

ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

Τομέας (I) Χημικών Επιστημών



**«Χημική τροποποίηση της β-κυκλοδεξτρίνης με
φαινολικά οξέα»**

Διπλωματική εργασία

Ηλίας-Μάριος Κουφογεώργος

Επιβλέπουσα

Αναστασία Δέτση

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ε.Μ.Π.

Εργαστήριο Οργανικής Χημείας

Αθήνα 2019

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας της σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, υπό την επίβλεψη της Δρ. Αναστασίας Δέτση, Αναπληρώτριας Καθηγήτριας Ε.Μ.Π., κατά το ακαδημαϊκό έτος 2018-2019.

Για την περάτωση της συγκεκριμένης ερευνητικής εργασίας, οφείλω πρωτίστως να ευχαριστήσω ειλικρινώς την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ε.Μ.Π κα. Αναστασία Δέτση, η οποία μου παρείχε την ευκαιρία και τη δυνατότητα να εργαστώ πάνω σε ένα τόσο ενδιαφέρον θέμα. Οι πολύτιμες συμβουλές της και η εμπιστοσύνη που επέδειξε στο πρόσωπό μου αποτέλεσαν καταλυτικούς παράγοντες, για την επιτυχή ολοκλήρωση της εργασίας.

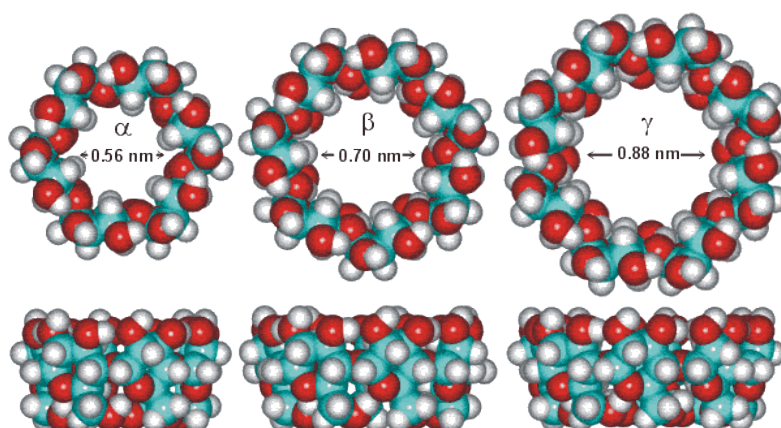
Βαθύτατες ευχαριστίες θα ήθελα να αποδώσω στην Ιωάννα Κωστοπούλου, υποψήφια διδάκτορα του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας Ε.Μ.Π. για την συνεχή στήριξη που μου προσέφερε, την επίβλεψη και την υπομονή της, καθώς επίσης και για την ουσιαστική βοήθειά της στην επίλυση οποιουδήποτε προβλήματος κι αν αντιμετώπισα κατά την διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας.

Ακόμα, οφείλω να ευχαριστήσω όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας Ε.Μ.Π. για την αρμονική συνύπαρξη, τη συνεργασία και το συνεχώς άριστο κλίμα που υπήρχε.

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

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι κυκλοδεξτρίνες αποτελούν μία οικογένεια ολιγοσακχαριτών, των οποίων τα μονομερή συνδέονται μεταξύ τους με α -1,4-γλυκοσιδικούς δεσμούς, ενώ η διάταξη των μονομερών τους και η κυκλική δομή των μορίων τους, επιτρέπουν τον εγκλεισμό ενώσεων στην κοιλότητά τους. Τα μόρια των κυκλοδεξτρινών, παρομοιάζονται με έναν κώνο που διαθέτει υδρόφιλο εξωτερικό και υδρόφοβο εσωτερικό περιβάλλον.



ΕΙΚΟΝΑ 1: ΟΙ ΤΡΕΙΣ ΒΑΣΙΚΕΣ ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΕΣ

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η σύνθεση και ο δομικός χαρακτηρισμός νέων εστέρων β -κυκλοδεξτρίνης, με φαινολικά οξέα, καθώς και η αξιολόγησή τους ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση.

Για το σκοπό αυτό διερευνήθηκε η δυνατότητα άμεσης σύνθεσης εστέρων β -κυκλοδεξτρίνης με τρία διαφορετικά φαινολικά οξέα (βενζοϊκό οξύ, παραμεθόξυ-κινναμικό οξύ, φερούλικό οξύ). Οι μέθοδοι εστεροποίησης που εφαρμόστηκαν ήταν η αντίδραση εστεροποίησης κατά Fischer-Spreier, η εστεροποίηση Steglich και η αλκοόλυση χλωριδίων καρβοξυλικών οξέων. Πραγματοποιήθηκε, ακόμη, εκτενής μελέτη στις αναλογίες της κυκλοδεξτρίνης και του εκάστοτε φαινολικού οξέος, εντοπίζοντας σημαντικές διαφοροποιήσεις στα τελικά προϊόντα, σχετικές κυρίως με τον αριθμό των υποκαταστάσεων του μακρομορίου.

Τα νέα μόρια χαρακτηρίστηκαν δομικά μέσω, φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού πρωτονίου (^1H NMR), υπερύθρου (FT-IR) και μάζας (MS), όπου και διαπιστώθηκε η επιτυχής σύνθεση των εστέρων.

Τέλος, τα νέα παράγωγα αξιολογήθηκαν ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση μέσω της ικανότητάς τους να δεσμεύουν τη σταθερή ελεύθερη ρίζα DPPH, διαπιστώνοντας ότι, μεταξύ των νέων εστέρων, αυτοί του φερουλικού οξέος, διαθέτουν την καλύτερη δράση.

Επιστημονική περιοχή: Οργανική Χημεία

Λέξεις-Κλειδιά: β-κυκλοδεξτρίνη, φαινολικά οξέα, εστέρες, τροποποίηση, αντιοξειδωτική δράση.

ABSTRACT

Cyclodextrins form a family of oligosaccharides whose monomers are linked by α -1,4-glucoacidic bonds, while the arrangement of their monomers and the circular structure of their molecules allow the inclusion of compounds in their cavity. The cyclodextrin molecules resemble a cone with a hydrophilic outer and hydrophobic inner environment.

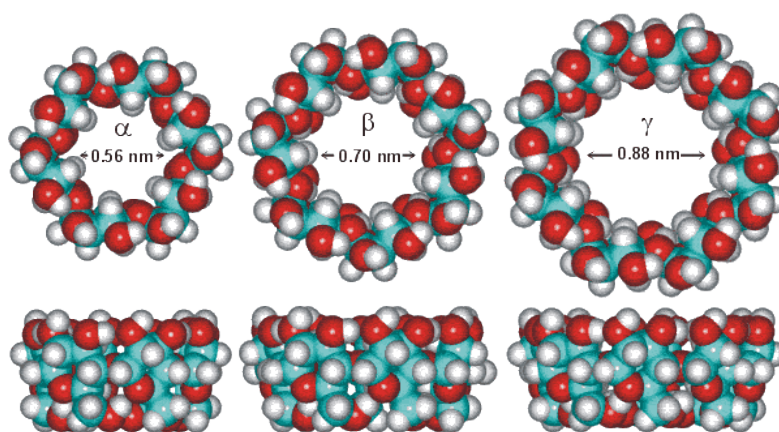


FIGURE 1: THE THREE BASIC CYCLODEXTRIN MOLECULES

The purpose of the present work is to synthesize and characterize novel β -cyclodextrin esters with phenolic acids and to evaluate their antioxidant activity.

To this end, the possibility of direct synthesis of β -cyclodextrin esters with three different phenolic acids (benzoic acid, 4-methoxy-cinnamic acid, ferulic acid) was investigated. The esterification methods applied were the Fischer-Speier esterification, the Steglich esterification and the alcoholysis of acyl chlorides. Extensive studies have also been carried out on the proportions of cyclodextrin and phenolic acid, identifying significant differences in the final products, mainly related to the number of macromolecular substitutions.

The new molecules were characterized structurally by proton nuclear magnetic resonance (^1H NMR), infrared (FT-IR) and mass (MS) spectroscopy, where the successful synthesis of esters was found.

Finally, the new derivatives were evaluated for their antioxidant activity through their ability to bind the DPPH stable free radical, finding that among the new esters, those of ferulic acid have the best effect.

Scientific area: Organic Chemistry

Keywords: β -cyclodextrin, phenolic acids, esters, modification, antioxidant activity.

Περιεχόμενα

| | |
|--|----|
| ΠΡΟΛΟΓΟΣ..... | 2 |
| ΠΕΡΙΛΗΨΗ | 3 |
| ABSTRACT | 5 |
| ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ..... | 9 |
| 1. ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΕΣ | 9 |
| 1.1 Εισαγωγή | 9 |
| 1.2 Προέλευση κυκλοδεξτρινών | 9 |
| 1.3 Δομή κυκλοδεξτρινών | 10 |
| 1.4 Παραγωγή κυκλοδεξτρινών | 12 |
| 1.5 Ιδιότητες κυκλοδεξτρινών | 12 |
| 1.6 Εφαρμογές κυκλοδεξτρινών..... | 14 |
| 1.7 Τροποποίηση κυκλοδεξτρινών..... | 14 |
| 2. ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΟΞΕΑ | 17 |
| 2.1 Εισαγωγή | 17 |
| 2.2 Φαινολικές ενώσεις..... | 17 |
| 2.3 Δομή φαινολικών οξέων | 18 |
| 3. ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΣΤΕΡΟΠΟΙΗΣΗΣ | 22 |
| 3.1 Γενικά..... | 22 |
| 3.2 Εστεροποίηση Fischer-Spreier | 23 |
| 3.3 Εστεροποίηση Steglich | 24 |
| 3.4 Αλκοόλυση χλωριδίων καρβοξυλικών οξέων..... | 26 |
| 4. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ | 28 |
| 4.1 Ελεύθερες ρίζες | 28 |
| 4.2 Αντιοξειδωτικές ενώσεις | 29 |
| 4.3 Εκτίμηση αντιοξειδωτικής δράσης..... | 31 |
| ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ | 34 |
| 5.1 Όργανα, αντιδραστήρια και συσκευές | 34 |
| 5.2 Γενική μέθοδος σύνθεσης εστέρων β-κυκλοδεξτρίνης μέσω εστεροποίησης Fischer-Spreier..... | 36 |
| 5.3 Σύνθεση εστέρων β-κυκλοδεξτρίνης μέσω εστεροποίησης Steglich..... | 45 |
| 5.4 Σύνθεση με αλκοόλυση χλωριδίου οξέος | 46 |
| ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΕΣΤΕΡΩΝ | 47 |
| 6.1 Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)..... | 47 |

| | |
|--|----|
| 6.1.1 Δομή β-κυκλοδεξτρίνης..... | 49 |
| 6.1.2 Δομή εστέρων βενζοϊκού οξέος | 50 |
| 6.1.3 Δομή εστέρων παρα-μεθοξυ-κινναμικού οξέος | 51 |
| 6.1.4 Δομή εστέρων φερουλικού οξέος..... | 52 |
| 6.2 Υπέρυθρη φασματομετρία (FT-IR) | 53 |
| 6.2.1 Μελέτη δομής β-κυκλοδεξτρίνης..... | 53 |
| 6.2.2 Μελέτη δομής εστέρων β-κυκλοδεξτρίνης/φαινολικών οξέων | 54 |
| 6.3 Φασματομετρία μάζας (MS) | 56 |
| 7. Καθαρισμός τελικών προϊόντων | 59 |
| 7.1 Κατεργασία με τολουόλιο και νερό | 59 |
| 7.2 Καθαρισμός με χρωματογραφική στήλη | 60 |
| 7.3 Καθαρισμός με ακετόνη | 61 |
| ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ..... | 63 |
| 8.1 Αριθμός υποκαταστάσεων στους νέους εστέρες | 63 |
| 8.2 Διαλυτότητα | 64 |
| 8.3 Αντιοξειδωτική δράση..... | 64 |
| ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ | 66 |
| ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ..... | 67 |
| ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ | 68 |
| ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ..... | 73 |
| ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ..... | 75 |
| ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΑΣΜΑΤΩΝ..... | 76 |

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΕΣ

1.1 Εισαγωγή

Οι κυκλοδεξτρίνες είναι κυκλικοί ολιγοσακχαρίτες, οι οποίοι τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιούνται ευρύτατα ως φαρμακευτικά έκδοχα. Αν και η ανακάλυψή τους τοποθετείται, χρονικά, πριν από περισσότερα από 100 χρόνια, εντούτοις μόλις πρόσφατα έγιναν διαθέσιμες, λόγω της αυξημένης καθαρότητας στην παραγωγή τους. Η δημοτικότητά τους, από φαρμακευτική άποψη έγκειται στο γεγονός, ότι τα μόρια αυτά, έχουν την ικανότητα να αλληλεπιδρούν με τα λιγότερο υδατοδιαλυτά φάρμακα, αυξάνοντας την υδατοδιαλυτότητά τους. Οι κυκλοδεξτρίνες έχουν ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών σε διάφορους τομείς της φαρμακευτικής βιομηχανίας, λόγω της ικανότητάς τους να σχηματίζουν σύμπλοκα αλλά και άλλων ευπροσάρμοστων χαρακτηριστικών τους.^[4]

1.2 Προέλευση κυκλοδεξτρινών

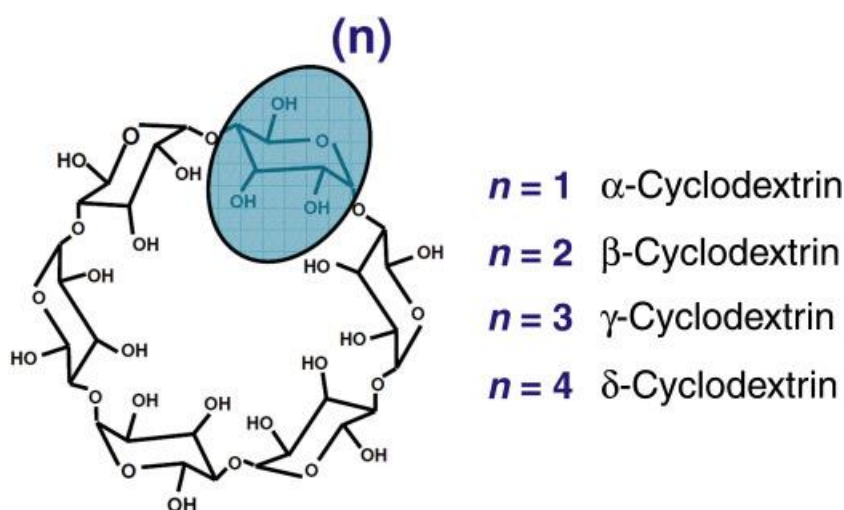
Η εποχή των κυκλοδεξτρινών (cyclodextrins-CD) άρχισε στα τέλη του 19ου αιώνα, όταν παρατηρήθηκαν ορισμένοι κρύσταλλοι, από τον Γάλλο επιστήμονα Villiers, σε απόβλητα αλκοόλης. Τα απόβλητα, αυτά, προέκυψαν κατά την παραγωγή δεξτρινών από άμυλο σε μια βακτηριακή καλλιέργεια *Bacillus amylobacter* (που δεν ήταν απόλυτα καθαρή, αλλά είχε πιθανότατα μολυνθεί από *Bacillus macerans*). Ο Villiers προσδιόρισε τη χημική σύνθεση και ορισμένες χημικές ιδιότητες των άγνωστων κρυστάλλων και ονόμασε τα προϊόντά του αυτά «κυτταρίνες», λόγω της αυξημένης τους αντοχής στην όξινη υδρόλυση.^{[1],[2]}

Το 1903, ο Schardinger κατάφερε να απομονώσει δύο κρυσταλλικά προϊόντα, τις δεξτρίνες Α και Β, χωρίς να καταφέρει, ωστόσο, να διατηρήσει το βακτηριακό στέλεχος που παρήγαγε τα προϊόντα αυτά από το άμυλο. Το 1904, απομόνωσε έναν νέο οργανισμό ικανό να παράγει ακετόνη και αιθυλική αλκοόλη από φυτικά υλικά που περιέχουν ζάχαρη και άμυλο. Το 1911, διατύπωσε ότι το συγκεκριμένο στέλεχος, που ονομάζεται *Bacillus macerans*, παράγει επίσης μεγάλες ποσότητες κρυσταλλικών δεξτρινών (25-30%) από άμυλο (μαζί με μια επιπλέον ποσότητα άμορφων δεξτρινών). Το κρυσταλλικό αυτό προϊόν το χώρισε σε «κρυσταλλικές δεξτρίνες α» και «κρυσταλλικές δεξτρίνες β». Ακολούθησε, το 1935, η απομόνωση της γ-κυκλοδεξτρίνης. Οι δομές των ενώσεων αυτών προσδιορίστηκαν ακριβώς το 1942 (α και β

κυκλοδεξτρίνες) και το 1948 (γ-κυκλοδεξτρίνες) με κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ. Το 1961 ανακαλύφθηκε και η ύπαρξη φυσικών δ, ζ, ξ, η κυκλοδεξτρινών.^[3]

1.3 Δομή κυκλοδεξτρινών

Οι κυκλοδεξτρίνες αποτελούν μία οικογένεια κυκλικών ολιγοσακχαριτών, των οποίων τα μονομερή (α-D-γλυκοπυρανόζη) συνδέονται μεταξύ τους με α-1,4-γλυκοσιδικούς δεσμούς. Είναι επίσης γνωστές ως κυκλοαμυλάσες, κυκλομαλτόζες ή σαν δεξτρίνες του Schardinger. Στις φυσικές κυκλοδεξτρίνες κατατάσσονται οι α, β, γ, των οποίων τα μόρια αποτελούνται από 6, 7, και 8 μονάδες γλυκόζης αντίστοιχα, καθώς επίσης και οι δ, ζ, ξ, η που αποτελούνται από 9-12 μόρια γλυκόζης.^[3]

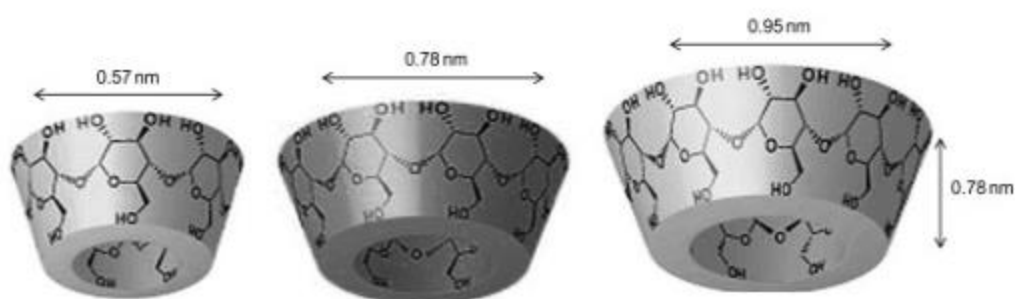


ΕΙΚΟΝΑ 2:ΔΟΜΗ ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΩΝ

Η ανακάλυψη της κυκλικής δομής των μορίων των κυκλοδεξτρινών οδήγησε στη διενέργεια ερευνών σχετικά με την ικανότητά τους να εγκλείουν ενώσεις στην κοιλότητά τους. Οι μονάδες γλυκοπυρανοζών, οι οποίες ενώνονται μεταξύ τους με α-1,4-γλυκοσιδικούς δεσμούς προσδίδουν στα μόρια αυτά σημαντικά πλεονεκτήματα. Η διάταξη των μονομερών στα μόρια κυκλοδεξτρίνης μπορεί να προσομοιωθεί μ' έναν δακτύλιο ή καλύτερα με έναν κώνο του οποίου το εξωτερικό είναι υδρόφιλο, ενώ στο εσωτερικό του οι υδρόφοβοι άνθρακες των μονομερών δημιουργούν ένα υδροφοβικό περιβάλλον. Η κοιλότητα που σχηματίζεται είναι επενδυμένη με τα άτομα υδρογόνου και τις γέφυρες γλυκοσιδικού οξυγόνου, αντίστοιχα. Τα μη δεσμικά ζεύγη ηλεκτρονίων, των

γεφυρών γλυκοσιδικού οξυγόνου, έχουν κατεύθυνση προς το εσωτερικό της κοιλότητας, δημιουργώντας, έτσι, μια υψηλή πυκνότητα ηλεκτρονίων και δίδοντας της, με αυτόν τον τρόπο, ορισμένα χαρακτηριστικά βάσης κατά Lewis.

Η δομή αυτή, προσδίδει στις συγκεκριμένες ενώσεις την ικανότητα να δημιουργούν σύμπλοκα εγκλεισμού με τα φιλοξενούμενα μόρια στο εσωτερικό της κοιλότητας τους μέσω αλληλεπιδράσεων «ξενιστή»- «φιλοξενούμενου μορίου» (“guest-host” interactions). Λόγω αυτής της μοναδικής ιδιότητας, οι κυκλοδεξτρίνες μπορούν να σχηματίσουν σύμπλοκα με ένα ευρύ φάσμα στερεών, υγρών και αερίων ενώσεων και για το λόγο αυτό χρησιμοποιούνται στον τομέα της ιατρικής, των τροφίμων, των φαρμακευτικών προϊόντων και των καλλυντικών. Η εικόνα που ακολουθεί παρουσιάζει τις τρισδιάστατες δομές των τριών κύριων κυκλοδεξτρινών. [1],[2],[5]



ΕΙΚΟΝΑ 3: ΤΡΙΣΔΙΑΣΤΑΤΗ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΩΝ

Στον παρακάτω πίνακα παραθέτονται οι κύριες διαφορές των τριών κυκλοδεξτρινών, οι οποίες αφορούν τη διάμετρο της κοιλότητας, το μοριακό βάρος και τη διαλυτότητά τους.

| Κυκλοδεξτρίνη | Διάμετρος Κοιλότητας (Å) | 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 |
| δ-CD | 10.3-11.2 | 1459 | 8.19 |

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΜΕΓΕΘΗ ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΩΝ

1.4 Παραγωγή κυκλοδεξτρινών

Οι κυκλοδεξτρίνες (CDs) παράγονται ως αποτέλεσμα της αντίδρασης ενδομοριακής τρανσγλυκοζυλίωσης (κυκλοποίησης), κατά την αποικοδόμηση του αμύλου, από το ένζυμο CGTase. Η CGTase είναι ένα ένζυμο με πολλαπλές λειτουργίες, το οποίο καταλύει τέσσερις διαφορετικές αντιδράσεις: α) αντιδράσεις κυκλοποίησης, β) αντιδράσεις δυσαναλογίας, γ) αντιδράσεις σύζευξης και δ) αντιδράσεις υδρόλυσης.^{[5],[6]}

Η παραγωγή κυκλοδεξτρίνης εξαρτάται κυρίως από τη διαδικασία και τις συνθήκες επώασης που επιλέγονται, ενώ η ληφθείσες ποσότητες των α-, β- και γ-CD εξαρτώνται, σε μεγάλο βαθμό, από τη φύση του ενζύμου που χρησιμοποιείται. Συγκεκριμένα, κάθε CGTase έχει τη δική της αναλογία σύνθεσης για τις τρεις κυκλοδεξτρίνες. Για την απομόνωση των τριών τύπων κυκλοδεξτρίνης χρησιμοποιείται η διαφορετική υδατοδιαλυτότητα των μορίων. Η β-CD, η υδατοδιαλυτότητα της οποίας όπως αναφέρθηκε και παραπάνω είναι πολύ μικρή, μπορεί να ανακτηθεί εύκολα με κρυστάλλωση. Ο διαχωρισμός, των πολύ πιο ευδιάλυτων α- και γ-CD, απαιτεί συνήθως πιο ακριβές και χρονοβόρες χρωματογραφικές τεχνικές. Η ευκολία στην παραγωγή της και η χαμηλή της τιμή καθιστούν την β-CD την πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη από τις τρεις, παραβλέποντας τα μειονεκτήματά της, με κυριότερο όλων τη χαμηλή της διαλυτότητα.^{[1],[4]}

Πρώτη ύλη για τη σύνθεση κυκλοδεξτρίνης αποτελούν διάφορες πηγές αμύλου όπως η πατάτα, το καλαμπόκι, το σιτάρι, το ρύζι και το ταπιόκα. Το κυριότερο με τη χρήση του αμύλου, ως ακατέργαστο προϊόν, είναι το υψηλό ιξώδες του συστήματος αντίδρασης που εμποδίζει την ανάδευση και την επαφή μεταξύ του ενζύμου και του υποστρώματος. Ως εκ τούτου, απαιτείται μία προκαταρκτική επεξεργασία του αμύλου με φυσικές, χημικές και ενζυμικές μεθόδους.^{[7],[8],[9],[10]}

1.5 Ιδιότητες κυκλοδεξτρινών

1.5.1 Διαλυτότητα

Η διαφορά στον αριθμό των μονάδων γλυκόζης, από τις οποίες αποτελείται κάθε μία από τις τρεις κύριες κυκλοδεξτρίνες, ο προσανατολισμός και η ισχύς των δεσμών υδρογόνου που σχηματίζονται ανάμεσα στις υδροξυλομάδες των ανθράκων 2 και 3 του κάθε μορίου γλυκόζης, καθορίζουν τη διαλυτότητα της ένωσης στο νερό. Στη β-CD οι συγκεκριμένες υδροξυλομάδες προσανατολίζονται με τέτοιο τρόπο, ώστε να αλληλεπιδρούν ισχυρά μεταξύ τους και πολύ λιγότερο με το νερό. Αντίθετα, στην α-CD και στη γ-CD τα συγκεκριμένα υδροξύλια

αλληλεπιδρούν περισσότερο με το νερό, από ότι μεταξύ τους. Το γεγονός αυτό αποτελεί και την εξήγηση της αυξημένης διαλυτότητάς τους.^{[11],[12],[13]}

1.5.2 Σταθερότητα σε οξέα και βάσεις

Οι κυκλοδεξτρίνες υδρολύονται ελάχιστα έως καθόλου παρουσία ασθενών οξέων, όπως τα οργανικά οξέα. Αντίθετα ισχυρά οξέα, όπως το υδροχλωρικό και το θειικό οξύ, υδρολύουν τις κυκλοδεξτρίνες και το αποτέλεσμα της διεργασίας αυτής είναι ένα μίγμα γραμμικών ολιγοσακχαριτών. Αύξηση της θερμοκρασίας ή της συγκέντρωσης του οξέος εντείνουν τη αποδόμηση των μορίων της κυκλοδεξτρίνης. Οι βάσεις, τέλος, δεν επηρεάζουν τη δομή των κυκλοδεξτρινών, ακόμα και σε ψηλές θερμοκρασίες.^[11]

1.5.3 Βιοαποικοδόμηση κυκλοδεξτρινών

Η α- και η β-CD είναι πιο ανθεκτικές στην υδρόλυση από την α-αμυλάση, σε σχέση με το άμυλο. Ένζυμα όπως η β-αμυλάση και οι γλυκοαμυλάσες δεν υδρολύουν τις κυκλοδεξτρίνες. Η γ-CD υδρολύεται σχετικά εύκολα από την α-αμυλάση. Οι κυκλοδεξτρίνες είναι βιοαποικοδομήσιμες, καθώς πολλοί μικροοργανισμοί που απαντώνται στο έδαφος μπορούν να τις διασπάσουν.^[11]

1.5.4 Τοξικότητα κυκλοδεξτρινών

Μελέτες έχουν δείξει ότι η λήψη κυκλοδεξτρίνης, δια της στοματικής οδού, δεν είναι τοξική. Συγκεκριμένα, μετά από πειράματα που διεξήχθησαν σε ποντίκια, αρουραίους και σκύλους, των οποίων η διατροφή περιείχε ποσότητες β-CD, δεν υπήρξε κανένα τοξικολογικό ή παθολογικό εύρημα στο αίμα και στα όργανα των ζώων, σχετιζόμενο με την κυκλοδεξτρίνη. Δεν παρατηρήθηκαν, επίσης, ανεπιθύμητες ενέργειες στην γονιμότητα και στην αναπαραγωγική ικανότητα των ζώων, όπως επίσης και κατά την εισπνοή της ένωσης ή κατά την επαφή της με το δέρμα και τα μάτια.^[11]

1.6 Εφαρμογές κυκλοδεξτρινών

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω οι κυκλοδεξτρίνες χρησιμοποιούνται για τον εγκλεισμό ενώσεων και το σχηματισμό συμπλόκων, με στόχο τη βελτίωση των φυσικών και χημικών ιδιοτήτων των φιλοξενούμενων μορίων. Ορισμένα θετικά αποτελέσματα που μπορεί να επιφέρει ο εγκλεισμός αυτός είναι τα ακόλουθα.

- Σταθεροποίηση, ευαίσθητων στο φως ή στο οξυγόνο, ουσιών.
- Τροποποίηση της χημικής δραστηριότητας των φιλοξενούμενων μορίων.
- Σταθεροποίηση πολύ πτητικών ουσιών.
- Βελτίωση της διαλυτότητας των ουσιών.
- Μετατροπή υγρών ουσιών σε σκόνες.
- Προστασία από την αποδόμηση των ουσιών από μικροοργανισμούς.
- Κάλυψη άσχημης οσμής και γεύσης.
- Κάλυψη χρωστικών ουσιών ή χρώματος των ουσιών.
- Ελεγχόμενη αποδέσμευση φιλοξενούμενου μορίου.

Τα χαρακτηριστικά, αυτά, των κυκλοδεξτρινών ή των παραγώγων τους τα καθιστούν κατάλληλα για εφαρμογές στην αναλυτική χημεία, στη γεωργία, στον φαρμακευτικό τομέα καθώς και σε είδη τροφίμων και καλλωπισμού.^{[3],[14]}

1.7 Τροποποίηση κυκλοδεξτρινών

Η χημική ή ενζυματική τροποποίηση των κυκλοδεξτρινών ενισχύει τις ιδιότητες τους επεκτείνοντας της χρησιμότητάς τους σε διάφορες εφαρμογές. Η διαλυτότητα της β-CD και των συμπλοκών της αποτελεί τροχοπέδη σε πολλές εφαρμογές. Με την τροποποίηση η διαλυτότητα αυτή μπορεί να αυξηθεί ή να μειωθεί, ώστε να αποκτήσει την επιθυμητή τιμή. Η τροποποίηση των κυκλοδεξτρινών, είτε με ομάδες γλυκοζυλίου, μαλτοσυλίου, υδροξυπροπυλίου, υδροξυαιθυλίου, μεθυλίου, είτε με θεικές ομάδες αυξάνει την υδατοδιαλυτότητα τους. Αντίθετα, τροποποιημένες κυκλοδεξτρίνες με χαμηλή υδατοδιαλυτότητα ή τελείως αδιάλυτες στο νερό μπορούν να συντεθούν με την προσθήκη αλειφατικών ομάδων ή μικρών μη πολικών ομάδων στο μόριο της κυκλοδεξτρίνης. Οι τροποποιημένες, αυτές, κυκλοδεξτρίνες έχουν τις ίδιες λειτουργικές ιδιότητες με τις μη τροποποιημένες, όπως η σταθεροποίηση των φιλοξενούμενων μορίων κ.λ.π.^[11]

Οι φυσικοχημικές ιδιότητες των κυκλοδεξτρινών, συμπεριλαμβανομένης και της ικανότητας συμπλοκοποίησης, μπορούν να επηρεαστούν σημαντικά από τον τύπο, τον αριθμό και τη θέση των υποκαταστατών στο αρχικό μόριο της κυκλοδεξτρίνης. Ο "βαθμός υποκατάστασης", ωστόσο, δεν χαρακτηρίζει

μονομερώς ένα παράγωγο της β-CD όπως το HP-β-CD (υδροξυ-προπυλο-β-κυκλοδεξτρίνη). Όταν παράγονται υπό διαφορετικές συνθήκες, οι φυσικοχημικές ιδιότητες των δειγμάτων HP-β-CD με τον ίδιο βαθμό υποκατάστασης μπορεί να μην είναι πανομοιότυπες λόγω των διαφορετικών θέσεων των υδροξυπροπυλικών ομάδων στο αρχικό μόριο της κυκλοδεξτρίνης.^{[15],[16]}

Ορισμένες από τις πιο σημαντικές τροποποιημένες β-κυκλοδεξτρίνες παραθέτονται στον πίνακα που ακολουθεί.

| Τροποποιημένη β-κυκλοδεξτρίνη | Συντομογραφία |
|-------------------------------|----------------------|
| Υδροξυαιθυλο-β-CD | HE-β-CD |
| Υδροξυπροπυλο-β-CD | HP-β-CD |
| Μέθυλο-β-CD | M-β-CD |
| Διμέθυλο-β-CD | DM-β-CD |
| Διαίθυλο-β-CD | DE-β-CD |
| Καρβόξυμεθυλο-β-CD | CM-β-CD |
| Θειοβουτυλαίθερο-β-CD | SBE-β-CD |
| Γλυκόζυλο-β-CD | G ₁ -β-CD |
| Μαλτόζυλο-β-CD | G ₂ -β-CD |

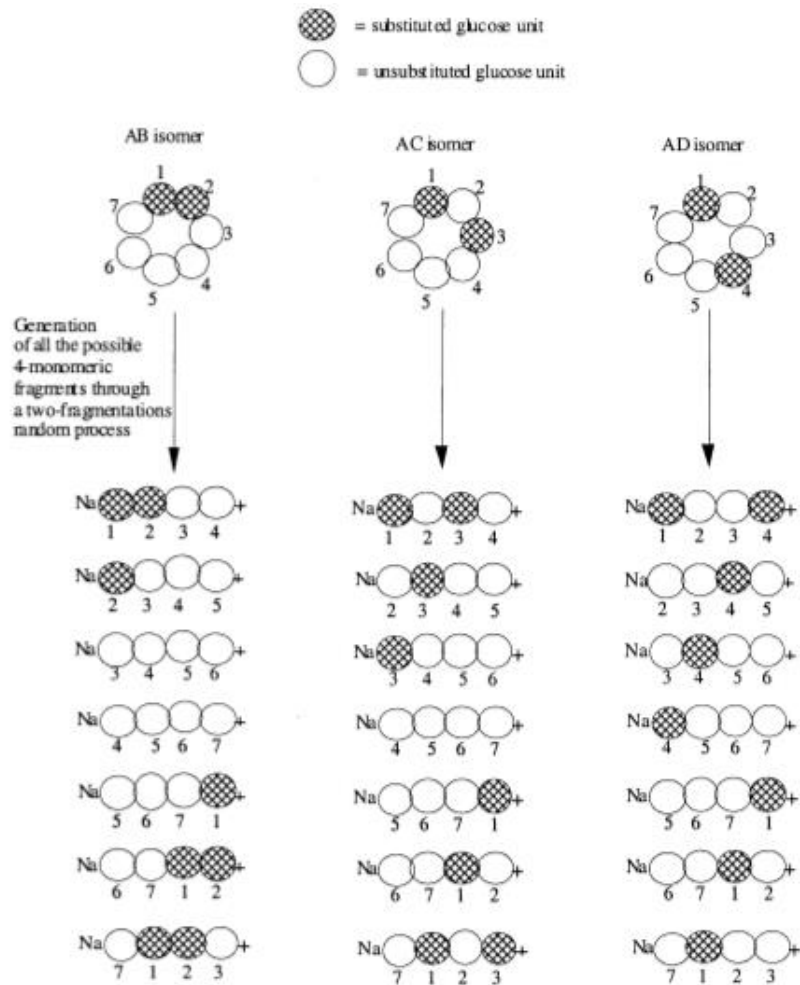
ΠΙΝΑΚΑΣ 2: ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΕΣ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΕΣ

Βαθμός υποκατάστασης: ο μέσος αριθμός υποκατεστημένων υδροξυλίων ανά μονάδα γλυκόζης του δακτυλίου της κυκλοδεξτρίνης. Δεδομένου ότι ο αριθμός των δραστικών υδροξυλίων ανά γραμμομόριο γλυκόζης είναι 3, οι μέγιστοι αριθμοί υποκαταστάσεων που είναι δυνατοί για α-, β- και γ-CD είναι 18, 21 και 24, αντίστοιχα.^[15]

Στη συνθετική πορεία, για το σχηματισμό των νέων τροποποιημένων κυκλοδεξτρινών, συνήθως εφαρμόζεται η ακόλουθη διαδικασία: εισαγωγή προστατευτικών ομάδων στις απαραίτητες ομάδες υδροξυλίου, ενεργοποίηση των υπόλοιπων ομάδων υδροξυλίου και τέλος απομάκρυνση των προστατευτικών ομάδων μετά τον σχηματισμό της επιθυμητής ένωσης.^[18]

Ο αριθμός και η θέση των υποκαταστάσεων στο μόριο της κυκλοδεξτρίνης, όπως αναφέρθηκε, εξαρτάται από τις συνθήκες της αντίδρασης. Στο τελικό προϊόν, στις περισσότερες περιπτώσεις, συνυπάρχουν διάφορα ισομερή υποκατεστημένης κυκλοδεξτρίνης, των οποίων ο διαχωρισμός απαιτεί διάφορες χρωματογραφικές τεχνικές. Η θεώρηση αυτή επιβεβαιώνεται και από μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στο πανεπιστήμιο της Πάρμα, στην Ιταλία. Συγκεκριμένα, μελετήθηκε η διάμινο-β-CD, με τη βοήθεια φασματομετρίας

μάζας. Τα θραύσματα που προέκυψαν, απέδειξαν την ύπαρξη των διαφόρων ισομερών στο τελικό προϊόν.^[17]



ΕΙΚΟΝΑ 4: ΙΣΟΜΕΡΗ ΔΙΑΜΙΝΟ-Β-ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗΣ

2. ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΟΞΕΑ

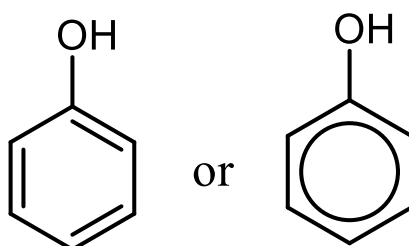
2.1 Εισαγωγή

Τα φαινολικά οξέα είναι αρωματικοί δευτερογενείς φυτικοί μεταβολίτες, ευρέως διαδεδομένοι σε όλο το φυτικό βασίλειο. Οι υπάρχουσες μελέτες, που αφορούν τα φαινολικά οξέα, οφείλονται στο ενδιαφέρον για τη βιολογική τους χρησιμότητα και στο ρόλο που αυτά διαδραματίζουν στην ποιότητα των τροφίμων. Προσφάτως το ενδιαφέρον αυτό εντάθηκε, λόγω της πιθανής προστατευτικής τους δράσης, έναντι ασθενειών οξειδωτικής βλάβης (στεφανιαία νόσος, εγκεφαλικό επεισόδιο και διάφορες μορφές καρκίνου).^[19] Πολλά φαινολικά οξέα, υπάρχουν σε όλα τα φυτικά τρόφιμα και στα παράγωγα αυτών (π.χ. φρούτα, λαχανικά και σπόροι). Λόγω της παρουσίας τους αυτής στις φυτικές τροφές, υπολογίζεται ότι οι άνθρωποι καταναλώνουμε φαινολικά οξέα σε καθημερινή βάση. Το εκτιμώμενο εύρος κατανάλωσης είναι από 25 mg έως 1 g ημερησίως ανάλογα με τη διατροφή (φρούτα, λαχανικά, σπόροι, τσάι, καφές, μπαχαρικά κ.λπ.).^{[25],[26]}

2.2 Φαινολικές ενώσεις

Τα φυτά συνθέτουν μια ποικιλία οργανικών μορίων, που αναφέρονται ως δευτερογενείς μεταβολίτες. Οι ενώσεις αυτές συμμετέχουν σε πολλές λειτουργίες στη ζωή των φυτών που αφορούν τη δομή και την προστασία του, χωρίς ωστόσο να εμπλέκονται άμεσα στην ανάπτυξη τους. Χρησιμοποιούνται ως πρώτες ύλες σε πολλές βιομηχανίες π.χ. ως αντιοξειδωτικά τροφίμων, αντιμικροβιακά συστατικά και φαρμακευτικά προϊόντα.^{[19],[20]}

Δομικά, οι φαινολικές ενώσεις περιλαμβάνουν έναν αρωματικό δακτύλιο, που φέρει έναν ή περισσότερους υποκαταστάτες υδροξυλίου, γεγονός που εντάσσει στην ομάδα αυτή από πολύ απλά φαινολικά μόρια έως μεγάλες πολυμερισμένες ενώσεις. Παρά τη μεγάλη αυτή δομική ποικιλομορφία, οι φαινολικές ενώσεις αναφέρονται, συχνά, ως πολυφαινόλες.^{[21],[22]}



ΕΙΚΟΝΑ 5: ΔΟΜΗ ΦΑΙΝΟΛΩΝ

Ένα άλλο χαρακτηριστικό αυτών των ουσιών είναι ότι βρίσκονται συνήθως συνδεδεμένα με άλλα μόρια, κυρίως με σάκχαρα (π.χ. γλυκόζες) και πρωτεΐνες, χωρίς αυτό να σημαίνει ότι δεν μπορούν να βρεθούν σε ελεύθερη μορφή στους φυτικούς ιστούς.^[23] Οι φαινολικές ενώσεις ανάλογα με τη δομή τους μπορούν να ταξινομηθούν σε μεγάλες υποκατηγορίες, οι κυριότερες εκ των οποίων, παραθέτονται στον πίνακα που ακολουθεί.^[24]

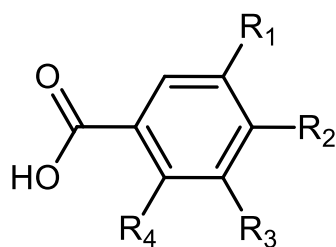
| Υποκατηγορία | Δομή |
|--|-------------------|
| Απλές φαινόλες, βενζοκινόνες | C_6 |
| Φαινολικά οξέα | C_6-C_1 |
| Ακετοφαινόλες, φαινυλοξικά οξέα | C_6-C_2 |
| Υδροξυκινναμικά οξέα, φαινυλοπροπανοειδή, κουμαρίνες, χρωμόνες | C_6-C_3 |
| Ναφθοκινόνες | C_6-C_4 |
| Ξανθόνες | $C_6-C_1-C_6$ |
| Στιλβένια, ανθρακινόνες | $C_6-C_2-C_6$ |
| Φλαβονοειδή, ισοφλαβονοειδή | $C_6-C_3-C_6$ |
| Λιγνάνες, νεολιγνάνες | $(C_6-C_3)_2$ |
| Διφλαβονοειδή | $(C_6-C_3-C_6)_2$ |
| Λιγνίνες | $(C_6-C_3)_n$ |
| Συμπυκνωμένες τανίνες (προανθοκυανίνες ή φλαβολάνες) | $(C_6-C_3-C_6)_n$ |

ΠΙΝΑΚΑΣ 3: ΥΠΟΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

2.3 Δομή φαινολικών οξέων

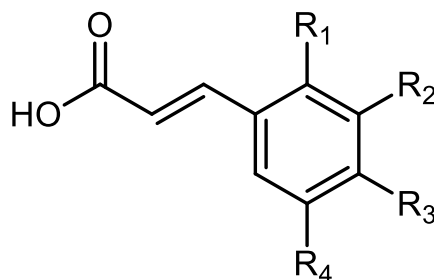
Τα φαινολικά οξέα (φαινολοκαρβοξυλικά οξέα) είναι ουσίες που περιέχουν ένα φαινολικό δακτύλιο και τουλάχιστον μία ομάδα οργανικού καρβοξυλικού οξέος. Αν και ο βασικός σκελετός παραμένει ο ίδιος, τα φαινολικά οξέα διαφέρουν μεταξύ τους στον αριθμό και τη θέση της υδροξυλομάδας πάνω στον αρωματικό δακτύλιο.^[25]

Τα φαινολικά οξέα μπορούν να χωριστούν σε δύο ομάδες: στα παράγωγα του βενζοϊκού οξέος και σε αυτά του κινναμωμικού οξέος. Τα βενζοϊκά οξέα έχουν επτά άτομα άνθρακα ($C_6 - C_1$) και αποτελούν τα απλούστερα φαινολικά οξέα που υπάρχουν στη φύση. Τα κινναμωμικά οξέα έχουν εννέα άτομα άνθρακα ($C_6 - C_3$), αλλά αυτά που απαντώνται περισσότερο στα λαχανικά είναι με επτά. Οι ουσίες αποτελούνται από ένα βενζοϊκό δακτύλιο, μία καρβοξυλική ομάδα και μια ή περισσότερες υδρόξυ/μεθόξυ ομάδες.^{[23],[27]} Στις δύο εικόνες που ακολουθούν παρουσιάζονται, διαδοχικά, οι γενικές δομές των βενζοϊκών και των κινναμωμικών οξέων, αντίστοιχα.



ΕΙΚΟΝΑ 6: ΔΟΜΗ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΒΕΝΖΟΪΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

Στην ομάδα των βενζοϊκών οξέων, εκείνα που ξεχωρίζουν, πέραν του ίδιου του βενζοϊκού οξέος είναι το βανιλικό οξύ ($R_1=R_4=H$, $R_2=OH$, $R_3=OCH_3$), το σαλικυλικό οξύ ($R_1=R_2=R_3=H$, $R_4=OH$), το p-υδροξυβενζοϊκό οξύ ($R_1=R_3=R_4=H$, $R_2=OH$) και το γαλλικό οξύ ($R_1=R_2=R_3=OH$, $R_4=H$).



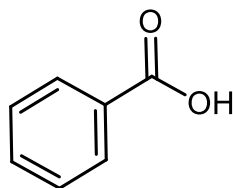
ΕΙΚΟΝΑ 7: ΔΟΜΗ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

Μεταξύ των κινναμωμικών οξέων, το p-κουμαρικό ($R_1=R_2=R_4=H$, $R_3=OH$), το φερουλλικό ($R_1=R_2=H$, $R_3=OH$, $R_4=OCH_3$), το καφεϊκό ($R_1=R_2=H$, $R_3=R_4=OH$) και σιναιπικό οξύ ($R_1=H$, $R_2=R_4=OCH_3$, $R_3=OH$) είναι τα πιο κοινά στη φύση.

2.3.1 Βενζοϊκό οξύ

Το βενζοϊκό οξύ είναι επίσης γνωστό ως φαινυλοφορμικό οξύ, βενζολοκαρβοξυλικό οξύ, καρβοξυβενζόλιο ή φαινυλοκαρβοξυλικό οξύ. Το όνομά του προέρχεται από την "βενζοΐνη", η οποία αποτελεί μία βαλσαμική ρητίνη, που προέρχεται από τα δένδρα *Styrax*, χρησιμοποιείται ως αρωματικός παράγοντας, σταθεροποιητής και φάρμακο και περιέχει μέχρι και 20% βενζοϊκό οξύ. Πρόκειται για το απλούστερο αρωματικό καρβοξυλικό οξύ, με μία καρβοξυλική ομάδα απευθείας συνδεδεμένη με τον δακτύλιο του βενζολίου. Είναι παρόν σε φυτικούς και ζωικούς ιστούς, και μπορεί επίσης να εντοπιστεί σε προϊόντα που παράγονται μέσω μικροβιακού μεταβολισμού. Συντίθεται, ακόμα, βιομηχανικά και χρησιμοποιείται ως αντιβακτηριακό και αντιμυκητιακό

συντηρητικό και / ή αρωματικός παράγοντας στα τρόφιμα, τα καλλυντικά, την υγιεινή και διάφορα φαρμακευτικά προϊόντα.^[28]

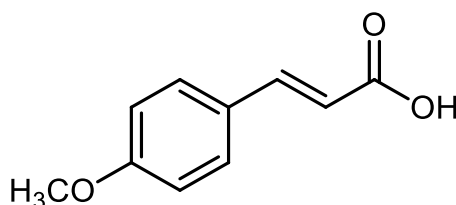


ΕΙΚΟΝΑ 8: ΒΕΝΖΟΪΚΟ ΟΞΥ

2.3.2 Παρα-μεθόξυ κινναμικό οξύ

Τα φαινολικά οξέα, στα οποία ανήκουν το κινναμωμικό οξύ και τα παράγωγά του διαθέτουν ποικίλες φαρμακολογικές ιδιότητες, όπως αντιφλεγμονώδεις, αντιμικροβιακές, αντιαλλεργικές, αντικαρκινικές και αντιαρτηρικές, με πολλά από αυτά να αποτελούν και ισχυρά αντιοξειδωτικά.^[29] Στα παράγωγα του κινναμωμικού οξέος, επιπλέον, αποδίδονται και άλλες δράσεις που αφορούν την προστασία του ήπατος και την αποφυγή της υπεργλυκαιμίας.^{[30],[31],[35]} Ειδικότερα, αναστέλλουν, στα θηλαστικά, τη δράση της α-γλυκοσιδάσης, γεγονός μπορεί να βοηθήσει στην καθυστέρηση της μεταγευματικής υπεργλυκαιμίας και στη μείωση του κινδύνου διαβητικών επιπλοκών.^{[32],[35]}

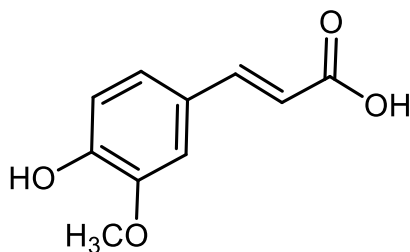
Συγκεκριμένα, τώρα, η μελέτη του παρα-μεθόξυ κινναμωμικού οξέος αποκτά μεγάλο ενδιαφέρον, λόγω των φαρμακολογικών δράσεων που φαίνεται να έχει. Πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε αρουραίους έδειξαν ότι το συγκεκριμένο οξύ προστατεύει τα ηπατικά κύτταρα, από την τοξικότητα του CCl₄.^{[35],[36]} Επίσης, ασκεί προστατευτική δράση κατά του εκφυλισμού των φλοιωδών νευρώνων που προκαλείται από το γλουταμικό. Τέλος, το παρα-μεθόξυ κινναμωμικό οξύ φαίνεται να αποτελεί ένα μη ανταγωνιστικό αναστολέα της α-γλυκοσιδάσης παρουσιάζοντας την πλέον ισχυρή ανασταλτική δραστηριότητα μεταξύ των παραγώγων του κινναμωμικού οξέος που έχουν μελετηθεί.^{[33],[34],[35]}



ΕΙΚΟΝΑ 9: ΠΑΡΑ-ΜΕΘΟΞΥ ΚΙΝΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ

2.3.3 Φερουλικό οξύ

Το φερουλικό οξύ αποτελεί ένα φυτικό συστατικό που προκύπτει από το μεταβολισμό της φαινυλαλανίνης και της τυροσίνης. Εντοπίζεται, κυρίως, στους σπόρους και στα φύλλα, ενώ συνδέεται ομοιοπολικά με τη λιγνίνη και άλλα βιοπολυμερή. Λόγω του φαινολικού του πυρήνα και της εκτεταμένης πλευρικής αλυσίδας, σχηματίζει εύκολα μία σταθερή φαινοξυ ρίζα, η οποία εξηγεί την ισχυρή αντιοξειδωτική του δράση. Βρίσκεται, συνήθως, συζευγμένο με μονο- και ολιγοσακχαρίτες, πολυαμίνες, λιπίδια, και πολυσακχαρίτες και σπάνια εμφανίζεται σε ελεύθερη κατάσταση στα φυτά. Είναι ένα φαινολικό οξύ χαμηλής τοξικότητας, για αυτό και μπορεί να απορροφηθεί και να μεταβολιστεί εύκολα στο ανθρώπινο σώμα. Το φερουλικό οξύ, πέραν των γνωστών ιδιοτήτων που έχουν τα περισσότερα φαινολικά οξέα (αντιμικροβιακές, αντικαρκινικές κ.τ.λ.), παρουσιάζει και ορισμένες επιπλέον, καθώς φαίνεται να προστατεύει από τη στεφανιαία νόσο, να μειώνει τη χοληστερόλη και να αυξάνει τη βιωσιμότητα του σπέρματος. Νεότερες, ακόμη, μελέτες, οι οποίες και χρίζουν επιβεβαίωσης, αποδίδουν στο συγκεκριμένο οξύ και ορισμένα περεταίρω οφέλη για την υγεία. Τα πιθανά, αυτά, οφέλη περιλαμβάνουν την προστασία από τον εκφυλισμό των οστών, από τα συμπτώματα πυρετού κατά την εμμηνόπαυση, του δέρματος από την υπεριώδη (UV) ακτινοβολία καθώς και τη θεραπεία του διαβήτη, μέσω της μείωσης των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα. Λόγω των ιδιοτήτων του και της χαμηλής τοξικότητάς του, το φερουλικό οξύ, χρησιμοποιείται σήμερα ευρέως σε βιομηχανίες τροφίμων και καλλυντικών. Χρησιμεύει ως πρώτη ύλη για την παραγωγή βανιλίνης και συντηρητικών αλλά και σε προϊόντα προστασίας του δέρματος.^{[25],[37],[38],[39]}

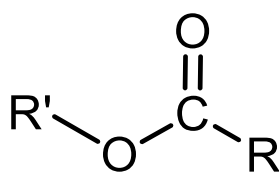


ΕΙΚΟΝΑ 10: ΦΕΡΟΥΛΙΚΟ ΟΞΥ

3. ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΣΤΕΡΟΠΟΙΗΣΗΣ

3.1 Γενικά

Οι εστέρες έχουν τον γενικό τύπο RCOOR' , όπου το R μπορεί να είναι άτομο υδρογόνου, αλκυλομάδα ή αρυλομάδα. Το R' μπορεί να είναι αλκυλομάδα ή αρυλομάδα, αλλά όχι άτομο υδρογόνου, καθώς στην περίπτωση αυτή η ένωση θα είναι ένα καρβοξυλικό οξύ. Οι εστέρες περιέχουν ένα διπλό δεσμό άνθρακα-οξυγόνου, ενώ το ίδιο άτομο άνθρακα συνδέεται, με απλό δεσμό αυτή τη φορά, με ένα δεύτερο άτομο οξυγόνου, το οποίο είναι συνδεδεμένο με μια αλκυλομάδα ή μια αρυλομάδα.



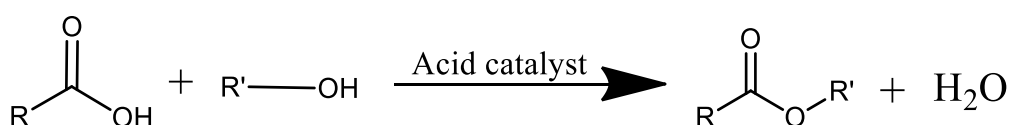
ΕΙΚΟΝΑ 11: ΔΟΜΗ ΕΣΤΕΡΩΝ

Οι εστέρες εντοπίζονται ευρέως στη φύση. Σε αντίθεση με τα καρβοξυλικά οξέα, οι εστέρες γενικά έχουν ευχάριστες οσμές και είναι συχνά υπεύθυνοι για τα χαρακτηριστικά αρώματα φρούτων και λουλουδιών. Η χημική ανάλυση των φρούτων και των λουλουδιών επιτρέπει στους αρωματοποιούς να αντιγράψουν τις φυσικές οσμές και γεύσεις και να τις χρησιμοποιούν. Τόσο οι φυσικοί όσο και οι συνθετικοί εστέρες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αρωματικοί παράγοντες.

Τα μόρια εστέρος είναι πολικά αλλά δεν έχουν κανένα άτομο υδρογόνου συνδεδεμένο απευθείας με ένα άτομο οξυγόνου. Δεν διαθέτουν, επομένως, την ικανότητα να εμπλέκονται σε διαμοριακό δεσμό υδρογόνου μεταξύ τους και, για το λόγο αυτό, έχουν σημαντικά χαμηλότερα σημεία βρασμού από τα ισομερή τους αντίστοιχα καρβοξυλικά οξέα. Τα μόρια εστέρων, ωστόσο, μπορούν να δεσμεύονται με δεσμούς υδρογόνου με μόρια νερού, γεγονός που σημαίνει ότι οι εστέρες χαμηλής γραμμομοριακής μάζας είναι διαλυτοί στο νερό.^[40]

3.2 Εστεροποίηση Fischer-Speier

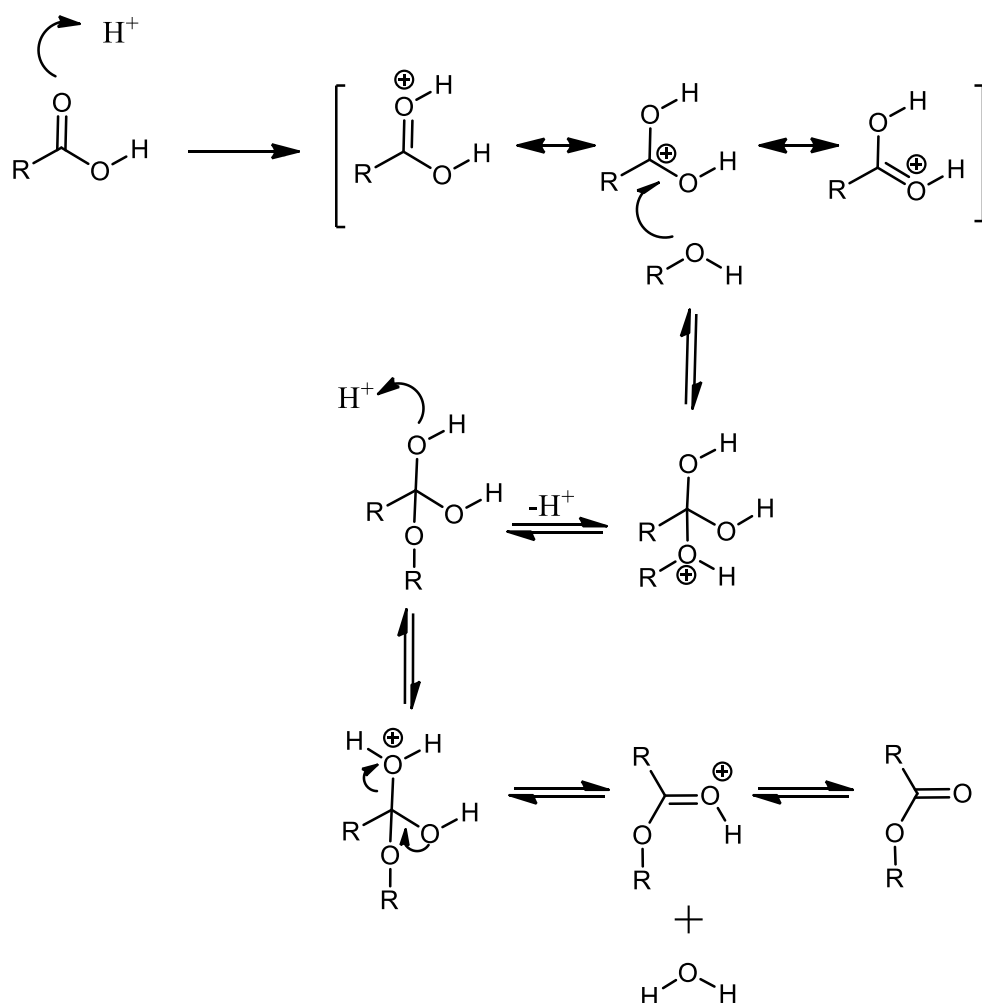
Η εστεροποίηση Fischer-Speier αποτελεί μία αντίδραση πυρηνόφιλης ακυλο υποκατάστασης, μεταξύ ενός καρβοξυλικού οξέος και μίας αλκοόλης. Πρόκειται για την πιο διαδεδομένη αντίδραση εστεροποίησης, γεγονός που οφείλεται εν μέρει και στην απλότητά της. Οι δύο ερευνητές ανακάλυψαν το 1895 ότι, κατά τη θέρμανση ενός αλκοολικού διαλύματος κάποιου καρβοξυλικού οξέος, παρουσία μικρής ποσότητας οξίνου καταλύτη, παράγονται εστέρες. Οι αποδόσεις, μάλιστα, της συγκεκριμένης αντίδρασης χαρακτηρίζονται ικανοποιητικές.



ΕΙΚΟΝΑ 12: ΓΕΝΙΚΗ ΜΟΡΦΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΕΣΤΕΡΟΠΟΙΗΣΗΣ FISCHER-SPEIER

Πιο συγκεκριμένα, τα καρβοξυλικά οξέα δεν είναι αρκετά δραστικά, ώστε να προσβληθούν από ουδέτερες αλκοόλες. Μπορούν, όμως, να καταστούν πολύ δραστικότερα παρουσία ενός ανόργανου ισχυρού οξέος (π.χ. HCl ή H₂SO₄). Το ανόργανο οξύ πρωτονιώνει το άτομο οξυγόνου της καρβοξυλομάδας, με αποτέλεσμα το καρβοξυλικό οξύ να αποκτά θετικό φορτίο και να καθίσταται πολύ δραστικότερο στην πυρηνόφιλη προσβολή από την αλκοόλη. Ακολούθως, απαιτείται η απώλεια νερού από το τετραεδρικό ενδιάμεσο, προκειμένου να παραληφθεί το τελικό προϊόν, δηλαδή ο εστέρας. Η συγκεκριμένη αντίδραση, επομένως, έχει σαν αποτέλεσμα την υποκατάσταση της ομάδας -OH με την ομάδα -OR'. Όλα τα στάδια της αντίδρασης είναι αντιστρεπτά, δηλαδή η αντίδραση μπορεί να εξελιχθεί προς οποιαδήποτε κατεύθυνση, ανάλογα με τις συνθήκες στις οποίες πραγματοποιείται. Περίσσεια αλκοόλης ευνοεί τον σχηματισμό του εστέρα, ενώ μεγάλη περίσσεια νερού οδηγεί στο σχηματισμό του καρβοξυλικού οξέος.^[41]

Στην εικόνα που ακολουθεί φαίνονται όλα τα στάδια της αντίδρασης εστεροποίησης Fischer-Speier.



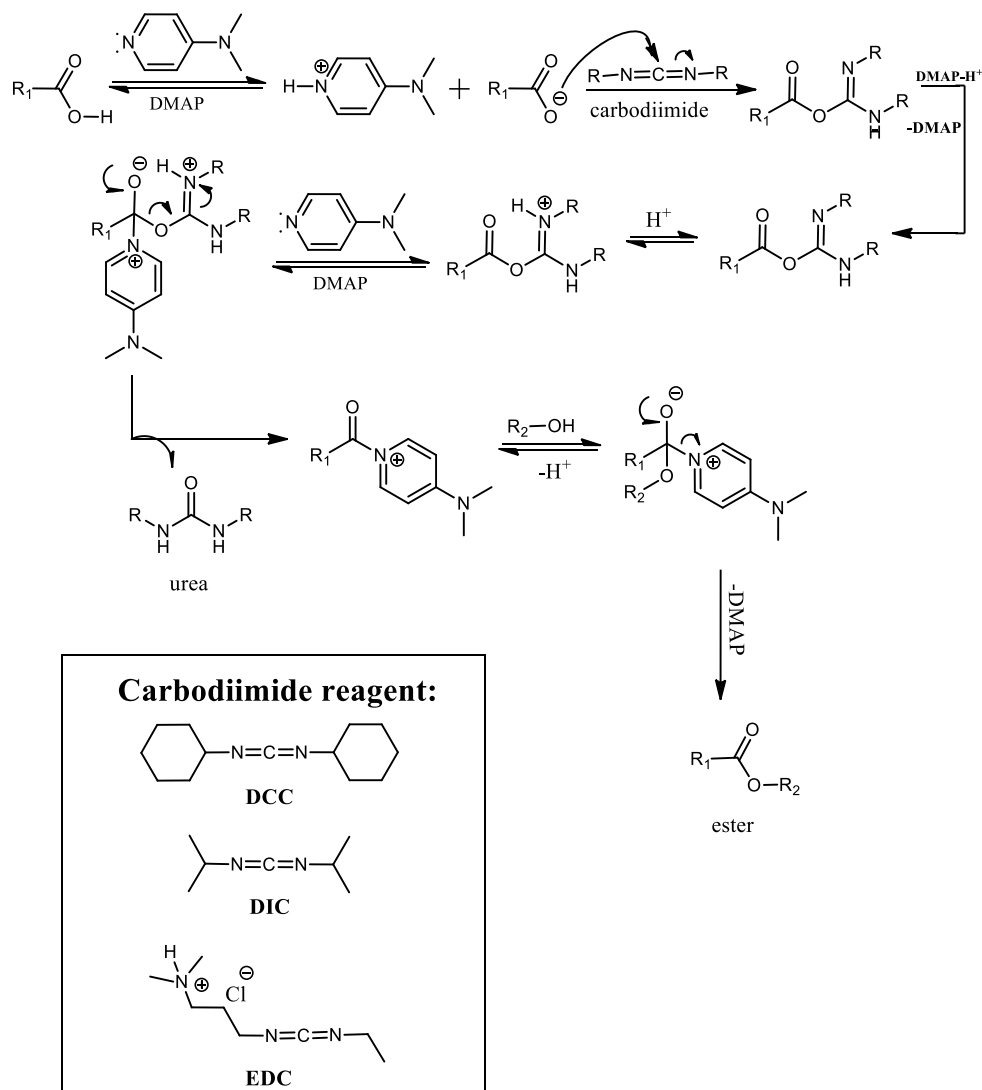
ΕΙΚΟΝΑ 13: ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΕΣΤΕΡΟΠΟΙΗΣΗΣ FISCHER-SPEIER

3.3 Εστεροποίηση Steglich

Η εστεροποίηση Steglich αποτελεί μια ευρέως χρησιμοποιούμενη αντίδραση για τη σύνθεση εστέρων από καρβοξυλικά οξέα και αλκοόλες. Ενώ πρόκειται για μία αποτελεσματική και ήπια αντίδραση, συνήθως εκτελείται χρησιμοποιώντας συστήματα χλωριωμένων ή αμιδικών διαλυτών, οι οποίοι είναι επικίνδυνοι για την ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον. Στην εστεροποίηση Steglich, το δικυκλοεξυλοκαρβοδιμίδιο (DCC) αντιδρά με το καρβοξυλικό οξύ παρουσία 4-διμεθυλαμινοπυριδίνης (DMAP), μέσα σε ένα σύστημα χλωριωμένου διαλύτη ή διμεθυλοφορμαμίδιου (DMF), προκειμένου να σχηματιστεί ένα ενεργοποιημένο παράγωγο οξέος. Το ενεργοποιημένο αυτό παράγωγο οξέος υφίσταται, στη συνέχεια, πυρηνόφιλη υποκατάσταση από μία αλκοόλη, που σαν αποτέλεσμα έχει την παραγωγή του εστέρα. Για

την παραλαβή του εστέρα χρησιμοποιούνται συνήθως τεχνικές χρωματογραφίας. Στα θετικά της μεθόδου, η συγκεκριμένη εστεροποίηση επιτρέπει την ήπια σύζευξη μεγάλων, πολύπλοκων καρβοξυλικών οξέων και αλκοολών, συμπεριλαμβανομένων των στεreoχημικώς παρεμποδισμένων μορίων δευτεροταγών και τριτοταγών αλκοολών.^[42]

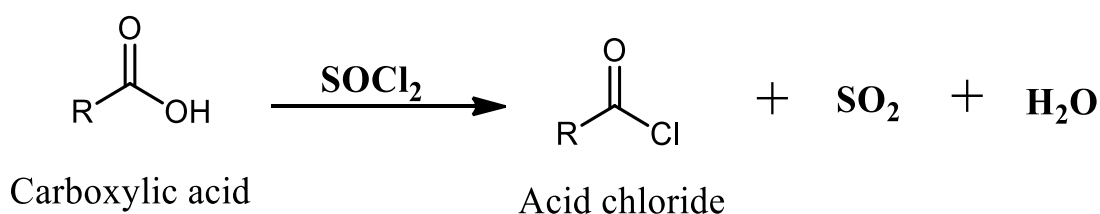
Η εικόνα που ακολουθεί περιέχει όλα τα στάδια της αντίδρασης εστεροποίησης Steglich, από την ενέργηση του καρβοξυλικού οξέος, μέχρι την παραλαβή του τελικού προϊόντος, δηλαδή του εστέρα.



ΕΙΚΟΝΑ 14: ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΕΣΤΕΡΟΠΟΙΗΣΗΣ STEGLICH

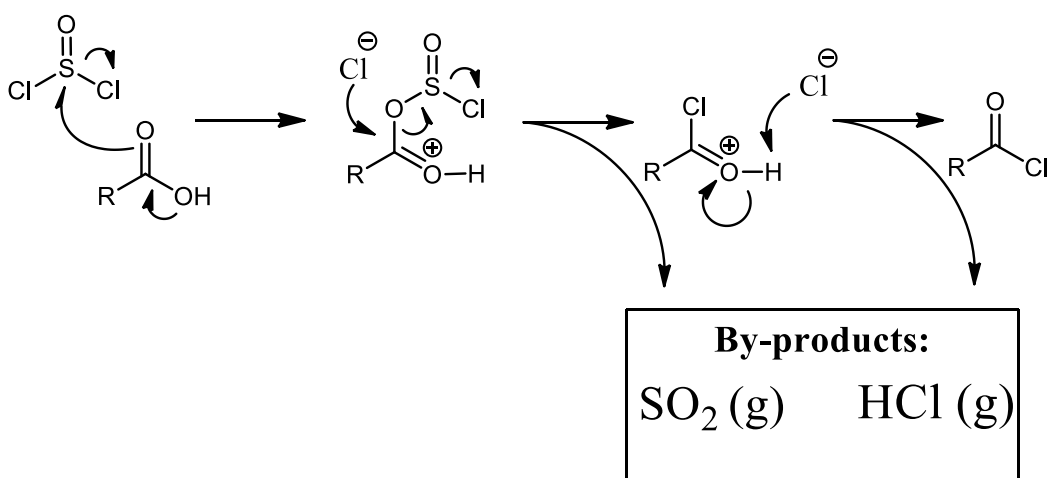
3.4 Αλκοόλυση χλωριδίων καρβοξυλικών οξέων

Μία ακόμα σημαντική μέθοδο για την παραγωγή εστέρων αποτελεί και η αλκοόλυση χλωριδίων των καρβοξυλικών οξέων. Η συγκεκριμένη μέθοδος, ουσιαστικά, αποτελείται από δύο αντιδράσεις, αφού απαιτείται, πρωτίστως, η σύνθεση του χλωριδίου, το οποίο στη συνέχεια θα αντιδράσει, με μία αλκοόλη, με στόχο το σχηματισμό του εστέρα. Τα καρβοξυλικά οξέα μετατρέπονται σε χλωρίδια, κατά την κατεργασία με θειονυλο χλωρίδιο (SOCl_2), σύμφωνα με την αντίδραση:



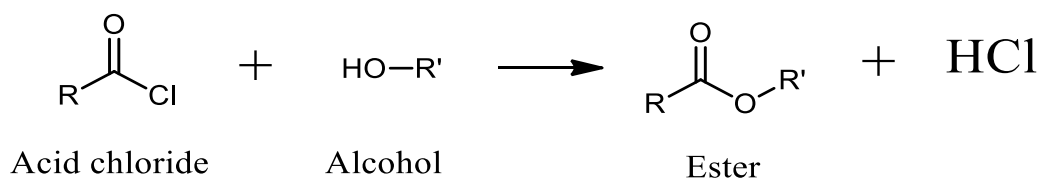
ΕΙΚΟΝΑ 15: ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΧΛΩΡΙΔΙΩΝ ΚΑΡΒΟΞΥΛΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ

Η αντίδραση πραγματοποιείται μέσω μίας πυρηνόφιλης ακυλο υποκατάστασης, κατά τη διάρκεια της οποίας το οξύ μετατρέπεται, αρχικά, σε ένα δραστικό χλωροθειώδη ανυδρίτη, ο οποίος στη συνέχεια προσβάλλεται από ένα πυρηνόφιλο ιόν χλωρίου.



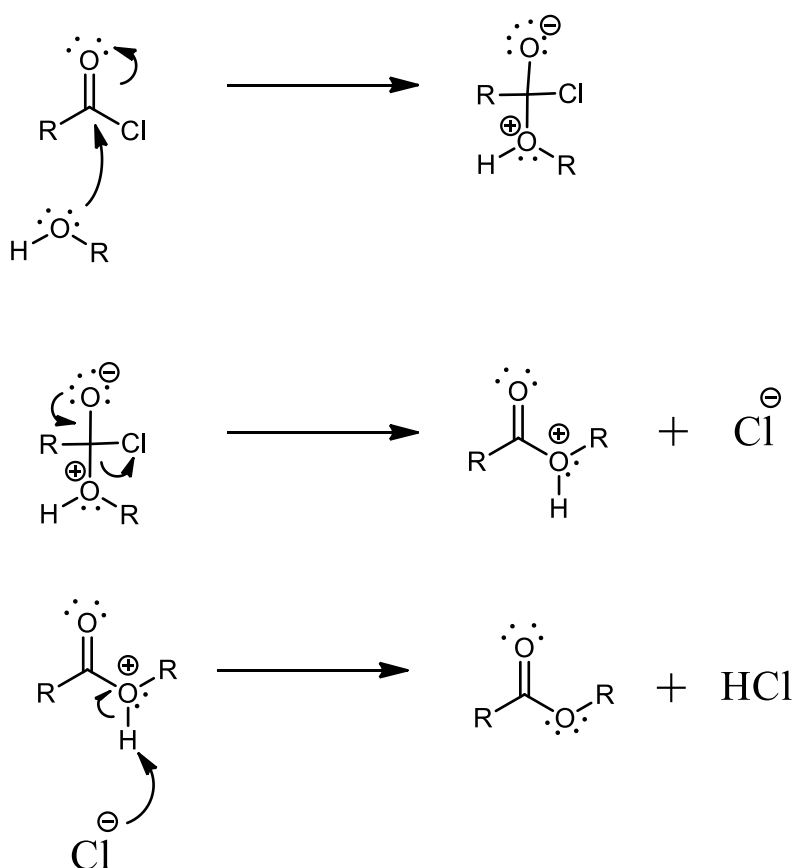
ΕΙΚΟΝΑ 16: ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΧΛΩΡΙΔΙΩΝ ΚΑΡΒΟΞΥΛΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ

Μετά την παραγωγή του χλωριδίου ακολουθεί η δεύτερη αντίδραση, η οποία οδηγεί και στο σχηματισμό του εστέρα. Συγκεκριμένα, για το σκοπό αυτό, γίνεται προσθήκη αλκοόλης, πρακτικά δηλαδή, ενός ιόντος αλκοξειδίου.



ΕΙΚΟΝΑ 17: ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΕΣΤΕΡΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΠΟ ΧΛΩΡΙΔΙΟ

Ο μηχανισμός της συγκεκριμένης αντίδρασης περιλαμβάνει τρία στάδια. Κατά το πρώτο στάδιο γίνεται η προσθήκη του ιόντος αλκοξειδίου (αλκοόλης) στο χλωρίδιο του οξέος σχηματίζοντας ένα ενδιάμεσο προϊόν. Στη συνέχεια η αποχωρούσα ομάδα (ιόν χλωρίου) απομακρύνεται από την ένωση. Τέλος πραγματοποιείται η αποπρωτονίωση του μορίου που οδηγεί στο σχηματισμό του εστέρα.^[41]



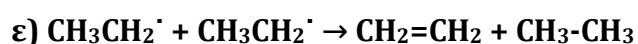
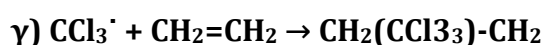
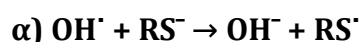
ΕΙΚΟΝΑ 18: ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΕΣΤΕΡΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΠΟ ΧΛΩΡΙΔΙΟ

4. ANΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

4.1 Ελεύθερες ρίζες

Οι ελεύθερες ρίζες είναι άτομα, μόρια ή ιόντα με μη συζευγμένα ηλεκτρόνια, τα οποία είναι ασταθή, αλλά ιδιαίτερα δραστικά σε χημικές αντιδράσεις με άλλα μόρια. Στα βιολογικά συστήματα, οι ελεύθερες ρίζες συχνά προέρχονται από μόρια οξυγόνου, αζώτου και θείου, ενώ αποτελούν την κύρια πηγή γήρανσης. Οι ελεύθερες, αυτές, ρίζες αποτελούν μέρη ομάδων μορίων που ονομάζονται δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS), δραστικές μορφές αζώτου (RNS) και δραστικές μορφές θείου (RSS). Παράγονται συνήθως κατά τη διάρκεια του κυτταρικού μεταβολισμού εμπλέκονται σε μία σειρά ρυθμιστικών διαδικασιών, όπως είναι ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός, η απόπτωση και η γονιδιακή έκφραση. Υπερβολικές ποσότητές τους, ωστόσο ενδέχεται να έχουν επιβλαβή αποτελέσματα σε πολλά βιολογικά μόρια συμπεριλαμβανομένων των πρωτεϊνών, των λιπιδίων, του RNA και του DNA. Η αύξηση των επιπέδων των ελευθέρων ριζών συμβαίνει συνήθως σε περιόδους περιβαλλοντικού στρες και κυτταρικής δυσλειτουργίας και συνδέεται με πληθώρα προβλημάτων υγείας. Στην αύξηση αυτή συμβάλλουν, ακόμα, και ορισμένοι εξωτερικοί παράγοντες όπως το κάπνισμα, οι περιβαλλοντικοί ρύποι, η ακτινοβολία, τα φάρμακα, τα παρασιτοκτόνα και το όζον. Προκειμένου να προληφθεί ή να μειωθεί η οξειδωτική βλάβη, το ανθρώπινο σώμα και άλλοι οργανισμοί έχουν αναπτύξει ένα αντιοξειδωτικό αμυντικό σύστημα το οποίο περιλαμβάνει ενζυμικές και χημικές διεργασίες οι οποίες εξουδετερώνουν αυτές τις ρίζες μετά τη δημιουργία τους. Επιπλέον, η πρόσληψη αντιοξειδωτικών και μέσω της τροφής μπορεί να βοηθήσει στη διατήρηση επαρκούς αντιοξειδωτικής κατάστασης στο σώμα.^{[43],[44],[45]}

Υπάρχουν πολλοί μηχανισμοί, με τους οποίους οι ελεύθερες ρίζες αντιδρούν με τα περιβάλλοντα μόρια, όπως, α) αναγωγή των ριζών με αποβολή ηλεκτρονίου και αποδοχή ηλεκτρονίων, οξειδωτικές ρίζες, β) απόσπαση υδρογόνου, γ) αντιδράσεις προσθήκης, δ) αντιδράσεις «αυτοκαταστροφής» και ε) αντιδράσεις αυτοοξειδοαναγωγής.



Οι συγκεκριμένες αντιδράσεις οδηγούν στην παραγωγή των τριών ειδών ελευθέρων ριζών τα οποία έχουν συνδεθεί με πολλές σοβαρές ασθένειες, όπως ο καρκίνος, οι καρδιαγγειακές παθήσεις συμπεριλαμβανομένης της αρτηριοσκλήρυνσης και του εγκεφαλικού επεισοδίου, οι ηπατικές διαταραχές, η υπέρταση, η ρευματοειδής αρθρίτιδα, οι ασθένειες ανοσοανεπάρκειας, οι εκφυλιστικές διαταραχές που σχετίζονται με τη γήρανση, ο διαβήτης, η παχυσαρκία το Alzheimer κ.α..^{[44],[46]}

4.2 Αντιοξειδωτικές ενώσεις

Τα αντιοξειδωτικά είναι ενώσεις που μπορούν να δώσουν ή να πάρουν ηλεκτρόνια, με σκοπό τον περιορισμό των μη συζευγμένων ηλεκτρονίων στις ελεύθερες ρίζες. Έχουν, δηλαδή, την ικανότητα να αντιδρούν άμεσα με τις δραστικές ρίζες και είτε να τις καταστρέφουν είτε να τις μετατρέπουν σε λιγότερο επικίνδυνες, είτε να διακόπτουν την αλυσιδωτή αντίδραση της οξείδωσης. Ως αντιοξειδωτικές, επομένως, ορίζονται οι ενώσεις που αναστέλλουν, επιβραδύνουν ή εμποδίζουν την οξείδωση των υποστρωμάτων όταν βρίσκονται σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις από το συγκεκριμένο υπόστρωμα. Υπάρχουν δύο βασικές κατηγορίες αντιοξειδωτικών, τα φυσικά και τα συνθετικά. Η ακριβής ταξινόμηση των αντιοξειδωτικών βασίζεται στον τρόπο λειτουργίας τους. Ανάλογα με τις χημικές τους ιδιότητες, στις οποίες οφείλεται και η δράση τους, διακρίνονται σε πρωτοταγή και δευτεροταγή.^{[43],[47],[48]}

4.2.1 Φυσικά-συνθετικά αντιοξειδωτικά

Στα φυσικά αντιοξειδωτικά ανήκουν τα καροτενοειδή, οι τοκοφερόλες, η βιταμίνη D, τα φαινολικά οξέα, τα φλαβονοειδή και οι μεταβολίτες υψηλού μοριακού βάρους όπως οι τανίνες, ενώ αποτελούν το βασικό μέρος του αμυντικού μηχανισμού των κυττάρων.^[45]

Τα συνθετικά αντιοξειδωτικά δημιουργήθηκαν, ώστε να υπάρχει ένα τυπικό σύστημα μέτρησης της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας, με σκοπό τη σύγκριση με τα φυσικά αντιοξειδωτικά. Οι ενώσεις αυτές προστίθενται στα τρόφιμα για να τους προσδώσουν αντοχή σε διάφορες συνθήκες και επεξεργασίες, καθώς και για να παρατείνουν τη διάρκεια ζωής τους. Το βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο (BHT) και BHA βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη (BHA) αποτελούν τα πλέον, ευρέως, χρησιμοποιούμενα χημικά αντιοξειδωτικά, τα οποία ωστόσο δεν προτιμώνται για

φαρμακολογική χρήση εξαιτίας τοξικολογικών ανησυχιών. Για το λόγο αυτό, η επιστημονική κοινότητα έχει στρέψει το ενδιαφέρον της στη χρήση φυτικών εκχυλισμάτων, στα οποία περιέχονται φυσικά αντιοξειδωτικά.

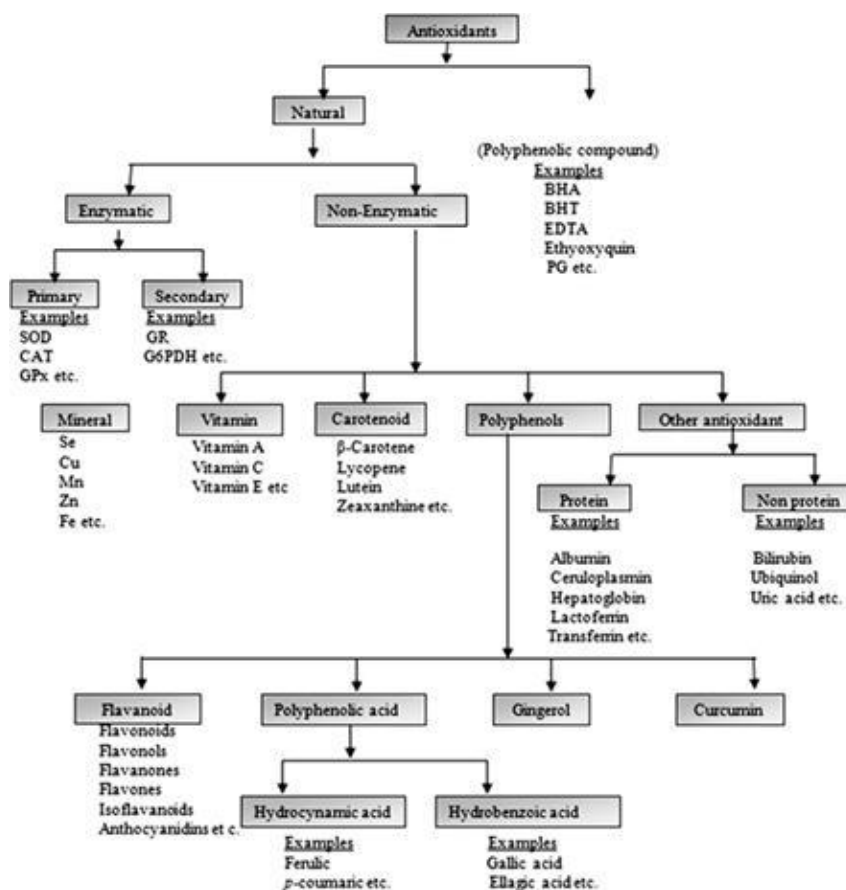
Αυτά τα αντιοξειδωτικά συμβάλλουν στην προστασία των κυττάρων από το οξειδωτικό στρες και στη μείωση του κινδύνου εμφάνισης χρόνιων ασθενειών.^{[43],[44]}

4.2.2 Πρωτοταγή-δευτεροταγή αντιοξειδωτικά

Τα πρωτοταγή αντιοξειδωτικά είναι αυτά που τερματίζουν την αλυσιδωτή αντίδραση των ελεύθερων ριζών, παρέχοντας άτομα υδρογόνου ή ηλεκτρόνια στις ελεύθερες ρίζες, με αποτέλεσμα τη σκοπό τη μετατροπή των τελευταίων σε πιο σταθερά προϊόντα. Τα πρωτοταγή αντιοξειδωτικά παράγονται από δευτεροταγή αντιοξειδωτικά, μέσω της παροχής ηλεκτρονίων υδρογόνου στις πρωτοταγείς αντιοξειδωτικές ρίζες. Τα πρωτοταγή αντιοξειδωτικά έχουν κατά κύριο λόγο φαινολική δομή και διακρίνονται στις ακόλουθες κατηγορίες:

- Αντιοξειδωτικά ένζυμα
- Αντιοξειδωτικές βιταμίνες
- Αντιοξειδωτικά μεταλλικά στοιχεία
- Φυτοχημικά^{[45],[49]}

Στα δευτεροταγή αντιοξειδωτικά ανήκουν οι ενώσεις εκείνες που καθυστερούν το ρυθμό αυτοξείδωσης των λιπιδίων, με διαφορετικές μεθόδους από εκείνες που χρησιμοποιούν τα πρωτοταγή αντιοξειδωτικά. Συγκεκριμένα, έχουν προληπτικό ρόλο και δρουν μειώνοντας το ρυθμό έναρξης της αλυσιδωτής αντίδρασης μέσω διάφορων μηχανισμών. Στους μηχανισμούς αυτούς περιλαμβάνονται ενώσεις, οι οποίες δεσμεύουν μεταλλικά ιόντα και οξυγόνο, αντιδρούν με χηλικά μέταλλα, αναστέλλουν οξειδωτικά ένζυμα, μετατρέπουν τα υδροπεροξειδία σε μη ριζικά είδη ή απορροφούν την υπεριώδη ακτινοβολία.^{[45],[49],[50]}



EIKONA 19: ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

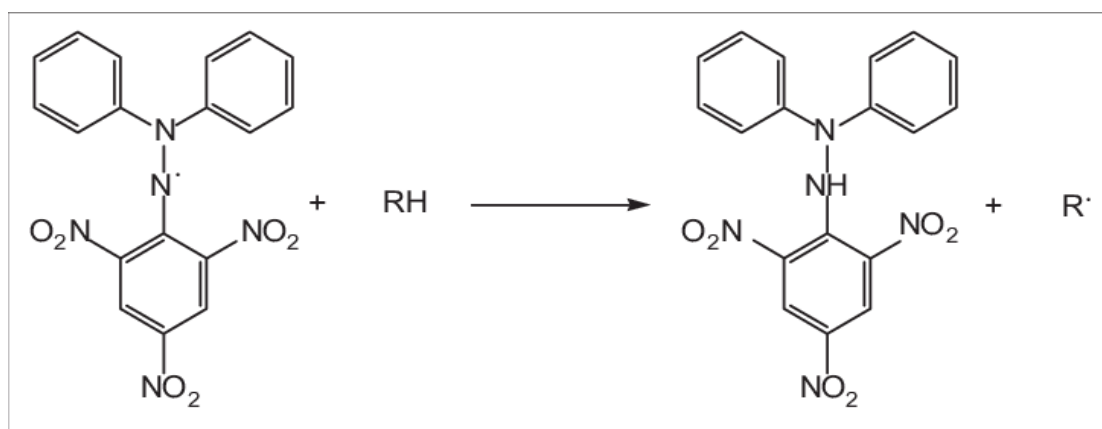
4.3 Εκτίμηση αντιοξειδωτικής δράσης

Η αντιοξειδωτική δράση των φυσικών και συνθετικών ενώσεων προσδιορίζεται με τη χρήση διάφορων μεθόδων. Οι μέθοδοι αυτές ταξινομούνται με βάση τον τύπο των αντιοξειδωτικών που προσδιορίζονται, το αντιδραστήριο που χρησιμοποιείται, το χαρακτήρα του διαλύτη και το μηχανισμό της αντίδρασης. Γενικά, οι διάφορες αναλυτικές μέθοδοι διακρίνονται σε τρεις βασικές κατηγορίες, τις φασματομετρικές, τις χρωματογραφικές και τις ηλεκτροχημικές. Όλες τους βασίζονται, είτε στην αντίδραση μεταφοράς ενός ηλεκτρονίου, είτε στην αντίδραση μεταφοράς ενός ατόμου υδρογόνου από το αντιοξειδωτικό σε μία ελεύθερη ρίζα. Για την ποσοτικοποίηση της αντιοξειδωτικής δράσης αυτό που μετράται είναι η μεταβολή της οπτικής απορρόφησης του αντιοξειδωτικού. Στο σημείο αυτό πρέπει να σημειωθεί, ότι παρότι έχουν αναπτυχθεί αρκετές μέθοδοι, τα αποτελέσματα αυτών πρέπει να αντιμετωπίζονται με προσοχή, καθώς πολλές μεταβλητές είναι ικανές να επηρεάσουν την ακρίβεια της κάθε μεθόδου. Επομένως, δεν υπάρχει καθολικό σύστημα, που να μπορεί να παρέχει πληροφορίες, σχετικά με την ακριβή αντιοξειδωτική ισχύ ενός

αντιοξειδωτικού ή ενός πολύπλοκου μείγματος αντιοξειδωτικών. Με δεδομένο, ακόμα, ότι η αντιοξειδωτική δράση εξαρτάται από αρκετούς παράγοντες, όπως το υπόστρωμα, τις συνθήκες οξείδωσης και τα διεπιφανειακά φαινόμενα, δεν συνίσταται η σύγκριση διαφορετικών μεθόδων.^{[43],[51],[52],[53]}

4.3.1 Μέθοδος DPPH

Η ρίζα DPPH είναι η ελεύθερη ρίζα της 2,2- διφαινυλ-1-πικρυλυδραζιλής. Παρουσιάζει μεγάλη σταθερότητα, λόγω μεσομέρειας κατά την οποία το μονήρες ηλεκτρόνιο βρίσκεται κατανεμημένο σε μία ευρύτερη περιοχή. Πρόκειται για ένα λιπόφιλο μόριο, στο οποίο το ασύζευκτο ηλεκτρόνιο εντοπίζεται επικεντρωμένο στο άζωτο. Λόγω εκτεταμένης συζυγίας, ωστόσο, το μόριο εμφανίζεται ιδιαίτερα σταθερό, αφού το ηλεκτρόνιο κατανέμεται σε μεγάλη περιοχή. Η ρίζα DPPH, λόγω του ηλεκτρονίου που διαθέτει παρουσιάζει μεγάλη απορρόφηση στα 515 nm (περιοχή του ορατού με βαθύ πορφυρό χρώμα). Κατά την αναγωγή της, η ρίζα προσλαμβάνει ένα πρωτόνιο και μετατρέπεται σε σταθερό διαμαγνητικό μόριο, με αποτέλεσμα να χάνει 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. Η συγκεκριμένη ιδιότητα του DPPH είναι αυτή στην οποία βασίζεται και ο χρωματομετρικός προσδιορισμός της αναγωγικής ικανότητας των εξεταζόμενων ενώσεων.^{[54],[55]}



ΕΙΚΟΝΑ 20: ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ DPPH ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ

4.3.2 Πλεονεκτήματα-μειονεκτήματα της μεθόδου DPPH

Η μέθοδος DPPH είναι απλή, αποδοτική, σχετικά φθηνή και γρήγορη. Το μόνο που απαιτείται είναι ένα φασματόμετρο UV-Vis. Το γεγονός αυτό εξηγεί την τόσο διαδεδομένη χρήση της. Ένα επιπλέον πλεονέκτημα της συγκεκριμένης μεθόδου είναι ότι το DPPH αφήνεται να αντιδράσει με όλο το δείγμα, ακόμη και με τα ασθενή αντιοξειδωτικά, ενώ, τέλος, μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε σύνθετα βιολογικά συστήματα, για στερεά ή υγρά δείγματα, σε πολικούς και σε υδατικούς διαλύτες και για την εξέταση τόσο λιπόφιλων όσο και υδρόφιλων αντιοξειδωτικών.^{[52],[56],[57]}

Υπάρχουν, ωστόσο, και ορισμένα μειονεκτήματα της συγκεκριμένης μεθόδου. Η ερμηνεία της είναι δύσκολη σε περιπτώσεις όπου οι μετρούμενες ενώσεις περιλαμβάνουν φάσματα που υπερκαλύπτουν τα 515nm. Παράλληλα, πολλά αντιοξειδωτικά που αντιδρούν γρήγορα με τις ρίζες υπεροξυλίου, μπορεί να αντιδράσουν αργά ή ακόμα και καθόλου με το DPPH, εξαιτίας στερικής παρεμπόδισης. Επιπλέον, το DPPH αποχρωματίζεται είτε από αναγωγικούς παράγοντες, όπως το φως, είτε από τη μεταφορά υδρογόνου, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε εσφαλμένα συμπεράσματα. Τέλος, συχνά κρίνεται σημαντική η σύγκριση των αντιοξειδωτικών δραστηριοτήτων των φυτικών εκχυλισμάτων, στα οποία μπορεί να περιέχονται περισσότερα από ένα αντιοξειδωτικά συστατικά, με την αντίστοιχη των μεμονωμένων καθαρών αντιοξειδωτικών, προκειμένου να προσδιορισθεί η πιθανή αλληλεπίδραση μεταξύ των αντιοξειδωτικών. Επομένως, αν το παραπάνω δεν πραγματοποιηθεί, είναι πιθανό να οδηγήσει κι αυτό με τη σειρά του σε ανακρίβειες.^{[56],[58]}

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5.1 Όργανα, αντιδραστήρια και συσκευές

Στο συγκεκριμένο υποκεφάλαιο αναφέρονται τα όργανα, τα αντιδραστήρια και οι συσκευές που χρησιμοποιήθηκαν για την παρακολούθηση της πορείας των αντιδράσεων αλλά και για την επεξεργασία και τον χαρακτηρισμό των προϊόντων που προέκυψαν.

Η καθαρότητα των ενώσεων και ο έλεγχος 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) και οξικού αιθυλεστέρα (EtOAc). Οι κηλίδες των χρωματογραφημάτων αυτών 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, η φασματοσκοπία υπερύθρου IR και η φασματοσκοπία μάζας MS. Στα φάσματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού 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.

Στον πίνακα που ακολουθεί παραθέτονται όλα τα όργανα και οι συσκευές που χρησιμοποιήθηκαν κατά την εξέλιξη της πειραματικής διαδικασίας.

| Όργανα και Συσκευές | Μοντέλο | Κατασκευαστής |
|------------------------------|------------------|---------------|
| Ζυγός ακριβείας (μέχρι 110g) | Explorer | OHAUS |
| Ζυγός ακριβείας (μέχρι 2g) | M2P | Sartorius |
| Φασματοφωτόμετρο UV-Vis | V-770 UV-Vis/NIR | Jasco |
| Φασματόμετρο μάζας | 220-MS | Varian |

| | | |
|---|-------------------------------------|---------|
| (MS) | | |
| Περιστροφικός εξατμιστήρας κενού | Rotavapor R-114/ Waterbath B-480 | Buchi |
| Αναδευτήρας τύπου Vortex | ZX4 | Velp |
| Μαγνητικός αναδευτήρας | RCT basic | IKA |
| Φασματόμετρο NMR | 600 MHz | Varian |
| Φασματόμετρο FT-IR | FT-IR-4200 | Jasco |
| Αντλία υψηλού κενού | | Edwards |

ΠΙΝΑΚΑΣ 4: ΟΡΓΑΝΑ ΚΑΙ ΣΥΣΚΕΥΕΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας, καθώς και η ονομασία του αντίστοιχου προμηθευτή καταγράφονται στον παρακάτω πίνακα.

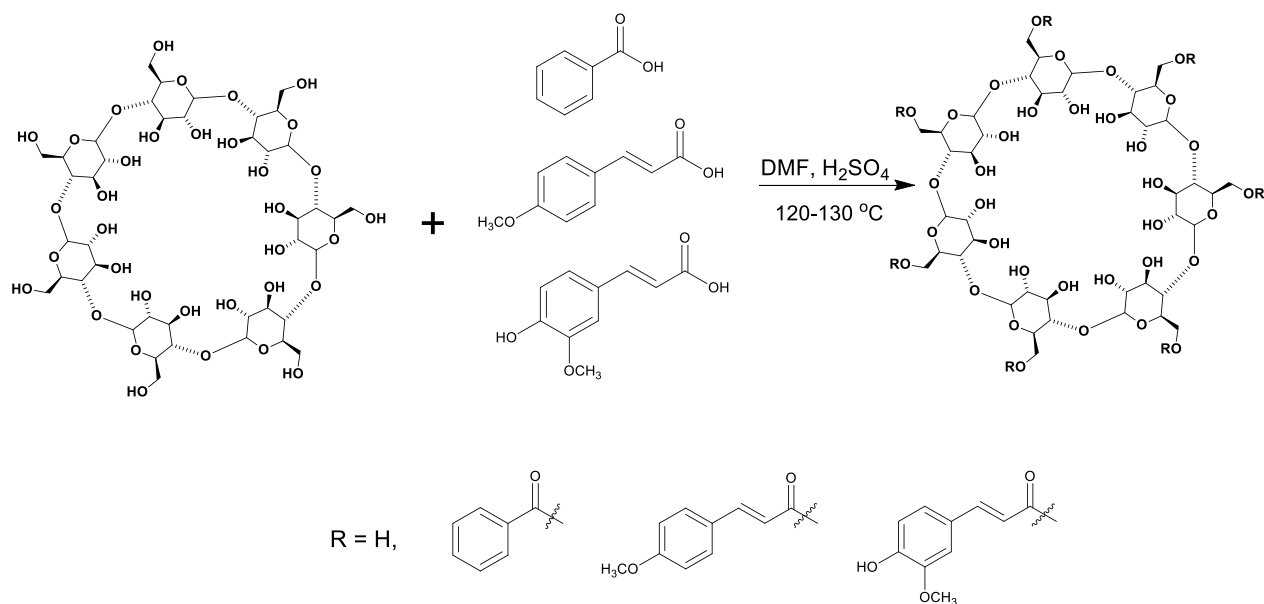
| Αντιδραστήρια | Προμηθευτής |
|---|--------------------|
| β-κυκλοδεξτρίνη | Alfa Aesar |
| Θειικό οξύ (H₂SO₄) | Fischer Chemicals |
| Βενζοϊκό οξύ | Fluka |
| Παρα-μεθόξυ κινναμικό οξύ | Alfa Aesar |
| Φερουλικό οξύ | Merck |
| Όξινο ανθρακικό νάτριο (NaHCO₃) | Fluka |
| Διμεθυλομεθαναμίδιο (DMF) | Scharlau |
| Διαιθυλαιθέρας (DEE) | Honeywell |
| Ακετόνη | Lach-ner |
| Τολουόλιο | Fischer Chemicals |

| | |
|--|-------------------|
| Θειονυλοχλωρίδιο (SOCl₂) | Fluka |
| Πυριδίνη | SdS |
| Διμεθυλαμινοπυριδίνη (DMAP) | Fluorochem |
| Δικυκλοεξυλοκαρβοδιμίδιο (DCC) | Acros Organics |
| Διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO) | Fischer Chemicals |
| 2,2- διφαινυλ-1-πικρυλυδραζίλη (DPPH) | Aldrich |
| Οξικός αιθυλεστέρας (EtOAc) | Fischer Chemicals |
| Αιθανόλη (EtOH) | PanReac |
| Μεθανόλη (MeOH) | SdS |

ΠΙΝΑΚΑΣ 5: ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

5.2 Γενική μέθοδος σύνθεσης εστέρων β-κυκλοδεξτρίνης μέσω εστεροποίησης Fischer-Speier

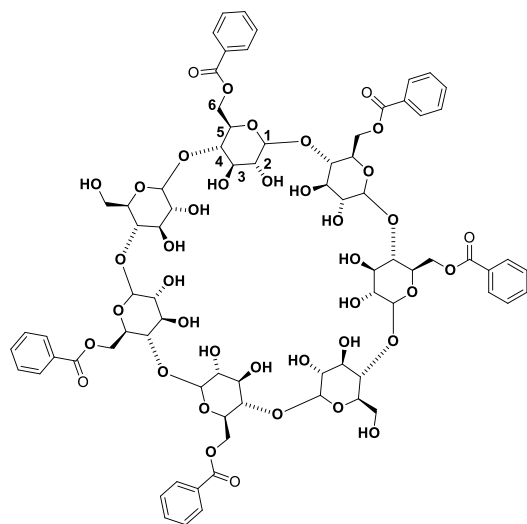
Κατάλληλες ποσότητες β-κυκλοδεξτρίνης και του εκάστοτε φαινολικού οξέος προστίθενται σε σφαιρική φιάλη, παρουσία διαλύτη διμεθυλοφορμαμίδιου (DMF) και καταλυτικής ποσότητας θειικού οξέος (H₂SO₄). Το μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 3 ώρες, στους 120-130 °C, υπό αδρανείς συνθήκες αζώτου και παρουσία κάθετου ψυκτήρα. Στη συνέχεια ψύχεται στους 20 °C και αφήνεται για 24 ώρες. Μετά το πέρας των 24 ωρών, στο προϊόν της αντίδρασης προστίθεται υπέρκορο υδατικό διάλυμα όξινου ανθρακικού νατρίου, μέχρι εξουδετέρωσης του οξέος που υπάρχει στο μίγμα. Ακολουθεί διήθηση του μίγματος, υπό κενό, προκειμένου να απομακρυνθεί το παραχθέν άλας. Το διήθημα που λαμβάνεται εξατμίζεται, υπό κενό, μέχρι στερεού. Το ληφθέν, αυτό, στερεό υφίσταται κατεργασία με διαιθυλαιθέρα, διηθείται υπό κενό και οδηγείται για ξήρανση. Στη συνέχεια, το στερεό προϊόν που παραλαμβάνεται υφίσταται περεταίρω κατεργασία με ακετόνη, όπου το μίγμα που προκύπτει αναδεύεται για 24 ώρες, στους 56 °C, υπό αδρανείς συνθήκες. Τέλος, μετά την κατεργασία αυτή, ακολουθεί διήθηση, για την παραλαβή του καθαρού στερεού, και ξήρανση αυτού.



ΕΙΚΟΝΑ 21: ΓΕΝΙΚΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΕΣΤΕΡΟΠΟΙΗΣΗΣ FISCHER-SPEIER

5.2.1 Εστέρες βενζοϊκού οξέος

5.2.1.1 Εστέρας β-κυκλοδεξτρίνης/βενζοϊκού οξέος αναλογίας 1:6



Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 0,88 mmol β-κυκλοδεξτρίνης (1000 mg) και 6,17 mmol βενζοϊκού οξέος (753 mg), παρουσία διαλύτη DMF (15 mL) και καταλύτη θεικού οξέος (0,12 g). Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC). Το σύστημα διαλυτών που χρησιμοποιείται για αυτόν το σκοπό είναι οξικός αιθυλεστέρας: πετρελαϊκός αιθέρας σε

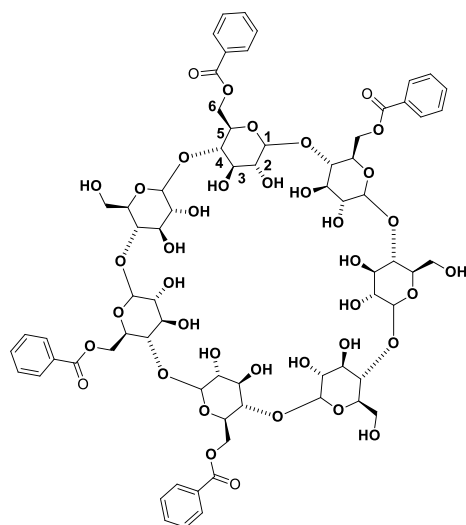
αναλογία 9:1. Μετά το πέρας της αντίδρασης το μίγμα επεξεργάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο και το τελικό στερεό παραλαμβάνεται με τη μορφή καφέ στερεού.

Απόδοση: > 100 % (Λόγω περίσσειας διαλύτη DMF)

¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 7,881 (d, J=6, 10H, H-Ar), 7,294 (m, 15H, H-Ar), 4,834 (s, 7H, 7*H-1), 3,627 (m, 28H, 7*(H-3, H-5, H-6)), 3,359 (m, 14H, 7*(H-2, H-4))

FTIR: 3391 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ OH, <3000 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C-H (αλειφατικοί δεσμοί), 1551 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C=O (καρβονύλιο), 1028 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C-O

5.2.1.2 Εστέρας β-κυκλοδεξτρίνης/βενζοϊκού οξέος αναλογίας 1:3



Ο εστέρας παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 0,33 mmol β-κυκλοδεξτρίνης (374,54 mg) και 1,00 mmol βενζοϊκού οξέος (122,12 mg), παρουσία διαλύτη DMF (5 mL) και καταλύτη θειικού οξέος (0,12 g). Μετά το πέρας της αντίδρασης το μίγμα επεξεργάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο και το τελικό προϊόν παραλαμβάνεται με τη μορφή καφέ στερεού.

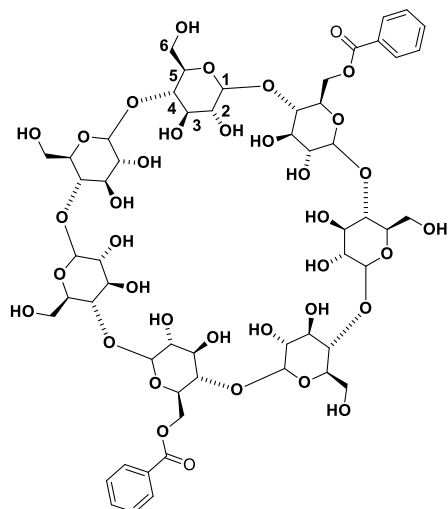
Απόδοση: > 100 % (Λόγω περίσσειας

διαλύτη DMF)

¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 7.864 (d, J=6,6, 8H, H-Ar), 7,269 (m, 12H, H-Ar), 4,823 (s, 7H, 7*H-1), 3.625 (m, 28H, 7*(H-3, H-5, H-6)), 3,345 (m, 14H, 7*(H-2, H-4))

FTIR: 3415 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ OH, <3000 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C-H (αλειφατικοί δεσμοί), 1594 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C=O (καρβονύλιο), 1028 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C-O

5.2.1.3 Εστέρας β-κυκλοδεξτρίνης/βενζοϊκού οξέος αναλογίας 1:1



Η ένωση συντίθεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 0,396 mmol β-κυκλοδεξτρίνης (450,00 mg) και 0,396 mmol βενζοϊκού οξέος (48,36 mg), παρουσία διαλύτη DMF (8 mL) και καταλύτη θειικού οξέος (0,12 g). Η επεξεργασία που ακολουθεί μετά το τέλος της αντίδρασης πραγματοποιείται με βάση τη γενική μέθοδο ενώ το τελικό στερεό παραλαμβάνεται με τη μορφή καφέ στερεού.

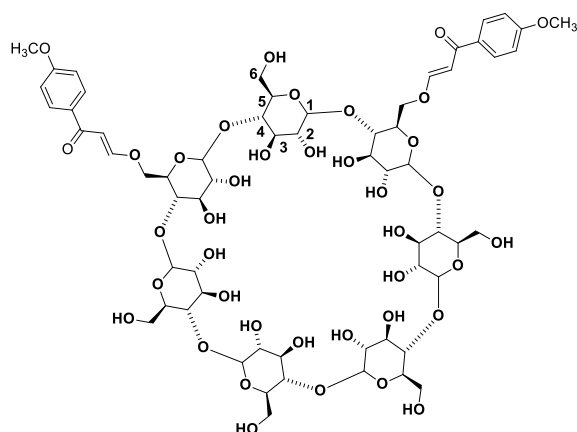
Απόδοση: > 100 % (Λόγω περίσσειας διαλύτη DMF)

¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 7.869 (d, J=6,6, 4H, H-Ar), 7,280 (m, 6H, H-Ar), 4,819 (s, 7H, 7*H-1), 3.615 (m, 28H, 7*(H-3, H-5, H-6)), 3,324 (m, 14H, 7*(H-2, H-4))

FTIR: 3417 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ OH, <3000 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C-H (αλειφατικοί δεσμοί), 1596 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C=O (καρβονύλιο), 1027 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C-O

5.2.2 Εστέρες παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος

5.2.2.1 Εστέρας β-κυκλοδεξτρίνης/παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος αναλογίας 1:6



Η σύνθεση πραγματοποιείται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 0,88 mmol β-κυκλοδεξτρίνης (1000 mg) και 6,17 mmol βενζοϊκού οξέος (1100 mg), παρουσία διαλύτη DMF (15 mL) και καταλύτη θειικού οξέος (0,12 g). Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας

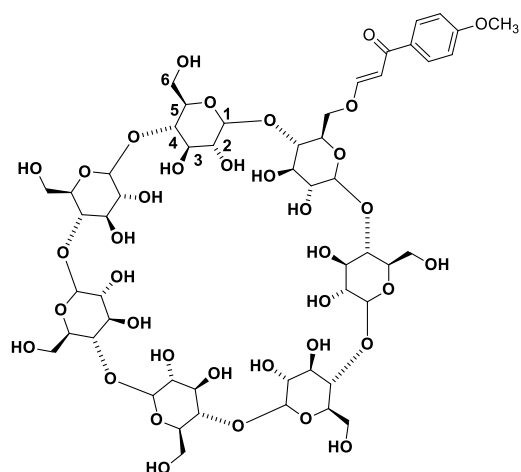
(TLC). Το σύστημα διαλυτών που χρησιμοποιείται για αυτόν το σκοπό είναι οξικός αιθυλεστέρας: πετραλαϊκός αιθέρας σε αναλογία 8:2. Μετά το πέρας της αντίδρασης το μίγμα επεξεργάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο και το τελικό στερεό παραλαμβάνεται με τη μορφή καφέ στερεού.

Απόδοση: > 100 % (Λόγω περίσσειας διαλύτη DMF)

¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 7,438 (d, J=8,4, 4H, H-Ar), 7,113 (d, J=16,2, 2H, 2*Ar-CH=CHCO), 6,902 (d, J=8,4 4H, H-Ar), 6,244 (d, J=15,6 2H, 2*COCH=CH-Ar), 6,026 (m, 14H, 7*(OH-2, OH-3)), 4,821 (s, 7H, 7*H-1), 4,473 (m, 5H, 5*OH-6), 3,758 (s, 6H, 2*OCH₃) 3,603 (m, 28H, 7*(H-3, H-5, H-6)), 3,345 (m, 14H, 7*(H-2, H-4))

FTIR: 3368 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ OH, <3000 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C-H (αλειφατικοί δεσμοί), 1553 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C=O (καρβονύλιο), 1428 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C=C (αλυσίδα οξέος), 1174 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ OCH₃ (μεθόξυ ομάδα), 1029 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C-O

5.2.2.2 Εστέρας β-κυκλοδεξτρίνης/παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος αναλογίας 1:3



Συντίθεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 0,290 mmol β-κυκλοδεξτρίνης (329,14 mg) και 1,02 mmol παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος (181,75 mg), παρουσία διαλύτη DMF (10 mL) και καταλύτη θειικού οξέος (0,12 g). Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC). Το σύστημα διαλυτών που χρησιμοποιείται για αυτόν το σκοπό είναι οξικός αιθυλεστέρας:

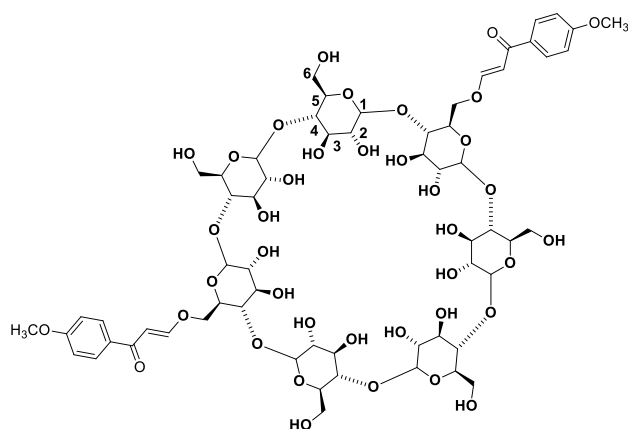
πετραλαϊκός αιθέρας σε αναλογία 8:2. Η επεξεργασία που υφίσταται το τελικό προϊόν μετά το τέλος της αντίδρασης πραγματοποιείται με βάση τη γενική μέθοδο και το στερεό συλλέγεται με τη μορφή καφέ στερεού.

Απόδοση: > 100 % (Λόγω περίσσειας διαλύτη DMF)

¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 7,422 (d, J=8,4, 2H, H-Ar), 7,090 (d, J=16,8, 1H, Ar-CH=CHCO), 6,899 (d, J=7,8, 2H, H-Ar), 6,236 (m, 15H, COCH=CH-Ar, 7*(OH-2, OH-3)), 4,812 (s, 7H, 7*H-1), 4,507 (m, 6H, 6*(OH-6)), 3,755 (s, 3H, OCH₃) 3,593 (m, 28H, 7*(H-3, H-5, H-6)), 3,322 (m, 14H, 7*(H-2, H-4))

FTIR: 3380 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ OH, <3000 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C-H (αλειφατικοί δεσμοί), 1556 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C=O (καρβονύλιο), 1428 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C=C (αλυσίδας οξέος), 1030 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C-O

5.2.2.3 Εστέρας β-κυκλοδεξτρίνης/παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος αναλογίας 1:1



Η αντίδραση γίνεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 0,396 mmol β-κυκλοδεξτρίνης (450,00 mg) και 0,396 mmol παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος (70,56 mg), παρουσία διαλύτη DMF (5 mL) και καταλύτη θειικού οξέος (0,12 g). Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης το μίγμα

επεξεργάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο και το τελικό προϊόν παραλαμβάνεται με τη μορφή καφέ στερεού.

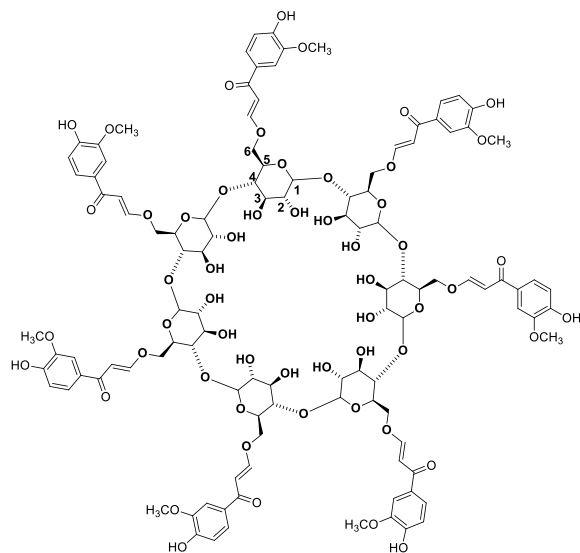
Απόδοση: > 100 % (Λόγω περίσσειας διαλύτη DMF)

¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 7,411 (d, J=8,4, 4H, H-Ar), 7,059 (d, J=15,6, 2H, 2*Ar-CH=CHCO), 6,894 (d, J=8,4, 4H, H-Ar), 6,232 (d, J=16,2, 2H, 2*COCH=CH-Ar), 6,034 (m, 14H, 7*(OH-2, OH-3)), 4,813 (s, 7H, 7*H-1), 4,493 (m, 5H, 5*OH-6), 3,754 (s, 6H, 2*OCH₃) 3,614 (m, 28H, 7*(H-3, H-5, H-6)), 3,317 (m, 14H, 7*(H-2, H-4))

FTIR: 3392 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ OH, <3000 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C-H (αλειφατικοί δεσμοί), 1607 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C=O (καρβονύλιο), 1353 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C=C (αλυσίδας οξέος), 1146 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ OCH₃ (μεθόξυ ομάδα), 1029 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C-O

5.2.3 Εστέρες φερουλικού οξέος

5.2.3.1 Εστέρας β-κυκλοδεξτρίνης/φερουλικού οξέος αναλογίας 1:6



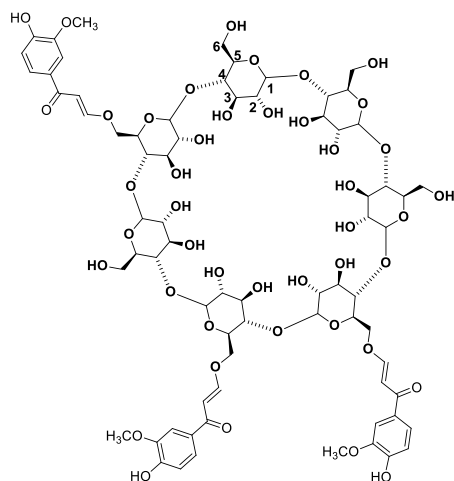
Η σύνθεση του εστέρα πραγματοποιείται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 0,330 mmol β-κυκλοδεξτρίνης (374,54 mg) και 1,980 mmol φερουλικού οξέος (384,50 mg), παρουσία διαλύτη DMF (5 mL) και καταλύτη θειικού οξέος (0,12 g). Με το πέρας της αντίδρασης το μίγμα επεξεργάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο και το τελικό προϊόν παραλαμβάνεται με τη μορφή καφέ στερεού.

Απόδοση: > 100 % (Λόγω περίσσειας διαλύτη DMF)

¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 6,991 (m, 14H, 7*H-Ar, 7* Ar-CH=CHCO), 6,809 (d, J= 7,8, 7H, H-Ar), 6,645 (d, J=7,2, 7H, H-Ar), 6,139 (d, J=16,2, 7H, 7*COCH=CH-Ar), 4,785 (s, 7H, 7*H-1), 3,761 (s, 21H, 7*OCH₃), 3,607 (m, 28H, 7*(H-3, H-5, H-6)), 3,332 (m, 14H, 7*(H-2, H-4))

FTIR: 3419 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ OH, <3000 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C-H (αλειφατικοί δεσμοί), 1599 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C=O (καρβονύλιο), 1397 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C=C (αλυσίδας οξέος), 1146 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ OCH₃ (μεθόξυ ομάδα), 1030 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C-O

5.2.3.2 Εστέρας β-κυκλοδεξτρίνης/φερουλικού οξέος αναλογίας 1:3



Παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο χρησιμοποιώντας 0,396 mmol β-κυκλοδεξτρίνης (450,00 mg) και 1,188 mmol φερουλικού οξέος (230,69 mg), παρουσία διαλύτη DMF (8 mL) και καταλύτη θειικού οξέος (0,12 g). Η επεξεργασία που ακολουθεί γίνεται με βάση τη γενική μέθοδο και το τελικό στερεό παραλαμβάνεται με τη μορφή καφέ στερεού.

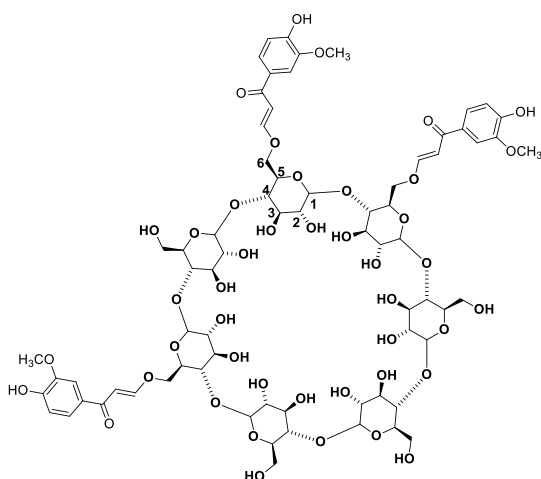
Απόδοση: > 100 % (Λόγω περίσσειας

διαλύτη DMF)

¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 7,047 (d, J=15,6, 3H, 3*Ar-CH=CHCO), 6,945 (s, 3H, H-Ar), 6,795 (d, J=8,4, 3H, H-Ar), 6,604 (d, J=7,8, 3H, H-Ar), 6,102 (d, J=16,2, 3H, 3*COCH=CH-Ar), 4,777 (s, 7H, 7*H-1), 4,468 (m, 4H, 4*(OH-6)), 3,724 (s, 9H, 3*OCH₃), 3,585(m, 28H, 7*(H-3, H-5, H-6)), 3,288 (m, 14H, 7*(H-2, H-4))

FTIR: 3408 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ OH, <3000 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C-H (αλειφατικοί δεσμοί), 1595 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C=O (καρβονύλιο), 1387 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C=C (αλυσίδας οξέος), 1031 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C-O

5.2.3.3 Εστέρας β-κυκλοδεξτρίνης/φερουλικού οξέος αναλογίας 1:1



Για τη σύνθεση του προϊόντος (εστέρα) ακολουθείται η γενική μέθοδος χρησιμοποιώντας 0,290 mmol β-κυκλοδεξτρίνης (329,14 mg) και 0,290 mmol φερουλικού οξέος (56,32 mg), παρουσία διαλύτη DMF (8 mL) και καταλύτη θειικού οξέος (0,12 g). Η επεξεργασία που πραγματοποιείται μετά το τέλος της αντίδρασης γίνεται με βάση τη γενική μέθοδο και το τελικό στερεό παραλαμβάνεται με τη μορφή

καφέ στερεού.

Απόδοση: > 100 % (Λόγω περίσσειας διαλύτη DMF)

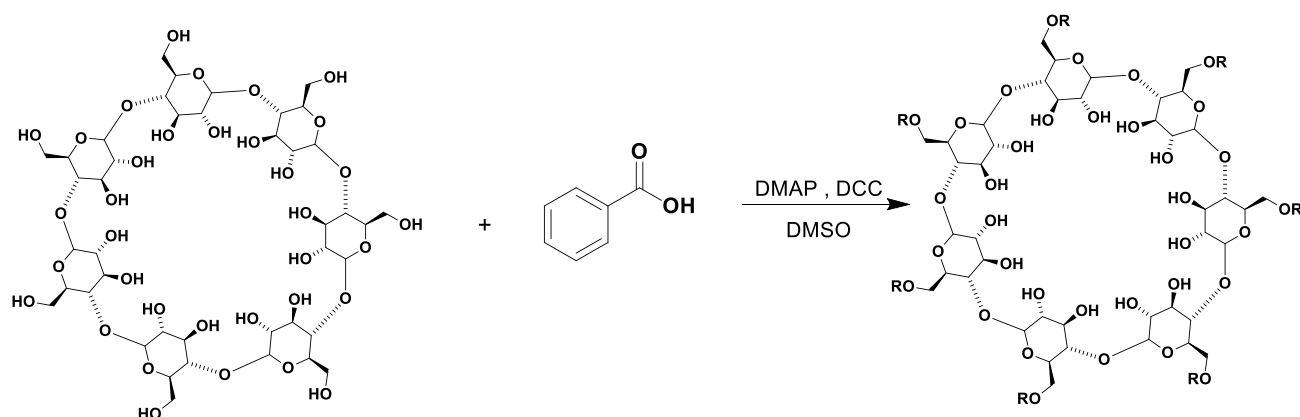
¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 7,046 (m, 6H, 3*H-Ar, 3* Ar-CH=CHCO), 6,852 (d, J= 8,4, 3H, H-Ar), 6,716 (d, J=8,4, 3H, H-Ar), 6,193 (d, J=16,8, 3H, 3*COCH=CH-Ar), 4,815 (s, 7H, 7*H-1), 3,775 (s, 9H, 3*OCH₃), 3,605 (m, 28H, 7*(H-3, H-5, H-6)), 3,328 (m, 14H, 7*(H-2, H-4))

FTIR: 3428 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ OH, <3000 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C-H (αλειφατικοί δεσμοί), 1601 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C=O (καρβονύλιο), 1385 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C=C (αλυσίδας οξέος), 1153 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ OCH₃ (μεθόξυ ομάδα), 1026 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C-O

5.3 Σύνθεση εστέρων β-κυκλοδεξτρίνης μέσω εστεροποίησης Steglich

0,37 mmol (419,90 mg) β-κυκλοδεξτρίνης και 0,41 mmol βενζοϊκού οξέος τοποθετούνται σε σφαιρική φιάλη, παρουσία 3 mL DMSO (διμεθυλοσουλφοξειδίου) και αφήνονται για ανάδευση σε αδρανείς συνθήκες αζώτου και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Παρασκευάζεται δεύτερο διάλυμα, το οποίο περιέχει 0,5 mmol (103,165 mg) DCC (δικυκλοεξυλοκαρβοδιμίδιο), 5 mg DMAP (διμεθυλαμινοπυριδίνη) και 3 mL DMSO. Το δεύτερο, αυτό, διάλυμα προστίθεται στάγδην στο πρώτο. Το μίγμα που προκύπτει αναδεύεται για 48 ώρες, επίσης, υπό αδρανείς συνθήκες και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Με την παρέλευση του χρόνου αυτού, γίνεται προσθήκη μεθανόλης (στάγδην), ώστε να καθιζάνει το στερεό. Τέλος, ακολουθεί διήθηση του μίγματος για την παραλαβή του προϊόντος.

Απόδοση: 0 % (Δεν παρελήφθη στερεό)



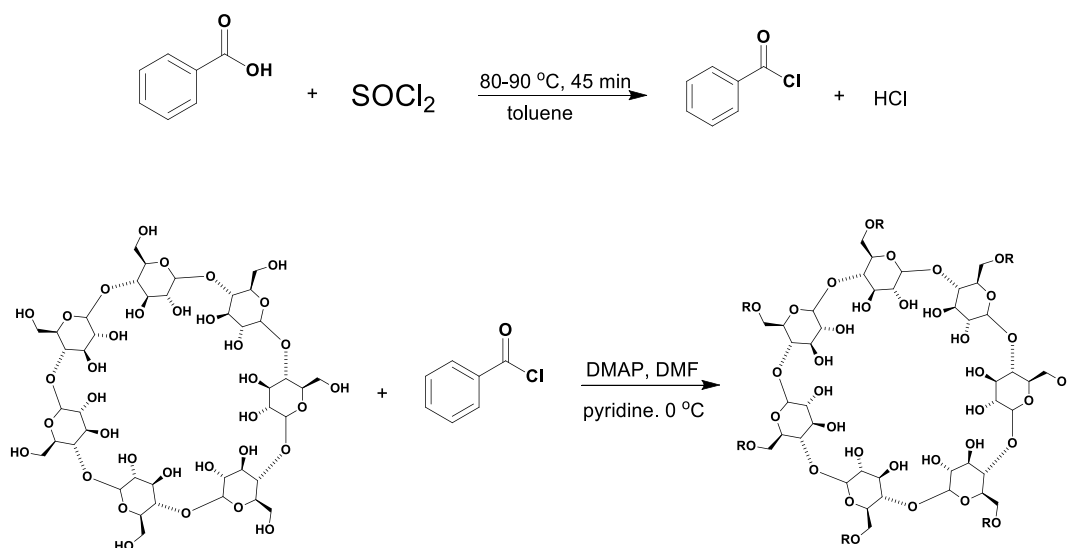
ΕΙΚΟΝΑ 22: ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΕΣΤΕΡΟΠΟΙΗΣΗΣ STEGLICH

5.4 Σύνθεση με αλκοόλυση χλωριδίου οξέος

Η εφαρμογή της μεθόδου αυτής απαιτεί, αρχικά, τη σύνθεση του χλωριδίου του καρβοξυλικού οξέος. Για το σκοπό αυτό προστίθενται σε σφαιρική φιάλη 5 mmol (610,61 mg) βενζοϊκού οξέος και 20 mmol (2379,4 mg/1,45 mL) SOCl_2 (θειονυλοχλωριδίου), παρουσία 11,16 mL διαλύτη τολουολίου. Η αντίδραση αφήνεται για ανάδευση στους 80-90 °C, για 45 λεπτά. Με το πέρας των 45 λεπτών πραγματοποιείται εξάτμιση του διαλύτη (τολουολίου) και ξήρανση του στερεού που παραλαμβάνεται. Το προϊόν πρέπει να χρησιμοποιηθεί άμεσα στην επόμενη αντίδραση, λόγω της αστάθειας που το διακρίνει.

Το παραχθέν χλωρίδιο τοποθετείται σε νέα σφαιρική φιάλη μαζί με 0,33 mmol (374,54 mg) β-κυκλοδεξτρίνης. Παράλληλα προστίθενται 0,5 mL πυριδίνης, 0,067 mL DMAP και 3 mL DMF. Η αντίδραση αφήνεται για ανάδευση για 24 ώρες στους 0 °C. Μετά την πάροδο του χρονικού αυτού διαστήματος το διάλυμα της αντίδρασης προστίθεται στάγδην σε διάλυμα 20 mL ακετόνης, ώστε να καθιζάνει το στερεό προϊόν. Ακολουθεί διήθηση του μίγματος, για την παραλαβή του στερεού. Στη συνέχεια, το στερεό αυτό, διαλύεται σε 5 mL νερού και το νέο διάλυμα προστίθεται στάγδην σε 20 mL μεθανόλης. Έπεται ακολουθεί νέα διήθηση για παραλαβή στερεού. Τα τελευταία τρία στάδια (διάλυση σε νερό, προσθήκη σε μεθανόλη και διήθηση) επαναλαμβάνονται ακόμη μία φορά. Το προϊόν που προκύπτει οδηγείται, τέλος, για ξήρανση.

Απόδοση: - (Το στερεό που παρελήφθη ήταν πανομοιότυπο με τη β-κυκλοδεξτρίνη)



ΕΙΚΟΝΑ 23: ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΧΛΩΡΙΔΙΟΥ ΚΑΙ ΑΛΚΟΟΛΥΣΗΣ ΤΟΥ

ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΕΣΤΕΡΩΝ

6.1 Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)

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

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

Υπάρχουν τρεις βασικές ομάδες πυρήνων:

- Πυρήνες που έχουν άρτιο ατομικό και μαζικό αριθμό δεν παρουσιάζουν γωνιακή στροφορμή ($I=0$), δεν εκδηλώνουν μαγνητικές ιδιότητες και δε δίνουν φάσματα NMR.
- Πυρήνες που έχουν περιττό μαζικό αριθμό και περιττό ή άρτιο ατομικό αριθμό παρουσιάζουν αριθμούς spin που είναι περιττά ακέραια πολλαπλάσια του $\frac{1}{2}$.
- Πυρήνες που έχουν άρτιο μαζικό αριθμό και περιττό ατομικό αριθμό παρουσιάζουν ακέραιους αριθμούς spin,

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

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

Σε δεσμούς H→X, όπου το X αποτελεί δέκτη ηλεκτρονίων, η ηλεκτρονιακή πυκνότητα στον πυρήνα υδρογόνου εμφανίζεται ελαττωμένη, με επακόλουθο τη μειωμένη ηλεκτρονική προστασία και τη μετατόπιση του σήματος συντονισμού σε μικρότερες τιμές πεδίου. Σε δεσμούς H←Y, όμως, όπου το Y είναι δότης ηλεκτρονίων, η ηλεκτρονική πυκνότητα στον πυρήνα υδρογόνου θα είναι αυξημένη και η συχνότητα συντονισμού μετατοπισμένη σε μεγαλύτερες τιμές πεδίου.

Πέραν της ηλεκτρονικής πυκνότητας, η θωράκιση του πρωτονίου επηρεάζει και από την ύπαρξη πολλαπλών δεσμών (π-ηλεκτρόνια), λόγω της εμφανίσεως διαμαγνητικής ανισοτροπίας, δηλαδή λόγω της δυνατότητας περιστροφής των π-ηλεκτρονίων μόνο σε ορισμένες κατευθύνσεις.

Τα πρωτόνια που διαθέτουν το ίδιο χημικό περιβάλλον και είναι χημικώς ισοδύναμα, είναι συνήθως και μαγνητικώς ισοδύναμα. Επομένως, τα πρωτόνια αυτά δίνουν μία μόνο κορυφή. Όταν τα πρωτόνια είναι μεν χημικώς ισοδύναμα, αλλά όχι μαγνητικώς, παρατηρούνται διαφορετικά σήματα συντονισμού.

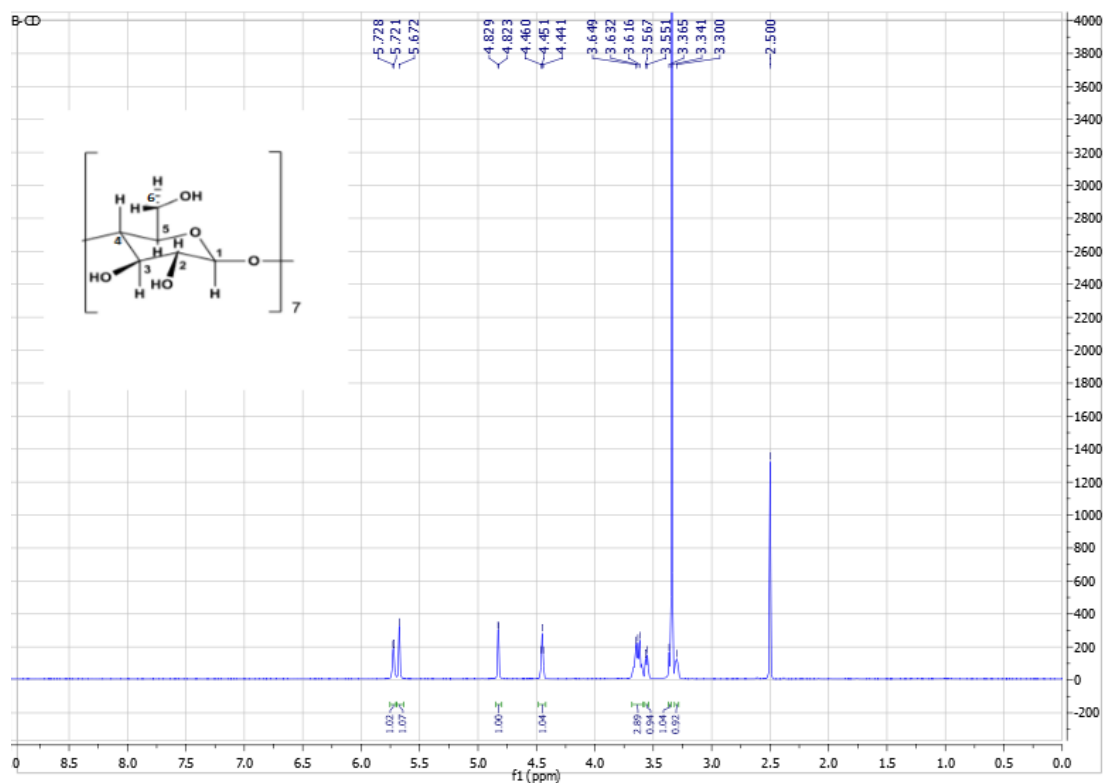
Σε πολλά φάσματα ^1H NMR οι κορυφές συντονισμού διαχωρίζονται σε συμμετρικές πολλαπλές ομάδες κορυφών (διπλές, τριπλές, κλπ.) λόγω της αλληλεπιδράσεως των spin γειτονικών πρωτονίων. Η πολλαπλότητα αυτή καλείται spin spin σύζευξη και οφείλεται στην αλληλεπίδραση των spin γειτονικών μαγνητικών πυρήνων,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

Μία ομάδα μαγνητικώς ισοδυνάμων ^1H , δηλαδή πρωτονίων με ίδιο J, έχει n ισότιμα γειτονικά ^1H , τα οποία δίνουν μία σύνθετη κορυφή στο φάσμα NMR με πολλαπλότητα $(n+1)$ ^{[59],[60]}.

Η ταυτοποίηση της δομής των νέων ενώσεων πραγματοποιήθηκε με Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR) μίας διάστασης. Αναλυτικότερα, μελετήθηκαν τα φάσματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού πρωτονίου των εστέρων β-κυκλοδεξτρίνης, που συντέθηκαν πειραματικά, σε διαλύτη δευτεριωμένο διμεθυλοσουλφοξείδιο(DMSO - d6) και τα οποία ελήφθησαν από το Φασματογράφο NMR Varian Gemini 600 του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών.

6.1.1 Δομή β-κυκλοδεξτρίνης

Στην εικόνα που ακολουθεί περιλαμβάνεται το φάσμα ^1H NMR της β-κυκλοδεξτρίνης δευτεριωμένο DMSO- d_6 .



ΕΙΚΟΝΑ 24: ΦΑΣΜΑ NMR Β-CD

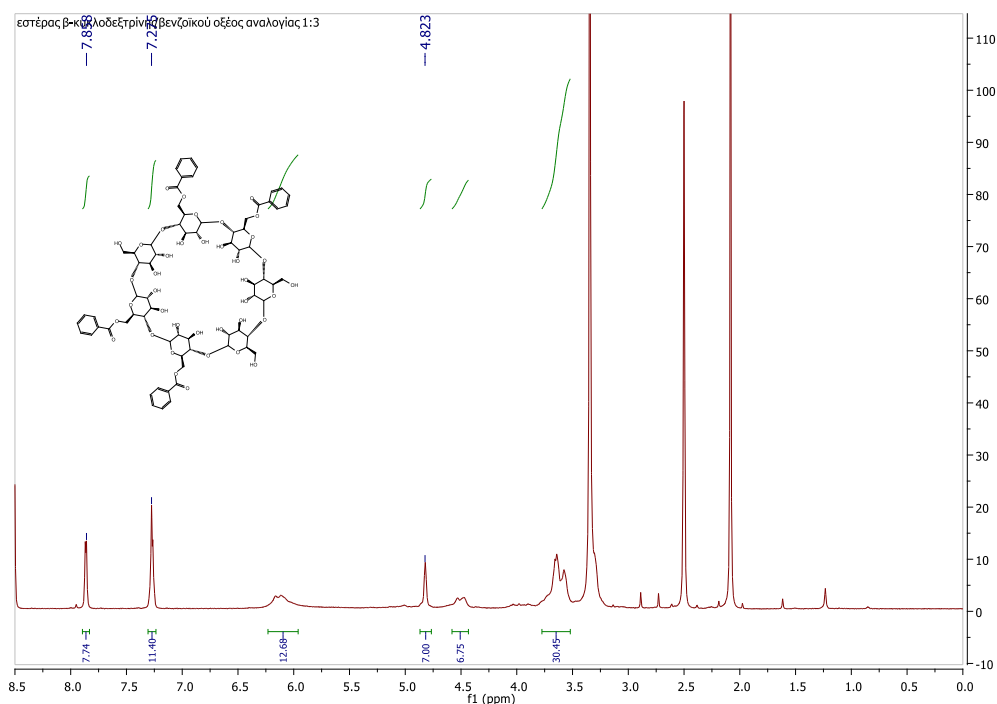
Στο φάσμα εμφανίζονται συγκεκριμένες κορυφές, οι οποίες και αφορούν τα πρωτόνια που υπάρχουν στην β-κυκλοδεξτρίνη. Στον παρακάτω πίνακα παραθέεται η συσχέτιση της κάθε κορυφής με το πρωτόνιο που αντιπροσωπεύει.

| Πρωτόνιο | Χημική μετατόπιση (ppm) |
|----------|-------------------------|
| H-1 | 4,826 |
| H-2 | 3,365 |
| H-3 | 3,632 |
| H-4 | 3,330 |
| H-5 | 3,559 |
| H-6 | 3,632 |
| OH-2 | 5,725 |
| OH-3 | 5,672 |
| OH-6 | 4,451 |

ΠΙΝΑΚΑΣ 6: ΚΟΡΥΦΕΣ ΦΑΣΜΑΤΟΣ Β-CD

6.1.2 Δομή εστέρων βενζοϊκού οξέος

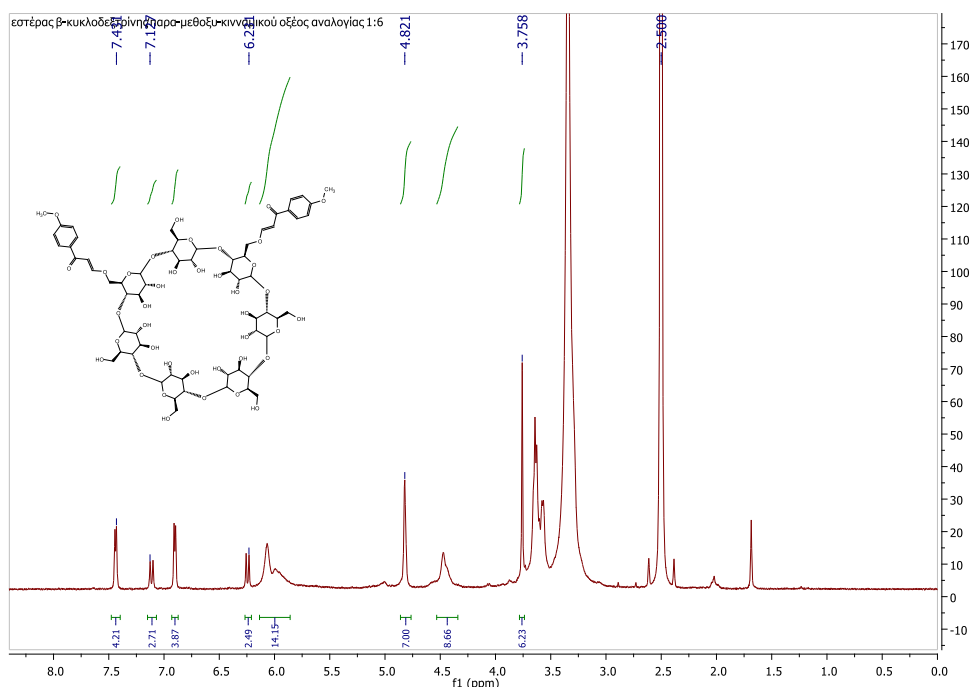
Το φάσμα που ακολουθεί είναι αυτό του εστέρα β-κυκλοδεξτρίνης/βενζοϊκού οξέος, αναλογίας 1:3, μέσω του οποίου εξάγονται σημαντικά συμπεράσματα για τη δομή της συγκεκριμένης ομάδας εστέρων.



ΕΙΚΟΝΑ 25: ΦΑΣΜΑ ΕΣΤΕΡΑ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗΣ/ΒΕΝΖΟΪΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ 1:3

Στα χαμηλότερα πεδία του φάσματος και συγκεκριμένα στα 7.865 και στα 7.270 ppm εμφανίζονται μια διπλή και μια πολλαπλή κορυφή αντίστοιχα, οι οποίες αποδίδονται στα αρωματικά πρωτόνια του εστέρα, που οφείλονται στην παρουσία του βενζοϊκού οξέος. Στη συνέχεια του φάσματος απορροφούν οι κορυφές που αποδίδονται στα πρωτόνια και τα υδροξύλια της κυκλοδεξτρίνης, ελαφρώς μετατοπισμένα λόγω του σχηματισμού των εστερικών δεσμών. Χαρακτηριστικό σήμα της ένωσης αποτελεί η ευρεία κορυφή στα 4.823 ppm που αποδίδεται στο ανωμερικό πρωτόνιο H-1 της β-κυκλοδεξτρίνης. Θέτοντας την ολοκλήρωση της κορυφής αυτής να αντιστοιχεί σε επτά πρωτόνια (όσα και τα σάκχαρα της β-κυκλοδεξτρίνης), παρατηρούμε πως οι κορυφές των αρωματικών πρωτονίων ολοκληρώνουν για οκτώ κι δώδεκα πρωτόνια αντίστοιχα, γεγονός που φανερώνει την τετρα-υποκατάσταση του μακρομορίου και το σχηματισμό τεσσάρων εστερικών δεσμών. .

6.1.3 Δομή εστέρων παρα-μεθοξυ-κινναμικού οξέος

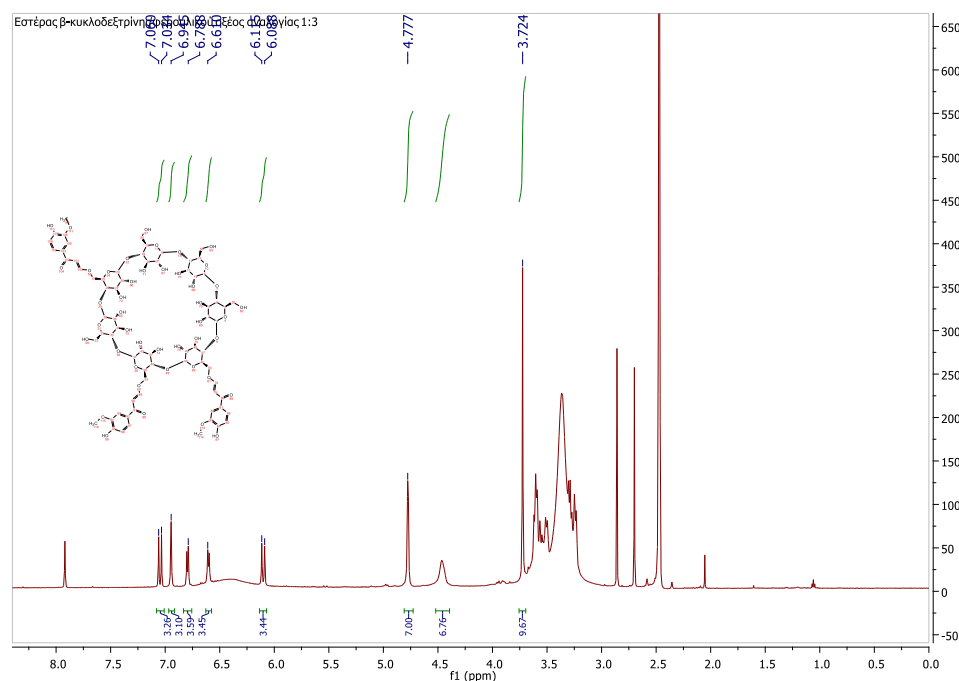


ΕΙΚΟΝΑ 26: ΦΑΣΜΑ ΕΣΤΕΡΑ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗΣ/ΠΑΡΑ-ΜΕΘΟΞΥ ΚΙΝΝΑΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ 1:6

Στους εστέρες του παρα-μεθοξυ-κινναμικού οξέος, πέραν των πρωτονίων της β-κυκλοδεξτρίνης υπάρχουν επιπλέον κορυφές που αποδίδονται στα τέσσερα αρωματικά πρωτόνια του οξέος, σε αυτά του διπλού δεσμού *trans*-γεωμετρίας, και τέλος σε εκείνα της μεθόξυ ομάδας. Τα αρωματικά πρωτόνια είναι ανά δύο χημικά ισοδύναμα και λόγω των μεταξύ τους αλληλεπιδράσεων εμφανίζονται με δύο διπλές κορυφές στα 7,435 και στα 6,905 ppm, αντίστοιχα. Τα πρωτόνια του διπλού δεσμού εντοπίζονται κι αυτά με δύο διπλές κορυφές, στα 7,115 και στα 6,245 ppm, αντίστοιχα, οι οποίες έχουν σαν χαρακτηριστικό τους την μεγάλη σταθερά σύζευξης (15.6 και 16.2 Hz αντίστοιχα), που οφείλεται στην *trans*-γεωμετρία του δεσμού. Η απλή κορυφή στα 3,760 ppm είναι χαρακτηριστική των πρωτονίων της μεθόξυ ομάδας. Οι κορυφές που αντιστοιχούν στα πρωτόνια και τα υδροξύλια της β-κυκλοδεξτρίνης παρουσιάζονται στο φάσμα ελαφρώς μετατοπισμένες, λόγω του σχηματισμού των εστερικών δεσμών. Χαρακτηριστικότερο και πάλι σήμα της ένωσης είναι η ευρεία κορυφή στα 4.821 ppm που αποδίδεται στο ανωμερικό πρωτόνιο H-1 της β-κυκλοδεξτρίνης. Θέτοντας την ολοκλήρωση της κορυφής αυτής να αντιστοιχεί σε επτά πρωτόνια (όσα και τα σάκχαρα της β-κυκλοδεξτρίνης), παρατηρούμε πως οι κορυφές των αρωματικών πρωτονίων ολοκληρώνουν για τέσσερα πρωτόνια η κάθε μία, αυτές του διπλού δεσμού για δύο πρωτόνια η κάθε μία, ενώ η απλή κορυφή της μεθόξυ-ομάδας ολοκληρώνει για έξι πρωτόνια. Τα σήματα αυτά φανερώνουν

την δις-υποκατάσταση του μακρομορίου κι έτσι το σχηματισμό δύο εστερικών δεσμών.

6.1.4 Δομή εστέρων φερουλικού οξέος



ΕΙΚΟΝΑ 27: ΦΑΣΜΑ ΕΣΤΕΡΑ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗΣ/ΦΕΡΟΥΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ 1:3

Στα φάσματα των εστέρων της β-κυκλοδεξτρίνης με το φερουλικό οξύ, τα σήματα του οξέος είναι εμφανή σε όλο το φάσμα. Συγκεκριμένα, τα αρωματικά πρωτόνια με βάση τις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις απορροφούν με δύο διπλές και μία απλή κορυφή, που στο παραπάνω φάσμα αναλογίας 1:3 εντοπίζονται στα 6.795, 6.605 και 6.950 ppm αντίστοιχα. Τα πρωτόνια του διπλού δεσμού trans-γεωμετρίας είναι ορατά στα 7,045 και στα 6,100 ppm, ενώ και πάλι εμφανίζουν χαρακτηριστική υψηλή σταθερά σύζευξης (15.6 και 16.2 Hz αντίστοιχα).. Το φαινολικό υδροξύλιο του φερουλικού οξέος δεν είναι εμφανές στο συγκεκριμένο φάσμα του εστέρα. Οι κορυφές που αντιστοιχούν στα πρωτόνια και τα υδροξύλια της β-κυκλοδεξτρίνης παρουσιάζονται στο φάσμα ελφρώς μετατοπισμένες, λόγω του σχηματισμού των εστερικών δεσμών. Χαρακτηριστικότερο και πάλι σήμα της ένωσης για τον προσδιορισμό του αριθμού των υποκαταστάσεων αποτελεί είναι η ευρεία κορυφή στα 4.777 ppm που αποδίδεται στο ανωμερικό πρωτόνιο H-1 της β-κυκλοδεξτρίνης. Θέτοντας την ολοκλήρωση της κορυφής αυτής να αντιστοιχεί σε επτά πρωτόνια (όσα και τα σάκχαρα της β-κυκλοδεξτρίνης), παρατηρούμε πως οι κορυφές των

αρωματικών πρωτονίων, καθώς και αυτών του διπλού δεσμού ολοκληρώνουν για τρία πρωτόνια η κάθε μία, ενώ η απλή κορυφή της μεθοξυ-ομάδας ολοκληρώνει για εννέα πρωτόνια. Τα σήματα αυτά φανερώνουν την τρις-υποκατάσταση του μακρομορίου κι έτσι το σχηματισμό τριών εστερικών δεσμών.

6.2 Υπέρυθρη φασματομετρία (FT-IR)

Η περιοχή υπερύθρου (IR) του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος καλύπτει την περιοχή αμέσως μετά το ορατό ($7,8 \cdot 10^{-5}$ cm), μέχρι τα 10^{-2} cm περίπου, ωστόσο μόνο η ενδιάμεση περιοχή, από τα $2,5 \cdot 10^{-4}$ έως τα $2,5 \cdot 10^{-3}$ cm, χρησιμοποιείται στην οργανική χημεία. Οι συχνότητες, εντός της περιοχής IR, συνήθως εκφράζονται σε κυματαριθμούς ($\tilde{\nu}$) και όχι σε hertz. Η χρήσιμη περιοχή του IR είναι από τα 4000 cm^{-1} ως τα 400 cm^{-1} .

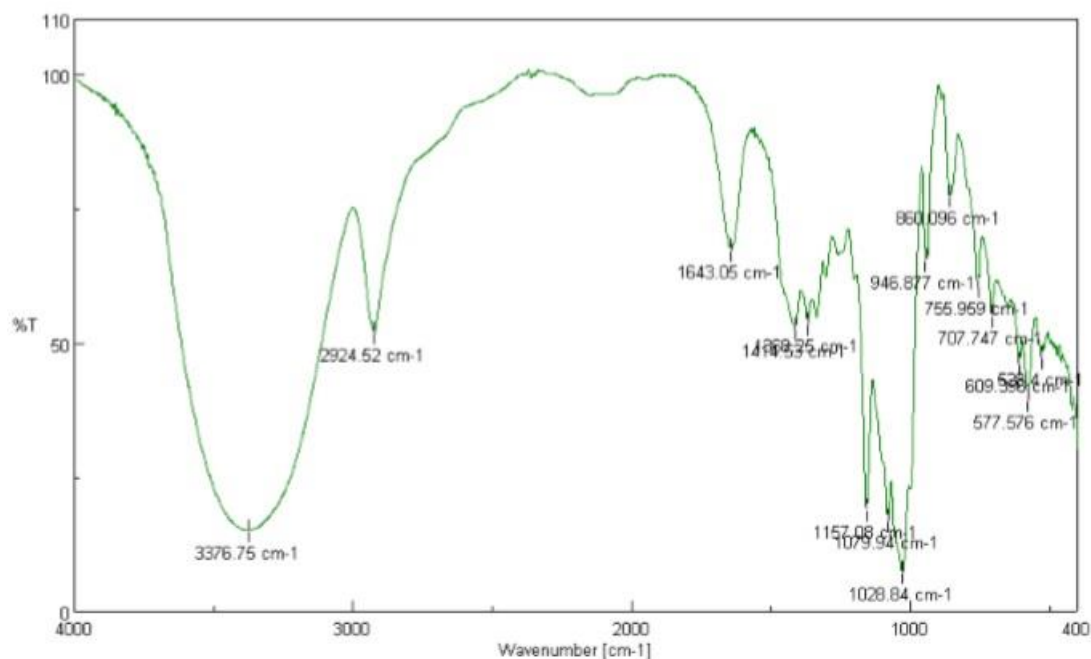
Τα μόρια διαθέτουν κάποια συγκεκριμένη ποσότητα ενέργειας κατανεμημένη σε όλη τη δομή τους, που προκαλεί στους δεσμούς δονήσεις (επιμηκύνσεις) και κάμψεις. Παράλληλα, εξαιτίας της ενέργειας αυτής, τα μόρια πάλλονται και περιστρέφονται, ενώ παρατηρούνται και άλλες μοριακές δονήσεις.

Η ποσότητα της ενέργειας που περιλαμβάνει ένα μόριο δεν μεταβάλλεται κατά συνεχή τρόπο, αλλά είναι κβαντισμένη. Ένα μόριο, δηλαδή, μπορεί να επιμηκύνεται, να κάμπτεται, να πάλλεται σε συγκεκριμένες συχνότητες, που αντιστοιχούν σε συγκεκριμένα ενεργειακά πεδία.

Όταν ένα μόριο απορροφά ακτινοβολία IR, η μοριακή δόνηση που έχει συχνότητα ίση με εκείνη της ακτινοβολίας αυξάνει το πλάτος της. Εφόσον κάθε συχνότητα που απορροφάται από ένα μόριο αντιστοιχεί σε μία προκαθορισμένη μοριακή κίνηση, μελετώντας ένα φάσμα IR, μπορεί να γίνει μία διαπίστωση, όσον αφορά τις κινήσεις του μορίου. Η ερμηνεία των κινήσεων αυτών μπορεί να οδηγήσει σε συμπεράσματα, αναφορικά με το είδος των δεσμών που υπάρχουν στο μόριο. Η πλήρης ερμηνεία ενός φάσματος IR, ωστόσο, είναι δύσκολη, επειδή τα περισσότερα οργανικά μόρια εμφανίζουν πολλές μορφές επιμήκυνσης και κάμψης.^[41]

6.2.1 Μελέτη δομής β-κυκλοδεξτρίνης

Στην εικόνα που ακολουθεί φαίνεται το φάσμα IR της β-κυκλοδεξτρίνης.



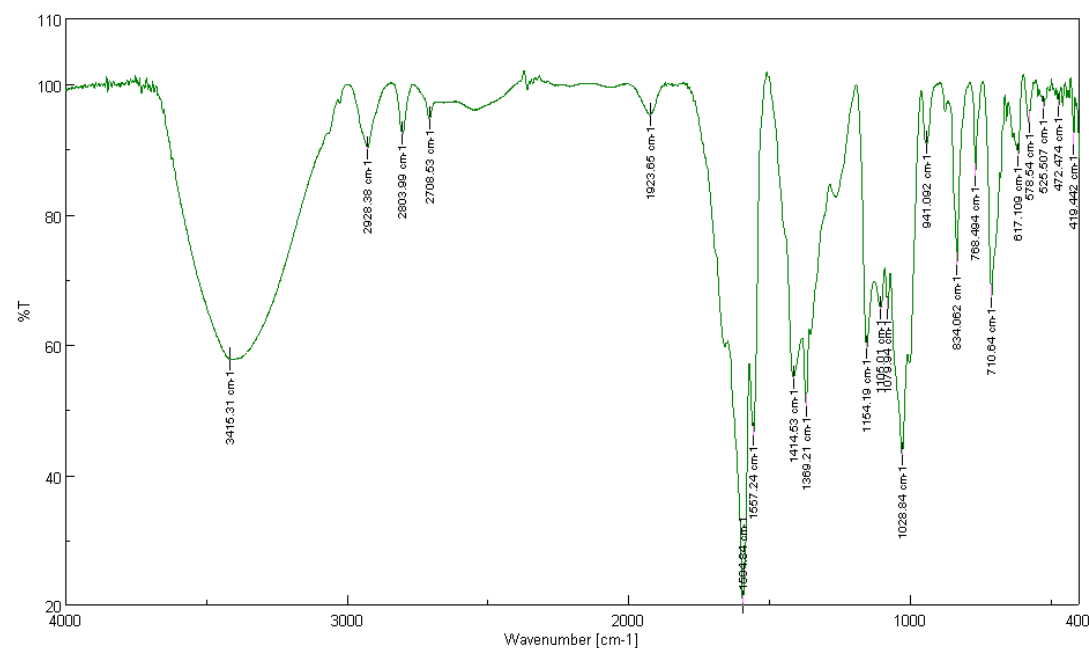
ΕΙΚΟΝΑ 28: ΦΑΣΜΑ IR Β-CD

Οι πιο χαρακτηριστικές κορυφές του φάσματος της β-CD εμφανίζονται στα 3376.75 cm^{-1} , η οποία αποδίδεται στην δόνηση τάσης της ομάδας του υδροξυλίου O-H, στα 2924.52 cm^{-1} , που αποδίδεται δόνηση τάσης των αλειφατικών δεσμών C-H και στα 1643.05 cm^{-1} που σχετίζεται με την ασύμμετρη δόνηση τάσης της ομάδας του μεθυλενίου -CH₂. Η κορυφή στα 1414.53 cm^{-1} αποδίδεται στην δόνηση κάμψης του υδροξυλίου O-H, ενώ τέλος, η χαρακτηριστική κορυφή στα 1028.84 cm^{-1} αποδίδεται στην δόνηση τάσης των ομάδων C-O των δευτεροταγών αλκοολών, που περιέχονται στο μόριο της β-κυκλοδεξτρίνης.

6.2.2 Μελέτη δομής εστέρων β-κυκλοδεξτρίνης/φαινολικών οξέων

Η διαφορά των εστέρων της β-κυκλοδεξτρίνης και της απλής μορφής της έγκειται στην ύπαρξη του μορίου του οξέος, στο τελικό προϊόν.

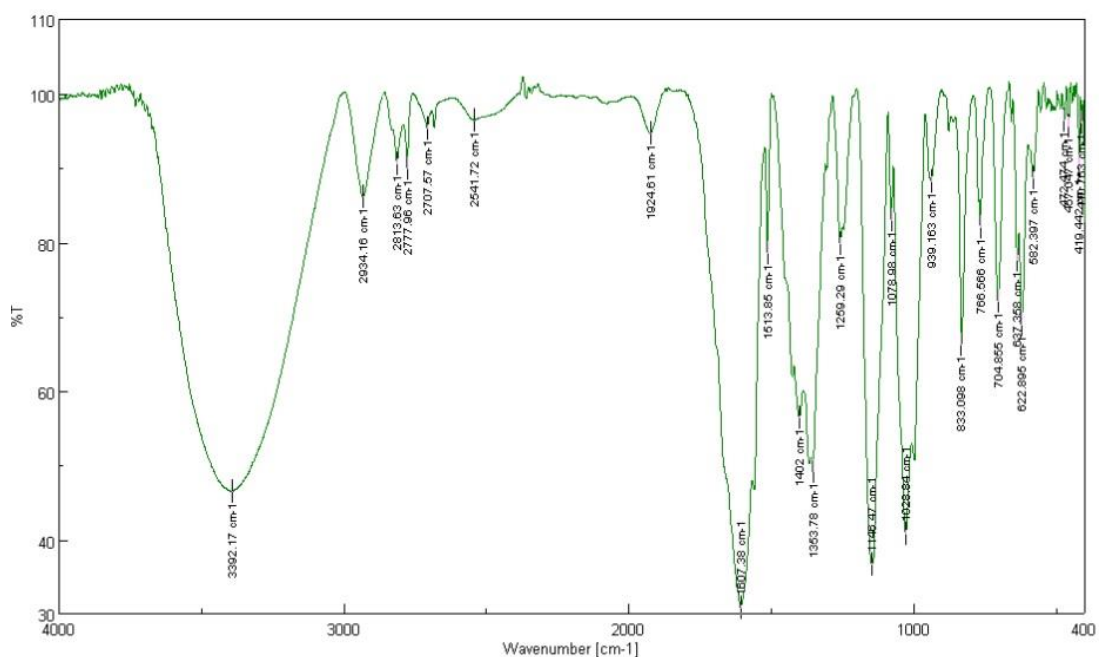
Στους εστέρες του βενζοϊκού οξέος, εκτός της κυκλοδεξτρίνης υπάρχει ακόμα ο αρωματικός δακτύλιος και η ομάδα του καρβονυλίου. Στο φάσμα IR, επομένως, των ενώσεων αυτών, θα πρέπει να εμφανίζεται μία χαρακτηριστική κορυφή που θα αφορά το καρβονύλιο και η οποία θα είναι ενδεικτική της ύπαρξης του οξέος στο τελικό μόριο.



ΕΙΚΟΝΑ 29: ΦΑΣΜΑ IR ΕΣΤΕΡΑ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗΣ/ΒΕΝΖΟΪΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ 1:3

Πράγματι, στο συγκεκριμένο φάσμα διακρίνονται οι κύριες κορυφές που αφορούν τη β-κυκλοδεξτρίνη, ενώ η κορυφή στα 1594,84 cm⁻¹ αποδίδεται στο καρβονύλιο, γεγονός που αποδεικνύει και σε αυτήν την περίπτωση την ύπαρξη του εστέρα.

Οι εστέρες του παρα-μεθόξυ κινναμικού και του φερουλικού οξέος αναμένεται να έχουν παρόμοια φάσματα IR, καθώς η μόνη διαφορά μεταξύ τους, είναι η παρουσία του υδροξυλίου, που είναι συνδεδεμένο στον αρωματικό δακτύλιο του φερουλικού οξέος. Το συγκεκριμένο υδροξύλιο θα εμφανιστεί στην ίδια κορυφή με τα υπόλοιπα υδροξύλια της β-κυκλοδεξτρίνης. Με βάση το γεγονός αυτό οι διαφορές, που θα πρέπει να εντοπίζονται ανάμεσα στα φάσματα της β-CD και των εστέρων της, θα αφορούν την ύπαρξη του καρβονυλίου, της μεθόξυ ομάδας και του διπλού δεσμού των ανθράκων.



ΕΙΚΟΝΑ 30: ΦΑΣΜΑ IR ΕΣΤΕΡΑ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗΣ/ΠΑΡΑ-ΜΕΘΟΞΥ ΚΙΝΝΑΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ 1:1

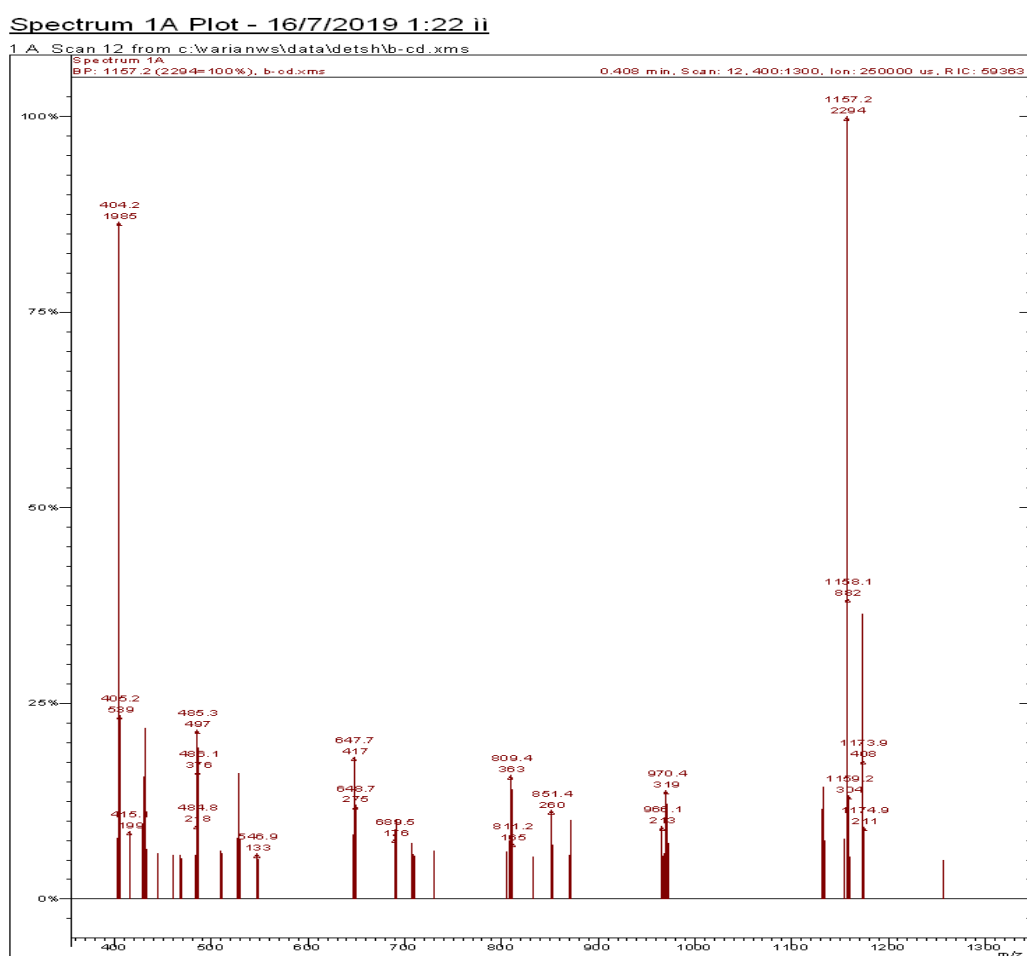
Στο συγκεκριμένο φάσμα είναι εμφανείς οι βασικές κορυφές της β-κυκλοδεξτρίνης, υπάρχουν όμως και εκείνες, οι οποίες επαληθεύουν την επιτυχή αντίδραση εστεροποίησης. Συγκεκριμένα, στα $1607,38\text{ cm}^{-1}$ εμφανίζεται κορυφή που αποδίδεται στη δόνηση τάσης του καρβonyλίου του εστέρα, στα $1353,78\text{ cm}^{-1}$ κορυφή που αποδίδεται στη δόνηση τάσης διπλών δεσμών μεταξύ ανθράκων και τέλος στα $1146,47\text{ cm}^{-1}$ αυτή που αντιστοιχεί στη δόνηση τάσης του απλού δεσμού μεταξύ άνθρακα και οξυγόνου (C-O).

6.3 Φασματομετρία μάζας (MS)

Η φασματομετρία μάζας αποτελεί μία τεχνική μέθοδο μέτρησης μάζας και άρα μοριακού βάρους. Μέσω της μεθόδου αυτής είναι συχνά δυνατό να συγκεντρωθούν πληροφορίες για μία άγνωστη δομή, μετρώντας τη μάζα των

θραυσμάτων που προκύπτουν από την αποσύνθεση μορίων υψηλής ενέργειας. Ανάμεσα στα διαφορετικά είδη φασματομέτρων, πιο διαδεδομένο είναι το όργανο ιοντισμού ηλεκτρονίων με μαγνητικό τμήμα.

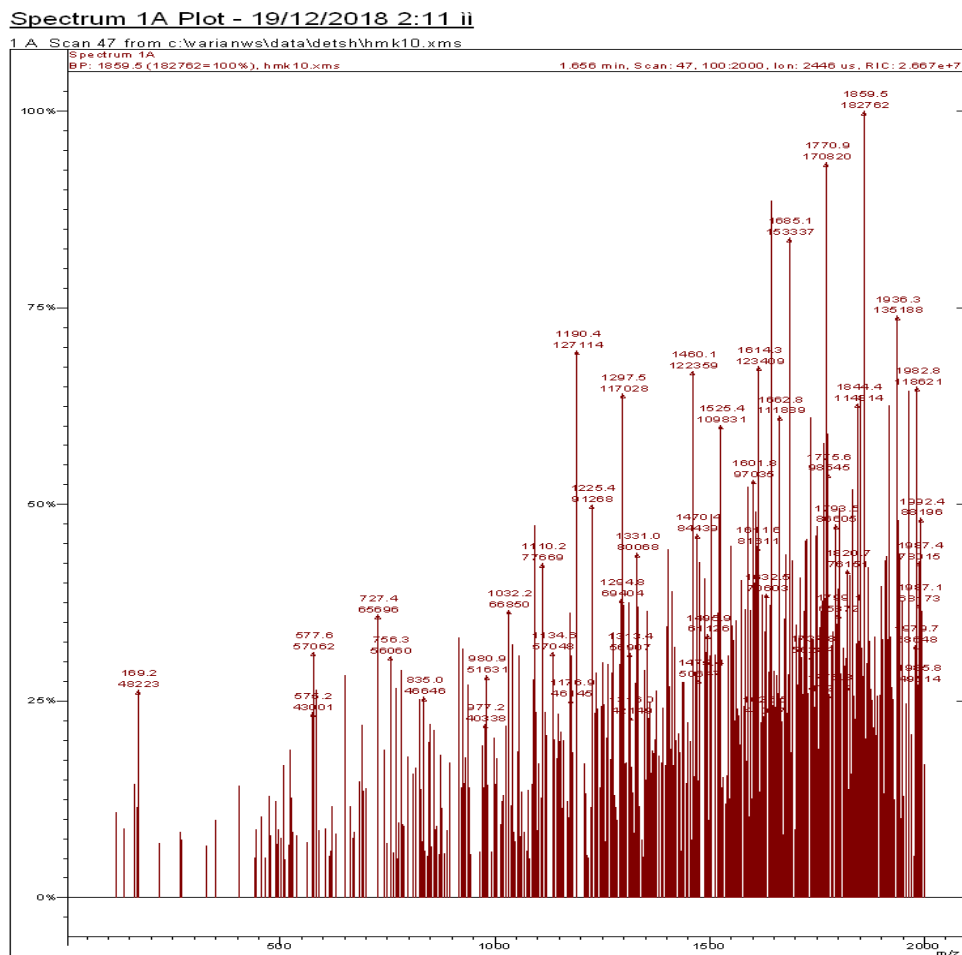
Τα φάσματα μαζών παριστάνονται, συνήθως, ως γραφήματα, με τη μάζα (τιμές m/z) στον άξονα των x και την ένταση στον άξονα των y . Στην υψηλότερη κορυφή, η οποία και καλείται βασική κορυφή, αποδίδεται αυθαίρετα ένταση 100 %.



ΕΙΚΟΝΑ 31: ΦΑΣΜΑ MS Β-ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗΣ

Στην παραπάνω εικόνα επεικονίζεται το φάσμα μάζας της β-κυκλοδεξτρίνης. Η κορυφή στα 1157 m/z αποδίδεται στο μοριακό ιόν της β-κυκλοδεξτρίνης (μοριακό βάρος= 1134,98 g/mol), το οποίο είναι συνδεδεμένο με ένα άτομο νατρίου (μοριακό βάρος=22,99 g/mol). Η παρουσία του νατρίου οφείλεται στα γυάλινα σκεύη που χρησιμοποιήθηκαν, κατά τη διάρκεια των μετρήσεων, των οποίων το νάτριο αποτελεί συστατικό. Οι κορυφές στα 970,4, 809,4, 647,7 και

485,3 m/z αποδίδονται στο μοριακό ιόν αφαιρώντας κάθε φορά ένα αφυδατωμένο μόριο γλυκόζης.



ΕΙΚΟΝΑ 32: ΦΑΣΜΑ MS ΕΣΤΕΡΑ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗΣ/ΦΕΡΟΥΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ 1:1

Περνώντας στα φάσματα MS των εστέρων β-κυκλοδεξτρίνης είναι εμφανές ότι η ερμηνεία τους είναι πολύ πιο περίπλοκη. Η β-CD από μόνη της αποτελεί ένα μακρομόριο (κυκλικός ολιγοσακχαρίτης) με πολύπλοκη δομή, η οποία μετά την αντίδραση εστεροποίησης γίνεται ακόμα πιο σύνθετη. Στο τελικό προϊόν, πέραν του εστέρα, υπάρχει και σημαντική ποσότητα διαλύτη (DMF), γεγονός που καθιστά την ερμηνεία του φάσματος αρκετά πιο δύσκολη, αφού, ουσιαστικά, πρόκειται για μίγμα ενώσεων. Παρ' όλα αυτά κάποιες χαρακτηριστικές κορυφές, οι οποίες αποδεικνύουν την επιτυχία της αντίδρασης εστεροποίησης είναι εμφανείς.

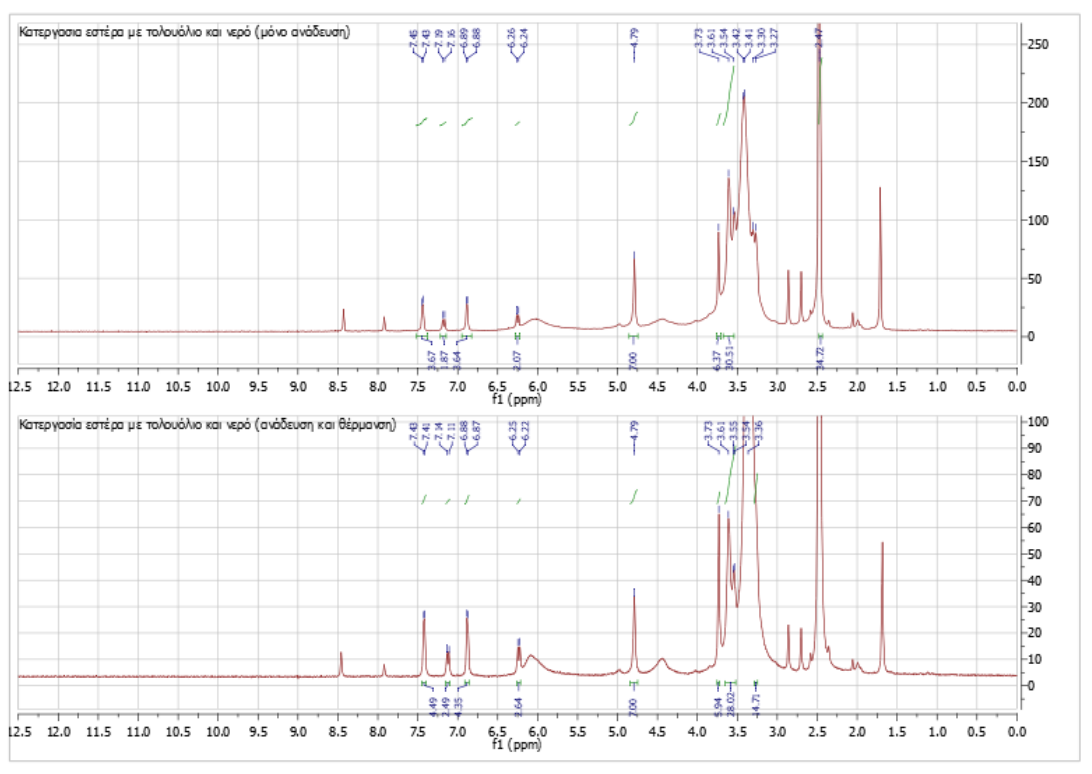
Στην παραπάνω εικόνα απεικονίζεται το φάσμα μάζας του εστέρα β-κυκλοδεξτρίνης/φερουλικού οξέος αναλογίας 1:1. Στα 1662,8 m/z εμφανίζεται το μοριακό ιόν του τρις-υποκατάστατου εστέρα, ενώ η κορυφή στα 1685,1 m/z αποδίδεται στο μοριακό ιόν που είναι συνδεδεμένο με ένα άτομο νατρίου. Στα 1176,8 m/z εντοπίζεται μία κορυφή που αποδίδεται στο μοριακό ιόν του εστέρα αφαιρώντας από αυτό τρία μόρια αφυδατωμένης γλυκόζης. Τέλος στα 1134,6 m/z αποδίδεται η κορυφή που αντιστοιχεί στο θραύσμα της β-κυκλοδεξτρίνης.

7. Καθαρισμός τελικών προϊόντων

Με τη χρήση των φασματοσκοπικών μεθόδων που αναφέρθηκαν παραπάνω πραγματοποιήθηκε η επαλήθευση της επιτυχίας, της αντίδρασης εστεροποίησης. Πέραν όμως τούτου, ήρθε στην επιφάνεια, μέσω της φασματομετρίας NMR, το πρόβλημα της ύπαρξης του διαλύτη (DMF) στο τελικό προϊόν. Συγκεκριμένα, το DMF εμφανίζεται στα φάσματα NMR με τρεις απλές κορυφές, δύο στα 2,5-3 ppm και μία στα 8,5 ppm. Για το λόγο αυτό πραγματοποιήθηκαν ορισμένες προσπάθειες για την απομάκρυνσή του.

7.1 Κατεργασία με τολουόλιο και νερό

Η πρώτη μέθοδος που εφαρμόστηκε ήταν η κατεργασία του τελικού προϊόντος με τολουόλιο και νερό. Αναλυτικότερα, πραγματοποιήθηκε διάλυση μίας ποσότητας του εστέρα β-κυκλοδεξτρίνης/παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος αναλογίας 1:6 σε 20 mL νερού και 7 mL τολουολίου και το μίγμα αφέθηκε για ανάδευση για 2 ώρες. Μία άλλη ποσότητα του ίδιου εστέρα διαλύθηκε σε 100 mL νερού και 4 mL τολουολίου και το μίγμα αφέθηκε, επίσης, για ανάδευση, με παράλληλη θέρμανση όμως αυτή τη φορά, για το ίδιο χρονικό διάστημα. Με το πέρας των 2 ωρών τα δύο δείγματα οδηγήθηκαν για εξάτμιση, με σκοπό την απομάκρυνση των διαλυτών, ενώ τέλος, ακολούθησε διήθηση και ξήρανση των τελικών προϊόντων.



ΕΙΚΟΝΑ 33: ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΟ ΦΑΣΜΑ ΚΑΤΕΡΓΑΣΙΑΣ ΕΣΤΕΡΑ ΜΕ ΤΟΛΟΥΟΛΙΟ ΚΑΙ ΝΕΡΟ ΜΕ ΘΕΡΜΑΝΣΗ ΚΑΙ ΧΩΡΙΣ

Στην παραπάνω εικόνα παρουσιάζεται το συγκριτικό φάσμα του εστέρα έχοντας υποστεί και τις δύο κατεργασίες. Οι κορυφές του DMF είναι εμφανείς και στα δύο φάσματα, στο δεύτερο (ανάδευση και θέρμανση), ωστόσο, η έντασή τους εμφανίζεται ελαφρώς μειωμένη. Παρ' όλα αυτά, ο συγκεκριμένος τρόπος καθαρισμού των ενώσεων απορρίφθηκε, λόγω της αυξημένης παρουσίας του διαλύτη στο τελικό προϊόν.

7.2 Καθαρισμός με χρωματογραφική στήλη

Μία ακόμη μέθοδος καθαρισμού που εφαρμόστηκε ήταν και η χρωματογραφία. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται, γενικά, για τον διαχωρισμό χημικών ουσιών και βασίζεται στη διαφορετική κατανομή των ενώσεων που περιέχονται σε ένα μίγμα, μεταξύ μίας στατικής και μίας κινούμενης φάσης. Ανάλογα με το είδος των δύο φάσεων, η χρωματογραφία διακρίνεται σε αέρια και υγρή, ενώ η αρχή στην οποία στηρίζεται χωρίζει τα διάφορα είδη χρωματογραφίας σε χρωματογραφία κατανομής, ιονανταλλαγής, πηκτής και προσρόφησης. Επίσης, ανάλογα με τον τρόπο, με τον οποίο η στατική φάση συγκρατεί τις ουσίες,

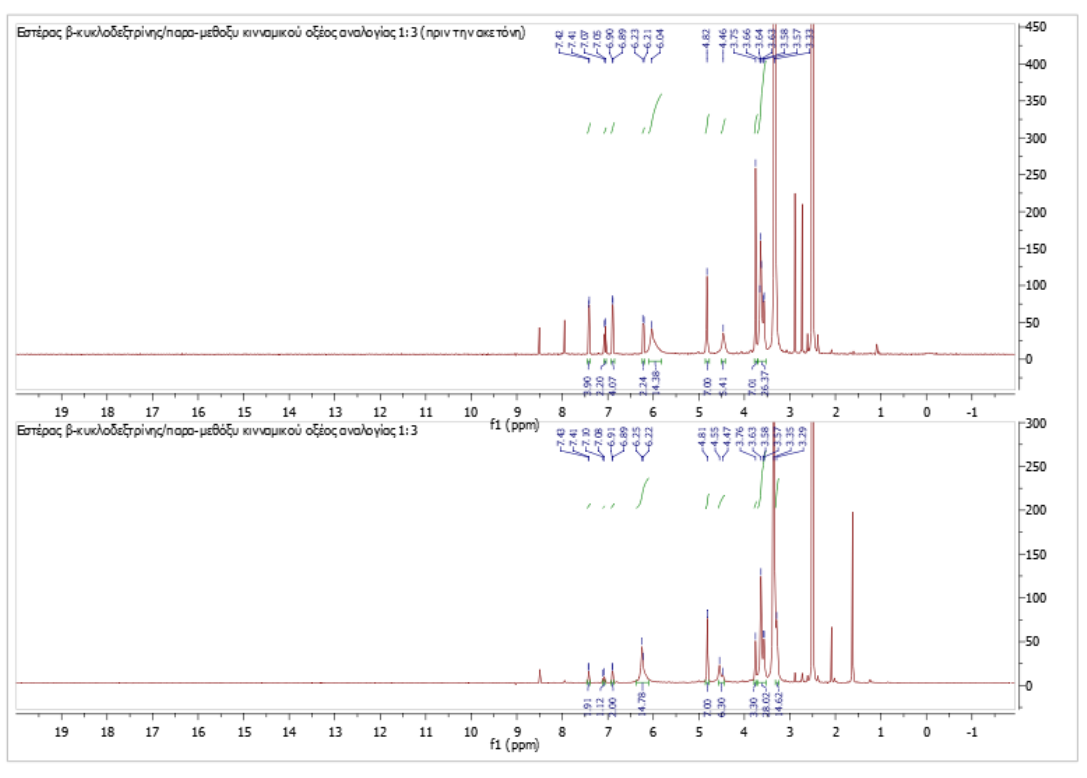
έχουμε τις χρωματογραφίες λεπτής στοιβάδας, στήλης και τη χαρτοχρωματογραφία.

Για την απομάκρυνση του DMF από το τελικό προϊόν χρησιμοποιήθηκε η χρωματογραφία στήλης, ενώ το προϊόν που επιλέχθηκε για καθαρισμό ήταν ο εστέρας β-κυκλοδεξτρίνης/βενζοϊκού οξέος αναλογίας 1:1. Η εφαρμογή της συγκεκριμένης μεθόδου απαιτεί τη δημιουργία πορώδους, στο κάτω μέρος της στήλης, με τη χρήση άμμου. Κάτω από την άμμο τοποθετείται βαμβάκι, ενώ τέλος για στατική φάση χρησιμοποιείται silica gel. Σαν σύστημα διαλυτών χρησιμοποιήθηκε ένα μίγμα οξικού αιθυλεστέρα, μεθανόλης και νερού, αυξανόμενης πολικότητας. Τα συστατικά, που εξέρχονται της στήλης, συλλέγονται σε δοκιμαστικούς σωλήνες, σε κλάσματα. Η διαδικασία ελέγχεται, ταυτόχρονα, με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας.

Από τη λήψη των φασμάτων NMR, των διαφόρων κλασμάτων, εξήχθη το συμπέρασμα ότι ο καθαρισμός με χρήση χρωματογραφίας στήλης δεν ενδείκνυται. Πιο συγκεκριμένα, στο φάσμα ορισμένων κλασμάτων εντοπίζονται μόνο οι κορυφές του βενζοϊκού οξέος και καμία αντιπροσωπευτική της β-κυκλοδεξτρίνης, ενώ στα φάσματα μεταγενέστερων κλασμάτων δεν εμφανίζονται κορυφές, ούτε του οξέος, ούτε της β-CD.

7.3 Καθαρισμός με ακετόνη

Η τελευταία διεργασία καθαρισμού που εφαρμόστηκε ήταν η κατεργασία του τελικού εστερικού προϊόντος με ακετόνη. Αναλυτικότερα, το στερεό που συντίθεται, μέσω αντίδρασης εστεροποίησης Fischer-Speier, τοποθετείται σε σφαιρική φιάλη, μαζί με ποσότητα ακετόνης. Το μίγμα αφήνεται για ανάδευση, υπό αδρανείς συνθήκες και σε θερμοκρασία 57 °C, για 24 ώρες. Ακολουθεί διήθηση, για την παραλαβή του στερεού και ξήρανση αυτού.



ΕΙΚΟΝΑ 34: ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΟ ΦΑΣΜΑ ΕΣΤΕΡΑ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗΣ/ΠΑΡΑ-ΜΕΘΟΞΥ ΚΙΝΝΑΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ 1:3 (ΠΡΙΝ ΚΑΙ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΚΑΤΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΑΚΕΤΟΝΗ)

Στην παραπάνω εικόνα παρουσιάζεται το συγκριτικό φάσμα ^1H NMR του εστέρα πριν υποστεί κατεργασία με ακετόνη, και το αντίστοιχο μετά την κατεργασία. Από τη σύγκριση των δύο φασμάτων συμπεραίνεται, ότι η χρήση της ακετόνης για την απομάκρυνση του DMF κρίνεται, σε πολύ μεγάλο βαθμό επιτυχής. Στο δεύτερο φάσμα διακρίνονται, μεν οι κορυφές του διαλύτη, αλλά σε πολύ μικρότερη ένταση, εν συγκρίσει με το πρώτο. Στην περίπτωση άλλων εστέρων, ωστόσο, η μείωση του DMF δεν ήταν τόσο μεγάλη. Παρ' όλα αυτά η συγκεκριμένη μέθοδος καθαρισμού φαίνεται αρκετά αποτελεσματική, σε σχέση με τις άλλες δύο που εφαρμόστηκαν, για αυτό και επιλέχθηκε να αποτελέσει μέρος της πειραματικής διεργασίας σύνθεσης των εστέρων.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

8.1 Αριθμός υποκαταστάσεων στους νέους εστέρες

Στην αντίδραση εστεροποίησης συμμετέχει το υδροξύλιο του άνθρακα 6, της β-κυκλοδεξτρίνης. Λόγω της δομής της η β-CD διαθέτει 7 τέτοια υδροξύλια. Το γεγονός αυτό σημαίνει ότι μπορεί να υπάρχουν μέχρι και 7 υποκαταστάσεις στο μόριο της. Η εξακρίβωση του αριθμού των υποκαταστάσεων γίνεται μέσω της φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR). Συγκεκριμένα μελετώνται οι κορυφές που αφορούν το κάθε οξύ (αρωματικά πρωτόνια κ.τ.λ.), καθώς και η κορυφή που αντιστοιχεί στο υδροξύλιο του άνθρακα 6, όπου αυτή είναι εμφανής. Από τον αριθμό των πρωτονίων, για τα οποία ολοκληρώνονται οι κορυφές αυτές, εξάγονται τα συμπεράσματα για τον αριθμό των υποκαταστάσεων σε κάθε εστέρα.

Στον πίνακα που ακολουθεί παραθέτονται τα στοιχεία για τις υποκαταστάσεις σε κάθε μόριο εστέρα.

| Ενώσεις | Αναλογία κυκλοδεξτρίνης/φαινολικού οξέος | Αριθμός υποκαταστάσεων |
|---|--|---------------------------|
| Εστέρες βενζοϊκού οξέος | 1:1 | 2 |
| | 1:3 | 4 |
| | 1:6 | 5 |
| Εστέρες παρα- μεθόξυ κινναμικού οξέος | 1:1 | 2 |
| | 1:3 | 1 |
| | 1:6 | 2 |
| Εστέρες φερουλικού οξέος | 1:1 | 3 |
| | 1:3 | 3 |
| | 1:6 | 7 |

ΠΙΝΑΚΑΣ 7: ΑΡΙΘΜΟΣ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΕΩΝ ΕΣΤΕΡΩΝ

8.2 Διαλυτότητα

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, ένα από τα σημαντικότερα ζητήματα που αφορούν τη β-κυκλοδεξτρίνη και τις εφαρμογές της είναι η μειωμένη της διαλυτότητα στο νερό. Στην παρούσα εργασία, μέσω όλων των πειραματικών δοκιμών που διενεργήθηκαν εξήχθη το συμπέρασμα ότι οι εστέρες της β-CD παρουσιάζουν σημαντικά αυξημένη διαλυτότητα, συγκριτικά με τις αρχικές ενώσεις. Ο παρακάτω πίνακας περιλαμβάνει τα στοιχεία που αποδεικνύουν την αύξηση αυτή.

| Ένωση | Διαλυτότητα (g/100 mL) |
|---------------------------|------------------------|
| β-κυκλοδεξτρίνη | 1,85 |
| Βενζοϊκό οξύ | 0,34 |
| Παρα-μεθόξυ κινναμικό οξύ | 0,0717 |
| Φερουλικό οξύ | 0,078 |
| Εστέρες β-κυκλοδεξτρίνης | >3 |

ΠΙΝΑΚΑΣ 8: ΔΙΑΛΥΤΟΤΗΤΑ ΑΡΧΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΚΑΙ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

8.3 Αντιοξειδωτική δράση

Για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης των νέων εστέρων χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο δέσμευσης της σταθερής ελεύθερης ρίζας DPPH. Η ένωση αναφοράς για τη μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο του DPPH ήταν το γαλλικό οξύ.

Αρχικά ζυγίζονται 2.5 mg DPPH σε ογκομετρική φιάλη και σε αυτά προστίθενται 100 ml καθαρής αιθανόλης. Το διάλυμα αυτό αναδεύεται με σκοπό την πλήρη διάλυση του DPPH. Ακολουθώντας, μετράται η απορρόφηση του διαλύματος στα 515 nm μέσω φασματοσκοπίας υπεριώδους-ορατού (UV-VIS). Παράλληλα, παρασκευάζεται διάλυμα της ένωσης (εστέρα) που πρόκειται να αξιολογηθεί σε κατάλληλο διαλύτη. Ο διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε στην περίπτωση αυτή, ήταν το νερό. Αναλυτικότερα, προστίθενται 10 mg της ένωσης σε 1,5 ml νερού και ανάλογα με τον αποχρωματισμό του DPPH μπορεί να χρειαστεί κατάλληλη αραιώση ή πύκνωση του διαλύματος. Από το τελευταίο διάλυμα που προκύπτει, φτιάχνονται τελικά 5 διαλύματα, διαφορετικής συγκέντρωσης της ένωσης, λαμβάνοντας κάθε φορά μία μικρή ποσότητα από το διάλυμα και αραιώνοντας με νερό. Σε αυτά τα διαλύματα προστίθενται 3,9 ml από το αρχικό διάλυμα DPPH-αιθανόλης και αφήνονται για περίπου 30 λεπτά. Στη συνέχεια, μετράται η απορρόφηση των διαλυμάτων καθώς και ενός πρότυπου δείγματος (blank) που περιέχει μόνο διαλύτη (100 μL) και 4 ml DPPH. Οι μετρήσεις αυτές επαναλαμβάνονται και μετά από 30 ακόμη λεπτά (συνολικά 1 ώρα). Η ελεύθερη

ρίζα DPPH είναι αρκετά φωτοευαίσθητη, για αυτό και όλα τα διαλύματα που περιέχουν DPPH καλύπτονται με αλουμινόχαρτο, για την αποφυγή της επαφής τους με το φως.

Τα αποτελέσματα που προκύπτουν, συγκρίνονται με αυτά του γνωστού αντιοξειδωτικού, γαλλικού οξέος, κι έτσι λαμβάνεται το IC₅₀ του δείγματος. Ως IC₅₀ ορίζεται η ελάχιστη συγκέντρωση που απαιτείται, για τη δέσμευση του 50% των ελευθέρων ριζών.

| Ένωση | Χρόνος | IC ₅₀ (μg/mL) |
|--|--------|--------------------------|
| β-κυκλοδεξτρίνη | 30 min | - |
| | 60 min | - |
| Εστέρας βενζοϊκού οξέος αναλογίας 1:1 | 30 min | - |
| | 60 min | - |
| Εστέρας βενζοϊκού οξέος αναλογίας 1:3 | 30 min | - |
| | 60 min | - |
| Εστέρας βενζοϊκού οξέος αναλογίας 1:6 | 30 min | 135,66 |
| | 60 min | 122,93 |
| Εστέρας παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος αναλογίας 1:1 | 30 min | - |
| | 60 min | - |
| Εστέρας παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος αναλογίας 1:3 | 30 min | - |
| | 60 min | - |
| Εστέρας παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος αναλογίας 1:6 | 30 min | - |
| | 60 min | - |
| Εστέρας φερουλικού οξέος αναλογίας 1:1 | 30 min | 129 |
| | 60 min | 112 |
| Εστέρας φερουλικού οξέος αναλογίας 1:3 | 30 min | 52,89 |
| | 60 min | 40,81 |
| Εστέρας φερουλικού οξέος αναλογίας 1:6 | 30 min | 47,98 |
| | 60 min | 42,82 |
| Γαλλικό οξύ | - | 6,74 |

ΠΙΝΑΚΑΣ 9: ΜΕΛΕΤΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα διπλωματική εργασία επιχειρήθηκαν τρεις διαφορετικές μέθοδοι εστεροποίησης της β-κυκλοδεξτρίνης με φαινολικά οξέα, καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι η εστεροποίηση Fischer-Spreier αποτελεί την καταλληλότερη μέθοδο. Πραγματοποιήθηκε σύνθεση εννέα εστέρων β-κυκλοδεξτρίνης, με τρία φαινολικά οξέα και σε τρεις διαφορετικές αναλογίες για το κάθε οξύ. Τα νέα μόρια ταυτοποιήθηκαν μέσω φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR), υπερύθρου (IR) και φασματομετρίας μάζας (MS), διαπιστώνοντας τον επιτυχή σχηματισμό τους.

Στην πλειονότητα των εστέρων παρατηρήθηκαν περισσότερες από μία υποκαταστάσεις, ανά μόριο κυκλοδεξτρίνης, γεγονός που έρχεται σε αντίθεση με τις βιβλιογραφικές πηγές, οι οποίες αναφέρουν την ύπαρξη μίας μόνο υποκατάστασης. Όπως παρουσιάζεται στον πίνακα 7 των αποτελεσμάτων, φαίνεται πως στους εστέρες που σχηματίστηκαν με το βενζοϊκό οξύ, ο αριθμός των υποκαταστάσεων αυξάνεται καθώς αυξάνεται και η αναλογία του οξέος στην αντίδραση. Στους εστέρες του παρα-μεθοξυ-κινναμικού οξέος φαίνεται πως η αύξηση στην αναλογία του οξέος δεν επηρεάζει σημαντικά τη δομή του τελικού προϊόντος, δίνοντας μία ή δύο υποκαταστάσεις κάθε φορά. Στην περίπτωση του φερουλικού οξέος, τέλος, παρατηρείται πλήρης υποκατάσταση της β-κυκλοδεξτρίνης στην αναλογία β-CD/οξύ 1:6, ενώ στις αναλογίες 1:1 και 1:3 παραλαμβάνονται τρις-υποκατεστημένοι εστέρες.

Για τον καθαρισμό των τελικών προϊόντων εφαρμόστηκαν τρεις διαφορετικές κατεργασίες και το συμπέρασμα που εξήχθη είναι, ότι η χρήση της ακετόνης, για την απομάκρυνση του διαλύτη (DMF), κρίνεται σε πολύ μεγάλο βαθμό επιτυχής.

Η διαλυτότητα των νέων ενώσεων, στο νερό, φαίνεται να είναι τουλάχιστον διπλάσια από αυτήν της β-κυκλοδεξτρίνης, λύνοντας σε μεγάλο βαθμό το πρόβλημα αυτό.

Τέλος, οι εστέρες του φερουλικού οξέος παρουσιάζουν αρκετά ικανοποιητική αντιοξειδωτική δράση, γεγονός που πιθανότατα οφείλεται στην ύπαρξη των φαινολικών υδροξυλίων. Αντίθετα, οι υπόλοιποι εστέρες και η ίδια η β-CD, φαίνεται είτε να μην έχουν καθόλου δράση, είτε να έχουν, αλλά πολύ περιορισμένη. Κοινό στοιχείο όλων, εκ των νέων ενώσεων, εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση αποτελεί η βελτίωση της με την πάροδο του χρόνου.

ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Αξιολογώντας τα συμπεράσματα της παρούσης έρευνας, πέραν των πολύ χρήσιμων αποτελεσμάτων που προκύπτουν, γίνεται αντιληπτό πως πρόκειται για μία μελέτη με σημαντικά περιθώρια βελτίωσης σε διάφορα επίπεδα.

Αρχικά, προτείνεται ο σχηματισμός εστέρων κυκλοδεξτρίνης με τη χρήση και άλλων φαινολικών οξέων, με σημαντική βιολογική δράση, όπως είναι το γαλλικό, το καφεϊκό και το p-κουμαρικό οξύ, καθώς και η πλήρης αξιολόγηση των νέων εστέρων αυτών.

Για τη βελτιστοποίηση της πειραματικής διαδικασίας, που εφαρμόστηκε στην παρούσα εργασία, ιδιαίτερα ωφέλιμη θα ήταν η έρευνα για τη χρήση άλλων διαλυτών κατά την αντίδραση, εκτός του DMF, καθώς και η αναζήτηση διαφορετικών μεθόδων απομάκρυνσής του από τα τελικά προϊόντα, με ακόμα μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα.

Προτείνεται, ακόμα, η χρήση των νέων εστέρων, που συντέθηκαν στα πλαίσια της συγκεκριμένης διπλωματικής εργασίας, ως φορέων εγκλεισμού και η σύγκρισή τους με την β-κυκλοδεξτρίνη, όσον αφορά τις αποδόσεις του εγκλεισμού, τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, τη βιολογική δράση, καθώς και τον χρόνο αποδέσμευσης της εγκλεισμένης ουσίας.

Προτείνεται, επίσης, η μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης των ενώσεων και με άλλες μεθόδους, πέραν αυτής του DPPH, ώστε να σχηματιστεί μία πιο πλήρης εικόνα, αναφορικά με τη δράση τους αυτή.

Τέλος, ιδιαίτερο ενδιαφέρον αναμένεται να έχει η μελέτη της ικανότητας αναστολής του ενζύμου λιποξυγονάση από σόγια, ως ένδειξη της αντιφλεγμονώδους δράσης των νέων εστέρων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Kurkov, S. V., & Loftsson, T. *Cyclodextrins*. *International Journal of Pharmaceutics*, 453(1), (2013), pp. 167–180.
2. Szejtli, J. *Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry*. *Chemical Reviews*, 98(5), (1998), pp. 1743–1754.
3. Del Valle, E. M. M. *Cyclodextrins and their uses: a review*. *Process Biochemistry*, 39(9), (2004), pp. 1033–1046.
4. Rajendra Kumar, A., et al., *The cyclodextrins: A review. Vol. 2.*, (2013)
5. Rajput, K. N., Patel, K. C., & Trivedi, U. B. *β -Cyclodextrin Production by Cyclodextrin Glucanotransferase from an Alkaliphile Microbacterium terrae KNR 9 Using Different Starch Substrates*. *Biotechnology Research International*, (2016), pp. 1–7.
6. B. A. van der Veen, G.-J. W. M. Van Alebeek, J. C. M. Uitdehaag, B. W. Dijkstra, and L. Dijkhuizen, *The three transglycosylation reactions catalyzed by cyclodextrin glycosyltransferase from Bacillus circulans (strain 251) proceed via different kinetic mechanisms*, *European Journal of Biochemistry*, vol. 267, no. 3, (2000), pp. 658–665.
7. G. Schmid, *Cyclodextrin glycosyltransferase production: yield enhancement by overexpression of cloned genes*, *Trends in Biotechnology*, vol. 7, no. 9, (1989), pp. 244–248.
8. H. K. Sian, M. Said, O. Hassan et al., *Purification and characterization of cyclodextrin glucanotransferase from alkalophilic Bacillus sp. G1*, *Process Biochemistry*, vol. 40, no. 3-4, pp. 1101– 1111, 2005.
9. A. Biwer, G. Antranikian, and E. Heinzle, *Enzymatic production of cyclodextrins*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 59, no. 6, (2002), pp. 609–617
10. N. Charoenlap, S. Dharmsthiti, S. Sirisansaneeyakul, and S. Lertsiri, *Optimization of cyclodextrin production from sago starch*, *Bioresource Technology*, vol. 92, no. 1, (2004), pp. 49–54
11. Shieh, W. J., & Hedges, A. R. *Properties and Applications of Cyclodextrins*. *Journal of Macromolecular Science, Part A*, 33(5), (1996), pp. 673–683.
12. American Maize-Products Company, *Handbook of Cyclodextrin Technology*, (1993)
13. B. Casu, G. G. Gallo, M. Reggiani, and A. Vigevani, *Chem. SOC. (London) Spec. Publ.*, 23,217, (1968).
14. Singh M, Sharma R, Banerjee UC. *Biotechnological applications of cyclodextrins*. *Biotechnol Adv* (2002);20, pp. 341–59
15. Challa, R., Ahuja, A., Ali, J., & Khar, R. K. *Cyclodextrins in drug delivery: An updated review*. *AAPS PharmSciTech*, 6(2), (2005), E329–E357
16. Blanchard J, Stefan P. *Some important considerations in the use of cyclodextrins*. *Pharm Res*. (1999)

17. Stefano Sforza, Gianni Galaverna, Roberto Corradini, Arnaldo Dossena, and Rosangela Marchelli. *ESI-Mass Spectrometry Analysis of Unsubstituted and Disubstituted β -Cyclodextrins: Fragmentation Mode and Identification of the AB, AC, AD Regioisomers*, Department of Organic and Industrial Chemistry, University of Parma, Parma, Italy
18. Shipilov, D. A., Kurochkina, G. I., Rasadkina, E. N., Vasyanina, L. K., Soboleva, N. O., & Grachev, M. K. *Direct esterification of the hydroxyl groups of β -cyclodextrin with some aromatic monocarboxylic acids*. Russian Journal of General Chemistry, 85(11), (2015), pp. 2605–2608.
19. Robbins, R. J. *Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(10), (2003), pp. 2866–2887
20. Akar, Z., Küçük, M., & Doğan, H. *A new colorimetric DPPH• scavenging activity method with no need for a spectrophotometer applied on synthetic and natural antioxidants and medicinal herbs*. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 32(1), (2017), pp. 640–647.
21. Bravo, L. *Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance*. Nutrition Reviews, 56 (1998), pp. 317–333
22. Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. *Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses*. Food Chemistry, 99(1), (2006), pp. 191–203.
23. Reis Giada, M. de L. *Food Phenolic Compounds: Main Classes, Sources and Their Antioxidant Power. Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases - A Role for Antioxidants*, (2013).
24. Harborne, J. B. *Methods in plant biochemistry*. In: Dey PM, Harborne JB. (ed.) Plant phenolics. London: Academic Press, 1., (1989)
25. Goleniowski, M., Bonfill, M., Cusido, R., & Palazón, J., *Phenolic Acids*. Natural Products, (2013), pp. 1951–1973
26. Shahidi F, Naczki M., *Phenolics in food and nutraceuticals: sources, applications and health effects.*, (2004), CRC Press, Boca Raton, FL
27. Yang, C. S., Landau, J. M., Huang, M. T., & Newmark, H. L. *Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds*. Annual Review of Nutrition, 21, (2001), pp. 381-406
28. Del Olmo, A., Calzada, J., & Nuñez, M. *Benzoic acid and its derivatives as naturally occurring compounds in foods and as additives: Uses, exposure, and controversy*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 57(14), (2015), pp. 3084–3103.
29. Silva, F. A. M., Borges, F., Guimarães, C., Lima, J. L. F. C., Matos, C., & Reis, S., *Phenolic Acids and Derivatives: Studies on the Relationship among Structure, Radical Scavenging Activity, and Physicochemical Parameters*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(6), (2000), pp. 2122–2126.

30. Liu IM , Chi TC , Hsu FL , Chen CF , Cheng JT . *Isoferulic acid as active principle from the rhizoma of Cimicifuga dahurica to lower plasma glucose in diabetic rats* . *Planta Med*; 65, (1999), pp. 712 – 714
31. Perez-Alvarez V , Bobadilla RA , Muriel P . *Structure-hepatoprotective activity relationship of 3,4-dihydroxycinnamic acid (caff eic acid) derivatives* . *J Appl Toxicol*; 21, (2001), pp. 527 – 531
32. Adisakwattana S , Chantarasinlapin P , Thammarat H , Yibchok-Anun S . *A series of cinnamic acid derivatives and their inhibitory activity on intestinal alpha-glucosidase* . *J Enzyme Inhib Med Chem*; 24, (2009), pp. 1194 – 2000
33. Kim SR , Sung SH , Jang YP , Markelonis GJ , Oh TH , Kim YC . *E-p-methoxycinnamic acid protects cultured neuronal cells against neurotoxicity induced by glutamate* . *Br J Pharmacol*; 135, (2002), pp. 1281 – 1291
34. Adisakwattana S , Sookkongwaree K , Roengsumran S , Petsom A , Ngamrojnavanich N , Chavasiri W , Deesamer S , Yibchok-anun S . *Structure-activity relationships of trans-cinnamic acid derivatives on alpha-glucosidase inhibition* . *Bioorg Med Chem Lett*; 14, (2004), pp. 2893 – 2896
35. Adisakwattana, S., Hsu, W., & Yibchok-anun, S. *Mechanisms of p-Methoxycinnamic Acid-induced Increase in Insulin Secretion*. *Hormone and Metabolic Research*, 43(11), (2011), pp. 766–773.
36. Lee EJ , Kim SR , Kim J , Kim YC . *Hepatoprotective phenylpropanoids from Scrophularia buergeriana roots against CCl 4 -induced toxicity: action mechanism and structure-activity relationship* . *Planta Med*; 68, (2002), pp. 407 – 411
37. Fujisawa S, Atsumi T, Kadoma Y, Sakagami H *Antioxidant and prooxidant action of eugenol-related compounds and their cytotoxicity*. *Toxicology* 177:39, (2002)
38. Hosoda A, Ozaki Y, Kashiwada A, Mutoh M, Wakabayashi K, Mizuno K, Nomura E, Taniguchi H. *Syntheses of ferulic acid derivatives and their suppressive effects on cyclooxygenase-2 promoter activity*. *Bioorg Med Chem* 10:1189, (2002)
39. Lee SK, Mbwambo ZH, Chung HS, Luyengi L, Gamez EJC, Mehta RG, Kinghorn AD, Pezzuto JM *Evaluation of the antioxidant potential of natural products*. *Comb Chem HighThroughput Screen* 1:1, (1998)
40. Ball, David W.; Hill, John W.; and Scott, Rhonda J., *"The Basics of General, Organic, and Biological Chemistry, v. 1.0"* Chemistry Department Books. 2, (2011)
41. McMurry J., *Οργανική Χημεία*, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, 2013
42. Lutjen, A. B., Quirk, M. A., & Kolonko, E. M. *Synthesis of Esters Via a Greener Steglich Esterification in Acetonitrile*. *Journal of Visualized Experiments*, (2018)

43. J.M. Lü, P.H. Lin, Q. Yao, C. Chen, *Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems*. Journal of cellular and molecular medicine, 14, (2010), pp. 840-860.
44. M. Carocho, I.C. Ferreira, *A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives*, Food and chemical toxicology, 51 (2013), pp. 15-25.
45. A.M. Pisoschi, A. Pop, C. Cimpeanu, G. Predoi, *Antioxidant capacity determination in plants and plant-derived products: A review*, Oxidative medicine and cellular longevity, (2016).
46. Slater, T.F., *Free-radical mechanisms in tissue injury*. Biochem. J. 222, (1984), pp. 1-15.
47. D.M. Kasote, S.S. Katyare, M.V. Hegde, H. Bae, *Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications*, International journal of biological sciences, 11 (2015), pp. 982.
48. O.I. Aruoma, S.L. Cuppett, *Antioxidant methodology: in vivo and in vitro concepts*, The American Oil Chemists Society, (1997).
49. M.I.R. Khan, N.A. Khan, *Reactive Oxygen Species and Antioxidant Systems in Plants: Role and Regulation Under Abiotic Stress*, Springer, (2017).
50. B.J. Hudson, *Food antioxidants*, Springer Science & Business Media, (2012).
51. H. Moharram, M. Youssef, *Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review*, Alexandria Journal of Food Science and Technology, 11, (2014), pp. 31-42.
52. Z. Akar, M. Küçük, H. Doğan, *A new colorimetric DPPH• scavenging activity method with no need for a spectrophotometer applied on synthetic and natural antioxidants and medicinal herbs*, Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry, 32, (2017), pp. 640-647.
53. S.C. Litescu, S. Eremia, G.L. Radu, *Methods for the determination of antioxidant capacity in food and raw materials*, in: *Bio-Farms for Nutraceuticals*, Springer, (2010), pp. 241-249.
54. 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 23(1), (2018).
55. Sirivibulkovit K, N.S., Sameenoi Y., *Paper-based DPPH Assay for Antioxidant Activity Analysis*. Analytical Sciences 34, (2018), pp. 795-800.
56. R.L. Prior, X. Wu, K. Schaich, *Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements*, Journal of agricultural and food chemistry, 53, (2005), pp. 4290-4302.
57. S.B. Kedare, R. Singh, *Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay*, Journal of food science and technology, 48, (2011), pp. 412-422.

58. N. Erkan, G. Ayranci, E. Ayranci, *Antioxidant activities of rosemary (Rosmarinus officinalis L.) extract, blackseed (Nigella sativa L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol*, Food Chemistry, 110, (2008), pp. 76-82.
59. Χατζηιωάννου Θ.Π., Κούππαρη Μ.Α., Ενόργανη Ανάλυση, Εκδ. Πανεπιστημίου Αθηνών, (2003).
60. Παππά Α., "Φυσικές μέθοδοι ανάλυσης, Χρωματογραφικές, Θερμικές, ηλεκτρομετρικές, Φασματομετρίας μάζας.", Εκδ. ΕΜΠ, (2004).

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

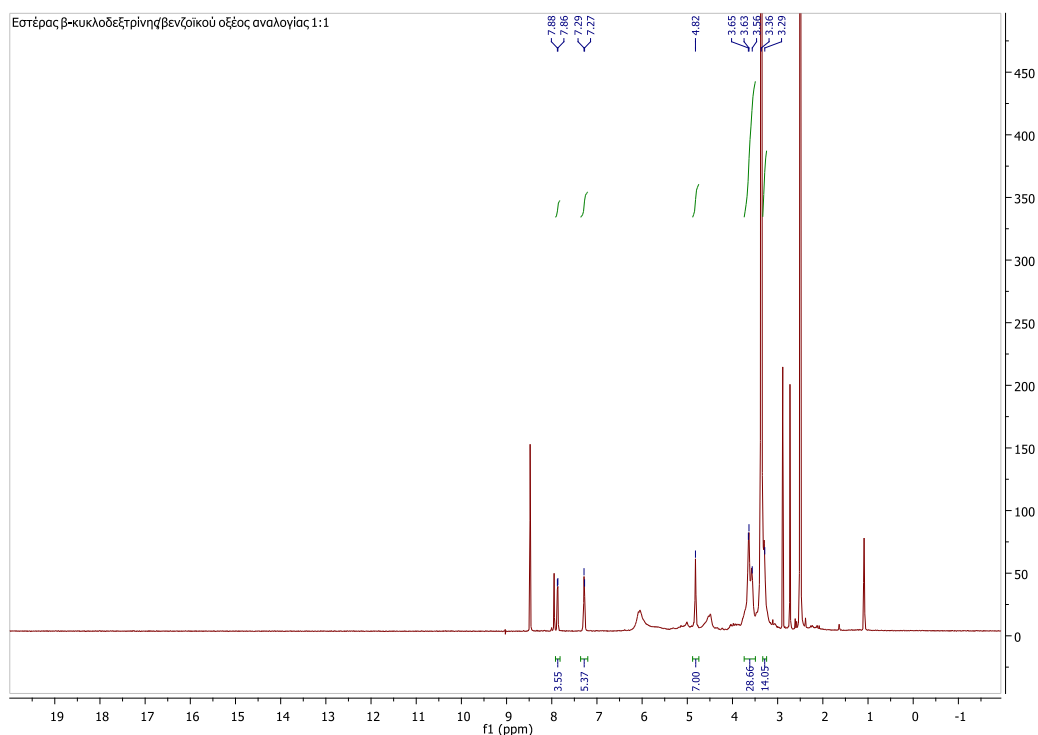
| | |
|---|----|
| ΕΙΚΟΝΑ 1: ΟΙ ΤΡΕΙΣ ΒΑΣΙΚΕΣ ΚΥΚΛΟΔΕΕΤΡΙΝΕΣ..... | 3 |
| ΕΙΚΟΝΑ 2: ΔΟΜΗ ΚΥΚΛΟΔΕΕΤΡΙΝΩΝ..... | 10 |
| ΕΙΚΟΝΑ 3: ΤΡΙΣΔΙΑΣΤΑΤΗ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΚΥΚΛΟΔΕΕΤΡΙΝΩΝ..... | 11 |
| ΕΙΚΟΝΑ 4: ΙΣΟΜΕΡΗ ΔΙΑΜΙΝΟ-Β-ΚΥΚΛΟΔΕΕΤΡΙΝΗΣ..... | 16 |
| ΕΙΚΟΝΑ 5: ΔΟΜΗ ΦΑΙΝΟΛΩΝ..... | 17 |
| ΕΙΚΟΝΑ 6: ΔΟΜΗ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΒΕΝΖΟΪΚΟΥ ΟΞΕΟΣ..... | 19 |
| ΕΙΚΟΝΑ 7: ΔΟΜΗ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΚΙΝΝΑΜΟΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ..... | 19 |
| ΕΙΚΟΝΑ 8: ΒΕΝΖΟΪΚΟ ΟΞΥ..... | 20 |
| ΕΙΚΟΝΑ 9: ΠΑΡΑ-ΜΕΘΟΞΥ ΚΙΝΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ..... | 20 |
| ΕΙΚΟΝΑ 10: ΦΕΡΟΥΛΙΚΟ ΟΞΥ..... | 21 |
| ΕΙΚΟΝΑ 11: ΔΟΜΗ ΕΣΤΕΡΩΝ..... | 22 |
| ΕΙΚΟΝΑ 12: ΓΕΝΙΚΗ ΜΟΡΦΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΕΣΤΕΡΟΠΟΙΗΣΗΣ FISCHER-SPEIER..... | 23 |
| ΕΙΚΟΝΑ 13: ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΕΣΤΕΡΟΠΟΙΗΣΗΣ FISCHER-SPEIER..... | 24 |
| ΕΙΚΟΝΑ 14: ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΕΣΤΕΡΟΠΟΙΗΣΗΣ STEGLICH..... | 25 |
| ΕΙΚΟΝΑ 15: ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΧΛΩΡΙΔΙΩΝ ΚΑΡΒΟΞΥΛΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ..... | 26 |
| ΕΙΚΟΝΑ 16: ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΧΛΩΡΙΔΙΩΝ ΚΑΡΒΟΞΥΛΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ..... | 26 |
| ΕΙΚΟΝΑ 17: ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΕΣΤΕΡΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΠΟ ΧΛΩΡΙΔΙΟ..... | 27 |
| ΕΙΚΟΝΑ 18: ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΕΣΤΕΡΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΠΟ ΧΛΩΡΙΔΙΟ..... | 27 |
| ΕΙΚΟΝΑ 19: ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ..... | 31 |
| ΕΙΚΟΝΑ 20: ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ DRPH ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ..... | 32 |
| ΕΙΚΟΝΑ 21: ΓΕΝΙΚΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΕΣΤΕΡΟΠΟΙΗΣΗΣ FISCHER-SPEIER..... | 37 |

| | |
|--|----|
| ΕΙΚΟΝΑ 22: ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΕΣΤΕΡΟΠΟΙΗΣΗΣ STEGLICH..... | 45 |
| ΕΙΚΟΝΑ 23: ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΧΛΩΡΙΔΙΟΥ ΚΑΙ ΑΛΚΟΟΛΥΣΗΣ ΤΟΥ..... | 46 |
| ΕΙΚΟΝΑ 24: ΦΑΣΜΑ NMR Β-CD..... | 49 |
| ΕΙΚΟΝΑ 25: ΦΑΣΜΑ ΕΣΤΕΡΑ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΕΤΡΙΝΗΣ/ΒΕΝΖΟΪΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ 1:3..... | 50 |
| ΕΙΚΟΝΑ 26: ΦΑΣΜΑ ΕΣΤΕΡΑ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΕΤΡΙΝΗΣ/ΠΑΡΑ-ΜΕΘΟΕΥ ΚΙΝΝΑΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ 1:6..... | 51 |
| ΕΙΚΟΝΑ 27: ΦΑΣΜΑ ΕΣΤΕΡΑ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΕΤΡΙΝΗΣ/ΦΕΡΟΥΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ 1:3..... | 52 |
| ΕΙΚΟΝΑ 28: ΦΑΣΜΑ IR Β-CD..... | 54 |
| ΕΙΚΟΝΑ 29: ΦΑΣΜΑ IR ΕΣΤΕΡΑ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΕΤΡΙΝΗΣ/ΒΕΝΖΟΪΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ 1:3..... | 55 |
| ΕΙΚΟΝΑ 30: ΦΑΣΜΑ IR ΕΣΤΕΡΑ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΕΤΡΙΝΗΣ/ΠΑΡΑ-ΜΕΘΟΕΥ ΚΙΝΝΑΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ 1:1..... | 56 |
| ΕΙΚΟΝΑ 31: ΦΑΣΜΑ MS Β-ΚΥΚΛΟΔΕΕΤΡΙΝΗΣ..... | 57 |
| ΕΙΚΟΝΑ 32: ΦΑΣΜΑ MS ΕΣΤΕΡΑ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΕΤΡΙΝΗΣ/ΦΕΡΟΥΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ 1:1..... | 58 |
| ΕΙΚΟΝΑ 33: ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΟ ΦΑΣΜΑ ΚΑΤΕΡΓΑΣΙΑΣ ΕΣΤΕΡΑ ΜΕ ΤΟΛΟΥΟΛΙΟ ΚΑΙ ΝΕΡΟ ΜΕ ΘΕΡΜΑΝΣΗ ΚΑΙ ΧΩΡΙΣ..... | 60 |
| ΕΙΚΟΝΑ 34: ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΟ ΦΑΣΜΑ ΕΣΤΕΡΑ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΕΤΡΙΝΗΣ/ΠΑΡΑ- ΜΕΘΟΕΥ ΚΙΝΝΑΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ 1:3 (ΠΡΙΝ ΚΑΙ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΚΑΤΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΑΚΕΤΟΝΗ)..... | 62 |

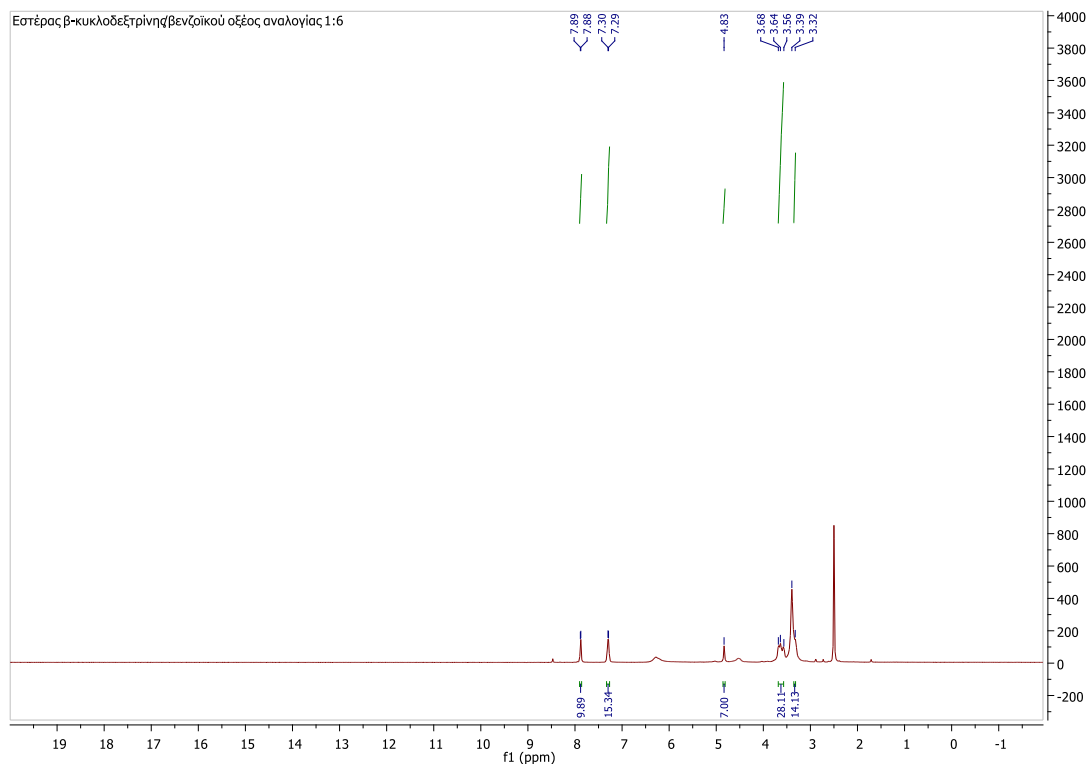
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

| | |
|--|----|
| ΠΙΝΑΚΑΣ 1: ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΜΕΓΕΘΗ ΚΥΚΛΟΔΕΕΤΡΙΝΩΝ..... | 11 |
| ΠΙΝΑΚΑΣ 2: ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΕΣ ΚΥΚΛΟΔΕΕΤΡΙΝΕΣ..... | 15 |
| ΠΙΝΑΚΑΣ 3: ΥΠΟΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ..... | 18 |
| ΠΙΝΑΚΑΣ 4: ΟΡΓΑΝΑ ΚΑΙ ΣΥΣΚΕΥΕΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ..... | 34 |
| ΠΙΝΑΚΑΣ 5: ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ..... | 35 |
| ΠΙΝΑΚΑΣ 6: ΚΟΡΥΦΕΣ ΦΑΣΜΑΤΟΣ B-CD | 49 |
| ΠΙΝΑΚΑΣ 7: ΑΡΙΘΜΟΣ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΕΩΝ ΕΣΤΕΡΩΝ..... | 63 |
| ΠΙΝΑΚΑΣ 8: ΔΙΑΛΥΤΟΤΗΤΑ ΑΡΧΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΚΑΙ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ..... | 64 |
| ΠΙΝΑΚΑΣ 9: ΜΕΛΕΤΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ..... | 65 |

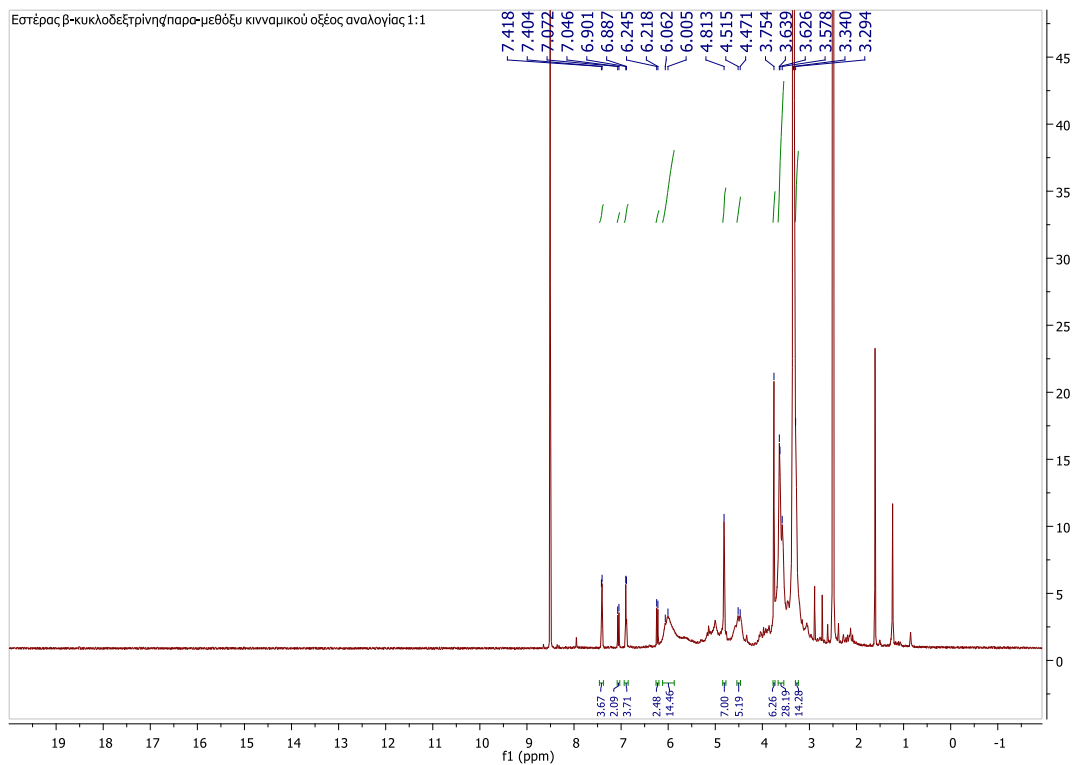
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΑΣΜΑΤΩΝ



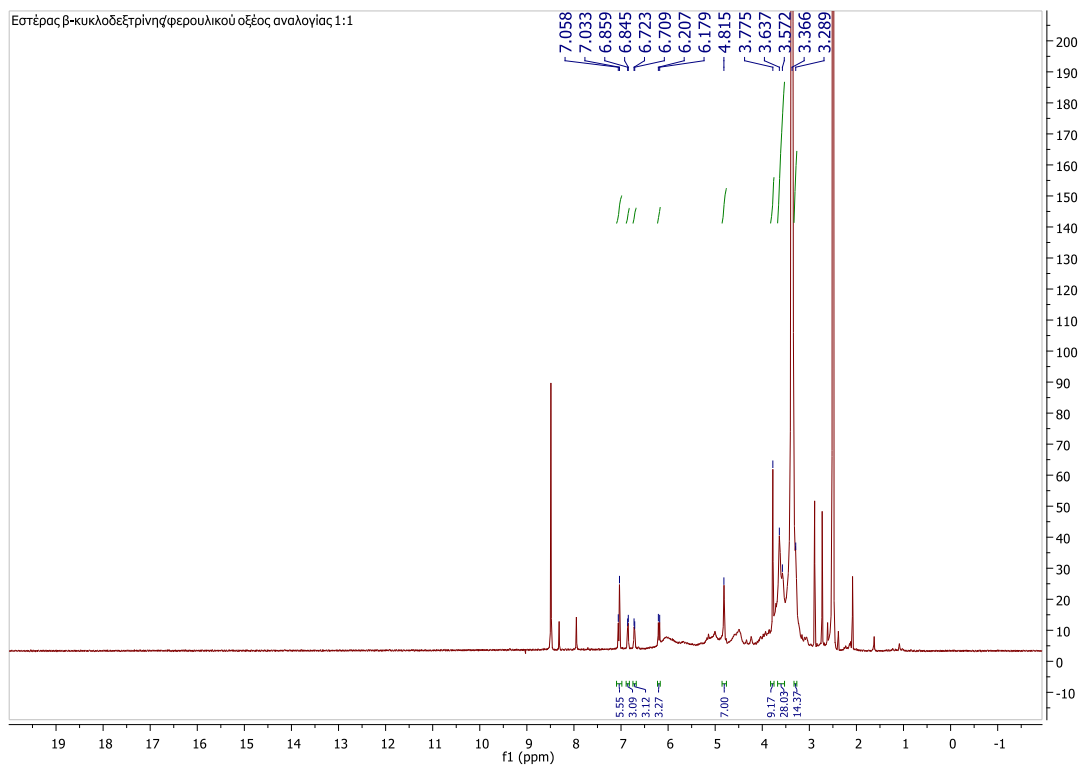
**ΦΑΣΜΑ ¹NMR ΕΣΤΕΡΑ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗΣ/ΒΕΝΖΟΪΚΟΥ ΟΞΕΟΣ
ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ 1:1**



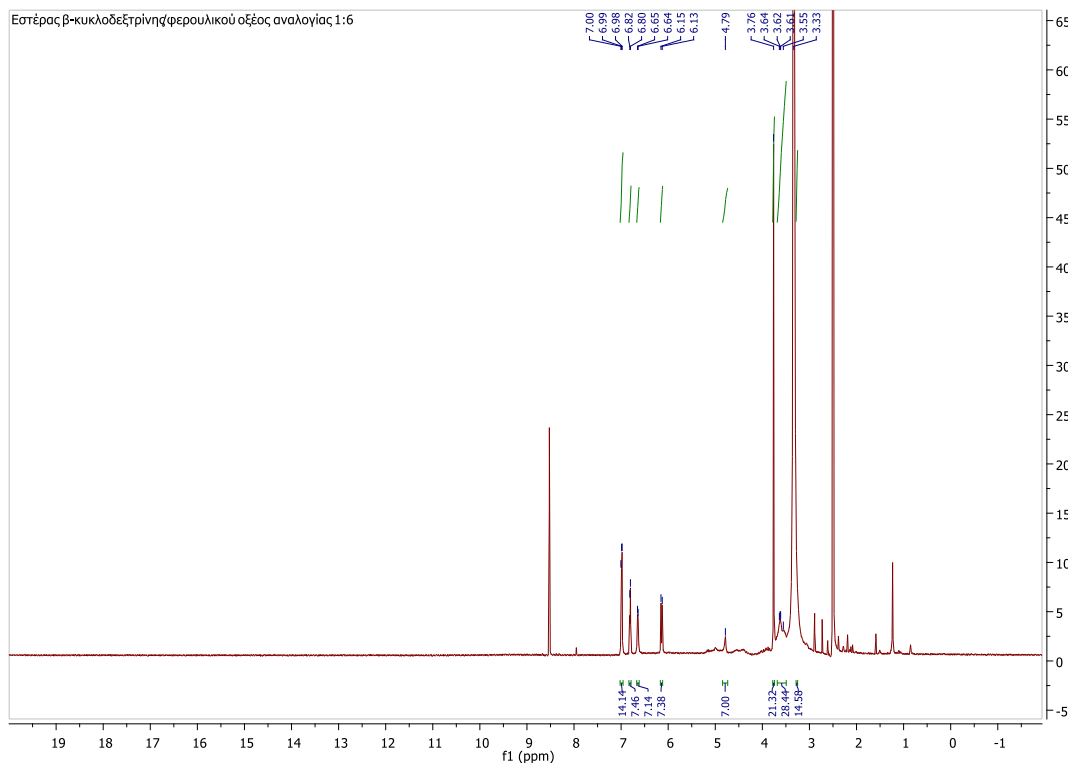
**ΦΑΣΜΑ ¹NMR ΕΣΤΕΡΑ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗΣ/ΒΕΝΖΟΪΚΟΥ ΟΞΕΟΣ
ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ 1:6**



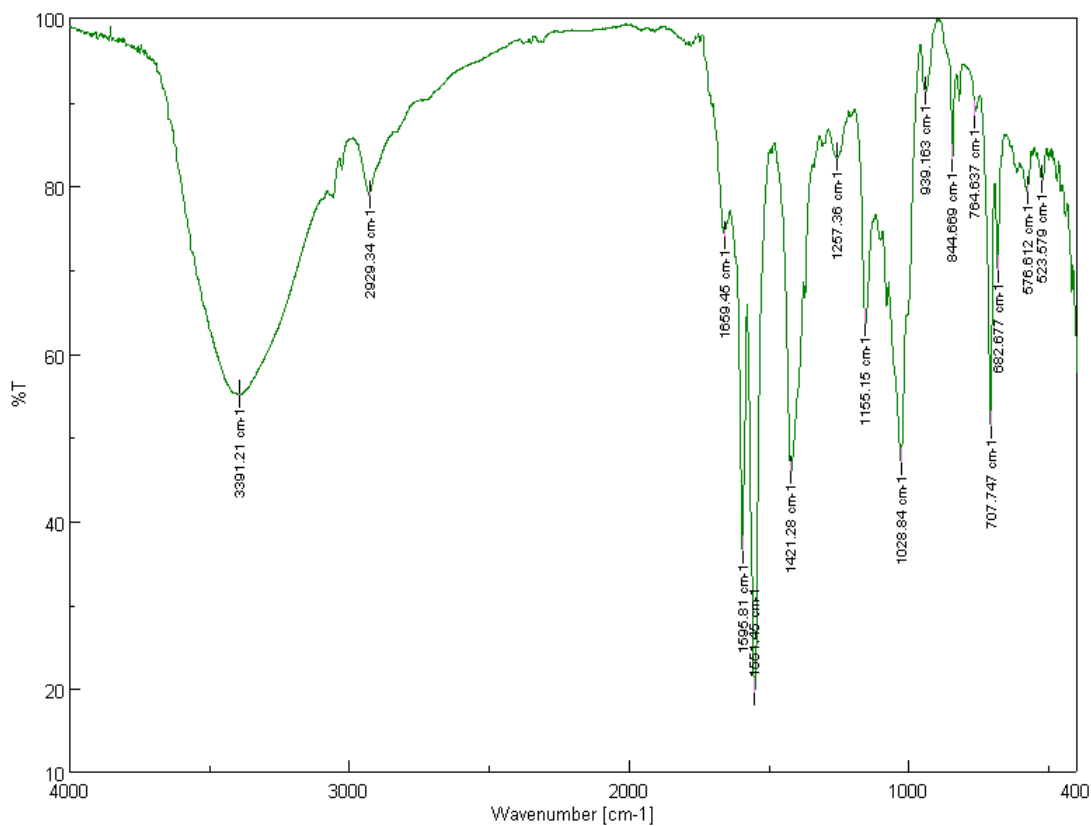
ΦΑΣΜΑ ¹H NMR ΕΣΤΕΡΑ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗΣ/ΠΑΡΑ-ΜΕΘΟΞΥ ΚΙΝΝΑΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ 1:1



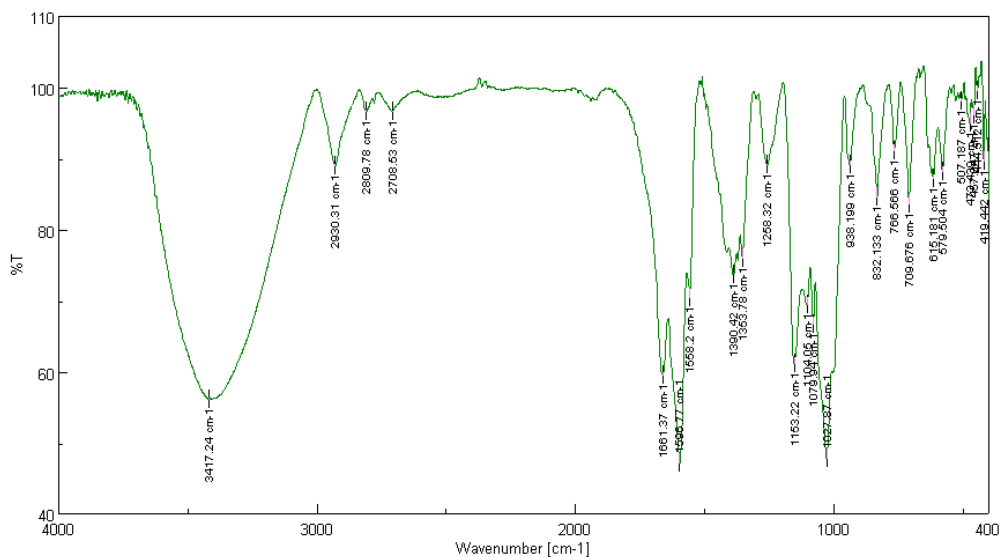
ΦΑΣΜΑ ¹H NMR ΕΣΤΕΡΑ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗΣ/ΦΕΡΟΥΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ 1:1



**ΦΑΣΜΑ ^1NMR ΕΣΤΕΡΑ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗΣ/ΦΕΡΟΥΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ
ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ 1:6**

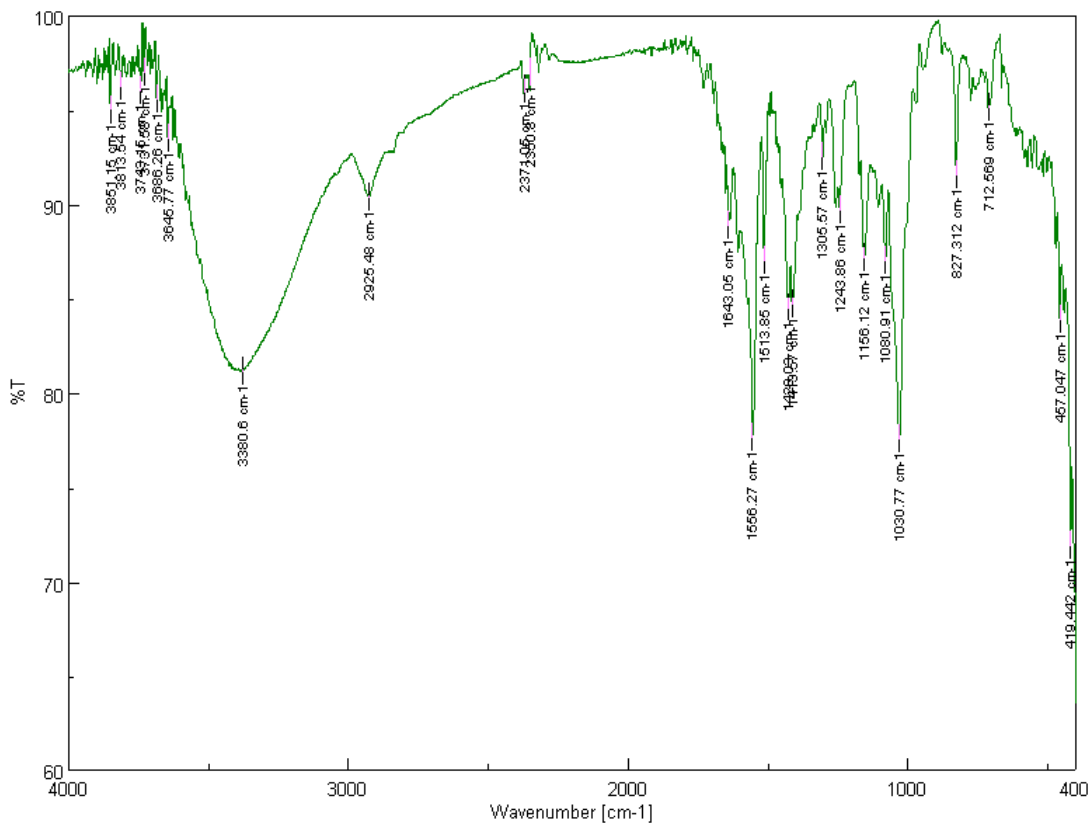


**ΦΑΣΜΑ IR ΕΣΤΕΡΑ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗΣ/ΒΕΝΖΟΪΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ
1:6**

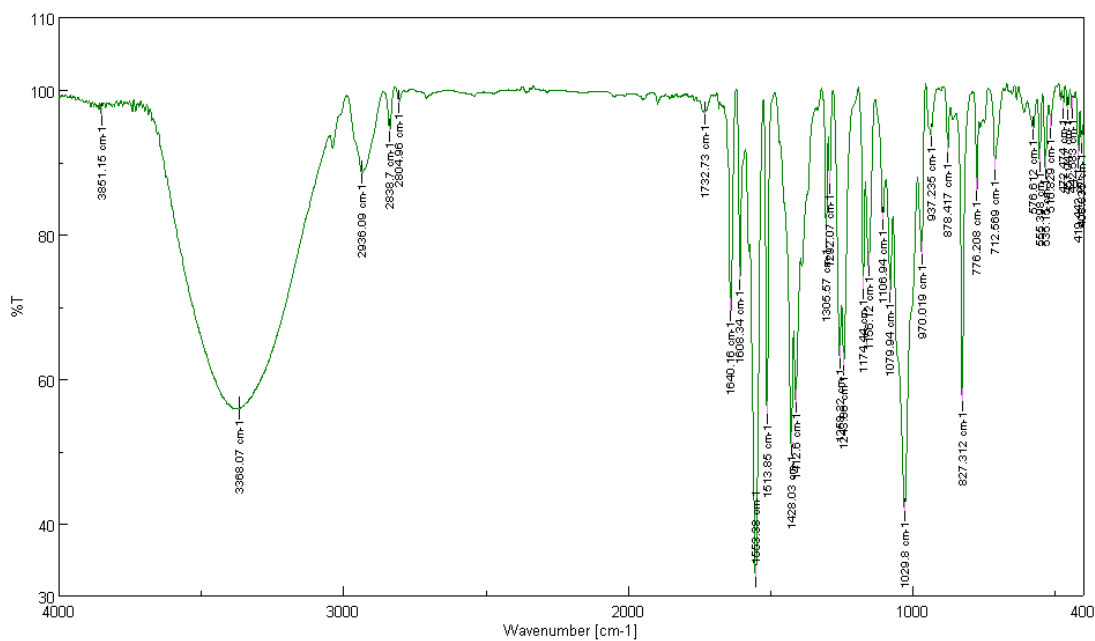


ΦΑΣΜΑ IR ΕΣΤΕΡΑ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗΣ/ΒΕΝΖΟΪΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ

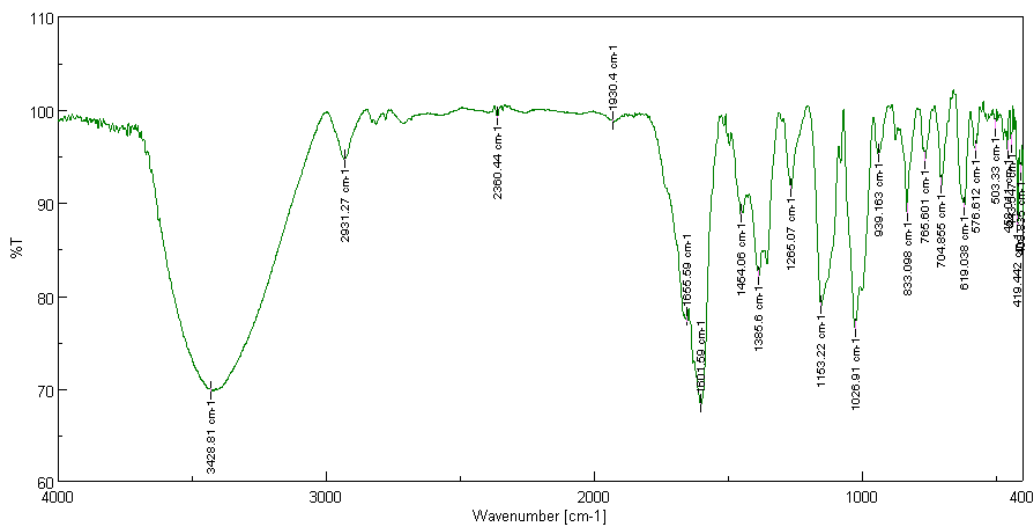
1:1



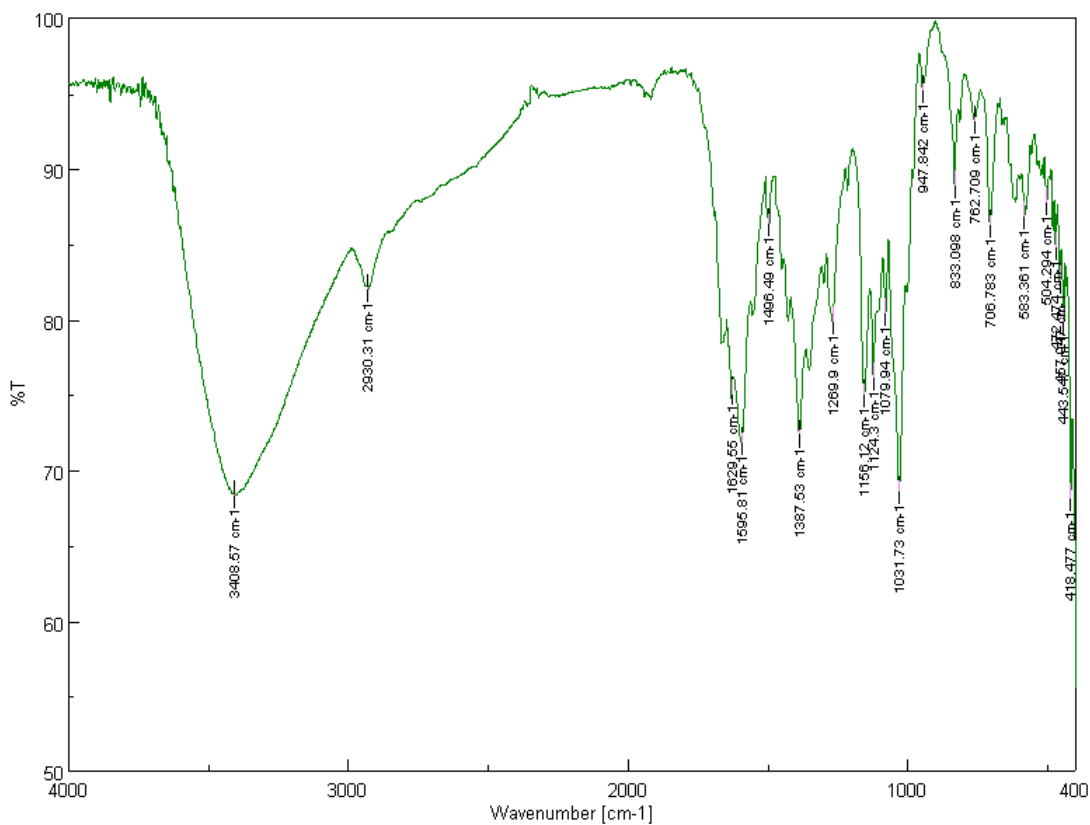
ΦΑΣΜΑ IR ΕΣΤΕΡΑ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗΣ/ΠΑΡΑ-ΜΕΘΟΞΥ ΚΙΝΝΑΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ 1:3



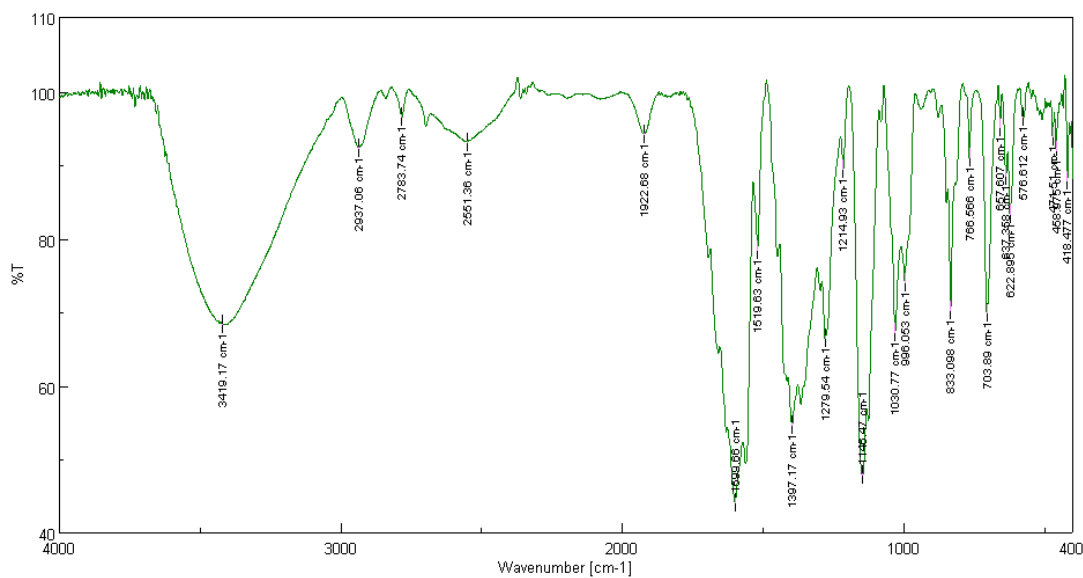
**ΦΑΣΜΑ IR ΕΣΤΕΡΑ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΤΡΙΝΗΣ/ΠΑΡΑ-ΜΕΘΟΞΥ ΚΙΝΝΑΜΙΚΟΥ
ΟΞΕΟΣ ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ 1:6**



**ΦΑΣΜΑ IR ΕΣΤΕΡΑ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΤΡΙΝΗΣ/ΦΕΡΟΥΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ
ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ 1:1**



**ΦΑΣΜΑ IR ΕΣΤΕΡΑ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΕΤΡΙΝΗΣ/ΦΕΡΟΥΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ
ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ 1:3**



ΦΑΣΜΑ IR ΕΣΤΕΡΑ Β-ΚΥΚΛΟΔΕΕΤΡΙΝΗΣ/ΦΕΡΟΥΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΑΝΑΛΟΓΙΑΣ 1:6