



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ Ι ΧΗΜΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

Σύνθεση νέων αναλόγων φαινολικών οξέων ως φωτοπροστατευτικών και αντιοξειδωτικών παραγόντων

Διπλωματική Εργασία

Κεμανετζή Τριάδα

Επίβλεψη

Δέτση Αναστασία

Καθηγήτρια Ε.Μ.Π.

Εργαστήριο Οργανικής Χημείας

Αθήνα, 2023

Περιεχόμενα

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	3
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ	4
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	5
Ευχαριστίες.....	6
Περίληψη.....	7
Abstract	9
1. ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΟΞΕΑ	11
1.1. Γενικές Πληροφορίες για τα Φαινολικά Οξέα.....	11
1.2. Χημική Δομή και Ταξινόμηση των Φαινολικών Οξέων.....	12
1.3. Ρόλος και δράση των Φαινολικών Εστέρων	14
1.3.1. Αντιοξειδωτική Δράση.....	14
1.3.2. Αντικαρκινική Δράση.....	15
1.3.3. Αντιμικροβιακή Δράση	17
1.3.4. Συγκριτική Μελέτη των δράσεων ορισμένων εστέρων	17
2. ΑΝΤΗΛΙΑΚΑ ΚΑΙ ΦΩΤΟΓΗΡΑΝΣΗ	26
2.1. Εισαγωγικά.....	26
2.2. Υπεριώδης Ακτινοβολία (UV)	27
2.3. Επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας στην υγεία.....	28
2.4. Σύνθεση αντηλιακών σκευασμάτων	30
2.5. Αντηλιακά Φίλτρα	38
2.5.1. Ανόργανα (Φυσικά) Φίλτρα	38
2.5.2. Οργανικά Χημικά Φίλτρα	39
2.6. Παράγοντας αντηλιακής προστασίας (SPF).....	40
2.7. Κρίσιμο Μήκος Κύματος (λ_c)	41
3. ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΙ ΓΙΑ ΤΑ ΑΝΤΗΛΙΑΚΑ ΑΝΑ ΤΟΝ ΚΟΣΜΟ	42
3.1. Κανονισμοί Ευρωπαϊκής Ένωσης	43
3.2. Κανονισμοί Ηνωμένων Πολιτειών (FDA).....	45
4. ΣΥΝΘΕΣΗ ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ	48
4.1. Σύνθεση προστατευμένων βενζοϊκών οξέων	51
4.2. Σύνθεση εστέρων προστατευμένων βενζοϊκών οξέων.....	53

4.2.1. Εστεροποίηση Steglich	54
4.2.2. Σύνθεση εστέρων μέσω αντίδρασης S_N2	56
4.3. Αντίδραση απομάκρυνσης της ακετυλομάδας – Αποπροστασία των εστέρων	57
5. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	59
5.1. Γενική Μέθοδος Α: Σύνθεση των ακετυλοξυ-φαινολικών οξέων 2a-2c	59
5.2. Γενική Μέθοδος Β: Σύνθεση των εστέρων φαινολικών οξέων 4a-4i με τη μέθοδο Steglich	61
5.3. Γενική Μέθοδος Γ: Σύνθεση των εστέρων φαινολικών οξέων 5a-5	68
5.4. Γενική Μέθοδος Δ: Σύνθεση των εστέρων φαινολικών οξέων 6a-6 μέσω αντίδρασης S_N2	72
6. ΜΕΘΟΔΟΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΥ ΚΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ	75
6.1. Χρωματογραφία Λεπτής Στοιβάδας (TLC).....	75
6.2. Δομικός Χαρακτηρισμός των αναλόγων των φαινολικών οξέων	76
6.2.1. Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)	76
6.3. Αντιοξειδωτική Δράση.....	78
6.3.1. Μέθοδος DPPH – Ικανότητα δέσμευσης της σταθερής ελεύθερης ρίζας DPPH	79
6.3.2. Διαδικασία προσδιορισμού αντιοξειδωτικής δράσης.....	80
6.4. Αξιολόγηση της φωτοπροστατευτικής δράσης.....	81
6.4.1. Αρχή της Μεθόδου	81
6.4.2. Διαπερατότητα και άλλοι παράγοντες	82
6.4.3. Διαδικασία προσδιορισμού του δείκτη SPF.....	83
6.5. Αξιολόγηση αποτελεσμάτων.....	87
6.5.1. Σύγκριση μεθοδολογιών σύνθεσης	87
6.5.2. Φασματοσκοπική Μελέτη 1H -NMR των αναλόγων εστέρων	88
6.5.3. Αξιολόγηση Αλληλεπίδρασης με τη σταθερή ρίζα DPPH.....	91
6.5.4. Αξιολόγηση της φωτοπροστατευτικής δράσης των αναλόγων εστέρων	94
7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	97
8. ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ.....	100
9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	101
Παράρτημα Φασμάτων NMR.....	105
Παράρτημα φασμάτων Απορρόφησης SPF	112

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Ανατομία του δέρματος.	30
Εικόνα 2: Αριστερά, αντηλιακό σε μορφή κρέμας και δεξιά, αντηλιακό σε μορφή σπρέι.	32
Εικόνα 3: Παράδειγμα στοιχείων ετικέτας που αφορούν φαρμακευτικά σκευάσματα Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.	
Εικόνα 4: Πορεία της μεθόδου χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC).	75
Εικόνα 5: Φάσμα ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) της ένωσης 4d	89
Εικόνα 6: Συγκριτικό φάσμα ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) της ένωσης 4-ακετοξυ-3-μεθοξυβενζοϊκός 2-αιθυλεξυλεστέρας (4d) και της ένωσης 4-υδροξυ-3-μεθοξυβενζοϊκός 2-αιθυλεξυλεστέρας (5d).	90
Εικόνα 7: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 4a.	105
Εικόνα 8: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 4b.	105
Εικόνα 9: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 4c.	106
Εικόνα 10: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 4d.	106
Εικόνα 11: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 4e.	107
Εικόνα 12: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 4f.	107
Εικόνα 13: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 4g.	108
Εικόνα 14: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 4h.	108
Εικόνα 15: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 4i.	109
Εικόνα 16: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 5a.	109
Εικόνα 17: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 5b.	110
Εικόνα 18: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 5c.	110
Εικόνα 19: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 5d.	111
Εικόνα 20: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 5e.	111
Εικόνα 21: Φάσμα απορρόφησης SPF της γλυκερόλης.	112
Εικόνα 22: Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 4a.	112
Εικόνα 23: Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 4d.	113
Εικόνα 24: Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 4e.	113
Εικόνα 25: Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 4f.	114
Εικόνα 26: Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 4g.	114
Εικόνα 27: Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 4i.	115
Εικόνα 28: Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 5a.	115
Εικόνα 29: Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 5b.	116
Εικόνα 30: Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 5c.	116
Εικόνα 31: Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 5d.	117
Εικόνα 32: Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 5e.	117

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1: Βασική δομή των υδροξυ-βενζοϊκών οξέων	12
Σχήμα 2: Βασική δομή των υδροξυ-κινναμμωμικών εστέρων.	12
Σχήμα 3: Δομή εστέρων του para-υδροξυβενζοϊκού οξέος.....	22
Σχήμα 4: Φάσμα δράσης UVR για το ηλιακό ερύθημα τη σύνθεση της βιταμίνης D ₃	28
Σχήμα 5: Διείσδυση της UV ακτινοβολίας στο δέρμα.....	28
Σχήμα 6: Αναπαράσταση των διαφορετικών τύπων γαλακτωμάτων.....	34
Σχήμα 7: Ταξινόμηση συστατικών των αντηλιακών κατά πολικότητα, που κυμαίνεται από ελαιώδη ή υδρόφοβα υλικά χαμηλής πολικότητας έως υλικά υψηλής πολικότητας ή υδρόφιλα.	35
Σχήμα 8: Εστέρες του κινναμμωμικού οξέος που έχουν συντεθεί και αξιολογηθεί στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας ΕΜΠ	51
Σχήμα 9: Γενική μεθοδολογία σύνθεσης ακετυλιωμένων βενζοϊκών οξέων	52
Σχήμα 10: Μηχανισμός ακετυλίωσης βενζοϊκών οξέων με οξικό ανυδρίτη.	53
Σχήμα 11: Γενική πορεία σύνθεσης εστέρων των βενζοϊκών οξέων με τη μέθοδο εστεροποίησης Steglich.	54
Σχήμα 12: Μηχανισμός αντίδρασης εστεροποίησης Steglich.	55
Σχήμα 13: Γενική πορεία σύνθεσης μέσω αντίδρασης πυρηνόφιλης υποκατάστασης S _N 2.....	56
Σχήμα 14: Μηχανισμός αντίδρασης πυρηνόφιλης υποκατάστασης S _N 2.....	57
Σχήμα 15: Γενική πορεία σύνθεσης των υδροξυ-εστέρων.	58
Σχήμα 16: Μηχανισμός σύνθεσης των υδροξυ-εστέρων.....	58
Σχήμα 17: Η ενεργειακή διαφορά ΔΕ μεταξύ των καταστάσεων πυρηνικού σπιν εξαρτάται από την ισχύ του εφαρμοζόμενου μαγνητικού πεδίου	76
Σχήμα 18: Αντίδραση της ελεύθερης ρίζας DPPH.....	79
Σχήμα 19: Σχηματική απεικόνιση του plate, όπου με μωβ χρώμα απεικονίζονται τα δείγματα που δεν δέσμευσαν τη σταθερή ρίζα DPPH και με κίτρινο τα δείγματα που κατάφεραν να τη δεσμεύσουν.....	80
Σχήμα 20: Επίδειξη κινήσεων επάλειψης δείγματος στην πλάκα PMMA. Στην επάνω σειρά, απεικονίζονται οι κινήσεις που συμβαίνουν κατά το πρώτο στάδιο και στην κάτω κατά το δεύτερο στάδιο.	84
Σχήμα 21: Ανάλογα φερουλικού και βανιλικού οξέος που συντέθηκαν στο εργαστήριο οργανικής χημείας και εμφάνισαν την καλύτερη φωτοπροστατευτική δράση.	99

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Δομές των κύριων φυσικά απαντώμενων υδροξυβενζοϊκών οξέων.....	13
Πίνακας 2: Δομές των κύριων φυσικά απαντώμενων υδροξυκιναμικών οξέων.....	13
Πίνακας 3: Οι εστέρες του γαλλικού οξέος που συντέθηκαν από τους Luciane A. Savi, Paulo C. Leal κ.ά. και οι αποδόσεις αυτών.....	19
Πίνακας 4: Εστέρες pαga-υδροξυβενζοϊκού οξέος που συντέθηκαν από τους A. Sagra , P. Kumar , S. Kakkar , B. Narasimhan και οι αντίστοιχες αποδόσεις τους	22
Πίνακας 5: Εστέρες βανιλικού οξέος που συντέθηκαν από τους N.Ishimata, H.Ito, A.Tai	24
Πίνακας 6: Τα πιο συνήθη χρησιμοποιούμενα οργανικά συστατικά.	39
Πίνακας 7: Αξιολόγηση των αντηλιακών ανάλογα με το κρίσιμο μήκος κύματος που απορροφούν.....	42
Πίνακας 8: Σήμανση SFP σε ευρωπαϊκά προϊόντα με την αντίστοιχη ποσότητα ακτινοβολίας UVB από την οποία προστατεύει το προϊόν.	44
Πίνακας 9: Οι ενώσεις που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διεξαγωγή της εργασίας για την Παρασκευή.....	49
Πίνακας 10: Σύγκριση των μεθοδολογιών σύνθεσης για τους εστέρες 5a-5c.	87
Πίνακας 11: Αποτελέσματα δέσμευσης της ρίζας DPPH για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης,.....	92
Πίνακας 12: Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων φωτοπροστατευτικής ικανότητας.....	94

Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου και αποτέλεσε για μένα μία καθημερινή πρόκληση αλλά συνάμα πηγή έμπνευσης και δημιουργικότητας.

Πρωτίστως θα ήθελα να ευχαριστήσω εγκάρδια την επιβλέπουσα καθηγήτριά μου, κα. Αναστασία Δέτση, Καθηγήτρια της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Ε.Μ.Π., για την αδιάλειπτη παρουσία και υποστήριξή της καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας. Η εμπιστοσύνη που μου έδειξε αναθέτοντάς μου ένα τόσο ενδιαφέρον θέμα, αλλά και η συνεχής ενθάρρυνσή της αποτέλεσαν για μένα κινητήριο δύναμη ώστε να στεφθεί με επιτυχία η ολοκλήρωση της διπλωματικής αυτής.

Στη συνέχεια θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερως τα υπόλοιπα μέλη της τριμελούς επιτροπής, τους Καθηγητές της Σχολής Χημικών Μηχανικών, κο Επαμεινώνδα Βουτσά και κο Στυλιανό Χαμηλάκη για το χρόνο που διέθεσαν για την κριτική ανάγνωση της εργασίας μου.

Η ολοκλήρωση αυτής της εργασίας θα ήταν αδύνατη χωρίς την πολύτιμη βοήθεια και υποστήριξη της Ιωάννας Κωστοπούλου, υποψήφια μεταδιδάκτορα του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας Ε.Μ.Π. Θα ήθελα να της εκφράσω τις θερμές ευχαριστίες μου για την άψογη συνεργασία, το αρμονικό κλίμα και την άμεση επίλυση των όποιων προβλημάτων προέκυπταν.

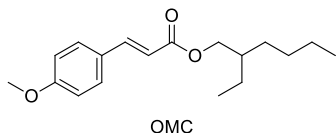
Επιπλέον, οφείλω να ευχαριστήσω όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας Ε.Μ.Π. για την ομαλή συνεργασία και την προθυμία όλων για επικουρική βοήθεια σε καθημερινή βάση.

Θερμές ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στην εταιρία CELLCO Chemicals ΑΕ. για την άψογη συνεργασία και τη δυνατότητα που μου προσέφερε να πραγματοποιήσω στις εγκαταστάσεις τους μέρος του ερευνητικού μου έργου.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω ένα μεγάλο ευχαριστώ και την ευγνωμοσύνη μου στους γονείς μου, Βαγγέλη και Βάσω και στην αδερφή μου, Σοφία, για τη στήριξή και τις πολύτιμες συμβουλές τους όλα αυτά τα χρόνια. Τέλος, δε θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω τους φίλους μου για την υποστήριξή τους και ιδίως την Παναγιώτα για τη συνεχή συμπαράσταση.

Περίληψη

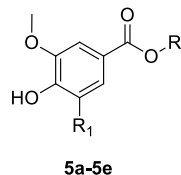
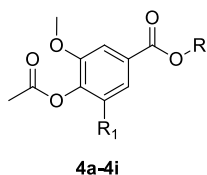
Αντικείμενο της παρούσας διπλωματικής αποτέλεσε ο σχεδιασμός, η σύνθεση και η δομική ταυτοποίηση εστέρων, αναλόγων τριών φαινολικών οξέων, καθώς και η



αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής και φωτοπροστατευτικής τους ικανότητας, με τελικό σκοπό τη συνδυασμένη δράση, καθώς και την ενδεχόμενη χρήση τους ως αντιηλιακά

φίλτρα ευρέως φάσματος. Έμπνευση για τη δημιουργία αυτή αποτέλεσε το OctylMethoxyCinnamate (OMC), το οποίο αποτελεί ένα ευρέως εμπορικά χρησιμοποιούμενο φίλτρο UVB ακτινοβολίας.

Συνολικά, συντέθηκαν 14 εστέρες, ανάλογα βενζοϊκών οξέων. Τα ακετυλοξυ-παράγωγα **4a-4i** συντέθηκαν μέσω δύο διαφορετικών μεθοδολογιών: α) της εστεροποίησης Steglich και β) της αντίδρασης πυρηνόφιλης υποκατάστασης S_N2 με χρήση κατάλληλων αλκυλαλογονιδίων. Τα αντίστοιχα υδροξυ-παράγωγά τους (**5a-5e**) σχηματίστηκαν μέσω αντίδρασης αποπροστασίας των ακετυλοξυ-αναλόγων.



Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε διερεύνηση της σχέσης δομής-δράσης για όλα τα μόρια που συντέθηκαν. Σαφέστερα, οι εστέρες μελετήθηκαν για την πιθανή αντιοξειδωτική τους δράση μέσω της ικανότητάς τους να δεσμεύουν τη σταθερή, ελεύθερη ρίζα DPPH. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως όλες οι ενώσεις στο σύνολό τους εμφάνισαν από μηδενική έως πολύ ασθενή ικανότητα αλληλεπίδρασης με τη ρίζα (από 0% έως 3.6% ποσοστό δέσμευσης).

Επιπλέον, τα ανάλογα των φαινολικών οξέων που συντέθηκαν αξιολογήθηκαν ως προς την φωτοπροστατευτική τους ικανότητα μέσω *in vitro* τεχνικής, όπου προσδιορίστηκε (i) ο δείκτης ηλιακής προστασίας (SPF), ως ένδειξη προστασίας έναντι της UVB ακτινοβολίας, (ii) ο λόγος της απορρόφησης UVA/UVB και (iii) το κρίσιμο μήκος κύματος

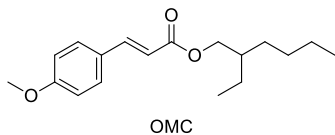
λc, ως ενδείξεις προστασίας έναντι της UVA ακτινοβολίας. Οι μετρήσεις ελήφθησαν στην εταιρεία Cellco Chemicals και τα αποτελέσματα έδειξαν πως τρία από τα παράγωγα του βανιλικού οξέος θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως UVB φίλτρα, διαθέτοντας τιμή κρίσιμου μήκους κύματος 293nm.

Επιστημονική Περιοχή: Συνθετική και Φαρμακευτική Χημεία

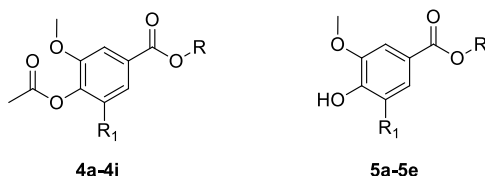
Λέξεις κλειδιά: Οργανική Χημεία, Φαινολικά Οξέα, OMC, Εστεροποίηση Steglich Αντιοξειδωτική δράση, Φωτοπροστατευτική δράση, SPF.

Abstract

The purpose of the present diploma thesis was the design, synthesis and structural identification of esters, analogs of three phenolic acids, as well as the evaluation of their antioxidant and photoprotective activity, aiming their potential use as broad-spectrum sunscreens. Inspiration of this synthesis was OctylMethoxyCinnamate (OMC), which consists a widely used commercial UVB radiation filter.



In total, 14 esters, analogues of benzoic acids were synthesized. Acetyloxy-derivatives (**4a-4i**) were synthesized *via* two different methodologies: a) Steglich esterification and b) SN2 nucleophilic substitution reaction using appropriate alkyl halides. Their corresponding hydroxy-derivatives (**5a-5e**) were formed via a deprotection reaction of the acetyloxy analogs.



A structure-activity relationship investigation was then performed for all synthesized molecules. More specifically, esters were evaluated for their potential antioxidant activity through their ability to scavenge the stable, free radical DPPH. All compounds showed very weak ability to interact with the free radical (from 0% to 3.6%).

In addition, the phenolic acid analogs were evaluated for their photoprotective activity through an *in vitro* technique, where (i) the sun protection factor (SPF), was determined as an indication of protection against UVB radiation, while (ii) the ratio of UVA/UVB absorption and (iii) the critical wavelength λ_c , were determined as an indication of protection against UVA radiation. The measurements were taken at Cellco Chemicals and the results showed that three of the vanillic acid derivatives could be used as UVB filters, having a critical wavelength value of 293nm.

Scientific Area: Synthetic and medicinal Chemistry

Keywords: Organic Chemistry, Phenolic Acids, OMC, Steglich Esterification, Antioxidant Activity, Photoprotective Activity, SPF.

1. ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΟΞΕΑ

1.1. Γενικές Πληροφορίες για τα Φαινολικά Οξέα

Τα φαινολικά οξέα θεωρούνται δευτερογενείς μεταβολίτες, αποτελούν δηλαδή τα τελικά προϊόντα πρωτογενών μεταβολιτών και κατανέμονται ευρέως σε όλο το φυτικό βασίλειο. Εξυπηρετούν μια ποικιλία συμπληρωματικών λειτουργιών στον κύκλο ζωής ενός φυτού, συμπεριλαμβανομένων δομικών λειτουργιών σε διαφορετικούς προστατευτικούς ή υποστηρικτικούς ιστούς, συμβάλλουν σε αμυντικές στρατηγικές και δρουν ως προστατευτικά υπεριώδους ακτινοβολίας (UV). Οι φαινολικές ενώσεις προστατεύουν τους χλωροπλάστες από τη φωτοαποικοδόμηση απορροφώντας κβάντα υψηλής ενέργειας, καθώς απενεργοποιούν τα ενεργά είδη οξυγόνου (ROS) και τις ελεύθερες ρίζες. (Stalikas, 2007) (Ali Ghasemzadeh, 2011)

Τα φαινολικά οξέα απαντώνται κυρίως στο κράνμπερι, το αχλάδι, το μήλο, το μύρτιλο, το κεράσι (γλυκό), το μήλο, το πορτοκάλι, το γκρέιπφρουτ, το ροδάκινο, το λεμόνι, το μαρούλι, την πατάτα, το σπανάκι, τον καφέ, το τσάι και τον μηλίτη. Αν και η συνεισφορά των φαινολικών οξέων στα φυτά δεν έχει ακόμη επαρκώς αποσαφηνιστεί, έχει ήδη αποδειχθεί ότι σχετίζονται με τη φωτοσύνθεση, την πρόσληψη θρεπτικών ουσιών, τη δραστηριότητα των ενζύμων, την αλληλοπάθεια και τη σύνθεση πρωτεϊνών. Οι προφυλακτικές δράσεις των φαινολικών οξέων οφείλονται κυρίως στις αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές, αντιμεταλλαξιογόνες, αντικαρκινικές και αντιπολλαπλασιαστικές τους ιδιότητες.

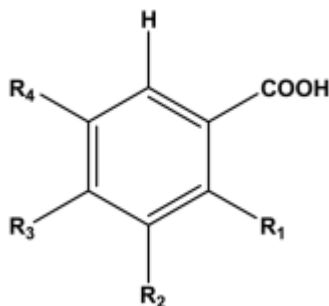
Προς τα τέλη του 20^{ου} αιώνα, επιδημιολογικές μελέτες και άλλες σχετικές αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν μετά, υποδεικνύουν έντονα ότι η μακροχρόνια κατανάλωση δίαιτας πλούσιες σε φυτικές πολυφαινόλες προσέφερε κάποια προστασία από την ανάπτυξη καρκίνων, καρδιαγγειακών παθήσεων, διαβήτη, οστεοπόρωσης και νευροεκφυλιστικών ασθενειών. Τα φαινολικά οξέα και οι εστέρες τους, ιδιαίτερα το υδροξυκιναμικό οξύ, το υδροξυβενζοϊκό οξύ, το καφεϊκό οξύ και το χλωρογενικό οξύ, είναι γνωστό ότι παρουσιάζουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση. Πιο συγκεκριμένα, η χημική δομή των πολυφαινολών είναι αυτή που ευθύνεται για την υποστήριξη των

αντιοξειδωτικών χημικών αντιδράσεων, δηλαδή της απενεργοποίησης των ενεργών ειδών οξυγόνου (ROS) και των ελεύθερων ριζών. (Zahra Lorigooini, 2021)

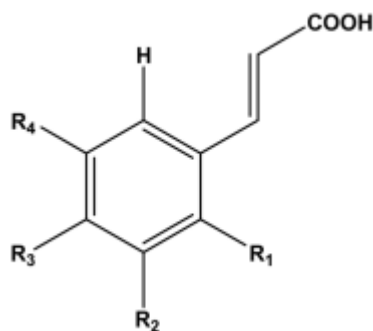
1.2. Χημική Δομή και Ταξινόμηση των Φαινολικών Οξέων

Όλες οι φαινολικές ενώσεις έχουν ένα κοινό δομικό χαρακτηριστικό: έναν αρωματικό δακτύλιο που φέρει υδροξυλικό υποκαταστάτη, δηλαδή φαινόλη. Μια απλή ταξινόμηση που μπορεί να γίνει στην ευρεία κατηγορία των φαινολικών είναι σε απλές φαινόλες και πολυφαινόλες, με βάση αποκλειστικά τον αριθμό των υπομονάδων φαινόλης που υπάρχουν στο μόριο. Έτσι, ο όρος «φυτικές φαινόλες» περιλαμβάνει απλές φαινόλες, φαινολικά οξέα, κουμαρίνες, φλαβονοειδή, στυλβένια, μέχρι υδρολυόμενες και συμπυκνωμένες τανίνες, λιγνάνες και λιγνίνες. (Stalikas, 2007)

Τα φαινολικά οξέα, από άποψη δομής, μπορούν να χωριστούν σε δύο διακριτές ομάδες: τα υδροξυβενζοϊκά (HBAs) (Σχήμα 1) και τα υδροξυκινναμικά (HCAs) (Σχήμα 2) οξέα. Τα περισσότερα υδροξυβενζοϊκά οξέα περιλαμβάνουν μια ραχοκοκαλιά C₆-C₁ που λαμβάνεται απευθείας από το βενζοϊκό οξύ. Ενώ τα υδροξυκινναμικά οξέα περιλαμβάνουν μια απλή χημική ραχοκοκαλιά που περιέχει μια δομή φαινυλοπροπανοειδούς C₆-C₃. (Zahra Lorigooini, 2021). Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι διάφορες χημικές δομές των υδροξυβενζοϊκών οξέων που προκύπτουν από την από την επιλογή διάφορων υποκαταστατών για τα R₁, R₂, R₃ και R₄.



Σχήμα 1: Βασική δομή των υδροξυβενζοϊκών οξέων



Σχήμα 2: Βασική δομή των υδροξυκινναμικών εστέρων.

Πίνακας 1: Δομές των κύριων φυσικά απαντώμενων υδροξυβενζοϊκών οξέων.

Όνομα	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Βενζοϊκό Οξύ	H	H	H	H
p-Υδροξυβενζοϊκό οξύ	H	H	OH	H
Βανιλικό Οξύ	H	OCH ₃	OH	H
Γαλλικό Οξύ	H	OH	OH	OH
Πρωτοκατεχικό Οξύ	H	OH	OH	H
Συριγγικό Οξύ	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
Γεντισικό Οξύ	OH	H	H	OH
Βερατρικό Οξύ	H	OCH ₃	OCH ₃	H
Σαλικυλικό Οξύ	OH	H	H	H

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι διάφορες χημικές δομές των υδροξυκινναμικών οξέων που προκύπτουν από την από την επιλογή διάφορων υποκαταστατών για τα R₁, R₂, R₃ και R₄.

Πίνακας 2: Δομές των κύριων φυσικά απαντώμενων υδροξυκινναμικών οξέων.

Όνομα	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Κινναμικό Οξύ	H	H	H	H
o-Κουμαρικό Οξύ	OH	H	H	H
m-Κουμαρικό Οξύ	H	OH	H	H
p-Κουμαρικό Οξύ	H	H	OH	H
Φερουλικό Οξύ	H	OCH ₃	OH	H
Συναπικό Οξύ	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
Καφεϊκό Οξύ	H	OH	OH	H

Οι ενώσεις υδροξυκινναμικού οξέος προέρχονται σχεδόν αποκλειστικά από π-κουμαρικό, καφεϊκό και φερουλικό οξύ, ενώ το συναπικό οξύ είναι συγκριτικά σπάνιο. Ενώ οι τρεις πιο κοινές ενώσεις υδροξυβενζοϊκών οξέων είναι παράγωγα του p-υδροξυβενζοϊκού, του βανιλικού και του πρωτοκατεχικού οξέος και αντιστοιχούν στη

δομή του p-κουμαρικού, του καφεϊκού και του φερουλικού οξέος. Το συριγγικό οξύ εμφανίζεται κάπως πιο σπάνια σε σύγκριση με το αντίστοιχο συναπικό οξύ.

Συνήθως, τα πιο κοινά υδροξυκιναμικά οξέα δεν υπάρχουν στα φυτά σε ελεύθερη κατάσταση, αλλά απαντώνται πιο συχνά ως απλοί εστέρες με κινικό οξύ ή γλυκόζη με τα πιο γνωστά να είναι τα δύο μονοκαφεολοκινικά οξέα, το χλωρογενικό και το νεοχλωρογενικό οξύ. Σε αντίθεση με τις υδροξυκιναμικές ενώσεις, οι ενώσεις υδροξυβενζοϊκού οξέος είναι κυρίως παρούσες με τη μορφή γλυκοζιτών και ο πιο γνωστός είναι ο γλυκοζίτης του υδροξυβενζοϊκού οξέος. (Nagel, 2009)

1.3. Ρόλος και δράση των Φαινολικών Εστέρων

1.3.1. Αντιοξειδωτική Δράση

Είναι γνωστό ότι οι δίαιτες πλούσιες σε φρούτα και λαχανικά είναι προστατευτικές έναντι των καρδιαγγειακών παθήσεων και ορισμένων μορφών καρκίνου, και ίσως και έναντι άλλων ασθενειών. Οι φυτικές πολυφαινόλες είναι πολυλειτουργικές και μπορούν να δράσουν ως αναγωγικοί παράγοντες και ως αντιοξειδωτικά που δίνουν υδρογόνο και καταστολείς διοξυγόνου, μίας αλλότροπης μορφής οξυγόνου. (Catherine A. Rice-Evans, 1995)

Τα υδροξυκιναμικά οξέα έχουν σημαντικά υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση από τα υδροξυβενζοϊκά οξέα, η οποία μπορεί να αποδοθεί στην παρουσία της ομάδας $\text{CH} = \text{CH}-\text{COOH}$ στα υδροξυκιναμικά οξέα και της ομάδας COOH στα υδροξυβενζοϊκά οξέα. Η παρουσία των ομάδων $\text{CH} = \text{CH}-\text{COOH}$ στα υδροξυκιναμικά οξέα παρέχει υψηλότερη ικανότητα δωρεάς H και επακόλουθη σταθεροποίηση ριζών από την καρβοξυλική ομάδα στα υδροξυβενζοϊκά οξέα. (Anabela Borges, 2013)

Το οξειδωτικό στρες θεωρείται σημαντικό, αν όχι κρίσιμο, για την έναρξη και την ανάπτυξη πολλών καταστάσεων που προκύπτουν τη σημερινή εποχή αλλά και ασθενειών, συμπεριλαμβανομένων των αυτοάνοσων νοσημάτων, του καταρράκτη, του καρκίνου, της νόσου του Πάρκινσον, της αρτηριοσκλήρωσης, των καρδιακών παθήσεων,

των νευροεκφυλιστικών ασθενειών και της διαδικασίας γήρανσης. Ολοένα και αυξανόμενα στοιχεία υποδεικνύουν ότι η οξειδωτική φθορά παίζει ρόλο στην ανάπτυξη χρόνιων εκφυλιστικών ασθενειών που σχετίζονται με την ηλικία και ότι τα διατροφικά αντιοξειδωτικά αντιτίθενται σε αυτό και μειώνουν τον κίνδυνο ασθένειας. (Ali Ghasemzadeh, 2011)

Για να οριστεί μια πολυφαινόλη ως αντιοξειδωτικό, πρέπει να πληροί δύο βασικές προϋποθέσεις. Πρώτον, να υπάρχει σε χαμηλή συγκέντρωση σε σχέση με το υπόστρωμα που πρόκειται να οξειδωθεί και να μπορεί να καθυστερήσει, να αναστείλει ή να αποτρέψει την αυτοοξείδωση ή την οξείδωση που προκαλείται από ελεύθερες ρίζες. Δεύτερον, θα πρέπει να σταθεροποιεί την ρίζα που σχηματίζεται μέσω ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου μετά τον καθαρισμό και να την προστατεύει από περαιτέρω οξείδωση. (Catherine A. Rice-Evans, 1995)

Πρόσφατα, τα φαινολικά έχουν θεωρηθεί ως σημαντικά αντιοξειδωτικά και αποδείχθηκαν πιο αποτελεσματικά από τη βιταμίνη C, E και τα καροτενοειδή. Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες των φαινολικών ενώσεων μπορούν να ερμηνευτούν από τους ακόλουθους μηχανισμούς: (1) δέσμευση ριζικών ειδών όπως ROS/ αντιδραστικών ειδών αζώτου (RNS), (2) καταστολή του σχηματισμού ROS/RNS αναστέλλοντας ορισμένα ένζυμα ή ηηλικιοποιώντας ιχνοστοιχεία που εμπλέκονται στην παραγωγή ελεύθερων ριζών, (3) ρυθμίζοντας ή προστατεύοντας την αντιοξειδωτική άμυνα. (Ali Ghasemzadeh, 2011)

1.3.2. Αντικαρκινική Δράση

Η διατροφή με υψηλή κατανάλωση φρούτων και λαχανικών πλούσιων σε αντιοξειδωτικά μειώνει τον κίνδυνο πολλών τύπων καρκίνου, υποδηλώνοντας σημαντικά ότι αυτά τα αντιοξειδωτικά θα μπορούσαν να είναι αποτελεσματικοί παράγοντες για την αναστολή του καρκίνου. Τα αντιοξειδωτικά στη διατροφή είναι πολύ υποσχόμενοι αναστολείς του καρκίνου λόγω της χαμηλής τοξικότητάς τους, της ασφάλειας και της γενικής αποδοχής τους.

Αρκετές φαινολικές ενώσεις έχουν αναφερθεί ότι είναι αναστολείς της χημικής καρκινογένεσης και μεταλλαξιγένεσης. Για παράδειγμα, πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι στο τσάι υπάρχουν πολυφαινόλες, δηλαδή η γαλλική επιγαλλοκατεχίνη αναστέλλει τη μεταλλαξιγένεση και την καρκινογένεση ορισμένων χημικών ουσιών. Ομοίως, τα ελλαγικά και χλωρογενικά οξέα που υπάρχουν σε φυτά, ξηρούς καρπούς ή φρούτα έχουν αντιμεταλλαξιγόνα και αντικαρκινογόνα αποτελέσματα. (Takuji Tanaka, 1993)

Έπειτα από εμπειριστατωμένες μελέτες που πραγματοποιήθηκαν, βρέθηκαν ορισμένα χαρακτηριστικά που έχουν οι φαινόλες, οι οποίες είναι πιο αποτελεσματικές στην αντιμετώπιση του αδενοκαρκινώματος του μαστικού αδένα και του τραχήλου και της λεμφοβλαστικής λευχαιμίας. Πιο συγκεκριμένα:

- ☼ Ο αριθμός των υποκαταστατών δακτυλίου -OH φαίνεται να είναι ο πιο καθοριστικός παράγοντας. Οι τριφαινόλες είναι πιο αποτελεσματικές από τις διφαινόλες για όλους τους τύπους καρκίνων που αναφέρθηκαν.
- ☼ Το μήκος της ανθρακικής αλυσίδας μεταξύ του αρωματικού δακτυλίου και της τερματικής καρβοξυλικής ομάδας επηρεάζει διαφορετικά την αντικαρκινική δράση ανάλογα με κάθε φαινολικό οξύ και κάθε συγκεκριμένη κυτταρική σειρά.
- ☼ Η παρουσία ενός διπλού δεσμού στην ανθρακική αλυσίδα δε συμπεριφέρεται ανάλογα σε όλες τις κυτταρικές σειρές. (Catarina A. Gomes, 2003)
- ☼ Οι πιο σταθεροί διαμορφωτές εμφανίζουν μια επίπεδη γεωμετρία, πιθανώς λόγω της σταθεροποιητικής επίδρασης της μετεγκατάστασης π-ηλεκτρονίων μεταξύ του δακτυλίου βενζολίου και του καρβονυλίου.

Επιπλέον είναι γνωστό ότι η κυτταροτοξική δράση των φαινολικών παραγώγων εξαρτάται από το ρυθμό ενσωμάτωσής τους στα κύτταρα, που σχετίζεται άμεσα με τη λιποφιλικότητά τους, όσο και από την αντιοξειδωτική τους δράση.

Η λιποφιλικότητα ενός φαινολικού εστέρα, η οποία εξαρτάται από το μήκος της αλκυλικής αλυσίδας, θεωρείται σημαντική διότι οδηγεί σε υψηλότερη συγγένεια για το υδρόφοβο, εσωτερικό τμήμα της λιπιδικής διπλοστιβάδας, επηρεάζοντας με αυτό τον τρόπο τον εντοπισμό της ένωσης μέσα στο κύτταρο. (S. M. Fiuza, 2004)

1.3.3. Αντιμικροβιακή Δράση

Στο έντερο, τα φαινολικά μπορεί επιλεκτικά να καταστέλλουν ή να διεγείρουν την ανάπτυξη ορισμένων συστατικών της εντερικής μικροχλωρίδας. Κατά συνέπεια, μπορεί να επηρεάσουν τη δυναμική του βακτηριακού πληθυσμού. (Carolina Cueva, 2010)

Συγκρίνοντας τις δύο γενικές κατηγορίες φαινολικών οξέων, με τις οποίες ασχολείται η παρούσα εργασία, δηλαδή τα υδροξυβενζοϊκά και τα υδροξυκινναμικά οξέα, προκύπτουν ορισμένα συμπεράσματα. Αν και ο βασικός σκελετός παραμένει ο ίδιος, οι αριθμοί και οι θέσεις των ομάδων υδροξυλίου στον αρωματικό δακτύλιο και ο τύπος των υποκαταστατών προκαλούν σημαντικές αλλαγές στις ιδιότητες των φαινολικών προϊόντων.

Η θέση και ο αριθμός των υδροξυλομάδων στην ομάδα φαινόλης πιστεύεται ότι σχετίζονται με τη σχετική τοξικότητά τους στους μικροοργανισμούς και είναι τα κύρια δομικά χαρακτηριστικά που επηρεάζουν την αντιοξειδωτική ικανότητα των φαινολικών, με στοιχεία ότι η αύξηση της υδροξυλίωσης οδηγεί σε αύξηση της τοξικότητας. Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι οι πιο οξειδωμένες φαινόλες έχουν υψηλότερες αντιμικροβιακές ιδιότητες. (Anabela Borges, 2013)

1.3.4. Συγκριτική Μελέτη των δράσεων ορισμένων εστέρων

Διάφορες ομάδες ανθρώπων ανά τον κόσμο έχουν συνθέσει και αξιολογήσει τη δράση εστέρων που προέρχονται από κινναμωμικά και βενζοϊκά οξέα. Οι εστέρες είναι πολύ διαδεδομένοι στη συνθετική οργανική χημεία χάρη στη βιοδραστικότητά τους, που μεταξύ άλλων που αναφέρθηκαν είναι και η αντική, η αντιερπητική, η αντιφλεγμονώδης, η αντιαλλεργική, η αντιμυκητιασική και η αντιβακτηριδιακή.

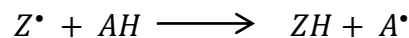
Μέθοδος DPPH

Όσον αφορά την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης, η απαίτηση μιας τυπικής ανάλυσης είναι πολύ σημαντική για τη σύγκριση των αποτελεσμάτων των διάφορων

προϊόντων και την επικύρωση των συμπερασμάτων. Για αυτή την ανάλυση, λοιπόν χρησιμοποιείται το 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλ-υδραζύλιο γνωστό κι ως DPPH.

Τα αντιοξειδωτικά είναι οι ενώσεις που καταπολεμούν τις ελεύθερες ρίζες παρεμβαίνοντας σε οποιοδήποτε από τα τρία κύρια στάδια της οξειδωτικής διαδικασίας που προκαλείται από ελεύθερες ρίζες, δηλαδή την έναρξη, τη διάδοση και τον τερματισμό. Το DPPH είναι μια σταθερή ελεύθερη ρίζα που έχει ένα μη ζευγαρωμένο ηλεκτρόνιο σθένους σε ένα άτομο γέφυρας αζώτου. Έτσι, η σάρωση της ρίζας DPPH είναι η βάση της δημοφιλούς μεθόδου DPPH για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης (DPPH assay).

Αυτή η μέθοδος αναπτύχθηκε από τον Blois (1958) με σκοπό τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης με παρόμοιο τρόπο χρησιμοποιώντας μια σταθερή ελεύθερη ρίζα α, α-διφαινυλ-β-πικρυλυδραζύλιο (DPPH, C₁₈H₁₂N₅O₆, MR=394,33). Το περίσσιο ηλεκτρόνιο του ατόμου του αζώτου στο DPPH ανάγεται λαμβάνοντας ένα άτομο υδρογόνου από τα αντιοξειδωτικά κι αυτό έχει ως αποτέλεσμα τα μόρια να μη διμερίζονται όπως οι περισσότερες άλλες ελεύθερες ρίζες. Η αναγωγή αυτή παρατηρείται με απορρόφηση σε δ/μα αιθανόλης στα 520nm και το δ/μα χρωματίζεται ιώδες. Κατά την ανάμειξη του διαλύματος DPPH με μια ουσία που μπορεί να δώσει ένα άτομο υδρογόνου, δημιουργείται η ανηγμένη μορφή με την ταυτόχρονη απώλεια του ιώδους χρώματος. Αντιπροσωπεύοντας τη ρίζα DPPH με Z[•] και το μόριο δότη με AH, η κύρια αντίδραση είναι



(Om P.Sharma, 2009), (Singh, 2011)

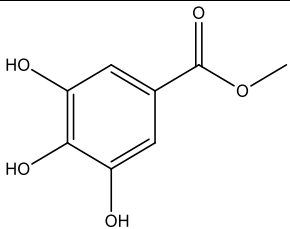
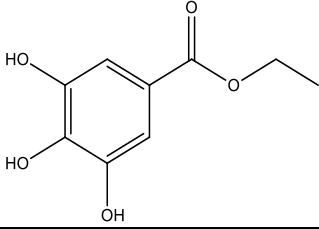
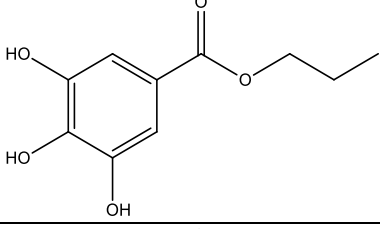
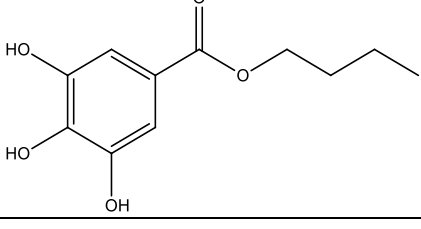
Εστέρες Γαλλικού Οξέος

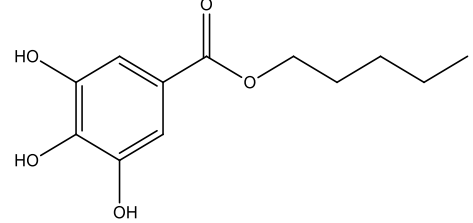
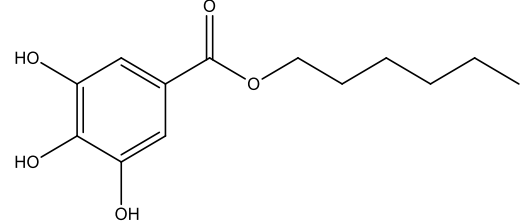
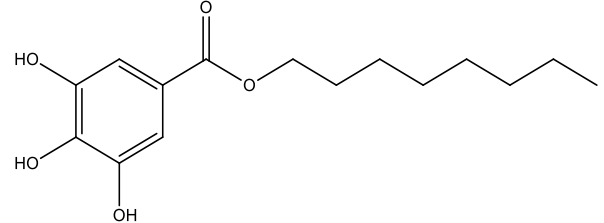
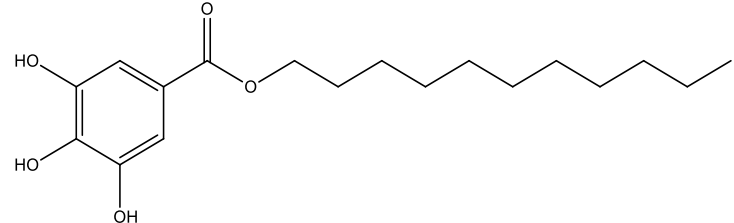
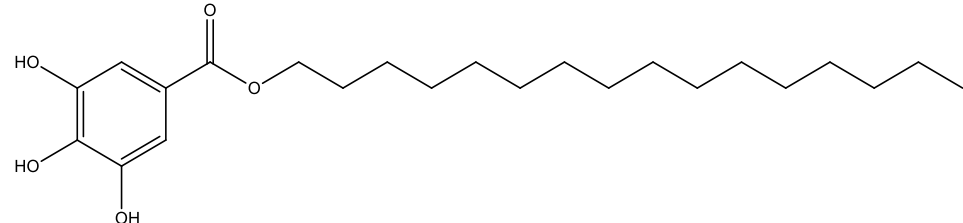
Οι Luciane A. Savi, Paulo C. Leal κ.ά. συνέθεσαν διάφορους εστέρες του γαλλικού οξέος μέσω δύο διαφορετικών αντιδράσεων. Πρώτα μέσω της αντίδρασης του με τις διάφορες αλκοόλες σε δ/μα τολουολίου και πυκνού θεικού οξέος. Αφού απομακρύνθηκε ο δ/της από το δ/μα, πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία ώστε να καθαριστεί το προϊόν ενδιαφέροντος. Ενώ η δεύτερη αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε διοξάνιο και PTSA (p-

toluenesulfonic acid) και το προϊόν ενδιαφέροντος καθαρίστηκε πάλι με χρωματογραφία. Τα 1-6 προέκυψαν από την πρώτη αντίδραση και τα 7-9 με τη δεύτερη αντίδραση που περιεγράφηκε παραπάνω.

Αντίστοιχα οι Eva Rivero-Buceta, Paula Carrero κ.ά. συνέθεσαν ορισμένους από τους εστέρες που συνέθεσαν και οι Luciane κ.ά. μέσω της δεύτερης οδού με το διοξάνιο και το PTSA. Στον πίνακα παρουσιάζονται οι εστέρες που συνέθεσαν και οι αποδόσεις που κατάφεραν να επιτύχουν οι δύο διαφορετικές ομάδες.

Πίνακας 3: Οι εστέρες του γαλλικού οξέος που συντέθηκαν από τους Luciane A. Savi, Paulo C. Leal κ.ά. και οι αποδόσεις αυτών.

	Ένωση	Απόδοση Luciane et.al	Απόδοση Buceta et.al
1		79%	
2		80%	70%
3		74%	
4		72%	97%

5		69%	83%
6		67%	98%
7		81%	96%
8		80%	82%
9		72%	

Και οι δύο ομάδες έκαναν τις απαραίτητες αναλύσεις για να βρουν τις τιμές των CC_{50} και EC_{50} , όπου CC_{50} είναι η κυτταροτοξική συγκέντρωση στο 50% ενώ η EC_{50} αποτελεσματική συγκέντρωση στο 50%. Η πρώτη ομάδα των Savi, Leal κ.ά δοκίμασαν τη δράση των ενώσεων αυτών ενάντια σε δύο διαφορετικά στελέχη του απλού ιού του έρπητα τύπου 1 (HSV-1), ενώ η δεύτερη ομάδα των Buceta, Carrero κ.ά. τέστρε τη δράση των εστέρων ενάντια στα στελέχη του HIV και του στελέχους του ιού της ηπατίτιδας C.

Για τους πρώτους όλες οι ενώσεις έδειξαν αντιερπητική δράση ενάντια στα στελέχη του ιού που χρησιμοποιήθηκαν. Επαληθεύτηκε ότι οι ενώσεις γαλλικός προπυλεστέρας, γαλλικός βουτυλεστέρας και γαλλικός πεντυλεστέρας δοκιμάστηκαν με το ένα στέλεχος του ιού και είχαν βέλτιστα αποτελέσματα έναντι του HSV-1 σε μικρότερες συγκεντρώσεις EC_{50} ενώ οι ενώσεις γαλλικός μεθυλεστέρας και γαλλικός δεκαεξυλεστέρας που δοκιμάστηκαν με το άλλο στέλεχος του ιού έδειξαν βέλτιστα αποτελέσματα σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις EC_{50} .

Από την άλλη η δεύτερη ομάδα βρήκε πως ο γαλλικός πεντυλεστέρας και ο γαλλικός εξυλεστέρας είχαν καλή δράση έναντι των HIV-1 και HIV-2, αν και η δραστηριότητά τους είναι κοντά στις συγκεντρώσεις που είναι τοξικές για τα κύτταρα του οργανισμού. Επιπλέον, λαμβάνοντας υπόψη ότι το γαλλικό οξύ δεν εμφανίζει καμία αντική δράση έναντι του HIV, αυτό το αποτέλεσμα υποδεικνύει ότι το αλκυλικό τμήμα παίζει σημαντικό ρόλο στην τελική αντική δράση. Επιπλέον, εξετάστηκε η αντιοξειδωτική δράση με τη μέθοδο του DPPH. (Luciane A. Savi, 2005), (Eva Rivero-Buceta, 2015)

Εστέρες Συριγγικού Οξέος

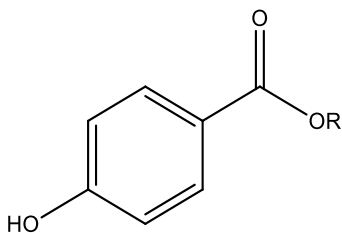
Πολλά φυσικά φαινορικά συστατικά, όπως η κουρκουμίνη και η ρεσβερατρόλη έχουν αναφερθεί ότι προκαλούν μη αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο μέσω της ανοδικής ρύθμισης της αυτοφαγίας σε μια ομάδα καρκινικών κυττάρων και μοντέλων ογκογενών μοσχευμάτων.

Αν και δεν είναι γνωστό ως τώρα αν κάποιοι φαινολικοί εστέρες ρυθμίζουν αρνητικά τις αυτοφαγικές ή λυσοσωμικές δραστηριότητες. Ωστόσο ο M. Won, ο S. Choi και η ομάδα τους συνέθεσαν τον εστέρα του συριγγικού οξέος με την οκτανόλη και απέδειξαν ότι προκαλεί μαζική συσσώρευση αυτοφαγικών υποστρωμάτων λόγω λυσοσωμικής δυσλειτουργίας που οδηγεί σε μη αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο στα καρκινικά κύτταρα. Έτσι, ήταν σε θέση να ρυθμίσει εντελώς την ανάπτυξη ενός όγκου *in vivo*. Αυτές οι παρατηρήσεις υποδηλώνουν ότι ο συγκεκριμένος εστέρας είναι ικανός να δρα αντικαρκινικά χωρίς να προκαλεί τοξικότητα στα φυσιολογικά κύτταρα. (Minho Won, 2021)

Εστέρες para-υδροξυβενζοϊκού Οξέος

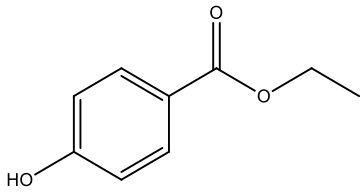
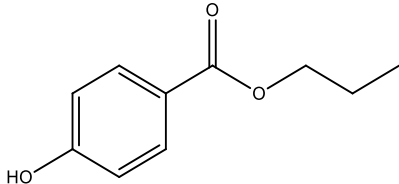
Οι εστέρες του para-υδροξυβενζοϊκού οξέος, κοινώς ονομαζόμενοι parabens, είναι σημαντικά συντηρητικά στη φαρμακευτική, τη βιομηχανία καλλυντικών και τροφίμων. Οι μελέτες ποσοτικής σχέσης δραστηριότητας - δομής (QSAR) χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση των ιδιοτήτων νέων μορίων ή/και για την εύρεση των παραμέτρων που επηρεάζουν τη βιολογική τους δραστηριότητα.

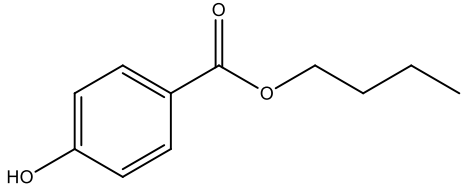
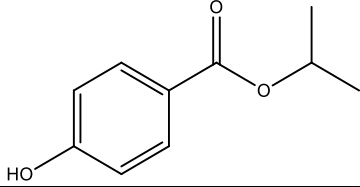
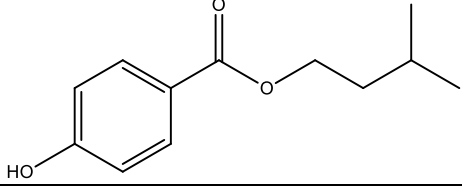
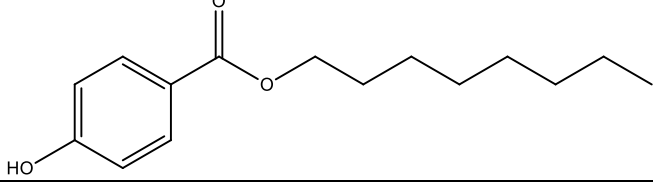
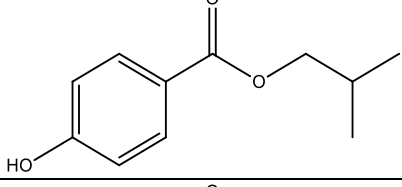
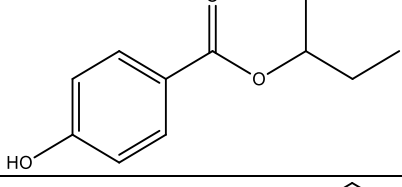
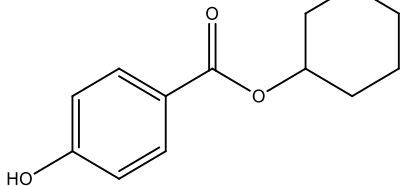
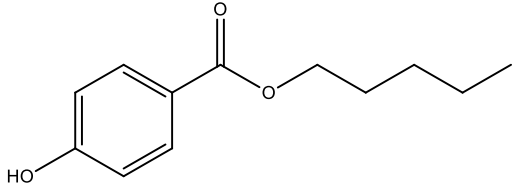
Η ομάδα των A. Sapro , P. Kumar , S. Kakkar , B. Narasimhan συνέθεσαν εστέρες του para-υδροξυβενζοϊκού οξέος και αξιολόγησαν το αντιμικροβιακό δυναμικό τους αλλά παράλληλα έκαναν μελέτες του QSAR. Οι εστέρες αυτοί παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.

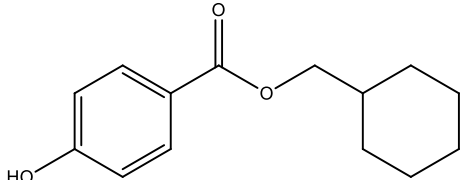


Σχήμα 3: Δομή εστέρων του para-υδροξυβενζοϊκού οξέος

Πίνακας 4: Εστέρες para-υδροξυβενζοϊκού οξέος που συντέθηκαν από τους A. Sapro , P. Kumar , S. Kakkar , B. Narasimhan και οι αντίστοιχες αποδόσεις τους .

	Ένωση	Απόδοση
1		93.9%
2		86.1%

3		68.5%
4		43.8%
5		85.6%
6		78.4%
7		89.6%
8		51.6%
9		82.7%
10		91.2%

11		89.4%
----	---	-------

Η αντιμικροβιακή δράση των συντιθέμενων παραγώγων para-υδροξυβενζοϊκού οξέος πραγματοποιήθηκε έναντι Gram-θετικών βακτηρίων: *S. Aureus*, *B. Subtilis*, Gram-αρνητικό βακτήριο: *E. Coli* και στελέχη μυκήτων: *C. Albicans* και *A. Niger*. Αποδείχτηκε λοιπόν ότι την καλύτερη αντιμικροβιακή και αντιμυκητιασική δράση, έχει η ένωση 6, δηλαδή ο εστέρας του para-υδροξυβενζοϊκού οξέος με την οκτανόλη. (A. Sagra, 2013)

Εστέρες Βανιλικού Οξέος

Οι εστέρες του βανιλικού οξέος απαντώνται φυσικά στα φυτά και πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι έχουν πολλαπλές φυσιολογικές λειτουργίες συμπεριλαμβανομένης της αντιοξειδωτικής δράσης, της αντιφλεγμονώδους δράσης. Όσον αφορά τις ανοσολογικές λειτουργίες, το βανιλικό οξύ έχει αναφερθεί ότι έχει ανασταλτική δράση έναντι της ελκώδους κολίτιδας και ηπατοπροστατευτική δράση καταστέλλοντας ανοσομεσολαβητές όπως η ιντερλευκίνη-6, η ιντερφερόνη- γ και ο παράγοντας νέκρωσης όγκου- α .

Στη μελέτη που διεξήχθη από τους N.Ishimata, H.Ito, A.Tai διερευνήθηκαν χημικές δομές που έχουν ισχυρή ανασταλτική δράση αποκοκκίωσης ελέγχοντας διάφορα παράγωγα και ανάλογα με βάση τη δομή του βανιλικού οξέος. Στον φαίνονται οι εστέρες του βανιλικού οξέος που συνέθεσαν ως ομάδα.

Πίνακας 5: Εστέρες βανιλικού οξέος που συντέθηκαν από τους N.Ishimata, H.Ito, A.Tai.

	Ένωση
--	-------

1	
2	
3	
4	
5	
6	

Η ανασταλτική δράση της αποκοκκίωσης των παραγώγων εστέρα βανιλικού οξέος που διαθέτουν ευθείες αλυσίδες από C₁ έως C₄ έτεινε να αυξάνεται με την αύξηση του μήκους της εστερικής τους ομάδας. Το παράγωγο 5, δηλαδή ο εστέρας του βανιλικού με τη βουτανόλη, έδειξε περίπου τρεις φορές υψηλότερη ανασταλτική δράση από εκείνη

της ένωσης 1, δηλαδή του εστέρα του βανιλικού με τη μεθανόλη. Αντίθετα, ένας εστέρας διακλαδισμένης αλυσίδας είχε χαμηλότερη δραστηριότητα από αυτή ενός εστέρα ευθείας αλυσίδας. Στην πραγματικότητα, η ισχύς του παραγώγου 4 με διακλαδισμένη αλυσίδα ήταν περίπου 30% χαμηλότερη από εκείνη του παραγώγου 3 που διαθέτει ευθεία αλυσίδα. Τέλος, η ένωση 6 δηλαδή ο εστέρας του βανιλικού με την οκτανόλη είχε αυξημένη αποκοκκίωση που προκαλείται από κυτταροτοξικότητα. (Nao Ishimata, 2016)

2. ΑΝΤΗΛΙΑΚΑ ΚΑΙ ΦΩΤΟΓΗΡΑΝΣΗ

2.1. Εισαγωγικά

Η χρόνια έκθεση στον ήλιο είναι γνωστό από καιρό ότι προκαλεί φωτογήρανση, μια διαδικασία κατά την οποία το δέρμα υφίσταται αλλαγές στο επιδερμικό πάχος, αυξάνει την ετερογένεια της χρωστικής και τη δερματική ελαστικότητα, την αποικοδόμηση του κολλαγόνου στο δέρμα, την ανάπτυξη εκτατικών αγγείων και την αύξηση της μεταλλαξιγένεσης των κερατινοκυττάρων και των μελανοκυττάρων στο δέρμα.

Στη σημερινή κοινωνία, η αξία που αποδίδεται στη νεανική εμφάνιση αντικατοπτρίζεται στη βιομηχανία πολλών δισεκατομμυρίων δολαρίων που επικεντρώνεται στα προϊόντα αντιγήρανσης. Έχει αναφερθεί ότι περίπου το 80% της γήρανσης του δέρματος στο πρόσωπο μπορεί να αποδοθεί στην έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία (UV). Επομένως, παρά την έμφαση που δίνει η αγορά στην αναστροφή της γήρανσης του δέρματος, η καλύτερη άμυνα ενάντια στις δερματικές αλλαγές που σχετίζονται με την ηλικία είναι μέσω της πρόληψης με αυστηρή φωτοπροστασία. (Aubri J. Thompson, 2021)

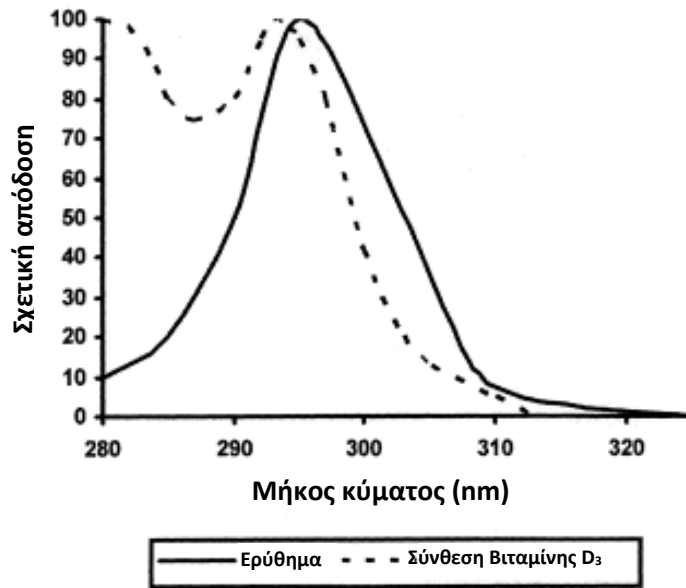
Τα αντηλιακά έχουν γίνει ευρέως γνωστά εδώ και 40 χρόνια και αποτελούν τον πιο δημοφιλή τρόπο προστασίας ενάντια στην υπεριώδη ακτινοβολία. Τα αντηλιακά είναι οργανικά ή ανόργανα φίλτρα τέτοιου είδους ακτινοβολίας, για τοπική εφαρμογή στο δέρμα. Αρχικά αναπτύχθηκαν για την πρόληψη του ηλιακού ερυθήματος, όμως έχουν εντοπιστεί κι άλλες επιβλαβείς επιδράσεις της υπεριώδους ακτινοβολίας (UVR) όπως η γήρανση του δέρματος, η δερματική ανοσοκαταστολή και η καρκινογένεση, οι χρήστες

αντηλιακών και οι δερματολόγοι αναμένουν ότι τα αντηλιακά είναι αποτελεσματικά και έναντι αυτών των προβλημάτων. (Bens, 2014)

2.2. Υπεριώδης Ακτινοβολία (UV)

Τα πιο σημαντικά βιολογικά, ενεργά, λειτουργικά συστατικά του φάσματος ακτινοβολίας UV είναι τα συστατικά UVA (~320-400 nm) και UVB (~290-320 nm). Η UVA κατηγοριοποιείται περαιτέρω ως UVA₁ (~340–400 nm) και UVA₂ (~320–340 nm). Η UVC είναι το μικρότερο μήκος κύματος και θεωρείται ο πιο επιβλαβής τύπος UVR. Ωστόσο, απορροφάται πλήρως από το όζον και δεν φτάνει στην επιφάνεια της γης. Η UVB είναι υπεύθυνη για πιο σοβαρές βλάβες στο δέρμα, με οξεία ερυθματογόνο δράση και μακροχρόνια καρκινογόνο δράση, προκαλώντας φωτογήρανση και μεταλλαξιογόνο βλάβη στα νουκλεϊκά οξέα. Η UVA, απορροφάται λιγότερο από το δέρμα, διεισδύει βαθύτερα από την UVB και είναι λιγότερο ερυθματογόνος, προκαλεί άμεση κυτταρική βλάβη, καρκινογένεση και συμβάλλει στη φωτογήρανση. (Linna L. Guan, 2021) (Iffat Hassan, 2013)

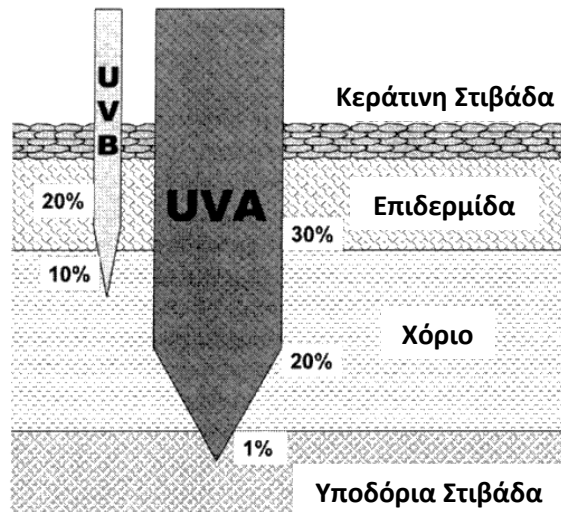
Η ηλιακή ακτινοβολία τροποποιείται σημαντικά από την ατμόσφαιρα της γης με το όζον στη στρατόσφαιρα να είναι ο κύριος φωτοπροστατευτικός παράγοντας που απορροφά την κοσμική ακτινοβολία υψηλής ενέργειας, τη UVCR (200-280 nm) και τη UVBR βραχέων κυμάτων έως 290 nm. Λιγότερο από το 5% του ηλιακού φωτός που φτάνει στην επιφάνεια της γης είναι UVR, με αναλογία UV A προς UVB περίπου 20:1, ανάλογα με το γεωγραφικό πλάτος, το υψόμετρο, την εποχή του έτους, την ώρα της ημέρας και τις μετεωρολογικές συνθήκες.



Σχήμα 4: Φάσμα δράσης UVR για το ηλιακό ερύθημα τη σύνθεση της βιταμίνης D₃.

2.3. Επίδραση της υπερϊώδους ακτινοβολίας στην υγεία

Η UVA διεισδύει πιο βαθιά στο δέρμα από ότι η UVB. Το μεγαλύτερο μέρος (70%) της UVB απορροφάται ή διασκορπίζεται από την κεράτινη στιβάδα. Το 20% της UVB φτάνει στα ζωντανά κύτταρα στην επιδερμική ακανθώδη στιβάδα και το 10% στο επιφανειακό δέρμα. Η UVA και το ορατό φως φιλτράρονται λιγότερο από την κεράτινη στιβάδα, αλλά μετά την απορρόφηση από τη μελανίνη, το 30% της UVA χτυπά τα βασικά κύτταρα



Σχήμα 5: Διείσδυση της UV ακτινοβολίας στο δέρμα.

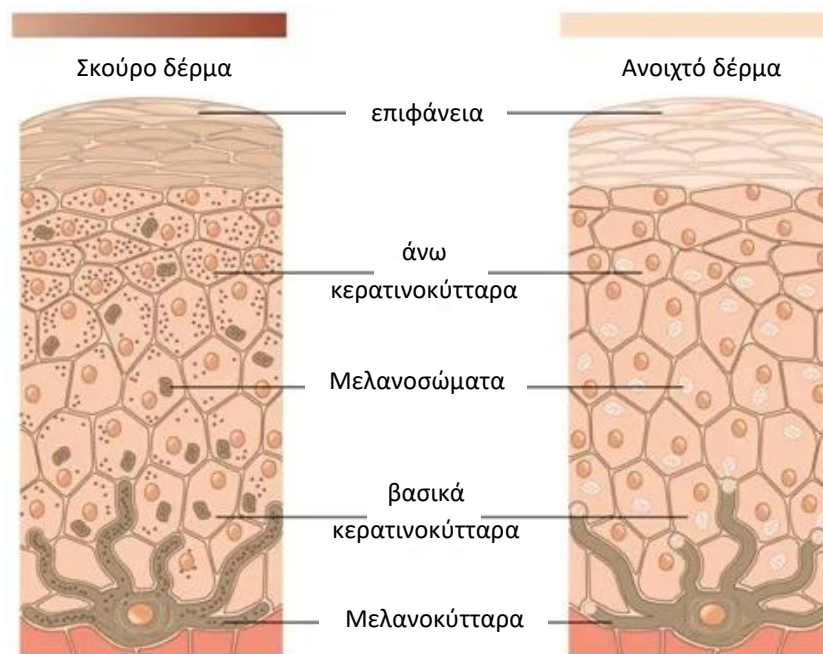
της επιδερμίδας και το 20% φτάνει στο δικτυωτό χόριο. Ένα τοις εκατό της UVA₁ διεισδύει μέχρι τα όρια της υποδόριας στιβάδας. (Bens, 2014)

Τα επιδερμικά χρωμοφόρα με φάσματα απορρόφησης εντός της περιοχής UVB είναι το ουροκανικό οξύ, η μελανίνη, τα αρωματικά αμινοξέα όπως η τρυπτοφάνη και η τυροσίνη στις επιδερμικές πρωτεΐνες και το πυρηνικό DNA. Ένας κύριος στόχος για τις UVB και UVA₂ είναι τα νουκλεοτίδια.

Αν και η UVB αντιπροσωπεύει περίπου το 6% όλων των UVR που φθάνει στην επιφάνεια της γης, είναι πιο κυτταροτοξική από την UVA. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την απορρόφηση της υπεριώδους ακτινοβολίας από τις βάσεις πυριμιδίνης και πουρίνης προκαλώντας άμεση βλάβη στο DNA κι έτσι σχηματίζονται διμερή πυριμιδίνης κυκλοβουτανίου (CPDs) αλλά και φωτοπροϊόντα πυριμιδίνης (6-4) πυριμιδόνης. Αυτά τα φωτοπροϊόντα DNA αποκόπτονται συνεχώς από ένζυμα επιδιόρθωσης DNA αλλά είναι ικανά να προκαλέσουν μεταλλαξιγένεση και καρκίνους του δέρματος. Η UVB έχει αποδειχθεί ότι σχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με την ανάπτυξη ακανθοκυτταρικών καρκινωμάτων.

Ενώ οι επιδράσεις της UVB στο δέρμα προκύπτουν από την άμεση απορρόφηση των φωτονίων της UVB από τα μόρια-στόχους, οι επιδράσεις της UVA προκαλούνται κυρίως από το σχηματισμό ριζών. Η απορρόφηση της UVA από κατάλληλα χρωμοφόρα όπως ουροκανικό οξύ, NADH, φλαβίνες και ακόρεστα λιπίδια προωθεί αυτά τα μόρια σε διεγερμένες καταστάσεις. Η διασπορά αυτής της ενέργειας λαμβάνει χώρα είτε με εσωτερική μετατροπή που μπορεί να δημιουργήσει μια οργανική ρίζα, είτε, πιο συχνά, με αντίδραση με οξυγόνο, το οποίο βρίσκεται σε ιστούς ή με μόρια που περιέχουν οξυγόνο και οδηγούν στο σχηματισμό των λεγόμενων αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (ROS). Τα ROS είναι ασταθή και εξαιρετικά χημικά αντιδραστικά μόρια που μπορούν να προκαλέσουν υπεροξειδωση λιπιδίων στο πλάσμα, τις πυρηνικές και μιτοχονδριακές μεμβράνες. Μπορούν να βλάψουν τις κυτταρικές πρωτεΐνες και να προκαλέσουν σπασίματα των κλώνων του DNA και οξειδωση των νουκλεϊκών οξέων.

Αυτές οι μεταλλάξεις που δημιουργούνται από το οξειδωτικό στρες δεν επάγουν την p53, η οποία είναι μια προαποπτωτική πρωτεΐνη που βοηθά στην εξάλειψη των κυττάρων στα οποία το DNA είναι πολύ κατεστραμμένο για να επισκευαστεί και επομένως διαφεύγει πιο εύκολα τον αποπτωτικό έλεγχο. Τα μελανοκύτταρα φαίνεται να είναι πιο επιρρεπή στη βλάβη του DNA που προκαλείται από την UVA από τα κερατινοκύτταρα. Οι πυριμιδίνες δεν σχηματίζονται μόνο από την άμεση UVBR αλλά και από το οξειδωτικό στρες μετά από ακτινοβολία UVA. Η επιδιόρθωση του DNA των διμερών πυριμιδίνης που προκαλείται από το UVAR είναι λιγότερο αποτελεσματική από την επιδιόρθωση της εκτομής της βλάβης του DNA που προκαλείται από την UVB. (Linna L. Guan, 2021) (Bens, 2014)



Εικόνα 1: Ανατομία του δέρματος.

2.4. Σύνθεση αντηλιακών σκευασμάτων

Γενικά, η διαμόρφωση ενός νέου αντηλιακού προϊόντος μπορεί να περιγραφεί ως μια σειρά τεσσάρων βασικών βημάτων: (i) καθορισμός στόχων σχεδιασμού προϊόντος, (ii) επιλογή του ενεργού συστήματος αντηλιακού, (iii) επιλογή/διαμόρφωση του προϊόντος-

οδηγού και (iv) βελτιστοποίηση του προϊόντος. Το τελικό αποτέλεσμα αυτής της διαδικασίας τεσσάρων βημάτων είναι ένα βελτιστοποιημένο αντηλιακό προϊόν που οι άνθρωποι θα χρησιμοποιούν τακτικά και σωστά.

Η απόδοση της πραγματικής υπεριώδους ακτινοβολίας εξαρτάται όχι μόνο από την κλινική αποτελεσματικότητα του αντηλιακού προϊόντος, αλλά και από τη σχέση συχνότητας - δόσης, μια άλλη βασική αρχή της σύνθεσης του αντηλιακού προϊόντος. Πιο συγκεκριμένα, εξετάζεται το πόσο τακτικά χρησιμοποιείται το προϊόν (συχνότητα) αλλά και πόσο προϊόν εφαρμόζεται σε κάθε χρήση (δόση).

Έτσι, η σχέση αυτή είναι το κλειδί για την αποτελεσματική προστασία του αντηλιακού στον πραγματικό κόσμο και, ως εκ τούτου, θα πρέπει να αποτελεί βασικό γενικό στόχο της σύνθεσης του αντηλιακού προϊόντος. Παρακάτω περιγράφονται τα βήματα που απαιτούνται για τη σύνθεση ενός αντηλιακού.

Βήμα 1^ο : Καθορισμός στόχων σχεδιασμού προϊόντος

Αν και ορισμένες απαιτήσεις προϊόντος είναι καθολικές, όπως το προϊόν να είναι ασφαλές στη χρήση, να έχει επαρκή μικροβιακή συντήρηση και να είναι φυσικά σταθερό υπό τυπικές συνθήκες αποθήκευσης, υπάρχουν πολλές μοναδικές επιλογές που πρέπει να γίνουν κατά το σχεδιασμό ενός αντηλιακού προϊόντος, όπως:

- ⊗ Τύπος προϊόντος: Το προϊόν θα είναι αντηλιακό παραλίας, ενυδατική κρέμα, foundation ή αντιγηραντικό προϊόν και σε ποιο σημείο του σώματος θα χρησιμοποιηθεί;
- ⊗ Μορφή προϊόντος: Το προϊόν θα είναι λοσιόν, κρέμα, σπρέι, στικ, τζελ ή μαντηλάκι;
- ⊗ Στόχοι αποτελεσματικότητας UV: Ποιος είναι ο επιθυμητός δείκτης αντηλιακής προστασίας (SPF); Θα παρέχει το προϊόν αξιώσεις UVA ή ευρέος φάσματος και θα πρέπει το προϊόν να είναι ανθεκτικό στο νερό;
- ⊗ Περιορισμοί κόστους: Συγκεκριμένα, πόσα χρήματα είναι διαθέσιμα ανά μονάδα για τη σύνθεση και τη συσκευασία του προϊόντος;

- ☼ Πού θα κυκλοφορήσει το προϊόν: Αυτό είναι πολύ σημαντικό, επειδή οι κανονισμοί για τα αντηλιακά προϊόντα διαφέρουν σημαντικά σε όλο τον κόσμο.

Βήμα 2^ο: Επιλογή του ενεργού συστήματος αντηλιακού



Εικόνα 2: Αριστερά, αντηλιακό σε μορφή κρέμας και δεξιά, αντηλιακό σε μορφή σπρέι.

Αφού τεθούν οι στόχοι σχεδιασμού του προϊόντος, στη συνέχεια πρέπει να αποφασιστεί ο τρόπος διαμόρφωσης του βέλτιστου προϊόντος που θα ικανοποιεί τους παραπάνω στόχους. Είναι σημαντικό, τα ενεργά συστατικά του αντηλιακού να διαχειρίζεται αποτελεσματικά διάφορους παράγοντες όπως η αίσθηση του δέρματος, ερεθισμός του δέρματος και το κόστος. Επιδιώκεται λοιπόν, τα αντηλιακά ενεργά συστατικά να έχουν με διαφορά τη μεγαλύτερη επίδραση σε όλους αυτούς τους παράγοντες, και ως εκ τούτου η επιλογή ενός ενεργού αντηλιακού συστήματος είναι συχνά το σημείο εκκίνησης για τη διαμόρφωση ενός νέου αντηλιακού προϊόντος.

Τα ενεργά συστατικά του αντηλιακού λειτουργούν μειώνοντας το ηλιακό φως UV απορροφώντας, αντανακλώντας ή διασκορπίζοντας το. Το μέγεθος και το εύρος της εξασθένησης της υπεριώδους ακτινοβολίας ποικίλλει ευρέως μεταξύ των διαφορετικών ενεργών συστατικών του αντηλιακού, με ορισμένα ενεργά συστατικά να εξασθενούν κυρίως τις ακτίνες UVB με μήκη κύματος από 290 έως 320 nm. Έτσι, για να διαμορφωθεί ένα αντηλιακό προϊόν που παρέχει ταυτόχρονα υψηλό SPF και προστασία από ένα ευρύ φάσμα μηκών κύματος UV (UVA εκτός από UVB) απαιτεί τη χρήση πολλαπλών αντηλιακών δραστικών συστατικών σε συνδυασμό για να επιτευχθεί το απαραίτητο μέγεθος και εύρος εξασθένησης της UV.

Από την άποψη της σύνθεσης, τα αντηλιακά ενεργά συστατικά μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε τέσσερις ομάδες με βάση τις φυσικές τους ιδιότητες: πολικά έλαια, ελαιοδιαλυτά κρυσταλλικά στερεά, υδατοδιαλυτά άλατα και αδιάλυτα σωματίδια. Όλα έχουν τη δική του αίσθηση και όψη στο δέρμα, ιδιαίτερα όταν χρησιμοποιούνται σε μεγαλύτερες ποσότητες.

- ☼ Τα πολικά έλαια. Αυτά τα λιπαρά υλικά, ωστόσο, τείνουν να κάνουν τα προϊόντα να αισθάνονται λιπαρά στο δέρμα, ειδικά σε υψηλά επίπεδα.
- ☼ Τα ελαιοδιαλυτά κρυσταλλικά στερεά, απαιτούν σχετικά υψηλά επίπεδα ελαιωδών διαλυτών/ενυδατικών για να διαλυθούν και να μην κρυσταλλωθούν στο προϊόν με την πάροδο του χρόνου.
- ☼ Τα υδατοδιαλυτά άλατα, τείνουν να μειώσουν την ικανότητα πήξης των κοινώς χρησιμοποιούμενων υδατικών πολυμερών. Αυτό οδηγεί στη χρήση πολύ υψηλότερων επιπέδων πολυμερούς για την επίτευξη της στοχευόμενης πήξης προϊόντος κι έτσι το προϊόν να κάθεται βαρύ ή κολλώδες στο δέρμα.
- ☼ Τα αδιάλυτα σωματίδια, όπως το οξείδιο του ψευδαργύρου και το διοξείδιο του τιτανίου, μπορούν να κάνουν τα προϊόντα να αισθάνονται ξηρά και συχνά να οδηγήσουν σε ανεπιθύμητη λευκή χρώση στο δέρμα.

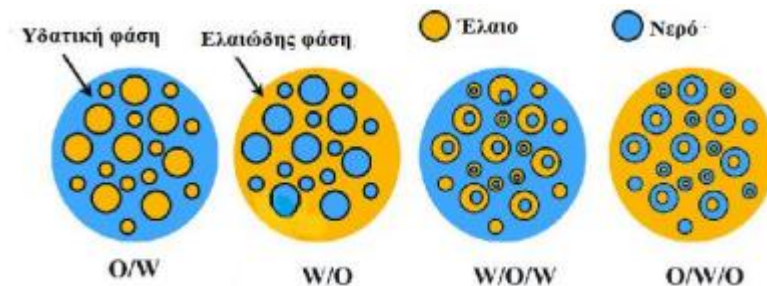
Μία ακόμη βασική αρχή της σύνθεσης του αντηλιακού προϊόντος είναι η αποτελεσματικότητα, η ελαχιστοποίηση δηλαδή της ποσότητας των ενεργών αντηλιακών συστατικών που απαιτούνται για την επίτευξη ενός δεδομένου στόχου και ως εκ τούτου χαμηλότερου κόστους, λιγότερο ερεθιστικών και καλύτερης αίσθησης αντηλιακών προϊόντων που οι άνθρωποι θα χρησιμοποιούν πιο τακτικά.

Προκειμένου να επιτευχθεί αύξηση της αποτελεσματικότητας των ενεργών συστατικών των αντηλιακών, υπάρχουν ορισμένες προσεγγίσεις. Πρώτον η χρήση φωτοσταθερών ενεργών συστημάτων είναι σημαντική για τη διατήρηση της αποτελεσματικότητας των αντηλιακών. Αυτή η απώλεια στην αποτελεσματικότητα της υπερϊώδους ακτινοβολίας για φωτοασταθή ενεργά συστατικά οφείλεται σε μια αλλαγή στη μοριακή δομή του αντηλιακού, όπως ο ισομερισμός, η αποικοδόμηση ή ακόμη και χημική αντίδραση με

άλλα συστατικά του προϊόντος. Γι' αυτό το λόγο είναι καταλυτική η χρήση πρόσθετων συστατικών ικανών να φωτοσταθεροποιούν τα εγγενώς φωτοασταθή ενεργά συστατικά.

Δεύτερη προσέγγιση αποτελεί η επαρκής διασκόρπιση των σωματιδιακών ενεργών συστατικών του αντηλιακού. Για μέγιστη απόδοση υπεριώδους ακτινοβολίας, συνιστάται η χρήση συνδυασμού χημικής (βοηθητικά διασποράς) και μηχανικής (εξοπλισμός υψηλής διάτμησης) ενέργειας για την επίτευξη και τη διατήρηση επαρκούς διασποράς αυτών των σωματιδιακών ενεργών αντηλιακών συστατικών.

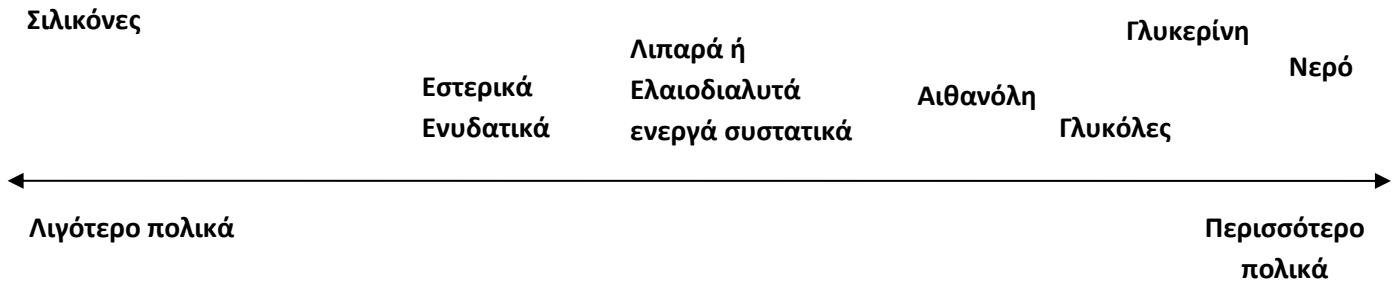
Τέλος, η χρήση των ενεργών συστατικών σε όλες τις φάσεις παραγωγής του προϊόντος. Τα περισσότερα αντηλιακά προϊόντα που διατίθενται στο εμπόριο είναι συστήματα γαλακτώματος που αποτελούνται τόσο από υδατίνες όσο και από ελαιώδεις φάσεις. Με τη σύνθεση ενεργών αντηλιακών σε καθεμία από αυτές τις δύο φάσεις, όλες οι περιοχές του φιλμ του προϊόντος στο δέρμα περιλαμβάνουν ενεργά συστατικά, ως εκ τούτου, συχνά προκύπτει ανώτερη αποτελεσματικότητα του αντηλιακού.



Σχήμα 6: Αναπαράσταση των διαφορετικών τύπων γαλακτωμάτων

Βήμα 3^ο : Επιλογή / Διαμόρφωση του προϊόντος-οδηγού.

Η κυριότερος προβληματισμός για την κατάλληλη επιλογή οδηγού, σχετίζεται με την πολικότητα και την υδροφοβία των υλικών. Έτσι γίνεται η κατηγοριοποίηση με πολύ μη πολικά ή υδρόφοβα υλικά όπως ορυκτέλαιο και σιλικόνες στο ένα άκρο της κλίμακας και πολύ πολικά ή υδρόφιλα υλικά όπως νερό, γλυκερίνη και γλυκόλες στο άλλο τέλος της κλίμακας όπως φαίνεται στο Σχήμα 7.



Σχήμα 7: Ταξινόμηση συστατικών των αντηλιακών κατά πολικότητα, που κυμαίνεται από ελαιώδη ή υδρόφοβα υλικά χαμηλής πολικότητας έως υλικά υψηλής πολικότητας ή υδρόφιλα.

Όλα τα συστατικά που χρησιμοποιούνται στα αντηλιακά προϊόντα μπορούν στη συνέχεια να τοποθετηθούν σε αυτήν την κλίμακα, με υλικά που έχουν παρόμοια πολικότητα και είναι αμοιβαία διαλυτά (τα όμοια διαλύουν τα όμοια) και τα υλικά με πολύ διαφορετική πολικότητα γενικά δεν είναι συμβατά μεταξύ τους.

Τα προϊόντα μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ανάλογα με τη βάση τους. Δηλαδή εάν είναι με βάση το νερό, το λάδι, γαλακτώματα με βάση αιθανόλη/έλαιο ή γαλακτώματα που περιέχουν τόσο υδάτινες όσο και ελαιώδεις φάσεις, καθώς και από το αν είναι λεπτά, παχιά ή ακόμα και στερεά.

- ❖ Τα προϊόντα με βάση το έλαιο κυμαίνονται από λεπτά έλαια και ελαιώδη σπρέι έως παχύρρευστα τζελ και αλοιφές αλλά και στερεά σκευάσματα σε μορφή στικ, με τη μόνη διαφορά μεταξύ αυτών των διαφόρων μορφών προϊόντων με βάση το λάδι να είναι η ποσότητα του πηκτικού παράγοντα.

- ☼ Τα προϊόντα με βάση το νερό είναι ουσιαστικά ανύπαρκτα στην αγορά, κυρίως λόγω του περιορισμένου αριθμού υδατοδιαλυτών ενεργών αντηλιακών συστατικών και της κακής αντοχής στο νερό και τον ιδρώτα αυτών των σκευασμάτων.
- ☼ Λόγω των μοναδικών ιδιοτήτων φερεγγυότητας και πτητικότητας της αιθανόλης, τα αντηλιακά προϊόντα με βάση την αιθανόλη μπορούν να ξεπεράσουν πολλά από τα προβλήματα που σχετίζονται με τα αντηλιακά σκευάσματα με βάση το έλαιο και το νερό. Πιο συγκεκριμένα, σε αντίθεση με το νερό, η αιθανόλη είναι αναμίξιμη με τα περισσότερα από τα λιπαρά ή ελαιοδιαλυτά αντηλιακά ενεργά συστατικά. Επιπλέον η αιθανόλη εξατμίζεται γρήγορα, μειώνοντας έτσι την ποσότητα του υπολειμματικού υλικού που μένει στο δέρμα και βελτιώνοντας την αίσθηση του δέρματος του προϊόντος. Ωστόσο τα προϊόντα με βάση την αιθανόλη μπορεί να είναι ξηρά και ελαφρώς ερεθιστικά στο δέρμα.
- ☼ Προϊόντα με βάση το γαλάκτωμα, δηλαδή αντηλιακές λοσιόν και κρέμες είναι η πιο κοινή μορφή προϊόντος στην αγορά. Όσον αφορά τη σύνθεση της φόρμουλας, αυτές οι λοσιόν και οι κρέμες είναι γαλακτώματα, ή σταθεροποιημένες διασπορές ενός υγρού σε άλλο υγρό, με τη βασική διαφορά να είναι το ιξώδες. Το βασικό πρόβλημα με αυτή τη μορφή αντηλιακών προϊόντων είναι η σταθεροποίησή τους. Οι δύο κύριες προκλήσεις στη σταθεροποίηση των γαλακτωμάτων είναι να αποτραπεί ο συνδυασμός των σταγόνων διεσπαρμένης φάσης και να αποτραπεί η κατακόρυφη κίνηση των διασκορπισμένων σταγόνων υπό την επίδραση της βαρύτητας λόγω της διαφοράς στις πυκνότητες των φάσεων του γαλακτώματος.

Βήμα 4^ο : Βελτιστοποίηση του προϊόντος

Μόλις επιλεγεί το αρχικό ενεργό σύστημα αντηλιακού και το αρχικό προϊόν-οδηγός με βάση τους στόχους σχεδιασμού του προϊόντος, η επίτευξη μιας τελικής φόρμουλας που

ικανοποιεί όλους τους διάφορους στόχους σχεδιασμού συχνά περιλαμβάνει μια επαναληπτική διαδικασία δοκιμής, τροποποίησης της σύνθεσης και επανέλεγχου.

1. Δοκιμή αποτελεσματικότητας με υπεριώδη ακτινοβολία, τυπικά με τη χρήση γρήγορων και φθηνών in-vitro δοκιμών αποτελεσματικότητας UV για την αξιολόγηση και τη βελτιστοποίηση της απόδοσης SPF και UVA των πρώιμων πρωτοτύπων. Τα βελτιστοποιημένα σκευάσματα τοποθετούνται σε κλινικές δοκιμές in vivo για να επιβεβαιωθεί ο δείκτης προστασίας SPF και η αντοχή τους στο νερό ή η in vivo UVA αποτελεσματικότητά τους, εάν χρειάζεται.
2. Αξιολογήσεις της αίσθησης του δέρματος, είτε από ομάδες ειδικών είτε από πραγματικούς καταναλωτές για να επιβεβαιωθεί ότι το προϊόν έχει αποδεκτή αισθητική κατά τη χρήση.
3. Δοκιμές σταθερότητας, συμπεριλαμβανομένων των αξιολογήσεων φυσικής και χημικής σταθερότητας, και μικροβιακών δοκιμών για να διασφαλιστεί η επαρκής διατήρηση του προϊόντος.
4. Δοκιμή μετανάστευσης για προϊόντα προσώπου, που περιλαμβάνει τη μέτρηση του ρυθμού εξάπλωσης του αντηλιακού προϊόντος μετά την εφαρμογή του στο δέρμα, συνήθως παρακολουθώντας την κίνηση των ενεργών συστατικών του αντηλιακού στο δέρμα μέσω τεχνικών φθορισμού.

Αυτού του είδους η βελτιστοποίηση θα μπορούσε να κρατήσει επ' αόριστον, ωστόσο λόγω περιορισμένου χρόνου και χρημάτων συχνά οι εταιρίες επιλέγουν έναν βελτιστοποιημένο τύπο για να βγει στην αγορά. Εάν τηρηθούν οι βασικές αρχές, το τελικό αποτέλεσμα αυτής της προσπάθειας σύνθεσης σε τέσσερα βήματα είναι ένα βελτιστοποιημένο προϊόν που ανταποκρίνεται καλύτερα στους στόχους σχεδιασμού του προϊόντος και που θα επιτύχει υψηλό επίπεδο συμμόρφωσης μεταξύ των καταναλωτών που αγοράζουν το προϊόν. (Tanner, 2006)

2.5. Αντηλιακά Φίλτρα

Ένα ιδανικό αντηλιακό θα ήταν ένας συνδυασμός φυσικών και χημικών παραγόντων, ευρέος φάσματος, καλλυντικά κομψό, μη ερεθιστικό, υποαλλεργικό, μη φαγεσωρογόνο και οικονομικό. Λόγω της ευκολίας χρήσης τους, τα τοπικά αντηλιακά είναι το πιο κοινό φωτοπροστατευτικό μέτρο κατά τη χρήση. Τα τοπικά αντηλιακά περιλαμβάνουν τις ακόλουθες κατηγορίες σκευασμάτων:

- i. Αυτά που αντανακλούν ή διασκορπίζουν φωτόνια UV (φυσικά αντηλιακά),
- ii. Αυτά που τα απορροφούν, αποτρέποντας την επίδρασή τους στα κύτταρα του δέρματος (χημικά αντηλιακά),
- iii. Παρασκευάσματα με αντιοξειδωτικές ιδιότητες (Iffat Hassan, 2013)

Με λίγες εξαιρέσεις, τα αντηλιακά περιέχουν χημικά φίλτρα (οργανικά, απορροφούν κυρίως την ακτινοβολία UVB) και φυσικά φίλτρα (π.χ. TiO_2 και ZnO). Τα τελευταία λέγεται ότι εμποδίζουν το ηλιακό φως UVB/UVA μέσω της αντανάκλασης και της σκέδασης.

2.5.1. Ανόργανα (Φυσικά) Φίλτρα

Τα ανόργανα αντηλιακά είναι σκευάσματα που περιέχουν αδιαφανή σωματίδια (διαμέτρου 0,1-1 nm), τα οποία δρουν διασκορπίζοντας, αντανακλώντας ή απορροφώντας την ηλιακή ακτινοβολία στο φάσμα της υπεριώδους και της ορατής ακτινοβολίας. Η ικανότητα ορισμένων ορυκτών να δρουν ως τα λεγόμενα φυσικά φίλτρα στις αντηλιακές λοσιόν καθορίζεται από τον ανακλαστικό δείκτη, το μέγεθος σωματιδίων, τη διασπορά στη βάση και το πάχος του φιλμ που δημιουργεί στο δέρμα.

Ένα ανόργανο ορυκτό αντηλιακό που λειτουργεί καλά στην αντανάκλαση του φωτός, ωστόσο, τείνει να είναι αδιαφανές και λευκό στο δέρμα και κατά συνέπεια δε θεωρείται αποδεκτό για καλλυντική χρήση. Διάφοροι τύποι ανόργανων αντηλιακών παραγόντων που διατίθενται περιλαμβάνουν: α) Οξείδιο ψευδαργύρου (ZnO), β) Διοξείδιο του τιτανίου (TiO_2). Η καλλυντική αποδοχή των αντηλιακών οξειδίων μετάλλου απαιτεί το μέγεθος σωματιδίων του TiO_2 και του ZnO να είναι περίπου 20-50 νανόμετρα (nm).

Περιστασιακά, προστίθενται χρωστικές ουσίες οξειδίου του σιδήρου (Fe_2O_3) για να δώσουν στο καλλυντικό μια καφέ απόχρωση για τη βελτίωση της εμφάνισης του αντηλιακού προϊόντος. Τα λεγόμενα μικρονισμένα σωματίδια οξειδίων μετάλλων χρησιμοποιούνται σε καλλυντικά προϊόντα καθώς ενσωματώνονται εύκολα σε γαλακτώματα, είναι διαφανή στην ορατή ακτινοβολία, η ανάκλαση από την επιφάνεια των σωματιδίων είναι ελάχιστη και σε ορισμένες περιπτώσεις (TiO_2 και ZnO) η απορρόφηση μεγιστοποιείται. Τέλος, τέτοια μικρά σωματίδια διασκορπίζουν τα μήκη κύματος UVB και UVA περισσότερο από τα μεγαλύτερα μήκη κύματος ορατού φωτός.

2.5.2. Οργανικά Χημικά Φίλτρα

Τα χημικά οργανικά φίλτρα ταξινομούνται είτε σε φίλτρα UVA (βενζοφαινόνες, ανθρανιλικά και διβενζολιομεθάνια) είτε σε φίλτρα UVB (παράγωγα PABA, σαλικυλικά, κινναμικά και παράγωγα καμφοράς). Οι αντηλιακές λοσιόν που περιέχουν αυτά τα ενεργά συστατικά ή/και ανόργανα φίλτρα υπεριώδους ακτινοβολίας συνήθως διατίθενται στο εμπόριο ως καλλυντικά προϊόντα στις περισσότερες χώρες, εκτός από ορισμένες, όπως για παράδειγμα στις Ηνωμένες Πολιτείες όπου αντιμετωπίζονται ως φάρμακα χωρίς ιατρική συνταγή και ρυθμίζεται έτσι από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ. Τα πιο συνήθη χρησιμοποιούμενα φαίνονται στον Πίνακα 6. (Nick Serpome, 2007) (Iffat Hassan, 2013)

Πίνακας 6: Τα πιο συνήθη χρησιμοποιούμενα οργανικά συστατικά.

Φίλτρα UVB	Φίλτρα UVA
1. Παράγωγα PABA α) 4-αμινοβενζοϊκό οξύ β) PABA	1. Βενζοφαινόνες α) Οξυβενζόνες β) Σουλισοβενζόνη γ) Διοξυβενζόνη
2. Κινναμικά α) Octinoxate β) Cinoxate	2. Διβενζολιομεθάνια α) Αβοβενζόνη ή Parsol 1789

3. Σαλικυλικά α) Octisalate β) Homosalate γ) Τρολαμίνη	3. Ανθρανιλικά α) Μεραδιμικά
4. Άλλα α) Octocrylene β) Ενσουλιζόλη	

2.6. Παράγοντας αντηλιακής προστασίας (SPF)

Η πρώτη έκθεση για την αξιολόγηση της προστατευτικής αποτελεσματικότητας των αντηλιακών έγινε από τον Friedrich Ellinger το 1934 στην οποία ο συγγραφέας προσδιόρισε την ελάχιστη ερυθματογόνος δόση (Minimal Erythema Dose, MED) για προστατευμένο και απροστάτευτο δέρμα, χρησιμοποιώντας τόσο τους πήχεις όσο και μια λάμπα υδραργύρου. Πρότεινε έναν συντελεστή προστασίας, του οποίου η τιμή μειωνόταν καθώς ο βαθμός προστασίας αυξανόταν.

Το 1956, ο Rudolf Schulze αξιολόγησε τα αντηλιακά που διατίθενται στο εμπόριο υπολογίζοντας έναν παράγοντα προστασίας, που αργότερα ονομάστηκε «Συντελεστής Schulze». Ο συγγραφέας διαίρεσε τον χρόνο έκθεσης που απαιτείται για την πρόκληση ερυθήματος σε προστατευμένο με αντηλιακό δέρμα με τον χρόνο που απαιτείται για την παραγωγή ερυθήματος σε μη προστατευμένο δέρμα, χρησιμοποιώντας αυξητικές δόσεις ακτινοβολίας που εκπέμπεται από λαμπτήρες με φάσμα ακτινοβολίας πιο κοντά στο ηλιακό φως.

Μόλις το 1974 εισήχθη ο όρος Δείκτης Αντηλιακής Προστασίας (SPF) από τον Greiter, αποτελώντας απλώς ένα νέο όνομα για την ήδη γνωστή «μέθοδο Schulze». Ο Δείκτης Αντηλιακής Προστασίας, που προτάθηκε από τον Greiter, έγινε γρήγορα δημοφιλής και χρησιμοποιήθηκε παγκοσμίως. (Iffat Hassan, 2013)

Τη σημερινή εποχή η δράση ενός αντηλιακού κρίνεται με βάση τον δείκτη αντηλιακής προστασίας (SPF), ο οποίος μετρά την ικανότητά του να μπλοκάρει την υπεριώδη

ακτινοβολία. Ο δείκτης SPF ορίζεται ως το κλάσμα της ελάχιστης δόσης ερυθρήματος (ΕΔΕ) με εφαρμογή αντηλιακού προς την ΕΔΕ χωρίς εφαρμογή αντηλιακού και μετράται χρησιμοποιώντας προσομοιωμένη ηλιακή ακτινοβολία και καθορισμένη πυκνότητα εφαρμογής αντηλιακού (2 mg/cm²). Δηλαδή αναπαρίσταται σύμφωνα με την εξίσωση:

$$SPF = \frac{ΕΔΕ \text{ σε προστατευμένο δέρμα}}{ΕΔΕ \text{ σε μη προστατευμένο δέρμα}}$$

Υψηλότερο SPF σημαίνει υψηλότερη αποτελεσματικότητα. Τα αντηλιακά υψηλού δείκτη προστασίας περιέχουν σχεδόν πάντα ένα φυσικό φίλτρο και τουλάχιστον δύο οργανικά φίλτρα, το ένα με βέλτιστο έλεγχο για μήκη κύματος UVB και το άλλο για φωτόνια UVA. (Sergio Schalka, 2011)

2.7. Κρίσιμο Μήκος Κύματος (λ_c)

Η UVA ακτινοβολία προκαλεί στο δέρμα βλάβες εξαιτίας των ROS που μπορεί να οδηγήσει στην πρόωμη γήρανσή του αλλά και στον καρκίνο. Η προστασία σε αυτό το εύρος υποδηλώνεται με τον ισχυρισμό «αντηλιακά ευρέως φάσματος», δεδομένου ότι η UVA ακτινοβολία διεισδύει βαθύτερα από την UVB. Για να αξιολογηθεί ένα αντηλιακό, χρειάζονται δύο μέθοδοι, η *in vivo* μέτρηση του SPF και η *in vitro* μέτρηση του κρίσιμου μήκους κύματος. Το κρίσιμο μήκος κύματος παρέχει ένα αξιόπιστο μέτρο του εύρους της ικανότητας φασματικής απορρόφησης ενός προϊόντος και ορίζεται ως το μήκος κύματος στο οποίο το ολοκλήρωμα της καμπύλης απορρόφησης είναι το 90% της συνολικής ολοκληρωμένης περιοχής του φάσματος μεταξύ 290 και 400 nm. Οι ερευνητές έχουν προτείνει ένα κρίσιμο μήκος κύματος ≥ 370 nm που εξασφαλίζει στα αντηλιακά προϊόντα ευρεία προστασία από την υπεριώδη ακτινοβολία. (Aubri J. Thompson, 2021), (J F. Nash, 2006)

Το 1994 η ομάδα του B.L.Diffey πρότειναν την βαθμολόγηση των αντηλιακών από 0 έως 4 αστέρια ανάλογα με το κρίσιμο μήκος κύματος στο οποίο απορροφούν τα μόρια και παρουσιάζονται στον Πίνακα 7. (Diffey, 1994)

Πίνακας 7: Αξιολόγηση των αντηλιακών ανάλογα με το κρίσιμο μήκος κύματος που απορροφούν.

Κρίσιμο Μήκος Κύματος (nm)	Βαθμολόγηση Ευρέως Φάσματος
$\lambda_c < 325$	0
$325 \leq \lambda_c < 335$	1
$335 \leq \lambda_c < 350$	2
$350 \leq \lambda_c < 370$	3
$370 \leq \lambda_c$	4

3. ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΙ ΓΙΑ ΤΑ ΑΝΤΗΛΙΑΚΑ ΑΝΑ ΤΟΝ ΚΟΣΜΟ

Η ανάπτυξη αντηλιακών φέρνει πολλά τεχνικά και τοξικολογικά ζητήματα, τα οποία πηγάζουν από την απαίτηση να υπάρχουν στην ίδια φόρμουλα συστατικά με αντίθετες δράσεις. Η καλή ικανότητα επάλειψης έρχεται σε αντίθεση με την αντοχή στο νερό και το κατάλληλο επίπεδο φίλτρων έρχεται σε αντίθεση με την ποιότητα της υφής και των διαλυτών που απαιτούνται για τη σταθερότητα του προϊόντος. Μόλις βρεθεί μια πιθανή λύση για αυτά τα ζητήματα, η διαδικασία ανάπτυξης ενός νέου προϊόντος συνήθως περιπλέκεται περαιτέρω από ζητήματα μάρκετινγκ και κανονιστικών ρυθμίσεων.

Όσον αφορά τη ρύθμιση των κανονισμών που ισχύουν ανά τον κόσμο, μπορούν να διακριθούν ορισμένες σημαντικές γεωγραφικές περιοχές. Η Ευρωπαϊκή προσέγγιση αποτελεί πρότυπο για πολλές άλλες περιοχές, οι οποίες τελικά υιοθέτησαν τις ίδιες έννοιες του κανονισμού. Έτσι μπορούν να διακριθούν οι κανονισμοί των παρακάτω περιοχών:

- ✿ Ευρωπαϊκή Ένωση και ΕΟΧ (Ελβετία, Νορβηγία, Ισλανδία)
- ✿ ΗΠΑ
- ✿ Καναδάς
- ✿ Ιαπωνία
- ✿ Νότια Κορέα
- ✿ Βραζιλία
- ✿ Κίνα
- ✿ Ταϊβάν

- ☼ Ένωση Εθνών Νοτιοανατολικής Ασίας
- ☼ Εμπορικό μπλοκ της Νότιας Αμερικής
- ☼ Ρωσία
- ☼ Αυστραλία
- ☼ Νέα Ζηλανδία
- ☼ Μέση Ανατολή/Αραβικές χώρες (Τουρκία, Εμιράτα, Μαρόκο, Αίγυπτος)
- ☼ Ινδία
- ☼ Αφρικανικές χώρες (Νότια Αφρική, Νιγηρία, Τανζανία)
- ☼ Εκουαδόρ
- ☼ Λοιπές Χώρες

3.1. Κανονισμοί Ευρωπαϊκής Ένωσης

Για τα κράτη μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης (ΕΕ), τα εγκεκριμένα φίλτρα υπεριώδους ακτινοβολίας αναφέρονται ως καλλυντικά. Οι απαιτήσεις αποτελεσματικότητας και η επισήμανση ρυθμίζονται από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή. Σύμφωνα με τον ορισμό που δίνει ο κανονισμός, ως «καλλυντικό προϊόν» νοείται κάθε ουσία ή μείγμα που προορίζεται να έλθει σε επαφή με τα εξωτερικά μέλη του ανθρώπινου σώματος (επιδερμίδα, μαλλιά, νύχια, χείλη και εξωτερικά γεννητικά όργανα) ή με τα δόντια και τους βλεννογόνους της στοματικής κοιλότητας με μοναδικό σκοπό τον καθαρισμό τους, τον αρωματισμό τους, την αλλαγή της εμφάνισής τους, την προστασία τους, τη διατήρησή τους σε καλή κατάσταση ή τη διόρθωση σωματικών οσμών.

Μεταξύ αυτών των λειτουργιών, η προστασία του δέρματος από βλάβες λόγω έκθεσης στον ήλιο αναφέρεται ως καλλυντική δράση. Στην Ευρώπη, το σύστημα ενημερώνεται συνεχώς καθώς εξελίσσεται η τεχνική πρόοδος, με βάση τις συστάσεις της Επιστημονικής Επιτροπής για την Ασφάλεια των Καταναλωτών (SCCS) για την ασφάλεια των συστατικών. Η Επιτροπή παρέχει συστάσεις για κινδύνους για την υγεία και την ασφάλεια (χημικοί, βιολογικοί, μηχανικοί και άλλα είδη φυσικών κινδύνων) των καταναλωτικών προϊόντων εκτός διατροφής (π.χ. καλλυντικά προϊόντα και τα συστατικά

τους, παιχνίδια, υφάσματα, ρούχα, προϊόντα προσωπικής φροντίδας και οικιακής χρήσης κ.λπ.) και υπηρεσίες (π.χ. τατουάζ, τεχνητό μαύρισμα από τον ήλιο κ.λπ.).

Η τρέχουσα λίστα έχει 28 φίλτρα που αναφέρονται μαζί με συγκεκριμένα όρια συγκέντρωσης και ορισμένες συγκεκριμένες προειδοποιήσεις για την επισήμανση των προϊόντων. Η δοκιμή και η επισήμανση περιλαμβάνονται επίσης στη Σύσταση της Επιτροπής της 22ας Σεπτεμβρίου 2006 σχετικά με την αποτελεσματικότητα των αντηλιακών και τους σχετικούς ισχυρισμούς. Αυτή η σύσταση ορίζει ορισμένες συγκεκριμένες κατευθυντήριες γραμμές σχετικά με την αναλογία προστασίας UVA/UVB, τις ειδικές προειδοποιήσεις επισήμανσης και την κατηγορία προστασίας με ετικέτα, ξεκινώντας από χαμηλή προστασία (SPF 6) έως πολύ υψηλή προστασία (SPF 50+). Πιο συγκεκριμένα, ορίζει τα εξής:

- ⊗ Στην αγορά της ΕΕ τα αντηλιακά προϊόντα πρέπει να παρέχουν τόσο ελάχιστο UVB-SPF 6 όσο και προστασία ευρέος φάσματος που καλύπτει τη ζώνη UVA.
- ⊗ Η προστασία UVA πρέπει να είναι τουλάχιστον το 1/3 της προστασίας UVB (αναλογία UVA/UVB) που λαμβάνεται στο κρίσιμο μήκος κύματος για τη δοκιμή δηλαδή τουλάχιστον 370 nm.
- ⊗ Προφυλάξεις και οδηγίες χρήσης – Οι συστάσεις για προστασία πρέπει να εμφανίζονται στην ετικέτα.
- ⊗ Οι τιμές SPF που θα χρησιμοποιηθούν στην επισήμανση των αντηλιακών περιορίζονται σε 6, 10, 15, 20, 25, 30, 50 και 50+. Τα προϊόντα με SPF 60 και άνω πρέπει να φέρουν την ετικέτα "SPF50+".
- ⊗ Η αποτελεσματικότητα της προστασίας από την υπεριώδη ακτινοβολία πρέπει επιπλέον να αναφέρεται στην ετικέτα με αναφορά στις 4 κατηγορίες "χαμηλή", "μέτρια", "υψηλή" και "πολύ υψηλή".

Πίνακας 8: Σήμανση SFP σε ευρωπαϊκά προϊόντα με την αντίστοιχη ποσότητα ακτινοβολίας UVB από την οποία προστατεύει το προϊόν.

SPF	Κατηγορία	Ποσοστό της UVB ακτινοβολίας που αποφεύγεται (%)
-----	-----------	--

6	Χαμηλή	83
10		90
15	Μέτρια	93
20		95
25		96
30	Υψηλή	97
50		98
50+	Πολύ υψηλή	Τουλάχιστον 98.2

3.2. Κανονισμοί Ηνωμένων Πολιτειών (FDA)

Τα αντηλιακά ταξινομούνται στις ΗΠΑ ως φάρμακα "over the counter" (OTC), δηλαδή θεωρούνται ως φάρμακα που δε χρειάζονται ιατρική συνταγή και υπόκεινται στον κανονισμό της Υπηρεσίας Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA). Τα κύρια έγγραφα αναφοράς για αυτά τα προϊόντα είναι ο Τελικός Κανόνας που δημοσιεύθηκε το 2011 και η Πράξη Καινοτομίας Αντηλιακών που δημοσιεύθηκε το 2014. Η Πράξη Καινοτομίας Αντηλιακών έχει εγκριθεί με σκοπό να διατεθούν στην αγορά των ΗΠΑ ορισμένα από τα νέα αντηλιακά φίλτρα που χρησιμοποιούνται ήδη στην ΕΕ και σε άλλες χώρες.

Ο Τελικός Κανόνας σχετίζεται με τον έλεγχο αποτελεσματικότητας των αντηλιακών. Η επισήμανση SPF στις ΗΠΑ δεν περιορίζεται σε 8 τιμές όπως στην Ευρώπη. Ο FDA προτείνει να περιοριστεί η μέγιστη ετικέτα SPF στο "50+" όπως στην ΕΕ, αλλά αυτό είναι μόνο μια σύσταση και όχι μέρος του τελικού κανόνα. Γενικά ο Τελικός Κανόνας ασχολείται κυρίως με θέματα ετικέτας. Η διατύπωση της ετικέτας ρυθμίζεται αυστηρά, όπως πού και πώς πρέπει να αναγράφονται οι σχετικές πληροφορίες, όπως αντοχή στο νερό ή, στην περίπτωση αντηλιακών με ευρύ φάσμα (SPF >15), ποια προϊόντα μπορούν να φέρουν τον ισχυρισμό: «εάν χρησιμοποιούνται σύμφωνα με τις οδηγίες με άλλα μέτρα αντηλιακής προστασίας μειώνει τον κίνδυνο καρκίνου του δέρματος και την πρόωγη γήρανση του δέρματος που προκαλείται από τον ήλιο».

Ένα μέρος των κανονισμών αντιπροσωπεύεται από τη μονογραφία, η οποία ουσιαστικά παρέχει ένα πρότυπο για τα ενεργά συστατικά. Εάν έχει εκδοθεί μια μονογραφία για ένα προϊόν, το μόνο που πρέπει να κάνει μια εταιρεία για να της επιτραπεί να εμπορευτεί είναι να αποδείξει ότι πληροί τα πρότυπα αυτής της μονογραφίας. Αυτή η μέθοδος επιτρέπει την εισαγωγή νέων συνθέσεων στην αγορά και διαφέρει από τους προαναφερθέντες κανονισμούς για τα νέα συστατικά.

Πρέπει επομένως να υποβληθούν σε σημαντικές δοκιμές ασφάλειας και αλλεργιών σε κλινικές δοκιμές που αποτελούν υψηλό κόστος για τους κατασκευαστές και σημαντική καθυστέρηση πριν από την κυκλοφορία σε σύγκριση με την ΕΕ, όπου νέα προϊόντα φίλτρου αντηλιακής προστασίας μπορούν να εισέλθουν στην αγορά πιο γρήγορα.

Στην παρούσα φάση είκοσι τέσσερα συστατικά ελέγχονται από τον FDA μέσω των διαφόρων τελικών μονογραφιών του. Μερικά αντηλιακά συστατικά που ρυθμίζονται από τη Μονογραφία OTC (21 CFR 352.10) είναι τα εξής:

- ⊗ Αμινοβενζοϊκό οξύ (PABA) έως 15%
- ⊗ Αβοβενζόνη έως 3%
- ⊗ Οξυβενζόνη έως 6%
- ⊗ Cinoxate έως 3%
- ⊗ Octinoxate έως 7,5%

Σε ορισμένες μεμονωμένες περιπτώσεις π.χ. Καλιφόρνια, έχουν συγκεκριμένους κρατικούς κανόνες που καθιστούν πιο περίπλοκη τη σύνθεση της ετικέτας των προϊόντων. Για παράδειγμα, η ΠΡΟΤΑΣΗ 65 της Πολιτείας της Καλιφόρνια της 1ης Ιανουαρίου 2015, που απαιτεί την εκτύπωση της ακόλουθης προειδοποίησης στις ετικέτες των προϊόντων που περιέχουν την καρκινογόνο χημική ουσία βενζοφαινόνη: «ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ: Αυτό το προϊόν περιέχει βενζοφαινόνη, μια χημική ουσία που είναι γνωστή στην Πολιτεία της Καλιφόρνια ότι προκαλεί καρκίνο». (Pirota, 2015) (Bens, 2014)

Drug Facts	
Active ingredient (in each tablet)	Purpose
Chlorpheniramine maleate 2 mg	Antihistamine
Uses temporarily relieves these symptoms due to hay fever or other upper respiratory allergies: ■ sneezing ■ runny nose ■ itchy, watery eyes ■ itchy throat	
Warnings	
Ask a doctor before use if you have	
■ glaucoma ■ a breathing problem such as emphysema or chronic bronchitis ■ trouble urinating due to an enlarged prostate gland	
Ask a doctor or pharmacist before use if you are taking tranquilizers or sedatives	
When using this product	
■ You may get drowsy ■ avoid alcoholic drinks ■ alcohol, sedatives, and tranquilizers may increase drowsiness ■ be careful when driving a motor vehicle or operating machinery ■ excitability may occur, especially in children	
If pregnant or breast-feeding, ask a health professional before use. Keep out of reach of children. In case of overdose, get medical help or contact a Poison Control Center right away.	
Directions	
adults and children 12 years and over	take 2 tablets every 4 to 6 hours; not more than 12 tablets in 24 hours
children 6 years to under 12 years	take 1 tablet every 4 to 6 hours; not more than 6 tablets in 24 hours
children under 6 years	ask a doctor
Other information store at 20-25° C (68-77° F) ■ protect from excessive moisture	
Inactive ingredients D&C yellow no. 10, lactose, magnesium stearate, microcrystalline cellulose, pregelatinized starch	

Μελέτες έχουν δείξει ότι η οξυβενζόνη και το octinoxate μπορούν να επηρεάσουν τα ενδοκρινικά συστήματα των ανθρώπων και άλλων οργανισμών. Πολλαπλές μελέτες σε ζώα έδειξαν ότι υπάρχει διαταραχή των οιστρογόνων, της προγεστερόνης και των ανδρογόνων υποδοχέων όταν τα άτομα εκτίθενται σε ενώσεις βενζοφαινόνης (δηλαδή οξυβενζόνη) και cinnamates (δηλαδή octinoxate, cinoxate κλπ). Επιπλέον, η έκθεση στο octinoxate συσχετίστηκε με μείωση των επιπέδων θυροξίνης (T4) λόγω της αναστολής της 5'-αποϊωδινάσης, ενός ενζύμου που καταλύει τη μετατροπή της T4 σε τριιωδοθυρονίνη (T3).

Όσον αφορά την επίδραση τέτοιων ενώσεων στο περιβάλλον, έχουν γίνει μελέτες για το octinoxate σε παράκτια ύδατα και τα στοιχεία υπέδειξαν τις βλαβερές επιδράσεις της οξυβενζόνης και του octinoxate στους κοραλλιογενείς υφάλους. Πιο συγκεκριμένα όταν το κοράλλι εκτίθεται σε οξυβενζόνη και octinoxate, έχει αποδειχθεί ότι υφίσταται ένα φαινόμενο λεύκανσης λόγω απώλειας της ακεραιότητας της μεμβράνης και απώλειας φωτοσυνθετικών χρωστικών.

Όλοι οι λόγοι που αναφέρθηκαν, υπογραμμίζουν τη σημασία της εύρεσης νέων αντηλιακών φίλτρων ευρέως φάσματος, τα οποία δεν θα είναι τόσο τοξικά προς τον άνθρωπο. (Ashley R. Heurung, 2014) , (Alfredo Siller, 2018) , (Sophia Akhiyat, 2019)

4. ΣΥΝΘΕΣΗ ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ

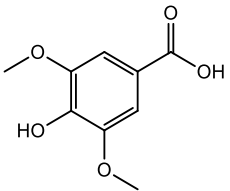
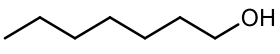
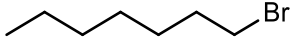
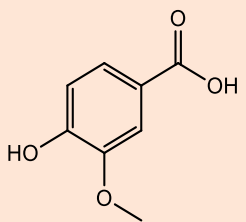
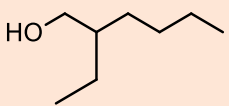
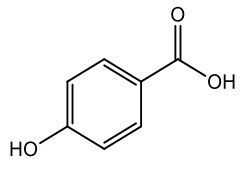
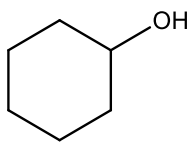
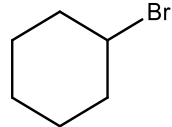
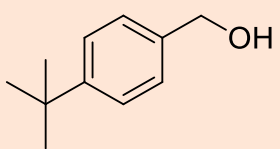
Στόχος της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι ο σχεδιασμός, η σύνθεση μέσω δύο διαφορετικών μεθοδολογιών και η δομική ταυτοποίηση μέσω Φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού πρωτονίου (^1H NMR), νέων μορίων και συγκεκριμένα εστέρων, τα οποία αξιολογούνται ως προς την φωτοπροστατευτική και αντιοξειδωτική τους δράση. Η πρώτη ελέγχεται στις εγκαταστάσεις της εταιρείας Cellco Chemicals μέσω μιας *in vitro* τεχνικής, όπου υπολογίζεται η τιμή του δείκτη ηλιακής προστασίας (Sun protection Factor, SPF) καθώς και του κρίσιμου μήκους κύματος (λ_c) της ένωσης. Η αντιοξειδωτική δράση των μορίων αξιολογείται μέσω της ικανότητάς τους να αλληλεπιδρούν με τη σταθερή ελεύθερη ρίζα DPPH.

Πιο συγκεκριμένα, σε αυτή την εργασία εφαρμόστηκε η αντίδραση εστεροποίησης Steglich, όπου για τη σύνθεση των επιθυμητών εστέρων χρησιμοποιήθηκαν τρία παράγωγα του βενζοϊκού οξέος: συριγγικό, βανιλικό και 4-υδροξυ-βενζοϊκό οξύ, καθώς και οι κατάλληλες αλκοόλες: οκτανόλη, 2-αιθυλο-1-εξανόλη και κυκλοεξανόλη. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε μια δεύτερη μεθοδολογία σύνθεσης των τελικών εστέρων, όπου τα παραπάνω βενζοϊκά οξέα αντέδρασαν με επιλεγμένα αλκυλαλογονίδια: 1-

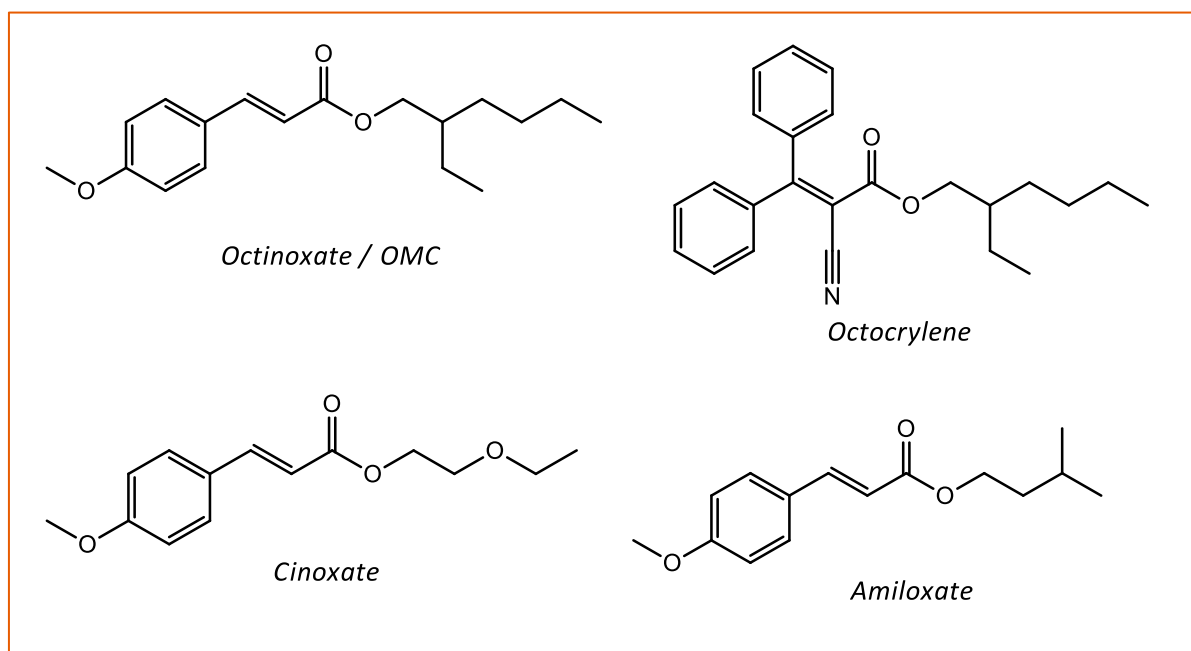
βρωμο-οκτάνιο και 1-βρωμο-κυκλοεξάνιο (Πίνακας 9). Οι δύο μεθοδολογίες συγκρίθηκαν ως προς το χρόνο και την απόδοση της αντίδρασης.

Πίνακας 9: Οι ενώσεις που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διεξαγωγή της εργασίας για την Παρασκευή

Ενώσεις που χρησιμοποιήθηκαν

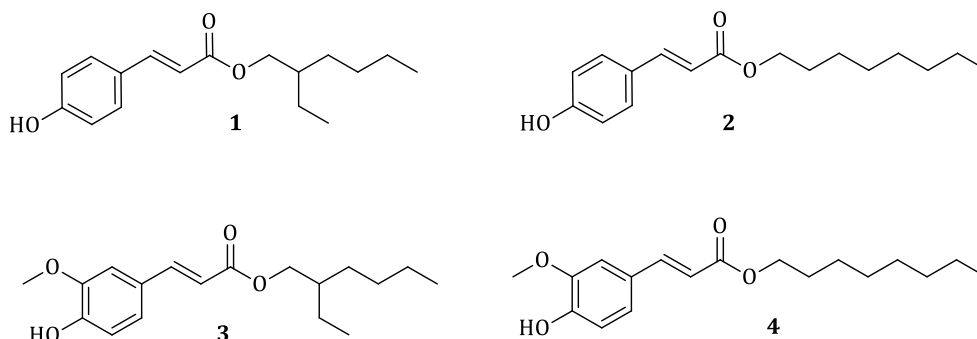
Οξέα	Αλκοόλες	Βρωμίδια
<p>Συριγγικό οξύ</p> 	<p>Οκτανόλη</p> 	<p>Βρωμο-οκτάνιο</p> 
<p>Βανιλικό Οξύ</p> 	<p>2-αιθυλο-1-εξανόλη</p> 	
<p>Para-υδροξυ-βενζοϊκό Οξύ</p> 	<p>Κυκλοεξανόλη</p> 	<p>Βρωμο-κυκλο-εξάνιο</p> 
	<p>4-(tert-βουτυλ) Βενζυλική αλκοόλη</p> 	

Η επιλογή των τελικών μορίων που συντέθηκαν στηρίχθηκε στη δομή ορισμένων ευρέως χρησιμοποιούμενων εμπορικών αντηλιακών φίλτρων για την προστασία έναντι της UVB ακτινοβολίας, όπως είναι το OctylMethoxyCinnamate (γνωστό και ως OMC ή octinoxate), το octocrylene, το amiloxate και το cinoxate (Σχήμα 8). Επιπλέον, δεδομένης της αποδεδειγμένης αντιοξειδωτικής δράσης των φαινολικών οξέων, οι παραπάνω εστέρες συντέθηκαν με τελικό σκοπό τη συνδυασμένη αντιοξειδωτική και φωτοπροστατευτική δράση, καθώς και την ενδεχόμενη χρήση τους ως αντηλιακά φίλτρα ευρέως φάσματος.



Στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του ΕΜΠ έχει πραγματοποιηθεί εκτενής αντίστοιχη μελέτη που αφορά στην αξιολόγηση της φωτοπροστατευτικής δράσης παραγώγων του κινναμμωμικού οξέος. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής έδειξαν πως οι εστέρες του παρα-υδροξυ-κινναμμωμικού οξέος (δομές 1 και 2, Σχήμα 10) και του φερουλικού οξέος (δομή 4, Σχήμα 10) με τις δύο ισομερείς αλκοόλες, οκτανόλη και 2-αιθυλο-εξανόλη, διαθέτουν καλή δράση έναντι της UVB ακτινοβολίας με τιμές SPF συγκρίσιμες με αυτήν του OMC (8.19), ενώ τα ανάλογα του φερουλικού οξέος (δομές 3 και 4) θα μπορούσαν να

χρησιμοποιηθούν και ως UVA φίλτρα, με τιμές κρίσιμου μήκους κύματος μεγαλύτερες από 340nm.



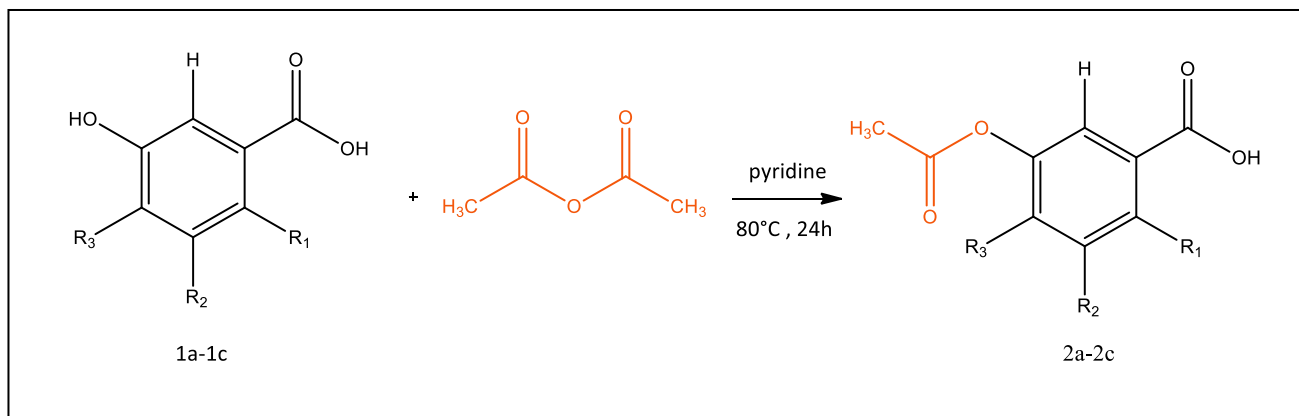
Σχήμα 8: Εστέρες του κινναμμωμικού οξέος που έχουν συντεθεί και αξιολογηθεί στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας ΕΜΠ

Επομένως, στην παρούσα εργασία, με έναυσμα την ήδη υπάρχουσα μελέτη του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας, καθώς και τη δομή ορισμένων ευρέως χρησιμοποιούμενων εμπορικών αντηλιακών φίλτρων, πραγματοποιείται εκτενής διερεύνηση της φωτοπροστατευτικής ικανότητας αναλόγων του βενζοϊκού οξέος, με στόχο την ολοκληρωμένη σύγκριση μεταξύ των παραγώγων των φαινολικών οξέων.

4.1. Σύνθεση προστατευμένων βενζοϊκών οξέων

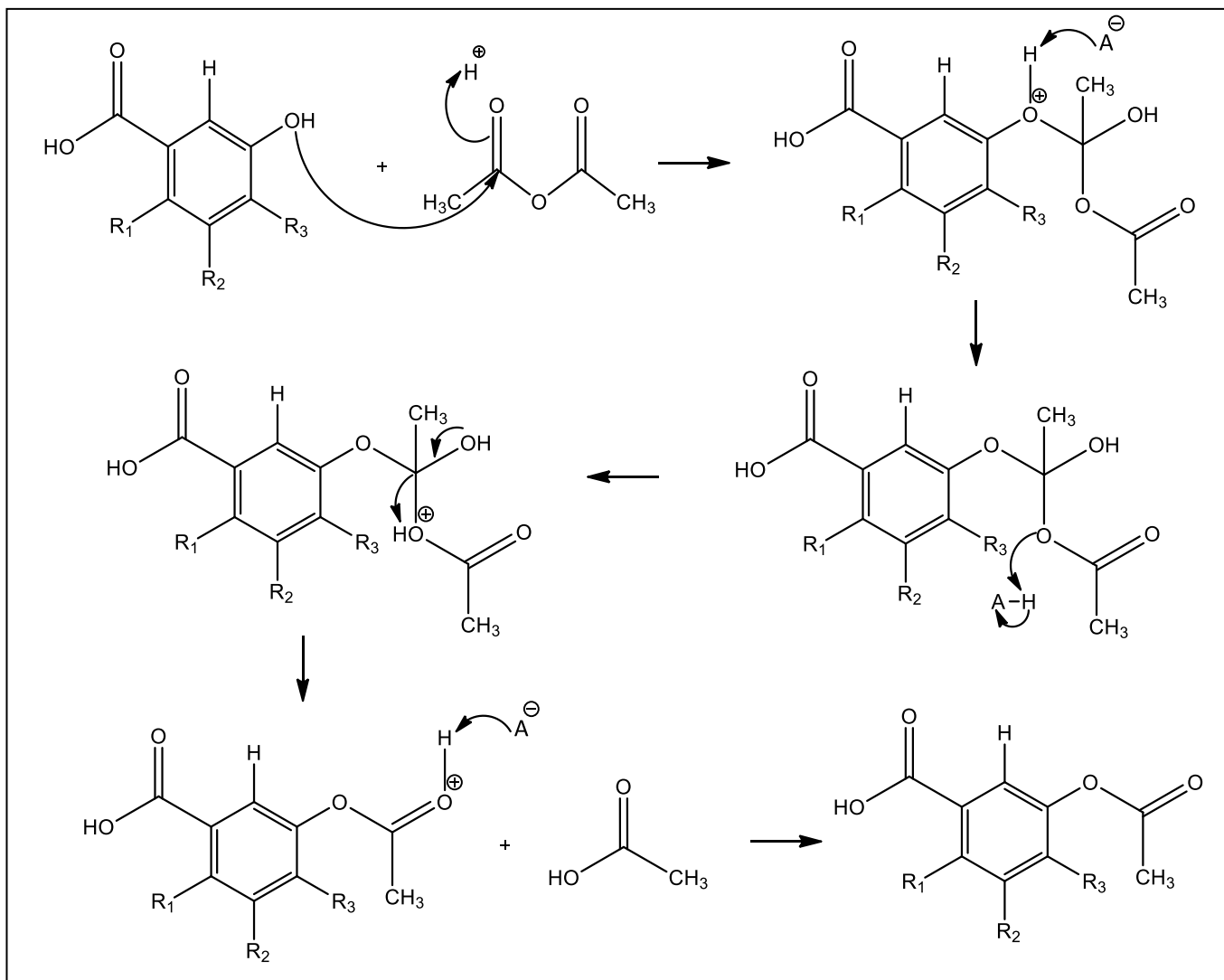
Αρχικά τα βενζοϊκά οξέα (**1a-1c**) που χρησιμοποιούνται, υπόκεινται σε αντίδραση ακετυλίωσης για την προστασία των υδροξυ-ομάδων τους σε ακετυλοξυ-ομάδες. Πιο συγκεκριμένα, η αντίδραση προστασίας πραγματοποιείται με τη βοήθεια του οξικού ανυδρίτη και της πυριδίνης, η οποία δρα καταλυτικά στην αντίδραση. Αποτέλεσμα της αντίδρασης είναι ο σχηματισμός σταθερότερων παραγώγων βενζοϊκών οξέων (**2a-2c**), τα οποία είναι καλύτερα διαχειρίσιμα σε επόμενες αντιδράσεις.

Η γενική μεθοδολογία της αντίδρασης για τα παράγωγα του βενζοϊκού οξέος ακολουθεί την παρακάτω πορεία:



Σχήμα 9: Γενική μεθοδολογία σύνθεσης ακετυλιωμένων βενζοϊκών οξέων

Η ακετυλίωση των οξέων με οξικό ανυδρίτη αποτελεί πολύ συνηθισμένη τακτική και πραγματοποιείται με την καταλυτική δράση της πυριδίνης, η οποία ανήκει στις αμίνες. Σε τέτοιες αντιδράσεις, η βάση θεωρείται ότι ενεργοποιεί το αντιδραστήριο ακετυλίωσης, δρα δηλαδή ως πυρηνόφιλο.

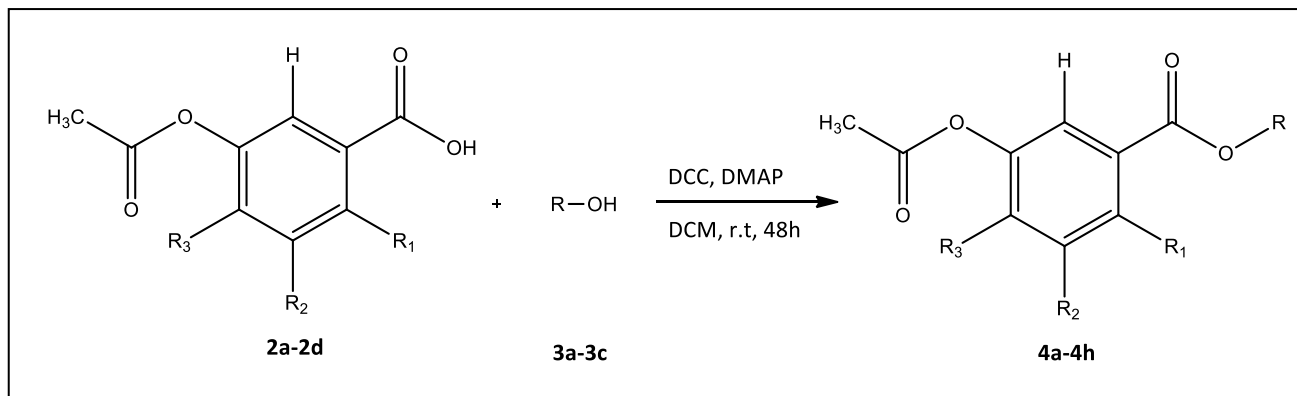


Σχήμα 10: Μηχανισμός ακετυλίωσης βενζοϊκών οξέων με οξικό ανυδρίτη.

4.2. Σύνθεση εστέρων προστατευμένων βενζοϊκών οξέων

Η σύνθεση των εστέρων πραγματοποιήθηκε μέσω δύο διαφορετικών συνθετικών πορειών. Η πρώτη βασίστηκε στην εστεροποίηση Steglich και επομένως στηρίζεται στην αντίδραση του εκάστοτε οξέος με την αντίστοιχη αλκοόλη, ώστε να παραχθεί ο επιθυμητός εστέρας. Κατά τη δεύτερη μεθοδολογία, οι επιθυμητές ενώσεις συντίθενται μέσω αντίδρασης εστεροποίησης μεταξύ των βενζοϊκών οξέων και επιλεγμένων αλκυλαλογονιδίων, και συγκεκριμένα βρωμιδίων.

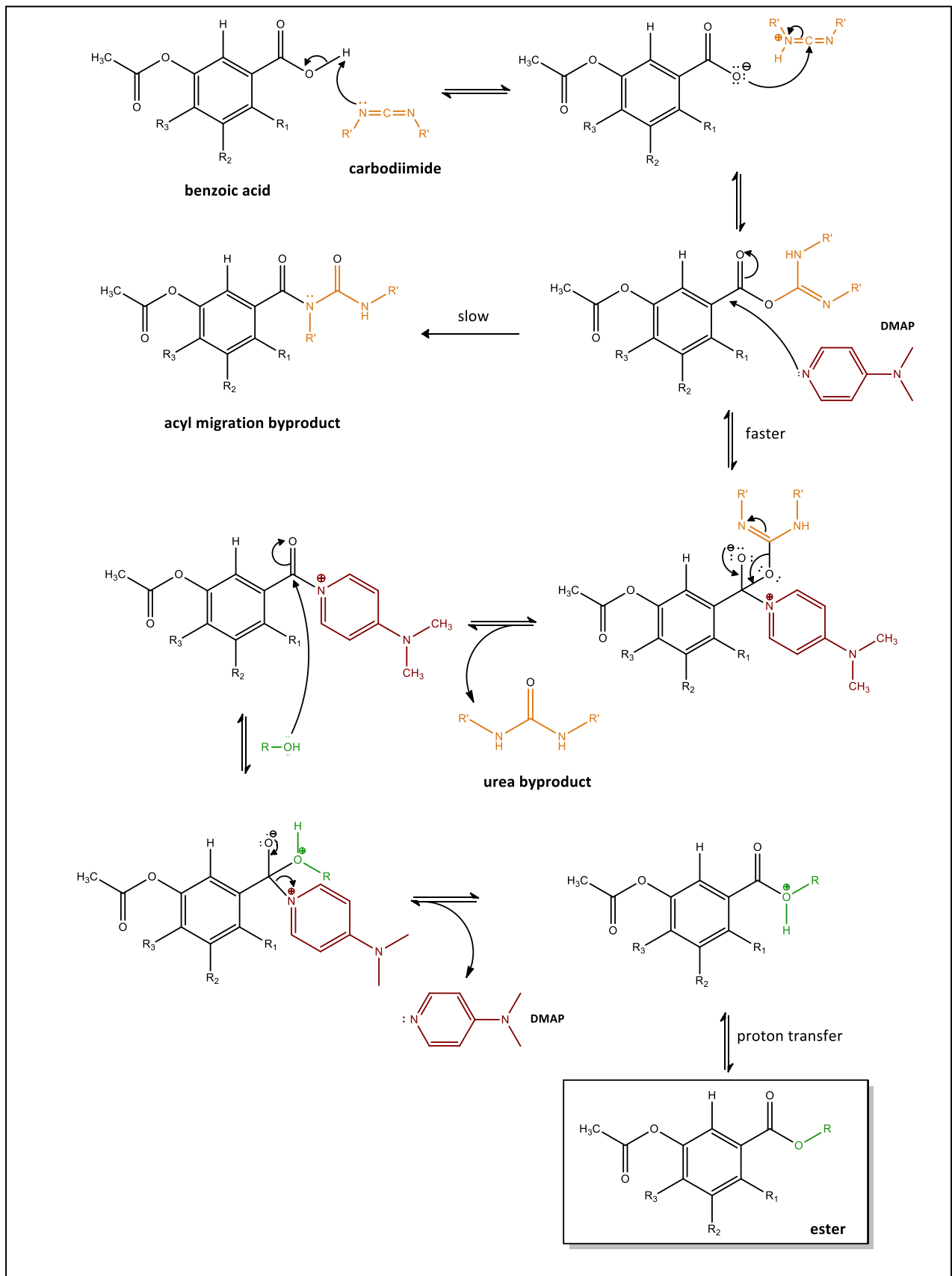
4.2.1. Εστεροποίηση Steglich



Σχήμα 11: Γενική πορεία σύνθεσης εστέρων των βενζοϊκών οξέων με τη μέθοδο εστεροποίησης Steglich.

Η εστεροποίηση Steglich αποτελεί μια μέθοδο, η οποία πραγματοποιείται υπό ήπιες συνθήκες και χρησιμοποιεί ως παράγοντα ενεργοποίησης το N,N'-δικυκλοεξυλκαρβοδιμίδιο (DCC) και ως οργανοκαταλύτη τη διμεθυλαμινοπυριδίνη (DMAP) σε περιβάλλον με διαλύτη διχλωρομεθάνιο (DCM). Η συγκεκριμένη μέθοδος εστεροποίησης πραγματοποιείται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, ουδέτερο pH και μπορεί να παράξει εστέρες που περιέχουν δύσκολους υποκαταστάτες, δηλαδή ασταθή οξέα ή άλλες στερεοχημικά παρεμποδισμένες ομάδες.

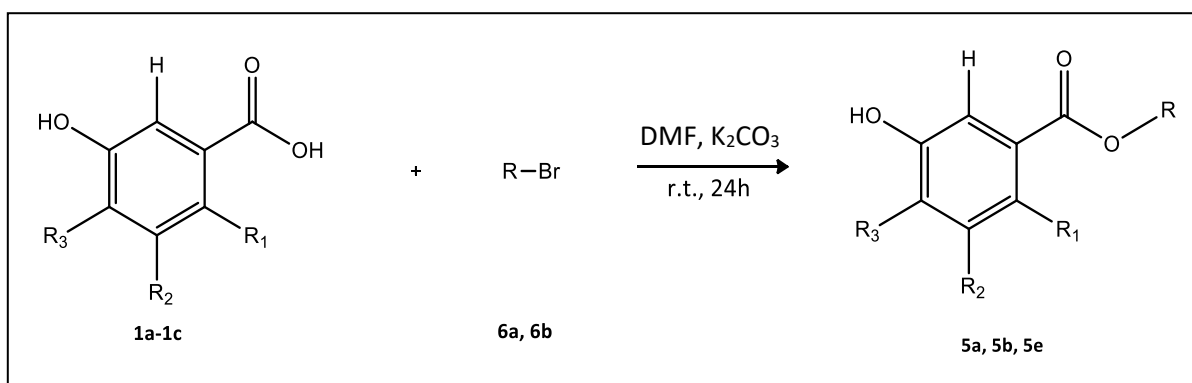
Πιο συγκεκριμένα, το οξύ ενεργοποιείται πρώτα από το DCC και σχηματίζει N-ακυλοουρία, η οποία προκύπτει από μία 1,3-αναδιάταξη του ενδιάμεσου O-ακυλίου κι έτσι δεν μπορεί να αντιδράσει περαιτέρω με την αλκοόλη. Επομένως, για τη σύνθεση του εστέρα απαιτείται η προσθήκη DMAP ώστε να ελαχιστοποιήσει το σχηματισμό του μη παραγωγικού υποπροϊόντος μετανάστευσης του ακυλίου, το οποίο είναι ανταγωνιστικό με την πυρηνόφιλη «επίθεση» της αλκοόλης στο ενδιάμεσο της N-ακυλοουρίας. Αυτό συμβαίνει επειδή ο σχηματισμός υποπροϊόντων της ενδομοριακής μετανάστευσης ακυλίου είναι αργός σε σύγκριση με την πυρηνόφιλη «επίθεση» αμινομάδων.



Σχήμα 12: Μηχανισμός αντίδρασης εστεροποίησης Steglich.

Ωστόσο υπάρχουν ορισμένα μειονεκτήματα στη χρήση του DCC, διότι θεωρείται αλλεργιογόνο και κατά τη χρήση του πρέπει να λαμβάνονται κατάλληλα μέτρα προστασίας. Ένα άλλο μειονέκτημα που σχετίζεται με το DCC είναι ότι παράγει ένα παραπροϊόν, τη N,N'-δικυκλοεξουρία (DCU) που είναι αδιάλυτη στο νερό και μόνο μερικώς διαλυτή σε πολλούς οργανικούς διαλύτες. Εφόσον η διαλυτότητά του δεν είναι καλή, η απομάκρυνση της DCU μέσω διήθησης αποτελεί εύκολη υπόθεση, ωστόσο τα υπολειπόμενα ίχνη είναι δύσκολο να απομακρυνθούν ακόμα και με χρωματογραφική στήλη. (Andrew B.Lutjen, 2018), (Andrew Jordan, 2021), (Vitor Gilles, 2015)

4.2.2. Σύνθεση εστέρων μέσω αντίδρασης S_N2



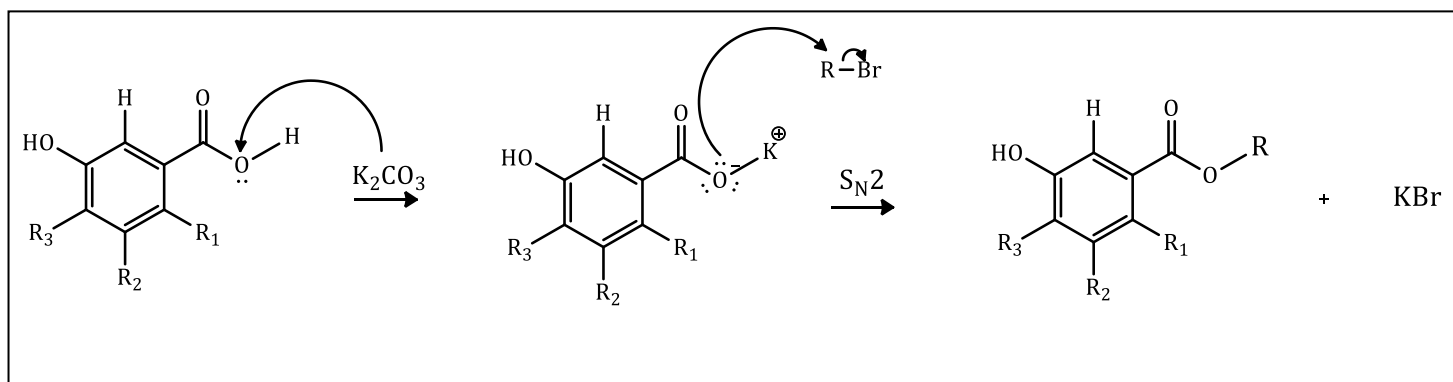
Σχήμα 13: Γενική πορεία σύνθεσης μέσω αντίδρασης πυρηνόφιλης υποκατάστασης S_N2.

Η αντίδραση S_N2 πρόκειται για μία πυρηνόφιλη υποκατάσταση αλκυλαλογονιδίων, όπως διαφαίνεται και από την αναλυτική ονομασία της «substitution nucleophilic» και ο αριθμός «2» σημαίνει ότι η αντίδραση είναι διαμοριακή. Πιο συγκεκριμένα, ορίζονται δύο μόρια κατά τη διεξαγωγή μίας τέτοιας αντίδρασης, το πυρηνόφιλο και το αλκυλαλογονίδιο.

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι η αντίδραση πραγματοποιείται σε ένα στάδιο χωρίς την παραγωγή ενδιάμεσου προϊόντος, όπου το πυρηνόφιλο προσβάλλει το αλκυλαλογονίδιο. Το πυρηνόφιλο πλησιάζει το αλκυλαλογονίδιο σχηματίζοντας γωνία 180° με την αποχωρούσα ομάδα (το ανιόν του αλογόνου).

Ωστόσο πριν την πραγματοποίηση της αντίδρασης S_N2, θα πρέπει το βενζοϊκό οξύ να ενεργοποιηθεί. Έτσι, αντιδρά πρώτα με τη βάση K₂CO₃ και το οξύ αποπρωτονιώνεται, με

αποτέλεσμα την ενεργοποίησή του. Δηλαδή παράγεται ένα καρβοξυλικό άλας, το οποίο αποτελείται από το καρβοξυλικό ανιόν και το κατιόν καλίου. Το καρβοξυλικό ανιόν στη συνέχεια αντιδρά με το αλκυλοβρωμίδιο μέσω της πυρηνόφιλης υποκατάστασης S_N2, ώστε να σχηματιστεί ο επιθυμητός εστέρας. (Bickelhaupt, 2008), (McMurry, 2015)



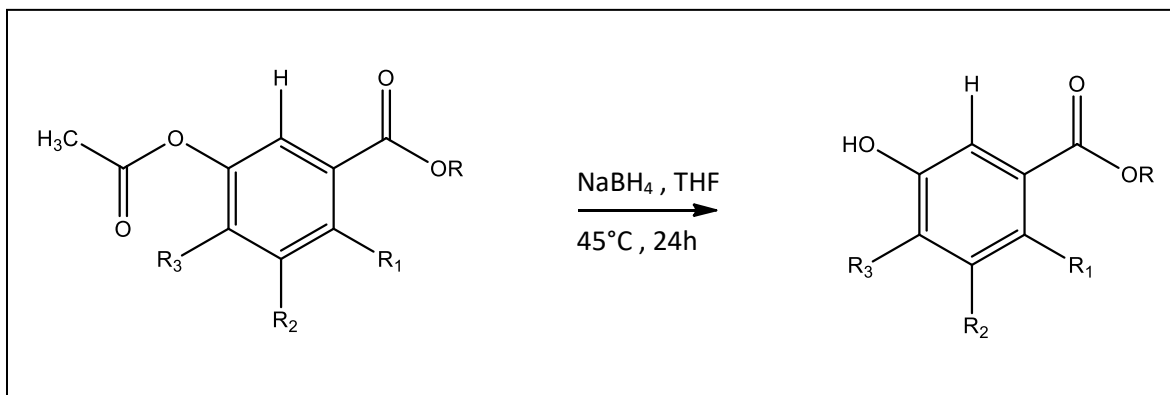
Σχήμα 14: Μηχανισμός αντίδρασης πυρηνόφιλης υποκατάστασης S_N2.

Στην παρούσα εργασία, η αντίδραση εστεροποίησης μέσω αλκυλαλογονιδίων επιχειρήθηκε για τον σχηματισμό επιλεγμένων εστέρων, προκειμένου να συγκριθούν οι δύο μεθοδολογίες και να εξεταστεί η βελτιστοποίηση της σύνθεσης ως προς τον χρόνο της αντίδρασης και την απόδοση σχηματισμού των τελικών προϊόντων.

4.3. Αντίδραση απομάκρυνσης της ακετυλομάδας – Αποπροστασία των εστέρων

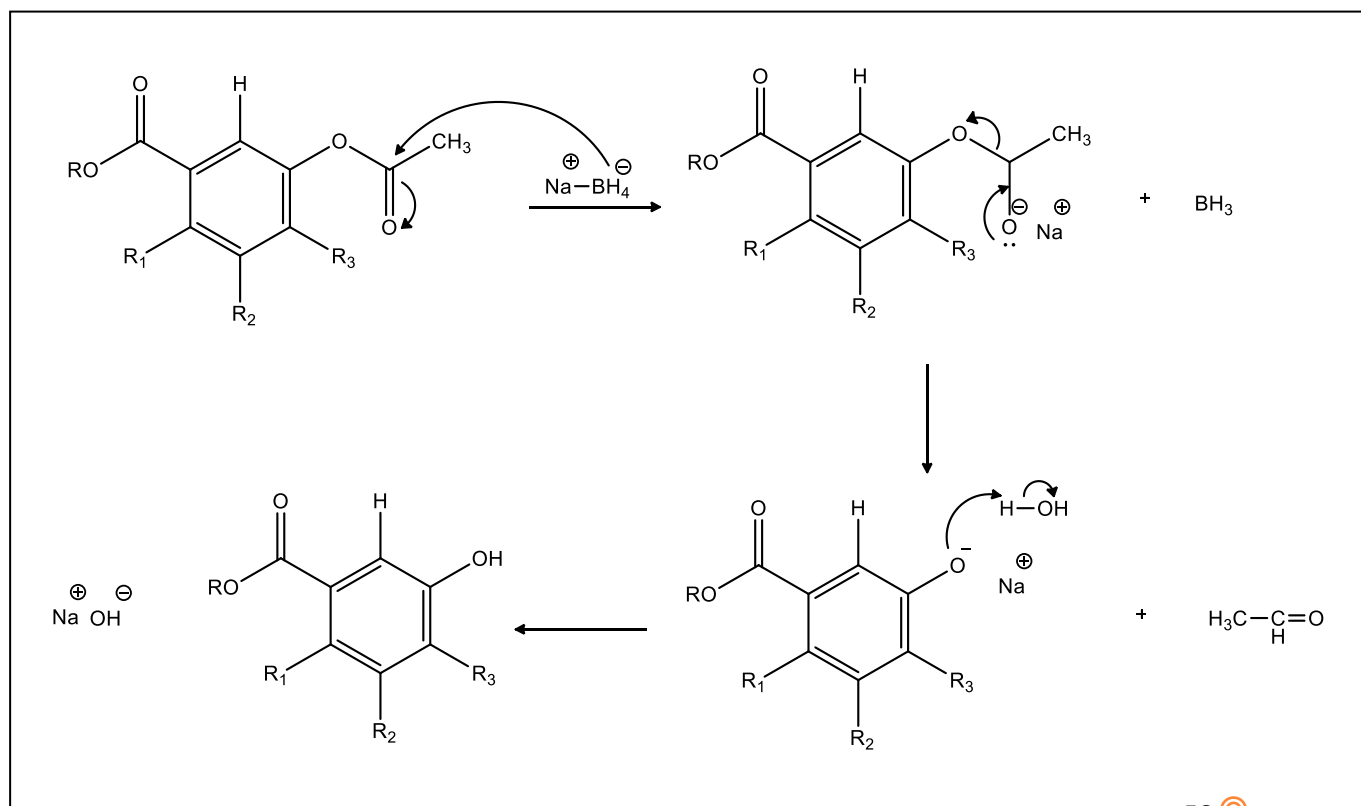
Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε δομική τροποποίηση των παραγόμενων εστέρων, μέσω αντίδρασης αποπροστασίας, προς απομάκρυνση των ακετυλοξυ-ομάδων και εισαγωγή των υδροξυ-ομάδων. Η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται μέσω αναγωγικών μεθόδων, όπου εκλεκτικά απομακρύνεται η ακετυλοξυ-ομάδα. Σαφέστερα, ως αναγωγικός παράγοντας χρησιμοποιήθηκε το βοροϋδρίδιο του νατρίου (NaBH₄) και η αντίδραση της αποπροστασίας πραγματοποιήθηκε σε περιβάλλον με διαλύτη ξηρό τετραϋδροφουράνιο (THF). Το NaBH₄ λόγω της εκλεκτικότητάς του αντιδρά μόνο με το

καρβονύλιο της ακετυλοξυ-ομάδας του φαινολικού δακτυλίου κι όχι με το καρβονύλιο του εστέρα.



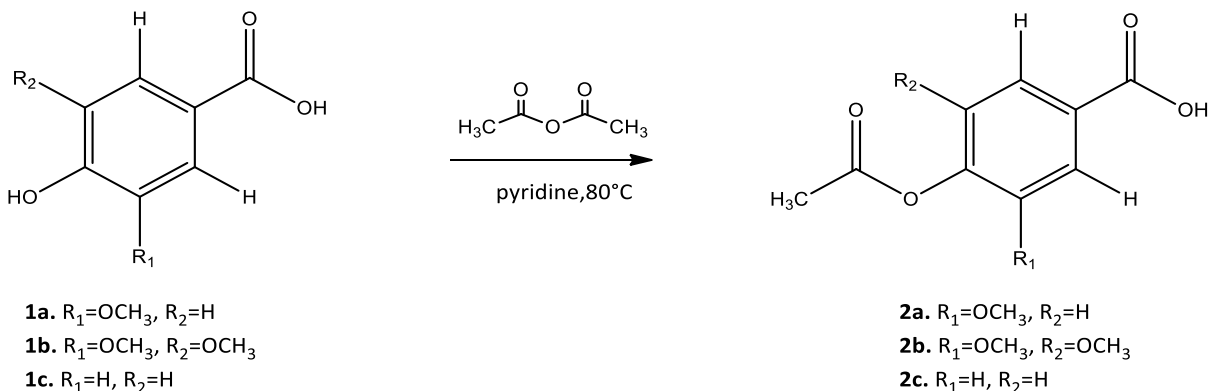
Σχήμα 15: Γενική πορεία σύνθεσης των υδροξυ-εστέρων.

Ο μηχανισμός της αντίδρασης βοροϋδριδίου του νατρίου NaBH_4 πραγματοποιείται σε δύο στάδια. Στο πρώτο στάδιο, το H^- αποσπάται από το BH_4^- και γίνεται η προσθήκη του στον άνθρακα του καρβονυλίου της ακετυλο-ομάδας. Έτσι, σχηματίζεται ο δεσμός C-H και σπάει ο ένας από τους δύο δεσμούς C-O, το οποίο έχει ως αποτέλεσμα το αρνητικά φορτισμένο οξυγόνο. Στο δεύτερο στάδιο, το ιόν του αλκοξειδίου πρωτονιώνεται για να γίνει ο σχηματισμός της υδροξυλομάδας κι επομένως του τελικού εστέρα.



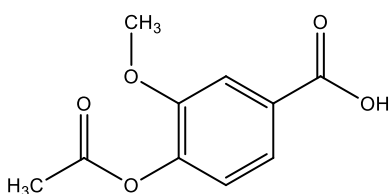
5. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5.1. Γενική Μέθοδος Α: Σύνθεση των ακετυλοξυ-φαινολικών οξέων 2a-2c



Για τη σύνθεση των ακετυλιωμένων φαινολικών οξέων (αντίδραση προστασίας, σε σφαιρική φιάλη διαλύεται 1eq. φαινολικού οξέος σε κατάλληλη ποσότητα πυριδίνης και στη συνέχεια προστίθενται 2eq. οξικού ανυδρίτη για κάθε υδροξυ-ομάδα που προστατεύεται. Το μίγμα της αντίδρασης θερμαίνεται για 24h στους 90°C με κάθετο ψυκτήρα και υπό αδρανείς συνθήκες αζώτου, ενώ η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται μέσω χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC). Μετά το πέρας της αντίδρασης, το μίγμα αφήνεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος κι έπειτα οξινίζεται υπό ψύξη, με αραιό υδατικό διάλυμα HCl 10%. Ακολουθεί εκχύλιση με διαλύτη Et₂O, όπου η οργανική φάση συλλέγεται, ξηραίνεται με άνυδρο θειικό νάτριο (Na₂SO₄) και συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Το τελικό προϊόν της αντίδρασης παραλαμβάνεται με τη μορφή λευκού ή υπόλευκου χρώματος και χρησιμοποιείται στην επόμενη αντίδραση χωρίς διεργασία καθαρισμού.

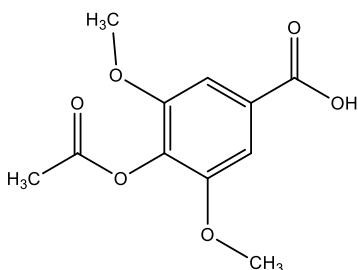
Σύνθεση της ένωσης 3-μεθοξυ-4-ακετυλο-βενζοϊκό οξύ (2a)



Η σύνθεση της ένωσης 2a βασίζεται στη Γενική Μέθοδο A. Σε σφαιρική φιάλη διαλύονται 5.95mmol (1g) 3-μεθοξυ-4-ακετυλο-βενζοϊκού οξέος (βανιλικού οξέος) 1a σε 11.9mL πυριδίνης και στη συνέχεια προστίθενται 11.9mmol (1.12mL) οξικού ανυδρίτη. Μετά το πέρας της αντίδρασης και της κατάλληλης επεξεργασίας του μίγματος, το επιθυμητό προϊόν 2a παραλαμβάνεται σε μορφή υπόλευκου-κιτρινωπού χρώματος.

Απόδοση αντίδρασης: 47%

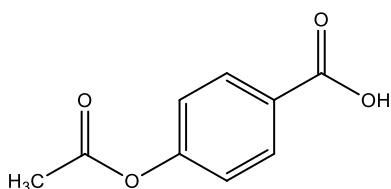
Σύνθεση της ένωσης 3,4-διακετοξυ-4-ακετυλο-βενζοϊκό οξύ (2b)



Η σύνθεση της ένωσης 2b βασίζεται στη Γενική Μέθοδο A. Σε σφαιρική φιάλη διαλύονται 5.05mmol (1g) 4-ακετυλο-βενζοϊκού οξέος (συριγγικού οξέος) 1b σε 10.1mL πυριδίνης και στη συνέχεια προστίθενται mmol (954μL) οξικού ανυδρίτη. Μετά το πέρας της αντίδρασης και της κατάλληλης επεξεργασίας του μίγματος, το επιθυμητό προϊόν 2b παραλαμβάνεται σε μορφή υπόλευκου χρώματος.

Απόδοση αντίδρασης: 65%

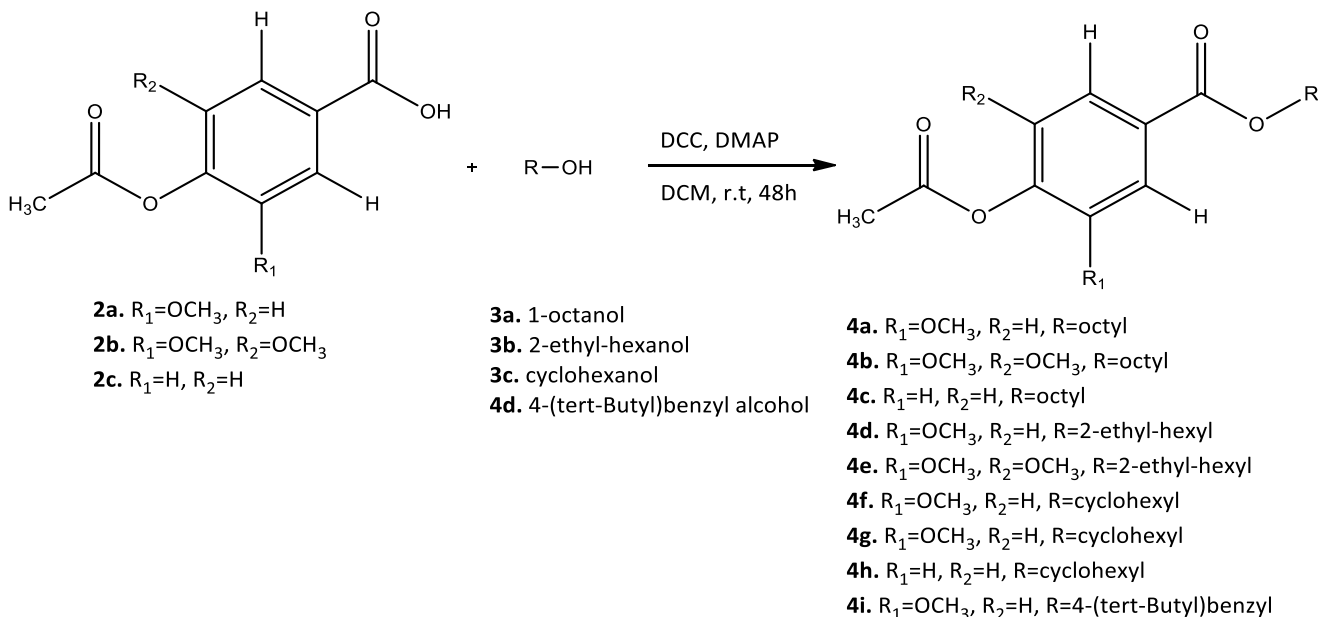
Σύνθεση της ένωσης 4-ακετυλο-βενζοϊκό οξύ (2c)



Η σύνθεση της ένωσης 2c βασίζεται στη Γενική Μέθοδο A. Σε σφαιρική φιάλη διαλύονται 5.722mmol (1g) 4-ακετυλο-βενζοϊκού οξέος (p-υδροξυ-βενζοϊκού οξέος) 1c σε 14.5mL πυριδίνης και στη συνέχεια προστίθενται 14.5mmol (1.43mL) οξικού ανυδρίτη. Μετά το πέρας της αντίδρασης και της κατάλληλης επεξεργασίας του μίγματος, το επιθυμητό προϊόν 2c παραλαμβάνεται σε μορφή υπόλευκου χρώματος.

Απόδοση αντίδρασης: 79%

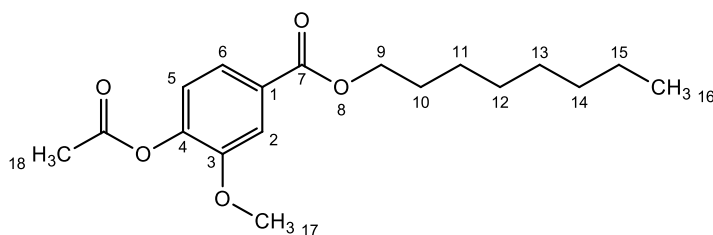
5.2. Γενική Μέθοδος Β: Σύνθεση των εστέρων φαινολικών οξέων 4a-4i με τη μέθοδο Steglich



Για τη σύνθεση των εστέρων (**4a-4i**) μέσω της αντίδρασης εστεροποίησης Steglich, σε σφαιρική φιάλη που περιέχει κατάλληλη ποσότητα διαλύτη ξηρού DCM, προστίθενται 1.1eq. ακετυλιωμένου φαινολικού οξέος (**2a - 2c**) και 1eq. επιθυμητής αλκοόλης (**3a-3c**). Στη συνέχεια, σε κωνική φιάλη σχηματίζεται διάλυμα που περιέχει ίδια ποσότητα διαλύτη ξηρού DCM, 1.2eq. DCC και καταλυτική ποσότητα DMAP. Το διάλυμα αυτό προστίθεται στάγδην στη σφαιρική φιάλη και το τελικό μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για 48h σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, υπό αδρανείς συνθήκες αζώτου. Μετά το πέρας της αντίδρασης, το μίγμα αφήνεται σε ηρεμία και υπό ψύξη για 24h, όπου παρατηρείται η καταβύθιση ενός ιζήματος, της δικυκλοεξουλουρίας, που αποτελεί ένα αδιάλυτο στο νερό και λευκού χρώματος παραπροϊόν της αντίδρασης. Το παραπροϊόν απομακρύνεται από το μίγμα μέσω διήθησης υπό κενό και στη συνέχεια το διήθημα εκχυλίζεται δύο φορές με υδατικό διάλυμα HCl 10% και δύο φορές με κορεσμένο υδατικό διάλυμα NaHCO₃. Ακολουθεί ξήρανση της οργανικής φάσης με άνυδρο Na₂SO₄

και συμπύκνωση υπό ελαττωμένη πίεση. Το τελικό προϊόν της αντίδρασης παραλαμβάνεται με τη μορφή υποκίτρινου ελαίου και λαμβάνει την επιθυμητή καθαρότητα μέσω χρωματογραφίας στήλης, σε σύστημα διαλυτών PE:EtOAc – 90:10 - 80:20.

Σύνθεση της ένωσης 4-ακετοξυ-3-μεθοξυβενζοϊκός οκτυλεστέρας (4a)



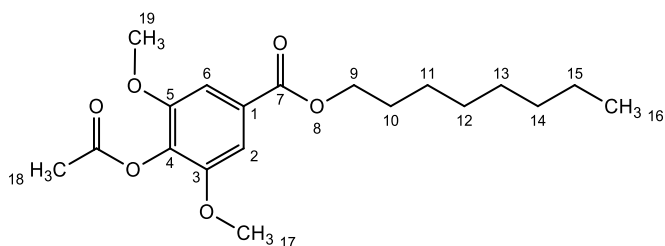
Η σύνθεση της ένωσης **4a** βασίζεται στη Γενική Μέθοδο Β. Σε σφαιρική φιάλη που περιέχει 11.1mL ξηρού DCM προστίθενται 1.81mmol

(380mg) ακέτυλο-βανιλικού οξέος **2a** και 1.65mmol (258μL) οκτανόλης (**3a**). Στη συνέχεια προστίθεται στάγδην διάλυμα που περιέχει 11.1mL ξηρού DCM, 1.98mmol (408.5mg) DCC και 19.6mg DMAP. Μετά το πέρας της αντίδρασης και της κατάλληλης επεξεργασίας του μίγματος, το τελικό προϊόν (**4a**) παραλαμβάνεται σε μορφή υποκίτρινου ελαίου και σε υψηλή καθαρότητα.

Απόδοση αντίδρασης: 38%

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃-d₁) δ (ppm) **7.66** (m, J=7.2Hz, 2H, H-2/H-6) **7.10** (d, J=8.4Hz, 1H, H-5) **4.32** (t, J=6.6Hz, 2H, H-9) **3.88** (s, 3H, H-17) **2.32** (s, 3H, H-18) **1.75** (quint, J=6.6Hz, 3H, H-16) **1.34** (m, J=34.5, 10H, H-11/H-12/H-13/H-14/H-15) **0.89** (t, J=6.6Hz, 3H, H-17)

Σύνθεση της ένωσης 4-ακετοξυ-3,5-διμεθοξυβενζοϊκός οκτυλεστέρας (4b)



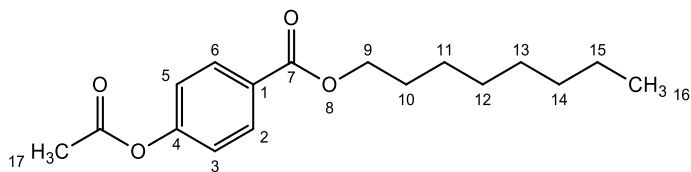
Η σύνθεση της ένωσης **4b** βασίζεται στη Γενική Μέθοδο Β. Σε σφαιρική φιάλη που περιέχει mL ξηρού DCM προστίθενται mmol (mg) ακέτυλο-συριγγικού

οξέος (**2b**) και mmol (mL) οκτανόλης (**3a**). Στη συνέχεια προστίθεται στάγδην διάλυμα που περιέχει mL ξηρού DCM, mmol (mg) DCC και mg DMAP. Μετά το πέρας της αντίδρασης και της κατάλληλης επεξεργασίας του μίγματος, το τελικό προϊόν (**4b**) παραλαμβάνεται σε μορφή υποκίτρινου ελαίου και σε υψηλή καθαρότητα.

Απόδοση αντίδρασης: 55%

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃-d₁) δ (ppm) 7.32 (s, 2H, H-2/H-6) 4.31 (t, J=6.9Hz, 2H, H-9) 3.87 (s, 6H, H-17/H-19) 2.35 (s, 3H, H-18) 1.76 (quint, J=6.6Hz, 2H, H-10) 1.39-1.25 (m, 10H, H-11/H-12/H-13/H-14/H-15) 0.89-0.85 (m, 3H, H-16)

Σύνθεση της ένωσης 4-ακετοξυβενζοϊκός οκτυλεστέρας (4c)



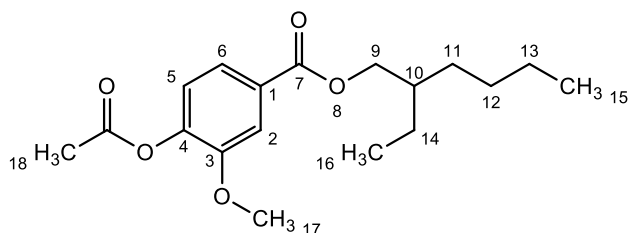
Η σύνθεση της ένωσης **4c** βασίζεται στη Γενική Μέθοδο Β. Σε σφαιρική φιάλη που περιέχει 13.6mL ξηρού DCM προστίθενται

2.22mmol (400mg) ακέτυλο-ρ-υδροξυ-βενζοϊκού οξέος (**2c**) και 2.02mmol (319μL) οκτανόλης (**3a**). Στη συνέχεια προστίθεται στάγδην διάλυμα που περιέχει 13.6mL ξηρού DCM, 2.42mmol (499.3mg) DCC και 24.1mg DMAP. Μετά το πέρας της αντίδρασης και της κατάλληλης επεξεργασίας του μίγματος, το τελικό προϊόν (**4c**) παραλαμβάνεται σε μορφή υποκίτρινου ελαίου και σε υψηλή καθαρότητα.

Απόδοση αντίδρασης: 85%

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃-d₁) δ (ppm) 8.07 (d, J=8.7Hz, 2H, H-2/H-6) 7.17 (d, J=8.4Hz, 2H, H-3/H-5) 4.32 (t, J=6.9Hz, 2H, H-9) 2.32 (s, 3H, H-17) 1.75 (quint, J=6.3Hz, 2H, H-10) 1.45-1.28 (m, 10H, H-11/H-12/H-13/H-14/H-15) 0.88 (t, J=6.9Hz, 3H, H-16)

Σύνθεση της ένωσης 4-ακετοξυ-3-μεθοξυβενζοϊκός 2-αιθυλεξυλεστέρας (4d)



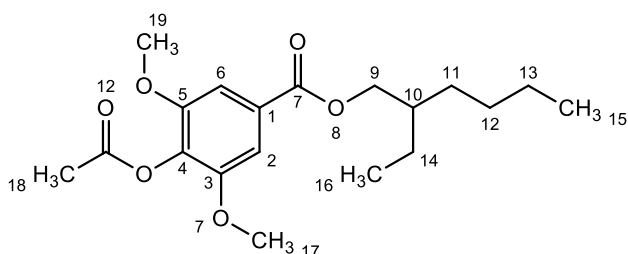
Η σύνθεση της ένωσης **4d** βασίζεται στη Γενική Μέθοδο Β. Σε σφαιρική φιάλη που περιέχει 10.2mL ξηρού DCM προστίθενται 1.67mmol (350mg) ακέτυλο-βανιλικού οξέος

(**2a**) και 1.52mmol (236μL) 2-αιθυλ-εξανόλης (**3b**). Στη συνέχεια προστίθεται στάγδην διάλυμα που περιέχει 10.2mL ξηρού DCM, 2.00mmol (412.7mg) DCC και 18.1mg DMAP. Μετά το πέρας της αντίδρασης και της κατάλληλης επεξεργασίας του μίγματος, το τελικό προϊόν (**4d**) παραλαμβάνεται σε μορφή υποκίτρινου ελαίου και σε υψηλή καθαρότητα.

Απόδοση αντίδρασης: 39%

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃-d₁) δ (ppm) **7.67-7.64** (m, 2H, H-2/H-6) **7.09** (d, J=8.7Hz, 1H, H-5) **4.24** (d, J=5.7Hz, 2H, H-9) **3.88** (brs, 3H, H-17) **3.33** (brs, 3H, H-18) **1.71** (quint, J=6.0Hz, 1H, H-10) **1.49-1.31** (m, 8H, H-11/H-12/H-13/H-14) **0.97-0.88** (m, 6H, H-15/H-16)

Σύνθεση της ένωσης 4-ακετοξυ-3,5-διμεθοξυβενζοϊκός 2-αιθυλεξυλεστέρας (4e)



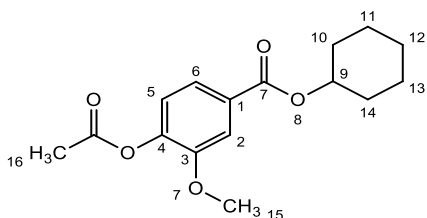
Η σύνθεση της ένωσης (**4e**) βασίζεται στη Γενική Μέθοδο Β. Σε σφαιρική φιάλη που περιέχει 10.2mL ξηρού DCM προστίθενται 1.67mmol (400mg) ακέτυλο-συριγγικού οξέος

(**2b**) και 1.52mmol (236μL) 2-αιθυλ-εξανόλης (**3b**). Στη συνέχεια προστίθεται στάγδην διάλυμα που περιέχει 10.2mL ξηρού DCM, 2.00mmol (412.7mg) DCC και 18.1mg DMAP. Μετά το πέρας της αντίδρασης και της κατάλληλης επεξεργασίας του μίγματος, το τελικό προϊόν (**4e**) παραλαμβάνεται σε μορφή υποκίτρινου ελαίου και σε υψηλή καθαρότητα.

Απόδοση αντίδρασης: 59%

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃-d₁) δ (ppm) **7.32** (s, 2H, H-2/H-6) **4.23** (d, J=6.0Hz, 2H, H-9) **3.86** (brs, 6H, H-17/H-19) **2.34** (brs, 3H, H-18) **1.72** (quint, J=6.9Hz, 1H, H-10) **1.48-1.31** (m, 8H, H-11/H-12/H-13/H-14) **0.97-0.87** (m, 6H, H-15/H-16)

Σύνθεση της ένωσης 4-ακετοξυ-3-μεθοξυβενζοϊκός κυκλοεξυλεστέρας (4f)

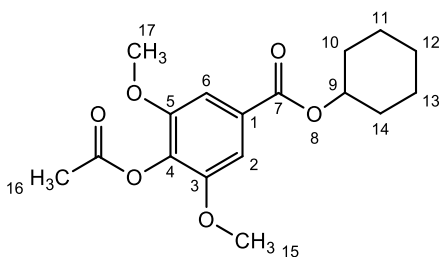


Η σύνθεση της ένωσης **4f** βασίζεται στη Γενική Μέθοδο Β. Σε σφαιρική φιάλη που περιέχει 11.1mL ξηρού DCM προστίθενται 1.81mmol (380mg) ακέτυλο-βανιλικού οξέος (**2a**) και 1.65mmol (174μL) κυκλο-εξανόλης (**3c**). Στη συνέχεια προστίθεται στάγδην διάλυμα που περιέχει 11.1mL ξηρού DCM, 1.98mmol (408.5mg) DCC και 19.6mg DMAP. Μετά το πέρας της αντίδρασης και της κατάλληλης επεξεργασίας του μίγματος, το τελικό προϊόν (**4f**) παραλαμβάνεται σε μορφή υποκίτρινου ελαίου και σε υψηλή καθαρότητα.

Απόδοση αντίδρασης: 42%

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃-d₁) δ (ppm) **7.66** (d, J=9.3Hz, 2H, H-2/H-6) **7.07** (d, J=Hz, 1H, H-5) **5.00** (quint, J=4.8Hz, 1H, H-9) **3.88** (brs, 3H, H-15) **2.31** (brs, 3H, H-16) **1.95-1.90** (m, 2H, H-10) **1.78-1.75** (m, 2H, H-14) **1.63-1.30** (m, 6H, H-11/H-12/H-13)

Σύνθεση της ένωσης 4-ακετοξυ-3,5-διμεθοξυβενζοϊκός κυκλοεξυλεστέρας (4g)



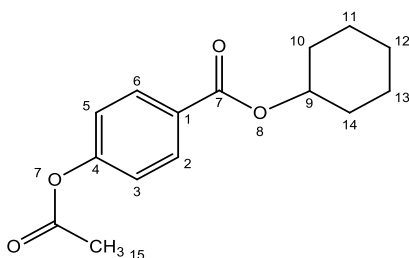
Η σύνθεση της ένωσης **4g** βασίζεται στη Γενική Μέθοδο Β. Σε σφαιρική φιάλη που περιέχει 10.5mL ξηρού DCM προστίθενται 1.72mmol (412.6mg) ακέτυλο-συριγγικού οξέος (**2b**) και 1.56mmol (165μL) κυκλο-εξανόλης (**3c**). Στη συνέχεια προστίθεται στάγδην διάλυμα που περιέχει 10.5mL ξηρού DCM, 1.87mmol (385.8mg) DCC και 18.7mg DMAP. Μετά το πέρας της αντίδρασης και της κατάλληλης

επεξεργασίας του μίγματος, το τελικό προϊόν (**4g**) παραλαμβάνεται σε μορφή υποκίτρινου ελαίου και σε υψηλή καθαρότητα.

Απόδοση αντίδρασης: 31%

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃-d₁) δ (ppm) **7.33** (s, 2H, H-2/H-6) **4.34** (m, 1H, H-9) **3.92** (s, 3H, H-15) **3.88** (s, 3H, H-17) **2.35** (s, 3H, H-16) **1.77-1.68** (m, 4H, H-10H-14) **1.44-1.26** (m, 4H, H-11/H-13) **0.89-0.82** (m, 2H, H-12)

Σύνθεση της ένωσης 4-ακετοξυβενζοϊκός κυκλοεξυλεστέρας (**4h**)

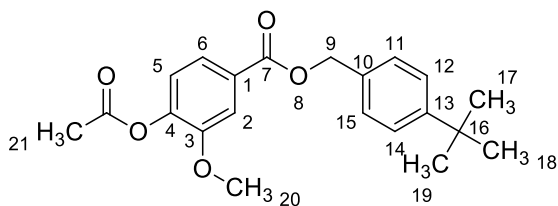


Η σύνθεση της ένωσης **4h** βασίζεται στη Γενική Μέθοδο Β. Σε σφαιρική φιάλη που περιέχει 14.5mL ξηρού DCM προστίθενται 2.37mmol (427mg) ακέτυλο-ρ-υδροξυ-βενζοϊκού οξέος (**2c**) και 2.15mmol (227μL) οκτανόλης (**3a**). Στη συνέχεια προστίθεται στάγδην διάλυμα που περιέχει 14.5mL ξηρού DCM, 2.58mmol (532.3mg) DCC και 25.7mg DMAP. Μετά το πέρας της αντίδρασης και της κατάλληλης επεξεργασίας του μίγματος, το τελικό προϊόν (**4h**) παραλαμβάνεται σε μορφή υποκίτρινου ελαίου και σε υψηλή καθαρότητα.

Απόδοση αντίδρασης: 32%

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃-d₁) δ (ppm) **8.08** (d, *J*=8.7Hz, 2H, H-2/H-6) **7.16** (d, *J*=8.7Hz, 2H, H-3/H-5) **5.02** (m, 1H, H-9) **2.32** (s, 3H, H-15) **1.97-1.91** (m, 2H, H-10) **1.83-1.77** (m, 2H, H-14) **1.61-1.54** (m, 4H, H-11/H-13) **1.47-1.40** (m, 2H, H-12)

Σύνθεση της ένωσης 4-(tert-βουτυλ)φαινυλ 4-ακετοξυ-3-αιθυλ-βενζοϊκός εστέρας (4i)



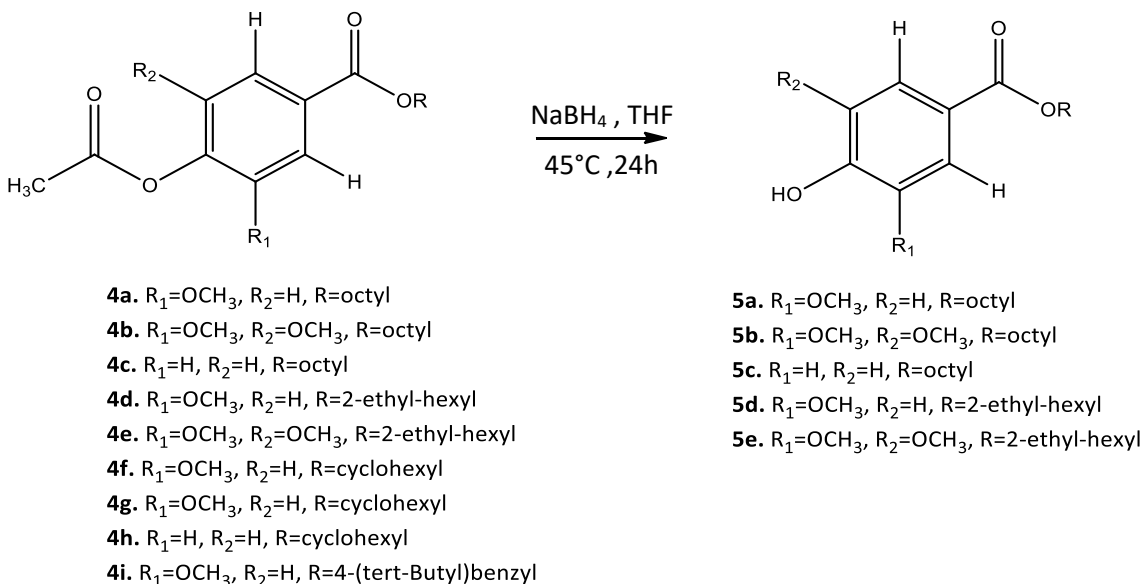
Η σύνθεση της ένωσης **4i** βασίζεται στη Γενική Μέθοδο Β. Σε σφαιρική φιάλη που περιέχει 5.3mL ξηρού DCM προστίθενται 0.87mmol (183mg) ακέτυλο-βανιλικού οξέος (**2a**) και 0.79mmol (140μL) 4-(tert-

βουτυλ) βενζυλική αλκοόλη (**3d**). Στη συνέχεια προστίθεται στάγδην διάλυμα που περιέχει 5.3mL ξηρού DCM, 0.95mmol (195.8mg) DCC και 9.4mg DMAP. Μετά το πέρας της αντίδρασης και της κατάλληλης επεξεργασίας του μίγματος, το τελικό προϊόν (**4i**) παραλαμβάνεται σε μορφή υποκίτρινου ελαίου και σε υψηλή καθαρότητα.

Απόδοση αντίδρασης: 38%

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃-d₁) δ (ppm) **7.72-7.68** (br, 2H, H-2/H-6) **7.43-7.36** (m, 4H, H-11/H-12/H-14/H-15) **7.08** (d, J=8.1Hz, 1H, H-5) **5.34** (brs, 2H, H-9) **3.88** (brs, 3H, H-20) **2.33** (brs, 3H, H-21) **1.33** (brs, 9H, H-17/H-18/H-19)

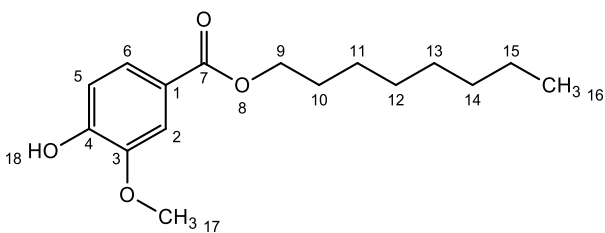
5.3. Γενική Μέθοδος Γ: Σύνθεση των εστέρων φαινολικών οξέων 5a-5



Για τη σύνθεση των αποπροστατευμένων εστέρων (**5a-5e**), σε σφαιρική φιάλη που περιέχει κατάλληλη ποσότητα διαλύτη THF, προστίθεται αρχικά 1eq. ακετυλοξυ-εστέρα και στη συνέχεια 5.4eq. NaBH₄ για κάθε ακετυλοξυ-ομάδα που πρόκειται να απομακρυνθεί. Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για 24h στους 45°C με τη βοήθεια του κάθετου ψυκτήρα και υπό αδρανείς συνθήκες αζώτου, ενώ η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται μέσω TLC. Μετά το πέρας της αντίδρασης, το μίγμα αφήνεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και προστίθεται σε αυτό μικρή ποσότητα κορεσμένου υδατικού διαλύματος χλωριούχου αμμωνίου (NH₄Cl). Στη συνέχεια το μίγμα εκχυλίζεται με διαλύτη Et₂O, όπου συλλέγεται η οργανική φάση, η οποία ακολούθως εκχυλίζεται δύο φορές με το υδατικό διάλυμα NH₄Cl και δύο φορές με υδατικό διάλυμα χλωριούχου νατρίου (NaCl). Η οργανική φάση τελικά συλλέγεται, ξηραίνεται με άνυδρο Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση, δίνοντας ένα ελαιώδες προϊόν υποκίτρινου χρώματος. Το τελικό προϊόν παραλαμβάνεται στην επιθυμητή καθαρότητα και σε μορφή

ελαίου, ύστερα από καθαρισμό μέσω χρωματογραφικής στήλης σε σύστημα διαλυτών PE:EtOAc – 80:20.

Σύνθεση της ένωσης 4-υδροξυ-3-μεθοξυβενζοϊκός οκτυλεστέρας (5a)



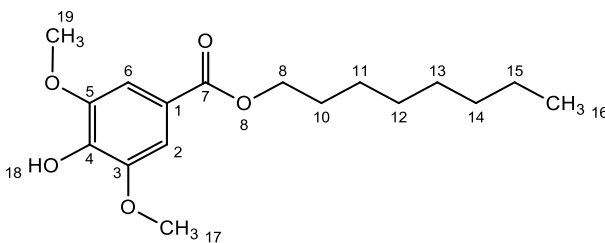
Η σύνθεση της ένωσης 5a βασίζεται στη γενική μέθοδο Γ. Σε σφαιρική φιάλη που περιέχει 2.4mL THF προστίθενται 0.473mmol (179.6mg) ακετυλοξυεστέρα 4a και στη συνέχεια 2.7mmol

(102.1mg) NaBH₄. Μετά το πέρας της αντίδρασης και της κατάλληλης επεξεργασίας του μίγματος, το τελικό προϊόν (5a) παραλαμβάνεται σε μορφή ελαίου υποκίτρινου χρώματος και σε υψηλή καθαρότητα.

Απόδοση Αντίδρασης: 38%

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃-d₁) δ (ppm) **7.63** (d, J=8.1Hz, 1H, H-6) **7.55** (s, 1H, H-5) **6.93** (d, J=, 1H, H-2) **6.01** (s, 1H, Ar-OH) **4.28** (t, J=6.3Hz, 2H, H-9) **3.94** (s, 3H, H-17) **1.77-1.70** (m, 2H, H-10) **1.43-1.28** (m, 10H, H-11/H-12/H-13/H-14/H-15) **0.88-0.86** (m, 3H, H-16)

Σύνθεση της ένωσης 4-υδροξυ-3,5-διμεθοξυβενζοϊκός οκτυλεστέρας (5b)



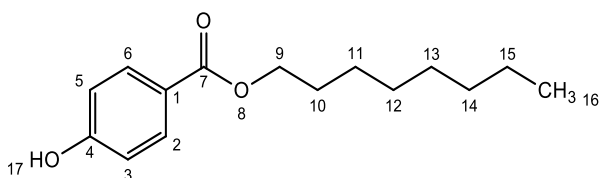
Η σύνθεση της ένωσης 5b βασίζεται στη γενική μέθοδο Γ. Σε σφαιρική φιάλη που περιέχει 2.5mL THF προστίθενται 0.50mmol (152.6mg) ακετυλοξυεστέρα (4b) και στη συνέχεια 2.55mmol

(96.5mg) NaBH₄. Μετά το πέρας της αντίδρασης και της κατάλληλης επεξεργασίας του μίγματος, το τελικό προϊόν (5b) παραλαμβάνεται σε μορφή ελαίου υποκίτρινου χρώματος και σε υψηλή καθαρότητα.

Απόδοση Αντίδρασης: 32%

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃-d₁) δ (ppm) **7.32** (brs, 2H, H-2/H-6) **5.94** (s, 1H, Ar-OH) **4.29** (t, *J*=6.0Hz, 2H, H-9) **3.93** (s, 6H, H-17/H-19) **2.32** (s, 3H, H-18) **1.78** (quint, *J*=6.9Hz, 3H, H-10) **1.42-1.28** (m, 10H, H-11/H-12/H-13/H-14/H-15) **0.87-0.85** (t, *J*=6.6Hz, 3H, H-16)

Σύνθεση της ένωσης 4-υδροξυ-βενζοϊκός οκτυλεστέρας (5c)



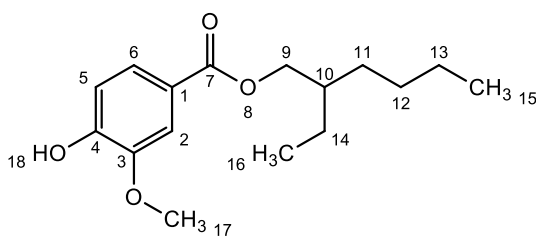
Η σύνθεση της ένωσης **5c** βασίζεται στη γενική μέθοδο Γ. Σε σφαιρική φιάλη που περιέχει 2.5mL THF προστίθενται 0.36mmol (106.3mg) ακετυλοξυ-εστέρα **4c** και στη συνέχεια 1.94mmol (73.5mg)

NaBH₄. Μετά το πέρας της αντίδρασης και της κατάλληλης επεξεργασίας του μίγματος, το τελικό προϊόν (**5c**) παραλαμβάνεται σε μορφή ελαίου υποκίτρινου χρώματος και σε υψηλή καθαρότητα.

Απόδοση Αντίδρασης: 35%

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃-d₁) δ (ppm) **7.95** (d, *J*=8.7Hz, 2H, H-2/H-6) **6.89** (d, *J*=8.7Hz, 2H, H-3/H-5) **6.78** (s, 1H, Ar-OH) **7.55** (s, 1H, H-5) **6.93** (d, *J*=, 1H, H-2) **4.29** (t, *J*=6.6Hz, 2H, H-9) **1.75** (quint, *J*=6.6, 2H, H-10) **1.45-1.23** (m, 10H, H-11/H-12/H-13/H-14/H-15) **0.90-0.86** (m, 3H, H-16)

Σύνθεση της ένωσης 4-υδροξυ-3-μεθοξυβενζοϊκός 2-αιθυλεξυλεστέρας (5d)



Η σύνθεση της ένωσης **5d** βασίζεται στη γενική μέθοδο Γ. Σε σφαιρική φιάλη που περιέχει 1.7mL THF προστίθενται 0.339mmol (109.3mg) ακετυλοξυ-εστέρα (**4d**) και στη συνέχεια 1.83mmol (69.2mg)

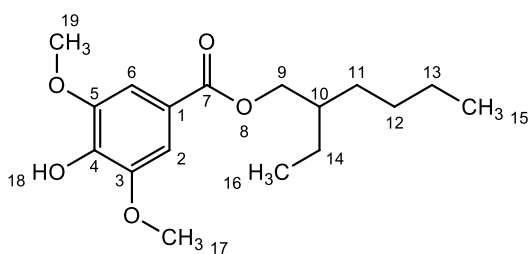
NaBH₄. Μετά το πέρας της αντίδρασης και της κατάλληλης επεξεργασίας του μίγματος,

το τελικό προϊόν (**5d**) παραλαμβάνεται σε μορφή ελαίου υποκίτρινου χρώματος και σε υψηλή καθαρότητα.

Απόδοση Αντίδρασης: 47%

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃-d₁) δ (ppm) 7.63 (dd, *J*=1.8Hz, 1.5Hz, 1H, H-6) **7.56** (d, *J*=1.5Hz, 1H, H-2) **6.94** (d, *J*=8.1Hz, 1H, H-5) **5.99** (s, 1H, Ar-OH) **4.21** (d, *J*=5.7Hz, 2H, H-9) **3.95** (brs, 3H, H-17) **1.71** (quint, *J*=6.0Hz, 1H, H-10) **1.47-1.33** (m, 8H, H-11/H-12/H-13/H-14) **0.97-0.88** (m, 6H, H-15/H-16)

Σύνθεση της ένωσης 4-υδροξυ-3,5-διμεθοξυβενζοϊκός 2-αιθυλεξυλεστέρας (5e)



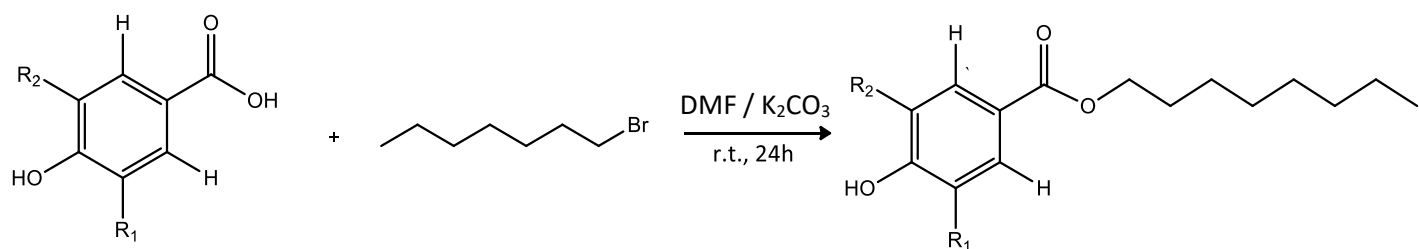
Η σύνθεση της ένωσης **5e** βασίζεται στη γενική μέθοδο Γ. Σε σφαιρική φιάλη που περιέχει 4.5mL THF προστίθενται 0.894mmol (314.9mg) ακετυλοξυ-εστέρα (**4e**) και στη συνέχεια 4.83mmol

(182.7mg) NaBH₄. Μετά το πέρας της αντίδρασης και της κατάλληλης επεξεργασίας του μίγματος, το τελικό προϊόν (**5e**) παραλαμβάνεται σε μορφή ελαίου υποκίτρινου χρώματος και σε υψηλή καθαρότητα.

Απόδοση Αντίδρασης: 45%

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃-d₁) δ (ppm) 7.32 (s, 2H, H-2/H-6) **5.88** (s, 1H, Ar-OH) **4.22** (d, *J*=5.7Hz, 2H, H-9) **3.94** (brs, 6H, H-17/H-19) **1.71** (quint, *J*=3.6Hz, 1H, H-10) **1.47-1.35** (m, 8H, H-11/H-12/H-13/H-14) **0.98-0.90** (m, 6H, H-15/H-16)

5.4. Γενική Μέθοδος Δ: Σύνθεση των εστέρων φαινολικών οξέων 6a-6 μέσω αντίδρασης S_N2.

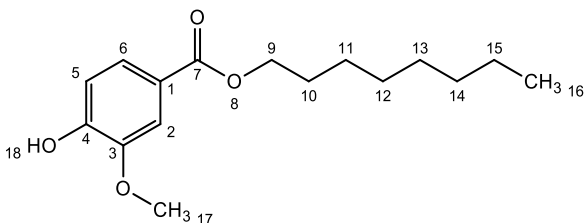


- 1a. R₁=OCH₃, R₂=H
1b. R₁=OCH₃, R₂=OCH₃
1c. R₁=H, R₂=H

- 5a. R₁=OCH₃, R₂=H
5b. R₁=OCH₃, R₂=OCH₃
5e. R₁=H, R₂=H

Για τη σύνθεση των επιθυμητών οκτυλεστέρων δοκιμάστηκε και η παρακάτω μέθοδος. Σε σφαιρική φιάλη που περιέχει κατάλληλη ποσότητα DMF, προστίθεται αρχικά 1eq οξέος **1a-1c** και στη συνέχεια 2eq K₂CO₃. Το μίγμα αφήνεται για 20min υπό ανάδευση και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και σε αδρανείς συνθήκες αζώτου. Έπειτα, στο μίγμα προστίθεται στάγδην διάλυμα 1eq επιθυμητού βρωμιδίου σε διαλύτη ξηρό DMF και το νέο μίγμα αφήνεται για 24h υπό ανάδευση και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, υπό αδρανείς συνθήκες αζώτου. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται μέσω χρωματογραφίας TLC. Μετά το πέρας της αντίδρασης, στο μίγμα προστίθεται μικρή ποσότητα νερού κι ακολουθεί εκχύλιση με διαλύτη Et₂O. Η οργανική φάση συλλέγεται, ξηραίνεται με άνυδρο Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση σε περιστροφικό εξατμιστήρα. Το τελικό προϊόν παραλαμβάνεται στην επιθυμητή καθαρότητα χωρίς πρόσθετη διαδικασία καθαρισμού.

Σύνθεση της ένωσης 4-υδροξυ-3-μεθοξυβενζοϊκός οκτυλεστέρας (5a)



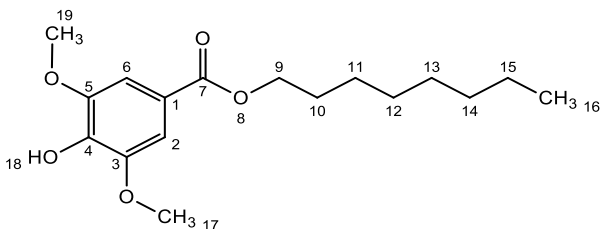
Η σύνθεση της ένωσης **5a** βασίζεται στη γενική μέθοδο Δ. Σε σφαιρική φιάλη που περιέχει 10.4mL DMF προστίθενται 1.67mmol (350mg) βανιλικού οξέος (**1a**) και 3.34mmol (461.6mg) K_2CO_3 .

Ακολουθεί στάγδην προσθήκη διαλύματος 1.67mmol (322.5mg) βρωμιδίου του οκτανίου (**6a**) σε 10.4mL DMF. Μετά το πέρας της αντίδρασης και της κατάλληλης επεξεργασίας του μίγματος, το τελικό προϊόν (**5a**) παραλαμβάνεται σε μορφή ελαίου υποκίτρινου χρώματος και σε υψηλή καθαρότητα.

Απόδοση Αντίδρασης: 15%

1H -NMR (300MHz, $CDCl_3-d_1$) δ (ppm) **7.63** (d, $J=8.1$ Hz, 1H, H-6) **7.55** (s, 1H, H-5) **6.93** (d, $J=$, 1H, H-2) **6.01** (s, 1H, Ar-OH) **4.28** (t, $J=6.3$ Hz, 2H, H-9) **3.94** (s, 3H, H-17) **1.77-1.70** (m, 2H, H-10) **1.43-1.28** (m, 10H, H-11/H-12/H-13/H-14/H-15) **0.88-0.86** (m, 3H, H-16)

Σύνθεση της ένωσης 4-υδροξυ-3,5-διμεθοξυβενζοϊκός οκτυλεστέρας (5b)



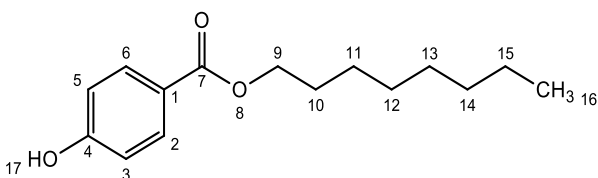
Η σύνθεση της ένωσης **5b** βασίζεται στη γενική μέθοδο Δ. Σε σφαιρική φιάλη που περιέχει 9.4mL DMF προστίθενται 1.51mmol (300mg) συριγγικού οξέος (**1b**) και 3.00mmol (417.4mg) K_2CO_3 .

Ακολουθεί στάγδην προσθήκη διαλύματος 1.51mmol (292.4mg) βρωμιδίου του οκτανίου **6a** σε 9.4mL DMF. Μετά το πέρας της αντίδρασης και της κατάλληλης επεξεργασίας του μίγματος, το τελικό προϊόν (**5b**) παραλαμβάνεται σε μορφή ελαίου υποκίτρινου χρώματος και σε υψηλή καθαρότητα.

Απόδοση Αντίδρασης: 17%

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃-d₁) δ (ppm) **7.32** (brs, 2H, H-2/H-6) **5.94** (s, 1H, Ar-OH) **4.29** (t, J=6.0Hz, 2H, H-9) **3.93** (s, 6H, H-17/H-19) **2.32** (s, 3H, H-18) **1.78** (quint, J=6.9Hz, 3H, H-10) **1.42-1.28** (m, 10H, H-11/H-12/H-13/H-14/H-15) **0.87-0.85** (t, J=6.6Hz, 3H, H-16)

Σύνθεση της ένωσης 4-υδροξυ-βενζοϊκός οκτυλεστέρας (5c)



Η σύνθεση της ένωσης **5c** βασίζεται στη γενική μέθοδο Δ. Σε σφαιρική φιάλη που περιέχει 4.5mL DMF προστίθενται 0.724mmol (100mg) p-υδροξυ-βενζοϊκού οξέος **1c** και 1.45mmol (200.4mg) K₂CO₃.

Ακολουθεί στάγδην προσθήκη διαλύματος 0.724mmol (139.2mg) βρωμιδίου του οκτανίου **6a** σε 4.5mL DMF. Μετά το πέρας της αντίδρασης και της κατάλληλης επεξεργασίας του μίγματος, το τελικό προϊόν (**5c**) παραλαμβάνεται σε μορφή ελαίου υποκίτρινου χρώματος και σε υψηλή καθαρότητα.

Απόδοση Αντίδρασης: 22%

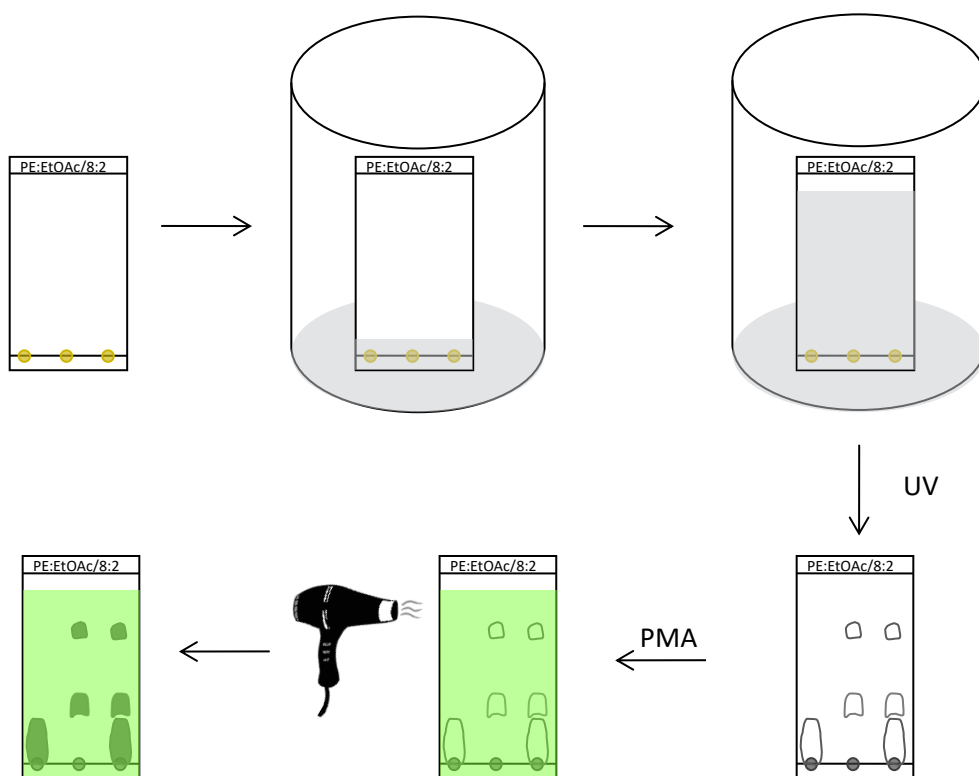
¹H-NMR (300MHz, CDCl₃-d₁) δ (ppm) **7.95** (d, J=8.7Hz, 2H, H-2/H-6) **6.89** (d, J=6.6Hz, 2H, H-3/H-5) **6.78** (brs, 1H, Ar-OH) **4.29** (t, J=6.6Hz, 2H, H-9) **1.75** (quint, 2H, H-10) **1.32** (m, J=67.5Hz, 10H, H-11/H-12/H-13/H-14/H-15) **0.88** (t, J=6.6Hz, 3H, H-16)

Επιπλέον, επιχειρήθηκε η παραγωγή εστέρων με το 1-βρωμο-κυκλοεξάνιο, ωστόσο τα προϊόντα παραλήφθηκαν σε πολύ χαμηλή απόδοση και καθαρότητα. Γι'αυτό το λόγο δε συμπεριλαμβάνονται στην παρούσα εργασία.

6. ΜΕΘΟΔΟΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΥ ΚΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

6.1. Χρωματογραφία Λεπτής Στοιβάδας (TLC)

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιήθηκε κατά κόρον για την ανίχνευση και αναγνώριση των διάφορων συστατικών του μίγματος. Η αρχή αυτής της μεθόδου βασίζεται στις διαφορετικές πολικότητες των συστατικών και του συστήματος διαλυτών που χρησιμοποιείται για την ανάλυση.



Εικόνα 3: Πορεία της μεθόδου χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC).

Η διαδικασία ξεκινά με την τοποθέτηση του δείγματος μέσω ειδικών τριχοειδών σωληνίων πάνω σε πλάκα, η οποία είναι επιστρωμένη με silica gel. Στη συνέχεια, τοποθετείται σε ειδικό θάλαμο ανάπτυξης ο οποίος περιέχει το σύστημα διαλυτών με συγκεκριμένη αναλογία αυτών. Καθώς, λοιπόν πραγματοποιείται η διαβροχή της πλάκας μέσω τριχοειδών δυνάμεων, τα συστατικά του μίγματος ανάλογα με την πολικότητά τους συμπαράσύρονται είτε περισσότερο είτε λιγότερο. Χαμηλότερα κατακρατούνται οι πιο

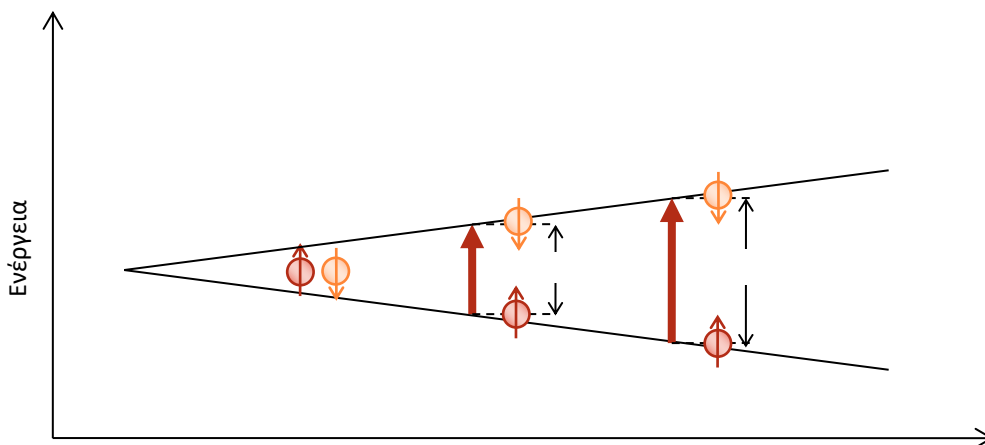
πολικές ενώσεις, ενώ υψηλότερα εμφανίζονται οι πιο άπολες ενώσεις. Μετά το πέρας της διαβροχής της πλάκας, ελέγχεται η πορεία κάτω από λάμπα υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) στα 254nm όπου και εμφανίζονται τα συστατικά σε μορφή κηλίδων όπως φαίνεται στην ο έλεγχος της ύπαρξής τους ή μη, μέσω του διαλύματος PMA. Αφού ελεγχθεί η πλάκα στο UV, εμβαπτίζεται σε διάλυμα φωσφομολυβδαινικού οξέος (PMA) αιθανόλη και θερμαίνεται με ειδικό blower, μέχρις ότου εμφανιστούν πιο σκούρες οι κηλίδες των συστατικών. Αυτό πραγματοποιείται διότι ορισμένα συστατικά δεν φθορίζουν στη UV ακτινοβολία κι έτσι είναι απαραίτητος ο έλεγχος της ύπαρξής τους ή μη, μέσω του διαλύματος PMA.

6.2. Δομικός Χαρακτηρισμός των αναλόγων των φαινολικών οξέων

6.2.1. Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)

6.2.1.1. Εισαγωγικά

Αρχικά το οργανικό δείγμα προς ανάλυση διαλύεται σε κατάλληλο δευτεριωμένο διαλύτη. Δηλαδή χρησιμοποιούνται διαλύτες που έχουν αντικατεστημένα τα πρωτόνια τους με δευτέρια κι αυτό συμβαίνει διότι το δευτέριο έχει μικρότερη μαγνητική ροπή από το πρωτόνιο, λόγω χαμηλότερης σταθεράς σύζευξης δευτερίου με ένα γειτονικό πρωτόνιο. Επομένως, η αντικατάστασή τους με δευτέρια έχει ως αποτέλεσμα την εξαφάνιση της απορρόφησής τους κατά τη λήψη ενός φάσματος. Στην παρούσα εργασία



Σχήμα 17: Η ενεργειακή διαφορά ΔE μεταξύ των καταστάσεων πυρηνικού σπιν εξαρτάται από την ισχύ του εφαρμοζόμενου μαγνητικού πεδίου

χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης το δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3) και το διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO-d_6). Εν συνεχεία το δείγμα τοποθετείται σε ένα γυάλινο τριχοειδή σωλήνα και ανάμεσα στους πόλους ενός μαγνήτη. Έπειτα, το ισχυρό μαγνητικό πεδίο εξαναγκάζει τους πυρήνες να ευθυγραμμιστούν με κάποιον από τους δύο δυνατούς προσανατολισμούς και ξεκινά να ακτινοβολείται με αποτέλεσμα οι πυρήνες να διεγείρονται και να μεταβαίνουν σε άλλο ενεργειακό επίπεδο.

6.2.1.2. Χαρακτηριστικά μεγέθη ενός φάσματος NMR

Τα φάσματα NMR απεικονίζονται σε γραφήματα που στον οριζόντιο άξονα εμφανίζουν την ισχύ του εφαρμοζόμενου πεδίου να αυξάνεται από αριστερά προς τα δεξιά. Αριστερά, είναι η περιοχή χαμηλού πεδίου ενώ δεξιά, η περιοχή υψηλού πεδίου. Οι πυρήνες, ανάλογα με την ισχύ που χρειάζονται για να συντονιστούν κατανέμονται και στις αντίστοιχες περιοχές πεδίων. Πιο συγκεκριμένα, πυρήνες που χρειάζονται λιγότερη ισχύ, απορροφούν στην περιοχή χαμηλού πεδίου. Η θέση όμως, στο γράφημα που απορροφά ο κάθε πυρήνας ονομάζεται **χημική μετατόπιση**. Η βαθμονόμηση των φασμάτων πραγματοποιείται μέσω μίας κλίμακας δ . Μια μονάδα δ ισοδυναμεί με 1 ppm της αντίστοιχης συχνότητας λειτουργίας του οργάνου. Μπορεί να αποδοθεί δηλαδή η παρακάτω σχέση:

$$\delta = \frac{\text{Παρατηρούμενη χημική μετατόπιση}}{\text{Συχνότητα φασματοφωτόμετρου σε MHz}}$$

Εν συνεχεία, η ολοκλήρωση των κορυφών και επομένως του εμβαδού που σχηματίζουν με τον οριζόντιο άξονα είναι ανάλογη του **αριθμού των πρωτονίων** στα οποία οφείλεται. Έτσι, το εμβαδό κάθε κορυφής αποδίδει τον σχετικό αριθμό των διαφορετικών ειδών πρωτονίων σε ένα μόριο.

Συχνά οι κορυφές δεν εμφανίζονται ως απλές (μοναδικές) κορυφές αλλά η απορρόφηση ενός πρωτονίου διασπάται σε μία συστοιχία κορυφών, η οποία ονομάζεται **πολλαπλότητα**. Το φαινόμενο που συμβαίνει στον πυρήνα κι έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση πολλαπλών κορυφών, ονομάζεται σχάση σπιν-σπιν και προκαλείται από την

αλληλεπίδραση των σπιν γειτονικών πυρήνων. Η πολλαπλότητα των κορυφών είναι $n+1$ με n τα ισοδύναμα γειτονικά πρωτόνια.

Η απόσταση τώρα μεταξύ των επιμέρους κορυφών σε μία πολλαπλή κορυφή, ονομάζεται **σταθερά σύζευξης** και συμβολίζεται με J . Οι σταθερές μετριοούνται σε Hz με τιμές από 0 έως 18 Hz. (McMurry, 2015)

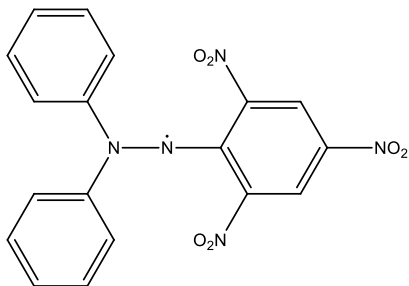
6.3. Αντιοξειδωτική Δράση

Οι ενώσεις που έχουν αντιοξειδωτική ικανότητα στην ουσία μπορούν να αναστείλουν, μέσω αλληλεπίδρασης, την έναρξη ή και τη διάδοση των οξειδωτικών αλυσιδωτών αντιδράσεων που δημιουργούνται από τις ελεύθερες ρίζες. Σαφέστερα, οι τα αυξημένα επίπεδα ελευθέρων ριζών μπορεί να βλάψουν τη δομή των βιομορίων και να τροποποιήσει τις λειτουργίες τους και να οδηγήσει σε κυτταρική δυσλειτουργία ή ακόμη και κυτταρικό θάνατο. Έτσι, ο χαρακτηρισμός μιας ουσίας ως αντιοξειδωτική θεωρείται ιδιαίτερα σημαντική.

Για αυτό το λόγο δημιουργήθηκαν ορισμένες μέθοδοι για να μπορεί να χαρακτηριστεί μία ουσία ως αντιοξειδωτική. Οι τρέχουσες μέθοδοι για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης βασίζονται στον φασματοφωτομετρικό προσδιορισμό μέσω μηχανισμών μεταφοράς ατόμου υδρογόνου (HAT) και μεταφοράς απλών ηλεκτρονίων (SET). Η μέθοδος DPPH συγκαταλέγεται στις παραπάνω μεθόδους και αποτελεί μία από τις ευρέως χρησιμοποιούμενες μεθόδους. Η μέθοδος αυτή εκφράζει την αναγωγική ικανότητα των ενώσεων να δεσμεύουν την ελεύθερη ρίζα DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl).

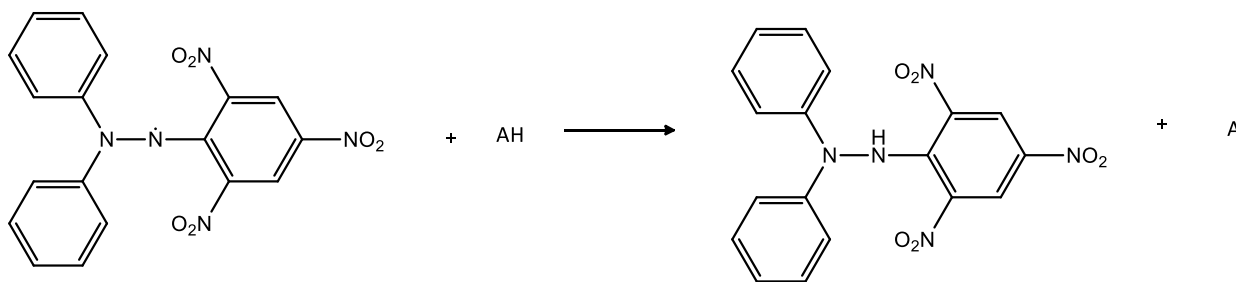
6.3.1. Μέθοδος DPPH – Ικανότητα δέσμευσης της σταθερής ελεύθερης ρίζας

DPPH



Η 2,2-διφαινυλ-1-πικρυλδραζιλική ρίζα (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl, DPPH) είναι μια από τις λίγες σταθερές και εμπορικά διαθέσιμες οργανικές ρίζες αζώτου. Αιτία της σταθερότητάς του, αποτελεί η στερεοχημική δομή του καθώς και στο φαινόμενο «ώθησης-έλξης» που

ασκείται από τη διφαινυλο-αμινο ομάδα (δότης ηλεκτρονίων) και την ομάδα πικρυλίου (δέκτης ηλεκτρονίων) στο δισθενές N.



Σχήμα 18: Αντίδραση της ελεύθερης ρίζας DPPH.

Η ελεύθερη ρίζα DPPH, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 18 διαθέτει ένα μονήρες ηλεκτρόνιο και σε διάλυμα εμφανίζεται να έχει μωβ χρώμα κι απορροφά στα 515nm. Η ανάλυση αυτή βασίζεται στην αντίδραση της ελεύθερης ρίζας DPPH με έναν δότη πρωτονίου κι έτσι το DPPH ανάγεται σε DPPH₂ με ταυτόχρονο αποχρωματισμό του δείγματος, αφήνοντας ένα υποκίτρινο χρώμα, ενώ η απορρόφηση του διαλύματος μειώνεται στα 515nm. Η μεταβολή της έντασης απορρόφησης που παρατηρείται κατά την αντίδραση χρησιμοποιείται ως ένδειξη της ικανότητας των ενώσεων να δρουν ως δεσμευτές ελευθέρων ριζών και κατ' επέκταση της αντιοξειδωτικής τους δράσης. Η μέθοδος DPPH χρησιμοποιείται ευρέως στον προσδιορισμό των αντιοξειδωτικών, καθώς είναι απλή, αποτελεσματική, γρήγορη και οικονομική. Παρ' όλα αυτά η χρήση της ενέχει κάποιους

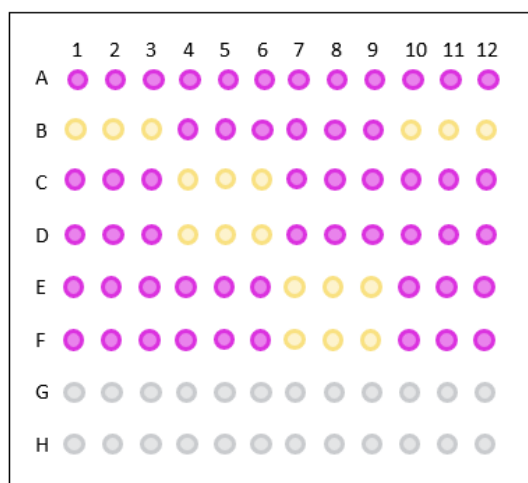
περιορισμούς. Πιο συγκεκριμένα, η ρίζα που εντοπίζεται στο κέντρο της δομής, είναι προσβάσιμη κυρίως από μικρά μόρια ενώ τα μεγαλύτερα μόρια παρουσιάζουν περιορισμένη πρόσβαση, λόγω στερεοχημικής παρεμπόδισης. Επιπρόσθετα, ορισμένες ενώσεις όπως τα καρτενοειδή απορροφούν ισχυρά στο ίδιο μήκος κύματος με τη ρίζα DPPH, επικαλύπτοντας την απορρόφηση της ρίζας. Ακόμη, για τις ενώσεις οι οποίες δεν περιέχουν ομάδες-δότες υδρογόνου δε μπορεί να προσδιοριστεί η αντιοξειδωτική τους δράση μέσω αυτής της μεθόδου. (Krishnanand Mishra, 2012), (Kitima Sirivibulkonit, 2018), (Ionita, 2021)

6.3.2. Διαδικασία προσδιορισμού αντιοξειδωτικής δράσης

Για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης των συντεθέντων ενώσεων μέσω της μεθόδου DPPH, αρχικά παρασκευάζεται διάλυμα του DPPH σε μεθανόλη συγκέντρωσης 63μΜ. Το διάλυμα αναδεύεται για 20min με σκοπό την πλήρη διαλυτοποίηση της ρίζας.

Ακολούθως, παρασκευάζεται διάλυμα της προς προσδιορισμό ένωσης σε διαλύτη είτε μεθανόλη ή αιθανόλη, μέγιστης συγκέντρωσης 100μΜ. Στη συνέχεια δημιουργούνται 4 αραιωμένα διαλύματα της ένωσης συγκεντρώσεων 100, 80, 60, 40, 20μΜ.

Στη συνέχεια, δημιουργούνται διαλύματα του DPPH με κάθε μια συγκέντρωση της εκάστοτε ένωσης και τοποθετούνται στα «πηγαδάκια» του 96 well-plate, σε κατάλληλη αναλογία και τελικό όγκο 200μL.



Σχήμα 19: Σχηματική απεικόνιση του plate, όπου με μωβ χρώμα απεικονίζονται τα δείγματα που δεν δέσμευσαν τη σταθερή ρίζα DPPH και με κίτρινο τα δείγματα που κατάφεραν να τη δεσμεύσουν.

Λαμβάνεται η απορρόφηση των δειγμάτων 515nm μέσω φασματοσκοπίας υπεριώδους-ορατού (UV-Vis) σε plate-reader σε διάστημα 30 και 60min.

Από την επεξεργασία των αποτελεσμάτων προσδιορίζεται η αντιοξειδωτική δράση των ενώσεων μέσω της τιμής IC_{50} καθώς και το ποσοστό αναστολής της οξειδωτικής δράσης που επιτυγχάνει η κάθε ένωση.

6.4. Αξιολόγηση της φωτοπροστατευτικής δράσης

Ο προσδιορισμός της φωτοπροστατευτικής ικανότητας των ενώσεων πραγματοποιήθηκε μέσω μιας *in vitro* μελέτης στο φασματοφωτόμετρο SPF 290S LLC, στις εγκαταστάσεις της εταιρείας Cellco Chemicals.

Η φωτοπροστατευτική δράση των ενώσεων μελετήθηκε ως προς τον δείκτη ηλιακής προστασίας SPF, τον λόγο απορρόφησης UVA/UVB, το κρίσιμο και το μέγιστο μήκος κύματος λ_c και λ_{max} αντίστοιχα. Το μέγιστο μήκος κύματος των ενώσεων που αξιολογήθηκαν προσδιορίστηκε μέσω του υπολογισμού της απορρόφησης των ενώσεων στο υπεριώδες-ορατό φάσμα (UV-Vis), σε φασματόμετρο UV/VIS/NIR JASCO V-770 της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Ε.Μ.Π.

6.4.1. Αρχή της Μεθόδου

Σκοπός της μεθόδου προσδιορισμού της αντηλιακής δράσης είναι να παρέχει μία *in vitro* μέτρηση του δείκτη SPF, του λόγου απορρόφησης UVA/UVB και του κρίσιμου μήκους κύματος λ_c έτσι ώστε να αξιολογηθεί η προστασία που παρέχεται από τα αντηλιακά φίλτρα έναντι της UVB και UVA ακτινοβολίας.

Το τεστ βασίζεται στην αξιολόγηση της UV-διαπερατότητας μέσω ενός λεπτού υμενίου του αντηλιακού δείγματος, απλωμένου σε τραχύ υπόστρωμα, μετά την έκθεση σε ελεγχόμενη δόση UV ακτινοβολίας από καθορισμένη πηγή UV.

Η μέθοδος αυτή πραγματοποιείται στο φασματοφωτόμετρο SPF290S Optometrics LCC, που αποτελείται από 1) πηγή ακτινοβολίας, 2) σταθμό δειγματοληψίας, 3) μονοχρωμάτορα, 4) συλλέκτη ακτινοβολίας και 5) σύστημα ανίχνευσης. Το φασματοφωτόμετρο SPF 290S καλύπτει όλο το φάσμα UVB και UVA ακτινοβολίας, σαρώνοντας από τα 290 έως τα 400nm, συγκεντρώνοντας και αποθηκεύοντας δεδομένα με βήμα 1nm.

6.4.2. Διαπερατότητα και άλλοι παράγοντες

Όπως προαναφέρθηκε, το φασματοφωτόμετρο SPF-290S μετρά τη διαπερατότητα ενός δείγματος. Η διαπερατότητα ορίζεται ως ο λόγος της έντασης φωτός που περνά μέσα από το δείγμα, προς την ένταση που προσκρούει σε αυτό, όπως εκφράζεται με τη σχέση:

$$T = \frac{I}{I_0}$$

Υπάρχουν πολλοί παράγοντες που επηρεάζουν το ποσό της έντασης του φωτός που διαπερνά το δείγμα, μερικοί είναι περισσότερο ή λιγότερο σημαντικοί και εξαρτώνται, είτε από τα χαρακτηριστικά του δείγματος, είτε του οργάνου. Οι τρεις παράγοντες από τους οποίους εξαρτάται η διαπερατότητα σε όλα τα δείγματα είναι: ο συντελεστής απορρόφησης, το πάχος ή το μήκος της διαδρομής και η συγκέντρωση του δείγματος. Τα κρίσιμα αυτά μεγέθη περιγράφουν τη σχέση των Lambert - Beer:

$$A = \varepsilon_{\lambda} \cdot J \cdot L$$

Όπου

A : απορρόφηση, ε_{λ} = συντελεστής απορρόφησης, J : συγκέντρωση, L : μήκος διαδρομής

Με αντικατάσταση του A από τη σχέση του με τη διαπερατότητα:

$$A = \log \frac{1}{T}$$

Έτσι, προκύπτει η σχέση μεταξύ της διαπερατότητας και της απορρόφησης ως εξής:

$$T = \frac{1}{10^{\varepsilon_{\lambda} \cdot J \cdot L}}$$

Κάποιοι επιπλέον παράγοντες που συμπεριλαμβάνονται κατά τη μέτρηση της διαπερατότητας είναι:

- ⊗ Η διασπορά του φωτός σε διαφορετικά σημεία του δείγματος.
- ⊗ Ο φθορισμός και ο φωσφορισμός του δείγματος.
- ⊗ Η ανακλαστικότητα κατά τη μέτρηση του μήκους κύματος.
- ⊗ Οι διαφορετικές τιμές του συντελεστή απορρόφησης σε υψηλές συγκεντρώσεις.
- ⊗ Το εύρος ζώνης της μονοχρωματικής ακτινοβολίας.
- ⊗ Το εύρος ζώνης της μονοχρωματικής ακτινοβολίας.
- ⊗ Η ανίχνευση του φωτός από άλλες πηγές αντί του δείγματος.

6.4.3. Διαδικασία προσδιορισμού του δείκτη SPF

Υπόστρωμα

Το υπόστρωμα πρέπει να είναι διαπερατό από τη UV ακτινοβολία, μη φθορίζον, φωτοσταθερό και αδρανές σε όλα τα συστατικά που θα απλωθούν στην πλάκα. Για τη μέθοδο αυτή κατάλληλες είναι οι πλάκες PMMA (Plexiglas, πολυμεθυλομεθακρυλικό μεθύλιο) με τη μία πλευρά τους να είναι τραχεία.

Το μέγεθος του υποστρώματος θα πρέπει να επιλέγεται έτσι ώστε η περιοχή εφαρμογής να μην είναι μικρότερη από 16cm². Συνήθως προτιμάται ένα τετραγωνικό σχήμα (π.χ. 50 x 50 x 2.5 mm).

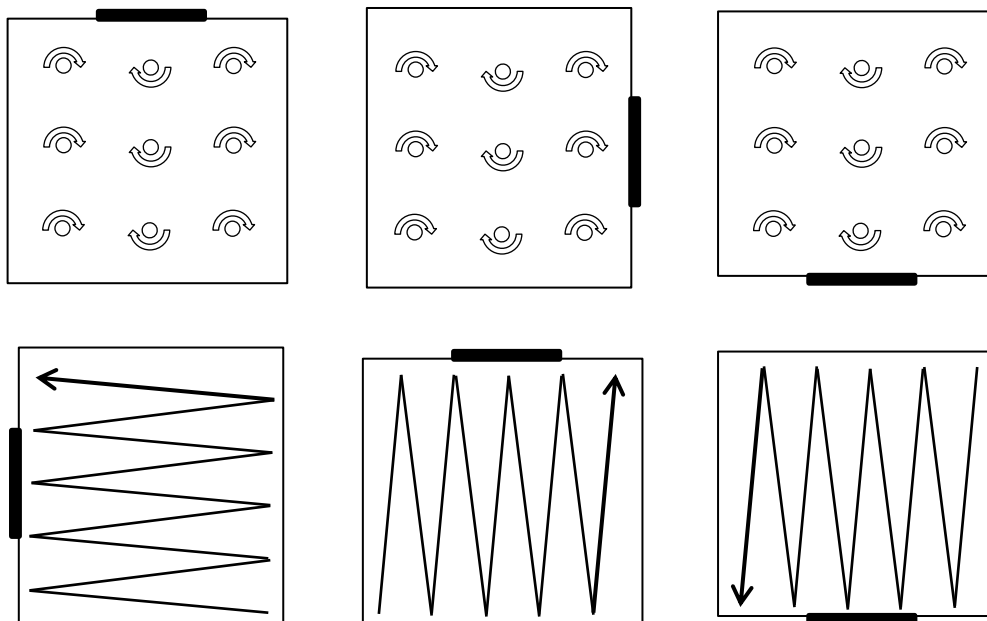
Βαθμονόμηση

Για τη βαθμονόμηση του Φασματοφωτόμετρου SPF-290S χρησιμοποιείται ως δείγμα αναφοράς η γλυκερίνη, η οποία τοποθετείται σε διαφορετικά σημεία στην τραχεία επιφάνεια της πλάκας, χωρίς να επηρεάζεται από την κατανομή. Η ποσότητα της γλυκερίνης που χρησιμοποιείται πρέπει να είναι ικανή να καλύψει ολόκληρη την επιφάνεια (προσεγγιστικά 15 μL για πλάκα 50 x 50 mm).

Προετοιμασία του δείγματος

Το αντηλιακό φίλτρο απλώνεται σε όλη την έκταση της τραχείας επιφάνειας της PMMA πλάκας, με ζύγιση $1.3\text{mg}/\text{cm}^3$, σε πολλές μικρές σταγόνες ίσου όγκου, με τη βοήθεια σύριγγας. Μετά την εφαρμογή, το φίλτρο απλώνεται όσο το δυνατόν γρηγορότερα σε όλη την έκταση της επιφάνειας της πλάκας με την άκρη του δαχτύλου. Το άπλωμα είναι μία διαδικασία δύο σταδίων:

- ✿ Αρχικά, το αντηλιακό απλώνεται σε όλη την έκταση για 30s με μεγάλες κυκλικές κινήσεις χρησιμοποιώντας μικρή πίεση από την πάνω αριστερή προς την κάτω δεξιά γωνία. Στη συνέχεια, περιστρέφεται η πλάκα 90° δεξιόστροφα και εκτελείται η ίδια διαδικασία, για όλες τις πλευρές.
- ✿ Έπειτα, γίνεται επάλειψη του δείγματος χρησιμοποιώντας μεγαλύτερη πίεση και κάνοντας γραμμικές κινήσεις για άλλα 30s. Κατά την ίδια λογική, περιστρέφεται η πλάκα 90° , ώστε να καλυφθούν όλες οι πλευρές.



Σχήμα 20: Επίδειξη κινήσεων επάλειψης δείγματος στην πλάκα PMMA. Στην επάνω σειρά, απεικονίζονται οι κινήσεις που συμβαίνουν κατά το πρώτο στάδιο και στην κάτω κατά το δεύτερο στάδιο.

Το δείγμα αφήνεται σε ηρεμία για τουλάχιστον 15min σε σκοτεινό περιβάλλον και σε θερμοκρασία δωματίου ώστε να διευκολυνθεί η δημιουργία ενός πρότυπου σταθεροποιημένου φιλμ.

Μέτρηση του δείκτη SPF

Αφού προηγηθεί η προετοιμασία του δείγματος, η πλάκα τοποθετείται στο φωτισμένο μέρος της συσκευής. Κατά τη διάρκεια της μέτρησης, η οποία διαρκεί περίπου 5-7min, η πλάκα κινείται και η συσκευή σαρώνει εννέα διαφορετικές περιοχές στην επιφάνειά της από τα 20 έως τα 400nm με βήμα 1nm, εμφανίζοντας διάγραμμα με δέκα διαφορετικές καμπύλες. Οι καμπύλες αυτές στον οριζόντιο άξονα έχουν το κρίσιμο μήκος κύματος ενώ στον κατακόρυφο τον δείκτη MPF (Monochromatic Protection Factor). Οι εννέα από τις καμπύλες αντιστοιχούν σε εννέα διαφορετικά σκαναρίσματα, ενώ η δέκατη είναι ο μέσος όρος αυτών, εξαλείφοντας το θόρυβο κατά τη μέτρηση. Θεωρητικά οι καμπύλες θα έπρεπε να ταυτίζονται, η απόκλιση όμως αυτή οφείλεται σε ανθρώπινο σφάλμα λόγω διαφοράς πάχους και ασκούμενης δύναμης κατά την επάλειψη.

• Υπολογισμός του δείκτη MPF

Ο μονοχρωματικός δείκτης προστασίας προσδιορίζεται για κάθε μήκος κύματος και είναι αντιστρόφως ανάλογος της διαπερατότητας του δείγματος.

$$MPF_{\lambda} = \frac{1}{T_{\lambda}}$$

• Υπολογισμός του λόγου UVA/UVB

$$\frac{UVA}{UVB} = \frac{\int_{320}^{400} \log MPF_{\lambda} d\lambda / \int_{320}^{400} d\lambda}{\int_{290}^{320} \log MPF_{\lambda} d\lambda / \int_{290}^{320} d\lambda}$$

Όπου $d\lambda$: βήμα μήκους κύματος (1nm)

Όσο ο λόγος UVA/UVB τείνει προς τη μονάδα, τόσο καλύτερη είναι η προστασία του αντηλιακού φίλτρου έναντι της UVA ακτινοβολίας.

• Υπολογισμός του κρίσιμου μήκους κύματος λ_c

Ως κρίσιμο μήκος κύματος, ορίζεται το μήκος κύματος που αντιστοιχεί στο 90% του ολοκληρώματος, δηλαδή στο 90% του εμβαδού της καμπύλης απορρόφησης από 290 έως 400nm (90% Area Under the Curve, AUC). Το κρίσιμο μήκος κύματος υπολογίζεται από την εξίσωση:

$$\frac{\int_{290}^{\lambda_c} \log MPF_{\lambda} d\lambda}{\int_{290}^{400} \log MPF_{\lambda} d\lambda} = 0.9$$

Για να μπορέσει ένα αντηλιακό φίλτρο να θεωρηθεί ευρέως φάσματος και να παρέχει προστασία στη UVA ακτινοβολία, θα πρέπει η τιμή του λ_c να είναι μεγαλύτερη από 370nm.

• Επιλογή του κατάλληλου διαλύτη

Προκειμένου να πραγματοποιηθεί η μέτρηση SPF των εστέρων, ελέγχθηκε η διαλυτότητά τους σε μία σειρά από ευρέως χρησιμοποιούμενους διαλύτες. Ως διαλύτης για όλα τα μόρια επιλέχθηκε ο Dibutyl Adipate (DBA), καθώς μετά από δοκιμές εμφάνιζε την καλύτερη διαλυτότητα ως προς τους συντεθειμένους εστέρες σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

• Πειραματική διαδικασία

Για την αξιολόγηση της φωτοπροστατευτικής δράσης των εστέρων που επιλέχθηκαν, χρησιμοποιήθηκε διάλυμα συγκέντρωσης 2.5% ως προς τον εκάστοτε εξεταζόμενο εστέρα. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για την προετοιμασία του δείγματος περιλαμβάνει τη ζύγιση του εκάστοτε εστέρα και την εύρεση της κατάλληλης ποσότητας διαλύτη ώστε η περιεκτικότητα του δείγματος να είναι 2.5%.

Στη συνέχεια το δείγμα εφαρμόστηκε στην πλάκα PMMA και μετά από παραμονή 15min σε σκοτεινό περιβάλλον, πραγματοποιήθηκε η *in vitro* μέτρηση με χρήση του φασματοφωτόμετρου SPF-290S.

Η μέτρηση του μέγιστου μήκους κύματος λ_{\max} των ενώσεων στο υπεριώδες-ορατό (UV-Vis) πραγματοποιήθηκε στο φασματοφωτόμετρο JASCO V-770 χρησιμοποιώντας διάλυμα του εκάστοτε εστέρα στον κατάλληλο διαλύτη.

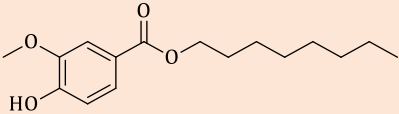
6.5. Αξιολόγηση αποτελεσμάτων

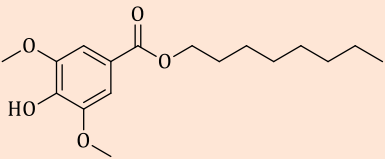
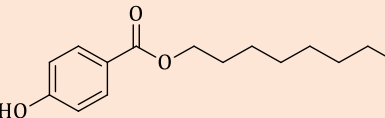
6.5.1. Σύγκριση μεθοδολογιών σύνθεσης

Η επιτυχής σύνθεση των τελικών εστέρων **5a-5e** πραγματοποιήθηκε μέσω δύο βημάτων: της αντίδρασης εστεροποίησης Steglich μεταξύ προστατευμένων οξέων και αλκοολών και στη συνέχεια της αντίδρασης αποπροστασίας, δίνοντας ικανοποιητικές τελικές αποδόσεις (25-47%). Ωστόσο προκειμένου να βελτιστοποιηθεί ο χρόνος της σύνθεσης των μορίων αλλά και η απόδοσή τους επιχειρήθηκε η διεξαγωγή μιας νέας μεθοδολογίας μέσω αντίδρασης πυρηνόφιλης υποκατάστασης S_N2 μεταξύ μη προστατευμένων βενζοϊκών οξέων και κατάλληλων βρωμιδίων.

Από τα αποτελέσματα των δύο συνθετικών μεθόδων, προέκυψε πως μόνο τα οκτυλο-παράγωγα **5a-5c** συντέθηκαν επιτυχώς μέσω της νέας μεθοδολογίας. Στον παρακάτω πίνακα παρατίθενται τα δεδομένα των δύο μεθόδων σύνθεσης που διεξήχθησαν, συναρτήσει του χρόνου και της απόδοσης.

Πίνακας 10: Σύγκριση των μεθοδολογιών σύνθεσης για τους εστέρες **5a-5c**.

Κωδικός	Δομή	Μέθοδος Σύνθεσης	Χρόνος (h)	Απόδοση %
5a		Εστεροποίηση Steglich + Αντίδραση Αποπροστασίας	Βήμα 1: 48h Βήμα 2: 24h	38

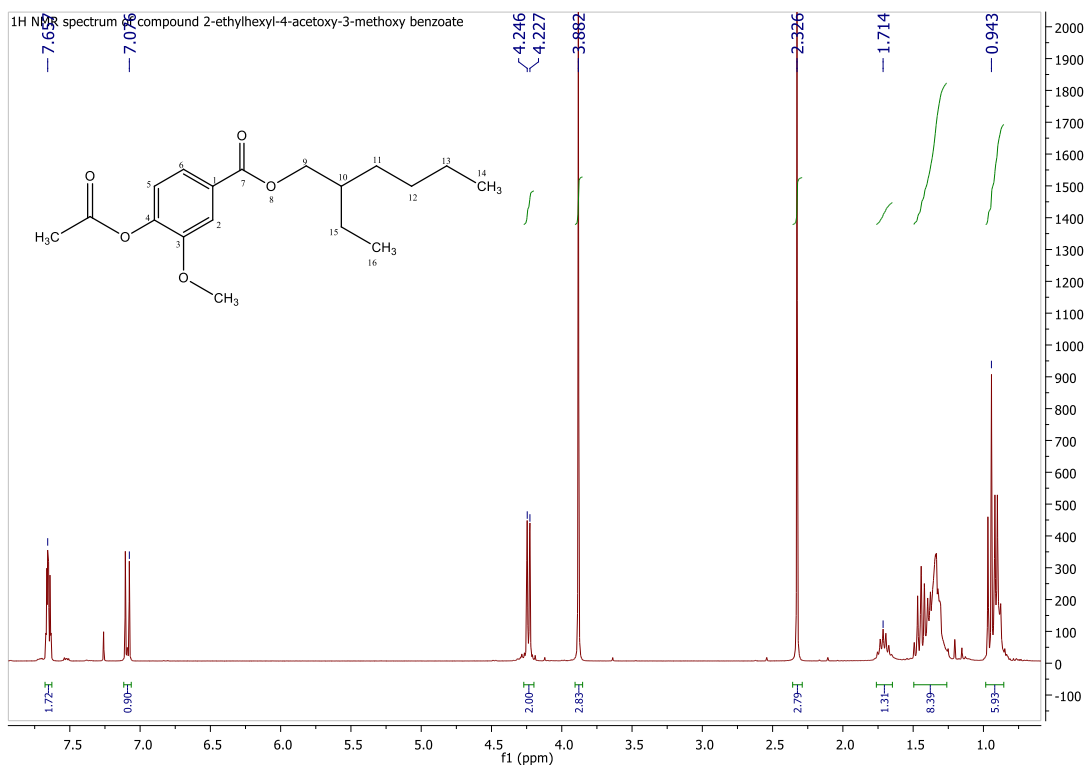
5a		Εστεροποίηση με χρήση βρωμιδίων	24	15
5b		Εστεροποίηση Steglich + Αντίδραση Αποπροστασίας	Βήμα 1: 48h Βήμα 2: 24h	32
5b		Εστεροποίηση με χρήση βρωμιδίων	24	17
5c		Εστεροποίηση Steglich + Αντίδραση Αποπροστασίας	Βήμα 1: 48h Βήμα 2: 24h	35
5c		Εστεροποίηση με χρήση βρωμιδίων	24	22

Σύμφωνα με τις τιμές που φαίνονται στον πίνακα, οι τρεις εστέρες συντέθηκαν στο μισό χρόνο αντίδρασης κατά τη δεύτερη μεθοδολογία, εφόσον πραγματοποιείται σε ένα βήμα ωστόσο η απόδοση της αντίδρασης παρουσιάζεται μειωμένη (15-22% απόδοση κατά τη νέα μεθοδολογία έναντι 32-38% απόδοσης κατά την εστεροποίηση Steglich).

Όσον αφορά στους υπόλοιπους εστέρες, η μεθοδολογία με χρήση βρωμιδίων οδήγησε σε προϊόντα πολύ χαμηλής απόδοσης και καθαρότητας, τα οποία δεν συμπεριλήφθηκαν στην παρούσα εργασία. Επομένως, η εστεροποίηση Steglich ακολουθούμενη από αντίδραση αποπροστασίας θεωρήθηκε καταλληλότερη μέθοδος για τη σύνθεση των μορίων.

6.5.2. Φασματοσκοπική Μελέτη $^1\text{H-NMR}$ των αναλόγων εστέρων

Στην Εικόνα παρουσιάζεται το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) της ένωσης **4d** σε διαλύτη δευτεριωμένο χλωροφόρμιο ($\text{CDCl}_3\text{-d}_1$), ως χαρακτηριστικό παράδειγμα εστέρα φαινολικού οξέος, που συντέθηκε σύμφωνα με τη Γενική Μέθοδο Β.



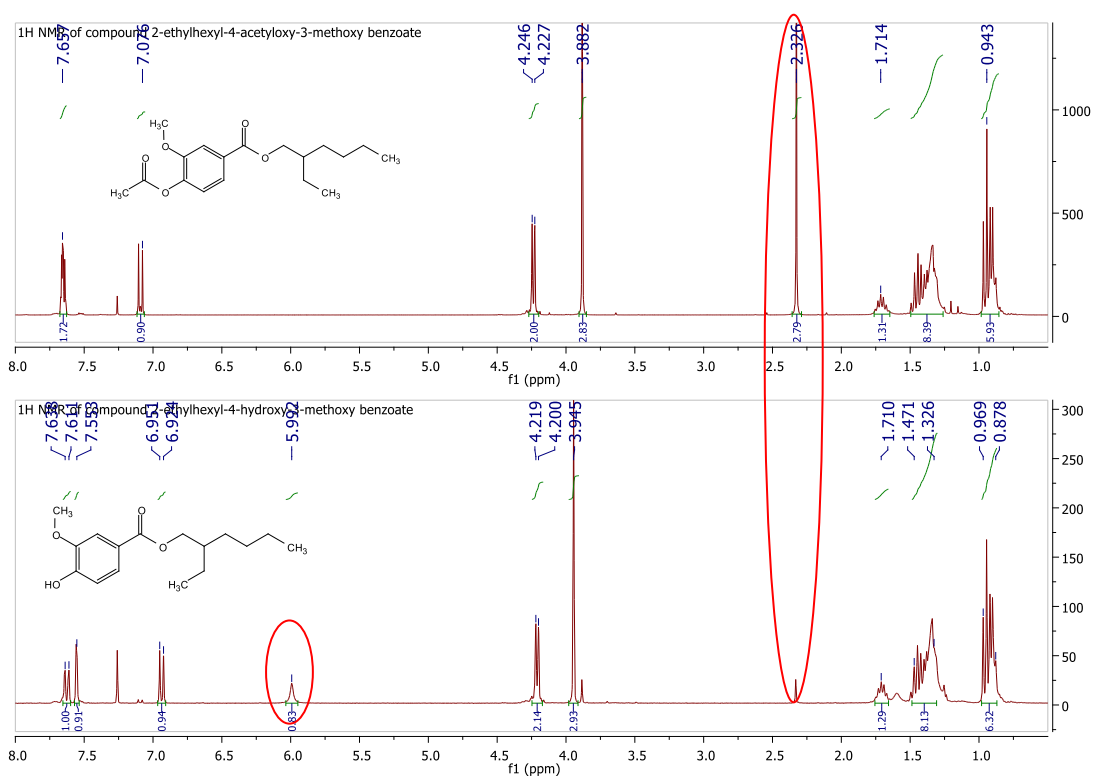
Εικόνα 4: Φάσμα ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) της ένωσης 4d

Στην αρωματική περιοχή που φάσματος, σε εύρος χημικών μετατοπίσεων από 8.0 έως 7.0ppm εμφανίζονται τα πιο «αποθωρακισμένα» πρωτόνια της ένωσης. Πιο συγκεκριμένα, στα 7.67-7.64 και 7.09ppm εντοπίζονται μία πολλαπλή και μία διπλή κορυφή με σταθερά σύζευξης $J=8.7\text{Hz}$, οι οποίες ολοκληρώνουν για δύο και ένα πρωτόνιο αντίστοιχα και αποδίδονται στα πρωτόνια H-2/H-6 και H-5 του αρωματικού δακτυλίου, αντίστοιχα.

Συνεχίζοντας προς τα υψηλότερα πεδία, στην οξυγονωμένη περιοχή του φάσματος και συγκεκριμένα στα 4.24ppm εμφανίζεται μια διπλή κορυφή που ολοκληρώνει για δύο πρωτόνια και αποδίδεται σε αυτά του μεθυλενίου της θέσης C-9. Το σήμα αυτό επιβεβαιώνει τον επιτυχή σχηματισμό του εστέρα. Έπειτα, στα 3.88ppm παρουσιάζεται μια απλή κορυφή που ολοκληρώνει για τα τρία πρωτόνια του μεθοξυ-υποκαταστάτη της θέσης C-3 του αρωματικού δακτυλίου. Στη συνέχεια, στα υψηλά πεδία του φάσματος εμφανίζεται μια απλή κορυφή στα 2.33ppm που ολοκληρώνει για τρία πρωτόνια και αποδίδεται σε αυτά της ακετυλοξυ-ομάδας της θέσης C-4 του αρωματικού δακτυλίου.

Τα πιο «θωρακισμένα» πρωτόνια της ένωσης αντιστοιχούν σε αυτά της αλειφατικής αλυσίδας και εντοπίζονται μεταξύ 1.75 και 1.31ppm. Ειδικότερα, στο εύρος αυτό εμφανίζεται μία πενταπλή κορυφή που ολοκληρώνει για το ένα πρωτόνιο της θέσης C-10 της αλειφατικής αλυσίδας, ενώ από τα 1.49ppm έως 1.31ppm εμφανίζεται μία πολλαπλή κορυφή που ολοκληρώνει για τα οκτώ πρωτόνια των μεθυλενίων των θέσεων C-11/12/13/15. Τέλος, εμφανίζεται μία πολλαπλή κορυφή από 0.97ppm έως 0.88ppm που ολοκληρώνει για έξι πρωτόνια κι αποδίδεται στα πρωτόνια των μεθυλίων των θέσεων C-14/16.

Στην Εικόνα 5 παρουσιάζονται και συγκρίνονται τα φάσματα $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3-d_1) των εστέρων **4d** και **5d**, προκειμένου να επιβεβαιωθεί η επιτυχής τροποποίηση του εστέρα (**4d**) προς το αντίστοιχο υδροξυ-παράγωγό του (**5d**).



Εικόνα 5: Συγκριτικό φάσμα $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3) της ένωσης 4-ακετοξυ-3-μεθοξυβενζοϊκός 2-αιθυλεξυλεστέρας (**4d**) και της ένωσης 4-υδροξυ-3-μεθοξυβενζοϊκός 2-αιθυλεξυλεστέρας (**5d**).

Συγκεκριμένα, η αποπροστασία της ένωσης **4d** αποδεικνύεται σε δύο σημεία:

- ☼ Στην παρουσία μιας ευρείας απλής κορυφής στα 5.99 ppm του φάσματος της ένωσης **5d** (κάτω φάσμα), η οποία αποδίδεται στο αρωματικό υδροξύλιο της θέσης C-4 της τροποποιημένης δομής, και η οποία απουσιάζει από το φάσμα του ακετυλοξυ-παραγώγου **4d** (πάνω φάσμα).
- ☼ Στην απουσία της απλής κορυφής στα υψηλά πεδία του φάσματος του υδροξυ-εστέρα **5d**, η οποία εμφανίζεται στα 2.33ppm στο φάσμα του προστατευμένου παραγώγου **4d** και αποδίδεται στο μεθύλιο του ακετυλοξυ-υποκαταστάτη της θέσης C-4 του αρωματικού δακτυλίου.

6.5.3. Αξιολόγηση Αλληλεπίδρασης με τη σταθερή ρίζα DPPH

Από την επεξεργασία των αποτελεσμάτων προσδιορίζεται η αντιοξειδωτική δράση των ενώσεων μέσω της τιμής του ποσοστού δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας (%inhibition). Στον πίνακα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων για κάθε εστέρα ύστερα από αλληλεπίδραση με τη ρίζα σε χρόνο 20 min και 60 min.

Από τις τιμές του παρακάτω πίνακα, παρατηρούμε πως στο σύνολό τους οι εστέρες που μελετήθηκαν δεν εμφάνισαν δέσμευση της ρίζας, δίνοντας ποσοστά από 0% έως 3.6%. Ωστόσο, σημαντική είναι η παρατήρηση πως με την πάροδο του χρόνου ελαφρώς ενισχύθηκε η δράση, όπως αυτό αποδεικνύεται καλύτερα στους εστέρες **4c** (0.7% ύστερα από 20min αλληλεπίδρασης; 3.6% ύστερα από 60min αλληλεπίδρασης), **4d** (0% ύστερα από 20min αλληλεπίδρασης; 2.5% ύστερα από 60min αλληλεπίδρασης) και **5c** (0% ύστερα από 20min αλληλεπίδρασης; 2.7% ύστερα από 60min αλληλεπίδρασης).

Επιπλέον, φαίνεται πως τα αποπροστατευμένα παράγωγα, τα οποία διαθέτουν από ένα φαινολικό υδροξύλιο, εμφάνισαν ασθενέστερη δράση από αυτή των αντίστοιχων ακετυλοξυ-παραγώγων τους (περιπτώσεις **4a-5a**, **4c-5c** και **4d-5d**), με εξαίρεση τους εστέρες του συριγγικού οξέος **4e** και **5e**, όπου το υδροξυ-παράγωγο παρουσίασε μια ελαφριά αύξηση της δράσης (2.2% από 1.7%, ύστερα από 60min αλληλεπίδρασης με τη ρίζα). Συμπεραίνεται λοιπόν, πως για τις δεδομένες ενώσεις, η παρουσία υδροξυ-ομάδων δεν συνεισφέρει στην ενίσχυση της αντιοξειδωτικής δράσης, όπως θα ήταν

αναμενόμενο για την μέθοδο του DPPH που χρησιμοποιήθηκε. Επομένως, ίσως η ύπαρξη αλειφατικών ή αλκυκλικών ομάδων στα μόρια είναι αυτή που επηρεάζει περισσότερο την αντιοξειδωτική δράση, εμποδίζοντας τα μόρια να δεσμεύσουν την ελεύθερη ρίζα.

Πίνακας 11: Αποτελέσματα δέσμευσης της ρίζας DPPH για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης,

Κωδικός	Δομή	%inhibition (100μM)	
		20min	60min
4a		2.8	3.2
4b		Δεν μετρήθηκε	Δεν μετρήθηκε
4c		0.7	3.6
4d		0	2.5
4e		0.4	0.8
4f		0.8	1.7

4g		3.3	3.0
4h		0.8	0.8
4i		0	0
5a		0	1.3
5b		1.6	1.6
5c		0	2.7
5d		0.3	0.8
5e		1.2	2.2

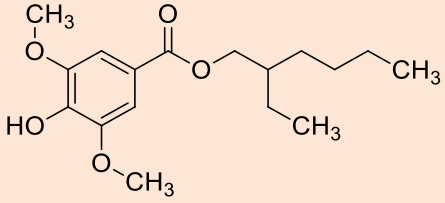
6.5.4. Αξιολόγηση της φωτοπροστατευτικής δράσης των αναλόγων εστέρων

Η φωτοπροστατευτική δράση των ενώσεων μελετήθηκε ως προς τον συντελεστή ηλιακής προστασίας SPF, τον λόγο απορρόφησης UVA/UVB, το κρίσιμο και το μέγιστο μήκος κύματος λ_c και λ_{max} και τα αποτελέσματα παρατίθενται συγκεντρωτικά στον Πίνακα 12.

Πίνακας 12: Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων φωτοπροστατευτικής ικανότητας.

Κωδικός	Δομή	SPF	λ_c (nm)	λ_{max} (nm)	UVA/UVB
OMC		8.19	337.7	309.8	0.153
4a		1.06	293.5	243 293	0
4b		Δεν μετρήθηκε	Δεν μετρήθηκε	Δεν μετρήθηκε	Δεν μετρήθηκε
4c		Δεν μετρήθηκε	Δεν μετρήθηκε	257.5	Δεν μετρήθηκε
4d		1.05	260.7	242 289	0
4e		0.96	0	257.5 294.5	0

4f		1.04	130.3	247 292	0
4g		0.95	0	256 301	0
4h		Δεν μετρήθηκε	Δεν μετρήθηκε	237	Δεν μετρήθηκε
4i		1.02	0	241.4 291.8	0
5a		1.05	293.7	265.5 292.5	0
5b		1.04	228.3	276.5	0
5c		0.94	0	257	0
5d		1.05	293.7	262.5 292.5	0

5e		1.06	228.3	273.5	0
----	---	------	-------	-------	---

Με βάση τον Πίνακα 12 και σύμφωνα με τις τιμές των μέγιστων μηκών κύματος που ελήφθησαν, διαπιστώνεται πως οι εστέρες **4a**, **4d-4g**, **4i**, **5a** και **5d** θα μπορούσαν να δράσουν ως UVB φίλτρα προστατεύοντας από τη UVB ακτινοβολία καθώς εμφάνισαν λ_{max} 280-310nm. Οι υπόλοιποι εστέρες εμφάνισαν τιμή λ_{max} χαμηλότερη από 280nm που σημαίνει ότι πιθανά δε θα ήταν δυνατό να χρησιμοποιηθούν ως αντηλιακά φίλτρα.

Λαμβάνοντας υπόψη το Δείκτη Ηλιακής Προστασίας (SPF), όλα τα παράγωγα εμφάνισαν παραπλήσια τιμή SPF, από 0.94 έως 1.06, και αρκετά χαμηλότερη από αυτή του OMC (8.19).

Όσον αφορά στο κρίσιμο μήκος κύματος λ_c , παρατηρείται πως τα ανάλογα που προέρχονταν από το βανιλικό οξύ (**1a**), εμφάνισαν υψηλότερες τιμές και εντός της UVB περιοχής, με καλύτερα τα υδροξυ-ανάλογα **5a** (293.7nm) και **5d** (293.7nm), καθώς και το ακετυλοξυ-παράγωγο βανιλικού οξέος **4a** (293.5nm). Αυτό σημαίνει ότι τα παράγωγα **5a**, **5d** και **4a** θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως φίλτρα της UVB ακτινοβολίας, ενισχύοντας πιθανά τη δράση που προσδίδεται από τα υπόλοιπα φίλτρα που προστίθενται σε ένα προϊόν.

Τα υπόλοιπα ανάλογα που συντέθηκαν φαίνεται πως δεν παρέχουν προστασία έναντι στη UVB ακτινοβολία, ενώ ακόμη διαπιστώνεται πως κανένας από τους εστέρες που συντέθηκε δεν θα μπορούσε να δράσει ως φίλτρο έναντι των UVA ακτίνων.

7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε ο σχεδιασμός, η σύνθεση και η δομική τροποποίηση μέσω φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού πρωτονίου $^1\text{H-NMR}$, δεκατεσσάρων εστέρων φαινολικών οξέων (**4a-4i** και **5a-5e**). Επιπλέον, αξιολογήθηκε η αντιοξειδωτική τους δράση μέσω της μεθόδου DPPH, ενώ ακόμη μελετήθηκε η φωτοπροστατευτική του δράση μέσω φασματοφωτομετρίας SPF.

Η προσέγγιση σχεδιασμού των ενώσεων βασίστηκε στα ανάλογα του OMC, το οποίο αποτελεί ένα από τα πιο συχνά εμπορικά χρησιμοποιούμενα φίλτρα UVB. Ταυτόχρονα, τα φαινολικά οξέα διαθέτουν ισχυρή και αποδεδειγμένη αντιοξειδωτική δράση. Με τον τρόπο αυτό, διερευνήθηκε η τάση των εστέρων που συντέθηκαν να απορροφούν την υπεριώδη ακτινοβολία και ενδεχομένως να χρησιμοποιηθούν ως αντηλιακά φίλτρα.

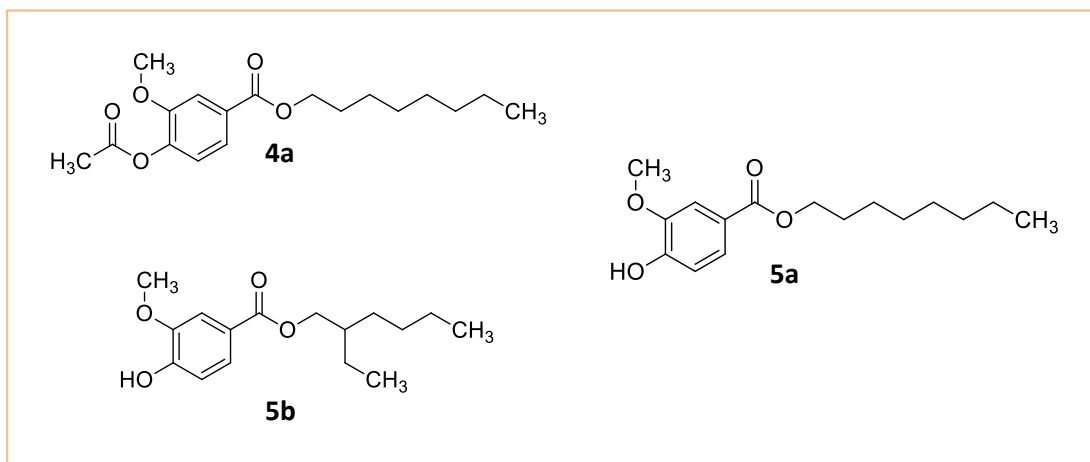
Αρχικά, συντέθηκαν τα ακετυλοξυ-παράγωγα του συριγγικού, του βανιλικού και του 4-υδροξυ-βενζοϊκού οξέος, τα οποία στη συνέχεια αντέδρασαν με διαφορετικές αλειφατικές, αλεικυκλικές και αρωματικές αλκοόλες: τις δύο ισομερείς οκτανόλη και 2-αιθυλο-εξανόλη, την κυκλοεξανόλη και την 4-τερτ-βουτυλο-βενζυλο-αλκοόλη.

Η επιτυχής σύνθεση των τελικών εννέα εστέρων (**4a-4i**) πραγματοποιήθηκε μέσω της εστεροποίησης Steglich. Στη συνέχεια, ακολούθησε χημική τροποποίηση επιλεγμένων ακετυλοξυ-εστέρων μέσω αντίδρασης αποπροστασίας προς σχηματισμό υδροξυ-παραγώγων (**5a-5e**), με σκοπό την περαιτέρω διερεύνηση της σχέσης δομής-δράσης.

Επιπλέον, επιχειρήθηκε η σύνθεση των τελικών μορίων μέσω μίας νέας μεθοδολογίας: αντίδρασης εστεροποίησης μεταξύ κατάλληλων αλκυλαλογονιδίων και μη προστατευμένων φαινολικών οξέων. Αυτό εφαρμόστηκε προκειμένου να συγκριθούν τα αποτελέσματα της μεθοδολογίας αυτής με αυτά της εστεροποίησης Steglich και να εξεταστεί η βελτιστοποίηση της σύνθεσης ως προς τον χρόνο της αντίδρασης και την απόδοση σχηματισμού των τελικών προϊόντων. Από τη σύγκριση των δύο μεθόδων προέκυψε πως μόνο τα οκτυλο-παράγωγα (**5a-5c**) συντέθηκαν επιτυχώς μέσω της δεύτερης μεθοδολογίας, στο μισό χρόνο αντίδρασης (αντίδραση σε ένα βήμα έναντι των δύο βημάτων που απαιτεί η εστεροποίηση Steglich), αλλά σε αρκετά χαμηλότερη

απόδοση (15%-22% έναντι 32%-38% στην εστεροποίηση Steglich). Όσον αφορά στους υπόλοιπους εστέρες, η δεύτερη μεθοδολογία οδήγησε σε προϊόντα πολύ χαμηλής απόδοσης και καθαρότητας. Επομένως, η εστεροποίηση Steglich θεωρήθηκε καταλληλότερη μέθοδος για τη σύνθεση των μορίων στην παρούσα εργασία.

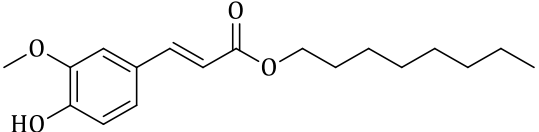
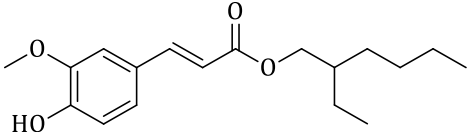
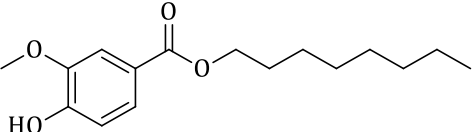
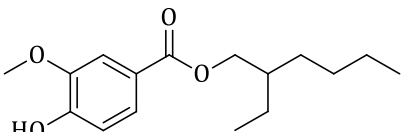
Όλοι οι εστέρες που συντέθηκαν μελετήθηκαν ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση μέσω της μεθόδου DPPH. Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν φάνηκε πως τα μόρια στο σύνολό τους εμφάνισαν από μηδενική έως πολύ ασθενή δράση (ποσοστά δέσμευσης της ρίζας από 0% έως 3.6%), η οποία ελαφρώς ενισχύεται με το χρόνο αλληλεπίδρασης. Επιπλέον προέκυψε πως τα υδροξυ-παράγωγα παρουσίασαν ασθενέστερη δράση από αυτή των αντίστοιχων ακετυλοξυ-αναλόγων τους, γεγονός που πιθανά να οφείλεται στην παρουσία μεγάλων αλειφατικών ή αλεικυκλικών ομάδων στη δομή.



Όσον αφορά στη φωτοπροστατευτική δράση των ενώσεων, τα αποτελέσματα που ελήφθησαν κατά τη διεξαγωγή των μετρήσεων στην εταιρεία Cellco Chemicals. έδειξαν πως τα ανάλογα **4a**, **5a** και **5d**, δηλαδή παράγωγα του βανιλικού οξέος (**1a**), θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως αντηλιακά φίλτρα έναντι της UVB ακτινοβολίας, καθώς εμφάνισαν τιμές λ_c στην περιοχή από 280 έως 310nm και τιμές SPF 1.05-1.06.

Συνολικά, συγκρίνοντας τα αποτελέσματα που ελήφθησαν από τη μελέτη της φωτοπροστατευτικής ικανότητας, με αυτά της προηγούμενης μελέτης που διεξάχθηκε

στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας, διαπιστώνεται πως τα παράγωγα του κινναμμωμικού οξέος έδωσαν συνολικά πιο υποσχόμενα αποτελέσματα, με υψηλότερες τιμές SPF (SPF = 4-6, συγκρίσιμες με αυτή του πρότυπου UVB φίλτρου OMC) και λ_c (>320nm, UVA περιοχή). Ωστόσο, σημαντική είναι η παρατήρηση πως τόσο στα ανάλογα του κινναμμωμικού οξέος, όσο και στα ανάλογα του βενζοϊκού οξέος, ένας μεθοξυ-υποκαταστάτης στη θέση 3 του αρωματικού δακτυλίου και ένας υδροξυ-υποκαταστάτης στη θέση 4 (φερουλικό και βανιλικό οξύ), έδωσαν τα καλύτερα αποτελέσματα φωτοπροστατευτικής ικανότητας (Σχήμα 21).

ΑΝΑΛΟΓΑ ΦΕΡΟΥΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ	
 <p>SPF=4.81 λ_c=349.8nm</p>	 <p>SPF=3.43 λ_c=340.3nm</p>
ΑΝΑΛΟΓΑ ΒΑΝΙΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ	
 <p>SPF=1.05 λ_c=293.7nm</p>	 <p>SPF=1.05 λ_c=293.7nm</p>

Σχήμα 21: Ανάλογα φερουλικού και βανιλικού οξέος που συντέθηκαν στο εργαστήριο οργανικής χημείας και εμφάνισαν την καλύτερη φωτοπροστατευτική δράση.

8. ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Από την αξιολόγηση, τόσο των αποτελεσμάτων της σύνθεσης, όσο και της φωτοπροστατευτικής ικανότητας των νέων ενώσεων προκύπτει μία ποικιλία προτάσεων για μελλοντική έρευνα πάνω στην επιστημονική περιοχή που κάλυψε η παρούσα διπλωματική εργασία.

Όσον αφορά στη σύνθεση των εστέρων, προτείνεται η αναζήτηση εναλλακτικών τεχνικών που αυξάνουν την απόδοση ενώ μειώνουν το χρόνο αντίδρασης, όπως για παράδειγμα η σύνθεση μέσω τεχνικών υψηλής ενέργειας όπως είναι η μικροκυματική ακτινοβολία ή οι υπέρηχοι.

Στο πλαίσιο της ανάγκης ανάπτυξης νέων ευρέως φάσματος αντηλιακών φίλτρων προτείνεται ο σχεδιασμός και η σύνθεση νέων μορίων που θα συνδυάζουν δομικά χαρακτηριστικά τόσο του OMC όσο και αναγνωρισμένων UVA φίλτρων. Επίσης, ο συνδυασμός αντηλιακών φίλτρων με φυσικά προϊόντα όπως καρροτενοειδή θα μπορούσε να οδηγήσει σε ευρέως φάσματος απορρόφηση, αλλά και σε ισχυρή αντιοξειδωτική δράση.

Σχετικά με την αντιοξειδωτική δράση των εστέρων που συντέθηκαν στην παρούσα εργασία, προτείνεται η αξιολόγησή τους μέσω άλλων *in vitro* τεχνικών όπως είναι η αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης του λινολεϊκού οξέος που επάγεται από τον κινητή ελευθέρων ριζών AAPH.

9. BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Bens, G., 2014, 'Sunscreens', *Sunlight, Vitamin D and Skin Cancer*, pp. 429–463.
- Bento, A.P. & Bickelhaupt, F.M., 2008, 'Nucleophilicity and Leaving-Group Ability in Frontside and Backside S_N2 Reactions', *The Journal of Organic Chemistry*, 73(18), pp. 7290–7299.
- Borges, A., Ferreira, C., Saavedra, M.J. & Simões, M., 2013, 'Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria', *Microbial Drug Resistance*, 19(4), pp. 256–265.
- Cueva, C., Moreno-Arribas, M.V., Martín-Álvarez, P.J., Bills, G., Vicente, M.F., Basilio, A., Rivas, C.L., Requena, T., Rodríguez, J.M. & Bartolomé, B., 2010, 'Antimicrobial activity of phenolic acids against commensal, probiotic and pathogenic bacteria', *Research in Microbiology*, 161(5), pp. 372–382.
- Diffey, B.L., 2007, 'A method for broad spectrum classification of sunscreens', *International Journal of Cosmetic Science*, 16(2), pp. 47–52.
- Fiuza, S.M., Gomes, C., Teixeira, L.J., Girão Da Cruz, M.T., Cordeiro, M.N.D.S., Milhazes, N., Borges, F. & Marques, M.P.M., 2004, 'Phenolic acid derivatives with potential anticancer properties - A structure-activity relationship study. Part 1: Methyl, propyl and octyl esters of caffeic and gallic acids', *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 12(13), pp. 3581–3589.
- Ghasemzadeh, A. & Ghasemzadeh, N., 2011, *Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human*, *Journal of Medicinal Plant Research*, 5(31), pp. 6697–6703.
- Gilles, V., Vieira, M.A., Lacerda Jr., V., Castro, E.V.R., Santos, R.B., Orestes, E., Carneiro, J.W.M. & Greco, S.J., 2014, 'A New, Simple and Efficient Method of Steglich Esterification of Juglone with Long-Chain Fatty Acids: Synthesis of a New Class of Non-Polymeric Wax Deposition Inhibitors for Crude Oil', *Journal of the Brazilian Chemical Society*, pp. 74–83.
- Gomes, C.A., Girão Da Cruz, T.G., Andrade, J.L., Milhazes, N., Borges, F. & Marques, M.P.M., 2003, 'Anticancer Activity of Phenolic Acids of Natural or Synthetic Origin: A Structure-Activity Study', *Journal of Medicinal Chemistry*, 46(25), pp. 5395–5401.
- Guan, L.L., Lim, H.W. & Mohammad, T.F., 2021, 'Sunscreens and Photoaging: A Review of Current

- Literature', *American Journal of Clinical Dermatology*, 22(6), pp. 819–828.
- Hassan, I., Dorjay, K., Sami, A. & Anwar, P., 2013, 'Sunscreens and Antioxidants as Photo-protective Measures: An update', *Our Dermatology Online*, 4(3), pp. 369–374.
- Herrmann, K., 1989, 'Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods', *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 28(4), pp. 315–347.
- Heurung, A.R., Raju, S.I. & Warshaw, E.M., 2014, 'Adverse Reactions to Sunscreen Agents', *Dermatitis*, 25(6), pp. 289–326.
- Ionita, P., 2021, 'The Chemistry of DPPH-Free Radical and Congeners', *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4), pp. 1545.
- Ishimata, N., Ito, H. & Tai, A., 2016, 'Structure–activity relationships of vanillic acid ester analogs in inhibitory effect of antigen-mediated degranulation in rat basophilic leukemia RBL-2H3 cells', *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 26(15), pp. 3533–3536.
- John McMurry, 2015, 'Reactions of Alkyl halides: nucleophilic substitutions and eliminations & Structure Determination: nuclear Magnetic resonance spectroscopy', *Organic Chemistry*, 9th edn., pp. 334–435.
- Jordan, A., Whymark, K.D., Sydenham, J. & Sneddon, H.F., 2021, 'A solvent-reagent selection guide for Steglich-type esterification of carboxylic acids', *Green Chemistry*, 23(17), pp. 6405–6413.
- Kedare, S.B. & Singh, R.P., 2011, 'Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay', *Journal of Food Science and Technology*, 48(4), pp. 412–422.
- Lorigooini, Z., Jamshidi-Kia, F. & Hosseini, Z., 2020, 'Analysis of aromatic acids (phenolic acids and hydroxycinnamic acids)', *Recent Advances in Natural Products Analysis*, pp. 199–219.
- Lutjen, A.B., Quirk, M.A., Barbera, A.M. & Kolonko, E.M., 2018, 'Synthesis of (E)-cinnamyl ester derivatives via a greener Steglich esterification', *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 26(19), pp. 5291–5298.
- Mishra, K., Ojha, H. & Chaudhury, N.K., 2012, 'Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results', *Food Chemistry*, 130(4), pp. 1036–1043.
- Nash, J.F., Tanner, P.R. & Matts, P.J., 2006, 'Ultraviolet A Radiation: Testing and Labeling for Sunscreen

- Products', *Dermatologic Clinics*, 24(1), pp. 63–74.
- Pandey, K.B. & Rizvi, S.I., 2009, 'Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease', *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), pp. 270–278.
- Pirotta, G., 2020, 'Sunscreen Regulation in the World', pp. 15–35.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. & Paganga, G., 1996, *Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids*, vol. 20, pp. 993–956.
- Rivero-Buceta, E., Carrero, P., Doyagüez, E.G., Madrona, A., Quesada, E., Camarasa, M.J., Pérez-Pérez, M.J., Leysen, P., Paeshuyse, J., Balzarini, J., Neyts, J. & San-Félix, A., 2015, 'Linear and branched alkyl-esters and amides of gallic acid and other (mono-, di- and tri-) hydroxy benzoyl derivatives as promising anti-HCV inhibitors', *European Journal of Medicinal Chemistry*, 92, pp. 656–671.
- Sapra, A., Kumar, P., Kakkar, S. & Narasimhan, B., 2013, 'Synthesis, Antimicrobial Evaluation and QSAR Studies of p-hydroxy Benzoic Acid Derivatives', *Drug Research*, 64(01), pp. 17–22.
- Savi, L., Leal, P., Vieira, T., Rosso, R., Nunes, R., Yunes, R., Creczynski-Pasa, T., Barardi, C. & Simões, C., 2011, 'Evaluation of Anti-herpetic and Antioxidant Activities, and Cytotoxic and Genotoxic Effects of Synthetic Alkyl-Esters of Gallic Acid', *Arzneimittelforschung*, 55(01), pp. 66–75.
- Schalka, S. & Reis, V.M.S. dos, 2011, 'Sun protection factor: meaning and controversies', *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 86(3), pp. 507–515.
- Serpone, N., Dondi, D. & Albini, A., 2007, 'Inorganic and organic UV filters: Their role and efficacy in sunscreens and sun care products', *Inorganica Chimica Acta*, 360(3), pp. 794–802.
- Sharma, O.P. & Bhat, T.K., 2009, 'DPPH antioxidant assay revisited', *Food Chemistry*, 113(4), pp. 1202–1205.
- Siller, A., Blaszkak, S.C., Lazar, M. & Olasz Harken, E., 2018, 'Update About the Effects of the Sunscreen Ingredients Oxybenzone and Octinoxate on Humans and the Environment', *Plastic Surgical Nursing*, 38(4), pp. 158–161.
- Sirivibulkovit, K., Nouanthavong, S. & Sameenoi, Y., 2018, 'Paper-based DPPH Assay for Antioxidant Activity Analysis', *Analytical Sciences*, 34(7), pp. 795–800.
- Sophia Akhiyat & Edit B. Olasz Harken, 2019, 'Update on Human Safety

and the Environmental Impact of Physical and Chemical Sunscreen Filters', *Practical Dermatology*, 16(2), pp. 48–52.

Stalikas, C.D., 2007, *Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids*, *Journal of Separation Science*, 30(18), pp. 3268–3295.

Tanaka, T., Kojima, T., Kawamori, T., Yoshimi, N. & Mori, H., 1993, *Chemoprevention of Diethylnitrosamine-induced Hepatocarcinogenesis by a Simple Phenolic Acid Protocatechuic Acid in Rats*, vol. 53, pp. 2775–2779.

Tanner, P.R., 2006, *Sunscreen product formulation*, *Dermatologic Clinics*, 24(1), pp. 53–62.

Thompson, A.J., Hart-Cooper, W.M., Cunniffe, J., Johnson, K. & Orts, W.J., 2021a, 'Safer Sunscreens: Investigation of Naturally Derived UV Absorbers for Potential Use in Consumer Products', *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 9(27), pp. 9085–9092.

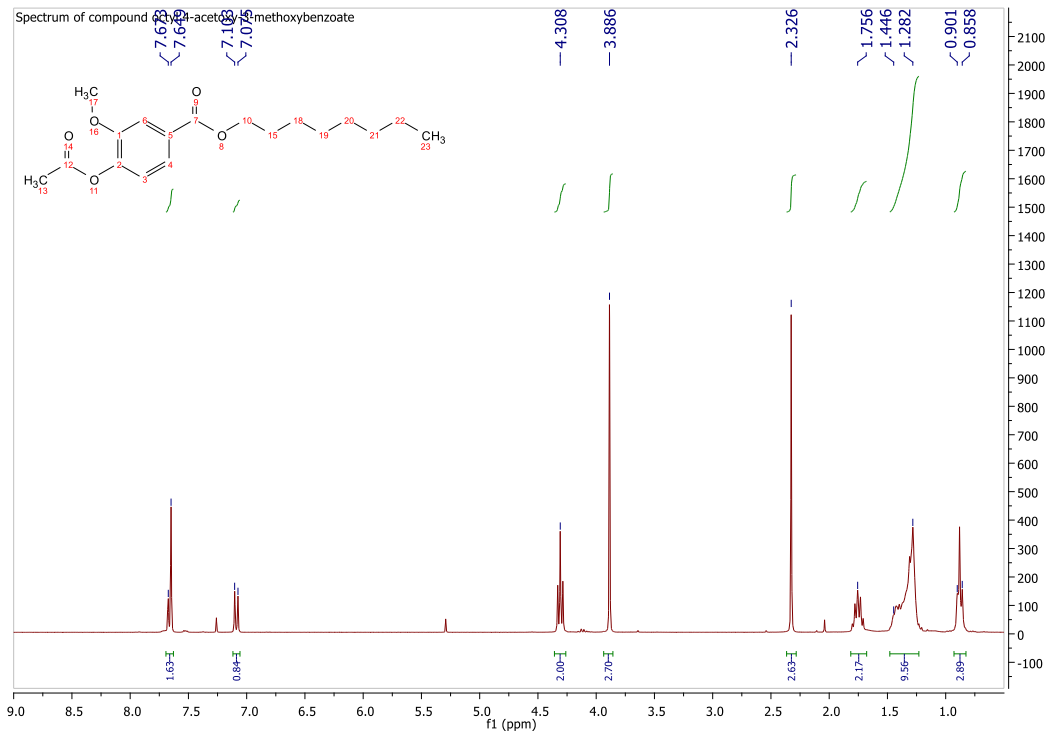
Sustainable Chemistry & Engineering, 9(27), pp. 9085–9092.

Thompson, A.J., Hart-Cooper, W.M., Cunniffe, J., Johnson, K. & Orts, W.J., 2021b, 'Safer Sunscreens: Investigation of Naturally Derived UV Absorbers for Potential Use in Consumer Products', *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 9(27), pp. 9085–9092.

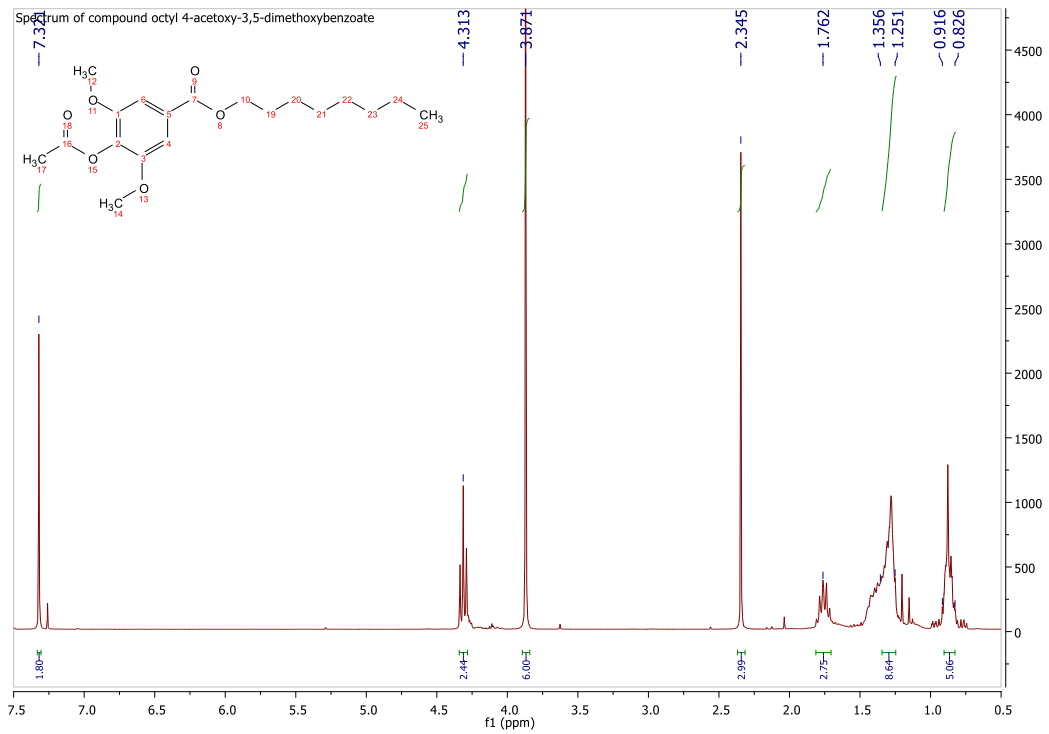
Tief, K., Hahne, Michael, Schmidt, A. & Beermann, F., 1996, 'Tyrosinase, the key enzyme in melanin synthesis, is expressed in murine brain', vol. 241, pp. 12–16.

Won, M., Choi, S., Cheon, S., Kim, E.-M., Kwon, T.K., Kim, J., Kim, Y.-E., Sohn, K.-C., Hur, G.M. & Kim, K.K., 2021, 'Octyl syringate is preferentially cytotoxic to cancer cells via lysosomal membrane permeabilization and autophagic flux inhibition', *Cell Biology and Toxicology*.

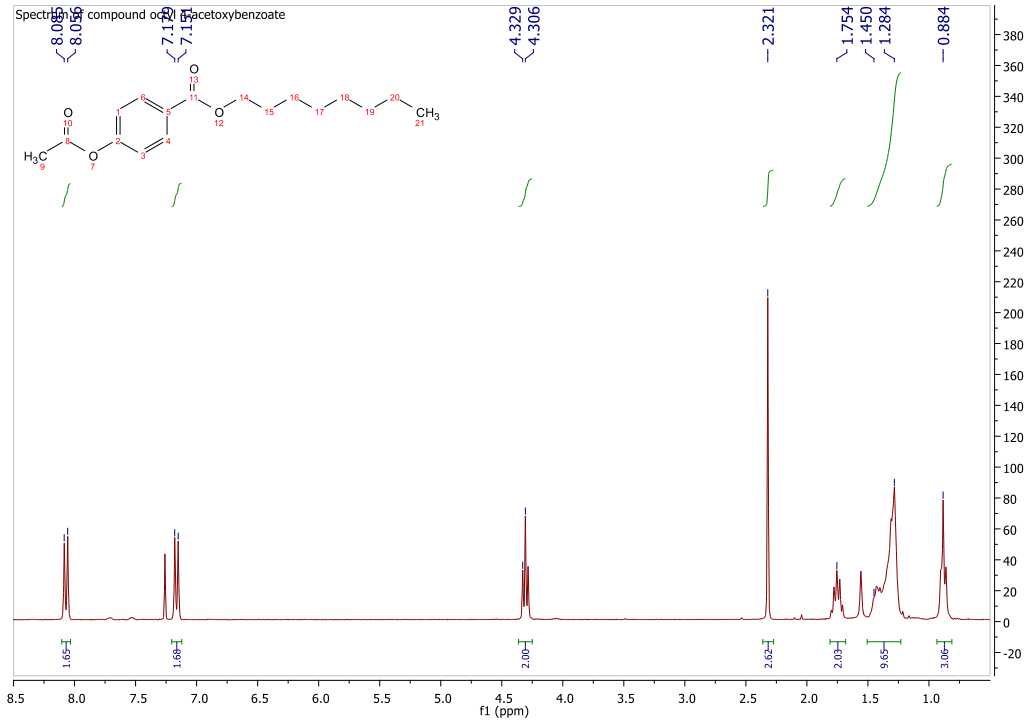
Παράρτημα Φασμάτων NMR



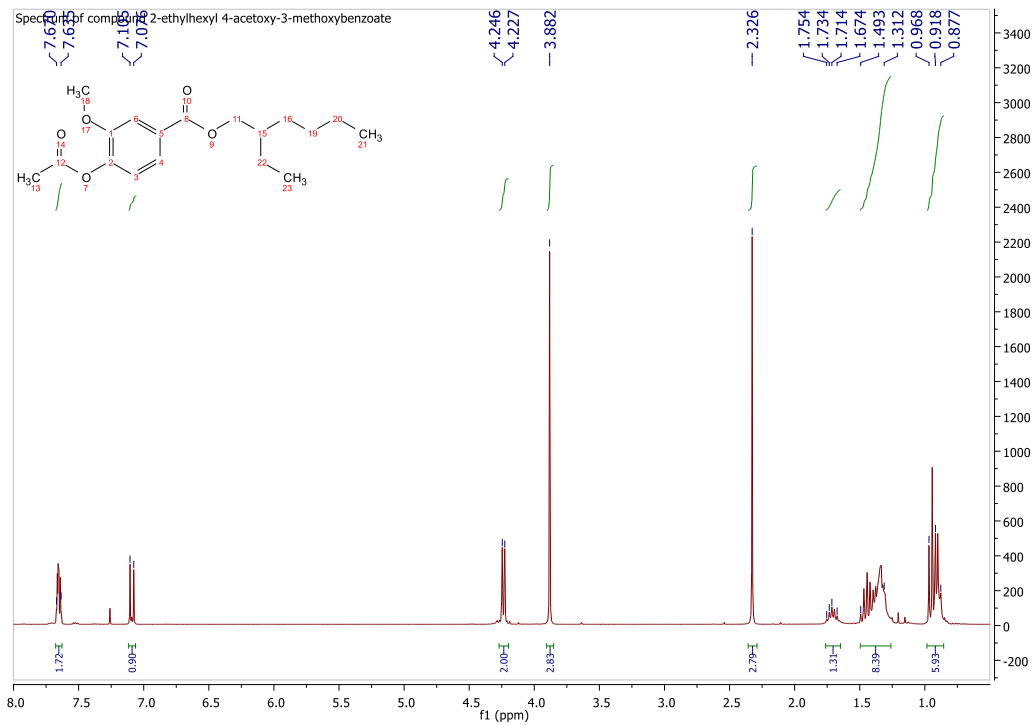
Εικόνα 6: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 4a.



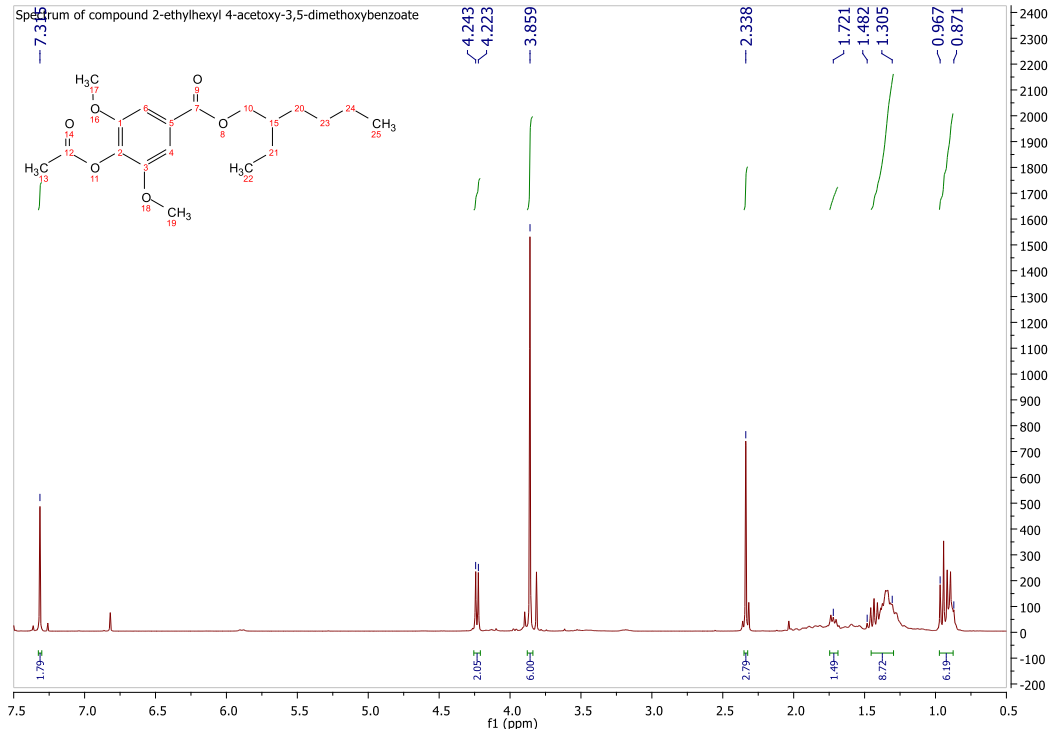
Εικόνα 7: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 4b.



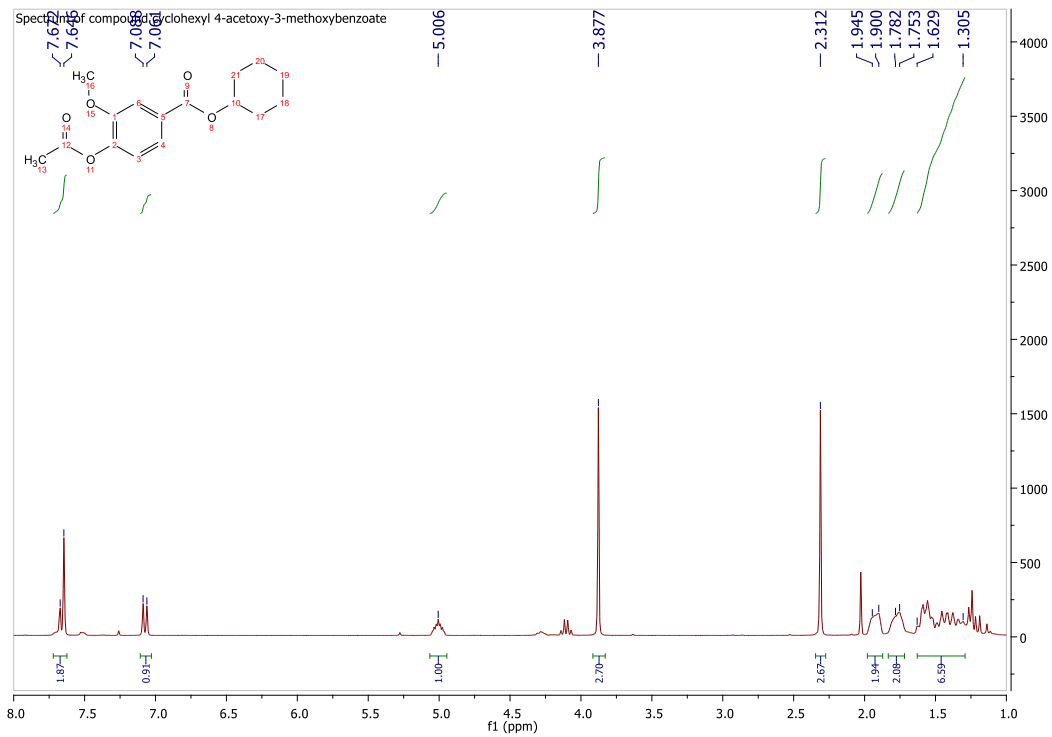
Εικόνα 8: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 4c.



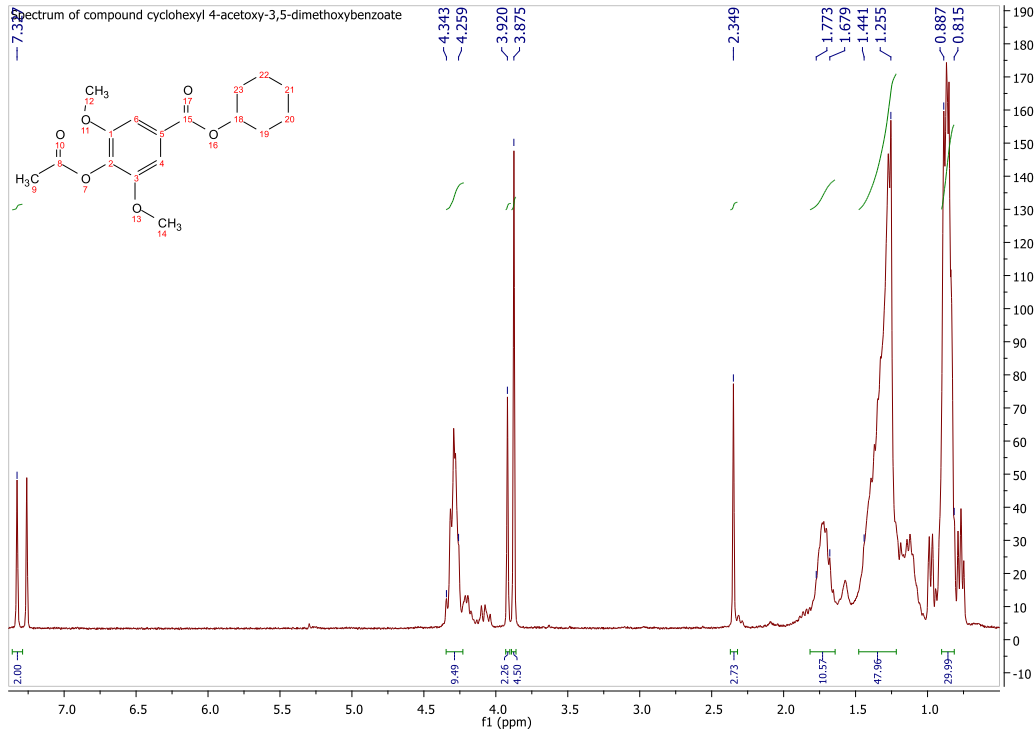
Εικόνα 9: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 4d.



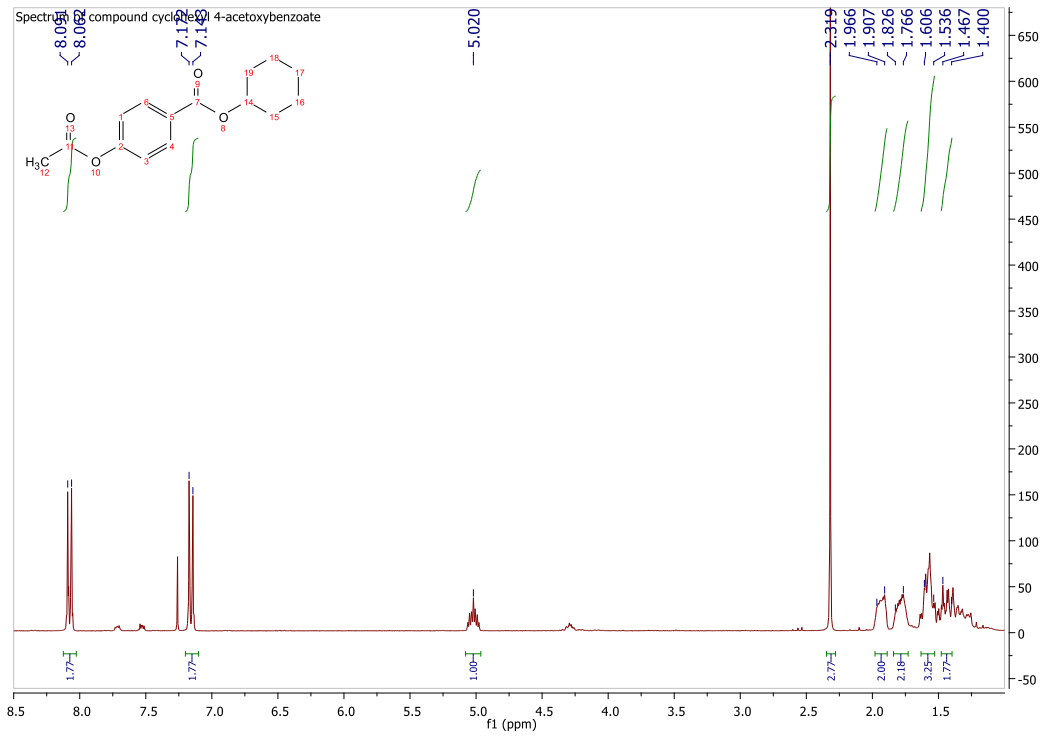
Εικόνα 10: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 4e.



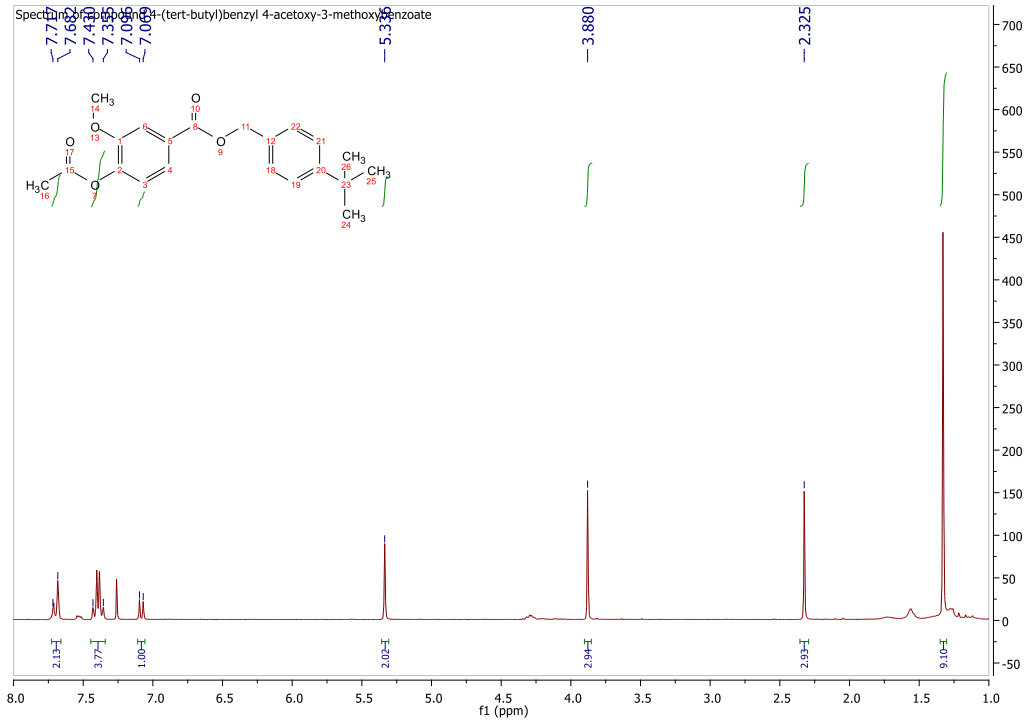
Εικόνα 11: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 4f.



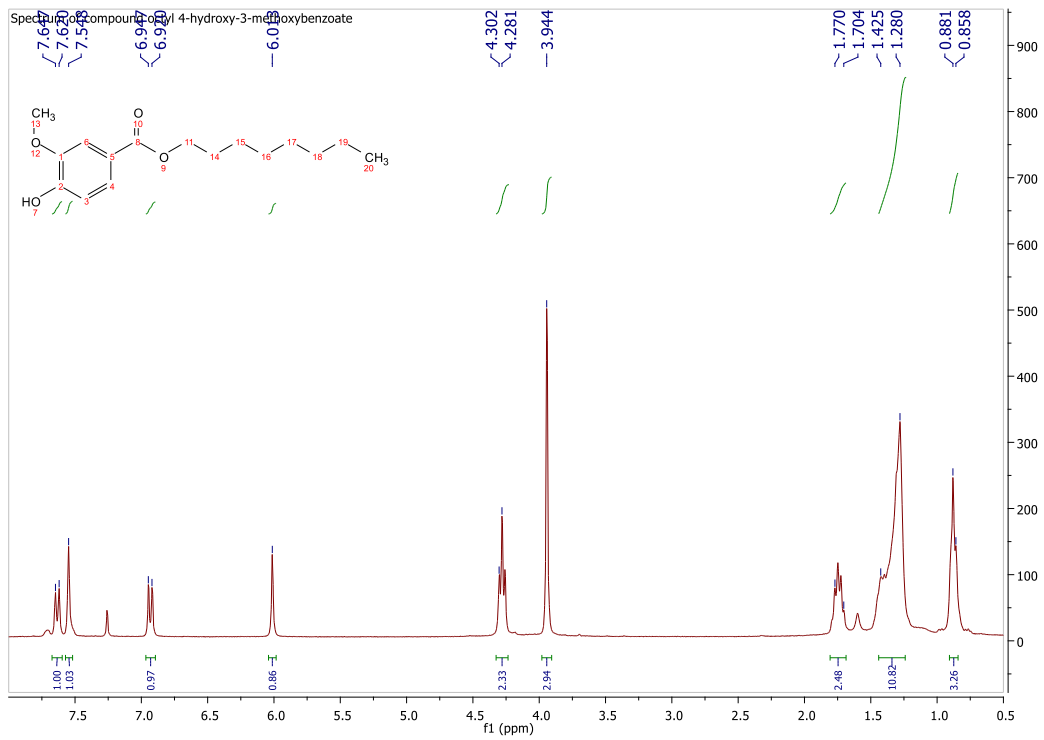
Εικόνα 12: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 4g.



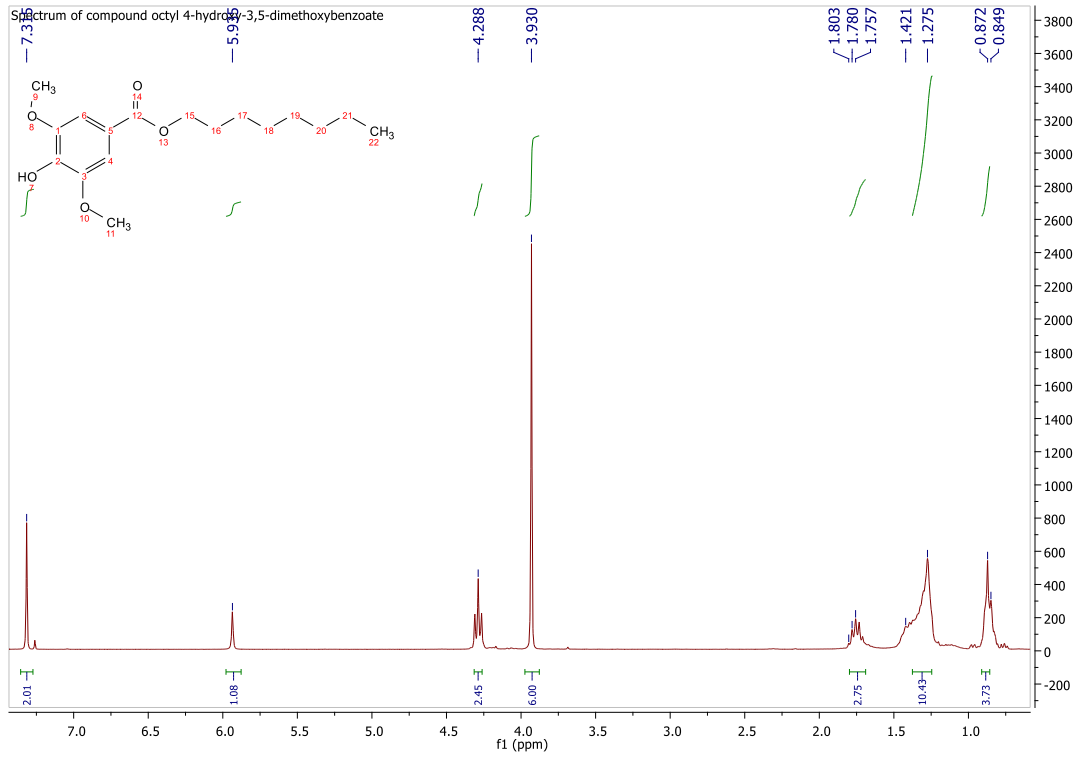
Εικόνα 13: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 4h.



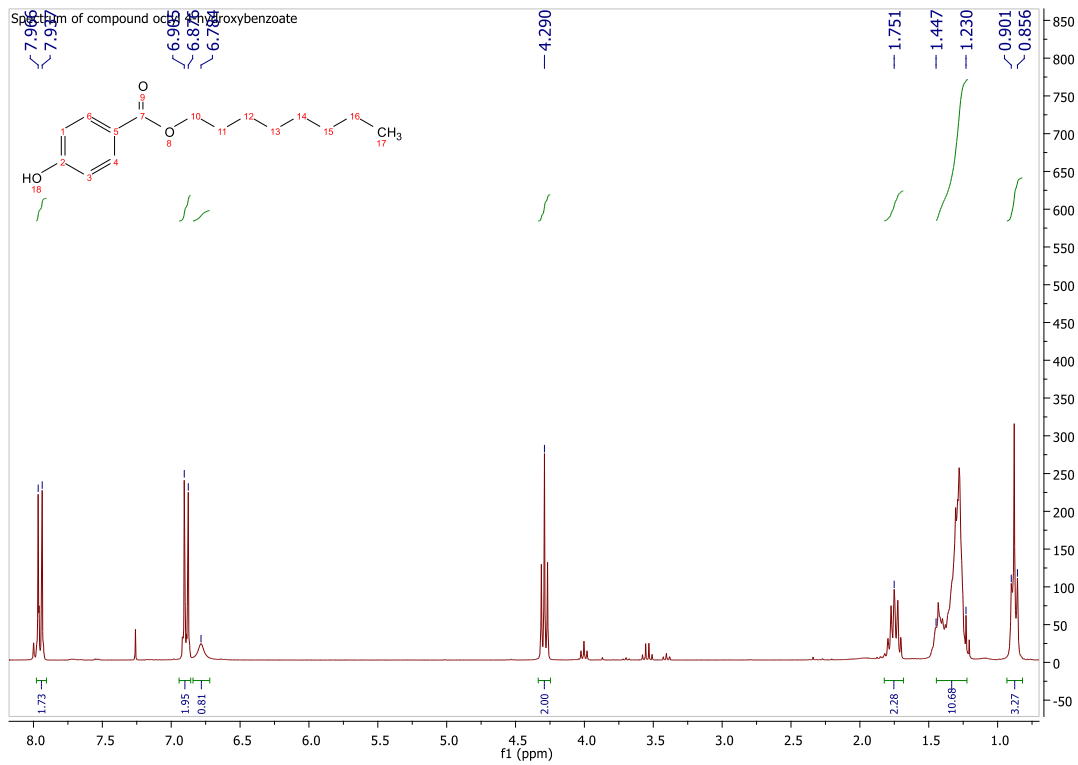
Εικόνα 14: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 4i.



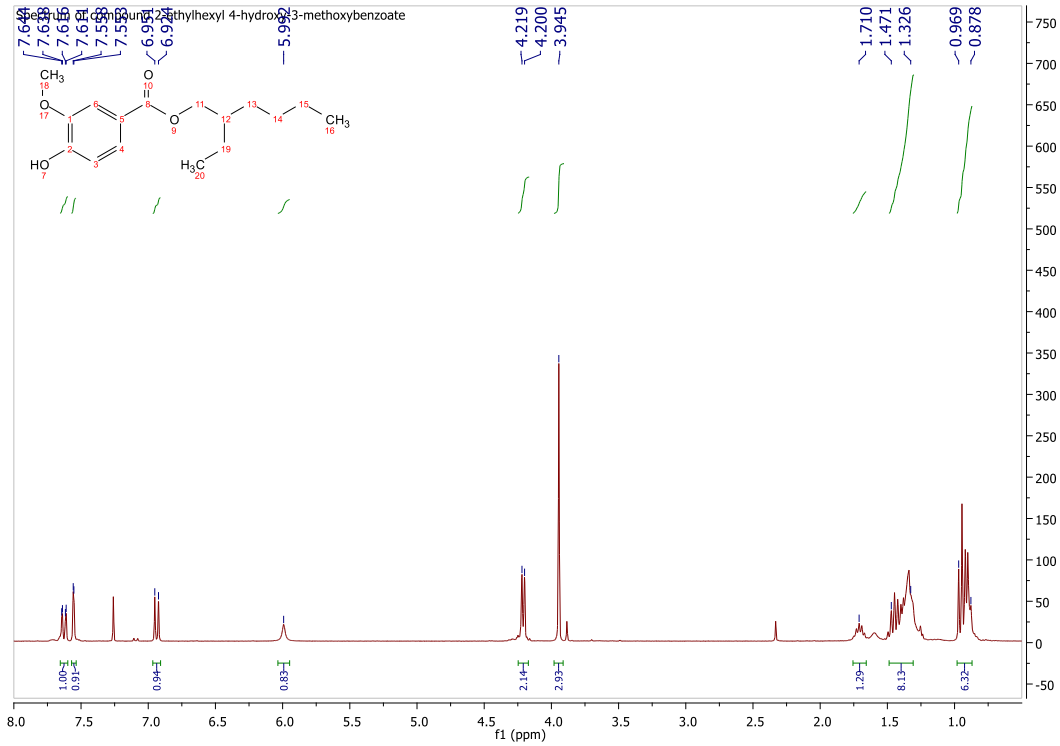
Εικόνα 15: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 5a.



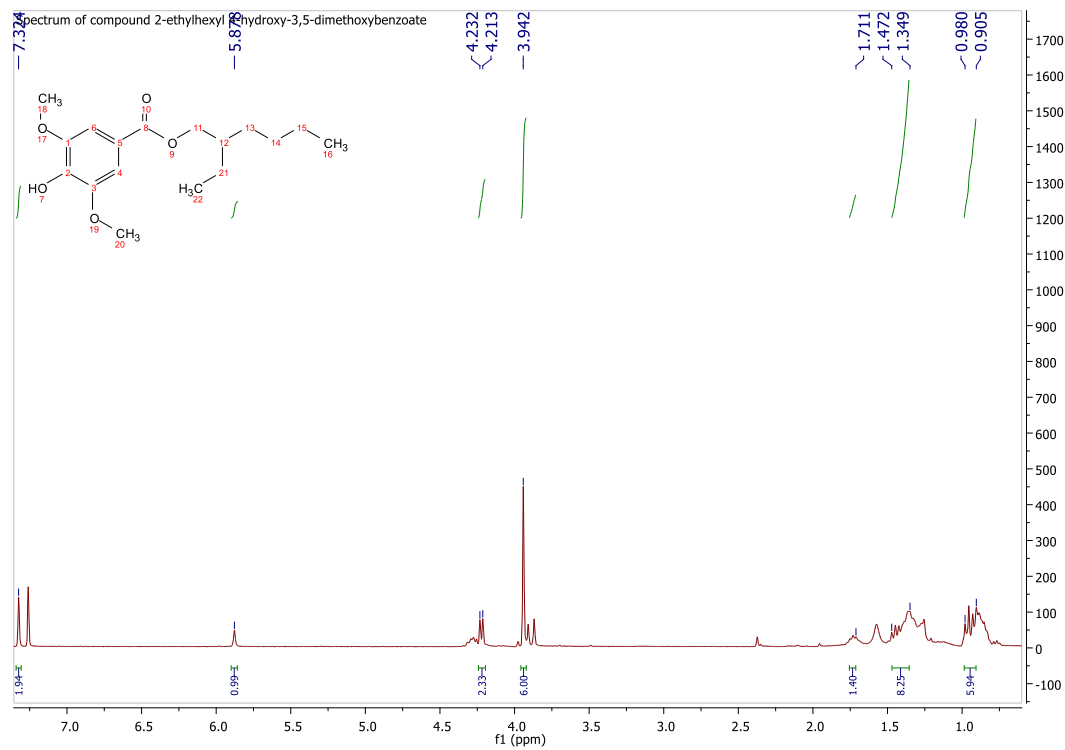
Εικόνα 16: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 5b.



Εικόνα 17: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 5c.

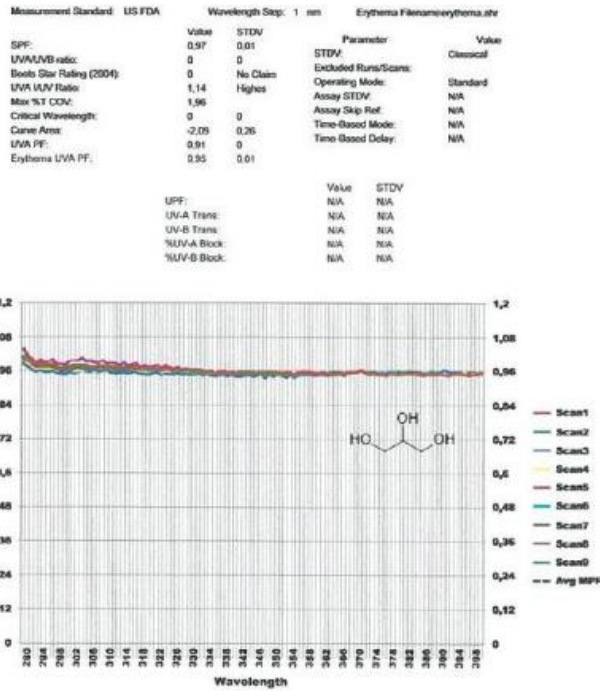


Εικόνα 18: Φάσμα ¹H NMR της ένωσης 5d

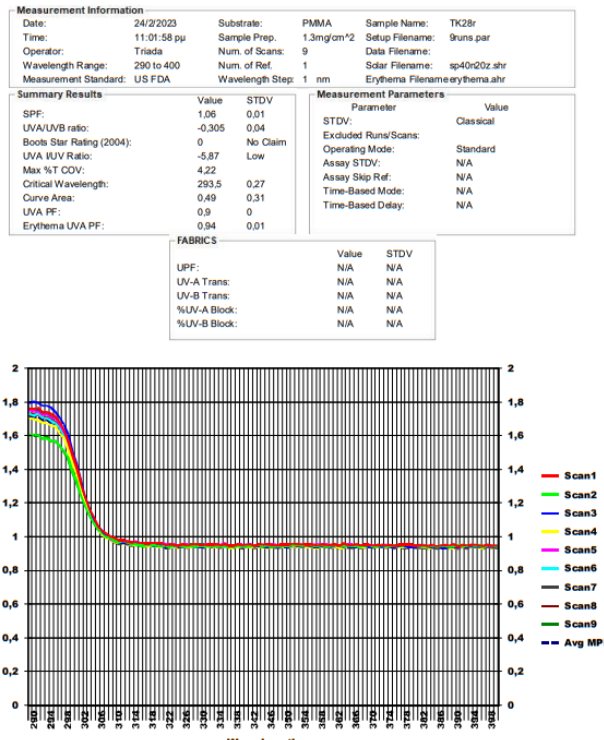


Εικόνα 19: Φάσμα ¹H NMR της ένωσης 5e.

Παράρτημα φασμάτων Απορρόφησης SPF



Εικόνα 20: Φάσμα απορρόφησης SPF της γλυκερόλης.



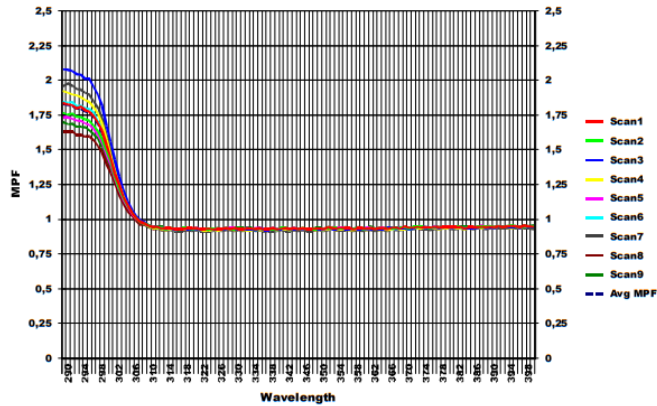
Εικόνα 21: Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 4a.

Measurement Information					
Date:	24/2/2023	Substrate:	PMMA	Sample Name:	TK320c
Time:	11:15:28 pu	Sample Prep:	1.3mg/cm ²	Setup Filename:	9runs.par
Operator:	Triada	Num. of Scans:	9	Data Filename:	
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.:	1	Solar Filename:	sp40n20z.shr
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm	Erythema Filename:	erythema.ahr

Summary Results			
SPF:	1,05	STDV:	0,02
UVA/UVB ratio:	-0,346		0,05
Boots Star Rating (2004):	0	No Claim	
UVA IUV Ratio:	-13,14	Low	
Max %T COV:	7,75		
Critical Wavelength:	260,7		97,76
Curve Area:	0,25		0,37
UVA PF:	0,89		0
Erythema UVA PF:	0,93		0,01

Measurement Parameters		
Parameter:	Value	
STDV:	Classical	
Excluded Runs/Scans:		
Operating Mode:	Standard	
Assay STDV:	N/A	
Assay Skip Ref:	N/A	
Time-Based Mode:	N/A	
Time-Based Delay:	N/A	

FABRICS		
UPF:	Value	STDV
UV-A Trans:	N/A	N/A
UV-B Trans:	N/A	N/A
%UV-A Block:	N/A	N/A
%UV-B Block:	N/A	N/A



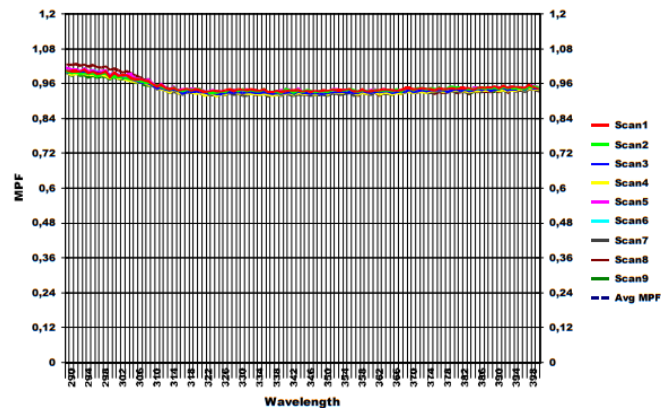
Εικόνα 22: Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 4d.

Measurement Information					
Date:	24/2/2023	Substrate:	PMMA	Sample Name:	TK136cc
Time:	11:28:16 pu	Sample Prep:	1.3mg/cm ²	Setup Filename:	9runs.par
Operator:	Triada	Num. of Scans:	9	Data Filename:	
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.:	1	Solar Filename:	sp40n20z.shr
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm	Erythema Filename:	erythema.ahr

Summary Results			
SPF:	0,96	STDV:	0,01
UVA/UVB ratio:	0		0
Boots Star Rating (2004):	0	No Claim	
UVA IUV Ratio:	1,17	Highes	
Max %T COV:	1,17		
Critical Wavelength:	0		0
Curve Area:	-2,76		0,22
UVA PF:	0,89		0
Erythema UVA PF:	0,93		0

Measurement Parameters		
Parameter:	Value	
STDV:	Classical	
Excluded Runs/Scans:		
Operating Mode:	Standard	
Assay STDV:	N/A	
Assay Skip Ref:	N/A	
Time-Based Mode:	N/A	
Time-Based Delay:	N/A	

FABRICS		
UPF:	Value	STDV
UV-A Trans:	N/A	N/A
UV-B Trans:	N/A	N/A
%UV-A Block:	N/A	N/A
%UV-B Block:	N/A	N/A

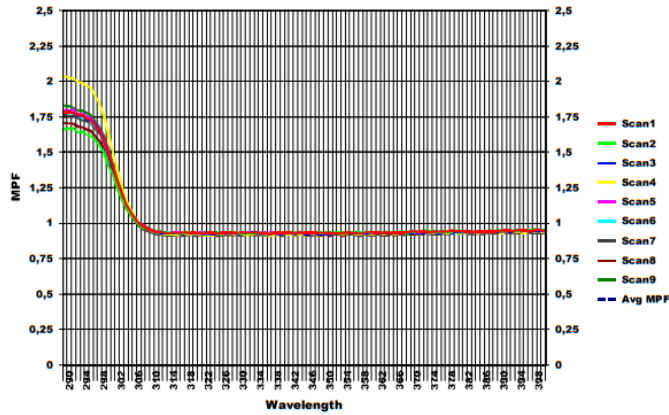


Εικόνα 23: Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 4e.

Measurement Information			
Date:	24/2/2023	Substrate:	PMMA
Time:	11:41:42 pm	Sample Prep:	1.3mg/cm ²
Operator:	Triada	Num. of Scans:	9
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.:	1
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm
Sample Name:	TK40cc	Setup Filename:	9runs.par
Data Filename:		Solar Filename:	sp40n20z.shr
Erythema Filename:	erythema.ahr		

Summary Results			Measurement Parameters		
SPF:	Value: 1,04	STDV: 0,01	Parameter:	Value	
UVA/UVB ratio:	-0,38	0,06	STDV:	Classical	
Boots Star Rating (2004):	0	No Claim	Excluded Runs/Scans:		
UVA I/UV Ratio:	933,62	Highes	Operating Mode:	Standard	
Max %T COV:	5,44		Assay STDV:	N/A	
Critical Wavelength:	130,3	154,57	Assay Skip Ref:	N/A	
Curve Area:	0	0,38	Time-Based Mode:	N/A	
UVA PF:	0,89	0,01	Time-Based Delay:	N/A	
Erythema UVA PF:	0,93	0,01			

FABRICS		
UPF:	Value: N/A	STDV: N/A
UVA Trans:	N/A	N/A
UVB Trans:	N/A	N/A
%UV-A Block:	N/A	N/A
%UV-B Block:	N/A	N/A

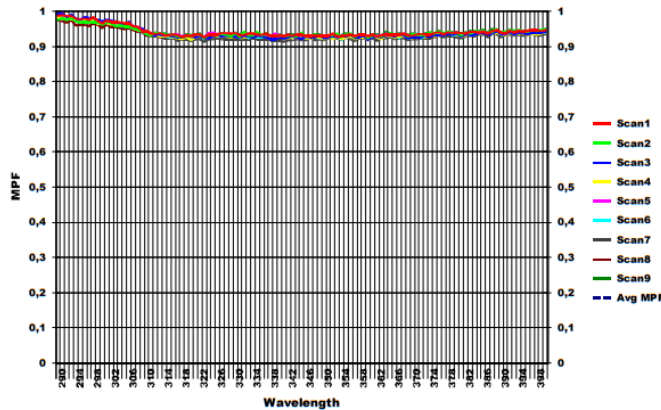


Εικόνα 24: Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 4f.

Measurement Information			
Date:	24/2/2023	Substrate:	PMMA
Time:	11:51:39 pm	Sample Prep:	1.3mg/cm ²
Operator:	Triada	Num. of Scans:	9
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.:	1
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm
Sample Name:	TK33cc	Setup Filename:	9runs.par
Data Filename:		Solar Filename:	sp40n20z.shr
Erythema Filename:	erythema.ahr		

Summary Results			Measurement Parameters		
SPF:	Value: 0,95	STDV: 0	Parameter:	Value	
UVA/UVB ratio:	0	0	STDV:	Classical	
Boots Star Rating (2004):	0	No Claim	Excluded Runs/Scans:		
UVA I/UV Ratio:	1,09	Highes	Operating Mode:	Standard	
Max %T COV:	0,73		Assay STDV:	N/A	
Critical Wavelength:	0	0	Assay Skip Ref:	N/A	
Curve Area:	-3,05	0,18	Time-Based Mode:	N/A	
UVA PF:	0,89	0	Time-Based Delay:	N/A	
Erythema UVA PF:	0,93	0			

FABRICS		
UPF:	Value: N/A	STDV: N/A
UVA Trans:	N/A	N/A
UVB Trans:	N/A	N/A
%UV-A Block:	N/A	N/A
%UV-B Block:	N/A	N/A

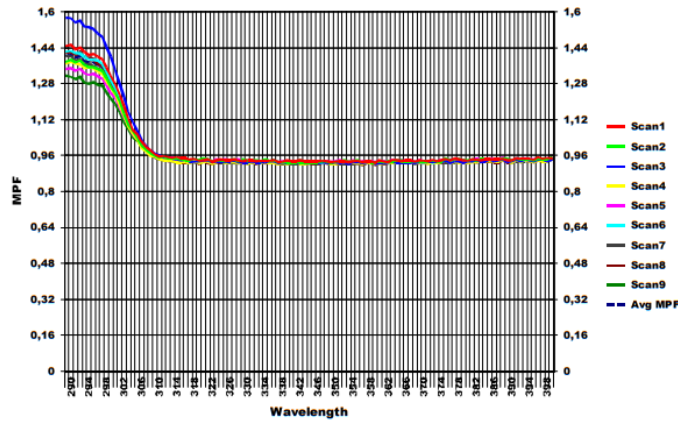


Εικόνα 25: Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 4g.

Measurement Information			
Date:	24/2/2023	Substrate:	PMMA
Time:	12:04:47 μμ	Sample Prep:	1.3mg/cm ²
Operator:	Triada	Num. of Scans:	9
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.:	1
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm
Sample Name:	TK43cc	Setup Filename:	9runs.par
Data Filename:	sp40n20z.shr	Erythema Filename:	erythema.ahr

Summary Results			Measurement Parameters		
SPF:	Value	STDV	Parameter	Value	
UVA/UVB ratio:	1,02	0,01	STDV:	Classical	
Boots Star Rating (2004):	-0,631	0,12	Excluded Runs/Scans:		
UVA IUV Ratio:	0	No Claim	Operating Mode:	Standard	
Max %T COV:	3,55	Highes	Assay STDV:	N/A	
Critical Wavelength:	5,05		Assay Skip Ref:	N/A	
Curve Area:	0	0	Time-Based Mode:	N/A	
UVA PF:	-0,93	0,33	Time-Based Delay:	N/A	
Erythema UVA PF:	0,89	0			

FABRICS		
UPF:	Value	STDV
UVA Trans:	N/A	N/A
UVB Trans:	N/A	N/A
%UV-A Block:	N/A	N/A
%UV-B Block:	N/A	N/A

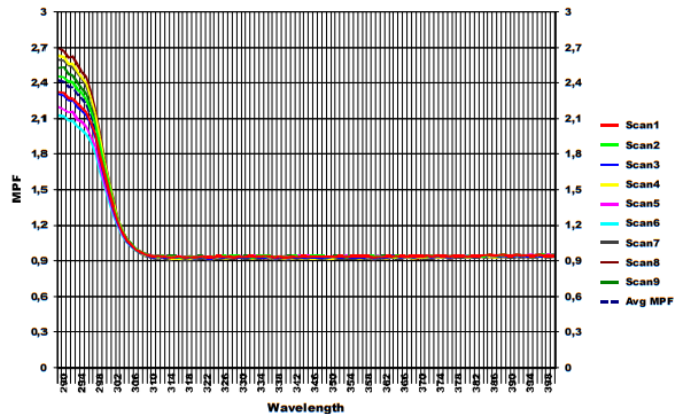


Εικόνα 26: Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 4i.

Measurement Information			
Date:	24/2/2023	Substrate:	PMMA
Time:	12:19:26 μμ	Sample Prep:	1.3mg/cm ²
Operator:	Triada	Num. of Scans:	9
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.:	1
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm
Sample Name:	TK44cc	Setup Filename:	9runs.par
Data Filename:	sp40n20z.shr	Erythema Filename:	erythema.ahr

Summary Results			Measurement Parameters		
SPF:	Value	STDV	Parameter	Value	
UVA/UVB ratio:	1,05	0,01	STDV:	Classical	
Boots Star Rating (2004):	-0,252	0,03	Excluded Runs/Scans:		
UVA IUV Ratio:	0	No Claim	Operating Mode:	Standard	
Max %T COV:	-2,73	Low	Assay STDV:	N/A	
Critical Wavelength:	8,45		Assay Skip Ref:	N/A	
Curve Area:	293,7	0,15	Time-Based Mode:	N/A	
UVA PF:	1,21	0,33	Time-Based Delay:	N/A	
Erythema UVA PF:	0,89	0,01			

FABRICS		
UPF:	Value	STDV
UVA Trans:	N/A	N/A
UVB Trans:	N/A	N/A
%UV-A Block:	N/A	N/A
%UV-B Block:	N/A	N/A



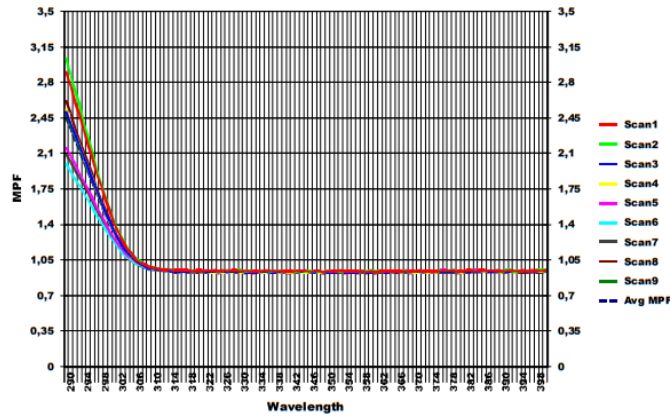
Εικόνα 27: Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 5a.

Measurement Information					
Date:	24/2/2023	Substrate:	PMMA	Sample Name:	TK14+17+Z2cc
Time:	1:05:10 μμ	Sample Prep:	1.3mg/cm ²	Setup Filename:	9runs.par
Operator:	Triada	Num. of Scans:	9	Data Filename:	
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.:	1	Solar Filename:	sp40h20z.ahr
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm	Erythema Filename:	erythema.ahr

Summary Results			
SPF:	1,04	STDV	0,02
UVA/UVB ratio:	-0,311		0,08
Boots Star Rating (2004):	0	No Claim	
UVA I/UV Ratio:	-5,3	Low	
Max %T COV:	14,41		
Critical Wavelength:	228,3	129,42	
Curve Area:	0,61	0,71	
UVA PF:	0,89	0,01	
Erythema UVA PF:	0,93	0,01	

Measurement Parameters		
Parameter	Value	
STDV:	Classical	
Excluded Runs/Scans:		
Operating Mode:	Standard	
Assay STDV:	N/A	
Assay Skip Ref:	N/A	
Time-Based Mode:	N/A	
Time-Based Delay:	N/A	

FABRICS		
UPF:	N/A	N/A
UV-A Trans:	N/A	N/A
UV-B Trans:	N/A	N/A
%UV-A Block:	N/A	N/A
%UV-B Block:	N/A	N/A



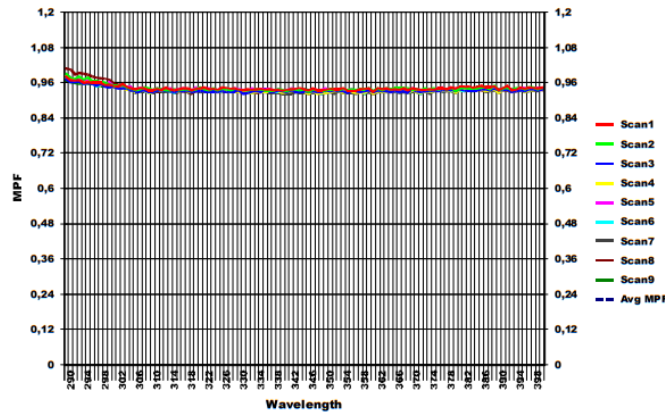
Εικόνα 28: Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 5b.

Measurement Information					
Date:	24/2/2023	Substrate:	PMMA	Sample Name:	TK16r
Time:	12:41:25 μμ	Sample Prep:	1.3mg/cm ²	Setup Filename:	9runs.par
Operator:	Triada	Num. of Scans:	9	Data Filename:	
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.:	1	Solar Filename:	sp40h20z.ahr
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm	Erythema Filename:	erythema.ahr

Summary Results			
SPF:	0,94	STDV	0
UVA/UVB ratio:	0		0
Boots Star Rating (2004):	0	No Claim	
UVA I/UV Ratio:	1,05	Highes	
Max %T COV:	1,32		
Critical Wavelength:	0	0	
Curve Area:	-3,11	0,18	
UVA PF:	0,89	0	
Erythema UVA PF:	0,93	0	

Measurement Parameters		
Parameter	Value	
STDV:	Classical	
Excluded Runs/Scans:		
Operating Mode:	Standard	
Assay STDV:	N/A	
Assay Skip Ref:	N/A	
Time-Based Mode:	N/A	
Time-Based Delay:	N/A	

FABRICS		
UPF:	N/A	N/A
UV-A Trans:	N/A	N/A
UV-B Trans:	N/A	N/A
%UV-A Block:	N/A	N/A
%UV-B Block:	N/A	N/A

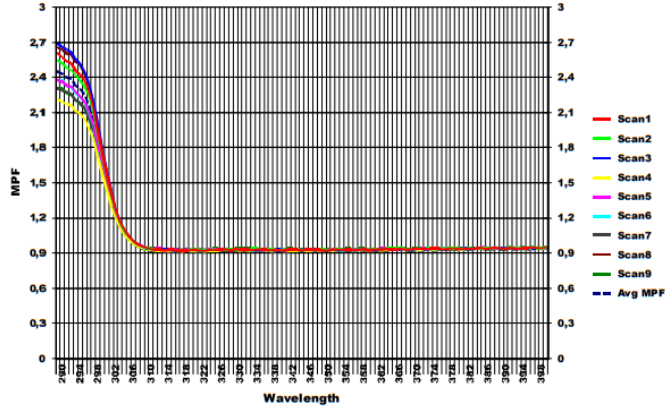


Εικόνα 29: Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 5c.

Measurement Information					
Date:	24/2/2023	Substrate:	PMMA	Sample Name:	TK420c
Time:	12:30:13 μμ	Sample Prep:	1.3mg/cm ²	Setup Filename:	9runs.par
Operator:	Triada	Num. of Scans:	9	Data Filename:	sp40z20z.shr
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.:	1	Solar Filename:	sp40z20z.shr
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm	Erythema Filename:	erythema.ahr

Summary Results			Measurement Parameters		
Parameter	Value	STDV	Parameter	Value	
SPF:	1,05	0,01	STDV:	Classical	
UVA/UVB ratio:	-0,254	0,04	Excluded Runs/Scans:		
Boots Star Rating (2004):	0	No Claim	Operating Mode:	Standard	
UVA/UV Ratio:	-2,76	Low	Assay STDV:	N/A	
Max %T COV:	7,02		Assay Skip Ref:	N/A	
Critical Wavelength:	293,7	0,22	Time-Based Mode:	N/A	
Curve Area:	1,21	0,44	Time-Based Delay:	N/A	
UVA PF:	0,89	0			
Erythema UVA PF:	0,93	0			

FABRICS		
Parameter	Value	STDV
UPF:	N/A	N/A
UV-A Trans:	N/A	N/A
UV-B Trans:	N/A	N/A
%UV-A Block:	N/A	N/A
%UV-B Block:	N/A	N/A

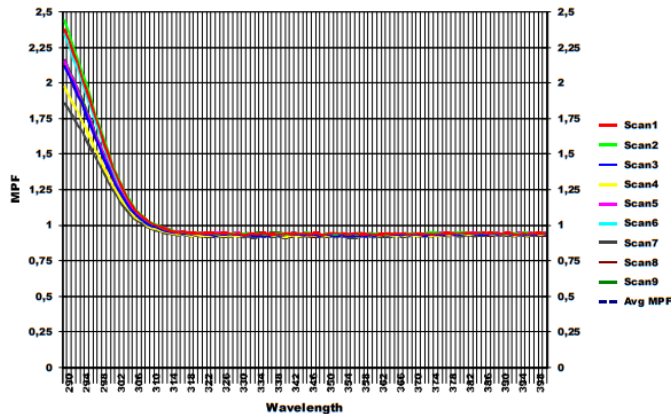


Εικόνα 30: Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 5d.

Measurement Information					
Date:	24/2/2023	Substrate:	PMMA	Sample Name:	TK410c
Time:	12:55:22 μμ	Sample Prep:	1.3mg/cm ²	Setup Filename:	9runs.par
Operator:	Triada	Num. of Scans:	9	Data Filename:	sp40z20z.shr
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.:	1	Solar Filename:	sp40z20z.shr
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm	Erythema Filename:	erythema.ahr

Summary Results			Measurement Parameters		
Parameter	Value	STDV	Parameter	Value	
SPF:	1,06	0,02	STDV:	Classical	
UVA/UVB ratio:	-0,318	0,09	Excluded Runs/Scans:		
Boots Star Rating (2004):	0	No Claim	Operating Mode:	Standard	
UVA/UV Ratio:	-6,14	Low	Assay STDV:	N/A	
Max %T COV:	8,89		Assay Skip Ref:	N/A	
Critical Wavelength:	228,3	129,44	Time-Based Mode:	N/A	
Curve Area:	0,54	0,68	Time-Based Delay:	N/A	
UVA PF:	0,89	0,01			
Erythema UVA PF:	0,93	0,01			

FABRICS		
Parameter	Value	STDV
UPF:	N/A	N/A
UV-A Trans:	N/A	N/A
UV-B Trans:	N/A	N/A
%UV-A Block:	N/A	N/A
%UV-B Block:	N/A	N/A



Εικόνα 31: Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 5e.