

ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ (Ι) ΧΗΜΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ



**«Σύνθεση νέων φωτοευαισθητοποιητών και ανάπτυξη
καινοτόμων συστημάτων εγκλεισμού για εφαρμογή στη
φωτοδυναμική θεραπεία»**

Διπλωματική εργασία

Άννα-Παναγιώτα Λιάτη

Επιβλέπουσα

Αναστασία Δέτση, Καθηγήτρια Ε.Μ.Π.

Εργαστήριο Οργανικής Χημείας

Αθήνα, 2022

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσοβίου Πολυτεχνείου, υπό την επίβλεψη της Δρ. Αναστασίας Δέτση, Καθηγήτριας Ε.Μ.Π., κατά το ακαδημαϊκό έτος 2021-2022.

Πρωτίστως, οφείλω να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα, κα. Αναστασία Δέτση, για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με ένα πολύ ενδιαφέρον θέμα, καθώς και για την καθοδήγηση, τις γνώσεις και την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας, που αποτέλεσαν καταλυτικό παράγοντα για την ολοκλήρωσή της.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να αποδώσω στη Δρ. Σταματίνα Βουγιούκα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ε.Μ.Π. και στον Δρ. Πέτρο Ταούκη, Καθηγητή Ε.Μ.Π., για τη συμμετοχή τους στην τριμελή εξεταστική επιτροπή και τον χρόνο που διέθεσαν για την κριτική ανάγνωση της εργασίας μου.

Ευχαριστώ, επίσης, τη Δρ. Ελένη Αλεξανδράτου από τον Τομέα Ηλεκτρομαγνητικών Εφαρμογών Ηλεκτροοπτικής και Ηλεκτρονικών Υλικών της Σχολής Ηλεκτρολόγων Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών Ε.Μ.Π. για τη συνεισφορά της κατά τη μελέτη των οπτικών ιδιοτήτων των φθαλοκυανινών και υδρογελών.

Οφείλω να ευχαριστήσω τη Δρ. Ελένη Καβέτσου, Μεταδιδακτορική Ερευνήτρια του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας της Σχολής Χημικών Μηχανικών Ε.Μ.Π., για τη συνεχή στήριξή της, τον χρόνο που διέθεσε, τις συμβουλές και τη βοήθειά της σε κάθε προκύπτον πρόβλημα, καθώς και για τις πολύτιμες γνώσεις που μου προσέφερε.

Ευχαριστώ, επίσης, την Αννίτα Κατωπόδη, υποψήφια διδάκτορα του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας της Σχολής Χημικών Μηχανικών Ε.Μ.Π., για τη σημαντική βοήθειά της.

Στη συνέχεια, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας της Σχολής Χημικών Μηχανικών Ε.Μ.Π. για τη διάθεσή τους να βοηθήσουν και για το ευχάριστο κλίμα που υπήρχε.

Τέλος, ευχαριστώ την οικογένεια και τους φίλους μου για τη στήριξή τους κατά τη διάρκεια των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η φωτοδυναμική θεραπεία αποτελεί μία σύγχρονη, ελάχιστα επεμβατική θεραπευτική μέθοδο, που εφαρμόζεται για την αντιμετώπιση διαφόρων τύπων καρκίνου. Περιλαμβάνει τη χορήγηση ενός φωτοευαισθητοποιητή στον ασθενή, ο οποίος διεγείρεται μετά από την ακτινοβολήση με φως κατάλληλου μήκους κύματος. Στη συνέχεια, μέσω της αλληλεπίδρασής του με κυτταρικά υποστρώματα ή το μοριακό οξυγόνο, οδηγεί στην παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) και κατ' επέκταση στον κυτταρικό θάνατο.

Οι φθαλοκυανίνες είναι μακροκυκλικές, αρωματικές ενώσεις, οι οποίες έχουν μελετηθεί ευρέως για τη χρήση τους ως φωτοευαισθητοποιητές. Διαθέτουν αρκετές πλεονεκτικές ιδιότητες, όπως η ισχυρή απορρόφηση στην περιοχή μηκών κύματος 670-850 nm και η υψηλή απόδοση παραγωγής ROS. Η δομή τους, συνήθως, τροποποιείται με την εισαγωγή ενός κεντρικού μετάλλου, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό των μεταλλοφθαλοκυανινών, που διαθέτουν βελτιωμένα χαρακτηριστικά. Παρά τα σημαντικά τους πλεονεκτήματα, η χαμηλή τους υδατοδιαλυτότητα αποτελεί περιοριστικό παράγοντα για τη χορήγησή τους στον ασθενή. Επομένως, καθίσταται αναγκαία η ανάπτυξη κατάλληλων συστημάτων μεταφοράς τους στον στόχο.

Οι υδρογέλες αποτελούν υδρόφιλα πολυμερικά δίκτυα με τρισδιάστατη διαμόρφωση, που μπορούν να απορροφούν υψηλές ποσότητες νερού ή άλλων βιολογικών υγρών, χωρίς να διαλύονται. Η σύστασή τους διατηρείται μέσω χημικής ή φυσικής διασύνδεσης (crosslinking) των πολυμερικών αλυσίδων. Λόγω διαφόρων πλεονεκτικών τους χαρακτηριστικών, όπως η υψηλή περιεκτικότητα σε νερό και η ομοιότητά τους με την εξωκυττάρια μήτρα, αποτελούν χρήσιμα υλικά για τη μεταφορά φαρμάκων. Για παράδειγμα, υπάρχει ερευνητικό ενδιαφέρον για τις υδρογέλες από χιτοζάνη, ενός φυσικού, βιοσυμβατού και βιοαποικοδομήσιμου πολυσακχαρίτη.

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η σύνθεση νέων φωτοευαισθητοποιητών και η ανάπτυξη καινοτόμων συστημάτων μεταφοράς για εφαρμογή στη φωτοδυναμική θεραπεία. Ειδικότερα, επιδιώκεται η σύνθεση νέων χημικά τροποποιημένων φθαλοκυανινών ψευδαργύρου και η ενσωμάτωσή τους σε υδρογέλες χιτοζάνης. Οι τροποποιημένες φθαλοκυανίνες είναι υποκατεστημένες με αλδεϋδομάδες και χρησιμοποιούνται για τη χημική διασύνδεση των πολυμερικών αλυσίδων της χιτοζάνης, μέσω αντίδρασης βάσης Schiff. Η αντίδραση αυτή λαμβάνει χώρα μεταξύ των αλδεϋδομάδων στις τροποποιημένες φθαλοκυανίνες και των αμινομάδων στη χιτοζάνη, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό δεσμών ιμίνης. Έτσι, περιορίζεται η υδροφοβικότητα των φθαλοκυανινών, ενώ, παράλληλα, αποφεύγεται η χρήση ενός πιθανώς τοξικού διασυνδέτη.

Οι δύο τροποποιημένες φθαλοκυανίνες σχηματίστηκαν μέσω μίας συνθετικής πορείας δύο σταδίων, ξεκινώντας, σε κάθε περίπτωση, με μια κατάλληλα υποκατεστημένη αλδεΐδη: την 4-υδροξυβενζαλδεΐδη και την 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2-οξο-2H-χρωμεν-8-καρβαλδεΐδη. Η τροποποιημένη φθαλοκυανίνη που προέκυψε από την 4-υδροξυβενζαλδεΐδη (ZnPc-1) χρησιμοποιήθηκε για τη διασύνδεση των αλυσίδων της χιτοζάνης, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό της υδρογέλης. Η συγκεκριμένη υδρογέλη χαρακτηρίστηκε μέσω Φασματοσκοπίας Υπερύθρου Μετασχηματισμού Fourier (FT-IR) και Περιθλασιμετρίας Ακτινών Χ (XRD), όπου επιβεβαιώθηκε ο σχηματισμός του τρισδιάστατου δικτύου μέσω της αντίδρασης βάσης Schiff.

Ακόμη, εξετάστηκε η δίογκωσή της σε υδατικά διαλύματα διαφόρων τιμών pH. Στο όξινο υδατικό διάλυμα η υδρογέλη διογκώθηκε περισσότερο απ' ότι στο βασικό, λόγω της απώθησης μεταξύ των θετικά φορτισμένων αμινομάδων της χιτοζάνης σε χαμηλές τιμές pH, με αποτέλεσμα την είσοδο μεγαλύτερης ποσότητας νερού. Επιπλέον, τα πειραματικά δεδομένα δίογκωσης προσαρμόστηκαν σε ένα κινητικό μοντέλο ψευδο-δεύτερης τάξης (μοντέλο Schott). Τέλος, πραγματοποιήθηκε μελέτη απορρόφησης, φθορισμού και παραγωγής ROS για την ZnPc-1 και την υδρογέλη. Προέκυψε ότι και οι δύο παράγαν ROS μετά από ακτινοβολία από laser 661 nm για 30 λεπτά. Ειδικότερα, μετά τα 10 λεπτά, η υδρογέλη παρουσίασε μεγαλύτερη παραγωγή ROS. Συνεπώς, η υδρογέλη βελτιώνει τη δράση του φωτοευαισθητοποιητή και αποτελεί κατάλληλο σύστημα για εφαρμογή στη φωτοδυναμική θεραπεία.

Επιστημονική περιοχή: Φαρμακευτική Χημεία και Τεχνολογία

Λέξεις-κλειδιά: Φωτοδυναμική θεραπεία, φθαλοκυανίνες, χημική τροποποίηση, υδρογέλες, αντίδραση βάσης Schiff, δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS).

ABSTRACT

Photodynamic therapy is a modern, minimally invasive therapeutic method for the treatment of various types of cancer. It involves the administration of a photosensitizer to the patient, which is excited after being irradiated with light of a suitable wavelength. Then, through its interaction with cellular substrates or molecular oxygen, it leads to the production of reactive oxygen species (ROS) and eventually cell death.

Phthalocyanines are macrocyclic, aromatic compounds, which have been widely studied for their use as photosensitizers. They possess several advantageous properties, such as strong absorption in the 670–850 nm wavelength range and high ROS generation efficiency. Their structure is usually modified by the introduction of a central metal, resulting in the formation of metallophthalocyanines, which have improved characteristics. Despite their significant advantages, their low water solubility is a limiting factor for their direct administration to the patient. Therefore, it is crucial to develop appropriate drug delivery systems in order to transport them to the target.

Hydrogels are hydrophilic polymer networks with a three-dimensional configuration, which can absorb large amounts of water or other biological fluids without dissolving. Their structure is maintained through chemical or physical crosslinking of the polymer chains. Due to their various advantageous features, such as their high water content and their similarity to the extracellular matrix, they are useful materials for drug delivery. For example, there is research interest in hydrogels consisting of chitosan, a natural, biocompatible and biodegradable polysaccharide.

The aim of this diploma thesis is the synthesis of novel photosensitizers and the development of innovative delivery systems for application in photodynamic therapy. In particular, this work involves the synthesis of novel chemically modified zinc phthalocyanines and their incorporation into chitosan hydrogels is sought. The modified phthalocyanines are substituted with aldehyde groups and are used to chemically crosslink the polymeric chains of chitosan, through a Schiff-base reaction. This reaction takes place between the aldehyde groups in the modified phthalocyanines and the amino groups in chitosan, resulting in the formation of imine bonds. Thus, the hydrophobicity of the phthalocyanines is reduced, while, at the same time, the use of a potentially toxic crosslinker is avoided.

The two modified phthalocyanines were formed through a two-step synthetic route, starting, in each case, from an appropriately substituted aldehyde; 4-hydroxybenzaldehyde and 7-hydroxy-4-methyl-2-oxo-2H-chromene-8-carbaldehyde. The modified phthalocyanine derived from 4-hydroxybenzaldehyde (ZnPc-1) was used to crosslink the chitosan chains,

resulting in the formation of the hydrogel. This particular hydrogel was characterized by means of Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) and X-ray Diffraction (XRD), where the formation of the three-dimensional network through the Schiff-base reaction was confirmed.

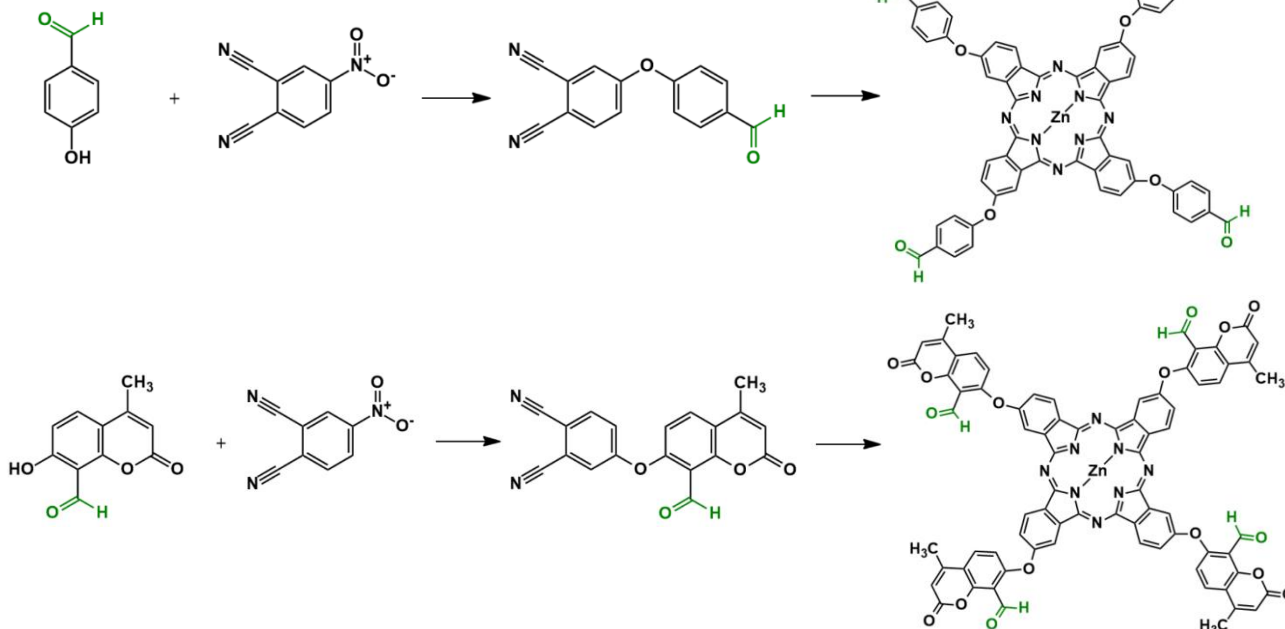
Furthermore, its swelling in aqueous solutions of various pH values was examined. In the acidic aqueous solution, the hydrogel swelled more than in the basic one, due to the repulsion between the positively charged amino groups of chitosan at low pH values, resulting in the absorption of a larger amount of water. In addition, the experimental swelling data were fitted to a pseudo-second-order kinetic model (Schott's model). Finally, an absorption, fluorescence and ROS production study was performed for ZnPc-1 and the hydrogel. It was found that both produced ROS after irradiation by a 661 nm laser for 30 min. In particular, after 10 minutes, the hydrogel showed a larger ROS production. Therefore, the hydrogel improves the action of the photosensitizer and is a suitable system for application in photodynamic therapy.

Scientific area: Pharmaceutical Chemistry and Technology

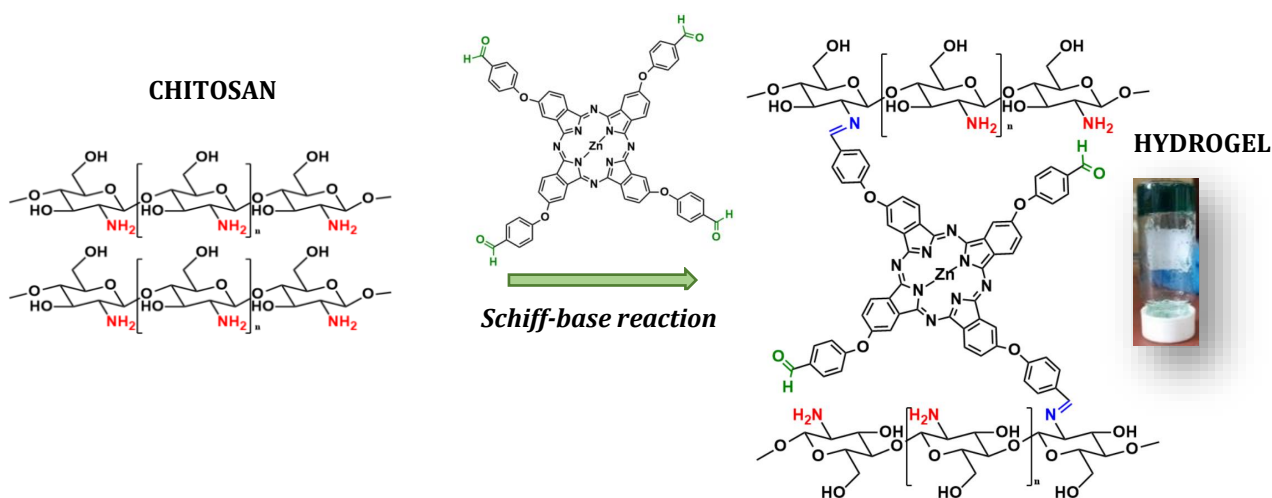
Keywords: Photodynamic therapy, phthalocyanines, chemical modification, hydrogels, Schiff-base reaction, reactive oxygen species (ROS).

GRAPHICAL ABSTRACT

PHOTOSENSITIZERS



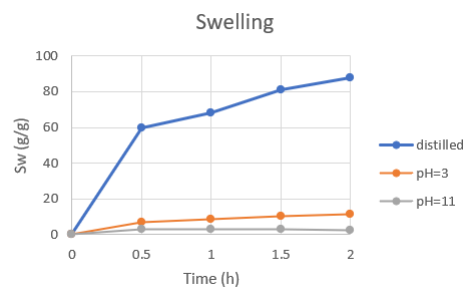
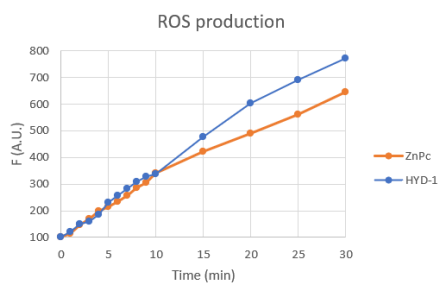
CHITOSAN



HYDROGEL

Characterization

FT-IR
XRD



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	1
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	2
ABSTRACT	4
GRAPHICAL ABSTRACT	6
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	9
1. Φωτοδυναμική θεραπεία.....	9
1.1 Μηχανισμός.....	9
1.2 Πλεονεκτήματα και περιορισμοί	12
1.3 Φωτοευαισθητοποιητές.....	13
2. Φθαλοκυανίνες	16
3. Χιτοζάνη.....	17
3.1 Φυσικοχημικές ιδιότητες.....	18
3.2 Εφαρμογές.....	19
4. Υδρογέλες.....	20
4.1 Χημική διασύνδεση	21
4.2 Φυσική διασύνδεση	22
4.3 Διόγκωση	23
4.4 Πορώδες	24
4.5 Χημικές ιδιότητες.....	25
4.6 Διασυνδέτες υδρογελών	25
4.7 Υδρογέλες στη μεταφορά φαρμάκων	29
4.8 Αποδέσμευση φαρμάκων από υδρογέλες.....	33
4.9 Εφαρμογές υδρογελών	35
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	38
ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΩΝ	39
1. Σύνθεση 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2-οξο-2H-χρωμεν-8-καρβαλδεΐδης	39
2. Σύνθεση φθαλοκυανινών υποκατεστημένων με αλδεϋδομάδες	40
3. Παρασκευή υδρογελών χιτοζάνης/τροποποιημένων φθαλοκυανινών μέσω της αντίδρασης βάσης Schiff	42
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	44
1. Όργανα και Συσκευές.....	44

2. Σύνθεση φωτοευαίσθητοποιητών-διασυνδεδετών	45
2.1 Σύνθεση 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2Η-χρωμεν-2-όνης (4-μεθυλο- ουμπελιφερόνης).....	45
2.2 Σύνθεση 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2-οξο-2Η-χρωμεν-8-καρβαλδεΐδης	45
2.3 Σύνθεση τροποποιημένων φθαλοκυανινών ψευδαργύρου (ZnPc)	46
3. Παρασκευή υδρογέλης χιτοζάνης/τροποποιημένης φθαλοκυανίνης.....	48
4. Χαρακτηρισμός υδρογέλης χιτοζάνης/τροποποιημένης φθαλοκυανίνης	49
4.1 Φασματοσκοπία Υπερύθρου Μετασχηματισμού Fourier (FT-IR)	49
4.2 Περιθλασιμετρία Ακτίνων Χ (XRD).....	49
4.3 Μελέτη διόγκωσης υδρογέλης χιτοζάνης/τροποποιημένης φθαλοκυανίνης	49
4.4 Προσδιορισμός του πορώδους της υδρογέλης χιτοζάνης/τροποποιημένης φθαλοκυανίνης	50
4.5 Μελέτη οπτικών ιδιοτήτων της τροποποιημένης φθαλοκυανίνης ZnPc-1 και της υδρογέλης HYD-1	50
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ	52
1. Μελέτη φασμάτων ¹ H NMR.....	52
2. Μελέτη φασμάτων FT-IR.....	54
3. Ανάλυση XRD	57
4. Μελέτη διόγκωσης.....	59
5. Πορώδες.....	62
6. Μελέτη οπτικών ιδιοτήτων.....	63
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	66
ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ	67
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	68
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	77
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ	79
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ	79
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	80
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΑΣΜΑΤΩΝ.....	80

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Φωτοδυναμική Θεραπεία

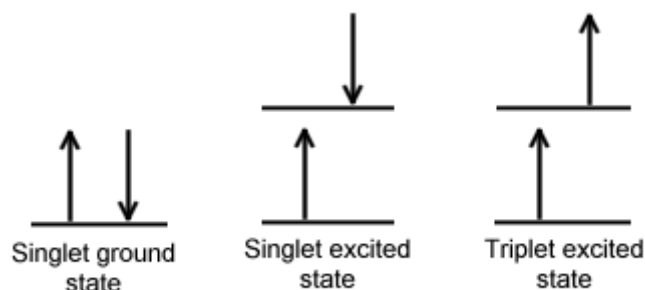
Η φωτοδυναμική θεραπεία (photodynamic therapy, PDT) αποτελεί μία κλινικά εγκεκριμένη, σύγχρονη, ελάχιστα επεμβατική θεραπευτική μέθοδο, που χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση διαφόρων τύπων καρκίνου, καθώς και άλλων ασθενειών, συμπεριλαμβανομένων βακτηριακών, ιογενών ή μυκητιασικών λοιμώξεων.^{[1],[2]} Μπορεί να ασκήσει επιλεκτική κυτταροτοξική δράση με βάση την αλληλεπίδραση τριών μη τοξικών παραγόντων: ενός φωτοευαισθητοποιητή (photosensitizer, PS), του οξυγόνου και του φωτός.^[1] Οι φωτοευαισθητοποιητές χορηγούνται στον ασθενή, διεγείρονται από την απορρόφηση φωτός κατάλληλου μήκους κύματος και αντιδρούν με κυτταρικά υποστρώματα ή με το μοριακό οξυγόνο, οδηγώντας στην παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS) και κατ' επέκταση στον κυτταρικό θάνατο.^{[3],[4]}

Αναφορικά με τον καρκίνο, κλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι η φωτοδυναμική θεραπεία μπορεί να είναι αποτελεσματική, ιδιαίτερα σε όγκους πρώιμου σταδίου. Μπορεί να παρατείνει την επιβίωση των ασθενών με μη χειρουργήσιμους καρκίνους και να βελτιώσει σημαντικά την ποιότητα ζωής τους.^[2] Τις τελευταίες δεκαετίες, έχει αποδειχθεί αποτελεσματική ενάντια στον επιφανειακό καρκίνο της ουροδόχου κύστης, στον πρώιμο καρκίνο των πνευμόνων, του οισοφάγου, του δέρματος, της κεφαλής και του τραχήλου. Χρησιμοποιείται, επίσης, ως συμπληρωματική θεραπεία μετά από τη χειρουργική εκτομή του όγκου, για τη μείωση του υπολειπόμενου φορτίου του.^[5]

1.1 Μηχανισμός

Ο φωτοευαισθητοποιητής, στη θεμελιώδη κατάσταση, έχει δύο εξωτερικά ηλεκτρόνια με αντίθετη ιδιοστροφορμή (spin) στο μοριακό τροχιακό χαμηλής ενέργειας, άρα βρίσκεται σε απλή (singlet) κατάσταση.^[2] Μετά τη χορήγησή του στον ασθενή, ακολουθεί ακτινοβολήση με φως συγκεκριμένου μήκους κύματος, που βρίσκεται εντός του φάσματος απορρόφησης του φωτοευαισθητοποιητή.^[1] Η απορρόφηση των φωτονίων οδηγεί στη μεταφορά του ενός ηλεκτρονίου σε ένα τροχιακό υψηλότερης ενέργειας, διατηρώντας την ιδιοστροφορμή του, με αποτέλεσμα ο φωτοευαισθητοποιητής να μεταπίπτει από την απλή (singlet) θεμελιώδη ενεργειακή κατάσταση S^0 , στην απλή (singlet) διεγερμένη κατάσταση S^1 (Εικόνα 1). Ο διεγερμένος φωτοευαισθητοποιητής στην κατάσταση S^1 είναι πολύ ασταθής, έχει μικρό χρόνο ζωής (από nano- έως picoseconds) και μπορεί να χάσει την ενέργειά του με την εκπομπή φωτός (φθορισμός), ή μέσω εσωτερικής μετατροπής σε θερμότητα. Εναλλακτικά, μπορεί να υποστεί μια διεργασία γνωστή ως διασυστημική διασταύρωση, οδηγώντας στον σχηματισμό μιας πιο σταθερής τριπλής (triplet) κατάστασης T^1 , με ανεστραμμένη ιδιοστροφορμή του ενός ηλεκτρονίου, όπου ο φωτοευαισθητοποιητής έχει μεγαλύτερη διάρκεια ζωής

(microseconds), αρκετή για να συμμετάσχει σε χημικές αντιδράσεις.^{[1],[2],[3]} Σημειώνεται ότι αυτός ο διεγερμένος φωτοευαίσθητοποιητής μπορεί επίσης να επιστρέψει στην κατάσταση S^0 μέσω φωσφορισμού.^[6]



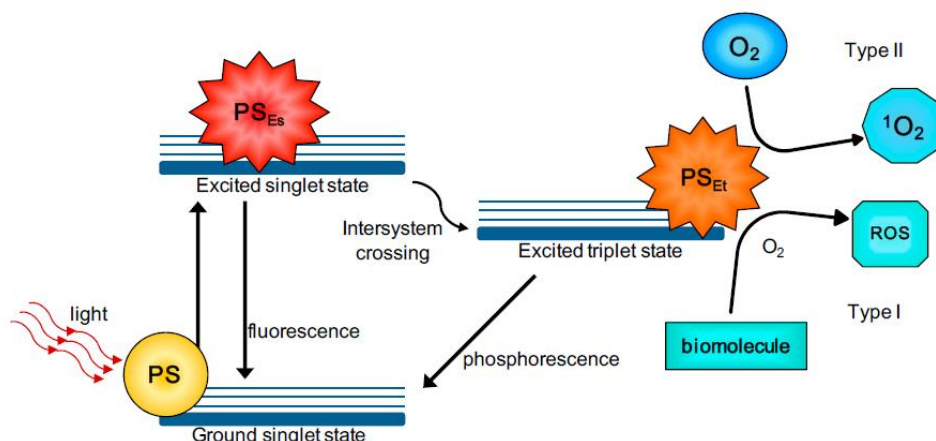
Εικόνα 1. Η διάταξη των ηλεκτρονίων στην απλή (singlet) θεμελιώδη κατάσταση (αριστερά), στην απλή διεγερμένη κατάσταση (στη μέση) και στην τριπλή (triplet) διεγερμένη κατάσταση (δεξιά) του φωτοευαίσθητοποιητή.

Στη συνέχεια, ο διεγερμένος φωτοευαίσθητοποιητής στην τριπλή κατάσταση T^1 μπορεί να υποστεί δύο τύπους αντιδράσεων. Κατά την αντίδραση Τύπου I, ο φωτοευαίσθητοποιητής αντιδρά άμεσα με ένα βιολογικό υπόστρωμα, μέσω μεταφοράς ηλεκτρονίων, με αποτέλεσμα να σχηματίζονται ελεύθερες ρίζες.^{[2],[7]} Οι ρίζες αυτές αντιδρούν στη συνέχεια με το οξυγόνο, οδηγώντας στην παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS), αρχικά με τη μορφή του ανιόντος σουπεροξειδίου ($O_2^{\cdot-}$), που προκαλεί περαιτέρω παραγωγή ROS, όπως το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2) και η εξαιρετικά δραστική ρίζα υδροξυλίου (HO^{\cdot}).^{[1],[8]}

Κατά την αντίδραση Τύπου II, ο φωτοευαίσθητοποιητής μεταφέρει την ενέργειά του στο μοριακό οξυγόνο (3O_2), το οποίο έχει την ιδιαιτερότητα να βρίσκεται σε τριπλή κβαντική κατάσταση (triplet) στη θεμελιώδη του κατάσταση. Ως αποτέλεσμα, σχηματίζεται διεγερμένο οξυγόνο απλής κατάστασης (singlet oxygen, 1O_2), που αποτελεί μια εξαιρετικά δραστική μορφή οξυγόνου. Το 1O_2 παράγεται με αναστροφή της ιδιοστροφορμής ενός εκ των δύο εξωτερικών ηλεκτρονίων. Όταν το οξυγόνο βρίσκεται στη θεμελιώδη (τριπλή) κατάσταση, τα δύο ηλεκτρόνια υψηλότερης ενέργειας βρίσκονται ξεχωριστά στα δύο εξωτερικά αντιδεσμικά τροχιακά, έχοντας την ίδια ιδιοστροφορμή, ενώ όταν το οξυγόνο βρίσκεται στην απλή κβαντική κατάσταση, τα ηλεκτρόνια βρίσκονται μαζί στο ίδιο αντιδεσμικό τροχιακό, με αντίθετη ιδιοστροφορμή. Επομένως, το 1O_2 είναι πολύ πιο δραστικό από το 3O_2 .^[7]

Οι δραστικές ρίζες οξυγόνου, που παράγονται με βάση τους δύο παραπάνω μηχανισμούς, είναι οξειδωτικοί παράγοντες που μπορούν να αντιδράσουν με πολλά βιολογικά μόρια, προκαλώντας την καταστροφή τους και κατ' επέκταση τον θάνατο των κυττάρων.^[1] Δηλαδή, μια ασυνήθιστα υψηλή συγκέντρωση των ROS στα κύτταρα (οξειδωτικό στρες) οδηγεί σε οξειδωτική

βλάβη των κυτταρικών συστατικών (π.χ. πρωτεΐνες, λιπίδια), σε κυτταρική δυσλειτουργία και τελικά στην αντιμετώπιση ασθενειών, όπως ο καρκίνος.^[9]



Εικόνα 2. Σχηματική απεικόνιση του τρόπου δράσης της φωτοδυναμικής θεραπείας.^[10]

Οι αντιδράσεις Τύπου I και II μπορούν να λαμβάνουν χώρα ταυτόχρονα και η μεταξύ τους αναλογία εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως ο τύπος του φωτοευαισθητοποιητή, καθώς και οι συγκεντρώσεις του μοριακού οξυγόνου και των υποστρωμάτων.^[5] Ωστόσο, η παραγωγή ROS είναι πιο απλή κατά τον Τύπο II, σε σύγκριση με τον Τύπο I, ως προς τον μηχανισμό. Άρα, σε πολλές μελέτες θεωρείται πως οι περισσότεροι φωτοευαισθητοποιητές λειτουργούν μέσω του μηχανισμού Τύπου II. Συνεπώς, το ¹O₂ διαδραματίζει κυρίαρχο ρόλο στην PDT.^{[2],[4]}

Λόγω της ισχυρής δραστηριότητας και του μικρού χρόνου ημιζωής των ROS, μόνο μόρια και δομές που βρίσκονται κοντά στην περιοχή παραγωγής τους, δηλαδή κοντά στη θέση του φωτοευαισθητοποιητή, μπορούν να επηρεαστούν άμεσα από την PDT. Για παράδειγμα, ο χρόνος ημιζωής του ¹O₂ κυμαίνεται από 0.03 έως 0.18 μs, γεγονός που περιορίζει τη διάχυσή του στα βιολογικά συστήματα σε ακτίνα <0.02 μm, ενώ η διάμετρος των ανθρώπινων κυττάρων εκτείνεται από 10 έως 100 μm. Επομένως, η θέση αρχικής παραγωγής ¹O₂ καθορίζει σε ποιες περιοχές του κυττάρου μπορεί να εκδηλωθεί η φωτοδυναμική δράση.^{[4],[7],[11]}

Αντικαρκινική δράση

Η φωτοδυναμική θεραπεία προκαλεί τον θάνατο των κυττάρων του όγκου, ο οποίος μπορεί να συμβεί μέσω της απόπτωσης, της νέκρωσης ή της αυτοφαγίας.^[1] Η απόπτωση, που θεωρείται ο κύριος μηχανισμός που οδηγεί στον κυτταρικό θάνατο, χαρακτηρίζεται μορφολογικά από συμπύκνωση της χρωματίνης, κατακερματισμό του χρωμοσωμικού DNA και του πυρήνα, συρρίκνωση του κυττάρου και σχηματισμό αποπτωτικών σωμάτων, χωρίς τη διάσπαση της πλασματικής μεμβράνης. Η νέκρωση χαρακτηρίζεται από διόγκωση του κυτταροπλάσματος, καταστροφή οργανιδίων και διάσπαση της

πλασματικής μεμβράνης, με αποτέλεσμα την απελευθέρωση των περιεχομένων του κυττάρου και την πυροδότηση μιας φλεγμονώδους απόκρισης.^{[2],[5]} Η δόση, ο τύπος και η θέση του φωτοευαισθητοποιητή μέσα στο κύτταρο, καθώς και ο γενότυπος των κυττάρων που υπόκεινται σε φωτοδυναμική θεραπεία, το επίπεδο του οξυγόνου κ.ά., παίζουν σημαντικό ρόλο στον μηχανισμό θανάτου που κυριαρχεί.^[12]

Εκτός από την άμεση θανάτωση των κυττάρων του όγκου, η φωτοδυναμική θεραπεία μπορεί επίσης να επιφέρει μερική ή πλήρη διακοπή της αγγείωσης που σχετίζεται με τον όγκο, οδηγώντας σε ιστική υποξία και στον μακροχρόνιο έλεγχο του. Επιπλέον, λόγω της καταστροφής της δομής του όγκου, μπορεί να ενεργοποιήσει μια ανοσολογική απόκριση κατά των κυττάρων του. Έτσι, έχει το πρόσθετο πλεονέκτημα να αποτελεί ανοσοδιεγερτική μέθοδο, ενώ η χημειοθεραπεία και η χειρουργική επέμβαση δρουν ανοσοκατασταλτικά.^{[1],[5]}

1.2 Πλεονεκτήματα και περιορισμοί

Η φωτοδυναμική θεραπεία είναι γενικά αποδεκτή από τους ασθενείς, λόγω της εκλεκτικής της δράσης.^[1] Επιπλέον, χαρακτηρίζεται από ελάχιστη επεμβατικότητα, επαναληψιμότητα χωρίς αθροιστική τοξικότητα, μειωμένα μακροχρόνια νοσηρότητα και βελτιωμένη ποιότητα ζωής του ασθενούς, ενώ είναι επίσης οικονομικά αποδοτική.^[5] Τα φωτοδυναμικά πρωτόκολλα είναι ανώδυνα, ενώ η απλότητά τους επιτρέπει την εφαρμογή τους χωρίς την ανάγκη για νοσηλεία του ασθενούς.^{[1],[12]}

Οι παραδοσιακές θεραπείες για τον καρκίνο, συμπεριλαμβανομένης της χημειοθεραπείας, της ακτινοθεραπείας και της χειρουργικής επέμβασης, προκαλούν σοβαρές παρενέργειες, λόγω της απώλειας της φυσιολογικής λειτουργίας των οργάνων. Αντίθετα, η φωτοδυναμική θεραπεία είναι πιο ελεγχόμενη και έχει τη δυνατότητα να καταστρέψει επιλεκτικά τα κακοήθη κύτταρα, χωρίς να επηρεάζει τους φυσιολογικούς ιστούς, αφού χρησιμοποιεί τρία μη τοξικά συστατικά που από μόνα τους δεν έχουν καμία τοξική επίδραση στα βιολογικά συστήματα. Επιπλέον, μπορεί να εφαρμοστεί σε σημεία όπου η χειρουργική επέμβαση δεν γίνεται να πραγματοποιηθεί, ενώ είναι σημαντική για τους ηλικιωμένους, καθώς και άλλους ασθενείς που είναι ευάλωτοι στις παραδοσιακές θεραπείες.^{[5],[7]}

Παρά τις εκτεταμένες και ταχέως αναπτυσσόμενες εφαρμογές της, η φωτοδυναμική θεραπεία χαρακτηρίζεται και από μερικούς περιορισμούς, όπως η έλλειψη ενός ιδανικού φωτοευαισθητοποιητή, οι προκλήσεις στη μορφοποίησή του, η επιλογή της σωστής δοσिमетρίας φωτός, καθώς και οι δυσκολίες στον προγραμματισμό της και στην παρακολούθηση της απόκρισης σε αυτήν. Το βασικό της πρόβλημα είναι η αδυναμία της να θεραπεύσει συμπαγείς, ογκώδεις όγκους, ή όγκους που βρίσκονται σε βάθος. Επιπλέον, αφού βασίζεται στην κατανάλωση οξυγόνου, η αντικαρκινική της δράση θα επηρεαστεί σε περίπτωση

υποξίας των ιστών.^[5] Επομένως, για να ξεπεραστούν οι παραπάνω προκλήσεις, διερευνώνται νέες ενώσεις και καινοτόμες μέθοδοι με στόχο τη βελτίωση της αποτελεσματικής κλινικής χρήσης της.^[1] Η εφαρμογή φορέων εγκλεισμού στην PDT είναι πολλά υποσχόμενη για την επίλυση μερικών προβλημάτων που σχετίζονται με τους κλασσικούς φωτοευαισθητοποιητές.^[5]

Παραδόξως, η εκλεκτικότητα της φωτοδυναμικής θεραπείας, εκτός από πλεονέκτημα, αποτελεί και ένα από τα μειονεκτήματά της, επειδή την καθιστά αναποτελεσματική ενάντια σε μεταστάσεις, που είναι η πιο συχνή αιτία θανάτου στους καρκινοπαθείς. Η έρευνα επικεντρώνεται στην εύρεση βέλτιστων συνθηκών για την PDT, ώστε να προκαλέσει συστημακή ανοσία, γεγονός που θα μπορούσε, σε έναν βαθμό, να παρακάμψει αυτόν τον περιορισμό στο μέλλον.^[2]

1.3 Φωτοευαισθητοποιητές

Ιδιότητες ενός ιδανικού φωτοευαισθητοποιητή

Οι φωτοευαισθητοποιητές (PS) αποτελούν ένα από τα τρία βασικά στοιχεία της φωτοδυναμικής θεραπείας. Όπως σε κάθε ομάδα φαρμάκων, υπάρχουν ορισμένα χαρακτηριστικά, που περιγράφουν έναν ιδανικό φωτοευαισθητοποιητή.

- ✓ Αρχικά, θα πρέπει να είναι χημικά καθαρή ένωση και να μπορεί να παρασκευαστεί μέσω μίας σύντομης και οικονομικής συνθετικής οδού, που εμπλέκει απλές τεχνικές με υψηλή απόδοση.^{[1],[7]}
- ✓ Επιπλέον, πρέπει να εμφανίζει ισχυρή απορρόφηση στην περιοχή μεγάλων μηκών κύματος, από 700 έως 800 nm, όπου είναι αυξημένη η διείσδυση του φωτός στους ιστούς.^{[7],[13]} Η απορρόφηση φωτός σε μήκος κύματος μεγαλύτερο από 800 nm, δεν παρέχει αρκετή ενέργεια για τη διέγερση του οξυγόνου στην απλή (singlet) κατάσταση και την παραγωγή άλλων δραστικών μορφών οξυγόνου, ενώ διάφορα ενδογενή μόρια, όπως η αιμογλοβίνη, απορροφούν ισχυρά σε μήκος κύματος μικρότερο από 700 nm, περιορίζοντας, έτσι, την αποδοτική διείσδυση του φωτός στον στόχο.^{[1],[5]}
- ✓ Επιπλέον, είναι σημαντικό να μην παρουσιάζει κυτταροτοξικότητα απουσία φωτός, να είναι σταθερός σε θερμοκρασία δωματίου, να μη μετατρέπεται σε τοξικούς μεταβολίτες και να μπορεί να χορηγηθεί εύκολα στον οργανισμό, ενέσιμα, ή μέσω άλλων οδών.^[13]
- ✓ Πρέπει να έχει υψηλή κβαντική απόδοση 1O_2 (Φ_Δ), που ορίζεται ως η πιθανότητα να μεταβεί ένας φωτοευαισθητοποιητής στην κατάσταση T¹, μετά την απορρόφηση ενός κβάντου φωτός και στη συνέχεια να μεταφέρει την περίσσεια ενέργειά του στο 3O_2 , προκαλώντας τον σχηματισμό του 1O_2 .^{[6],[14]}
- ✓ Επιπλέον, πρέπει να έχει μεγάλη κβαντική απόδοση τριπλής (triplet) κατάστασης (Φ_t), που είναι η πιθανότητα να μεταβεί ένας

φωτοευαισθητοποιητής στην κατάσταση T¹, μετά την απορρόφηση ενός κβάντου φωτός.^{[4],[6]} Πρέπει, επίσης, στην τριπλή (triplet) κατάσταση, να έχει κατάλληλο χρόνο ζωής, ώστε να μπορέσει να αντιδράσει με το ³O₂ και άλλα υποστρώματα, παράγοντας επαρκή ποσότητα ROS.^[5]

- ✓ Πρέπει, ακόμη, να συσσωρεύεται εκλεκτικά στους ιστούς του όγκου και να αποβάλλεται από το σώμα μετά το τέλος της θεραπείας.^[14]
- ✓ Η κατανομή ενός φωτοευαισθητοποιητή είναι σημαντική και επηρεάζεται από τη χημική δομή του.^[7] Η αμφιφιλία είναι μια χρήσιμη ιδιότητα που πρέπει να διαθέτει ένας ιδανικός φωτοευαισθητοποιητής. Για να μπορέσει να φτάσει στον στόχο ανεμπόδιστα, όταν χορηγείται συστηματικά, απαιτείται κάποιο ποσοστό υδροφιλίας και στη συνέχεια, για να δεσμευτεί στα κύτταρα-στόχους, απαιτείται ένα ποσοστό λιποφιλίας.^[5]

Με τόσες πολλές απαιτήσεις, είναι δύσκολο να αναπτυχθεί κάποιο φάρμακο που μπορεί να χαρακτηριστεί ως ιδανικός φωτοευαισθητοποιητής. Ωστόσο, πολλοί που δεν ικανοποιούν όλες αυτές τις απαιτήσεις έχουν εγκριθεί για κλινική χρήση, ενώ άλλοι υπόκεινται σε κλινικές δοκιμές και ανήκουν σε μεγάλο ποσοστό στην πρώτη και δεύτερη γενιά φωτοευαισθητοποιητών.^[5]

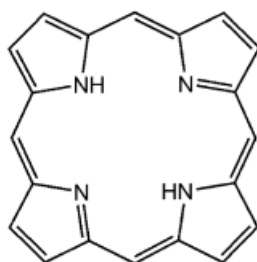
Οι μακροκυκλικές ενώσεις αποτελούν τη μεγαλύτερη ομάδα φωτοευαισθητοποιητών που έχουν χρησιμοποιηθεί για την αντιμετώπιση του καρκίνου. Αυτά τα μόρια περιλαμβάνουν ενώσεις όπως πορφυρίνες, φθαλοκυανίνες, χλωρίνες και βακτηριοχλωρίνες και μπορούν να προκαλέσουν τον κυτταρικό θάνατο μετά από τη διέγερσή τους με φως συγκεκριμένου μήκους κύματος, μέσω της παραγωγής ROS.^[12]

Φωτοευαισθητοποιητές πρώτης γενιάς

Γενικά, οι φωτοευαισθητοποιητές πρώτης γενιάς περιλαμβάνουν ενώσεις με βάση την πορφυρίνη (Εικόνα 3), που αναπτύχθηκαν στις δεκαετίες του 1970 και 1980.^[5] Ένα μίγμα πορφυρινών, που ονομάστηκε «παραγώγο αιματοπορφυρίνης» (HpD), καθώς και το φάρμακο Photofrin®, ένα μίγμα εμπλουτισμένο με τα πιο δραστικά συστατικά του HpD, ανήκουν σε αυτήν την κατηγορία.^{[1],[7]} Το Photofrin® εξακολουθεί να αποτελεί έναν από τους πιο συχνά χρησιμοποιούμενους φωτοευαισθητοποιητές και έχει εγκριθεί για τη θεραπεία καρκίνων των πνευμόνων, του οισοφάγου και της ουροδόχου κύστης. Ωστόσο, οι παραπάνω ενώσεις έχουν αρκετά μειονεκτήματα, όπως η χαμηλή χημική καθαρότητα, η έλλειψη εκλεκτικότητας και η υδροφοβικότητα. Επιπλέον, διεγείρονται στην περιοχή του φάσματος, όπου η διείσδυση του φωτός στους ιστούς είναι χαμηλή, με αποτέλεσμα τον περιορισμό της εφαρμογής τους μόνο σε επιφανειακούς όγκους. Άρα, είναι σημαντικός ο σχεδιασμός και η σύνθεση πιο αποτελεσματικών φωτοευαισθητοποιητών.^{[1],[12]}

Φωτοευαισθητοποιητές δεύτερης γενιάς

Η δεύτερη γενιά φωτοευαισθητοποιητών περιλαμβάνει τροποποιημένες ή υποκατεστημένες πορφυρινοειδείς μακροκυκλικές ενώσεις, όπως πορφυρίνες, φθαλοκυανίνες, χλωρίνες και βακτηριοχλωρίνες, καθώς και μερικές μη πορφυρινοειδείς, όπως ανθρακινόνες, κυανίνες και κουρκουμινοειδή, που αναπτύχθηκαν για να ξεπεράσουν τις ελλείψεις των φωτοευαισθητοποιητών πρώτης γενιάς.^{[5],[12]} Επιπλέον, σε αυτήν την κατηγορία ανήκει και το 5-αμινολεβουλινικό οξύ (ALA), το οποίο αποτελεί ένα είδος προφαρμάκου, που αποκτά δραστηριότητα αφού μετατραπεί σε πρωτοπορφυρίνη IX.^[1]



Εικόνα 3. Η βασική δομή της πορφυρίνης.^[5]

Οι φωτοευαισθητοποιητές δεύτερης γενιάς χαρακτηρίζονται από υψηλότερη χημική καθαρότητα, μεγαλύτερη κβαντική απόδοση 1O_2 (Φ_Δ) και μικρότερο χρόνο συσσώρευσης στους ιστούς. Επιπλέον, βελτιώνεται η διείσδυση του φωτός στους ιστούς, καθώς, γενικά, εμφανίζουν μέγιστη απορρόφηση στην περιοχή μηκών κύματος 650-800 nm. Παρουσιάζουν λιγότερες παρενέργειες, λόγω της υψηλότερης εκλεκτικότητάς τους για τους καρκινικούς ιστούς και την ταχύτερη απέκκρισή τους από το σώμα. Το κύριο μειονέκτημα των μακρομορίων είναι η χαμηλή διαλυτότητα στο νερό, που αποτελεί περιοριστικό παράγοντα για την ενδοφλέβια χορήγησή τους. Για αυτό, εισάγονται συχνά πολικοί υποκαταστάτες στην κύρια δομή τους, ώστε να συντεθούν αμφίφιλα παράγωγα. Επιπλέον, διερευνώνται νέες μέθοδοι μεταφοράς αυτών των φαρμάκων, που παράλληλα μεγιστοποιούν την εκλεκτικότητα για τον στόχο.^{[1],[5]} Οι τελευταίοι αποτελούν τους φωτοευαισθητοποιητές τρίτης γενιάς.

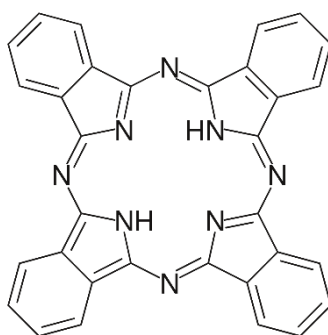
Φωτοευαισθητοποιητές τρίτης γενιάς

Πολλές έρευνες εστιάζουν στην ανάπτυξη φωτοευαισθητοποιητών τρίτης γενιάς, που έχουν βελτιωμένη φαρμακοκινητική και εκλεκτικότητα στον στόχο. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί είτε με (α) την τροποποίηση και σύζευξη του υπάρχοντος φωτοευαισθητοποιητή με ειδικούς βιολογικούς παράγοντες στόχευσης, όπως πεπτίδια και αντισώματα, είτε με (β) τη χημική σύζευξη ή τον εγκλεισμό του σε φορείς που μπορούν να μεταφέρουν το φάρμακο αποτελεσματικά στο αίμα, από τη θέση χορήγησης, στον ιστό-στόχο. Εν ολίγοις, οι φωτοευαισθητοποιητές τρίτης γενιάς θα αποτελούν βελτίωση των σημερινών δεύτερης γενιάς, όσον αφορά στις ικανότητες μεταφοράς ή στόχευσής τους. Αν

και πολλοί έχουν μελετηθεί ευρέως και θεωρείται ότι επιτρέπουν επιλεκτική στόχευση *in vitro*, πολύ λίγοι έχουν αξιολογηθεί για κλινικές εφαρμογές, καθώς η *in vivo* εκλεκτικότητά τους δεν ήταν επαρκής.^{[5],[12]}

2. Φθαλοκυανίνες

Οι φθαλοκυανίνες (Pc) είναι μακροκυκλικές, αρωματικές ενώσεις, οι οποίες αποτελούνται από έναν εσωτερικό δακτύλιο ατόμων αζώτου, που συνδέει τέσσερις ομάδες ισοϊνδολίου (Εικόνα 4). Αποτελούν συνθετικές βαφές και ανήκουν στους φωτοευαισθητοποιητές δεύτερης γενιάς.^[15] Οι ενώσεις αυτές παρουσιάζουν υψηλό βαθμό απεντοπισμού των ηλεκτρονίων, γεγονός που τους προσδίδει έντονο μπλε-πράσινο χρώμα.^[16]

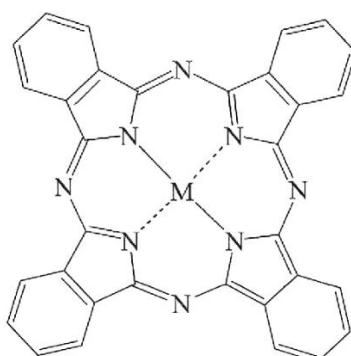


Εικόνα 4. Η δομή της φθαλοκυανίνης.

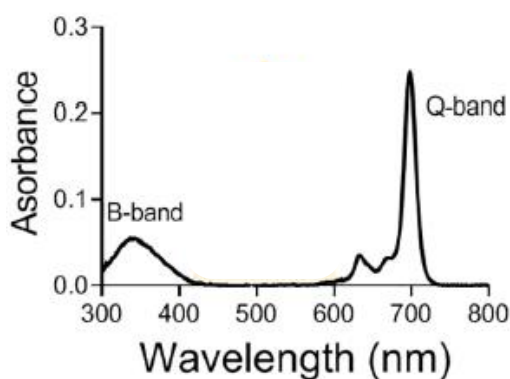
Οι φθαλοκυανίνες έχουν μελετηθεί ευρέως ως φωτοευαισθητοποιητές για τη φωτοδυναμική θεραπεία. Εμφανίζουν ισχυρή απορρόφηση στην περιοχή μηκών κύματος 670-850 nm, γεγονός που επιτρέπει, σε ένα βαθμό, πιο ικανοποιητική διείσδυση του φωτός στους ιστούς.^[17] Παράλληλα, εμφανίζουν χαμηλή ή μηδενική απορρόφηση στην περιοχή 400-600 nm, επομένως μειώνεται η φωτοευαισθησία στο δέρμα που προκαλείται από το φως της ημέρας.^[18] Αντίθετα, οι κλινικά χρησιμοποιούμενες πορφυρίνες μπορούν να προκαλέσουν φωτοευαισθησία, καθώς συχνά παρουσιάζουν μέγιστη κορυφή απορρόφησης στην περιοχή 400-600 nm και μπορούν να ενεργοποιηθούν εύκολα από το φως της ημέρας.^[17]

Ακόμη, οι δομές των φθαλοκυανινών τροποποιούνται εύκολα, με την εισαγωγή κεντρικών μετάλλων (M), καθώς και υποκαταστατών, με αποτέλεσμα να μπορούν να ρυθμιστούν οι φυσικοχημικές τους ιδιότητες και η φαρμακοκινητική τους.^[18] Όταν συμπλοκοποιούνται με μεταλλικά ιόντα, όπως Zn^{2+} , Al^{3+} , λαμβάνονται οι μεταλλοφθαλοκυανίνες (MPc, Εικόνα 5), οι οποίες έχουν υψηλή κβαντική απόδοση διεγερμένης τριπλής κατάστασης (Φ_t) και με μεγάλη διάρκεια ζωής, ιδιότητες σημαντικές για την αποτελεσματικότητα της φωτοδυναμικής θεραπείας.^[15] Οι φθαλοκυανίνες διαθέτουν επιπλέον πλεονεκτικά χαρακτηριστικά, όπως χημική και θερμική σταθερότητα, υψηλή απόδοση παραγωγής ROS και χαμηλή τοξικότητα απουσία φωτός.^[19] Έως σήμερα, τέσσερα παράγωγα φθαλοκυανινών, το Photosens®, το Photocyanine®,

το Pc 4® και το ASP-1929®, έχουν εγκριθεί ή βρίσκονται σε κλινικές δοκιμές για διαφορετικούς καρκίνους.^[17]



Εικόνα 5. Η δομή της μεταλλοφθαλοκυανίνης.



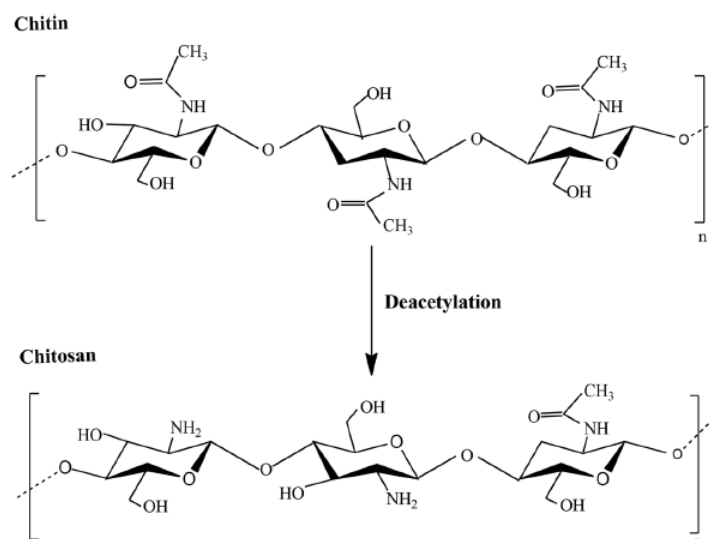
Εικόνα 6. Τυπικό φάσμα απορρόφησης της φθαλοκυανίνης.^[17]

Παρά τα σημαντικά τους πλεονεκτήματα, οι φθαλοκυανίνες έχουν χαμηλή διαλυτότητα στο φυσιολογικό περιβάλλον, καθιστώντας αδύνατη την άμεση χορήγησή τους, αφού, σε υδατικό περιβάλλον, τα υδρόφοβα μόρια τείνουν να συσσωματώνονται, με αποτέλεσμα να επηρεάζεται η δράση τους.^[15] Ένας τρόπος να αυξηθεί η διαλυτότητά τους είναι η τροποποίησή τους με την εισαγωγή υδρόφιλων υποκαταστατών, ώστε να προκύψουν αμφίφιλα παράγωγα.^[18] Επιπλέον, οι φθαλοκυανίνες μπορούν να χορηγηθούν μέσω συστημάτων μεταφοράς, όπως λιπосώματα, πολυμερικά νανοσωματίδια, υδρογέλες κ.ά. Τα συστήματα αυτά αποτελούν πολλά υποσχόμενες στρατηγικές για να ελέγχουν κατάλληλα τις ιδιότητες των φθαλοκυανινών και να τις επιτρέπουν να επιτελούν τη θεραπευτική τους δράση.^[15]

3. Χιτοζάνη

Η χιτοζάνη είναι ένας φυσικός πολυσακχαρίτης που προέρχεται από την αποακετυλίωση της χιτίνης, του δεύτερου πιο άφθονου πολυσακχαρίτη στη φύση, ο οποίος αποτελεί το κύριο συστατικό στους εξωσκελετούς των καρκινοειδών και των εντόμων, καθώς και στα κυτταρικά τοιχώματα των

μυκήτων.^[20] Είναι ένα γραμμικό συμπολυμερές που αποτελείται από τυχαία διατεταγμένες μονάδες N-ακετυλο-2-αμινο-2-δεοξυ-D-γλυκοπυρανόζης και 2-αμινο-2-δεοξυ-D-γλυκοπυρανόζης, οι οποίες συνδέονται μεταξύ τους με β-(1,4)-γλυκοσιδικούς δεσμούς.^[21]



Εικόνα 7. Σχηματική αναπαράσταση της χιτοζάνης, που λαμβάνεται από αποακετυλίωση της χιτίνης.^[22]

3.1 Φυσικοχημικές ιδιότητες

Η διαδικασία αποακετυλίωσης της χιτίνης σε χιτοζάνη οδηγεί στην απομάκρυνση, κατά ένα ποσοστό, των ακετυλο-ομάδων (C₂H₃O) και πραγματοποιείται μέσω αλκαλικής ή ενζυμικής υδρόλυσης.^[21] Το μοριακό κλάσμα των επαναλαμβανόμενων μονάδων με ελεύθερες αμινομάδες, στη χιτοζάνη, ορίζεται ως βαθμός αποακετυλίωσης (degree of deacetylation, DD).^[23] Αποτελεί κρίσιμη παράμετρο, καθώς η χιτοζάνη με υψηλότερο βαθμό αποακετυλίωσης παρουσιάζει ισχυρότερες βιολογικές δράσεις, αλλά και αυξημένη υδατοδιαλυτότητα, λόγω της αύξησης της συγκέντρωσης των αμινομάδων. Οι πιο ακριβείς μετρήσεις του βαθμού αποακετυλίωσης πραγματοποιούνται μέσω Φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR). Οι τιμές DD που διαχωρίζουν τη χιτίνη από τη χιτοζάνη κυμαίνονται συνήθως από 40 έως 75 %, ενώ οι περισσότερες εμπορικές χιτοζάνες έχουν τιμές DD μεταξύ 70-90 %.^[24]

Το μέσο μοριακό βάρος (M_w) αποτελεί μια εξίσου σημαντική ιδιότητα, που επηρεάζει τη βιοδραστικότητα της χιτοζάνης. Συγκεκριμένα, η χιτοζάνη χαμηλότερου μοριακού βάρους έχει πιο ισχυρές αντιμικροβιακές ιδιότητες αλλά και βελτιωμένη υδατοδιαλυτότητα, σε σύγκριση με τη χιτοζάνη υψηλότερου μοριακού βάρους.^{[25],[26]} Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι για τον προσδιορισμό του, όπως η ιξωδομετρία, που αποτελεί και την πιο δημοφιλή, η χρωματογραφία

υψηλής απόδοσης (HPLC) και η χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους.^[26] Με βάση το εύρος του μοριακού της βάρους, η χιτοζάνη μπορεί να ταξινομηθεί σε τρεις κατηγορίες: υψηλού (>700 kDa), μέσου (150-700 kDa) και χαμηλού (<150 kDa) μοριακού βάρους.^[27]

Η χιτοζάνη αποτελεί ένα ημικρυσταλλικό πολυμερές με ενδομοριακούς και διαμοριακούς δεσμούς υδρογόνου.^[26] Η διαλυτότητά της παίζει σημαντικό ρόλο στις φαρμακευτικές εφαρμογές της. Είναι διαλυτή υπό όξινες συνθήκες (κάτω από $pH \approx 6$), λόγω της παρουσίας των αμινομάδων ($-NH_2$), οι οποίες, σε τέτοιες τιμές pH, είναι θετικά φορτισμένες, περιορίζοντας τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αλυσίδων.^[20] Επομένως, μπορεί να διαλυθεί σε διάφορα αραιά οξέα, όπως το οξικό, που είναι το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο, το κιτρικό, το γαλακτικό και το υδροχλωρικό. Η διαλυτότητα της χιτοζάνης επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, όπως η κρυσταλλικότητα, ο βαθμός αποακετυλίωσης, η κατανομή των ακετυλο-ομάδων και το μοριακό βάρος.^{[22],[26]}

Οι φυσικοχημικές ιδιότητες της χιτοζάνης καθορίζουν τη σχέση που υπάρχει μεταξύ της χημικής δομής της και τις χρήσεις της σε πολλούς επιστημονικούς κλάδους. Πέρα από τον βαθμό αποακετυλίωσης, το μέσο μοριακό βάρος και τη διαλυτότητα, μερικές επιπλέον ιδιότητες που αξιολογούνται συχνά, είναι η κρυσταλλικότητα, το ιξώδες και η περιεκτικότητα σε νερό.^[25]

3.2 Εφαρμογές

Η χιτοζάνη έχει αναγνωριστεί ως ασφαλής από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA), έχει χαμηλή τοξικότητα και είναι βιοσυμβατή, βιοδραστική, και βιοαποικοδομήσιμη.^{[25],[28]} Μπορεί να αποικοδομηθεί *in vivo* από διάφορα ένζυμα, κυρίως από τη λυσοζύμη (μια μη ειδική πρωτεάση που υπάρχει στους ιστούς των θηλαστικών). Επίσης, τα προϊόντα από την αποικοδόμηση είναι μη τοξικοί ολιγοσακχαρίτες που μπορούν στη συνέχεια να απεκκριθούν, ή να ενσωματωθούν σε γλυκοζαμινογλυκάνες και γλυκοπρωτεΐνες.^[20] Η χιτοζάνη παρουσιάζει, επιπλέον, αντιμικροβιακές, αντιφλεγμονώδεις, αντιοξειδωτικές και αιμοστατικές ιδιότητες, καθώς και δυνατότητες εγκλεισμού διαφόρων παραγόντων.^[25] Λόγω της παρουσίας των αμινομάδων, είναι πολυκατιόν (σε όξινα διαλύματα) και μπορεί να σχηματίσει ιοντικά σύμπλοκα με μια μεγάλη ποικιλία φυσικών ή συνθετικών ανιοντικών ειδών, όπως λιπίδια, πρωτεΐνες και DNA.^[26] Τα παραπάνω χαρακτηριστικά καθιστούν τη χιτοζάνη κατάλληλη για την παρασκευή νέων υλικών με βιοϊατρικές εφαρμογές.

Ωστόσο, η χιτοζάνη έχει χαμηλή διαλυτότητα σε ουδέτερο pH και είναι διαλυτή μόνο σε ασθενώς όξινα διαλύματα, γεγονός που περιορίζει τις εφαρμογές της στη βιοϊατρική, στη φυσική της μορφή. Επομένως, είναι σημαντική η χημική τροποποίησή της, που μπορεί να επιτευχθεί, λόγω των δραστικών αμινομάδων και υδροξυλομάδων που διαθέτει, με μια ποικιλία λειτουργικών ομάδων και προσδεμάτων (ligands), ώστε να σχηματιστούν διάφορα παράγωγά της με

αυξημένη υδατοδιαλυτότητα.^{[26],[29]} Επιπλέον, παρασκευάζονται συχνά διάφορες μορφές χιτοζάνης, όπως υδρογέλες, νανοσωματίδια, μικροσωματίδια, γαλακτώματα, μεμβράνες και ίνες, για βιοϊατρικές εφαρμογές.^[25]

Λόγω των χαρακτηριστικών της χιτοζάνης, έχει αναπτυχθεί μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον για τις βιοϊατρικές της εφαρμογές, κυρίως στη μεταφορά φαρμάκων, αλλά και στη μηχανική ιστών. Συγκεκριμένα, υδρογέλες και σωματίδια χιτοζάνης έχουν χρησιμοποιηθεί ως στοχευμένοι φορείς, ικανοί για την ελεγχόμενη αποδέσμευση φαρμάκων. Επιπλέον, η χιτοζάνη έχει χρησιμοποιηθεί σε ράμματα και επιδέσμους, για την επούλωση πληγών.^{[21],[30]} Πέρα από τη βιοϊατρική, η χιτοζάνη βρίσκει εφαρμογή στα τρόφιμα και στα καλλυντικά.^[25]

Μια βασική τροποποίηση που εφαρμόζεται, για τη χρήση της χιτοζάνης στη βιοϊατρική, είναι η διασύνδεση μεταξύ των πολυμερικών της αλυσίδων για τον σχηματισμό υδρογελών.^[30] Διαθέτει αμινομάδες (-NH₂), που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον σχηματισμό δυναμικών ομοιοπολικών δεσμών με αλδεϋδες. Η αντίδραση αυτή (βάσης Schiff), που αναλύεται παρακάτω, είναι αντιστρέψιμη, γεγονός που προσδίδει στις υδρογέλες την ιδιότητα της αυτοΐασης. Επιπλέον, οι υδρογέλες χιτοζάνης είναι ευαίσθητες στο pH, δηλαδή υφίστανται αλλαγές με τη μεταβολή του pH.^[21]

4. Υδρογέλες

Οι υδρογέλες είναι υδρόφιλα πολυμερικά δίκτυα με τρισδιάστατη διαμόρφωση, που μπορούν να απορροφούν και να συγκρατούν υψηλές ποσότητες νερού ή βιολογικών υγρών, χωρίς να διαλύονται.^[31] Συχνά, ομάδες όπως -NH₂, -COOH, -OH, -CONH₂ και -SO₃H συνεισφέρουν στην υδροφιλία του δικτύου.^[32] Αναφέρθηκαν για πρώτη φορά το 1960, από τους Wichterle και Lim, στη μελέτη τους για τη γέλη πολυ(2-υδροξυαιθυλομεθακρυλικού) οξέος (PHEMA), που χρησιμοποιείται ακόμα και σήμερα σε φακούς επαφής.^[33] Οι ιδιότητες και οι λειτουργικότητες των υδρογελών μπορούν να ρυθμιστούν κατάλληλα και οι μέθοδοι παρασκευής τους είναι απλές, με αποτέλεσμα να παίζουν σημαντικό ρόλο σε πολλές εφαρμογές βιοϊατρικής και μηχανικής, όπως συστήματα μεταφοράς φαρμάκων, μηχανική ιστών, φακοί επαφής, επιθέματα πληγών, αισθητήρες, μαλακή ρομποτική κ.ά.^{[34],[35]}

Η σύσταση των υδρογελών διατηρείται είτε μέσω φυσικής διασύνδεσης (crosslinking) των πολυμερικών αλυσίδων, που επιτυγχάνεται με διαμοριακές δυνάμεις (δεσμοί υδρογόνου, ιοντικές ή υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις) και φυσικές εμπλοκές, είτε μέσω χημικής διασύνδεσης, που επιτυγχάνεται με τον σχηματισμό ομοιοπολικών δεσμών.^{[31],[36]} Οι υδρογέλες παρασκευάζονται από φυσικά πολυμερή, όπως το κολλαγόνο ή η χιτοζάνη, συνθετικά, όπως η πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG), αλλά και συνδυασμούς αυτών. Επιπλέον, ταξινομούνται με βάση τα ιοντικά φορτία που υπάρχουν σε αυτές, επομένως

μπορεί να είναι μη ιοντικές, ανιοντικές, κατιοντικές ή αμφολυτικές. Ακόμη, διακρίνονται σε βιοαποικοδομήσιμες και μη βιοαποικοδομήσιμες, ενώ με βάση τις φυσικές τους ιδιότητες, χωρίζονται σε «έξυπνες» και συμβατικές.^{[32],[33]} Οι «έξυπνες» υδρογέλες μπορούν να ανταποκρίνονται σε μικρές αλλαγές περιβαλλοντικών ερεθισμάτων, όπως η θερμοκρασία, το pH, το φως, το ηλεκτρικό πεδίο κ.ά., με αλλαγές σε ορισμένα χαρακτηριστικά τους (π.χ. διόγκωση). Στη συνέχεια, όταν το ερέθισμα σταματήσει, έχουν τη δυνατότητα να επιστρέφουν στην αρχική τους κατάσταση.^[37] Ανάλογα με το μέγεθος των λαμβανόμενων σωματιδίων, οι υδρογέλες μπορούν να ταξινομηθούν σε μακρο-, μικρο- και νανογέλες.^[38]

4.1 Χημική διασύνδεση

Η διαδικασία χημικής διασύνδεσης μπορεί να πραγματοποιηθεί με τη σύνδεση των πολυμερικών αλυσίδων μέσω χημικών αντιδράσεων, με τον πολυμερισμό ελευθέρων ριζών, με την κατάλυση από ένζυμα, ενώ υπάρχει, επίσης, και η φωτο-διασύνδεση. (photo crosslinking). Στην πρώτη περίπτωση, λαμβάνει χώρα αντίδραση μεταξύ πολυμερικών λειτουργικών ομάδων, π.χ. καρβοξυλομάδες (COOH), υδροξυλομάδες (OH), αμινομάδες (NH₂) και μορίων που ονομάζονται διασυνδέτες (crosslinkers), όπως η γλουταραλδεΐδη.^[32] Οι ομοιοπολικοί δεσμοί μπορούν, επίσης, να σχηματιστούν μέσω χημικών αντιδράσεων μεταξύ συμπληρωματικών ομάδων των πολυμερών. Τυπικές αντιδράσεις για τη δημιουργία του ομοιοπολικού δικτύου είναι η χημεία «κλικ», που αποτελεί μια κατηγορία χημικών αντιδράσεων που χαρακτηρίζονται από υψηλές χημικές αποδόσεις, γρήγορους ρυθμούς, λιγότερα παραπροϊόντα και ήπιες συνθήκες (π.χ. κυκλοπροσθήκη αζιδίου-αλκινίου, κυκλοπροσθήκη Diels-Alder), η αντίδραση βάσης Schiff (Schiff-base), προσθήκες τύπου Michael, αντιδράσεις συμπύκνωσης κ.ά. Σε κάθε περίπτωση, πρέπει να είναι ενσωματωμένες συγκεκριμένες λειτουργικές ομάδες στις πολυμερικές αλυσίδες.^{[34],[35]}

Αντίδραση βάσης Schiff

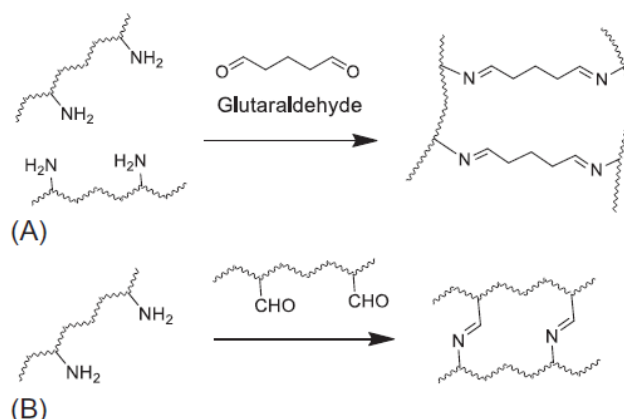
Η αντίδραση βάσης Schiff είναι μία από τις πιο ευρέως αποδεκτές μεθόδους για την παρασκευή υδρογελών, γεγονός που οφείλεται ιδιαίτερα στις ήπιες συνθήκες και στους υψηλούς ρυθμούς που τη χαρακτηρίζουν.^[39] Η αντίδραση λαμβάνει χώρα μεταξύ μίας αμινομάδας (NH₂) και μίας αλδεΐδομάδας (CHO), ώστε να σχηματιστεί ένας δεσμός ιμίνης (NR=CR'R''), με απόσπαση ενός μορίου νερού.^{[34],[35]} Οι ιμίνες αναφέρονται και ως βάσεις Schiff. Η γλουταραλδεΐδη αποτελεί έναν ευρέως χρησιμοποιούμενο διασυνδέτη με αλδεϊδικές ομάδες, που μπορεί να επάγει τη διασύνδεση πολυμερών που περιέχουν αμινομάδες.

Επειδή η αντίδραση αυτή απαιτεί ήπιες συνθήκες, είναι πιθανόν να χρησιμοποιηθεί για εφαρμογές εγκλεισμού κυττάρων και ελεγχόμενης

μεταφοράς φαρμάκων.^[40] Επιπλέον, αξίζει να σημειωθεί ότι οι δεσμοί ιμίνης που σχηματίζονται είναι ευαίσθητοι στο pH και μπορούν να υδρολυθούν υπό όξινες συνθήκες. Ένα ακόμη ενδιαφέρον χαρακτηριστικό της συγκεκριμένης αντίδρασης είναι η δυναμική ισορροπία μεταξύ των δεσμών ιμίνης και των αντιδρώντων, που περιέχουν τις ομάδες αλδεΐδης και αμίνης. Δηλαδή, η διάσπαση και η αναγέννηση των δεσμών ιμίνης συμβαίνουν συνεχώς στο δίκτυο της υδρογέλης. Ως αποτέλεσμα, η υδρογέλη έχει την ιδιότητα της αυτοΐασης, δηλαδή μπορεί να επαναφέρει, μερικώς ή πλήρως, την αρχική της κατάσταση, μετά την καταστροφή της από κάποια εξωτερική δύναμη.^{[35],[41]} Συνήθως, προτιμώνται οι αρωματικοί δεσμοί από τους αλειφατικούς, αφού μπορούν, όχι μόνο να διατηρήσουν τη δυναμική φύση, αλλά και να βελτιώσουν τις μηχανικές ιδιότητες των υδρογελών.^[35] Η χιτοζάνη, το αλγινικό οξύ, η δεξτράνη και το υαλουρονικό οξύ αποτελούν βιοπολυμερή που χρησιμοποιούνται εκτενώς για την παρασκευή ενέσιμων υδρογελών μέσω της αντίδρασης βάσης Schiff.^[39]



Εικόνα 8. Σχηματισμός ιμίνης από την αντίδραση βάσης Schiff μεταξύ αμίνης και αλδεΐδης.^[42]



Εικόνα 9. Χημική διασύνδεση: Αντίδραση βάσης Schiff μεταξύ (A) πολυμερών και διασυνδετών (γλουταραλδεΐδη) και (B) πολυμερών.^[35]

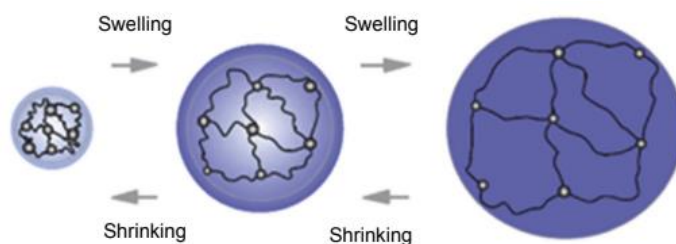
4.2 Φυσική διασύνδεση

Γενικά, οι υδρογέλες που είναι διασυνδεδεμένες με φυσικό τρόπο είναι χημικά ασταθείς, λόγω της αντιστρεπτότητας των σχηματιζόμενων δεσμών.^[43] Ο σχηματισμός του δικτύου είναι απλός και δεν περιλαμβάνει τη χρήση κάποιου δυνητικά τοξικού χημικού διασυνδέτη. Επιπλέον, οι υδρογέλες έχουν την ιδιότητα της αυτοΐασης.^[20] Ωστόσο, οι μηχανικές ιδιότητες περιορίζονται, πιθανώς, από τις ασθενείς φυσικές αλληλεπιδράσεις. Όπως προαναφέρθηκε, ένας από τους τρόπους να επιτευχθεί η φυσική διασύνδεση είναι με ιοντική αλληλεπίδραση. Στην περίπτωση αυτή, τα ιοντικά πολυμερή μπορούν να διασυνδεθούν με την προσθήκη δισθενών ή τρισθενών αντισταθμιστικών ιόντων (π.χ. Ca²⁺) ή ιοντικών

ενώσεων (π.χ. τριπολυφωσφορικό νάτριο, TPP).^{[40],[44]} Επιπλέον, η ιοντική αλληλεπίδραση διαφόρων πολυηλεκτρολυτών με αντίθετα φορτία επιτρέπει τον σχηματισμό γελών συμπλόκων πολυϊόντων (polyion complex gels). Μια εφαρμογή αυτής της μεθόδου είναι η πηκτωμάτωση μεταξύ του πολυανιοντικού κόμμεος ξανθάνης και της πολυκατιοντικής χιτοζάνης.

4.3 Διόγκωση

Ένα από τα ενδιαφέροντα χαρακτηριστικά των υδρογελών είναι η ικανότητά τους να διογκώνονται, δηλαδή να απορροφούν και να διατηρούν ένα υδατικό μέσο (π.χ. νερό) εντός του πολυμερικού δικτύου.^[40] Μπορούν να απορροφήσουν νερό από 10-20% (ένα αυθαίρετο κατώτερο όριο) έως και χιλιάδες φορές το ξηρό τους βάρος.^[45] Η διόγκωση ξεκινά με τη διάχυση του νερού μέσα στο δίκτυο της ξηρής υδρογέλης. Οι πιο πολικές υδρόφιλες ομάδες είναι αυτές που αλληλεπιδρούν πρώτα με τα μόρια νερού και ενυδατώνονται, οδηγώντας στο πρωτεύον δεσμευμένο νερό. Καθώς οι πολικές ομάδες ενυδατώνονται, το δίκτυο διογκώνεται και εκτίθενται οι λιγότερο υδρόφιλες ομάδες, που επίσης αλληλεπιδρούν με μόρια νερού, οδηγώντας στο δευτερεύον δεσμευμένο νερό. Στη συνέχεια, το δίκτυο απορροφά επιπλέον νερό, λόγω οσμωτικών δυνάμεων, αλλά οποιαδήποτε πρόσθετη διόγκωση στη δομή αντισταθμίζεται από τις ομοιοπολικές ή φυσικές διασυνδέσεις, με αποτέλεσμα το επίπεδο διόγκωσης της υδρογέλης να φτάνει σε ισορροπία. Αυτό το πρόσθετο, που ορίζεται ως ελεύθερο, νερό, θεωρείται πως γεμίζει το κέντρο των μεγαλύτερων πόρων, ή τον χώρο μεταξύ των αλυσίδων του δικτύου.^{[45],[46]} Καθώς λαμβάνει χώρα η διόγκωση, κάποια στιγμή, αν οι αλυσίδες του δικτύου ή οι διασυνδέσεις είναι αποικοδομήσιμες, η γέλη θα αρχίσει να αποσυντίθεται και να διαλύεται, με ρυθμό που εξαρτάται από τη σύστασή της.^[45]



Εικόνα 10. Διόγκωση: το πολυμερικό δίκτυο απορροφά και διατηρεί μεγάλη ποσότητα νερού.^[40]

Η διόγκωση των υδρογελών εκφράζεται από τον λόγο διόγκωσης (swelling ratio, S_w) και μπορεί να μελετηθεί μέσω μιας διαδικασίας, κατά την οποία μια ξηρή υδρογέλη εμβαπτίζεται σε υδατικό μέσο και έπειτα, σε προκαθορισμένα χρονικά σημεία, ζυγίζεται το διογκωμένο δείγμα. Ο λόγος διόγκωσης εκφράζεται από την ακόλουθη εξίσωση:

$$S_w = \frac{W_s - W_d}{W_d} \quad (1)$$

όπου με W_s συμβολίζεται το βάρος της διογκωμένης υδρογέλης στον χρόνο t και με W_d το βάρος της αρχικής ξηρής υδρογέλης.^[35]

Η διασύνδεση επηρεάζει τον λόγο διόγκωσης· οι υδρογέλες με υψηλότερη πυκνότητα διασύνδεσης εμφανίζουν χαμηλότερο λόγο διόγκωσης και αντίστροφα. Η χημική δομή έχει, επίσης, σημαντική επίδραση στην ιδιότητα της διόγκωσης. Συγκεκριμένα, οι υδρογέλες που περιέχουν περισσότερες υδρόφιλες ομάδες διογκώνονται περισσότερο. Η διόγκωση μπορεί, ακόμη, να επηρεάζεται από τη θερμοκρασία και το pH.^[47]

Κινητική διόγκωσης

Η κινητική διόγκωσης είναι σημαντική για τον σχεδιασμό συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης φαρμάκων, τα οποία βασίζονται σε πολυμερικές μήτρες που μπορούν να διογκώνονται, καθώς και για την πρόβλεψη των ρυθμών αποδέσμευσης των δραστικών συστατικών.^[48]

Η κυριότερη κινητική που περιγράφει το φαινόμενο της διόγκωσης είναι ψευδο-δεύτερης τάξης και περιγράφεται από την ακόλουθη εξίσωση:

$$\frac{dS_w}{dt} = K(S_{w,\infty} - S_w)^2 \quad (2)$$

Μετά από ολοκλήρωση, λαμβάνεται η παρακάτω εξίσωση, που αποτελεί το κινητικό μοντέλο Schott:

$$\frac{t}{S_w} = \frac{1}{KS_{w,\infty}^2} + \frac{1}{S_{w,\infty}} t \quad (3)$$

όπου με S_w (g/g) συμβολίζεται ο λόγος διόγκωσης στον χρόνο t , με $S_{w,\infty}$ (g/g) ο θεωρητικός λόγος διόγκωσης ισορροπίας και με K (g/(g*s)) η σταθερά του ρυθμού διόγκωσης.

Επομένως, η κινητική διόγκωσης είναι ψευδο-δεύτερης τάξης, εφόσον η γραφική παράσταση μεταξύ του λόγου $\frac{t}{S_w}$ στον άξονα y και του χρόνου t στον άξονα x είναι γραμμική, με κλίση $\frac{1}{S_{w,\infty}}$ και αποτέμνουσα $\frac{1}{KS_{w,\infty}^2}$.

Η διόγκωση επιβραδύνεται σταδιακά, λόγω της αυξανόμενης αντίστασης του πολυμερικού δικτύου. Ο αρχικός ρυθμός διόγκωσης αντιστοιχεί στην ταχύτητα πριν το δίκτυο παραμορφωθεί και αρχίσει να επιβραδύνει τη διόγκωση. Κάποια στιγμή, η υδρογέλη φτάνει σε μια διόγκωση ισορροπίας ($S_{w,\infty}$), πέρα από την οποία δεν μπορεί να απορροφήσει επιπλέον νερό.^{[48],[49]}

4.4 Πορώδες

Το πορώδες είναι μια βασική φυσική ιδιότητα των υδρογελών, καθώς επηρεάζει τον τρόπο με τον οποίο τα μόρια διαχέονται στο/από το δίκτυο, που μπορεί να έχει σημαντικό αντίκτυπο σε εφαρμογές όπως η μεταφορά φαρμάκων

και η μηχανική ιστών.^[35] Οι πορώδεις δομές, που σχηματίζονται λόγω του τρισδιάστατου δικτύου, επιτρέπουν σε θεραπευτικούς παράγοντες να είναι καλά προσκολλημένοι και εγκλωβισμένοι στις υδρογέλες.^[50] Μια τυπική τεχνική για τον χαρακτηρισμό του πορώδους είναι η απεικόνιση της υδρογέλης χρησιμοποιώντας ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM).^[35] Η μέτρησή του μπορεί, επίσης, να πραγματοποιηθεί με την εμβάπτιση μιας ξηρής υδρογέλης σε αιθανόλη και τη ζύγισή της μετά από καθορισμένο χρόνο. Το πορώδες υπολογίζεται με βάση την ακόλουθη εξίσωση:

$$\text{Πορώδες} = \frac{W_2 - W_1}{\rho V} \quad (4)$$

όπου με W_1 και W_2 συμβολίζεται το βάρος της υδρογέλης πριν και μετά από την εμβάπτιση σε αιθανόλη, αντίστοιχα, με ρ η πυκνότητα της αιθανόλης και με V ο όγκος της υδρογέλης.^[51]

4.5 Χημικές ιδιότητες

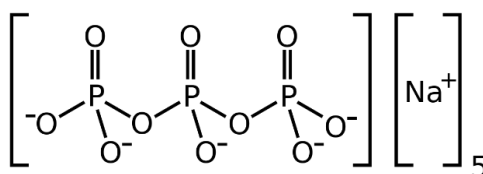
Οι χημικές ιδιότητες των υδρογελών περιλαμβάνουν τη χημική σύσταση, τους τύπους των λειτουργικών ομάδων που υπάρχουν στο δίκτυο κ.ά. Η χημική σύσταση μπορεί να χαρακτηριστεί με τη Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR). Για παράδειγμα, είναι σημαντικό να προσδιοριστεί η μοριακή αναλογία αμινομάδων/αλδεϋδομάδων για τις υδρογέλες που διασυνδέονται μέσω της αντίδρασης βάσης Schiff. Η μεταβολή αυτής της αναλογίας μπορεί να οδηγήσει σε διαφορετική πυκνότητα διασύνδεσης, που μπορεί να έχει σημαντική επίδραση στις μηχανικές ιδιότητες των υδρογελών. Με βάση τις πληροφορίες που λαμβάνονται μέσω NMR, μπορεί κανείς να ρυθμίσει την τροφοδοτική ποσότητα κάθε συστατικού κατά τη σύνθεση της υδρογέλης. Οι τύποι των λειτουργικών ομάδων στο δίκτυο χαρακτηρίζονται συνήθως μέσω της Φασματοσκοπίας Υπερύθρου Μετασχηματισμού Fourier (FT-IR).^[35]

4.6 Διασυνδέτες υδρογελών

Οι διασυνδέτες είναι μόρια, συνήθως μικρού μεγέθους, που χρησιμοποιούνται, όπως προαναφέρθηκε, για τη διασύνδεση των πολυμερικών αλυσίδων με ομοιοπολικούς δεσμούς. Κατά τη διαδικασία αυτή, οι λειτουργικές ομάδες των αλυσίδων αντιδρούν με τους διασυνδέτες, σχηματίζοντας το τρισδιάστατο δίκτυο της υδρογέλης.^[52] Επιπλέον, εκτός από τη χημική, μπορούν να εφαρμοστούν και για τη φυσική διασύνδεση των πολυμερών, άρα διακρίνονται σε χημικούς και φυσικούς διασυνδέτες αντίστοιχα. Χρησιμοποιούνται διάφοροι τύποι διασυνδετών και τεχνικών διασύνδεσης, ανάλογα με το είδος των πολυμερών και τις επιθυμητές ιδιότητες των υδρογελών.^{[53],[54]}

Τριπολυφωσφορικό νάτριο (TPP)

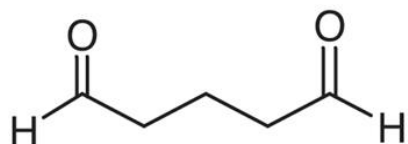
Το τριπολυφωσφορικό νάτριο (TPP) είναι μια ανόργανη ένωση που χρησιμοποιείται ευρέως για τη φυσική διασύνδεση πολυκατιοντικών πολυμερών, όπως η χιτοζάνη, με ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις, μέσω μιας διεργασίας γνωστής ως ιοντική πηκτωμάτωση. Είναι μη τοξικό, διαλυτό στο νερό, με χημικό τύπο $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ (Εικόνα 11) και έχει αναγνωριστεί ως ασφαλές από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA).^{[55],[56]} Κατά την ιοντική πηκτωμάτωση, σχηματίζονται γέφυρες μεταξύ των κατιοντικών ομάδων του πολυμερούς (π.χ. αμινομάδων στη χιτοζάνη) και των ανιοντικών ομάδων του διασυνδέτη, υπό καθορισμένες τιμές pH και συγκεκριμένα εύρη συγκεντρώσεων.^[57] Στην περίπτωση της χιτοζάνης, η διαδικασία πηκτωμάτωσης είναι απλή και θα συμβεί αμέσως μετά την ανάμιξη των δύο φάσεων (TPP και πολυμερούς). Το TPP μπορεί να εξασφαλίσει υψηλή πυκνότητα διασύνδεσης με τις αμινομάδες της χιτοζάνης, λόγω της υψηλής πυκνότητας φορτίων του (που εξαρτάται από το pH).^[55]



Εικόνα 11. Η δομή του τριπολυφωσφορικού νατρίου (TPP).

Γλουταραλδεΐδη

Οι διασυνδέτες που περιέχουν αλδεϋδομάδες χρησιμοποιούνται συχνά για τη χημική διασύνδεση πολυμερών με αμινομάδες, όπως η χιτοζάνη, μέσω του σχηματισμού δεσμών ιμίνης (βάσεις Schiff).^[58] Η γλουταραλδεΐδη, μια διαλδεΐδη, αποτελεί έναν από τους πιο ευρέως χρησιμοποιούμενους συνθετικούς, χημικούς διασυνδέτες. Είναι ένα άχρωμο, ελαιώδες υγρό με έντονη οσμή, που, γενικά, είναι εμπορικά διαθέσιμο σε μορφή υδατικού διαλύματος με pH περίπου 3-4.^{[54],[59]} Έχει υψηλή συγγένεια σύνδεσης με λειτουργικές ομάδες αμίνης, επομένως, αντιδρώντας με αυτές, οδηγεί στον σχηματισμό βάσεων Schiff (βλ. Εικόνα 9). Επιπλέον, αναφέρεται ότι πολυμερή με ομάδες υδροξυλίου μπορούν να διασυνδεθούν με γλουταραλδεΐδη υπό όξινες συνθήκες.^{[59],[60]} Έχουν αναπτυχθεί αρκετές εφαρμογές της σχετικά με την παρασκευή βιοϋλικών από πολυσακχαρίτες και πρωτεΐνες για τη μεταφορά φαρμάκων και τη μηχανική ιστών.^[59] Μερικά από τα πλεονεκτήματά της είναι το χαμηλό κόστος, η διαθεσιμότητα, η δυνατότητα να διασυνδέει πολλά πολυμερή (μεταξύ των οποίων και η χιτοζάνη) μέσω γρήγορων αντιδράσεων και ο υψηλός βαθμός διασύνδεσης.^{[52],[61]} Παρόλα αυτά, η κυτταροτοξικότητά της αποτελεί βασικό πρόβλημα, καθώς μπορεί να προκαλέσει μια ανεπιθύμητη ανοσοαπόκριση του οργανισμού. Έχουν προταθεί ορισμένες στρατηγικές για τη μείωση των κυτταροτοξικών της επιδράσεων, όπως η έκπλυση των υδρογελών με διαλύματα που περιέχουν αμινομάδες (π.χ. γλυκίνη), για την απομάκρυνση των αλδεϋδομάδων που δεν αντέδρασαν.^{[52],[59]}

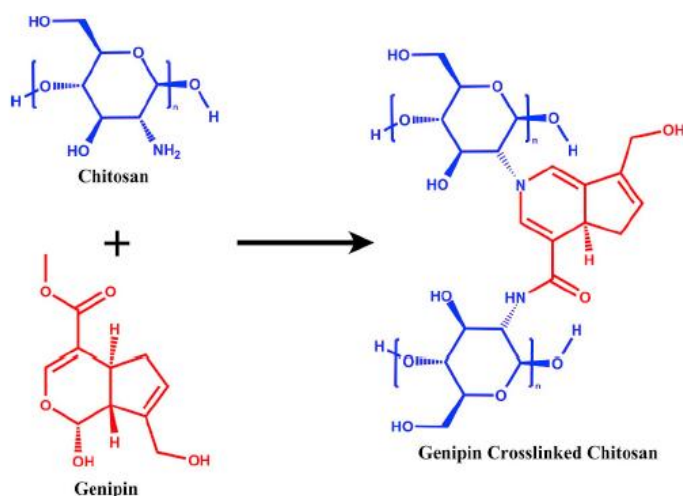


Εικόνα 12. Η δομή της γλουταραλδεΐδης.

Υπάρχει αυξανόμενη ζήτηση για χρήση ενός ασφαλούς διασυνδέτη, με χαμηλότερη κυτταροτοξικότητα, για την παρασκευή σταθερών, βιοσυμβατών υδρογελών με βιοϊατρικές εφαρμογές. Επομένως, οι διασυνδέτες φυσικής προέλευσης, όπως εκείνοι που προέρχονται από μικροβιακή ζύμωση και από φυτικά υλικά, εμφανίζουν δυνατότητες για την κατασκευή δεσμών μεταξύ αλυσίδων των βιοπολυμερών.^{[53],[59]}

Γενιπίνη

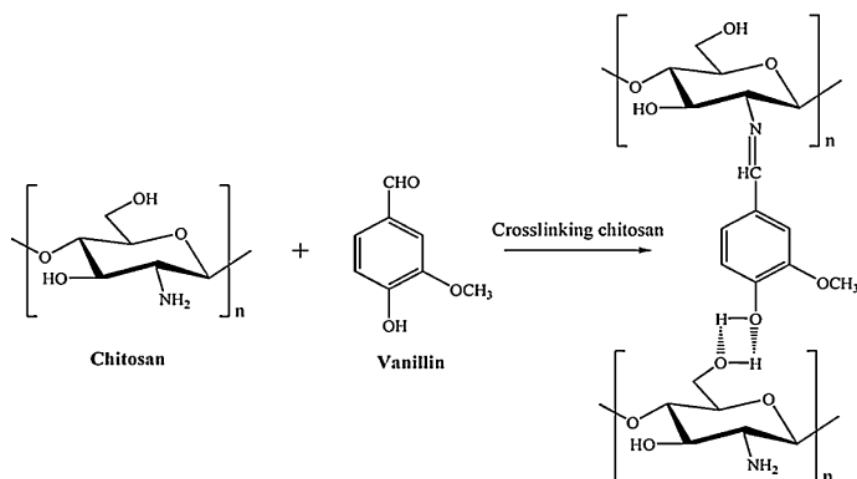
Η γενιπίνη είναι ένα υδατοδιαλυτό και άχρωμο ιριδοειδές, που ανήκει στην κατηγορία των μονοτερπενοειδών και αποτελεί υδρολυτικό προϊόν του γενιποζίτη (geniposide), ενός γλυκοζίτη που εκχυλίζεται από τους καρπούς της *Gardenia jasminoides* Ellis (γαρδένια). Η γενιπίνη αντιδρά αμέσως με ελεύθερες αμινομάδες, που βρίσκονται σε αφθονία στις πρωτεΐνες, καθώς και στη χιτοζάνη, οδηγώντας στην παρασκευή υδρογελών.^[59] Στην Εικόνα 13 απεικονίζεται η διασύνδεση δύο αλυσίδων χιτοζάνης, χρησιμοποιώντας γενιπίνη. Έχει εξελιχθεί, πρόσφατα, σε έναν δημοφιλή διασυνδέτη, σε πολλές βιολογικές εφαρμογές, δεδομένου ότι είναι μια φυσική, βιοαποικοδομήσιμη ένωση, με χαμηλή κυτταροτοξικότητα, σε σύγκριση με τους περισσότερους συνθετικούς διασυνδέτες, και με αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες.^{[52],[59]} Επιπλέον, μπορεί να επιτεύξει ικανοποιητικό βαθμό διασύνδεσης μεταξύ των πολυμερικών αλυσίδων, ενώ το βασικό μειονέκτημά του είναι το υψηλό κόστος.^{[30],[62]} Ενδεικτικά, σε μια πρόσφατη μελέτη, αναπτύχθηκε μια υδρογέλη από ζελατίνη, μέσω διασύνδεσης με γενιπίνη, για να επιτευχθεί η ελεγχόμενη αποδέσμευση ασκορβικού οξέος.^[62]



Εικόνα 13. Η δομή της γενιπίνης (genipin) και η σχηματική αναπαράσταση της διασύνδεσης της χιτοζάνης (chitosan) χρησιμοποιώντας γενιπίνη ως διασυνδέτη.^[30]

Βανιλίνη

Η βανιλίνη είναι φαινολική αλδεϋδη που αποτελεί το κύριο συστατικό του εκχυλίσματος βανίλιας και χρησιμοποιείται ευρέως ως αρωματικός παράγοντας σε τρόφιμα, ποτά, καλλυντικά, αλλά και σε φαρμακευτικά προϊόντα. Λόγω της παρουσίας μιας αλδεϋδομάδας στη δομή της, αντιδρά με πρωτοταγείς αμίνες, σχηματίζοντας μια βάση Schiff (ιμίνη). Επομένως, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διασύνδεση της χιτοζάνης. Επιπλέον, η βανιλίνη διαθέτει μια υδροξυλομάδα, που βρίσκεται σε *para* θέση σε σχέση με τον σχηματισμένο δεσμό ιμίνης και είναι υπεύθυνη για τον σχηματισμό δεσμών υδρογόνου με υδροξυλομάδες ή αμινομάδες που υπάρχουν στη γειτονική πολυμερική αλυσίδα. Επομένως, μπορεί να κατασκευαστεί ένα αντιστρέψιμο υβριδικό δίκτυο υδρογέλης, με την ιδιότητα της αυτοϊασης. Επιπλέον, λόγω του σχηματισμού αντιστρέψιμων δεσμών υδρογόνου, οι υδρογέλες είναι ευαίσθητες στο pH και στη θερμοκρασία.^[59]

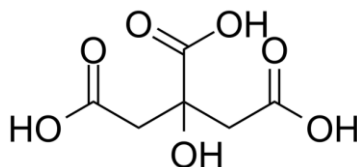


Εικόνα 14. Η δομή της βανιλίνης (vanillin) και η σχηματική αναπαράσταση της διασύνδεσης της χιτοζάνης (chitosan) χρησιμοποιώντας βανιλίνη ως διασυνδέτη.^[63]

Πολυκαρβοξυλικά οξέα-Κιτρικό οξύ

Έχει αναφερθεί ότι τα δι- και πολυκαρβοξυλικά οξέα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διασύνδεση πολυσακχαριτών και πρωτεϊνών, καθώς μπορούν να αντιδράσουν με υδροξυλομάδες και αμινομάδες, σχηματίζοντας εστερικούς και αμιδικούς δεσμούς αντίστοιχα.^{[54],[64]} Μεταξύ αυτών των ενώσεων, το κιτρικό οξύ έχει χρησιμοποιηθεί σε αρκετές μελέτες ως παράγοντας διασύνδεσης πολυσακχαριτών για την παρασκευή υδρογελών με εφαρμογές στη μεταφορά φαρμάκων.^[65] Είναι ένα ασθενές, τρικαρβοξυλικό οξύ που απαντάται φυσικά στα εσπεριδοειδή και χρησιμοποιείται σε ένα ευρύ φάσμα προϊόντων, όπως φαρμακευτικά, καλλυντικά, τρόφιμα και ποτά. Θα μπορούσε να αποτελέσει εναλλακτική λύση για κάποιους συμβατικούς διασυνδέτες, καθώς είναι μη τοξικό, εύκολα διαθέσιμο, με χαμηλό κόστος, έχει αναγνωριστεί ως ασφαλές από τον

Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA) και παρουσιάζει καλό βαθμό διασύνδεσης.^{[52],[64]} Ωστόσο, ένα μειονέκτημά του είναι ότι απαιτεί υψηλή θερμοκρασία για τη διεργασία της διασύνδεσης, που μπορεί να αλλάξει τη φύση των πολυμερών, ενώ κάποιες φορές χρειάζεται και καταλύτης.^[52]



Εικόνα 15. Η δομή του κιτρικού οξέος.

4.7 Υδρογέλες στη μεταφορά φαρμάκων

Τα συστήματα μεταφοράς φαρμάκων χρησιμοποιούνται για να μεταφέρουν μια φαρμακευτική ένωση σε συγκεκριμένο σημείο του σώματος, έτσι ώστε να απελευθερωθεί το θεραπευτικό της φορτίο με ελεγχόμενο τρόπο.^[66] Σε αυτά τα συστήματα χρησιμοποιείται συχνά ένας κατάλληλος φορέας, έτσι ώστε να σχηματιστεί μια δομή που προστατεύει το φάρμακο και αποτρέπει την απελευθέρωσή του πριν φτάσει στο σημείο-στόχο.^[67] Παράλληλα, κατά αυτόν τον τρόπο, ελαττώνονται οι πιθανές ανεπιθύμητες φυσικοχημικές και ενζυμικές δράσεις στη δραστική ένωση. Επιπλέον, όχι μόνο αυξάνεται η βιοδιαθεσιμότητα της ένωσης, αλλά μειώνονται και οι ανεπιθύμητες ενέργειες που προκύπτουν από μη ειδική συστηματική κατανομή.^[66] Επομένως, οι τεχνολογίες μεταφοράς φαρμάκων έχουν οδηγήσει στην ανάπτυξη πολλών φαρμακευτικών προϊόντων, που βελτιώνουν την υγεία του ασθενούς, ενισχύοντας τη χορήγηση του θεραπευτικού παράγοντα στον στόχο, ελαχιστοποιώντας τη συσσώρευσή του σε ανεπιθύμητα σημεία και διευκολύνοντας τη συμμόρφωση του ασθενούς.^[68]

Οι υδρογέλες αποτελούν αντικείμενο έρευνας για διάφορες βιοϊατρικές εφαρμογές, όπως η μεταφορά φαρμάκων, καθώς μπορούν να σχεδιαστούν με τέτοιο τρόπο, ώστε να διαθέτουν αρκετά πλεονεκτήματα. Μερικά από αυτά είναι η υψηλή περιεκτικότητα σε νερό, η βιοσυμβατότητα, η βιοαποικοδομησιμότητα, η χαμηλή τοξικότητα, η διαπερατότητα στο οξυγόνο και σε θρεπτικά συστατικά και οι φυσικές τους ιδιότητες, που είναι παρόμοιες με τα χαρακτηριστικά της φυσικής εξωκυττάριας μήτρας. Οι διογκωμένες υδρογέλες προσφέρουν ένα βιομιμητικό περιβάλλον και έχουν χαμηλή διεπιφανειακή τάση με βιολογικά υγρά, λόγω της μεγάλης περιεκτικότητάς τους σε νερό, η οποία ελαχιστοποιεί την προσκόλληση κυττάρων και την προσρόφηση πρωτεϊνών. Παράλληλα, η πορώδης δομή των υδρογελών επιτρέπει τη φόρτωση υψηλών ποσοτήτων θεραπευτικών παραγόντων, ενώ τα ελαστικά τους χαρακτηριστικά ελαχιστοποιούν ενοχλήσεις μετά από την εμφύτευσή τους στο σώμα.^{[50],[69],[70]} Ακόμη, οι μακρογέλες μπορούν να παραμείνουν στις θέσεις-στόχους για αρκετά μεγάλο χρονικό διάστημα, λόγω της χαμηλής ρευστότητάς τους.^[71] Επιπλέον, το γεγονός ότι η σύσταση των πολυμερικών αλυσίδων και η φύση των

διασυνδέσεων μπορούν να ρυθμιστούν ανεξάρτητα, επιτρέπει πολλές παραλλαγές στις ιδιότητές τους, σύμφωνα με συγκεκριμένες εφαρμογές.

Όλα τα παραπάνω χαρακτηριστικά καθιστούν τις υδρογέλες χρήσιμα υλικά για τη μεταφορά θεραπευτικών παραγόντων, όπως βιο-φαρμακευτικών προϊόντων, όπου παρατηρείται μια ραγδαία αύξηση στον αριθμό των εγκεκριμένων φαρμάκων.^[69] Η σύνδεση της δραστικής ουσίας με την υδρογέλη μπορεί να πραγματοποιηθεί με εγκλεισμό, αλλά και μέσω χημικής σύζευξης. Τα συστήματα αυτά μπορούν να ρυθμιστούν σύμφωνα με τα σημεία-στόχους στο σώμα και τους επιθυμητούς ρυθμούς αποδέσμευσης, βελτιστοποιώντας τη μεταφορά των φαρμάκων.^{[72],[73]} Επιπλέον, η ικανότητα των υδρογελών για παρατεταμένη αποδέσμευση φαρμακευτικών προϊόντων μέσα σε μια μεγάλη χρονική περίοδο, αποτελεί ένα πρόσθετο σημαντικό όφελος, που οδηγεί σε υψηλές συγκεντρώσεις της δραστικής ένωσης, σε συγκεκριμένα σημεία, για εκτεταμένες περιόδους.^[74]

Οι υδρογέλες είναι ιδιαίτερα χρήσιμες για τον εγκλεισμό βιολογικών παραγόντων, καθώς παρέχουν το φυσικό υδατικό περιβάλλον που απαιτείται για τη λειτουργία των βιομορίων. Παράλληλα, μπορούν να προστατεύσουν τους εγκλεισμένους βιολογικούς παράγοντες από αποικοδόμηση και ανοσοαποκρίσεις του οργανισμού, καθώς η διασυνδεδεμένη φύση τους, παρέχει ένα φράγμα διάχυσης, ικανό να επιτρέπει τη διέλευση μικρών μορίων και διαλυμένων ουσιών. Ωστόσο, μεγαλύτερα μόρια, όπως αντισώματα, συστατικά του συστήματος συμπληρώματος (που αποτελεί μέρος του ανοσοποιητικού συστήματος), μακροφάγοι, Β- και Τ- κύτταρα, αποκλείονται από την αλληλεπίδραση με τους εγκλεισμένους παράγοντες. Επιπλέον, το «κατώφλι» (threshold) μεγέθους μπορεί να προσαρμοστεί με βάση τον βαθμό διασύνδεσης. Συνεπώς, οι υδρογέλες μπορούν να χρησιμοποιηθούν και σε ιατρικές εφαρμογές, όπου τα θεραπευτικά μόρια παράγονται από εγκλεισμένα κύτταρα. Η δυνατότητα αποκλεισμού μεγέθους των υδρογελών μπορεί, επίσης, να βοηθήσει στην προστασία των εγκλεισμένων παραγόντων έναντι στην αποικοδόμηση από πρωτεάσες, γεγονός που τις καθιστά κατάλληλα υλικά για την ελεγχόμενη αποδέσμευση βιομορίων.^[70]

Ενέσιμες υδρογέλες

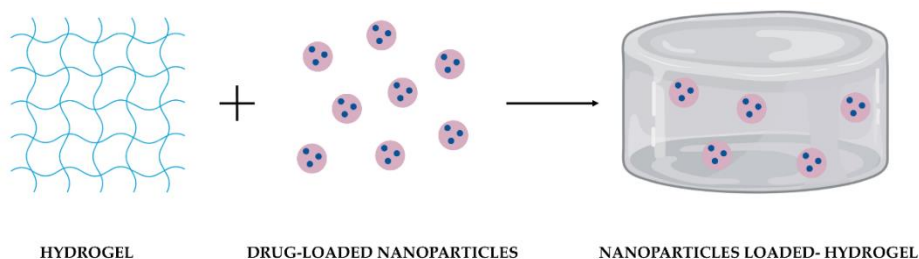
Η εμφύτευση προσχηματισμένων υδρογελών σε ένα επιθυμητό σημείο του σώματος, απαιτεί μια επεμβατική χειρουργική διαδικασία. Οι ενέσιμες υδρογέλες έχουν αποκτήσει ενδιαφέρον ως φορείς για τη χορήγηση βιομορίων, καθώς, εκτός από τα τυπικά πλεονεκτήματα των συμβατικών υδρογελών που τις χαρακτηρίζουν, μπορούν να εγχυθούν με ελάχιστη επεμβατικότητα στις θέσεις-στόχους.^{[50],[69]} Ο όρος «ενέσιμη» σημαίνει ότι μπορεί να μεταφερθεί, με μια συσκευή έγχυσης, στο σημείο στόχευσης σε υγρή κατάσταση (sol) και στη συνέχεια να σχηματιστεί η γέλη (gel) *in situ*.^[75] Οι «έξυπνες» υδρογέλες έχουν τη δυνατότητα να εμφανίσουν μετάβαση sol-gel, ανταποκρινόμενες σε εξωτερικά

ερεθίσματα, όπως η θερμοκρασία ή το pH.^[76] Επιπλέον, μπορεί να γίνει ανάμιξη ενός πρόδρομου διαλύματος πολυμερούς με τους θεραπευτικούς παράγοντες, πριν από την έγχυση και αργότερα αυτοί να παγιδευτούν στο δίκτυο της υδρογέλης, με τη διεργασία αποστείρωσης του μείγματος να διεξάγεται πριν από την ένεση στο κατάλληλο μέρος του σώματος.^{[50],[75]} Ένα ακόμη πλεονέκτημά τους είναι ότι παρακάμπτουν τον μεταβολισμό πρώτης δόσης, που παρατηρείται, γενικά, όταν το φάρμακο χορηγείται από το στόμα.^[75]

Μια ενέσιμη υδρογέλη για βιοϊατρικές εφαρμογές πρέπει να πληροί ορισμένα κριτήρια. Συγκεκριμένα, πρέπει να χαρακτηρίζεται από πλήρη απουσία τοξικών αντιδραστηρίων, να μην παράγει κάποιο τοξικό προϊόν και να εμφανίζει τις απαραίτητες μηχανικές ιδιότητες μετά την έγχυση.^[69] Οι ενέσιμες υδρογέλες έχουν μελετηθεί ευρέως για τη χρήση τους ως φορείς θεραπευτικών παραγόντων, όπως φάρμακα, κύτταρα, πρωτεΐνες και άλλα βιοδραστικά μόρια· μετά την ενσωμάτωση των παραγόντων, ακολουθεί η χορήγησή τους στον στόχο. Αναφέρεται ότι μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη θεραπεία διαφόρων τύπων καρκίνου, του διαβήτη και μικροβιακών λοιμώξεων.^{[50],[69]} Για τη θεραπεία του καρκινώματος του τραχήλου της μήτρας, αναπτύχθηκε μια ενέσιμη υδρογέλη που θα μπορούσε να μεταφέρει δοξορουβικίνη και κομπρεταστανίνη, παρέχοντας συνεργιστική αντικαρκινική δράση.^[69]

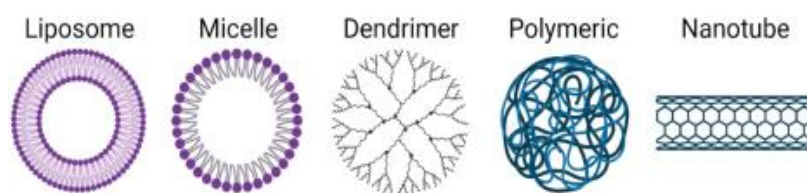
Νανοσύνθετες υδρογέλες (nanocomposite hydrogels)

Παρά τα σημαντικά πλεονεκτήματα των υδρογελών, μερικές φορές, υπάρχουν κάποιες δυσκολίες, αναφορικά με τη φόρτωση υδρόφοβων φαρμάκων, λόγω της υδρόφιλης φύσης τους. Για να ξεπεραστεί αυτός ο περιορισμός, μία στρατηγική είναι η προσθήκη νανοσωματιδίων στην υδρογέλη, τα οποία δρουν ως φορείς των υδρόφοβων μορίων.^[77] Αν και τα νανοσωματίδια εμφανίζουν αρκετά πλεονεκτήματα ως φορείς θεραπευτικών παραγόντων, η ταχεία απομάκρυνσή τους από το σώμα, η περιορισμένη αποτελεσματικότητά τους και η ασφάλεια των τεχνολογιών τους, αποτελούν βασικές προκλήσεις. Επομένως, υπάρχει ανάγκη για τη χρήση συστημάτων τοπικής μεταφοράς τους στα σημεία-στόχους, όπως οι υδρογέλες, που θα εξασφαλίσουν παρατεταμένη έκθεση, μέγιστη αποτελεσματικότητα και ελάχιστη τοξικότητα.^{[78],[79]} Έτσι, με τον εγκλεισμό των νανοσωματιδίων σε υδρογέλες, σχηματίζονται νανοσύνθετες (nanocomposite) υδρογέλες (Εικόνα 16), που έχουν βελτιωμένες μηχανικές και φυσικοχημικές ιδιότητες. Αποτελούν νέα υβριδικά υλικά που συνδυάζουν τα οφέλη, τόσο των υδρογελών, όσο και των ενσωματωμένων νανοσωματιδίων.^[80]



Εικόνα 16. Σχηματική αναπαράσταση του συνδυασμού νανοσωματιδίων με εγκλεισμένα φάρμακα και υδρογέλης, ως ένα σύστημα μεταφοράς φαρμάκων.^[81]

Διάφορα νανοϋλικά, όπως εκείνα με βάση τον άνθρακα (νανοσωλήνες άνθρακα, γραφένιο), μεταλλικά, πολυμερικά, λιποσώματα, δενδριμερή, μικκύλια κ.ά. μπορούν να ενσωματωθούν σε υδρογέλες (Εικόνα 17).^[79] Τα λιποσώματα είναι κλειστές ψευδο-σφαιρικές δομές, που αποτελούνται από έναν υδατικό πυρήνα, ο οποίος περιβάλλεται από μία ή περισσότερες ομόκεντρες διπλοστιβαδικές μεμβράνες λιπιδικών μορίων. Λόγω της δομής τους, μπορούν να ενθυλακώσουν, τόσο υδρόφιλα, όσο και υδρόφοβα μόρια. Η ενσωμάτωση λιποσωμάτων σε υδρογέλες μπορεί να ενισχύσει τις μηχανικές τους ιδιότητες και να επιτρέψει την τοπική, παρατεταμένη αποδέσμευσή του φαρμάκου, με βελτιωμένη κινητική.^[82] Πρόσφατα, σχεδιάστηκε μια ενέσιμη, σύνθετη υδρογέλη χιτοζάνης/β-γλυκεροφωσφορικού άλατος με εγκλεισμένα λιποσώματα, τα οποία είχαν ενσωματωμένη κουρκουμίνη ως πρότυπο φάρμακο, που παρουσίασε παρατεταμένη αποδέσμευση. Την τελευταία δεκαετία, αρκετές μελέτες έχουν αναφέρει τις διασπορές λιποσωμάτων με εγκλεισμένα φάρμακα σε υδρογέλες, για την αντιμετώπιση διαφόρων λοιμώξεων και καρκίνων.^[79]



Εικόνα 17. Σχηματική αναπαράσταση διαφόρων νανοσυστημάτων που μπορούν να ενσωματωθούν σε υδρογέλες. Από αριστερά προς τα δεξιά: λιπόσωμα, μικκύλιο, δενδριμερές, πολυμερικό νανοσωματίδιο, νανοσωλήνας άνθρακα.^[82]

Υδρογέλες από φυσικούς πολυσακχαρίτες

Τα τελευταία χρόνια, βιολογικά μακρομόρια, όπως οι φυσικοί πολυσακχαρίτες και οι πρωτεΐνες, αποτελούν μια καλή επιλογή για την παρασκευή υδρογελών που προορίζονται για βιοϊατρικές εφαρμογές. Οι πολυσακχαρίτες είναι άφθονοι στη φύση, σχετικά φθηνοί, μη τοξικοί, έχουν υψηλή βιοσυμβατότητα, είναι βιοαποικοδομήσιμοι και τα προϊόντα αποικοδόμησής τους είναι μη τοξικά και αβλαβή για το ανθρώπινο σώμα, μπορούν να μεταβολιστούν εύκολα και ακόμη και να απορροφηθούν ως θρεπτικά συστατικά.^{[41],[73]} Επιπλέον, οι πολυσακχαρίτες έχουν παρόμοια δομικά χαρακτηριστικά με την εξωκυττάρια μήτρα, ως φορείς μεταφοράς φαρμάκων, γεγονός που διευκολύνει τη διέλευσή τους μέσω βιολογικών φραγμών.^[41] Ορισμένοι μπορούν, επίσης, να παρέχουν μηχανισμούς στόχευσης, λόγω της αναγνώρισης και δέσμευσής τους από συγκεκριμένους υποδοχείς και της τοποειδικής ενζυμικής αποικοδόμησής τους. Οι πολυσακχαρίτες, συχνά,

τροποποιούνται χημικά, με σκοπό να βελτιωθούν οι βασικές φυσικές ιδιότητες των υδρογελών, αλλά και η θεραπευτική πρόσληψη, αποθήκευση και μεταφορά.^[73]

4.8 Αποδέσμευση φαρμάκων από υδρογέλες

Οι υδρογέλες, με βάση τον μηχανισμό που ελέγχει τον ρυθμό αποδέσμευσης των δραστικών ουσιών, μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως εξής:^[83]

- Συστήματα όπου η αποδέσμευση ελέγχεται από τη διάχυση
- Συστήματα όπου η αποδέσμευση ελέγχεται από τη διόγκωση
- Συστήματα όπου η αποδέσμευση ελέγχεται από χημική αντίδραση
- Συστήματα ανταποκρινόμενα σε περιβαλλοντικά ερεθίσματα.

Αποδέσμευση ελεγχόμενη από τη διάχυση

Η διεργασία της αποδέσμευσης που ελέγχεται από τη διάχυση μπορεί να περιγραφεί από τους νόμους διάχυσης του Fick. Η διάχυση πραγματοποιείται λόγω της βαθμίδας συγκέντρωσης του φαρμάκου και εξαρτάται από το μέγεθος των πόρων (επίσης γνωστό ως μέγεθος πλέγματος) του δικτύου των υδρογελών. Τα συστήματα αυτά κατηγοριοποιούνται σε συστήματα τύπου δεξαμενής και μήτρας.^[84] Τα συστήματα τύπου δεξαμενής αποτελούνται από έναν πυρήνα, όπου βρίσκεται ενθυλακωμένο το φάρμακο, περικλειόμενο από μια μεμβράνη υδρογέλης και είναι συχνά διαθέσιμα ως κάψουλες, σφαίρες, ή πλάκες. Η συγκέντρωση της δραστικής ουσίας είναι μεγαλύτερη στο κέντρο, άρα μπορεί να επιτευχθεί σταθερός ρυθμός αποδέσμευσης. Στα συστήματα τύπου μήτρας, τα φαρμακευτικά μόρια είναι ομοιογενώς διεσπαρμένα στην τρισδιάστατη δομή των υδρογελών και ο αρχικός ρυθμός αποδέσμευσης δεν είναι σταθερός.^{[85],[86]}

Αποδέσμευση ελεγχόμενη από τη διόγκωση

Τα συστήματα όπου η αποδέσμευση ελέγχεται από τη διόγκωση ανήκουν στην ευρύτερη κατηγορία των συστημάτων όπου η αποδέσμευση ελέγχεται από τη διείδυση του διαλύτη. Η δραστική ουσία είναι διεσπαρμένη στο δίκτυο της υδρογέλης, η οποία διογκώνεται όταν έρθει σε επαφή με βιολογικά υγρά, με αποτέλεσμα την αύξηση της διαπερατότητάς της, που επιτρέπει τη διάχυση των φαρμακευτικών μορίων.^[85] Η διαδικασία αυτή είναι επίσης γνωστή ως «ανώμαλη μεταφορά», καθώς συνδυάζει τις διεργασίες της διόγκωσης και της διάχυσης για να πραγματοποιηθεί η αποδέσμευση. Επιπλέον, στα συγκεκριμένα συστήματα μπορεί να επιτευχθεί σταθερός ρυθμός αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας.^[85]

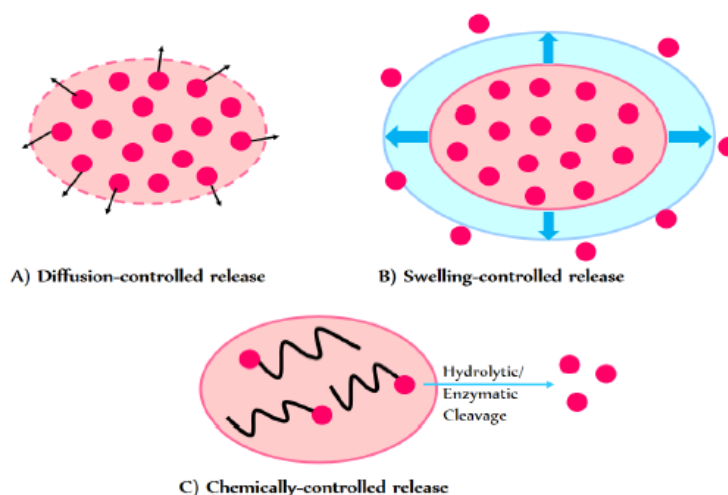
Αποδέσμευση ελεγχόμενη από χημική αντίδραση

Τα συστήματα αυτά διακρίνονται σε εκείνα όπου η αποδέσμευση ελέγχεται από τη διάβρωση του φορέα και σε εκείνα όπου η δραστική ουσία είναι χημικά συνδεδεμένη με το πολυμερικό δίκτυο. Στην πρώτη περίπτωση, η

διάβρωση (διάλυση) μπορεί να πραγματοποιείται είτε επιφανειακά, είτε σε όλο τον όγκο της υδρογέλης. Στην περίπτωση των αδιάλυτων φαρμάκων, η διάβρωση είναι ο κύριος μηχανισμός που επιτρέπει την αποδέσμευσή τους.^[86] Η δραστική ουσία βρίσκεται εγκλεισμένη, μέσω φυσικών μεθόδων, εντός του δικτύου και αποδεσμεύεται μετά από τη διάρρηξη της μήτρας υδρογέλης, με ρυθμό εξαρτώμενο από τον ρυθμό διάρρηξης. Εφόσον ο τελευταίος ρυθμός είναι σταθερός και η γεωμετρία της μήτρας είναι κανονική, τα συστήματα μπορούν να προκαλέσουν σταθερό ρυθμό αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας. Στη δεύτερη υποκατηγορία συστημάτων, που αφορά σε χημικά συνδεδεμένες ενώσεις, η διάβρωση γίνεται με υδρολυτική ή ενζυμική σχάση των δεσμών και η αποδέσμευση ελέγχεται από την κινητική σχάσης.

Συστήματα ανταποκρινόμενα σε περιβαλλοντικά ερεθίσματα

Η ελεγχόμενη αποδέσμευση ή η αποδέσμευση σε επιθυμητό χρόνο (on demand), αποτελεί σημαντικό ζήτημα στο οποίο πρέπει να επικεντρωθεί η μεταφορά φαρμάκων με βάση τις υδρογέλες. Ο σκοπός της ελεγχόμενης αποδέσμευσης είναι η διατήρηση της αποτελεσματικής συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα και/ή στο σημείο-στόχο.^[87] Οι «έξυπνες» υδρογέλες μπορούν να ανταποκρίνονται σε περιβαλλοντικά ερεθίσματα (όπως το pH) και μετά να επιστρέφουν στην αρχική τους κατάσταση. Μια μικρή αλλαγή στο εξωτερικό περιβάλλον μπορεί να προκαλέσει διόγκωση και συρρίκνωση μιας τέτοιας υδρογέλης, οδηγώντας στην απελευθέρωση του εγκλωβισμένου φαρμάκου, με προκαθορισμένο ρυθμό. Επομένως, οι «έξυπνες» υδρογέλες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ελεγχόμενη χορήγηση φαρμάκων, προσαρμόζοντας κατάλληλα το εσωτερικό και εξωτερικό περιβάλλον.^[69]



Εικόνα 18. Σχηματική αναπαράσταση μηχανισμών αποδέσμευσης δραστικών ουσιών από τις υδρογέλες: αποδέσμευση ελεγχόμενη (A) από τη διάχυση (τύπου μήτρας), (B) από τη διόγκωση και (C) από χημική αντίδραση.^[86]

Μελέτη αποδέσμευσης

Οι καμπύλες της κινητικής αποδέσμευσης (ποσοστό δραστηκής ουσίας που αποδεσμεύεται, ως προς τον χρόνο) συνήθως παρουσιάζουν τρεις φάσεις. Αρχικά, πραγματοποιείται μια απότομη αποδέσμευση («burst effect») των μορίων της ένωσης που είναι επιφανειακά προσροφημένη. Η δεύτερη φάση είναι βραδεία και αποδίδεται στην αργή διάχυση μέσω των πόρων, ενώ παράλληλα αρχίζει η διάγκωση. Η τρίτη φάση είναι ταχεία και ελέγχεται από τη διάβρωση.

Εκτός από το παραπάνω τριφασικό προφίλ, παρατηρούνται και άλλες μορφές για τις καμπύλες αποδέσμευσης. Για παράδειγμα, μπορεί να πραγματοποιείται αρχικά απότομη αποδέσμευση («burst effect»), ακολουθούμενη από μια πιο σταθερή απελευθέρωση, μέχρι να φτάσει σε ένα plateau. Επιπλέον, μπορεί η κινητική να είναι μηδενικής τάξης, δηλαδή να αποδεσμεύεται σταθερή ποσότητα της ουσίας ως προς τον χρόνο, πρώτης τάξης κ.ά.^[88]

4.9 Εφαρμογές υδρογελών

Εφαρμογές στη φωτοδυναμική θεραπεία

Το μεγαλύτερο πρόβλημα των περισσότερων φωτοευαισθητοποιητών, είναι η χαμηλή διαλυτότητα, η επακόλουθη συσσώρευσή τους στο νερό, η χαμηλή διείσδυση στα κύτταρα και η έλλειψη της ικανότητας στόχευσης. Με σκοπό να ξεπεραστούν αυτοί οι περιορισμοί, έχουν διερευνηθεί πολλά συστήματα μεταφοράς φαρμάκων, για τη χορήγηση των φωτοευαισθητοποιητών στον στόχο. Οι υδρογέλες αποτελούν πιθανά βιοϋλικά για αυτόν τον σκοπό, λόγω των πλεονεκτικών τους χαρακτηριστικών που προαναφέρθηκαν.^{[76],[89]} Ιδιαίτερα, οι υδρογέλες με την ιδιότητα αυτοϊασης, όπως και εκείνες που ανταποκρίνονται σε ερεθίσματα, έχουν αποκτήσει μεγάλο ενδιαφέρον ως νέα υλικά για τον σχεδιασμό νέων συστημάτων μεταφοράς.^[90]

Γενικά, οι υδρογέλες, ως φορείς, μπορούν να αποφύγουν τη συχνή δόση, να μειώσουν τις παρενέργειες, καθώς και να προστατεύσουν τα ασταθή, βιοδραστικά φάρμακα από το εξωτερικό περιβάλλον.^[91] Έχουν τη δυνατότητα να αποδεσμεύουν συνεχώς το εγκλεισμένο φάρμακο και να διατηρούν υψηλές συγκεντρώσεις του, επιλεκτικά, στο σημείο-στόχο.^[71] Το τρισδιάστατο δίκτυο των υδρογελών παρέχει την ικανότητα για τον εγκλεισμό των φωτοευαισθητοποιητών και τη διασύνδεση στη δομή τους. Η ομοιοπολική διασύνδεση των φωτοευαισθητοποιητών στις υδρογέλες εμποδίζει, αφενός, την αποδέσμευσή τους σε ανεπιθύμητο χρόνο και αφετέρου, τη συσσώρευσή τους σε υδατικά μέσα. Επιπλέον, λόγω του φαινομένου ενισχυμένης διαπερατότητας και κατακράτησης (enhanced permeability and retention effect, EPR) των φυσικών πολυμερών, οι υδρογέλες μπορούν να συσσωρευτούν, κατά προτίμηση, στους ιστούς του όγκου και ιδιαίτερα στα αγγεία του.

Οι υδρογέλες χιτοζάνης, διασυνδεδεμένες μέσω αντίδρασης βάσης Schiff, αποτελούν πολλά υποσχόμενους φορείς για την ελεγχόμενη μεταφορά υδρόφοβων φωτοευαισθητοποιητών. Σε μια πρόσφατη μελέτη, παρασκευάστηκε μια ενέσιμη, βιοσυμβατή, ευαίσθητη στο pH, υδρογέλη, με την ιδιότητα της αυτοϊασης, χρησιμοποιώντας χιτοζάνη, συζευγμένη με έναν φωτοευαισθητοποιητή πορφυρίνης, τροποποιημένο με ομάδες τριαζίνης, μέσω αντίδρασης βάσης Schiff. Επιπλέον, στην επιφάνεια της υδρογέλης υπήρχε φολικό οξύ. Ο υποδοχέας φολικού οξέος, γενικά, υπερεκφράζεται στα περισσότερα καρκινικά κύτταρα, άρα, η παρουσία του στις υδρογέλες, συμβάλλει στην αναγνώριση αυτών των κυττάρων. Οι αναλύσεις κυτταροτοξικότητας και φωτοτοξικότητας έδειξαν ότι η υδρογέλη είχε εξαιρετική ικανότητα να σκοτώνει εκλεκτικά τα καρκινικά κύτταρα *in vitro*, αποτρέποντας βλάβες στα φυσιολογικά.^[90]

Για περαιτέρω ενίσχυση του θεραπευτικού αποτελέσματος, η φωτοδυναμική θεραπεία μπορεί να εφαρμοστεί σε συνδυασμό με τη χημειοθεραπεία. Πρόσφατα, παρασκευάστηκε μια ενέσιμη, ανταποκρινόμενη σε ROS υδρογέλη υαλουρονικού οξέος ως σύστημα τοπικής μεταφοράς του φωτοευαισθητοποιητή πρωτοπορφυρίνη IX (PpIX) και του αντικαρκινικού φαρμάκου δοξορουβικίνη (DOX). Η υδρόφοβη PpIX ήταν χημικά συζευγμένη στο δίκτυο της υδρογέλης, για την αποφυγή της ενδεχόμενης αποδέσμευσής της στους φυσιολογικούς ιστούς. Κάτω από ακτινοβολία φωτός του εγγύς υπερύθρου, η υδρογέλη παράγαγε επαρκείς ROS, με αποτέλεσμα την εντοπισμένη φωτοδυναμική δράση. Το σύστημα ήταν ανταποκρινόμενο σε ROS, άρα ακολούθησε η αποικοδόμηση της υδρογέλης και η απελευθέρωση DOX, για τη διαδοχική χημειοθεραπεία. Η υδρογέλη παρουσίασε εξαιρετικά θεραπευτικά αποτελέσματα, τόσο *in vitro*, όσο και *in vivo*.^[92]

Η αντιμικροβιακή φωτοδυναμική θεραπεία αποτελεί πολλά υποσχόμενη μέθοδο και για την αντιμετώπιση βακτηριακών λοιμώξεων.^[93] Σε μια έρευνα, μελετήθηκαν υδρογέλες με εγκλεισμένους φωτοευαισθητοποιητές, για εφαρμογή σε μολυσμένα τραύματα. Συγκεκριμένα, παρασκευάστηκαν διαφανείς υδρογέλες από διακρυλική πολυαιθυλενογλυκόλη (PEGDA), που φορτώθηκαν με δύο φωτοευαισθητοποιητές βασισμένους στην πορφυρίνη. Εξετάστηκε η αντιμικροβιακή αποτελεσματικότητα των συστημάτων σε πλάκες με άγαρ αίματος. Διαπιστώθηκε ότι και οι δύο φωτοευαισθητοποιητές αποδεσμεύτηκαν από τις υδρογέλες και εμφάνισαν υψηλή αποτελεσματικότητα στην εξάλειψη ενός πολυανθεκτικού *Escherichia coli*, μετά από ακτινοβολία. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκαν επιτυχείς δοκιμές σε μερικά ακόμη πολυανθεκτικά βακτηριακά στελέχη.^[94]

Σε μια άλλη μελέτη, παρασκευάστηκε μια υδρογέλη, η οποία περιείχε υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνη, χιτοζάνη και μπλε τολουιδίνη (toluidine blue), που αποτελεί φωτοευαισθητοποιητή, ο οποίος μπορεί να προσδένεται σε

συστατικά βακτηριακών μεμβρανών. Το σύστημα εκτέθηκε σε αντινοβολία της κόκκινης περιοχής του φάσματος και ήταν αποτελεσματικό σε εγκαύματα μολυσμένα από τα βακτήρια *Staphylococcus aureus* και *Pseudomonas aeruginosa*.^[95]

Σε μια ακόμη έρευνα, συντέθηκε ένα υδατοδιαλυτό παράγωγο φθαλοκυανίνης πυριτίου(IV) με τέσσερις καρβοξυλομάδες και χρησιμοποιήθηκε για τη διασύνδεση της χιτοζάνης, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό υδρογέλης. Το σύστημα παρουσίασε πλεονεκτικά φωτοφυσικά χαρακτηριστικά και ισχυρή φωτο-βακτηριοκτόνο δράση έναντι Gram-θετικών και Gram-αρνητικών βακτηρίων.^[96]

Λοιπές εφαρμογές

Η χημειοθεραπεία εφαρμόζεται, κλινικά, για την αντιμετώπιση όγκων και καρκίνων, αν και εξακολουθούν να υπάρχουν διάφορες προκλήσεις που τη χαρακτηρίζουν. Οι υδρογέλες αποτελούν υποψήφια υλικά για να βελτιώσουν την ακρίβεια και την αποτελεσματικότητα, καθώς και να μειώσουν τις παρενέργειες της χημειοθεραπείας.^[34] Τελευταία, πολλές μελέτες επικεντρώνονται στην ενσωμάτωση μιας ποικιλίας νανοσωματιδίων και άλλων λειτουργικών μορίων στις υδρογέλες, για να κατασκευάσουν πιο εξελιγμένες τεχνικές μεταφοράς αντικαρκινικών φαρμάκων, για τοπική, ελεγχόμενη αποδέσμευση. Με βάση τους διαφορετικούς τύπους και τα στάδια του καρκίνου, έχει αναπτυχθεί μια ποικιλία υδρογελών, συμπεριλαμβανομένων φωτοευαίσθητων, θερμοευαίσθητων και ευαίσθητων στο pH.^[97] Επιπλέον, ο συνδυασμός δύο ή περισσότερων θεραπευτικών παραγόντων μπορεί να μειώσει τις τοξικές παρενέργειες και να βελτιώσει την αποτελεσματικότητα.^[98]

Η μηχανική ιστών έχει εφαρμοστεί αποτελεσματικά για την αποκατάσταση των αρχικών δομών και λειτουργιών των ιστών, μέσα από τον συνδυασμό βιοαποικοδομήσιμων σκελετικών δομών (scaffolds), κυττάρων και βιολογικών παραγόντων. Οι υδρογέλες έχουν χρησιμοποιηθεί συχνά ως σκελετικές δομές στη μηχανική ιστών, λόγω της ομοιότητάς τους με τη φυσική εξωκυττάρια μήτρα, καθώς και άλλων πλεονεκτημάτων που προαναφέρθηκαν.^[99] Σε αυτές τις εφαρμογές, οι υδρογέλες δεν είναι μόνο υλικά εγκλεισμού, αλλά οι ίδιες αποτελούν το περιβάλλον που επιτρέπει στα κύτταρα να διαφοροποιούνται και/ή να διατηρούν ένα συγκεκριμένο φαινότυπο.^[70] Οι υδρογέλες με βάση τα βιοπολυμερή έχουν χρησιμοποιηθεί ως φορείς μεταφοράς κυττάρων για την αναγέννηση διαφόρων ιστών, όπως του σκελετικού μυϊκού και του χονδροειδούς, καθώς και για την επούλωση τραυμάτων. Έχει βρεθεί, πρόσφατα, ότι οι ενέσιμες υδρογέλες έχουν πολλές δυνατότητες χρήσης ως φορείς κυττάρων για τη μηχανική ιστών.^[100] Για παράδειγμα, έχουν διερευνηθεί ενέσιμες υδρογέλες που φέρουν βλαστοκύτταρα, για την αποκατάσταση του καρδιακού ιστού.^[70]

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η σύνθεση νέων φωτοευαισθητοποιητών και η ανάπτυξη νέων συστημάτων, για εφαρμογή στη φωτοδυναμική θεραπεία. Συγκεκριμένα, επιδιώκεται η σύνθεση νέων τροποποιημένων φθαλοκυανινών και η ενσωμάτωσή τους σε υδρογέλες, ως καινοτόμα συστήματα μεταφοράς φαρμάκων.

Για την παρασκευή των υδρογελών χρησιμοποιείται το βιοπολυμερές χιτοζάνη. Η υδρογέλη παρασκευάζεται με χημική διασύνδεση των πολυμερικών της αλυσίδων, μέσω αντίδρασης βάσης Schiff. Η αντίδραση αυτή διεξάγεται σε ήπιες συνθήκες και αφορά στον σχηματισμό δεσμών ιμίνης, μέσω αντίδρασης των αμινομάδων της χιτοζάνης με τις αλδεϋδομάδες ενός διασυνδέτη. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, ως διασυνδέτης θα λειτουργήσει η τροποποιημένη φθαλοκυανίνη, η οποία θα είναι υποκατεστημένη με ομάδες αλδεϋδης.

Η σύνθεση των χημικά τροποποιημένων φθαλοκυανινών ξεκινά από δύο διαφορετικές αλδεΐδες, την 4-υδροξυβενζαλδεΐδη και την 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2-οξο-2H-χρωμεν-8-καρβαλδεΐδη. Η δεύτερη παρασκευάζεται μέσω μιας αντίδρασης φορμυλίωσης της 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2H-χρωμεν-2-όνης. Στη συνέχεια, μέσω δύο διαδοχικών σταδίων σύνθεσης, σχηματίζεται η τροποποιημένη φθαλοκυανίνη, η οποία είναι υποκατεστημένη με ομάδες αλδεϋδης. Επομένως, η φθαλοκυανίνη θα αποτελεί, τόσο το δραστικό φάρμακο, όσο και τον διασυνδέτη του πολυμερούς, οδηγώντας στον σχηματισμό της υδρογέλης. Κατά αυτόν τον τρόπο, αποφεύγεται η χρήση ενός τοξικού διασυνδέτη (π.χ. γλουταραλδεΐδη), ενώ, παράλληλα, επιτυγχάνεται η σύζευξη του φαρμάκου με τον φορέα μέσω ομοιοπολικών δεσμών.

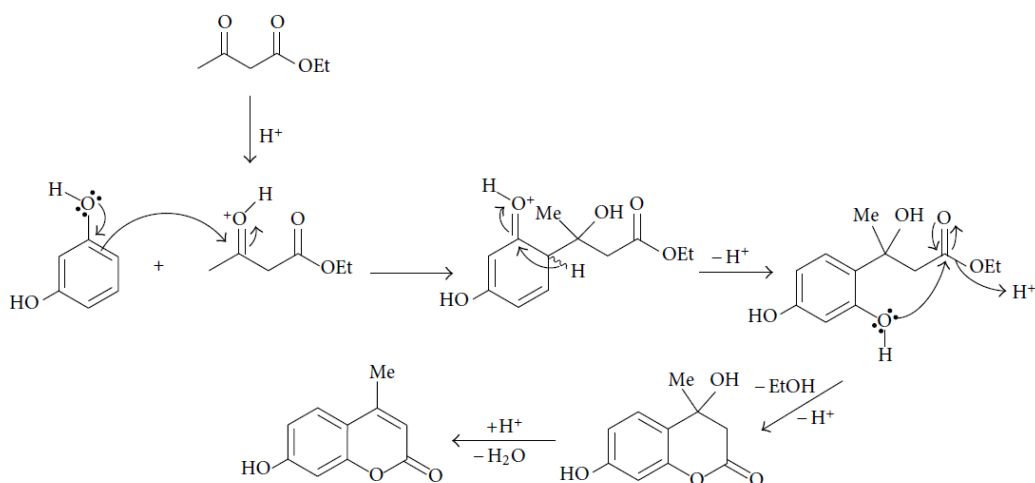
Πραγματοποιείται διασύνδεση της χιτοζάνης με την τροποποιημένη φθαλοκυανίνη που προέκυψε από την 4-υδροξυβενζαλδεΐδη. Η υδρογέλη χιτοζάνης/τροποποιημένης φθαλοκυανίνης που παρασκευάζεται μελετάται ως προς τη διόγκωσή της σε υδατικά διαλύματα με συγκεκριμένες τιμές pH. Τα πειραματικά δεδομένα προσαρμόζονται σε ένα κινητικό μοντέλο ψευδο-δεύτερης τάξης (μοντέλο Schott). Επιπλέον, προσδιορίζεται το πορώδες της. Ακόμη, λαμβάνονται και συγκρίνονται τα φάσματα FT-IR και διαγράμματα XRD της χιτοζάνης, της φθαλοκυανίνης και της υδρογέλης, με σκοπό τον δομικό χαρακτηρισμό τους. Τέλος, μελετώνται οι οπτικές ιδιότητες της φθαλοκυανίνης και της υδρογέλης, μέσω απορρόφησης, φθορισμού και ικανότητας παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS).

ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΩΝ

1. Σύνθεση 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2-οξο-2H-χρωμεν-8-καρβαλδεΐδης

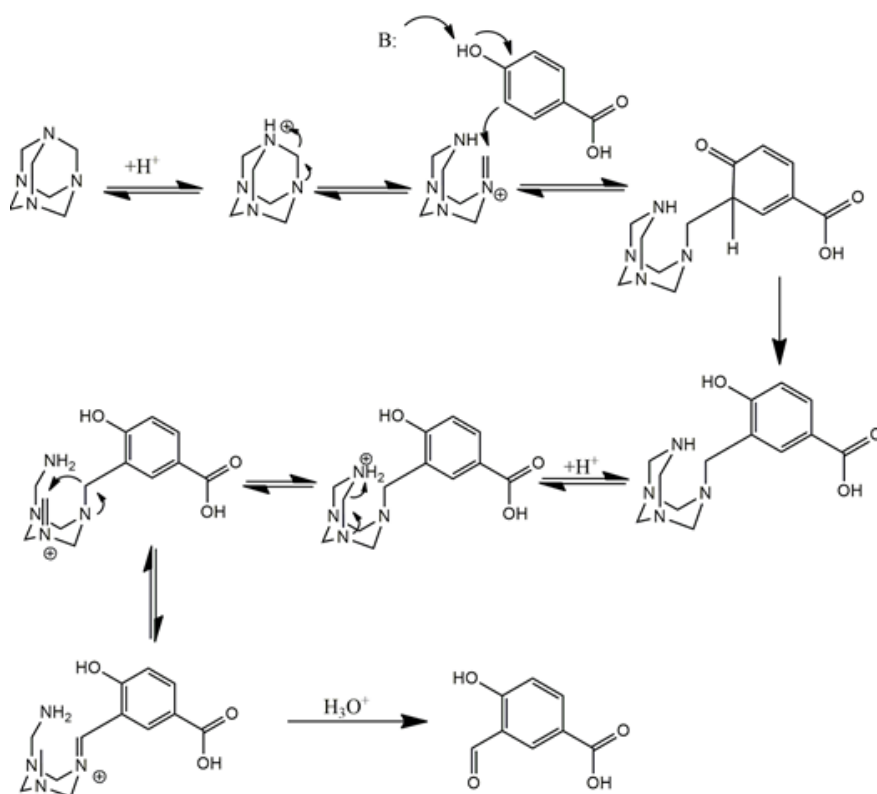
Η σύνθεση της 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2-οξο-2H-χρωμεν-8-καρβαλδεΐδης πραγματοποιείται σε δύο στάδια. Στο πρώτο στάδιο, συντίθεται η 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2H-χρωμεν-2-όνη (4-μεθυλο-ουμπελιφερόνη), μέσω της συμπύκνωσης Pechmann, που αποτελεί μια από τις πιο συχνά εφαρμόσιμες αντιδράσεις για την παρασκευή κουμαρινών και παραγώγων τους. Περιλαμβάνει την αντίδραση φαινόλων με β-κετοεστέρες, παρουσία ισχυρού οξέος ως καταλύτη, για την παροχή 4-υποκατεστημένων κουμαρινών.^[101] Στο δεύτερο στάδιο, σχηματίζεται η επιθυμητή αλδεΐδη, από την παραγόμενη 4-μεθυλο-ουμπελιφερόνη, μέσω της αντίδρασης Duff, που αποτελεί μια αντίδραση φορμυλίωσης, η οποία περιλαμβάνει την επεξεργασία μίας φαινόλης με εξαμεθυλενοτετραμίνη, υπό όξινες συνθήκες, για τον σχηματισμό της επιθυμητής σαλικυλαλδεΐδης. Η φορμυλίωση πραγματοποιείται σε *ortho* θέση ως προς το φαινολικό υδροξύλιο (υποκαταστάτης δότης ηλεκτρονίων). Ως αποτέλεσμα, σχηματίζεται η 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2-οξο-2H-χρωμεν-8-καρβαλδεΐδη, με την αλδεϋδομάδα στη θέση 8, ως κύριο προϊόν, καθώς και η 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2-οξο-2H-χρωμεν-6-καρβαλδεΐδη, με την αλδεϋδομάδα στη θέση 6, σε μικρότερη αναλογία.^[102]

Στο παρακάτω Σχήμα φαίνεται ο μηχανισμός για τη συμπύκνωση Pechmann της 3-υδροξυ-φαινόλης (ρεσορκινόλης) με 3-οξοβουτανοϊκό αιθυλεστέρα (ακετοξικό αιθυλεστέρα). Αρχικά, παρουσία οξέος, σχηματίζεται ένα κατιόν που έχει ηλεκτρονιόφιλο χαρακτήρα και αντιδρά με τη ρεσορκινόλη. Μετά τον σχηματισμό ενός ακόμη ενδιάμεσου, ακολουθεί ενδομοριακή μετεστεροποίηση, με αποτέλεσμα το κλείσιμο του δακτυλίου. Τέλος, μέσω συμπύκνωσης, προκύπτει το επιθυμητό προϊόν, δηλαδή η 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2H-χρωμεν-2-όνη.



Σχήμα 1. Μηχανισμός της συμπύκνωσης Pechmann.^[103]

Στο Σχήμα 2 παρουσιάζεται ο μηχανισμός της αντίδρασης Duff. Αρχικά, η εξαμεθυλενοτετραμίνη πρωτονιώνεται, προκαλώντας μια αναδιάταξη και τον σχηματισμό ενός ιόντος ιμινίου. Στη συνέχεια, το ιόν προσβάλλεται από το άτομο α-C της φαινολικής ένωσης (πυρηνόφιλη υποκατάσταση). Μετά από περαιτέρω πρωτονίωση της ομάδας εξαμεθυλενοτετραμίνης και τον σχηματισμό ιόντων ιμινίου, μέσω μιας σειράς μετατοπίσεων υδριδίου, σχηματίζεται ένα τελευταίο ενδιάμεσο, που υδρολύεται υπό όξινες συνθήκες, οδηγώντας στο τελικό προϊόν της αλδεΐδης. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, η φαινολική ένωση είναι η 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2H-χρωμεν-2-όνη, που σχηματίζεται μέσω συμπύκνωσης Pechmann, ενώ το προϊόν αποτελεί η 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2-οξο-2H-χρωμεν-8-καρβαλδεΐδη.

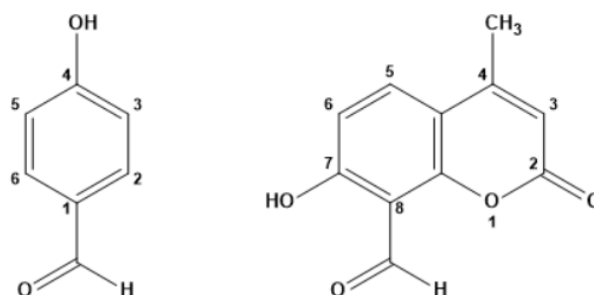


Σχήμα 2. Μηχανισμός της αντίδρασης Duff.^[104]

2. Σύνθεση φθαλοκυανινών υποκατεστημένων με αλδεϋδομάδες

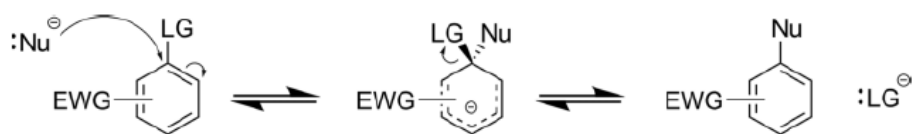
Ακολουθως, πραγματοποιείται σύνθεση δύο διαφορετικών φθαλοκυανινών, υποκατεστημένων με αλδεϋδομάδες, ξεκινώντας από δύο διαφορετικές αλδεΐδες, την 4-υδροξυβενζαλδεΐδη και την 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2-οξο-2H-χρωμεν-8-καρβαλδεΐδη (Σχήμα 3). Για τον σκοπό αυτό απαιτούνται δύο στάδια. Στο πρώτο στάδιο, συντίθεται το κατάλληλα υποκατεστημένο φθαλονιτρίλιο, μέσω πυρηνόφιλης αρωματικής υποκατάστασης, που πραγματοποιείται μεταξύ της κατάλληλης αλδεΐδης και του 4-νιτροφθαλονιτρίλιου. Στο δεύτερο στάδιο, παράγεται η επιθυμητή φθαλοκυανίνη, μέσω σταδιακού πολυμερισμού της αρχικής ένωσης (το κατάλληλα υποκατεστημένο φθαλονιτρίλιο, που παράγεται από το πρώτο

στάδιο), ή του πιο δραστικού ενδιαμέσου, ακολουθούμενος από συντονισμό του κεντρικού μεταλλικού ιόντος, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό του μακροκυκλικού μορίου.



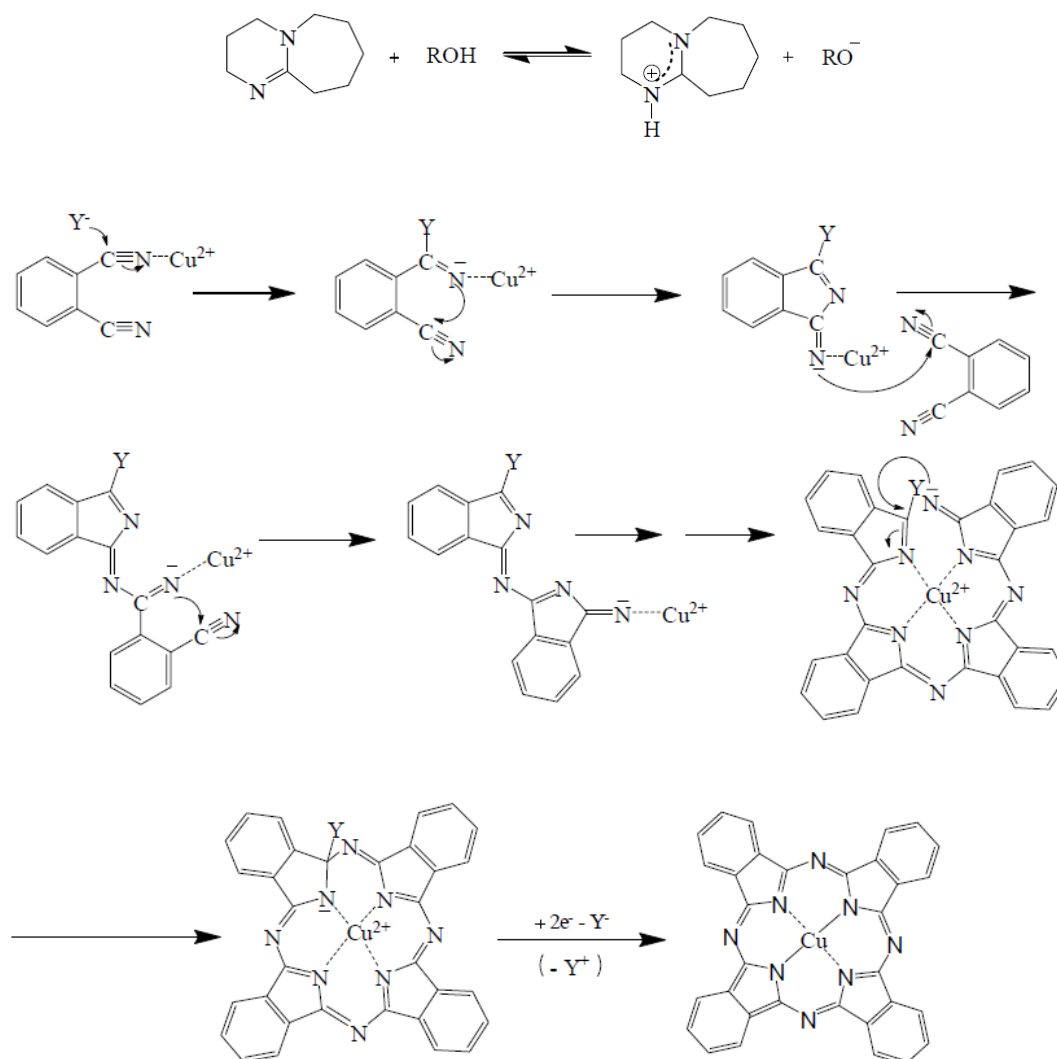
Σχήμα 3. Η δομή της 4-υδροξυβενζαλδεΐδης (αριστερά) και της 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2-οξο-2H-χρωμεν-8-καρβαλδεΐδης (δεξιά).

Παρακάτω, απεικονίζεται ο μηχανισμός της πυρηνόφιλης αρωματικής υποκατάστασης. Αρχικά, προστίθεται στο αρωματικό μόριο (το οποίο, στη συγκεκριμένη περίπτωση, είναι το 4-νιτροφθαλονιτρίλιο) ένα πυρηνόφιλο αντιδραστήριο (Nu). Εδώ, η ένωση αυτή είναι η κατάλληλη αλδεΐδη, που φέρει στη δομή της ένα υδροξύλιο, το οποίο αποτελεί την πυρηνόφιλη λειτουργική ομάδα. Έτσι, σχηματίζεται ένα καρβανιόν που σταθεροποιείται μέσω συντονισμού. Οι υποκαταστάτες απόσυρσης ηλεκτρονίων (EWG, εδώ το CN) βοηθούν στη σταθεροποίηση του αρνητικού φορτίου του ενδιαμέσου. Η απομάκρυνση της αποχωρούσας ομάδας (LG, εδώ το NO₂) οδηγεί στο τελικό προϊόν.



Σχήμα 4. Μηχανισμός της πυρηνόφιλης αρωματικής υποκατάστασης.^[105]

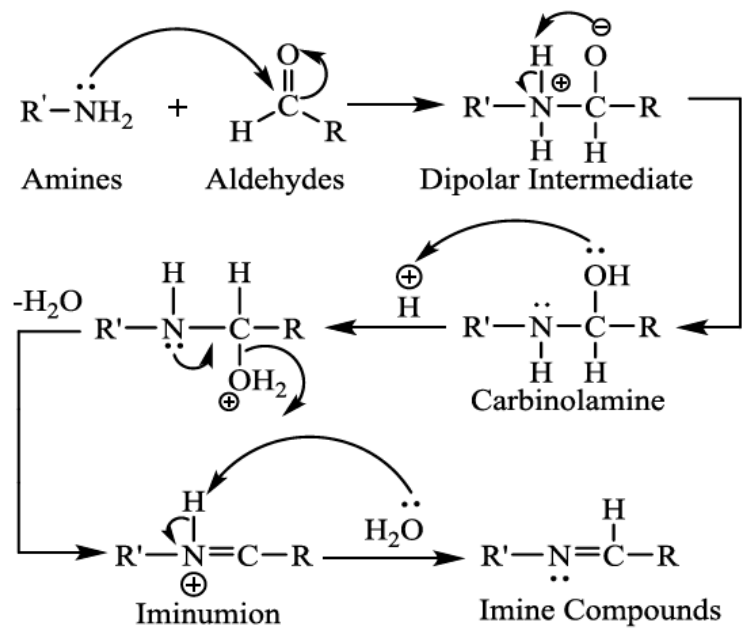
Στο Σχήμα 5 φαίνεται ένας προτεινόμενος μηχανισμός σύνθεσης της μεταλλοφθαλοκυανίνης από το φθαλονιτρίλιο. Συχνά, απαιτείται η παρουσία μιας αλκοόλης με υψηλό σημείο βρασμού ROH (όπως είναι η διμεθυλαιθανολαμίνη, DMAE) και μιας ισχυρής βάσης. Προτάθηκε ότι η ισχυρή βάση (1,8-διαζαδικυκλο(5.4.0)ενδεκ-7-ένιο, DBU) δρα ως δέκτης ηλεκτρονίων. Ως αποτέλεσμα, σχηματίζεται ιόν αλκοξειδίου RO⁻ (Y⁻), το οποίο αποτελεί τόσο το πυρηνόφιλο, όσο και το αναγωγικό αντιδραστήριο, που αντιδρά, αρχικά, με μια κυανομάδα ενός φθαλονιτρίλιου. Το ενδιαμέσο του σχήματος αντιδρά περαιτέρω με μόρια φθαλονιτρίλιου, οδηγώντας στο μεταλλικό σύμπλοκο.



Σχήμα 5. Μηχανισμός σύνθεσης της μεταλλοφθαλοκυανίνης.^[106]

3. Παρασκευή υδρογελών χιτοζάνης/τροποποιημένων φθαλοκυανινών μέσω της αντίδρασης βάσης Schiff

Οι παραγόμενες φθαλοκυανίνες λειτουργούν ως διασυνδέτες για την παρασκευή υδρογελών χιτοζάνης. Η χημική διασύνδεση λαμβάνει χώρα μέσω της αντίδρασης βάσης Schiff μεταξύ των αλδεϋδομάδων της φθαλοκυανίνης και των αμινομάδων της χιτοζάνης, οπότε, με τον σχηματισμό δεσμών ιμίνης, δημιουργείται το τρισδιάστατο δίκτυο. Στο Σχήμα 6 παρουσιάζεται η αντιστρεπτή αντίδραση βάσης Schiff. Ο μηχανισμός περιλαμβάνει την πυρηνόφιλη προσθήκη της αμινομάδας, που δρα ως πυρηνόφιλο αντιδραστήριο, στην καρβονυλική ομάδα. Έτσι, σχηματίζεται μια ασταθής ενδιάμεση ένωση, που ονομάζεται καρβινολαμίνη. Η καρβινολαμίνη, στη συνέχεια, υφίσταται συμπύκνωση, καταλυόμενη από οξύ ή βάση (στο Σχήμα 6 φαίνεται η κατάλυση από οξύ). Τονίζεται ότι τα παρακάτω στάδια είναι όλα αμφίδρομα.



Σχήμα 6. Μηχανισμός της αντίδρασης βάσης Schiff.^[107]

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Όργανα και Συσκευές

Παρακάτω αναφέρονται τα όργανα και οι συσκευές που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διεξαγωγή των αντιδράσεων και τον χαρακτηρισμό των στερεών προϊόντων και των υδρογελών.

- ✓ Αντλία υψηλού κενού, RV5 Edwards
- ✓ Περιστροφικός εξατμιστήρας, R-114 Buchi
- ✓ Συσκευή λυοφιλοποίησης, Frozen in Time Mini Lablyo
- ✓ Πεχάμετρο, Metrohm 744
- ✓ Φασματόμετρο FT-IR, 4200 Jasco
- ✓ Φασματόμετρο NMR, V300 MHz Varian (Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών)
- ✓ Περιθλασίμετρο Ακτίνων Χ, XRD Brüker D8 Advance
- ✓ Φασματοφωτόμετρο UV-Vis, Perkin Elmer Lambda 35
- ✓ Φασματοφωτόμετρο φθορισμού, Perkin Elmer LS45
- ✓ Διοδικό laser 661 nm συζευγμένο με οπτική ίνα και διαχύτη φωτός, GCSLS-10-1500m, China Daheng Group

Η παρακολούθηση της πορείας των αντιδράσεων πραγματοποιήθηκε μέσω χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC) σε πλάκες αλουμινίου επιστρωμένες με Silica gel F254 της εταιρίας Merck, σε διάφορες αναλογίες συστήματος διαλυτών πετρελαϊκού αιθέρα (PE)/οξικού αιθυλεστέρα (EtOAc). Οι κηλίδες των χρωματογραφημάτων TLC εμφανίστηκαν σε λάμπα υπεριώδους (UV) ακτινοβολίας 254 nm και με εμποτισμό σε διάλυμα φωσφομολυβδαινικού οξέος (PMA) σε αναλογία (αιθανολικό διάλυμα PMA 7 %/αιθανόλη 1:2).

Η εξάτμιση των οργανικών διαλυτών πραγματοποιήθηκε, υπό ελαττωμένη πίεση, με τη χρήση του περιστροφικού εξατμιστήρα, ενώ η ξήρανση των προϊόντων, με την αντλία υψηλού κενού.

Ο χαρακτηρισμός των στερεών προϊόντων και ο έλεγχος της καθαρότητάς τους πραγματοποιήθηκε μέσω Φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR), χρησιμοποιώντας δευτεριωμένο διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO-*d*₆) ως διαλύτη. Στα φάσματα ¹H NMR, οι τιμές των χημικών μετατοπίσεων (δ) δίνονται σε ppm και η πολλαπλότητα των σημάτων αναφέρεται ως εξής: s (singlet, απλή), d (doublet, διπλή), dd (doublet of doublets, διπλή διπλών). Οι σταθερές σύζευξης (J) δίνονται σε Hz.

Ο δομικός χαρακτηρισμός των υδρογελών πραγματοποιήθηκε μέσω Φασματοσκοπίας Υπερύθρου Μετασχηματισμού Fourier (FT-IR) και Περιθλασιμετρίας Ακτίνων Χ (XRD).

Οι οπτικές ιδιότητες των φθαλοκυανινών και των υδρογελών μελετώνται στο φασματοφωτόμετρο UV-Vis, καθώς και στο φασματοφωτόμετρο φθορισμού.

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

2. Σύνθεση φωτοευαίσθητοποιητών-διασυνδετών

2.1 Σύνθεση 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2H-χρωμεν-2-όνης (4-μεθυλο-ουμπελιφερόνης)

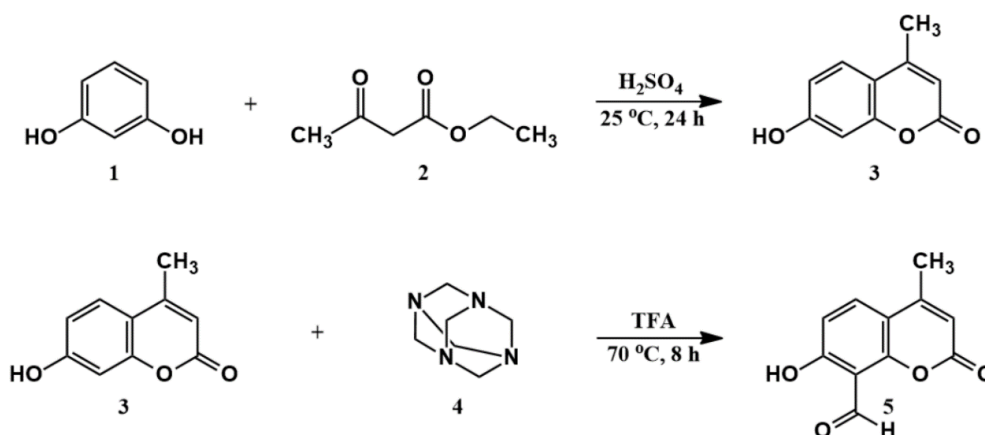
Αρχικά, παρασκευάζεται διάλυμα 90.82 mmol (10 g) ρεσορκινόλης (**1**) σε 92.10 mmol (12 mL) ακετοξικού αιθυλεστέρα (**2**). Σε σφαιρική φιάλη προστίθενται 100 mL πυκνού θειικού οξέος (H₂SO₄) υπό ψύξη, στους 0 °C. Στη συνέχεια, προστίθεται, στάγδην και υπό ανάδευση, το διάλυμα ρεσορκινόλης στη φιάλη, ενώ η θερμοκρασία διατηρείται κάτω από τους 10 °C. Η αντίδραση αφήνεται να εξελιχθεί για 24 h σε θερμοκρασία δωματίου, υπό ανάδευση. Η πορεία της παρακολουθείται μέσω χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC) σε σύστημα διαλυτών πετρελαϊκού αιθέρα/οξικού αιθυλεστέρα (PE/EtOAc) 7:3. Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση, το μίγμα της φιάλης προστίθεται σε πάγο, υπό ανάδευση, με αποτέλεσμα την καταβύθιση στερεού, που διηθείται υπό κενό με ποσότητα παγωμένου νερού. Το στερεό ανακρυσταλλώνεται από διαλύτη μεθανόλη, οπότε, μετά από ξήρανση στην αντλία υψηλού κενού, παραλαμβάνεται η 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2H-χρωμεν-2-όνη (**3**).

Απόδοση: 90 %, ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 10.54 (s, 1H, 7-OH), 7.59 (d, J=8.4 Hz, 1H, H-5), 6.80 (dd, J=0.9 & J=2.1 Hz, 1H, H-6), 6.70 (d, J=0.6 Hz, 1H, H-8), 6.12 (s, 1H, H-3), 2.36 (s, 3H, 4-CH₃).

2.2 Σύνθεση 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2-οξο-2H-χρωμεν-8-καρβαλδεΰδης

Για τη σύνθεση της 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2-οξο-2H-χρωμεν-8-καρβαλδεΰδης, ζυγίζονται, σε γραμμομοριακή αναλογία 3:1, ποσότητες της παραγόμενης 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2H-χρωμεν-2-όνης και εξαμεθυλενοτετραμίνης (**4**) και προστίθενται σε 7 mL διαλύτη τριφθοροξικού οξέος (TFA), εντός σφαιρικής φιάλης των 50 mL, υπό ψύξη. Το διάλυμα υφίσταται θέρμανση με κάθετο ψυκτήρα επαναροής (reflux) στους 70°C, υπό αδρανή ατμόσφαιρα N₂, για 8 ώρες. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται μέσω χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC) σε σύστημα διαλυτών PE/EtOAc 6:4. Στη συνέχεια, το μίγμα προστίθεται σε πάγο και πραγματοποιείται εκχύλιση του προϊόντος με οξικό αιθυλεστέρα. Ακολουθεί εξάτμιση του διαλύτη, οπότε λαμβάνεται ένα στερεό που αντιστοιχεί στην 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2-οξο-2H-χρωμεν-8-καρβαλδεΰδη (**5**).

Απόδοση: 32 %, **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 11.89 (s, 1H, 7-OH), 10.44 (s, 1H, 8-CHO), 10.27 (s, 1H, 6-CHO), 7.94 (d, J=8.7 Hz, 1H, H-6), 6.97 (d, J=9 Hz, 1H, H-5), 6.30 (s, 1H, H-3), 2.41 (s, 3H, 4-CH₃).



Σχήμα 7. Η συνθετική πορεία παραγωγής της 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2-οξο-2H-χρωμεν-8-καρβαλδεΐδης.

2.3 Σύνθεση τροποποιημένων φθαλοκυανινών ψευδαργύρου (ZnPc)

Όπως προαναφέρθηκε, η σύνθεση των τροποποιημένων φθαλοκυανινών ψευδαργύρου πραγματοποιείται σε δύο στάδια.

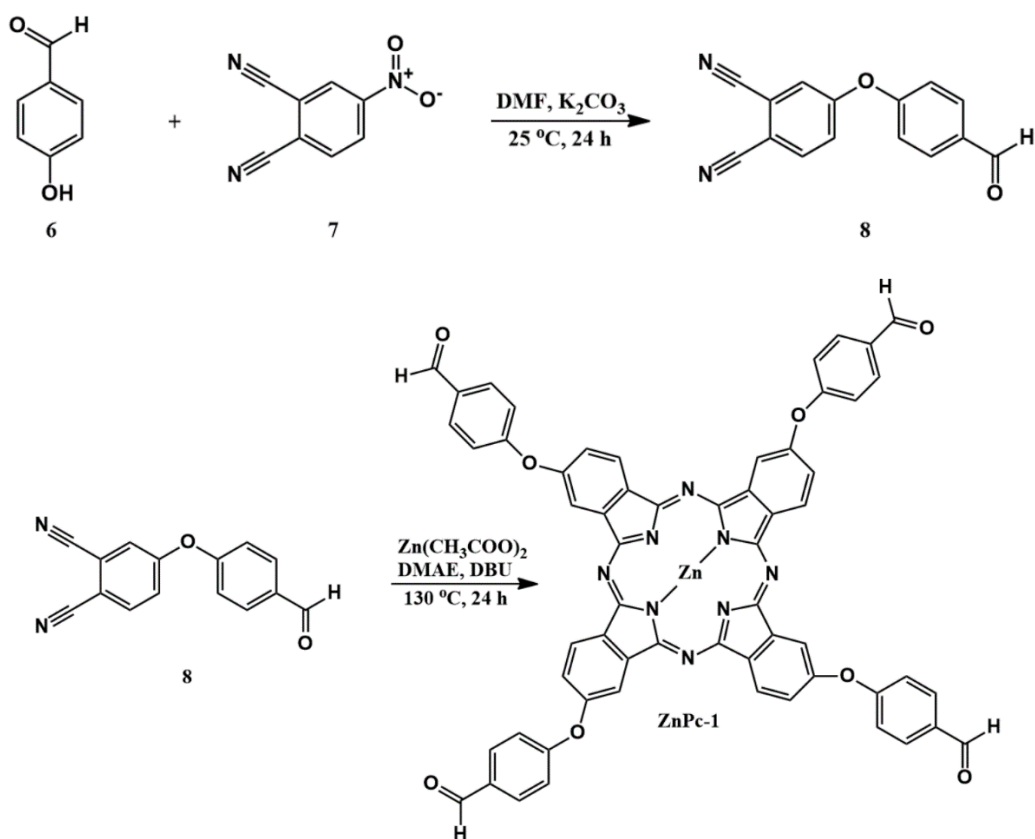
Στο πρώτο στάδιο, παράγεται το κατάλληλα υποκατεστημένο φθαλονιτρίλιο, μέσω πυρηνόφιλης αρωματικής υποκατάστασης, καταλυόμενης από βάση. Άρα, αρχικά, ζυγίζονται, στην ίδια γραμμομοριακή αναλογία, ποσότητες της κατάλληλης αλδεΐδης (**5**, **6**), 4-νιτροφθαλονιτρίλιου (**7**) και άνυδρου ανθρακικού καλίου ως βάση (K₂CO₃), οι οποίες μεταφέρονται σε σφαιρική φιάλη. Ακολουθεί προσθήκη κατάλληλης ποσότητας διαλύτη διμεθυλοφορμαμίδιου (DMF) και ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου, για μία ημέρα. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται μέσω χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC), σε σύστημα διαλυτών πετρελαϊκού αιθέρα/οξικού αιθυλεστέρα (PE/EtOAc) 6:4. Στη συνέχεια, προστίθενται στη φιάλη 5 mL νερού και 1 mL ακετόνης, πραγματοποιείται διήθηση υπό κενό και το στερεό που προκύπτει εκπλένεται με νερό. Τελικά, οδηγείται στην αντλία υψηλού κενού για ξήρανση, οπότε παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν, δηλαδή το κατάλληλα υποκατεστημένο φθαλονιτρίλιο (**8**, **9**).

Για την ένωση (**8**):

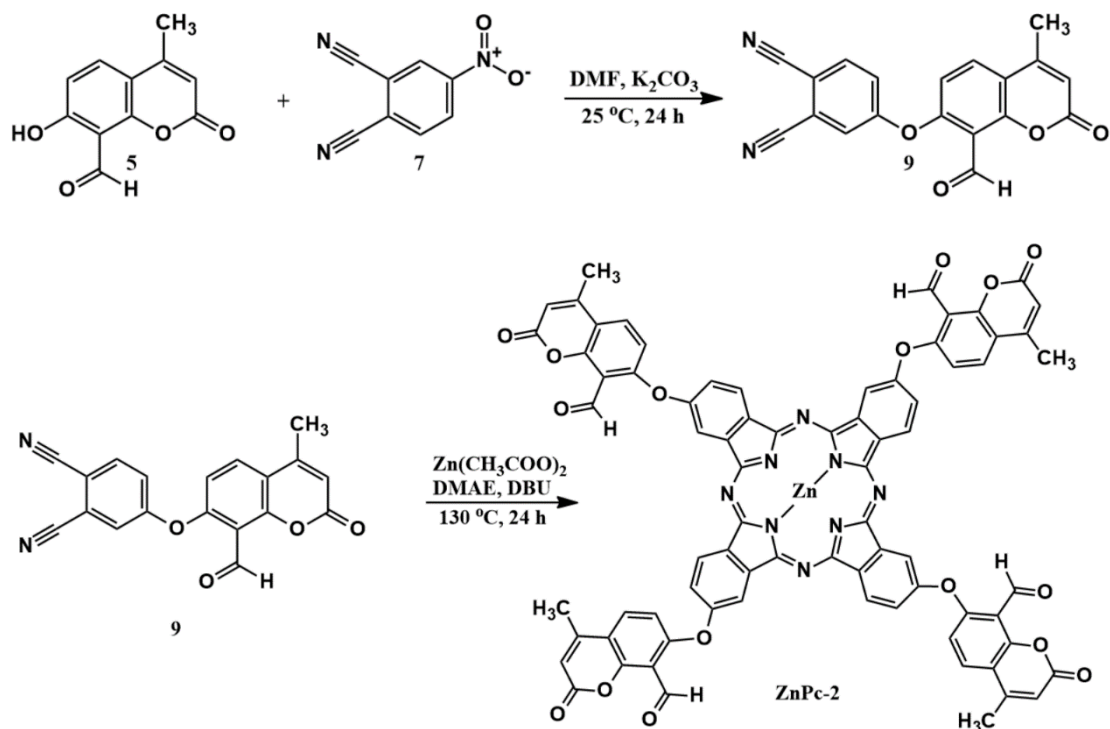
Απόδοση: 65 %, **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 10.01 (s, 1H, 1-CHO), 8.18 (d, J=8.4 Hz, 1H, H-3), 8.02 (d, J=9 Hz, 2H, H-3, H-5), 7.98 (d, J=3 Hz, 1H, H-6), 7.59 (dd, J=9 & J=2.4 Hz, 1H, H-2), 7.36 (d, J=8.4 Hz, 2H, H-6, H-2)

Για την ένωση (**9**) απαιτείται καθαρισμός μέσω χρωματογραφικής στήλης.

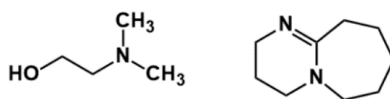
Στο δεύτερο στάδιο, ζυγίζονται ποσότητες του κατάλληλα υποκατεστημένου φθαλονιτριλίου και άνυδρου οξικού ψευδαργύρου ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$) σε γραμμομοριακή αναλογία 2.6:1 και τοποθετούνται σε σφαιρική φιάλη. Ακολουθεί προσθήκη κατάλληλης ποσότητας διαλύτη διμεθυλαιθανολαμίνης (DMAE) και μερικών σταγόνων 1,8-διαζαδικυκλο(5.4.0)ενδεκ-7-ενίου (DBU). Η φιάλη υφίσταται θέρμανση με κάθετο ψυκτήρα επαναρροής (reflux) στους 130°C , υπό αδρανή ατμόσφαιρα N_2 . Μετά από μία ημέρα, το σύστημα αφαιρείται από τη θέρμανση και αφήνεται να ψυχθεί σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολούθως, προστίθενται 2-2.5 mL αιθανόλης, πραγματοποιείται διήθηση υπό κενό και το ίζημα που προκύπτει εκπλένεται 2-3 φορές με ζεστή αιθανόλη. Το στερεό, στη συνέχεια, οδηγείται στην αντλία υψηλού κενού για ξήρανση. Τελικά, παραλαμβάνεται ένα προϊόν πράσινου χρώματος, η τροποποιημένη φθαλοκυανίνη ψευδαργύρου (**ZnPc-1**, **ZnPc-2**).



Σχήμα 8. Η συνθετική πορεία παραγωγής της τροποποιημένης φθαλοκυανίνης **ZnPc-1**, ξεκινώντας από την 4-υδροξυβενζαλδεΐδη



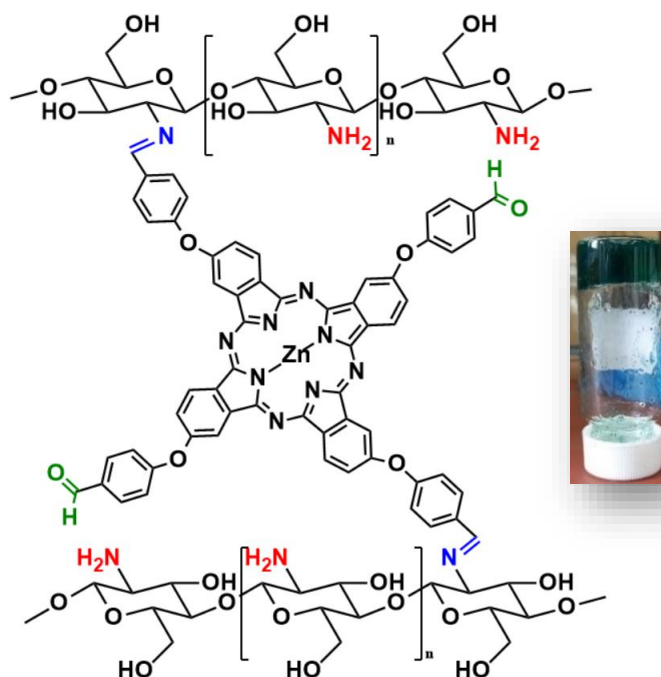
Σχήμα 9. Η συνθετική πορεία παραγωγής της τροποποιημένης φθαλοκυανίνης ZnPc-2, ξεκινώντας από την 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2-οξο-2H-χρωμεν-8-καρβαλδεΐδη.



Σχήμα 10. Η δομή της DMAE (αριστερά) και του DBU (δεξιά).

3. Παρασκευή υδρογέλης χιτοζάνης/τροποποιημένης φθαλοκυανίνης

Ζυγίζεται ποσότητα χιτοζάνης (5-20 mPa*s, 0.5 % σε 0.5 % οξικό οξύ στους $20\text{ }^\circ\text{C}$) και προστίθεται σε υδατικό διάλυμα οξικού οξέος 1 % v/v, έτσι ώστε η περιεκτικότητα να είναι 2.5-5 % w/v. Ακολουθεί ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου, μέχρι πλήρους διάλυσης του στερεού (Διάλυμα Α). Επιπλέον, ζυγίζεται ποσότητα της τροποποιημένης φθαλοκυανίνης ZnPc-1, η οποία διαλύεται σε DMF, με τη βοήθεια του λουτρού υπερήχων (Διάλυμα Β). Στη συνέχεια, το Διάλυμα Β προστίθεται στο Διάλυμα Α και πραγματοποιείται ανάδευση με vortex. Μετά από ψύξη, παραλαμβάνεται η επιθυμητή υδρογέλη (HYD-1). Έπειτα από εξάτμιση του διαλύτη, η υδρογέλη εκπλένεται τρεις φορές με μίγμα απεσταγμένου νερού/αιθανόλης σε αναλογία 1:1. Τέλος, το δείγμα οδηγείται προς λυοφιλοποίηση για περαιτέρω ανάλυση.



Σχήμα 11. Παρασκευή υδρογέλης χιτοζάνης χρησιμοποιώντας την συντιθέμενη τροποποιημένη φθαλοκυανίνη ZnPc-1 ως διασυνδέτη. Με κόκκινο χρώμα επισημαίνονται οι αμινομάδες της χιτοζάνης, με πράσινο οι αλδεϋδομάδες της φθαλοκυανίνης και με μπλε οι σχηματιζόμενοι δεσμοί ιμίνης.

4. Χαρακτηρισμός υδρογέλης χιτοζάνης/τροποποιημένης φθαλοκυανίνης

4.1 Φασματοσκοπία Υπερύθρου Μετασχηματισμού Fourier (FT-IR)

Λαμβάνεται φάσμα FT-IR για τη χιτοζάνη, τη φθαλοκυανίνη και την ξηρή υδρογέλη, με τη μέθοδο της Αποσβένουσας Ολικής Ανάκλασης (Attenuated Total Reflectance, ATR), στην περιοχή κυματαριθμών 4000-400 cm^{-1} .

4.2 Περιθλασιμετρία Ακτίνων X (XRD)

Η χιτοζάνη και η ξηρή υδρογέλη μελετώνται, επίσης, μέσω του περιθλασίμετρου Ακτίνων X (XRD), από $2\theta=5^\circ$ έως 50° , με ακτινοβολία Cu-K α ($\lambda_{\text{Cu}\alpha 1}=1.5406 \text{ \AA}$), τάση 40 kV και ρεύμα 40 mA.

4.3 Μελέτη διόγκωσης υδρογέλης χιτοζάνης/τροποποιημένης φθαλοκυανίνης

Η διόγκωση των υδρογελών εκφράζεται από τον λόγο διόγκωσης S_w (Σχέση 1):

$$S_w = \frac{W_s - W_d}{W_d} \quad (1)$$

Για τον προσδιορισμό του, ζυγίζεται ποσότητα λυοφιλοποιημένης υδρογέλης (W_d) και εμβαπτίζεται σε απεσταγμένο νερό. Ανά μισή ώρα, το δείγμα αφήνεται έξω από το υγρό. Ακολουθεί ζύγιση του διογκωμένου δείγματος, αφού

αφαιρεθεί η περίσσεια νερού από την επιφάνεια της υδρογέλης (W_s). Έτσι, από τη Σχέση 1, υπολογίζεται ο λόγος διόγκωσης. Σημειώνεται ότι το πείραμα διεξάγεται με τρία δείγματα ξηρής υδρογέλης και λαμβάνεται ο μέσος όρος.

Επιπλέον, μελετάται η επίδραση του pH στη διόγκωση των υδρογελών. Συγκεκριμένα, ζυγίζονται μικρές ποσότητες υδρογελών και εμβαπτίζονται σε ένα όξινο διάλυμα με pH=3 και σε ένα βασικό με pH=11. Το pH των παραπάνω διαλυμάτων προσαρμόζεται χρησιμοποιώντας υδατικά διαλύματα HCl και NaOH συγκεκριμένων τιμών pH. Στη συνέχεια, ομοίως, ανά μισή ώρα, τα δείγματα αφαιρούνται από τα διαλύματα και ζυγίζονται, οπότε υπολογίζεται ο λόγος διόγκωσης από τη Σχέση 1. Το πείραμα διεξάγεται, σε κάθε περίπτωση, με τρία δείγματα ξηρής υδρογέλης και λαμβάνεται ο μέσος όρος.

4.4 Προσδιορισμός του πορώδους της υδρογέλης χιτοζάνης/τροποποιημένης φθαλοκυανίνης

Για τη μέτρηση του πορώδους, ζυγίζεται ένα δείγμα λυοφιλοποιημένης υδρογέλης (W_1) και εμβαπτίζεται σε αιθανόλη για μία ημέρα. Στη συνέχεια, μετά από την αφαίρεση της περίσσειας αιθανόλης από την επιφάνειά της, η υδρογέλη ζυγίζεται πάλι (W_2). Έτσι, υπολογίζεται το πορώδες από τη Σχέση 4:

$$\text{Πορώδες} = \frac{W_2 - W_1}{\rho V} \quad (4)$$

Ο όρος ρ αντιστοιχεί στην πυκνότητα της αιθανόλης, ενώ ο όρος V στον όγκο της υδρογέλης. Για τον προσδιορισμό του V , προστίθεται σε έναν ογκομετρικό κύλινδρο εξάνιο και, με τη βοήθεια ενός παχύμετρου, μετράται η εσωτερική διάμετρος του κυλίνδρου και το επίπεδο στάθμης του εξανίου. Στη συνέχεια, ένα τμήμα λυοφιλοποιημένης υδρογέλης εμβαπτίζεται στο εξάνιο και επαναλαμβάνεται η μέτρηση της στάθμης του υγρού. Ο όγκος της υδρογέλης υπολογίζεται με βάση τη διαφορά των όγκων που καταλαμβάνει το εξάνιο, πριν και μετά από την εμβάπτισή της σε αυτό. Το πείραμα διεξάγεται με τρία δείγματα ξηρής υδρογέλης και λαμβάνεται ο μέσος όρος.

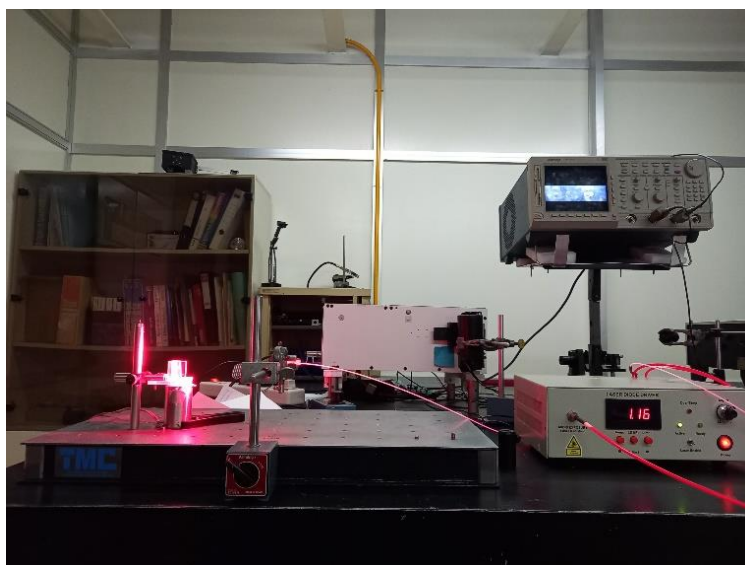
4.5 Μελέτη οπτικών ιδιοτήτων της τροποποιημένης φθαλοκυανίνης ZnPc-1 και της υδρογέλης HYD-1

Ζυγίζονται κατάλληλες ποσότητες της τροποποιημένης φθαλοκυανίνης ZnPc-1 και της υδρογέλης HYD-1 και διαλύονται σε διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO) και υδατικό διάλυμα οξικού οξέος 1 % v/v. Στη συνέχεια, τα δύο διαλύματα μελετώνται ως προς την απορρόφηση, μέσω Φασματοφωτομετρίας Υπεριώδους-Ορατού (UV-Vis), τον φθορισμό, καθώς και την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS), μέσω Φασματοσκοπίας Φθορισμού.

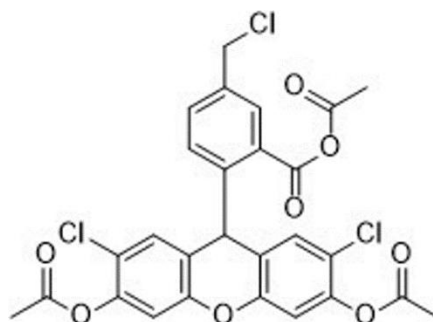
Αναφορικά με τη μελέτη παραγωγής ROS, χρησιμοποιείται ο διοξικός ακετυλεστέρας 5-(και-6)-χλωρομεθυλο-2'-7'-διχλωροδιϋδροφλουοροσκεΐνης (CM-H₂DCFDA) ως ιχνηθέτης φθορισμού. Για να μετατραπεί στη φθορίζουσα

μορφή του, αρχικά υδρολύεται με χρήση διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου (NaOH). Μετά από την υδρόλυση, προκύπτει η διοξική 2',7'-διχλωροδιϋδροφλουοροσκεΐνη (H₂DCFDA), η οποία οξειδώνεται όταν βρίσκεται σε σύστημα με ελεύθερες ρίζες και μετατρέπεται στη φθορίζουσα 2',7'-διχλωροφλουοροσκεΐνη (DCF), που μπορεί να ανιχνευθεί στο φασματοφωτόμετρο φθορισμού. Απουσία ελευθέρων ριζών, δεν παρατηρείται φθορισμός.

Το κάθε δείγμα, συνολικού όγκου 3 mL, τοποθετείται εντός κυψελίδας, όπου προστίθεται και ποσότητα του υδρολυμένου CM-H₂DCFDA. Για την παραγωγή των ROS χρησιμοποιείται κόκκινο διοδικό laser 661 nm, με ένταση 12 mW/cm² στο επίπεδο του δείγματος. Ανά τακτά χρονικά διαστήματα, για τα πρώτα 30 min, συλλέγονται τα φάσματα φθορισμού της DCF. Τα φάσματα φθορισμού λαμβάνονται για μήκος κύματος διέγερσης ίσο με 490 nm, όπου απορροφά η φθορίζουσα ουσία.



Εικόνα 19. Η διάταξη του laser που χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή ROS.

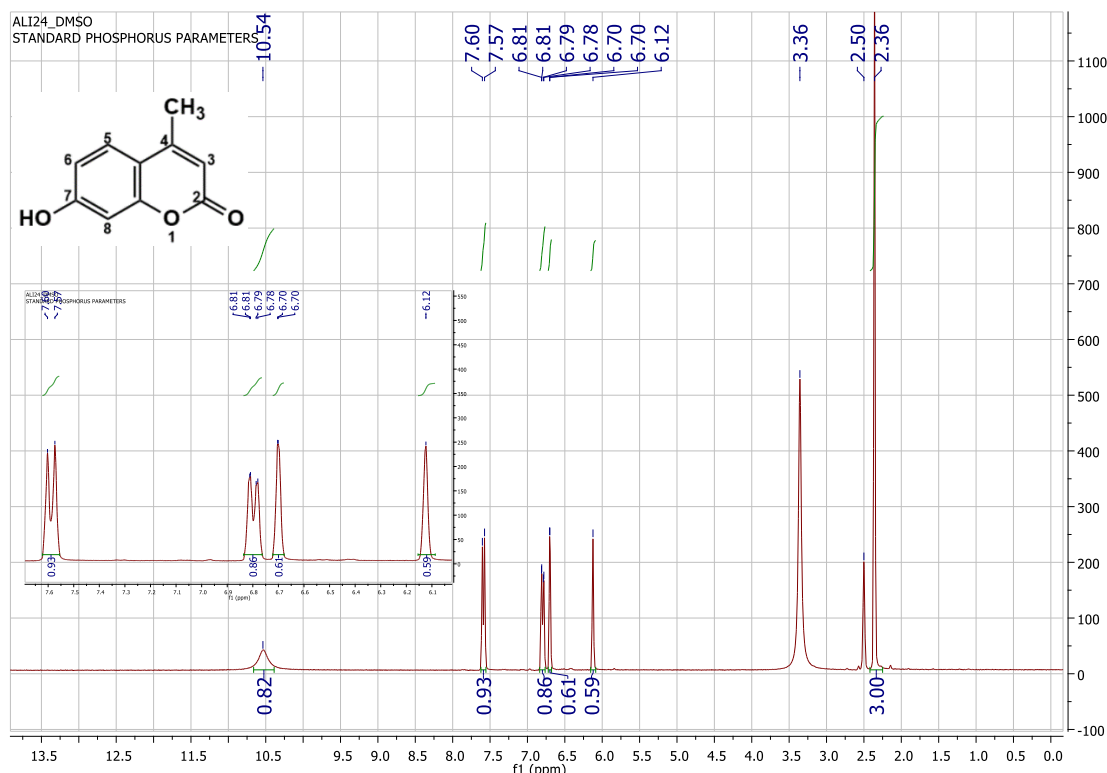


Εικόνα 20. Η δομή του CM-H₂DCFDA.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

1. Μελέτη φασμάτων ^1H NMR

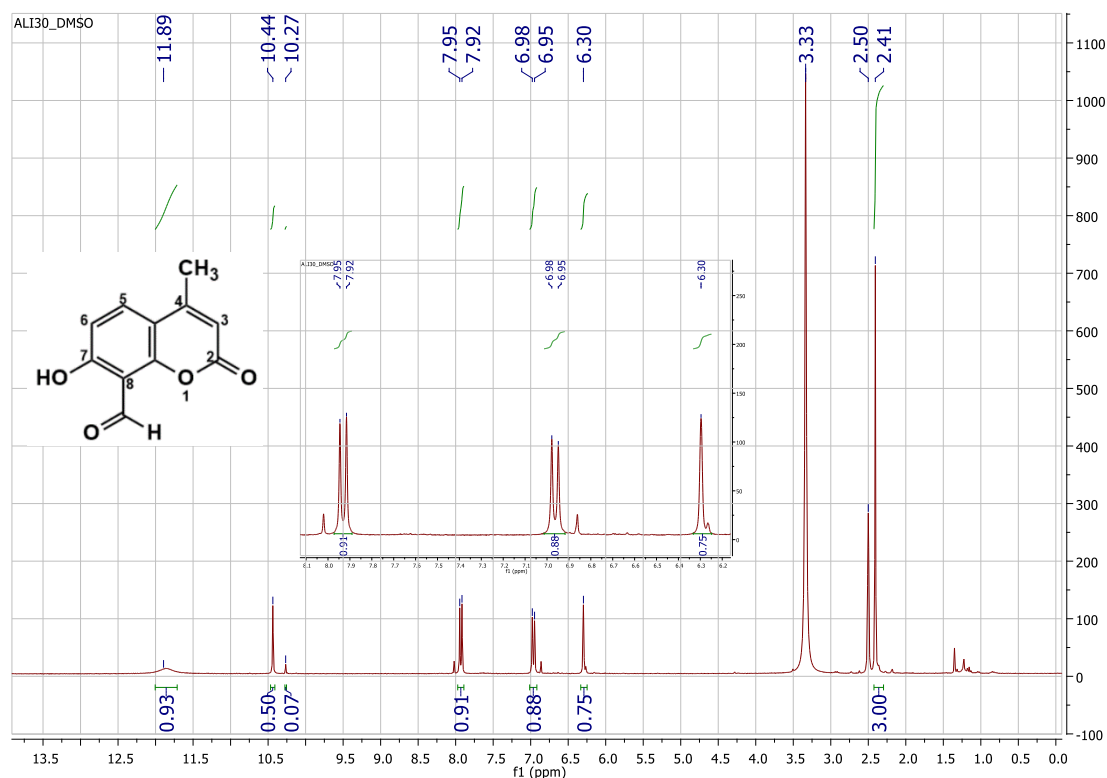
Αρχικά, παρουσιάζονται και μελετώνται τα φάσματα ^1H NMR της 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2H-χρωμεν-2-όνης (**3**) καθώς και της 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2-οξο-2H-χρωμεν-8-καρβαλδεΐδης (**5**), που συντέθηκαν σύμφωνα με την πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε προηγουμένως. Η ένωση (**5**) είναι η αλδεΐδη που αποτέλεσε τη βάση για τον σχηματισμό της τροποποιημένης φθαλοκυανίνης ZnPc-2.



Εικόνα 21. Φάσμα ^1H NMR της 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2H-χρωμεν-2-όνης ($\text{DMSO}-d_6$).

Στα 2.50 ppm φαίνεται η κορυφή που αντιστοιχεί στον διαλύτη (δευτεριωμένο διμεθυλοσουλφοξείδιο, $\text{DMSO}-d_6$). Στα 2.36 ppm εμφανίζεται μια απλή κορυφή, η οποία αποδίδεται στα τρία ισοδύναμα πρωτόνια του μεθυλίου της θέσης 4, επομένως ολοκληρώνεται για τρία πρωτόνια. Η απλή κορυφή που βρίσκεται στα 6.12 ppm αντιστοιχεί στο πρωτόνιο της θέσης 3 και ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο. Στα 6.70 ppm παρουσιάζεται μια διπλή κορυφή, η οποία ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο και αποδίδεται στο πρωτόνιο της θέσης 8, λόγω της *meta* σύζευξης του με το πρωτόνιο της θέσης 6. Στα 6.80 ppm βρίσκεται μια κορυφή «διπλή διπλών», η οποία οφείλεται στο πρωτόνιο της θέσης 6, λόγω της *ortho* σύζευξης του με το πρωτόνιο της θέσης 5 και της *meta* σύζευξης του με το πρωτόνιο της θέσης 8. Η διπλή κορυφή που εμφανίζεται στα 7.59 ppm οφείλεται στο πρωτόνιο της θέσης 5, λόγω της *ortho* σύζευξης του με το πρωτόνιο της θέσης 6 και ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο. Τέλος, η απλή κορυφή που παρουσιάζεται στα 10.54 ppm ολοκληρώνεται επίσης για ένα

πρωτόνιο και αντιστοιχεί στο πρωτόνιο της υδροξυλομάδας, που βρίσκεται στη θέση 7.



Εικόνα 22. Φάσμα ¹H NMR της 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2-οξο-2H-χρωμεν-8-καρβαλδεΐδης (DMSO-d₆).

Στα 2.50 ppm φαίνεται η κορυφή που αντιστοιχεί στον διαλύτη (DMSO-d₆). Στα 2.41 ppm εμφανίζεται μια απλή κορυφή, η οποία αποδίδεται στα τρία ισοδύναμα πρωτόνια του μεθυλίου της θέσης 4, άρα ολοκληρώνεται για τρία πρωτόνια. Η απλή κορυφή που βρίσκεται στα 6.30 ppm αντιστοιχεί στο πρωτόνιο της θέσης 3 και ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο. Στα 6.97 ppm παρουσιάζεται μια διπλή κορυφή, η οποία αποδίδεται στο πρωτόνιο της θέσης 5, λόγω της *ortho* σύζευξής του με το πρωτόνιο της θέσης 6 και ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο. Η διπλή κορυφή που εμφανίζεται στα 7.94 ppm οφείλεται στο πρωτόνιο της θέσης 6, λόγω της *ortho* σύζευξής του με το πρωτόνιο της θέσης 5 και ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο.

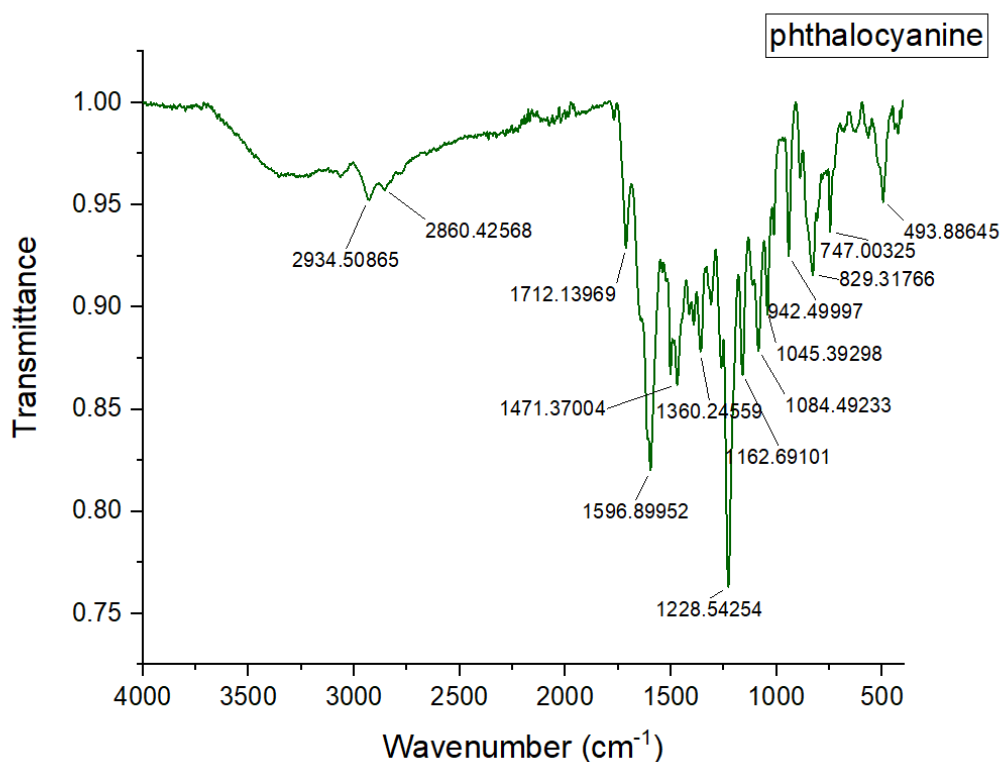
Στα 10.44 ppm υπάρχει μια απλή κορυφή, η οποία αποδίδεται στο πρωτόνιο της αλδεϋδομάδας, που βρίσκεται στη θέση 8. Επιπλέον, όπως προαναφέρθηκε, μέσω της αντίδρασης Duff, εκτός από την 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2-οξο-2H-χρωμεν-8-καρβαλδεΐδη, σχηματίζεται, σε μικρότερη αναλογία, και η 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2-οξο-2H-χρωμεν-6-καρβαλδεΐδη, όπου η αλδεϋδομάδα βρίσκεται στη θέση 6 αντί για τη θέση 8. Επομένως, η μικρή κορυφή στα 10.27 ppm οφείλεται σε αυτό το παραπροϊόν και αποδίδεται στο πρωτόνιο της αλδεϋδομάδας στη θέση 6. Τα δεδομένα αυτά επιβεβαιώνονται και από τη βιβλιογραφία.^[102] Το ολοκλήρωμα της κορυφής στα 10.27 ppm είναι πολύ μικρότερο συγκριτικά με εκείνο της κορυφής που εμφανίζεται στα 10.44 mm,

επομένως, συμπεραίνεται ότι, πράγματι, το κύριο προϊόν αποτελεί η επιθυμητή ένωση, που φέρει την αλδεϋδομάδα στη θέση 8.

Η απλή κορυφή που παρουσιάζεται στα 11.89 ppm ολοκληρώνεται επίσης για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχεί στο πρωτόνιο της υδροξυλομάδας, που βρίσκεται στη θέση 7. Παρατηρείται μια μετατόπιση της κορυφής που αποδίδεται στο συγκεκριμένο πρωτόνιο σε πιο χαμηλά πεδία, σε σύγκριση με το φάσμα της 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2H-χρωμεν-2-όνης (10.54 ppm), λόγω σχηματισμού δεσμού υδρογόνου με το καρβονύλιο (C=O) της αλδεϋδομάδας, που βρίσκεται στη θέση 8.

2. Μελέτη φασμάτων FT-IR

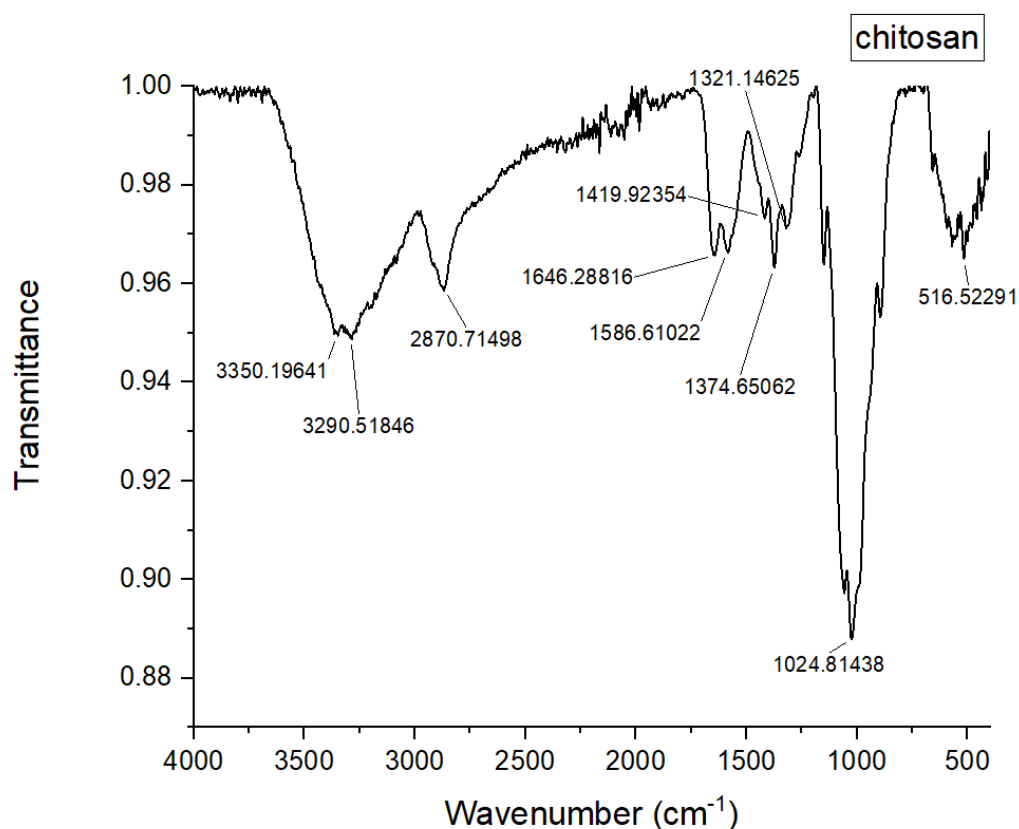
Παρακάτω παρουσιάζονται και αναλύονται τα φάσματα FT-IR της χιτοζάνης, της φθαλοκυανίνης ZnPc-1 και της υδρογέλης HYD-1, η οποία προέκυψε από συγκέντρωση χιτοζάνης 4.5 % w/v.



Εικόνα 23. Φάσμα FT-IR της φθαλοκυανίνης ZnPc-1.

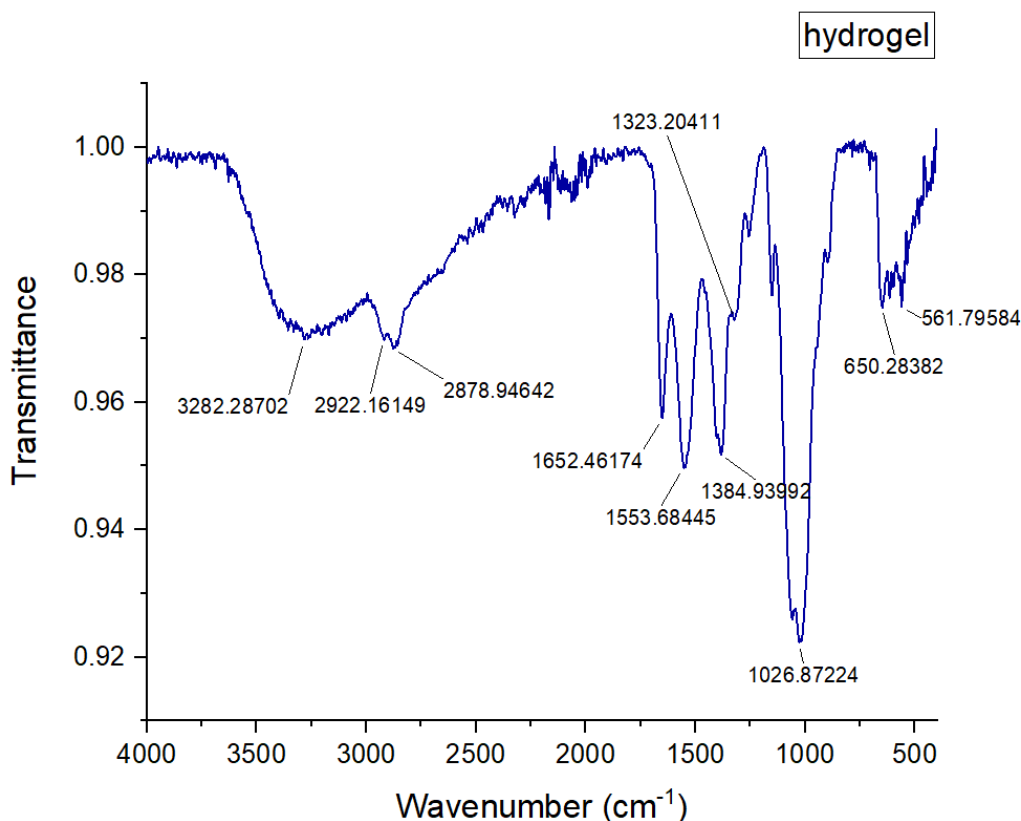
Από το φάσμα FT-IR της φθαλοκυανίνης, προκύπτουν ορισμένες χαρακτηριστικές κορυφές. Μερικές από αυτές εμφανίζονται στα 1597 cm⁻¹, κορυφή που αντιστοιχεί στη δόνηση τάσης των δεσμών C=C, στα 1163 cm⁻¹, που αφορά στη δόνηση κάμψης των δεσμών C-N «εντός επιπέδου» και στα 1084 cm⁻¹, λόγω της δόνησης κάμψης των δεσμών C-H «εντός επιπέδου». Ακόμη, η κορυφή στα 747 cm⁻¹ αφορά στη δόνηση παραμόρφωσης των δεσμών C-H «εκτός επιπέδου». Επιπλέον, η κορυφή που εμφανίζεται στα 1712 cm⁻¹ μπορεί να

αποδοθεί στη δόνηση τάσης των δεσμών C=O, επιβεβαιώνοντας την παρουσία αλδεϋδομάδων.^{[108],[109],[110]}



Εικόνα 24. Φάσμα FT-IR της χιτοζάνης.

Σύμφωνα με το φάσμα FT-IR της χιτοζάνης, εμφανίζεται μια χαρακτηριστική ευρεία κορυφή στην περιοχή 3400-3200 cm⁻¹, που αποδίδεται στις επικαλυπτόμενες δονήσεις τάσης των δεσμών O-H και N-H. Η κορυφή στα 2871 cm⁻¹ μπορεί να αποδοθεί στην τάση των δεσμών C-H. Επιπλέον, παρουσιάζεται μια κορυφή στα 1646 cm⁻¹, που οφείλεται στην τάση των δεσμών C=O (της ομάδας -NHCO-). Η κορυφή στα 1587 cm⁻¹ αντιστοιχεί στην κάμψη των δεσμών N-H των πρωτοταγών αμινών. Δεν εμφανίζεται κάποια κορυφή στα 1550 cm⁻¹, που αντιστοιχεί στην κάμψη των δεσμών N-H των αμιδίων, χαρακτηριστική της παρουσίας N-ακετυλο-ομάδων, πιθανότητα εξαιτίας της επικάλυψής της από άλλες κορυφές. Εμφανίζεται, επίσης, μια κορυφή στα 1420 cm⁻¹, καθώς και στα 1375 cm⁻¹, που σχετίζονται με τις δονήσεις κάμψης των C-H. Επιπλέον, η κορυφή που εμφανίζεται στα 1321 cm⁻¹ αφορά στην τάση των δεσμών C-N. Τέλος, η κορυφή στα 1025 cm⁻¹ αποδίδεται στην τάση των δεσμών C-O.^[111]



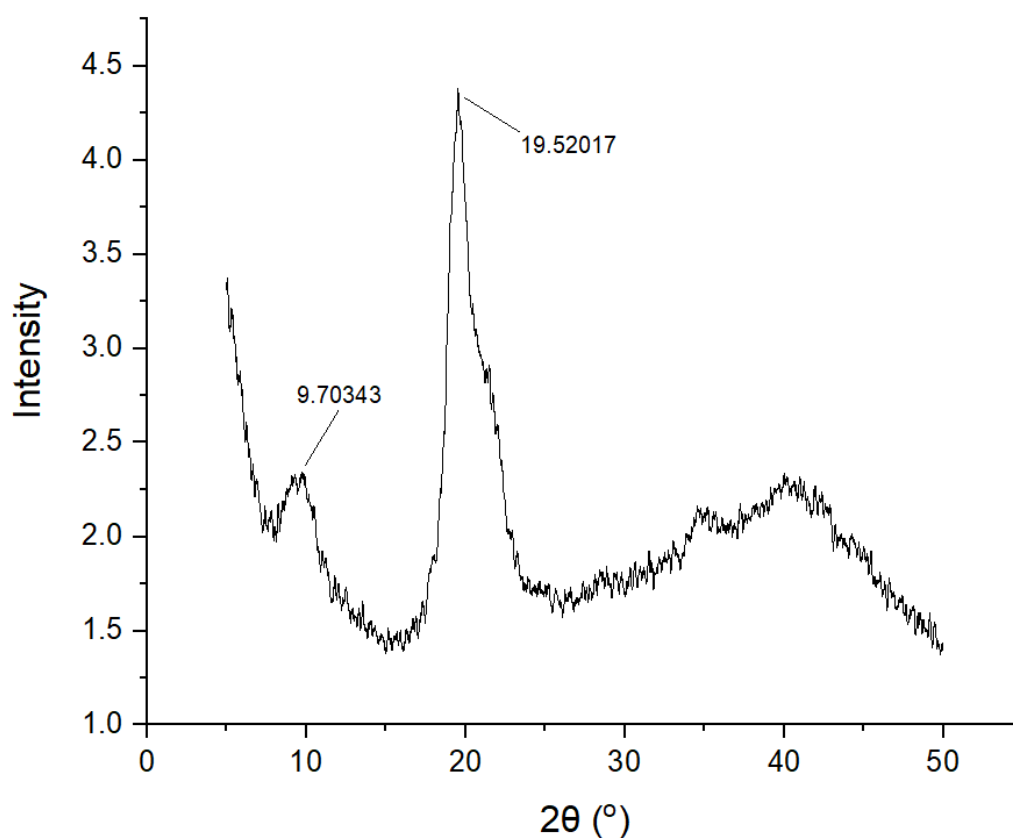
Εικόνα 25. Φάσμα FT-IR της υδρογέλης HYD-1.

Συγκρίνοντας το φάσμα FT-IR της υδρογέλης με εκείνο της χιτοζάνης, παρατηρείται ότι έχουν, γενικά, παρόμοια μορφή, με ορισμένες διαφοροποιήσεις. Στο φάσμα της υδρογέλης, εμφανίζεται μία κορυφή στα 1652 cm^{-1} , η οποία αποδίδεται στην τάση των δεσμών ιμίνης (C=N), που σχηματίζονται λόγω της αντίδρασης μεταξύ των αμινομάδων της χιτοζάνης και των αλδεϋδομάδων της φθαλοκυανίνης.^[112]

Υπάρχει, επίσης, μια κορυφή στα 1554 cm^{-1} , σε αντίθεση με το φάσμα της χιτοζάνης, η οποία μπορεί να αποδοθεί στην τάση των δεσμών N-H των αμιδίων. Ακόμη, απουσιάζει η κορυφή στα 1587 cm^{-1} , που αποδίδεται στην κάμψη των N-H των πρωτοταγών αμινών, γεγονός που οφείλεται στη συμμετοχή τους στην αντίδραση βάσης Schiff. Επιπλέον, παρατηρείται ότι η κορυφή που αντιστοιχεί στη δόνηση τάσης των δεσμών O-H και N-H έχει μετατοπιστεί στα 3283 cm^{-1} . Παράλληλα, υπάρχει μια μετατόπιση της κορυφής που σχετίζεται με την τάση των δεσμών C-H (από 2871 σε 2879 cm^{-1}), με τη δόνηση κάμψης των δεσμών C-H (από 1375 σε 1385 cm^{-1}), καθώς και εκείνης που αφορά στην τάση των δεσμών C-O (από 1025 σε 1027 cm^{-1}). Τα παραπάνω οφείλονται στην αλληλεπίδραση μεταξύ της χιτοζάνης και της φθαλοκυανίνης, μέσω της χημικής αντίδρασης βάσης Schiff.

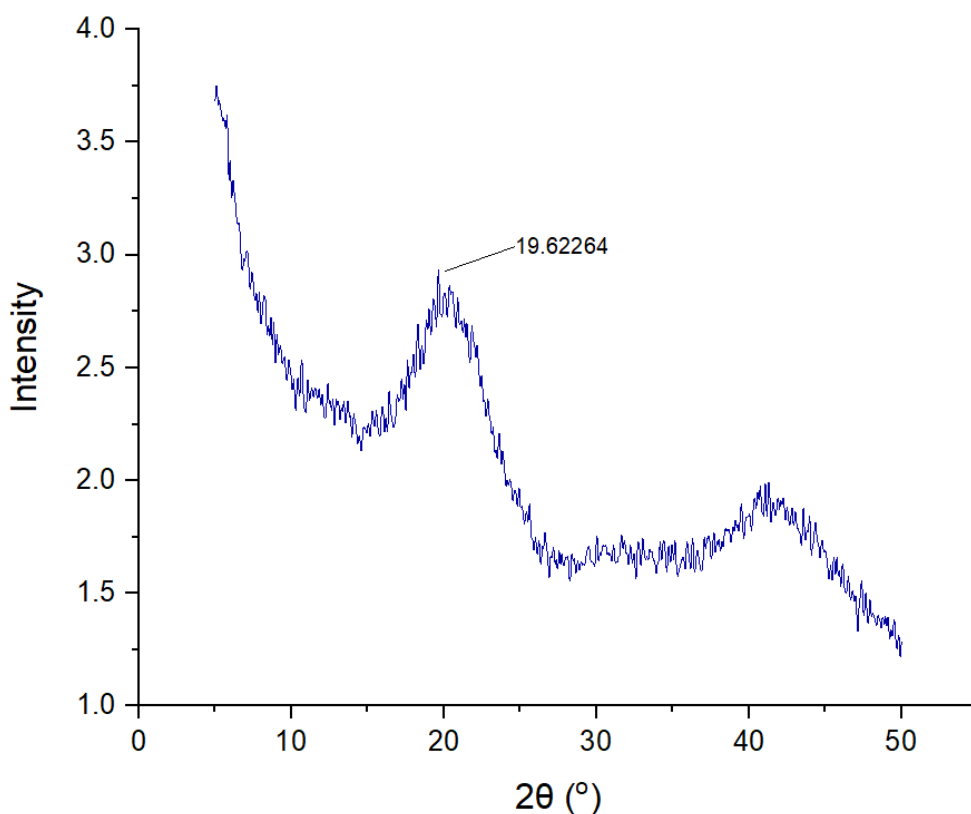
3. Ανάλυση XRD

Στη συνέχεια, παρατίθενται τα διαγράμματα που προέκυψαν μέσω Περιθλασιμετρίας Ακτίνων Χ (XRD) για τη χιτοζάνη και την υδρογέλη HYD-1.



Εικόνα 26. Διάγραμμα XRD της χιτοζάνης.

Όπως φαίνεται από την Εικόνα 26, η χιτοζάνη εμφανίζει μία έντονη κορυφή για γωνία $2\theta=19.52^\circ$ και μία, μικρότερης έντασης, για $2\theta=9.70^\circ$. Οι συγκεκριμένες κορυφές οφείλονται στους ενδομοριακούς και διαμοριακούς δεσμούς υδρογόνου, αντίστοιχα. Οι δεσμοί αυτοί, που σχηματίζονται μεταξύ των αμινομάδων και υδροξυλομάδων, σταθεροποιούν την κρυσταλλική δομή της χιτοζάνης.^[112]



Εικόνα 27. Διάγραμμα XRD της υδρογέλης.

Από το παραπάνω διάγραμμα, παρατηρείται ότι η αντίστοιχη κορυφή για $2\theta=19.62^\circ$ έχει εμφανώς μειωμένη ένταση και είναι πιο ευρεία συγκριτικά με την περίπτωση της χιτοζάνης. Παράλληλα, δεν εμφανίζεται κάποια κορυφή για $2\theta=9.70^\circ$. Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν ότι η υδρογέλη έχει λιγότερο κρυσταλλική και πιο άμορφη δομή από την καθαρή χιτοζάνη.

Γενικά, η κρυσταλλικότητα μειώνεται με την ελάττωση των σχηματιζόμενων δεσμών υδρογόνου. Στην περίπτωση της υδρογέλης, οι δεσμοί υδρογόνου είναι λιγότεροι συγκριτικά με τη χιτοζάνη, εξαιτίας, τόσο της ελάττωσης των ελεύθερων αμινομάδων, όσο και της στερεοχημικής παρεμπόδισης που προκύπτει μετά από τη διασύνδεση. Για αυτόν τον λόγο, η καθαρή χιτοζάνη εμφανίζει μεγαλύτερη κρυσταλλικότητα, όπως υποστηρίζεται και από τη βιβλιογραφία.^[112]

Παρόλο που η χιτοζάνη παρουσιάζει ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών, οι δεσμοί υδρογόνου που διαθέτει την καθιστούν σχεδόν αδιάλυτη στο νερό, περιορίζοντας τη χρήση της στη βιοϊατρική, στην καθαρή της μορφή. Από την άλλη πλευρά, τα παράγωγα της χιτοζάνης με άμορφη δομή μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε βιοϊατρικές εφαρμογές.^{[112],[113]}

4. Μελέτη διόγκωσης

Παρακάτω αναλύονται τα δεδομένα που προέκυψαν από την πειραματική μελέτη διόγκωσης της υδρογέλης σε υδατικά διαλύματα με $pH=3$ και $pH=11$, καθώς και σε απεσταγμένο νερό.

Αρχικά, στον Πίνακα 1 αναφέρονται οι τιμές του λόγου διόγκωσης S_w (g/g) της υδρογέλης, που υπολογίστηκαν από την Εξίσωση (1).

Πίνακας 1. Οι τιμές του λόγου διόγκωσης S_w (g/g) ως προς τον χρόνο, σε κάθε υδατικό μέσο που χρησιμοποιήθηκε κατά την πειραματική διαδικασία.

Χρόνος (h)	S_w (g/g)		
	Απεσταγμένο νερό	$pH=3$	$pH=11$
0	0	0	0
0.5	59.99	6.78	3.06
1	68.11	8.79	3.19
1.5	81.22	10.62	3.05
2	87.97	11.75	2.63

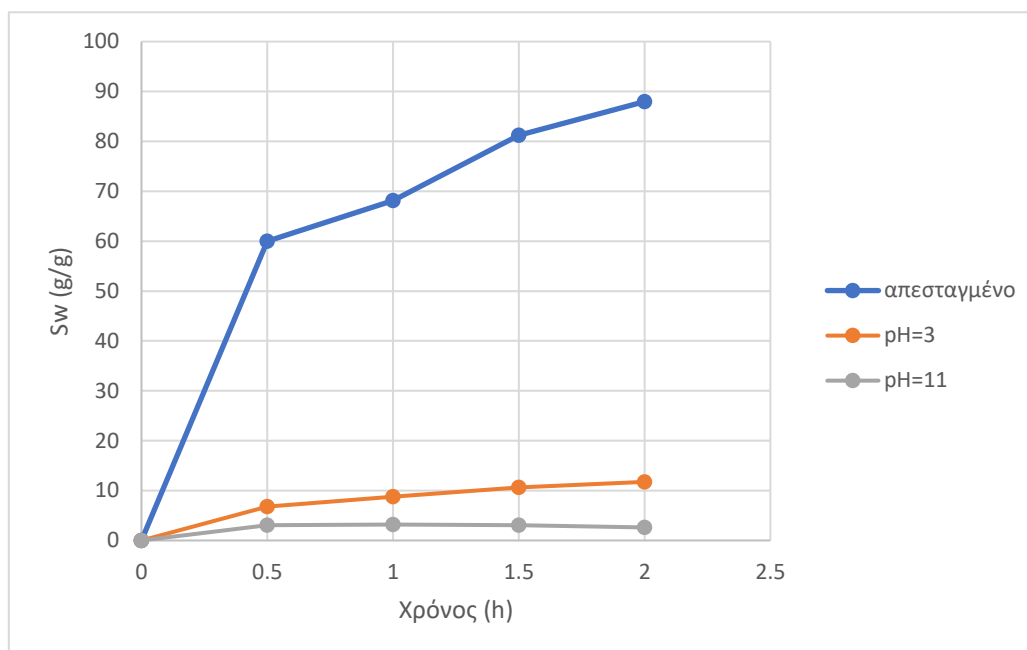


Εικόνα 28. Η ξηρή υδρογέλη πριν από τη διόγκωση.



Εικόνα 29. Η διογκωμένη υδρογέλη 2 ώρες μετά από την εμβάπτισή της σε απεσταγμένο νερό.

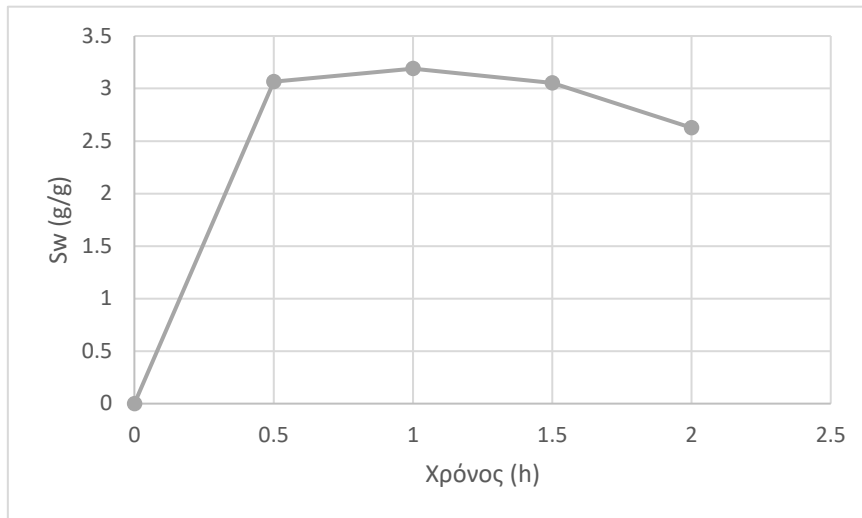
Στο παρακάτω Διάγραμμα παρουσιάζεται η διόγκωση της υδρογέλης, που εκφράζεται από τον λόγο διόγκωσης S_w (g/g), ως προς τον χρόνο (h), στα τρία διαφορετικά υδατικά μέσα, για τις πρώτες δύο ώρες.



Διάγραμμα 1. Η τιμή του λόγου διόγκωσης S_w (g/g) της υδρογέλης, ως προς τον χρόνο (h), στο όξινο (pH=3) και στο βασικό (pH=11) υδατικό διάλυμα, καθώς και σε απεσταγμένο νερό.

Όπως φαίνεται από το παραπάνω Διάγραμμα, η διόγκωση της υδρογέλης είναι εξαρτώμενη από το pH του υδατικού μέσου. Συγκεκριμένα, στο όξινο (pH=3) διάλυμα η υδρογέλη διογκώνεται περισσότερο απ' ότι στο βασικό (pH=11). Στη δεύτερη περίπτωση, μάλιστα, η υδρογέλη διογκώνεται μέχρι την 1^η ώρα και στη συνέχεια συρρικνώνεται, όπως φαίνεται καλύτερα από το παρακάτω Διάγραμμα 2. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να εξηγηθεί από τις φυσικές ιδιότητες της χιτοζάνης. Σε χαμηλές τιμές pH οι αμινομάδες είναι πρωτονιομένες και θετικά φορτισμένες ($-NH_3^+$), καθιστώντας τη χιτοζάνη κατιοντικό πολυηλεκτρολύτη. Τα θετικά αυτά φορτία, άρα και οι πολυμερικές αλυσίδες, απωθούνται μεταξύ τους, επιτρέποντας την είσοδο μεγαλύτερης ποσότητας νερού στο δίκτυο, δηλαδή μεγαλύτερο βαθμό διόγκωσης. Σε υψηλές τιμές pH σχηματίζονται επιπλέον δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των αμινομάδων ($-NH_2$) και των υδροξυλομάδων ($-OH$). Οι αμινομάδες είναι αποπρωτονιομένες, περιορίζοντας τις ηλεκτροστατικές απωθητικές δυνάμεις και κατ' επέκταση τον βαθμό διόγκωσης. Άρα, μετά την αρχική διόγκωση, η διογκωμένη υδρογέλη συρρικνώνεται.^[114]

Επιπλέον, παρατηρείται ότι ο λόγος διόγκωσης της υδρογέλης στο απεσταγμένο νερό είναι αρκετά υψηλότερος απ' ότι στα άλλα δύο διαλύματα. Αυτό συμβαίνει γιατί, στις δύο τελευταίες περιπτώσεις, η διαφορά συγκέντρωσης των ευκίνητων ιόντων μεταξύ της υδρογέλης και του διαλύματος μειώνεται. Ως αποτέλεσμα, μειώνεται η ωσμωτική πίεση και κατ' επέκταση το ποσοστό διόγκωσης της υδρογέλης.^[115]

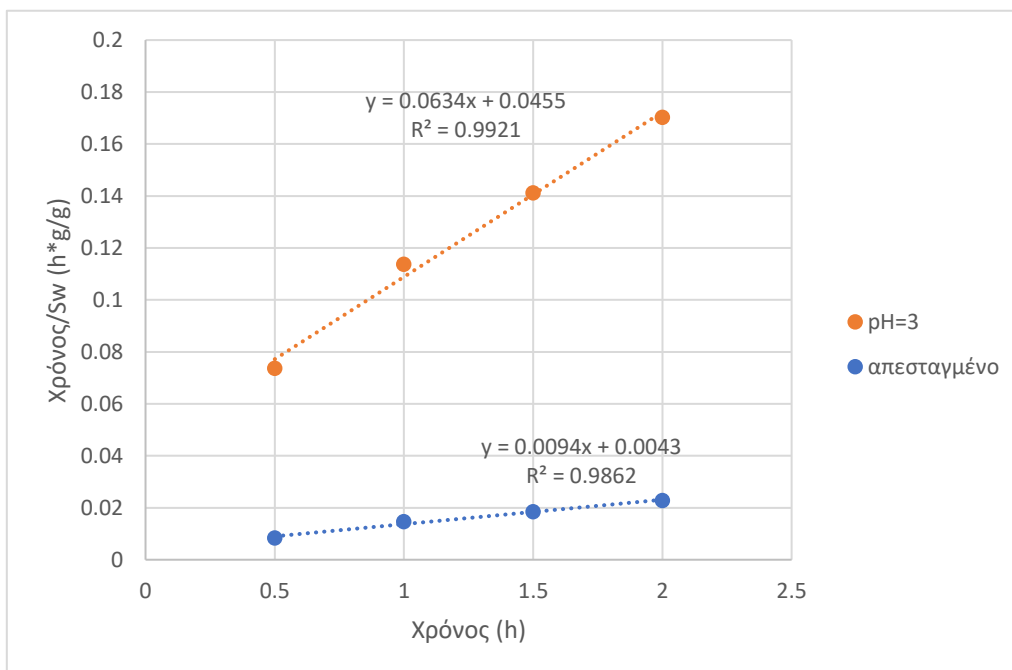


Διάγραμμα 2. Η τιμή του λόγου διόγκωσης S_w (g/g) της υδρογέλης, ως προς τον χρόνο, σε υδατικό μέσο με pH=11.

Στη συνέχεια, εξετάζεται η προσαρμογή των παραπάνω πειραματικών δεδομένων διόγκωσης, σε απεσταγμένο νερό και στο όξινο διάλυμα με pH=3, στο κινητικό μοντέλο Schott (Εξίσωση 3):

$$\frac{t}{S_w} = \frac{1}{KS_{w,\infty}^2} + \frac{1}{S_{w,\infty}} t \quad (3)$$

Για τον σκοπό αυτό, σε κάθε περίπτωση, σχεδιάζεται διάγραμμα με άξονα y τον λόγο $\frac{t}{S_w}$ και άξονα x τον χρόνο t και γίνεται προσαρμογή της βέλτιστης ευθείας στα δεδομένα, όπως φαίνεται παρακάτω.



Διάγραμμα 3. Προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων διόγκωσης, σε απεσταγμένο νερό και σε όξινο υδατικό διάλυμα με pH=3, στο κινητικό μοντέλο Schott.

Σύμφωνα με το Διάγραμμα 3, οι τιμές του συντελεστή προσδιορισμού R^2 είναι 0.9921 για το υδατικό μέσο με pH=3 και 0.9862 για το απεσταγμένο νερό, υποδεικνύοντας, σε ικανοποιητικό βαθμό, γραμμική συσχέτιση μεταξύ των τιμών $\frac{t}{S_w}$ και t .

Για τη διόγκωση σε απεσταγμένο νερό, η εξίσωση που προκύπτει είναι η εξής:

$$\frac{t}{S_w} = 0.0043 + 0.0094t \quad (5)$$

Για τη διόγκωση σε υδατικό μέσο με pH=3, η εξίσωση που προκύπτει είναι:

$$\frac{t}{S_w} = 0.0455 + 0.0634t \quad (6)$$

Από τις παραπάνω σχέσεις, δηλαδή από την κλίση και την αποτέμνουσα των ευθειών, μπορούν να υπολογιστούν οι τιμές του θεωρητικού λόγου διόγκωσης ισορροπίας $S_{w,\infty}$ (g/g) και της σταθεράς του ρυθμού διόγκωσης K (g/(g*h)), οι οποίες παρουσιάζονται στον ακόλουθο Πίνακα.

Πίνακας 2. Οι τιμές του θεωρητικού λόγου διόγκωσης ισορροπίας $S_{w,\infty}$ (g/g) και της σταθεράς του ρυθμού διόγκωσης K (g/(g*h)) για τη διόγκωση σε απεσταγμένο νερό και σε υδατικό μέσο με pH=3.

	S_w (g/g)	K (g/(g*h))
Απεσταγμένο νερό	106.38	0.021
pH=3	15.77	0.088

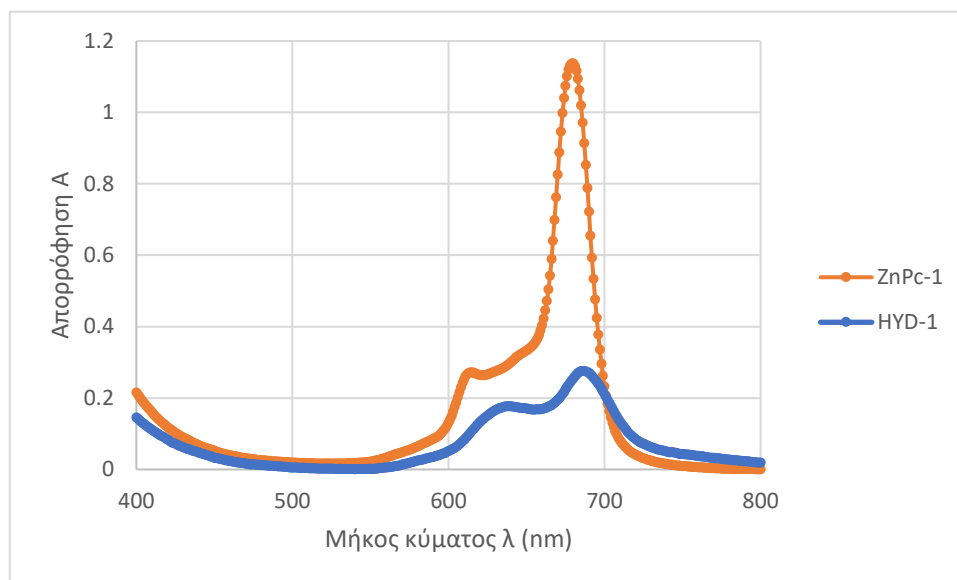
Όπως φαινόταν και από τη μορφή των καμπυλών του Διαγράμματος 1, η τιμή $S_{w,\infty}$ είναι μεγαλύτερη στην περίπτωση του απεσταγμένου νερού. Η τιμή της σταθεράς K είναι μεγαλύτερη στην περίπτωση του διαλύματος με pH=3. Επομένως, η διεργασία της διόγκωσης πραγματοποιείται με ταχύτερο ρυθμό στο όξινο διάλυμα, σε σύγκριση με το νερό.

5. Πορώδες

Για τον υπολογισμό του πορώδους, εφαρμόζεται η Εξίσωση (4). Η πυκνότητα της αιθανόλης ισούται με 0.789 g/mL στους 20 °C. Το πορώδες της υδρογέλης, μετά από την εμβάπτισή της σε αιθανόλη, σύμφωνα με την πειραματική διαδικασία που προαναφέρθηκε και εφαρμόζοντας την παραπάνω σχέση, προσδιορίστηκε ίσο με 47 %. Σημαντική είναι η απεικόνιση της υδρογέλης μέσω ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης (SEM) και ο προσδιορισμός του μεγέθους των πόρων, που θα συμπληρώσει την παραπάνω μέτρηση.

6. Μελέτη οπτικών ιδιοτήτων

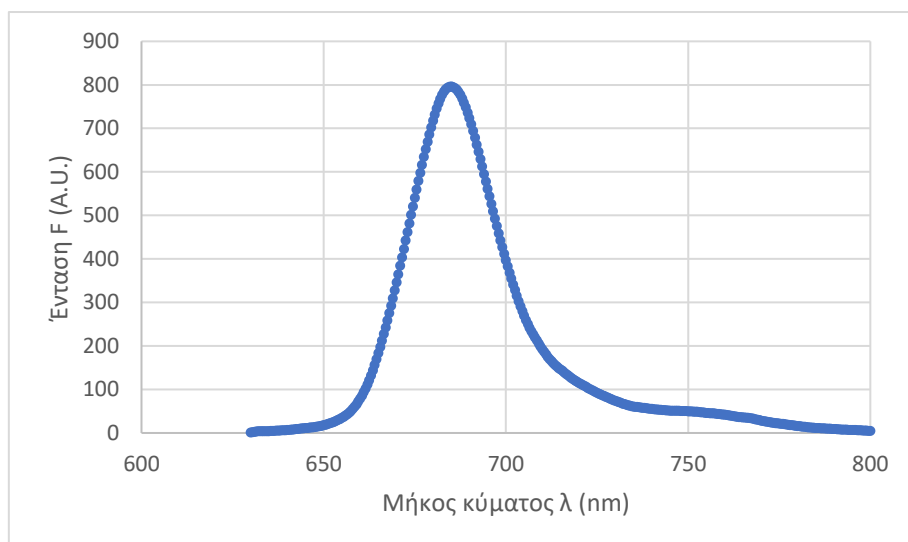
Στο ακόλουθο Διάγραμμα παρουσιάζονται τα φάσματα απορρόφησης της φθαλοκυανίνης ZnPc-1 και της υδρογέλης HYD-1, που προέκυψαν από τη φασματοφωτομετρία UV-Vis. Η συγκέντρωση της φθαλοκυανίνης σε κάθε δείγμα είναι ίση με $5 \cdot 10^{-5}$ M.



Διάγραμμα 4. Φάσμα απορρόφησης της φθαλοκυανίνης ZnPc-1 και της υδρογέλης HYD-1.

Από το Διάγραμμα 4 φαίνεται η χαρακτηριστική μέγιστη κορυφή απορρόφησης των φθαλοκυανινών ψευδαργύρου. Συγκεκριμένα, η κορυφή αυτή εμφανίζεται σε μήκος κύματος 678 nm για την ZnPc-1 και στα 685 nm για την υδρογέλη. Επομένως, επιβεβαιώνεται για ακόμη μία φορά η παρουσία της φθαλοκυανίνης στην υδρογέλη. Παρατηρείται, επίσης, ότι η φθαλοκυανίνη στο δείγμα της υδρογέλης εμφανίζει αρκετά χαμηλότερη απορρόφηση απ' ό,τι η ελεύθερη φθαλοκυανίνη. Το γεγονός αυτό οφείλεται στην αλληλεπίδραση της φθαλοκυανίνης με τις πολυμερικές αλυσίδες της χιτοζάνης.

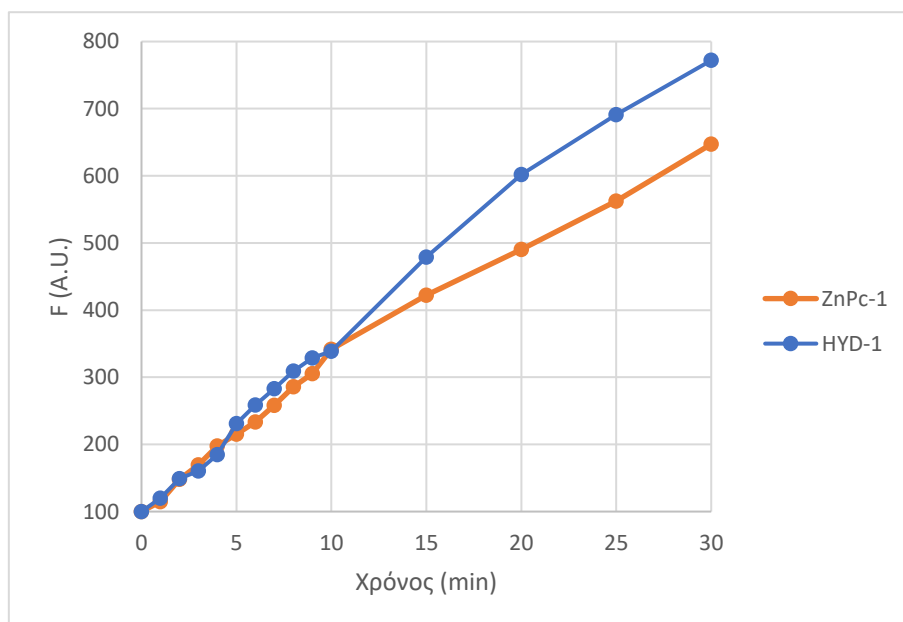
Στο Διάγραμμα 5 που ακολουθεί, απεικονίζεται το φάσμα φθορισμού της ελεύθερης φθαλοκυανίνης ZnPc-1, για συγκέντρωση ίση με $5 \cdot 10^{-6}$ M και για μήκος κύματος διέγερσης ίσο με 610 nm.



Διάγραμμα 5. Φάσμα φθορισμού της φθαλοκυανίνης ZnPc-1.

Η υδρογέλη HYD-1, σε αντίθεση με την ελεύθερη ZnPc-1, δεν παρουσίασε φθορισμό, λόγω της αλληλεπίδρασης της φθαλοκυανίνης με τη χιτοζάνη.

Τέλος, στο παρακάτω Διάγραμμα παρουσιάζεται ο κανονικοποιημένος φθορισμός της DCF σε συγκεκριμένο μήκος κύματος (από 530 έως 535 nm), για τα δείγματα της φθαλοκυανίνης και της υδρογέλης, που εκφράζει την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS), για τα πρώτα 30 λεπτά. Το συγκεκριμένο διάγραμμα προέκυψε μέσω των τιμών της μέγιστης F (για μήκος κύματος εντός του εύρους 530-535 nm), από τα φάσματα φθορισμού της DCF που συλλέγονταν κάθε χρονική στιγμή (βλ. Παράρτημα Φασμάτων, Διαγράμματα 7 και 8).



Διάγραμμα 6. Παραγωγή ROS από την ZnPc-1 και την HYD-1.

Σύμφωνα με το Διάγραμμα 6, αρχικά επιβεβαιώνεται η ικανότητα παραγωγής ROS, τόσο για τη φθαλοκυανίνη, όσο και για την υδρογέλη.

Ειδικότερα, παρατηρείται ότι, στα πρώτα 10 λεπτά, η φθαλοκυανίνη ZnPc-1 και η υδρογέλη HYD-1 σχηματίζουν παρόμοιες ποσότητες ROS. Ωστόσο, μετά τα πρώτα 10 λεπτά, στην περίπτωση της υδρογέλης αυξάνεται η παραγωγή ROS συγκριτικά με την ελεύθερη φθαλοκυανίνη. Επομένως, η φωτοδυναμική δράση του φωτοευαισθητοποιητή βελτιώνεται, όταν χρησιμοποιείται χημική σύζευξη του με τις πολυμερικές αλυσίδες της χιτοζάνης. Η υδρογέλη, συνεπώς, θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως σύστημα μεταφοράς της φθαλοκυανίνης για εφαρμογή στη φωτοδυναμική θεραπεία.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα διπλωματική εργασία, πραγματοποιήθηκε η σύνθεση τροποποιημένων φθαλοκυανινών ψευδαργύρου, εκ των οποίων μία χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή μίας υδρογέλης, ως καινοτόμο σύστημα μεταφοράς για μετέπειτα εφαρμογή στη φωτοδυναμική θεραπεία. Η τροποποιημένη φθαλοκυανίνη δρα τόσο ως φωτοευαισθητοποιητής, όσο και ως διασυνδέτης για τη χημική διασύνδεση των πολυμερικών αλυσίδων της χιτοζάνης, μέσω αντίδρασης βάσης Schiff, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό της υδρογέλης. Κατά αυτόν τον τρόπο, περιορίζεται η υδροφοβικότητα των φθαλοκυανινών, ενώ, παράλληλα, αποφεύγεται η χρήση άλλων πιθανώς τοξικών διασυνδετών.

Οι δύο τροποποιημένες φθαλοκυανίνες σχηματίστηκαν μέσω μίας συνθετικής πορείας δύο σταδίων, ξεκινώντας από ένα μόριο που φέρει στη δομή του μία αλδεϋδομάδα: την 4-υδροξυβενζαλδεϋδη και την 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2-οξο-2H-χρωμεν-8-καρβαλδεϋδη. Στη δεύτερη περίπτωση, η ίδια η αλδεϋδη παράγεται μέσω αντίδρασης φορμυλίωσης "Duff" από την 4-μεθυλοουμπελιφερόνη, με απόδοση της τάξεως του 30 %. Η ταυτοποίηση της δομής τους έγινε μέσω Φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR).

Η συντιθέμενη τροποποιημένη φθαλοκυανίνη, που προέκυψε από την 4-υδροξυβενζαλδεϋδη (ZnPc-1), χρησιμοποιήθηκε ως διασυνδέτης για την παρασκευή υδρογέλης χιτοζάνης/ZnPc-1 (HYD-1). Ο χαρακτηρισμός της υδρογέλης μέσω Φασματοσκοπίας Υπερύθρου Μετασχηματισμού Fourier (FT-IR) επιβεβαίωσε τον σχηματισμό του τρισδιάστατου δικτύου, λόγω της κορυφής που εμφανίστηκε στα 1652 cm^{-1} (δεσμοί ιμίνης, C=N). Επιπλέον, μέσω Περιθλασιμετρίας Ακτινών Χ (XRD), προέκυψε μειωμένη κρυσταλλικότητα της υδρογέλης σε σύγκριση με την καθαρή χιτοζάνη, γεγονός που αποδίδεται στην ελάττωση των δεσμών υδρογόνου μεταξύ των πολυμερικών αλυσίδων.

Πραγματοποιήθηκε, επιπλέον, μελέτη διόγκωσης της υδρογέλης σε υδατικά διαλύματα διαφορετικών τιμών pH, μέσω μέτρησης του λόγου διόγκωσης S_w (g/g) τις πρώτες δύο ώρες. Προέκυψαν μεγαλύτερες τιμές S_w στην περίπτωση του όξινου υδατικού διαλύματος (pH=3), σε σύγκριση με το βασικό (pH=11), γεγονός που αποδίδεται στις αμινομάδες της χιτοζάνης, που είναι θετικά φορτισμένες σε χαμηλό pH και ως εκ τούτου οδηγούν στην απώθηση μεταξύ των πολυμερικών αλυσίδων, επιτρέποντας την είσοδο μεγαλύτερης ποσότητας υγρού. Ακόμη, τα κινητικά δεδομένα προσαρμόστηκαν στο κινητικό μοντέλο Schott και υπολογίστηκαν οι τιμές των κινητικών του παραμέτρων.

Τέλος, μέσω Φασματοσκοπίας Φθορισμού, προέκυψε ότι τόσο η φθαλοκυανίνη, όσο και η υδρογέλη, παρήγαγαν δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS), μετά από ακτινοβολία από πηγή φωτός συγκεκριμένου μήκους κύματος. Μάλιστα, μετά από τα 10 πρώτα λεπτά, η υδρογέλη παρουσίασε αυξημένη παραγωγή ROS σε σύγκριση με την ελεύθερη φθαλοκυανίνη. Συνεπώς, η υδρογέλη που παρασκευάστηκε βελτιώνει τη δράση του φωτοευαισθητοποιητή

και αποτελεί κατάλληλο σύστημα μεταφοράς του για εφαρμογή στη φωτοδυναμική θεραπεία.

ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Βασικό στόχο μελλοντικής έρευνας αποτελεί η χρήση της συντιθέμενης τροποποιημένης φθαλοκυανίνης ZnPC-2 ως διασυνδέτη για την παρασκευή νέας υδρογέλης χιτοζάνης. Στη συνέχεια, θα ακολουθήσει ο δομικός χαρακτηρισμός, η ανάλυση διόγκωσης και η μελέτη οπτικών ιδιοτήτων της νέας υδρογέλης, καθώς και η σύγκριση των αποτελεσμάτων με εκείνα που προέκυψαν από την υδρογέλη HYD-1.

Μελλοντικά, μπορεί να μελετηθεί η *in vitro* αποδέσμευση των τροποποιημένων φθαλοκυανινών από τις υδρογέλες σε θερμοκρασία 37°C και pH 7.4, αλλά και σε ρυθμιστικά διαλύματα πιο χαμηλών τιμών pH, όπου η διόγκωση λαμβάνει χώρα με πιο ταχύ ρυθμό.

Προτείνεται, ακόμη, η απεικόνιση των υδρογελών μέσω ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης (SEM) και η επακόλουθη ανάλυση της μορφολογίας και του πορώδους τους. Στην τελευταία περίπτωση, μπορεί να πραγματοποιηθεί σύγκριση με την πειραματικό προσδιορισμό του πορώδους της παρούσας διπλωματικής εργασίας,

Ακόμη, θα μπορούσε να διερευνηθεί περαιτέρω η αντίδραση Duff, ώστε να βρεθούν οι βέλτιστες συνθήκες που οδηγούν σε υψηλότερη απόδοση και ευκολότερη απομόνωση του προϊόντος.

Ενδιαφέρον ερευνητικό αντικείμενο αποτελεί η σύνθεση νέων τροποποιημένων φθαλοκυανινών από ανάλογα της ουμπελιφερόνης και η χρήση τους ως διασυνδέτες για την παρασκευή καινοτόμων υδρογελών χιτοζάνης. Στη συνέχεια, μπορεί να εξεταστεί η επίδραση των διαφορετικών υποκαταστατών στη δράση των φωτοευαίσθητοποιητών και των υδρογελών.

Προτείνεται, τέλος, η *in vitro* αξιολόγηση της φωτοδυναμικής και κυτταροτοξικής δράσης, τόσο των φθαλοκυανινών, όσο και των υδρογελών, σε καρκινικές κυτταρικές σειρές.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] S. Kwiatkowski, B. Knap, D. Przystupski, J. Saczko, E. Kędzińska, K. Knap-Czop, J. Kotlińska, O. Michel, K. Kotowski, J. Kulbacka, "Photodynamic therapy – mechanisms, photosensitizers and combinations" *Biomedicine & Pharmacotherapy* **2018**, 106, 1098-1107
- [2] P. Agostinis, K. Berg, K. A. Cengel, T. H. Foster, A. W. Girotti, S. O. Gollnick, S. M. Hahn, M. R. Hamblin, A. Juzeniene, D. Kessel, M. Korbelik, J. Moan, P. Mroz, D. Nowis, J. Piette, B. C. Wilson, J. Golab, "Photodynamic therapy of cancer: an update" *CA: A Cancer Journal for Clinicians* **2011**, 61(4), 250-281
- [3] J. P. Celli, B. Q. Spring, I. Rizvi, C. L. Evans, K. S. Samkoe, S. Verma, B. W. Pogue, T. Hasan, "Imaging and photodynamic therapy: mechanisms, monitoring, and optimization" *Chemical Reviews* **2010**, 110(5), 2795-2838
- [4] H. Abrahamse, M. R. Hamblin, "New photosensitizers for photodynamic therapy" *Biochemical Journal* **2016**, 473(4), 347-364
- [5] S. S. Lucky, K. C. Soo, Y. Zhang, "Nanoparticles in photodynamic therapy" *Chemical Reviews* **2015**, 115(4), 1990-2042
- [6] E. S Nyman, P. H. Hynninen, "Research advances in the use of tetrapyrrolic photosensitizers for photodynamic therapy" *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* **2004**, 73(1-2), 1-28
- [7] M. Ethirajan, Y. Chen. P. Joshi, R. K. Pandey, "The role of porphyrin chemistry in tumor imaging and photodynamic therapy" *Chemical Society Reviews* **2011**, 40(1), 340-362
- [8] Y. Nosaka, A. Y. Nosaka, "Generation and detection of reactive oxygen species in photocatalysis" *Chemical Society Reviews* **2017**, 117(17), 11302-11336
- [9] Z. Zhou, J. Song, L. Nie, X. Chen, "Reactive oxygen species generating systems meeting challenges of photodynamic cancer therapy" *Chemical Society Reviews* **2016**, 45(13), 6597-6626
- [10] G. M. Calixto, J. Bernegossi, L. M. de Freitas, C. R. Fontana, M. Chorilli, "Nanotechnology-based drug delivery systems for photodynamic therapy of cancer: A review" *Molecules* **2016**, 21(3), 342
- [11] A. P. Castano, T. N. Demidova, M. R. Hamblin, "Mechanisms in photodynamic therapy: part one – photosensitizers, photochemistry and cellular localization" *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* **2004**, 1(4), 279-293
- [12] U. Chilakamarthi, L. Giribabu, "Photodynamic therapy: past, present and future" *The Chemical Record* **2017**, 17(8), 775-802

- [13] M. R. Detty, S. L. Gibson, S. J. Wagner, "Current clinical and preclinical photosensitizers for use in photodynamic therapy" *Journal of Medicinal Chemistry* **2004**, 47(16), 3897-3915
- [14] A. B. Ormond, H. S. Freeman, "Dye sensitizers for photodynamic therapy" *Materials* **2013**, 6(3), 817-840
- [15] K. L. M. Santos, R. M. Barros, D. P. da Silva Lima, A. M. A. Nunes, M. R. Sato, R. Faccio, B. P. G. de Lima Damasceno, J. A. Oshiro-Junior, "Prospective application of phthalocyanines in the photodynamic therapy against microorganisms and tumor cells: A mini-review" *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* **2020**, 32, 102032
- [16] V. P. Perevalov, E. G. Vinokurov, K. V. Zuev, E. A. Vasilenko, A. Yu. Tsivadze, "Modification and application of metal phthalocyanines in heterogeneous systems" *Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces* **2017**, 53, 199-214
- [17] B. D. Zheng, Q. X. He, X. Li, J. Yoon, J. D. Huang, "Phthalocyanines as contrast agents for photothermal therapy" *Coordination Chemistry Reviews* **2021**, 426, 213548
- [18] X. Li, B. D. Zheng, X. H. Peng, S. Z. Li, J. W. Ying, Y. Zhao, J. D. Huang, J. Yoon, "Phthalocyanines as medicinal photosensitizers: Developments in the last five years" *Coordination Chemistry Reviews* **2019**, 379, 147-160
- [19] B. D. Zheng, J. Ye, X. Q. Zhang, N. Zhang, M. T. Xiao, "Recent advances in supramolecular activatable phthalocyanine-based photosensitizers for anti-cancer therapy" *Coordination Chemistry Reviews* **2021**, 447, 214155
- [20] M. C. G. Pellá, M. K. Lima-Tenório, E. T. Tenório-Neto, M. R. Guilherme, E. C. Muniz, A. F. Rubira, "Chitosan-based hydrogels: From preparation to biomedical applications" *Carbohydrate Polymers* **2018**, 196, 233-245
- [21] H. Mittal, S. S. Ray, B. S. Kaith, J. K. Bhatia, Sukriti, J. Sharma, S. M. Alhassan, "Recent progress in the structural modification of chitosan for applications in diversified biomedical fields" *European Polymer Journal* **2018**, 109, 402-434
- [22] S. Khattak, F. Wahid, L. P. Liu, S. R. Jia, L. Q. Chu, Y. Y. Xie, Z. X. Li, C. Zhong, "Applications of cellulose and chitin/chitosan derivatives and composites as antibacterial materials: current state and perspectives" *Applied Microbiology and Biotechnology* **2019**, 103, 1989-2006
- [23] S. (G.) Kou, L. Peters, M. Mucalo, "Chitosan: A review of molecular structure, bioactivities and interactions with the human body and micro-organisms" *Carbohydrate Polymers* **2022**, 282, 119132

- [24] S. (G.) Kou, L. M. Peters, M. R. Mucalo, "Chitosan: A review of sources and preparation methods" *International Journal of Biological Macromolecules* **2021**, 169, 85-94
- [25] A. Detsi, E. Kavetsou, I. Kostopoulou, I. Pitterou, A. R. N. Pontillo, A. Tzani, P. Christodoulou, A. Siliachli, P. Zoumpoulakis, "Nanosystems for the encapsulation of natural products: the case of chitosan biopolymer as a matrix" *Pharmaceutics* **2020**, 12(7), 669
- [26] S. Naskar, S. Sharma, K. Kuotsu, "Chitosan-based nanoparticles: An overview of biomedical applications and its preparation" *Journal of Drug Delivery Science and Technology* **2019**, 49, 66-81
- [27] N. C. Minh, N. V. Hoa, T. S. Trung, "Chapter 15 - Preparation, properties, and application of low-molecular-weight chitosan", S. Gopi, S. Thomas, A. Pius (Eds), In: Handbook of Chitin and Chitosan, *Elsevier* **2020**, 453-471
- [28] R. Safdar, A. A. Omar, A. Arunagiri, I. Regupathi, M. Thanabalan, "Potential of chitosan and its derivatives for controlled drug release applications – A review" *Journal of Drug Delivery Science and Technology* **2019**, 49, 642-659
- [29] X. Liang, M. Mu, R. Fan, B. Zou, G. Guo, "Functionalized chitosan as a promising platform for cancer immunotherapy: A review" *Carbohydrate Polymers* **2022**, 290, 119452
- [30] K. Ravishankar, R. Dhamodharan, "Advances in chitosan-based hydrogels: Evolution from covalently crosslinked systems to ionotropically crosslinked superabsorbents" *Reactive and Functional Polymers* **2020**, 149, 104517
- [31] N. Bhattarai, J. Gunn, M. Zhang, "Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery" *Advanced Drug Delivery Reviews* **2010**, 62(1), 83-99
- [32] P. Kesharwani, A. Bisht, A. Alexander, V. Dave, S. Sharma, "Biomedical applications of hydrogels in drug delivery system: An update" *Journal of Drug Delivery Science and Technology* **2021**, 66, 102914
- [33] L. Kandilogiannakis, E. Filidou, G. Kolios, V. Paspaliaris, "Ad-dressing stem cells: hydrogels for encapsulation" *Processes* **2021**, 9(1), 11
- [34] J. Xu, Y. Liu, S. h. Hsu, "Hydrogels based on Schiff base linkages for biomedical applications" *Molecules* **2019**, 24(16), 3005
- [35] W. Wang, R. Narain, H. Zeng, "Chapter 10 – Hydrogels", R. Narain (Ed.), In: Polymer Science and Nanotechnology, *Elsevier* **2020**, 203-244
- [36] S. Afzal, M. Maswal, A. A. Dar, "Rheological behavior of pH responsive composite hydrogels of chitosan and alginate: Characterization and its use in encapsulation of citral" *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2018**, 169, 99-106

- [37] S. Mantha, S. Pillai, P. Khayambashi, A. Upadhyay, Y. Zhang, O. Tao, H. M. Pham, S. D. Tran, "Smart hydrogels in tissue engineering and regenerative medicine" *Materials* **2019**, 12(20), 3323
- [38] R. Nicu, F. Ciolacu, D. E. Ciolacu, "Advanced functional materials based on nanocellulose for pharmaceutical/medical applications" *Pharmaceutics* **2021**, 13(8), 1125
- [39] S. Khunmanee, Y. Jeong, H. Park, "Crosslinking method of hyaluronic-based hydrogel for biomedical applications" *Journal of Tissue Engineering* **2017**, 8, 1-16
- [40] F. Redaelli, M. Sorbona, F. Rossi, "Chapter 10 - Synthesis and processing of hydrogels for medical applications", G. Perale, J. Hilborn (Eds), In: *Bioresorbable Polymers for Biomedical Applications*, Woodhead Publishing **2017**, 205-228
- [41] Y. Yang, L. Xu, J. Wang, Q. Meng, S. Zhong, Y. Gao, X. Cui, "Recent advances in polysaccharide-based self-healing hydrogels for biomedical applications" *Carbohydrate Polymers* **2022**, 283, 119161
- [42] M. M. Perera, N. Ayres, "Dynamic covalent bonds in self-healing, shape memory, and controllable stiffness hydrogels" *Polymer Chemistry* **2020**, 11(8), 1410-1423
- [43] K. S. Lim, P. Martens, L. Poole-Warren, "Biosynthetic hydrogels for cell encapsulation", J. Li, Y. Osada, J. Cooper-White (Eds), In: *Functional Hydrogels as Biomaterials*, Springer Series in Biomaterials Science and Engineering **2018**, 12, 1-29
- [44] H. Nosrati, M. Khodaei, Z. Alizadeh, M. Banitalebi-Dehkordi, "Cationic, anionic and neutral polysaccharides for skin tissue engineering and wound healing applications" *International Journal of Biological Macromolecules* **2021**, 192, 298-322
- [45] N. Chirani, L. Yahia, L. Gritsch, F. L. Motta, S. Chirani, S. Fare, "History and applications of hydrogels" *Journal of Biomedical Sciences* **2015**, 4(2), 13
- [46] I. P. Harrison, F. Spada, "Hydrogels for atopic dermatitis and wound management: a superior drug delivery vehicle" *Pharmaceutics* **2018**, 10(2), 71
- [47] S. Bashir, M. Hina, J. Iqbal, A. H. Rajpar, M. A. Mujtaba, N. A. Alghamdi, S. Wageh, K. Ramesh, S. Ramesh, "Fundamental concepts of hydrogels: synthesis, properties, and their applications" *Polymers* **2020**, 12(11), 2702
- [48] H. Schott, "Swelling kinetics of polymers" *Journal of Macromolecular Science Part B: Physics* **1992**, 31(1), 1-9
- [49] M. O. Aijaz, S. Haider, F. S. Al-Mubaddel, R. Khan, A. Haider, A. A. Alghyamah, W. A. Almasry, M. S. J. Khan, M. Javid, W. U. Rehman, "Thermal, swelling and

stability kinetics of chitosan based semi-interpenetrating network hydrogels” *Fibers and Polymers* **2017**, 18, 611–618

[50] J. H. Lee, “Injectable hydrogels delivering therapeutic agents for disease treatment and tissue engineering” *Biomaterials Research* **2018**, 22, 27

[51] N. V. Gupta, H. G. Shivakumar, “Investigation of swelling behavior and mechanical properties of a pH-sensitive superporous hydrogel composite” *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* **2012**, 11(2), 481-493

[52] A. Oryan, A. Kamali, A. Moshiri, H. Baharvand, H. Daemi, “Chemical crosslinking of biopolymeric scaffolds: Current knowledge and future directions of crosslinked engineered bone scaffolds” *International Journal of Biological Macromolecules* **2018**, 107(Pt A), 678-688

[53] F. Garavand, M. Rouhi, S. H. Razavi, I. Cacciotti, R. Mohammadi, “Improving the integrity of natural biopolymer films used in food packaging by crosslinking approach: A review” *International Journal of Biological Macromolecules* **2017**, 104(Pt A), 687-707

[54] N. Reddy, R. Reddy, Q. Jiang, “Crosslinking biopolymers for biomedical applications” *Trends in Biotechnology* **2015**, 33(6), 362-369

[55] I. Dmour, M. O. Taha, “Chapter 2 – Natural and semisynthetic polymers in pharmaceutical nanotechnology”, A. M. Grumezescu (Ed.), In: Organic Materials as Smart Nanocarriers for Drug Delivery, *William Andrew Publishing* **2018**, 35-100

[56] N. A. Medellín-Castillo, E. D. Isaacs-Páez, I. Rodríguez-Méndez, R. González-García, G. J. Labrada-Delgado, A. Aragón-Piña, M. E. García-Arreola, “Formaldehyde and tripolyphosphate crosslinked chitosan hydrogels: Synthesis, characterization and modeling” *International Journal of Biological Macromolecules* **2021**, 183, 2293-2304

[57] M. L. Pita-López, G. Fletes-Vargas, H. Espinosa-Andrews, R. Rodríguez-Rodríguez, “Physically cross-linked chitosan-based hydrogels for tissue engineering applications – A state-of-the-art review” *European Polymer Journal* **2021**, 145, 110176

[58] Y. Y. Yeh, Y. T. Tsai, C. Y. Wu, L. H. Tu, M. Y. Bai, Y. C. Yeh, “The role of aldehyde-functionalized crosslinkers on the property of chitosan hydrogels” *Macromolecular Bioscience* **2022**, 22(5), 2100477

[59] A. C. Alavarse, E. C. G. Frachini, R. L. C. G. da Silva, V. H. Lima, A. Shavandi, D. F. S. Petri, “Crosslinkers for polysaccharides and proteins: Synthesis conditions, mechanisms, and crosslinking efficiency, a review” *International Journal of Biological Macromolecules* **2022**, 202, 558-596

- [60] W. E. Hennink, C. F. van Nostrum, "Novel crosslinking methods to design hydrogels" *Advanced Drug Delivery Reviews* **2012**, 64, 223-236
- [61] G. S. Krishnakumar, S. Sampath, S. Muthusamy, M. A. John, "Importance of crosslinking strategies in designing smart biomaterials for bone tissue engineering: A systematic review" *Materials Science and Engineering: C* **2019**, 96, 941-954
- [62] M. Sabaghi, S. Tavasoli, S. Z. Hoseyni, M. R. Mozafari, P. Degraeve, I. Katouzian, "A critical review on approaches to regulate the release rate of bioactive compounds from biopolymeric matrices" *Food Chemistry* **2022**, 382, 132411
- [63] Z. H. Zhang, Z. Han, X. A. Zeng, X. Y. Xiong, Y. J. Liu, "Enhancing mechanical properties of chitosan films via modification with vanillin" *International Journal of Biological Macromolecules* **2015**, 81, 638-643
- [64] H. M. C. Azeredo, K. W. Waldron, "Crosslinking in polysaccharide and protein films and coatings for food contact – A review" *Trends in Food Science & Technology* **2016**, 52, 109-122
- [65] J. Khouri, A. Penlidis, C. Moresoli, "Viscoelastic Properties of Crosslinked Chitosan Films" *Processes* **2019**, 7(3), 157
- [66] P. Vega-Vásquez, N. S. Mosier, J. Irudayaraj, "Nanoscale drug delivery systems: From medicine to agriculture" *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* **2020**, 8, 79
- [67] J. F. Y. Fong, Y. H. Ng, S. M. Ng, "Chapter 7 – Carbon dots as a new class of light emitters for biomedical diagnostics and therapeutic applications", A. M. Grumezescu (Ed.), In: Fullerenes, Graphenes and Nanotubes, *William Andrew Publishing* **2018**, 227-295
- [68] A. M. Vargason, A. C. Anselmo, S. Mitragotri, "The evolution of commercial drug delivery technologies" *Nature Biomedical Engineering* **2021**, 5, 951-967
- [69] I. Singha, A. Basu, "Chitosan based injectable hydrogels for smart drug delivery applications" *Sensors International* **2022**, 3, 100168
- [70] V. H. Pérez-Luna, O. González-Reynoso, "Encapsulation of biological agents in hydrogels for therapeutic applications" *Gels* **2018**, 4(3), 61
- [71] X. Zhang, L. Y. Xia, X. Chen, Z. Chen, F. G. Wu, "Hydrogel-based phototherapy for fighting cancer and bacterial infection" *Science China Materials* **2017**, 60, 487-503
- [72] A. Sood, A. Gupta, G. Agrawal, "Recent advances in polysaccharides based biomaterials for drug delivery and tissue engineering applications", *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications* **2021**, 2, 100067

- [73] T. G. Barclay, C. M. Day, N. Petrovsky, S. Garg, "Review of polysaccharide particle-based functional drug delivery" *Carbohydrate Polymers* **2019**, 221, 94-112
- [74] Z. Ahmad, S. Salman, S. A. Khan, A. Amin, Z. U. Rahman, Y. O. Al-Ghamdi, K. Akhtar, E. M. Bakhsh, S. B. Khan, "Versatility of hydrogels: from synthetic strategies, classification, and properties to biomedical applications" *Gels* **2022**, 8(3), 167
- [75] R. Mavlyanova, R. Yang, T. Tao, M. Aquib, S. Kesse, M. B. J. Maviah, K. O. Boakye-Yiadom, M. A. Farooq, B. Wang, "Injectable hydrogels for targeted delivering of therapeutic molecules for tissue engineering and disease treatment" *Polymers for Advanced Technologies* **2020**, 31, 192-203
- [76] Y. Xiao, Y. Gu, L. Qin, L. Chen, X. Chen, W. Cui, F. Li, N. Xiang, X. He, "Injectable thermosensitive hydrogel-based drug delivery system for local cancer therapy" *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2021**, 200, 111581
- [77] N. S. Sulaiman, N. Hamzah, S. F. Zakaria, S. F. C. Othman, I. F. M. Suffian, "Hydrogel-nanoparticle hybrids for biomedical applications: principles and advantages" *Nanomedicine* **2021**, 16(2), 81-84
- [78] Y. Chabria, G. P. Duffy, A. J. Lowery, R. M. Dwyer, "Hydrogels: 3D drug delivery systems for nanoparticles and extracellular vesicles" *Biomedicines* **2021**, 9(11), 1694
- [79] F. Wahid, X. J. Zhao, S. R. Jia, H. Bai, C. Zhong, "Nanocomposite hydrogels as multifunctional systems for biomedical applications: Current state and perspectives" *Composites Part B: Engineering* **2020**, 200, 108208
- [80] S. K. Kailasa, D. J. Joshi, M. R. Kateshiya, J. R. Koduru, N. I. Malek, "Review on the biomedical and sensing applications of nanomaterial-incorporated hydrogels" *Materials Today Chemistry* **2022**, 23, 100746
- [81] D. Nunes, S. Andrade, M. J. Ramalho, J. A. Loureiro, M. C. Pereira, "Polymeric nanoparticles-loaded hydrogels for biomedical applications: A systematic review on in vivo findings" *Polymers* **2022**, 14(5), 1010
- [82] L. E. Kass, J. Nguyen, "Nanocarrier-hydrogel composite delivery systems for precision drug release" *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology* **2022**, 14(2), 1756
- [83] D. Rocha-García, A. Guerra-Contreras, S. Rosales-Mendoza, G. Palestino, "Role of porous silicon/hydrogel composites on drug delivery" *Open Material Sciences* **2016**, 3(1), 93-101
- [84] D. Qureshi, A. K. Nayak, D. Kim, S. Maji, A. Anis, B. Mohanty, K. Pal, "Chapter 10 - Polysaccharide-based polymeric gels as drug delivery vehicles", A. K. Nayak,

K. Pal, I. Banerjee, S. Maji, U. Nanda (Eds), Advances and Challenges in Pharmaceutical Technology, *Academic Press* **2021**, 283-325

[85] R. Narayanaswamy, V. P. Torchilin, "Hydrogels and their applications in targeted drug delivery" *Molecules* **2019**, 24(3), 603

[86] P. Ghasemiyeh, S. Mohammadi-Samani, "Hydrogels as drug delivery Systems; pros and cons" *Trends in Pharmaceutical Sciences* **2019**, 5(1), 7-24

[87] S. Adepu, S. Ramakrishna, "Controlled drug delivery systems: current status and future directions" *Molecules* **2021**, 26(19), 5905

[88] M. Vigata, C. Meinert, D.W. Hutmacher, N. Bock, "Hydrogels as drug delivery systems: A review of current characterization and evaluation techniques" *Pharmaceutics* **2020**, 12(12), 1188

[89] J. A. R. Ambrósio, B. C. S. Pinto, V. L. M. Marmo, K. W. dos Santos, M. Beltrame Jr, J. G. Pinto, J. Ferreira-Strixino, L. J. Raniero, A. R. Simioni, "Synthesis and characterization of photosensitive gelatin-based hydrogels for photodynamic therapy in HeLa-CCL2 cell line" *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* **2022**, 38, 102818

[90] S. Belali, A. R. Karimi, M. Hadizadeh, "Cell-specific and pH-sensitive nanostructure hydrogel based on chitosan as a photosensitizer carrier for selective photodynamic therapy" *International Journal of Biological Macromolecules* **2018**, 110, 437-448

[91] G. Chang, H. Zhang, S. Li, F. Huang, Y. Shen, A. Xie, "Effective photodynamic therapy of polymer hydrogel on tumor cells prepared using methylene blue sensitized mesoporous titania nanocrystal" *Materials Science and Engineering: C* **2019**, 99, 1392-1398

[92] X. Xu, Z. Zeng, Z. Huang, Y. Sun, Y. Huang, J. Chen, J. Ye, H. Yang, C. Yang, C. Zhao, "Near-infrared light-triggered degradable hyaluronic acid hydrogel for on-demand drug release and combined chemo-photodynamic therapy" *Carbohydrate Polymers* **2020**, 229, 115394

[93] F. Bayat, A. R. Karimi, "Design of photodynamic chitosan hydrogels bearing phthalocyanine-colistin conjugate as an antibacterial agent" *International Journal of Biological Macromolecules* **2019**, 129, 927-935

[94] S. Glass, M. Kühnert, N. Lippmann, J. Zimmer, R. Werdehausen, B. Abel, V. Eulenburg, A. Schulze, "Photosensitizer-loaded hydrogels for photodynamic inactivation of multiresistant bacteria in wounds" *RSC Advances* **2021**, 13, 7600-7609

- [95] A. de Souza da Fonseca, F. de Paoli, A. L. Mencialha, "Photodynamic therapy for treatment of infected burns" *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* **2022**, 38, 102831
- [96] K. Stokov, A. Galstyan, "Chitosan-silicon phthalocyanine conjugate as effective photo-functional hydrogel for tracking and killing of bacteria" *European Journal of Organic Chemistry* **2020**, 2020(47), 7327-7332
- [97] H. Xin, S. Naficy, "Drug delivery based on stimuli-responsive injectable hydrogels for breast cancer therapy: A review" *Gels* **2022**, 8(1), 45
- [98] Z. Sun, C. Song, C. Wang, Y. Hu, J. Wu, "Hydrogel-based controlled drug delivery for cancer treatment: A review" *Molecular Pharmaceutics* **2020**, 17(2), 373-391
- [99] X. Li, Q. Sun, Q. Li, N. Kawazoe, G. Chen, "Functional hydrogels with tunable structures and properties for tissue engineering applications" *Frontiers in Chemistry* **2018**, 6, 499
- [100] A. Mahmood, D. Patel, B. Hickson, J. DesRochers, X. Hu, "Recent progress in biopolymer-based hydrogel materials for biomedical applications" *International Journal of Molecular Sciences* **2022**, 23(3), 1415
- [101] A. Amoozadeh, M. Ahmadzadeh, E. Kolvari, "Easy access to coumarin derivatives using alumina sulfuric acid as an efficient and reusable catalyst under solvent-free conditions" *Journal of Chemistry* **2013**, 767825
- [102] V. V. Skarga, V. V. Negrebetsky, Y. I. Baukov, M. V. Malakhov, "Twice as nice: the Duff formylation of umbelliferone revised" *Molecules* **2021**, 26(24), 7482
- [103] S. Bouasla, J. Amaro-Gahete, D. Esquivel, M. I. López, C. Jiménez-Sanchidrián, M. Teguche, F. J. Romero-Salguero, "Coumarin derivatives solvent-free synthesis under microwave irradiation over heterogeneous solid catalysts" *Molecules* **2017**, 22(12), 2072
- [104] <https://2017.igem.org/Team:Tuebingen/Results/Chemistry>
- [105] H. C. Sample, M.O. Senge, "Nucleophilic aromatic substitution (S_NAr) and related reactions of porphyrinoids: mechanistic and regiochemical aspects" *European Journal of Organic Chemistry* **2021**, 7-42
- [106] H. Li, "Syntheses and evaluation of phthalocyanine derivatives for applications in photodynamic and boron neutron capture therapies for cancer" *LSU Doctoral Dissertations* **2008**, 3294
- [107] O. H. Abid, A. K. Ramadan, "Preparation and identification of 1,3-oxazepine derivatives from selected carboxylic acid anhydrides with imines derived from 4-methyl aniline" *Al-Mustansiriyah Journal of Science* **2018**, 29(2), 93-100

- [108] J. Deng, B. Wang, Y. Shi, Q. Song, Q. A. Wang, L. Hao, B. Luo, X. Li, Z. Wang, F. Wang, L. J. Zhi, "Poly (zinc phthalocyanine) nanoribbons and their application in the high-sensitive detection of lead ions" *Macromolecular Chemistry and Physics* **2012**, 213, 1051-1059
- [109] A. A. Zanfolim, D. Volpati, C. A. Olivati, A. E. Job, C. J. L. Constantino, "Structural and electric-optical properties of zinc phthalocyanine evaporated thin films: temperature and thickness effects" *The Journal of Physical Chemistry C* **2010**, 114(28), 12290-12299
- [110] <https://www.sigmaaldrich.com/GR/en/technical-documents/technical-article/analytical-chemistry/photometry-and-reflectometry/ir-spectrum-table>
- [111] M. F. Queiroz, K. R. T. Melo, D. A. Sabry, G. L. Sasaki, H. A. O. Rocha, "Does the use of chitosan contribute to oxalate kidney stone formation?" *Marine drugs* **2014**, 13, 141-158
- [112] S. Timur, A. Paşa, "Synthesis, characterization, swelling, and metal uptake studies of aryl cross-linked chitosan hydrogels" *ACS Omega* **2018**, 3(12), 17416-17424
- [113] W. Wang, Q. Meng, Q. Li Q, J. Liu, M. Zhou, Z. Jin, K. Zhao, "Chitosan derivatives and their application in biomedicine" *International Journal of Molecular Sciences* **2020**, 21(2), 487
- [114] D. Feng, B. Bai, H. Wang, Y. Suo, "Enhanced mechanical stability and sensitive swelling performance of chitosan/yeast hybrid hydrogel beads" *New Journal of Chemistry* **2016**, 40, 3350-3362
- [115] S. Yarimkaya, H. Basan, "Synthesis and swelling behavior of acrylate-based hydrogels" *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry* **2007**, 44(7), 699-706.

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1. Η διάταξη των ηλεκτρονίων στην απλή (singlet) θεμελιώδη κατάσταση (αριστερά), στην απλή διεγερμένη κατάσταση (στη μέση) και στην τριπλή (triplet) διεγερμένη κατάσταση (δεξιά) του φωτοευαίσθητοποιητή.	10
Εικόνα 2. Σχηματική απεικόνιση του τρόπου δράσης της φωτοδυναμικής θεραπείας. ^[10]	11
Εικόνα 3. Η βασική δομή της πορφυρίνης. ^[5]	15
Εικόνα 4. Η δομή της φθαλοκυανίνης.	16
Εικόνα 5. Η δομή της μεταλλοφθαλοκυανίνης.	17
Εικόνα 6. Τυπικό φάσμα απορρόφησης της φθαλοκυανίνης. ^[17]	17

Εικόνα 7. Σχηματική αναπαράσταση της χιτοζάνης, που λαμβάνεται από αποακετυλίωση της χιτίνης. ^[22]	18
Εικόνα 8. Σχηματισμός ιμίνης από την αντίδραση βάσης Schiff μεταξύ αμίνης και αλδεϋδης. ^[42]	22
Εικόνα 9. Χημική διασύνδεση: Αντίδραση βάσης Schiff μεταξύ (A) πολυμερών και διασυνδεδετών (γλουταραλδεϋδη) και (B) πολυμερών. ^[35]	22
Εικόνα 10. Διόγκωση: το πολυμερικό δίκτυο απορροφά και διατηρεί μεγάλη ποσότητα νερού. ^[40]	23
Εικόνα 11. Η δομή του τριπολυφωσφορικού νατρίου (TPP).....	26
Εικόνα 12. Η δομή της γλουταραλδεϋδης.	27
Εικόνα 13. Η δομή της γενιπίνης (genipin) και η σχηματική αναπαράσταση της διασύνδεσης της χιτοζάνης (chitosan) χρησιμοποιώντας γενιπίνη ως διασυνδέτη. ^[30]	28
Εικόνα 14. Η δομή της βανιλίνης (vanillin) και η σχηματική αναπαράσταση της διασύνδεσης της χιτοζάνης (chitosan) χρησιμοποιώντας βανιλίνη ως διασυνδέτη. ^[63]	28
Εικόνα 15. Η δομή του κιτρικού οξέος.....	29
Εικόνα 16. Σχηματική αναπαράσταση του συνδυασμού νανοσωματιδίων με εγκλεισμένα φάρμακα και υδρογέλης, ως ένα σύστημα μεταφοράς φαρμάκων. ^[81]	32
Εικόνα 17. Σχηματική αναπαράσταση διαφόρων νανοσυστημάτων που μπορούν να ενσωματωθούν σε υδρογέλες. Από αριστερά προς τα δεξιά: λιπόσωμα, μικκύλιο, δενδριμερές, πολυμερικό νανοσωματίδιο, νανοσωλήνας άνθρακα. ^[82]	32
Εικόνα 18. Σχηματική αναπαράσταση μηχανισμών αποδέσμευσης δραστικών ουσιών από τις υδρογέλες: αποδέσμευση ελεγχόμενη (A) από τη διάχυση (τύπου μήτρας), (B) από τη διόγκωση και (C) από χημική αντίδραση. ^[86]	34
Εικόνα 19. Η διάταξη του laser που χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή ROS. 51	
Εικόνα 20. Η δομή του CM-H ₂ DCFDA.....	51
Εικόνα 21. Φάσμα ¹ H NMR της 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2H-χρωμεν-2-όνης (DMSO- <i>d</i> ₆).....	52
Εικόνα 22. Φάσμα ¹ H NMR της 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2-οξο-2H-χρωμεν-8-καρβαλδεϋδης (DMSO- <i>d</i> ₆).....	53
Εικόνα 23. Φάσμα FT-IR της φθαλοκυανίνης ZnPc-1.	54
Εικόνα 24. Φάσμα FT-IR της χιτοζάνης.....	55
Εικόνα 25. Φάσμα FT-IR της υδρογέλης HYD-1.....	56
Εικόνα 26. Διάγραμμα XRD της χιτοζάνης.....	57
Εικόνα 28. Η ξηρή υδρογέλη πριν από τη διόγκωση.....	59
Εικόνα 29. Η διογκωμένη υδρογέλη 2 ώρες μετά από την εμφύσησή της σε απεσταγμένο νερό.....	59
Εικόνα 30. Φάσμα ¹ H NMR της ένωσης (8) (DMSO- <i>d</i> ₆).....	80

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1. Μηχανισμός της συμπύκνωσης Pechmann. ^[103]	39
Σχήμα 2. Μηχανισμός της αντίδρασης Duff. ^[104]	40
Σχήμα 3. Η δομή της 4-υδροξυβενζαλδεΐδης (αριστερά) και της 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2-οξο-2H-χρωμεν-8-καρβαλδεΐδης (δεξιά).....	41
Σχήμα 4. Μηχανισμός της πυρηνόφιλης αρωματικής υποκατάστασης. ^[105]	41
Σχήμα 5. Μηχανισμός σύνθεσης της μεταλλοφθαλοκυανίνης. ^[106]	42
Σχήμα 6. Μηχανισμός της αντίδρασης βάσης Schiff. ^[107]	43
Σχήμα 7. Η συνθετική πορεία παραγωγής της 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2-οξο-2H-χρωμεν-8-καρβαλδεΐδης.....	46
Σχήμα 8. Η συνθετική πορεία παραγωγής της τροποποιημένης φθαλοκυανίνης ZnPc-1, ξεκινώντας από την 4-υδροξυβενζαλδεΐδη.....	47
Σχήμα 9. Η συνθετική πορεία παραγωγής της τροποποιημένης φθαλοκυανίνης ZnPc-2, ξεκινώντας από την 7-υδροξυ-4-μεθυλο-2-οξο-2H-χρωμεν-8-καρβαλδεΐδη.....	48
Σχήμα 10. Η δομή της DMAE (αριστερά) και του DBU (δεξιά).....	48
Σχήμα 11. Παρασκευή υδρογέλης χιτοζάνης χρησιμοποιώντας την συντιθέμενη τροποποιημένη φθαλοκυανίνη ZnPc-1 ως διασυνδέτη. Με κόκκινο χρώμα επισημαίνονται οι αμινομάδες της χιτοζάνης, με πράσινο οι αλδεϋδομάδες της φθαλοκυανίνης και με μπλε οι σχηματιζόμενοι δεσμοί ιμίνης.	49

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

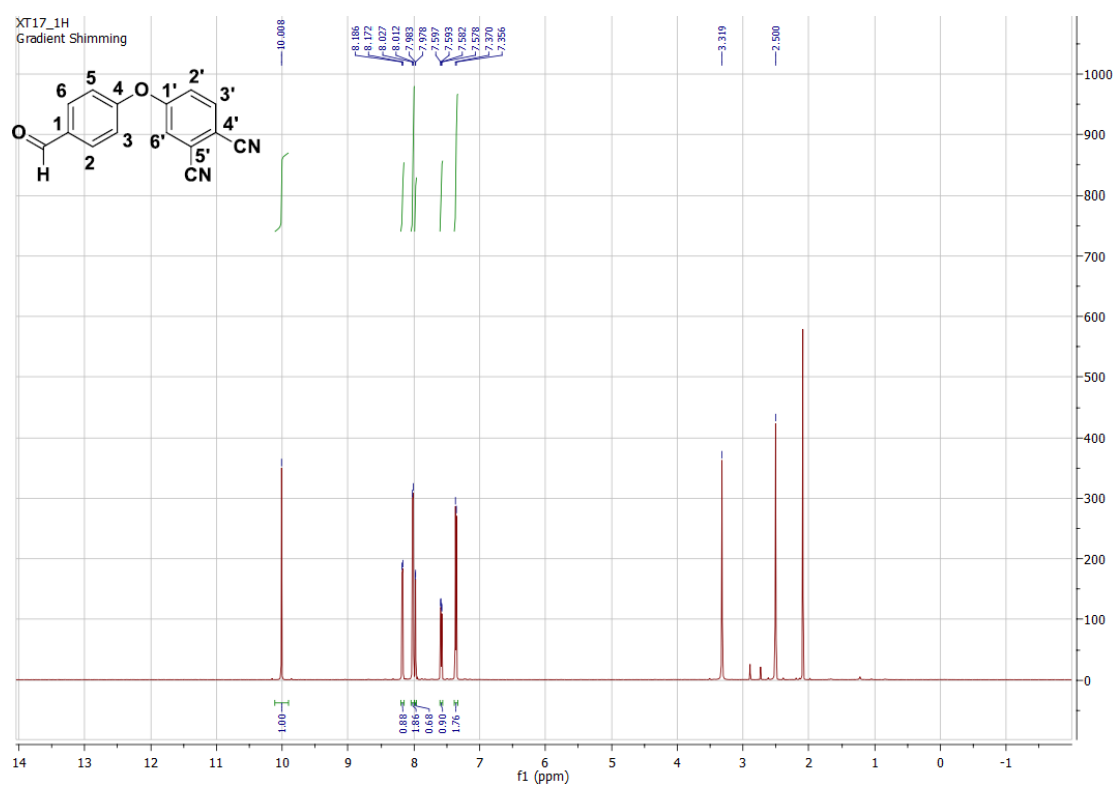
Διάγραμμα 1. Η τιμή του λόγου διόγκωσης S_w (g/g) της υδρογέλης, ως προς τον χρόνο (h), στο όξινο (pH=3) και στο βασικό (pH=11) υδατικό διάλυμα, καθώς και σε απεσταγμένο νερό.....	60
Διάγραμμα 2. Η τιμή του λόγου διόγκωσης S_w (g/g) της υδρογέλης, ως προς τον χρόνο, σε υδατικό μέσο με pH=11.....	61
Διάγραμμα 3. Προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων διόγκωσης, σε απεσταγμένο νερό και σε όξινο υδατικό διάλυμα με pH=3, στο κινητικό μοντέλο Schott.....	61
Διάγραμμα 4. Φάσμα απορρόφησης της φθαλοκυανίνης ZnPc-1 και της υδρογέλης HYD-1.....	63
Διάγραμμα 5. Φάσμα φθορισμού της φθαλοκυανίνης ZnPc-1.....	64
Διάγραμμα 6. Παραγωγή ROS από την ZnPc-1 και την HYD-1.....	64
Διάγραμμα 7. Φάσμα φθορισμού της DCF στην περίπτωση της ελεύθερης φθαλοκυανίνης ZnPc-1 συναρτήσει του χρόνου.	81
Διάγραμμα 8. Φάσμα φθορισμού της DCF στην περίπτωση της υδρογέλης HYD-1 συναρτήσει του χρόνου.	81

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

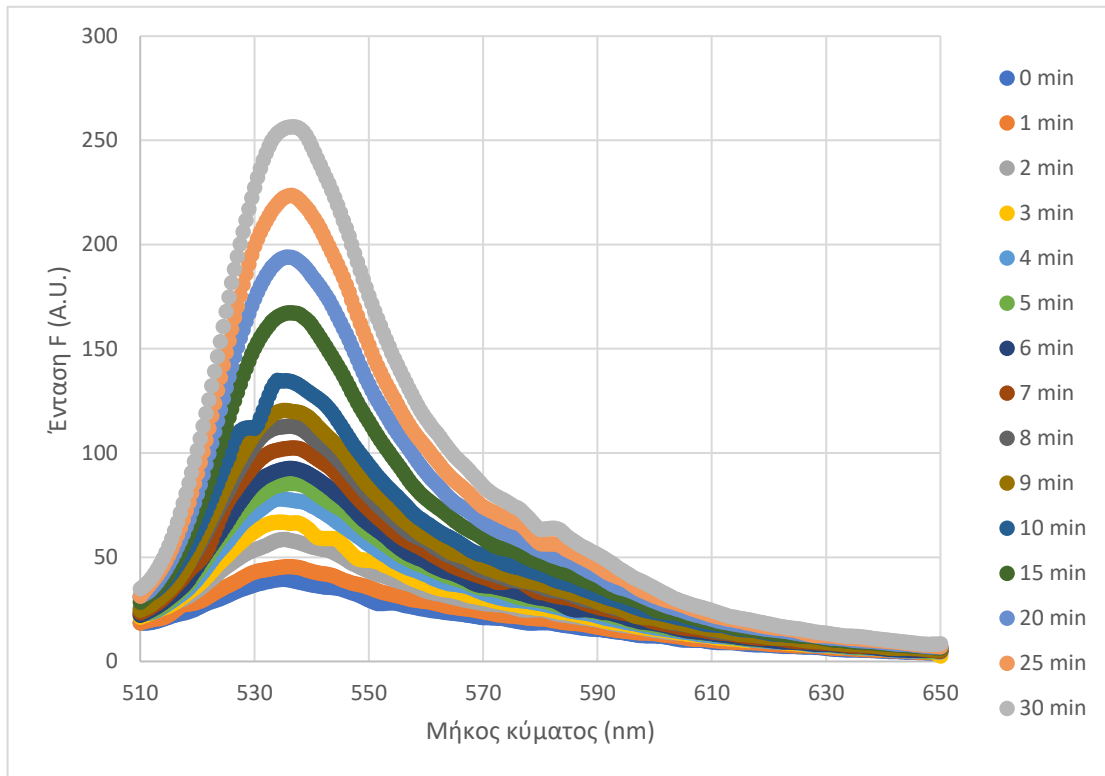
Πίνακας 1. Οι τιμές του λόγου διόγκωσης S_w (g/g) ως προς τον χρόνο, σε κάθε υδατικό μέσο που χρησιμοποιήθηκε κατά την πειραματική διαδικασία.....59

Πίνακας 2. Οι τιμές του θεωρητικού λόγου διόγκωσης ισορροπίας S_w, ∞ (g/g) και της σταθεράς του ρυθμού διόγκωσης K (g/(g*h)) για τη διόγκωση σε απεσταγμένο νερό και σε υδατικό μέσο με pH=3.....62

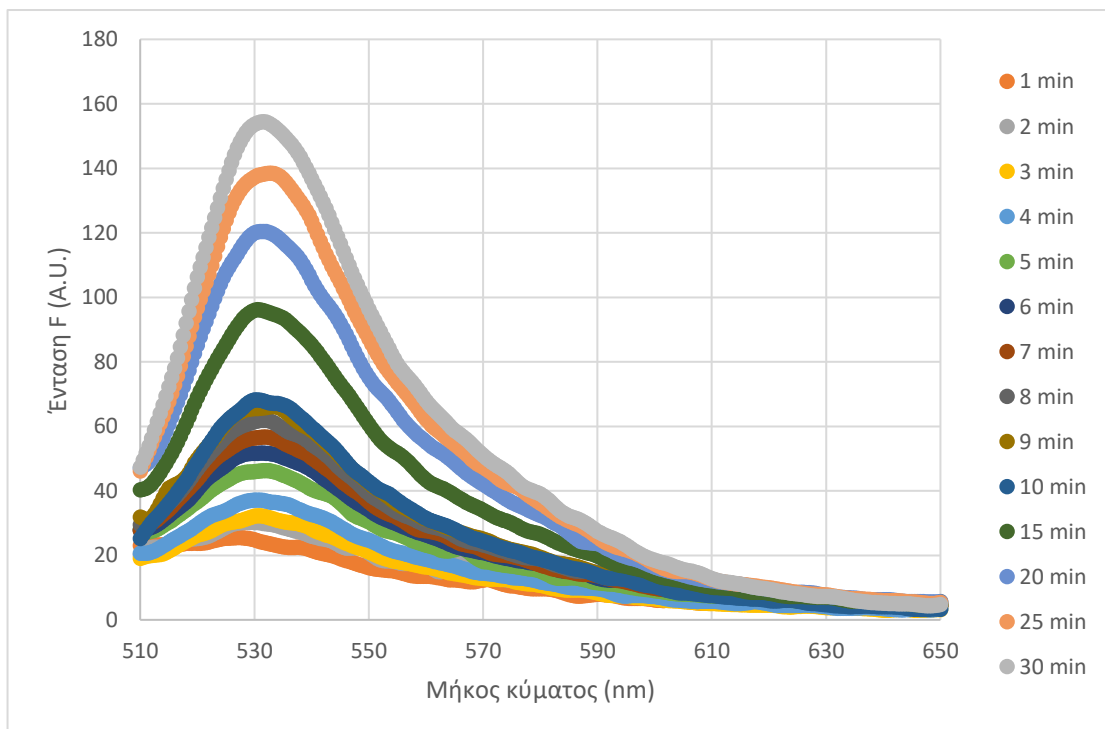
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΑΣΜΑΤΩΝ



Εικόνα 30. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης (8) (DMSO-d_6).



Διάγραμμα 7. Φάσμα φθορισμού της DCF στην περίπτωση της ελεύθερης φθαλοκυανίνης ZnPc-1 συναρτήσει του χρόνου.



Διάγραμμα 8. Φάσμα φθορισμού της DCF στην περίπτωση της υδρογέλης HYD-1 συναρτήσει του χρόνου.