



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ  
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ  
ΤΟΜΕΑΣ (Ι) ΧΗΜΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΡΓΑΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

**Σύνθεση, χαρακτηρισμός δομής και μελέτη της  
αντιοξειδωτικής και αντιπαρασιτικής δράσης  
νέων χαλκονών και ωρονών**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

***Άννα-Μαρία Κυπραίου***

**ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ**

**Δρ ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ ΔΕΤΣΗ**

Λέκτορας ΕΜΠ

**ΑΘΗΝΑ 2011**

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας ερευνητικής εργασίας είναι η σύνθεση, ο χαρακτηρισμός και η μελέτη της φαρμακευτικής δράσης δύο κατηγοριών χημικών ενώσεων. Ειδικότερα, συντέθηκαν πέντε χαλκόνες και πέντε ωρόνες, οι οποίες και μελετήθηκαν για την ενδεχόμενη αντιοξειδωτική και αντιλειτουργική δράση τους, αντίστοιχα. Επιπλέον, επιχειρήθηκε η αναγωγή των ωρονών, με στόχο να εξεταστεί η ενδεχόμενη αντιλειτουργική δράση των παραγώγων τους.

Οι χαλκόνες είναι φυσικά προϊόντα και ανήκουν στην οικογένεια των φλαβονοειδών. Ο δομικός σκελετός των χαλκονών αποτελείται από δύο αρωματικούς δακτυλίους (Α και Β) που συνδέονται μεταξύ τους μέσω ενός α,β-ακόρεστου καρβονυλικού συστήματος τριών ατόμων άνθρακα. Παράλληλα, εμφανίζουν μεγάλη ποικιλία βιολογικών δράσεων που τις καθιστά ελκυστικές για τη σύνθεση νέων φαρμακευτικών σκευασμάτων.

Οι ωρόνες είναι μία υποκατηγορία των φλαβονοειδών που απαντάται σπάνια στη φύση. Προσδίδουν ένα φωτεινό κίτρινο χρώμα σε μερικά λουλούδια και βιοσυντίθενται από τις χαλκόνες μέσω της δράσης του ενζύμου συνθάση της ωρεοσιδίνης. Το μόριο της ωρόνης περιέχει ένα ετεροκυκλικό σύστημα βενζοφουρανίου συνδεδεμένο με μια βενζυλιδενο- ομάδα στη θέση 2.

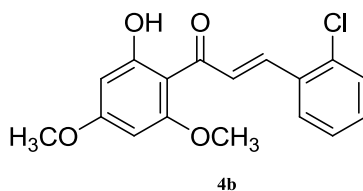
Η παρούσα εργασία βασίστηκε στη σύνθεση, μέσω της αντίδρασης συμπύκνωσης Claisen-Schmidt, ανάλογων χαλκονών που περιέχουν μεθοξυ-ομάδες στις θέσεις 4' και 6' του δακτυλίου Α και διάφορους υποκαταστάτες στη θέση 2 του δακτυλίου Β με σκοπό την περαιτέρω μελέτη της σχέσης δομής-αντιοξειδωτικής δράσης και συγκεκριμένα της ικανότητά τους να δεσμεύουν το υπεροξείδιο του υδρογόνου, με τη χρήση της μεθόδου χημειοφωταύγειας της λουμινόλης

Επίσης, οι χαλκόνες που παρασκευάστηκαν αποτέλεσαν τις αρχικές ενώσεις για τη σύνθεση, μέσω της αντίδρασης της οξειδωτικής κυκλοποίησης, των αντίστοιχων ωρονών, στις οποίες διατηρήθηκαν οι δύο μεθοξυ-ομάδες στο δακτύλιο Α και η θέση του υποκαταστάτη στο δακτύλιο Β. Οι ωρόνες παρασκευάστηκαν με στόχο την περαιτέρω μελέτη της σχέσης δομής-αντιπαρασιτικής δράσης και ειδικότερα της *in vitro* αναστολής του πολλαπλασιασμού των παρασίτων του γένους *Leishmania*.

Τέλος, επιχειρήθηκε η αναγωγή των ωρονών με χρήση καταλυτικής υδρογόνωσης μεταφοράς, χρησιμοποιώντας τον εστέρα του Hantzsch ως αναγωγικό μέσο, παρουσία διαλύτη αιθανόλης και με καταλύτη Pd/C, προκειμένου να μελετηθεί η σχέση δομής-αντιπαρασιτικής δράσης των παραγόμενων ενώσεων.

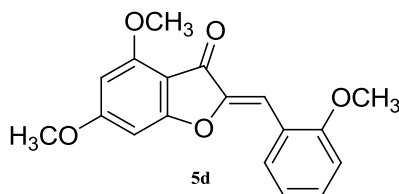
Τα σημαντικότερα συμπεράσματα που προέκυψαν από τη μελέτη αυτή ήταν:

- Η σύνθεση των ενώσεων είναι απλή και σε ικανοποιητικές αποδόσεις
- Οι χαλκόνες και οι ωρόνες μπορούν να τροποποιηθούν δομικά με μεγάλη ποικιλία υποκαταστατών, δημιουργώντας ενώσεις με διαφορετική βιολογική δραστηριότητα.
- Βέλτιστη αντιοξειδωτική δράση, παρουσίασε η χαλκόνη **4b**, που διαθέτει μεθοξυ-ομάδες στις θέσεις 4' και 6' του δακτυλίου Α και υποκαταστάτη Cl στη θέση 2 του δακτυλίου Β.



**Σχήμα 1:** Χημικός τύπος της χαλκόνης **4b**

- Η αντιοξειδωτική δράση των χαλκονών επηρεάζεται σε μεγαλύτερο ποσοστό από τη θέση του υποκαταστάτη στο δακτύλιο Β και σε μικρότερο βαθμό από το είδος του.
- Βέλτιστη αντιπαρασιτική δράση, παρουσίασε η ωρόνη **5d**, που διαθέτει μεθοξυ-ομάδες στις θέσεις 4 και 6 του δακτυλίου Α και μεθοξυ-ομάδα στη θέση 2' του δακτυλίου Β.

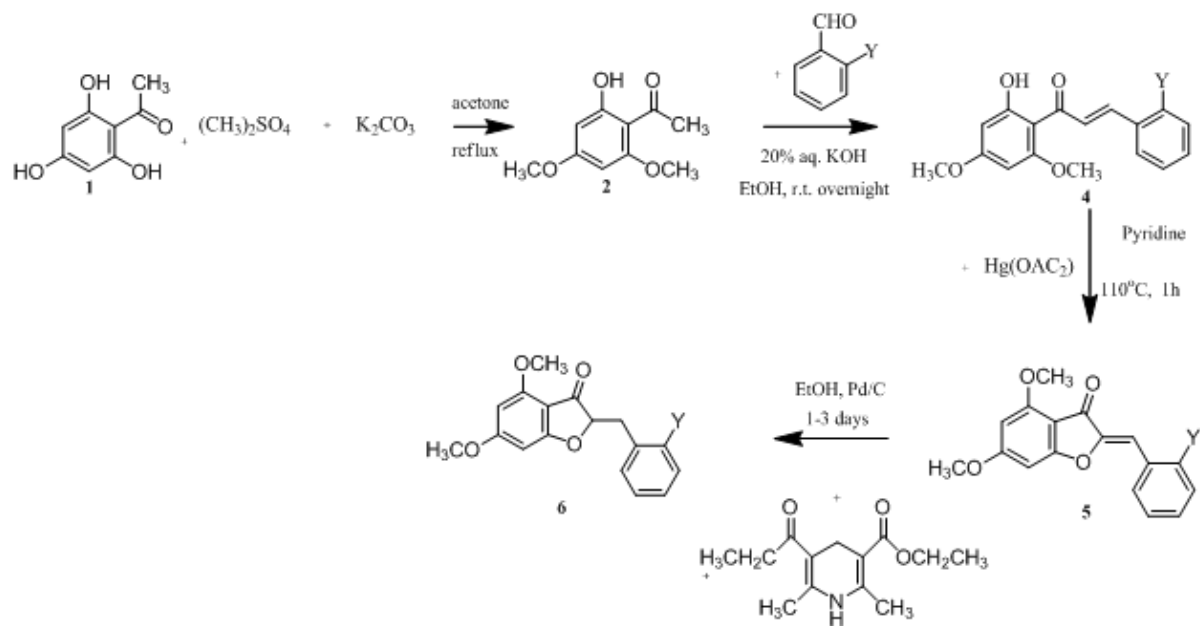


**Σχήμα 2:** Χημικός τύπος της ωρόνης **5d**

- Η αντιπαρασιτική δράση μιας ωρόνης ευνοείται από την παρουσία δύο μεθοξυ-ομάδων στις θέσεις 4 και 6 του δακτυλίου Α, όπως επίσης κι από την παρουσία ομάδας-δότη ηλεκτρονίων στη θέση 2', όπως μεθυλο- και μεθοξυ-ομάδων.

**ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ:** Οργανική σύνθεση βιοδραστικών αναλόγων φυσικών προϊόντων.

**ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ:** χαλκόνες, Claisen-Schmidt, αντιοξειδωτική δράση, ωρόνες, οξειδωτική κυκλοποίηση, αντιλειψμανιακή δράση



**Σχήμα 3:** Το σύνολο των αντιδράσεων που έλαβαν χώρα στην παρούσα εργασία

## ABSTRACT

The aim of the present research is the synthesis, structure elucidation and study of the biological activity of two categories of chemical compounds. More specifically, five chalcones and five aurones were synthesized, that were studied for their potential anti-oxidant and leishmanicidal action, respectively. Moreover, the reduction of aurones was attempted, in order to examine the potential leishmanicidal action of the corresponding products.

Chalcones are natural products belonging to the family of flavonoids. The structural backbone of chalcones consists of two aromatic rings (A and B) linked through an  $\alpha,\beta$  - unsaturated carbonyl system of three carbon atoms. They also exhibit a wide variety of biological actions that make them attractive for the synthesis of new pharmaceuticals.

Aurones are a subclass of flavonoids found rarely in nature. They give a bright yellow color to some flowers and are biosynthesised from chalcones by the action of the enzyme auresidin synthase. The molecule of aurones contains a heterocyclic system of benzofuran attached to a benzylidene group in position 2.

This work includes the synthesis of chalcone analogues through Claisen-Schmidt condensation reaction. These compounds contain methoxy groups in positions 4' and 6' of the A-ring and various substituents in position 2 of ring B and were synthesized for further study of the structure- antioxidant action correlation, namely their ability to scavenge hydrogen peroxide, using the method of luminol chemiluminescence.

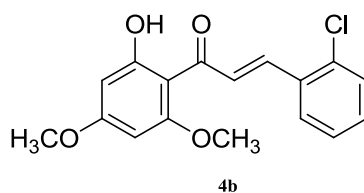
Furthermore, the chalcones synthesised were the starting materials for the synthesis of the corresponding aurones through the reaction of the oxidative cyclization. These products bore the two methoxy groups in A-ring and the substituent in the B-ring. The aurones were prepared for further study of the structure-antiparasitic activity correlation. In particular, the in vitro inhibition of proliferation of the parasites of the *Leishmania* species was evaluated. Finally, in order to investigate the impact of the absence of the double bond in antiparasitic activity, the reduction of aurones was attempted via catalytic transfer hydrogenation, using the Hantzsch ester as a reducing agent in the presence of ethanol as a solvent and Pd / C as a catalyst.

The most important conclusions from this study were:

- The synthesis of chalcones and aurones of this work was simple and provided the compounds in satisfactory yield.
- The chalcones and aurones can be modified structurally with a wide variety of substituents,

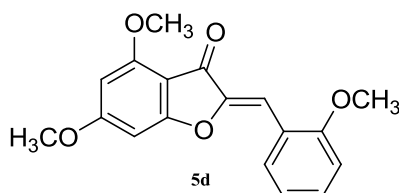
creating compounds with different biological activities.

- Optimal antioxidant action was exhibited by chalcone **4b**, which has methoxy groups in positions 4' and 6' of ring A and a Cl substituent in position 2 of ring B.



**Figure 4:** Chemical structure of chalcone **4b**

- The antioxidant activity of chalcones is affected more by the position of the substituent in ring B and to a lesser degree from the electronic properties of the substituent.
- Optimal antiparasitic activity was shown by aurone **5d** which has methoxy groups in positions 4 and 6 of ring A and methoxy group in position 2' of ring B.



**Figure 5:** Chemical structure of aurone **5d**

- The antiparasitic activity of aurones is favoured by the presence of two methoxy groups in positions 4 and 6 of ring A, as well as on the presence of electron donating groups in position 2, such as methyl- and methoxy-groups.

**SCIENTIFIC AREA:** organic synthesis of bioactive analogs of natural products

**KEYWORDS:** chalcones, Claisen-Schmidt, antioxidant activity, aurones, oxidative cyclization, leishmanicidal activity

# Περιεχόμενα

<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1</b> .....	16
1.1 ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ.....	16
1.1.1 Ορισμός και Γενική Δομή Φλαβονοειδών.....	16
1.1.2 Κυριότερες Κατηγορίες Φλαβονοειδών.....	17
1.1.3 Φαρμακευτικές Ιδιότητες Φλαβονοειδών.....	21
1.1.4 Βιοσύνθεση Φλαβονοειδών .....	25
1.2 ΧΑΛΚΟΝΕΣ.....	27
1.2.1 Ορισμός.....	27
1.2.2 Γενική Δομή Χαλκονών .....	27
1.2.3 Βιολογική δράση φυσικών και συνθετικών χαλκονών.....	28
1.3 ΩΡΟΝΕΣ.....	35
1.3.1 Ορισμός.....	35
1.3.2 Γενική Δομή Ωρονών.....	36
1.3.3 Βιολογική δράση φυσικών και συνθετικών ωρονών .....	36
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2</b> .....	41
2.1 ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ .....	41
2.1.1 Συστήματα κυτταρικής άμυνας κατά των δραστικών μορφών οξυγόνου.....	43
2.1.2 Το H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ως δραστική μορφή οξυγόνου .....	48
2.1.3 Προσδιορισμός της ικανότητας των ενώσεων να δεσμεύουν το H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> με τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας .....	50
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3</b> .....	54
3.1 ΛΕΪΣΜΑΝΙΑΣΗ: ΜΙΑ ‘ΠΑΡΑΜΕΛΗΜΕΝΗ’ ΠΑΡΑΣΙΤΙΚΗ ΑΣΘΕΝΕΙΑ .....	54
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4</b> .....	61
4.1 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ ΧΑΛΚΟΝΩΝ ΜΕ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ .....	61
4.1.1 Σύνθεση χαλκονών .....	62
4.1.2 Φασματοσκοπία <sup>1</sup> H NMR .....	69
4.1.3 Φασματοσκοπία μάζας.....	76
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5</b> .....	80
5.1 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ ΩΡΟΝΩΝ ΜΕ ΑΝΤΙΠΑΡΑΣΙΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ.....	80
5.1.1 Σύνθεση ωρονών.....	81
5.1.2 Φασματοσκοπία <sup>1</sup> H NMR .....	86
5.1.3 Προσπάθεια αναγωγής των ωρονών με αναγωγικό μέσο τον εστέρα του Hantzsch. ....	92
5.1.4 Η σύνθεση του εστέρα του Hantzsch .....	96
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6</b> .....	97
6.1 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	97
6.1.1 Όργανα και συσκευές.....	97
6.1.2 2-υδροξυ-4,6-διμεθοξυ-ακετοφαινόνη (2).....	98
6.1.3 2-(βενζυλοξυ) βενζαλδεΐδη (3e).....	99
6.1.4 Γενική μέθοδος σύνθεσης χαλκονών.....	100
6.1.5 Γενική μέθοδος σύνθεσης ωρονών .....	105
6.1.6 Σύνθεση του εστέρα του Hantzsch .....	109
6.1.7 Μελέτη της αναγωγής των ωρονών.....	110

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7.....	114
7.1 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	114
7.1.1 Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης των χαλκονών.....	114
7.1.2 Αξιολόγηση της αντιλεισμανιακής δράσης ωρονών.....	117
7.1.3 Συμπεράσματα.....	120
7.1.4 Προτάσεις για περαιτέρω έρευνα.....	122
7.1.4.1 Μελέτη δομικών τροποποιήσεων στους δακτυλίους των χαλκονών και των ωρονών.....	122
7.1.4.2 Μελέτη της αναγωγής των ωρονών.....	122
7.2 ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΧΑΛΚΟΝΩΝ.....	124
7.2.1 Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης των χαλκονών.....	124
7.3 ΑΝΤΙΠΑΡΑΣΙΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΕΝΑΝΤΙ ΤΗΣ ΣΠΛΑΧΝΙΚΗΣ ΛΕΙΣΜΑΝΙΑΣΗΣ.....	129
7.3.1 Υλικά και μέθοδοι.....	129
7.3.2 Μελέτη τοξικότητας κινολινων-χαλκονών THPI σε διαφοροποιημένα μακροφάγα.....	130
7.3.3 Αναστολή ανάπτυξης.....	131
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	132



## Κατάλογος σχημάτων

<b>ΣΧΗΜΑ 1:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ ΧΑΛΚΟΝΗΣ <b>4B</b> .....	2
<b>ΣΧΗΜΑ 2:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ ΩΡΟΝΗΣ <b>5D</b> .....	2
<b>ΣΧΗΜΑ 3:</b> ΤΟ ΣΥΝΟΛΟ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΩΝ ΠΟΥ ΕΛΑΒΑΝ ΧΩΡΑ ΣΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΕΡΓΑΣΙΑ .....	3
<b>FIGURE 4:</b> CHEMICAL STRUCTURE OF CHALCONE <b>4B</b> .....	5
<b>FIGURE 5:</b> CHEMICAL STRUCTURE OF AURONE <b>5D</b> .....	5
<b>ΣΧΗΜΑ 6:</b> ΓΕΝΙΚΗ ΔΟΜΗ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ .....	16
<b>ΣΧΗΜΑ 7:</b> ΧΗΜΙΚΟΙ ΤΥΠΟΙ ΤΩΝ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ (1), ΤΩΝ ΙΣΟΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ (2) ΚΑΙ ΤΩΝ ΝΕΟΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ (3).....	18
<b>ΣΧΗΜΑ 8:</b> Η ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΤΩΝ ΕΛΑΣΣΟΝΩΝ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ .....	18
<b>ΣΧΗΜΑ 9:</b> ΚΥΡΙΟΤΕΡΕΣ ΔΟΜΕΣ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ .....	20
<b>ΣΧΗΜΑ 10:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ ΝΑΡΙΝΓΚΕΝΙΝΗΣ (ΑΡΙΣΤΕΡΑ) ΚΑΙ ΤΗΣ ΧΑΛΚΟΝΑΡΙΝΓΚΕΝΙΝΗΣ (ΔΕΞΙΑ) .....	21
<b>ΣΧΗΜΑ 11:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ ΚΕΡΚΕΤΙΝΗΣ (Α), ΤΗΣ ΜΥΡΙΚΕΤΙΝΗΣ (Β), ΤΗΣ ΓΚΟΣΥΠΕΤΙΝΗΣ (C) ΚΑΙ ΤΗΣ ΚΕΡΚΕΤΑΓΕΝΙΝΗΣ (D). .....	22
<b>ΣΧΗΜΑ 12:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ ΛΟΥΤΕΟΛΙΝΗΣ (Α) ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΜΕΝΤΟΦΛΑΒΟΝΗΣ (Β). .....	23
<b>ΣΧΗΜΑ 13:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ ΑΡΤΕΜΙΣΙΝΙΝΗΣ.....	24
<b>ΣΧΗΜΑ 14:</b> Ο ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ ΑΡΤΕΜΕΤΙΝΗΣ (Α), ΤΗΣ ΚΑΣΤΙΣΙΝΗΣ (Β), ΣΑΚΟΥΡΑΝΕΤΙΝΗ (C) ΚΑΙ ΤΗΣ 7-ΜΕΘΟΞΥΑΡΩΜΑΔΕΝΔΡΙΝΗΣ (D). .....	24
<b>ΣΧΗΜΑ 15:</b> ΤΟ ΒΙΟΣΥΝΘΕΤΙΚΟ ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΤΩΝ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ .....	26
<b>ΣΧΗΜΑ 16:</b> ΓΕΝΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΧΑΛΚΟΝΩΝ.....	27
<b>ΣΧΗΜΑ 17:</b> ΛΙΚΟΧΑΛΚΟΝΕΣ Α (Α)ΚΑΙ C (Β).....	29
<b>ΣΧΗΜΑ 18:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ ΞΑΝΘΟΧΟΥΜΟΛΗΣ .....	29
<b>ΣΧΗΜΑ 19:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ ΚΑΡΔΑΜΟΝΙΝΗΣ .....	30
<b>ΣΧΗΜΑ 20:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ ΦΛΑΒΟΚΑΒΑΪΝΗΣ Α.....	30
<b>ΣΧΗΜΑ 21:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ (E)-1-(4-ΝΙΤΡΟΦΑΙΝΥΛ)-3-(3,4,5-ΤΡΙΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛ)ΠΡΟΠ-2-ΕΝ-1-ΟΝΗΣ .....	31
<b>ΣΧΗΜΑ 22:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ (E)-1-(2,5-ΔΙΑΙΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛ)-3-(5-ΜΕΘΥΛΘΕΙΟΦΑΙΝ-2-ΥΛ)ΠΡΟΠ-2-ΕΝ-1-ΟΝΗΣ .....	31
<b>ΣΧΗΜΑ 23:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ ΒΟΥΤΕΪΝΗΣ.....	32
<b>ΣΧΗΜΑ 24:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ ΙΣΟΛΙΚΙΡΙΤΙΓΕΝΙΝΗΣ .....	32
<b>ΣΧΗΜΑ 25:</b> ΧΗΜΙΚΟΙ ΤΥΠΟΙ ΤΩΝ ΟΜΟΒΟΥΤΕΪΝΗ (Α), ΛΙΚΟΑΓΡΟΧΑΛΚΟΝΗ Α (Β) ΚΑΙ 5-ΠΡΕΝΥΛΟ-ΒΟΥΤΕΪΝΗ (C).....	33
<b>ΣΧΗΜΑ 26:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ ΣΟΥΛΦΟΥΡΕΤΙΝΗΣ (ΑΡΙΣΤΕΡΑ) ΚΑΙ ΤΗΣ ΜΑΡΙΤΙΜΕΤΙΝΗΣ (ΔΕΞΙΑ) ΚΑΙ ΤΗΣ ΩΡΕΣΙΔΙΝΗΣ (ΚΑΤΩ). .....	35
<b>ΣΧΗΜΑ 27:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΜΙΑΣ (Z)-ΩΡΟΝΗΣ .....	36
<b>ΣΧΗΜΑ 28:</b> ΩΡΟΝΕΣ ΜΕ ΑΝΤΙΛΕΪΣΜΑΝΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ (ΑΠΟ KAYSER & KIDERLEN, 1998) .....	38

<b>ΣΧΗΜΑ 29:</b> ΧΗΜΙΚΟΙ ΤΥΠΟΙ ΤΗΣ (Z)-2-(3,4-ΔΙΎΔΡΟΞΥΒΕΝΖΥΛΙΔΕΝ)-4,5,6-ΤΡΙΜΕΘΟΞΥΒΕΝΖΟΦΟΥΡΑΝ-3-ΟΝΗΣ (ΑΡΙΣΤΕΡΑ) ΚΑΙ ΤΗΣ (Z)-2-(3,4-ΔΙΜΕΘΟΞΥΒΕΝΖΥΛΙΔΕΝ)-4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥΒΕΝΖΟΦΟΥΡΑΝ-3-ΟΝΗΣ (ΔΕΞΙΑ).....	39
<b>ΣΧΗΜΑ 30:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ (Z)-4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2-(2-ΜΕΘΟΞΥΒΕΝΖΥΛΙΔΕΝ)ΒΕΝΖΟΦΟΥΡΑΝ-3-ΟΝΗΣ (ΔΕΞΙΑ) ΚΑΙ ΤΗΣ (E)-1-(2-ΥΔΡΟΞΥ-4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥΦΑΙΝΥΛ)-3-Ρ-ΤΟΛΥΛΠΡΟΠ-2-ΕΝ-1-ΟΝΗ (ΑΡΙΣΤΕΡΑ). ....	40
<b>ΣΧΗΜΑ 31:</b> ΕΞΟΥΔΕΤΕΡΩΣΗ ΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΜΟΡΦΩΝ ΟΞΥΓΟΝΟΥ ΑΠΟ ΤΗΝ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΗ ΤΗΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ ΚΑΙ ΤΗΝ ΑΝΑΓΩΓΑΣΗ ΤΗΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ .....	43
<b>ΣΧΗΜΑ 32:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ Α-ΤΟΚΟΦΕΡΟΛΗΣ (ΒΙΤΑΜΙΝΗ Ε).....	44
<b>ΣΧΗΜΑ 33:</b> ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΤΟΥ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	49
<b>ΣΧΗΜΑ 34:</b> ΔΙΑΣΠΑΣΗ ΤΟΥ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	49
<b>ΣΧΗΜΑ 35:</b> ΑΝΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΥΔΡΟΓΟΝΟΥ ΑΠΟ ΤΟ NADPH ΜΕ ΤΗ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΤΗΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ (G-SH) .....	49
<b>ΣΧΗΜΑ 36:</b> ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ FENTON.....	51
<b>ΣΧΗΜΑ 37:</b> ΟΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΠΟΥ ΣΥΜΒΑΙΝΟΥΝ ΚΑΤΑ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑΣ ΤΗΣ ΛΟΥΜΙΝΟΛΗΣ .....	52
<b>ΣΧΗΜΑ 38:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΣΤΙΒΟΓΛΥΚΟΝΙΚΟΥ ΝΑΤΡΙΟΥ .....	58
<b>ΣΧΗΜΑ 39:</b> 4',6'-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2'-ΥΔΡΟΞΥ-ΧΑΛΚΟΝΕΣ ΥΠΟΚΑΤΕΣΤΗΜΕΝΕΣ ΣΤΟ ΔΑΚΤΥΛΙΟ Β ΜΕ ΑΞΙΟΛΟΓΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ. ....	61
<b>ΣΧΗΜΑ 40:</b> 4',6'-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2'-ΥΔΡΟΞΥ-ΧΑΛΚΟΝΕΣ, ΠΟΥ ΣΥΝΤΕΘΗΚΑΝ ΣΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΕΡΓΑΣΙΑ.....	62
<b>ΣΧΗΜΑ 41:</b> ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΧΑΛΚΟΝΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ CLAISEN-SCHMIDT.....	62
<b>ΣΧΗΜΑ 42:</b> ΣΥΜΠΥΚΝΩΣΗ ΤΗΣ 2'-ΥΔΡΟΞΥ-ΑΚΕΤΟΦΑΙΝΟΝΗΣ ΜΕ ΑΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΑΛΔΕΎΔΕΣ ΥΠΟ ΤΗΝ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΩΝ. ....	63
<b>ΣΧΗΜΑ 43:</b> ΣΥΝΘΕΣΗ ΧΑΛΚΟΝΩΝ ΜΕ ΤΗ ΣΥΖΕΥΞΗ SUZUKI ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΕ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΒΕΝΖΟΪΚΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΑΙ ΦΑΙΝΥΛΟ-ΒΙΝΥΛΟ-ΒΟΡΟΝΙΚΑ ΟΞΕΑ .....	63
<b>ΣΧΗΜΑ 44:</b> Η ΤΥΠΟΥ ΜΥΚΑΙΥΑΜΑ ΑΛΔΟΛΙΚΗ ΣΥΜΠΥΚΝΩΣΗ. ....	64
<b>ΣΧΗΜΑ 45:</b> ΓΕΝΙΚΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΧΑΛΚΟΝΩΝ .....	64
<b>ΣΧΗΜΑ 46:</b> ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΣΥΜΠΥΚΝΩΣΗΣ CLAISEN-SCHMIDT .....	66
<b>ΣΧΗΜΑ 47:</b> ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΗΣ 2'-ΥΔΡΟΞΥ-4',6'-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-ΑΚΕΤΟΦΑΙΝΟΝΗΣ .....	67
<b>ΣΧΗΜΑ 48:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ 2-(ΒΕΝΖΥΛΟΞΥ)-ΒΕΝΖΑΛΔΕΎΔΗΣ .....	67
<b>ΣΧΗΜΑ 49:</b> ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΗΣ 2-(ΒΕΝΖΥΛΟΞΥ)-ΒΕΝΖΑΛΔΕΎΔΗΣ .....	68
<b>ΣΧΗΜΑ 50:</b> ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΠΥΡΗΝΟΦΙΛΗΣ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ S <sub>N</sub> 2 ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΗΣ 2-(ΒΕΝΖΥΛΟΞΥ)-ΒΕΝΖΑΛΔΕΎΔΗΣ.....	68
<b>ΣΧΗΜΑ 51:</b> ΔΕΣΜΟΣ ΥΔΡΟΓΟΝΟΥ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥ ΥΔΡΟΓΟΝΟΥ ΤΟΥ ΟΗ ΚΑΙ ΤΟΥ ΟΞΥΓΟΝΟΥ ΤΟΥ C=O ΣΤΙΣ ΧΑΛΚΟΝΕΣ.....	70
<b>ΣΧΗΜΑ 52:</b> ΓΕΝΙΚΗ ΔΟΜΗ ΤΩΝ 4',6'-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2'-ΥΔΡΟΞΥ-ΧΑΛΚΟΝΩΝ .....	70
<b>ΣΧΗΜΑ 53:</b> Η ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΘΡΑΥΣΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗ ΛΗΨΗ ΤΩΝ ΦΑΣΜΑΤΩΝ MS2 .....	76
<b>ΣΧΗΜΑ 54:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ ΩΡΟΝΗΣ 4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2'-ΜΕΘΟΞΥ-ΩΡΟΝΗ, ΜΕ ΑΞΙΟΛΟΓΗ ΑΝΤΙΠΑΡΑΣΙΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ. ....	80

<b>ΣΧΗΜΑ 55:</b> 4, 6-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-ΩΡΟΝΕΣ, ΠΟΥ ΣΥΝΤΕΘΗΚΑΝ ΣΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΕΡΓΑΣΙΑ. ....	81
<b>ΣΧΗΜΑ 56:</b> ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΩΡΟΝΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΚΥΚΛΟΠΟΙΗΣΗΣ ΜΕ ΟΞΙΚΟ ΥΔΡΑΡΓΥΡΟ. ....	82
<b>ΣΧΗΜΑ 57:</b> Η ΜΕΘΟΔΟΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ WHEELER .....	82
<b>ΣΧΗΜΑ 58:</b> ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΒΕΝΖΟΦΟΥΡΑΝΟΝΗΣ ΚΑΙ ΑΡΥΛΑΛΛΔΕΪΔΗΣ, ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΟΞΙΚΟΥ ΑΡΓΙΛΙΟΥ ΠΡΟΣ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ ΩΡΟΝΩΝ. ....	83
<b>ΣΧΗΜΑ 59:</b> ΜΕΘΟΔΟΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΩΡΟΝΩΝ ΑΠΟ ΥΠΟΚΑΤΕΣΤΗΜΕΝΕΣ 1-(2-ΥΔΡΟΞΥΦΑΙΝΥΛ)-3-ΦΑΙΝΥΛΠΡΟΠΙΝΟΛΗΣ ΜΕ ΚΑΤΑΛΥΤΗ ΧΡΥΣΟ. ....	84
<b>ΣΧΗΜΑ 60:</b> ΓΕΝΙΚΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΩΡΟΝΩΝ. ....	84
<b>ΣΧΗΜΑ 61:</b> ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΚΥΚΛΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΩΝ ΧΑΛΚΟΝΩΝ ΠΡΟΣ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ ΩΡΟΝΩΝ. ....	85
<b>ΣΧΗΜΑ 62:</b> ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΑ ΤΟΥ ARTHUR RUDOLF HANTZSCH ΚΑΙ Ο ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ 1,4-ΔΙΪΔΡΟΠΥΡΙΔΙΝΗΣ. ....	92
<b>ΣΧΗΜΑ 63:</b> Η ΕΠΙΠΕΔΗ (ΑΡΙΣΤΕΡΑ) ΚΑΙ Η ΣΥΡΡΙΚΝΩΜΕΝΗ (ΔΕΞΙΑ) ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΤΟΥ ΕΣΤΕΡΑ ΤΟΥ HANTZSCH. ....	93
<b>ΣΧΗΜΑ 64:</b> ΓΕΝΙΚΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΑΝΑΓΩΓΗΣ ΤΩΝ ΩΡΟΝΩΝ ΜΕ ΑΝΑΓΩΓΙΚΟ ΜΕΣΟ ΤΟΝ ΕΣΤΕΡΑ ΤΟΥ HANTZSCH. ....	95
<b>ΣΧΗΜΑ 65:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ 4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2-(2-ΜΕΘΟΞΥΒΕΝΖΥΛ)-2,3-ΔΙΥΔΡΟΒΕΝΖΟΦΟΥΡΑΝ-3-ΟΛΗΣ (ΔΕΞΙΑ) ΚΑΙ ΤΗΣ 4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2-(2-ΜΕΘΟΞΥΒΕΝΖΥΛ)ΒΕΝΖΟΦΟΥΡΑΝ-3-ΟΝΗΣ (ΑΡΙΣΤΕΡΑ). ....	96
<b>ΣΧΗΜΑ 66:</b> ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΕΣΤΕΡΑ ΤΟΥ HANTZSCH .....	96
<b>ΣΧΗΜΑ 67:</b> ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΤΗΣ 2-ΥΔΡΟΞΥ-4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-ΑΚΕΤΟΦΑΙΝΟΝΗΣ. ....	98
<b>ΣΧΗΜΑ 68:</b> ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΤΗΣ 2-(ΒΕΝΖΥΛΟΞΥ)-ΒΕΝΖΑΛΛΔΕΪΔΗΣ. ....	99
<b>ΣΧΗΜΑ 69:</b> ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΤΩΝ ΧΑΛΚΟΝΩΝ .....	100
<b>ΣΧΗΜΑ 70:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ 4',6'-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2-ΜΕΘΥΛΟ-2'-ΥΔΡΟΞΥ-ΧΑΛΚΟΝΗΣ .....	100
<b>ΣΧΗΜΑ 71:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ 4',6'-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2'-ΥΔΡΟΞΥ-2-ΧΛΩΡΟ-ΧΑΛΚΟΝΗΣ .....	101
<b>ΣΧΗΜΑ 72:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ 4',6'-ΔΙΜΕΘΟΞΥ -2'-ΥΔΡΟΞΥ-ΧΑΛΚΟΝΗΣ .....	102
<b>ΣΧΗΜΑ 73:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ 2, 4',6'-ΤΡΙΜΕΘΟΞΥ -2'-ΥΔΡΟΞΥ-ΧΑΛΚΟΝΗΣ .....	103
<b>ΣΧΗΜΑ 74:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ 2-ΒΕΝΖΥΛΟΞΥ-4',6'-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2'-ΥΔΡΟΞΥ-ΧΑΛΚΟΝΗΣ .....	104
<b>ΣΧΗΜΑ 75:</b> ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΩΡΟΝΩΝ .....	105
<b>ΣΧΗΜΑ 76:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ 4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2'-ΜΕΘΥΛΟ-ΩΡΟΝΗΣ .....	105
<b>ΣΧΗΜΑ 77:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ 4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2'-ΧΛΩΡΟ-ΩΡΟΝΗΣ .....	106
<b>ΣΧΗΜΑ 78:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ 4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-ΩΡΟΝΗΣ .....	107
<b>ΣΧΗΜΑ 79:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ 4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2'-ΜΕΘΟΞΥ-ΩΡΟΝΗΣ .....	108
<b>ΣΧΗΜΑ 80:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ 2'-ΒΕΝΖΥΛΟΞΥ-4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-ΩΡΟΝΗΣ .....	108
<b>ΣΧΗΜΑ 81:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΟΥ ΕΣΤΕΡΑ ΤΟΥ HANTZSCH .....	109
<b>ΣΧΗΜΑ 82:</b> ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΑΓΩΓΗΣ ΤΩΝ ΩΡΟΝΩΝ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΕΣΤΕΡΑ ΤΟΥ HANTZSCH. ....	110
<b>ΣΧΗΜΑ 83:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ 4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2-(2-ΜΕΘΥΛΒΕΝΖΥΛ)ΒΕΝΖΟΦΟΥΡΑΝ-3-ΟΝΗΣ. ....	111

<b>ΣΧΗΜΑ 84:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ 2-(2-ΧΛΩΡΟΒΕΝΖΥΛ)-4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥΒΕΝΖΟΦΟΥΡΑΝ-3-ΟΝΗΣ.....	111
<b>ΣΧΗΜΑ 85:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ 2-BENZΥΛ-4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥΒΕΝΖΟΦΟΥΡΑΝ-3-ΟΝΗΣ .....	112
<b>ΣΧΗΜΑ 86:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ 4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2-(2-ΜΕΘΟΞΥΒΕΝΖΥΛ)-2,3-ΔΙΥΔΡΟΒΕΝΖΟΦΟΥΡΑΝ-3-ΟΛΗΣ (ΔΕΞΙΑ) ΚΑΙ ΤΗΣ 4,6-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2-(2-ΜΕΘΟΞΥΒΕΝΖΥΛ)ΒΕΝΖΟΦΟΥΡΑΝ-3-ΟΝΗΣ (ΑΡΙΣΤΕΡΑ).....	112
<b>ΣΧΗΜΑ 87:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ 4',6'-ΔΙΜΕΘΟΞΥ-2'-ΥΔΡΟΞΥ-2-ΧΛΩΡΟ-ΧΑΛΚΟΝΗΣ.....	121
<b>ΣΧΗΜΑ 88:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ ΩΡΟΝΗΣ <b>5D</b> . .....	121
<b>ΣΧΗΜΑ 89:</b> ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ ΕΝΩΣΗΣ 6D' .....	123

## Κατάλογος εικόνων

<b>ΕΙΚΟΝΑ 1:</b> ΤΟ ΦΥΤΟ ARTEMISIA ANNUA.....	25
<b>ΕΙΚΟΝΑ 2:</b> ΦΥΤΟ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ GLYCYRRHIZA.....	29
<b>ΕΙΚΟΝΑ 3:</b> ΦΥΤΟ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ ZINGIBERUS .....	30
<b>ΕΙΚΟΝΑ 4:</b> ΤΟ ΦΥΤΟ PIPER ELONGATUM .....	33
<b>ΕΙΚΟΝΑ 5:</b> ΑΘΗΡΩΣΚΛΗΡΥΝΣΗ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑΣ ΑΡΤΗΡΙΑΣ (ΑΡΙΣΤΕΡΑ). Η ΕΓΚΑΡΣΙΑ ΔΙΑΤΟΜΗ ΑΥΤΗΣ ΤΗΣ ΑΡΤΗΡΙΑΣ ΑΠΟΚΑΛΥΠΤΕΙ ΜΙΑ ΜΕΓΑΛΗ ΑΘΗΡΩΜΑΤΙΚΗ ΠΛΑΚΑ (ΣΤΕΝΩΣΗ ΑΝΩ ΤΟΥ 75%) ΜΕ ΛΕΠΤΟ ΙΝΩΔΕΣ ΕΠΙΚΑΛΥΜΜΑ (ΒΕΛΟΣ) ΚΙ ΕΝΑΝ ΠΑΧΥ ΑΘΗΡΩΜΑΤΙΚΟ ΠΥΡΗΝΑ (ΚΕΦΑΛΗ ΒΕΛΟΥΣ). ΝΕΚΡΟΤΟΜΙΚΟ ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΜΑ ΣΕ ΑΣΘΕΝΗ ΜΕ ΑΘΗΡΩΜΑΤΟΣΚΛΗΡΥΝΣΗ ΤΩΝ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΩΝ ΑΡΤΗΡΙΩΝ (ΔΕΞΙΑ). ΤΟ ΑΓΓΕΙΟ ΣΤΗΝ ΚΟΡΥΦΗ ΤΟΥ ΒΕΛΟΥΣ ΕΧΕΙ ΣΤΕΝΩΣΗ ΠΕΡΙΠΟΥ 75%, ΕΝΩ ΕΚΕΙΝΟ ΣΤΗΝ ΚΕΦΑΛΗ ΤΟΥ ΒΕΛΟΥΣ ΠΕΡΙΠΟΥ 50-60%.....	42
<b>ΕΙΚΟΝΑ 6:</b> ΦΥΣΙΚΕΣ ΠΗΓΕΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ Ε.....	45
<b>ΕΙΚΟΝΑ 7:</b> ΠΗΓΕΣ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ ΚΑΙ ΗΜΕΡΗΣΙΕΣ ΑΝΑΓΚΕΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ Ε.....	47
<b>ΕΙΚΟΝΑ 8:</b> Η LEISHMANIA DONOVANI ΟΠΩΣ ΦΑΙΝΕΤΑΙ ΜΕ ΕΝΑ ΣΥΝΕΣΤΙΑΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ.....	54
<b>ΕΙΚΟΝΑ 9:</b> Ο ΚΥΚΛΟΣ ΖΩΗΣ ΤΗΣ LEISHMANIA. ....	55
<b>ΕΙΚΟΝΑ 10:</b> ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΗΣ ΛΕΪΣΜΑΝΙΑΣΗΣ ΑΝΑ ΤΟΝ ΚΟΣΜΟ.....	57
<b>ΕΙΚΟΝΑ 11:</b> ΦΑΣΜΑ <sup>1</sup> H NMR (CDCL <sub>3</sub> , 300 MHz) ΤΗΣ ΧΑΛΚΟΝΗΣ <b>4A</b> .....	72
<b>ΕΙΚΟΝΑ 12:</b> ΦΑΣΜΑ <sup>1</sup> H NMR (CDCL <sub>3</sub> , 300 MHz) ΤΗΣ ΧΑΛΚΟΝΗΣ <b>AD101</b> .....	73
<b>ΕΙΚΟΝΑ 13:</b> ΦΑΣΜΑ <sup>1</sup> H NMR (CDCL <sub>3</sub> , 600 MHz) ΤΗΣ ΧΑΛΚΟΝΗΣ <b>4B</b> .....	74
<b>ΕΙΚΟΝΑ 14:</b> ΦΑΣΜΑ <sup>1</sup> H NMR (CDCL <sub>3</sub> , 300 MHz) ΤΗΣ ΧΑΛΚΟΝΗΣ <b>AD42</b> .....	75
<b>ΕΙΚΟΝΑ 15:</b> ESI-MS ΦΑΣΜΑ ΤΗΣ ΧΑΛΚΟΝΗΣ <b>4A</b> (ΠΑΝΩ) ΚΑΙ MS-MS ΦΑΣΜΑ ΤΗΣ ΧΑΛΚΟΝΗΣ <b>4A</b> (ΘΡΑΥΣΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΚΟΡΥΦΗΣ ΤΟΥ ΜΟΡΙΑΚΟΥ ΙΟΝΤΟΣ) (ΚΑΤΩ).....	78
<b>ΕΙΚΟΝΑ 16:</b> ESI-MS ΦΑΣΜΑ ΤΗΣ ΕΝΩΣΗΣ <b>6D</b> (ΠΑΝΩ) ΚΑΙ MS-MS ΦΑΣΜΑ ΤΗΣ ΕΝΩΣΗΣ <b>6D</b> (ΘΡΑΥΣΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΚΟΡΥΦΗΣ ΤΟΥ ΜΟΡΙΑΚΟΥ ΙΟΝΤΟΣ) (ΚΑΤΩ) .....	79
<b>ΕΙΚΟΝΑ 17:</b> ΦΑΣΜΑ <sup>1</sup> H NMR (CDCL <sub>3</sub> , 300 MHz) ΤΗΣ ΩΡΟΝΗΣ <b>5A</b> .....	88
<b>ΕΙΚΟΝΑ 18:</b> ΦΑΣΜΑ <sup>1</sup> H NMR (CDCL <sub>3</sub> , 300 MHz) ΤΗΣ ΩΡΟΝΗΣ <b>AD56</b> .....	89
<b>ΕΙΚΟΝΑ 19:</b> ΦΑΣΜΑ <sup>1</sup> H NMR (CDCL <sub>3</sub> , 300 MHz) ΤΗΣ ΩΡΟΝΗΣ <b>5B</b> .....	90
<b>ΕΙΚΟΝΑ 20:</b> ΦΑΣΜΑ <sup>1</sup> H NMR (CDCL <sub>3</sub> , 300 MHz) ΤΗΣ ΩΡΟΝΗΣ <b>AD46</b> .....	91
<b>ΕΙΚΟΝΑ 21:</b> Η ΣΧΕΣΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΠΡΟΣ ΤΟ LO/L ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΝΩΣΗ 4B.....	114
<b>ΕΙΚΟΝΑ 22:</b> Η ΣΧΕΣΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΠΡΟΣ ΤΟ LO/L ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΝΩΣΗ 4A .....	127
<b>ΕΙΚΟΝΑ 23:</b> Η ΣΧΕΣΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΠΡΟΣ ΤΟ LO/L ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΝΩΣΗ 4B.....	127
<b>ΕΙΚΟΝΑ 24:</b> Η ΣΧΕΣΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΠΡΟΣ ΤΟ LO/L ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΝΩΣΗ 4C.....	128
<b>ΕΙΚΟΝΑ 25:</b> ΦΑΣΜΑ <sup>1</sup> H NMR (CDCL <sub>3</sub> , 300 MHz) ΤΗΣ ΧΑΛΚΟΝΗΣ <b>2</b> .....	140
<b>ΕΙΚΟΝΑ 26:</b> ΦΑΣΜΑ <sup>1</sup> H NMR (CDCL <sub>3</sub> , 300 MHz) ΤΗΣ ΧΑΛΚΟΝΗΣ <b>3E</b> .....	141
<b>ΕΙΚΟΝΑ 27:</b> ΦΑΣΜΑ <sup>1</sup> H NMR (CDCL <sub>3</sub> , 300 MHz) ΤΗΣ ΧΑΛΚΟΝΗΣ <b>4A</b> .....	142

<b>ΕΙΚΟΝΑ 28:</b> ΦΑΣΜΑ <sup>1</sup> H NMR (CDCL <sub>3</sub> , 600 MHZ) ΤΗΣ ΧΑΛΚΟΝΗΣ <b>4B</b> .....	143
<b>ΕΙΚΟΝΑ 29:</b> ΦΑΣΜΑ <sup>1</sup> H NMR (CDCL <sub>3</sub> , 600 MHZ) ΤΗΣ ΧΑΛΚΟΝΗΣ <b>4C</b> .....	144
<b>ΕΙΚΟΝΑ 30:</b> ΦΑΣΜΑ <sup>1</sup> H NMR (CDCL <sub>3</sub> , 300 MHZ) ΤΗΣ ΧΑΛΚΟΝΗΣ <b>4D</b> .....	145
<b>ΕΙΚΟΝΑ 31:</b> ΦΑΣΜΑ <sup>1</sup> H NMR (CDCL <sub>3</sub> , 300 MHZ) ΤΗΣ ΧΑΛΚΟΝΗΣ <b>4C</b> .....	146
<b>ΕΙΚΟΝΑ 32:</b> ΦΑΣΜΑ <sup>1</sup> H NMR (CDCL <sub>3</sub> , 300 MHZ) ΤΗΣ ΩΡΟΝΗΣ <b>5A</b> .....	147
<b>ΕΙΚΟΝΑ 33:</b> ΦΑΣΜΑ <sup>1</sup> H NMR (CDCL <sub>3</sub> , 300 MHZ) ΤΗΣ ΩΡΟΝΗΣ <b>5B</b> .....	148
<b>ΕΙΚΟΝΑ 34:</b> ΦΑΣΜΑ <sup>1</sup> H NMR (CDCL <sub>3</sub> , 300 MHZ) ΤΗΣ ΩΡΟΝΗΣ <b>5C</b> .....	149
<b>ΕΙΚΟΝΑ 35:</b> ΦΑΣΜΑ <sup>1</sup> H NMR (CDCL <sub>3</sub> , 300 MHZ) ΤΗΣ ΩΡΟΝΗΣ <b>5D</b> .....	150
<b>ΕΙΚΟΝΑ 36:</b> ΦΑΣΜΑ <sup>1</sup> H NMR (CDCL <sub>3</sub> , 300 MHZ) ΤΗΣ ΩΡΟΝΗΣ <b>5E</b> .....	151
<b>ΕΙΚΟΝΑ 37:</b> ΦΑΣΜΑ <sup>1</sup> H NMR (CDCL <sub>3</sub> , 300 MHZ) ΤΗΣ ΕΝΩΣΗΣ <b>6D</b> .....	152
<b>ΕΙΚΟΝΑ 38:</b> ESI-MS ΦΑΣΜΑ ΤΗΣ ΧΑΛΚΟΝΗΣ <b>4B</b> .....	153
<b>ΕΙΚΟΝΑ 39:</b> ESI-MS ΦΑΣΜΑ ΤΗΣ ΧΑΛΚΟΝΗΣ <b>4C</b> .....	154
<b>ΕΙΚΟΝΑ 40:</b> ESI-MS ΦΑΣΜΑ ΤΗΣ ΩΡΟΝΗΣ <b>5B</b> .....	155
<b>ΕΙΚΟΝΑ 41:</b> ESI-MS ΦΑΣΜΑ ΤΗΣ ΩΡΟΝΗΣ <b>5C</b> .....	156
<b>ΕΙΚΟΝΑ 42:</b> ESI-MS ΦΑΣΜΑ ΤΗΣ ΩΡΟΝΗΣ <b>5D</b> .....	157

## Κατάλογος πινάκων

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: ΗΜΕΡΗΣΙΕΣ ΑΝΑΓΚΕΣ ΣΕ ΒΙΤΑΜΙΝΗ Ε ΓΙΑ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΗΛΙΚΙΑΚΕΣ ΟΜΑΔΕΣ.....	46
ΠΙΝΑΚΑΣ 2: ΡΙΖΙΚΟΙ ΚΑΙ ΜΗ ΡΙΖΙΚΟΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΤΕΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ .....	47
ΠΙΝΑΚΑΣ 3: .....	70
ΠΙΝΑΚΑΣ 4 .....	77
ΠΙΝΑΚΑΣ 5 .....	86
ΠΙΝΑΚΑΣ 6: ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟ ΜΕΛΕΤΗ ΧΑΛΚΟΝΩΝ .....	116
ΠΙΝΑΚΑΣ 7: ΑΝΤΙΛΕΪΣΜΑΝΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟ ΜΕΛΕΤΗ ΩΡΟΝΩΝ .....	119

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Τμήματος Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου κατά το ακαδημαϊκό έτος 2010-2011, υπό την επίβλεψη της Δρ Α. Δέτση, Λέκτορα ΕΜΠ.

Για την πραγματοποίηση της παρούσας ερευνητικής εργασίας, θα ήθελα να ευχαριστήσω:

Την υπεύθυνη Δρ Αναστασία Δέτση, Λέκτορα ΕΜΠ για την ανάθεση της Διπλωματικής Εργασίας και την ουσιαστική βοήθεια που μου προσέφερε, με την άποψη συνεργασία, τις πολύτιμες συμβουλές και την καθοδήγησή της σε όλη τη διάρκεια της εκπόνησης αυτής της εργασίας.

Τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής, Καθηγήτρια Β. Ωραιοπούλου και Καθηγητή Α. Τσολομούτη για την τιμή που μου έκαναν να συμμετάσχουν στην εξεταστική επιτροπή.

Τη Μαρίνα Ρουσσάκη, υποψήφια διδάκτορα στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του ΕΜΠ, που με βοήθησε με πολύ υπομονή όποτε τη χρειάστηκα, τόσο σε εργαστηριακό επίπεδο όσο και για τη συγγραφή της παρούσας εργασίας.

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

Τους Δρ Κυριάκο Προυσή, μεταδιδακτορικό ερευνητή στο Ινστιτούτο Οργανικής και Φαρμακευτικής Χημείας του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών, Δρ. Μ. Ζερβού και Δρ. Π. Ζουμπουλάκη, Ερευνητές στο Ινστιτούτο Οργανικής και Φαρμακευτικής Χημείας του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών, για τη συμβολή τους στη λήψη των φασμάτων NMR των ενώσεων που παρουσιάζονται σε αυτή την εργασία.

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

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

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

Τη Δρ Sofia Costa Lima, ερευνήτρια στο Ινστιτούτο Μοριακής - Κυτταρικής Βιολογίας του Πόρτο της Πορτογαλίας, για τη διεξαγωγή των *in vitro* βιοδοκιμασιών για την εκτίμηση της αντιπαρασιτικής δράσης των νέων παραγώγων. Η συνεργασία αυτή πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του προγράμματος COST Action CM0801 “New drugs for neglected diseases”.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω το Σωτήρη Αποστολάκη, φοιτητή Ιατρικής, για τη διόρθωση των τμημάτων της εργασίας με ιατρικό περιεχόμενο.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά όλους όσους συμπαραστάθηκαν σε αυτήν μου την προσπάθεια, καθώς και όλους τους φίλους μου που πίστεψαν σε μένα και με ενθάρρυναν σε κάθε στάδιο των σπουδών μου.



# Κεφάλαιο 1

## 1.1 Φλαβονοειδή

### 1.1.1 Ορισμός και γενική δομή φλαβονοειδών

Τα φλαβονοειδή είναι μια κατηγορία πολυφαινολικών ενώσεων δευτερογενών φυτικών μεταβολιτών, η οποία αριθμεί σήμερα περισσότερες από 9000 δομές. Ο όρος "flavone" προέρχεται από τη λατινική λέξη flavus που σημαίνει κίτρινο. Είναι πολύ διαδεδομένες στα φυτά, συμμετέχοντας ενδεχομένως και στη φωτοσύνθεση [1], ενώ παράλληλα αποτελούν σημαντικό κομμάτι της διατροφής. Η πρώτη αναφορά στην ύπαρξη των φλαβονοειδών έγινε το 1682 και μέχρι τις αρχές του 20<sup>ου</sup> αιώνα τα φλαβονοειδή θεωρούνταν παραπροϊόντα του φυτικού μεταβολισμού. Στα χρόνια που ακολούθησαν όμως, επιβεβαιώθηκε ότι επιτελούν ποικίλες δράσεις [2].

Τα μόρια των φλαβονοειδών αποτελούνται από δεκαπέντε άτομα άνθρακα και περιέχουν δύο αρωματικούς δακτυλίους με έξι άτομα C (δακτύλιοι A και B, αντίστοιχα) που συνδέονται με μια αλυσίδα τριών ατόμων άνθρακα (C<sub>6</sub> – C<sub>3</sub> – C<sub>6</sub>). Η χημική δομή των φλαβονοειδών στηρίζεται στην ύπαρξη του φλαβανικού σκελετού, ο οποίος αποτελείται από δύο αρωματικούς δακτυλίους A και B με ένα ενδιάμεσο ετεροκυκλικό βενζοπυρανικό δακτύλιο (δακτύλιο C), όπως φαίνεται παρακάτω (Σχήμα 6):



**Σχήμα 6:** Γενική δομή φλαβονοειδών

Οι A-και B δακτύλιοι όλων των φλαβονοειδών έχουν την ίδια βιοσυνθετική προέλευση, με τους A-δακτυλίους να προέρχονται από το «οξικό μονοπάτι» και τους B-δακτυλίους από το «σικιμικό μονοπάτι». Ομοίως, όλες οι δομές γράφονται κατόπιν σύμβασης με τον A-δακτύλιο στα αριστερά (παρόλο που η σύμβαση αυτή δεν ισχύει για τις πιο πολύπλοκες δομές, όπως τα διμερή, τα ολιγομερή και τις προσθήκες Diels-Alder) [3].

Τα περισσότερα φλαβονοειδή είναι πολυφαινολικά παράγωγα [4]. Περιέχονται σε πολλές τροφές φυτικής προέλευσης και διαδραματίζουν καίριο ρόλο στη φυσιολογία των φυτών αφού έχουν κεντρική θέση στη σύνθεση σημαντικών ουσιών, όπως είναι τα εικοσανοειδή, αλλά και στην προστασία του γονιδιώματος του φυτού, εξασφαλίζοντας έτσι την ακέραια μεταβίβαση της γενετικής πληροφορίας.

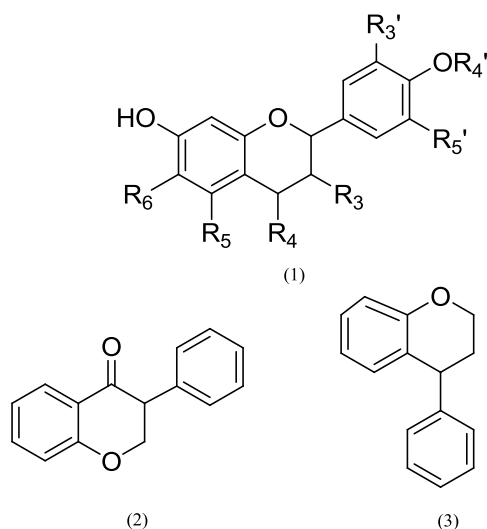
Μια από τις πιο ενδιαφέρουσες δράσεις τους, είναι ο ρόλος που διαδραματίζουν στο μεταβολισμό του αζώτου. Συγκεκριμένα, τα φλαβονοειδή συμβάλλουν στο σχηματισμό φυματίων στις ρίζες των φυτών, στα οποία φυμάτια εγκαθίστανται τα βακτήρια που δεσμεύουν το άζωτο. Με τον τρόπο αυτό, το φυτό εμποδίζει τη μετατροπή του αζώτου που βρίσκεται στο έδαφος σε αμμωνία, διατηρώντας το επίπεδο του οξυγόνου σε χαμηλά επίπεδα. Ειδικά βακτήρια συμβάλλουν δραστικά στην όλη διαδικασία παράγοντας τις τρεις πρωτεΐνες που απαιτούνται για την αζωτοδέσμευση, δηλαδή την αναγωγή της νιτρογενάσης, τη νιτρογενάση και το συνένζυμο FeMo-co, το οποίο είναι πολύ ευαίσθητο στην παρουσία οξυγόνου.

Πέρα από την αξία τους στην επιβίωση των φυτών, τα φλαβονοειδή διαθέτουν σύμφωνα με πειραματικές και επιδημιολογικές μελέτες, αναγνωρισμένες αξιολογες φαρμακολογικές ιδιότητες, διαδραματίζοντας προστατευτικό ρόλο για την ανθρώπινη υγεία.

Το ενδιαφέρον για τις φαρμακολογικές ιδιότητες των φλαβονοειδών δεν είναι καινούργιο. Στην πραγματικότητα, έχουν προηγηθεί πολλές μελέτες προς αυτήν την κατεύθυνση προκειμένου να ταυτοποιηθούν οι ουσίες που θα μπορούσαν να αποτελέσουν ένα ενδεχόμενο φαρμακευτικό προϊόν, το οποίο να συνδυάζει την αποτελεσματικότητα και το χαμηλό κόστος παραγωγής. Ενδεικτικό είναι ότι στην τριετία 2005-2007 έλαβαν έγκριση 13 φαρμακευτικά σκευάσματα με φυσικής προέλευσης δραστική ουσία, ενώ έρευνες πραγματοποιούνται σε παγκόσμιο επίπεδο με πάνω από 100 ουσίες να έχουν μπει στο στόχαστρο των ερευνητών για τις ενδεχόμενες θεραπευτικές τους ιδιότητες [5].

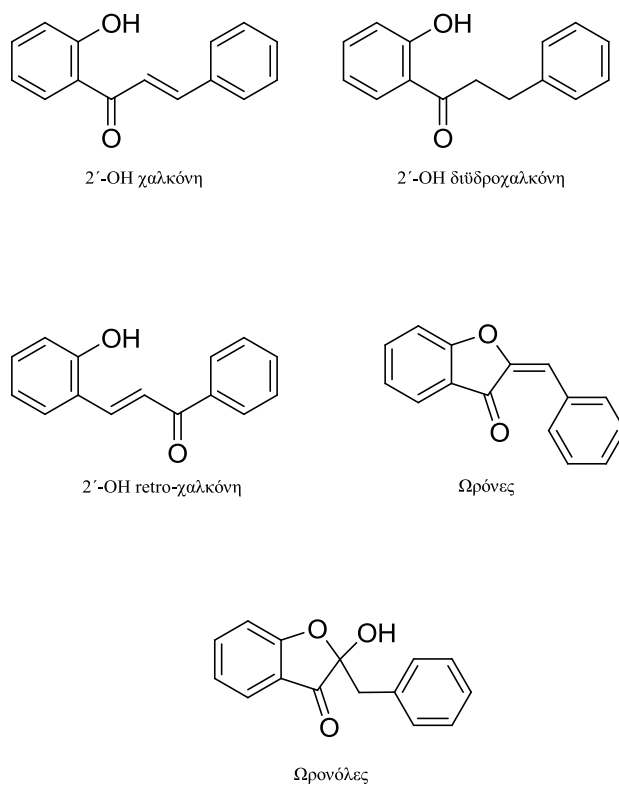
### 1.1.2 Κυριότερες κατηγορίες φλαβονοειδών

Ανάλογα με τη θέση σύνδεσης του αρωματικού δακτυλίου στο βενζοπυρανικό δακτύλιο, αυτή η ομάδα των φυσικών προϊόντων μπορεί να χωριστεί σε τρεις κατηγορίες - ομάδες: τα φλαβονοειδή (2-phenylbenzopyrans) (1), τα ισοφλαβονοειδή (3-benzopyrans) (2) και τα νεοφλαβονοειδή (4-benzopyrans) (3) (Σχήμα 7). Αυτές οι ομάδες μοιράζονται συνήθως μια κοινή πρόδρομη χαλκόνη, και ως εκ τούτου σχετίζονται βιογενετικά και δομικά [4].



**Σχήμα 7:** Χημικοί τύποι των φλαβονοειδών (1), των ισοφλαβονοειδών (2) και των νεοφλαβονοειδών (3).

Πέρα από τις τρεις ανωτέρω κατηγορίες, υπάρχει και μια τέταρτη, αυτή των ελασσόνων φλαβονοειδών που αφορούν επίσης σε ενώσεις που διαθέτουν τον ανθρακικό σκελετό C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> και περιλαμβάνουν ενώσεις, όπως τη 2'-υδροξυχαλκόνη, τη 2'-υδροξυδιϋδροχαλκόνη, τη 2'-υδροξυρετροχαλκόνη, τις ωρόνες και τις ωρονόλες (Σχήμα 8) [3].



**Σχήμα 8:** Η κατηγορία των ελασσόνων φλαβονοειδών

Ακόμη, τα φλαβονοειδή κατηγοριοποιούνται ανάλογα με το βαθμό οξείδωσης και τους υποκαταστάτες του χρωμανικού σκελετού στις ακόλουθες βασικές κατηγορίες:

1. Παράγωγα του 2-φαινυλοβενζοπυριλίου: ανθοκυανιδίνες
2. Παράγωγα του 2-φαινυλο-χρωμανίου: φλαβαν-3-όλες ή κατεχίνες, φλαβαν-4-όλες, φλαβανόνες, φλαβόνες, φλαβονόλες.
3. Παράγωγα του 3-φαινυλο-χρωμανίου:ισοφλαβονοειδή
4. Παράγωγα της βενζυλιδενεκουμαρόνης: ωρόνες (Σχήμα 9).

#### Ανθοκυανίνες

Αρχικά, η ονομασία ανθοκυανίνες χρησιμοποιήθηκε για να περιγράψει τις ενώσεις στις οποίες οφείλεται το χρώμα των ανθέων του αραβοσίτου, ενώ αργότερα για να περιγράψει ενώσεις που απαντώνται στους καρπούς και τα άνθη, ήταν διαλυτές στο νερό και το χρώμα τους ήταν κόκκινο, μωβ, μπλε ή βιολετί. Οι ενώσεις αυτές παράγονται από το κατιόν 2-φαινυλοβενζοπυρίλιο, γνωστό ως κατιόν φλαβυλίου και χαρακτηρίζονται από την παρουσία μιας ομάδας υδροξυλίου (-OH) στο μόριό τους.

#### Ισοφλαβόνες - Ισοφλαβανόλες

Οι ισοφλαβόνες διαφέρουν από τα άλλα είδη φλαβονοειδών στο γεγονός ότι είναι 3-φαινυλοχρωμόνες. Είναι γνωστές 300 περίπου ενώσεις που διαθέτουν σκελετό ισοφλαβόνης. Μπορούν να διαιρεθούν σε 12 υποκατηγορίες σύμφωνα με το βαθμό οξείδωσης και το είδος του δακτυλίου που είναι ενωμένος στο βασικό σκελετό της ισοφλαβόνης.

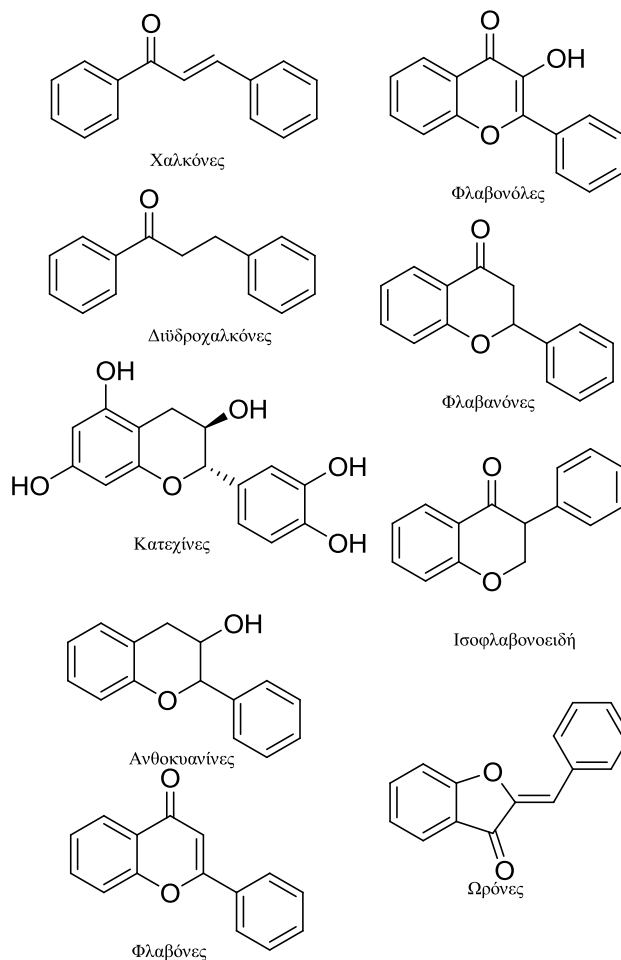
#### Φλαβόνες-φλαβονόλες

Οι φυσικές φλαβόνες είναι συνήθως ολιγοϋδροξυλιωμένα παράγωγα. Ο βαθμός υδροξυλίωσης τους κυμαίνεται από 0 έως 7 και μπορεί να έχει βιογενετική σημασία, διότι σε χαμηλό βαθμό υδροξυλίωσης επικρατούν οι φλαβόνες (3- θέση ελεύθερη), ενώ σε μεγαλύτερο βαθμό επικρατούν οι φλαβονόλες.

#### Χαλκόνες, ωρόνες, διϋδροχαλκόνες

Είναι μικρές ομάδες χρωστικών, οι οποίες είναι κίτρινες και σε αλκαλικό περιβάλλον μετατρέπονται σε κόκκινες. Ο ρόλος τους στη φύση είναι σημαντικός καθώς ευθύνονται για το χρώμα των φυτών και κυρίως των ανθέων. Οι χαλκόνες χαρακτηρίζονται από την παρουσία

μιας γέφυρας με τρία άτομα άνθρακα με έναν ακόρεστο (α,β) δεσμό, οι δε ωρόνες από την παρουσία του βενζυλιδενο-υποκαταστάτη. Οι διϋδροχαλκόνες είναι υδρογονωμένα παράγωγα των χαλκονών και είναι άχρωμες.



**Σχήμα 9:** Κυριότερες δομές φλαβονοειδών

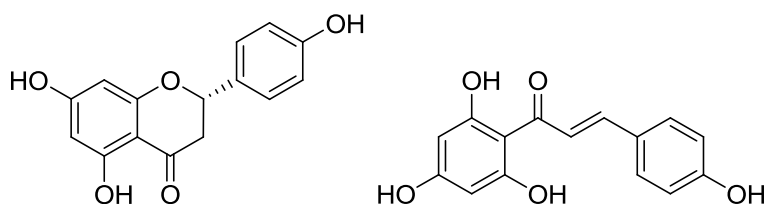
Τα παραπάνω είδη των φλαβονοειδών παρουσιάζουν μεγάλη ετερογένεια στο μόριό τους η οποία οφείλεται σε παράγοντες όπως η διαφοροποίηση των υποκαταστατών στους δακτυλίους, το στάδιο οξείδωσης του ετεροκυκλικού δακτυλίου, η έκταση της υδροξυλίωσης, οι θέσεις και ο αριθμός των υδροξυλομάδων. Οι διαφοροποιήσεις αυτές οδηγούν σε ένα μεγάλο αριθμό διαφορετικών ενώσεων που αγγίζει προσεγγιστικά τις  $2 \cdot 10^6$ . Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί περίπου  $9 \cdot 10^3$  διαφορετικά φλαβονοειδή ενώ οι έρευνες για την ανακάλυψη νέων συνεχίζονται.

### 1.1.3 Φαρμακευτικές ιδιότητες φλαβονοειδών

Το ενδιαφέρον για τα φλαβονοειδή έχει αυξηθεί ραγδαία τα τελευταία 30 χρόνια, ενώ έχουν δημοσιευθεί περισσότερες από 1000 ερευνητικές εργασίες με θέμα τις δυνητικά ωφέλιμες ιδιότητές τους για τη βελτίωση της ζωής του ανθρώπου. Έτσι, έχει αναπτυχθεί έκδηλο ενδιαφέρον κυρίως από φαρμακευτικές εταιρείες λόγω των γνωστών θεραπευτικών ιδιοτήτων ορισμένων ενώσεων της κατηγορίας αυτής. Πιο συγκεκριμένα, διάφορες εργαστηριακές αναλύσεις και μελέτες σε πειραματόζωα έχουν δώσει ενδείξεις για μία σειρά ωφέλιμων ιδιοτήτων όπως αντιοξειδωτικές, αντιπαρασιτικές, αντιαλλεργικές, αντιθρομβωτικές, αντινεοπλασματικές, αντιφλεγμονώδεις και αντιϊκές, οι οποίες μπορούν να αξιοποιηθούν.

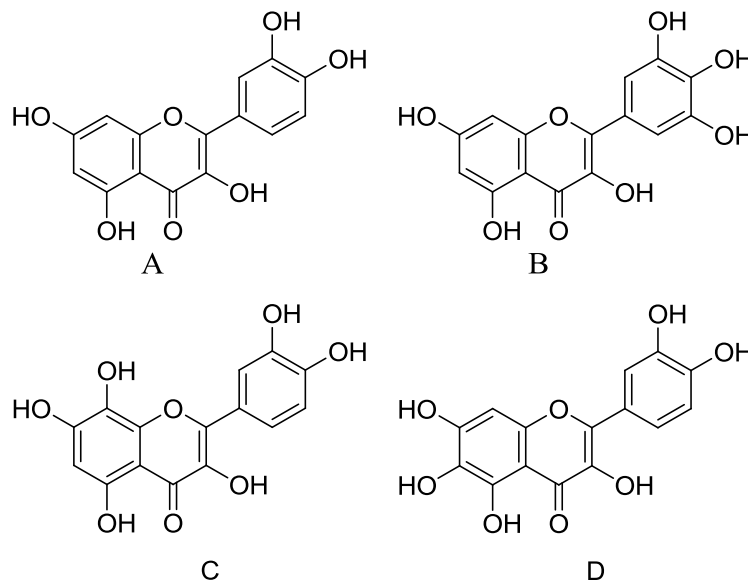
Ειδικότερα όσον αφορά στην αντιοξειδωτική δράση των φλαβονοειδών βρέθηκε ότι περιέχουν χημικά δομικά στοιχεία τα οποία μοιάζουν με εκείνα αναγνωρισμένων αντιοξειδωτικών όπως η α-τοκοφερόλη (βιταμίνη E) και η βιταμίνη C. Η πρόσληψη των φλαβονοειδών εξαρτάται από την κατανάλωση φρούτων, λαχανικών, καθώς και ορισμένων ποτών, όπως το κόκκινο κρασί, το τσάι και η μύρα. Η υψηλή κατανάλωση τσαγιού και κρασιού μπορεί να έχει σημαντική επίδραση στη συνολική πρόσληψη φλαβονοειδών σε ορισμένες ομάδες του πληθυσμού [6].

Η ικανότητα των φλαβονοειδών να δρουν ως αντιοξειδωτικά εξαρτάται από τη μοριακή δομή τους. Ο αριθμός και η θέση των ομάδων υδροξυλίου καθώς και άλλα χαρακτηριστικά γνωρίσματα στη χημική δομή των φλαβονοειδών επηρεάζουν την αντιοξειδωτική δράση τους. Για παράδειγμα, διαπιστώθηκε ότι η πρενυλο- ομάδα παίζει σημαντικό ρόλο στην αντιοξειδωτική δραστηριότητα ορισμένων φλαβονοειδών. Μια χαλκόνη, η χαλκοναρινγκενίνη (Σχήμα 10) και μια φλαβανόνη, η ναρινγκενίνη που δε διαθέτουν πρενυλ-ομάδες δρουν ως προοξειδωτικά, δηλαδή προωθούν την οξείδωση της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (Low Density Lipoprotein, LDL) από το χαλκό. Ωστόσο, η προσθήκη μιας πρενυλο- ομάδας σε αυτά τα μόρια φλαβονοειδών εξουδετερώνει την προοξειδωτική δράση τους [7].



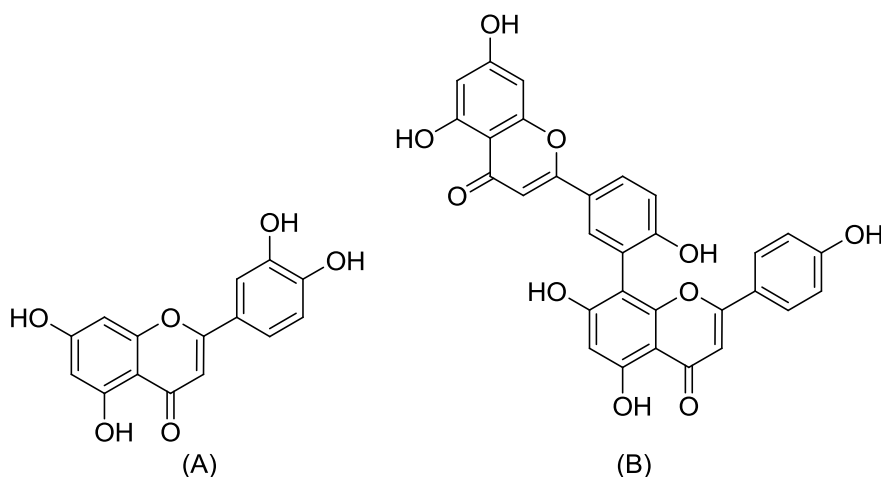
**Σχήμα 10:** Χημικός τύπος της ναρινγκενίνης (αριστερά) και της χαλκοναρινγκενίνης (δεξιά).

Η αφθονότερη διατροφική φλαβονόλη, η κερκετίνη ή βαλανοκετόνη (Σχήμα 11) (ή βαλανοκετόνη), εντοπίζεται κυρίως στο κόκκινο κρασί και αποτελεί ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό, επειδή έχει όλα τα κατάλληλα δομικά χαρακτηριστικά για την πρόσληψη ελεύθερων ριζών. Ειδικότερα, εμποδίζει την οξείδωση της LDL, αιτιολογικό παράγοντα της αθηροσκλήρυνσης, προλαμβάνοντας τις καρδιαγγειακές παθήσεις και τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια. Επίσης, η κερκετίνη εμποδίζει την οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων και προστατεύει τους χυμούς των εσπεριδοειδών από την αυτοοξείδωση της βιταμίνης C. Άλλα ισχυρά αντιοξειδωτικά θεωρούνται η μυρικετίνη, η γκοσυπετίνη και η κερκεταγενίνη.



**Σχήμα 11:** Χημικός τύπος της κερκετίνης (A), της μυρικετίνης (B), της γκοσυπετίνης (C) και της κερκεταγενίνης (D).

Επιπλέον, η κερκετίνη και άλλα φλαβονοειδή έχουν αντιαλλεργική δράση, λειτουργώντας ως αποκλειστικοί αναστολείς της ισταμίνης που ελευθερώνεται από διάφορους παράγοντες. Πέρα από την κερκετίνη, έχουν αναγνωρισθεί και άλλα φλαβονοειδή με ακόμα πιο ισχυρές αντιαλλεργικές ιδιότητες, όπως η λουτεολίνη και η αμεντοφλαβόνη (Σχήμα 12), όμως δεν έχει επεξηγηθεί ακόμη ο μηχανισμός με τον οποίο το επιτυγχάνουν.

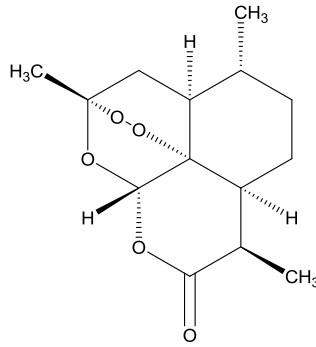


**Σχήμα 12:** Χημικός τύπος της λουτεολίνης (A) και της αμεντοφλαβόνης (B).

Τα φλαβονοειδή πέρα από την αντιοξειδωτική και την αντιαλλεργική δράση που εμφανίζουν, έχουν και αντιπαρασιτική δράση κατά ορισμένων οργανισμών. Πράγματι, μπορούν να αποτελέσουν τη βάση για την ανάπτυξη μιας νέας κατηγορίας φαρμάκων εναντίον των διάφορων ειδών της *Leishmania* του *Toxoplasma*, του *Cryptosporidium* και άλλων παρασίτων. Ειδικότερα, έχει αποδειχθεί ότι κάποια φλαβονοειδή, όπως η κερκετίνη, η απιγενίνη και η γενιστεΐνη αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό του *Toxoplasma gondii* [8] και *C. Parvum* [9], δρώντας ως αναστολείς της πρωτεϊνικής κινάσης της τυροσίνης.

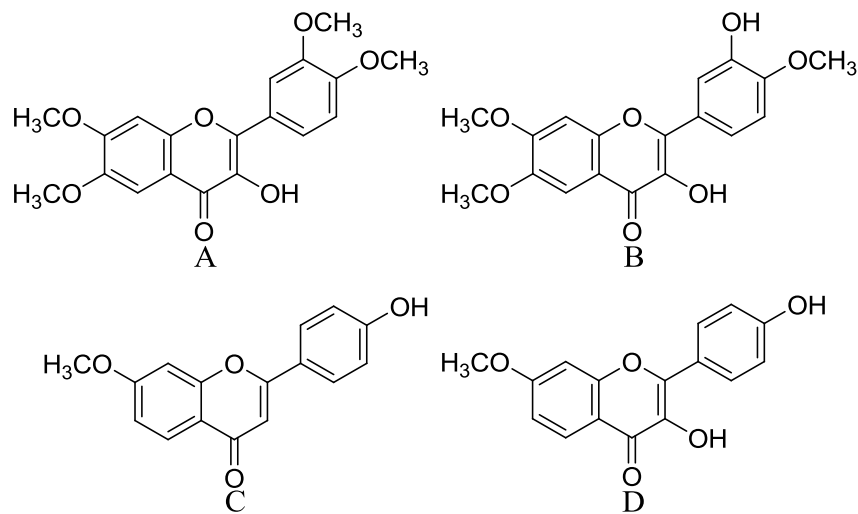
Εκτός από την άμεση δράση επί των παρασίτων, τα φλαβονοειδή συμμετέχουν και έμμεσα στην αναστολή του πολλαπλασιασμού τους, δρώντας συνεργιστικά με άλλες αντιπαρασιτικές ουσίες. Αυτό επιτυγχάνεται αυξάνοντας την ενδοκυττάρια συγκέντρωση του φαρμάκου μέσω της σύνδεσής τους με το νουκλεοτιδικό-σημείο πρόσδεσης των πρωτεϊνών MDR (multidrug resistance). Αντιπροσωπευτικά παραδείγματα τέτοιων αντιβιοτικών, που δρουν συνεργιστικά με τις φλαβόνες, είναι η βερβερίνη και η νορφλοξασίνη κατά του *Staphylococcus aureus* και η αρτεμισινίνη (Σχήμα 13) κατά του *Plasmodium falciparum*, γεγονός που υποδηλώνει τη δυνατότητα πιθανής χρήσης τους σε συνδυαστική χημειοθεραπεία [10].





**Σχήμα 13:** Χημικός τύπος της αρτεμισινίνης

Επίσης, μελέτες στο φυτό *Artemisia indica* οδήγησαν στην ανακάλυψη των φλαβονοειδών σακουρανετίνη (δομή C, Σχήμα 14) και 7-μεθοξυαρωμαδεन्द्रίνη (δομή D, Σχήμα 14), οι οποίες παρουσιάζουν αξιόλογη αντιπαρασιτική δράση έναντι του *Trypanosoma cruzi* που ευθύνεται για την Αμερικανική Τρυπανοσωμίαση ή ασθένεια Chagas. Έχει προταθεί ότι η αντιπαρασιτική δράση των φλαβονοειδών ίσως να οφείλεται σε κάποιο ασυνήθιστο αντιοξειδωτικό μηχανισμό [11], [12].



**Σχήμα 14:** Ο χημικός τύπος της αρτεμετίνης (A), της καστισίνης (B), σακουρανετίνη (C) και της 7-μεθοξυαρωμαδεन्द्रίνης (D).

Τέλος, τα φλαβονοειδή διαθέτουν και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Από ένα δεύτερο είδος *Artemisia*, την *Artemisia annua* (Εικόνα 1), ανακαλύφθηκαν η αρτεμετίνη (δομή A, Σχήμα 14) και η καστισίνη (δομή B, Σχήμα 14), οι οποίες δρουν συνεργιστικά με την αρτεμισινίνη [13]. Πρόκειται για μεθοξυλιωμένες φλαβονόνες που δρουν ως αναστολείς της

απορρόφησης της L-γλουταμίνης από τα μολυσμένα μακροφάγα. Ακόμα, μειώνουν το επίπεδο διαπερατότητας και ευθραυστότητας των τοιχωμάτων των τριχοειδών αγγείων, που αποτελούν βασικές συνιστώσες εκδήλωσης της φλεγμονής.

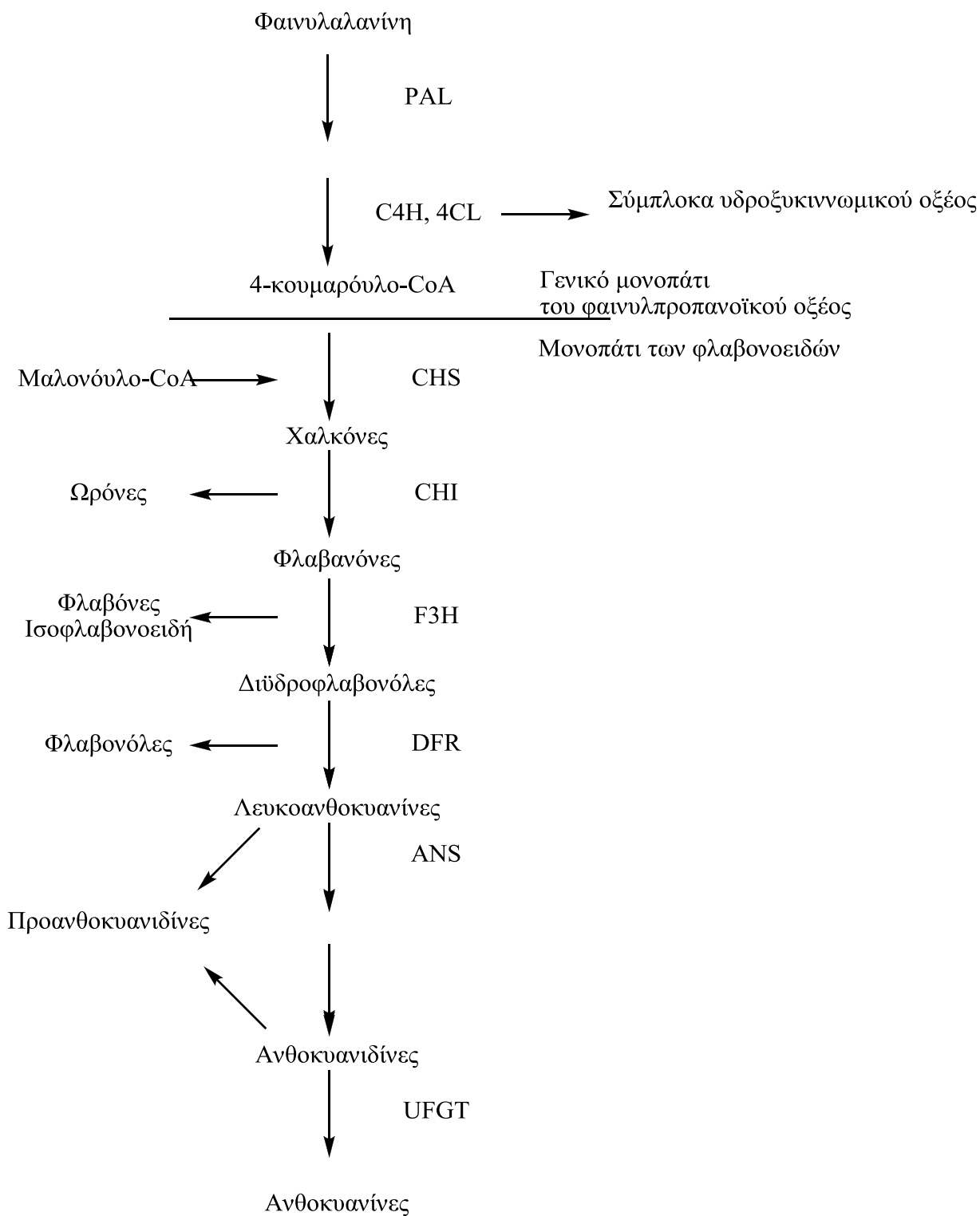


**Εικόνα 1:** Το φυτό *Artemisia annua*

Ένα ακόμη σημαντικό χαρακτηριστικό των флаβονοειδών, που ενισχύει τις προσπάθειες για την ανάπτυξη φαρμακευτικών σκευασμάτων, είναι η περιορισμένη τοξικότητά τους έναντι στα κύτταρα του ανθρώπου. Η περιορισμένη τοξικότητα των флаβονοειδών αποδίδεται στη χαμηλή διαλυτότητα της αγλυκόνης στο νερό και στο γρήγορο καταβολισμό του πυρήνα της πυρόνης στο ήπαρ. Η μικρή διαλυτότητα των флаβονοειδών στο νερό συχνά παρεμποδίζει την ιατρική εφαρμογή αυτών των ουσιών. Ως εκ τούτου, η ανάπτυξη των ημισυνθετικών υδατοδιαλυτών флаβονοειδών για τη θεραπεία της υπέρτασης και της αιμορραγίας αποτέλεσε μια σημαντική πρόοδο στον τομέα αυτό.

#### 1.1.4 Βιοσύνθεση флаβονοειδών

Όλα τα флаβονοειδή έχουν κοινό βιοσυνθετικό δρόμο και ως εκ τούτου έχουν τον ίδιο βασικό σκελετό δομής. Συγκεκριμένα, συντίθενται μέσω του φαινυλοπροπανοϊκού μεταβολικού μονοπατιού στο οποίο το αμινοξύ φαινυλανανίνη μετατρέπεται σε 4-κουμαρόυλο-συνένζυμο A, το οποίο στη συνέχεια αντιδρά με το μαλονόυλο-CoA προς σχηματισμό του πρώτου флаβονοειδούς, της χαλκόνης. Το μεταβολικό μονοπάτι συνεχίζεται μέσω μιας σειράς ενζυμικών αντιδράσεων προς σχηματισμό, κατά σειρά флаβανονών, διϋδροφλαβονολών και ανθοκυανινών. Μέσω αυτού του μονοπατιού μπορούν να σχηματιστούν πολλά προϊόντα μεταξύ των οποίων και οι флаβονόλες [14].



**Σχήμα 15:** Το βιοσυνθετικό μονοπάτι των φλαβονοειδών

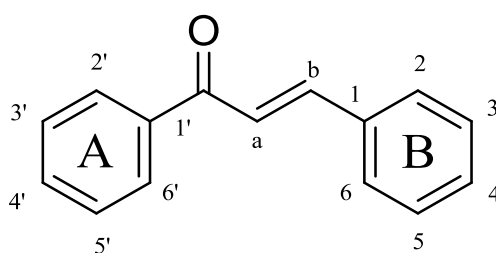
Οι χαλκόνες και οι ωρόνες είναι δύο διακριτές κατηγορίες ενώσεων, οι οποίες περιλαμβάνουν περισσότερα από 900 φυσικώς απαντώμενα φλαβονοειδή, όπως αναφέρεται

στη βιβλιογραφία ως τα τέλη του 2003. Ιστορικά, οι χαλκόνες και οι ωρόνες είναι ευρύτερα γνωστές ως οι χρωστικές των ανθέων με αποχρώσεις που κυμαίνονται από κίτρινες έως πορτοκαλί. Οι ενώσεις αυτές δε συναντώνται μόνο στα άνθη αλλά και σε πολλούς διαφορετικούς ιστούς των φυτών.

## 1.2 Χαλκόνες

### 1.2.1 Ορισμός

Οι χαλκόνες (1,3-διαρυλο-2-προπεν-1-όνες), (Σχήμα 16) αποτελούν μία από τις κυριότερες κατηγορίες φυσικών προϊόντων. Είναι πρόδρομες ενώσεις των φλαβονοειδών και των ισοφλαβονοειδών, απαντώνται συχνά σε συνήθη λαχανικά (κουνουπίδια, κρεμμύδια, αντίδια) και φρούτα, (εσπεριδοειδή, κεράσια, σταφύλια, μήλα, μούρα), σε ροφήματα από φυτά, όπως το τσάι, το κακάο και το κόκκινο κρασί καθώς και σε ορισμένα μπαχαρικά και τρόφιμα με βάση τη σόγια. Επιπλέον, οι χαλκόνες είναι οι κίτρινες χρωστικές των λουλουδιών που ανήκουν στα γένη *Dahlia*, *Coreopsis*, *Cosmos*, κλπ, [15,16] και *Dianthus Caryophyllus* L. (*Caryophyllaceae*). Οι ενώσεις αυτές έχουν μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον καθώς επιδεικνύουν ένα ευρύ φάσμα βιολογικών ιδιοτήτων με σημαντικές φαρμακολογικές και ιατρικές εφαρμογές.



Σχήμα 16: Γενικός τύπος χαλκονών.

### 1.2.2 Γενική δομή χαλκονών

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

τριών ατόμων άνθρακα. Οι φυσικές χαλκόνες περιέχουν κυρίως υδροξυ-, μεθοξυ-, πρενυλο- και μεθυλο- ομάδες ως υποκαταστάτες στους δακτυλίους Α και Β. Οι περισσότερες χαλκόνες που αναφέρονται στη βιβλιογραφία είναι Ε-ισομερή, καθώς είναι πιο σταθερές.

Ο τρόπος αρίθμησης του μορίου της χαλκόνης διαφοροποιείται σε σχέση με τα άλλα φλαβονοειδή: οι θέσεις στον Α-δακτύλιο προσδιορίζονται από αριθμούς που τονίζονται, ενώ για τον προσδιορισμό των ατόμων C στο Β-δακτύλιο των χαλκονών και των διϋδροχαλκονών χρησιμοποιούνται μη-τονούμενοι αριθμοί. Επίσης, οι άνθρακες του διπλού δεσμού χαρακτηρίζονται ως α και β, σε σχέση με τον άνθρακα του καρβονυλίου της θέσης 1' [3].

Οι χαλκόνες είναι δομική άποψη, μία από τις πιο ποικιλόμορφες ομάδες φλαβονοειδών, καθώς σχηματίζουν ένα ευρύ φάσμα διμερών, ολιγομερών, παραγώγων Diels-Alder και ενώσεων διαφόρων ειδών. Ταυτόχρονα, έχουν μεγάλη σημασία από βιοσυνθετική άποψη καθώς είναι οι άμεσοι πρόδρομοι όλων των άλλων κατηγοριών των φλαβονοειδών [3]. Αυτές οι ιδιότητες οφείλονται στο μοναδικό χαρακτηριστικό που διακρίνει τις χαλκόνες από τα άλλα φλαβονοειδή, δηλαδή στην ανοικτή αλυσίδα αποτελούμενη από τρία άτομα άνθρακα που συνδέει τον Α και Β-δακτύλιο στη θέση ενός ετεροκυκλικού C-δακτυλίου. Ένας μεγάλος αριθμός χαλκονών που απαντούν στη φύση είναι πολυϋδροξυλιωμένες στους αρυλικούς δακτυλίους.

Από συνθετική άποψη, οι χαλκόνες ανήκουν στην κατηγορία των 'προνομιούχων δομών'. Πρόκειται, δηλαδή, για ενώσεις που μπορούν να τροποποιηθούν δομικά χρησιμοποιώντας μεγάλη ποικιλία υποκαταστατών με αποτέλεσμα να διαφοροποιείται η βιολογική δράση τους και να μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα για τη σχέση δομής-βιολογικής δραστηριότητας. Το πλεονέκτημα αυτό, σε συνδυασμό με τις σχετικά απλές μεθοδολογίες σύνθεσής τους, καθιστά τις χαλκόνες ελκυστικές ενώσεις-στόχους για την οργανική και τη φαρμακευτική χημεία.

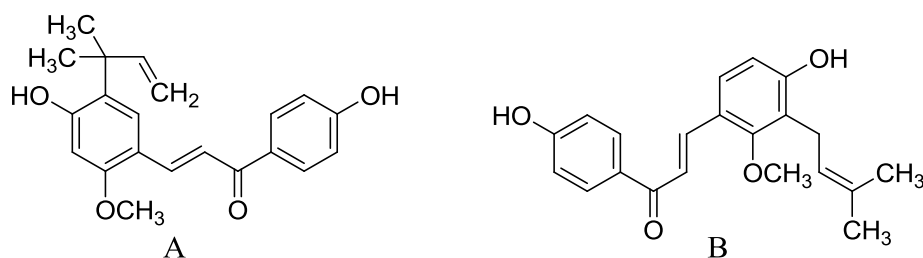
### 1.2.3 Βιολογική δράση φυσικών και συνθετικών χαλκονών

Οι ιδιότητες των φαινολικών ομάδων που παρατηρούνται σε πολλές χαλκόνες έχουν στρέψει το ερευνητικό ενδιαφέρον στις ενδεχόμενες εφαρμογές τους ως φάρμακα. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι χαλκόνες παρουσιάζουν πολλές χρήσιμες ιδιότητες, συμπεριλαμβανομένης, της αντιοξειδωτικής, της αντιπαρασιτικής, της αντιφλεγμονώδους, της αντιμικροβιακής, της αντιμυκητιασικής, της κυτταροτοξικής, της αντινεοπλασματικής και της αντιαγγειογενετικής.

Ενδεικτικά οι λικοχαλκόνες A και C (Σχήμα 17), οι οποίες λαμβάνονται από τις αποξηραμένες ρίζες των φυτών του γένους *Glycyrrhiza* (Εικόνα 2), διαθέτουν αναγνωρισμένες αντιλεϊσμμανιακές ιδιότητες. Η λικοχαλκόνη A διαθέτει επιπλέον και ανθελονοσιακή δράση [17].

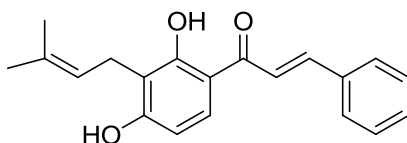


**Εικόνα 2:** Φυτό του γένους *Glycyrrhiza*



**Σχήμα 17:** Λικοχαλκόνες A (A) και C (B)

Ιδιαίτερα σημαντική είναι η αντιοξειδωτική δράση των χαλκόνων. Ειδικότερα, η ξανθοχουμόλη (Σχήμα 18), μια πρενυλιωμένη χαλκόνη η οποία λαμβάνεται από το φυτό λυκίσκος, έχει αναγνωριστεί *in vitro* ως ευρέως φάσματος χημειοπροστατευτικό κατά της ανάπτυξης καρκινικών κυττάρων, ενώ χρησιμοποιείται και ως αντιφλεγμονώδες [18].

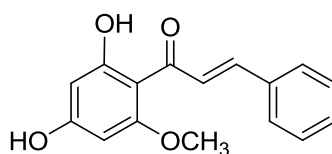


**Σχήμα 18:** Χημικός τύπος της ξανθοχουμόλης

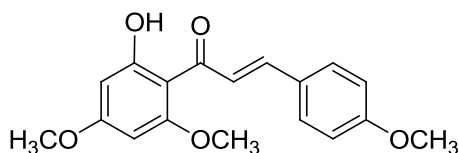
Επίσης, αντιοξειδωτική δράση παρουσιάζει και η χαλκοναρινγκενίνη (Σχήμα 6), μια πολυϋδροξυλιωμένη χαλκόνη που απομονώνεται από την τομάτα [19]. Η καρδαμονίνη (Σχήμα 19) που απαντάται στα φυτά του γένους *Zingiberous* (Εικόνα 3) διαθέτει αντιφλεγμονώδεις, αντιμεταλλαξιγόνες και αγγειοδιασταλτικές δράσεις, [20, 21] ενώ η φλαβοκαβαΐνη Α (Σχήμα 20), η οποία απομονώνεται από το φυτό *kava* παρουσιάζει αντινεοπλασματικές, αντιφλεγμονώδεις και αγχολυτικές ιδιότητες [22].



**Εικόνα 3:** Φυτό του γένους *Zingiberous*



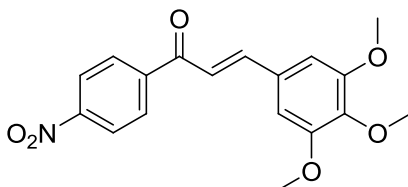
**Σχήμα 19:** Χημικός τύπος της καρδαμονίνης



**Σχήμα 20:** Χημικός τύπος της φλαβοκαβαΐνης Α

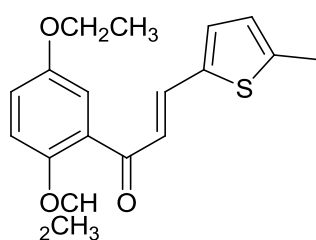
Σε μια πρόσφατη μελέτη των Bandgar et al. [23] έγινε η σύνθεση και η αξιολόγηση για την αντιοξειδωτική τους δράση μιας σειράς χαλκόνων. Από τις 19 ενώσεις που μελετήθηκαν οι 9 παρουσίασαν αξιόλογη δράση (30-55%), η οποία όμως ήταν υποδεέστερη σε σχέση με την ένωση αναφοράς, τη βουτυλική υδροξυλική ανισόλη (74%) (BHA). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η μέτρια αντιοξειδωτική δράση των ενώσεων αυτών σχετίζεται με την ικανότητα απελευθέρωσης ηλεκτρονίων ή ριζών υδρογόνου στο διάλυμα DPPH, στο οποίο τοποθετήθηκαν προκειμένου να γίνει σταθερό διαμαγνητικό μόριο. Ακόμα κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι οι ενώσεις που φέρουν υδροξυ- και μεθοξυ- ομάδες παρουσιάζουν καλύτερη αντιοξειδωτική δράση λόγω της ικανότητας των υποκαταστατών τους να λειτουργούν ως δότες

ηλεκτρονίων. Στο πλαίσιο αυτών των ερευνών, ξεχώρισε η (E)-1-(4-νιτροφαινυλ)-3-(3,4,5-τριμεθοξυφαινυλ)προπ-2-εν-1-όνη (Σχήμα 21) καθώς συνδύαζε βέλτιστη αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη και αντινεοπλασματική δράση σε συνδυασμό με περιορισμένη κυτταροτοξικότητα. Η δε απόδοση της σύνθεσής της ήταν 85%.



**Σχήμα 21:** Χημικός τύπος της (E)-1-(4-νιτροφαινυλ)-3-(3,4,5-τριμεθοξυφαινυλ)προπ-2-εν-1-όνης

Σε μια άλλη σειρά μελετών [24] βρέθηκε ότι η χαλκόνη (E)-1-(2,5-διαιθοξυφαινυλ)-3-(5-μεθυλθειοφαιν-2-υλ)προπ-2-εν-1-όνη (Σχήμα 22) προκαλούσε αναστολή ενός οξειδωτικού παράγοντα, της οξειδάσης της ξανθίνης, σε συγκεντρώσεις αντίστοιχες με την αλλοπουρινόλη, που αποτέλεσε την ένωση αναφοράς ( $21.3 \pm 15.3$  και  $2.0 \pm 0.7$  IM αντίστοιχα). Η ένωση αυτή, όπως και οι υπόλοιπες της σειράς, συντέθηκε με τη μέθοδο Claisen–Schmidt με απόδοση 77%. Η κυτταροτοξικότητα της ένωσης αυτής μελετήθηκε ως προς τέσσερις κυτταρικές σειρές (ήτοι κύτταρα μαστού, πνεύμονα, ήπατος και ορθού). Τα αποτελέσματα έδειξαν πως για τις δύο πρώτες κυτταρικές σειρές τόσο η χαλκόνη όσο και η ένωση αναφοράς είχαν παρόμοια κυτταροτοξικότητα (5-φθοριοουρακίλη), ενώ για τις άλλες δύο κυτταρικές σειρές η χαλκόνη ήταν λιγότερο κυτταροτοξική.

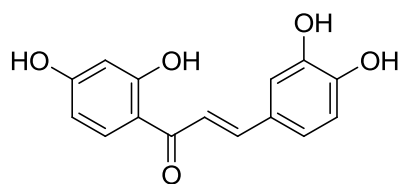


**Σχήμα 22:** Χημικός τύπος της (E)-1-(2,5-διαιθοξυφαινυλ)-3-(5-μεθυλθειοφαιν-2-υλ)προπ-2-εν-1-όνης.

Επιπλέον, ένας μεγάλος αριθμός χαλκονών παρουσιάζουν κυτταροτοξικές και αντικαρκινικές ιδιότητες προς διάφορες καρκινικές κυτταρικές σειρές [25].

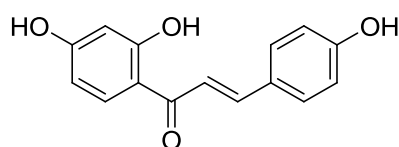
Για παράδειγμα, η βουτεΐνη (Σχήμα 23) καταστέλλει την ανάπτυξη μιας ευρείας ποικιλίας ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων συμπεριλαμβανομένου του αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου, του καρκίνου του μαστού, του λεμφώματος, του μελανώματος κ.ά. [26].





**Σχήμα 23:** Χημικός τύπος της βουτεΐνης

Η ισολικριτιγενίνη (Σχήμα 24) εκπολώνει την μεμβράνη των μιτοχονδρίων των καρκινικών κυττάρων του προστάτη και ενεργοποιεί ένζυμα κρίσιμα για την έναρξη της κυτταρικής απόπτωσης [27].



**Σχήμα 24:** Χημικός τύπος της ισολικριτιγενίνης

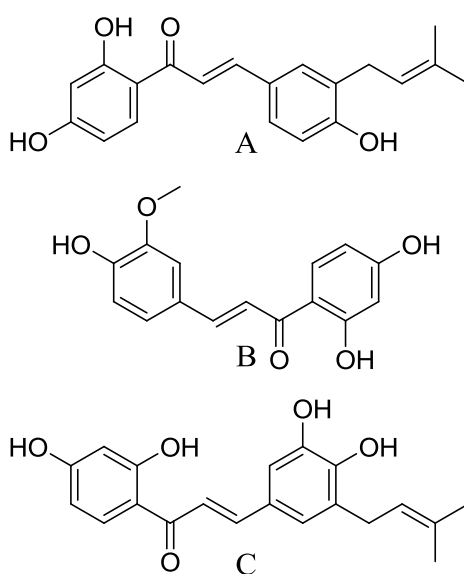
Η κροταραμοσμίνη, μια χρωμενο-χαλκόνη, διαθέτει σημαντική δράση έναντι τόσο της εξωκυτταρικής μαστιγοφόρου μορφής, όσο και της ενδοκυτταρικής μη μαστιγοφόρου μορφής του παρασίτου *Leishmania donovani* [28].

Δύο φυσικές διϋδροχαλκόνες, που απομονώθηκαν από το φυτό *Piper elongatum*, όπως επίσης και τα συνθετικά ανάλογά τους εμφανίζουν επίσης ισχυρή αντιλεϊσμνιακή δράση *in vitro* έναντι της εξωκυτταρικής μορφής των προμαστιγωτών παρασίτων *L. Braziliensis* [28].



**Εικόνα 4:** Το φυτό *Piper elongatum*

Τα φυσικά προϊόντα, 5-πρενυλο-βουτεΐνη, λικοαγροχαλκόνη A και ομοβουτεΐνη (Σχήμα 25) παρουσιάζουν ανθελονοσιακή δράση έναντι των ευαίσθητων αλλά και ανθεκτικών στη χλωροκίνη μορφών του παρασίτου *Plasmodium falciparum*, που ευθύνεται για το μεγαλύτερο αριθμό θανάτων από ελονοσία [29].



**Σχήμα 25:** Χημικοί τύποι των ομοβουτεΐνη (A), λικοαγροχαλκόνη A (B) και 5-πρενυλο-βουτεΐνη (C)

Οι πρενυλιωμένες χαλκόνες κροταοριξίνη και μεντικάγενίνη, οι οποίες απομονώθηκαν από το φυτό *Crotalaria orixensis* και από τις ρίζες του φυτού *Crotalaria medicagenia* αντίστοιχα, αναστέλλουν τη δράση του παρασίτου *P. Falciparum* σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Πρόσφατα αναφέρθηκε η απομόνωση μιας νέας διβενζυλοξυ-χαλκόνης από τα άνθη του φυτού *Helichrysum gymnocotum*, που εμφανίζει αντιμικροβιακή δράση [30].

Ένας αριθμός παραγώγων χαλκονών, έχει βρεθεί επίσης ότι αναστέλλει ορισμένα σημαντικά ένζυμα σε κυτταρικά συστήματα, συμπεριλαμβανομένων της οξειδάσης της ξανθίνης, της αναγωγάσης της αλδόζης, της εποξειδίου υδρολάσης, της πρωτεϊνικής κινάσης της τυροσίνης και της αναγωγάσης της κινόνης [28].

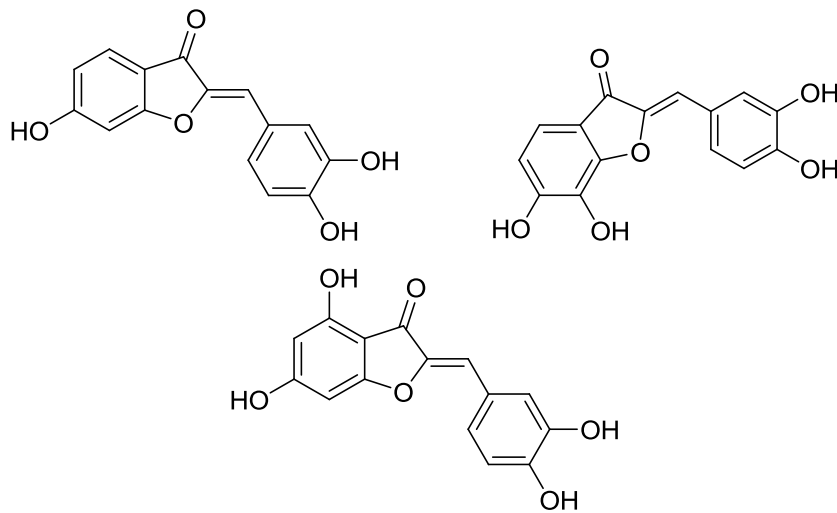
Οι Aronte et al. [31] διερεύνησαν τη δράση φυσικών και συνθετικών χαλκονών και διϋδροχαλκονών έναντι του παρασίτου *Trypanosoma cruzi*. Ακόμα, οι 2',4'-διαλλυλοξυ-6'-μεθοξυ-χαλκόνες προσδιορίστηκαν ως ισχυροί αντιπαρασιτικοί παράγοντες, σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, ενώ η συνθετική 2,6-διϋδροξυ-4-μεθοξυ-χαλκόνη εμφανίζει σημαντική αντιπαρασιτική δράση in vitro τόσο έναντι του μαστιγοφόρου όσο και του μη μαστιγοφόρου παρασίτου της λεισμανίασης.

## 1.3 Ωρόνες

### 1.3.1 Ορισμός

Οι ωρόνες είναι μια κατηγορία φλαβονοειδών που προσδίδουν ένα φωτεινό κίτρινο χρώμα σε μερικά λουλούδια (*Antirrhinum majus*, *Scrophulariaceae*, *Coreopsis sp.*, *Comos sp.*, *Dahlia sp.*). Είναι επίσης γνωστές και ως 2-βενζυλιδενοκουμαρόνες, αν και η σωστή συστηματική τους ονομασία είναι 2-βενζυλιδενο-3-βενζοφουρανόνες.

Σε σύγκριση με τις χαλκόνες, οι ωρόνες εμφανίζονται σπάνια στη φύση και έχουν αναφερθεί περίπου 100 είδη ωρονών σε περίπου 21 οικογένειες ανθοφόρων φυτών, καθώς και σε μερικές φτέρες, βρύα και θαλάσσιες καφέ άλγες [32, 33]. Αντιπροσωπευτικά παραδείγματα ωρονών που απομονώνονται από φυσικές πηγές είναι η ωρεοσιδίνη, η σουλφουρετίνη και η μαριτιμετίνη (Σχήμα 26), που περιέχουν ομάδες υδροξυλίου σε διαφορετικές θέσεις του βενζοφουρανικού συστήματος.



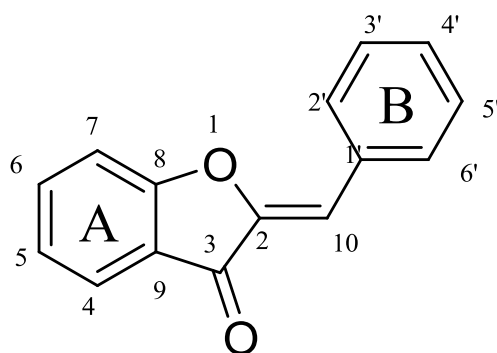
**Σχήμα 26:** Χημικός τύπος της σουλφουρετίνης (αριστερά) και της μαριτιμετίνης (δεξιά) και της ωρεοσιδίνης (κάτω).

Οι ωρόνες παρουσιάζουν μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον, καθώς αναγνωρίστηκε πρόσφατα το ευρύ φάσμα βιολογικών ιδιοτήτων που διαθέτουν, σε συνδυασμό με τις σημαντικές φαρμακολογικές και ιατρικές εφαρμογές τους.

### 1.3.2 Γενική Δομή Ωρονών

Οι ωρόνες είναι ετεροκυκλικές χημικές ενώσεις που ανήκουν στην κατηγορία των φλαβονοειδών. Απαντώνται σε δύο ισομερείς μορφές, τις E και Z. Οι περισσότερες ωρόνες απαντώνται σε Z-διαμόρφωση η οποία είναι θερμοδυναμικά πιο σταθερή, ενώ λίγες βρίσκονται σε E-διαμόρφωση [3, 33, 34].

Πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι οι ωρόνες βιοσυντίθενται από τις χαλκόνες [35] μέσω της δράσης του ενζύμου συνθάση της ωρεοσιδίνης. Το μόριο της ωρόνης περιέχει ένα ετεροκυκλικό σύστημα βενζοφουρανίου συνδεδεμένο με μια βενζυλιδενο- ομάδα στη θέση 2 (Σχήμα 27). Οι ωρόνες προκύπτουν από την οξειδωτική κυκλοποίηση των χαλκονών προς ένα πενταμελή δακτύλιο αντί για ένα εξαμελή, ο οποίος συναντάται συνηθέστερα στα φλαβονοειδή.



Σχήμα 27: Χημικός τύπος μιας (Z)-ωρόνης

Όπως φαίνεται και από το παραπάνω σχήμα, για την ονομασία μιας ωρόνης, αντίθετα με ό,τι ισχύει για τις χαλκόνες, χρησιμοποιούνται μη-τονούμενοι αριθμοί για τον προσδιορισμό των θέσεων στον A-δακτύλιο και τονούμενοι για τις θέσεις που βρίσκονται στο B-δακτύλιο [3].

### 1.3.3 Βιολογική δράση φυσικών και συνθετικών ωρονών

Οι ωρόνες παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον στην ανάπτυξη έρευνας για την παραγωγή νέων φαρμάκων. Η βιολογική δραστηριότητα αυτής της κατηγορίας ενώσεων δεν έχει ακόμη μελετηθεί εκτενώς, όμως οι μέχρι τώρα αναφορές υποδεικνύουν ότι οι ωρόνες διαθέτουν, μεταξύ άλλων, αντιπαρασιτική, αντιοξειδωτική, αντικαρκινική, και αντιβακτηριακή

δράση, ενώ οι Kayser & Kiderlen [36] ανέφεραν τις θεραπευτικές ιδιότητες των ωρονών σε λοιμώξεις από *Leishmania*.

Οι ωρόνες είναι αποτελεσματικές κατά του παρασίτου *P. Falciparum* [37]. Επίσης, πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι οι ωρόνες αποτελούν δυνητικά φάρμακα για τη θεραπεία των λοιμώξεων από το *Cryptosporidium parvum* [38]. Το γεγονός αυτό, έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη εκτενούς έρευνας που εστιάζει στη θεραπεία της κρυπτοσποριδίασης η οποία είναι μια ευκαιριακή λοίμωξη που παρουσιάζεται σε ασθενείς με AIDS και σε άλλα ανοσοκατεσταλμένα άτομα, καθώς το μόνο φυσικό φάρμακο που χρησιμοποιείται σήμερα επιτυχώς είναι η παρομομυκίνη.

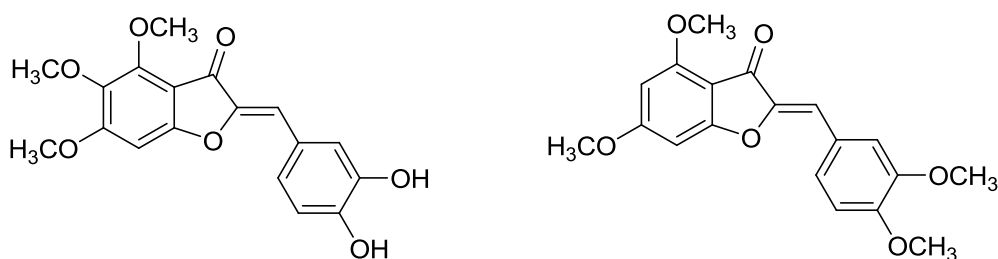
Όσον αφορά στη σχέση δομής-δράσης, *in vitro* μελέτες έδειξαν ότι η δραστηριότητα των αντιλεϊσμανιακών ωρονών καθορίζεται από τη φύση των υποκαταστατών τους. Αποδείχθηκε ότι η ικανότητα των απλών ωρονών να αναστέλλουν την ανάπτυξη των παρασίτων εξαρτάται αποκλειστικά από το μοντέλο οξυγόνωσης των υποκαταστατών τους. Ενώσεις που διαθέτουν έναν περιορισμένο αριθμό υποκαταστατών οξυγόνου, λειτουργούν ως λιπόφιλες και παρουσιάζουν εξαιρετική δραστηριότητα (Σχήμα 28). Οι ίδιες μελέτες έδειξαν ότι ο αυξημένος αριθμός των ομάδων υδροξυλίου (Σχήμα 28) καθιστά τις ωρόνες υδρόφιλες, μειώνοντας έτσι την αντιπρωτοζωϊκή τους δραστηριότητα. Ακόμα, τα μέχρι σήμερα δεδομένα δείχνουν ότι η εισαγωγή ογκωδών υποκαταστατών μεγάλου μεγέθους στις ωρόνες μειώνει επίσης την αντιλεϊσμανιακή τους δράση, ενώ παράλληλα τους προσδίδει μέτρια τοξικότητα εναντίων των κυττάρων των θηλαστικών [36].

Οι ωρόνες έχουν ορισμένες σημαντικές ομοιότητες με τις χαλκόνες. Συγκεκριμένα, έχουν περίπου το ίδιο μέγεθος, διαθέτουν δακτυλίους που συνδέονται μέσω αλυσίδων τριών ατόμων άνθρακα και διαθέτουν παρόμοιους υποκαταστάτες και στους δύο αρωματικούς δακτυλίους. Η κύρια διαφορά έγκειται στον τρόπο σύνδεσης των τριών ατόμων άνθρακα, οι οποίοι στις ωρόνες συνδέονται με τον Β δακτύλιο, δίνοντας ένα σύστημα δύο δακτυλίων. Όλες οι ωρόνες διαθέτουν χαρακτηριστική επίπεδη δομή, η οποία παρουσιάζει μεγάλη ομοιότητα με την προτεινόμενη βέλτιστη δομή των χαλκονών. Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι τόσο οι ωρόνες, όσο και οι χαλκόνες, ενδεχομένως να καταλαμβάνουν παρόμοιες θέσεις σε καίρια παρασιτικά ένζυμα και έτσι να διαθέτουν μηχανισμούς αντιπαρασιτικής δράσης [36]. Η ισχυρή αντιλεϊσμανιακή δράση ορισμένων ωρονών που περιγράφονται στη βιβλιογραφία, αποτελεί μια σημαντική πρόοδο στην αναζήτηση νέων αντιπρωτοζωϊκών φαρμάκων, σε μια εποχή που η αποτελεσματικότητα των υφιστάμενων φαρμάκων είναι πτωτική.



ανορεκτικών προήλθε από τις παρατηρήσεις χημικών-οικολόγων ότι πολλά φυτά έχουν αναπτύξει εκλεπτυσμένα συστήματα χημικής άμυνας ενάντια στα έντομα. Ειδικότερα, περιέχουν χημικές ενώσεις που φαίνεται ότι καταστέλλουν την ικανότητα ή την επιθυμία των εντόμων να τραφούν με τα φυτά αυτά. Αποτέλεσμα του γεγονότος αυτού είναι το έντομο να παραμένει κοντά στο φυτό, όπου πεθαίνει από έλλειψη τροφής - αστία [39].

Μία άλλη ουσία, η σουλφουρετίνη, που λαμβάνεται από το φυτό *Dipteryx lanucifera*, έχει αναγνωρισμένες αντιοξειδωτικές και νευροπροστατευτικές ιδιότητες [40]. Επιπλέον, οι (Z)-2-(3,4-διϋδροξυβενζυλιδεν)-4,5,6-τριμεθοξυβενζοφουραν-3-όνη (Σχήμα 29) και (Z)-2-(3,4-διμεθοξυβενζυλιδεν)-4,6-διμεθοξυβενζοφουραν-3-όνη (Σχήμα 29), οι οποίες παραλαμβάνονται από τα φυτά *Unaria hamilton* και *Cyperus radians*, διαθέτουν αποδεδειγμένη αντινεοπλασματική δράση [5].



**Σχήμα 29:** Χημικοί τύποι της (Z)-2-(3,4-διϋδροξυβενζυλιδεν)-4,5,6-τριμεθοξυβενζοφουραν-3-όνης (αριστερά) και της (Z)-2-(3,4-διμεθοξυβενζυλιδεν)-4,6-διμεθοξυβενζοφουραν-3-όνης (δεξιά)

Με βάση τις υπάρχουσες γνώσεις για τη δραστηριότητα των χαλκονών έναντι της πρωτεϊνικής κινάσης της τυροσίνης, οι Okombi et al. (2006) [41] ανακάλυψαν ότι οι ωρόνες με υποκαταστάτες δύο ή τρεις υδροξυλ-ομάδες, και κατά προτίμηση στις θέσεις 4, 6 ή 4', διαθέτουν ισχυρή ανασταλτική δράση έναντι της τυροσινάσης. Στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξαν το 2010 και οι Lee et al. [42], οι οποίοι συνέθεσαν μια σειρά Α-υποκαταστημένων ωρονών.

Ακόμα, η ίδια ομάδα παρατήρησε τη μείωση της δραστηριότητας των ωρονών στην επαγωγή της NAD(P)H:οξειδοαναγωγάσης 1 της κινόνης (NQO1, EC 1.6.99.2)- η οποία σύμφωνα με μελέτες ενισχύει την άμυνα του κυττάρου ενάντια σε εξωτερικούς μεταλλαξιογόνους παράγοντες- στην περίπτωση των ενώσεων που δεν είχαν μια ανέπαφη ολεφίνη, όπου δηλαδή ο διπλός δεσμός ήταν ανηγμένος ή η βενζυλιδενική πλευρική αλυσίδα είχε αφαιρεθεί.



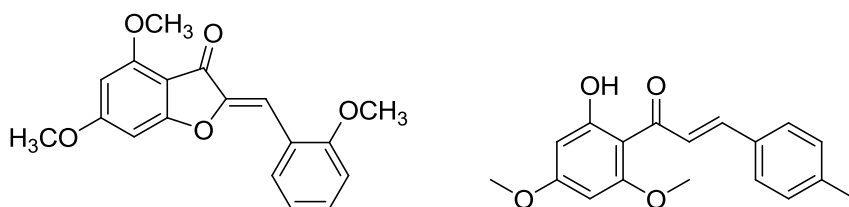
Με τον τρόπο αυτό, καταδεικνύεται ο σημαντικός ρόλος του εξωκυκλικού διπλού δεσμού και της ικανότητας των ωρονών να δρουν ως δέκτες Michael στη δραστηριότητα των ενώσεων στην επαγωγή της NAD(P)H: οξειδοαναγωγάσης 1 της κινόνης. Μια άλλη αξιοσημείωτη παρατήρηση είναι η έκδηλη δραστηριότητα των 4,6-διμεθοξυωρονών, οι οποίες παρουσίασαν υπομικρομοριακές τιμές συγκέντρωσης για την επαγωγή της δράσης της NQO1. Μάλιστα, η αντικατάσταση των μεθοξυ- ομάδων με ομάδες υδροξυλίου είχε ως αποτέλεσμα τη σύνθεση λιγότερο ισχυρών επαγωγέων.

Η γνώση αυτή θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία ορισμένων ασθενειών που χαρακτηρίζονται από υπέρχρωση του δέρματος, καθώς επίσης και στην κοσμετολογία για τη σύνθεση λευκαντικών παραγόντων.

Όσον αφορά στις συνθετικές ωρόνες, ερευνητικές προσπάθειες οδήγησαν στη σύνθεση της 4',6- διϋδροξυωρόνης και της 6-μεθοξυωρόνης, οι οποίες βρέθηκε ότι διαθέτουν ισχυρή αντιλεϊσμανιακή δράση [43].

Γενικά, παρατηρήθηκε ότι οι ωρόνες έχουν όμοιες αντιπαρασιτικές ιδιότητες με δομικά ομόλογές τους χαλκόνες [44], πλεονεκτούν όμως, καθώς διαθέτουν υψηλότερη σταθερότητα, σε σύγκριση με τις χαλκόνες, οι οποίες μπορούν να υποστούν εύκολα κυκλοποίηση προς σχηματισμό ανενεργών φλαβονών.

Με το υφιστάμενο ερευνητικό υπόβαθρο έχει ανακαλυφθεί μια μεγάλη ποικιλία δραστικών ενώσεων, όπως είναι η (E)-1-(2-υδροξυ-4,6-διμεθοξυφαινυλ)-3-p-τολυλπροπ-2-εν-1-όνη (Σχήμα 30) από τους Detsi et al. [45], η οποία διαθέτει αντιοξειδωτικές ιδιότητες, ενώ λειτουργεί και ως αναστολέας της λιποξυγενάσης, η οποία συμβάλλει στη μείωση του οξειδωτικού στρες. Παρόμοια συμπεριφορά διαθέτει και η συνθετική ωρόνη (Z)-4,6-διμεθοξυ-2-(2-μεθοξυβενζυλιδεν)βενζοφουραν-3-όνη (Σχήμα 30).



**Σχήμα 30:** Χημικός τύπος της (Z)-4,6-διμεθοξυ-2-(2-μεθοξυβενζυλιδεν)βενζοφουραν-3-όνης (δεξιά) και της (E)-1-(2-υδροξυ-4,6-διμεθοξυφαινυλ)-3-p-τολυλπροπ-2-εν-1-όνης (αριστερά).

## Κεφάλαιο 2

### 2.1 Δραστικές μορφές οξυγόνου και αντιοξειδωτικά

Το οξυγόνο είναι απαραίτητο για τη ζωή των αερόβιων οργανισμών, αλλά μπορεί να γίνει τοξικό, εάν χορηγηθεί σε υψηλές ποσότητες. Το μόριο του οξυγόνου στη σταθερή του κατάσταση είναι σχετικά αδρανές, ενώ η Η μερική αναγωγή του οδηγεί στη δημιουργία δραστικών μορφών οξυγόνου, όπως είναι το μονήρες οξυγόνο, το ανιόν υπεροξειδίου, το υπεροξείδιο του υδρογόνου κλπ. Αυτό οφείλεται εν μέρει στο οξειδωτικό στρες που είναι η αρνητική επίπτωση των οξειδωτικών στη φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού.

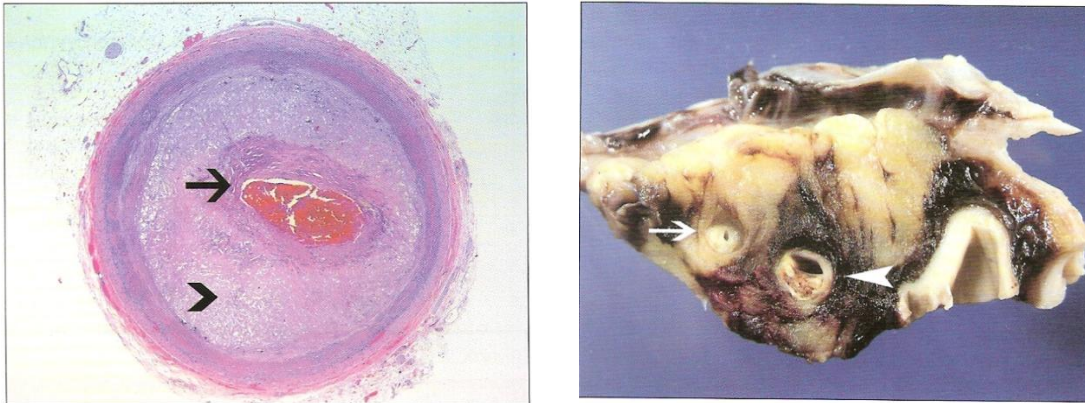
Οι ελεύθερες ρίζες είναι χημικά είδη που φέρουν ένα μονήρες ηλεκτρόνιο. Είναι εξαιρετικά δραστικές, ικανές να ξεκινήσουν ταχείες αντιδράσεις που αποσταθεροποιούν άλλα μόρια και παράγουν πολλές άλλες ελεύθερες ρίζες [46].

Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου παίζουν κεντρικό ρόλο στην αιτιολογία διαφόρων ασθενειών όπως η αρθρίτιδα, ο καρκίνος και η αρτηριοσκλήρυνση. Η οξειδωτική βλάβη του DNA μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στη γήρανση και η παρουσία του ενδοκυτταρικού οξυγόνου, επίσης, μπορεί να είναι υπεύθυνη για τη έναρξη μιας αλυσίδας ακούσιων αντιδράσεων σε κυτταρικό επίπεδο οι οποίες μπορεί να προκαλέσουν βλάβες σε κρίσιμα βιομόρια των κυττάρων [47].

Η πιο σημαντική συνέπεια της ύπαρξης και δράσης των ριζών οξυγόνου είναι η πρόκληση μεταλλάξεων στο μιτοχondριακό και πυρηνικό DNA. Ο μηχανισμός της βλάβης περιλαμβάνει προσβολή μεμονωμένων βάσεων και διάσπαση των δύο αλυσίδων του DNA. Βλάβη στο μιτοχondριακό DNA γενικά καταλήγει σε μεταλλάξεις που επηρεάζουν την παραγωγή ενέργειας, η οποία εκδηλώνεται σε λειτουργίες που απαιτούν υψηλά ποσά ενέργειας, όπως η μυϊκή συστολή [48].

Αποδεδειγμένη είναι επίσης η συσχέτιση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου με την αγγειακή νόσο. Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου επάγουν την παραγωγή υπεροξειδίου του υδρογόνου, το οποίο όπως και το NO, διαχέεται ταχέως στα κύτταρα και επιδρώντας στη δομή του αμινοξέος κυστεΐνη των πρωτεϊνών μεταβάλλοντας τη λειτουργία τους. Η χρόνια παραγωγή ελεύθερων ριζών μπορεί να υπερβεί τις αντιοξειδωτικές δυνατότητες των κυτταρικών ενζυμικών και μη μηχανισμών, με αποτέλεσμα την εμμένουσα ενδοθυλιακή ενεργοποίηση και την αγγειακή νόσο. Μια σημαντική πηγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου είναι τα

μιτοχόνδρια, στα οποία υπό κανονικές συνθήκες η παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου και η δράση της μιτοχονδριακής δισμουτάσης του υπεροξειδίου διατηρούνται σε ισορροπία κατά την οξειδωτική φωσφορυλίωση. Η ισορροπία αυτή μπορεί να διαταραχθεί σε συνθήκες υποξίας ή αύξησης του υποστρώματος της ενζυμικής αντίδρασης, όπως συμβαίνει στη μεταβολική διαταραχή που σχετίζεται με την παχυσαρκία ή το σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, περιπτώσεις που χαρακτηρίζονται από υπεργλυκαιμία και αύξηση των ελεύθερων λιπαρών οξέων [49].



**Εικόνα 5:** Αθηρωσκλήρυνση στεφανιαίας αρτηρίας (αριστερά). Η εγκάρσια διατομή αυτής της αρτηρίας αποκαλύπτει μια μεγάλη αθηρωματική πλάκα (στένωση άνω του 75%) με λεπτό ινώδες επικάλυμμα (βέλος) κι έναν παχύ αθηρωματικό πυρήνα (κεφαλή βέλους). Νεκροτομικό παρασκεύασμα σε ασθενή με αθηροματοσκλήρυνση των στεφανιαίων αρτηριών (δεξιά). Το αγγείο στην κορυφή του βέλους έχει στένωση περίπου 75%, ενώ εκείνο στην κεφαλή του βέλους περίπου 50-60%.

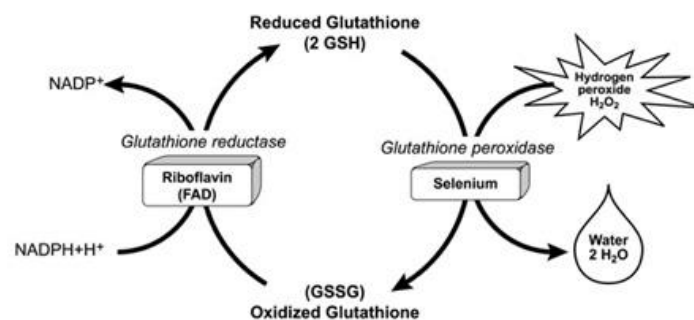
Η παρατεταμένη ή/και επαναλαμβανόμενη έκθεση στους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου οδηγούν σε εξάντληση των ενδογενών αντιφλεγμονωδών μηχανισμών των ενδοθηλιακών κυττάρων, με αποτέλεσμα τα τελευταία να γίνονται δυσλειτουργικά και να χάνουν τη συνέχειά τους στο αγγειακό τοίχωμα.

## 2.1.1 Συστήματα κυτταρικής άμυνας κατά των δραστικών μορφών οξυγόνου

Οι φυτικοί και ζωικοί οργανισμοί έχουν στην κατοχή τους ένα ευρύ φάσμα μηχανισμών για την αντιμετώπιση αυτών των ελεύθερων ριζών. Στα φυτά και τα ζώα αυτές οι ελεύθερες ρίζες απενεργοποιούνται από τα αντιοξειδωτικά, τα οποία δρουν ως αναστολείς της διαδικασίας οξείδωσης, ακόμη και σε σχετικά μικρή συγκέντρωση, και ως εκ τούτου έχουν ποικίλο φυσιολογικό ρόλο στο σώμα. Τα αντιοξειδωτικά ενεργούν ως αποικοδομητές, μετατρέποντας τις ελεύθερες ρίζες σε λιγότερο δραστικές ενώσεις.

Τα θηλαστικά διαθέτουν τρία διαφορετικά ένζυμα υπεροξειδικής δισμουτάσης που καταλύουν τη μετατροπή του ανιόντος του υπεροξειδίου, σε υπεροξείδιο του υδρογόνου. Το υπεροξείδιο του υδρογόνου απομακρύνεται από την καταλάση, ένα ένζυμο που περιέχει αίμη και εμφανίζεται σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις στα υπεροξειδισώματα και σε μικρότερη ποσότητα στα μιτοχόνδρια και στο κυτταρόπλασμα.

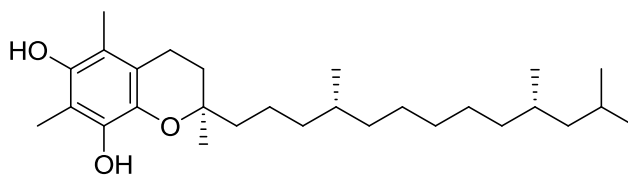
Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης καταλύει την αναγωγή τόσο του υπεροξειδίου όσο και των λιπιδικών υπεροξειδίων. Η αναγωγή της γλουταθειόνης αναγεννά τη σουλφυδρυλική μορφή της γλουταθειόνης, χρησιμοποιώντας ως δότη ηλεκτρονίων το NADPH.



**Σχήμα 31:** Εξουδετέρωση δραστικών μορφών οξυγόνου από την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης και την αναγωγή της γλουταθειόνης

Πέρα από τις ενζυμικές αντιοξειδωτικές ουσίες υπάρχουν και άλλες, μη ενζυμικές, οι οποίες υποβοηθούν στην αδρανοποίηση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου. Ένα από τα πιο τυπικά παραδείγματα είναι αυτό της βιταμίνης E, η οποία έχει πρωτεύοντα ρόλο στην

προστασία του οργανισμού από το οξειδωτικό στρες. Όταν ένα πολυακόρεστο λιπαρό οξύ προσβληθεί από μια ρίζα X, ένα από τα δύο άτομα υδρογόνου απομακρύνονται από την ομάδα του μεθυλενίου ανάμεσα στους δύο διπλούς δεσμούς κι έτσι προκύπτει μια πολύ ασταθής ελεύθερη ρίζα λιπιδίου (λείπει ένα ηλεκτρόνιο). Όταν αυτή συνδεθεί με O<sub>2</sub>, σχηματίζεται μια επίσης ασταθής ελεύθερη ρίζα υπεροξειδίου του λιπιδίου, το οποίο είτε θα αντιδράσει με ένα άλλο λιπαρό οξύ για να σχηματίσει ένα σταθερό, μη φυσιολογικό αλλά κυτταροτοξικό υπεροξείδιο του λιπιδίου ή θα συντηχθεί με ένα ακόμα μόριο υπεροξειδίου. Κατά τη διάρκεια της μεταφοράς του ατόμου H, σχηματίζεται μια ακόμα ελεύθερη ρίζα λιπιδίου, πυροδοτώντας μια αυτοκαταλυόμενη αλυσιδωτή αντίδραση. Η επίδραση της λιπιδικής υπεροξειδωσης στον άνθρωπο αποδεικνύεται από τις καφέ κηλίδες που παρατηρούνται συνήθως στα χέρια των ηλικιωμένων. Αν δε διακοπεί, αυτή η διαδικασία μπορεί πολύ γρήγορα να καταστρέψει τη λειτουργία της προσβεβλημένης κυτταρικής μεμβράνης. Αυτή οδηγεί με τη σειρά της στην εισροή Ca<sup>2+</sup> και άλλων ιόντων με επακόλουθη διόγκωση των κυττάρων. Παρόμοιες αυξήσεις στη διαπερατότητα των μεμβρανών των οργανιδίων μπορεί να καταλήξουν σε κακή κατανομή των ιόντων και να προκαλέσουν κυτταρική βλάβη. Για παράδειγμα, συσσώρευση υπερβολικών ποσοτήτων Ca<sup>2+</sup> στα μιτοχόνδρια μπορεί να προκαλέσει απόπτωση [6].



**Σχήμα 32:** Χημικός τύπος της α-τοκοφερόλης (βιταμίνη E)

Η βιταμίνη E (Σχήμα 32) διαθέτει μια πολύ υψηλή συνάφεια με τις ελεύθερες ρίζες των υπεροξειδίων των λιπιδίων. Η μεταφορά ενός ατόμου H από τη βιταμίνη E στην ελεύθερη ρίζα, οδηγεί στο σχηματισμό ενός σταθερού υδρουπεροξειδίου του λιπιδίου και μιας ελεύθερης ρίζας βιταμίνης E. Η τελευταία σταθεροποιείται λόγω μεσομέρειας και επομένως είναι εξαιρετικά αδρανής, οπότε διακόπτεται η αλυσιδωτή αντίδραση. Η ελεύθερη ρίζα τοκοφερόλης, που παραμένει στην κυτταρική μεμβράνη, μετατρέπεται πιθανότατα πάλι σε βιταμίνη E μέσω του ασκορβικού οξέος (βιταμίνη C) εντός του υδαρούς κυττοσολίου.

Τα φυτικά βλαστάρια και οι σπόροι, τα έλαια και τα προϊόντα τους είναι οι καλύτερες πηγές βιταμίνης E. Στα βλαστάρια των σιτηρών, τους ηλιόσπορους, τους βαμβακόσπορους και το ελαιόλαδο, η RRR-α-τοκοφερόλη αποτελεί το μεγαλύτερο μέρος (50-100%) της βιταμίνης

Ε, ενώ η γ-τοκοφερόλη, που διαθέτει το 10% της βιολογικής της δραστηριότητας, κυριαρχεί στο σογιέλαιο και στο καλαμποκέλαιο. Οι ημερήσιες ανάγκες σε βιταμίνη Ε είναι 15 mg για τους ενήλικους και 5 mg για τα βρέφη (Πίνακας 1) [6].



**Εικόνα 6:** Φυσικές πηγές βιταμίνης Ε

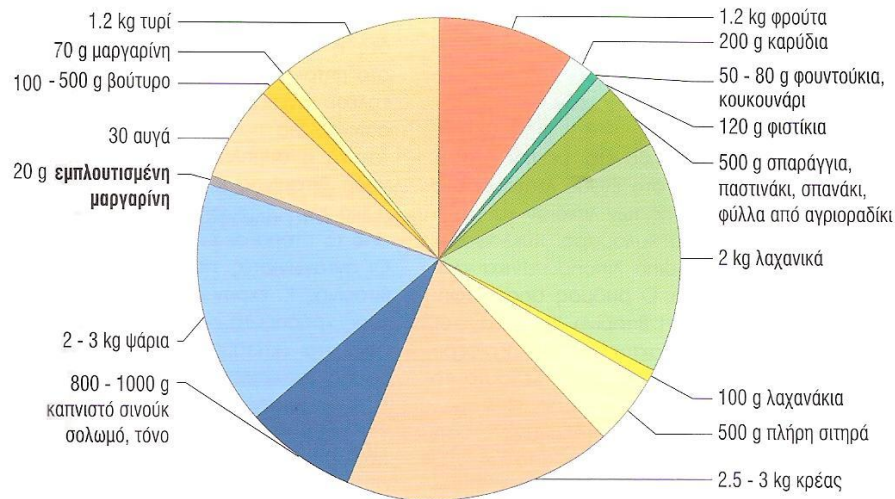
**Πίνακας 1:** Ημερήσιες ανάγκες σε βιταμίνη E για διάφορες ηλικιακές ομάδες

Ηλικία, φύλο	Ηλικία	Βιταμίνη E			UL	
		(mg/d)	( $\mu$ mol)	(mg/kg)	(mg/d)	( $\mu$ mol/d)
Βρέφη	0-6 μην.	4	9,3	0,6	καθόλου συμπληρώματα	
	7-12 μην.	5	11,6	0,6		
Παιδιά	1-3 χρ.	6	13,9		200	465
	4-8 χρ.	7	16,3		300	698
Έφηβοι	9-13 χρ.	11	25,6		600	1395
Ενήλικες	14-18 χρ.	15	34,9		800	1860
	>19 χρ.	15	34,9		1000	2326
Κύηση	14-18 χρ.	15	34,9		800	1860
	19-50 χρ.	15	34,9		1000	2326
Θηλασμός	14-18 χρ.	15	34,9		800	1860
	19-50 χρ.	19	44,2		1000	2326

Τα μπαχαρικά και τα βότανα ως πρόσθετα στα τρόφιμα είναι μια νέα τάση. Η πρόσληψη των αντιοξειδωτικών από ενώσεις που περιέχονται στα τρόφιμα είναι ένας σημαντικός παράγοντας για την προστασία της υγείας. Φυσικά αντιοξειδωτικά απαντώνται σε τρόφιμα, ενώ και άλλα βιολογικά προϊόντα έχουν προσελκύσει το ενδιαφέρον λόγω της σχετικής τους ασφάλειας και της δυνητικά θρεπτικής και θεραπευτικής τους δράσης. Τονίζεται ότι για να πληρούνται οι προδιαγραφές ασφαλείας απαιτείται εκτεταμένος και ακριβής έλεγχος των προσθέτων που τοποθετούνται στα τρόφιμα, με αποτέλεσμα τα συνθετικά αντιοξειδωτικά να έχουν εξαλειφθεί από πολλά τρόφιμα. Το αυξανόμενο ενδιαφέρον για την αναζήτηση φυσικών αντικαταστατών για τα συνθετικά αντιοξειδωτικά έχει οδηγήσει στην αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης μιας σειράς προϊόντων φυσικής προέλευσης.

Τα αντιοξειδωτικά που χρησιμοποιούνται παραδοσιακά για να αναστείλουν την οξείδωση στα τρόφιμα, καθώς και για να αδρανοποιήσουν τις επικίνδυνες ελεύθερες ρίζες και να αποτρέψουν τις αλυσιδωτές οξειδώσεις in-vivo, θεωρούνται από πολλούς ως η φυσική λύση για το περιβαλλοντικό και φυσιολογικό στρες, τη γήρανση, την αρτηριοσκλήρυνση και τον καρκίνο. Ο ρόλος που καλούνται να διαδραματίσουν τα φυσικά αντιοξειδωτικά είναι διττός και έγκειται τόσο στη συντήρηση των τροφίμων όσο και στη μεγιστοποίηση των ωφέλιμων

επιδράσεων στην υγεία. Για το λόγο αυτό, η αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης των καθαρών μεμονωμένων ενώσεων και των ανάμικτων εκχυλισμάτων, καθώς και η βελτιστοποίηση των εφαρμογών τους, αποτελεί σημαντική πρόκληση τα τελευταία χρόνια.



**Εικόνα 7:** Πηγές πρόσληψης και ημερήσιες ανάγκες βιταμίνης E

Είναι γνωστό ότι η μεσογειακή διατροφή, που είναι πλούσια σε φυσικά αντιοξειδωτικά, σχετίζεται με χαμηλή συχνότητα εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων και εγκεφαλικών. Επίσης, οι ενώσεις που ανήκουν σε διάφορες κατηγορίες φυτοχημικών συστατικών, όπως οι φαινόλες, τα φλαβονοειδή και τα καροτενοειδή έχουν την ικανότητα να αποικοδομούν τις ελεύθερες ρίζες στο πλάσμα (Πίνακας 2). Η αποτελεσματική πρόσληψη αντιοξειδωτικών και ο μεταβολισμός τους στο ανθρώπινο σώμα έχουν προσδιοριστεί για λίγες μόνο ενώσεις. Είναι λογικό ότι όσο υψηλότερη είναι η περιεκτικότητα των τροφίμων σε αντιοξειδωτικές ουσίες, τόσο μεγαλύτερη θα είναι και η πρόσληψη από τον ανθρώπινο οργανισμό.

**Πίνακας 2:** Ριζικοί και μη ριζικοί μεταβολίτες οξυγόνου

ΡΙΖΕΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ	$O_2^{\cdot\cdot}$ , $O_2^{\cdot}$ , $OH^{\cdot}$ , $ROO^{\cdot}$ , $RO^{\cdot}$ , $NO^{\cdot}$
ΜΗ ΡΙΖΙΚΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΟΞΥΓΟΝΟΥ	$H_2O_2$ , $ROOH$ , $HOCl$ , $O_3$ , $HCOR$ , $^1O_2$ , $ONOOH$

Τα φυσικά αντιοξειδωτικά απαντώνται σε όλα τα μέρη των φυτών. Αυτά τα αντιοξειδωτικά περιλαμβάνουν τα καροτενοειδή, τις βιταμίνες, τις φαινόλες, τα φλαβονοειδή, τη γλουταθειόνη, και τους ενδογενείς μεταβολίτες. Τα φυτικής προέλευσης αντιοξειδωτικά έχει



αποδειχθεί ότι λειτουργούν μεμονωμένα ως δεσμευτές του μονοατομικού και του τριατομικού οξυγόνου, ως αποικοδομητές των ελεύθερων ριζών και του υπεροξειδίου, ως ενζυμικοί αναστολείς, όσο και συνεργιστικά. Η πιο πρόσφατη έρευνα σχετικά με την αντιοξειδωτική δράση επικεντρώνεται σε φαινολικές ενώσεις, όπως τα φλαβονοειδή. Τα φρούτα και τα λαχανικά περιέχουν ποικίλα αντιοξειδωτικά συστατικά, όπως η βιταμίνη C, η βιταμίνη E και τα καροτενοειδή, των οποίων οι δράσεις έχουν αναγνωριστεί τα τελευταία χρόνια. Τα φλαβονοειδή, οι τανίνες και άλλα φαινολικά συστατικά που συναντώνται στις φυτικές τροφές είναι επίσης ενδεχόμενα αντιοξειδωτικά.

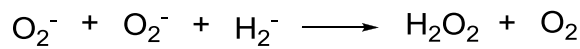
Η αυξημένη πρόσληψη των διαιτητικών αντιοξειδωτικών συμβάλλει στη διατήρηση μιας επιθυμητής αντιοξειδωτικής κατάστασης και, ως εκ τούτου, στη φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού. Στον άνθρωπο έχει αναπτυχθεί ένα εξελιγμένο και ιδιαίτερα περίπλοκο σύστημα αντιοξειδωτικής προστασίας των κυττάρων και των οργανικών συστημάτων του σώματος από τις δραστικές ρίζες οξυγόνου. Πρόκειται για μια ποικιλία στοιχείων, τόσο ενδογενών όσο και εξωγενών ως προς την προέλευση, που λειτουργούν διαδραστικά και συνεργικά για να εξουδετερώσουν τις ελεύθερες ρίζες.

### 2.1.2 Το $H_2O_2$ ως δραστική μορφή οξυγόνου

Το υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ), είναι μια από τις δραστικές μορφές οξυγόνου που σχηματίζονται κατά τη μερική αναγωγή του μοριακού οξυγόνου. Αυτή η ένωση παράγεται συνεχώς ως παραπροϊόν του αερόβιου μεταβολισμού, από αντιδράσεις με φάρμακα και περιβαλλοντικές τοξίνες ή όταν τα επίπεδα των αντιοξειδωτικών μειώνονται σημαντικά, δημιουργώντας την κατάσταση του οξειδωτικού stress. Αυτό το πολύ δραστικό ενδιάμεσο του οξυγόνου μπορεί να προκαλέσει σοβαρές χημικές βλάβες στο DNA, στις πρωτεΐνες και στα ακόρεστα λιπίδια, οδηγώντας στον κυτταρικό θάνατο. Επίσης, ως δραστική μορφή οξυγόνου, όπως και οι υπόλοιπες, έχει συσχετισθεί με έναν αριθμό παθολογικών καταστάσεων συμπεριλαμβανομένων του καρκίνου, της δημιουργίας φλεγμονής και της γήρανσης.

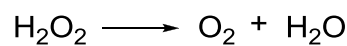
Ειδικότερα, ως παραπροϊόν του αερόβιου μεταβολισμού, το υπεροξείδιο του υδρογόνου συντίθεται σε μεγάλες ποσότητες στα μιτοχόνδρια, τα κατεξοχήν κέντρα παραγωγής ενέργειας του κυττάρου. Αξίζει να τονισθεί ότι, εκτός από τον πυρήνα του κυττάρου, DNA υπάρχει και στα μιτοχόνδρια, το οποίο φέρει γονίδια απαραίτητα για τη λειτουργία του οργανιδίου αυτού. Έτσι, βλάβες στο μιτοχονδριακό DNA έχουν συσχετισθεί με τη στεφανιαία νόσο, τη νόσο του

Parkinson, τη νόσο Alzheimer, νόσους από prion (μια μορφή της οποίας είναι και η νόσος Creutzfeldt–Jakob) και την πλάγια μυατροφική σκλήρυνση.



**Σχήμα 33:** Σχηματισμός του  $\text{H}_2\text{O}_2$

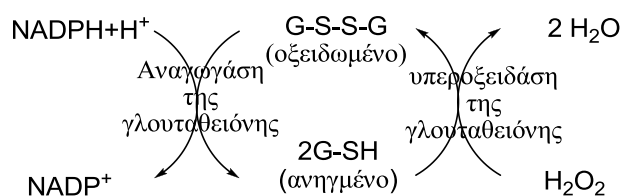
Ο σχηματισμός του  $\text{H}_2\text{O}_2$  πραγματοποιείται με την αντίδραση δυο ριζών υπεροξειδίου, μια αντίδραση η οποία επιτελείται με τη βοήθεια του ενζύμου υπεροξειδική δισμουτάση (SOD) (για το λόγο αυτό, οι παραπάνω ενώσεις - ένζυμα θεωρείται ότι λειτουργούν ως αντιοξειδωτικά). Η αντίδραση αυτή πραγματοποιείται στα ενδοκυτταρικά υπεροξειδιοσώματα και το υπεροξείδιο του υδρογόνου που συντίθεται πρέπει να καταβλισθεί προκειμένου να μη συσσωρευτούν μεγάλες ποσότητές του [50]. Τη λειτουργία αυτή αναλαμβάνει η καταλάση, ένα άλλο αντιοξειδωτικό ένζυμο, η οποία διασπά το  $\text{H}_2\text{O}_2$  κατά την παρακάτω αντίδραση:



**Σχήμα 34:** Διάσπαση του  $\text{H}_2\text{O}_2$

Επιπλέον, το κύτταρο διαθέτει ποικίλους μηχανισμούς με τους οποίους προστατεύεται από τις ενδεχόμενες βλάβες που προκαλεί η οξειδωτική δράση του  $\text{H}_2\text{O}_2$  [51], οι οποίοι διακρίνονται σε ενζυμικούς και μη ενζυμικούς.

Όσον αφορά στους ενζυμικούς μηχανισμούς, τα περισσότερα κύτταρα διαθέτουν την ανηγμένη γλουταθειόνη, μία τριπεπτιδική θειόλη. Η αντίδραση απαιτεί την παρουσία σεληνίου και οδηγεί στο σχηματισμό οξειδωμένης γλουταθειόνης, η οποία δε διαθέτει πλέον προστατευτικές ιδιότητες. Το κύτταρο αναγεννά την ανηγμένη γλουταθειόνη μέσω μιας αντίδρασης που καταλύεται από την αναγωγάση της γλουταθειόνης και με τη βοήθεια του NADPH ως πηγή ηλεκτρονίων.



**Σχήμα 35:** Αναγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου από το NADPH με τη συμμετοχή της γλουταθειόνης (G-SH)

Οι μη ενζυμικοί μηχανισμοί περιλαμβάνουν το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C), τη βιταμίνη B και το β-καροτένιο (μια μορφή της βιταμίνης A). Στη παρούσα εργασία ασχολούμαστε κυρίως με τους μη ενζυμικούς μηχανισμούς.

### 2.1.3 Προσδιορισμός της ικανότητας των ενώσεων να δεσμεύουν το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> με τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας

Με τον όρο χημειοφωταύγεια, εννοούμε κάθε διαδικασία που αφορά στην εκπομπή ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας (συνήθως στην ορατή ή κοντά στην υπέρυθρη περιοχή), που παράγεται από μια ουσία, μέσω μιας χημικής αντίδρασης. Γενικά, στις αντιδράσεις της μεθόδου χημειοφωταύγειας, ένα από τα προϊόντα της αντίδρασης βρίσκεται σε διεγερμένη ηλεκτρονικά κατάσταση, το οποίο παράγοντας φώς, μεταπίπτει στη θεμελιώδη κατάσταση. Η ένταση της εκπομπής του παραγόμενου φωτός είναι συνάρτηση της συγκέντρωσης των χημικών ενώσεων που συμμετέχουν στην αντίδραση χημειοφωταύγειας. Συνεπώς, η μέτρηση της έντασης της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας μπορεί να χρησιμοποιηθεί για αναλυτικούς σκοπούς [52]. Τονίζεται ότι Η χημειοφωταύγεια κατέχει μια εξέχουσα θέση ανάμεσα σε άλλες φασματοφωτομετρικές τεχνικές, εξαιτίας της ευαισθησίας και της επιλεκτικότητας που παρουσιάζει [53].

Η τεχνική αυτή χαρακτηρίζεται από τα εξής:

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

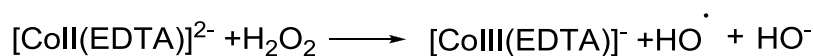
Παρόλα αυτά, πρέπει να αναφερθεί ότι υπάρχουν και κάποιοι περιορισμοί στην ανάλυση χημειοφωταύγειας [52], όπως είναι οι παρακάτω:

- Η εξάρτηση της εκπομπής χημειοφωταύγειας από ορισμένους παράγοντες όπως είναι: το pH, η παρουσία μεταλλικών ιόντων (κυρίως των στοιχείων μετάπτωσης), η θερμοκρασία, η χημική δομή των πρόδρομων ενώσεων που λαμβάνουν μέρος στην αντίδραση, ο επιλεγμένος καταλύτης καθώς και το γεγονός ότι το μέγεθος της έντασης της χημειοφωταύγειας είναι ανάλογο του όγκου της κυψελίδας.

- Η απλή εκπομπή χημειοφωταύγειας δεν είναι σταθερή αλλά μεταβάλλεται με το χρόνο. Επομένως, το προφίλ εκπομπής-χρόνου μπορεί να διαφέρει σημαντικά σε διαφορετικά συστήματα χημειοφωταύγειας.

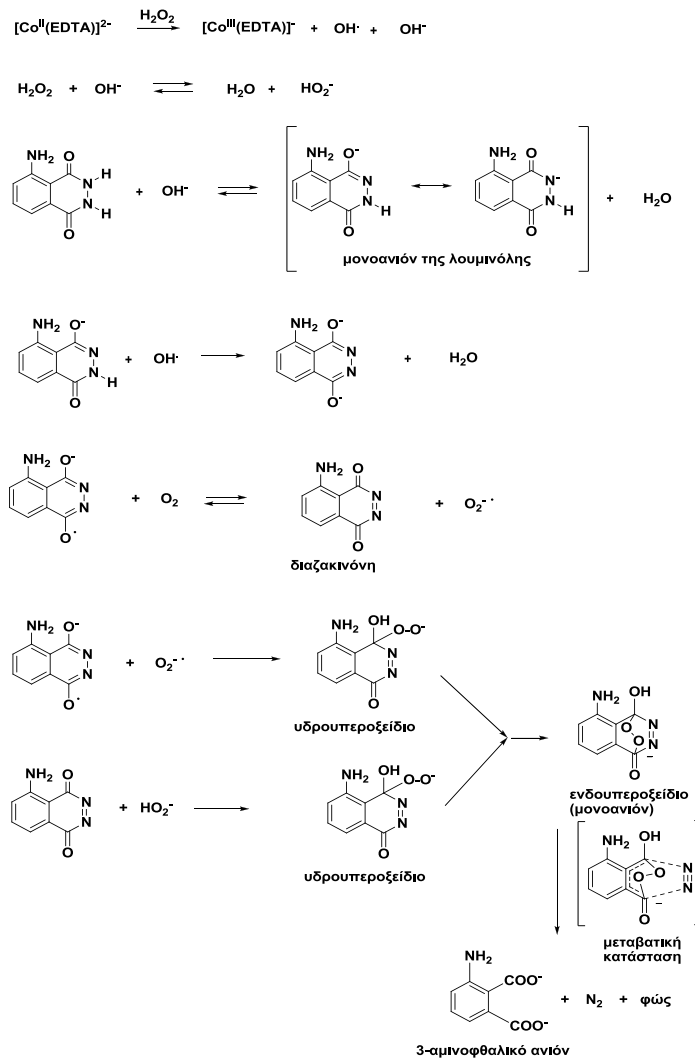
Πολλές μέθοδοι χημειοφωταύγειας, απαιτούν λίγα μόνο χημικά συστατικά που πραγματικά παράγουν φως. Η χημειοφωταύγεια της λουμινόλης [53], που έχει μελετηθεί εκτενώς, και των υπεροξοξαλικών, χρησιμοποιούνται σε αναλυτικές και βιοαναλυτικές μεθόδους. Η λουμινόλη, η οποία είναι μη εξειδικευμένη, χρησιμοποιείται ευρέως σαν χημειοφωτανγικός αισθητήρας. Ο χημειοφωτανγικός εκπομπέας, προέρχεται άμεσα από την οξείδωση της λουμινόλης, από ένα οξειδωτικό μέσο σε βασικό υδατικό διάλυμα. Το πιο σύνηθες οξειδωτικό μέσο είναι το υπεροξείδιο του υδρογόνου. Ωστόσο, έχουν χρησιμοποιηθεί και άλλα οξειδωτικά μέσα, όπως ένζυμα [54], οργανικά υπεροξείδια [54], και 2,2'-αζο-δι(2-αμιδινοπροπάνιο) [55].

Πρόσφατα, η μέθοδος χημειοφωταύγειας της λουμινόλης, τροποποιήθηκε για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση του υπεροξειδίου του υδρογόνου. Αυτή η τροποποιημένη μέθοδος, που δε χρησιμοποιεί ένζυμα και δεν απαιτεί λογισμικό για ολοκλήρωση καμπυλών, λόγω της σταθερής έντασης χημειοφωταύγειας που παράγεται, για ένα λογικό χρονικό διάστημα (έως και 1min), βασίζεται στην καταλυτική οξείδωση της λουμινόλης από  $\text{Co}^{2+}$  και στη χρήση ρυθμιστικού διαλύματος βορικών σε pH 9, παρουσία EDTA ως μεταλλικού συμπλοκοποιητή. Το προαναφερθέν επίπεδο pH βρέθηκε να δίνει τα βέλτιστα σήματα, αναφορικά με τη χρονική σταθερότητα, την ένταση και την επαναληψιμότητα [56]. Τα σύμπλοκα του κοβαλτίου με το EDTA καταλύουν το σχηματισμό μιας ρίζας υδροξυλίου μέσω της αντίδρασης Fenton [57], που φαίνεται στο Σχήμα 32.



**Σχήμα 36:** Αντίδραση Fenton

Η μέθοδος της χημειοφωταύγειας της λουμινόλης περιγράφεται από μια σειρά αντιδράσεων, όπου σε βασικό pH, η λουμινόλη μετατρέπεται στο αντίστοιχο μονοανιόν, το οποίο σταθεροποιείται με δομές συντονισμού. Το ανιόν μέσα από διάφορα στάδια, καταλήγει στο σχηματισμό του ενδοϋπεροξειδίου, το οποίο παράγεται σε διεγερμένη κατάσταση και αποβάλλει την περίσσεια ενέργειας υπό μορφή ακτινοβολίας, οπότε μεταπίπτει στη θεμελιώδη ενεργειακή κατάσταση. Οι αντίστοιχες αντιδράσεις φαίνονται στο Σχήμα 37.



**Σχήμα 37:** Οι αντιδράσεις που συμβαίνουν κατά τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας της λουμινόλης

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

$$\text{ICI} = \Phi\text{CI} (-dA/dt)$$

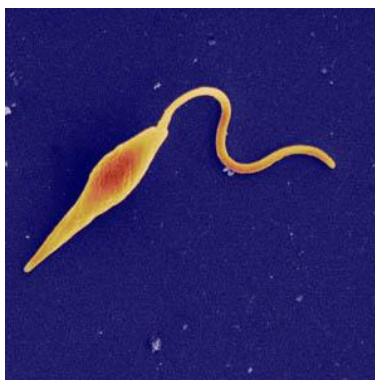
όπου ICI είναι η ένταση της εκπομπής (φωτόνια/ δευτερόλεπτο),  $\Phi\text{CI}$  είναι η κβαντική απόδοση της χημειοφωταύγειας και  $-dA/dt$  είναι ο ρυθμός με τον οποίο καταναλώνεται η

πρόδρομη ένωση A της διεργασίας. Η μέγιστη ένταση φωτός, εξαρτάται από τη συγκέντρωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου και την κβαντική απόδοση [52].

## Κεφάλαιο 3

### 3.1 Λεισμανίαση: μια ‘παραμελημένη’ παρασιτική ασθένεια

Η *Leishmania* είναι ένα γένος παρασιτικών πρωτόζωων η οποία ανήκει στο φύλο των Ευγληνόζωων. Η κατηγορία αυτή περιλαμβάνει φυτοαυτότροφους οργανισμούς που διαθέτουν ημιάκαμπτη κυτταρική μεμβράνη και κινούνται με τη βοήθεια μαστιγίου. Ορισμένα Ευγληνόζωα είναι δυνητικά χημειοετερότροφοι οργανισμοί. Απουσία φωτός τρέφονται με οργανική ύλη που προσλαμβάνουν από το περιβάλλον μέσω του κυτταροπλάσματος [58].

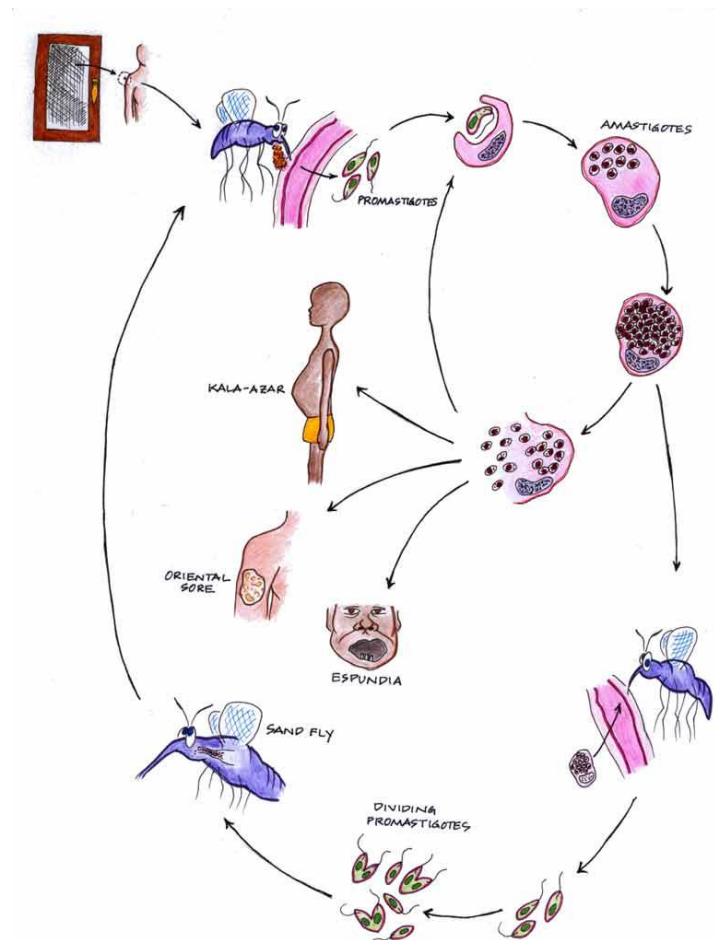


**Εικόνα 8:** Η *Leishmania donovani* όπως φαίνεται με ένα συνεστιακό μικροσκόπιο.

Η λεισμανίαση είναι τυπικά ζωνόσος. Ο κύκλος ζωής των παρασίτων της *Leishmania* περιλαμβάνει δύο στάδια και απαιτεί την ύπαρξη δύο ξενιστών στους οποίους μεταφέρεται μέσω δύο διαφορετικών εξελκτικών μορφών. Στο πρώτο εξωκυτταρικό στάδιο, στον ασπόνδυλο ξενιστή (θηλυκή φλεβοτόμος), το παράσιτο βρίσκεται υπό τη μαστιγοφόρο του μορφή (promastigotes) ενώ στο δεύτερο ενδοκυτταρικό στάδιο στον σπονδυλωτό ξενιστή (θηλαστικά, κυρίως στους σκύλους και τα τρωκτικά), βρίσκεται υπό τη μη μαστιγοφόρο του μορφή (amastigotes) [59]. Ο βιολογικός κύκλος της *Leishmania* ξεκινάει όταν από το δήγμα μιας μολυσμένης θηλυκής φλεβοτόμου μεταφερθεί η εξωκυτταρική μαστιγοφόρος μορφή του παρασίτου στο θηλαστικό. Αμέσως μετά τη μόλυνση, το παράσιτο μέσω της διαδικασίας της φαγοκυττάρωσης από τα μακροφάγα του σπονδυλωτού ξενιστή μετατρέπεται στη μη

μαστιγοφόρο, ενδοκυτταρική μορφή του, όπου μπορεί πλέον να πολλαπλασιαστεί μέσω της φυσιολογικής κυτταρικής διαίρεσης των μακροφάγων του ξενιστή και να συνεχιστεί η μόλυνση. Ακολούθως, δήγμα από μια άλλη φλεβοτόμο θα την καταστήσει φορέα της μολυσματικής μορφής του παρασίτου, το οποίο θα μπορεί να μεταδώσει στη συνέχεια στον άνθρωπο.

Σε αντίθεση με άλλα ενδοκυτταρικά παθογόνα όπως το τοξόπλασμα, η *Leishmania* δεν εμποδίζει τη σύντηξη των μολυσμένων κεντοπύων με τα καταβολικά λυσοσώματα. Η μικρο-μαστιγωτή (μικρο-βλεφαριδική) μορφή των προμαστιγοφόρων είναι φυσιολογικώς καλά προσαρμοσμένη στις υψηλές θερμοκρασίες και το μικροβιοκτόνο περιβάλλον εντός των μακροφάγων.



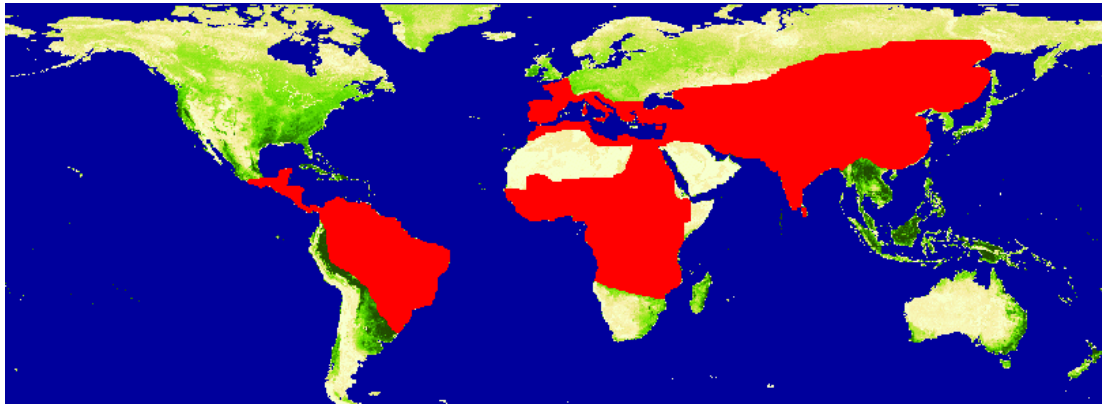
**Εικόνα 9:** Ο κύκλος ζωής της *Leishmania*.



Στον άνθρωπο, τα είδη της *Leishmania* είναι υποχρεωτικά ενδοκυττάρια παράσιτα των μονοπύρηνων μακροφάγων. Η δερματική λεισμανίαση προκαλείται από τα *L. tropica*, *L. major*, *L. aethiopica*, *L. mexicana*, *L. amazonensis*, *L. braziliensis*, *L. paramensis*, *L. guyanensis* και *L. peruviana*. Η σπλαγχνική λεισμανίαση προκαλείται από τα *L. donovani*, *L. infantum* και *L. chagasi* που μπορούν να προκαλέσουν και δερματική λεισμανίαση [60].

Παγκοσμίως υπάρχουν 88 χώρες με ενδημική λεισμανίαση. Η νόσος είναι ενδημική από τη βόρειο Αργεντινή μέχρι το νότιο Τέξας (εκτός από την Ουρουγουάη και τη Χιλή, στη νότιο Ευρώπη, την Ασία (εκτός της νοτιοανατολικής), τη Μέση Ανατολή και την Αφρική (ειδικά την ανατολική και τη βόρεια, με σποραδικές περιπτώσεις στις υπόλοιπες περιοχές), αλλά όχι στην Αυστραλία ή την Ωκεανία. Ο εκτιμώμενος αριθμός των ανθρώπων σε κίνδυνο είναι 350 εκατομμύρια με περίπου 500.000 νέα περιστατικά παγκοσμίως. Περισσότερο από το 90% των περιπτώσεων συμβαίνουν στο Μπαγκλαντές, τη βορειοανατολική Ινδία, το Νεπάλ, το Σουδάν και στη βορειοανατολική Βραζιλία. Η γεωγραφική κατανομή των περιπτώσεων στις αναπτυσσόμενες χώρες αντανακλά μοντέλα τουρισμού και μετανάστευσης [60].

Σήμερα, η λεισμανίαση έχει αναμφίβολα μια ευρύτερη γεωγραφική κατανομή σε σχέση με παλαιότερα, καθώς έχει αναφερθεί η ύπαρξή της και σε περιοχές όπου δεν ήταν ενδημική, όπως ο Ανώτερος δυτικός Νείλος στο νότιο Σουδάν. Επιπλέον, σε διάφορες περιοχές του κόσμου παρατηρείται αύξηση του αριθμού των κρουσμάτων. Αυτή η ανησυχητική αύξηση δεν αποδίδεται μόνο σε μεταβολές του περιβάλλοντος οι οποίες αυξάνουν την έκθεση στη φλεβοτόμο, αλλά και στην αύξηση των μεμονωμένων παραγόντων κινδύνου, οι οποίοι διευκολύνουν την εξέλιξη από τη μόλυνση στην εκδήλωση της νόσου [61]. Σε αυτό το πλαίσιο, η μετανάστευση από αγροτικές σε αστικές περιοχές έχει οδηγήσει στην αστικοποίηση της σπλαγχνικής λεισμανίασης στη Βραζιλία και στις χώρες της Νότιας Αμερικής. Συγκεκριμένα, στην περίπτωση της βορειοανατολικής Βραζιλίας, πολλές κλιματολογικές και κοινωνικοοικονομικές αλλαγές έχουν οδηγήσει σε μαζική και απρογραμματίστη μετανάστευση από τις αγροτικές περιοχές σε μεγάλες πόλεις [62]. Αυτές οι μετακινήσεις του πληθυσμού έχουν οδηγήσει σε δραματική αύξηση του αριθμού των περιπτώσεων σπλαγχνικής λεισμανίασης και αυτή η αύξηση έχει αποδοθεί στην παρουσία των οικόσιτων ζώων που αποτελούν δεξαμενές του παρασίτου σε αυτές τις περιοχές. Ειδικότερα, παρατηρήθηκε μια πιθανή συσχέτιση μεταξύ της ανθρώπινης λοίμωξης και της παρουσίας των σκύλων πέριξ των κατοικιών [63]. Το ίδιο φαινόμενο της αστικοποίησης της σπλαγχνικής λεισμανίασης έχει επίσης παρατηρηθεί στην Κολομβία και τη Βενεζουέλα [64]. Στην παρακάτω εικόνα παρουσιάζεται η κατανομή των περιστατικών της λεισμανίασης ανά τον κόσμο (Εικόνα 10).



**Εικόνα 10:** Κατανομή της λεισμανίασης ανά τον κόσμο.

Στις χώρες της ανατολικής Αφρικής, η κυκλοφορία των εποχιακά εργαζομένων, και η συσσώρευση των προσφύγων σε περιοχές όπου η σπλαγχνική λεισμανίαση είναι ενδημική έχουν διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στη διάδοση της νόσου και στην αύξηση του κινδύνου των επιδημιών. Η προσωρινή μετανάστευση των ανθρώπων από μη ενδημικές σε ενδημικές περιοχές είναι παράγοντας κινδύνου για τη διάδοση της νόσου, δεδομένου ότι αυτοί οι άνθρωποι μπορεί να εισάγουν την ασθένεια κατά την επιστροφή τους σε ένα μη άνοσο πληθυσμό. Επιπλέον, η παρουσία λιμνών και η υψηλή στάθμη του νερού του υπεδάφους διατηρούν το επίπεδο της υγρασίας σε υψηλά επίπεδα. Ως αποτέλεσμα των υψηλών επιπέδων υγρασίας, η επιβίωση του φλεβοτόμου αυξάνεται [65].

Επιπλέον, ο υποσιτισμός είναι ένας άλλος παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη σοβαρής σπλαγχνικής λεισμανίασης. Έχει αποδειχθεί ότι στη Βραζιλία τα παιδιά που πάσχουν από υποσιτισμό είχαν 9 φορές περισσότερες πιθανότητες να αναπτύξουν σπλαγχνική λεισμανίαση [66]. Η αύξηση των περιστατικών λεισμανίασης παγκοσμίως σχετίζεται σε μεγάλο βαθμό και με την εξάπλωση της HIV λοίμωξης. Η ανοσοκαταστολή είναι ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες που ευθύνονται είτε για την αυξημένη ευαισθησία στην πρωτογενή λοίμωξη από *Leishmania* είτε για την επανενεργοποίηση μιας σιωπηλής μόλυνσης. Η συννοσηρότητα από *Leishmania* και HIV έχει αναφερθεί στις 35 από τις 88 χώρες στις οποίες η λεισμανίαση είναι ενδημική.

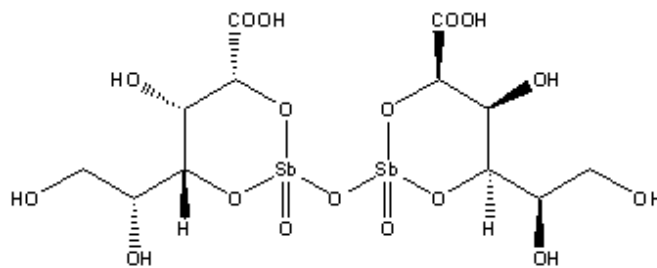
Τα τρία κύρια κλινικά σύνδρομα που προκαλούνται από τη *Leishmania* είναι τα εξής:

- Δερματική λεισμανίαση: Οι βλάβες περιορίζονται συνήθως σε εκτεθειμένες περιοχές του δέρματος (π.χ. πρόσωπο, άκρα) και μπορεί να συνοδεύονται από δορυφόρες αλλοιώσεις και εντοπισμένη λεμφαδενοπάθεια. Η αυτόματη λύση των αλλοιώσεων παίρνει εβδομάδες ή χρόνια και καταλήγει συνήθως σε επίπεδη ατροφική ουλή.

- Βλεννογονική λεισμανίαση: (espondia). Προκαλείται από διασπορά των παρασίτων στο ρινικό και οροφαρυγγικό βλεννογόνο, ενώ η προσβολή τους μπορεί να γίνει εμφανής μήνες ή και χρόνια μετά την επούλωση των δερματικών αλλοιώσεων.

- Σπλαγγχνική λεισμανίαση (kala-azar): Το πρωτόζωο διασπείρεται στο ήπαρ, το σπλήνα και το μυελό των οστών, μετά τον ενοφθαλμισμό του στο δέρμα. Η νόσος που δεν αντιμετωπίζεται με αγωγή είναι θανατηφόρα.

Θεραπεία εκλογής για τη λεισμανίαση είναι το στιβογλυκονικό νάτριο (Pentostam®) (Σχήμα 38) ή η αντιμονιακή μεγλουμίνη (Glugantime). Παρενέργειες των συγκεκριμένων φαρμάκων είναι οι γαστρεντερικές διαταραχές, ο πυρετός, τα εξανθήματα, η αιμολυτική αναιμία, η λευκοπενία και η θρομβοπενία. Άλλα φάρμακα που χρησιμοποιούνται είναι η αμφοτερικίνη Β, οι λιπιδιακές μορφές αμφοτερικίνης (με πιο ήπιες ανεπιθύμητες ενέργειες, αλλά με πολύ υψηλότερο κόστος προς το παρόν σε σχέση με τη δοξυχολική αμφοτερικίνη Β), η ισοθιονική πενταμιδίνη και η αμινοσιδίνη [67].



**Σχήμα 38:** Χημικός τύπος στιβογλυκονικού νατρίου

Η ενδοκυτταρική εντόπιση του παθογόνου δημιουργεί προβλήματα στην είσοδο των φαρμάκων στα κύτταρα καθώς πρέπει είτε να διέλθουν από τη μεμβράνη των κυττάρων του ξενιστή είτε να εισαχθούν από το ίδιο το κύτταρο ξενιστή. Η ενδοκυτταρική αποτελεσματικότητα ενός φαρμάκου εξαρτάται από την πορεία και από το ρυθμό της πρόσληψής του, της αντοχής του στην ενδοκυττάρια αποδόμηση, την ενδοκυττάρια διακίνησή του και την τοξικότητά του προς τα κύτταρα του ξενιστή. Κατά συνέπεια, για τον έλεγχο των αντιλεισμανιακών φαρμάκων πρέπει να εξεταστεί η δράση τους, τόσο κατά του εξωκυττάριου προμαστιγωτή, όσο και κατά της ενδοκυτταρικής αμαστίγωτης μορφής του παρασίτου.

Στην περίπτωση που η δεξαμενή του παρασίτου είναι μολυσμένα άτομα, είναι δυνατός ο έλεγχος της νόσου με την πρόωπη ανίχνευση και θεραπεία της. Κάτι τέτοιο όμως δεν ισχύει όταν η δεξαμενή είναι ένα άγριο ζώο. Και ενώ ο έλεγχος των φορέων είναι εφικτός στην

εγχώρια και παρα-εγχώρια μετάδοση, τα μέτρα ελέγχου της λεισμανίασης στα άγρια ζώα δεν είναι επιτυχή. Συνολικά, ο έλεγχος των διαφορετικών μορφών της λεισμανίασης απαιτεί υποδομές που υπερβαίνουν τις δυνατότητες πολλών χωρών, είναι δαπανηρός και ίσως έχει δυσμενείς επιπτώσεις στο περιβάλλον. Ωστόσο, υπήρξαν περιστασιακές επιτυχίες στον έλεγχο της λεισμανίασης με τα εξαιρετικά αποφασιστικά και οργανωμένα προγράμματα ορισμένων χωρών, όπως η Σαουδική Αραβία και η Κίνα. Όμως, η επιστροφή της νόσου μετά τη χαλάρωση των μέτρων ελέγχου υποδεικνύει την ανάγκη για αποτελεσματικότερα και βιώσιμα μέτρα [68].

Τα εμβόλια είναι πιο αποδοτικά από ότι η θεραπεία με άλατα του αντιμονίου. Με βάση αυτή την εκτίμηση, και επειδή τα διαθέσιμα φάρμακα είναι ανεπαρκή -είναι τοξικά, έχουν υψηλό κόστος και απαιτούν επαναλαμβανόμενες χορηγήσεις- έχει εστιαστεί κατά καιρούς το ενδιαφέρον στην ανάπτυξη εμβολίων και φαρμάκων. Αυτήν την περίοδο, η έμφαση της Διευθύνουσας Επιτροπής των Εμβολίων για τη Λεισμανίαση είναι προς την εύρεση δύο τύπων εμβολίων - πρώτης και δεύτερης γενεάς. Τα εμβόλια πρώτης γενεάς αποτελούνται από αδρανοποιημένα μικρόβια του γένους της *Leishmania* αναμεμιγμένων με χαμηλή συγκέντρωση του βακίλλου Calmette-Guérin (BCG, το εμβόλιο κατά της φυματίωσης) ως ανοσοενισχυτικό. Αυτό το εμβόλιο υποβάλλεται επί του παρόντος σε δοκιμές για τον έλεγχο της αποτελεσματικότητάς του. Τα εμβόλια δεύτερης γενεάς, τα οποία είναι σήμερα σε φάση ανάπτυξης, αποτελούνται από γενετικά τροποποιημένα παράσιτα *Leishmania*, τα οποία έχουν χάσει την ικανότητά τους να προκαλούν τη νόσο, ανασυνδυασμένα μόρια ή το αντίστοιχο DNA τους, αναμεμιγμένο μαζί με άλλους μικροοργανισμούς ή ανασυνδυασμένους οργανισμούς που περιέχουν γονίδια της *Leishmania*.

Εν κατακλείδι, δεδομένου ότι δεν υπάρχει διαθέσιμο εμβόλιο κατά της *Leishmania*, τα μέτρα ελέγχου έγκεινται στην προσωπική προστασία από τα δήγματα της φλεβοτόμου και στον έλεγχο της δεξαμενής και των φορέων. Ο έλεγχος της λεισμανίασης παραμένει ένα δύσκολο θέμα και η εξάλειψη της νόσου είναι ακόμη δυσκολότερη. Τα τρέχοντα προγράμματα ελέγχου της λεισμανίασης σε μεγάλο βαθμό απέτυχαν, κυρίως λόγω των ανεπαρκούντων περιφερειακών συστημάτων διανομής υπηρεσιών υγείας και λόγω των περιορισμένων πόρων στις κατά τόπους περιοχές. Στο πλαίσιο αυτό, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) έχει κατατάξει τη λεισμανίαση ως μια αναδυόμενη και μη ελεγχόμενη νόσο (που ανήκει στην κατηγορία 1 των ασθενειών). Υπάρχει, επίσης, η ελπίδα ότι το πρώτο εμβόλιο κατά της λεισμανίασης θα είναι διαθέσιμο μέσα σε μια δεκαετία. Μέχρι ένα αποτελεσματικό εμβόλιο να είναι διαθέσιμο στο εμπόριο, ο προσδιορισμός των παραγόντων κινδύνου μπορεί να συμβάλει σημαντικά στο σχεδιασμό στρατηγικών πρόληψης [68].

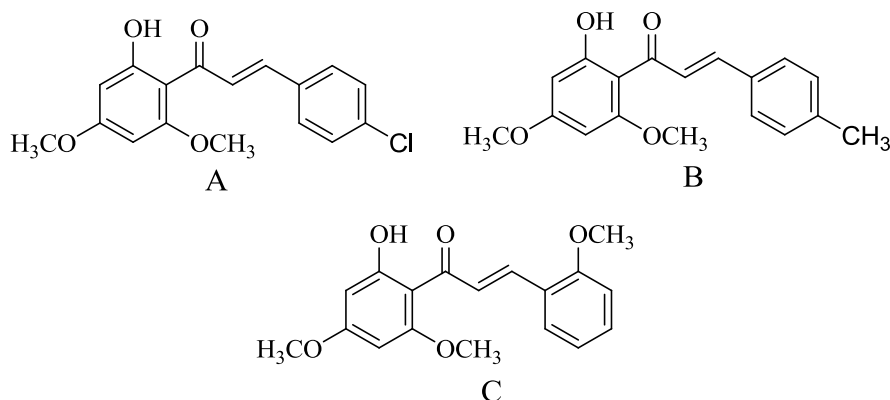
Οι ενδιαφέρουσες ιδιότητες των χαλκονών και των ωρονών που προαναφέρθηκαν, καθιστούν ιδιαίτερα ελκυστική την έρευνα και την προσπάθεια σύνθεσης νέων παραγώγων με βελτιωμένες ιδιότητες.

Αντικείμενο της παρούσας εργασίας είναι ο σχεδιασμός, η σύνθεση και ο χαρακτηρισμός νέων χαλκονών και ωρονών με σκοπό να μελετηθεί η αντιοξειδωτική και η αντιπαρασιτική δράση τους, αντίστοιχα. Επιπλέον, επιχειρήθηκε η αναγωγή των ωρονών, με στόχο να εξεταστεί η ενδεχόμενη αντιλειτουργική δράση των παραγώγων τους.

## Κεφάλαιο 4

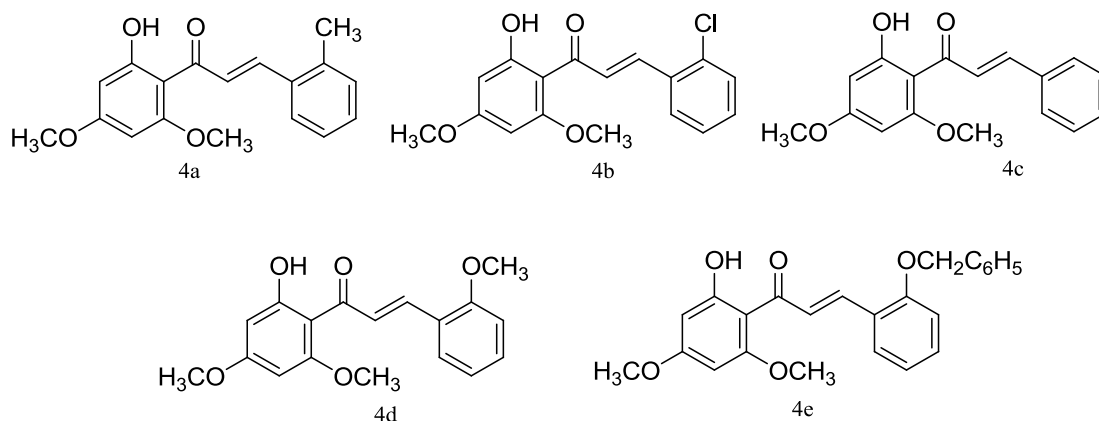
### 4.1 Σχεδιασμός και σύνθεση χαλκονών με αντιοξειδωτική δράση

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα και τα συμπεράσματα προηγούμενης έρευνας που πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας ΕΜΠ, οι χαλκόνες της δομής που φαίνεται στο Σχήμα 39 παρουσιάζουν αξιόλογη αντιοξειδωτική δράση [45].



**Σχήμα 39:** 4',6'-Διμεθοξυ-2'-υδροξυ-χαλκόνες υποκατεστημένες στο δακτύλιο B με αξιόλογη αντιοξειδωτική δράση.

Με δεδομένο ότι η θέση των υποκαταστατών στο δακτύλιο B και η συμπεριφορά τους ως δότες ή δέκτες ηλεκτρονίων φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στη δράση των χαλκονών, στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε η σύνθεση ανάλογων χαλκονών που περιέχουν μεθοξυ-ομάδες στις θέσεις 4' και 6' του δακτυλίου A και διάφορους υποκαταστάτες στη θέση 2 του δακτυλίου B με σκοπό την περαιτέρω μελέτη της σχέσης δομής-αντιοξειδωτικής δράσης (Σχήμα 40).



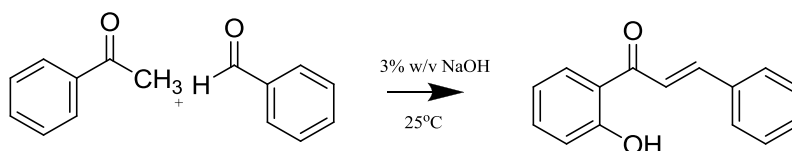
**Σχήμα 40:** 4',6'-διμεθοξυ-2'-υδροξυ-χαλκόνες, που συντέθηκαν στην παρούσα εργασία.

Επίσης, οι χαλκόνες που παρασκευάστηκαν αποτέλεσαν τις αρχικές ενώσεις για τη σύνθεση των αντίστοιχων ωρονών, μέσω της αντίδρασης της οξειδωτικής κυκλοποίησης των πρώτων.

#### 4.1.1 Σύνθεση χαλκονών

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, οι κυριότερες συνθετικές πορείες για την παρασκευή χαλκονών είναι:

➤ Η καταλύμενη από βάση αντίδραση συμπύκνωσης Claisen-Schmidt, που πραγματοποιείται ανάμεσα σε μια κετόνη και σε μια βενζαλδεΐδη, σε ένα πολικό διαλύτη, όπως π.χ. μεθανόλη, χρησιμοποιώντας διάφορους καταλύτες (Σχήμα 41).

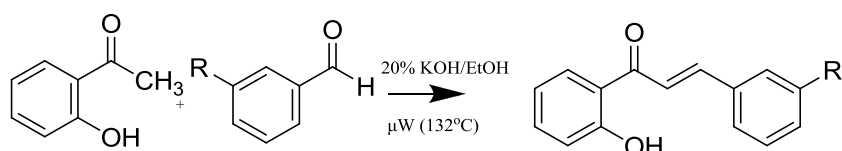


**Σχήμα 41:** Αντίδραση σύνθεσης χαλκονών με τη μέθοδο Claisen-Schmidt

Η συγκεκριμένη μεθοδολογία χρησιμοποιήθηκε για την σύνθεση των χαλκονών στην παρούσα εργασία και αναφέρεται αναλυτικότερα παρακάτω.

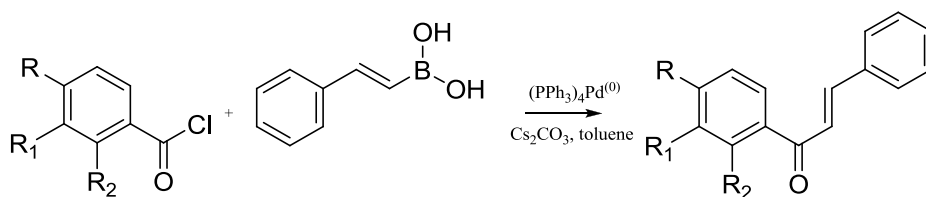
➤ Σύνθεση με τη χρήση μικροκυμάτων: Η απόδοση της αντίδρασης Claisen-Schmidt βελτιώνεται σημαντικά, εάν αυτή πραγματοποιηθεί υπό την επίδραση μικροκυμάτων, ενώ περιορίζεται ο σχηματισμός παραπροϊόντων όπως οι φλαβανόνες. Γενικά, η αύξηση της θερμοκρασίας, με ταυτόχρονη μείωση του χρόνου θέρμανσης, βελτιώνουν την απόδοση της αντίδρασης (Σχήμα 42).

Επιπλέον, η χρήση των μικροκυμάτων παρουσιάζει σημαντικά πλεονεκτήματα σε σχέση με τις συμβατικές τεχνικές θέρμανσης, καθιστώντας ευκολότερη την επεξεργασία των προϊόντων, ενώ οι αντιδράσεις μπορούν να διεξάγονται απουσία διαλυτών. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό, αφού οι διαλύτες είναι συχνά πολύ τοξικοί, δύσχρηστοι και έχουν υψηλό κόστος. Έτσι, η χρήση της ενέργειας των μικροκυμάτων για τη σύνθεση οργανικών ενώσεων αποτελεί τμήμα της πράσινης χημείας [69].



**Σχήμα 42:** Συμπύκνωση της 2'-υδροξυ-ακετοφαινόνης με αρωματικές αλδεύδες υπό την επίδραση μικροκυμάτων.

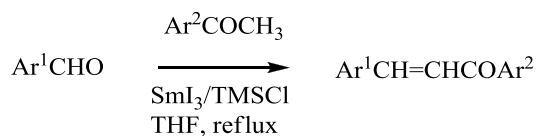
➤ Η σύζευξη Suzuki αποτελεί μία ακόμα μέθοδο σύνθεσης των χαλκονών, που πραγματοποιείται ανάμεσα σε παράγωγα του βενζοϊκού οξέος και φαινυλο-βινυλο-βορονικά οξέα, χρησιμοποιώντας ως καταλύτη σύμπλοκα του παλλαδίου (Σχήμα 43). Πρόκειται για μια μέθοδο διασταυρούμενης σύζευξης που επιτρέπει τη σύνθεση συζευγμένων ολεφινών, στυρενίων και διφαινυλίων. Η συγκεκριμένη αντίδραση οδηγεί στην παραγωγή προϊόντων με υψηλές αποδόσεις που κυμαίνονται από 68-93%, σύμφωνα με έρευνα των Eddarir et al. (2003) [70]. Οι υψηλές αποδόσεις που παρατηρήθηκαν δεν επηρεάζονται από τη φύση των υποκαταστατών του βενζυλοχλωριδίου.



**Σχήμα 43:** Σύνθεση χαλκονών με τη σύζευξη Suzuki ανάμεσα σε ενεργοποιημένα βενζοϊκά παράγωγα και φαινυλο-βινυλο-βορονικά οξέα



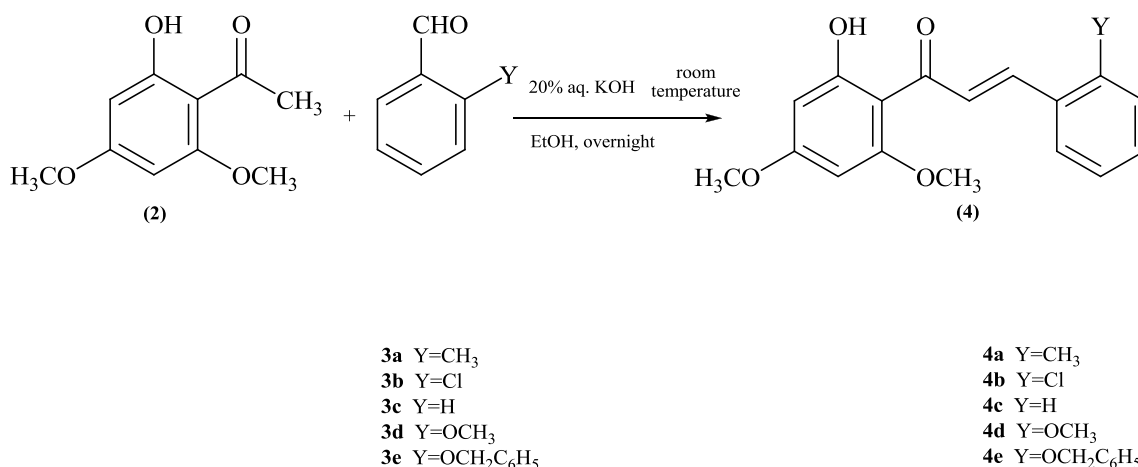
➤ Η τύπου Mukaiyama αλδολική συμπύκνωση μεταξύ μη κυκλικών κετονών και βενζαλδεΐδων, παρουσία ιωδιούχου σαμαρίου και τριμεθυλο-σιλυλοχλωριδίου:



**Σχήμα 44:** Η τύπου Mukaiyama αλδολική συμπύκνωση.

Η συγκεκριμένη μέθοδος χρησιμοποιείται κυρίως για τη σύνθεση προϊόντων μικτής αλδολικής συμπύκνωσης. Η παραπάνω αντίδραση οδηγεί στην απομόνωση μόνο των *trans* ισομερών. Οι αποδόσεις των παραγόμενων ενώσεων είναι ικανοποιητικές και κυμαίνονται σε ποσοστά 75-82%, σύμφωνα με τους Fan και Zhang [71]. Παρατηρήθηκε επίσης ότι τα προϊόντα με τις μεγαλύτερες αποδόσεις λαμβάνονται στην περίπτωση που χρησιμοποιούνται ως υποκαταστάτες ομάδες-δέκτες ηλεκτρονίων. Αντίθετα, οι μικρότερες αποδόσεις σημειώνονται με τη χρήση ομάδων που είναι δότες ηλεκτρονίων [71].

Όπως προαναφέρθηκε, στην παρούσα εργασία η σύνθεση των χαλκονών πραγματοποιήθηκε με την αντίδραση Claisen-Schmidt, χρησιμοποιώντας ως βάση το KOH, σύμφωνα με τη γενική αντίδραση:

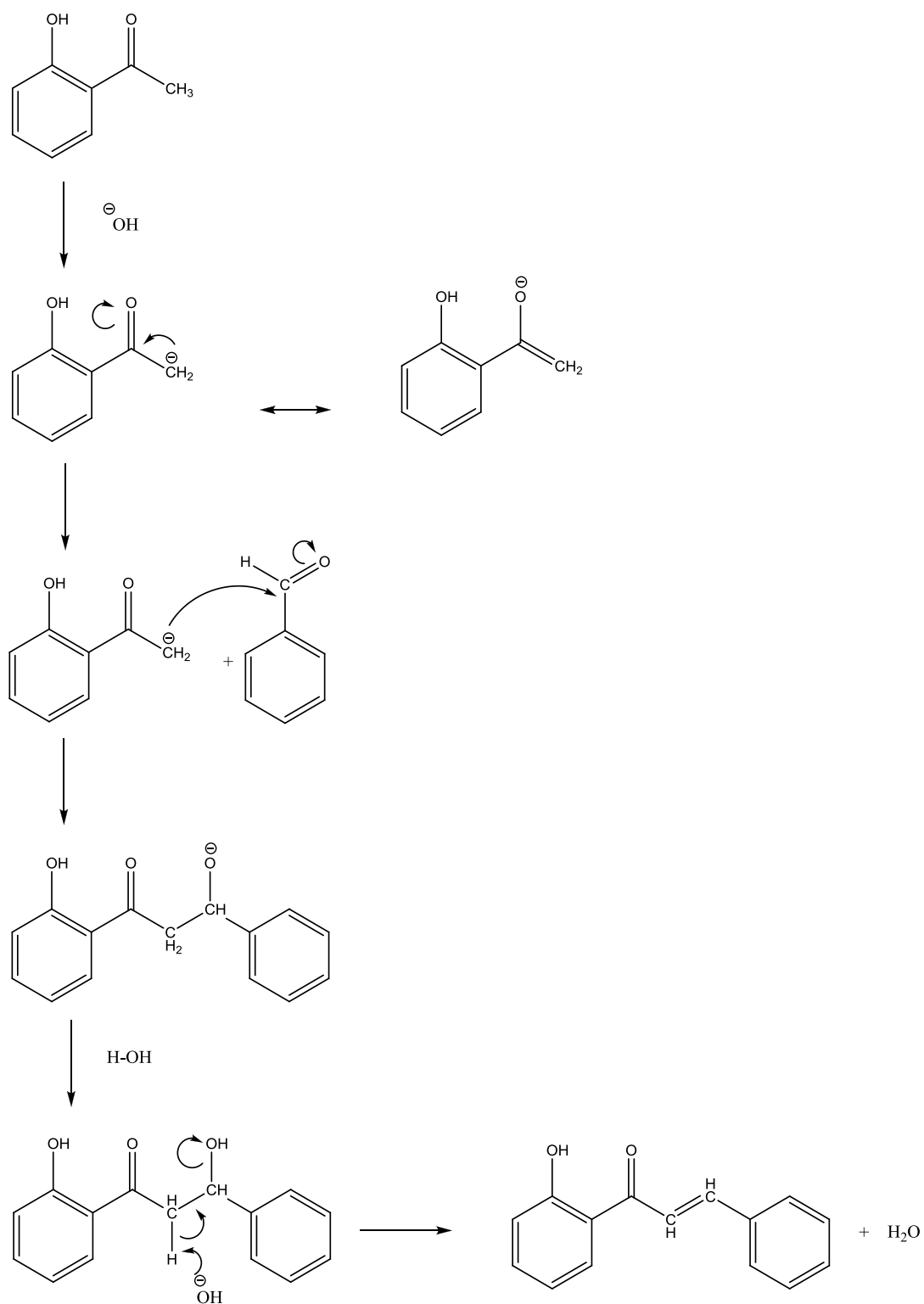


**Σχήμα 45:** Γενική αντίδραση σύνθεσης χαλκονών

Συγκεκριμένα, γίνεται σύνθεση των χαλκονών μέσω της αντίδρασης συμπύκνωσης Claisen-Schmidt μεταξύ της 2-υδροξυ-4,6-διμεθοξυ-ακετοφαινόνης και μιας υποκατεστημένης

βενζαλδεΐδης σε ορθο-θέση. Η αντίδραση λαμβάνει χώρα σε βασικό περιβάλλον (υδατικό διάλυμα KOH 20% w/v), χρησιμοποιώντας ως διαλύτη αιθανόλη. Τα αντιδρώντα, 2-υδροξυ-4,6-διμεθοξυ-ακετοφαινόνη, 2-υποκατεστημένη βενζαλδεΐδη και 20% w/v διάλυμα KOH προστίθενται σε γραμμομοριακή αναλογία 1:1:3. Η αντίδραση λαμβάνει χώρα σε θερμοκρασία δωματίου υπό ανάδευση για 24h. Μετά το πέρας της αντίδρασης, το αντιδρόν μίγμα ψύχεται σε δοχείο με πάγο και κατόπιν οξινίζεται προσθέτοντας σε αυτό διάλυμα HCl 10% v/v, οπότε καταβυθίζεται κίτρινο ίζημα. Ακολουθεί διήθηση υπό κενό του ιζήματος και ξήρανση αυτού. Τέλος, γίνεται ανακρυστάλλωση του προϊόντος, η οποία πραγματοποιείται με εν θερμώ διάλυση αυτού σε μεθανόλη. Πλήρης καταβύθιση των κρυστάλλων του προϊόντος επιτυγχάνεται μετά από την παραμονή του διαλύματος στο ψυγείο για μια μέρα. Το καθαρό ανακρυσταλλωμένο προϊόν λαμβάνεται ύστερα από διήθηση υπό κενό του μίγματος. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία  $^1\text{H NMR}$ .

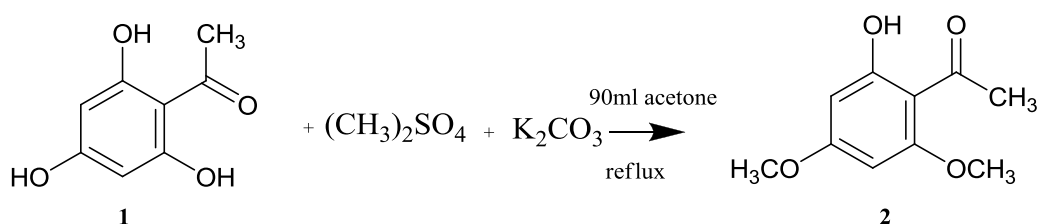
Ο μηχανισμός ο οποίος ακολουθείται κατά την παραπάνω αντίδραση συμπύκνωσης Claisen-Schmidt (Σχήμα 46), περιλαμβάνει την απόσπαση του όξινου υδρογόνου από το  $-\text{CH}_3$  της 2-υδροξυ-ακετοφαινόνης από το ισχυρά βασικό ανιόν  $\text{HO}^-$  οπότε σχηματίζεται το αντίστοιχο ενολικό ιόν. Ακολουθεί μια αντίδραση πυρηνόφιλης προσθήκης κατά την οποία το ενολικό ιόν προσβάλλει τον ηλεκτρονιόφιλο άνθρακα του καρβονυλίου της βενζαλδεΐδης και σχηματίζεται το αντίστοιχο ενδιάμεσο αλδολικό προϊόν. Τέλος, στο βασικό περιβάλλον της αντίδρασης, πραγματοποιείται απόσπαση ενός μορίου  $\text{H}_2\text{O}$ , οπότε σχηματίζεται το τελικό προϊόν της αλδολικής συμπύκνωσης, που είναι η χαλκόνη.



**Σχήμα 46:** Μηχανισμός αντίδρασης συμπύκνωσης Claisen-Schmidt

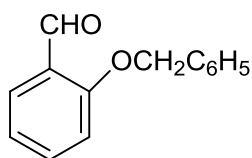
Η αρχική 2-υδροξυ-4,6-διμεθοξυ-ακετοφαινόνη δεν είναι εμπορικά διαθέσιμη και παρασκευάζεται μέσω της μεθυλίωσης της εμπορικά διαθέσιμης 2,4,6-τριϋδροξυ-ακετοφαινόνης, χρησιμοποιώντας ως μέσο αλκυλίωσης το θειικό διμεθύλιο παρουσία  $\text{K}_2\text{CO}_3$

σε ακετόνη (Σχήμα 47). Τα αντιδρώντα 2,4,6-τριϋδροξυ-ακετοφαινόνη, το θειϊκό διμεθύλιο και το  $K_2CO_3$  προστίθενται σε γραμμομοριακή αναλογία 1:2:2,2. Στο σημείο αυτό σημειώνεται ότι το θειϊκό διμεθύλιο προστίθεται στάγδην, λόγω του εξώθερμου χαρακτήρα της αντίδρασης. Η αντίδραση λαμβάνει χώρα σε θερμοκρασία  $85^\circ C$  υπό ανάδευση για 24 h. Η πορεία της αντίδρασης μελετάται με TLC σε τακτά χρονικά διαστήματα. Μετά το πέρας της αντίδρασης ακολουθεί διήθηση και απομάκρυνση του αδιάλυτου  $K_2CO_3$ , γίνονται εκπλύσεις με ακετόνη και εξάτμιση του διαλύτη υπό κενό. Μετά την εξάτμιση προστίθεται διαιθυλαιθέρας έτσι ώστε να κατακαθίσει το στερεό προϊόν. Τέλος, το στερεό προϊόν παραλαμβάνεται με διήθηση.



**Σχήμα 47:** Σύνθεση της 2'-υδροξυ-4',6'-διμεθοξυ-ακετοφαινόνης

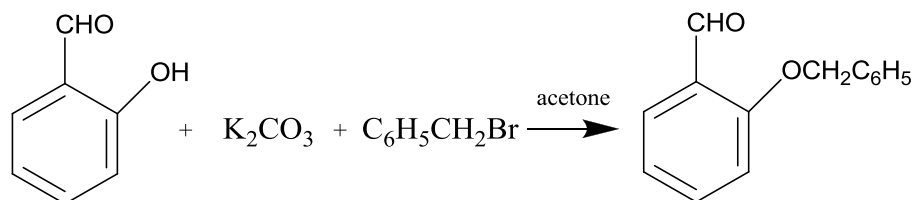
Από τις αλδεύδες που χρησιμοποιήθηκαν, όλες ήταν εμπορικά διαθέσιμες με εξαίρεση τη 2-(βενζυλοξυ)-βενζαλδεΰδη, η οποία παρασκευάστηκε με αλκυλίωση της 2-υδροξυ-βενζαλδεΰδης (σαλικυλική αλδεΰδη), χρησιμοποιώντας το βενζυλοβρωμίδιο ως αλκυλιωτικό μέσο (Σχήμα 48).



**Σχήμα 48:** Χημικός τύπος της 2-(βενζυλοξυ)-βενζαλδεΰδης

Για την παραγωγή της 2-(βενζυλοξυ)-βενζαλδεΰδης αντιδρούν η σαλικυλική αλδεΰδη, το άνυδρο  $K_2CO_3$  και το βενζυλοβρωμίδιο σε γραμμομοριακή αναλογία 1:4,4:1,1, παρουσία διαλυτών μεθανόλης και χλωροφορμίου (Σχήμα 49). Η αντίδραση επιτυγχάνεται με θέρμανση-reflux σε ελαιόλουτρο στους  $50^\circ C$  υπό ανάδευση και σε άνυδρες συνθήκες για 4 ώρες. Η πορεία της αντίδρασης μελετάται με TLC σε τακτά χρονικά διαστήματα. Μετά το πέρας της αντίδρασης, ακολουθούν διήθηση και απομάκρυνση του αδιάλυτου  $K_2CO_3$ , εκπλύσεις με μεθανόλη και εξάτμιση του διαλύτη υπό κενό. Το προϊόν αφήνεται στο ψυγείο για μια μέρα. Η απομόνωση του προϊόντος γίνεται με προσθήκη υδροχλωρίου στο μίγμα της αντίδρασης και εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο, στο οποίο το προϊόν είναι διαλυτό. Η οργανική φάση ξηραίνεται

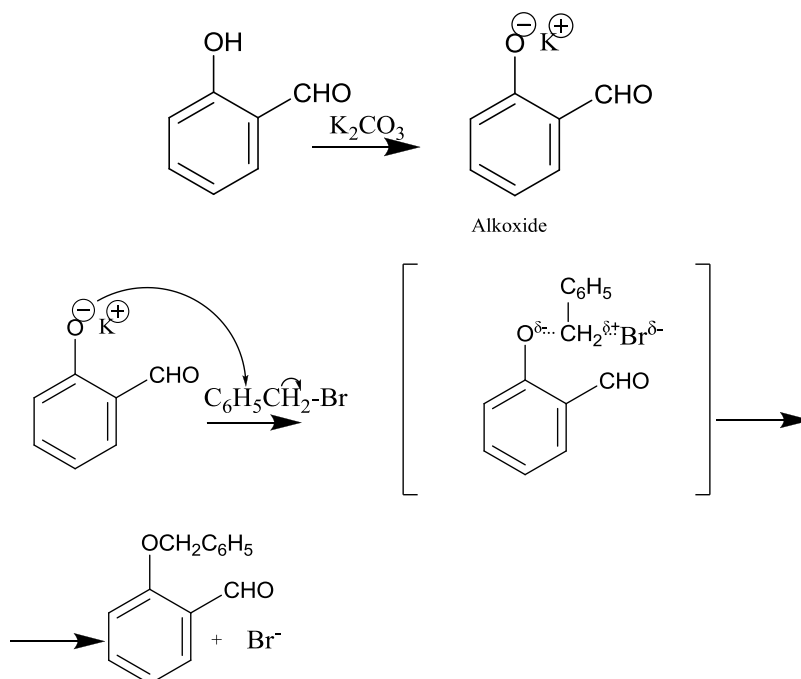
σε άνυδρο θειικό νάτριο για την απομάκρυνση της υγρασίας. Τέλος, το προϊόν παραλαμβάνεται με εξάτμιση υπό κενό του ξηρανθέντος διαλύματος. Η καθαρότητα του τελικού, άχρωμου υγρού προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία  $^1\text{H}$ NMR.



**Σχήμα 49:** Σύνθεση της 2-(βενζυλοξυ)-βενζαλδεΐδης

Οι αντιδράσεις σύνθεσης της 2-υδροξυ-4,6-διμεθοξυ-ακετοφαινόνης και της 2-(βενζυλοξυ)βενζαλδεΐδης πραγματοποιούνται με μηχανισμό πυρηνόφιλης υποκατάστασης  $\text{S}_{\text{N}}2$ , όπως φαίνεται στο Σχήμα 50 ενδεικτικά για τη σύνθεση της 2-(βενζυλοξυ)-βενζαλδεΐδης.

Χαρακτηριστικό του μηχανισμού  $\text{S}_{\text{N}}2$  είναι ότι η αντίδραση πραγματοποιείται σε ένα μόνο στάδιο, χωρίς ενδιάμεσα, όπου το εισερχόμενο πυρηνόφιλο προσβάλλει το υπόστρωμα από μια κατεύθυνση ακριβώς αντίθετη από εκείνη της αποχωρούσας ομάδας. Καθώς το πυρηνόφιλο πλησιάζει από τη μια πλευρά του μορίου και συνδέεται με τον άνθρακα, το ανιόν του αλογόνου αποχωρεί από την άλλη πλευρά [39]. Η πορεία αυτή αναπαρίσταται παρακάτω για τη σύνθεση της 2-(βενζυλοξυ)-βενζαλδεΐδης:



**Σχήμα 50:** Μηχανισμός πυρηνόφιλης υποκατάστασης  $\text{S}_{\text{N}}2$  για τη σύνθεση της 2-(βενζυλοξυ)-βενζαλδεΐδης.

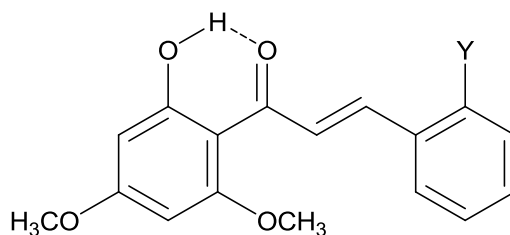
Το πυρηνόφιλο αλκοξειδίο χρησιμοποιεί το μονήρες ζεύγος ηλεκτρονίων του για να προσβάλει τον άνθρακα του βενζυλοβρωμιδίου, από μια κατεύθυνση  $180^\circ$  σε σχέση με το απομακρυνόμενο βρώμιο. Αυτό οδηγεί σε μία μεταβατική κατάσταση με έναν εν μέρει σχηματισμένο δεσμό άνθρακα-αλκοξειδίου κι έναν εν μέρει διασπασμένο δεσμό άνθρακα-βρωμίου. Τελικά, σχηματίζεται ο νέος δεσμός μεταξύ του βενζυλικού άνθρακα και του οξυγόνου του αλκοξειδίου, ενώ το ανιόν του βρωμίου αποχωρεί μαζί με το ηλεκτρονικό ζεύγος του πρώην δεσμού άνθρακα-βρωμίου.

#### 4.1.2 Φασματοσκοπία $^1\text{H}$ NMR

Η δομή των ενώσεων που παρασκευάστηκαν ταυτοποιήθηκε με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού  $^1\text{H}$  NMR. Τα φάσματα ελήφθησαν σε φασματογράφο 300MHz ή 600MHz, σε διαλύτη δευτεριωμένο χλωροφόρμιο.

Τα φάσματα  $^1\text{H}$  NMR των χαλκονών παρουσιάζουν ορισμένα βασικά χαρακτηριστικά, τα οποία είναι ενδεικτικά για την ταυτοποίηση των ενώσεων αυτών. Συγκεκριμένα, η παρουσία του ενολικού υδροξυλίου, των βινυλικών υδρογόνων στις θέσεις AB του μορίου και των αρωματικών υδρογόνων του δακτυλίου A αποτελούν χαρακτηριστικά στοιχεία των φασμάτων  $^1\text{H}$  NMR χαλκονών και συναντώνται σε συγκεκριμένες θέσεις του πεδίου.

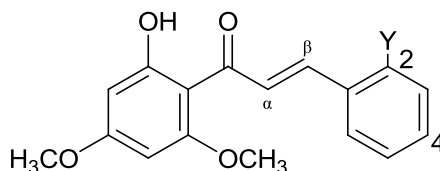
Το ενολικό υδροξύλιο εμφανίζεται σε πολύ χαμηλό πεδίο, γεγονός που οφείλεται στην ύπαρξη του δεσμού υδρογόνου μεταξύ του υδρογόνου του υδροξυλίου και του οξυγόνου του καρβονυλίου (Σχήμα 51). Ο δεσμός υδρογόνου σταθεροποιεί την ενολική μορφή και μειώνει την ηλεκτρονιακή πυκνότητα γύρω από το πρωτόνιο, μετατοπίζοντας έτσι την απορρόφηση του πρωτονίου σε χαμηλότερο πεδίο. Επιπλέον, η παρουσία του ενολικού υδροξυλίου σε χαμηλό πεδίο αποδίδεται και στην ύπαρξη των μέθοξυ-υποκαταστατών στις θέσεις 4' και 6' του δακτυλίου A. Πράγματι, οι υποκαταστάτες αυτοί λειτουργούν ως δότες ηλεκτρονίων στο δεσμό υδρογόνου, με αποτέλεσμα να τον καθιστούν ισχυρότερο και κατά συνέπεια να συμβάλλουν και αυτοί στη μετατόπιση του ενολικού υδροξυλίου σε χαμηλότερο πεδίο. Το χαρακτηριστικό σήμα που αποδίδεται στο ενολικό υδροξύλιο εμφανίζεται στην περιοχή 14-14,5 ppm ως απλή κορυφή, η οποία ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο.



**Σχήμα 51:** Δεσμός υδρογόνου μεταξύ του υδρογόνου του OH και του οξυγόνου του C=O στις χαλκόνες

Τα βινυλικά υδρογόνα ( $H_a$  και  $H_b$ ) εμφανίζονται με τη μορφή δύο διπλών κορυφών, οι οποίες έχουν μεγάλες σταθερές σύζευξης ( $J=15-18$  Hz), ενδεικτικό του σχηματισμού ενός ισομερούς με E-γεωμετρία, το οποίο προκύπτει από την αντίδραση σύνθεσης της χαλκόνης. Ειδικότερα, από τις τιμές των σταθερών σύζευξης προκύπτει ότι πρόκειται και για ένα trans ισομερές, έχει δηλαδή τα βινυλικά υδρογόνα σε αντίθετες πλευρές του διπλού δεσμού.

Στα φάσματα όλων των χαλκονών που μελετήθηκαν και σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία [72] η διπλή κορυφή του  $H_b$  εμφανίζεται πάντα σε χαμηλότερο πεδίο από τη διπλή κορυφή του  $H_a$  (Πίνακας 3). Το φαινόμενο αυτό πιθανώς οφείλεται στην πόλωση του διπλού δεσμού από το καρβονύλιο με αποτέλεσμα την ελάττωση της ηλεκτρονιακής πυκνότητας στη θέση β και αντίστοιχα αύξησή της στη θέση α.



**Σχήμα 52:** Γενική δομή των 4',6'-διμεθοξυ-2'-υδροξυ-χαλκονών

**Πίνακας 3:**

Y	$H_b$		$H_a$	
	2-Y	4-Y	2-Y	4-Y
$CH_3$	8,08	7,87	7,81	7,77
Cl	8,13	7,86	7,87	7,71
$OCH_3$	8,15	7,80	7,96	7,77
$OCH_2PH$	8,19	-	8,01	-
H	7,91		7,79	

Μια επιπλέον ενδιαφέρουσα παρατήρηση αφορά στη διαφοροποίηση των σημάτων των βινυλικών πρωτονίων στα φάσματα  $^1\text{H}$  NMR των χαλκονών που περιέχουν υποκαταστάτη στη θέση 2 του δακτυλίου B σε σχέση με αυτά των αντίστοιχων χαλκονών που περιέχουν τον ίδιο υποκαταστάτη στη θέση 4 του δακτυλίου B. Όπως φαίνεται στον Πίνακα 3, στην περίπτωση που ο υποκαταστάτης βρίσκεται στη θέση 2 του δακτυλίου B (ορθο-θέση) τα βινυλικά πρωτόνια εμφανίζονται σε χαμηλότερο πεδίο ( $\Delta\delta=0,21-0,35$  ppm για το  $\text{H}_\beta$  και  $\Delta\delta= 0,04-0,19$  για το  $\text{H}_\alpha$ ). Στις Εικόνες 11-12 και 13-14 παρουσιάζεται η περιοχή του φάσματος  $^1\text{H}$  NMR για δύο ζεύγη ισομερών χαλκονών, όπου φαίνεται η διαφοροποίηση στις χημικές μετατοπίσεις των βινυλικών πρωτονίων.

Το φαινόμενο αυτό εμφανίζεται στις περιπτώσεις ορθο-υποκατεστημένων βενζολικών παραγώγων και ονομάζεται 'ορθο-φαινόμενο'.

Τα ορθο-υποκατεστημένα βενζόλια είναι πιο πολύπλοκα συστήματα από τα αντίστοιχα μετα- και παρα-υποκατεστημένα. Η εγγύτητα των υποκαταστατών μπορεί να προκαλέσει μεταβολές στις γωνίες, τα μήκη δεσμών και στην επίπεδη δομή του δακτυλίου. Η έκταση της επίδρασης του 'ορθο-φαινομένου' εξαρτάται από τις ιδιότητες του υποκαταστάτη. Το 'ορθο-φαινόμενο' επηρεάζει με τους εξής τρόπους:

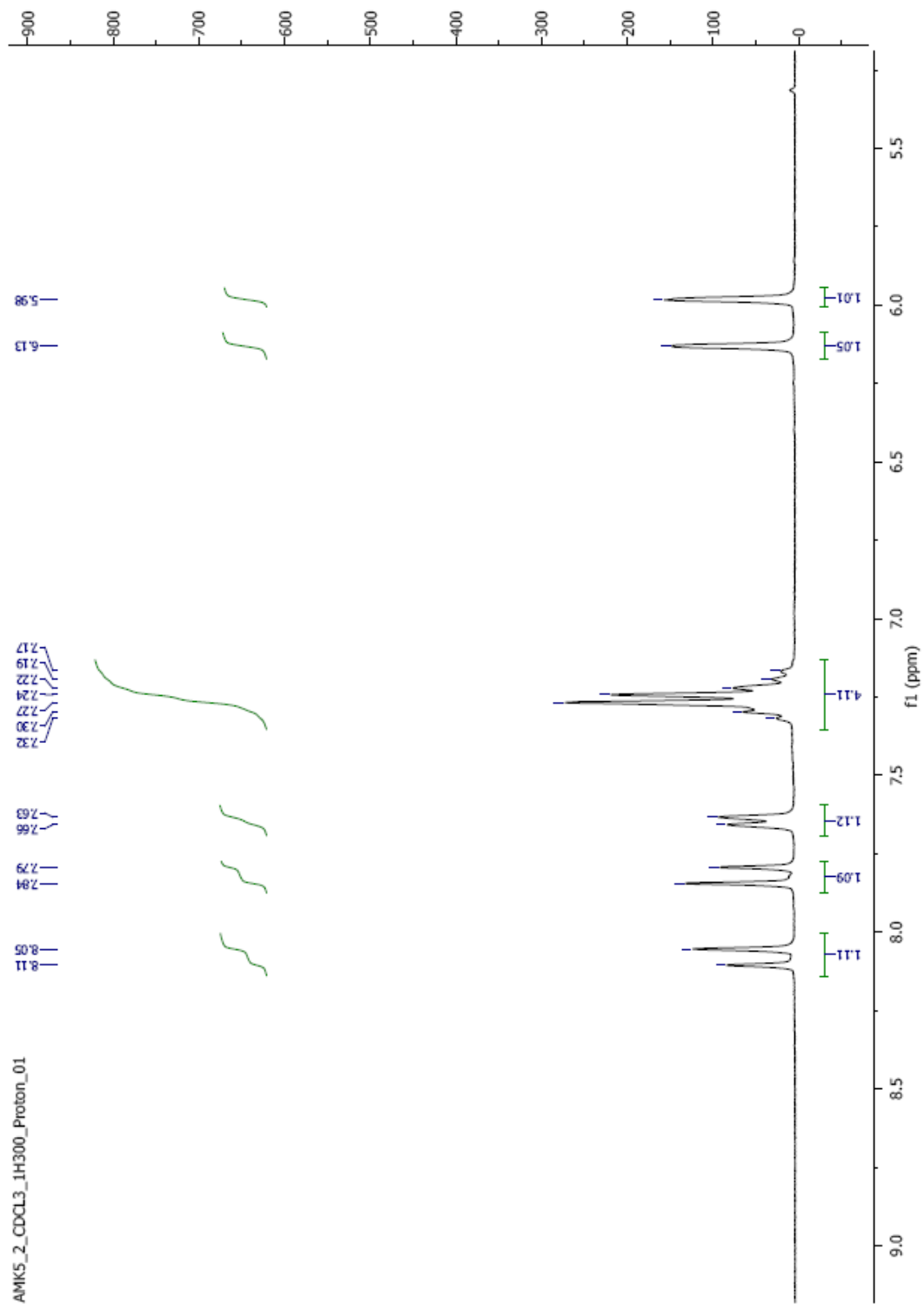
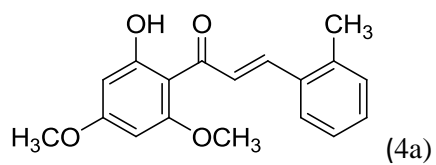
A) ηλεκτρονικά φαινόμενα, τα οποία εμφανίζονται επιπρόσθετα των συνήθων ηλεκτρονικών φαινομένων του υποκαταστάτη και διακρίνονται σε εντοπισμένα και σε φαινόμενα συντονισμού.

B) Στερεοχημικά φαινόμενα, τα οποία είναι συνάρτηση του όγκου και του μεγέθους του υποκαταστάτη

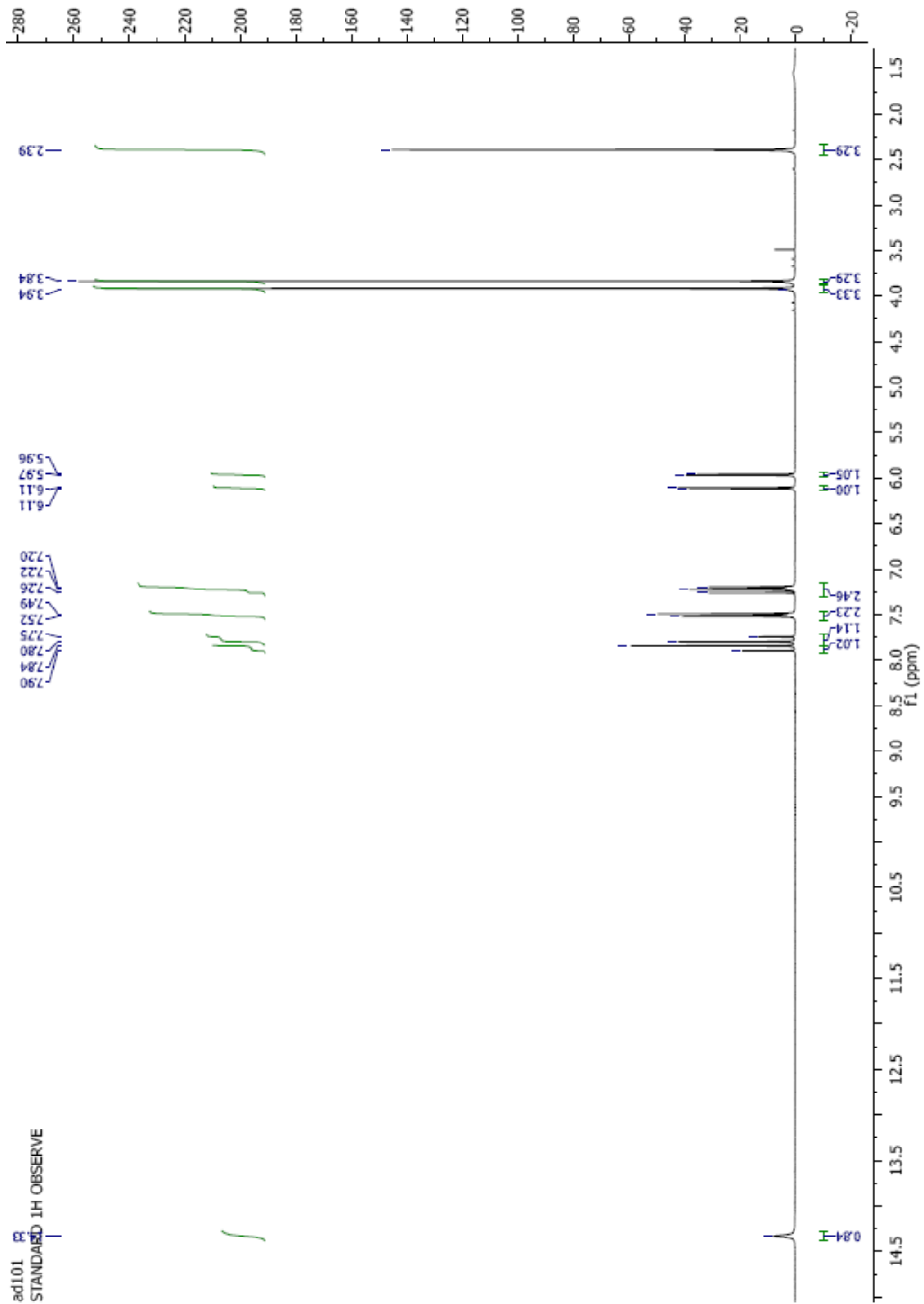
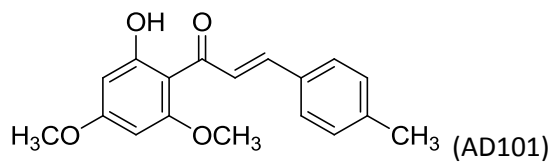
Γ) Ενδομοριακοί δεσμοί, οι οποίοι περιλαμβάνουν τους δεσμούς υδρογόνου, τις αλληλεπιδράσεις διπόλου-διπόλου και μεταφοράς φορτίου [73].

Τα αρωματικά υδρογόνα του δακτυλίου A εμφανίζονται σε ασυνήθιστα υψηλό πεδίο. Πράγματι, ενώ τα αρωματικά πρωτόνια συναντώνται σύμφωνα με τη βιβλιογραφία [39] στα 7,02-7,45 ppm, αυτά του δακτυλίου A των χαλκονών βρίσκονται σε τιμές χαμηλότερες των 6,5 ppm. Η μετατόπιση αυτή αποδίδεται στην ύπαρξη των μεθοξυ-υποκαταστατών στις θέσεις 4' και 6' του δακτυλίου A που, ως δότες ηλεκτρονίων, τον καθιστούν ηλεκτρονιακά πλούσιο.

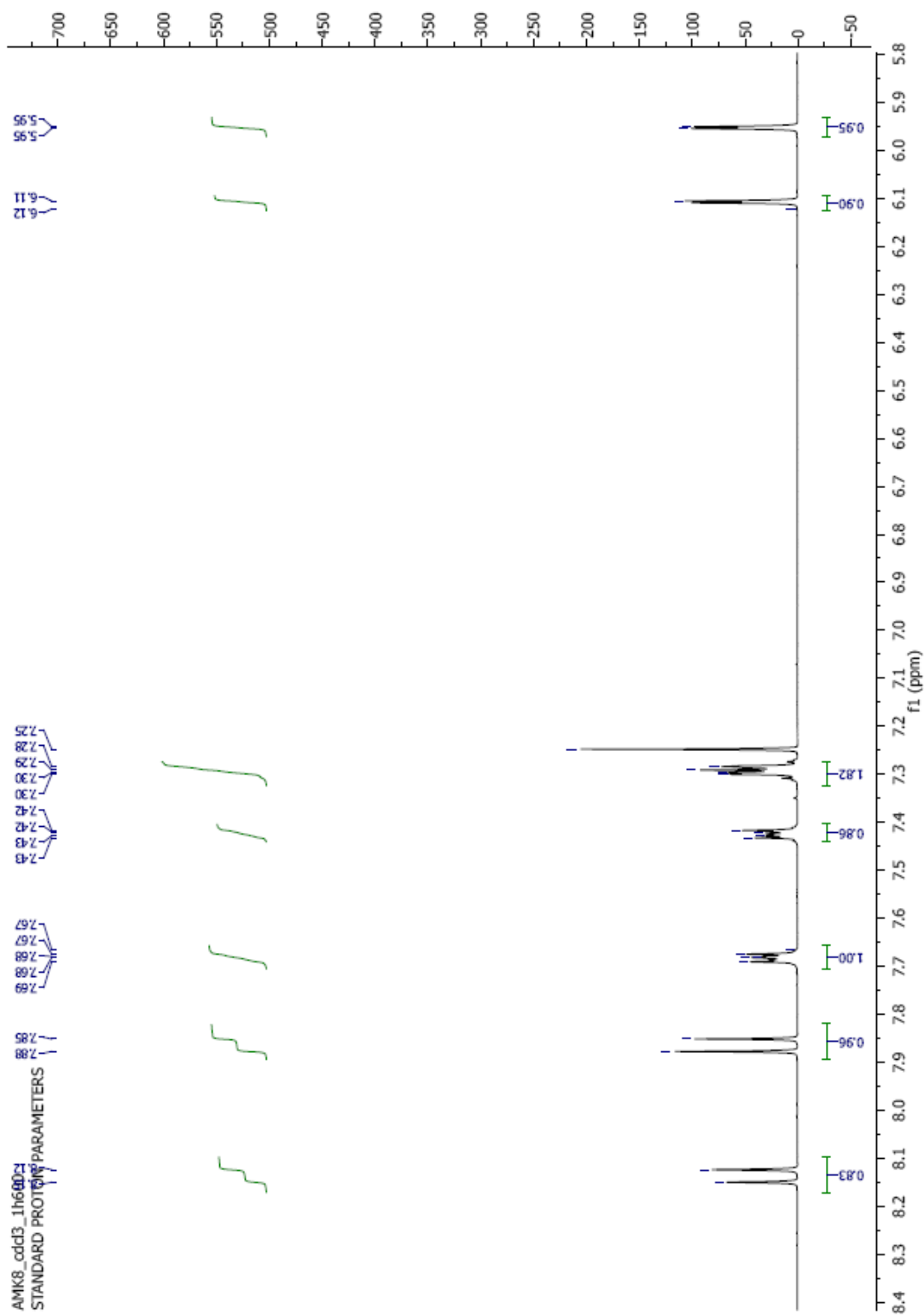
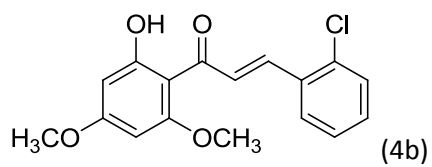




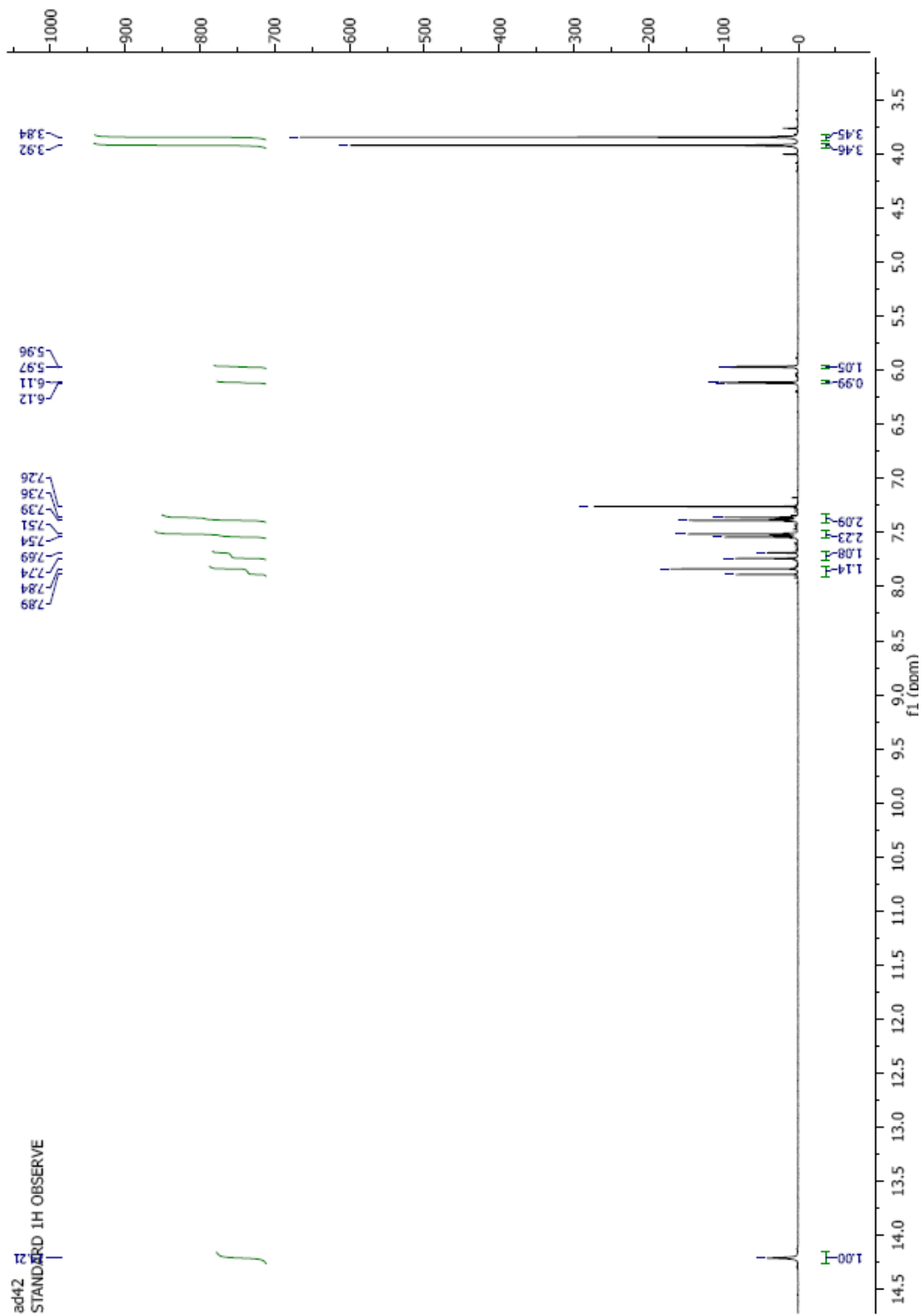
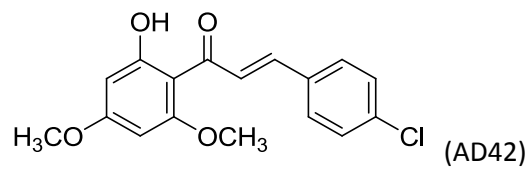
Εικόνα 11: Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) της χαλκόνης **4a**



Εικόνα 12: Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) της χαλκόνης AD101



Εικόνα 13: Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz) της χαλκόνης **4b**



Εικόνα 14: Φάσμα <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) της χαλκόνης AD42

### 4.1.3 Φασματοσκοπία μάζας

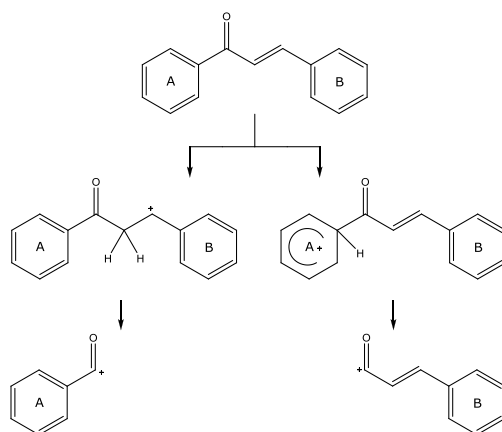
Η δομή των χαλκονών **4a-4c** και των ωρονών **5b-5d** και της ανηγμένης ωρόνης **6d** ταυτοποιήθηκε περαιτέρω με φασματοσκοπία μάζας (ESI-MS). Για τον ιονισμό των μορίων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος του ηλεκτροψεκασμού (Electrospray Ionization) η οποία είναι μια σχετικά ήπια μέθοδος ιονισμού και δεν προκαλεί μεγάλο ποσοστό θραυσματοποίησης.

Τα μοριακά ιόντα των χαλκονών και ωρονών που εξετάστηκαν είναι παρόντα στα αντίστοιχα MS φάσματα, γεγονός που δείχνει ότι τα μόρια έχουν παρασκευαστεί επιτυχώς. Συγκεκριμένα, στα φάσματα των χαλκονών **4a** και **4b** το μοριακό ιόν εμφανίζεται σε ποσοστό <10% (Εικόνες 15, 16). Αυτό σημαίνει ότι είναι παρόν μέσα στο δείγμα που εξετάστηκε, αλλά κάτω από τις συγκεκριμένες συνθήκες μέτρησης (συγκέντρωση, πηγή ιονισμού), δεν είναι αρκετά σταθερό. Στο φάσμα της χαλκόνης **4c** (Εικόνα 17), το μοριακό ιόν εμφανίζεται με μεγαλύτερη ένταση (~30%), γεγονός που μας δείχνει ότι το συγκεκριμένο μόριο είναι πιο σταθερό από τα υπόλοιπα στις συγκεκριμένες συνθήκες.

Στο φάσμα της ωρόνης **5b** (Εικόνα 18) το μοριακό ιόν εμφανίζεται σε ποσοστό 62%, ενώ στο φάσμα της ωρόνης **5c** το μοριακό ιόν εμφανίζεται σε ποσοστό 100%, δηλαδή είναι πολύ σταθερό στις συγκεκριμένες συνθήκες μέτρησης. Ακόμα, το μοριακό ιόν στο φάσμα της ωρόνης **5d** εμφανίζεται σε ποσοστό 50%.

Επιπλέον, το μοριακό ιόν του προϊόντος αναγωγής της ωρόνης **5d** που εξετάστηκε είναι παρόν στο αντίστοιχο φάσμα μάζας, άρα έχει παρασκευαστεί επιτυχώς. Ειδικότερα, εμφανίζεται σε ποσοστό 100%, δηλαδή είναι πολύ σταθερό στις συγκεκριμένες συνθήκες μέτρησης.

Από τα φάσματα MS<sup>2</sup> των δειγμάτων, όπου η θραυσματοποίηση προκαλείται μέσω της τεχνικής που ονομάζεται Collision Induced Dissociation, λαμβάνονται πληροφορίες σχετικά με τη διαδρομή που ακολουθεί η θραυσματοποίηση σε κάθε μόριο. Για τις 2'-υδρόξυ-χαλκόνες, η συνηθέστερη διαδρομή θραυσματοποίησης είναι η εξής [91]:



**Σχήμα 53:** Η διαδικασία της θραυσματοποίησης κατά τη λήψη των φασμάτων MS<sup>2</sup>

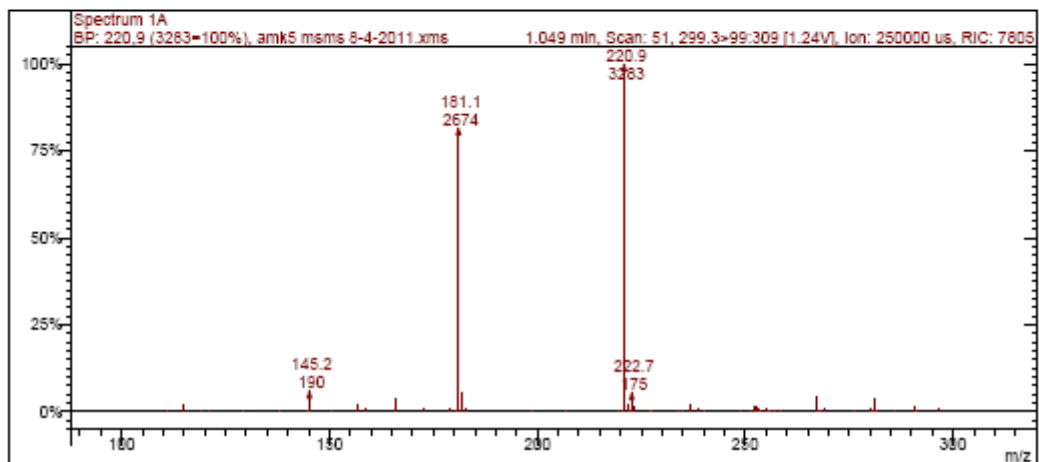
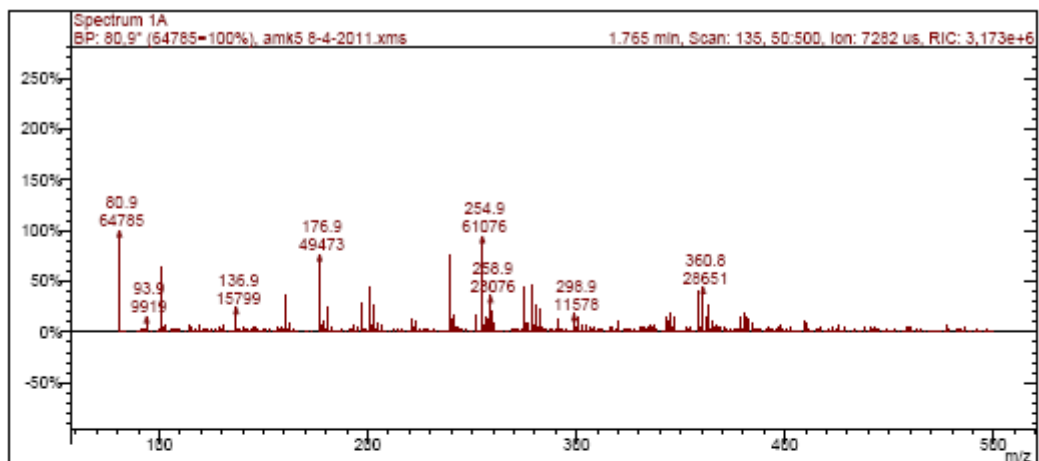
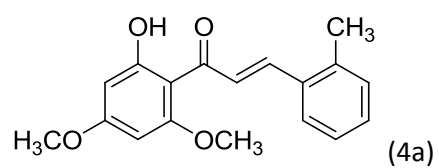
Έχει βρεθεί ότι κάτω από τις συνθήκες του ηλεκτροψεκασμού, οι δεσμοί δεξιά και αριστερά του καρβονυλίου είναι οι πιο επιρρεπείς να διασπαστούν, οδηγώντας είτε στη δημιουργία ενός βενζολικού κατιόντος (θραύσμα A), είτε στη δημιουργία ενός κινναμούλο-κατιόντος (θραύσμα B).

Από τα φάσματα των χαλκονών **4a**, **4b** και **4c**, παρατηρείται ότι και οι τρεις εμφανίζουν σαν κύριο θραύσμα το θραύσμα A, όπως ήταν αναμενόμενο, ενώ στο φάσμα της χαλκόνης **4a**, παρουσιάζεται επίσης και το θραύσμα B, σε αρκετά χαμηλή όμως ένταση (~10%). Άλλα θραύσματα που παρατηρήθηκαν από τα φάσματα MS<sup>2</sup> των χαλκονών είναι η απώλεια ενός υδροξυλίου, ενός πρωτονίου (υδρογόνου) και στην περίπτωση της χαλκόνης **4a**, η απώλεια όλων των υποκαταστατών (2OCH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>). Το τελευταίο, επίσης εμφανίζεται ως κύριο θραύσμα (έντασης 100%).

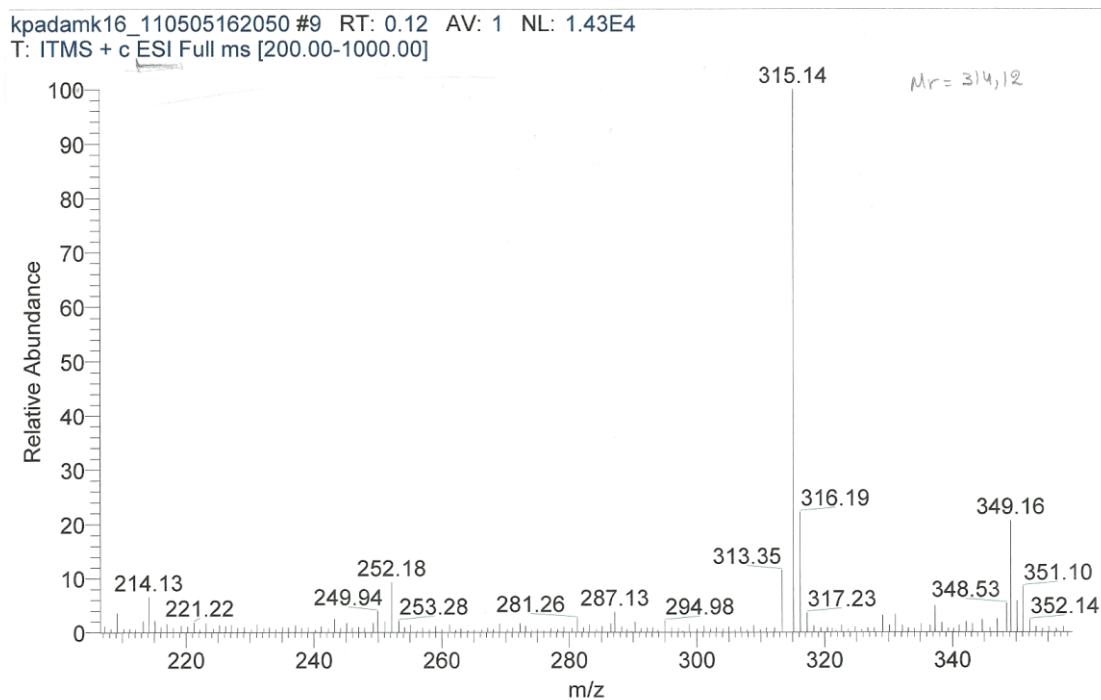
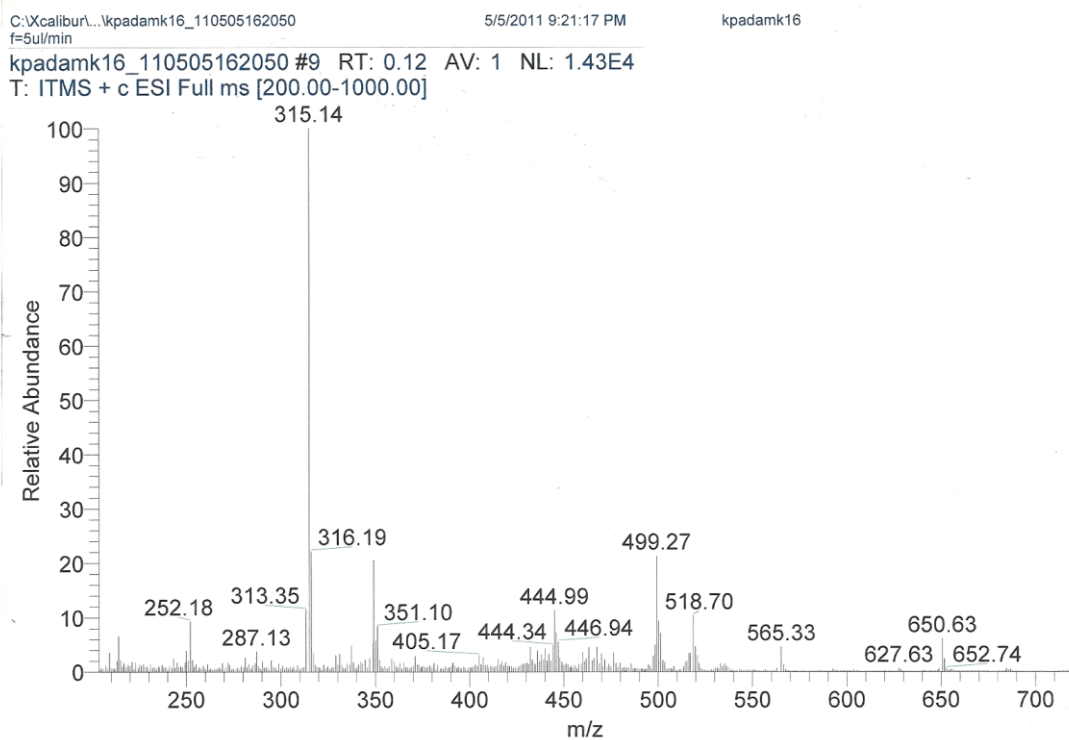
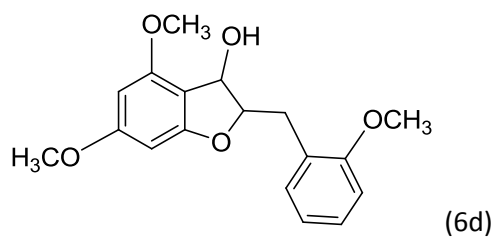
Τα αποτελέσματα αυτά συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

**Πίνακας 4**

	<b>4c</b>	<b>4a</b>	<b>4b</b>
<b>Θραύσμα A</b>	181 (100)	181 (100)	181 (100)
<b>Θραύσμα B</b>		145 (10)	
<b>[M+H-OH]<sup>+</sup></b>	267 (10)		301 (15)
<b>[M+H-H]<sup>+</sup></b>	284 (36)		
<b>[M+H-2OCH<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup></b>		221 (100)	



**Εικόνα 15:** ESI-MS φάσμα της χαλκόνης **4a** (πάνω) και MS-MS φάσμα της χαλκόνης **4a** (θραυσματοποίηση της κορυφής του μοριακού ιόντος) (κάτω)



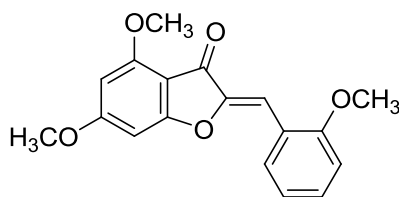
**Εικόνα 16:** ESI-MS φάσμα της ένωσης **6d** (πάνω) και MS-MS φάσμα της ένωσης **6d** (θραυσματοποίηση της κορυφής του μοριακού ιόντος) (κάτω)



## Κεφάλαιο 5

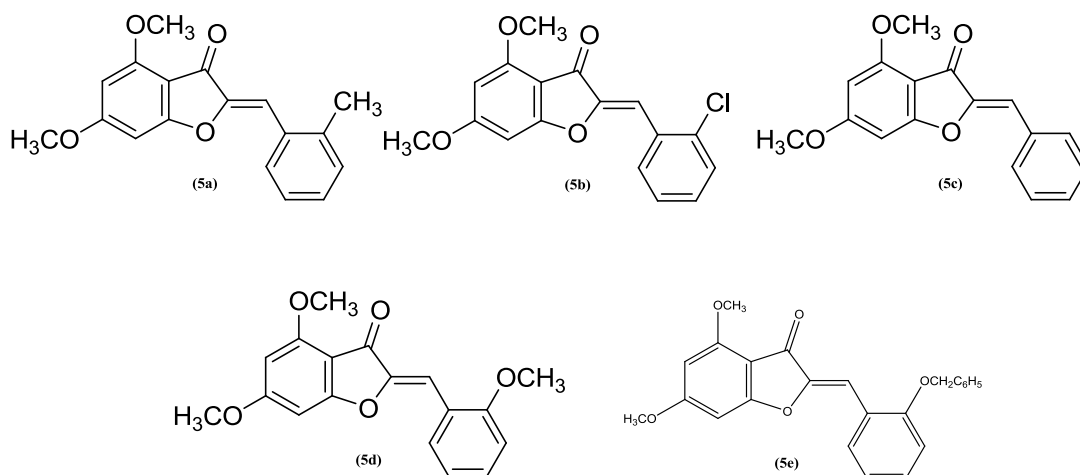
### 5.1 Σχεδιασμός και σύνθεση ωρονών με αντιπαρασιτική δράση

Σε προηγούμενη έρευνα που πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας ΕΜΠ σε συνεργασία με το Ινστιτούτο Μοριακής-Κυτταρικής Βιολογίας και το Τμήμα Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου του Πόρτο της Πορτογαλίας, εξετάστηκαν 9 ωρόνες με διαφορετικούς υποκαταστάτες στους αρωματικούς δακτυλίους για την αντιπαρασιτική τους δράση. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ωρόνη της δομής που φαίνεται στο Σχήμα 54 παρουσιάζει αξιόλογη αντιπαρασιτική δράση, ενώ δεν είναι κυτταροτοξική [45].



**Σχήμα 54:** Χημικός τύπος της ωρόνης 4,6-διμεθοξυ-2'-μεθοξυ-ωρόνη, με αξιόλογη αντιπαρασιτική δράση.

Προκειμένου να γίνει περαιτέρω μελέτη της σχέσης δομής-δράσης, στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε η σύνθεση αναλόγων ωρονών στις οποίες διατηρήθηκαν οι δύο μεθοξυ-ομάδες στο δακτύλιο Α και η θέση του υποκαταστάτη στο δακτύλιο Β. Οι ωρόνες που παρασκευάστηκαν φαίνονται συνοπτικά στο Σχήμα 55.



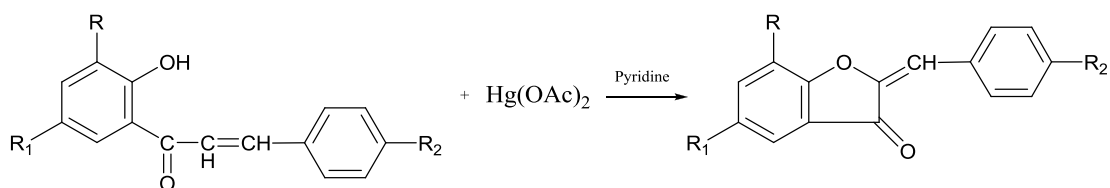
**Σχήμα 55:** 4, 6-διμεθοξυ-ωρόνες, που συντέθηκαν στην παρούσα εργασία.

### 5.1.1 Σύνθεση ωρονών

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, μια από τις παλαιότερες τεχνικές σύνθεσης των ωρονών, όπως προτάθηκε από το Sekizaki (1988) είναι η οξειδωτική κυκλοποίηση των 2'-υδροξυχαλκονών, χρησιμοποιώντας οξικό υδράργυρο ως οξειδωτικό, παρουσία διαλύτη οξικού οξέος [74]. Τα αντιδρώντα, η χαλκόνη και οξικός υδράργυρος προστίθενται σε γραμμομοριακή αναλογία 1:2 και η αντίδραση αναπτύσσεται με θέρμανση στους 90-95°C για 8 h. Η παραγωγή της ωρόνης συνοδεύεται και από το σχηματισμό μιας ποσότητας φλαβονόνης. Από την παραπάνω αντίδραση, η απόδοση των ωρονών που συντίθενται κυμαίνεται από 28-62%, ενώ αυτή των φλαβονονών από 5-21%.

Μια εναλλακτική μέθοδος σύνθεσης των ωρονών που προτάθηκε από τους Subbaraju et al. [75] περιλαμβάνει την οξειδωτική κυκλοποίηση των χαλκονών με οξικό υδράργυρο, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη πυριδίνη. Η μέθοδος αυτή οδηγεί στην παραγωγή προϊόντων σε υψηλότερες αποδόσεις (44–70%) σε σχέση με την προηγούμενη και για το λόγο αυτό, συναντάται συχνά στη βιβλιογραφία [76,77].

Σε πρόσφατη έρευνα από τους Detsi et al., συντέθηκε με τον παραπάνω τρόπο μια σειρά 9 ωρονών με διαφορετικούς υποκαταστάτες στους αρωματικούς δακτυλίους [45]. Ειδικότερα, η σύνθεση των ωρονών πραγματοποιήθηκε μέσω της αντίδρασης της οξειδωτικής κυκλοποίησης της αντίστοιχης χαλκόνης (Σχήμα 56). Τα αντιδρώντα, η χαλκόνη και ο οξικός υδράργυρος προστίθενται σε ισομοριακές ποσότητες, παρουσία διαλύτη πυριδίνης. Η αντίδραση επιτυγχάνεται με θέρμανση στους 110°C. Από την παραπάνω αντίδραση λαμβάνεται το θερμοδυναμικά σταθερότερο Z-γεωμετρικό ισομερές.

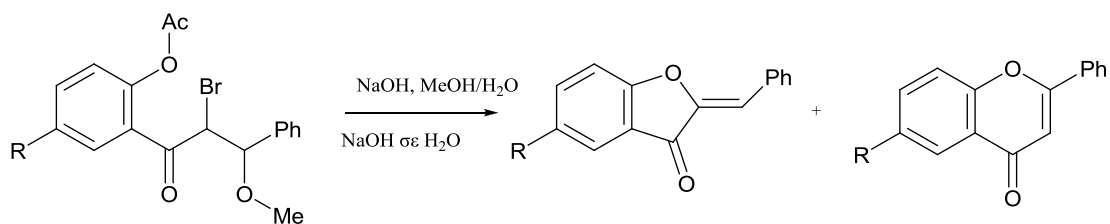


**Σχήμα 56:** Αντίδραση σύνθεσης ωρονών με τη μέθοδο της οξειδωτικής κυκλοποίησης με οξικό υδράργυρο.

Η συγκεκριμένη μέθοδος χρησιμοποιήθηκε για την σύνθεση των ωρονών στην παρούσα εργασία και αναφέρεται αναλυτικότερα παρακάτω.

Μια άλλη τεχνική σύνθεσης των ωρονών, που δημοσιεύθηκε από τους Kurosawa και Higuchi (1972), είναι η οξειδωτική κυκλοποίηση των χαλκονών, χρησιμοποιώντας ως οξειδωτικό μέσο, αντί για τον οξικό υδράργυρο, το οξικό μαγγάνιο παρουσία διαλύτη οξικού οξέος. Τα αντιδρώντα, η χαλκόνη και το οξικό μαγγάνιο προστίθενται σε γραμμομοριακή αναλογία 1:3. Η αντίδραση πραγματοποιείται με θέρμανση στους 100°C για 30 min. Η αντίδραση αυτή παράγει ένα μίγμα cis- και trans- ωρονών καθώς και ένα μίγμα καρβοξυλικών οξέων [78].

Μια εύχρηστη μέθοδος για τη σύνθεση φυσικών ωρονών από διϋδροχαλκόνες είναι η μέθοδος σύνθεσης Wheeler. Σε διάλυμα ή εναιώρημα μιας διϋδροχαλκόνης προστίθεται NaOH σε συγκεντρώσεις 0,2M έως 10M, παρουσία μεθανόλης. Η αντίδραση αυτή παρουσιάζεται παρακάτω:



**Σχήμα 57:** Η μέθοδος σύνθεσης Wheeler

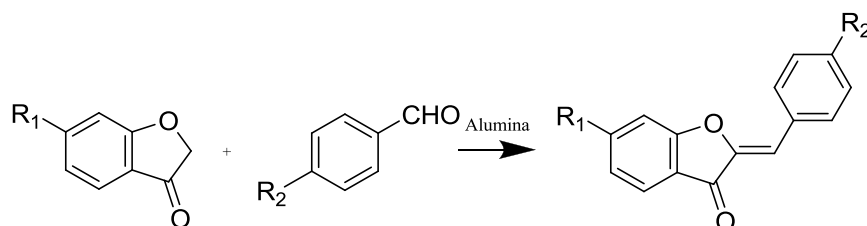
Παρατηρήθηκε όμως από τους Bhide et al. ότι παράλληλα παράγονται και άλλες ενώσεις, κυρίως φλαβόνες και 1,3 δικετόνες. Γενικά, οι ωρόνες είναι το κύριο προϊόν αυτής της αντίδρασης. Όμως, όσο αυξάνεται η συγκέντρωση της βάσης, τόσο αυξάνεται και η απόδοση σύνθεσης των φλαβονών, με αντίστοιχη μείωση της παραγωγής των ωρονών [79].

Επίσης, αναφέρεται ότι, η σύνθεση των ωρονών με τη μέθοδο Wheeler είναι συμπληρωματική προς την αντίδραση Emilewicz-von Kostanecki για τη σύνθεση φλαβονών από διβρωμίδια των χαλκονών. Για τη σύνθεση των ωρονών με τη μέθοδο Wheeler, η βέλτιστη

συγκέντρωση της βάσης είναι 0,5-1%, η οποία είναι πολύ μικρότερη από τη συνήθως χρησιμοποιούμενη (5% περίπου) στην αντίδραση Emilewicz-von Kostanecki [79].

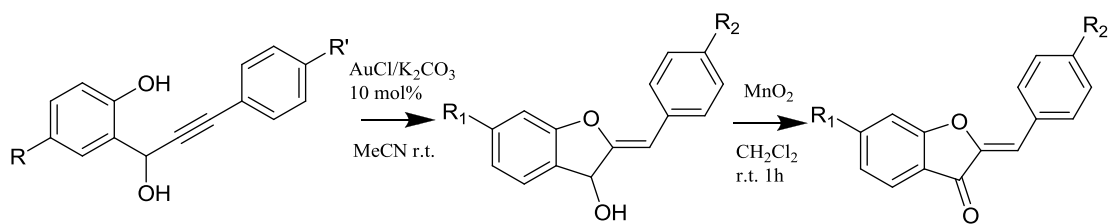
Στο σημείο αυτό αξίζει να σημειωθεί ότι μια παραλλαγή της μεθόδου είναι η αντίδραση των 2'-υδροξυχαλκονών με  $\text{CuBr}_2$  χρησιμοποιώντας ως διαλύτη DMSO. Η πυριδίνη και το DMSO παρουσιάζουν πολύ καλές οξειδωτικές ιδιότητες. Σύμφωνα με την υπάρχουσα βιβλιογραφία οι αποδόσεις των δύο μεθόδων κυμαίνονται από 70-80% καθιστώντας τις έτσι αξιόλογες τεχνικές.

Μια ακόμα δημοφιλής μέθοδος σύνθεσης ωρονών αναπτύχθηκε από το Varma και βασίζεται στην αντίδραση μιας βενζοφουρανόνης με μια αρυλαλδεΐδη παρουσία οξικού αργιλίου (Σχήμα 58). Τα αντιδρώντα, η βενζοφουρανόνη και η αρυλαλδεΐδη προστίθενται σε γραμμομοριακή αναλογία 1:1,5 και η αντίδραση λαμβάνει χώρα σε θερμοκρασία δωματίου για 4h. Από το συγκεκριμένο τύπο αντίδρασης λαμβάνεται το Z-γεωμετρικό ισομερές σε υψηλές αποδόσεις (86-93%) [80].



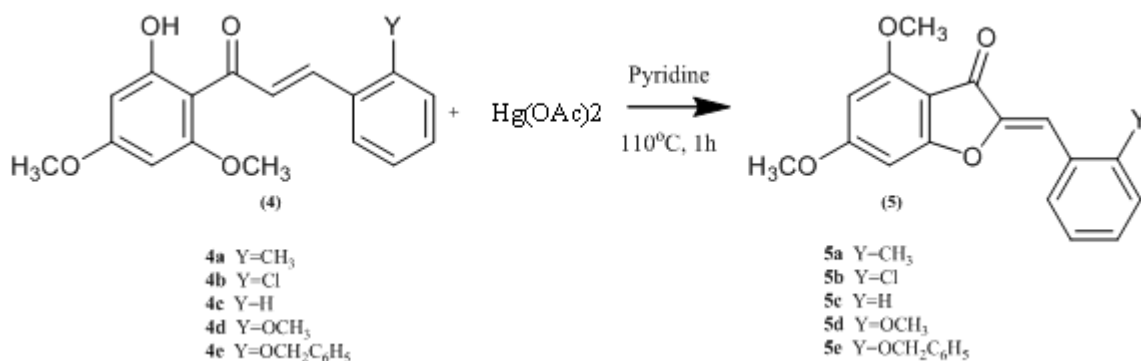
**Σχήμα 58:** Αντίδραση βενζοφουρανόνης και αρυλαλδεΐδης, παρουσία οξικού αργιλίου προς σχηματισμό ωρονών.

Μια επιπλέον αντίδραση σύνθεσης ωρονών περιλαμβάνει μια ακολουθία τριών σταδίων (Σχήμα 59). Αρχικά, πραγματοποιείται κυκλοποίηση μιας υποκατεστημένης 1-(2-υδροξυφαινυλ)-3-φαινυλπροπινόλης με καταλύτη χρυσό. Ακολούθως, το προϊόν υφίσταται οξείδωση. Η τελευταία ένωση μπορεί να παρασκευαστεί εύκολα με αλκυνυλίωση των παραγώγων σαλικυλαλδεΐδης. Μια μεγάλη ποικιλία προϊόντων μπορεί να προκύψει από αυτήν την αντίδραση. Οι αποδόσεις είναι συνήθως άνω του 70% και οι θερμοκρασίες των αντιδράσεων χαμηλές.



**Σχήμα 59:** Μέθοδος σύνθεσης ωρονών από υποκατεστημένες 1-(2-υδροξυφαινυλ)-3-φαινυλπροπινόλης με καταλύτη χρυσό.

Όπως αναφέρθηκε και ανωτέρω, στην παρούσα εργασία η σύνθεση των ωρονών πραγματοποιήθηκε μέσω της αντίδρασης της οξειδωτικής κυκλοποίησης των αντίστοιχων χαλκονών, παρουσία διαλύτη πυριδίνης, σύμφωνα με τη γενική αντίδραση:

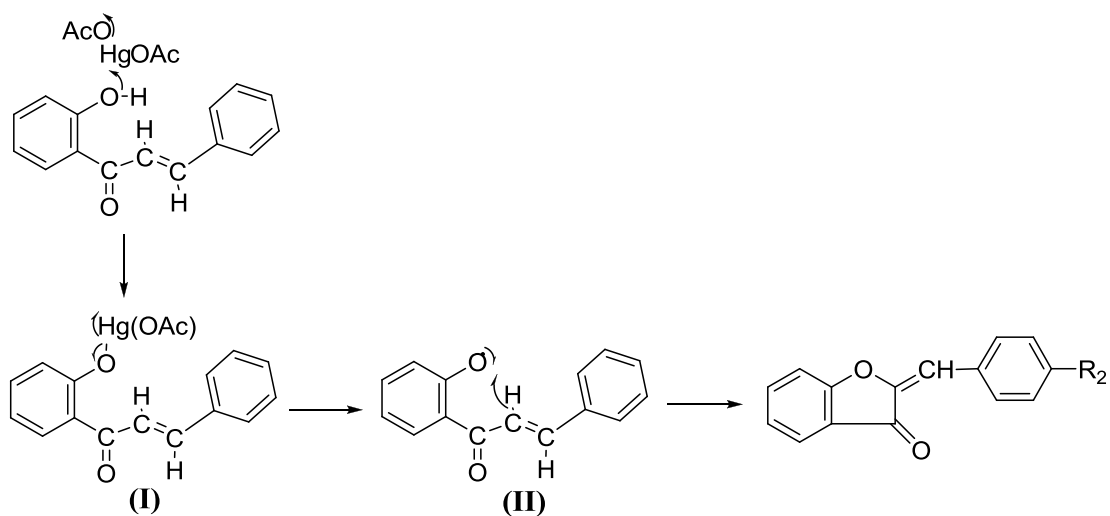


**Σχήμα 60:** Γενική αντίδραση σύνθεσης ωρονών.

Τα αντιδρώντα, η χαλκόνη και ο οξικός υδράργυρος, προστίθενται σε γραμμομοριακή αναλογία 1:1,25 παρουσία διαλύτη πυριδίνης. Η αντίδραση επιτυγχάνεται με θέρμανση-reflux σε ελαιόλουτρο στους 110° C υπό ανάδευση και σε άνυδρες συνθήκες για μια ώρα. Η πορεία της αντίδρασης μελετάται με TLC σε τακτά χρονικά διαστήματα. Μετά το πέρας της αντίδρασης, το αντιδρόν μίγμα ψύχεται σε δοχείο με πάγο και κατόπιν οξινίζεται, προσθέτοντας σε αυτό διάλυμα HCl 10% v/v, οπότε καταβυθίζεται το στερεό. Η απομόνωση του προϊόντος επιτυγχάνεται με εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο, στο οποίο το προϊόν είναι διαλυτό. Η οργανική φάση ξηραίνεται σε άνυδρο θειικό νάτριο για την απομάκρυνση της υγρασίας και το προϊόν παραλαμβάνεται με εξάτμιση υπό κενό του ξηρανθέντος διαλύματος. Τα τελικά προϊόντα πρέπει να έχουν την επιθυμητή καθαρότητα προκειμένου να υποβληθούν στις δοκιμασίες ελέγχου της αντιπαρασιτικής δράσης.

Από την παραπάνω αντίδραση κάποια προϊόντα παραλαμβάνονται επαρκώς καθαρά, οπότε δεν υφίστανται περαιτέρω καθαρισμό. Κάποιες ωρόνες που δε διαθέτουν την επιθυμητή καθαρότητα ανακρυσταλλώνονται. Η ανακρυστάλλωση πραγματοποιείται με εν θερμώ διάλυση της ωρόνης σε πεντάνιο/μεθανόλη. Πλήρης καταβύθιση των κρυστάλλων του προϊόντος επιτυγχάνεται μετά από την παραμονή του διαλύματος στο ψυγείο για μια ημέρα. Το καθαρό ανακρυσταλλωμένο προϊόν λαμβάνεται ύστερα από διήθηση υπό κενό του μίγματος. Τέλος, για μια από τις ωρόνες, την **5e**, κρίνεται ότι απαιτείται ο καθαρισμός της με χρωματογραφία στήλης προκειμένου να απομακρυνθούν τυχόν ακαθαρσίες. Η προκαταρκτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) διευκολύνει πολύ στην εκλογή του συστήματος διαλυτών που θα χρησιμοποιηθεί. Στη συγκεκριμένη περίπτωση το σύστημα διαλυτών ήταν πετρελαϊκός αιθέρας/ακετόνη σε αναλογία 8:2. Η καθαρότητα των προϊόντων ελέγχεται με φασματοσκοπία  $^1\text{H NMR}$ .

Ο μηχανισμός της αντίδρασης οξειδωτικής κυκλοποίησης των ωρονών φαίνεται στο παρακάτω σχήμα:



**Σχήμα 61:** Μηχανισμός της οξειδωτικής κυκλοποίησης των χαλκονών προς σχηματισμό ωρονών.

Το πρώτο στάδιο στην αντίδραση είναι ο σχηματισμός του οργανοϋδραργυρικού ενδιάμεσου (I). Η ομολυτική διάσπαση του δεσμού O-Hg οδηγεί στο σχηματισμό της ρίζας Ar-O $\cdot$  (II) και οξικού υδραργύρου. Η ρίζα προσβάλλει το δεσμό C-H της  $\alpha$ -θέσης του διπλού δεσμού προς το σχηματισμό του πενταμελούς δακτυλίου της ωρόνης.

### 5.1.2 Φασματοσκοπία $^1\text{H}$ NMR

Για τη μελέτη της δομής των παραγόμενων ωρονών χρησιμοποιήθηκε η Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού Πρωτονίου ( $^1\text{H}$  NMR).

Τα δεδομένα που προκύπτουν από τα φάσματα  $^1\text{H}$  NMR των ωρονών που συντέθηκαν δείχνουν ότι η αντίδραση της οξειδωτικής κυκλοποίησης αποδίδει αποκλειστικά το Z γεωμετρικό ισομερές.

Βασικό χαρακτηριστικό για την ταυτοποίηση των ενώσεων αυτών είναι η παρουσία του βινυλικού πρωτονίου στα φάσματα  $^1\text{H}$ NMR. Το χαρακτηριστικό σήμα που αποδίδεται στο βινυλικό πρωτόνιο εμφανίζεται με τη μορφή μιας απλής κορυφής στην περιοχή κοντά στα 7 ppm.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η επιλογή των υποκαταστατών στους δύο δακτυλίους των ωρονών επηρεάζει τις χημικές μετατοπίσεις του χαρακτηριστικού βινυλικού πρωτονίου. Ειδικότερα, η παρουσία των δύο μεθοξυ- υποκαταστατών στο δακτύλιο A των παραγόμενων ωρονών, οι οποίοι λειτουργούν ως δότες ηλεκτρονίων, προκαλεί τη μετατόπιση του βινυλικού πρωτονίου σε υψηλότερο πεδίο. Επιπλέον, η φύση και η θέση των υποκαταστατών-δοτών ηλεκτρονίων του δακτυλίου B επιδρούν περαιτέρω στις χημικές μετατοπίσεις του βινυλικού πρωτονίου.

Μια επιπλέον ενδιαφέρουσα παρατήρηση αφορά στη διαφοροποίηση των σημάτων του βινυλικού πρωτονίου στα φάσματα  $^1\text{H}$  NMR των ωρονών που περιέχουν υποκαταστάτη στη θέση 2' του δακτυλίου B σε σχέση με αυτά των αντίστοιχων ωρονών που περιέχουν τον ίδιο υποκαταστάτη στη θέση 4' του δακτυλίου B. Όπως φαίνεται στον Πίνακα 4, στην περίπτωση που ο υποκαταστάτης βρίσκεται στη θέση 2' του δακτυλίου B (ορθο-θέση) τα βινυλικά πρωτόνια εμφανίζονται σε χαμηλότερο πεδίο ( $\Delta\delta=0,24-0,65$  ppm). Πρόκειται για το 'όρθο-φαινόμενο το οποίο περιγράφηκε παραπάνω στην περίπτωση των χαλκονών.

Πίνακας 5

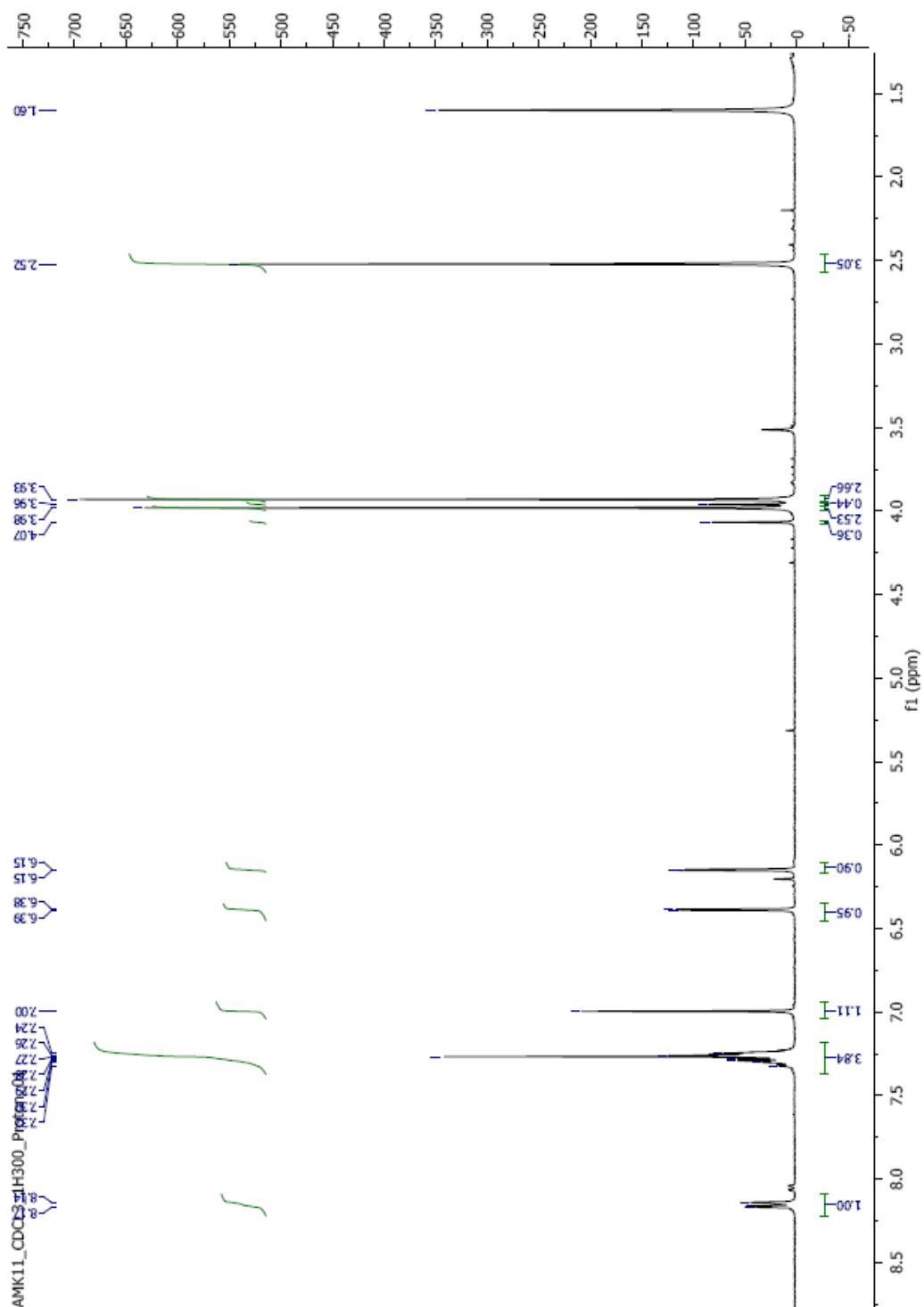
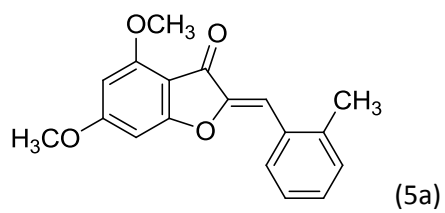
Y	H-10	
	2-Y	4-Y
CH <sub>3</sub>	7	6,76
Cl	7,22	6,57
OCH <sub>3</sub>	7,33	6,72
OCH <sub>2</sub> Ph	7,16	Δεν έχει μελετηθεί
H	6,77	

Το φαινόμενο αυτό που παρατηρείται στις 2' υποκατεστημένες ωρόνες αναφέρθηκε και σε άλλες μελέτες και είναι ίδιο με αυτό των αντίστοιχων χαλκονών.

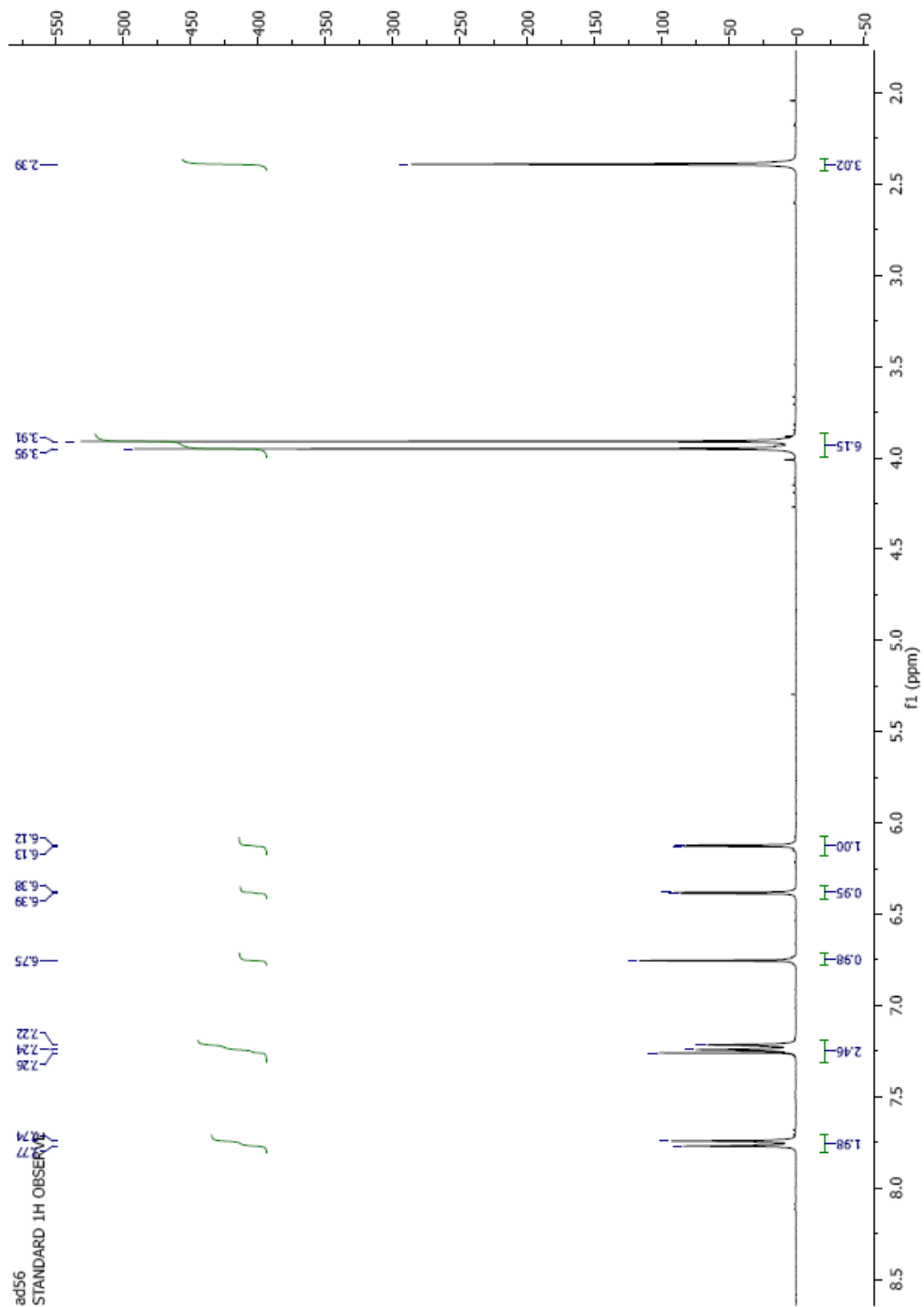
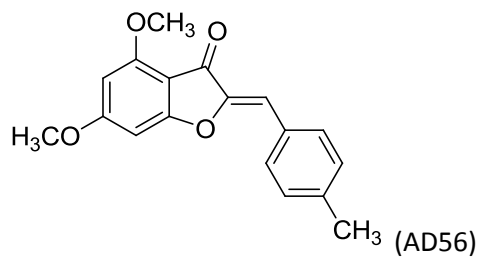
Πολλοί συγγραφείς έχουν παρουσιάσει την Z / E διαμόρφωση των ωρονών με βάση τη χημική μετατόπιση των ολεφινικών (β) πρωτονίων [81, 82]. Το ολεφινικό πρωτόνιο στο E ισομερές αποπροστατεύεται σε μεγαλύτερο βαθμό από ότι το ίδιο πρωτόνιο στο Z ισομερές και ως εκ τούτου έχει μεγαλύτερη χημική μετατόπιση. Στη βιβλιογραφία, αναφέρεται μια χημική μετατόπιση της τάξης των δ 6.70 ppm για το Z ισομερές και δ 7.01 ppm για το E ισομερές [81, 82]. Τα Z / E ισομερή επίσης διακρίνονται από την <sup>13</sup>C χημική μετατόπιση του εξωκυκλικού άνθρακα (=CH) [83]. Στο Z ισομερές, η χημική μετατόπιση, αναφέρθηκε στα δ 111ppm ενώ στο E ισομερές, παρατηρήθηκε σε υψηλότερη συχνότητα της τάξης των δ 120-130 ppm.

Την παρατήρηση αυτή διέψευσαν οι Sim et al. [34] οι οποίοι πραγματοποίησαν μια σειρά φασματοσκοπικών και κρυσταλλογραφικών αναλύσεων στις 4,6-διμεθοξυωρόνες που συνέθεσαν. Τα αποτελέσματα οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι το σύνολο των ενώσεων ήταν Z-γεωμετρικά ισομερή.

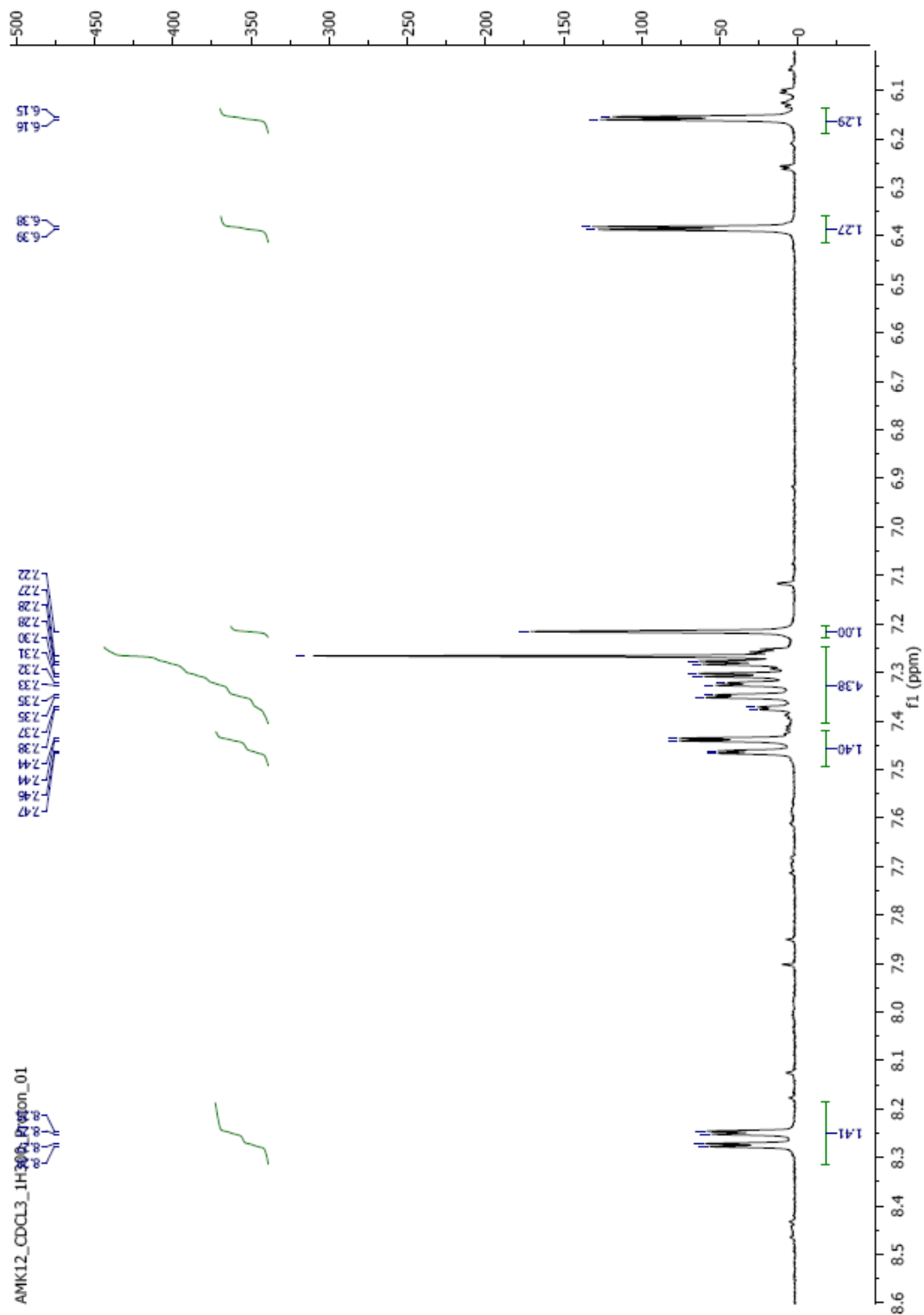
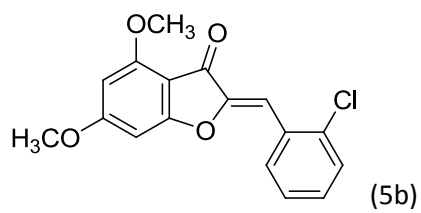




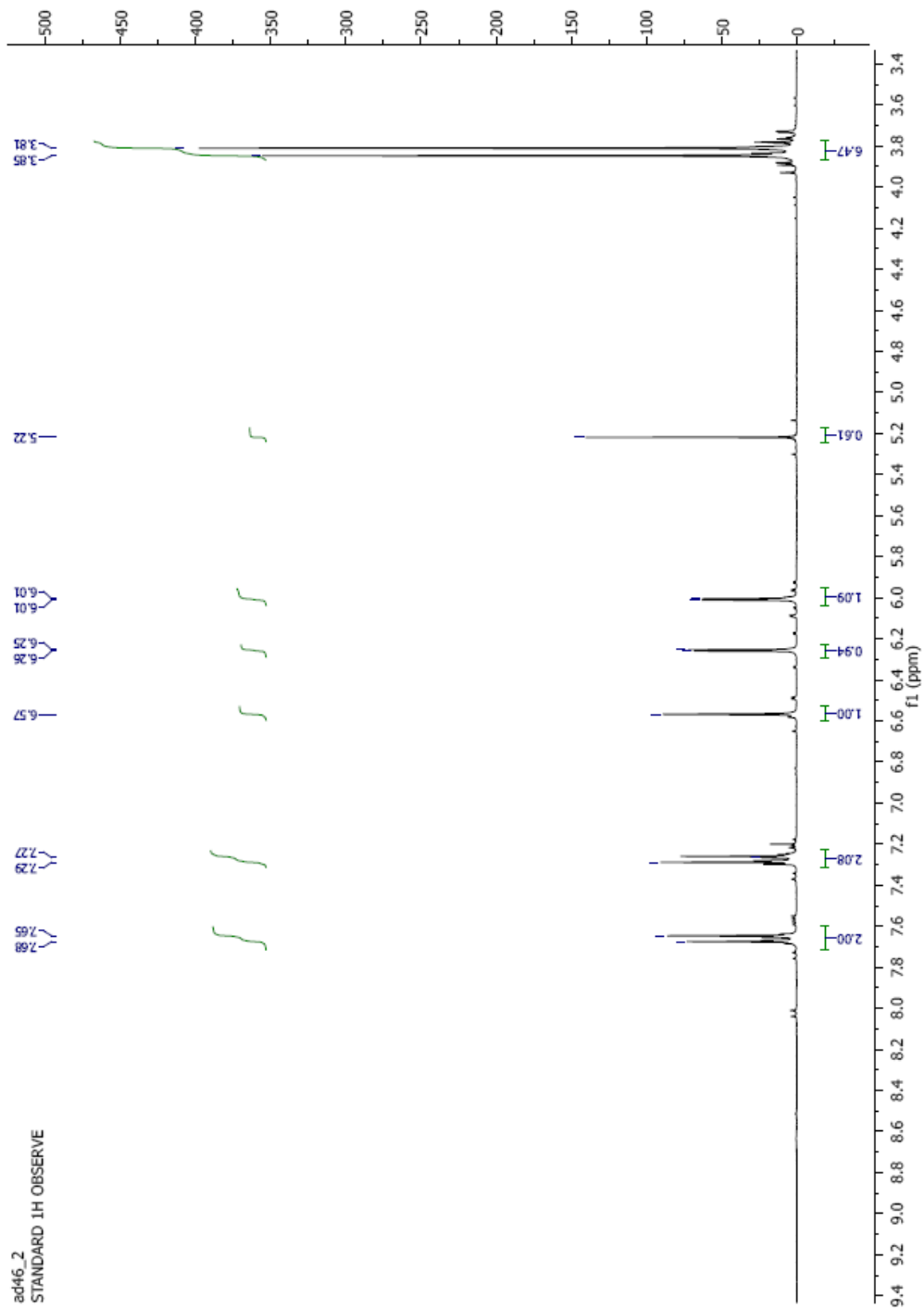
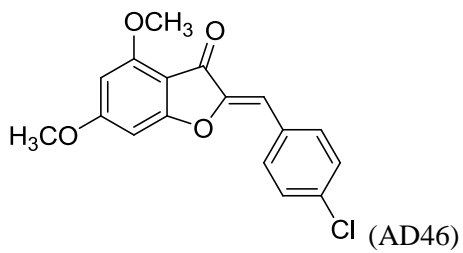
Εικόνα 17: Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) της ωρόνης **5a**



**Εικόνα 18:** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) της ωρόνης **AD56**



Εικόνα 19: Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) της ωρόνης **5b**



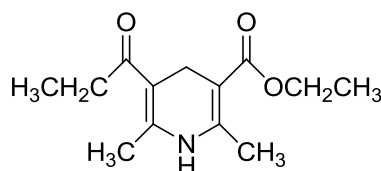
**Εικόνα 20:** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) της ωρόνης **AD46**

### 5.1.3 Προσπάθεια αναγωγής των ωρονών με αναγωγικό μέσο τον εστέρα του Hantzsch.

Προκειμένου να πραγματοποιηθεί εκτενέστερη διερεύνηση της σχέσης δομής-βιολογικής δράσης των ωρονών που παρασκευάστηκαν, μελετήθηκε η δυνατότητα αναγωγής του εξωκυκλικού διπλού δεσμού των ωρονών **5a-5e**. Η παρουσία α,β-ακόρεστου καρβονυλικού συστήματος (σύστημα που δρα ως δέκτης Michael) σε ορισμένες περιπτώσεις έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη τοξικότητα των μορίων. Για το λόγο αυτό, έγινε προσπάθεια αναγωγής του διπλού δεσμού με στόχο να εξεταστεί η επίδραση της απουσίας του α,β-ακόρεστου καρβονυλικού συστήματος στην αντιπαρασιτική δράση των μορίων και την τοξικότητά τους.

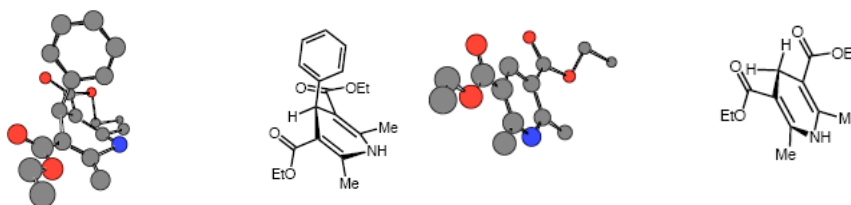
Στη βιβλιογραφία αναφέρεται η αναγωγή ωρονών με χρήση αέριου υδρογόνου, παρουσία καταλύτη Pd/C. Σε μια προσπάθεια να αναπτυχθεί μια μέθοδος αναγωγής με χρήση καταλυτικής υδρογόνωσης μεταφοράς, επιλέχθηκε το σύστημα που χρησιμοποιεί ως αναγωγικό μέσο τον εστέρα του Hantzsch και ως καταλύτη το Pd/C.

Η 1,4-διϋδροπυριδίνη του Hantzsch ανακαλύφθηκε το 1882 από το Γερμανό χημικό Arthur Rudolf Hantzsch (Σχήμα 62). Τα παράγωγα αυτής της ένωσης παρουσιάζουν σημαντικές φαρμακολογικές ιδιότητες, όπως αντιϋπερτασικές, αντιβιοτικές, αντιφλεγμονώδεις και αντιμυκητιασικές [84]. Άλλα παράγωγα της διϋδροπυριδίνης χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα καυσίμων και φωτογραφικά υλικά. Σχετίζεται με το NADH, ένα αρκετά διαδεδομένο βιολογικό αναγωγικό μέσο που συναντάται στη βίωση.



**Σχήμα 62:** Φωτογραφία του Arthur Rudolf Hantzsch και ο χημικός τύπος της 1,4-διϋδροπυριδίνης.

Ο εστέρας του Hantzsch απαντάται σε δύο διαμορφώσεις. Οι 4-μη υποκατεστημένοι εστέρες του Hantzsch συναντώνται σε μια επίπεδη διαμόρφωση, ενώ οι αρυλικοί και οι πυριδυλικοί υποκαταστάτες στην 4-θέση εμφανίζουν μία συρρικνωμένη (δίκην "επίπεδης βάρκας") διαμόρφωση (Σχήμα 63).



**Σχήμα 63:** Η επίπεδη (αριστερά) και η συρρικνωμένη (δεξιά) διαμόρφωση του εστέρα του Hantzsch.

Κατά την αναγωγή των ωρονών με αναγωγικό μέσο τον εστέρα του Hantzsch χρησιμοποιείται ως καταλύτης το παλλάδιο σε άνθρακα (Pd/C). Είναι γνωστό ότι το παλλάδιο σε άνθρακα (Pd/C) είναι ένας οικονομικός, ετερογενής καταλύτης, ο οποίος χρησιμοποιείται ευρέως στη βιοχημεία. Ακόμα, έχουν αναφερθεί ορισμένες αντιδράσεις υδρογόνωσης στις οποίες χρησιμοποιείται Pd/C ως καταλύτης, αλλά οι αποδόσεις δεν είναι ικανοποιητικές. Για παράδειγμα, ένα σύστημα Pd/C- οξικού οξέος εφαρμόζεται με επιτυχία στην οξείδωση της 1,4-διϋδροπυριδίνης του Hantzsch (HEHs) σε πυριδίνη.

Ο HEH αποτελεί αντικείμενο έρευνας ως ένα ασφαλές, εύκολο στο χειρισμό, οικονομικό και φιλικό προς το περιβάλλον αντιδραστήριο για την αναγωγή των οργανικών λειτουργικών ομάδων.

Πολλές μελέτες έχουν διεξαχθεί σχετικά με το μηχανισμό αναγωγής του HEH διαφόρων λειτουργικών ομάδων με έλλειμμα ηλεκτρονίων. Πρόσφατα, υπήρξε μεγάλο ενδιαφέρον για την εύρεση εφαρμογών του HEH ως βιομιμητικού αναγωγικού παράγοντα στην οργανοκαταλυτική και εναντιοεκλεκτική αναγωγή των  $\alpha$ ,  $\beta$ - ακόρεστων αλδεϋδών, των  $\alpha$ ,  $\beta$ - ακόρεστων κετονών και των νιτροολεφινών. Πρόσφατα αναφέρθηκε από τους Liu et al. (2009) [85] η χρήση του HEH για την υδρογόνωση μη ενεργοποιημένων ολεφινών.

Σύμφωνα με έρευνα των Nakamichi et al. (2002) [86], προέκυψε ότι η αντίδραση της οξειδωτικής αρωματοποίησης της 1,4-διϋδροπυριδίνης προς σχηματισμό της αντίστοιχης πυριδίνης με καταλύτη Pd/C, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη οξικό οξύ δεν οδηγεί σε υδρογόνωση του αιθυλενίου προς αιθάνιο. Ως εκ τούτου, μελετήθηκαν για την υδρογόνωση των ολεφινών διάφοροι διαλύτες, όπως οι  $\text{CH}_3\text{CN}$ , THF,  $\text{PhCH}_3$ ,  $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ , και EtOH, αλλά τα καλύτερα αποτελέσματα παρατηρούνται παρουσία του διαλύτη της αιθανόλης.

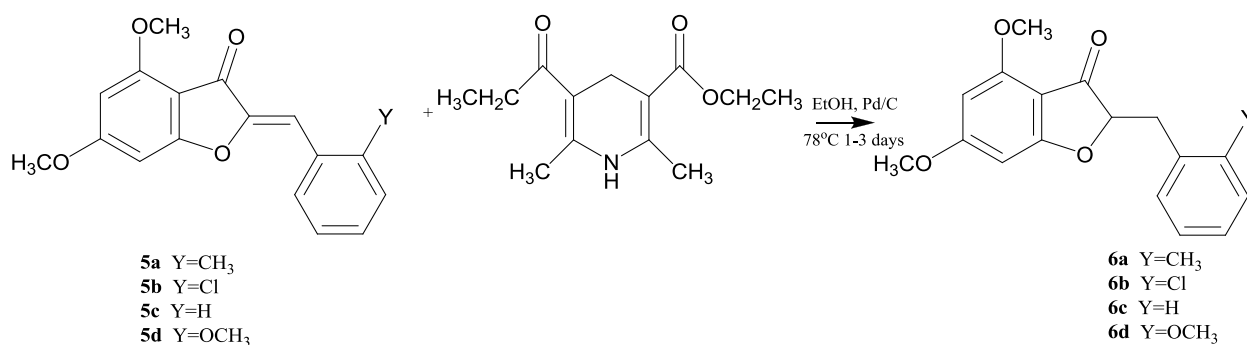
Η τυπική διαδικασία που ακολουθείται είναι η εξής: ένα αιθανολικό διάλυμα (20 mL) αλλυλοξυβενζενίου (1,0 mmol), HEH (1,1 mmol), και 10% Pd / C (10% κ.β. του αλλυλοξυβενζενίου) θερμαίνονται για 4 ώρες υπό ανάδευση και σε αδρανή ατμόσφαιρα αργού. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης, ο διαλύτης διηθείται και το διήθημα συγκεντρώνεται υπό μειωμένη πίεση. Το αντίστοιχο κορεσμένο προποξυβενζένιο απομονώνεται σε απόδοση 86% με χρωματογραφία στήλης (silica gel). Εκτός από το προποξυβενζένιο, απομονώνονται επίσης το διαιθυλο-2,6-διμεθυλο-3,5-πυριδινδικαρβοξυλικό και το αντίστοιχο προϊόν της οξειδωτικής αρωματοποίησης του HEH.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η διαδικασία αυτή παρέχει μια ενδιαφέρουσα και αποδοτική προσέγγιση για την υδρογόνωση των αλειφατικών και αρωματικών ολεφινών. Ειδικότερα, στα πειράματα που διεξήγαγαν οι Liu et al. (2009) [85] η απόδοση των προϊόντων τους είναι ιδιαίτερα ικανοποιητική (88-99%).

Η ίδια τεχνική εφαρμόζεται με επιτυχία και στις α, β-ακόρεστες κετόνες, αν και απαιτείται μεγαλύτερη ποσότητα Pd/C (20% κ.β. των υποστρωμάτων) και μεγαλύτερος χρόνος για την ολοκλήρωση της αντίδρασης (8 h). Στην περίπτωση αυτή, λαμβάνονται επιλεκτικά τα 1,4-ανηγμένα προϊόντα, ενώ δεν παρατηρείται σχηματισμός αλκοολών. Η συγκεκριμένη διαδικασία βρέθηκε πως είναι αποδοτική και στην περίπτωση των αλειφατικών 2-εν-1-ονών, των φαινυλο-αλειφατικών 2-εν-1-ονών, και των αναλόγων χαλκονών. Η μέθοδος αυτή, επίσης μπορεί να εφαρμοστεί με επιτυχία στις 1,4-διεν-3-όνες, τις 2,4-διεν-1-όνες και στις 1,6-διεν-3,5-διόνες.

Εναλλακτικά, η υδρογόνωση των παραπάνω ενώσεων μπορεί να πραγματοποιηθεί με την παρουσία H<sub>2</sub> και 10% Pd/C σε ατμοσφαιρική πίεση και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Όμως, η μέθοδος που χρησιμοποιεί το HEH πλεονεκτεί καθώς δίνει καθαρότερα και σε μεγαλύτερη απόδοση προϊόντα. Πράγματι, σύμφωνα με τους Liu et al. (2009) [85], από την υδρογόνωση της χαλκόνης με το μοριακό υδρογόνο, παρουσία καταλύτη Pd / C προκύπτει ένα μείγμα μιας 1,3-διφαινυλπροπαν-1-όνης (73%) και μιας 1,3-διφαινυλπροπαν-1-όλης (21%), ενώ από την υδρογόνωση της χαλκόνης με τον εστέρα του Hantzsch παραλαμβάνεται η 1,3-διφαινυλπροπαν-1-όνη με απόδοση 96%.

Στην παρούσα εργασία η αναγωγή των ωρονών πραγματοποιήθηκε με τον εστέρα του Hantzsch ως αναγωγικό μέσο, παρουσία διαλύτη αιθανόλης και καταλύμενη από Pd/C, σύμφωνα με τη γενική αντίδραση:

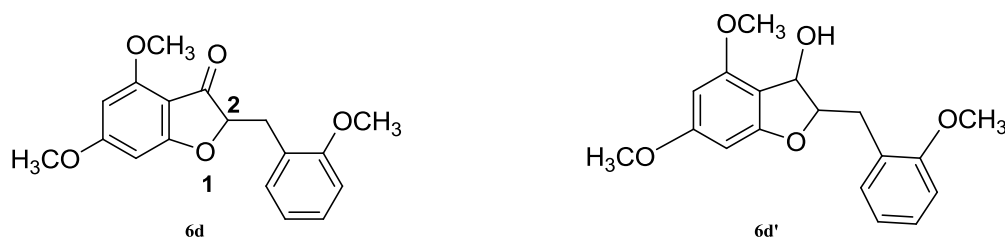


**Σχήμα 64:** Γενική αντίδραση αναγωγής των ωρονών με αναγωγικό μέσο τον εστέρα του Hantzsch.

Αρχικά, πραγματοποιείται αποξυγόνωση της αιθανόλης, με στόχο την απομάκρυνση του περιεχόμενου στο διαλύτη οξυγόνου. Η συγκεκριμένη διαδικασία εφαρμόζεται ώστε να αποφευχθεί η αντίδραση του διαλυμένου οξυγόνου με το παραγόμενο από τον εστέρα του Hantzsch μοριακό υδρογόνο, η οποία είναι ισχυρά εξώθερμη (εκρηκτική). Τα αντιδρώντα, η ωρόνη και ο εστέρας του Hantzsch προστίθενται σε γραμμομοριακή αναλογία 1:3, ενώ ο καταλύτης Pd/C προστίθεται σε ποσότητα 20% κατά βάρος με βάση την ωρόνη. Η αντίδραση επιτυγχάνεται με θέρμανση-reflux σε ελαιόλουτρο στους 78° C (σημείο ζέσεως της αιθανόλης) υπό ανάδευση και σε άνυδρες συνθήκες από μία έως τρεις μέρες. Η πορεία της αντίδρασης μελετάται με TLC σε τακτά χρονικά διαστήματα. Μετά το πέρας της αντίδρασης, ο καταλύτης διηθείται υπό κενό με χρήση σελίτη (celite) και τέλος το διήθημα συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Τα τελικά προϊόντα πρέπει να έχουν την επιθυμητή καθαρότητα προκειμένου να υποβληθούν στις δοκιμασίες ελέγχου της αντιπαρασιτικής δράσης. Όμως, τα προϊόντα που παραλαμβάνονται από την αντίδραση δεν έχουν την επιθυμητή καθαρότητα. Για το λόγο αυτό, επιχειρήθηκε ο καθαρισμός τους. Στην περίπτωση των **6c** και **6d** κρίθηκε κατάλληλος ο καθαρισμός τους με χρωματογραφία στήλης, χρησιμοποιώντας σύστημα διαλυτών Pe/EtOAc σε αναλογία 7:3. Το **6a**, το οποίο περιλαμβάνει αρκετές προσμίξεις πρόκειται να καθαριστεί με χρωματογραφία στήλης, χρησιμοποιώντας σύστημα διαλυτών Pe/EtOAc σε αναλογία 7:3. Για τον καθαρισμό του **6b** προστίθεται μεθανόλη, στην οποία παρατηρείται διάλυση της μεγαλύτερης ποσότητας του στερεού και παραλαμβάνεται τόσο το στερεό όσο και το διήθημα. Το λαμβανόμενο διήθημα τοποθετείται στο ψυγείο για μια ημέρα προκειμένου να επιτευχθεί πλήρης καταβύθιση των κρυστάλλων του προϊόντος και ακολουθεί διήθηση του διαλύματος που προκύπτει. Η καθαρότητα των προϊόντων ελέγχεται με φασματοσκοπία <sup>1</sup>H NMR. Παρά την προσπάθεια που έγινε για τον καθαρισμό των παραπάνω ενώσεων, μόνο μία από αυτές, η **6d**, απέκτησε την επιθυμητή καθαρότητα προκειμένου να



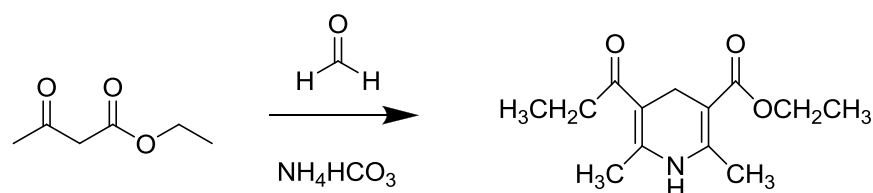
υποβληθεί στις δοκιμασίες ελέγχου της αντιπαρασιτικής δράσης. Το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του προϊόντος αυτού δείχνει ότι πρόκειται για μίγμα δύο ενώσεων σε αναλογία 10:6. Το ένα προϊόν είναι το επιθυμητό **6d** και το άλλο, στη μικρότερη αναλογία, είναι το προϊόν πλήρους αναγωγής **6d'**.



**Σχήμα 65:** Χημικός τύπος της 4,6-διμεθοξυ-2-(2-μεθοξυβενζυλ)-2,3-διυδροβενζοφουραν-3-όλης (δεξιά) και της 4,6-διμεθοξυ-2-(2-μεθοξυβενζυλ)βενζοφουραν-3-όνης (αριστερά)

#### 5.1.4 Η σύνθεση του εστέρα του Hantzsch

Στο σημείο αυτό αξίζει να σημειωθεί ότι ο εστέρας του Hantzsch δεν ήταν εμπορικά διαθέσιμος και παρασκευάζεται μέσω της αντίδρασης συμπύκνωσης της φορμαλδεΐδης με τον ακετοξικό αιθυλεστέρα, παρουσία όξινου ανθρακικού αμμωνίου.



**Σχήμα 66:** Σύνθεση του εστέρα του Hantzsch

Τα αντιδρώντα, ο ακετοξικός αιθυλεστέρας, η φορμαλδεΐδη και το όξινο ανθρακικό αμμώνιο προστίθενται σε γραμμομοριακή αναλογία 3:1:1,5. Συγκεκριμένα, ο ακετοξικός αιθυλεστέρας διαλύεται στη μεθανόλη και στη συνέχεια προστίθεται η φορμαλδεΐδη και το όξινο ανθρακικό αμμώνιο. Το μίγμα της αντίδρασης θερμαίνεται στους 50-60°C μέχρι την πλήρη διάλυση του άλατος. Στη συνέχεια, θερμαίνεται επιπλέον για 1 ώρα στους 65°C με τη βοήθεια κάθετου ψυκτήρα. Μετά το τέλος της αντίδρασης, αφήνεται να κρυώσει σε θερμοκρασία δωματίου, ακολουθεί διήθηση και το προϊόν παραλαμβάνεται ύστερα από διαδοχικές εκπλύσεις με μεθανόλη χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

## Κεφάλαιο 6

### 6.1 Πειραματικό Μέρος

#### 6.1.1 Όργανα και συσκευές

- Τα φάσματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού ( $^1\text{H}$  NMR) έχουν καταγραφεί με τα εξής όργανα:

- Varian Gemini 300MHz
- Varian 600MHz

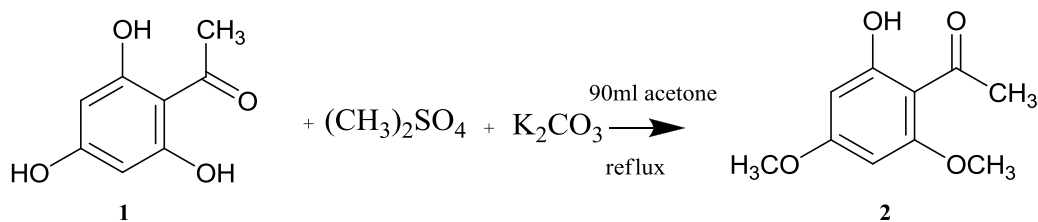
Οι τιμές των χημικών μετατοπίσεων, δίνονται σε ppm. Η πολλαπλότητα των σημάτων στα φάσματα  $^1\text{H}$  NMR αναφέρονται ως:

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

Η σταθερές συζεύξεως J δίνονται σε Hz.

- Τα φάσματα μάζας έχουν καταγραφεί στο όργανο LC-ESI/MS (VARIAN LC/ESI-MS<sup>n</sup>)
- Τα σημεία τήξεως έχουν ληφθεί σε συσκευή Gallenkamp και δεν έχουν διορθωθεί.

### 6.1.2 2-υδροξυ-4,6-διμεθοξυ-ακετοφαινόνη (2)



**Σχήμα 67:** Αντίδραση σύνθεσης της 2-υδροξυ-4,6-διμεθοξυ-ακετοφαινόνης.

Σε σφαιρική φιάλη των 250 mL στην οποία προσαρμόζονται κάθετος ψυκτήρας και μπαλονάκι αζώτου προστίθενται παρουσία διαλύτη ακετόνης τα αντιδρώντα 2,4,6-τριυδροξυ-ακετοφαινόνης (**1**), το άνυδρο K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> και το θειικό διμεθύλιο, σε γραμμομοριακή αναλογία 1:2,2:2. Ειδικότερα σε 90 mL ακετόνης προστίθενται 24 mmol (4,4 gr) 2,4,6-τριυδροξυ-ακετοφαινόνης, 44 mmol (6,08 gr) άνυδρου K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> και 40 mmol (5,081 gr) θειικού διμεθυλίου. Στο σημείο αυτό σημειώνεται ότι το θειικό διμεθύλιο προστίθεται στάγδην, λόγω του εξώθερμου χαρακτήρα της αντίδρασης.

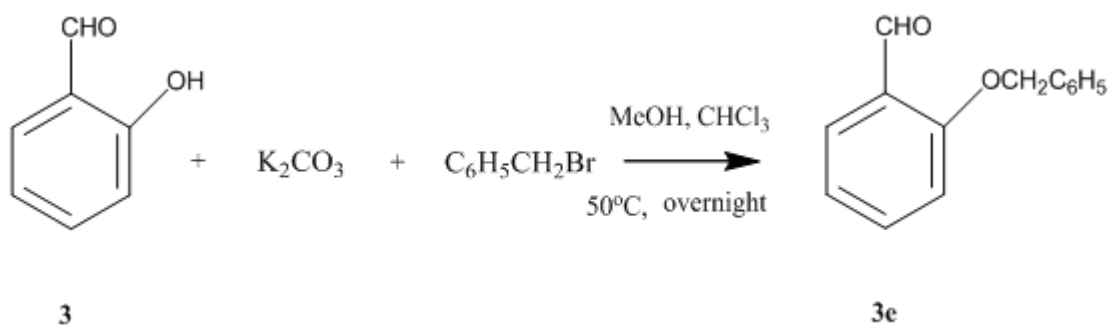
Το αντιδρόν μίγμα θερμαίνεται σε ελαιόλουτρο στους 85° C υπό ανάδευση για 24 ώρες. Η πορεία της αντίδρασης μελετάται με TLC σε τακτά χρονικά διαστήματα. Μετά το πέρας της αντίδρασης ακολουθεί διήθηση και απομάκρυνση του αδιάλυτου K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, γίνονται εκπλύσεις με ακετόνη και εξάτμιση του διαλύτη υπό κενό. Μετά την εξάτμιση προστίθεται διαιθυλαιθέρας οπότε σχηματίζεται στερεό, το οποίο παραλαμβάνεται με διήθηση. Λήφθηκαν 3g λευκού στερεού. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία <sup>1</sup>H NMR.

Σημείο τήξεως: 76-77°C [45] (78,5-79,5°C [89])

Απόδοση: 63,75%

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) δ ppm 14,03 (s, 1H, OH), 6,06 (d, J=2Hz, 1H, H-3), 5,92 (d, J=2Hz, 1H, H-5), 3,85 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2,61 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>)

### 6.1.3 2-(βενζυλοξυ)-βενζαλδεΐδη (3e)



**Σχήμα 68:** Αντίδραση σύνθεσης της 2-(βενζυλοξυ)-βενζαλδεΐδης.

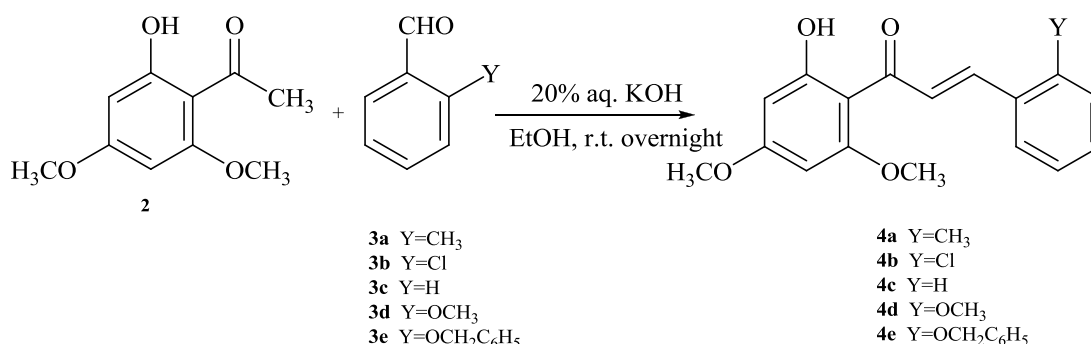
Σε σφαιρική φιάλη των 250 mL στην οποία προσαρμόζονται κάθετος ψυκτήρας και μπαλονάκι αζώτου προστίθενται παρουσία διαλύτη μεθανόλης και χλωροφορμίου τα αντιδρώντα σαλικυλική αλδεΐδη (**3**), το άνυδρο  $K_2CO_3$  και το βενζυλοβρωμίδιο σε γραμμομοριακή αναλογία 1:4,4:1,1. Ειδικότερα σε 49 mL μεθανόλης και 100 mL  $CHCl_3$  προστίθενται 8 mmol (1 gr) σαλικυλικής αλδεΐδης, 35,2 mmol (4,86 gr) άνυδρου  $K_2CO_3$  και 8,8 mmol (1,505 gr) βενζυλοβρωμιδίου.

Το αντιδρόν μίγμα θερμαίνεται σε ελαιόλουτρο στους  $50^\circ C$  υπό ανάδευση για 4 ώρες περίπου. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται με TLC σε τακτά χρονικά διαστήματα. Όταν η αντίδραση τελειώσει, ακολουθεί διήθηση και απομάκρυνση του αδιάλυτου  $K_2CO_3$ , γίνονται εκπλύσεις με μεθανόλη και ακολουθεί εξάτμιση του διαλύτη υπό κενό και το προϊόν τοποθετείται στο ψυγείο για μια μέρα. Στη συνέχεια, προστίθεται 33 mL  $HCl$  και ακολουθεί εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο. Η οργανική φάση στην οποία περιέχεται διαλυμένο το προϊόν συλλέγεται σε στεγνή κωνική φιάλη και ξηραίνεται σε άνυδρο θειϊκό νάτριο για την απομάκρυνση της υγρασίας. Το ξηρανθέν διάλυμα εξατμίζεται υπό κενό οπότε παραλαμβάνονται 1,23 g καφέ ελαιώδους υγρού. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία  $^1H$ NMR.

Απόδοση: 73%

$^1H$ NMR ( $CDCl_3$ , 300MHz)  $\delta$  ppm 10,57 (s, 1H, CHO), 7,87 (dd,  $J=9Hz$ ,  $J=3Hz$ , 1H, αρωματικό H), 7,54-7,34 (m, 7H, αρωματικά H), 7,07-6,98 (m, 2H, αρωματικά H), 5,20 (s, 2H,  $OCH_2$ )

### 6.1.4 Γενική μέθοδος σύνθεσης χαλκονών

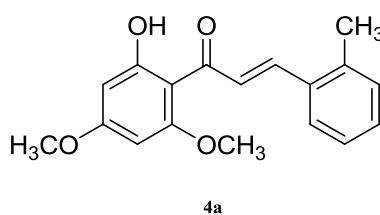


**Σχήμα 69:** Γενική μέθοδος σύνθεσης των χαλκονών

Σε σφαιρική φιάλη των 25 mL προστίθενται παρουσία διαλύτη αιθανόλης τα αντιδρώντα 2-υδροξυ-4,6-διμεθοξυ-ακετοφαινόνη (**2**), 2-υποκατεστημένη βενζαλδεΐδη και 20% w/v διάλυμα KOH σε γραμμομοριακή αναλογία 1:1:3. Το αντιδρόν μίγμα αφήνεται για ανάδευση 24 h σε θερμοκρασία δωματίου. Η πορεία της αντίδρασης μελετάται με TLC σε τακτά χρονικά διαστήματα. Όταν η αντίδραση τελειώσει, η σφαιρική φιάλη τοποθετείται σε δοχείο με πάγο και στο μίγμα προστίθεται διάλυμα HCl 10% v/v, προκειμένου να εξουδετερωθεί η βάση KOH, οπότε καταβυθίζεται κίτρινο ίζημα. Στη συνέχεια, το ίζημα διηθείται υπό κενό και αφήνεται προς ξήρανση.

Ακολουθεί ανακρυστάλλωση. Η ανακρυστάλλωση πραγματοποιείται με εν θερμώ διάλυση του παραγώγου σε μεθανόλη. Το λαμβανόμενο διάλυμα τοποθετείται στο ψυγείο για μια ημέρα προκειμένου να επιτευχθεί πλήρης καταβύθιση των κρυστάλλων του προϊόντος. Τέλος, ακολουθεί διήθηση υπό κενό του μίγματος για την παραλαβή του ανακρυσταλλωμένου προϊόντος. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία <sup>1</sup>HNMR.

#### 4',6'-διμεθοξυ-2-μεθυλο-2'-υδροξυ-χαλκόνη (**4a**)



**Σχήμα 70:** Χημικός τύπος της 4',6'-διμεθοξυ-2-μεθυλο-2'-υδροξυ-χαλκόνης

Συγκεκριμένα σε 9 mL διαλύτη αιθανόλης προστίθενται 2,33 mmol (0,5 g) της 2-υδροξυ-4,6-διμεθοξυ-ακετοφαινόνης (**2**), 2,33 mmol (0,28 g) της 2-μεθυλο-βενζαλδεΐδης (**3a**) και 1,95 mL υδατικού διαλύματος KOH 20% w/v. Η πειραματική διαδικασία ακολουθείται στη συνέχεια όπως περιγράφεται παραπάνω.

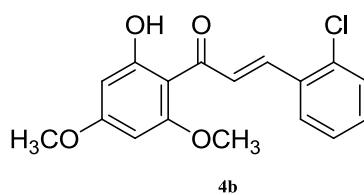
Λαμβάνονται 0,31 g κίτρινου στερεού σε ανακρυσταλλωμένο προϊόν. Η ανακρυστάλλωση πραγματοποιείται με εν θερμώ διάλυση του παραγώγου σε μεθανόλη. Το λαμβανόμενο διάλυμα τοποθετείται στο ψυγείο για μια ημέρα προκειμένου να επιτευχθεί πλήρης καταβύθιση των κρυστάλλων του προϊόντος. Τέλος, ακολουθεί διήθηση υπό κενό του μίγματος για την παραλαβή του ανακρυσταλλωμένου προϊόντος. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία  $^1\text{H}$ NMR.

Σημείο τήξεως: 117-120°C

Απόδοση: 45%

$^1\text{H}$ NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz)  $\delta$  ppm 14,26 (s, 1H, OH), 8,08 (d,  $J=15$  Hz,  $\text{H}_B$ ), 7,81 (d,  $J=15$  Hz,  $\text{H}_A$ ), 7,64 (d,  $J=6$  Hz, αρωματικό H), 7,32-7,19 (m, 3H, αρωματικά H), 6,13 (s, 1H, H-5'), 5,98 (s, 1H, H-3'), 3,93 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,87 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 2,52 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ )

4',6'-διμεθοξυ-2'-υδροξυ-2-χλωρο-χαλκόνη (**4b**)



**Σχήμα 71:** Χημικός τύπος της 4',6'-διμεθοξυ-2'-υδροξυ-2-χλωρο-χαλκόνης

Συγκεκριμένα, σε 9 mL διαλύτη αιθανόλης προστίθενται 2,33 mmol (0,5 g) της 2-υδροξυ-4,6-διμεθοξυ-ακετοφαινόνης (**2**), 2,33 mmol (0,328 g) της 2-χλωρο-βενζαλδεΐδης (**3b**) και 1,95 mL υδατικού διαλύματος KOH 20% w/v. Η πειραματική διαδικασία ακολουθείται στη συνέχεια όπως περιγράφεται παραπάνω.

Λαμβάνονται 0,37 g κίτρινου στερεού σε ανακρυσταλλωμένο προϊόν. Η ανακρυστάλλωση πραγματοποιείται με εν θερμώ διάλυση του παραγώγου σε μεθανόλη. Το λαμβανόμενο διάλυμα τοποθετείται στο ψυγείο για μια ημέρα προκειμένου να επιτευχθεί

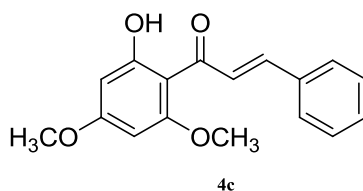
πλήρης καταβύθιση των κρυστάλλων του προϊόντος. Τέλος, ακολουθεί διήθηση υπό κενό του μίγματος για την παραλαβή του ανακρυσταλλωμένου προϊόντος. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία  $^1\text{H NMR}$ .

Σημείο τήξεως: 135-136°C (σ.τ. βιβλ. 136-137 °C [90])

Απόδοση: 50%

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 600MHz)  $\delta$  ppm 14,19 (s, 1H, OH), 8,13 (d,  $J=17,4$  Hz,  $\text{H}_B$ ), 7,87 (d,  $J=17,4$  Hz,  $\text{H}_A$ ), 7,69-7,67 (m, 1H, αρωματικό H), 7,43-7,42 (m, 1H, αρωματικό H), 7,31-7,28 (m, 2H, αρωματικά H), 6,11 (s, 1H, H-5'), 5,953 (s, 1H, H-3'), 3,89 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,83 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ),

4',6'-διμεθοξυ-2'-υδροξυ-χαλκόνη (**4c**)



**Σχήμα 72:** Χημικός τύπος της 4',6'-διμεθοξυ-2'-υδροξυ-χαλκόνης

Συγκεκριμένα, σε 9 mL διαλύτη αιθανόλης προστίθενται 2,33 mmol (0,5 g) της 2-υδροξυ-4,6-διμεθοξυ-ακετοφαινόνης (**2**), 2,33 mmol (0,247 g) της βενζαλδεΐδης (**3c**) και 1,95 mL υδατικού διαλύματος KOH 20% w/v. Η πειραματική διαδικασία ακολουθείται στη συνέχεια όπως περιγράφεται παραπάνω.

Λαμβάνονται 0,32 g κίτρινου-πορτοκαλί στερεού σε ανακρυσταλλωμένο προϊόν. Η ανακρυστάλλωση πραγματοποιείται με εν θερμώ διάλυση του παραγώγου σε μεθανόλη. Το λαμβανόμενο διάλυμα τοποθετείται στο ψυγείο για μια ημέρα προκειμένου να επιτευχθεί πλήρης καταβύθιση των κρυστάλλων του προϊόντος. Τέλος, ακολουθεί διήθηση υπό κενό του μίγματος για την παραλαβή του ανακρυσταλλωμένου προϊόντος. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία  $^1\text{H NMR}$ .

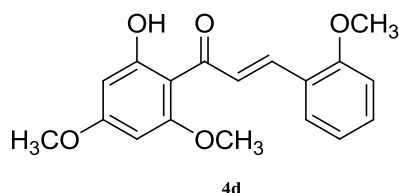
Σημείο τήξεως: 72-76°C

Απόδοση: 49%

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 600MHz)  $\delta$  ppm 14,27(s, 1H, OH), 7,91 (d,  $J=18$  Hz, 1H,  $\text{H}_B$ ), 7,79 (d,  $J=18$  Hz, 1H,  $\text{H}_A$ ), 7,61 (d,  $J=8,4$  Hz, 2H, αρωματικά H), 7,42-7,39 (m, 3H, αρωματικά H),

6,11 (s, 1H, H-5'), 5,97 (s, 1H, H-3'), 3,90 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,84 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>)

2, 4',6'-τριμεθοξυ -2'-υδροξυ-χαλκόνη (**4d**)



**Σχήμα 73:** Χημικός τύπος της 2, 4',6'-τριμεθοξυ -2'-υδροξυ-χαλκόνης

Συγκεκριμένα, σε 9 mL διαλύτη αιθανόλης προστίθενται 2,33 mmol (0,5g) της 2-υδροξυ-4,6-διμεθοξυ-ακετοφαινόνης (**2**), 2,33 mmol (0,32g) της 2-μεθοξυ-βενζαλδεΐδης (**3d**) και 1,95 mL υδατικού διαλύματος KOH 20% w/v. Η πειραματική διαδικασία ακολουθείται στη συνέχεια όπως περιγράφεται παραπάνω.

Λαμβάνονται 0,3g κίτρινου-πορτοκαλί στερεού σε ανακρυσταλλωμένο προϊόν. Η ανακρυστάλλωση πραγματοποιείται με εν θερμώ διάλυση του παραγώγου σε μεθανόλη. Το λαμβανόμενο διάλυμα τοποθετείται στο ψυγείο για μια ημέρα προκειμένου να επιτευχθεί πλήρης καταβύθιση των κρυστάλλων του προϊόντος. Τέλος, ακολουθεί διήθηση υπό κενό του μίγματος για την παραλαβή του ανακρυσταλλωμένου προϊόντος. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία <sup>1</sup>HNMR.

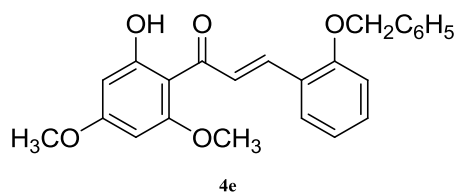
Σημείο τήξεως: 113-115°C (σ.τ. βιβλ. 113-114 °C [74])

Απόδοση: 41%

<sup>1</sup>HNMR (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) δ ppm 14.93 (s, 1H, OH), 8.15 (d, 1H, J = 15.8 Hz, HB), 7.96 (d, 1H, J = 15.8 Hz, HA), 7.61 (dd, 1H, J = 7.3 Hz, J = 1.8 Hz, H-6), 7.36 (ddd, 1H, J = J = 7.8 Hz, J = 1,8 Hz, H-4), 6.98 (dd, J = 7.3 Hz, H-5), 6.93 (d, 1H, J = 7.8 Hz, H-3), 6.11 (d, 1H, J = 2.6 Hz, H-3'), 5.96 (d, 1H, J = 2.6 Hz, H-5'), 3.91 (s, 6H, two -OCH<sub>3</sub>), 3.84 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>);



2-βενζυλοξυ-4',6'-διμεθοξυ-2'-υδροξυ-χαλκόνη (**4e**)



**Σχήμα 74:** Χημικός τύπος της 2-βενζυλοξυ-4',6'-διμεθοξυ-2'-υδροξυ-χαλκόνης

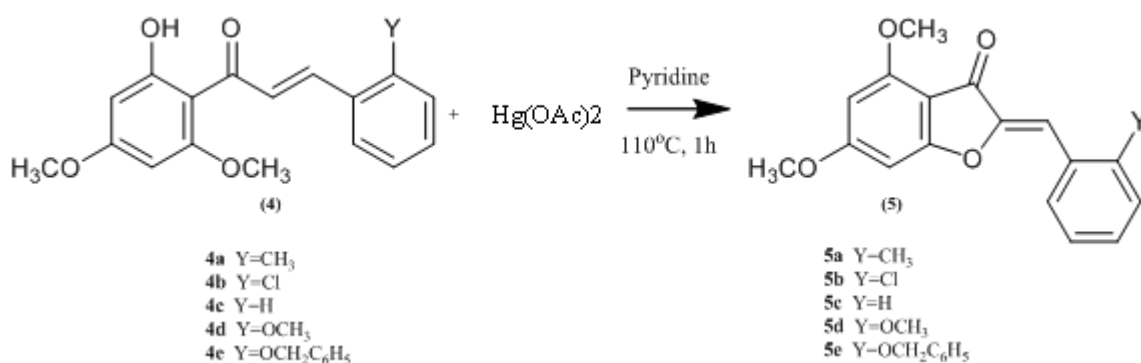
Συγκεκριμένα, σε 9 mL διαλύτη αιθανόλης προστίθενται 2,356 mmol (0,506 g) της 2-υδροξυ-4,6-διμεθοξυ-ακετοφαινόνης (**2**), 2,356 mmol (0,5 g) της 2-(βενζυλοξυ)βενζαλδεύδης (**3e**) και 2 mL υδατικού διαλύματος KOH 20% w/v. Η πειραματική διαδικασία ακολουθείται στη συνέχεια όπως περιγράφεται παραπάνω, όμως, στη συγκεκριμένη περίπτωση δεν παρατηρήθηκε καταβύθιση στερεού προϊόντος. Για το λόγο αυτό, ακολούθησε εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο. Η οργανική φάση στην οποία βρισκόταν διαλυμένο το προϊόν συλλέχθηκε σε στεγνή κωνική φιάλη και ξηράνθηκε σε άνυδρο θειϊκό νάτριο για την απομάκρυνση της υγρασίας. Το ξηρανθέν διάλυμα συμπυκνώθηκε υπό ελαττωμένη πίεση για την απομάκρυνση του διαλύτη, αλλά το προϊόν παρέμεινε σε υγρή μορφή. Το προϊόν καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης χρησιμοποιώντας σύστημα διαλυτών: Pe/EtOAc σε αναλογία 9:1. Μετά τη χρωματογραφία στήλης ελήφθησαν 0,096 g κίτρινου στερεού προϊόντος. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία <sup>1</sup>HNMR.

Σημείο τήξεως: 107-109°C

Απόδοση: 15%

<sup>1</sup>HNMR (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) δ ppm 14,36 (s, 1H, OH), 8,19 (d, *J*=15Hz, H<sub>B</sub>), 8,01 (d, *J*=15Hz, H<sub>A</sub>), 7,63 (dd, *J*=6 Hz, *J*=3 Hz, 1H, αρωματικό H), 7,45-7,32 (m, 7H αρωματικά H), 7,03-6,96 (m, 2H, αρωματικά H), 6,12 (d, *J*=3 Hz, H-5'), 5,92 (d, *J*=3 Hz, H-3'), 5,21 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>), 3,84 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,74 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>)

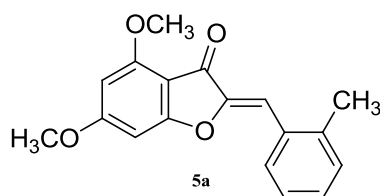
### 6.1.5 Γενική μέθοδος σύνθεσης ωρονών



**Σχήμα 75:** Γενική μέθοδος σύνθεσης ωρονών

Σε σφαιρική φιάλη των 25 mL στην οποία προσαρμόζονται κάθετος ψυκτήρας και μπαλονάκι αζώτου προστίθενται παρουσία διαλύτη πυριδίνης τα αντιδρώντα: η χαλκόνη (4) και ο οξικός υδράργυρος σε γραμμομοριακή αναλογία 1:1,25. Το αντιδρόν μίγμα θερμαίνεται σε ελαιόλουτρο στους 110°C υπό ανάδευση για μια ώρα περίπου. Η πορεία της αντίδρασης μελετάται με TLC σε τακτά χρονικά διαστήματα. Όταν η αντίδραση τελειώσει, αποχύνεται το μίγμα της αντίδρασης σε ποτήρι ζέσεως το οποίο περιέχει 50 mL πάγου- νερού. Στο μίγμα προστίθεται διάλυμα HCl 10% v/v μέχρι να γίνει όξινο και να κατακαθίσει το στερεό. Το μίγμα της αντίδρασης εκχυλίζεται με ποσότητα διχλωρομεθανίου τρεις φορές. Η οργανική φάση στην οποία περιέχεται διαλυμένο το προϊόν συλλέγεται σε στεγνή κωνική φιάλη και ξηραίνεται σε άνυδρο θειϊκό νάτριο για την απομάκρυνση της υγρασίας. Το ξηρανθέν διάλυμα εξατμίζεται υπό κενό μέχρι ξηρού.

#### 4,6-διμεθοξυ-2'-μεθυλο-ωρόνη (5a)



**Σχήμα 76:** Χημικός τύπος της 4,6-διμεθοξυ-2'-μεθυλο-ωρόνης

Συγκεκριμένα σε 7 mL διαλύτη πυριδίνης προστίθενται 0,84 mmol (0,27g) του οξικού

υδραργύρου και 0,67 mmol (0,2g) της (Z)-4,6-διμεθοξυ-2-(2-μεθυλβενζυλιδεν)βενζοφουραν-3-όνης) (**4a**). Η πειραματική διαδικασία ακολουθείται στη συνέχεια όπως περιγράφεται παραπάνω.

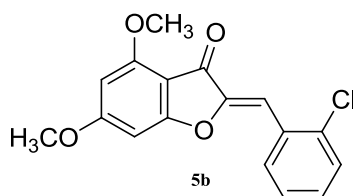
Λαμβάνονται 0,0795g κίτρινου στερεού σε ανακρυσταλλωμένο προϊόν. Η ανακρυστάλλωση πραγματοποιείται με πεντάνιο/μεθανόλη. Το λαμβανόμενο διάλυμα τοποθετείται στο ψυγείο για μια ημέρα προκειμένου να επιτευχθεί πλήρης καταβύθιση των κρυστάλλων του προϊόντος. Τέλος, ακολουθεί διήθηση υπό κενό του μίγματος για την παραλαβή του ανακρυσταλλωμένου προϊόντος με τη μορφή ιζήματος. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία  $^1\text{HNMR}$ .

Σημείο τήξεως: 180-183°C

Απόδοση: 34%

$^1\text{HNMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz)  $\delta$  ppm 8,15 (d,  $J=3\text{Hz}$ , 1H, αρωματικό H), 7,29-7,24 (m, 4H, αρωματικά H), 7,00 (s, 1H, βινυλικό H), 6,39 (d,  $J=3\text{Hz}$ , 1H, H-5), 6,15 (d,  $J=3\text{Hz}$ , 1H, H-7), 3,98 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,93 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 2,52 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ )

4,6-διμεθοξυ-2'-χλωρο-ωρόνη (**5b**)



**Σχήμα 77:** Χημικός τύπος της 4,6-διμεθοξυ-2'-χλωρο-ωρόνης

Συγκεκριμένα σε 7,35 mL διαλύτη πυριδίνης προστίθενται 0,98 mmol (0,31g) του οξικού υδραργύρου και 0,784 mmol (0,25 gr) της (Z)-2-(2-χλωροβενζυλιδεν)-4,6-διμεθοξυβενζοφουραν-3-όνης. Η πειραματική διαδικασία ακολουθείται στη συνέχεια όπως περιγράφεται παραπάνω.

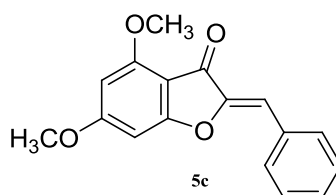
Λαμβάνονται 0,1936g κίτρινου στερεού σε καθαρό προϊόν. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία  $^1\text{HNMR}$ .

Σημείο τήξεως: 191-193°C

Απόδοση: 78%

$^1\text{H}$ NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz)  $\delta$  ppm 8,26 (dd,  $J=6$  Hz,  $J=3$ Hz, 1H, αρωματικό H), 7,45 (dd,  $J=6$  Hz,  $J=3$ Hz, 1H, αρωματικό H), 7,38-7,28 (m, 2H, αρωματικά H), 7,22 (s, 1H, βινυλικό H), 6,39 (d,  $J=3$ Hz, 1H, H-5), 6,16 (d,  $J=3$ Hz, 1H, H-7), 3,98 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,93 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ )

4,6-διμεθοξυ-ωρόνη (**5c**)



**Σχήμα 78:** Χημικός τύπος της 4,6-διμεθοξυ-ωρόνης

Συγκεκριμένα σε 6,59 mL διαλύτη πυριδίνης προστίθενται 0,879 mmol (0,28g) του οξικού υδραργύρου και 0,703mmol (0,2 gr) της (Z)-2-βενζυλιδιεν-4,6-διμεθοξυβενζοφουραν-3-όνης (**4c**). Η πειραματική διαδικασία ακολουθείται στη συνέχεια όπως περιγράφεται παραπάνω.

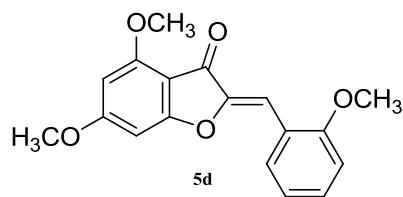
Λαμβάνονται 0,0874g κίτρινου στερεού σε καθαρό προϊόν. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία  $^1\text{H}$ NMR.

Σημείο τήξεως: 139-142° C (σ.τ. βιβλ. 152-153 °C [74])

Απόδοση: 44 %

$^1\text{H}$ NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz)  $\delta$  ppm 7,87 (d,  $J=9$ Hz, 2H, αρωματικά H), 7,46-7,36 (m, 3H, αρωματικά H), 6,77 (s, 1H βινυλικό H), 6,40 (d,  $J=3$ Hz, 1H, H-5), 6,15 (d,  $J=3$ Hz, 1H, H-7), 3,98 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,94 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ )

#### 4,6-διμεθοξυ-2'-μεθοξυ-ωρόνη (**5d**)



**Σχήμα 79:** Χημικός τύπος της 4,6-διμεθοξυ-2'-μεθοξυ-ωρόνης

Συγκεκριμένα σε 7,5 mL διαλύτη πυριδίνης προστίθενται 1 mmol (0,319g) του οξικού υδραργύρου και 0,8mmol (0,25 gr) της (Z)-4,6-διμεθοξυ-2-(2-μεθοξυβενζυλιδεν)βενζοφουραν-3-όνης (**4d**). Η πειραματική διαδικασία ακολουθείται στη συνέχεια όπως περιγράφεται παραπάνω.

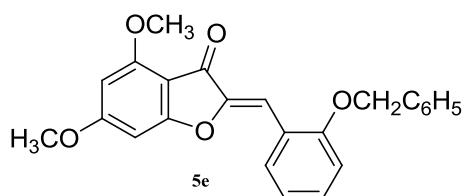
Λαμβάνονται 0,19g κίτρινου στερεού σε ανακρυσταλλωμένο προϊόν. Η ανακρυστάλλωση πραγματοποιείται πεντάνιο/μεθανόλη. Το λαμβανόμενο διάλυμα τοποθετείται στο ψυγείο για μια ημέρα προκειμένου να επιτευχθεί πλήρης καταβύθιση των κρυστάλλων του προϊόντος. Τέλος, ακολουθεί διήθηση υπό κενό του μίγματος για την παραλαβή του ανακρυσταλλωμένου προϊόντος με την μορφή ιζήματος. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία  $^1\text{H}$ NMR.

Σημείο τήξεως: 214-217 °C (σ.τ. βιβλ. 216-218 °C [45])

Απόδοση: 76,1%

$^1\text{H}$ NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz)  $\delta$  ppm 8,22 (dd,  $J=9$  Hz,  $J=3$ Hz, 1H, αρωματικό H), 7,36-7,31 (m, 1H, αρωματικό H), 7,33 (s, 1H, βινυλικό H), 7,03 (t,  $J=6$ Hz, 1H, αρωματικό H), 6,92 (d,  $J=9$  Hz, 1H, αρωματικό H), 6,39 (d,  $J=3$ Hz, 1H, H-5), 6,14 (d,  $J=3$ Hz, 1H, H-7), 3,97 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,92 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,91 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ )

#### 2'-βενζυλοξυ-4,6-διμεθοξυ-ωρόνη (**5e**)



**Σχήμα 80:** Χημικός τύπος της 2'-βενζυλοξυ-4,6-διμεθοξυ-ωρόνης

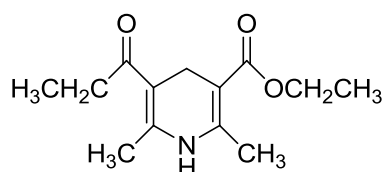
Συγκεκριμένα σε 1,2 mL διαλύτη πυριδίνης προστίθενται 0,16 mmol (0,051 g) του οξικού υδραργύρου και 0,128mmol (0,05 gr) της (E)-3-(2- (βενζυλοξυ)φαινυλ)-1-(2-υδροξυ-4,6-διμεθοξυφαινυλ)προπ-2-εν-1-όνης (**4e**). Η πειραματική διαδικασία ακολουθείται στη συνέχεια όπως περιγράφεται παραπάνω. Λαμβάνεται ποσότητα στερεού προϊόντος, το οποίο όμως δεν έχει την επιθυμητή καθαρότητα. Για το λόγο αυτό, το προϊόν καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης χρησιμοποιώντας σύστημα διαλυτών: πετρελαϊκό αιθέρα/ακετόνη σε αναλογία 8:2. Λαμβάνονται 0,0115 g κίτρινου στερεού καθαρού προϊόντος. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία <sup>1</sup>HNMR.

Σημείο τήξεως: 163-166°C

Απόδοση: 23 %

<sup>1</sup>HNMR (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) δ ppm 8,23 (d, *J*=9 Hz, 0,7H, αρωματικό H *Z*-ισομερούς), 8,13 (d, *J*= 9Hz, 0,5H, αρωματικό H *E*-ισομερούς), 7,47 (s, 1H, αρωματικό H), 7,38-7,24 (m, 6H, βινυλικό H και αρωματικά), 7,16 (s, 5H, αρωματικά H), 7,03-6,86 (m, 2H, αρωματικό και H-5, H-7 *Z*-ισομερούς), 6,5 (s, 0,5H, H-7, *E*-ισομερούς), 6.11 (s, 0,3H, H-7, *E*-ισομερούς), 5.1(s, 2H, OCH<sub>2</sub>), 4,21 και 4.22 (δύο s, 2H, OCH<sub>3</sub> *E*-ισομερούς), 3.94 και 3,93 (δύο s, 2H, OCH<sub>3</sub> *Z*-ισομερούς).

### 6.1.6 Σύνθεση του εστέρα του Hantzsch



**Σχήμα 81:** Χημικός τύπος του εστέρα του Hantzsch

0,062 mol ακετοξικού αιθυλεστέρα διαλύονται σε 10 ml μεθανόλη και στη συνέχεια προστίθενται 0,02 mol φορμαλδεΐδης και 0,031 mol όξινου ανθρακικού αμμωνίου. Το μίγμα της αντίδρασης θερμαίνεται στους 50-60 °C μέχρι την πλήρη διάλυση του άλατος. Στη συνέχεια, θερμαίνεται επιπλέον για 1 ώρα στους 65°C με τη βοήθεια κάθετου ψυκτήρα. Μετά το τέλος της αντίδρασης, αφήνεται να κρυώσει σε θερμοκρασία δωματίου, ακολουθεί διήθηση

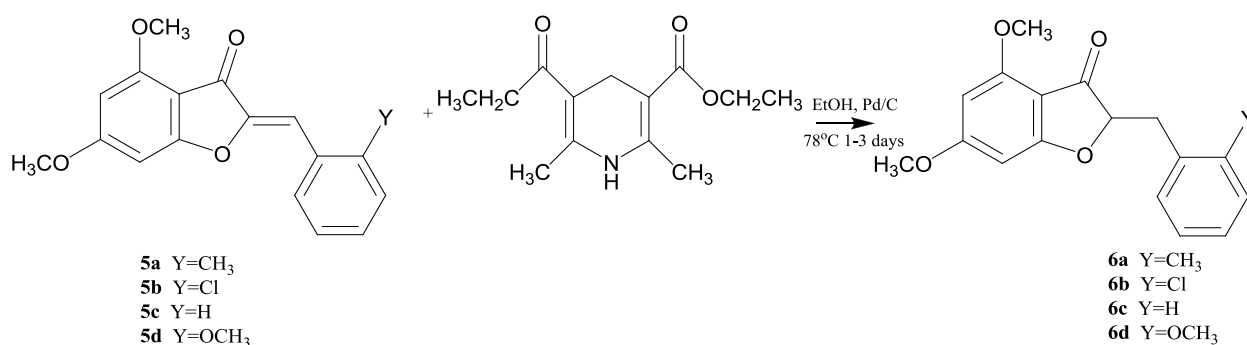
και το προϊόν παραλαμβάνεται ύστερα από διαδοχικές εκπλύσεις με μεθανόλη χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

Απόδοση: 25%

Σημείο τήξεως : 184-189° C

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.28 (t, 6H), 2.19 (s, 6H), 3.27 (s, 2H), 4.17 (q, 4H), 5.11 (s, 1H)

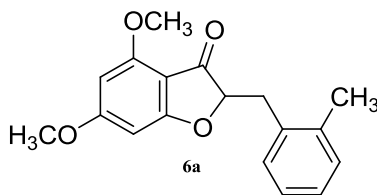
### 6.1.7 Μελέτη της αναγωγής των ωρονών



**Σχήμα 82:** Γενική μέθοδος αναγωγής των ωρονών με τη χρήση του εστέρα του Hantzsch.

Σε σφαιρική φιάλη των 10 mL προστίθεται ως διαλύτης αιθανόλη και πραγματοποιείται αποξυγόνωση ώστε να απομακρυνθεί το οξυγόνο που περιέχεται στο διαλύτη. Στο σημείο αυτό, αξίζει να σημειωθεί ότι η αποξυγόνωση εφαρμόζεται ώστε να αποφευχθεί η αντίδραση του διαλυμένου οξυγόνου με το παραγόμενο από τον εστέρα του Hantzsch μοριακό υδρογόνο, η οποία είναι ισχυρά εξώθερμη (εκρηκτική). Στη σφαιρική φιάλη προσαρμόζονται κάθετος ψυκτήρας και μπαλονάκι αζώτου ώστε η αντίδραση να πραγματοποιηθεί σε άνυδρες συνθήκες. Στη συνέχεια, προστίθενται κατά σειρά: η ωρόνη και ο εστέρας του Hantzsch σε γραμμομοριακή αναλογία 1:3 και τέλος ο καταλύτης Pd/C σε ποσότητα 20% κατά βάρος με βάση την ωρόνη. Το αντιδρόν μίγμα θερμαίνεται υπό ανάδευση στους 78°C (σημείο ζέσεως της αιθανόλης) από 1 έως 3 ημέρες. Η πορεία της αντίδρασης μελετάται με TLC σε τακτά χρονικά διαστήματα. Όταν η αντίδραση τελειώσει, ακολουθεί διήθηση υπό κενό του καταλύτη με χρήση σελίτη (celite) και τέλος το διήθημα συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση.

4,6-διμεθοξυ-2-(2-μεθυλβενζυλ)βενζοφουραν-3-όνη (**6a**)

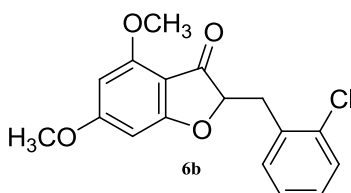


**Σχήμα 83:** Χημικός τύπος της 4,6-διμεθοξυ-2-(2-μεθυλβενζυλ)βενζοφουραν-3-όνης

Συγκεκριμένα σε 4,2mL διαλύτη αιθανόλης προστίθενται 0,135mmol (0,04g) της (Z)-4,6-διμεθοξυ-2-(2-μεθυλβενζυλιδεν)βενζοφουραν-3-όνης, 0,405 mmol (0,103gr) του εστέρα του Hantzsch και 8 mg καταλύτη Pd/C. Η πειραματική διαδικασία ακολουθείται στη συνέχεια όπως περιγράφεται παραπάνω. Ο χρόνος της αντίδρασης είναι μία μέρα. Λαμβάνονται 8 mg λευκού στερεού προϊόντος, το οποίο όμως δεν έχει την επιθυμητή καθαρότητα. Για το λόγο αυτό, το προϊόν πρόκειται να καθαριστεί με χρωματογραφία στήλης χρησιμοποιώντας σύστημα διαλυτών Pe/EtOAc.

Σημείο τήξεως: 110-113° C

2-(2-χλωροβενζυλ)-4,6-διμεθοξυβενζοφουραν-3-όνη (**6b**)



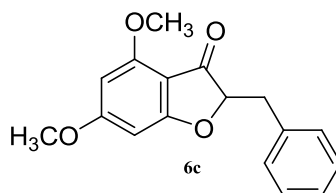
**Σχήμα 84:** Χημικός τύπος της 2-(2-χλωροβενζυλ)-4,6-διμεθοξυβενζοφουραν-3-όνης

Συγκεκριμένα σε 10mL διαλύτη αιθανόλης προστίθενται 0,316mmol (0,1g) της (Z)-2-(2-χλωροβενζυλιδεν)-4,6-διμεθοξυβενζοφουραν-3-όνης, 0,947 mmol (0,24gr) του εστέρα του Hantzsch και 20 mg καταλύτη Pd/C. Η πειραματική διαδικασία ακολουθείται στη συνέχεια όπως περιγράφεται παραπάνω. Ο χρόνος της αντίδρασης είναι δύο μέρες. Λαμβάνεται ποσότητα κίτρινου στερεού προϊόντος, το οποίο όμως δεν έχει την επιθυμητή καθαρότητα. Για το λόγο αυτό, επιχειρήθηκε ο καθαρισμός του με προσθήκη μεθανόλης, στην οποία παρατηρείται διάλυση της μεγαλύτερης ποσότητας του στερεού. Κατόπιν, ακολουθεί διήθηση του διαλύματος και παραλαβή τόσο του στερεού όσο και του διηθήματος. Το λαμβανόμενο



διήθημα τοποθετείται στο ψυγείο για μια ημέρα προκειμένου να επιτευχθεί πλήρης καταβύθιση των κρυστάλλων του προϊόντος. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία  $^1\text{H}$  NMR. Συμπεραίνεται ότι δεν έχει την επιθυμητή καθαρότητα, για το λόγο αυτό, το προϊόν πρόκειται να καθαριστεί με χρωματογραφία στήλης χρησιμοποιώντας σύστημα διαλυτών Pe/EtOAc.

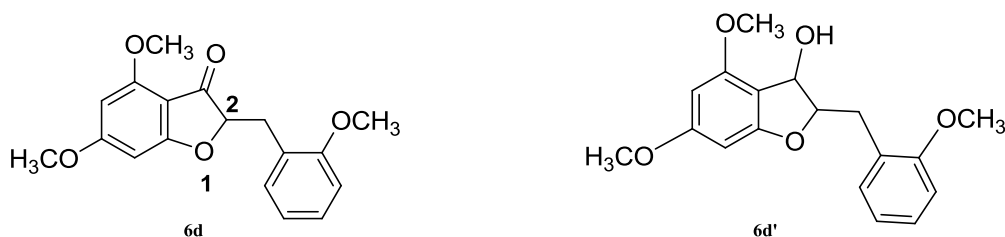
2-βενζυλ-4,6-διμεθοξυβενζοφουραν-3-όνη (**6c**)



**Σχήμα 85:** Χημικός τύπος της 2-βενζυλ-4,6-διμεθοξυβενζοφουραν-3-όνης

Συγκεκριμένα σε 4,5mL διαλύτη αιθανόλης προστίθενται 0,142mmol (0,04g) της (Z)-2-βενζυλιδεν-4,6-διμεθοξυβενζοφουραν-3-όνης, 0,426 mmol (0,108gr) του εστέρα του Hantzsch και 8 mg καταλύτη Pd/C. Η πειραματική διαδικασία ακολουθείται στη συνέχεια όπως περιγράφεται παραπάνω, ενώ ο χρόνος της αντίδρασης είναι τρεις μέρες. Λαμβάνεται ποσότητα κίτρινου ελαιώδους προϊόντος, το οποίο όμως δε διαθέτει την επιθυμητή καθαρότητα. Για το λόγο αυτό, το προϊόν καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης, χρησιμοποιώντας σύστημα διαλυτών Pe/EtOAc σε αναλογία 7:3. Η καθαρότητα του προϊόντος ελέγχεται με φασματοσκοπία  $^1\text{H}$ NMR, από την οποία προκύπτει όμως ότι δεν έχει την επιθυμητή καθαρότητα.

4,6-διμεθοξυ-2-(2-μεθοξυβενζυλ)βενζοφουραν-3-όνη (**6d**)



**Σχήμα 86:** Χημικός τύπος της 4,6-διμεθοξυ-2-(2-μεθοξυβενζυλ)-2,3-διυδροβενζοφουραν-3-όλης (δεξιά) και της 4,6-διμεθοξυ-2-(2-μεθοξυβενζυλ)βενζοφουραν-3-όνης (αριστερά)

Συγκεκριμένα σε 5 mL διαλύτη αιθανόλης προστίθενται 0,16 mmol (0,05 g) της (Z)-4,6-διμεθοξυ-2-(2-μεθοξυβενζυλιδεν)βενζοφουραν-3-όνης, 0,48 mmol (0,122 gr) του εστέρα

του Hantzsch και 10 mg καταλύτη Pd/C. Η πειραματική διαδικασία ακολουθείται στη συνέχεια όπως περιγράφεται παραπάνω. Ο χρόνος αντίδρασης είναι μία μέρα. Λαμβάνεται ποσότητα καφέ-μαύρου στερεού προϊόντος, το οποίο όμως δεν έχει την επιθυμητή καθαρότητα. Για το λόγο αυτό, το προϊόν καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης, χρησιμοποιώντας σύστημα διαλυτών Pe/EtOAc σε αναλογία 7:3. Το προϊόν που λαμβάνεται είναι λευκό στερεό. Το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του λευκού στερεού δείχνει ότι πρόκειται για μίγμα δύο ενώσεων σε αναλογία 10:6. Το ένα προϊόν είναι το επιθυμητό **6d** και το άλλο, στη μικρότερη αναλογία, είναι το προϊόν πλήρους αναγωγής **6d'**.

Στη συνέχεια δίνεται η αποτίμηση των κορυφών για το προϊόν **6d**:

$^1\text{H}$ NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz)  $\delta$  ppm 7.27-7.23 (m, 2H, αρωματικά H), 6.95-6.98 (m, 2H, αρωματικά H), 6.12 (s, 1H, H-5), 6.01 (s, 1H, H-7), 4.97-4.89 (m, 1H, H-2), 3.93 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.87 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.86 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.52 (dd, 1H,  $J=6\text{Hz}$ ,  $J=15\text{Hz}$ ), 2.76 (dd, 1H,  $J=12\text{Hz}$ ,  $J=15\text{Hz}$ ).

## Κεφάλαιο 7

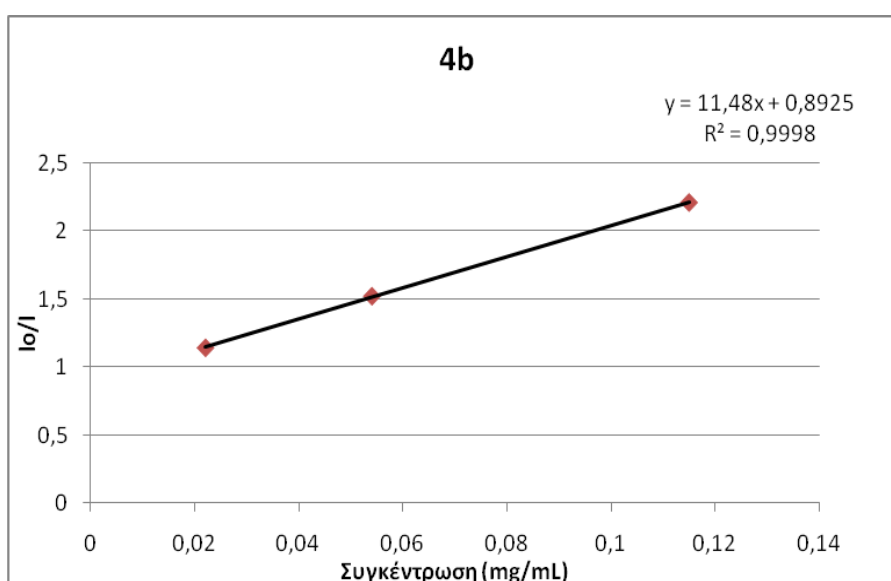
### 7.1 Αποτελέσματα και συζήτηση

#### 7.1.1 Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης των χαλκονών

Από τις χαλκόνες που παρασκευάστηκαν, οι **4a-4c** αξιολογήθηκαν *in vitro* για την αντιοξειδωτική τους δράση, και ειδικότερα για την ικανότητά τους να δεσμεύουν το υπεροξείδιο του υδρογόνου, με τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας που παράγεται από τη λουμινόλη. Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, μαζί με τα σχετικά αποτελέσματα από προηγούμενη έρευνα που πραγματοποιήθηκε από την ερευνητική ομάδα του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας, παρουσιάζονται στον Πίνακα 5

Ο στόχος της παρούσας έρευνας είναι η μελέτη της επίδρασης του υποκαταστάτη στη θέση 2 του αρωματικού δακτυλίου B στην αντιοξειδωτική δράση των αντίστοιχων χαλκονών που περιέχουν μεθοξυ-ομάδες στις θέσεις 4' και 6' του δακτυλίου A.

Συγκεκριμένα, όπως φαίνεται από τα αποτελέσματα του Πίνακα 5, η παρουσία ομάδας-δέκτη ηλεκτρονίων (Cl) στη θέση 2 του αρωματικού δακτυλίου B (χαλκόνη **4b**), δίνει ένα προϊόν το οποίο παρουσιάζει την καλύτερη αντιοξειδωτική δράση ( $IC_{50} = 0,303$ ) με επαναλήψιμα αποτελέσματα (Εικόνα 26).



**Εικόνα 21:** Η σχέση συγκέντρωσης προς το  $I_0/I$  για την ένωση 4b

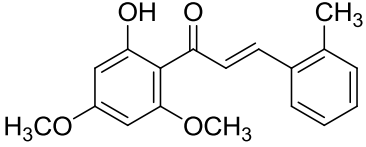
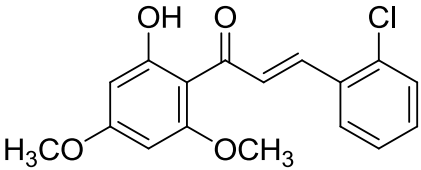
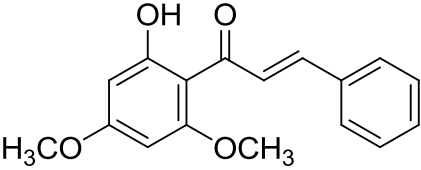
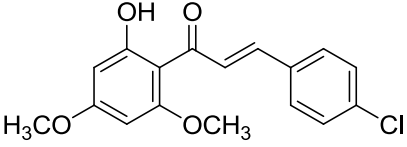
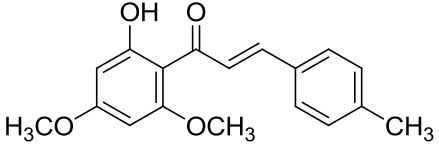
Η απουσία οποιουδήποτε υποκαταστάτη στη θέση 2 του αρωματικού δακτυλίου B δίνει τη χαλκόνη **4c** η οποία εμφανίζει ελάχιστα ασθενέστερη αντιοξειδωτική δράση ( $IC_{50}= 0,329$ ) από τη χαλκόνη **4b**.

Η χαλκόνη (**4a**) που διαθέτει μεθυλο- ομάδα στη θέση 2 του αρωματικού δακτυλίου B, η οποία λειτουργεί ως δότης ηλεκτρονίων, δεν παρουσιάζει ικανοποιητική αντιοξειδωτική δράση ( $IC_{50}= 0,416$  mM).

Σε αντίστοιχα πειράματα προηγούμενης έρευνας οι χαλκόνες που παρασκευάστηκαν διατηρούν το δομικό χαρακτηριστικό των μεθοξυ-ομάδων στις θέσεις 4' και 6' του δακτυλίου A και περιέχουν τις ομάδες του χλωρίου και του μεθυλίου ως υποκαταστάτες στη θέση 4 του αρωματικού δακτυλίου B. Όπως φαίνεται από τα αποτελέσματα του Πίνακα 5, η χαλκόνη **15** [45] που διαθέτει την ομάδα του χλωρίου στη θέση 4 παρουσιάζει ελάχιστα καλύτερη αντιοξειδωτική δράση ( $IC_{50}= 0,657$  mM) σε σχέση με αυτή που περιέχει τη μεθυλο- ομάδα στη θέση 4 ( $IC_{50}= 0,665$  mM).

Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα, συμπεραίνεται ότι η αντιοξειδωτική δράση των χαλκονών επηρεάζεται σε μεγαλύτερο ποσοστό από τη θέση του υποκαταστάτη στον δακτύλιο B και σε μικρότερο από την τάση του να έλκει ή να παρέχει ηλεκτρόνια επαγωγικά. Αυτό αποδεικνύεται από το γεγονός ότι η χαλκόνη **4a**, που περιέχει μεθύλιο στη θέση 2 εμφανίζει πολύ καλύτερη αντιοξειδωτική δράση από την αντίστοιχη χαλκόνη που περιέχει το μεθύλιο στη θέση 4. Αντίστοιχο φαινόμενο αλλά σε μικρότερη έκταση, παρατηρείται για τις χαλκόνες που περιέχουν Cl στις αντίστοιχες θέσεις.

**Πίνακας 6:** Αντιοξειδωτική δράση των υπό μελέτη χαλκονών

Δομή	Ικανότητα δέσμευσης H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> IC <sub>50</sub> (mM)
 <p>(4a)</p>	0,416±0,011
 <p>(4b)</p>	0,303
 <p>(4c)</p>	0,329
 <p>(15)</p>	0,657±0,016
 <p>(16)</p>	0,665±0,008

### 7.1.2 Αξιολόγηση της αντιλεισμανιακής δράσης ωρονών

Από τις ωρόνες που παρασκευάστηκαν οι **5a-5d** αξιολογήθηκαν *in vitro* για την αντιλεισμανιακή τους δράση έναντι της ενδοκυττάριας μορφής του παρασίτου *L. infantum* και ελέγχθηκαν ως προς την κυτταροτοξικότητά τους έναντι της κυτταρικής σειράς THP1. Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας, μαζί με αυτά προηγούμενης που πραγματοποιήθηκε από την ερευνητική ομάδα του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας, παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.

Η πρώτη σειρά ωρονών που εξετάστηκαν ήταν οι **AD15, AD17 AD38**, οι οποίες δεν περιέχουν υποκαταστάτες στο δακτύλιο A και έχουν μια μεθοξυ-ομάδα στις θέσεις 4', 2' και 3' του δακτυλίου B. Από τις ενώσεις αυτές, οι **AD15** και **AD17** εμφανίζουν αυξημένη κυτταροτοξικότητα και μόνο η **AD38** έχει χαμηλή κυτταροτοξικότητα και ικανοποιητική αντιλεισμανιακή δράση ( $IC_{50} = 4,73 \pm 0,53$ ).

Στη συνέχεια εξετάστηκαν οι ωρόνες **AD29** και **5d** οι οποίες διαθέτουν δύο μεθοξυ-ομάδες στις θέσεις 4 και 6 του δακτυλίου A και μια μεθοξυ-ομάδα στη θέση 4' και 2' του δακτυλίου B αντίστοιχα. Η **AD29** εμφανίζει υψηλή κυτταροτοξικότητα ενώ η **5d** είναι λιγότερο κυτταροτοξική και εμφανίζει πολύ καλή αντιλεισμανιακή δράση ( $IC_{50} = 1,31 \pm 0,11$ ).

Με βάση αυτά τα πρώτα αποτελέσματα, είναι προφανές ότι τα δομικά χαρακτηριστικά που ευνοούν τη δράση των ωρονών έναντι του παρασίτου *L. infantum* είναι

- A) η παρουσία δύο μεθοξυ-ομάδων στις θέσεις 4 και 6 του δακτυλίου A
- B) η παρουσία μιας μεθοξυ-ομάδας στη θέση 2' του δακτυλίου B

Οι νέες ωρόνες που παρασκευάστηκαν διατηρούν το δομικό χαρακτηριστικό των 2 μεθοξυ-ομάδων στις θέσεις 4 και 6 του δακτυλίου A και περιέχουν διαφορετικούς υποκαταστάτες στη θέση 2'.

Όπως φαίνεται από τα αποτελέσματα του Πίνακα 6, η παρουσία ομάδας-δέκτη ηλεκτρονίων (Cl) δίνει την ωρόνη **5b** που δεν είναι κυτταροτοξική (είναι η λιγότερο τοξική ένωση από όσες εξετάστηκαν σε αυτή την εργασία) αλλά δεν παρουσιάζει ικανοποιητική αντιλεισμανιακή δράση ( $IC_{50} = 12,2 \pm 1,41$ ).

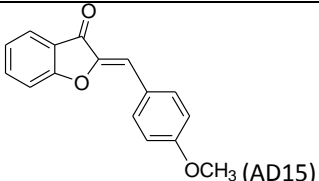
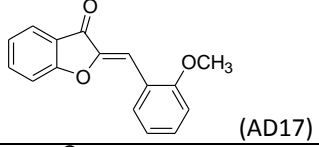
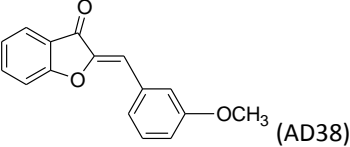
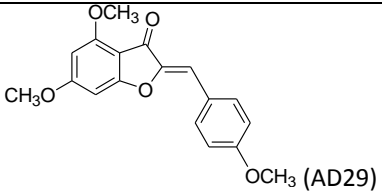
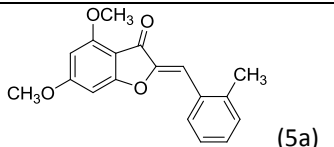
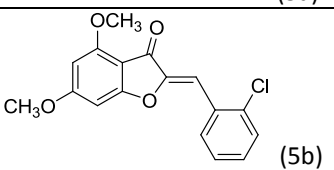
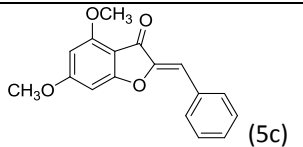
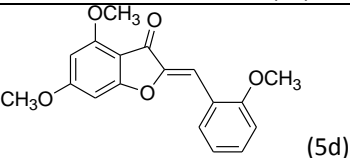
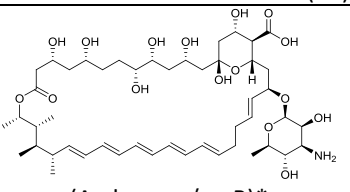
Η ωρόνη **5a** που διαθέτει μεθυλο-ομάδα στη θέση 2' (δότης ηλεκτρονίων αλλά μη οξυγονούχος υποκαταστάτης) παρουσιάζει αυξημένη κυτταροτοξικότητα ( $IC_{50} = 68,07 \pm 2,09$ ) αλλά και πολύ καλή αντιλεισμανιακή δράση ( $IC_{50} = 1,57 \pm 0,18$ ), συγκρίσιμη με αυτή της ωρόνης **5d**.

Η απουσία οποιουδήποτε υποκαταστάτη στη θέση 2' (ωρόνη **5c**) δίνει ένα προϊόν με

αυξημένη κυτταροτοξικότητα και ελαττωμένη αντιπαρασιτική δράση.

Συμπερασματικά, φαίνεται ότι η εμφάνιση αντιλειτουργικής δράσης εξαρτάται από τον ηλεκτρονιακό χαρακτήρα του υποκαταστάτη στη θέση 2' και συγκεκριμένα ενοείται από ομάδες-δότες ηλεκτρονίων όπως μεθυλο- και μεθοξυ-ομάδες. Επίσης, τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η ωρόνη **5d** εμφανίζει τη βέλτιστη αντιλειτουργική δράση συνδυασμένη με χαμηλή κυτταροτοξικότητα. Η ένωση **5d** μπορεί επομένως να αποτελέσει μόριο-οδηγό για τη σύνθεση και ανάπτυξη νέων αντιλειτουργικών φαρμάκων.

**Πίνακας 7:** Αντιλειψμανιακή δράση των υπό μελέτη ωρονών

Δομή	Τοξικότητα έναντι των κυττάρων THP1 IC50 (μM)	Αναστολή της ενδοκυττάριας μορφής της <i>L.</i> <i>infantum</i> IC50 (μM)
 (AD15)	56.5 ± 10.8	
 (AD17)	59.5 ± 5.4	
 (AD38)	81.2 ± 9.8	4.73 ± 0.53
 (AD29)	66.8 ± 4.4	
 (5a)	68.07 ± 2.09	1.57 ± 0.18
 (5b)	>100	12.2 ± 1.41
 (5c)	57.46 ± 3.42	2.14 ± 0.95
 (5d)	85.4 ± 6.4	1.31 ± 0.11
 (Αμφοτερικίνη Β)*		2

\*Η αμφοτερικίνη Β είναι αντιμυκητιασικό αντιβιοτικό που παράγεται από το *Streptomyces nodosus* [87]. Η αμφοτερικίνη Β είναι μια αμφοτερική πολυενική μακρολίδη (πολυενική = περιέχει πολλούς διπλούς



δεσμούς, μακρολίδη = περιέχει ένα μεγάλο λακτονικό δακτύλιο 12 ή περισσότερων ατόμων). Είναι σχεδόν αδιάλυτη στο νερό κι ως εκ τούτου παρασκευάζεται σαν ένα κολλοειδές εναιώρημα αμφοτερικίνης Β και δεσοξυχολικού νατρίου για ενδοφλέβια ένεση.

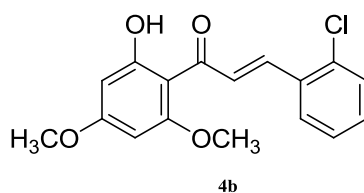
Η αμφοτερικίνη Β είναι είτε μυκητοκτόνο είτε μυκητοστατικό φάρμακο, ανάλογα με το μικροοργανισμό και τη συγκέντρωση του φαρμάκου. Είναι δραστική έναντι ενός ευρέος φάσματος μυκήτων, όπως *Candida albicans*, *Histoplasma capsulatum*, *Cryptococcus neoformans*, *Coccidioides immitis* πολλά είδη ασπέργιλλου και *Blastomyces dermatitidis*. Η αμφοτερικίνη Β χρησιμοποιείται επίσης στην πρωτοζωική λοίμωξη λειψμανίαση.

### 7.1.3 Συμπεράσματα

Στην παρούσα ερευνητική εργασία πραγματοποιήθηκε η σύνθεση, ο χαρακτηρισμός και η μελέτη της φαρμακευτικής δράσης δύο κατηγοριών χημικών ενώσεων. Ειδικότερα, συντέθηκαν πέντε χαλκόνες και πέντε ωρόνες, οι οποίες και μελετήθηκαν για την ενδεχόμενη αντιοξειδωτική και αντιλειψμανιακή δράση τους, αντίστοιχα. Επιπλέον, επιχειρήθηκε η αναγωγή των ωρονών, με στόχο να εξεταστεί η ενδεχόμενη αντιλειψμανιακή δράση των παραγώγων τους.

Οι μεθοδολογίες σύνθεσης των παραπάνω ενώσεων είναι σχετικά απλές και διέπονται από ικανοποιητικές αποδόσεις, ενώ οι απαιτούμενες για την παρασκευή τους πρώτες ύλες είτε είναι εμπορικά διαθέσιμες, είτε παρασκευάζονται εύκολα στο εργαστήριο. Επιπλέον, από συνθετική άποψη, οι ενώσεις αυτές ανήκουν στην κατηγορία των 'προνομιούχων δομών', δηλαδή πρόκειται για ενώσεις που μπορούν να τροποποιηθούν δομικά με μεγάλη ποικιλία υποκαταστατών. Το γεγονός αυτό έχει ως αποτέλεσμα να διαφοροποιείται η βιολογική δράση τους και να μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα για τη σχέση δομής-βιολογικής δραστηριότητας. Τα πλεονεκτήματα αυτά, καθιστούν τις χαλκόνες, τις ωρόνες και τα παράγωγα αναγωγής των ωρονών ελκυστικές ενώσεις-στόχους για την παρασκευή μεγάλου αριθμού αναλόγων ενώσεων (βιβλιοθήκες μορίων) και κατά συνέπεια διευκολύνεται η μελέτη δομής-δράσης.

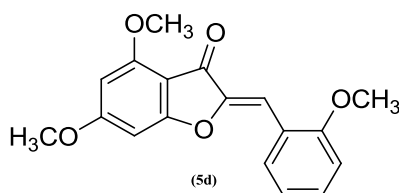
Όσον αφορά στην αντιοξειδωτική δράση, βέλτιστη συμπεριφορά παρουσίασε η χαλκόνη **4b**, που διαθέτει υποκαταστάτη Cl στη θέση 2 του δακτυλίου Β.



Σχήμα 87: Χημικός τύπος της 4',6'-διμεθοξυ-2'-υδροξυ-2-χλωρο-χαλκόνης

Επίσης, συμπεραίνεται ότι η αντιοξειδωτική δράση των χαλκονών επηρεάζεται σε μεγαλύτερο ποσοστό από τη θέση του υποκαταστάτη στον δακτύλιο B και σε μικρότερο από την τάση του να έλκει ή να παρέχει ηλεκτρόνια επαγωγικά. Αυτό αποδεικνύεται από το γεγονός ότι η χαλκόνη **4a**, που περιέχει μεθύλιο στη θέση 2 εμφανίζει πολύ χαμηλότερη αντιοξειδωτική δράση από την αντίστοιχη χαλκόνη που περιέχει το μεθύλιο στη θέση 4. Αντίστοιχο φαινόμενο αλλά σε μικρότερη έκταση, παρατηρείται για τις χαλκόνες που περιέχουν Cl στις αντίστοιχες θέσεις.

Όσον αφορά στην αντιλειτουργική δράση, προέκυψε ότι η ωρόνη **5d**, που περιέχει δύο μεθοξυ-ομάδες στις θέσεις 4 και 6 του δακτυλίου A και μία μεθοξυ-ομάδα στη θέση 2' του δακτυλίου B, εμφανίζει τη βέλτιστη συμπεριφορά, συνδυασμένη με χαμηλή κυτταροτοξικότητα. Η ένωση **5d** μπορεί επομένως να αποτελέσει μόριο-οδηγό για τη σύνθεση και ανάπτυξη νέων αντιλειτουργικών φαρμάκων.



Σχήμα 88: Χημικός τύπος της ωρόνης **5d**.

Συμπεραίνεται επομένως ότι το δομικό χαρακτηριστικό που ευνοεί τη δράση των ωρονών έναντι του παρασίτου *L. Infantum* είναι η παρουσία δύο μεθοξυ-ομάδων στις θέσεις 4 και 6 του δακτυλίου A. Ακόμα, προέκυψε ότι η εκδήλωση της αντιλειτουργικής δράσης εξαρτάται από τον ηλεκτρονιακό χαρακτήρα του υποκαταστάτη στη θέση 2' και ειδικότερα ευνοείται από ομάδες-δότες ηλεκτρονίων όπως μεθυλο- και μεθοξυ-ομάδες.

#### 7.1.4 Προτάσεις για περαιτέρω έρευνα

Η ενδιαφέρουσα αντιοξειδωτική δράση των χαλκονών και η πολλά υποσχόμενη αντιλεϊσμμανιακή δράση των ωρονών που συντέθηκαν, καθιστά ιδιαίτερα ελκυστικό το σχεδιασμό και τη σύνθεση νέων παραγώγων για μελλοντική έρευνα, με στόχο τη σύνθεση “βιβλιοθηκών” νέων χαλκονών και ωρονών, και περαιτέρω μελέτη της σχέσης δομής-βιολογικής δράσης.

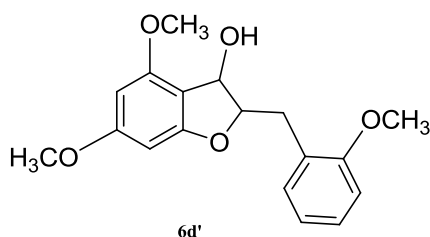
##### 7.1.4.1 Μελέτη δομικών τροποποιήσεων στους δακτυλίους των χαλκονών και των ωρονών

Μία πρώτη προσέγγιση για σύνθεση νέων ανάλογων βιοδραστικών μορίων, αφορά στη μελέτη δομικών τροποποιήσεων στους δακτυλίους των χαλκονών και των ωρονών. Ενδεικτικά, προτείνεται η σύνθεση νέων χαλκονών και ωρονών με την προσθήκη ως υποκαταστατών ομάδες δότες ή δέκτες ηλεκτρονίων σε διάφορες θέσεις των αρωματικών δακτυλίων A και B, καθώς επίσης και η εισαγωγή ετεροατόμου σε αυτούς. Οι τροποποιήσεις στο είδος, τον αριθμό και τη θέση των υποκαταστατών στους αρωματικούς δακτυλίους A και B των χαλκονών και των ωρονών είναι πιθανόν να οδηγήσει στη σύνθεση νέων βιοδραστικών μορίων με βελτιωμένη φαρμακευτική δράση.

##### 7.1.4.2 Μελέτη της αναγωγής των ωρονών

Στην παρούσα εργασία επιχειρήθηκε επίσης και η αναγωγή των ωρονών με χρήση καταλυτικής υδρογόνωσης μεταφοράς, χρησιμοποιώντας τον εστέρα του Hantzsch ως αναγωγικό μέσο, παρουσία διαλύτη αιθανόλης και με καταλύτη Pd/C, προκειμένου να μελετηθεί η σχέση δομής-αντιπαρασιτικής δράσης των παραγόμενων ενώσεων.

Η ένωση που παρασκευάστηκε με τη μεγαλύτερη καθαρότητα είναι η **6d**. Από τη φασματοσκοπική ανάλυση  $^1\text{H}$  NMR του συγκεκριμένου προϊόντος συμπεραίνεται ότι πρόκειται για μίγμα δύο ενώσεων σε αναλογία 10:6 και μάλιστα το ένα προϊόν είναι το επιθυμητό **6d** και το άλλο, στη μικρότερη αναλογία, είναι το προϊόν πλήρους αναγωγής **6d'**.



**Σχήμα 89:** Χημικός τύπος της ένωσης 6d'

Στο σημείο αυτό, αξίζει να σημειωθεί ότι η αναγωγή των ωρονών με τη μέθοδο της καταλυτικής υδρογόνωσης μεταφοράς, χρησιμοποιώντας ως αναγωγικό μέσο τον εστέρα του Hantzsch δεν έχει αναφερθεί μέχρι τώρα στη βιβλιογραφία. Η παρούσα ερευνητική εργασία δίνει το έναυσμα για τη μελέτη αυτής της αντίδρασης σε μεγαλύτερο βάθος, με στόχο την ανάπτυξη νέων μεθόδων για την επίτευξη της απομόνωσης του προϊόντος της εκλεκτικής αναγωγής. Ειδικότερα, προτείνεται η προσθήκη της ωρόνης και του εστέρα του Hantzsch σε διαφορετικές αναλογίες, η μεταβολή της θερμοκρασίας στην οποία αναπτύσσεται η αντίδραση, η διαφοροποίηση του χρόνου της αντίδρασης καθώς και η διερεύνηση της δυνατότητας αλλαγής του διαλύτη της αντίδρασης. Είναι πιθανόν οι τροποποιήσεις αυτές να οδηγήσουν στη σύνθεση και την απομόνωση των προϊόντων της εκλεκτικής αναγωγής σε ικανοποιητική καθαρότητα, παρέχοντας τη δυνατότητα πιο διεξοδικής και σφαιρικής μελέτης της σχέσης δομής-αντιλεισμανιακής δράσης τους.

## 7.2 Μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης των χαλκονών

### 7.2.1 Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης των χαλκονών

Η αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης των χαλκονών **4a-4c** πραγματοποιήθηκε με προσδιορισμό της ικανότητάς τους να δεσμεύουν το υπεροξειδίο του υδρογόνου, το οποίο συγκαταλέγεται στις πιο δραστικές οξειδωτικές μορφές.

Ο προσδιορισμός της ικανότητας των χαλκονών να δεσμεύουν το  $H_2O_2$  πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας της λουμινόλης.

#### Υπολογισμός της ικανότητας δέσμευσης του $H_2O_2$

Η μέτρηση της ικανότητας δέσμευσης του υπεροξειδίου του υδρογόνου υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας της λουμινόλης, όπως περιγράφηκε στην Ενότητα 2.1.3 (σελίδα 51). Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε φθορισμόμετρο LS55 Luminescence Spectrometer- Perkin Elmer.

#### Προετοιμασία του διαλύματος:

Ρυθμιστικό διάλυμα βορικού οξέος (0,0500 M) (ΔΙΑΛΥΜΑ Α): 3,10 g βορικού οξέος διαλύθηκαν σε 850 mL απιονισμένου νερού, στη συνέχεια, το pH ρυθμίστηκε στο 9,0 με διάλυμα NaOH 1N και αραιώθηκε μέχρι τελικού όγκου 1,000 L.

Διάλυμα λουμινόλης ( $5,60 \cdot 10^{-4}$  M) (ΔΙΑΛΥΜΑ Β): Ζυγίστηκαν 25,0 mg λουμινόλης και διαλύθηκαν σε ρυθμιστικό διάλυμα βορικού οξέος μέχρι τελικού όγκου 250,0 mL. Αυτό το διάλυμα διατηρήθηκε σε σκουρόχρωμη φιάλη.

Διάλυμα υπεροξειδίου του υδρογόνου ( $5,40 \cdot 10^{-3}$  M) (ΔΙΑΛΥΜΑ Γ): 11,0 mL εμπορικά διαθέσιμου υπεροξειδίου του υδρογόνου 30% w/w αραιώθηκαν με απιονισμένο νερό μέχρι όγκου 100,0 mL (1,08 M). 5,00 mL από αυτό το διάλυμα αραιώθηκαν σε 100,0 mL με απιονισμένο νερό ( $5,40 \cdot 10^{-2}$  M). Τέλος, 5,00 mL από το τελευταίο διάλυμα αραιώθηκαν σε 50,0 mL με απιονισμένο νερό. Το διάλυμα αυτό πρέπει να είναι προσφάτως παρασκευασμένο,

γιατί είναι ασταθές.

#### Προετοιμασία του δείγματος:

Τα δείγματα διαλύονται σε διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO) (συνολικός όγκος: 1,00 mL) ακριβώς πριν την ανάλυση. Παρασκευάστηκαν διαλύματα συγκεντρώσεων 0,8-3,0 mg/mL.

#### Διαδικασία:

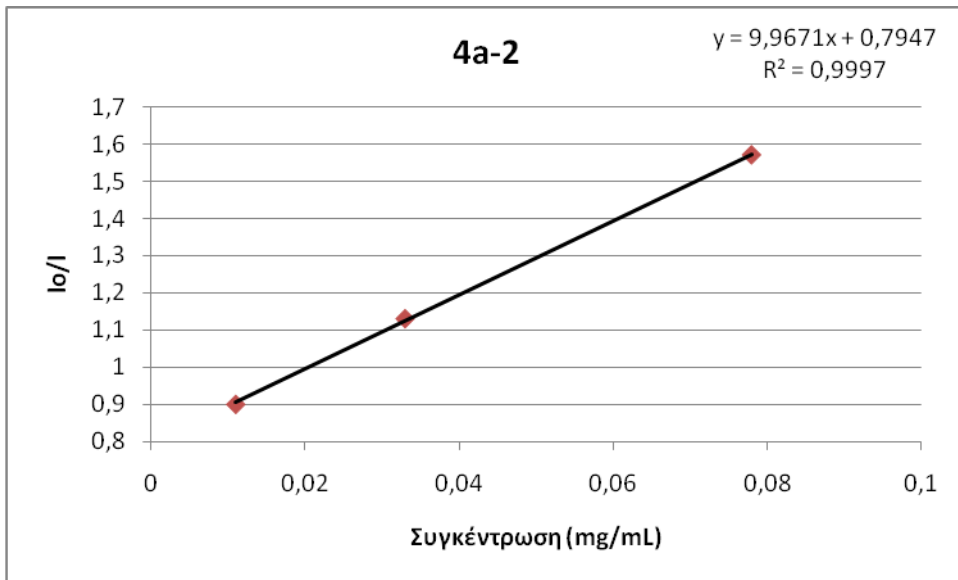
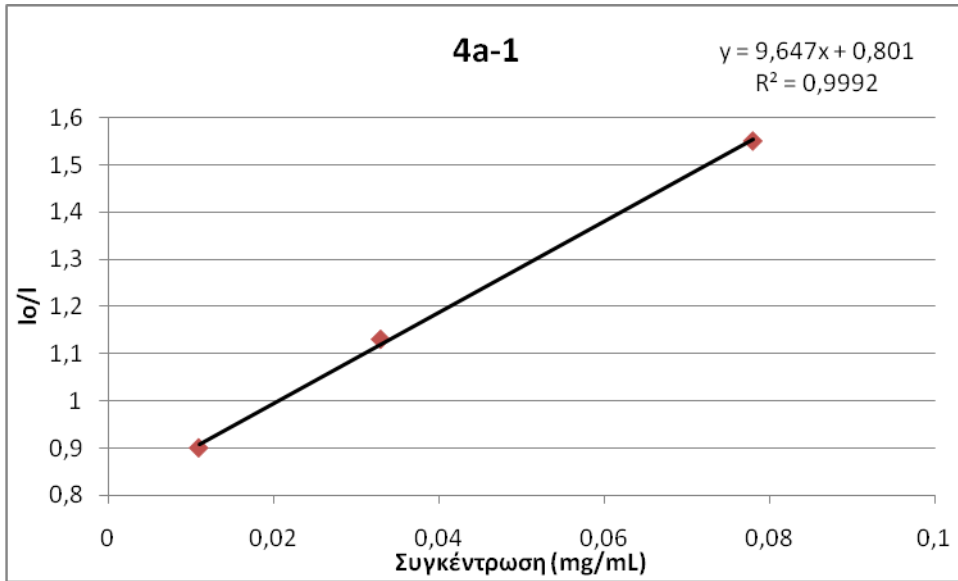
Βαθμονόμηση φθοριομετρικής διάταξης: Σε 1,00 mL ρυθμιστικού διαλύματος βορικού οξέος (ΔΙΑΛΥΜΑ Α) προστίθενται 8,4 mg  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 2,63mg EDTA και 0,10 mL διαλύματος λουμινόλης (ΔΙΑΛΥΜΑ Β). Το μίγμα αναδεύεται ισχυρά για 15s και σε αυτό προστίθεται 0,025mL διαλύματος υπεροξειδίου του υδρογόνου (ΔΙΑΛΥΜΑ Γ). Το προκύπτον μίγμα (τυφλό) αναδεύεται ισχυρά για 30s, μεταφέρεται σε γυάλινη κυψελίδα και η ένταση της χημειοφωταύγειας ( $I_0$ ) καταγράφεται όταν επιτευχθεί σταθερή ένταση φωτός (έως 1 min).

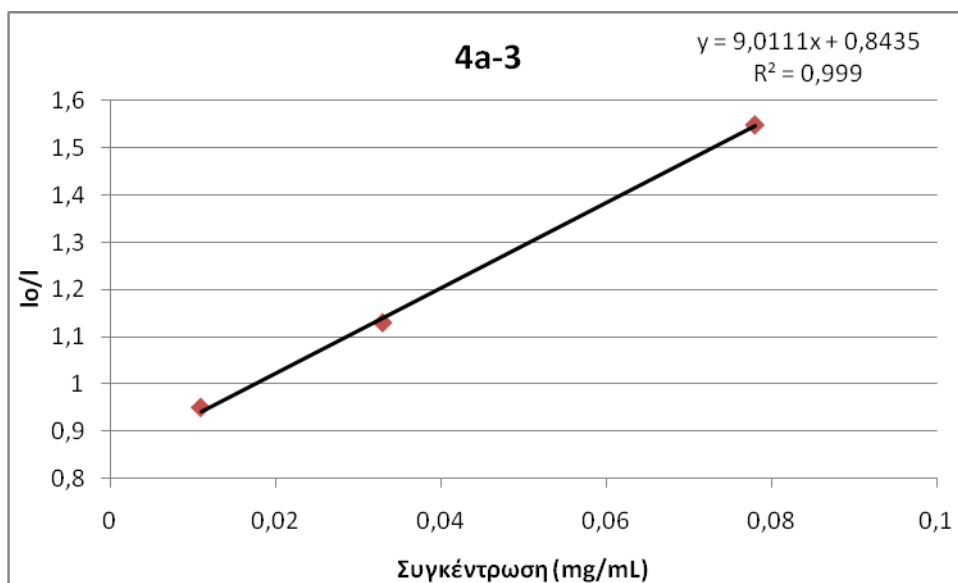
Μέτρηση των δειγμάτων: x  $\mu\text{L}$  διαλύματος του δείγματος προστίθενται στο μίγμα των διαλυμάτων Α, Β και Γ, όπως περιγράφηκε παραπάνω. Η ένταση της χημειοφωταύγειας ( $I$ ) καταγράφεται όταν επιτευχθεί σταθερή ένταση φωτός (έως 1min).

Το κάθε δείγμα μετρήθηκε σε τρεις συγκεντρώσεις, με προσθήκη κατάλληλου όγκου του διαλύματος των δειγμάτων (10,0  $\mu\text{L}$ -25,0  $\mu\text{L}$ -50,0  $\mu\text{L}$ ) και σε κάθε μια από αυτές, πραγματοποιήθηκαν τουλάχιστον τρεις μετρήσεις για εξασφάλιση μεγαλύτερης ακρίβειας.

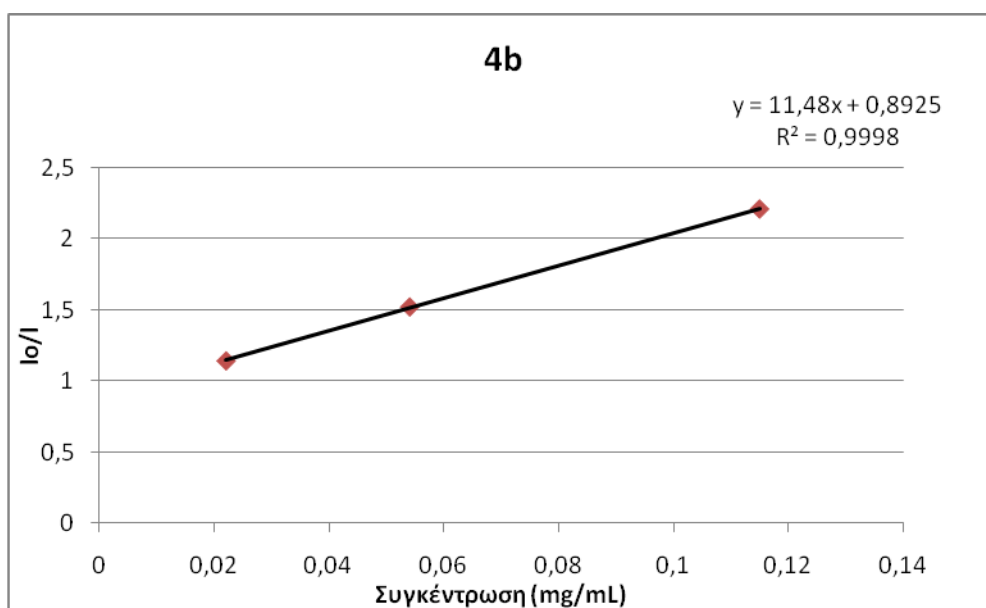
Στη συνέχεια υπολογίζεται ο λόγος  $I_0/I$  και γίνονται τα διαγράμματα  $I_0/I$  συναρτήσει της συγκέντρωσης του δείγματος (mg/mL). Η εξίσωση που συνδέει τα δύο αυτά μεγέθη, είναι γραμμική ( $y=ax+b$ ). Από την εξίσωση αυτή υπολογίστηκε η συγκέντρωση του δείγματος ( $IC_{50}$ ). Η  $IC_{50}$ , που αντιπροσωπεύει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

Τρία αντιπροσωπευτικά παραδείγματα της γραμμικής απεικόνισης που περιγράφηκε παραπάνω παρουσιάζονται στα σχήματα 87-89.



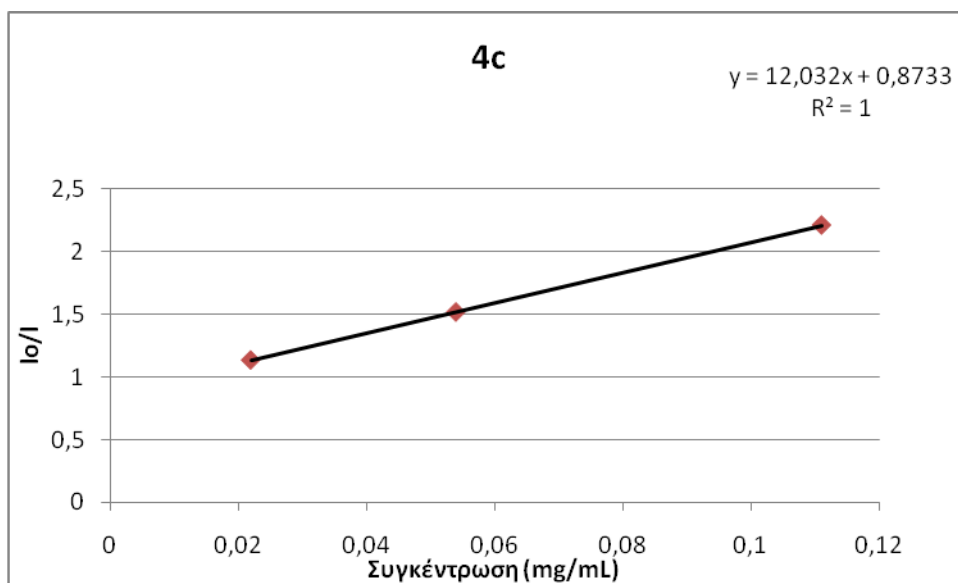


**Εικόνα 22:** Η σχέση συγκέντρωσης προς το Io/I για την ένωση 4a



**Εικόνα 23:** Η σχέση συγκέντρωσης προς το Io/I για την ένωση 4b





**Εικόνα 24:** Η σχέση συγκέντρωσης προς το  $I_0/I$  για την ένωση 4c

## 7.3 Αντιπαρασιτική Δράση έναντι της Σπλαχνικής Λεισμανίασης

### 7.3.1 Υλικά και μέθοδοι

Η αντιπαρασιτική δράση των νέων παραγώγων (5a-5d) έναντι της σπλαχνικής λεισμανίασης, αξιολογήθηκε με καλλιέργεια του παρασίτου *Leishmania Infantum* (MOM/MA671TMAP263) το οποίο ευθύνεται για αυτήν τη μορφή της νόσου. Τόσο η μαστιγοφόρα μορφή του παρασίτου (promastigotes), όσο και η μη μαστιγοφόρα (amastigotes), καλλιεργήθηκε in vitro κάτω από διαφορετικές πειραματικές συνθήκες κάθε φορά.

#### Υλικό ανάπτυξης των προμαστιγωτών μορφών

Στην παρούσα μέθοδο χρησιμοποιήθηκε ως θρεπτικό υλικό καλλιέργειας ευκαρυωτικών κυττάρων το RPMI 1640 medium (Bio Whittaker, Belgium), εμπλουτισμένο με 10% (v/v) θερμικά απενεργοποιημένο εμβρυικό ορό βοοειδών FBS (Fetal Bovine Serum), (Bio Whittaker, Belgium). Σε αυτό προστέθηκε επίσης 2 mM L – γλουταμίνης (Bio Whittaker, Belgium), 20 mM ρυθμιστικού διαλύματος Hepes (N-2-υδροξύ-αιθυλ-πιπεραζινο-N'-2-αιθανοσουλφονικό οξύ), (Bio Whittaker, Belgium), καθώς και ποσότητα αντιβιοτικών όπως 100 U/mL πενικιλίνης και 100 μg/mL στρεπτομυκίνης (Bio Whittaker, Belgium), η χρήση των οποίων είναι απαραίτητη σε αυτά τα θρεπτικά υλικά ώστε να αποφεύγονται μολύνσεις από βακτήρια.

Η επιλογή των παρασίτων που παρουσίασαν θετική έκφραση στο γονίδιο της λουσιφεράσης (luciferase gene (LUC)), πραγματοποιήθηκε με την ενδιάμεση προσθήκη στην καλλιέργεια geneticin-sulphate (Sigma-Aldrich, USA) σε μια τελική συγκέντρωση των 5 μg/mL. Οι προμαστιγωτές αυτές μορφές του παρασίτου επώαστηκαν στους 26°C προσθέτοντας 106 παράσιτα/mL κάθε πέντε ημέρες, με καταγραφή του ρυθμού ανάπτυξης τους κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας.

#### Υλικό ανάπτυξης των αμαστιγωτών μορφών

Η στείρα, μη μαστιγοφόρος μορφή του παρασίτου προήλθε ύστερα από καλλιέργεια της μαστιγοφόρου του μορφής σε MAA (Medium for Axenic Amastigotes). Το MAA αποτελείται

από το τροποποιημένο θρεπτικό υλικό medium 199 σε συνδυασμό με το ισότονο αλατούχο διάλυμα του Hank (Gibco-Invitrogen, Spain), εμπλουτισμένο με 0,5 % ζωμό σόγιας τρύπτο-καζείνης (Bio-Rad, UK), 15 mM D-γλυκόζης (Panreac, Spain) και 4 mM NaHCO<sub>3</sub> (Sigma-Aldrich, USA). Η τιμή του pH της καλλιέργειας σταθεροποιήθηκε στο 5,8, και ύστερα από διήθηση, το αποστειρωμένο μέσο (0,2 μm) εμπλουτίστηκε επιπλέον με 0,023 mM αιμίνη βοοειδών (bovine hemin), (Fluka, USA), 5 mM L-γλουταμίνης και 25% θερμικά απενεργοποιημένο FBS. Οι αμαστιγωτές μορφές του παρασίτου επώαστηκαν στους 37°C σε ατμόσφαιρα που περιείχε 5% CO<sub>2</sub>, προσθέτοντας 105 παράσιτα/mL κάθε πέντε ημέρες.

### Κυτταρικές σειρές

Τα ανθρώπινα μονοκύτταρα λευχαιμίας THP1, καλλιεργήθηκαν μονοστρωματικά στους 37°C σε υγροποιημένη ατμόσφαιρα που περιείχε 5% CO<sub>2</sub>, με θρεπτικό υλικό το RPMI 1640 medium, εμπλουτισμένο με 10% θερμικά απενεργοποιημένο εμβρυικό ορό βοοειδών FBS, 2 mM L-γλουταμίνης, 100 U/mL πενικιλίνης και 100 μg/mL στρεπτομυκίνης.

Προσθήκη επιπλέον κυττάρων γινόταν κάθε τρεις μέρες.

### 7.3.2 Μελέτη τοξικότητας ωρονών THP1 σε διαφοροποιημένα μακροφάγα

Οι κυτταροκαλλιέργειες αποτελούν ένα ανοσολογικά ανενεργό σύστημα, που παρέχει τη δυνατότητα μελέτης σε ότι αφορά την επίδραση του φαρμάκου στο κύτταρο ξενιστή έχοντας ταυτόχρονα μια ένδειξη του επιπέδου τοξικότητας του φαρμάκου κατά του κυττάρου ξενιστή.

Για τη διαφοροποίηση των μακροφάγων, τα ανθρώπινα κύτταρα THP1 επώαστηκαν σε περιβάλλον που περιείχε 5% CO<sub>2</sub>, αποτελούμενο από 20 ng/mL phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA, Sigma-Aldrich) για 18 ώρες στους 37°C, και παρέμειναν άλλες 24 ώρες σε καινούργιο περιβάλλον χωρίς την προσθήκη PMA με σκοπό την ωρίμανση των κυττάρων.

Κάθε κινολινη-χαλκόνη διαλύθηκε σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονταν από 50 - 1,56 μM, were added to the wells, in quadruplicate, και επώαστηκαν για 72 ώρες στους 37°C, σε ατμόσφαιρα 5% CO<sub>2</sub>. Η βιωσιμότητα κυττάρων αξιολογήθηκε από τη δοκιμή MTT.

### 7.3.3 Αναστολή ανάπτυξης

Η προμαστιγωτή μορφή του παρασίτου *Leishmania infantum*, επώσθηκε σε διαφορετικές κάθε φορά συγκεντρώσεις για μια περίοδο τριών ημερών στους 27°C, ξεκινώντας από τη συγκέντρωση των 100 μΜ. Τα THP1 διαφοροποιημένα μακροφάγα επιμολύνθηκαν για μια περίοδο 4 ωρών, με αναλογία αμαστίγωτα παράσιτα προς μακροφάγα 5:1. Μετά από την περίοδο επιμόλυνσης, τα κύτταρα εκπλύθηκαν με μέσο καλλιέργειας για να απομακρυνθούν τα μη ενσωματωμένα παράσιτα.

Διαλύματα των υπό εξέταση ενώσεων με συγκεντρώσεις 50-0,78 μΜ, προστέθηκαν στα κελιά εις τετραπλούν, και επώσθηκαν για 72 ώρες στους 37°C, παρουσία 5% CO<sub>2</sub>. Μετά από την περίοδο επώασης προσδιορίστηκε η δραστηριότητα της λουσιφεράσης των ενδοκυτταρικών αμαστιγωτών.

## Βιβλιογραφία

1. Mukohata Y., Nakabayashi S., Higashida M., ‘Quercetin, an energy transfer inhibitor in phosphorylation’, *FEBS Lett*, (1978), 85: 215-218
2. Τσιμογιάννης Δ., ‘Αντιοξειδωτική δράση φλαβονοειδών ενώσεων και εκχυλισμάτων αρωματικών φυτών: αναγωγή ελευθέρων ριζών και προστασία φυτικών ελαίων’, Διδακτορική Διατριβή, ΕΜΠ, 2008
3. Andersen Ø. M., Markham K. R., *Flavonoids Chemistry, Biochemistry and Applications*, (2006), Taylor & Francis Group
4. Grotewold E., ‘The Science of Flavonoids’, (2006) Springer
5. Detsi A., Kontogiorgis C. Hadjipavlou-Litina A, Kefalas D. P., ‘Chalcones and Aurones as Promising Molecular Scaffolds with Antioxidant and Lipoxygenase Inhibitory Activity’, 14th Hellenic Symposium on Medicinal Chemistry, Thessaloniki, April 23-25 2010
6. Biesalski H. K., Grimm P., *Εγχειρίδιο διατροφής*, Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, (2008)
7. Buhler D., Miranda C ‘Antioxidant Activities of Flavonoids’.(2000) (διαθέσιμο στη σελίδα: <http://lpi.oregonstate.edu/f-w00/flavonoid.html>)
8. MacLaren, A., Attias, M., de Souza, W., ‘Aspects of the early moments of interaction between tachyzoites of *Toxoplasma gondii* with neutrophils’.*Vet.Parasitol.* (2004) 125, 301–312.
9. Forney J.R., DeWald D.B., Yang S., Speer C.A., Healey MC., ‘A role for host phosphoinositide 3-kinase and cytoskeletal remodeling during *Cryptosporidium parvum* infection’., *Infect Immun.*(1999), 67(2):844-52.
10. Kayser O., Kiderlen A.F., Croft S.L., ‘Natural products as antiparasitic drugs’, *Parasitol Res* (2003) 90: S55–S62
11. Ribeiro A, Pilo-Veloso D, Romanha AJ, Zani CL, ‘Trypanocidal flavonoids from *Trixis vauthieri*’.*J Nat Prod*, (1997), 60:836–841
12. Gale M Jr, Carter V, Parsons M, ‘Cell cycle-specific induction of an 89 kDa serine/threonine protein kinase activity in *Trypanosoma brucei*’. *J Cell Sci* (1994), 107:1825–1832
13. Elford BC, Roberts MF, Phillipson JD, Wilson RJ, ‘Potentiation of the antimalarial activity of qinghaosu by methoxylated flavones’.*Trans R Soc Trop Med Hyg*,

(1987) 81:434–436

14. Ververidis F., Trantas E., Douglas C., Vollmer G., Kretzschmar G., Panopoulos N. (2007). "Biotechnology of flavonoids and other phenylpropanoid-derived natural products. Part I: Chemical diversity, impacts on plant biology and human health". *Biotechnology Journal* 2 (10): 1214
15. Giannasi D. E., 'The Flavonoid Systematics of the Genus Dahlia'. (1975), New York Botanical Garden Pr Dept,
16. Crawford D.J. and Stuessy T.F., 'The Taxonomic Significance of Anthoclores in the Subtribe Coreopsidinae (Compositae, Heliantheae)' *Am. J. Botany*, (1981), 68, 107
17. Chen M., Theander T.G., Christensen S.B., Hviid L., Zhai L., Kharazmi A., 'Licochalcone A, a new antimalarial agent, inhibits in vitro growth of the human malaria parasite Plasmodium falciparum and protects mice from P. yoelii infection'. *Antimicrob Agents Chemother.* (1994);38(7):1470-5.
18. Stevens J. F. , Page J. E. , 'Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer: to your good health'! *Phytochemistry*65, 10, (2004), 1317-1330
19. Slimestad, R.; Verheul, M. J. 'Content of chalconaringenin and chlorogenic acid in cherry tomatoes is strongly reduced during postharvest ripening'. *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53, 7251–7256
20. Lee J.-H., Jung H. S., Giang P. M., Jin X., Lee S., Son P. T., Lee D., Hong Y.-S., Lee K., Lee J. J. 'Blockade of Nuclear Factor- $\kappa$ B Signaling Pathway and Anti-Inflammatory Activity of Cardamomin, a Chalcone Analog from *Alpinia conchigera*'. *JPharmacolExpTher* January (2006) 316:271-278
21. Ahmad S, Israf DA, Lajis NH, Shaari K, Mohamed H, Wahab AA, Ariffin KT, Hoo WY, Aziz NA, Kadir AA, Sulaiman MR, Somchit MN. 'Cardamonin, inhibits pro-inflammatory mediators in activated RAW 264.7 cells and whole blood'. *Eur J Pharmacol.* (2006); 538(1-3):188-94.
22. Côté CS, Kor C, Cohen J, Auclair K. 'Composition and biological activity of traditional and commercial kava extracts'. *BiochemBiophysResCommun.* (2004) 322(1):147-52.
23. Bandgar B. P., Gawande S. S., Bodade R. G., Totre J. V., Khobragade C. N. 'Synthesis and biological evaluation of simple methoxylated chalcones as anticancer, anti-inflammatory and antioxidant agents'. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 18 (2010) 1364–1370
24. Cheng J.-H., Hung C.-F., Yang S.-C., Wang J.-P., S.-J. Won, C.-N. Lin 'Synthesis and cytotoxic, anti-inflammatory, and anti-oxidant activities of 2',5'-

dialkoxylchalcones as cancer chemopreventive agents'. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 16 (2008) 7270–7276

25. Katsori A.-M., Hadjipavlou-Litina D., 'Recent progress in therapeutic applications of chalcones', *Expert Opin Ther Pat.*, (2011), (διαθέσιμο στη σελίδα: <http://informahealthcare.com/doi/abs/10.1517/13543776.2011.596529>)

26. Samoszuk M. Tan J. Chorn G. 'The chalcone butein from *Rhus verniciflua* Stokes inhibits clonogenic growth of human breast cancer cells co-cultured with fibroblasts'. *BMC Complementary and Alternative Medicine* (2005), 5:5

27. Kanazawa M, Satomi Y, Mizutani Y, Ukimura O, Kawauchi A, Sakai T, Baba M, Okuyama T, Nishino H, Miki T. 'Isoliquiritigenin inhibits the growth of prostate cancer'. *Eur Urol.* (2003) 43 (5):580-6

28. Nowakowska Z. 'A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones'. *Eur J Med Chem.* (2007) 42(2):125-37.

29. Yenesew A.; Duli M.; Derese S.; Midiwo J.O.; Heydenreich M.; Peter M.G.; Akala H.; Wangui J.; Liyala P.; Waters N.C.; 'Anti-plasmodial flavonoids from the stem bark of *Erythrina abyssinica*' *Phytochemistry*, 2004, 65, 3029-3032

30. Narender T., Shweta, Tanvir K., Srinivasa Rao M., Srivastava K. and Puri S. K. 'Prenylated chalcones isolated from *Crotalaria* genus inhibits in vitro growth of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*'. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 15 (2005) 2453–2455

31. Aponte JC, Verástegui M, Málaga E, Zimic M, Quiliano M, Vaisberg AJ, Gilman RH, Hammond GB. 'Synthesis, cytotoxicity, and anti-*Trypanosoma cruzi* activity of new chalcones'. *J Med Chem.* (2008), 51(19):6230-4.

32. Markham, K.R., Geiger, H., <sup>1</sup>H nuclear magnetic resonance spectroscopy of flavonoids and their glycosides in hexadeuterodimethylsulfoxide. In: Harborne, J.B. (Ed.), *The Flavonoids Advances in Research since 1986. Chapman and Hall, London, (1994)* pp. 441–497.

33. Ur-Rahman A., Choudhary, M.I., Hayat, S., Khan, A.M., Ahmed, A., 'Two new aurones from marine brown alga *Spatoglossum variabile*'. (2001). *Chem. Pharm. Bull.* 49, 105

34. Sim H.-M., Lee C.-Y., Ee P. L. R., Go M.-L., 'Dimethoxyaurones: Potent inhibitors of ABCG2 (breast cancer resistance protein)'. *European journal of pharmaceutical sciences*, 35 (2008) 293–306

35. Ono E, Hatayama M, Isono Y, Sato T, Watanabe R, Yonekura-Sakakibara K, Fukuchi-Mizutani M, Tanaka Y, Kusumi T, Tanaka Y. 'Localization of a flavonoid biosynthetic

polyphenol oxidase in vacuoles'. *Plant J* (2006) 45: 133–143.

36. Kayser O., Kiderlen A.F., 'Leishmanicidal activity of aurones'. *Tokai J Exp Clin Med.* (1998), 23(6):423-6.

37. Kayser O., Kiderlen A.F., Brun R., 'In vitro activity of aurones against Plasmodium falciparum strains K1 and NF54'. *Planta Med.*,(2001a), 67(8):718-21.

38. Kayser O., Waters W.R., Woods K.M., Upton S.J., Keithly J.S., Kiderlen A.F., 'Evaluation of in vitro activity of aurones and related compounds against *Cryptosporidium parvum*'. *Planta Med.*(2001b), 67(8):722-5.

39. McMurry J., 'Οργανική Χημεία', Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, Πέμπτη Έκδοση, (2007), 463-464, 687, 925-926

40. Magela, V.; Junior, G.; Sousa, C. M. de M.; Cavaleiro, A. J.; Lago, J. H. G.; Chaves, M. H. 'Synthesis and biological evaluation of a novel series of 2,2-bisaminomethylated aurone analogues as anti-inflammatory and antimicrobial agents'. *Helv. Chim. Acta* (2008), 91, 2159

41. Okombi, S., Rival, D., Bonnet, S., Mariotte, A., Perrier, E., Boumendjel, A., 'Discovery of benzylidenebenzofuran-3(2H)-one (aurones) as inhibitors of tyrosinase derived from human melanocytes'. *J. Med. Chem.* (2006) 49, 329–333.

42. Lee C.-Y., Chew E.-H., Go M.-L. 'Functionalized aurones as inducers of NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 that activate AhR/XRE and Nrf2/ARE signaling pathways: Synthesis, evaluation and SAR'. *European Journal of Medicinal Chemistry* (2010), 45, 2957-2971

43. Kayser O., Chen M., Kharazmi A., Kiderlen A.F., 'Aurones interfere with *Leishmania major* mitochondrial fumarate reductase'. *Z Naturforsch C.*(2002), 57(7-8):717-20.

44. Kayser O., Kiderlen A.F., Folkens U., Kolodziej H., 'In vitro leishmanicidal activity of aurones'. *Planta Med.*(1999), 65(4):316-9.

45. Detsi A., Majdalani M., Kontogiorgis C. A., Hadjipavlou-Litina D., Kefalas P., 'Natural and synthetic 20-hydroxy-chalcones and aurones: Synthesis, characterization and evaluation of the antioxidant and soybean lipoxygenase inhibitory activity'. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* (2009) 17 8073–8085

46. Παπαδοπούλου Α., 'Ο ρόλος των δραστικών μορφών οξυγόνου στην κυτταρική επιβίωση και απόπτωση', (2007), Διπλωματική εργασία

47. Mandal S., Yadav S., Yadav S., Nema R. K., 'Antioxidants: A Review', , *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, (2009) 1 (1):102-104



48. Devlin T. M. Βιοχημεία: Κλινικοί συσχετισμοί, Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, (2007)
49. Κρεμαστινός Δ. Θ. Καρδιολογία, Εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης, 2η έκδοση (2009)
50. Huether S.E. & McCance K.L., ‘Understanding Pathophysiology’, (2008), Mosby Elsevier
51. Champe P., Harvey R., Ferrier D., ‘Lippincot’s Illustrated Reviews: Biochemistry’. (2008) Walters Kluwer, Lippincott Williams and Wilkins
52. Garcia-Campana A.M., Bayens W. R. G., Historical evolution of chemiluminescence. In ‘Chemiluminescence in Analytical Chemistry’. Marcel Dekker. New York, 2001
53. Nieman, T., Detection based on solution phase chemiluminescence systems. In ‘Chemiluminescence and Photochemical Reaction Detection in Chromatography’. Birks J. W., Ed. VCH: New York 1989
54. Miyazawa T., Fujimoto K., Suzuki T., Yasuda K., Determination of phospholipids hydroperoxides using luminol chemiluminescence high performance liquid-chromatography. *Enzym. Methods.* 1994, 233, 324- 332
55. Lissi E., Pascual C., Del Castillo M. D., Luminol luminescence by 2,2’- azo-bis-(2-amidinopropane) thermolysis. *Free Rad. Commun.* 1992, 17, 299-311.
56. Parejo I., Petrakis C., Kefalas P., A transition metal enhanced luminol chemiluminescence in the presence of a chelator. *J. Pharm. Toxicol. Methods.* 2000, 43, 183-190.
57. Yildiz G, Demiryurek A. T., Ferrous iron-induced luminol chemiluminescence: a method for hydroxyl radical study. *J. Pharm. Toxicol. Methods.* 1998, 39, 179-184.
58. Tortora G. J., Funke B. R., Case C.L., Εισαγωγή στη μικροβιολογία, Εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης, (2009)
59. Koutis C., Special Epidemiology. Editions, Technological Educational Institute of Athens. Athens 2007, Geece
60. Committee on Infectious Diseases American Academy of Pediatrics, Red Book: 2006 Report of the Committee on Infectious Diseases, Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, (2009)
61. Desjeux P., ‘Prevention of Leishmania donovani infection’., *BMJ*, (2010), 341
62. Zavitsanou A., Koutis C., Babatsikou F. ‘Leishmaniasis: An Overlooked Public Health Concern’., *Health Science Journal*, (2008), 2, 4
63. Cunha S, Freire M, Eulalio C, Cristovao J, Netto E, Johnson WD, et al. ‘Visceral

leishmaniasis in a new ecological niche near a major metropolitan area of Brazil'. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg*, (1995), 89:155-8.

64. Aguilar CM, Fernandez E, Cannova DC, Ferrer E, Cabrera Z, Souza WJ, et al. 'Urban visceral leishmaniasis in Venezuela'. *Mem do Inst Osw Crus*, (1998), 93:15-16.

65. Thakur CP. 'Socio-economics of visceral leishmaniasis in Bihar (India)'. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg*, (2000), 94:156-7.

66. Cref BJ, Jones TC, Badar R, Sampaio D, Teixeira R, Johnson WDJ. 'Malnutrition as a risk factor for severe visceral leishmaniasis'. *J Infect Dis*, (1987); 156:1030-3.

67. Θεραπευτική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών Παθολογικός Τομέας ΠΓΝ Αλεξάνδρα, 'Θεραπευτική των Συχνότερων Νοσημάτων Εσωτερικής Παθολογίας', Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, (2008)

68. WHO, Tropical disease research: progress 1995-96, (1997), (διαθέσιμο στη σελίδα: <http://apps.who.int/tdr/svc/publications/about-tdr/progress-reports/progress-report-95-96>)

69. Srivastava Y.K., 'Ecofriendly Microwave Assisted Synthesis Of Some Chalcones', *Rasayan J. Chem.* (2008) 1:4, 884-886

70. Eddarir S., Cotelte N., Bakkou Y., Rolando C., 'An Efficient Synthesis Of Chalcones Based On The Suzuki Reaction', (2003), *Tetrahedron Letters*, 44, 5359-5363

71. Fan, X.-S., Zhang, Y.-M. 'A Simple Access to Chalcones via Modified Mukaiyama Aldol Condensation Promoted by SmI<sub>2</sub>/TMSCl'. *Chinese Journal of Chemistry* (2002), 20, 198-201

72. Thirunarayanan, G.; Gopalakrishnan, M.; Vanangamudi, G. 'IR and NMR spectral studies of 4-bromo-1-naphthyl chalcones-assessment of substituent effects', *Spectrochimica Acta Part A* (2007), 67, 1106-1112

73. Arunima and N. D. Kurur, 'Ortho effect in fluorobenzenes: cross-correlated relaxation and quantum chemical studies', *Magn. Reson. Chem.*, (2005); 43: 132-138

74. Sekizaki H., Synthesis of 2-Benzylidene-3-(2H)-benzofuran-3-ones (Aurones) by Oxidation of 2'-Hydrochalcones with Mercury (II) Acetate', *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, (1988), 61, 1407-1409

75. Venkateswarlu, S.; Panchagnula, G. K.; Gottumukkala, A. L.; Subbaraju, G. V. Synthesis, structural revision, and biological activities of 40-chloroaurone, a metabolite of marine brown alga *Spatoglossum variabile*. *Tetrahedron*, (2007), 63, 6909

76. Zhao W., Sun J., Xiang H., Zeng Y.-y., Li X.-b, Xiao H., Chen D.-y., Ma R.-l.

'Synthesis and biological evaluation of new flavonoid fatty acid esters with anti-adipogenic and enhancing glucose consumption activities'. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 19 (2011) 3192–3203

77. Usami Y. 'Recent Synthetic Studies Leading to Structural Revisions of Marine Natural Products'. *Mar. Drugs* (2009), 7, 314-330

78. Kurosawa K., Higuchi J., 'Study on Oxidation of Chalcones with Lead Tetraacetate and Manganic Acetate'. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, (1972), 45, 1132-1136

79. Donnelly J. A., Higginbotham C. L., 'Flavone formation in the wheeler aurone synthesis'. *Tetrahedron* (1990), 46; 20, 7219-7226

80. Varma R. S. and Varma M. 'Alumina-Mediated Condensation. A Simple Synthesis Of Aurones'. *Tetrahedron Letters*, (1992), 33, 40, 5937-3940

81. Beney, C., Mariotte, A.-M., Boumendjel, A., 'An efficient synthesis of 4,6 dimethoxyaurones'. *Heterocycles* (2001) 55, 967–972

82. Thakkar, K., Cushman, M., 'A novel oxidative cyclization of 2'-hydroxychalcones to 4,5-dialkoxyaurones by thallium(III) nitrate'. *J. Org. Chem.* (1995) 60, 6499–6510

83. Pelter, A., Ward, R.S., Heller, H.G., 'Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectra of (Z)- and (E)-aurones'. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* (1979) 1, 328–329

84. Tuttle J. Structure, Mechanism and Reactivity of Hantzsch Esters (2004)

85. Liu Q., Li J., Shen X.-X., Xing R.-G., Yang J., Liu Z., Zhou B. (2009), 'Hydrogenation of olefins using Hantzsch ester catalyzed by palladium on carbon'. *Tetrahedron Letters*, 50, 1026–1028

86. Nakamichi N., Kawashita Y., Hayashi M. 'Oxidative Aromatization of 1,3,5-Trisubstituted Pyrazolines and Hantzsch 1,4-Dihydropyridines by Pd/C in Acetic Acid'. *Org. Lett.* (2002), 4,3955

87. Katzung B.G., 'Βασική και Κλινική Φαρμακολογία'. 2009, Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης

88. Howland R.D., Mycek M.J., 'Φαρμακολογία' 2007, Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης

89. Ichino K., Tanaka H., Ito K., Tanaka T., Mizuno M. 'Synthesis of Helilandin B, Pashanone, and their Isomers'. *Journal of Natural Products*, (1988), 51, 5, 906-914

90. Boeck C P., Leal P. C., Yunes R. A., Filho V. C., Lopez S., Sortino M., Escalante A., Furlan R. L. E., Zacchino S. 'Antifungal Activity and Studies on Mode of Action of Novel Xanthoxyline-Derived Chalcones' *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* 2005, 338, 87–95

91. Hu N., Ty Y.-P., Liu Y., Jiang K., Pan Y.. 'Dissociative Protonation and Proton

Trnasfers: Fragmentation of  $\alpha,\beta$ -Unsaturated Aromatic Ketones in Mass Spectrometry', *Journal of Organic Chemistry*, (2008), 73, 3369-3376

## Πηγές εικόνων

### Εικόνα 1:

[http://lh6.ggpht.com/luirig/R5rtApTdIJI/AAAAAAAAABRg/nrDKgbhL5aw/artemisia\\_a  
nnua\\_36.jpg](http://lh6.ggpht.com/luirig/R5rtApTdIJI/AAAAAAAAABRg/nrDKgbhL5aw/artemisia_a<br/>nnua_36.jpg)

### Εικόνα 2:

[www.hlasek.com/glycyrrhiza\\_echinata\\_af1386.html](http://www.hlasek.com/glycyrrhiza_echinata_af1386.html)

### Εικόνα 3:

[http://www.fzrm.com/plantextracts/plantextractsimages/Rhizoma\\_Zingiberis\\_Recens\\_E  
xtract.jpg](http://www.fzrm.com/plantextracts/plantextractsimages/Rhizoma_Zingiberis_Recens_E<br/>xtract.jpg)

### Εικόνα 4:

<http://botanical.com/botanical/mgmh/m/matico24-1.jpg>

### Εικόνα 5:

Kemp W. L., Burns D. K., Brown T. G., 'Εικόνες Παθολογοανατομίας', Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, (2010)

### Εικόνα 6:

<http://goveg360.com/blog/wp-content/uploads/2011/02/vegan-vitamin-e.jpg>

### Εικόνα 7:

Biesalski H. K., Grimm P., Εγχειρίδιο διατροφής, Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, (2008)

### Εικόνα8:

[http://www.iayork.com/Images/2008/7-27-08/070617\\_leishmania\\_300.jpg](http://www.iayork.com/Images/2008/7-27-08/070617_leishmania_300.jpg)

### Εικόνα 9:

<http://158.83.1.40/Buckelew/images/ultrastructure/Leishmania-Drawing.jpg>

### Εικόνα 10:

<http://www.ucm.es/info/icpvvet/cont/docs/leish1.gif>

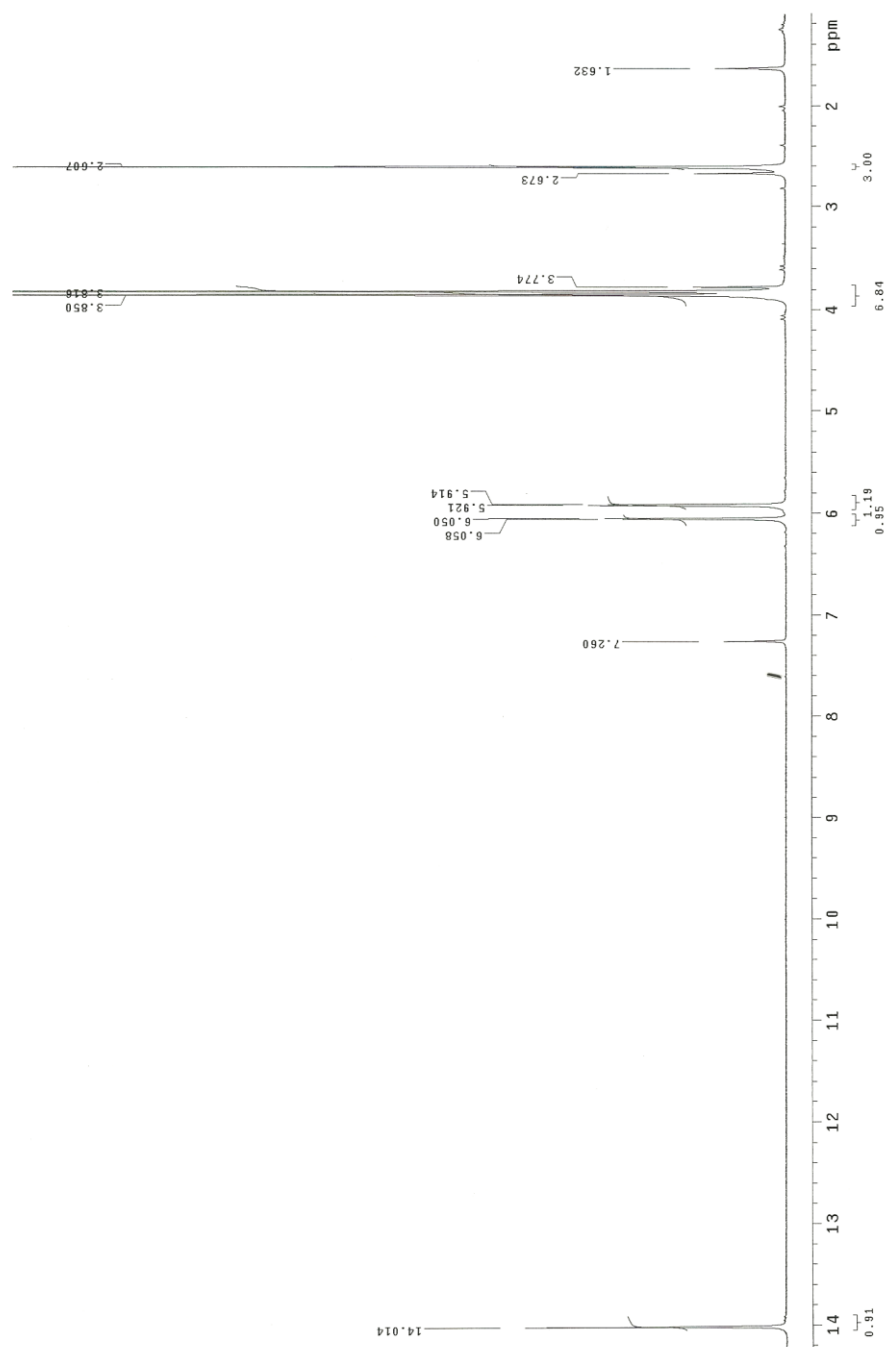
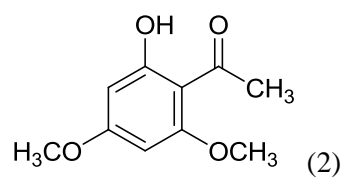
### Σχήμα 11:

<http://herkules.oulu.fi/isbn9514271599/html/x155.html>

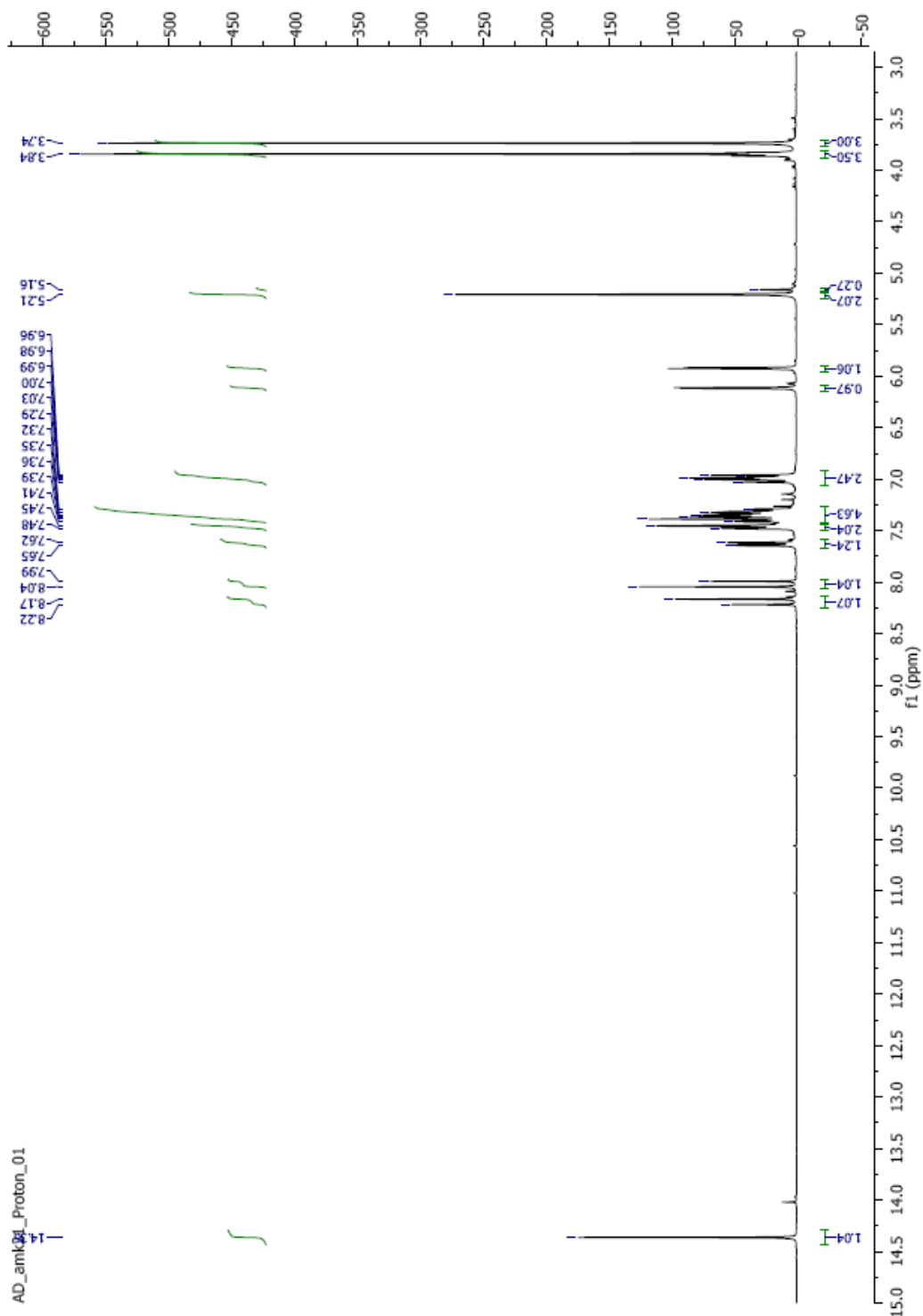
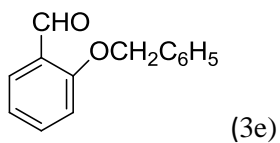
### Σχήμα 27:

<http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/minerals/selenium/ribogsh.jpg>

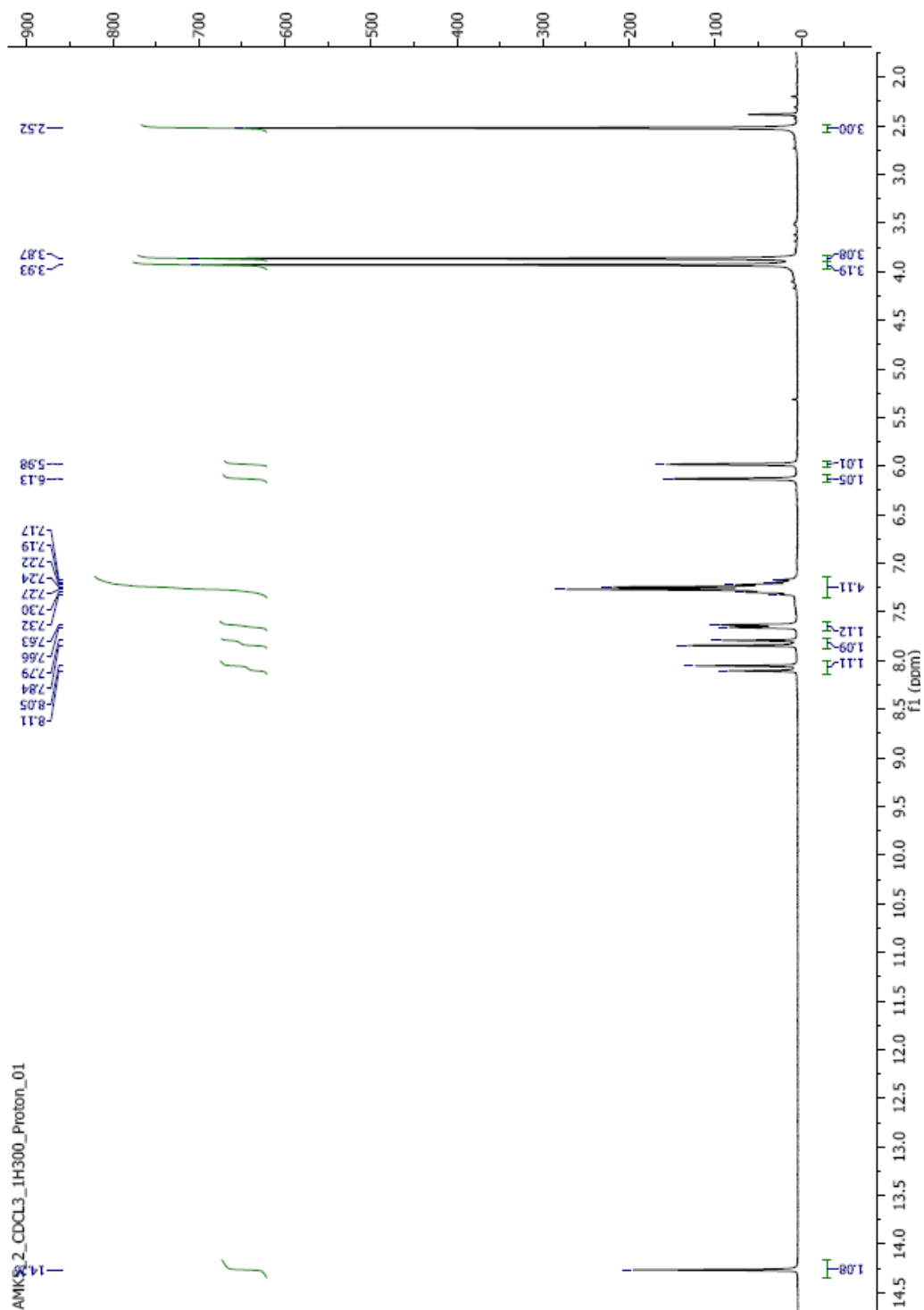
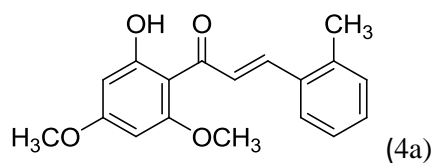
## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ



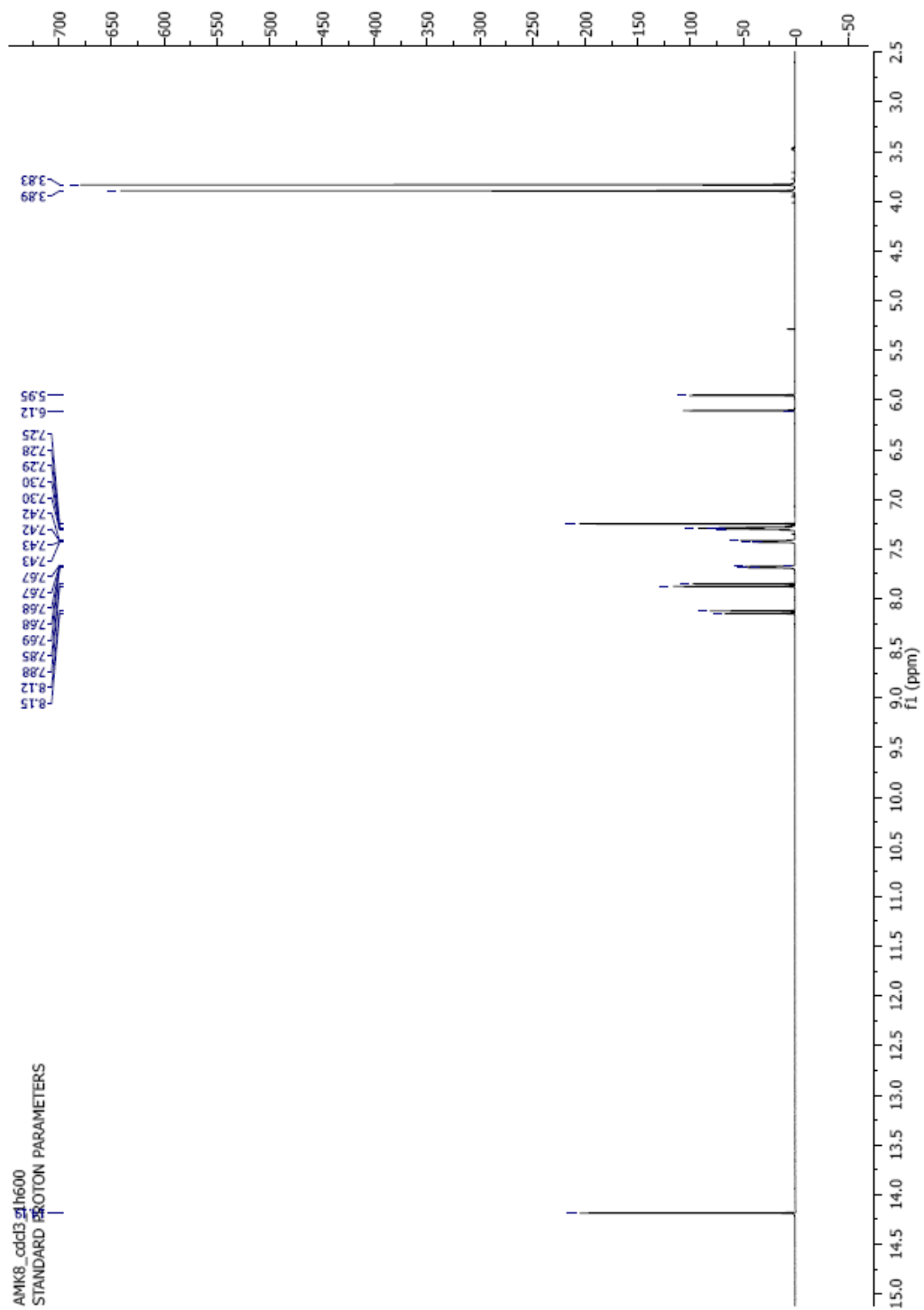
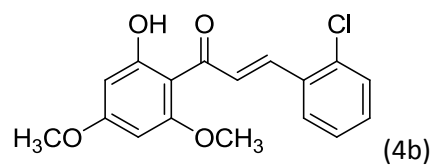
Εικόνα 25: Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) της χαλκόνης 2



Εικόνα 26: Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) της χαλκόνης **3e**

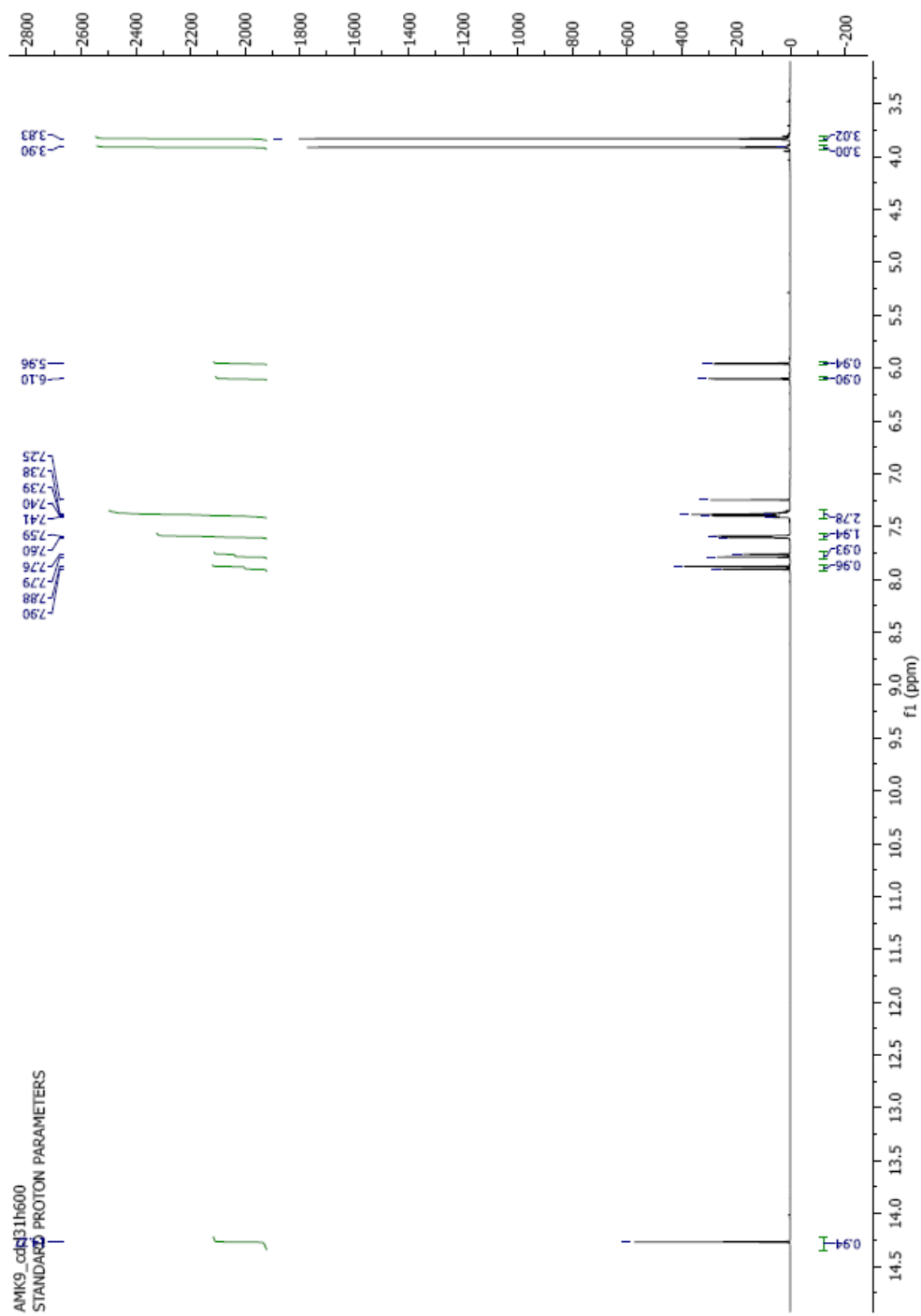
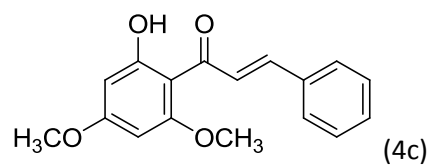


Εικόνα 27: Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) της χαλκόνης **4a**

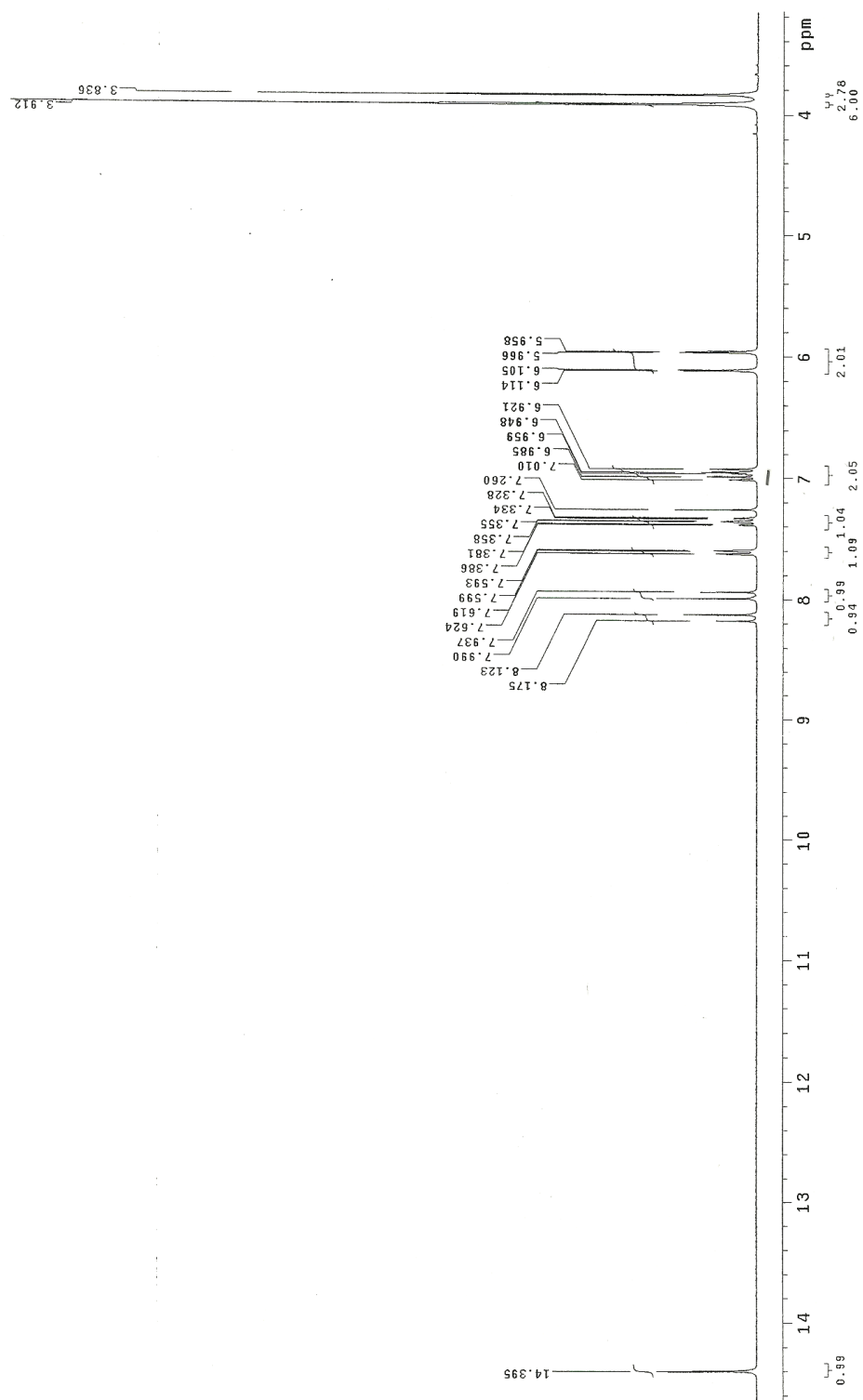
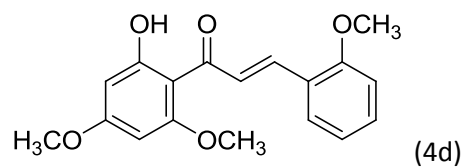


Εικόνα 28: Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz) της χαλκόνης **4b**

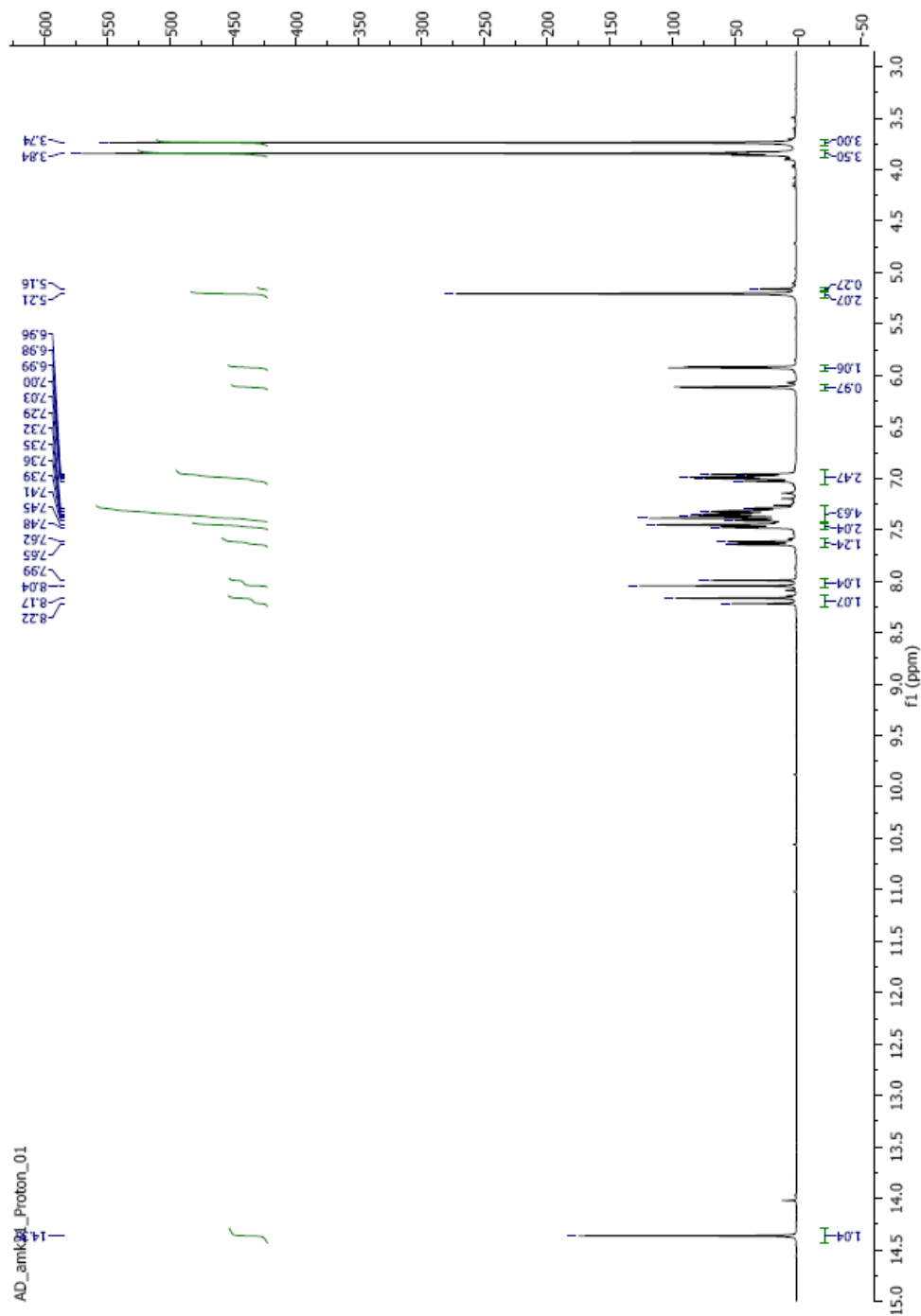
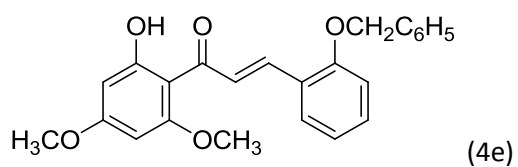




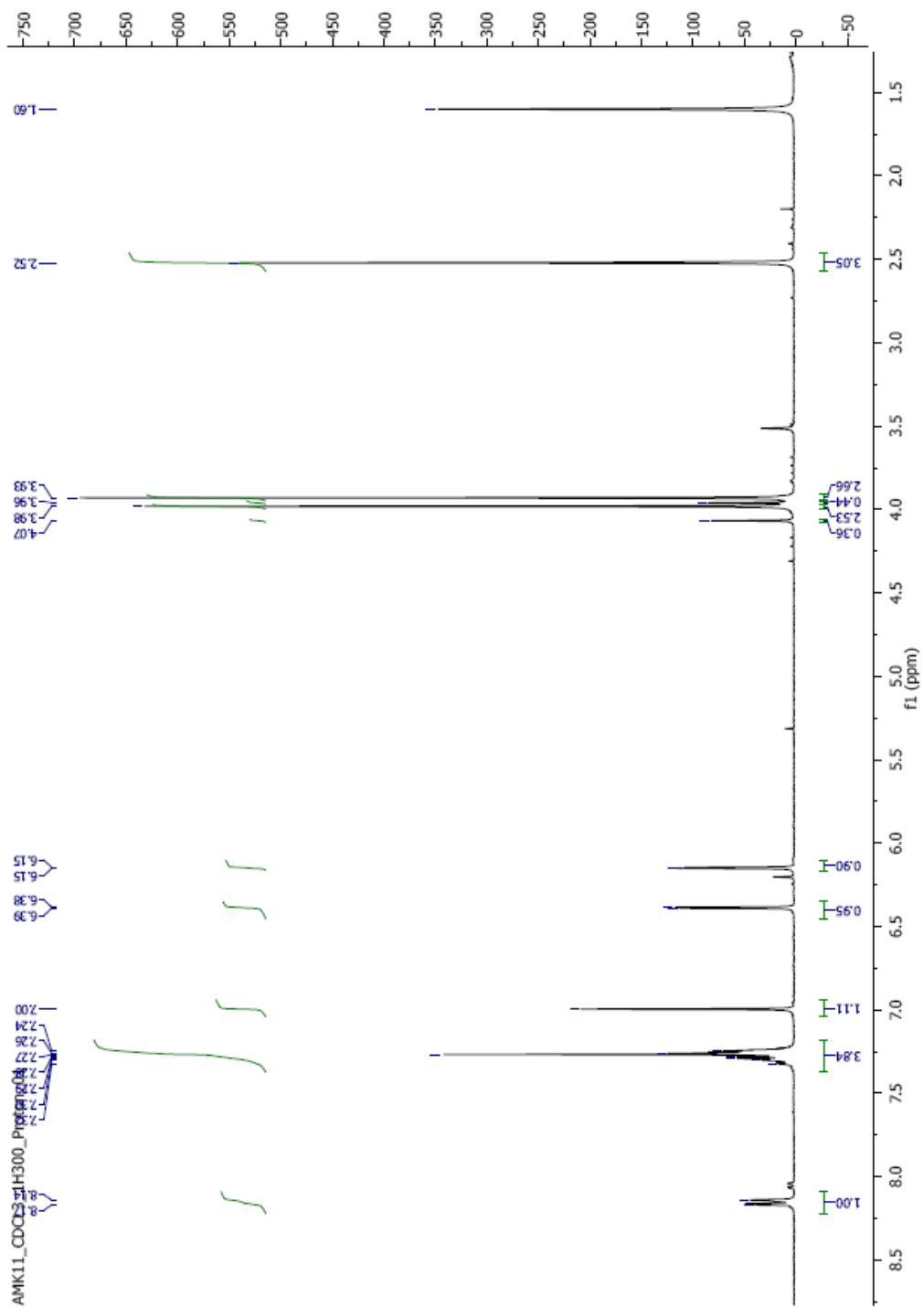
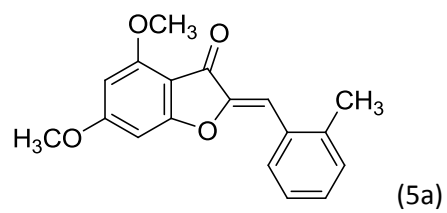
Εικόνα 29: Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz) της χαλκόνης 4c



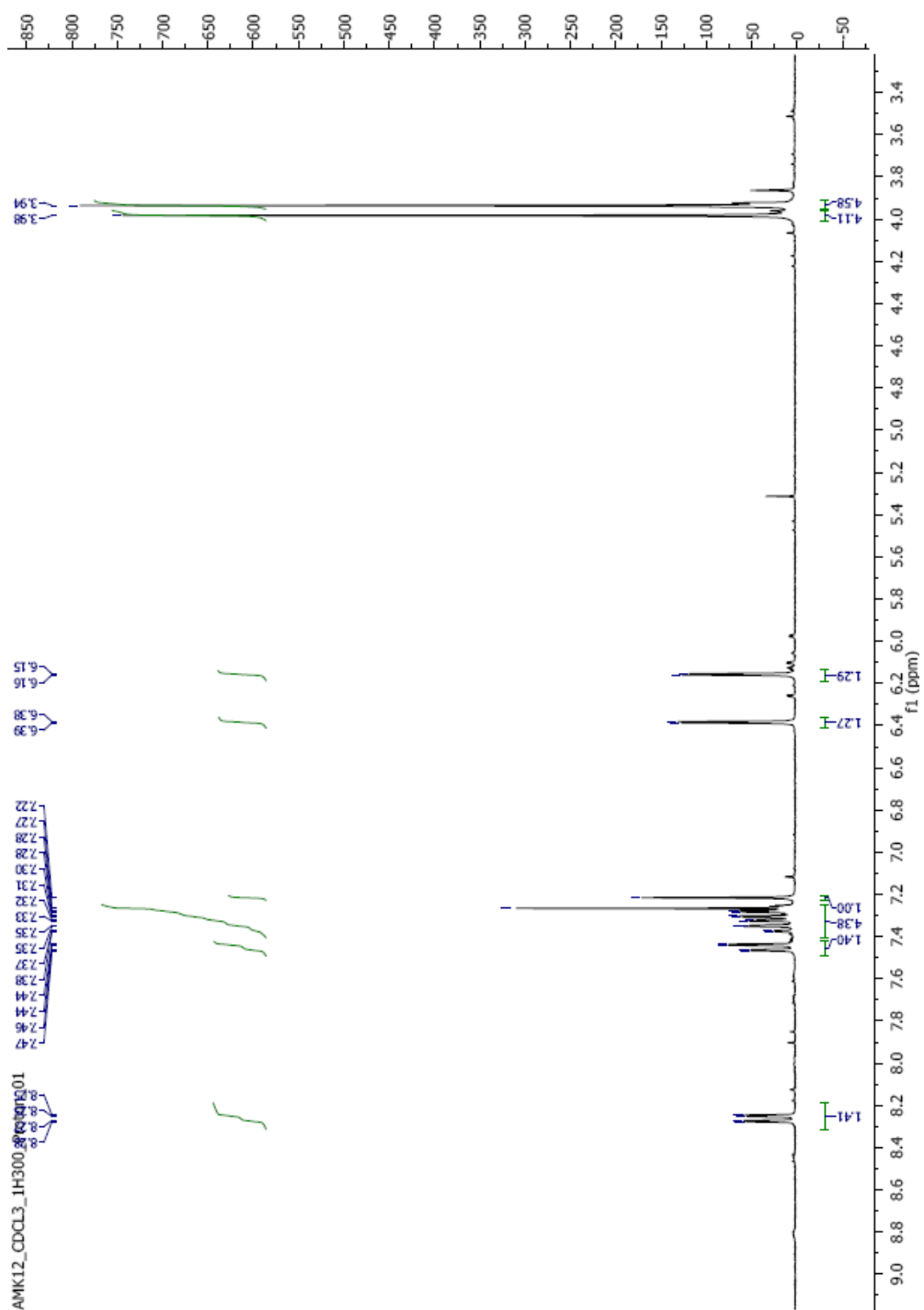
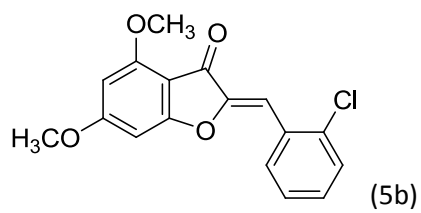
Εικόνα 30: Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) της χαλκόνης **4d**



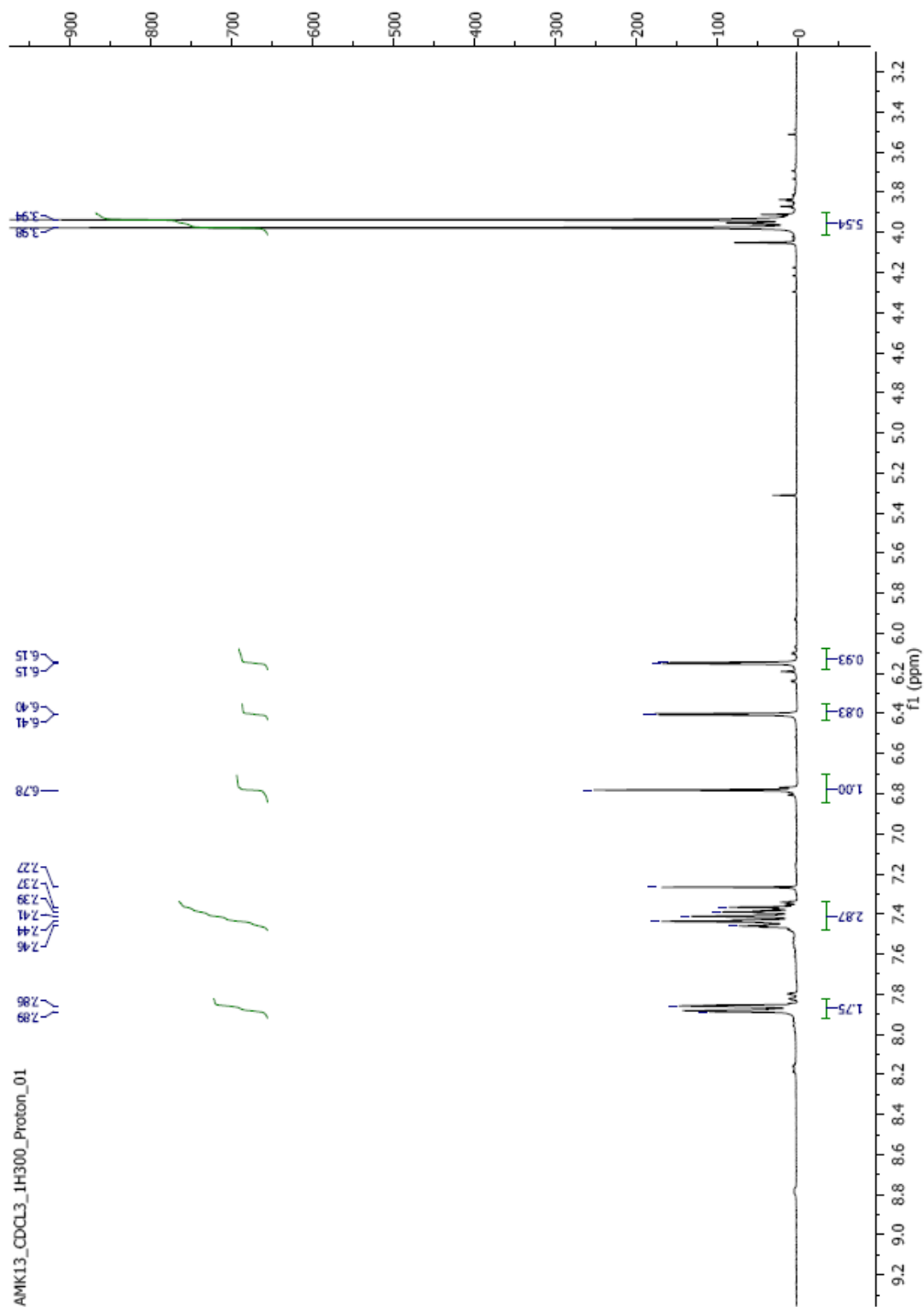
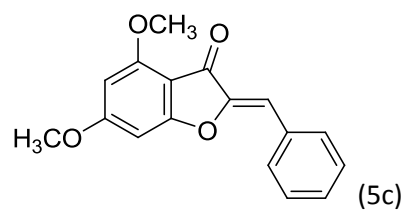
Εικόνα 31: Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) της χαλκόνης **4c**



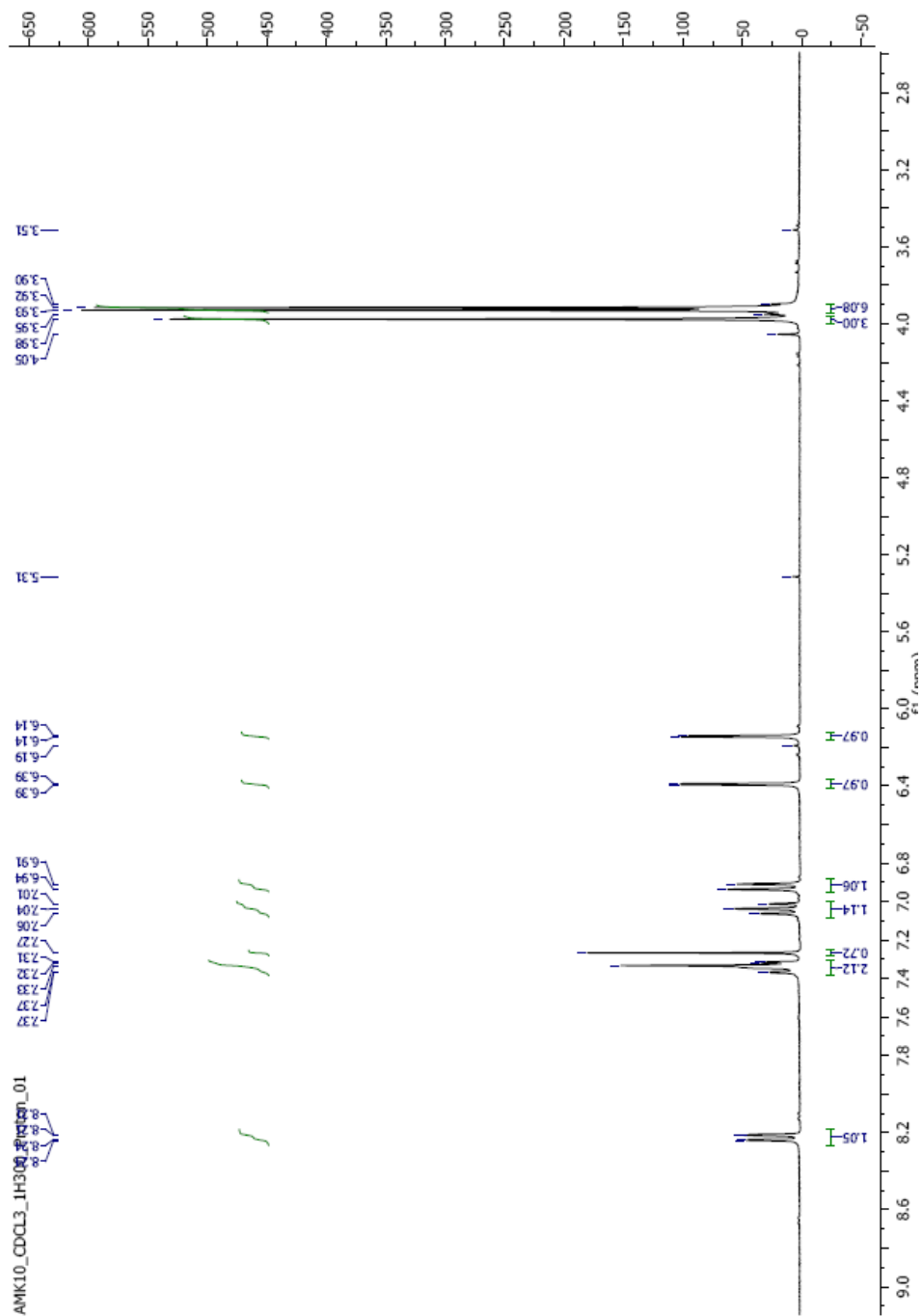
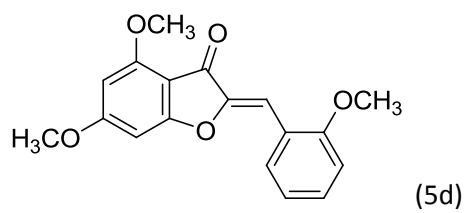
Εικόνα 32: Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) της ωρόνης **5a**



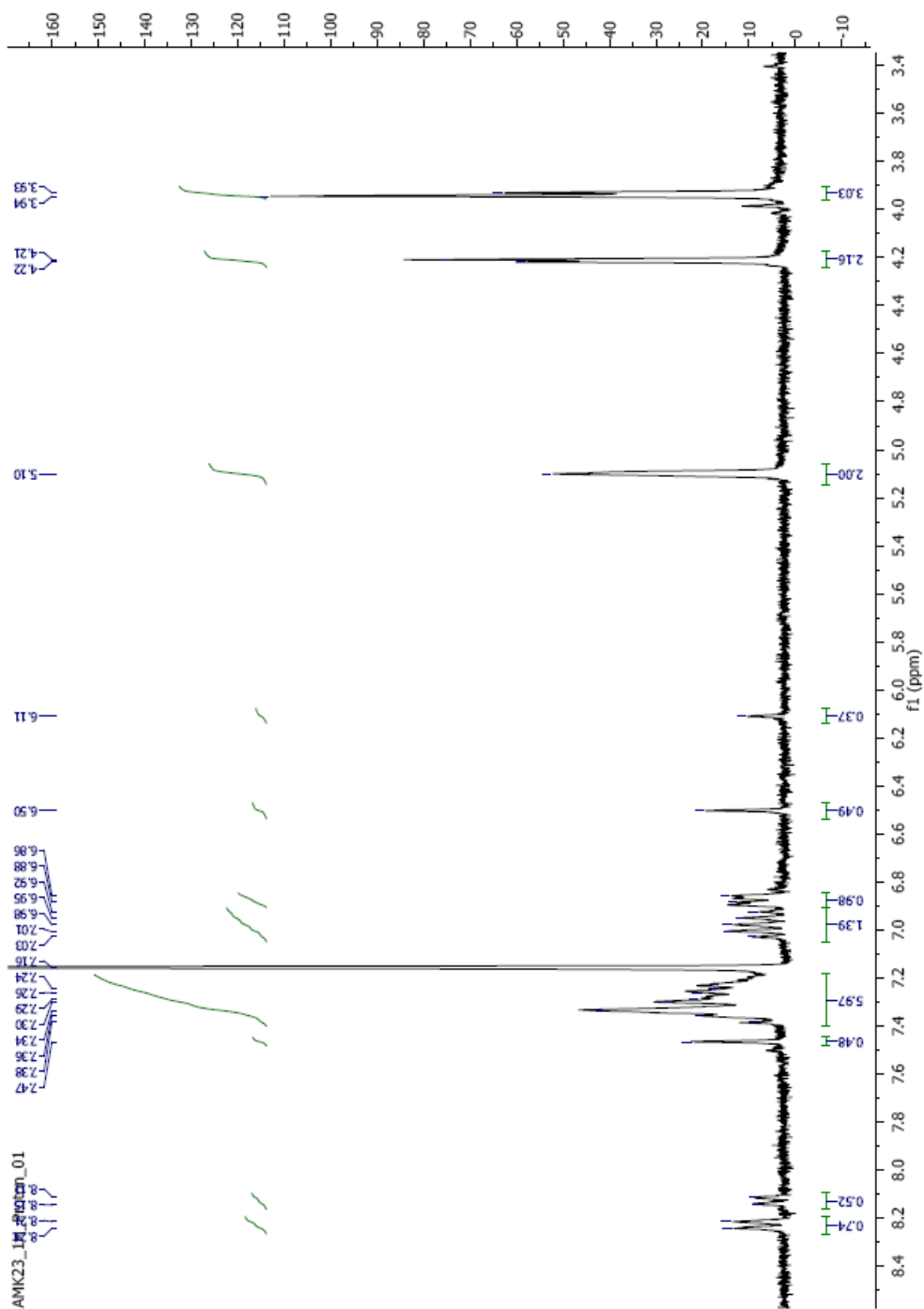
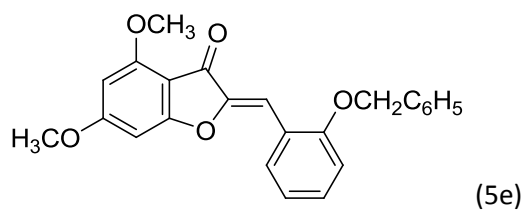
Εικόνα 33: Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) της ωρόνης **5b**



Εικόνα 34: Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) της ωρόνης **5c**

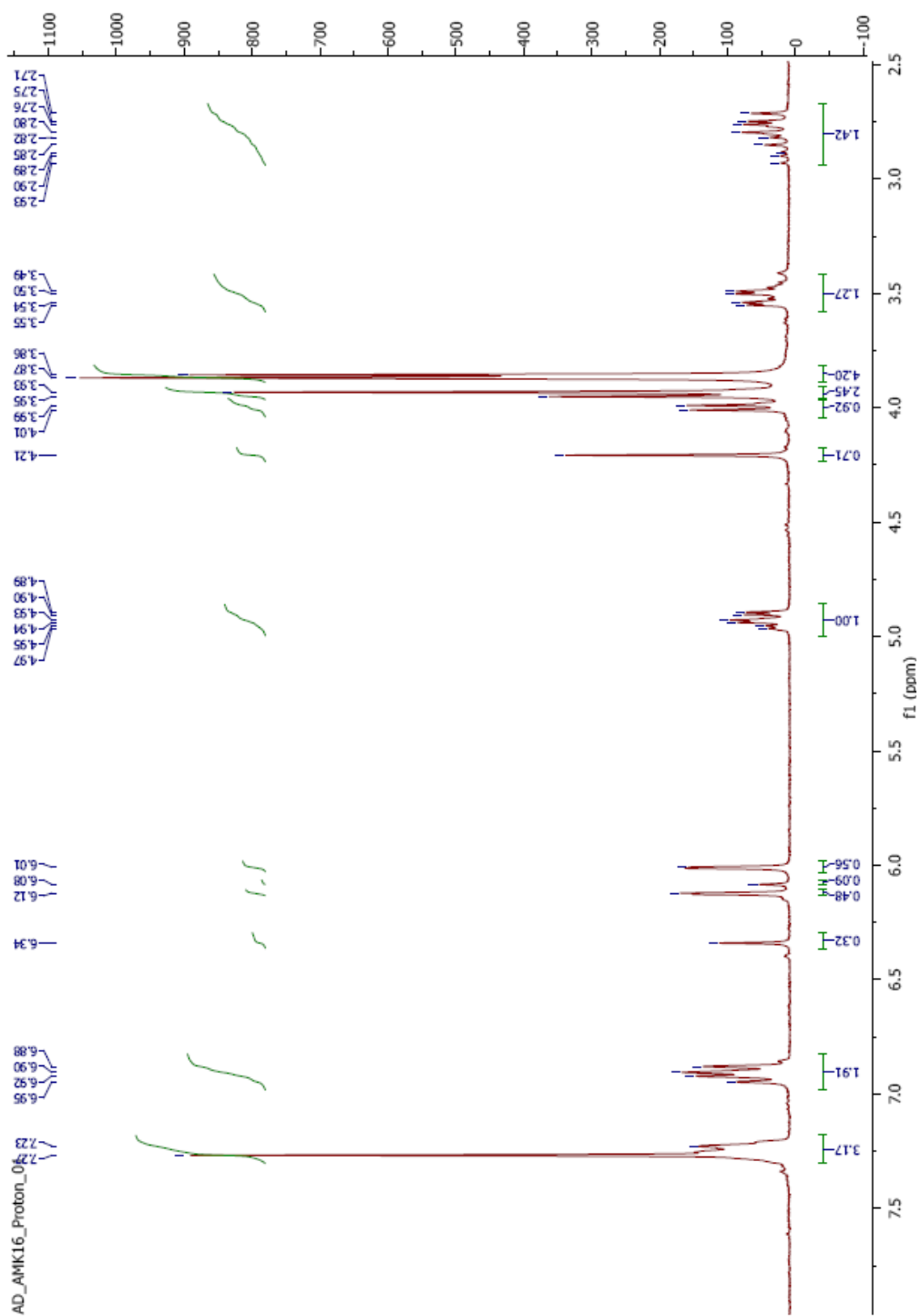
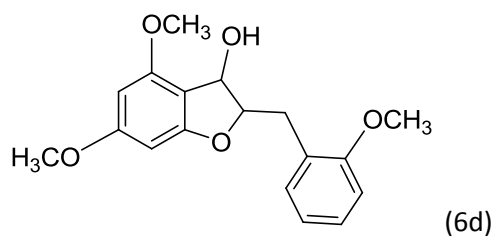


Εικόνα 35: Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) της ωρόνης **5d**

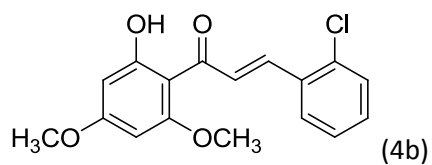


Εικόνα 36: Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) της ωρόνης **5e**

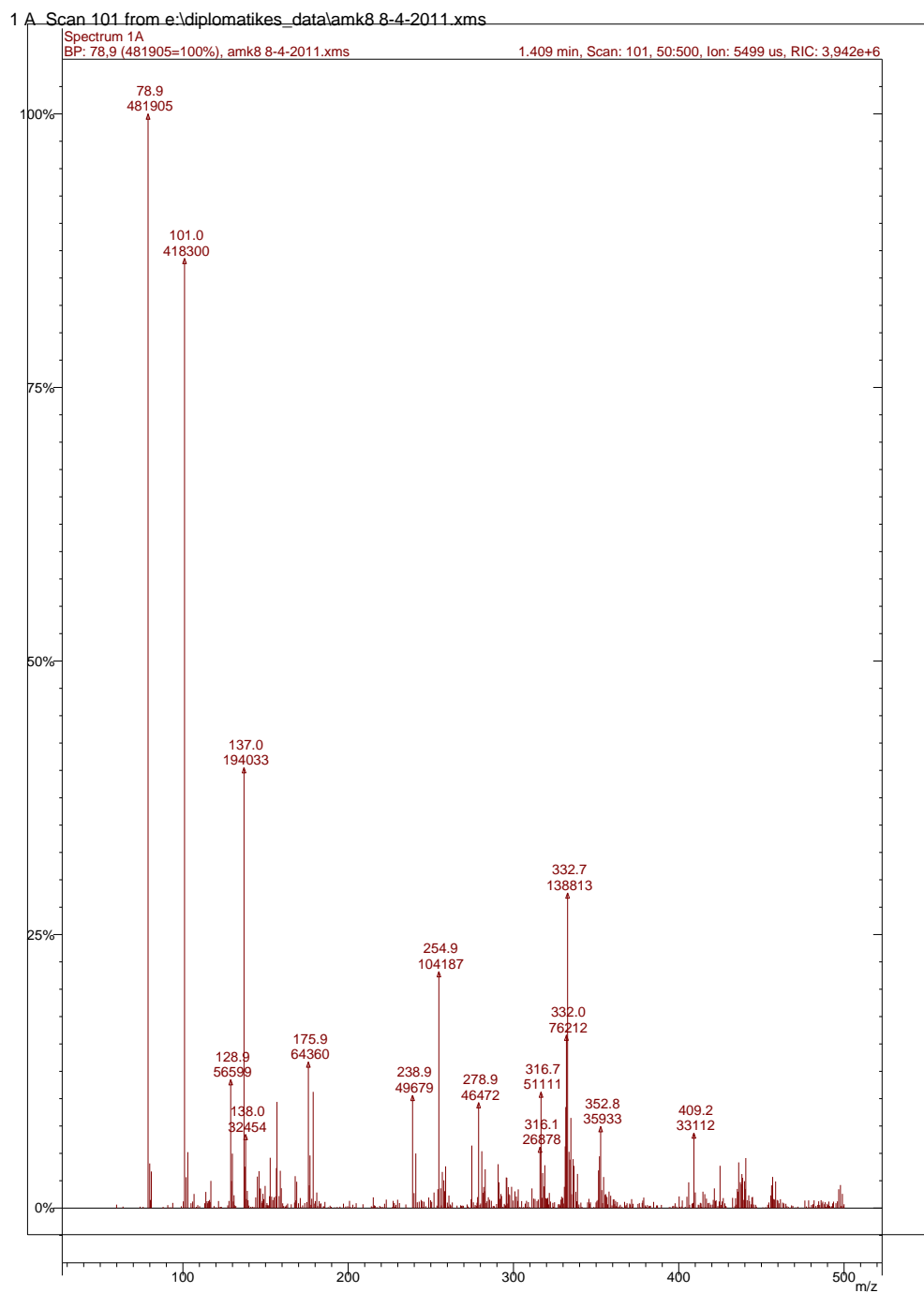




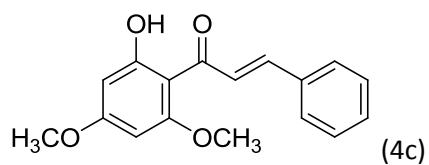
Εικόνα 37: Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) της ένωσης **6d**



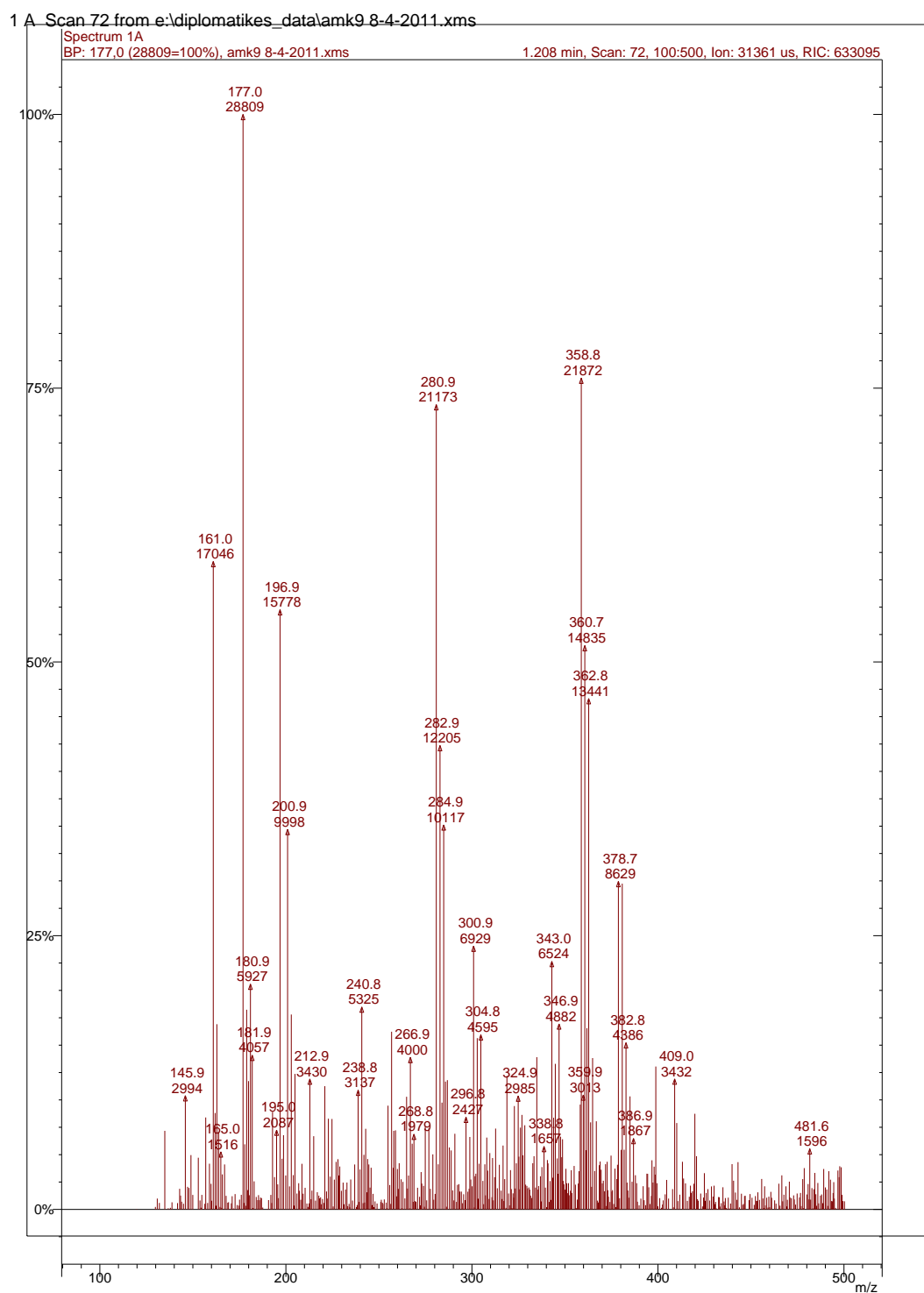
Spectrum 1A Plot - 8/9/2011 3:06 ìì



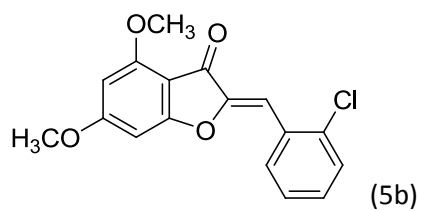
Εικόνα 38: ESI-MS φάσμα της χαλκόνης 4b



Spectrum 1A Plot - 8/9/2011 3:07 ii

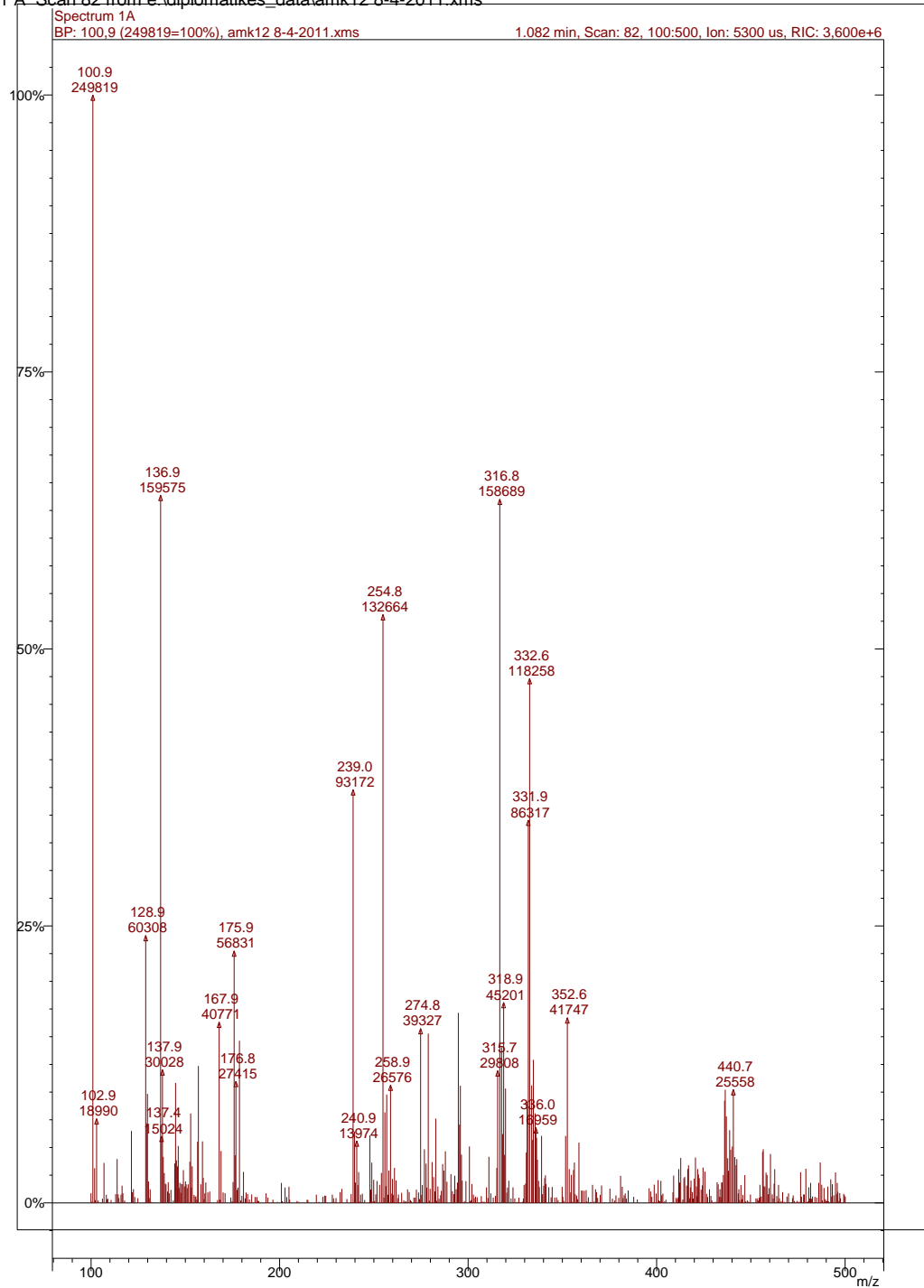


Εικόνα 39: ESI-MS φάσμα της χαλκόνης 4c

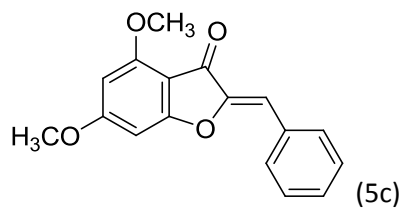


**Spectrum 1A Plot - 8/9/2011 3:04 ì**

1 A\_Scan 82 from e:\diplomatikes\_data\amk12 8-4-2011.xms

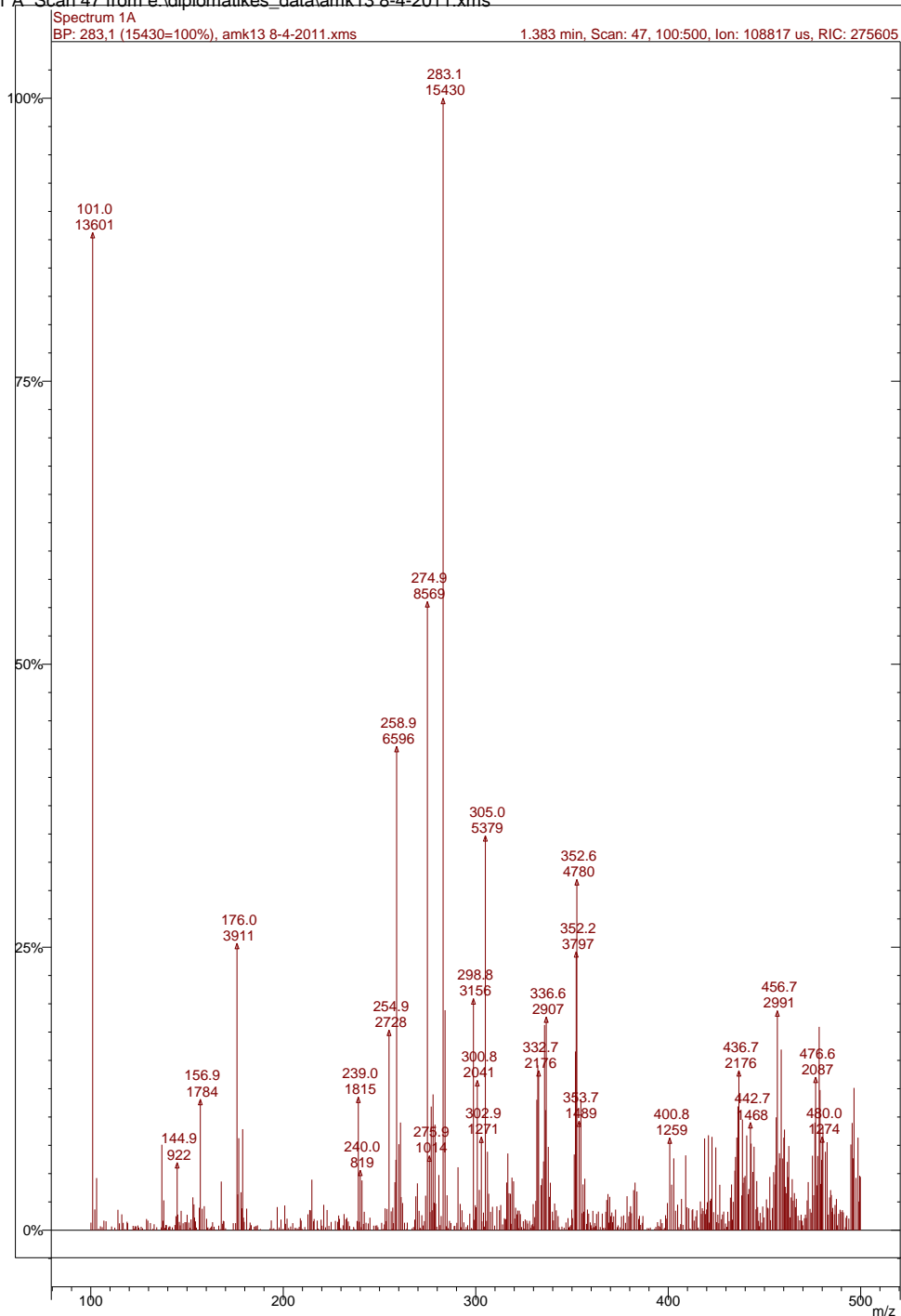


**Εικόνα 40: ESI-MS φάσμα της ωρόνης 5b**

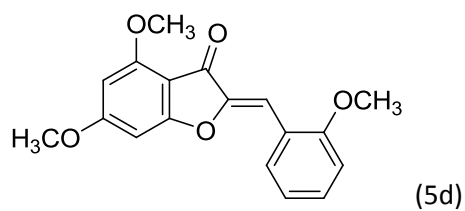


**Spectrum 1A Plot - 8/9/2011 3:05 ì**

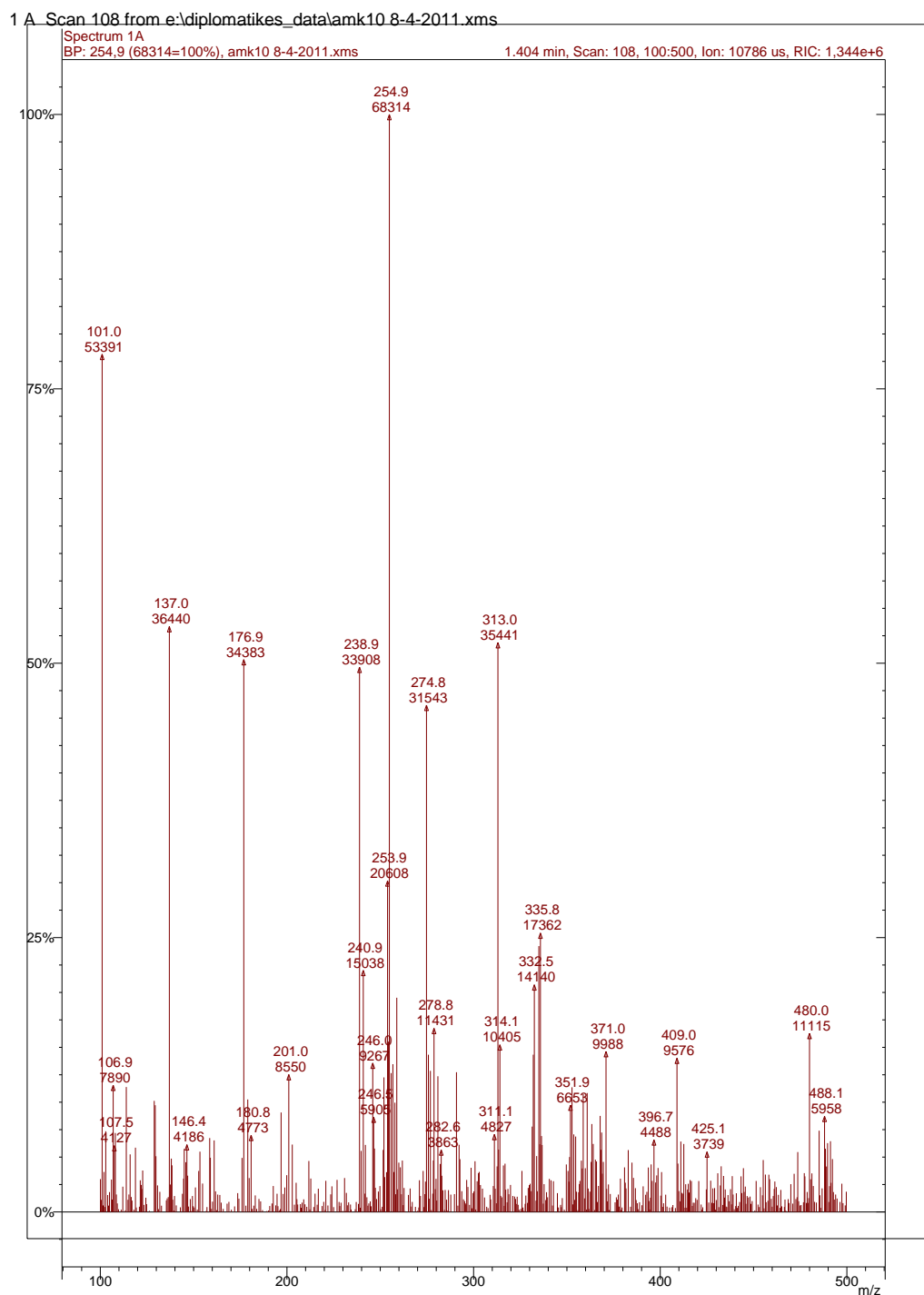
1 A\_Scan 47 from e:\diplomatikes\_data\amk13 8-4-2011.xms



**Εικόνα 41: ESI-MS φάσμα της ωρόνης 5c**



Spectrum 1A Plot - 8/9/2011 3:03 ì



Εικόνα 42: ESI-MS φάσμα της ωρόνης 5d