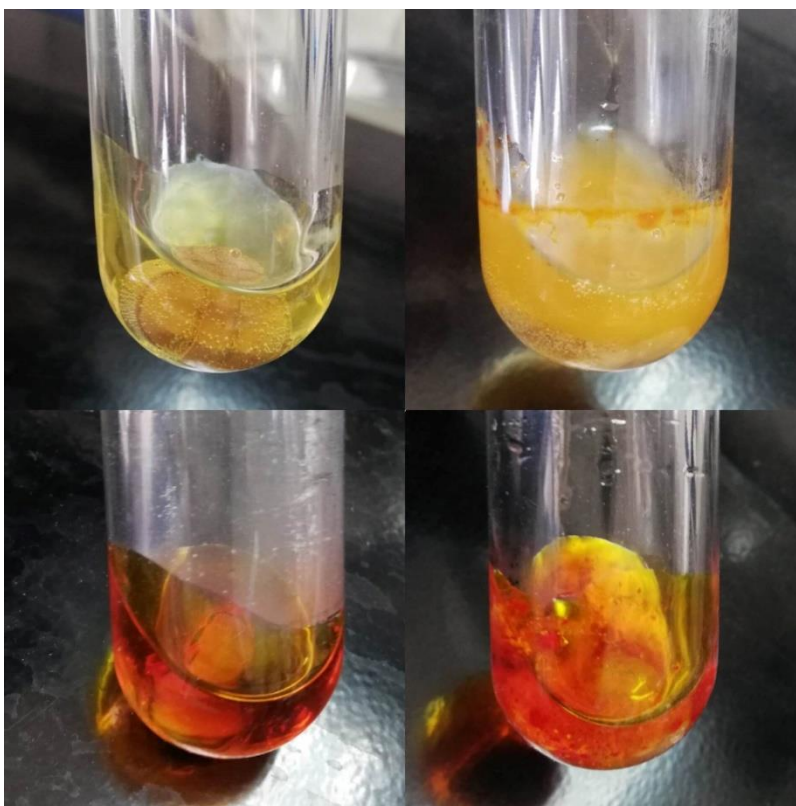




ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ (Ι) ΧΗΜΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΡΓΑΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

**Σύνθεση νέων βιοδραστικών μορίων μέσω της αντίδρασης domino
Knoevenagel - Michael με χρήση φυσικών βαθέως ευτηκτικών διαλυτών
(NaDESs)**



Διπλωματική Εργασία

Αφροδίτη Χριστοδούλου

Επιβλέπουσα: Αναστασία Δέτση, Καθηγήτρια ΕΜΠ

Αθήνα, 2023

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, κατά το ακαδημαϊκό έτος 2022 - 2023, υπό την επίβλεψη της Δρ. Αναστασίας Δέτση, Καθηγήτριας Ε.Μ.Π.

Πρωτίστως, θα ήθελα να ευχαριστήσω τη Δρ. Αναστασία Δέτση για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, αναθέτοντας μου το συγκεκριμένο θέμα, για την ευκαιρία που μου έδωσε να εργαστώ πάνω σε έναν τόσο ενδιαφέροντα τομέα, όπως είναι η σύνθεση οργανικών βιοδραστικών μορίων, καθώς και για τη βοήθεια, τις συμβουλές, τις διορθώσεις και την καθοδήγηση, που μου πρόσφερε καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας.

Θα ήθελα, επίσης, να ευχαριστήσω θερμά την υποψήφια διδάκτορα στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας Ε.Μ.Π., Μαρία - Άννα Καραδένδρου, για τη βοήθεια της στην επίλυση κάθε προβλήματος που προέκυπτε, την άψογη συνεργασία που είχαμε, καθώς και για τις γνώσεις που μου πρόσφερε, συμβάλλοντας στην ολοκλήρωση της παρούσας διπλωματικής εργασίας.

Δεν θα μπορούσα να παραλείψω τις ευχαριστίες στα υπόλοιπα μέλη του εργαστηρίου Οργανικής Χημείας Ε.Μ.Π, για την αρμονική συνεργασία, καθώς και για το ευχάριστο κλίμα που επικρατούσε πάντα στο εργαστήριο.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένεια μου και τους φίλους μου για την υποστήριξη και συμπαράσταση τους κατά την περίοδο εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας, όσο και κατά τη διάρκεια της φοίτησης μου στη σχολή.

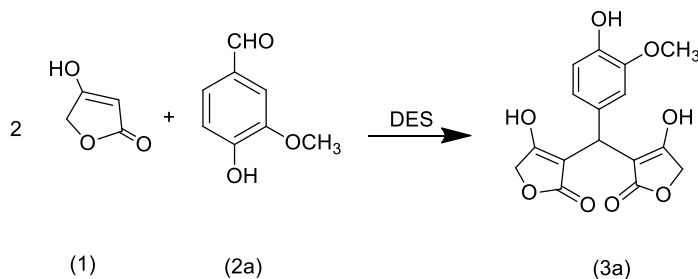
ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα διπλωματική εργασία επικεντρώθηκε στην ανάπτυξη μιας νέας πράσινης μεθοδολογίας για τη σύνθεση δις - τετρονικών οξέων μέσω της αντίδρασης domino Knoevenagel - Michael χρησιμοποιώντας, τόσο φυσικούς βαθέως ευτηκτικούς διαλύτες, όσο και τεχνικές υψηλής ενέργειας, όπως είναι οι υπέρηχοι και τα μικροκύματα.

Οι φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες (NaDESs), χρησιμοποιήθηκαν στη σύνθεση των δις - τετρονικών οξέων ως πράσινοι διαλύτες και ερευνήθηκαν για το διττό τους ρόλο, τόσο ως καταλύτες όσο και ως διαλύτες. Αρχικά, συντέθηκαν τέσσερις διαφορετικοί φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες:

- προλίνη - οξαλικό οξύ (Pro:Ox) με αναλογία 1:1
- προλίνη - γλυκερόλη (Pro:Gly) με αναλογία 1:2
- προλίνη - γαλακτικό οξύ - νερό (Pro:LA:W) με αναλογία 1:2:2.5
- χλωριούχος χολίνη - γλυκερόλη (Cho Chlo:Gly) με αναλογία 1:2

Ο χαρακτηρισμός των συντιθέμενων NaDESs έγινε μέσω φασμάτων ^1H NMR. Έπειτα, οι διαλύτες χρησιμοποιήθηκαν για τη διεξαγωγή της αντίδρασης - μοντέλο, ανάμεσα στο τετρονικό οξύ **(1)** και τη βανιλίνη **(2a)**:



Μετά από την διεξαγωγή της αντίδρασης - μοντέλο με τους τέσσερις NaDESs, βρέθηκε ότι καλύτερα αποτελέσματα προκύπτουν, όταν χρησιμοποιείται ο διαλύτης Pro:Gly σε αναλογία 1:2, με απόδοση 49%, ενώ η χαμηλότερη απόδοση (10%) προέκυψε με χρήση του διαλύτη προλίνη - γαλακτικό οξύ - νερό. Επίσης, όταν χρησιμοποιήθηκε ο διαλύτης χλωριούχο χολίνη - γλυκερόλη, παρατηρήθηκε μέσω φασματοσκοπίας ^1H NMR ότι δε δημιουργείται το επιθυμητό προϊόν.

Στη συνέχεια, για τη διερεύνηση και βελτιστοποίηση της αντίδρασης - μοντέλο, μελετήθηκαν ο τρόπος θέρμανσης του μίγματος της αντίδρασης (συμβατικά, υπέρηχοι, μικροκύματα) καθώς και οι αναλογίες των αντιδρώντων (2:1 και 2.5:1), με χρήση του NaDES προλίνη-γλυκερόλη 1:2. Προέκυψαν οι έξι βέλτιστες συνθήκες για την αντίδραση domino Knoevenagel - Michael: γραμμομοριακή αναλογία αντιδρώντων τετρονικού οξέος και βανιλίνης (2.5:1)

μέσω μικροκυμάτων ως τεχνική θέρμανσης, επιτυγχάνοντας σύνθεση με 60% απόδοση σε χρόνο αντίδρασης 15 min.

Προκειμένου να ενισχυθεί ο «πράσινος» χαρακτήρας της διεργασίας, εξετάστηκε η δυνατότητα ανάκτησης και επαναχρησιμοποίησης του NaDES Pro:Gly. Με τη διεξαγωγή της αντίδρασης – μοντέλο σε συμβατική θέρμανση και τις βέλτιστες αναλογίες των αντιδρώντων, ο διαλύτης επαναχρησιμοποιήθηκε έως και τέσσερις φορές, επιτυγχάνοντας συνθέσεις με μέτριες αποδόσεις (57 – 43%). Ο προσδιορισμός της απόδοσης των αντιδράσεων στον κάθε κύκλο επανάληψης έγινε μέσω της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC).

Ακόμη, οι βέλτιστες συνθήκες που αναφέρθηκαν προηγουμένως, εφαρμόστηκαν για την παραγωγή και άλλων δις – τετρονικών οξέων αντικαθιστώντας την βανιλίνη με άλλες αλδεΐδες. Με αποτέλεσμα να συντεθούν συνολικά πέντε δις - τετρονικά οξέα με διαφορετικούς υποκαταστάτες στον αρωματικό δακτύλιο, με αποδόσεις που κυμαίνονται από 28 – 68%. Για την παραλαβή των τελικών προϊόντων χρειάστηκε καθαρισμός μέσω χρωματογραφίας στήλης, ενώ η καθαρότητα τους παρακολούθηθηκε μέσω φασμάτων $^1\text{H NMR}$ και MS.

Τέλος, τα συντιθέμενα δις – τετρονικά οξέα εξετάστηκαν και ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση, μέσω των μεθόδων δέσμευσης ελευθέρων ριζών DPPH και AAPH. Από την πρώτη μέθοδο προέκυψε, ότι η ένωση **(3a)** έχει την ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση με $\text{IC}_{50} = 65.0 \mu\text{M}$ και % παρεμπόδιση = 71.1 % στη 1h. Ενώ, στη δεύτερη μέθοδο το μοναδικό μόριο που εμφάνισε αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης, είναι το **(3d)** με ποσοστό αναστολής 42.3%.

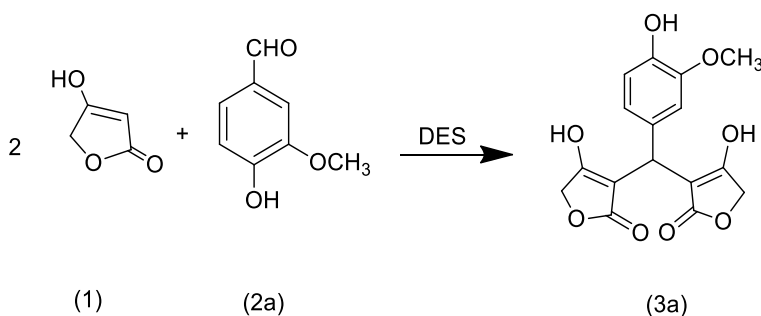
ABSTRACT

The present research study focuses on the development of a new green methodology for the synthesis of bis – tetronic acids through the multicomponent domino Knoevenagel – Michael reaction, using both deep eutectic solvents and high energy techniques, such as ultrasound and microwaves.

Natural deep eutectic solvents (NaDESS) were employed in the synthesis of bis – tetronic acids as green solvents and investigated for their dual role as catalysts and solvents. Initially, four different natural deep eutectic solvents were synthesized:

- proline – oxalic acid (Pro:Ox) in a ratio of 1:1
- proline – glycerol (Pro:Gly) in a ratio of 1:2
- proline – lactic acid - water (Pro:LA:W) in a ratio of 1:2
- Choline chloride – glycerol (Cho Chlo:Gly) in a ratio of 1:2

The synthesized NaDESSs were structurally characterized via ^1H NMR. Subsequently, the solvents were used to conduct the model – reaction, between the tetronic acid (**1**) and vanillin (**2a**):



After conducting the reaction model with the four NaDESSs, it was found that better results are obtained when using the Pro:Gly solvent in a 1:2 ratio, yielding 49%. The lowest yield (10%) was obtained when using the solvent proline - lactic acid - water. Additionally, when using the solvent choline chloride - glycerol, it was observed through ^1H NMR spectroscopy that the desired product was not formed.

Next, for the exploration and optimization of the reaction model, the heating method of the reaction mixture (conventional, ultrasound, microwave) and the ratios of reactants (2:1 and 2.5:1) using NaDES proline - glycerol 1:2 were studied. The following optimal conditions were obtained for the domino Knoevenagel-Michael reaction: a molar ratio of reactants of tetronic acid and vanillin (2.5:1) using microwave heating as the heating technique, achieving a composition with a 60% yield in a reaction time of 15 minutes.

In order to enhance the «green» character of the process, the possibility of recovery and reuse of NaDES Pro:Gly was examined. By conducting the reaction model with conventional heating and optimal reactant ratios, the solvent was successfully reused up to four times, achieving compositions with moderate yields (57 – 43%). The determination of reaction yields in each cycle of repetition was performed using high performance liquid chromatography (HPLC).

Moreover, the optimal conditions mentioned earlier were applied for the synthesis of other bis – tetronic acids by replacing vanillin with different aldehydes. As a result, a total of five bis – tetronic acids with various substituents on the aromatic ring were synthesized, with yields ranging from 28 to 68%. The products were purified using column chromatography, and their purity was monitored using ¹H NMR and MS spectra.

Finally, the synthesized bis – tetronic acids were examined for their antioxidant activity using the DPPH and AAPH methods. In the first method, compound **(3a)** exhibited the strongest antioxidant activity with an IC₅₀ = 65.0 μM and inhibition = 71.1% at 1h. On the other hand, in the second method, the only molecule that showed inhibition of lipid peroxidation was **(3d)** with an inhibition = 42.3%.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

| | |
|--|----|
| ΠΡΟΛΟΓΟΣ..... | 2 |
| ΠΕΡΙΛΗΨΗ | 3 |
| ABSTRACT | 5 |
| ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ | 7 |
| ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ..... | 10 |
| 1. Τετρονικά οξέα..... | 10 |
| 1.1. Δομή και προέλευση | 10 |
| 1.2. Ιδιότητες και βιοδραστικότητα | 12 |
| 1.3. Μέθοδοι σύνθεσης τετρονικού πυρήνα | 14 |
| 2. Πράσινη Χημεία..... | 15 |
| 2.1. Έννοια και οι Αρχές της πράσινης χημείας | 15 |
| 2.2. Εργαλεία της πράσινης χημείας..... | 21 |
| 2.3. Δείκτες ποσοτικοποίησης πράσινου χαρακτήρα | 24 |
| 2.4. Προκλήσεις για την πράσινη τεχνολογία | 26 |
| 3. Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (DESs : Deep Eutectic Solvents)..... | 27 |
| 3.1. Ορισμός | 27 |
| 3.2. Φυσικοί Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (Natural Deep Eutectic Solvents-NaDESs).... | 28 |
| 3.3. Φυσικοχημικές ιδιότητες | 30 |
| 3.4. Εφαρμογές..... | 32 |
| 4. Αντίδραση Knoevenagel..... | 35 |
| 4.1. Ορισμός, αντιδραστήρια, συνθήκες..... | 35 |
| 4.2. Καταλύτες της αντίδρασης Knoevenagel | 36 |
| 4.3. Εφαρμογές..... | 37 |
| 5. Domino Knoevenagel - Michael | 38 |
| 5.1. Ορισμός, συνθήκες..... | 38 |
| 5.2. Παραδείγματα αντιδράσεων ντόμινο στη φύση | 39 |
| 6. Μηχανισμοί Αντιδράσεων..... | 40 |
| 6.1. Μηχανισμός Knoevenagel..... | 40 |
| 6.2. Μηχανισμός Michael..... | 41 |

| | | |
|-------------------------------|--|----|
| 7. | Μέθοδοι σύνθεσης - Τεχνικές υψηλής ενέργειας | 42 |
| 7.1. | Μικροκυματική ακτινοβολία (Microwaves)..... | 42 |
| 7.2. | Μικροκύματα έναντι συμβατικής σύνθεσης | 44 |
| 6.2. | Υπέρηχοι (Ultrasound)..... | 46 |
| 8. | Μέθοδοι ταυτοποίησης | 50 |
| 8.1. | Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)..... | 50 |
| 8.2. | Φασματομετρία Μάζας (MS) | 53 |
| 9. | Χρωματογραφικές Τεχνικές Ανάλυσης | 54 |
| 9.1. | Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC)..... | 55 |
| 10. | Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης | 57 |
| 10.1. | Μέθοδος DPPH..... | 57 |
| 10.2. | Μέθοδος AAPH..... | 59 |
| ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ | | 60 |
| 1. | Όργανα και συσκευασίες | 60 |
| 2. | Συνθετική πορεία | 62 |
| 2.1. | Γενική μέθοδος σύνθεση NaDESS | 62 |
| 2.2. | Ανάπτυξη μεθοδολογίας σύνθεσης δις – τετρονικών οξέων (bis – tetronic acids) με την αντίδραση domino Knoevenagel – Michael | 66 |
| 2.3. | Ανακύκλωση και επαναχρησιμοποίηση διαλύτη | 71 |
| 2.4. | Διαχωρισμός και ποσοτικοποίηση με HPLC..... | 72 |
| 2.5. | Γενική μέθοδος σύνθεσης προϊόντων δις – τετρονικών οξέων (μέσω βέλτιστων συνθηκών)..... | 73 |
| 2.6. | Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης | 77 |
| ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ | | 81 |
| 1. | Ανάλυση φάσματος ^1H NMR Pro:Gly 1:2 | 81 |
| 2. | Ανάλυση φάσματος ^1H NMR του δις – τετρονικού οξέος 3a | 83 |
| 3. | Ανάλυση φάσματος MS της ένωσης 3d | 84 |
| ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ | | 86 |
| 1. | Σύνθεση NaDESS..... | 86 |
| 2. | Ανάπτυξη μεθοδολογίας σύνθεσης δις – τετρονικών οξέων με αντίδραση domino Knoevenagel – Michael | 87 |
| 3. | Ανακύκλωση και επαναχρησιμοποίηση του NaDES | 89 |

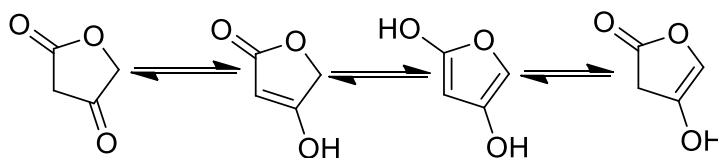
| | |
|--|-----|
| 4. Διαχωρισμός και ποσοτικοποίηση με HPLC..... | 90 |
| 5. Αξιολόγηση αντιοξειδωτικής δράσης | 93 |
| 5.1. Μέθοδος DPPH..... | 93 |
| 5.2. Μέθοδος AAPH..... | 95 |
| 6. Σύνοψη - Συμπεράσματα | 97 |
| 7. Προτάσεις για μελλοντική έρευνα | 99 |
| ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ | 100 |
| ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι – ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ..... | 107 |
| ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ – ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ..... | 109 |
| ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ – ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ | 110 |
| ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙV – ΦΑΣΜΑΤΑ ¹ H NMR, MS..... | 110 |

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Τετρονικά οξέα

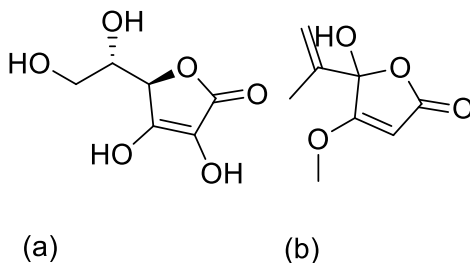
1.1. Δομή και προέλευση

Τα τετρονικά οξέα ανήκουν στην κατηγορία των 4-υδροξυβουτενολιδίων και χαρακτηρίζονται από έναν δακτύλιο 4-υδροξυ-2(5H)-φουρανόνης. Αυτός ο τύπος πενταμελών ετεροκυκλικών βινυλολόγων οξέων μπορεί να συναντηθεί σε δύο κύριες ταυτομερείς μορφές, είτε σε μορφή κετο- είτε σε ενόλη ([Εικόνα 1](#))^[1,2]:



[Εικόνα 1](#): Ταυτομερείς δομές του τετρονικού οξέος

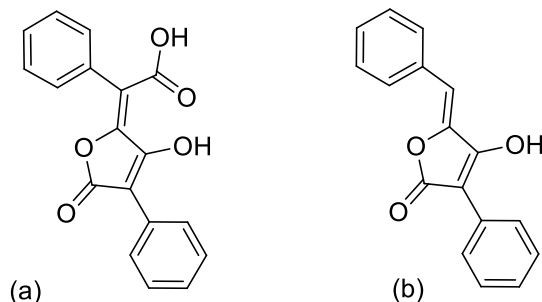
Ειδικότερα το τετρονικό οξύ είναι ένα δομικό στοιχείο πολλών φυσικών προϊόντων διάφορων κατηγοριών, όπως τανίνες, αλκαλοειδή, μακρολίδια και τερπένια. Αρκετές εκατοντάδες φυσικά απαντώμενα τετρονικά οξέα και υποκατεστημένα παράγωγα είναι γνωστά μέχρι σήμερα, με τη βιταμίνη C και το πενικιλικό οξύ ([Εικόνα 2](#)), να είναι αναμφίβολα οι πιο σημαντικοί εκπρόσωποι.^[2]



[Εικόνα 2](#): Φυσικά παράγωγα του τετρονικού οξέος, (a) Βιταμίνη C και (b) πενικιλικό οξύ

Μια μεγάλη ομάδα τετρονικών φυσικών προϊόντων συντίθενται από μία ποικιλία θαλάσσιων και χερσαίων ειδών, όπως βακτήρια, μούχλα, φύκια, μύκητες, λειχήνες και σφουγγάρια. Πολλά από αυτά είναι τα πουλβινικά οξέα και τα

αποκαρβοξυλιωμένα ανάλογα τους, οι πουλβινόνες ([Εικόνα 3](#)). Η δομή του πουλβινικού οξέος μπορεί να θεωρηθεί ως ένα πρότυπο στο οποίο μπορούν να γίνουν πολλές τροποποιήσεις. Τα πουλβινικά οξέα χαρακτηρίζονται από ένα τμήμα τετρονικού οξέος το οποίο είναι υποκατεστημένο από μια ομάδα αρυλίου και από ένα τμήμα υδροξυκαρβονυλαλκυλιδενίου. Το πρώτο πουλβινικό παράγωγο απομονώθηκε από τον Berbet το 1831 από το *thelichenCetraria vulpina*, ενώ η πρώτη πουλβινόνη απομονώθηκε από τον Gill το 1973 από το μανιτάρι *Boletus elegans*.^[2]



Εικόνα 3: Δομές (a) πουλβινικού οξέος (pulvinic acid) και (b) πουλβινόνης (pulvinone)

Το κύριο δομικό χαρακτηριστικό στα περισσότερα φυσικά προϊόντα είναι ο τετρονικός πυρήνας, ενώ για κάποια άλλα το τετρονικό οξύ. Τα πιο ενδιαφέροντα από φαρμακολογικής πλευράς είναι τα παράγωγα που διαθέτουν υποκαταστάτες 3-ακυλίου διότι έχουν την ικανότητα να χηλώνουν τα απαραίτητα μεταλλικά ιόντα και να μιμούνται φωσφορικές ομάδες στη θέση δέσμευσης κινασών και φωσφατάσης. Επομένως, είναι έντονο το ενδιαφέρον για τέτοιες ενώσεις, που σχετίζονται κυρίως με την χρήση τους ως προνομακή δομή στην ανακάλυψη φαρμάκων και στην ανάπτυξη αρκετών καινοτόμων μεθοδολογιών για την κατασκευή του τετρονικού πυρήνα.^[1,3,4]

Τα παράγωγα του τετρονικού οξέος παρουσιάζουν ενδιαφέρον λόγω των αντιβιοτικών τους ιδιοτήτων, καθώς διαθέτουν αντιβακτηριακή, αντιμυκητιακή, αναλγητική, αντκαρκινική και αντιφλεγμονώδη δράση. Επιπλέον, έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικοί αναστολείς της πρωτεάσης HIV-1.^[1,3,5] Τα οπτικά ενεργά παράγωγα του τετρονικού οξέος μπορούν να συντεθούν με κυκλοποίηση Dieckmann ξεκινώντας από ενώσεις «χειρόμορφης δεξαμενής» όπως γαλακτικό οξύ, μανδελικό οξύ, μηλικό οξύ ή τρυγικό οξύ. Για την παρασκευή 5-αρυλ-3-υδροξυτετρονικών οξέων, τα οποία είναι πολύ ευαίσθητα στη ρακεμοποίηση, χρησιμοποιούνται προστατευμένες μαντελαλδεΐδες. Η εναντιοεκλεκτική σύνθεση

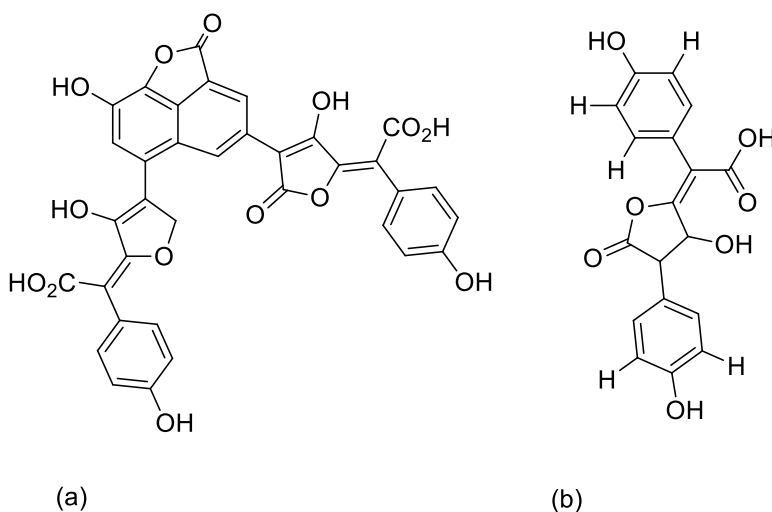
5-υποκατεστημένων 3-μεθυλοτετρονικών οξέων, ξεκινά από χειραλικό 2-μεθυλ-3-(1-φαινυλαιθοξυ)ακρυλικό αιθυλεστέρα.^[5,6]

1.2. Ιδιότητες και βιοδραστικότητα

Ενδιαφέρον έχουν τα φυσικά προϊόντα που περιέχουν στο τμήμα τους τετρονικό οξύ, καθώς εμφανίζουν ευρύ φάσμα βιολογικών δραστηριοτήτων.

1.2.1. Αντιοξειδωτική δράση

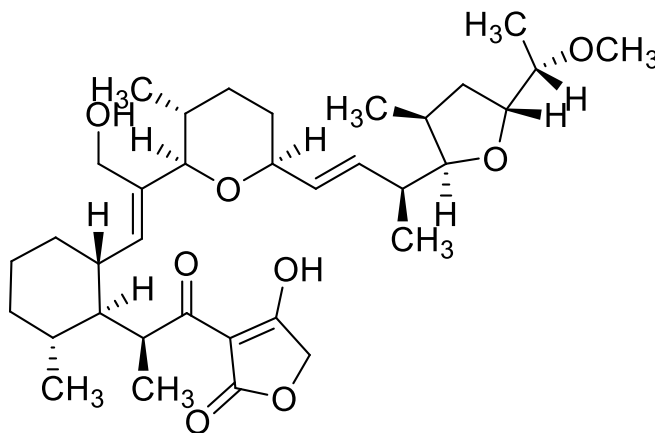
Κατά τη διάρκεια μιας μελέτης που στοχεύει στην αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης εκατοντάδων ενώσεων, αναφέρθηκε πρόσφατα μια δοκιμή διαλογής υψηλής απόδοσης που έκανε χρήση μιας ανταγωνιστικής τεχνικής ανοσοδοκιμασίας. Αυτή η δοκιμή μέτρησε την προστασία της βάσης DNA θυμίνης που υποβάλλεται σε τρεις τύπους οξειδωτικών καταπονήσεων. Επέτρεψε την αναγνώριση της νορβαδιόνης Α ([Εικόνα 4a](#)), μιας χρωστικής ουσίας των μανιταριών *Xerocomus badius* και *Pisolithus tinctorius*, ως ισχυρό αντιοξειδωτικό. Η νορβαδιόνη Α προστάτευσε αποτελεσματικά τη θυμιδίνη από την ακτινοβολία γ, δείχνοντας έτσι μια πιθανή δράση ως ραδιοπροστατευτικός παράγοντας, καθώς και έναντι της έκθεσης στην υπεριώδη ακτινοβολία παρουσία υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂). Περαιτέρω μελέτες έδειξαν ότι μια δομικά σχετική χρωστική ουσία, το δι-Ο-μεθυλατρομεντικό οξύ ([Εικόνα 4b](#)), προστάτευε αποτελεσματικά τη θυμίνη έναντι των τριών καταστάσεων στρες και δεν έδειξε καμία προοξειδωτική συμπεριφορά.^[2,8]



Εικόνα 4: (a) Νορβαδιόνη Α και (b) ατρομεντικό οξύ

1.2.2. Αντιβιοτική δράση

Τα 3-ακύλ-τετρονικά οξέα είναι πιθανότατα η πιο ενδιαφέρουσα βιολογική κατηγορία φυσικών προϊόντων αφού έχουν συσχετιστεί με πολλές βιολογικές δράσεις, ειδικά ως αντιβιοτικά. Η κατηγορία των 3-ακύλ τετρονικών οξέων χαρακτηρίζεται από χαμηλή τιμή pKa, είναι πιθανό να αποπρωτονιωθούν υπό φυσιολογικές συνθήκες και επιπλέον, η δομή τους τα καθιστά εξαιρετικούς χηλικούς παράγοντες μεταλλικών κατιόντων. Οι χηλικές τους ιδιότητες θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε σχετικά σταθερά σύμπλοκα μετάλλων, με ενισχυμένη λιποφιλία που τους επιτρέπει να αλληλεπιδρούν με μεμβράνες κυττάρων ή οργανιδίων. Επιπλέον, η δομική αναλογία των τετρονικών ανιόντων με τα φωσφορικά ανιόντα τους επιτρέπει να αλληλεπιδρούν με πρωτεϊνικές φωσφατάσες, ενώ ο ανιοντικός χαρακτήρας επιτρέπει πιθανές αλληλεπιδράσεις με θετικά φορτισμένες επιφάνειες πρωτεΐνης. Για παράδειγμα, η τετρονασίνη ([Εικόνα 5](#)), ένα ιονοφόρο αντιβιοτικό που παράγεται από το *Streptomyces longisporoflavus*, χρησιμοποιείται ως συμπλήρωμα ζωοτροφών και παρεμβαίνει στην επιλεκτική διείσδυση ιόντων στις λιπιδικές διπλοστοιβάδες τα οποία προκαλούν αποπόλωση της μεμβράνης και θάνατο. Επομένως, η τετρονασίνη τείνει να δεσμεύει μεταλλικά ιόντα χρησιμοποιώντας το 3-ακυλο-τετρονικό τμήμα του.^[9]

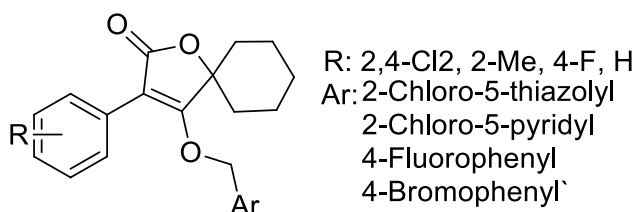


[Εικόνα 5](#): Δομή τετρονασίνης

1.2.3. Εντομοκτόνα δράση

Μια ομάδα προϊόντων τετρονικού οξέος με εντυπωσιακά δομικά μοτίβα τόσο από συνθετική όσο και από βιοσυνθετική άποψη είναι τα παράγωγα σπειροτετρονικού οξέος με λειτουργικό αιθέρα ([Εικόνα 6](#)). Πρόσφατα, μια από τις επιτυχημένες τακτικές στο σχεδιασμό των αγροχημικών είναι η εισαγωγή του

σπειροειδούς κύκλου τετρονικού οξέος στο μόριο για καλύτερες βιολογικές δράσεις, σε εφαρμογές όπως ακαρεοκτόνα και εντομοκτόνα, τα οποία δρουν ως αναστολείς της βιοσύνθεσης λιπιδίων. Ωστόσο, τα νεονικοτινοειδή εντομοκτόνα είναι ταχείας δράσης και ισχυρά συστηματικά εντομοκτόνα. Ως μέρος του προγράμματος αγροχημείας στόχος ήταν η αναζήτηση νέων βιοδραστικών μορίων, παραγώγων σπειροκύκλων. Τα προκαταρκτικά αποτελέσματα της βιοδοκιμασίας έδειξαν ότι ορισμένες από τις ενώσεις εμφάνισαν ισχυρότερη εντομοκτόνο δράση σε σύγκριση με την εμπορική σπειροδικλοφαίνη. Αυτή είναι η πρώτη προσπάθεια για την σύνθεση παραγώγων τετρονικού οξέος με εντομοκτόνο δράση που φέρουν νεονικοτινοειδές φαρμακοφόρο. Περαιτέρω προφίλ δομικής βελτιστοποίησης και δραστηριότητας σχετικά με τα σχεδιασμένα παράγωγα τετρονικού οξέος με αιθέρα βρίσκονται σε καλό δρόμο.^[10]



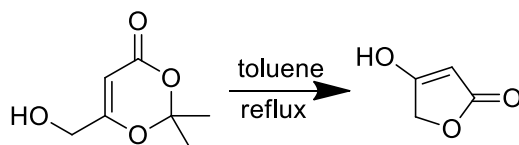
Εικόνα 6: Δομή σπειροτετρονικών οξέων με χαρακτηριστικές αιθέρες

1.3. Μέθοδοι σύνθεσης τετρονικού πυρήνα

Η σύνθεση του τετρονικού οξέος μπορεί να πραγματοποιηθεί με διαφορετικούς τρόπους:

1.3.1. Χρήση 1,3-διοξίνη-4-όνη

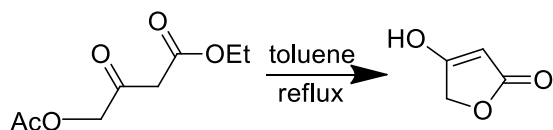
Μια απλή και φθηνή σύνθεση του τετρονικού οξέος σε απόδοση 78% μέσω αναρροής της 6-(υδροξυμεθυλ)-διοξίνης-4-όνης σε τολουόλιο παρουσιάζεται στην [Εικόνα 7](#):



Εικόνα 7: Σύνθεση τετρονικού οξέος χρησιμοποιώντας 1,3-διοξίνη-4-όνη

1.3.2. Χρήση λακτονοποίησης γ-ακετοξυ-β-κετοεστέρων

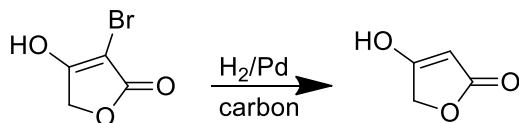
Οι Gelin και Pallet (1980) ανέφεραν ότι το επιθυμητό τετρονικό οξύ θα μπορούσε να ληφθεί με λακτονισμό του γ-ακετοξυ-β-κετοεστέρα σε τολουόλιο υπό αναρροή.



Εικόνα 8: Σύνθεση τετρονικού οξέος χρησιμοποιώντας γ-ακετοξυ-β-κετοεστέρα

1.3.3. Αποβρωμίωση της α-βρωμοτετρονικής

Μία άλλη μέθοδος σύνθεσης του τετρονικού οξέος είναι μέσω καταλυτικής αποβρωμίωσης του α-βρωμοτετρονικού με παλλάδιο σε άνθρακα, υπό περίπου 40 λίβρες πίεσης υδρογόνου, η οποία έχει ως αποτέλεσμα 90% απόδοση του προϊόντος.^[3]



Εικόνα 9: Σύνθεση τετρονικού οξέος χρησιμοποιώντας α-βρωμοτετρονικό

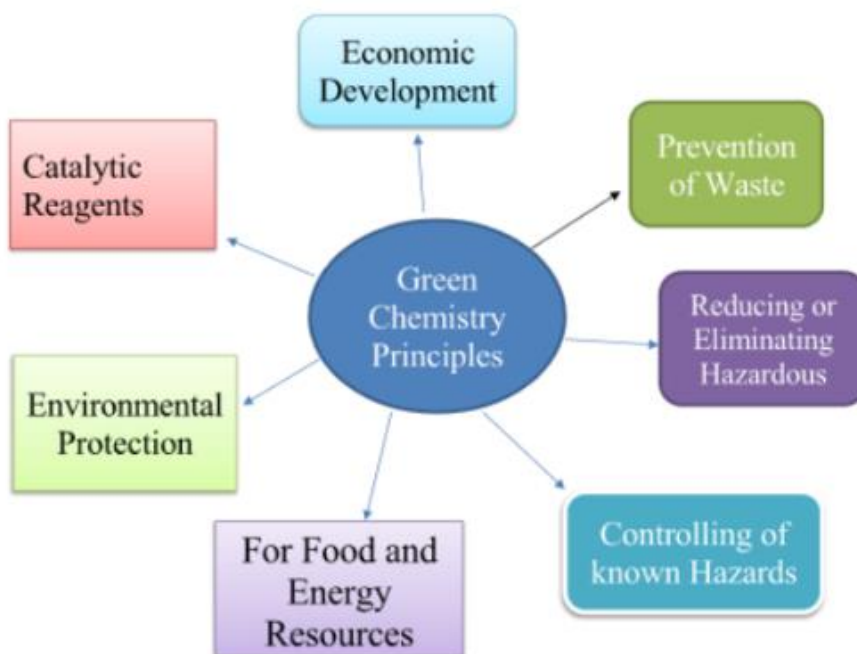
2. Πράσινη Χημεία

2.1. Έννοια και οι Αρχές της πράσινης χημείας

Πράσινη Χημεία ορίζεται ως ο σχεδιασμός χημικών προϊόντων και διεργασιών που έχει ως στόχο την μείωση ή εξάλειψη της χρήσης και της παραγωγής επικίνδυνων ουσιών ακόμη και την πρόληψη της ρύπανσης σε μοριακό επίπεδο. Με γνώμονα την Πράσινη Χημεία, κατά τη φάση σχεδιασμού οποιασδήποτε χημικής σύνθεσης, διαδικασίας ή προϊόντος θεωρείται ως κριτήριο απόδοσης η ελαχιστοποίηση του κινδύνου τόσο για τον άνθρωπο όσο και για το περιβάλλον.^[11,12]

Η Πράσινη Χημεία στηρίζεται σε δώδεκα αρχές, οι οποίες λειτουργούν ως κατευθυντήριες γραμμές που παρέχουν το πλαίσιο για βιώσιμο σχεδιασμό και αποτελούν μια γενική οδηγία για το σχεδιασμό ασφαλέστερων χημικών ουσιών και χημικών μετασχηματισμών. Η έννοια της πράσινης χημείας έχει σημαντική

επίδραση τόσο στο ερευνητικό εργαστήριο όσο στη βιομηχανία, στην εκπαίδευση, στο περιβάλλον και στο ευρύ κοινό.^[13]



Εικόνα 10: Μερικές αρχές της πράσινης χημείας

1^η Αρχή: Είναι προτιμότερο να προλαμβάνεται η παραγωγή αποβλήτων αντί να γίνεται προσπάθεια διαχείρισης ή καθαρισμού τους μετά την παραγωγή τους.

Η πρόληψη της παραγωγής αποβλήτων θεωρείται μία από τις πιο κύριες αρχές της πράσινης χημείας, καθώς το κόστος διαχείρισης χημικών αποβλήτων αποτελεί σοβαρή οικονομική, περιβαλλοντική και κοινωνική ευθύνη. Η παραγωγή οποιουδήποτε υλικού που δεν έχει πραγματική αξία ή η απώλεια αχρησιμοποίητης ενέργειας μπορεί να θεωρηθεί σπατάλη. Τα απόβλητα μπορούν να λάβουν πολλές μορφές και μπορεί να επηρεάσουν διαφορετικά το περιβάλλον με βάση την τοξικότητα τους, τη φύση τους, την ποσότητα τους ή τον τρόπο με τον οποίο απελευθερώνονται.^[13,14]

2^η Αρχή: Οικονομία ατόμου - οι συνθετικές μεθοδολογίες πρέπει να σχεδιάζονται με τρόπο ώστε να μεγιστοποιείται η ενσωμάτωση όλων των αντιδρώντων που χρησιμοποιούνται στη διεργασία στο τελικό προϊόν.

Παραδοσιακά η αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας και της αποδοτικότητας μιας σύνθεσης γίνεται με βάση την απόδοση. Η απόδοση, όμως, αγνοεί εξ ολοκλήρου τη δημιουργία οποιονδήποτε ανεπιθύμητων προϊόντων. Για

παράδειγμα, μπορεί μια συνθετική οδός να έχει απόδοση 100%, αλλά ταυτόχρονα να δημιουργεί απόβλητα πολύ μεγαλύτερα σε μάζα και όγκο από τη μάζα και τον όγκο του επιθυμητού προϊόντος. Γι' αυτόν ακριβώς τον λόγο, άρχισε να χρησιμοποιείται η έννοια της οικονομίας του ατόμου έτσι ώστε να λαμβάνονται υπόψη τα γραμμομόρια αποβλήτων που παράγονται κατά τη διάρκεια μίας διεργασίας. Επομένως, η οικονομία ατόμου απεικονίζει τα οφέλη από την ενσωμάτωση όλων των υλικών που χρησιμοποιούνται κατά την αντίδραση στο τελικό προϊόν. Στην ιδανική περίπτωση, θα σχεδιαζόταν μια παραγωγική διαδικασία έτσι ώστε όλα τα άτομα να περιλαμβάνονται στη δομή του προϊόντος. Ο στόχος είναι ένα προϊόν με υψηλή απόδοση και χαμηλή σπατάλη αντί για υψηλή απόδοση με ταυτόχρονη υψηλή παραγωγή αποβλήτων.^[15,16]

3^η Αρχή: Λιγότερο επικίνδυνες συνθετικές μεθοδολογίες, τα αντιδρώντα και τα προϊόντα να είναι λιγότερο τοξικά για τον άνθρωπο και το περιβάλλον.

Η ελαχιστοποίηση ή η εξάλειψη του κινδύνου σε όλους τους τομείς σχεδιασμού διεργασιών στο πεδίο της χημείας αποτελεί τη θεμελιώδη βάση της πράσινης χημείας. Επομένως, όταν σχεδιάζονται χημικές ουσίες και μέθοδοι σύνθεσης, είναι απαραίτητο να λαμβάνεται υπόψη η επικινδυνότητα αυτών. Για να μπορέσουν να σχεδιαστούν πιο ασφαλείς διεργασίες, σύμφωνα με την Πράσινη Χημεία, θα πρέπει πρωτίστως να περιοριστεί, είτε η έκθεση σε μη-φιλικές ουσίες (π.χ. με προστατευτικές στολές, μάσκες) είτε η επικινδυνότητά τους (τοξικότητα, ευφλεκτότητα). Η χρήση λιγότερο ή και καθόλου τοξικών ουσιών είναι απαραίτητη, καθώς οι μηχανισμοί παρακολούθησης της έκθεσης σε αυτές, εκτός από το γεγονός ότι έχουν αυξημένο κόστος, ενδέχεται και να αποτύχουν, αυξάνοντας τον κίνδυνο.^[16]

4^η Αρχή: Σχεδιασμός ασφαλέστερων χημικών προϊόντων, διατηρώντας όμως τις επιθυμητές ιδιότητες τους.

Στόχος του σχεδιασμού ασφαλέστερων χημικών ουσιών είναι η μεγιστοποίηση της επιθυμητής απόδοσης και της λειτουργικότητας του χημικού προϊόντος, με ταυτόχρονη εξασφάλιση της μέγιστης δυνατής μείωσης της τοξικότητας και της επικινδυνότητας. Οι συγκεκριμένοι στόχοι είναι εφικτοί, είτε μέσω κάποιας δομικής τροποποίησης του μορίου της χημικής ένωσης, είτε μέσω ελαχιστοποίησης της βιοδιαθεσιμότητας, άρα και της τοξικότητάς της για τον ανθρώπινο οργανισμό.^[16]

5^η Αρχή: Η χρήση διαλυτών και αντιδραστηρίων θα πρέπει να περιορίζεται όπου αυτό είναι εφικτό και, αν γίνεται χρήση, θα πρέπει να είναι ακίνδυνα και μη τοξικά.

Ουσίες όπως οι διαλύτες και οι παράγοντες διαχωρισμού θα πρέπει να αποφεύγονται όπου είναι δυνατόν και να είναι αβλαβείς όταν χρησιμοποιούνται. Οι περισσότεροι οργανικοί διαλύτες είναι τοξικοί, εύφλεκτοι και διαβρωτικοί, ενώ η διαλυτότητά και η πτητικότητα τους έχουν συμβάλει στη ρύπανση του αέρα, των υδάτων της γης και έχουν αυξήσει τον κίνδυνο έκθεσης των εργαζομένων, οδηγώντας σε σοβαρά ατυχήματα. Σύμφωνα με τις αρχές της πράσινης χημείας, θα πρέπει να επιλέγονται διαλύτες οι οποίοι να είναι χημικά και φυσικά σταθεροί, χαμηλής πτητικότητας, εύκολοι στη χρήση και εύκολοι στην ανακύκλωση.^[14] Ένας τέτοιος διαλύτης, ο οποίος μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εναλλακτική λύση για την αντικατάσταση των οργανικών διαλυτών, είναι το νερό, καθώς είναι το πιο άφθονο μόριο στον πλανήτη. Ένα μειονέκτημα της χρήσης του νερού είναι η αντιμετώπιση προβλημάτων σχετικά με τον κίνδυνο μόλυνσης του, μπορεί να είναι πολύ ενεργοβόρο για τον καθαρισμό του. Επιπλέον, η χρήση υπερκρίσιμων υγρών (Super Critical Fluids - SCF) είναι μια άλλη εναλλακτική λύση στην αντικατάσταση των οργανικών διαλυτών, είναι ουσίες που έχουν θερμοανθεί και συμπιεστεί ταυτόχρονα πάνω από τα κρίσιμα σημεία τους. Ακόμη, τα ιοντικά υγρά και οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες είναι παραδείγματα πράσινων διαλυτών, τα οποία χρησιμοποιούνται εκτενώς στην βιβλιογραφία τα τελευταία χρόνια.^[13]

6^η Αρχή: Οι ενεργειακές απαιτήσεις θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη και να ελαχιστοποιούνται. Οι συνθετικές μεθοδολογίες θα πρέπει να διεξάγονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και ατμοσφαιρική πίεση.

Η εξάντληση των πρώτων υλών πετρελαίου και η αύξηση της κατανάλωσης ενέργειας ώθησαν την ανάπτυξη ενεργειακά αποδοτικότερων διαδικασιών και την αναζήτηση ανανεώσιμων πηγών ενέργειας. Ο σχεδιασμός χημικών αντιδράσεων ή συστημάτων που δεν απαιτούν εντατική χρήση ενέργειας είναι ιδιαίτερα επιθυμητός. Επίσης, η μείωση του ενεργειακού φραγμού μιας χημικής αντίδρασης ή η επιλογή κατάλληλων αντιδραστηρίων έτσι ώστε ο μετασχηματισμός να μπορεί να προχωρήσει σε θερμοκρασία δωματίου είναι ένα παράδειγμα μείωσης των ενεργειακών απαιτήσεων. Επιπλέον, κάποιες εναλλακτικές πηγές ενέργειας, που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή βιοκαυσίμων είναι η αξιοποίηση της ηλιακής ενέργειας (θερμικής και φωτοβολταϊκής), των ανεμογεννητριών, της υδροηλεκτρικής ενέργειας, της γεωθερμικής ενέργειας και των κυψελών υδρογόνου καυσίμου.^[13,14]

7^η Αρχή: Οι πρώτες ύλες θα πρέπει να προέρχονται από ανανεώσιμες πηγές, όπου αυτό είναι τεχνικά και οικονομικά εφικτό.

Η επιστημονική, βιομηχανική και περιβαλλοντική κοινότητα έχει επικεντρωθεί σε μεγάλο βαθμό στην αξιοποίηση ανανεώσιμων φυσικών πόρων.

Συνήθως, οι εξαντλούμενοι φυσικοί πόροι ταυτίζονται με τα ορυκτά καύσιμα, πετρέλαιο ή φυσικό αέριο, η εξάντληση των οποίων επηρεάζει, τόσο την καταναλωτική ζωή, όσο και την οικονομία. Επομένως, η μετάβαση προς τη χρήση ανανεώσιμων πρώτων υλών είναι σημαντική. Συνήθως, οι ανανεώσιμες πρώτες ύλες συνδέονται με αρχικά υλικά βιολογικής και φυτικής προέλευσης. Η κύρια ανανεώσιμη πρώτη ύλη στον πλανήτη είναι η βιομάζα, η οποία προέρχεται από ζωντανούς οργανισμούς, καλλιέργειες, γεωργικά υπολείμματα και τρόφιμα. Επίσης, άλλα παραδείγματα ανανεώσιμων υλικών είναι η κυτταρίνη, η λιγνίνη, η σουμπερίνη, τα πολυυδροξυαλκανοϊκά οξέα, το γαλακτικό οξύ, η χιτίνη, το άμυλο και η γλυκερίνη. Ακόμη, η επαναχρησιμοποίηση απορριμμάτων των βιομηχανιών μπορεί να παρέχει μεγάλη ποσότητα πρώτων υλών για να αντικαταστήσει τις τρέχουσες πρώτες ύλες πετρελαίου.^[13,16]

8^η Αρχή: Η άσκοπη παραγωγοποίηση πρέπει κατά το δυνατόν να αποφεύγεται

Καθώς η επιστήμη της χημικής σύνθεσης, και κυρίως της οργανικής σύνθεσης, έγινε πιο περίπλοκη και τα προβλήματα που επιχειρεί να λύσει πιο προκλητικά, οι μέθοδοι που αναπτύχθηκαν απαιτούσαν επιπλέον χειρισμούς, όπως η εισαγωγή μιας μοριακής τροποποίησης ή η δημιουργία ενός χημικού παραγώγου, τα οποία είναι αναγκαία για την επίτευξη δεδομένου μετασχηματισμού. Μια ευρέως χρησιμοποιούμενη τεχνική αποτελεί η χρήση προστατευτικών ομάδων για τα ευαίσθητα τμήματα μιας αντίδρασης, τα οποία επηρεάζονται αρνητικά από τις συνθήκες της αντίδρασης, αν αφεθούν απροστάτευτα. Οι ομάδες αυτές, όμως, αποτελούν απόβλητα μετά την αποπροστασία. Ομοίως, κατά τη μορφοποίηση ενώσεων (π.χ. δημιουργία αλάτων) ή την ανάμιξή τους με άλλες, προκειμένου να τροποποιηθούν οι ιδιότητές τους (π.χ. ιξώδες, τάση ατμών, υδατοδιαλυτότητα) και να διευκολυνθεί η επεξεργασία τους, καταναλώνεται ύλη για να παραχθούν, ενώ όταν αναγεννάται η αρχική ουσία, παράγεται ένα απόβλητο.^[16]

9^η Αρχή: Κατάλυση. Η χρήση καταλυτών (όσο το δυνατόν πιο εκλεκτικών) είναι προτιμότερη από τη χρήση αντιδραστηρίων σε στοιχειομετρική αναλογία.

Τα καταλυτικά αντιδραστήρια είναι ανώτερα από τα στοιχειομετρικά αντιδραστήρια. Η κατάλυση μπορεί να βελτιώσει την απόδοση μιας αντίδρασης, μειώνοντας την απαιτούμενη ενέργεια εισόδου, αποφεύγοντας τη χρήση μεγάλων ποσοτήτων αντιδραστηρίων και παρουσιάζοντας μεγαλύτερη επιλεκτικότητα στην παραγωγή προϊόντος. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την κατανάλωση λιγότερης ενέργειας, λιγότερων πρώτων υλών και επομένως και την παραγωγή λιγότερων αποβλήτων. Συχνά, η κατάλυση προσφέρει νέες προοπτικές για καινοτόμες χημικές αντιδράσεις και παρέχει μη συμβατικές λύσεις σε διάφορες χημικές προκλήσεις. Επίσης, για την προστασία του περιβάλλοντος, η αρχή της κατάλυσης ενθαρρύνει

τη χρήση βιοαποδομήσιμων καταλυτών, οι οποίοι υποδεικνύουν λιγότερη χρήση ενέργειας, αποφεύγοντας τη χρήση οργανοχλωρικών ενώσεων. Επιπλέον, η βιοκατάλυση είναι ένα παράδειγμα πράσινης τεχνικής καθώς είναι μια βιομημητική προσέγγιση που βασίζεται σε φυσικά ή τροποποιημένα ένζυμα. Οι βιοκαταλύτες σε σύγκριση με τους μη βιολογικούς καταλύτες έχουν μεγάλο πλεονέκτημα δεδομένου του αυξημένου ρυθμού αντίδρασης, του μικρότερου κόστους και της καταλυτικής εκλεκτικότητας ωστόσο είναι θερμοευαίσθητοι και παρουσιάζουν χαμηλή σταθερότητα.^[13,14]

10^η Αρχή: Τα χημικά προϊόντα θα πρέπει να σχεδιάζονται με τρόπο ώστε, αφού χρησιμοποιηθούν, να είναι αποικοδομήσιμα, να μην παραμένουν στο περιβάλλον και να διασπώνται προς ακίνδυνα προϊόντα.

Οι αποκαλούμενες «ανθεκτικές χημικές ενώσεις» ή «ανθεκτικοί βιοσυσσωρευόμενοι ρύποι» είναι χημικές ουσίες που παραμένουν στο περιβάλλον όπου απορροφούνται από διάφορα φυτικά και ζωικά είδη και συσσωρεύονται στα συστήματά τους. Χαρακτηριστικά παραδείγματα τέτοιων ρύπων αποτελούν τα πλαστικά (υψηλή αντοχή, μεγάλη διάρκεια ζωής, συσσώρευση σε ωκεανούς και άλλα υδάτινα μέσα) και τα εντομοκτόνα (επιβλαβείς οργανοαλογονωμένες δομές, συσσώρευση στο λιπώδη ιστό και στα κύτταρα ζωικών και φυτικών ειδών). Επομένως, σημαντικός είναι ο σχεδιασμός μιας βιοαποικοδομήσιμης ουσίας, αξιολογώντας επιπλέον τις χημικές ενώσεις προς τις οποίες θα αποσυντεθεί το μητρικό προϊόν. Είναι δυνατόν να προστεθούν χαρακτηριστικές ιδιότητες και δραστικές ομάδες στη μοριακή δομή ενός χημικού προϊόντος, οι οποίες θα διευκολύνουν την αποικοδόμησή του. Επίσης, η ενσωμάτωση λειτουργικών ομάδων, όπως οι εστέρες και τα αμίδια που αναγνωρίζονται από τα πανταχού παρόντα ένζυμα μπορεί να βοηθήσει στο σχεδιασμό περιβαλλοντικά αποικοδομήσιμων προϊόντων. Αντίθετα, ορισμένες χημικές δομές όπως αλογονωμένα τμήματα, διακλαδισμένες αλυσίδες, τεταρτοταγείς άνθρακες, τριτοταγείς αμίνες και ορισμένοι ετεροκυκλικοί δακτύλιοι μπορεί να έχουν ενισχυμένη ανθεκτικότητα στην βιοαποικοδόμηση και έτσι αποφεύγονται.^[13,16]

11^η Αρχή: Ανάλυση ρύπων σε πραγματικό χρόνο. Προτείνεται η χρήση αναλυτικών τεχνικών οι οποίες θα επιτρέπουν τον έλεγχο των παραγόμενων ρύπων σε πραγματικό χρόνο, πριν το σχηματισμό επικίνδυνων ενώσεων.

Στόχος της πράσινης αναλυτικής χημείας είναι η ανάπτυξη μεθόδων και κατάλληλης τεχνολογίας για την πρόληψη και ελαχιστοποίηση της παραγωγής επικίνδυνων ουσιών κατά τις διάφορες χημικές διεργασίες. Προκειμένου να πραγματοποιηθούν αλλαγές στις διεργασίες, κατά την εκτέλεση τους, χρειάζονται ακριβείς και αξιόπιστοι αισθητήρες, συσκευές παρακολούθησης και αναλυτικές

τεχνικές, ώστε να είναι εφικτή η αξιολόγηση των κινδύνων που ενέχονται στην εξέλιξη της διεργασίας. Ακόμη, μέσα από την παρακολούθηση των χημικών αντιδράσεων, μπορεί να επιτευχθεί καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών τους, αποτρέποντας φαινόμενα, όπως η προσθήκη μεγαλύτερης ποσότητας αντιδραστηρίων από την απαιτούμενη, η υπερθέρμανση (ή υπερψύξη), καθώς και η διάσπαση των επιθυμητών προϊόντων.^[13,14,16]

12^η Αρχή: Πρόληψη ατυχημάτων.

Οι ουσίες που χρησιμοποιούνται σε μια χημική διεργασία θα πρέπει να επιλέγονται ώστε να ελαχιστοποιείται η πιθανότητα χημικών ατυχημάτων, συμπεριλαμβανομένων των εκλύσεων, εκρήξεων, και πυρκαγιών. Σύμφωνα με τις τροποποιήσεις του νόμου για την πρόληψη των χημικών ατυχημάτων και τον καθαρό αέρα του 1990, η αποφυγή ατυχημάτων ξεκινά με τον εντοπισμό των κινδύνων. Όλα τα είδη κινδύνων είτε πρόκειται για τοξικότητα, εκρηκτικότητα ή αναφλεξιμότητα των χημικών που χρησιμοποιούνται και αποθηκεύονται, είτε για φυσικούς κινδύνους, θα πρέπει να αντιμετωπίζονται στο σχεδιασμό χημικών ουσιών.^[14,16]

2.2. Εργαλεία της πράσινης χημείας

2.2.1. Εναλλακτικές πρώτες ύλες

Μια συνθετική οδός και ο χαρακτήρας μιας αντίδρασης καθορίζεται σε μεγάλο βαθμό από την αρχική επιλογή πρώτων υλών, γι' αυτό μόλις γίνει η επιλογή οι μετέπειτα αποφάσεις είναι επιβεβλημένες, ως αναγκαίες συνέπειες της συγκεκριμένης επιλογής. Η επιλογή της πρώτης ύλης επιδρά σημαντικά, στην αποτελεσματικότητα της συνθετικής οδού, στο περιβάλλον, ακόμη και στην υγεία των εργαζομένων που χρησιμοποιούν την συγκεκριμένη ουσία, εκείνων που θα απασχοληθούν στη βιομηχανική παραγωγή της, και των ανθρώπων που θα την μεταφέρουν. Κατά συνέπεια, η επιλογή της πρώτης ύλης έχει ιδιαίτερη σημασία στη διαδικασία λήψης αποφάσεων στο πλαίσιο της πράσινης χημείας. Η κύρια πρώτη ύλη των χημικών προϊόντων προέρχεται από μη ανανεώσιμο πετρέλαιο που εξαντλείται ταχέως τόσο για χημικές όσο και για ενεργειακές ανάγκες. Επίσης, κατά την μετατροπή του πετρελαίου σε χρήσιμες οργανικές ουσίες, αυτό υποβάλλεται σε οξείδωση, ένα στάδιο το οποίο είναι από τα πιο ρυπογόνα για το περιβάλλον. Με βάση όλα τα παραπάνω, είναι σημαντικό να μειωθεί η χρήση προϊόντων που βασίζονται στο πετρέλαιο μέσω της χρήσης εναλλακτικών πρώτων υλών.

Οι γεωργικές και βιολογικές πρώτες ύλες μπορούν να είναι άριστες εναλλακτικές προτάσεις. Προϊόντα όπως το καλαμπόκι, η σόγια, οι πατάτες και η μελάσα μπορούν με την εφαρμογή ποικίλων διεργασιών να μετατραπούν σε νήματα, νάιλον και άλλα προϊόντα. Επίσης, η φύση παρέχει μια τεράστια ποσότητα βιομάζας στις ανανεώσιμες μορφές υδατανθράκων, αμινοξέων και τριγλυκεριδίων για τη λήψη οργανικών προϊόντων, αλλά ένα σημαντικό εμπόδιο στη χρήση ανανεώσιμης βιομάζας ως πρώτη ύλη είναι η ανάγκη για μια καινοτόμο χημεία, η οποία θα μετατρέψει επιλεκτικά και αποτελεσματικά τις μεγάλες ποσότητες βιομάζας στη φυσική τους κατάσταση, χωρίς εκτεταμένη λειτουργικότητα, απολειτουργία ή προστασία.^[16,18]

2.2.2. Εναλλακτικά αντιδραστήρια

Η ιδεολογία της Πράσινης Χημείας απαιτεί την ανάπτυξη νέων χημικών αντιδραστηρίων και συνθηκών αντίδρασης που μπορούν δυνητικά να προσφέρουν οφέλη για τις χημικές συνθέσεις όσον αφορά την αποδοτικότητα των πόρων και της ενέργειας, την εκλεκτικότητα των προϊόντων, τη λειτουργική απλότητα και την ασφάλεια του χειριστή και του περιβάλλοντος.^[18]

2.2.3. Εναλλακτικοί διαλύτες

Οι διαλύτες είναι βοηθητικά υλικά που χρησιμοποιούνται στη χημική σύνθεση, δεν αποτελούν αναπόσπαστο μέρος των ενώσεων που υφίστανται αντίδραση, ωστόσο παίζουν σημαντικό ρόλο στη χημική παραγωγή και σύνθεση. Σε μια κλασική χημική διεργασία, οι διαλύτες χρησιμοποιούνται εκτενώς για τη διάλυση αντιδραστηρίων, την εκχύλιση και το καθαρισμό προϊόντων, τον διαχωρισμό μειγμάτων και τον καθαρισμό των συσκευών αντίδρασης. Στις περισσότερες χημικές διεργασίες που περιλαμβάνουν χημικές αντιδράσεις και εκχυλίσεις, οι ποσότητες των διαλυτών είναι πολύ μεγαλύτερες από αυτές των πρώτων υλών, των αντιδραστηρίων και των προϊόντων.^[16,18]

Οι συνηθέστερα χρησιμοποιούμενοι διαλύτες είναι πτητικές οργανικές ενώσεις (Volatile Organic Compounds - VOCs), που θεωρούνται χημικές ουσίες εξαιρετικά τοξικές παρά τις άριστες διαλυτικές ιδιότητες τους. Άλλη κατηγορία διαλυτών που η χρήση τους δημιουργεί σημαντικά περιβαλλοντικά προβλήματα είναι οι οργανο-αλογονωμένες ενώσεις, όπως οι χλωρο-φθοράνθρακες, οι υδροχλωρο-φθοράνθρακες και το υπερχλωρο-αιθυλένιο. Οι χλωρο-φθοράνθρακες και οι υδροχλωρο-φθοράνθρακες είναι γνωστοί για την αρνητική επίδραση στη

στιβάδα του όζοντος, προκαλούν την καταστροφή του, ενώ το υπερχλωροαιθυλένιο αποτελεί παράγοντα ρύπανσης των υπόγειων υδάτων και, επιπλέον, μπορεί να προκαλέσει βλάβες στο συκώτι και στα νεφρά.^[19]

Ένας επιθυμητός πράσινος διαλύτης θα πρέπει να είναι φυσικός, μη τοξικός, φθηνός και άμεσα διαθέσιμος. Ολοένα και περισσότερο, σε διάφορες συνθέσεις, χρησιμοποιούνται εναλλακτικοί διαλύτες όπως τα υδατικά συστήματα, τα ιοντικά υγρά, οι βαθώς ευτηκτικοί διαλύτες, οι ακινητοποιημένοι διαλύτες και τα υπερκρίσιμα ρευστά. Τα υδατικά συστήματα, το νερό, είναι μη τοξικό, μη εύφλεκτο και φυσικά διαθέσιμο, όμως παρουσιάζει προβλήματα, όσον αφορά τη χαμηλή διαλυτότητα μη πολικών συστατικών σε αυτό. Επίσης, τα υπερκρίσιμα ρευστά, με χαρακτηριστικότερο παράδειγμα το υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα CO₂, που λόγω του πολύ χαμηλού ιξώδους του, εμφανίζει εξαιρετική ικανότητα διάχυσης στις εκχυλίσσεις, είναι μη τοξικό, μη εκρηκτικό και χαμηλού κόστους. Τα ιοντικά υγρά παρουσιάζουν πολύ χαμηλή τάση ατμών, υψηλή σταθερότητα και ικανότητα ανάμιξης ποικίλων ανιόντων και κατιόντων, ώστε να αποκτήσουν τις επιθυμητές ιδιότητες όμως δεν θεωρούνται εγγενώς πιο «πράσινα» από τους συμβατικούς διαλύτες, καθώς είναι συνήθως πιο απαιτητικά σε πόρους. Ακόμη, οι βαθώς ευτηκτικοί διαλύτες εμφανίζουν υψηλές ικανότητες διάλυσης βιοδραστικών μορίων, ενώ μπορούν να λειτουργήσουν και ως μέσα σταθεροποίησης ευπαθών ενώσεων.^[16,17,18,19]

2.2.4. Εναλλακτικό προϊόν/μόριο στόχος

Συχνά μια σύνθεση σχεδιάζεται έτσι ώστε να παραχθεί ένα συγκεκριμένο μόριο-στόχος. Δεν είναι καθόλου σπάνια η περίπτωση κατά την οποία ουσιαστικά επιδιώκεται η σύνθεση οποιασδήποτε χημικής ουσίας μπορεί να διευκολύνει δεδομένη λειτουργία ή έχει δεδομένη απόδοση βάσει κάποιον κριτηρίων. Κατά τον σχεδιασμό ασφαλέστερων χημικών ουσιών, προσδιορίζεται το ανεπιθύμητο, τοξικό τμήμα ενός μορίου και περιορίζεται ή εξαλείφεται η τοξικότητα του, ενώ ταυτόχρονα η λειτουργικότητα του παραμένει άθικτη.^[16]

2.2.5. Εναλλακτικοί καταλύτες

Μια από τις σημαντικότερες επιστημονικές προόδους στον τομέα της χημείας, κυρίως της βιομηχανικής χημείας, ήταν αυτή που σημειώθηκε στο πεδίο της κατάλυσης όπου προήγαγε το επίπεδο της αποδοτικότητας. Οι καταλυτικές αντιδράσεις έχουν εξαλείψει την ανάγκη για υπερβολικές ποσότητες

αντιδραστηρίων, που υπό άλλες συνθήκες θα ήταν απαραίτητες για τη διεκπεραίωση των μετασχηματισμών, και που τελικά θα αύξαναν τον όγκο των αποβλήτων. Όλο και περισσότερο αναγνωρίζεται η χρησιμότητα διάφορων καταλυτών της φύσης όπως ένζυμα, ολόκληρα κύτταρα και καταλυτικά αντισώματα για την οργανική σύνθεση. Συχνά, η βιοκατάλυση οδηγεί σε εξαιρετικά υψηλούς ρυθμούς αντίδρασης και υψηλή εκλεκτικότητα, που υπερβαίνουν την εμβέλεια των χημικών καταλυτών. Ωστόσο, η υψηλή εξειδίκευση υποστρώματος των ενζύμων παρουσιάζει ένα δίλημμα για τη συνθετική χημεία στην οποία είναι επιθυμητή η ευρεία εφαρμογή του υποστρώματος. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί πως ορισμένοι τύποι καταλυτών, αυτοί που βασίζονται στα βαρέα μέταλλα, είναι εξαιρετικά τοξικοί.^[16,18]

2.3. Δείκτες ποσοτικοποίησης πράσινου χαρακτήρα

Στην πράσινη χημεία χρησιμοποιούνται ορισμένοι δείκτες για την αξιολόγηση του «πράσινου» χαρακτήρα μιας χημικής διεργασίας.^[19,20]

2.3.1. Οικονομία ατόμου

Η κυριότερη χρησιμοποιούμενη μετρήσιμη παράμετρος είναι η απόδοση μιας αντίδρασης όπου δεν λαμβάνει υπόψη το σχηματισμό παραπροϊόντων. Οπότε το 1991 ο B.M. Trost (Stanford University) εισήγαγε τον όρο «οικονομία ατόμων» (atom economy):

$$\text{Οικονομία ατόμων \%} = \frac{\text{MW του επιθυμητού προϊόντος}}{\text{\Sigma MW όλων των αντιδρώντων}} \quad (1)$$

Με αυτόν τον τρόπο λαμβάνεται υπόψη ο σχηματισμός παραπροϊόντων. Με βάση τον δείκτη της οικονομίας ατόμου αξιολογείται η πορεία των ατόμων κατά τη διάρκεια της αντίδρασης, ώστε να διαπιστωθεί αν υπάρχουν τμήματα της μάζας των αντιδρώντων, τα οποία καταλήγουν ως απόβλητα και δεν αποτελούν μέρος του τελικού προϊόντος, ακόμα και στην περίπτωση που η απόδοση της αντίδρασης είναι 100%. Αυτό συμβαίνει, επειδή κατά το σχηματισμό των αντιδρώντων σε προϊόν, ενδέχεται να παράγονται ένα ή και περισσότερα mol παραπροϊόντων, που δεν είναι χρήσιμα και καταλήγουν ως απόβλητα. Υπολογίζοντας αυτόν τον δείκτη από τα αρχικά στάδια του σχεδιασμού της χημικής αντίδρασης, χωρίς δηλαδή να απαιτούνται πειραματικά δεδομένα, αλλά στηριζόμενοι μόνο στη στοιχειομετρία της αντίδρασης, επιδιώκεται η μεγιστοποίηση της ενσωμάτωσης της μάζας των ατόμων των αντιδρώντων στο τελικό προϊόν.

2.3.2. Παράγοντας E

Μια μέθοδος ποσοτικοποίησης των χημικών αποβλήτων και της αποδοτικής χρήσης των πρώτων υλών σε μια χημική διεργασία, είναι ο περιβαλλοντικός παράγοντας (Environmental Factor, E-factor):

$$\text{Παράγοντας E} = \frac{\text{μάζα παραγόμενων αποβλήτων (kg)}}{\text{μάζα επιθυμητού προϊόντος (kg)}} * 100\% \quad (2)$$

Ο προσδιορισμός του παράγοντα E είναι χρήσιμος και σε εργαστηριακό και σε βιομηχανικό επίπεδο. Ο παράγοντας E διαφέρει από την οικονομία ατόμου με δύο σημαντικούς τρόπους. Πρώτον, ο παράγοντας E λαμβάνει υπόψη όλα τα βοηθητικά συστατικά, απόβλητα από διαλύτες, απόβλητα από χημικά που χρησιμοποιούνται στην επεξεργασία, τα οποία αγνοούνται από τον δείκτη της οικονομίας ατόμου. Δεύτερον, η οικονομία ατόμου εφαρμόζεται σε μεμονωμένα βήματα, αλλά ο παράγοντας E μπορεί εύκολα να εφαρμοστεί σε μια διαδικασία πολλαπλών βημάτων, διευκολύνοντας έτσι μια ολιστική αξιολόγηση μιας πλήρους διαδικασίας.

Έχει οριστεί ένα αποδεκτό εύρος για την τιμή του Παράγοντα E, για τέσσερεις βασικούς βιομηχανικούς κλάδους της χημικής βιομηχανίας: διυλιστήρια πετρελαιοειδών (0.1), βασικά χημικά προϊόντα (<1 έως 5), εξειδικευμένα χημικά προϊόντα (5 έως >50), φαρμακοβιομηχανία (25 έως >100).

2.3.3. Αποτελεσματική Απόδοση Μάζας (AAM)

Η Αποτελεσματική Απόδοση Μάζας (Effective Mass Yield) είναι ο πρώτος δείκτης που επικεντρώνεται στο γεγονός ότι δεν έχουν όλες οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται σε μια διεργασία την ίδια βαρύτητα στην επικινδυνότητα, στην πραγματικότητα μικρό μόνο μέρος της συνολικής μάζας δεν είναι τοξικό ή επικίνδυνο στις περισσότερες χημικές διεργασίες. Ο δείκτης αυτός λαμβάνει υπόψη τόσο τις πρώτες, αλλά και τις βοηθητικές ύλες που χαρακτηρίζονται ως επικίνδυνες (αντιδραστήρια, διαλύτες και καταλύτες) και χρησιμοποιούνται στην διεργασία. Ο ορισμός, όμως, των «επικίνδυνων» αντιδραστηρίων είναι δύσκολος, ειδικά όταν χρησιμοποιούνται περίπλοκα αντιδραστήρια για τα οποία υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα τοξικότητας στο περιβάλλον ή στον άνθρωπο.

$$\text{AAM} = \frac{\text{μάζα επιθυμητού προϊόντος (kg)}}{\text{συνολική μάζα των επικίνδυνων αντιδραστηρίων (kg)}} \quad (3)$$

2.3.4. Αποδοτικότητα Μάζας Αντίδρασης (AMA)

Η Αποδοτικότητα Μάζας Αντίδρασης (Reaction Mass Efficiency) λαμβάνει υπόψη την οικονομία ατόμου, την απόδοση και τη στοιχειομετρία της χημικής αντίδρασης. Δεν συνυπολογίζονται αντιδραστήρια, διαλύτες, καταλύτες που συμμετέχουν στην αντίδραση.

$$\%AMA = \frac{\text{πραγματική μάζα προϊόντος (kg)}}{\text{συνολική πειραματική μάζα όλων των αντιδρώντων (kg)}} * 100 \quad (4)$$

Συνδυάζει ποσοτικοποίηση δεδομένων που αφορούν τόσο στη χημεία της αντίδρασης όσο και στη διεργασία που αναπτύσσεται. Εστιάζει στην προώθηση βιώσιμων πρακτικών, με κριτήριο όχι την παραγωγή αποβλήτων αλλά τη χρήση των υλικών.^[19,20]

2.4. Προκλήσεις για την πράσινη τεχνολογία

Ο σχεδιασμός χημικών προϊόντων και διαδικασιών που μειώνουν ή εξαλείφουν βλαβερές ουσίες είναι ο μεγαλύτερος στόχος της πράσινης χημείας, που αντανακλάται, όμως, σε κόστος, χρόνο και έλλειψη πληροφόρησης. Συγκεκριμένα η μετατροπή από ένα παλιό, παραδοσιακό προϊόν σε ένα νέο, πιο φιλικό προς το περιβάλλον συχνά δεν είναι εύκολο, ενώ είναι αρκετά δαπανηρό, προκειμένου να εκσυγχρονιστεί ο εξοπλισμός της νέας, πιο «πράσινης» διεργασίας. Επιπλέον, το κόστος εκπαίδευσης το κάνει ακόμη περισσότερο δαπανηρό σε σύγκριση με τις ήδη υπάρχουσες καθιερωμένες τεχνολογίες. Επίσης, η υιοθεσία και κυκλοφορία αυτών των νέων τεχνολογιών μπορεί να περιοριστεί από έναν αριθμό άλλων εμποδίων, κάποια μπορεί να είναι θεσμικά όπως η έλλειψη ενός κατάλληλου κανονιστικού πλαισίου, και άλλα μπορεί να είναι τεχνολογικά, ή πολιτικής, πολιτιστικής και νομικής φύσης. Επιπλέον, σε ορισμένες περιπτώσεις η απόδοση μειώνεται στις πράσινες τεχνολογίες σε σχέση με τη συμβατική διεξαγωγή των χημικών αντιδράσεων. Επομένως, οι παραπάνω παράγοντες πρέπει να ληφθούν υπόψη, πριν εφαρμοστούν οι Αρχές της Πράσινης Χημείας σε μια χημική σύνθεση/διεργασία.^[13,20,21]

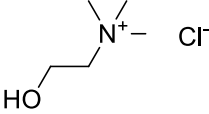
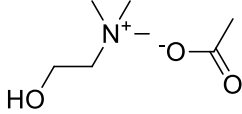
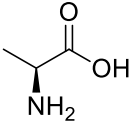
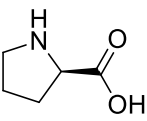
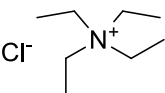
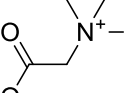
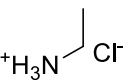
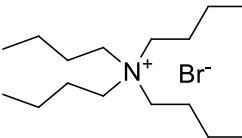
3. Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (DESs : Deep Eutectic Solvents)

3.1. Ορισμός

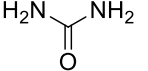
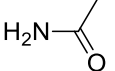

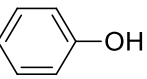
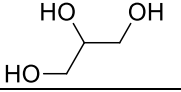
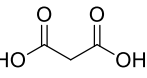
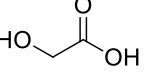
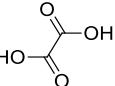
Ένας βαθέως ευτηκτικός διαλύτης (Deep Eutectic Solvent - DES) αποτελείται από δύο τουλάχιστον συστατικά, ενός δέκτη δεσμού υδρογόνου (Hydrogen Bond Acceptor - HBA) και ενός δότη δεσμού υδρογόνου (Hydrogen Bond Donor - HBD), τα οποία είναι ικανά να συνδέονται μεταξύ τους, μέσω αλληλεπιδράσεων δεσμών υδρογόνου, για να σχηματίσουν ένα ευτηκτικό μείγμα. Το προκύπτον DES χαρακτηρίζεται από σημείο τήξης χαμηλότερο από αυτό κάθε μεμονωμένου συστατικού. Γενικά, τα DES χαρακτηρίζονται από πολύ μεγάλη μείωση του σημείου πήξης και είναι υγρά σε θερμοκρασίες χαμηλότερες από 150°C, ενώ, τα περισσότερα από αυτά είναι υγρά μεταξύ θερμοκρασίας δωματίου και 70°C. [22,23,27]

Συνήθως, τα DES σχηματίζονται από οξέα και βάσεις, Lewis ή Brønsted, τα οποία μπορεί να περιέχουν μια ποικιλία ανιονικών και/ή κατιονικών ειδών. Ορισμένα από αυτά τα μείγματα δεν εμφανίζουν στην πραγματικότητα ένα καθορισμένο ευτηκτικό σημείο (σημείο τήξης), αλλά μάλλον ένα σημείο θερμοκρασίας μετάπτωσης υάλου, και ως εκ τούτου ονομάζονται επίσης μείγματα χαμηλής τήξης ή μείγματα χαμηλής θερμοκρασίας μετάπτωσης. Στις περισσότερες περιπτώσεις, ένα DES λαμβάνεται με ανάμειξη ενός άλατος τεταρτοταγούς αμμωνίου με μεταλλικά άλατα και ενός δότη δεσμού υδρογόνου (HBD) που έχει την ικανότητα να σχηματίζει σύμπλοκο με το ανιόν αλογονιδίου του άλατος τεταρτοταγούς αμμωνίου. Λόγω του χαμηλού κόστους, της βιοαποικοδομησιμότητας και της χαμηλής τοξικότητάς του, η χλωριούχος χολίνη (Choline chloride - ChCl) χρησιμοποιείται ευρέως ως οργανικό άλας για την παραγωγή ευτηκτικών μιγμάτων, συνήθως με φθηνά και ασφαλή HBDs όπως η ουρία, η γλυκερίνη, διάφορες πολυόλες προερχόμενες από υδατάνθρακες και καρβοξυλικά οξέα ανανεώσιμων πηγών. Σε σύγκριση με τους παραδοσιακούς οργανικούς διαλύτες, τα DES δεν θεωρούνται πτητικά οργανικά διαλύματα και δεν είναι εύφλεκτα, καθιστώντας την αποθήκευσή τους βολική. Από την άποψη της πράσινης χημείας, τα DES είναι ακόμη πιο ελκυστικά, καθώς ορισμένα από αυτά έχουν αποδειχθεί ότι είναι βιοδιασπώμενα και συμβατά με ένζυμα αυξάνοντας περαιτέρω το ενδιαφέρον τους.[22,27,29]

Πίνακας 1: Συστατικά που χρησιμοποιούνται ως HBA

| Όνομα | Δομή | Όνομα | Δομή |
|-----------------------------|---|------------------------------|---|
| Χλωριούχος χολίνη |  | Οξεϊκή χολίνη |  |
| Αλανίνη |  | Προλίνη |  |
| Χλωριούχο τετραμεθυλαμμώνιο |  | Βεταΐνη |  |
| Χλωριούχο αιθυλαμμώνιο |  | Βρωμιούχο τετραβουτυλαμμώνιο |  |

Πίνακας 2: Συστατικά που χρησιμοποιούνται ως HBD

| Όνομα | Δομή | Όνομα | Δομή |
|---------------|---|--------------|---|
| Ουρία |  | Ακεταμίδιο |  |
| Ιμιδαζόλη |  | Φαινόλη |  |
| Γλυκερόλη |  | Μηλονικό οξύ |  |
| Γλυκολικό οξύ |  | Οξαλικό οξύ |  |

3.2. Φυσικοί Βαθέως Ευτηκτικοί Διαλύτες (Natural Deep Eutectic Solvents- NaDESs)

Οι φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες (NaDESs) είναι μείγματα φυσικών ενώσεων, συγκεκριμένα οργανικών οξέων και βάσεων, αμινοξέων, σακχάρων, σακχαροαλκοολών και πολυαλκοολών που αλληλεπιδρούν μέσω δεσμών υδρογόνου και υγροποιούνται εάν συνδυαστούν σε συγκεκριμένες μοριακές αναλογίες. Η έννοια των NADESs παρουσιάστηκε για πρώτη φορά από τους Choi et al. το 2011, οι οποίοι υπέθεσαν την ύπαρξη ενός τρίτου υγρού μέσου σε ζωντανούς οργανισμούς εκτός από το νερό και τα λιπίδια.

Τα NADESs είναι στην πραγματικότητα πανταχού παρόντα στη φύση. Για παράδειγμα, το σιρόπι σφενδάμου είναι ένα υγρό που αποτελείται κυρίως από σακχαρόζη και μικρές ποσότητες άλλων σακχάρων και μηλικού οξέος, αν και όλα αυτά τα μεμονωμένα συστατικά είναι στερεά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Στην πραγματικότητα, οι ενώσεις που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για το σχηματισμό NADES είναι όλες άφθονα διαθέσιμες ως μεταβολίτες και κυτταρικά συστατικά σε όλους τους τύπους κυττάρων και οργανισμών και διαφορετικοί συνδυασμοί αυτών των ενώσεων μπορούν να δώσουν πάνω από 100 διαφορετικά NADESs. Η φυσική προέλευση των συστατικών (κυρίως φυτικοί πρωτογενείς μεταβολίτες, οι οποίοι λαμβάνονται καθημερινά από λαχανικά ή φρούτα) δίνει στα NADESs ένα μεγάλο πλεονέκτημα επειδή είναι σαφώς λιγότερο τοξικά και πιο περιβαλλοντικά φιλικά. Μετά τις πρώτες δημοσιεύσεις για τα NADESs, έχουν εφαρμοστεί ενεργά σε διάφορες χημικές διεργασίες, ειδικά στην εκχύλιση φυσικών συστατικών, ως μέσα για ενζυμικές ή χημικές αντιδράσεις, για τη διαλυτοποίηση μακρομορίων όπως πολυσακχαρίτες και λιγνίνες ή μη υδατοδιαλυτά φάρμακα για φαρμακευτικούς σκοπούς, για την ανάπτυξη καλλυντικών συστατικών και για αγροχημικές χρήσεις.^[29,30,31]

Τα NaDESs μπορούν να παρασκευαστούν από φυσικές ενώσεις οι οποίες στη στερεά κατάσταση γίνονται υγρές όταν αναμειγνύονται σε συγκεκριμένο συνδυασμό και σωστή μοριακή αναλογία. Τρεις μέθοδοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την προετοιμασία ενός NaDES:

1. Θερμική ανάμειξη: τα συστατικά αναμειγνύονται στους 80°C περίπου για 1–2 ώρες σε θερμή πλάκα με μαγνητική ανάδευση μέχρι να σχηματιστεί ένα άχρωμο διαυγές υγρό
2. Εξάτμιση υπό κενό: τα συστατικά διαλύονται σε νερό πριν εξατμιστούν στους 50°C με περιστροφικό εξατμιστήρα
3. Ξήρανση με κατάψυξη: τα συστατικά διαλύονται σε νερό και στη συνέχεια υποβάλλονται σε λυοφιλοποίηση.^[31,32]

Πίνακας 3: Μερικά φυσικά συστατικά για σχηματισμό NaDES

| Όνομα | Δομή | Όνομα | Δομή |
|-------------------|------|---------|------|
| Χλωριούχος χολίνη | | Ευλόζη | |
| Τρυγικό οξύ | | Γλυκόζη | |

3.3. Φυσικοχημικές ιδιότητες

Τα NADESs είναι χημικά προσαρμόσιμοι διαλύτες, δηλαδή, οι φυσικές/χημικές ιδιότητές τους μπορούν να ρυθμιστούν με ακρίβεια αλλάζοντας τον τρόπο σύνθεσής τους, όπως αλλαγή της επιλογής των συστατικών και της μοριακής αναλογίας. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν τις ιδιότητες των NADESs περιλαμβάνουν τη θερμοκρασία και την περιεκτικότητα τους σε νερό.^[31]

Επίσης, έχουν εξαιρετικές ιδιότητες ως διαλύτες, όπως αμελητέα πτητικότητα, υγρή κατάσταση ακόμη και πολύ κάτω από 0°C, ευρύ φάσμα πολικότητας, μεγάλη διαλυτική ικανότητα για ένα ευρύ φάσμα ενώσεων, ιδιαίτερα για κακώς υδατοδιαλυτές ενώσεις, υψηλή ικανότητα εκχύλισης και υψηλή ικανότητα σταθεροποίησης για ορισμένα φυσικά προϊόντα. Από περιβαλλοντική και οικονομική άποψη, τα NADESs προσφέρουν επίσης πολλά εντυπωσιακά πλεονεκτήματα, συμπεριλαμβανομένης της βιοδιαθεσιμότητας, βιωσιμότητας, του χαμηλού κόστους και της απλής προετοιμασίας τους.^[33]

Λόγω της μη τοξικότητας, της βιωσιμότητας και της φιλικότητας προς το περιβάλλον, τα NaDESs, σε σχέση με τα DES είναι ενδιαφέροντα για εφαρμογές σε τομείς που σχετίζονται με την υγεία, όπως στα φαρμακευτικά προϊόντα, με τα τρόφιμα και τα καλλυντικά. Διαφορετικοί NaDESs μελετήθηκαν, ως προς την αντιμικροβιακή τους δράση και την κυτταροτοξικότητά τους, έναντι ανθρώπινων φυσιολογικών και καρκινικών κυτταρικών σειρών, με τους διαλύτες που περιείχαν ένα οργανικό οξύ να εμφανίζουν καλή αντιμικροβιακή δράση, σε αντίθεση με τα επιμέρους συστατικά τους, που δεν ήταν δραστικά. Η πλειοψηφία των NaDESs διέθετε επίσης και χαμηλή κυτταροτοξικότητα, με εξαίρεση το συνδυασμό CHCl_3 – οξαλικό οξύ, όπου εμφάνισε μέτρια κυτταροτοξικότητα ως προς τα καρκινικά κύτταρα. ^[31,32,33]

Αναφορικά με τα σημεία πήξης των DESs, είναι γενικά χαμηλότερα από αυτά των μεμονωμένων συστατικών. Για παράδειγμα, το σημείο πήξης του DES χλωριούχου χολίνης – ουρίας (ChCl-U) 1:2 ισούται με 12°C, χαμηλότερο από αυτό της ουρίας και της χλωριούχο χολίνης (σημείο τήξης της ουρίας και του ChCl είναι 133°C και 302°C, αντίστοιχα). Η μοριακή αναλογία άλατος σε HBD επηρεάζει τα σημεία πήξης των DESs, αν και δεν έχει αναφερθεί σαφής συσχέτιση μεταξύ των σημείων τήξης μεμονωμένων συστατικών και των σημείων πήξης των αντίστοιχων DESs. Γενικά, τα DESs με σημείο πήξης χαμηλότερο από 50°C παρουσιάζουν μεγαλύτερο ενδιαφέρον καθώς μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως φθινοί και ασφαλείς διαλύτες σε πολλούς τομείς.^[23,27]

Η πυκνότητα είναι μια από τις πιο σημαντικές φυσικές ιδιότητες ενός διαλύτη. Γενικά, οι πυκνότητες των DESs προσδιορίζονται μέσω ειδικού βαρυμέτρου. Τα περισσότερα DESs παρουσιάζουν υψηλότερες πυκνότητες από το νερό, η οποία μπορεί να αποδοθεί στην διαφορετική μοριακή οργάνωση των συστατικών μέσα στα DESs. Οι πυκνότητες των NADESs είναι όλες υψηλότερες από αυτή του νερού και μειώνονται γραμμικά όσο αυξάνεται είτε η θερμοκρασία είτε η περιεκτικότητα σε νερό. Σε μία μελέτη που πραγματοποιήθηκε μεταξύ δύο ομάδων NADESs (NaDESs που αποτελούνται από ChCl και φρουκτόζη και NaDES που αποτελούνται από ChCl και γλυκόζη), η διακύμανση των πυκνοτήτων τους κατά την αλλαγή των μοριακών αναλογιών μεταξύ των δύο συστατικών δεν είναι η ίδια. Για τα NaDESs με βάση τη φρουκτόζη, παρατηρήθηκε αύξηση της πυκνότητας με αύξηση της μοριακή αναλογία ChCl /φρουκτόζης, ενώ για τα NaDESs με βάση τη γλυκόζη, δεν παρατηρήθηκε τέτοιος συσχετισμός.^[23,27,31]

Επιπλέον, το ιξώδες είναι μια από τις πιο σημαντικές ιδιότητες οποιουδήποτε διαλύτη, με τα DESs χαμηλού ιξώδους να προτιμώνται για βιομηχανικές εφαρμογές ως πιο πράσινοι και ασφαλέστεροι διαλύτες. Ωστόσο, το ιξώδες των περισσότερων DESs σε συνθήκες περιβάλλοντος είναι πολύ μεγάλο, καθώς σχετίζεται με τις δυνάμεις van der Waals, τους δεσμούς υδρογόνου και τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις, καθώς και με τη φύση των μεμονωμένων συστατικών και τη μοριακή τους αναλογία, την περιεκτικότητα σε νερό και τη θερμοκρασία. Το νερό έχει σημαντική συμβολή στη μείωση του ιξώδους των DESs και συνεπώς στην αύξηση της διαλυτοποιητικής τους ισχύος. Επίσης, η χρήση μικρών κατιόντων ή δοτών φθοριούχων δεσμών υδρογόνου μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό DES με χαμηλό ιξώδες. Ακόμα, έχει βρεθεί ότι το ιξώδες των DESs που βασίζονται σε ChCl εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τον τύπο του HBD που χρησιμοποιείται. Για παράδειγμα, η ChCl -σορβιτόλη (1:1) παρουσιάζει υψηλό ιξώδες (12730 cP στους 20°C), ενώ η ChCl -αιθυλενογλυκόλη (1:4) έχει πολύ χαμηλό ιξώδες (19 cP στους 20°C). Το ιξώδες ορισμένων DESs μειώνεται με την αύξηση της μοριακής αναλογίας άλατος και HBD.^[23,27,31,32]

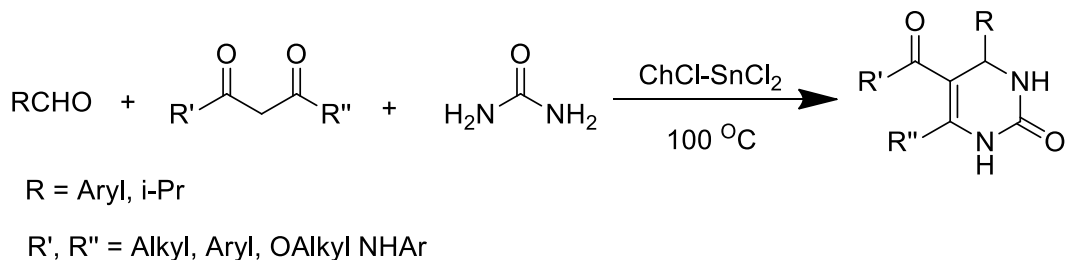
Λόγω του σχετικά υψηλού ιξώδους τους, τα περισσότερα DESs εμφανίζουν κακή ιοντική αγωγιμότητα (χαμηλότερη από 2 mS cm^{-1} σε θερμοκρασία δωματίου). Οι αγωγιμότητες των DESs γενικά αυξάνονται σημαντικά καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία λόγω της μείωσης του ιξώδους του DES, και ως εκ τούτου, η εξίσωση τύπου Arrhenius μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για την πρόβλεψη της συμπεριφοράς της αγωγιμότητας ενός DES. Λαμβάνοντας υπόψη ότι οι αλλαγές της μοριακής αναλογίας οργανικού άλατος και HBD επηρεάζουν σημαντικά τα ιξώδη του DES, είναι σαφές ότι αυτή η παράμετρος επηρεάζει επίσης δραματικά την αγωγιμότητα των DESs. Για παράδειγμα, η αγωγιμότητα του DES αυξάνεται με την

αύξηση της περιεκτικότητας σε χλωριούχο χολίνη. Η αγωγιμότητα ενός NADES μπορεί να προσαρμοστεί αλλάζοντας τη θερμοκρασία ή την περιεκτικότητα σε νερό, με γραμμική αύξηση της αγωγιμότητας κατά την αύξηση της θερμοκρασίας, ενώ, όσον αφορά την επιρροή της περιεκτικότητας των NaDESs σε νερό, παρατηρήθηκε μια σχέση σε σχήμα καμπάνας μεταξύ της αγωγιμότητας και της περιεκτικότητας σε νερό.^[27,31,32]

3.4. Εφαρμογές

Οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν όχι μόνο ως μέσο αντίδρασης αλλά και ως καταλυτικό ενεργό είδος για ορισμένες αντιδράσεις, και σε ορισμένες περιπτώσεις μπορούν επίσης να αντιπροσωπεύουν μέρος των πρώτων υλών. Ορισμένα από τα συστατικά ενός DES είτε έχουν έναν εγγενή χαρακτήρα αντιδραστήριου είτε διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο ως καταλύτες οξέος/βάσης.^[22]

Οι αντιδράσεις πολλαπλών συστατικών (Multicomponent reaction - MCR) έχουν γίνει ένα πολύ σημαντικό εργαλείο στην οργανική σύνθεση επειδή τρία ή περισσότερα αρχικά υλικά αντιδρούν για να σχηματίσουν το αντίστοιχο προϊόν, συνήθως με υψηλή οικονομία ατόμων. Οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες έχουν χρησιμοποιηθεί ως βιώσιμα μέσα, αλλά και ως καταλύτες, σε διάφορες αντιδράσεις πολλαπλών συστατικών, με το πιο επιτυχημένο συστατικό να είναι η χλωριούχος χολίνη (ChCl). Συγκεκριμένα, οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες με βάση τη χλωριούχο χολίνη και τα χλωρίδια μετάλλων έχουν χρησιμοποιηθεί στη σύνθεση παραγώγων διυδροπυριμιδινόνης μέσω της αντίδρασης Biginelli, καθώς και στην παρασκευή λειτουργοποιημένων αμινών, όπως οι β-αμινοκετόνες και οι α-αμινοφωσφονικές ενώσεις, μέσω αντιδράσεων πολλαπλών συστατικών. Έτσι, η αντίδραση Biginelli σε μίγμα χλωριούχου χολίνης/χλωριούχου κασσίτερου (II) (μοριακή αναλογία 1:2) ως καταλύτης και μέσο αντίδρασης έχει χρησιμοποιηθεί στη σύνθεση παραγώγων 3,4-διυδροπυριμιδιν-2(1H)-όνης ([Εικόνα 11](#)). Ένα ευρύ φάσμα ενώσεων 1,3-δικαρβονυλίου, μαζί με αρωματικές ή αλειφατικές αλδεΐδες, αντέδρασαν με ουρία στους 110 °C για να δώσουν, μετά από πολύ σύντομους χρόνους αντίδρασης, τις αντίστοιχες ετεροκυκλικές ενώσεις σε καλές έως εξαιρετικές αποδόσεις. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι τα συντιθέμενα προϊόντα απομονώθηκαν καθαρά με μια απλή εκχύλιση από το μέσο αντίδρασης και το DES μπορεί να ανακυκλωθεί και να επαναχρησιμοποιηθεί για τέσσερις κύκλους χωρίς καμία απώλεια δραστηριότητας.^[22,23]



Εικόνα 11: Αντίδραση Biginelli

Επίσης, σημαντικός είναι ο ρόλος των DESs ως λειτουργικά πρόσθετα για την παρασκευή πλαστικών με βάση το άμυλο. Αν και το άμορφο θερμοπλαστικό άμυλο (Thermoplastic starch - TPS) μπορεί να παραχθεί σε έναν εξωθητήρα από φυσικούς ημι-κρυσταλλικούς κόκκους αμύλου παρουσία νερού, οι μηχανικές του ιδιότητες είναι περιορισμένες, καθώς είναι πολύ ευαίσθητο στη σχετική υγρασία λόγω της εμφάνισης πλαστικοποίησης και απορρόφησης νερού. Παρά την αφθονία διαφορετικών πλαστικοποιητών που χρησιμοποιούνται τις τελευταίες τρεις δεκαετίες για να ξεπεραστούν αυτά τα μειονεκτήματα, η ασυμβατότητα του αμύλου με τις υδρόφοβες φάσεις παραμένει ένα σημαντικό πρόβλημα. Έτσι χρησιμοποιήθηκαν δύο DESs με βάση τη χλωριούχο χολίνη ως λειτουργικά πρόσθετα για το άμορφο θερμοπλαστικό άμυλο, τα οποία δρούσαν ως αποτελεσματικοί πλαστικοποιητές και επιπλέον, ήταν συμβατά στα μείγματα που περιείχαν μια υδρόφοβη φάση. Ακόμη, τα DESs που βασίζονται σε χλωριούχο χολίνη και γλυκερόλη έδειξαν ανώτερες ιδιότητες ως πρόσθετα για την ενίσχυση των υδρολυτικών αντιδράσεων λόγω της υψηλής βιοαποικοδομησιμότητάς τους, το χαμηλό ιξώδες και την υψηλή συμβατότητάς τους με τις λιπάσεις.^[22,31,32]

Επιπρόσθετα, τα DES είναι μια κατάλληλη βάση για την ανάπτυξη παραγόντων διαχωρισμού στο πλαίσιο της πράσινης χημείας. Οι αντίστοιχες διεργασίες διαχωρισμού περιλαμβάνουν κυρίως επεξεργασία βιοκαυσίμων, διαχωρισμούς στερεού-υγρού, αποδόμηση βιομάζας, ισορροπίες ατμού-υγρού, δέσμευση CO₂, και άλλες διεργασίες που περιλαμβάνουν δύο υγρές φάσεις.

Η αξιοποίησή τους στην εκχύλιση δευτερογενών μεταβολιτών προερχόμενων από φυσικές πηγές αποτελεί μια από τις σημαντικότερες εφαρμογές των NaDESs, καθώς οι ισχυροί δεσμοί υδρογόνου, που αναπτύσσονται μεταξύ των συστατικών του διαλύτη και των προς εκχύλιση βιοδραστικών ουσιών, οδηγούν σε αυξημένη απόδοση της διεργασίας, σε σύγκριση με τους συμβατικούς οργανικούς διαλύτες. Η ικανότητα των NaDESs να διαλύουν δυσδιάλυτα συστατικά των

κυττάρων, τους καθιστά εξαιρετικούς υποψήφιους διαλύτες νέας γενιάς για την εκχύλιση βιοδραστικών μορίων.^[22,24,31,32,104,105]

Οι φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες έχουν βρει, επίσης, εφαρμογή και στον τομέα της φαρμακευτικής, τόσο ως μέσο εκχύλισης φαρμακευτικών ουσιών από φυτά όσο και για την βιοδιαθεσιμότητα του προϊόντος στο πλάσμα. Τα NADESs αποτελούν μια καλή επιλογή λόγω της γνωστής χαμηλής τοξικότητάς τους, για την εισαγωγή τους σε φαρμακευτικά και διατροφικά παρασκευάσματα. Για παράδειγμα, η ρουτίνη βρίσκεται σε πολλά διαφορετικά φυτά, όπως το κεχρί, ο εσπεριδοειδής ή η σοφίτα και έχει δείξει δυνητικά οφέλη για την υγεία, όπως αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Από την άλλη, ένα μεγάλο μειονέκτημα που έχει η ρουτίνη είναι η πολύ κακή διαλυτότητά της στο νερό (0,12 mg/mL). Για την αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος, εξετάστηκαν διαφορετικά NaDESs, ως μέσα διάλυσης. Μεταξύ των NADESs που εξετάστηκαν, 3 από αυτά, η προλίνη/γλουταμινικό οξύ (2:1), η προλίνη/ChCl (1:2) και η προλίνη/ChCl (1:3), μπορούν να διαλύσουν περισσότερη ρουτίνη από την αιθανόλη (διαλυτότητα 2,4 mg /mL σε αιθανόλη), η οποία αποτελεί τον βασικό διαλύτη που χρησιμοποιείται για την εκχύλιση ρουτίνης. Η διάλυση της ρουτίνης σε NADES είχε πολύ μεγαλύτερο τελικό χρόνο ημιζωής στο πλάσμα, ενδεικτικό μιας πολύ καλύτερης βιοδιαθεσιμότητας. Επίσης, μια πρόσφατη δοκιμή έδειξε ότι η ρεσβερατρόλη, η οποία είναι διάσημη για τις αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις επιδράσεις της στην ανθρώπινη υγεία, μπορεί να ενισχύσει τον τρόπο δράσης της, όταν συνυπάρχει με το NADES 1,2-προπανοδιόλη/ChCl/H₂O (1:1:1). Το εάν είναι πραγματικά κατάλληλα τα NaDESs για χρήση in vivo, για χορήγηση φαρμάκων απαιτεί ακόμη πολύ πιο ουσιαστικές έρευνες σχετικά με τις φυσικοχημικές, φαρμακοκινητικές και θερμοδυναμικές τους ιδιότητες, καθώς και την τοξικότητά τους.^[24,27,29,30,31]

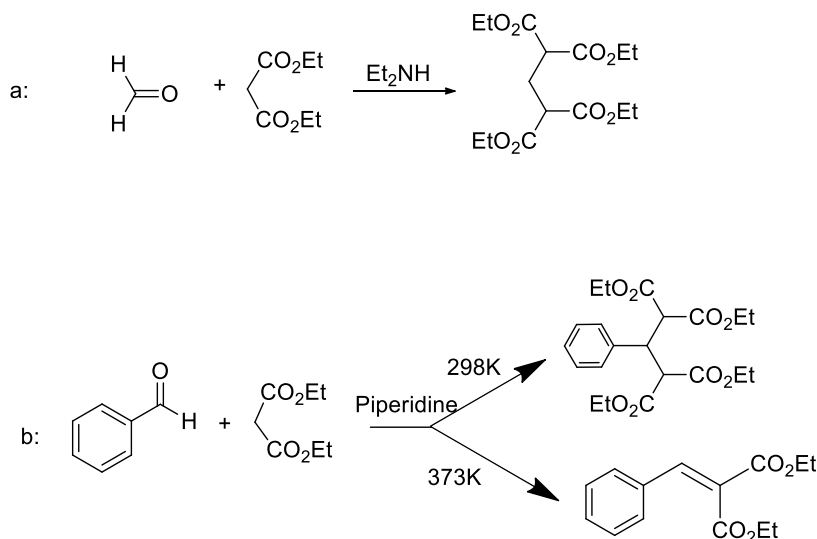
Οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες έχουν βρει, επίσης, εφαρμογή και στον τομέα της βιοκατάλυσης. Μεμονωμένα ένζυμα (λιπάσες, αφυδρογονάσες) και μικροοργανισμοί ολόκληρων κυττάρων είναι ενεργοί στα DESs, μετατρέποντας φθηνές και απλές πρώτες ύλες σε προϊόντα υψηλής προστιθέμενης αξίας φαρμακευτικού ενδιαφέροντος υπό πολύ ήπιες συνθήκες pH, θερμοκρασίας και πίεσης και με υψηλά περιβαλλοντικά και οικονομικά οφέλη. Έτσι, τα DESs μπορούν να λειτουργήσουν ως εναλλακτικά μέσα αντίδρασης σε βιοχημικές διεργασίες, μιμούμενοι μεταβολίτες και λιπίδια του κυτταρικού περιβάλλοντος και ταυτόχρονα διατηρώντας τη δομή της πρωτεΐνης.^[24,31]

4. Αντίδραση Knoevenagel

4.1. Ορισμός, αντιδραστήρια, συνθήκες

Η αντίδραση συμπύκνωσης Knoevenagel είναι γνωστή για τη σύνθεση α , β -ακόρεστων καρβονυλικών ενώσεων από ενεργές ενώσεις μεθυλενίου και καρβονυλίου. Αυτή η αντίδραση έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως για το σχηματισμό δεσμών άνθρακα-άνθρακα στην οργανική σύνθεση και συνήθως καταλύεται από μια βάση, ένα οξύ ή ένα ετερογενές ουδέτερο υπόστρωμα. Τα προϊόντα που προκύπτουν από τις συγκεκριμένες αντιδράσεις χρησιμοποιούνται ευρέως ως ενδιάμεσα για τη σύνθεση φαρμακευτικών προϊόντων, πολυμερών και καλλυντικών προϊόντων.^[34,35,36]

Ο Emil Knoevenagel θεωρείται γενικά ως πρωτοπόρος στον τομέα του σχηματισμού δεσμών άνθρακα-άνθρακα. Με την ανακάλυψή του το 1894, της αντίδρασης της φορμαλδεΐδης με μηλονικό διαιθυλεστέρα, παρουσία διαιθυλαμίνης ως καταλύτη, ο Emil Knoevenagel έδειξε ότι σχηματίστηκε ένα δις προϊόν προσθήκης ([Εικόνα 12a](#)). Δύο χρόνια αργότερα, το 1896, ο Knoevenagel επαλήθευσε ότι με την προσθήκη πιπεριδίνης ως καταλύτη, η οποία θεωρείται συχνά ως η κυκλική μορφή της διαιθυλαμίνης, μια παρόμοια αντίδραση σχηματισμού δεσμού άνθρακα-άνθρακα ήταν δυνατή χρησιμοποιώντας αρωματικές αλδεΐδες ([Εικόνα 12b](#)).^[35]



Εικόνα 12: (a) Φορμαλδεΐδη με μηλονικό διαιθυλεστέρα υπό αλκαλικές συνθήκες δίνοντας το δις πρόσθετο, (b) Αρωματική αλδεΐδη και πιπεριδίνη ως καταλύτης που παράγει το δις προϊόν προσθήκης, με δύο διαφορετικούς οδούς, ανάλογα με την επιλεγμένη θερμοκρασία.

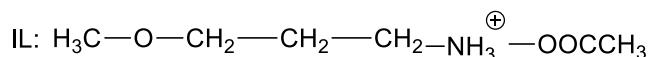
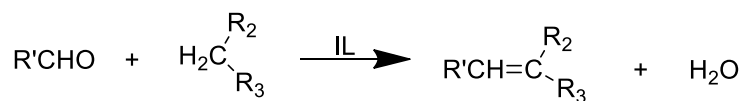
Η αντίδραση Knoevenagel ορίζεται ως η αντίδραση καρβονυλικών ενώσεων με ενώσεις που περιέχουν ενεργό μεθυλένιο παρουσία αμίνης, καθώς οι αμίνες οδηγούν σε υψηλές μετατροπές, απαιτούν ήπιες συνθήκες αντίδρασης, ενώ μέσω αυτών, σχηματίζονται και ενδιάμεσα προϊόντα με βάση το άζωτο, που εμφανίζουν καταλυτικές ικανότητες και μπορούν να απομονωθούν. Ανάλογα με το είδος της αμίνης που χρησιμοποιείται κάθε φορά (πρωτοταγής, δευτεροταγής, τριτοταγής, αμμωνία), η αντίδραση των αρωματικών αλδευδών ακολουθεί άλλο μηχανισμό, παράγοντας και διαφορετικά ενδιάμεσα προϊόντα. Στην περίπτωση των τριτοταγών αμινών, έχει βρεθεί ότι δεν παράγονται ενδιάμεσα προϊόντα, αλλά αποπρωτονιωμένα αντιδρώντα, και γι' αυτό δεν θεωρούνται παράδειγμα αντίδρασης Knoevenagel, αλλά αλδολικής συμπύκνωσης. Όταν χρησιμοποιούνται δευτεροταγείς αμίνες, σχηματίζονται αμινοακετάλες ως ενδιάμεσα, ενώ στην περίπτωση των πρωτοταγών αμινών και της αμμωνίας η αντίδραση οδηγεί στο σχηματισμό μόνο- και δι- βάσεων Schiff αντίστοιχα.^[38,39]

4.2. Καταλύτες της αντίδρασης Knoevenagel

Οι καταλύτες που χρησιμοποιούνται παραδοσιακά στην αντίδραση συμπύκνωσης Knoevenagel είναι η αμμωνία, οι πρωτοταγείς ή δευτεροταγείς αμίνες και τα άλατά τους. Τα τελευταία χρόνια, ένα ευρύ φάσμα καταλυτών, όπως $TiCl_4$, $AlPO_4-Al_2O_3$, $ZnCl_2$, $Na_2CaP_2O_7$, χιτοζάνη, ιοντικά υγρά που περιέχουν ιμιδαζόλιο ή ομάδα γουανιδίνιου, έχουν χρησιμοποιηθεί για την κατάλυση αυτής της αντίδρασης, καθένας από τις οποίους παρέχει μεταβλητές αποδόσεις α , β -ακόρεστων καρβονυλικών ενώσεων σε διάλυμα ή υπό συνθήκες χωρίς διαλύτες. Ωστόσο, υπήρχαν πολλά μειονεκτήματα αυτών των νέων καταλυτών. Για παράδειγμα, όταν χρησιμοποιούνται οι όξινοι καταλύτες Lewis, $TiCl_4$ και $ZnCl_2$, οι αντιδράσεις πραγματοποιούνται με απουσία νερού, επιπλέον, αυτοί οι καταλύτες δεν μπορούν να σταθεροποιηθούν και να επαναχρησιμοποιηθούν λόγω του νερού που παράγεται από την ίδια την αντίδραση Knoevenagel.

Επίσης, με την χρήση χιτοζάνης και ιοντικών υγρών που περιέχουν ιμιδαζόλιο ή γουανιδίνιο, η αντίδραση Knoevenagel πρέπει να θερμανθεί και ο χρόνος αντίδρασης είναι περισσότερο από 2 ώρες. Το ιοντικό υγρό μεθοξυλοπροπυλαμίνης χρησιμοποιήθηκε ως περιβαλλοντικά ασφαλής καταλύτης υπό συνθήκες χωρίς διαλύτη με αποδόσεις πάνω από 99%, για την αντίδραση Knoevenagel ([Εικόνα 13](#)). Το συγκεκριμένο ιοντικό υγρό, αποδείχθηκε ότι καταλύει αποτελεσματικά την αντίδραση Knoevenagel των ενεργών ενώσεων νιτρομεθανίου με διάφορες αλδεΐδες σε θερμοκρασία 20°C έως 60°C για χρονική περίοδο από 1

έως 12 ώρες, υπό ανάδευση. Η διαδικασία είναι πολύ αποτελεσματική, φιλική προς το περιβάλλον και πολύ επιλεκτική. Επιπλέον, το ιοντικό υγρό μεθοξυλοπροπυλαμίνης διαχωρίζεται εύκολα από τα προϊόντα και ανακυκλώνεται, έτσι ώστε να μπορεί να καταλύσει ξανά την αντίδραση Knoevenagel, αποδίδοντας εξαιρετικές αποδόσεις.^[34,35]



Εικόνα 13: Αντίδραση Knoevenagel με οξική μεθοξυλοπροπυλαμίνης (IL) ως καταλύτης

Τα τελευταία χρόνια έχει γίνει προσπάθεια χρήσης βαθέως ευτυχικών διαλυτών ως καταλύτες και διαλύτες για την αντίδραση Knoevenagel. Τα οφέλη των DESs για τη σύνθεση βενζυλιδινιδίων, σε θερμοκρασία δωματίου και για ένα ευρύ φάσμα υποστρωμάτων, μέσω της αντίδρασης Knoevenagel, είναι σημαντικά. Αναλυτικότερα, οι DESs, παρουσιάζουν καλύτερες τιμές ως προς την απόδοση και το χρόνο αντίδρασης, σε σύγκριση με τους συμβατικούς διαλύτες, ενώ ο καταλύτης μπορεί να ανακυκλωθεί έως και πέντε φορές χωρίς μεγάλη απώλεια της δραστηρότητάς του. Λόγω της πιο βιώσιμης, αποδοτικής και οικονομικής τους φύσης, οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες είναι εξαιρετικές εναλλακτικές λύσεις έναντι των συμβατικών καταλυτών στην αντίδραση Knoevenagel.^[35]

4.3. Εφαρμογές

Η αντίδραση Knoevenagel χρησιμοποιείται ευρέως για την παρασκευή ενδιάμεσων σε διαδικασίες παραγωγής αρωμάτων, καλλυντικών και βιοενεργών ουσιών, ενώ ιδιαιτέρως σημαντική αποδεικνύεται η φαρμακολογική, βιομηχανική και συνθετική συμπεριφορά των προϊόντων της, τα οποία έχουν αντίστοιχα ευρύ φάσμα εφαρμογών. Συγκεκριμένα, στον κλάδο της φαρμακευτικής χημείας τα προϊόντα της αντίδρασης Knoevenagel έχουν εμφανίσει ποικίλες φαρμακολογικές δράσεις: κατά της φυματίωσης, της νόσου Πάρκινσον, του διαβήτη, του καρκίνου, αλλά και αντιοξειδωτική δράση, ενώ ορισμένα από αυτά διαθέτουν κυτταροτοξική ικανότητα, μέσω της παρεμπόδισης πολλαπλών ενζυμικών στόχων.^[34,35]

Επίσης, η αντίδραση Knoevenagel, είναι μια από τις πιο κοινές συνθετικές μεθόδους για την παραγωγή κουμαρινών. Οι κουμαρίνες και τα παράγωγα κουμαρίνης είναι φυσικές ενώσεις και σημαντικές χημικές ουσίες στη βιομηχανία αρωμάτων, καλλυντικών και φαρμακευτικών προϊόντων. Η παραγωγή τους επιτυγχάνεται μέσω συμπύκνωσης σαλικυλικών αλδεϋδών με μηλονικό οξύ, ή εστέρων που δίνουν τα κουμαρινικά-3-καρβοξυλικά οξέα, ή εστέρων που υφίστανται διαδοχικά αποκαρβοξυλίωση.^[34]

5. Domino Knoevenagel - Michael

5.1. Ορισμός, συνθήκες

Η συνθετική οργανική χημεία έχει αναπτυχθεί αρκετά στις επιλεκτικές διαδικασίες που επιτρέπουν την παρασκευή πολύπλοκων μορίων με εξαιρετική τοπο-, χημειο-, διαστεreo- και εναντιοκλεκτικότητα. Παρά τη μεγάλη αυτή επιτυχία, μεγάλα προβλήματα εμφανίζονται στη χημική παραγωγή, όπως ο χειρισμός των απορριμμάτων, η αναζήτηση περιβαλλοντικών ανεκτών διαδικασιών, η διατήρηση των πόρων και η αύξηση της αποτελεσματικότητας.^[44]

Η συνήθης διαδικασία για τη σύνθεση οργανικών ενώσεων είναι ο σταδιακός σχηματισμός των μεμονωμένων δεσμών στο μόριο στόχο. Ωστόσο, είναι πολύ πιο αποτελεσματικό και εφικτό να σχηματίζονται πολλοί δεσμοί σε μια αλληλουχία χωρίς να απομονώνονται τα ενδιάμεσα, να μεταβάλλονται οι συνθήκες αντίδρασης ή να προστίθενται αντιδραστήρια. Προφανώς, αυτός ο τύπος αντίδρασης επιτρέπει την ελαχιστοποίηση των αποβλήτων και συνεπώς καθιστά περιττή τη διαχείριση των αποβλήτων αφού σε σύγκριση με τις σταδιακές αντιδράσεις η ποσότητα των διαλυτών, των αντιδραστηρίων, των προσροφητών και της ενέργειας μειώνονται δραματικά, ενώ ταυτόχρονα μειώνεται και ο όγκος της εργασίας. Έτσι, αυτές οι αντιδράσεις επιτρέπουν μια οικολογικά και οικονομικά ευνοϊκή παραγωγή. Αυτό το είδος μετασχηματισμού ονομάζεται αντίδραση ντόμινο (domino). Το όνομα επιλέχθηκε από το παιχνίδι όπου κάποιος βάζει πολλά κομμάτια ντόμινο σε μια σειρά και σε συμφωνία με τη χρονικά επιλυμένη διαδοχή των αντιδράσεων, αν κάποιος χτυπήσει πάνω από το πρώτο ντόμινο, ακολουθούν όλα τα άλλα χωρίς να αλλάξουν οι συνθήκες.^[45,46,47]

Μια αντίδραση ντόμινο έχει οριστεί από τον Tietze ως μια αντίδραση που περιλαμβάνει δύο ή περισσότερους μετασχηματισμούς, σχηματισμούς δεσμών που λαμβάνουν χώρα υπό τις ίδιες συνθήκες αντίδρασης, χωρίς την προσθήκη

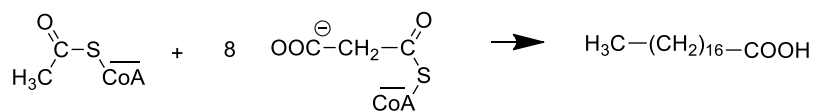
πρόσθετων αντιδραστηρίων και καταλυτών, και στην οποία οι επόμενες αντιδράσεις προκύπτουν ως συνέπεια της λειτουργικότητας δεσμού του προηγούμενου βήματος. Επίσης, οι αντιδράσεις αυτές μπορούν να εφαρμοστούν ως μετασχηματισμοί ενός συστατικού, δύο συστατικών και πολλαπλών συστατικών. Οι αντιδράσεις πολλαπλών συστατικών ορίζονται ως αντιδράσεις ντόμινο που περιλαμβάνουν τουλάχιστον τρία υποστρώματα και, κατά συνέπεια, αποτελούν μια υποομάδα αντιδράσεων ντόμινο. Τέτοιες αντιδράσεις ενός σταδίου επιτρέπουν την ταχεία σύνθεση ενός ευρέος φάσματος πολύπλοκων μορίων, συμπεριλαμβανομένων φυσικών προϊόντων και βιολογικά ενεργών ενώσεων όπως φαρμακευτικών και αγροχημικών, με οικονομικά ευνοϊκό τρόπο χρησιμοποιώντας διαδικασίες που είναι εύλογα απλές.^[47,52]

Οι αντιδράσεις ντόμινο μπορούν να ταξινομηθούν σύμφωνα με τον μηχανισμό των μεμονωμένων σταδίων, ο οποίος μπορεί να είναι του ίδιου ή διαφορετικών τύπων: κατιονικός, ανιονικός, ριζικός, περικυκλικός, καταλυόμενος από μέταλλο ή οξειδοαναγωγικός μετασχηματισμούς.^[46,52]

5.2. Παραδείγματα αντιδράσεων ντόμινο στη φύση

Στη φύση, οι αντιδράσεις ντόμινο είναι μάλλον συχνές αν και δεν είναι δυνατή η άμεση σύγκριση με τις αντιδράσεις σε μια φιάλη λόγω της συμμετοχής πολυενζύμων που μπορούν να επιτρέψουν την κατάλυση διαφορετικών σταδίων.

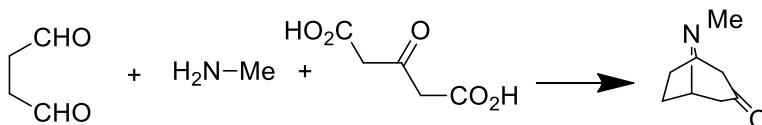
Ένα παράδειγμα είναι η βιοσύνθεση λιπαρών οξέων ξεκινώντας από το οξικό. Η αντίδραση συνήθως σταματά αφού συνδυαστεί το οξικό ως μονάδα έναρξης με 7 ή 8 ισοδύναμα μηλονυλ-S-CoA για να δώσει είτε παλμιτικό οξύ είτε στεατικό οξύ. Ένας τέτοιος έλεγχος είναι μάλλον δύσκολο να μιμηθεί σε μια φιάλη αντίδρασης ([Εικόνα 14](#)):



Εικόνα 14: Βιοσύνθεση λιπαρών οξέων

Μπορεί να υποτεθεί ότι και στη βιοσύνθεση αλκαλοειδών, π.χ. τροπινόνη και δαφνιλακτόνη A, αρκετές αντιδράσεις σχηματισμού δεσμού διαδέχονται η μία την άλλη σε μία αλληλουχία. Με αναφορά σε αυτή τη σκέψη, η πρώτη αντίδραση

ντόμινο ενός φυσικού προϊόντος έγινε από τους Schörf και Robinson συνδυάζοντας ένα μείγμα ηλεκτρικής διαλδεΰδης, μεθυλαμίνης και ακετονοδικαρβοξυλικού οξέος για να δώσει τη δικυκλική τροπινόνη που είναι δομικό συστατικό πολλών αλκαλοειδών όπως η κοκαΐνη και η ατροπίνη ([Εικόνα 15](#)):

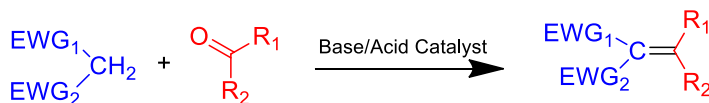


[Εικόνα 15](#): Ντόμινο σύνθεση τροπινόνης

6. Μηχανισμοί Αντιδράσεων

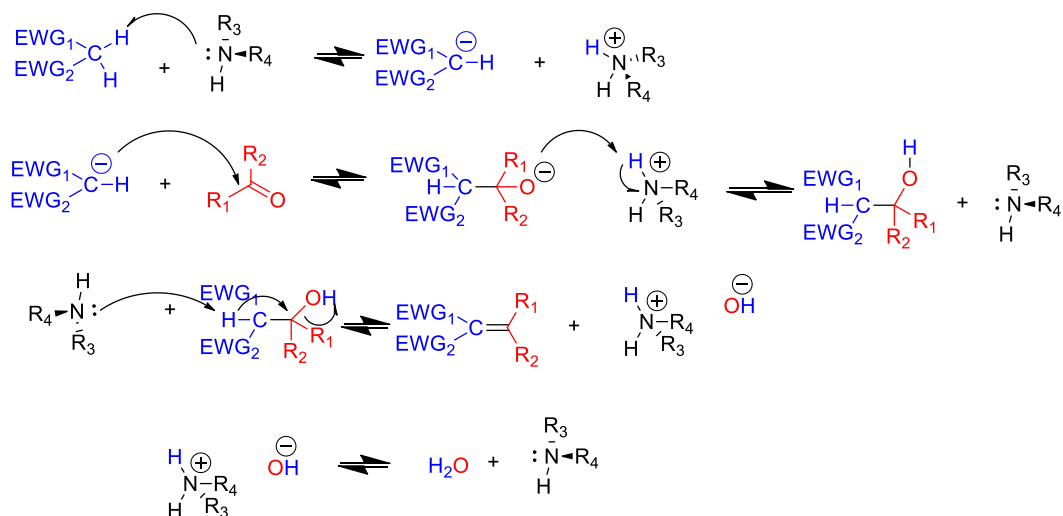
6.1. Μηχανισμός Knoevenagel

Οι οργανικές αντιδράσεις που καταλύονται με βάση είναι πολύτιμες στην οργανική σύνθεση. Η αντίδραση Knoevenagel είναι η συμπύκνωση μεταξύ μιας αλδεΰδης ή κετόνης με μια ενεργή ένωση μεθυλενίου που περιέχει ισχυρές ομάδες που αποσπούν ηλεκτρόνια (Electron Withdrawing Group, EWG₁ και EWG₂), η οποία δίνει μια ολεφίνη με ανεπάρκεια ηλεκτρονίων και μπορεί συχνά να προωθηθεί με καταλύτες οξέος/βάσης ([Εικόνα 16](#)):



[Εικόνα 16](#): Γενική αντίδραση συμπύκνωσης Knoevenagel

Πιο κάτω περιγράφεται ο συνολικός μηχανισμός για την αντίδραση Knoevenagel, η οποία συνήθως επιταχύνεται από μια βάση. Όταν η αντίδραση Knoevenagel καταλύεται από μία βάση, η οποία περιέχει άζωτο, ο μηχανισμός που ακολουθείται περιλαμβάνει αποπρωτονίωση της ομάδας του ενεργού μεθυλενίου από τον καταλύτη (:NHR₃R₄), ακολουθούμενη από την πυρηνόφιλη αλληλεπίδραση του παραγόμενου καρβανιόντος στην καρβονυλική ομάδα μέσω μιας συμπύκνωσης αλδόλης που δίνει ένα α,β-ακόρεστο ενδιάμεσο προϊόν. Τέλος, ακολουθεί η αφυδάτωση του ενδιάμεσου αυτού και η αναγέννηση του καταλύτη.^[37,39]



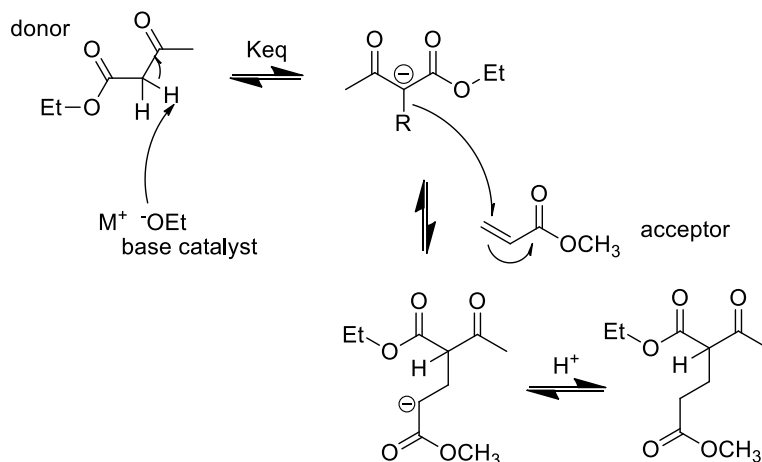
Εικόνα 17: Ο μηχανισμός για την αντίδραση Knoevenagel με βάση το άζωτο

6.2. Μηχανισμός Michael

Η αντίδραση Michael αναφέρεται τυπικά στην καταλυόμενη από βάση προσθήκη ενός πυρηνόφιλου όπως ένα ενολικό ανιόν (δότης) σε μια ενεργοποιημένη ένωση που περιέχει α, β-ακόρεστο καρβονύλιο (δέκτης). Ο δέκτης στην αντίδραση Michael διαθέτει μια ομάδα ενεργοποίησης απόσυρσης ηλεκτρονίων και σταθεροποίησης συντονισμού, η οποία σταθεροποιεί το ανιονικό ενδιάμεσο. Η αντίδραση Michael πραγματοποιείται με μια ποικιλία α, β-ακόρεστων καρβονυλικών ενώσεων, και όχι μόνο με συζυγιακές κετόνες, όπως ακρυλικό εστέρες, ακρυλονιτρίλιο, ακρυλαμίδια, μηλεϊμίδια, μεθακρυλικά αλκυλεστέρα, α,β-ακόρεστες αλδεΐδες, κυανοακρυλικά και βινυλοσουλφόνες. Παρομοίως, μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί μια ποικιλία διαφορετικών δοτών, όπως β-δικετόνες, β-κετο εστέρες, μηλονικοί εστέρες, β-κετο νιτρίλια και νιτροενώσεις.

Παρακάτω παρουσιάζεται ο μηχανισμός της αντίδρασης Michael ([Εικόνα 18](#)), με κάθε βήμα να βρίσκεται σε ισορροπία και να εξαρτάται θερμοδυναμικά από τις σχετικές αντοχές της βάσης και τον τύπο του ακετοξικού. Το ακετοξικό αρχικά αποπρωτονιώνεται από τη βάση, παρέχοντας ένα ενολικό ανιόν (donor) σε ισορροπία. Το ενολικό ανιόν στη συνέχεια αντιδρά σε μια προσθήκη 1,4-συζυγούς στην ολεφίνη του ακρυλικού (acceptor). Το καρβονύλιο του ακρυλικού σταθεροποιεί το προκύπτον ανιόν μέχρι να συμβεί μεταφορά πρωτονίου, αναγεννώντας τη βάση. Η συνολική κινητήρια δύναμη για τη συζυγή προσθήκη

είναι η ενθαλπική αλλαγή που συνοδεύει την αντικατάσταση ενός δεσμού π με έναν δεσμό σ. Έτσι, υπάρχει η προτίμηση για 1,4-προσθήκη έναντι 1,2-προσθήκη.^[50]



Εικόνα 18: Ο μηχανισμός για την αντίδραση Michael

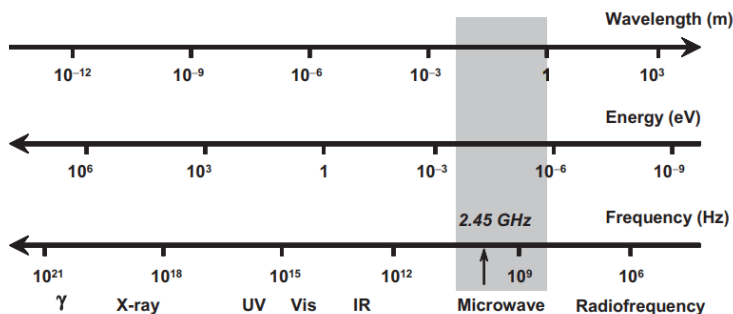
7. Μέθοδοι σύνθεσης - Τεχνικές υψηλής ενέργειας

7.1. Μικροκυματική ακτινοβολία (Microwaves)

Η ανάπτυξη της χημείας έχει συνδεθεί στενά με την ανακάλυψη νέων τρόπων εισαγωγής ενέργειας στις χημικές αντιδράσεις. Η πρώτη αξιόπιστη συσκευή για την παραγωγή ακτινοβολίας μικροκυμάτων σταθερής συχνότητας σχεδιάστηκε από τους Randall and Booth στο Πανεπιστήμιο του Μπέρμιγχαμ κατά τη διάρκεια του Β΄ Παγκοσμίου Πολέμου.^[55]

Στην οργανική σύνθεση ως πηγή θέρμανσης χρησιμοποιείται η ακτινοβολία μικροκυμάτων η οποία είναι ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία που αποτελείται από μία συνιστώσα ηλεκτρικού και μαγνητικού πεδίου. Οι βασικοί μηχανισμοί που παρατηρούνται στη σύνθεση υποβοηθούμενη από μικροκύματα είναι η διπολική πόλωση και η αγωγιμότητα. Οι φούρνοι μικροκυμάτων λειτουργούν με ηλεκτρομαγνητική μη ιονίζουσα ακτινοβολία με συχνότητες μεταξύ 300 GHz και 300 MHz, ενώ, τα αντίστοιχα μήκη κύματος εκτείνονται από 1 mm έως 1 m, με τα μικροκύματα να βρίσκονται μεταξύ υπέρυθρων και ραδιοκυμάτων, στο ηλεκτρομαγνητικό φάσμα. Είναι προφανές ότι η ενέργεια του φωτονίου μικροκυμάτων σε συχνότητα 2,45 GHz είναι πολύ χαμηλή για να διασπά μοριακούς δεσμούς και είναι επίσης χαμηλότερη από την κίνηση Brown. Επομένως, τα μικροκύματα δεν μπορούν να «προκαλέσουν» χημικές αντιδράσεις με άμεση

απορρόφηση ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας, σε αντίθεση με την υπεριώδη και την ορατή ακτινοβολία (φωτοχημεία).^[54,61]

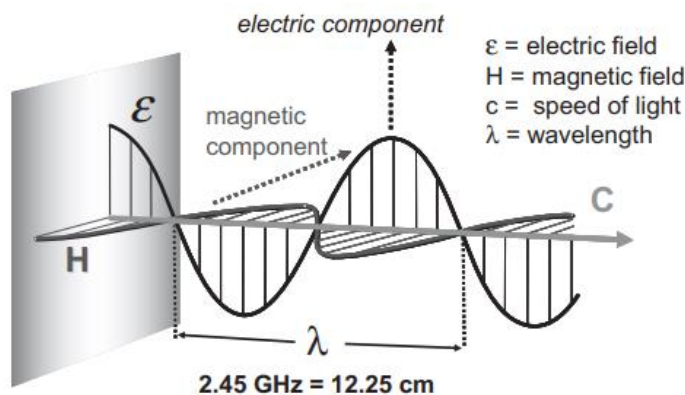


Εικόνα 19: Το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα

Η ενισχυμένη με μικροκύματα χημεία βασίζεται στην αποτελεσματική θέρμανση των υλικών από επιδράσεις «διηλεκτρικής θέρμανσης με μικροκύματα». Δεν είναι όλα τα υλικά ευαίσθητα στη θέρμανση μικροκυμάτων καθώς η απόκριση διάφορων υλικών στην ακτινοβολία μικροκυμάτων είναι διαφορετική. Με βάση την απόκρισή τους στα μικροκύματα, τα υλικά μπορούν να ταξινομηθούν ευρέως ως εξής: (1) Υλικά που είναι διαφανή στα μικροκύματα (θείο), (2) Υλικά που αντανακλούν τα μικροκύματα (χαλκός), (3) Υλικά που απορροφούν τα μικροκύματα (νερό).^[54,61]

Για να παράγει μια ουσία θερμότητα όταν ακτινοβολείται πρέπει να διαθέτει διπολική ροπή. Η διπολική ροπή είναι η συνιστώσα του ηλεκτρικού πεδίου της ακτινοβολίας μικροκυμάτων και όχι η συνιστώσα του μαγνητικού πεδίου που είναι υπεύθυνη για τη θέρμανση. Όταν ένα δίπολο προσπαθεί να αναπροσανατολιστεί σε σχέση με ένα εναλλασσόμενο ηλεκτρικό πεδίο, χάνει ενέργεια με τη μορφή θερμότητας, με μοριακή τριβή. Η διπολική πόλωση μπορεί να δημιουργήσει θερμότητα είτε με την αλληλεπίδραση μεταξύ μορίων και πολικών διαλυτών, όπως το νερό, η μεθανόλη, και η αιθανόλη ή με αλληλεπίδραση μεταξύ μορίων και πολικής διαλυμένης ουσίας όπως η αμμωνία και το μυρμηγκικό οξύ. Η βασική απαίτηση για τη διπολική πόλωση είναι ότι το εύρος συχνοτήτων της ταλάντωσης του πεδίου θα πρέπει να είναι κατάλληλο για να επιτρέπει την επαρκή αλληλεπίδραση μεταξύ σωματιδίων. Εάν το εύρος συχνοτήτων είναι πολύ υψηλό, οι διαμοριακές δυνάμεις θα σταματήσουν την κίνηση ενός πολικού μορίου πριν προσπαθήσει να ακολουθήσει το πεδίο, με αποτέλεσμα την ανεπαρκή αλληλεπίδραση μεταξύ των σωματιδίων. Από την άλλη πλευρά, εάν το εύρος συχνοτήτων είναι χαμηλό, το πολικό μόριο έχει αρκετό χρόνο για να ευθυγραμμιστεί σε φάση με το πεδίο. Επομένως, η ακτινοβολία μικροκυμάτων έχει

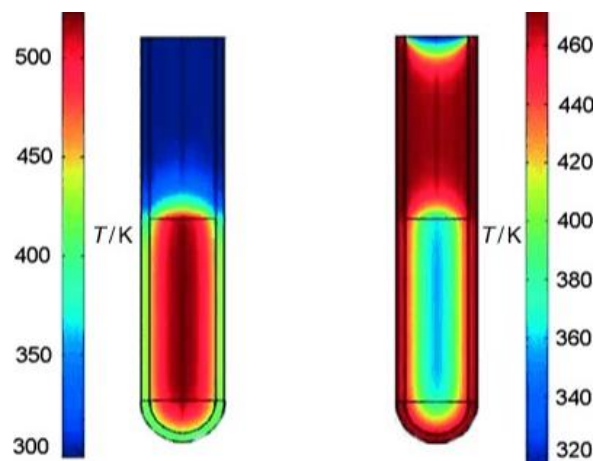
την κατάλληλη συχνότητα (0,3-30 GHz) για να ταλαντώνει τα πολικά σωματίδια και να επιτρέπει αρκετή αλληλεπίδραση μεταξύ των σωματιδίων, καθιστώντας το ιδανική επιλογή για θέρμανση πολικών διαλυμάτων.^[54,55]



Εικόνα 20: Ηλεκτρικό και μαγνητικό πεδίο στο φούρνο μικροκυμάτων

7.2. Μικροκύματα έναντι συμβατικής σύνθεσης

Η συμβατική σύνθεση συνήθως περιλαμβάνει τη χρήση κλιβάνου ή λουτρού λαδιού που θερμαίνει τα τοιχώματα των αντιδραστήρων με συναγωγή ή αγωγή, με αποτέλεσμα ο πυρήνας του δείγματος να χρειάζεται πολύ περισσότερο χρόνο για να επιτευχθεί η επιθυμητή θερμοκρασία. Αυτή είναι μια αργή και αναποτελεσματική μέθοδος για τη μεταφορά ενέργειας μέσα στο σύστημα αντίδρασης. Από την άλλη πλευρά, στη σύνθεση υποβοηθούμενη από μικροκύματα, τα τελευταία διεισδύουν στο εσωτερικό του υλικού και παράγεται θερμότητα μέσω της άμεσης αλληλεπίδρασης μικροκυμάτων - υλικού. Η μικροκυματική ακτινοβολία αυξάνει τη θερμοκρασία ολόκληρου του όγκου ταυτόχρονα, ενώ στο θερμαινόμενο με λάδι σωλήνα το μείγμα της αντίδρασης είναι σε επαφή με το τοίχωμα του αγγείου το οποίο θερμαίνεται πρώτα (**Εικόνα 21**). Η σύνθεση υποβοηθούμενη από μικροκύματα έχει πολλά πλεονεκτήματα σε σχέση με τις συμβατικές αντιδράσεις στο ότι ο φούρνος μικροκυμάτων επιτρέπει αύξηση του ρυθμού αντίδρασης, βελτιστοποίηση ταχείας αντίδρασης και ταχεία αναλογική σύνθεση. Χρησιμοποιεί επίσης λιγότερη ενέργεια και διαλύτη και επιτρέπει τη δύσκολη σύνθεση ενώσεων.^[54,56]



Εικόνα 21: Διαφορά στα προφίλ θερμοκρασίας μετά από 1 λεπτό ακτινοβολίας μικροκυμάτων (αριστερά) και επεξεργασία σε λουτρό λαδιού (δεξιά)

Τα κύρια πλεονεκτήματα της οργανικής σύνθεσης με τη βοήθεια μικροκυμάτων είναι:

- I. **Ταχύτερη αντίδραση:** Οι ρυθμοί χημικής αντίδρασης είναι ταχύτεροι από εκείνους των συμβατικών μεθόδων θέρμανσης έως και 1.000 φορές. Ο φούρνος μικροκυμάτων μπορεί να χρησιμοποιήσει υψηλότερες θερμοκρασίες και κατά συνέπεια, οι αντιδράσεις ολοκληρώνονται σε λίγα λεπτά αντί για ώρες
- II. **Καλύτερη απόδοση και υψηλότερη καθαρότητα:** Παρατηρείται μικρότερος σχηματισμός παραπροϊόντων με χρήση μικροκυματικής ακτινοβολίας και το προϊόν ανακτάται σε υψηλότερη απόδοση. Κατά συνέπεια, και το βήμα καθαρισμού είναι ταχύτερο και ευκολότερο
- III. **Εξοικονόμηση ενέργειας:** αυτό κυρίως οφείλεται στο ότι τα μικροκύματα θερμαίνουν μόνο το δείγμα και όχι το σκεύος, επομένως, η κατανάλωση ενέργειας είναι μικρότερη
- IV. **Πιο «πράσινη» σύνθεση:** Η χρήση μικροκυμάτων είναι μία πιο φιλική προς το περιβάλλον μέθοδος θέρμανσης από την συμβατική αφού η θέρμανση είναι πιο άμεση, επομένως η χρήση διαλυτών στη χημική αντίδραση μπορεί να μειωθεί ή να εξαλειφθεί. Παράλληλα, η μικροκυματική ακτινοβολία συμβάλλει στην μείωση της ποσότητας καθαρισμού που απαιτείται για την παραλαβή των τελικών προϊόντων.
- V. **Ομοιόμορφη και επιλεκτική θέρμανση:** Μόνο ο διαλύτης και τα σωματίδια της διαλυμένης ουσίας διεγείρονται, με αποτέλεσμα την ομοιόμορφη θέρμανση του διαλύτη. Αντίθετα, στην συμβατική θέρμανση, πρώτα θερμαίνονται τα τοιχώματα και μετά ο διαλύτης με αποτέλεσμα να υπάρχει διαφορά θερμοκρασίας μεταξύ των τοιχωμάτων και του διαλύτη. Η επιλεκτική θέρμανση βασίζεται στην

αρχή ότι διαφορετικά υλικά ανταποκρίνονται διαφορετικά στα μικροκύματα

- VI. Αναπαραγωγιμότητα:** Λόγω της ομοιόμορφης θέρμανσης και του καλύτερου ελέγχου των παραμέτρων της διαδικασίας, παρατηρείται αυξημένη αναπαραγωγιμότητα των πειραμάτων.^[57,58,61,61]

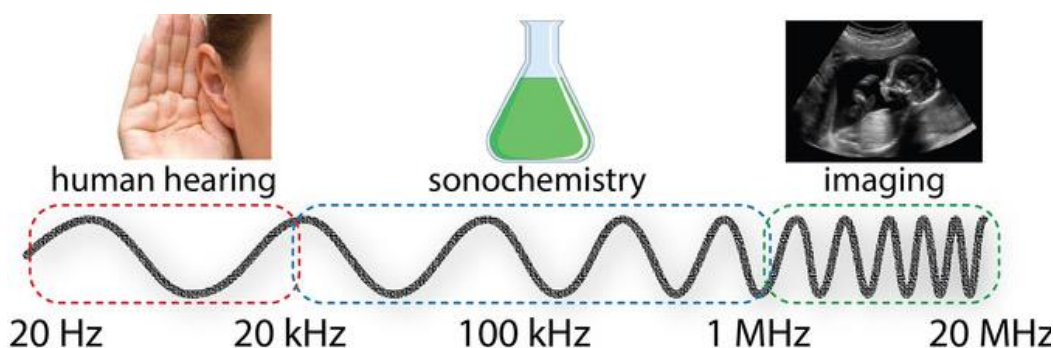
Ορισμένα βασικά μειονεκτήματα της σύνθεσης με μικροκυματική ακτινοβολίας είναι το γεγονός ότι έχει περιορισμένη εφαρμογή για υλικά που την απορροφούν, όπως το θείο, το οποίο είναι διαφανές σε αυτήν. Επίσης, η χρήση της θέρμανσης μικροκυμάτων για την αύξηση του ρυθμού των χημικών αντιδράσεων που περιλαμβάνουν ραδιοϊσότοπα μπορεί να οδηγήσει σε ανεξέλεγκτη ραδιενεργό διάσπαση. Ακόμη, η διεξαγωγή αντιδράσεων υποβοηθούμενες από μικροκύματα σε συνθήκες υψηλής πίεσης μπορεί να οδηγήσει σε ανεξέλεγκτες αντιδράσεις και να προκαλέσει εκρήξεις. Επιπλέον, οι κίνδυνοι για την ανθρώπινη υγεία που σχετίζονται με τα μικροκύματα προκαλούνται από τη διείσδυση των μικροκυμάτων. Για παράδειγμα, τα μικροκύματα που λειτουργούν σε εύρος χαμηλής συχνότητας μπορούν να διεισδύουν στο ανθρώπινο δέρμα, ενώ υψηλότερου εύρους συχνοτήτων μπορούν να φτάσουν στα όργανα του σώματος και σε παρατεταμένη έκθεση τα μικροκύματα μπορεί να οδηγήσουν σε πλήρη εκφύλιση των ιστών και των κυττάρων του σώματος. Έχει επίσης διαπιστωθεί, ότι η συνεχής έκθεση του DNA σε μικροκύματα υψηλής συχνότητας κατά τη διάρκεια μιας βιοχημικής αντίδρασης μπορεί να οδηγήσει σε πλήρη εκφύλιση του κλώνου του DNA.^[58,61]

6.2. Υπέρηχοι (Ultrasound)

Σχεδόν έναν αιώνα μετά τη θεμελιώδη ανακάλυψη από τον Loomis και τους συνεργάτες του των χημικών, φυσικών και φυσιολογικών επιδράσεων που προκαλούνται από συχνότητες υπερήχων, η ηχοχημεία έχει γίνει υποσχόμενη και οικονομικά αποδοτική τεχνική για την επανεξέταση των βιώσιμων χημικών συνθέσεων σύμφωνα με τις ολοένα αυξανόμενες επιπτώσεις των περιβαλλοντικών ανησυχιών. Η κινητήρια δύναμη για την ηχοχημεία είναι η σπηλαιώση και έτσι μια γενική απαίτηση είναι ότι τουλάχιστον μία από τις φάσεις του μίγματος της αντίδρασης πρέπει να είναι υγρό. Τα πλεονεκτήματα που παρουσιάζει η σύνθεση με υπέρηχους έχει κάνει το θέμα ελκυστικό σε πολλούς πειραματιστές και το ενδιαφέρον έχει εξαπλωθεί πέρα από τα ακαδημαϊκά εργαστήρια σε βιομηχανία και χημική μηχανική. Περιέχει εγγενώς πολλά από τα επιθυμητά χαρακτηριστικά της «πράσινης χημείας», όπως η χρήση λιγότερο επικίνδυνων χημικών ουσιών και

διαλυτών, μειωμένη κατανάλωση ενέργειας και αυξημένη επιλεκτικότητα προϊόντος.^[62,63,74]

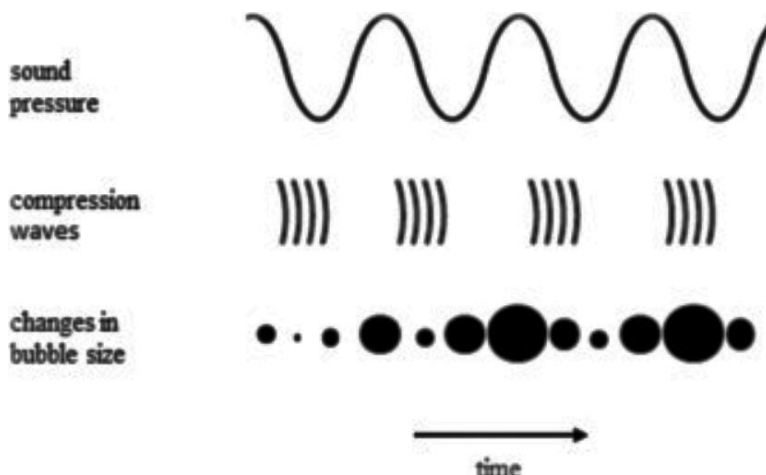
Οι συχνότητες ήχου μετρώνται σε Hertz (Hz), με 1 Hz ίσο με 1 κύκλο ανά δευτερόλεπτο. Το τυπικό εύρος ακοής για έναν μέσο άνθρωπο είναι περίπου 20 Hz–20 kHz. Ωστόσο, ο όρος «υπέρηχος» προέρχεται από την ανθρώπινη οπτική γωνία και συχνά αναφέρεται σε συχνότητες υψηλότερες από 20 kHz (Εικόνα 22). Ο υπέρηχος που χρησιμοποιείται για την υπερηχομεία έχει διερευνηθεί σε ένα ευρύ φάσμα συχνοτήτων, από 20 kHz έως συχνότητες μεγαλύτερες από 2 MHz. Ωστόσο, η ηχοχημική δραστηριότητα σε υψηλές συχνότητες απαιτεί περισσότερη ισχύ καθώς χάνεται περισσότερη ενέργεια από τη μοριακή κίνηση.^[63,64]



Εικόνα 22: Φάσμα συχνοτήτων ηχητικών κυμάτων με επιλεγμένες περιοχές ενδιαφέροντος

Οι ενέργειες του υπέρηχου είναι πολύ χαμηλές για να αλλάξουν τις δονητικές ή περιστροφικές μοριακές καταστάσεις. Ένα ακουστικό κύμα πίεσης αποτελείται από εναλλακτικές συμπίεσεις και αραιώσεις στο μέσο εκπομπής κατά μήκος του κύματος κατεύθυνσης διάδοσης. Όταν ασκείται μεγάλη αρνητική πίεση σε ένα υγρό, οι διαμοριακές δυνάμεις van der Waals δεν είναι ισχυρές αρκετά για να διατηρηθεί η συνοχή και σχηματίζονται μικρές κοιλότητες ή γεμάτες με αέρα μικροφουσαλίδες. Η ταχεία πυρήνωση, ανάπτυξη και κατάρρευση αυτών των φουσαλίδων κλίμακας μικρομέτρου αποτελεί το φαινόμενο σπηλαίωσης, που παρατηρήθηκε κατά λάθος προς το τέλος του 19^{ου} αιώνα από τους Thorneycroft και Barnaby όταν αυτοί παρατήρησαν την κακή απόδοση ταχύτητας του βιδωτού αντιτορπιλικού. Διαπιστώθηκε ότι λόγω της ταχείας κίνησης της λεπίδας της προπέλας στο νερό, το πίσω άκρο δημιούργησε αρκετή αρνητική πίεση για να τραβήξει τα μόρια του νερού χωριστά, δημιουργώντας έτσι μικροφουσαλίδες. Όταν κατάρρευσαν κοντά στην μεταλλική επιφάνεια, οι φουσαλίδες απελευθέρωσαν αρκετή ενέργεια για να προκαλέσουν διάβρωση της λεπίδας. Έτσι, η προέλευση της σπηλαίωσης-φουσαλίδες συνδέεται με τυρβώδη ροή. Οι μικροφουσαλίδες δεν είναι

σφαιρικές και υφίστανται ακτινικές και εφαπτομενικές παραμορφώσεις πριν καταρρεύσουν.^[64,65,66]

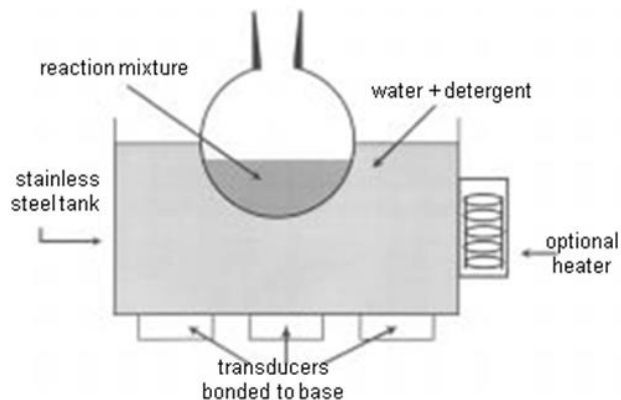


Εικόνα 23: Σχηματική αναπαράσταση του φαινομένου της σπηλαίωσης

Η έκταση της σπηλαίωσης εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ένταση και τη συχνότητα των υπερηχητικών κυμάτων. Μια υψηλότερη ένταση διευκολύνει το σχηματισμό κοιλοτήτων, καθώς τα μόρια στο μεγαλύτερο μέρος υπόκεινται σε υψηλότερες δυνάμεις έλξης και ώθησης. Ως εκ τούτου, όχι μόνο η δημιουργία κενού είναι πιο πιθανή, αλλά και η κατάρρευση τείνει να είναι πιο βίαιη. Συνήθως υπάρχει ένα ανώτερο όριο στο πλάτος των κυμάτων που επιβάλλεται από την αντίσταση της συσκευής υπερήχων. Οι υψηλότερες συχνότητες, από την άλλη πλευρά, αξιοποιούν τη διαδικασία μειώνοντας το χρόνο που διατίθεται για τα μόρια για να ξεπεράσουν τις αλληλεπιδράσεις και να διαχωριστούν, πριν ολοκληρωθεί η περίοδος κύματος. Η παρουσία μικροσκοπικών στερεών ακαθαρσιών στο υγρό είναι επίσης ένας κρίσιμος παράγοντας που ευνοεί τη σπηλαίωση, καθώς ακόμη και πολύ μικροί θύλακες αέρα που είναι ενσωματωμένοι στην επιφάνεια των σωματιδίων έχουν μια αξιοσημείωτη πυρηνωτική δράση για τις φουσαλίδες.^[69]

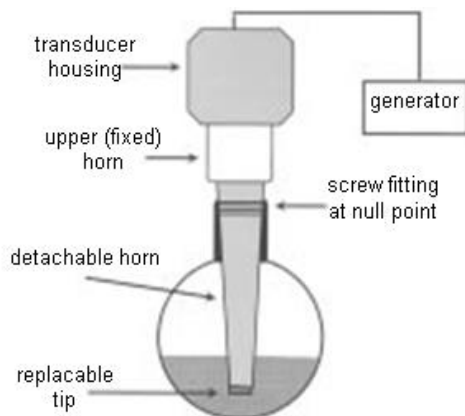
Οι δύο πιο κοινές πηγές υπερήχων για το εργαστήριο είναι το λουτρό υπερήχων (Ultrasonic cleaning bath) και το σύστημα Probe υπερήχων. Αυτά γενικά λειτουργούν σε συχνότητες περίπου 40 και 20 kHz, αντίστοιχα. Το λουτρό καθαρισμού είναι η πιο διαδεδομένη, διαθέσιμη και φθηνότερη πηγή υπέρηχων ακτινοβολίας σε ένα εργαστήριο χημείας. Αν και είναι εφικτό να χρησιμοποιηθεί το ίδιο το λουτρό ως δοχείο αντίδρασης, σπανίως γίνεται λόγω προβλημάτων που σχετίζονται με τη διάβρωση των τοιχωμάτων του λουτρού και τον περιορισμό των τυχόντων εξελισσόμενων ατμών και αερίων. Η κανονική χρήση λοιπόν περιλαμβάνει τη βύθιση τυπικών γυάλινων δοχείων αντίδρασης σε λουτρό που

παρέχει μια αρκετά ομοιόμορφη κατανομή της ενέργειας στο μέσο αντίδρασης (Εικόνα 24). Το δοχείο αντίδρασης δεν χρειάζεται οποιαδήποτε ειδική προσαρμογή, το ποσό της ενέργειας που φτάνει στην αντίδραση μέσω των τοιχωμάτων είναι χαμηλό και ο έλεγχος θερμοκρασίας σε εμπορικά λουτρά είναι γενικά κακή και έτσι ενδέχεται να απαιτηθεί στο σύστημα πρόσθετος θερμοστατικός έλεγχος.



Εικόνα 24: Το λουτρό καθαρισμού με υπερήχους στην υπερηχοχημεία

Η συσκευή Probe υπερήχων επιτρέπει την απευθείας εισαγωγή υπερηχητικής ενέργειας στο σύστημα αντί να βασίζεται στη μεταφορά του μέσω του νερού μιας δεξαμενής και των τοιχωμάτων του δοχείου αντίδρασης (Εικόνα 25). Η ισχύς αυτών των συστημάτων είναι ελεγχόμενη και το μέγιστο μπορεί να είναι αρκετές εκατοντάδες $W\ cm^{-2}$. Είναι ακριβότερο από το λουτρό και είναι ελαφρώς λιγότερο βολικό στη χρήση, επειδή χρειάζονται ειδικές σφραγίδες εάν το probe πρόκειται να χρησιμοποιηθεί σε αντιδράσεις που περιλαμβάνουν παλινδρόμηση, αδρανή ατμόσφαιρα ή πιέσεις μεγαλύτερες (ή μικρότερες) του περιβάλλοντος.^[62,65]



Εικόνα 25: Σύστημα ανιχνευτών υπερήχων στην υπερηχοχημεία

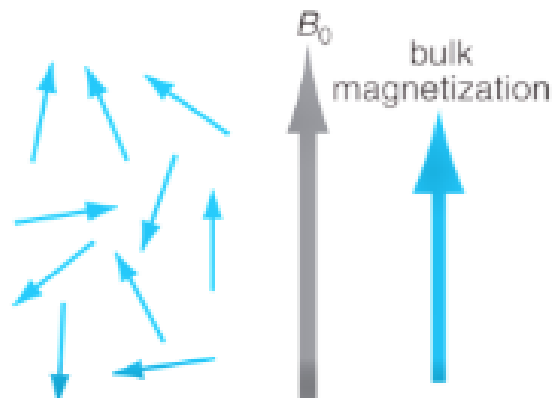
Ο υπέρηχος χρησιμοποιείται όλο και περισσότερο στην οργανική σύνθεση τα τελευταία χρόνια, έχει κερδίσει μεγάλη προσοχή, λόγω των «πράσινων» πτυχών αλλά και των σημαντικών πλεονεκτημάτων του. Αρχικά, η ακτινοβολία των υπερήχων έχει αναδειχθεί ως μια ισχυρή τεχνική υψηλής ενέργειας για την επιτάχυνση των οργανικών χημικών αντιδράσεων. Επίσης, ένας μεγάλος αριθμός αντιδράσεων μπορεί να πραγματοποιηθεί σε υψηλότερη απόδοση, μικρότερο χρόνο αντίδρασης και ήπιες συνθήκες υπό υπερηχητική ακτινοβολία. Ακόμη, οι εφαρμογές υπερήχων προσελκύουν όλο και περισσότερο ενδιαφέρον σε περιβαλλοντικούς τομείς, λόγω των πολλών πλεονεκτημάτων που προσφέρουν όπως: φιλικότητα προς το περιβάλλον αφού δεν χρησιμοποιούνται ή παράγονται τοξικές χημικές ουσίες και δυνατότητα να χρησιμοποιούνται επί τόπου. Επιπλέον, οι υπέρηχοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην αποκατάσταση του περιβάλλοντος με την καταστροφή ανόργανων ρύπων, μέσω θερμικής αποσύνθεσης (πυρόλυση) και το σχηματισμό οξειδωτικών ειδών, που ενισχύουν την ανοργανοποίηση των ρύπων.^[48,49]

8. Μέθοδοι ταυτοποίησης

8.1. Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)

Η φασματομετρία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (Nuclear Magnetic Resonance Spectrometry) είναι μια μορφή φασματομετρίας απορρόφησης, όπου το δείγμα που βρίσκεται σε ισχυρό μαγνητικό πεδίο απορρόφα ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία στην περιοχή των ραδιοκυμάτων (4 έως 900 MHz) και οι προσανατολισμένοι πυρήνες των ατόμων από την κατάσταση χαμηλότερης ενέργειας μεταβαίνουν στην κατάσταση υψηλότερης ενέργειας με αναστροφή του σπιν. Όταν πραγματοποιηθεί αυτή η αναστροφή, οι πυρήνες έχουν συντονισθεί με την εφαρμοζόμενη ακτινοβολία. Η μέθοδος NMR είναι συμπληρωματική των άλλων φασματομετρικών μεθόδων, όπως της φασματομετρίας μάζας και της φασματομετρίας υπέρυθρου για την ταυτοποίηση της δομής ακόμη και εξαιρετικά περίπλοκων μορίων. Επιπλέον, συμβάλλει στη στερεοχημική ταυτοποίηση των οργανικών ενώσεων παρέχοντας τη συγκεκριμένη στερεοχημική διάταξη του ανθρακικού σκελετού με τα υδρογόνα σε οργανικό μόριο, δεδομένου ότι οι πυρήνες που εξετάζονται ως επί το πλείστον στο NMR για την οργανική ανάλυση είναι το υδρογόνο (^1H) και ο άνθρακας (^{13}C).^[75]

Πολλά είδη πυρήνων συμπεριφέρονται σαν να περιστρέφονται γύρω από έναν άξονα και δεδομένου ότι είναι θετικά φορτισμένοι, λειτουργούν οι περιστρεφόμενοι πυρήνες ως μικροσκοπικοί μαγνήτες με τυχαίο προσανατολισμό. Παρουσία ενός ισχυρού εξωτερικού μαγνητικού πεδίου B_0 , οι πυρήνες αποκτούν συγκεκριμένους προσανατολισμούς ([Εικόνα 26](#)). Για έναν ορισμένο πυρήνα με κβαντικό αριθμό πυρηνικού spin I ($I = 0, 1/2, 1, 3/2, \dots, 9/2$) υπάρχουν $2I+1$ δυνατές στάθμες ή προσανατολισμοί μέσα στο μαγνητικό πεδίο. Για πυρήνες με κβαντικό αριθμό spin $I = 1/2$ (όπως οι πυρήνες του ^1H και του ^{13}C) μόνον δύο προσανατολισμοί με διαφορετική ενέργεια είναι πιθανοί: παράλληλος (μικρότερη ενέργεια) και αντιπαράλληλος (μεγαλύτερη ενέργεια) προς το εξωτερικό μαγνητικό πεδίο B_0 . Επίσης, πυρήνες όπου έχουν $I = 0$ είναι «αόρατοι» στη φασματοσκοπία NMR, καθώς μηδενικό spin συσχετίζεται πάντα με μηδενική μαγνητική ροπή. Αυτή η μαγνητική ροπή είναι που επιτρέπει τη χρήση NMR. Σχεδόν όλα τα ισότοπα που έχουν ζυγό αριθμό πρωτονίων και νετρονίων δεν έχουν μαγνητική ροπή και δεν μπορούν να μετρηθούν χρησιμοποιώντας NMR.^[75,76]



Εικόνα 26: Διάταξη πυρηνικών spin απουσία (αριστερά) και παρουσία εξωτερικού μαγνητικού πεδίου B_0 (δεξιά)

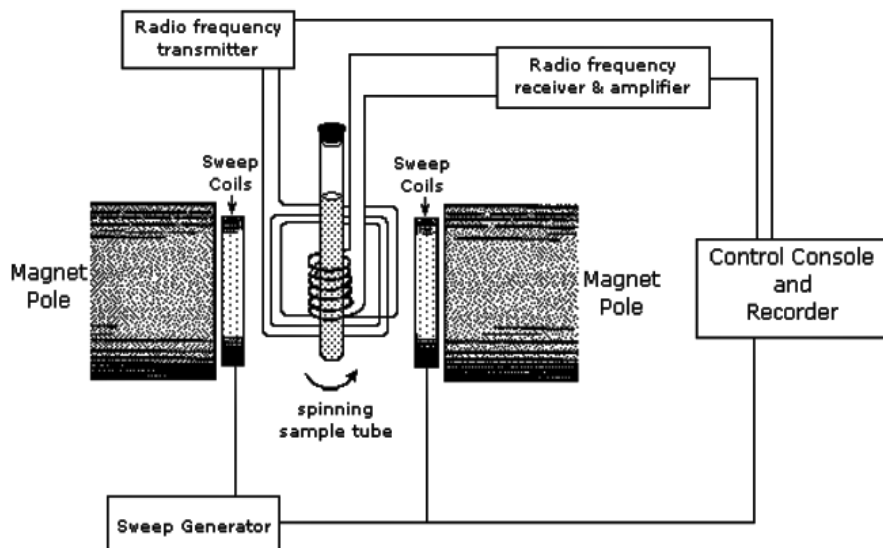
Το φαινόμενο αυτό της αναστροφής του spin πυρήνων με την εφαρμοζόμενη ακτινοβολία καλείται «συντονισμός» απ' όπου προκύπτει και η ονομασία «πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός». Η συχνότητα που απαιτείται για το συντονισμό εξαρτάται από την ισχύ του εξωτερικού μαγνητικού πεδίου και από το είδος του πυρήνα.

Οι συχνότητες συντονισμού των πυρήνων του ίδιου στοιχείου μέσα σ' ένα μόριο επηρεάζονται με χαρακτηριστικό τρόπο από το χημικό τους περιβάλλον δηλαδή από την ηλεκτρονιακή πυκνότητα που τα περιβάλλει και το είδος των ατόμων με τα οποία συνδέονται. Οι πυρήνες προστατεύονται από την επίδραση του εξωτερικού πεδίου και από τα ηλεκτρόνια που τους περιβάλλουν, με αποτέλεσμα η

πραγματική ένταση του μαγνητικού πεδίου του πυρήνα να είναι λίγο μικρότερη από την ισχύ του εξωτερικού μαγνητικού πεδίου. Δεδομένου ότι η ηλεκτρονιακή κατανομή γύρω από κάθε συγκεκριμένο πυρήνα σ' ένα μόριο είναι διαφορετική, ο κάθε πυρήνας προστατεύεται σε διαφορετικό βαθμό.^[75,77]

Σ' ένα φάσμα NMR παρουσιάζεται θεωρητικά η μεταβολή της απορρόφησης ως προς τη μεταβολή του εξωτερικού μαγνητικού πεδίου ή της συχνότητας συντονισμού. Η θέση των κορυφών συντονισμού αναφέρονται σε σχετικά μεγέθη ως προς τη θέση της κορυφής μιας εσωτερικής πρότυπης ουσίας, που μετριέται και αυτή κατά τη διάρκεια του πειράματος, έτσι ώστε οι μετρήσεις που λαμβάνονται να είναι ανεξάρτητες από το όργανο. Ως ουσία αναφοράς (εσωτερικό πρότυπο) χρησιμοποιείται το τετραμεθυλοσιλάνιο TMS ($\text{Si}(\text{CH}_3)_4$), δεδομένου ότι όλα τα πρωτόνια του (12) και τα άτομα άνθρακα (4) είναι χημικά ισοδύναμα και επομένως παρατηρείται μια μοναδική κορυφή στο φάσμα ^1H NMR και ^{13}C NMR αντίστοιχα, η οποία θεωρείται ως το μηδέν της κλίμακας δ. Οι χημικές μετατοπίσεις εκφράζονται σε ppm (μέρη στο εκατομμύριο) και είναι ανεξάρτητες από το μαγνητικό πεδίο ή τη συχνότητα λειτουργίας του οργάνου που χρησιμοποιείται. Επίσης, η ισχύς του εφαρμοζόμενου πεδίου αυξάνεται από αριστερά προς τα δεξιά. Το αριστερό τμήμα του φάσματος είναι η πλευρά χαμηλού πεδίου (downfield), όπου εμφανίζονται κορυφές οι αποπροστατευμένοι πυρήνες, ενώ το δεξιό τμήμα αντιπροσωπεύει την πλευρά υψηλού πεδίου (upfield), όπου εμφανίζονται κορυφές των προστατευμένων πυρήνων. Γενικά η θωράκιση ενός πυρήνα μειώνεται όταν αυξάνει η ηλεκτροαρνητικότητα των γειτονικών ομάδων.

Υπάρχουν δύο τύποι οργάνων NMR, συνεχούς κύματος (continuous wave, CW) και τα παλμικά ή φασματομέτρα μετασχηματισμού Fourier (FT-NMR). Στα φασματομέτρα CW η συχνότητα της πηγής ή το εξωτερικό εφαρμοζόμενο πεδίο σαρώνει αργά καταγράφοντας τα αντίστοιχα σήματα απορρόφησης, ενώ στα παλμικά φασματομέτρα, το δείγμα ακτινοβολείται κάθετα προς το μαγνητικό πεδίο με περιοδικούς παλμούς ραδιοσυχνότητας, προκαλώντας ένα αποσβενόμενο σήμα στο χρονικό διάστημα μεταξύ των παλμών. Με μετασχηματισμό Fourier προκύπτει φάσμα NMR όμοιο με αυτό που λαμβάνεται από τα όργανα συνεχούς κύματος (ένταση ως προς συχνότητα). Τα κυριότερα τμήματα ενός φασματομέτρου NMR είναι: γεννήτρια ραδιοσυχνότητας (RF), προενισχυτής, μαγνήτης, αισθητήρας, ανιχνευτής, ενισχυτής και καταγραφείας ([Εικόνα 27](#)).



Εικόνα 27: Διάγραμμα φασματόμετρου NMR

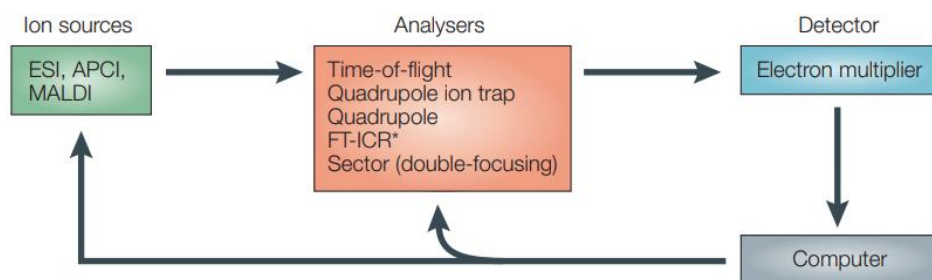
Η φασματοσκοπία NMR λειτουργεί μεταβάλλοντας τη συχνότητα που εκπέμπει το μηχάνημα σε ένα μικρό εύρος ενώ το δείγμα βρίσκεται μέσα σε ένα σταθερό μαγνητικό πεδίο. Οι μαγνήτες που χρησιμοποιούνται στις περισσότερες μηχανές NMR για τη δημιουργία του μαγνητικού πεδίου κυμαίνονται από 6 έως 24 T. Το δείγμα τοποθετείται εντός του μαγνήτη και περιβάλλεται από υπεραγωγία πηνία, και στη συνέχεια υπόκειται σε μια συχνότητα από τη πηγή ραδιοκυμάτων. Στη συνέχεια, ένας ανιχνευτής ερμηνεύει τα αποτελέσματα και τα στέλνει στην κύρια κονσόλα.^[75,76,78]

8.2. Φασματομετρία Μάζας (MS)

Η φασματομετρία μάζας (Mass Spectrometry) είναι μια μέθοδος που περιλαμβάνει την παραγωγή ιόντων (κυρίως θετικών) σε αέρια φάση από τα μόρια ενός δείγματος, στη συνέχεια το διαχωρισμό τους σύμφωνα με τον λόγο της μάζας m προς το φορτίο τους z (m/z) και τέλος την ανίχνευση των ιόντων αυτών. Από τη μέτρηση της μάζας του ιονιζόμενου μορίου προκύπτει το μοριακό βάρος και από τα διάφορα θραύσματα του μορίου που ταυτοποιούνται, προκύπτουν βασικά συμπεράσματα ως προς τη δομή της ένωσης που αναλύεται. Η μέθοδος αυτή διαφέρει από τις φασματομετρικές μεθόδους διότι δεν μετρούνται οι ενεργειακές διαφορές που απαιτούνται για τις μεταπτώσεις μεταξύ των ενεργειακών στιβάδων

των μορίων, άλλα οι χημικές αντιδράσεις διάσπασης των παραγόμενων μοριακών ιόντων. Σε συνδυασμό με τις μεθόδους της φασματοσκοπίας υπερύθρου και της φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού, η φασματομετρία μάζας έγινε απαραίτητη για τον προσδιορισμό της δομής οργανικών ενώσεων.^[75,86,87]

Τα φασματομέτρα μάζας αποτελούνται από τα εξής τμήματα, τα οποία περιβάλλονται από ένα σύστημα υψηλού κενού: σύστημα εισαγωγής δείγματος, πηγή ιονισμού για την παραγωγή ιόντων από τα μόρια του δείγματος, αναλυτής μαζών για το διαχωρισμό των ιόντων σύμφωνα με το λόγο μάζας/φορτίου, ανιχνευτής για την καταγραφή της θέσης και έντασης των ιόντων, επεξεργαστής του ηλεκτρικού σήματος του ανιχνευτή, αποθήκευση στην μνήμη υπολογιστή και καταγραφή φασμάτων ([Εικόνα 28](#)). Το σύστημα του υψηλού κενού είναι απαραίτητο για την αποφυγή της αλληλεπίδρασης των φορτισμένων σωματιδίων, με τα αέρια της ατμόσφαιρας με συνέπεια την εκφόρτωση τους.^[75,77,92]



Εικόνα 28: Βασικά μέρη ενός τυπικού φασματομέτρου μάζας

9. Χρωματογραφικές Τεχνικές Ανάλυσης

Η χρωματογραφία είναι ουσιαστικά μια μέθοδος διαχωρισμού, η οποία χρησιμοποιείται επίσης για την ανάλυση και την ταυτοποίηση των συστατικών ενός δείγματος. Ο διαχωρισμός στηρίζεται στη διαφορετική κατανομή των συστατικών του μίγματος σ' ένα σύστημα κινητής και ακίνητης φάσης, αποτέλεσμα αυτού είναι άλλα συστατικά του δείγματος να κατακρατούνται περισσότερο και άλλα λιγότερο χρόνο στο χρωματογραφικό σύστημα. Η πρώτη μορφή χρωματογραφίας εισήχθη από τον Ρώσο βοτανολόγο Tswett το 1906 και ήταν μια μορφή υγρής χρωματογραφίας σε στήλη, χρησιμοποιώντας ως υλικό πλήρωσης (ακίνητη φάση) ανθρακικό ασβέστιο σε μορφή σκόνης και στην κορυφή της στήλης πρόσθετε πετρελαϊκό αιθέρα (κινητή φάση). Το δείγμα των χρωστικών, του οποίου το διαχωρισμό μελέτησε, δημιουργούσε κατά την έκλυση του έγχρωμες ζώνες

κατά μήκος της στήλης και αυτός είναι ο λόγος που η μέθοδος ονομάστηκε χρωματογραφία.^[78,88]

Οι χρωματογραφικές τεχνικές μπορούν να ταξινομηθούν με βάση το μηχανισμό διαχωρισμού:

- Στη χρωματογραφία προσρόφησης (adsorption chromatography), η οποία βασίζεται στη διαφορετική προσρόφηση των συστατικών του δείγματος στην επιφάνεια της ακίνητης φάσης.
- Στη χρωματογραφία κατανομής (partition or absorption chromatography), η οποία στηρίζεται στη διαφορετική κατανομή των συστατικών του δείγματος μεταξύ της κινητής και στατικής φάσης.
- Στη χρωματογραφία ιόντων (ion chromatography), όπου τα ιόντα του δείγματος εναλλάσσονται με τα ιόντα της στατικής φάσης και
- Στη χρωματογραφία μοριακού αποκλεισμού (molecular exclusion chromatography), όπου τα μόρια του δείγματος διαχωρίζονται με βάση το μέγεθος τους, με τα μεγάλα μόρια να εξέρχονται πρώτα. Αντίθετα, τα μικρά μόρια «περιπλανώνται» στους πόρους του πληρωτικού υλικού και συγκρατούνται περισσότερο χρόνο στην στήλη.^[78,89,90,91]

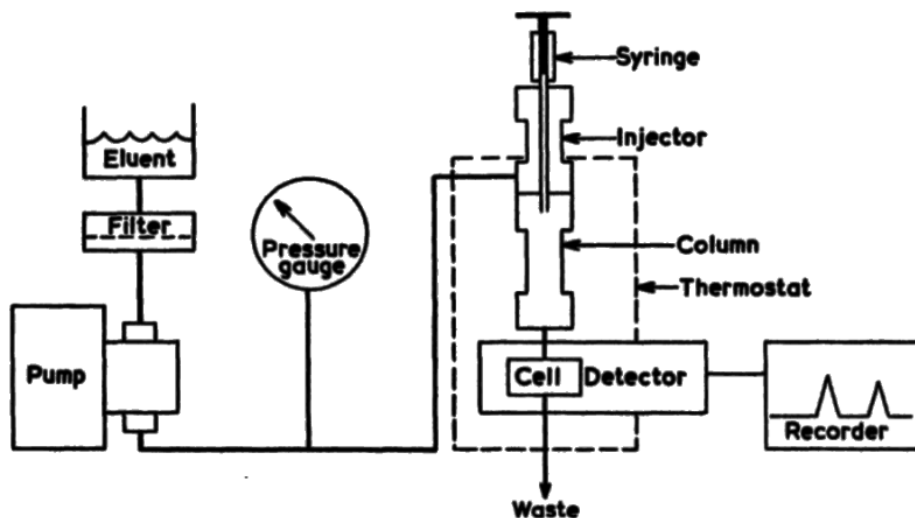
9.1. Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC)

Η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography - HPLC) είναι μια αναλυτική τεχνική που χρησιμοποιείται στην χημεία και σε άλλους επιστημονικούς τομείς για την ανάλυση και ταξινόμηση των διαφόρων στοιχείων ενός δείγματος. Οι χρωματογραφικές στήλες της HPLC είναι ευθύγραμμες, συνήθως με μήκος 3 - 25 cm και εσωτερική διάμετρο 0,5 - 5 mm. Για την πλήρωση της στήλης, χρησιμοποιούνται συνήθως μικροπορώδη σωματίδια πηκτής διοξειδίου του πυριτίου (silica gel), διαμέτρου 2 - 10 μm, το υλικό αυτό έχει μεγάλη πολικότητα και αποτελεί τη βάση για τη υγρή χρωματογραφία προσρόφησης. Αν η στατική φάση είναι περισσότερο πολική, σε σχέση με την κινητή φάση, τότε η HPLC χαρακτηρίζεται ως κανονικής φάσης (normal phase). Αν η στατική φάση είναι λιγότερο πολική σε σχέση με την κινητή φάση, τότε η HPLC χαρακτηρίζεται ως αντίστροφης φάσης (reversed phase).^[89]

Η υγρή κινούμενη φάση διέρχεται τη χρωματογραφική στήλη μέσω αντλίας. Η σύσταση της κινητής φάσης είτε διατηρείται σταθερή (ισοκρατική έκλυση), είτε μεταβάλλεται με καθορισμένο πρόγραμμα, με τη χρήση δύο ή περισσότερων διαλυτών (βαθμιδωτή έκλυση). Οι περισσότεροι χρησιμοποιούμενοι διαλύτες στην

HPLC είναι: το εξάνιο, το τολουόλιο, το τριχλωρομεθάνιο, το διχλωρομεθάνιο, ο αιθέρας, ο οξικός αιθυλεστέρας, το ακετονιτρίλιο, η μεθανόλη και το νερό.

Ένας από τους σημαντικότερους ανιχνευτές της HPLC είναι ο ανιχνευτής υπεριώδους - ορατού (UV-VIS Detector). Υπάρχουν δύο τύποι ανιχνευτών: οι ανιχνευτές σταθερού μήκους κύματος που είναι οικονομικοί και οι μεταβαλλόμενου μήκους κύματος, που είναι ουσιαστικά πλήρης φασματόμετρα απορρόφησης στην υπεριώδη - ορατή περιοχή. Οι ανιχνευτές αυτού του τύπου έχουν σχετικά μεγάλη ευαισθησία και μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην βαθμιδωτή έκλυση. Ωστόσο, δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν, όταν ο διαλύτης έκλυσης (κινητή φάση) απορροφά ισχυρά στην περιοχή του UV-VIS ή όταν οι ουσίες που προσδιορίζονται δεν απορροφούν στην περιοχή αυτή. Ακόμη, ο ανιχνευτής δείκτης διάθλασης (Refractive Index, RI) είναι σημαντικός για την HPLC αφού η βασική λειτουργία του είναι η μέτρηση της διαφοράς του δείκτη διάθλασης, μεταξύ της καθαρής κινητής φάσης και αυτής που περιέχει την ουσία που αναλύεται. Ο ανιχνευτής αυτός είναι γενικής χρήσεως, με σχετικά όμως μικρή ευαισθησία και αδυναμία να χρησιμοποιηθεί στη βαθμιδωτή έκλυση.^[90,91]



Εικόνα 29: Διαγραμματική απεικόνιση υγρού χρωματογράφου υψηλής απόδοσης

Σε διάφορους τομείς εφαρμόζεται η τεχνική HPLC όπως: στη φαρμακευτική βιομηχανία για τον έλεγχο ποιότητας των φαρμάκων, καθώς και για την ανάλυση και απομόνωση των διαφόρων συστατικών τους. Επίσης, στην ποιότητα τροφίμων, όπως στον έλεγχο του περιεχομένου των βιταμινών και των αντιοξειδωτικών. Ακόμη, η HPLC χρησιμοποιείται στην πετρελαϊκή βιομηχανία, για τον έλεγχο της ποιότητας του πετρελαίου και των παραγώγων του, καθώς και για την ανάλυση των περιεχομένων αρωματικών υδρογονανθράκων.^[78,88]

Μερικά από τα πλεονεκτήματα της τεχνικής HPLC είναι:

- η υψηλή ευαισθησία, αφού μπορεί να ανιχνεύσει μικρές ποσότητες των στοιχείων που εξετάζονται, με αυτήν να εξαρτάται από τον τύπο του αναλυτή και του ανιχνευτή που χρησιμοποιείται.
- η χωρητικότητα ανάλυσης, η οποία επιτρέπει στον χρήστη να αναλύσει ένα ευρύ φάσμα στοιχείων, με διαφορετικούς τύπους και χαρακτηριστικά, σε μια ενιαία ανάλυση.
- η υψηλή αναπαραγωγιμότητα. Η τεχνική αυτή είναι αξιόπιστη και επαναληπτική, επιτρέποντας στον χρήστη να αναπαραγάγει τα αποτελέσματα της ανάλυσης πολλές φορές με ακρίβεια.^[78,89]

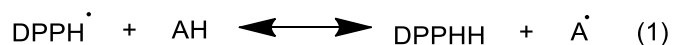
Μερικοί περιορισμοί για την τεχνική HPLC είναι το υψηλό κόστος εξοπλισμού, καθώς η εξοπλιστική υποδομή που απαιτείται για την HPLC είναι σχετικά ακριβή και πολλοί επιστήμονες μπορεί να μην έχουν τα απαραίτητα κεφάλαια για την αγορά και τη συντήρηση του απαραίτητου εξοπλισμού. Επίσης, απαιτείται εξειδικευμένη γνώση και εμπειρία στον τομέα της χημείας και της αναλυτικής χημείας, πράγμα που μπορεί να καθιστά δυσκολότερη την χρήση της τεχνικής αυτής από ερευνητές και αναλυτές χωρίς τις κατάλληλες γνώσεις ενώ πολλές φορές απαιτείται υψηλός χρόνος ανάλυσης για να ολοκληρωθεί η ανάλυση ενός δείγματος.^[91,93]

10. Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης

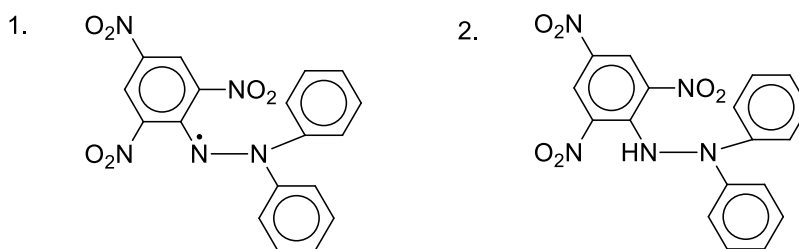
10.1. Μέθοδος DPPH

Οι ελεύθερες ρίζες παίζουν σημαντικό ρόλο στην οξειδωτική βλάβη των βιολογικών συστημάτων. Επομένως, κατά την εκτίμηση των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων καθαρών ενώσεων ή εκχυλισμάτων μετράται η ικανότητά τους να παγιδεύουν ελεύθερες ρίζες. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται μέθοδοι που βασίζονται στη μέτρηση της δραστηριότητας δέσμευσης ριζών μιας ένωσης έναντι ελεύθερων ριζών όπως την ρίζα 2,2'-διφαινυλ-1-πικρυλυδραζυλίου (DPPH·), μία από τις πιο δημοφιλείς μεθόδους που ονομάζεται μέθοδος DPPH. Με σκοπό τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης χρησιμοποιείται μια σταθερή ελεύθερη ρίζα α, α-διφαινυλ-β-πικρυλυδραζύλιο. Το περιττό ηλεκτρόνιο του ατόμου αζώτου στο DPPH μειώνεται λαμβάνοντας ένα άτομο υδρογόνου από αντιοξειδωτικά στην αντίστοιχη υδραζίνη.^[96]

Σε μορφή σκόνης, η ελεύθερη ρίζα DPPH· είναι σταθερή με κόκκινο χρώμα, ενώ όταν διαλύεται σε αιθανόλη έχει βαθύ ιώδες χρώμα. Κατά την ανάμειξη του διαλύματος DPPH με μια ουσία που μπορεί να δώσει ένα άτομο υδρογόνου, δημιουργείται η ανηγμένη μορφή με την απώλεια του ιώδους χρώματος σε κίτρινο χρώμα. Ο βαθμός αποχρωματισμού υποδηλώνει και την ισχύ της αντιοξειδωτικής ικανότητας της ένωσης που μελετάται, όσον αφορά την ικανότητά της να παρέχει υδρογόνα και να απενεργοποιεί τις ελεύθερες ρίζες. Επίσης, εξαιτίας αυτής της χρωματικής μεταβολής, γίνεται χρήση του φασματοφωτομέτρου, προκειμένου να μετρηθεί η αντιοξειδωτική δράση. Η αντίδραση που λαμβάνει χώρα μεταξύ των ελευθέρων ριζών DPPH· και το μόριο δότη AH είναι:



Όπου DPPHH είναι η ανηγμένη μορφή και A· είναι η ελεύθερη ρίζα που παράγεται στο πρώτο βήμα. Η τελευταία ρίζα θα υποβληθεί στη συνέχεια σε περαιτέρω αντιδράσεις που ελέγχουν τη συνολική στοιχειομετρία. Η αντίδραση επομένως παρέχει τη σύνδεση με τις αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα σε ένα οξειδωτικό σύστημα, όπως η αυτοοξείδωση ενός λιπιδίου ή άλλης ακόρεστης ουσίας. Το μόριο DPPH· έτσι προορίζεται να αντιπροσωπεύει τις ελεύθερες ρίζες που σχηματίζονται στο σύστημα των οποίων η δραστηριότητα πρόκειται να κατασταλεί από την ουσία AH. Η αναστρεψιμότητα της αντίδρασης αξιολογείται με προσθήκη DPPHH στο τέλος της αντίδρασης. Εάν υπάρχει αύξηση του ποσοστού της υπολειπόμενης DPPH· τότε η αντίδραση είναι αναστρέψιμη, διαφορετικά είναι πλήρης αντίδραση.^[94,95,97]



Εικόνα 30: (1) η ρίζα DPPH και (2) η σταθερή της μορφή

Ενώ η ρίζα DPPH μπορεί να δεχθεί ένα ηλεκτρόνιο ή μια ρίζα υδρογόνου για να γίνει ένα σταθερό, διαμαγνητικό μόριο, μπορεί να οξειδωθεί μόνο με δυσκολία

και στη συνέχεια μη αναστρέψιμα. Η μέθοδος DPPH θεωρείται μια έγκυρη, ακριβής, εύκολη και οικονομική μέθοδος για την αξιολόγηση της δράσης δέσμευσης ριζών των αντιοξειδωτικών, καθώς η ριζική ένωση είναι σταθερή και δεν χρειάζεται να δημιουργηθεί.^[98,99]

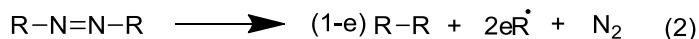
Συνήθως, χρησιμοποιούνται ως πρότυπα αντιοξειδωτικά κάποιες ενώσεις (π.χ. Trolox, ασκορβικό οξύ) για τον υπολογισμό της σχετικής δραστηριότητας των μορίων. Γενικά, τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ποσοστό δέσμευσης των ριζών (% Radical Scavenging Activity), όπου:

$$\%RSA = \frac{Abs_{t=0} - Abs_t}{Abs_{t=0}} * 100 \quad (5)$$

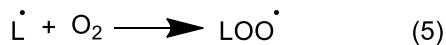
Ή μέσω της αντιοξειδωτικής συγκέντρωσης, που προκαλεί μείωση της αρχικής συγκέντρωσης ελευθέρων ριζών κατά 50% (EC₅₀). Η μέθοδος %RSA προτιμάται, έναντι της EC₅₀, καθώς είναι πιο γρήγορη και δεν απαιτεί δεδομένα κινητικών της αντίδρασης.^[97,99]

10.2. Μέθοδος AAPH

Μια άλλη μέθοδος για αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης είναι η μέθοδος αναστολής της λιπιδικής υπεροξειδωσης του λινολεϊκού οξέος μέσω του εκκινητή ελευθέρων ριζών AAPH (2,2'-αζωδις(2-αμιδινοπροπάνιο) διυδροχλωρίδιο). Οι αζωενώσεις αυτές δημιουργούν ελεύθερες ρίζες μέσω αυθόρμητης θερμικής αποσύνθεσης, σε φυσιολογικές συνθήκες (37°C, pH = 7,4). Ειδικότερα, η οξειδωσιμότητα του λινολεϊκού οξέος, που προκαλείται από τα υδρόφιλα AAPH στα 234nm, είναι μια γρήγορη και αξιόπιστη μέθοδος μέτρησης αντιοξειδωτικής δράσης, στηριζόμενη στην ικανότητα των ενώσεων που μελετώνται να παρεμποδίζουν αυτή την οξείδωση. Αρχικά, παρακολουθείται ο σχηματισμός των υπεροξειδίων διενίων από το AAPH:



Οι παραγόμενες ρίζες R[·] αντιδρούν αμέσως με το οξυγόνο (αντίδραση 3) και προκαλούν την οξείδωση των λιπιδίων (αντιδράσεις 4-6).



Οπού το LH λινολεϊκό οξύ, L· μια λινελαϊκή ρίζα, LOO· μια λινελαϊκή υπεροξυ ρίζα και e η αποτελεσματικότητα της παραγωγής ελευθέρων ριζών.^[100,101,102,103]

Πρωτογενή αντιοξειδωτικά (AOH) που δρουν ως δότες υδρογόνου σταθεροποιούν τις ελεύθερες ρίζες και καθυστερούν την οξείδωση των λιπιδίων (αντιδράσεις 7,8):



ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Όργανα και συσκευασίες

Ο εξοπλισμός, τα όργανα και οι συσκευές, που χρησιμοποιήθηκαν κατά την πραγματοποίηση των αντιδράσεων και τον έλεγχο της πορείας τους, την επεξεργασία των τελικών προϊόντων, τον έλεγχο της καθαρότητας τους, καθώς και τη μελέτη των ιδιοτήτων τους, παρουσιάζονται στην παρούσα παράγραφο.

Μέσω χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (Thin Layer Chromatography, TLC) σε πλάκες αλουμινίου, που ήταν επιστρωμένες με Silica gel F254 της εταιρίας Merck, παρακολούθησε η παρακολούθηση της πορείας των συνθέσεων, καθώς και ο έλεγχος της καθαρότητας των εκάστοτε προϊόντων, χρησιμοποιώντας διάφορες αναλογίες συστημάτων διαλυτών PE/EtOAc (πετρελαϊκός αιθέρας/οξικός αιθυλεστέρας) και DCM/MeOH (διχλωρομεθάνιο/μεθανόλη). Οι κηλίδες (spots) των χρωματογραφημάτων TLC παρατηρήθηκαν, τόσο στο ορατό φως, όσο και υπό το φωτισμό λάμπας υπεριώδους (UV) ακτινοβολίας στα 254nm, καθώς και με εμποτισμό σε διάλυμα φωσφομολυβδανικού οξέος (PMA) αναλογίας 1:2 (αιθανολικό διάλυμα PMA 7% : EtOH).

Για τις αντιδράσεις που πραγματοποιήθηκαν μέσω μικροκυματικής ακτινοβολίας, χρησιμοποιήθηκε η συσκευή "Milestone Start SYNTH – Microwave Synthesis Labstation" του εργαστηρίου Οργανικής Χημείας.

Για τις αντιδράσεις που πραγματοποιήθηκαν με τη βοήθεια υπερήχων, χρησιμοποιήθηκε η συσκευή υπερήχων probe (άμεσης ακτινοβόλησης) "Vibra – Cell VCX 750" (κατασκευαστής Sonics and Materials Inc) του εργαστηρίου Οργανικής Χημείας.

Ο χαρακτηρισμός των συντιθεμένων μορίων και ο έλεγχος της καθαρότητας τους πραγματοποιήθηκαν μέσω φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού ^1H NMR και ^{13}C NMR. Τα φάσματα ^1H (πρωτονίου) και ^{13}C (άνθρακα) καταγράφηκαν με τα όργανα Varian Gemini 300 MHz και 600MHz του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών. Ως διαλύτες χρησιμοποιήθηκαν το δευτεριωμένο διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO, d_6) και το δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3 , d_1). Οι τιμές των χημικών μετατοπίσεων δίνονται σε ppm, ενώ οι τιμές των σταθερών συζεύξεων (J) σε Hz. Οι πολλαπλότητες των σημάτων στα φάσματα ^1H NMR περιγράφονται ως εξής:

- **s** (singlet, απλό)
- **d** (doublet, διπλό)
- **t** (triplet, τριπλό)
- **q** (quartet, τετραπλό)
- **m** (multiplet, πολλαπλό)
- **dd** (doublet of doublets, διπλό διπλών)
- **brs** (broad singlet, ευρύ απλό)

Τα φάσματα υπερύθρου FTIR καταγράφηκαν με χρήση του φασματομέτρου JASCO FT/IR – 4200 (Easton, MD, USA) σε εύρος $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$.

Ο περιστροφικός εξατμιστήρας που χρησιμοποιήθηκε (κατασκευαστής BÜCHI SWITZERLAND) περιλάμβανε τον περιστρεφόμενο ψυκτήρα "Rotavapor R – 114", το υδατόλουτρο "Waterbath B – 480", καθώς και την αντλία και το σύστημα ελέγχου "Vacuum Pump V – 710".

Ο αναλυτικός ζυγός που χρησιμοποιήθηκε είχε ακρίβεια τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων (μοντέλο "KERN ADJ" της TechnoLab), ενώ ο ζυγός ακριβείας (mg) είχε ακρίβεια τριών δεκαδικών ψηφίων ("PRO 11" Sartorius).

Τέλος, η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης, Shimadzu LC-2030C 3D HPLC, που χρησιμοποιήθηκε περιλάμβανε στήλη με πληρωτικό υλικό C18 στο πυρίτιο, αντλία, φούρνο (LC) και UV ακτινοβολία (PDA).

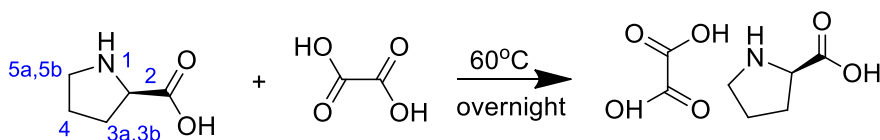
2. Συνθετική πορεία

2.1. Γενική μέθοδος σύνθεσης NaDESs

Για την παρασκευή των βαθέως ευτηκτικών διαλυτών, αρχικά επιλέχθηκαν οι χημικές ουσίες που θα χρησιμοποιούνταν ως HBD και HBA και αφού υπολογίστηκαν οι απαιτούμενες ποσότητες, ώστε να επιτευχθεί η επιθυμητή αναλογία τους στο τελικό μίγμα, ζυγίστηκαν ή/και ογκομετρήθηκαν με τη βοήθεια αναλυτικού ζυγού/πιπέτας και μεταφέρθηκαν σε προζυγισμένη ογκομετρική φιάλη. Έπειτα, η φιάλη τοποθετήθηκε σε ελαιόλουτρο στους 60°C υπό συνεχή ανάδευση με μαγνητάκι, έως ότου επιτευχθεί η δημιουργία του ευτηκτικού μίγματος. Ο τελικός διαλύτης ήταν διαυγής και παραλήφθηκε χωρίς κάποια επεξεργασία, ώστε να χρησιμοποιηθεί απευθείας στις αντιδράσεις σύνθεσης.

2.1.1. Σύνθεση του NaDES Προλίνη – Οξαλικό Οξύ

Για τη σύνθεση του NaDES προλίνη – οξαλικό οξύ (Pro:Ox) ([Εικόνα 31](#)) ακολουθήθηκε η γενική μέθοδος σύνθεσης NaDESs, που περιγράφεται παραπάνω ([Παράγραφος 2.1](#)), με την προλίνη να δρα ως HBA και το οξαλικό οξύ ως HBD. Τα δύο συστατικά του διαλύτη αναμίχθηκαν σε γραμμομοριακή αναλογία 1:1, ενώ οι απαιτούμενες ποσότητες φαίνονται στον [Πίνακα 4](#):



Εικόνα 31: Αντίδραση σχηματισμού NaDES προλίνη – οξαλικό οξύ αναλογίας 1:1

Πίνακας 4: Οι απαιτούμενες ποσότητες αντιδραστηρίων, όπως υπολογίστηκαν, για τη σύνθεση του NaDES προλίνη – οξαλικό οξύ 1:1

| | Προλίνη | Οξαλικό οξύ |
|------------------------|---------|-------------|
| Γραμμομοριακή Αναλογία | 1 eq | 1 eq |
| MW [g/mol] | 115.13 | 90.03 |
| Ποσότητα [g] | 2.00 | 1.56 |

| | | |
|------|-------|-------|
| mmol | 17.37 | 17.37 |
|------|-------|-------|

Αποτίμηση φάσματος $^1\text{H NMR}$

$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, DMSO, d₆) δ (ppm) 6.690 (brs, 3H, 2× -OH, NH), 4.065 (t, J=7.8 Hz, 1H, H-2), 3.233 – 3.191 (m, 1H, H-5a), 3.158 – 3.104 (m, 1H, H-5b), 2.202 – 2.143 (m, 1H, H-3a), 1.955 – 1.889 (m, 1H, H-3b), 1.876 – 1.769 (m, 2H, H-4)

Αποτίμηση φάσματος $^{13}\text{C NMR}$

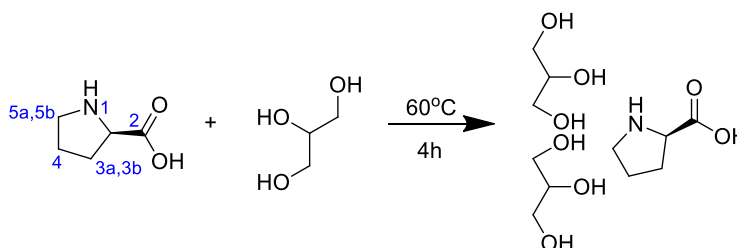
$^{13}\text{C NMR}$ (600 MHz, DMSO, d₆) δ (ppm) 171.025, 164.349, 59.562, 45.254, 28.563, 23.548

Αποτίμηση φάσματος FTIR

IR ν_{max} 3544 (O-H stretching), 2991 (C-H stretching), 1737 (C=O stretching), 1625 (N-H bending), 1373 (C-H bending), 1228 (C-O stretching, C-N stretching) cm^{-1}

2.1.2. Σύνθεση του NaDES Προλίνη – Γλυκερόλη

Για τη σύνθεση του NaDES προλίνη – γλυκερόλη (Pro:Gly) ([Εικόνα 32](#)) ακολουθήθηκε η γενική μέθοδος σύνθεσης NaDESs, που περιγράφεται παραπάνω ([Παράγραφος 2.1](#)), με την προλίνη να δρα ως HBA και τη γλυκερόλη ως HBD. Τα δύο συστατικά του διαλύτη αναμίχθηκαν σε γραμμομοριακή αναλογία 1:2, ενώ οι απαιτούμενες ποσότητες φαίνονται στον [Πίνακα 5](#):



Εικόνα 32: Αντίδραση σχηματισμού NaDES προλίνη – γλυκερόλη αναλογίας 1:2

Πίνακας 5: Οι απαιτούμενες ποσότητες αντιδραστήριων, όπως υπολογίστηκαν, για τη σύνθεση του NaDES προλίνη – γλυκερόλη 1:2

| | Προλίνη | Γλυκερόλη |
|------------------------|---------|-----------|
| Γραμμομοριακή Αναλογία | 1 eq | 2 eq |
| MW [g/mol] | 115.13 | 92.10 |
| Ποσότητα [g] | 2.00 | 3.20 |
| mmol | 17.37 | 34.74 |

Αποτίμηση φάσματος $^1\text{H NMR}$

$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, DMSO, d_6) δ (ppm) 4.519 (brs, 5H, 4 \times -OH, NH), 3.693 (t, $J=8.4$ Hz, 1H, H-2), 3.425 – 3.398 (m, 2H, 2 \times -CH₂-CH(-OH)-CH₂-), 3.368 – 3.341 (m, 4H, 2 \times -CH₂-OH), 3.291 – 3.263 (m, 4H, 2 \times -CH₂-OH), 3.217 – 3.176 (m, 1H, H-5a), 3.051 – 3.007 (m, 1H, H-5b), 2.062 – 2.002 (m, 1H, H-3a), 1.937 – 1.884 (m, 1H, H-3b), 1.815 – 1.750 (m, 1H, H-4a), 1.731 – 1.660 (m, 1H, H-4b)

Αποτίμηση φάσματος $^{13}\text{C NMR}$

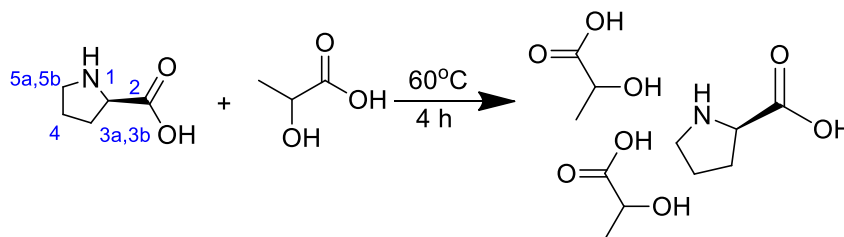
$^{13}\text{C NMR}$ (600 MHz, DMSO, d_6) δ (ppm) 170.219, 72.577, 63.116, 60.672, 45.221, 29.009, 23.914

Αποτίμηση φάσματος FTIR

IR ν_{max} 3338 (O-H stretching, N-H stretching), 3012 (C-H stretching), 2969 (C-H stretching), 1737 (C=O stretching), 1621 (N-H bending), 1365 (C-H bending), 1216 (C-O stretching, C-N stretching), 1043 (C-O stretching, C-N stretching) cm^{-1}

2.1.3. Σύνθεση του NaDES Προλίνη – Γαλακτικό οξύ – Νερό

Για τη σύνθεση του NaDES προλίνη – γαλακτικό οξύ - νερό (Pro:La:W) ([Εικόνα 33](#)) ακολουθήθηκε η γενική μέθοδος σύνθεσης NaDESs, που περιγράφεται παραπάνω ([Παράγραφος 2.1](#)), με την προλίνη να δρα ως HBA και το γαλακτικό οξύ ως HBD. Τα δύο συστατικά του διαλύτη αναμίχθηκαν σε γραμμομοριακή αναλογία 1:2, με το νερό να προέρχεται από το υδατικό διάλυμα γαλακτικού οξέος που χρησιμοποιήθηκε (περιεκτικότητας 80% w/w), ενώ οι απαιτούμενες ποσότητες φαίνονται στον [Πίνακα 6](#):



[Εικόνα 33](#): Αντίδραση σχηματισμού NaDES προλίνη – γαλακτικό οξύ - νερό αναλογίας 1:2:2.5

Πίνακας 6: Οι απαιτούμενες ποσότητες αντιδραστηρίων, όπως υπολογίστηκαν, για τη σύνθεση του NaDES προλίνη – γαλακτικό οξύ - νερό 1:2:2.5

| | Προλίνη | Γαλακτικό Οξύ |
|------------------------|----------------|----------------------|
| Γραμμομοριακή αναλογία | 1 eq | 2 eq |
| MW [g/mol] | 115.13 | 90.08 |
| Ποσότητα [g] | 2.00 | 3.13* |
| mmol | 17.37 | 34.74 |

*Χρησιμοποιήθηκε υδατικό διάλυμα γαλακτικού οξέος περιεκτικότητας 80% w/w και πυκνότητα $d=1.209$ g/ml. Επομένως, η απαιτούμενη μάζα υπολογίστηκε 2.59 ml.

Αποτίμηση φάσματος $^1\text{H NMR}$

$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, DMSO, d_6) δ (ppm) 6.196 (brs, 6H, 5× -OH, -NH), 4.027 (q, $J=6.6$ Hz, 2H, CH₃-CH-), 3.844 (t, $J=6.6$ Hz, 1H, H-2), 3.220 – 3.179 (m, 1H, H-5a), 3.094 – 3.051 (m, 1H, H-5b), 2.117 – 2.057 (m, 1H, H-3a), 1.936 – 1.881 (m, 1H, H-3b), 1.841 – 1.704 (m, 2H, H-4), 1.21 (d, $J=7.2$ Hz, 6H, 2× -CH₃)

Αποτίμηση φάσματος $^{13}\text{C NMR}$

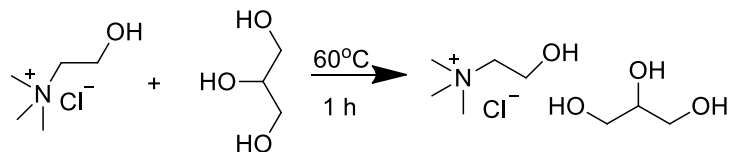
$^{13}\text{C NMR}$ (600 MHz, DMSO, d_6) δ (ppm) 176.669, 171.132, 66.007, 60.407, 45.283, 28.966, 23.855, 20.648

Αποτίμηση φάσματος FTIR

IR ν_{max} 3459.67 (O-H stretching, N-H stretching), 2980 (C-H stretching), 1737 (C=O stretching), 1619 (N-H bending), 1367 (C-H bending), 1222 (C-O stretching, C-N stretching), 1130 (C-O stretching, C-N stretching) cm^{-1}

2.1.4. Σύνθεση του NaDES χλωριούχος χολίνη – Γλυκερόλη

Για τη σύνθεση του NaDES χλωριούχος χολίνη – γλυκερόλη (Cho Chlo:Gly) (**Εικόνα 34**) ακολουθήθηκε η γενική μέθοδος σύνθεσης NaDESs, που περιγράφεται παραπάνω (**Παράγραφος 2.1**), με την χλωριούχος χολίνη να δρα ως HBA και την γλυκερόλη ως HBD. Τα δύο συστατικά του διαλύτη αναμίχθηκαν σε γραμμομοριακή αναλογία 1:2, ενώ οι απαιτούμενες ποσότητες φαίνονται στον **Πίνακα 7**:



Εικόνα 34: Αντίδραση σχηματισμού NaDES χλωριούχος χολίνη - γλυκερόλη αναλογίας 1:2

Πίνακας 7: Οι απαιτούμενες ποσότητες αντιδραστηρίων, όπως υπολογίστηκαν, για τη σύνθεση του NaDES χλωριούχος χολίνη - γλυκερόλη 1:2

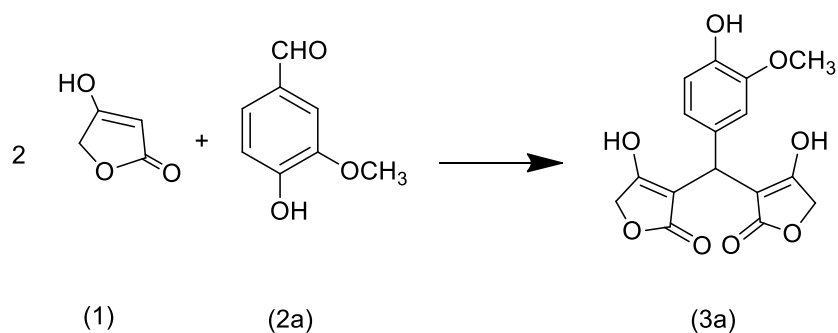
| | Χλωριούχος χολίνη | Γλυκερόλη |
|------------------------|-------------------|-----------|
| Γραμμομοριακή αναλογία | 1 eq | 2 eq |
| MW [g/mol] | 139.62 | 92.09 |
| Ποσότητα [g] | 2.00 | 2.64* |
| mmol | 14.32 | 28.65 |

*Πριν την ζύγιση της χλωριούχος χολίνης, αυτή τοποθετείται σε αντλία για περίπου μία ώρα για ξήρανση αφού είναι αρκετά υγροσκοπική.

2.2. Ανάπτυξη μεθοδολογίας σύνθεσης δις - τετρονικών οξέων (bis - tetronic acids) με την αντίδραση domino Knoevenagel - Michael

2.2.1. Αντίδραση - μοντέλο

Ως αντίδραση - μοντέλο για την ανάπτυξη της μεθοδολογίας σύνθεσης δις - τετρονικών οξέων θεωρήθηκε η ακόλουθη:



Εικόνα 35: Αντίδραση μοντέλο σχηματισμού bis - tetronic acids μέσω αντίδρασης domino Knoevenagel - Michael

Τα αντιδρώντα, τετρονικό οξύ **(1)** και βανιλίνη **(2a)** αναμείχθηκαν έτσι ώστε να προκύψει το προϊόν δις-τετρονικού οξέος **(3a)**. Για τη βελτιστοποίηση της αντίδρασης και για την παραλαβή του επιθυμητού προϊόντος πραγματοποιήθηκε μελέτη σχετικά με τον NaDES που χρησιμοποιήθηκε, τον τρόπο θέρμανσης του μίγματος της αντίδρασης, καθώς την μοριακή αναλογία των αντιδρώντων.

Πιο συγκεκριμένα, οι NaDESs που εξετάστηκαν για την πραγματοποίηση της αντίδρασης-μοντέλο ήταν οι ακόλουθοι:

- I. Προλίνη – Οξαλικό οξύ (1:1)
- II. Προλίνη – Γλυκερόλη (1:2)
- III. Προλίνη – Γαλακτικό οξύ – Νερό (1:2:2.1)
- IV. Χλωριούχος χολίνη – Γλυκερόλη (1:2)

Επιπλέον, για τη μελέτη ως προς τη μέθοδο θέρμανσης πραγματοποιήθηκαν οι ακόλουθες δοκιμές:

- I. Σύνθεση με συμβατική θέρμανση
- II. Σύνθεση στους υπερήχους
- III. Σύνθεση στα μικροκύματα

Ως προς την μοριακή αναλογία των αντιδρώντων, τετρονικού οξέος και βανιλίνης, έγιναν δύο δοκιμές:

- I. 2:1
- II. 2.5:1

2.2.2. Πραγματοποίηση αντίδρασης με συμβατική θέρμανση

Αρχικά, η αντίδραση πραγματοποιήθηκε με συμβατική θέρμανση, χρησιμοποιώντας κάθε φορά και διαφορετικό NaDES από αυτά που συντέθηκαν, ώστε να διαπιστωθεί ποιος διαλύτης οδηγεί σε μεγαλύτερη απόδοση τελικού προϊόντος. Σε καθεμία από αυτές τις αντιδράσεις χρησιμοποιήθηκε 1.5 g από τον εκάστοτε διαλύτη ([Πίνακας 8](#))

Πίνακας 8: Οι απαιτούμενες ποσότητες αντιδραστηρίων, όπως υπολογίστηκαν, για τη διεξαγωγή της αντίδρασης – μοντέλο με τέσσερις διαφορετικούς NaDESs και συμβατική θέρμανση

| | Τετρονικό οξύ | Βανιλίνη |
|------------------------|----------------------|-----------------|
| Γραμμομοριακή αναλογία | 2 eq | 1 eq |
| MW [g/mol] | 100.07 | 152.15 |
| Ποσότητα [mg] | 100 | 76.08 |
| mmol | 1.0 | 0.5 |

Σε σφαιρική φιάλη τοποθετήθηκαν οι κατάλληλες ποσότητες τετρονικού οξέος (**1**) και βανιλίνης (**2a**) και 1.5 g από τον εκάστοτε NaDES. Το μίγμα αφέθηκε στους 60°C, υπο ανάδευση με μαγνητάκι και reflux, σε αδρανή ατμόσφαιρα (χρήση αερίου N₂) για 24 ώρες. Η πορεία της αντίδρασης, καθώς και η καθαρότητα του τελικού προϊόντος παρακολουθούνταν μέσω TLC, αναλογίας κινητής φάσης Pe:EtOAc 1:9 και σε σύστημα διαλυτών διχλωρομεθάνιο (DCM) με μεθανόλη (MeOH) αναλογίας 96:4. Μετά το πέρας της αντίδρασης προστέθηκε μικρή ποσότητα απιονισμένου νερού και ακολουθείται εκχύλιση τρεις φορές με οξικό αιθυλεστέρα (EtOAc). Συλλέγεται η οργανική φάση, η οποία ξηραίνεται με Na₂SO₄, και συμπυκνώνεται στον περιστρεφόμενο εξατμιστήρα υπό ελαττωμένη πίεση προς παραλαβή του προϊόντος σε μορφή ελαίου (κίτρινο χρώμα).

Μετά το τέλος και την επεξεργασία της κάθε αντίδρασης, το έλαιο που απομονώθηκε, ταυτοποιήθηκε μέσω φασματοσκοπίας ¹H NMR και παρατηρήθηκε ότι παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν (**3a**) σε μεγαλύτερη ποσότητα, όταν χρησιμοποιείται ο διαλύτης προλίνη – γλυκερόλη (1:2). Επομένως, η επίδραση των διαφορετικών τεχνικών θέρμανσης στην απόδοση της αντίδρασης – μοντέλο ερευνηθήκε, χρησιμοποιώντας το συγκεκριμένο NaDES για τη διεξαγωγή της.

2.2.3. Πραγματοποίηση αντίδρασης με υπερήχους

Για την πραγματοποίηση της αντίδρασης – μοντέλο μεταξύ των αντιδρώντων (**1**) και (**2a**) σε μοριακή αναλογία 2:1, χρησιμοποιώντας το διαλύτη προλίνη – γλυκερόλη 1:2 και θέρμανση με υπερήχους, χρησιμοποιήθηκαν 1.5 g διαλύτη, ενώ οι απαιτούμενες ποσότητες αντιδραστηρίων φαίνονται στον [Πίνακα 9](#).

Πίνακας 9: Οι απαιτούμενες ποσότητες αντιδραστηρίων, όπως υπολογίστηκαν, για τη διεξαγωγή της αντίδρασης – μοντέλο με NaDES προλίνη – γλυκερόλη 1:2 και υπερήχους

| | Τετρονικό οξύ | Βανιλίνη |
|------------------------|----------------------|-----------------|
| Γραμμομοριακή αναλογία | 2 eq | 1 eq |
| MW [g/mol] | 100.07 | 152.15 |
| Ποσότητα [mg] | 100 | 76.08 |
| mmol | 1.0 | 0.5 |

Σε γυάλινο δοχείο vial τοποθετήθηκαν οι κατάλληλες ποσότητες τετρονικού οξέος και βανιλίνης, καθώς και 1,5 g NaDES. Στη συνέχεια, το vial τοποθετήθηκε στη συσκευή υπερήχων, μέσα σε παγόλουτρο, ώστε να προστατευτεί από την απότομη αύξηση της θερμοκρασίας, που παρατηρείται κατά τη λειτουργία των

υπερήχων, αλλά και για να μην επηρεαστεί αρνητικά η πορεία της αντίδρασης. Οι συνθήκες της αντίδρασης ορίστηκαν ως εξής:

- Ισχύς: 30% (120W)
- Διάρκεια λειτουργίας (μεταξύ των παύσεων): 30"
- Παλμός: 6" on, 2" off

Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθήθηκε μέσω χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας TLC σε σύστημα διαλυτών πετρελαϊκού αιθέρα (PE) με οξικό αιθυλεστέρα (EtOAc) σε αναλογία 1:9 και σε σύστημα διαλυτών διχλωρομεθάνιο (DCM) με μεθανόλη (MeOH) σε αναλογία 96:4. Για την επεξεργασία της αντίδρασης προστίθενται μικρή ποσότητα απιονισμένου νερού προκειμένου να σταματήσει η αντίδραση. Μετά από την προσθήκη νερού ακολουθείται εκχύλιση τρεις φορές με οξικό αιθυλεστέρα (EtOAc). Συλλέγεται η οργανική φάση, η οποία ξηραίνεται με Na₂SO₄, και συμπυκνώνεται στον περιστρεφόμενο εξατμιστήρα υπό ελαττωμένη πίεση προς παραλαβή του προϊόντος σε μορφή ελαίου (πορτοκαλί χρώμα).

Μετά το τέλος και την επεξεργασία της αντίδρασης, το έλαιο που απομονώθηκε, ταυτοποιήθηκε μέσω φασματοσκοπίας ¹H NMR και παρατηρήθηκε ότι δε δημιουργείται το επιθυμητό προϊόν.

2.2.4. Πραγματοποίηση αντίδρασης με μικροκύματα

Για την πραγματοποίηση της αντίδρασης – μοντέλο μεταξύ των αντιδρώντων **(1)** και **(2a)**, χρησιμοποιώντας το διαλύτη προλίνη – γλυκερόλη 1:2 και θέρμανση με μικροκύματα, χρησιμοποιήθηκαν 2.5 g διαλύτη, ενώ οι απαιτούμενες ποσότητες αντιδραστηρίων φαίνονται στον [Πίνακα 10](#):

Πίνακας 10: Οι απαιτούμενες ποσότητες αντιδραστηρίων, όπως υπολογίστηκαν, για τη διεξαγωγή της αντίδρασης – μοντέλο με NaDES προλίνη – γλυκερόλη 1:2 και μικροκύματα

| | Τετρονικό οξύ | Βανιλίνη |
|------------------------|---------------|----------|
| Γραμμομοριακή αναλογία | 2 eq | 1 eq |
| MW [g/mol] | 100.07 | 152.15 |
| Ποσότητα [mg] | 100 | 76.08 |
| mmol | 1.0 | 0.5 |

Σε ειδικό σκεύος quartz προστέθηκαν η κατάλληλη ποσότητα διαλύτη και οι απαιτούμενες ποσότητες των αντιδραστηρίων και το σκεύος μεταφέρθηκε στη συσκευή μικροκυμάτων, ώστε να πραγματοποιηθεί η αντίδραση.

Οι παράμετροι λειτουργίας της συσκευής ορίστηκαν ως εξής:

- $T_1 = 60^\circ\text{C}$, $T_2 = 60^\circ\text{C}$ και $E = 120\text{ W}$
- Παράμετρος ελέγχου: η θερμοκρασία T_2
- Χρόνος θέρμανσης του μίγματος: 5 min
- Χρόνος αντίδρασης: 15 min
- Χρόνος ψύξης του μίγματος: 5 min

Όπου T_1 : η θερμοκρασία του θερμοστοιχείου, όταν είναι εμβαπτισμένο στο αντιδρών μίγμα και T_2 : η θερμοκρασία περιβάλλοντος μέσα στο quartz.

Η πορεία της αντίδρασης, καθώς και η καθαρότητα του τελικού προϊόντος παρακολουθήθηκαν μέσω χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας TLC σε σύστημα διαλυτών διχλωρομεθάνιο (DCM) με μεθανόλη (MeOH) σε αναλογία 96:4. Για την επεξεργασία της αντίδρασης προστίθενται μικρή ποσότητα απιονισμένου νερού προκειμένου να σταματήσει η αντίδραση. Μετά από την προσθήκη νερού ακολουθείται εκχύλιση τρεις φορές με οξικό αιθυλεστέρα (EtOAc). Συλλέγεται η οργανική φάση, η οποία ξηραίνεται με Na_2SO_4 , και συμπυκνώνεται στον περιστρεφόμενο εξατμιστήρα υπό ελαττωμένη πίεση προς παραλαβή του προϊόντος σε μορφή ελαίου (κίτρινο χρώμα).

Μετά το τέλος και την επεξεργασία της αντίδρασης, το έλαιο που απομονώθηκε, ταυτοποιήθηκε μέσω φασματοσκοπίας $^1\text{H NMR}$ και παρατηρήθηκε ότι δημιουργείται το επιθυμητό προϊόν (**3a**).

2.2.5. Επιλογή βέλτιστων συνθηκών

Επίσης, μελετήθηκε η γραμμομοριακή αναλογία των αντιδρώντων, με τα καλύτερα αποτελέσματα στην αναλογία 2.5:1. **Επομένως, ως βέλτιστες συνθήκες διεξαγωγής της αντίδρασης domino Knoevenagel – Michael, βρέθηκε ότι είναι αυτές στις οποίες χρησιμοποιούνται ο NaDES προλίνη – γλυκερόλη (1:2) ως διαλύτης και τα μικροκύματα ως τεχνική θέρμανσης με αναλογία αντιδρώντων 2.5:1 και 2.5 g NaDES.**

2.3. Ανακύκλωση και επαναχρησιμοποίηση διαλύτη

Επιπλέον δοκιμάστηκε η ανακύκλωση και επαναχρησιμοποίηση του διαλύτη προλίνη - γλυκερόλη (1:2), μέσω της αντίδρασης - μοντέλο, προκειμένου να ενισχυθεί ο «πράσινος» χαρακτήρας της διεργασίας. Για την διεξαγωγή της αντίδρασης χρησιμοποιήθηκαν οι βέλτιστες αναλογίες των αντιδρώντων (2.5:1), με αρχική ποσότητα διαλύτη 1.5 g DES και ως τεχνική θέρμανσης η συμβατική. Σε αυτό το πλαίσιο, με σκοπό την αξιολόγηση της αποδοτικότητας και της ανακυκλωσιμότητας του DES, πραγματοποιήθηκε η σύνθεση του προϊόντος **3a**, τέσσερις φορές. Στον [Πίνακα 11](#) παρουσιάζονται οι ποσότητες των αντιδραστηρίων του πρώτου κύκλου αντίδρασης. Στις επόμενες αντιδράσεις ανακύκλωσης του διαλύτη, οι ποσότητες των αντιδρώντων υπολογιζόταν με βάση την ποσότητα του DES που παραλαμβάνονταν μετά την επεξεργασία του προηγούμενου κύκλου αντίδρασης, έτσι ώστε η αναλογία g DES/mmol αντιδρώντων να διατηρείται σταθερή και ίση με 2.5 σε κάθε αντίδραση.

Πίνακας 11: Οι απαιτούμενες ποσότητες αντιδραστηρίων, όπως υπολογίστηκαν, για τη διεξαγωγή της πρώτης αντίδρασης με ανακύκλωση του NaDES προλίνη - γλυκερόλη 1:2, συμβατικά

| | Τετρονικό οξύ | Βανιλίνη |
|------------------------|----------------------|-----------------|
| Γραμμομοριακή αναλογία | 2.5 eq | 1 eq |
| MW [g/mol] | 100.07 | 152.15 |
| Ποσότητα [mg] | 60.00 | 36.52 |
| mmol | 0.60 | 0.24 |

Η διαδικασία της ανάκτησης ξεκίνησε μετά το πέρας της πρώτης αντίδρασης. Πιο συγκεκριμένα, μετά την εκχύλιση του μίγματος της αντίδρασης, η υδατική φάση που συλλέχθηκε, εξατμίστηκε και τοποθετήθηκε στην αντλία. Ο DES ανακτάται και χρησιμοποιείται εκ νέου σε ίδιας μορφής αντίδραση, πρώτου επαναληφθεί η επόμενη αντίδραση, η ποσότητα του DES ζυγιζόταν και λαμβανόταν μικρή ποσότητα σε vial για $^1\text{H NMR}$.

Κατά την διάρκεια των επαναλήψεων, ο επαναχρησιμοποιούμενος διαλύτης, παρακολουθούνταν μέσω $^1\text{H NMR}$. Οι επαναλήψεις συνεχίστηκαν, έως ότου ο διαλύτης, που είχε ανακτηθεί, δεν είχε υψηλή καθαρότητα και δεν ήταν αρκετή η ποσότητα για την επαναχρησιμοποίηση του. Συνολικά, η διαδικασία της ανακύκλωσης και επαναχρησιμοποίησης του DES επιτεύχθηκε έως και 4 φορές. Τα οργανικά κλάσματα που λαμβάνονταν κάθε φορά μετά την επεξεργασία κάθε κύκλου αντίδρασης οδηγήθηκαν σε στήλη υγρής χρωματογραφίας υψηλής

απόδοσης (HPLC), για την ποσοτικοποίηση του επιθυμητού προϊόντος (απόδοση αντίδρασης).

2.4. Διαχωρισμός και ποσοτικοποίηση με HPLC

Πραγματοποιήθηκε διαχωρισμός αλλά και ποσοτικοποίηση (προσδιορισμός της απόδοσης) των οργανικών κλασμάτων που παραλήφθηκαν στην [Παράγραφος 2.3](#). Πιο συγκεκριμένα, από κάθε οργανικό κλάσμα, λήφθηκε ποσότητα 1 mg σε vial και με μία αυτόματη πιπέτα τοποθετήθηκαν 1000 μL μεθανόλη σε αυτό, (δείγματα Α,Β,Γ,Δ), ακολουθήθηκαν τα vials σε vortex έτσι ώστε να πραγματοποιηθεί καλή διάλυση του δείγματος στην μεθανόλη. Στην συνέχεια, από κάθε δείγμα Α,Β,Γ,Δ λήφθηκε ποσότητα 100 μL και 900 μL μεθανόλης (δείγματα 1,2,3,4), με συγκέντρωση 100 ppm. Πριν την εισαγωγή των δειγμάτων 1,2,3,4, πραγματοποιήθηκε βαθμονόμηση καμπύλης από ένα καθαρό προϊόν που είχε παραληφθεί από την αντίδραση – μοντέλο, του προϊόντος 3a. Η βαθμονομημένη καμπύλη (calibration curve) είναι αποτέλεσμα τεσσάρων αραιωμένων δειγμάτων του προϊόντος 3a: 120, 100, 80 και 60 ppm.

Επομένως, τα δείγματα 1, 2, 3, 4 τοποθετήθηκαν στη θέση φόρτωσης του χρωματογράφου ακολουθώντας τις παρακάτω χρωματογραφικές συνθήκες:

Αναλυτική στήλη: αντίστροφης φάσεως C18, υδρόφοβη, 250 x 4.6 mm, 5 μm

Σύστημα έκλυσης: σύστημα διαλυτών σταθερής σύστασης, ισοκρατική έκλυση, μεθανόλη 50% - απιονισμένο νερό 50%

Ταχύτητα ροής: 1 mL/min

Θερμοκρασία φούρνου (LC): 25 °C

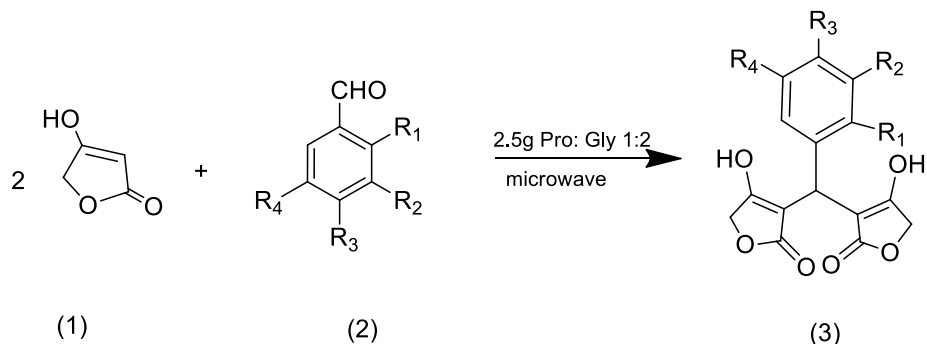
Πίεση: 152 bar

Ανιχνευτής: UV/Vis (260 nm)

2.5. Γενική μέθοδος σύνθεσης προϊόντων δις - τετρονικών οξέων (μέσω βέλτιστων συνθηκών)

Η αντίδραση domino Knoevenagel - Michael πραγματοποιήθηκε ανάμεσα στο τετρονικό οξύ και ένα πλήθος αλδευδών, χρησιμοποιώντας τις βέλτιστες συνθήκες που αναπτύχθηκαν στην [παράγραφο 2.2.5](#)

Η γενική μορφή της αντίδρασης φαίνεται στην [Εικόνα 36](#):

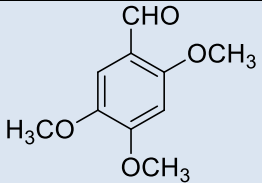
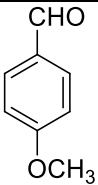
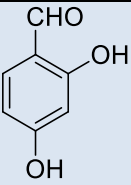
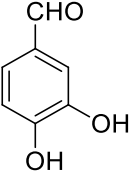
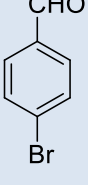
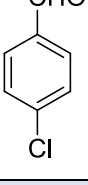
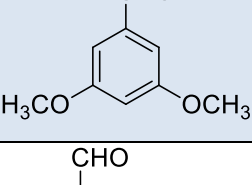
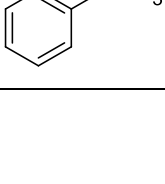


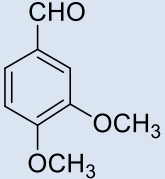
Εικόνα 36: Η γενική μορφή της αντίδρασης domino Knoevenagel - Michael ακολουθώντας τη βελτιστοποιημένη μεθοδολογία, όπου (1): τετρονικό οξύ, (2): αλδεύδη (3) δις-τετρονικά οξέα

Οι διαφορετικές αλδεύδες που χρησιμοποιήθηκαν, παρουσιάζονται στον [Πίνακα 12](#):

Πίνακας 12: Οι διαφορετικές αλδεύδες που χρησιμοποιήθηκαν οι αντίστοιχες δομές, τα ονόματα και τα μοριακά βάρη τους.

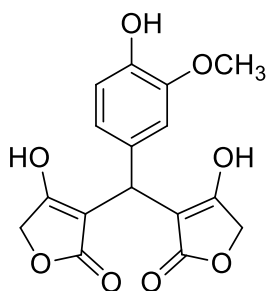
| Αρίθμηση | Δομή αλδεύδης | Όνομα αλδεύδης | MW [g/mol] |
|----------|---------------|--|------------|
| (2a) | | 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde (vanillini) | 152.15 |
| (2b) | | 4-hydroxybenzaldehyde | 122.12 |
| (2c) | | 3-methoxybenzaldehyde | 136.15 |

| | | | |
|------|---|------------------------------|--------|
| (2d) |  | 2,4,5-trimethoxybenzaldehyde | 196.20 |
| (2e) |  | 4-methoxybenzaldehyde | 136.15 |
| (2f) |  | 2,4-dihydroxybenzaldehyde | 138.12 |
| (2g) |  | 3,4-dihydroxybenzaldehyde | 138.12 |
| (2h) |  | 4-bromobenzaldehyde | 185.02 |
| (2i) |  | 4-chlorobenzaldehyde | 140.57 |
| (2j) |  | 3,5-dimethoxybenzaldehyde | 166.17 |
| (2k) |  | 2-methoxybenzaldehyde | 136.15 |

| | | | |
|------|---|---------------------------|--------|
| (21) |  | 3,4-dimethoxybenzaldehyde | 166.17 |
|------|---|---------------------------|--------|

Παρακάτω φαίνονται τα προϊόντα που παρήχθησαν και η απόδοση της εκάστοτε αντίδρασης σε προϊόν, η αποτίμηση των ^1H NMR φασμάτων τους, καθώς και το μοριακό βάρος.

(3a). 3,3'-((4-hydroxy-3-methoxyphenyl)methylene)bis(4-hydroxyfuran-2(5H)-one)

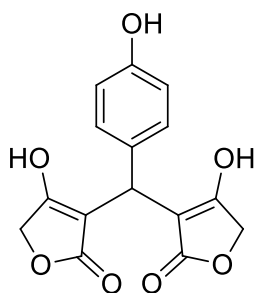


Η σύνθεση της ένωσης **(3a)** πραγματοποιήθηκε ακολουθώντας τη γενική βελτιστοποιημένη μέθοδο που αναφέρθηκε πιο πάνω. Στο ειδικό σκεύος quartz προστέθηκαν 1 mmol τετρονικό οξύ (100mg) **(1)**, 0.40 mmol βανιλίνη (60.86 mg) **(2a)** και περίπου 2.5 g NaDES Pro:Gly 1:2. Το σκεύος μεταφέρθηκε στη συσκευή μικροκυμάτων, ώστε να πραγματοποιηθεί η αντίδραση. Το τελικό προϊόν μετά την επεξεργασία παραλήφθηκε ως καφέ στερεό.

Μοριακός τύπος: $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_8$
Μοριακό βάρος: 334.28 g/mol
Απόδοση αντίδρασης: 58% (96.2mg)

^1H NMR (300 MHz, DMSO, d_6) δ (ppm) 8.573 (brs, 1H, OH) 6.835 (d, $J=1.5$ MHz, 1H, Ar-H) 6.629 (dd, $J=8.1, 1.8$ Hz, 1H, Ar-H) 6.553 (d, $J=8.1$, 1H, Ar-H) 4.352 (s, 1H, -CH-Ar) 4.295 (d, $J=6.3$, 4H, 2x-O-CH₂-C) 3.657 (s, 3H, -OCH₃)

(3b). 3,3'-((4-hydroxyphenyl)methylene)bis(4-hydroxyfuran-2(5H)-one)

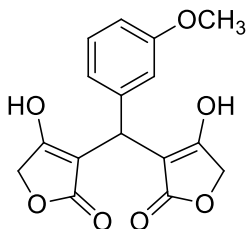


Η σύνθεση της ένωσης **(3b)** πραγματοποιήθηκε ακολουθώντας τη γενική βελτιστοποιημένη μέθοδο που αναφέρθηκε πιο πάνω. Στο ειδικό σκεύος quartz προστέθηκαν 1 mmol τετρονικό οξύ (100mg) **(1)**, 0.40 mmol 4-υδρόξυβενζαλδεΰδη (48.84 mg) **(2b)** και περίπου 2.5 g NaDES Pro:Gly 1:2. Το σκεύος μεταφέρθηκε στη συσκευή μικροκυμάτων, ώστε να πραγματοποιηθεί η αντίδραση. Το τελικό προϊόν μετά την επεξεργασία παραλήφθηκε σε μορφή ελαίου (κίτρινο χρώμα).

Μοριακός τύπος: $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_7$
Μοριακό βάρος: 304.25 g/mol
Απόδοση αντίδρασης: 36.3% (44.2 mg)

¹H NMR (300 MHz, DMSO, d₆) δ (ppm) 9.002 (brs, 1H, Ar-OH) 7.015 (d, J=7.2 MHz, 2H, 2x-Ar-H) 6.5485 (d, J=7.5 MHz, 2H, 2x-Ar-H) 4.349 (s, 1H, -CH-Ar) 4.286 (s, 4H, 2x -O-CH₂-C)

(3c). 3,3'-((3-methoxyphenyl)methylene)bis(4-hydroxyfuran-2(5H)-one)



Η σύνθεση της ένωσης **(3c)** πραγματοποιήθηκε ακολουθώντας τη γενική βελτιστοποιημένη μέθοδο που αναφέρθηκε πιο πάνω. Στο ειδικό σκεύος quartz προστέθηκαν 1 mmol τετρονικό οξύ (100mg) **(1)**, 0.40 mmol 3- μεθοξυβενζαλδεΰδη (54.46 mg) **(2c)** και περίπου 2.5 g NaDES Pro:Gly 1:2. Το σκεύος μεταφέρθηκε στη συσκευή μικροκυμάτων, ώστε να πραγματοποιηθεί η αντίδραση. Το τελικό προϊόν μετά την επεξεργασία παραλήφθηκε σε μορφή ελαίου (σκούρο κίτρινο χρώμα).

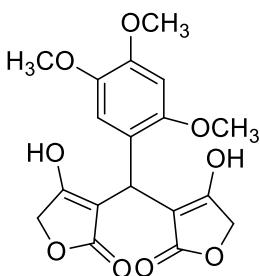
Μοριακός τύπος: C₁₆H₁₄O₇

Μοριακό βάρος: 318.28 g/mol

Απόδοση αντίδρασης: 58% (74.2 mg)

¹H NMR (300 MHz, DMSO, d₆) δ (ppm) 7.086 (t, J=7.5, 1H, Ar-H) 6.806 (m, 2H, 2x Ar-H) 6.656 (d, J=7.8, Ar-H) 4.394 (m, 7H, -CH-Ar, 2x-O-CH₂-C, 2x Ar-CHCH) 3.666 (s, 3H, -OCH₃)

(3d). 3,3'-((2,4,5-trimethoxyphenyl)methylene)bis(4-hydroxyfuran-2(5H)-one)



Η σύνθεση της ένωσης **(3d)** πραγματοποιήθηκε ακολουθώντας τη γενική βελτιστοποιημένη μέθοδο που αναφέρθηκε πιο πάνω. Στο ειδικό σκεύος quartz προστέθηκαν 1 mmol τετρονικό οξύ (100mg) **(1)**, 0.40 mmol 2,4,5 τριμεθοξυβενζαλδεΰδη (78.48 mg) **(2d)** και περίπου 2.5 g NaDES Pro:Gly 1:2. Το σκεύος μεταφέρθηκε στη συσκευή μικροκυμάτων, ώστε να πραγματοποιηθεί η αντίδραση. Το τελικό προϊόν μετά την επεξεργασία παραλήφθηκε ως ένα σκούρο κόκκινο στερεό.

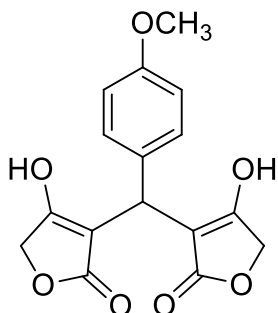
Μοριακός τύπος: C₁₈H₁₈O₉

Μοριακό βάρος: 378.33 g/mol

Απόδοση αντίδρασης: 68% (86.2 mg)

¹H NMR (300 MHz, DMSO, d₆) δ (ppm) 10.188 (s, 1H, OH), 7.151 (s, 1H, Ar-H), 6.788 (s, 1H, Ar-H), 3.914 (s, 9H, 3x-OCH₃), 3.736 (s, 5H, 2x -O-CH₂-C-CH-Ar)

(3e). 3,3'-((4-methoxyphenyl)methylene)bis(4-hydroxyfuran-2(5H)-one)



Η σύνθεση της ένωσης **(3e)** πραγματοποιήθηκε ακολουθώντας τη γενική βελτιστοποιημένη μέθοδο που αναφέρθηκε πιο πάνω. Στο ειδικό σκεύος quartz προστέθηκαν 1 mmol τετρονικό οξύ (100 mg) **(1)**, 0.40 mmol 4-μεθόξυβενζαλδεΐδη (54.46 mg) **(2e)** και περίπου 2.5 g NaDES Pro:Gly 1:2. Το σκεύος μεταφέρθηκε στη συσκευή μικροκυμάτων, ώστε να πραγματοποιηθεί η αντίδραση. Το τελικό προϊόν μετά την επεξεργασία παραλήφθηκε σε μορφή ελαίου (κίτρινο χρώμα).

Μοριακός τύπος: C₁₆H₁₄O₇

Μοριακό βάρος: 318.28 g/mol

Απόδοση αντίδρασης: 28% (35.8 mg)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, d₆) δ (ppm) 7.131 (d, J=8.4, 1H, Ar-H) 6.786 (d, J=8.7, 1H, Ar-H) 5.284 (s, 1H, -CH-Ar) 4.702 (d, J=3.3, 4H, 2x -O-CH₂-C) 3.760 (s, 3H, -OCH₃)

Με τη χρήση των υπόλοιπων αλδεϋδών **(2f)**, **(2g)**, **(2h)**, **(2i)**, **(2j)**, **(2k)**, και **(2l)** παρατηρήθηκε μέσω φασματοσκοπίας ¹H NMR, ότι δε δημιουργείται το επιθυμητό προϊόν.

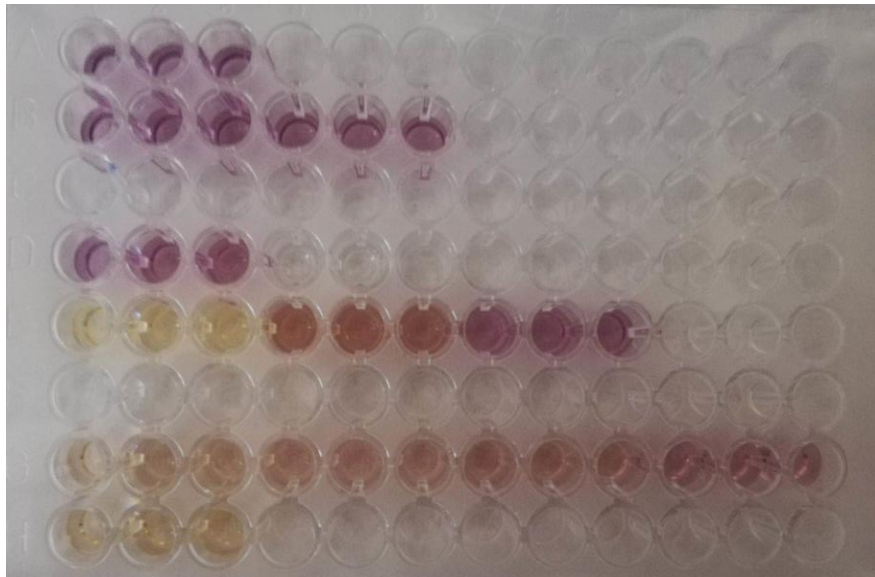
2.6. Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης

2.6.1. Μέθοδος DPPH

Αρχικά, παρασκευάστηκε το διάλυμα DPPH προσθέτοντας σε μια ογκομετρική φιάλη των 100 mL 2.5 mg ουσίας και καθαρή αιθανόλη μέχρι τη χαραγή. Η φιάλη καλύφθηκε με αλουμινόχαρτο, ώστε να προστατεύεται το DPPH από την έκθεση στο φως και αφέθηκε σε σκιερό μέρος υπό ανάδευση για περίπου 30 min.

Οι προς προσδιορισμό ενώσεις διαλύθηκαν σε διμεθυλσουλφοξείδιο (DMSO) προς τελική συγκέντρωση των δειγμάτων μέσα στο τρυβλίο ειδικής πλάκας ίση με 100 mM. Για καθένα από αυτά τα δείγματα, παρασκευάστηκαν 4 ακόμα διαλύματα, με συγκεντρώσεις 80%, 60%, 40% και 20% w/v της αρχικής, με τελικό όγκο 100 μ L.

Έπειτα, τα δείγματα προς μέτρηση και το διάλυμα DPPH τοποθετήθηκαν στα τρυβλία ειδικής πλάκας ([Εικόνα 37](#)). Αρχικά, 195 μ L διαλύματος DPPH προστέθηκαν σε όλα τα τρυβλία, με εκείνα στα οποία είχε ήδη προστεθεί να καλύπτονται με αλουμινόχαρτο, ώστε να μη μείνει εκτεθειμένο στο φως για μεγάλο χρονικό διάστημα, ενώ στο τέλος προστέθηκαν τα 5 μ L από το διάλυμα του εκάστοτε δείγματος στο κατάλληλο τρυβλίο. Παρασκευάστηκαν και τρία πρότυπα διαλύματα (blank), τα οποία περιείχαν διαλύτη DMSO (5 μ L) και διάλυμα DPPH (195 μ L).



Εικόνα 37: Πλακίδιο 96 θέσεων για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο DPPH

Στη συνέχεια, μετρήθηκε η απορρόφηση των διαλυμάτων διαφορετικής συγκέντρωσης, καθώς και του πρότυπου δείγματος στα 517 nm, στα 20 min και στα 60 min. Λήφθηκαν οι απορροφήσεις και υπολογίστηκε η τιμή IC₅₀ (μ M) των δειγμάτων, η οποία ορίζεται ως η ελάχιστη συγκέντρωση που απαιτείται για τη δέσμευση 50% των ελευθέρων ριζών.

Τα δείγματα που εμφανίζονται με μωβ χρώμα αποτελούν τις ενώσεις που δεν εμφανίζουν αξιόλογη αντιοξειδωτική δράση. Αντιθέτως, τα δείγματα που εμφανίζουν κίτρινο και υποκίτρινο χρώμα αποτελούν ενώσεις που εμφανίζουν αξιόλογη αντιοξειδωτική δράση, καθώς το κίτρινο χρώμα αποδεικνύει την ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH.

2.6.2. Μέθοδος AAPH

Αρχικά, παρασκευάστηκαν τα ακόλουθα διαλύματα, προκειμένου να προσδιοριστεί η αντιοξειδωτική δράση:

Buffer 1: Phosphate (pH=7.4, 37°C)

Αρχικά, παρασκευάστηκε ένα υδατικό διάλυμα KH_2PO_4 συγκέντρωσης $C=0.0123 \text{ M}$ ($M_r=136.086 \text{ g/mol}$), διαλύοντας 0.2009 g άλατος σε 120 mL απεσταγμένου νερού, καθώς και ένα υδατικό διάλυμα K_2HPO_4 συγκέντρωσης $C=0.0377 \text{ M}$ ($M_r=174.176 \text{ g/mol}$), διαλύοντας 0.7880 g άλατος σε 120 mL απεσταγμένου νερού. Στη συνέχεια, τα δύο διαλύματα αναμίχθηκαν σε ποτήρι ζέσεως και το pH του διαλύματος ρυθμίστηκε στα 7.4, προσθέτοντας υδροξείδιο του νατρίου NaOH (1 M), ανάλογα με την ανάγκη, έπειτα, προστέθηκε απεσταγμένο νερό μέχρι τελικού όγκου 300 mL , διατηρώντας το buffer σε θερμοκρασία 37°C .

Buffer 2: Borate (pH=9)

Αρχικά, διαλύθηκαν 309.2 mg βορικού οξέος (Boric acid, $M_r=61.83 \text{ g/mol}$) σε 50 mL απεσταγμένου νερού παρασκευάζοντας υδατικό διάλυμα συγκέντρωσης $C=50 \text{ mM}$. Το pH του διαλύματος που προέκυψε ρυθμίστηκε ίσο με 9, προσθέτοντας είτε HCl είτε NaOH (1 M). Τέλος, προστέθηκε απεσταγμένο νερό, μέχρι τα 100 mL τελικό όγκο.

Διάλυμα λινολεϊκού οξέος (linoleic acid)

Σε διάλυμα 0.25 mL tween 20 προστέθηκαν 5 mL διαλύματος borate. Στη συνέχεια, σε 2.5 mL από το διάλυμα του tween 20 προστέθηκαν 0.125 mL λινολεϊκού οξέος, κατάλληλη ποσότητα διαλύματος NaOH 1M , υπό ανάδευση, έως ότου σχηματιστεί το άλας, δηλαδή το διάλυμα να γίνει διαυγές και borate buffer, μέχρι τα 25 mL τελικό όγκο.

Blank

Ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία παρασκευής με αυτή του διαλύματος λινολεϊκού οξέος, χρησιμοποιώντας για το διάλυμα NaOH 1M την ποσότητα που σημειώθηκε, με μόνη διαφορά την απουσία λινολεϊκού οξέος, δηλαδή τα 0.125 mL λινολεϊκού οξέος δεν προστέθηκαν.

AAPH

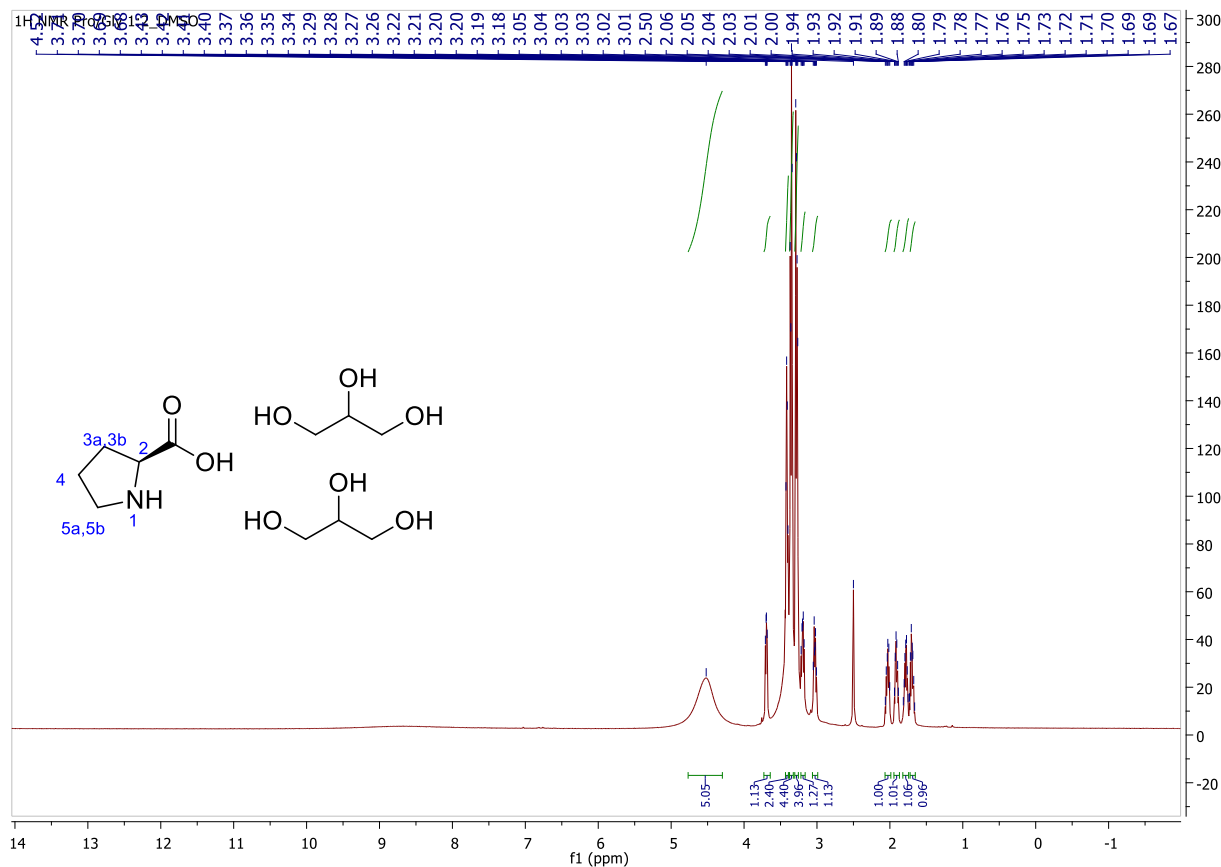
Το διάλυμα AAPH συγκέντρωσης 40 mM, με τελικό όγκο 3 mL phosphate buffer, παρασκευάστηκε λίγο πριν τη λήψη των μετρήσεων, καθώς είναι ασταθές και δεν συντηρείται. Το τελικό διάλυμα AAPH καλύφθηκε με αλουμινόχαρτο και στη συνέχεια αναδεύτηκε με χρήση vortex.

Τα δείγματα προς εξέταση παρασκευάστηκαν με διάλυση κατάλληλης ποσότητας της ουσίας σε DMSO, με τελική συγκέντρωση 10 mM.

Η πραγματοποίηση των μετρήσεων έγινε με τη βοήθεια φασματοφωτομέτρου UV - Vis μετρώντας την απορρόφηση στα 234 nm, ακολουθώντας τα εξής βήματα: αρχικά, μετρήθηκε το baseline, προσθέτοντας σε καθεμία από τις δύο κυψελίδες 1302 μ L phosphate buffer, 14 μ L DMSO, 14 μ L blank και 70 μ L phosphate. Η μία από αυτές τις δύο κυψελίδες παρέμεινε στο φασματοφωτόμετρο καθ' όλη τη διάρκεια των μετρήσεων. Στη συνέχεια, λήφθηκαν οι απορροφήσεις του ίδιου μίγματος με πριν, με τη διαφορά ότι στη θέση των 70 μ L phosphate προστέθηκαν 70 μ L διαλύματος AAPH. Έπειτα, λήφθηκαν οι απορροφήσεις του control, δηλαδή της αντίδρασης ανάμεσα στο λινολεϊκό οξύ και το AAPH απουσία αντιοξειδωτικού, προσθέτοντας κάθε φορά στην κυψελίδα 1302 μ L phosphate buffer, 14 μ L DMSO, 14 μ L διάλυμα λινολεϊκού οξέος και 70 μ L AAPH. Τέλος, πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις απορρόφησης των δειγμάτων, προσθέτοντας κάθε φορά στην κυψελίδα 1302 μ L phosphate buffer, 14 μ L από το διάλυμα του εκάστοτε δείγματος, 14 μ L λινολεϊκού οξέος και 70 μ L AAPH. Η διαδικασία επαναλήφθηκε τουλάχιστον 3 φορές για κάθε δείγμα. Σε κάθε μέτρηση λαμβάνονταν δύο τιμές απορρόφησης, μία τη χρονική στιγμή $t=0$ και μια την $t=1$ min.

ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ

1. Ανάλυση φάσματος ^1H NMR Pro:Gly 1:2



Εικόνα 38: Φάσμα ^1H NMR του NaDES προλίνη – γλυκερόλη 1:2 (600 MHz, DMSO, d_6)

Στην παραπάνω εικόνα παρουσιάζεται το φάσμα ^1H NMR του NaDES προλίνη – γλυκερόλη 1:2:

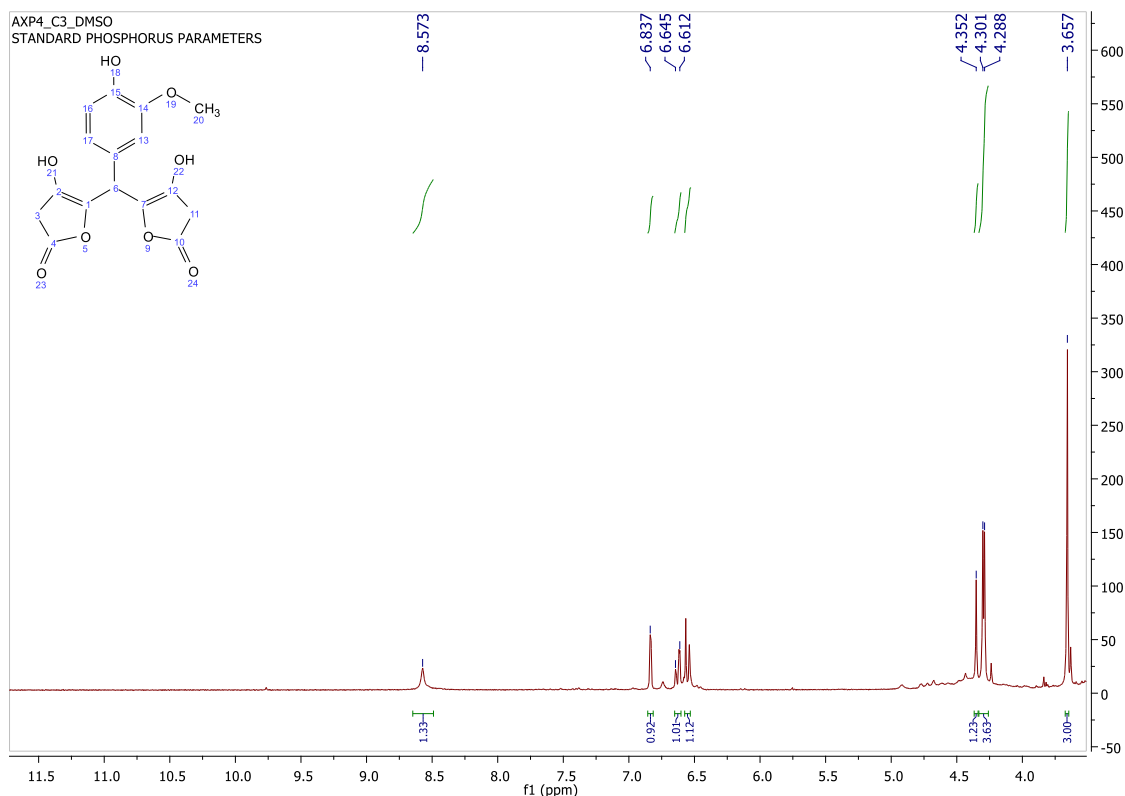
Γενικά, ισχύει ότι στα χαμηλά πεδία ενός φάσματος NMR εμφανίζονται τα πρωτόνια της ένωσης, τα οποία είναι αποπροστατευμένα, λόγω αλληλεπιδράσεων με τα γειτονικά τους πρωτόνια, καθώς και με άλλα μέρη του μορίου. Αντιθέτως, στα υψηλά πεδία του φάσματος εμφανίζονται τα πιο προστατευμένα πρωτόνια.

Στο φάσμα που φαίνεται στην [Εικόνα 38](#) παρατηρείται: μια ευρεία απλή κορυφή η οποία εμφανίζεται στα 4.516 ppm, που ολοκληρώνει για 5 πρωτόνια και αντιστοιχεί στο πρωτόνιο που είναι ενωμένο με το άζωτο στον πενταμελή δακτύλιο

της προλίνης, καθώς και στα πρωτόνια τεσσάρων υδροξυλομάδων της γλυκερόλης. Στα 3.696 ppm υπάρχει μια τριπλή κορυφή ($J=6$ Hz), η οποία ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο, αυτό που βρίσκεται στη θέση 2 του δακτυλίου της προλίνης. Το πρωτόνιο αυτό είναι πιο αποπροστατευμένο, σε σχέση με τα υπόλοιπα του δακτυλίου της προλίνης, καθώς αλληλεπιδρά με τη γειτονική καρβοξυλομάδα, ενώ παράλληλα βρίσκεται και δίπλα από την αμινομάδα του δακτυλίου. Στη συνέχεια, εμφανίζεται μια multi κορυφή στα 3.425 – 3.398 ppm, που ολοκληρώνει για 2 πρωτόνια και αντιστοιχεί στις ομάδες $-CH(-OH)-$ των δύο μορίων γλυκερόλης. Ακολουθούν δύο ακόμη multi κορυφές σε εύρη 3.368 – 3.341 και 3.291 – 3.263 ppm αντίστοιχα, που ολοκληρώνουν για 4 πρωτόνια η καθεμία και τα οποία αντιστοιχούν στις 4 μεθυλενομάδες ($-CH_2-$) των μορίων της γλυκερόλης. Οι άλλες δύο πολλαπλές κορυφές που ακολουθούν, στα εύρη 3.217 – 3.176 και 3.051 – 3.007, ολοκληρώνουν για δύο πρωτόνια τα οποία αντιστοιχούν στα πρωτόνια H-5a και H-5b του οξυγονωμένου μεθυλενίου του δακτυλίου της προλίνης. Όσον αφορά στα υπόλοιπα πρωτόνια του δακτυλίου της προλίνης, τα H-3a και H-3b, είναι πιο κοντά στην καρβοξυλομάδα του δακτυλίου, σε σύγκριση με τα πρωτόνια στην θέση 4, γεγονός που καθιστά τα πρώτα πιο απόπροστατευμένα. Επομένως, οι πολλαπλές κορυφές που αντιστοιχούν στα πρωτόνια της θέσης 3 του δακτυλίου εμφανίζονται πρώτες, με εύρη 2.063 – 2.002 και 1.937 – 1.884 ppm (ολοκληρώνουν για ένα πρωτόνιο η καθεμία), ενώ οι δύο πολλαπλές κορυφές που αντιστοιχούν στο πιο προστατευμένα πρωτόνια της θέσης 4 του δακτυλίου, παρατηρούνται στα εύρη 1.815 – 1.750 και 1.731 – 1.660 ppm. Παρατηρείται, ότι τα πρωτόνια του δακτυλίου της προλίνης των θέσεων 3, 4 και 5 εμφανίζονται στο φάσμα με διαφορετικές κορυφές το κάθε ένα, γεγονός το οποίο οφείλεται στο ότι τα πρωτόνια αυτά δεν είναι χημικά ισοδύναμα, καθώς το περιβάλλον του καθενός είναι πολύ διαφορετικό, με αποτέλεσμα να αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και να εμφανίζονται με αυτή την μορφή στο φάσμα.

2. Ανάλυση φάσματος ^1H NMR του δις - τερονικού οξέος 3a

Στην παρακάτω εικόνα παρουσιάζεται το φάσμα ^1H NMR της ένωσης 3a:



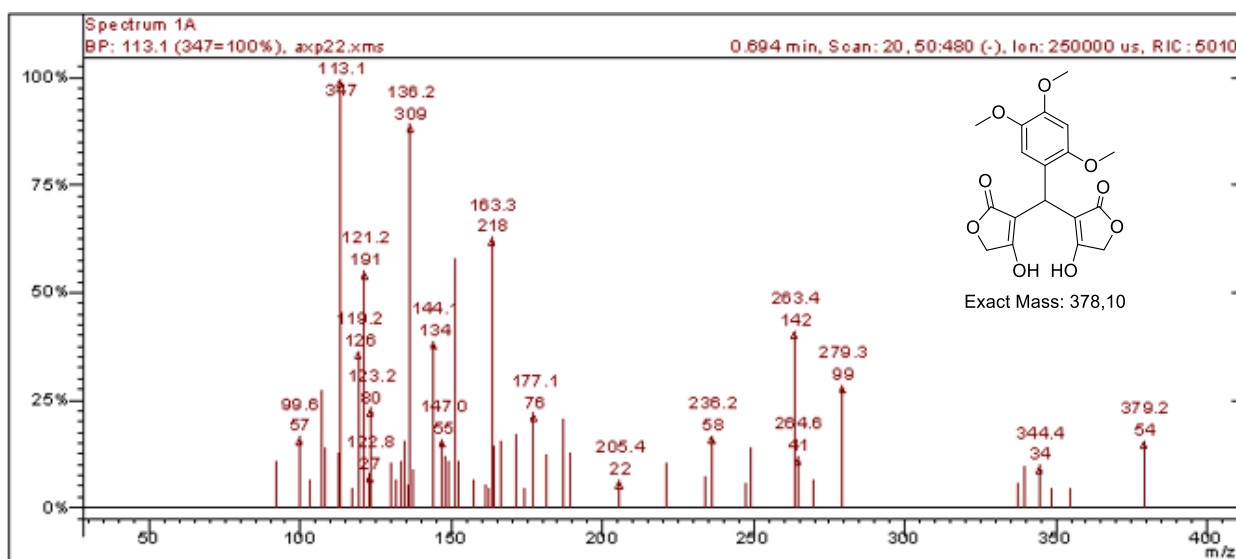
Εικόνα 39: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 3a (300 MHz, DMSO, d_6)

Στο φάσμα που φαίνεται στην [Εικόνα 39](#) παρατηρείται: μια ευρεία απλή κορυφή στα 8.573 ppm, που ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχεί στο υδροξύλιο του αρωματικού δακτυλίου (-OH). Στα 6.835 ppm εμφανίζεται μια διπλή κορυφή ($J=1.5$ MHz), που ολοκληρώνει για 1 πρωτόνιο και προκύπτει από το αρωματικό πρωτόνιο του άνθρακα της θέσης 2 του αρωματικού δακτυλίου. Στη συνέχεια, στα 6,629 ppm εμφανίζεται μια διπλή διπλών κορυφή, που ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο ($J=8.1, 1.8$ MHz) και αποδίδεται στο αρωματικό πρωτόνιο του άνθρακα της θέσης 6 του αρωματικού δακτυλίου. Ακολούθως, στα 6.553 ppm εμφανίζεται μια διπλή κορυφή ($J=8.1$ MHz), που ολοκληρώνει για 1 πρωτόνιο και αποδίδεται στο αρωματικό πρωτόνιο του άνθρακα της θέσης 5 του αρωματικού δακτυλίου. Στη συνέχεια στα υψηλότερα πεδία του φάσματος, ειδικότερα στα 4.352 ppm, εμφανίζεται μια απλή κορυφή, που ολοκληρώνει για 1 πρωτόνιο που προκύπτει ως αποτέλεσμα της απορρόφησης του πρωτονίου -CH. Έπειτα, εμφανίζεται μια διπλή κορυφή στα 4.295 ($J=6.3$ MHz) που ολοκληρώνει για 4

πρωτόνια και αντιστοιχεί στα πρωτόνια των μεθυλενίων του τερονικού οξέος (-O-CH₂-C), ενώ τέλος, η απλή κορυφή στα 3.657 ppm που ολοκληρώνει για 3 πρωτόνια, οφείλεται στην απορρόφηση των 3 υδρογόνων της μεθοξυ-ομάδας του αρωματικού δακτυλίου (-OCH₃).

3. Ανάλυση φάσματος MS της ένωσης 3d

Στην παρακάτω εικόνα παρουσιάζεται το φάσμα μάζας (MS) της ένωσης 3d:

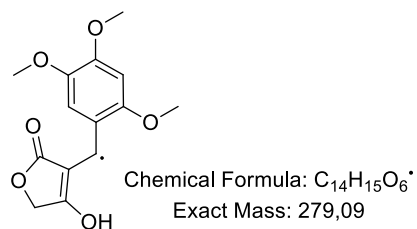


Εικόνα 40: Φάσμα μάζας της ένωσης 3d

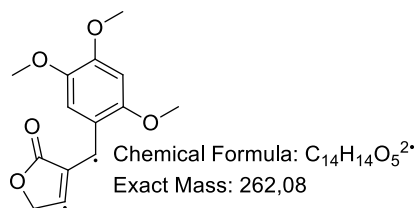
Στο παραπάνω φάσμα μάζας εμφανίζεται το μοριακό ιόν της ένωσης σε λόγο μάζας προς φορτίο 379.2 [M+1H]⁺ m/z, με ένταση 16.7%.

Επιπλέον, εμφανίζονται τα θραύσματα:

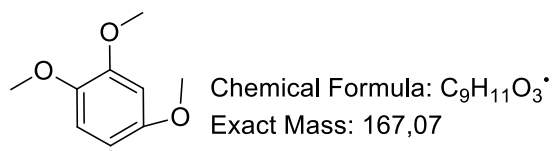
- Στα 279.3 m/z εμφανίζεται μια κορυφή, με ένταση 27.8%, η οποία αντιστοιχεί στο θραύσμα [M-98.8]⁺:



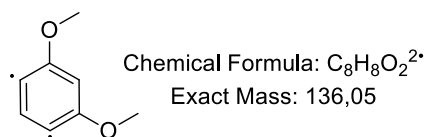
- Στα 263.4 m/z εμφανίζεται μια κορυφή, με ένταση 44.5%, η οποία αντιστοιχεί στο θραύσμα [M-OH-98.8]⁺:



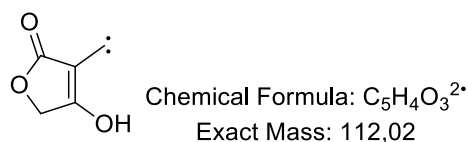
- Στα 163.3 m/z εμφανίζεται μια κορυφή, με ένταση 63.9%, η οποία αντιστοιχεί στο θραύσμα [M-214.8]⁺:



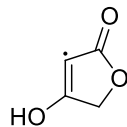
- Στα 136.2 m/z εμφανίζεται μια κορυφή, με ένταση 88.9%, η οποία αντιστοιχεί στο θραύσμα [M-OCH₃-214.8]⁺:



- Στα 113.1 m/z εμφανίζεται μια κορυφή με ένταση 100%, η οποία αποτελεί το ιόν βάσης I⁺ και αντιστοιχεί στο θραύσμα:



- Τέλος, στα 99.6 m/z, εμφανίζεται μια κορυφή, με ένταση 19.5% αντιστοιχεί στο θραύσμα [M-278.5]⁺:



Chemical Formula: C₄H₃O₃⁺
Exact Mass: 99,01

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

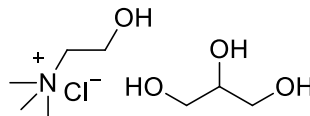
1. Σύνθεση NaDESs

Στην παρούσα εργαστηριακή μελέτη συντέθηκαν τέσσερα NaDESs για την αντίδραση domino Knoevenagel – Michael:

Πίνακας 13: Τα NaDESs που μελετήθηκαν για την σύνθεση δις-τετρονικών οξέων

| NaDESs | Δομές |
|--------------------------------------|-------|
| Προλίνη-Οξαλικό οξύ (1:1) | |
| Προλίνη-Γλυκερόλη (1:2) | |
| Προλίνη-Γαλακτικό οξύ-Νερό (1:2:2.5) | |

Χλωριούχος χολίνη-Γλυκερόλη (1:2)



Διερευνήθηκε ο διττός ρόλος των διαφορετικών NaDESs, δηλαδή η δυνατότητα να δρουν παράλληλα ως καταλύτες και ως διαλύτες κατά την διεξαγωγή των αντιδράσεων σχηματισμού δεσμού C-C, domino Knoevenagel – Michael.

2. Ανάπτυξη μεθοδολογίας σύνθεσης δις – τετρωνικών οξέων με αντίδραση domino Knoevenagel – Michael

Μετά από την εξέταση της επίδρασης των συντιθέμενων βαθέως ευτηκτικών διαλυτών στην απόδοση της αντίδρασης – μοντέλο, η οποία πραγματοποιήθηκε μέσω συμβατικής θέρμανσης, προέκυψαν τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον [Πίνακα 14](#):

Πίνακας 14: Η % απόδοση της αντίδρασης – μοντέλο σε προϊόν με συμβατική θέρμανση για καθέναν από τους τέσσερις NaDESs που χρησιμοποιήθηκαν

| NaDES | Απόδοση (%) |
|------------------------------------|-------------|
| Προλίνη/Οξαλικό οξύ 1:1 | 24 |
| Προλίνη/Γλυκερόλη 1:2 | 49 |
| Προλίνη/Γαλακτικό οξύ/Νερό 1:2:2.5 | 10 |
| Χλωριούχος Χολίνη/ Γλυκερόλη 1:2 | - |

Με βάση τα πειραματικά δεδομένα του [Πίνακα 14](#) παρατηρείται, ότι γενικά οι διαλύτες οδήγησαν σε μηδενικές έως μέτριες αποδόσεις. Με την χρήση του διαλύτη χλωριούχος χολίνη/γλυκερόλη δεν σχημάτισε το επιθυμητό προϊόν, γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα, ότι η παρουσία προλίνης στο διαλύτη είναι καταλυτικής και σημασίας και συμβάλλει στην προώθηση της αντίδρασης. Ειδικότερα, με χρήση του NaDES προλίνη – γλυκερόλη επιτεύχθηκε η υψηλότερη % απόδοση σε προϊόν, σε σύγκριση με τους NaDES προλίνη/οξαλικό οξύ και

προλίνη/γαλακτικό οξύ/νερό, υποδεικνύοντας ότι η χρήση καρβοξυλικών οξέων ως δότες δεσμού υδρογόνου δεν ευνοεί τον σχηματισμό του προϊόντος.

Ακολούθως, πραγματοποιήθηκε εκτεταμένη μελέτη για την αντίδραση domino Knoevenagel – Michael ως προς τον τρόπο θέρμανσης, αλλά και ως προς τις αναλογίες των αντιδρώντων συστατικών της. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 15: Μέθοδος θέρμανσης, μολαρική αναλογία αντιδρώντων, χρόνος αντίδρασης και % απόδοση προϊόντος για το NaDES Pro:Gly (1:2)

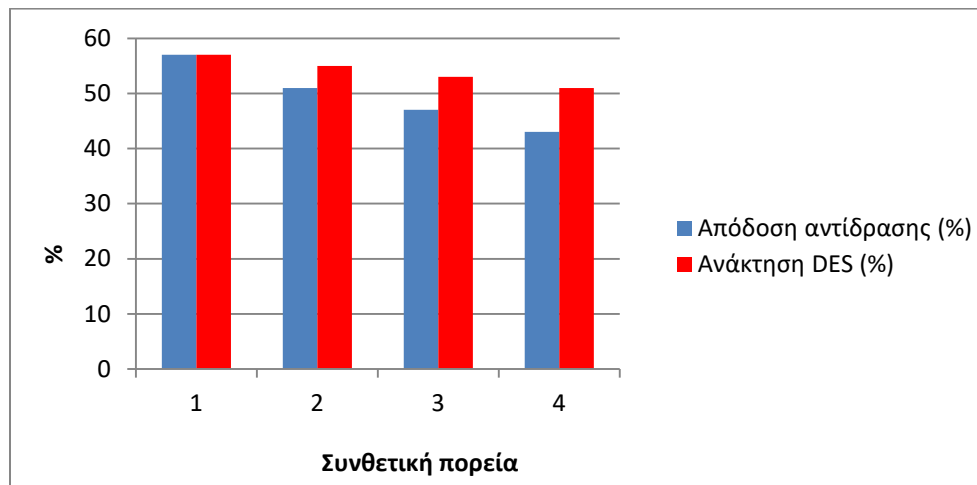
| Μέθοδος θέρμανσης | Μολαρική αναλογία τετρονικού οξέος/βανιλίνης | Χρόνος αντίδρασης | Απόδοση (%) |
|---------------------------|--|-------------------|-------------|
| Συμβατική θέρμανση | 2:1 | 24 h | 49 |
| Υπερηχητική ακτινοβολία | 2:1 | 30 min | – |
| Μικροκυματική ακτινοβολία | 2:1 | 15 min | 51 |
| Μικροκυματική ακτινοβολία | 2.5:1 | 15 min | 60 |

Μελετήθηκαν οι επιδράσεις των τριών μεθόδων θέρμανσης: συμβατικά, υπέρηχοι, μικροκύματα. Τόσο οι υπέρηχοι, όσο και τα μικροκύματα μειώνουν το χρόνο αντίδρασης, από ώρες σε μερικά λεπτά, συγκριτικά με τη συμβατική θέρμανση. Το επιθυμητό προϊόν της αντίδρασης domino Knoevenagel – Michael παραλήφθηκε ύστερα από διεξαγωγή της με μικροκύματα ως τεχνική θέρμανσης. Τα αντιδρώντα που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη μελέτη της αντίδρασης μοντέλο ήταν το τετρονικό οξύ και η βανιλίνη, ενώ ως κατάλληλος διαλύτης NaDES ο προλίνη – γλυκερόλη αναλογίας 1:2.

Στη συνέχεια, μελετήθηκε η μολαρική αναλογία των αντιδρώντων τετρονικού οξέος και βανιλίνης 2:1 και 2.5:1. Παρατηρήθηκε μεγαλύτερη απόδοση του επιθυμητού προϊόντος στην μολαρική αναλογία των αντιδρώντων 2.5:1 και έτσι επιλέχθηκε ως βέλτιστη συνθήκη.

3. Ανακύκλωση και επαναχρησιμοποίηση του NaDES

Ακολουθώντας τη διαδικασία, που αναλύθηκε στην [Παράγραφο 2.3](#) του πειραματικού μέρους, ο βαθέως ευτηκτικός διαλύτης Pro:Gly (1:2) ανακτήθηκε και επαναχρησιμοποιήθηκε μέχρι και 4 φορές. Ειδικότερα, η πρώτη αντίδραση περιλαμβάνει το αρχικό NaDES, ενώ οι άλλες τρεις περιλαμβάνουν το ανακτώμενο NaDES από την πρώτη, δεύτερη και τρίτη επανάληψη αντίστοιχα. Παρακάτω, παρουσιάζεται ένα διάγραμμα ([Διάγραμμα 1](#)) στο οποίο φαίνονται συγκριτικά οι % αποδόσεις και οι % ανακτήσεις του DES.

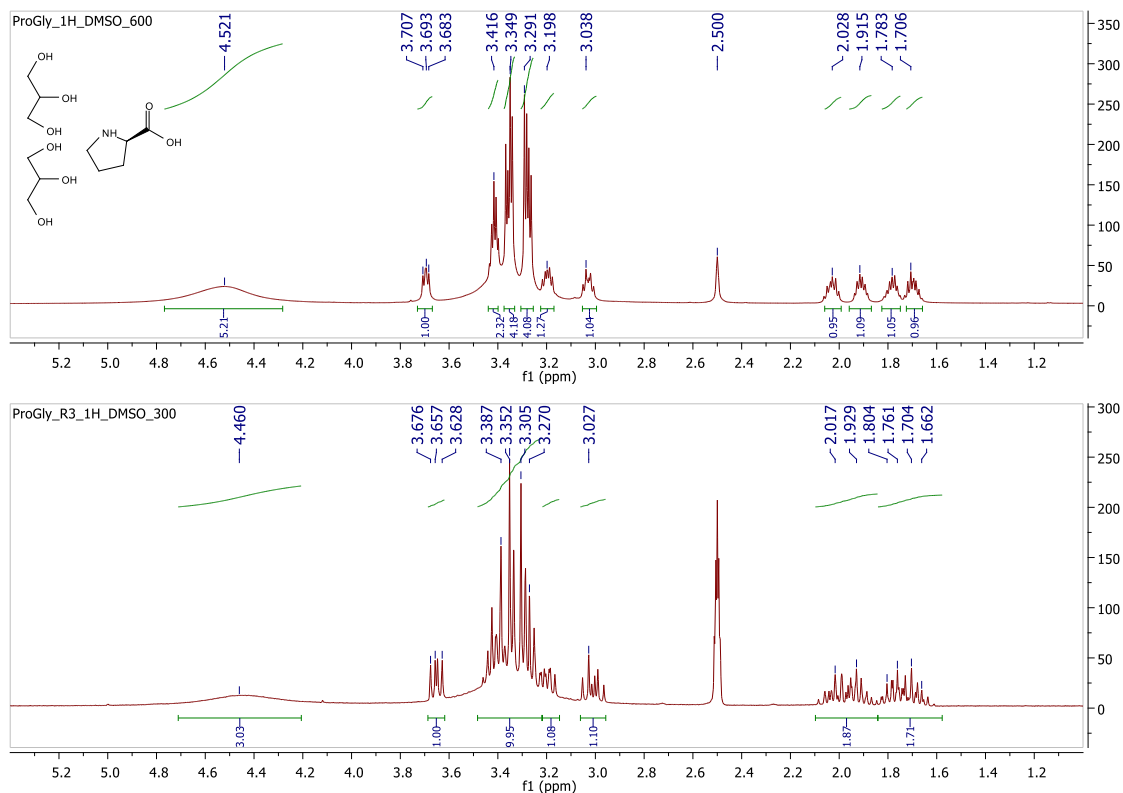


[Διάγραμμα 1](#): Απόδοση (%) και ανάκτηση (%) για κάθε συνθετική πορεία

Από το [Διάγραμμα 1](#) παρατηρείται ότι τόσο η απόδοση όσο και η ανάκτηση του DES μειώνονται με ρυθμό $\approx 9\%$ και $\approx 4\%$ αντίστοιχα. Η μείωση του DES οφείλεται στην μεταφορά του από το ένα εργαστηριακό σκεύασμα στο άλλο για τον επόμενο κύκλο αντίδρασης, αλλά και κατά την εκχύλιση της αντίδρασης για να απομακρυνθεί η υδατική φάση από την οργανική φάση, με αποτέλεσμα να υπάρχουν απώλειες του DES κατά την παραλαβή του. Επίσης, η μείωση της απόδοσης των αντιδράσεων κατά την ανακυκλωσιμότητα του NaDES ίσως να οφείλεται στην μείωση της καθαρότητας και της καταλυτικής ικανότητας του NaDES από τον ένα κύκλο αντίδρασης στον άλλον. Ο φυσικός βαθέως ευτηκτικός διαλύτης προλίνη - γλυκερόλη σε αναλογία 1:2 κρίνεται κατάλληλος τόσο για την

προσέγγιση μιας «πράσινης» συνθετικής πορείας, όσο και για την ικανότητα υψηλής ανάκτησής του και επαναχρησιμοποίησής του σε αρκετά καλές αποδόσεις.

Η ποιότητα του επαναχρησιμοποιούμενου διαλύτη, ανάμεσα στους διαφορετικούς κύκλους επανάληψης, παρακολουθήθηκε με τη βοήθεια φασματοσκοπίας ^1H NMR, απ' όπου προέκυψε ότι ο NaDES Pro:Gly μπορούσε να χρησιμοποιηθεί τουλάχιστον 3 ακόμη φορές, μετά την αρχική αντίδραση, επιτυγχάνοντας τη σύνθεση προϊόντων υψηλής καθαρότητας (παρατηρήθηκε μικρή διεύρυνση των κορυφών του φάσματος, χωρίς ωστόσο να έχει μεταβληθεί σημαντικά η γενική μορφή του).

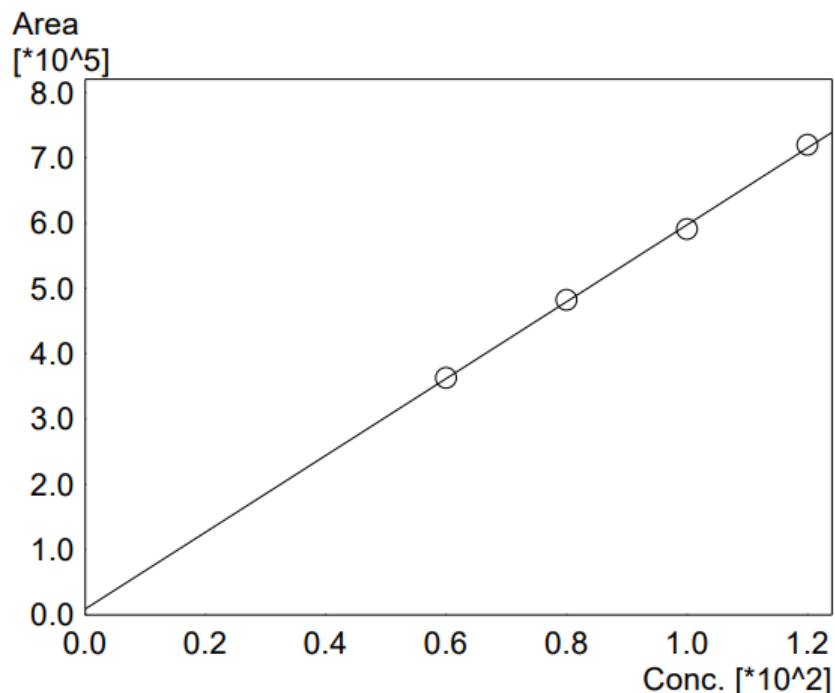


Εικόνα 41: Το φάσμα ^1H NMR του NaDES Pro:Gly (1:2) πριν τη χρήση του (πάνω) και μετά από 4 επαναλήψεις (κάτω)

4. Διαχωρισμός και ποσοτικοποίηση με HPLC

Ακολουθώντας τη διαδικασία, που αναλύθηκε στην [Παράγραφο 2.4](#) του πειραματικού μέρους, η βαθμονομημένη καμπύλη (calibration curve) είναι αποτέλεσμα τεσσάρων διαφορετικών συγκεντρώσεων 120, 100, 80 και 60 ppm του

προϊόντος 3a (πρότυπο δείγμα). Η βαθμονομημένη καμπύλη του πρότυπου δείγματος στις διαφορετικές συγκεντρώσεις απεικονίζεται στο [Διάγραμμα 2](#).



[Διάγραμμα 2](#): Η βαθμονομημένη καμπύλη τεσσάρων συγκεντρώσεων 120, 100, 80, 60 ppm, του προϊόντος 3a

Η καμπύλη αναφοράς ([Διάγραμμα 2](#)) απεικονίζει τις συγκεντρώσεις (X) των διαλυμάτων με το προϊόν 3a σε συνάρτηση με τα εμβαδά (Y) των χρωματογραφικών κορυφών τους σε UV ανιχνευτή. Η καμπύλη βαθμονόμησης, που προέκυψε από την ανάλυση του πρότυπου δείγματος, διάφορων συγκεντρώσεων είναι η εξής: $y = 5884.62x + 9242.91$ με συντελεστή συσχέτισης $R^2 = 0.9989$, αρκετά ικανοποιητικό.

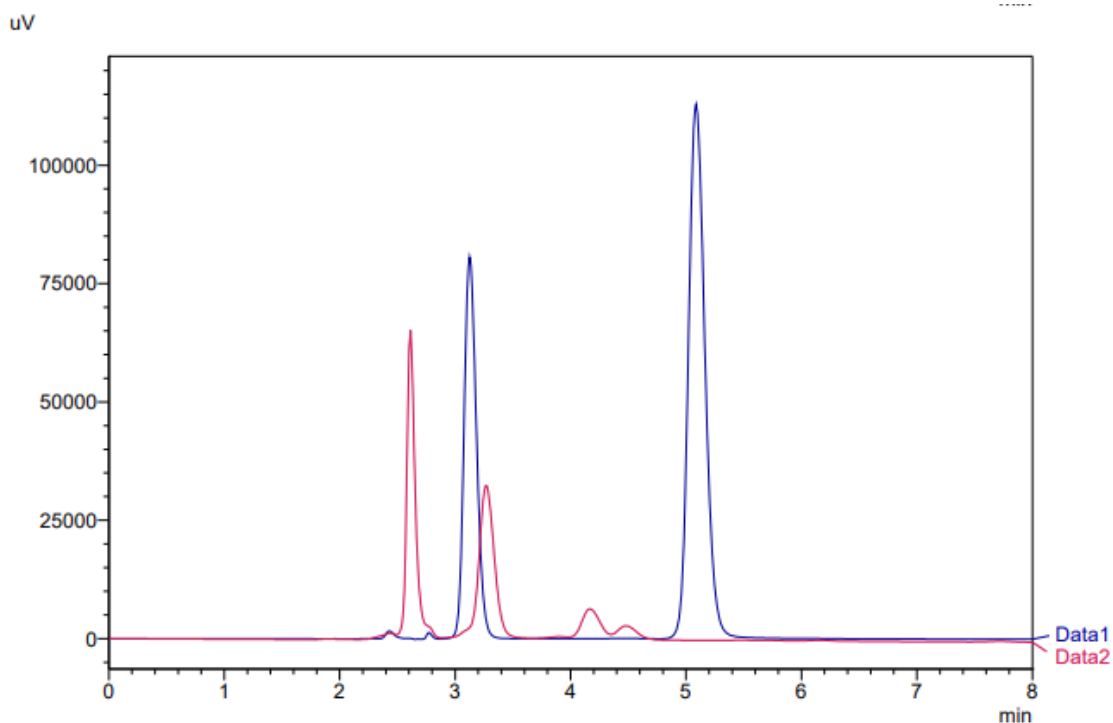
Η μέθοδος υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης αξιοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του προϊόντος 3a, σε τέσσερα άγνωστα δείγματα 1, 2, 3, 4 με συγκέντρωση 100 ppm το καθένα. Ο προσδιορισμός του ποσοστού ανάκτησης, έγινε μέσω της καμπύλης αναφοράς, που κατασκευάστηκε με βάση τα πρότυπα διαλύματα συγκεντρώσεων 120, 100, 80 και 60 ppm. Έτσι, προέκυψε αρχικά, η συγκέντρωση του προϊόντος 3a που περιέχεται σε κάθε δείγμα, δηλαδή σε συγκέντρωση 100 ppm. Στη συνέχεια, υπολογίστηκε η μάζα του προϊόντος 3a σε ποσότητα 1 mg/ml όπου είχε παραληφθεί αυτή η ποσότητα από το αρχικό οργανικό κλάσμα και έπειτα, υπολογίστηκε η ποσότητα του προϊόντος στο συνολικό αρχικό οργανικό κλάσμα που είχε παραληφθεί μετά την επεξεργασία της αντίδρασης. Τέλος, αφού υπολογίστηκε η συνολική μάζα του προϊόντος που

περιέχεται στο αρχικό οργανικό κλάσμα, υπολογίστηκε η απόδοση της αντίδρασης. Στον [Πίνακα 16](#) απεικονίζονται οι υπολογισμοί που πραγματοποιήθηκαν για την εύρεση της απόδοσης των τεσσάρων αντιδράσεων ανακύκλωσης του διαλύτη. Παρατηρείται, ότι η απόδοση μειώνεται σε κάθε κύκλο των ανακυκλώσιμων αντιδράσεων με μέσο ρυθμό $\approx 9\%$.

Πίνακας 16: Οι υπολογισμοί για την εύρεση της απόδοσης των ανακυκλώσιμων αντιδράσεων

| # | $C_{3a,100ppm}$ (ppm) | $m_{3a,1ppm}$ (mg) | $m_{3a,συνολικά}$ (mg) | n(%) |
|---|-----------------------|--------------------|------------------------|------|
| 1 | 43 | 0.43 | 115.3 | 57 |
| 2 | 42 | 0.42 | 73.2 | 51 |
| 3 | 58 | 0.58 | 74.07 | 47 |
| 4 | 46 | 0.46 | 38.9 | 43 |

Πιο κάτω παρουσιάζεται ένα χρωματογράφημα δύο δειγμάτων στα 260 nm. Το δείγμα Data 1 περιέχει τα αντιδρώντα, δηλαδή το τετρονικό οξύ και την βανιλίνη και το Data 2 είναι το χρωματογράφημα του μείγματος της αντίδρασης.



Διάγραμμα 3: Χρωματογράφημα δύο δειγμάτων. Data 1: δείγμα αντιδρώντων (τετρονικό + βανιλίνη) και Data 2: δείγμα προς εξέταση

Η στήλη της HPLC που χρησιμοποιήθηκε κατά την εργαστηριακή άσκηση ήταν αντίστροφης φάσης (reversed phase), επομένως, η στατική φάση ήταν λιγότερο πολική σε σχέση με την κινητή φάση (50% υπερκάθαρο νερό – 50% μεθανόλη), άρα τα πιο άπολα μόρια κρατιούνται από την στήλη και τα πολικά μόρια παρασύρονται από την κινητή φάση και βγαίνουν πιο νωρίς σε σύγκριση με τα άπολα. Συγκρίνοντας την πολικότητα των αντιδρώντων και του προϊόντος, πιο πολικό είναι το προϊόν 3a, μετά το τετρονικό οξύ και μετά η αλδεΰδη (βανιλίνη). Παρατηρείται για τη καμπύλη του δείγματος (Data 1) ότι πρώτο βγαίνει από την στήλη το τετρονικό οξύ περίπου στα 3.2 min και τελευταία η αλδεΰδη (βανιλίνη) περίπου στα 5.1 min. Για το δείγμα Data 2, παρατηρείται ότι στα 2.5 min εμφανίζεται κορυφή η οποία ανήκει στο προϊόν 3a, στη συνέχεια στα 3.15 εμφανίζεται η κορυφή του τετρονικού οξέος και τέλος η τελευταία κορυφή που ανήκει στην αλδεΰδη. Επομένως, το δείγμα Data 2, δεν είναι καθαρό προϊόν 3a αλλά περιέχει και μικρές ποσότητες αντιδρώντων που δεν αντέδρασαν κατά την διεξαγωγή της αντίδρασης.

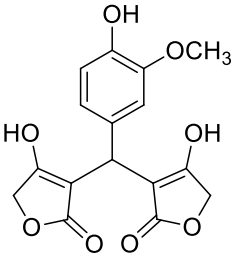
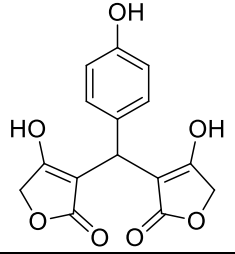
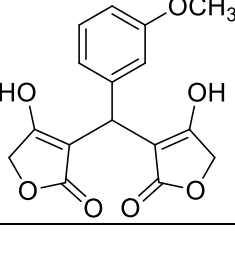
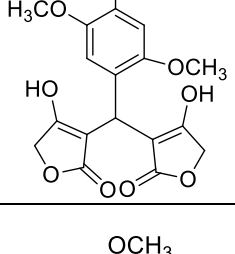
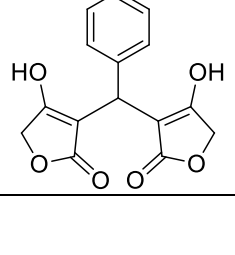
5. Αξιολόγηση αντιοξειδωτικής δράσης

5.1. Μέθοδος DPPH

Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των in vitro βιοδοκιμών αντιοξειδωτικής δράσης DPPH:

Πίνακας 17: Αποτελέσματα μετρήσεων αντιοξειδωτικής δράσης δις – τετρονικών οξέων με τη μέθοδο δέσμευσης ελεύθερων ριζών DPPH στα 60 min

| Αρίθμηση | Δομή | Ικανότητα αναστολής της ελεύθερης ρίζας DPPH 60 min % Παρεμπόδιση (100 μM) | Ικανότητα αναστολής της ελεύθερης ρίζας DPPH 60 min IC ₅₀ (μM) |
|----------|------|--|--|
|----------|------|--|--|

| | | | |
|----|---|------|------|
| 3a |  | 71.1 | 65.0 |
| 3b |  | 53.3 | 79.3 |
| 3c |  | 0 | - |
| 3d |  | 0 | - |
| 3e |  | 0 | - |

Με βάση τα αποτελέσματα των μετρήσεων αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο DPPH των δις - τετρονικών οξέων που συντέθηκαν, μπορούν να εξαχθούν ορισμένα συμπεράσματα, αναφορικά με τη σχέση δομής - αντιοξειδωτικής ικανότητας του κάθε μορίου.

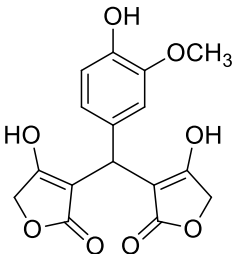
Αρχικά, παρατηρείται ότι η ύπαρξη μόνο μεθοξυομάδων ως υποκαταστάτες στον αρωματικό δακτύλιο δεν συμβάλει στην αντιοξειδωτική δράση, όπως φαίνεται στα αποτελέσματα των ενώσεων (3c), (3d) και (3e), όπου η % παρεμπόδιση είναι μηδενική. Ωστόσο, ο συνδυασμός μίας μεθοξυομάδας και μία υδροξυλομάδας σε ορθο - θέση στον αρωματικό δακτύλιο οδηγεί σε ενώσεις με αξιόλογη αντιοξειδωτική δράση, όπως φαίνεται για την ένωση (3a), με την ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση σε σύγκριση με τα υπόλοιπα μόρια που συντέθηκαν, με απαίτηση συγκέντρωσης 65.0 μM για το 50% αναστολής των ελευθέρων ριζών DPPH.

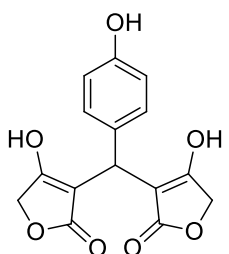
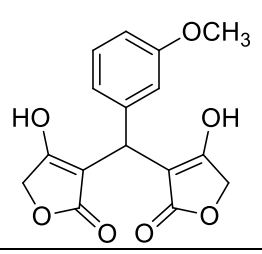
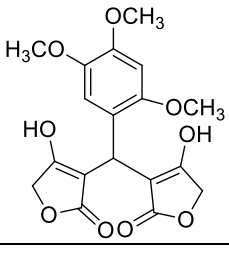
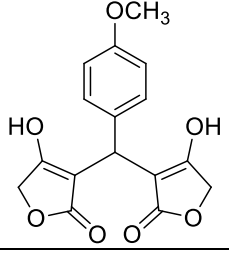
Η παρουσία υδροξυλομάδας φαίνεται πως παίζει καθοριστικό ρόλο στη διαμόρφωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των μορίων, όπως υπολογίστηκε για την ένωση (3b), η οποία παρουσιάζει IC_{50} ίσο 79.3 μM στα 60 min.

5.2. Μέθοδος AAPH

Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των in vitro βιοδοκιμών αντιοξειδωτικής δράσης AAPH:

Πίνακας 18: Αποτελέσματα μετρήσεων αντιοξειδωτικής δράσης δις - τετρονικών οξέων (% παρεμπόδιση) με τη μέθοδο AAPH

| Αρίθμηση | Δομή | Ικανότητα αναστολής της λιπιδικής υπεροξειδωσης AAPH % Παρεμπόδιση (100 μM) |
|----------|---|--|
| 3a |  | 0 |

| | | |
|----|---|------|
| 3b |  | 0 |
| 3c |  | 0 |
| 3d |  | 42.3 |
| 3e |  | 0 |
| - | Trolox | 62.2 |

Με βάση τα αποτελέσματα των μετρήσεων αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο AAPH τα συμπεράσματα που προκύπτουν, είναι πως η πλειονότητα των δις - τετρονικών οξέων που συντέθηκαν δεν εμφανίζουν αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης (LP) που επάγεται από τον εκκινητή ελευθέρων ριζών 2,2'-αζωδις(2-αμιδινοπροπανίου)διϋδροχλωρίδιο, AAPH. Οι ενώσεις (3a), (3b), (3c) και (3e) δεν εμφανίζουν καθόλου αντιοξειδωτική δράση για την αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης.

Το μοναδικό μόριο που εμφάνισε αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης, είναι το δις - τερονικό οξύ (3d) με ποσοστό αναστολής 42.3%, ενώ η ένωση αναφοράς Trolox παρουσίασε αναστολή 62.2%. Επομένως, ο συνδυασμός των

τριών μεθοξυομάδων στον αρωματικό δακτύλιο οδηγεί σε ενώσεις με μέτρια αντιοξειδωτική δράση.

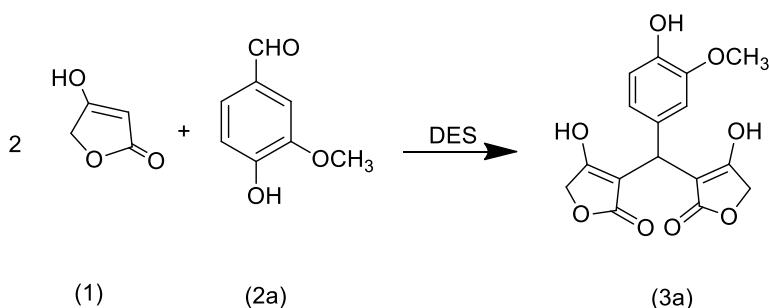
6. Σύνοψη - Συμπεράσματα

Συμπερασματικά, στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκε η σύνθεση δις - τετρονικών οξέων μέσω της αντίδρασης domino Knoevenagel - Michael και πιο συγκεκριμένα της συμπύκνωσης ενός τετρονικού οξέος και μιας αλδεΐδης, χρησιμοποιώντας, τόσο φυσικούς βαθέως ευτηκτικούς διαλύτες, όσο και τεχνικές υψηλής ενέργειας.

Αρχικά, συντέθηκαν τέσσερις διαφορετικοί φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες (NaDESs) και ταυτοποιήθηκε η δομή τους μέσω φασμάτων ^1H NMR. Αποτελούμενοι από τις εξής ενώσεις:

- Προλίνη-Οξαλικό οξύ (1:1)
- Προλίνη-Γλυκερόλη (1:2)
- Προλίνη-Γαλακτικό οξύ-Νερό (1:2:2.5)
- Χλωριούχος χολίνη-Γλυκερόλη (1:2)

Οι παραπάνω NaDESs χρησιμοποιήθηκαν για τη διεξαγωγή της αντίδρασης - μοντέλο, ανάμεσα στο τετρονικό οξύ **(1)** και τη βανιλίνη **(2a)**:



Συγκρίνοντας την % απόδοση σε προϊόν **(3a)**, που προέκυψε για καθέναν από τους τέσσερις NaDESs, βρέθηκε αρχικά ότι, όταν χρησιμοποιείται ο διαλύτης χλωριούχος χολίνη-γλυκερόλη δεν προκύπτει το επιθυμητό προϊόν, γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα, ότι η παρουσία προλίνης στο διαλύτη (ως δέκτης δεσμού υδρογόνου) είναι καταλυτικής σημασίας για την πραγματοποίησή της αντίδρασης. Τα καλύτερα αποτελέσματα προκύπτουν, όταν χρησιμοποιείται ο διαλύτης προλίνη-γλυκερόλη, με απόδοση 49%, ενώ η χαμηλότερη απόδοση (10%) προέκυψε με χρήση του διαλύτη προλίνη/γαλακτικό οξύ/νερό, υποδεικνύοντας ότι

η χρήση καρβοξυλικών οξέων ως δότες δεσμού υδρογόνου δεν ευνοεί τον σχηματισμό του προϊόντος.

Για τη διερεύνηση και βελτιστοποίηση της αντίδρασης – μοντέλο, μελετήθηκαν ο τρόπος θέρμανσης του μίγματος της αντίδρασης (συμβατικά, υπέρηχοι, μικροκύματα) καθώς και οι αναλογίες των αντιδρώντων (2:1 και 2.5:1), με χρήση του NaDES προλίνη-γλυκερόλη 1:2. Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν μέσω δομικού προσδιορισμού που πραγματοποιήθηκε στα προϊόντα της αντίδρασης – μοντέλο αλλά και από τις αποδόσεις σε προϊόν, εξάχθηκαν οι εξής βέλτιστες συνθήκες: γραμμομοριακή αναλογία αντιδρώντων τετρονικού οξέος και βανιλίνης (2.5:1) μέσω μικροκυμάτων ως τεχνική θέρμανσης, επιτυγχάνοντας σύνθεση με 60% απόδοση. Επίσης, συγκριτικά με τα αποτελέσματα της συμβατικής θέρμανσης, η χρήση μικροκυμάτων είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση του χρόνου αντίδρασης από ώρες (24 h) σε λεπτά (15 min). Ενώ, με την χρήση υπερήχων ως μέθοδος θέρμανσης, παρατηρήθηκε μέσω φασματοσκοπίας ^1H NMR ότι δε δημιουργείται το επιθυμητό προϊόν.

Με στόχο την ενίσχυση του «πράσινου» χαρακτήρα της διεργασίας, εξετάστηκε η δυνατότητα ανάκτησης και επαναχρησιμοποίησης του NaDES Pro:Gly (1:2), με τη διεξαγωγή της αντίδρασης – μοντέλο, με τις βέλτιστες αναλογίες των αντιδρώντων και ως τεχνική θέρμανσης την συμβατική. Προέκυψε ότι ο διαλύτης μπορεί να επαναχρησιμοποιηθεί έως και 4 φορές, επιτυγχάνοντας συνθέσεις με μέτριες αποδόσεις (57 – 43%). Το γεγονός αυτό είναι καθοριστικής σημασίας για τη διεργασία, καθώς συμβάλλει άμεσα στη μείωση, τόσο του κόστους (χρήση μικρής ποσότητας διαλύτη), όσο και των παραγόμενων αποβλήτων, με τους NaDESs να δρουν ταυτόχρονα ως διαλύτες, αλλά και ως καταλύτες. Σημειώνεται πως ο προσδιορισμός της απόδοσης των αντιδράσεων στον κάθε κύκλο επανάληψης έγινε μέσω της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC).

Σε μια προσπάθεια γενίκευσης της μεθοδολογίας σύνθεσης δις – τετρονικών οξέων, μέσω της βελτιστοποιημένης οδού που προαναφέρθηκε, συντέθηκαν άλλα 4 δις - τετρονικά οξέα με διαφορετικούς υποκατάστατες στον αρωματικό δακτύλιο, με αποδόσεις που κυμαίνονται από 28 – 68%. Για την παραλαβή των τελικών προϊόντων, χρειάστηκε καθαρισμός μέσω χρωματογραφίας στήλης και η καθαρότητα τους παρακολούθηθηκε μέσω φασμάτων ^1H NMR και MS. Επίσης, παρατηρήθηκε ότι οι αλδεΐδες που έχουν μεθοξυ ομάδες στον αρωματικό δακτύλιο προκύπτει το επιθυμητό προϊόν στο τέλος της αντίδρασης, ενώ οι αλδεΐδες που έχουν στο μόριο τους αλογόνα δεν προκύπτει το επιθυμητό προϊόν. Επιπλέον, με την χρήση του διαλύτη προλίνη-γλυκερόλη αποφεύγεται η προστασία των υδροξυομάδων των αλδεϋδών, όποτε τα στάδια προστασίας και αποπροστασίας δεν

πραγματοποιούνται, αποφεύγοντας έτσι περιττά στάδια, χαρακτηριστικό που συνάδει με την Πράσινη Χημεία.

Τα συντιθέμενα δις – τετρονικά οξέα εξετάστηκαν και ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση, με δύο διαφορετικές μεθόδους. Με τη μέθοδο δέσμευσης ελευθέρων ριζών DPPH προέκυψε, ότι η υδροξυλομάδα στον αρωματικό δακτύλιο παίζει καθοριστικό ρόλο στη διαμόρφωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας ενός μορίου, όπως υπολογίστηκε για την ένωση **(3a)** και την ένωση **(3b)**, οι οποίες διαθέτουν μία υδροξυ-ομάδα στην θέση 4 του αρωματικού δακτυλίου. Επίσης, παρατηρήθηκε ότι η ύπαρξη μεθοξυομάδων ως υποκαταστάτες του αρωματικού δακτυλίου δεν συμβάλει στην απόκτηση αντιοξειδωτικής δράσης, όπως στην περίπτωση των ενώσεων **(3c)**, **(3d)** και **(3e)**. Ωστόσο, όμως, ο συνδυασμός μεθοξυομάδας και υδροξυλομάδας σε ορθο – θέση στον αρωματικό δακτύλιο οδηγεί σε ενώσεις με εξαιρετική αντιοξειδωτική δράση, όπως υπολογίστηκε για την ένωση **(3a)**. Από την δεύτερη μέθοδο, AAPH, προέκυψαν διαφορετικά αποτελέσματα, ότι ο συνδυασμός των τριών μεθοξυομάδων στον αρωματικό δακτύλιο οδηγεί σε ενώσεις με μέτρια αντιοξειδωτική δράση, ενώ οι υδροξυλομάδες δεν εμφανίζουν καθόλου αντιοξειδωτική δράση. Οι ενώσεις **(3a)**, **(3b)**, **(3c)** και **(3e)** δεν εμφανίζουν καθόλου αντιοξειδωτική δράση για την αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης.

7. Προτάσεις για μελλοντική έρευνα

Η μελλοντική έρευνα που προκύπτει από την παρούσα ερευνητική εργασία έχει ως στόχο αρχικά την διερεύνηση περισσότερων πράσινων διαλυτών, NaDESs ή και ιοντικών υγρών, προς περαιτέρω βελτιστοποίηση της αντίδρασης domino Knoevenagel – Michael. Ακόμη, θα μπορούσε να μελετηθεί η επίδραση της ποσότητας του χρησιμοποιούμενου διαλύτη στην καθαρότητα και στην % απόδοση σε προϊόν.

Επιπλέον, θα μπορούσε να δοκιμαστεί η σύνθεση δις – τετρονικών οξέων, χρησιμοποιώντας αλδεΐδες με διαφορετικούς υποκαταστάτες από αυτούς που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα ερευνητική εργασία.

Τέλος, εκτός από την αντιοξειδωτική δράση θα μπορούσαν να μελετηθούν και κάποιες από τις υπόλοιπες ιδιότητες που έχουν τα δις – τετρονικά οξέα, όπως η αντικαρκινική, η αντιβιοτική και η εντομοκτόνα δράση τους.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Princiotto, S., Jayasinghe, L., & Dallavalle, S. (2022). Recent advances in the synthesis of naturally occurring tetronic acids. *Bioorganic Chemistry*, 119, 105552
- [2] Georgiadis, D. (2013). Tetronic acids. *Natural Lactones and Lactams: Synthesis, Occurrence and Biological Activity*, 1–49
- [3] Abdou, M. M., El-Saeed, R. A., Abozeid, M. A., Sadek, M. G., Zaki, E., Barakat, Y., Ibrahim, H., Fathy, M., Shabana, S., Amine, M., & Bondock, S. (2019). Advancements in tetronic acid chemistry. Part 1: Synthesis and reactions. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(4), 464–475
- [4] Athanasellis, G., Igglessi-Markopoulou, O., & Markopoulos, J. (2010). Tetramic and tetronic acids as scaffolds in bioinorganic and bioorganic chemistry. *Bioinorganic chemistry and applications*, 2010, 315056
- [5] Effenberger, F.P., & Syed, J. (1998). Stereoselective synthesis of biologically active tetronic acids. *Tetrahedron-asymmetry*, 9(5), pp.817-825
- [6] Schobert, R. (2007). Domino syntheses of bioactive tetronic and tetramic acids. *Naturwissenschaften*, 94(1), 1–11
- [7] Hu, Y., Wang, J., Lu, A., & Yang, C. (2014). Synthesis, characterization, antifungal evaluation and 3D-QSAR study of phenylhydrazine substituted tetronic acid derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 24(16), 3772–3776
- [8] Nadal, B., Thetiot-Laurent, S. A. L., Pin, S., Renault, J. P., Cressier, D., Rima, G., Le Roux, A., Meunier, S., Wagner, A., Lion, C., & Le Gall, T. (2010). Synthesis and antioxidant properties of pulvinic acids analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 18(22), 7931–7939
- [9] Hori, K., Kazuno, H., Nomura, K., & Yoshii, E. (1993). The first total synthesis of tetronasin (M139603). *Tetrahedron Letters*, 34(13), 2183–2186
- [10] Ke, S., Zhang, Z., Zhang, Y. N., Shi, L., Zhou, R., Jiang, A., ... & Yang, Z. (2012). Novel ether-functional spiro-tetronic acid derivatives: molecule design, convenient synthesis and biological evaluation. *Research on Chemical Intermediates*, 38, 1827-1837
- [11] Anastas, P.T., Heine, L.G., & Williamson, T.C. (2000). Green chemical syntheses and processes: introduction
- [12] Anastas, P. T., & Kirchhoff, M. M. (2002). Origins, current status, and future challenges of green chemistry. *Accounts of Chemical Research*, 35(9), 686–694
- [13] Anastas, P., & Eghbali, N. (2009). Green Chemistry: Principles and Practice. *Chemical Society Reviews*, 39(1), 301–312
- [14] Abdussalam-Mohammed, W., Qasem Ali, A., & O. Errayes, A. (2020). Green Chemistry: Principles, Applications, and Disadvantages. *Chemical Methodologies*, 4(4), 408-423
- [15] Anastas, P. T., & Lankey, R. L. (2000). Life cycle assessment and green chemistry: the yin and yang of industrial ecology. *Green Chemistry*, 2(6), 289-295
- [16] Paul T. Anastas, John C. Warner. (2007). Πράσινη Χημεία: Θεωρία και πράξη, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, Μετάφραση: Αμπελιώτης Κ., Καπασσά Μ., Σίσκος Π.Α.

- [17] V.K. Ahluwalia, M. Kidwai. (2023). *New Trends in Green Chemistry*, Kluwer Academic, 10-30
- [18] Li, C. J., & Trost, B. M. (2008). Green chemistry for chemical synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(36), 13197-13202
- [19] Δέτση Α., Παπαδόπουλος Α. (2020). Πράσινη Χημεία και Μηχανική: Διδακτικές Σημειώσεις Μαθήματος, ΕΜΠ
- [20] Sheldon, R. A. (2016). Green chemistry and resource efficiency: towards a green economy. *Green Chemistry*, 18(11), 3180–3183
- [21] Iravani, A., Akbari, M. H., & Zohoori, M. (2017). Advantages and disadvantages of green technology; goals, challenges and strengths. *Int J Sci Eng Appl*, 6(9), 272-284
- [22] Alonso, D. A., Baeza, A., Chinchilla, R., Guillena, G., Pastor, I. M., & Ramón, D. J. (2016). Deep Eutectic Solvents: The Organic Reaction Medium of the Century. *European Journal of Organic Chemistry*, 2016(4), 612–632
- [23] Wazeer, I., Hayyan, M., & Hadj-Kali, M.K. (2018). Deep Eutectic Solvents: Designer Fluids for Chemical Processes. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 93, 945-958
- [24] Perna, F.M., Vitale, P., & Capriati, V. (2020). Deep eutectic solvents and their applications as green solvents. *Green and Sustainable Chemistry*, 21, 27-33
- [25] Mota-Morales, J.D., Sánchez-Leija, R.J., Carranza, A.G., Pojman, J.A., Monte, F.D., & Luna-Bárceñas, G. (2017). Free-radical polymerizations of and in deep eutectic solvents: Green synthesis of functional materials. *Progress in Polymer Science*, 78, 139-153
- [26] Migliorati, V., Sessa, F., & D'Angelo, P. (2019). Deep eutectic solvents: A structural point of view on the role of the cation. *Chemical Physics Letters*, 737, 100001
- [27] Zhang, Q., De Oliveira Vigier, K., Royer, S., & Jérôme, F. (2012). Deep eutectic solvents: syntheses, properties and applications. *Chemical Society reviews*, 41(21), 7108–7146
- [28] Svirgelj, R., Dossi, N., Grazioli, C., & Toniolo, R. (2021). Deep Eutectic Solvents (DESS) and Their Application in Biosensor Development. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 21(13), 4263
- [29] Paiva, A., Craveiro, R., Aroso, I.M., Martins, M., Reis, R.L., & Duarte, A.R. (2014). Natural Deep Eutectic Solvents – Solvents for the 21st Century. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2, 1063-1071
- [30] Vanda, H., Dai, Y., Wilson, E.G., Verpoorte, R., & Choi, Y.H. (2018). Green solvents from ionic liquids and deep eutectic solvents to natural deep eutectic solvents. *Comptes Rendus Chimie*, 21(6), 628-638
- [31] Yang Z. (2019). Natural Deep Eutectic Solvents and Their Applications in Biotechnology. *Advances in biochemical engineering/biotechnology*, 168, 31–59
- [32] Dai, Y., van Spronsen, J., Witkamp, G. J., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2013). Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. *Analytica chimica acta*, 766, 61-68

- [33] Dai, Y., Witkamp, G. J., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2015). Tailoring properties of natural deep eutectic solvents with water to facilitate their applications. *Food chemistry*, 187, 14-19
- [34] Yue, C., Mao, A., Wei, Y., & Lü, M. (2008). Knoevenagel condensation reaction catalyzed by task-specific ionic liquid under solvent-free conditions. *Catalysis Communications*, 9(7), 1571–1574
- [35] Wang, W., Cheng, W., Shao, L., Liu, C.-H., & Yang, J. (2009). Henry and Knoevenagel reactions catalyzed by methoxyl propylamine acetate ionic liquid. *Kinetics and Catalysis*, 50(2), 186–191
- [36] Ranu, B. C., & Jana, R. (2006). Ionic Liquid as Catalyst and Reaction Medium – A Simple, Efficient and Green Procedure for Knoevenagel Condensation of Aliphatic and Aromatic Carbonyl Compounds Using a Task-Specific Basic Ionic Liquid. *European Journal of Organic Chemistry*, 2006(16), 3767–3770
- [37] Khare, R., Pandey, J., Smriti, S., & Ruchi, R. (2019). The Importance and Applications of Knoevenagel Reaction (Brief Review). *Oriental Journal of Chemistry*, 35(1), 423–429
- [38] Shaibuna, M., Hiba, K., Theresa, L. V., & Sreekumar, K. (2020). A new type IV DES: a competent green catalyst and solvent for the synthesis of α,β -unsaturated diketones and dicyano compounds by Knoevenagel condensation reaction. *New Journal of Chemistry*, 44(34), 14723–14732
- [39] Johari, S., Johan, M. R., & Khaligh, N. G. (2022). An overview of metal-free sustainable nitrogen-based catalytic Knoevenagel condensation reaction. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 20(11), 2164–2186
- [40] Zhang, Z. Z., Zhang, N. T., Hu, L. M., Wei, Z. Q., Zeng, C. C., Zhong, R. G., & She, Y. Bin. (2011). Electrochemically induced cascade Knoevenagel–Michael reactions of tetronic acid and aldehydes: synthesis of methylenebistetronic acids. *RSC Advances*, 1(7), 1383–1388
- [41] Pandit, K. S., Desai, U. V., Wadgaonkar, P. P., & Kodam, K. M. (2017). Sulfamic acid-catalyzed, environmentally benign synthesis of bis-tetronic acids at ambient temperature. *Research on Chemical Intermediates*, 43(1), 141–152
- [42] Ramachary, D. B., & Kishor, M. (2010). Direct catalytic asymmetric synthesis of highly functionalized tetronic acids/tetrahydro-isobenzofuran-1,5-diones via combination of cascade three-component reductive alkylations and Michael-aldol reactions. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 8(12), 2859–2867
- [43] Shi, D. Q., & Yao, H. (2009). Clean synthesis of furo[3,4-e]pyrazolo[3,4-b]pyridine-5-one derivatives in aqueous media. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 46(6), 1335–1338
- [44] Kour, P., & Kumar, A. (2020). Cinchonine-driven multi-component domino Knoevenagel–Michael strategy: metal-free synthesis of quinoline-based 4H-pyran and tetrahydro-4H-chromene derivatives. *Research on Chemical Intermediates*, 46(4), 2025–2034
- [45] Nunes, P. S. G., Vidal, H. D. A., & Correâ, A. G. O. (2020). Recent advances in catalytic enantioselective multicomponent reactions. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 18(39), 7751–7773

- [46] Tietze, L. F. (1996). Domino reactions in organic synthesis. *Chemical Reviews*, 96(1), 115–136
- [47] Pellissier, H. (2013). Stereocontrolled domino reactions. *Chemical Reviews*, 113(1), 442–524
- [48] Cintas, Pedro, and Jean-Louis Luche. (1999). Green chemistry. The sonochemical approach. *Green Chemistry*, 1(3), 115-125
- [49] Bruckmann, Angelika, Anke Krebs, and Carsten Bolm. (2008). Organocatalytic reactions: effects of ball milling, microwave and ultrasound irradiation. *Green Chemistry*, 10(11), 1131-1141
- [50] Mather, B. D., Viswanathan, K., Miller, K. M., & Long, T. E. (2006). Michael addition reactions in macromolecular design for emerging technologies. *Progress in Polymer Science*, 31(5), 487-531
- [51] Liu, S., Ni, Y., Wei, W., Qiu, F., Xu, S., & Ying, A. (2014). Choline chloride and urea based eutectic solvents: Effective catalytic systems for the Knoevenagel condensation reactions of substituted acetonitriles. *Journal of Chemical Research*, 38(3), 186–188
- [52] Tietze, L. & Rackelmann, N. (2004). Domino reactions in the synthesis of heterocyclic natural products and analogs. *Pure and Applied Chemistry*, 76(11), 1967-1983
- [53] Wiesbrock, F., Hoogenboom, R., & Schubert, U.S. (2004). Microwave-Assisted Polymer Synthesis: State-of-the-Art and Future Perspectives. *Macromolecular Rapid Communications*, 25, 1739-1764
- [54] Kappe, C. O., Stadler, A., & Dallinger, D. (2012). *Microwaves in organic and medicinal chemistry* (Vol. 52). John Wiley & Sons
- [55] Lidström, P., Tierney, J., Watheyb, B., & Westmana, J. (2001). Microwave assisted organic synthesis – a review. *Tetrahedron*, 57, 9225-9283
- [56] Kappe, C.O. (2004). Controlled microwave heating in modern organic synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*, 43(46), 6250-6284
- [57] Nüchter, M., Ondruschka, B., Bonrath, W., & Gum, A. (2004). Microwave assisted synthesis—a critical technology overview. *Green chemistry*, 6(3), 128-141
- [58] Varma, R. S. (2012). Green Chemistry with Microwave Energy. *Encyclopedia of Sustainability Science and Technology*, 4642–4673
- [59] Ravichandran, S. and Karthikeyan, E., (2011). Microwave Synthesis - A Potential Tool for Green Chemistry. *International Journal of ChemTech Research*, 3(1), 466-470
- [60] Yanshuo Li, Weishen Yang. (2008). «Microwave synthesis of zeolite membranes: A review», *Journal of Membrane Science* 316(1-2), 3–17
- [61] Grewal A. S., Kumar K., Redhu S., & Bhardwaj S. (2003). Microwave assisted synthesis: a green chemistry approach, *International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences*, 3(5), 278-285
- [62] Mason, T.J. (1997). Ultrasound in synthetic organic chemistry. *Chemical Society Reviews*, 26(6), 443-451
- [63] McKenzie, T.G., Karimi, F., Ashokkumar, M., & Qiao, G.G. (2019). Ultrasound and Sonochemistry for radical polymerization: sound synthesis. *Chemistry-A European Journal*, 25(21), 5372-5388

- [64] Mason, T. J., & Peters, D. (2002). Practical sonochemistry: Power ultrasound uses and applications. Woodhead Publishing
- [65] Shingare, M. S., & Shingate, B. B. (2012). 10 Ultrasound in Synthetic Applications and Organic Chemistry. Handbook on Applications of, 213
- [66] Cravotto, G., & Cintas, P. (2006). Power ultrasound in organic synthesis: moving cavitation chemistry from academia to innovative and large-scale applications. *Chemical Society Reviews*, 35(2), 180-196
- [67] Cella, R., & Stefani, H. A. (2009). Ultrasound in heterocycles chemistry. *Tetrahedron*, 65(13), 2619-2641
- [68] Suslick, K. S., Schaffner, K., Demuth, M., Helmchen, G., Brown, H. C., Seebach, D., & Suslick, K. S. (1986). Ultrasound in synthesis. In *Modern Synthetic Methods 1986: Conference Papers of the International Seminar on Modern Synthetic Methods 1986*, Interlaken, Springer Berlin Heidelberg, 1-60
- [69] Lupacchini, M., Mascitti, A., Giachi, G., Tonucci, L., d'Alessandro, N., Martinez, J., & Colacino, E. (2017). Sonochemistry in non-conventional, green solvents or solvent-free reactions. *Tetrahedron*, 73(6), 609-653
- [70] Bang, J. H., & Suslick, K. S. (2010). Applications of ultrasound to the synthesis of nanostructured materials. *Advanced materials*, 22(10), 1039-1059
- [71] Patil, R., Bhoir, P., Deshpande, P., Wattamwar, T., Shirude, M., & Chaskar, P. (2013). Relevance of sonochemistry or ultrasound (US) as a proficient means for the synthesis of fused heterocycles. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(6), 1327-1336
- [72] Neuenschwander, U., Neuenschwander, J., & Hermans, I. (2012). Cavitation-induced radical-chain oxidation of valeric aldehyde. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19(5), 1011-1014
- [73] Bang, J. H., & Suslick, K. S. (2010). Applications of Ultrasound to the Synthesis of Nanostructured Materials. *Advanced Materials*, 22(10), 1039-1059
- [74] Martínez, R. F., Cravotto, G., & Cintas, P. (2021). Organic Sonochemistry: A Chemist's Timely Perspective on Mechanisms and Reactivity. *The Journal of organic chemistry*, 86(20), 13833-13856
- [75] Ε. Καλδούδη και Χ. Ελευθεριάδης. (2015). Η φυσική της ζωής, Εκδόσεις Κάλλιπος, 194-208
- [76] Μ. Όξενκιουν-Πετροπούλου. (2012). Φυσικές Μέθοδοι Ανάλυσης-Φασματομετρικές μέθοδοι, Εκδόσεις Συμμετρία, 321-408, Γ' έκδοση
- [77] Raja P. M. V., Barron A. R. (2021). Physical Methods in Chemistry and Nanoscience, LibreTexts, 4(7), 3841-3846
- [78] Σ. Λιοδάκης. (2001). Αναλυτική Χημεία-Θέματα και Προβλήματα, Εκδόσεις Παπασωτηρίου, 242-339
- [79] Μ. Κουή, Ν. Αβδελίδης, Π. Θεωδορακάς και Ε. Χειλάκου. (2015). Μη καταστρεπτικές και φασματοσκοπικές μέθοδοι εξέτασης των υλικών, Αθήνα: Εκδόσεις Κάλλιπος, 190-216
- [80] Veerasingam S., Ranjani M., Venkatachalapathy R., Bagaev A., Mukhanov V., Litvinyuk D., Mugilarasan M., Gurumoorthi K., Gunganathan L., Aboobacker V. M., 112 Vethamony P. (2021). Contributions of Fourier transform infrared spectroscopy in microplastic pollution research: A review, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 51(22), 2681-2743

- [81] Barth, A. (2007). Infrared spectroscopy of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1767(9), 1073-1101
- [82] Dong, A., Prestrelski, S.J., Allison, S.D. and Carpenter, J.F. (1995). Infrared spectroscopic studies of lyophilization-and temperature-induced protein aggregation. *Journal of pharmaceutical sciences*, 84(4), 415-424
- [83] Dutta, A. (2017). Fourier transform infrared spectroscopy. *Spectroscopic methods for nanomaterials characterization*, 73-93
- [84] Glish, G. L., & Vachet, R. W. (2003). The basics of mass spectrometry in the twenty-first century. *Nature reviews drug discovery*, 2(2), 140-150
- [85] Papac, D. I., & Shahrokh, Z. (2001). Mass spectrometry innovations in drug discovery and development. *Pharmaceutical research*, 18, 131-145
- [86] Rubakhin, S. S., Jurchen, J. C., Monroe, E. B., & Sweedler, J. V. (2005). Imaging mass spectrometry: fundamentals and applications to drug discovery. *Drug discovery today*, 10(12), 823-837
- [87] Makarov, A., & Scigelova, M. (2010). Coupling liquid chromatography to Orbitrap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217(25), 3938-3945
- [88] Pryde, S., & Gilbert, M. T. (1979). Applications of high performance liquid chromatography. Springer Science & Business Media, 30(3), 100-120
- [89] Yeung, E. S., & Synovec, R. E. (1986). Detectors for liquid chromatography. *Analytical Chemistry*, 58(12), 1237-1256
- [90] Scott, R. P. W. (1986). *Liquid chromatography detectors*. Elsevier
- [91] Moldoveanu, S., & David, V. (2022). Essentials in modern HPLC separations. Elsevier. *Clinical biochemistry*, 41(9), 649-662
- [92] Moldoveanu, S. C., & David, V. (2016). Selection of the HPLC method in chemical analysis. Elsevier, 45(3), 423-435
- [93] Snyder, L. R., Kirkland, J. J., & Dolan, J. W. (2011). Introduction to modern liquid chromatography. John Wiley & Sons, 47(4), 422-446
- [94] Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of food science and technology*, 48, 412-422
- [95] Bondet, V., Brand-Williams, W., & Berset, C.L. W. T. (1997). Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH. free radical method. *LWT-Food Science and Technology*, 30(6), 609-615
- [96] Dawidowicz, A. L., Wianowska, D., & Olszowy, M. (2012). On practical problems in estimation of antioxidant activity of compounds by DPPH method (Problems in estimation of antioxidant activity). *Food chemistry*, 131(3), 1037-1043
- [97] Musa, K. H., Abdullah, A., Kuswandi, B., & Hidayat, M. A. (2013). A novel high throughput method based on the DPPH dry reagent array for determination of antioxidant activity. *Food chemistry*, 141(4), 4102-4106
- [98] 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), 1036-1043

- [99] Xie, J., & Schaich, K. M. (2014). Re-evaluation of the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl free radical (DPPH) assay for antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(19), 4251-4260
- [100] Liégeois, C., Lermusieau, G., & Collin, S. (2000). Measuring antioxidant efficiency of wort, malt, and hops against the 2, 2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride-induced oxidation of an aqueous dispersion of linoleic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(4), 1129-1134
- [101] Peyrat-Maillard, M. N., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (2003). Antioxidant activity of phenolic compounds in 2, 2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH)-induced oxidation: Synergistic and antagonistic effects. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80(10), 1007
- [102] Zhuang, G. D., Gu, W. T., Xu, S. H., Cao, D. M., Deng, S. M., Chen, Y. S., ... & Tang, D. (2023). Rapid screening of antioxidant from natural products by AAPH-Incubating HPLC-DAD-HR MS/MS method: A case study of *Gardenia jasminoides* fruit. *Food Chemistry*, 401, 134091
- [103] Kohri, S., Fujii, H., Oowada, S., Endoh, N., Sueishi, Y., Kusakabe, M., ... & Kotake, Y. (2009). An oxygen radical absorbance capacity-like assay that directly quantifies the antioxidant's scavenging capacity against AAPH-derived free radicals. *Analytical biochemistry*, 386(2), 167-171
- [104] Jones, M., Tzani, A., Pitterou, I., Divani, F., Tsiaka, T., Sotiroudis, G., Zoumpoulakis, P., & Detsi, A. (2022). Green Extraction of Greek Propolis Using Natural Deep Eutectic Solvents (NADES) and Incorporation of the NADES-Extracts in Cosmetic Formulation. *Sustainable Chemistry*, 4(1), 8-25
- [105] Tzani, A., Kalafateli, S., Tatsis, G., Bairaktari, M., Kostopoulou, I., Pontillo, A. R. N., & Detsi, A. (2021). Natural Deep Eutectic Solvents (NaDESs) as Alternative Green Extraction Media for Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Sustainable Chemistry*, 2(4), 576-598.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι – ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

| | |
|--|----|
| Εικόνα 1: Ταυτομερείς δομές του τετρονικού οξέος | 10 |
| Εικόνα 2: Φυσικά παράγωγα του τετρονικού οξέος, (a) Βιταμίνη C και (b) πενικιλικό οξύ.. | 10 |
| Εικόνα 3: Δομές (a) πουλβινικού οξέος (pulvinic acid) και (b) πουλβινόνης (pulvinone).... | 11 |
| Εικόνα 4: (a) Νορβαδιόνη A και (b) ατρομεντικό οξύ | 12 |
| Εικόνα 5: Δομή τετρονασίνης | 13 |
| Εικόνα 6: Δομή σπειροτετρονικών οξέων με χαρακτηριστικές αιθέρες..... | 14 |
| Εικόνα 7: Σύνθεση τετρονικού οξέος χρησιμοποιώντας 1,3-διοξίνη-4-όνη | 14 |
| Εικόνα 8: Σύνθεση τετρονικού οξέος χρησιμοποιώντας γ-ακετοξυ-β-κετοεστέρα..... | 15 |
| Εικόνα 9: Σύνθεση τετρονικού οξέος χρησιμοποιώντας α-βρωμοτετρονικό..... | 15 |
| Εικόνα 10: Μερικές αρχές της πράσινης χημείας..... | 16 |
| Εικόνα 11: Αντίδραση Biginelli | 33 |
| Εικόνα 12: (a) Φορμαλδεΰδη με μηλονικό διαιθυλεστέρα υπό αλκαλικές συνθήκες δίνοντας το δις πρόσθετο, (b) Αρωματική αλδεΰδη και πιπεριδίνη ως καταλύτης που παράγει το δις προϊόν προσθήκης, με δύο διαφορετικούς οδούς, ανάλογα με την επιλεγμένη θερμοκρασία. | 35 |
| Εικόνα 13: Αντίδραση Knoevenagel με οξική μεθοξυλοπροπυλαμίνης (IL) ως καταλύτης .. | 37 |
| Εικόνα 14: Βιοσύνθεση λιπαρών οξέων | 39 |
| Εικόνα 15: Ντόμινο σύνθεση τροπινόνης..... | 40 |
| Εικόνα 16: Γενική αντίδραση συμπύκνωσης Knoevenagel | 40 |
| Εικόνα 17: Ο μηχανισμός για την αντίδραση Knoevenagel με βάση το άζωτο | 41 |
| Εικόνα 18: Ο μηχανισμός για την αντίδραση Michael | 42 |
| Εικόνα 19: Το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα..... | 43 |
| Εικόνα 20: Ηλεκτρικό και μαγνητικό πεδίο στο φούρνο μικροκυμάτων | 44 |
| Εικόνα 21: Διαφορά στα προφίλ θερμοκρασίας μετά από 1 λεπτό ακτινοβολίας μικροκυμάτων (αριστερά) και επεξεργασία σε λουτρό λαδιού (δεξιά)..... | 45 |
| Εικόνα 22: Φάσμα συχνοτήτων ηχητικών κυμάτων με επιλεγμένες περιοχές ενδιαφέροντος | 47 |
| Εικόνα 23: Σχηματική αναπαράσταση του φαινομένου της σπηλαίωσης | 48 |
| Εικόνα 24: Το λουτρό καθαρισμού με υπερήχους στην υπερηχοχημεία | 49 |
| Εικόνα 25: Σύστημα ανιχνευτών υπερήχων στην υπερηχοχημεία..... | 49 |
| Εικόνα 26: Διάταξη πυρηνικών spin απουσία (αριστερά) και παρουσία εξωτερικού μαγνητικού πεδίου B_0 (δεξιά)..... | 51 |
| Εικόνα 27: Διάγραμμα φασματομέτρου NMR..... | 53 |
| Εικόνα 28: Βασικά μέρη ενός τυπικού φασματομέτρου μάζας..... | 54 |
| Εικόνα 29: Διαγραμματική απεικόνιση υγρού χρωματογράφου υψηλής απόδοσης | 56 |
| Εικόνα 30: (1) η ρίζα DPPH και (2) η σταθερή της μορφή..... | 58 |
| Εικόνα 31: Αντίδραση σχηματισμού NaDES προλίνη – οξαλικό οξύ αναλογίας 1:1 | 62 |
| Εικόνα 32: Αντίδραση σχηματισμού NaDES προλίνη – γλυκερόλη αναλογίας 1:2..... | 63 |
| Εικόνα 33: Αντίδραση σχηματισμού NaDES προλίνη – γαλακτικό οξύ - νερό αναλογίας 1:2:2.5 | 64 |

| | |
|--|-----|
| Εικόνα 34: Αντίδραση σχηματισμού NaDES χλωριούχος χολίνη - γλυκερόλη αναλογίας 1:2 | 66 |
| Εικόνα 35: Αντίδραση μοντέλο σχηματισμού bis – tetronic acids μέσω αντίδρασης domino Knoevenagel - Michael..... | 66 |
| Εικόνα 36: Η γενική μορφή της αντίδρασης domino Knoevenagel – Michael ακολουθώντας τη βελτιστοποιημένη μεθοδολογία, όπου (1): τετρονικό οξύ, (2): αλδεΐδη (3) δις-τετρονικά οξέα | 73 |
| Εικόνα 37: Πλακίδιο 96 θέσεων για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο DPPH..... | 78 |
| Εικόνα 38: Φάσμα ^1H NMR του NaDES προλίνη – γλυκερόλη 1:2 (600 MHz, DMSO, d_6) | 81 |
| Εικόνα 39: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 3a (300 MHz, DMSO, d_6) | 83 |
| Εικόνα 40: Φάσμα μάζας της ένωσης 3d | 84 |
| Εικόνα 41: Το φάσμα ^1H NMR του NaDES Pro:Gly (1:2) πριν τη χρήση του (πάνω) και μετά από 4 επαναλήψεις (κάτω)..... | 90 |
| Εικόνα 42: Φάσμα ^1H NMR του NaDES Pro:Ox 1:1 (600 MHz, DMSO, d_6) | 110 |
| Εικόνα 43: Φάσμα ^1H NMR του NaDES Cho Chlo:Gly 1:2 (600 MHz, DMSO, d_6) | 111 |
| Εικόνα 44: Φάσμα ^1H NMR του NaDES Pro:LA:W 1:2:2.5 (600 MHz, DMSO, d_6) | 112 |
| Εικόνα 45: Φάσμα ^1H NMR του προϊόντος (3e) (300 MHz, CDCl_3 , d_6) | 113 |
| Εικόνα 46: Φάσμα ^1H NMR του προϊόντος (3c) (300 MHz, DMSO, d_6) | 114 |
| Εικόνα 47: Φάσμα MS του προϊόντος (3c) | 115 |
| Εικόνα 48: Φάσμα ^1H NMR του προϊόντος (3b) (300 MHz, DMSO, d_6)..... | 116 |
| Εικόνα 49: Φάσμα MS του προϊόντος (3b)..... | 117 |
| Εικόνα 50: Φάσμα ^1H NMR του προϊόντος (3d) (300 MHz, DMSO, d_6)..... | 118 |

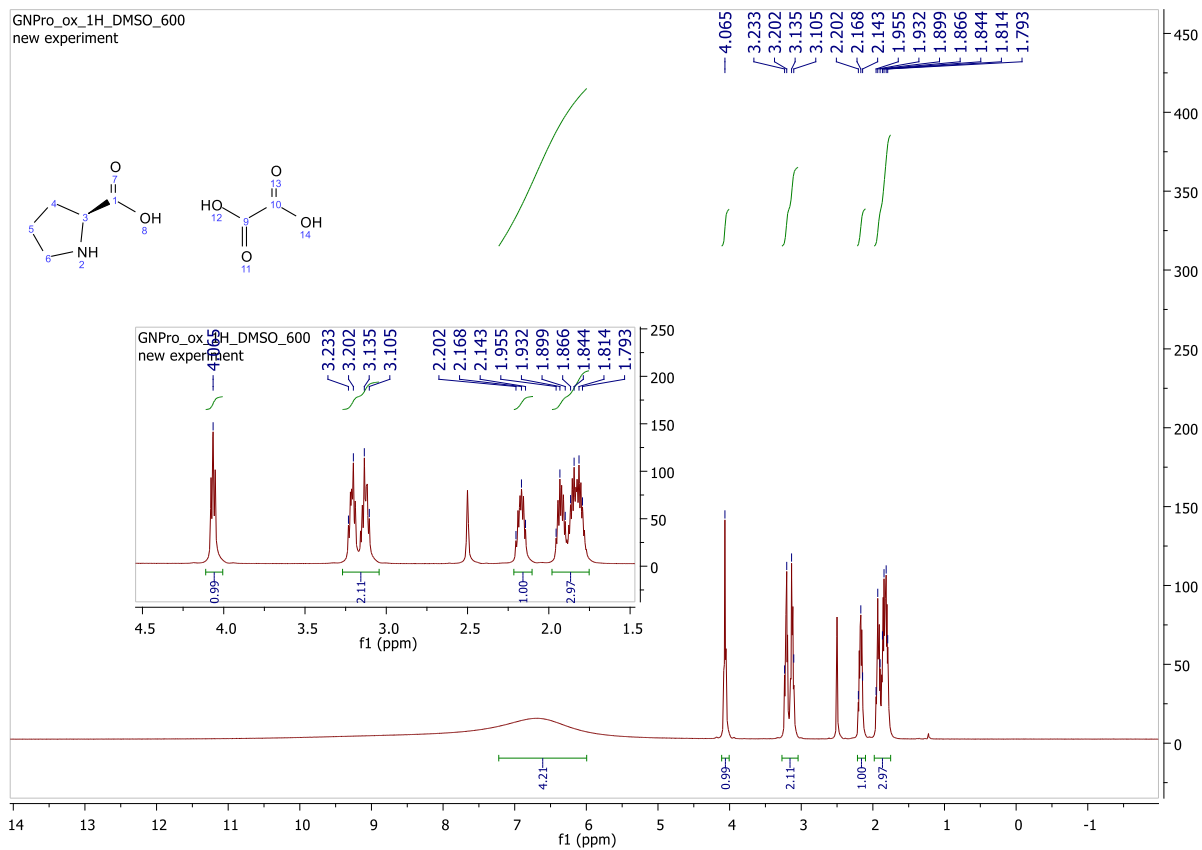
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ – ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

| | |
|---|----|
| Πίνακας 1: Συστατικά που χρησιμοποιούνται ως HBA..... | 28 |
| Πίνακας 2: Συστατικά που χρησιμοποιούνται ως HBD..... | 28 |
| Πίνακας 3: Μερικά φυσικά συστατικά για σχηματισμό NaDES | 29 |
| Πίνακας 4: Οι απαιτούμενες ποσότητες αντιδραστηρίων, όπως υπολογίστηκαν, για τη σύνθεση του NaDES προλίνη – οξαλικό οξύ 1:1..... | 62 |
| Πίνακας 5: Οι απαιτούμενες ποσότητες αντιδραστηρίων, όπως υπολογίστηκαν, για τη σύνθεση του NaDES προλίνη – γλυκερόλη 1:2..... | 63 |
| Πίνακας 6: Οι απαιτούμενες ποσότητες αντιδραστηρίων, όπως υπολογίστηκαν, για τη σύνθεση του NaDES προλίνη – γαλακτικό οξύ - νερό 1:2:2.5..... | 65 |
| Πίνακας 7: Οι απαιτούμενες ποσότητες αντιδραστηρίων, όπως υπολογίστηκαν, για τη σύνθεση του NaDES χλωριούχος χολίνη - γλυκερόλη 1:2..... | 66 |
| Πίνακας 8: Οι απαιτούμενες ποσότητες αντιδραστηρίων, όπως υπολογίστηκαν, για τη διεξαγωγή της αντίδρασης – μοντέλο με τέσσερεις διαφορετικούς NaDESs και συμβατική θέρμανση..... | 67 |
| Πίνακας 9: Οι απαιτούμενες ποσότητες αντιδραστηρίων, όπως υπολογίστηκαν, για τη διεξαγωγή της αντίδρασης – μοντέλο με NaDES προλίνη – γλυκερόλη 1:2 και υπερήχους | 68 |
| Πίνακας 10: Οι απαιτούμενες ποσότητες αντιδραστηρίων, όπως υπολογίστηκαν, για τη διεξαγωγή της αντίδρασης – μοντέλο με NaDES προλίνη – γλυκερόλη 1:2 και μικροκύματα | 69 |
| Πίνακας 11: Οι απαιτούμενες ποσότητες αντιδραστηρίων, όπως υπολογίστηκαν, για τη διεξαγωγή της πρώτης αντίδρασης με ανακύκλωση του NaDES προλίνη – γλυκερόλη 1:2, συμβατικά | 71 |
| Πίνακας 12: Οι διαφορετικές αλδεύδες που χρησιμοποιήθηκαν οι αντίστοιχες δομές, τα ονόματα και τα μοριακά βάρη τους. | 73 |
| Πίνακας 13: Τα NaDESs που μελετήθηκαν για την σύνθεση δις-τετρονικών οξέων..... | 86 |
| Πίνακας 14: Η % απόδοση της αντίδρασης – μοντέλο σε προϊόν με συμβατική θέρμανση για καθέναν από τους τέσσερεις NaDESs που χρησιμοποιήθηκαν | 87 |
| Πίνακας 15: Μέθοδος θέρμανσης, μοριακή αναλογία αντιδρώντων, χρόνος αντίδρασης και % απόδοση προϊόντος για το NaDES Pro:Gly (1:2)..... | 88 |
| Πίνακας 16: Οι υπολογισμοί για την εύρεση της απόδοσης των ανακυκλώσιμων αντιδράσεων | 92 |
| Πίνακας 17: Αποτελέσματα μετρήσεων αντιοξειδωτικής δράσης δις – τετρονικών οξέων με τη μέθοδο δέσμμευσης ελευθέρων ριζών DPPH στα 60 min | 93 |
| Πίνακας 18: Αποτελέσματα μετρήσεων αντιοξειδωτικής δράσης δις – τετρονικών οξέων (% παρεμπόδιση) με τη μέθοδο AAPH..... | 95 |

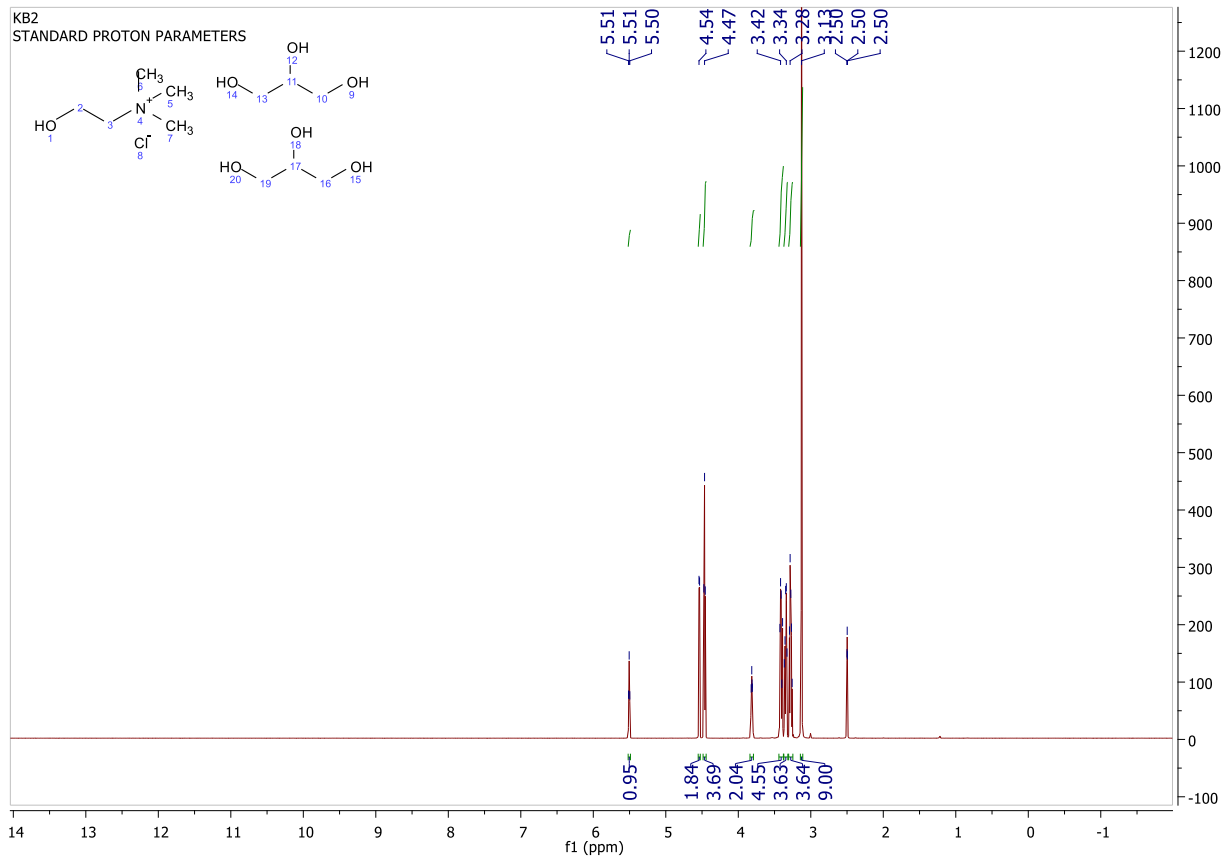
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ – ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

- Διάγραμμα 1: Απόδοση (%) και ανάκτηση (%) για κάθε συνθετική πορεία 89
Διάγραμμα 2: Η βαθμονομημένη καμπύλη τεσσάρων συγκεντρώσεων 120, 100, 80, 60 ppm, του προϊόντος 3a 91
Διάγραμμα 3: Χρωματογράφημα δύο δειγμάτων. Data 1: δείγμα αντιδρώντων (τετρονικό + βανιλίνη) και Data 2: δείγμα προς εξέταση 92

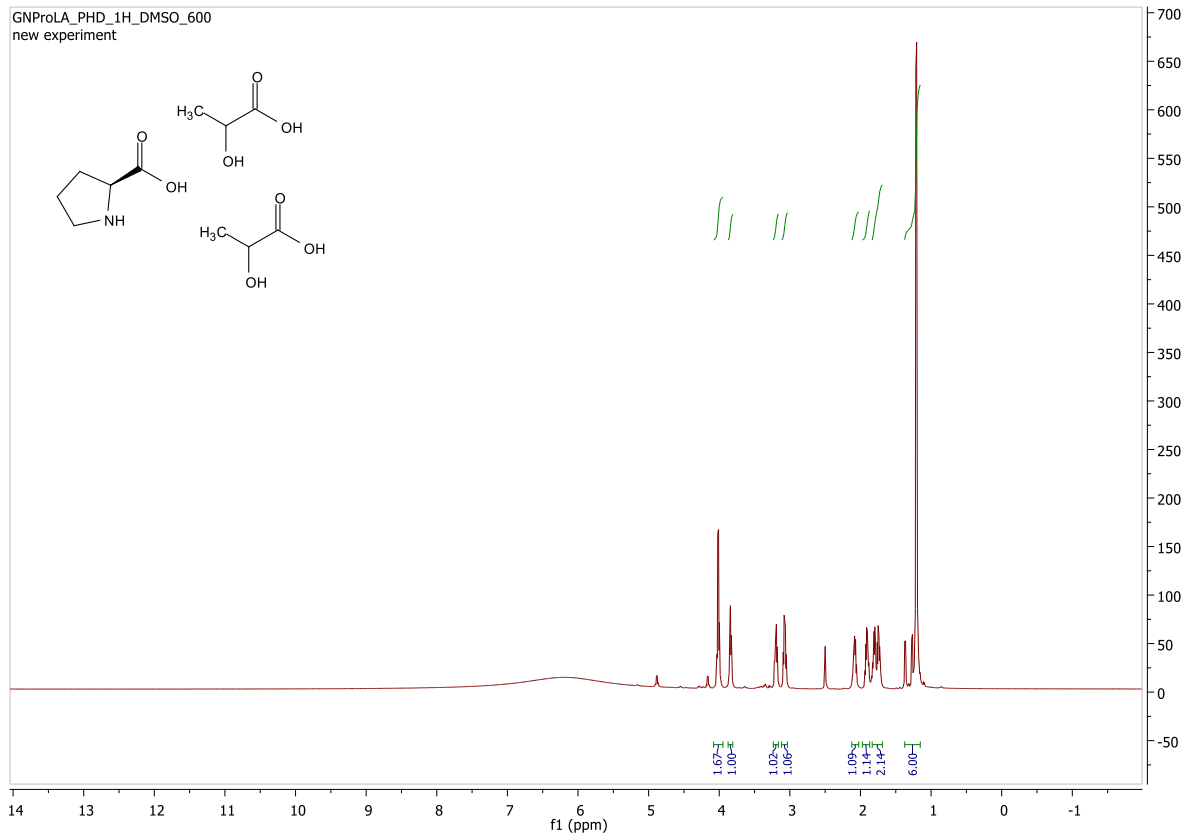
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙV – ΦΑΣΜΑΤΑ ^1H NMR, MS



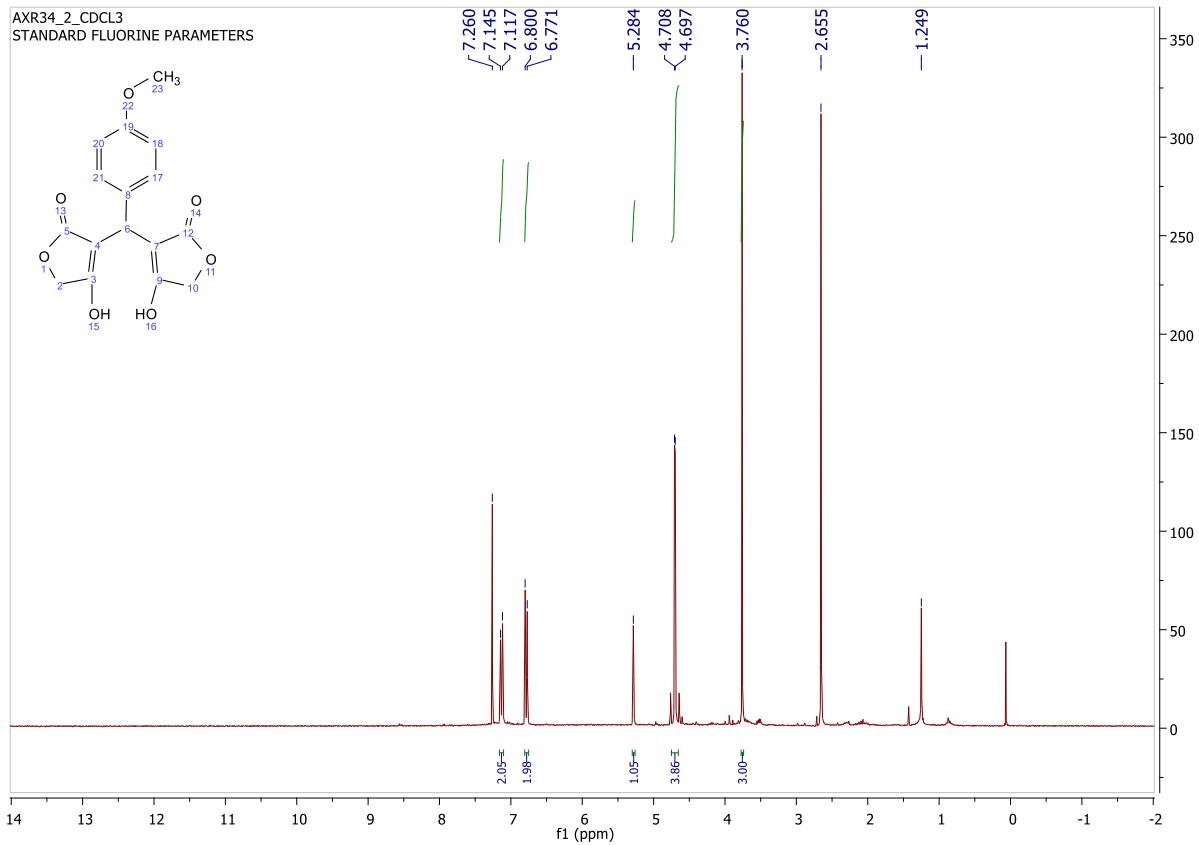
Εικόνα 42: Φάσμα ^1H NMR του NaDES Pro:Ox 1:1 (600 MHz, DMSO, δ_6)



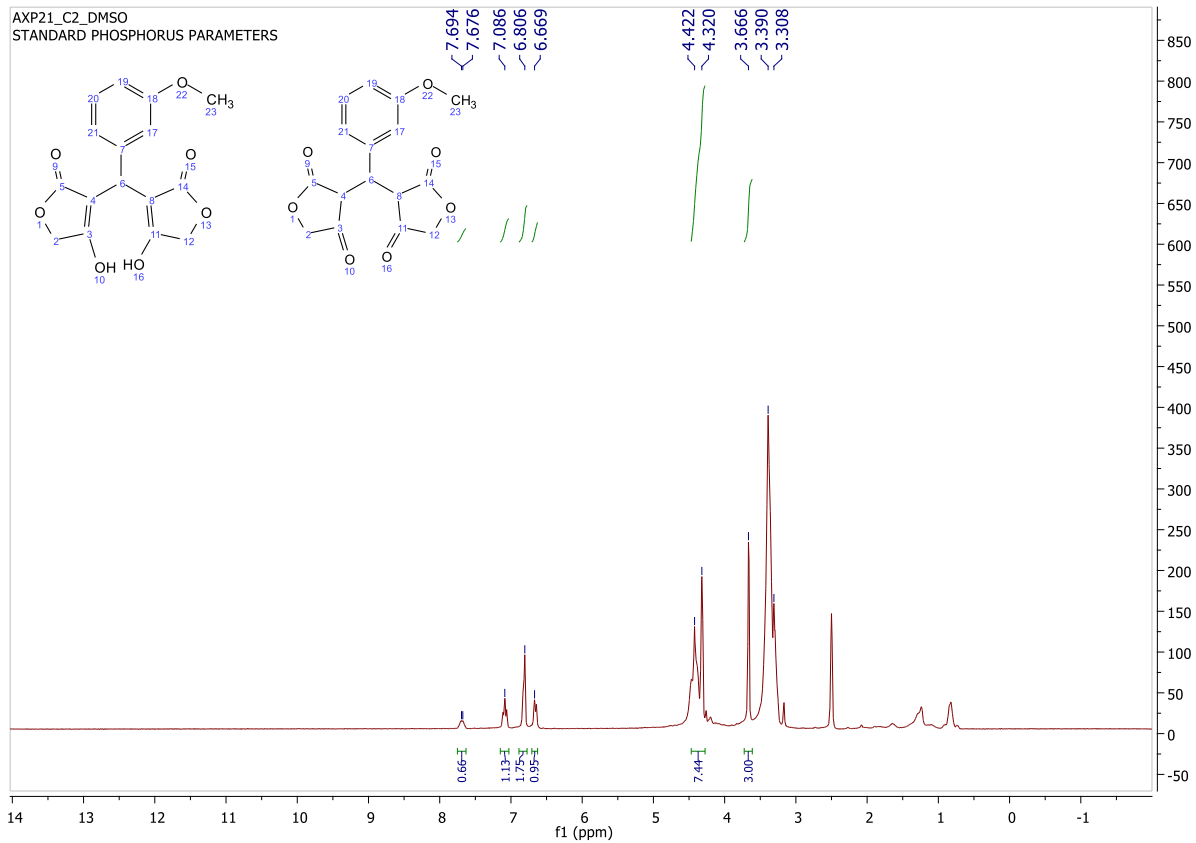
Εικόνα 43: Φάσμα ^1H NMR του NaDES Cho Chlo:Gly 1:2 (600 MHz, DMSO, d_6)



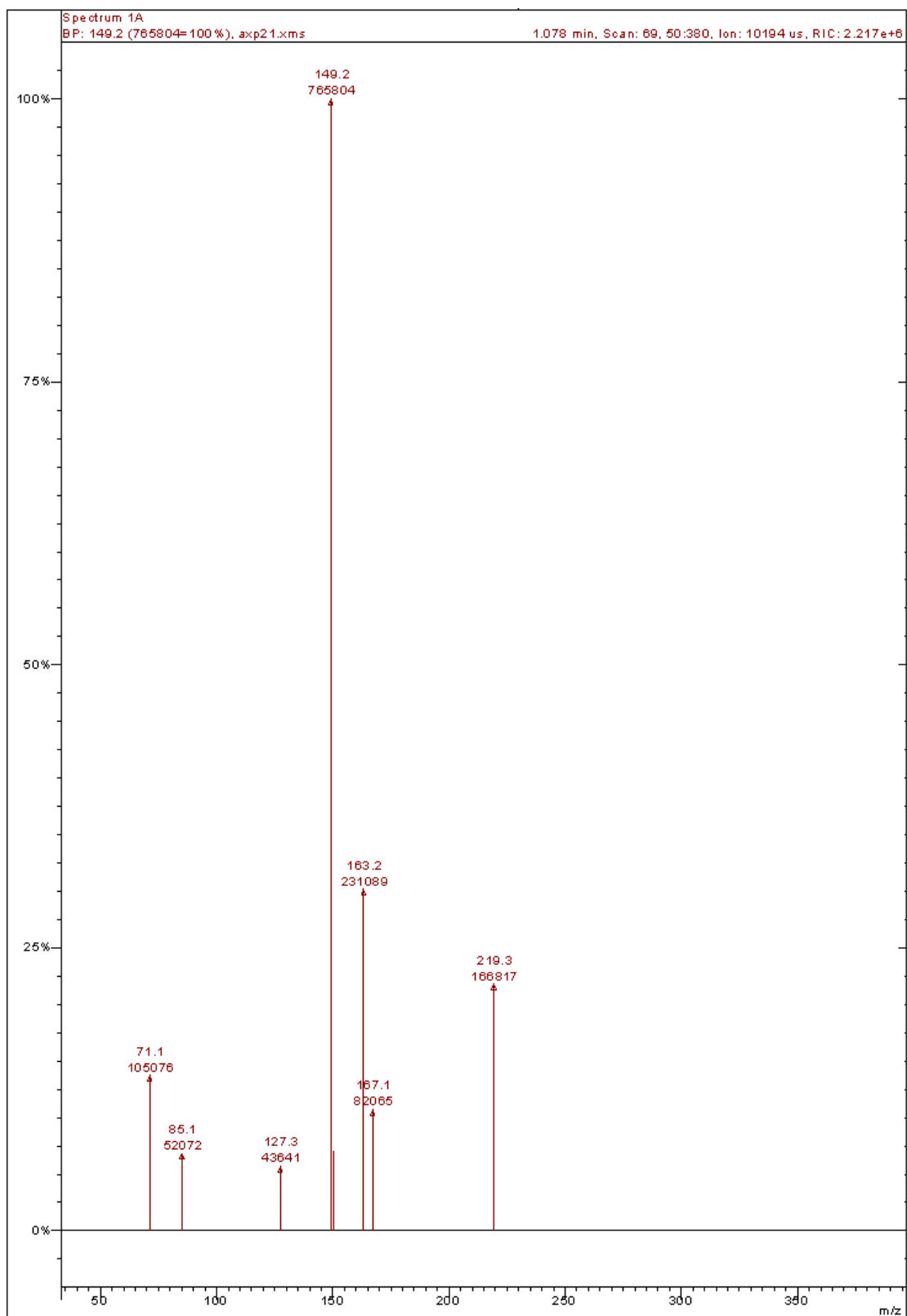
Εικόνα 44: Φάσμα ^1H NMR του NaDES Pro:LA:W 1:2:2.5 (600 MHz, DMSO, d_6)



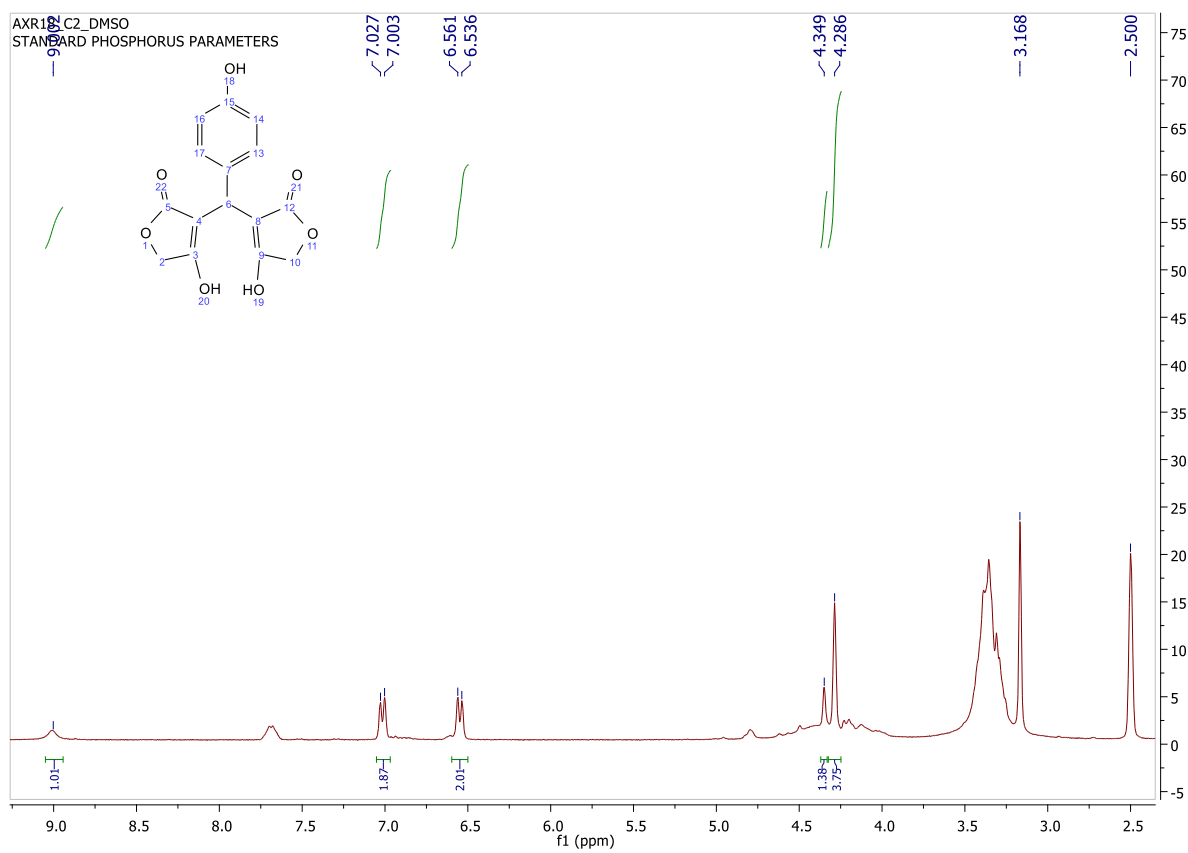
Εικόνα 45: Φάσμα ^1H NMR του προϊόντος (3e) (300 MHz, CDCl_3 , d_6)



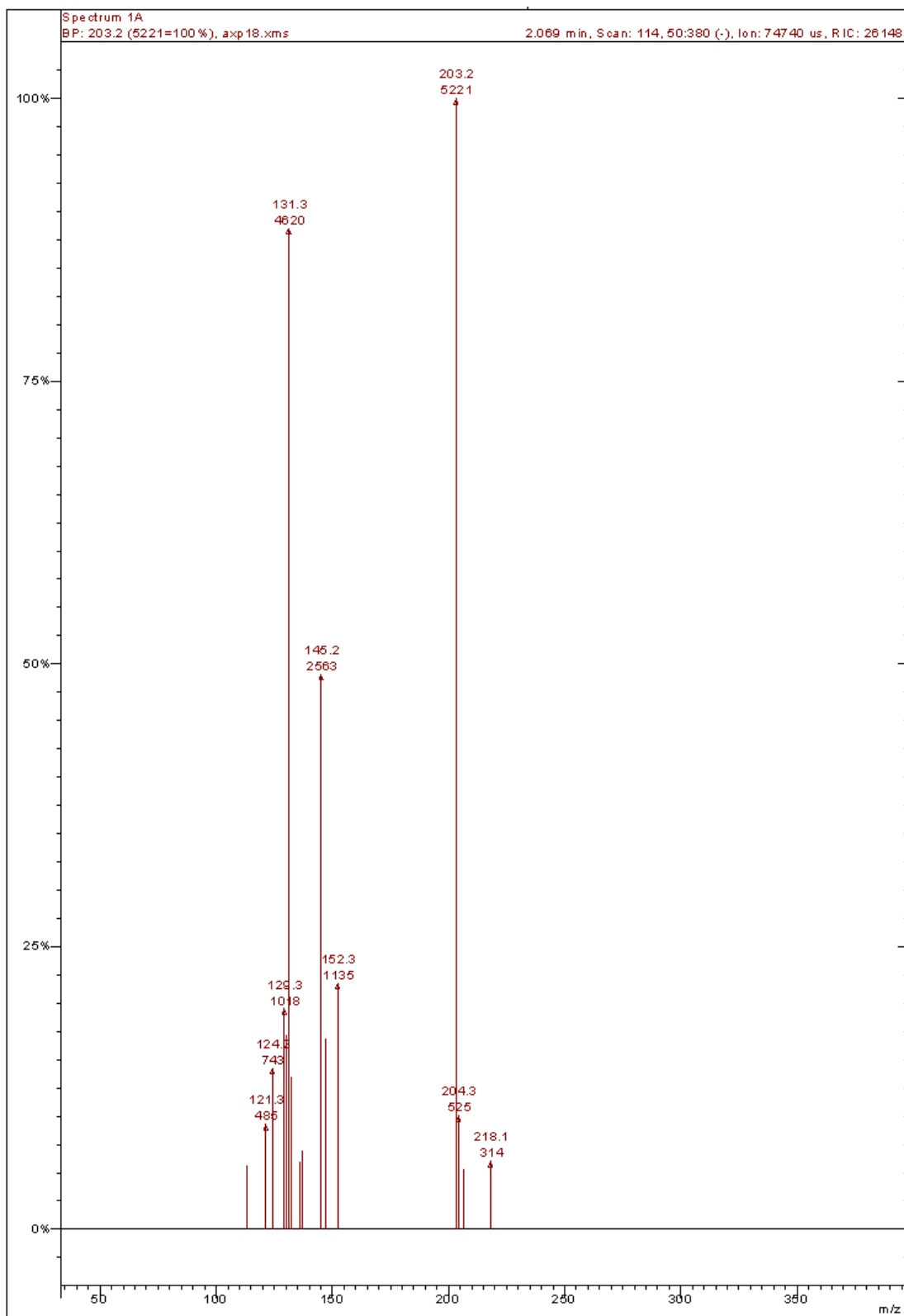
Εικόνα 46: Φάσμα ¹H NMR του προϊόντος (3c) (300 MHz, DMSO, d₆)



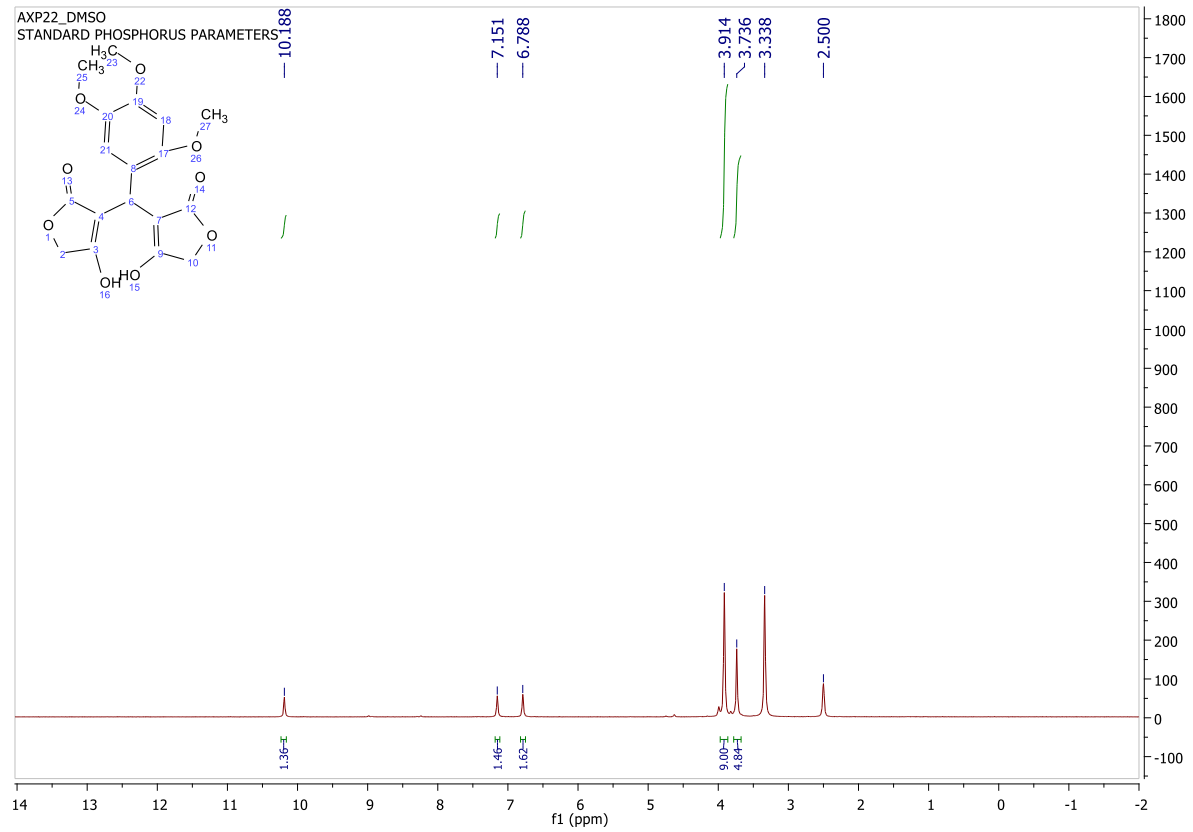
Εικόνα 47: Φάσμα MS του προϊόντος (3c)



Εικόνα 48: Φάσμα ^1H NMR του προϊόντος (3b) (300 MHz, DMSO, d_6)



Εικόνα 49: Φάσμα MS του προϊόντος (3b)



Εικόνα 50: Φάσμα ^1H NMR του προϊόντος (3d) (300 MHz, DMSO, d_6)