



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ (Ι) ΧΗΜΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΡΓΑΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

**ΦΥΣΙΚΕΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΧΑΛΚΟΝΕΣ
ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΤΟΥΣ ΜΕ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΒΕΝΕΤΣΑΝΟΥ ΑΦΡΟΔΙΤΗ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ

Δρ ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ ΔΕΤΣΗ

Λέκτορας Ε.Μ.Π.

ΑΘΗΝΑ 2011

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΦΥΣΙΚΕΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΧΑΛΚΟΝΕΣ
ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΤΟΥΣ ΜΕ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ**

ΑΦΡΟΔΙΤΗ ΒΕΝΕΤΣΑΝΟΥ

A.M.: 05106628

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ :

Δέτση Αναστασία, Λέκτορας ΕΜΠ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

A. Δέτση (Λέκτορας ΕΜΠ)

Δ. Οικονομίδης (Αναπλ. Καθηγητής ΕΜΠ)

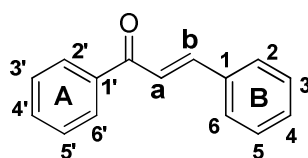
Ε. Παυλάτου (Επικ. Καθηγήτρια ΕΜΠ)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε με στόχο τη σύνθεση, το χαρακτηρισμό, και τη μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης φυσικών και συνθετικών χαλκονών και των παραγώγων τους.

Οι χαλκόνες είναι φυσικά προϊόντα και ανήκουν στην οικογένεια των φλαβονοειδών. Διαθέτουν ως δομικό χαρακτηριστικό ένα α,β -ακόρεστο καρβονυλικό σύστημα και εμφανίζουν μεγάλη ποικιλία βιολογικών δράσεων.

Στην παρούσα εργασία παρασκευάστηκαν τέσσερις χαλκόνες μέσω αντίδρασης συμπύκνωσης Claisen-Schmidt, οι οποίες έχουν διαφορετικούς υποκαταστάτες στους δακτυλίους A και B.



Δομή χαλκονών

Για να μελετηθεί η επίδραση της παρουσίας του α,β -ακόρεστου καρβονυλικού συστήματος στην αντιοξειδωτική δράση, εκτός από τη σύνθεση των χαλκονών, πραγματοποιήθηκαν οι ακόλουθες δομικές τροποποιήσεις σε αυτό:

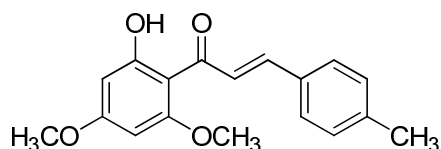
Σχηματισμός πυραζολινών: Το α,β -ακόρεστο καρβονυλικό σύστημα αντικαταστάθηκε από ένα πενταμελή ετεροκυκλικό δακτύλιο που φέρει άτομα αζώτου.

Παρασκευή διϋδροχαλκόνης: Το α,β -ακόρεστο καρβονυλικό σύστημα μετατράπηκε σε κορεσμένο μέσω εκλεκτικής υδρογόνωσης του διπλού δεσμού μεταξύ των ανθράκων.

Όλες οι ενώσεις χαρακτηρίστηκαν δομικά με φασματοσκοπία ^1H NMR και δύο εξ αυτών, επιπλέον, με φασματοσκοπία μάζας. Η αντιοξειδωτική δράση των μορίων που παρασκευάστηκαν αξιολογήθηκε με δύο διαφορετικές βιοδοκιμασίες: μέτρηση της ικανότητας να δεσμεύουν το H_2O_2 (μέθοδος χημειοφωταύγειας της

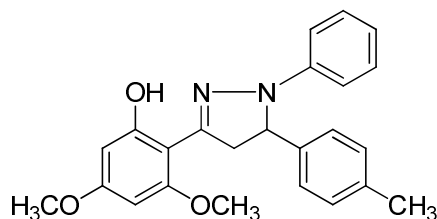
λουμινόμετρος) και μέτρηση της ικανότητας να ανάγουν το Fe^{3+} σε Fe^{2+} (μέθοδος FRAP). Ανάλογα με τη θέση και τη δομή των υποκαταστατών επηρεάζεται και η αντιοξειδωτική δράση των αντιστοιχών ενώσεων.

Αναφορικά με την ικανότητα δέσμευσης του H_2O_2 παρατηρήθηκε ότι την χαμηλότερη τιμή $IC_{50} \pm SD$ ($\mu g mL^{-1}$) άρα την καλύτερη αντιοξειδωτική δράση, την παρουσίασε η χαλκόνη **8** με $IC_{50} \pm SD = 0,106 \pm 0,00028$ ($\mu g mL^{-1}$).



Χαλκόνη **8**

Αναφορικά με την ικανότητα αναγωγής του Fe^{3+} σε Fe^{2+} παρατηρήθηκε ότι την υψηλότερη τιμή FRAP (μM) άρα την καλύτερη αντιοξειδωτική δράση, παρουσίασε η πυραζολίνη **13** με $FRAP = 18548,055$ (μM).



Πυραζολίνη **13**

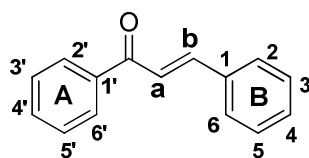
ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: χαλκόνες, πυραζολίνες, διϋδροχαλκόνες, αντιοξειδωτική δράση

ABSTRACT

The subject of this diploma thesis was the synthesis, structure characterization and study of the antioxidant activity of natural and synthetic chalcones and their derivatives.

Chalcones are natural products that belong to the family of flavonoids. They allocate as a structural characteristic, an α , β -unsaturated carbonyl system and present a big variety of biological actions.

In the present work, four chalcones bearing different substituents on rings A and B, were synthesized via the Claisen-Schmidt condensation reaction.



Structure of chalcones

In order to investigate the effect of the presence of the α , β -unsaturated carbonyl system on the antioxidant activity, the following structural modifications were performed on the chalcone moiety:

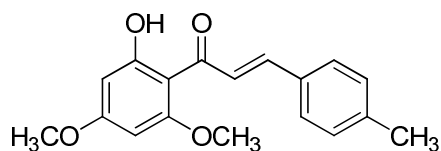
Pyrazoline formation: The α , β -unsaturated carbonyl system was replaced by a five-membered heterocyclic ring that bears two nitrogen atoms.

Synthesis of dihydrochalcone: Selective hydrogenation of the carbon-carbon double bond provided the corresponding saturated compound.

All the compounds were structurally characterized with ^1H NMR spectrometry, and two of them also with mass spectrometry. The antioxidant activity of the compounds was evaluated with two different assays: determination of their ability to scavenge H_2O_2 (luminol chemiluminescence method), and of their ability to reduce Fe^{3+} to Fe^{2+} (FRAP method). The antioxidant activity of the compounds was

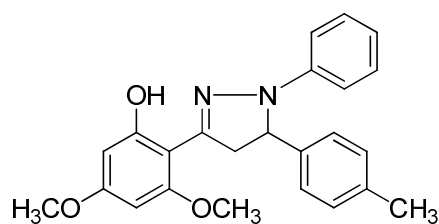
found to be dependent on the position and electronic characteristics of the substituents.

Regarding the ability to scavenge H_2O_2 , it was observed that chalcone **8** displayed the highest activity, showing $\text{IC}_{50} \pm \text{SD} = 0,106 \pm 0,00028$ ($\mu\text{g mL}^{-1}$).



Chalcone **8**

Regarding the ability to reduce Fe^{3+} to Fe^{2+} , it was observed that pyrazoline **13** showed the highest FRAP value (18548,055 μM), hence the best antioxidant activity of all the tested compounds.



Pyrazoline **13**

KEY WORDS: chalcones, pyrazolines, dihydrochalcones, antioxidant activity

**Αφιερωμένο
στην οικογένειά μου**

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Για την πραγματοποίηση της παρούσας εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω:

Την επιβέπουσά μου, Δρ Αναστασία Δέτση, Λέκτορα ΕΜΠ για την ανάθεση της εργασίας και την πολύτιμη συμβολή της, τόσο σε επίπεδο εργαστηρίου όσο και σε επίπεδο γενικών γνώσεων, καθώς και για το δημιουργικό περιβάλλον εργασίας που μας εξασφάλισε.

Τον Αναπλ. Καθηγητή ΕΜΠ Δ. Οικονομίδη, σύμβουλο καθηγητή μου, για την καθοδήγησή του στις σπουδές μου στο ΕΜΠ, και την Επικ. Καθ. ΕΜΠ Ε. Παυλάτου, για την τιμή που μου έκαναν να συμμετάσχουν στην τριμελή εξεταστική επιτροπή.

Τον Δρ. Παναγιώτη Κεφάλα, Διευθυντή Σπουδών του Τμήματος Ποιότητας Τροφίμων και Χημείας Φυσικών Προϊόντων του Μεσογειακού Αγρονομικού Ινστιτούτου Χανίων (ΜΑΙΧ), για τις μετρήσεις αντιοξειδωτικής δράσης των ενώσεων που παρασκευάστηκαν.

Το Δρ. Π. Ζουμπουλάκη, Ερευνητή στο Ινστιτούτο Οργανικής και Φαρμακευτικής Χημείας του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών, για τη συμβολή του στη φασματοσκοπική μελέτη NMR και τη διαμορφωτική ανάλυση των ενώσεων που παρουσιάζονται σε αυτή την εργασία.

Τον Δρ Κυριάκο Προυσή, μεταδιδακτορικό ερευνητή στο Ινστιτούτο Οργανικής και Φαρμακευτικής Χημείας του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών και συνεργάτη του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας ΕΜΠ, για τη βοήθεια που προσέφερε στη λήψη των φασμάτων NMR.

Τη Μαρίνα Ρουσσάκη, υποψήφια διδάκτορα στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του ΕΜΠ για τη βοήθειά της σε εργαστηριακές τεχνικές.

Την Ελισάβετ-Άννα Στουρνάρα, μεταπτυχιακή φοιτήτρια στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας για τη βοήθειά της στη λήψη και αποτίμηση των φασμάτων ESI-MS.

Την κα Ζαμπία Κατσανεβάκη, ΕΕΔΙΠ στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας για τη βοήθειά της κατά τη διάρκεια εκπόνησης αυτής της εργασίας.

Τον Δρ Αχιλλέα Παπαδόπουλο, για την κριτική ανάγνωση του κειμένου και τις εύστοχες παρατηρήσεις και υποδείξεις του.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για την ψυχική συμπαράσταση κατά την εκπόνηση αυτής της εργασίας.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	3
ABSTRACT	5
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	8
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ	13
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	15
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	18
ΠΡΟΛΟΓΟΣ	19
1. ΦΥΣΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ	
1.1 Γενικά	20
1.2.Φυσικά προϊόντα από φυσικές πηγές	22
1.3.Φαινυλοπροπανοειδή - φαινολικές ενώσεις	22
1.4.Ανάπτυξη φαρμάκων από φυσικά προϊόντα : προσεγγίσεις της συνθετικής οργανικής χημείας	24
2. ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ	25
2.1.Γενικά	26
2.2.Κατηγορίες φλαβονοειδών	27
2.3.Βιοσύνθεση των φλαβονοειδών	28
2.4.Απομόνωση από τα φυτά	28
2.5.Βιολογικές ιδιότητες	28
2.5.1.Αντιφλεγμονώδης δράση	28
2.5.2. Καρδιοπροστατευτική δράση	29
2.5.3. Αντιελκώδης δράση	30
2.5.4. Συμβολή στη θεραπεία του καταρράκτη	31
2.5.5. Αντικαρκινική δράση	32
2.5.6. Αντιθρομβωτική δράση	32
2.5.7. Αντιοξειδωτική δράση	33
3. ΧΑΛΚΟΝΕΣ	
3.1. Γενικά	34
3.2. Δομή	34
3.3. Βιολογικές ιδιότητες	37
3.3.1. Αντιβακτηριακές ιδιότητες	37
	10

3.3.2. Αντιλειψμανιακές ιδιότητες	38
3.3.3. Ανθελονοσιακές ιδιότητες	39
3.3.4. Αντιμυκητιακές ιδιότητες	40
3.3.5. Αντικές ιδιότητες	42
3.3.6. Αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες	43
3.3.7. Παρεμπόδιση της δράσης των ενζύμων MAOs	43
3.4. Πρενυλιωμένες χαλκόνες	44
3.4.1. Δομή	44
3.4.2. Φυσικές πηγές	44
3.4.3. Βιολογικές ιδιότητες	48
3.5. Μέθοδοι σύνθεσης χαλκονών	49
4. ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΕΣ	51
4.1. Δομή	51
4.2. Βιολογικές ιδιότητες	56
4.3. Μέθοδοι σύνθεσης πυραζολινών	
5. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ	
5.1. Γενικά	61
5.2. Η δράση των ομάδων υδροξυλίου	66
5.3. Το H ₂ O ₂ ως δραστική μορφή οξυγόνου	67
5.4. Αντιοξειδωτική δράση χαλκονών	68
5.5. Αντιοξειδωτική δράση πυραζολινών	75
6. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ, ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΧΑΛΚΟΝΩΝ ΚΑΙ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΩΝ	
6.1. Σκοπός της εργασίας	77
6.2.1. Σύνθεση χαλκονών (Αντίδραση Claisen-Schmidt)	78
6.2.2. Χαρακτηρισμός δομής χαλκονών με φασματοσκοπία ¹ H NMR	81
6.3.1. Σύνθεση πυραζολινών	85
6.3.2. Χαρακτηρισμός δομής πυραζολινών με φασματοσκοπία ¹ H NMR	87
6.4.1. Αναγωγή διπλού δεσμού – Σύνθεση διϋδροχαλκόνης	92
6.4.2. Χαρακτηρισμός δομής διϋδροχαλκόνης με φασματοσκοπία ¹ H NMR	94
	11

7. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ	
7.1. Γενικά	96
7.2. Προσδιορισμός της ικανότητας των ενώσεων να δεσμεύουν το H ₂ O ₂ με τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας	96
7.3. Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)	100
8. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
8.1. Όργανα και συσκευές	102
8.2. Γενική μέθοδος ο-αλκυλίωσης υποκατεστημένων 2'-υδροξυ-ακετοφαινονών και της 3,4-διϋδρόξυ-βενζαλδεύδης	103
8.2. Γενική μέθοδος σύνθεσης χαλκονών	108
8.3. Σύνθεση πυραζολινών	114
8.4. Σύνθεση του εστέρα του Hantzsch	119
8.5. Σύνθεση διϋδροχαλκόνης	120
	121
8.6. Υπολογισμός της ικανότητας δέσμευσης του H ₂ O ₂	
8.7. Υπολογισμός της ικανότητας αναγωγής του Fe ³⁺ σε Fe ²⁺	122
9. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	124
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	131
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	149
ΠΗΓΕΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	156

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1: Σχηματική αναπαράσταση προνομιακής δομής	21
Σχήμα 2: Βιοσύνθεση φλαβονοειδών	22
Σχήμα 3: Βιοσύνθεση ξανθοχουμόλης	45
Σχήμα 4: Σύνθεση χαλκόνης μέσω της αντίδρασης συμπύκνωσης Claisen-Schmidt.	49
Σχήμα 5: Συμπύκνωση της 2'-υδροξυ-ακετοφαινόνης με αρωματικές αλδεύδες.	49
Σχήμα 6: Σύνθεση χαλκονών με τη σύζευξη Suzuki ανάμεσα σε ενεργοποιημένα βενζοϊκά παράγωγα και φαινυλο-βινυλο-βορονικά οξέα	49
Σχήμα 7: Σύνθεση 2'-υδροξυχαλκονών, μέσω αντίδρασης καταλυόμενης από παλλάδιο	50
Σχήμα 8: Παρασκευή πυραζολινών που παρεμποδίζουν τη δράση των COXs	53
Σχήμα 9: Δημιουργία βιβλιοθήκης δομών πυραζολινών	54
Σχήμα 10: Σύνθεση πυραζολινών με συμπύκνωση που περιλαμβάνει α, β-ακόρεστα καρβονύλια και 1,2-διπυρηνόφιλες ενώσεις	56
Σχήμα 11: Παρασκευή πυραζολινών με συμπύκνωση που περιλαμβάνει α, β-ακόρεστα καρβονύλια και 1,2-διπυρηνόφιλες ενώσεις υπό όξινες συνθήκες	57
Σχήμα 12: Κυκλοποίηση σε υγρή φάση ναφθυλο-υποκατεστημένων χαλκονών και υδραζινών σε περιβάλλον με μικροκύματα, προς την παρασκευή των κατάλληλων πυραζολινών	58
Σχήμα 13: Σύνθεση πυραζολινών σε ένα στάδιο χωρίς την αρχική απομόνωση της α, β-ακόρεστης κετόνης	58
Σχήμα 14: Μηχανισμός σχηματισμού πυραζολινών από α, β-ακόρεστες κετόνες και τις υδραζίνες	59
Σχήμα 15: Σύνθεση 3,4-εναντιομερών ή 3,5 δισυποκατεστημένων 2-πυραζολίνες με χειρόμορφο κέντρο στη θέση 4 ή 5.	59
Σχήμα 16: Σύνθεση 3,4,5-τρισυποκατεστημένων 2-πυραζολινών	60
Σχήμα 17: Σύνθεση εναντιομερών 3,5,5-τρισυποκατεστημένων 2-πυραζολινών.	60

Σχήμα 18: Σύνθεση πυραζολινών μέσω κυκλοσμπύκνωσης με τη χρήση μικροκυμάτων	61
Σχήμα 19: Σύνθεση αρυλοϋποκατεστημένων πυραζολινών	61
Σχήμα 20: Σύνθεση 2-πυραζολινών από 2-ακυλοαζιριδίνες και Huisgen zwitterions	61
Σχήμα 21: Σύνθεση χαλκονών από τους Jun Nishida και Jun Kawabata	70
Σχήμα 22: Αντίδραση 2',3,4-τριδροξυ-4',6'-διμεθοξυχαλκόνης με ρίζες DPPH	71
Σχήμα 23: Αντίδραση 2',3,4,4',6'-τριδροξυ-4',6' πενταδροξυχαλκόνης με ρίζες DPPH	72
Σχήμα 24: Σύνθεση διϋδροχαλκόνης και πυραζολίνης από χαλκόνη	78
Σχήμα 25: Μηχανισμός σχηματισμού χαλκονών με τη μέθοδο Claisen-Schmidt	79
Σχήμα 26: Παρασκευή βενζυλο- και πρενυλο-υποκατεστημένων ακετοφαινονών και βενζαλδεϋδών με αλκυλίωση των αντίστοιχων υδροξυ-υποκατεστημένων ενώσεων σε βασικό περιβάλλον	79
Σχήμα 27: Σύνθεση χαλκονών παρούσης διπλωματικής εργασίας	81
Σχήμα 28: Σύνθεση πυραζολινών παρούσης διπλωματικής εργασίας	85
Σχήμα 29: Μηχανισμός σχηματισμού πυραζολίνης	86
Σχήμα 30: Αλληλομετατροπή μεταξύ των πιθανών διαμορφομερών (I) και (II) σε δισδιάστατη (α) και τρισδιάστατη (β) απεικόνιση	88
Σχήμα 31: Διάγραμμα ενέργειας της πραζολίνης 13	91
Σχήμα 32: Σύνθεση διϋδροχαλκόνης παρούσης διπλωματικής εργασίας	92
Σχήμα 33: Σύνθεση του εστέρα του Hantzsch	93
Σχήμα 34: Αντίδραση Fenton	98
Σχήμα 35: Οι αντιδράσεις που συμβαίνουν κατά τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας της λουμινόλης	99
Σχήμα 36: Αρχή μεθόδου FRAP	101

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Παπαρούνα του οπίου	20
Εικόνα 2: Φυτό του είδους <i>Solanaceae</i>	20
Εικόνα 3: Κατηγορίες φαινολικών ενώσεων	23
Εικόνα 4: Γλυκοζίτες	25
Εικόνα 5: Κατηγορίες φλαβονοειδών	26
Εικόνα 6: Κερκετίνη	29
Εικόνα 7: Προκυανιδίνη	29
Εικόνα 8: Ανθοκυανιδίνες	29
Εικόνα 9: Ο φλοιός των σταφυλιών είναι πλούσιος σε ρεσβερατρόλη	30
Εικόνα 10: Μυρικετίνη	30
Εικόνα 11: Κερκιτρίνη	31
Εικόνα 12: Μυρικιτρίνη	31
Εικόνα 13: Τανγεριτίνη	32
Εικόνα 14: Νοβιλετίνη	32
Εικόνα 15: Χυμός λεμονιού και πορτακαλιού	33
Εικόνα 16: Γκοσιπετίνη	33
Εικόνα 17: Κερκεταγενίνη	33
Εικόνα 18: Δομή χαλκονών	34
Εικόνα 19: Ποικιλίες φυτών <i>Kava</i> , <i>Scutellaria</i> , <i>Angelica</i>	35
Εικόνα 20: Ρίζες γλυκόριζας	35
Εικόνα 21: Χαρακτηριστικοί εκπρόσωποι φυσικών βιοδραστικών χαλκονών	36
Εικόνα 22: Κώνος λυκίσκου	36
Εικόνα 23: Άνθη του φυτού <i>Coreopsis</i>	37
Εικόνα 24: Χαλκόνες με καλή αντιφυματική δράση	38
Εικόνα 25: Παράγωγα διδροχαλκονών με καλή αντιλεϊσμμανιακή δράση	39
Εικόνα 26: Αλκοξυλιωμένες χαλκόνες με ανθελονοσιακή δράση	39
Εικόνα 27: 4-χλωρο-2',4'-διυδροξυχαλκόνη.	40
Εικόνα 28: 2,4-διμεθόξυ-4'-βουτοξυχαλκόνη	40
Εικόνα 29: Χαλκόνες που μελετήθηκαν για αντιμυκητιακή δράση	41
Εικόνα 30: Η χαλκόνη με την καλύτερη αντιμυκητιακή δράση	41
Εικόνα 31: Χαλκόνες με καλή αντική δράση	42

Εικόνα 32: Ξανθοχουμόλη	42
Εικόνα 33: Χαλκόνες με καλή δράση έναντι του hMAO-B	44
Εικόνα 34: 3-μεθυλο-2-βουτεν-1-υλο ομάδα (πρενυλο- ομάδα)	44
Εικόνα 35: Πυραζολινικός δακτύλιος	51
Εικόνα 36: Phenazone	52
Εικόνα 37: Indoxacarb	52
Εικόνα 38: Πυραζολίνες με καλή δράση παρεμπόδισης του hMAO-B	53
Εικόνα 39: Απεικόνιση της σύνδεσης της erlotinib με τον υποδοχέα της κινάσης του EGFR.	55
Εικόνα 40: Πυραζολίνες με καλές ιδιότητες φθορισμού	56
Εικόνα 41: Τροποποίηση βιολογικών μορίων λόγω των ελευθέρων ριζών	63
Εικόνα 42: Τα φρούτα και τα λαχανικά είναι πλούσια σε αντιοξειδωτικά	64
Εικόνα 43: Η πυραμίδα της Μεσογειακής διαίτας	65
Εικόνα 44: Βασική δομή φλαβονοειδών	67
Εικόνα 45: Χαλκόνη με καλή ικανότητα δέσμευσης ριζών DPPH	68
Εικόνα 46: Χαλκόνες με ισχυρή δράση παρεμπόδισης των LOX	69
Εικόνα 47: Χαλκόνη με υψηλή ικανότητα δέσμευσης ριζών DPPH και υψηλή ικανότητα παρεμπόδισης της δράσης της LOX.	69
Εικόνα 48: Χαλκόνες με καλή δραστηριότητα σε δοκιμασίες όπως η ικανότητα απορρόφησης οξυγόνου και η δοκιμασία της φλουορεσκεΐνης.	74
Εικόνα 49: Ισοξανθοχουμόλη	75
Εικόνα 50: Πυραζολινικά παράγωγα που επέδειξαν πολύ καλή αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με το ασκορβικό οξύ	76
Εικόνα 51: Υδρογόνο του υδροξυλίου της θέσης 2' των χαλκονών	81
Εικόνα 52: Βινυλικά υδρογόνα H _α και H _β του α,β-ακόρεστου καρβονυλικού συστήματος	82
Εικόνα 53: Η χαλκόνη 11 είναι φυσικό προϊόν που απομονώνεται από τις ρίζες του φυτού <i>Dalbergia sissoo</i> .	83
Εικόνα 54: Φάσμα ¹ H NMR (CDCl ₃ , 300MHz) της χαλκόνης 11	83
Εικόνα 55: Φάσμα ¹ H NMR (CDCl ₃ , 300MHz) της χαλκόνης 11 -περιοχή αρωματικών πρωτονίων	84
Εικόνα 56: Πυραζολίνη 13	87
Εικόνα 57: Φάσμα ¹ H NMR (CDCl ₃ , 600MHz) της πυραζολίνης 13	87

Εικόνα 58: Φάσμα ^1H NMR(CDCl_3 ,600MHz) της πυραζολίνης 13 : 5.8-7.7ppm	87
Εικόνα 59: Φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 ,600MHz) της πυραζολίνης 13 : 2.0-5.4ppm	89
Εικόνα 60: Διαμορφώσεις που αντιστοιχούν στα σημεία καμπής του διαγράμματος ενέργειας της πυραζολίνης 13	91
Εικόνα 61: Διϋδροχαλκόνη 15	94
Εικόνα 62: Φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 ,300MHz) της διϋδροχαλκόνης 15	94
Εικόνα 63: Υδρογόνο του υδροξυλίου της θέσης 2' της διϋδροχαλκόνης	94
Εικόνα 64: Φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) της διϋδροχαλκόνης 15 : 2.0-7.5 ppm	95
Εικόνα 65: Φάσμα MS χαλκόνης 8	110
Εικόνα 66: Φάσμα MS χαλκόνης 9	112

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Πρενυλιωμένες χαλκόνες από το λυκίσκο	47
Πίνακας 2: Σήματα των βινυλικών υδρογόνων H _α , H _β των χαλκονών της παρούσης διπλωματικής εργασίας	82
Πίνακας 3: Αποτελέσματα αντιοξειδωτικής δράσης	126
Πίνακας 4: Συγκεντρωτικός πίνακας παρασκευασθεισών ενώσεων παρούσης διπλωματικής εργασίας	131

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα ερευνητική εργασία πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου. Στα πλαίσια αυτής της εργασίας χρησιμοποιήθηκαν κοινά εργαστηριακά όργανα και διατάξεις φασματοσκοπικής ανάλυσης όπως τα όργανα των φασμάτων UV-Vis, NMR και MS.

Η ιδέα στην οποία βασίστηκε η εργασία αυτή, ήταν η σύνθεση, ο χαρακτηρισμός και η μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης χαλκονών που φέρουν διάφορους υποκαταστάτες καθώς και των παραγώγων τους (πυραζολίνες, διϋδροχαλκόνη).

1.ΦΥΣΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

1.1. Γενικά

Ως φυσικό προϊόν χαρακτηρίζεται μια χημική ένωση ή ουσία που παρασκευάζεται από ένα ζωντανό οργανισμό στη φύση και συνήθως παρουσιάζει φαρμακολογική ή βιολογική δράση. Για το λόγο αυτό, τα φυσικά προϊόντα χρησιμοποιούνται για την ανακάλυψη και το σχεδιασμό νέων φαρμάκων.[1]

Τα φυσικά προϊόντα απομονώνονται από φυτά και ζώα. Τα ακατέργαστα εκχυλίσματα τους, συνήθως περιέχουν χημικές ενώσεις που διαφέρουν δομικά ανάλογα με την πηγή προέλευσής τους. Έτσι, οι ερευνητές ταξιδεύουν ανά τον κόσμο προκειμένου να συλλέξουν δείγματα προς ανάλυση και αξιολόγηση.

Στο παρελθόν, η επιβίωση των αρχαίων πολιτισμών ήταν άμεσα εξαρτώμενη από την τοπική χλωρίδα και πανίδα. Για παράδειγμα, οι θεραπευτικές ιδιότητες της παπαρούνας του οπίου (δραστικό συστατικό:μορφίνη) ήταν γνωστές στην αρχαία Αίγυπτο, ενώ στην αρχαία Ελλάδα χρησιμοποιούνταν τα φυτά του είδους *Solanaceae* (δραστικά συστατικά:ατροπίνη και υοσκίνη) για παρόμοια χρήση.



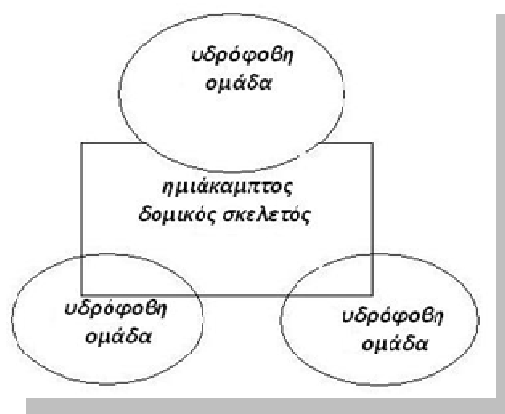
Εικόνα 1: Παπαρούνα του οπίου



Εικόνα 2: Φυτό του είδους *Solanaceae*

Η φαρμακογνωσία παρέχει τα εργαλεία για να τον προσδιορισμό, την επιλογή και την επεξεργασία των φυσικών προϊόντων που προορίζονται για ιατρική χρήση. Πολλά από τα σημερινά φάρμακα απομονώνονται άμεσα από μια φυσική πηγή, όπως τα αλκαλοειδή και η μορφίνη. Από την άλλη πλευρά, είναι δυνατόν να αναπτυχθούν φάρμακα από μια αρχική ένωση που απομονώνεται από μια φυσική πηγή, όπως τοπικά αναισθητικά που αναπτύχθηκαν από την κοκαΐνη [2].

Βασικό στοιχείο των φυσικών προϊόντων το οποίο τα καθιστά ενώσεις μεγάλης σημασίας που αξίζει να μελετηθούν, είναι το γεγονός ότι πολλά από αυτά αποτελούν 'προνομιακές δομές'. Ο ορισμός των 'προνομιακών δομών' κατά IUPAC αναφέρει ότι είναι 'οι δομές που αποτελούνται από ένα ημιάκαμπτο δομικό σκελετό (scaffold) ο οποίος είναι σε θέση να διαθέτει πολλαπλούς υδρόφοβους υποκαταστάτες χωρίς να υποβάλλεται σε υδρόφοβη κατάρρευση'. Επομένως, σύμφωνα με τον ορισμό, ο κοινός «δομικός παρονομαστής» των προνομιακών δομών είναι η παρουσία ενός ημιάκαμπτου δομικού σκελετού που παρουσιάζει φαρμακοφόρα και πιθανόν υδρόφοβα χαρακτηριστικά στην περιφέρεια του. Η περιορισμένη ευελιξία του σκελετού εμποδίζει την υδρόφοβη κατάρρευση, όταν η ένωση εκτίθεται σε υδατικό μέσο, ως εκ τούτου διατηρεί σε μεγάλο ποσοστό τη δυνατότητα δέσμευσης στο μόριο-στόχο.



Σχήμα 1: Σχηματική αναπαράσταση προνομιακής δομής

1.2.Φυσικά προϊόντα από φυτικές πηγές

Τα φυτά παράγουν μια τεράστια ποικιλία οργανικών ενώσεων, η μεγάλη πλειονότητα των οποίων δε συμμετέχει άμεσα στην ανάπτυξη τους. Οι ουσίες αυτές αναφέρονται παραδοσιακά ως δευτερογενείς μεταβολίτες. Οι λειτουργίες τους, πολλές από τις οποίες παραμένουν άγνωστες, διερευνώνται με αυξανόμενη συχνότητα. Σε αντίθεση, οι πρωτογενείς μεταβολίτες, όπως οι φυτοστερόλες, τα ακυλο-λιπίδια, τα νουκλεοτίδια, τα αμινοξέα και τα οργανικά οξέα βρίσκονται στα πάσης φύσεως φυτά και εκτελούν μεταβολικούς ρόλους που είναι απαραίτητοι για την ανάπτυξή τους.

Επιπροσθέτως, πολλά φυσικά προϊόντα έχει αποδειχθεί ότι παρέχουν στα φυτά προστασία από μικροβιακές μολύνσεις, και είναι ελκυστικά για τους επικονιαστές και τα ζώα που διασκορπίζουν τους σπόρους σε γεωργικές δραστηριότητες. Αυτές οι οικολογικές λειτουργίες επηρεάζουν σε βάθος την επιβίωση των φυτών και θεωρείται εύλογο να υιοθετείται ο λιγότερο υποτιμητικός όρος, «φυτικά φυσικά προϊόντα» για την περιγραφή των φυτικών δευτερογενών μεταβολιτών που δρουν κατά κύριο λόγο σε άλλα είδη.

Με βάση τη βιοσυνθετική τους προέλευση, τα φυτικά φυσικά προϊόντα μπορούν να κατηγοριοποιηθούν στις εξής μεγάλες ομάδες: τα τερπενοειδή, τα αλκαλοειδή, τα φαινυλοπροπανοειδή και τις φαινολικές ενώσεις.[3]

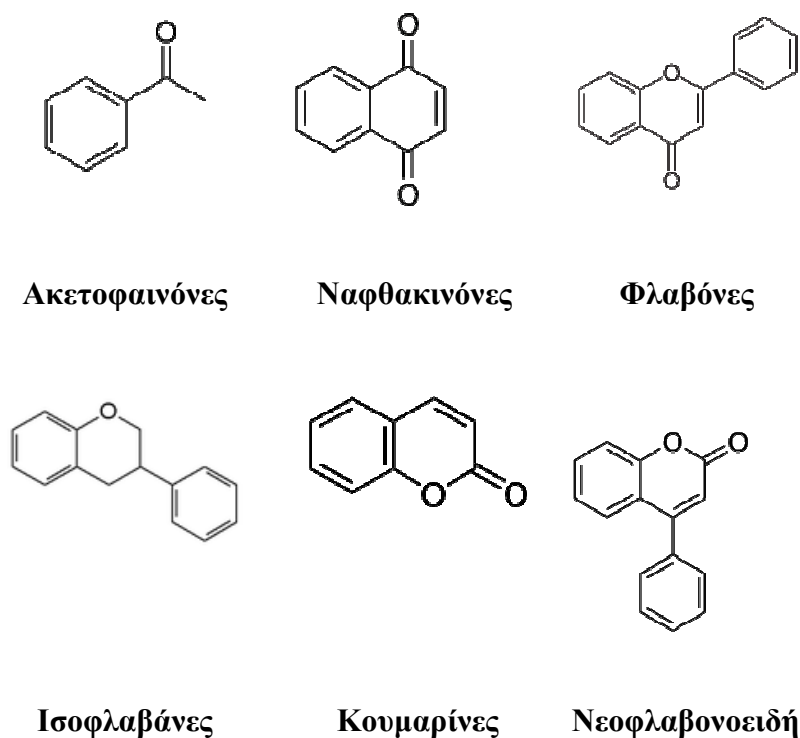
1.3.Φαινυλοπροπανοειδή - φαινολικές ενώσεις

Τα φυτά κατάγονται από το υδάτινο περιβάλλον: η επιτυχημένη εξελικτική προσαρμογή τους στην ξηρά επιτεύχθηκε σε ένα μεγάλο βαθμό από την μαζική δημιουργία των φυτικών φαινολικών ενώσεων. Στο καταμετρημένο 40% του οργανικού άνθρακα που υπάρχει στην βιόσφαιρα, αυτές οι φαινολικές ενώσεις προέρχονται κατά κύριο λόγο από τα φαινυλοπροπανοειδή και τις σχετικές βιοχημικές οδούς όπως αυτές που οδηγούν στις υδρολυόμενες τανίνες.

Ως φυτικά φαινολικά παράγωγα γενικά χαρακτηρίζονται οι αρωματικοί μεταβολίτες που κατέχουν, ή παλαιότερα κατείχαν μία ή περισσότερες όξινες ομάδες υδροξυλίου συνδεδεμένες στον αρωματικό φαινολικό δακτύλιο. Αυτές οι ενώσεις απασχόλησαν τους φυτοβιολόγους για χρόνια, παρεμβαίνοντας με πειραματικές

μεθόδους. Για παράδειγμα, όταν εκτίθενται στον αέρα, τα φυτικά φαινολικά παράγωγα εύκολα οξειδώνονται και μαυρίζουν, δημιουργώντας προϊόντα που σχηματίζουν σύμπλοκα με πρωτεΐνες και αναστέλλουν την ενζυμική δραστηριότητα. Τα καλλιεργημένα φυτά μπορούν επίσης να απελευθερώσουν φαινολικά παράγωγα που εμποδίζουν την ανάπτυξη των κάλλων και την αναγέννηση των βλαστών. Την ίδια στιγμή, παρατηρείται ότι οι φαινολικές ενώσεις έχουν σημαντική συμβολή στην ανάπτυξη, αναπαραγωγή και άμυνα των φυτών.

Οι περισσότερες φαινολικές ενώσεις ανήκουν στην κατηγορία των φλαβονοειδών. Η λιγνίνη, το κύριο συστατικό του ξύλου, είναι το πιο γνωστό μέλος αυτής της ομάδας. Παρακάτω παρουσιάζονται οι χημικές δομές ορισμένων κατηγοριών φαινολικών ενώσεων.



Εικόνα 3: Κατηγορίες φαινολικών ενώσεων

1.4. Ανάπτυξη φαρμάκων από φυσικά προϊόντα : προσεγγίσεις της συνθετικής οργανικής χημείας

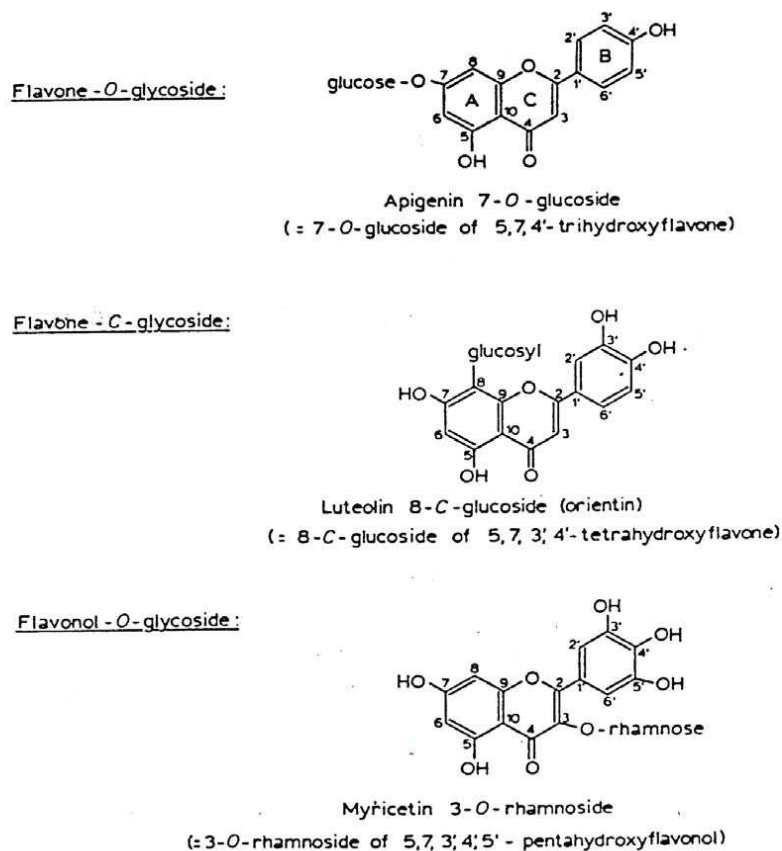
Τα φυσικά προϊόντα διαθέτουν από μόνα τους την δραστικότητα, την επιλεκτικότητα και τα φαρμακοκινητικά χαρακτηριστικά που τα καθιστούν, κλινικά χρήσιμους, φαρμακευτικούς παράγοντες. Ενώ αρχικά τα φυσικά προϊόντα θεωρούνταν μόρια-στόχοι, δηλαδή ερευνούνταν με σκοπό να χρησιμοποιηθούν τα ίδια σε θεραπείες, άρχισαν να μελετώνται τρόποι με τους οποίους συνθετικά μόρια μπορούν να παραχθούν βασισμένα πάνω στα πρότυπα φυσικά προϊόντα, δηλαδή πώς τα φυσικά προϊόντα μπορούν να αποτελέσουν τη βάση για τη συνθετική και φαρμακευτική χημεία [3].

2. ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ

2.1. Γενικά

Τα φλαβονοειδή είναι πολυφαινολικές ενώσεις, πολύ διαδεδομένες στα φυτά και πολλές από αυτές είναι υπεύθυνες για το χρώμα των καρπών και των ανθέων. Περίπου 3.000 ενώσεις, ίσως και μεγαλύτερος αριθμός, είναι γνωστές και απαντούν στα ανώτερα φυτά. Στις λειχήνες και στο ζωικό βασίλειο δεν έχουν βρεθεί φλαβονοειδή μέχρι σήμερα, εκτός από μερικά φλαβονοειδή που βρέθηκαν στα φτερά μιας πεταλούδας. Επίσης, δεν απαντούν στα φύκη και τους μύκητες, αν και υπάρχει μια αναφορά για μια φλαβόνη που απαντά στα φύκη του γένους *Nitella* και ενός άλλου που βρέθηκε στο μύκητα *Aspergillus candidus*.

Στα φυτά απαντούν είτε σε ελεύθερη μορφή είτε σε μορφή γλυκοζιτών. Οι γλυκοζίτες είναι Ο-γλυκοζίτες και μικρός αριθμός είναι C-γλυκοζίτες. Επειδή είναι ευρέως διαδεδομένα στη φύση συνιστούν μέρος της διατροφής του ανθρώπου. Υπολογίζεται ότι ο άνθρωπος παίρνει με την τροφή του 1 gr /ημερησίως.

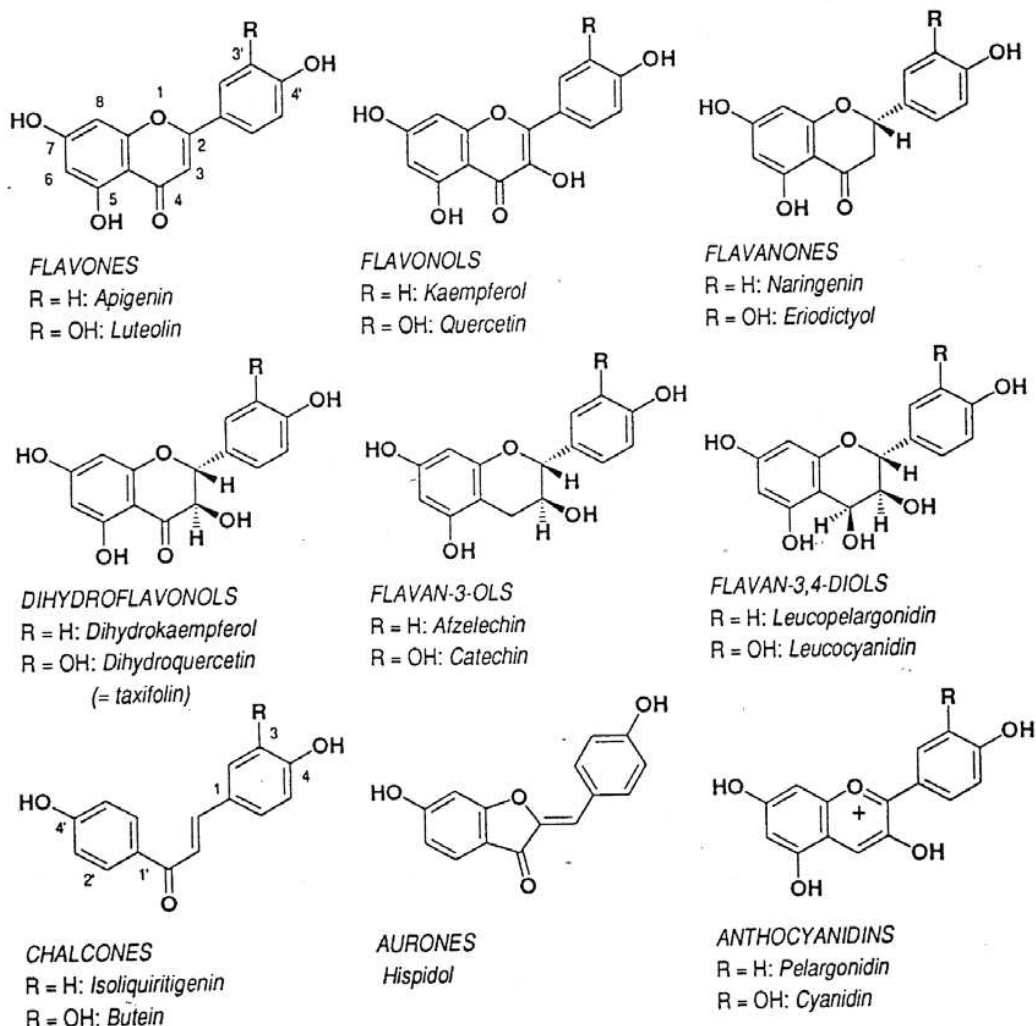


Εικόνα 4: Γλυκοζίτες

2.2.Κατηγορίες φλαβονοειδών

Τα φλαβονοειδή, ανάλογα με το βαθμό οξείδωσης του πυρανικού τους δακτυλίου διαίρονται σε κατηγορίες:

1. Παράγωγα του 2-φαινυλοβενζοπυριλίου: ανθοκυάνες
2. Παράγωγα της 2-φαινυλοχρωμόνης: φλαβόνες, φλαβονόλες, και τα διμερή τους, φλαβανόνες, ισοφλαβόνες, ισοφλαβανόλες, ξανθόνες.
3. Παράγωγα της 2-φαινυλοχρωμανόνης: Φλαβάνες, φλαβαν-3-όλες, φλαβαν-3,4-διόλες, χαλκόνες, διϋδροχαλκόνες, κατεχίνες.
4. Παράγωγα της βενζυλιδενεκουμαρόνης: ωρόνες

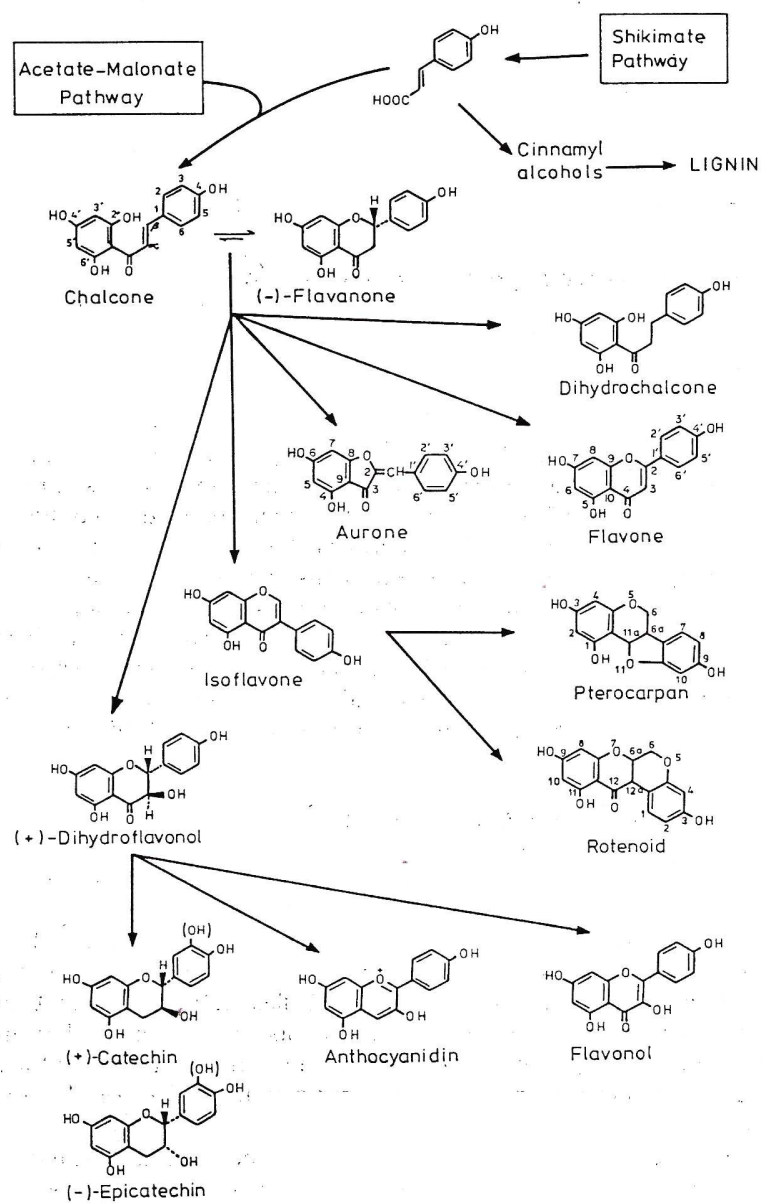


Εικόνα 5: Κατηγορίες φλαβονοειδών

2.3.Βιοσύνθεση των φλαβονοειδών

Όλα τα φλαβονοειδή έχουν κοινό βιοσυνθετικό δρόμο και ως εκ τούτου έχουν τον ίδιο βασικό σκελετό. Προέρχονται από τη συνένωση δύο άλλων συνθετικών δρόμων, του σικιμικού και του μηλονικού οξέος.

Το πρώτο φλαβονοειδές που προκύπτει από τη συνένωση των δύο δρόμων είναι η χαλκόνη και από αυτή με την επίδραση διαφόρων ενζυμικών συστημάτων προκύπτουν οι άλλοι τύποι των φλαβονοειδών.



Σχήμα 2: Βιοσύνθεση φλαβονοειδών

2.4. Απομόνωση από τα φυτά

Τα φλαβονοειδή και οι γλυκοζίτες τους είναι σταθερές ενώσεις και παραλαμβάνονται από τα φυτά με εκχύλιση χρησιμοποιώντας ψυχρούς ή θερμούς διαλύτες. Οι διαλύτες μπορεί να είναι νερό, οργανικοί διαλύτες (μεθανόλη, αιθανόλη, οξικός αιθυλεστέρας, βουνανόλη, ακετόνη) ή συνδυασμός αυτών.

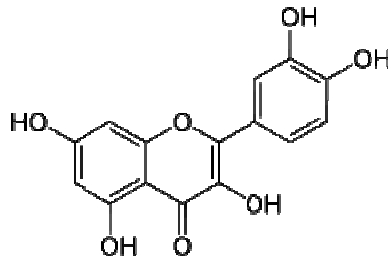
Μετά την παραλαβή τους μέσω εκχύλισης ακολουθεί ο διαχωρισμός τους με εφαρμογή μεθόδων χρωματογραφίας όπως: PC (Planar chromatography), TLC (Thin layer chromatography), CC (Column chromatography), HPLC (High-performance liquid chromatography), χρησιμοποιώντας διάφορα συστήματα χρωματογραφίας (διαλύτες). Στη συνέχεια με μεθόδους φασματοσκοπίας γίνεται η ταυτοποίηση των ουσιών. Τέτοιες φασματοσκοπικές μέθοδοι είναι: UV (ultraviolet radiation), IR (infrared radiation), NMR (nuclear magnetic resonance), MS (mass spectrometry).

2.5.Βιολογικές ιδιότητες

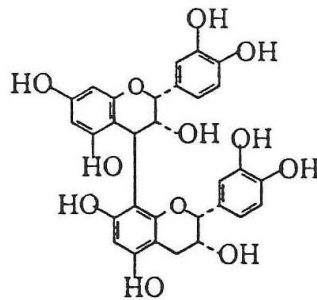
Τα φλαβονοειδή εμφανίζουν πληθώρα βιολογικών ιδιοτήτων, οι πιο βασικές από τις οποίες αναφέρονται στη συνέχεια.

2.5.1. Αντιφλεγμονώδης δράση

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



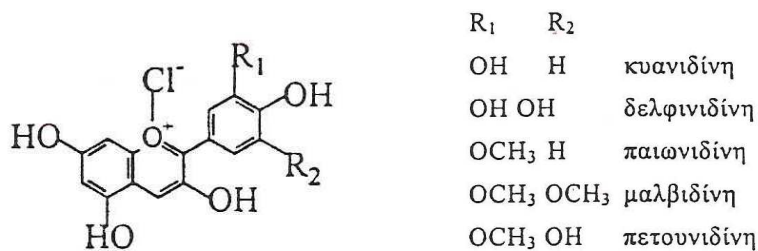
Εικόνα 6: Κερκετίνη



Εικόνα 7: Προκυανιδίνη

2.5.2. Καρδιοπροστατευτική δράση

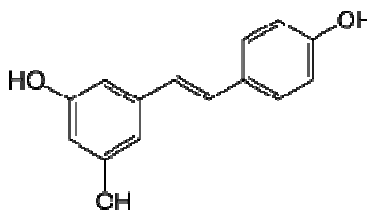
Γνωστή είναι η χρήση των εκχυλισμάτων των ειδών *Grategus* για τη θεραπεία διαφόρων τύπων διαταραχών της καρδιάς. Επίσης οι πολυφαινόλες ειδών *vitis* π.χ. *Vitis vinifera*, έχουν αποδειχθεί ότι έχουν προστατευτικό ρόλο στην αρτηριοσκλήρυνση. Το κόκκινο χρώμα του κρασιού οφείλεται σε πολυφαινολικές ενώσεις, όπως τις ανθοκυανιδίνες και τους γλυκοζίτες τους ανθοκυάνες, και σε προανθοκυανιδίνες που είναι ολιγομερή παράγωγα φλαβον-3-ολών, ή φλαβον-3,4-διολών.



Εικόνα 8: Ανθοκυανιδίνες

Οι πολυφαινολικές αυτές ενώσεις του κρασιού έχουν προστατευτικό ρόλο στην αρτηριοσκλήρυνση και αντιοξειδωτική δράση που εμποδίζει την οξείδωση της LDL(low density lipoprotein).

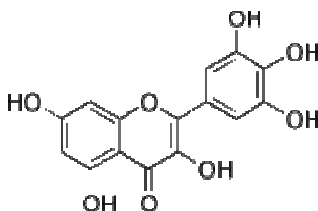
Η ρεσβερατρόλη είναι μια φαινολική ένωση που βρίσκεται σε υψηλή συγκέντρωση στο φλοιό των σταφυλιών που προορίζονται για την παρασκευή κρασιού. Η ένωση αυτή αποτελεί για τα σταφύλια ένα μέσο άμυνας έναντι των μικροβίων, ωστόσο μπορεί να παρασκευαστεί και τεχνητά με τη βοήθεια υπεριώδους ακτινοβολίας. Οι αμπελώνες που βρίσκονται σε περιοχές με υγρό και ψυχρό κλίμα και έχουν υψηλότερη πιθανότητα εμφάνισης ασθενειών στους καρπούς τους, όπως το Μπορντώ και η Βουργουνδία παράγουν σταφύλια με υψηλότερα επίπεδα ρεσβερατρόλης σε σχέση με τις θερμότερες και ξηρότερες περιοχές όπως η Καλιφόρνια και η Αυστραλία.



Εικόνα 9: ο φλοιός των σταφυλιών είναι πλούσιος σε ρεσβερατρόλη

2.5.3. Αντιελκώδης δράση

Μερικά φλαβονοειδή αποτρέπουν το σχηματισμό ελκών, μετριάζουν τον πόνο και σταματούν την αιμορραγία. Πρόσφατες μελέτες in vivo σε ποντίκια, έδειξαν ότι από τις ουσίες που εξετάστηκαν, η μυρικετίνη ήταν μια από τις πιο αποτελεσματικές.

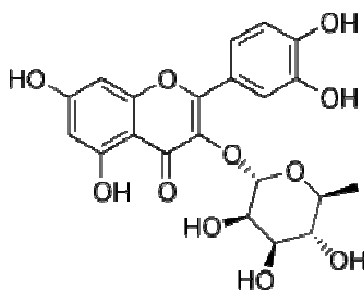


Εικόνα 10: Μυρικετίνη

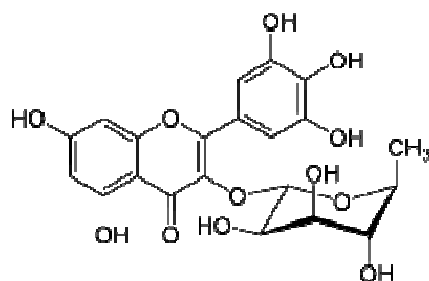
2.5.4. Συμβολή στη θεραπεία του καταρράκτη

Στην πάθηση του διαβήτη, υπάρχει αύξηση της γλυκόζης στο αίμα του ανθρώπου. Επίσης, στο φακό του ματιού παράγεται σορβιτόλη ή δουλκιτόλη. Η δουλκιτόλη δε μπορεί να μεταβολισθεί από τον οργανισμό όταν παράγεται, και ως εκ τούτου σχηματίζεται μια υάλινη στοιβάδα μέσα στους φακούς (ο καταρράκτης). Επί πλέον συγκέντρωση δουλκιτόλης στο μάτι, αυξάνει την ωσμωτική πίεση με αποτέλεσμα τον πόνο.

Τα φλαβονοειδή είναι ισχυροί αναστολείς του σχηματισμού της δουλκιτόλης. Την ισχυρότερη δράση την έχουν η κερκιτρίνη και μυρικιτρίνη. Επίσης τα μεθυλιωμένα στο C-6 ή C-8 ανάλογα είναι ισχυροί αναστολείς της δουλκιτόλης. Έτσι μπορεί να τους δοθεί ένας ρόλος στη θεραπεία του καταράκτη, αποτρέποντας το σχηματισμό της δουλκιτόλης.



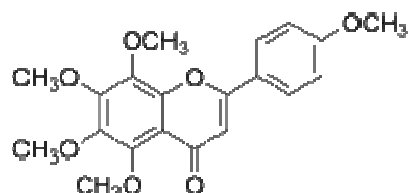
Εικόνα 11: Κερκιτρίνη



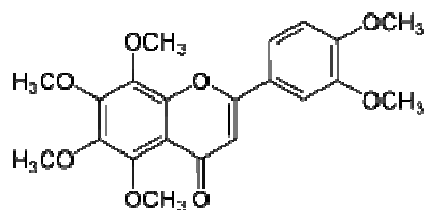
Εικόνα 12: Μυρικιτρίνη

2.5.5. Αντικαρκινική δράση

Τα φλαβονοειδή του γένους *Citrus* ιδίως τα πολυμεθυλιωμένα όπως η τανγεριτίνη (tangeretin) και νοβιλετίνη (nobiletin) παρουσιάζουν έντονη ανασταλτική δράση στους καρκινικούς όγκους από ότι τα υδροξυλιωμένα παράγωγα.



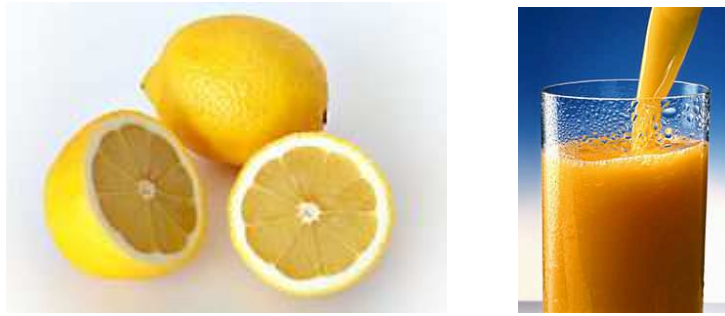
Εικόνα 13: Τανγεριτίνη



Εικόνα 14: Νοβιλετίνη

2.5.6. Αντιθρομβωτική δράση

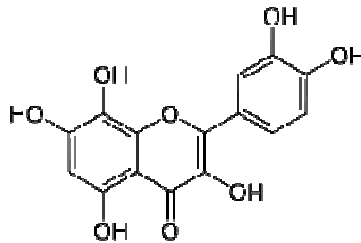
Η δράση αυτή οφείλεται μάλλον στην αναστολή της σύνθεσης εικοσανοειδών. Οι επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν χαμηλό ποσοστό στεφανιαίας νόσου σε γαλλικές πόλεις, όπου οι κάτοικοι των περιοχών αυτών καταναλώνουν κόκκινο κρασί. Επίσης, τα φλαβονοειδή των εσπεριδοειδών ελαττώνουν τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων και δρουν αντιθρομβωτικά. Ο χυμός του λεμονιού μειώνει την χοληστερόλη και τα τριγλυκερίδια, ενώ του πορτοκαλιού ανεβάζει την υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη HDL (High Density Lipoprotein).



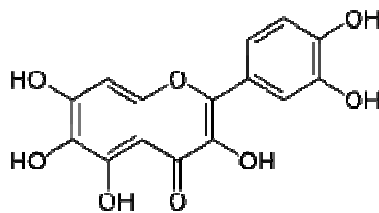
Εικόνα 15: Χυμός λεμονιού και πορτακαλιού

2.5.7. Αντιοξειδωτική δράση

Ο αριθμός και η θέση των ελευθέρων υδροξυλίων, παίζουν ρόλο στην αντιοξειδωτική δράση των φλαβονοειδών. Σαν ισχυρότερα αντιοξειδωτικά θεωρούνται η κερκετίνη, μυρικετίνη, γκοσιπετίνη, κερκεταγενίνη. Η κερκετίνη εμποδίζει την οξείδωση των πολυακορέστων λιπαρών οξέων και προστατεύει τους χυμούς των εσπεριδοειδών από την αυτοοξείδωση της βιταμίνης C. Οι ενώσεις αυτές έχουν την ικανότητα να παγιδεύουν το ανιόν υπεροξειδίου [4].



Εικόνα 16: Γκοσιπετίνη



Εικόνα 17: Κερκεταγενίνη

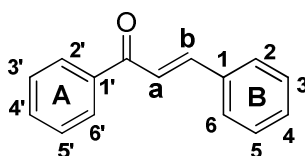
3. ΧΑΛΚΟΝΕΣ

3.1. Γενικά

Οι χαλκόνες (1,3-διαρυλο-2-προπεν-1-όνες), αποτελούν μία από τις κυριότερες κατηγορίες φυσικών προϊόντων. Είναι πρόδρομες ενώσεις των φλαβονοειδών και των ισοφλαβονοειδών και συγκαταλέγονται στους φυτοχημικούς παράγοντες. Η βιοσύνθεσή τους στα φυτά πραγματοποιείται για να τα προστατεύει από το φωτοσυνθετικό στρες, τις δραστικές μορφές οξυγόνου και τα παράσιτα [5,6].

3.2. Δομή

Ο δομικός σκελετός των χαλκονών αποτελείται από δύο αρωματικούς δακτυλίους (A και B) που συνδέονται μεταξύ τους μέσω ενός α,β-ακόρεστου καρβονυλικού συστήματος τριών ατόμων άνθρακα.[7]



Εικόνα 18: Δομή χαλκονών

Οι θέσεις στις συγκεκριμένες ενώσεις επισημαίνονται χρησιμοποιώντας ένα σύστημα αρίθμησης μοναδικό για αυτές τις ενώσεις. Οι χαλκόνες αναγνωρίζονται επειδή δομικά σχετίζονται με τις ακετοφαινόνες, των οποίων οι θέσεις των ανθράκων στους αρωματικούς δακτυλίους επισημαίνονται με τονισμένους αριθμούς. Έτσι στις χαλκόνες και τις διυδροχαλκόνες οι θέσεις των ανθράκων στον Α-δακτύλιο επισημαίνονται με τονισμένους αριθμούς, ενώ στο Β-δακτύλιο με απλούς αριθμούς. Στις χαλκόνες, οι α και β θέσεις συνδέονται με διπλό δεσμό, αλλά αυτό δε συμβαίνει στις διυδροχαλκόνες. Οι φυσικές χαλκόνες περιέχουν κυρίως υδροξυ-, μεθοξυ-, πρενυλο- και μεθυλο- ομάδες ως υποκαταστάτες στους δακτυλίους Α και Β.

Από συνθετική άποψη, οι χαλκόνες ανήκουν στην κατηγορία των 'προνομιούχων δομών', δηλαδή ενώσεων που μπορούν να τροποποιηθούν δομικά με μεγάλη ποικιλία υποκαταστατών ούτως ώστε να διαφοροποιείται η βιολογική δράση

τους και να μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα για τη σχέση δομής-βιολογικής δραστηριότητας. Το πλεονέκτημα αυτό, σε συνδυασμό με τις απλές συνθετικές μεθοδολογίες που οδηγούν στη σύνθεσή τους, καθιστά τις χαλκόνες ελκυστικές ενώσεις-στόχους στην οργανική και φαρμακευτική χημεία.

Οι κυριότεροι εκπρόσωποι των φυσικών χαλκονών είναι αυτές που λαμβάνονται ως εκχυλίσματα από διάφορες ποικιλίες φυτών όπως τα *Angelica*, *Glycyrrhiza*, *Humulus* και *Scutellaria*, που χρησιμοποιούνται ευρέως στην παραδοσιακή ιατρική πολλών χωρών. Από τα εκχυλίσματα των φυτών του είδους *kava*, απομονώνονται μεθοξυλιωμένες χαλκόνες, οι λεγόμενες flavokawains A, B και C [8], που χρησιμοποιούνται παραδοσιακά από τους κατοίκους των νησιών του Ειρηνικού ωκεανού και εμφανίζουν αντιφλεγμονώδη, αντικαρκινική και αγχολυτική δράση.

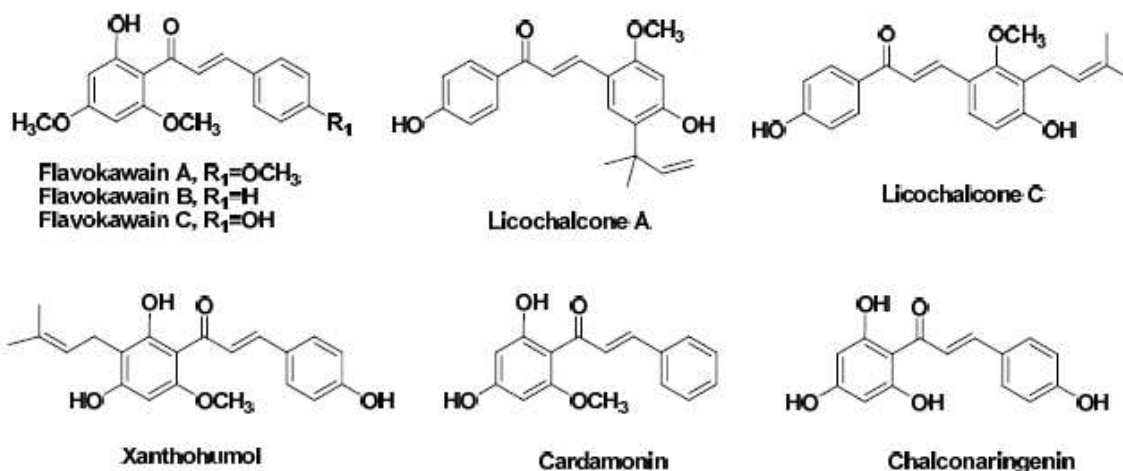


Εικόνα 19: Ποικιλίες φυτών *Kava*, *Scutellaria*, *Angelica*

Επίσης, τα εκχυλίσματα από τις ρίζες της γλυκόριζας (*liquorice*), που χρησιμοποιούνται από την παραδοσιακή Κινεζική ιατρική, για τη θεραπεία του βρογχικού άσθματος, δερματικών παθήσεων και δηλητηριάσεων και βρίσκουν σήμερα εφαρμογή στη βιομηχανία τροφίμων και φαρμάκων, περιέχουν ως κύρια συστατικά χαλκόνες, όπως οι licochalcones A και C που εμφανίζουν αξιόλογη αντιβακτηριακή και αντιπαρασιτική δράση [9,10].



Εικόνα 20: Ρίζες γλυκόριζας



Εικόνα 21: Χαρακτηριστικοί εκπρόσωποι φυσικών βιοδραστικών χαλκονών

Άλλα χαρακτηριστικά παραδείγματα φυσικών βιοδραστικών χαλκονών είναι η ξανθοχουμόλη (xanthohumol), ένα πρενυλιωμένο φλαβονοειδές που αποτελεί το κύριο συστατικό του λυκίσκου και χαρακτηρίζεται ως χημειοπροληπτικός αντικαρκινικός παράγοντας ευρέως φάσματος [11], η καρδαμονίνη (cardamonin) που απομονώνεται από φυτά του είδους *zingiberous* και εμφανίζει αντιφλεγμονώδεις και αντιμυτωτικές ιδιότητες [12,13] και πολυ- υδροξυλιωμένες χαλκόνες, όπως η χαλκοναρινγκενίνη (chalconaringenin) που αποτελεί το κύριο φλαβονοειδές της τομάτας με ισχυρή αντιοξειδωτική δράση [14].



Εικόνα 22: Κώνος λυκίσκου

Στην ύπαρξη χαλκονών οφείλεται το κίτρινο χρώμα των λουλουδιών σε είδη όπως *Dahlia*, *Coreopsis*, *Cosmos*, και *Dianthus caryophyllus L.*



Εικόνα 23: Άνθη του φυτού *Coreopsis*

3.3. Βιολογικές ιδιότητες

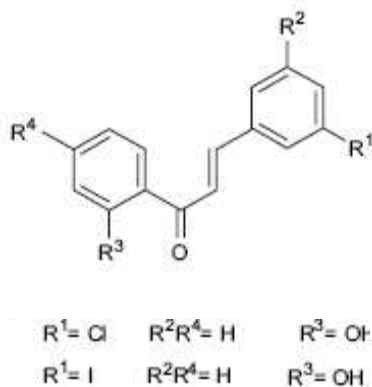
Το ερευνητικό ενδιαφέρον για τις χαλκόνες είναι αυξημένο, καθώς παρουσιάζουν ενδιαφέρουσες βιολογικές και φαρμακολογικές ιδιότητες, όπως αντιμικροβιακή, αντιοξειδωτική, αντικαρκινική, αντιφλεγμονώδη, και αντιπαρασιτική δράση. Επίσης ένας αριθμός παραγώγων των χαλκονών έχει βρεθεί ότι εμποδίζουν τη δράση σημαντικού αριθμού ενζύμων, όπως οξειδάση της ξανθίνης, αναγωγή της αλδόζης, εποξειδική υδρολάση, πρωτεϊνική τυροσινική κινάση και αναγωγή της κινόνης.

3.3.1. Αντιβακτηριακές ιδιότητες

Οι αντιβακτηριακές ιδιότητες σχετίζονται με την ικανότητα της α,β-ακόρεστης κετόνης να υφίσταται μια αντίδραση προσθήκης Michael από πυρηνόφιλες ομάδες, όπως μια ομάδα θειόλης σε μια πρωτεΐνη.

Η φυματίωση, που προκαλείται από το *Mycobacterium tuberculosis (Mtb)*, έναν ενδοκυττάριο βάκιλο, συγκαταλέγεται στις πρώτες αιτίες θανάτου μεταξύ των μολυσματικών ασθενειών παγκοσμίως. Η δράση του *M. tuberculosis*, παρεμποδίστηκε σημαντικά από την licochalcone 1A.[15]

Περαιτέρω μελέτες για τη σχέση δομής-δράσης σε χαλκόνες με αντιφυματική δράση έδειξαν ότι η υποκατάσταση με αλογόνο στον Α-δακτύλιο της 2'-υδροξυχαλκόνης οδηγεί σε αύξηση της δραστηριότητας. Ισχυρότερη δράση έδειξαν οι 2'-υδροξυχαλκόνες που περιείχαν Cl ή I στη θέση 3' του δακτυλίου Α.[16]



Εικόνα 24: Χαλκόνες με καλή αντιφυματική δράση

3.3.2. Αντιλεισμανιακές ιδιότητες

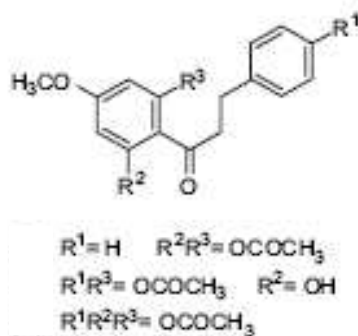
Η λεισμανίαση είναι μια ομάδα ασθενειών που προκαλούνται από τα παρασιτικά πρωτόζωα που ανήκουν στο γένος *Leishmania*. Η ασθένεια αυτή ανήκει στην κατηγορία των ‘παραμελημένων’ ασθενειών για την οποία δεν υπάρχει εμβόλιο και η θεραπεία έγκειται αποκλειστικά στη χορήγηση φαρμάκων.

Οι φυσικές και συνθετικές χαλκόνες έχουν μελετηθεί πρόσφατα για την αντιλεισμανιακή τους δράση, με πολύ ενθαρρυντικά αποτελέσματα.

Από τις φυσικές χαλκόνες, η licochalcone A βρέθηκε ότι εμποδίζει τη δράση των ενζύμων αναγωγή του φουμαρικού οξέος (NADH-FRD) και αφυδρογονάση του ηλεκτρικού οξέος (SDH) στην προμαστιγωτή μορφή των παρασίτων του γένους *Leishmania*.

Η licochalcone A, επέδειξε ξεκάθαρα δράση ως αναστολέας της αναγωγής του φουμαρικού (FRD) στο παράσιτο, εξαρτώμενα από τη συγκέντρωση και το χρόνο. Η licochalcone A πιθανώς πρώτα παρεμποδίζει την FRD του παρασίτου, μετά επηρεάζει την αναπνευστική αλυσίδα, τη λειτουργία και τη δομή των μιτοχονδρίων του παρασίτου και τελικά το σκοτώνει. Παρόμοια δράση εμφάνισαν και άλλες χαλκόνες. [17]

Επίσης, μελετήθηκε και η δραστηριότητα παραγώγων των διυδροχαλκονών σε σχέση με αυτά των χαλκονών. Υποστηρίχθηκε ότι η ικανότητα παρεμπόδισης της ανάπτυξης των παρασίτων οφείλεται κυρίως στην παρουσία λιποφιλικών/υδροφιλικών υποκαταστατών στους δύο αρωματικούς δακτυλίους, ενώ η προπανονική αλυσίδα απλά λειτουργεί ως γέφυρα μεταξύ τους.[18,19,20]

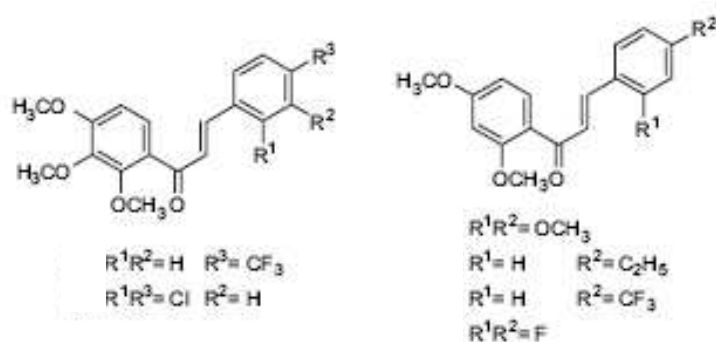


Εικόνα 25: Παράγωγα διϋδροχάλκων με καλή αντιελισμανιακή δράση

3.3.3. Ανθελονοσιακές ιδιότητες

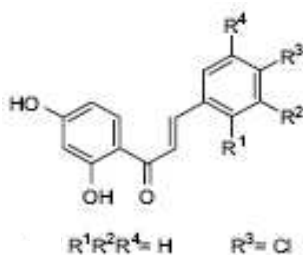
Τα *Plasmodium falciparum* και *Plasmodium vivax* είναι δύο σημαντικά παράσιτα που προκαλούν στον άνθρωπο ελονοσία. Χωρίς αμφιβολία, η ανθελονοσιακή δραστηριότητα των χάλκων έχει προκαλέσει μεγάλο ενδιαφέρον. Πολλές χάλκονες παρουσιάζουν υψηλή ανθελονοσιακή δράση, η οποία είναι πιθανότατα αποτέλεσμα της προσθήκης κατά Michael μιας πυρηνόφιλης ομάδας στο διπλό δεσμό της ενόνης [21,22].

Αποδείχτηκε ότι η ανθελονοσιακή δραστηριότητα των χάλκων έναντι του παρασίτου της ελονοσίας, *P. falciparum* οφείλεται κυρίως στις ιδιότητες του Β δακτυλίου. Το μέγεθος και η υδροφοβικότητα των υποκαταστατών αποτέλεσαν βασικές παραμέτρους. Οι υδροξυλιωμένες χάλκονες ήταν λιγότερο δραστικές σε σχέση με τα αντίστοιχα αλκοξυλιωμένα ανάλογα τους.



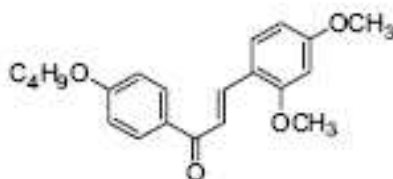
Εικόνα 26: Αλκοξυλιωμένες χάλκονες με ανθελονοσιακή δράση

Από τις υδροξυλιωμένες χαλκόνες που μελετήθηκαν την καλύτερη ανθελονοσιακή δράση επέδειξε η 4-χλωρο-2',4'-διυδροξυχαλκόνη.



Εικόνα 27: 4-χλωρο-2',4'-διυδροξυχαλκόνη.

Επίσης, η 2,4-διμεθόξυ-4'-βουτοξυχαλκόνη είναι μια νέα ένωση, που έχει εξαιρετικές ανθελονοσιακές ιδιότητες έναντι των παρασίτων με χαμηλή κυτταροτοξικότητα [23].

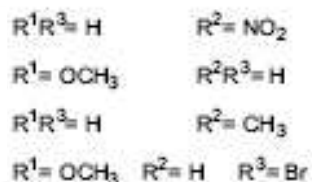
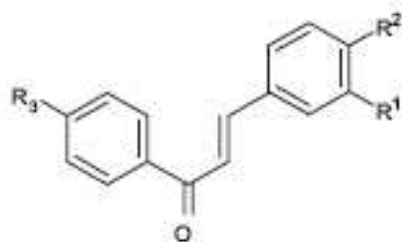


Εικόνα 28: 2,4-διμεθόξυ-4'-βουτοξυχαλκόνη

3.3.4. Αντιμυκητιακές ιδιότητες

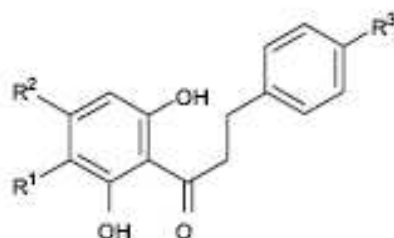
Τα δερματοφύτα είναι μια ομάδα μυκήτων που προσβάλλουν τις περιοχές που έχουν κερατίνη στο σώμα, προκαλώντας δερματομυκητιάσεις που είναι δύσκολο να εξαλειφθούν. Είναι, επομένως, πολύ ενδιαφέρον το ότι τα παράγωγα χαλκονών επέδειξαν δραστικότητα έναντι των δερματοφύτων.

Παρατηρήθηκε ότι ανάλογα με το είδος των υποκαταστατών στον Α δακτύλιο, οι ομάδες-δότες ηλεκτρονίων δείχνουν να ελαττώνουν την αντιμυκητιακή δραστικότητα ενώ οι ομάδες δέκτες ηλεκτρονίων στην παρα-θέση την αυξάνουν [24].



Εικόνα 29: Χαλκόνες που μελετήθηκαν για αντιμυκητιακή δράση

Ακόμα ορισμένα παράγωγα χαλκονών επέδειξαν καλή δραστηριότητα έναντι των δύο κυρίων παθογόνων μυκήτων που σχετίζονται με το AIDS, την *Candida albicans* και τον *Cryptococcus neoformans*, και οριακή δραστηριότητα έναντι του βακτηρίου *Mycobacteria intracellulare*. Αυτή είναι η πρώτη αναφορά εκτίμησης της δραστηριότητας αυτών των ενώσεων έναντι των κυρίων παθογόνων που σχετίζονται με το AIDS.[25]

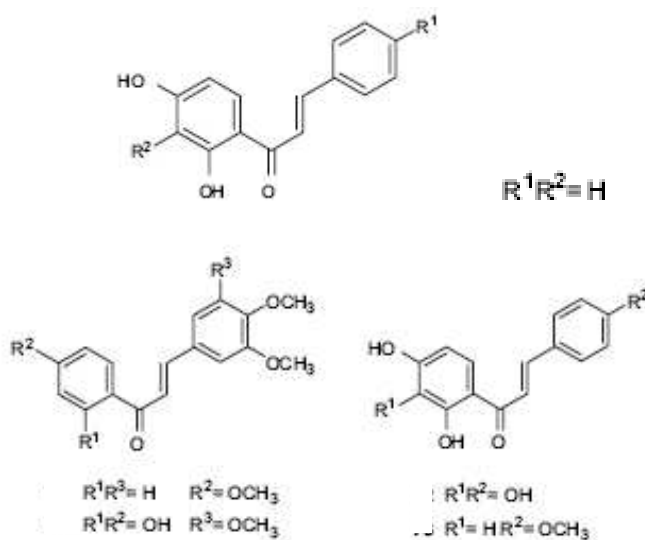


Εικόνα 30: Η χαλκόνη με την καλύτερη αντιμυκητιακή δράση

3.3.5. Αντικές ιδιότητες

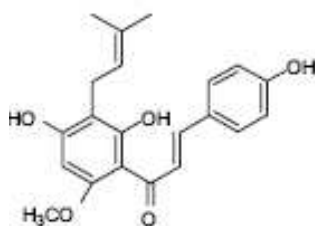
Η ποικίλη αντική δραστηριότητα των χαλκονών εξαρτάται από συγκεκριμένα είδη υποκαταστατών.

Τα παράγωγα υδροξυ και μεθοξυ χαλκονών εξετάστηκαν για τη δραστηριότητά τους έναντι στους ιούς που μολύνουν τις τομάτες *Tomato Ringspot nepovirus* (ToRSV). Η υδροξυλίωση του Β δακτυλίου στις 2',3',4' θέσεις και του Α δακτυλίου στην 4 θέση ενεργοποιεί τις χαλκόνες έναντι του ToRSV, όταν όμως ο 5' άνθρακας επίσης υδροξυλιώνεται, χάνεται όλη η αντική δραστηριότητα [26,27].



Εικόνα 31: Χαλκόνες με καλή αντική δράση

Η xanthohumol είναι ένας επιλεκτικός παρεμποδιστής του ιού HIV-1 και μπορεί να αποτελέσει ένα νέο θεραπευτικό παράγοντα για τη μόλυνση από αυτόν. Ο στόχος της xanthohumol πιθανόν είναι η παρεμπόδιση της διαδικασίας της αντίστροφης μεταγραφής του ιού [28].



Εικόνα 32: Ξανθοχουμόλη

3.3.6. Αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες

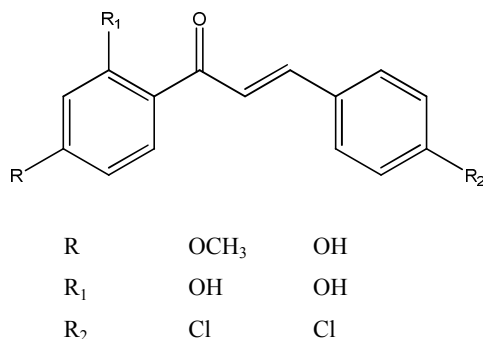
Η παρεμπόδιση της προσταγλαδίνης E_2 (PGE_2) και της παραγωγής του μονοξειδίου του αζώτου NO έχει προταθεί ως μία πιθανή θεραπεία για διάφορες φλεγμονώδεις διαταραχές. Μεγάλες ποσότητες NO πιθανόν να οδηγήσουν σε καταστροφή των ιστών. Σε φλεγμονώδεις ασθένειες όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα, έχει παρατηρηθεί υπερβολική παραγωγή NO από τα ενεργοποιημένα μακροφάγα. Επομένως θα ήταν ενδιαφέρον να αναπτυχθούν ισχυροί και επιλεκτικοί παρεμποδιστές του NO για πιθανή θεραπευτική χρήση. Έτσι εξετάστηκαν ορισμένα παράγωγα χαλκονών για αντιφλεγμονώδη δράση.

Οι ενεργές ενώσεις οφείλουν την παρεμποδιστική τους δράση έναντι της παραγωγής NO και PGE_2 στην παρεμπόδιση της έκφρασης της συνθετάσης και κυκλοοξυγενάσης -2 του NO. Οι χαλκόνες δρουν ως αναστολείς του ενζύμου αυτού μεσολαβώντας εν μέρει στην καταστολή των χημικών μεσολαβητών που απελευθερώνονται από τα ιστικά κύτταρα και τα ουδετερόφιλα [6].

3.3.7. Παρεμπόδιση της δράσης των ενζύμων MAOs

Οι οξειδάσες της μονοαμίνης (Monoamine Oxidases, MAOs) είναι ευρέως διαδεδομένα ένζυμα που είναι υπεύθυνα για το μεταβολισμό των βασικών νευροδιαβιβαστών (5-υδροξυθρυπταμίνη (5-HT), νορεπινεφρίνη, ντοπαμίνη), ελέγχοντας τις συγκεντρώσεις τους στον εγκέφαλο και στους περιφερειακούς ιστούς. Δύο ισομορφές των MAOs χαρακτηρίστηκαν, οι hMAO-A και hMAO-B σύμφωνα με την ιδιομορφία των υποστρωμάτων τους, την ευαισθησία τους σε ανασταλτικούς παράγοντες και την ακολουθία αμινοξέων τους. Οι αναστολείς των MAOs χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία ασθενειών όπως το Alzheimer και το Parkinson. Οι χαλκόνες έχουν απλή δομή και αποτελούν ενδιάμεσες ενώσεις πολλών συνθετικών παρεμποδιστών της δράσης των MAOs. Οι Chimenti et al. αναφέρουν τη σύνθεση μεγάλου αριθμού χαλκονών οι οποίες ελέγχθηκαν *in vitro* για τη δράση τους ως αναστολείς των MAOs.

Αποδείχτηκε ότι την καλύτερη δράση έναντι του hMAO-B είχαν οι χαλκόνες με υποκαταστάτες χλωρίου, υδροξυλίου ή μεθοξυ-ομάδα. Έναντι του hMAO-A μόνο μια ένωση παρουσίασε δραστηριότητα [29].

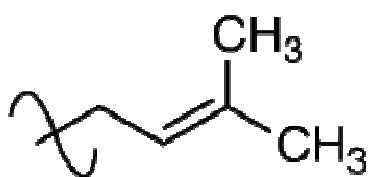


Εικόνα 33: Χαλκόνες με καλή δράση έναντι του hMAO-B

3.4. Πρενυλιωμένες χαλκόνες

3.4.1. Δομή

Η πρενυλίωση αποτελεί τη διαδικασία προσθήκης μιας πρενυλομάδας σε μια ένωση. Οι πρενυλιωμένες χαλκόνες, είναι χαλκόνες που φέρουν πρενυλομάδες στο σκελετό τους.

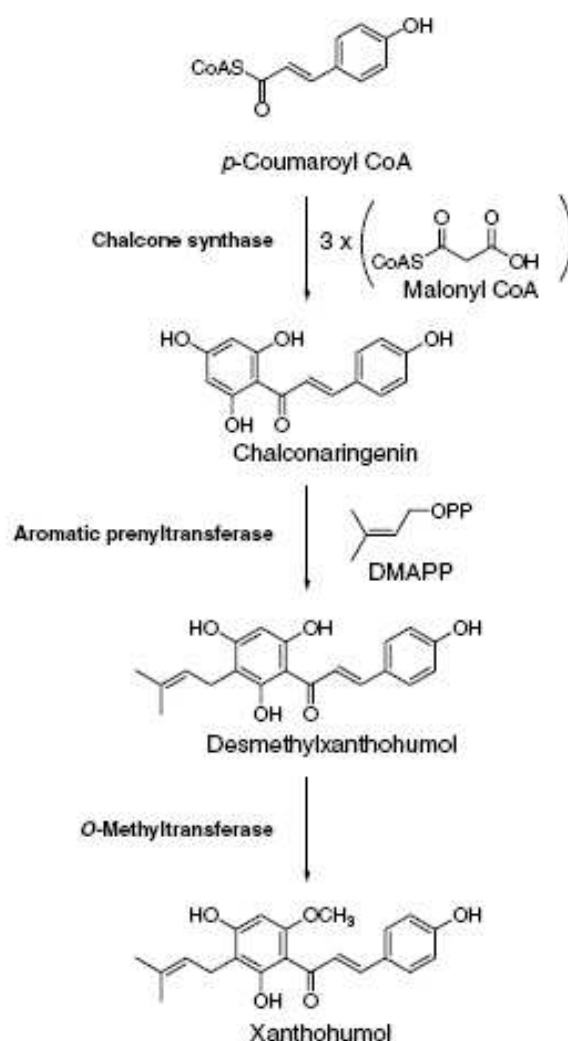


Εικόνα 34: 3-μεθυλο-2-βουτεν-1-υλο ομάδα (πρενυλο- ομάδα)

3.4.2. Φυσικές πηγές

Η xanthohumol είναι η πιο διαδεδομένη πρενυλιωμένη χαλκόνη στο λυκίσκο (*Humulus lupulus L.*) και επιδεικνύει ένα ευρύ φάσμα φαρμακολογικών ιδιοτήτων.

Στο Σχήμα 3 παρουσιάζεται το βιοσυνθετικό μονοπάτι της σύνθεσης της ξανθοουμόλης. Το πρώτο στάδιο της βιοσύνθεσης των φλαβονοειδών είναι η συμπύκνωση του *p*-κουμαροϋλ-συνενζύμου Α με τρία μόρια μηλονυλ-συνενζύμου Α προς την παραγωγή χαλκοναρινγενίνης, μια αντίδραση που καταλύεται από τη συνθετάση της χαλκόνης. Η πρενυλίωση του Α δακτυλίου από το διμεθυλαλλυλ-φωσφορικό (DMAPP) οδηγεί στην παραγωγή της μη μεθυλιωμένης ξανθοουμόλης, η οποία ακολούθως μεθυλιώνεται στην δ'υδροξυλομάδα για να σχηματίσει την ξανθοουμόλη.



Σχήμα 3: Βιοσύνθεση ξανθοουμόλης

Στο λυκίσκο επίσης περιέχονται διάφορες άλλες πρενυλιωμένες και δομικώς παρεμφερείς χαλκόνες όπως οι xanthogalenol, , xanthohumol B, and C. Τα φαρμακολογικά τους όμως δεδομένα δεν είναι τόσο πολλά εξαιτίας της δυσκολίας απομόνωσής τους [30].

Έως τώρα όλες οι πρενυλιωμένες χαλκόνες έπρεπε να απομονωθούν από το λυκίσκο. Σταδιακά όμως εξελίσσεται και η σύνθεση μη-φυσικών πρενυλιωμένων χαλκονών, ούτως ώστε να υπάρχουν ικανές ποσότητες για τη διεξαγωγή βιοδοκιμασιών [11].

Πίνακας 1: Πρενυλιωμένες χαλκόνες από το λυκίσκο

Structure	Trivial name
<i>Chalcones</i>	
	Xanthohumol
	<p> $R_1, R_2, R_3 = H, R_4 = \text{Prenyl}$ → Desmethylxanthohumol $R_1, R_3 = H; R_2 = \text{Me}, R_4 = \text{Prenyl}$ → Xanthogalenol $R_1, R_2 = \text{Me}; R_3 = H, R_4 = \text{Prenyl}$ → 4'-O-Methylxanthohumol $R_1, R_2, R_3 = H, R_4 = \text{Geranyl}$ → 3'-Geranylchalconaringenin $R_1, R_2 = H; R_3, R_4 = \text{Prenyl}$ → 3',5'-Diprenylchalconaringenin $R_1 = \text{Me}, R_2 = H; R_3, R_4 = \text{Prenyl}$ → 5'-Prenylxanthohumol $R_1, R_2 = \text{Me}; R_3, R_4 = H$ → Flavokawin </p>
	Xanthohumol B
	Xanthohumol C
	Xanthohumol D
	Xanthohumol E
	α,β -Dihydroxanthohumol
	<i>iso</i> -Dehydrocycloxanthohumol hydrate

3.4.3. Βιολογικές ιδιότητες

Όπως παρατηρήθηκε από τις μελέτες που εξετάζουν τη σχέση δομής - δραστηριότητας (structure-activity relationship, SAR) η παρουσία ισοπρενοϊκών αλυσίδων ποικίλων μηκών και ειδών είναι καθοριστικής σημασίας για τη βιοδραστηριότητα των πρενυλιωμένων φλαβονοειδών. Οι αξιοσημείωτες ιδιότητες τους οφείλονται στην ικανότητά τους να αλληλεπιδρούν με βιολογικές μεμβράνες, και στην ύπαρξη συγγένειας με τις πρωτεΐνες-στόχους, συγκριτικά με τα μη πρενυλιωμένα ανάλογά τους.

Αρκετός αριθμός πρενυλιωμένων φλαβονοειδών έγιναν αντικείμενο διερεύνησης, ως αποτέλεσμα του αυξανόμενου ενδιαφέροντος για την ισοπρενοϊκή χημεία. Από αυτά, οι πρενυλιωμένες χαλκόνες είναι μια υποκατηγορία φλαβονοειδών που είναι ευρέως διαδεδομένες στη φύση. Σχετίζονται με ένα μεγάλο εύρος βιολογικών ιδιοτήτων όπως αντιβακτηριακή, αντιελονοσιακή, αντιμυκητιακή, αντιδιαβητική, αντικαρκινική, αντιοξειδωτική, και αντιφλεγμονώδη δράση. Οι πρενυλιωμένες χαλκόνες και τα κυκλικά ανάλογά τους αποδείχτηκε ότι έχουν καλές αντιμικροβιακές, αντικές, και εντομοκτόνες ιδιότητες.

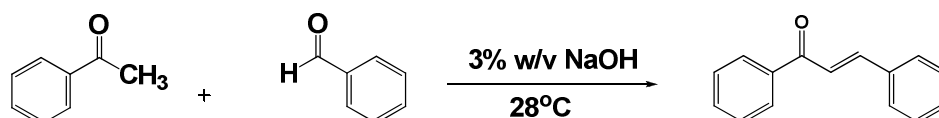
Η αντιφλεγμονώδης δράση των Ο-πρενυλιωμένων χαλκονών εκφράζεται με την παρεμπόδιση της λιποξυγενάσης (LOX), ένζυμο που μεταβολίζει το αραχιδονικό οξύ. Τα προϊόντα του 5- LOX μονοπατιού επομένως είναι σημαντικοί μεσολαβητές για τη φλεγμονή. Αποδείχτηκε ότι οι πρενυλιωμένες χαλκόνες μπορούν να δράσουν αποτελεσματικά ως πιθανοί παρεμποδιστές της 5- LOX.

Οι πρενυλιωμένες χαλκόνες επίσης έδειξαν ότι περιορίζουν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων του μαστού. Οι δι-Ο πρενυλιωμένες χαλκόνες φάνηκε ότι είναι πιο αποτελεσματικές σε σχέση με τις μονο-ο-πρενυλιωμένες χαλκόνες. Η ξανθοχουμόλη είναι η καλύτερα μελετημένη φυτοχημική ένωση για την πρόληψη του καρκίνου που απομονώνεται από το λυκίσκο. Αυτή δρα σε τρία στάδια: παρεμποδίζει τη μεταβολική ενεργοποίηση των προκαρκινωμάτων, ενεργοποιεί τα ένζυμα που δρουν τοξικά για τα καρκινώματα και παρεμποδίζει την ανάπτυξη των όγκων στο αρχικό στάδιο [7,11]

3.5. Μέθοδοι σύνθεσης χαλκονών

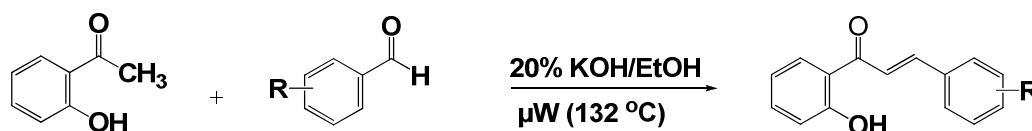
Οι κυριότερες συνθετικές πορείες για την παρασκευή χαλκονών είναι:

- Η καταλυόμενη από βάση αντίδραση συμπύκνωσης Claisen-Schmidt, που πραγματοποιείται ανάμεσα σε μια κετόνη και σε μια βενζαλδεΐδη, σε ένα πολικό διαλύτη, όπως π.χ. μεθανόλη, χρησιμοποιώντας διάφορους καταλύτες (Σχήμα 4).



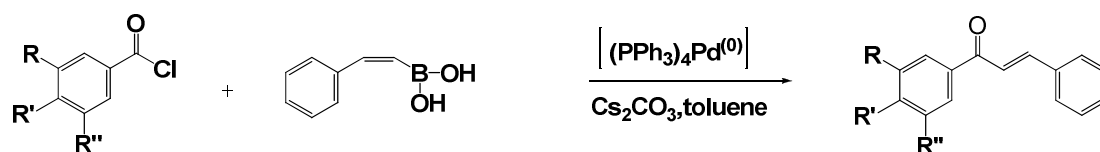
Σχήμα 4: Σύνθεση χαλκόνης μέσω της αντίδρασης συμπύκνωσης Claisen-Schmidt.

- Σύνθεση με τη χρήση μικροκυμάτων: Η απόδοση της αντίδρασης Claisen-Schmidt βελτιώνεται σημαντικά, εάν αυτή πραγματοποιηθεί υπό την επίδραση μικροκυμάτων. Επίσης, περιορίζεται ο σχηματισμός παραπροϊόντων όπως οι φλαβανόνες (Σχήμα 5). Γενικά, η αύξηση της θερμοκρασίας, με ταυτόχρονη μείωση του χρόνου θέρμανσης, βελτιώνουν την απόδοση της αντίδρασης.



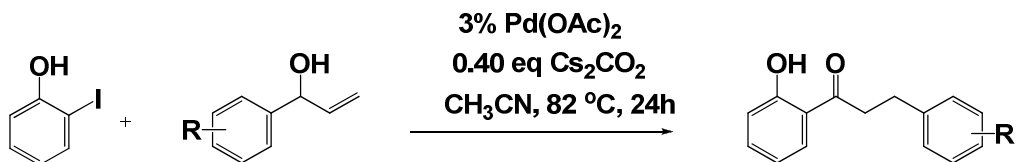
Σχήμα 5: Συμπύκνωση της 2'-υδροξυ-ακετοφαινόνης με αρωματικές αλδεΐδες.

- Η σύζευξη Suzuki, που πραγματοποιείται ανάμεσα σε βενζοϊκά παράγωγα και φαινυλο-βινυλο-βορονικά οξέα, παρουσία συμπλόκων του παλλαδίου ως καταλύτη (Σχήμα 6).



Σχήμα 6: Σύνθεση χαλκονών με τη σύζευξη Suzuki

- Η αντίδραση σύζευξης των ο-αλογονοφαινολών με 1-αρυλο-2-προπεν-1-όλες, καταλυόμενη από παλλάδιο (Σχήμα 7) [31].

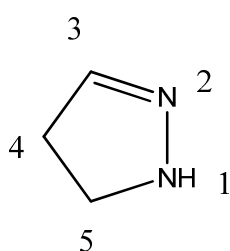


Σχήμα 7: Σύνθεση 2'-υδροξυχαλκονών, μέσω αντίδρασης καταλυόμενης από παλλάδιο

4. ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΕΣ

4.1. Δομή

Η πυραζολίνη είναι μια πενταμελής ετεροκυκλική ένωση που έχει δύο παρακείμενα άτομα αζώτου μέσα στο δακτύλιο. Έχει μόνο ένα ενδοκυκλικό διπλό δεσμό και η δομή της είναι βασική στη φύση. Ανάμεσα στην πληθώρα παραγώγων της, μεγαλύτερη προσοχή έχει δοθεί στις 2-πυραζολίνες. Οι ενώσεις αυτές μπορούν να θεωρηθούν κυκλικά ανάλογα υδραζίνης.



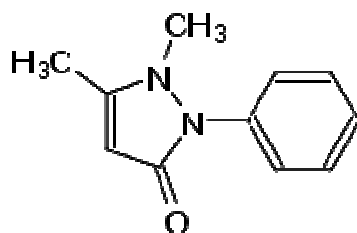
Εικόνα 35: Πυραζολινικός δακτύλιος

Το άτομο του άνθρακα 5 παρεκκλίνει από το επίπεδο του σχεδόν επιπέδου συστήματος των υπόλοιπων τεσσάρων ατόμων του ετεροκυκλικού δακτυλίου και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της θεωρίας της ετεροκυκλικής χημείας.

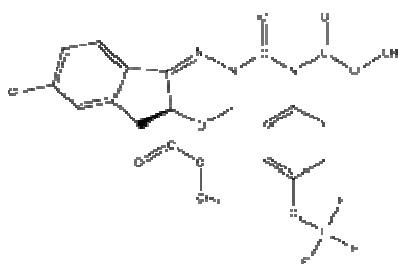
4.2. Βιολογικές ιδιότητες

Οι πυραζολίνες είναι μια σημαντική κατηγορία φαρμακοφόρων ενώσεων. Οι ετεροκυκλικές ενώσεις που φέρουν αυτά τα δομικά χαρακτηριστικά έχουν μεγάλη σημασία στη συνθετική και ιατρική χημεία λόγω του γεγονότος ότι έχουν ηρεμιστική, μυοχαλαρωτική, και αντικαταθλιπτική δράση.

Οι 2-πυραζολίνες χαρακτηρίζονται από ένα ευρύ φάσμα ισχυρών φαρμακολογικών δραστηριοτήτων και είναι παρούσες σε φαρμακευτικά μόρια όπως τα αναλγητικά/αντιπυρετικά phenazone, amidopyrene και methampyrone τα ανιφλεγμονώδη azolid και tandearil, το εντομοκτόνο indoxacarb κ.α [32].

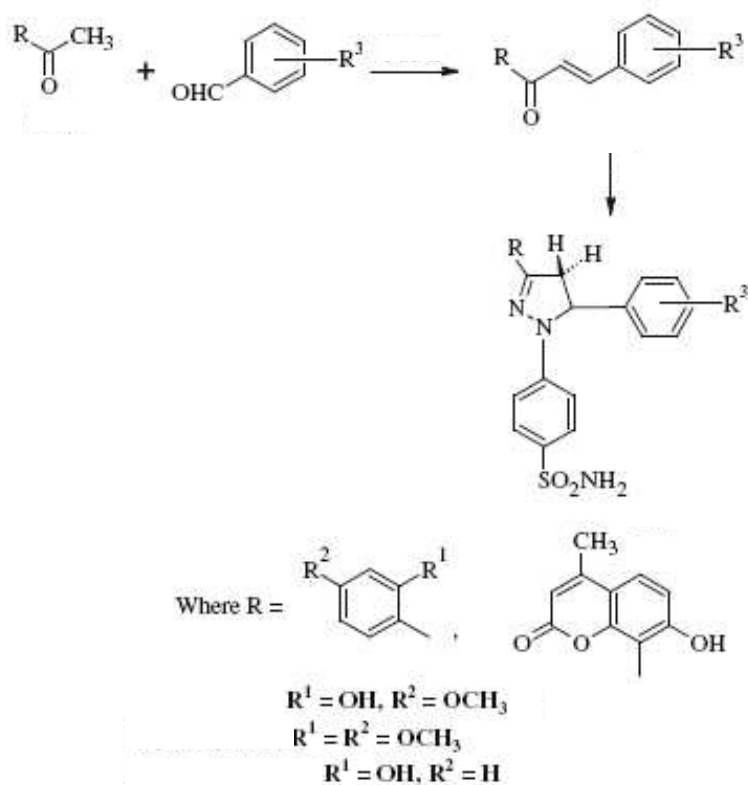


Εικόνα 36: Phenazone



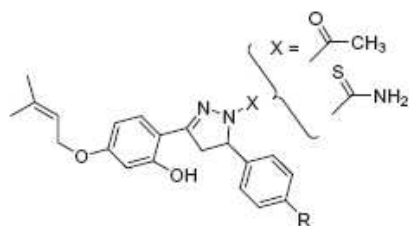
Εικόνα 37: Indoxacarb

Ορισμένες 2-πυραζολίνες που παρασκευάστηκαν πρόσφατα βρέθηκε ότι εμποδίζουν τη δράση των κυκλοοξυγενασών. Οι κυκλοοξυγενάσες (COXs) είναι σημαντικά ένζυμα για τη σύνθεση της προσταγλανδίνης H₂ η οποία είναι πρόδρομος για τη βιοσύνθεση των προσταγλαδινών, θρομβοξανών και προστακυκλινών. Η παρεμπόδιση της δράσης των συγκεκριμένων ενζύμων αποτρέπει την εμφάνιση διαταραχών όπως συσσώρευση αιμοπεταλίων, πόνο, ερεθισμό και ογκογενέσεις. Πολλά μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs) αλληλεπιδρούν με αυτά τα ένζυμα και εμποδίζουν τη δράση τους [33].



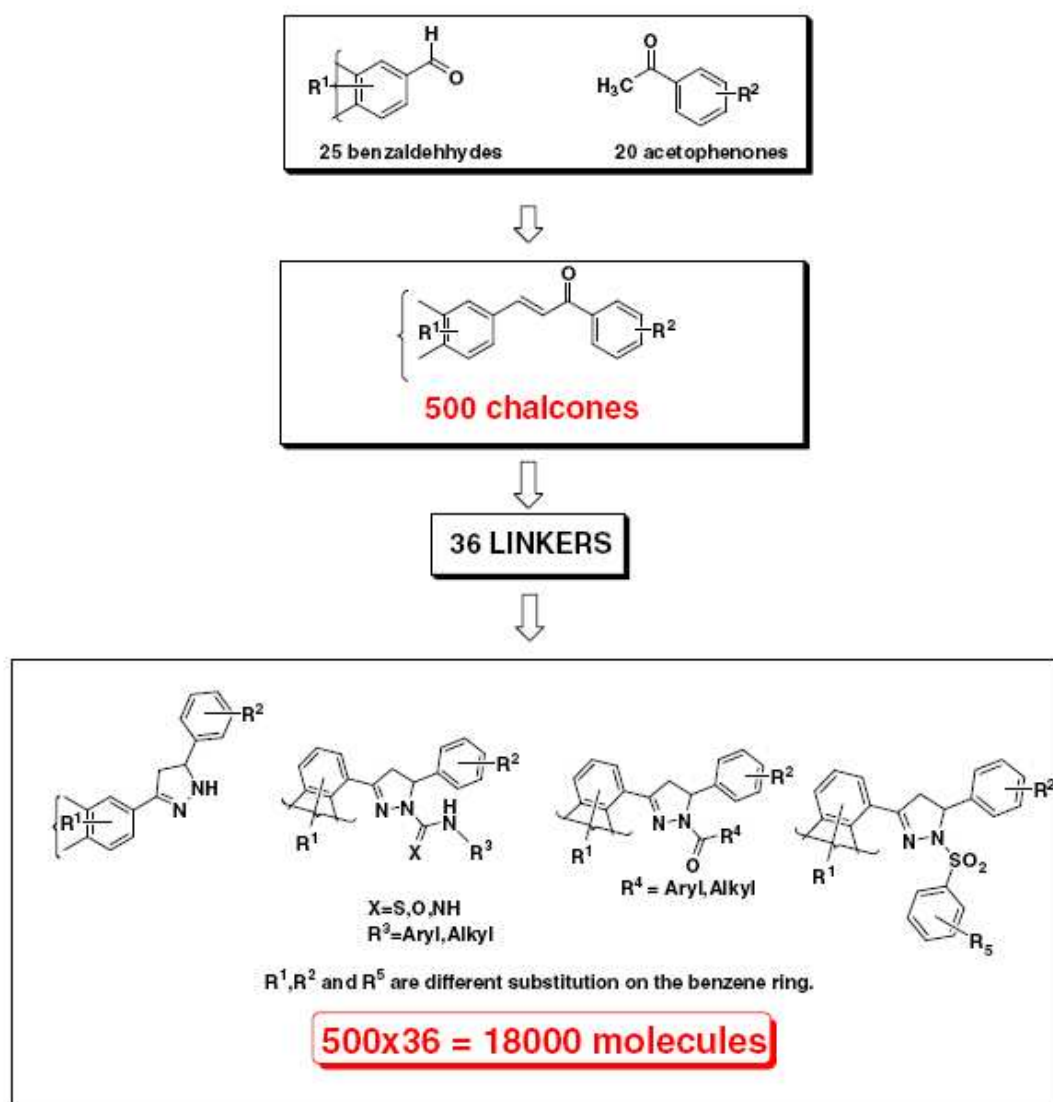
Σχήμα 8: Παρασκευή πυραζολινών που παρεμποδίζουν τη δράση των COXs

Οι Rossella Fioravanti et al. διερεύνησαν τη σύνθεση πυραζολινών που φέρουν ισοπρενοϊκή αλυσίδα στον αρωματικό C3. Οι περισσότερες από αυτές τις ενώσεις επέδειξαν ενδιαφέρουσα δραστηριότητα παρεμπόδισης έναντι της ισομορφής hMAO-B χωρίς όμως να έχουν αποτελεσματικότητα έναντι στην ισομορφή hMAO-A. Οι πιο ισχυροί παρεμποδιστές του hMAO-B είναι εκείνες οι ενώσεις με μια βενζυλοξυ ομάδα στην πάρα θέση στον C5, και εκείνες με ένα χλωρο υποκαταστάτη στην ίδια θέση. Η εισαγωγή μεθυλο ή μεθόξυ ομάδων στην ίδια θέση, οδήγησε σε σημαντική μείωση της δραστηριότητάς τους [34].



Εικόνα 38: Πυραζολίνες με καλή δράση παρεμπόδισης του hMAO-B

Η ερευνητική ομάδα των Nibha Mishra, D. Sasmal παρασκεύασε μια σειρά πυραζολινών ως εξής: 20 διαφορετικές ακετοφαινόνες και 25 διαφορετικές βενζαλδεΐδες χρησιμοποιήθηκαν αρχικά για την παρασκευή 500 χαλκόνων (Σχήμα 9). Οι παρασκευασθείσες χαλκόνες εν συνεχεία συνδέθηκαν με κατάλληλους υποκαταστάτες σε όλες τις πιθανές θέσεις, ώστε να δημιουργηθούν οι πυραζολίνες. Όλες οι πυραζολίνες είχαν ισχυρότατη και επιλεκτική δραστικότητα ως παρεμποδιστές του MAO-B [35].



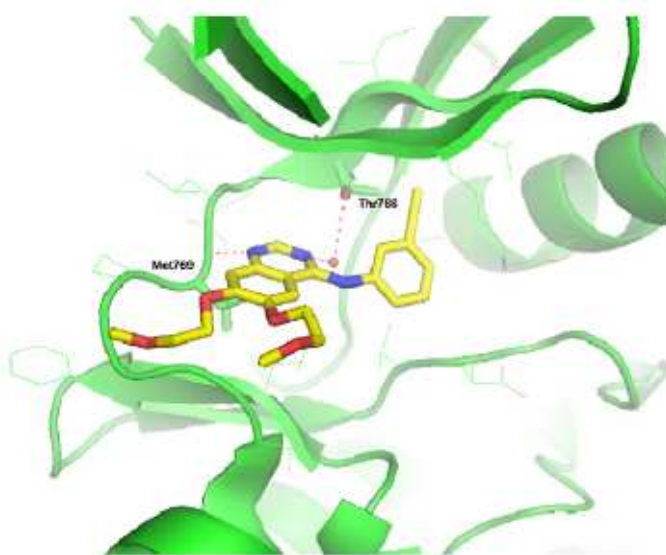
Σχήμα 9: Δημιουργία βιβλιοθήκης δομών πυραζολινών

Σύμφωνα με άλλες μελέτες, παρατηρήθηκε ότι η παρουσία ενός τρίτου αρωματικού δακτυλίου αυξάνει την ισχύ και την επιλεκτικότητα έναντι του MAO-A, ενώ η απουσία του τη μειώνει δραστικά. Η υποκατάσταση με καρβαμοϋλο-ομάδα στο άζωτο της θέσης 1 της πυραζολίνης σε συνδυασμό με μη υποκατεστημένο A-δακτύλιο και ετεροκυκλικό δακτύλιο B προσφέρει επιλεκτικότητα έναντι του MAO-B [36].

Η ακατάλληλη ή ανεξέλεγκτη ενεργοποίηση πολλών πρωτεϊνικών κινασών αποδείχτηκε ότι οδηγεί σε ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό κυττάρων. Οι ενώσεις που εμποδίζουν τη δραστικότητα της κινάσης του υποδοχέα του επιδερμικού παράγοντα ανάπτυξης (Epidermal Growth Factor Receptor, EGFR) μετά από σύνδεσή τους στον υποδοχέα, παρουσιάζουν ενδιαφέρον ως αντικαρκινικοί παράγοντες.

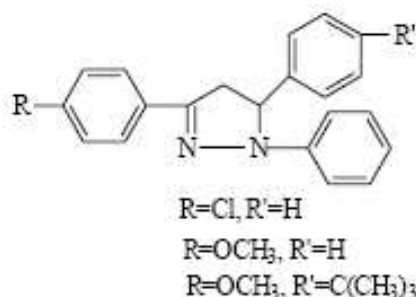
Οι θειαζόλες και τα παράγωγά τους πρόσφατα βρήκαν εφαρμογή στην ανάπτυξη φαρμάκων για τη θεραπεία αλλεργιών, της σχιζοφρένειας, βακτηριακών μολύνσεων, και για τη θεραπεία του καρκίνου.

Έτσι, παρασκευάστηκε μια σειρά από παράγωγα θειαζολυλο-πυραζολινών προκειμένου να αξιολογηθούν ως πιθανοί αντικαρκινικοί παράγοντες. Ορισμένες από αυτές τις ενώσεις παρουσίασαν ισχυρή δράση παρεμπόδισης της κινάσης του EGFR [37].



Εικόνα 39: Απεικόνιση της σύνδεσης της erlotinib με τον υποδοχέα της κινάσης του EGFR.

Οι πυραζολίνες είναι γνωστές για τις ιδιότητες φθορισμού που παρουσιάζουν. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιούνται ως φωτιστικοί παράγοντες, καθώς μπορούν να εκπέμψουν μπλε φως. Η ιδιότητά τους αυτή τις καθιστά μπλε οργανικά υλικά φθορισμού [38].



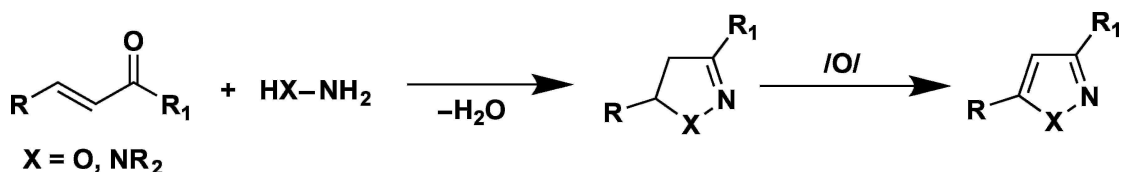
Εικόνα 40: Πυραζολίνες με καλές ιδιότητες φθορισμού

4.3. Μέθοδοι σύνθεσης πυραζολινών

Οι κυριότερες συνθετικές πορείες για την παρασκευή πυραζολινών είναι:

- Αντιδράσεις με υδραζίνες και υδροξυλαμίνες

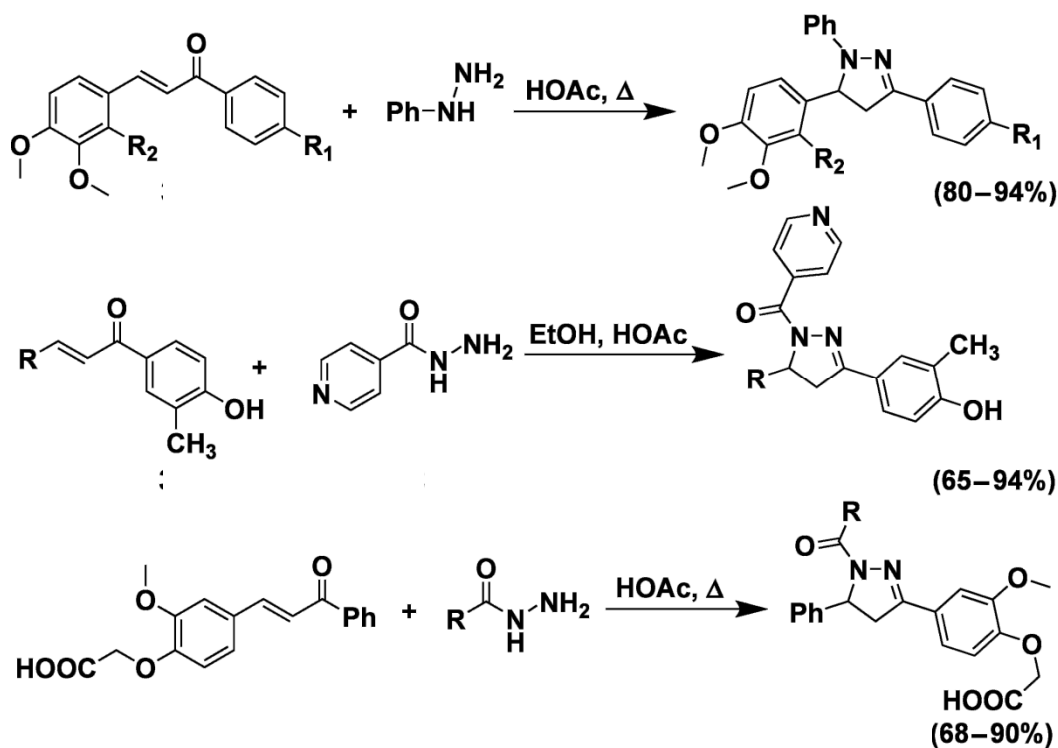
Η πιο γνωστή μέθοδος σύνθεσης πενταμελών ετεροκυκλικών ενώσεων που φέρουν άζωτο είναι η συμπύκνωση που περιλαμβάνει α , β -ακόρεστα καρβονύλια και 1,2-διπυρηνόφιλες ενώσεις, π.χ. παράγωγα της υδραζίνης και της υδροξυλαμίνης.



Σχήμα 10: Σύνθεση πυραζολινών με συμπύκνωση που περιλαμβάνει α , β -ακόρεστα καρβονύλια και 1,2-διπυρηνόφιλες ενώσεις

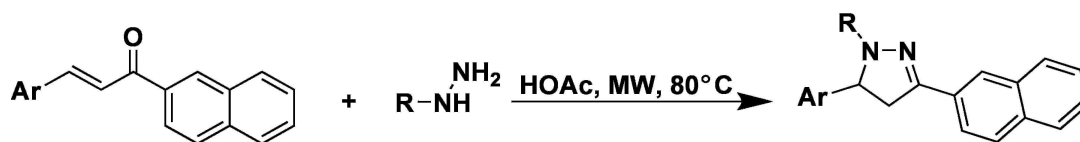
Αυτές οι αντιδράσεις διεξάγονται αποτελεσματικότερα κάτω από όξινες συνθήκες-με την παρουσία μεταλλικών ή οργανικών οξέων-ή χωρίς κατάλυση. Για παράδειγμα οι Palaska et al. [39] και Fathi et al. [40] ανέφεραν τη σύνθεση πυραζολινών σε υψηλές αποδόσεις με την αντίδραση ακόρεστων κετονών και τη φαινυλνυδραζίνη σε παγόμορφο οξικό οξύ. Παρόλα αυτά, οι N'-νικοτινοϋλ-υποκατεστημένες πυραζολίνες παραλαμβάνονται από την αντίδραση των

κατάλληλων χαλκονών και ισονικοτινυλο-υδραζίνης σε αιθανόλη με καταλυτικές ποσότητες οξικού οξέος [41]. Οι αντιδράσεις με μια άλλη υδραζίνη που οδηγεί στο σχηματισμό των πυραζολινών, διεξάγεται επίσης σε οξικό οξύ [42].



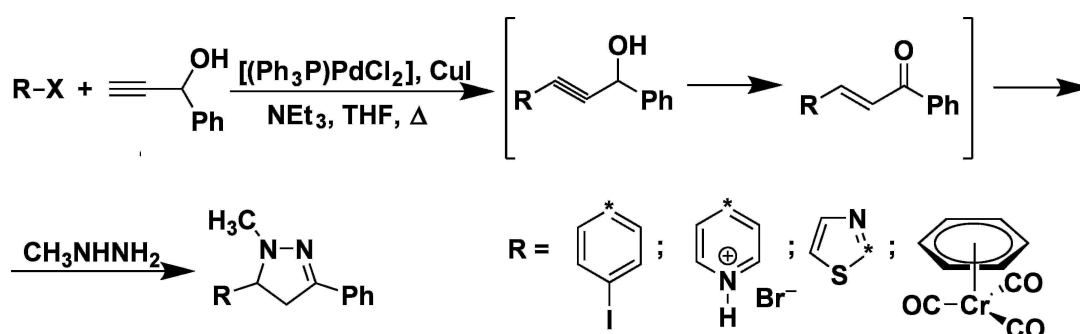
Σχήμα 11: Παρασκευή πυραζολινών με συμπύκνωση που περιλαμβάνει α, β-ακόρεστα καρβονύλια και 1,2-διπυρηνόφιλες ενώσεις υπό όξινες συνθήκες

Για να επιταχυνθούν οι ρυθμοί των αντιδράσεων και να αυξηθούν οι αποδόσεις τους, ορισμένες φορές εφαρμόζονται διαδικασίες υποβοηθούμενες από μικροκύματα. Οι Kidwai et al [43] περιέγραψαν τη σύνθεση 1,3,5-τριαρυλοπυραζολινών μέσω της κυκλοποίησης των χαλκονών με φαινυλυδραζίνη με τη βοήθεια βασικού στερεού υποστρώματος από αλούμινα. Οι ετεροκυκλικές ενώσεις-στόχοι συνετέθησαν κάτω από ακτινοβολία με μικροκύματα σε υψηλές αποδόσεις (έως 85%) σε 1-2 λεπτά σε αντίθεση με τις 3h στην περίπτωση θερμικής ενεργοποίησης. Μια άλλη δημοσίευση [44] ασχολείται με την ταχύτατη (2-12min) κυκλοποίηση σε υγρή φάση ναφθυλο-υποκατεστημένων χαλκονών και υδραζινών σε περιβάλλον με μικροκύματα, προς την παρασκευή των κατάλληλων πυραζολινών.



Σχήμα 12: Κυκλοποίηση σε υγρή φάση ναφθυλο-υποκατεστημένων χαλκονών και υδραζινών σε περιβάλλον με μικροκύματα, προς την παρασκευή των κατάλληλων πυραζολινών

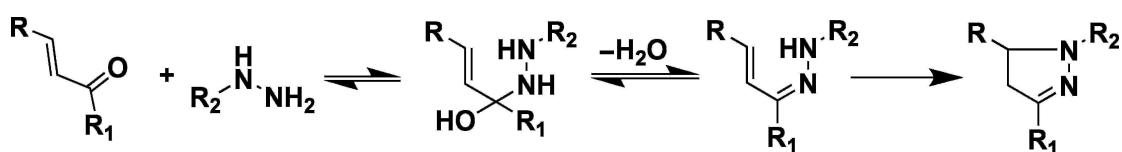
Η σύνθεση των πυραζολινών μπορεί να επιτευχθεί και με μια διαδικασία ενός βήματος, χωρίς την αρχική απομόνωση της α, β-ακόρεστης κετόνης. Για παράδειγμα, η διαδοχική αντίδραση αρυλαλογονιδίων, που φέρουν ισχυρούς υποκαταστάτες δότες ηλεκτρονίων, με αλκυνυλο-αλκοόλες και στη συνέχεια μεθυλδραζίνη δίνει πυραζολίνες σε υψηλές αποδόσεις. Φαίνεται ότι η αντίδραση αρχικά σχηματίζει ενδιάμεσο προϊόν αντίδρασης Sonogashira, το οποίο σε τετραυδροφουράνιο με την παρουσία NEt₃ οδηγεί στην παραγωγή χαλκόνης. Μετά το προϊόν υποβάλλεται σε προσθήκη Michael με υδραζίνη αποδίδοντας την πυραζολίνη.



Σχήμα 13: Σύνθεση πυραζολινών σε ένα στάδιο χωρίς την αρχική απομόνωση της α, β-ακόρεστης κετόνης

Ο μηχανισμός της αντίδρασης που περιλαμβάνει τις α, β-ακόρεστες κετόνες και τις υδραζίνες έχει μελετηθεί εκτενώς, με βάση τις σχετικές βιβλιογραφικές αναφορές [45-54]. Το πρώτο βήμα είναι η προσθήκη της υδραζίνης στην καρβονυλομάδα της κετόνης. Η κυκλοποίηση που ακολουθεί με την προσθήκη ενός πυρηνόφιλου κέντρου στο δεσμό αιθυλενίου κάτω από όξινες συνθήκες είναι το καθοριστικό για την ταχύτητα στάδιο. Η ταχύτητα αυτής της αντίδρασης επηρεάζεται

σημαντικά από τη στεreoχημεία και την ηλεκτρονιακή δομή της ενδιάμεσης υδραζόνης.

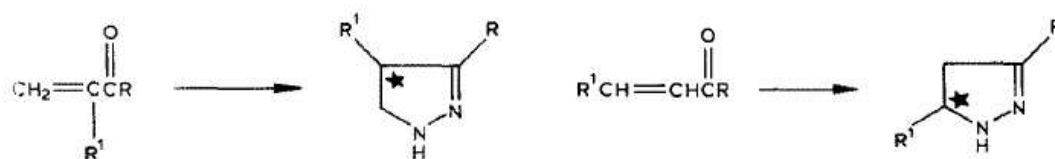


Σχήμα 14: Μηχανισμός σχηματισμού πυραζολινών από α, β-ακόρεστες κετόνες και τις υδραζίνες

Παρά το γεγονός ότι τα ενδιάμεσα παράγωγα συνήθως δεν απομονώνονται από το μίγμα της αντίδρασης, το συμπέρασμα για το σχηματισμό της υδραζόνης (τουλάχιστον σε όξινες συνθήκες) στις περισσότερες περιπτώσεις βασίζεται σε πειραματικά δεδομένα και είναι αδιαμφισβήτητο. Η εξάρτηση της διεύθυνσης του πρώτου σταδίου της αντίδρασης των παραγώγων υδραζίνης με τις ακόρεστες κετόνες, από το όξινο περιβάλλον και άλλους παράγοντες, έχει μελετηθεί εκτενώς [55,56].

Το στεreoχημικό αποτέλεσμα της γενικής αντίδρασης των α,β-ακόρεστων κετονών με τις υδραζίνες που οδηγεί στο σχηματισμό 2-πυραζολινών, μπορεί σε γενικές γραμμές να ποικίλει ανάλογα με τον αριθμό και τη θέση των υποκαταστατών στο αρχικό μόριο της κετόνης.

Η εισαγωγή δευτέρου υποκαταστάτη στη θέση 2 ή 3 της ακόρεστης κετόνης οδηγεί σε 3,4-εναντιομερή ή αντίστοιχα σε 3,5 δισυποκατεστημένες 2-πυραζολίνες με χειρόμορφο κέντρο στη θέση 4 ή 5.



Σχήμα 15: Σύνθεση 3,4-εναντιομερών ή 3,5 δισυποκατεστημένων 2-πυραζολίνες με χειρόμορφο κέντρο στη θέση 4 ή 5.

Ο τρίτος υποκαταστάτης στη 2 θέση της ακόρεστης κετόνης οδηγεί σε 1,2 ασύμμετρη επαγωγή σχετική με τη θέση 4 ή 5 της σχηματισμένης πυραζολίνης, προκαλώντας το σχηματισμό 3,4,5-τρισυποκατεστημένων 2-πυραζολινών.



Σχήμα 16: Σύνθεση 3,4,5-τρισυποκατεστημένων 2-πυραζολινών

Οι 1,3,3-τρισυποκατεστημένες α,β-ακόρεστες κετόνες σχηματίζουν εναντιομερείς 3,5,5-τρισυποκατεστημένες 2-πυραζολίνες.



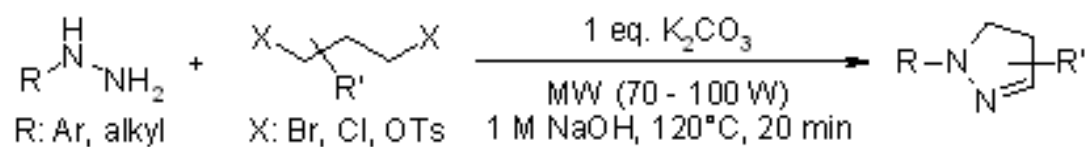
Σχήμα 17: Σύνθεση εναντιομερών 3,5,5-τρισυποκατεστημένων 2-πυραζολινών.

Τελικά ο σχηματισμός διαστερομερών πυραζολινών είναι επίσης χαρακτηριστικός για τις 1,2,3,3-τετραυποκατεστημένες α,β-ακόρεστες κετόνες.

Αξίζει να σημειωθεί ότι η διαμόρφωση της αρχικής α,β-ακόρεστης κετόνης και η ακόλουθη ακυλίωση στο άτομο του αζώτου στην 1 θέση δεν επηρεάζουν το στερεοχημικό αποτέλεσμα της αντίδρασης σχηματισμού πυραζολίνης. Εάν υπάρχουν χειρόμορφα κέντρα στην αρχική α,β-ακόρεστη κετόνη, η στερεοχημεία του σχηματισμού της πυραζολίνης γίνεται πιο περίπλοκη [57].

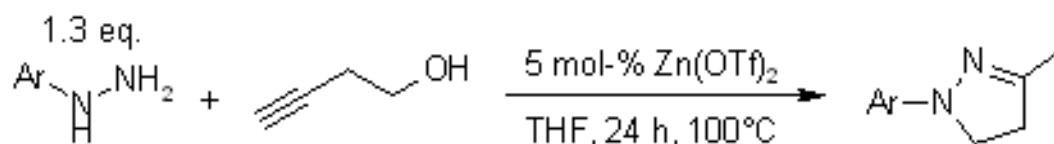
Εκτός από την πιο διαδεδομένη μέθοδο σύνθεσης πυραζολινών μέσω της αντίδρασης α,β-ακόρεστων κετονών με υδραζίνες, έχουν αναπτυχθεί και άλλες μέθοδοι για τη σύνθεση αυτών των ετεροκυκλικών μορίων.

- Πρόσφατα, οι Varma et al, πραγματοποίησαν τη σύνθεση αζωτούχων ετεροκυκλικών ενώσεων από αλκυλο-διαλογονίδια, πρωτοταγείς αμίνες και υδραζίνες, μέσω μιας απλής και αποτελεσματικής αντίδρασης κυκλοσυμπύκνωσης, χρησιμοποιώντας μικροκυματική ακτινοβολία [58].



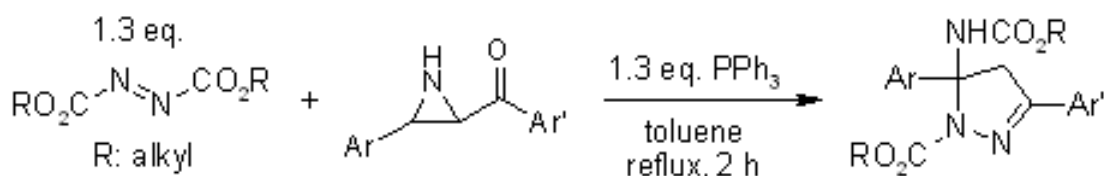
Σχήμα 18: Σύνθεση πυραζολινών μέσω κυκλοσυμπύκνωσης με τη χρήση μικροκυμάτων

- Σύμφωνα με την εργασία των Alex et al., οι αρυλυδραζίνες αντιδρούν τοποεκλεκτικά με την 3-βουτινόλη παρουσία καταλυτικής ποσότητας τριφλικού ψευδαργύρου και παρέχουν αρυλοϋποκατεστημένες πυραζολίνες. Τα προκύπτοντα προϊόντα εύκολα οξειδώνονται σε μια διαδικασία ενός σταδίου στα αντίστοιχα πυραζόλια [59].



Σχήμα 19: Σύνθεση αρυλοϋποκατεστημένων πυραζολινών

- Μία καινούρια, αποτελεσματική και σειριακή αντίδραση μεταξύ 2-ακυλοαζιριδινών και Huisgen zwitterions οδηγεί στο σχηματισμό 2-πυραζολινών σε εξαιρετικές αποδόσεις [60].



Σχήμα 20: Σύνθεση 2-πυραζολινών από 2-ακυλοαζιριδίνες και Huisgen zwitterions

5. ANΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

5.1. Γενικά

Τα αντιοξειδωτικά δρουν ως παρεμποδιστές της διαδικασίας οξείδωσης ακόμα και σε περιπτώσεις που βρίσκονται σε μικρή συγκέντρωση. Για το λόγο αυτό, έχουν σημαντικό ρόλο στο στις λειτουργίες του ανθρώπινου οργανισμού. Τα αντιοξειδωτικά συστατικά από τα φυτά δρουν ως δεσμευτές των πολύ δραστικών ελεύθερων ριζών, βοηθώντας έτσι στη μετατροπή τους σε λιγότερο δραστικές ενώσεις. Μια ομάδα αντιοξειδωτικών που έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες βρίσκονται στις διαιτητικές πηγές όπως τα φρούτα, τα λαχανικά, το τσάι κ.τ.λ.

Το οξυγόνο είναι απαραίτητο για τη ζωή των αερόβιων οργανισμών, μπορεί όμως να γίνει τοξικό εάν η συγκέντρωσή του γίνει υψηλή. Το O₂ στη φυσική του κατάσταση είναι σχετικά ανενεργό, η τμηματική του όμως διάσπαση οδηγεί στο σχηματισμό δραστικών μορφών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) όπως είναι το μονοατομικό οξυγόνο, η ανιονική ρίζα του υπεροξειδίου, το υπεροξειδίο του υδρογόνου κ.τ.λ. Οι οργανισμοί διαθέτουν ενδογενείς μηχανισμούς προστασίας (όπως βιταμίνες και ένζυμα) έναντι αυτών των δραστικών μορφών οξυγόνου και σε φυσιολογικές καταστάσεις οι μηχανισμοί αυτοί είναι ικανοί για να τις δεσμεύσουν. Σε παθοφυσιολογικές καταστάσεις όμως οι μηχανισμοί αυτοί δεν αρκούν με αποτέλεσμα να υπάρχει περίσσεια δραστικών μορφών οξυγόνου. Αυτό το φαινόμενο ονομάζεται 'οξειδωτικό στρες' και απαιτεί τη χορήγηση εξωγενών αντιοξειδωτικών.

Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη διαφόρων διαταραχών όπως είναι η αρθρίτιδα, ο καρκίνος, η αρτηριοσκλήρυνση κτλ. Η οξειδωτική βλάβη στο DNA πιθανώς είναι ζωτικής σημασίας στην εμφάνιση της γήρανσης, ενώ και η παρουσία του ενδοκυτταρικού οξυγόνου μπορεί να είναι υπεύθυνη για την έναρξη μιας αλυσίδας αντιδράσεων σε κυτταρικό επίπεδο που προκαλούν καταστροφή σημαντικών βιομορίων. Αυτές οι ρίζες είναι ιδιαίτερος τοξικές και προκαλούν το οξειδωτικό στρες στα φυτά.



Εικόνα 41: Τροποποίηση βιολογικών μορίων λόγω των ελευθέρων ριζών

Οι ελεύθερες ρίζες είναι άτομα ή μόρια που φέρουν ένα μονήρες ηλεκτρόνιο, γεγονός που τους δίνει τη δυνατότητα να ξεκινούν μια ταχεία σειρά αντιδράσεων οι οποίες αποσταθεροποιούν άλλα μόρια, δημιουργώντας περισσότερες ελεύθερες ρίζες. Στα φυτά και τα ζώα αυτές οι ελεύθερες ρίζες απενεργοποιούνται από τα αντιοξειδωτικά.

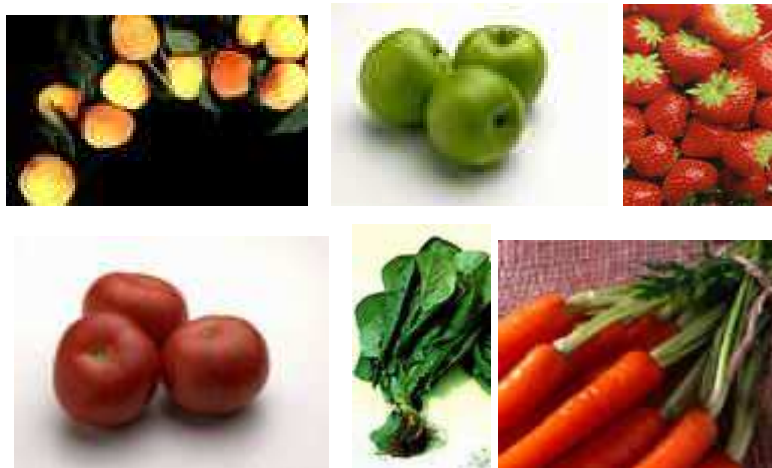
Το αντιοξειδωτικό σύστημα των φυτών περιλαμβάνει ενζυμικά και μη ενζυμικά συστήματα. Το μη ενζυμικό σύστημα περιλαμβάνει το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C), την α -τοκοφερόλη, τα cartenes καρωτενοειδή κτλ. Το ενζυμικό σύστημα περιλαμβάνει τη υπεροξειδική δισμουτάση (superoxide dismutase, SOD), την καταλάση (catalase, CAT), την υπεροξειδάση (peroxidase, POX), την ασκορβική υπεροξειδάση (ascorbate peroxidase, APX), την αναγωγή της γλουταθειόνης (glutathione reductase, GR) και την πολυφαινολική οξειδάση (polyphenol oxidase, PPO) κ.α.

Η πρόσληψη αντιοξειδωτικών ουσιών που απαντώνται στις τροφές είναι ένας βασικός παράγοντας υγείας. Τα φυσικά αντιοξειδωτικά στις τροφές και σε άλλα βιολογικά υλικά τυγχάνουν ιδιαίτερου ενδιαφέροντος λόγω του γεγονότος ότι αφενός μεν είναι ασφαλής η πρόσληψή τους αφετέρου δε, παρουσιάζουν σημαντικά θρεπτικά και θεραπευτικά αποτελέσματα. Για το λόγο αυτό, διάφορα καρυκεύματα τροφών και

βότανα που περιέχουν αντιοξειδωτικές ουσίες, παρουσιάζονται ως σημαντικοί παράγοντες ανανέωσης και νεότητας.

Από την άλλη πλευρά, η χρήση των συνθετικών αντιοξειδωτικών σε εφαρμογές που σχετίζονται με τρόφιμα έχουν περιοριστεί, επειδή απαιτούνται εκτενείς και υψηλού κόστους έρευνες προκειμένου να επιτευχθούν προϊόντα με ασφαλείς προδιαγραφές. Το αυξανόμενο ενδιαφέρον για την ανακάλυψη φυσικών αντικαταστατών των συνθετικών αντιοξειδωτικών, οδήγησε στην εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης πολλών φυτικών παραγόντων.

Τα αντιοξειδωτικά που παραδοσιακά χρησιμοποιούνται για να εμποδίσουν την οξείδωση στο φαγητό, έχουν επίσης την ικανότητα να δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες και να σταματούν τις οξειδωτικές αλυσίδες στους ζώντες οργανισμούς. Έτσι, από πολλούς θεωρείται ότι μπορούν να βοηθήσουν στην αντιμετώπιση της γήρανσης, του καρκίνου, της αρτηριοσκλήρυνσης. Συνεπώς δίνεται ιδιαίτερη έμφαση στη βελτίωση των ειδών υφιστάμενων αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων αυτών των ενώσεων.



Εικόνα 42: Τα φρούτα και τα λαχανικά είναι πλούσια σε αντιοξειδωτικά

Είναι γνωστό ότι η Μεσογειακή διαίτα, που είναι πλούσια σε φυσικά αντιοξειδωτικά, οδηγεί σε περιορισμένη πιθανότητα εμφάνισης καρδιο- και εγκεφαλοαγγειακών παθήσεων. Ενώσεις που ανήκουν σε διάφορες κατηγορίες φυτοχημικών συστατικών όπως οι φαινόλες, τα φλαβονοειδή και τα καροτενοειδή έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν ελεύθερες ρίζες όπως $O_2^{\cdot -}$, OH^{\cdot} ή τη λιπιδική ρίζα του υπεροξειδίου LOO^{\cdot} στο πλάσμα. Η αποτελεσματική πρόσληψη απλών

αντιοξειδωτικών από το φαγητό και το πώς αυτά αξιοποιούνται από τον οργανισμό έχει προσδιορισθεί για λίγες μόνο ενώσεις. Είναι λογικό ότι όσο υψηλότερο είναι το αντιοξειδωτικό περιεχόμενο στις τροφές, τόσο μεγαλύτερη θα είναι και η πρόσληψη από το ανθρώπινο σώμα.



Εικόνα 43: Η πυραμίδα της Μεσογειακής διαίτας

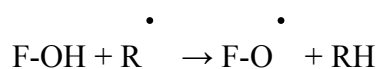
Τα φυσικά αντιοξειδωτικά απαντώνται σε όλα τα μέρη των φυτών και περιλαμβάνουν τα καροτενοειδή, τις βιταμίνες, τις φαινόλες, τα φλαβονοειδή, τη διαιτητική γλουταθειόνη, και ενδογενείς μεταβολίτες.

Η πιο πρόσφατη έρευνα για την αντιοξειδωτική δράση εστιάζει στις φαινολικές ενώσεις και στα φλαβονοειδή. Τα φρούτα και τα λαχανικά περιέχουν διαφορετικές αντιοξειδωτικές ενώσεις όπως η βιταμίνη C, η βιταμίνη E και τα καροτενοειδή, των οποίων οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες επιβεβαιώθηκαν τα τελευταία χρόνια. Τα φλαβονοειδή, οι ταννίνες και άλλα φαινολικά συστατικά που βρίσκονται στα φαγητά φυτικής προέλευσης έχουν επίσης σημαντική αντιοξειδωτική δράση. Αυτά τα συστατικά περιλαμβάνουν:

- Θρεπτικώς παραγόμενα αντιοξειδωτικά όπως το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C), η τοκοφερόλη, και οι τοκοτριενόλες (βιταμίνη E), τα καροτενοειδή και άλλες ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους όπως η γλουταθειόνη και το λιποϊκό οξύ.
- Αντιοξειδωτικά ένζυμα όπως η δισμουτάση του υπεροξειδίου (superoxide dismutase, SOD), η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, η αναγωγή της γλουταθειόνης που καταλύουν αντιδράσεις απόσβεσης.
- Πρωτεΐνες που συνδέονται με μέταλλα όπως η φερριτίνη, η λακτοφερρίνη, η αλβουμίνη και η σερουλοπλασμίνη, που δεσμεύουν ανιόντα χαλκού και σιδήρου που είναι ικανά να καταλύσουν οξειδωτικές αντιδράσεις.
- Πολλά άλλα αντιοξειδωτικά που είναι θρεπτικά συστατικά των φυτών και είναι παρόντα σε μια μεγάλη ποικιλία φυτών [61].

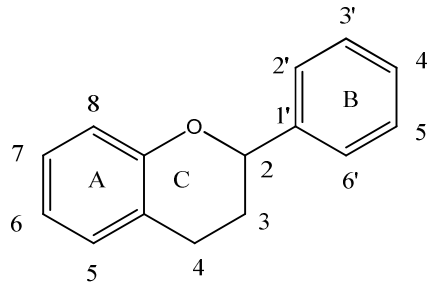
5.2. Η δράση των ομάδων υδροξυλίου

Οι θέσεις των υποκαταστάσεων όπως οι ομάδες υδροξυλίου στο φλαβονοειδές ίσως είναι ο καθοριστικότερος παράγοντας για το συσχετισμό της αντιοξειδωτικής δράσης των φλαβονοειδών και της δομής τους. Οι μηχανισμοί ωστόσο της αντιοξειδωτικής δράσης των πολυφαινολών, είναι συνάρτηση τόσο του αριθμού όσο και της διαμόρφωσης των ομάδων υδροξυλίου. Η ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών, αποδίδεται κυρίως στην ιδιότητα των υδροξυλίων, που υπάρχουν ως υποκαταστάτες στα φλαβονοειδή, να αντιδρούν εύκολα με τις ελεύθερες ρίζες, όπως φαίνεται στην ακόλουθη αντίδραση:



όπου F: Φλαβονοειδές και R: Ρίζα.

Η θέση του υδροξυλίου του δακτυλίου B είναι ο πιο σημαντικός παράγοντας της δέσμευσης των ROS. Οι ομάδες υδροξυλίου του B-δακτυλίου δίνουν υδρογόνο και ένα ηλεκτρόνιο στις ρίζες υδροξυλίου, και υπεροξυλίου, μετατρέποντάς τις σε σταθερές ενώσεις, με ταυτόχρονο σχηματισμό των σχετικά σταθερών ριζών των φλαβονοειδών [62].



Εικόνα 44: Βασική δομή φλαβονοειδών

5.3. Το H_2O_2 ως δραστική μορφή οξυγόνου

Το υπεροξείδιο του υδρογόνου παράγεται *in vivo* στα υπεροξυσωμάτια με τη δράση πολλών οξειδωτικών ενζύμων όπως η οξειδάση της γλυκόζης και η D-αμινοξειδάση. Είναι ισχυρό οξειδωτικό μέσο και για το λόγο αυτό χρησιμοποιείται ευρέως ως απολυμαντικό. Όμως, δεν βλάπτει μόνο τους μικροοργανισμούς αλλά έχει την ικανότητα να καταστρέφει και τα κύτταρα του ανθρώπινου οργανισμού, με τη μετατροπή του στην πολύ δραστική ρίζα υδροξυλίου, η οποία προκαλεί λιπιδική υπεροξειδωση, αναστολή της δράσης πρωτεϊνών και μεταλλάξεις του DNA. Οι ρίζες υπεροξειδίου σχηματίζονται με την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας ή κατά την επαφή του H_2O_2 με μεταλλικά ιόντα στοιχείων μετάπτωσης, κυρίως σιδήρου. Είναι γενικώς αποδεκτό ότι το H_2O_2 είναι τοξικό *in vivo* σε συγκεντρώσεις πάνω από 50 μM .

Για την αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες που προκαλεί το H_2O_2 οι οργανισμοί έχουν αναπτύξει μεγάλη ποικιλία μηχανισμών άμυνας. Για παράδειγμα, οι αντιδράσεις που οδηγούν στο σχηματισμό H_2O_2 ελαχιστοποιούνται με την απομάκρυνση των μεταλλικών ιόντων (κυρίως ιόντα σιδήρου), που δρουν καταλυτικά σε αυτές, μέσω συμπλοκοποίησης των ιόντων από πρωτεΐνες όπως η φερριτίνη, η τρανφερρίνη, η αιμοσιδερίνη και η αίμη που δεσμεύουν τον Fe^{2+} και προστατεύουν τα κύτταρα από την οξειδωτική καταστροφή [63].

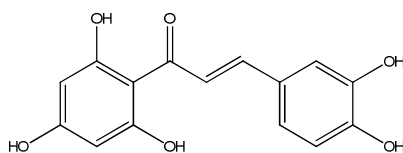
Πολλά ακόμη μόρια μπορούν να δράσουν ως αντιοξειδωτικά για τη δέσμευση του H_2O_2 όπως τα ένζυμα υπεροξειδάσες και καταλάσες αλλά και οι βιταμίνες E, C και η προβιταμίνη A, η ορμόνη μελατονίνη κ.ά. [64,65]

Το H_2O_2 παίζει σημαντικό ρόλο στην καρκινογένεση όπως έδειξαν πειραματικές μελέτες, σύμφωνα με τις οποίες τα καρκινικά κύτταρα συχνά παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα H_2O_2 . Για παράδειγμα, οι Szatrowski και Nathan ανέφεραν ότι κάποιες σειρές καρκινικών κυττάρων που είναι αντιπροσωπευτικές διαφόρων τύπων ιστών, παράγουν μεγάλες ποσότητες H_2O_2 . Έχει επίσης αποδειχθεί ότι το H_2O_2 μπορεί να προκαλέσει σχηματισμό ενός κακοήθους όγκου, ενώ η αύξηση της δραστηριότητας των ενζύμων καταλάση ή υπεροξειδάση της γλουταθειόνης σε καρκινικά κύτταρα μπορεί να αντιστρέψει τον κακοήθη φαινότυπό τους, αφού τα ένζυμα αυτά δεσμεύουν την περίσσεια H_2O_2 [66].

5.4. Αντιοξειδωτική δράση χαλκονών

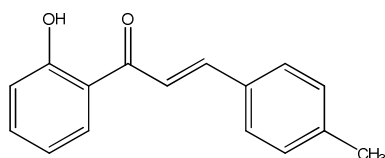
Σε πρόσφατη ερευνητική εργασία που πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας ΕΜΠ, παρασκευάστηκε μια σειρά χαλκονών οι οποίες μελετήθηκαν για την αντιοξειδωτική τους δράση. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της έρευνας η υψηλή ικανότητα δέσμευσης ριζών DPPH δε συνοδεύεται πάντα με υψηλή ικανότητα παρεμπόδισης της δράσης της LOX. Η 2',3,4,4',6'-πενταϋδροξυ-χαλκόνη επέδειξε την καλύτερη ικανότητα δέσμευσης ριζών DPPH, ωστόσο δεν παρεμπόδισε τη δράση των LOX. Από την άλλη πλευρά, οι 2'-υδρόξυ-4-μεθυλο-χαλκόνη και 2'-υδρόξυ-4-χλωρο-χαλκόνη επέδειξαν ισχυρή δράση παρεμπόδισης της LOX, χωρίς όμως να έχουν υψηλή ικανότητα δέσμευσης ριζών DPPH.

Η χαλκόνη που συνδύασε με μεγαλύτερη επιτυχία αντιοξειδωτική δράση με υψηλή ικανότητα παρεμπόδισης της δράσης της LOX ήταν η 2'-υδρόξυ-4-μεθυλο-4',6'-διμεθοξυ-χαλκόνη που φέρει μεθόξυ ομάδες στις θέσεις 2' και 4' του Α δακτυλίου. Προφανώς η μελέτη αυτής της κατηγορίας μορίων που έχουν διπλή δράση έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον και επιδέχεται περαιτέρω διερεύνηση [67].

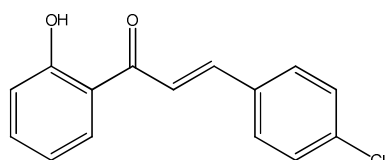


2',3,4,4',6'-πενταϋδροξυ-χαλκόνη

Εικόνα 45: Χαλκόνη με καλή ικανότητα δέσμευσης ριζών DPPH

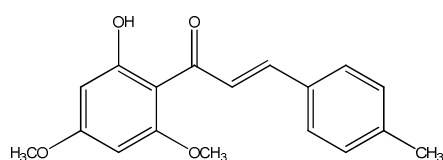


2'-υδροξυ-4-μεθυλο-χαλκόνη



2'-υδροξυ-4-χλωρο-χαλκόνη

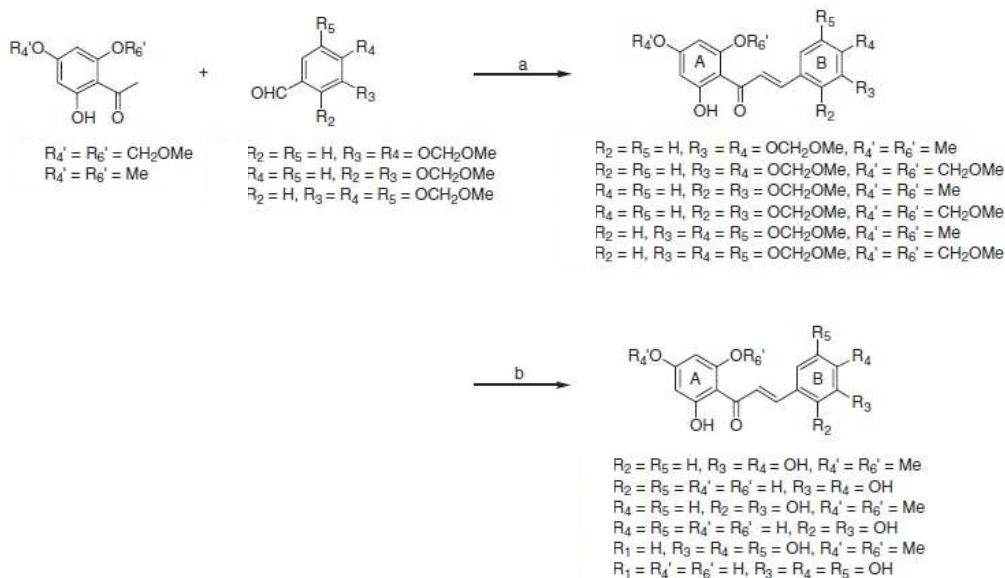
Εικόνα 46: Χαλκόνες με ισχυρή δράση παρεμπόδισης των LOX



2'-υδροξυ-4-μεθυλο-4',6'-διμεθοξυ-χαλκόνη

Εικόνα 47: Χαλκόνη με σημαντική αντιοξειδωτική δράση και υψηλή ικανότητα παρεμπόδισης της δράσης της LOX

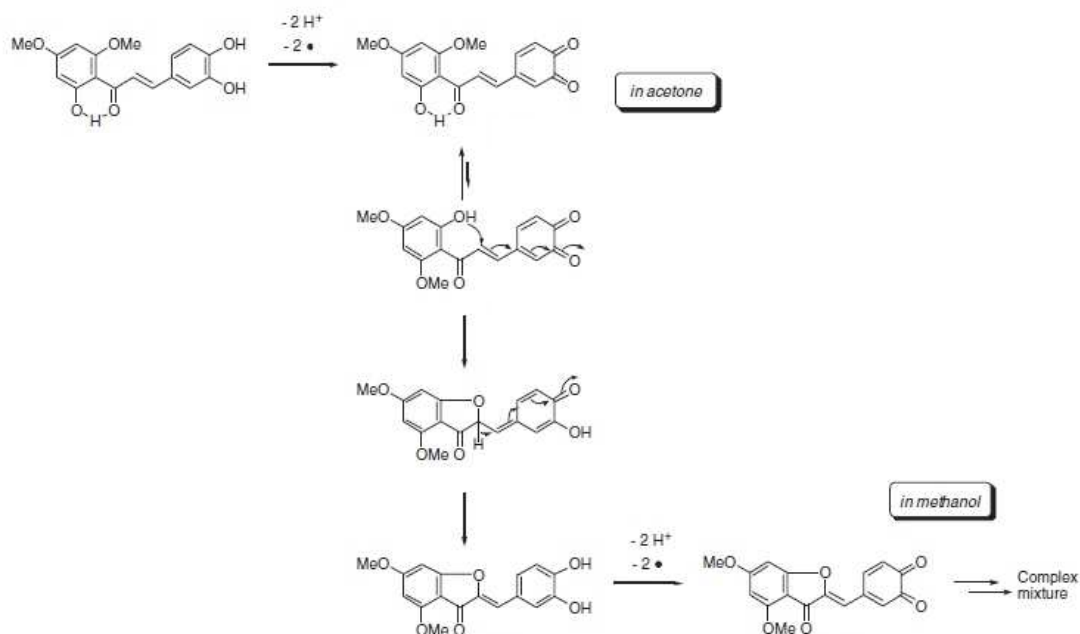
Η ικανότητα δέσμευσης ριζών DPPH των 2',4',6'-τριυδροξυ- και 2'-υδροξυ-4',6'-διμεθοξυχαλκονών που φέρουν ένα 2,3- και 3,4-διυδροξυλιωμένο, και 3,4,5-τριυδροξυλιωμένο δακτύλιο B εκτιμήθηκε σε αλκοολικά και μη αλκοολικά διαλύματα, από τους Jun Nishida και Jun Kawabata, οι οποίοι αρχικά συνέθεσαν μια σειρά χαλκονών.



Reagents and conditions: (a) KOH, methanol, stirred for 72 h, rt.; (b) 3 M HCl, methanol, refluxed for 45 min.

Σχήμα 21: Σύνθεση χαλκωνών από τους Jun Nishida και Jun Kawabata

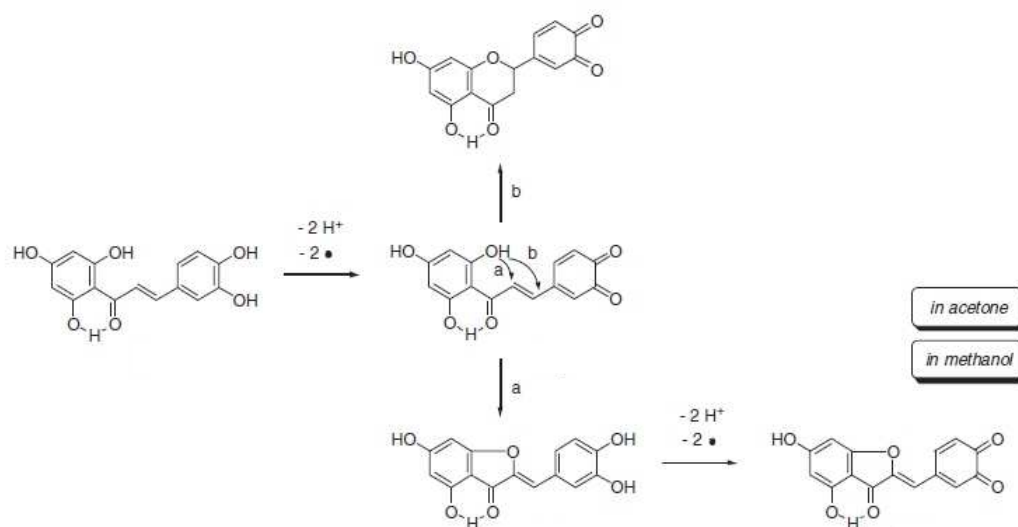
Όλες οι υπό δοκιμή ενώσεις δέσμευσαν παραπάνω από δύο ισοδύναμα ριζών σε σχέση με τις αντίστοιχες κινόνες με Β-δακτύλιο και στις περισσότερες περιπτώσεις στη συνέχεια κυκλοποιήθηκαν σε ωρόνες και φλαβανόνες. Η αντίδραση μεταξύ 2',3,4-τριδροξυ-4',6'-διμεθοξυχαλκωνών και ριζών DPPH επηρεάστηκε από το διαλύτη που χρησιμοποιήθηκε.



Σχήμα 22: Αντίδραση 2',3,4-τριυδροξυ-4',6'-διμεθοξυχalconής με ρίζες DPPH

Οι επιπτώσεις των οξειδωτικών διαδικασιών και των αντιδράσεων ελευθέρων ριζών στις διαδικασίες αποικοδόμησης που σχετίζονται με τη γήρανση και άλλες διαταραχές εγείρουν έντονο προβληματισμό. Οι ελεύθερες ρίζες, οι ενεργές μορφές οξυγόνου (ROS) και οι ενεργές μορφές αζώτου (RNS) οδηγούν σε πολλές παθολογικές καταστάσεις όπως φλεγμονή, μεταβολικές διαταραχές, γήρανση των κυττάρων, αρτηριοσκήρυνση και καρκινογένεση.

Αναφορικά με το δακτύλιο Β οι 3,4,5-τριυδροξυλιωμένες χαλκόνες τύπου πυρογαλλόλης επέδειξαν υψηλότερη δραστηριότητα σε σχέση με τα 3,4-διυδροξυλιωμένα ανάλογά τους τύπου κατεχόλης, ενώ η δραστηριότητα των 2,3-διυδροξυλιωμένων ισομερών ήταν χαμηλή. Η αιθεροποίηση των υδροξυλίων του Α-δακτυλίου στις 3,4-υδροξυλιωμένες χαλκόνες επηρέασε σημαντικά την αποτελεσματικότητά τους έναντι των ριζών [68].

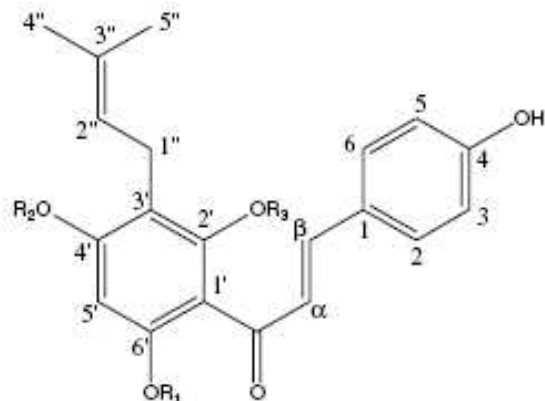


Plausible Oxidation Mechanism for 2',3,4,4',6'-Pentahydroxychalcone by the DPPH Radical.

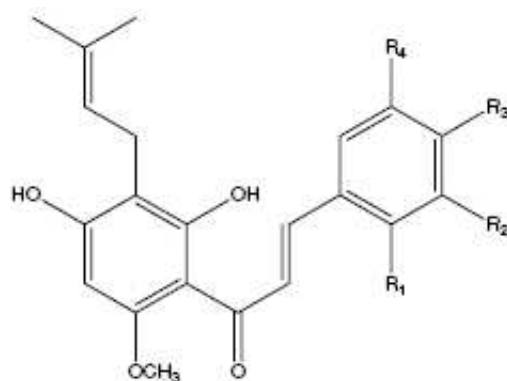
Σχήμα 23: Αντίδραση 2',3,4,4',6'-τριυδροξυ-4',6'-πενταυδροξυχαλκόνης με ρίζες DPPH

Με βάση βιβλιογραφικά δεδομένα, υποστηρίζεται ότι η φαρμακολογική σημασία των φαινολικών ενώσεων στις τροφές συχνά σχετίζεται με την αντιοξειδωτική τους δράση. Η ομάδα των S.Vogel et.al, συνέθεσε μια σειρά νέων χαλκονών. Για να εκτιμηθεί η αντιοξειδωτική δράση των χαλκονών χρησιμοποιήθηκαν διάφορες δοκιμασίες όπως η ικανότητα απορρόφησης οξυγόνου (oxygen radical absorbance capacity, ORAC) και η δοκιμασία της φλουορεσκεΐνης. Όλες οι ενώσεις που μελετήθηκαν επέδειξαν αξιοσημείωτη δραστηριότητα. Την καλύτερη δράση παρουσίασαν οι 4'-methylxanthohumol, desmethylxanthohumol, και chelichrysetin.

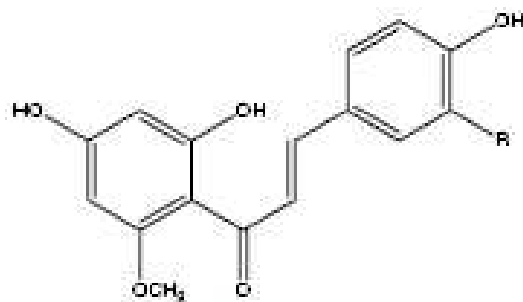
Επίσης, ανάμεσα στις πρενυλιωμένες ενώσεις που μελετήθηκαν αξιοσημείωτη δράση παρουσιάζουν όχι μόνο η φυσική xanthohumol αλλά και άλλες ενώσεις, μη-φυσικές χαλκόνες και ένας πρωτογενής μεταβολίτης [30].



	R ₁	R ₂	R ₃
Xanthohumol	CH ₃	H	H
Desmethylxanthohumol	H	H	H
Xanthogalenol	H	CH ₃	H
4'-Methylxanthohumol	CH ₃	CH ₃	H
4,6'-Dihydroxy-2',4'-dimethoxy-3'-prenylchalcone	H	CH ₃	CH ₃



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
2,2',4'-Trihydroxy-6'-methoxy-3'-prenylchalcone	OH	H	H	H
2',3,4'-Trihydroxy-6'-methoxy-3'-prenylchalcone	H	OH	H	H
2',3,4,4'-Tetrahydroxy-6'-methoxy-3'-prenylchalcone	H	OH	OH	H
2',3,4',5'-Tetrahydroxy-6'-methoxy-3'-prenylchalcone	H	OH	H	OH
2',3,4,4',5'-Pentahydroxy-6'-methoxy-3'-prenylchalcone	H	OH	OH	OH
2',4'-Dihydroxy-3,4,6'-trimethoxy-3'-prenylchalcone	H	OCH ₃	OCH ₃	H



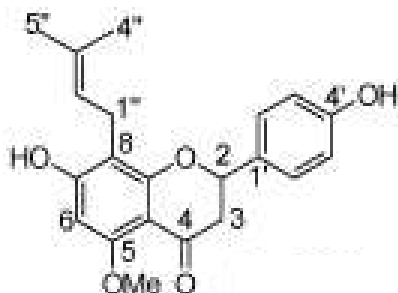
	R
Helichrysetin	H
3-Hydroxyhelichrysetin	OH

Εικόνα 48: Χαλκόνες με καλή δραστηριότητα σε δοκιμασίες όπως η ικανότητα απορρόφησης οξυγόνου και η δοκιμασία της φλουορεσκεινής.

Σύμφωνα με άλλες μελέτες, οι πρενυλιωμένες χαλκόνες που προέρχονται από το λυκίσκο, βρέθηκε ότι προστατεύουν τις λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας από την προκαλούμενη από το Cu^{2+} οξειδωση. Η ξανθοχουμόλη και η μη μεθυλιωμένη ξανθοχουμόλη ήταν τα πιο αποτελεσματικά αντιοξειδωτικά. Ωστόσο τα μη πρενυλιωμένα αντιοξειδωτικά όπως η ναρινγενίνη και η χαλκοναρινγενίνη δεν έδειξαν αντιοξειδωτική δράση. Αντίστοιχα η ικανότητα παρεμπόδισης της υπεροξειδωσης των λιπιδίων σε κύτταρα συκωτιού που προκαλείται από Fe^{2+} -ascorbate, Fe^{3+} -ADP/NADPH (ADP:Adenosine diphosphate, NADP:Nicotamide Adenine Dinucleotide Phosphate H), ή το tert-βουτυλουπεροξείδιο, ήταν μεγαλύτερη για τις μονοπρενυλιωμένες σε σχέση με τα μη πρενυλιωμένα ανάλογά τους. Ωστόσο, αύξηση του αριθμού των πρενυλιωμένων υποκαταστατών προκάλεσε μείωση της αντιοξειδωτικής δράσης έναντι στη λιπιδική υπεροξειδωση.

Η δέσμευση των δραστικών μορφών οξυγόνου αποτελεί έναν από τους μηχανισμούς με τους οποίους τα φλαβονοειδή επιβεβαιώνουν τις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες. Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να αποτελέσουν την αρχή μιας σειράς αντιδράσεων που τροποποιούν τα πολυακόρεστα λιπίδια, τις πρωτεΐνες και τα νουκλεϊκά οξέα που σχετίζονται με τα πρώιμα στάδια της αρτηριοσκλήρυνσης και της καρκινογένεσης και την ανάπτυξη νευροεκφυλιστικών ασθενειών.

Η δέσμευση των δραστικών μορφών οξυγόνου μελετήθηκε για την ξανθοχουμόλη και την ισοξανθοχουμόλη. Η πρώτη αποδείχτηκε ότι είναι ικανή να δεσμεύσει και τα τρία είδη δραστικών μορφών οξυγόνου (υδρόξυ,υπεροξυ, και ανιονικές ρίζες υπεροξειδίου) ενώ η δεύτερη ήταν ανενεργή σε όλα τα πειράματα που διεξήχθησαν [11].



Εικόνα 49:Ισοξανθοχουμόλη

Οι πρενυλιωμένες 2'-υδροξυχαλκόνες και οι φλαβανόνες από το λυκίσκο αποδείχτηκε ότι παρεμποδίζουν την οξείδωση λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (Low Density Lipoproteins, LDL) που προκαλείται από υπεροξυνιτρίτη σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Η ισοξανθοχουμόλη επέδειξε προοξειδωτικά αποτελέσματα αντί για ανασταλτική δράση στην οξείδωση των LDL [69].

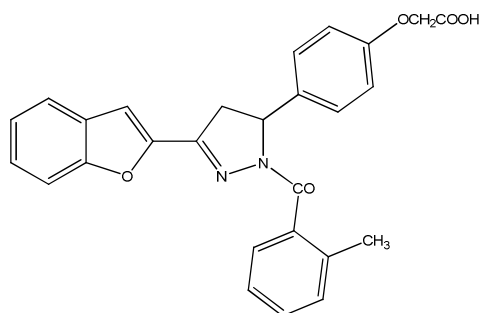
5.5. Αντιοξειδωτική δράση πυραζολινών

Η ομάδα των Prasad R.Y. et.al ασχολήθηκε με τη σύνθεση 1,3,5-τριφαινυλο-2-πυραζολινών και μελέτησε την αντιοξειδωτική τους δράση κάνοντας δοκιμές με διάφορες δραστικές μορφές οξυγόνου. Οι παρασκευασθείσες ενώσεις επέδειξαν εμφανέστερη αντιοξειδωτική δράση στη δέσμευση ελευθέρων ριζών και επίσης παρεμπόδισαν την υπεροξείδωση των λιπιδίων. Αποδείχθηκε ότι η παρουσία μιας ομάδας-δότη ηλεκτρονίων στην 4 θέση του φαινυλοδακτυλίου είναι απαραίτητη για αυτές τις 2-πυραζολίνες προκειμένου να έχουν αξιόλογη αντιοξειδωτική δράση [70].

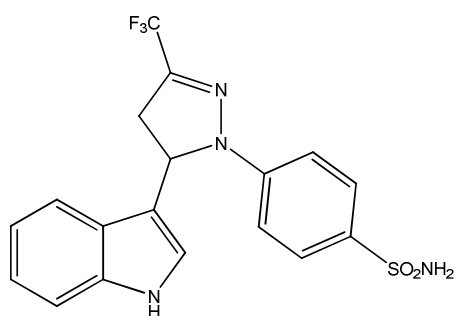
Επίσης έγιναν έρευνες για τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες ορισμένων παραγώγων γαλλοϋλο-2-πυραζολινών. Εξετάστηκε η ικανότητα δέσμευσης της ρίζας DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Η πλειονότητα των ενώσεων που

εξετάστηκαν έδειξαν ότι έχουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση έναντι της DPPH ρίζας ,όπως επίσης ότι είναι ισχυροί παρεμποδιστές του σχηματισμού μονοξειδίου του αζώτου [71].

Οι Babu et al συνέθεσαν μια σειρά πυραζολινικών παραγώγων που επέδειξαν πολύ καλή αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με το ασκορβικό οξύ [32].



2-(4-(3-(benzofuran-2-yl)-1-(2-methylbenzoyl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-5-yl)phenoxy)acetic acid



4-(5-(1H-indol-3-yl)-3-(trifluoromethyl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl)benzenesulfonamide

Εικόνα 50: Πυραζολινικά παράγωγα που επέδειξαν πολύ καλή αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με το ασκορβικό οξύ

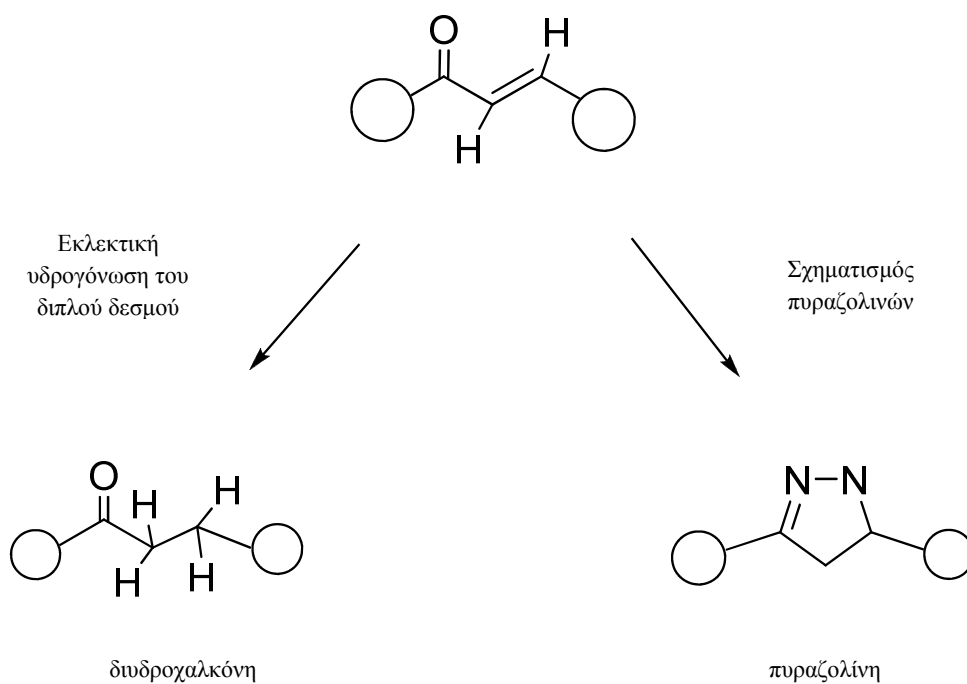
6. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ, ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΧΑΛΚΟΝΩΝ ΚΑΙ ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΩΝ

6.1. Σκοπός της εργασίας

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η σύνθεση χαλκονών, πυραζολινών και διϋδροχαλκόνης καθώς και η μελέτη της αντιοξειδωτικής τους δράσης, δεδομένου του αυξημένου ερευνητικού ενδιαφέροντος που παρουσιάζουν λόγω των βιολογικών ιδιοτήτων τους. Οι ενώσεις αυτές περιέχουν μια ποικιλία υποκαταστατών σε διαφορετικές θέσεις των αρωματικών δακτυλίων. Οι δομικές τροποποιήσεις που πραγματοποιήθηκαν είχαν ως σκοπό τη διερεύνηση και τον προσδιορισμό των στερεοηλεκτρονικών απαιτήσεων που θα εξασφαλίσουν τη βέλτιστη αντιοξειδωτική δράση.

Για να μελετηθεί η επίδραση της παρουσίας του α, β-ακόρεστου καρβονυλικού συστήματος στην αντιοξειδωτική δράση, εκτός από τη σύνθεση των χαλκονών, πραγματοποιήθηκαν οι ακόλουθες δομικές τροποποιήσεις σε αυτό:

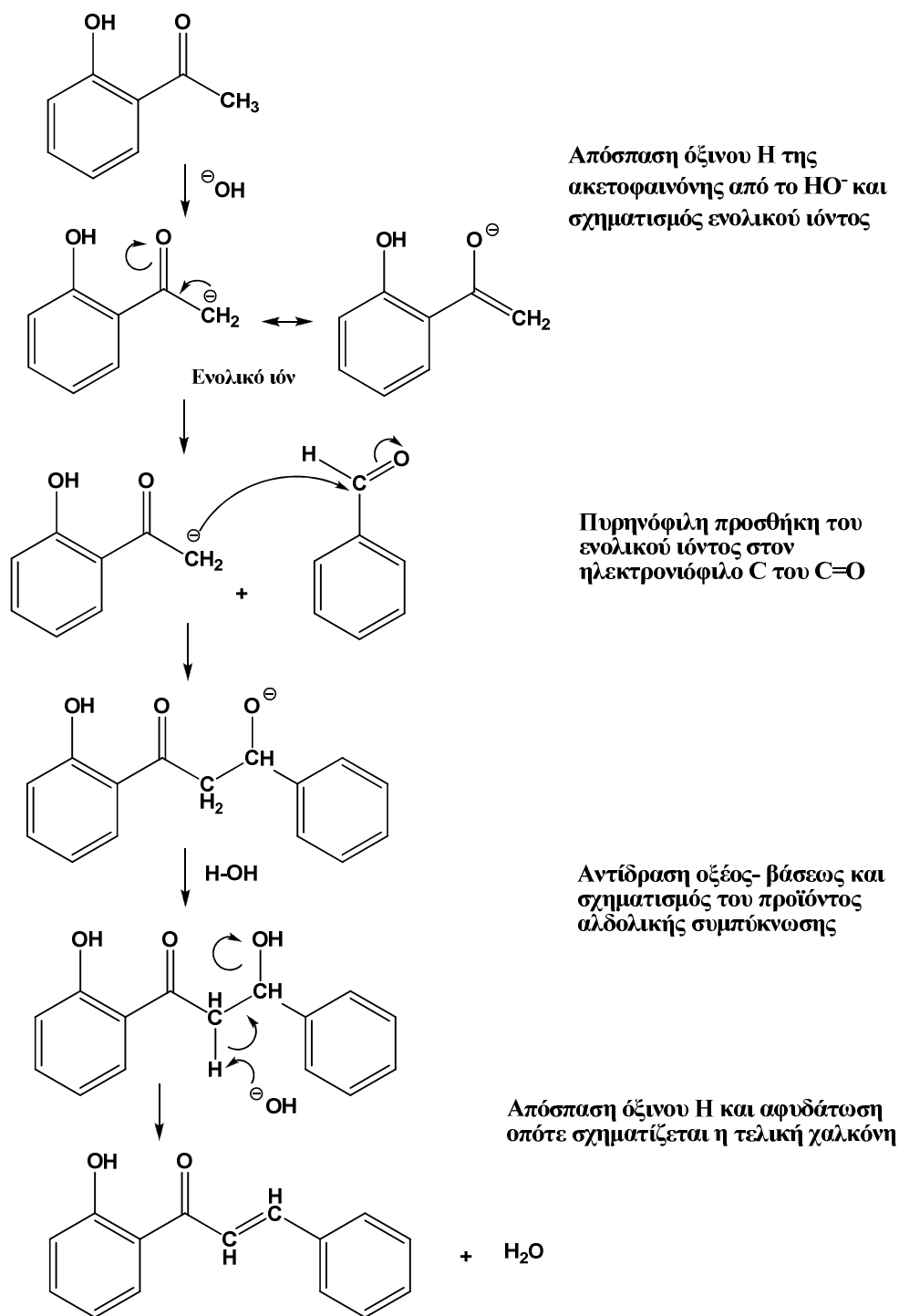
- Σχηματισμός πυραζολινών: Το α, β-ακόρεστο καρβονυλικό σύστημα αντικαταστάθηκε από ένα πενταμελή ετεροκυκλικό δακτύλιο που φέρει άτομα αζώτου.
- Παρασκευή διϋδροχαλκόνης: Το α, β-ακόρεστο καρβονυλικό σύστημα μετατράπηκε σε κορεσμένο μέσω εκλεκτικής υδρογόνωσης του διπλού δεσμού μεταξύ των ανθράκων, με αντίδραση καταλυτικής μεταφοράς υδρογόνου, χρησιμοποιώντας τον εστέρα του Hantzsch ως δότη υδρογόνου και καταλύτη Pd/C.



Σχήμα 24: Σύνθεση διυδροχαλκόνης και πυραζολίνης από χαλκόνη

6.2.1. Σύνθεση χαλκονών (Αντίδραση Claisen-Schmidt)

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Claisen-Schmidt για την παρασκευή των χαλκονών. Ο μηχανισμός της αντίδρασης Claisen-Schmidt παρουσιάζεται αναλυτικά στο Σχήμα 25.

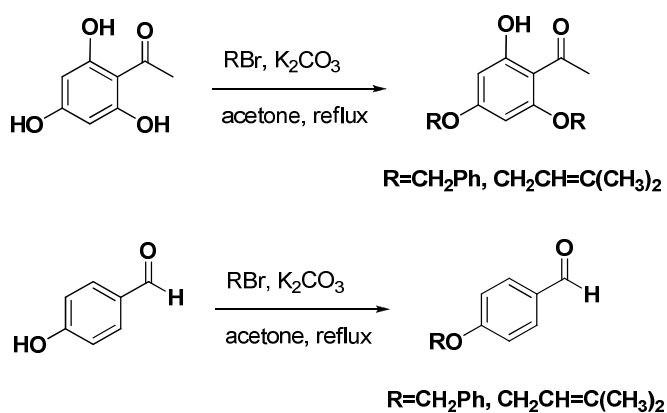


Σχήμα 25: Μηχανισμός σχηματισμού χαλκονών με τη μέθοδο Claisen-Schmidt

Αρχικά, το ισχυρά βασικό ανιόν HO^- αποσπά ένα όξινο υδρογόνο από το CH_3 της ακετοφαινόνης, οπότε σχηματίζεται το αντίστοιχο ενολικό ιόν. Μέσω μιας αντίδρασης πυρηνόφιλης προσθήκης, το ενολικό ιόν προσβάλλει τον ηλεκτρονιόφιλο

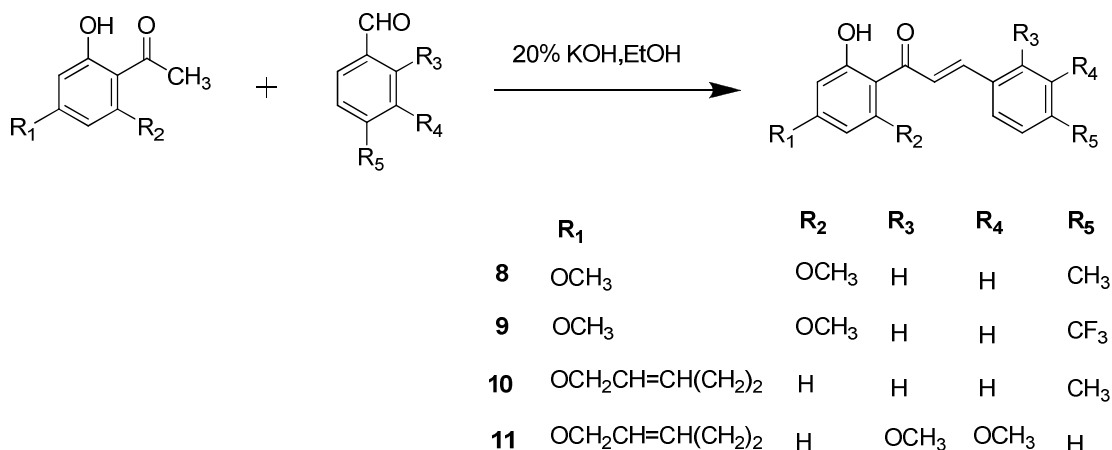
άνθρακα του καρβονυλίου της βενζαλδεΐδης και σχηματίζεται το ενδιάμεσο αλδολικό προϊόν (β-υδροξυ-κετόνη). Στο βασικό περιβάλλον της αντίδρασης πραγματοποιείται στη συνέχεια απόσπαση ενός μορίου H₂O οπότε σχηματίζεται το τελικό προϊόν της αλδολικής συμπύκνωσης, η α,β-ακόρεστη κετόνη [72].

Οι βενζυλο- και πρενυλο-υποκατεστημένες ακετοφαινόνες και βενζαλδεΐδες δεν είναι εμπορικά διαθέσιμες και παρασκευάζονται με αλκυλίωση των αντίστοιχων υδροξυ-υποκατεστημένων ενώσεων σε βασικό περιβάλλον (Σχήμα 26):



Σχήμα 26: Παρασκευή βενζυλο- και πρενυλο-υποκατεστημένων ακετοφαινονών και βενζαλδεΐδών με αλκυλίωση των αντίστοιχων υδροξυ-υποκατεστημένων ενώσεων σε βασικό περιβάλλον

Οι χαλκόνες που συνετέθησαν στην παρούσα εργασία παρουσιάζονται στο παρακάτω σχήμα:



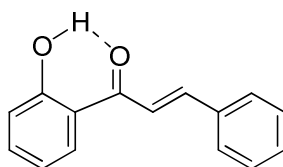
Σχήμα 27: Σύνθεση χαλκονών παρούσης διπλωματικής εργασίας

6.2.2. Χαρακτηρισμός δομής χαλκονών με φασματοσκοπία ¹H NMR

Ο χαρακτηρισμός της δομής όλων των ενώσεων που παρασκευάστηκαν σε αυτή την εργασία πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού ¹H NMR.

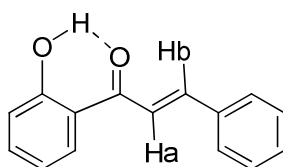
Συγκεκριμένα για τις χαλκόνες **8-11**, τα φάσματα ¹H NMR ελήφθησαν σε διαλύτη δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl₃) και παρουσιάζουν ορισμένα κοινά χαρακτηριστικά σήματα, ενδεικτικά της δομής των χαλκονών. Αυτά είναι:

A) Το σήμα σε πολύ χαμηλό πεδίο (13-14ppm) οφείλεται στο υδρογόνο του υδροξυλίου της θέσης 2' το οποίο είναι πολύ αποπροστατευμένο λόγω της συμμετοχής του σε ισχυρό ενδομοριακό δεσμό υδρογόνου με το καρβονύλιο (Εικόνα 51)



Εικόνα 51: Υδρογόνο του υδροξυλίου της θέσης 2' των χαλκονών

B) Τα σήματα που οφείλονται στα βινυλικά υδρογόνα H_α και H_β του α,β-ακόρεστου καρβονυλικού συστήματος (Εικόνα 52).



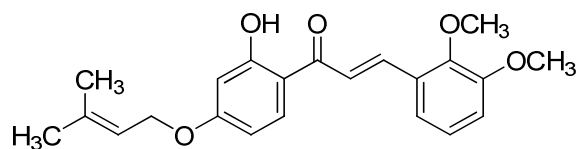
Εικόνα 52: Βινυλικά υδρογόνα H_{α} και H_{β} του α,β -ακόρεστου καρβονυλικού συστήματος

Τα πρωτόνια αυτά δεν είναι χημικά ισοδύναμα οπότε συζεύγγονται μεταξύ τους και γι αυτό εμφανίζονται με τη μορφή δύο διπλών κορυφών, στην περιοχή 7-8ppm. Η σταθερά σύζευξης των κορυφών αυτών είναι 15Hz, ενδεικτική της ύπαρξης E-γεωμετρίας στο μόριο της χαλκόνης. Ο σχηματισμός αποκλειστικά του E-γεωμετρικού ισομερούς είναι χαρακτηριστικό της αντίδρασης Claisen-Schmidt, όπως αναφέρεται και στη βιβλιογραφία [67]. Επίσης, στα φάσματα όλων των χαλκονών που μελετήθηκαν και με βάση βιβλιογραφικά δεδομένα [73] η διπλή κορυφή του H_{β} εμφανίζεται πάντα σε χαμηλότερο πεδίο από τη διπλή κορυφή του H_{α} (Πίνακας 2). Το φαινόμενο αυτό πιθανώς οφείλεται στην πόλωση του διπλού δεσμού από το καρβονύλιο με αποτέλεσμα την ελάττωση της ηλεκτρονιακής πυκνότητας στη θέση β και αντίστοιχα αύξησή της στη θέση α .

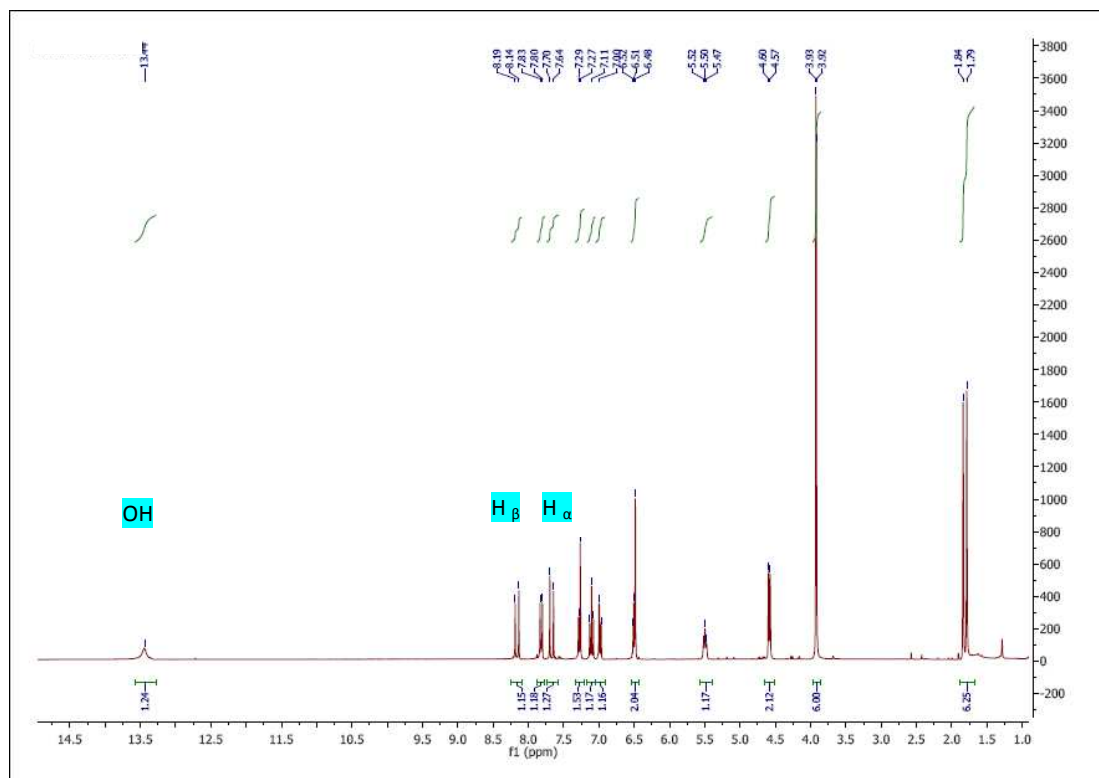
Πίνακας 2: Σήματα των βινυλικών υδρογόνων H_{α} , H_{β} των χαλκονών της παρούσας διπλωματικής εργασίας

Χαλκόνη	H_{α} (ppm)	H_{β} (ppm)
8	7,77	7,87
10	7,55	7,88
11	7,67	8,17

Στις εικόνες 54 και 55 παρουσιάζεται το φάσμα 1H NMR ($CDCl_3, 300MHz$) της χαλκόνης **11**, η οποία είναι φυσικό προϊόν που απομονώνεται από τις ρίζες του φυτού *Dalbergia sissoo* [74].



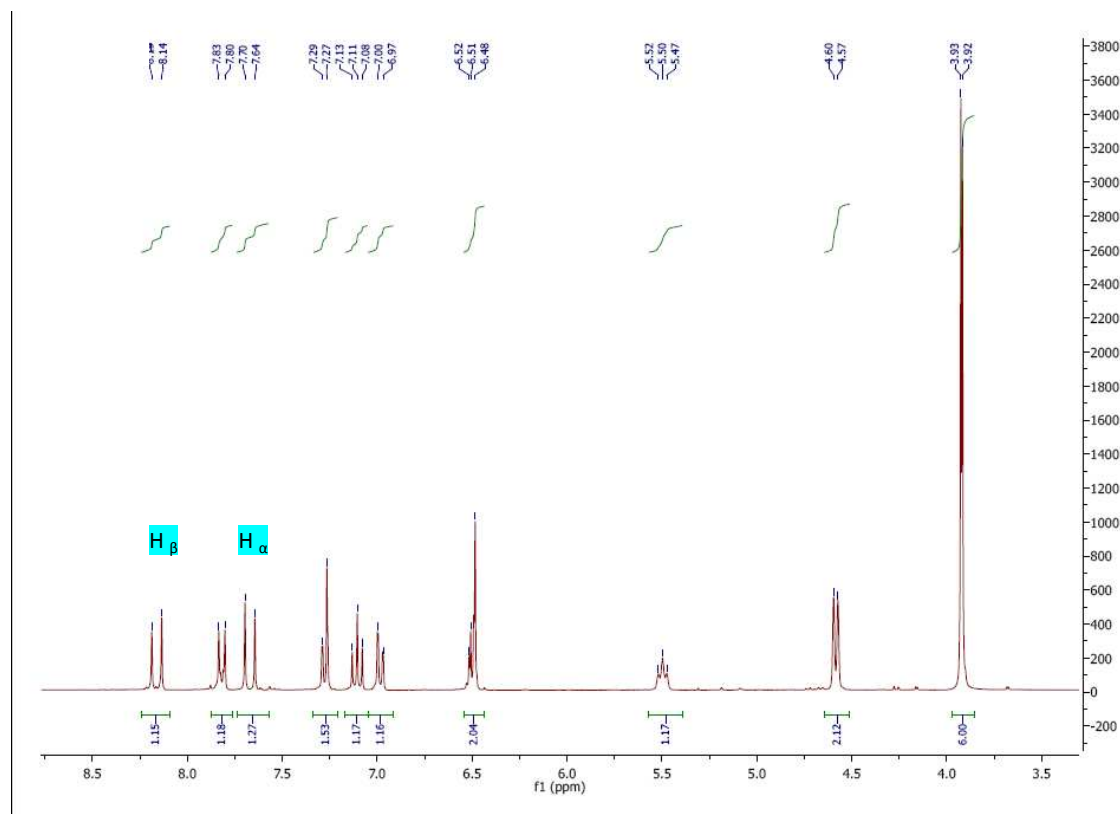
Εικόνα 53: Η χαλκόνη **11** είναι φυσικό προϊόν που απομονώνεται από τις ρίζες του φυτού *Dalbergia sissoo*.



Εικόνα 54: Φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) της χαλκόνης **11**.

Όπως σημειώνεται και στο φάσμα ^1H NMR, διακρίνονται οι κορυφές που αντιστοιχούν στο υδρογόνο του υδροξυλίου της θέσης 2' (13.44 ppm) και στα βινυλικά υδρογόνα H_α (7.67 ppm) και H_β (8.17 ppm) του α,β -ακόρεστου καρβονυλικού συστήματος.

Παρακάτω παρουσιάζεται το φάσμα ^1H NMR, που παρουσιάζει πιο αναλυτικά την περιοχή με τα αρωματικά πρωτόνια.

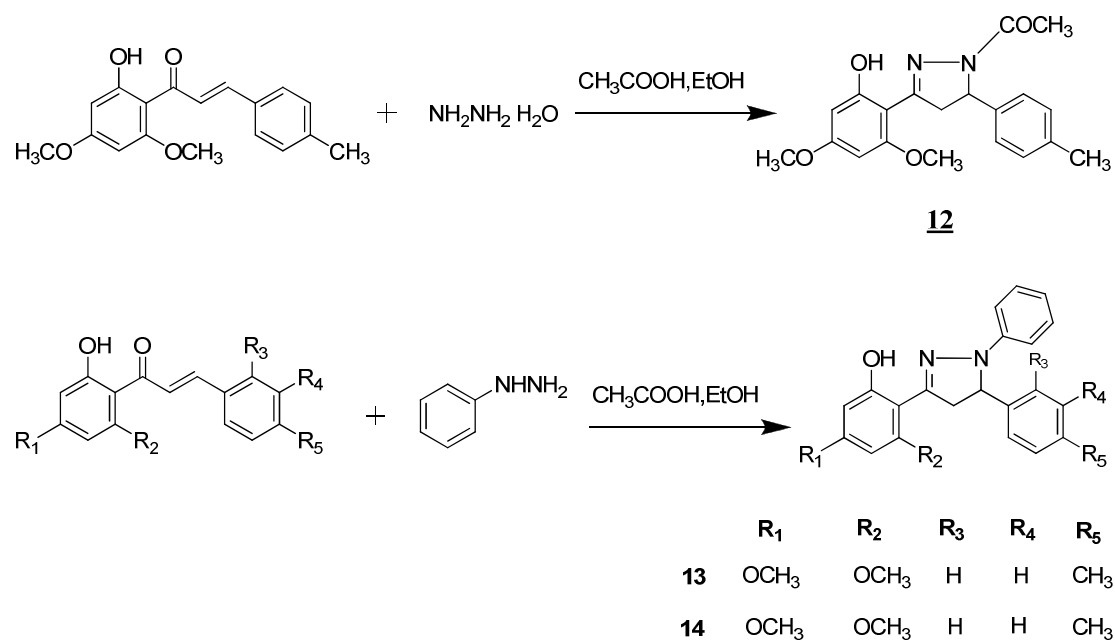


Εικόνα 55: Φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) της χαλκόνης **11**-περιοχή αρωματικών πρωτονίων

Στο παραπάνω φάσμα ^1H NMR παρατηρούνται και κορυφές που αντιστοιχούν στα πρωτόνια της πρενυλομάδας. Συγκεκριμένα, στα 5.5 ppm η τριπλή κορυφή που εμφανίζεται αντιστοιχεί στο υδρογόνο του διπλού δεσμού, ενώ στα 4.59 ppm η διπλή κορυφή αντιστοιχεί στα δύο υδρογόνα της $-\text{CH}_2-$ ομάδας.

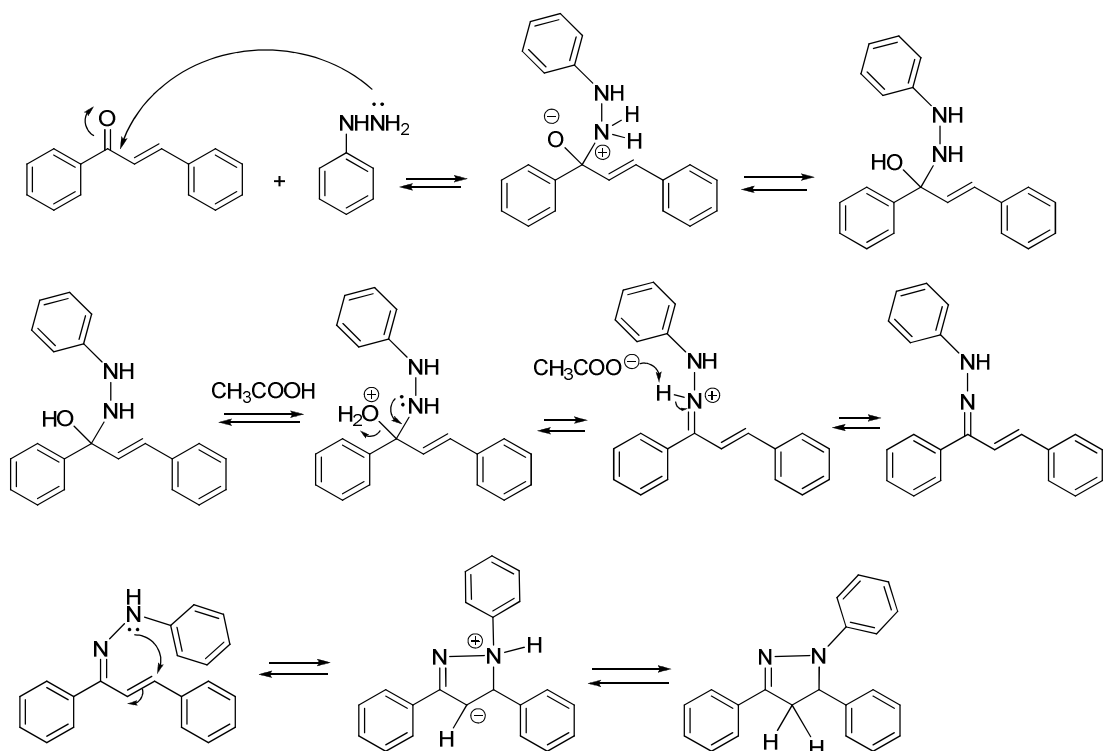
6.3.1.Σύνθεση πυραζολινών

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της αντίδρασης των χαλκονών με υδραζίνη ή φαινυλδραζίνη σε όξινες συνθήκες (διάλυμα οξικού οξέος) για την παρασκευή των πυραζολινών. Οι πυραζολίνες που συντετέθησαν παρουσιάζονται στο παρακάτω σχήμα:



Σχήμα 28: Σύνθεση πυραζολινών παρούσης διπλωματικής εργασίας

Ο μηχανισμός σχηματισμού του δακτυλίου της πυραζολίνης, σύμφωνα με τη μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε, παρουσιάζεται στο Σχήμα 29.



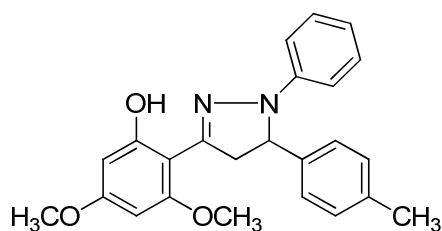
Σχήμα 29: Μηχανισμός σχηματισμού πυραζολίνης

Αρχικά με πυρηνόφιλη προσθήκη της υδραζίνης (ή της φαινυλδραζίνης) στον άνθρακα της καρβονυλομάδας της χαλκόνης, που ακολουθείται από μεταφορά ενός πρωτονίου από το άζωτο στο οξυγόνο, σχηματίζεται μια ενδιάμεση ενολική ένωση. Η πρωτονίωση του υδροξυλίου από τον όξινο καταλύτη το μετατρέπει σε καλύτερη αποχωρούσα ομάδα. Με αποβολή νερού λόγω του μονήρους ζεύγους ηλεκτρονίων του αζώτου σχηματίζεται ένα ενδιάμεσο κατιόν. Η απόσπαση ενός πρωτονίου από το άζωτο του διπλού δεσμού, οδηγεί στην αναγέννηση του όξινου καταλύτη και στο σχηματισμό μιας ένωσης η οποία στη συνέχεια υφίσταται κυκλοποίηση. Το προϊόν της κυκλοποίησης είναι η ζητούμενη πυραζολίνη [72].

6.3.2. Χαρακτηρισμός δομής πυραζολινών με φασματοσκοπία ^1H NMR

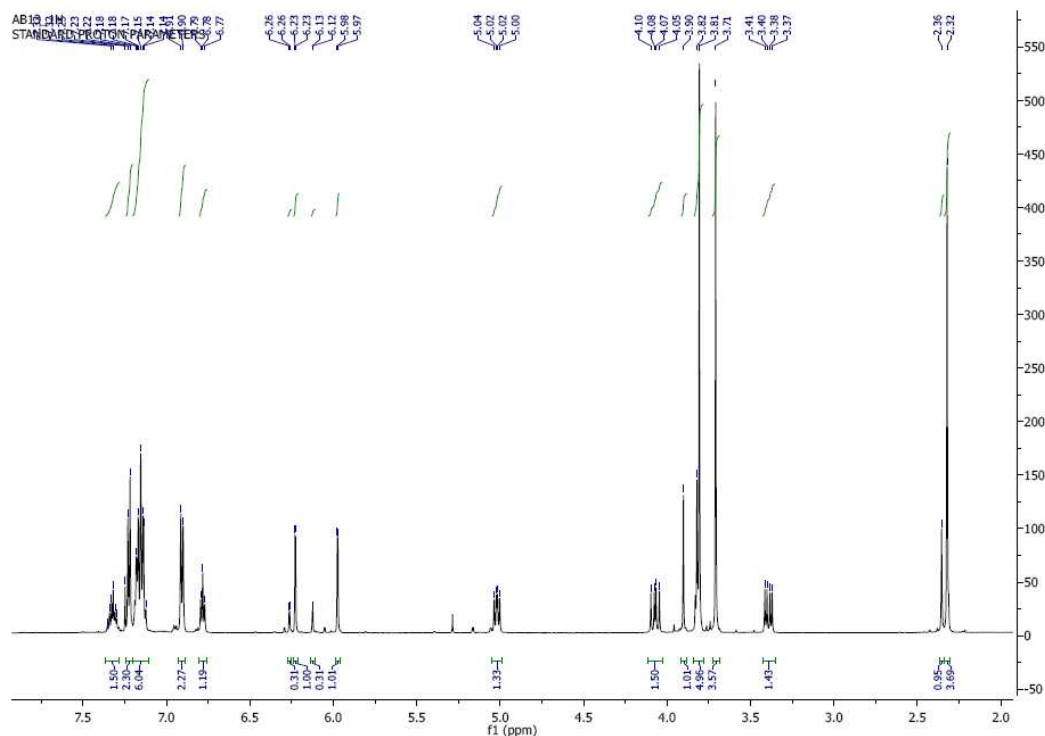
Στα φάσματα ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) των τριών πυραζολινών που παρασκευάστηκαν σε αυτή την εργασία, είναι φανερό ότι τα μόρια αυτά, στο διαλύτη που μελετήθηκαν, εμφανίζουν δύο διαμορφωμερή των οποίων τα σήματα είναι διακριτά.

Προκειμένου να επιβεβαιωθεί αυτή η παρατήρηση, ελήφθη το φάσμα της πυραζολίνης **13** σε όργανο μεγαλύτερης διακριτικής ικανότητας (600MHz).



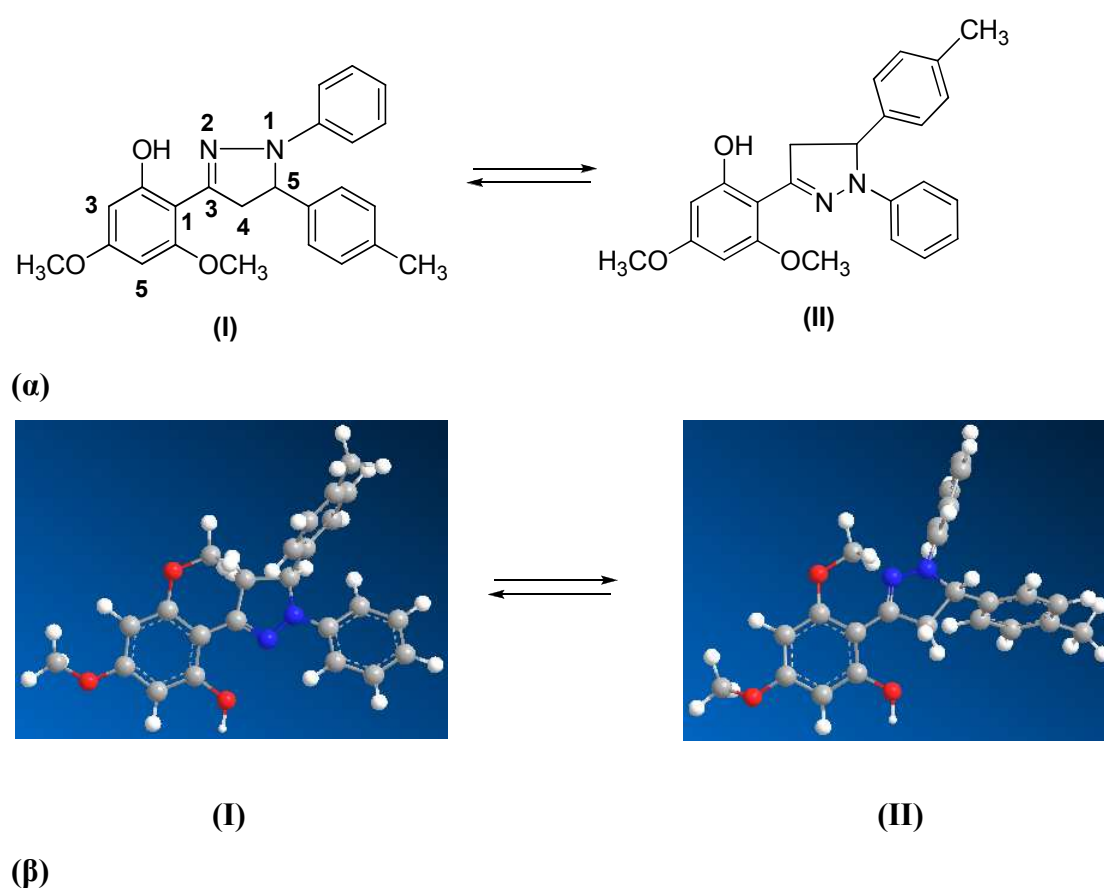
Εικόνα 56: Πυραζολίνη **13**

Στις εικόνες 57,58,59 παρουσιάζεται το φάσμα της πυραζολίνης **13** και γίνεται αναλυτική αποτίμηση.



Εικόνα 57: Φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 , 600MHz) της πυραζολίνης **13**

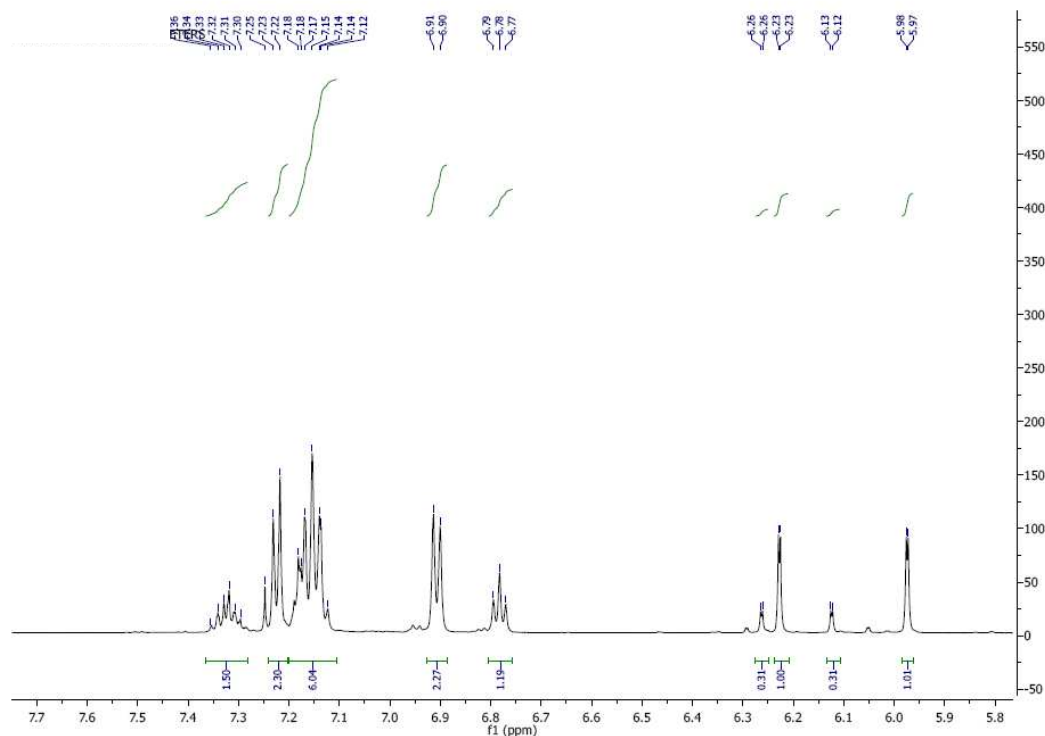
Στο συνολικό φάσμα είναι φανερό ότι υπάρχουν δύο σειρές σημάτων, οι οποίες πρέπει να αποδοθούν στην ύπαρξη δύο διαμορφωμερών του μορίου, που πιθανότατα προκύπτουν από την περιστροφή γύρω από το δεσμό μεταξύ του C-1 του δακτυλίου A και του C-3 του πυραζολινικού δακτυλίου (Σχήμα. 30). Προφανώς, η αλληλομετατροπή μεταξύ των δύο διαμορφωμερών είναι αρκετά αργή ώστε να στην κλίμακα χρόνου του NMR να παρατηρούνται οι διακριτές κορυφές και των δύο.



Σχήμα 30: Αλληλομετατροπή μεταξύ των πιθανών διαμορφωμερών **(I)** και **(II)** σε δισδιάστατη **(α)** και τρισδιάστατη **(β)** απεικόνιση

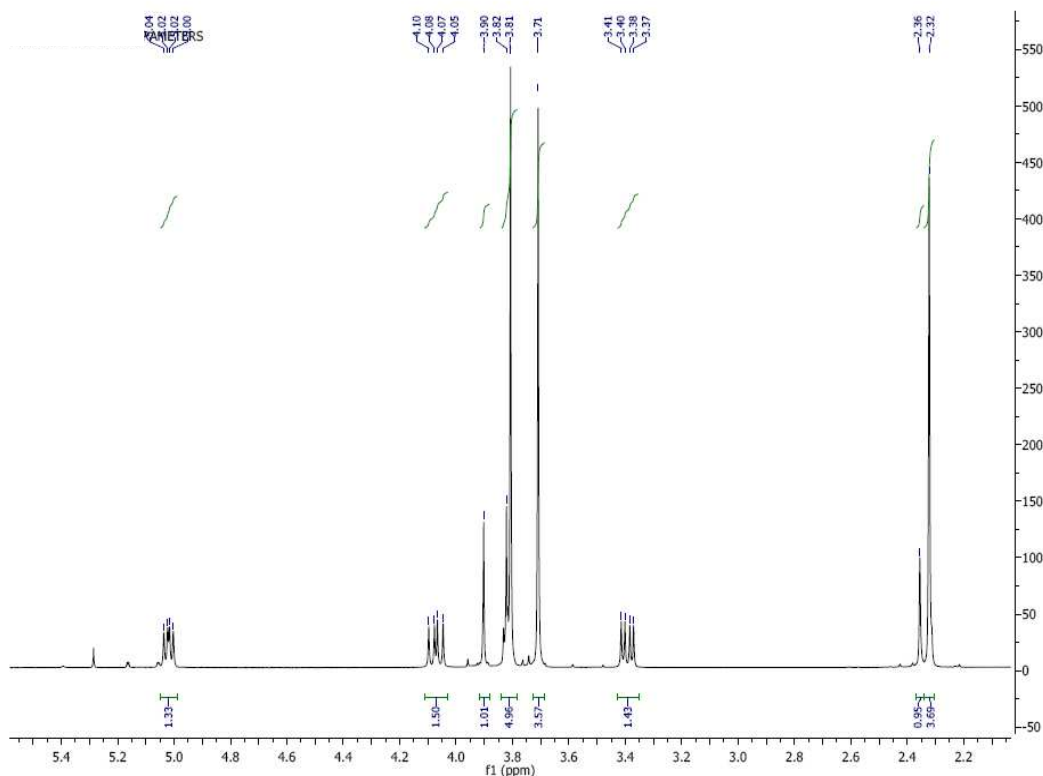
Τα αρωματικά πρωτόνια H-3 και H-5 του δακτυλίου A, που εμφανίζονται στην περιοχή 5.97-6.26, δίνουν δύο σειρές σημάτων (Εικόνα 58): δύο διπλές κορυφές στα 6.23 και 5.98ppm, με σταθερές σύζευξης $J=2.4\text{Hz}$, οι οποίες ολοκληρώνονται για

1H και δύο διπλές κορυφές, στα 6.26 και 6.13ppm, με σταθερές σύζευξης J=2.4Hz, οι οποίες ολοκληρώνονται για 0.31H. Από αυτές τις κορυφές συμπεραίνουμε ότι τα δύο διαμορφωμερή βρίσκονται στο διάλυμα σε αναλογία 10:3.



Εικόνα 58: Φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 , 600MHz) της πυραζολίνης **13**: 5.8-7.7ppm

Το σήμα του πρωτονίου H-5 του πυραζολινικού δακτυλίου αναμένεται να εμφανίζεται με τη μορφή μιας κορυφής διπλής διπλών (dd), λόγω της σύζευξης με τα γειτονικά υδρογόνα της θέσης 4 του πυραζολινικού δακτυλίου τα οποία είναι διαστερεοτοπικά και επομένως δεν είναι χημικά ισοδύναμα. Πράγματι, όπως φαίνεται στην Εικόνα 55, στα 5.02ppm υπάρχει μια κορυφή αυτής της μορφής που ολοκληρώνεται για 1.3H. Αυτό σημαίνει ότι το σήμα του H-5 του πυραζολινικού δακτυλίου εμφανίζεται και για τα δύο διαμορφωμερή στην ίδια χημική μετατόπιση. Το ίδιο παρατηρείται και για τα H της θέσης 4 του πυραζολινικού δακτυλίου, που δίνουν δύο κορυφές διπλές, στα 4.08 και 3.39ppm, οι οποίες ολοκληρώνονται για 1.3H η κάθε μία.



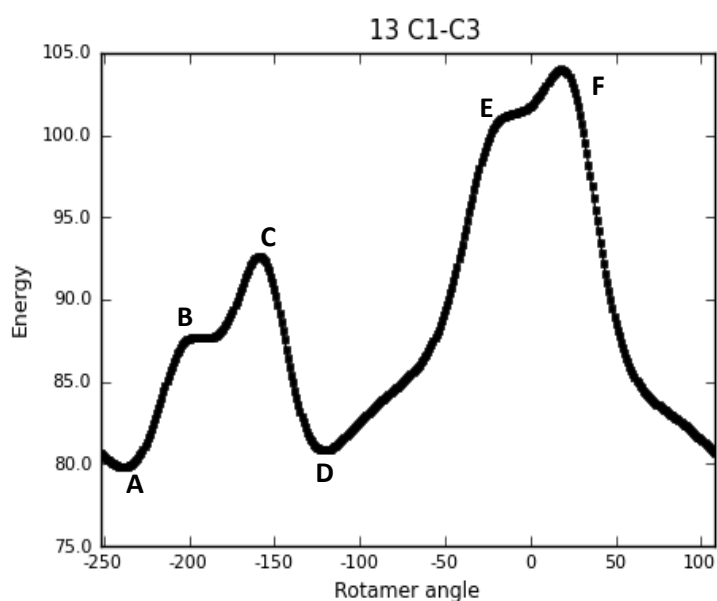
Εικόνα 59: Φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 , 600MHz) της πυραζολίνης **13**: 2.0-5.4ppm

Τα σήματα που οφείλονται στα πρωτόνια των μεθοξυ ομάδων του δακτυλίου A και της μεθυλο-ομάδας του δακτυλίου B του κάθε διαμορφωμερούς εμφανίζονται επίσης σε διαφορετικές χημικές μετατοπίσεις και ολοκληρώνονται σε αναλογία 10:3, επιβεβαιώνοντας την υπόθεση ύπαρξης δύο διαμορφωμερών. Σύμφωνα με τα παραπάνω για την πυραζολίνη **13** ισχύει ότι:

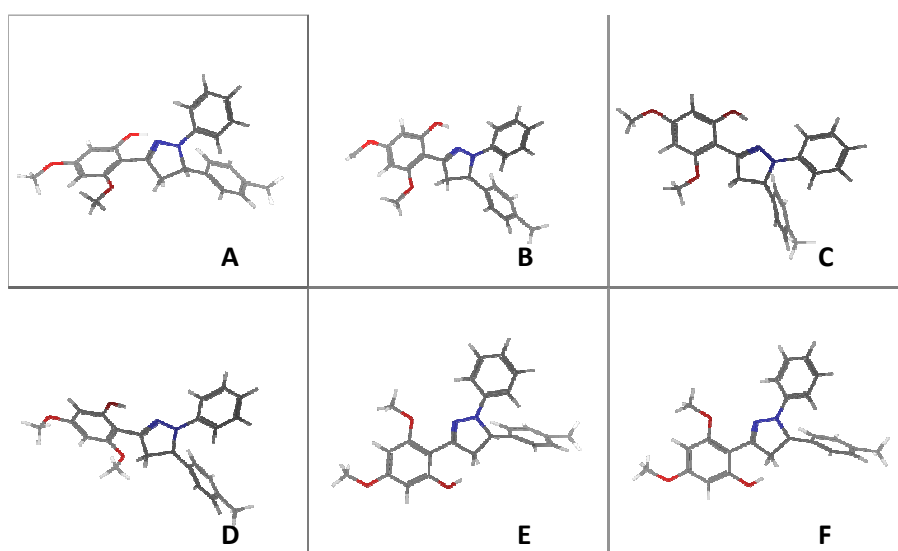
Για την περαιτέρω διερεύνηση της υπόθεσης ύπαρξης δύο διαμορφωμερών, πραγματοποιήθηκε συστηματική αναζήτηση γύρω από το δεσμό C4-C5 της **13**, ανά 1° περιστροφής. Το λογισμικό που χρησιμοποιήθηκε είναι το Maestro 9.2 της Schrodinger. Το αποτέλεσμα της διαδικασίας, παρέχει το διάγραμμα της ενέργειας του μορίου συναρτήσει της γωνίας του δεσμού μεταξύ των C4-C5 το οποίο παρουσιάζεται στο Σχήμα 31.

Στο διάγραμμα παρατηρούνται δύο ενεργειακά ελάχιστα στα σημεία A ($\tau=-238^\circ$, $E=72.8$ kJ/mol) και D ($\tau=-120.2^\circ$, $E=73.19$). Αντίστοιχα στα σημεία C και E εμφανίζονται δύο ενεργειακά μέγιστα στα οποία οι δύο δακτυλιοί βρίσκονται στο ίδιο επίπεδο. Τα μέγιστα αυτά ορίζουν ενεργειακά φράγματα που εμποδίζουν την

ελεύθερη περιστροφή του δεσμού C4-C5. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι το πρώτο ενεργειακό φράγμα στις -150° είναι κατά περίπου 12 k/mol χαμηλότερο από το δεύτερο στις 30° . Αυτό συμβαίνει γιατί η διαμόρφωση του μορίου στα σημεία B και C ευνοεί τον ενδομοριακό δεσμό υδρογόνου μεταξύ του H της υδροξυλομάδας του δακτυλίου A και του N του πυραζολινικού δακτυλίου.



Σχήμα 31: Διάγραμμα ενέργειας της πυραζολίνης **13**



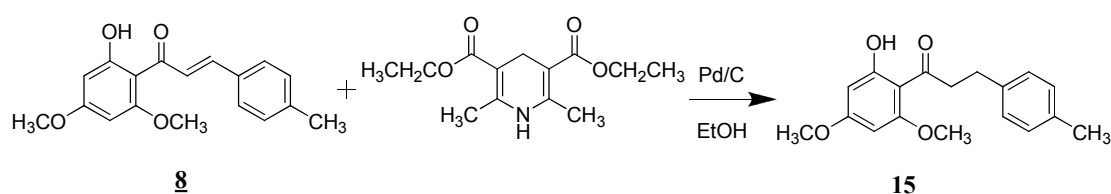
Εικόνα 60: Διαμορφώσεις που αντιστοιχούν στα σημεία καμπής του διαγράμματος ενέργειας της πυραζολίνης **13**

Αντίστοιχες παρατηρήσεις έγιναν και στα φάσματα των πυραζολινών 12 και 14. Το φαινόμενο αυτό δεν έχει αναφερθεί μέχρι στιγμής στη βιβλιογραφία, όπως εξάλλου και οι αντίστοιχες πυραζολίνες. Η αλληλομετατροπή μεταξύ διαμορφώσεων ενός μορίου παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον ειδικά όταν πρόκειται για μόρια με βιολογική δράση, καθώς μπορεί να επηρεάζει τον μηχανισμό με τον οποίο δρουν. Περαιτέρω μελέτες με πειράματα NMR δύο διαστάσεων, μέσω των οποίων θα διευκρινιστούν πλήρως οι δομές των δύο διαμορφωμένων είναι υπό εξέλιξη.

6.4.1. Αναγωγή διπλού δεσμού – Σύνθεση διϋδροχαλκόνης

Για τη σύνθεση της διϋδροχαλκόνης, που είναι υδρογονωμένο παράγωγο μιας αρχικής χαλκόνης, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της εκλεκτικής αναγωγής του καρβονυλικού συστήματος με αντίδραση καταλυτικής μεταφοράς υδρογόνου, χρησιμοποιώντας κατάλληλη οργανική ένωση ως δότη υδρογόνου και καταλύτη Pd/C.

Η οργανική ένωση η οποία χρησιμοποιήθηκε ως δότης υδρογόνου, είναι ο εστέρας του Hantzsch. Η επιλογή του εστέρα του Hantzsch (Hantzsch 1,4-dihydropyridine, HEH) πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια της εύκολης συνθετικής του πορείας και της εκλεκτικής ικανότητάς του να ανάγει α, β-ακόρεστα καρβονυλικά συστήματα βιομιμητικά.



Σχήμα 32: Σύνθεση διϋδροχαλκόνης παρούσης διπλωματικής εργασίας

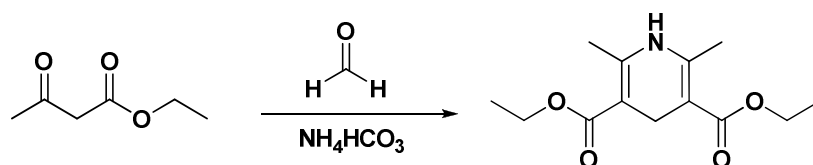
Στα βιολογικά συστήματα ο σχηματισμός στερεογονικών κέντρων C-H πραγματοποιείται με εξειδικευμένα ένζυμα που ονομάζονται οξειδοαναγωγάσες. Τα ένζυμα αυτά αποτελούνται από συμπράγοντες που αναλαμβάνουν το ζωτικό ρόλο του 'φυσικού αναγωγικού αντιδραστήριου'. Τα νουκλεοτίδια που περιέχουν διϋδροπυριδίνη, δηλαδή το NADH και το NADPH, είναι οι πιο σημαντικοί συμπράγοντες που χρησιμοποιούνται κατά τις εναντιοεκλεκτικές βιοχημικές αντιδράσεις υδρογόνωσης.

Από χημικής άποψης, μόρια όπως το NADH ενσωματώνουν δύο δομικά χαρακτηριστικά που λειτουργούν συγχρόνως καθιστώντας δυνατή την εκλεκτική μεταφορά του υδριδίου σε ηλεκτρονιόφιλα χημικά είδη. Το τμήμα του νουκλεοτιδίου έχει το ρόλο της μοριακής αναγνώρισης ενώ το τμήμα της διϋδροπυριδίνης (που βρίσκεται δίπλα σε ηλεκτρονιόφιλο) έχει τη δυνατότητα να μεταφέρει υδρίδια σε καρβονύλια ή αμίνες [75,76].

Οι φυσικές διαδικασίες λαμβάνουν χώρα διαδοχικά, χωρίς να είναι αναγκαίος κανενός είδους ενδιάμεσος διαχωρισμός όπως συνήθως συμβαίνει στο χημικό εργαστήριο. Η υιοθέτηση επομένως βιομιμητικών προσεγγίσεων για την ολοκλήρωση μιας σύνθεσης στο εργαστηριακό περιβάλλον αποσκοπεί σε μεγάλο βαθμό στην αξιοποίηση της παραπάνω δυνατότητας.

Ο HEH χρησιμοποιείται ως ασφαλές, εύκολο στο χειρισμό, φθινό και περιβαλλοντικά ακίνδυνο αντιδραστήριο για την αναγωγή οργανικών ενώσεων. Ειδικά στην περίπτωση των α, β-ακόρεστων καρβονυλικών ενώσεων, η εκλεκτική αναγωγή του διπλού δεσμού με τη χρήση του HEH και καταλύτη Pd/C ή και οργανοκαταλυτικά έχει εκτενώς μελετηθεί και παρέχει τις επιθυμητές κορεσμένες καρβονυλικές ενώσεις κατ' αποκλειστικότητα [77].

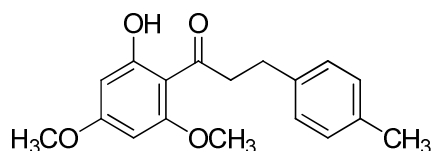
Η σύνθεση του εστέρα περιλαμβάνει την αντίδραση συμπύκνωσης της φορμαλδεΐδης με έναν β-κετοεστέρα, τον ακετοξικό αιθυλεστέρα, παρουσία όξινου ανθρακικού αμμωνίου [78] (Σχήμα 33).



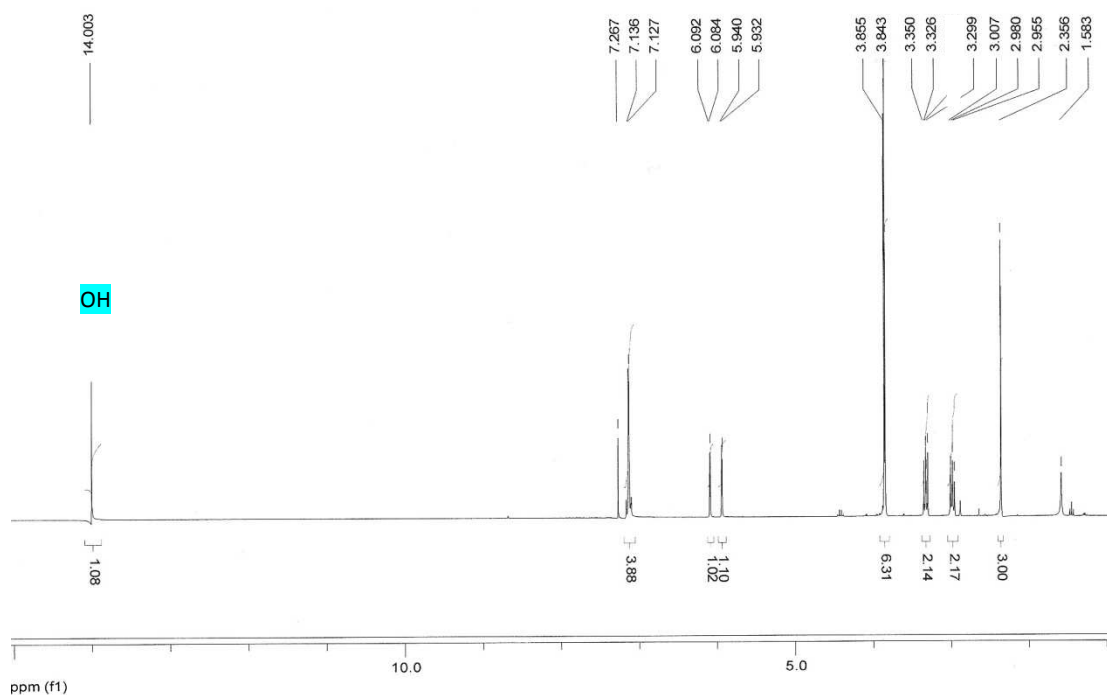
Σχήμα 33: Σύνθεση του εστέρα του Hantzsch

6.4.2. Χαρακτηρισμός δομής διϋδροχαλκόνης με φασματοσκοπία ^1H NMR

Το φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) της διϋδροχαλκόνης **15** που παρασκευάστηκε σε αυτή την εργασία παρουσιάζεται παρακάτω:

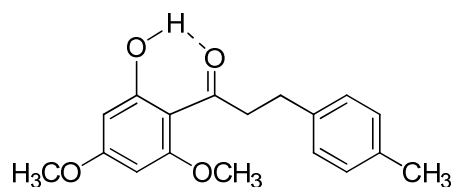


Εικόνα 61: Διϋδροχαλκόνη **15**



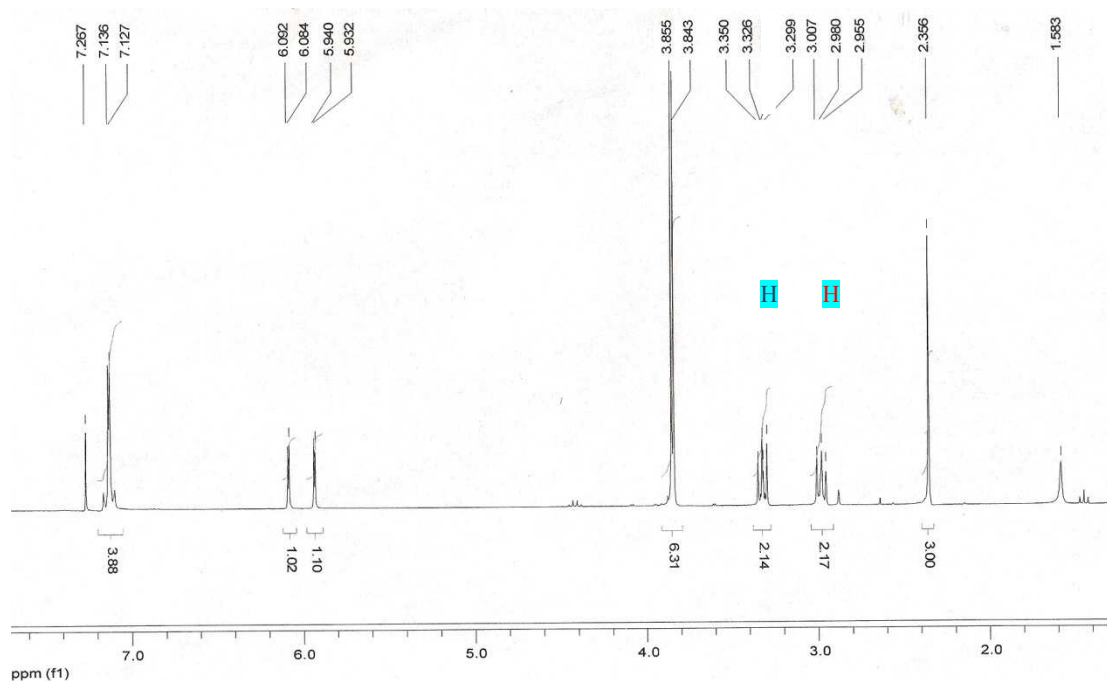
Εικόνα 62: Φάσμα ^1H NMR της διϋδροχαλκόνης **15**

Όπως και στην περίπτωση των χαλκόνων, παρατηρείται ένα σήμα σε πολύ χαμηλό πεδίο (14.003ppm) που οφείλεται στο υδρογόνο του υδροξυλίου της θέσης 2' το οποίο είναι πολύ αποπροστατευμένο λόγω της συμμετοχής του σε ισχυρό ενδομοριακό δεσμό υδρογόνου με το καρβονύλιο (Εικόνα 63).



Εικόνα 63: Υδρογόνο του υδροξυλίου της θέσης 2' της διϋδροχαλκόνης

Ωστόσο, το σήμα που αντιστοιχεί στα βινυλικά υδρογόνα H_α και H_β του α , β -ακόρεστου καρβονυλικού συστήματος για τις χαλκόνες, δεν εμφανίζεται στην περίπτωση της διϋδροχαλκόνης καθώς το α , β -ακόρεστο καρβονυλικό σύστημα μετατράπηκε σε κορεσμένο μέσω της εκλεκτικής υδρογόνωσης του διπλού δεσμού μεταξύ των ανθράκων, με αντίδραση καταλυτικής μεταφοράς υδρογόνου, χρησιμοποιώντας τον εστέρα του Hantzsch ως δότη υδρογόνου και καταλύτη Pd/C. Τα σήματα των H του απλού αυτού δεσμού εμφανίζονται στα 3.33 ppm, για τα H που συνδέονται με $-\text{COCH}_2-$ (επισημαίνονται ως **H** στο παρακάτω φάσμα), και στα 2.98 ppm, για τα H που συνδέονται με $-\text{CH}_2-\text{Ph}$ (επισημαίνονται ως **H** στο παρακάτω φάσμα).



Εικόνα 64: Φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) της διϋδροχαλκόνης **15**: 2.0-7.5 ppm

7. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ

7.1. Γενικά

Η αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης των ενώσεων **8,9,10,11** (χαλκόνες), **12,13,14** (πυραζολίνες) και **15** (διϋδροχαλκόνη) πραγματοποιήθηκε με προσδιορισμό της ικανότητάς τους να δεσμεύουν το υπεροξείδιο του υδρογόνου, το οποίο παρουσιάζει υψηλή οξειδωτική δράση. Ο προσδιορισμός της ικανότητας των ενώσεων να δεσμεύουν το H_2O_2 πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας της λουμινόλης. Όσο πιο χαμηλή προκύπτει η τιμή της $IC_{50} \pm SD$ ($\mu g mL^{-1}$), τόσο καλύτερη είναι η ικανότητα δέσμευσης του H_2O_2 από το μόριο. Δηλαδή, η μικρή εκπομπή φωτός σημαίνει ότι το μόριο έχει καλή αντιοξειδωτική δράση.

Επίσης, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος FRAP που δείχνει την ικανότητα του εκάστοτε μορίου να ανάγει τον Fe^{3+} σε Fe^{2+} . Όσο υψηλότερες είναι οι τιμές FRAP (μM) τόσο υψηλότερη είναι η ικανότητα αναγωγής του τρισθενούς σε δισθενή σίδηρο, άρα έχει και αυξημένη αντιοξειδωτική ικανότητα (ο δισθενής σίδηρος συμμετέχει ως καταλύτης στην ανάπτυξη των οξειδωτικών δράσεων από το υπεροξείδιο του υδρογόνου).

7.2. Προσδιορισμός της ικανότητας των ενώσεων να δεσμεύουν το H_2O_2 με τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας

Με τον όρο χημειοφωταύγεια, καλείται κάθε διαδικασία που αφορά στην εκπομπή ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας (συνήθως στην ορατή ή κοντά στην υπέρυθη περιοχή), που παράγεται από μια ουσία, μέσω μιας χημικής αντίδρασης. Στις αντιδράσεις της μεθόδου χημειοφωταύγειας γενικά, ένα από τα προϊόντα της αντίδρασης βρίσκεται σε διεγερμένη ηλεκτρονικά κατάσταση, το οποίο παράγοντας φώς, μεταπίπτει στη θεμελιώδη κατάσταση. Η ένταση της εκπομπής, είναι συνάρτηση της συγκέντρωσης των χημικών ενώσεων που συμμετέχουν στην αντίδραση χημειοφωταύγειας. Συνεπώς, η μέτρηση της έντασης της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας μπορεί να χρησιμοποιηθεί για αναλυτικούς σκοπούς [79].

Η χημειοφωταύγεια κατέχει μια εξέχουσα θέση ανάμεσα σε άλλες φασματοφωτομετρικές τεχνικές, λόγω της ευαισθησίας και της επιλεκτικότητας που παρουσιάζει [80]. Η τεχνική αυτή χαρακτηρίζεται από τα εξής:

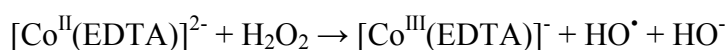
- Δεν απαιτεί εξωτερική πηγή φωτός (τεχνική σκοτεινού πεδίου), επομένως, εξασφαλίζει μείωση των σημάτων θορύβου και βελτίωση των ορίων ανίχνευσης (10 έως 100 φορές χαμηλότερα όρια ανίχνευσης από άλλες τεχνικές φωταύγειας).
- Απαιτεί μόνο έναν ανιχνευτή φωτός, όπως ένας φωτοπολλαπλασιαστής.
- Δεν απαιτεί μονοχρωμάτορα και συχνά δεν απαιτεί ούτε φίλτρο.

Παρόλα αυτά, πρέπει να αναφερθεί ότι υπάρχουν και κάποιοι περιορισμοί στην ανάλυση χημειοφωτάγειας [79], όπως είναι οι παρακάτω:

- Η εξάρτηση της εκπομπής χημειοφωταύγειας από ορισμένους παράγοντες όπως είναι το pH, η παρουσία μεταλλικών ιόντων (κυρίως των στοιχείων μετάπτωσης), η θερμοκρασία, η χημική δομή των πρόδρομων 31 ενώσεων που λαμβάνουν μέρος στην αντίδραση, ο επιλεγμένος καταλύτης καθώς και το γεγονός ότι το μέγεθος της έντασης της χημειοφωταύγειας είναι ανάλογο του όγκου της κυψελίδας.
- Η απλή εκπομπή χημειοφωταύγειας δεν είναι σταθερή αλλά μεταβάλλεται με το χρόνο. Επομένως, το προφίλ εκπομπής-χρόνου μπορεί να διαφέρει σημαντικά σε διαφορετικά συστήματα χημειοφωταύγειας.

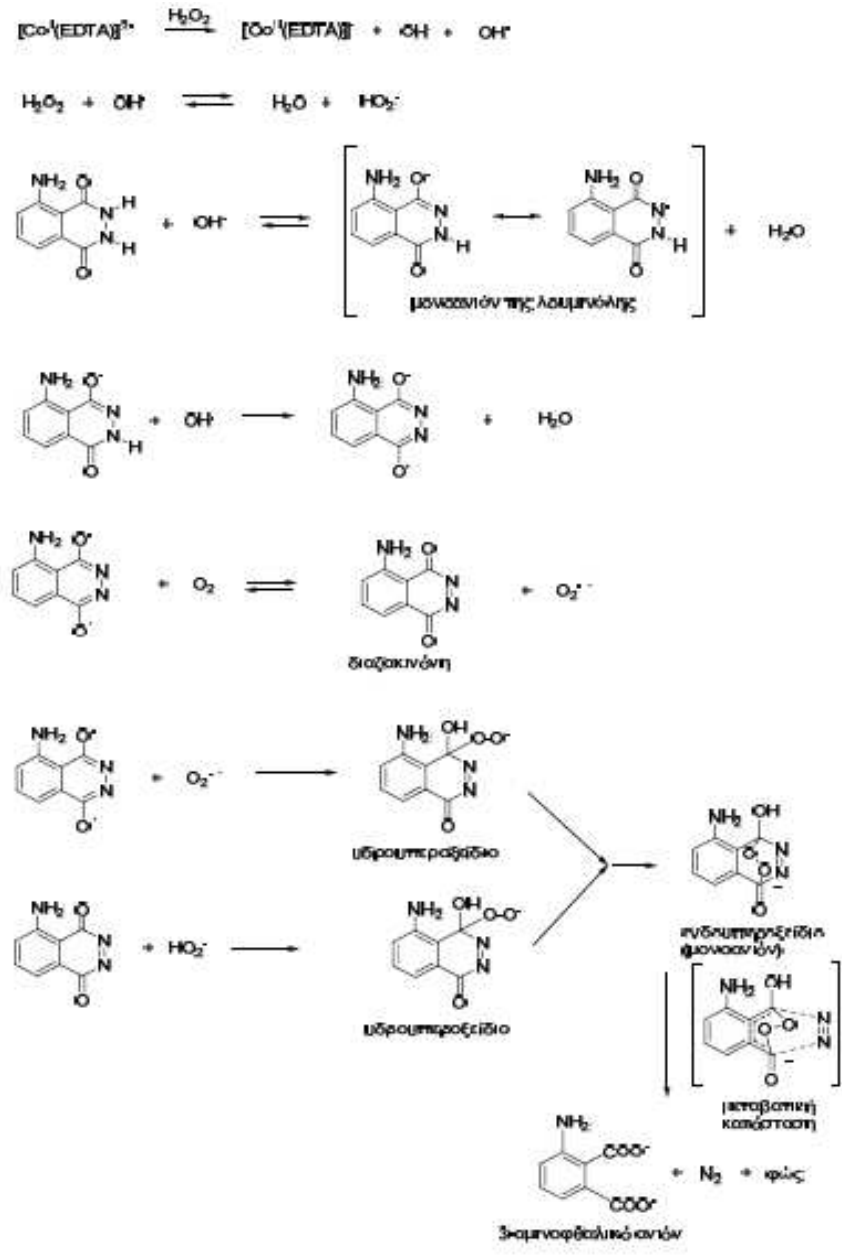
Πολλές μέθοδοι χημειοφωταύγειας, απαιτούν λίγα μόνο χημικά συστατικά που πραγματικά παράγουν φως. Η χημειοφωταύγεια της λουμινόλης [80], που έχει μελετηθεί εκτενώς και των υπεροξοξαλικών [81], χρησιμοποιούνται σε αναλυτικές και βιοαναλυτικές μεθόδους. Η λουμινόλη, η οποία είναι μη εξειδικευμένη, χρησιμοποιείται ευρέως σαν χημειοφωταυγικός αισθητήρας. Ο χημειοφωταυγικός εκπομπέας, προέρχεται άμεσα από την οξείδωση της λουμινόλης, από ένα οξειδωτικό μέσο σε βασικό υδατικό διάλυμα. Το πιο σύνηθες οξειδωτικό μέσο είναι το υπεροξείδιο του υδρογόνου. Ωστόσο, έχουν χρησιμοποιηθεί και άλλα οξειδωτικά μέσα, όπως ένζυμα, οργανικά υπεροξείδια, και 2,2'-αζω-δι(2-αμιδινοπροπάνιο) [82].

Πρόσφατα, η μέθοδος χημειοφωταύγειας της λουμινόλης, τροποποιήθηκε για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση του υπεροξειδίου του υδρογόνου. Αυτή η τροποποιημένη μέθοδος, που δε χρησιμοποιεί ένζυμα και δεν απαιτεί λογισμικό για ολοκλήρωση καμπυλών, λόγω της σταθερής έντασης χημειοφωταύγειας που παράγεται, για ένα λογικό χρονικό διάστημα (έως και 1min), βασίζεται στην καταλυτική οξείδωση της λουμινόλης από Co^{2+} και στη χρήση ρυθμιστικού διαλύματος βορικών σε pH 9, παρουσία EDTA ως μεταλλικό συμπλοκοποιητή. Το προαναφερθέν επίπεδο pH βρέθηκε να δίνει τα βέλτιστα σήματα, αναφορικά με τη χρονική σταθερότητα, την ένταση και την επαναληψιμότητα [83]. Τα σύμπλοκα του κοβαλτίου με το EDTA καταλύουν το σχηματισμό μιας ρίζας υδροξυλίου μέσω της αντίδρασης Fenton [84] που φαίνεται στο Σχήμα 34.



Σχήμα 34: Αντίδραση Fenton

Η μέθοδος της χημειοφωταύγειας της λουμινόλης περιγράφεται από μια σειρά αντιδράσεων, όπου σε βασικό pH, η λουμινόλη μετατρέπεται στο αντίστοιχο μονοανιόν, το οποίο σταθεροποιείται με δομές συντονισμού. Το ανιόν μέσα από διάφορα στάδια, καταλήγει στο σχηματισμό του ενδοϋπεροξειδίου, το οποίο παράγεται σε διεγερμένη κατάσταση και αποβάλλει την περίσσεια ενέργειας υπό μορφή ακτινοβολίας, οπότε μεταπίπτει στη θεμελιώδη ενεργειακή κατάσταση. Οι αντίστοιχες αντιδράσεις φαίνονται στο Σχήμα 35.



Σχήμα 35: Οι αντιδράσεις που συμβαίνουν κατά τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας της λουμινόλης

Ρίζες με οξυγονούχο κέντρο, όπως οι ρίζες υδροξυλίου και αλκοξειδίου, που σχηματίζονται από ομολυτική σχάση του υδροϋπεροξειδίου επίσης, προκαλούν οξείδωση της λουμινόλης, που συνοδεύεται από εκπομπή φωτός. Σε όλες τις διεργασίες φωταύγειας, η ένταση του παραγόμενου φωτός εξαρτάται από το πόσο αποτελεσματική είναι η παραγωγή μορίων στη διεγερμένη κατάσταση, μέγεθος που αντιπροσωπεύεται από την κβαντική απόδοση και την ταχύτητα της αντίδρασης:

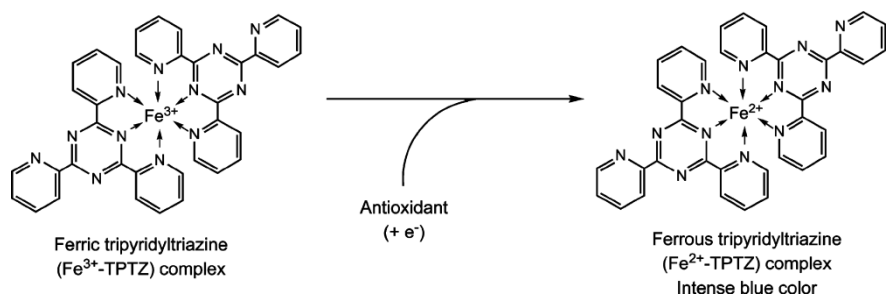
$$I_{CI} = \Phi_{CI} (-dA/dt)$$

όπου I_{CI} είναι η ένταση της εκπομπής (φωτόνια/ δευτερόλεπτο), Φ_{CI} είναι η κβαντική απόδοση της χημειοφωταύγειας και $-dA/dt$ είναι ο ρυθμός με τον οποίο καταναλώνεται η πρόδρομη ένωση A της διεργασίας. Η μέγιστη ένταση φωτός, εξαιρείται από τη συγκέντρωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου και την κβαντική απόδοση [79].

7.3. Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

Η μέθοδος FRAP ανήκει στην κατηγορία των μεθόδων προσδιορισμού αντιοξειδωτικής ικανότητας που βασίζονται σε αντιδράσεις μεταφοράς ηλεκτρονίων (Electron Transfer-ET assays). Στις περισσότερες από αυτές τις μεθόδους, το αντιοξειδωτικό αντιδρά με ένα φθορίζον ή έγχρωμο αντιδραστήριο (οξειδωτικό αντιδραστήριο) και προσδιορίζεται η ικανότητα του αντιοξειδωτικού να προκαλέσει αναγωγή. Το προϊόν της αναγωγής του οξειδωτικού αντιδραστηρίου έχει διαφορετικό χρώμα και ο βαθμός μεταβολής του χρώματος (αύξηση ή ελάττωση της απορρόφησης σε συγκεκριμένο μήκος κύματος) συσχετίζεται με τη συγκέντρωση του αντιοξειδωτικού.

Η αρχή της μεθόδου FRAP βασίζεται στην αναγωγή του ιόντος Fe(III) προς Fe(II) παρουσία του αντιοξειδωτικού, το οποίο δρα ως δότης ηλεκτρονίου. Μία συνθετική χρωστική, η 2,4,6-τριπυριδύλ-S-τριαζίνη (2, 4, 6-tripyridyl-s- triazine, TPTZ) χρησιμοποιείται ως δείκτης της παρουσίας ιόντων Fe(II) καθώς το σύμπλοκο TPTZ-Fe(III) είναι άχρωμο ενώ το σύμπλοκο TPTZ-Fe(II) έχει χαρακτηριστικό μπλε χρώμα και απορροφά στα 593nm (Σχήμα 34).



Σύμπλοκο TPTZ-Fe(III)

Σύμπλοκο TPTZ-Fe(II)

Άχρωμο

Έντονο μπλε χρώμα

Σχήμα 36: Αρχή μεθόδου FRAP

Με τη μέθοδο αυτή προσδιορίζεται τελικά η συνολική αναγωγική ικανότητα του αντιοξειδωτικού που εξετάζεται (δηλαδή η ικανότητά του να δρα ως δότης ηλεκτρονίου) [85,86].

8. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

8.1. Όργανα και συσκευές

- Τα φάσματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (^1H NMR) έχουν καταγραφεί με τα εξής όργανα:

- Varian Gemini 300MHz
- Varian 600MHz

Οι τιμές των χημικών μετατοπίσεων, δίνονται σε ppm. Η πολλαπλότητα των σημάτων στα φάσματα ^1H NMR αναφέρονται ως:

- s (singlet, απλό)
- d (doublet, διπλό)
- t (triplet, τριπλό)
- q (quartet, τετραπλό)
- m (multiplet, πολλαπλό)
- br (broad, ευρύ).

Οι σταθερές συζεύξεως J δίνονται σε Hz.

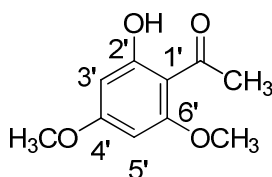
- Τα φάσματα μάζας έχουν καταγραφεί στο όργανο LC-ESI/MS (VARIAN LC/ESI-MSⁿ) Η μέθοδος του ηλεκτροψεκασμού (Electrospray Ionization) που χρησιμοποιείται ως πηγή ιονισμού των δειγμάτων, είναι μια σχετικά ήπια πηγή ιονισμού και δεν προκαλεί μεγάλο ποσοστό θραυσματοποίησης.
- Τα σημεία τήξεως έχουν ληφθεί σε συσκευή Gallenkamp και δεν έχουν διορθωθεί.

8.2. Γενική μέθοδος ο-αλκυλίωσης υποκατεστημένων 2'-υδροξυ-ακετοφαινονών και της 3,4-διϋδροξυ-βενζαλδεΐδης

Σε σφαιρική φιάλη που συνδέεται με κάθετο ψυκτήρα και μπαλόνι που περιέχει N₂, προστίθενται σε διαλύτη ακετόνη τα αντιδρώντα: κατάλληλη 2'-υδροξυ-ακετοφαινόνη (ή η 3,4-διϋδροξυβενζαλδεΐδη), K₂CO₃, και το κατάλληλο αλκυλιωτικό σε συγκεκριμένη γραμμομοριακή αναλογία ανάλογα με την αντίδραση. Το αντιδρόν μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση (με θέρμανση ή χωρίς) για κατάλληλο χρονικό διάστημα. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται με TLC σε τακτά χρονικά διαστήματα. Όταν η αντίδραση ολοκληρωθεί, το K₂CO₃ απομακρύνεται με διήθηση και το διήθημα εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση ώστε να απομακρυνθεί ο διαλύτης.

Στο ελαιώδες υπόλειμμα προστίθεται διαιθυλαιθέρας και το προκύπτον μίγμα τοποθετείται στο ψυγείο. Σε περίπτωση καταβύθισης στερεού, αυτό λαμβάνεται με διήθηση υπό κενό. Διαφορετικά, το μίγμα παραμένει ως έχει, και το ζητούμενο προϊόν απομονώνεται τελικώς και καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης, χρησιμοποιώντας κατάλληλο σύστημα διαλυτών. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με TLC και φασματοσκοπία ¹H NMR.

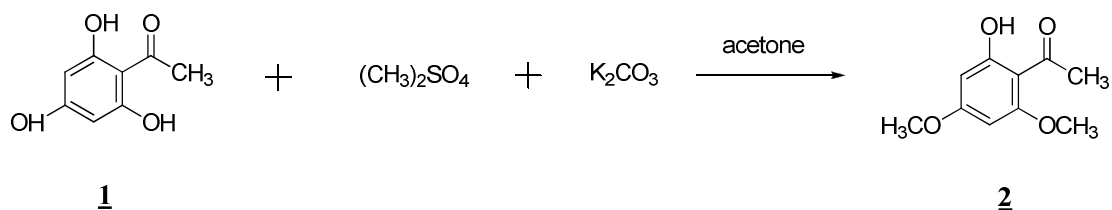
4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2-ΥΔΡΟΞΥ-ΑΚΕΤΟΦΑΙΝΟΝΗ (2)



Μοριακός τύπος: C₁₀H₁₂O₄

M.B.:196.07

Η **2** παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο Ο-αλκυλίωσης υποκατεστημένων 2'-υδροξυακετοφαινονών και της 3,4-διϋδροξυβενζαλδεύδης, χρησιμοποιώντας την 2,4,6-τριυδροξυ-ακετοφαινόνη (**1**) (0.024 mol, 4.4gr), K₂CO₃ (0.044mol, 6.08gr), θειϊκό διμεθύλιο [(CH₃)₂SO₄ , 0.04mol, 5.081gr], σε γραμμομοριακή αναλογία 1:2,2:2 σε 90mL ακετόνης.



Το (CH₃)₂SO₄ προστίθεται τελευταίο στάγδην με σύριγγα, ενώ η σφαιρική φιάλη είναι βυθισμένη σε δοχείο πάγου γιατί η αντίδραση είναι εξώθερμη και υπάρχει κίνδυνος απότομης έκλυσης θερμότητας. Το σύστημα αναδεύεται με θέρμανση για 1 μέρα. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται με TLC σε τακτά χρονικά διαστήματα. Όταν η αντίδραση ολοκληρωθεί, το K₂CO₃ απομακρύνεται με διήθηση και το διήθημα εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση ώστε να απομακρυνθεί ο διαλύτης. Στο ελαιώδες υπόλειμμα που παραμένει μετά την εξάτμιση προστίθεται διαιθυλαιθέρας και το προκύπτον μίγμα τοποθετείται στο ψυγείο. Το στερεό που καταβυθίζεται λαμβάνεται με διήθηση υπό κενό. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με TLC και φασματοσκοπία ¹H NMR. Τελικά λαμβάνονται 2.99gr καθαρού λευκού στερεού προϊόντος.

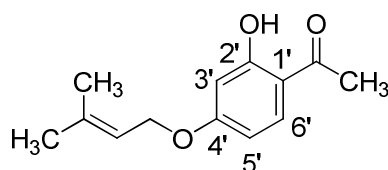
Απόδοση αντίδρασης: 63%

Σημείο τήξης: 76⁰C-77⁰C

Σημείο τήξης βάσει της βιβλιογραφίας: 78.5⁰C-79.5⁰C [87]

¹H NMR (CDCl₃, 300Mz) δ ppm 14.03 (s, 1H, OH), 6.06 (d, J=1.8Hz, 1H, αρωματικό H-3'), 5.92 (d, J=2.1Hz, 1H, αρωματικό H-6'), 3.85 (s, 3H, 6'-OCH₃), 3.82 (s, 3H, 4'-OCH₃), 2.61 (s, 3H, COCH₃)

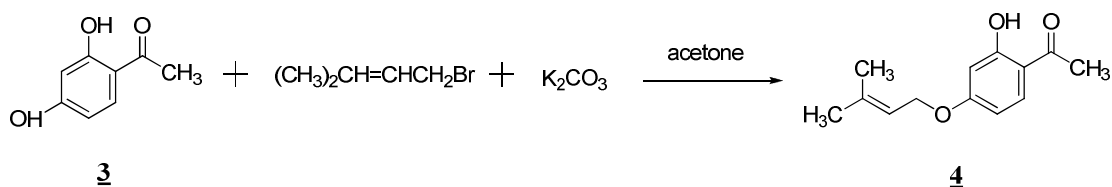
4-O-ΠΙΡΕΝΥΛ-2-ΥΔΡΟΞΥ-ΑΚΕΤΟΦΑΙΝΟΝΗ (4):



Μοριακός τύπος: C₁₃H₁₆O₃

M.B.: 220.26

Η **4** παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο Ο-αλκυλίωσης που περιγράφηκε παραπάνω, χρησιμοποιώντας την 2,4-διϋδροξυ-ακετοφαινόνη (**3**) (0.013 mol, 2gr), K₂CO₃ (0.039 mol, 5.38gr), και ισοπρενυλοβρωμίδιο (0.0156 mol, 2.32gr), σε γραμμομοριακή αναλογία 1:3:1,2 σε 40mL ακετόνης.



Το σύστημα αναδεύεται με θέρμανση για 3.5 ώρες. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται με TLC σε τακτά χρονικά διαστήματα. Όταν η αντίδραση ολοκληρωθεί, το K₂CO₃ απομακρύνεται με διήθηση και το διήθημα τίθεται υπό εξάτμιση ώστε να απομακρυνθεί ο διαλύτης. Στο ελαιώδες υπόλειμμα προστίθεται διαιθυλαιθέρας και το προκύπτον μίγμα τοποθετείται στο ψυγείο. Το στερεό που καταβυθίζεται λαμβάνεται με διήθηση υπό κενό. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με TLC και φασματοσκοπία ¹H NMR. Τελικά λαμβάνονται 0.74gr καθαρού λευκού στερεού προϊόντος.

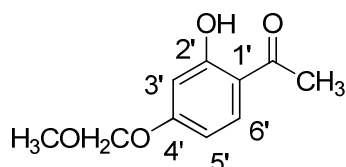
Απόδοση αντίδρασης: 30%

Σημείο τήξης: 48-50⁰C

Σημείο τήξης βάσει της βιβλιογραφίας: 46⁰C -47⁰C [7]

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300MHz) δ ppm 12.72 (s, 1H, OH), 7.62 (d, J=9Hz, 1H, H-6'), 6.44 (d, J=9Hz, 1H, H-5'), 6.47 (d, J=2.7Hz, 1H, H-3'), 5.49 (t, J=6Hz, 1H, C=CH), 4.56 (d, J=6Hz, 2H, -CH₂-), 2.57 (s, 3H, COCH₃), 1.83 (s, 3H, COCH₃), 1.78 (s, 3H, COCH₃)

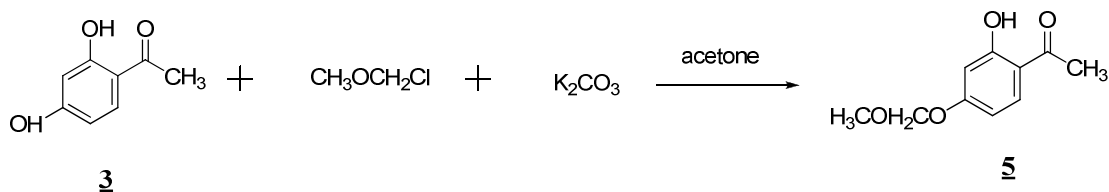
4-ΜΕΘΟΞΥΜΕΘΥΛΟ-2-ΥΔΡΟΞΥ-ΑΚΕΤΟΦΑΙΝΟΝΗ (5)



Μοριακός τύπος: $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_4$

M.B.: 196.20

Η **5** παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο Ο-αλκυλίωσης που περιγράφηκε παραπάνω, χρησιμοποιώντας την 2,4-διϋδροξυ-ακετοφαινόνη (**3**) (0.01314 mol, 2gr), K_2CO_3 (0.05258 mol, 7.26gr), χλωρομεθυλο-μεθυλαιθέρας [$\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{Cl}$, (0.01972 mol, 1.59gr)], σε γραμμομοριακή αναλογία 1:4:1,5 σε 40,4mL ακετόνης

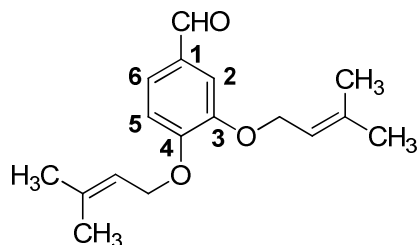


Το αντιδρόν μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση με θέρμανση για μία μέρα. Η πορεία της αντίδρασης μελετάται με TLC σε τακτά χρονικά διαστήματα. Όταν η αντίδραση ολοκληρωθεί, το K_2CO_3 απομακρύνεται με διήθηση και το διήθημα τίθεται υπό εξάτμιση ώστε να απομακρυνθεί ο διαλύτης. Στο ελαιώδες υπόλειμμα προστίθεται διαιθυλαιθέρας και το προκύπτον μίγμα τοποθετείται στο ψυγείο. Το ζητούμενο προϊόν απομονώνεται και καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης, χρησιμοποιώντας σύστημα διαλυτών πετρελαϊκό αιθέρα/οξικό αιθυλεστέρα σε αναλογία 8:2. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία $^1\text{H NMR}$. Τελικά λαμβάνονται 1.25gr καθαρού υγρού προϊόντος.

Απόδοση αντίδρασης: 49%

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300MHz) δ ppm 12.55 (s, 1H, OH), 7.61 (d, $J=9\text{Hz}$, 1H, H-6'), 6.55-6.49 (m, 2H, H-3', H-5'), 5.17 (s, 2H, -OCH₂-), 3.45 (s, 3H, -OCH₃), 2.54 (s, 3H, COCH₃)

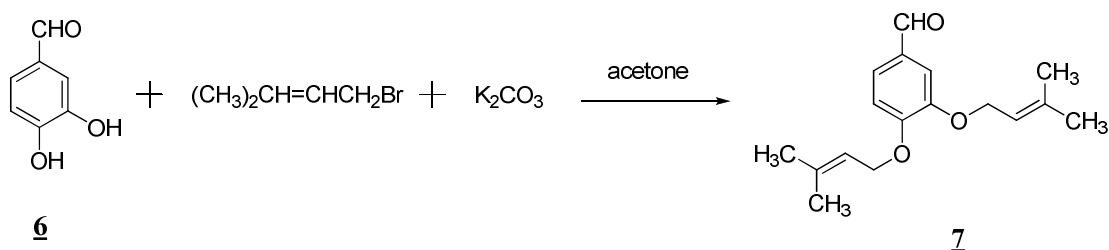
3,4-O-ΔΙΠΡΕΝΥΛ-BENZAΛΔΕΥΔΗ (7)



Μοριακός τύπος: $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_3$

M.B.: 262.234

Η 7 παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο Ο-αλκυλίωσης, χρησιμοποιώντας την 3,4-διϋδροξυ-βενζαλδεϋδη (6) (0.007246mol, 1gr), K_2CO_3 (0.050722mol, 7gr), και ισοπρενυλοβρωμίδιο (0.021738mol, 3.24gr), σε γραμμομοριακή αναλογία 1:7:3 σε 22,3mL ακετόνης.



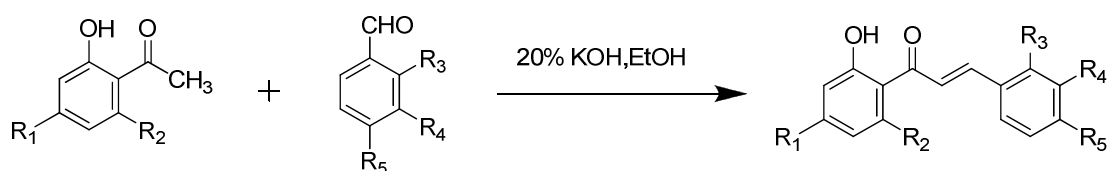
Το αντιδρόν μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση με θέρμανση για 1 μέρα. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται με TLC σε τακτά χρονικά διαστήματα. Όταν η αντίδραση τελειώσει, το K_2CO_3 απομακρύνεται με διήθηση και το διήθημα τίθεται υπό εξάτμιση ώστε να απομακρυνθεί ο διαλύτης. Το ζητούμενο προϊόν απομονώνεται τελικώς και καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης, χρησιμοποιώντας σύστημα διαλυτών πετρελαϊκό αιθέρα/οξικό αιθυλεστέρα σε αναλογία 9:1. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία $^1\text{H NMR}$. Τελικά λαμβάνονται 1.5gr καθαρού υγρού προϊόντος.

Απόδοση αντίδρασης: 79%

^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) δ ppm 9.81(s, 1H, CHO), 7.42-7.38 (m, 2H, H-2, H-6), 6.95 (d, $J=9\text{Hz}$, 1H, H-5), 5.52-5.47 (m, 2H, C=CH), 4.68 (d, $J=6\text{Hz}$, 2H, $-\text{CH}_2-$), 4.64 (d, $J=6\text{Hz}$, 2H, $-\text{CH}_2-$), 1.79 (s, 6H, $(\text{CH}_3)_2$), 1.76 (s, 6H, $(\text{CH}_3)_2$).

8.2. Γενική μέθοδος σύνθεσης χαλκονών

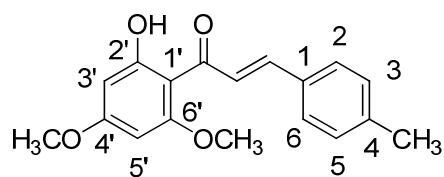
Σε σφαιρική φιάλη, προστίθενται παρουσία αιθανόλης τα αντιδρώντα: η κατάλληλη ακετοφαινόνη, μία υποκατεστημένη βενζαλδεΐδη και 20% w/v υδατικό διάλυμα KOH σε γραμμομοριακή αναλογία 1:1:3.



Το αντιδρόν μίγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 1 μέρα σε θερμοκρασία δωματίου. Η πορεία της αντίδρασης μελετάται με TLC σε τακτά χρονικά διαστήματα. Όταν η αντίδραση ολοκληρωθεί, η σφαιρική φιάλη ψύχεται σε πάγο και ακολουθεί οξίνιση του μίγματος με προσθήκη υδατικού διαλύματος HCl 10% v/v οπότε καταβυθίζεται κίτρινο ίζημα.

Στη συνέχεια, το διάλυμα διηθείται υπό κενό, προς απομόνωση του στερεού, το οποίο και αφήνεται προς ξήρανση. Σε περίπτωση που το στερεό δεν είναι απόλυτα καθαρό, ακολουθεί ανακρυστάλλωση. Η ανακρυστάλλωση πραγματοποιείται με εν θερμώ διάλυση του παραγώγου σε μεθανόλη/διχλωρομεθάνιο. Το λαμβανόμενο διάλυμα τοποθετείται στο ψυγείο για μια ημέρα προκειμένου να επιτευχθεί πλήρης καταβύθιση των κρυστάλλων του προϊόντος. Τέλος, ακολουθεί διήθηση υπό κενό του μίγματος για την παραλαβή του ανακρυσταλλωμένου προϊόντος. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία ^1H NMR.

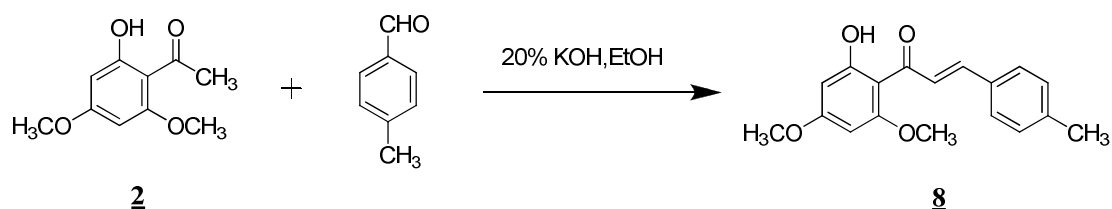
4',6'-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-4-ΜΕΘΥΛΟ-2'-ΥΔΡΟΞΥ-ΧΑΛΚΟΝΗ (**8**)



Μοριακός τύπος: $C_{18}H_{18}O_4$

M.B.:298.33

Η **8** παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης των χαλκονών χρησιμοποιώντας τη **2** (0.007 mol,1.5gr),και την 4-μεθυλο-βενζαλδεΐδη (0.007mol, 0.84gr) σε 27mL διαλύματος αιθανόλης και 5.9mL διαλύματος KOH 20% w/v.



Τελικά λαμβάνονται 1.48gr καθαρού κίτρινου στερεού προϊόντος.(Επιπλέον φυλάσσεται μικρή ποσότητα προϊόντος με προσμίξεις.)

Απόδοση αντίδρασης: 71%

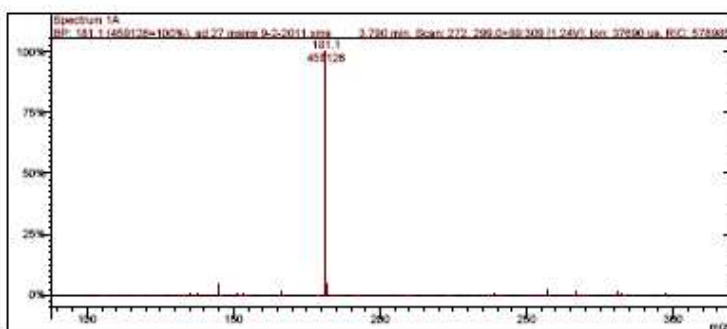
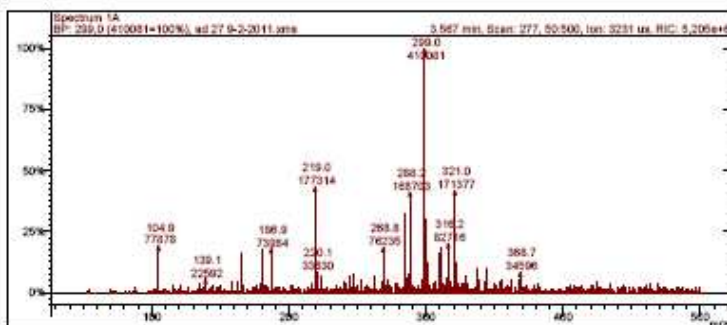
Σημείο τήξης: 132⁰C-135⁰C

Σημείο τήξης βάσει της βιβλιογραφίας: 132⁰C-133⁰C [67]

¹H NMR (CDCl₃,300MHz) δ ppm 14.33 (s,1H,OH), 7.87 (d, J_{B,A}=15.3Hz,1H,H_B), 7.77 (d, J_{A,B}=15.3Hz,1H,H_A), 7.51 (d, J_{2,3}= J_{5,6}=8.1Hz,2H,H-2,H-6), 7.21 (d, J_{5,6}= J_{2,3}=8.1Hz,2H,H-3,H-5), 6.11 (d, J_{3',5'}= 2.7Hz,1H,H-3'), 5.96 (d, J_{3',5'}= 2.7Hz,1H,H-5'), 3.92 (s,3H,6'-OCH₃), 3.84 (s,3H,4'-OCH₃), 2.39 (s,3H,CH₃)

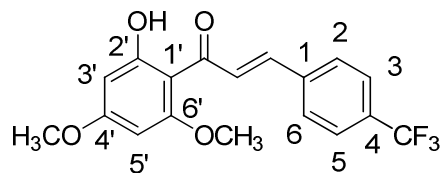
ESI-MS: Το μοριακό ιόν της χαλκόνης **8** που εξετάστηκε, είναι παρόν στο αντίστοιχο MS φάσμα, γεγονός που δείχνει ότι το μόριο έχει παρασκευαστεί επιτυχώς.

B4 MS-MS²



Εικόνα 65: Φάσμα MS χαλκόνης **8**

4',6'-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-4-ΤΡΙΦΘΟΡΟΜΕΘΥΛΟ-2'-ΥΔΡΟΞΥ-ΧΑΛΚΟΝΗ, (**9**)



Μοριακός τύπος: C₁₈H₁₅F₃O₄

M.B.: 352.30

Η **9** παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης των χαλκονών χρησιμοποιώντας τη **2** (0.0018 mol, 0.38gr), και την 4-τριφθορομεθυλο-βενζαλδεΐδη (0.0018mol και 0.31gr) σε 7mL διαλύματος αιθανόλης και 1.5 mL διαλύματος KOH 20% w/v.



Τελικά λαμβάνονται 0.066gr καθαρού κίτρινου ανακρυσταλλωμένου στερεού προϊόντος.

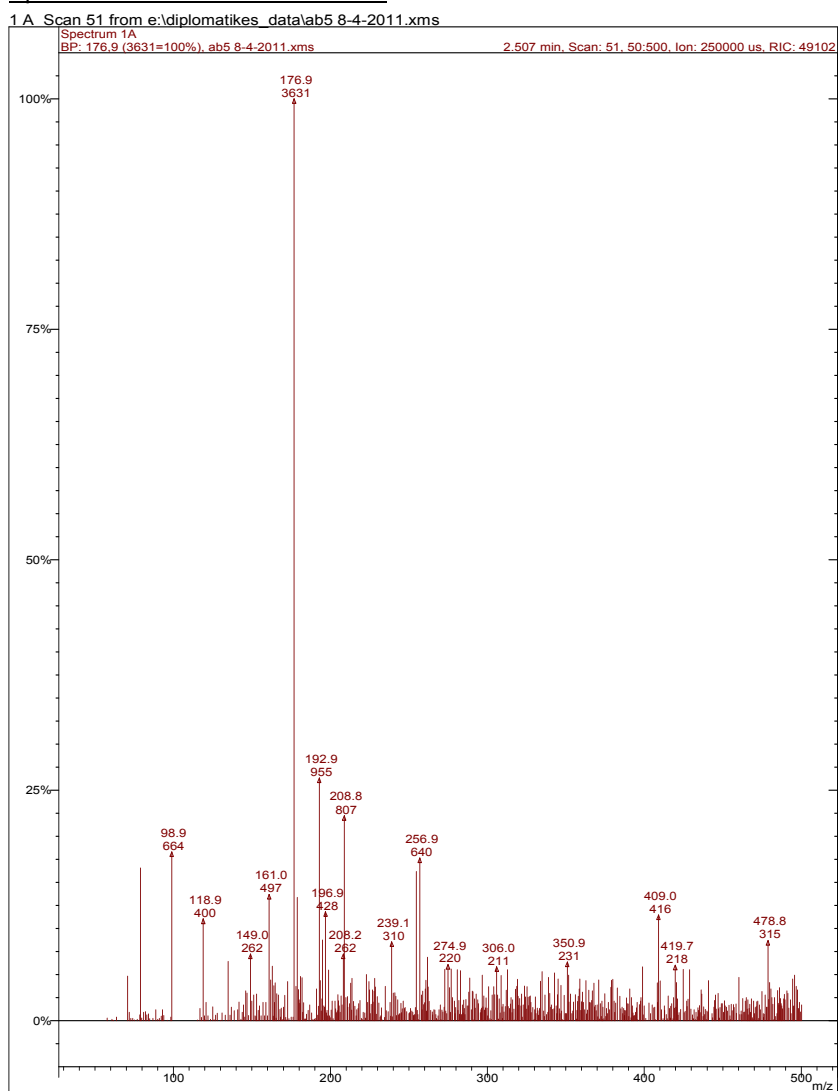
Απόδοση αντίδρασης: 10%

Σημείο τήξης: 152⁰C-154⁰C

¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) δ ppm 14.10 (s, 1H, OH), 8.04-7.64 (m, 6H, αρωματικά H), 6.13 (s, 1H, H-3'), 5.99 (s, 1H, H-5'), 3.94 (s, 3H, 6'-OCH₃), 3.87 (s, 3H, 4'-OCH₃).

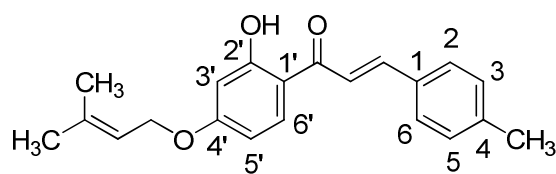
ESI-MS: Το μοριακό ιόν της χαλκόνης **9** που εξετάστηκε, είναι παρόν στο αντίστοιχο MS φάσμα, γεγονός που δείχνει ότι το μόριο έχει παρασκευαστεί επιτυχώς. Ωστόσο, το μοριακό ιόν εμφανίζεται σε ποσοστό μικρότερο του 10%. Αυτό σημαίνει ότι είναι παρόν μέσα στο δείγμα που εξετάστηκε, αλλά κάτω από τις συγκεκριμένες συνθήκες μέτρησης (συγκέντρωση, πηγή ιονισμού), δεν είναι αρκετά σταθερό.

Spectrum 1A Plot - 8/9/2011 3:00 ii



Εικόνα 66: Φάσμα MS χαλκόνης 9

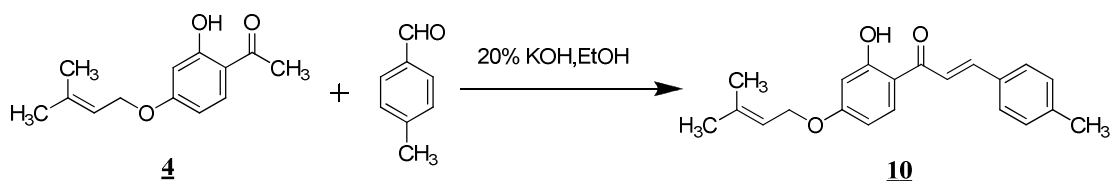
4-ΜΕΘΥΛΟ-4'-Ο-ΠΡΕΝΥΛ-2'-ΥΔΡΟΞΥ-ΧΑΛΚΟΝΗ (10)



Μοριακός τύπος: C₂₁H₂₂O₃

M.B.: 322.40

Η **10** παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης των χαλκονών χρησιμοποιώντας την **4** (0.00091mol,0,2gr),και την 4-μεθυλοβενζαλδεΐδη (0.00091mol, 0.109gr) σε 4mL διαλύματος αιθανόλης και 0.75mL διαλύματος KOH 20% w/v.



Τελικά λαμβάνονται 0.038gr καθαρού κίτρινου ανακρυσταλλωμένου στερεού προϊόντος.

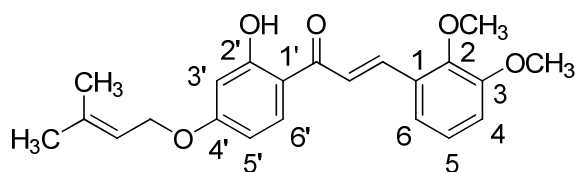
Απόδοση αντίδρασης: 13%

Σημείο τήξης: 116⁰C-118⁰C

Σημείο τήξης βάσει της βιβλιογραφίας: 98⁰C -100⁰C [29]

¹H NMR (CDCl₃,300MHz) δ ppm 13.49 (s,1H,OH), 7.88 (d, J_{B,A}=15Hz,1H,H_B), 7.81 (s,1H,H-6') 7.55 (d, J_{A,B}=15Hz,1H,H_A), 7.53 (d, J_{2,3}= J_{5,6}=6Hz,2H,H-2,H-6), 7.24 (d, J_{5,6}= J_{2,3} =6Hz,2H,H-3,H-5), 6.52 (d, J= 3Hz,1H,H-5'), 6.49 (s,1H,H-3'), 5.50 (t, J=6Hz,1H,-C=CH-), 4.59 (d, J=9Hz,2H,-CH₂-), 2.43 (s,3H,CH₃-4), 1.84 (s,3H,-CH₃), 1.79 (s,3H,- CH₃)

2,3-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-4'-Ο-ΠΡΕΝΥΛ-2'-ΥΔΡΟΞΥ-ΧΑΛΚΟΝΗ (**11**)

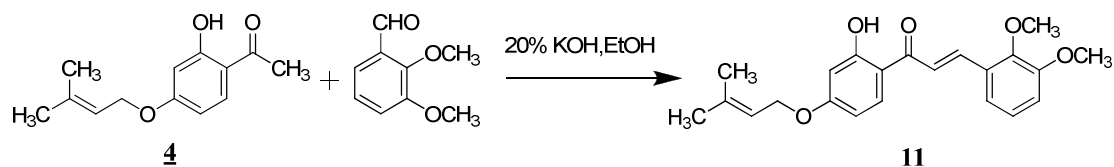


Μοριακός τύπος: C₂₂H₂₄O₅

M.B.:368.42

Η **11** παρασκευάζεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο σύνθεσης των χαλκονών χρησιμοποιώντας την **4** (0.00091mol,0.2gr),και την 2,3-διμεθοξυβενζαλδεΐδη

(0.00091mol, 0.15gr) σε 4mL διαλύματος αιθανόλης και 0.75mL διαλύματος ΚΟΗ 20% w/v.



Τελικά λαμβάνονται 0.158gr καθαρού λευκού ανακρυσταλλωμένου στερεού προϊόντος. (Επιπλέον φυλάσσεται μικρή ποσότητα προϊόντος με προσμίξεις.)

Απόδοση αντίδρασης: 48%

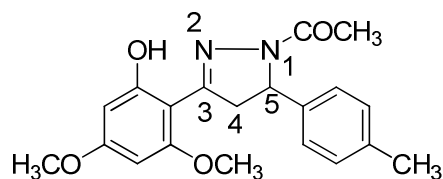
Σημείο τήξης: 108⁰C-111⁰C

Σημείο τήξης βάσει της βιβλιογραφίας: 94⁰C -96⁰C [74]

¹H NMR (CDCl₃,300MHz) δ ppm 13.44 (s,1H,OH), 8.17 (d, J_{B,A}=15Hz,1H,H_B), 7.82 (d,J=9Hz,1H,H-6') 7.67 (d, J_{A,B}=15Hz,1H,H_A), 7.28 (d, J=6Hz,1H,H-6), 7.11 (t, J=6Hz,1H,H-5), 6.99 (d,J=9Hz,1H,H-4), 6.52 (d, J=3Hz,1H,H-5'), 6.48 (s,1H,H-3'), 5.50 (t, J=6Hz,1H,-C=CH-), 4.59 (d, J=9Hz,2H,-CH₂-), 3.93 (s,3H,-OCH₃-2), 3.92 (s,3H,-OCH₃-3), 1.84 (s,3H,-CH₃), 1.79 (s,3H,- CH₃)

8.3. Σύνθεση πυραζολινών

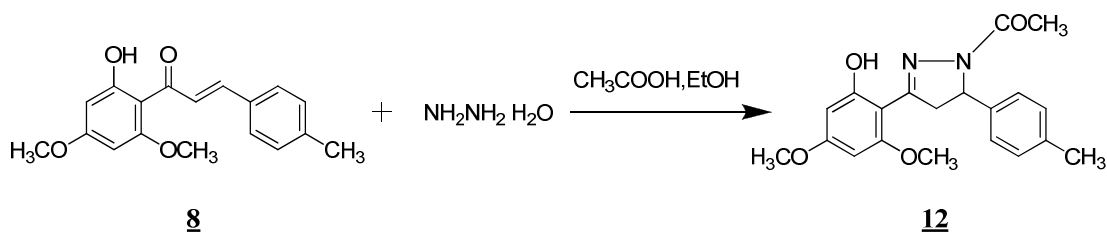
1-ΑΚΕΤΥΛΟ-3-(4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2-ΥΔΡΟΞΥ-ΦΑΙΝΥΛΟ)-5-(4-ΜΕΘΥΛΟ-ΦΑΙΝΥΛΟ)-ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΗ (12)



Μοριακός τύπος: C₂₀H₂₂N₂O₄

M.B.:354.16

Η 12 παρασκευάζεται από την 8 (0.00063mol,0.2 gr) και υδραζίνη (0.001575mol, 0.07884gr) σε γραμμομοριακή αναλογία 1:2,5 σε 4mL οξικού οξέος και 2mL απόλυτης αιθανόλης.



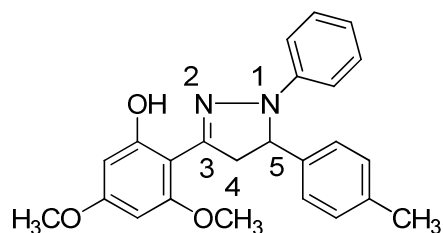
Αρχικά, η απόλυτη αιθανόλη τοποθετείται σε σφαιρική φιάλη και προστίθεται στάγδην η υδραζίνη. Σε άλλη σφαιρική φιάλη παρασκευάζεται διάλυμα του οξικού οξέος με την **8**. Ακολούθως, το διάλυμα του οξικού οξέος με την **8** προστίθεται στάγδην στο διάλυμα της απόλυτης αιθανόλης με την υδραζίνη. Το προκύπτον διάλυμα τίθεται υπό ανάδευση με θέρμανση στους 120⁰C για 1 μέρα, ενώ η σφαιρική φιάλη είναι συνδεδεμένη με κάθετο ψυκτήρα και μπαλόνι N₂. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με TLC. Την επόμενη μέρα το διάλυμα αποχύνεται σε ποτήρι ζέσεως με πάγο και καταβυθίζεται στερεό. Ακολουθεί διήθηση υπό κενό και παραλαμβάνεται το στερεό, το οποίο και τοποθετείται στον ξηραντήρα. Η καθαρότητα του στερεού ελέγχεται με TLC και ¹H NMR. Κατά την ανάπτυξη της διαδικασίας, εντοπίστηκαν προσμίξεις στο στερεό και για το λόγο αυτό ακολούθησε περαιτέρω καθαρισμός του με ανακρυστάλλωση σε διάλυμα MeOH/CH₂Cl₂. Το διάλυμα που προέκυψε από τη διαδικασία της ανακρυστάλλωσης διηθείται προκειμένου να παραληφθεί το στερεό, η καθαρότητα του οποίου ελέγχεται με TLC και ¹H NMR. Τελικά λαμβάνονται 0.062gr καθαρού λευκού στερεού **12**.

Απόδοση της αντίδρασης: 30%

Σημείο τήξης: 201⁰C-203⁰C

¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) δ ppm 7.13 (br s, 4H, αρωματικά H δακτυλίου B), 6.46 & 6.09 (br s, 0.3H, H-3 και H-5 του ενός διαμορφωμερούς), 6.22 & 6.1 (br s, 0.4H, H-3 και H-5 του άλλου διαμορφωμερούς), 5.54-5.39 (m, 1H, H-5 πυραζολινικού δακτυλίου), 4.06-4.02 (m, 1H, H-4a πυραζολινικού δακτυλίου), 3.98, 3.97, 3.84, 3.76 (s, 6H, OCH₃), 2.38 (s, 3H, CH₃), 2.34 (s, 3H, COCH₃).

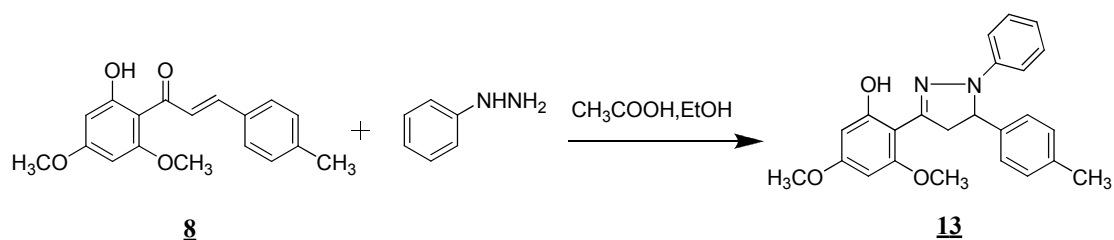
1-ΦΑΙΝΥΛΟ-3-(4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2-ΥΔΡΟΞΥ-ΦΑΙΝΥΛΟ)-5-(4-ΜΕΘΥΛΟ-ΦΑΙΝΥΛΟ)-ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΗ (**13**)



Μοριακός τύπος: C₂₄H₂₄N₂O₃

M.B.:388.46

Η **13** παρασκευάζεται από την **8** (0.00063mol, 0,2 gr) και φαινυλδραζίνη (0.001575mol, 0.17032gr) σε γραμμομοριακή αναλογία 1:2,5 σε 4mL οξικού οξέος και 2mL απόλυτης αιθανόλης.



Αρχικά η απόλυτη αιθανόλη τοποθετείται σε σφαιρική φιάλη και προστίθεται στάγδην η φαινυλδραζίνη. Επίσης σε άλλη σφαιρική φιάλη παρασκευάζεται διάλυμα του οξικού οξέος με την **8**. Ακολούθως το διάλυμα του οξικού οξέος με την **8** προστίθεται στάγδην στο διάλυμα της απόλυτης αιθανόλης με την φαινυλδραζίνη. Το προκύπτον διάλυμα τίθεται υπό ανάδευση με θέρμανση στους 120⁰C για 1 μέρα, ενώ η σφαιρική φιάλη είναι συνδεδεμένη νε κάθετο ψυκτήρα και μπαλόνι N₂. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με TLC. Την επόμενη μέρα το διάλυμα αποχύνεται σε ποτήρι ζέσεως με πάγο όμως δεν καταβυθίστηκε στερεό. Έτσι ακολουθεί εκχύλιση με την προσθήκη CH₂Cl₂. Λαμβάνεται η οργανική φάση και ο διαλύτης απομακρύνεται με εξάτμιση υπό ελαττωμένη πίεση. Το λαμβανόμενο υγρό τοποθετείται σε αντλία υψηλού κενού και ακολούθως στο ψυγείο. Η καθαρότητα του στερεού ελέγχεται με TLC. Επειδή παρατηρήθηκε ότι το στερεό είχε προσμίξεις ακολούθησε περαιτέρω καθαρισμός του με ανακρυστάλλωση σε διάλυμα

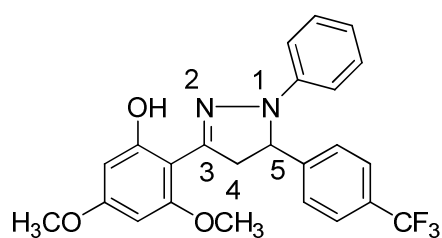
MeOH/CH₂Cl₂. Το διάλυμα που προέκυψε από τη διαδικασία της ανακρυστάλλωσης διηθείται προκειμένου να παραληφθεί το στερεό που καταβυθίστηκε, η καθαρότητα του οποίου ελέγχεται με ¹H NMR. Τελικά λαμβάνονται 0.032gr καθαρού κίτρινου στερεού **13**.

Απόδοση της αντίδρασης: 13,08%

Σημείο τήξης: 183⁰C-185⁰C

¹H NMR (CDCl₃, 600MHz) δ ppm 7.36-7.30 (m, 1.5H, αρωματικό H δακτυλίου θέσης 1 του πυραζολινικού δακτυλίου), 7.23 (d, J=6Hz, 2.3H, αρωματικά H του p-υποκατεστημένου δακτυλίου B), 7.18-7.12 (m, 6H, αρωματικά H θέσης 1 του πυραζολινικού δακτυλίου), 6.91 (d, J=6Hz, 2.3H, αρωματικά H του p-υποκατεστημένου δακτυλίου B), 6.78 (t, J=6Hz, 1.2H, αρωματικό H δακτυλίου θέσης 1 του πυραζολινικού δακτυλίου), 6.23 & 5.98 (d, J=2.4Hz, 1H, αρωματικά H δακτυλίου A του ενός διαμορφωμερούς), 6.26 & 6.13ppm (d, J=2.4Hz, 0.3H, αρωματικά H δακτυλίου A του άλλου διαμορφωμερούς), 5.02ppm (dd, J=12Hz, 1.3H, H-5 πυραζολινικού δακτυλίου), 4.08 (dd, J=12Hz, 1.3H, H-4α πυραζολινικού δακτυλίου), 3.39 (dd, J=12Hz, 1.3H, H-4β πυραζολινικού δακτυλίου), 3.90, 3.82, 3.81, 3.71 (s, 7.8H, OCH₃), 2.36 & 2.32 (s, 3.9H, COCH₃).

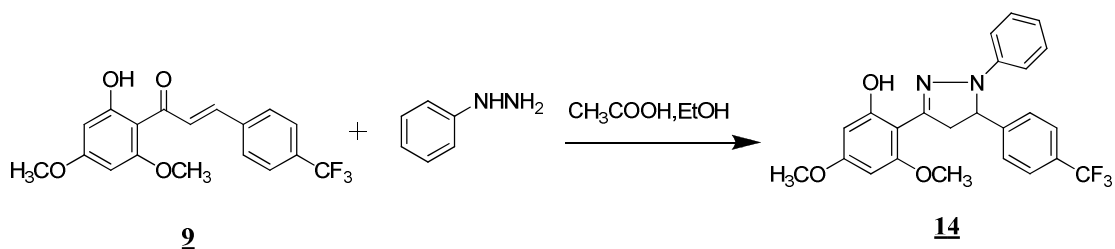
1-ΦΑΙΝΥΛΟ-3-(4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2-ΥΔΡΟΞΥ-ΦΑΙΝΥΛΟ)-5-(-
ΤΡΙΦΘΟΡΟΜΕΘΥΛΟ-ΦΑΙΝΥΛΟ)-ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΗ (**14**)



Μοριακός τύπος: C₂₄H₂₁F₃N₂O₃

M.B.:442.43

Η **14** παρασκευάζεται από την **9** (0.057mol, 0.2gr) και φαινυλδραζίνη (0.001425mol, 0.1541gr) σε γραμμομοριακή αναλογία 1:2,5 σε 3.5mL οξικού οξέος και 1.5mL απόλυτης αιθανόλης.



Αρχικά η απόλυτη αιθανόλη τοποθετείται σε σφαιρική φιάλη και προστίθεται στάγδην η φαινυλδραζίνη. Επίσης σε άλλη σφαιρική φιάλη παρασκευάζεται διάλυμα του οξικού οξέος με την **8**. Ακολούθως το διάλυμα του οξικού οξέος με την **8** προστίθεται στάγδην στο διάλυμα της απόλυτης αιθανόλης με την φαινυλδραζίνη. Το προκύπτον διάλυμα τίθεται υπό ανάδευση με θέρμανση στους 118°C για 1 μέρα, ενώ η σφαιρική φιάλη είναι συνδεδεμένη με κάθετο ψυκτήρα και μπαλόνι N_2 . Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με TLC. Την επόμενη μέρα το διάλυμα αποχύνεται σε ποτήρι ζέσεως με πάγο όμως δεν καταβυθίστηκε στερεό. Έτσι ακολουθεί εκχύλιση με την προσθήκη διχλωρομεθανίου/διαιθυλαιθέρα. Λαμβάνεται η οργανική φάση και ο διαλύτης απομακρύνεται με εξάτμιση υπό ελαττωμένη πίεση. Η καθαρότητα του λαμβανόμενου στερεού ελέγχεται με TLC. Επειδή παρατηρήθηκε ότι το στερεό είχε προσμίξεις ακολούθησε περαιτέρω καθαρισμός του με ανακρυστάλλωση σε διάλυμα $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$. Το διάλυμα που πρέκυψε από τη διαδικασία της ανακρυστάλλωσης διηθείται προκειμένου να παραληφθεί το στερεό, η καθαρότητα του οποίου ελέγχεται με TLC και $^1\text{H NMR}$. Τελικά λαμβάνονται 0.014gr κίτρινου καθαρού στερεού **14**.

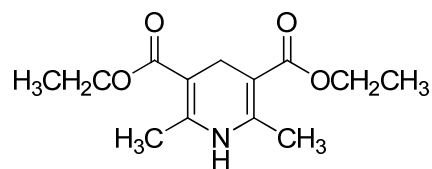
Απόδοση της αντίδρασης: 5,55%

Σημείο τήξης: 186°C - 188°C

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600MHz) δ ppm 7.63-7.18 (m, 7H, αρωματικά H δακτυλίου θέσης 1 του πυραζολινικού δακτυλίου και του p-υποκατεστημένου δακτυλίου B), 6.88 (d, $J=12\text{Hz}$, 2H, αρωματικά H του p-υποκατεστημένου δακτυλίου B), 6.29 & 6.15 (dd, $J=1.8\text{H}$, 0.2H, αρωματικά H δακτυλίου A του ενός διαμορφωμερούς), 6.25 & 6.00 (dd, $J=1.8\text{H}$, 0.7H, αρωματικά H δακτυλίου A του ενός διαμορφωμερούς), 5.14 (dd, $J=7.8\text{Hz}$, 1H, H-5 πυραζολινικού δακτυλίου), 4.16 (dd, $J=12\text{Hz}$, 1.3H, H-4α πυραζολινικού δακτυλίου), 3.98, 3.94, 3.86, 3.84, 3.76 (s, 6H, OCH_3), 3.42 (dd, $J=12\text{Hz}$, 1.3H, H-4β πυραζολινικού δακτυλίου).

8.4. Σύνθεση του εστέρα του Hantszh

1,4-ΔΙΎΔΡΟ-2,6-ΔΙΜΕΘΥΛΟ-3,5-ΠΥΡΙΔΙΝΟΚΑΡΒΟΞΥΛΙΚΟΣ
ΔΙΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ



Μοριακός τύπος: C₁₃H₁₉NO₄

M.B.: 253.29

Ο εστέρας του Hantszh παρασκευάζεται ως εξής: 0.062 mol ακετοξικού αιθυλεστέρα διαλύονται σε 10 ml μεθανόλης και στη συνέχεια προστίθενται 0.02 mol φορμαλδεΰδης και 0.031 mol όξινου ανθρακικού αμμωνίου. Το μίγμα της αντίδρασης θερμαίνεται στους 50-60 °C μέχρι τη πλήρη διάλυση του άλατος. Στη συνέχεια, θερμαίνεται επιπλέον για 1 ώρα στους 65°C με τη βοήθεια κάθετου ψυκτήρα. Μετά το τέλος της αντίδρασης, αφήνεται να κρυώσει σε θερμοκρασία δωματίου, ακολουθεί διήθηση και το προϊόν παραλαμβάνεται ύστερα από διαδοχικές εκπλύσεις με μεθανόλη χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

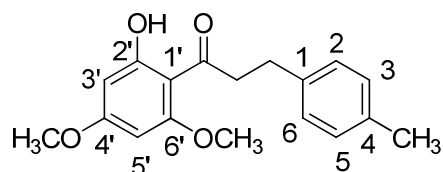
Απόδοση της αντίδρασης: 25%

Σημείο τήξης: 184⁰C-189⁰C

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.28 (t, 6H), 2.19 (s, 6H), 3.27 (s, 2H), 4.17 (q, 4H), 5.11 (s, 1H)

8.5.Σύνθεση διϋδρογαλκόνης

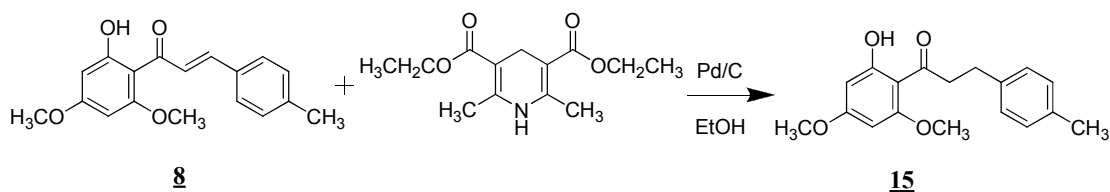
1-(2-ΥΔΡΟΞΥ-4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-p-ΤΟΛΥΛΠΡΟΠΑΝΟΝΗ (15)



Μοριακός τύπος: C₁₈H₂₀O₄

M.B.:300.35

Η **15** παρασκευάζεται από την **8** (0.00032mol,0.1gr) και τον εστέρα του Hanzschs (0.00095mol,0.24gr) σε γραμμομοριακή αναλογία 1:3 με τη βοήθεια καταλύτη Pd/C (0.02gr) σε διαλύτη αιθανόλη (20mL).



Αρχικά, τοποθετείται η αιθανόλη σε σφαιρική φιάλη που συνδέεται με κάθετο ψυκτήρα και μπαλόνι N₂ και γίνεται εναλλαγή N₂ προκειμένου να απομακρυνθεί το οξυγόνο που περιέχει. Η διαδικασία αυτή γίνεται διότι το O₂ αντιδρά με το H₂ που παράγεται από τον εστέρα του Hanzschs και η αντίδραση αυτή είναι ισχυρά εξώθερμη (εκρηκτική). Μετά την απομάκρυνση του O₂ στη σφαιρική προστίθενται κατά σειρά η **8**, ο εστέρας του Hanzsch και ο καταλύτης. Το σύστημα τίθεται υπό ανάδευση με θέρμανση στους 78°C (σημείο ζέσεως της αιθανόλης) για 1 μέρα. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται με TLC.

Το λαμβανόμενο υγρό μετά από 1 μέρα διηθείται σε χωνί στο οποίο βρίσκεται στρώση κελίτη (celite), η οποία έχει κατακαθίσει με τη βοήθεια αιθανόλης, ώστε να απομακρυνθεί ο καταλύτης. Έπειτα το διήθημα εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση ώστε να απομακρυνθεί ο διαλύτης. Η σφαιρική φιάλη εκπλένεται με μεθανόλη ώστε να παραληφθεί το εναπομείναν στερεό, και το προκύπτον διάλυμα διηθείται υπό κενό. Τελικώς λαμβάνονται 0.05gr καθαρού λευκού στερεού, η καθαρότητα του οποίου ελέγχεται με TLC και ¹H NMR.

Απόδοση της αντίδρασης: 52%

Σημείο τήξης: 130⁰C-132⁰C

¹H NMR (CDCl₃,300MHz) δ ppm 14.00 (s,1H,OH), 7.14-7.13 (m,4H,αρωματικά H-2,H-3,H-5,H-6), 6.09 (d, J_{3',5'}=2.4Hz,1H,H-3'), 5.94 (d, J_{5',3'}=2.4Hz,1H,H-5'), 3.86 (s,3H,6'-OCH₃), 3.84 (s,3H,4'-OCH₃), 2.36 (s,3H,-CH₃), 3.33 (t,J=6Hz,2H,-COCH₂-), 2.98 (t, J=6Hz,2H,-CH₂-Ph)

8.6. Υπολογισμός της ικανότητας δέσμευσης του H₂O₂

Η μέτρηση της ικανότητας δέσμευσης του υπεροξειδίου του υδρογόνου υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας της λουμινόλης. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε φθορισμόμετρο LS₅₅ Luminescence Spectrometer-Perkin Elmer.

Προετοιμασία του διαλύματος:

Ρυθμιστικό διάλυμα βορικού οξέος (0.05 M) (ΔΙΑΛΥΜΑ Α): 3.10 g βορικού οξέος διαλύθηκαν σε 850 mL απιονισμένου νερού, ακολούθησε ρύθμιση του pH στην τιμή 9.0 με διάλυμα NaOH 1N και αραιώση μέχρι τελικού όγκου 1 L.

Διάλυμα λουμινόλης (5.60*10⁻⁴ M) (ΔΙΑΛΥΜΑ Β): Ζυγίστηκαν 25.0 mg λουμινόλης και διαλύθηκαν σε ρυθμιστικό διάλυμα βορικού οξέος μέχρι τελικού όγκου 250 mL. Αυτό το διάλυμα διατηρήθηκε σε σκουρόχρωμη φιάλη.

Διάλυμα υπεροξειδίου του υδρογόνου (5.40*10⁻³ M) (ΔΙΑΛΥΜΑ Γ): 11 mL εμπορικά διαθέσιμου υπεροξειδίου του υδρογόνου 30% w/w αραιώθηκαν με απιονισμένο νερό μέχρι όγκου 100 mL (1.08 M). 5 mL από το διάλυμα αυτό αραιώθηκαν μέχρι όγκου 100 mL με απιονισμένο νερό (5.40*10⁻² M). Τέλος, 5 mL από το τελευταίο διάλυμα αραιώθηκαν σε 50 mL με απιονισμένο νερό. Το διάλυμα αυτό πρέπει να είναι προσφάτως παρασκευασμένο, γιατί είναι ασταθές.

Προετοιμασία του δείγματος:

Τα δείγματα διαλύονται σε διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO) (συνολικός όγκος: 1 mL) ακριβώς πριν την ανάλυση. Παρασκευάστηκαν διαλύματα συγκεντρώσεων 0.8-3.0 mg/mL.

Διαδικασία:

Βαθμονόμηση φθοριομετρικής διάταξης: Σε 1 mL ρυθμιστικού διαλύματος βορικού οξέος (ΔΙΑΛΥΜΑ Α) προστίθενται 8.4mg $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 2.63mg EDTA και 0.1 mL διαλύματος λουμινόλης (ΔΙΑΛΥΜΑ Β). Το μίγμα αναδεύεται ισχυρά για 15s και σε αυτό προστίθεται 0.025mL διαλύματος υπεροξειδίου του υδρογόνου (ΔΙΑΛΥΜΑ Γ). Το προκύπτον μίγμα (τυφλό) αναδεύεται ισχυρά για 30s, μεταφέρεται σε γυάλινη κυψελίδα και η ένταση της χημειοφωταύγειας (I_0) καταγράφεται όταν επιτευχθεί σταθερή ένταση φωτός (έως 1 min).

Μέτρηση των δειγμάτων: x μL διαλύματος του δείγματος προστίθενται στο μίγμα των διαλυμάτων Α, Β και Γ, όπως περιγράφηκε παραπάνω. Η ένταση της χημειοφωταύγειας (I) καταγράφεται όταν επιτευχθεί σταθερή ένταση φωτός (έως 1min).

Το κάθε δείγμα μετρήθηκε σε τρεις συγκεντρώσεις, με προσθήκη κατάλληλου όγκου του διαλύματος των δειγμάτων (10.0 μL -25.0 μL -50.0 μL) και σε κάθε μια από αυτές, πραγματοποιήθηκαν τουλάχιστον τρεις μετρήσεις για εξασφάλιση μεγαλύτερης ακρίβειας.

Στη συνέχεια υπολογίζεται ο λόγος I_0/I και γίνονται τα διαγράμματα I_0/I συναρτήσει της συγκέντρωσης του δείγματος (mg/mL). Η εξίσωση που συνδέει τα δύο αυτά μεγέθη, είναι γραμμική ($y=ax+b$). Από την εξίσωση αυτή υπολογίστηκε η συγκέντρωση του δείγματος (IC_{50}). Η IC_{50} , που αντιπροσωπεύει τη συγκέντρωση του αντιοξειδωτικού που απαιτείται, ώστε να μειωθεί η αρχική ένταση της χημειοφωταύγειας I_0 κατά 50%, υπολογίστηκε από την εξίσωση της ευθείας, θέτοντας $y=2$ και υπολογίζοντας το x.

8.7. Υπολογισμός της ικανότητας αναγωγής του Fe^{3+} σε Fe^{2+}

Αντιδραστήριο FRAP

- a) Ρυθμιστικό διάλυμα οξικών 300 mM pH 3.6: σε 3.1g ένυδρου οξικού νατρίου προστίθενται 16 ml παγόμορφου οξικού οξέος και το διάλυμα αραιώνεται με απεσταγμένο νερό σε τελικό όγκο 1 L.

b) Διάλυμα 10mM TPTZ (2, 4, 6-tripyridyl-s- triazine): 0.0031g TPTZ (M.W. 312.34) διαλύονται σε 10 mL διαλύματος HCl 40mM (θέρμανση στους 50°C σε υδρόλουτρο για να επιτευχθεί η διάλυση). Το διάλυμα πρέπει να παρασκευαστεί την ημέρα που θα γίνουν οι μετρήσεις.

c) Διάλυμα FeCl₃.6H₂O 20 mM: 0.054g FeCl₃.6H₂O (M.W. 270.30) διαλύονται σε 10mL απεσταγμένο νερό. Το διάλυμα πρέπει να παρασκευαστεί την ημέρα που θα γίνουν οι μετρήσεις.

Το **διάλυμα FRAP** παρασκευάζεται με την ανάμιξη των διαλυμάτων **a, b, c** σε αναλογία 10:1:1 αμέσως πριν χρησιμοποιηθεί.

Διάλυμα αναφοράς: Ασκορβικό οξύ (M.W. 176.13) 1000 μ M

Διαδικασία

50 μl διαλύματος της προς εξέταση ουσίας αναμιγνύεται με 1.5 ml του διαλύματος FRAP και, μετά από έντονη ανάδευση, μετράται η απορρόφηση στα 593 nm σε χρόνο t=0min. Στη συνέχεια τα δείγματα τοποθετούνται σε υδρόλουτρο 40 °C για t=4min οπότε μετράται και πάλι η απορρόφηση.

Η τιμή FRAP κάθε δείγματος υπολογίζεται ως εξής:

Τιμή FRAP του Δείγματος (μM)

= (μεταβολή στην απορρόφηση του δείγματος από t=0 σε t=4 min / μεταβολή στην απορρόφηση του ασκορβικού οξέος από t=0 σε t=4 min X Τιμή FRAP του ασκορβικού οξέος

Σημείωση: η τιμή FRAP του ασκορβικού οξέος είναι 2, όπως προσδιορίζεται με κατασκευή καμπύλης αναφοράς προτύπων διαλυμάτων ασκορβικού οξέος.

9. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε η σύνθεση, μέσω αντίδρασης συμπύκνωσης Claisen-Schmidt, τεσσάρων χαλκονών που περιείχαν διαφορετικούς υποκαταστάτες στους δακτυλίους Α και Β. Τονίζεται ότι η χαλκόνη **11** είναι φυσικό προϊόν που απομονώθηκε το 2008 από τους Ramireddy et al. και η σύνθεσή της δεν έχει αναφερθεί ξανά στη βιβλιογραφία.

Προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση της παρουσίας του α,β-ακόρεστου καρβονυλικού συστήματος στην αντιοξειδωτική δράση των χαλκονών, πραγματοποιήθηκε η σύνθεση της διϋδροχαλκόνης **15**, η οποία προήλθε από εκλεκτική αναγωγή της χαλκόνης **8**, και η σύνθεση τριών πυραζολινών (**12**, **13** και **14**) μέσω αντίδρασης των χαλκονών **8** και **9** με υδραζίνες.

Οι αποδόσεις των ενώσεων που παρασκευάστηκαν, σε ορισμένες περιπτώσεις, είναι χαμηλές. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι πριν την παραλαβή του τελικού καθαρού προϊόντος προηγήθηκαν αρκετά στάδια -όπως περιγράφονται στο πειραματικό μέρος- κατά τη διάρκεια των οποίων είναι εύλογο να υπάρχουν απώλειες προϊόντος. Επίσης, οι αντιδράσεις διεξήχθησαν μία μόνο φορά στα πλαίσια αυτής της εργασίας, επομένως η επανάληψή τους με άλλες γραμμομοριακές αναλογίες αντιδρώντων ή πιθανώς άλλες συνθήκες αντίδρασης μπορεί να οδηγήσει σε υψηλότερες αποδόσεις.

Όλες οι ενώσεις χαρακτηρίστηκαν δομικά με φασματοσκοπία ^1H NMR. Στα φάσματα ^1H NMR των χαλκονών που παρασκευάστηκαν εμφανίζονται: το σήμα σε πολύ χαμηλό πεδίο (13-14ppm) που αντιστοιχεί στο υδρογόνο του υδροξυλίου της θέσης 2' το οποίο είναι πολύ αποπροστατευμένο λόγω της συμμετοχής του σε ισχυρό ενδομοριακό δεσμό υδρογόνου με το καρβονύλιο, και τα σήματα που οφείλονται στα βινυλικά υδρογόνα H_α και H_β του α,β-ακόρεστου καρβονυλικού συστήματος. Τα σήματα αυτά είναι ενδεικτικά της δομής των χαλκονών.

Στα φάσματα ^1H NMR των τριών πυραζολινών που παρασκευάστηκαν σε αυτή την εργασία, είναι φανερό ότι τα μόρια αυτά, στο διαλύτη που μελετήθηκαν, εμφανίζουν δύο διαμορφωμερή των οποίων τα σήματα είναι διακριτά. Το φαινόμενο αυτό δεν έχει αναφερθεί μέχρι στιγμής στη βιβλιογραφία, όπως εξάλλου και οι

αντίστοιχες πυραζολίνες. Η αλληλομετατροπή μεταξύ διαμορφώσεων ενός μορίου παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον ειδικά όταν πρόκειται για μόρια με βιολογική δράση, καθώς μπορεί να επηρεάζει τον μηχανισμό με τον οποίο δρουν.

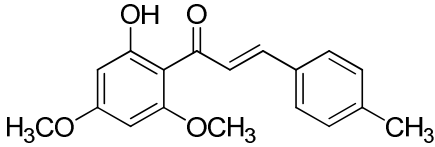
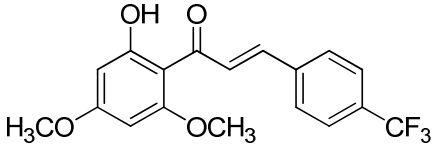
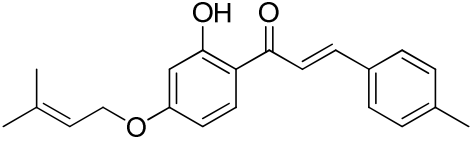
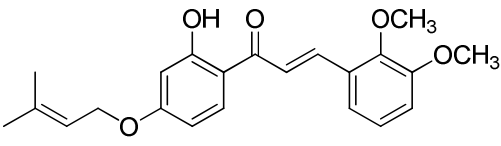
Στο φάσμα ^1H NMR της διϋδροχαλκόνης εμφανίζεται το σήμα που αντιστοιχεί στο υδρογόνο του υδροξυλίου της θέσης 2', ωστόσο το σήμα που αντιστοιχεί στα βινυλικά υδρογόνα H_α και H_β του α , β -ακόρεστου καρβονυλικού συστήματος για τις χαλκόνες, στην περίπτωση της διϋδροχαλκόνης δεν εμφανίζεται. Αυτό συμβαίνει διότι το α , β -ακόρεστο καρβονυλικό σύστημα μετατράπηκε σε κορεσμένο μέσω της εκλεκτικής υδρογόνωσης του διπλού δεσμού μεταξύ των ανθράκων, με αντίδραση καταλυτικής μεταφοράς υδρογόνου, χρησιμοποιώντας τον εστέρα του Hantzsch ως δότη υδρογόνου και καταλύτη Pd/C.

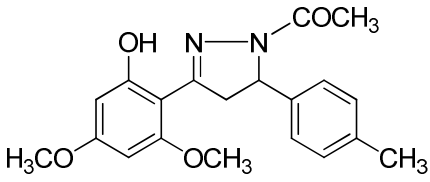
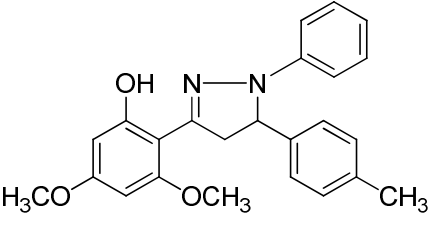
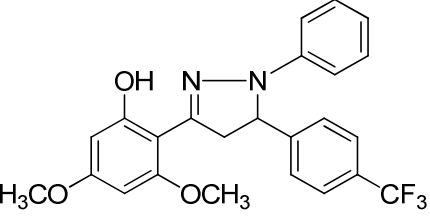
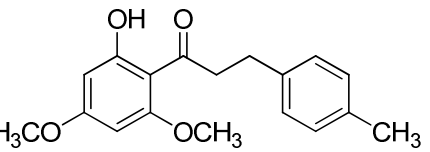
Η δομή των χαλκονών **8** και **9** χαρακτηρίστηκε επιπλέον και με φασματοσκοπία μάζας. Τα μοριακά ιόντα των χαλκονών που εξετάστηκαν είναι παρόντα στα αντίστοιχα MS φάσματα, γεγονός που αποδεικνύει ότι το μόρια έχουν παρασκευασθεί επιτυχώς.

Η αντιοξειδωτική δράση των μορίων που παρασκευάστηκαν αξιολογήθηκε με δύο διαφορετικές βιοδοκιμασίες: μέτρηση της ικανότητας να δεσμεύουν το H_2O_2 (μέθοδος χημειοφωταύγειας της λουμινόλης) και μέτρηση της ικανότητας να ανάγουν το Fe^{3+} σε Fe^{2+} (μέθοδος FRAP).

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της αξιολόγησης της αντιοξειδωτικής δράσης των ενώσεων που μελετήθηκαν.

Πίνακας 3: Αποτελέσματα αντιοξειδωτικής δράσης

Όνομα	Χημική Δομή	Ικανότητα δέσμευσης H ₂ O ₂ IC ₅₀ ± SD (μg mL ⁻¹)	Τιμές FRAP (μM)
8		0,106 ± 0,00028	4744,285
9		0,1468 ± 0,0093	5428,22
10		112 ± 6,028	1682,3154
11		93,27 ± 1,250	4066,530

12		Δεν έχει δράση	10867,987
13		$15,81 \pm 3,576$	18548,055
14		$69 \pm 2,31$	16422,442
15		Δεν έχει δράση	3943,147

Αναφορικά με την ικανότητα δέσμευσης του H_2O_2 παρατηρείται ότι την χαμηλότερη τιμή $IC_{50} \pm SD$ ($\mu g mL^{-1}$) άρα την καλύτερη αντιοξειδωτική δράση, την παρουσιάζει η χαλκόνη **8** με $IC_{50} \pm SD = 0,106 \pm 0,00028$ ($\mu g mL^{-1}$). Ακολουθούν κατά σειρά αυξανόμενης $IC_{50} \pm SD$ και συνεπώς μειούμενης αντιοξειδωτικής δράσης η χαλκόνη **9** [$IC_{50} \pm SD = 0,1468 \pm 0,0093$ ($\mu g mL^{-1}$)], η πυραζολίνη **13** [$IC_{50} \pm SD = 15,81 \pm 3,576$ ($\mu g mL^{-1}$)], η πυραζολίνη **14** [$IC_{50} \pm SD = 69 \pm 2,31$ ($\mu g mL^{-1}$)], η χαλκόνη **11** [$IC_{50} \pm SD = 93,27 \pm 1,250$ ($\mu g mL^{-1}$)], η χαλκόνη **10** [$IC_{50} \pm SD = 112 \pm 6,028$ ($\mu g mL^{-1}$)] και τελευταία η διϋδροχαλκόνη και η πυραζολίνη **12**, οι οποίες δεν παρουσίασαν δράση.

Από τα παραπάνω αποτελέσματα συμπεραίνεται, ότι από τις χαλκόνες οι μη πρενυλιωμένες **8,9** παρουσιάζουν καλύτερη αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με τις πρενυλιωμένες **11,10**. Τη βέλτιστη αντιοξειδωτική δράση παρουσιάζει η χαλκόνη **8** που φέρει δύο μεθοξυ υποκαταστάτες στις θέσεις 4' και 6' του Α αρωματικού δακτυλίου και μια μεθυλομάδα στην 4 θέση του Β δακτυλίου. Η αντικατάσταση της μεθυλομάδας από μια ομάδα που φέρει φθόριο στην 4 θέση του Β δακτυλίου της χαλκόνης παρατηρείται ότι μειώνει σε μικρό βαθμό την αντιοξειδωτική δράση της χαλκόνης **9**. Από τις πρενυλιωμένες χαλκόνες την καλύτερη αντιοξειδωτική δράση παρουσιάζει η χαλκόνη **11** που είναι και φυσικό προϊόν, παρασκευάστηκε ωστόσο και στο εργαστήριο συνθετικά. Η χαλκόνη **11** φέρει την πρενυλομάδα στην 4 θέση του Α αρωματικού δακτυλίου και 2 μεθοξυ ομάδες στις θέσεις 2 και 3 του Β αρωματικού δακτυλίου. Η χαλκόνη **10** διαφέρει δομικά σε σχέση με την **11** στο ότι στο Β δακτύλιο φέρει μια μεθυλομάδα στην 4 θέση αντί για τις δύο μεθοξυ ομάδες. Επομένως η παρουσία των μεθοξυ ομάδων στο Β δακτύλιο αυξάνει την αντιοξειδωτική δράση των πρενυλιωμένων χαλκονών έναντι του H₂O₂.

Από τις πυραζολίνες την καλύτερη αντιοξειδωτική δράση παρουσιάζει η **13** που φέρει μια φαινυλομάδα στην 1 θέση του πυραζολινικού δακτυλίου, δύο μεθοξυ ομάδες στις θέσεις 3',4' του Α αρωματικού δακτυλίου και μια μεθυλομάδα στη θέση 4 του Β αρωματικού δακτυλίου. Η πυραζολίνη **14** διαφέρει δομικά με την **13** στο ότι φέρει υποκαταστάτη με F στη θέση 4 του Β αρωματικού δακτυλίου αντί για μεθυλομάδα. Επομένως η παρουσία μιας μεθυλομάδας στο Β αρωματικό δακτύλιο αυξάνει την αντιοξειδωτική δράση των πυραζολινών έναντι του έναντι του H₂O₂.

Παρατηρείται επίσης, ότι η παρουσία του πυραζολινικού δακτυλίου σε ορισμένες περιπτώσεις συμβάλλει στην αύξηση της αντιοξειδωτικής δράσης έναντι του H₂O₂. Αυτό φαίνεται διότι οι πυραζολίνες **13** και **14** παρουσιάζουν καλύτερη αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με τις χαλκόνες **11** και **10**. Την καλύτερη αντιοξειδωτική δράση όμως έναντι του H₂O₂ από όλες τις ενώσεις που εξετάστηκαν σε αυτή την εργασία, την έχει η χαλκόνη **8** ακολουθούμενη από τη χαλκόνη **9**.

Η διϋδροχαλκόνη δεν παρουσίασε αντιοξειδωτική δράση έναντι του H_2O_2 , γεγονός που καταδεικνύει ότι η απουσία του διπλού δεσμού μεταξύ του α και β άνθρακα της καρβονυλικής ένωσης αναστέλλει πλήρως τις αντιοξειδωτικές της ικανότητες έναντι του H_2O_2 .

Αναφορικά με την ικανότητα αναγωγής του Fe^{3+} σε Fe^{2+} παρατηρείται ότι την υψηλότερη τιμή FRAP (μM) παρουσιάζει η πυραζολίνη **13** (FRAP =18548,055 μM) σε αυτή την αντιοξειδωτική δοκιμασία. Ακολουθούν κατά σειρά φθίνουσας τιμής FRAP και συνεπώς μειούμενης αντιοξειδωτικής δράσης έναντι του Fe η πυραζολίνη **14** (FRAP =16422,442 μM), η πυραζολίνη **12** (FRAP =10867,98 μM), η χαλκόνη **9** (FRAP =5428,22 μM), η χαλκόνη **8** (FRAP =4744,285 μM), η χαλκόνη **11** (FRAP =4066,530 μM), η διϋδροχαλκόνη **15** (FRAP =3943,147 μM) και τέλος η χαλκόνη **10** (Fe. =1682,3154 μM).

Από τις παραπάνω επισημάνσεις συμπεραίνεται ότι οι πυραζολίνες παρουσιάζουν καλύτερη αντιοξειδωτική δράση συγκριτικά με τις άλλες ενώσεις έναντι του Fe. Συγκεκριμένα, η παρουσία φαινυλοϋποκαταστάτη στην 1 θέση του πυραζολινικού δακτυλίου προσδίδει καλύτερη αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με την παρουσία $-COCH_3$ ομάδας στην ίδια θέση, καθώς οι **13** και **14** έχουν υψηλότερες τιμές FRAP σε σχέση με τη **12**. Επίσης η παρουσία F στην 4 θέση του B αρωματικού δακτυλίου της πυραζολίνης μειώνει την τιμή FRAP της ένωσης και συνεπώς την αντιοξειδωτική της δράση έναντι του Fe. Αυτό φαίνεται από τη σύγκριση των δομών των πυραζολινών **13** και **14** και των αντίστοιχων τιμών FRAP.

Από τις χαλκόνες, οι μη πρενυλιωμένες **9,8** παρουσιάζουν καλύτερη αντιοξειδωτική δράση έναντι του Fe σε σχέση με τις πρενυλιωμένες **11,10** και τη διϋδροχαλκόνη **15**. Παρατηρείται ότι η παρουσία F στην 4 θέση του B αρωματικού δακτυλίου της χαλκόνης **9** συμβάλλει στην αύξηση της τιμής FRAP της ένωσης καθώς δομικά είναι η μόνη ειδοποιός διαφορά συγκριτικά με τη χαλκόνη **8** που φέρει στην αντίστοιχη θέση μια μεθυλομάδα. Από τις πρενυλιωμένες χαλκόνες η **11** παρουσιάζει καλύτερη αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με τη **10**. Όπως προαναφέρθηκε, η χαλκόνη **10** διαφέρει δομικά σε σχέση με την **11** στο ότι στο B δακτύλιο φέρει μια μεθυλομάδα στην 4 θέση αντί για δύο μεθοξυ ομάδες στις θέσεις

2 και 3. Επομένως η παρουσία των μεθοξυ ομάδων στο Β δακτύλιο αυξάνουν την αντιοξειδωτική δράση των πρενυλιωμένων χαλκονών έναντι του Fe.

Τέλος, η διϋδροχαλκόνη **15** παρουσιάζει χαμηλή τιμή FRAP που είναι όμως υψηλότερη από αυτή της πρενυλιωμένης χαλκόνης **10**. Συνεπώς, φαίνεται ότι η εκλεκτική υδρογόνωση του διπλού δεσμού της χαλκόνης μειώνει τις αντιοξειδωτικές της ικανότητες έναντι του Fe, χωρίς όμως να την καθιστά πλήρως ανενεργή.

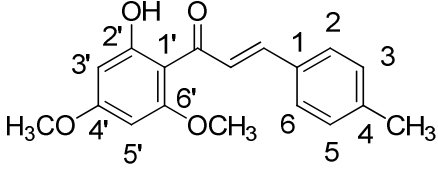
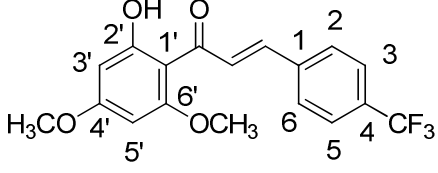
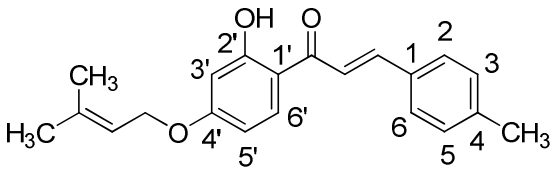
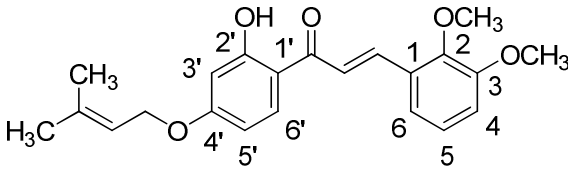
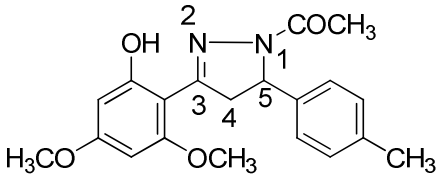
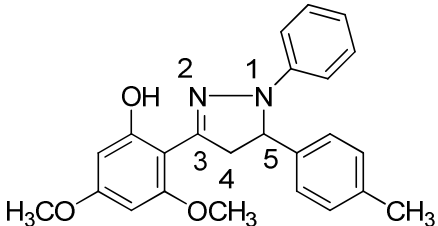
Συνολικά, συμπεραίνεται, ότι οι ενώσεις που παρασκευάστηκαν παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον καθώς η σύνθεση ορισμένων από αυτών δεν έχει αναφερθεί ξανά στη βιβλιογραφία. Επίσης, ορισμένες παρουσίασαν αξιόλογη αντιοξειδωτική δράση, μία ιδιότητα που μπορεί να τις καταστήσει αντικείμενα περαιτέρω διερεύνησης για το σχεδιασμό νέων φαρμάκων, συμπληρωμάτων διατροφής κ. λ. π.

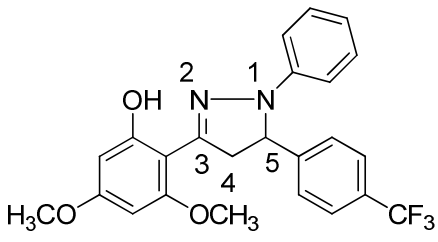
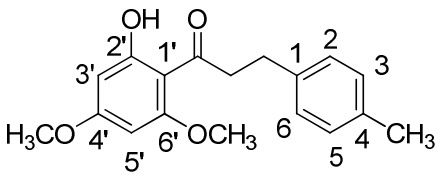
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Παρατίθενται τα φάσματα ^1H NMR των υπόλοιπων ενώσεων που παρασκευάστηκαν, αλλά δεν αναλύθηκαν στο κεφάλαιο 5. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται συγκεντρωμένες οι χημικές τους δομές όλων των ενώσεων και η ονομασία τους.

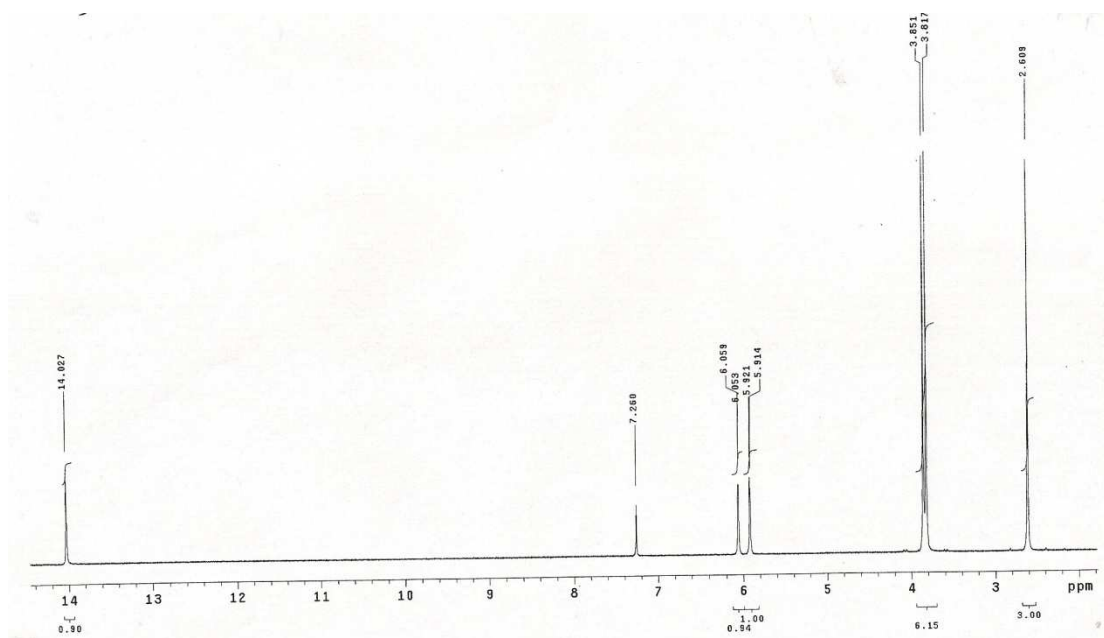
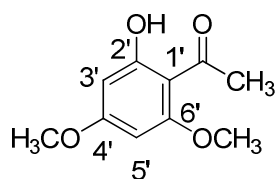
Πίνακας 4: Συγκεντρωτικός πίνακας παρασκευασθεισών ενώσεων παρούσης διπλβματικής εργασίας

Όνομα	Χημική δομή
4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2-ΥΔΡΟΞΥ- ΑΚΕΤΟΦΑΙΝΟΝΗ (2)	
4-Ο-ΠΡΕΝΥΛ-2-ΥΔΡΟΞΥ- ΑΚΕΤΟΦΑΙΝΟΝΗ (4)	
4-ΜΕΘΟΞΥΜΕΘΥΛΟ-2-ΥΔΡΟΞΥ- ΑΚΕΤΟΦΑΙΝΟΝΗ (5)	
3,4-Ο-ΔΙΠΡΕΝΥΛ-ΒΕΝΖΑΛΔΕΪΔΗ (7)	

<p>4',6'-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-4-ΜΕΘΥΛΟ-2'-ΥΔΡΟΞΥ-ΧΑΛΚΟΝΗ (8)</p>	
<p>4',6'-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-4-ΤΡΙΦΘΟΡΟΜΕΘΥΛΟ-2'-ΥΔΡΟΞΥ-ΧΑΛΚΟΝΗ, (9)</p>	
<p>4-ΜΕΘΥΛΟ-4'-Ο-ΠΡΕΝΥΛ-2'-ΥΔΡΟΞΥ-ΧΑΛΚΟΝΗ (10)</p>	
<p>2,3-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-4'-Ο-ΠΡΕΝΥΛ-2'-ΥΔΡΟΞΥ-ΧΑΛΚΟΝΗ (11)</p>	
<p>1-ΑΚΕΤΥΛΟ-3-(4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2-ΥΔΡΟΞΥ-ΦΑΙΝΥΛΟ)-5-(4-ΜΕΘΥΛΟ-ΦΑΙΝΥΛΟ)-ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΗ (12)</p>	
<p>1-ΦΑΙΝΥΛΟ-3-(4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2-ΥΔΡΟΞΥ-ΦΑΙΝΥΛΟ)-5-(4-ΜΕΘΥΛΟ-ΦΑΙΝΥΛΟ)-ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΗ (13)</p>	

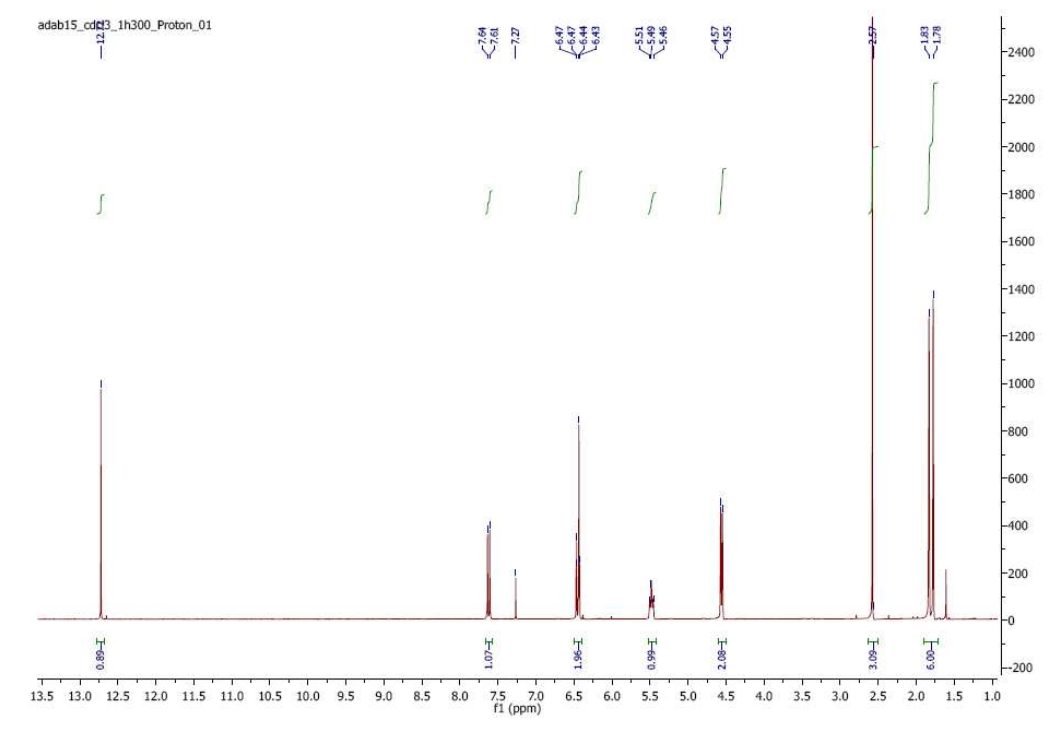
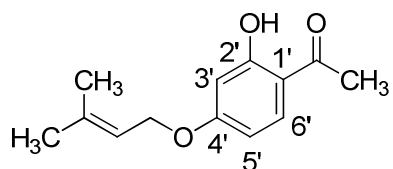
<p>1-ΦΑΙΝΥΛΟ-3-(4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2-ΥΔΡΟΞΥ-ΦΑΙΝΥΛΟ)-5-(ΤΡΙΦΘΟΡΟΜΕΘΥΛΟ-ΦΑΙΝΥΛΟ)-ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΗ (14)</p>	
<p>1-(2-ΥΔΡΟΞΥ-4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ)-3-p-ΤΟΛΥΛΠΡΟΠΑΝΟΝΗ (15)</p>	

4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2-ΥΔΡΟΞΥ-ΑΚΕΤΟΦΑΙΝΟΝΗ (2)

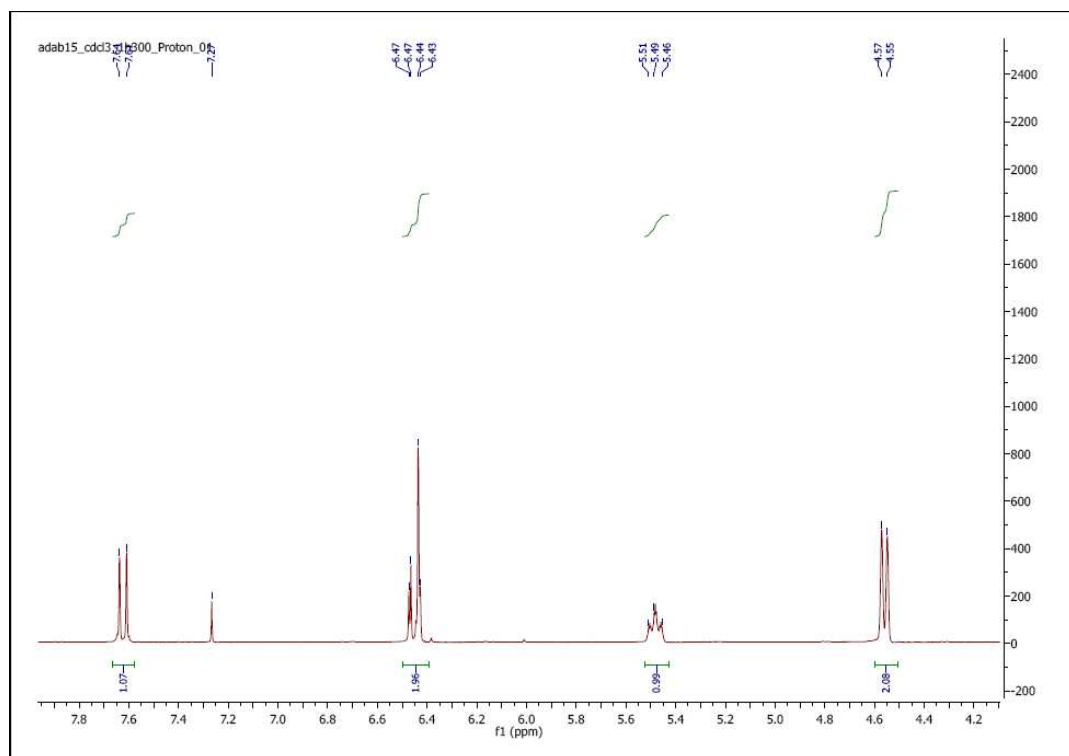


Εικόνα 67: Φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) ακετοφαινόνης 2

4-Ο-ΠΡΕΝΥΛ-2-ΥΔΡΟΞΥ-ΑΚΕΤΟΦΑΙΝΟΝΗ (4)

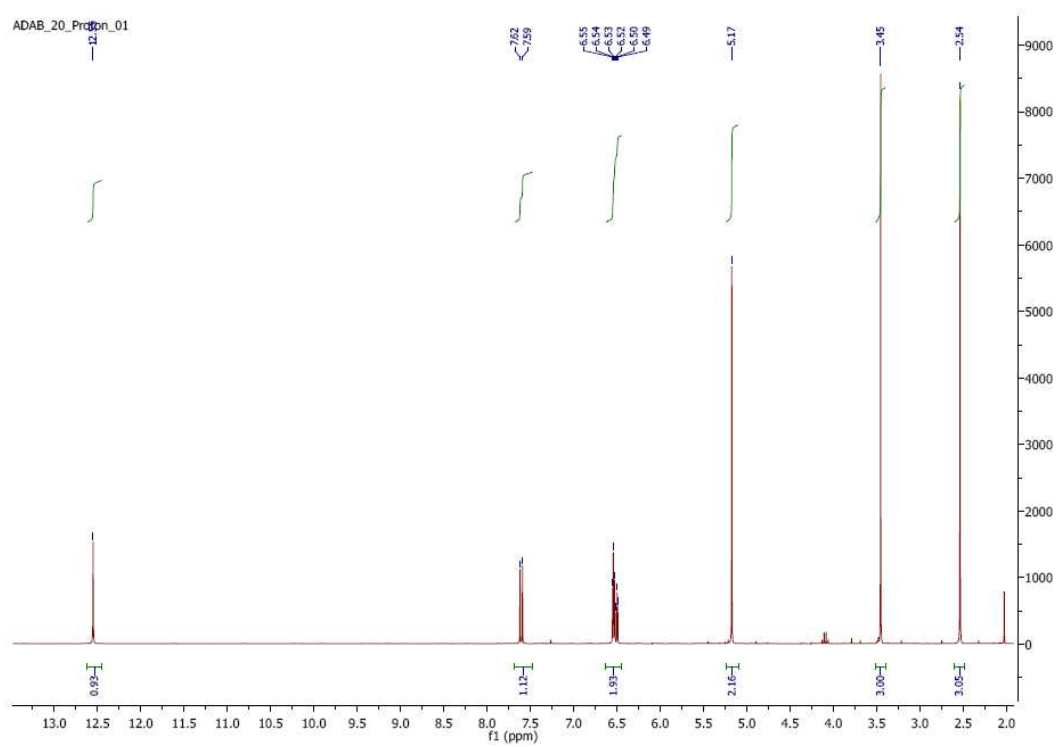
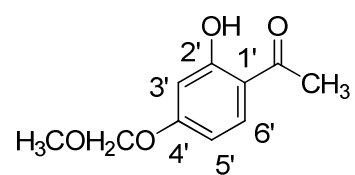


Εικόνα 68: Φάσμα ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) ακετοφαινόνης 4



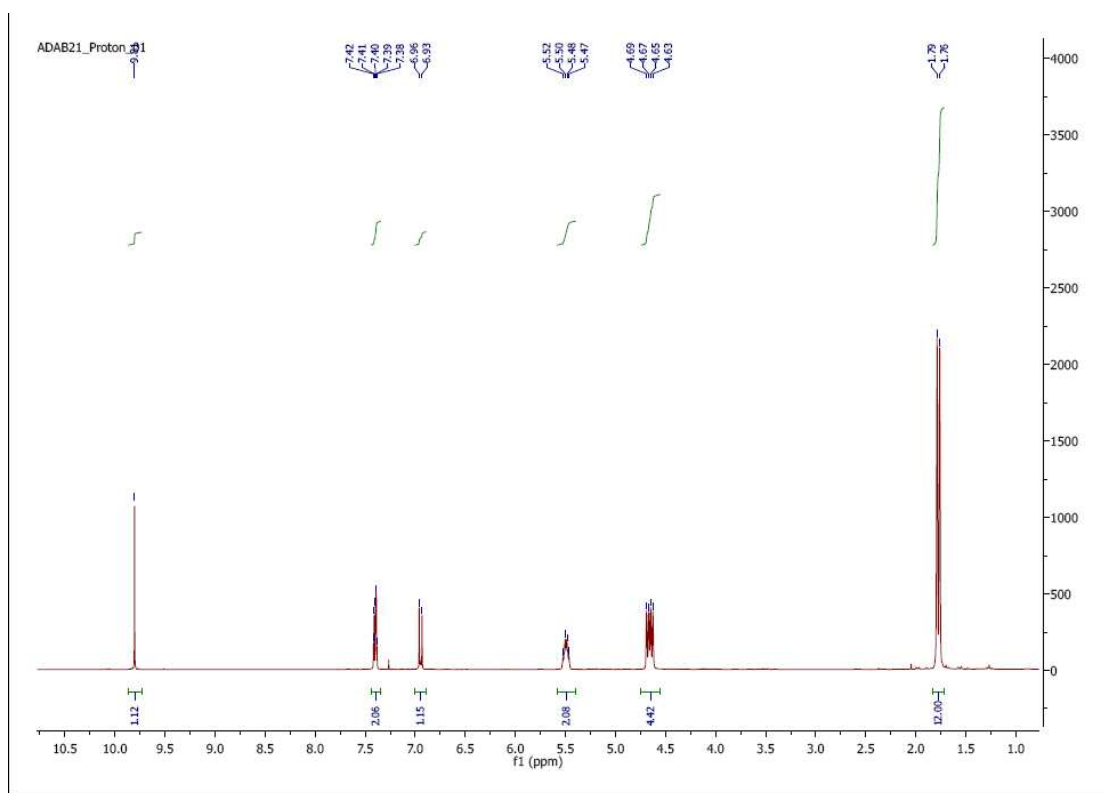
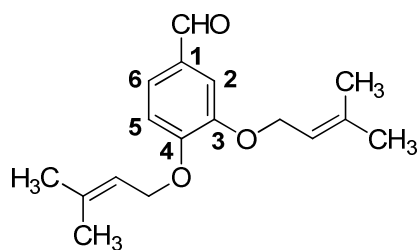
Εικόνα 69: Φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) ακετοφαινόνης 4:4.2-7.8 ppm

4-ΜΕΘΟΞΥΜΕΘΥΛΟ-2-ΥΔΡΟΞΥ-ΑΚΕΤΟΦΑΙΝΟΝΗ (5)

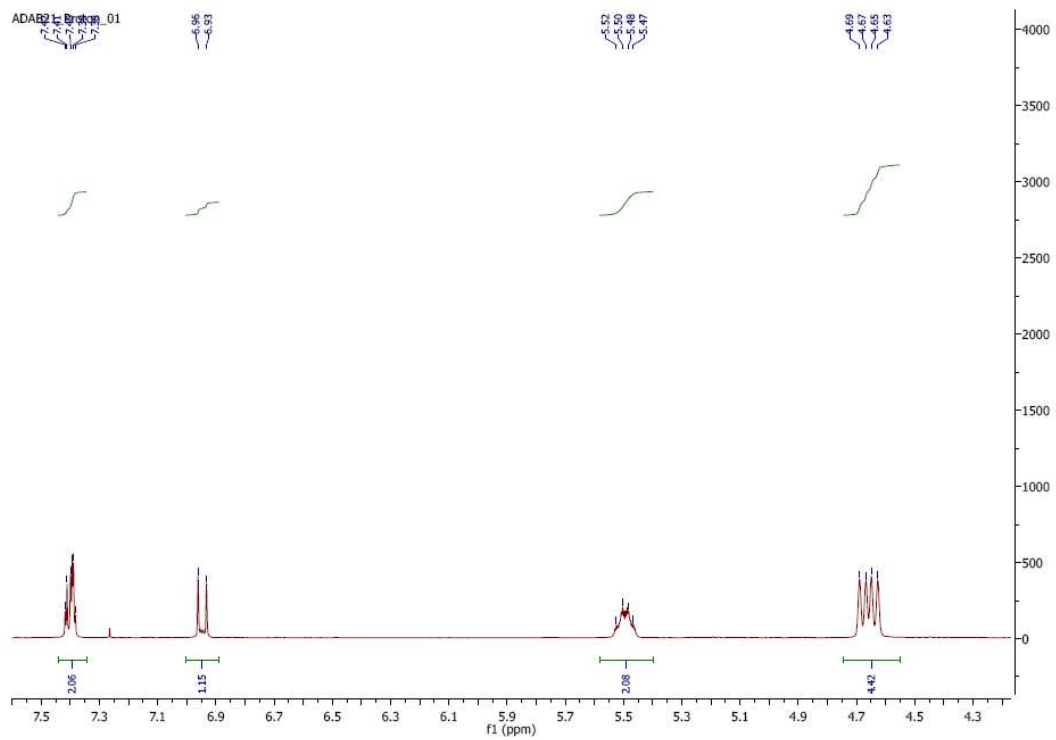


Εικόνα 70: Φάσμα ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) ακετοφαινόνης 5

3,4-O-ΔΙΠΡΕΝΥΛ-BΕΝΖΑΛΔΕΨΔΗ (7)

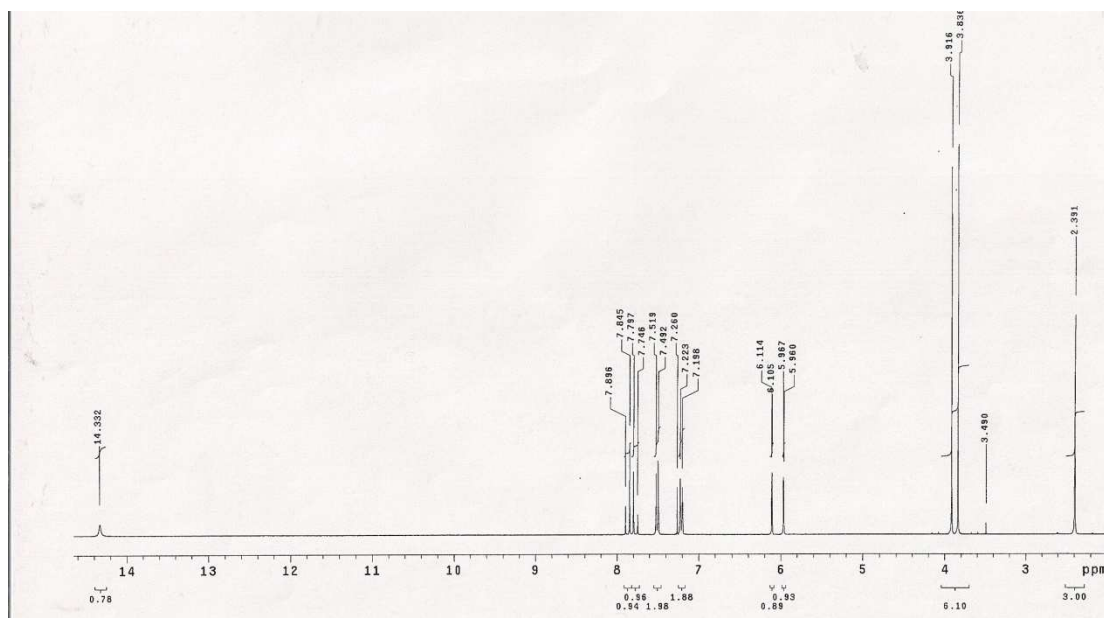
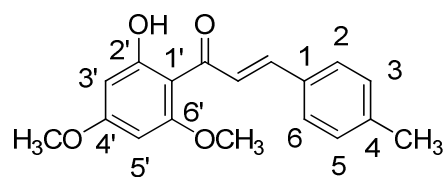


Εικόνα 71: Φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) βενζαλδεΐδης 7

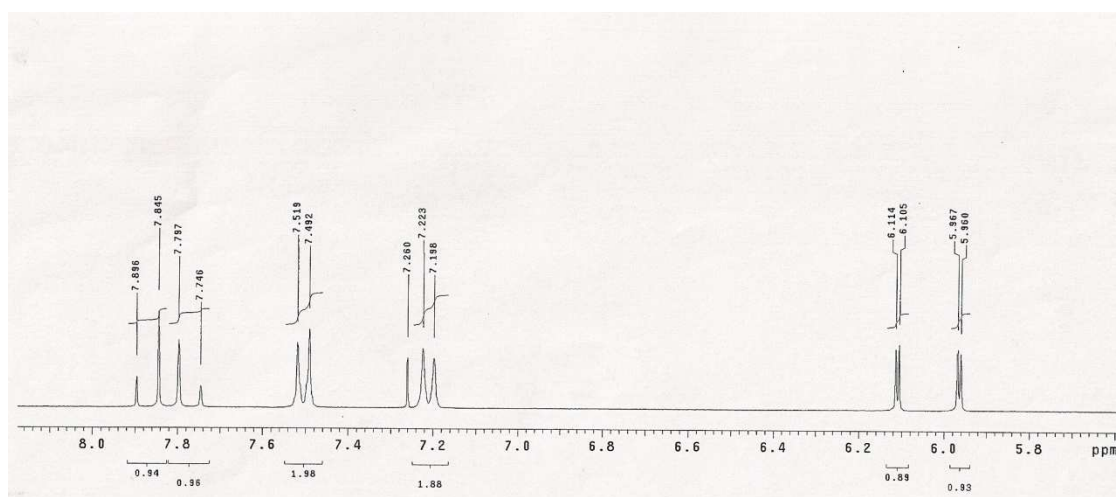


Εικόνα 72: Φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) βενζαλδεϋδης 7:4.3-7.5 ppm

4',6'-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-4-ΜΕΘΥΛΟ-2'-ΥΔΡΟΞΥ-ΧΑΛΚΟΝΗ (8)

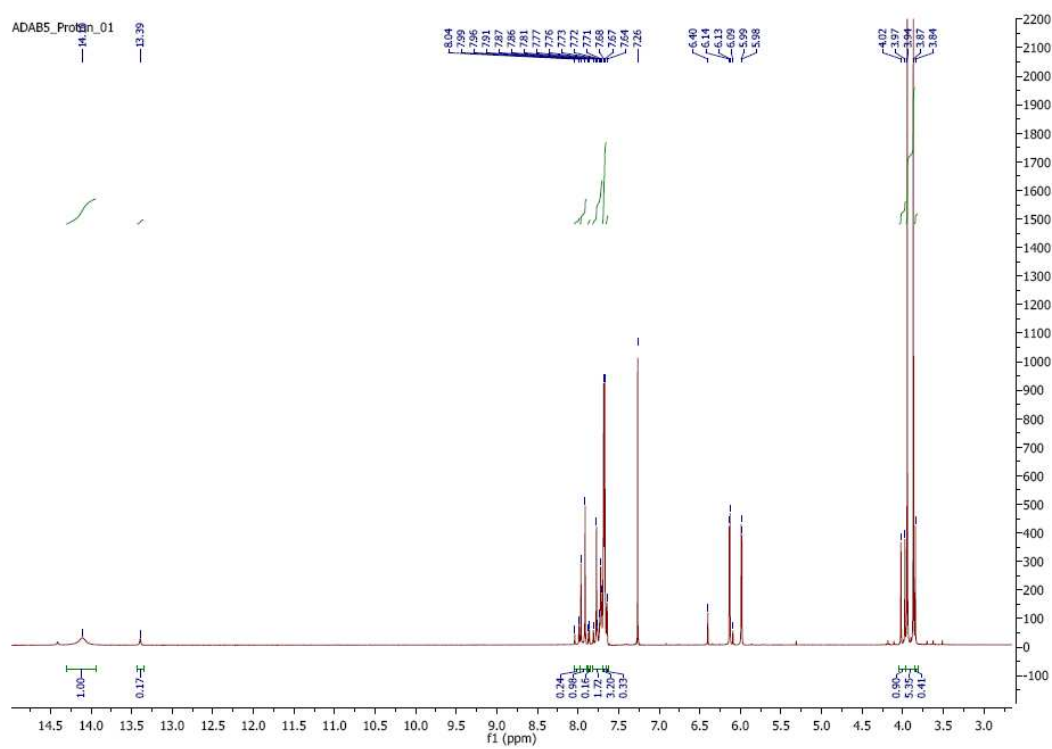
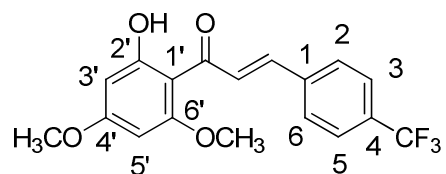


Εικόνα 73: Φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) χαλκόνης 8

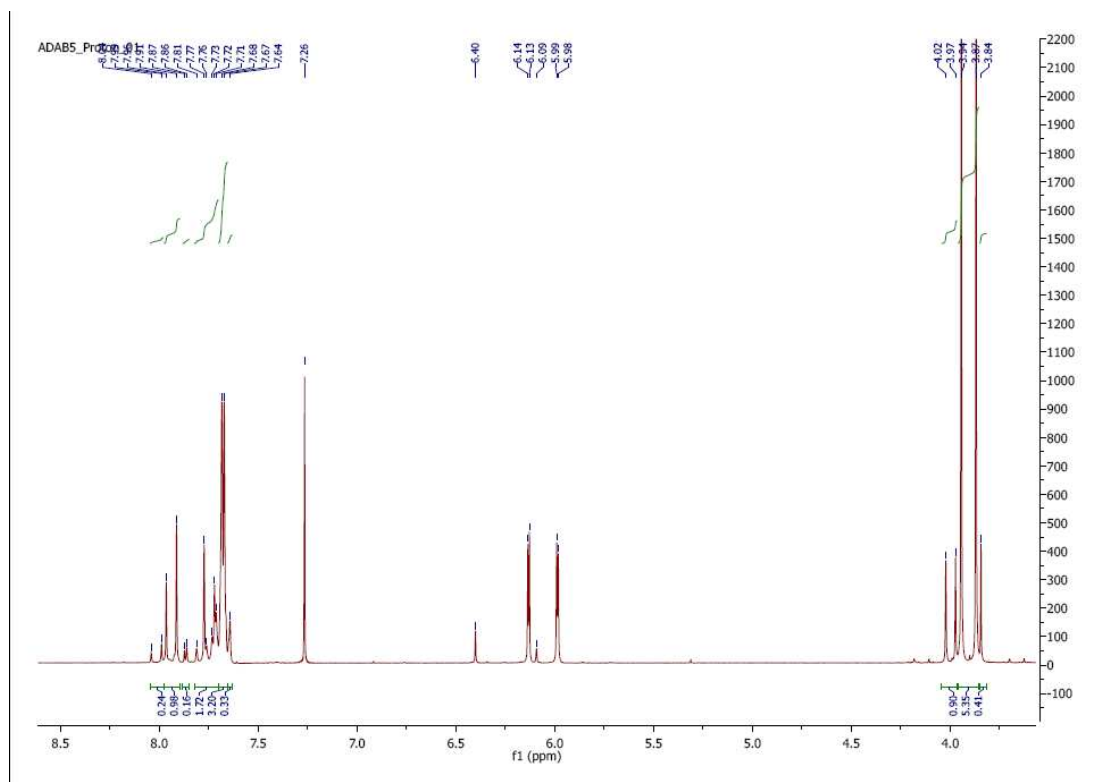


Εικόνα 74: Φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) χαλκόνης 8: 5.8-8.0 ppm

4',6'-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-4-ΤΡΙΦΘΟΡΟΜΕΘΥΛΟ-2'-ΥΔΡΟΞΥ-ΧΑΛΚΟΝΗ, (9)

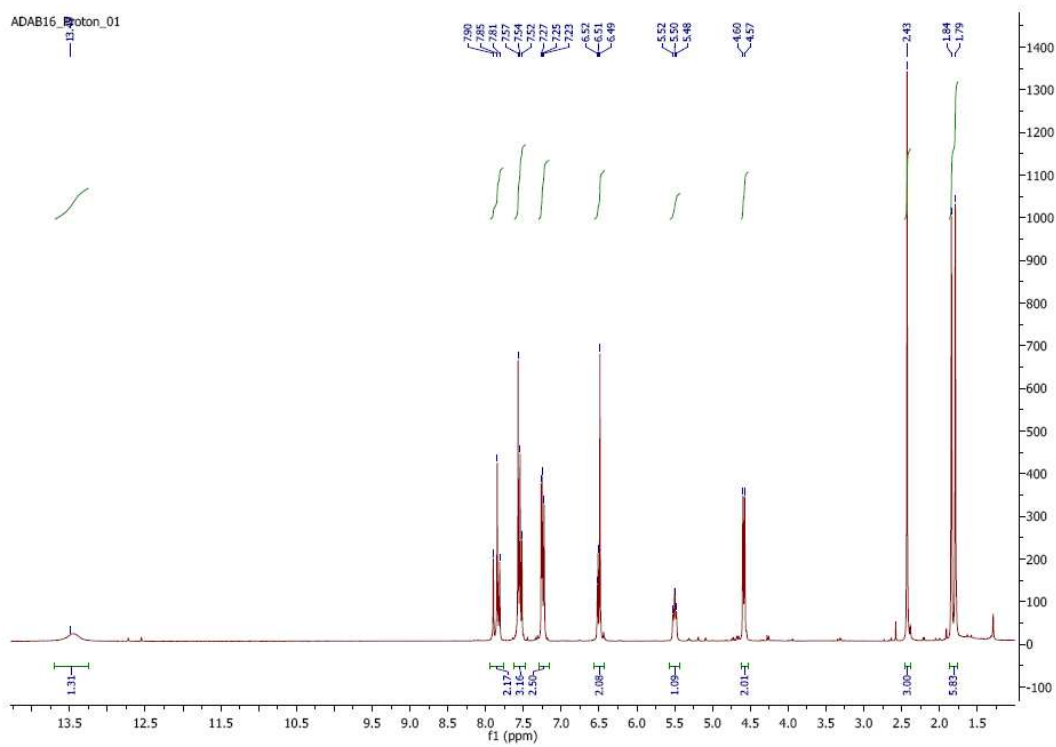
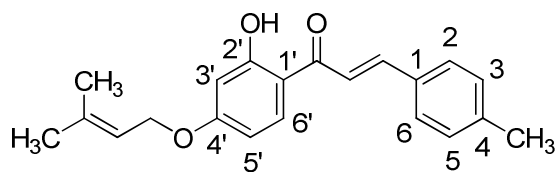


Εικόνα 75: Φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) χαλκόνης 9

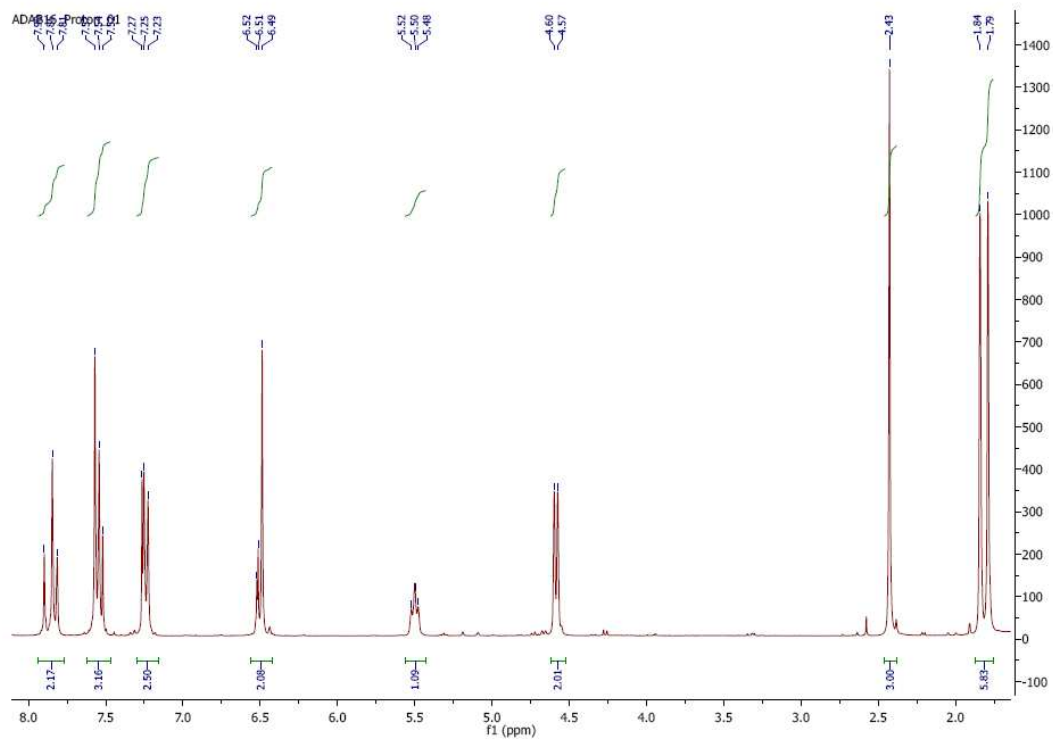


Εικόνα 76: Φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) χαλκόνης **9**: 3.0-8.5 ppm

4-ΜΕΘΥΛΟ-4'-Ο-ΠΡΕΝΥΛ-2'-ΥΔΡΟΞΥ-ΧΑΛΚΟΝΗ (10)

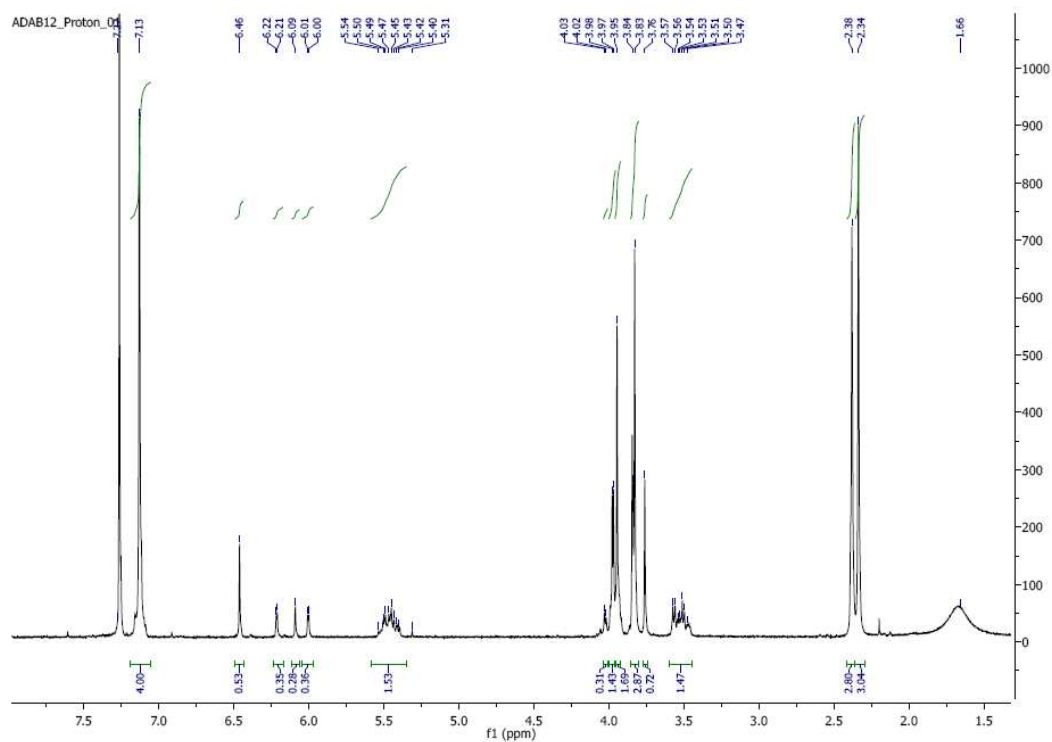
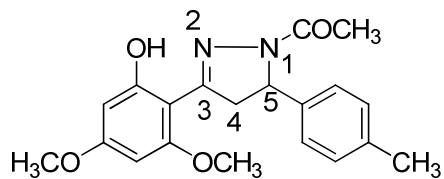


Εικόνα 77: Φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) χαλκόνης 10

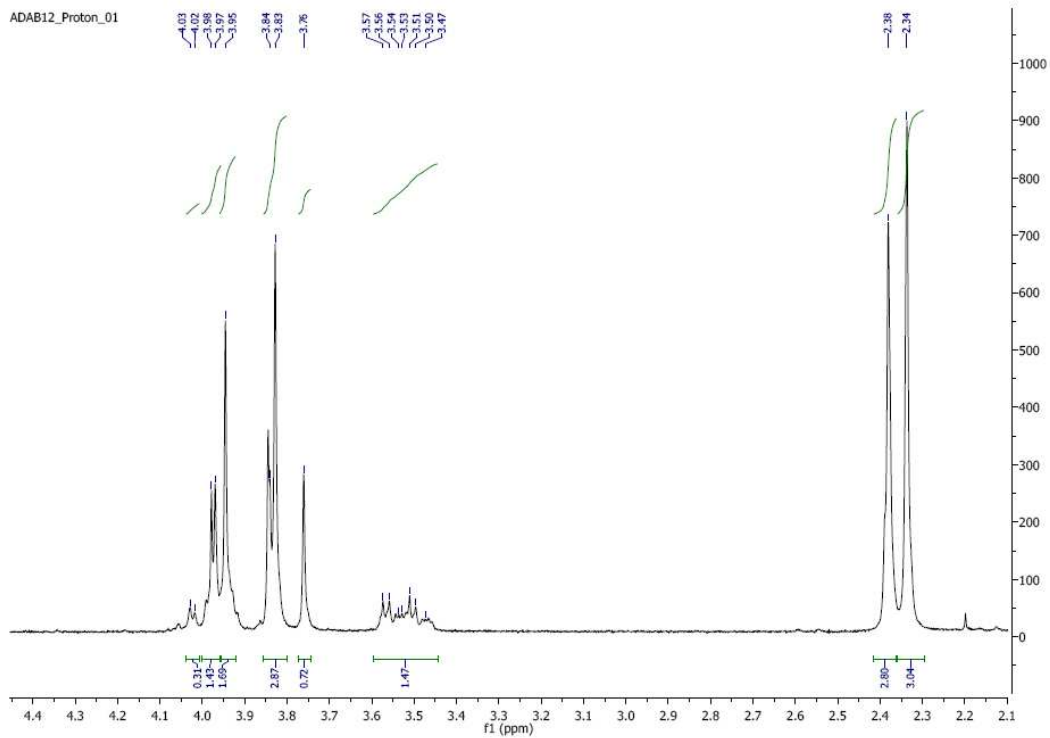


Εικόνα 78: Φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) χαλκόνης **10**: 1.0-8.0 ppm

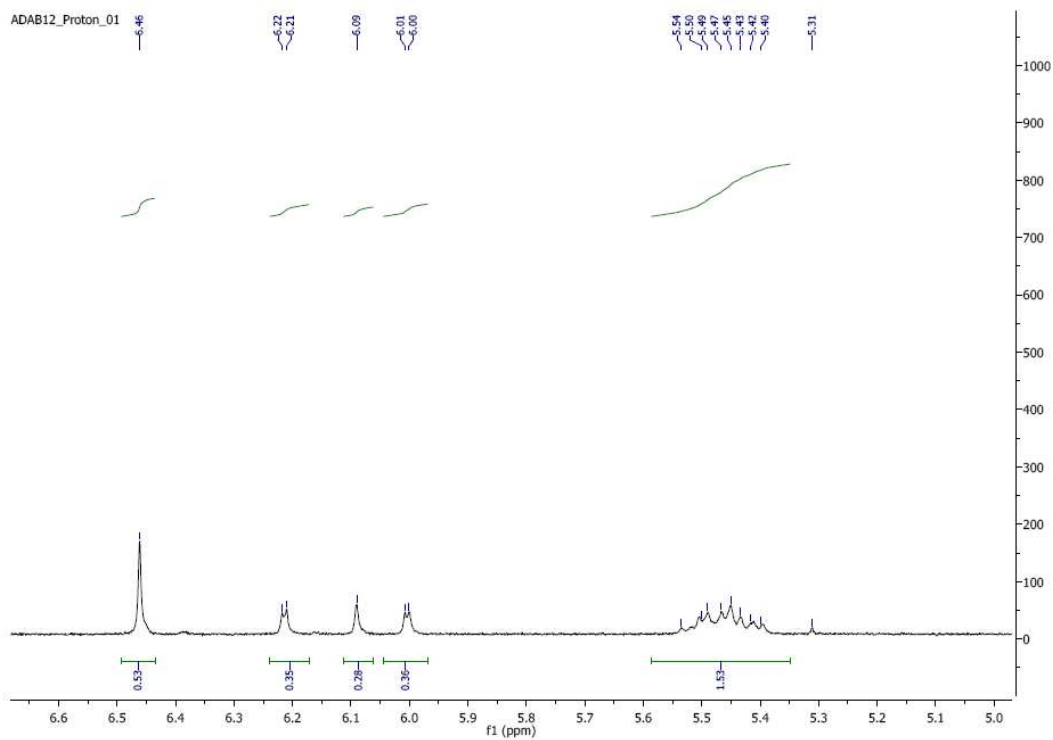
1-ΑΚΕΤΥΛΟ-3-(4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2-ΥΔΡΟΞΥ-ΦΑΙΝΥΛΟ)-5-(4-ΜΕΘΥΛΟ-ΦΑΙΝΥΛΟ)-ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΗ (**12**)



Εικόνα 79: Φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) πυραζολίνης **12**

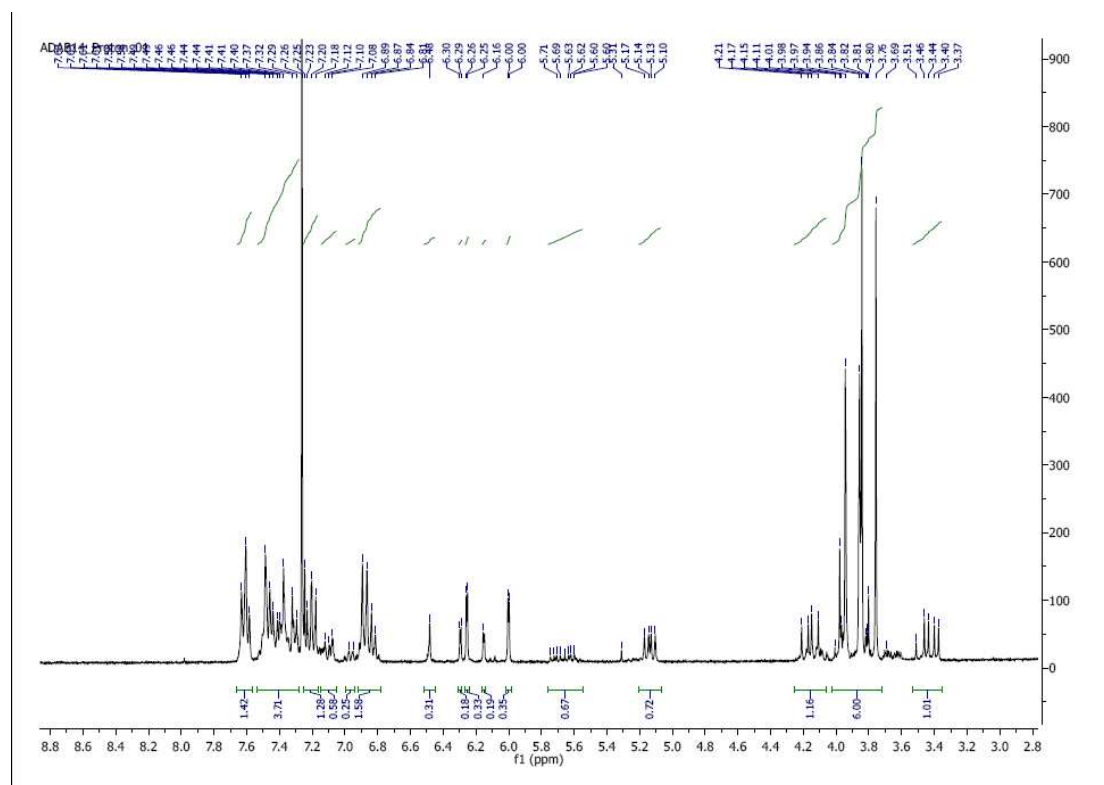
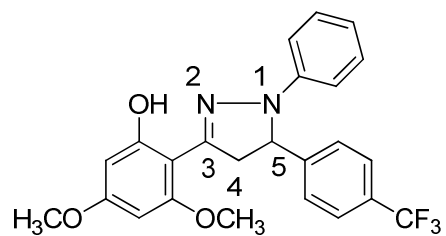


Εικόνα 80: Φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) πυραζολίνης **12**: 2.1-4.4 ppm

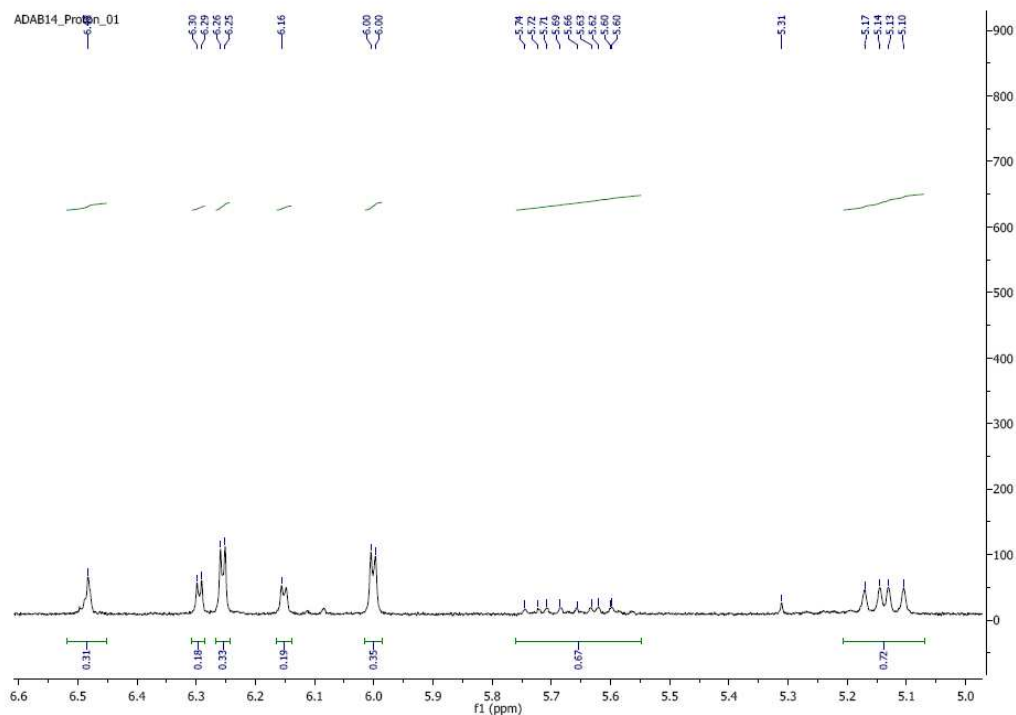


Εικόνα 81: Φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) πυραζολίνης **12**: 5.0-6.6 ppm

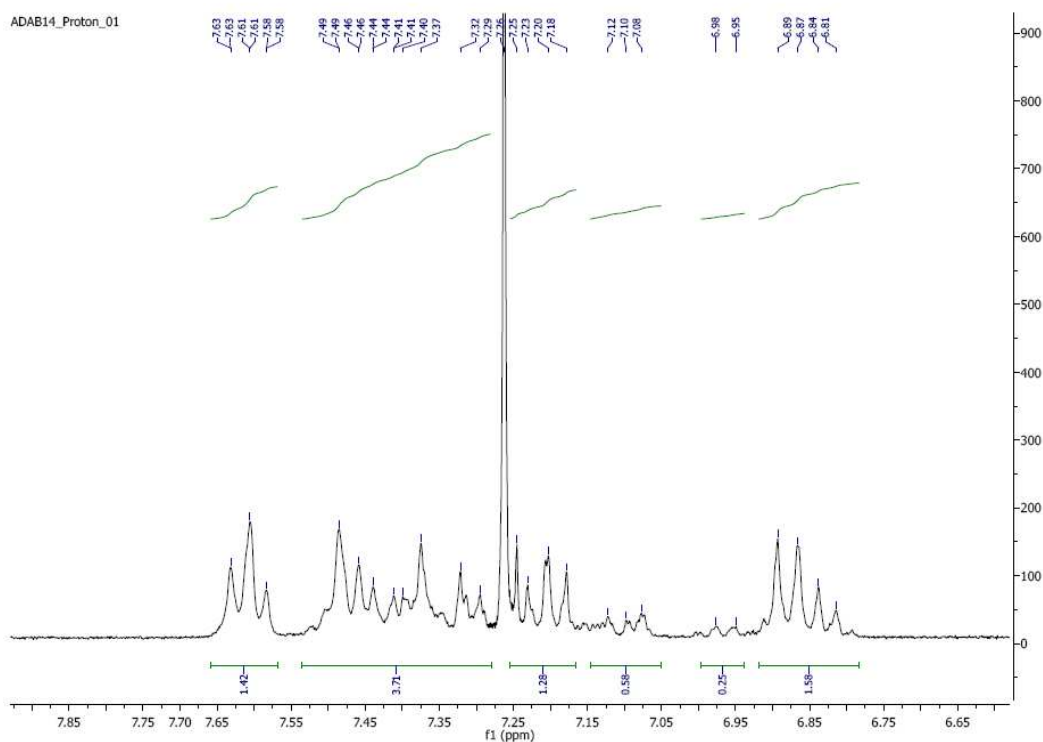
1-ΦΑΙΝΥΛΟ-3-(4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2-ΥΔΡΟΞΥ-ΦΑΙΝΥΛΟ)-5-(
ΤΡΙΦΘΟΡΟΜΕΘΥΛΟ-ΦΑΙΝΥΛΟ)-ΠΥΡΑΖΟΛΙΝΗ (14)



Εικόνα 82: Φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) πυραζολίνης 14



Εικόνα 83: Φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) πυραζολίνης **14**: 5.0-6.6 ppm



Εικόνα 84: Φάσμα ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) πυραζολίνης **14**: 6.65-7.85 ppm

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Stephen J. Cutler, Horace G. Cutler., "Biologically active natural products: pharmaceuticals", *CRC Press.* , **2000**
2. Dossey, Aaron "Insects and their chemical weaponry: New potential for drug discovery", *Natural Product Reports*,**2010**, 27, 1737–1757
3. Ερμής Τσολάκης-Καραγκούνης, "Τα φυσικά προϊόντα ως πηγή έμπνευσης για τη σύνθεση νέων φαρμάκων", *Διπλωματική Εργασία*, **2011**
4. Χρήστος Σουλελής, "Φλαβονοειδή και συγγενείς ομάδες φυτικών χρωστικών-Χημική τους δομή και θεραπευτικές τους ιδιότητες", Εργαστήριο Φαρμακογνωσίας, Τμήμα Φαρμακευτικής Α.Π.Θ.
5. Øyvind M. Andersen, Kenneth R. Markham, "Flavonoides: Chemistry, Biochemistry and applications", *Taylor and Francis Group*,**2006**
6. Zdzisława Nowakowska, "A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones", *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2007**,42, 125-137
7. Nimmanapalli P. Reddy, Polamarasetty Aparoy, T. Chandra Mohan Reddy, Chandrani Achari, P. Ramu Sridhar, Pallu Reddanna, "Design, synthesis, and biological evaluation of prenylated chalcones as 5-LOX inhibitors", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*,**2010**,18, 5807–5815
8. Zi X., Simoneau A. R., "Flavokawain A, a Novel Chalcone from Kava Extract, Induces Apoptosis in Bladder Cancer Cells by Involvement of Bax Protein-Dependent and Mitochondria-Dependent Apoptotic Pathway and Suppresses Tumor Growth in Mice." *Cancer Res.*, **2005**, 65, 3479- 3486.
9. Tsukiyama I., Katsura H., Tokuriki N., Kobayashi M., "Antibacterial activity of licochalcone A against spore-forming bacteria", *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2002**, 46, 1226-1230.
10. Chen L., Zhai S.B., Christensen T.G., Theander A., Kharazmi, "Inhibition of fumarate reductase in *Leishmania major* and *L. donovani* by chalcones." *Antimicrob. Agents Chemother.* , **2001**, 45, 2023-2029.
11. Stevens J. F., Page J. E., "Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer: to your good health!" , *Phytochemistry.*, **2004**, 65, 1317-1330.

12. Lee J. H., Jung H. S., Giang P. M., Jin X., Lee S., Son P. T., Lee D., Hong Y.-S., Lee K. Lee J. J., "Blockade of Nuclear Factor kB Signaling Pathway and Anti-Inflammatory Activity of Cardamomin, a Chalcone Analog from *Alpinia conchigera*.", *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **2006**, 316, 271-278.
13. Ahmad S., Israf D. A., Lajis N. H., Shaari K., Mohamed H., Wahab A., Ariffin K. T., Hoo W. Y., Aziz N. A., Kadir A. A., Sulaiman M. R., Somchit M. N., "Cardamonin inhibits pro-inflammatory mediators in activated RAW 264.7 cells and whole blood." *Eur. J. Pharmacol.* ,**2006**, 538, 188-194.
14. Slimestad R. Zi X., Simoneau A. R., "Flavokawain A, a Novel Chalcone from Kava Extract, Induces Apoptosis in Bladder Cancer Cells by Involvement of Bax Protein-Dependent and Mitochondria-Dependent Apoptotic Pathway and Suppresses Tumor Growth in Mice." *Cancer Res.*, **2005**, 65, 3479-3486.
15. A.Friis-Moller, M. Chen, K. Fursted, S.B. Christensen, A. Kharazmi, *Planta Med.*, **2002**,68, 416-419
16. Y.-M. Lin, Y. Zhou, M.T. Flavin, L.-M. Zhou, W. Nie, F.-Ch. Chen, *Bioorg. Med. Chem.*,**2002**, 10, 2795-2802.
17. S.F. Nielsen, M. Chen, T.G. Theander, A. Kharazmi, S.B. Christensen, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*,**1995**, 5,449-452.
18. O. Kayser, A.F. Kiderlen, *Phytother. Res.*,**2001** ,15, 148-52.
19. A.Hermoso, I.A. Jimenez, Z.A. Mamani, I.L. Bazzocchi, J.E. Pinero, A.G. Ravelo, B. Valladares, *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, 11, 3975-3980.
20. S.F. Nielsen, A. Kharazmi, S.B. Christensen, *Bioorg. Med. Chem.*, **1998**, 6, 937-945.
21. L. Troeberg, X. Chen, T.M. Flaherty, R.E. Morty, M. Cheng, H. Hua, C. Springer, J.H. McKerrow, G.L. Kenyon, J.D. Lonsdale-Eccles, T.H.T. Coetzer, F.E. Cohen, *Mol. Med.* ,**2000**, 6 ,660-669.
22. V.J. Ram, A.S. Saxena, S. Srivastava, S. Chandra, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2000**, 10, 2159-2161.
23. M. Liu, P. Wilairat, M.-L. Go, M. Liu, *J. Med. Chem.* 44, **2001**, 4443-4452.
24. S. Lopez, M.V. Castelli, S. Zacchino, J.N. Dominguez, G. Lobo, J. Charris-Charris, J.C.C. Coetrs, J.C. Ribas, C. Devia, A.M. Rodrigues, R.D. Enriz, *Bioorg. Med. Chem.*, **2001**, 9,1999-2013.

25. A.L. Okunade, D. Ch.Hufford, A.L. Clark, D. Lentz, *Phytother. Res.*, **1997** , 11 142-144.
26. J.C. Onyilagha, B. Malhotra, M. Elder, Ch.J. French, G.H.N. Towers, *Can. J. Plant. Pathol.*, **1997**, 19,133-137.
27. B. Malhotra, J.C. Onyilagha, B.A. Bohm, G.H.N. Towers, D. James, J.B. Harborne, C.J. French, *Phytochemistry*, **1996**, 43,1271-276.
28. Q.Wang, Z.-H.Ding, J.-K.Liu, Y.-T.Zheng, *Antiviral Res.*, **2004**, 64, 189-194.
29. Franco Chimenti, Rossella Fioravanti, Adriana Bolasco, Paola Chimenti, Daniela Secci, Francesca Rossi, Matilde Yanez, Francisco Orallo, Francesco Ortuso, and Stefano Alcaro, "Chalcones: A Valid Scaffold for Monoamine Oxidases Inhibitors", *J. Med. Chem.*, **2009**, 52, 2818–2824
30. Susanne Vogel, Susanne Ohmayer, Gabi Brunner and Jorg Heilmann, "Natural and non-natural prenylated chalcones: Synthesis, cytotoxicity and anti-oxidative activity", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2008**, 16, 4286–4293
31. Hadjipavlou-Litina D., "Chalcones in Cancer: Understanding their Role in Terms of QSAR." *Curr. Med. Chem.*, **2009**, 16, 1062-1081.
32. Md. Azizur Rahman, Anees A. Siddiqui, "Pyrazoline Derivatives: A Worthy Insight into the Recent Advances and Potential Pharmacological Activities", *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, **2010**, 2, 165-175
33. G. Rathish , Kalim Javed , Shamim Ahmad, Sameena Bano , M. S. Alam , K. K. Pillai , Surender Singh , Vivek Bagchi, "Synthesis and antiinflammatory activity of some new 1,3,5-trisubstituted pyrazolines bearing benzene sulfonamide", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2009**, 19, 255–258
34. Rossella Fioravanti , Adriana Bolasco, Fedele Manna, Francesca Rossi, Francisco Orallo, Matilde Yapez , Alberto Vitali , Francesco Ortuso, Stefano Alcaro , "Synthesis and molecular modelling studies of prenylated pyrazolines as MAO-B inhibitors", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2010**, 20, 6479–6482
35. Nibha Mishra, D. Sasmal, "Development of selective and reversible pyrazoline based MAO-B inhibitors: Virtual screening, synthesis and biological evaluation", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2011**, 21, 1969–1973

36. Monika Jagrat , Jagannath Behera , Samiye Yabanoglu , Ayse Ercan , Gulberk Ucar, Barij Nayan Sinha , Vadivelan Sankaran , Arijit Basu , Venkatesan Jayaprakash, "Pyrazoline based MAO inhibitors: Synthesis, biological evaluation and SAR studies" *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2011**, 21, 4296–4300
37. Peng-Cheng Lv , Dong-Dong Li , Qing-Shan Li, Xiang Lu, Zhu-Ping Xiao, Hai-Liang Zhu, "Synthesis, molecular docking and evaluation of thiazolyl-pyrazoline derivatives as EGFR TK inhibitors and potential anticancer agents", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2011**, 21, 5374–5377
38. Zhi Yun LU, Wei Guo ZHU, Qing JIANG, Ming Gui XIE, "Synthesis of Pyrazolines Used as Blue Organic Electroluminescence Materials", *Chinese Chemical Letters*, **1999**, 10, 679–682
39. Palaska, E.; Erol, D.; Demirdamar, R. *Eur. J. Med. Chem. Chim. Ther.* , **1996**, 31, 43.
40. Fathi, T.; Dinh An, N.; Schmitt, G.; Cerutti, E.; Laude, B., *Tetrahedron*, **1988**, 44, 4527.
41. Shaharyar, M.; Siddiqui, A. A.; Ali, M. A.; Sriram, D.; Yogeeswari, P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16, 3947.
42. Shaha, M. Y.; Siddiqui, A. A.; Ali, M. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16, 4571.
43. Kidwai, M.; Misra, P. *Synth., Commun.*, **1999**, 29, 3237.
44. Azarifar, D.; Ghasemnejad, H. *Molecules*, **2003**, 8, 642.
45. Levai, A. *Khim. Geterotskl. Soedin.* , **1997**, 579.
46. Barton D., Ollis W.D. (Eds.) "Comprehensive Organic Chemistry: The Synthesis and Reactions of Organic Compounds", *Heterocyclic Compounds, Pergamon: Oxford*, **1979**, 4.
47. Von Auwers, K. Muller, K. *Chem. Ber.*, **1921**, 54, 1000.
48. Suchchar, S. P., Singh, A. K. *J. Indian Chem. Soc.*, **1985**, 62, 142.
49. Ferres, H., Hamdam, M. S., Jackson, W. R. *J. Chem. Soc. B*, **1971**, 1892.
50. Bezuglyi, V. D., Kotok, L. A., Shimanskaya, N. P., Bondarenko, V. E. *Zh. Obsch. Khim.*, **1969**, 39, 2167.

51. Raiford, L. C.; Manley, R. H., *J. Org. Chem.*, **1940**, 5, 345.
52. Bayer, H., Dieterle, H. *Chem. Ber.*, **1911**, 44, 2697.
53. Tsukerman, S. V., Danilchenko, E. V.; Lavrushin, V. F. *Ukr. Khim. Zh.*, **1976**, 42, 383.
54. Lavrushin, V. F.; Bezugly, V. D.; Belous, G. G.; Tishchenko, V. G. *Zh. Obshch. Khim.*, **1964**, 34, 7.
55. Yoshihara, N.; Hasegawa, T.; Hasegawa, S. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1991**, 64, 719.
56. Al-Farkh, Y. A., Al-Hajjar, F. H., Al-Shamali, F. S., Hamoud, H. S. *Chem. Pharm. Bull.*, **1979**, 27, 257.
57. V.G. Andrianov, Yu. T. Struchov, V. N. Postnov, E.I.Klimova and V.A. Sazonova, Stare University, Chemistry Department, Moscow (U.S.S.R.), **1983**
58. Ju, R. S. Varma, *J. Org. Chem.*, **2006**, 71, 135-141.
59. K. Alex, A. Tillack, N. Schwarz, M. Beller, *Org. Lett.*, **2008**, 10, 2377-2379.
60. S.-L. Cui, J. Wang, Y.-G. Wang, *Org. Lett.*, **2008**, 10, 13-16.
61. Sulekha Mandal, Satish Yadav, Sunita Yadav, Rajesh Kumar Nema, "Antioxidants: A Review", *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, **2009**, 1,102-104
62. Heim K. E., Tagliaferro A. R., Bobilya D. J., "Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure activity relationships." *Journal of Nutritional Biochemistry*, **2002**, 13, 572–584
63. Nappi A. J, Vass E., "Iron metalloenzymes and cytotoxic reactions." *Cell Mol Biol.* **2000**, 46, 637-647.
64. Droege W., "Free radicals in the physiological control of cell function." *Physiol Rev.* **2001**, 82, 47-95.
65. Arnér E. S. J., Holmgren A., "Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase." *Eur J Biochem.* **2000**, 267, 6102-6109.
66. López-Lázaro Miguel, "Dual role of hydrogen peroxide in cancer: Possible relevance to cancer chemoprevention and therapy", *Cancer Letters*, **2007**, 252, 1–8

67. Detsi A., Majdalani M., Kontogiorgis C.A., Hadjipavlou-Litina D., Kefalas P., "Natural and synthetic 2'-hydroxy-chalcones and aurones: Synthesis, characterization and evaluation of the antioxidant and soybean lipoxygenase inhibitory activity", *Bioorg.Med.Chem.*, **2009**, 17, 8073-8085
68. Jun Nishida and Jun Kawabata, "DPPH radical scavenging reaction of hydroxyl and methoxy chalcones", *Biosc.Biotechnol.Biochem*, **2006**, 70, 193-202
69. Jan F. Stevens, Cristobal L. Miranda, Balz Frei, and Donald R. Buhler, "Inhibition of Peroxynitrite-Mediated LDL Oxidation by Prenylated Flavonoids: The α,β -Unsaturated Keto Functionality of 2'-Hydroxychalcones as a Novel Antioxidant Pharmacophore", *Chem. Res. Toxicol.*, **2003**, 16, 1277-1286.
70. Prasad R.Y., Kumar R.P., Rao L.A., Viswanadh K.R. "In vitro antioxidant activity and scavenging effects of some new 1,3,5-triphenyl-2-pyrazolines and 3-(2'-hydroxy naphthalen-1'-yl)-1, 5-diphenyl-2-pyrazolines" *Saudi Pharmaceutical Journal* ,**2007**.
71. Mohamed Abdel-Aziz, Amira M. Gamal-Eldeen, "Synthesis and screening of anti-cancer, antioxidant, and anti-inflammatory activities of novel galloyl pyrazoline derivatives", *Pharmaceutical Biology (Formerly International Journal of Pharmacognosy)*, **2009** , Volume 47, Number 9, 854-863
72. John McMurry, "Οργανική Χημεία" ,εκδ.Κρήτη,**2006**, Τόμος 21,106-1110
73. Thirunarayanan, G., Gopalakrishnan, M.; Vanangamudi, G. "IR and NMR spectral studies of 4-bromo-1-naphthyl chalcones-assessment of substituent effects", *Spectrochimica Acta Part A*, **2007**, 67, 1106–1112.
74. Ramireddy V. Narahari Reddy a, Nimmanapalli P. Reddy a, Shaik I. Khalivulla a, Mopuru V. Bhaskar Reddy a,b, Duvvuru Gunasekar a,* , Alain Blond c, Bernard Bodo: "O-Prenylated flavonoids from *Dalbergia sissoo*" *Phytochemistry Letters*, **2008**, 1, 23–26.
75. Ouellet, S. G.; Walji, A. M.; MacMillan, D. W. C. "Enantioselective Organocatalytic Transfer Hydrogenation Reactions using Hantzsch Esters" *Acc. Chem. Res.* **2007**, 40, 1327–1339.
76. You, S.-L. 'Recent Developments in Asymmetric Transfer Hydrogenation with Hantzsch Esters: A Biomimetic Approach' *Chem. Asian J.* **2007**, 2, 820 – 827.

77. Liu, Q.; Li, J.; Shen, X.-X.; Xing, R.-G.; Yang, J.; Liu, Z.; Zhou, B. 'Hydrogenation of olefins using Hantzsch ester catalyzed by palladium on carbon', *Tetrah. Lett.* **2009**, 50, 1026–1028.
78. Lu J.; Bai Y.; Wang J.; Yang B.; Li W., *Synthet. Comm.*, **2001**, 31, 2625–2630.
79. Garcia-Campana A.M., Bayens W. R. G., "Historical evolution of chemiluminescence in Analytical Chemistry", *Marcel Dekker. New York*, **2001**.
80. Nieman, T., "Detection based on solution phase chemiluminescence systems. In Chemiluminescence and Photochemical Reaction Detection in Chromatography". *Birks J. W., Ed. VCH: New York*, **1989**.
81. Givens R.S.; Schown R.L., "The peroxyoxalate chemiluminescence reaction." *Birks J. W., Ed. VCH: New York*, **1989**.
82. Miyazawa T., Fujimoto K., Suzuki T., Yasuda K., "Determination of phospholipids hydroperoxides using luminol chemiluminescence high performance liquid-chromatography", *Enzym. Methods.* **1994**, 233, 324-332.
83. Parejo I., Petrakis C., Kefalas P., "A transition metal enhanced luminal chemiluminescence in the presence of a chelator", *J. Pharm. Toxicol. Methods.* **2000**, 43, 183-190.
84. Yildiz G., Demiryurek A. T., "Ferrous iron-induced luminal chemiluminescence: a method for hydroxyl radical study" *J. Pharm. Toxicol. Methods.* **1998**, 39, 179 -184.
85. Joon-Kwan Moon and Takayuki Shibamoto," Antioxidant Assays for Plant and Food Components", *J. Agric. Food Chem.*, **2009**, 57, 1655–1666.
86. Iris F. F. Benzie, and J. J. Strain, "The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power: The FRAP Assay", *Analytical Biochemistry*, **1996**, 239, 70–76.
87. Kazuhiko Ichino, Hitoshi Tanaka, Kazuo Ito, Toshihiro Tanaka, Mizuo Mizuno Synthesis of Helilandin B, "Pashanone, and Their Isomers" *J. Nat. Prod.*, **1988**, 51, 906–914

ΠΗΓΕΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

http://en.wikipedia.org/wiki/Opium_poppy

<http://en.wikipedia.org/wiki/Solanaceae>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Acetophenone>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Naphthoquinone>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Flavonoid>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Coumarin>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Quercetin>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Resveratrol>

http://en.wikipedia.org/wiki/Polyphenols_in_wine

<http://en.wikipedia.org/wiki/Myricetin>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Quercitrin>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Myricitrin>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Tangeritin>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Nobiletin>

http://en.wikipedia.org/wiki/Orange_juice

<http://en.wikipedia.org/wiki/Lemon>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Gossypetin>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Quercetagetin>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Kava>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Scutellaria>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Angelica>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Liquorice>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Hops>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Coreopsis>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Prenylation>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Phenazone>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Indoxacarb>

<http://gym-n-zichn.ser.sch.gr/fruta/sistatika.htm>

http://en.wikipedia.org/wiki/Dalbergia_sissoo