

ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

Τομέας (I) Χημικών Επιστημών



**«Χημική τροποποίηση της γλυκοζαμίνης και της χιτοζάνης
με φαινολικά οξέα και αλδεϋδες προς σχηματισμό αμιδίων
και ιμινών»**

Διπλωματική Εργασία

Παπαστεφάνου Αργυρή-Σωτηρία

Επιβλέπουσα

Αναστασία Δέτση

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ε.Μ.Π.

Εργαστήριο Οργανικής Χημείας

Αθήνα 2020

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας της σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, υπό την επίβλεψη της Δρ. Αναστασίας Δέτση, Αναπληρώτριας Καθηγήτριας Ε.Μ.Π., κατά το ακαδημαϊκό έτος 2019-2020.

Πρωτίστως, οφείλω να ευχαριστήσω την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ε.Μ.Π. κα. Αναστασία Δέτση, για την ευκαιρία που μου προσέφερε να ασχοληθώ με ένα τόσο ενδιαφέρον και πρωτοπόρο θέμα, αλλά και τη βοήθεια και καθοδήγηση της σε εργαστηριακό και γνωστικό επίπεδο.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να αποδώσω στον Δρ. Ανδρέα Ανδρεόπουλο, Καθηγητή Ε.Μ.Π., και στην Δρ. Σταματίνα Βουγιούκα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ε.Μ.Π., για τη συμμετοχή τους στην τριμελή εξεταστική επιτροπή και για το χρόνο που αφιέρωσαν στην κριτική ανάγνωση της διπλωματικής μου εργασίας.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα την υποψήφια διδάκτορα του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας Ε.Μ.Π., Ιωάννα Κωστοπούλου, για τη συνεχή στήριξη της σε κάθε ζήτημα που προέκυψε κατά την πειραματική διαδικασία, τη λήψη και αποτίμηση των φασμάτων NMR και IR, αλλά και τη συνολική συμβολή της στη εκτέλεση της διπλωματικής μου εργασίας. Η βοήθεια της τόσο σε γνωστικό, όσο και σε ψυχολογικό επίπεδο ήταν καθοριστική, και είμαι πραγματικά ευγνώμων για την συνεργασία μας.

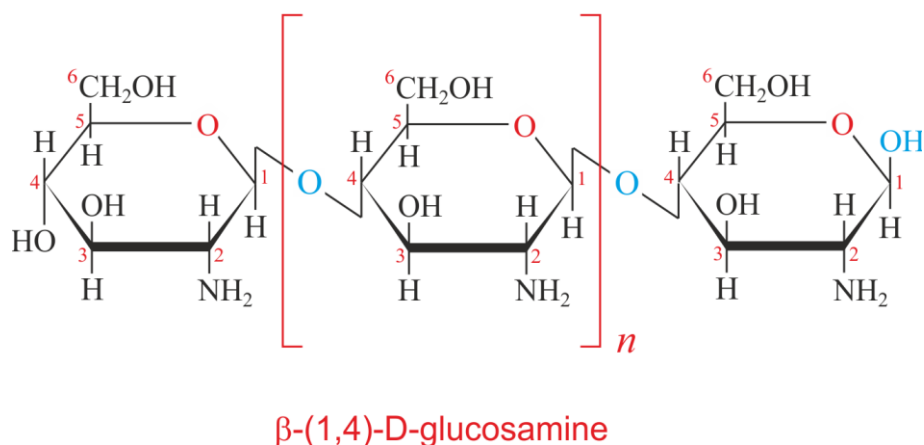
Επιπροσθέτως, οφείλω να ευχαριστήσω όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας Ε.Μ.Π., για την ευχάριστη και αρμονική συνεργασία.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια και τους φίλους μου για την αδιάκοπη υποστήριξη τους όλα τα χρόνια των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματεύεται τη χημική τροποποίηση του βιοπολυμερούς χιτοζάνης, και του μονομερούς του, γλυκοζαμίνης, με στόχο τον σχηματισμό νέων βιοδραστικά βελτιωμένων αναλόγων, που ανήκουν στην οικογένεια των αμιδίων και των ιμινών.

Chitosan



Η γλυκοζαμίνη είναι ένα αμινοσάκχαρο, και αποτελεί τη δομική μονάδα της χιτοζάνης. Παρουσιάζει ολοένα και αυξανόμενο ενδιαφέρον στην επιστημονική κοινότητα, λόγω της ισχυρής της βιολογικής δραστηριότητας, αλλά και της έντονης συμμετοχής της στην αντιμετώπιση της οστεοαρθρίτιδας. Η χιτοζάνη αποτελεί την απακετυλιωμένη μορφή της χιτίνης. Είναι ένα κατιονικό βιοπολυμερές με αμέτρητες εφαρμογές στον τομέα της βιοϊατρικής, αφού χαρακτηρίζεται από απουσία τοξικότητας και είναι μια ουσία βιοσυμβατή και βιοδιασπώμενη.

Για την επίτευξη του σκοπού της εργασίας, αρχικά μελετήθηκε η χημική τροποποίηση της γλυκοζαμίνης, εφαρμόζοντας αντιδράσεις με διάφορα φαινολικά οξέα και αρωματικές αλδεϋδες στην αμινομάδα του σακχάρου προς σχηματισμό αμιδικών και ιμινικών δεσμών, αντίστοιχα, ενώ εξετάστηκαν διαφορετικές μέθοδοι, συνθήκες και αναλογίες. Η δομή των νέων ενώσεων ταυτοποιήθηκε μέσω φασματοσκοπίας Μαγνητικού Πυρηνικού Συντονισμού πρωτονίου (¹H NMR).

Έπειτα, η χιτοζάνη, αφού πρώτα υπολογίστηκε ο βαθμός απακετυλίωσης της, τροποποιήθηκε στις ελεύθερες αμινομάδες της με διαφορετικές μεθόδους, προς τον σχηματισμό αμιδικών και ιμινικών δεσμών, μελετώντας διαφορετικές αναλογίες και

συνθήκες. Ο δομικός χαρακτηρισμός των νέων μορίων που προέκυψαν πραγματοποιήθηκε μέσω φασματοσκοπίας υπερύθρου (FT-IR).

Οι μέθοδοι χημικής τροποποίησης που παρουσιάστηκαν, εξετάστηκαν ως προς την απόδοση των καλύτερων αποτελεσμάτων.

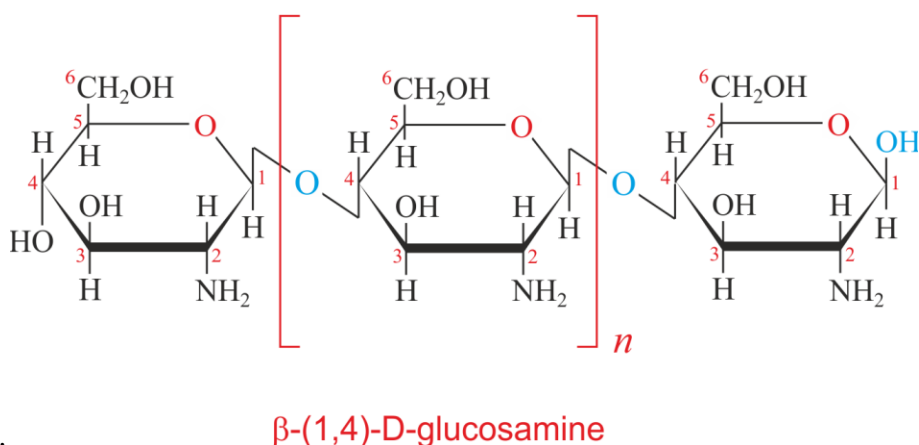
Επιστημονική Περιοχή : Οργανική και Φαρμακευτική Χημεία

Λέξεις κλειδιά : χιτοζάνη, γλυκοζαμίνη, τροποποίηση, αμίδια, μίνες, βάσεις Schiff

ABSTRACT

The aim of the present diploma thesis is the chemical modification of chitosan, and its monosaccharide, glucosamine, in order to form novel amides and imines with new enhanced properties.

Chitosan



Glucosamine is an amino sugar, known as chitosan's structural unit. This compound has gained increased attention by the scientific community, because of its intense biological activity and strong involvement in the treatment of osteoarthritis. Chitosan is the deacetylated form of chitin. It is a cationic biopolymer with an abundance of applications in the biomedical field, since it consists a nontoxic, biocompatible and biodegradable substance.

For this purpose, glucosamine's chemical modification was first studied by applying a variety of phenolic acids and aromatic aldehydes to sugar's amino group, in order to form amide and imine bonds, while different methods, experimental conditions and ratios were investigated. The structure of all the compounds was identified by Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy (¹H NMR).

The deacetylation degree of chitosan polymer was calculated. Its chemical modification was successfully performed in the amino groups, in order to form amide

and imine bonds, applying different methodologies and investigation several ratios and conditions. All of the modified analogues were then characterized by FT-IR spectroscopy.

The methods that have been presented during this research were evaluated for their efficiency of their results.

Scientific Area: Organic and medicinal chemistry

Key words: chitosan, glucosamine, modification, amides, imines, Schiff bases

Περιεχόμενα

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	11
1. ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗ	11
1.1. Εισαγωγή	11
1.2. Παραγωγή γλυκοζαμίνης.....	11
1.3. Δομή γλυκοζαμίνης.....	14
1.4. Βιολογική Δραστικότητα	14
1.4.1. Αντιμικροβιακή δράση	14
1.4.2. Αντιοξειδωτική δράση.....	15
1.4.3. Αντικαρκινική δράση	15
2. ΧΙΤΟΖΑΝΗ	16
2.1. Εισαγωγή	16
2.2. Παραγωγή χιτοζάνης.....	16
2.3. Δομή χιτοζάνης	17
2.4. Ιδιότητες χιτοζάνης	18
2.4.1. Μοριακό Βάρος.....	18
2.4.2. Διαλυτότητα	19
2.4.3. Αντιμικροβιακή δράση	19
2.4.4. Αντιοξειδωτική δράση.....	21
2.4.5. Αντιφλεγμονώδης Δράση	22
3. ΧΗΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ.....	23
4. ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ	26
4.1. Εισαγωγή	26
4.2. Φαινολικά Οξέα	27
4.2.1. Παρα-μεθόξυ κινναμικό οξύ	28
4.2.2. Φερουλικό οξύ	29
5. ΑΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ	29
5.1. Αρωματικές αλδεΐδες.....	29
5.1.1. Βανιλίνη.....	31
5.2. Αλογονοπαράγωγα αρωματικών ενώσεων	31
ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ, ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ	33
1. ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	33
2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΧΗΜΙΚΗΣ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗΣ ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗΣ	33
2.1. Αντίδραση με καρβοξυλικά οξέα-Μέθοδος 1	33

2.2. Αντίδραση με καρβοξυλικά οξέα-Μέθοδος 2	35
2.3. Αντίδραση με καρβοξυλικά οξέα -Μέθοδος 3	36
2.4. Αντίδραση με βρωμίδια- Μέθοδος 4	37
2.5. Αντίδραση με αλδεϋδες- Μέθοδος 5	37
3. ΜΕΘΟΔΟΙ ΧΗΜΙΚΗΣ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗΣ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ	38
3.1. Αντίδραση με καρβοξυλικά οξέα	38
3.2. Αντίδραση με αλδεϋδες	39
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	40
1.ΟΡΓΑΝΑ, ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΣΥΣΚΕΥΕΣ	40
2.ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΒΑΘΜΟΥ ΑΠΑΚΕΤΥΛΙΩΣΗΣ ΤΗΣ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ	41
3.ΧΗΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗΣ	43
3.1. ΧΗΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗΣ ΜΕ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΟΞΕΑ- ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ 1	43
3.1.1.(E)-3-(4-μεθοξυφαινυλ)-N-(-2,4,5-τριδροξυ-6- (υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-3-υλ)ακρυλαμίδιο (μέθοδος 1)	43
3.1.2.2-μεθοξυ-4-((E)-3-οξο-3-((-2,4,5-τριδροξυ-6- (υδροξυμεθυλο)τετραυδροξυ-2H-πυρανο-3-υλ)αμινο)προπ-1-εν-1-υλ)οξικός φαινυλεστέρας (μέθοδος 1)	44
3.1.3.4-((E)-3-οξο-((-2,4,5-τριδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H- πυρανο-3-υλ)αμινο)προπ-1-εν-1-υλ)οξικός φαινυλεστέρας (μέθοδος 1)	45
3.1.4.3,5-διμεθοξυ-N-(-2,4,5-τριδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H- πυρανο-3-υλ)βενζαμίδιο (μέθοδος 1)	45
3.2. ΧΗΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗΣ ΜΕ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΟΞΕΑ-ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ 2	46
3.2.1.2-χλωρο-N-(-2,,5-τριδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο- 3-υλ)βενζαμίδιο (μέθοδος 2)	46
3.3. ΧΗΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗΣ ΜΕ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΟΞΕΑ- ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ 3	47
3.3.1.(E)-3-(4-μεθοξυφαινυλο)-N-(-2,4,5-τριδροξυ-6- (υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυραν-3-υλ)ακρυλαμίδιο (μέθοδος 3)	47
3.4.ΧΗΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗΣ ΜΕ ΑΛΟΓΟΝΟΠΑΡΑΓΩΓΑ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ-ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ.....	48
3.4.1.3-(κινναμυλαμινο)-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-2,4,5- τριόλη	48
3.4.2.3-(βενζυλαμινο)-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-2,4,5-τριόλη	48

3.5. ΧΗΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗΣ ΜΕ ΑΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΑΛΔΕΥΔΕΣ -ΜΕΘΟΔΟΣ 1	49
3.5.1.(E)-3-((3,5-διμεθοξυβενζυλιδενο)αμινο)-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-2,4,5-τριόλη.....	49
3.6. ΧΗΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗΣ ΜΕ ΑΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΑΛΔΕΥΔΕΣ -ΜΕΘΟΔΟΣ 2	50
3.6.1.(E)-4-(((2,4,5-τριυδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-3-υλ)αμινο)μεθυλο)βενζονιτρίλιο	50
4.ΧΗΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ	51
4.1.ΧΗΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ ΜΕ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΟΞΕΑ-ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ.....	51
4.1.1.Αμίδιο χιτοζάνης/παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος αναλογίας 2:1	51
4.1.2.Αμίδιο χιτοζάνης/παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος αναλογίας 1:1	52
4.2.ΧΗΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ ΜΕ ΑΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΑΛΔΕΥΔΕΣ- ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ	53
4.2.1.Ιμίνη χιτοζάνης/βανιλίνης αναλογίας 1:1 (βάσεις του Schiff)	53
4.2.2.Ιμίνη χιτοζάνης/βανιλίνης αναλογίας 1:1 (βάσεις του Schiff)	54
4.2.3.Ιμίνη χιτοζάνης/χλωροβενζαλδεΐδης αναλογίας 1:1 (βάσεις του Schiff)	54
ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΑΜΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΙΜΙΝΩΝ	55
1.Φασματισκοπία Πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR)	55
1.1.Δομή (E)-3-(4-μεθοξυφαινυλο)-N-(-2,4,5-τριυδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-3-υλ)ακρυλαμίδιο (μέθοδος 1)	56
1.2.Δομή 2-χλωρο-N-(-2,5-τριυδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-3-υλ)βενζαμίδιο (μέθοδος 2).....	58
1.3.Δομή (E)-3-(4-μεθοξυφαινυλο)-N-(-2,4,5-τριυδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυραν-3-υλ)ακρυλαμίδιο (μέθοδος 3).....	60
1.4.Δομή 3-(κινναμυλαμινο)-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-2,4,5-τριόλη	62
1.5.Δομή ιμίνης (E)-3-((3,5-διμεθοξυβενζυλιδενο)αμινο)-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-2,4,5-τριόλη (μέθοδος 1).....	64
2.Υπέρυθρη φασματοσκοπία (FT-IR).....	66
2.1. Μελέτη δομής χιτοζάνης	67
2.2. Μελέτη δομής αμιδίων χιτοζάνης/φαινολικών οξέων – Γενική Μέθοδος	68
2.3. Μελέτη δομής ιμινών χιτοζάνης/φαινολικών αλδεϊδών– Γενική Μέθοδος	69
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	71

ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ	73
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	74
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	76

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗ

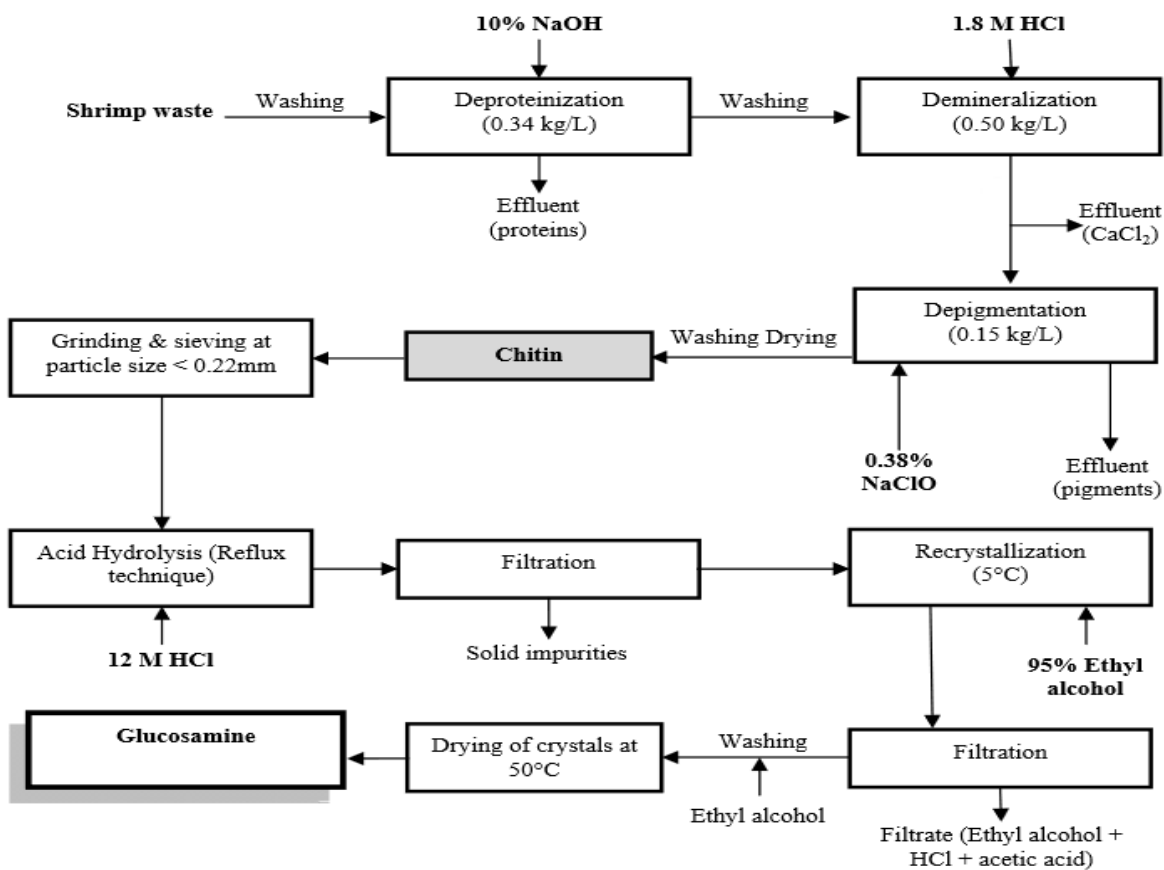
1.1.Εισαγωγή

Η γλυκοζαμίνη είναι ένα αμινοσάκχαρο, το οποίο τις δύο τελευταίες δεκαετίες παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την φαρμακευτική και ιατρική επιστημονική κοινότητα αφού, εκτός του ότι φαίνεται ότι βοηθάει στην λειτουργία του ανθρώπινου μεταβολισμού, πληθώρα μελετών έχει αποδείξει ότι η ουσία αυτή συμμετέχει ενεργά στην αντιμετώπιση της οστεοαρθρίτιδας. Αποτελεί την δομική μονάδα της χιτοζάνης και της χιτίνης, ενώ η τροποποίηση της δομής της είναι ένα ζήτημα που απασχολεί σε μεγάλο βαθμό τον επιστημονικό τομέα τα τελευταία χρόνια. Η αφθονία της γλυκοζαμίνης στην φύση, αλλά και οι εξαιρετικές της ιδιότητες έχουν ως αποτέλεσμα την χρήση της σε συμπληρώματα διατροφής και άλλα φαρμακευτικά προϊόντα, ενώ η χημική της τροποποίηση προσφέρει τη δυνατότητα αξιοποίησης της σε νέες εφαρμογές.

1.2.Παραγωγή γλυκοζαμίνης

Η γλυκοζαμίνη παράχθηκε πρώτη φορά από τον Georg Ledderhose το 1876, ενώ η στερεοχημεία της δεν ήταν πλήρως γνωστή έως και το 1939, το έτος που παρουσιάστηκε στην επιστημονική κοινότητα από τον Wakter Haworth. Συντίθεται με φυσικό τρόπο από το ανθρώπινο σώμα, αφού αποτελεί βασικό συστατικό των γλυκοπρωτεϊνών που βρίσκονται στους συνδετικούς ιστούς και στη γαστρεντερική βλεννογόνο μεμβράνη.¹ Η γλυκοζαμίνη είναι η ουσία από την οποία συνθέτονται οι γλυκοζαμινογλυκάνες, οι οποίες εμφανίζονται ως δομικό συστατικό του αρθρικού χόνδρου, ενώ αξίζει να σημειωθεί ότι η βιοσύνθεση της γλυκοζαμίνης από το ανθρώπινο σώμα μειώνεται αισθητά με την αύξηση της ηλικίας του ανθρώπου. Ως απότοκο, η πρόσληψη της από φαρμακευτικά συμπληρώματα κρίνεται αναγκαία για την πρόληψη της καταπόνησης των οστών και την φθορά του συνδετικού χόνδρου των αρθρώσεων.² Η κύρια πηγή της τεχνητής σύνθεσης της γλυκοζαμίνης παγκοσμίως είναι η χιτίνη, ένας φυσικός πολυσακχαρίτης, άφθονος στην φύση, που αποτελεί το δομικό συστατικό των κελυφών των αρθροπόδων, αλλά και του κυτταρικού τοιχώματος μυκήτων και ζυμών. Η γλυκοζαμίνη μπορεί να παραχθεί και

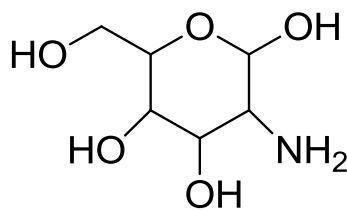
μέσω της ζύμωσης σιταριού και καλαμποκιού, όμως για λόγους καλύτερης αποδοτικότητας και χαμηλότερου κόστους, προτιμάται η υδρόλυση της χιτίνης, που συναντάται σε μεγάλες ποσότητες στα απόβλητα που προέρχονται από οστρακόδερμα, παραπροϊόντα που καταλαμβάνουν το 40-50% του ολικού τους βάρους, ως τρόπο βιοσύνθεσης της. Η υδρόλυση της χιτίνης προς παραγωγή γλυκοζαμίνης μπορεί να γίνει είτε με την χρήση ενζύμου, όπως είναι η χιτινάση, είτε με χρήση ισχυρών μεταπυριτικών οξέων. Η χιτίνη παράγεται μέσω μιας ειδικής επεξεργασίας που απαρτίζεται από την χρήση οξέων για την διάλυση του ανθρακικού ασβεστίου, και έπειτα την αλκαλική επεξεργασία με αξιοποίηση υδροξειδίου του νατρίου και υπεροξειδίου του υδρογόνου ώστε να διαλυθούν οι πρωτεΐνες. Το τελικό στάδιο αυτής της επεξεργασίας είναι ο αποχρωματισμός και η πλήρης απομάκρυνση ιχθών και χρωστικών ουσιών που μπορεί να έχουν απομείνει. Η επεξεργασία αυτή βέβαια αλλάζει, ανάλογα με το είδος της πηγής από την οποία πρόκειται να παραχθεί η χιτίνη, ωστόσο σε κάθε περίπτωση, υψίστης σημασίας χαρακτηρίζεται η εξέταση και διασφάλιση της ποιότητας και της υψηλής καθαρότητας που απαιτεί την ολοκληρωτική απουσία προσμίξεων, πρωτεϊνών και χρωστικών υπολειμμάτων. Από την χιτίνη, μέσω χημικής επεξεργασίας και όξινης υδρόλυσης με 12M υδροχλωρικό οξύ με τεχνική reflux, τελικά προκύπτει η γλυκοζαμίνη. Η παραγωγική οδός της γλυκοζαμίνης από τα κελύφη οστρακόδερμων περιγράφεται αναλυτικά από το παρακάτω σχήμα.³



Εικόνα 1: Κατεργασία παραγωγής γλυκοζαμίνης

1.3. Δομή γλυκοζαμίνης

Η γλυκοζαμίνη είναι ένα αμινοσάκχαρο, εξαιρετικά διαδεδομένο παγκοσμίως, αφού αποτελεί έναν από τους πλέον άφθονους μονοσακχαρίτες στην φύση. Η D-γλυκοζαμίνη, ή αλλιώς 2-αμινο-2-δεοξυ-D-γλυκόζη, εμφανίζεται με τρεις μορφές, τη θεϊκή γλυκοζαμίνη, την υδροχλωρική γλυκοζαμίνη και τη Ν-ακετυλογλυκοζαμίνη. Το μόριο αυτό μπορεί να τροποποιηθεί χημικά με άφθονους τρόπους, αφού αποτελείται από πολλές δραστικές ομάδες, και συγκεκριμένα, μία αμινομάδα και πέντε υδροξυλομάδες.



Εικόνα 2 : Δομή γλυκοζαμίνης

1.4. Βιολογική Δραστητικότητα

1.4.1. Αντιμικροβιακή δράση

Έπειτα από πληθώρα μελετών, είναι γνωστό ότι η γλυκοζαμίνη δρα αναλγητικά στην ανάπτυξη μικροβίων, και συγκεκριμένα ο Alexander P. Rozin απέδειξε μέσα από in vitro έρευνα του ότι αυτό το αμινοσάκχαρο παρουσιάζει αποτελεσματική δράση έναντι της *Escherichia coli*, ενώ όταν η γλυκοζαμίνη, μέσω της τροποποίησης της, σχηματίζει τις βάσεις του Schiff, η αντιμικροβιακή της δράση έναντι μυκήτων και βακτηριδίων ενισχύεται.⁴

1.4.2.Αντιοξειδωτική δράση

Μετά από εκτεταμένη χρονικά κλινική μελέτη, έχει αποδειχτεί επισήμως ότι η γλυκοζαμίνη αποτελεί μία ουσία με αξιοσημείωτες αντιοξειδωτικές ιδιότητες, καθώς μπορεί να δεσμεύσει τις υπεροξειδικές και υδροξυλικές ρίζες, ενώ ταυτόχρονα μπορεί να ανακουφίσει από το οξειδωτικό στρες. Λειτουργεί ως θεραπευτικό μέσο για την γαστρίτιδα και τις ασθένειες φλεγμονώδους εντέρου, ενώ η έλλειψη τοξικότητας που εμφανίζει, την καθιστούν ένα εξαιρετο συμπλήρωμα διατροφής με αποτελεσματική αντιοξειδωτική δράση. Ωστόσο, είναι ανάγκη να τονιστεί ότι η δράση της γλυκοζαμίνης όσον αφορά την χηλίωση με ιόντα σιδήρου παρουσιάζεται μηδενική.²

1.4.3.Αντικαρκινική δράση

Το 1953 οι Quastel και Cantero δημοσίευσαν για πρώτη φορά μελέτη τους που αφορά τις αντικαρκινικές ιδιότητες που παρουσιάζει η γλυκοζαμίνη, και υποστήριξαν ότι η καθημερινή ενδοφλέβια πρόσληψη ποσότητας της είναι μία ενέργεια που οδηγεί στην μείωση κυτταρικής μάζας και αιμορραγίας σε εκτεταμένες περιοχές όγκων σε ποντίκια που πάσχουν από Sarcoma 37. Από εκείνη την χρονιά, ο μονοσακχαρίτης αυτός παρουσιάζει εξαιρετικό ενδιαφέρον για τόσο *in vitro*, όσο και *in vivo*, δοκιμές ώστε να βρεθεί ο τρόπος με τον οποίο η γλυκοζαμίνη δρα αναστέλλοντας την ανάπτυξη καρκινικών όγκων. Οι αντικαρκινικές ιδιότητες της γλυκοζαμίνης αποδίδονται στην παρουσία των δραστικών της ομάδων, συγκεκριμένα της αμινομάδας και των υδροξυλομάδων που παρουσιάζει το μόριο της, και ενώ φαίνεται ότι περιλαμβάνεται σε αυτές η αναστολή των μεταβολικών και λειτουργικών οδών των καρκινικών κυττάρων, χωρίς την μετάδοση τοξικότητας στα υγιή κύτταρα, η περεταίρω έρευνα τους αποτελεί επιτακτική ανάγκη.⁵

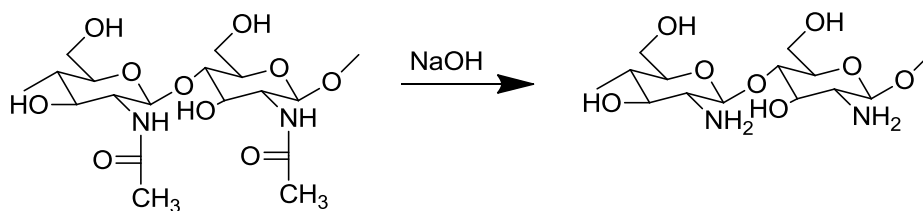
2.ΧΙΤΟΖΑΝΗ

2.1.Εισαγωγή

Η χιτοζάνη αποτελεί την απακετυλιωμένη μορφή της χιτίνης, όταν ο βαθμός απακετυλίωσης DD ξεπεράσει το 50%. Είναι ένα κατιονικό βιοπολυμερές με αμέτρητες εφαρμογές στον τομέα της βιοϊατρικής και προσωπικής υγιεινής, αφού χαρακτηρίζεται από απουσία τοξικότητας και είναι μια ουσία βιοσυμβατή και βιοδιασπώμενη. Το μονομερές που δομεί το μόριο της είναι η γλυκοζαμίνη, ενώ γενικά παρουσιάζεται αδιάλυτη στο νερό και σε οργανικούς διαλύτες, και διαλυτή σε υδατικά διαλύματα οξέων. Η τροποποίηση της με περεταίρω αξιοποίηση των δραστικών ομάδων του μορίου της αποτελεί ένα σχετικά καινούριο πεδίο αναζήτησης και έρευνας για τους επιστήμονες, αυξάνοντας τους τρόπους με τους οποίους μπορεί να αξιοποιηθεί.

2.2.Παραγωγή χιτοζάνης

Η χιτοζάνη, ή αλλιώς πολύ(β-(1→4)-D-γλυκοζαμίνη, αποτελεί την απακετυλιωμένη μορφή της χιτίνης, όταν ο βαθμός απακετυλίωσης (DD) αγγίζει και ξεπεράσει το 50%. Η χιτίνη είναι ο δεύτερος σε αφθονία στην φύση, μετά την κυτταρίνη, πολυσακχαρίτης, ο οποίος συντίθεται από μια πληθώρα ζωντανών οργανισμών. Το βιοπολυμερές αυτό συναντάται σε αυστηρά διατεταγμένες δομές που χαρακτηρίζονται από την παρουσία μικρών ινών, και βρίσκεται σε μεγάλες ποσότητες ως δομικό μέλος στον εξωσκελετό των αρθροπόδων και στο κυτταρικό τοίχωμα των μυκήτων και των ζυμών, αφού χαρακτηρίζεται ως το συστατικό που τους προσδίδει στήριξη, ενίσχυση και δύναμη. Οι κύριες πηγές της χιτίνης που εξυπηρετούν εμπορικούς σκοπούς είναι τα κελύφη καβουριών και γαρίδων όπου βρίσκεται μαζί με ανθρακικό ασβέστιο, πρωτεΐνες και χρωστικές ουσίες. Η χιτοζάνη παραλαμβάνεται από την χιτίνη, μέσω της διαδικασίας της απακετυλίωσης σε στερεή κατάσταση σε αλκαλικό περιβάλλον, το οποίο εξασφαλίζεται με χρήση συμπυκνωμένου υδατικού ή αλκοολικού διαλύματος NaOH, ή μέσω της ενζυμικής υδρόλυσης παρουσία της χιτινικής απακετυλάσης. Κατά την απομάκρυνση των ακετυλομάδων, κρίνεται αναγκαία η χρήση αδρανούς συνθηκών αζώτου ή η προσθήκη βοριοϋδριδίου στο αλκαλικό διάλυμα, ώστε να αποφευχθούν φαινόμενα οξειδωσης ή αποπολυμερισμού.⁶

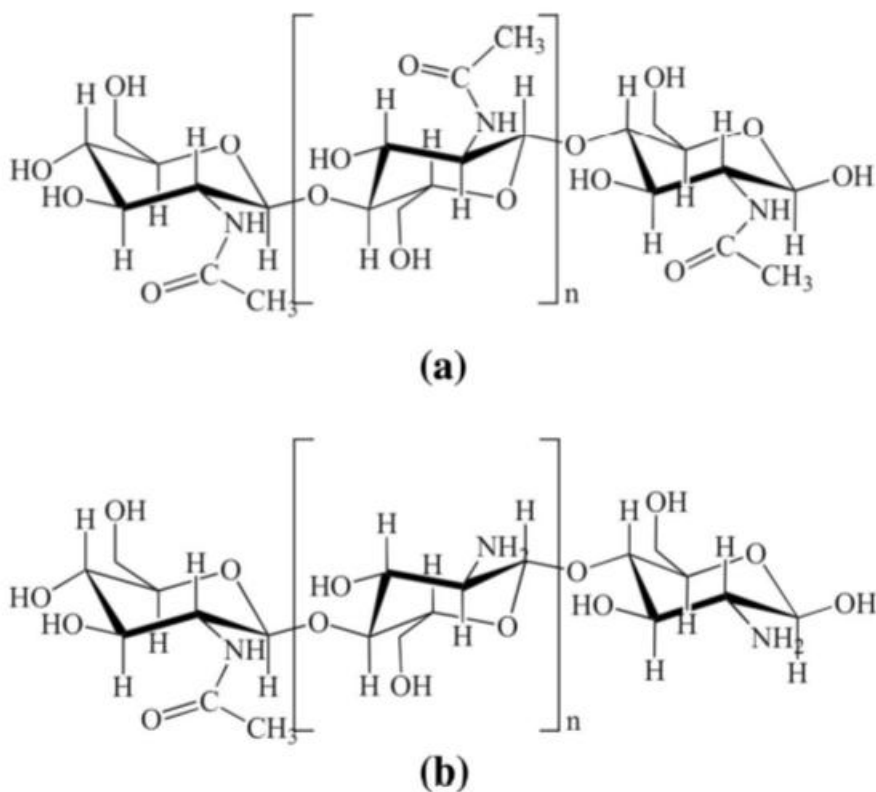


Εικόνα 3: Απακετυλίωση χιτίνης-Παραγωγή χιτοζάνης

Είναι ανάγκη να τονιστεί ότι η συγκέντρωση του NaOH στο υδατικό ή αλκοολικό διάλυμα, καθώς και η θερμοκρασία και ο χρόνος της αντίδρασης είναι οι τρεις καίριοι παράγοντες που ορίζουν την τιμή που θα πάρει ο βαθμός απακετυλίωσης του παραγόμενου προϊόντος, δηλαδή της νεοσυντιθέμενης χιτοζάνης.⁷

2.3. Δομή χιτοζάνης

Το μόριο της χιτοζάνης αποτελείται από τυχαία κατανεμημένες μονάδες D-γλυκοζαμίνης (απακετυλιωμένη μονάδα) και N-ακετυλο-D-γλυκοζαμίνης (ακετυλιωμένη μονάδα), συνδεδεμένες μεταξύ τους με β-1,4-γλυκοσιδικό δεσμό. Κατά την μετατροπή της χιτίνης σε χιτοζάνη, τα ακεταμίδια τα οποία παρουσιάζονται στην δομή της χιτίνης, μετατρέπονται σε αμινομάδες, συντελώντας πλέον μία από τις δραστικές ομάδες της χιτοζάνης, την πρωτοταγή αλειφατική αμινομάδα του άνθρακα στην θέση 2. Η απακετυλίωση ωστόσο, δεν είναι ποτέ πλήρης, οπότε πάντα πρέπει να αναφέρεται ο βαθμός απακετυλίωσης DD, ο οποίος φθάνει έως και το 98%, όμως τονίζεται ότι για να γίνεται λόγος για χιτοζάνη και όχι για χιτίνη, πρέπει να ξεπερνά το 50%. Το άζωτο στο μόριο της χιτοζάνης συνήθως βρίσκεται σε ποσοστό 5-8%, ενώ εκτός από την αμινομάδα, η πρωτοταγής και η δευτεροταγής υδροξυλομάδα που χαρακτηρίζουν το βιοπολυμερές αυτό, έχουν την ικανότητα να αυξάνουν την δραστικότητα του και να το καθιστούν περισσότερο χρήσιμο και διαδεδομένο από τη χιτίνη.⁷



Εικόνα 4: Σύγκριση δομής (α) χιτίνης - (β) χιτοζάνης

2.4.Ιδιότητες χιτοζάνης

2.4.1.Μοριακό Βάρος

Το μοριακό βάρος της χιτοζάνης ποικίλει και μπορεί να προσδιοριστεί με ιξωδομετρία, GPC, ενώ, σύμφωνα με τελευταίες επιστημονικές μελέτες, και με υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης HPLC. Η περιορισμένη διαλυτότητα της σε συνδυασμό με δομικές ασάφειες και την διασπορά των ακετυλομάδων, καθιστούν τον ακριβή προσδιορισμό του μοριακού βάρους της χιτοζάνης εξαιρετικά δύσκολο, αφού ξεκινάει από 1.000 g/mol και μπορεί να ξεπεράσει ακόμη και το μέγεθος των 250.000 g/mol.⁸

2.4.2. Διαλυτότητα

Η χιτοζάνη εμφανίζει ετερογενή διασπορά των ακετυλομάδων κατά μήκος της κύριας πολυμερικής αλυσίδας, χαρακτηριστικό που επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό την διαλυτότητα της, η οποία γενικά περιορίζεται στα όξινα υδατικά διαλύματα και χαρακτηρίζεται από την πρωτονίωση των αμινομάδων του άνθρακα της θέσης 2 των μορίων της γλυκοζαμίνης από τα οποία αποτελείται. Έτσι, ο πολυσακχαρίτης μετατρέπεται σε πολυηλεκτρολύτη σε όξινα μέσα. Η ιδιότητα της χιτοζάνης να διαλύεται σε υδατικά διαλύματα είναι αυτή που την καθιστά ιδανική για εφαρμογές της σε μορφή γέλης, ινών και φιλμ, ενώ σε στερεή κατάσταση παρουσιάζεται ως ημικρυσταλλικό πολυμερές. Η διαλυτότητα της χιτοζάνης εξαρτάται από πολλούς παράγοντες. Συγκεκριμένα, εξαρτάται από τον βαθμό απακετυλίωσης (DD) της και τον τρόπο που κατανέμονται οι ακετυλομάδες στην πολυμερική αλυσίδα σε συνδυασμό με το μοριακό βάρος της. Επιπροσθέτως, η διαλυτότητα της χιτοζάνης εξαρτάται από την φύση των οξέων που θα χρησιμοποιηθούν σε κάθε περίπτωση για την πρωτονίωση των αμινομάδων της πολυμερικής αλυσίδας της, αλλά και τις συνθήκες κατά τις οποίες έχει απομονωθεί και ξηρανθεί η χιτοζάνη μετά την διαδικασία παραγωγής της. Σημειώνεται ότι η χιτοζάνη διαλύεται σε pH χαμηλότερο του 6.⁶ Είναι ανάγκη να τονιστεί ότι όσο ο βαθμός απακετυλίωσης DD της χιτοζάνης αυξάνεται, τόσο αυξάνεται και η διαλυτότητα της, ενώ όταν αυτός ξεπεράσει το 85%, μπορεί να χαρακτηριστεί και ως ιδανική.⁷

2.4.3. Αντιμικροβιακή δράση

Η χιτοζάνη, ενώ παρουσιάζεται αδιάλυτη στο νερό, έχει την ιδιότητα να διαλύεται σε αραιά υδατικά όξινα διαλύματα με pKa κάτω του 6,3, στα οποία οι αμινομάδες του μονομερούς της μετατρέπονται στη πρωτονιωμένη τους μορφή NH_3^+ . Τα φιλμ της χιτοζάνης που δημιουργούνται εύκολα με χύτευση ή εμφάνιση, παρουσιάζουν πυκνή πορώδη δομή και συχνά αξιοποιούνται στην βιομηχανία ως βιολειτουργικό συστατικό. Συγκεκριμένα χρησιμεύουν ως βρώσιμο περίβλημα τροφίμων όπως είναι τα φρέσκα φρούτα και τα λαχανικά, ώστε να αυξήσουν την διάρκεια ζωής τους και να εξασφαλίσουν την υψηλή ποιότητα τους. Στον τομέα της ιατρικής, μεμβράνες χιτοζάνης δρουν ως θεραπευτικός επίδεσμος πληγών και ως ικρίωματα για την στήριξη των ιστών και των οστών. Από παλαιότερες μελέτες φαίνεται ότι η χιτοζάνη αναφέρεται ως βακτηριοκτόνος και βακτηριοστατικό πολυμερές, ενώ πλέον η δράση της μπορεί να χαρακτηριστεί περισσότερο ως βακτηριοστατική παρά

βακτηριοκτόνος. Η ιδιότητα της να εμποδίζει την ανάπτυξη και την εύρυθμη λειτουργία του οργανισμού των βακτηριδίων περικλείεται στο ότι τα θετικά φορτισμένα μόρια χιτοζάνης αλληλεπιδρούν με τις αρνητικές φορτισμένες κυτταρικές μεμβράνες των μικροβίων. Συγκεκριμένα, ηλεκτροστατικές δυνάμεις αναπτύσσονται μεταξύ των πρωτονιωμένων αμινομάδων της χιτοζάνης NH_3^+ και των λιποπολυσακχαριτών των μικροβιακών κυτταρικών μεμβρανών, που περιλαμβάνουν φωσφορικές και πυροφωσφορικές ομάδες, με απόρροια την εμφάνιση αλλαγών στην οσμωτική ισορροπία της μεμβράνης και την αναστολή της μικροβιακής ανάπτυξης. Ακόμη, οι ηλεκτροστατικές δυνάμεις αυτές ευθύνονται για την υδρόλυση των πεπτιδογλυκανών στα τοιχώματα των μικροβίων, γεγονός που οδηγεί στην διαρροή ενδοκυτταρικών ηλεκτρολυτών όπως είναι τα ιόντα καλίου και άλλων πρωτεϊνικών συστατικών χαμηλού μοριακού βάρους. Σε περίπτωση οπτικής παρακολούθησης, τα μόρια της χιτοζάνης φαίνεται να συνδέονται στις κυτταρικές επιφάνειες των βακτηρίων και τελικά στα σημεία επαφής να αποκολλάται η κυτταρική μεμβράνη από το κυτταρικό τοίχωμα και η απόσπαση αυτή οδηγεί στη δημιουργία ιόντων και την εκροή νερού. Έτσι, η εσωτερική πίεση των βακτηριδίων μειώνεται, δημιουργώντας δυσμενείς συνθήκες για την εύρυθμη λειτουργία τους. Μία ακόμη δράση της χιτοζάνης έναντι των μικροβίων συνοψίζεται στην ιδιότητα της να διεισδύει στον πυρήνα των μικροβίων και να δεσμεύεται με μικροβιακό DNA, αναστέλλοντας με αυτόν τον τρόπο την σύνθεση του mRNA και των πρωτεϊνών. Επιπροσθέτως, οι αμινομάδες που περιέχονται στο μόριο της χιτοζάνης έχουν την δυνατότητα να προσλαμβάνουν μεταλλικά ιόντα μέσω χηλίωσης και έτσι να δεσμεύουν βασικά συστατικά για την ανάπτυξη των μικροβίων. Τέλος, το μοριακό βάρος MW και ο βαθμός ακετυλίωσης DA φαίνεται ότι επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό την αντιμικροβιακή δράση της χιτοζάνης, και έπειτα από πληθώρα μελετών εξάγεται το συμπέρασμα ότι όσο μικρότερα είναι το μοριακό βάρος και ο βαθμός ακετυλίωσης, τόσο μεγαλώνει η επίδραση που έχει η χιτοζάνη στον πολλαπλασιασμό και την ανάπτυξη των μικροβίων.⁹

2.4.4.Αντιοξειδωτική δράση

Οι αντιοξειδωτικές, αντιυπερτασικές, αντιμικροβιακές, αντικαρκινικές, αντιπηκτικές και αντιδιαβητικές ιδιότητες της χιτοζάνης, έδωσαν την δυνατότητα άνθισης νέων θεραπευτικών εφαρμογών για την αντιμετώπιση, πρόληψη και θεραπεία πολλών χρόνιων παθήσεων. Αν και η χιτοζάνη παρουσιάζεται αδιάλυτη στο νερό, μέσω όξινης υδρόλυσης ή υδρόλυσης με χρήση ενζύμου, μετατρέπεται σε δομές διαλυτές τόσο στο νερό, όσο και στα όξινα υδατικά διαλύματα. Τα παράγωγα της χιτοζάνης, τα οποία μπορούν να χαρακτηριστούν και ως πολυκατιονικά πολυμερή με μονάδες γλυκοζαμίνης στο μόριο τους, αξιοποιούνται παγκοσμίως στο φαρμακευτικό και ιατρικό επιστημονικό πεδίο λόγω της μη τοξικότητας και της υψηλής υδατοδιαλυτότητας που παρουσιάζουν. Ο ανθρώπινος οργανισμός επηρεάζεται συχνά από την παρουσία πληθώρας ελεύθερων ριζών, που προκύπτουν τόσο από το περιβάλλον στο οποίο βρίσκεται, όσο και από τις λειτουργίες του ίδιου ανθρώπινου σώματος. Ειδικότερα, φαίνεται ότι κατά την πραγματοποίηση λειτουργιών του ανθρώπινου μεταβολισμού, παράγονται δραστικές οξυγονούχες ουσίες όπως είναι το υπεροξειδίο του υδρογόνου, τα ανιόντα υπεροξειδίου και υδροξυλίου. Το οξειδωτικό στρες, η διαταραχή δηλαδή ενός βιολογικού συστήματος της οποίας το αίτιο είναι η εμφάνιση αυτών των τοξικών δραστικών μορφών οξυγόνου, μπορεί να προκαλέσει ακούσια ενεργοποίηση ενζύμων και οξειδωτική βλάβη στα κύτταρα. Οι ελεύθερες ρίζες προσβάλλουν μακρομόρια όπως DNA, πρωτεΐνες και λιπίδια, και μπορούν να οδηγήσουν σε σοβαρές διαταραχές της υγείας, και συγκεκριμένα, σε σακχαρώδη διαβήτη, καρκίνο, υπερτασικά, καρδιαγγειακά και φλεγμονώδη επεισόδια. Τα αντιοξειδωτικά επιδρούν με θετικό τρόπο στην υγεία του ανθρώπου αφού προστατεύουν το ανθρώπινο σώμα από τις διαταραχές που καλείται να αντιμετωπίσει λόγω της παρουσίας των ελεύθερων ριζών. Μελέτες έχουν αποδείξει ότι τα παράγωγα χιτοζάνης έχουν την δυνατότητα να δεσμεύουν άμεσα τις ελεύθερες ρίζες των βιολογικών συστημάτων και να δρουν ανασταλτικά στη δράση της μυελοϋπεροξειδάσης στα ανθρώπινα μυελωδή κύτταρα, ενώ παράλληλα αναστέλλουν την οξείδωση πρωτεϊνών και DNA μορίων. Χρήσεις χιτοζάνης με διαφορετικά μοριακά βάρη έδειξαν ότι όσο μεγαλύτερο είναι το μοριακό βάρος της MW, η αντιοξειδωτική δράση της βελτιώνεται. Στην αντιοξειδωτική δράση της συγκαταλέγεται ακόμη, η ιδιότητα της να αυξάνει την δραστικότητα αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως είναι η υπεροξειδική δισμουτάση, καταλάση και υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, ένζυμα που δρουν μειώνοντας την υπεροξείδωση των λιπιδίων. Στην

βιομηχανία των τροφίμων, η οξείδωση των λιπιδίων, των πρωτεϊνών και των υδατανθράκων, αποτελεί κύριος λόγος υποβάθμισης της ποιότητας των τροφίμων και μείωσης της διάρκειας ζωής του. Τα προϊόντα που προκύπτουν από την οξείδωση των λιπιδίων, αντιδρούν με τις πρωτεΐνες οδηγώντας τις και αυτές στην οξείδωση, ενώ αν και οι υδατάνθρακες παρουσιάζονται πιο ανθεκτικοί στην οξείδωση, σε τελικό στάδιο θα επηρεαστούν και αυτοί. Για να μειωθεί ή και να αποφευχθεί η διαδικασία οξείδωσης στη βιομηχανία τροφίμων, αλλά και στη φαρμακευτική βιομηχανία, αρχικά χρησιμοποιήθηκαν συνθετικά αντιοξειδωτικά, κάτι που σταμάτησε σύντομα καθώς φαίνεται ότι αυτές οι ουσίες οδηγούσαν σε προβλήματα υγείας των ανθρώπων. Για να βρεθεί αποτελεσματική λύση, πλέον στρεφόμαστε σε φυσικά αντιοξειδωτικά, όπως είναι η χιτοζάνη και τα παράγωγα της, τονίζοντας ότι χιτοζάνη με βαθμό απακετυλίωσης DD μεγαλύτερο του 83% καθίσταται βρώσιμη και μάλιστα συχνά βρίσκεται και ως βασικό συστατικό σε φορείς φαρμάκων και σε διαιτητικά πρόσθετα τροφίμων.¹⁰

2.4.5. Αντιφλεγμονώδης Δράση

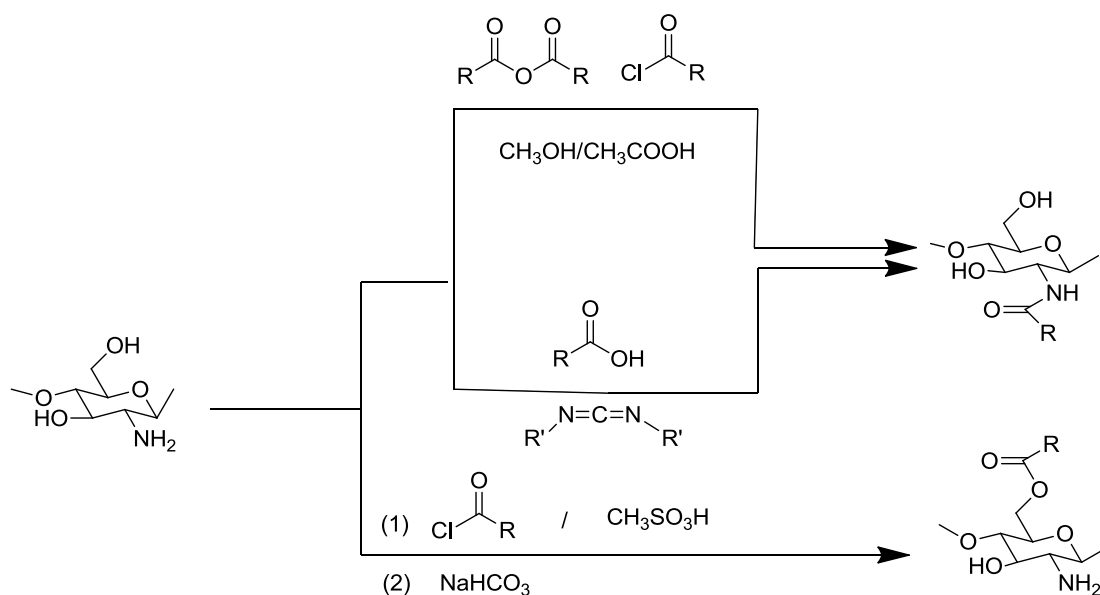
Οι αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες της χιτοζάνης είναι αποδεδειγμένες, σύμφωνα με πολλές επιστημονικές έρευνες που υποστηρίζουν ότι το πολυμερές αυτό επιδρά στη παραγωγή του νιτρικού οξειδίου και στη χημειοταξία, και ρυθμίζει την παραγωγή υπεροξειδίου του υδρογόνου. Επιπροσθέτως, η χιτοζάνη αναστέλλει μερικώς την έκκριση IL-8 και TNF- α , κυτοκινών που εμπλέκονται με την εκδήλωση φλεγμονών, από τα κύτταρα του μαστού και φαίνεται ότι προσδίδει θετικά αποτελέσματα στην πρόληψη και ανακούφιση πολλών νευροφλεγμονωδών ασθενειών. Η ικανότητα της χιτοζάνης να αναστέλλει μία φλεγμονώδη απόκριση, συνδυαστικά με την έλλειψη τοξικότητας που την χαρακτηρίζει, δίνει την ευκαιρία ανάπτυξης νέων λειτουργικών τροφίμων και φαρμάκων, τα οποία θα καθίστανται ιδανικά μέσα πρόληψης και εξάλειψης ασθενειών όπως είναι η ηπατίτιδα, η αρθρίτιδα, η περιοδοντική νόσος, η γαστρίτιδα, η κολίτιδα και η αθηροσκλήρωση.¹¹

3.ΧΗΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ

Το μόριο της γλυκοζαμίνης, αλλά και φυσικά της χιτοζάνης, η οποία πρακτικά αποτελείται από μόρια γλυκοζαμίνης συνδεδεμένα μεταξύ τους με β-1,4-γλυκοσιδικό δεσμό, παρουσιάζει ισχυρά δραστικές ομάδες, προσφέροντας την δυνατότητα τροποποίησης και περαιτέρω αξιοποίησης. Συγκεκριμένα, η παρουσία μίας πρωτοταγής αμινομάδας, ενός πρωτοταγούς και ενός δευτεροταγούς υδροξυλίου, είναι ο λόγος που η χιτοζάνη και το μονομερές της, η γλυκοζαμίνη, απασχολούν σε μεγάλο βαθμό την επιστημονική κοινότητα τα τελευταία χρόνια. Οι τρόποι με τους οποίους κάποιος μπορεί να τροποποιήσει χημικά την γλυκοζαμίνη και την χιτοζάνη φαίνεται να είναι αμέτρητοι, αφού τα είδη των νέων δραστικών ομάδων που θα μπορούσαν να προστεθούν στη δομή αυτών των μορίων μέσω των κατάλληλων αντιδράσεων, είναι άπειρα και η επιλογή τους εξαρτάται από τον σκοπό της εκάστοτε επιστημονικής μελέτης. Επομένως, παρακάτω αναφέρονται ενδεικτικά κάποιες κατηγορίες χημικής τροποποίησης που έχουν γνωστοποιηθεί και παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον.

Ακυλίωση

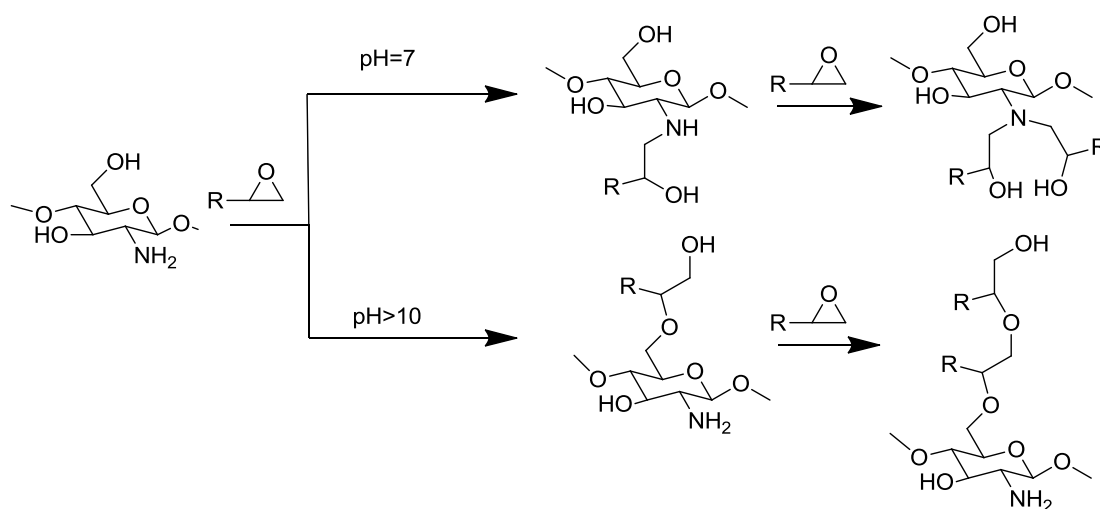
Η ακυλίωση είναι η διαδικασία αντίδρασης του μορίου της γλυκοζαμίνης ή της χιτοζάνης με ακυλοχλωρίδια ή με ανυδρίτες οξέων. Η αντίδραση αυτή μπορεί να ελεγχθεί έτσι ώστε να πραγματοποιηθεί η προσθήκη της νέας δραστικής ομάδας μόνο στην αμινομάδα της γλυκοζαμίνης, μόνο στις υδροξυλομάδες της γλυκοζαμίνης, ή να συμβούν και τα δύο ταυτόχρονα. Είναι ανάγκη να σημειωθεί ότι η ακυλίωση της αμινομάδας που φέρει η γλυκοζαμίνη, και το πολυμερές της, η χιτοζάνη, μπορεί να γίνει και με την αντίδραση των μορίων αυτών με καρβοξυλικά οξέα παρουσία καρβοδιιμιδίων όπως είναι το EDC και το DCC.¹²



Εικόνα 5: Αντίδραση ακυλίωσης γλυκοζαμίνης – χιτοζάνης

Υδροξυαλκυλίωση

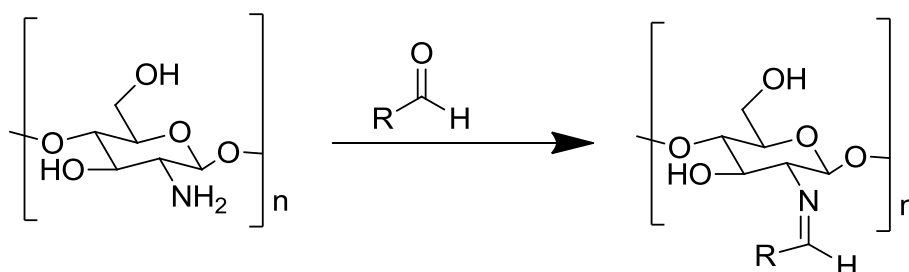
Κατά την χημική τροποποίηση αυτή, η χιτοζάνη και η γλυκοζαμίνη αντιδρούν με εποξειδία, με απόρροια τον σχηματισμό N-υδροξυάλκυλο ή O-υδροξυάλκυλο παραγώγων. Η θερμοκρασία της αντίδρασης, ο διαλύτης και η δομή του εποξειδίου που επιλέγεται κάθε φορά, παρουσιάζουν καθοριστικό ρόλο στην μορφή του προϊόντος, και ενδεικτικά αναφέρεται ότι η απουσία καταλύτη οδηγεί στην σύνθεση N-παραγώγου, ενώ μέσω της αλκαλικής κατάλυσης προκύπτει O-παραγώγο.¹²



Εικόνα 6: Αντίδραση υδροξυαλκυλίωσης χιτοζάνης – γλυκοζαμίνης

Αλκυλίωση

Η αλκυλίωση περιλαμβάνει την αντίδραση της χιτοζάνης ή της γλυκοζαμίνης με αλδεύδες, κετόνες ή αλκυλαλογονίδια.¹³ Όταν τα μόρια της χιτοζάνης ή της γλυκοζαμίνης αντιδρούν με αλδεύδες ή κετόνες, αναπτύσσεται ιμινικός δεσμός ανάμεσα στην αμινομάδα και το οξυγόνο της υδροξυλομάδας, διαδικασία που οδηγεί τελικά στον σχηματισμό των βάσεων του Schiff.¹⁴ Ωστόσο, αν αντί για κετόνη ή αλδεύδη, προστεθεί αλκυλαλογονίδιο, αλκυλομάδες εισέρχονται στο άζωτο της αμινομάδας και τα οξυγόνα των υδροξυλομαδων, γεγονός που έχει ως απόρροια την εμφάνιση N- και O- αλκυλοπαραγώγων.¹²

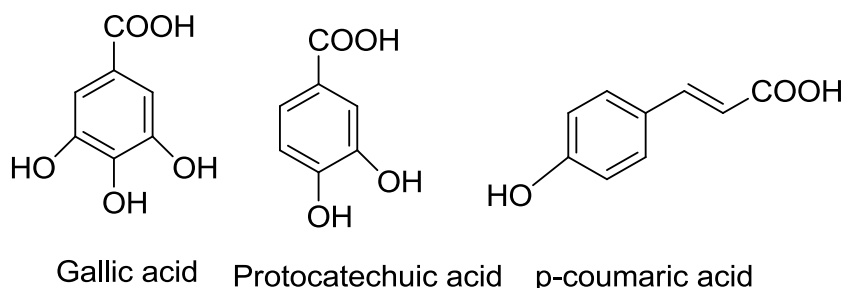


Εικόνα 7: Αντίδραση αλκυλίωσης χιτοζάνης

4.ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

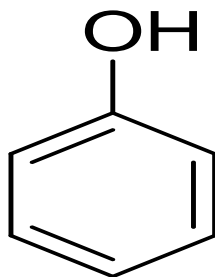
4.1.Εισαγωγή

Οι φαινολικές ενώσεις είναι οργανικά μόρια φυτικής προέλευσης, τα οποία παρουσιάζουν εξαιρετικό ενδιαφέρον λόγω της δράσης τους ως αντιφλεγμονώδη, αντιμικροβιακές και αντιαλλεργιογόνες ουσίες, ενώ είναι ιδιαίτερος γνωστός για την αδιαμφισβήτητα αποτελεσματική αντιοξειδωτική ιδιότητα τους. Βρίσκονται σε μεγάλες ποσότητες σε φρούτα, λαχανικά και ποτά όπως είναι το κρασί, το τσάι και οι χυμοί φρούτων, καθώς επίσης είναι πλέον αποδεδειγμένο ότι μία ακόμη πηγή φαινολικών ενώσεων είναι τα παραπροϊόντα αγροτικής προέλευσης.¹⁵ Η παρουσία πληθώρας πολύ χρήσιμων ιδιοτήτων, σε συνδυασμό με την ανάγκη αξιοποίησης τους στο έπακρον, αποτελούν τα αίτια εκτεταμένης χρήσης τους στην φαρμακοβιομηχανία και στην βιομηχανία τροφίμων. Ο ρόλος τους στην άμυνα των φυτικών οργανισμών έναντι πληθώρας ασθενειών έχει αποδειχθεί κρίσιμος.¹⁶



Εικόνα 8 : Παραδείγματα φαινολικών ενώσεων

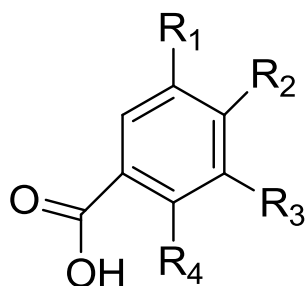
Όσον αφορά την δομή των φαινολικών ενώσεων, παρατηρείται η ύπαρξη ενός αρωματικού δακτυλίου στο μόριο τους με μία ή περισσότερες υδροξυλομάδες ως υποκαταστάτες, γεγονός που προσδίδει στην μορφή τους ποικιλομορφία και συχνά αναφέρονται ως πολυφαινόλες. Συχνά, βρίσκονται συνδεδεμένες με άλλα μόρια όπως είναι τα σάκχαρα και οι πρωτεΐνες.¹⁷



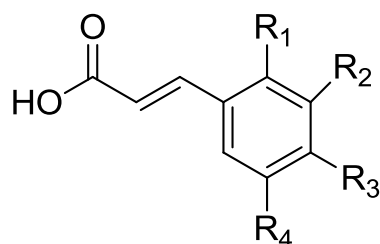
Εικόνα 9: Γενική μορφή δομής φαινολικών ενώσεων

4.2. Φαινολικά Οξέα

Τα φαινολικά οξέα είναι ουσίες που εμφανίζουν έναν αρωματικό δακτύλιο και μία τουλάχιστον ομάδα καρβοξυλίου. Τα φαινολικά οξέα παρουσιάζονται ως μία μεγάλη κατηγορία οξέων, με πολλές διαφορές στην δομή τους, η οποία αλλάζει ανάλογα με τον αριθμό και την θέση των υδροξυλομάδων πάνω στο φαινολικό δακτύλιο. Ωστόσο, τα οξέα αυτά φαίνεται πως κατατάσσονται εύκολα σε δύο υποκατηγορίες, σε αυτά που προέρχονται από το βενζοϊκό οξύ, όπως είναι το βανιλικό και το συριγγικό οξύ, και σε αυτά που προέρχονται από το κινναμωμικό οξύ, όπως είναι το καφεϊκό και το φερουλικό οξύ.



Εικόνα 10: Γενική μορφή βενζοϊκών οξέων

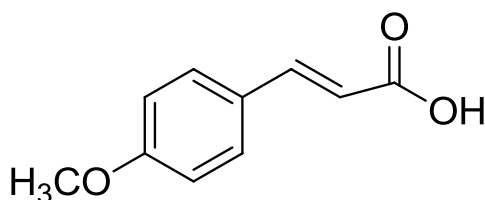


Εικόνα 11: Γενική μορφή κινναμωμικών οξέων

Η αντιοξειδωτική δράση των φαινολικών οξέων αποτελεί μία από τις πιο πολύτιμες ιδιότητες τους, ενώ φαίνεται ότι η ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών και η προσφορά υδρογόνου, ηλεκτρονίων ή κατιόντων χηλικών μετάλλων εξαρτάται άμεσα από τον αριθμό και την θέση των υδροξυλομάδων συγκριτικά με τις καρβοξυλομάδες. Όσο αυξάνονται οι υδροξυλομάδες, αυξάνεται και η αντιοξειδωτική ιδιότητα τους.

4.2.1. Παρα-μεθόξυ κινναμικό οξύ

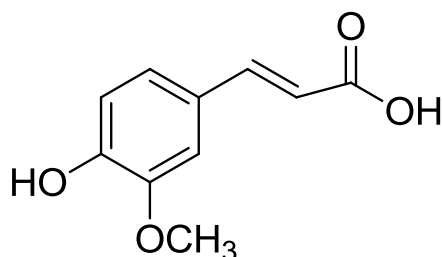
Το παρα-μεθόξυ κινναμικό οξύ ανήκει στην οικογένεια των ενώσεων που προέρχονται από το κινναμωμικό οξύ, και φαίνεται ότι είναι ιδιαίτερα διαδεδομένο λόγω της εξαιρετικής φαρμακολογικής δράσης του. Χαρακτηρίζεται από έντονες αντιφλεγμονώδεις, αντικαρκινικές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες, ενώ φαίνεται ότι συμβάλλει στην προστασία του ήπατος μέσω της αντιπεργλυκαιμικής δραστηριότητας του. Επιπροσθέτως, αυτό το οξύ αυξάνει τον αριθμό των κατιόντων ασβεστίου και την έκκριση ινσουλίνης από τα παγκρεατικά κύτταρα. Τέλος, η ανασταλτική του ιδιότητα κρίνεται ισχυρότερη από όλα τα παράγωγα του κινναμωμικού οξέος.¹⁸



Εικόνα 12: Παρα-μεθόξυ κινναμικό οξύ

4.2.2. Φερουλικό οξύ

Το φερουλικό οξύ είναι μία ουσία που συναντάται σε μέρη των φυτικών οργανισμών, όπως είναι τα φύλλα, συνήθως συνδεδεμένη με βιοπολυμερή, λιπίδια και πολυσακχαρίτες. Η χαμηλή τοξικότητά του, σε συνδυασμό με τις πολύ ευνοϊκές φαρμακευτικές δράσεις του που οφείλονται στην φαινολική δομή του, είναι ο λόγος που αυτό το οξύ καθίσταται ιδανικό για ιατρικούς σκοπούς, και αποτελεί βασικό συστατικό προϊόντων καλλωπισμού και τροφίμων.¹⁵

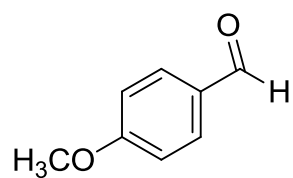


Εικόνα 13: Φερουλικό οξύ

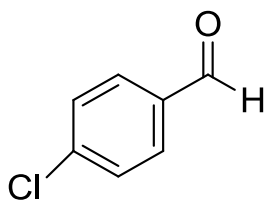
5. ΑΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

5.1. Αρωματικές αλδεΐδες

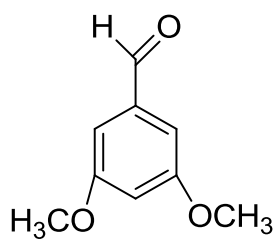
Οι αλδεΐδες αυτές παρουσιάζουν στη δομή τους μία τουλάχιστον αλδεΐδομάδα και έναν τουλάχιστον αρωματικό δακτύλιο. Οι ενώσεις αυτές είναι ιδιαίτερα διαδεδομένες στην βιομηχανία των τροφίμων και των αρωμάτων καθώς συντελούν στην απόδοση γεύσης και αρώματος σε πληθώρα προϊόντων. Ακόμη, δρουν ως ενδιάμεσα αντιδραστήρια κατά τη χημική διαδικασία σύνθεσης χημικών και φαρμακευτικών προϊόντων.¹⁹ Οι αρωματικές αλδεΐδες συχνά τροποποιούνται με την προσθήκη αλογόνων στο μόριο τους, συνθέτοντας νέες δραστικές ουσίες που χρησιμεύουν σε πολλούς τομείς της σημερινής φαρμακοβιομηχανίας. Ένα παράδειγμα μίας τέτοιας ένωσης αποτελεί η χλωροβενζαλδεΐδη.



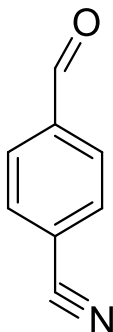
Εικόνα 14: Ανισαλδεΐδη



Εικόνα 15: 4-Χλωροβενζαλδεΐδη



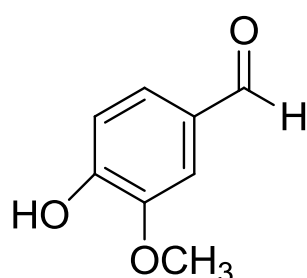
Εικόνα 16: 3,5 Διμέθοξυβενζαλδεΐδη



Εικόνα 17: 4-Κυανοβενζαλδεΐδη

5.1.1.Βανιλίνη

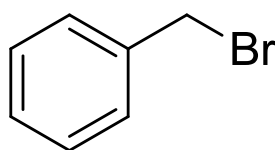
Η βανιλίνη, ή αλλιώς 4-υδροξυ-3 μεθόξυβενζαλδεΐδη, αποτελεί βασικό συστατικό των λοβών βανίλιας, και θεωρείται μία από τις πιο δημοφιλείς ενώσεις παγκοσμίως, αφού χρησιμοποιείται στο χώρο της ζαχαροπλαστικής, του καλλωπισμού και της αρωματοποιίας, λόγω του αρώματος και της γεύσης που προσδίδει. Εκτός από την φυσική παραγωγή της μέσω επεξεργασίας των λοβών βανίλιας της ορχιδέας, μπορεί να παραχθεί και συνθετική από την ευγενόλη, την λιγνίνη ή την γουαϊακόλη. Δρα αντιοξειδωτικά και αντιμυκητιακά, για αυτό και χρησιμοποιείται ευρέως σε πολλές in vivo και in vitro έρευνες.²⁰



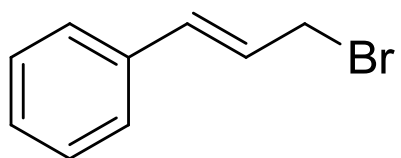
Εικόνα 18: Βανιλίνη

5.2. Αλογονοπαράγωγα αρωματικών ενώσεων

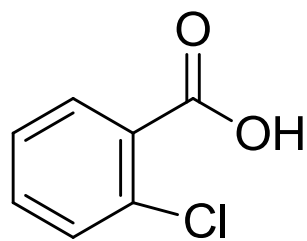
Μετά από πολλά χρόνια έρευνας και άνθισης των χημικών επιστημών, πλέον είναι γνωστός μεγάλος αριθμός οργανικών ουσιών με αρωματικό δακτύλιο στο μόριο τους και δραστικές ομάδες όπως είναι τα αλογόνα. Τα αλογόνα συνδέονται με την κρυσταλλική δομή των ενώσεων αυτών με ιοντικούς δεσμούς, και συχνά αξιοποιούνται κατά την χημική τροποποίηση πολυμερών και άλλων οργανικών ενώσεων. Παραδείγματα μορίων που διαθέτουν αλογόνα στη δομή τους και επιλέγονται συχνά για πολλές εφαρμογές είναι το βενζυλοβρωμίδιο, το βρωμιούχο κινναμύλιο και το 2-χλωροβενζοϊκό οξύ.



Εικόνα 19: Βενζυλοβρωμίδιο



Εικόνα 20: Βρωμιούχο κινναμύλιο



Εικόνα 21: 2-Χλωροβενζοϊκό οξύ

ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ, ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

1. ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ο σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η χημική τροποποίηση της χιτοζάνης και του μονομερούς της, της γλυκοζαμίνης, με χρήση φαινολικών και αρωματικών ενώσεων μέσω διαφόρων νέων χημικών μεθόδων, τελείως διαφορετικών μεταξύ τους, προς σχηματισμό αμιδίων και ιμινών. Οι ενώσεις που προκύπτουν ταυτοποιούνται ως προς τη δομή τους και οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται, συγκρίνονται και αξιολογούνται για την αποδοτικότητα τους.

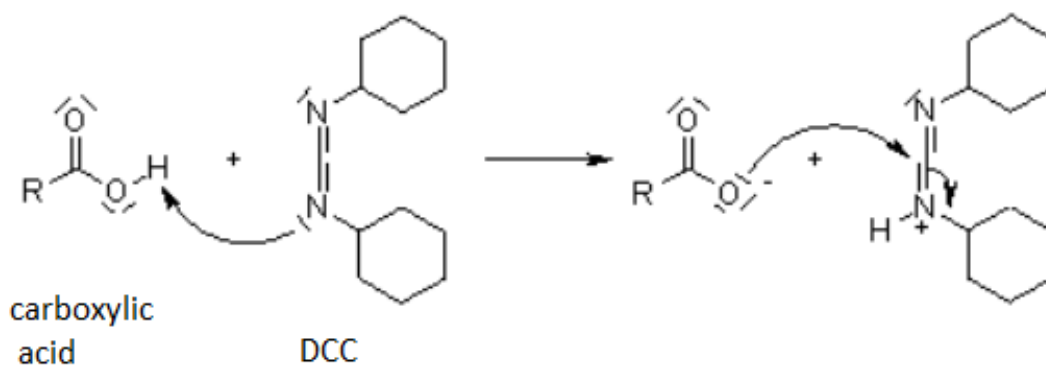
2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΧΗΜΙΚΗΣ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗΣ ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗΣ

2.1. Αντίδραση με καρβοξυλικά οξέα-Μέθοδος 1

Η μέθοδος αυτή περιλαμβάνει την αντίδραση του μορίου της γλυκοζαμίνης με φαινολικά οξέα με στόχο την δημιουργία αμιδικού δεσμού. Η μέθοδος αυτή περιλαμβάνει τρία στάδια.

Στάδιο 1 :

Αυτό το στάδιο αποτελείται από την ενεργοποίηση των καρβοξυλικών οξέων. Συγκεκριμένα, το καρβοξυλικό οξύ αντιδρά με δικυκλοεξυλοκαρβοδιιμίδιο (DCC), παρουσία αιθανόλης που δρα ως διαλύτης, υπό ψύξη για 20 λεπτά. Το στάδιο αυτό χαρακτηρίζεται ως αναγκαίο, διότι η άμεση μετατροπή ενός καρβοξυλικού οξέος σε αμίδιο είναι μία ιδιαίτερα δύσκολη διαδικασία, αφού ο βασικός χαρακτήρας των αμινών τείνει να μετατρέπει τα οξέα αυτά σε μία μη δραστική μορφή τους. Η αντίδραση λοιπόν των οξέων με το DCC, έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό μίας καλής αποχωρούσας ομάδας, κάνοντας εύκολη την αντικατάσταση της από μία αμίνη μέσω της πυρηνόφιλης υποκατάστασης.



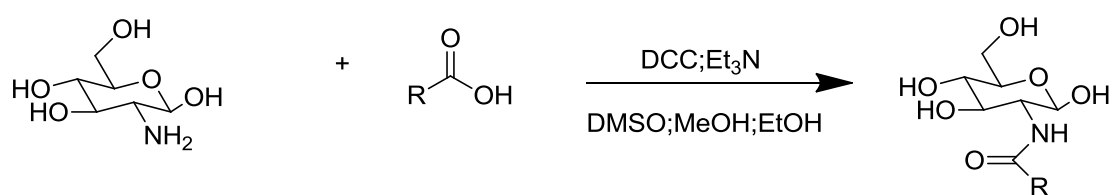
Εικόνα 22: Ενεργοποίηση καρβοξυλικού οξέος

Στάδιο 2 :

Σε αυτό το στάδιο, η γλυκοζαμίνη διαλύεται σε διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO) και μεθανόλη, ενώ προστίθεται μικρή ποσότητα τριαιθυλαμίνης, μιας πολύ ισχυρής βάσης, που θα δράσει ως καταλύτης.

Στάδιο 3 :

Το τελικό στάδιο περιλαμβάνει την ανάμειξη των δύο διαλυμάτων των προηγούμενων σταδίων, υπό ψύξη, για 1 ημέρα. Η αντίδραση που πραγματοποιείται ονομάζεται αντίδραση ακυλίωσης, και απεικονίζει την προσθήκη ενός καρβοξυλικού οξέος, στην συγκεκριμένη εργασία φαινολικού καρβοξυλικού οξέος, στην αμινομάδα της γλυκοζαμίνης.



Εικόνα 23: Ακυλίωση γλυκοζαμίνης με καρβοξυλικό οξύ

2.2. Αντίδραση με καρβοξυλικά οξέα-Μέθοδος 2

Η μέθοδος αυτή αφορά τη χημική τροποποίηση της γλυκοζαμίνης με καρβοξυλικά οξέα με σκοπό τον σχηματισμό νέων αμιδίων. Η μέθοδος αυτή περιλαμβάνει δύο στάδια.

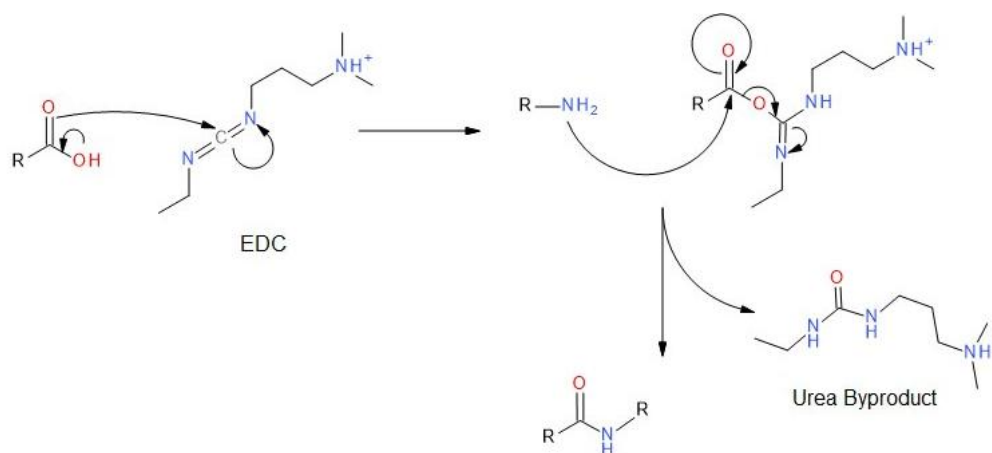
Στάδιο 1 :

Αυτό το στάδιο αποτελείται από την ενεργοποίηση των οξέων. Συγκεκριμένα, το καρβοξυλικό οξύ αντιδρά με το 1-αιθυλο-3-(3-διμεθυλαμινοπροπυλο)καρβοδιιμίδιο (EDC), παρουσία αιθανόλης που δρα ως διαλύτης, υπό ψύξη για 20 λεπτά. Το στάδιο αυτό είναι απαραίτητο, καθώς η άμεση μετατροπή ενός καρβοξυλικού οξέος σε αμίδιο είναι μία ιδιαίτερα δύσκολη διαδικασία, αφού ο βασικός χαρακτήρας των αμινών τείνει να μετατρέπει τα οξέα αυτά σε μία μη δραστική μορφή τους. Μέσω της αντίδρασης αυτής παρατηρείται ο σχηματισμός μίας καλής αποχωρούσας ομάδας, κάνοντας ικανή την αντικατάσταση της από μία αμίνη μέσω της πυρηνόφιλης υποκατάστασης.

Στάδιο 2 :

Σε αυτό το στάδιο, η γλυκοζαμίνη διαλύεται σε διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO) και μεθανόλη, ενώ προστίθεται μικρή ποσότητα τριαιθυλαμίνης, μιας πολύ ισχυρής βάσης, που θα δράσει ως καταλύτης. Το μίγμα αυτό προστίθεται απευθείας στο διάλυμα του προηγούμενου σταδίου.

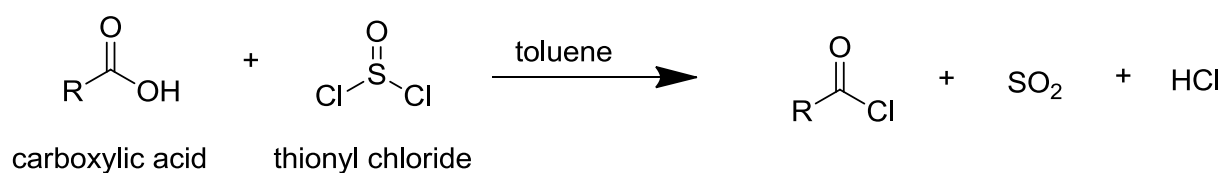
Ο μηχανισμός της χημικής αντίδρασης της μεθόδου φαίνεται στην εικόνα :



Εικόνα 24: Ακυλίωση γλυκοζαμίνης με καρβοξυλικό οξύ

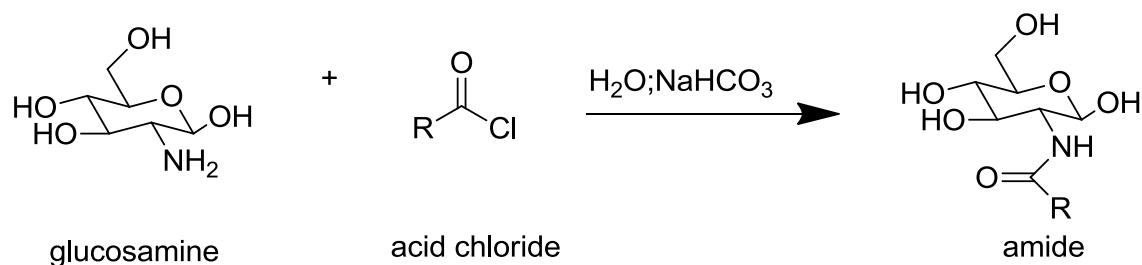
2.3. Αντίδραση με καρβοξυλικά οξέα -Μέθοδος 3

Σε αυτή την μέθοδο ουσιαστικά πραγματοποιούνται δύο αντιδράσεις, αφού και πάλι απαιτείται αρχικά η ενεργοποίηση του καρβοξυλικού οξέος και ο σχηματισμός μιας καλής αποχωρούσας ομάδας, μέσω της σύνθεσης ενός χλωριδίου, το οποίο ύστερα θα αντιδράσει με την γλυκοζαμίνη, προς σχηματισμό αμιδικού δεσμού. Τα καρβοξυλικά οξέα μετατρέπονται σε χλωρίδια όταν αντιδράσουν με θειονυλοχλωρίδιο (SOCl_2), σε διαλύτη τολουόλιο υπό θέρμανση, όπως φαίνεται παρακάτω.



Εικόνα 25: Σύνθεση χλωριδίου

Στη συνέχεια, το χλωρίδιο που συντέθηκε, το οποίο είναι μία ασταθής ουσία με μία καλή αποχωρούσα ομάδα αλογόνου, αντιδρά με την γλυκοζαμίνη, με υδατικό διάλυμα όξινου ανθρακικού νατρίου.

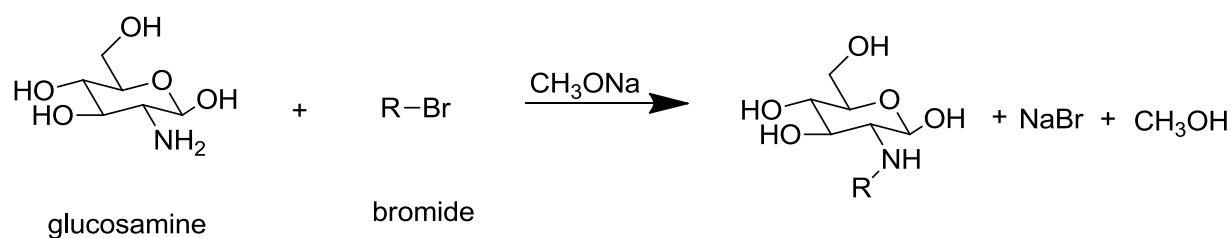


Εικόνα 26: Αντίδραση γλυκοζαμίνης με χλωρίδιο προς σχηματισμό αμιδικού δεσμού

2.4. Αντίδραση με βρωμίδια- Μέθοδος 4

Ενώ στις πρώτες τρεις μεθόδους το μόριο της γλυκοζαμίνης τροποποιήθηκε μέσα από την αντίδραση του με καρβοξυλικά οξέα, σε αυτή τη μέθοδο θα αναλυθεί η αντίδραση της με βρωμίδια που είναι παράγωγα φαινολικών ενώσεων, όπως είναι το βενζυλοβρωμίδιο και το βρωμιούχο κινναμύλιο.

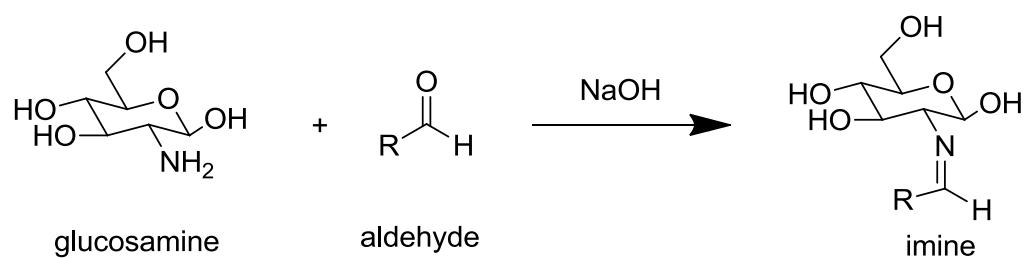
Σε αυτή την τροποποίηση, η γλυκοζαμίνη αντιδρά με το βρωμίδιο, παρουσία μεθοξειδίου του νατρίου σε διαλύτη μεθανόλη, σύμφωνα με την αντίδραση:



Εικόνα 27: Χημική τροποποίηση γλυκοζαμίνης με βρωμίδιο

2.5. Αντίδραση με αλδεΐδες- Μέθοδος 5

Η πέμπτη προσπάθεια χημικής τροποποίησης της γλυκοζαμίνης, περιλαμβάνει την αντίδραση της με αρωματικές αλδεΐδες, και χρήση υδατικού διαλύματος καυστικού νατρίου. Η αντίδραση αυτή είναι γνωστή και ως αλκυλίωση και οδηγεί στην σύνθεση των βάσεων του Schiff.



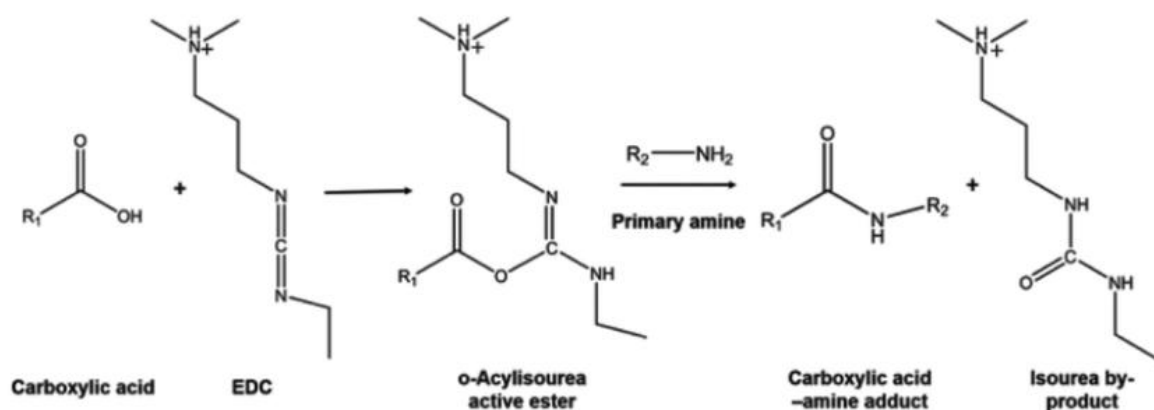
Εικόνα 28: Αλκυλίωση γλυκοζαμίνης με αλδεΐδη

3. ΜΕΘΟΔΟΙ ΧΗΜΙΚΗΣ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗΣ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ

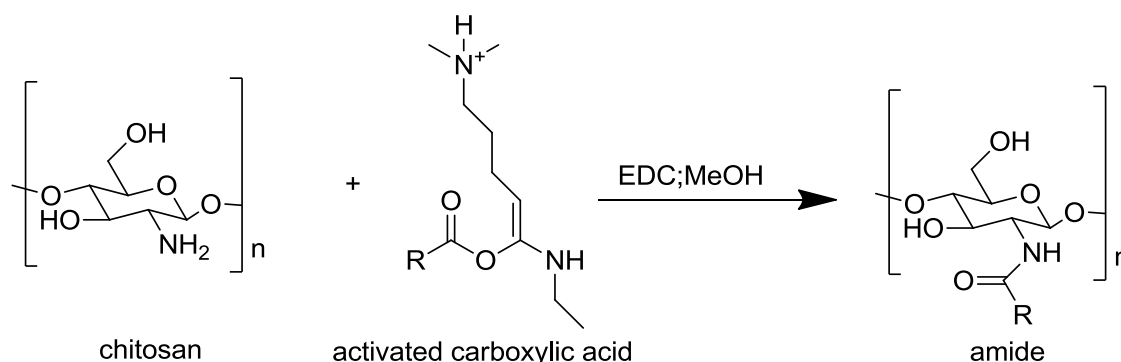
3.1. Αντίδραση με καρβοξυλικά οξέα

Η διαδικασία αντίδρασης της χιτοζάνης με τα καρβοξυλικά οξέα, απαιτεί αρχικά την διάλυση της σε διάλυμα οξικού οξέος. Η χιτοζάνη είναι ένα πολυμερές, που θεωρείται σχεδόν αδιάλυτο, έτσι μετά από μία ημέρα ανάδευσης στο διάλυμα οξικού οξέος, παρατηρείται μικρή ποσότητα της σε στερεά μορφή. Έτσι υπάρχει η δυνατότητα φιλτραρίσματος του μίγματος αυτού, έτσι ώστε να απομακρυνθεί η χιτοζάνη που δεν διαλύθηκε. Έπειτα, το κατάλληλο καρβοξυλικό οξύ προστίθεται, με μεθανόλη ως διαλύτη, και 1-αιθυλο-3-(3-διμεθυλαμινοπροπυλο-)καρβοδιιμίδιο (EDC), το οποίο αντιδρά με το οξύ ώστε να σχηματιστεί μία ευκόλως αποχωρούσα ομάδα.

Η γενική μορφή της αντίδρασης μπορεί να αποτυπωθεί ως εξής:



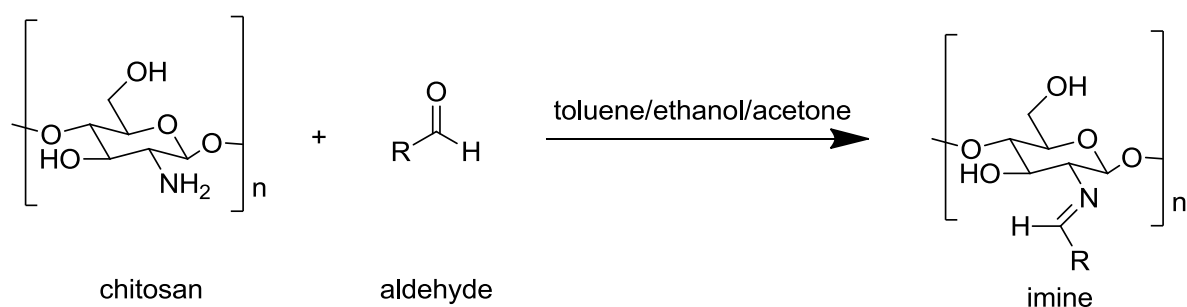
Εικόνα 29: Γενική μορφή αντίδρασης της χιτοζάνης με καρβοξυλικό οξύ



Εικόνα 30: Χημική τροποποίηση χιτοζάνης με καρβοξυλικό οξύ

3.2. Αντίδραση με αλδεΐδες

Η αντίδραση αυτή χαρακτηρίζεται ως αλκυλίωση της χιτοζάνης με προσθήκη αλδεϋδών και έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία ιμινών ή ειδικότερα, βάσεων του Schiff. Αρχικά, η χιτοζάνη διαλύεται σε υδατικό διάλυμα οξικού οξέος, μετά από μία ημέρα ανάδευσης, και έπειτα η αλδεϋδη προστίθεται με τον κατάλληλο διαλύτη. Στην συγκεκριμένη εργασία έγιναν δοκιμές με ακετόνη, αιθανόλη αλλά και με τολουόλιο ως διαλύτη. Η αντίδραση γίνεται υπό θέρμανση.



Εικόνα 31: Αλκυλίωση χιτοζάνης με αλδεϋδη

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΟΡΓΑΝΑ, ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΣΥΣΚΕΥΕΣ

Σε αυτό το μέρος της εργασίας παρουσιάζονται τα όργανα, οι συσκευές και τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται κατά την διάρκεια των πειραμάτων, αλλά και αυτά που χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση και αξιολόγηση των χημικά τροποποιημένων ενώσεων που προέρχονται από τα μόρια της χιτοζάνης και της γλυκοζαμίνης.

Για την ταυτοποίηση των νέων ενώσεων χρησιμοποιήθηκε η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητισμού συντονισμού NMR και η φασματοσκοπία υπερύθρου IR.

Στα φάσματα πυρηνικού μαγνητισμού συντονισμού NMR 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 σύζευξης J δίνονται σε Hz.

Για τη λήψη των φασμάτων IR χρησιμοποιήθηκε ο φασματογράφος JASCO FT/IR 4200 και για τη δημιουργία των δισκίων χρησιμοποιήθηκε βρωμιούχο κάλλιο.

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

Είναι ανάγκη να σημειωθεί ότι η χιτοζάνη που χρησιμοποιήθηκε για τα πειράματα έχει τιμή ιξώδους που κυμαίνεται από 5 έως 20 mPa × s.

2.ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΒΑΘΜΟΥ ΑΠΑΚΕΤΥΛΙΩΣΗΣ ΤΗΣ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ

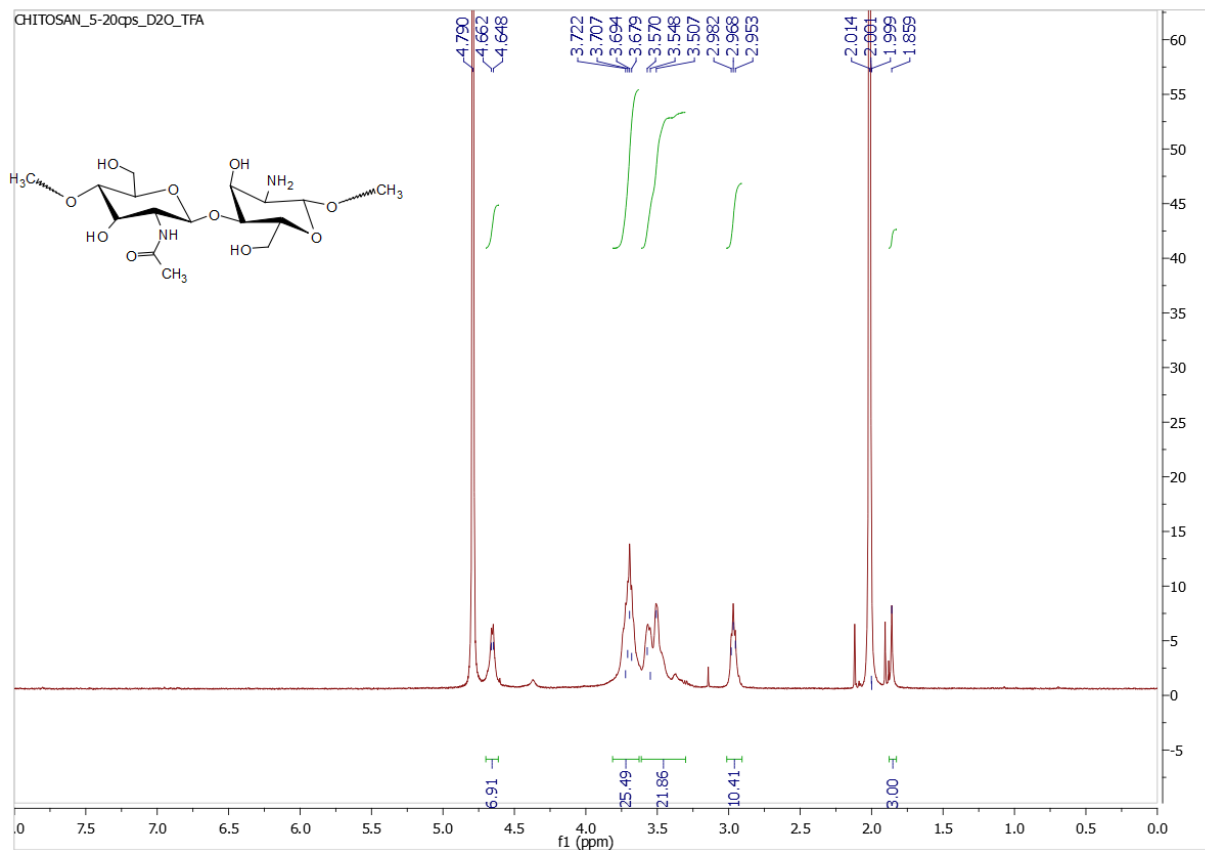
Όπως έχει αναφερθεί παραπάνω, η χιτοζάνη είναι το βιοπολυμερές που παράγεται από τη χιτίνη, μέσω μίας διεργασίας απομάκρυνσης ακέτυλο-ομάδων. Είναι ανάγκη να γίνει αντιληπτό ότι η χιτοζάνη που είναι διαθέσιμη στο εμπόριο και αξιοποιείται σε πολλούς επιστημονικούς κλάδους, όπως είναι αυτοί της κοσμητολογίας, της φαρμακευτικής και της ιατρικής, δεν αποτελεί την πλήρως απακετυλιωμένη μορφή της χιτίνης, αλλά χαρακτηρίζεται από ένα ποσοστό απακετυλίωσης, γνωστό και ως βαθμό απακετυλίωσης. Η γνώση του βαθμού απακετυλίωσης της χιτοζάνης που χρησιμοποιείται σε κάθε περίπτωση χαρακτηρίζεται ως υψίστης σημασίας, αφού η ποσότητα των ακέτυλο-ομάδων που υπάρχουν στην πολυμερική αλυσίδα της, επηρεάζει όχι μόνο τις ιδιότητες της και τη χημική συμπεριφορά της κατά την εκτέλεση πειραμάτων, αλλά και τη μορφή των νέων αμινών και ιμινών που θα προκύψουν από την τροποποίηση της με φαινολικά οξέα και αλδεΐδες.

Ένας λοιπόν αποτελεσματικός τρόπος υπολογισμού του βαθμού απακετυλίωσης της χιτοζάνης που χρησιμοποιήθηκε κατά την πειραματική διαδικασία και στα πλαίσια εκπόνησης της συγκεκριμένης διπλωματικής εργασίας είναι η χρήση της εξίσωσης:

$$D_{\text{deac}} = \left\{ 1 - \left(\frac{\frac{1}{3} I_{\text{CH}_3}}{\frac{1}{6} I_{\text{H}_2-\text{H}_6}} \right) \right\} \times 100$$

Στην εξίσωση αυτή, ουσιαστικά χρησιμοποιείται το ολοκλήρωμα των μεθυλο-ομάδων που έχουν παραμείνει στο μόριο του πολυμερούς μετά από τη διαδικασία απακετυλίωσής του ($I_{\text{CH}_3}=3$), και το άθροισμα των ολοκληρωμάτων που αντιστοιχούν στα πρωτόνια της γλυκοζαμινικής δομής ($I_{\text{H}_2-\text{H}_6}=64.67$) που υπάρχει σε αυτό. Αυτές τις πληροφορίες τις λαμβάνεις από τη μελέτη του φάσματος NMR της χιτοζάνης που μελετάται κάθε φορά.²¹

Το φάσμα της χιτοζάνης που χρησιμοποιήθηκε σε αυτή την εργασία είναι το εξής



Εικόνα 32 : Φάσμα ¹H NMR της χιτοζάνης

Έτσι, ο βαθμός απακετυλίωσης της χιτοζάνης που χρησιμοποιήθηκε προσεγγίζει το 90,7%, ποσοστό που συμφωνεί με αυτό που αναφέρεται βιβλιογραφικά.

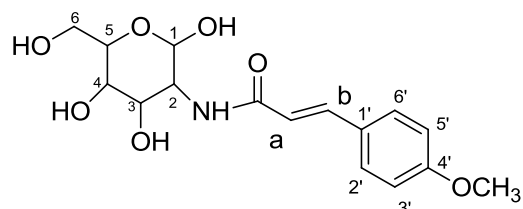
3.ΧΗΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗΣ

3.1. ΧΗΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗΣ ΜΕ

ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΟΞΕΑ- ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ 1

Κατά τη μέθοδο αυτή, κατάλληλη ποσότητα φαινολικού οξέος μαζί με κατάλληλη ποσότητα DCC (αναλογία 1:1) διαλύονται σε αιθανόλη, και το διάλυμα αναδεύεται υπό ψύξη για 20 λεπτά. Στη συνέχεια, σε αυτό προστίθεται ένα μίγμα που αποτελείται από συγκεκριμένη ποσότητα γλυκοζαμίνης, μεθανόλη, DMSO και τριαιθυλαμίνη και ακολουθεί ανάδευση υπό ψύξη overnight. Μετά το πέρας της αντίδρασης, το μίγμα αφήνεται σε ηρεμία προς καταβύθιση της δικυκλοεξυλουρίας που σχηματίζεται ως παραπροϊόν και στη συνέχεια διηθείται υπό κενό και εκπλένεται με όξινο ανθρακικό νάτριο προς πλήρη απομάκρυνση της ουρίας. Ακολουθεί εκχύλιση με διαιθυλαιθέρα, ξήρανση και εξάτμιση υπό κενό του οργανικού μίγματος, προς παραλαβή του τελικού στερεού προϊόντος.

3.1.1.(E)-3-(4-μεθοξυφαινυλ)-N-(2,4,5-τριυδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-3-υλ)ακρυλαμίδιο (μέθοδος 1)



Η ένωση σχηματίζεται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Συγκεκριμένα, 1,4 mmol (249,5 mg) παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος διαλύονται σε 3 ml αιθανόλης, και ταυτόχρονα προστίθενται

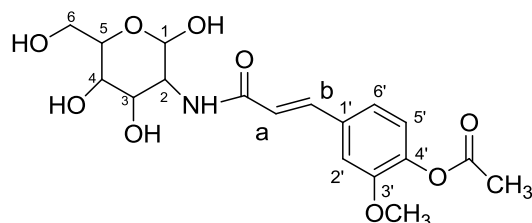
1,4 mmol (288,8 mg) DCC. Το μίγμα αναδεύεται υπό ψύξη για 20 λεπτά. Στο μίγμα αυτό, έπειτα γίνεται προσθήκη 1,4 mmol (300 mg) γλυκοζαμίνης σε 5 ml μεθανόλης, 4 ml DMSO και 2 ml τριαιθυλαμίνης. Η επεξεργασία του μίγματος γίνεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο και το τελικό προϊόν παραλαμβάνεται σε μορφή λευκού στερεού.

Απόδοση: 40%

$^1\text{H NMR}$ (600MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}$): δ (ppm) 7.99 (s, 1H, NHC=O), 7.64 (d, $J=15.6$ Hz, 1H, H-a), 7.46 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, Ar-H), 6.89 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, Ar-H), 6.30 (d, $J=15.6$ Hz, 1H, H-b), 4.22 (s, 1H, H-1), 3.81 (s, 3H, OCH_3), 3.77 (br, 2H, H-6), 2.93 (s, 3H, sugar-H), 2.86 (s, 3H, sugar-H)

FTIR : 3325 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ N-H, 3260 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ O-H, 2929 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ C-H, 1700 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ O=CNH, 1644 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ C=C, 1024 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ C-O, 1230 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ C-N

3.1.2.2-μεθοξυ-4-((E)-3-οξο-3-((-2,4,5-τριυδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδροξυ-2H-πυρανο-3-υλ)αμινο)προπ-1-εν-1-υλ)οξικός φαινυλεστέρας (μέθοδος 1)



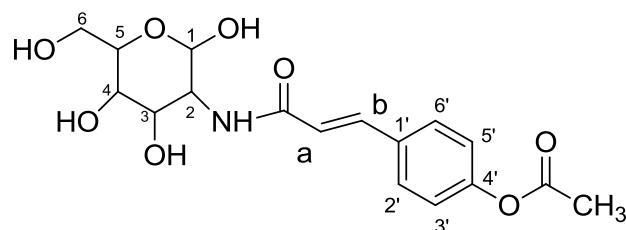
Η ένωση σχηματίζεται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Επομένως, 0,88 mmol (207 mg) προστατευμένου φερουλικού οξέος (η υδροξυλομάδα έχει αντικατασταθεί από ακετυλομάδα)

διαλύονται σε 4 ml αιθανόλης, και ταυτόχρονα προστίθενται 0,88 mmol (189 mg) DCC. Το μίγμα αναδεύεται υπό ψύξη για 20 λεπτά. Στο μίγμα αυτό, έπειτα γίνεται προσθήκη 0,93 mmol (200 mg) γλυκοζαμίνης σε 7 ml μεθανόλης, 1,4 ml DMSO και 0,4 ml τριαιθυλαμίνης. Η επεξεργασία του μίγματος γίνεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο και τελικά το προϊόν παραλαμβάνεται σε στερεή μορφή.

Απόδοση: 35%

¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 8.58 (d, J=7.8 Hz, 1H, Ar-H), 7.69 (d, J=15 Hz, 1H, H-a), 7.48 (s, 1H, NH=CO), 7.32 (dd, J=13.8Hz, 2H, Ar-H), 6.88 (d, J=15.6 Hz, 1H, H-b), 5.73 (d, J=7.8 Hz, 1H, H-1), 4.27 (t, J=15 Hz, 2H, H-6) 4.01 (d, J=8.4 Hz, 1H, H-5), 3.96 (s, 3H, OCH₃-3'), 3.74 (br, 2H, sugar-H), 3.56 (m, 1H, sugar-H), 2.43 (s, 3H, CH₃-4')

3.1.3.4-((E)-3-οξο-((-2,4,5-τριυδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-3-υλ)αμινο)προπ-1-εν-1-υλ)οξικός φαινυλεστέρας (μέθοδος 1)



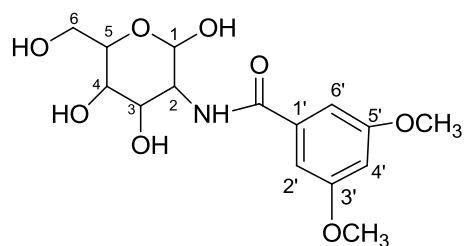
Η ένωση σχηματίζεται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Πιο συγκεκριμένα, 0,93 mmol (152,5 mg) προστατευμένου παραυδροξυ κινναμικού οξέος (η

υδροξυλομάδα έχει αντικατασταθεί από ακετυλομάδα) διαλύονται σε 4 ml αιθανόλης, και ταυτόχρονα προστίθενται 0,93 mmol (191,8 mg) DCC. Το μίγμα αναδεύεται υπό ψύξη για 20 λεπτά. Στο μίγμα αυτό, έπειτα, γίνεται προσθήκη 0,93 mmol (200 mg) γλυκοζαμίνης σε 7 ml μεθανόλης, 1,4 ml DMSO και 0,4 ml τριαιθυλαμίνης. Η επεξεργασία του μίγματος γίνεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο και το προϊόν παραλαμβάνεται ως στερεή σκόνη.

Απόδοση: 37 %

$^1\text{H NMR}$ (600MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 8.37 (br, 6H), 8.32 (br, 2H), 8.28 (s, 1H, $\text{NH}\text{C}=\text{O}$), 7.58-6.75 (m, Ar-H), 6.63 (br, 4H), 3.99 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, sugar-H) 2.35 (s, 3H, OCH_3)

3.1.4.3,5-διμεθοξυ-N-((-2,4,5-τριυδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-3-υλ)βενζαμίδιο (μέθοδος 1)



Το αμίδιο αυτό συνθέθηκε ακολουθώντας τη γενική μέθοδο. Επομένως, 1,4 mmol (255 mg) 3,5 διμεθοξυβενζοϊκού οξέος διαλύονται σε 3 ml αιθανόλης, και ταυτόχρονα προστίθενται 1,4 mmol (288 mg) DCC. Το μίγμα αναδεύεται υπό

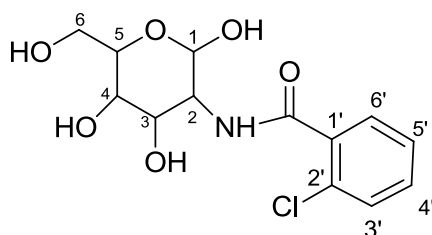
ψύξη για 20 λεπτά. Στο μίγμα αυτό, έπειτα γίνεται προσθήκη 1,4 mmol (300 mg) γλυκοζαμίνης σε 12 ml μεθανόλης, 4 ml DMSO και 2 ml τριαιθυλαμίνης. Η επεξεργασία του μίγματος γίνεται σύμφωνα με τη γενική μέθοδο και το προϊόν παραλαμβάνεται σε στερεή μορφή.

Απόδοση: 40 %

$^1\text{H NMR}$ (600MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 7.75 (br, 1H, $\text{NH}\underline{\text{C}}=\text{O}$), 7.04 (s, 1H, Ar-H), 7.02 (d, J=8.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.89 (d, J=7.8 Hz, 1H, Ar-H), 5.53 (d, J=7.8 Hz, 1H, H-1), 4.11 (br, 2H, H-6), 3.71 (d, J=15 Hz, 6H, $2\times\text{OCH}_3$ -3',5') 3.13 (s, 8H, sugar-H)

3.2. ΧΗΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗΣ ΜΕ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΟΞΕΑ-ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ 2

3.2.1.2-χλωρο-N-(2,,5-τριυδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-3-υλ)βενζαμίδιο (μέθοδος 2)



Η μέθοδος αυτή ακολουθεί τις αρχές της παραπάνω γενικής μεθόδου 1, με μοναδική διαφορά την αντικατάσταση του DCC με EDC. Το νέο αντιδραστήριο επιδρά στο μηχανισμό της αντίδρασης με τον ίδιο τρόπο, ενεργοποιώντας το καρβοξυλικό οξύ. Η αλλαγή αυτή επιχειρήθηκε λόγω δυσκολίας απομάκρυνσης από το τελικό προϊόν, της δικυκλοεξουρίας που σχηματίζεται ως παραπροϊόν, αδιάλυτο στο νερό, κατά τη χρήση του DCC.

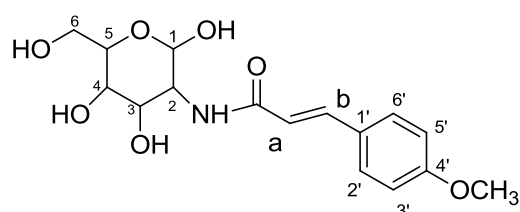
Πιο συγκεκριμένα για τη σύνθεση της ένωσης χρησιμοποιήθηκαν 1,4 mmol (219 mg) 2-χλωροβενζοϊκού οξέος διαλυμένα σε 3 ml αιθανόλης, ενώ ταυτόχρονα προστέθηκαν 1,4 mmol (268.4 mg) EDC. Μετά από ανάδευση υπό ψύξη για 20 λεπτά, γίνεται προσθήκη 1,4 mmol (300 mg) γλυκοζαμίνης σε 15 ml μεθανόλης, 4 ml DMSO και 2 ml τριαιθυλαμίνης. Έπειτα από ανάδευση υπό ψύξη overnight, η επεξεργασία του μίγματος προς παραλαβή του προϊόντος περιλαμβάνει εκχύλιση με διαιθυλαιθέρα, ξήρανση και εξάτμιση της οργανικής φάσης προς απομάκρυνση των διαλυτών και παραλαβή του προϊόντος ως στερεά ένωση.

Απόδοση: 20%

$^1\text{H NMR}$ (600MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 9.29 (s, 1H) 8.17 (br, 1H, $\text{NH}\underline{\text{C}}=\text{O}$), 7.95 - 7.87 (m, Ar-H), 4.71 (s, 1H, H-1), 4.24 (s, 1H, H-5), 3.97 - 3.52 (s, sugar-H)

3.3. ΧΗΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗΣ ΜΕ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΟΞΕΑ- ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ 3

3.3.1.(E)-3-(4-μεθοξυφαινυλο)-N-(2,4,5-τριυδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυραν-3-υλ)ακρυλαμίδιο (μέθοδος 3)



Σε αυτή τη μέθοδο, αρχικά πραγματοποιείται η σύνθεση ενός χλωριδίου μέσω ανάμειξης 1,68 mmol (300 mg) παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος, με 0,489 ml θειονυλοχλωριδίου (αναλογία 1:4) με διαλύτη 5 ml τολουόλιο για 45 λεπτά στους 90 °C με τη βοήθεια κάθετου ψυκτήρα. Μετά από εξάτμιση υπό κενό, το χλωρίδιο αυτό, που αποτελεί μία ασταθής ένωση με μία ευκόλως αποχωρούσα ομάδα στο μόριο της, παραλαμβάνεται με μορφή στερεού και προστίθεται απευθείας σε μίγμα που περιλαμβάνει 1,48 mmol γλυκοζαμίνης (319,1 mg) και υδατικού διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου (372,15 mg όξινου ανθρακικού νατρίου σε 5 ml απιονισμένου νερού). Ακολουθεί ανάδευση overnight σε θερμοκρασία δωματίου, και στη συνέχεια, μετά το πέρας της αντίδρασης, το μίγμα εκχυλίζεται από διάλυμα τετραυδροφουράνιο (THF)- οξικό αιθυλεστέρα αναλογίας 7:3. Η οργανική φάση ξηραίνεται και εξατμίζεται προς παραλαβή του τελικού προϊόντος σε στερεά μορφή. Ακολουθεί ανακρυστάλλωση του προϊόντος με αιθανόλη για περαιτέρω καθαρισμό και παραλαβή του επιθυμητού αμιδίου σε στερεή μορφή.

. Απόδοση: 30 %

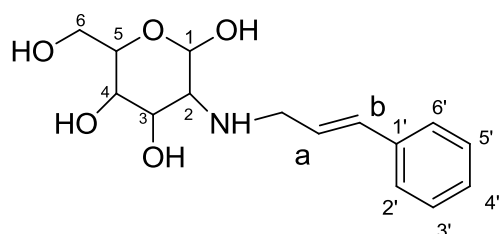
¹H NMR (600Mz, DMSO-d₆): δ (ppm) 7.61 (d, J=8.4 Hz, 2H, Ar-H), 7.50 (d, J=15.6 Mz, 1H, H-a), 6.95 (d, J=8.4 Hz, 2H, Ar-H), 6.39 (d, J=16.2 Mz, 1H, H-b), 5.58 (br, 1H, NH_{C=O}), 5.36 (s, 2H), 4.25 (s, 1H, H-1), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 2.50 (s, 1H, sugar-H), 1.94 (br, 2H, sugar-H), 1.83 (br, 2H, sugar-H), 1.69 (br, 5H, sugar-H)

FTIR : 3395 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ N-H, 2935 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C-H, 1687 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C=O, 1315 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C-O, 1250 cm⁻¹ $\tilde{\nu}$ C-N

3.4.ΧΗΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗΣ ΜΕ ΑΛΟΓΟΝΟΠΑΡΑΓΩΓΑ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ-ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ

Σύμφωνα με αυτή τη μέθοδο, ποσότητα γλυκοζαμίνης και βρωμιδίου σε αναλογία 1:1 αναμειγνύονται σε διάλυμα που περιέχει μεθοξείδιο του νατρίου σε μεθανόλη και το μίγμα αφήνεται σε ανάδευση overnight. Μετά το πέρας της αντίδρασης ακολουθεί εξάτμιση με σκοπό την απομάκρυνση της μεθανόλης. Το μίγμα έπειτα οξινίζεται υπό ψύξη με μικρή ποσότητα διαλύματος υδροχλωρίου 10% περιεκτικότητας, και τελικά το προϊόν παραλαμβάνεται μετά από εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα, εξάτμιση και ξήρανση.

3.4.1.3-(κινναμυλαμινο)-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-2,4,5-τριόλη



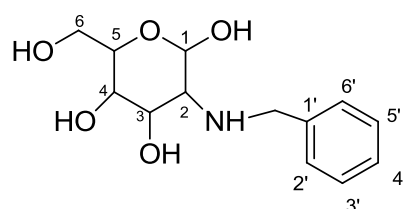
Η ένωση σχηματίζεται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Συγκεκριμένα, 1,4 mmol (300 mg) γλυκοζαμίνης και 1,4 mmol (275 mg) βρωμιούχου κινναμυλίου,

αναμειγνύονται overnight σε διάλυμα που αποτελείται από 39 mg Na σε 15 ml μεθανόλης. Ακολουθεί η επεξεργασία του μίγματος με τα βήματα που περιγράφει η γενική μέθοδος και η παραλαβή του επιθυμητού προϊόντος.

Απόδοση: 60% (περίσσεια βρωμιδίου)

$^1\text{H NMR}$ (600Mz, $\text{CDCl}_3\text{-d}$): δ (ppm) 9.66 (s, 1H, NH), 8.01 (s, 1H), 7.66 -7.40 (m, Ar-H), 6.72 (d, $J=15.6$ Mz, 1H, H-b), 6.39 (br, 1H, H-a), 4.00 - 3.30 (m, sugar-H), 2.95 (s, 2H, OH), 2.88 (s, 2H, OH)

3.4.2.3-(βενζυλαμινο)-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-2,4,5-τριόλη



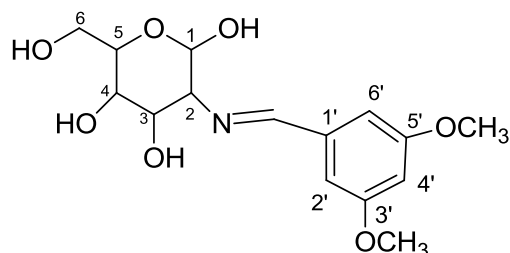
Η ένωση σχηματίζεται σύμφωνα με την παραπάνω γενική μέθοδο. Συγκεκριμένα, 0,93 mmol (200 mg) γλυκοζαμίνης και 0,93 mmol (0,11 ml) βενζυλοβρωμίδιο, αναμειγνύονται overnight σε διάλυμα που αποτελείται από 26 mg Na σε 10 ml

μεθανόλης. Ακολουθεί η παραλαβή του προϊόντος μετά από την επεξεργασία που περιγράφεται στην γενική μέθοδο, με τη μορφή ελαίου.

Απόδοση: 65% (περίσσεια βρωμιδίου)

3.5. ΧΗΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗΣ ΜΕ ΑΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΑΛΔΕΥΔΕΣ -ΜΕΘΟΔΟΣ 1

3.5.1.(E)-3-((3,5-διμεθοξυβενζυλιδενο)αμινο)-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H- πυρανο-2,4,5-τριόλη



Στη μέθοδο αυτή, 1,39 mmol (300 mg) γλυκοζαμίνης και 55 mg καυστικού νατρίου διαλύονται σε 4ml μεθανόλης. Μετά από 15 λεπτά ανάδευσης σε ξηρές συνθήκες, το μίγμα διηθείται υπό κενό προς απομάκρυνση του χλωριούχου νατρίου, του

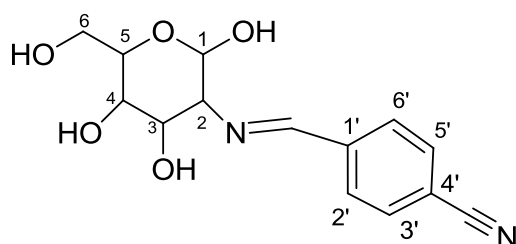
άλατος που έχει σχηματιστεί ως παραπροϊόν. Στο διήθημα, προστίθεται 1,39 mmol (230 mg) 3,5-διμεθοξυβενζαλδεΐδης (σε αναλογία 1:1 με τη γλυκοζαμίνη), αφού πρώτα έχει διαλυθεί σε 2ml μεθανόλης. Το μίγμα αναδεύεται για 1 ώρα στους 35°C με τη βοήθεια κάθετου ψυκτήρα, παρουσιάζοντας ένα σκούρο κόκκινο χρώμα, και στη συνέχεια στους 70°C για μισή ώρα, παρουσιάζοντας μαύρο χρώμα. Κατά την επεξεργασία του μίγματος, γίνεται εκχύλιση του με οξικό αιθυλεστέρα, ξήρανση και εξάτμιση της οργανικής φάσης και τελικά παραλαβή του προϊόντος.

Απόδοση: 58% (περίσσεια αλδεΐδης)

$^1\text{H NMR}$ (600Mz, DMSO-d₆): δ (ppm) 7.07 (s, 1H, N=CH-Ar), 6.83 (br, 1H, H-1), 6.42-6.60 (m, 3H, Ar-H), 3.82 (s, 3H, OCH₃), 3.71 (s, 3H, OCH₃), 3.30-3.80 (m, sugar-H)

3.6. ΧΗΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗΣ ΜΕ ΑΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΑΛΔΕΥΔΕΣ -ΜΕΘΟΔΟΣ 2

3.6.1.(E)-4-(((2,4,5-τριυδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-3-υλ)αμινο)μεθυλο)βενζονιτρίλιο



1,39 mmol (300 mg) γλυκοζαμίνης
διαλύονται σε 10 ml μεθανόλης, όπου και
προστίθονται 1,39 mmol (182 mg) 4-
κυανοβενζαλδεΐδης (αναλογία 1:1) και
1,39 mmol (139 mg) όξινου ανθρακικού

καλίου. Το μίγμα αναδεύεται για 3-4 ώρες στους 60-70 °C με τη βοήθεια κάθετου ψυκτήρα. Μετά το πέρας της αντίδρασης το μίγμα διηθείται προς απομάκρυνση του σχηματιζόμενου KCl, και το διήθημα εξατμίζεται προς απομάκρυνση του διαλύτη. Το τελικό προϊόν παραλαμβάνεται σε μορφή πορτοκαλί στερεού.

Απόδοση: 42% (περίσσεια αλδεΐδης)

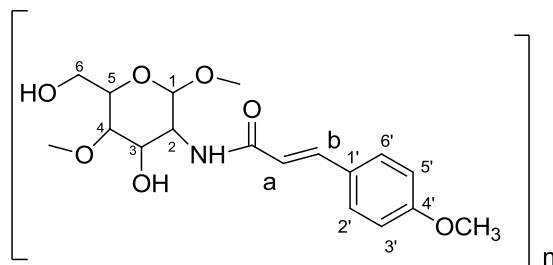
¹H NMR (600Mz, DMSO-d₆): δ (ppm) 8.29 (s, 1H, N=CH-Ar), 7.92 (m, , 4H, Ar-H), 4,11-4,90 (br, -OH), 3.16-3.80 (m, sugar-H),

4.ΧΗΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ

4.1.ΧΗΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ ΜΕ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΟΞΕΑ-ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, κατάλληλη ποσότητα χιτοζάνης διαλύεται σε διάλυμα οξικού οξέος περιεκτικότητας 1%, και το διάλυμα αφήνεται σε ανάδευση για 24 ώρες. Εάν δεν επέλθει πλήρης διάλυση της χιτοζάνης, το μίγμα φιλτράρεται για απομάκρυνση τυχόν υπολειμμάτων. Στη συνέχεια, στο μίγμα προστίθεται μεθανόλη, κατάλληλη ποσότητα παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος, και διαλύματος EDC, πάντα σε αναλογία 1:1 με το οξύ, σε μεθανόλη. Μετά από overnight ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου, στο μίγμα προστίθεται διάλυμα μεθανόλης- αμμωνίας αναλογίας 7:3 και ακολουθεί ανάδευση για 1 ώρα και ψύξη. Η μορφή γέλης που έχει το μίγμα, μετατρέπεται σε στερεό μετά από διήθηση υπό κενό και πλύσεις με απιονισμένο νερό, μεθανόλη και διαιθυλαιθέρα.

4.1.1.Αμίδιο χιτοζάνης/παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος αναλογίας 2:1

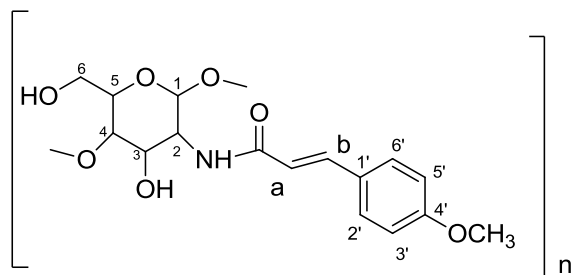


Ακολουθώντας τη γενική μέθοδο, 300 mg χιτοζάνης διαλύονται σε 30 ml διαλύματος οξικού οξέος 1/aq και μετά από ανάδευση overnight, στο μίγμα πραγματοποιείται προσθήκη 0,10 mmol παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος (19,6

mg), μαζί με 25,5 ml μεθανόλης και διάλυμα που παρασκευάζεται με διάλυση 0,10 mmol (21,1 mg) EDC σε 5 ml μεθανόλης. Μετά από ανάδευση overnight, προστίθεται στο παραπάνω μίγμα διάλυμα μεθανόλης-αμμωνίας όγκου 60 ml και αναλογίας 7:3. Ακολουθούν τα βήματα επεξεργασίας που περιγράφονται παραπάνω, στην ανάλυση της γενικής μεθόδου. Έτσι λαμβάνεται το τελικό προϊόν με την μορφή λευκού στερεού.

FTIR : 3466 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ O-H και N-H, 2920 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ C-H, 1651 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ C-N και N-H, 1018 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ C-O, 727 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ aromatic C-H

4.1.2.Αμίδιο χιτοζάνης/παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος αναλογίας 1:1



Ακολουθώντας τη γενική μέθοδο, 200 mg χιτοζάνης διαλύονται σε 20 ml διαλύματος οξικού οξέος 1/aq. Μετά από ανάδευση overnight, πραγματοποιείται φιλτράρισμα του μίγματος και προστίθενται 0,131 mmol

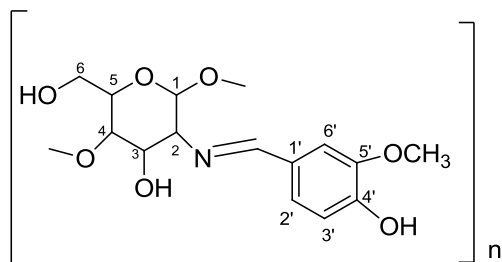
παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος (23,3 mg), μαζί με 20 ml μεθανόλης και διάλυμα που παρασκευάζεται με διάλυση 0,131 mmol (25,1 mg) EDC σε 6 ml μεθανόλης. Μετά από ανάδευση overnight, προστίθεται στο παραπάνω μίγμα, διάλυμα που αποτελείται από 35 ml μεθανόλη και 15 ml αμμωνία, και έπειτα ακολουθεί ανάδευση υπό ψύξη για μία ώρα. Το μίγμα επεξεργάζεται όπως ορίζει η γενική μέθοδος και λαμβάνεται το τελικό προϊόν με την μορφή λευκού στερεού.

FTIR : 3475 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ O-H και N-H, 2918 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ C-H, 1651 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ C-N και N-H, 1076 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ C-O, 618 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ aromatic C-H

4.2.ΧΗΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ ΜΕ ΑΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΑΛΔΕΥΔΕΣ- ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ

Χρησιμοποιώντας τη μέθοδο αυτή συνθέτονται οι βάσεις του Schiff, οι οποίες δεν παρουσιάζουν τη μορφή στερεού προϊόντος αλλά γέλης. Αρχικά, η χιτοζάνη αναδεύεται με διάλυμα οξικού οξέος 0,7% και ακολουθεί η προσθήκη συγκεκριμένης ποσότητας αλδεΐδης διαλυμένη σε κατάλληλο διαλύτη (ακετόνη, αιθανόλη ή τολουόλιο). Μετά από ανάδευση overnight στους 70 °C με τη βοήθεια κάθετου ψυκτήρα, το μίγμα συμπυκνώνεται προς απομάκρυνση των διαλυτών, και το προϊόν παραλαμβάνεται μετά από πλύσεις με απιονισμένο νερό, αιθανόλη, διχλωρομεθάνιο και εξάνιο.

4.2.1.Ιμίνη χιτοζάνης/βανιλίνης αναλογίας 1:1 (βάσεις του Schiff)

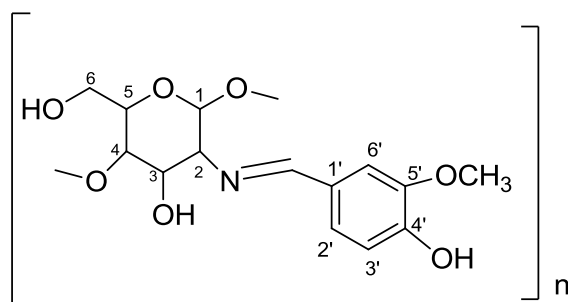


Σύμφωνα με τη γενική μέθοδο, 100 mg χιτοζάνης διαλύονται σε 5 ml διαλύματος οξικού οξέος 0,7%, και στο μίγμα προστίθενται 0,065 mmol (9,97 mg) 4-υδροξυ-3-μεθυλοβενζαλδεΐδης (βανιλίνης) διαλυμένα σε 0,2 ml ακετόνη. Τελικά το

προϊόν παραλαμβάνεται με τη μορφή κίτρινου φιλμ (80,2 mg) μετά από την επεξεργασία που ορίζει η γενική μέθοδος.

FTIR : 3500 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ O-H και N-H, 1643 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ C=N και N-H, 1110 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ C-O, 618 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ aromatic C-H

4.2.2. Ιμίνη χιτοζάνης/βανιλίνης αναλογίας 1:1 (βάσεις του Schiff)

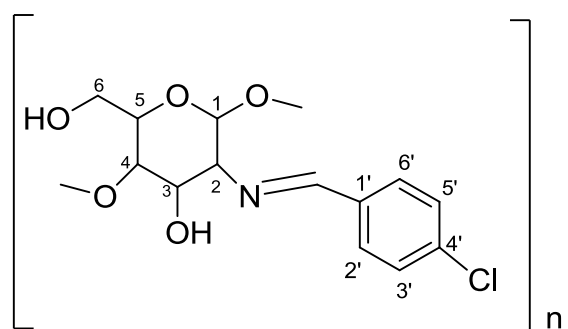


Σύμφωνα με τη γενική μέθοδο τροποποίησης της χιτοζάνης με αρωματικές αλδεΐδες, 100 mg χιτοζάνης διαλύονται σε 5 ml διαλύματος οξικού οξέος 0,7%, και στο μίγμα προστίθενται 0,065 mmol (9,97

mg) 4-υδροξυ-3-μεθυλοβενζαλδεΐδης (βανιλίνης) διαλυμένα σε 0,5 ml τολουόλιο. Το προϊόν παραλαμβάνεται με τη μορφή κίτρινου φιλμ (123,3 mg) αφού επεξεργαστεί καταλλήλως όπως ορίζει η γενική μέθοδος.

FTIR : 3432 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ O-H και N-H, 2879 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ C-H, 1643 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ C=N και N-H, 1072 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ C-O, 649 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ aromatic C-H

4.2.3. Ιμίνη χιτοζάνης/χλωροβενζαλδεΐδης αναλογίας 1:1 (βάσεις του Schiff)



Σύμφωνα με τη γενική μέθοδο τροποποίησης της χιτοζάνης με αρωματικές αλδεΐδες, 300 mg χιτοζάνης διαλύονται σε 15 ml διαλύματος οξικού οξέος 5%, και στο μίγμα προστίθενται 0,197 mmol (27,7 mg) 4-χλωροβενζαλδεΐδης διαλυμένα

σε 1 ml αιθανόλης. Το προϊόν παραλαμβάνεται με τη μορφή κίτρινου φιλμ (50,3 mg) μετά από επεξεργασία όπως ορίζει η γενική μέθοδος.

FTIR : 3441 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ O-H και N-H, 2920 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ C-H, 1629 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ C-N και N-H, 1111 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ C-O, 602 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ aromatic C-H

ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΑΜΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΙΜΙΝΩΝ

1. Φασματισκοπία Πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR)

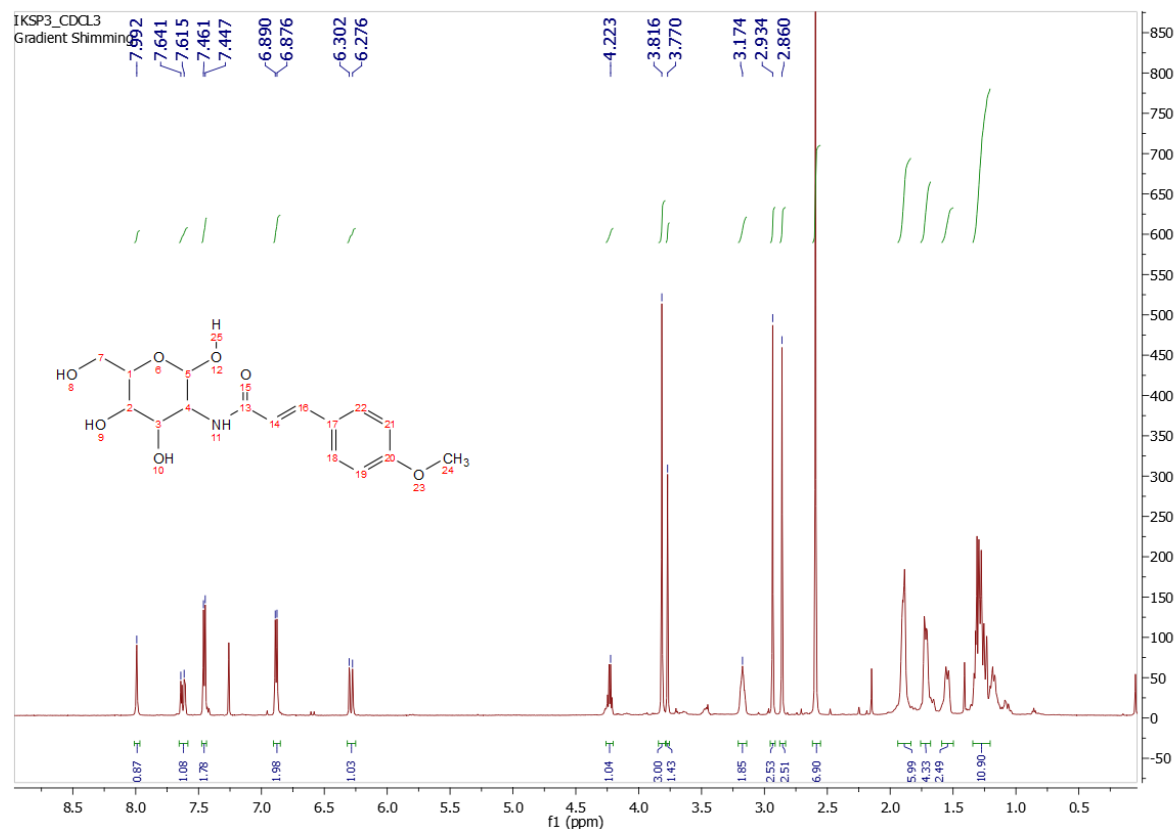
Κάθε πυρήνας αποτελείται από πρωτόνια και νετρόνια, τα οποία έχουν spin. Ο συνολικός πυρηνικός κβαντικός αριθμός I spin αποτελεί μία χαρακτηριστική σταθερά για κάθε άτομο και εκφράζει τη γωνιακή στροφορμή του αυτοπεριστρεφόμενου πυρήνα, παίρνοντας τιμές 0, 1/2, 2/2, 3/2, κ.ο.κ.

Οι πυρήνες σε ένα μαγνητικό πεδίο απορροφούν και επανεκπέμπουν ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία. Αυτή η ενέργεια έχει συγκεκριμένη συχνότητα συντονισμού που εξαρτάται από την ισχύ του μαγνητικού πεδίου και τις μαγνητικές ιδιότητες του ισότοπου των ατόμων. Έτσι μέσω του NMR επιτρέπεται η παρατήρηση ειδικών κβαντικών μαγνητικών ιδιοτήτων του ατομικού πυρήνα και η ανάλυση της δομής ενώσεων, παρατηρώντας και μετρώντας την αλληλεπίδραση των πυρηνικών spin σε ισχυρά μαγνητικό πεδίο.

Τα φάσματα των νέων αμινών και ιμινών που σχηματίστηκαν μέσω της χημικής τροποποίησης της χιτοζάνης και της γλυκοζαμίνης, λήφθηκαν από φασματογράφο NMR Varian Gemini 600.

1.1.Δομή **(E)-3-(4-μεθοξυφαινυλο)-N-(2,4,5-τριυδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-3-υλ)ακρυλαμίδιο (μέθοδος 1)**

Στην παρακάτω εικόνα φαίνεται το φάσμα ^1H NMR του αμιδίου, που προέκυψε από την χημική τροποποίηση της γλυκοζαμίνης με το παρα-μεθόξυ κινναμικό οξύ σε διαλύτη δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3).



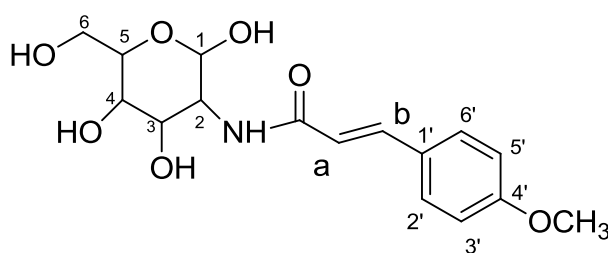
Εικόνα 33: Φάσμα ^1H NMR **(E)-3-(4-μεθοξυφαινυλο)-N-(2,4,5-τριυδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-3-υλ)ακρυλαμίδιο (μέθοδος 1)**

Αναλυτικά, στα χαμηλότερα πεδία του φάσματος και στα 7.99 ppm παρουσιάζεται μία απλή κορυφή που ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχεί στο πρωτόνιο που ενώνεται με το άζωτο με απλό δεσμό (NHC=O), επιβεβαιώνοντας έτσι την δημιουργία του αμιδικού δεσμού ανάμεσα στην γλυκοζαμίνη και το παρα-μεθόξυ κινναμικό οξύ. Στη συνέχεια, στην αρωματική περιοχή του φάσματος στα 7.44 και 6.87 ppm παρουσιάζονται δύο διπλές κορυφές, που ολοκληρώνουν για δύο πρωτόνια η καθεμία. Αυτά είναι τα αρωματικά πρωτόνια της ένωσης, που προκύπτουν από τη συνεισφορά του οξέος και επιβεβαιώνουν την παρα-υποκατάσταση του αρωματικού δακτυλίου. Στα 7.64 και στα 6.30 ppm οι δύο διπλές κορυφές που ολοκληρώνουν για ένα πρωτόνιο η καθεμία αντιστοιχούν στα πρωτόνια του διπλού δεσμού της trans

γεωμετρίας της ένωσης (θέση a και b) και έχουν ως χαρακτηριστικό τους τη μεγάλη σταθερά σύζευξης (15,6 και 16,2 Hz). Στα 4.22 ppm η απλή κορυφή που ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο, αναφέρεται στο ανωμερικό πρωτόνιο της θέσης 1 του γλυκοζαμινικού μέρους του προϊόντος, ενώ στα 3.82 ppm αποδεικνύεται η ύπαρξη των τριών πρωτονίων της μέθοξυ ομάδας της θέσης 4' .

Ακόμη, στα 3.77 ppm, η ευρεία κορυφή που ολοκληρώνει για δύο πρωτόνια αντιστοιχεί στο οξυγονωμένο μεθυλένιο της θέσης 6. Τέλος, στα 2.93 και στα 2.86 ppm εμφανίζονται τα πρωτόνια των υδροξυλομάδων του αμιδίου που σχηματίστηκε, των οποίων η ύπαρξη οφείλεται στη δομή του σακχάρου.

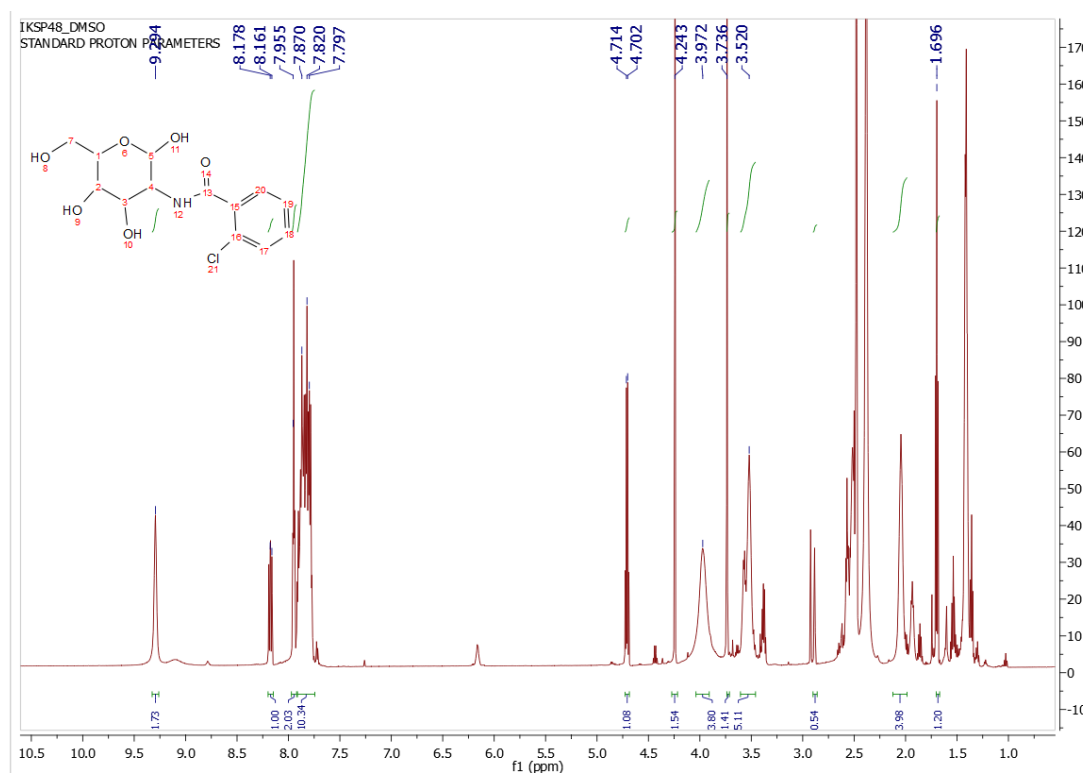
Στο παρακάτω σχήμα φαίνεται η αρίθμηση που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση του φάσματος του αμιδίου που δημιουργήθηκε.



Εικόνα 34: Αρίθμηση δομής (E)-3-(4-μεθοξυφαινυλο)-N-(2,4,5-τριυδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-3-υλ)ακρυλαμίδιο (μέθοδος 1)

1.2. Δομή 2-χλωρο-N-(-2,5-τριυδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-3-υλ)βενζαμίδιο (μέθοδος 2)

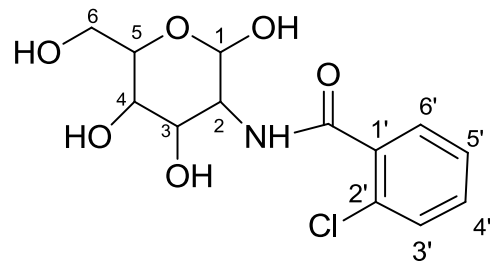
Στην παρακάτω εικόνα φαίνεται το φάσμα ^1H NMR του αμιδίου, που προέκυψε από την χημική τροποποίηση της γλυκοζαμίνης με το 2-χλωροβενζοϊκό οξύ σε αναλογία 1:1 εφαρμόζοντας την μέθοδο 2, σε διαλύτη δευτεριωμένο διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO-d₆).



Εικόνα 35: Φάσμα ^1H NMR 2-χλωρο-N-(-2,5-τριυδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-3-υλ)βενζαμίδιο (μέθοδος 2)

Στο παραπάνω φάσμα, η ευρεία κορυφή στα 8.18 ppm που ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο, αντιστοιχεί στο πρωτόνιο του αμιδικού δεσμού. Στα 4.71 ppm απορροφά το ανωμερικό πρωτόνιο του προϊόντος, ενώ οι κορυφές που παρουσιάζονται από τα 3.90 έως τα 3.20 ppm ολοκληρώνουν για τα πρωτόνια του σακχάρου της δομής του νέου αμιδίου που δημιουργήθηκε.

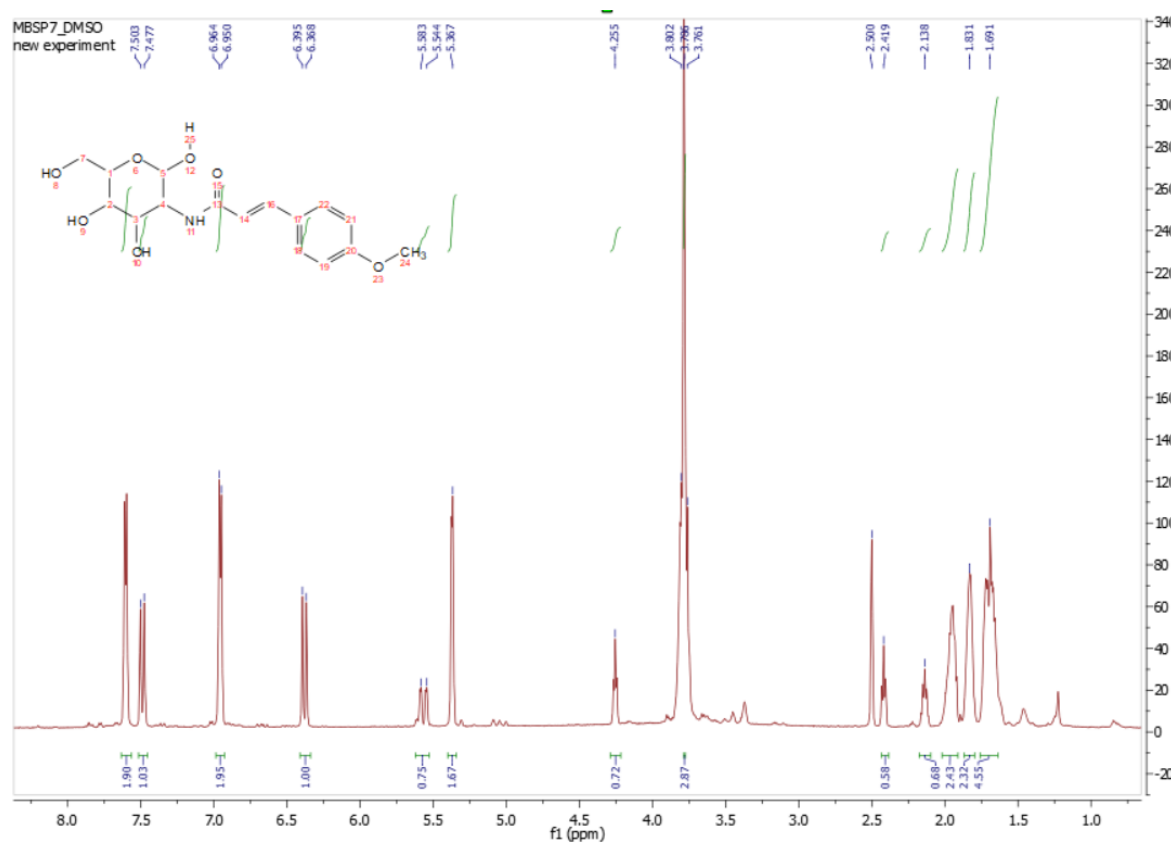
Στο παρακάτω σχήμα φαίνεται η δομή του αμιδίου που δημιουργήθηκε.



Εικόνα 36: Αρίθμηση δομής 2-χλωρο-N-(2,5-τριδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-3-υλ)βενζαμίδιο (μέθοδος 2)

1.3. Δομή (E)-3-(4-μεθοξυφαινυλο)-N-(2,4,5-τριυδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυραν-3-υλ)ακρυλαμίδιο (μέθοδος 3)

Στην παρακάτω εικόνα φαίνεται το φάσμα ^1H NMR της αμίνης, που προέκυψε από την χημική τροποποίηση της γλυκοζαμίνης με παρα-μεθόξυ κινναμικό οξύ σε αναλογία 1:1 εφαρμόζοντας την μέθοδο 3, σε διαλύτη δευτεριωμένο διμέθυλοσουλφοξείδιο DMSO- d_6 .

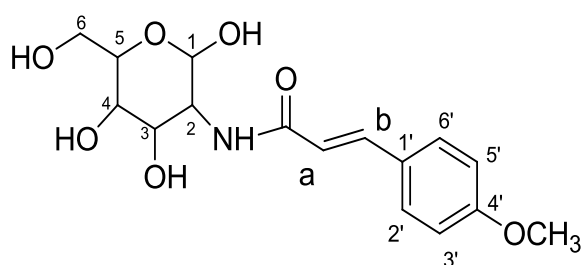


Εικόνα 37: Φάσμα ^1H NMR αμιδίου (E)-3-(4-μεθοξυφαινυλο)-N-(2,4,5-τριυδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυραν-3-υλ)ακρυλαμίδιο (μέθοδος 3)

Στα χαμηλότερα πεδία του φάσματος και συγκεκριμένα, στα 5.583 ppm παρουσιάζεται μία ευρεία κορυφή που ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχεί στο πρωτόνιο που συνδέεται με το άζωτο με απλό δεσμό, επιβεβαιώνοντας την δημιουργία του αμιδικού δεσμού ανάμεσα στην γλυκοζαμίνη και το παρα-μεθόξυ κινναμικό οξύ. Στα 7.50 και 6.96 ppm παρουσιάζονται δύο διπλές κορυφές που η καθεμία ολοκληρώνει για δύο πρωτόνια, που είναι τα αρωματικά πρωτόνια της ένωσης, και επιβεβαιώνεται έτσι η παρα-υποκατάσταση του δακτυλίου. Στα 7.48 και στα 6.39 ppm οι δύο διπλές κορυφές που ολοκληρώνουν για ένα πρωτόνιο η καθεμία

αντιστοιχούν στα πρωτόνια του διπλού δεσμού της trans γεωμετρίας της ένωσης (θέσεις a και b αντίστοιχα). Στα 4.25 ppm η ευρεία κορυφή που ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο, αναφέρεται στο ανωμερικό πρωτόνιο του γλυκοζαμινικού μέρους του προϊόντος (θέση 1), ενώ στα 3.80 ppm αποδεικνύεται η ύπαρξη των τριών πρωτονίων της μέθοξυ ομάδας, με μία απλή κορυφή που ολοκληρώνει για τρία πρωτόνια.

Στο παρακάτω σχήμα φαίνεται η αρίθμηση που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση του φάσματος του αμιδίου που δημιουργήθηκε.

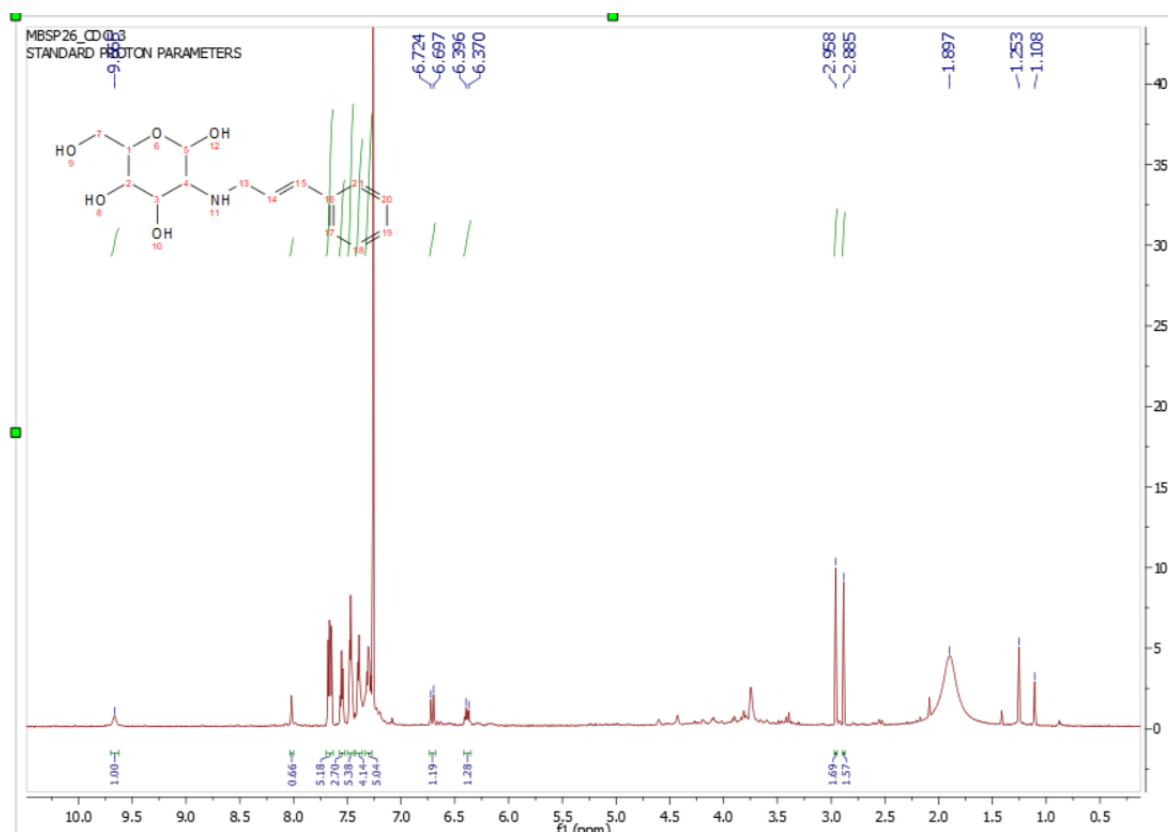


Εικόνα 38: Αρίθμηση δομής (E)-3-(4-μεθοξυφαινυλο)-N-(2,4,5-τριυδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυραν-3-υλ)ακρυλαμίδιο (μέθοδος 3)

Συγκρίνοντας τα φάσματα των νέων αμιδίων που σχηματίστηκαν με διαφορετικές μεθόδους, διαπιστώνουμε πως και στις τρεις περιπτώσεις λήφθηκε το επιθυμητό προϊόν. Κατά τη μέθοδο 1 και 3 τα νέα αμιδικά παράγωγα σχηματίστηκαν σε μεγαλύτερη καθαρότητα και υψηλότερη απόδοση σε σχέση με τη μέθοδο 2, ενώ στο αμιδικό παράγωγο της μεθόδου 1 είναι εμφανής η ύπαρξη της δικυκλοεξυλουρίας στα υψηλά πεδία του φάσματος.

1.4.Δομή 3-(κινναμλαμινο)-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-2,4,5-τριόλη

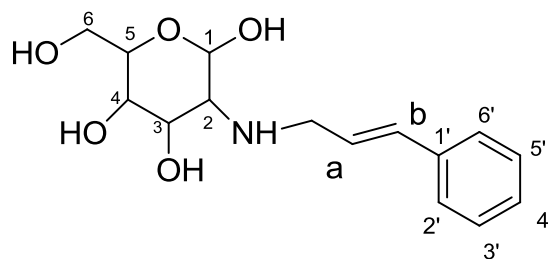
Στην παρακάτω εικόνα φαίνεται το φάσμα ^1H NMR της αμίνης, που προέκυψε από την χημική τροποποίηση της γλυκοζαμίνης με βρωμιούχο κινναμύλιο σε αναλογία 1:1 σε δευτεριωμένο CDCl_3 .



Εικόνα 39: Φάσμα ^1H NMR 3-(κινναμλαμινο)-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-2,4,5-τριόλη

Πιο αναλυτικά, στα ppm παρουσιάζεται μία ευρεία κορυφή που ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχεί στο πρωτόνιο που συνδέεται με το άζωτο με απλό δεσμό, επιβεβαιώνοντας την δημιουργία του δεσμού ανάμεσα στην γλυκοζαμίνη και το βρωμίδιο του κινναμύλιου. Στο εύρος χημικών μετατοπίσεων από 7.75 έως 6.37 ppm εμφανίζονται όλα τα αρωματικά πρωτόνια των θέσεων 2', 3', 4', 5' και 6, ενώ παρατηρείται και η περίσσεια του βρωμιδίου από τις επιπλέον κορυφές στην αρωματική περιοχή και τις υψηλές ολοκληρώσεις. Η απλή ευρεία κορυφή χαμηλής έντασης και ολοκλήρωσης στα 9,65 ppm, επίσης επιβεβαιώνει την περίσσεια της αλδεΐδης στο τελικό προϊόν.

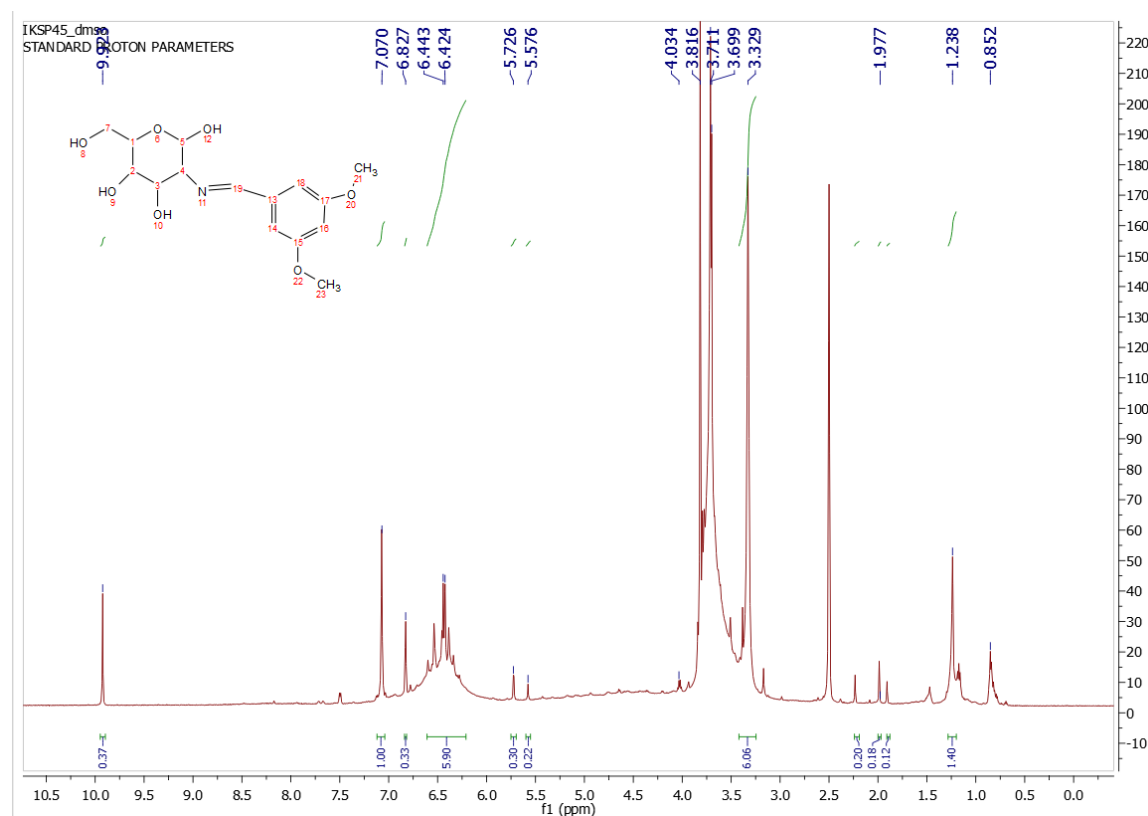
Στο παρακάτω σχήμα φαίνεται η αρίθμηση που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση του φάσματος της ένωσης που δημιουργήθηκε.



Εικόνα 40: Αρίθμηση δομής 3-(κινναμυλαμινο)-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2Η-πυρανο-2,4,5-τριόλη

1.5. Δομή μίνης (E)-3-((3,5-διμεθοξυβενζυλιδενο)αμινο)-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-2,4,5-τριόλη (μέθοδος 1)

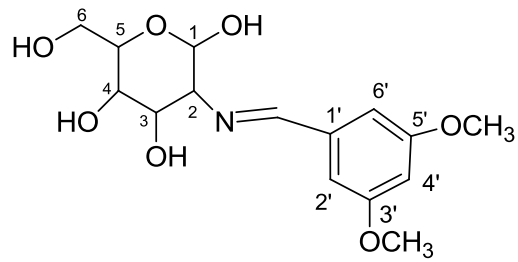
Στην παρακάτω εικόνα φαίνεται το φάσμα ^1H NMR της μίνης, που προέκυψε από την χημική τροποποίηση της γλυκοζαμίνης με τη 3,5 διμεθοξυβενζυλαλδεΰδη σε αναλογία 1:1 εφαρμόζοντας την μέθοδο 1, σε διαλύτη δευτεριωμένο διμέθυλοσουλφοξείδιο DMSO-d₆.



Εικόνα 41: Φάσμα ^1H NMR μίνης (E)-3-((3,5-διμεθοξυβενζυλιδενο)αμινο)-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-2,4,5-τριόλη (μέθοδος 1)

Η κορυφή που εμφανίζεται στα 9.92 ppm οφείλεται σε περίσσεια της αλδεΰδης, Στα χαμηλά πεδία του φάσματος, η απλή κορυφή στα 7.07 ppm αντιστοιχεί στο πρωτόνιο του άνθρακα που συνδέεται με διπλό δεσμό με το άζωτο της γλυκοζαμίνης και επιβεβαιώνει το σχηματισμό της μίνης. Στα 6.83 ppm με μία ευρεία κορυφή απορροφά το ανωμερικό πρωτόνια της θέσης 1 του σακχάρου. Στη συνέχεια, στην αρωματική περιοχή απορροφούν τα τρία πρωτόνια του αρωματικού δακτυλίου του προϊόντος με πολλαπλές κορυφές. Η απλή κορυφή στα 3.33 ppm που ολοκληρώνει για έξι πρωτόνια, οφείλεται σε αυτά των δύο μέθοξυ ομάδων της μίνης.

Για την καλύτερη κατανόηση του φάσματος παραθέεται παρακάτω η δομή της ιμίνης.



Εικόνα 42: Αρίθμηση δομής ιμίνης (E)-3-((3,5-διμεθοξυβενζυλιδενο)αμινο)-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-2,4,5-τριόλη

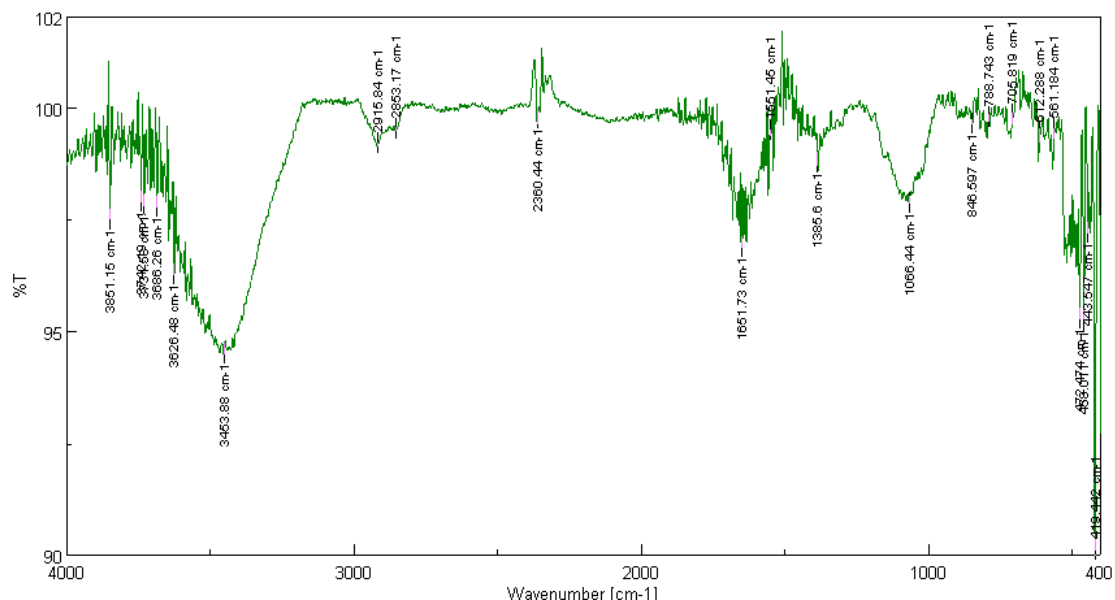
2.Υπέρυθρη φασματοσκοπία (FT-IR)

Η ενέργεια των μορίων οδηγεί στην κίνηση τους και στην δόνηση των δεσμών που παρουσιάζουν στη δομή τους. Τα φάσματα IR αποτελούν μία μορφή έκφρασης των συχνοτήτων που απορροφούνται, συχνότητες που αντιστοιχούν σε καθορισμένες μοριακές κινήσεις, με χρήση κυματαριθμών. Η περιοχή του IR που μας δίνει πολύτιμες πληροφορίες για τις κινήσεις των μορίων και το είδος των δεσμών της ένωσης που εξετάζεται κάθε φορά είναι από τα 4000 cm^{-1} έως τα 400 cm^{-1} .²² Για τη λήψη των φασμάτων IR χρησιμοποιήθηκε ο φασματογράφος JASCO FT/IR 4200 και για τη δημιουργία των δισκίων χρησιμοποιήθηκε βρωμιούχο κάλλιο.

Είναι ανάγκη να αναφερθεί ότι η πλήρης ερμηνεία ενός φάσματος IR είναι δύσκολη, αφού τα οργανικά μόρια εμφανίζουν πολλές μορφές επιμήκυνσης και κάμψης. Έτσι, για να βεβαιωθούμε ότι το μόριο της γλυκοζαμίνης και της χιτοζάνης έχει τροποποιηθεί χημικά, και έχει προστεθεί επιτυχώς σε αυτό η εκάστοτε αρωματική ένωση που χρησιμοποιήθηκε, είναι ανάγκη να εντοπιστεί στο κάθε φάσμα IR η κορυφή που απορροφά ο αμιδικός και ο ιμινικός δεσμός των προϊόντων.

2.1. Μελέτη δομής χιτοζάνης

Προκειμένω να αναλυθούν τα φάσματα των νέων μορίων που προέκυψαν από τη χημική τροποποίηση της χιτοζάνης με προσθήκη φαινολικών οξέων και αλδευδών, παρακάτω παραθέεται το φάσμα της χιτοζάνης.



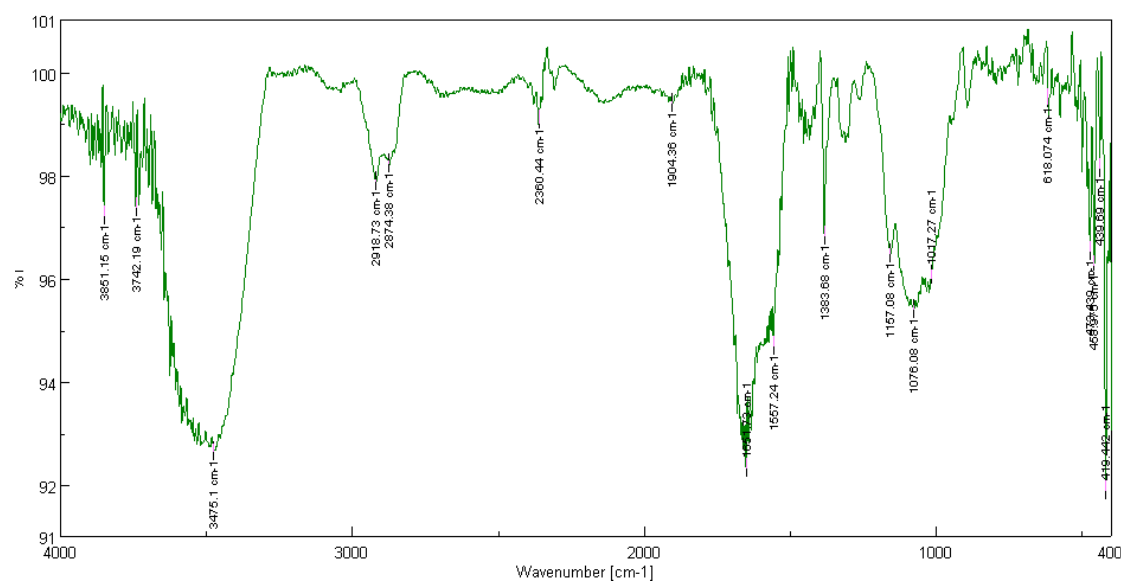
Εικόνα 43: Φάσμα FT-IR της χιτοζάνης

Μία από τις πιο χαρακτηριστικές κορυφές που παρουσιάζονται στο φάσμα της χιτοζάνης εμφανίζεται στα 3253.88 cm^{-1} , και αποδίδεται στη δόνηση τάσης των ομάδων των υδροξυλίων O-H, καθώς και των δευτεροταγών αμινομάδων NH. Οι κορυφές που απορροφούν σε κυματαριθμούς $<3000\text{ cm}^{-1}$ αποδίδονται στη δόνηση τάση αλειφατικών απλών δεσμών CH. Η κορυφή στα 1651.73 cm^{-1} αντιστοιχεί στη δόνηση τάσης αμιδίου, που οφείλεται στην ύπαρξη των μη απακετυλιωμένων μονομερών της δομής της χιτοζάνης. Τέλος, η κορυφή του φάσματος που σημειώνεται στα 1066.44 cm^{-1} αποδίδεται στη δόνηση τάσης των ομάδων C-O των μορίων της γλυκοζαμίνης που συναντώνται στη δομή της.

2.2. Μελέτη δομής αμιδίων χιτοζάνης/φαινολικών οξέων – Γενική Μέθοδος

Τα αμίδια που συντέθηκαν με αυτή τη μέθοδο, δημιουργήθηκαν με την εμφάνιση αμιδικού δεσμού ανάμεσα στα μόρια της γλυκοζαμίνης από τα οποία αποτελείται η χιτοζάνη, και στα μόρια των φαινολικών οξέων .

Το φάσμα της αμίνης της χιτοζάνης και του παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος που σχηματίστηκε ακολουθώντας τη γενική μέθοδο, με φιλτράρισμα, είναι το εξής:



Εικόνα 44: Φάσμα FT-IR του αμιδίου χιτοζάνης / παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος αναλογίας 1:1

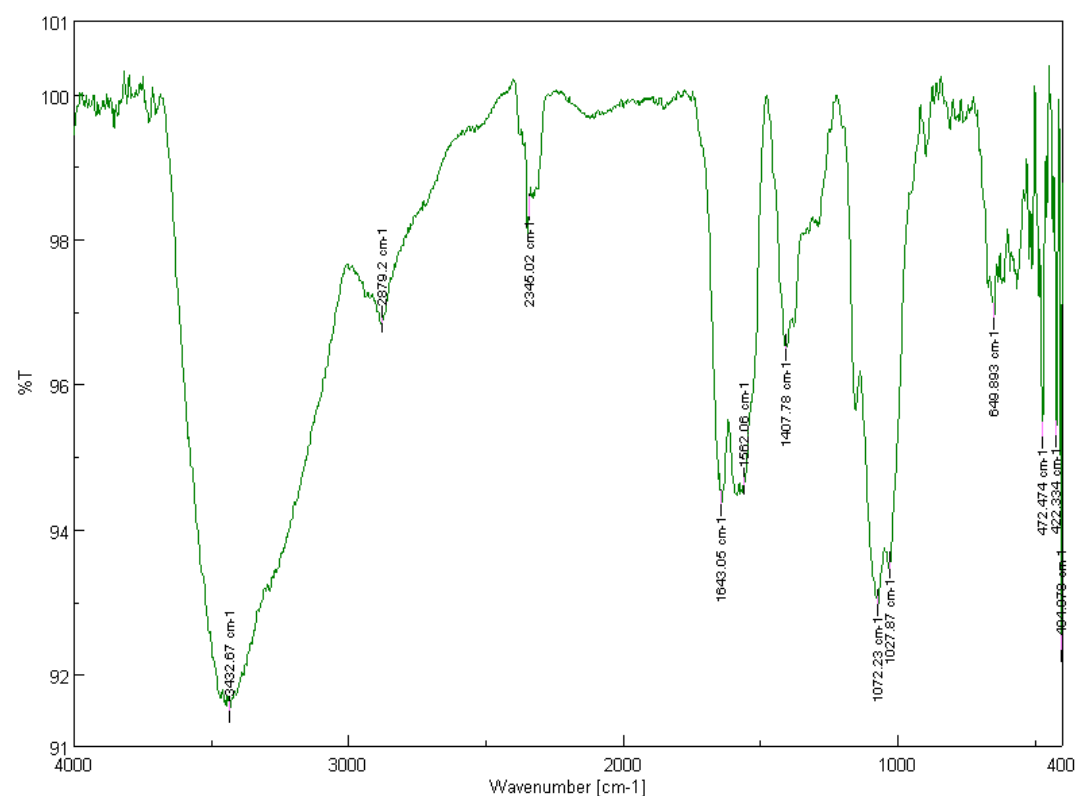
Από το φάσμα αυτό, συγκρίνοντας το με το φάσμα της χιτοζάνης, παρατηρείται η αύξηση, όσον αφορά το εύρος και την ένταση, της κορυφής στα 3475.1 cm^{-1} , η οποία αποδίδεται στη δόνηση τάσης των υδροξυλίων και των δευτεροταγών αμινομάδων. Η αλλαγή αυτή δικαιολογείται από το σχηματισμό αμιδικών δεσμών και απομένως από την αύξηση των δευτεροταγών αμινομάδων NH. Οι κορυφές που απορροφούν σε κυματαριθμούς $<3000 \text{ cm}^{-1}$ αποδίδονται στη δόνηση τάση αλειφατικών απλών δεσμών CH. Επιπλέον στο φάσμα παρατηρούνται μικρές κορυφές σε κυματαριθμούς λίγο $>3000 \text{ cm}^{-1}$, που δεν υπήρχαν στο αντιστοιχο φάσμα της χιτοζάνης και που αποδίδονται σε δονήσεις τάσεις αρωματικού δακτυλίου. Η ύπαρξη του δακτυλίου επιβεβαιώνεται και από τις δονήσεις κάμψης στα 600 cm^{-1} περίπου. Επιπροσθέτως, παρατηρείται η αύξηση της έντασης της κορυφής στα 1651.73 cm^{-1} , η οποία και αποδίδεται στην ύπαρξη του αμιδικού δεσμού και η αλλαγή της σε σχέση με τη χιτοζάνη οφείλεται στην αύξηση των αμιδικών δεσμών μετά την τροποποίηση,

επιβεβαιώνοντας έτσι το σχηματικό του προϊόντος.. Τέλος, η κορυφή του φάσματος που σημειώνεται στα 1076.08 cm^{-1} αποδίδεται στη δόνηση τάσης των ομάδων C-O, ενώ παρατηρείται μία ελαφριά αύξηση στην έντασή της, αλλά και μετατόπιση, που οφείλονται στην ύπαρξη των μεθοξυ-ομάδων του τελικού τροποποιημένου πολυμερούς.

2.3. Μελέτη δομής ιμινών χιτοζάνης/φαινολικών αλδεϋδών– Γενική Μέθοδος

Ακολουθώντας τη μέθοδο αυτή, προέκυψαν ιμίνες, ή αλλιώς βάσεις του Schiff, από χημική τροποποίηση της χιτοζάνης με προσθήκη φαινολικών αλδεϋδών.

Το φάσμα της ιμίνης της χιτοζάνης και της βανιλίνης που σχηματίστηκε ακολουθώντας τη γενική μέθοδο σε διαλύτη τολουόλιο, φαίνεται παρακάτω:



Εικόνα 45: Φάσμα FT-IR της ιμίνης χιτοζάνης / βανιλίνης αναλογίας 1:1

Παρατηρώντας το φάσμα αυτό, υπάρχει μία έντονη κορυφή στα 3432.67 cm^{-1} , η οποία αποδίδεται στη δόνηση τάσης των υδροξυλομάδων O-H και των δευτεροταγών αμινομάδων N-H, που υπάρχουν στα μη απακετυλιωμένα μονομερή της δομής του προϊόντος, που προέρχονται από το μόριο της χιτοζάνης. Οι κορυφές που απορροφούν σε κυματαριθμούς $<3000\text{ cm}^{-1}$ αποδίδονται στη δόνηση τάση αλειφατικών απλών δεσμών CH, ενώ εκείνες σε κυματαριθμούς $>3000\text{ cm}^{-1}$ αποδίδονται σε δόνηση τάσης αρωματικού δακτυλίου. Η ύπαρξη του δακτυλίου επιβεβαιώνεται και από τις δονήσεις κάμψης στα 600 cm^{-1} περίπου. Στα 1643 cm^{-1} εμφανίζεται η κορυφή που αποδίδεται στη δόνηση τάσης αμιδίου και οφείλεται και πάλι στα μη απακατυλιωμένα μονομερή της χιτοζάνης, ενώ η εμφάνιση της κορυφής στα 1562.06 cm^{-1} , που αποδίδεται στη δόνηση τάσης του ιμινικού δεσμού C=N, επιβεβαιώνει την επιτυχή τροποποίηση του μακρομορίου. Η κορυφή του φάσματος που σημειώνεται στα 1072.23 cm^{-1} αποδίδεται στη δόνηση τάσης των ομάδων C-O.

Συγκρίνοντας τα φάσματα IR των ιμινών που συνθέθηκαν από τη χημική τροποποίηση της χιτοζάνης με φαινολικές αλδεΐδες, και συγκριμένα τη βανιλίνη, η χρήση του τολουόλιου ως διαλύτη, κρίνεται πιο αποδοτική, έναντι της χρήσης της ακετόνης ή αιθανόλης, αφού στη πρώτη περίπτωση το προϊόν αποδίδεται σε μεγαλύτερη ποσότητα και το φάσμα του αποτελείται από έντονες και εξαιρετικά διακριτές κορυφές. Τα φάσματα των υπόλοιπων τροποποιημένων μακρομορίων βρίσκονται στο παράρτημα που ακολουθεί.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Χημική Τροποποίηση Γλυκοζαμίνης

Σε αυτή τη διπλωματική εργασία, το μόριο της γλυκοζαμίνης τροποποιήθηκε χημικά μέσω της ακυλίωσης της με φαινολικά οξέα, δοκιμάζοντας τρεις διαφορετικούς τρόπους, προς το σχηματισμό του αμιδικού δεσμού. Στη μέθοδο 1, για την ενεργοποίηση του οξέος χρησιμοποιήθηκε DCC ενώ στη μέθοδο 2, EDC. Στη μέθοδο 3, η ενεργοποίηση του οξέος πραγματοποιήθηκε μέσω σχηματισμού χλωριδίου με χρήση θειονυλοχλωριδίου σε διαλύτη τολουόλιο. Έπειτα αυτό το χλωρίδιο αντέδρασε άμεσα με τη γλυκοζαμίνη προς σχηματισμό αμιδικού δεσμού. Συγκρίνοντας τις μεθόδους αυτές, σε όλες ο σχηματισμός του αμιδίου επιβεβαιώνεται από τα φάσματα NMR των νέων ενώσεων, ωστόσο αποτελεσματικότερη κρίνεται η μέθοδος 1, λόγω καλής επαναληψιμότητας, υψηλής καθαρότητας προϊόντος και μεγαλύτερης απόδοσης αντίδρασης. Ωστόσο, πρέπει να αναφερθεί ότι στη μέθοδο 1 σχηματίζεται ως παραπροϊόν η δικυκλοεξυλουρία, η οποία μετά από πολλές δοκιμές, δεν απομακρύνθηκε από τα προϊόντα που σχηματίστηκαν, ενώ τελικά η χρήση του EDC (μέθοδος 2) επίσης δεν έδωσε λύση στο παραπάνω πρόβλημα.

Έπειτα, η γλυκοζαμίνη τροποποιήθηκε μέσω αντίδρασης με αλογονοπαράγωγα αρωματικών ενώσεων. Εξετάζοντας τα φάσματα NMR αυτών των δοκιμών, εξασφαλίζεται ο σχηματισμός δευτεροταγούς αμίνης, τόσο κατά την αντίδραση της γλυκοζαμίνης με το βρωμιούχο κινναμύλιο, όσο και με την αντίδραση της με το βρωμιούχο βενζύλιο. Παρόλα αυτά, είναι ανάγκη να αναφερθεί ότι η μέθοδος αυτή χρήζει βελτιστοποίησης.

Τέλος, η γλυκοζαμίνη τροποποιήθηκε μέσω της αντίδρασης αλκυλίωσης με αρωματικές αλδεΰδες σχηματίζοντας τις βάσεις του Schiff. Τα προϊόντα αυτά, σε αντίθεση με τα προϊόντα που σχηματίστηκαν κατά την αντίδραση της γλυκοζαμίνης με τα φαινολικά οξέα και τα αλογονοπαράγωγα των αρωματικών ενώσεων, παρουσιάζουν μορφή γέλης και όχι στερεά μορφή. Οι μέθοδοι που εφαρμόστηκαν κρίνονται ως επιτυχείς, αφού τα φάσματα NMR των προϊόντων τους επιβεβαίωσαν τον σχηματισμό ιμινών, ωστόσο ως καλύτερη μέθοδος κρίνεται εκείνη που χρησιμοποιεί καυστικό νάτριο ως βασικό περιβάλλον.(μέθοδος 1). Σε όλες τις περιπτώσεις, τα τελικά προϊόντα χρήζουν περαιτέρω καθαρισμό, καθώς παρατηρήθηκε περίσσεια μικρής ποσότητας αλδεΰδης.

Χημική Τροποποίηση Χιτοζάνης

Η χιτοζάνη, όπως και η γλυκοζαμίνη, τροποποιήθηκε μέσω της ακυλίωσης της με φαινολικά οξέα και της αλκυλίωσης της με αρωματικές αλδεΐδες.

Συγκεκριμένα, η χιτοζάνη αντέδρασε με το παρα-μεθοξύ κινναμικό οξύ, σε αναλογία 1:1, 2:1 και 1:2, χρησιμοποιώντας το στάδιο του φιλτραρίσματος και μη, κατά την πειραματική διαδικασία, αποφέροντας ικανοποιητικά αποτελέσματα σε κάθε περίπτωση. Η αύξηση των αμιδικών δεσμών στα τροποποιημένα παράγωγα, επιβεβαιώνεται από τα φάσματα IR, όπου η αντίστοιχη κορυφή εμφανίζεται σε μεγαλύτερη ένταση. Από όλες τις δοκιμές, τα καλύτερα αποτελέσματα επέφερε η χημική τροποποίηση της χιτοζάνης με το παρα-μεθόξυ κινναμικό οξύ σε αναλογία 1:2 ως προς το οξύ. Τα προϊόντα της ακυλίωσης της χιτοζάνης παραλήφθηκαν σε στερεή μορφή.

Επιπροσθέτως, πραγματοποιήθηκε εκτενής μελέτη της τροποποίησης του μορίου της χιτοζάνης, εφαρμόζοντας διάφορες αναλογίες και συνθήκες, με αρωματικές αλδεΐδες όπως είναι η βανιλίνη. Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα των διαφορετικών συνθηκών, όλες οι δοκιμές οδήγησαν στο σχηματισμό νέων μιμών, που ταυτοποιούνται μέσω των φασμάτων IR, ωστόσο η χρήση του τολουόλιου ως διαλύτη φαίνεται να βελτιστοποιεί τη γενική μέθοδο, ενώ προσφέρει μεγαλύτερη απόδοση και καθαρότητα. Τα τροποποιημένα με αλδεΐδες παράγωγα χιτοζάνης παραλήφθηκαν σε μορφή κίτρινης ή πορτοκαλί γέλης.

ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Αξιολογώντας τα συμπεράσματα της διπλωματικής αυτής εργασίας, γίνεται αντιληπτό ότι η χιτοζάνη και το μονομερές της, η γλυκοζαμίνη, αποτελούν οργανικά μόρια που προσφέρουν πολλές δυνατότητες τροποποίησης προς το σχηματισμό νέων ουσιών με σημαντικές ιδιότητες. Στην εργασία αυτή, παρουσιάστηκαν κάποιες μέθοδοι τροποποίησης τους, οι οποίες διαφέρουν ως προς τα αντιδραστήρια, την πειραματική διαδικασία και τις συνθήκες διεξαγωγής της, αποτελώντας μία πρώτη προσπάθεια σχηματισμού ιμινών και αμιδίων και αποδίδοντας αξιόλογα αποτελέσματα. Ωστόσο, η ανάγκη για περαιτέρω βελτιστοποίηση των μεθόδων που παρουσιάστηκαν, αποτελούν το έναυσμα για εκτενέστερη έρευνα στο μέλλον.

Αρχικά, προτείνεται ο σχηματισμός αμιδίων και ιμινών, προερχόμενα από το μόριο της γλυκοζαμίνης και της χιτοζάνης, με προσθήκη και άλλων φαινολικών οξέων και αλδεϋδών. .

Μία ακόμη πρόταση για μελλοντική έρευνα είναι η δοκιμή διαφορετικών μεθόδων τροποποίησης της χιτοζάνης και της γλυκοζαμίνης προς σχηματισμό ιμινών και αμιδίων, αλλά και η προσπάθεια αξιοποίησης και των άλλων δραστικών ομάδων τους, πέρα της αμινομάδας, όπως τα υδροξύλια που παρουσιάζονται στη δομή τους.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Sitanggang AB, Sophia L, Wu HS. Aspects of glucosamine production using microorganisms.
2. Xing R, Liu S, Guo Z, et al. The antioxidant activity of glucosamine hydrochloride in vitro. *Bioorg Med Chem*. 2006;14(6):1706-1709. doi:10.1016/j.bmc.2005.10.018
3. Martha Benavente, Selene Arias, Luis Moreno, Joaquín Martínez. Production of Glucosamine Hydrochloride from Crustacean Shell. *J Pharm Pharmacol*. 2015;3(1). doi:10.17265/2328-2150/2015.01.003
4. Rozin AP. Glucosamine sulfate—environmental antibacterial activity. *Clin Rheumatol*. 2009;28(10):1221-1223. doi:10.1007/s10067-009-1209-9
5. Zahedipour F, Dalirfardouei R, Karimi G, Jamialahmadi K. Molecular mechanisms of anticancer effects of Glucosamine. *Biomed Pharmacother*. 2017;95:1051-1058. doi:10.1016/j.biopha.2017.08.122
6. Rinaudo M. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Prog Polym Sci*. 2006;31(7):603-632. doi:10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001
7. Islam S, Bhuiyan MAR, Islam MN. Chitin and Chitosan: Structure, Properties and Applications in Biomedical Engineering. *J Polym Environ*. 2017;25(3):854-866. doi:10.1007/s10924-016-0865-5
8. Kurita K. Controlled functionalization of the polysaccharide chitin. *Prog Polym Sci*. 2001;26(9):1921-1971. doi:10.1016/S0079-6700(01)00007-7
9. Goy RC, Britto D de, Assis OBG. A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polímeros*. 2009;19(3):241-247. doi:10.1590/S0104-14282009000300013
10. Ngo D-H, Kim S-K. Antioxidant Effects of Chitin, Chitosan, and Their Derivatives. In: *Advances in Food and Nutrition Research*. Vol 73. Elsevier; 2014:15-31. doi:10.1016/B978-0-12-800268-1.00002-0
11. Kim M-M, Kim S-K. Anti-Inflammatory Activity of Chitin, Chitosan and Their Derivatives. In: Kim S-K, ed. *Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives*. CRC Press; 2010:215-221. doi:10.1201/EBK1439816035-c16
12. Mourya VK, Inamdar NN. Chitosan-modifications and applications: Opportunities galore. *React Funct Polym*. 2008;68(6):1013-1051. doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2008.03.002
13. Dikusar EA, Potkin VI, Kozlov NG. Synthesis of water-soluble azomethines based on the substituted benzaldehydes of vanillin series and D-(+)-glucosamine hydrochloride. *Russ J Gen Chem*. 2009;79(12):2655-2657. doi:10.1134/S1070363209120160

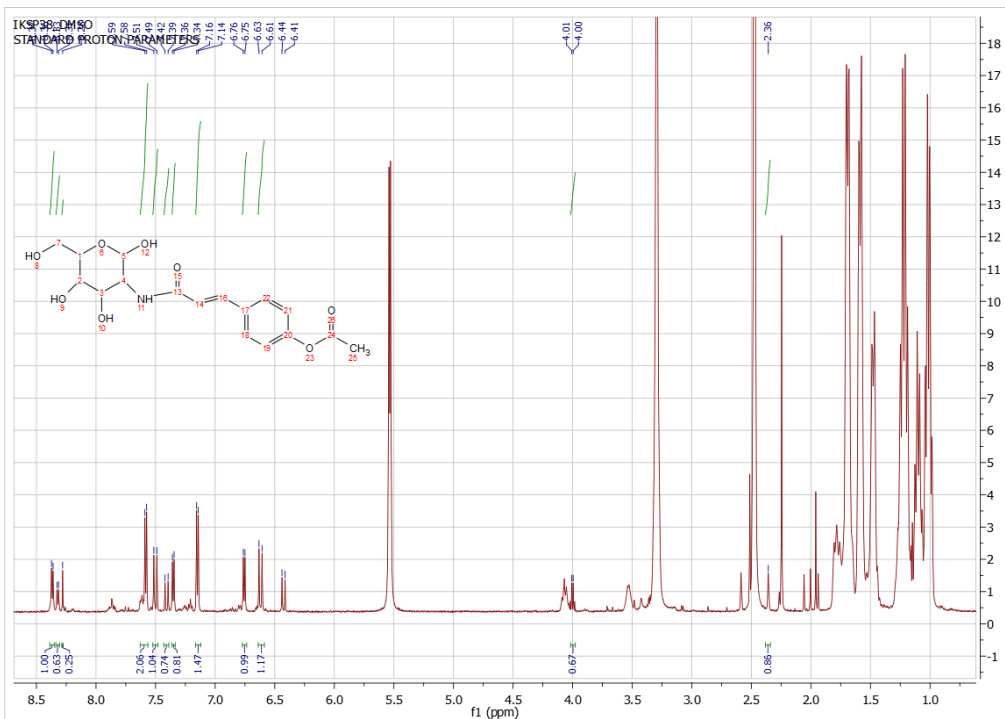
14. Jatunov S, Franconetti A, Gómez-Guillén M, Cabrera-Escribano F. Design of Aromatic Aldehyde Chitosan Derivatives for Biological and Industrial Applications. In: *Proceedings of The 16th International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry*. Sciforum.net: MDPI; 2012:1126. doi:10.3390/ecsoc-16-01126
15. Lee S. Evaluation of the antioxidant potential of natural products. 1998.
16. Adeboye PT, Bettiga M, Olsson L. The chemical nature of phenolic compounds determines their toxicity and induces distinct physiological responses in *Saccharomyces cerevisiae* in lignocellulose hydrolysates. *AMB Express*. 2014;4(1):46. doi:10.1186/s13568-014-0046-7
17. Balasundram N, Sundram K, Samman S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem*. 2006;99(1):191-203. doi:10.1016/j.foodchem.2005.07.042
18. Hidalgo W, Kai M, Schneider B. 4-Methoxycinnamic acid – An unusual phenylpropanoid involved in phenylphenalenone biosynthesis in *Anigozanthos preissii*. *Phytochemistry*. 2015;117:476-481. doi:10.1016/j.phytochem.2015.07.017
19. Kunjapur AM, Tarasova Y, Prather KLJ. Synthesis and Accumulation of Aromatic Aldehydes in an Engineered Strain of *Escherichia coli*. *J Am Chem Soc*. 2014;136(33):11644-11654. doi:10.1021/ja506664a
20. Fitzgerald DJ, Stratford M, Gasson MJ, Narbad A. Structure–Function Analysis of the Vanillin Molecule and Its Antifungal Properties. *J Agric Food Chem*. 2005;53(5):1769-1775. doi:10.1021/jf048575t
21. Afonso CR, Hirano RS, Gaspar AL, et al. Biodegradable antioxidant chitosan films useful as an anti-aging skin mask. *Int J Biol Macromol*. 2019;132:1262-1273. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.04.052
22. McMurry J. *Οργανική Χημεία*.

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

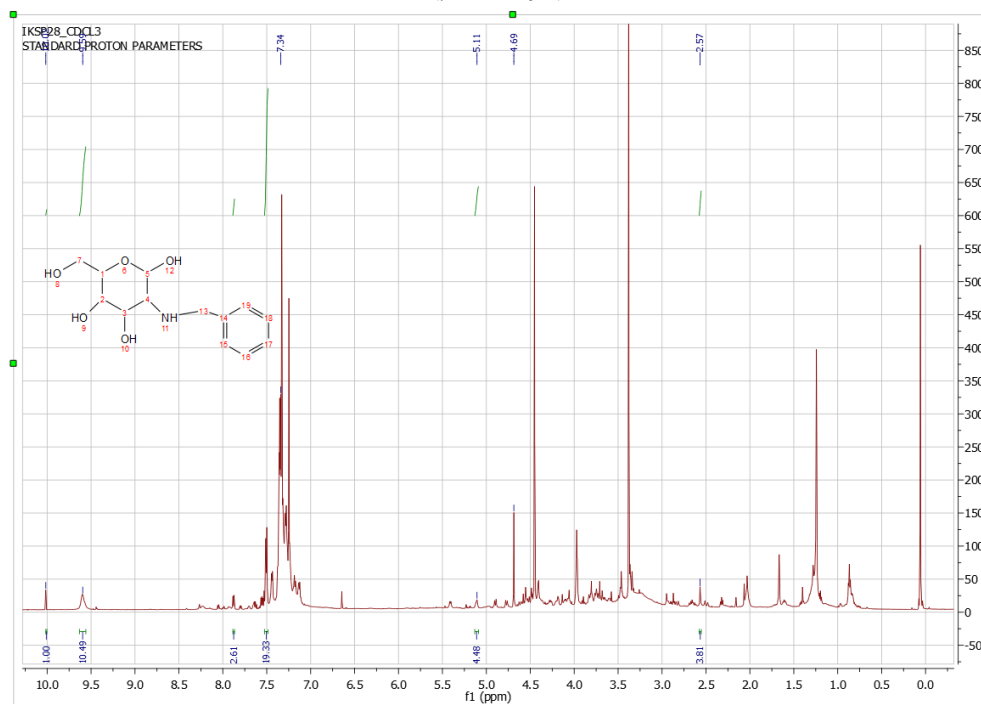
Εικόνα 1: Κατεργασία παραγωγής γλυκοζαμίνης.....	13
Εικόνα 2 : Δομή γλυκοζαμίνης	14
Εικόνα 3: Απακετυλίωση χιτίνης-Παραγωγή χιτοζάνης.....	17
Εικόνα 4: Σύγκριση δομής (α) χιτίνης - (β) χιτοζάνης.....	18
Εικόνα 5: Αντίδραση ακυλίωσης γλυκοζαμίνης – χιτοζάνης.....	24
Εικόνα 6: Αντίδραση υδροξυαλκυλίωσης χιτοζάνης – γλυκοζαμίνης.....	24
Εικόνα 7: Αντίδραση αλκυλίωσης χιτοζάνης	25
Εικόνα 8 : Παραδείγματα φαινολικών ενώσεων.....	26
Εικόνα 9: Γενική μορφή δομής φαινολικών ενώσεων	27
Εικόνα 10: Γενική μορφή βενζοϊκών οξέων.....	27
Εικόνα 11: Γενική μορφή κινναμωμικών οξέων.....	28
Εικόνα 12: Παρα-μεθόξυ κινναμικό οξύ	28
Εικόνα 13: Φερουλικό οξύ.....	29
Εικόνα 14: Ανισαλδεύδη	30
Εικόνα 15: 4-Χλωροβενζαλδεύδη.....	30
Εικόνα 16: 3,5-Διμεθοξυβενζαλδεύδη	30
Εικόνα 17: 4-Κυανοβενζαλδεύδη.....	30
Εικόνα 18: Βανιλίνη.....	31
Εικόνα 19: Βενζυλοβρωμίδιο	31
Εικόνα 20: Βρωμιούχο κινναμύλιο	32
Εικόνα 21: 2-Χλωροβενζοϊκό οξύ.....	32
Εικόνα 22 : Ενεργοποίηση καρβοξυλικού οξέος	34
Εικόνα 23: Ακυλίωση γλυκοζαμίνης με καρβοξυλικό οξύ	34
Εικόνα 24: Ακυλίωση γλυκοζαμίνης με καρβοξυλικό οξύ	35
Εικόνα 25: Σύνθεση χλωριδίου.....	36
Εικόνα 26: Αντίδραση γλυκοζαμίνης με χλωρίδιο προς σχηματισμό αμιδικού δεσμού	36
Εικόνα 27: Χημική τροποποίηση γλυκοζαμίνης με βρωμίδιο.....	37
Εικόνα 28: Αλκυλίωση γλυκοζαμίνης με αλδεύδη	37
Εικόνα 29: Γενική μορφή αντίδρασης της χιτοζάνης με καρβοξυλικό οξύ	38
Εικόνα 30: Χημική τροποποίηση χιτοζάνης με καρβοξυλικό οξύ.....	38
Εικόνα 31: Αλκυλίωση γλυκοζαμίνης με αλδεύδη.....	39
Εικόνα 32: Φάσμα ¹ H NMR της χιτοζάνης	42
Εικόνα 33: Φάσμα ¹ H NMR (E)-3-(4-μεθοξυφαινυλο)-N-(-2,4,5-τριυδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-3-υλ)ακρυλαμίδιο (μέθοδος 1).....	56
Εικόνα 34: Αρίθμηση δομής (E)-3-(4-μεθοξυφαινυλο)-N-(-2,4,5-τριυδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-3-υλ)ακρυλαμίδιο (μέθοδος 1).....	57
Εικόνα 35: Φάσμα ¹ H NMR 2-χλωρο-N-(-2,5-τριυδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-3-υλ)βενζαμίδιο (μέθοδος 2)	58
Εικόνα 36: Αρίθμηση δομής 2-χλωρο-N-(-2,5-τριυδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-3-υλ)βενζαμίδιο (μέθοδος 2)	59

Εικόνα 37: Φάσμα ^1H NMR (E)-3-(4-μεθοξυφαινυλο)-N-(2,4,5-τριδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-3-υλ)ακρυλαμίδιο (μέθοδος 3).....	60
Εικόνα 38: Αρίθμηση δομής (E)-3-(4-μεθοξυφαινυλο)-N-(2,4,5-τριδροξυ-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-3-υλ)ακρυλαμίδιο (μέθοδος 1).....	61
Εικόνα 39: Φάσμα ^1H NMR 3-(κινναμυλαμινο)-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-2,4,5-τριόλη.....	62
Εικόνα 40: Αρίθμηση δομής 3-(κινναμυλαμινο)-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-2,4,5-τριόλη.....	63
Εικόνα 41: Φάσμα ^1H NMR ιμίνης (E)-3-((3,5-διμεθοξυβενζυλιδενο)αμινο)-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-2,4,5-τριόλη (μέθοδος 1).....	64
Εικόνα 42: Αρίθμηση δομής ιμίνης (E)-3-((3,5-διμεθοξυβενζυλιδενο)αμινο)-6-(υδροξυμεθυλο)τετραυδρο-2H-πυρανο-2,4,5-τριόλη (μέθοδος 1).....	65
Εικόνα 43: Φάσμα FT-IR της χιτοζάνης	67
Εικόνα 44: Φάσμα FT-IR του αμιδίου χιτοζάνης/παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος αναλογίας 1:1	68
Εικόνα 45: Φάσμα FT-IR της ιμίνης χιτοζάνης/βανιλίνης αναλογίας 1:1	69

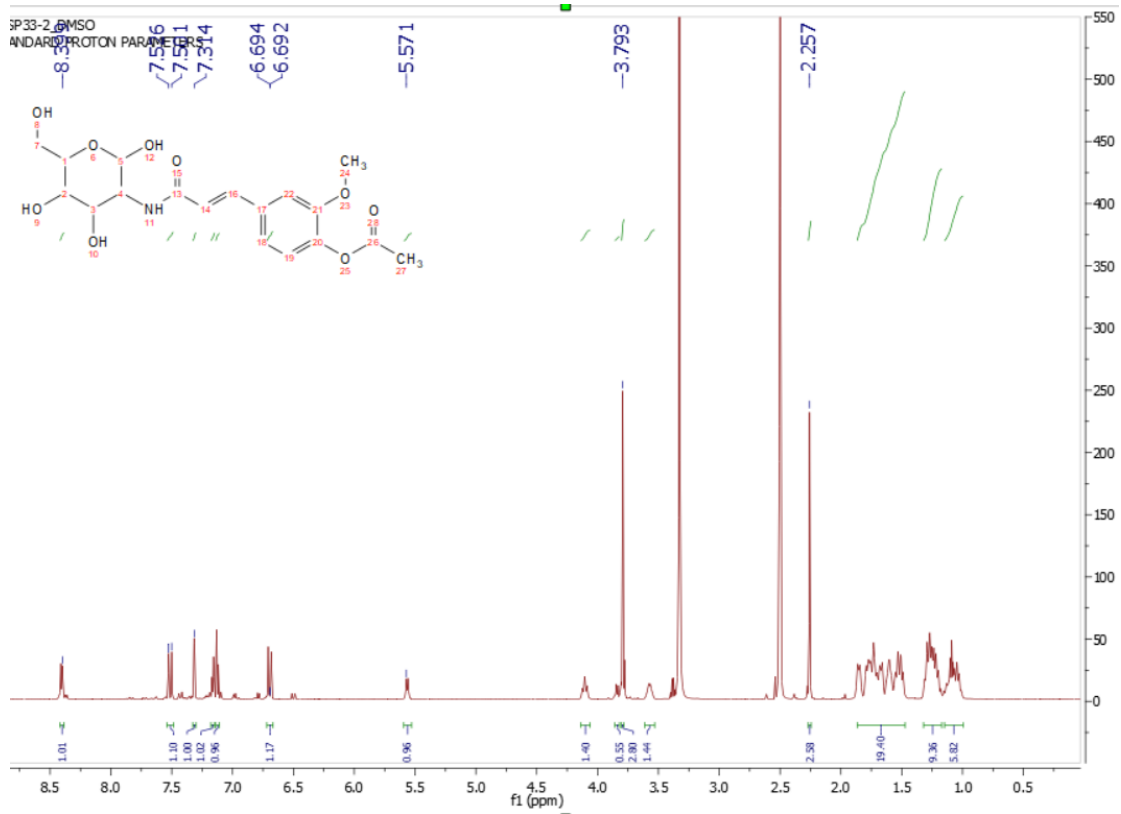
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΑΣΜΑΤΩΝ



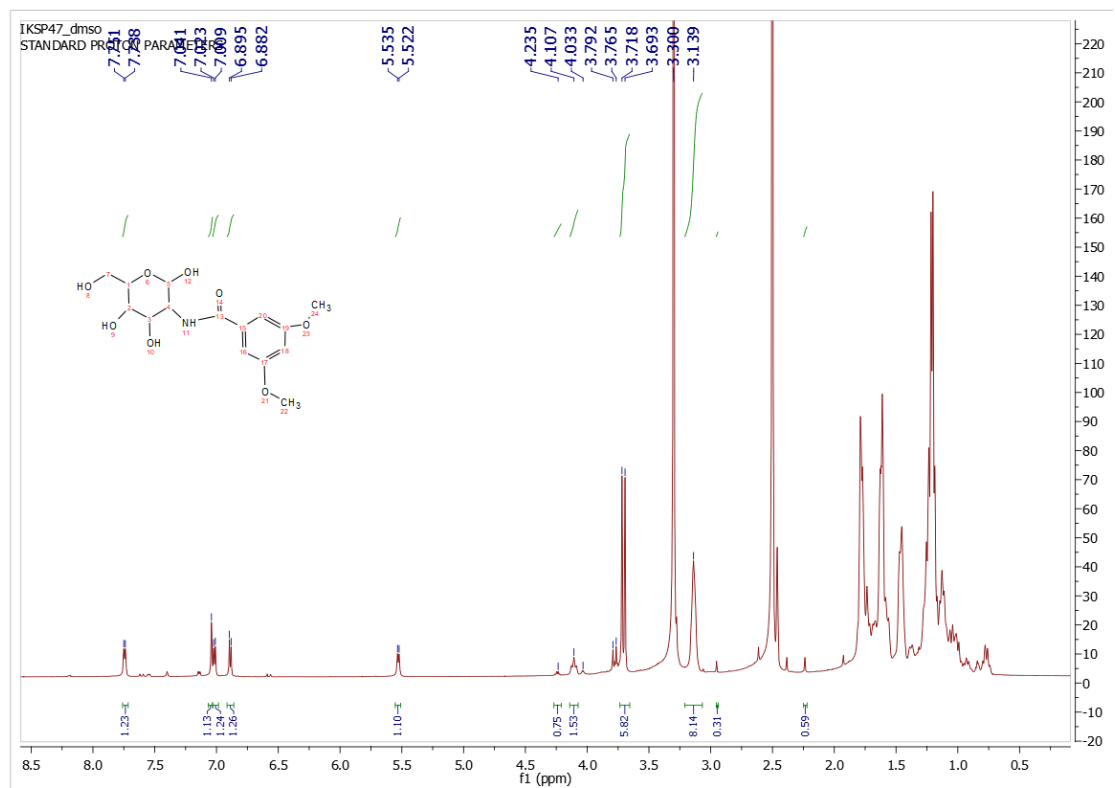
Φάσμα ^1H NMR αμιδίου γλυκοζαμίνης/προστατευμένου παρα-υδρόξυ κινναμικού οξέος (μέθοδος 1)



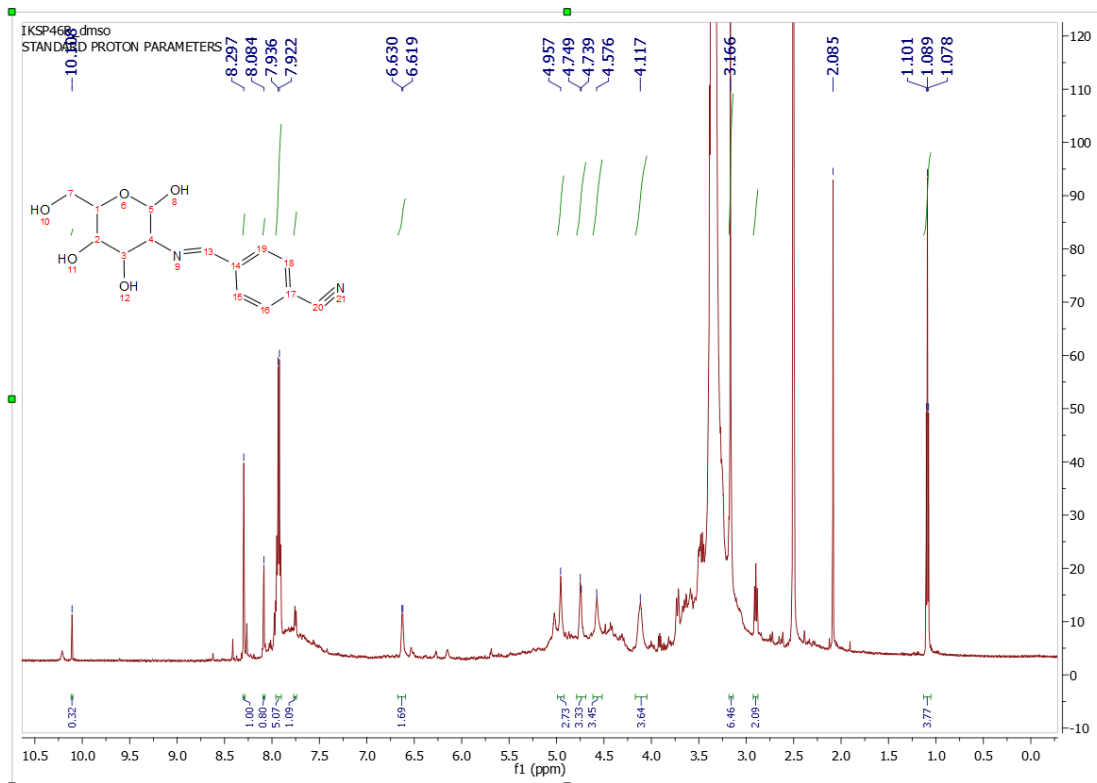
Φάσμα ^1H NMR αμιδίου γλυκοζαμίνης/βρωμιούχου βενζυλίου



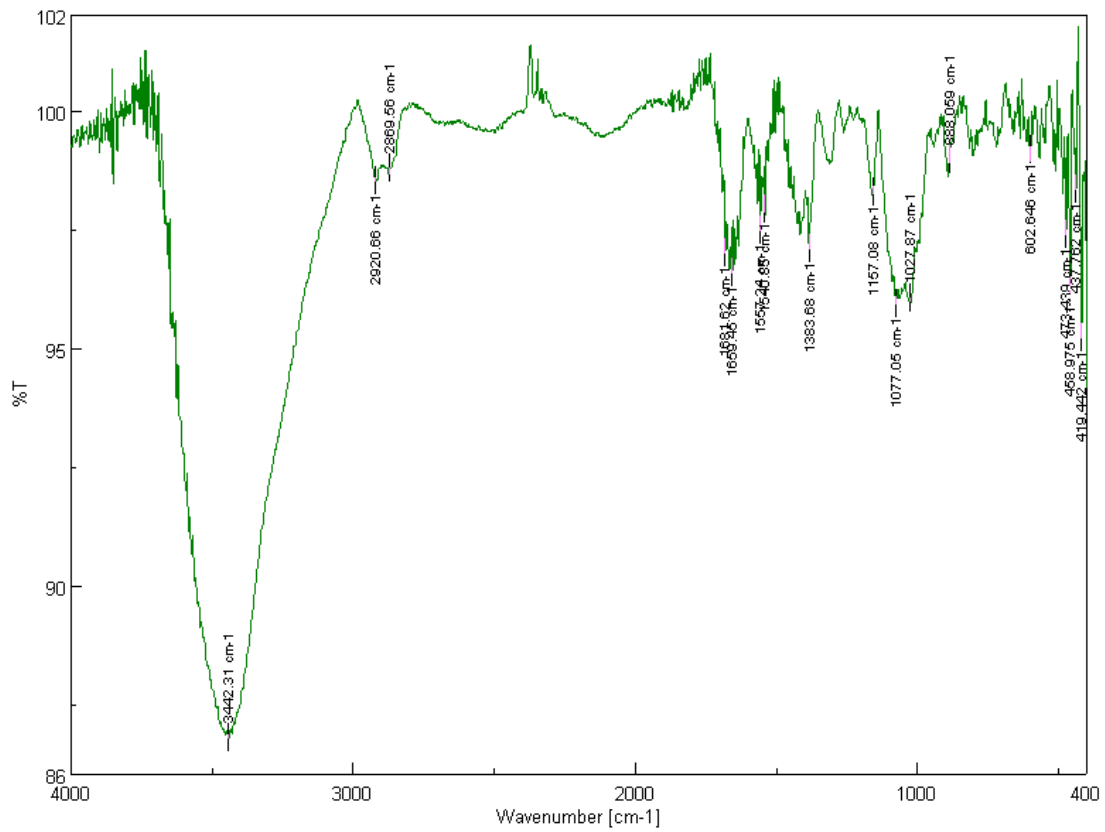
Φάσμα ^1H NMR αμιδίου γλυκοζαμίνης/προστατευμένου φερουλικού οξέος (μέθοδος 1)



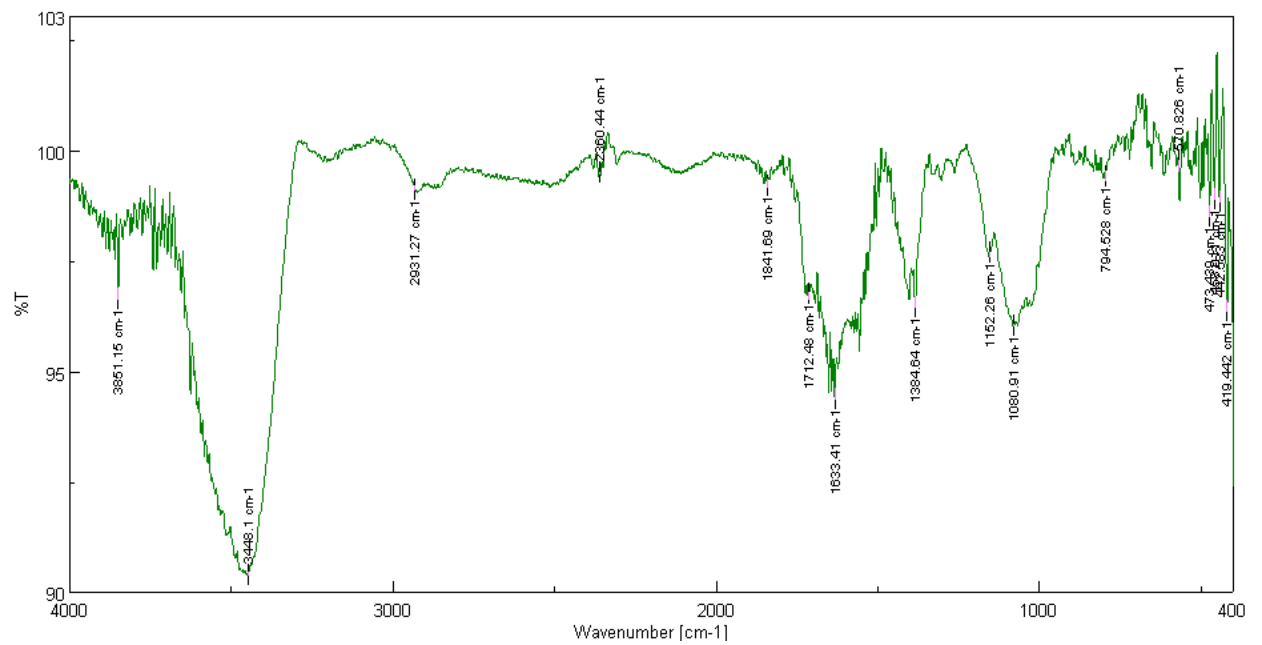
Φάσμα ^1H NMR αμιδίου γλυκοζαμίνης/3,5-διμεθοξυβενζοϊκού οξέος (μέθοδος 1)



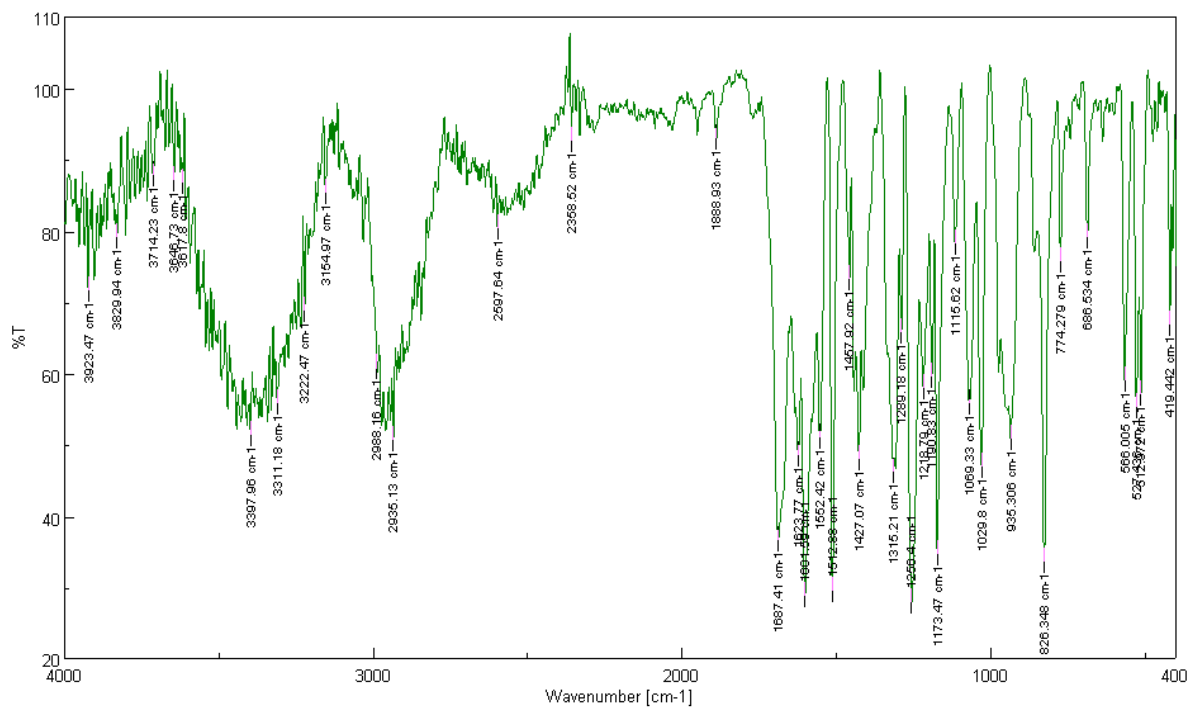
Φάσμα ^1H NMR ιμίνης γλυκοζαμίνης/4-κυανοβενζαλδεΐδης (μέθοδος 2)



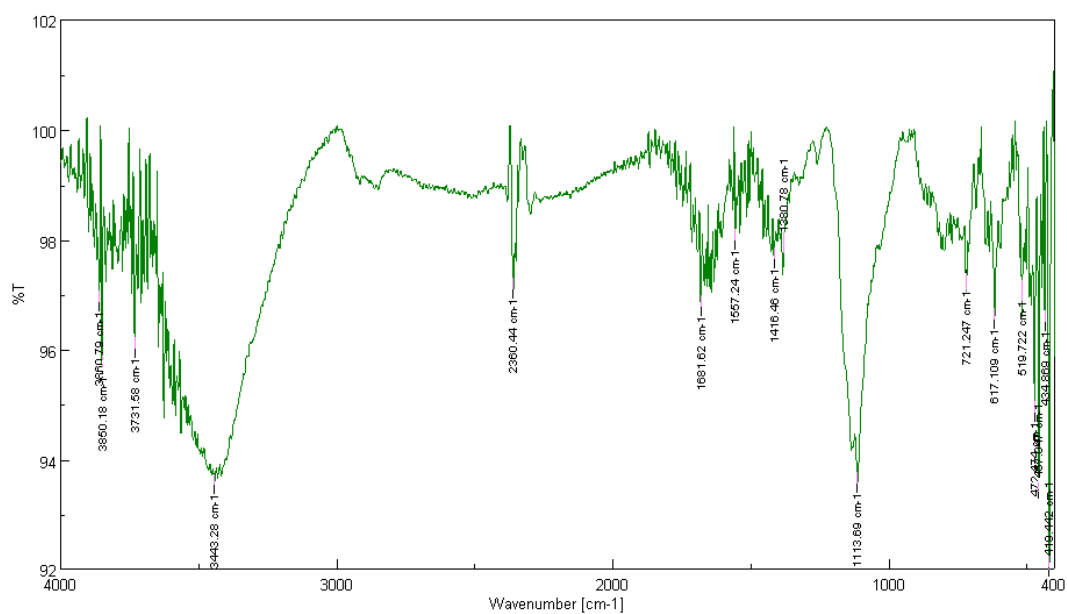
Φάσμα FT-IR αμιδίου χιτοζάνης/παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος αναλογίας 1:1



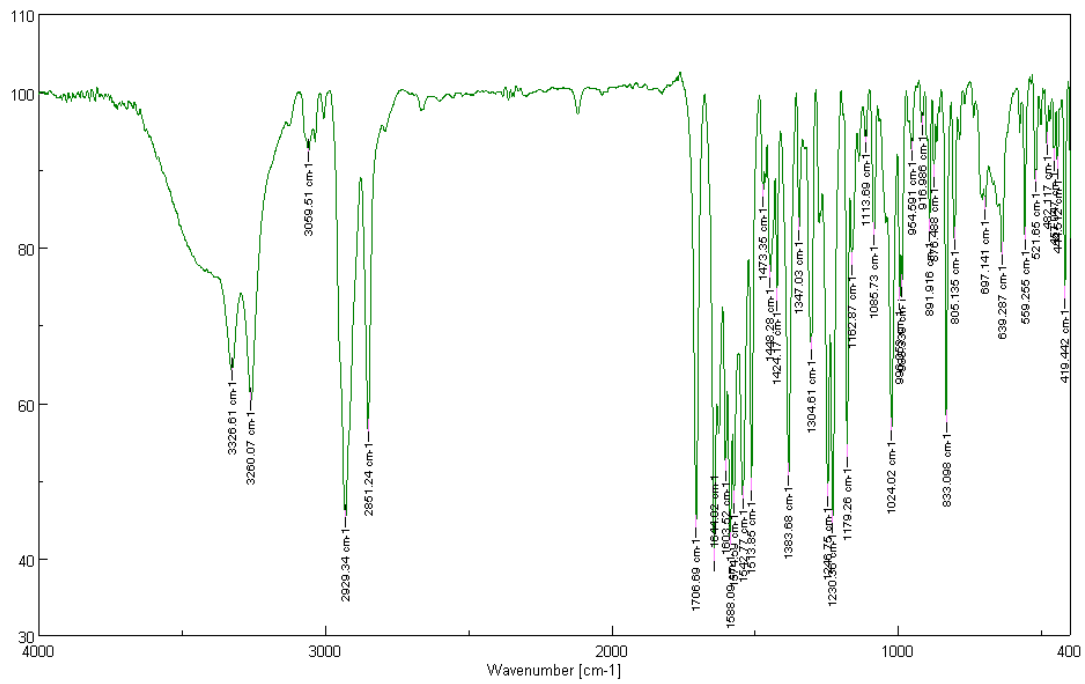
Φάσμα FT-IR αμιδίου χιτοζάνης/παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος αναλογίας 2:1 (με φιλτράρισμα)



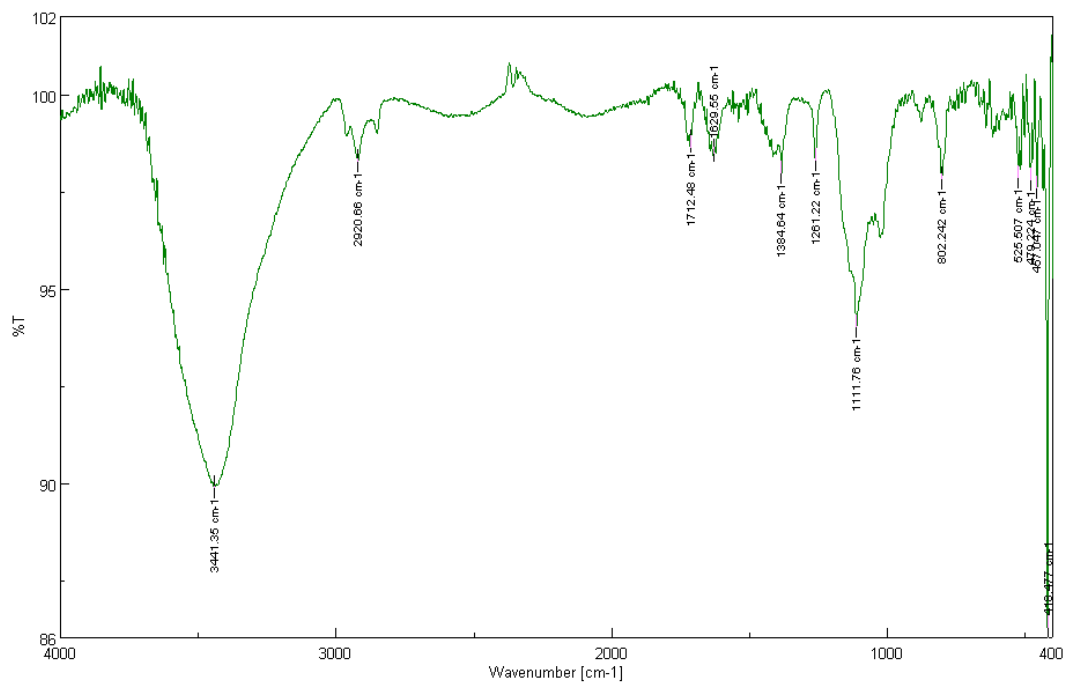
Φάσμα FT-IR αμιδίου γλυκοζαμίνης/παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος (μέθοδος 3)



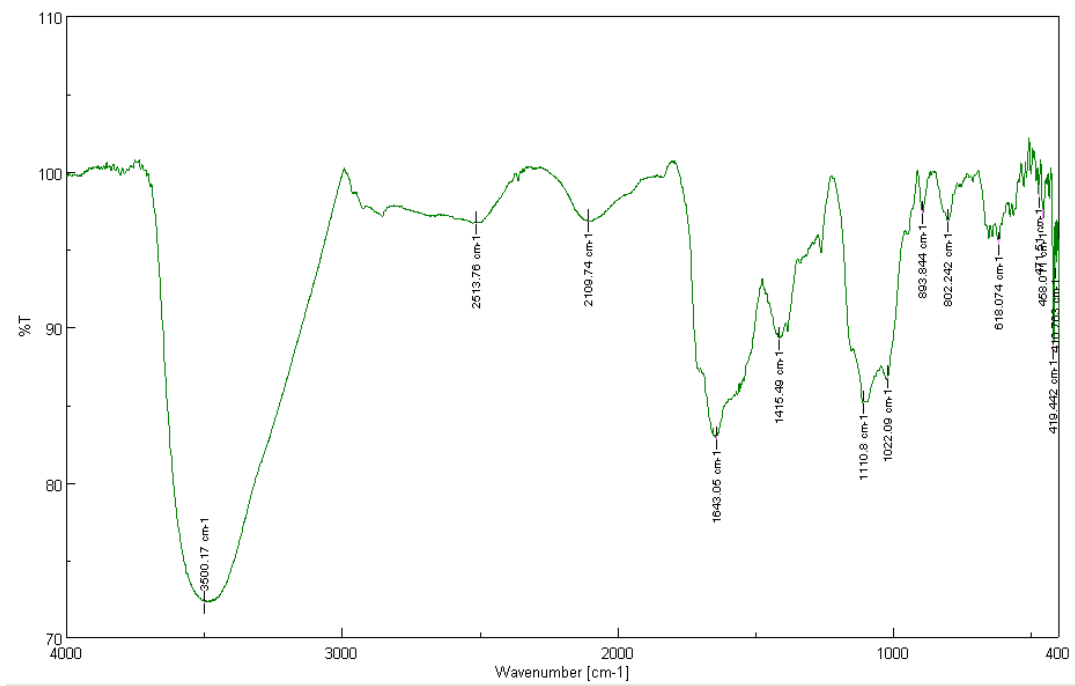
Φάσμα FT-IR αμιδίου χιτοζάνης/παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος αναλογίας 1:2 (με φίλτράρισμα)



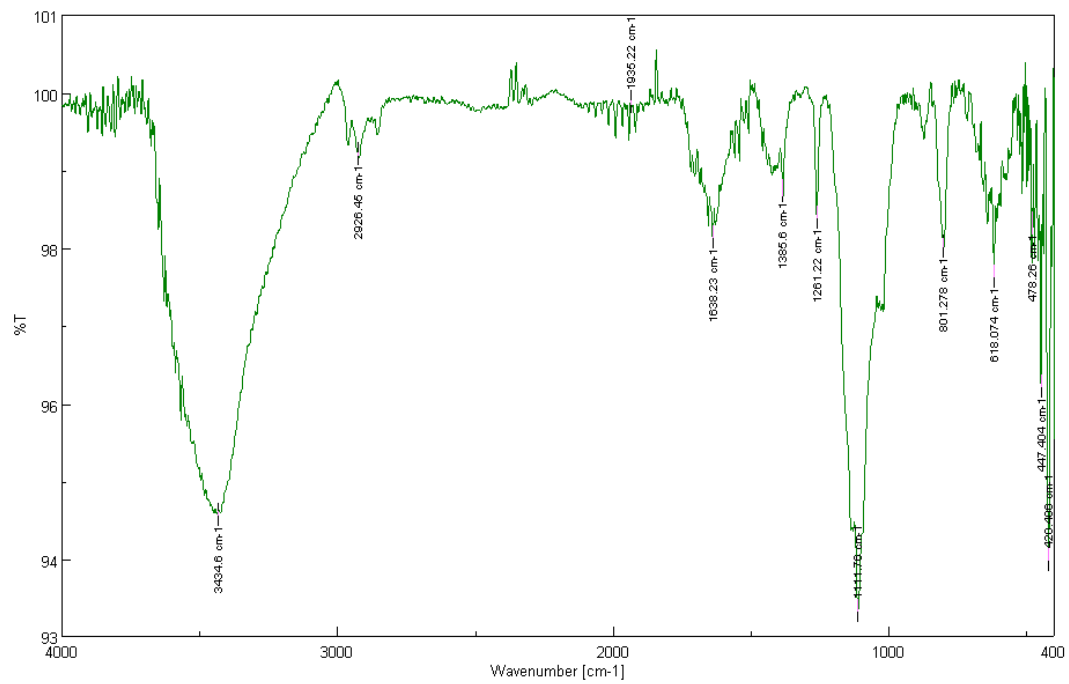
Φάσμα FT-IR αμιδίου γλυκοζαμίνης/παρα-μεθόξυ κινναμικού οξέος (μέθοδος 1)



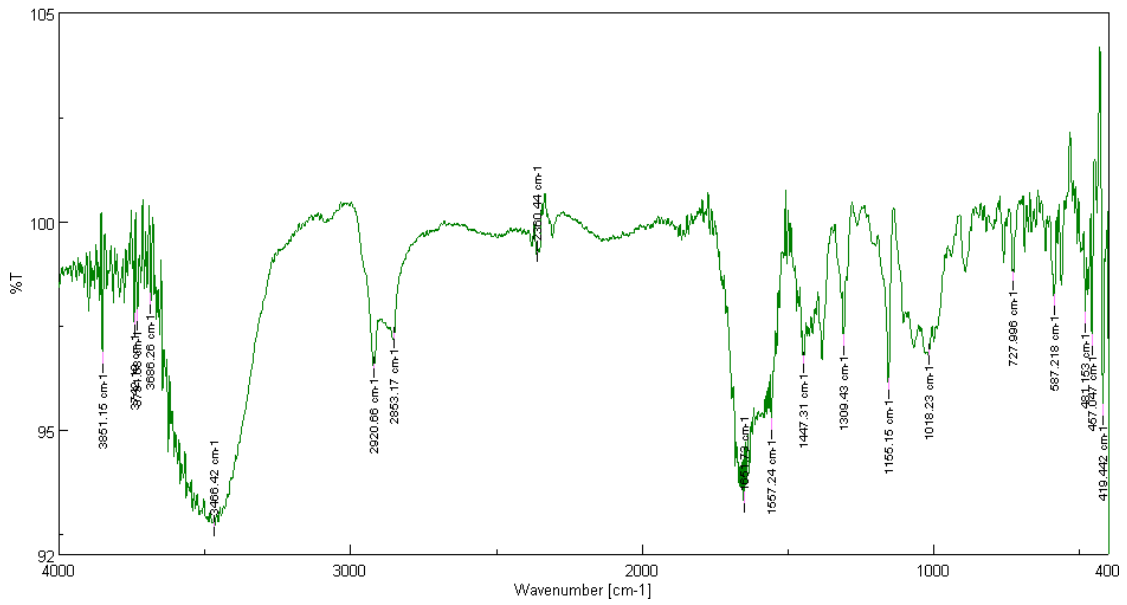
Φάσμα FT-IR μίνης χιτοζάνης/4-χλωροβενζαλδεύδης αναλογίας 1:1



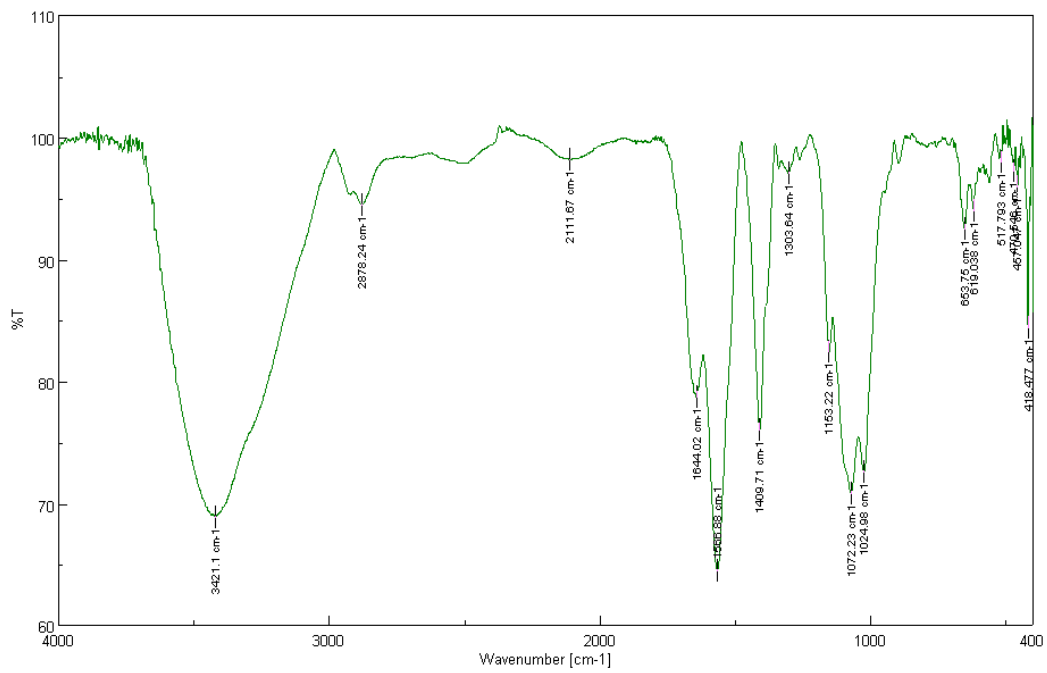
Φάσμα FT-IR μίνης χιτοζάνης/βανιλίνης αναλογίας 1:1 (σε ακετόνη)



Φάσμα FT-IR μίνης χιτοζάνης/βανιλίνης αναλογίας 1:2 (σε ακετόνη)



Φάσμα FT-IR του αμιδίου χιτοζάνης / παρα-μεθοξυ κινναμικού οξέος αναλογίας 2:1 (χωρίς φιλτράρισμα)



Φάσμα FT-IR της μίνης χιτοζάνης / βανιλίνης αναλογίας 2:1 (σε ακετόνη)