υποδηλώνουν ότι υπάρχει μέτρια ομοιογένεια στην κατανομή μεγέθους των δειγμάτων,

καθώς τιμές του δείκτη πολυδιασποράς μεγαλύτερες από 0.2 φανερώνουν την ύπαρξη ευρείας κατανομής μεγέθους (πολυδιασποράς). Η ευρεία κατανομή μεγέθους οφείλεται κατά κύριο λόγο στην τάση των συμπλόκων κυκλοδεξτρίνης να σχηματίζουν σε υδατικά διαλύματα και σε θερμοκρασία δωματίου, μεγάλα ευδιάλυτα στο νερό συσσωματώματα, εξαιτίας της έλλειψης ικανοποιητικού καθαρού φορτίου στην επιφάνειά τους. Αυτό σημαίνει ότι δεν υπάρχουν υψηλές απωστικές δυνάμεις που να εμποδίζουν την συσσωμάτωση. Επιπλέον, βάσει των αποτελεσμάτων του συμπλόκου MBA 21 (το οποίο σχηματίστηκε χρησιμοποιώντας τη β-κυκλοξτρίνη και την πυραζολίνη σε αναλογία 1:4, συγκριτικά με τα υπόλοιπα σύμπλοκα όπου η αντίστοιχη αναλογία βρίσκεται στο 1:8) που παρουσιάζονται στον πίνακα 5, προκύπτει ότι το μέγεθος των συμπλόκων αυξάνεται, καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση της β-κυκλοδεξτρίνης στο αρχικό διάλυμα. Αυτό συμβαίνει διότι όσο αυξάνεται η συγκέντρωση της β-κυκλοδεξτρίνης στο διάλυμα, αυξάνεται η τάση των μορίων κυκλοδεξτρίνης και των συμπλόκων να ενωθούν, σχηματίζοντας συσσωματώματα.

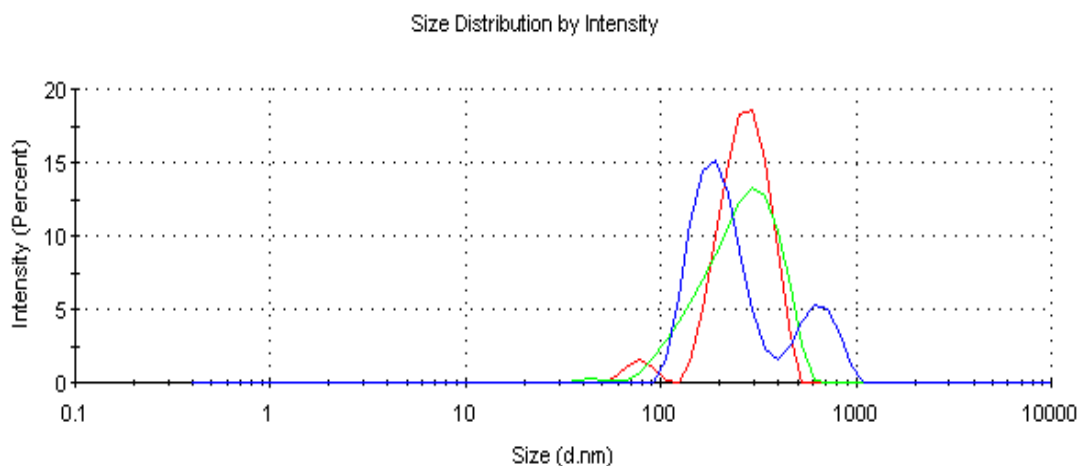
Το ζ-δυναμικό των συμπλόκων κυκλοδεξτρίνης παρουσιάζει αρνητική τιμή η οποία είναι αναμενόμενη και οφείλεται στην παρουσία υδροξυλίων στην επιφάνεια της β-κυκλοδεξτρίνης. Γενικά όταν το ζ-δυναμικό είναι σχετικά χαμηλό (θετικό ή αρνητικό), η έλξη υπερβαίνει την άπωση και τα σωματίδια τείνουν να δημιουργήσουν συσσωματώματα. Ενώ οι διασπορές με ένα υψηλό ζ-δυναμικό (θετικό ή αρνητικό) είναι ηλεκτρικά σταθερές. Ειδικότερα, τιμές του ζ-δυναμικού κοντά στο ± 30 mV αντιστοιχούν σε σταθερά σωματίδια. Ως εκ τούτου τα παραπάνω μοριακά σύμπλοκα είναι σχετικά σταθερά και δεν έχουν τη τάση να συσσωματωθούν κατά το χρονικό διάστημα της αποθήκευσής τους σε υδατική διασπορά. Τα σύμπλοκα που δημιουργήθηκαν στην παρούσα έρευνα, έδειξαν να έχουν πολύ υψηλή σταθερότητα με εξαίρεση τα σύμπλοκα MBA 31 και MBA 32 τα οποία κατά τον εγκλεισμό αφέθηκαν σε ανάδευση περισσότερες ώρες (overnight) γεγονός που πιθανώς επηρέασε τη σταθερότητα τους.

Πιο συγκεκριμένα, συγκρίνοντας αρχικά τα σύμπλοκα MBA 21 και 22 παρατηρούμε ότι στις ίδιες συνθήκες με μικρότερη αναλογία ένωσης στο δεύτερο σύμπλοκο βελτιώθηκε τόσο το μέγεθος των σωματιδίων όσο και η ομοιομορφία. Η σταθερότητα είναι ικανοποιητική και στα δύο παραπάνω σύμπλοκα. Το MBA 27 παρουσίασε παρόμοια συμπεριφορά. Συγκρίνοντας το τελευταίο με το MBA 29 στο οποίο ακολουθήθηκε η

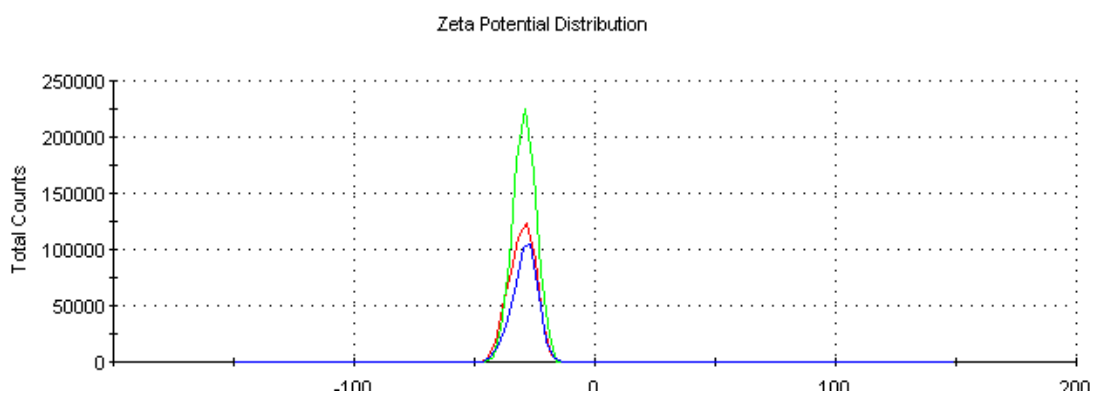
μέθοδος εγκλεισμού με λειοτρίβηση (kneading), συμπεραίνουμε ότι η μέθοδος της συγκαταβύθισης έδωσε σωματίδια μικρότερου μεγέθους και εξίσου καλής ομοιομορφίας και σταθερότητας.

Τα σύμπλοκα σε γ-κυκλοδεξτρίνη γενικά έδωσαν αισθητά μεγαλύτερα μεγέθη σωματιδίων από εκείνα σε β-κυκλοδεξτρίνη, γεγονός που εν μέρει δικαιολογείται από το μεγαλύτερο μέγεθος και της ίδιας της κυκλοδεξτρίνης αλλά είναι υπο διερεύνηση καθώς έχει αξιολογηθεί μικρός αριθμός δειγμάτων.

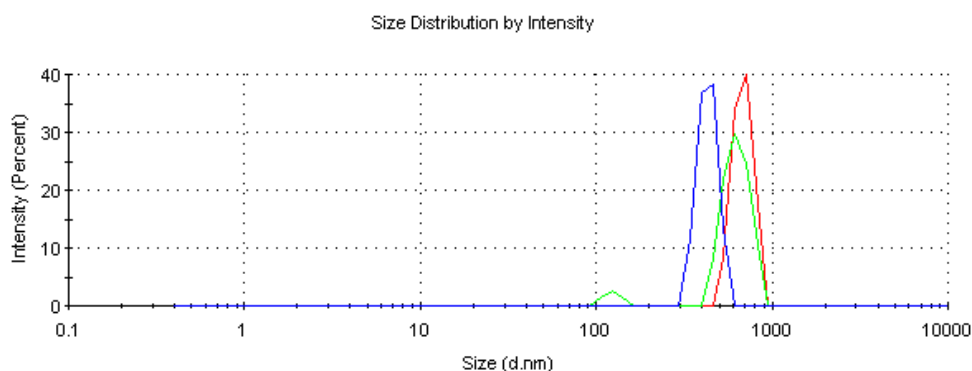
Στη συνέχεια, παρατίθενται ενδεικτικά τα διαγράμματα χαρακτηρισμού μεγέθους και ζ-δυναμικού των συμπλόκων MBA 27 και MBA 30



ΕΙΚΟΝΑ 32: ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΥ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΓΙΑ ΤΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ MBA 27

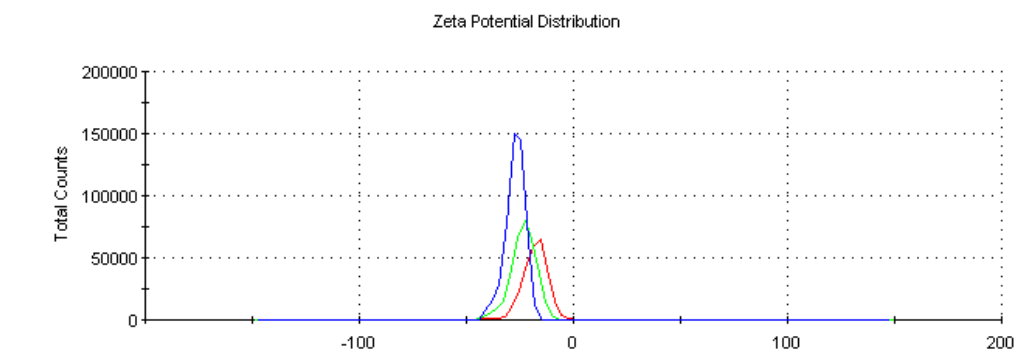


ΕΙΚΟΝΑ 33: ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΥ Z-ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΓΙΑ ΤΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ ΜΒΑ 27



Εικόνα

ΕΙΚΟΝΑ 34: ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΥ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΓΙΑ ΤΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ ΜΒΑ 30



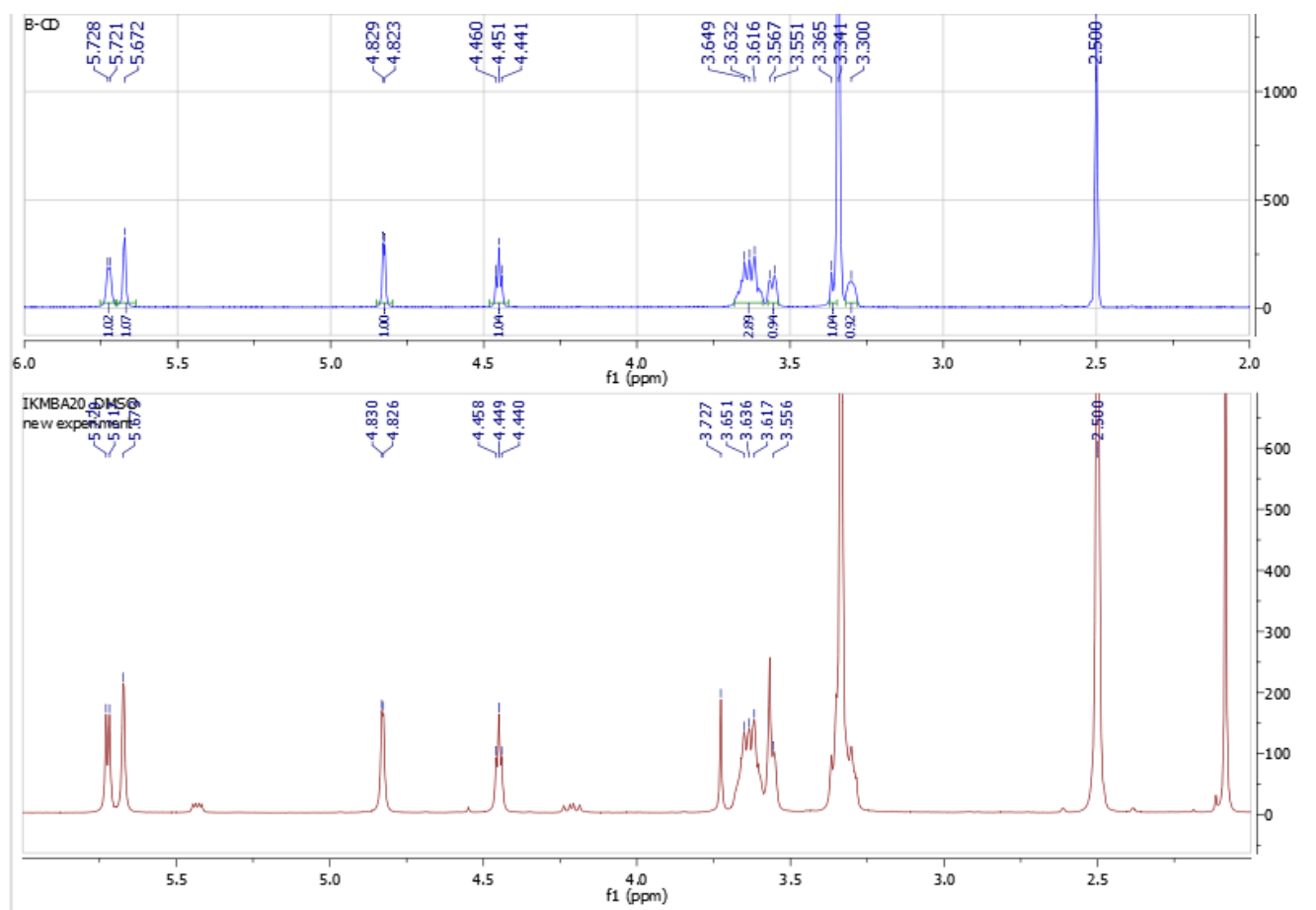
ΕΙΚΟΝΑ 35: ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΥ Z-ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΓΙΑ ΤΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ ΜΒΑ 30

4.3.3 Μελέτη δομής συμπλόκων μέσω φασματομετρίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)

Στο υποκεφάλαιο αυτό, πραγματοποιείται συγκριτική μελέτη των φασμάτων ^1H NMR της β και γ -κυκλοδεξτρίνης, των ενώσεων καθώς και των συμπλόκων. Ειδικότερα, υπολογίζεται η διαφορά των χημικών μετατοπίσεων των κορυφών των πρωτονίων των κυκλοδεξτρινών και της επιλεγμένης πυραζολίνης σε ελεύθερη μορφή και σε μορφή συμπλόκου. Με αυτό τον τρόπο επιτυγχάνεται η κατανόηση των πιθανών αλληλεπιδράσεων μεταξύ του φιλοξενούμενου μορίου και του μορίου ξενιστή.

Αρχικά, εξετάζονται συγκριτικά τα φάσματα ^1H NMR της β -κυκλοδεξτρίνης (β -CD), της επιλεγμένης πυραζολίνης καθώς και του συμπλόκου αυτών.

4.3.3.1 Σύμπλοκο MBA 20



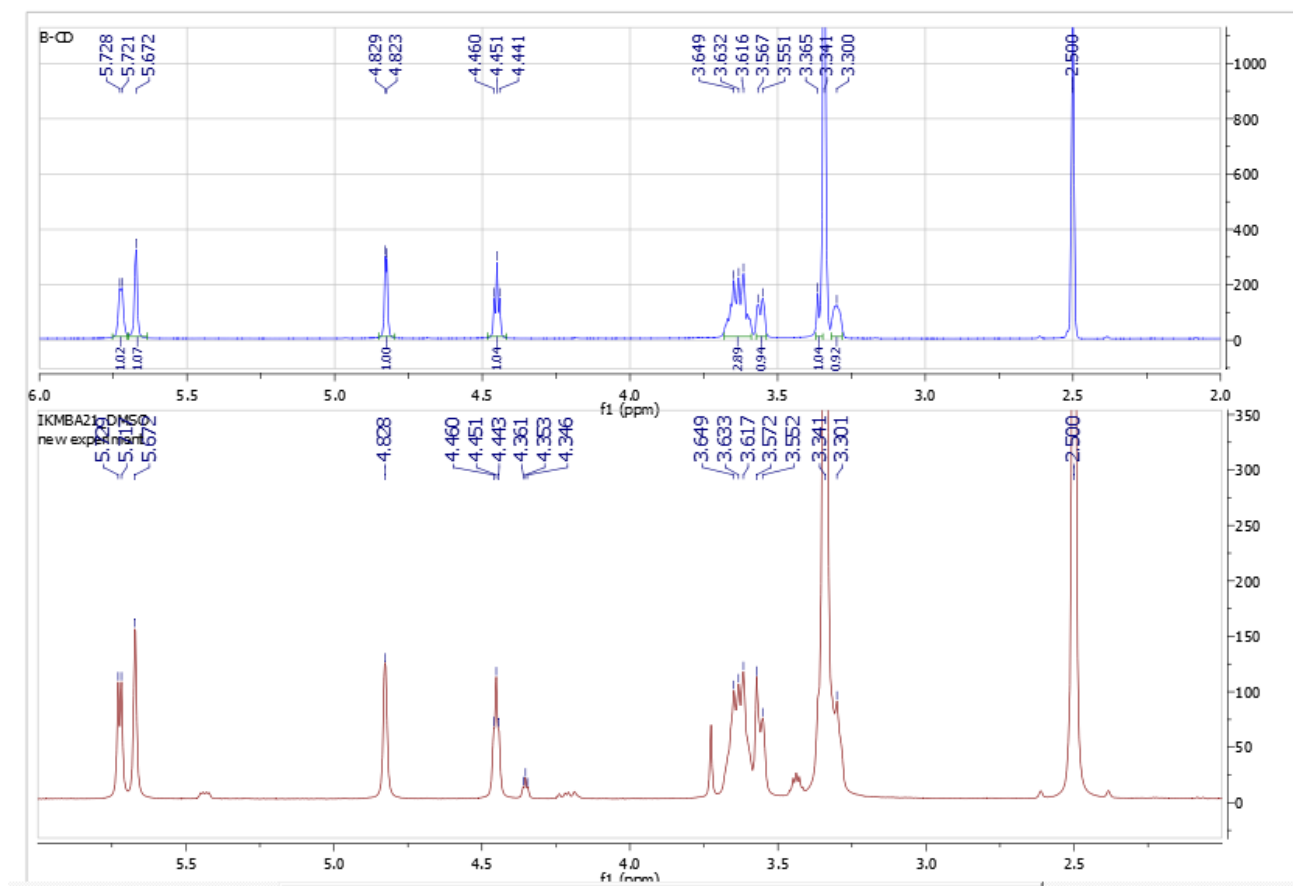
ΕΙΚΟΝΑ 36:ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΟ ΦΑΣΜΑ 1H NMR ΤΗΣ β-CD ΚΑΙ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ MBA20 (DMSO-D₆).

ΠΙΝΑΚΑΣ 6: ΔΙΑΦΟΡΑ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΕΩΝ (PPM) ΤΗΣ β-ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗΣ ΣΕ ΕΛΕΥΘΕΡΗ ΜΟΡΦΗ ΚΑΙ ΣΤΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ MBA 20.

πρωτόνια	χημικές μετατοπίσεις β-cd δ1	χημικές μετατοπίσεις της β-cd στο συμπλοκο δ2	διαφορά Δ(δ1-δ2)
H-1'	4.826	4.828	-0.002
H-2'	3.365	3.359	0.006
H-3'	3.633	3.636	-0.003
H-4'	3.3	3.291	0.009
H-5'	3.559	3.562	-0.003
H-6'	3.632	3.636	-0.004

OH-2'	5.725	5.723	0.002
OH-3'	5.672	5.673	-0.001
OH-6'	4.451	4.449	0.002

4.3.3.2 Σύμπλοκο MBA 21



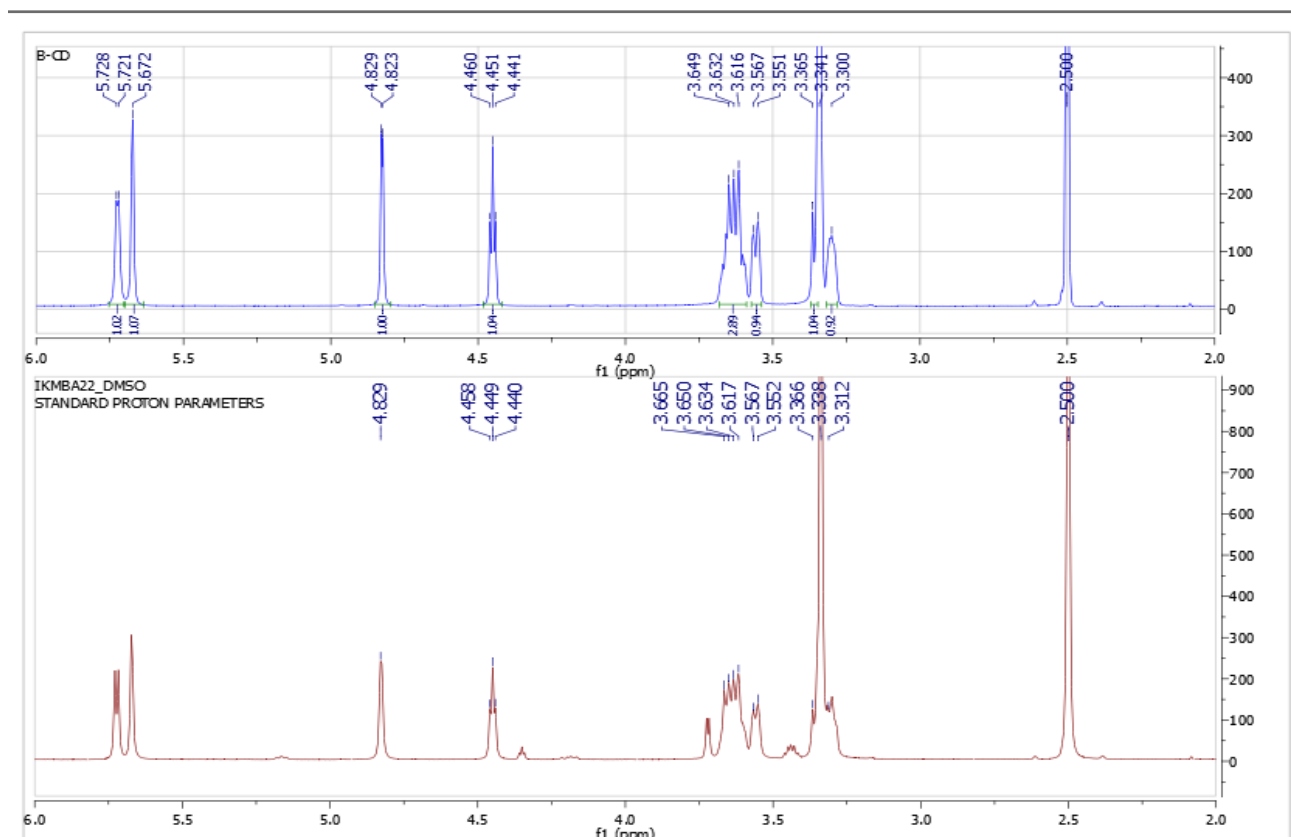
ΕΙΚΟΝΑ 37:ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΟ ΦΑΣΜΑ 1H NMR ΤΗΣ Β-CD ΚΑΙ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ MBA21 (DMSO-D₆).

ΠΙΝΑΚΑΣ 7: ΔΙΑΦΟΡΑ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΕΩΝ (PPM) ΤΗΣ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗΣ ΣΕ ΕΛΕΥΘΕΡΗ ΜΟΡΦΗ ΚΑΙ ΣΤΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ MBA 21.

πρωτόνια	χημικές μετατοπίσεις β-cd δ_1	χημικές μετατοπίσεις της β-cd στο συμπλοκο δ_2	διαφορά $\Delta(\delta_1-\delta_2)$
H-1'	4.826	4.828	-0.002
H-2'	3.365	3.364	0.001

H-3'	3.633	3.634	-0.001
H-4'	3.3	3.301	-0.001
H-5'	3.559	3.562	-0.003
H-6'	3.632	3.634	-0.002
OH-2'	5.725	5.723	0.002
OH-3'	5.672	5.672	0
OH-6'	4.451	4.451	0

4.3.3.3 Σύμπλοκο MBA 22

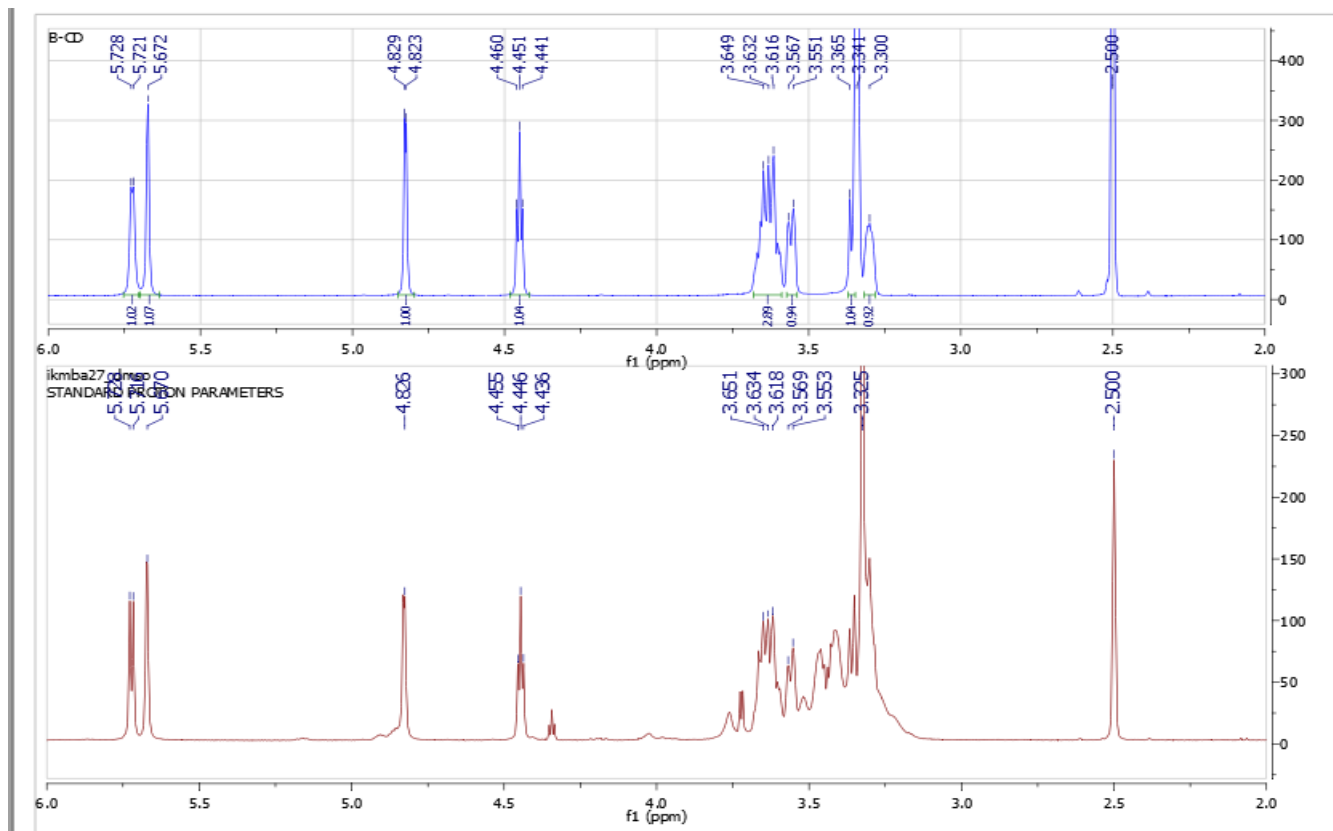


ΕΙΚΟΝΑ 38:ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΟ ΦΑΣΜΑ 1H NMR ΤΗΣ Β-CD ΚΑΙ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ MBA22 (DMSO-D₆).

ΠΙΝΑΚΑΣ 8: ΔΙΑΦΟΡΑ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΕΩΝ (PPM) ΤΗΣ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗΣ ΣΕ ΕΛΕΥΘΕΡΗ ΜΟΡΦΗ ΚΑΙ ΣΤΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ MBA 22.

πρωτόνια	χημικές μετατοπίσεις β-cd δ1	χημικές μετατοπίσεις της β-cd στο συμπλοκο δ2	διαφορά Δ(δ1-δ2)
H-1'	4.826	4.829	-0.003
H-2'	3.365	3.366	-0.001
H-3'	3.633	3.641	-0.008
H-4'	3.3	3.301	-0.001
H-5'	3.559	3.559	0
H-6'	3.632	3.641	-0.009
OH-2'	5.725	5.717	0.008
OH-3'	5.672	5.672	0
OH-6'	4.451	4.449	0.002

4.3.3.4 Σύμπλοκο MBA 27

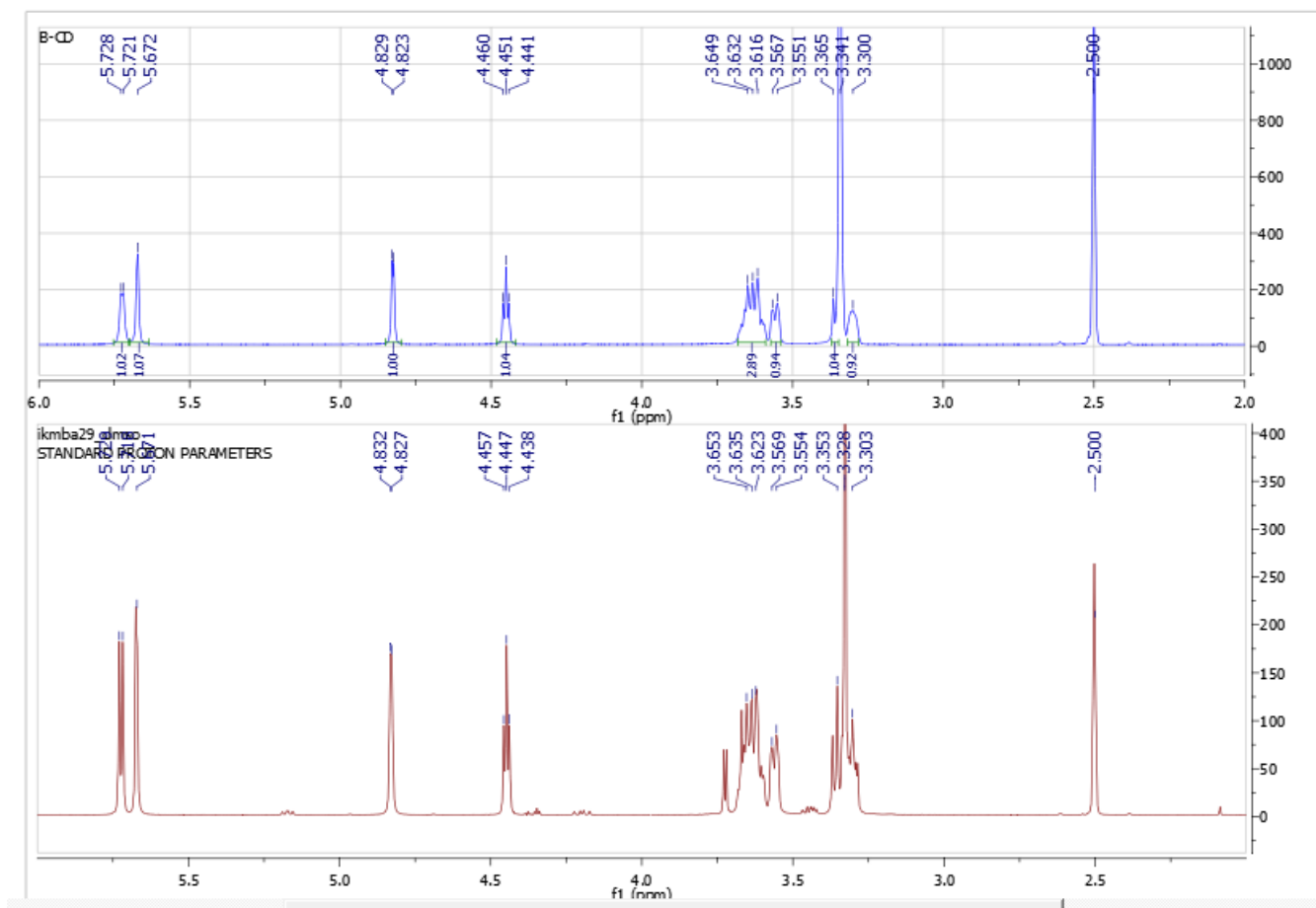


Συγκριτικό φάσμα ^1H NMR της β -CD και του συμπλόκου MBA27 ($\text{DMSO-}d_6$).

ΠΙΝΑΚΑΣ 9: ΔΙΑΦΟΡΑ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΕΩΝ (PPM) ΤΗΣ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗΣ ΣΕ ΕΛΕΥΘΕΡΗ ΜΟΡΦΗ ΚΑΙ ΣΤΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ MBA 27.

πρωτόνια	χημικές μετατοπίσεις β -cd δ_1	χημικές μετατοπίσεις της β -cd στο συμπλοκο δ_2	διαφορά δ_1 - δ_2
H-1'	4.826	4.829	-0.003
H-2'	3.365	3.359	0.006
H-3'	3.633	3.634	-0.001
H-4'	3.3	3.302	-0.002
H-5'	3.559	3.561	-0.002
H-6'	3.632	3.634	-0.002
OH-2'	5.725	5.722	0.003
OH-3'	5.672	5.67	0.002
OH-6'	4.451	4.446	0.005

4.3.3.5 Σύμπλοκο MBA 29

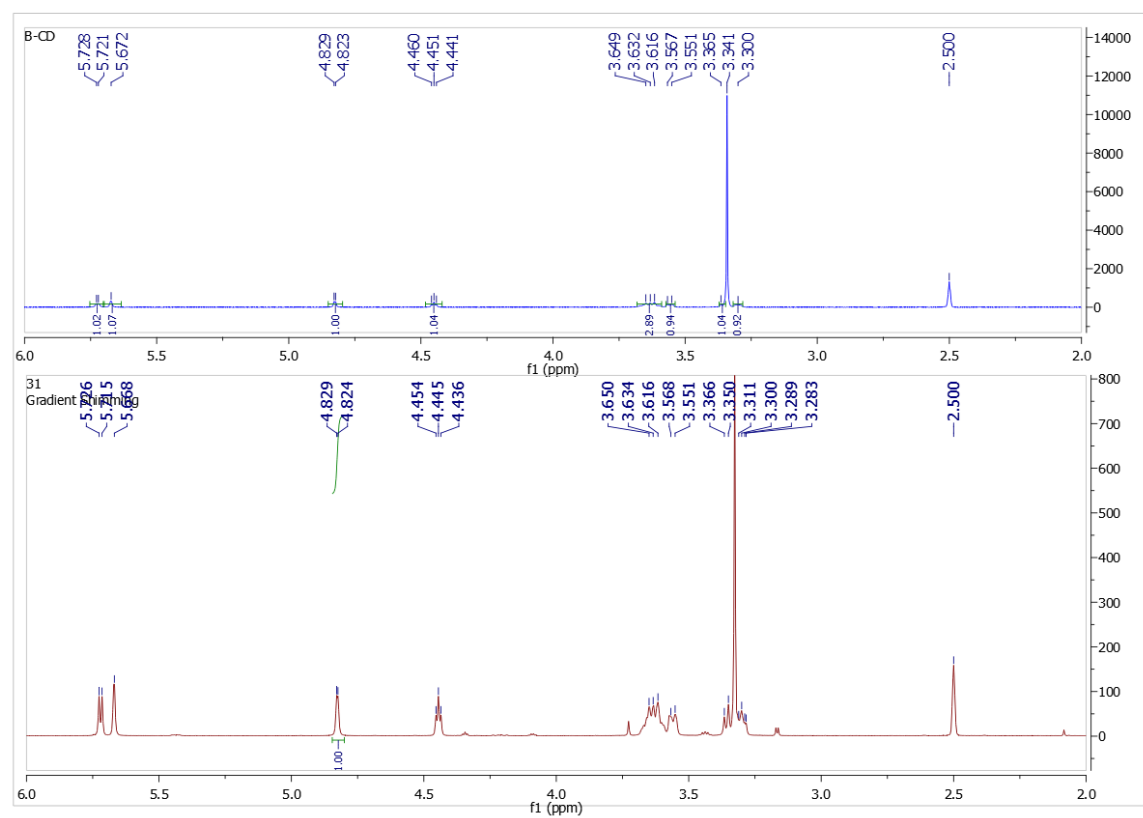


ΕΙΚΟΝΑ 39:ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΟ ΦΑΣΜΑ ¹H NMR ΤΗΣ Β-CD ΚΑΙ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ ΜΒΑ29 (DMSO-*D*₆).

ΠΙΝΑΚΑΣ 10: ΔΙΑΦΟΡΑ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΕΩΝ (PPM) ΤΗΣ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΕΤΡΙΝΗΣ ΣΕ ΕΛΕΥΘΕΡΗ ΜΟΡΦΗ ΚΑΙ ΣΤΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ ΜΒΑ 29.

πρωτόνια	χημικές μετατοπίσεις β-cd δ1	χημικές μετατοπίσεις της β-cd στο συμπλοκο δ2	διαφορά δ1- δ2
H-1'	4.826	4.83	-0.004
H-2'	3.365	3.361	0.004
H-3'	3.633	3.638	-0.005
H-4'	3.3	3.292	0.008
H-5'	3.559	3.562	-0.003
H-6'	3.632	3.638	-0.006
OH-2'	5.725	5.724	0.001
OH-3'	5.672	5.671	0.001
OH-6'	4.451	4.447	0.004

4.3.3.6 Σύμπλοκο MBA 31



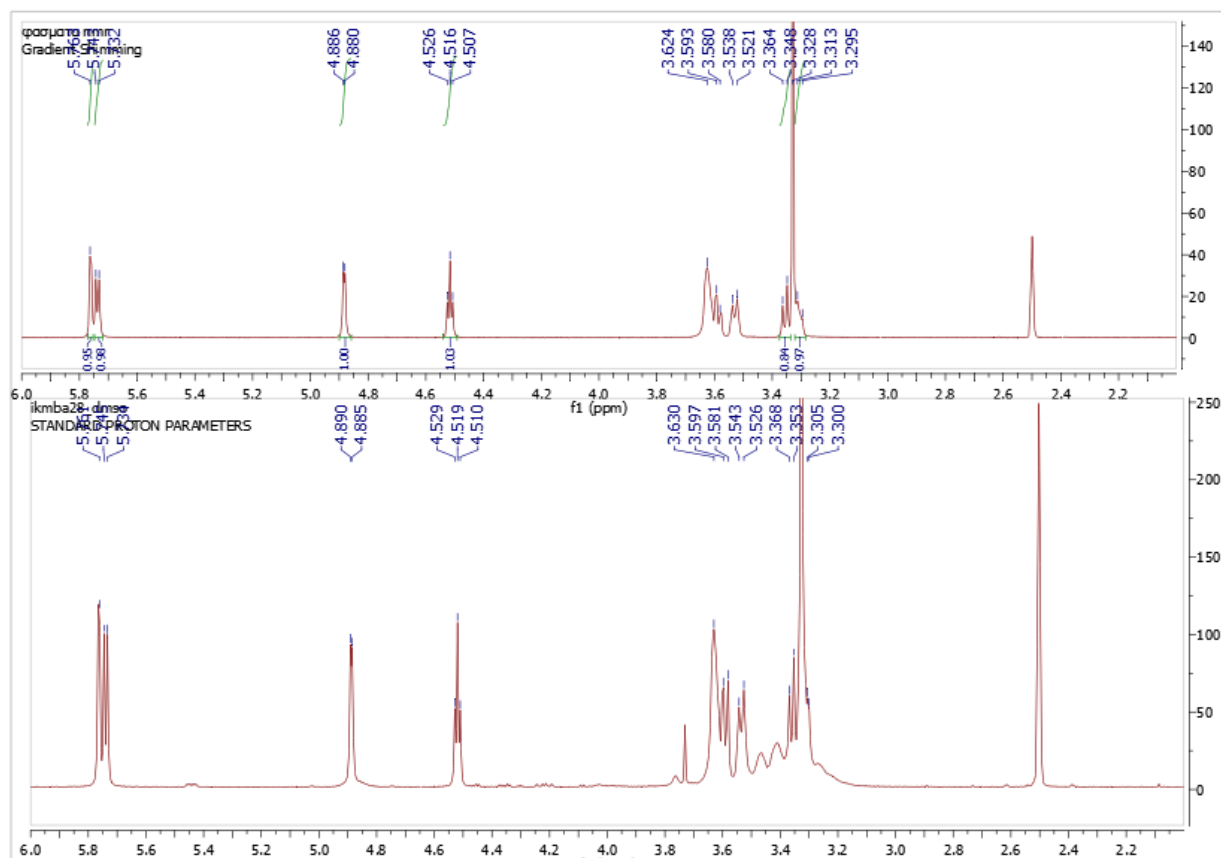
ΕΙΚΟΝΑ 40: ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΟ ΦΑΣΜΑ ¹H NMR ΤΗΣ β-CD ΚΑΙ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ MBA31 (DMSO-*D*₆).

ΠΙΝΑΚΑΣ 11: ΔΙΑΦΟΡΑ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΕΩΝ (PPM) ΤΗΣ β-ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗΣ ΣΕ ΕΛΕΥΘΕΡΗ ΜΟΡΦΗ ΚΑΙ ΣΤΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ MBA 31.

πρωτόνια	χημικές μετατοπίσεις β-cd δ1	χημικές μετατοπίσεις της β-cd στο συμπλοκο δ2	διαφορά δ1-δ2
H-1'	4.826	4.827	-0.001
H-2'	3.365	3.358	0.007
H-3'	3.633	3.634	-0.001
H-4'	3.3	3.299	0.001
H-5'	3.559	3.56	-0.001
H-6'	3.632	3.634	-0.002
OH-2'	5.725	5.721	0.004
OH-3'	5.672	5.668	0.004
OH-6'	4.451	4.445	0.006

Ακολούθως, εξετάζονται συγκριτικά τα φάσματα ^1H NMR της γ -κυκλοδεξτρίνης (γ -CD), της επιλεγμένης πυραζολίνης καθώς και του συμπλόκου αυτών.

4.3.3.7 Σύμπλοκο MBA 28



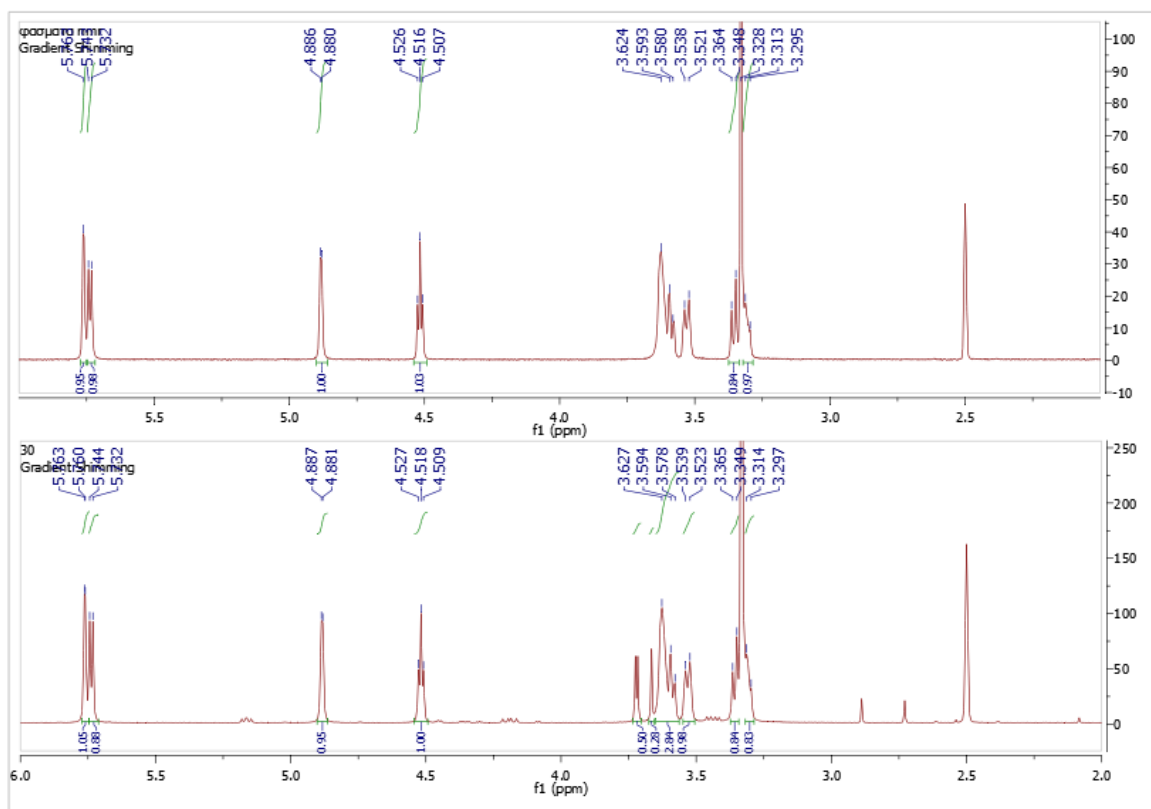
ΕΙΚΟΝΑ 41:ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΟ ΦΑΣΜΑ ^1H NMR ΤΗΣ γ -CD ΚΑΙ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ MBA28 ($\text{DMSO-}d_6$).

ΠΙΝΑΚΑΣ 12: ΔΙΑΦΟΡΑ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΕΩΝ (PPM) ΤΗΣ γ -ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗΣ ΣΕ ΕΛΕΥΘΕΡΗ ΜΟΡΦΗ ΚΑΙ ΣΤΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ MBA 28.

πρωτόνια	χημικές μετατοπίσεις γ -cd δ_1	χημικές μετατοπίσεις της γ -cd στο συμπλοκο δ_2	διαφορά δ_1 - δ_2
H-1'	4.886	4.885	0.001
H-2'	3.356	3.358	-0.002
H-3'	3.6	3.602	-0.002
H-4'	3.304	3.299	0.005
H-5'	3.53	3.532	-0.002

H-6'	3.6	3.638	-0.038
OH-2'	5,763	5,762	0,001
OH-3'	5,738	5,738	0
OH-6'	4.516	4.518	-0.002

4.3.3.8 Σύμπλοκο MBA 30



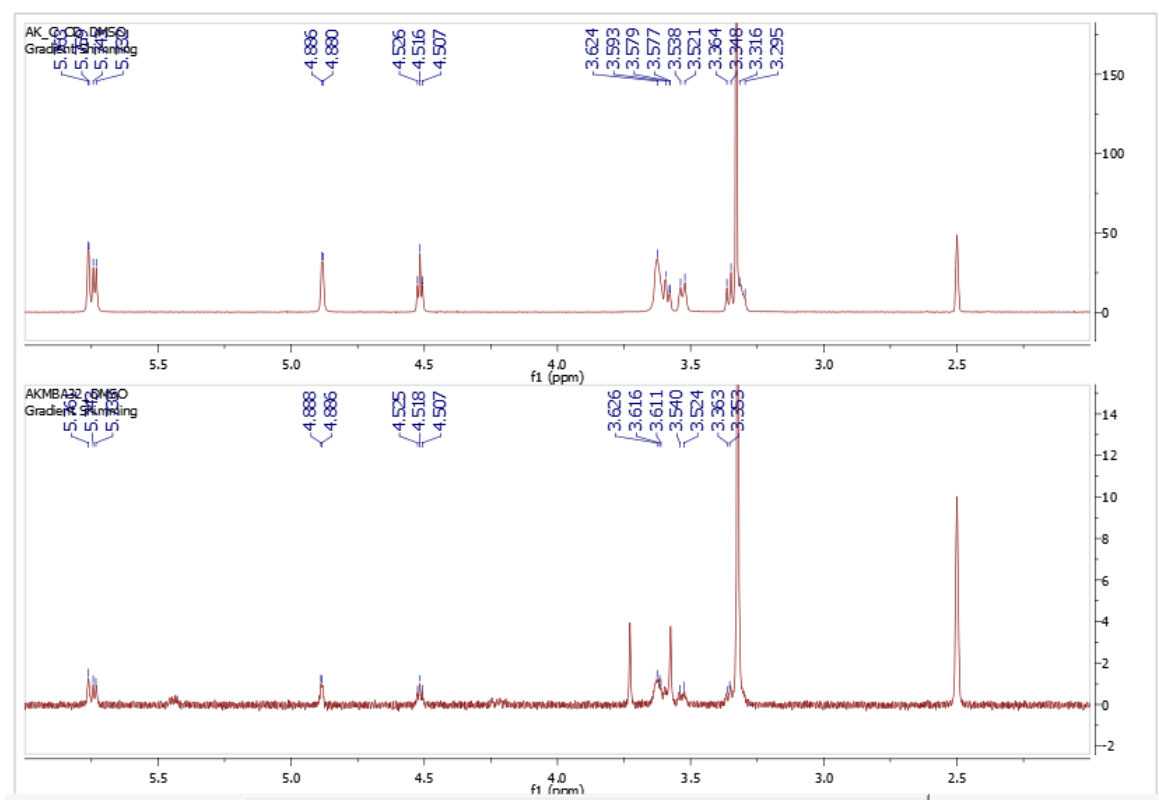
ΕΙΚΟΝΑ 42:ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΟ ΦΑΣΜΑ 1H NMR ΤΗΣ Γ-CD ΚΑΙ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ MBA30 (DMSO-D₆).

ΠΙΝΑΚΑΣ 13: ΔΙΑΦΟΡΑ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΕΩΝ (PPM) ΤΗΣ Γ-ΚΥΚΛΟΔΕΕΤΡΙΝΗΣ ΣΕ ΕΛΕΥΘΕΡΗ ΜΟΡΦΗ ΚΑΙ ΣΤΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ MBA 30.

πρωτόνια	χημικές μετατοπίσεις γ-cd δ1	χημικές μετατοπίσεις της γ-cd στο συμπλοκο δ2	διαφορά δ1- δ2
H-1'	4.886	4.884	0.002
H-2'	3.359	3.357	0.002
H-3'	3.6	3.597	0.003
H-4'	3.304	3.305	-0.001
H-5'	3.53	3.531	-0.001

H-6'	3.6	3.597	0.003
OH-2'	5,763	5,762	0,001
OH-3'	5,738	5,738	0
OH-6'	4.516	4.518	-0.002

4.3.3.9 Σύμπλοκο MBA 32



ΕΙΚΟΝΑ 43: ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΟ ΦΑΣΜΑ ^1H NMR ΤΗΣ γ -CD ΚΑΙ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ MBA32 ($\text{DMSO}-D_6$).

ΠΙΝΑΚΑΣ 14: ΔΙΑΦΟΡΑ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΕΩΝ (PPM) ΤΗΣ γ -ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗΣ ΣΕ ΕΛΕΥΘΕΡΗ ΜΟΡΦΗ ΚΑΙ ΣΤΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ MBA 32.

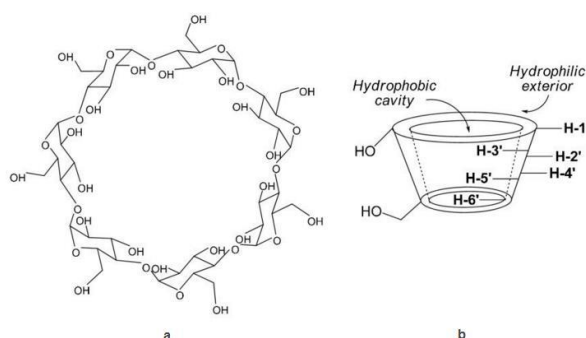
πρωτόνια	χημικές μετατοπίσεις γ -cd δ_1	χημικές μετατοπίσεις της γ -cd στο συμπλοκο δ_2	διαφορά δ_1 - δ_2
H-1'	4.886	4.887	-0.001
H-2'	3.359	3.358	0.001

H-3'	3.6	3.616	0.016
H-4'	3.304	3.311	-0.007
H-5'	3.53	3.532	-0.002
H-6'	3.6	3.616	0.016
OH-2'	5.763	5.761	0.002
OH-3'	5.738	5.738	0
OH-6'	4.516	4.518	-0.002

**Σημειώνεται ότι στην περίπτωση του συγκεκριμένου συμπλόκου, η απόδοση διεργασίας ήταν πολύ χαμηλή και η ποσότητα από την οποία λάβαμε το φάσμα ήταν πολύ μικρή. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα το φάσμα να είναι αρκετά αραιό κι έτσι οι παραπάνω μετατοπίσεις δεν θεωρούνται αντιπροσωπευτικές.*

Αφού μελετήθηκαν αναλυτικά οι χημικές μετατοπίσεις των κυκλοδεξτρινών που χρησιμοποιήθηκαν στα σύμπλοκα σε σχέση με εκείνες που υπάρχουν στις κυκλοδεξτρίνες σε ελεύθερη μορφή, είναι αναγκαίο να γίνουν κάποια σχόλια για την κατανόηση της σημασίας αυτών των μετατοπίσεων.

Πιο συγκεκριμένα, η διαφορά των χημικών μετατοπίσεων είναι ενδεικτική των πιθανών αλληλεπιδράσεων μεταξύ του φιλοξενούμενου μορίου και του μορίου ξενιστή. Κατ'αρχάς, τα πρωτόνια στα οποία μελετήθηκαν οι μετατοπίσεις είναι χαρακτηριστικά πρωτόνια τα οποία βρίσκονται μέσα ή εξωτερικά του μορίου της κυκλοδεξτρίνης όπως παρουσιάζεται στην παρακάτω εικόνα. Τα εσωτερικά πρωτόνια είναι τα H-3', H-5' και H-6' ενώ τα εξωτερικά είναι τα H-1', H-2', H-4'. Έτσι, η μεγαλύτερη διαφορά στη χημική μετατόπιση στα εσωτερικά πρωτόνια της κυκλοδεξτρίνης υποδεικνύει μεγαλύτερες αλληλεπιδράσεις με το φιλοξενούμενο μόριο εσωτερικά ενώ μεγαλύτερες διαφορές στα εξωτερικά πρωτόνια μπορεί να υποδεικνύουν ότι το μόριο βρίσκεται σε μεγάλο βαθμό γύρω από το μόριο της κυκλοδεξτρίνης και όχι εγκλεισμένο μέσα σε αυτό.



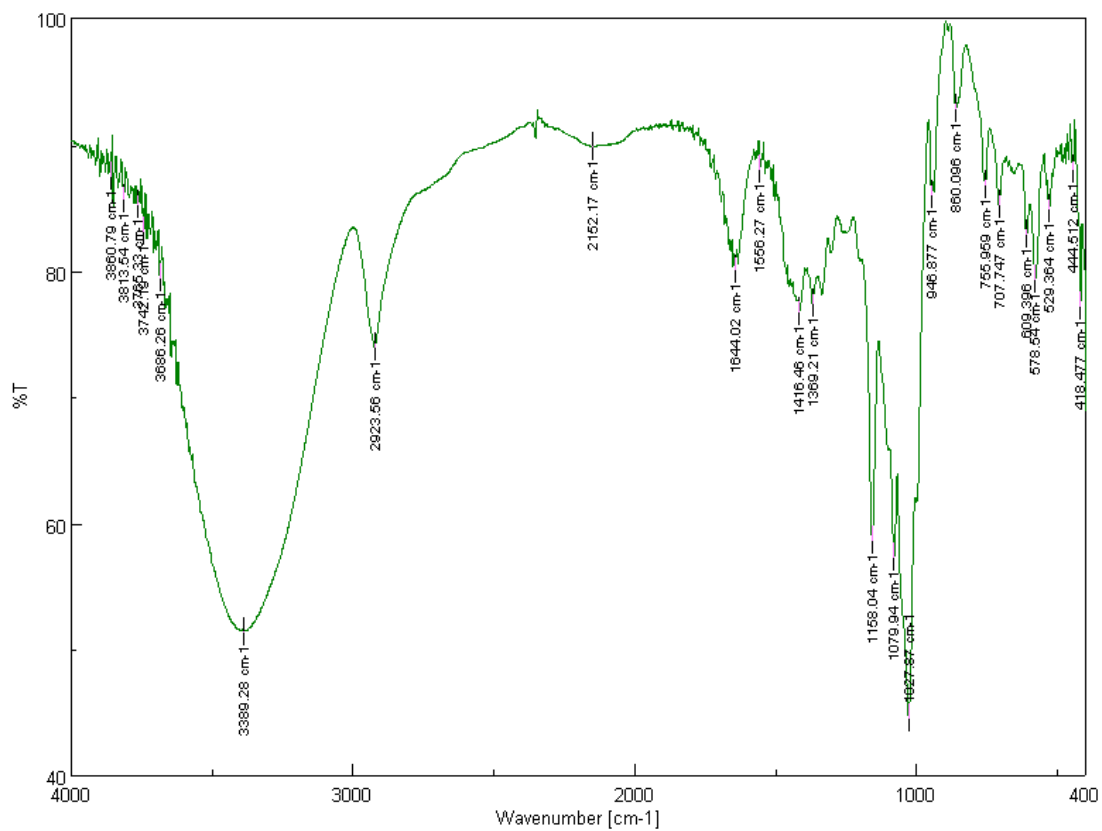
ΕΙΚΟΝΑ 44: Α: ΧΗΜΙΚΗ ΔΟΜΗ ΤΗΣ Β-CD ΚΑΙ Β: ΑΝΑΠΑΡΑΣΤΑΣΗ ΤΗΣ ΤΡΙΣΔΙΑΣΤΑΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΤΗΣ Β-CD.

Συνοψίζοντας, παρατηρούμε ότι υπάρχουν διαφορές μετατοπίσεων τόσο μέσα όσο και εξωτερικά των κυκλοδεξτρινών. Αυτό υποδηλώνει ότι είναι πιθανό μέρος των μορίων των πυραζολινών να εγκλείστηκε μέσα στο μόριο της εκάστοτε κυκλοδεξτρίνης και το υπόλοιπο να βρίσκεται προσκολλημένο στο εξωτερικό. Ως προς την γ-κυκλοδεξτρίνη, εντοπίστηκαν ισχυρότερες αλληλεπιδράσεις στο εσωτερικό του μορίου που ήταν αναμενόμενο αφού η γ-κυκλοδεξτρίνη έχει αρκετά μεγαλύτερη υδρόφοβη κοιλότητα σε σχέση με την β-κυκλοδεξτρίνη και άρα προσφέρεται για τον εγκλεισμό μεγάλων σχετικά μορίων όπως είναι οι πυραζολίνες.

4.3.4 Μελέτη δομής συμπλόκων μέσω Υπέρυθρης φασματομετρίας (FT-IR)

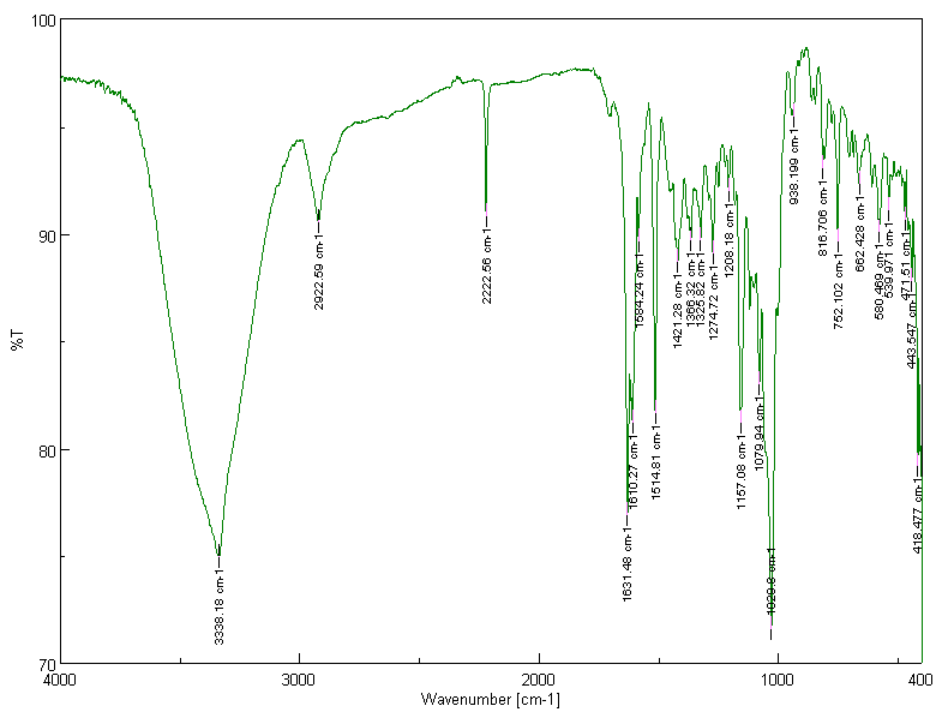
Η ανάλυση FT-IR της β-κυκλοδεξτρίνης, των ενώσεων και των συμπλόκων πραγματοποιήθηκε στο όργανο JASCO FT/IR-4200 με χρήση δισκίων βρωμιούχου καλίου (KBr). Αξιολογώντας τις μετατοπίσεις των χαρακτηριστικών κορυφών της β-κυκλοδεξτρίνης και των ενώσεων, λαμβάνονται πληροφορίες για τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ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

Αρχικά παρατίθεται το φάσμα IR της β-κυκλοδεξτρίνης στο οποίο φαίνονται δύο χαρακτηριστικές δονήσεις της. Αυτές είναι η δόνηση τάσης $\tilde{\nu}$ στα 3389 cm^{-1} η οποία αντιστοιχεί στο δεσμό O-H αλλά και η δόνηση τάσης $\tilde{\nu}$ στα 1027 cm^{-1} που αντιστοιχεί στον δεσμό O-C.



ΕΙΚΟΝΑ 45: ΦΑΣΜΑ IR ΤΗΣ Β-CD.

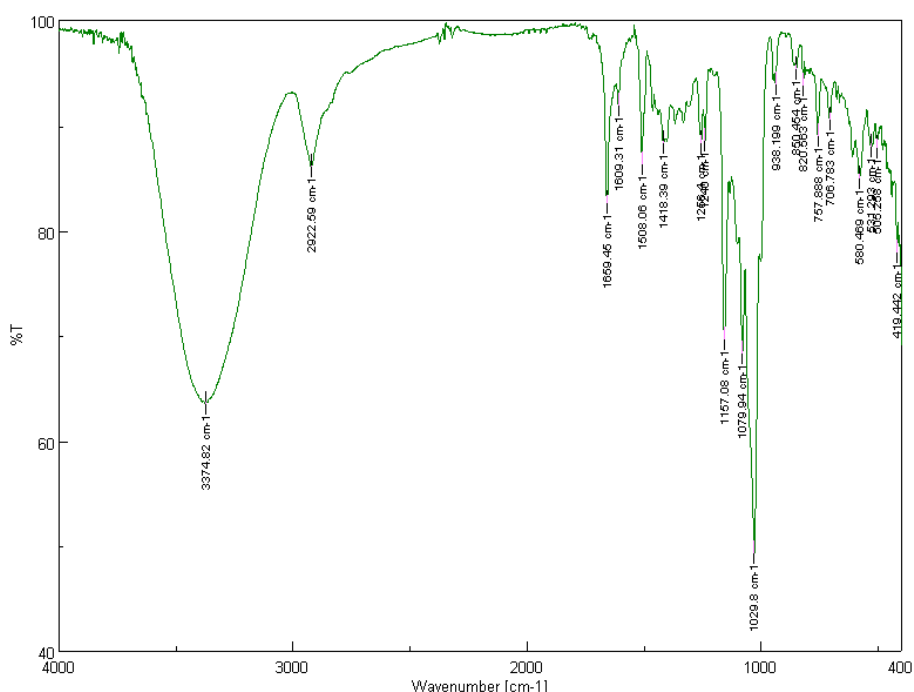
4.3.4.1 Σύμπλοκο MBA20



ΕΙΚΟΝΑ 46: ΦΑΣΜΑ IR ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ MBA 20

Στο παραπάνω φάσμα του συμπλόκου MBA 20 παρατηρούμε πως οι χαρακτηριστικές κορυφές της β-κυκλοδεξτρίνης έχουν μετατοπιστεί ελαφρώς με τη δόνηση τάσης $\tilde{\nu}$ του δεσμού O-H να απορροφά στα 3338 cm^{-1} και στα 1029.6 cm^{-1} να εμφανίζεται η δόνηση τάσης $\tilde{\nu}$ του δεσμού C-O. Στο συγκεκριμένο φάσμα επίσης χαρακτηριστική είναι και η δόνηση τάσης $\tilde{\nu}$ στα 2222 cm^{-1} που αντιστοιχεί στην ομάδα CN που περιέχεται στην πυραζολίνη (**6**) η οποία είναι εγκλεισμένη στην β-CD στο σύμπλοκο. Η κορυφή βέβαια είναι πολύ χαμηλής έντασης συγκριτικά με το αντίστοιχο φάσμα υπερύθρου της πυραζολίνης **6** (ΠαράρτημαI).

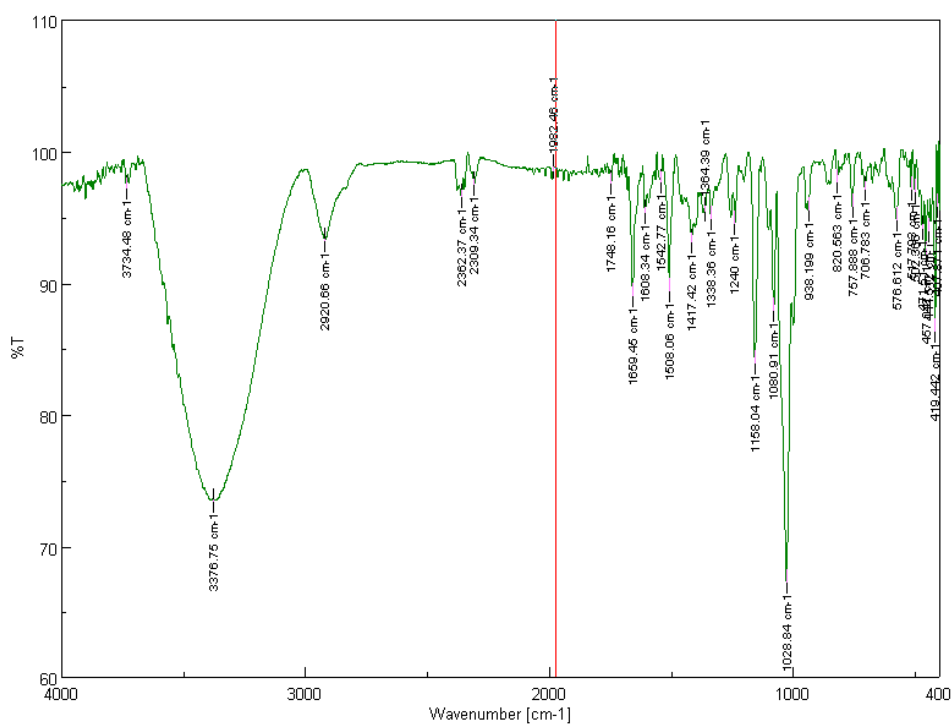
4.3.4.2 Σύμπλοκο MBA22



ΕΙΚΟΝΑ 47: ΦΑΣΜΑ IR ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ MBA 22

Αντίστοιχα, στο παραπάνω εικονιζόμενο φάσμα του συμπλόκου MBA 22, παρατηρούμε πως οι χαρακτηριστικές κορυφές της β-κυκλοδεξτρίνης έχουν μετατοπιστεί στα 3374 cm^{-1} για τη δόνηση τάσης $\tilde{\nu}$ του O-H και στα 1029.8 cm^{-1} για τη δόνηση τάσης $\tilde{\nu}$ του C-O. Σε αυτή την περίπτωση φαίνεται πως η κορυφή του CN δεν είναι ευδιάκριτη και αυτό πιθανά υποδηλώνει τον καλύτερο εγκλεισμό της πυραζολίνης εσωτερικά στην β-κυκλοδεξτρίνη στο σύμπλοκο αυτό σε σχέση με το MBA 20.

4.3.4.3 Σύμπλοκο MBA27



ΕΙΚΟΝΑ 48: ΦΑΣΜΑ IR ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ MBA 27

Στο σύμπλοκο αυτό φαίνεται να υπάρχει επίσης μία μετατόπιση των χαρακτηριστικών κορυφών της β-CD στα 3376 cm⁻¹ για τη δόνηση τάσης $\tilde{\nu}$ O-H και στα 1028.8 cm⁻¹ για τη δόνηση τάσης $\tilde{\nu}$ C-O. Σε αυτή την περίπτωση έχει εγκλειστεί η πυραζολίνη (7) και οι χαρακτηριστικές κορυφές βρίσκονται σε εξαιρετικά χαμηλή ένταση.

4.4 Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης

Προσδιορισμός της αναγωγής της σταθερής ρίζας DPPH

Το μοντέλο δέσμευσης της σταθερής ελεύθερης ρίζας DPPH χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης των νέων πυραζολινικών παραγώγων αλλά και ορισμένων συμπλόκων. Ως ένωση αναφοράς για τη μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο του DPPH χρησιμοποιήθηκε το γαλλικό οξύ.

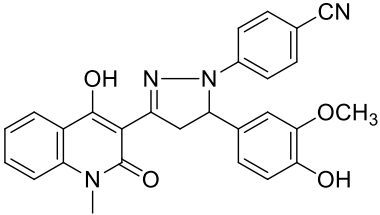
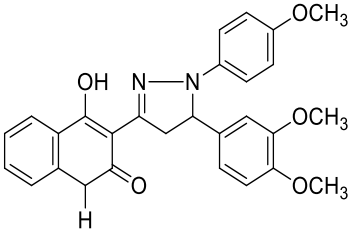
Για τον σκοπό αυτό, αρχικά ζυγίζονται 2.5 mg DPPH σε ογκομετρική φιάλη και σε αυτά προστίθενται 100 ml καθαρής αιθανόλης. Στη συνέχεια μετράται η απορρόφηση του διαλύματος αυτού στα 515 nm μέσω φασματοσκοπίας υπεριώδους-ορατού (UV-VIS). Επιπλέον, παρασκευάζεται διάλυμα της ένωσης ή του συμπλόκου που πρόκειται να αξιολογηθεί σε κατάλληλο διαλύτη. Πιο συγκεκριμένα, προστίθενται 1.5 mg της ένωσης σε 5 ml διαλύτη (DMSO) και ανάλογα με τον αποχρωματισμό του DPPH στο επόμενο στάδιο μπορεί να χρειαστεί κατάλληλη αραιώση. Από το τελευταίο διάλυμα φτιάχνονται τελικά 5 διαλύματα διαφορετικής συγκέντρωσης της ένωσης παίρνοντας κάθε φορά μία μικρή ποσότητα από το διάλυμα και αραιώνοντας με DMSO. Σε αυτά τα διαλύματα προστίθενται 4 ml από το αρχικό διάλυμα DPPH-αιθανόλης και αφήνονται για περίπου 30 λεπτά. Ακολούθως, μετράται η απορρόφηση των διαλυμάτων καθώς και ενός πρότυπου δείγματος που περιέχει μόνο διαλύτη και 4 ml DPPH. Τέλος, λαμβάνονται κάποιες μετρήσεις και μετά από 30 λεπτά και 1 ώρα.

Τα αποτελέσματα αυτά, συγκρίνονται με τα αντίστοιχα αποτελέσματα με το γνωστό αντιοξειδωτικό γαλλικό οξύ κι έτσι λαμβάνεται το IC₅₀ του δείγματος. Ως IC₅₀ ορίζεται η ελάχιστη συγκέντρωση που απαιτείται για τη δέσμευση 50% των ελευθέρων ριζών. Σημειώνεται σε αυτό το σημείο ότι η ελεύθερη ρίζα DPPH θεωρείται φωτοευαίσθητη συνεπώς καθ' όλη τη διάρκεια των μετρήσεων η ογκομετρική φιάλη που την περιέχει φυλάσσεται σε σκιερό μέρος και τυλίγεται με αλουμινοχαρτό.

4.4.1 Προσδιορισμός της αναγωγής της σταθερής ρίζας DPPH της πυραζολίνης (6) και (7).

Στον πίνακα που ακολουθεί παρατίθενται οι τιμές IC₅₀ που προέκυψαν για τις πυραζολίνες σε σύγκριση με το πρότυπο αντιοξειδωτικό γαλλικό οξύ.

ΠΙΝΑΚΑΣ 15: ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΓΙΑ ΤΙΣ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΕΣ (6) ΚΑΙ (7)

Πυραζολίνη	IC ₅₀ (μg/ml)
	14.99
	8.8
Γαλλικό οξύ	6.74

Οι δύο πυραζολίνες εμφανίζουν πολύ καλή αντιοξειδωτική δράση, συγκρίσιμη με αυτή της ένωσης αναφοράς (γαλλικό οξύ).

4.4.2 Προσδιορισμός της αναγωγής της σταθερής ρίζας DPPH των συμπλόκων.

ΠΙΝΑΚΑΣ 16: ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΓΙΑ ΤΑ ΣΥΜΠΛΟΚΑ

Σύμπλοκα	Χρόνος	IC ₅₀ (μg/ml)
MBA 22	30min	21.50
	1h	56.96
MBA 28	40min	44.35
	1h	41.08
MBA 30	30min	48.51
	1h	58.82
Γαλλικό οξύ		6.74

Όσον αφορά στα αποτελέσματα της αντιοξειδωτικής δράσης των συμπλόκων, αυτά είναι επίσης θετικά κάτι το οποίο ήταν αναμενόμενο λόγω της καλής αντιοξειδωτικής δράσης των προς εγκλεισμό πυραζολινών. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε καλύτερο IC₅₀ στο σύμπλοκο της πυραζολίνης (6) σε β-CD (MBA 22).

Τα άλλα δύο σύμπλοκα που αξιολογήθηκαν για την αντιοξειδωτική τους δράση ήταν των πυραζολινών (6) και (7) σε γ-CD. Τα σύμπλοκα αυτά φαίνεται να εμφανίζουν σχετικά καλή αντιοξειδωτική δράση αν και αρκετά ασθενέστερη από αυτή του συμπλόκου MBA 22. Το MBA 28 στο οποίο έχει εγκλειστεί η πυραζολίνη (6) εμφάνισε καλύτερη δράση Στο σύμπλοκο MBA 30, όπου βρίσκεται εγκλωβισμένη η πυραζολίνη (7) παρατηρούμε πως η αντιοξειδωτική δράση είναι αντίστοιχη με του συμπλόκου MBA28, μετά από τη μία ώρα όμως η αντιοξειδωτική δράση αρχίζει να μειώνεται πιο γρήγορα.

5.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα διπλωματική εργασία, πραγματοποιήθηκε η σύνθεση και ο χαρακτηρισμός δύο επιλεγμένων πυραζολινικών αναλόγων, τα οποία ταυτοποιήθηκαν μέσω φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού ^1H και ^{13}C NMR. Αρχικά, συντέθηκε η 3-ακετυλο-4-υδροξυ-2-κινολινόνη, η οποία μέσω αλδολικής συμπύκνωσης με κατάλληλες αρωματικές αλδεΐδες παρουσία καταλυτικής ποσότητας πιπεριδίνης οδήγησε στο σχηματισμό των νέων κινολινονών-χαλκονών. Στη συνέχεια, τα νέα ετεροκυκλικά πυραζολινικά ανάλογα συντέθηκαν από τις χαλκόνες χρησιμοποιώντας κατάλληλη υδραζίνη σε οξικό οξύ. Τα παράγωγα που προέκυψαν και από τις δυο μεθόδους παρουσίασαν ικανοποιητικές αποδόσεις και υψηλή καθαρότητα.

Ακολούθως, σκοπεύοντας στη βελτίωση της διαλυτότητας των μορίων στο νερό, πραγματοποιήθηκε ο εγκλεισμός των παραπάνω δύο πυραζολινών σε β - και γ -κυκλοδεξτρίνη, οι οποίες αποτελούν φυσικούς, μη τοξικούς, κυκλικούς ολιγοσακχαρίτες.

Τα σύμπλοκα εγκλεισμού που σχηματίστηκαν χαρακτηρίστηκαν μέσω μεθόδου Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (DLS) ως προς το μέγεθος, το δείκτη πολυδιασποράς και το ζ-δυναμικό τους. Βρέθηκε ότι τα σύμπλοκα με β -κυκλοδεξτρίνη σχηματίζουν νανοσωματίδια μικρότερου μεγέθους (400-600nm), μέτριας πολυδιασποράς (PDI=0.6-0.9) και καλής σταθερότητας (ζ =-25 έως -40 mV).. Αντίθετα, τα σύμπλοκα της γ -κυκλοδεξτρίνης έδωσαν σωματίδια μεγαλύτερου μεγέθους (>1000nm), γεγονός που μπορεί να αποδοθεί εν μέρει στο μεγαλύτερο μέγεθος της κυκλοδεξτρίνης αλλά χρήζει βελτιστοποίησης.

Όλα τα σύμπλοκα εγκλεισμού ταυτοποιήθηκαν δομικά μέσω φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού ^1H NMR αλλά και φασματοσκοπία υπερύθρου FT-IR. Πιο συγκεκριμένα, από τη διαφορά των χημικών μετατοπίσεων των πρωτονίων της β - και γ -κυκλοδεξτρίνης και των ενώσεων, σε ελεύθερη μορφή και σε μορφή συμπλόκου, αλλά και από τη μετατόπιση των χαρακτηριστικών κορυφών του φάσματος FT-IR, διαπιστώθηκε η επιτυχής δημιουργία των συμπλόκων β -CD-πυραζολίνης και γ -CD-πυραζολίνης. Το γεγονός ότι στα φάσματα ^1H NMR οι κορυφές της εκάστοτε πυραζολίνης έχουν πολύ μικρότερη ένταση σε σχέση με εκείνες της

κυκλοδεξτρίνης αποτελεί έναν ακόμα παράγοντα που υποδεικνύει τον επιτυχή εγκλεισμό των μορίων.

Τέλος, οι πυραζολίνες και τα σύμπλοκα εξετάστηκαν *in vitro* ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση με τη μέθοδο δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH και έδωσαν πολύ ικανοποιητικά αποτελέσματα ($IC_{50}=8.8-56\mu\text{g/ml}$), συγκριτικά με το πρότυπο αντιοξειδωτικό, γαλλικό οξύ ($IC_{50}=6.74\mu\text{g/ml}$).

ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Σύμφωνα με την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της παραπάνω έρευνας, πέρα από τα σημαντικά αποτελέσματα συμπεραίνουμε ότι πρόκειται για μια μελέτη η οποία έχει περιθώρια βελτιστοποίησης και περαιτέρω έρευνας σε όλα τα επίπεδα.

Κατ' αρχάς, επικείμενο στόχο για την ολοκλήρωση της παρούσας έρευνας αποτελεί η βελτιστοποίηση των πειραμάτων εγκλεισμού στην γ -κυκλοδεξτρίνη και περαιτέρω έρευνα για τα σύμπλοκα αυτά.

Ακολούθως, μελλοντικό στόχο αποτελεί και η μελέτη του χρόνου αποδέσμευσης των πυραζολινών από τα σύμπλοκα εγκλεισμού τόσο σε β - όσο και στη γ -κυκλοδεξτρίνη.

Επιπρόσθετα, προτείνεται η μελέτη της ικανότητας αναστολής του ενζύμου λιποξυγονάση από σόγια ως ένδειξη της αντιφλεγμονώδους δράσης των συμπλόκων εγκλεισμού.

Τέλος, προτείνεται και η μελέτη αντιοξειδωτικής δράσης των υπόλοιπων συμπλόκων με την ίδια μέθοδο.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Krych, J. and L. Gebicka, *Catalase is inhibited by flavonoids*. International Journal of Biological Macromolecules, 2013. **58**: p. 148-153.
2. Ragab, F.A., et al., *Design, synthesis and structure–activity relationship of novel semi-synthetic flavonoids as antiproliferative agents*. European Journal of Medicinal Chemistry, 2014. **82**: p. 506-520.
3. Tian, S.-S., et al., *Flavonoids from the leaves of *Carya cathayensis* Sarg. inhibit vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis*. Fitoterapia, 2014. **92**: p. 34-40.
4. Zhang, X., et al., *Effects of flavonoids-rich Chinese bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) pulp extracts on glucose consumption in human HepG2 cells*. Journal of Functional Foods, 2015. **14**: p. 144-153.
5. Wang, T.-y., Q. Li, and K.-s. Bi, *Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate*. Asian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2018. **13**(1): p. 12-23.
6. Panche, A.N., A.D. Diwan, and S.R. Chandra, *Flavonoids: an overview*. J Nutr Sci, 2016. **5**: p. e47.
7. Kumar, S. and A.K. Pandey, *Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview*. ScientificWorldJournal, 2013. **2013**: p. 162750.
8. Shibata, C., et al., *The flavonoid apigenin inhibits hepatitis C virus replication by decreasing mature microRNA122 levels*. Virology, 2014. **462-463**: p. 42-48.
9. Gao, L., et al., *Ameliorative effects of baicalein in MPTP-induced mouse model of Parkinson's disease: A microarray study*. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 2015. **133**: p. 155-163.
10. Balasuriya, N. and H.P.V. Rupasinghe, *Antihypertensive properties of flavonoid-rich apple peel extract*. Food Chemistry, 2012. **135**(4): p. 2320-2325.
11. Rakers, C., et al., *Inhibitory potency of flavonoid derivatives on influenza virus neuraminidase*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2014. **24**(17): p. 4312-4317.
12. Giuliani, C., et al., *The flavonoid quercetin inhibits thyroid-restricted genes expression and thyroid function*. Food and Chemical Toxicology, 2014. **66**: p. 23-29.
13. Brusselmans, K., et al., *Epigallocatechin-3-gallate is a potent natural inhibitor of fatty acid synthase in intact cells and selectively induces apoptosis in prostate cancer cells*. Int J Cancer, 2003. **106**(6): p. 856-62.
14. Kostopoulou, I. and A. Detsi, *Recent Developments on Tyrosinase Inhibitors based on the Chalcone and Aurone Scaffolds*. Current Enzyme Inhibition, 2018. **14**(1): p. 3-17.
15. Opletalova, V., et al., *Chalcones and their heterocyclic analogues as potential medicaments*. Vol. 25. 2000. 21-33.

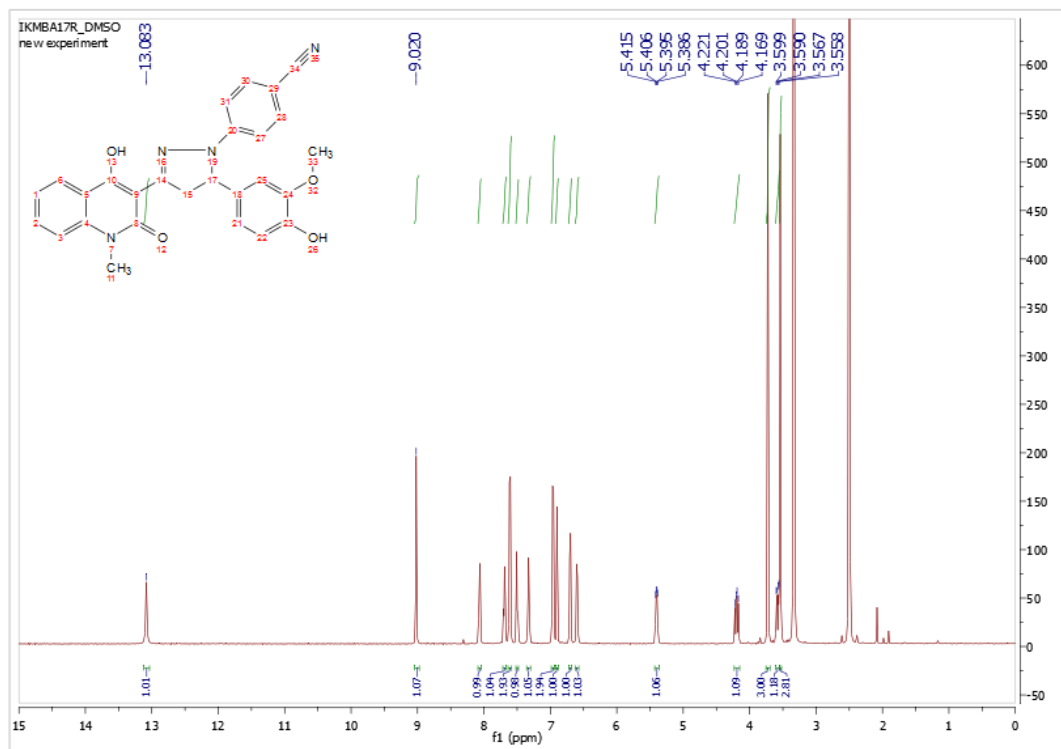
16. Bandgar, B.P., et al., *Synthesis and biological evaluation of simple methoxylated chalcones as anticancer, anti-inflammatory and antioxidant agents*. *Bioorg Med Chem*, 2010. **18**(3): p. 1364-70.
17. Ruan, Y., et al., *Synthesis and antifungal activity of new 1-(2,4-dichloro phenyl)-3-aryl-2-(1H-1,2,4-triazol-1-yl) prop-2-en-1-one derivatives*. Vol. 5. 2011. 602-607.
18. Dave, S.S. and A.M. Rahatgaonkar, *Syntheses and anti-microbial evaluation of new quinoline scaffold derived pyrimidine derivatives*. *Arabian Journal of Chemistry*, 2016. **9**: p. S451-S456.
19. Hans, R.H., et al., *Synthesis, antimalarial and antitubercular activity of acetylenic chalcones*. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010. **20**(3): p. 942-4.
20. Stevens, J.F. and J.E. Page, *Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer: to your good health!* *Phytochemistry*, 2004. **65**(10): p. 1317-30.
21. Fu, Y., et al., *Licochalcone-A, a novel flavonoid isolated from licorice root (Glycyrrhiza glabra), causes G2 and late-G1 arrests in androgen-independent PC-3 prostate cancer cells*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004. **322**(1): p. 263-70.
22. Cheng, J.H., et al., *Synthesis and cytotoxic, anti-inflammatory, and anti-oxidant activities of 2',5'-dialkoxylchalcones as cancer chemopreventive agents*. *Bioorg Med Chem*, 2008. **16**(15): p. 7270-6.
23. Claisen, L. and A. Claparède, *Condensationen von Ketonen mit Aldehyden*. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 1881. **14**(2): p. 2460-2468.
24. Akhtar, W., et al., *Coumarin-Pyrazoline Derivatives: Their One-Pot Microwave Assisted Synthesis and Antimalarial Activity*. Vol. 3. 2017. 5-9.
25. Chavan, R.R. and K.M. Hosamani, *Microwave-assisted synthesis, computational studies and antibacterial/ anti-inflammatory activities of compounds based on coumarin-pyrazole hybrid*. *Royal Society open science*, 2018. **5**(5): p. 172435-172435.
26. Bhuiyan, M.M.H., et al., *Microwave-assisted Efficient Synthesis of Chalcones as Probes for Antimicrobial Activities*. 2011.
27. Rayees Ahmad, M., et al., *Synthesis of novel chalcone derivatives by conventional and microwave irradiation methods and their pharmacological activities*. *Arabian Journal of Chemistry*, 2016. **9**: p. S931-S935.
28. Selepe, M. and F. Van Heerden, *Application of the Suzuki-Miyaura Reaction in the Synthesis of Flavonoids*. *Molecules*, 2013. **18**(4): p. 4739.
29. Gomes, M.N., et al., *Chalcone Derivatives: Promising Starting Points for Drug Design*. *Molecules*, 2017. **22**(8).
30. Downey, C.W., et al., *Chalcone and cinnamate synthesis via one-pot enol silane formation-Mukaiyama aldol reactions of ketones and acetate esters*. *Tetrahedron Letters*, 2018. **59**(32): p. 3080-3083.
31. Li, J.T., X.H. Zhang, and Z.P. Lin, *An improved synthesis of 1,3,5-triaryl-2-pyrazolines in acetic acid aqueous solution under ultrasound irradiation*. *Beilstein J Org Chem*, 2007. **3**: p. 13.

32. J.D, L., "STUDIES ON PYRAZOLOTHIAZOLE DERIVATIVES" *Chemistry of Carbon Compounds*. 1957, New York: Elsevier Publishing Company.
33. Sarita A. Shinkar, V.J.S.a.D.M.J., A REVIEW ON SYNTHETIC APPROACHES OF PYRAZOLINE DERIVATIVES. *WORLD JOURNAL OF PHARMACY AND PHARMACEUTICAL SCIENCES*, 2015. **4**(11): p. 505-514.
34. Davood Azarifar, M.S., *Synthesis and Characterization of New 3,5-Dinaphthyl Substituted 2-Pyrazolines and Study of Their Antimicrobial Activity*. *Molecules*, 2002. **7**: p. 885-895.
35. Abdel-Wahab, B.F., et al., *Design and synthesis of new 4-pyrazolin-3-yl-1,2,3-triazoles and 1,2,3-triazol-4-yl-pyrazolin-1-ylthiazoles as potential antimicrobial agents*. *Eur J Med Chem*, 2012. **52**: p. 263-8.
36. Eweas, A.F., *Design, Synthesis, In Vivo Anti-inflammatory, Analgesic Activities and Molecular Docking of Some Novel Pyrazolone Derivatives*. *Medicinal Chemistry*, 2015. **5**(10).
37. Kumar, A., B.G. Varadaraj, and R.K. Singla, *Synthesis and evaluation of antioxidant activity of novel 3,5-disubstituted-2-pyrazolines*. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, 2013. **51**(2): p. 167-173.
38. Jeong, T.S., et al., *Novel 3,5-diaryl pyrazolines and pyrazole as low-density lipoprotein (LDL) oxidation inhibitor*. *Bioorg Med Chem Lett*, 2004. **14**(11): p. 2719-23.
39. Kaplancikli, Z.A., et al., *New pyrazoline derivatives and their antidepressant activity*. *Eur J Med Chem*, 2010. **45**(9): p. 4383-7.
40. Abbas, A., et al., *Synthesis, spectral characterization, self-assembly and biological studies of N-acyl-2-pyrazolines bearing long alkoxy side chains*. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2014. **120**: p. 176-84.
41. Upadhyay, S., et al., *2-pyrazoline derivatives in neuropharmacology: Synthesis, ADME prediction, molecular docking and in vivo biological evaluation*. *EXCLI J*, 2017. **16**: p. 628-649.
42. Bhat, M., et al., *Synthesis and anti-candidal activity of some new pyrazoline derivatives*. Vol. 28. 2016. 3082.
43. hadma Chisti, D.S., Swati Gupta, Mohd Asif Khan, *Synthesis of some novel pyrazoline derivatives and evaluation of their biological activity*. 2018. **7**: p. 796-801.
44. Vipul.M.Patil, S.A.J.P.J.S.K.M.K., *Synthesis, Spectral Analysis and Anticancer Evaluation of Novel Pyrazoline Derivatives*. *Am. J. PharmTech Res.*, 2018. **8**.
45. Lokesh, B.V.S., Y.R. Prasad, and A.B. Shaik, *Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies of new pyrazolines as an antitubercular and cytotoxic agents*. *Infectious disorders drug targets*, 2018.
46. Revanasiddappa, B.C., M.V. Kumar, and H. Kumar, *Synthesis and Antioxidant activity of novel Pyrazoline derivatives*. *Hygeia journal for drugs and medicines*, 2018. **10**(1): p. 43-49.

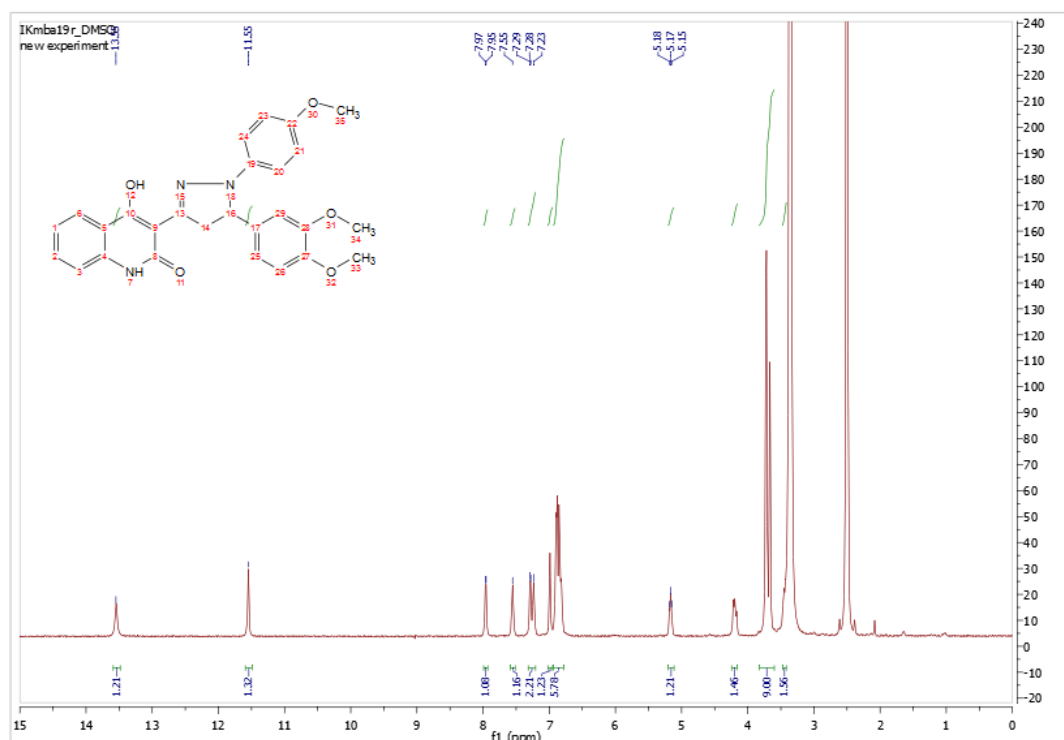
47. Fischer, E. and O. Knoevenagel, *2) Ueber die Verbindungen des Phenylhydrazins mit Acrolein, Mesityloxyd und Allylbromid*. Justus Liebigs Annalen der Chemie, 1887. **239**(2): p. 194-206.
48. Varghese, B., et al., *Unveiling a versatile heterocycle: pyrazoline – a review*. RSC Advances, 2017. **7**(74): p. 46999-47016.
49. Suga, H., et al., *Asymmetric Cycloaddition Reactions of Diazoesters with 2-Alkenoic Acid Derivatives Catalyzed by Binaphthylidimine–Ni(II) complexes*. The Journal of Organic Chemistry, 2011. **76**(18): p. 7377-7387.
50. Alex, K., et al., *Zinc-Catalyzed Synthesis of Pyrazolines and Pyrazoles via Hydrohydrazination*. Organic Letters, 2008. **10**(12): p. 2377-2379.
51. Cui, S.-L., J. Wang, and Y.-G. Wang, *Facile Access to Pyrazolines via Domino Reaction of the Huisgen Zwitterions with Aziridines*. Organic Letters, 2008. **10**(1): p. 13-16.
52. Wang, Y., et al., *Discovery of Long-Wavelength Photoactivatable Diaryltetrazoles for Bioorthogonal 1,3-Dipolar Cycloaddition Reactions*. Organic Letters, 2008. **10**(17): p. 3725-3728.
53. Lu, B., et al., *Synthesis and Fluorescent Property of Pyrazoline Derivatives*. Chinese Journal of Chemistry, 2012. **30**(6): p. 1345-1350.
54. Beyhan, N., et al., *Synthesis and anticonvulsant activity of some 2-pyrazolines derived from chalcones*. Arabian Journal of Chemistry, 2017. **10**: p. S2073-S2081.
55. Rostom, S.A.F., et al., *Synthesis of Some Pyrazolines and Pyrimidines Derived from Polymethoxy Chalcones as Anticancer and Antimicrobial Agents*. Archiv der Pharmazie, 2011. **344**(9): p. 572-587.
56. Li, J.-T., X.-H. Zhang, and Z.-P. Lin, *An improved synthesis of 1,3,5-triaryl-2-pyrazolines in acetic acid aqueous solution under ultrasound irradiation*. Vol. 3. 2007. 13.
57. Gupta, R., N. Gupta, and A. Jain, *ChemInform Abstract: Improved Synthesis of Chalcones and Pyrazolines under Ultrasonic Irradiation*. Vol. 41. 2010.
58. Hawaiz, F. and D. A. Shekh Omer, *Ultrasound-assisted Synthesis of Some New Curcumin Analogs and Their Corresponding Pyrazoline Derivatives*. Vol. 5. 2017. 30-35.
59. Rahmatzadeh, S.S., B. Karami, and S. Khodabakhshi, *A Modified and Practical Synthetic Route to Indazoles and Pyrazoles Using Tungstate Sulfuric Acid*. Journal of the Chinese Chemical Society, 2015. **62**(1): p. 17-20.
60. Daneshfar, Z. and A. Rostami, *Cellulose sulfonic acid as a green, efficient, and reusable catalyst for Nazarov cyclization of unactivated dienones and pyrazoline synthesis*. RSC Advances, 2015. **5**(127): p. 104695-104707.
61. Rajendra Kumar, A., et al., *The cyclodextrins: A review*. Vol. 2. 2013.
62. Del Valle, E.M.M., *Cyclodextrins and their uses: a review*. Process Biochemistry, 2004. **39**(9): p. 1033-1046.
63. S Patil, J., *Inclusion complex system; a novel technique to improve the solubility and bioavailability of poorly soluble drugs: A review*. Vol. 2. 2010.

64. Astray, G., et al., *A review on the use of cyclodextrins in foods*. Food Hydrocolloids, 2009. **23**(7): p. 1631-1640.
65. Kurkov, S.V. and T. Loftsson, *Cyclodextrins*. Int J Pharm, 2013. **453**(1): p. 167-80.
66. *Biotechnological applications of cyclodextrins*. Biotechnology Advances, 2002. **20**(5/6): p. 341-359.
67. Petrović, G.M., G.S. Stojanović, and N.S. Radulović, *Encapsulation of cinnamon oil in β -cyclodextrin*. Journal of Medicinal Plants Research, 2010. **4**(14): p. 1382-1390.
68. Cheirsilp, B. and J. Rakmai, *Inclusion complex formation of cyclodextrin with its guest and their applications*. Biology, Engineering and Medicine, 2017. **2**(1).
69. Jin, Z.-Y., *Cyclodextrin Chemistry*. Cyclodextrin Chemistry.
70. Tiwari, D.G., D. Tiwari, and R. Awani, *Cyclodextrins in delivery systems: Applications*. Vol. 2. 2010. 72-9.
71. de Jesus, M.B., et al., *Non-inclusion complexes between riboflavin and cyclodextrins*. J Pharm Pharmacol, 2012. **64**(6): p. 832-42.
72. Loftsson, T. and M.E. Brewster, *Cyclodextrins as functional excipients: methods to enhance complexation efficiency*. J Pharm Sci, 2012. **101**(9): p. 3019-32.
73. Kotronia, M., et al., *Encapsulation of Oregano (*Origanum onites* L.) Essential Oil in beta-Cyclodextrin (beta-CD): Synthesis and Characterization of the Inclusion Complexes*. Bioengineering (Basel), 2017. **4**(3).
74. Zigoneanu, I.G., C.E. Astete, and C.M. Sabliov, *Nanoparticles with entrapped alpha-tocopherol: synthesis, characterization, and controlled release*. Nanotechnology, 2008. **19**(10): p. 105606.
75. Hunter, R.J., *Applications of the Zeta Potential*, in *Zeta Potential in Colloid Science*, R.J. Hunter, Editor. 1981, Academic Press. p. 219-257.
76. Bernini, R., et al., *Synthesis and Evaluation of the Antioxidant Activity of Lipophilic Phenethyl Trifluoroacetate Esters by In Vitro ABTS, DPPH and in Cell-Culture DCF Assays*. Molecules, 2018. **23**(1).
77. Sirivibulkovit K, N.S., Sameenoi Y., *Paper-based DPPH Assay for Antioxidant Activity Analysis*. Analytical Sciences, 2018. **34**: p. 795-800.

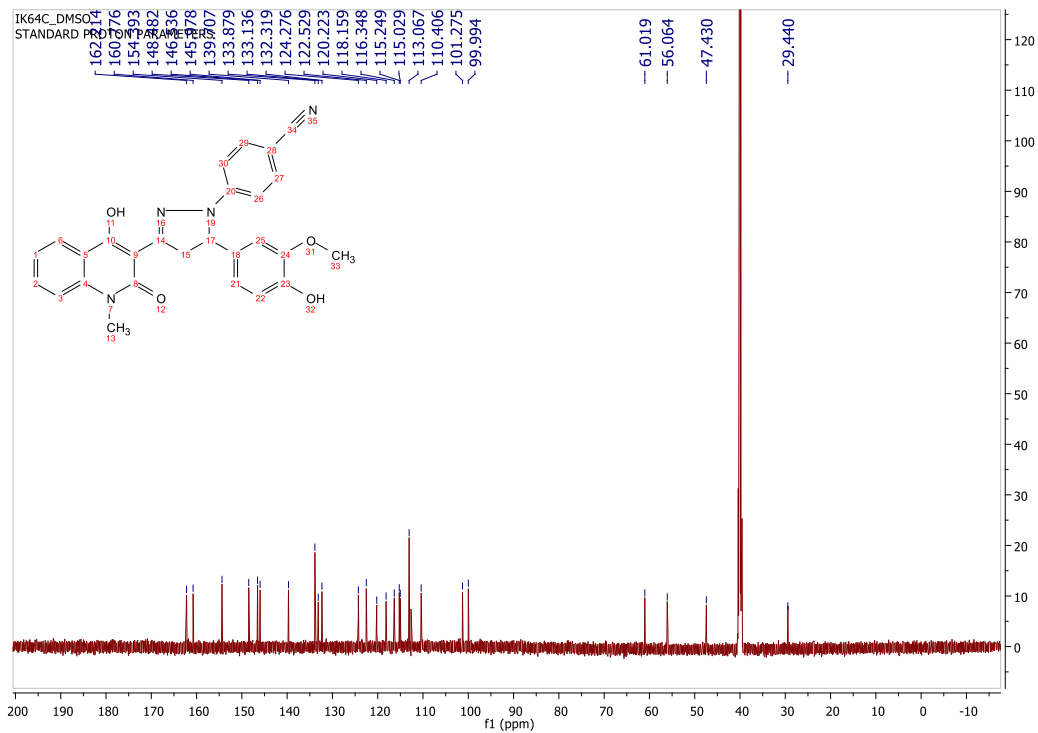
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι.



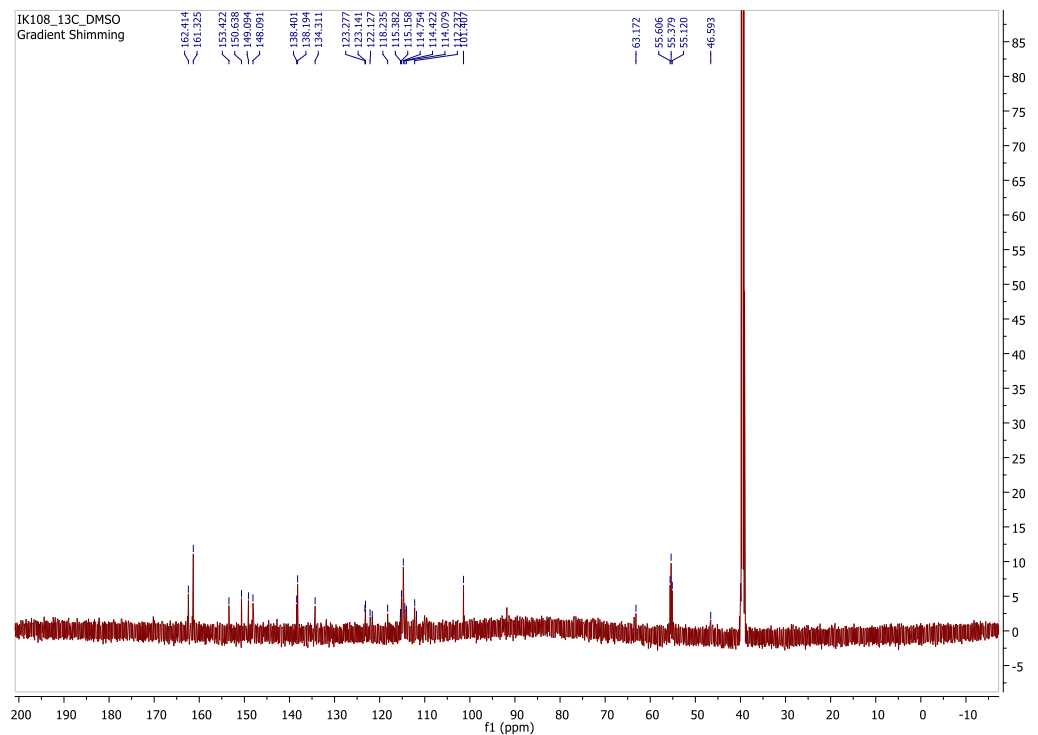
Φάσμα ^1H NMR της πυραζολίνης (6)



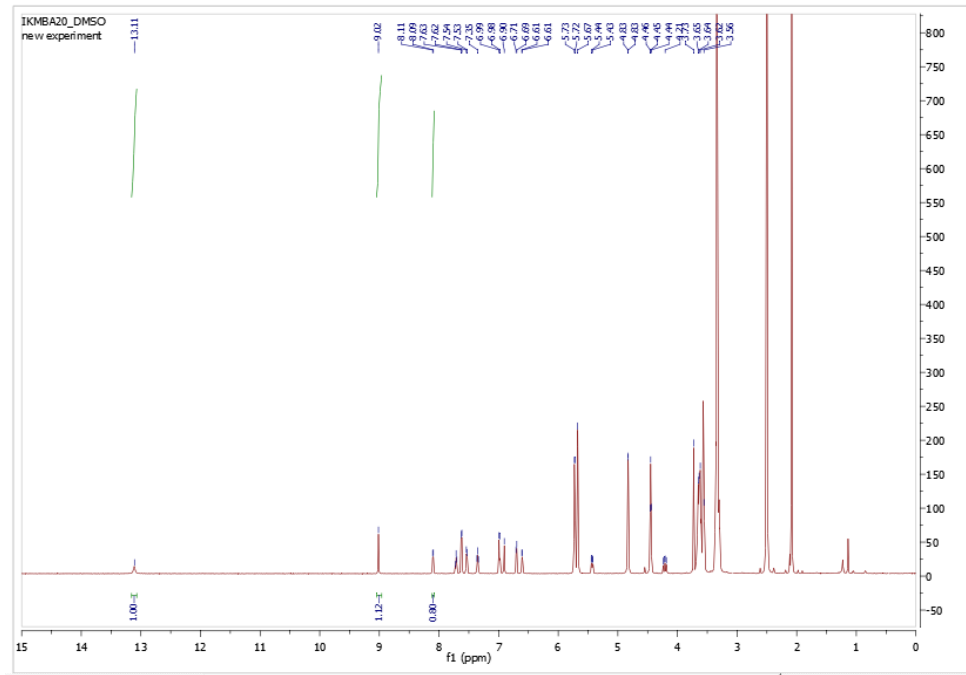
Φάσμα ^1H NMR της πυραζολίνης (7)



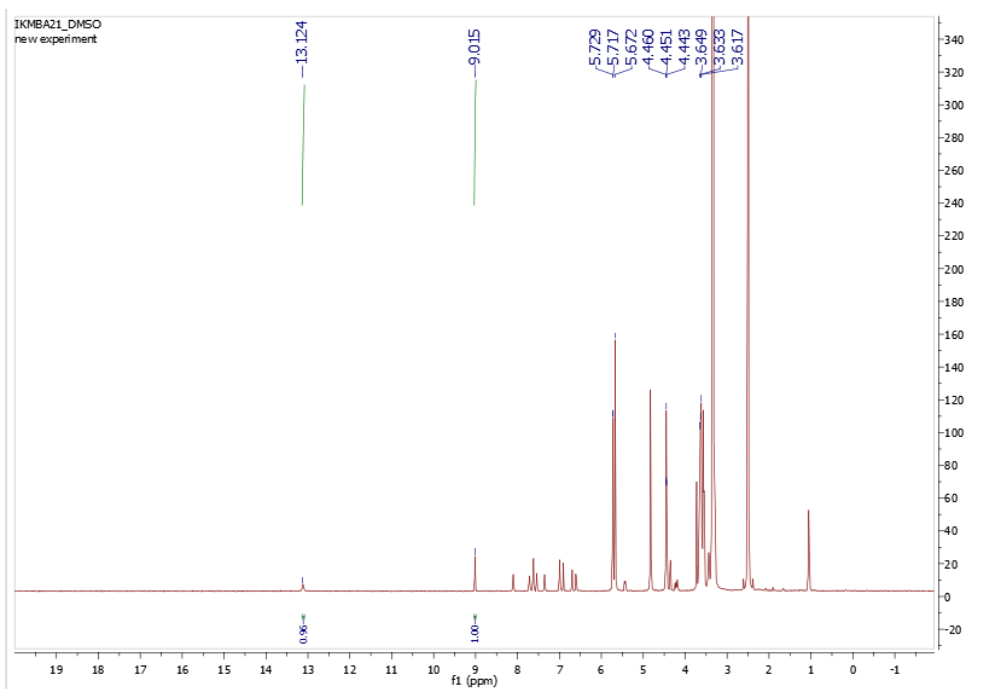
Φάσμα ^{13}C NMR της πυραζολίνης 6



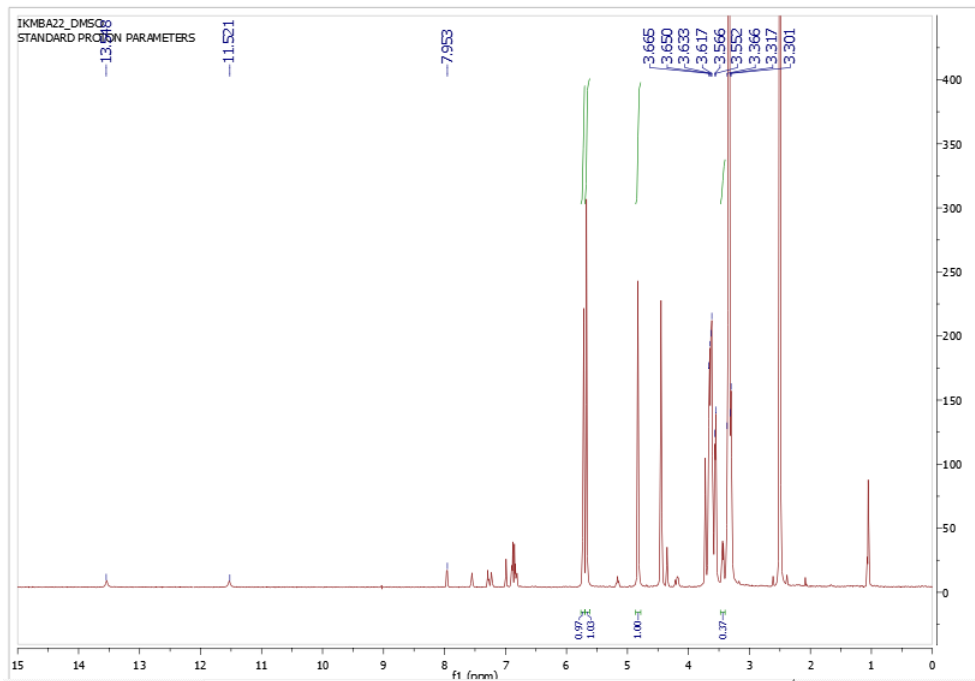
Φάσμα ^{13}C NMR της πυραζολίνης 7



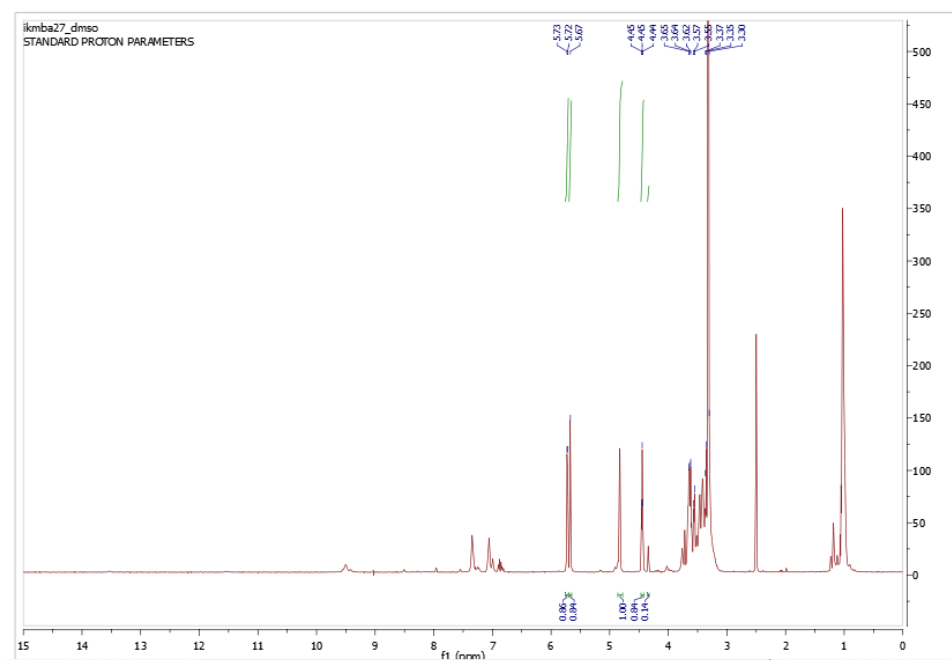
Φάσμα ^1H NMR του συμπλόκου MBA 20



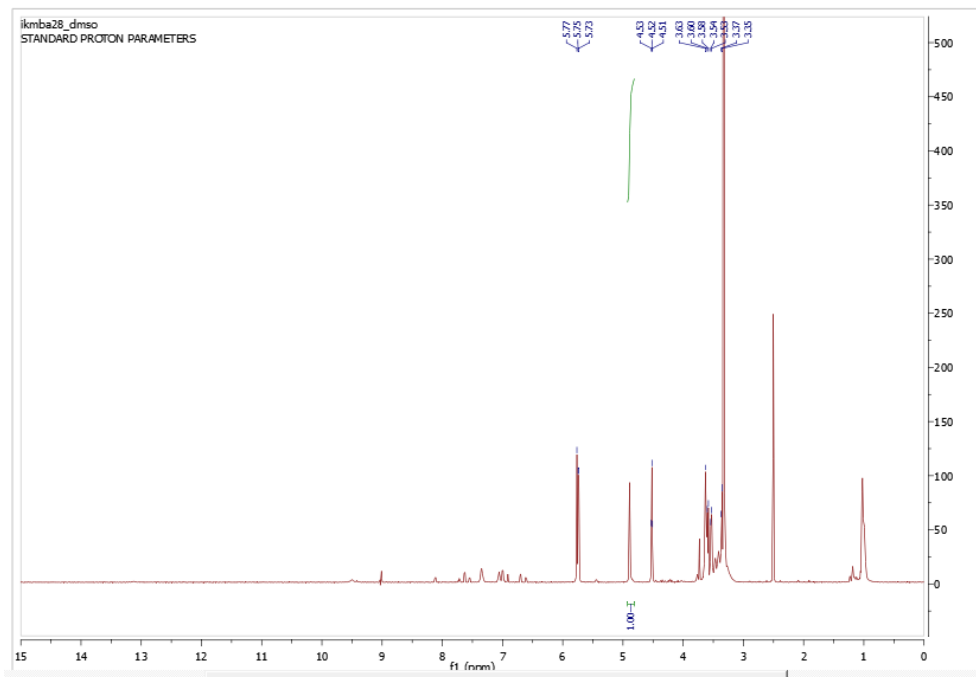
Φάσμα ^1H NMR του συμπλόκου MBA 21



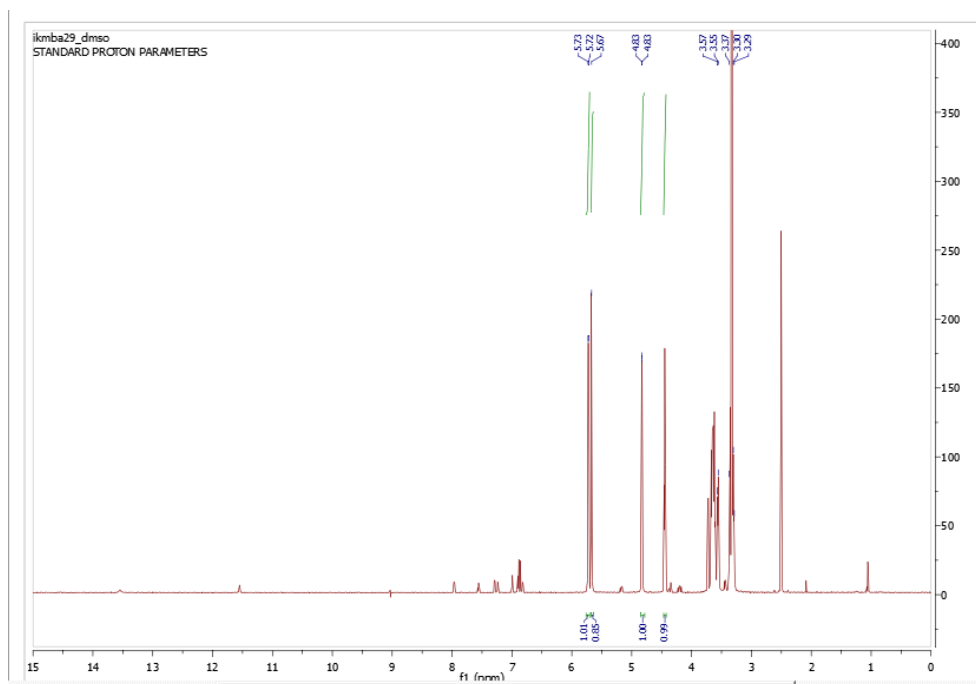
Φάσμα ^1H NMR του συμπλόκου MBA 22



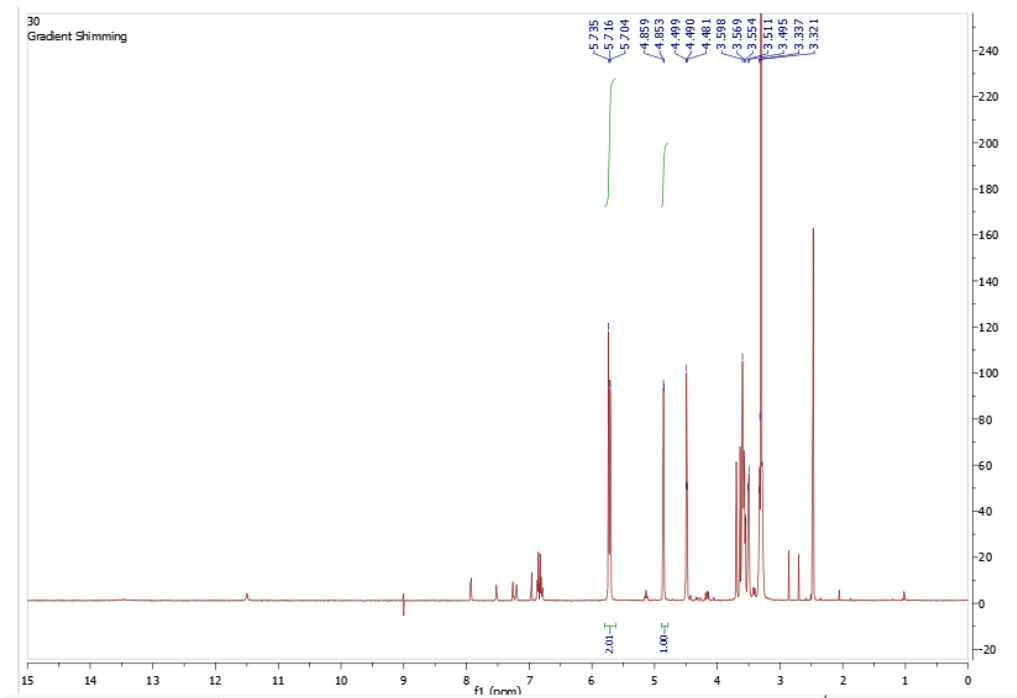
Φάσμα ^1H NMR του συμπλόκου MBA 27



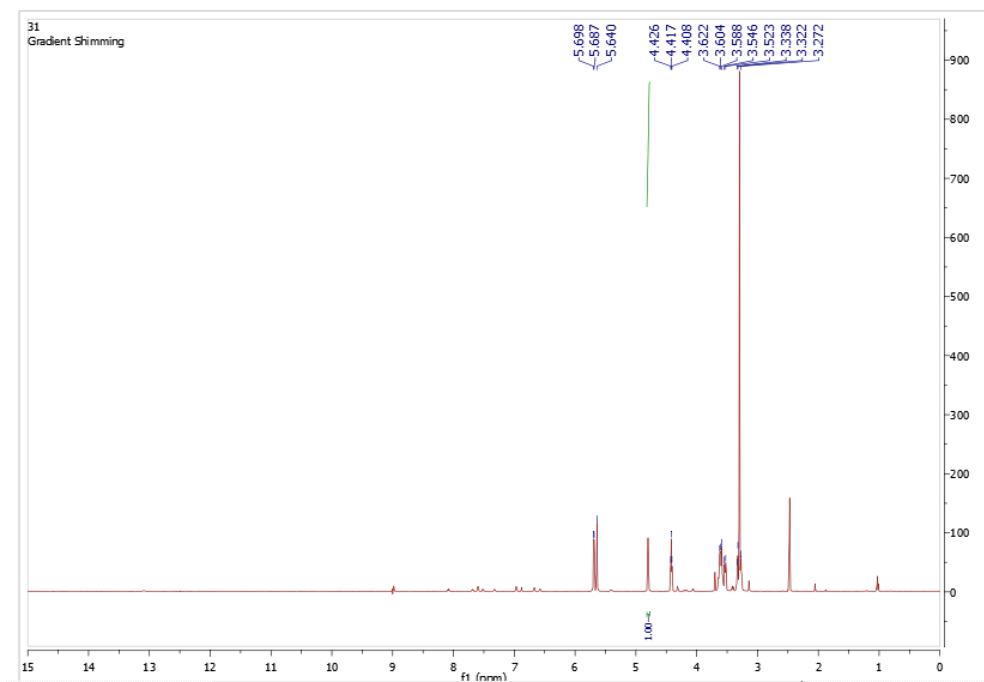
Φάσμα ^1H NMR του συμπλόκου MBA 28



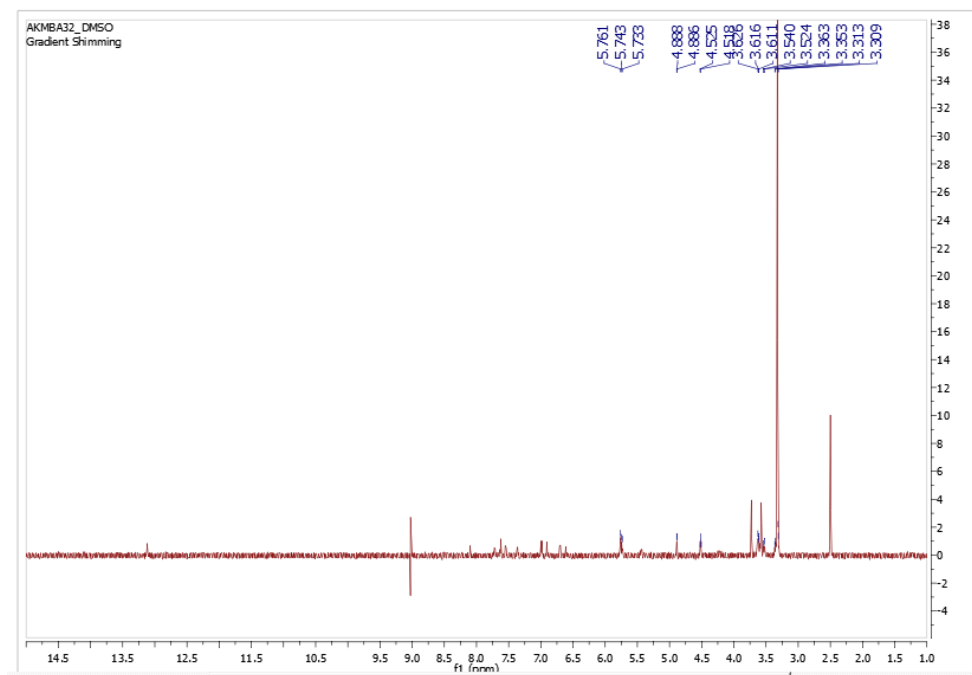
Φάσμα ^1H NMR του συμπλόκου MBA 28



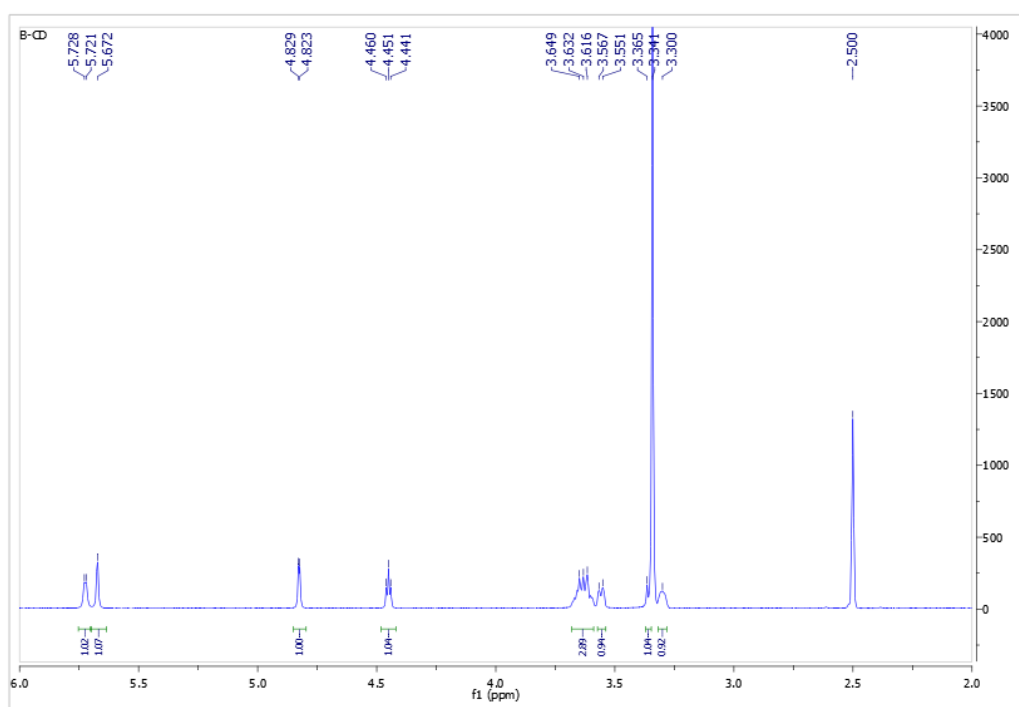
Φάσμα ^1H NMR του συμπλόκου MBA 30



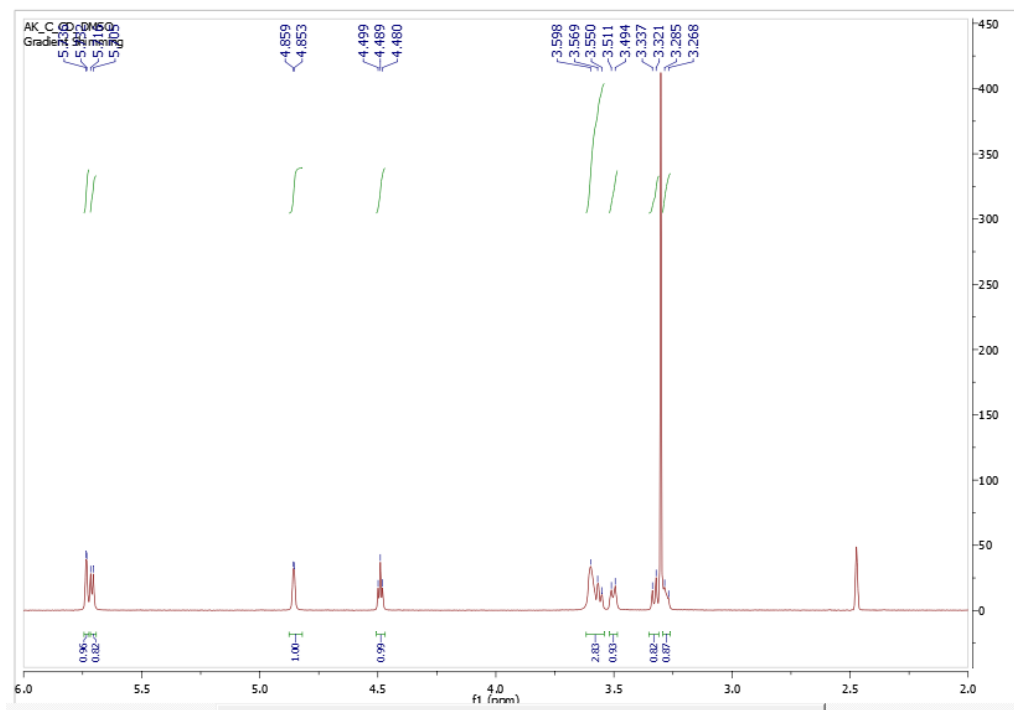
Φάσμα ^1H NMR του συμπλόκου MBA 31



Φάσμα ^1H NMR του συμπλόκου MBA 32



Φάσμα ^1H NMR της β -CD



Φάσμα ^1H NMR της β -CD