

ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ Ι ΧΗΜΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ



ΣΥΝΘΕΣΗ ΝΕΩΝ ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΧΑΛΚΟΝΩΝ, ΔΟΜΙΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ
ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΦΩΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥΣ

Διπλωματική Εργασία
Φραζή Μαρία

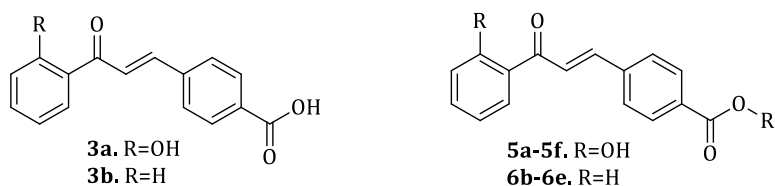
Επιβλέπουσα
Δέτση Αναστασία
Καθηγήτρια Ε.Μ.Π.

Εργαστήριο Οργανικής Χημείας
Αθήνα, 2023

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι ο σχεδιασμός, η σύνθεση, ο δομικός χαρακτηρισμός εστέρων, αναλόγων χαλκονών, καθώς και η αξιολόγησή τους αναφορικά με την αντιοξειδωτική και φωτοπροστατευτική τους ικανότητα. Εξετάζεται, επίσης, η δυναμική χρήση τους ως αντηλιακά φίλτρα ευρέως φάσματος. Η εργασία βασίστηκε σε υπάρχουσα μελέτη του εργαστηρίου Οργανικής Χημείας του ΕΜΠ σχετικά με την φωτοπροστατευτική δράση παραγώγων του κινναμμοϊκού οξέος και αναλόγων του OctylMethoxyCinnamate (OMC), το οποίο αποτελεί ένα ευρέως εμπορικά χρησιμοποιούμενο φίλτρο UVB ακτινοβολίας. Επιπλέον έναυσμα αποτέλεσε η ευρέως γνωστή αντιοξειδωτική δράση των χαλκονών, καθώς και η ανασκόπηση πρόσφατης βιβλιογραφίας, όπου αναφέρεται και η ισχυρή φωτοπροστατευτική ικανότητα διαφόρων αναλόγων χαλκόνης.

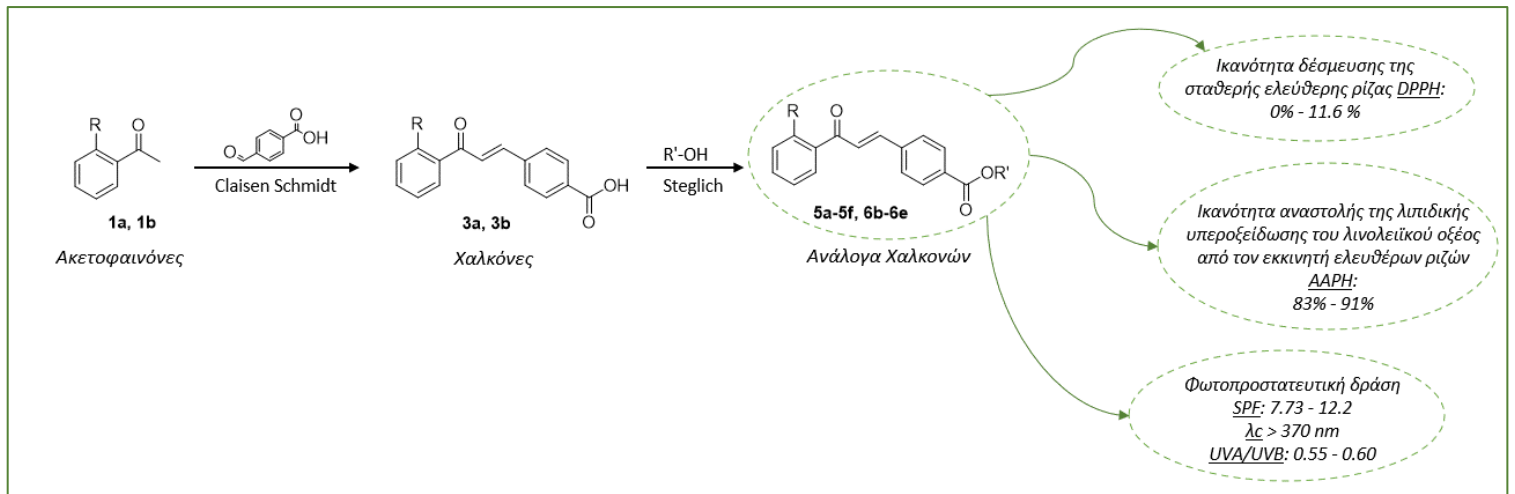
Κατά την διεξαγωγή της εργασίας συντέθηκαν συνολικά δύο χαλκόνες (**3a**, **3b**) μέσω της αντίδρασης αλδολικής συμπύκνωσης Claisen-Schmidt μεταξύ της κατάλληλης ακετοφαινόνης και της 4-καρβοξυ-βενζαλδεΐδης. Στη συνέχεια, μέσω της αντίδρασης εστεροποίησης Steglich μεταξύ των δύο χαλκονών και κατάλληλων αλειφατικών ή βενζυλικών αλκοολών, συντέθηκαν δέκα νέοι εστέρες (**5a-5f**, **6b-6e**).



Ο δομικός χαρακτηρισμός των αναλόγων χαλκόνης πραγματοποιήθηκε μέσω Φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR) και Φασματομετρίας Μάζας (MS), οπότε και επιβεβαιώθηκε η επιτυχής σύνθεση των επιθυμητών προϊόντων.

Στη συνέχεια μελετήθηκε η πιθανή αντιοξειδωτική δράση των συντιθέμενων εστέρων με την εφαρμογή δύο *in vitro* αναλυτικών μεθόδων. Συγκεκριμένα, εξετάστηκε η ικανότητα των ενώσεων να δεσμεύουν την σταθερή ελεύθερη ρίζα DPPH, ενώ ακόμη, διερευνήθηκε η ικανότητά τους να αναστέλλουν την λιπιδική υπεροξείδωση του λινολεϊκού οξέος που προκαλείται από τον εκκινητή ελευθέρων ριζών AAPH.

Τέλος, τα ανάλογα των χαλκονών, αξιολογήθηκαν ως προς την φωτοπροστατευτική τους δράση μέσω *in vitro* τεχνικής που διεξήχθη στην εταιρεία Cellco Chemicals. Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν για κάθε ένωση, ο δείκτης ηλιακής προστασίας SPF ως ένδειξη προστασίας έναντι της UVB ακτινοβολίας, καθώς και ο λόγος απορρόφησης UVA/UVB και το κρίσιμο μήκος κύματος λ_c , ως αντιπροσωπευτικά μεγέθη της προστασίας έναντι της UVA ακτινοβολίας.

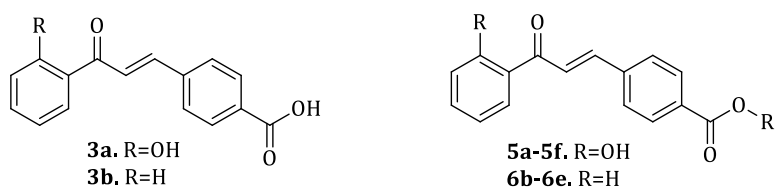


Λέξεις κλειδιά: Χαλκόνες, Claisen Schmidt, Εστεροποίηση Steglich, Αντιοξειδωτική δράση, Φωτοπροστατευτική δράση

ABSTRACT

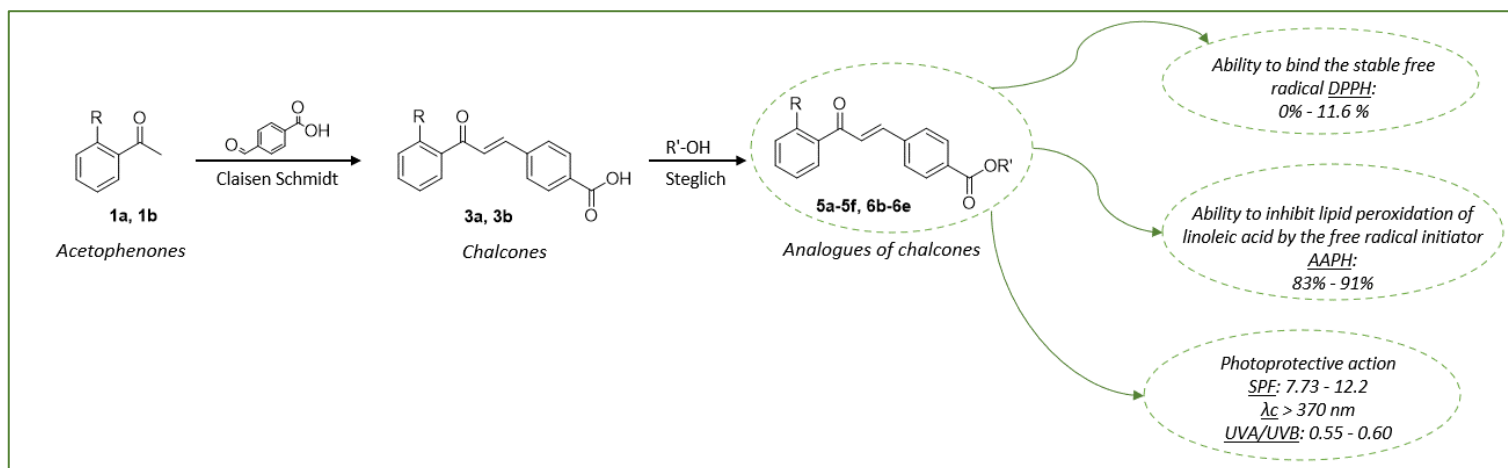
The aim of the present thesis is the design, synthesis, structural characterization of esters, analogues of chalcones, and their evaluation with respect to their antioxidant and photoprotective capacity. Their potential use as broad-spectrum sunscreen filters is also considered. The work was based on an existing study of the Organic Chemistry Laboratory of NTUA on the photoprosthetic activity of cinnamic acid derivatives and analogues of OctylMethoxyCinnamate (OMC), which is a widely commercially used UVB radiation filter. An additional motivation was the widely known antioxidant activity of chalcones, as well as a review of recent literature, where the strong photoprotective ability of various chalcone analogues was also reported.

A total of two chalcones (**3a**, **3b**) were synthesized in the course of this work via the Claisen-Schmidt aldol condensation reaction between the appropriate acetophenone and 4-carboxybenzaldehyde. Subsequently, through the Steglich esterification reaction between the two chalcones and suitable aliphatic or benzyl alcohols, ten new esters (**5a-5f**, **6b-6e**) were synthesised. Structural characterization of the chalcone analogues was performed by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR) and Mass Spectrometry (MS), whereupon the successful synthesis of the desired products was confirmed.



Then the potential antioxidant activity of the synthesized esters was studied by applying two *in vitro* analytical methods. In particular, the ability of the compounds to bind the stable free radical DPPH was investigated, and further, their ability to inhibit the lipid peroxidation of linoleic acid induced by the free radical initiator AAPH was explored.

The analogues of the chalcones were evaluated for their photoprotective activity by means of an *in vitro* technique carried out at Cellco Chemicals. In particular, the solar protection factor SPF as an indication of protection against UVB radiation, as well as the UVA/UVB absorption ratio and the critical wavelength λ_c were studied for each compound as representative values of protection against UVA radiation.



Key words: Chalcones, Claisen Schmidt, Steglich esterification, Antioxidant activity, Photoprotective activity

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

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

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες σε όσους συνέβαλαν στην επιτυχή εκπόνηση της διπλωματικής μου εργασίας, ξεκινώντας από την επιβλέπουσα κα. Αναστασία Δέτση. Θα ήθελα να την ευχαριστήσω για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με ένα θέμα που άπτεται των ενδιαφερόντων μου, καθώς και για τη διαρκή ενθάρρυνση που μου παρείχε. Η εμπιστοσύνη, οι συμβουλές και η εμπειρία της αποτέλεσαν καθοριστικό παράγοντα για την ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας.

Στη διεξαγωγή αυτής της εργασίας καταλυτικά συνέβαλε η υποψήφια μεταδιδάκτορας του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας Ε.Μ.Π., Ιωάννα Κωστοπούλου. Της εκφράζω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες για την συνεχή στήριξη και καθοδήγησή της καθ' όλη τη διάρκεια της συνεργασίας μας, για την συμβολή της στη λήψη και κατανόηση των φασματοσκοπικών αποτελεσμάτων, καθώς και για τις γνώσεις που μου προσέφερε γενικότερα.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα ένα προς ένα και τα υπόλοιπα μέλη του εργαστηρίου Οργανικής Χημείας Ε.Μ.Π., για την προθυμία τους να προσφέρουν τη βοήθειά τους ανά πάσα στιγμή, καθώς και για το φιλικό κλίμα που καλλιεργούν για τους προπτυχιακούς φοιτητές.

Ακόμα, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την εταιρεία Cellco Chemicals ΑΕ. για την πολύτιμη εμπειρία που μου προσέφερε, παρέχοντάς μου την ευκαιρία να ολοκληρώσω το ερευνητικό μου έργο στις εγκαταστάσεις της.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στην οικογένεια και τους φίλους μου για την αδιάκοπη υποστήριξή τους, την κατανόηση και την πίστη τους σε εμένα.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	10
1.1. ΧΑΛΚΟΝΕΣ	10
1.1.1. Γενική δομή	10
1.1.2. Ιδιότητες και βιοδραστικότητα.....	10
1.1.3. Φυσικές πηγές	15
1.1.4. Μέθοδοι σύνθεσης	16
1.2. ΗΛΙΑΚΗ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ	18
1.2.1. Υπεριώδης Ακτινοβολία και επιπτώσεις	19
1.2.2. Αντηλιακά φίλτρα	25
1.2.3. Αξιολόγηση αποτελεσματικότητας αντηλιακών έναντι UVB ακτινοβολίας....	30
1.2.4. Αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των αντηλιακών προϊόντων στην UVA ακτινοβολίας.....	33
1.3. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ	34
1.3.1. Μέθοδος δέσμευσης της σταθερής ελεύθερης ρίζας DPPH.....	34
1.3.2. Μέθοδος αναστολής της λιπιδικής υπεροξειδωσης του λινολεϊκού οξέος, που επάγεται από τον εκκινητή ελευθέρων ριζών AAPH	35
2. ΣΚΟΠΟΣ	37
3. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ ΝΕΩΝ ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΧΑΛΚΟΝΩΝ	40
3.1. Σύνθεση των χαλκονών 3a και 3b	40
3.2. Σύνθεση των εστέρων 5a-5f και 6b-6e	41
4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	43
4.1. Όργανα και συσκευές	43
4.2. Συνθετική πορεία των νέων ενώσεων	44
5. ΜΕΘΟΔΟΙ ΔΟΜΙΚΟΥ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ	52
5.1. Χρωματογραφία Λεπτής Στοιβάδας (TLC).....	52
5.2. Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)	53
5.3. Φασματομετρία μάζας (MS)	54
5.4. Αντιοξειδωτική Δράση	55
5.5. Προσδιορισμός φωτοπροστατευτικής δράσης	58
6. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	62
6.1. Δομές και αποδόσεις	62
6.2. Δομικός Χαρακτηρισμός νέων μορίων	64
6.3. Αξιολόγηση Αντιοξειδωτικής Δράσης των νέων μορίων	69
6.4. Αξιολόγηση της Φωτοπροστατευτικής ικανότητας των νέων μορίων	73
7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	76

8. ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ.....	78
9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	79
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΑΣΜΑΤΩΝ NMR.....	85
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΑΣΜΑΤΩΝ MS.....	91
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΑΣΜΑΤΩΝ UV-VIS.....	96
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΑΣΜΑΤΩΝ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ SPF.....	101

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1. Γενική δομή χαλκονών.....	10
Σχήμα 2. Γενική δομή χαλκόνης και η βιοδραστικότητά της	11
Σχήμα 3. Χαλκόνες που εμφανίζουν αντιβακτηριακή δράση έναντι των Aero-genes, <i>S. aureus</i> , <i>B. coccus</i> , αντίστοιχα	11
Σχήμα 4. Χαλκόνες που φέρουν υψηλό ποσοστό αντιφλεγμονώδους δράσης.....	12
Σχήμα 5. Παράγωγα χαλκονών με αντική δράση και το πιο εκλεκτικό προς το ένζυμο Ιντεγκράση που συνδέεται με τον HIV-1.....	12
Σχήμα 6. Χαλκόνες με αντιοξειδωτική δράση	13
Σχήμα 7. Αντικαρκινικές χρωματο-χαλκόνες.....	14
Σχήμα 8. Χαλκόνες με φωτοπροστατευτική δράση.....	14
Σχήμα 9. Κλίμακα δείκτη υπεριώδους ακτινοβολίας ^[21]	21
Σχήμα 10. Δομή σιναπικού οξέος	26
Σχήμα 11. <i>Arabidopsis thaliana</i> : αυτοπροστατεύεται από την υπεριώδη ακτινοβολία συνθέτοντας σιναπικούς εστέρες από το σιναπικό οξύ ^[34]	27
Σχήμα 12. Συστήματα που απειλούνται από την τοξικότητα των φίλτρων κατά της UV ακτινοβολίας ^[28]	29
Σχήμα 13. Αντίδραση μεταξύ αντιοξειδωτικού και ελεύθερης ρίζας DPPH	35
Σχήμα 14. AAPH (2,2'-azobis(2-amidinopropane)dihydrochloride	36
Σχήμα 15. Ευρέως χρησιμοποιούμενα εμπορικά φίλτρα	38
Σχήμα 16. Εστέρες του κινναμωμικού οξέος που έχουν συντεθεί και αξιολογηθεί στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας ΕΜΠ.....	39
Σχήμα 17. Γενική μεθοδολογία σύνθεσης χαλκονών 3a και 3b	40
Σχήμα 18. Μηχανισμός αλδολικής συμπύκνωσης Claisen Schmidt	41
Σχήμα 19. Γενική μεθοδολογία σύνθεσης των εστέρων 5a-5f και 6b-6e	41
Σχήμα 20. Μηχανισμός εστεροποίησης Steglich.....	42
Σχήμα 21. Απεικόνιση διαχωρισμού μίγματος ουσιών στα επιμέρους συστατικά με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας.....	52
Σχήμα 22. Απεικόνιση θαλάμου ανάπτυξης χρωματογραφίας.....	53
Σχήμα 23. Σχηματική απεικόνιση της διαδικασίας λήψης φάσματος NMR ^[58]	54
Σχήμα 24. Μεθοδολογία πλήρωσης των τρυβλίων ειδικής πλάκας με τα υπό εξέταση δείγματα και το διάλυμα DPPH.....	56
Σχήμα 25. Φάσμα ¹ H NMR της ένωσης 5c	64
Σχήμα 26. Τμήμα του φάσματος της ένωσης 5c , που απεικονίζει την αρωματική περιοχή ..	65
Σχήμα 27. Τμήμα του φάσματος της ένωσης 5c , που αφορά στα πρωτόνια των θέσεων 9 και 11	66

Σχήμα 28. Φάσμα MS της ένωσης 6d	67
Σχήμα 29. Δομή του εστέρα 6b , ο οποίος ανέστειλε την λιπιδική υπεροξειδωση του λινολεϊκού οξέος σε ποσοστό 91%	76
Σχήμα 30. Νέοι εστέρες, ανάλογα χαλκονών, που εμφάνισαν την καλύτερη φωτοπροστατευτική δράση	77
Σχήμα 31. Φάσμα ¹ H NMR της ένωσης 3a	85
Σχήμα 32. Φάσμα ¹ H NMR της ένωσης 3b	85
Σχήμα 33. Φάσμα ¹ H NMR της ένωσης 5a	86
Σχήμα 34. Φάσμα ¹ H NMR της ένωσης 5b	86
Σχήμα 35. Φάσμα ¹ H NMR της ένωσης 5c	87
Σχήμα 36. Φάσμα ¹ H NMR της ένωσης 5d	87
Σχήμα 37. Φάσμα ¹ H NMR της ένωσης 5e	88
Σχήμα 38. Φάσμα ¹ H NMR της ένωσης 5f	88
Σχήμα 39. Φάσμα ¹ H NMR της ένωσης 6b	89
Σχήμα 40. Φάσμα ¹ H NMR της ένωσης 6c	89
Σχήμα 41. Φάσμα ¹ H NMR της ένωσης 6d	90
Σχήμα 42. Φάσμα ¹ H NMR της ένωσης 6e	90
Σχήμα 43. Φάσμα MS της ένωσης 5a	91
Σχήμα 44. Φάσμα MS της ένωσης 5b	91
Σχήμα 45. Φάσμα MS της ένωσης 5c	92
Σχήμα 46. Φάσμα MS της ένωσης 5d	92
Σχήμα 47. Φάσμα MS της ένωσης 5e	93
Σχήμα 48. Φάσμα MS της ένωσης 5f	93
Σχήμα 49. Φάσμα MS της ένωσης 6b	94
Σχήμα 50. Φάσμα MS της ένωσης 6c	94
Σχήμα 51. Φάσμα MS της ένωσης 6d	95
Σχήμα 52. Φάσμα MS της ένωσης 6e	95
Σχήμα 53. Φάσμα UV-Vis σε EtOH της ένωσης 5a	96
Σχήμα 54. Φάσμα UV-Vis σε EtOH της ένωσης 5b	96
Σχήμα 55. Φάσμα UV-Vis σε EtOH της ένωσης 5c	97
Σχήμα 56. Φάσμα UV-Vis σε EtOH της ένωσης 5d	97
Σχήμα 57. Φάσμα UV-Vis σε EtOH της ένωσης 5e	98
Σχήμα 58. Φάσμα UV-Vis σε EtOH της ένωσης 5f	98
Σχήμα 59. Φάσμα UV-Vis σε EtOH της ένωσης 6b	99
Σχήμα 60. Φάσμα UV-Vis σε EtOH της ένωσης 6c	99
Σχήμα 61. Φάσμα UV-Vis σε EtOH της ένωσης 6d	100
Σχήμα 62. Φάσμα UV-Vis σε EtOH της ένωσης 6e	100
Σχήμα 63. Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 5a	101
Σχήμα 64. Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 5b	101
Σχήμα 65. Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 5d	102
Σχήμα 66. Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 5c	102
Σχήμα 67. Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 5e	102
Σχήμα 68. Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 5f	102
Σχήμα 69. Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 6b	102
Σχήμα 70. Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 6c	102
Σχήμα 71. Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 6d	102
Σχήμα 72. Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 6e	102

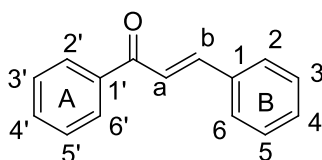
1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1. ΧΑΛΚΟΝΕΣ

Οι χαλκόνες είναι δευτερογενείς φυσικοί μεταβολίτες και θεωρούνται πρόδρομες ενώσεις της βιοσύνθεσης των φλαβονοειδών και των ισοφλαβονοειδών. Φέρουν την ονομασία 1,3-διφαινυλ-2-προπεν-1-όνες κατά IUPAC, ενώ η κοινή τους ονομασία αποδίδεται στο χαρακτηριστικό τους χάλκινο χρώμα που δόθηκε από τους Kostanecki και Tambor το 1899. Θεωρούνται δραστικές αρωματικές ενώσεις και αυτό οφείλεται στην παρουσία του διπλού δεσμού σε συνδυασμό με την καρβονυλική λειτουργία. Η βιοσύνθεσή τους στα φυτά έχει σκοπό να τα προστατεύσει από το φωτοσυνθετικό στρες, τις δραστικές μορφές οξυγόνου και τα παράσιτα. Οι χαλκόνες απομονώνονται από τα φυτά ή παρασκευάζονται συνθετικά και διακρίνονται για τις ποικίλες φαρμακευτικές και βιολογικές εφαρμογές τους.

1.1.1. Γενική δομή

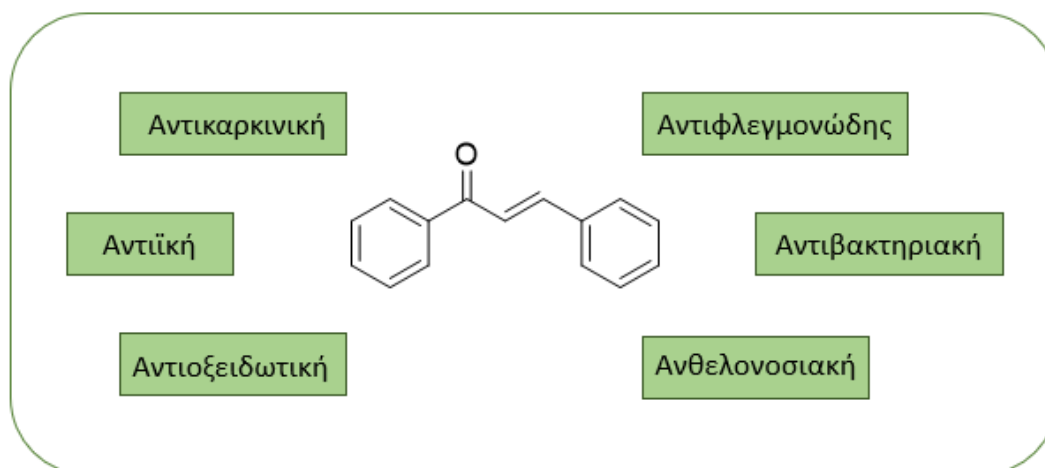
Οι χαλκόνες συναντώνται σε δύο ισομερείς μορφές, την (E) και την (Z), δηλαδή trans και cis αντίστοιχα. Επειδή τα trans ισομερή είναι θερμοδυναμικά πιο σταθερά, οι περισσότερες χαλκόνες απομονώνονται σε αυτή τη μορφή. Ο δομικός σκελετός των χαλκονών αποτελείται από δύο αρωματικούς δακτυλίους, A και B, που συνδέονται μεταξύ τους, μέσω ενός α, β-ακόρεστου καρβονυλικού συστήματος τριών ατόμων άνθρακα. Το σύστημα αρίθμησης των χαλκονών χρησιμοποιείται αποκλειστικά για αυτές τις ενώσεις. Όπως συμβαίνει και με τις ακετοφαινόνες, με τις οποίες οι χαλκόνες σχετίζονται άμεσα δομικά, οι θέσεις των ανθράκων στους αρωματικούς δακτυλίους επισημαίνονται με τονισμένους αριθμούς. Έτσι, στις χαλκόνες οι θέσεις των ανθράκων στον Α-δακτύλιο σημειώνονται με τονισμένους αριθμούς, ενώ στον Β-δακτύλιο με απλούς αριθμούς.



Σχήμα 1. Γενική δομή χαλκονών

1.1.2. Ιδιότητες και βιοδραστικότητα

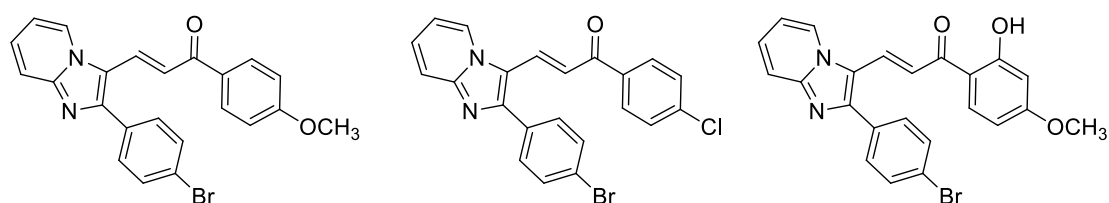
Τόσο οι φυσικής προέλευσης όσο και οι συνθετικές χαλκόνες, έχουν απασχολήσει τους ερευνητές εξαιτίας των ποικίλων βιολογικών και φαρμακολογικών τους δράσεων. Ως φλαβονοειδή ανοικτής αλυσίδας λειτουργούν προστατευτικά για τα φυτά από παθογόνους μικροοργανισμούς. Στην πραγματικότητα, οι χαλκόνες είναι βιοδραστικές έναντι σχεδόν όλων των ευκαρυωτικών οργανισμών και μερικών προκαρυωτικών, και οι μοριακοί τους στόχοι είναι πολυάριθμοι. Γενικότερα διακρίνονται μεταξύ άλλων, για τις αντικές, αντιβακτηριακές, αντικαρκινικές, αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές ιδιότητές τους.^{[1],[2],[3],[4]}



Σχήμα 2. Γενική δομή χαλκόνης και η βιοδραστικότητά της

Αντιβακτηριακή δράση (biological activities of chalcones)

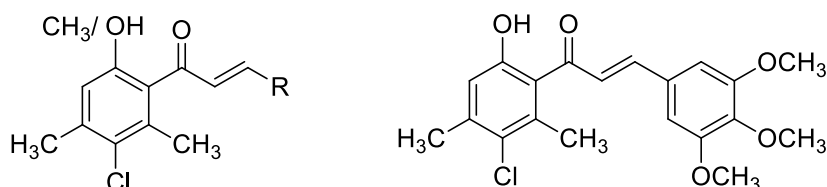
Η ανθεκτικότητα των μικροοργανισμών στα φάρμακα αποτελεί βασική αιτία για την ύπαρξη των μολυσματικών ασθενειών και η σύνθεση νέων φαρμάκων με ισχυρή αντιμικροβιακή δράση, ακόμα και κατά των ανθεκτικών στελεχών, είναι πρόκληση που απασχολεί την επιστημονική κοινότητα. Οι χαλκόνες έχει αποδειχθεί πως είναι ικανές να συντελέσουν τον ρόλο αντιμικροβιακών παραγόντων στα φάρμακα. Η αντιβακτηριακή δράση των φυσικών χαλκονών συνδέεται με την ικανότητα της α, δισθενούς κετονικής ομάδας των ενώσεων να αντιδρά με πυρηνόφιλες ομάδες. Υψηλότερη αντιβακτηριακή δράση, παρουσιάζουν οι ενώσεις που φέρουν περισσότερες ομάδες-δότες ηλεκτρονίων (μεθύλιο, ναφθύλιο). Στο Σχήμα 3 απεικονίζονται χαλκόνες με αντιβακτηριακή δράση έναντι των Aero-genes, *S. aureus*, *B. coccus*, αντίστοιχα.^[5]



Σχήμα 3. Χαλκόνες που εμφανίζουν αντιβακτηριακή δράση έναντι των Aero-genes, *S. aureus*, *B. coccus*, αντίστοιχα

Αντιφλεγμονώδης δράση

Καθώς η χρήση αντιφλεγμονωδών φαρμάκων συνδέεται με παρενέργειες όπως γαστρεντερικές και νεφρικές τοξικότητες, κρίνεται απαραίτητη η ανάπτυξη λιγότερο τοξικών φαρμάκων. Μία ανασκόπηση που διεξήχθη από τον Bano αναφέρει χαρακτηριστικά πως η εισαγωγή μεθοξυ-ομάδας στη μετα- θέση βελτιώνει το προφίλ της δραστηριότητας, ενώ υψηλότερο ποσοστό αντιφλεγμονώδους δράσης παρουσίασε η χαλκόνη που φέρει τρι-μεθοξυ-φαινυλ δακτύλιο.^[6]

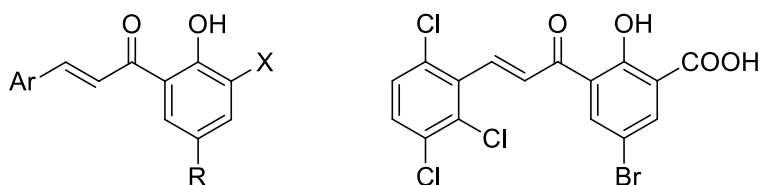


R=Ph, 4-OCH₃-Ph, 2-Cl-Ph, 4-Cl-Ph, 3-OH-Ph, 2-OH-Ph

Σχήμα 4. Χαλκόνες που φέρουν υψηλό ποσοστό αντιφλεγμονώδους δράσης

Αντική δράση

Ο ιός της ανθρώπινης ανοσοεπάρκειας (HIV) που ευθύνεται για το AIDS, καθιστά τον ανθρώπινο οργανισμό επιρρεπή σε ασθένειες και λοιμώξεις, ενώ τα φάρμακα που προορίζονται για την θεραπεία του δεν είναι πλήρως αποτελεσματικά. Οι Sharon κ.ά. συνέθεσαν νέα παράγωγα χαλκόνης 3-κέτο σαλικυλικού οξέος και τα εξέτασαν για την αντική τους δράση, στοχεύοντας στην αναστολή της ιντεγκράσης του HIV-1, ενός ενζύμου που ευθύνεται για τον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση του ιού. Το παράγωγο 5-βρωμο-2-υδροξυ-3-[3-(2,3,6-τριχλωροφαινυλ) ακρυλοϋλ]βενζοϊκό οξύ, ήταν το πιο δραστικό και εκλεκτικό προς της ιντεγκράση, ενώ ανέστειλε ακόμα τον πολλαπλασιασμό του HIV-1.^[7]

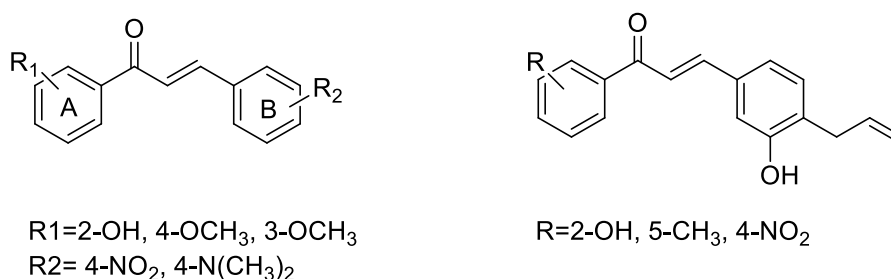


Ar= Ph, 2-Cl-Ph, 2-F-Ph, 3-Cl-Ph, 4-Cl-Ph,
4-Br-Ph, 4-I-Ph, 2,4-Cl-Ph, 2,3-Cl-Ph,
2,3-MeO-Ph, 2,5-Cl-Ph, 2,3-MeO-Ph etc.
X= COOH, CN, NO₂
R= Cl, Br, F, CH₃

Σχήμα 5. Παράγωγα χαλκονών με αντική δράση και το πιο εκλεκτικό προς το ένζυμο Ιντεγκράση που συνδέεται με τον HIV-1

Αντιοξειδωτική δράση

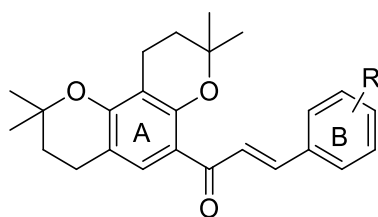
Κατά τη διάρκεια βιολογικών διεργασιών παράγονται ελεύθερες ρίζες, ικανές να προκαλέσουν βλάβη στο DNA, σε πρωτεΐνες και λιπίδια, μέσω της οξείδωσής τους και να οδηγήσουν μακροπρόθεσμα σε γήρανση, αθηροσκλήρωση και καρκίνο. Τα αντιοξειδωτικά είναι απαραίτητα για τη δέσμευση των ελευθέρων ριζών από το βιολογικό σύστημα και την ομαλή λειτουργία των κυτταρικών μηχανισμών. Δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν οδήγησαν στο συμπέρασμα πως τα παράγωγα χαλκόνης αποτελούν καλά αντιοξειδωτικά. Πιο συγκεκριμένα, σύμπλοκα χαλκόνης με χαλκό και ψευδάργυρο, αλλυλιωμένα ανάλογα χαλκόνης παρουσίασαν αποτελεσματικότερη αντιοξειδωτική δράση. Οι πρόδρομες ενώσεις χαλκονών παρουσίασαν ασθενή ικανότητα δέσμευσης των ελευθέρων ριζών, με εκείνες που φέρουν περισσότερες υδροξυλομάδες ως υποκαταστάτες να σημειώνουν καλύτερη δράση.^{[8],[9]}



Σχήμα 6. Χαλκόνες με αντιοξειδωτική δράση

Αντικαρκινική δράση

Παρόλο που σήμερα εφαρμόζονται μέθοδοι θεραπείας του καρκίνου, οι περιορισμοί που θέτουν και οι παρενέργειές τους, ωθούν τους επιστήμονες στην σύνθεση νέων ασφαλέστερων και ισχυρότερων αντικαρκινικών παραγόντων. Μελετήθηκαν παράγωγα χαλκόνης ως κύρια συστατικά, ως υποκαταστάτες ή ως πλευρική αλυσίδα σε δραστικές ενώσεις για τις αντικαρκινικές τους δράσεις και επέδειξαν κυτταροτοξική ικανότητα σε καλλιέργειες καρκινικών κυττάρων. Ακόμη αποδείχθη πως οι χαλκόνες δεν προκαλούν προβλήματα γενετοξικής φύσεως λόγω της αλληλεπίδρασης τους με τα αμινοξέα των νουκλεϊκών οξέων. Ορισμένα συμπεράσματα που εξήχθησαν ήταν πως οι χαλκόνες με μέθυλο και υδρόξυ υποκαταστάτες ή μη υποκατεστημένες, παρουσίασαν αυξημένη κυτταροτοξικότητα, γεγονός που συνδέεται με την καλύτερη διαπερατότητα στα κύτταρα που προσδίδεται στα μόρια. Επίσης παρατηρήθηκε ότι η τοποθέτηση πυρηνόφιλων υποκαταστατών σε θέσεις ορθο- και παρα- οδήγησαν εξίσου σε αποτελεσματική αντικαρκινική δράση.^{[10],[11]}

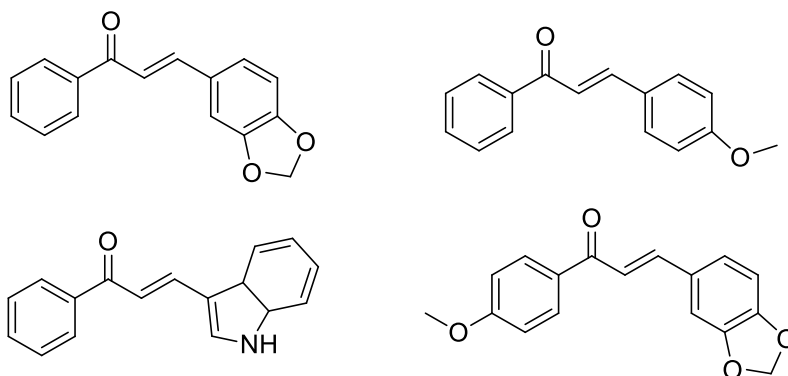


R=H, 4-CH₃, 4-OCH₃, 2,5-OCH₃, 2,4,6-OCH₃, 4-F, 2-Cl, 3-Cl, 4-Br

Σχήμα 7. Αντικαρκινικές χρωματο-χαλκόνες

Φωτοπροστατευτική ικανότητα

Μελέτες έχουν επιβεβαιώσει την ικανότητα ορισμένων χαλκόνων να απορροφούν την ακτινοβολία στην περιοχή του υπεριώδους. Το φάσμα των χαλκόνων αποτελείται από δύο βασικές ζώνες απορρόφησης: την ζώνη I στα 340-390 nm και την ζώνη II στα 220-270 nm. Παρατίθενται ορισμένες από τις χαλκόνες οι οποίες έχουν εξεταστεί και έχουν εμφανίσει φωτοπροστατευτική δράση, απορροφώντας είτε στην UVA, είτε στην UVB ακτινοβολία. Μελετάται, ωστόσο, το ενδεχόμενο τα παράγωγα χαλκόνης να συνδυαστούν και να δράσουν συνεργιστικά για τον σχηματισμό αντηλιακών προϊόντων ευρέως φάσματος απορρόφησης.^{[12],[13],[14]}



Σχήμα 8. Χαλκόνες με φωτοπροστατευτική δράση

1.1.3. Φυσικές πηγές

Οι χαλκόνες, που συνιστούν μία κατηγορία αρωματικών κετονών, έχουν συγκεντρώσει σημαντική προσοχή στον τομέα της ιατρικής και της χημείας λόγω της ποικίλης σειράς βιολογικών του δράσεων. Αυτές οι ενώσεις που χαρακτηρίζονται από τη μοναδική δομή τους, που αποτελείται από δύο αρωματικούς δακτυλίους που συνδέονται με ένα α,β-ακόρεστο καρβονυλικό σύστημα τριών ατόμων άνθρακα, δε συντίθενται μόνο στο εργαστήριο, αλλά εντοπίζονται και σε αφθονία στη φύση.^[15]

Οι φυσικές πηγές παρέχουν μία πλούσια δεξαμενή χαλκονών. Συγκεκριμένα, οι χαλκόνες μπορούν να απομονωθούν από φυτά, φρούτα και διάφορους μικροοργανισμούς. Αυτές οι φυσικά απαντώμενες χαλκόνες έχουν χρησιμοποιηθεί ήδη σε συστήματα παραδοσιακής ιατρικής και μελετώνται όλο και περισσότερο για τα πιθανά οφέλη για την υγεία και τις θεραπευτικές τους ιδιότητες. Αυτή η εξερεύνηση της φυσικής προέλευσης των χαλκονών αποκαλύπτει τον συναρπαστικό κόσμο των βιοδραστικών ενώσεων που προέρχονται από το φυτικό βασίλειο και προσφέρει πληροφορίες για τους πολλά υποσχόμενους ρόλους τους στη σύγχρονη φαρμακολογία και διατροφή.

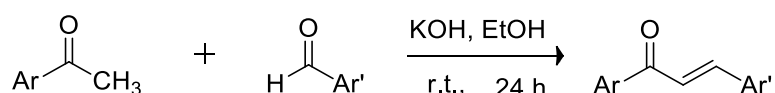
Μερικές φυσικές πηγές από τις οποίες απομονώθηκαν χαλκόνες και έχουν εγκριθεί για κλινικές δοκιμές, θεραπείες και για προσθήκη σε καλλυντικά παρασκευάσματα, είναι οι ακόλουθες.

Χαλκόνες βρίσκονται στις ρίζες της γλυκόριζας και χρησιμοποιούνται στην Κίνα για την θεραπεία γαστρικών και δωδεκαδακτυλικών ελκών, βρογχικού άσθματος, τροφικών δηλητηριάσεων και δερματικών παθήσεων όπως το έκζεμα και η κνίδωση. Στις χώρες της Άπω Ανατολής η βουτεΐνη χρησιμοποιείται παραδοσιακά για τη θεραπεία του πόνου, της γαστρίτιδας και των παρασιτικών λοιμώξεων, καθώς και ως πρόσθετο τροφίμων. Το Kava-kava (*Piper methysticum*), πλούσιο σε χαλκόνες, έχει χρησιμοποιηθεί στην ιατρική πρακτική για τις αντιφλεγμονώδεις, αντιοξειδωτικές και ηπατοπροστατευτικές του ιδιότητες, κυρίως στην περιοχή του Νότιου Ειρηνικού. Το *Lorhira alata*, ένα φυτό πλούσιο σε διμερή χαλκόνες που αναπτύσσεται στα τροπικά δάση της Αφρικής, χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση του πονόδοντου, της μόλυνσης του ήπατος, της γυναικείας στειρότητας, του πυρετού και άλλων ασθενειών. Οι χαλκόνες εντοπίζονται γενικότερα σε ένα ευρύ φάσμα φυτών συμπεριλαμβανομένων εκείνων που απεικονίζονται παρακάτω.

1.1.4. Μέθοδοι σύνθεσης

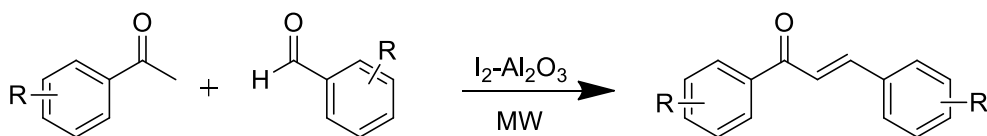
Αλδολική Συμπύκνωση Claisen – Schmidt

Οι χαλκόνες, γενικότερα, συντίθενται μέσω αντιδράσεων συμπύκνωσης, χρησιμοποιώντας κάποιο οξύ ή κάποια βάση ως καταλύτη. Την πιο κοινή από τις μεθόδους που εφαρμόζονται στην οργανική χημεία, αποτελεί η αντίδραση αλδολικής συμπύκνωσης Claisen-Schmidt. Κατά την αντίδραση αυτή παράγωγα μίας ακετοφαινόνης και μίας αλδεΐδης υφίστανται συμπύκνωση, παρουσία όξινου ή βασικού καταλύτη, σε πολικό διαλύτη. Τα μειονεκτήματα που παρουσιάζει η συγκεκριμένη μέθοδος είναι ο αργός ρυθμός της αντίδρασης, η πιθανότητα σχηματισμού παραπροϊόντων, ενώ συνήθως, τα αντιδρώντα δεν καταναλώνονται πλήρως. Παρόλα αυτά, η Claisen-Schmidt προτιμάται λόγω της απλής διαδικασίας, των ικανοποιητικών αποδόσεων συγκριτικά με άλλες μεθόδους και της αποτελεσματικότητας στον σχηματισμό δεσμού άνθρακα-άνθρακα.^{[16],[17]}



Ακτινοβολία μικροκυμάτων

Η χρήση ακτινοβολίας μικροκυμάτων, είναι πλέον μία γνωστή τεχνική στην οργανική σύνθεση και αποτελεί μία μη συμβατική μέθοδο που εφαρμόζεται για τη σύνθεση χαλκόνων, με συγκρίσιμα αποτελέσματα. Η συγκεκριμένη τεχνική διακρίνεται για την αύξηση των βαθμών απόδοσης και την μείωση, παράλληλα, των χρόνων αντίδρασης και του σχηματισμού ανεπιθύμητων παραπροϊόντων, ευνοώντας τον σχηματισμό καθαρότερων τελικών προϊόντων.^{[4],[18]}

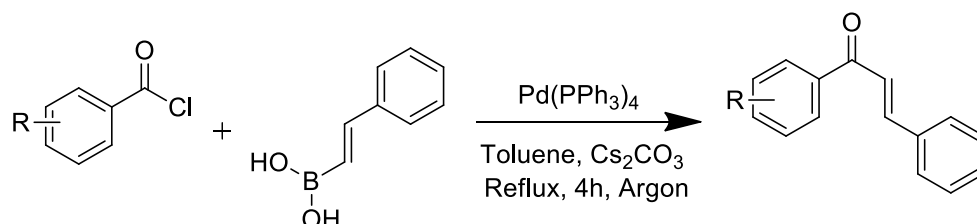


Αντιδράσεις σύζευξης

Οι συμβατικές μέθοδοι συχνά οδηγούν στον σχηματισμό ανεπιθύμητων παραπροϊόντων που καθιστούν δύσκολο τον διαχωρισμό τους από τα επιθυμητά προϊόντα. Για το λόγο αυτό χαλκόνες συντίθενται και από αντιδράσεις σύζευξης με καταλύτες μετάλλων μετάπτωσης, όπως είναι οι ακόλουθες.^[4]

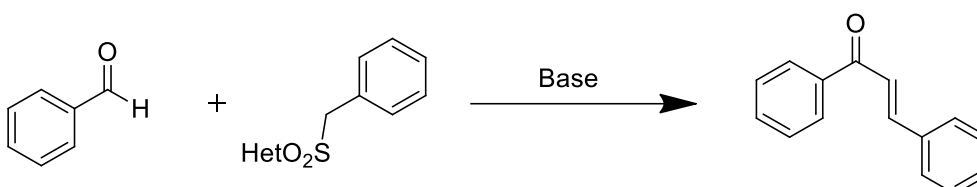
- Σύζευξη Suzuki–Miyaura

Πρόκειται για μία ενδιαφέρουσα αντίδραση διασταυρούμενης σύζευξης, καταλυόμενη από μέταλλο, στην οποία δύο ηλεκτρονικά αποκλίνοντα χημικά θραύσματα σχηματίζουν δεσμό άνθρακα σε μία δομή χαλκόνης. Η αντίδραση που επικράτησε σημειώνοντας υψηλές αποδόσεις, είναι η σύζευξη στυρυλοβορονικού οξέος με διάφορα βενζοϋλοχλωρίδια υπό $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, Cs_2CO_3 και τολουόλιο σε ατμόσφαιρα αργού.



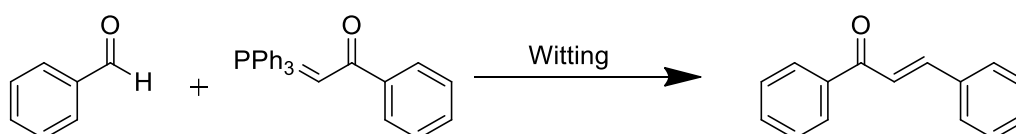
- Ολεφινίωση Julia–Kocienski

Η συγκεκριμένη μέθοδος σύνθεσης χαλκόνων βασίζεται στην αντίδραση συμπύκνωσης του αντιδραστήριου ετεοαρυλο-σουλφονυλο-φαινυλο-τανόνη με αρωματικές αλδεΐδες σε βασικό περιβάλλον. Εδώ η αποτελεσματικότητα της σύνθεσης εξαρτάται από την πολικότητα των διαλυτών, που συνίσταται να είναι χαμηλή και από την επιλογή της βάσης που χρειάζεται να είναι ισχυρή.



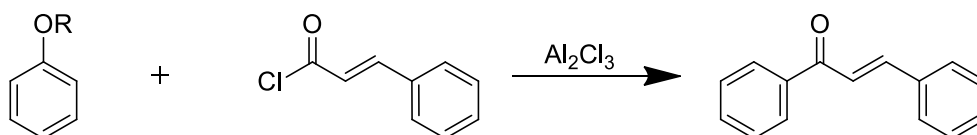
- Ολεφινοποίηση Witting

Εδώ οι χαλκόνες παράχθηκαν από τριφαινυλοβενζοϋλομεθυλένιο φωσφοράνιο και τη βενζαλδεΐδη σε THF ή σε βενζόλιο με αντίστοιχους χρόνους αντίδρασης. Αξίζει να σημειωθεί πως ο συνδυασμός της αντίδρασης Witting με ακτινοβολία μικροκυμάτων μειώνει κατακόρυφα τον χρόνο αντίδρασης σε 5-6 λεπτά.



- Ακυλίωση Friedel–Crafts

Η τεχνική της ακυλίωσης Friedel-Crafts χρησιμοποιείται σπανιότερα αλλά εξειδικεύεται στη σύνθεση υψηλά υποκατεστημένων χαλκονών. Πιο συγκεκριμένα, η σύνθεση χαλκονών με εφαρμογή της Friedel-Crafts αφορά σε ακυλίωση αρωματικών αιθέρων με κινναμοϋλο-χλωρίδιο, η οποία καταλύεται από το ισχυρό οξύ κατά Lewis $AlCl_3$.



1.2. ΗΛΙΑΚΗ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ

Το φως του ήλιου παίζει καθοριστικό ρόλο στη διατήρηση της ζωής στη Γη και είναι σημαντικό να αναγνωριστούν οι μυριάδες θετικές συνέπειες που επιφέρει η ηλιακή ακτινοβολία στον πλανήτη γενικότερα, αλλά και στον άνθρωπο συγκεκριμένα. Η έκθεση στο φως του ήλιου με μέτρο, προσφέρει πολλά οφέλη, από την ενίσχυση της σωματικής και ψυχικής ευεξίας έως την υποστήριξη ζωτικών οικολογικών διεργασιών. Παρόλο που η ακτινοβολία του ήλιου είναι καίριας σημασίας για τον άνθρωπο και την ανάπτυξη της ζωής, μακροπρόθεσμα η έκθεση σε αυτή, μπορεί να έχει πολυποίκιλες και σοβαρές επιπτώσεις στο μεγαλύτερο όργανο του ανθρώπινου σώματος, το δέρμα.

Το πιο συχνό και φαινομενικά ακίνδυνο αποτέλεσμα της ηλιακής ακτινοβολίας, είναι το ερύθημα του δέρματος. Όμως, η υπερβολική και μακροχρόνια έκθεση του ανθρώπου στην υπεριώδη ακτινοβολία είναι ικανή να οδηγήσει σε πιο σοβαρές επιπτώσεις, συμπεριλαμβανομένων των ηλιακών εγκαυμάτων, των φλεγμονών, της φωτογήρανσης, ακόμα και ορισμένων μορφών καρκίνου του δέρματος.

Η ηλιακή ακτινοβολία χαρακτηρίζεται από ένα συνεχές φάσμα ακτινοβολιών μικρού μήκους κύματος και ταξινομείται βάσει αυτών. Πιο συγκεκριμένα, η υπεριώδης ακτινοβολία (UVR) έχει μήκος κύματος μικρότερο από 400 nm. Ακολουθεί το ορατό φως, που εκπέμπει σε μήκος κύματος 400 nm έως 700 nm, και οι υπέρυθρες ακτίνες (IR) έχουν μήκος κύματος μεγαλύτερο από 700 nm. Η υπεριώδης ακτινοβολία, αποτελεί το 6,8% του συνόλου της ηλιακής ακτινοβολίας που φτάνει στη Γη.^[19]

1.2.1. Υπεριώδης Ακτινοβολία και επιπτώσεις

Η υπεριώδης ακτινοβολία υποδιαιρείται αντίστοιχα σε τρεις κατηγορίες: UVC (200 - 290 nm), UVB (290 - 320 nm) και UVA (320 - 400 nm). Από τις επιμέρους κατηγορίες η UVC θεωρείται η πιο επικίνδυνη μορφή υπεριώδους ακτινοβολίας, λόγω όμως του μικρότερου μήκους κύματος έχει ασθενέστερη διαπερατότητα και κατά συνέπεια, απορροφάται εξ' ολοκλήρου από το στρώμα του όζοντος, χωρίς να φτάνει στην ατμόσφαιρα. Η UVB φτάνει στην επιδερμίδα του ανθρώπινου σώματος, ενώ η UVA φτάνει στο χόριο ή κυρίως δέρμα. Πιο αναλυτικά, η μακροχρόνια έκθεση στην UVA ακτινοβολία είναι υπεύθυνη για την υπερπλασία της επιδερμίδας και την αλλοίωση του πάχους της κεράτινης στιβάδας. Είναι γνωστό πως η UVA ακτινοβολία οδηγεί σε μειωμένη παραγωγή και αυξημένη αποδόμηση του δερματικού κολλαγόνου, με αποτέλεσμα την προώθηση της φωτογήρανσης του δέρματος. Από την άλλη, η έκθεση στην UVB ακτινοβολία, μπορεί να προκαλέσει τον σχηματισμό δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS), που οδηγούν με τη σειρά τους σε βλάβες μορίων DNA, πρωτεϊνών και λιπιδίων. Επιπλέον, η UVB ακτινοβολία είναι συνυφασμένη με την ικανότητά της να προκαλεί καρκίνο, ενώ έχει μελετηθεί και η ικανότητά της να προκαλεί μεταλλάξεις και κυτταροτοξικότητα στο δερματικό ιστό.^[20]

Παρόλα αυτά, η υπεριώδης ακτινοβολία δεν επηρεάζει μόνο αρνητικά το δέρμα. Στην πραγματικότητα, αλληλεπιδρά με την 7-δεϋδροχοληστερόλη, μια πρόδρομη ουσία της χοληστερόλης στο δέρμα, που τελικά μετατρέπεται σε βιταμίνη D. Η βιταμίνη D βελτιώνει την απορρόφηση του ασβεστίου, διατηρώντας επαρκή επίπεδα ασβεστίου και φωσφόρου στο αίμα. Αυτό δρα ενισχυτικά στα οστά και τους μύες και παράλληλα βελτιώνει τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, προστατεύοντας από τον διαβήτη τύπου 2 και διάφορους τύπους καρκίνου. Καθώς μόνο το 50% της απαιτούμενης βιταμίνης D λαμβάνεται από τη διατροφή, η έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία φαίνεται να είναι απαραίτητη για την υγεία.

Επιπλέον, μια μικρή δόση υπεριώδους ακτινοβολίας (UVR) στα 1,5 kJ/m² έχει την δυνατότητα να εφαρμοστεί κλινικά σε ασθενείς που απαιτούν τοπική ανοσοκατασταλτική θεραπεία, όπως στην υπερευαισθησία εξ επαφής. Εκτός αυτών, η υπεριώδης ακτινοβολία μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για την αποστείρωση ή τη βελτίωση συγκεκριμένων δερματικών παθήσεων υπό προσεκτικά ελεγχόμενες συνθήκες. Αυτό συμπεριλαμβάνει παθήσεις όπως η ψωρίαση, η ατοπική δερματίτιδα και το σκληρόδερμα.

Τα αποτελέσματα της έκθεσης στην ηλιακή ακτινοβολία εξαρτώνται από ποικίλους παράγοντες. Το χρώμα του δέρματος σχετίζεται με το επίπεδο μελανίνης, μιας φυσικής ουσίας που παράγεται από το δέρμα και λειτουργεί ως φυσικό φίλτρο έναντι στην υπεριώδη ακτινοβολία. Οι διάφορες αποχρώσεις του δέρματος αντανακλούν την ποικιλία των επιπτώσεων που έχει η υπεριώδης ακτινοβολία στους διαφορετικούς τύπους δέρματος. Πιο συγκεκριμένα:

Σκούρο Δέρμα: Τα άτομα με σκούρο δέρμα έχουν υψηλό επίπεδο μελανίνης, που παρέχει μεγαλύτερη προστασία από την υπεριώδη ακτινοβολία. Αυτό το είδος

δέρματος έχει λιγότερες πιθανότητες να υποστεί εγκαύματα και άλλες άμεσες βλάβες από τον ήλιο.

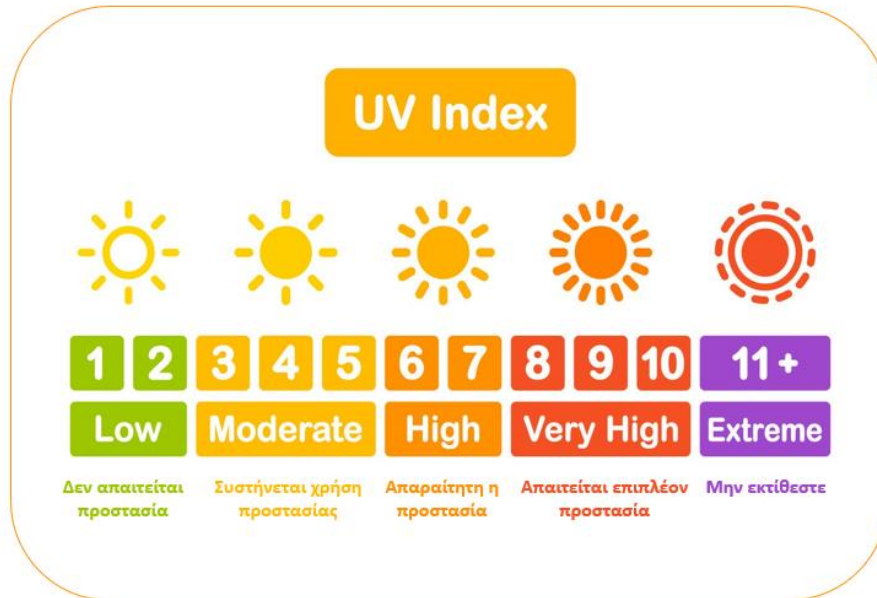
Ανοιχτό Δέρμα: Τα άτομα με ανοιχτό δέρμα έχουν λιγότερη μελανίνη και συνεπώς, μεγαλύτερη ευαισθησία στην υπεριώδη ακτινοβολία. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε εγκαύματα, ερυθρότητα και αύξηση του κινδύνου για καρκίνο του δέρματος.

Άλλοι παράγοντες από τους οποίους εξαρτώνται οι επιπτώσεις της υπεριώδους ακτινοβολίας είναι ο χρόνος έκθεσης, η ένταση του ήλιου, η χρήση και η εφαρμογή επαρκούς ποσότητας αντηλιακών προϊόντων. Ανεξαρτήτως του τύπου δέρματος, η προστασία από την υπεριώδη ακτινοβολία είναι σημαντική για τη διατήρηση της υγείας του δέρματος και την πρόληψη πιθανών επιπτώσεων.

Κύριο μέσο προστασίας τόσο από την UVA όσο και από την UVB ακτινοβολία αποτελεί η συστηματική εφαρμογή του κατάλληλου αντηλιακού προϊόντος. Επιπλέον, η γνώση της έντασης της υπεριώδους ακτινοβολίας, είναι ένα σημαντικό εργαλείο πρόληψης των επιπτώσεων που φέρει η έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία.

Δείκτης υπεριώδους ακτινοβολίας UVI

Ο δείκτης υπεριώδους ακτινοβολίας (UVI), είναι ένας αριθμητικός δείκτης που μετρά την ένταση της υπεριώδους ακτινοβολίας που προέρχεται από τον ήλιο και φτάνει στην επιφάνεια της γης. Ο δείκτης διαμορφώνεται λαμβάνοντας υπόψη παράγοντες όπως η γεωγραφική τοποθεσία, η ώρα, η εποχή του χρόνου και η κατάσταση της ατμόσφαιρας. Οι τιμές του UVI κυμαίνονται συνήθως από 0 (χαμηλή ένταση) έως 11+ (πολύ υψηλή ένταση). Ο UVI παρέχει πληροφορίες για τον κίνδυνο της υπεριώδους ακτινοβολίας στον ανθρώπινο δέρμα. Όσο υψηλότερος είναι ο UVI, τόσο μεγαλύτερος είναι ο κίνδυνος επιβλαβών επιπτώσεων, όπως η ερυθρότητα του δέρματος, τα ηλιακά εγκαύματα και η αύξηση του κινδύνου καρκίνου του δέρματος. Χάρη στην εξέλιξη των τεχνολογικών μέσων η γνώση της έντασης της υπεριώδους ακτινοβολίας ανά πάσα στιγμή αποτελεί εύκολη υπόθεση. Συνίσταται λοιπόν, τις ώρες με υψηλό δείκτη UVI να αποφεύγεται η έκθεση στον ήλιο ή να λαμβάνονται οι κατάλληλες προφυλάξεις.^[21]



Σχήμα 9. Κλίμακα δείκτη υπεριώδους ακτινοβολίας^[21]

Αντηλιακή προστασία – Ιστορική αναδρομή

Παρόλο που αντηλιακά με τις συμβατικές μορφές που μας είναι γνωστές σήμερα, δεν υπήρχαν τουλάχιστον τα προηγούμενα εκατό χρόνια, οι άνθρωποι έβρισκαν πάντα τρόπους να προστατεύονται από την ηλιακή ακτινοβολία. Ακολουθώντας, παρουσιάζεται ένα συνοπτικό χρονικό που περιγράφει τα βασικά σημεία που διέπουν την ιστορία της αντηλιακής προστασίας.

300.000-200.000 π.Χ. Πιθανολογείται ότι οι πρόγονοι των homo sapiens, που εντοπίζονταν στην Αφρική, είχαν σκούρο δέρμα και η μελανίνη του δέρματός τους, αποτελούσε φυσικό αντηλιακό φίλτρο.

70.000-60.000 π.Χ. Οι πρώτοι homo sapiens λόγω μεταναστεύσεων σε ψυχρότερα περιβάλλοντα με λιγότερη ηλιακή ακτινοβολία, έχαναν με την πάροδο του χρόνου τη χρωστική της επιδερμίδας τους, η οποία τους εξασφάλιζε αντηλιακή προστασία.

3100-300 π.Χ. Οι αρχαίοι Αιγύπτιοι εφηύραν μεθόδους προστασίας από τον ήλιο, προκειμένου να διατηρήσουν μία ανοιχτόχρωμη επιδερμίδα, η οποία αποτελούσε σύμβολο ομορφιάς και οικονομικής ευμάρειας. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιούσαν πίτουρο ρυζιού, γιασεμί και το λούπινο, συστατικά που όπως έχει αποδειχθεί συμβάλλουν στην απορρόφηση του υπεριώδους φωτός, στην επιδιόρθωση των νουκλεϊκών οξέων και στη λάμψη του δέρματος, αντίστοιχα.

800-500 π.Χ. Οι αρχαίοι Έλληνες χρησιμοποιούσαν το ελαιόλαδο τόσο ως μέσο προστασίας πριν την έκθεση στον ήλιο, όσο και θεραπευτικά, για την περιποίηση του δέρματος μετά την έκθεση.

700 Στην Ιαπωνία η γυναικεία ομορφιά ταυτίζεται με την λευκή επιδερμίδα, για να επιτύχουν αυτό το αποτέλεσμα, χρησιμοποιούσαν λευκαντικές σκόνες με βάση τον μόλυβδο ή τον υδράργυρο.

1600 Στην Ευρώπη πια, για να προφυλαχθούν οι γυναίκες από τις επιπτώσεις της ηλιακής ακτινοβολίας, φορούσαν βελούδινα καλύμματα προσώπου, ενώ χρησιμοποιούσαν και λευκαντικά καλλυντικά που περιείχαν μόλυβδο.

1798 Ο Ρόμπερτ Γουίλαν, ο γιατρός που ίδρυσε την ειδικότητα της δερματολογίας εισαγάγει πληροφορίες για μία πάθηση του δέρματος με την ονομασία ηλιακό έκζεμα ή φωτοευαισθησία.

1801 Ο Γιόχαν Βίλχεμ Ρίτερ από τη Γερμανία μιλάει πρώτη φορά για την υπεριώδη ακτινοβολία.

1820 Γίνεται η πρώτη αναφορά στα θεραπευτικά αποτελέσματα της μελάγχρωσης του δέρματος, έναντι του ήλιου.

1878 Περιγράφονται οι τανίνες ως μια μορφή αντηλιακής προστασίας. Ωστόσο, εξαιτίας της σκούρης απόχρωσης που προσδίδουν στην επιδερμίδα δεν διατίθενται στο εμπόριο ως αντηλιακά.

1889 Ο Erik Johan Widmark γνωστοποιεί μετά από την έρευνα του, ότι η υπεριώδης ακτινοβολία είναι ικανή να προκαλέσει ερύθημα του δέρματος και εγκαύματα.

1891 Ο Δρ. Χάμερ από τη Στουτγάρδη της Γερμανίας, πρότεινε πρώτος τη χρήση χημικών αντηλιακών και την κινίνη ως συστατικό αλοιφής να αποτελεί το πρώτο αντηλιακό παρασκεύασμα.

1896 Ο Δρ. Paul Unna, Γερμανός γιατρός, συσχετίζει την έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία με τον καρκίνο του δέρματος.

1910 Ο Δρ. Unna συνθέτει και θέτει προς πώληση ένα αντηλιακό προϊόν από εκχύλισμα κάστανου, το οποίο όμως συναντά αποδοκιμασία λόγω της παχύρρευστης φόρμουλάς της.

1920 Η Coco Chanel δημιουργεί μια νέα αντίληψη για το μαυρισμένο δέρμα, το οποίο γίνεται σημάδι ενός υγιούς, χαλαρού και πολυτελούς τρόπου ζωής.

1935 Ο Eugene Schueleger, ιδρυτής της σημερινής L'Oréal, αναπτύσσει το πρώτο λάδι μαυρίσματος με ιδιότητες φιλτραρίσματος της υπεριώδους ακτινοβολίας. Το ενεργό συστατικό είναι ο σαλικυλικός βενζυλεστέρας.

1942 Ο Stephen Rothman και ο Jack Rubin αναφέρονται στα παρα-αμινοβενζοϊκά οξέα, δραστικά συστατικά που θα γίνουν τα πιο δημοφιλή στα αντηλιακά στις ΗΠΑ για πολλά χρόνια. Παράλληλα, η πολεμική Αεροπορία του Στρατού πλησιάζει το Συμβούλιο Φαρμακευτικής και Χημείας της Αμερικανικής Ιατρικής Ένωσης με σκοπό να πραγματοποιήσει ένα "εξαιρετικά εμπιστευτικό πείραμα" για την ανάλυση των αποτελεσματικότερων προστατευτικών ουσιών κατά του ηλιακού εγκαύματος σε άνδρες που εκτίθενται στην έρημο ή σε σωσίβιες σχεδίες. Τα αποτελέσματα

αναδεικνύουν ότι το σκούρο κόκκινο κτηνιατρικό πετρέλαιο αποτελεί το βασικό συστατικό που πληροί όλες τις επιθυμητές ιδιότητες: ανθεκτικό στο νερό, οικονομικό και απαλλαγμένο από τοξικότητα.

1944 Ο φαρμακοποιός Benjamin Green, προσθέτει στην προηγούμενη σύνθεση βούτυρο κακάο και λάδι καρύδας, δημιουργώντας μια ευχάριστη προς τον καταναλωτή εκδοχή του προϊόντος.

1946 Ο Ελβετός χημικός Franz Greiter αναπτύσσει και εμπορευματοποιεί το πρώτο σύγχρονο αντηλιακό, γνωστό ως «Gletscher Crème», ή Glacier Cream.

1962 Στον Γκρέιτερ αποδίδεται η ανακάλυψη του παράγοντα προστασίας από την ηλιακή ακτινοβολία (SPF). Διαπιστώνεται ότι η αρχική Gletscher Crème έχει SPF μόλις 2.

1967 Οι κατασκευαστές ξεκινούν την ανάπτυξη αδιάβροχων αντηλιακών προϊόντων. Μέχρι το 1976, το παρα-αμινοβενζοϊκό οξύ (PABA) και τα παράγωγά του ήταν τα πιο χρησιμοποιούμενα φίλτρα UV.

1978 Ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA) αναλαμβάνει τη ρύθμιση της αναπτυσσόμενης αγοράς των αντηλιακών προϊόντων. Τα πρώτα σολάριουμ με υπεριώδη ακτινοβολία αρχίζουν να εμφανίζονται στις ΗΠΑ.

Δεκαετία 1980 Η Αυστραλία, ακολουθώντας το παράδειγμα και άλλων χωρών, αποδέχεται τον ορισμό του SPF ως "η αναλογία της ενέργειας UV που απαιτείται για τη δημιουργία μιας ελάχιστης ερυθματικής αντίδρασης σε δέρμα που προστατεύεται έναντι δέρματος που δεν προστατεύεται".

Δεκαετία 1990 Τα περισσότερα αντηλιακά προϊόντα στην αγορά παρουσιάζουν SPF που κυμαίνεται από 15 έως 30. Μία συνήθης επιλογή είναι η χρήση αβοβενζόνης (συνδυασμένης με οκτυλτριαζόνη για την αύξηση της φωτοσταθερότητας) για την προστασία από την υπεριώδη ακτινοβολία UVA, ενώ ο μεθοξικιναμικός οκτυλεστέρας είναι το συνηθέστερο συστατικό για την προστασία από την υπεριώδη ακτινοβολία UVB.

2007 Ο Διεθνής Οργανισμός Έρευνας για τον Καρκίνο δημοσιεύει μια σημαντική μελέτη που επιβεβαιώνει τη συνάφεια μεταξύ σολάριουμ και μελανώματος.

2008 Ο Danonago και η ομάδα του δημοσιεύουν την πρώτη μελέτη που αναφέρει τον ενδεχόμενο ρόλο των συστατικών αντηλιακών προϊόντων στη λεύκανση των κοραλλιών σε περιοχές με υψηλά επίπεδα ανθρώπινης δραστηριότητας.

2018 Αναδεικνύονται ανησυχίες για πιθανή επίδραση δύο αντηλιακών συστατικών - της οξυβενζόνης και της οκτινοξάτης - στη λεύκανση των κοραλλιών και στα υποβρύχια οικοσυστήματα, ώστε το 19ο κράτος της Χαβάη γίνεται το πρώτο που εγκρίνει νομοσχέδιο που απαγορεύει την διάθεση προς πώληση αντηλιακών προϊόντων που περιέχουν οξυβενζόνη και ενεργό οκτινοξάτη, συστατικά που περιέχονται σε πολλές μεγάλες μάρκες αντηλιακών προϊόντων.^{[22],[23],[24]}

Πρόσφατες εξελίξεις

Κατά τη διάρκεια του 20ού και 21ου αιώνα, σημειώθηκαν πολλές εξελίξεις σχετικά με τα αντηλιακά προϊόντα και την αντηλιακή προστασία. Σήμερα, έχουμε πρόσβαση στη γνώση και πολύ καλύτερη κατανόηση των επιπτώσεων της ακτινοβολίας στο δέρμα, ειδικά όσον αφορά στην ανάγκη να προστατεύουμε το δέρμα μας από τα μεγαλύτερα μήκη κύματος και τις πιο διεισδυτικές ακτίνες UVA.

Οι απαιτήσεις για αντηλιακά προϊόντα έχουν αλλάξει, ενισχύοντας την ανάγκη για περισσότερες και αποτελεσματικότερες καλλυντικές λύσεις. Αναζητούμε προϊόντα που προσφέρουν μακρά διάρκεια προστασίας, έχουν ευχάριστη αίσθηση στο δέρμα, είναι εύκολα στη χρήση και προάγουν τη συμμόρφωση με τη δόση. Επιπλέον, η ομοιόμορφη και αποτελεσματική εφαρμογή στον εκάστοτε τύπο επιδερμίδας έχει γίνει πιο σημαντική από ποτέ.^[35]

Παρόλο που υπάρχει μια κοινή κατανόηση για τη σημασία της προστασίας από την υπεριώδη ακτινοβολία, παρατηρούμε διαφορές στην αποδοχή και ρύθμιση των φίλτρων UV για χρήση σε διάφορες περιοχές του κόσμου. Αυτό οφείλεται σε διαφορές στις νομοθετικές προδιαγραφές και τους κανονισμούς που διέπουν τη χρήση αντηλιακών στην κάθε περιοχή.

Επιπλέον, οι μέθοδοι δοκιμών και οι κλίμακες που χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της ισορροπίας προστασίας μεταξύ UVB και UVA διαφέρουν. Υπάρχει ανάγκη για προσαρμογή στα διάφορα περιβάλλοντα και τις ατομικές ανάγκες των καταναλωτών, καθώς και στις επιστημονικές ανακαλύψεις σχετικά με τις επιπτώσεις της υπεριώδους ακτινοβολίας. Αυτό οδηγεί σε μια ποικιλία προτύπων και προδιαγραφών για την αντηλιακή προστασία που χρησιμοποιούνται παγκοσμίως.

Η πιο πρόσφατη εξέλιξη περιλαμβάνει τα "υλικά μετασχηματισμού" (transformation materials, TM): πρόδρομες ουσίες που δεν απορροφούν αρχικά την υπεριώδη ακτινοβολία, αλλά μετατρέπονται σε απορροφητές υπεριώδους ακτινοβολίας με την έκθεση σε φυσική ακτινοβολία UV. Αυτά τα υλικά είναι συνήθως διβενζοϋλομεθάνια, όπως η αβοβενζόνη, αλλά διαθέτουν διαφορετικά μοτίβα υποκατάστασης, τα οποία επιτρέπουν την προσαρμογή της τελικής απορρόφησης σύμφωνα με συγκεκριμένες συνθήκες και ανάγκες. Κατά συνέπεια, τα αντηλιακά προϊόντα που περιέχουν υλικά μετασχηματισμού δείχνουν αυξημένη απορρόφηση της υπεριώδους ακτινοβολίας μετά την έκθεση στον ήλιο, σε σύγκριση με την αρχική τους κατάσταση.

Σύμφωνα με τις επιταγές που ορίζει η εποχή, ένα αντηλιακό μπορεί να χαρακτηριστεί «βέλτιστο», αν πληροί τα εξής:

- ✓ Παρέχει προστασία από τις ακτίνες UVB και UVA, καλύπτοντας το ευρύ φάσμα των υπεριωδών ακτινών.
- ✓ Έχει φίλτρα με μεγάλο μοριακό συντελεστή απορρόφησης ϵ , για να χρησιμοποιούνται σε μικρές συγκεντρώσεις

- ✓ Το μέγιστο μήκος κύματος απορρόφησης δεν μετατοπίζεται από την αλληλεπίδραση των συστατικών του προϊόντος
- ✓ Είναι ανθεκτικό και όχι υδατοδιαλυτό
- ✓ Δεν είναι τοξικό ή ερεθιστικό [26]

1.2.2. Αντηλιακά φίλτρα

Τα αντηλιακά φίλτρα διακρίνονται σε δύο βασικές κατηγορίες: τα χημικά (ή οργανικά) και τα φυσικά (ή ανόργανα). Κάθε κατηγορία περιλαμβάνει ποικίλα συστατικά που λειτουργούν με διαφορετικούς τρόπους προκειμένου να απορροφήσουν ή να ανακλάσουν την υπεριώδη ακτινοβολία. Συγκεκριμένα, τα οργανικά φίλτρα UV απορροφούν την υπεριώδη ακτινοβολία μέσω χημικών αντιδράσεων, ενώ τα ανόργανα ανακλούν την προσπίπτουσα ακτινοβολία και απορροφούν ένα μέρος αυτής που φτάνει στο δέρμα.^{[27],[28]}

Οργανικά φίλτρα UV

Χρησιμοποιούνται συνήθως σε αντηλιακά, καθώς επιτρέπουν ελαφρύτερες συνθέσεις και προσφέρουν ευχάριστη αίσθηση στο δέρμα, απαλλαγμένη από λευκά σημάδια. Συχνό φαινόμενο είναι η χρήση συνδυασμού οργανικών φίλτρων για τον σχηματισμό αντηλιακών με επαρκή τιμή SPF. Μερικά από τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα οργανικά φίλτρα είναι τα εξής: παρααμινοβενζοϊκό οξύ (PABA), αβοβενζόνη, οκτοκρυλένιο, ενώσεις βενζοφαινόνης, οργανικά παράγωγα καμφοράς. Αν και γενικότερα τα οργανικά φίλτρα θεωρούνται φωτοσταθερές ενώσεις, ορισμένες από αυτές αποσυντίθενται από την υπεριώδη ακτινοβολία, δημιουργώντας δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS) και τοξικών παραγώγων, χάνοντας τις φωτοπροστατευτικές ιδιότητες του φίλτρου UV. Ακόμη είναι γνωστό ότι προκαλούν φωτοαλλεργική δερματίτιδα εξ επαφής.

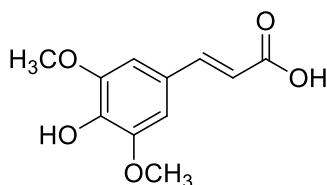
Το παρα-αμινοβενζοϊκό οξύ (PABA) και τα παράγωγά του, είναι γνωστά για την πρόκληση φωτοαλλεργιών, ενώ έχει επισημανθεί και η ικανότητα δημιουργίας ROS σε διάλυμα ρυθμισμένο με φωσφορικά άλατα, υποδεικνύοντας ότι μπορεί να έχει κυτταροτοξικές επιπτώσεις. Η χημική ένωση αβοβενζόνη έχει αποδειχθεί ότι είναι ένα από τα πιο φωτοαλλεργικά φίλτρα υπεριώδους ακτινοβολίας και είναι εξαιρετικά ευαίσθητο στο φως. Η φωτοαστάθειά του οδηγεί σε σημαντική απώλεια των φωτοπροστατευτικών του ιδιοτήτων. Μπορεί ωστόσο να επιτευχθεί η σταθεροποίησή του αν συνδυαστεί με το οκτοκρυλένιο, ένα άλλο φίλτρο UV. Το οκτοκρυλένιο αποτελεί επίσης εξαιρετικά φωτοαλλεργικό οργανικό φίλτρο UV, με τη διαφορά ότι σε σύγκριση με άλλα οργανικά φίλτρα, φαίνεται να διατηρεί σε ικανοποιητικό επίπεδο τις φωτοπροστατευτικές του ιδιότητες μετά την ακτινοβολήσή του. Τόσο το οκτοκρυλένιο, όσο και άλλα φίλτρα όπως ενώσεις βενζοφαινόνης και οργανικά παράγωγα καμφοράς, διεισδύουν στην κεράτινη

στιβάδα λόγω του χαμηλού μοριακού βάρους τους και του λιπόφιλου χαρακτήρα τους.^[27]

Ανόργανα φίλτρα UV

Τα ανόργανα φίλτρα UV υπερτερούν σε σχέση με τα οργανικά, καθώς παρέχουν ευρύτερο φάσμα προστασίας, καλύπτουν δηλαδή τόσο την UVA, όσο και την UVB ακτινοβολία, είναι περισσότερο φωτοσταθερά και προκαλούν χαμηλότερη αλλεργιογένεση. Τα δύο πιο κοινά ανόργανα φίλτρα υπεριώδους ακτινοβολίας που προστίθενται σε αντηλιακά σκευάσματα σε μορφή νανοσωματιδίων είναι το διοξείδιο του τιτανίου (TiO₂) και το οξείδιο του ψευδαργύρου (ZnO). Το πρώτο παρέχει ένα ευρύ φάσμα προστασίας που εκτείνεται από την UVA II έως την UVB, για αυτό και μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο του, ενώ το δεύτερο προστατεύει στο φάσμα UVA και έτσι χρησιμοποιείται συμπληρωματικά με φίλτρα προστασίας από την UVB ακτινοβολία. Παρά τις ανησυχίες, μελέτες που έχουν διεξαχθεί αποδεικνύουν ότι τα συγκεκριμένα νανοσωματίδια δεν μπορούν να διασχίσουν τον φραγμό του δέρματος και να φτάσουν στη συστηματική κυκλοφορία του αίματος οδηγώντας σε κυτταροτοξικές επιδράσεις.^{[27],[29]}

Σιναπικό οξύ



Σχήμα 10. Δομή σιναπικού οξέος

Το σιναπικό οξύ ανήκει στην ευρύτερη οικογένεια των φαινολικών οξέων και συναντάται στη φύση σε ελεύθερη αλλά και σε εστερική μορφή. Τόσο το σιναπικό οξύ όσο και οι εστέρες του έχουν εξεταστεί για την ικανότητά τους να προστατεύουν από την υπεριώδη ακτινοβολία, καθώς και για την αντιοξειδωτική τους δράση.

Οι σιναπικοί εστέρες συντίθενται από το σιναπικό οξύ και εντοπίζονται στα κυτταρικά τοιχώματα των φυτικών ιστών, συμβάλλοντας στην προστασία των φυτικών κυττάρων από τις επιπτώσεις της υπεριώδους ακτινοβολίας, χάρη στην ιδιότητά τους να απορροφούν ακτινοβολία UV-B. Ακόμη, λόγω των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων τους οι σιναπικοί εστέρες, προστατεύουν τα φυτά από το οξειδωτικό στρες και τις κυτταρικές βλάβες που προκαλούν οι δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS).^[30]

Στο φυτό *Arabidopsis Thaliana*, συγκεκριμένα, η παραγωγή σιναπικών εστέρων, αποτελεί απόκριση σε περιβαλλοντικές απειλές, όπως είναι η έκθεση στην υπεριώδη

ακτινοβολία. Έτσι, όταν το φυτό υποστεί αυξημένη έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία, αυξάνει και τη σύνθεση των σιναπικών εστέρων ως μηχανισμό άμυνας.

Το σιναπικό οξύ και οι εστέρες του έχουν προσελκύσει το ενδιαφέρον των επιστημόνων και μάλιστα πρόσφατες εργασίες έχουν επικεντρωθεί στη σύνθεση νέων ανανεώσιμων αναλόγων οκτινοξικού οξέος με βάση το σιναπικό οξύ, ως αντιστάθμισμα στα ορυκτά φίλτρα, χάρη στη διπλή του ιδιότητα, δηλαδή τη λειτουργία του ως φίλτρο υπεριώδους ακτινοβολίας καθώς και ως αντιοξειδωτικό.^{[31],[32],[33]}



Σχήμα 11. *Arabidopsis thaliana*: αυτοπροστατεύεται από την υπεριώδη ακτινοβολία συνθέτοντας σιναπικούς εστέρες από το σιναπικό οξύ^[34]

Φίλτρα υπό αμφισβήτηση

Ορισμένα συστατικά που χρησιμοποιούνται ευρέως σε αντηλιακά ως φίλτρα, έχουν προκαλέσει συζητήσεις σχετικά με την ασφάλειά τους και τυχόν αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία.

Τα συστατικά αυτά είναι τα ακόλουθα:

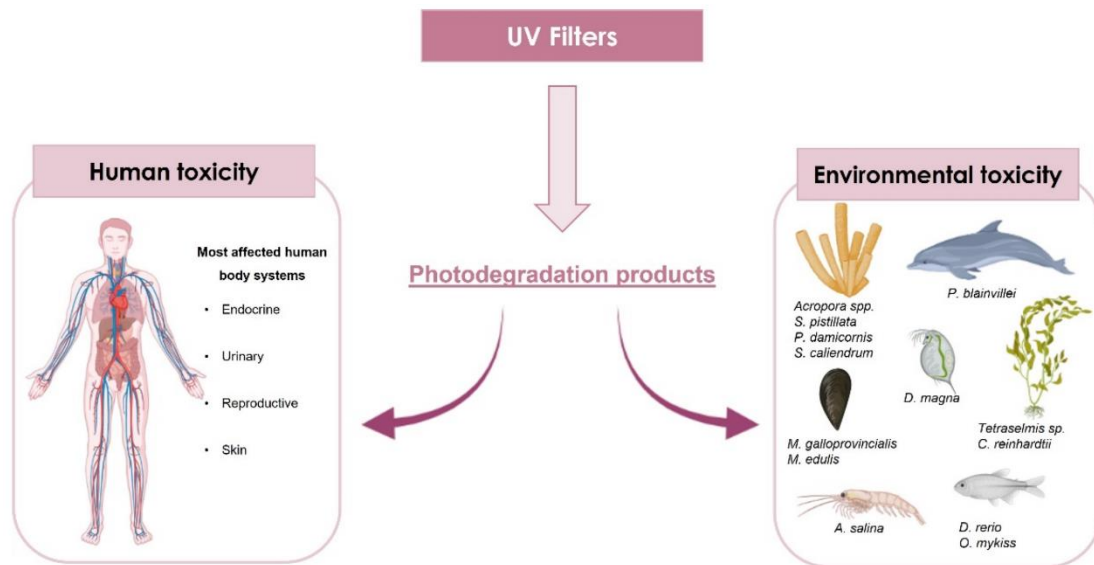
1. Οξυβενζόνη (Oxybenzone): Πρόκειται για ένα σύνθετο φίλτρο UV ακτινοβολίας που χρησιμοποιείται στην παρασκευή αντηλιακών. Το συγκεκριμένο, τίθεται υπό συζήτηση λόγω της δυνατότητάς του να απορροφάται από το δέρμα και της τάσης του να επηρεάζει το ενδοκρινικό σύστημα προκαλώντας μεταλλάξεις.
2. Οκτοκυκλομεθόξικιναμικό οξύ (Octinoxate): Αποτελεί ένα γνωστό φίλτρο UV που έχει προκαλέσει εξίσου ανησυχίες για τις δυνατές αρνητικές επιπτώσεις στο ενδοκρινικό σύστημα, ενώ έχει ενταχθεί σε λίστες με πιθανά επιβλαβή χημικά συστατικά.
3. Οκτοκυρλένιο (Octocrylene): Αν και δεν θεωρείται τόσο ανησυχητικό όσο τα δύο προηγούμενα φίλτρα, έχουν διατυπωθεί ανησυχίες για το αν μπορεί να προξενήσει δερματικές αντιδράσεις σε ορισμένη μερίδα ατόμων.^{[35],[36]}

Οι ανησυχίες για την ασφάλεια αυτών των συστατικών εξακολουθούν να ερευνώνται και να εξετάζονται από τους ειδήμονες. Παρ' όλα αυτά, πολλοί από τους καταναλωτές τείνουν να επιλέγουν αντηλιακά με φυσικά φίλτρα, τα οποία θεωρούνται πιο ασφαλή για τη χρήση στο δέρμα και το περιβάλλον.^[37]

Οι κύριες προκλήσεις, λοιπόν, που καλείται να αντιμετωπίσει η επιστημονική κοινότητα σε σχέση με τα φίλτρα υπεριώδους ακτινοβολίας που περιλαμβάνουν τα αντηλιακά, είναι η φωτοαστάθειά τους, οι περιβαλλοντικές επιπτώσεις και η ανθρώπινη τοξικότητα.

Η σταθερότητα των αντηλιακών προϊόντων αποτελεί αναγκαία προϋπόθεση για την εξασφάλιση της αποτελεσματικής φωτοπροστασίας τους. Κατά την απορρόφηση υπεριώδους ακτινοβολίας, τα φίλτρα UV διεγείρονται προς υψηλότερα ενεργειακά επίπεδα και κατά την μετάπτωσή τους στην αρχική κατάσταση απελευθερώνεται ενέργεια που οδηγεί συχνά σε φωτοϊσομερισμό έως και μη αναστρέψιμη διάσπαση δεσμών. Αυτή η διαδικασία μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα σχηματισμό παραγώγων φωτοαποικοδόμησης, με αρνητικές επιπτώσεις στην αποτελεσματικότητα του αντηλιακού προϊόντος. Επιπλέον, αυτά τα παράγωγα μπορεί να είναι τοξικά λόγω αλληλεπίδρασης με τα κυτταρικά συστατικά ή ακόμη και να προκαλέσουν καταστροφή του DNA. Τέλος, δύνανται να επηρεάσουν τη σταθερότητα άλλων συστατικών που περιλαμβάνονται στη σύνθεση του προϊόντος. Η βελτίωση της φωτοσταθερότητας των φωτοπροστατευτικών παραγόντων μπορεί να επιτευχθεί με την εισαγωγή αντιοξειδωτικών, με την ενθυσάλκωση, με την πολλαπλή σύνδεση φίλτρων UV.^[38]

Η ανησυχία για τις αρνητικές επιπτώσεις των φίλτρων UV στο περιβάλλον και τους οργανισμούς αυξάνεται διαρκώς. Η επιστημονική κοινότητα αναζητά εναλλακτικές λύσεις για να μειώσει τους κινδύνους που συνδέονται με τη χρήση αυτών των ρυπογόνων χημικών. Οι επιπτώσεις που μπορεί να έχουν τα αντηλιακά στους οργανισμούς, ειδικά στους θαλάσσιους, είναι αντικείμενο μελέτης. Πρόσφατες έρευνες έχουν αποκαλύψει τις επιβλαβείς επιδράσεις των φίλτρων UV σε υδρόβια είδη όπως μύδια, φύκια, κοράλλια, αχινοί, ψάρια, ακόμη και δελφίνια. Οι τοξικολογικές επιδράσεις μελετώνται είτε με τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των φίλτρων UV σε οργανισμούς στο περιβάλλον είτε με την έκθεση των οργανισμών σε διάφορες συγκεντρώσεις των φίλτρων UV και την αξιολόγηση των επιπτώσεων. Στην ακόλουθη εικόνα παρουσιάζονται τα κύρια συστήματα που απειλούνται από την τοξικότητα των φίλτρων UV.



Σχήμα 12. Συστήματα που απειλούνται από την τοξικότητα των φίλτρων κατά της UV ακτινοβολίας^[28]

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, οι ανησυχίες περί διείσδυσης των φίλτρων UV στο δέρμα και στην κυκλοφορία του αίματος, έχουν καταρριφθεί, καθώς έχει αποδειχθεί πως τα νανοσωματίδια φτάνουν στην κεράτινη στοιβάδα χωρίς να την διαπερνούν. Όσον αφορά στα οργανικά φίλτρα, αναφορές έχουν εντοπίσει την παρουσία τους σε βιολογικά δείγματα, όπως δείγματα ούρων και αίματος, συγκεκριμένα σε παράγωγα της βενζοφαινόνης και κινναμίνης. Άλλες αρνητικές επιδράσεις των φίλτρων UV σχετίζονται με ενδοκρινικές διαταραχές και συγκεκριμένα με οιστρογονικές, ανδρογόνες και θυρεοειδικές δραστηριότητες. Τέλος, τα φίλτρα υπεριώδους ακτινοβολίας έχουν συνδεθεί και με άλλες εγγενείς επιδράσεις, όπως η κυτταροτοξικότητα, αλλαγές συμπεριφοράς και νευροτοξικότητα.

Οι αρνητικές επιπτώσεις της υπεριώδους ακτινοβολίας (UVR) οδήγησαν στην αύξηση της παραγωγής και χρήσης φωτοπροστατευτικών προϊόντων, ενισχύοντας την παρουσία των φίλτρων UV στο περιβάλλον, ιδίως σε υδάτινα οικοσυστήματα όπως είναι εκείνα των κοραλλιογενών υφάλων. Μελέτες έχουν καταδείξει τα ανόργανα φίλτρα όπως το ZnO, για την καταστροφική τους επίδραση στην υγεία των κοραλλιών και συγκεκριμένα για τη λεύκανση που υφίστανται. Η ανάπτυξη βιοσυσσωρευτικών και τοξικολογικών επιπτώσεων είναι καίρια ζητήματα που σχετίζονται με τη θαλάσσια μόλυνση από φίλτρα UV, και οι επιπτώσεις τους μέσω της τροφικής αλυσίδας αποτελούν αντικείμενο ενδελεχούς μελέτης.^{[39],[40]}

1.2.3. Αξιολόγηση αποτελεσματικότητας αντηλιακών έναντι UVB ακτινοβολίας

SPF (Sun Protection Factor)

Το 1934, ο Friedrich Ellinger πραγματοποίησε την αρχική αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των αντηλιακών προϊόντων. Στην συγκεκριμένη μελέτη, καθόρισε την ελάχιστη ερυθματική δόση (MED) για δέρμα που προστατευόταν και μη προστατευμένο δέρμα, χρησιμοποιώντας πήχεις και μια λάμπα υδραργύρου. Εισηγήσε επίσης έναν συντελεστή προστασίας που μειώνονταν καθώς αυξανόταν ο βαθμός προστασίας.

Το 1956, ο Rudolf Schulze πραγματοποίησε μια αξιολόγηση των εμπορικά διαθέσιμων αντηλιακών προϊόντων, υπολογίζοντας έναν παράγοντα προστασίας που αργότερα ονομάστηκε "Συντελεστής Schulze". Σε αυτή τη μέθοδο, διαιρούσε τον χρόνο έκθεσης που απαιτείται για να προκαλέσει ερύθημα σε προστατευμένο δέρμα με τον χρόνο που απαιτείται για να προκαλέσει ερύθημα σε μη προστατευμένο δέρμα, χρησιμοποιώντας αυξανόμενες δόσεις ακτινοβολίας που μοιάζουν με το ηλιακό φως. Αυτή η μέθοδος, γνωστή ως "μέθοδος Schulze", χρησιμοποιείται εδώ και δεκαετίες στην Ευρώπη ως σημείο αναφοράς για την αξιολόγηση των αντηλιακών προϊόντων.

Το 1974 εισήχθη ο όρος "Sun Protection Factor" (SPF) από τον Greiter. Αυτός ο όρος αποτέλεσε απλώς μια νέα ονομασία για την ήδη γνωστή "μέθοδο Schulze", ωστόσο επικράτησε αφού γρήγορα έγινε δημοφιλής και χρησιμοποιήθηκε παγκοσμίως. Λόγω όμως της έλλειψης τυποποίησης της μεθόδου, οι αριθμητικές τιμές που χρησιμοποιήθηκαν στα αντηλιακά προϊόντα διέφεραν σημαντικά, με αποτέλεσμα να μην είναι αξιόπιστες.

Το 1978 ο FDA πρότεινε την πρώτη τυποποίηση για τον προσδιορισμό του παράγοντα προστασίας από τον ήλιο (SPF), ως την αριθμητική αναλογία μεταξύ της ελάχιστης ερυθματικής δόσης (ΕΔΕ) του προστατευμένου με αντηλιακό δέρματος προς την ελάχιστη ερυθματική δόση απροστάτευτου δέρματος, αν η ποσότητα του αντηλιακού που τοποθετείται ανέρχεται στα 2 mg/cm² δέρματος. Η παραπάνω μαθηματική σχέση αναπαρίσταται από την ακόλουθη εξίσωση:

$$SPF = \frac{E_{ΔΕ} \text{ προστατευμένου δέρματος}}{E_{ΔΕ} \text{ απροστάτευτου δέρματος}}$$

Ο παράγοντας προστασίας από τον ήλιο εκφράζει τον χρόνο έκθεσης που μπορεί να παραμείνει προστατευμένο το δέρμα σε σχέση με τον χρόνο που απαιτείται για την εμφάνιση ηλιακού εγκαύματος σε περίπτωση έκθεσης χωρίς προστασία.^{[41],[42],[43]}

Ταυτόχρονα, ο αριθμός SPF σε ένα αντηλιακό, αντιπροσωπεύει τον βαθμό προστασίας που παρέχει από την UVB ακτινοβολία. Για παράδειγμα, ένα αντηλιακό

προϊόν με SPF 30 σημαίνει ότι, αν εφαρμοστεί σωστά, θα χρειαστεί 30 φορές περισσότερος χρόνος για να προκληθεί έγκαυμα από τον ήλιο σε σύγκριση με τη περίπτωση που παραλείπεται η χρήση αντηλιακού.

Παρότι ο παράγοντας αντηλιακής προστασίας (SPF) παραμένει το κύριο μέτρο για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας ενός αντηλιακού προϊόντος, είναι σημαντικό να μην βασιζόμαστε αποκλειστικά στην αριθμητική τιμή του. Η ερμηνεία του πρέπει να λάβει υπόψη τον σωστό τρόπο χρήσης του προϊόντος, συμπεριλαμβανομένης της σωστής ποσότητας που πρέπει να εφαρμόζεται και της τακτικότητας της επανεφαρμογής.

Κατά την επιλογή ενός φωτοπροστατευτικού προϊόντος, πρέπει επίσης να λαμβάνουμε υπόψη άλλες παραμέτρους εκτός από το SPF. Είναι σημαντικό να διερευνήσουμε τη σύνθεση του προϊόντος, όπως την αντοχή του στο νερό, την προστασία που παρέχει από την UVA ακτινοβολία και τη φωτοσταθερότητα του προϊόντος. Όλα αυτά τα στοιχεία πρέπει να συνδυάζονται για να διασφαλίσουμε επαρκή προστασία από την υπεριώδη ακτινοβολία.

Τα αντηλιακά διακρίνονται ανάλογα την προστασία που προσφέρουν στις εξής κατηγορίες:

Πίνακας 1. Αξιολόγηση αντηλιακής προστασίας βάσει του δείκτη SPF

SPF	Ισχύς προστασίας
<15	Χαμηλή
15-29	Μέση
30-49	Υψηλή
>50	Πολύ υψηλή

Μέθοδοι προσδιορισμού SPF

Μέθοδος COLIPA

Η COLIPA (Cosmetic, Toiletry, and Perfumery Association) εξετάζει την προστασία από την ηλιακή ακτινοβολία και είναι υπεύθυνη για την ανάπτυξη προτύπων και δοκιμών για τον υπολογισμό του SPF (Sun Protection Factor) σε αντηλιακά προϊόντα. Συγκεκριμένα, το SPF μετρά την προστασία από τη UVB ακτινοβολία του ηλίου. Αυτός ο αριθμός βασίζεται σε δοκιμές σύμφωνα με το πρότυπο ISO 24444:2010, το οποίο χρησιμοποιεί μια δοκιμή in vivo για την μέτρηση του SPF. Αναλυτικότερα, εθελοντές υποβάλλονται σε ακτινοβολία πριν και μετά την εφαρμογή αντηλιακού σε μία μικρή περιοχή του δέρματός τους. Η ακτινοβολία πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας συσκευή που περιέχει έναν λαμπτήρα Xenon και αναπτύσσει φάσμα ακτινοβολίας παρόμοιο με το ηλιακό (280-400 nm), αλλά με μεγαλύτερη ένταση, ώστε να μειωθεί ο χρόνος ακτινοβολήσης και συνεπώς ο συνολικός χρόνος

του πειράματος. Μετράται η ελάχιστη δόση ακτινοβολίας που απαιτείται για να προκληθεί ερύθημα στην περιοχή που. Στη συνέχεια, εφαρμόζεται αντηλιακό κοντά στην περιοχή που δεν προστατεύτηκε και μετά από 15 min επαναλαμβάνεται η ακτινοβολία. Καθορίζεται η ελάχιστη δόση ακτινοβολίας για την πρόκληση ερυθήματος μετά από περίπου 20 h με οπτική παρατήρηση για το προστατευμένο και μη δέρμα και υπολογίζεται το SPF του αντηλιακού προϊόντος. Η μέθοδος θεωρείται ακριβής και είναι αποδεκτή σε διεθνές επίπεδο.^[44]

Υπάρχουν και *in vitro* μέθοδοι αξιολόγησης την αντηλιακή αποτελεσματικότητα σε εργαστηριακές συνθήκες, χωρίς την απαίτηση εθελοντών. Αυτές οι μέθοδοι βασίζονται σε βιοχημικές ή φυσικές δοκιμές για τη μέτρηση της αντηλιακής προστασίας.^[44]

Μέθοδοι FDA

In vivo

Ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων των Ηνωμένων Πολιτειών, ακολουθεί την ίδια πειραματική διαδικασία με την *in vivo* μέθοδο της COLIPA, με ελάχιστες διαφορές οι οποίες καταγράφονται ακολούθως.^[45]

Πίνακας 2. Διαφορές *in vivo* μεθόδων προσδιορισμού SPF

	COLIPA	FDA
Αριθμός εθελοντών	10 – 20	20 – 25
Αριθμός δόσεων	≥7	7
Προϊόν αναφοράς	2	1

In vitro

Η μέθοδος αυτή πραγματοποιείται με τη χρήση πλακών πλέξιγκλας και πλακών πλέξιγκλας που έχουν υποστεί αμμοβολή. Το δείγμα που εξετάζεται τοποθετείται στις πλάκες και αυτές εκτίθενται σε ακτινοβολία UV. Η μέτρηση του φάσματος απορρόφησης των προϊόντων γίνεται με τη χρήση φασματοφωτόμετρου. Έπειτα, με βάση την μέτρηση της απορρόφησης και σύμφωνα με εξίσωση που έχει καθοριστεί από την FDA, υπολογίζεται ο SPF του προϊόντος.^{[16],[36]}

1.2.4. Αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των αντηλιακών προϊόντων στην UVA ακτινοβολίας

Μέθοδος κρίσιμου μήκους κύματος (Critical wavelength, λ_c)

Η UVA ακτινοβολία διεισδύει βαθύτερα στο δέρμα από την UVB. Είναι υπεύθυνη για τη συσσώρευση δραστικών μορφών οξυγόνου που οδηγούν στην πρόωρη γήρανση του δέρματος, ενώ έχει συνδεθεί με κυτταρικές βλάβες και καρκινογένεση. Η αξιολόγηση ενός αντηλιακού ως προς την προστασία που προσφέρει έναντι στην UVA ακτινοβολία, γίνεται μέσω της *in vitro* μέτρησης του κρίσιμου μήκους κύματος. Ορίζεται ως κρίσιμο μήκος κύματος λ_c , το μήκος κύματος στο οποίο το ολοκλήρωμα της καμπύλης φασματικής απορρόφησης είναι το 90% της συνολικής απορρόφησης στην υπεριώδη περιοχή (290 έως και 400 nm) και θεωρείται ότι είναι ένα αξιόπιστο μέτρο του εύρους της αντηλιακής προστασίας. Ο υπολογισμός του κρίσιμου μήκους κύματος γίνεται μέσω της παρακάτω εξίσωσης:

$$\int_{290}^{\lambda_c} A(\lambda)d\lambda = 0.9 \int_{290}^{400} A(\lambda)d\lambda$$

Όπου $A(\lambda)$ είναι η απορρόφηση του προϊόντος σε μήκος κύματος λ (nm).

Σύμφωνα με τον FDA, χρησιμοποιείται μία κλίμακα πέντε σημείων που κυμαίνεται από το 0 έως το 4 για την ταξινόμηση των προϊόντων βάσει του κρίσιμου μήκους κύματός τους και την αξιολόγησή τους ως προς την αποτελεσματικότητά τους να λειτουργήσουν ως αντηλιακά ευρέως φάσματος. Αντηλιακά ευρέως φάσματος είναι εκείνα που εμφανίζουν κρίσιμο μήκος κύματος μεγαλύτερο ή ίσο των 370 nm.^{[47],[48]}

Πίνακας 3. Αξιολόγηση αντηλιακού φίλτρου ως προς την ικανότητα να δράσει στο ευρύ φάσμα υπεριώδους, βάσει του κρίσιμου μήκους κύματος

Κρίσιμο μήκος κύματος (nm)	Βαθμός ευρέως φάσματος
$\lambda_c < 325$	0
$325 \leq \lambda_c < 335$	1
$335 \leq \lambda_c < 350$	2
$350 \leq \lambda_c < 370$	3
$370 \leq \lambda_c$	4

Μέθοδος αναλογίας UVA/UVB ακτινοβολίας

Η προστασία που μπορεί να εξασφαλίσει ένα αντηλιακό έναντι της UVA ακτινοβολίας, αξιολογείται και από τον λόγο της μέσης απορρόφησης της UVA προς την μέση απορρόφηση της UVB ακτινοβολίας. Η μέθοδος βασίζεται στην απορρόφηση μίας λεπτής στρώσης προϊόντος στο φάσμα της υπεριώδους ακτινοβολίας. Για τον προσδιορισμό της αναλογίας, υπολογίζεται το εμβαδόν της καμπύλης του φάσματος απορρόφησης του εξεταζόμενου αντηλιακού στο διάστημα

320-400 nm προς το εμβαδόν της καμπύλης στα 290-320 nm. Ο λόγος περιγράφεται από την ακόλουθη μαθηματική έκφραση:

$$R = \frac{\int_{320}^{400} A(\lambda)d\lambda / \int_{320}^{400} d\lambda}{\int_{290}^{320} A(\lambda)d\lambda / \int_{290}^{320} d\lambda}$$

Όσο ο λόγος τείνει στη μονάδα, τόσο πιο ισχυρό είναι το αντηλιακό φίλτρο. Η εταιρεία *Boots the Chemist Ltd*, εισήγαγε το παρακάτω σύστημα αξιολόγησης ενός αντηλιακού ως προς την προστασία έναντι της UVA ακτινοβολίας (UVA Star Rating System), βασισμένο στην τιμή του λόγου UVA/UVB. ^{[44],[48]}

Πίνακας 4. Σύστημα αξιολόγησης αντηλιακού έναντι UVA ακτινοβολίας (UVA Star Rating System)

Λόγος UVA/UVB	Βαθμολογία προστασίας	
0 – 0.2	-	Καμία
0.21 – 0.40	★	Χαμηλή
0.41 – 0.6	★★	Μέτρια
0.61 – 0.8	★★★	Καλή
0.81 – 0.9	★★★★	Αρκετά καλή
0.9 -	★★★★★	Μέγιστη

1.3. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ

Το οξειδωτικό στρες που προκαλείται από την παραγωγή ελευθέρων ριζών και την έλλειψη αντιοξειδωτικών έχει συνδεθεί με βλάβες σε κύτταρα και ιστούς. Ο ρόλος των αντιοξειδωτικών είναι να εμποδίζουν τον σχηματισμό ελεύθερων ριζών και να εξουδετερώνουν ή επιδιορθώνουν τη βλάβη που έχει προκληθεί από αυτές. Δεδομένου ότι το οξειδωτικό στρες είναι ένα πολυπαραγοντικό φαινόμενο, η αντιοξειδωτική δράση μίας ένωσης θα πρέπει να αξιολογείται με μία ποικιλία μεθόδων. Αυτές οι μέθοδοι βασίζονται κυρίως στην αντίδραση ανάμεσα σε μία χρωμογόνο ένωση και ένα αντιοξειδωτικό. Στο τέλος της αντίδρασης, η ποσότητα που παραμένει από τη χρωμογόνο ένωση, καθορίζεται φασματοφωτομετρικά ή χρωματογραφικά.

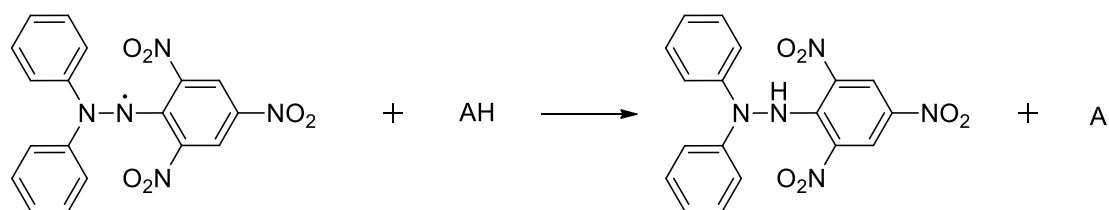
1.3.1. Μέθοδος δέσμησης της σταθερής ελεύθερης ρίζας DPPH

Η μέθοδος ελευθέρων ριζών DPPH (2,2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl), αποτελεί μία σύντομη, απλή και οικονομική μέθοδο που χρησιμοποιείται ευρέως για τον

προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης ενώσεων και εδραιώθηκε από τον Brand-Williams μετά την έρευνα που διεξήγαγε για την αντιοξειδωτική αποτελεσματικότητα τροφίμων, χρησιμοποιώντας μεθανολικό διάλυμα των ριζών DPPH και μετρώντας την απορρόφηση των εναπομεινάντων ριζών με φασματοσκοπία UV – Vis.^[49]

Η ελεύθερη 2,2-διφαινυλ-1-πικρυλυδραζλική ρίζα (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl, DPPH), είναι μία εμπορικά διαθέσιμη οργανική ρίζα αζώτου με αποδεδειγμένη σταθερότητα, λόγω της στερεοχημείας του μορίου. Συγκεκριμένα, σταθεροποιείται λόγω της ύπαρξης τριών βενζολικών δακτυλίων και των νιτρο-ομάδων που έλκουν ηλεκτρόνια, καθώς και λόγω της απομάκρυνσης του αποσπώμενου ηλεκτρονίου από το μόριο.

Η μέθοδος βασίζεται στην αναγωγή της ιώδους ρίζας DPPH από μία αντιοξειδωτική ένωση, μέσω ενός μηχανισμού μεταφοράς ατόμου υδρογόνου. Η αντίδραση που λαμβάνει χώρα είναι η εξής:



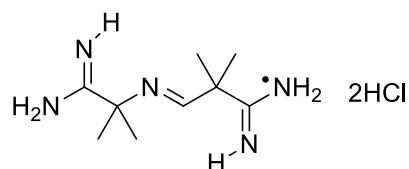
Σχήμα 13. Αντίδραση μεταξύ αντιοξειδωτικού και ελεύθερης ρίζας DPPH

Μία ένδειξη της δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας του DPPH από την αντιοξειδωτική ουσία, είναι η μεταβολή του χαρακτηριστικού χρώματος του διαλύματος, από μωβ σε υποκίτρινο. Η ριζική μορφή DPPH που δεν αντέδρασε απορροφάται στο ορατό εύρος και η απορρόφηση μετράται με φασματοφωτόμετρο UV-Vis στα 515-520 nm και προσδιορίζεται έτσι η αντιοξειδωτική δράση.

Συγκεκριμένα, η αντιοξειδωτική αποτελεσματικότητα εκφράζεται με τον όρο IC₅₀ που εκφράζει την συγκέντρωση του υποστρώματος που προκαλεί δέσμευση κατά 50% των ελεύθερων ριζών.^{[50],[51]}

1.3.2. Μέθοδος αναστολής της λιπιδικής υπεροξειδωσης του λινολεϊκού οξέος, που επάγεται από τον εκκινητή ελευθέρων ριζών AAPH

Μία δεύτερη μέθοδος αξιολόγησης αντιοξειδωτικής δράσης χρησιμοποιεί την ένωση AAPH (2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride), η οποία προκαλεί την οξείδωση του λινολεϊκού οξέος. Η μέθοδος βασίζεται στην ικανότητα των πιθανών αντιοξειδωτικών, να παρεμποδίζουν την οξείδωση των λιπιδίων από το AAPH και θεωρείται γενικά αξιόπιστη.^{[52],[53],[54]}

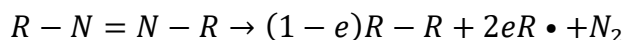


Σχήμα 14. AAPH (2,2'-azobis(2-amidinopropane)dihydrochloride)

Με τη χρήση φασματοφωτομέτρου UV-Vis στα 234 nm, ποσοτικοποιούνται η οξείδωση του λινολεϊκού οξέος από τις ελεύθερες ρίζες που παράγονται μέσω του AAPH, καθώς και η παρεμπόδιση της οξείδωσης που οφείλεται στις ενώσεις που εξετάζονται ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση.

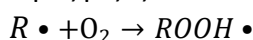
Η πορεία των αντιδράσεων που συμβαίνουν είναι η εξής:

- Αρχικά σχηματίζονται συζευγμένα υπεροξειδία διενίου που παράγονται από το AAPH

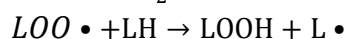
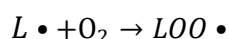
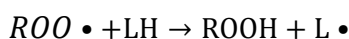


Όπου $R-N=N-R$ είναι ο εκκινητής σχηματισμού ριζών και e η αποδοτικότητα της παραγωγής τους.

- Οι παραγόμενες ελεύθερες ρίζες αντιδρούν αμέσως με το οξυγόνο παράγοντας περαιτέρω ελεύθερες ρίζες

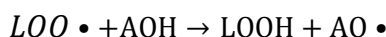
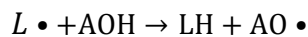


- Οι τελευταίες παραγόμενες ρίζες είναι υπεύθυνες για την οξείδωση του λινολεϊκού οξέος σύμφωνα με τις ακόλουθες αντιδράσεις:



Όπου LH το λινολεϊκό οξύ, $L \cdot$ η λινολεϊκή ρίζα και $LOO \cdot$, η ρίζα του λινολεϊκού υπεροξειδίου.

- Κατόπιν, οι ενώσεις που χρησιμοποιούνται ως αντιοξειδωτικά, δρουν ως δότες πρωτονίων και σταθεροποιούν τις ελεύθερες ρίζες αποτρέποντας την οξείδωση του λινολεϊκού οξέος, όπως περιγράφεται στις αντιδράσεις:



Όπου AOH, τα αντιοξειδωτικά.

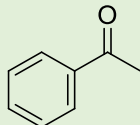
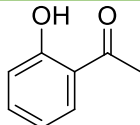
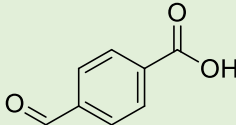
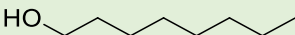
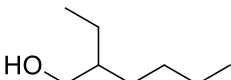
Εντέλει, η αντιοξειδωτική αποτελεσματικότητα των υπό εξέταση ενώσεων εκφράζεται ως ποσοστό παρεμπόδισης της οξείδωσης.

2. ΣΚΟΠΟΣ

Στόχος της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι ο σχεδιασμός, η σύνθεση και η δομική ταυτοποίηση μέσω Φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού πρωτονίου (^1H NMR) και Φασματομετρίας Μάζας (MS), νέων εστέρων, αναλόγων χαλκονών, οι οποίοι αξιολογούνται ως προς την αντιοξειδωτική και την φωτοπροστατευτική τους δράση. Συγκεκριμένα, η αντιοξειδωτική δράση των νέων μορίων προσδιορίζεται μέσω δύο *in vitro* τεχνικών: (i) της ικανότητας δέσμευσης της σταθερής ελεύθερης ρίζας DPPH και (ii) της ικανότητας αναστολής της λιπιδικής υπεροξείδωσης του λινολεϊκού οξέος από τον εκκινητή ελευθέρων ριζών. Η φωτοπροστατευτική δράση των ενώσεων ελέγχεται στις εγκαταστάσεις της εταιρείας Cellco Chemicals μέσω μίας *in vitro* τεχνικής προσδιορισμού του δείκτη ηλιακής προστασίας (Sun Protection Factor, SPF), του κρίσιμου μήκους κύματος (λ_c), και του λόγου απορρόφησης της UVA προς την UVB ακτινοβολία.

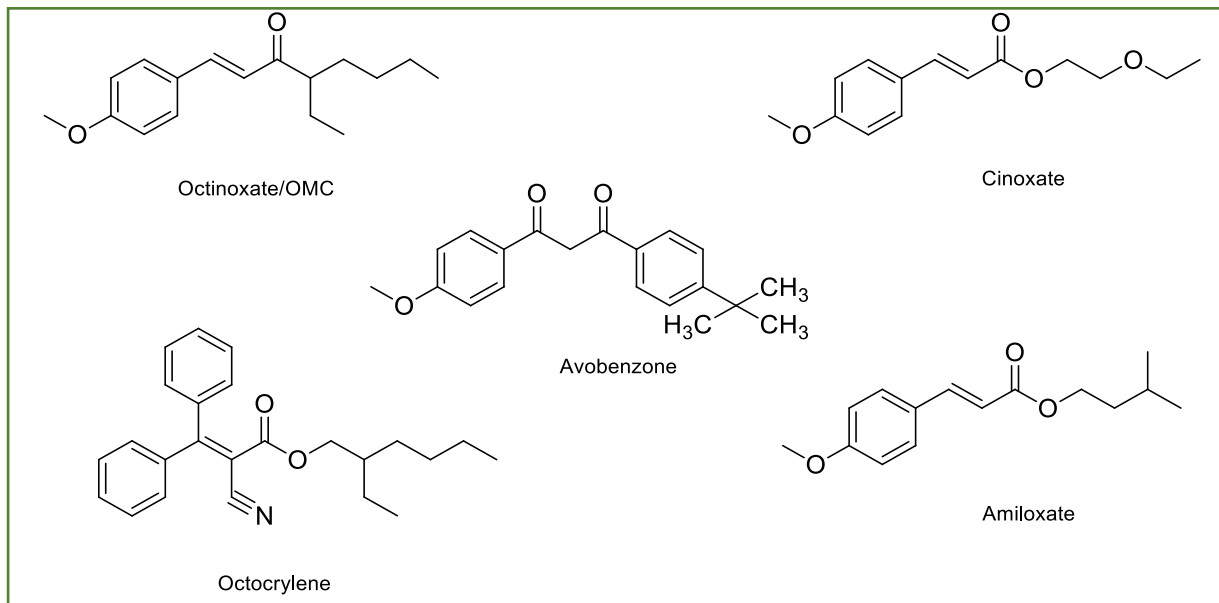
Πρώτο στάδιο της εργασίας αποτέλεσε η σύνθεση δύο χαλκονών εφαρμόζοντας τη μέθοδο της αλδολικής συμπύκνωσης Claisen – Schmidt. Σε δεύτερο στάδιο, χρησιμοποιήθηκαν οι χαλκόνες και οι κατάλληλες αλκοόλες ως αντιδρώντα στην εστεροποίηση Steglich και συντέθηκαν τα επιθυμητά προϊόντα. Οι ενώσεις που χρησιμοποιήθηκαν συνολικά για την παρασκευή των τελικών εστέρων, συγκεντρώνονται στον ακόλουθο Πίνακα.

Πίνακας 5. Ενώσεις που χρησιμοποιήθηκαν κατά την διεξαγωγή της εργασίας

Για τη σύνθεση των χαλκονών	
Ακετοφαινόνη	
2-υδροξυ-ακετοφαινόνη	
4-καρβοξυ-βενζαλδεΐδη	
Για τη σύνθεση των εστέρων	
1-οκτανόλη	
2-αιθυλο-1-εξανόλη	

4-μεθοξυ-βενζυλική αλκοόλη	
4-(tert-βουτυλο) βενζυλική αλκοόλη	
4-υδροξυ-βενζυλική αλκοόλη	
2-(4-υδροξυφαινυλο) αιθανόλη	

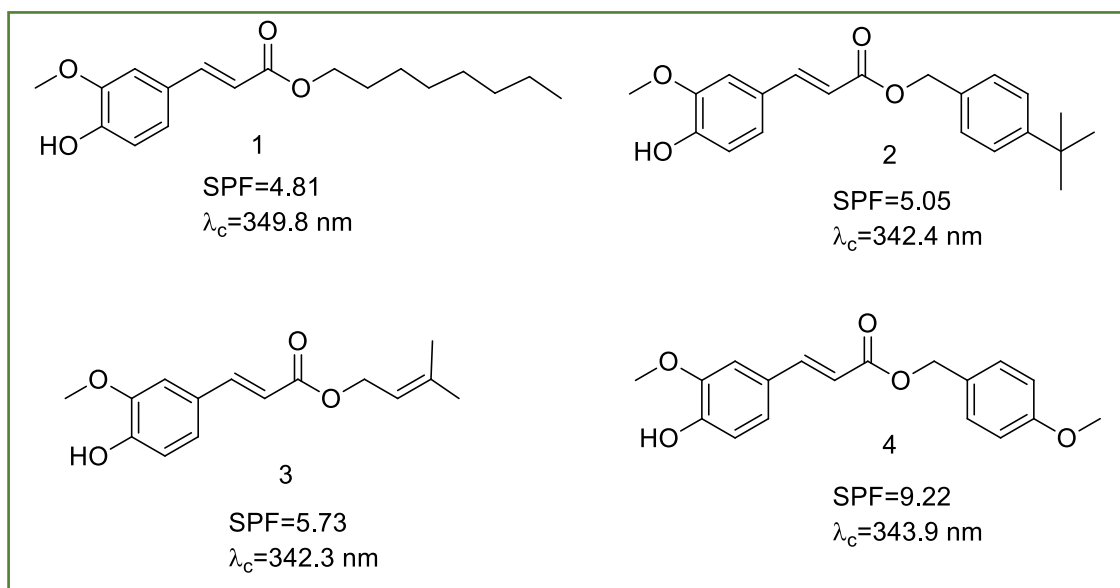
Τα δεδομένα που λήφθηκαν υπόψη για την επιλογή των ανωτέρω ενώσεων ήταν τα εξής: η δομή ευρέως χρησιμοποιούμενων εμπορικών αντηλιακών φίλτρων έναντι της UVB και UVA ακτινοβολίας όπως είναι αυτά που απεικονίζονται στο Σχήμα 15.



Σχήμα 15. Ευρέως χρησιμοποιούμενα εμπορικά φίλτρα

Παράλληλα, έναυσμα για την διεξαγωγή της παρούσας εργασίας αποτέλεσε αντίστοιχη μελέτη που έχει προηγηθεί στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του ΕΜΠ, η οποία αφορά στην αξιολόγηση της φωτοπροστατευτικής δράσης παραγώγων του φερουλικού οξέος. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν πως τέσσερις εστέρες του φερουλικού οξέος που προέκυψαν τόσο από αλειφατικές όσο και από αρωματικές αλκοόλες, εμφάνισαν ικανοποιητική δράση έναντι της UVB ακτινοβολίας, ενώ ακόμη

παρουσίασαν πολύ καλή προστατευτική δράση και έναντι της UVA ακτινοβολίας, λόγω του κρίσιμου μήκους κύματός τους που βρέθηκε μεγαλύτερο των 340 nm.



Σχήμα 16. Εστέρες του κινναμωμικού οξέος που έχουν συντεθεί και αξιολογηθεί στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας ΕΜΠ

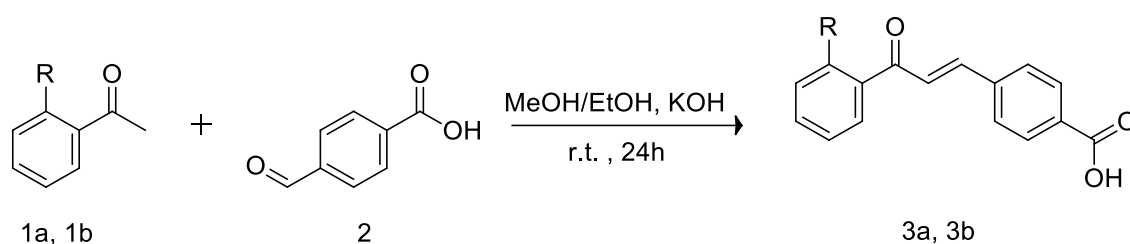
Επιπλέον αφορμή για την πραγματοποίηση της εργασίας, αποτέλεσε και η μελέτη επιστημονικών άρθρων που πραγματεύονται τη φωτοπροστατευτική δράση των χαλκονών.^{[13],[14]}

Επομένως, οι εστέρες που συντέθηκαν από χαλκόνες και διερευνήθηκαν στην συγκεκριμένη εργασία, στοχεύουν σε έναν συνδυασμό καλής αντιοξειδωτικής και φωτοπροστατευτικής δράσης, καθώς και στην πιθανή αξιοποίησή τους ως αντηλιακά φίλτρα ευρέως φάσματος.

3. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ ΝΕΩΝ ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΧΑΛΚΟΝΩΝ

3.1. Σύνθεση των χαλκόνων 3a και 3b

Η σύνθεση των δύο χαλκόνων που πραγματοποιήθηκε στην προκείμενη εργασία βασίστηκε στη μέθοδο της αλδολικής συμπύκνωσης Claisen – Schmidt, που περιγράφεται από την παρακάτω αντίδραση. Πιο συγκεκριμένα, έλαβε χώρα η συμπύκνωση της 4-καρβοξυ-βενζαλδεΐδης με τις δύο διαφορετικές ακετοφαινόνες που φαίνονται στον Πίνακα 6 προς τον σχηματισμό της εκάστοτε χαλκόνης.



Σχήμα 17. Γενική μεθοδολογία σύνθεσης χαλκόνων 3a και 3b

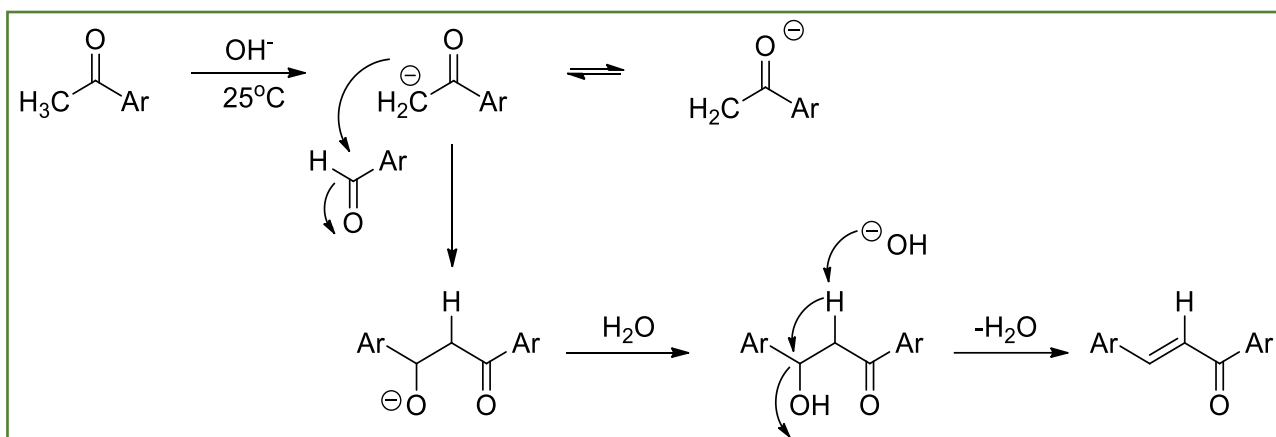
Πίνακας 6. Ονομασία χαλκόνων ανάλογα των υποκαταστάτη της ακετοφαινόνης

Υποκαταστάτης R	Ονομασία
H	(E)-4-(3-οξο-3-φαινυλπροπ-1-εν-1-υλ)βενζοϊκό οξύ
OH	(E)-4-(3-(2-υδροξυφαινυλ)-3-οξοπροπ-1-εν-1-υλ)βενζοϊκό οξύ

Μηχανισμός αλδολικής συμπύκνωσης Claisen – Schmidt

Στην οργανική αντίδραση συμπύκνωσης Claisen Schmidt, μία ενόλη ή ένα ενολικό ιόν αντιδρά με μία καρβονυλική ένωση μία β-υδροξυαλδεΐδη ή β-υδροξυκετόνη και στη συνέχεια λαμβάνει χώρα μία αντίδραση αφυδάτωσης σχηματίζοντας μία συζευγμένη ενόνη.

Αναλυτικότερα, αρχικά ένα α-υδρογόνο από ένα μόριο αλδεΐδης ή κετόνης αποσπάται από ισχυρή βάση σχηματίζοντας ένα ενολικό ιόν που σταθεροποιείται λόγω συντονισμού. Έπειτα, μέσω αντίδρασης πυρηνόφιλης προσθήκης, το ενολικό ιόν προσβάλλει τον ηλεκτρονιόφιλο άνθρακα ενός δεύτερου καρβονυλικού μορίου, ευνοώντας τον σχηματισμό ενός τετραεδρικού ιόντος αλκοξειδίου ως ενδιάμεσο προϊόν. Τέλος, με απόσπαση ενός όξινου υδρογόνου και ενός μορίου H₂O, σχηματίζονται οι α,β-ακόρεστες χαλκόνες.

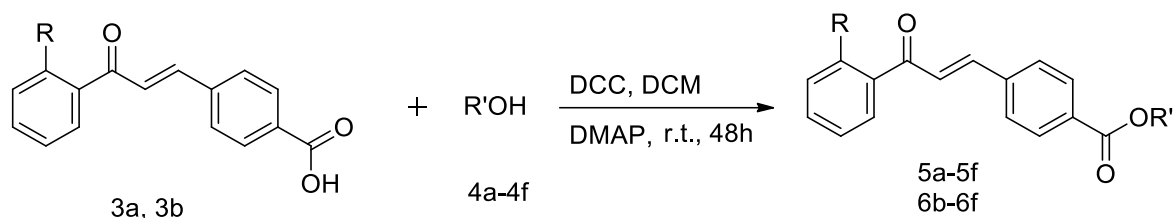


Σχήμα 18. Μηχανισμός αλδολικής συμπύκνωσης Claisen Schmidt

3.2. Σύνθεση των εστέρων 5a-5f και 6b-6e

Εστεροποίηση Steglich

Η σύνθεση των εστέρων που ακολούθησε, πραγματοποιήθηκε μέσω της αντίδρασης εστεροποίησης Steglich που περιγράφεται από την ακόλουθη χημική εξίσωση. Στην αντίδραση έλαβαν μέρος οι χαλκόνες σε ρόλο καρβοξυλικών οξέων και οι αλκοόλες που παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.



Σχήμα 19. Γενική μεθοδολογία σύνθεσης των εστέρων 5a-5f και 6b-6e

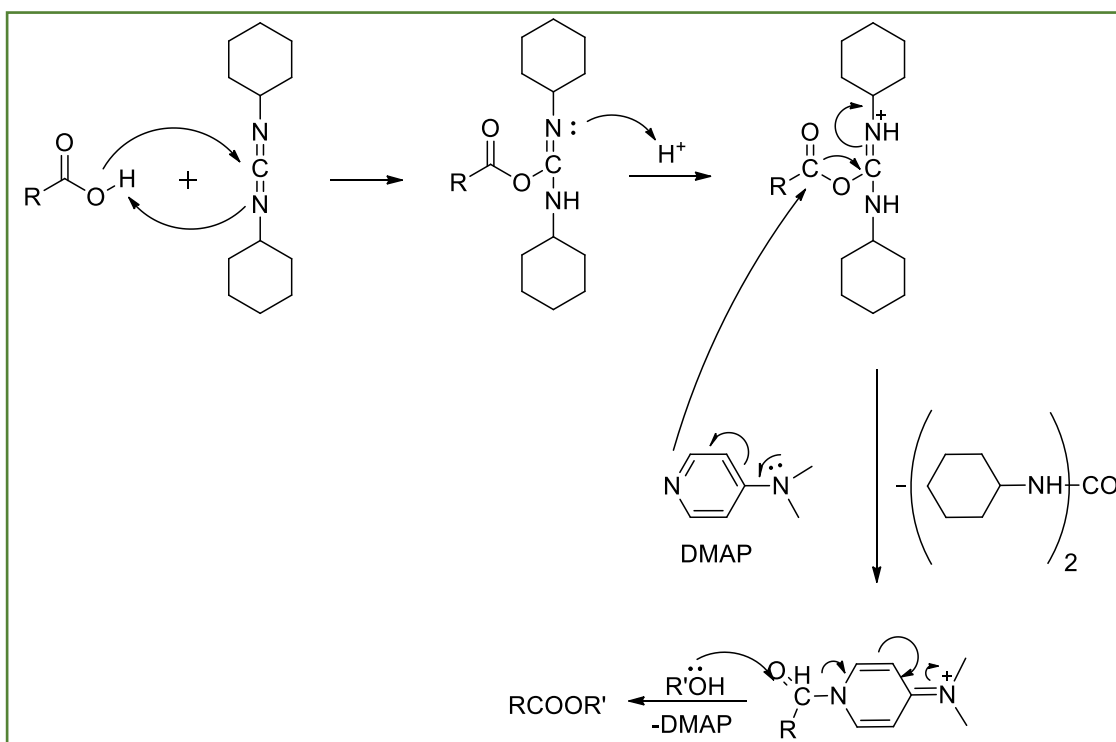
Η εστεροποίηση Steglich είναι μία ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος σύνθεσης εστέρων υπό ήπιες πειραματικές συνθήκες. Στα πλεονεκτήματα της συγκεκριμένης τεχνικής συγκαταλέγονται ο αναντίστροφος χαρακτήρας της και το γεγονός ότι αντιδρούν ως και οι τριτοταγείς αλκοόλες. Στην αντίδραση, εκτός από το καρβοξυλικό οξύ και την αλκοόλη, παίρνουν μέρος το N,N'-δικυκλοεξυλοκαρβοδιιμίδιο (DCC), ως παράγοντας ενεργοποίησης του καρβονυλικού οξέος και η N-(διμεθυλοαμινο)πυριδίνη (DMAP) ως καταλύτης.

Στο πρώτο στάδιο της αντίδρασης, το καρβοξυλικό οξύ ενεργοποιείται από το DCC, δίνοντας N-ακυλοουρία, η οποία προκύπτει από αναδιάταξη του ενδιάμεσου O-ακυλίου μη αφήνοντας την αλκοόλη να αντιδράσει περαιτέρω. Στη συνέχεια,

προστίθεται DMAP προκειμένου να επιταχύνει τον ρυθμό της αντίδρασης αντιδρώντας με το ενδιάμεσο O-ακυλοϊσοουρία για να σχηματιστεί ένα ενεργοποιημένο ακυλιωμένο πυριδινικό ενδιάμεσο. Αυτό αποτρέπει ταυτόχρονα την πιθανότητα ενδομοριακής 1,3-αναδιάταξης του ενδιάμεσου O-ακυλοϊσοουρίας στο μη παραγωγικό υποπροϊόν N-ακυλοουρία, η οποία δεν αντιδράει με αλκοόλες.^[65]

Παρόλο που το DCC χρησιμοποιείται ευρέως ως παράγοντας σύζευξης για την εστεροποίηση Steglich, υπάρχουν ενστάσεις που σχετίζονται με τη χρήση του. Αυτό γιατί κατατάσσεται στις αλλεργιογόνους ουσίες, ενώ δύναται να προκαλέσει ερεθισμό και βλάβη σε ζωτικά όργανα, επομένως συστήνεται να χρησιμοποιείται λαμβάνοντας τις σχετικές προφυλάξεις. Ακόμη, παράγει ένα υποπροϊόν, τη N,N'-δικυκλοεξυλ-ουρία (DCU), η οποία είναι αδιάλυτη στο νερό και μερικώς διαλυτή σε οργανικούς διαλύτες, μπορεί όμως να απομακρυνθεί σε ικανοποιητικό βαθμό και εύκολα μέσω διήθησης.^[66]

Μηχανισμός εστεροποίησης Steglich



Σχήμα 20. Μηχανισμός εστεροποίησης Steglich

4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4.1. Όργανα και συσκευές

Η ταυτοποίηση της δομής όλων των νέων μορίων έγινε μέσω φασματοσκοπίας NMR (^1H NMR), και τα φάσματα ελήφθησαν στο Φασματογράφο NMR Varian Gemini 300 MHz και 600 MHz του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών. Τα δείγματα διαλύθηκαν σε δευτεριωμένο διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO, d_6) ή σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3 , d_1). Οι τιμές των χημικών μετατοπίσεων δ εκφράζονται σε ppm και οι τιμές των σταθερών συζεύξεως (J, j) σε Hz. Οι πολλαπλότητες των σημάτων στα φάσματα αναφέρονται ως: **s** (singlet, απλό), **brs** (broad singlet, ευρύ απλό), **d** (doublet, διπλό), **t** (triplet, τριπλό), **m** (multiplet, πολλαπλό), **br** (broad, ευρύ), **dd** (doublet of doublets, διπλό διπλών), **td** (triplet of doublets, τριπλό διπλών).

Για τον δομικό χαρακτηρισμό των ενώσεων χρησιμοποιήθηκε και το φασματόμετρο μάζας Varian 500-MS – IT Mass Spectrometer της Σχολής Χημικών Μηχανικών του ΕΜΠ και τα δείγματα διαλύθηκαν σε διχλωρομεθάνιο υψηλής καθαρότητας (DCM).

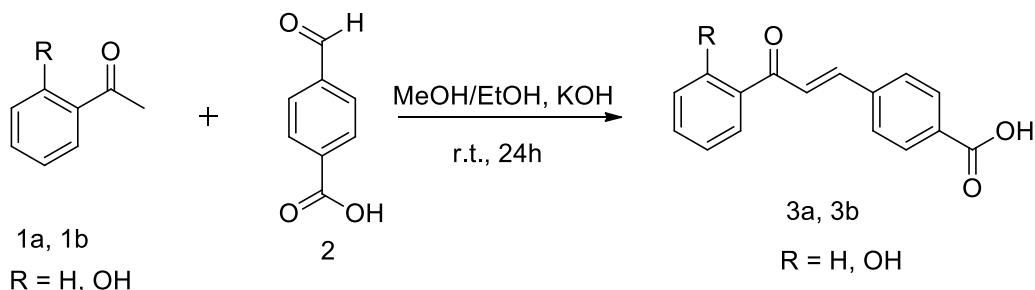
Η πορεία των αντιδράσεων και ο έλεγχος της καθαρότητας των προϊόντων έγινε με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) σε πλάκες αλουμινίου, επιστρωμένες με Silica gel F254 της εταιρείας Merck. Η παρατήρηση των κηλίδων στα χρωματογραφήματα, έγινε σε λάμπα υπεριώδους ακτινοβολίας στα 254 nm.

Κατά την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης, χρησιμοποιήθηκαν φασματοφωτόμετρα UV-Vis και συγκεκριμένα το “V-770” της εταιρείας Jasco και το “Epoch 2 microplate reader” της BioTek.

Ο προσδιορισμός της φωτοπροστατευτικής ικανότητας των ενώσεων πραγματοποιήθηκε στο φασματοφωτόμετρο SPF 290S Optometrics LLC, στις εγκαταστάσεις της εταιρείας Cellco Chemicals.

4.2. Συνθετική πορεία των νέων ενώσεων

4.2.1. Σύνθεση των χαλκονών 3a και 3b



Γενική Μέθοδος A: Σύνθεση των χαλκονών 3a και 3b

Οι δύο ενώσεις συντέθηκαν μέσω της αντίδρασης αλδολικής συμπύκνωσης Claisen-Schmidt. Σε σφαιρική φιάλη διαλύεται 1 eq. της κατάλληλης ακετοφαινόνης (**1a,1b**), σε κατάλληλο διαλύτη. Στη συνέχεια προστίθεται 1 eq. της καρβοξυ-βενζαλδεΐδης (**2**) και ποσότητα διαλύματος υδροξειδίου του καλίου (KOH) 20%. Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται για 24 h σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Κατά τη διάρκεια της αντίδρασης, παρακολουθείται η εξέλιξή της μέσω χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC) σε κατάλληλο σύστημα διαλυτών. Μετά το πέρας της αντίδρασης, το μίγμα οξινίζεται με αραιό υδατικό διάλυμα HCl 10%, υπό ψύξη της σφαιρικής φιάλης, μέχρι το pH να φτάσει 1-2, και παρατηρείται καταβύθιση ιζήματος. Ακολουθεί διήθηση υπό κενό, χρησιμοποιώντας ηθμό πορώδους 4. Το στερεό που έχει παραμείνει στην επιφάνεια του ηθμού, συλλέγεται σε erpendorf ή vial και ξηραίνεται σε αντλία υψηλού κενού. Τα τελικά προϊόντα λαμβάνουν την επιθυμητή καθαρότητα μέσω ανακρυστάλλωσης.

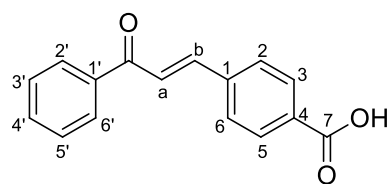
E)-4-(3-(2-υδροξυφαινυλ)-3-οξοπροπ-1-εν-1-υλ)βενζοϊκό οξύ (3a)

Συντίθεται σύμφωνα με τη Γενική Μέθοδο A. 2.94mmol (400μl) της 2-υδροξυ-ακετοφαινόνης (**1a**) διαλύονται σε 7.2mL αιθανόλης. Στη συνέχεια προστίθενται 2.94mmol (390μL) της 4-καρβοξυ-βενζαλδεΐδης (**2**) και 2.41mL υδατικού διαλύματος KOH 20%. Το τελικό προϊόν παραλαμβάνεται ύστερα από ανακρυστάλλωση σε διαλύτη μεθανόλη, με τη μορφή κίτρινου στερεού.

Απόδοση: 68%

¹HNMR (CDCl₃, 300 MHz) δppm 13.01 (brs, 1H, H-7), 12.33 (s, 1H, Ar-OH), 8.24 (d, J= Hz, 1H, H-6'), 8.13 (d, J=15.6 Hz, 1H, H-b), 8.03-7.98 (m, 4H, H-2, H-3, H-5, H-6), 7.85 (d, J=15.6 Hz, 1H, H-a), 7.60-7.55 (m, 1H, H-3'), 7.03-6.99 (m, 2H, H-4', H-5')

(E)-4-(3-οξο-3-φαινυλπρεπ-1-εν-1-υλ)βενζοϊκό οξύ (**3b**)



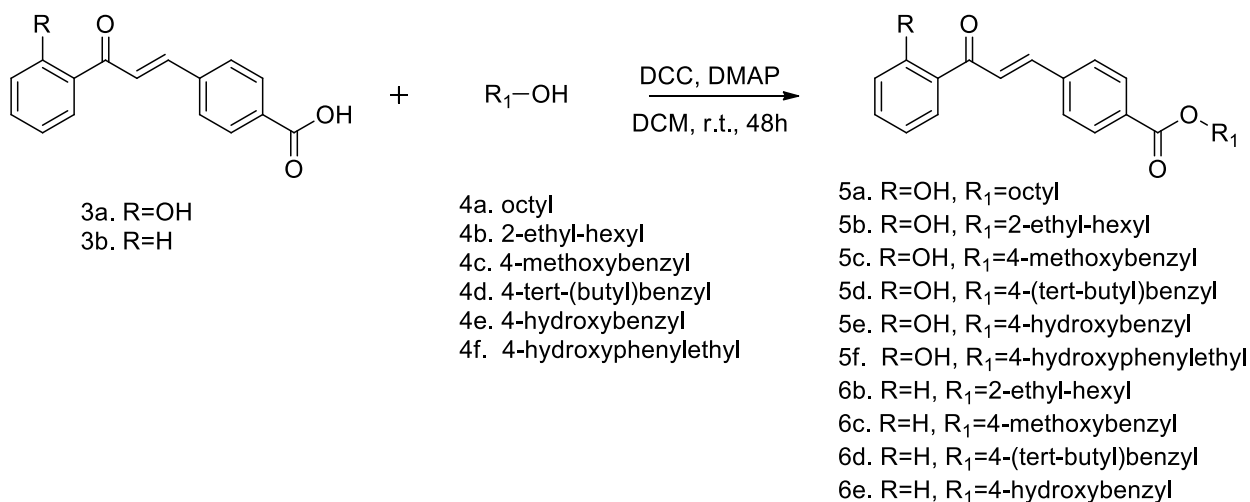
Συντίθεται σύμφωνα με τη Γενική Μέθοδο Α. 3.33mmol (200μL) της ακετοφαινόνης (**1b**) διαλύονται σε 8.32mL μεθανόλης. Στη συνέχεια προστίθενται 3.33mmol (50mg) της 4-καρβοξυβενζαλδεΐδης (**2**) και 5mL μεθανολικού διαλύματος ΚΟΗ 4.99 mmol (280 mg). Το τελικό προϊόν παραλαμβάνεται ύστερα από ανακρυστάλλωση σε διαλύτη αιθανόλη, με τη μορφή κίτρινου στερεού.

Απόδοση: 45%

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ ppm 8.16 (d, $J=7.2$ Hz, 1H, Ar-H), 7.93-7.85 (m, 3H, H-b, Ar-H), 7.78-7.73 (m, 2H, Ar-H), 7.67-7.64 (m, 2H, Ar-H), 7.72-7.64 (m, 1H, Ar-H), 7.60-7.55 (m, 2H, Ar-H), 7.31 (d, $J=15$ Hz, 1H, H-a)

4.2.2. Σύνθεση των εστέρων **5a-5f** και **6b-6e**.

Γενική Μέθοδος Β: Σύνθεση των εστέρων **5a-5f** και **6b-6e**



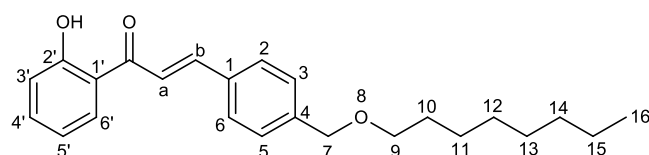
Η σύνθεση των εστέρων **5a-5f** και **6b-6e** πραγματοποιήθηκε μέσω της αντίδρασης εστεροποίησης Steglich. Σε σφαιρική φιάλη σχηματίζεται το διάλυμα Α, το οποίο αποτελείται από κατάλληλη ποσότητα ξηρού DCM, ως διαλύτη, 1.1 eq. της χαλκόνης που παρασκευάστηκε (**3a**, **3b**) και 1 eq. της εκάστοτε αλκοόλης (**4a-4f**). Στη συνέχεια, σχηματίζεται σε κωνική φιάλη το διάλυμα Β, που περιέχει ίση ποσότητα ξηρού DCM, 1.2 eq. DCC και καταλυτική ποσότητα DMAP.

Το διάλυμα Β προστίθεται στάγδην στο διάλυμα Α της σφαιρικής φιάλης και το τελικό μίγμα αφήνεται σε μαγνητικό αναδευτήρα για 48 h, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και υπό αδρανείς συνθήκες αζώτου. Μετά το πέρας της αντίδρασης, αφήνεται σε ηρεμία και υπό ψύξη για 24 h όπου και καταβυθίζεται ως ίζημα η δικυκλοεξυλουρία, η οποία αποτελεί παραπροϊόν της αντίδρασης και είναι αδιάλυτη στο νερό.

Επεξεργασία

Το παραπροϊόν απομακρύνεται αρχικά μέσω διήθησης υπό κενό και ακολούθως μέσω συμβατικής διήθησης με διηθητικό χαρτί. Στη συνέχεια το διήθημα εκχυλίζεται δύο φορές με υδατικό διάλυμα HCl 10% και δύο φορές με κορεσμένο υδατικό διάλυμα NaHCO₃. Η οργανική φάση που συλλέγεται ξηραίνεται με άνυδρο θειικό νάτριο (Na₂SO₄), οι κόκκοι του οποίου απομακρύνονται με διήθηση, και τοποθετείται σε περιστροφικό εξατμιστήρα, προς εξάτμιση του διαλύτη. Το συμπυκνωμένο προϊόν στη συνέχεια καθαρίζεται από πιθανές προσμίξεις μέσω χρωματογραφίας στήλης, σε σύστημα διαλυτών PE/EtOAc και σε κατάλληλη αναλογία.

4-(3-(2-υδροξυφαινυλ)-3-οξοπροπ-1-εν-1-υλ)βενζοϊκός (E)-οκτυλεστέρας (5a)



Η σύνθεση της ένωσης 5a βασίζεται στη Γενική Μέθοδο Β. Το διάλυμα Α περιέχει 0.373 mmol οξέος (100 mg) (**3a**), 2.5 mL

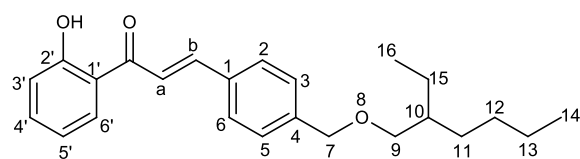
ξηρού DCM και 0.339 mmol (53.4 μL) οκτανόλης (**4a**). Το διάλυμα Β που προστίθεται στάγδην στο πρώτο, περιέχει 2.5 mL ξηρού DCM, 0.407 mmol DCC (84.0 mg) και 4 mg DMAP. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης και της επεξεργασίας που αναφέρθηκε, το προϊόν διαχωρίζεται από τις ανεπιθύμητες ενώσεις μέσω χρωματογραφίας στήλης, σε σύστημα διαλυτών PE/EtOAc – 95:5 και παραλαμβάνεται με μορφή κίτρινου στερεού.

Απόδοση αντίδρασης: 24%

¹HNMR (CDCl₃, 300 MHz) δppm 12.70 (s, 1H, Ar-OH), 8.10 (d, J=7.8 Hz, 2H, H-3, H-5), 7.95-7.90 (m, 2H, H-6', H-b), 7.74-7.71 (m, 3H, H-a, H-2, H-6), 7.52 (t, J=6.9 Hz, 1H, H-4'), 7.04 (d, J=8.7 Hz, 1H, H-3'), 6.96 (t, J=8.1 Hz, 1H, H-5'), 4.34 (t, J=6.6 Hz, 2H, H-9), 1.80-1.74 (m, 2H, H-10), 1.49-1.29 (m, 10H, H-11, H-12, H-13, H-14, H-15), 0.89 (br, 3H, H-16)

MS: 113 m/z [C₈H₁₇]⁺, 155 m/z [C₉H₁₇O₂], 171 m/z [C₉H₇O₂ + Na]⁺, 379 m/z [M-1]⁺

4-(3-(2-υδροξυφαινυλ)-3-οξοπροπ-1-εν-1-υλ)βενζοϊκός (E)-2-αιθυλεξυλεστέρας (**5b**)



Η σύνθεση της ένωσης **5b** βασίζεται στη Γενική Μέθοδο Β. Το διάλυμα Α περιέχει 0.5591 mmol οξέος (150 mg) (**3a**), 3.6 mL ξηρού DCM και 0.508

mmol (79.5 μ L) οκτανόλης (4b). Το διάλυμα Β που προστίθεται στάγδην στο πρώτο, περιέχει 3.6 mL ξηρού DCM, 0.610 mmol DCC (125.8 mg) και 6.08 mg DMAP. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης και της επεξεργασίας που αναφέρθηκε, το προϊόν διαχωρίζεται από τις ανεπιθύμητες ενώσεις μέσω χρωματογραφίας στήλης, σε σύστημα διαλυτών PE/EtOAc – 90:10 και παραλαμβάνεται με καφέ ελαιώδη μορφή.

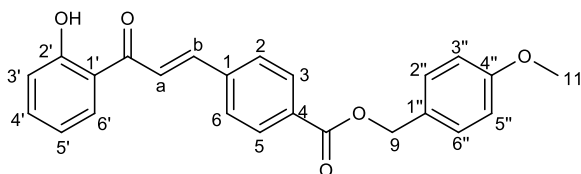
Απόδοση αντίδρασης: 22%

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ ppm 12.70 (s, 1H, Ar-OH), 8.10 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, H-3, H-5), 7.96-7.90 (m, 2H, H-b, H-6'), 7.75-7.70 (m, 3H, H-a, H-2, H-6), 7.52 (td, $J=8.7$ Hz, $j=1.8$ Hz, 1H, H-4'), 7.04 (dd, $J=8.4$ Hz, $j=0.9$ Hz, 1H, H-3'), 6.96 (td, $J=8.4$ Hz, $j=1.2$ Hz, 1H, H-5'), 4.27 (dd, $J=5.7$ Hz, $j=1.8$ Hz, 2H, H-9), 1.74 (br, 1H, H-10), 1.50-1.32 (m, 8H, H-11, H-12, H-13, H-15), 0.98-0.88 (m, 6H, H-14, H-16)

MS: 113 m/z [C_8H_{17}] $^+$, 155 m/z [$\text{C}_9\text{H}_{17}\text{O}_2$], 121 m/z [$\text{C}_7\text{H}_5\text{O}_2$], 171 m/z [$\text{C}_9\text{H}_7\text{O}_2 + \text{Na}$] $^+$, 379 m/z [M-1] $^+$, 413 m/z [M-1 + 2Na] $^+$

4-(3-(2-υδροξυφαινυλ)-3-οξοπροπ-1-εν-1-υλ)βενζοϊκός (E)-4-μεθοξυβενζυλεστέρας (**5c**)

Η σύνθεση της ένωσης **5c** βασίζεται στη Γενική Μέθοδο Β. Το διάλυμα Α περιέχει 0.394 mmol οξέος (150 mg) (**3a**), 2.55 mL ξηρού DCM και 0.358 mmol (44.47 μ L) 4-μεθοξυ-βενζυλαλκοόλη (**4c**). Το διάλυμα Β που προστίθεται στάγδην στο πρώτο, περιέχει 2.55 mL ξηρού



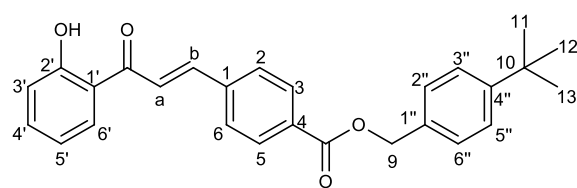
DCM, 0.4296 mmol DCC (88.6 mg) και 4.28 mg DMAP. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης και της επεξεργασίας που αναφέρθηκε, το προϊόν διαχωρίζεται από τις ανεπιθύμητες ενώσεις μέσω χρωματογραφίας στήλης, σε σύστημα διαλυτών PE/EtOAc – 90:10-85:15 και παραλαμβάνεται με μορφή κίτρινου στερεού.

Απόδοση αντίδρασης: 32%

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ ppm 12.69 (s, 1H, Ar-OH), 8.11 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, H-3, H-5), 7.94-7.89 (m, 2H, H-b, H-6'), 7.74-7.69 (m, 3H, H-a, H-2, H-6), 7.52 (td, $J=8.4$ Hz, $j=1.5$ Hz, 1H, H-4'), 7.40 (d, $J=8.7$ Hz, 2H, H-2'', H-6''), 7.04 (dd, $J=8.4$ Hz, $j=0.9$ Hz, 1H, H-3'), 6.99-6.91 (m, 3H, H-3'', H-5'', H-5'), 5.32 (s, 2H, H-9), 3.83 (s, 3H, H-11)

MS: 155 m/z [$\text{C}_7\text{H}_7\text{O} + 2\text{Na}$] $^+$, 171 m/z [$\text{C}_9\text{H}_7\text{O}_2 + \text{Na}$] $^+$, 387 m/z [M-1] $^+$

(E)-4-(tert-βουτυλ)βενζυλ 4-(3-(2-υδροξυφαινυλ)-3-οξοπροπ-1-εν-1-υλ)βενζοϊκός (**5d**)



Η σύνθεση της ένωσης **5d** βασίζεται στη Γενική Μέθοδο Β. Το διάλυμα Α περιέχει 0.394 mmol οξέος (150 mg) (**3a**), 2.55 mL ξηρού DCM και 0.358 mmol (63.4 μL) 4-tert-butyl-benzyl

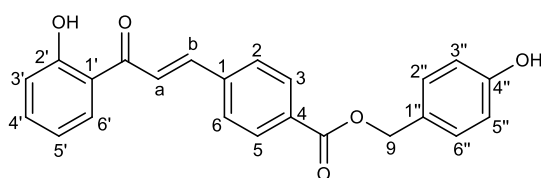
alcohol (**4d**). Το διάλυμα Β που προστίθεται στάγδην στο πρώτο, περιέχει 2.55 mL ξηρού DCM, 0.4296 mmol DCC (88.6 mg) και 4.28 mg DMAP. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης και της επεξεργασίας που αναφέρθηκε, το προϊόν διαχωρίζεται από τις ανεπιθύμητες ενώσεις μέσω χρωματογραφίας στήλης, σε σύστημα διαλυτών PE/EtOAc – 90:10 και παραλαμβάνεται με τη μορφή κίτρινου στερεού.

Απόδοση αντίδρασης: 38%

¹HNMR (CDCl₃, 300 MHz) δppm 12.69 (s, 1H, Ar-OH), 8.13 (d, J=8.4 Hz, 2H, H-3, H-5), 7.94-7.89 (m, 2H, H-b, H-6'), 7.75-7.70 (m, 3H, H-a, H-2, H-6), 7.52 (td, J=8.7 Hz, j=1.5 Hz, 1H, H-4'), 7.45-7.39 (m, 4H, H-2'', H-3'', H-5'', H-6''), 7.05 (dd, J=8.4 Hz, j=0.9 Hz, 1H, H-3'), 6.97 (td, J=8.4 Hz, j=1.2 Hz, 1H, H-5'), 5.36 (s, 2H, H-9), 1.34 (s, 9H, H-11, H-12, H-13)

MS: 413 m/z [M-1]⁺

4-(3-(2-υδροξυφαινυλ)-3-οξοπροπ-1-εν-1-υλ)βενζοϊκός (E)-4-υδροξυβενζυλεστέρας (**5e**)



Η σύνθεση της ένωσης **5e** βασίζεται στη Γενική Μέθοδο Β. Το διάλυμα Α περιέχει 0.394 mmol οξέος (150 mg) (**3a**), 2.55 mL ξηρού DCM και 0.358 mmol (44.49 mg) 4-υδροξυ-βενζυλαλκοόλη (**4e**). Το διάλυμα

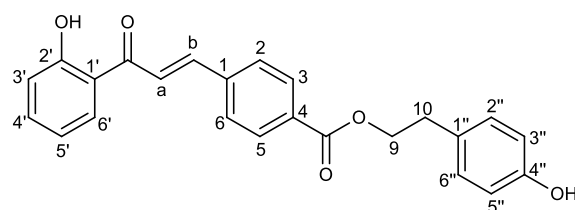
Β που προστίθεται στάγδην στο πρώτο, περιέχει 2.55 mL ξηρού DCM, 0.4296 mmol DCC (88.6 mg) και 4.28 mg DMAP. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης και της επεξεργασίας που αναφέρθηκε, το προϊόν διαχωρίζεται από τις ανεπιθύμητες ενώσεις μέσω χρωματογραφίας στήλης, σε σύστημα διαλυτών PE/EtOAc – 90:10 και παραλαμβάνεται με τη μορφή κίτρινου στερεού.

Απόδοση αντίδρασης: 34%

¹HNMR (CDCl₃, 300 MHz) δppm 12.68 (s, 1H, Ar-OH), 8.23 (d, J=8.4 Hz, 2H, H-3, H-5), 7.99-7.93 (m, 2H, H-b, H-6'), 7.81-7.75 (m, 3H, H-a, H-2, H-6), 7.75-7.51 (m, 2H, H-4', Ar-OH), 7.46 (d, J=8.4 Hz, 2H, H-2'', H-5''), 7.23 (d, J=8.7 Hz, 2H, H-3'', H-5''), 7.06 (dd, J=8.7 Hz, j=1.2 Hz, 1H, H-3'), 6.98 (td, J=8.1 Hz, j=1.2 Hz, 1H, H-5'), 4.74 (s, 2H, H-9)

MS: 223 m/z [C₁₅H₁₁O₂], 251 m/z [C₁₆H₁₁O₃], 421 m/z [M-1 + 2Na]⁺

4-(3-(2-υδροξυφαινυλ)-3-οξοπροπ-1-εν-1-υλ)βενζοϊκός (E)-4-υδροξυφαινυλαιθυλεστέρας (5f)



Η σύνθεση της ένωσης **5f** βασίζεται στη Γενική Μέθοδο Β. Το διάλυμα Α περιέχει 0.4731 mmol οξέος (180 mg) (**3a**), 3.06 mL ξηρού DCM και 0.4300 mmol (59.41 mg) 2-(4-hydroxyphenyl)ethanol (**4f**). Το

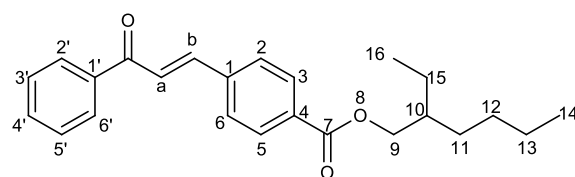
διάλυμα Β που προστίθεται στάγδην στο πρώτο, περιέχει 3.06 mL ξηρού DCM, 0.5160 mmol DCC (106.46 mg) και 5.15 mg DMAP. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης και της επεξεργασίας που αναφέρθηκε, το προϊόν διαχωρίζεται από τις ανεπιθύμητες ενώσεις μέσω χρωματογραφίας στήλης, σε σύστημα διαλυτών PE/EtOAc – 80:20 και παραλαμβάνεται με τη μορφή κίτρινου στερεού.

Απόδοση αντίδρασης: 23%

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δppm 12.70 (s, 1H, Ar-OH), 8.06 (d, $J=8.1$ Hz, 2H, H-3, H-5), 7.94-7.89 (m, 2H, H-b, H-6'), 7.75-7.70 (m, 3H, H-a, H-2, H-6), 7.58-7.48 (m, 2H, H-4', Ar-OH), 7.15 (d, $J=8.1$ Hz, 2H, H-2'', H-6''), 7.05 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, H-3'), 6.97 (t, $J=7.8$ Hz, 1H, H-5'), 6.80 (d, $J=8.1$ Hz, 2H, H-3'', H-5''), 4.51 (t, $J=6.6$ Hz, 2H, H-9), 3.02 (t, $J=6.3$ Hz, 2H, H-10)

MS: m/z [$\text{C}_8\text{H}_9\text{O}_2 + \text{Na}$] $^+$, 223 m/z [$\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{O}_2$], 267 m/z [$\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{O}_4$], 409 m/z [$\text{M}-1 + \text{Na}$] $^+$

(E)-2-αιθυλεξυλ 4-(3-οξο-3-φαινυλπροπ-1-εν-1-υλ)βενζοϊκός (6b)



Η σύνθεση της ένωσης **6b** βασίζεται στη Γενική Μέθοδο Β. Το διάλυμα Α περιέχει 0.7928 mmol οξέος (200 mg) (**3b**), 5.2 mL ξηρού DCM και 0.7207 mmol (112.67 μL) 2-αιθυλ-εξανόλης

(**4b**). Το διάλυμα Β που προστίθεται στάγδην στο πρώτο, περιέχει 5.2 mL ξηρού DCM, 0.8649 mmol DCC (178.44 mg) και 8.6 mg DMAP. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης και της επεξεργασίας που αναφέρθηκε, το προϊόν διαχωρίζεται από τις ανεπιθύμητες ενώσεις μέσω χρωματογραφίας στήλης, σε σύστημα διαλυτών PE/EtOAc – 98:2 – 95:5 και παραλαμβάνεται με κίτρινη ελαιώδη μορφή.

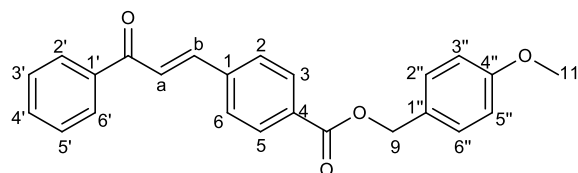
Απόδοση αντίδρασης: 20%

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δppm 8.08 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, Ar-H), 8.03 (d, $J=7.2$ Hz, 2H, Ar-H), 7.82 (d, $J=15.6$, 1H, H-b), 7.71 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, Ar-H), 7.63-7.58 (m, 2H, H-a, Ar-H),

7.54-7.52 (m, 2H, Ar-H), 4.26 (dd, $J=5.4$ Hz, $j=1.5$, 2H, H-9), 1.78-1.68 (m, 1H, H-10), 1.49-1.32 (m, 8H, H-11, H-12, H-13, H-15), 0.98-0.89 (m, 6H, H-14, H-16)

MS: 105 m/z [C_7H_5O], 207 m/z [$C_{15}H_{11}O$], 235 m/z [$C_{16}H_{11}O_2$], 365 m/z [$M-1$]⁺

(E)- 4-μεθοξυβενζυλ 4-(3-οξο-3-φαινυλπροπ-1-εν-1-υλ)βενζοϊκός (**6c**)



Η σύνθεση της ένωσης **6c** βασίζεται στη Γενική Μέθοδο Β. Το διάλυμα Α περιέχει 0.713 mmol οξέος (180 mg) (**3b**), 4.6 mL ξηρού DCM και 0.649 mmol (80.53 μ L) 4-μεθόξυ-

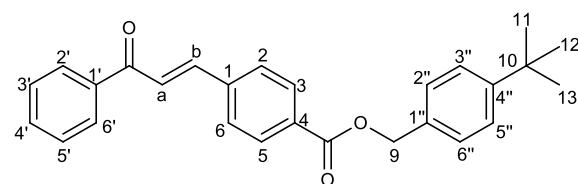
βενζυλαλκοόλη (**4c**). Το διάλυμα Β που προστίθεται στάγδην στο πρώτο, περιέχει 4.6 mL ξηρού DCM, 0.778 mmol DCC (160.61 mg) και 7.76 mg DMAP. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης και της επεξεργασίας που αναφέρθηκε, το προϊόν διαχωρίζεται από τις ανεπιθύμητες ενώσεις μέσω χρωματογραφίας στήλης, σε σύστημα διαλυτών PE/EtOAc – 90:10 και παραλαμβάνεται με μορφή υπόλευκου στερεού.

Απόδοση αντίδρασης: 41%

¹HNMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ ppm 8.09 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, Ar-H), 8.04-8.01 (m, 2H, Ar-H), 7.81 (d, $J=15.9$, 1H, H-b), 7.68 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, Ar-H), 7.63-7.49 (m, 4H, H-a, Ar-H), 7.42-7.38 (m, 2H, Ar-H), 6.95-6.90 (m, 2H, Ar-H), 5.32 (s, 2H, H-9), 3.82 (s, 3H, H-11)

MS: 122 m/z [C_6H_5Na]⁺, 208 m/z [$C_{15}H_{11}O$]⁺, 235 [$C_{16}H_{11}O_2$], 419 [$M-1 + 2Na$]⁺

(E)- 4-(3-οξο-3-φαινυλπροπ-1-εν-1-υλ)βενζοϊκός tert-βουτυλ)βενζυλεστέρας (**6d**)



Η σύνθεση της ένωσης **6d** βασίζεται στη Γενική Μέθοδο Β. Το διάλυμα Α περιέχει 0.7928 mmol οξέος (200 mg) (**3b**), 5.2 mL ξηρού DCM και 0.7207 mmol (127.56 μ L) 4-tert-butyl-benzyl

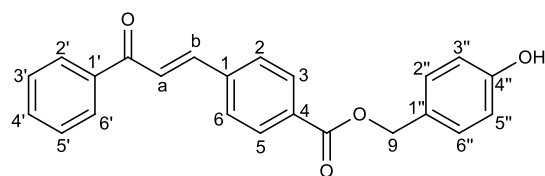
alcohol (**4d**). Το διάλυμα Β που προστίθεται στάγδην στο πρώτο, περιέχει 5.2 mL ξηρού DCM, 0.8648 mmol DCC (178.44 mg) και 8.6 mg DMAP. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης και της επεξεργασίας που αναφέρθηκε, το προϊόν διαχωρίζεται από τις ανεπιθύμητες ενώσεις μέσω χρωματογραφίας στήλης, σε σύστημα διαλυτών PE/EtOAc – 98:2-95:5 και παραλαμβάνεται με μορφή κίτρινου λαδιού.

Απόδοση αντίδρασης: 21%

¹HNMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ ppm 8.12 (d, $J=7.8$ Hz, 2H, Ar-H), 8.03 (d, $J=7.2$ Hz, 2H, Ar-H), 7.81 (d, $J=15.6$, 1H, H-b), 7.69 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, Ar-H), 7.62-7.59 (m, 2H, H-a, Ar-H), 7.54-7.51 (m, 2H, Ar-H), 7.44-7.39 (m, 4H, Ar-H), 5.36 (s, 2H, H-9), 1.34 (s, 9H, H-11, H-12, H-13)

MS: 105 m/z [C₇H₅O], 147 m/z [C₁₁H₁₅], 148 m/z [C₁₁H₁₅]⁺, 399 m/z [M-1]⁺, 400 m/z [], 421 m/z [M-1 + Na]⁺

4-(3-οξο-3-φαινυλπροπ-1-εν-1-υλ)βενζοϊκός (E)-4-υδροξυβενζυλεστέρας (**6e**)



Η σύνθεση της ένωσης **6e** βασίζεται στη Γενική Μέθοδο Β. Το διάλυμα Α περιέχει 0.7928 mmol οξέος (200 mg) (**3b**), 5.2 mL ξηρού DCM και 0.7207 mmol (89.47 mg) 4-υδρόξυ-βενζυλαλκοόλη (**4e**). Το

διάλυμα Β που προστίθεται στάγδην στο πρώτο, περιέχει 5.2 mL ξηρού DCM, 0.8648 mmol DCC (178.44 mg) και 8.6 mg DMAP. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης και της επεξεργασίας που αναφέρθηκε, το προϊόν διαχωρίζεται από τις ανεπιθύμητες ενώσεις μέσω χρωματογραφίας στήλης, σε σύστημα διαλυτών PE/EtOAc – 80:20 και παραλαμβάνεται με μορφή υπόλευκου στερεού.

Απόδοση αντίδρασης: 25%

¹HNMR (CDCl₃, 300 MHz) δppm 8.06-8.00 (m, 3H, Ar-H), 7.83-7.77 (m, 4H, H-b, Ar-H, Ar-OH), 7.77-7.65 (m, 3H, H-a, Ar-H), 7.63-7.58 (m, 2H, Ar-H), 7.55-7.49 (m, 4H, Ar-H)

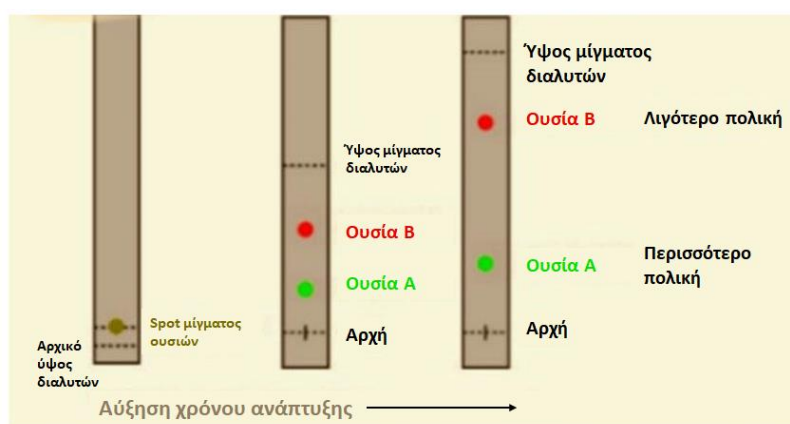
MS: 149 m/z [C₈H₇O₃ + 2H], 226 m/z [C₁₄H₁₁O₃ - 1H]⁺

5. ΜΕΘΟΔΟΙ ΔΟΜΙΚΟΥ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

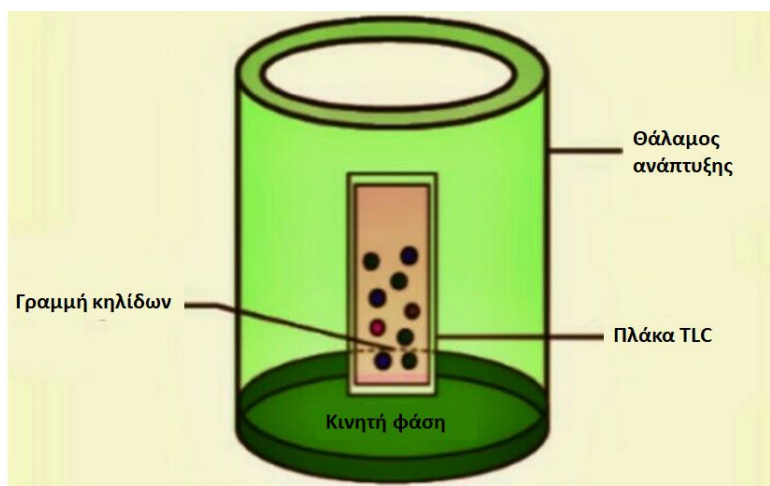
5.1. Χρωματογραφία Λεπτής Στοιβάδας (TLC)

Η παρακολούθηση της εξέλιξης των αντιδράσεων καθώς και ο έλεγχος της καθαρότητας των ενώσεων πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της Χρωματογραφίας Λεπτής Στοιβάδας (TLC). Πρόκειται για μία αναλυτική τεχνική που βασίζεται στη διαφορά πολικότητας των συστατικών και του συστήματος διαλυτών που χρησιμοποιείται. Στην συγκεκριμένη χρωματογραφία, την στατική φάση αποτελούν πλάκες αλουμινίου, επιστρωμένες με Silica GEL (F254) της εταιρείας Merck. Το διάλυμα του δείγματος που πρόκειται να εξεταστεί, εναποτίθεται στην πλάκα με τη μορφή κηλίδας μέσω τριχοειδών σωλήνων. Η πλάκα εμβαπτίζεται σε θάλαμο ανάπτυξης, όπου βρίσκεται το μίγμα διαλυτών, το οποίο αποτελεί την κινητή φάση. Παρατηρείται διαβροχή της πλάκας από το σύστημα, λόγω τριχοειδών δυνάμεων και τα συστατικά του υπό εξέταση δείγματος διαχωρίζονται ανάλογα την πολικότητά τους. Οι πιο πολικές ενώσεις κατακρατούνται και εμφανίζονται χαμηλά, ενώ οι πιο άπολες εμφανίζονται υψηλότερα. Οι κηλίδες των χρωματογραφημάτων εμφανίζονται με λάμπα υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) στα 254 nm. Κατόπιν με εμποτισμό σε διάλυμα φωσφομολυβδαινικού οξέος (PMA) σε αναλογία (αιθανολικό διάλυμα PMA/EtOH 1:2) και θέρμανση με ειδικό blower, οι υπάρχουσες κηλίδες αποκτούν σκούρα απόχρωση είτε εμφανίζονται νέες, οι οποίες αφορούν σε συστατικά που δεν φθορίζουν στην UV ακτινοβολία.^[57]

Στην παρούσα εργασία το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε για όλα τα δείγματα που εξετάστηκαν, αποτελούνταν από πετρελαϊκό αιθέρα και οξικό αιθυλεστέρα σε κατάλληλη αναλογία.



Σχήμα 21. Απεικόνιση διαχωρισμού μίγματος ουσιών στα επιμέρους συστατικά με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας



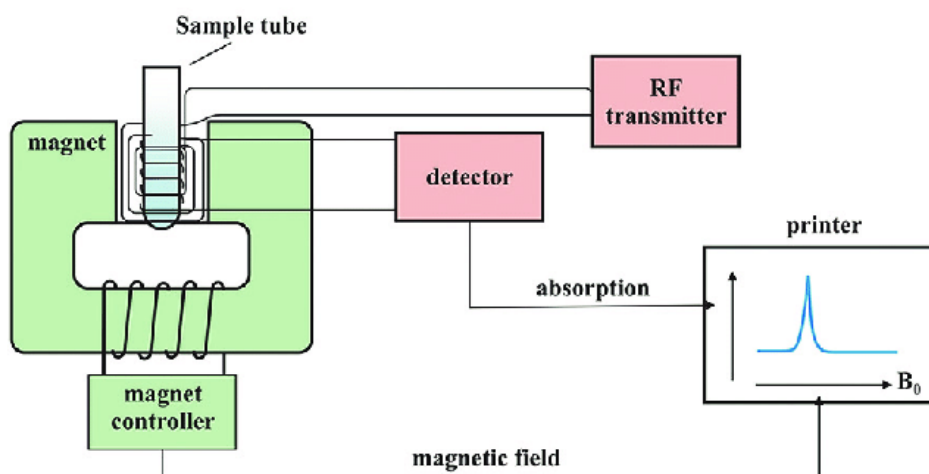
Σχήμα 22. Απεικόνιση θαλάμου ανάπτυξης χρωματογραφίας

5.2. Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)

Η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού, βασίζεται στην καταγραφή της αλληλεπίδρασης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας με τους πυρήνες των μορίων που βρίσκονται εντός ισχυρού μαγνητικού πεδίου. Αποτελεί μία σημαντική αναλυτική μέθοδο που παρέχει πληροφορίες για τη δομή ενός μορίου, ενώ μπορεί να ελέγξει την καθαρότητα ενός δείγματος. Η ^1H NMR, δηλαδή η ανίχνευση πυρήνων πρωτονίων, είναι μία από τις πιο ευρέως εφαρμοζόμενες μεθόδους NMR.

Αρχικά, το οργανικό δείγμα που πρόκειται να αναλυθεί, διαλύεται σε δευτεριωμένο διαλύτη. Η επιλογή δευτεριωμένου διαλύτη, γίνεται γιατί το δευτέριο εμφανίζει μικρότερη σταθερά σύζευξης με γειτονικά πρωτόνια και επομένως η απορρόφησή τους δεν εντοπίζεται στο φάσμα που λαμβάνεται. Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία ήταν, το δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3) και το διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO-d_6). Κατόπιν, το διάλυμα τοποθετείται σε γυάλινο τριχοειδή σωλήνα και εντός ισχυρού μαγνητικού πεδίου που δημιουργούν οι πόλοι ενός μαγνήτη. Τότε οι πυρήνες ευθυγραμμίζονται και κατά την ακτινοβολήση, διεγείρονται και μεταβαίνουν σε άλλο ενεργειακό επίπεδο.^[58]

The NMR Spectrometer



Σχήμα 23. Σχηματική απεικόνιση της διαδικασίας λήψης φάσματος NMR^[58]

Φάσμα NMR

Σε ένα φάσμα ^1H NMR, ο οριζόντιος άξονας δείχνει την ισχύ του εφαρμοζόμενου πεδίου, η οποία αυξάνεται από αριστερά προς τα δεξιά. Η θέση στην οποία απορροφούν οι πυρήνες, ονομάζεται χημική μετατόπιση, αναπαρίσταται με τον χαρακτήρα δ και μετριέται σε μονάδες ppm (parts per million). Ο κατακόρυφος άξονας ενός φάσματος, δείχνει την ένταση απορρόφησης της ενέργειας.

Η ολοκλήρωση των κορυφών, δηλαδή το εμβαδό που σχηματίζουν οι καμπύλες με τον οριζόντιο άξονα, αντιπροσωπεύει τον αριθμό των πρωτονίων που συμμετέχουν στον αντίστοιχο πυρήνα. Οι κορυφές μπορεί εκτός από απλές, να εμφανίζουν πολλαπλότητα. Αυτό οφείλεται στην αλληλεπίδραση των spin γειτονικών πυρήνων. Έτσι, έστω n τα γειτονικά πρωτόνια, η κορυφή που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο που μελετάται, εμφανίζει πολλαπλότητα $n+1$.

Η απόσταση των επιμέρους κορυφών σε μία πολλαπλή κορυφή, πολλαπλασιασμένη με την ισχύ του μαγνήτη του οργάνου (MHz), ονομάζεται σταθερά σύζευξης, J , μετριέται σε Hz και είναι ανεξάρτητη από την ένταση του μαγνητικού πεδίου

5.3. Φασματομετρία μάζας (MS)

Η φασματομετρία μάζας (MS) αποτελεί μία αναλυτική τεχνική που χρησιμοποιείται για την ποιοτική και ποσοτική ανάλυση μιγμάτων, τον προσδιορισμό της δομής μεγάλων ενώσεων και την εύρεση της ύπαρξης ισοτόπων. Βασίζεται στη μέτρηση του λόγου μάζας προς το

φορτίο του ιόντος (m/z). Πρόκειται για μία ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδο σε ερευνητικούς τομείς, που συμβάλλει στην ταυτοποίηση και τον προσδιορισμό των αναλυόμενων ουσιών. Πλεονεκτεί έναντι άλλων αναλυτικών τεχνικών, καθώς εφαρμόζεται τόσο σε καθαρά όσο και σε σύνθετα δείγματα με μεγάλη ακρίβεια. Οι πληροφορίες παρέχονται από το φάσμα μαζών, την γραφική παράσταση δηλαδή, του σήματος των ιόντων συναρτήσει του λόγου μάζας προς φορτίο.

Κατά τη διαδικασία ανάλυσης με φασματομετρία μάζας, τα δείγματα μετατρέπονται σε ταχύτατα κινούμενα ιόντα, ενώ μπορεί να προκληθεί και διάσπαση ορισμένων μορίων σε φορτισμένα θραύσματα. Στη συνέχεια, τα ιόντα διαχωρίζονται βάσει του λόγου m/z και μέσω ανιχνευτή, τα διαχωριζόμενα ιόντα μετατρέπονται σε ηλεκτρικό σήμα και εμφανίζεται η έντασή τους συναρτήσει του λόγου μάζας προς φορτίο στο φασματογράφημα. Η ταυτοποίηση των ατόμων ή των μορίων του δείγματος, γίνεται με συσχέτιση με γνωστές μάζες.

5.4. Αντιοξειδωτική Δράση

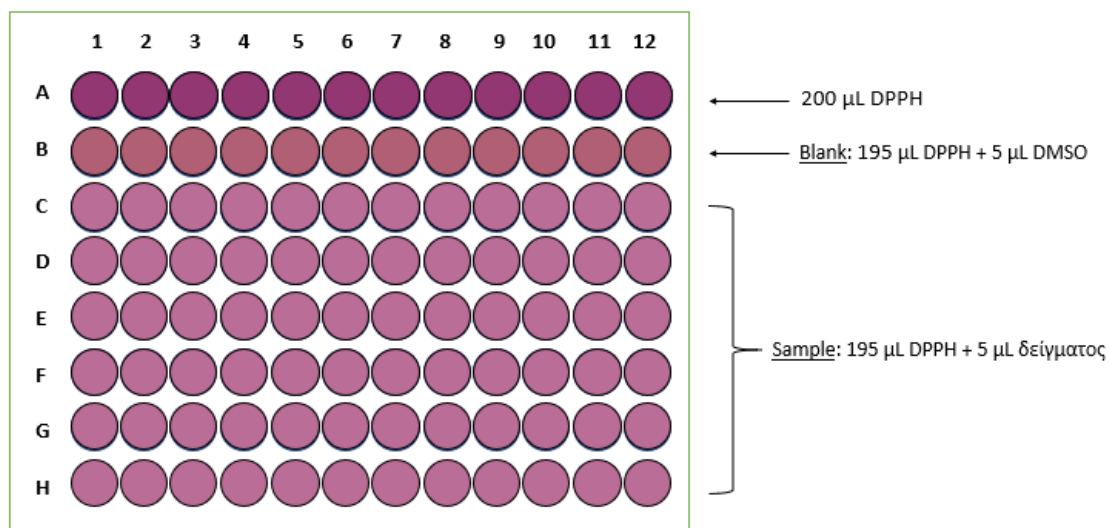
Οι ενώσεις που εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση, έχουν την ικανότητα να προστατεύουν ιστούς και κύτταρα από την οξείδωση που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες και άλλα οξειδωτικά μόρια. Αυτό επιτυγχάνεται, αφού μέσω της αλληλεπίδρασης με τις ελεύθερες ρίζες αναστέλλονται οι οξειδωτικές αλυσιδωτές αντιδράσεις. Έχουν αναπτυχθεί μέθοδοι οι οποίες αξιολογούν τις ενώσεις ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση και συμβάλλουν στην κατανόηση των μηχανισμών αντιοξειδωτικής προστασίας. Η δράση των συντιθέμενων μορίων αυτής της εργασίας μελετήθηκε με τις μεθόδους που αναλύονται παρακάτω.

5.4.1. Μέθοδος δέσμευσης της σταθερής ελεύθερης ρίζας DPPH

Διαδικασία προσδιορισμού αντιοξειδωτικής δράσης

Αρχικά, παρασκευάστηκε το διάλυμα DPPH διαλύοντας 2.5 mg ουσίας σε αιθανόλη μέχρι τελικό όγκο 100 ml (63 mM). Η ρίζα διαλυτοποιείται πλήρως μετά από 20 λεπτά ανάδευσης.

Στη συνέχεια, παρασκευάστηκαν τα διαλύματα των προς εξέταση δειγμάτων σε διαλύτη διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO) και σε συγκέντρωση 4 mM. Έπειτα τα υπό μελέτη δείγματα καθώς και το διάλυμα DPPH, τοποθετήθηκαν στα τρυβλία ειδικής πλάκας, σε κατάλληλη αναλογία έως τελικό όγκο 200 μ L, όπως φαίνεται ακολούθως. Η πλήρωση των τρυβλίων έγινε σε σκοτεινό σημείο και κατόπιν η πλάκα καλύφθηκε με αλουμινόχαρτο, ώστε να αποφευχθεί η οξείδωση της ρίζας.



Σχήμα 24. Μεθοδολογία πλήρωσης των τρυβλίων ειδικής πλάκας με τα υπό εξέταση δείγματα και το διάλυμα DPPH

Λαμβάνεται η απορρόφηση των δειγμάτων στα 515 nm, μέσω φασματοσκοπίας υπεριώδους-ορατού (UV-Vis) στα πρώτα 20 και 60 min από την αλληλεπίδραση των δειγμάτων με την ελεύθερη ρίζα.

Η αντιοξειδωτική δράση των δειγμάτων αξιολογείται με βάση το ποσοστό αναστολής της οξειδωτικής δράσης της ρίζας, που προκύπτει από την επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

5.4.2. Μέθοδος αναστολής της λιπιδικής υπεροξειδωσης του λινολεϊκού οξέος από τον εκκινητή ελευθέρων ριζών AAPH

Η αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης από τις ενώσεις που συντέθηκαν υπολογίζεται από την οξείδωση του λινολεϊκού οξέος σε υδατικό αιώρημα και στα 234 nm. Το 2,2 – αζοδις-(2-αμιδινοπροπανο) διυδροχλωρίδιο, δηλαδή το AAPH, έχει τον ρόλο του εκκινητή των ελευθέρων ριζών.

Διαδικασία προσδιορισμού

Για την εφαρμογή της συγκεκριμένης μεθόδου παρασκευάστηκαν τα ακόλουθα διαλύματα:

Buffer 1: Phosphate (pH=7.4)

Αρχικά, παρασκευάστηκε ένα υδατικό διάλυμα KH_2PO_4 , διαλύοντας 0.2007 g άλατος σε 120 mL απεσταγμένου νερού, καθώς και ένα υδατικό διάλυμα K_2HPO_4 διαλύοντας

0.7872 g άλατος σε 120 mL απεσταγμένου νερού. Ακολούθησε ανάμιξη των δύο διαλυμάτων και ρύθμιση του pH στο 7.4, προσθέτοντας 0.3 mL διαλύματος HCl 1 M. Το διάλυμα αραιώθηκε μέχρι τελικού όγκου 300 mL και τοποθετήθηκε σε επωαστήρα, ώστε η θερμοκρασία του να διατηρηθεί στους 37 °C.

Buffer 2: Borate (pH=9)

Παρασκευάστηκε υδατικό διάλυμα βορικού οξέος διαλύοντας 0.3085 g οξέος σε 50 mL απεσταγμένου νερού. Με προσθήκη HCl ή NaOH 1M, ρυθμίζεται το pH στο 9. Συμπληρώθηκε απεσταγμένο νερό, μέχρι 100 mL τελικό όγκο.

Διάλυμα λινολεϊκού οξέος

Ποσότητα 0.275 g tween 20 διαλύθηκε σε 5 mL διαλύματος borate. Λήφθηκαν 2.5 mL από το διάλυμα και προστέθηκαν σε αυτά 0.125 mL λινολεϊκού οξέος. Σε αυτά, χρειάστηκε να προστεθούν 8 mL NaOH 1M έως ότου το διάλυμα γίνει διαυγές. Συμπληρώθηκε borate buffer μέχρι 25 mL τελικό όγκο.

Blank

Επαναλήφθηκε η διαδικασία παρασκευής τους διαλύματος λινολεϊκού οξέος, χρησιμοποιώντας αντίστοιχα 8 mL διαλύματος NaOH 1M και χωρίς την προσθήκη του ίδιου του λινολεϊκού οξέος.

AAPH

Παρασκευάστηκε διάλυμα AAPH 40 mM λίγο πριν τη λήψη των μετρήσεων, λόγω της αστάθειας και της ευαισθησίας του στο φως.

Τα δείγματα προς εξέταση παρασκευάστηκαν με διάλυση ποσότητας σχεδόν 1 mg της εκάστοτε ένωσης σε κατάλληλο όγκο DMSO, έως 10 mM τελική συγκέντρωση.

Η λήψη των μετρήσεων έγινε με τη βοήθεια φασματοφωτομέτρου UV-Vis μετρώντας την απορρόφηση στα 234 nm. 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 buffer. Η μία από τις δύο κυψελίδες παρέμεινε εντός του οργάνου καθ' όλη τη διάρκεια των μετρήσεων. Στη συνέχεια, λήφθηκαν απορροφήσεις του ίδιου μίγματος με πριν, αντικαθιστώντας τα 70 μ L phosphate με 70 μ L διαλύματος AAPH. Κατόπιν, λήφθηκαν οι απορροφήσεις του controller, δηλαδή της αντίδρασης του λινολεϊκού οξέος και του AAPH απουσία αντιοξειδωτικού. Η κυψελίδα πληρώθηκε με 1302 μ L phosphate buffer, 14 μ L διαλύματος λινολεϊκού οξέος, 14 μ L DMSO και 70 μ L AAPH. Τέλος, μετρήθηκαν οι απορροφήσεις των δειγμάτων προσθέτοντας στην κυψελίδα κάθε φορά 1302 μ L phosphate buffer, 14 μ L DMSO, 14 μ L διαλύματος του κάθε δείγματος και 70 μ L AAPH. Η διαδικασία επαναλήφθηκε τουλάχιστον 3 φορές για κάθε δείγμα, για να εξασφαλιστεί επαναληψιμότητα. Σε κάθε μέτρηση λαμβάνονταν η απορρόφηση τη χρονική στιγμή $t=0$ και την $t=1$ min.

5.5. Προσδιορισμός φωτοπροστατευτικής δράσης

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

Η φωτοπροστατευτική δράση των ενώσεων μελετήθηκε πολυπαραγοντικά. Συγκεκριμένα, η αξιολόγησή της βασίστηκε στη μέτρηση του δείκτη ηλιακής προστασίας SPF, στον λόγο απορρόφησης UVA/UVB, στο κρίσιμο και στο μέγιστο μήκος κύματος, λ_c και λ_{max} των ενώσεων. Το μέγιστο μήκος κύματος προσδιορίστηκε στο εργαστήριο της Σχολής Χημικών Μηχανικών, με χρήση του φασματομέτρου UV/VIS/NIR JASCO V-770 Vis, μετρώντας την απορρόφηση των ενώσεων στο υπεριώδες-ορατό φάσμα.

5.5.1. Αρχή της Μεθόδου

Σκοπός της μεθόδου είναι η αξιολόγηση της ικανότητας των ενώσεων που έχουν συντεθεί, να λειτουργήσουν ως αντηλιακά φίλτρα έναντι της UVA ή/και της UVB ακτινοβολίας. Αυτό πραγματοποιείται μέσα από την *in vitro* μέτρηση του δείκτη SPF, του λόγου απορρόφησης UVA/UVB και του κρίσιμου μήκους κύματος λ_c .

Η μέτρηση του SPF βασίζεται στη μεθοδολογία που έχει εισαγάγει και ο FDA, δηλαδή στην αξιολόγηση της UV-διαπερατότητας μέσω ενός λεπτού υμενίου του αντηλιακού δείγματος, απλωμένου σε τραχύ υπόστρωμα, μετά την έκθεση σε ελεγχόμενη δόση UV ακτινοβολίας από καθορισμένη πηγή UV.

Το όργανο με το οποίο υλοποιείται η μέθοδος είναι το SPF290S Optometrics LLC και καλύπτει όλο φάσμα UVA και UVB ακτινοβολίας, σαρώνοντας από τα 290 έως τα 400 nm. Τα βασικά μέρη από τα οποία αποτελείται είναι μία πηγή ακτινοβολίας, ένας σταθμός δειγματοληψίας, ένας μονοχρωμάτορας, ένας συλλέκτης ακτινοβολίας και ένα σύστημα ανίχνευσης. Τα αποτελέσματα της απορρόφησης συγκεντρώνονται και αποθηκεύονται με βήμα 1 nm.

5.5.2. Διαπερατότητα

Το κύριο μέγεθος στο οποίο στηρίζεται η μέθοδος είναι η διαπερατότητα, την οποία μετράει το φασματοφωτόμετρο. Η διαπερατότητα T , ορίζεται ως ο λόγος της έντασης του φωτός που διαπερνά το δείγμα, προς την ένταση που προσκρούει σε αυτό και αναπαρίσταται μαθηματικά από τη σχέση:

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

Το ποσό της έντασης του φωτός που περνάει μέσα από το εκάστοτε δείγμα εξαρτάται από παράγοντες που σχετίζονται με τα χαρακτηριστικά του δείγματος και του οργάνου. Οι τρεις βασικοί παράγοντες από τους οποίους εξαρτάται η διαπερατότητα

ανεξαρτήτως είδους δείγματος είναι οι εξής: ο συντελεστής απορρόφησης, το πάχος ή το μήκος της διαδρομής που διασχίζει η δέσμη φωτός και η συγκέντρωση του δείγματος. Τα μεγέθη αυτά συνδέονται με τη σχέση των Lambert-Beer:

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

Όπου,

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

Η απορρόφηση A συνδέεται με την διαπερατότητα T , μέσω της σχέσης:

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

Έτσι, τελικά η διαπερατότητα εκφράζεται μέσω των κρίσιμων παραγόντων που αναφέρθηκαν, ως εξής:

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

Εκτός από τα τρία βασικά μεγέθη που επηρεάζουν την απορρόφηση και κατά συνέπεια τη διαπερατότητα, υπάρχουν ορισμένοι επιπλέον παράγοντες οι οποίοι πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά τη μέτρησή της:

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

5.5.3. Διαδικασία προσδιορισμού του δείκτη SPF

Υπόστρωμα

Το υπόστρωμα πρέπει να είναι διαπερατό από τη UV ακτινοβολία, μη φθορίζον, φωτοσταθερό και αδρανές σε όλα τα συστατικά που θα απλωθούν στην πλάκα. Για τη μέθοδο αυτή, κατάλληλες είναι οι πλάκες PMMA (Plexiglas, πολυμεθυλομεθακρυλικό μεθύλιο) με τη μία πλευρά τους να είναι τραχεία. Το μέγεθος του υποστρώματος θα πρέπει να επιλέγεται έτσι ώστε η περιοχή εφαρμογής να μην είναι μικρότερη από 16 cm². Το σχήμα που επιλέγεται συνήθως είναι τετραγωνικό (π.χ. 50 × 50 × 2.5 mm).

Βαθμονόμηση

Για τη βαθμονόμηση του οργάνου (φασματοφωτόμετρο SPF-290S), χρησιμοποιείται ως πρότυπο δείγμα η γλυκερίνη, η οποία εναποτίθεται σε διαφορετικά σημεία στην

τραχεία επιφάνεια της πλάκας, χωρίς να επηρεάζεται από την κατανομή. Η δόση της γλυκερίνης που χρησιμοποιείται πρέπει να καλύπτει ολόκληρη την επιφάνεια της πλάκα. Μία προσέγγιση της απαιτούμενης δόσης είναι 15 μL για πλάκα $50 \times 50 \text{ mm}$.

Προετοιμασία δείγματος

Το προϊόν που πρόκειται να εξεταστεί απλώνεται σε ολόκληρη την έκταση της τραχείας επιφάνειας της PMMA πλάκας, με ζύγιση 1.3 mg/cm^3 , με τη μορφή σταγόνων ίσου όγκου. Μετά την εφαρμογή, το φίλτρο απλώνεται όσο το δυνατόν γρηγορότερα σε όλη την έκταση της πλάκας με την άκρη του δαχτύλου. Το άπλωμα πραγματοποιείται σε δύο στάδια. Στο πρώτο στάδιο, το εν δυνάμει αντηλιακό φίλτρο απλώνεται σε όλη την έκταση για 30 s με μεγάλες κυκλικές κινήσεις, ασκώντας μικρή πίεση, από την πάνω αριστερή προς την κάτω δεξιά γωνία της πλάκας. Κατόπιν η πλάκα περιστρέφεται κατά 90° δεξιόστροφα και επαναλαμβάνεται η ίδια διαδικασία για όλες τις πλευρές. Στο δεύτερο στάδιο, γίνεται επάλειψη του δείγματος εφαρμόζοντας μεγαλύτερη πίεση και γραμμικές κινήσεις για άλλα 30 s. Ομοίως, η πλάκα περιστρέφεται κατά 90° δεξιόστροφα, ώστε να καλυφθούν όλες οι πλευρές της πλάκας.

Στη συνέχεια, το δείγμα αφήνεται σε ηρεμία για τουλάχιστον 15 min σε σκοτεινό περιβάλλον και σε θερμοκρασία δωματίου, ώστε να προκύψει ένα πρότυπο σταθεροποιημένο φιλμ.

Μέτρηση του δείκτη SPF

Μετά την προετοιμασία του δείγματος και το πέρας των 15 min, η πλάκα τοποθετείται στο φωτισμένο μέρος του οργάνου. Κατά τη μέτρηση, η οποία έχει διάρκεια 5-7 min, η πλάκα κινείται και η συσκευή σαρώνει εννέα διαφορετικές περιοχές της επιφάνειας από τα 290 έως τα 400 nm, με βήμα 1 nm, και καταγράφεται διάγραμμα με δέκα διαφορετικές καμπύλες. Τα διαγράμματα αναπαριστούν τον δείκτη MPF (Monochromatic Protection Factor), συναρτήσε του κρίσιμου μήκους κύματος λ . Οι εννέα πρώτες καμπύλες αντιστοιχούν στην κάθε σκαναρισμένη περιοχή, ενώ η δέκατη αποτελεί τον μέσο όρο αυτών εξαλείφοντας τον θόρυβο. Η απόκλιση των καμπυλών, ενώ θα έπρεπε να ταυτίζονται, πιθανώς οφείλεται σε ανθρώπινο σφάλμα που σχετίζεται με τη διαδικασία της επάλειψης του φίλτρου στην πλάκα.

Υπολογισμοί

- Υπολογισμός του δείκτη MPF_λ

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

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

- Υπολογισμός του λόγου UVA/UVB

Ο υπολογισμός του λόγου UVA/UVB υπολογίζεται από τη σχέση:

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

Όπου $d\lambda$: το βήμα μήκους κύματος 1 nm

Όσο ο λόγος προσεγγίζει τη μονάδα, τόσο καλύτερη είναι η προστασία του αντηλιακού φίλτρου έναντι στην UVA ακτινοβολία.

- Υπολογισμός του κρίσιμου μήκους κύματος λ_c

Ως κρίσιμο μήκος κύματος, ορίζεται το μήκος κύματος που αντιστοιχεί στο 90% του ολοκληρώματος, δηλαδή στο 90% του εμβαδού της καμπύλης απορρόφησης από 290 έως 400 nm και υπολογίζεται από την ακόλουθη σχέση:

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

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

Επιλογή διαλύτη

Για την μέτρηση του SPF, προηγήθηκε η διάλυση των εξεταζόμενων εστέρων σε ευρέως χρησιμοποιούμενους διαλύτες για αντηλιακά φίλτρα, ώστε να επιλεγθεί εκείνος που εμφανίζει καλύτερη συμπεριφορά σε θερμοκρασία δωματίου ως προς τις ενώσεις που μελετώνται. Τελικά επιλέχθηκε ως ο καταλληλότερος ανάμεσά τους, ο Dibutyl Adipate (DBA).

Πειραματική διαδικασία

Παρασκευάστηκαν διαλύματα συγκέντρωσης 2.5% ως προς τον εκάστοτε εστέρα σε DBA.

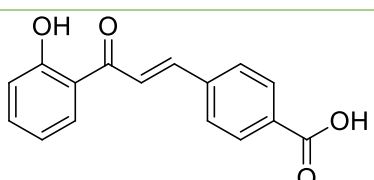
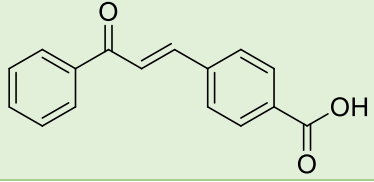
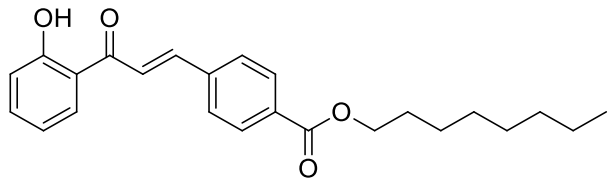
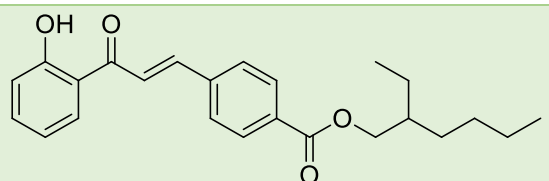
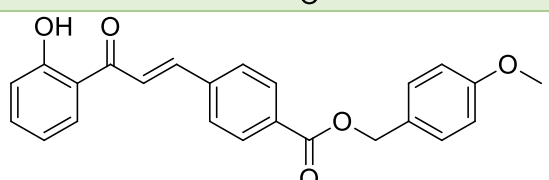
Το κάθε εξεταζόμενο δείγμα εφαρμόστηκε στην πλάκα PMMA σε δύο στάδια όπως περιγράφηκε παραπάνω και μετά από παραμονή 15 min σε σκοτεινό περιβάλλον, πραγματοποιήθηκε η in vitro μέτρηση με χρήση του φασματοφωτόμετρου SPF-290S.

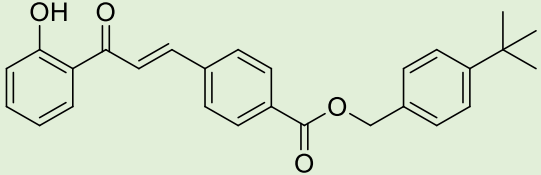
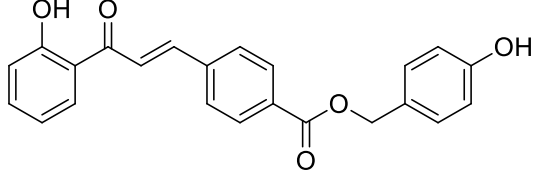
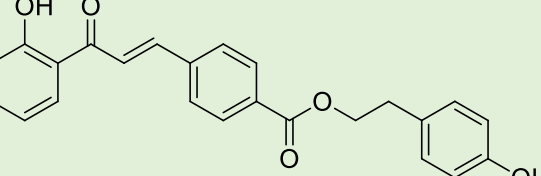
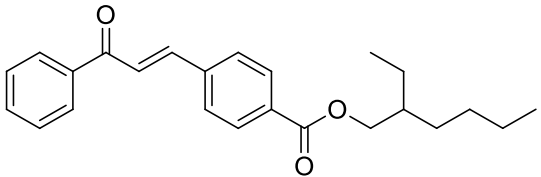
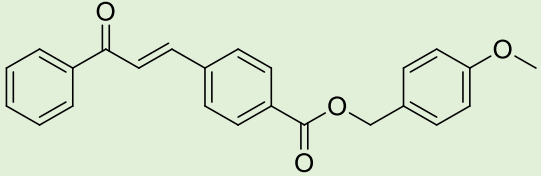
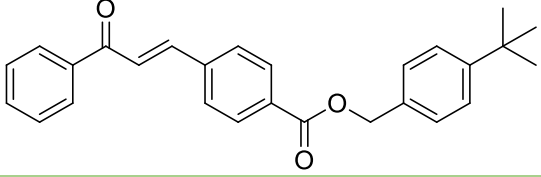
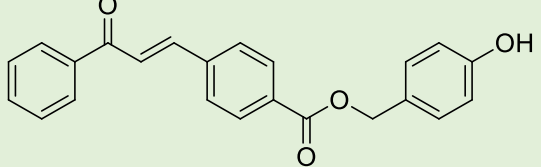
6. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

6.1. Δομές και αποδόσεις

Στον ακόλουθο Πίνακα, αναγράφονται οι τελικές αποδόσεις που επιτεύχθηκαν για κάθε προϊόν που συντέθηκε. Τα ποσοστά επιβεβαιώνουν πως οι μέθοδοι σύνθεσης των επιθυμητών ενώσεων ήταν αποδοτικές. Πιο συγκεκριμένα, οι χαλκόνες **3a** και **3b**, που συντέθηκαν βάσει της αντίδρασης Claisen-Schmidt, σημείωσαν πολύ ικανοποιητικά ποσοστά σύνθεσης: 68 και 46%, αντίστοιχα. Οι αποδόσεις της σύνθεσης των εστέρων **5a-5f**, **6b-6e** με την αντίδραση εστεροποίησης Steglich, κυμαίνονται από 20 έως 40%. Καθώς στόχος της εργασίας ήταν η σύνθεση καθαρών τελικών προϊόντων, εφαρμόστηκαν μέθοδοι καθαρισμού όπως ανακρυστάλλωση για τις χαλκόνες και χρωματογραφία στήλης για τους εστέρες, οι οποίες συνέβαλαν στην ελάττωση της απόδοσης του εκάστοτε προϊόντος. Παρά το γεγονός ότι οι αποδόσεις δεν είναι εξαιρετικά υψηλές, το χαμηλό κόστος παραγωγής των προϊόντων επιτρέπει την επανάληψη των πειραματικών διαδικασιών, ώστε να αυξηθούν οι ποσότητες των τελικών προϊόντων.

Πίνακας 7. Αποδόσεις προϊόντων που συντέθηκαν

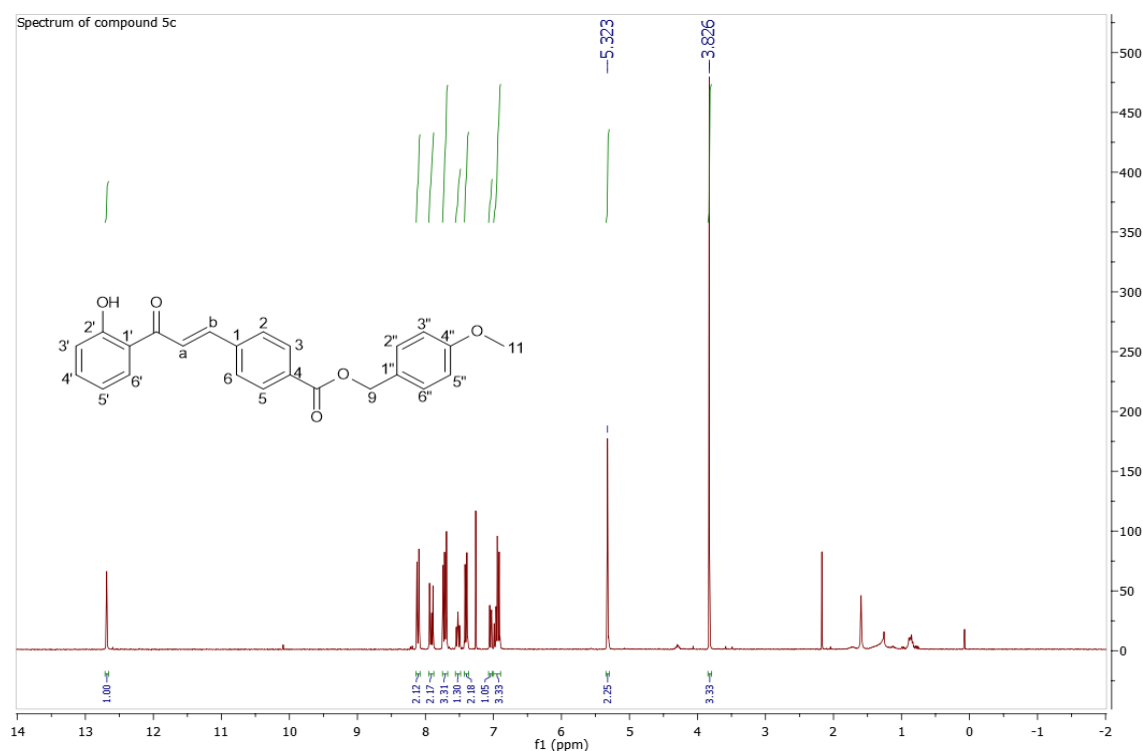
Κωδικός	Δομή	% απόδοση
3a		68
3b		46
5a		32
5b		30
5c		41

5d		45
5e		44
5f		31
6b		30
6c		50
6d		31
6e		35

6.2. Δομικός Χαρακτηρισμός νέων μορίων

6.2.1. Φασματοσκοπική Μελέτη ^1H NMR

Στην παρούσα ενότητα περιγράφεται η διαδικασία ταυτοποίησης των νέων εστέρων από τα αντίστοιχα φάσματα NMR. Στο Σχήμα 25 παρατίθεται το φάσμα ^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3) που αντιστοιχεί στην ένωση **5c** και αποτελεί αντιπροσωπευτικό φάσμα των εστέρων που συντέθηκαν στην προκείμενη εργασία. Η σύνθεση της ένωσης **5c** προήλθε από την αντίδραση της χαλκόνης **3a** με την 4-μεθοξυ-βενζυλική αλκοόλη και βασίστηκε στη Γενική Μέθοδο A, ενώ έχει πραγματοποιηθεί και καθαρισμός της ένωσης από πιθανές ακαθαρσίες με τη διαδικασία της χρωματογραφίας στήλης. Το δείγμα διαλύθηκε σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο ($\text{CDCl}_3\text{-d}_1$).

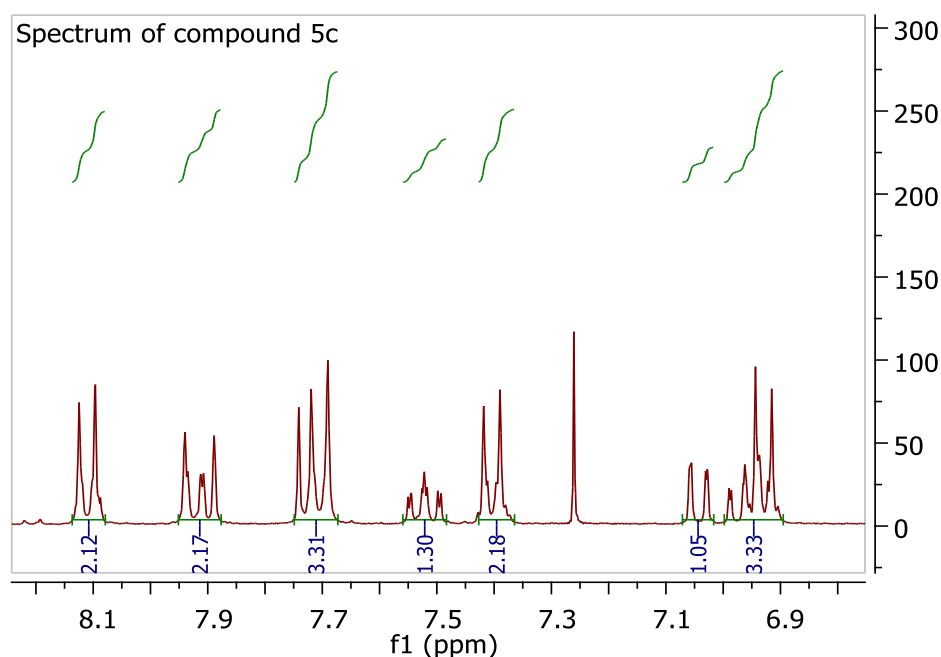


Σχήμα 25. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης **5c**

Στα χαμηλά πεδία του φάσματος εμφανίζονται τα πιο αποπροστατευμένα πρωτόνια. Αναλυτικότερα, στα 12.69 ppm φαίνεται μία απλή κορυφή η οποία ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο και συγκεκριμένα για εκείνο του αρωματικού υδροξυλίου. Η θέση του στην αποπροστατευμένη περιοχή του φάσματος, οφείλεται στον ισχυρό δεσμό υδρογόνου που δημιουργείται μεταξύ αυτού και του γειτονικού καρβονυλίου.

Στο εύρος χημικών μετατοπίσεων από 8.0 έως 7.0 ppm εμφανίζονται συνήθως τα αρωματικά πρωτόνια της ένωσης. Στα 8.11 ppm υπάρχει μία διπλή κορυφή που ολοκληρώνει για δύο πρωτόνια και αφορά στα πρωτόνια των θέσεων 3 και 5 του αρωματικού δακτυλίου B και εμφανίζει σταθερά σύζευξης 8.4 Hz. Στο εύρος 7.94 έως

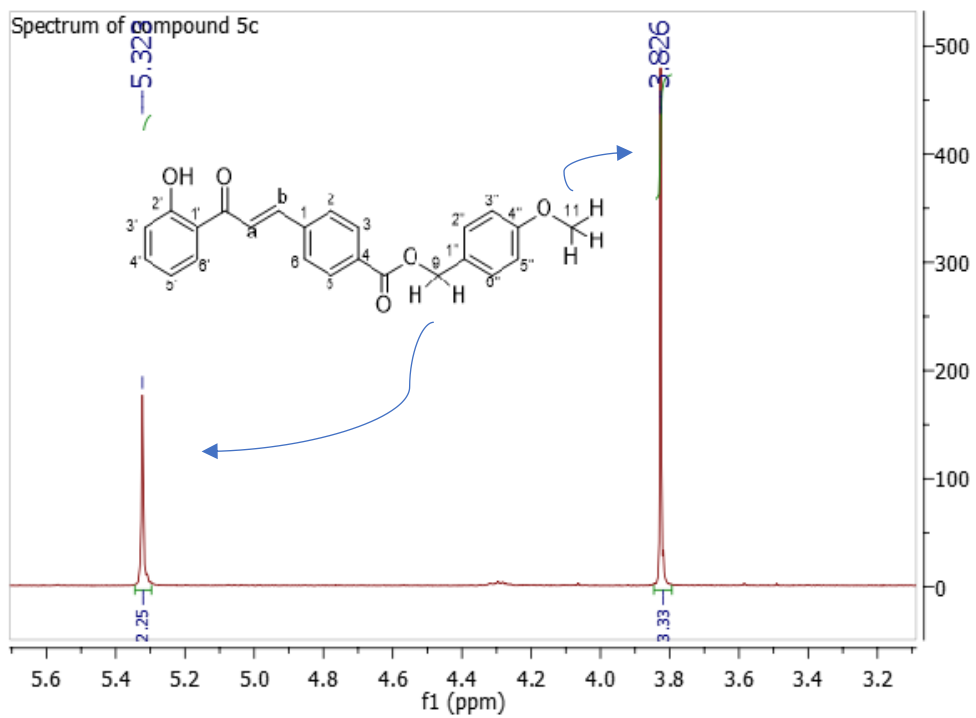
7.89 Hz, υπάρχει μία πολλαπλή κορυφή που ολοκληρώνει για δύο πρωτόνια: το H-b του διπλού δεσμού trans γεωμετρίας και του αρωματικού πρωτονίου της θέσης 6' του δακτυλίου A. Η επόμενη πολλαπλή κορυφή εντοπίζεται μεταξύ 7.74 και 7.69 ppm και ολοκληρώνει για 3 πρωτόνια: το H-a του διπλού δεσμού trans γεωμετρίας, και τα αρωματικά πρωτόνια των θέσεων 2 και 6 του δακτυλίου A. Το αρωματικό πρωτόνιο της θέσης 4' του A δακτυλίου δημιουργεί από μία σύζευξη με τα πρωτόνια των θέσεων 3' και 5', που βρίσκονται σε ortho θέση ως προς αυτό και μία σύζευξη με το πρωτόνιο της θέσης 6', που βρίσκεται σε meta θέση, οπότε αυτό αποτυπώνεται σε μία κορυφή τριπλή διπλών, με σταθερές σύζευξης $J=8.4$ και 1.5 Hz. Στη θέση 7.40 ppm, υπάρχει μία διπλή κορυφή με σταθερά σύζευξης 8.7 Hz, που ολοκληρώνει για δύο πρωτόνια: τα αρωματικά των θέσεων 2'' και 6'' του τρίτου δακτυλίου. Αντίστοιχα, το αρωματικό πρωτόνιο της θέσης 3' δημιουργεί μία σύζευξη με το πρωτόνιο της θέσης 4', που βρίσκεται σε ortho θέση και μία με το πρωτόνιο της θέσης 5', που βρίσκεται σε meta θέση, που μεταφράζεται σε μία διπλή διπλών κορυφή, με σταθερές σύζευξης 8.4 και 0.9 Hz. Τα υπόλοιπα αρωματικά πρωτόνια των θέσεων 5', 3'', 5'' εμφανίζονται μέσω μίας πολλαπλής κορυφής στο εύρος 6.99 έως 6.91 ppm.



Σχήμα 26. Τμήμα του φάσματος της ένωσης 5c, που απεικονίζει την αρωματική περιοχή

Προχωρώντας στα υψηλότερα πεδία του φάσματος, στα 5.32 ppm, εντοπίζεται η χαρακτηριστική κορυφή του προϊόντος που επαληθεύει τον σχηματισμό του εστέρα. Πρόκειται για μία απλή κορυφή που ολοκληρώνει για τα δύο πρωτόνια της θέσης 9.

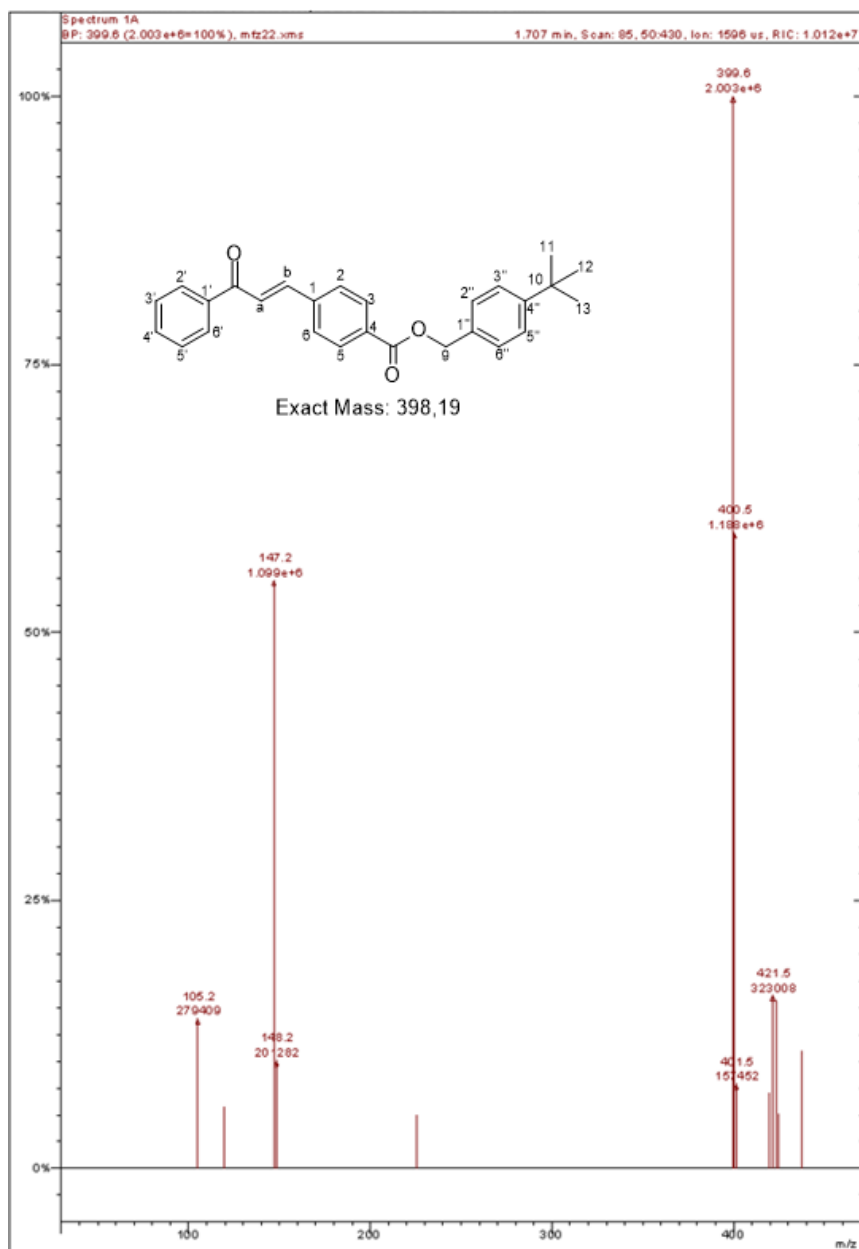
Τέλος, στα 3.83 ppm απορροφούν τα πιο προστατευμένα πρωτόνια της ένωσης, δηλαδή τα πρωτόνια του μεθυλίου της θέσης 11.



Σχήμα 27. Τμήμα του φάσματος της ένωσης 5c, που αφορά στα πρωτόνια των θέσεων 9 και 11

Φασματομετρική μελέτη MS

Στο Σχήμα 28 παρουσιάζεται το φάσμα MS της ένωσης **6d**.



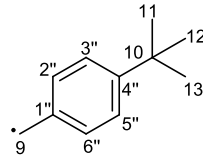
Σχήμα 28. Φάσμα MS της ένωσης **6d**

Στο φάσμα παρατηρείται μία κορυφή σε λόγο μάζας προς φορτίο 399.6 m/z με ένταση 100%, η οποία αποτελεί το κύριο ιόν I⁺, ενώ παράλληλα αντιστοιχεί και στο μοριακό ιόν M⁺ της ένωσης. Η κορυφή δεξιά της στα 421 m/z με ένταση 16.1%, η οποία αντιστοιχεί στο μοριακό ιόν αυξημένο κατά ένα άτομο νατρίου Na.

Στα 148 m/z εμφανίζεται κορυφή με ένταση 10.0%, η οποία αφορά στο θραύσμα [M-251]⁺, δηλαδή:

Chemical Formula: C₁₁H₁₅[•]

Exact Mass: 147,12

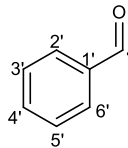


Στα 147 m/z φαίνεται κορυφή έντασης 54.8%, που αφορά στο θραύσμα [M-251].

Τέλος, η κορυφή στα 105.2 m/z με ένταση 13.9%, αντιστοιχεί στο θραύσμα [M-293], δηλαδή:

Chemical Formula: C₇H₅O[•]

Exact Mass: 105,03

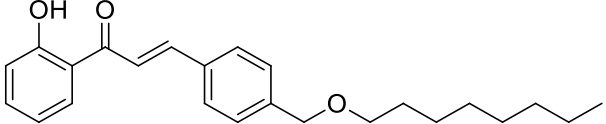
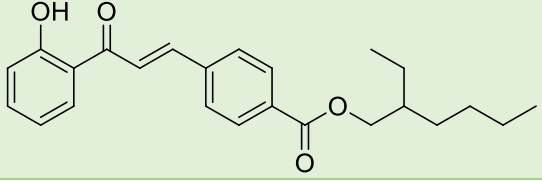
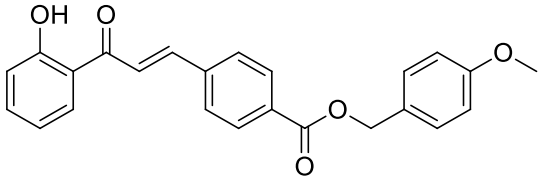
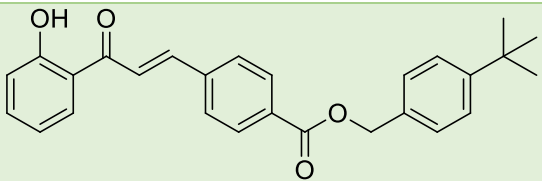
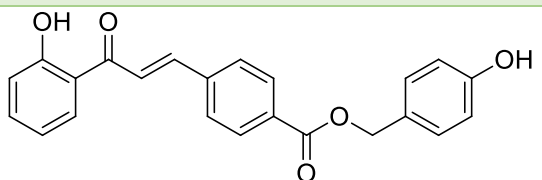
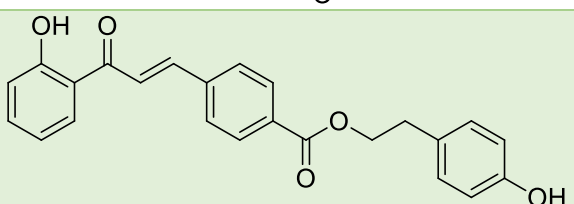
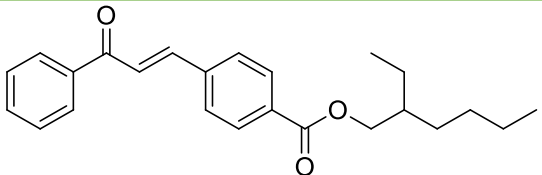


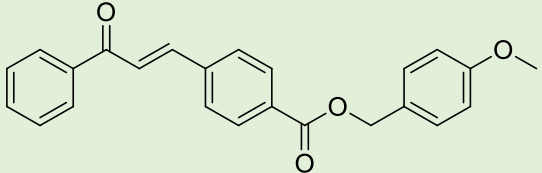
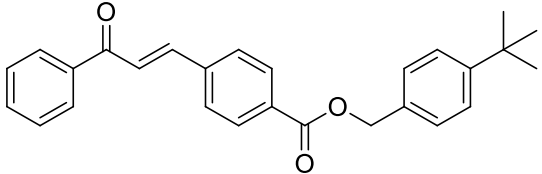
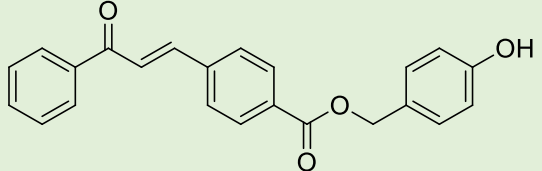
6.3. Αξιολόγηση Αντιοξειδωτικής Δράσης των νέων μορίων

6.3.1. Ικανότητα αλληλεπίδρασης με τη σταθερή ελεύθερη ρίζα DPPH

Η αντιοξειδωτική δράση των ενώσεων εκφράζεται ως το ποσοστό δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας. Στον ακόλουθο Πίνακα παρατίθενται τα αποτελέσματα από την εφαρμογή της μεθόδου DPPH, για κάθε δείγμα σε τελική συγκέντρωση 100 μ M και για μετρήσεις που λήφθηκαν έπειτα από 20 min και 60 min αντίδρασης με τη ρίζα.

Πίνακας 8. Αποτελέσματα αξιολόγησης της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο της αλληλεπίδρασης με τη σταθερή ελεύθερη ρίζα DPPH

Κωδικός	Δομή	% Αλληλεπίδρασης με τη ρίζα (100 μ M)	
		20 min	60 min
5a		-	10.6
5b		6.6	9.4
5c		7.5	9.5
5d		7.9	9.6
5e		8.7	10.6
5f		9.2	11.6
6b		3.7	-

6c		6.4	8.0
6d		4.1	-
6e		4.3	-

Από τα αποτελέσματα της μεθόδου προκύπτουν συμπεράσματα που αφορούν στη σχέση δομής και αντιοξειδωτικής δράσης του κάθε μορίου, ενώ μπορεί να διεξαχθεί και πιο συγκεκριμένη σύγκριση μεταξύ των εστέρων που προέρχονται από την ίδια αλκοόλη. Τα ποσοστά που καταγράφηκαν κυμαίνονται από το 0 - 11.6 % και δηλώνουν πως γενικότερα οι εστέρες που συντέθηκαν και μελετήθηκαν δεν παρουσίασαν ικανοποιητική αντιοξειδωτική δράση με την εφαρμογή της συγκεκριμένης μεθόδου. Ακόμα, η αύξηση της τάξης του 2% που σημειώθηκε με την πάροδο του χρόνου αντίδρασης, από τα 20 στα 60 min, θεωρείται ελάχιστη. Συνεπώς ο χρόνος δεν αποτελεί έναν παράγοντα που επηρεάζει την αλληλεπίδραση των συγκεκριμένων ενώσεων με τη ρίζα DPPH.

Η δέσμευση της ελεύθερης ρίζας από τους εστέρες **5a-5f**, φαίνεται να είναι ανεξάρτητη από το τι διαδέχεται την εστερομάδα. Παρατηρείται πως τόσο οι ενώσεις με αλειφατική αλυσίδα όσο και εκείνες με αρωματικούς δακτυλίους στο μόριό τους, παρουσιάζουν κοντινά ποσοστά αλληλεπίδρασης 0-11.6%, που τις καθιστούν αδρανείς.

Ωστόσο, παρατηρείται πως οι εστέρες **5e** και **5f** οι οποίοι διαθέτουν ένα φαινολικό υδροξύλιο στο τμήμα ου προέκυψε από την αλκοόλη που χρησιμοποιήθηκε, εμφανίζουν ελαφρώς υψηλότερη δράση (10.6% και 11.6% αλληλεπίδραση με τη ρίζα, αντίστοιχα), συγκριτικά με τους υπόλοιπους που δεν διαθέτουν αντίστοιχο δότη πρωτονίου στη δομή τους. Σημειώνεται πως το φαινολικό υδροξύλιο στην θέση 2' του δακτυλίου A που διαθέτουν όλοι εστέρες που προήλθαν από τη χαλκόνη **3a** (**5a-5f**), δεν βοηθά στην ενίσχυση της αντιοξειδωτικής δράσης, καθώς συμμετέχει σε έναν ισχυρό δεσμό υδρογόνου με το γειτονικό καρβονύλιο και δεν μπορεί να δεσμεύσει τη ρίζα.

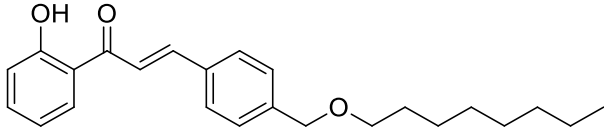
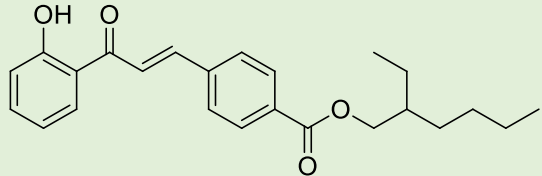
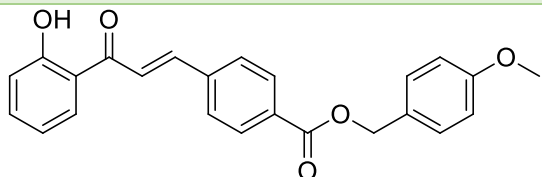
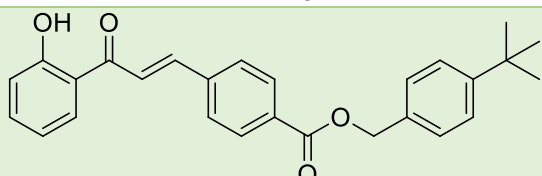
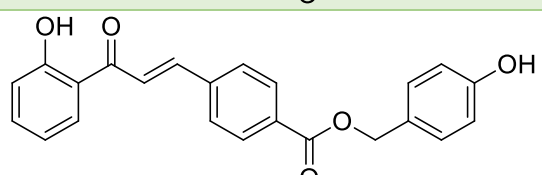
Οι εστέρες **6b-6e**, είναι εξίσου αδρανείς εμφανίζοντας ακόμη χαμηλότερα ποσοστά αλληλεπίδρασης με τη ρίζα. Μάλιστα διακρίνεται πως με την πάροδο του χρόνου αντίδρασης (από τα 20 στα 60 min), η δράση των ενώσεων εξαφανίζεται πλήρως.

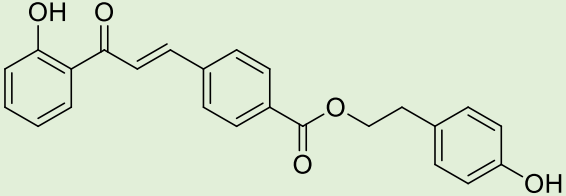
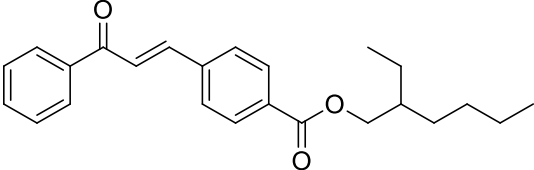
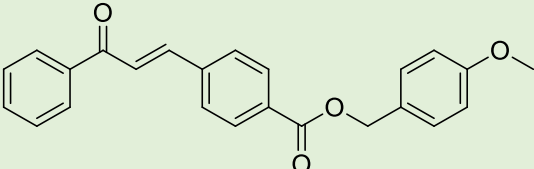
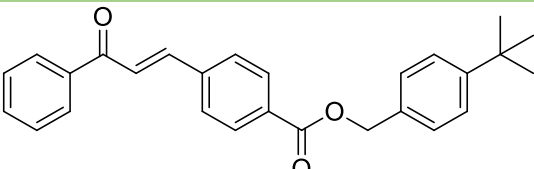
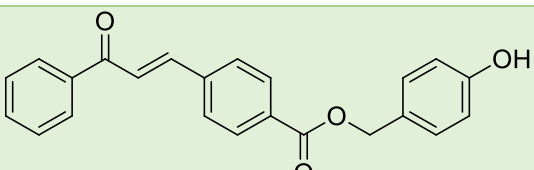
Αυτό δικαιολογείται καθώς οι δομές αυτές δεν διαθέτουν κάποια ομάδα που θα μπορούσε να δράσει ως δότης πρωτονίου δεσμεύοντας την ρίζα.

Η χαμηλή αποτελεσματικότητα όλων των ενώσεων μπορεί ακόμη να αποδοθεί και στον μεγάλο όγκο των δομών. Αυτό φαίνεται και στις περιπτώσεις των εστέρων **5e**, **5f**, **6e**, οι οποίοι ενώ διαθέτουν ένα φαινολικό υδροξύλιο που θα μπορούσε να ανάγει τη ρίζα, δεν επαρκεί για να αποδώσει επιθυμητή δράση στο μόριο.

6.3.2. Ικανότητα αναστολής της λιπιδικής υπεροξειδωσης του λινολεϊκού οξέος που επάγεται από τον εκκινητή ελευθέρων ριζών AAPH

Πίνακας 9. Αποτελέσματα αξιολόγησης αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο αναστολής της λιπιδικής υπεροξειδωσης του λινολεϊκού οξέος που επάγεται από τον εκκινητή ελευθέρων ριζών AAPH

Κωδικός	Δομή	% αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης
5a		60
5b		22
5c		69
5d		85
5e		32

5f		15
6b		91
6c		72
6d		83
6e		34

Τα αποτελέσματα που διεξήχθησαν δείχνουν πως η πλειονότητα των ενώσεων που συντέθηκαν εμφανίζει ικανοποιητική αντιοξειδωτική δράση με τη μέθοδο της αναστολής της λιπιδικής υπεροξειδωσης. Τα ποσοστά παρεμπόδισης των ενώσεων που παρουσίασαν καλή αντιοξειδωτική συμπεριφορά κυμαίνονται από 60-91%.

Συγκρίνοντας τους εστέρες που προέκυψαν από βενζυλικές αλκοόλες, και συγκεκριμένα τον εστέρα **5c** (69% αναστολή) με τον εστέρα **6c** (72% αναστολή) που προέκυψαν από την 4-μεθοξυ-βενζυλική αλκοόλη; τον εστέρα **5d** (85% αναστολή) με τον εστέρα **6d** (83% αναστολή) που προέκυψαν από την 4-τερτ-βενζυλική αλκοόλη; τον εστέρα **5e** (32% αναστολή) με τον εστέρα **6e** (34% αναστολή) που προέκυψαν από την 4-υδροξυ-βενζυλική αλκοόλη, παρατηρούμε πως το αποτέλεσμα της δράσης είναι ανεξάρτητο της ύπαρξης ή μη ενός υποκαταστάτη υδροξυλίου στη θέση 2' του δακτυλίου Α. Ωστόσο, στην περίπτωση των εστέρων **5b** και **6b** που προέκυψαν από την αλειφατική 2-αιθυλο-εξανόλη, φαίνεται η απουσία του υδροξυλίου ευνοεί κατά πολύ τη δράση, με την ένωση **6b** να εμφανίζει το υψηλότερο ποσοστό αναστολής της λιπιδικής υπεροξειδωσης (91%, έναντι 22% για τον εστέρα **5b**).

Επιπλέον, φαίνεται πως συνολικά η παρουσία φαινολικών υδροξυλίων στο τμήμα της δομής που προήλθε από την βενζυλική αλκοόλη που χρησιμοποιήθηκε, δεν ευνοεί τη δράση, δίνοντας ποσοστά αναστολής της λιπιδικής υπεροξειδωσης από 15% έως 34% (εστέρες **5e**, **5f**, **6e**).

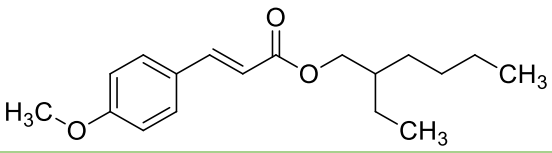
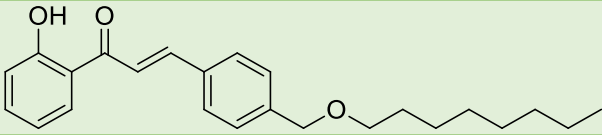
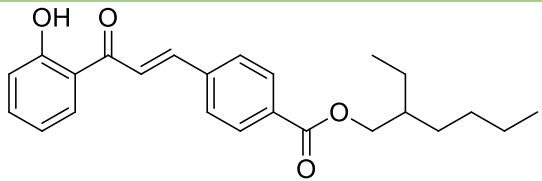
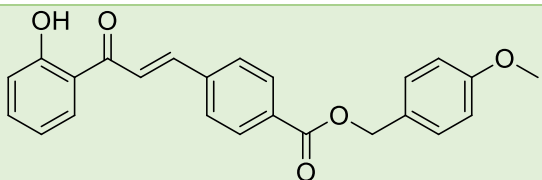
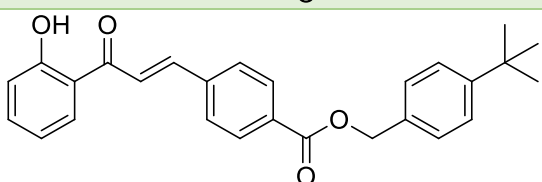
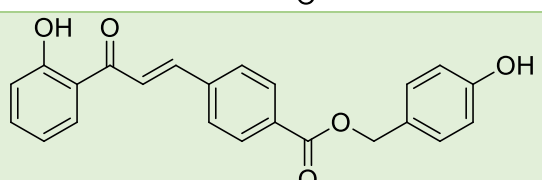
6.4. Αξιολόγηση της Φωτοπροστατευτικής ικανότητας των νέων μορίων

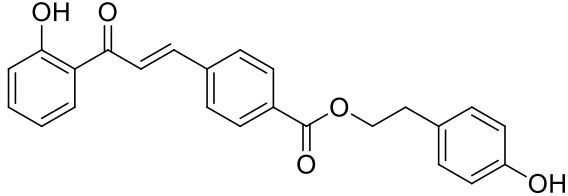
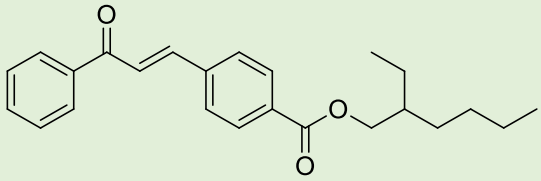
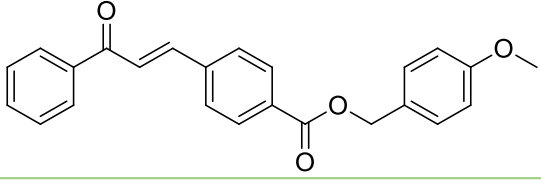
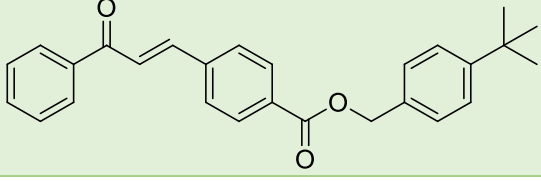
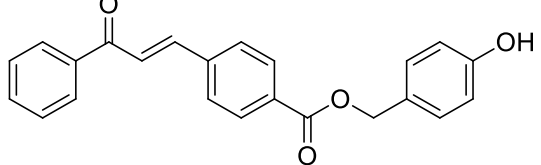
Στην παρούσα ενότητα αξιολογήθηκε η φωτοπροστατευτική δράση των ενώσεων με βάση τους εξής παράγοντες: τον δείκτη ηλιακής προστασίας SPF, τον λόγο απορρόφησης UVA/UVB, το κρίσιμο μήκος κύματος, λ_c και το μέγιστο μήκος κύματος λ_{max} .

Η τιμή του μέγιστου μήκους κύματος (λ_{max}) των ενώσεων προσδιορίζεται σε φασματοφωτόμετρο υπεριώδους – ορατού (UV-Vis) και αποτελεί μία πρώτη ένδειξη για την προστασία των αντηλιακών φίλτρων έναντι της UVA ή UVB ακτινοβολίας. Σύμφωνα με τα στοιχεία του πίνακα 9, φαίνεται πως όλοι οι νέοι εστέρες απορροφούν στην περιοχή από 307nm έως 316nm (UVB περιοχή), γεγονός που φανερώνει την τάση τους να προστατέψουν έναντι των UVB ακτίνων.

Τα αποτελέσματα παρατίθενται συγκεντρωτικά στον ακόλουθο Πίνακα.

Πίνακας 10. Αποτελέσματα αξιολόγησης φωτοπροστατευτικής ικανότητας

Κωδικός	Δομή	SPF	λ_c (nm)	λ_{max} (nm)	UVA/UVB
OMC		8.19	337.7	309.8	0.15
5a		7.73	375.6	315	0.58
5b		6.2	374.4	315.6	0.55
5c		12.2	375.8	316.2	0.59
5d		8.23	376.1	315.4	0.59
5e		2.85	376.3	315.8	0.57

5f		7.16	375.3	316	0.60
6b		4.76	328	307	0.13
6c		4.89	330	309	0.14
6d		3.04	329.3	309	0.13
6e		1.65	326.2	312	0.11

Όπως φαίνεται από τα αποτελέσματα που αναγράφονται στον παραπάνω Πίνακα, όσον αφορά στις τιμές του δείκτη SPF, οι νέοι εστέρες **5a-5e**, οι οποίοι διαθέτουν μία υδροξυ-ομάδα στη θέση C-2', παρουσίασαν πολύ καλά αποτελέσματα και συγκρίσιμα με αυτά του OMC, επιβεβαιώνοντας την τάση τους να χρησιμοποιηθούν ως UVB φίλτρα.

Πιο συγκεκριμένα, ο εστέρας **5c**, ο οποίος προέκυψε από την 4-μεθοξυ-βενζυλο-αλκοόλη, εμφανίζεται να διαθέτει την καλύτερη δράση έναντι των UVB ακτινών με τιμή SPF 12.2, υψηλότερη και από αυτή του εμπορικά χρησιμοποιούμενου φίλτρου OMC (SPF: 8.19). Ακολουθεί ο εστέρας **5d**, που προέκυψε από την 4-τεрт-βουτυλο-βενζυλο-αλκοόλη, με τιμή SPF 8.23 και ύστερα οι **5a** και **5f** με τιμές συγκρίσιμες με αυτές του OMC (SPF: 7.73 και 7.16, αντίστοιχα).

Οι εστέρες της χαλκόνης **3b**, οι οποίοι δεν διαθέτουν το φαινολικό υδροξύλιο στη θέση C-2' (**6b-6f**), εμφάνισαν χαμηλότερες τιμές δείκτη SPF, από 1.65 έως 4.89, με το 4-μεθοξυ-βενζυλο-παράγωγο (**6f**) να παρουσιάζει και πάλι την υψηλότερη τιμή (SPF: 4.89).

Τα τελευταία παράγωγα, θα μπορούσαν ίσως να χρησιμοποιηθούν ενισχύοντας τη δράση των υπόλοιπων φίλτρων σε ένα προϊόν.

Όσον αφορά στο κρίσιμο μήκος κύματος λ_c , παρατηρείται πως όλα τα ανάλογα που προέρχονται από την χαλκόνη **3a**, δηλαδή οι εστέρες **5a – 5f**, εμφανίζουν τιμές λ_c υψηλότερες από τα 370 nm, και συγκεκριμένα περίπου από 374 nm έως 376 nm, γεγονός που δηλώνει την ικανότητά τους να λειτουργήσουν ως φίλτρα ευρέως φάσματος, προστατεύοντας έναντι των UVA και UVB ακτινών. Ωστόσο, οι εστέρες που προέκυψαν από την χαλκόνη **3b**, δηλαδή οι **6b – 6e**, παρουσιάζουν κρίσιμο μήκος κύματος μεταξύ 326.2 και 330 nm, υποδηλώνοντας δυνατότητα ικανοποιητικής προστασίας έναντι της UVB ακτινοβολίας.

Τα αποτελέσματα του λόγου απορρόφησης UVA/UVB, αποτελούν ακόμα μία ένδειξη πως οι ενώσεις που προέρχονται από την χαλκόνη **3a (5a – 5f)**, μπορούν να δράσουν ως φίλτρα έναντι της UVA ακτινοβολίας, αφού αυτός βρίσκεται στο εύρος από 0.55 έως 0.60. Ο αντίστοιχος λόγος για τους εστέρες **6b-6e** είναι πολύ χαμηλότερος και κυμαίνεται από 0.11 έως 0.13, επιβεβαιώνοντας το ότι τα ανάλογα αυτά δεν μπορούν να δράσουν ως πιθανά UVA φίλτρα.

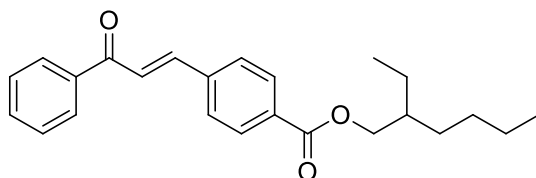
Συνολικά, διαπιστώνεται πως η παρουσία μιας υδροξυ-ομάδας στη θέση 2' του αρωματικού δακτυλίου A των νέων ενώσεων, ενισχύει τη φωτοπροστατευτική τους δράση, οδηγώντας σε αντηλιακά φίλτρα ευρέως φάσματος. Πιο συγκεκριμένα, φαίνεται πως τα καλύτερα αποτελέσματα δίνονται από τους εστέρες 5c και 5d, οι οποίοι προέκυψαν από την 4-μεθοξυ-βενζυλο-αλκοόλη και την 4-τεрт-βουτυλο-αλκοόλη, αντίστοιχα, τα οποία είναι δομικά χαρακτηριστικά της αβονεζόνης, ενός γνωστού UVA φίλτρου.

7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην προκειμένη εργασία πραγματοποιήθηκε ο σχεδιασμός, η σύνθεση, ο δομικός χαρακτηρισμός και η αξιολόγηση αντιοξειδωτικής και φωτοπροστατευτικής ικανότητας, νέων αναλόγων χαλκόνης. Συνολικά, συντέθηκαν δύο χαλκόνες (**3a** και **3b**) και δέκα νέοι εστέρες ως ανάλογα αυτών των χαλκονών (**5a-5f**, **6b-6e**).

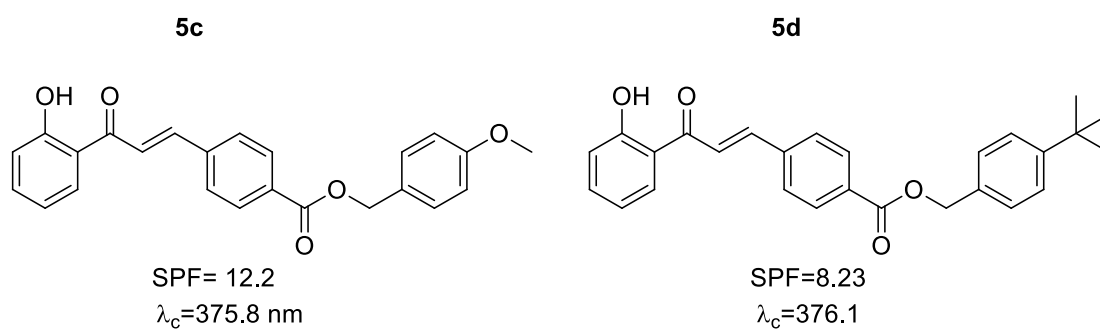
Αρχικά, συντέθηκαν οι χαλκόνες **3a** και **3b** μέσω της αντίδρασης Claisen-Schmidt με αποδόσεις 68 και 46%, αντίστοιχα. Στη συνέχεια, οι παραπάνω ενώσεις χρησιμοποιήθηκαν ως αντιδρώντα, μαζί με έξι διαφορετικές αλειφατικές και αρωματικές αλκοόλες, προκειμένου να συντεθούν μέσω της αντίδρασης εστεροποίησης Steglich, δέκα νέοι εστέρες (**5a-5f**, **6b-6e**) με αποδόσεις που κυμάνθηκαν από 30-50% και θεωρούνται ικανοποιητικές, καθώς τα επιθυμητά μόρια παρελήφθησαν σε υψηλή καθαρότητα ύστερα από διεργασίες καθαρισμού.

Όλοι οι εστέρες που σχηματίστηκαν εξετάστηκαν ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση μέσω δύο in vitro μεθόδων. Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν, φάνηκε πως η ικανότητα όλων των εστέρων να δεσμεύσουν την σταθερή ελεύθερη ρίζα DPPH είναι εξαιρετικά ασθενής, με τα ποσοστά δέσμευσης της ρίζας να κυμαίνονται από 0 έως 11.6%. Ωστόσο, ορισμένοι από τους συντιθέμενους εστέρες παρουσίασαν σημαντική ικανότητα αναστολής της λιπιδικής υπεροξειδωσης που προκαλείται από τον εκκινητή AAPH. Συγκεκριμένα, οι ενώσεις με την καλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα ανέστειλαν την λιπιδική υπεροξειδωση σε ποσοστά από 72% έως και 91%, με τον εστέρα **6b**, ο οποίος προέρχεται από την αλειφατική 2-αιθυλο-εξανόλη και δεν διαθέτει αρωματικό υδροξύλιο στον δακτύλιο A, να παρουσιάζει το μέγιστο ποσοστό αναστολής της οξειδωσης.



Σχήμα 29. Δομή του εστέρα **6b**, ο οποίος ανέστειλε την λιπιδική υπεροξειδωση του λινολεϊκού οξέος σε ποσοστό 91%

Όσον αφορά στα αποτελέσματα της φωτοπροστατευτικής ικανότητας των ενώσεων που ελήφθησαν στην εταιρεία Cellco Chemicals, φαίνεται πως η παρουσία μιας υδροξυ-ομάδας στη θέση 2' του αρωματικού δακτυλίου A των νέων ενώσεων, ενισχύει τη φωτοπροστατευτική τους δράση, οδηγώντας σε αντηλιακά φίλτρα ευρέως φάσματος ($\lambda > 370\text{nm}$) (**5a-5f**). Συγκεκριμένα, καλύτερα αποτελέσματα δίνονται από τους εστέρες **5c** και **5d**, οι οποίοι προέκυψαν από την 4-μεθοξυ-βενζυλο-αλκοόλη και την 4-τερτ-βουτυλο-αλκοόλη, αντίστοιχα, τα οποία είναι δομικά χαρακτηριστικά της αβονεζόνης, ενός γνωστού UVA φίλτρου.



Σχήμα 30. Νέοι εστέρες, ανάλογα χαλκονών, που εμφάνισαν την καλύτερη φωτοπροστατευτική δράση

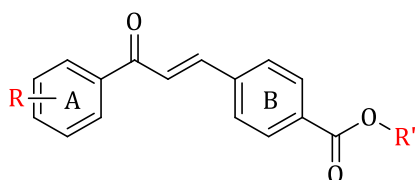
Σημειώνεται πως η εταιρεία Cellco Chemicals έδειξε ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τα αποτελέσματα που έδωσαν οι δύο παραπάνω εστέρες, προτείνοντας τη σύνθεσή τους σε μεγαλύτερη κλίμακα και την ενσωμάτωσή τους σε αντηλιακό προϊόν.

8. ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

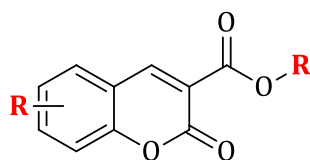
Από την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της αντιοξειδωτικής και της φωτοπροστατευτικής δράσης των νέων μορίων που συντέθηκαν, προκύπτουν προτάσεις για μελλοντική έρευνα.

Όσον αφορά στη σύνθεση των τελικών εστέρων, προτείνεται η δομική τροποποίησή τους προς ενίσχυση των αποτελεσμάτων αξιολόγησης. Αρχικά, τροποποίηση θα μπορούσε να υποστεί ο δακτύλιος A, τοποθετώντας τον υποκαταστάτη της υδροξυομάδας σε διαφορετική θέση από την 2, ώστε να μη σχηματίζεται δεσμός υδρογόνου και να μπορεί να συνεισφέρει στην αντιοξειδωτική δράση του μορίου. Επίσης θα μπορούσε να εισέλθει άλλος υποκαταστάτης, όπως π.χ. μία μεθοξυ-ομάδα.

Άλλη δομική τροποποίηση προς ενίσχυση της αντιοξειδωτικής δράσης των ενώσεων, θα μπορούσε να αποτελεί η χρήση διαφορετικών αλκοολών. Για παράδειγμα, αλειφατικές αλκοόλες με λιγότερα άτομα άνθρακα, ώστε να προκύπτουν λιγότερο ογκώδη μόρια.



Επιπλέον, ο σχηματισμός των εστέρων θα μπορούσε να προκύψει και από άλλες κατηγορίες φυσικών προϊόντων, όπως είναι η κουμαρίνη, η οποία διαθέτει βιβλιογραφικά επιβεβαιωμένη φωτοπροστατευτική δράση.



Την καλύτερη φωτοπροστατευτική δράση στην παρούσα εργασία, εμφάνισαν οι ενώσεις **5c** και **5d**, για τις οποίες η εταιρεία Cellco Chemicals εκδήλωσε ενδιαφέρον και προτάθηκε η ενσωμάτωσή τους σε αντηλιακό προϊόν στις εγκαταστάσεις της εταιρείας.

9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Elkanzi, N. A., Hrichi, H., Alolayan, R. A., Derafa, W., Zahou, F. M., & Bakr, R. B. (2022). Synthesis of chalcones derivatives and their biological activities: A Review. *ACS Omega*, 7(32), 27769–27786. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c01779>
- [2] DÍAZ-TIELAS, C., GRAÑA, E., REIGOSA, M. J., & SÁNCHEZ-MOREIRAS, A. M. (2016). Biological activities and novel applications of chalcones. *Planta Daninha*, 34(3), 607–616. <https://doi.org/10.1590/s0100-83582016340300022>
- [3] Rozmer, Z., & Perjési, P. (2014). Naturally occurring chalcones and their biological activities. *Phytochemistry Reviews*, 15(1), 87–120. <https://doi.org/10.1007/s11101-014-9387-8>
- [4] Rammohan, A., Reddy, J. S., Sravya, G., Rao, C. N., & Zyryanov, G. V. (2020). Chalcone synthesis, properties and medicinal applications: A Review. *Environmental Chemistry Letters*, 18(2), 433–458. <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00959-w>
- [5] Singh, P., Anand, A., & Kumar, V. (2014). Recent developments in biological activities of chalcones: A mini review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 85, 758–777. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.08.033>
- [6] Bano, S., Javed, K., Ahmad, S., Rathish, I. G., Singh, S., Chaitanya, M., Arunasree, K. M., & Alam, M. S. (2013). Synthesis of some novel chalcones, flavanones and flavones and evaluation of their anti-inflammatory activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 65, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.04.056>
- [7] Sharma, H., Patil, S., Sanchez, T. W., Neamati, N., Schinazi, R. F., & Buolamwini, J. K. (2011). Synthesis, biological evaluation and 3D-QSAR studies of 3-keto salicylic acid chalcones and related amides as novel HIV-1 integrase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 19(6), 2030–2045. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.01.047>
- [8] Osipova, V. P., Polovinkina, M. A., Telekova, L. R., Velikorodov, A. V., Stepkina, N. N., & Berberova, N. T. (2020). Synthesis and antioxidant activity of new hydroxy derivatives of chalcones. *Russian Chemical Bulletin*, 69(3), 504–509. <https://doi.org/10.1007/s11172-020-2790-y>
- [9] Ohkatsu, Y., & Satoh, T. (2008). Antioxidant and photo-antioxidant activities of Chalcone derivatives. *Journal of the Japan Petroleum Institute*, 51(5), 298–308. <https://doi.org/10.1627/jpi.51.298>
- [10] Kłósek, M., Kuropatnicki, A. K., Szliszka, E., Korzonek-Szlacheta, I., & Król, W. (2017). Chalcones target the tumor necrosis factor–related apoptosis-inducing ligand (trail) signaling pathway for cancer chemoprevention. *Nutrition and Functional Foods for Healthy Aging*, 233–244. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-805376-8.00020-4>

- [11] Constantinescu, T., & Lungu, C. N. (2021). Anticancer activity of natural and Synthetic Chalcones. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(21), 11306. <https://doi.org/10.3390/ijms222111306>
- [12] Sumayya, P. C., Mujeeb, V. M. A., & Muraleedharan, K. (2022). Radical scavenging capacity, UV activity, and molecular docking studies of 2', 5', 3, 4-tetrahydrochalcone: An insight into the photoprotection. *Chemical Physics Impact*, 5, 100126. <https://doi.org/10.1016/j.chphi.2022.100126>
- [13] Wijayanti, L. W., Swasono, R. T., Lee, W., & Jumina, J. (2021). Synthesis and evaluation of Chalcone derivatives as novel sunscreen agent. *Molecules*, 26(9), 2698. <https://doi.org/10.3390/molecules26092698>
- [14] Jumina, J., Styaningrum, R. W., Siswanta, D., Triono, S., Priastomo, Y., Harizal, H., Sholikhah, E. N., & Zulkarnain, A. K. (2019). Synthesis and preliminary evaluation of several Chalcone derivatives as sunscreen compounds. *Chemistry Journal of Moldova*, 14(2), 90–96. <https://doi.org/10.19261/cjm.2019.624>
- [15] Mukhtar, S., Morsy, N., Hassan, A., Hafez, T., Hassaneen, H., & Saleh, F. (2022). A review of chalcones: Synthesis, reactions, and biological importance. *Egyptian Journal of Chemistry*, 65, 379–395. <https://doi.org/10.21608/ejchem.2022.112735.5125>
- [16] Yadav, G. D., & Wagh, D. P. (2020). Claisen-Schmidt condensation using Green Catalytic Processes: A Critical Review. *ChemistrySelect*, 5(29), 9059–9085. <https://doi.org/10.1002/slct.202001737>
- [17] Winter, C., Caetano, J. N., Araújo, A. B., Chaves, A. R., Ostroski, I. C., Vaz, B. G., Pérez, C. N., & Alonso, C. G. (2016). Activated carbons for Chalcone production: Claisen-Schmidt condensation reaction. *Chemical Engineering Journal*, 303, 604–610. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.06.058>
- [18] Rayees Ahmad, M., Girija Sastry, V., Bano, N., & Anwar, S. (2016). Synthesis of novel chalcone derivatives by conventional and microwave irradiation methods and their pharmacological activities. *Arabian Journal of Chemistry*, 9, 931–935. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.09.002>
- [19] Shin, D. W. (2020). Various biological effects of solar radiation on skin and their mechanisms: Implications for Phototherapy. *Animal Cells and Systems*, 24(4), 181–188. <https://doi.org/10.1080/19768354.2020.1808528>
- [20] Gasparro, F. P. (2000a). Sunscreens, skin photobiology, and skin cancer: The need for UVA protection and evaluation of efficacy. *Environmental Health Perspectives*, 108(suppl 1), 71–78. <https://doi.org/10.1289/ehp.00108s171>
- [21] Firelands Health. (2023). *UV index: Exposure, protection and consequences* - firelands.com. Firelands Regional Medical Center. <https://www.firelands.com/blog/uv-index-exposure-protection-and-consequences>

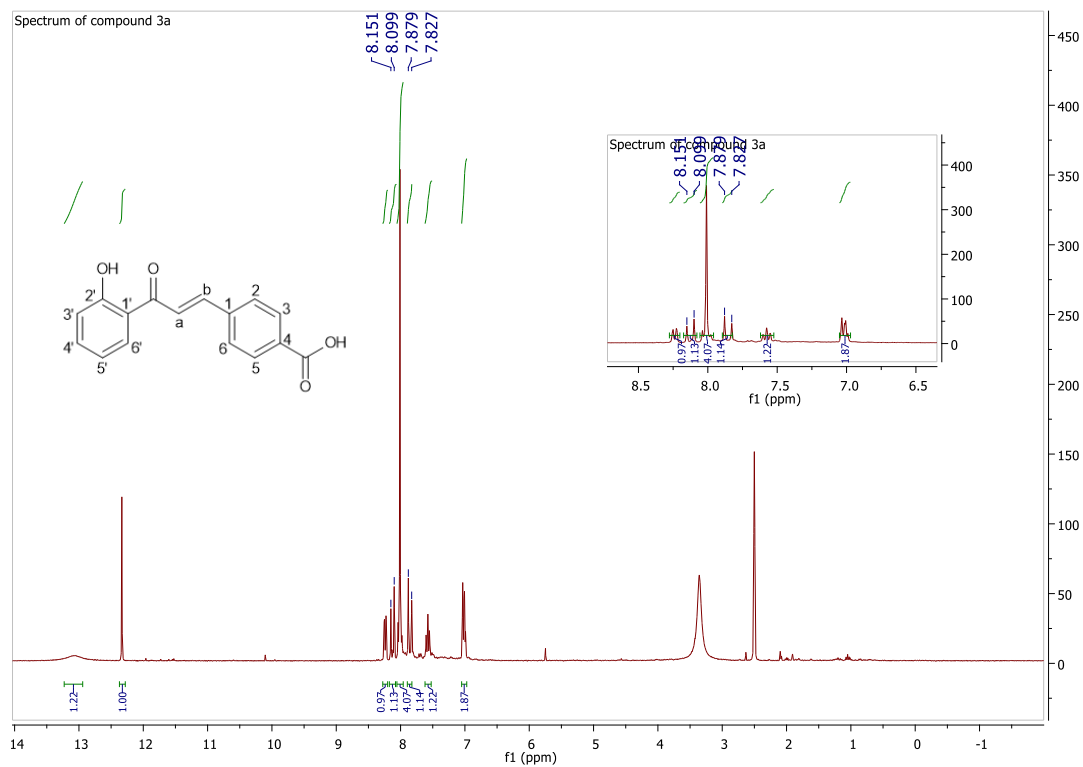
- [22] Drissi, M., Carr, E., & Housewright, C. (2021a). Sunscreen: A brief walk through history. *Baylor University Medical Center Proceedings*, 35(1), 121–123. <https://doi.org/10.1080/08998280.2021.1966602>
- [23] Svarc, F. (2015). A brief illustrated history on Sunscreens and Sun Protection. *Pure and Applied Chemistry*, 87(9–10), 929–936. <https://doi.org/10.1515/pac-2015-0303>
- [24] Bailey, A. (2020, May 15). *Sun protection through the ages*. Heifer International. <https://www.heifer.org/blog/sun-protection-through-the-ages-infographic.html>
- [25] Kaur, A., Thatai, P., Sapra, B. (2014). Need of UV protection and evaluation of efficacy of sunscreens. *Journal of cosmetic science*. 65(3). 315-45
- [26] Γιαννακοπούλου Γ., (2022). *Φυσικά συστατικά στα αντηλιακά. Τοπικές συνθέσεις και αξιολόγηση in vitro του δείκτη SPF*. Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία. Σχολή επιστημών υγείας και πρόνοιας, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής. https://polynoe.lib.uniwa.gr/xmlui/bitstream/handle/11400/3325/Giannakopoulou_202133.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- [27] Gilbert, E., Pirot, F., Bertholle, V., Roussel, L., Falson, F., & Padois, K. (2013). Commonly used UV filter toxicity on biological functions: Review of Last Decade studies. *International Journal of Cosmetic Science*, 35(3), 208–219. <https://doi.org/10.1111/ics.12030>
- [28] Shaath, N. A. (2010). Ultraviolet filters. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 9(4), 464–469. <https://doi.org/10.1039/b9pp00174c>
- [29] Manaia, E. B., Kaminski, R. C., Corrêa, M. A., & Chiavacci, L. A. (2013). Inorganic UV filters. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49(2), 201–209. <https://doi.org/10.1590/s1984-82502013000200002>
- [30] Chen, C. (2015). Sinapic acid and its derivatives as medicine in oxidative stress-induced diseases and aging. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2016/3571614>
- [31] Sheahan, J. J. (1996). Sinapate Esters Provide Greater UV-B Attenuation than Flavonoids in *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae). *American Journal of Botany*, 83(6), 679–686. <https://doi.org/10.2307/2445845>
- [32] Bi, B., Tang, J., Han, S., Guo, J., & Miao, Y. (2017). Sinapic acid or its derivatives interfere with abscisic acid homeostasis during *Arabidopsis thaliana* seed germination. *BMC Plant Biology*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-017-1048-9>
- [33] Peyrot, C., Mention, M. M., Brunissen, F., & Allais, F. (2020). Sinapic acid esters: Octinoxate substitutes combining suitable UV protection and antioxidant activity. *Antioxidants*, 9(9), 782. <https://doi.org/10.3390/antiox9090782>

- [34] FNA, & NSF. (2022). *Arabidopsis thaliana*. iNaturalist. Retrieved 2023, from https://www.inaturalist.org/guide_taxa/495156
- [35] Tian, L., Huang, L., Cui, H., Yang, F., & Li, Y. (2021). The toxicological impact of the sunscreen active ingredient octinoxate on the photosynthesis activity of chlorella sp.. *Marine Environmental Research*, 171, 105469. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2021.105469>
- [36] Zhong, X., Downs, C. A., Li, Y., Zhang, Z., Li, Y., Liu, B., Gao, H., & Li, Q. (2020). Comparison of toxicological effects of oxybenzone, Avobenzone, octocrylene, and octinoxate sunscreen ingredients on cucumber plants (*Cucumis sativus* L.). *Science of The Total Environment*, 714, 136879. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136879>
- [37] He, hailun, Li, anqi, Li, shiqin, Tang, jie, Li, li, & Xiong, lidan. (2021). Natural components in sunscreens: Topical formulations with Sun Protection Factor (SPF). *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 134, 111161. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.111161>
- [38] Pantelic, M. N., Wong, N., Kwa, M., & Lim, H. W. (2023). Ultraviolet filters in the United States and European Union: A review of safety and implications for the future of US sunscreens. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 88(3), 632–646. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2022.11.039>
- [39] Addor, F. A., Barcaui, C. B., Gomes, E. E., Lupi, O., Marçon, C. R., & Miot, H. A. (2022). Sunscreen lotions in the dermatological prescription: Review of concepts and controversies. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 97(2), 204–222. <https://doi.org/10.1016/j.abd.2021.05.012>
- [40] Jesus, A., Sousa, E., Cruz, M., Cidade, H., Lobo, J., & Almeida, I. (2022). UV filters: Challenges and prospects. *Pharmaceuticals*, 15(3), 263. <https://doi.org/10.3390/ph15030263>
- [41] Schalka, S., & Reis, V. M. (2011). Fator de Proteção Solar: Significado e controvérsias. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 86(3), 507–515. <https://doi.org/10.1590/s0365-05962011000300013>
- [42] Wu, P.-S., Huang, L.-N., Guo, Y.-C., & Lin, C.-C. (2014). Effects of the novel poly(methyl methacrylate) (PMMA)-Encapsulated Organic Ultraviolet (UV) filters on the UV absorbance and in vitro sun protection factor (SPF). *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 131, 24–30. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2014.01.006>
- [43] Zou, W., Ramanathan, R., Urban, S., Sinclair, C., King, K., Tinker, R., & Bansal, V. (2022). Sunscreen testing: A critical perspective and future roadmap. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 157, 116724. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116724>

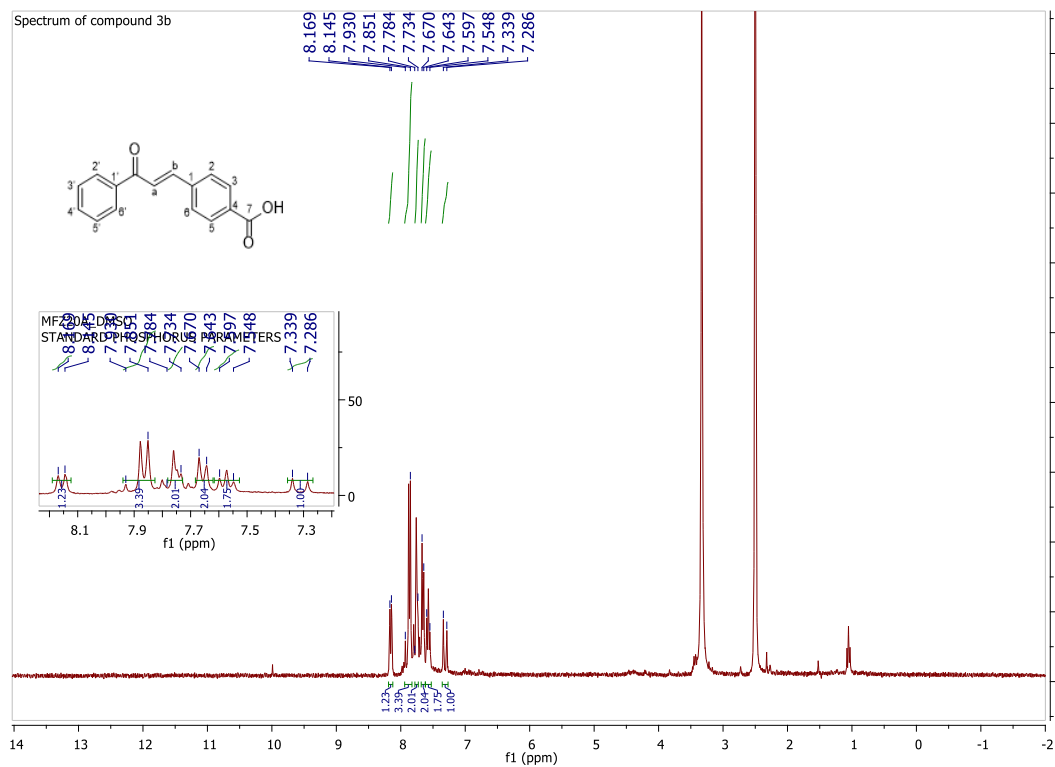
- [44] Heinrich, U., Tronnier, H., Kockott, D., Kuckuk, R., & Heise, H. M. (2004). Comparison of sun protection factors determined by an in vivo and different in vitro methodologies: A study with 58 different commercially available sunscreen products. *International Journal of Cosmetic Science*, 26(2), 79–89. <https://doi.org/10.1111/j.0412-5463.2004.00207.x>
- [45] Kakuda, L., Berardo Gonçalves Maia Campos, P. M., Bordini Zanin, R., & Noronha Favaro, L. (2023). Development of multifunctional sunscreens: Evaluation of physico-mechanical and film-forming properties. *International Journal of Pharmaceutics*, 635, 122705. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2023.122705>
- [46] Μαρινοπούλου Μ., (2020). *Σύνθεση και μελέτη της φωτοπροστατευτικής ικανότητας νέων βιοεμπνευσμένων οργανικών ενώσεων*. Διπλωματική εργασία. Σχολή Χημικών Μηχανικών, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο. <https://dspace.lib.ntua.gr/xmlui/handle/123456789/52027>
- [47] Velasco, M. V., Sarruf, F. D., Salgado-Santos, I. M., Haroutiounian-Filho, C. A., Kaneko, T. M., & Baby, A. R. (2008). Broad spectrum bioactive sunscreens. *International Journal of Pharmaceutics*, 363(1–2), 50–57. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.06.031>
- [48] Members of the DGK (German Society for Scientific and Applied Cosmetics) Task Force ‘Sun Protection,’ Gers-Barlag, H., Klette, E., Bimczok, R., Springob, C., Finkel, P., Rudolph, T., Gonzenbach, H. U., Schneider, P. H., Kockott, D., Heinrich, U., Tronnier, H., Bernklau, R., Johncock, W., Langner, R., Driller, H. J., & Westenfelder, H. (2001). In vitro testing to assess the UVA protection performance of Sun Care Products. *International Journal of Cosmetic Science*, 23(1), 3–14. <https://doi.org/10.1046/j.1467-2494.2001.00048.x>
- [49] Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/s0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/s0023-6438(95)80008-5)
- [50] Sirivibulkovit, K., Nouanthavong, S., & Sameenoi, Y. (2018a). Paper-based DPPH assay for antioxidant activity analysis. *Analytical Sciences*, 34(7), 795–800. <https://doi.org/10.2116/analsci.18p014>
- [51] Milardović, S., Iveković, D., & Grabarić, B. S. (2006). A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical. *Bioelectrochemistry*, 68(2), 175–180. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2005.06.005>
- [52] Katopodi, A., Tsotsou, E., Iliou, T., Deligiannidou, G.-E., Pontiki, E., Kontogiorgis, C., Tsopeas, F., & Detsi, A. (2021). Synthesis, bioactivity, pharmacokinetic and biomimetic properties of multi-substituted coumarin derivatives. *Molecules*, 26(19), 5999. <https://doi.org/10.3390/molecules26195999>

- [53] 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. <https://doi.org/10.1007/s11746-003-0812-z>
- [54] Kostopoulou, I., Tzani, A., Polyzos, N.-I., Karadendrou, M.-A., Kritsi, E., Pontiki, E., Liargkova, T., Hadjipavlou-Litina, D., Zoumpoulakis, P., & Detsi, A. (2021). Exploring the 2'-hydroxy-chalcone framework for the development of dual antioxidant and soybean lipoxygenase inhibitory agents. *Molecules*, 26(9), 2777. <https://doi.org/10.3390/molecules26092777>
- [55] Gilles, V., Vieira, M. A., Lacerda Jr., V., Castro, E. V., Santos, R. B., Orestes, E., Carneiro, J. W., & Greco, S. J. (2015). A new, simple and efficient method of Steglich esterification of juglone with long-chain fatty acids: Synthesis of a new class of non-polymeric wax deposition inhibitors for crude oil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20140216>
- [56] Jordan, A., Whymark, K. D., Sydenham, J., & Sneddon, H. F. (2021). A solvent-reagent selection guide for steglich-type esterification of carboxylic acids. *Green Chemistry*, 23(17), 6405–6413. <https://doi.org/10.1039/d1gc02251b>
- [57] Technician, L. (2019, August 17). *Chromatography*. Medium. <https://medium.com/@arvind1prajapati298/chromatography-bc2bc0a56210>
- [58] Editor, I. (2023, January 19). *What is NMR spectroscopy?*. THE INSTRUMENT GURU. https://theinstrumentguru.com/what-is-nmr-spectroscopy/#NMR_spectroscopy_principle

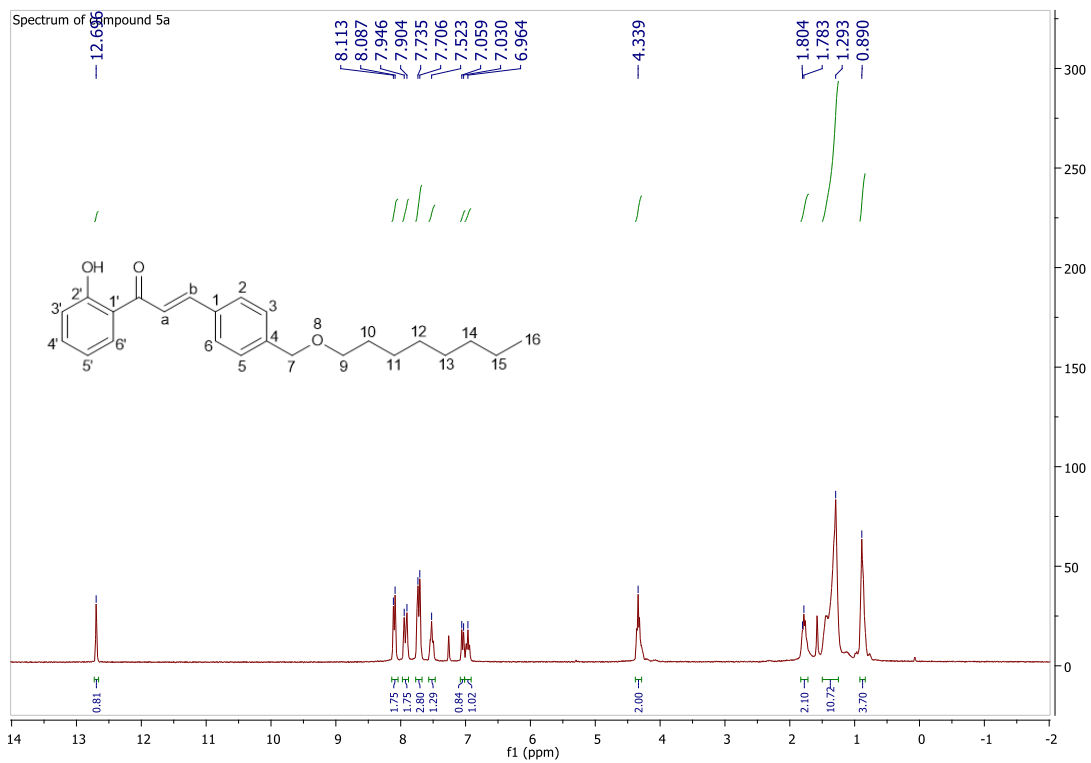
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΑΣΜΑΤΩΝ NMR



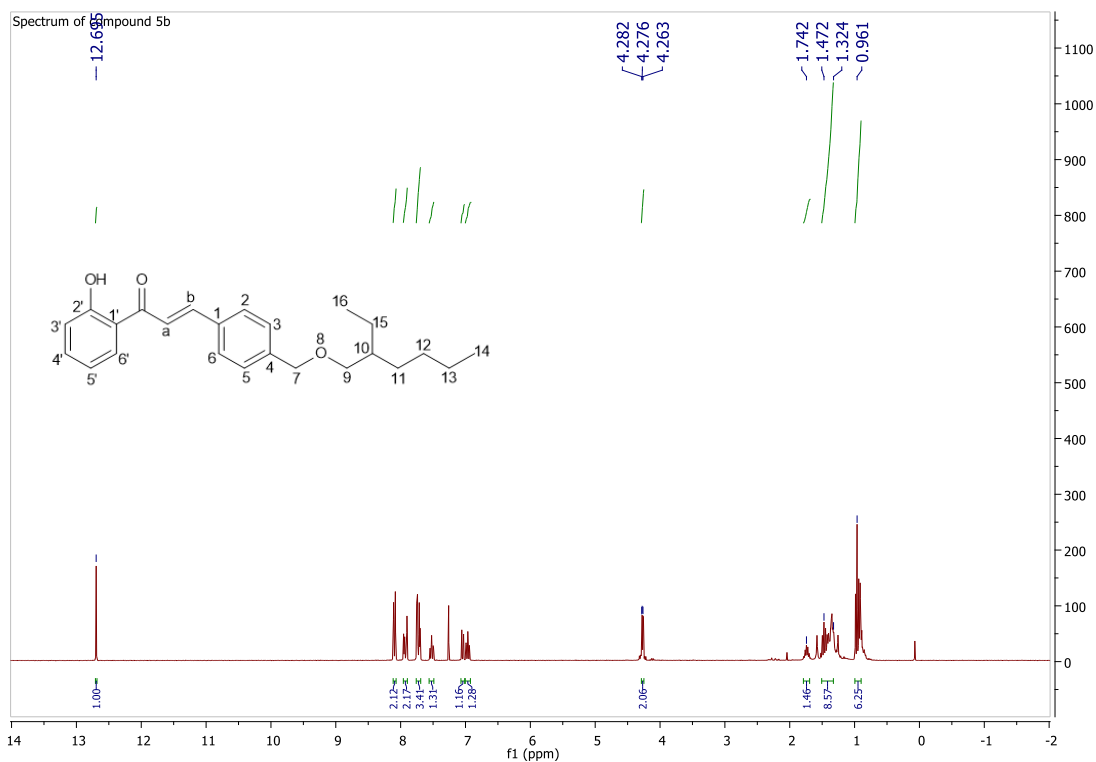
Σχήμα 31. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 3a



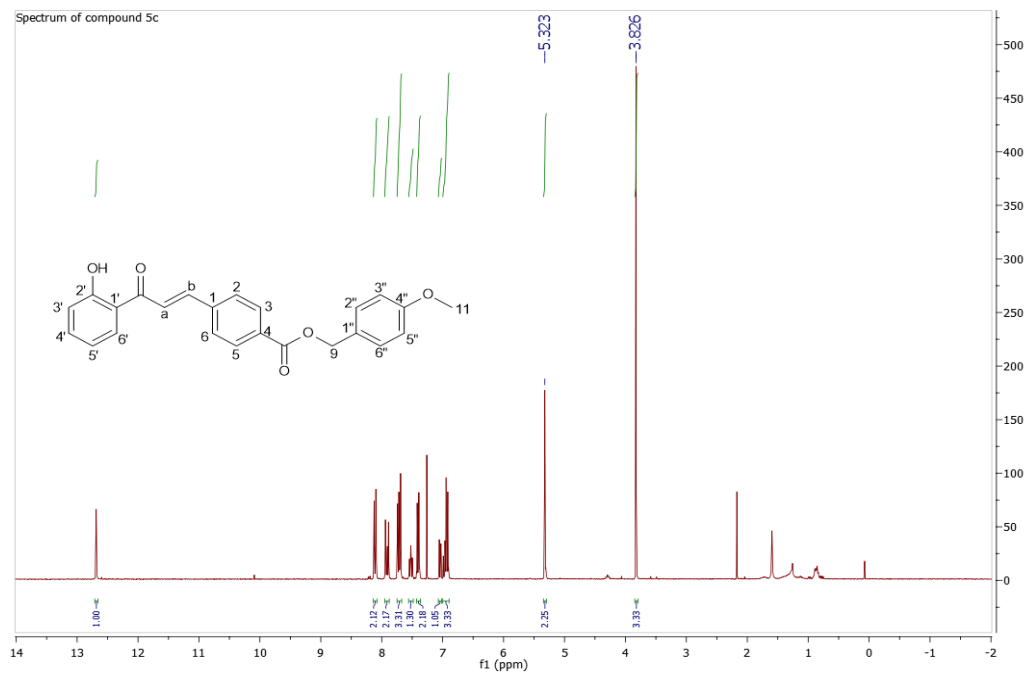
Σχήμα 32. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 3b



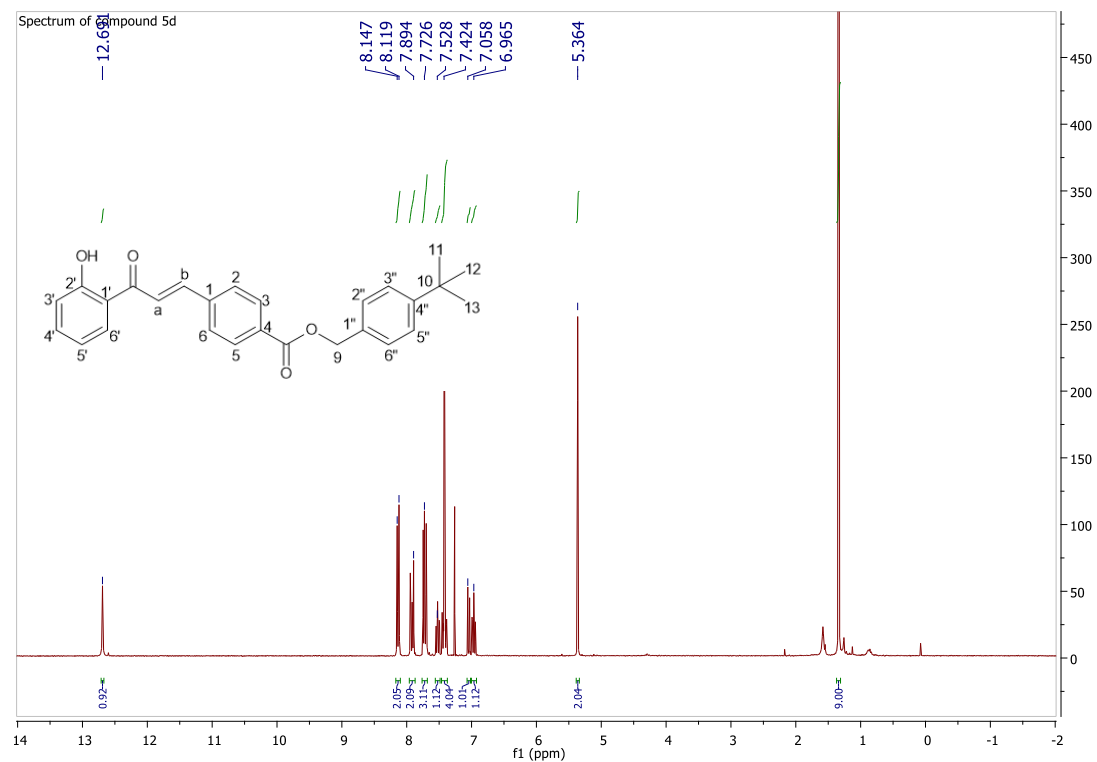
Σχήμα 33. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 5a



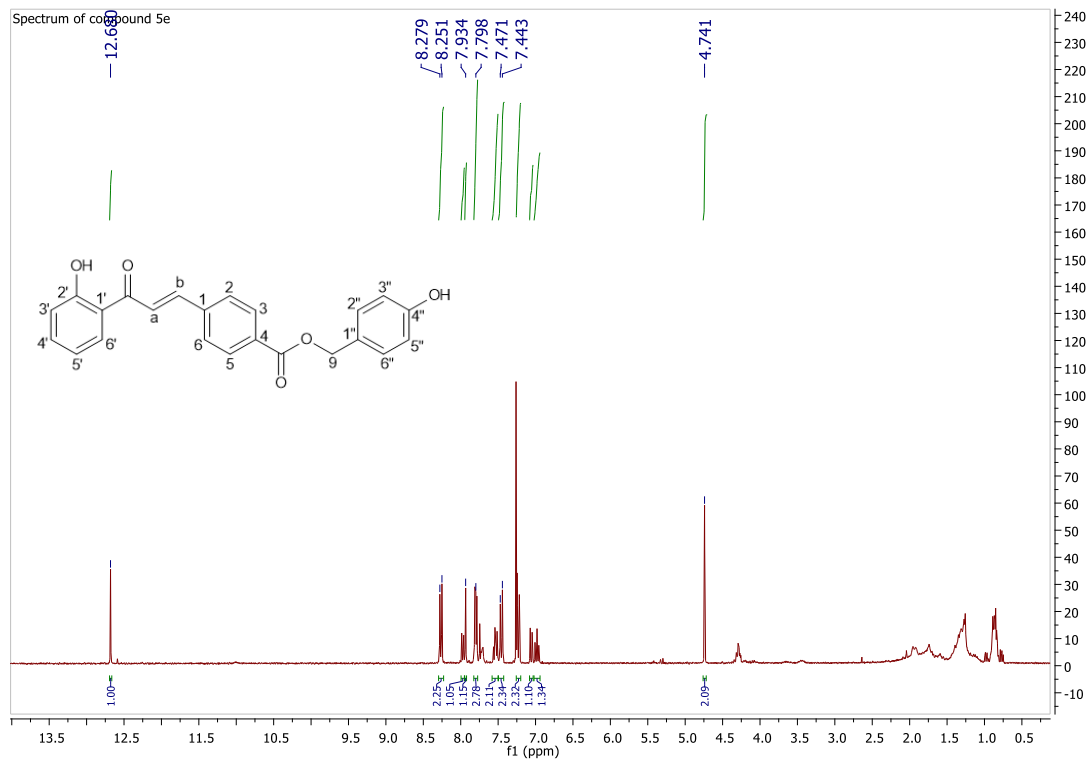
Σχήμα 34. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 5b



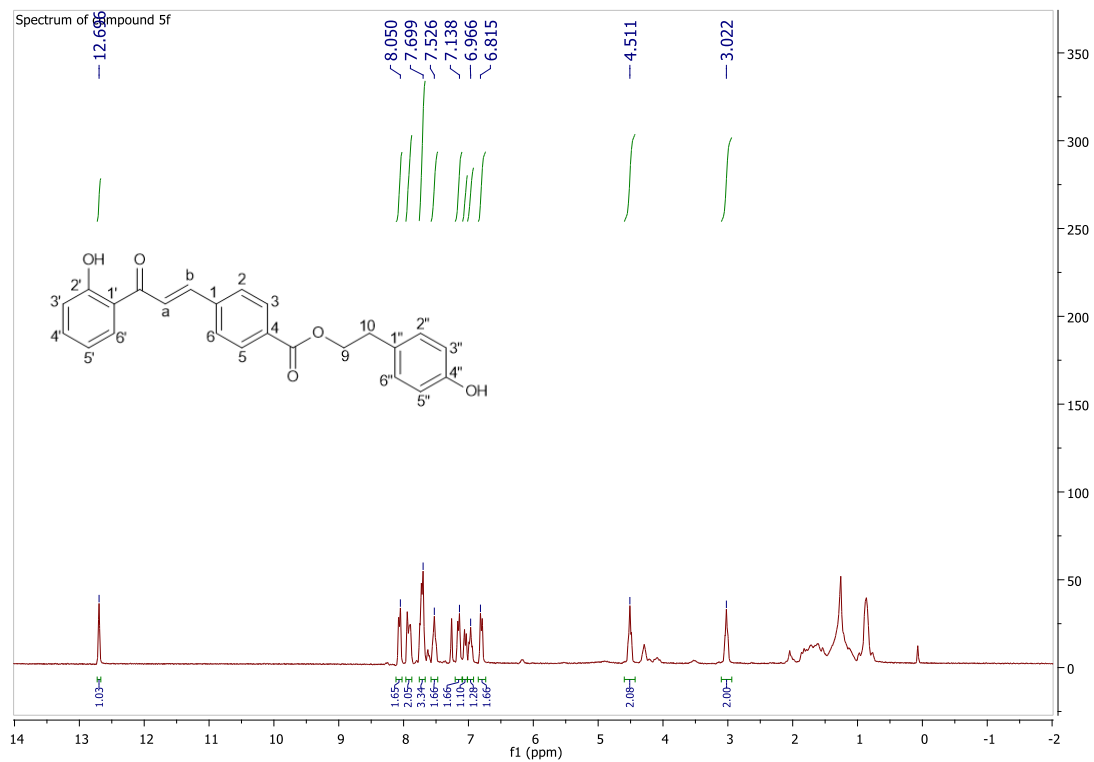
Σχήμα 35. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 5c



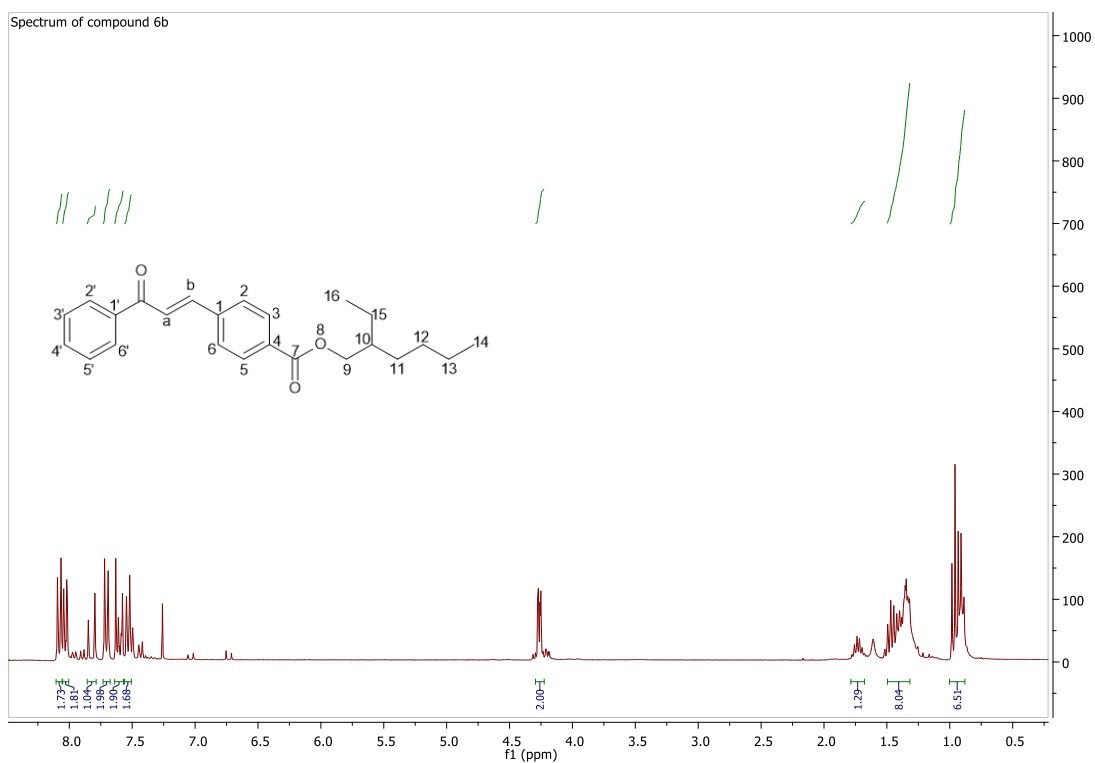
Σχήμα 36. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 5d



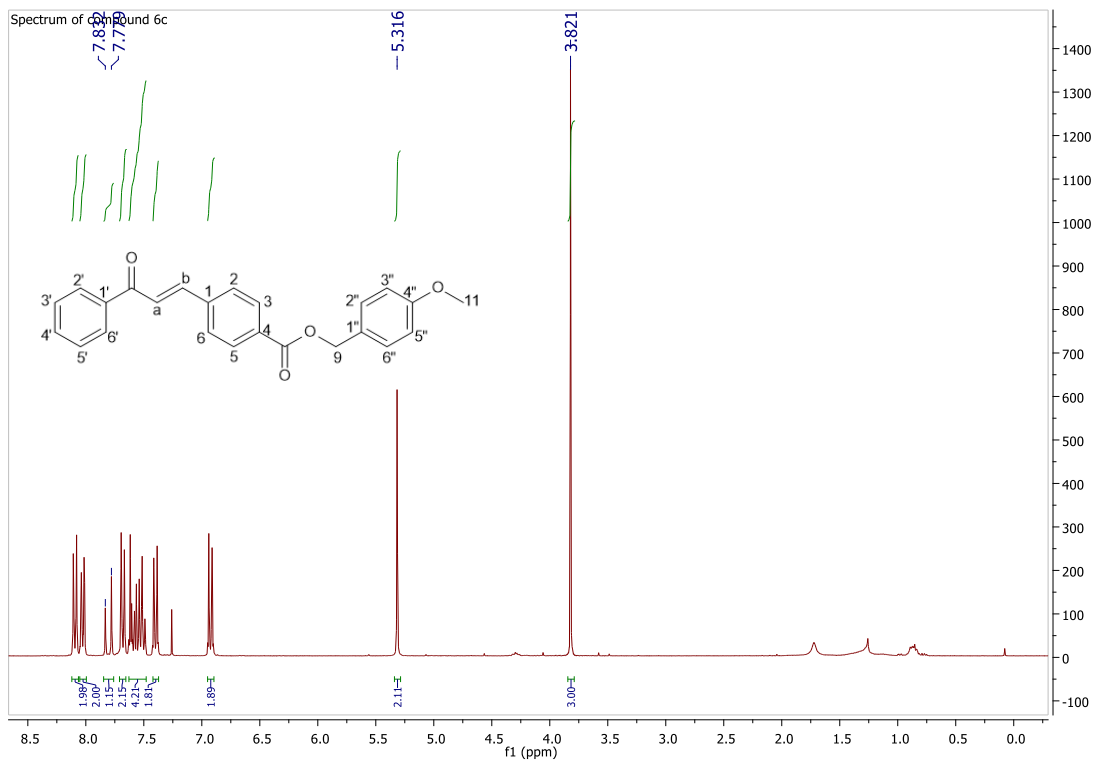
Σχήμα 37. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 5e



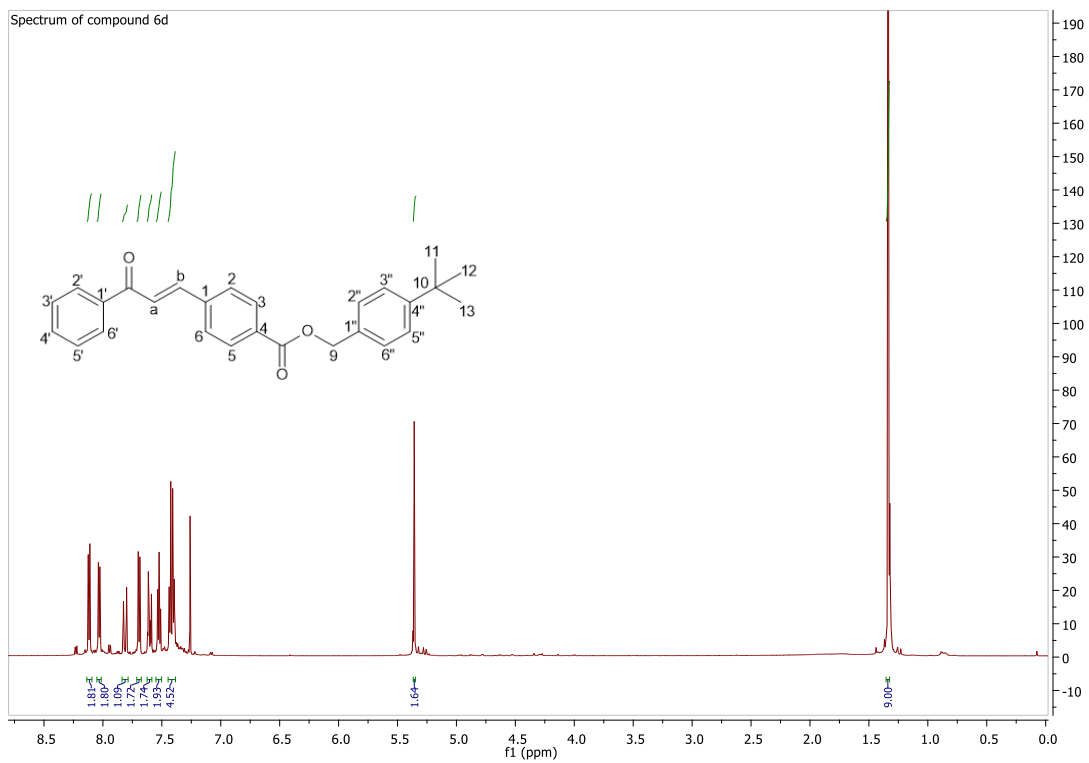
Σχήμα 38. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 5f



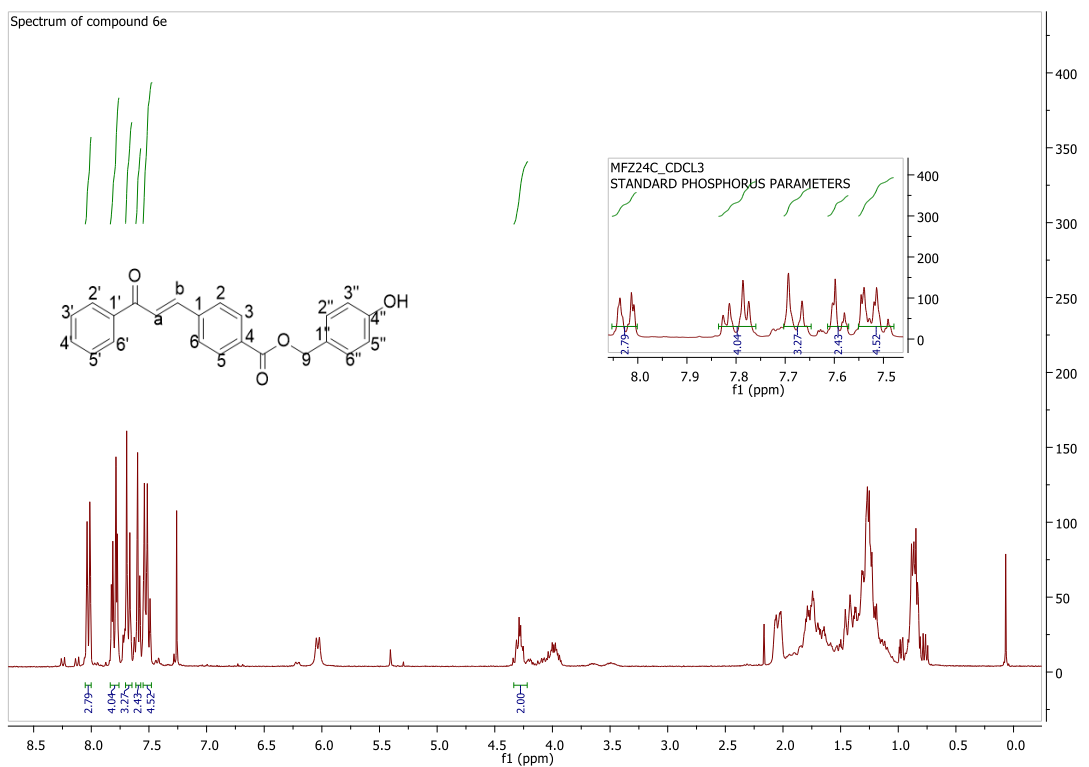
Σχήμα 39. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 6b



Σχήμα 40. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 6c

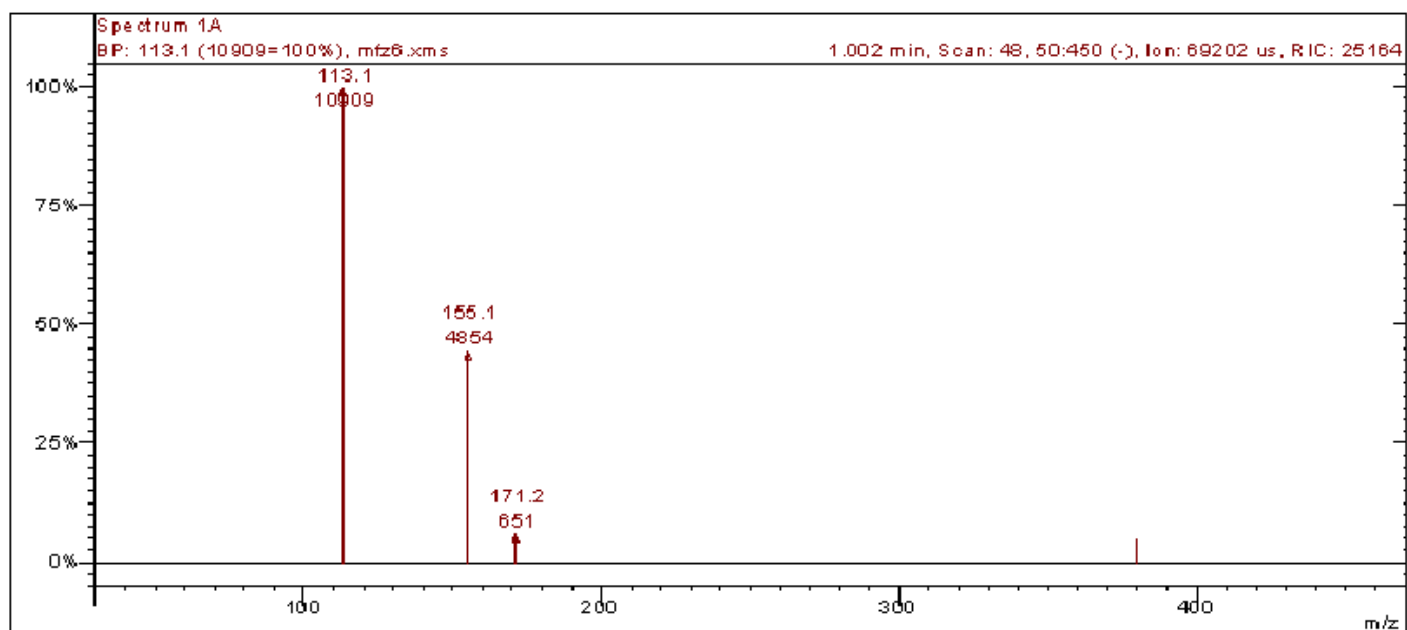


Σχήμα 41. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 6d

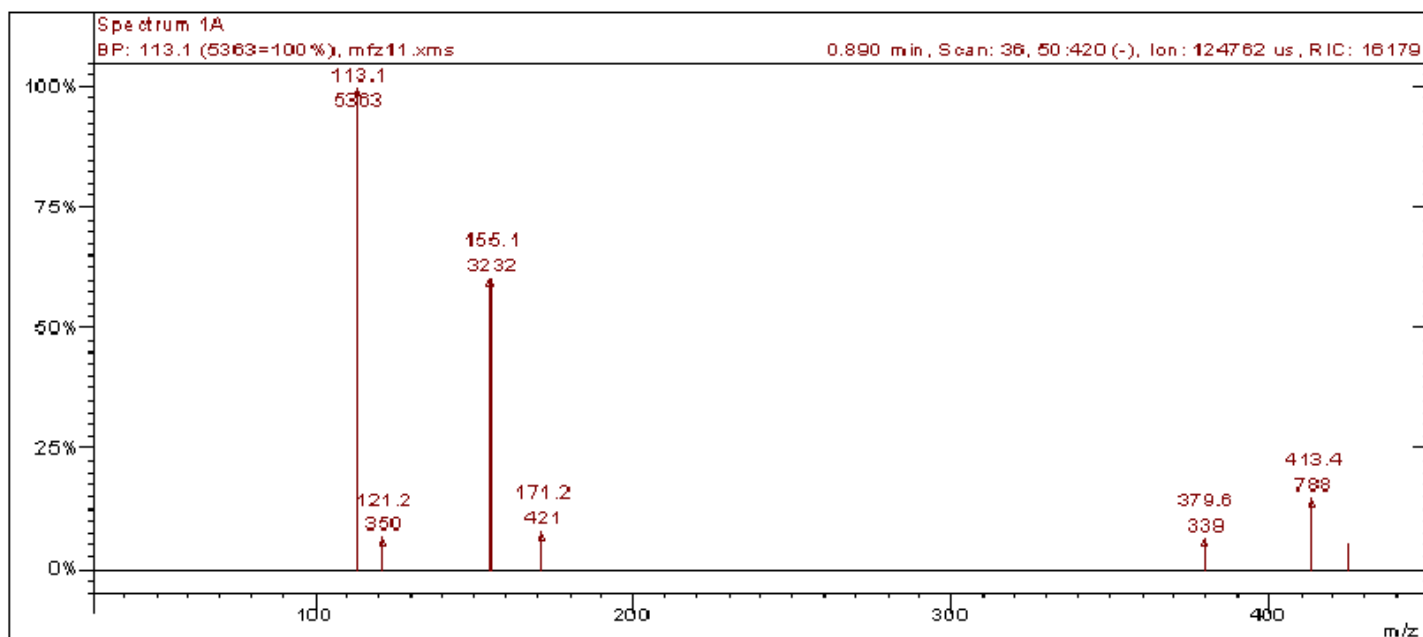


Σχήμα 42. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 6e

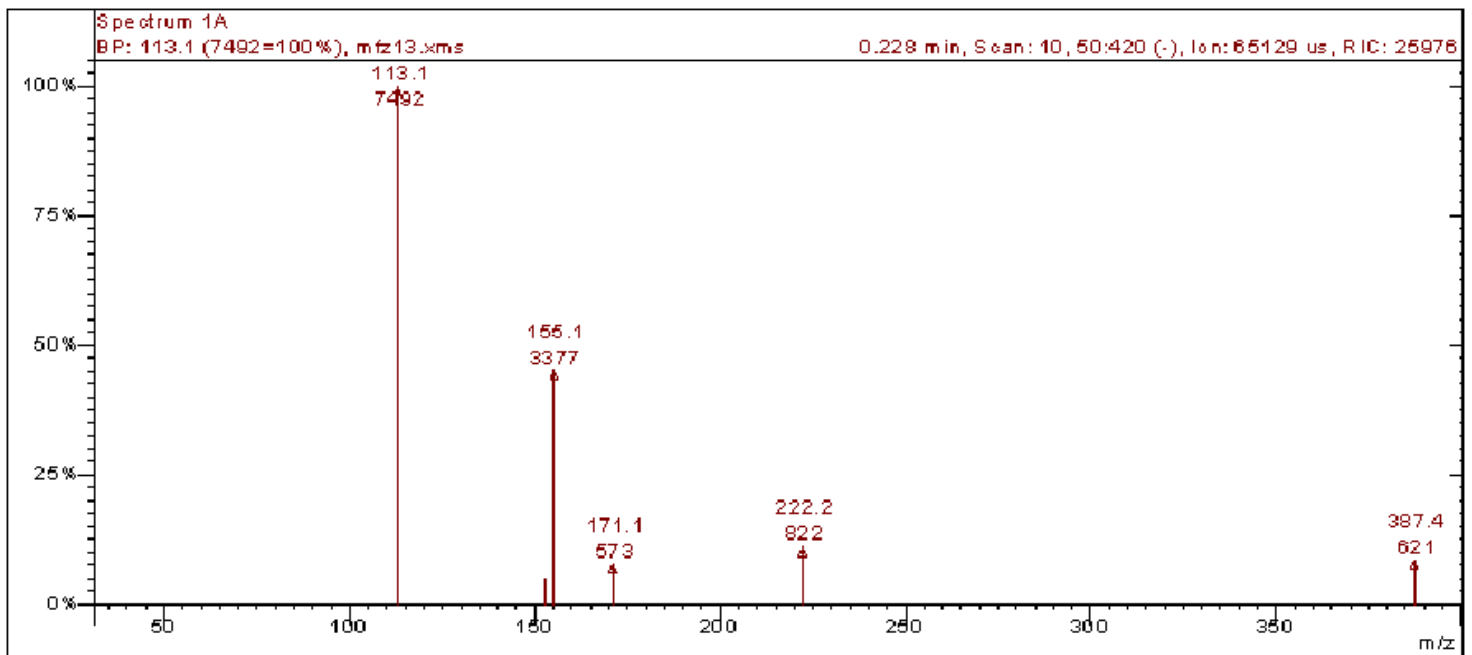
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΑΣΜΑΤΩΝ MS



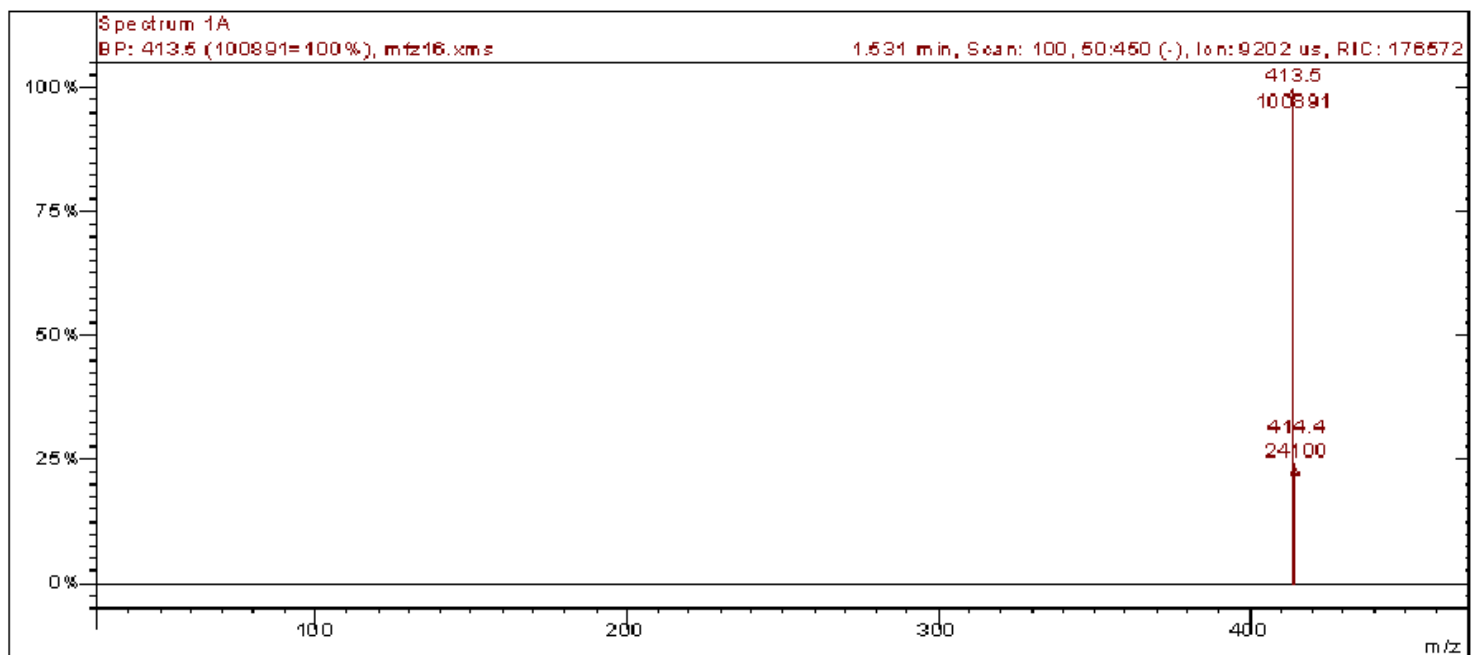
Σχήμα 43. Φάσμα MS της ένωσης 5a



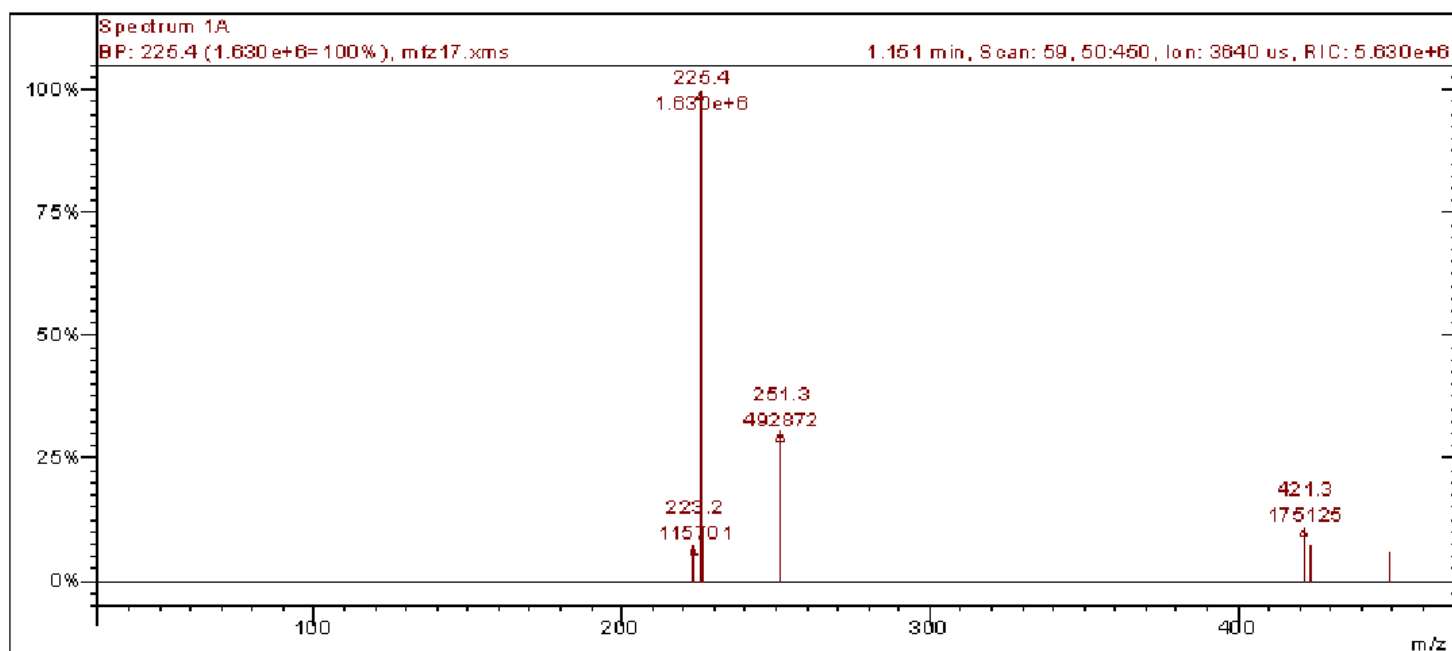
Σχήμα 44. Φάσμα MS της ένωσης 5b



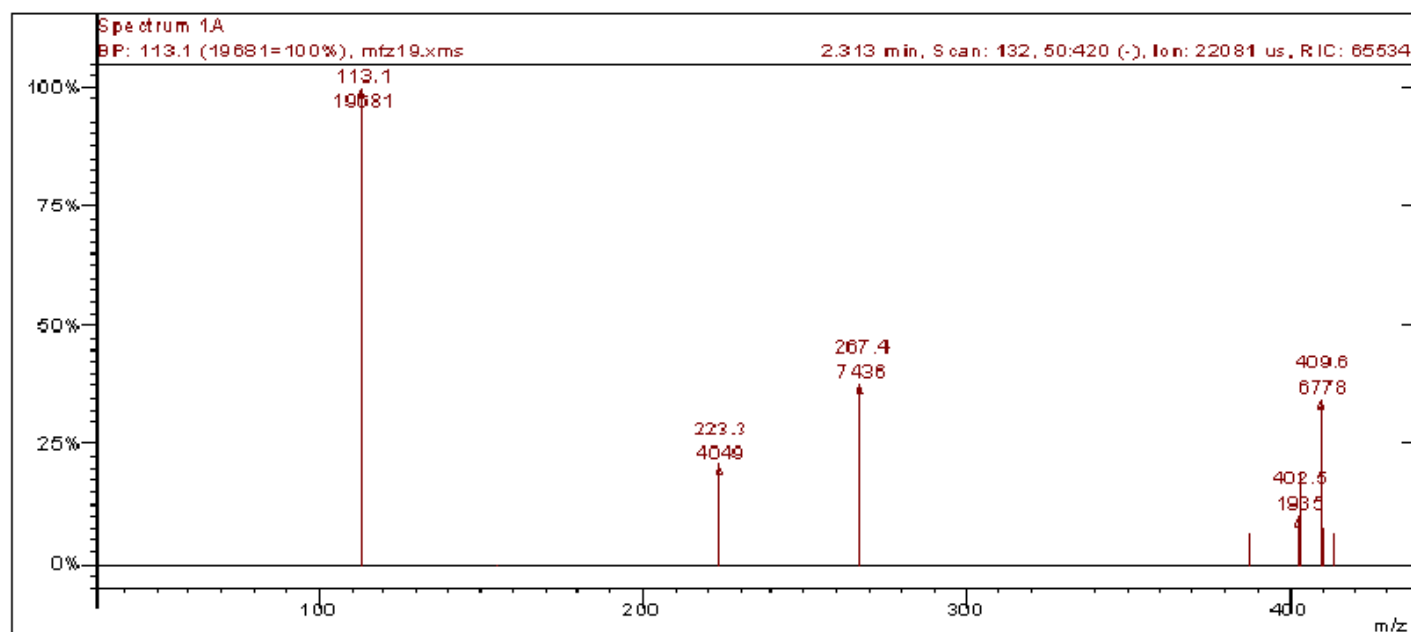
Σχήμα 45. Φάσμα MS της ένωσης 5c



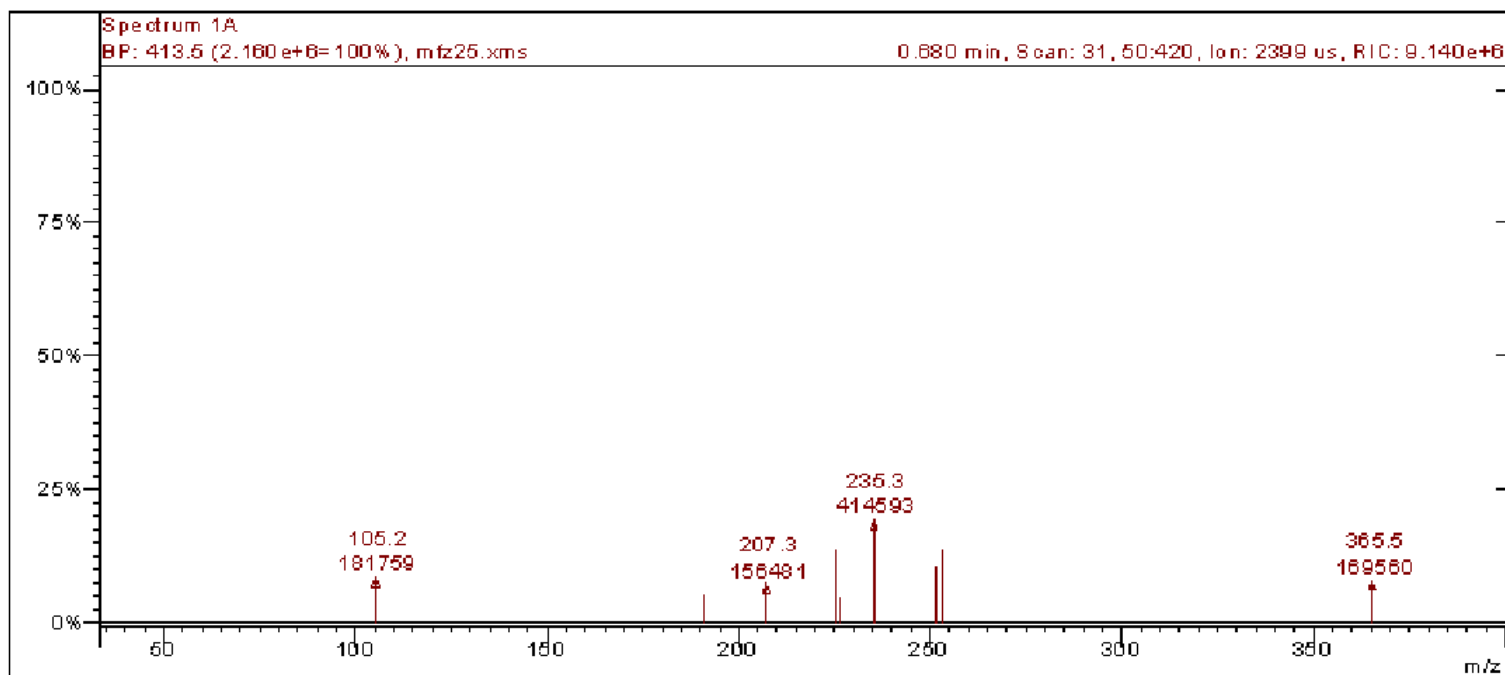
Σχήμα 46. Φάσμα MS της ένωσης 5d



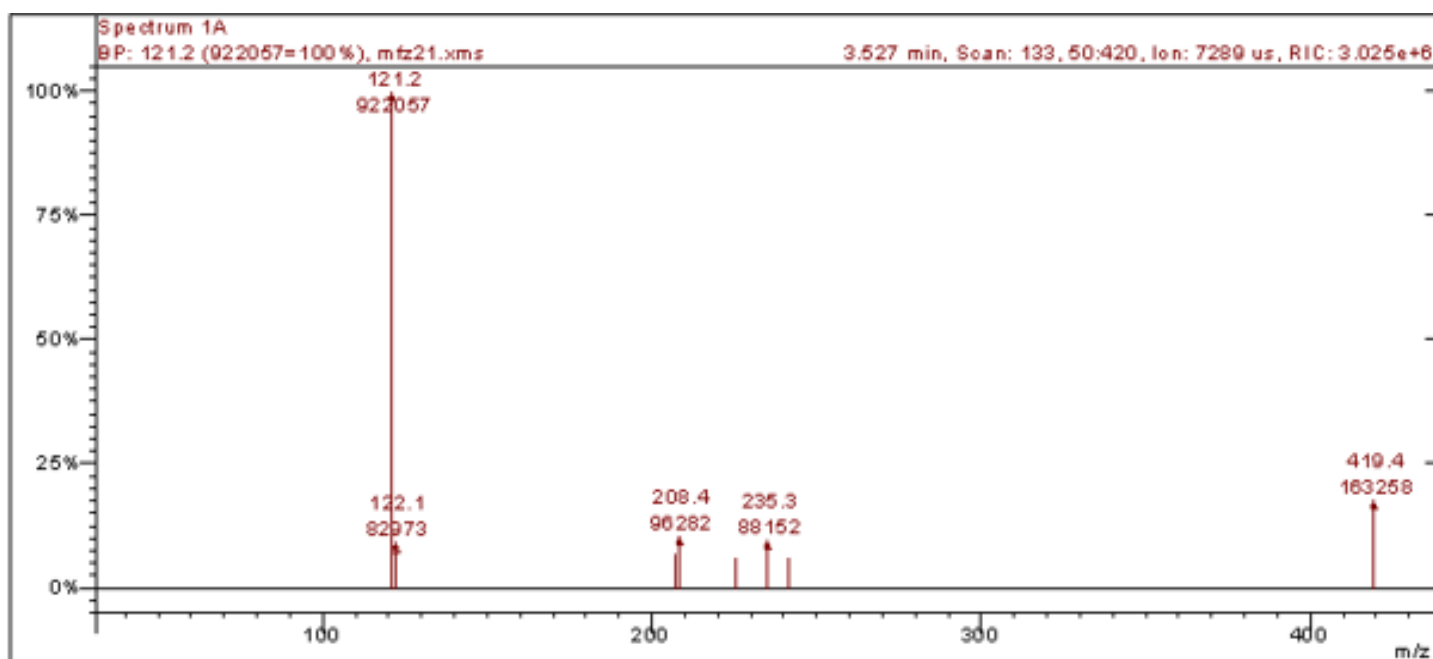
Σχήμα 47. Φάσμα MS της ένωσης 5e



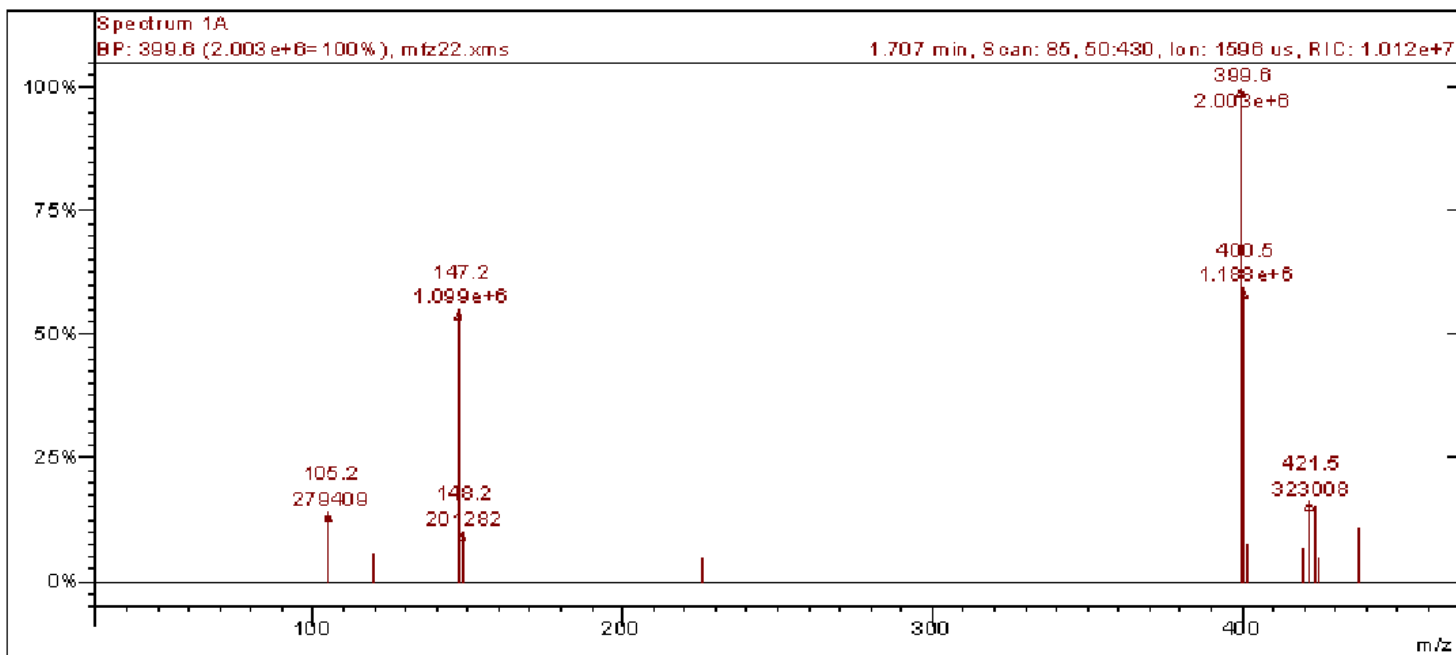
Σχήμα 48. Φάσμα MS της ένωσης 5f



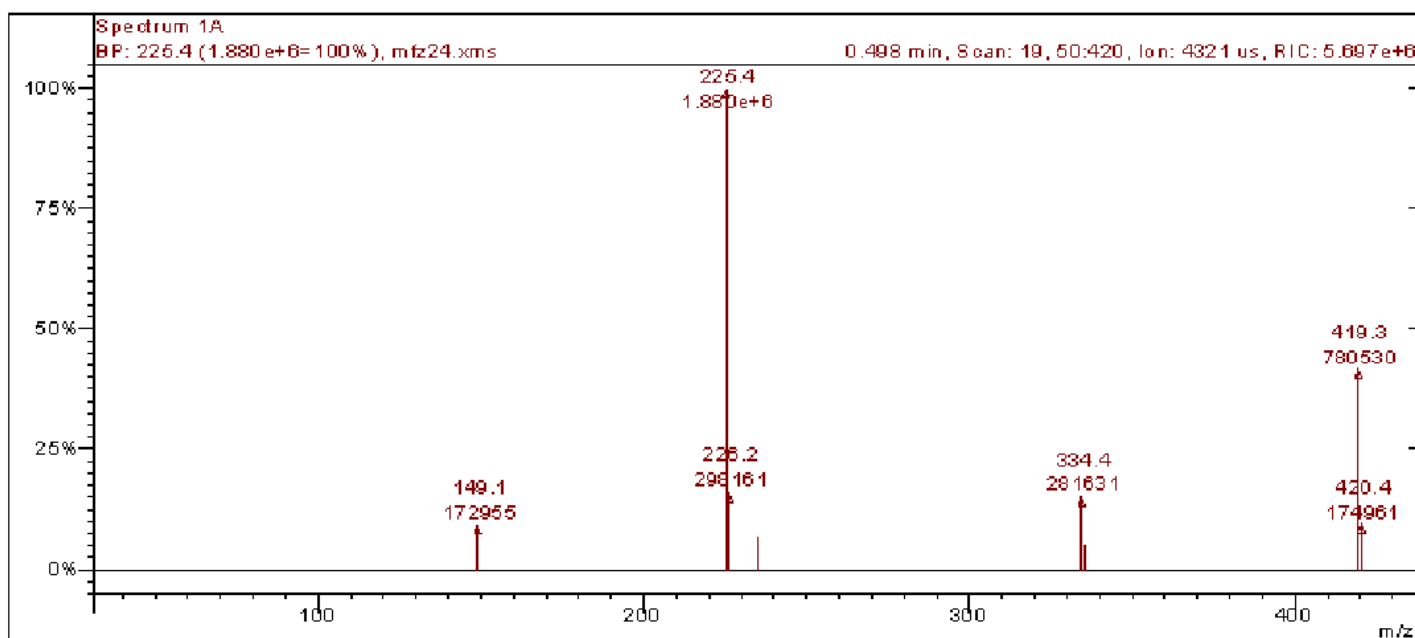
Σχήμα 49. Φάσμα MS της ένωσης 6b



Σχήμα 50. Φάσμα MS της ένωσης 6c

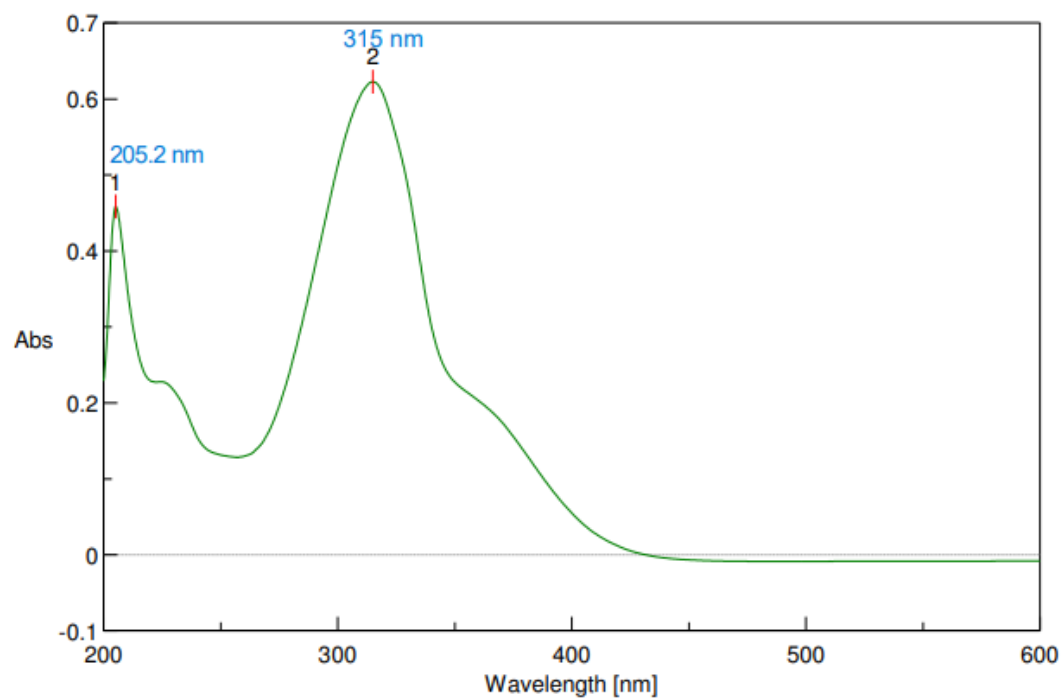


Σχήμα 51. Φάσμα MS της ένωσης 6d

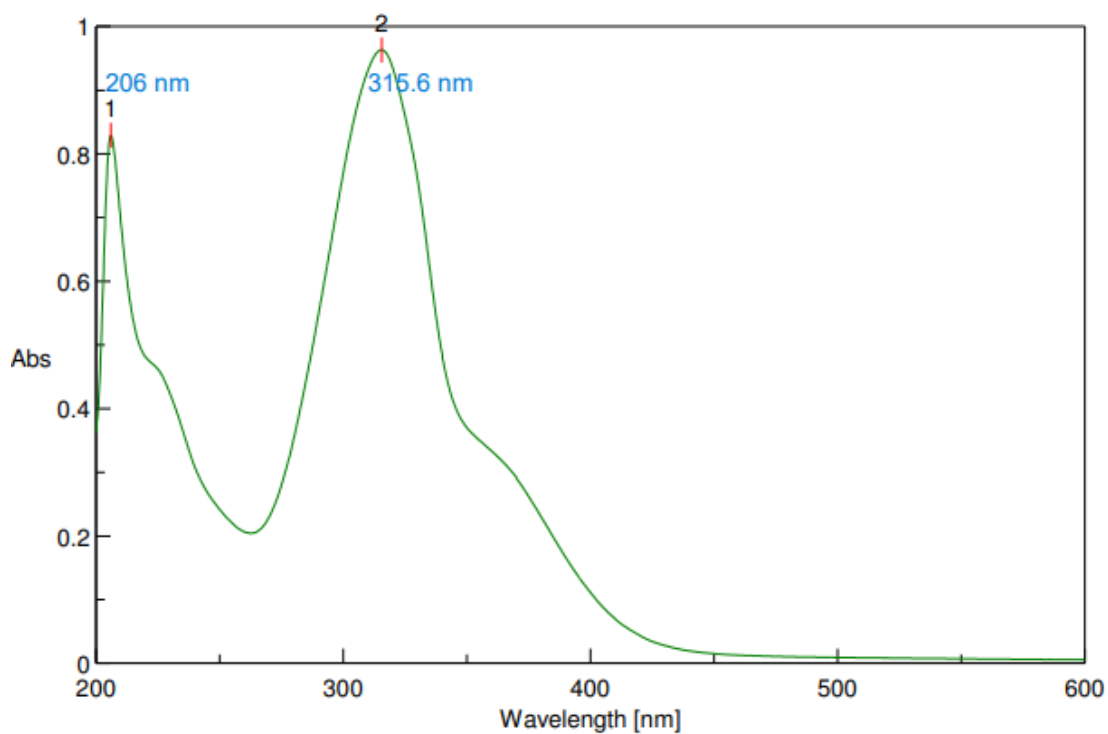


Σχήμα 52. Φάσμα MS της ένωσης 6e

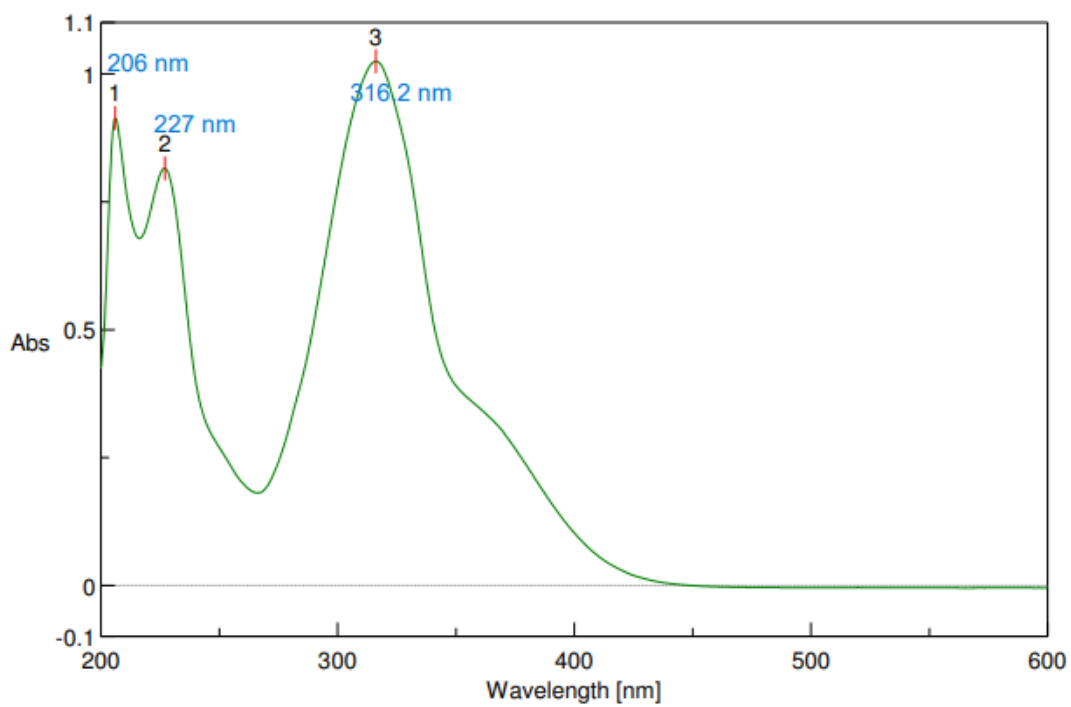
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΑΣΜΑΤΩΝ UV-VIS



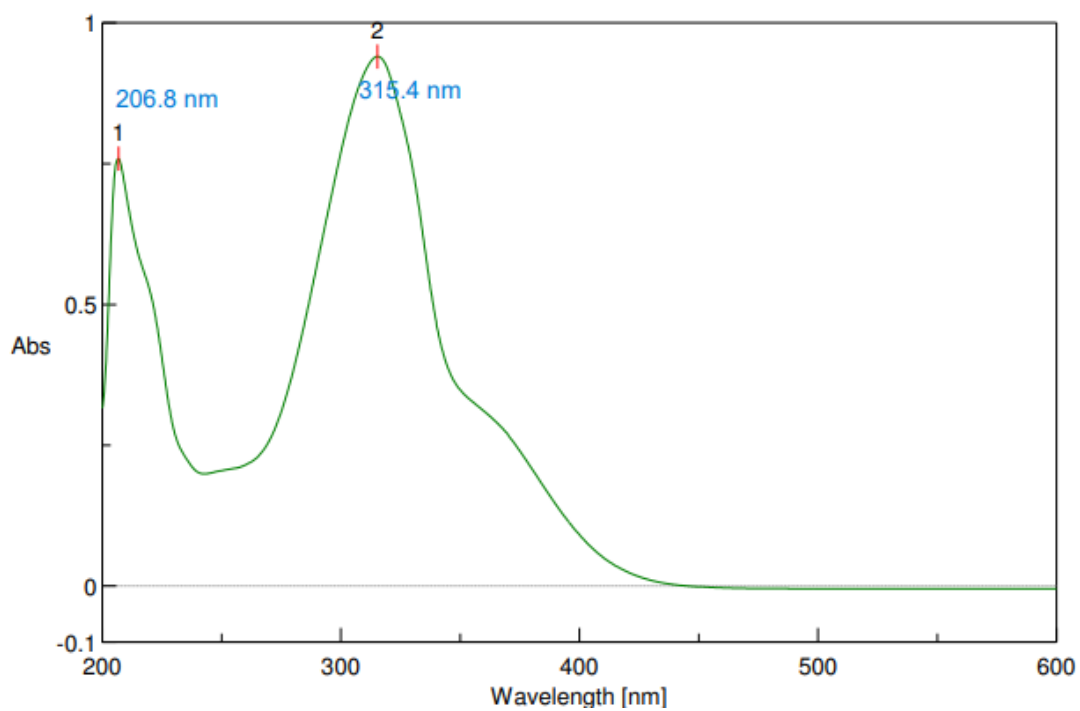
Σχήμα 53. Φάσμα UV-Vis σε EtOH της ένωσης 5a



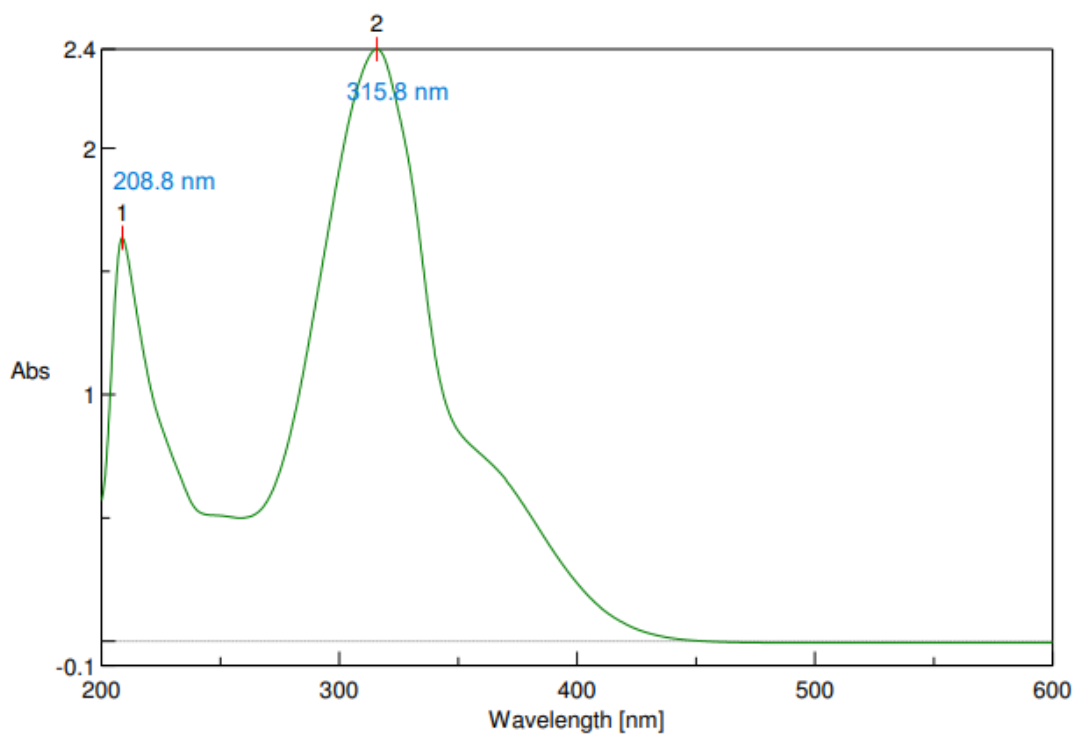
Σχήμα 54. Φάσμα UV-Vis σε EtOH της ένωσης 5b



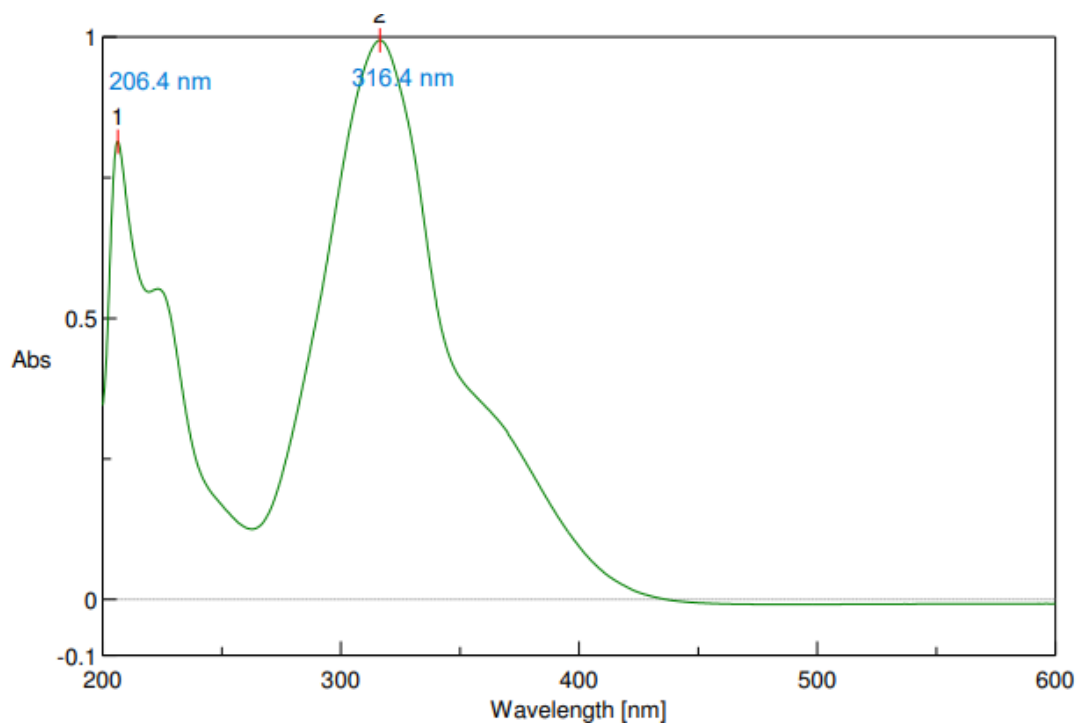
Σχήμα 55. Φάσμα UV-Vis σε EtOH της ένωσης 5c



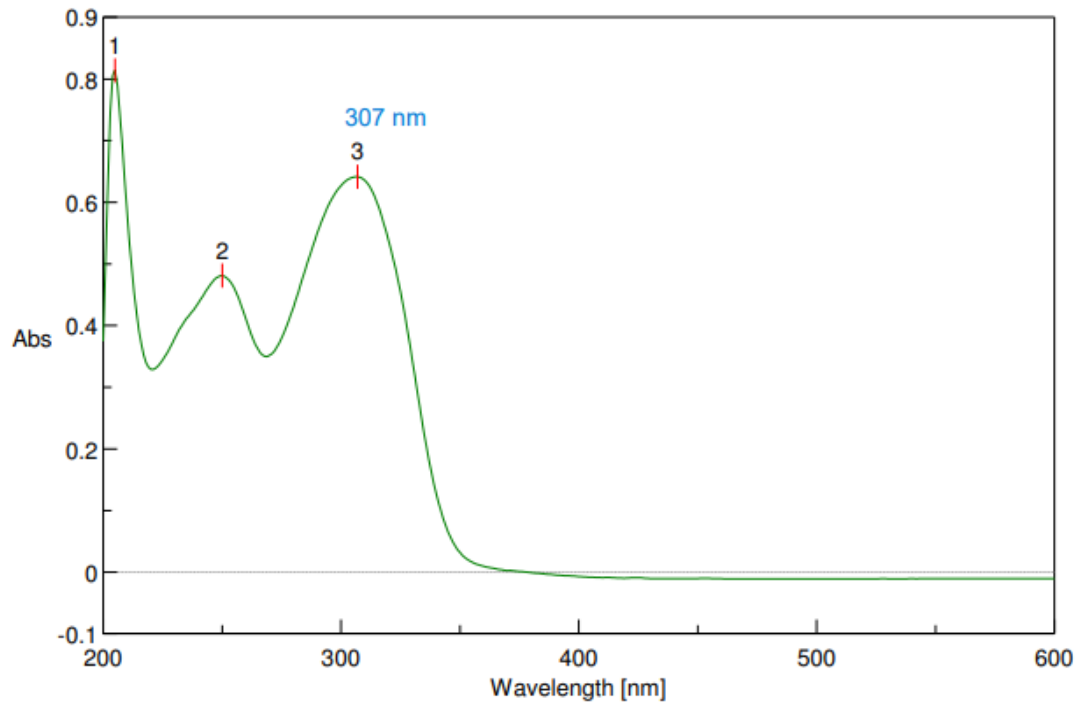
Σχήμα 56. Φάσμα UV-Vis σε EtOH της ένωσης 5d



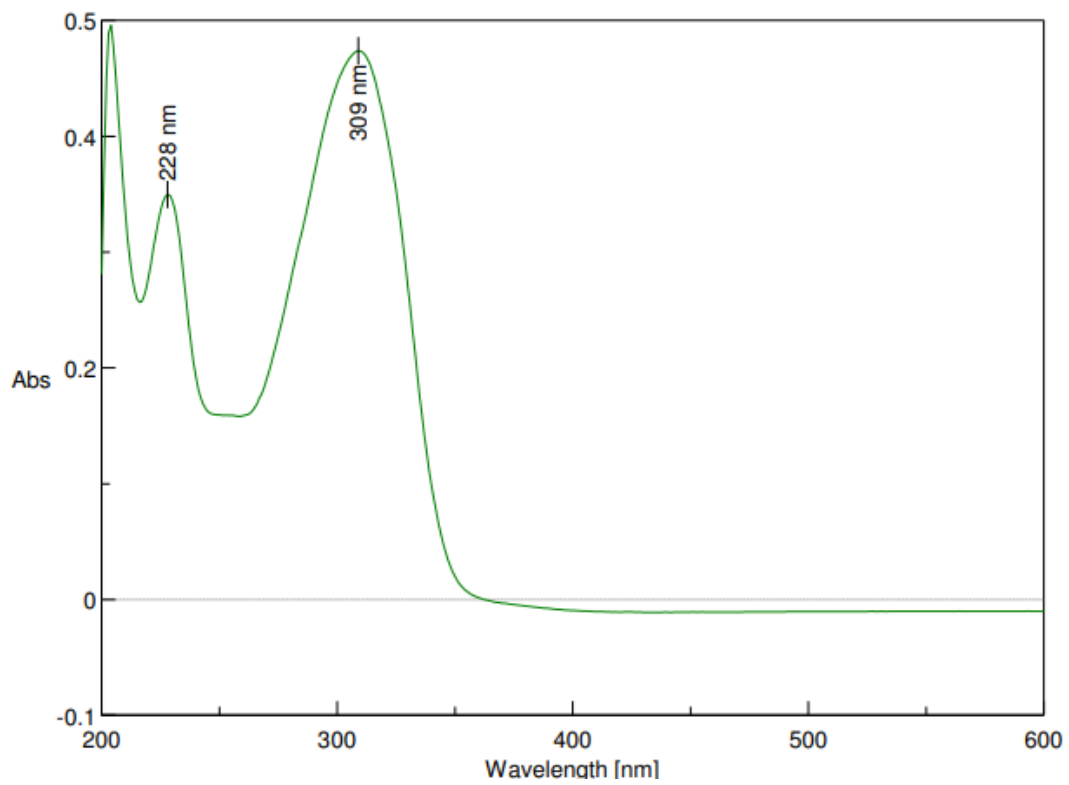
Σχήμα 57. Φάσμα UV-Vis σε EtOH της ένωσης 5e



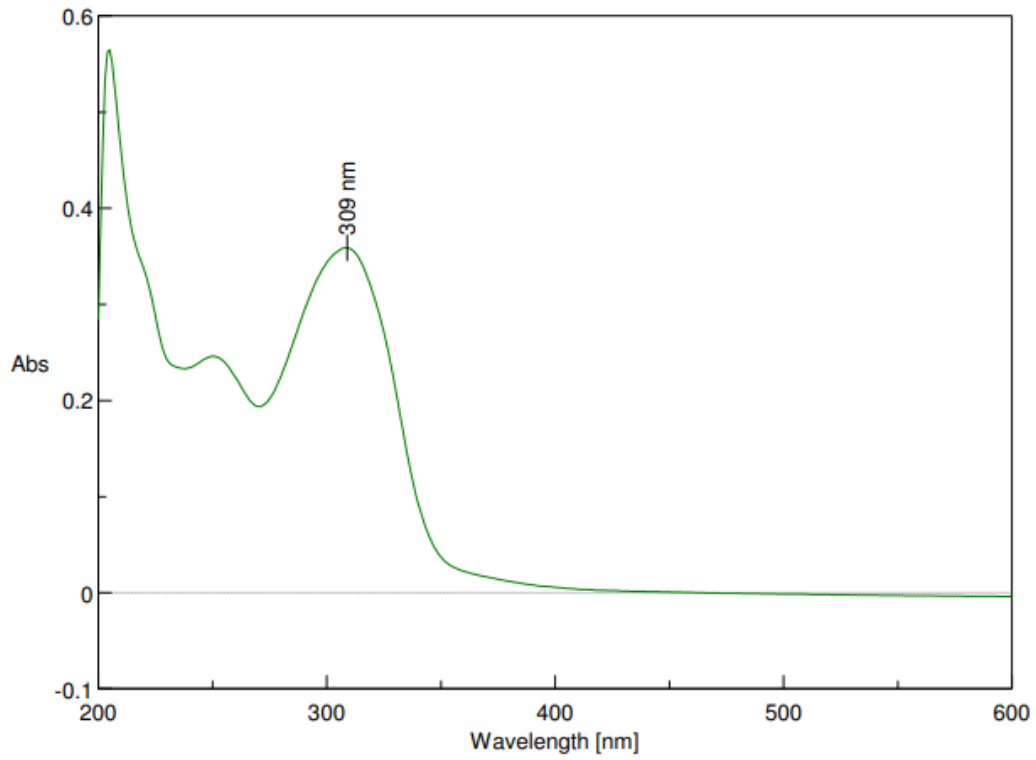
Σχήμα 58. Φάσμα UV-Vis σε EtOH της ένωσης 5f



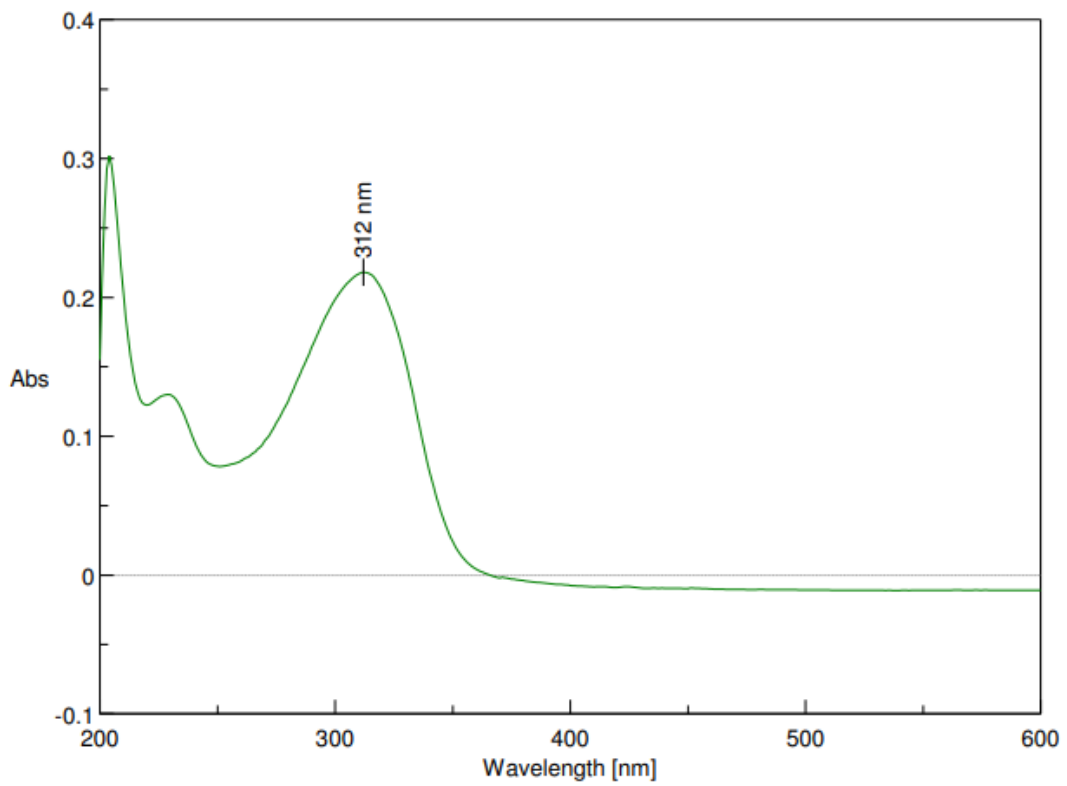
Σχήμα 59. Φάσμα UV-Vis σε EtOH της ένωσης 6b



Σχήμα 60. Φάσμα UV-Vis σε EtOH της ένωσης 6c



Σχήμα 61. Φάσμα UV-Vis σε EtOH της ένωσης 6d



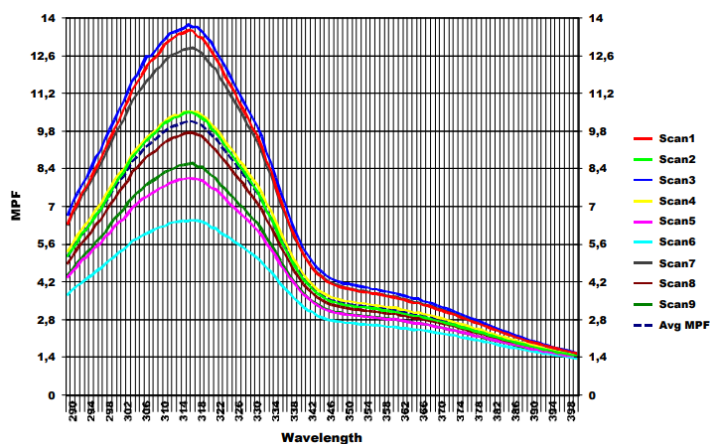
Σχήμα 62. Φάσμα UV-Vis σε EtOH της ένωσης 6e

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΑΣΜΑΤΩΝ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ SPF

Measurement Information			
Date:	22/9/2023	Substrate:	PMMA
Time:	12:41:03 μμ	Sample Prep:	1.3mg/cm ²
Operator:	Ioanna	Num. of Scans:	9
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.:	1
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm
Sample Name:	MFZ 6	Setup Filename:	9runs.par
Data Filename:	sp40n20z.shr	Erythema Filename:	erythema.ahr

Summary Results			Measurement Parameters		
Parameter	Value	STDV	Parameter	Value	Value
SPF:	7,73	1,89	STDV:	Classical	
UVA/UVB ratio:	0,578	0,01	Excluded Runs/Scans:		
Boots Star Rating (2004):	2	Moderate	Operating Mode:	Standard	
UVA IUV Ratio:	0,66	Mediur	Assay STDV:	N/A	
Max %T COV:	26,55		Assay Skip Ref:	N/A	
Critical Wavelength:	375,6	0,25	Time-Based Mode:	N/A	
Curve Area:	69,82	8,09	Time-Based Delay:	N/A	
UVA PF:	3,81	0,66			
Erythema UVA PF:	4,56	0,71			

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

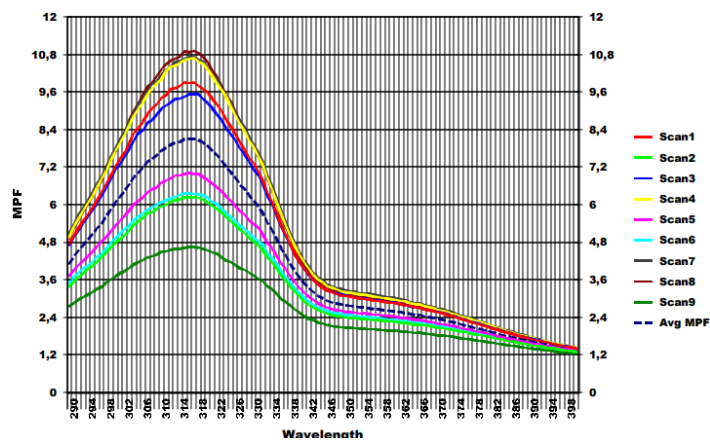


Σχήμα 63. Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 5a

Measurement Information			
Date:	22/9/2023	Substrate:	PMMA
Time:	1:00:44 μμ	Sample Prep:	1.3mg/cm ²
Operator:	Ioanna	Num. of Scans:	9
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.:	1
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm
Sample Name:	MFZ 11	Setup Filename:	9runs.par
Data Filename:	sp40n20z.shr	Erythema Filename:	erythema.ahr

Summary Results			Measurement Parameters		
Parameter	Value	STDV	Parameter	Value	Value
SPF:	6,2	1,85	STDV:	Classical	
UVA/UVB ratio:	0,551	0,01	Excluded Runs/Scans:		
Boots Star Rating (2004):	2	Moderate	Operating Mode:	Standard	
UVA IUV Ratio:	0,63	Mediur	Assay STDV:	N/A	
Max %T COV:	33,36		Assay Skip Ref:	N/A	
Critical Wavelength:	374,4	0,28	Time-Based Mode:	N/A	
Curve Area:	60,49	9,32	Time-Based Delay:	N/A	
UVA PF:	3,13	0,59			
Erythema UVA PF:	3,77	0,66			

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

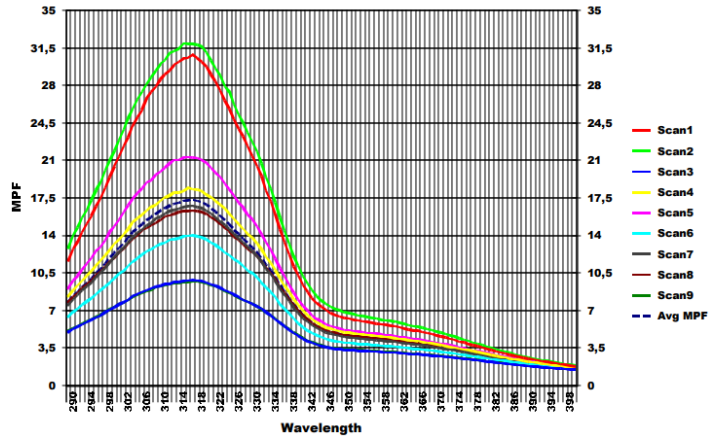


Σχήμα 64. Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 5b

Measurement Information			
Date:	22/9/2023	Substrate:	PMMA
Time:	12:50:23 μμ	Sample Prep:	1.3mg/cm ²
Operator:	Ioanna	Num. of Scans:	9
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.:	1
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm
Sample Name:	MFZ 13	Setup Filename:	9runs.par
Data Filename:	sp40n20z.shr	Erythema Filename:	erythema.ahr

Summary Results			Measurement Parameters		
SPF:	Value	STDV	Parameter	Value	
UVA/UVB ratio:	12,2	5,23	STDV:	Classical	
Boots Star Rating (2004):	0,589	0,01	Excluded Runs/Scans:		
UVA IUUV Ratio:	2	Moderate	Operating Mode:	Standard	
Max %T COV:	0,66	Mediur	Assay STDV:	N/A	
Critical Wavelength:	41,94		Assay Skip Ref:	N/A	
Curve Area:	375,8	0,25	Time-Based Mode:	N/A	
UVA PF:	87,15	13,6	Time-Based Delay:	N/A	
Erythema UVA PF:	5,84	1,83			

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

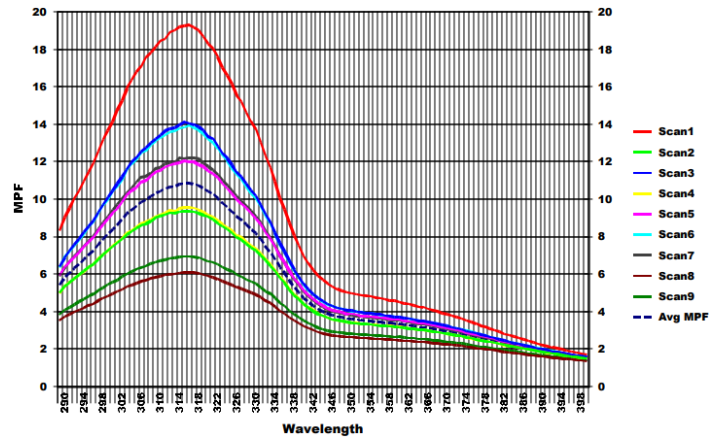


Σχήμα 66. Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 5c

Measurement Information			
Date:	22/9/2023	Substrate:	PMMA
Time:	12:30:38 μμ	Sample Prep:	1.3mg/cm ²
Operator:	Ioanna	Num. of Scans:	9
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.:	1
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm
Sample Name:	MFZ 16	Setup Filename:	9runs.par
Data Filename:	sp40n20z.shr	Erythema Filename:	erythema.ahr

Summary Results			Measurement Parameters		
SPF:	Value	STDV	Parameter	Value	
UVA/UVB ratio:	8,23	2,96	STDV:	Classical	
Boots Star Rating (2004):	0,592	0	Excluded Runs/Scans:		
UVA IUUV Ratio:	2	Moderate	Operating Mode:	Standard	
Max %T COV:	0,67	Mediur	Assay STDV:	N/A	
Critical Wavelength:	37,4		Assay Skip Ref:	N/A	
Curve Area:	376,1	0,22	Time-Based Mode:	N/A	
UVA PF:	72,88	11,2	Time-Based Delay:	N/A	
Erythema UVA PF:	4,16	1,01			

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

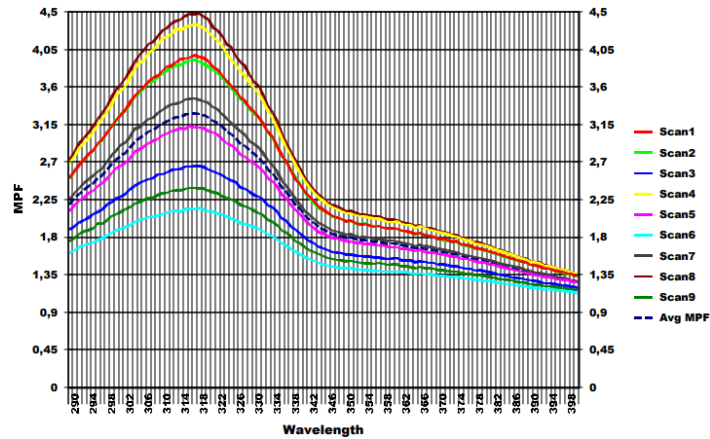


Σχήμα 65. Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 5d

Measurement Information			
Date:	22/9/2023	Substrate:	PMMA
Time:	1:37:26 μμ	Sample Prep:	1.3mg/cm*2
Operator:	Ioanna	Num. of Scans:	9
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.:	1
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm
Sample Name:	MFZ 17	Setup Filename:	9runs.par
Data Filename:	sp40n20z.shr	Solar Filename:	Erythema Filename:erythema.ahr

Summary Results			Measurement Parameters		
SPF:	Value	STDV	Parameter	Value	
UVA/UVB ratio:	2,85	0,76	STDV:	Classical	
Boots Star Rating (2004):	0,572	0,01	Excluded Runs/Scans:		
UVA IUV Ratio:	2	Moderate	Operating Mode:	Standard	
Max %T COV:	0,65	Mediur	Assay STDV:	N/A	
Critical Wavelength:	28,04		Assay Skip Ref:	N/A	
Curve Area:	376,3	0,71	Time-Based Mode:	N/A	
UVA PF:	34,76	8,34	Time-Based Delay:	N/A	
Erythema UVA PF:	1,84	0,29			
	2,23	0,39			

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

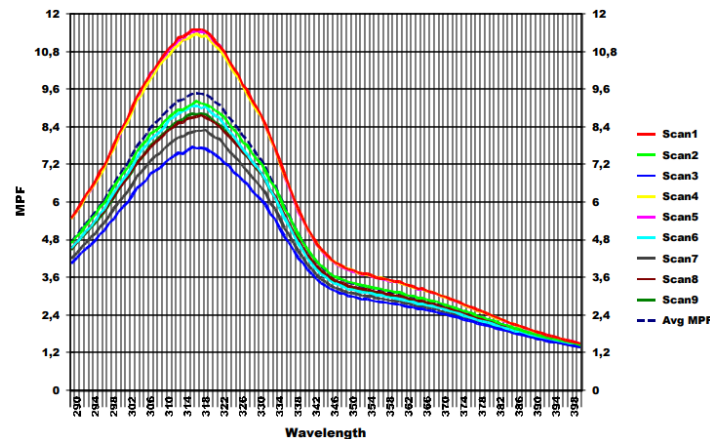


Σχήμα 67. Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 5e

Measurement Information			
Date:	22/9/2023	Substrate:	PMMA
Time:	1:19:03 μμ	Sample Prep:	1.3mg/cm*2
Operator:	Ioanna	Num. of Scans:	9
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.:	1
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm
Sample Name:	MFZ 19	Setup Filename:	9runs.par
Data Filename:	sp40n20z.shr	Solar Filename:	Erythema Filename:erythema.ahr

Summary Results			Measurement Parameters		
SPF:	Value	STDV	Parameter	Value	
UVA/UVB ratio:	7,16	1,01	STDV:	Classical	
Boots Star Rating (2004):	0,599	0,01	Excluded Runs/Scans:		
UVA IUV Ratio:	3	Good	Operating Mode:	Standard	
Max %T COV:	0,67	Mediur	Assay STDV:	N/A	
Critical Wavelength:	14,72		Assay Skip Ref:	N/A	
Curve Area:	375,3	0,28	Time-Based Mode:	N/A	
UVA PF:	68,06	4,95	Time-Based Delay:	N/A	
Erythema UVA PF:	3,72	0,41			
	4,47	0,44			

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

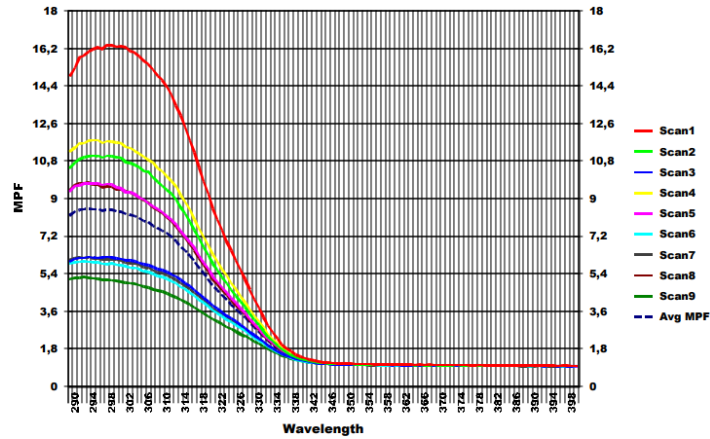


Σχήμα 68. Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 5f

Measurement Information			
Date:	22/9/2023	Substrate:	PMMA
Time:	12:08:56 μμ	Sample Prep:	1.3mg/cm*2
Operator:	Ioanna	Num. of Scans:	9
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.:	1
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm
Sample Name:	MFZ25	Setup Filename:	9runs.par
Data Filename:	sp40n20z.shr	Erythema Filename:	erythema.ahr

Summary Results		Measurement Parameters	
SPF:	4,76	STDV:	1,21
UVA/UVB ratio:	0,127	Excluded Runs/Scans:	Classical
Boots Star Rating (2004):	0	Operating Mode:	Standard
UVA IUUV Ratio:	0,02	Assay STDV:	N/A
Max %T COV:	37,47	Assay Skip Ref:	N/A
Critical Wavelength:	328,9	Time-Based Mode:	N/A
Curve Area:	35,3	Time-Based Delay:	N/A
UVA PF:	1,46		
Erythema UVA PF:	1,65		

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

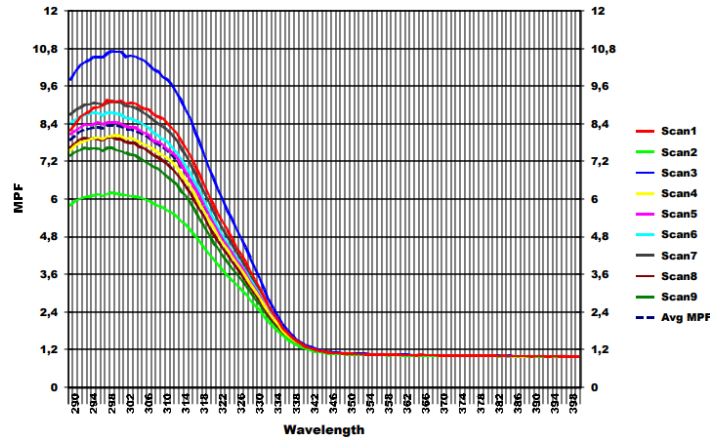


Σχήμα 69. Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 6b

Measurement Information			
Date:	22/9/2023	Substrate:	PMMA
Time:	1:10:16 μμ	Sample Prep:	1.3mg/cm*2
Operator:	Ioanna	Num. of Scans:	9
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.:	1
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm
Sample Name:	MFZ 21	Setup Filename:	9runs.par
Data Filename:	sp40n20z.shr	Erythema Filename:	erythema.ahr

Summary Results		Measurement Parameters	
SPF:	4,89	STDV:	0,49
UVA/UVB ratio:	0,141	Excluded Runs/Scans:	Classical
Boots Star Rating (2004):	0	Operating Mode:	Standard
UVA IUUV Ratio:	0,03	Assay STDV:	N/A
Max %T COV:	15,89	Assay Skip Ref:	N/A
Critical Wavelength:	330,1	Time-Based Mode:	N/A
Curve Area:	36,45	Time-Based Delay:	N/A
UVA PF:	1,52		
Erythema UVA PF:	1,71		

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

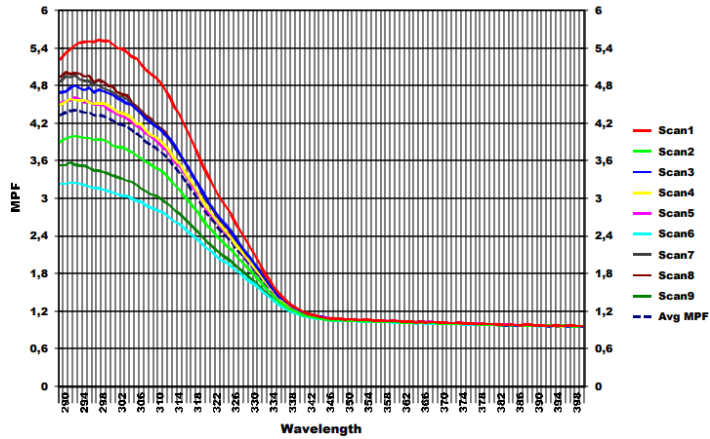


Σχήμα 70. Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 6c

Measurement Information			
Date:	22/9/2023	Substrate:	PMMA
Time:	12:21:19 μμ	Sample Prep:	1.3mg/cm ²
Operator:	Ioanna	Num. of Scans:	9
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.:	1
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm
		Sample Name:	MFZ 22
		Setup Filename:	9runs.par
		Data Filename:	sp40n20z.shr
		Erythema Filename:	erythema.ahr

Summary Results			Measurement Parameters		
SPF:	Value	STDV	Parameter	Value	
UVA/UVB ratio:	3,04	0,41	STDV:	Classical	
Boots Star Rating (2004):	0,125	0	Excluded Runs/Scans:		
UVA I/UV Ratio:	0	No Claim	Operating Mode:	Standard	
Max %T COV:	0,03	Low	Assay STDV:	N/A	
Critical Wavelength:	18,98		Assay Skip Ref:	N/A	
Curve Area:	329,3	0,41	Time-Based Mode:	N/A	
UVA PF:	23,68	3,11	Time-Based Delay:	N/A	
Erythema UVA PF:	1,2	0,05			

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

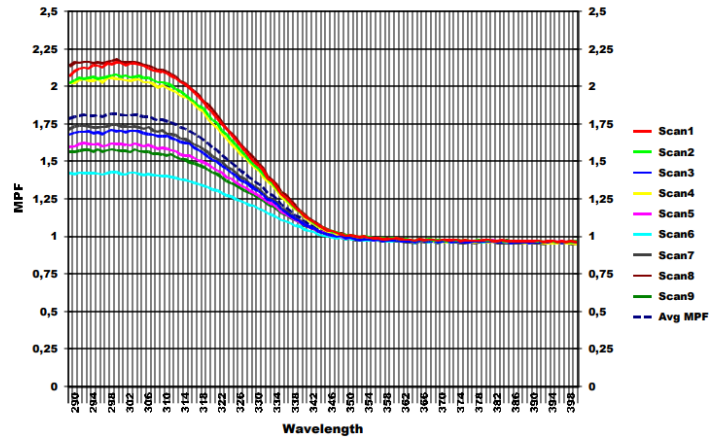


Σχήμα 71. Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 6d

Measurement Information			
Date:	22/9/2023	Substrate:	PMMA
Time:	1:27:58 μμ	Sample Prep:	1.3mg/cm ²
Operator:	Ioanna	Num. of Scans:	9
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.:	1
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm
		Sample Name:	MFZ 24
		Setup Filename:	9runs.par
		Data Filename:	sp40n20z.shr
		Erythema Filename:	erythema.ahr

Summary Results			Measurement Parameters		
SPF:	Value	STDV	Parameter	Value	
UVA/UVB ratio:	1,65	0,22	STDV:	Classical	
Boots Star Rating (2004):	0,106	0,02	Excluded Runs/Scans:		
UVA I/UV Ratio:	0	No Claim	Operating Mode:	Standard	
Max %T COV:	-0,09	Low	Assay STDV:	N/A	
Critical Wavelength:	15,7		Assay Skip Ref:	N/A	
Curve Area:	326,2	1,98	Time-Based Mode:	N/A	
UVA PF:	9,64	2,83	Time-Based Delay:	N/A	
Erythema UVA PF:	1,03	0,03			

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



Σχήμα 72. Φάσμα απορρόφησης SPF της ένωσης 6e