



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ  
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ  
ΤΟΜΕΑΣ Ι ΧΗΜΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΡΓΑΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

---

*Διπλωματική Εργασία*

---

Σύνθεση και αξιολόγηση  
βιοδραστικότητας 2-υδροξυ-χαλκονών  
και εγκλωβισμός τους σε πολυμερικά  
νανοσωματίδια

Κωνσταντίνος Μαντέλος

Επιβλέπουσα: Αναστασία Δέτση  
Καθηγήτρια ΕΜΠ

Αθήνα 2024

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, κατά το ακαδημαϊκό έτος 2023-2024, υπό την επίβλεψη της Δρ. Αναστασίας Δέτση καθηγήτριας Ε.Μ.Π..

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω τη Δρ. Αναστασία Δέτση για την ευκαιρία και την εμπιστοσύνη που μου έδειξε αναθέτοντας μου ένα τόσο ενδιαφέρον θέμα που συνδυάζει τα πεδία της οργανικής σύνθεσης, της νανοτεχνολογίας και της φαρμακευτικής χημείας. Η βοήθεια της, οι συμβουλές της και η καθοδήγηση της καθόλη τη διάρκεια της διπλωματικής εργασίας ήταν καταλυτικός παράγοντας για την επιτυχή ολοκλήρωση της.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την υποψήφια διδάκτορα στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας Ε.Μ.Π. Βασιλική Κακοκέφαλου για την αμέριστη στήριξή της, τις συμβουλές της και κυρίως το χρόνο που αφιέρωσε. Η συνεργασία μας ήταν καθοριστικός παράγοντας για την ολοκλήρωση της διπλωματικής.

Θα ήθελα ακόμα να ευχαριστήσω τη μεταδιδακτορική ερευνήτρια του εργαστηρίου Οργανικής Χημείας Ε.Μ.Π. Ιωάννα Πιττερού για τη βοήθεια που μου παρείχε στο κομμάτι της νανοτεχνολογίας. Η καθοδήγηση και οι συμβουλές της ήταν πολύτιμες για την ολοκλήρωση της διπλωματικής.

Ένα ακόμα ευχαριστώ οφείλω στον υποψήφιο διδάκτορα στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας Ε.Μ.Π., Αλέξανδρο Καλοσπύρο, για τη βοήθεια του στα πειράματα αξιολόγησης της βιοδραστικότητας του επιλεγμένου μορίου.

Ένα ακόμα ευχαριστώ οφείλω σε όλα τα μέλη του εργαστηρίου για την προθυμία που είχαν να απαντούν στις ερωτήσεις μου και τη βοήθεια που προσέφεραν, καθιστώντας το κλίμα του εργαστηρίου εξαιρετικά φιλικό και ευχάριστο.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και τους φίλους μου για τη συμπαράσταση κατά τη διάρκεια όλων των φοιτητικών μου χρόνων.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η σύνθεση νέων 2-υδροξυ-χαλκονών μέσω της αντίδρασης Claisen–Schmidt, η αξιολόγηση των ιδιοτήτων τους, καθώς και ο εγκλωβισμός σε πολυμερικά νανοσωματίδια του μορίου με την καλύτερη βιολογική δράση.

Οι χαλκόνες είναι ενώσεις, οι οποίες ανήκουν στην οικογένεια των φλαβονοειδών και απαντώνται στη φύση εμφανίζοντας υψηλή βιοδραστικότητα, όπως αντιοξειδωτική, αντικαρκινική, αντιμικροβιακή και αντιχολινεργική δράση.

Πραγματοποιήθηκε σύνθεση πέντε 2'-υδροξυ-χαλκονών από τις οποίες η 2'-υδροξυ-5'-βρωμο-4-βρωμοχαλκόνη (απόδοση 82%) εξετάστηκε ως προς την αντιοξειδωτική της δράση με την μέθοδο AAPH και ως προς την αναστολή των ενζύμων ακετυλοχολινεστεράση (AChE) και βουτυρυλοχολινεστεράση (BuChE) με τη μέθοδο Ellman. Η ένωση παρουσίασε σχετικά χαμηλή αντιοξειδωτική δράση (20%), όπως και χαμηλή αναστολή της AChE (13% για C=100 μM). Ωστόσο, εμφάνισε ισχυρή ικανότητα αναστολής της BuChE (69% για C=100 μM), επομένως συμπεραίνεται πως η ένωση έχει καλή εκλεκτικότητα ως προς τη BuChE.

Λόγω των βιοδραστικών ιδιοτήτων της ένωσης και της λιποφιλίας της μελετήθηκε ο εγκλωβισμός της σε πολυμερικά νανοσωματίδια, με σκοπό τη βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητάς της και τη μελέτη αποδέσμευσής της από τα νανοσωματίδια. Ο εγκλωβισμός πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας αλγινικό νάτριο ως πολυμερές, καθώς και με χρήση του φυσικού βαθέως ευτηκτικού διαλύτη (NaDES) γλυκόζη-γαλακτικό οξύ-νερό 1:5:6.2 ως παράγοντα διασταύρωσης και ως γαλακτωματοποιητή.

Για το χαρακτηρισμό των νανοσωματιδίων υπολογίστηκαν η απόδοση εγκλωβισμού και η απόδοση διεργασίας, ενώ μετρήθηκαν η υδροδυναμική διάμετρος και ο δείκτης πολυδιασποράς PDI με δυναμική σκέδαση φωτός (DLS), καθώς και το ζ-δυναμικό με ηλεκτροφόρηση. Η υδροδυναμική διάμετρος των νανοσωματιδίων βρέθηκε ίση με 441,6 nm, η διασπορά είχε μέτρια ομοιομορφία με PDI 0.432 και ήταν αρκετά σταθερή με ζ-δυναμικό ίσο με -33 mV.

Τέλος, τα νανοσωματίδια εξεταστήκαν ως προς σταθερότητα τους ένα μήνα μετά την παρασκευή τους σε δύο διαφορετικές συνθήκες συντήρησης, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και εντός ψυγείου. Τα νανοσωματίδια που βρίσκονταν εκτός ψυγείου παρέμειναν σχετικά σταθερά, γεγονός επιθυμητό για τη μεταφορά και αποθήκευσή τους σε μελλοντικές εφαρμογές.

## ABSTRACT

The aim of this thesis is the synthesis of new 2-hydroxy-chalcones via the Claisen-Schmidt reaction, the evaluation of their properties, and the encapsulation in polymeric nanoparticles of the molecule with the best biological activity.

Chalcones are compounds, which belong to the flavonoid family and are found in nature exhibiting high bioactivity, such as antioxidant, anticancer, antimicrobial and anticholinergic activity.

Five 2'-hydroxy-chalcones were synthesized, of which 2'-hydroxy-5'-bromo-4-bromo-chalcone (82 % yield) was tested for its antioxidant activity by the AAPH method and for the inhibition of the enzymes acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BuChE) by the Ellman method. The compound showed relatively low antioxidant activity (20%), as well as low inhibition of AChE (13% for C=100  $\mu$ M). However, it exhibited a strong ability to inhibit BuChE (69% for C=100  $\mu$ M), therefore it is concluded that the compound has good selectivity towards BuChE.

Due to the bioactive properties of the compound and its lipophilicity, its encapsulation in polymeric nanoparticles was studied in order to improve its bioavailability and to study its release from the nanoparticles. The encapsulation was performed using sodium alginate as polymer, and using natural deep eutectic solvent (NaDES) glucose-lactic acid-water 1:5:6.2 as a cross-linking agent and emulsifier.

For the characterization of the nanoparticles, the entrapment efficiency and process efficiency were calculated, and the hydrodynamic diameter and PDI polydispersity index were measured by dynamic light scattering (DLS), and the  $\zeta$ -potential was measured by electrophoresis. The hydrodynamic diameter of the nanoparticles was found to be equal to 441.6 nm, the dispersion was moderately uniform with a PDI of 0.432 and was fairly stable with a  $\zeta$ -potential equal to -33 mV.

Finally, the nanoparticles were tested for their stability one month after preparation under two different storage conditions, at ambient temperature and within a refrigerator. The nanoparticles outside the refrigerator remained relatively stable, which is desirable for their transport and storage in future applications.

## Περιεχόμενα

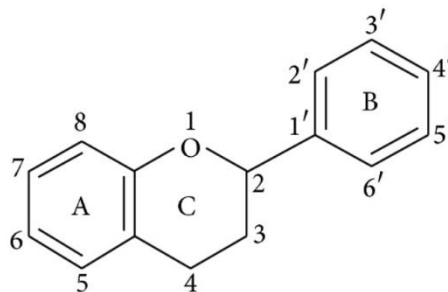
ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	2
ABSTRACT .....	3
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	6
Φλαβονοειδή.....	6
Ταξινόμηση φλαβονοειδών .....	6
Χαλκόνες.....	7
Βιολογική δράση χαλκονών.....	9
Αντικαρκινική δράση .....	10
Αντιοξειδωτική δράση.....	11
Αντιμικροβιακή δράση.....	12
Αντιχολινεργική δράση .....	12
Δράση ακετυλοχολινεστεράσης.....	14
Αναστολή ακετυλοχολινεστεράσης.....	14
Σύνθεση χαλκονών .....	14
Συμπύκνωση Claisen–Schmidt.....	14
Αντιδράσεις σύζευξης.....	15
Σύζευξη Heck.....	16
Σύζευξη ισομερισμού Sonogashira .....	16
Σύζευξη Suzuki–Miyaura.....	17
Ολεφινοποίηση Wittig.....	17
Ολεφινοποίηση Julia–Kocienski .....	17
Ακυλίωση Friedel–Crafts .....	18
Νανοτεχνολογία.....	18
Νανοφορείς εγκλωβισμού .....	18
Κατηγορίες νανοσωματιδίων .....	19
Μικυλλιακά νανοσωματίδια.....	20
Λιπιδικά νανοσωματίδια.....	21
Πολυμερικά νανοσωματίδια .....	21
Δενδριμερή νανοσωματίδια .....	22
Νανოსωλήνες άνθρακα.....	22
Μεταλλικά νανοσωματίδια.....	23
Μέθοδοι παρασκευής νανοσωματιδίων .....	24
Μέθοδος γαλακτωματοποίησης - εξάτμισης διαλύτη.....	24
Μέθοδος ιονοτροπικής πηκτωμάτωσης .....	24
Μέθοδος διπλού γαλακτώματος .....	24

Αλγινικό.....	24
Δημιουργία νανοσωματιδίων αλγινικού.....	25
Πλεονεκτήματα μεταφοράς φαρμάκων με χρήση νανοτεχνολογίας.....	26
Εφαρμογές νανοτεχνολογίας.....	27
Πράσινη χημεία.....	28
Σκοπός της πράσινης χημείας.....	28
Αρχές της πράσινης χημείας.....	28
Βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες (Deep Eutectic Solvents).....	32
Σύνθεση βαθέως ευτηκτικών διαλυτών.....	33
Ταξινόμηση των βαθέως ευτηκτικών διαλυτών.....	34
Φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες.....	34
Ιοντικά υγρά.....	35
Ταξινόμηση ιοντικών υγρών.....	35
Εφαρμογές βαθέως ευτηκτικών διαλυτών και ιοντικών υγρών.....	35
Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR).....	36
Δυναμική Σκέδαση Φωτός (DLS).....	37
Μέθοδος AAPH.....	40
Αναστολή ακετυλοχολινεστεράσης.....	41
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	43
Γενική μέθοδος σύνθεσης χαλκονών.....	44
Μελέτη αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο AAPH.....	48
Μελέτη αναστολής AChE.....	49
Μελέτη αναστολής BuChE.....	50
Σύνθεση κενών πολυμερικών νανοσωματιδίων (blank).....	50
Σύνθεση πολυμερικών νανοσωματιδίων.....	50
Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων.....	51
Απόδοση διεργασίας.....	51
Απόδοση εγκλωβισμού.....	51
DLS και ηλεκτροφόρηση.....	53
Μελέτη αποδέσμευσης από υδατική διασπορά νανοσωματιδίων.....	53
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	55
ΣΥΝΟΨΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	61
ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ.....	62
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	63

## ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### Φλαβονοειδή

Τα φλαβονοειδή ` είναι μια κατηγορία φυσικών δευτερογενών μεταβολιτών με πολυφαινολική δομή που βρίσκονται σε φρούτα, λαχανικά, δημητριακά, τσάι και άλλες φυτικές πηγές και τρόφιμα. Στα φυτά προσδίδουν το χρώμα των ανθών και χρησιμεύουν στην επικονίαση, καθώς προσελκύουν έντομα. Επιπλέον, προστατεύουν τα φυτά από δυσμενείς περιβαλλοντολογικές συνθήκες και έχουν αντιμικροβιακές δράσεις. Επιπρόσθετα, στα τρόφιμα είναι υπεύθυνα για το χρώμα τους και τη γεύση τους και λόγω των αντιοξειδωτικών τους δράσεων προλαμβάνουν την οξείδωση ουσιών προστατεύοντας ένζυμα και βιταμίνες.<sup>1-3</sup>

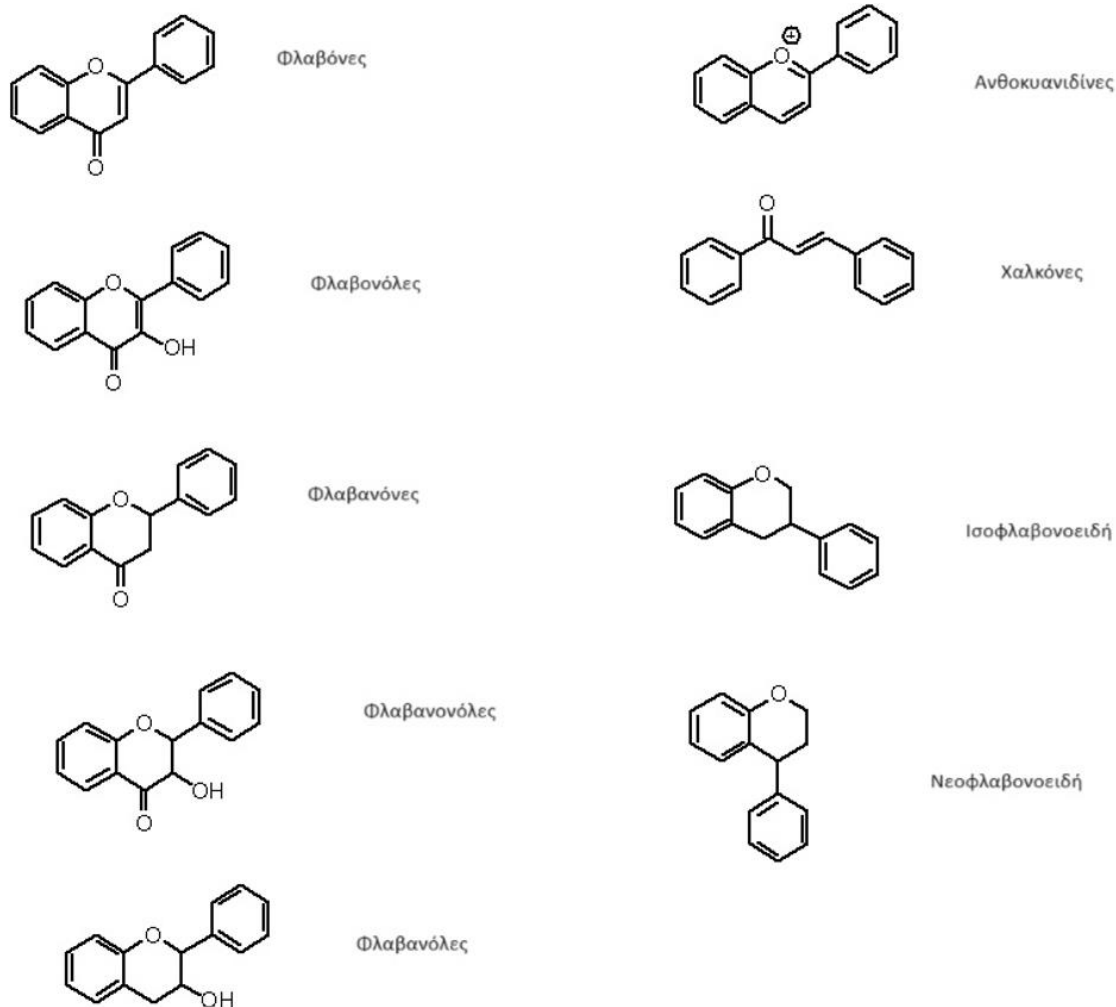


Σχήμα 1: Γενική δομή φλαβονοειδών<sup>1</sup>

Τα φλαβονοειδή εμφανίζουν πληθώρα βιοχημικών δράσεων και σχετίζονται με την αντιμετώπιση παθήσεων, όπως το Alzheimer, και διάφορες μορφές καρκίνου. Οι οξειές βιολογικές τους δράσεις οφείλονται στις αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες τους, όπως επίσης και στο ότι δύνανται να τροποποιούν ενζυμικές λειτουργίες.<sup>1,2</sup>

### Ταξινόμηση φλαβονοειδών

Κύριο χαρακτηριστικό των φλαβονοειδών είναι η ύπαρξη δεκαπέντε ατόμων άνθρακα στο βασικό τους σκελετό (Σχήμα 1), ο οποίος αποτελείται από δύο δακτυλίους βενζολίου A και B συνδεδεμένους μέσω ενός ετεροκυκλικού πυρανικού δακτυλίου C. Τα φλαβονοειδή στα οποία ο δακτύλιος B είναι συνδεδεμένος στη θέση 2 ταξινομούνται στις χαλκόνες, στις φλαβανόνες, στις φλαβονόλες, στις φλαβανονόλες, στις φλαβανόλες, στις φλαβόνες και στις ανθοκυανιδίνες. Οι διαφορές μεταξύ αυτών των υποκατηγοριών οφείλονται σε δομικές διαφορές του δακτυλίου C. Από την άλλη, τα φλαβονοειδή που ο δακτύλιος B είναι συνδεδεμένος στη θέση 3 του δακτυλίου C, ονομάζονται ισοφλαβονοειδή, ενώ εκείνα στα οποία ο δακτύλιος B συνδέεται στη θέση 4, ονομάζονται νεοφλαβονοειδή (Σχήμα 2).<sup>1,3</sup>



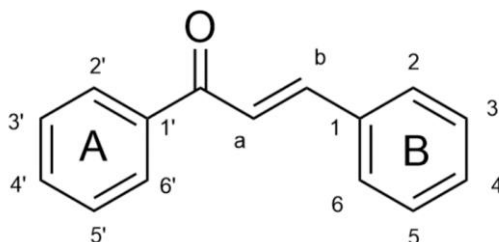
Σχήμα 2: Κατηγορίες φλαβονοειδών<sup>1</sup>

## Χαλκόνες

Οι χαλκόνες (1,3-διαρυλ-2-προπεν-1-όνες) αποτελούν μια κατηγορία φλαβονοειδών με ανοικτή αλυσίδα. Το όνομά τους προέρχεται από την Ελληνική λέξη «χαλκός» και αποδόθηκε σε αυτές από τους Kostanecki και Tambor, οι οποίοι τις συνέθεσαν και τις μελέτησαν για πρώτη φορά, λόγω του χρώματος που έχουν οι περισσότερες χαλκόνες.<sup>4</sup> Αποτελούν φυσικά προϊόντα, τα οποία απαντώνται σε διάφορες μορφές στη φύση, συνήθως ως πρόδρομες ενώσεις για τη βιοσύνθεση άλλων φλαβονοειδών.<sup>5,6</sup> Τα τελευταία χρόνια έχουν κεντρίσει το ενδιαφέρον των ερευνητών, λόγω της χημικής τους δομής και της υψηλής βιοδραστικότητάς τους. Αναλυτικότερα, οι χαλκόνες έχουν εύκαμπτη δομή και μπορούν να συνδεθούν αποτελεσματικά με πολλά ένζυμα και υποδοχείς. Επίσης, η σύζευξη μεταξύ του διπλού δεσμού και της ομάδας του καρβονυλίου θεωρείται ότι προσδίδει στο μόριο βιολογικές ιδιότητες.<sup>7</sup>

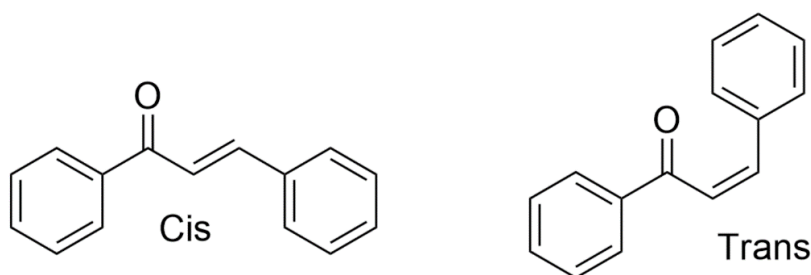


Οι χαλκόνες αποτελούνται από μια αλυσίδα τριών ανθράκων  $\alpha$ ,  $\beta$  ακόρεστου καρβονυλίου, που συνδέει δύο αρωματικούς δακτυλίους. Η τυπική δομή των χαλκονών και η αρίθμηση των ανθράκων του μορίου φαίνονται στο Σχήμα 3.<sup>8</sup>



Σχήμα 3: Χαρακτηριστική δομή χαλκονών.<sup>9</sup>

Στην πραγματικότητα οι χαλκόνες δύνανται να έχουν δυο διαμορφώσεις, μια *cis* (*Z*) και μια *trans* (*E*), με την *trans* να είναι θερμοδυναμικά σταθερότερη, επομένως θεωρείται ότι βρίσκονται κυρίως σε αυτή τη διαμόρφωση (Σχήμα 4).<sup>10</sup>



Σχήμα 4: Διαμορφώσεις χαλκονών<sup>7</sup>

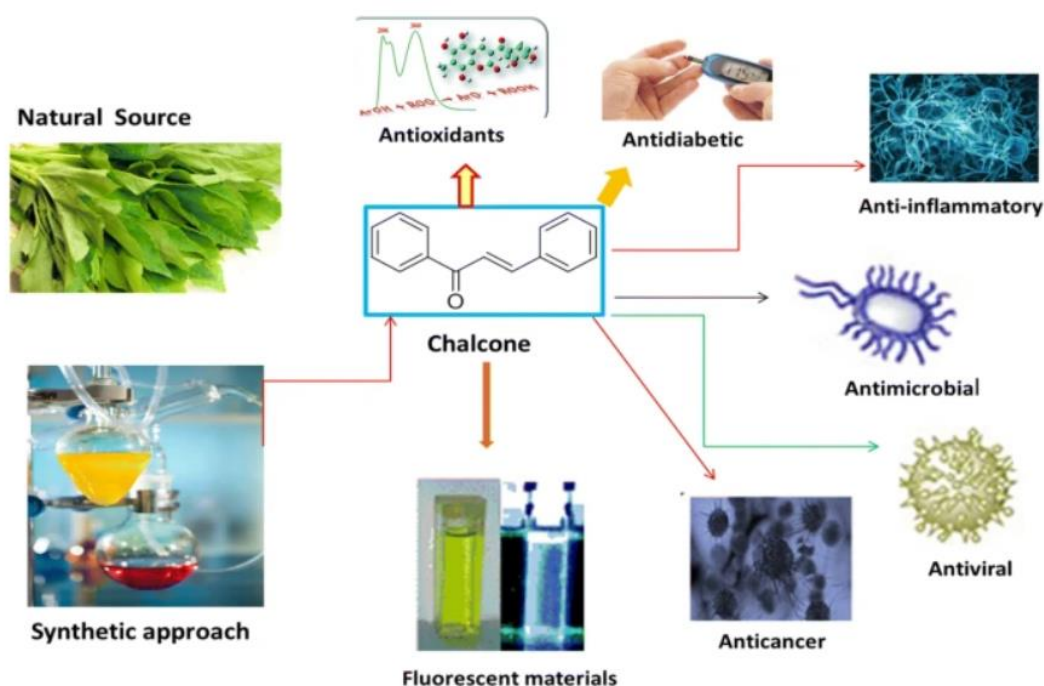
Η σημασία των χαλκονών έγκειται στην ικανότητα τους να σχηματίζουν εύκολα δεσμούς άνθρακα-άνθρακα, άνθρακα-θείου και άνθρακα-αζώτου, οι οποίοι είναι σημαντικοί για τη σύνθεση πολλών ετεροκυκλικών ενώσεων, όπως πυριμιδίνες, πυριδίνες, βενζοδιαζεπίνες, πυραζόλια, 2-πυραζολίνες και ιμιδαζόλια.<sup>8</sup>

Οι φυσικές χαλκόνες στην πλειονότητα τους είναι κρυσταλλικά στερεά και έχουν διάφορα χρώματα, όπως κίτρινο, πορτοκαλί και καφέ, ενώ η σύνθεσή τους πραγματοποιείται παρουσία συνθάσης χαλκόνης (ένζυμο που δρα ως καταλύτης). Αξίζει να σημειωθεί, ότι τα φυτά που συσσωρεύουν χαλκόνες έχουν χρησιμοποιηθεί στην παραδοσιακή ιατρική έχοντας ευεργετικά αποτελέσματα. Κύριες πηγές χαλκονών στη φύση είναι τα φρούτα, τα λαχανικά, το τσάι, η γλυκόριζα, αλλά και διάφορα βότανα. Εκτός από τους καρπούς και τα φύλλα βρίσκονται και στο φλοιό και τις ρίζες των φυτών.<sup>9</sup>

## Βιολογική δράση χαλκονών

Η υψηλή βιοδραστικότητα τους και η ευρεία χρήση τους σε φαρμακευτικές εφαρμογές ερμηνεύονται από το γεγονός ότι έχουν εύκαμπτη δομή και μπορούν να συνδεθούν αποτελεσματικά με πολλά ένζυμα και υποδοχείς, καθώς και από τη σύζευξη του διπλού δεσμού με την ομάδα του καρβονυλίου. Επίσης, οι φαρμακευτικές ιδιότητές τους εξαρτώνται από τη θέση, τον αριθμό και τη φύση των υποκαταστατών στους δύο αρωματικούς δακτυλίους.<sup>7</sup>

Οι χαλκόνες και τα ανάλογά τους έχουν ένα ευρύ φάσμα βιολογικών δράσεων, συμπεριλαμβανομένων της αντιοξειδωτικής, της αντιφλεγμονώδους, της αντικαρκινικής, της αντιμικροβιακής, της αντιυπερτασικής, της αντιδιαβητικής και της αντικής.<sup>8</sup>



Εικόνα 1: Χαρακτηριστικές βιολογικές δράσεις των χαλκονών<sup>11</sup>

Οι αλογονωμένες χαλκόνες, και ειδικότερα οι φθοριωμένες, παρουσιάζουν ισχυρότερες αντιοξειδωτικές και γενικότερα θεραπευτικές ιδιότητες, επειδή ο δεσμός C-F είναι μεταβολικά σταθερός. Επιπρόσθετα, τα δίφθορο- παράγωγα έχει βρεθεί ότι είναι πιο αποτελεσματικά έναντι των καρκινικών κυττάρων του παγκρέατος και του μαστού. Γενικά, έχει παρατηρηθεί ότι η υποκατάσταση με φθόριο είναι μια αποτελεσματική βιοϊσοστερής υποκατάσταση με μικρή αλλαγή της στερεοχημικής δομής και μεγάλη αύξηση της σταθερότητας του μορίου.<sup>12</sup>

Έρευνες δείχνουν ότι η υποκατάσταση της θέσης 2' στο δακτύλιο A με ένα υδροξύλιο είναι σημαντική για τις αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις και αντικαρκινικές ιδιότητες των χαλκονών. Ακόμη, έχει βρεθεί ότι η

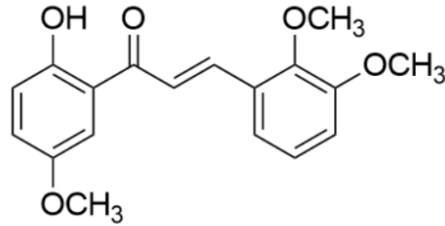
αντιοξειδωτική και αντικαρκινική δράση των 2'-υδροξυ-χαλκονών ενισχύονται, όταν ο δακτύλιος B είναι υποκατεστημένος με κάποιο αλογόνο.<sup>12</sup>

#### Αντικαρκινική δράση

Μια σημαντική ιδιότητα των χαλκονών είναι η αντικαρκινική τους δράση. Αυτή οφείλεται στο γεγονός ότι πολλές χαλκόνες, υπό ορισμένες συνθήκες, έχουν οξειδωτικές ικανότητες και μπορούν να συμμετέχουν σε μηχανισμούς σχηματισμού υπεροξειδίου ή εξάντλησης της κυτταρικής γλουταθειόνης, αλλά και στη δημιουργία ριζών φαινοξειδίου, που συσχετίζονται με τον κυτταρικό θάνατο και τη στοχευμένη θεραπεία καρκινικών ιστών. Επιπρόσθετα, δύνανται να αλληλεπιδρούν με κινάσες, μικροσωληνίσκους και πρωτεΐνες ανθεκτικές στην πολυθεραπεία, που σχετίζονται με τον κυτταρικό θάνατο. Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι χαλκόνες με άζωτο στη δομή τους έχουν καλές αντικαρκινικές ιδιότητες. Οι υποκατεστημένες με άζωτο χαλκόνες έχουν σημαντικές κυτταροτοξικές επιδράσεις σε περιπτώσεις, όπως ο καρκίνος του μαστού, των ωθηκών και του παγκρέατος.<sup>7</sup>

Ένας σημαντικός μηχανισμός αναστολής της πολλαπλασιαστικής δραστηριότητας των κυττάρων που επιτυγχάνουν οι χαλκόνες είναι η αλληλεπίδρασή τους με υπολείμματα κυστεΐνης και η αναστολή της τουμπουλίνης. Τα πολυμερή της α και β τουμπουλίνης σχηματίζουν κοίλους μικροσωληνίσκους, οι οποίοι έχουν σημαντικό ρόλο στην μεταφορά ουσιών μέσα στα κύτταρα, τη διατήρηση της δομής των κυττάρων και τη μίτωση. Οι αναστολές της τουμπουλίνης θεωρούνται αποτελεσματικοί αντικαρκινικοί παράγοντες, καθώς διακόπτουν τον πολυμερισμό της τουμπουλίνης επιφέροντας κυτταρικό θάνατο.<sup>7</sup>

Η συχνότερη θεραπεία για τον καρκίνο είναι η χημειοθεραπεία, καθώς οι χειρουργικές επεμβάσεις έχουν χαμηλή αποτελεσματικότητα. Ωστόσο, οι χημειοθεραπείες παρουσιάζουν πολλές παρενέργειες, ως εκ τούτου καθίστανται ιδιαίτερα δύσκολες για τους ασθενείς. Για αυτόν τον λόγο γίνονται έρευνες για τη δημιουργία νέων αντικαρκινικών φαρμάκων, τα οποία θα έχουν υψηλή αποτελεσματικότητα και περιορισμένες παρενέργειες. Βασικός μηχανισμός αντιμετώπισης των καρκινικών όγκων είναι η καταστολή της ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων. Για την εύρεση θεραπείας έχουν μελετηθεί ορισμένες χαλκόνες ως προς την αντικαρκινική τους δράση και την απορρόφησή τους από τον οργανισμό. Παρατηρήθηκε ότι η 2'-υδροξυ-2,3,5'-τριμεθοξυχαλκόνη (Σχήμα 5) είχε πολύ καλή αντικαρκινική δράση σε *in vitro* δοκιμές κατά του καρκίνου του παγκρέατος.<sup>10</sup>

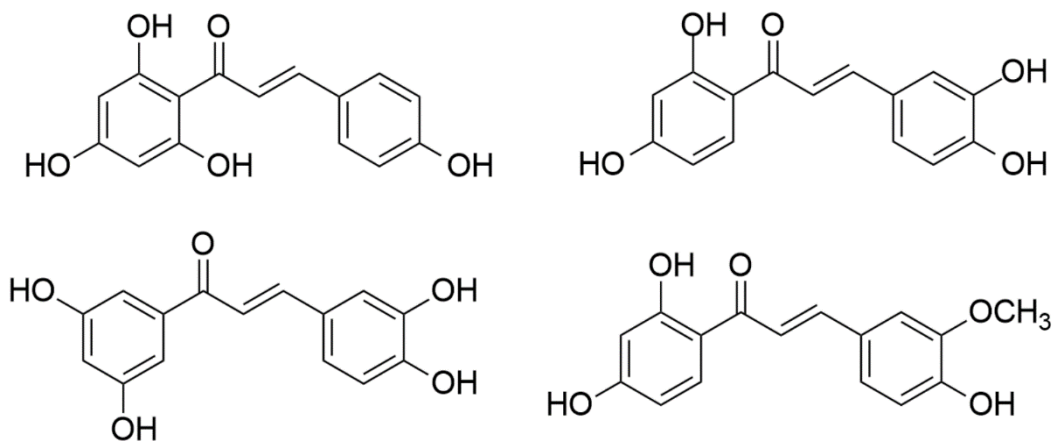


Σχήμα 5: 2'-υδροξυ-2,3,5'-τριμεθοξυχαλκόνη

#### Αντιοξειδωτική δράση

Οι οξειδωτικές ρίζες (υπεροξειδίο ( $O_2^{\bullet-}$ ), υπεροξύλιο ( $ROO^{\bullet}$ ), αλκοξύλιο ( $RO^{\bullet}$ ), υδροξύλιο ( $HO^{\bullet}$ ) και μονοξείδιο του αζώτου ( $NO^{\bullet}$ )) έχουν ένα δραστικό οξυγόνο, το οποίο δύναται να δώσει αντιδράσεις οξείδωσης. Αν και έχουν πολύ μικρό χρόνο ζωής, μπορούν να δημιουργήσουν πολλά προβλήματα, όπως βλάβη στις κυτταρικές μεμβράνες, οξείδωση βάσεων του DNA, θραύση κλώνων DNA, χρωμοσωμικές ανωμαλίες και πρωτεϊνικές αλλοιώσεις. Το αντιοξειδωτικό σύστημα του οργανισμού περιλαμβάνει αντιοξειδωτικά ένζυμα, πρωτεΐνες και μόρια, τα οποία, όταν δεν βρίσκονται σε ισορροπία με τις οξειδωτικές ρίζες, δημιουργούν οξειδωτικό στρες, που είναι ιδιαίτερα επικίνδυνο. Για αυτόν το λόγο, είναι απαραίτητη η μείωση της συγκέντρωσης τέτοιων ριζών στον ανθρώπινο οργανισμό.<sup>13</sup>

Ενδεικτικά, στο Σχήμα 6 παρουσιάζονται ορισμένες φυσικές χαλκόνες με ισχυρή αντιοξειδωτική δράση.<sup>13</sup>



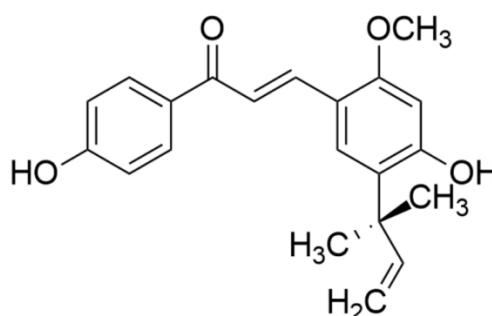
Σχήμα 6: Φυσικές χαλκόνες με αντιοξειδωτική δράση.<sup>13</sup>

Σε πειράματα που έχουν γίνει μελετήθηκε η αντιοξειδωτική δράση των χαλκονών, ανάλογα με τους υποκατάστατες που έχουν. Αναλυτικότερα, επιλέχθηκαν χαλκόνες με μεθοξυ-, θειομεθυλ- και διμεθυλαμινο-υποκαταστάσεις. Από τα αποτελέσματα προέκυψε ότι οι ενώσεις με υδροξύλια ως υποκατάστατη στο δακτύλιο Β παρουσίασαν πολύ καλή αντιοξειδωτική δράση. Η αντιοξειδωτική δράση οφείλεται στη μεταφορά ενός ηλεκτρονίου ή

στη μεταφορά ενός ατόμου υδρογόνου, ώστε οι δραστικές ρίζες να χάσουν το δραστικό τμήμα τους, χωρίς να δημιουργηθεί νέα ρίζα και να σταματήσει η διαδικασία οξειδωσης. Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι καλή αντιοξειδωτική δράση έχουν χαλκόνες με εστέρες λιπαρών οξέων ως υποκατάστατες.<sup>6,13,14</sup>

### Αντιμικροβιακή δράση

Υπάρχουν πολλές χαλκόνες που έχουν εμφανίσει ισχυρή αντιμικροβιακή δράση. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η λικοχαλκόνη Α (Σχήμα 7), η οποία απομονώνεται από τις ρίζες του φυτού *Glycyrrhiza inflata* και είναι ιδιαίτερα δραστική και τοξική για τα θετικά κατά Gram βακτήρια, χωρίς να επηρεάζει τα αρνητικά κατά Gram βακτήρια και τους ευκαριώτες. Ακόμη, πειράματα έχουν δείξει ότι τα φαινολικά υδροξύλια ευθύνονται για την αντιμικροβιακή δράση, με το υδροξύλιο του δακτυλίου Α να οδηγεί σε ισχυρότερη αντιμικροβιακή δράση από ό,τι του Β. Επίσης, η πλευρική αλυσίδα του πρενυλίου στο δακτύλιο Β ενισχύει το λιπόφιλο χαρακτήρα του μορίου και δύναται να αντικατασταθεί από άλλες λιπόφιλες ομάδες, χωρίς να μειωθεί η αντιμικροβιακή δράση. Από μελέτες σε άλλες χαλκόνες έχει παρατηρηθεί ότι η ύπαρξη της βενζυλοξυ- ομάδας, καθώς και η παρουσία μη υποκατεστημένου Β-δακτυλίου στο μόριο της χαλκόνης αυξάνουν την αντιμικροβιακή της δράση.<sup>5,15,16</sup>



Σχήμα 7: Λικοχαλκόνη Α

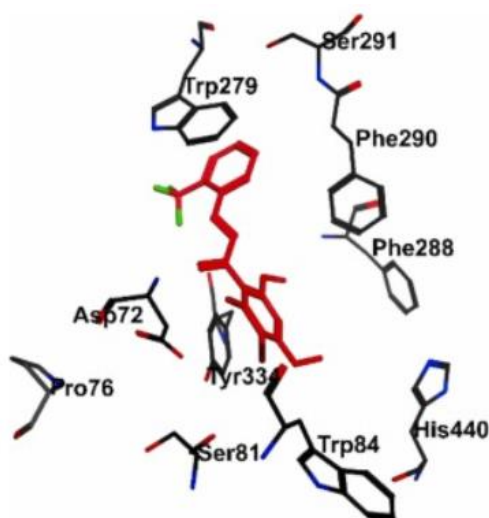
### Αντιχολινεργική δράση

Η νόσος του Αλτσχάιμερ είναι μια νευροεκφυλιστική ασθένεια, που επηρεάζει άτομα μεγάλης ηλικίας προκαλώντας προοδευτικό εκφυλισμό των νευρικών ιστών του εγκεφάλου με συνέπεια την απώλεια μνήμης. Εξαιτίας της γήρανσης, η δράση των αντιοξειδωτικών μηχανισμών του οργανισμού μειώνεται. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την υπερσυσσώρευση ελευθέρων ριζών, δημιουργώντας φαινόμενα οξειδωτικού στρες και αλλοίωση σε πρωτεΐνες του νευρικού συστήματος και του DNA, οδηγώντας σε μεταβολικές βλάβες στο νευρικό σύστημα. Οι πιο διαδεδομένες υποθέσεις για την ερμηνεία της παθολογίας της νόσου είναι η χολινεργική και η αμυλοειδής. Η χολινεργική υπόθεση θεωρεί πως η νόσος προκύπτει από ανεπάρκεια του νευροδιαβιβαστή ακετυλοχολίνη, ενώ η αμυλοειδής υπόθεση θεωρεί ότι η αιτία είναι η συσσώρευση αδιάλυτης

μορφής του β- αμυλοειδούς πεπτιδίου σε εξωκυτταρικούς χώρους, σε πυκνές δέσμες ινιδίων και σε τοιχώματα αιμοφόρων αγγείων.<sup>17-19</sup>

Η χρήση αναστολέων της ακετυλοχολινεστεράσης δύναται να αυξήσει τα επίπεδα της ακετυλοχολίνης. Η ακετυλοχολινεστεράση αποτελεί ένα από τα κυριότερα συστατικά του χολινεργικού συστήματος στο κεντρικό και περιφερικό νευρικό σύστημα, μετατρέποντας την ακετυλοχολίνη σε οξικό οξύ και χολίνη. Συνεπώς, η αναστολή της ακετυλοχολινεστεράσης αυξάνει τα επίπεδα της ακετυλοχολίνης στο νευρικό σύστημα. Οι χαλκόνες έχουν εμφανίσει αντιχολινεργική δράση και θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως δραστικές ουσίες στο σχεδιασμό τέτοιων φαρμάκων.<sup>17-19</sup>

Έρευνες έχουν δείξει ότι η ύπαρξη αλογόνων στο μόριο αυξάνει τη δράση του, καθώς η πρόσληψη ηλεκτρονίων από τα αλογόνα ευνοεί τις μη ομοιοπολικές υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις, οπότε η χαλκόνη δύναται να συνδεθεί αποτελεσματικότερα με το ένζυμο. Μελέτες έχουν δείξει ότι οι αλογονωμένες χαλκόνες με τμήματα βρωμοβενζολίου και μεθοξυφαινυλίου έχουν πολύ καλή αντιχολινεργική δράση και θα μπορούσαν χρησιμοποιηθούν για το σχεδιασμό άλλων βιοδραστικών μορίων.<sup>17,18,20</sup>



Εικόνα 2: Σύνδεση χαλκόνης (E)-1-(3-bromo-2-hydroxy-4,6-dimethoxyphenyl)-3-(2-(trifluoromethyl)phenyl)prop-2-en-1-one (κόκκινο μόριο) με τα αμινοξέα της ακετυλοχολινεστεράσης<sup>20</sup>

## Δράση ακετυλοχολινεστεράσης

Η ακετυλοχολινεστεράση συμμετέχει στη λειτουργία του κεντρικού και του περιφερικού νευρικού συστήματος τερματίζοντας τη μετάδοση παλμών στις χολινεργικές συνάψεις, μέσω της υδρόλυσης της ακετυλοχολίνης, η οποία είναι ένας νευροδιαβιβαστής. Η ακετυλοχολίνη απελευθερώνεται κατά τη διάρκεια της νευροδιαβίβασης από το νεύρο στην συναπτική σχισμή και προσδένεται στους υποδοχείς μεταδίδοντας το σήμα από το νεύρο.<sup>19,21</sup>

Η βουτυρυλοχολινεστεράση (BuChE) είναι ένα ένζυμο που έχει μεγάλη ομοιότητα με την ακετυλοχολινεστεράση, καταλύει την υδρόλυση της βουτυρυλοχολίνης ταχύτερα από ό,τι η ακετυλοχολινεστεράση υδρολύει την ακετυλοχολίνη. Επίσης, είναι υπεύθυνη για την υδρόλυση διάφορων εστέρων, για αυτό έχει μελετηθεί με σκοπό την κατανόηση μεταβολικών μηχανισμών.<sup>19,21</sup>

## Αναστολή ακετυλοχολινεστεράσης

Οι αναστολείς της ακετυλοχολινεστεράσης αναστέλλουν το ένζυμο από τη διάσπαση της ακετυλοχολίνης αυξάνοντας το επίπεδο και τη διάρκεια της δράσης του νευροδιαβιβαστή. Ως προς τον τρόπο δράσης, οι αναστολείς της ακετυλοχολινεστεράσης μπορούν να χωριστούν σε δύο ομάδες, στους αναστρέψιμους και τους μη αναστρέψιμους. Οι αναστρέψιμοι αναστολείς έχουν ως επί το πλείστον θεραπευτικές εφαρμογές, ενώ οι μη αναστρέψιμοι συνδέονται με τοξικές επιδράσεις.<sup>19,21</sup>

Οι αναστρέψιμοι αναστολείς έχουν πολλές εφαρμογές στη ρύθμιση της δράσης της ακετυλοχολινεστεράσης με φαρμακευτικές μεθόδους. Τα μόρια που λειτουργούν ως αναστρέψιμοι αναστολείς δύνανται να έχουν πολλές λειτουργικές ομάδες που να τους προσδίδουν αυτή τη δράση, όπως ομάδες καρβαμιδιού και τεταρτοταγούς ή τριτοταγούς αμμωνίου.<sup>19,21</sup>

Η μη αναστρέψιμη αναστολή της ακετυλοχολινεστεράσης οφείλεται κυρίως στη δράση οργανοφωσφορικών ενώσεων. Σε αυτή την ομάδα ενώσεων ανήκουν κυρίως εστέρες ή θειόλες, που προέρχονται από φωσφορικό, φωσφορούχο η και υποφωσφορικό οξύ.<sup>19,21</sup>

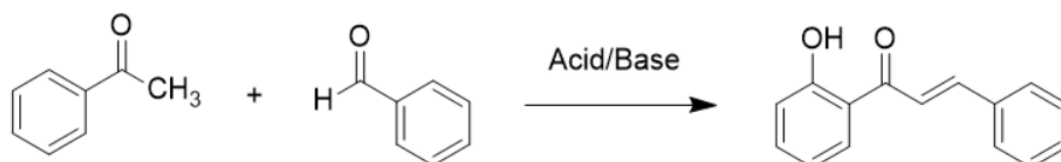
## Σύνθεση χαλκονών

### Συμπύκνωση Claisen–Schmidt

Η συμπύκνωση Claisen–Schmidt (Σχήμα 8) είναι η πιο συνηθισμένη αντίδραση σύνθεσης χαλκονών, κατά την οποία μια βενζαλδεΐδη συμπυκνώνεται με μια ακετοφαινόνη παρουσία καταλυτών οξέος ή βάσης σε πολικούς διαλύτες. Οι βάσεις που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι το NaOH, το KOH και το NaNH, ενώ τα οξέα είναι τα οξέα κατά Bronsted και Lowry, Lewis και τα στερεά οξέα.

4,11,22

Η αντίδραση πραγματοποιείται στους 50–100°C για 24-72 h. Τις περισσότερες φορές η αντίδραση πραγματοποιείται σε υγρή φάση, αλλά υπό συνθήκες δύναται να λάβει χώρα, είτε σε στερεή φάση παρουσία ρητίνης, είτε με καταλύτη κάποιο οξείδιο μετάλλου χωρίς τη χρήση διαλύτη. Ένα μειονέκτημα της συμπύκνωσης Claisen–Schmidt είναι οι μεγάλοι χρόνοι αντίδρασης, για αυτόν το λόγο πολλές φορές χρησιμοποιούνται τεχνικές θέρμανσης με μικροκύματα ή υπέρηχους, που μειώνουν πολύ το χρόνο αντίδρασης.<sup>4</sup>

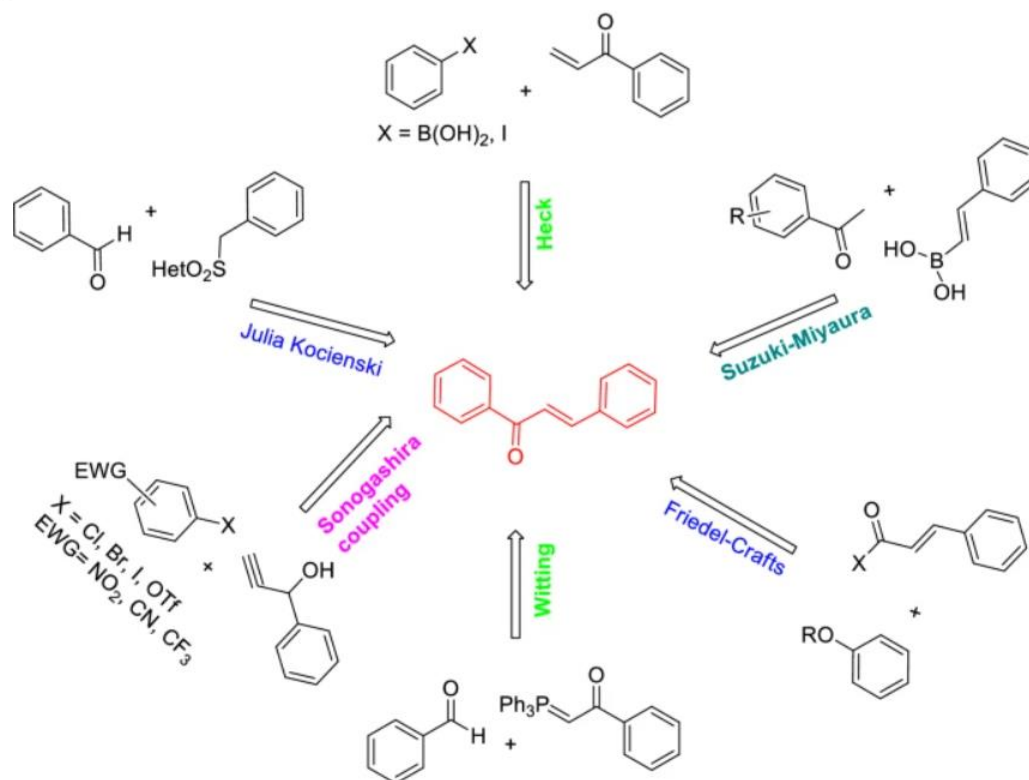


Σχήμα 8: Συμπύκνωση Claisen–Schmidt<sup>11</sup>

#### Αντιδράσεις σύζευξης

Μια άλλη κατηγορία αντιδράσεων που χρησιμοποιείται για τη σύνθεση χαλκονών είναι οι αντιδράσεις σύζευξης. Αυτές οι αντιδράσεις προτιμώνται, έναντι της συμπύκνωσης Claisen–Schmidt, στην περίπτωση σύνθεσης χαλκονών όπου παράγεται και μεγάλος αριθμός παραπροϊόντων, τα οποία καθιστούν δύσκολο τον καθαρισμό του τελικού προϊόντος. Οι μέθοδοι σύζευξης πραγματοποιούνται παρουσία καταλυτών μετάλλων μεταπτώσεως. Οι σημαντικότερες από αυτές είναι η ολεφίνοποίηση Julia–Kocienski, η ολεφίνοποίηση Wittig, η ακυλίωση Friedel–Crafts, η σύζευξη Heck, η σύζευξη ισομερισμού Sonogashira και η σύζευξη Suzuki–Miyaura (Σχήμα 9).<sup>11,22</sup>

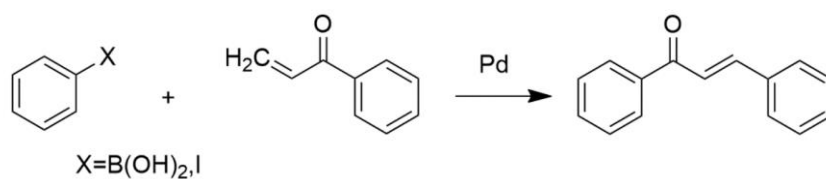




Σχήμα 9: Αντιδράσεις σύζευξης για τη σύνθεση χαλκονών <sup>11</sup>

### Σύζευξη Heck

Η σύζευξη Heck (Σχήμα 10) είναι μια καταλυόμενη από μέταλλα αντίδραση που επιτυγχάνει τη σύνθεση χαλκονών μέσω της σύζευξης αρυλοβορονικών οξέων και αρυλοβινυλοκετονών. Οι αρυλοβινυλοκετόνες συζευγνύονται με αρυλοϊωδιδία ή αρυλοβορονικά οξέα και παράγουν χαλκόνες σε υψηλές αποδόσεις. Μια πιο σύγχρονη μέθοδος είναι η καρβονυλιωτική βινυλίωση αρυλαλογονιδίων με στυρόλιο παρουσία μονοξειδίου του άνθρακα με καταλύτες παλλαδίου.<sup>11,22</sup>

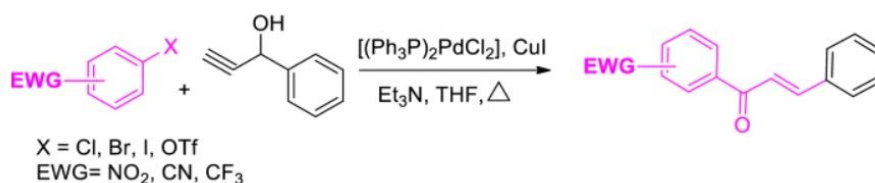


Σχήμα 10 : Αντίδραση σύζευξης Heck για τη σύνθεση χαλκονών<sup>11</sup>

### Σύζευξη Sonogashira

Η σύζευξη Sonogashira (Σχήμα 11) είναι η αντίδραση κατά την οποία γίνεται σύζευξη τερματικών αλκινίων ( $RC_2H$ ) με αρυλαλογονίδια. Πραγματοποιείται παρουσία καταλύτη παλλαδίου σε συνδυασμό με συνκαταλυτική ποσότητα CuI σε μίγμα τριμεθυλαμίνης και THF υπό συνθήκες αδρανούς αερίου για 16-24 h. Οι περιορισμοί της σύζευξης Sonogashira είναι ότι για μεγάλους χρόνους αντίδρασης απαιτείται περίσσεια βάσης, ενώ χρειάζονται και αρυλαλογονίδια με έλλειμμα ηλεκτρονίων. Αξίζει να σημειωθεί, ότι παρά τους περιορισμούς που

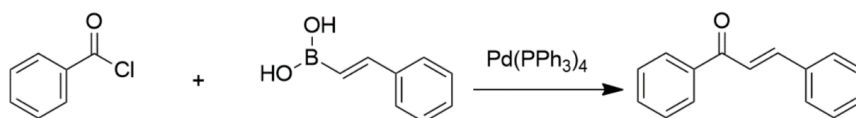
υπάρχουν, οι χαλκόνες παράγονται με μέτριες έως αρκετά καλές αποδόσεις, ενώ με χρήση μικροκυμάτων έχει πραγματοποιηθεί σύνθεση χαλκονών σε λιγότερο από μισή ώρα με αξιόλογες αποδόσεις.<sup>11,22</sup>



Σχήμα 11: Αντίδραση σύζευξης Sonogashira για τη σύνθεση χαλκονών<sup>11</sup>

### Σύζευξη Suzuki–Miyaura

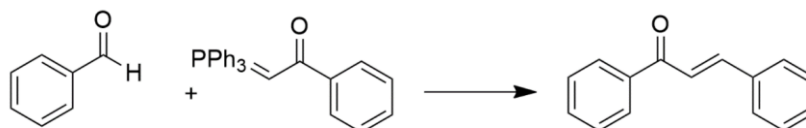
Η σύζευξη Suzuki–Miyaura (Σχήμα 12) είναι μια αντίδραση καταλυόμενη από μέταλλα όπου δύο μόρια με διαφορετικό αριθμό ηλεκτρονίων αντιδρούν και σχηματίζουν δεσμό άνθρακα-άνθρακα (C-C). Μέσω της σύζευξης κινναμωμικά χλωρίδια με διάφορα αρυλοβορονικά οξέα, παρουσία Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> και άνυδρου τολουολίου σε ατμόσφαιρα αργού και χρόνο αντίδρασης 4 h πραγματοποιήθηκε σύνθεση χαλκονών με μέτριες αποδόσεις.<sup>11,22</sup>



Σχήμα 12: Αντίδραση σύζευξης Suzuki–Miyaura για τη σύνθεση χαλκονών<sup>11</sup>

### Ολεφिनιοποίηση Wittig

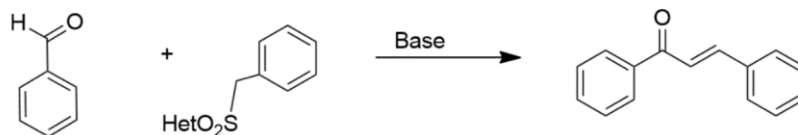
Μια άλλη αντίδραση που χρησιμοποιείται στη σύνθεση χαλκονών είναι η ολεφινιοποίηση Wittig (Σχήμα 13), μέσω της οποίας μια αλδεΐδη ή κετόνη αντιδρά με τριφαινυλοφωσφονικό υλίδιο για τη λήψη αλκενίων. Ειδικότερα, για τις χαλκόνες πραγματοποιείται αντίδραση με βενζαλδεΐδη σε THF για 30 h με μέτριες αποδόσεις ή χρησιμοποιώντας μικροκύματα για 5–6 min με υψηλές αποδόσεις.<sup>11,22</sup>



Σχήμα 13: Αντίδραση ολεφινιοποίησης Wittig για τη σύνθεση χαλκονών<sup>11</sup>

### Ολεφινιοποίηση Julia–Kocienski

Η σύνθεση χαλκονών μέσω της αντίδρασης Julia–Kocienski (Σχήμα 14) πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας ένα αντιδραστήριο Julia και μια βενζαλδεΐδη σε αλκαλικό περιβάλλον. Οι παράμετροι που επηρεάζουν την αντίδραση είναι η βάση που χρησιμοποιείται, η θερμοκρασία, ο διαλύτης και το αντιδραστήριο Julia. Επίσης, παρατηρήθηκε ότι η απόδοση είναι μεγαλύτερη σε υψηλές θερμοκρασίες και η χρήση μη πολικών διαλυτών οδηγεί σε χαλκόνες με μεγαλύτερη απόδοση, σε σύγκριση με τους πολικούς.<sup>11,22</sup>



Σχήμα 14: Αντίδραση ολεφίνοποίησης Julia–Kocienski για τη σύνθεση χαλκονών<sup>11</sup>

### Ακυλίωση Friedel–Crafts

Μια αντίδραση που εφαρμόζεται σε χαλκόνες με πολλούς υποκατάστατες είναι η ακυλίωση Friedel-crafts (Σχήμα 15). Αποτελεί τη λιγότερο χρησιμοποιούμενη μέθοδο σύνθεσης χαλκονών, ενώ μέσω αυτής παράγονται χαλκόνες με ικανοποιητικές αποδόσεις χρησιμοποιώντας οξέα Lewis ως καταλυτές.<sup>11,22</sup>



Σχήμα 15: Αντίδραση ακυλίωσης Friedel-Crafts για τη σύνθεση χαλκονών<sup>11</sup>

## Νανοτεχνολογία

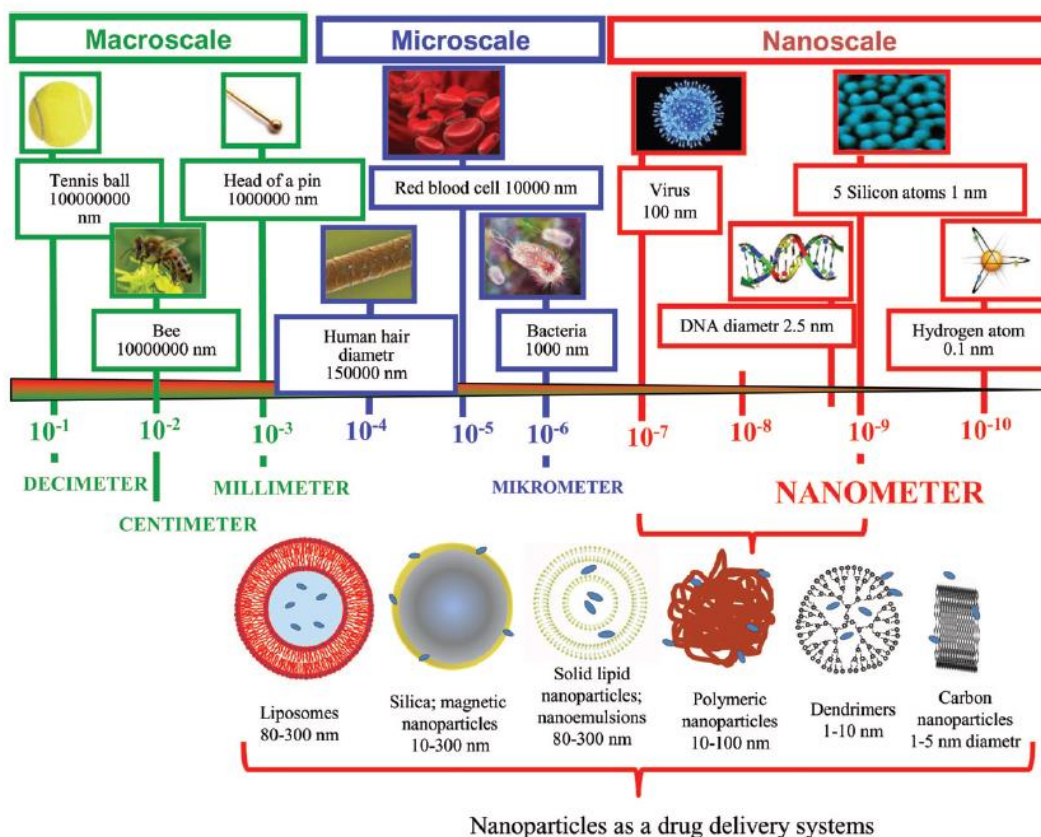
Η νανοτεχνολογία είναι ο τομέας της επιστήμης που ασχολείται με φαινόμενα της ύλης που πραγματοποιούνται σε ατομικό ή μοριακό επίπεδο και αφορά μεγέθη από 1 έως 1000 nm. Οι ιδιότητες των υλικών στη νανοκλίμακα διαφέρουν από αυτές σε πιο μεγάλες κλίμακες, εξαιτίας των φυσικών, χημικών και βιολογικών φαινομένων που λαμβάνουν χώρα λόγω των μικρών διαστάσεων. Για αυτόν το λόγο, τα νανοτεχνολογικά προϊόντα έχουν ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών σε τομείς, όπως το περιβάλλον, η ιατρική, η φαρμακευτική και η μηχανική.<sup>23,24</sup>

Οι μέθοδοι παρασκευής νανοδομημάτων ακολουθούν δύο προσεγγίσεις. Αρχικά, στην προσέγγιση «top down» πραγματοποιείται ενσωμάτωση υλικών νανοκλίμακας σε μακροσκοπικά υλικά. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η μέθοδος της φωτολιθογραφίας, όπου γίνεται χάραξη και προσθήκη κυκλωμάτων σε πλάκες πυριτίου. Αντίθετα, στη μέθοδο «bottom up», γίνεται σχεδιασμός και σύνθεση μορίων σε νανοκλίμακα, τα οποία δύνανται να αυτοσυναρμολογούνται και να δομούν υλικά μεγαλύτερης κλίμακας. Η δυνατότητα συναρμολόγησης των υλικών προκύπτει από την αλλαγή κάποιας φυσικοχημικής ιδιότητας του συστήματος, όπως το pH ή η θερμοκρασία.<sup>23,24</sup>

### Νανοφορείς εγκλωβισμού

Οι δραστικές ουσίες δεν μπορούν να έχουν φαρμακευτική δράση αν δεν καταφέρουν να διασχίσουν τους βιολογικούς φραγμούς του οργανισμού (κυτταρικές μεμβράνες, επιθήλιο, ενδοθήλιο, ενζυμικοί φραγμοί), προκειμένου

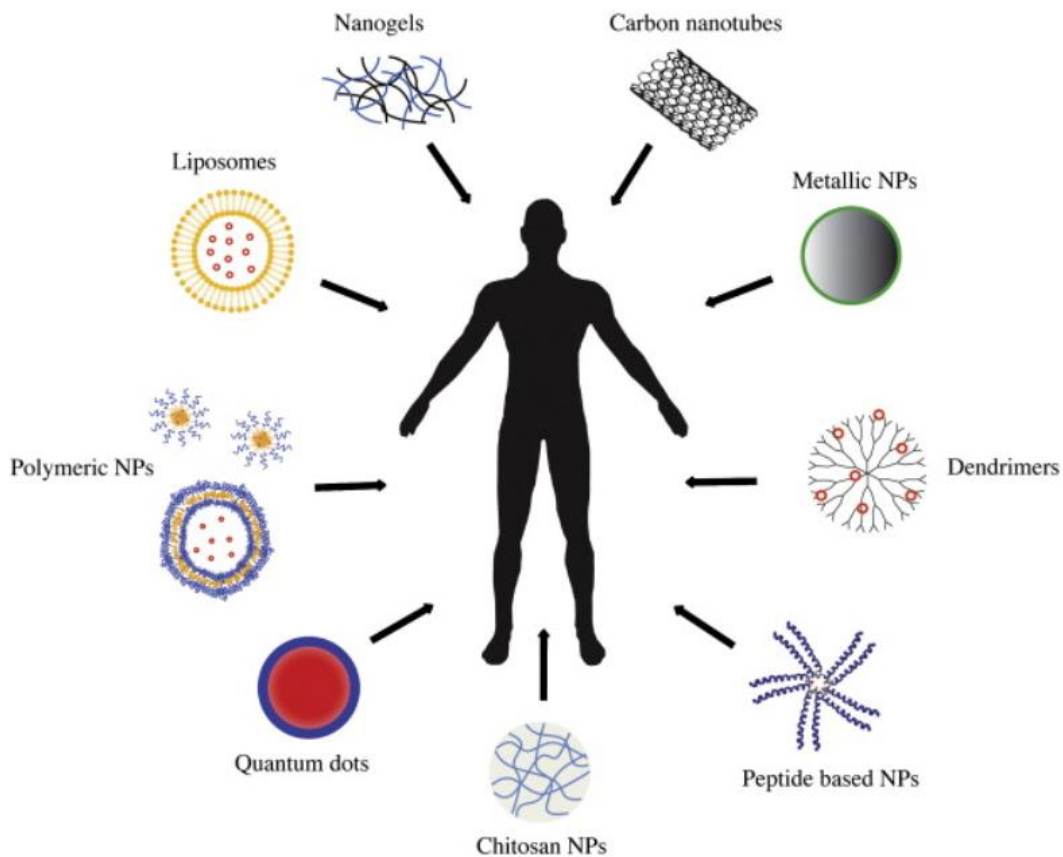
να φτάσουν στη θέση-στόχο. Πολλές δραστικές ουσίες εμφανίζουν χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα ή υδατοδιαλυτότητα, συνεπώς η μεταφορά τους είναι μείζονος σημασίας για την επίτευξη του θεραπευτικού αποτελέσματος. Για την αντιμετώπιση αυτών των προβλημάτων έχουν αναπτυχθεί διάφοροι τύποι νανοσωματιδίων με διαφορετικές ιδιότητες και χρήσεις. Στην Εικόνα 3 παρουσιάζεται η κλίμακα μεγέθους των νανοσωματιδίων που χρησιμοποιούνται ως φορείς εγκλωβισμού.<sup>25,26</sup>



Εικόνα 3: Κλίμακα μεγέθους νανοσωματιδίων που χρησιμοποιούνται για τη μεταφορά φαρμακευτικών ουσιών.

### Κατηγορίες νανοσωματιδίων

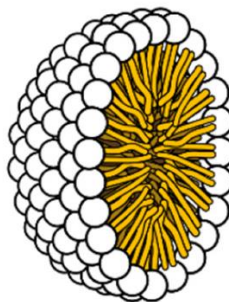
Για τη δημιουργία των νανοσωματιδίων χρησιμοποιούνται ως μονομερή λιποσώματα, δενδριμερή, πολυμερή και νανοσωλήνες άνθρακα. Ακόμη, υπάρχουν τα μεταλλικά νανοσωματίδια, τα οργανικά νανοσωματίδια, οι κβαντικές κουκίδες, τα νανοπηκτώματα και τα πεπτιδικά νανοσωματίδια. Οι διαφορετικές κατηγορίες των νανοσωματιδίων φαίνονται στην Εικόνα 4.<sup>27,28</sup>



*Εικόνα 4: Κατηγορίες νανοσωματιδίων<sup>27</sup>*

#### Μικυλλιακά νανοσωματίδια

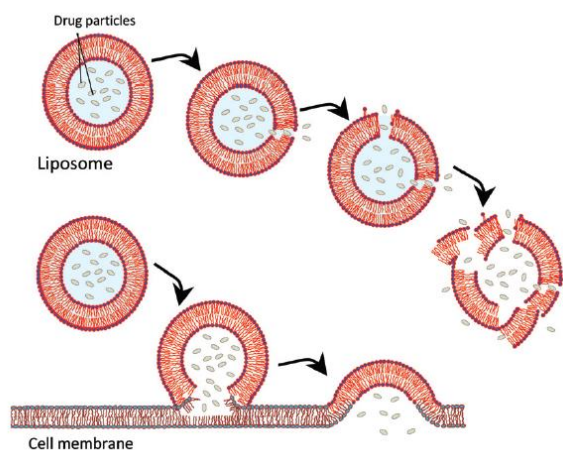
Τα μικύλλια αποτελούνται από έναν υδρόφοβο πυρήνα και ορισμένα υδρόφιλα τμήματα. Έχουν δυνατότητα αυτοοργάνωσης, όταν βρεθούν σε υδατικό περιβάλλον και σχηματίζουν δομές που χαρακτηρίζονται από μεγάλη σταθερότητα. Αυτοί οι νανοφορείς έχουν το πλεονέκτημα ότι είναι οικονομικοί, με εύκολη μέθοδο παρασκευής, ωστόσο απελευθερώνουν πολύ γρήγορα τη δραστική ουσία που μεταφέρουν, αποδομούνται όταν αραιώνονται και είναι κατάλληλοι μόνο για λιπόφιλα μόρια, τα οποία εγκλωβίζονται στον πυρήνα του μικυλλίου. Τα μικυλλιακά νανοσωματίδια παρουσιάζονται στην Εικόνα 5. <sup>25,27</sup>



*Εικόνα 5: Μικυλλιακά νανοσωματίδια<sup>29</sup>*

## Λιπιδικά νανοσωματίδια

Τα λιποσώματα αποτελούνται από μια λιπιδική διπλοστιβάδα, η οποία έχει υδατικό πυρήνα. Τα λιποσώματα είναι αυτοσυναρμολογούμενες δομές που δημιουργούνται από την ανάμειξη λιπιδίων σε υδατικό περιβάλλον. Ανάλογα με το μέγεθος και το είδος των λιπιδίων που χρησιμοποιούνται, τα νανοσωματίδια παρουσιάζουν διαφορετικές ιδιότητες και χρησιμοποιούνται σε διαφορετικές εφαρμογές. Τα πλεονεκτήματα της χρήσης των λιποσωμάτων είναι ότι έχουν μεγάλη διάρκεια ζωής, είναι βιοσυμβατά και βιοαποικοδομήσιμα, έχουν υψηλή απόδοση εγκλωβισμού και επιδέχονται τροποποίηση της επιφάνειάς τους. Παρόλα αυτά, ο εγκλωβισμός της δραστικής ουσίας περιορίζεται από τη λιποφιλία της, ενώ παρουσιάζουν αργή αποδέσμευση στις λιπόφιλες και διαρροή στις υδρόφιλες ενώσεις, αντίστοιχα. Στην Εικόνα 6 παρουσιάζεται η μεταφορά μιας φαρμακευτικής ουσίας με λιποσώματα.<sup>25,27,28</sup>



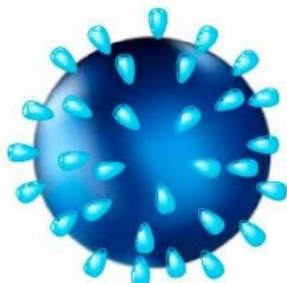
Εικόνα 6: Μεταφορά φαρμακευτικής ουσίας με λιποσώματα<sup>28</sup>

## Πολυμερικά νανοσωματίδια

Τα πολυμερικά νανοσωματίδια (Εικόνα 7) σχηματίζονται μέσω πολυμερισμού γαλακτώματος, νανοκαθίζησης ή μεθόδων αυτοσυναρμολόγησης χρησιμοποιώντας φυσικά ή συνθετικά μονομερή. Το μέγεθός τους κυμαίνεται από 10 έως 200 nm και οι ιδιότητές τους προκύπτουν από το μονομερές που θα πολυμεριστεί για τη δημιουργία του σωματιδίου.<sup>27,30</sup>

Τα πολυμερικά νανοσωματίδια παρουσιάζουν υψηλή βιοσυμβατότητα και έχουν τροποποιημένα χαρακτηριστικά, καθώς με αλλαγές στην επιφάνειά τους μπορούν να είναι περισσότερο συμβατά με κύτταρα ή ιστούς. Επιπλέον, βρίσκουν πολλές εφαρμογές στην απεικόνιση και τη διάγνωση παθήσεων, καθώς δύνανται να φέρουν φθορίζουσες ομάδες και άρα να μπορούν να εντοπιστούν με μη επεμβατικές μεθόδους. Επίσης, λόγω του μικρού τους μεγέθους, μπορούν να διαπερνούν αποτελεσματικά τους βιολογικούς φραγμούς και να μεταφέρουν δραστικές ουσίες. Τα νανοσωματίδια μπορούν να σχεδιαστούν για ελεγχόμενη αποδέσμευση μέσα από τροποποιήσεις κατά τη σύνθεσή τους, προσθέτοντας ομάδες που ανταποκρίνονται σε συγκεκριμένα

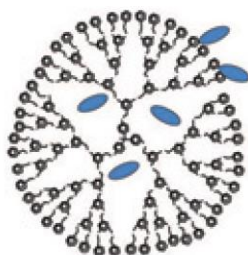
ερεθίσματα, όπως η μεταβολή του pH. Οι τροποποιήσεις επιτρέπουν τη ρύθμιση της κινητικής της αποδέσμευσης για τη βέλτιστη κάλυψη συγκεκριμένων αναγκών, έχοντας ως αποτέλεσμα τη βελτίωση της απόδοσης και τη μείωση των παρενεργειών. Εξαιτίας αυτών των ιδιοτήτων και της καλής βιοαποικοδομησιμότητας τους τα πολυμερικά νανοσωματίδια έχουν ευρύ πεδίο εφαρμογών σε πολλούς τομείς της ιατρικής.<sup>27,28,30</sup>



*Εικόνα 7: Πολυμερικά νανοσωματίδια<sup>28,31</sup>*

### Δενδριμερή νανοσωματίδια

Τα δενδριμερή νανοσωματίδια (Εικόνα 8) αποτελούνται από μια έντονα διακλαδισμένη χημική δομή η οποία θυμίζει δέντρο. Σχηματίζονται από επαναλαμβανόμενα βήματα χημικών αντιδράσεων και οι συνθήκες τους ορίζουν τη δομή και το μέγεθος τους. Το εσωτερικό τους είναι υδρόφοβο, ως εκ τούτου αποτελούν πολύ κάλους φορείς μεταφοράς υδρόφοβων φαρμάκων. Τα δενδριμερή κυμαίνονται από 1 έως 10 nm οπότε διαφέρουν σημαντικά στο μέγεθος από τα μικκύλια, τα λιπιδικά και τα πολυμερικά νανοσωματίδια. <sup>27,28</sup>

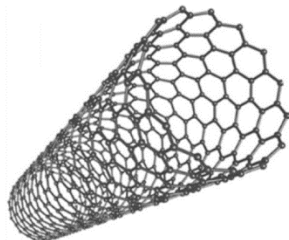


*Εικόνα 8: Δενδριμερή νανοσωματίδια<sup>28</sup>*

### Νανοσωλήνες άνθρακα

Οι νανοσωλήνες άνθρακα (Εικόνα 9) αποτελούνται από στρωματοποιημένα φύλλα γραφίτη μονού ή πολλαπλού τοιχώματος και έχουν πολύ καλές μηχανικές ιδιότητες. Η δραστική ουσία τοποθετείται στον πυρήνα και η εξωτερική τους επιφάνεια δύναται να τροποποιηθεί ώστε να υπάρχει η επιθυμητή βιοσυμβατότητα, ενώ είναι καλοί φορείς συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης. Παρόλα αυτά, είναι υδρόφοβα μόρια, συνεπώς είναι πιθανό να εμφανίσουν τοξικότητα. Για αυτόν το λόγο απαιτείται τροποποίηση της

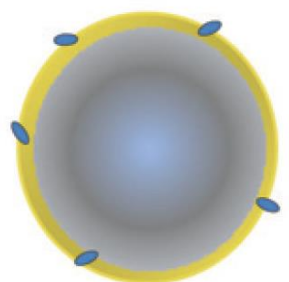
επιφάνειάς τους πριν τη χρήση για φαρμακευτικές εφαρμογές. Τέλος, σε σχέση με τα υπόλοιπα νανοσωματίδια, οι νανοσωλήνες άνθρακα μπορούν να μεταφέρουν πολύ λιγότερη ποσότητα δραστικής ουσίας.<sup>27,28,32</sup>



*Εικόνα 9: Νανοσωλήνες άνθρακα<sup>32</sup>*

### Μεταλλικά νανοσωματίδια

Τα μεταλλικά νανοσωματίδια (Εικόνα 10) σχηματίζονται από οξείδια μετάλλων, τα οποία έχουν πολύ μικρό μέγεθος, καλή βιοσυμβατότητα και μαγνητικές ιδιότητες. Τα μεταλλικά νανοσωματίδια μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μεταφορά φαρμάκων, αλλά και σε διαγνωστικές μεθόδους. Επιπλέον, έχουν υπερμαγνητικές ιδιότητες, οι οποίες εκδηλώνονται όταν τους προκληθεί μαγνητική ροπή, ως εκ τούτου χρησιμοποιούνται σε εφαρμογές με μαγνητικά πεδία όπου χρειάζεται μεγάλη ευκρίνεια, όπως στους μαγνητικούς τομογράφους (MRI). Έχει παρατηρηθεί ότι τα μεταλλικά νανοσωματίδια που έχουν χρυσό παρουσιάζουν χαμηλή κυτταροτοξικότητα. Ακόμη, νανοσωματίδια αργύρου έχουν χρησιμοποιηθεί για αντιβακτηριακές εφαρμογές, όπως η επικάλυψη ιατρικών εξαρτημάτων για την πρόληψη μολύνσεων. Παρόλα αυτά, λόγω του ότι δεν έχουν εσωτερική κοιλότητα και αναλογικά με το βάρος τους δεν μπορούν να μεταφέρουν μεγάλη ποσότητα δραστικής ουσίας δεν χρησιμοποιούνται συχνά ως φορείς εγκλωβισμού.<sup>27,28</sup>



*Εικόνα 10: Μεταλλικά νανοσωματίδια<sup>28</sup>*



## Μέθοδοι παρασκευής νανοσωματιδίων

### Μέθοδος γαλακτωματοποίησης - εξάτμισης διαλύτη

Η μέθοδος γαλακτωματοποίησης εξάτμισης διαλύτη χρησιμοποιείται κυρίως για την παρασκευή λιπιδικών νανοσωματιδίων που έχουν εγκλωβισμένη λιπόφιλη ένωση. Για την παρασκευή των νανοσωματιδίων η λιπόφιλη ουσία διαλύεται σε έναν οργανικό διαλύτη μαζί με τα λιπίδια και με τη χρήση γαλακτωματοποιητή. Οι 2 οργανικές φάσεις ομογενοποιούνται σε μια υδατική και στη συνέχεια ο διαλύτης εξατμίζεται σε περιστροφικό εξατμιστήρα υπό χαμηλή πίεση, οπότε και σχηματίζεται η διασπορά με καταβύθιση των σωματιδίων στην υδατική φάση.<sup>33</sup>

### Μέθοδος ιονοτροπικής πηκτωμάτωσης

Η ιονοτροπική πηκτωμάτωση (ionotropic gelation) βασίζεται στις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ κατιόντων και του αλγινικού. Συγκεκριμένα, η διαδικασία περιλαμβάνει τη δημιουργία δεσμών μεταξύ των αρνητικά φορτισμένων ομάδων καρβοξυλικού οξέος του αλγινικού και θετικά φορτισμένων ιόντων, όπως το ασβέστιο ( $\text{Ca}^{2+}$ ), που οδηγούν σε συρρίκνωση και σχηματισμό σωματιδίων. Αυτή η μέθοδος πραγματοποιείται συνήθως με την προσθήκη διαλύματος αλγινικού σε υδατικό διάλυμα κατιόντων υπό μηχανική ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου. Η ιονοτροπική πηκτωμάτωση χρησιμοποιείται ευρέως στην παραγωγή σωματιδίων αλγινικού, καθώς επιτρέπει τον έλεγχο του μεγέθους και του σχήματος των σωματιδίων, ενώ παράλληλα εξασφαλίζει υψηλή απόδοση εγκλωβισμού του φαρμάκου και σταθερότητα του παραγόμενου προϊόντος.<sup>34</sup>

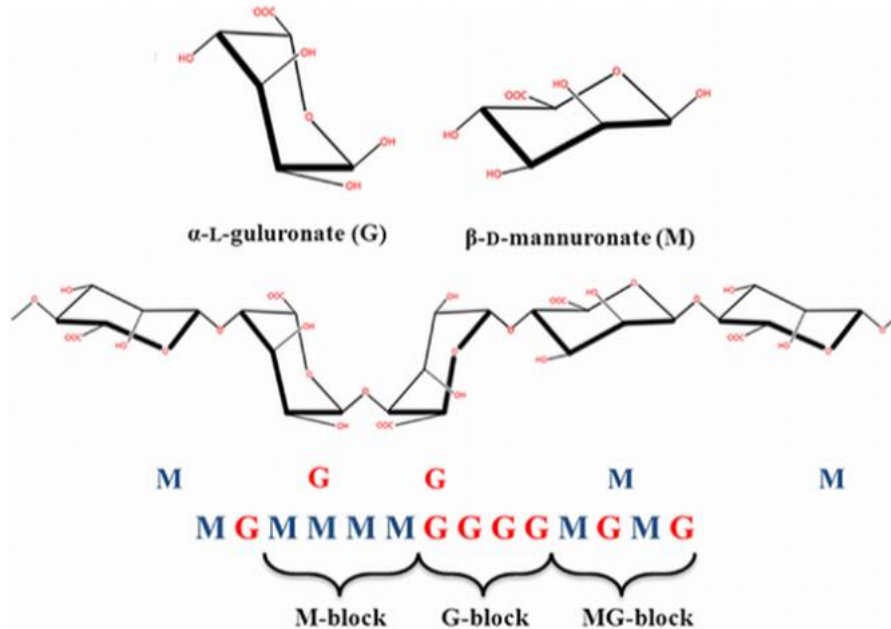
### Μέθοδος διπλού γαλακτώματος

Η μέθοδος διπλού γαλακτώματος χρησιμοποιείται κυρίως για τη σύνθεση στερεών λιπιδικών σωματιδίων (SLNs), τα οποία έχουν εγκλωβισμένη υδρόφιλη ένωση. Κατά τη μέθοδο διπλού γαλακτώματος παρασκευάζεται ένα γαλάκτωμα, το οποίο έχει την υδρόφιλη ένωση διαλυμένη σε υδατικό μέσο και ένα ελαιώδες μίγμα, που περιλαμβάνει έναν επιφανειοδραστικό παράγοντα, ο οποίος έχει θερμανθεί σε θερμοκρασία μεγαλύτερη του σημείου τήξεως του ελαίου. Στη συνέχεια, το γαλάκτωμα που δημιουργήθηκε αναμιγνύεται με ένα ακόμη υδατικό μίγμα, που περιέχει κάποιον επιφανειοδραστικό παράγοντα, κι έτσι σχηματίζεται ένα πολλαπλό γαλάκτωμα νερού σε έλαιο σε νερό.<sup>33</sup>

## Αλγινικό

Το αλγινικό είναι ένα φυσικό μη διακλαδισμένο συμπολυμερές που αποτελείται από αλυσίδες  $\alpha - L -$  γουλουρονικού (G) οξέος και  $\beta - D -$  μανουρονικού οξέος (M), οι οποίες συνδέονται με 1,4-γλυκοζιτικούς δεσμούς. Το αλγινικό δύναται να απομονωθεί από φύκη, αλλά και από βακτήρια υπό τη μορφή πολυσακχαρίτη. Οι ιδιότητες που έχει το αλγινικό εξαρτώνται από την αναλογία και τη σειρά των μονομερών G και M και αλλάζει ανάλογα με το φύκος ή το βακτήριο από το οποίο προέρχεται. Η διάταξη των μονομερών

μπορεί να είναι είτε σε ομοπολυμερείς περιοχές όπου υπάρχουν MM και GG, είτε σε ετεροπολυμερείς περιοχές όπου υπάρχει ακανόνιστη ακολουθία M και G. Η δομή των μονομερών, καθώς και η σύνδεσή τους φαίνονται στην Εικόνα 11.<sup>35-38</sup>



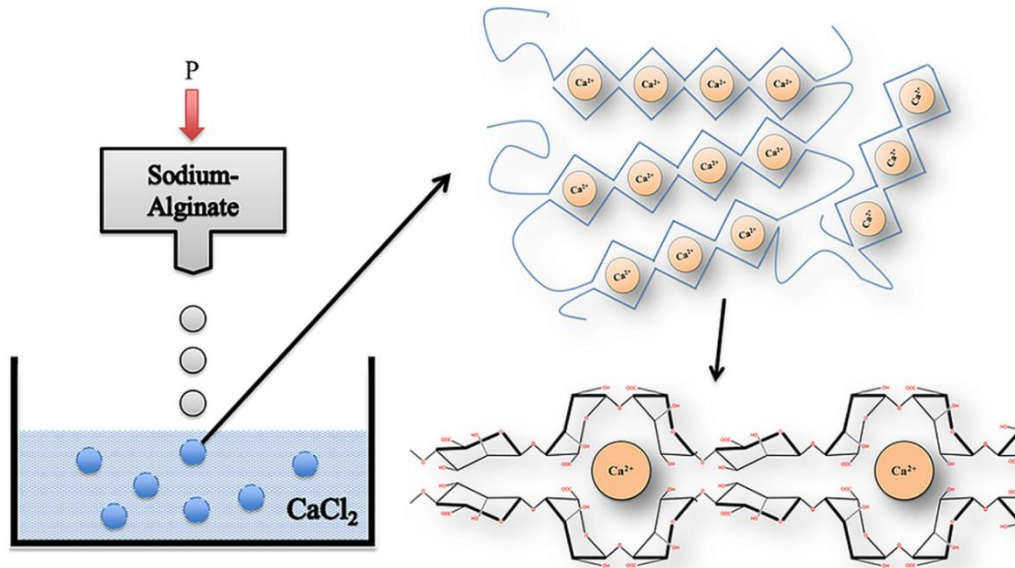
Εικόνα 11: Μονομερή και πολυμερική αλυσίδα αλγινικού<sup>35</sup>

### Δημιουργία νανοσωματιδίων αλγινικού

Το αλγινικό είναι αρνητικά φορτισμένο, καθώς κάθε μονομερές M και G έχει μια καρβοξυλομάδα, η οποία σε ουδέτερο και όξινο pH είναι αρνητικά φορτισμένη. Τα άλατα του αλγινικού με μονοσθενή κατιόντα είναι διαλυτά στο νερό, ενώ τα πολυσθενή ιόντα είναι δυσδιάλυτα, εκτός από το άλας του μαγνησίου. Οπότε δύναται να δημιουργηθεί πήγμα, αν αντικατασταθούν τα μονοσθενή από δισθενή ιόντα υπό ήπιες συνθήκες.<sup>35-38</sup>

Για το σχηματισμό πήγματος χρησιμοποιούνται δισθενή ιόντα, τα οποία δεσμεύονται από τις καρβοξυλομάδες των μορίων του γουλουρονικού οξέος G που είναι ηλεκτραρνητικές, σχηματίζοντας δύο διαφορετικές αλυσίδες, οι οποίες διατάσσονται η μία απέναντι από την άλλη έχοντας το δισθενές μέταλλο ανάμεσά τους, δημιουργώντας μια ιοντική γέφυρα. Η σύνδεση γίνεται μόνο με καρβοξύλια γουλουρονικού οξέος, καθώς τα τμήματα του μανουρικού οξέως έχουν σταθερή πολυηλεκτρολυτική συμπεριφορά. Όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του δισθενούς ιόντος, τόσο αυξάνεται και η συσσωμάτωση των αλυσίδων, με αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός πυκνού πολυμερικού δικτύου που δύναται να συγκρατεί μόρια στο εσωτερικό του. Αυτή η διαδικασία λέγεται ιοντική πηκτωμάτωση και έχει μελετηθεί για τον εγκλωβισμό και την ελεγχόμενη αποδέσμευση δραστικών ουσιών, ενζύμων και μικροοργανισμών.

Ο σχηματισμός αλγινικών σωματιδίων με χρήση ασβεστίου  $\text{Ca}^{2+}$  από χλωριούχο ασβέστιο  $\text{CaCl}_2$  ως δισθενές κατιόν παρουσιάζεται στην Εικόνα 12. <sup>35-38</sup>



Εικόνα 12: Σχηματισμός σωματιδίων αλγινικού <sup>35</sup>

Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά που θα έχουν τα σωματίδια εκτός από την αναλογία των μονομερών M και G εξαρτώνται και από το κατιόν που χρησιμοποιείται για τη σύνθεση της ιοντικής γέφυρας μεταξύ των πολυμερικών αλυσίδων. Ανάλογα με το κατιόν που θα χρησιμοποιηθεί, αλλάζει η δομή και η αντοχή του πήγματος. <sup>36-38</sup>

Για τον εγκλωβισμό ουσιών τα αλγινικά χωρίζονται σε 3 κατηγορίες, ανάλογα με την περιεκτικότητά τους σε G, στα αλγινικά υψηλής περιεκτικότητας σε G, στα αλγινικά ενδιάμεσης περιεκτικότητας σε G και στα αλγινικά χαμηλής περιεκτικότητας σε G. <sup>36-38</sup>

### Πλεονεκτήματα μεταφοράς φαρμάκων με χρήση νανοτεχνολογίας

Η χρήση της νανοτεχνολογίας έχει αποδειχθεί ιδιαίτερα αποτελεσματική σε περιπτώσεις ενώσεων που λόγω της υψηλής λιποφιλίας τους δεν θα μπορούν να διαλυθούν στο αίμα ή λόγω της χαμηλής λιποφιλίας τους δεν μπορούν να διαπεράσουν τις κυτταρικές μεμβράνες. Συνεπώς, με τη χρήση νανοσωματιδίων ως φορείς μεταφοράς δύναται να αυξηθεί το ποσοστό της δραστικής ουσίας που φτάνει στον στόχο και συνεπώς η αποτελεσματικότητα του φαρμάκου. <sup>26,28</sup>

Επίσης, οι νανοφορείς προστατεύουν και σταθεροποιούν τις δραστικές ουσίες, αυξάνοντας έτσι και την ποσότητα της φαρμακευτικής ουσίας που θα φτάσει στον τελικό στόχο. Ακόμη, οι νανοφορείς εγκλωβισμού προσφέρουν

στοχευμένη και ελεγχόμενη αποδέσμευση σε συγκεκριμένους ιστούς ή κύτταρα, επιτυγχάνοντας αποτελεσματικότερη δράση του φαρμάκου, εξαιτίας της μεγαλύτερης εκλεκτικότητας που έχουν, ενώ μειώνεται πολύ και η τοξικότητά του, καθώς συγκεντρώνεται στην περιοχή που πρέπει να δράσει.<sup>26,28</sup>

Επιπλέον, λόγω του μικρού τους μεγέθους, δύνανται να διαπεράσουν βιολογικούς φραγμούς, όπως ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός, επιτυγχάνοντας έτσι τη μεταφορά δραστικών ουσιών σε στόχους, που διαφορετικά δεν θα μπορούσαν να προσεγγίσουν.<sup>26,28</sup>

### Εφαρμογές νανοτεχνολογίας

Η νανοτεχνολογία έχει συνεισφέρει στην ανάπτυξη μικροηλεκτρονικών συσκευών (MEMS) και βιοσυμβατών συσκευών, οι οποίες μπορούν να βελτιώσουν σημαντικά τις θεραπευτικές μεθόδους για την καταπολέμηση πολλών παθήσεων. Εμπόδιο σε αυτές τις συσκευές αποτελεί η δυσκολία αλληλεπίδρασής με τους βιολογικούς ιστούς, αλλά και η αλληλεπίδρασή τους με ιστούς που είναι πολύ μεγαλύτεροι της νανοκλίμακας. Η νανοτεχνολογία έχει επίσης δυνατότητα εφαρμογής και στην ιατρική, καθώς οι περισσότερες παθήσεις προκύπτουν από διαταραχές σε μοριακό επίπεδο. Τέτοιες εφαρμογές έχουν χρησιμοποιηθεί στην εύρεση συστημάτων χορήγησης φαρμάκων, τα οποία πρέπει να μπορούν να διαπεράσουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και στη δημιουργία δενδριμερών μορίων (πολυδιακλαδισμένα μόρια) που στοχεύουν στη μεταφορά DNA για γονιδιακές θεραπείες. Όμως, τέτοια συστήματα είναι ακόμα σε πρώιμα στάδια, καθώς αποτελούν έναν καινοτόμο κλάδο της ιατρικής.<sup>23</sup>

Χαρακτηριστική εφαρμογή της νανοτεχνολογίας αποτελεί η χρήση φθορίζοντων λιπιδικών νανοσωματιδίων για τον εντοπισμό και τη διαχείριση της αθηροσκλήρωσης, μιας καρδιαγγειακής πάθησης. Παρατηρήθηκε ότι τα φθορίζοντα νανοσωματίδια συσσωρεύονται στα σημεία που δημιουργούνται επιπλοκές λόγω της πάθησης και μπορούσαν να ανιχνευθούν μέσω φθορισμού, καθιστώντας πιο στοχευμένη και αποδοτική τη θεραπεία.<sup>39</sup>

Ακόμη, υπάρχουν πολλές εφαρμογές στην αντιμετώπιση διάφορων μορφών καρκίνου. Ενδεικτικά, για τον καρκίνο του παχέος εντέρου όπου η χημειοθεραπεία δεν μπορεί να δράσει στοχευμένα, η χρήση νανοσωματιδίων δύναται να οδηγήσει σε επιτυχή μεταφορά του φαρμάκου στα καρκινικά κύτταρα. Με αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνεται πιο στοχευμένη δράση της χημειοθεραπείας και βελτιώνονται τα αποτελέσματά της σε εργαστηριακό επίπεδο.<sup>30</sup>

## Πράσινη χημεία

### Σκοπός της πράσινης χημείας

Η πράσινη χημεία αποσκοπεί στη διαχείριση και τη μείωση των συνεχώς αυξανόμενων αποβλήτων με έναν αειφόρο και βιώσιμο τρόπο. Η κύρια μέθοδος διαχείρισης ρύπων είναι η ελεγχόμενη αποδέσμευσή τους στο περιβάλλον και η διατήρηση της συγκέντρωσής τους εντός προκαθορισμένων ορίων. Η βιωσιμότητα απαιτεί τη χρήση ανανεώσιμων πόρων, ακίνδυνων υλικών, καθώς και μείωση των παραγόμενων ρύπων με έναν οικονομικά βιώσιμο τρόπο που θα κρατήσει τα προϊόντα των βιομηχανιών ανταγωνιστικά. Η πράσινη χημεία αποσκοπεί στον επανασχεδιασμό των βιομηχανικών διεργασιών με βιώσιμο τρόπο, ώστε να παράγονται προϊόντα με λιγότερους ρύπους, αλλά και τα ίδια τα προϊόντα να μην αποτελούν ρύπο μετά τον κύκλο ζωής τους. Για την επίτευξη των στόχων η πράσινη χημεία έχει 12 αρχές, οι οποίες διασφαλίζουν την πρόληψη της ρύπανσης.<sup>40</sup>

### Αρχές της πράσινης χημείας



Εικόνα 13: Οι 12 Αρχές της πράσινης χημείας<sup>41</sup>

#### 1<sup>η</sup> Αρχή: Πρόληψη

Είναι προτιμότερο να προλαμβάνουμε τα απόβλητα, παρά να τα επεξεργαζόμαστε μετά τη δημιουργία τους.<sup>40,42</sup>

Ο σχεδιασμός των διεργασιών πρέπει να γίνεται με τέτοιο τρόπο, ώστε να μην δημιουργούνται απόβλητα. Όταν μεγάλες ποσότητες πρώτων υλών χάνονται λόγω του σχεδιασμού της διεργασίας, τότε δημιουργούνται απόβλητα τα οποία μπορεί να είναι επικίνδυνα για την υγεία των εργαζομένων ή το περιβάλλον. Στην περίπτωση που τα απόβλητα δεν μπορούν να αποφευχθούν, θα πρέπει να εξετάζονται άλλες λύσεις, όπως το να μετατρέπονται σε νέες πρώτες ύλες για άλλες διεργασίες. Με αυτόν το τρόπο τα παραπροϊόντα αποκτούν ξανά αξία και δεν γίνονται ρύποι.<sup>40,43</sup>

2<sup>η</sup> Αρχή: Οικονομία Ατόμου

*Οι συνθετικές μέθοδοι πρέπει να σχεδιάζονται έτσι, ώστε να μεγιστοποιείται η ενσωμάτωση όλων των υλών που χρησιμοποιούνται στη διεργασία στο τελικό προϊόν.* <sup>40,42</sup>

Η απόδοση ορίζεται ως ο λόγος των γραμμομορίων του προϊόντος ως προς τα γραμμομόρια των αρχικών υλών, όμως με αυτόν τον τρόπο δεν λαμβάνονται υπόψη τα γραμμομόρια των αποβλήτων. Για τη συμπερίληψη των αποβλήτων, δημιουργήθηκε η έννοια της οικονομίας του ατόμου, η οποία ορίζεται ως ο λόγος του μοριακού βάρους του προϊόντος προς τα μοριακά βάρη όλων των αντιδρώντων που χρησιμοποιούνται στην αντίδραση. Με αυτόν τον δείκτη μετράται ο βαθμός ενσωμάτωσης κάθε αντιδρώντος στο τελικό προϊόν. Στο σχεδιασμό των διεργασιών πρέπει να επιτυγχάνεται ο μέγιστος βαθμός ενσωμάτωσης, ώστε να ελαχιστοποιούνται τα παραπροϊόντα.<sup>40,43</sup>

3<sup>η</sup> Αρχή: Λιγότερο επικίνδυνες χημικές συνθέσεις

*Οι συνθετικές μέθοδοι θα πρέπει να σχεδιάζονται, ώστε να χρησιμοποιούν και να παράγουν ουσίες που διαθέτουν μικρή ή καθόλου τοξικότητα για την ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον.* <sup>40,42</sup>

Μια σημαντική παράμετρος που πρέπει να λαμβάνεται υπόψη είναι η επικινδυνότητα των ουσιών που χρησιμοποιούνται στις διεργασίες. Η πράσινη χημεία ασχολείται με την εύρεση αντιδράσεων που μπορούν να παράξουν την επιθυμητή ένωση χρησιμοποιώντας ακίνδυνες πρώτες ύλες. Ο σχεδιασμός των διεργασιών πρέπει να γίνεται με τέτοιο τρόπο, ώστε να χρησιμοποιούνται πρώτες ύλες και διαλύτες με μικρή ή καθόλου επικινδυνότητα.<sup>40,43</sup>

4<sup>η</sup> Αρχή: Σχεδιασμός ασφαλέστερων χημικών ουσιών

*Τα χημικά προϊόντα θα πρέπει να σχεδιάζονται έτσι, ώστε να ελαχιστοποιείται η τοξικότητά τους και να τελούν την επιθυμητή λειτουργία τους.* <sup>40,42</sup>

Τα χημικά προϊόντα και οι φαρμακευτικές ουσίες πρέπει να σχεδιάζονται με τέτοιο τρόπο, ώστε να επιτυγχάνεται η μέγιστη απόδοση και να ελαχιστοποιείται η τοξικότητά τους. Για την επίτευξη αυτού του στόχου πρέπει να πραγματοποιούνται αλλαγές στα μόρια που χρησιμοποιούνται για τη σύνθεση των φαρμακευτικών ουσιών, καθώς και να εντοπίζονται σχέσεις δομής – ιδιοτήτων.<sup>40,43</sup>

5<sup>η</sup> Αρχή: Ασφαλέστεροι διαλύτες και βοηθητικά μέσα

*Η χρήση βοηθητικών ουσιών, όπως είναι οι διαλύτες, θα πρέπει να καθίσταται μη αναγκαία ή αβλαβής όπου είναι δυνατόν.* <sup>40,42</sup>

Οι διαλύτες αποτελούν το κύριο αντικείμενο έρευνας της πράσινης χημείας, καθώς οι συμβατικοί διαλύτες συνήθως έχουν υψηλότερα επίπεδα τοξικότητας από ό,τι θα ήταν επιθυμητό και επίσης αποτελούν την μεγαλύτερη ποσότητα μάζας που χρησιμοποιείται για τις διεργασίες. Για τον σκοπό αυτό, σχεδιάζονται διεργασίες στις οποίες οι συμβατικοί διαλύτες αντικαθίστανται από τα υπερκρίσιμα ρευστά ή το νερό. Επίσης, η χρήση πράσινων διαλυτών, όπως τα ιοντικά υγρά ή οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες, μπορούν να βοηθήσουν στο να επανασχεδιαστούν οι διεργασίες με έναν πιο πράσινο τρόπο.<sup>40,43</sup>

6<sup>η</sup> Αρχή: Σχεδιασμός για ενεργειακή απόδοση

*Οι ενεργειακές απαιτήσεις των χημικών διεργασιών θα πρέπει να αναγνωρίζονται και να ελαχιστοποιούνται.* <sup>40,42</sup>

Οι διεργασίες πρέπει να σχεδιάζονται με τέτοιο τρόπο, ώστε να καταναλώνουν όσο το δυνατόν λιγότερη ενέργεια. Ιδανικά, θα ήταν επιθυμητό να μπορούν να πραγματοποιηθούν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, χωρίς να χρειάζεται θέρμανση ή ψύξη. Επίσης, οι διαχωρισμοί μπορεί να είναι ιδιαίτερα ενεργοβόρες διεργασίες, οπότε ο σχεδιασμός τους θα πρέπει να στοχεύει στην μείωση των σταδίων διαχωρισμού, όπου είναι εφικτό. <sup>40,43</sup>

7<sup>η</sup> Αρχή: Χρήση ανανεώσιμων πρώτων υλών

*Οι πρώτες ύλες πρέπει να είναι ανανεώσιμες όπου είναι εφικτό.* <sup>40,42</sup>

Η πλειονότητα των βιομηχανικών προϊόντων έχει ως πρώτη ύλη το πετρέλαιο ή το φυσικό αέριο, τα οποία δεν είναι ανανεώσιμες πηγές και υπάρχουν σε πεπερασμένη ποσότητα. Συνεπώς, είναι σημαντικό να βρεθούν νέες εναλλακτικές πρώτες ύλες, οι οποίες να είναι ανανεώσιμες, όπως η βιομάζα. Με αυτόν τον τρόπο, τα χημικά προϊόντα θα έχουν ανεξάντλητες πηγές και θα γίνεται οικονομία πόρων για άλλα προϊόντα που δεν μπορούν να συντεθούν από ανανεώσιμες πηγές.<sup>40,43</sup>

8<sup>η</sup> Αρχή: Μείωση των παραγώγων

*Η περιττή παραγωγή πρέπει να ελαχιστοποιείται ή να αποφεύγεται αν είναι δυνατόν για την αποφυγή πρόσθετων αντιδραστηρίων και τη δημιουργία αποβλήτων.* <sup>40,42</sup>

Για την επίτευξη κάποιων χημικών διεργασιών πολλές φορές πρέπει να γίνει παραγωγή, δηλαδή να χρησιμοποιηθούν προστατευτικές ομάδες ή να γίνει προσωρινή τροποποίηση του μορίου. Όμως οι ομάδες αυτές στο τέλος της διεργασίας απορρίπτονται, επομένως πρέπει να ελαχιστοποιείται η χρήση τους.<sup>40,43,44</sup>

## 9<sup>η</sup> Αρχή: Κατάλυση

*Πρέπει να χρησιμοποιούνται καταλυτικά αντιδραστήρια όπου είναι δυνατόν με σκοπό τη μείωση της απαιτούμενης ενέργειας.* <sup>40,42</sup>

Οι καταλυτικές αντιδράσεις, μειώνοντας την ενέργεια ενεργοποίησης των αντιδράσεων, επιτυγχάνουν μεγαλύτερες αποδόσεις από τις στοιχειομετρικές αντιδράσεις και καλύτερη εκλεκτικότητα του προϊόντος. Αυτό συμβαίνει, επειδή οι στοιχειομετρικές αντιδράσεις συνήθως έχουν ένα περιοριστικό αντιδρών, το οποίο πρέπει να είναι σε περίσσεια, επομένως πάντα θα υπάρχει ποσότητά του ως απόβλητο, ανεξαρτήτως της απόδοσης της διεργασίας. Με τις καταλυτικές αντιδράσεις χρειάζονται λιγότερες πρώτες ύλες, καταναλώνεται χαμηλότερη ενέργεια και παράγονται λιγότερα απόβλητα. <sup>38,41,42</sup>

## 10<sup>η</sup> Αρχή: Σχεδιασμός για αποικοδόμηση

*Τα χημικά προϊόντα πρέπει να σχεδιάζονται έτσι, ώστε στο τέλος της λειτουργίας τους να διασπώνται σε αβλαβή προϊόντα αποικοδόμησης.* <sup>40,42</sup>

Πολλά χημικά προϊόντα δεν διασπώνται εύκολα και μένουν για πολλά χρόνια ως ρύποι μετά το τέλος του κύκλου ζωής τους, για αυτό είναι σημαντικός ο σχεδιασμός των προϊόντων με τέτοιο τρόπο, ώστε να διασπώνται σε αβλαβή προϊόντα. Υπάρχουν χημικές ομάδες που είναι ιδιαίτερα ανθεκτικές και σταθεροποιούν τα μόρια, όπως τα αλογονωμένα τμήματα, οι διακλαδισμένες αλυσίδες, οι τεταρτοταγείς άνθρακες, οι τριτοταγείς αμίνες και ορισμένοι ετεροκυκλικοί δακτύλιοι. Αντίθετα η ενσωμάτωση λειτουργικών ομάδων, όπως οι εστέρες ή τα αμίδια βοηθούν το προϊόν να γίνει πιο ευκολά βιοαποικοδομήσιμο. <sup>40,43</sup>

## 11<sup>η</sup> Αρχή: Ανάλυση σε πραγματικό χρόνο για την πρόληψη της ρύπανσης

*Οι αναλυτικές μεθοδολογίες πρέπει να αναπτυχθούν περαιτέρω, ώστε να επιτρέπουν την παρακολούθηση και τον έλεγχο σε πραγματικό χρόνο εντός της διεργασίας πριν από το σχηματισμό επικίνδυνων ουσιών.* <sup>40,42</sup>

Σκοπός της πράσινης χημείας είναι η πρόληψη και ελαχιστοποίηση της δημιουργίας αποβλήτων από τις χημικές διεργασίες και η ανάλυση ουσιών χωρίς να δημιουργηθούν απόβλητα. Σημαντική παράμετρος των αναλυτικών τεχνικών είναι η προ επεξεργασία των δειγμάτων, καθώς πολλές φορές χρειάζονται μεγάλες ποσότητες διαλυτών. Για αυτό είναι σημαντική η χρήση αισθητήρων, οι οποίοι μπορούν να ειδοποιήσουν άμεσα όταν υπάρχει κάποιο πρόβλημα, ώστε να αντιμετωπιστεί γρήγορα. <sup>40,43</sup>

## 12<sup>η</sup> Αρχή: Χρήση ασφαλέστερων χημικών αντιδραστηρίων για την πρόληψη ατυχημάτων

*Οι ουσίες που χρησιμοποιούνται σε μια χημική διεργασία πρέπει να επιλέγονται, ώστε να ελαχιστοποιείται η πιθανότητα χημικών ατυχημάτων.* <sup>40,42</sup>

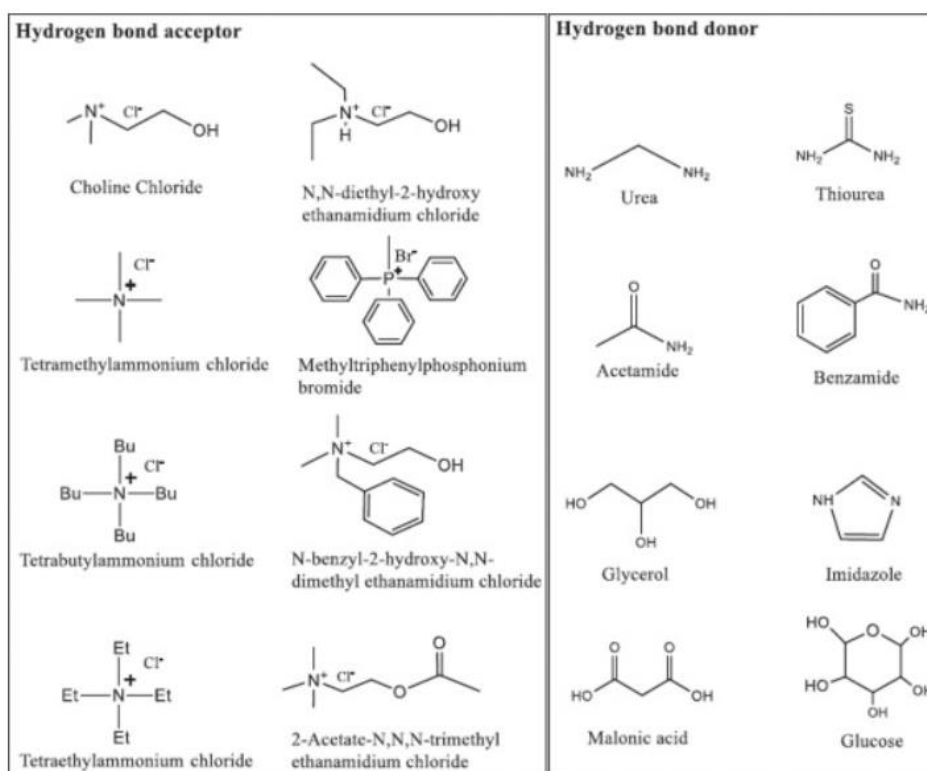
Πρέπει να γίνεται εντοπισμός των πιθανών κινδύνων σε κάθε διεργασία και να λαμβάνονται μέτρα για την αντιμετώπισή τους, ώστε να ελαχιστοποιηθεί η πιθανότητα ατυχημάτων. Η πιο σημαντική παράμετρος είναι οι πρώτες ύλες,



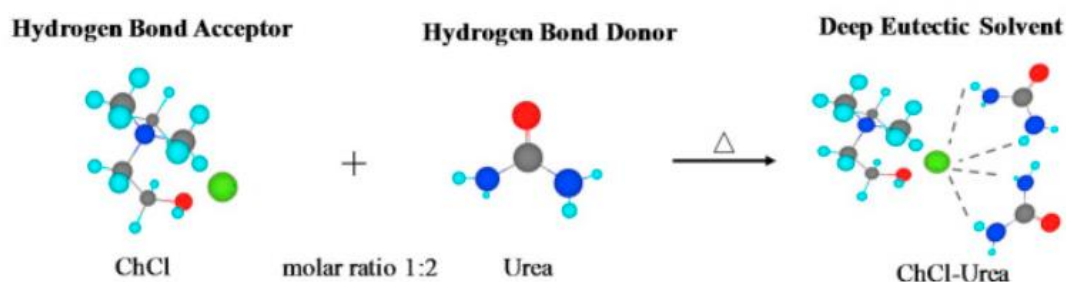
καθώς αυτές μπορεί να εύφλεκτες, να έχουν υψηλή τάση ατμών ή να είναι τοξικές.<sup>40,43,44</sup>

### Βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες (Deep Eutectic Solvents)

Οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες ορίζονται ως ένα μίγμα δυο ή περισσότερων συστατικών, του οποίου η θερμοκρασία ευτηκτικού σημείου είναι χαμηλότερη από αυτή των ενώσεων. Αυτό οφείλεται σε δεσμούς υδρογόνου που αναπτύσσονται μεταξύ των αναμιγνυόμενων ενώσεων, καθώς υπάρχει τουλάχιστον μια ουσία η οποία είναι δότης δεσμού υδρογόνου και τουλάχιστον μια που είναι δέκτης δεσμού υδρογόνου. Αναλυτικότερα, ενώσεις που χρησιμοποιούνται ως δότες και ως δέκτες δεσμών υδρογόνου παρατίθενται στην Εικόνα 14. Επίσης, στην Εικόνα 15 φαίνεται η διαδικασία παρασκευής ένας βαθέως ευτηκτικού διαλύτη. <sup>41,45-48</sup>

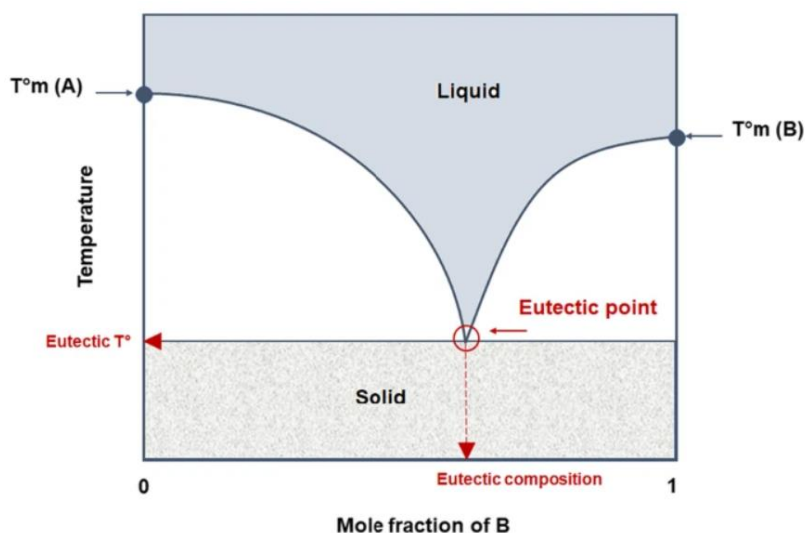


Εικόνα 14: Ενώσεις που χρησιμοποιούνται ως δότες και ως δέκτες δεσμών υδρογόνου για την παρασκευή βαθέως ευτηκτικών διαλυτών<sup>45</sup>



Εικόνα 15: Δημιουργία βαθέως ευτηκτικού διαλύτη από δότη και δέκτη δεσμού υδρογόνου<sup>45</sup>

Οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες είναι υγροί σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, παρόλο που τα συστατικά τους σε καθαρή μορφή μπορεί να είναι στερεά. Επίσης, έχουν την ικανότητα να διαλυτοποιούν άλλες ουσίες σε μεγάλο βαθμό. Λόγω της χαμηλής τοξικότητάς τους, έχουν μικρές περιβαλλοντικές επιπτώσεις. Ακόμη, αποτελούνται από οικονομικές πρώτες ύλες με πολλές εφαρμογές στην προστασία του περιβάλλοντος, την εκχύλιση και τη φαρμακευτική χημεία. Στην Εικόνα 16 παρατίθεται ένα τυπικό διάγραμμα φάσεων για 2 ουσίες που εμφανίζουν ευτηκτικό σημείο.<sup>41,45-47</sup>



Εικόνα 16: Διάγραμμα φάσεων για 2 συστατικά A και B που έχουν ευτηκτικό σημείο<sup>47</sup>

### Σύνθεση βαθέως ευτηκτικών διαλυτών

Η σύνθεση των βαθέως ευτηκτικών διαλυτών μπορεί να γίνει με δύο τρόπους. Αρχικά, ο πιο διαδεδομένος τρόπος είναι η ανάμειξη των συστατικών και η θέρμανση υπό ανάδευση, μέχρι να σχηματιστεί ένα ομογενές υγρό μίγμα. Επίσης, μπορούν να συντεθούν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος με λειοτρίβηση των συστατικών έως το σχηματισμό του υγρού μίγματος. Αυτή η μεθοδος έχει

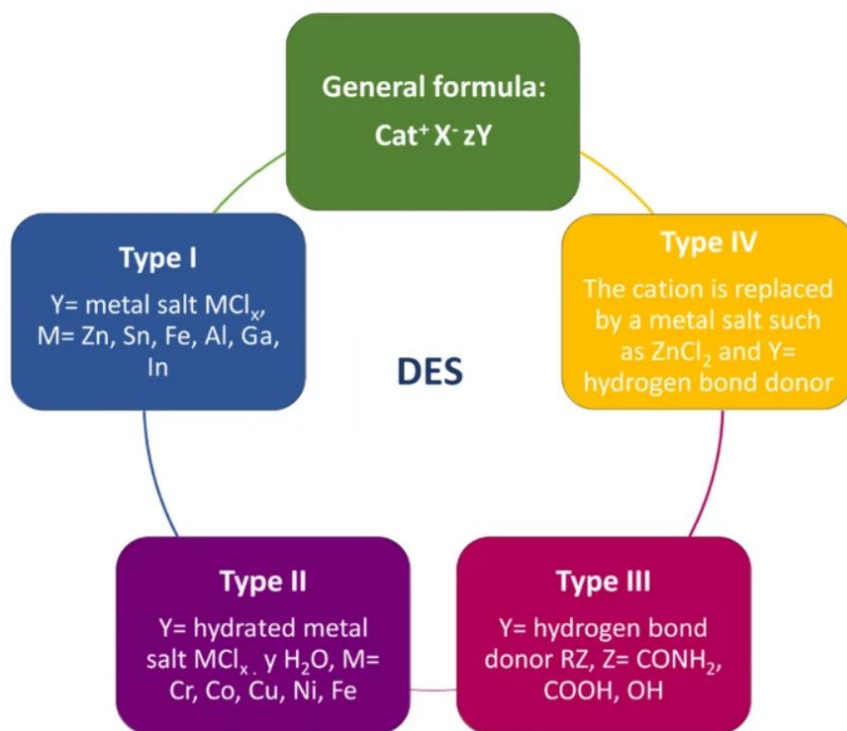
το πλεονέκτημα ότι λόγω της χαμηλότερης θερμοκρασίας δεν παράγονται εστερικά παραπροϊόντα.<sup>41</sup>

### Ταξινόμηση των βαθέως ευτηκτικών διαλυτών

Οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες περιγράφονται με τη σχέση  $Cat^+X^-zY$ , όπου  $Cat^+$  είναι ένα οποιοδήποτε κατιόν αμμωνίου, το  $X^-$  είναι βάση κατά Lewis, συνήθως ανιόν αλογονιδίου, το  $Y$  αντιπροσωπεύει ένα οξύ Lewis ή Bronsted και το  $z$  είναι ο αριθμός των μορίων  $Y$  που αλληλεπιδρούν με το αντίστοιχο ανιόν. Οι διαλύτες κατατάσσονται με βάση τη γενική σχέση σε 4 κατηγορίες:<sup>45,47</sup>

- Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν διαλύτες που έχουν  $Y$  κάποιο μεταλλικό άλας.
- Στη δεύτερη κατηγορία ανήκουν διαλύτες που έχουν  $Y$  κάποιο ένυδρο μέταλλο.
- Στην τρίτη κατηγορία ανήκουν διαλύτες που έχουν  $Y$  κάποιον δότη δεσμού υδρογόνου
- Στην τέταρτη κατηγορία ανήκουν διαλύτες που το κατιόν έχει αντικατασταθεί από κάποιο μεταλλικό άλας και το  $Y$  είναι κάποιος δότη δεσμού υδρογόνου

Οι κατηγορίες των βαθέως ευτηκτικών διαλυτών παρατίθενται στην Εικόνα 17.



Εικόνα 17: Κατηγορίες βαθέως ευτηκτικών διαλυτών<sup>47</sup>

### Φυσιικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες

Οι φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες (Natural Deep Eutectic Solvents, NADES) παρασκευάζονται από πρωτογενείς μεταβολίτες, όπως οργανικά οξέα,

αμινοξέα, σάκχαρα, πολυόλες και παράγωγα χολίνης. Οι φυσικοί βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες παρουσιάζουν χαμηλή τάση ατμών και είναι φιλικό προς το περιβάλλον, καθώς αποτελούνται από συστατικά φυσικής προέλευσης. Επίσης, έχουν υψηλή διαλυτική ικανότητα ενώσεων που δεν είναι ευδιάλυτες στο νερό, είναι οικονομικοί στην παρασκευή τους, βιοαποικοδομήσιμοι και έχουν χαμηλή τοξικότητα. <sup>41,45-47,49</sup>

### Ιοντικά υγρά

Τα ιοντικά υγρά είναι άλατα σε υγρή κατάσταση που αποτελούνται αποκλειστικά από ιόντα με σημεία τήξης κάτω από 100°C. Τα ιοντικά υγρά έχουν πολλά πλεονεκτήματα σε σχέση με τους συμβατικούς οργανικούς διαλύτες, καθώς δεν είναι εύφλεκτα, δεν είναι πτητικά και είναι ανακυκλώσιμα. Επίσης, είναι θερμικά σταθερά και έχουν καλές διαλυτοποιητικές ικανότητες. Έχουν πολλές εφαρμογές στα πεδία της οργανικής χημείας, της χημείας των πολυμερών, της ηλεκτροχημείας, της κατάλυσης, της νανοτεχνολογίας και των κυψέλων καυσίμου. <sup>50-52</sup>

### Ταξινόμηση ιοντικών υγρών

Τα ιοντικά υγρά ταξινομούνται σε 4 κατηγορίες βάση του κατιόντος: <sup>50</sup>

- Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν ιοντικά υγρά που έχουν αλκυλαμμώνιο
- Στη δεύτερη κατηγορία ανήκουν ιοντικά υγρά που έχουν διακυλιμιδαζόλιο
- Στην τρίτη κατηγορία ανήκουν τα ιοντικά υγρά που έχουν φωσφόριο
- Στην τέταρτη κατηγορία ανήκουν ιοντικά υγρά που έχουν N-αλκυλοπυριδίνιο

### Εφαρμογές βαθέως ευτηκτικών διαλυτών και ιοντικών υγρών

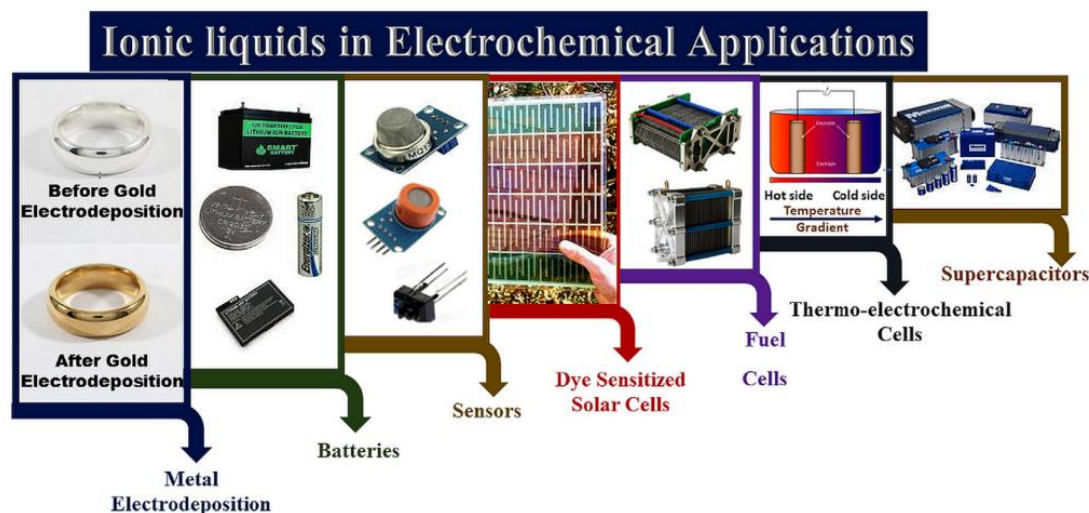
Οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες και τα ιοντικά υγρά έχουν πολλές εφαρμογές, λόγω των φυσικοχημικών τους ιδιοτήτων και της χαμηλής τοξικότητάς τους. <sup>48,53</sup>

Οι σύγχρονες βιομηχανικές ανάγκες απαιτούν υψηλής καθαρότητας προϊόντα, χωρίς παραπροϊόντα με τη χρήση μη τοξικών διαλυτών. Χαρακτηριστικό παράδειγμα της εφαρμογής των NaDES αποτελεί ο διαχωρισμός αζεοτροπικών μιγμάτων με εκχύλιση, όπου χρησιμοποιήθηκαν DES με βάση την  $\text{ChCl}$  για το διαχωρισμό του μίγματος αιθανόλης- επτανίου. <sup>46</sup>

Ακόμη, έχουν χρησιμοποιηθεί σε βιοϊατρικές εφαρμογές, όπου χάρη στη διπλή πολικότητά τους (φέρουν και υδρόφιλα και λιπόφιλα τμήματα) δύνανται να μεταφέρουν λιπόφιλες ενώσεις σε υδρόφιλους φορείς. Με τη χρήση τους εξασφαλίζεται ότι η εγκλωβισμένη ένωση θα αποδεσμευτεί από τους φορείς και θα υπάρξει καλύτερη συμβατότητα ανάμεσα στην ένωση και το φορέα. <sup>53</sup>

Τα ιοντικά υγρά, λόγω των φυσικοχημικών ιδιοτήτων τους, όπως της χαμηλής πτητικότητάς τους και της υψηλής αγωγιμότητάς τους, έχουν πολλές

εφαρμογές στην ηλεκτροχημεία. Θεωρούνται ασφαλείς ηλεκτρολύτες και μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε μπαταρίες και κελιά καυσίμου, υπερπυκνωτές, θερμοηλεκτρικά κελιά, αισθητήρες, καθώς και σε εφαρμογές απόθεσης μετάλλου (Εικόνα 18).<sup>54</sup>



Εικόνα 18: Εφαρμογές ιοντικών υγρών στην ηλεκτροχημεία<sup>54</sup>

Επίσης, τα ιοντικά υγρά λόγω του ότι μπορούν να μεταβάλλουν τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες υπό ορισμένες συνθήκες, χρησιμοποιούνται σε αισθητήρες, όπως αισθητήρες υγρασίας, αερίων, χημικών, αλλά και βιοαισθητήρες.<sup>54</sup>

### Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)

Η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) είναι μια μη καταστρεπτική τεχνική γρήγορης ανίχνευσης, η οποία χρησιμοποιείται σε πολλές εφαρμογές, όπως ο προσδιορισμός της καθαρότητας ενός δείγματος, η παρακολούθηση χημικών αντιδράσεων, η ταυτοποίηση της καθαρότητας και ο χαρακτηρισμός μορίων. Η φασματοσκοπία NMR μπορεί να αναλύσει δείγματα σε υγρή ή στερεή φάση σε πολλαπλή κλίμακα μεγέθους από νανόμετρα μέχρι και δεκατόμετρα. Λόγω της μεγάλης ευελιξίας της, χρησιμοποιείται σε πολλούς τομείς όπως η φυσική, η χημεία, η ιατρική και η βιομηχανία.<sup>55-58</sup>

Η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού βασίζεται στην αλληλεπίδραση ύλης και ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας. Αναλυτικότερα, όταν εφαρμόζεται εξωτερικό μαγνητικό πεδίο σε ορισμένους πυρήνες ατόμων, σχηματίζονται τοπικά μαγνητικά πεδία, καθώς αυτοί αλλάζουν μαγνητική ροπή (spin), η οποία είναι εγγενής κβαντική ιδιότητα των πυρήνων. Η ανάλυση πραγματοποιείται μέσω της ανίχνευσης ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στο φάσμα των ραδιοκυμάτων (10-1000 MHz) που παράγεται από μεταβάσεις

ανάμεσα στις καταστάσεις spin, οι οποίες είναι χαρακτηριστικές για κάθε πυρήνα και χημικό περιβάλλον.<sup>55,57,58</sup>

Οι πυρήνες που μπορούν να αναλυθούν με NMR πρέπει να έχουν κβαντικό αριθμό spin και περιττό ατομικό ή μαζικό αριθμό. Οι αναλύσεις γίνονται συνήθως στους πυρήνες  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{29}\text{Si}$ ,  $^{31}\text{P}$  με της φασματομετρίας υδρογόνου  $^1\text{H}$  και άνθρακα  $^{13}\text{C}$  να είναι οι πιο διαδεδομένες. Επιπλέον, εκτός από τη συχνότητα της ακτινοβολίας μετράται και το εμβαδόν του σήματος, το οποίο δίνει πληροφορίες για τον αριθμό των πυρήνων που απορροφούν την ακτινοβολία. Επίσης, κατά την αλλαγή spin, οι πυρήνες επηρεάζουν τους κοντινούς τους πυρήνες με διαφορετικό spin μέσα από τους χημικούς δεσμούς δίνοντας διαφορετικές κορυφές, ανάλογα με τους γειτονικούς πυρήνες και τους δεσμούς που υπάρχουν, καθώς γίνεται σύζευξη των πυρήνων. Αναλυτικότερα, το λαμβανόμενο σήμα από κάθε πυρήνα χωρίζεται σε συνιστώσες κορυφές έχοντας μια παραπάνω κορυφή από όσοι είναι οι γειτονικοί πυρήνες, δηλαδή υπάρχουν  $n+1$  κορυφές, όπου  $n$  είναι ο αριθμός των γειτονικών πυρήνων. Από αυτό το φαινόμενο λαμβάνονται πληροφορίες για τους δεσμούς και τους πυρήνες κοντά στον πυρήνα όπου άλλαξε το spin.<sup>56-58</sup>

Επιπλέον, στη φασματομετρία πρωτονίου το ύψος της κάθε κορυφής δίνει πληροφορίες για τον αριθμό των πρωτονίων που μετέχουν στον σχηματισμό της. Το ύψος της κάθε κορυφής τείνει να είναι ανάλογο των πυρήνων που συμμετέχουν σε αυτήν, συνεπώς μια κορυφή που σχηματίζεται από 3 πυρήνες υδρογόνου αναμένεται να έχει τριπλάσιο ύψος από μια που αντιστοιχεί σε 1 πυρήνα.<sup>57,58</sup>

Η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού δίνει πολλά δεδομένα με επαναλήψιμο τρόπο για τη δομή ενός μορίου και αποτελεί μια από τις πιο διαδεδομένες μεθόδους ταυτοποίησης. Παρόλα αυτά, αν δεν υπάρχει επαρκής ποσότητα του προς ανάλυση πυρήνα ή η μαγνητική ροπή είναι χαμηλή, τότε δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί η μέτρηση.<sup>57</sup>

### Δυναμική Σκέδαση Φωτός (DLS)

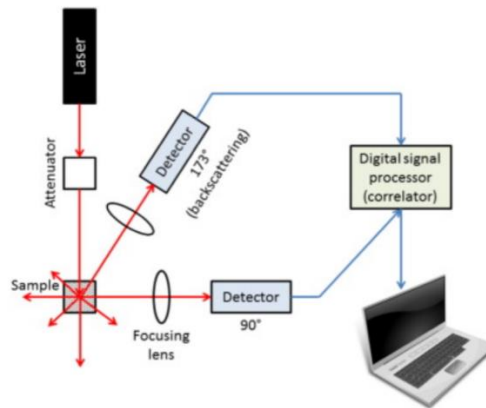
Η δυναμική σκέδαση φωτός είναι μια μέθοδος που χρησιμοποιείται για το χαρακτηρισμό των σωματιδίων, όπως ο προσδιορισμός του μεγέθους τους, η κατανομή του μεγέθους τους και το ζ-δυναμικό. Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στη σκέδαση του φωτός, όταν αυτό προσπίπτει σε σωματίδια τα οποία κάνουν κίνηση Brown.<sup>58-60</sup>

Κατά τη δυναμική σκέδαση φωτός μια δέσμη μονοχρωματικής ακτινοβολίας προσπίπτει στο δείγμα και ένας ανιχνευτής λαμβάνει τη διασπορά της προσπίπτουσας ακτινοβολίας. Από τη διακύμανση της ακτινοβολίας υπολογίζεται ο συντελεστής διάχυσης των σωματιδίων και στη συνέχεια από το συντελεστή διάχυσης υπολογίζεται η υδροδυναμική διάμετρος των σωματιδίων από την εξίσωση Stokes-Einstein:

$$d_H = \frac{k * T}{3 * \pi * \eta * D} \quad (1)$$

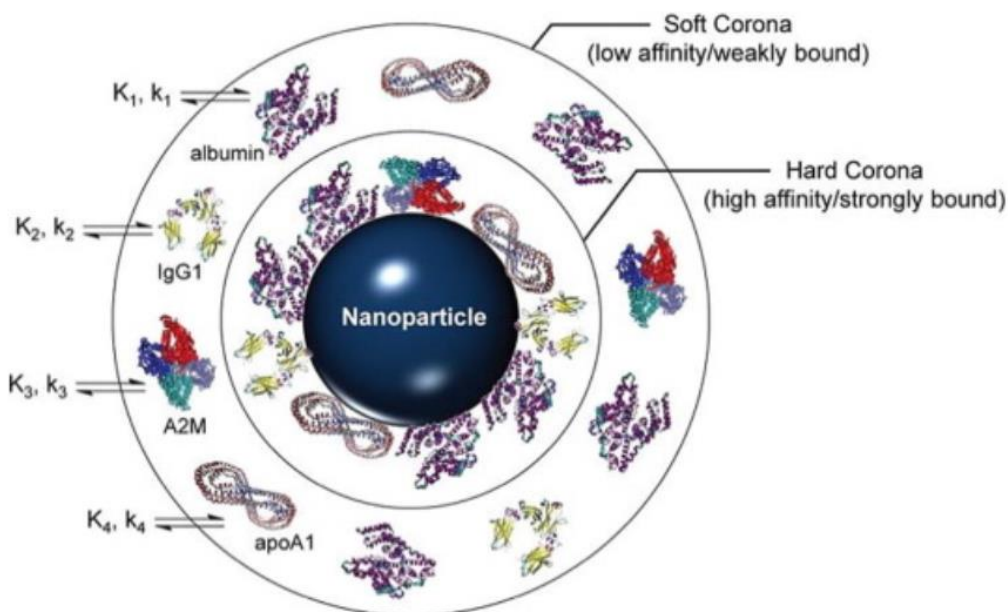
Όπου  $d_H$  είναι η υδροδυναμική διάμετρος,  $k$  είναι η σταθερά Boltzmann [ $1,38064852 \times 10^{-23}$  J/K],  $T$  είναι η θερμοκρασία [K],  $\eta$  είναι το ιξώδες [ $\frac{Kg}{m*s}$ ] και  $D$  ο συντελεστής διάχυσης [ $\frac{m^2}{s}$ ].

Η διάταξη της συσκευής DLS φαίνεται στην Εικόνα 19.<sup>58,59</sup>



Εικόνα 19: Διάταξη δυναμικής σκέδασης φωτός<sup>59</sup>

Η υδροδυναμική διάμετρος είναι η διάμετρος μιας θεωρητικής σφαίρας η οποία έχει τον ίδιο συντελεστή διάχυσης με τα σωματίδια. Η τιμή της είναι πάντα μεγαλύτερη από την πραγματική διάμετρο, γιατί τα πραγματικά σωματίδια έχουν ένα «σκληρό» φλοιό γύρω τους, μέσω του οποίου έλκουν με ισχυρές δυνάμεις άλλα σωματίδια και έναν «μαλακό» φλοιό, εξωτερικά από το σκληρό, μέσω του οποίου έλκουν σωματίδια με πιο ασθενείς δυνάμεις. Λόγω του ότι δεν υπάρχουν ισχυρές δυνάμεις, σωματίδια δύνανται να εισέρχονται και να εξέρχονται από το μαλακό φλοιό και έτσι παρατηρείται το φαινόμενο της ενυδάτωσης. Οι φλοιοί απεικονίζονται στην Εικόνα 20.<sup>58,59</sup>



Εικόνα 20: Σκληρός και μαλακός φλοιός γύρω από νανοσωματίδιο<sup>59</sup>

Ένας άλλος πολύ σημαντικός δείκτης που υπολογίζεται από τη δυναμική σκέδαση φωτός είναι ο δείκτης πολυδιασποράς PDI, ο οποίος ορίζει το εύρος κατανομής των σωματιδίων. Αν ο δείκτης PDI είναι μικρός, τότε υπάρχει ομοιόμορφη διασπορά των σωματιδίων, ενώ αν είναι μεγάλος τότε η κατανομή είναι ευρεία και υπάρχουν ομάδες με σωματίδια διαφορετικού μεγέθους. Ο δείκτης πολυδιασποράς υπολογίζεται μέσα από την κατανομή μεγέθους των σωματιδίων θεωρώντας όλα τα σωματίδια σφαιρικά. Η εξίσωση του PDI είναι η εξής:

$$PDI = \left( \frac{\sigma}{D_h * 2} \right)^2 \quad (2)$$

Όπου  $\sigma$  είναι η τυπική απόκλιση και  $D_h$  η μέση υδροδυναμική διάμετρος σωματιδίων.<sup>59,60</sup>

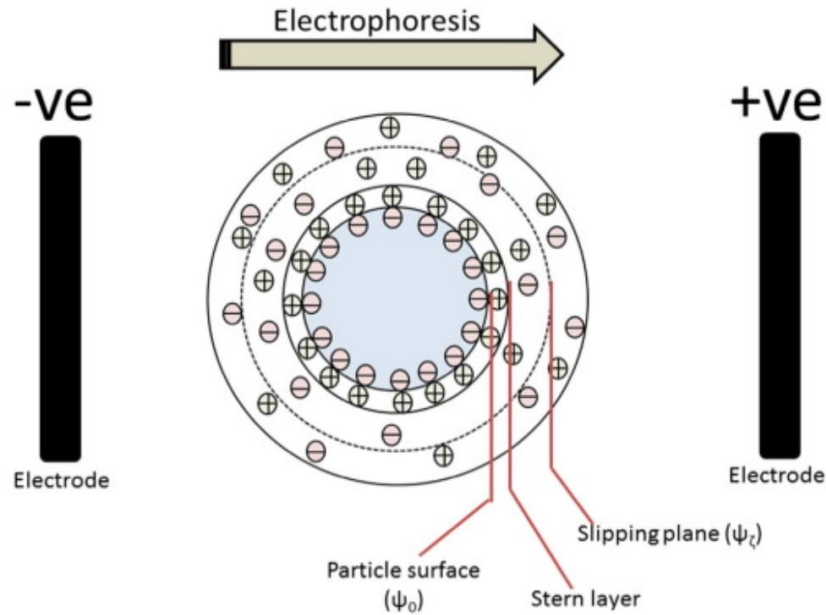
Τέλος, μέσω ηλεκτροφόρησης υπολογίζεται και το ζ-δυναμικό, το οποίο είναι το δυναμικό στο επίπεδο ολίσθησης ενός σωματιδίου που κινείται κάτω από ηλεκτρικό πεδίο. Για τον υπολογισμό του, το δείγμα τοποθετείται σε θάλαμο που έχει δυο ηλεκτρόδια, τα οποία εφαρμόζουν ηλεκτρικό πεδίο. Όταν εφαρμόζεται το ηλεκτρικό πεδίο γύρω από κάθε σωματίδιο, αναπτύσσεται ένα πεδίο όπου το εσωτερικό στρώμα του είναι στη επιφάνεια του σωματιδίου και έχει ιόντα με αντίθετο φορτίο από ό,τι το σωματίδιο. Στη συνέχεια, πέρα από αυτό το στρώμα, η πυκνότητα των αντίθετα φορτισμένων ιόντων μειώνεται λόγω απομάκρυνσης από την επιφάνεια του σωματιδίου. Εξαιτίας της ύπαρξης του ηλεκτρικού δυναμικού, τα σωματίδια κινούνται προς το αντίθετα φορτισμένο ηλεκτρόδιο. Μέσα από την ταχύτητα των σωματιδίων υπολογίζεται το ζ-δυναμικό από την εξίσωση του Henry.<sup>58-60</sup>



$$\zeta = \frac{3 * \eta * \mu_e}{2 * \epsilon_r * \epsilon_0 * f(K_a)} \quad (3)$$

Όπου  $\zeta$  είναι το ζ δυναμικό [V],  $\mu_e$  η ηλεκτροφορητική κινητικότητα των μορίων [ $\frac{m^2 * V}{s}$ ],  $\epsilon_r$  η σχετική διαπερατότητα προς τη διηλεκτρική σταθερά,  $\epsilon_0$  η διαπερατότητα κενού και  $f(K_a)$  η συνάρτηση Henry.<sup>59</sup>

Το πεδίο που δημιουργείται γύρω από τα σωματίδια, όταν τους ασκείται ηλεκτρικό πεδίο φαίνεται στην Εικόνα 21.

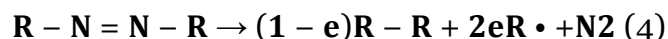


Εικόνα 21: Διπλοστιβάδα που δημιουργείται γύρω από φορτισμένο σωματίδιο<sup>59</sup>

## Μέθοδος AAPH

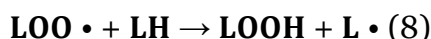
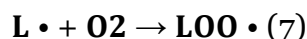
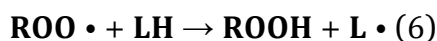
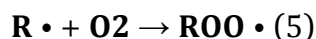
Για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης των χημικών ενώσεων μελετάται η ικανότητα αναστολής της λιπιδικής υπεροξειδωσης του λινολεϊκού οξέος που επάγεται από τον εκκινητή ελευθέρων ριζών, AAPH (2,2'- azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride). Με αυτόν τον τρόπο παρατηρείται ποσό καλή αντιοξειδωτική δράση μπορούν να έχουν οι ενώσεις, έναντι της οξειδωσης των λιπιδίων.<sup>61,62</sup>

Η μέτρηση της έκτασης της οξειδωσης και της παρεμπόδισης της γίνονται με φασματοφωτόμετρο UV-Vis με φωτομέτρηση στα 234 nm στους 37°C. Αναλυτικότερα, μετρώνται τα υπεροξείδια διενίων από το AAPH, τα οποία σχηματίζονται σύμφωνα με την εξίσωση (4).<sup>62</sup>



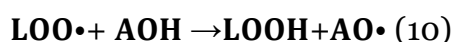
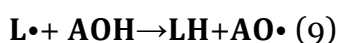
όπου  $R-N=N-R$  είναι ο εκκινητής, ο οποίος δημιουργεί τις ρίζες και  $e$  είναι η αποδοτικότητα παραγωγής ελευθέρων ριζών.

Στη συνέχεια, οι ελεύθερες ρίζες που παράγονται αντιδρούν με το οξυγόνο και παράγουν άλλες ελεύθερες ρίζες, αυξάνοντας έτσι την οξειδωση του λινολεϊκού οξέος σύμφωνα με τις εξισώσεις (5), (6), (7) και (8)<sup>62</sup>:



όπου LH είναι το λινολεϊκό οξύ, L• η λινολεϊκή ρίζα και LOOH• η ρίζα λινολεϊκού υπεροξειδίου.

Η συμβολή των αντιοξειδωτικών AOH είναι ότι μπορούν σταθεροποιήσουν τις ρίζες δίνοντάς τους ένα υδρογόνο (H) και με αυτόν τον τρόπο σταματάει ο μηχανισμός της οξειδωσης, σύμφωνα με τις εξισώσεις (9) και (10):



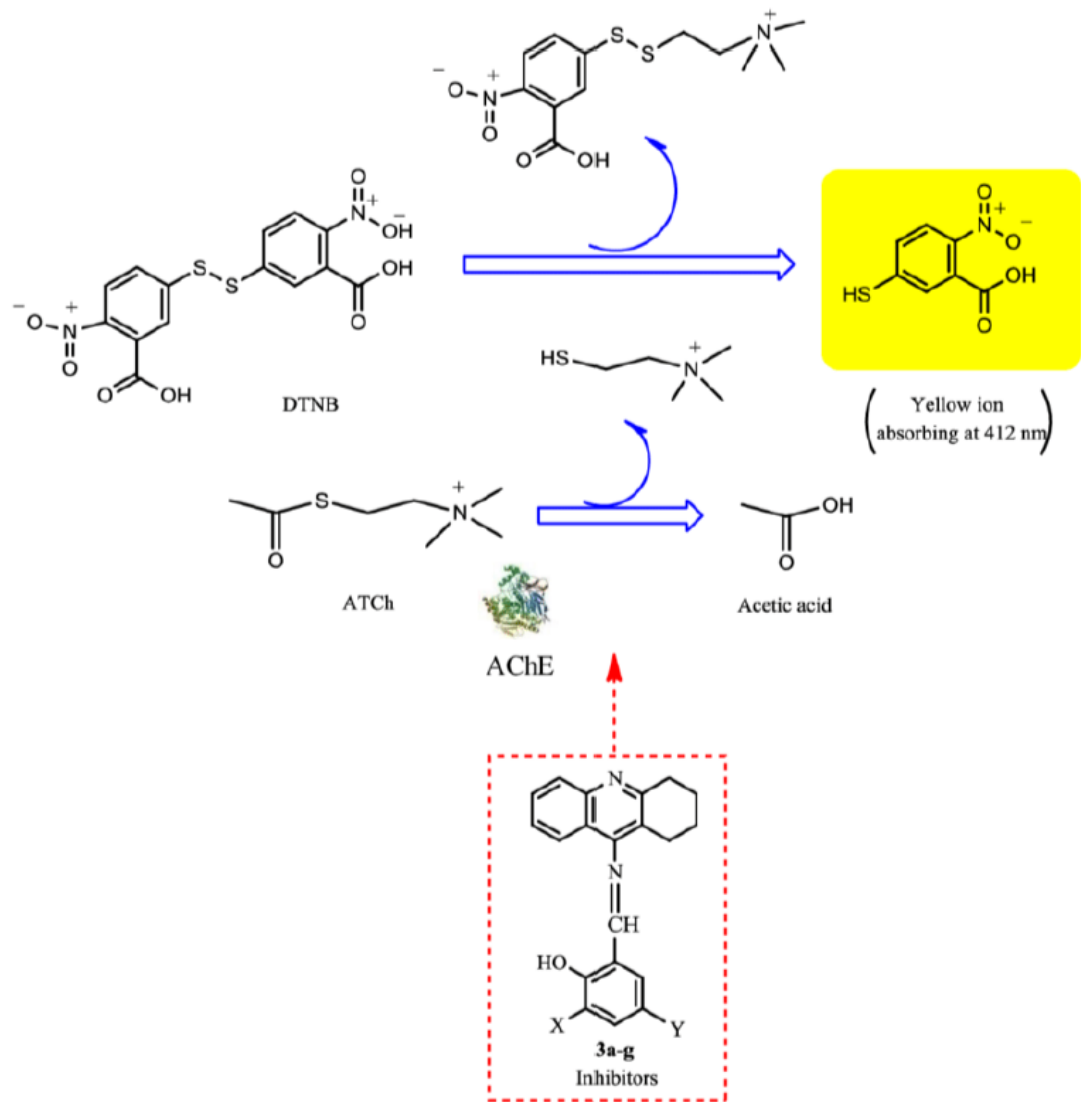
Το ποσοστό της παρεμπόδισης υπολογίζεται από την εξίσωση (11)<sup>61</sup> :

$$\% \text{ Παρεμπόδιση} = \frac{(\text{Standard} - \text{Τυφλό}) - (\text{Δείγμα αναφοράς} - \text{Δείγμα})}{\text{Standard} - \text{Τυφλό}} * 100 \quad (11)$$

## Αναστολή ακετυλοχολινεστεράσης

Η ικανότητα μιας ουσίας να αναστέλλει τη δράση του ενζύμου της ακετυλοχολινεστεράσης αξιολογείται με τη μέθοδο Ellman (Εικόνα 22). Η μέθοδος Ellman συσχετίζει τη δράση της ακετυλοχολινεστεράσης με την εμφάνιση κίτρινου χρώματος στην αντίδραση της θειοχολίνης με το 5,5'-διθειο-νιτροβενζοϊκό ιόν (5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoate), που προέρχεται από το 5,5'-διθειο-νιτροβενζοϊκό οξύ (5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid, DTNB). Το υπόστρωμα που χρησιμοποιείται είναι η ακετυλοχολίνη ATCI, η οποία υδrolύεται από την ακετυλοχολινεστεράση προς θειοχολίνη και οξικό οξύ.<sup>63</sup>

Η μέθοδος βασίζεται στη μέτρηση του ρυθμού παραγωγής θειοχολίνης, η οποία αντιδρά με το DTNB και παράγει το 5-θειο-2-νιτροβενζοϊκό ιόν, το οποίο έχει κίτρινο χρώμα, που προσδιορίζεται με φωτομέτρηση στα 412 nm.<sup>63</sup>



Εικόνα 22: Μεθοδος Ellman

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Στο παρόν κεφάλαιο παρουσιάζονται τα όργανα, οι συσκευές και ο εξοπλισμός που χρησιμοποιήθηκαν για τη σύνθεση των μορίων, την πραγματοποίηση και την παρακολούθηση των χημικών αντιδράσεων, την επεξεργασία καθαρισμού των προϊόντων, και τον έλεγχο της καθαρότητάς τους. Επίσης, παρουσιάζονται τα όργανα, οι συσκευές και ο εξοπλισμός που χρησιμοποιήθηκαν για τον εγκλωβισμό της επιλεγμένης ένωσης σε πολυμερικά νανοσωματίδια, το χαρακτηρισμό των σωματιδίων και τη μελέτη αποδέσμευσης της ένωσης από τα νανοσωματίδια.

Ο έλεγχος της καθαρότητας των προϊόντων έγινε με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (Thin Layer Chromatography, TLC) χρησιμοποιώντας διάφορες αναλογίες συστήματος διαλυτών PE/EtOAc (πετρελαϊκός αιθέρας/οξικός αιθυλεστέρας) καθώς και DCM/MeOH (διχλωρομεθάνιο/ μεθανόλη). Κατά τη χρωματογραφία λεπτής στιβάδας χρησιμοποιούνται πλάκες αλουμινίου, που είναι επιστρωμένες με Silica gel F254 της εταιρίας Merck. Οι κηλίδες των χρωματογραφημάτων TLC παρατηρήθηκαν στο ορατό φως, και υπό το φωτισμό λάμπας υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) στα 254 nm, καθώς και με εμπότισμό σε διάλυμα φωσφομολυβδαινικού οξέος (PMA) αναλογίας 1:2 (αιθανολικό διάλυμα PMA 7% : EtOH).

Ο έλεγχος της καθαρότητας και ο χαρακτηρισμός δομής των συντιθέμενων μορίων πραγματοποιήθηκαν μέσω φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού  $^1\text{H}$  NMR. Τα φάσματα  $^1\text{H}$  (πρωτονίου) καταγράφηκαν με το όργανο Varian 300 MHz του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών. Ως διαλύτες χρησιμοποιήθηκαν το δευτεριωμένο διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO,  $d_6$ ) και το δευτεριωμένο χλωροφόρμιο ( $\text{CDCl}_3$ ,  $d_1$ ). Οι τιμές των χημικών μετατοπίσεων δίνονται σε ppm, ενώ οι τιμές των σταθερών συζεύξεων (J) σε Hz. Οι πολλαπλότητες των σημάτων στα φάσματα  $^1\text{H}$  NMR περιγράφονται ως εξής:

- s (singlet, απλό)
- m (multiplet, πολλαπλό)
- d (doublet, διπλό)
- dd (doublet of doublets, διπλό διπλών)
- t (triplet, τριπλό)

Η μέτρηση των τιμών του pH στα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν πραγματοποιήθηκε με χρήση του οργάνου “744 pH Meter” της Metrohm.

Για την εξάτμιση των διαλυτών χρησιμοποιήθηκε περιστροφικός εξατμιστήρας της εταιρίας BUCHI SWITZERLAND, αποτελούμενος από περιστροφικό ψυκτήρα “Rotavapor R-114”, υδατόλουτρο “Waterbath B-4810”, αντλία και σύστημα ελέγχου “Vacuum Pump V-710”.

Για τη ανάμειξη των διαλυμάτων χρησιμοποιήθηκε η συσκευή vortex “VV05 series” της εταιρίας Ibx instruments.

Για τη λυοφιλοποίηση των νανοσωματιδίων χρησιμοποιήθηκε η συσκευή λυοφιλοποίησης “Lablyo Mini” της εταιρείας Frozen In Time.

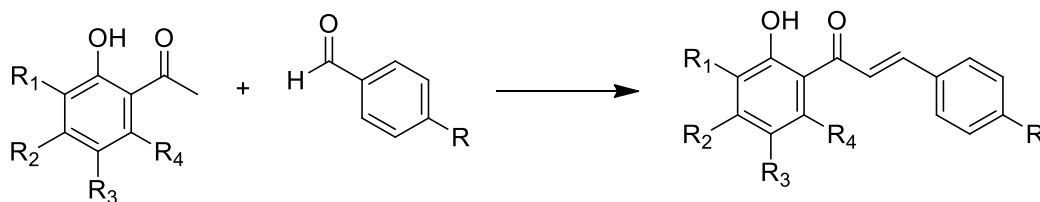
Για τη μελέτη της σταθερότητας των νανοσωματιδίων, τον προσδιορισμό του μεγέθους και του δείκτη πολυδιασποράς μέσω της μεθόδου Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (Dynamic Light Scattering) και του ζ-δυναμικού με ηλεκτροφόρηση χρησιμοποιήθηκε η συσκευή “ZETASIZER Nano-ZS” της εταιρίας Malvern.

### Γενική μέθοδος σύνθεσης χαλκονών

Η σύνθεση των χαλκονών πραγματοποιήθηκε μέσω της αντίδρασης συμπύκνωσης Claisen–Schmidt (Σχήμα 16).

Για τη σύνθεση των χαλκονών ζυγίστηκε η βενζαλδεΐδη και μεταφέρθηκε σε σφαιρική φιάλη μαζί με την απαιτούμενη ποσότητα EtOH (2,5 mL/ mmol αντιδρώντος) υπό ανάδευση μέχρι να διαλυθεί το στερεό. Υστέρτα, προστέθηκε ισομοριακή ποσότητα ακετοφαινόνης και τέλος προστέθηκε διάλυμα KOH 20 w/v (3 eq). Το μίγμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 48 h σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Η πορεία και η καθαρότητα της αντίδρασης παρακολούθηθηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας TLC σε σύστημα διαλυτών PE/EtOAc σε αναλογία 7:3.

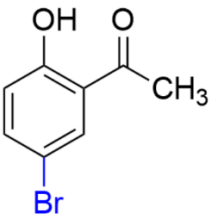
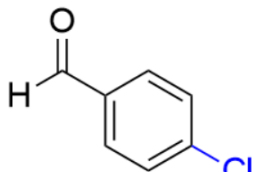
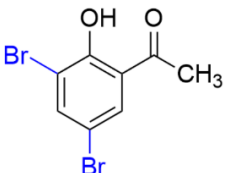
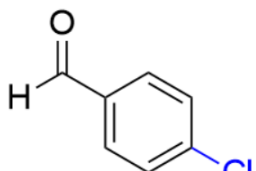
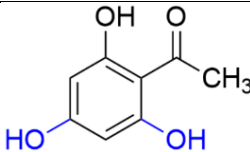
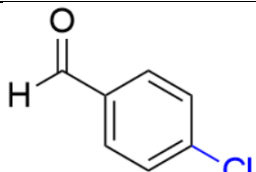
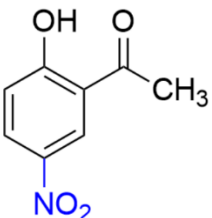
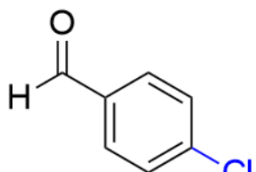
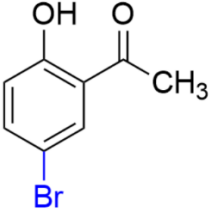
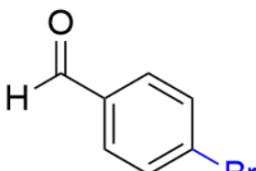
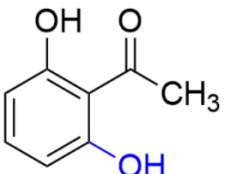
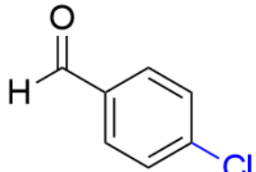
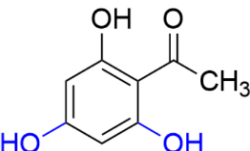
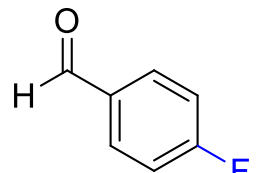
Μετά το πέρας της αντίδρασης, προστέθηκε στη σφαιρική φιάλη ποσότητα διαλύματος HCl 10% v/v προς καταβύθιση του στερεού. Ακολούθησε διήθηση του μίγματος υπό κενό με ταυτόχρονη έκπλυση του στερεού προϊόντος με νερό. Παραλήφθηκε στερεό προϊόν το οποίο παρέμεινε στην αντλία κενού για ξήρανση. Στις περιπτώσεις όπου δεν καταβυθίστηκε στερεό, πραγματοποιήθηκε εκχύλιση με EtOAc και εξάτμιση του διαλύτη σε περιστροφικό εξατμιστήρα προς παραλαβή του προϊόντος. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε ανακρυστάλλωση με DCM/MeOH στους 65°C και το στερεό παρέμεινε στην αντλία κενού για ξήρανση.

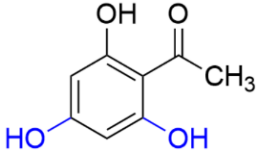
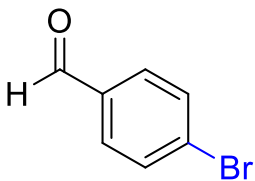
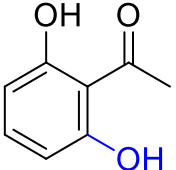
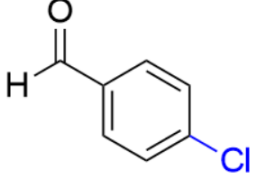


Σχήμα 16: Συμπύκνωση Claisen–Schmidt όπου R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> και R<sub>4</sub> οι υποκατάστατες της ακετοφαινόνης και R ο υποκαταστάτης της βενζαλδεΐδης.

Οι υλοκατάστατες που χρησιμοποιήθηκαν φαίνονται στον Πίνακα 1.

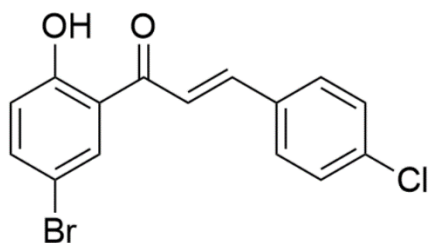
Πίνακας 1: Υλοκαταστάτες και μοριακό βάρος των αντιδρώντων.

R1	R2	R3	R4	Ακετοφαινόνη	Mr (g/mol)	R	Βενζαλδεΰδη	Mr (g/mol)
H	H	Br	H		215,04	Cl		140,57
Br	H	Br	H		294,94	Cl		140,57
H	OH	H	OH		168,15	Cl		140,57
H	H	NO <sub>2</sub>	H		181,15	Cl		140,57
H	H	Br	H		215,04	Br		185,02
H	H	H	OH		152,15	Cl		140,57
H	OH	H	OH		168,15	F		124,11

H	OH	H	OH		168,15	Br		124,11
H	H	H	OH		152,15	Cl		140,57

Παρακάτω φαίνονται οι χαλκόνες που συντέθηκαν και η απόδοση της εκάστοτε αντίδρασης, καθώς και η αποτίμηση των  $^1\text{H}$  NMR φασμάτων τους.

#### 5'-βρωμο-2'-υδροξυ-4-χλωροχαλκόνη (3α)



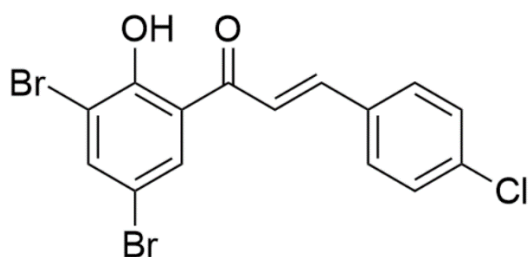
Μοριακός τύπος:  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{BrClO}_2$   
Μοριακό Βάρος: 337,60 g/mol  
Απόδοση αντίδρασης: 32%

Η σύνθεση της ένωσης 3α πραγματοποιήθηκε ακολουθώντας τη γενική μέθοδο σύνθεσης χαλκόνων. Σε σφαιρική φιάλη προστέθηκαν 0,465 mmol βενζαλδεΐδης και 1,55 mL EtOH. Έπειτα, προστέθηκαν 0,465 mmol ακετοφαινόνης και τέλος 782  $\mu\text{L}$  διαλύματος KOH 20 %w/v.

Πραγματοποιήθηκε ανακρυστάλλωση με DCM/MeOH και παραλήφθηκε υποκίτρινο στερεό.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO,  $d_6$ )  $\delta$  (ppm) 8,34 (d,  $J=2,4$  Hz, 1H, **H-6'**), 8,01 (d,  $J=15,9$  Hz, 1H, **Hb**), 7,97 (d,  $J=8,4$  Hz, 1H, **Ar-H**), 7,8 (d,  $J=15,9$  Hz, 1H, **Ha**), 7,69 (dd,  $J_1=2,7$  Hz,  $J_2=9$  Hz, 1H, **H-4'**), 7,56 (m, 2H, **Ar-H**), 7,13 (d,  $J=9$  Hz, 1H, **Ar-H**), 6,99 (d,  $J=8,7$  Hz, 1H, **Ar-H**)

#### 3',5'-διβρωμο-2'υδροξυ-4-χλωροχαλκόνη (3β)

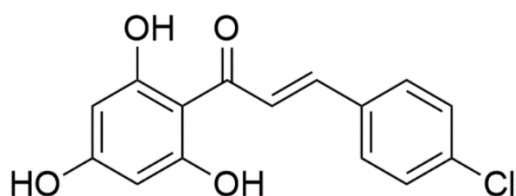


Μοριακός τύπος:  $\text{C}_{15}\text{H}_9\text{Br}_2\text{ClO}_2$   
Μοριακό Βάρος: 416,49 g/mol

Η σύνθεση της ένωσης 3β πραγματοποιήθηκε ακολουθώντας την γενική μέθοδο σύνθεσης χαλκόνων. Σε σφαιρική φιάλη προστέθηκαν 0,340 mmol βενζαλδεΐδης και 1,13 mL EtOH. Έπειτα, προστέθηκαν 0,340 mmol ακετοφαινόνης και τέλος 676  $\mu\text{L}$  διαλύματος KOH 20 %w/v.

Πραγματοποιήθηκε ανακρυστάλλωση με DCM/MeOH και παραλήφθηκε καφέ στερεό.

### 2',4',6'-τριυδροξυ-4-χλωροχalconή (3γ)



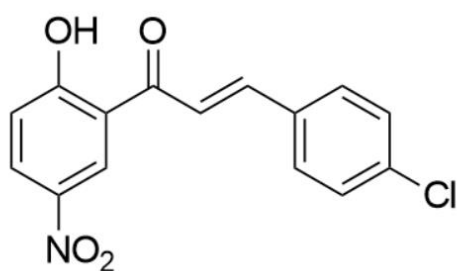
Μοριακός τύπος: C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>ClO<sub>4</sub>  
Μοριακό Βάρος: 290,70 g/mol  
Απόδοση αντίδρασης: 12 %

Η σύνθεση της ένωσης 3γ πραγματοποιήθηκε ακολουθώντας την γενική μεθοδο σύνθεσης chalconών. Σε σφαιρική φιάλη προστέθηκαν 0,5947 mmols βενζαλδεΐδης και 1,98 mL EtOH. Έπειτα, προστέθηκαν 0,5947 mmol ακετοφαινόνης και τέλος 1000 μL διαλύματος KOH 20 %w/v.

Πραγματοποιήθηκε ανακρυστάλλωση με DCM/MeOH και παραλήφθηκε κίτρινο στερεό.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, d<sub>1</sub>) δ (ppm) 12,68 (s, 1H, -OH), 7,99 (d, J=2,4 Hz, 1H, **Ar-H**), 7,89 (d, J=15,3 Hz, 1H, **Hb**), 7,63 (d, J=8,7 Hz, 2H, **Ar-H**), 7,53 (d, J=15 Hz, 1H, **Ha**), 7,43 (d, J=9 Hz, 2H, **Ar-H**), 6,94 (d, J=9, 1H, **Ar-H**)

### 5'-νιτρο-2'-υδροξυ-4-χλωροchalconή (3δ)



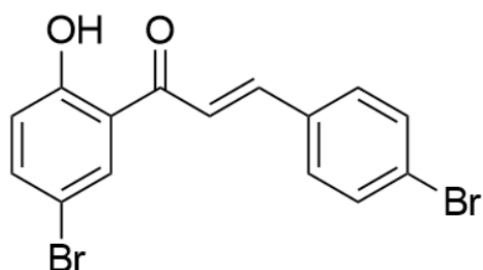
Μοριακός τύπος: C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>ClNO<sub>4</sub>  
Μοριακό Βάρος: 303,70 g/mol

Η σύνθεση της ένωσης 3δ πραγματοποιήθηκε ακολουθώντας την γενική μεθοδο σύνθεσης chalconών. Σε σφαιρική φιάλη προστέθηκαν 0,552 mmols βενζαλδεΐδης και 1,84 mL EtOH. Έπειτα, προστέθηκαν 0,552 mmol ακετοφαινόνης και τέλος 929 μL διαλύματος KOH 20 %w/v.

Πραγματοποιήθηκε ανακρυστάλλωση με DCM/MeOH και παραλήφθηκε υποκίτρινο στερεό.



### 5'-βρωμο-2'-υδροξυ-4-βρωμοχαλκόνη (3ε)



Μοριακός τύπος: C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>Br<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Μοριακό Βάρος: 382,05 g/mol

Απόδοση αντίδρασης: 82%

Η σύνθεση της ένωσης 3ε πραγματοποιήθηκε ακολουθώντας την γενική μεθοδο σύνθεσης χαλκονών. Σε σφαιρική φιάλη προστέθηκαν 1,395 mmols βενζαλδεΰδης και 3,38 mL EtOH. Έπειτα, προστέθηκαν 1,395 mmol ακετοφαινόνης και τέλος 1170 μL διαλύματος KOH 20 %w/v.

Πραγματοποιήθηκε ανακρυστάλλωση με DCM/MeOH και παραλήφθηκε κίτρινο στερεό.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, d<sub>1</sub>) δ (ppm) 12,76 (s, 1H, -OH), 7,99 (d, J=2,4 Hz, 1H, **H-6'**), 7,87 (d, J=15,3 Hz, 1H, **Hb**), 7,61-7,52 (m, 6H, **Ar-H**, **Ha**), 6,95 (d, J=9 Hz, 1H, **Ar-H**)

### Μελέτη ικανότητας αναστολής της λιπιδικής υπεροξειδωσης (μέθοδος AAPH)

Για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο AAPH αρχικά παρασκευάστηκε ένα διάλυμα buffer Phosphate ως εξής: αρχικά, παρασκευάστηκε ένα υδατικό διάλυμα KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> συγκέντρωσης 0,0123 M διαλύοντας 0,2009 g του άλατος σε 120 mL απεσταγμένου νερού. Στη συνέχεια, παρασκευάστηκε ένα διάλυμα K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> συγκέντρωσης 0,0377 M διαλύοντας 0,7880 g άλατος σε 120 mL απεσταγμένου νερού. Τα δύο διαλύματα αναμίχθηκαν σε ποτήρι ζέσεως και το pH ρυθμίστηκε στα 7.4 με την προσθήκη 5 mL διαλύματος HCl συγκέντρωσης 1 M. Στο διάλυμα που δημιουργήθηκε μετά την ανάμειξη προστέθηκε απεσταγμένο νερό, μέχρι ο τελικός όγκος να γίνει 300 mL και μεταφέρθηκε σε ελαιόλουτρο στους 37°C.

Ύστερα, παρασκευάστηκε το buffer Borate ως εξής: αρχικά, παρασκευάστηκε ένα υδατικό διάλυμα βορικού οξέος H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> συγκέντρωσης 50 mM διαλύοντας 0,3092 g οξέος σε 50 mL απεσταγμένου νερού. Το pH του διαλύματος ρυθμίστηκε στο 9 προσθέτοντας 5 mL διαλύματος HCl 1 M. Στη συνέχεια, προστέθηκε απεσταγμένο νερό, μέχρι ο τελικός όγκος να γίνει 100 ml.

Ακολούθησε παρασκευή του διαλύματος λινολεϊκού οξέος, όπου 0.275 g tween 20 προστέθηκαν σε 5 mL διαλύματος buffer Borate. Έπειτα, σε 2,5 mL απο αυτό το διάλυμα προστέθηκαν 0.125 mL λινολεϊκού οξέος και κατάλληλη ποσότητα διαλύματος NaOH 1M, υπό ανάδευση, έως ότου το διάλυμα να γίνει διαυγές. Τέλος, προστέθηκε ποσότητα διαλύματος buffer Borate μέχρι ο τελικός όγκος να γίνει 25 mL. Επιπλέον, παρασκευάστηκε τυφλό διάλυμα (blank) με την ίδια διαδικασία, με μονή διαφορά ότι δεν προστέθηκε καθόλου λινολεϊκό οξύ.

Το διάλυμα AAPH συγκέντρωσης 400 mM παρασκευάστηκε λίγο πριν τη λήψη των μετρήσεων, λόγω του ότι είναι ασταθές και φωτοευαίσθητο. Το διάλυμα καλύφθηκε με αλουμινόχαρτο και αναδεύτηκε σε vortex.

Το δείγμα που εξετάστηκε διαλύθηκε σε DMSO με τελική συγκέντρωση 10 mM.

Σε φασματοόμετρο UV-Vis στα 234 nm μετρήθηκε το baseline προσθέτοντας σε κάθε μία από τις δύο κυψελίδες 1302  $\mu$ L buffer Phosphate, 14  $\mu$ L DMSO, 14  $\mu$ L από το τυφλό και 70  $\mu$ L buffer Phosphate. Η μια από τις δύο κυψελίδες παρέμεινε στο φασματοφωτόμετρο καθόλη τη διάρκεια των μετρήσεων. Ύστερα, πραγματοποιήθηκε η ίδια μέτρηση, με τη διαφορά ότι αντί για 70  $\mu$ L buffer Phosphate προστέθηκαν 70  $\mu$ L διαλύματος AAPH. Στη συνέχεια, μετρήθηκε η απορρόφηση του control, δηλαδή της αντίδρασης ανάμεσα στο λινολεϊκό οξύ και το AAPH, χωρίς το αντιοξειδωτικό, προσθέτοντας κάθε φορά στην κυψελίδα 1302  $\mu$ L buffer Phosphate, 14  $\mu$ L DMSO, 14  $\mu$ L διάλυμα λινολεϊκού οξέος και 70  $\mu$ L AAPH.

Τέλος, πραγματοποιήθηκε η μέτρηση του δείγματος προσθέτοντας στην κυψελίδα 1302  $\mu$ L buffer Phosphate, 14  $\mu$ L από το δείγμα, 14  $\mu$ L λινολεϊκού οξέος και 70  $\mu$ L AAPH. Λήφθηκαν 3 μετρήσεις και για κάθε μέτρηση 2 τιμές, μία τη χρονική στιγμή  $t=0$  και μία την  $t=1$  min.

## Μελέτη ικανότητας αναστολής του ενζύμου ακετυλοχολινεστεράση (AChE)

Για τη μελέτη αναστολής της ακετυλοχολινεστεράσης χρησιμοποιήθηκε ένζυμο που προέρχεται από τον οργανισμό *Electrophorus Electricus*, καθώς προσομοιάζει πολύ καλά την ανθρώπινη ακετυλοχολινεστεράση έχοντας 60% ομοιότητα στα ενεργά τους κέντρα. Ως αναστολέας του ενζύμου ακετυλοχολινεστεράση δοκιμάστηκε η ένωση 5'-βρωμο-2'-υδροξυ-4-βρωμοχαλκόνη (3ε).

Αρχικά, παρασκευάστηκε ρυθμιστικό διάλυμα Tris-HCl συγκέντρωσης 50 mM με pH=8, το οποίο χρησιμοποιήθηκε για την αραίωση του ενζύμου σε συγκέντρωση 0,1 units/mL. Η ένωση (3ε) αραιώθηκε σε DMSO με τελική συγκέντρωση 10 mM, ενώ προστέθηκε στο τρυβλίο με τελική συγκέντρωση  $C_{τελ}=C_{αρχ}/100$ .

Στην συνέχεια, πληρωθήκαν τα τρυβλία με 158 ml ρυθμιστικού διαλύματος Tris-HCl, 2  $\mu$ L αναστολέα και 20 mL διαλύματος του ενζύμου AChE. Επίσης, για το τυφλό διάλυμα πληρωθήκαν τρυβλία με τον ίδιο τρόπο, με τη μόνη διαφορά ότι αντί για 2  $\mu$ L αναστολέα προστέθηκαν 2  $\mu$ L DMSO. Μετά την πλήρωση, η πλάκα παρέμεινε για 15 min με σκοπό να επωαστεί το ένζυμο, προστέθηκαν 10  $\mu$ L DTNB και στη συνέχεια 10  $\mu$ L από το υπόστρωμα ATCI σε όλα τα τρυβλία. Τέλος, πραγματοποιήθηκε φωτομέτρηση στις χρονικές στιγμές  $t=0$  και  $t=10$  min.

Η ποσοστιαία αναστολή της ακετυλοχολινεστεράσης υπολογίζεται από τη σχέση:

$$\%Inhibition = \left(1 - \frac{\Delta A_{sample}}{\Delta A_{control}}\right) * 100 \quad (12)$$

όπου

$$\Delta A_{sample} = A_{sample \ 10 \ min} - A_{sample, \ 0 \ min}$$

$$\Delta A_{control} = A_{control \ 10 \ min} - A_{control, \ 0 \ min}$$

Τα δείγματα που έχουν ωχρό κίτρινο χρώμα εμφανίζουν ισχυρή αναστολή της ακετυλοχολινεστεράσης, ενώ εκείνα που έχουν έντονο κίτρινο χρώμα δεν εμφανίζουν ανασταλτική δράση.

## Μελέτη ικανότητας αναστολής του ενζύμου βουτυρυλοχολινεστεράση (BuChE)

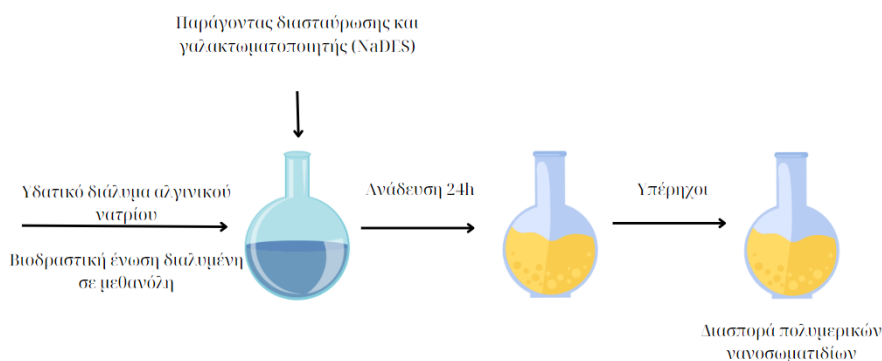
Η μελέτη της αναστολής του ενζύμου της βουτυρυλοχολινεστεράσης πραγματοποιήθηκε όπως και της ακετυλοχολινεστεράσης με τη διαφορά ότι χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα η βουτυρυλοχολίνη (BTCl) και ως ένζυμο η βουτυρυλοχολινεστεράση (BuChE).

## Σύνθεση κενών πολυμερικών νανοσωματιδίων (blank)

Για την παρασκευή των κενών νανοσωματιδίων διαλύθηκαν αρχικά 40 mg αλγινικού νατρίου (0,4% w/v) σε 9,97 mL υπερκάθαρου νερού με ήπια θέρμανση μέχρι να διαλυτοποιηθεί πλήρως το αλγινικό. Το διάλυμα μεταφέρθηκε σε ογκομετρική φιάλη, όπου προστέθηκαν 8 mL μεθανόλης και το μίγμα παρέμεινε υπό ανάδευση, έως ότου ομογενοποιηθεί. Στη συνέχεια, προστέθηκε σταγόδη ποσότητα 30 μL (0,3 % v/v) από τον φυσικό βαθέως ευτηκτικό διαλυτή γλυκόζη-γαλακτικό οξύ-νερό (Gly-LA-W 1:5:6.2) ο οποίος λειτουργεί ως παράγοντας διασταύρωσης και γαλακτωματοποιητής. Το μίγμα παρέμεινε υπό έντονη ανάδευση για 24 h, ώστε να εξατμιστεί ο διαλύτης και στη συνέχεια μεταφέρθηκε σε κωνική φιάλη κι έπειτα σε συσκευή υπερήχων για 6 λεπτά με σκοπό την ομογενοποίηση της διασποράς.

## Σύνθεση πολυμερικών νανοσωματιδίων

Για την παρασκευή των νανοσωματιδίων ζυγιστήκαν 4 mg από την 5'-βρωμο-2'-υδροξυ-4-βρωμοχαλκόνη (3ε) και προστέθηκαν σε vial μαζί με 8 ml μεθανόλης έως ότου διαλυθεί πλήρως. Για την παρασκευή των νανοσωματιδίων ακολουθήθηκε η μεθοδολογία που αναλύθηκε παραπάνω για τα κενά νανοσωματίδια, με τη διαφορά ότι στο υδατικό διάλυμα του αλγινικού προστέθηκε το διάλυμα της ένωσης (3ε). Η διαδικασία σύνθεσης των πολυμερικών νανοσωματιδίων παρουσιάζεται στην Εικόνα 23.



Εικόνα 23: Διαδικασία σύνθεσης πολυμερικών νανοσωματιδίων

## Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων

### Απόδοση διεργασίας

Η απόδοση της διεργασίας ορίζεται ως ο λόγος της μάζας των λυοφιλοποιημένων νανοσωματιδίων προς τη συνολική μάζα των συστατικών που χρησιμοποιήθηκαν, δηλαδή το άθροισμα των μαζών της χαλκόνης (3ε), του NaDES και του αλγινικού νατρίου.

$$\text{Απόδοση διεργασίας \%} = \frac{\text{Μάζα λυοφιλοποιημένων νανοσωματιδίων}}{\text{Σ μαζών αρχικών συστατικών}} * 100 \quad (13)$$

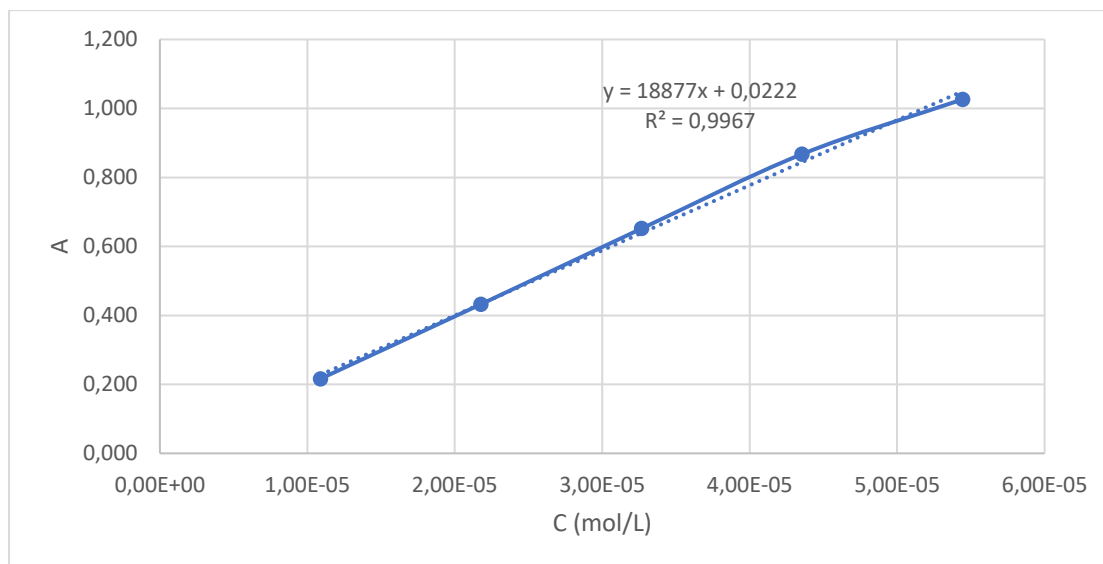
### Απόδοση εγκλωβισμού

Για την ποσοτικοποίηση της εγκλωβισμένης ένωσης κατασκευάστηκε καμπύλη βαθμονόμησης διαλύοντας αρχικά 1,04 mg χαλκόνης σε 50 mL DMSO (διάλυμα A). Αραιώνοντας το διάλυμα A με κατάλληλη ποσότητα DMSO, δημιουργήθηκαν 4 διαλύματα περιεκτικότητας 20, 40, 60, 80% σε διάλυμα A. Οι τιμές των απορροφήσεων που μετρήθηκαν για τις διαφορετικές συγκεντρώσεις φαίνονται στον Πίνακα 2

Πίνακας 2: Απορροφήσεις πρότυπων δειγμάτων

Αραιώσεις	C (mol/L)	A
100%	5,44E-05	1,026
80%	4,36E-05	0,868
60%	3,27E-05	0,652
40%	2,18E-05	0,432
20%	1,09E-05	0,216

Από τα δεδομένα του Πίνακα 2 κατασκευάστηκε η καμπύλη βαθμονόμησης



Σχήμα 17: Καμπύλη βαθμονόμησης της ένωσης (3ε)

Η απόδοση του εγκλωβισμού υπολογίζεται μετρώντας την απορρόφηση της ένωσης που εγκλωβίστηκε στα νανοσωματίδια μέσω φασματομετρίας υπεριώδους ορατού UV-Vis. Αναλυτικότερα, ζυγίζεται η λυοφιλοποιημένη διασπορά των σωματιδίων και μεταφέρεται σε σφαιρική φιάλη. Στη συνέχεια, προστίθενται 20 mL διαλύτη DMSO και το μίγμα παραμένει υπό ισχυρή ανάδευση για 48 h, έτσι ώστε να διασπαστούν τα νανοσωματίδια και να απελευθερωθεί η εγκλωβισμένη ένωση. Ακολουθεί φωτομέτρηση και υπολογίζεται η συγκέντρωση της ουσίας από την καμπύλη βαθμονόμησης.

## DLS και ηλεκτροφόρηση

Τα νανοσωματίδια χαρακτηρίστηκαν ως προς το μέγεθος, το δείκτη πολυδιασποράς PDI και το ζ-δυναμικό. Για την προετοιμασία του δείγματος προστέθηκαν 10  $\mu\text{L}$  από τη διασπορά των νανοσωματιδίων σε 20 mL υπερκάθαρου νερού. Για τη λήψη των μετρήσεων χρησιμοποιήθηκε κυψελίδα τύπου U (DTS 1070, Malvern, UK) του οργάνου DLS.

Κατά την ανάλυση πραγματοποιήθηκαν δυο είδη μετρήσεων, DLS για το μέγεθος και το PID και ηλεκτροφόρηση για το ζ-δυναμικό. Η κάθε μέτρηση πραγματοποιήθηκε τρεις φορές για το εκάστοτε δείγμα. Για τη μελέτη της σταθερότητας των νανοσωματιδίων, επαναλήφθηκε η μέτρηση μετά από ένα μήνα σε δείγματα που είχαν αποθηκευτεί σε συνθήκες περιβάλλοντος και στο ψυγείο.

## Μελέτη αποδέσμευσης από υδατική διασπορά νανοσωματιδίων

Για τη μελέτη της αποδέσμευσης της χαλκόνης από τα νανοσωματίδια παρασκευάστηκε ρυθμιστικό διάλυμα με  $\text{pH}=7,4$ . Το συγκεκριμένο  $\text{pH}$  επιλέχθηκε, καθώς προσομοιάζει τις φυσιολογικές συνθήκες του ανθρώπινου οργανισμού. Αρχικά, 1,74 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  διαλυτοποιήθηκαν σε 100 mL υπερκάθαρου νερού και 0,55 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  διαλυτοποιήθηκαν σε 40 mL υπερκάθαρου νερού. Το διάλυμα που περιέχει το  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  προστέθηκε στάγδην στο διάλυμα που περιέχει το  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  έως ότου το  $\text{pH}$  να γίνει 7,4. Στη συνέχεια, προστέθηκε κατάλληλη ποσότητα από τον επιφανειοδραστικό παράγοντα Tween 80, ώστε το τελικό διάλυμα να έχει περιεκτικότητα 5% w/v.

Η υδατική διασπορά των νανοσωματιδίων μεταφέρθηκε σε μεμβράνη διαπίδυσης, η οποία στη συνέχεια εμβαπτίστηκε στο ρυθμιστικό διάλυμα  $\text{pH}=7,4$  υπό ανάδευση στους 37 °C (Εικόνα 24). Για τη μέτρηση της ποσότητας της ένωσης που αποδεσμεύτηκε, λήφθηκαν δείγματα από το ρυθμιστικό διάλυμα τις χρονιές στιγμές 30 min, 1, 2, 3, 4, 5 και 24 h. Η απορρόφηση των δειγμάτων μετρήθηκε σε φασματοφωτόμετρο UV-Vis. Από την καμπύλη βαθμονόμησης υπολογίστηκε η ποσότητα της ένωσης που αποδεσμεύτηκε.

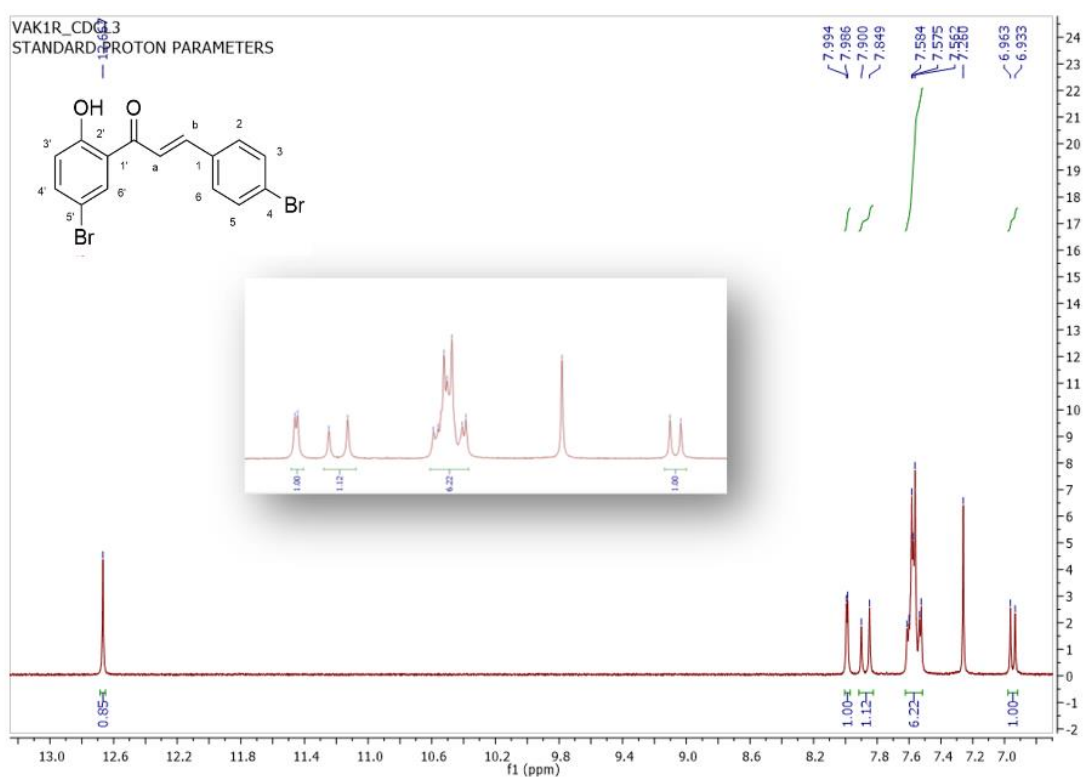


*Εικόνα 24: Μελέτη αποδέσμευσης υδατικής διασποράς νανοσωματιδίων*

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### Ταυτοποίηση δομής με φασματοσκοπία $^1\text{H}$ NMR

Η ταυτοποίηση των χαλκονών που συντέθηκαν πραγματοποιήθηκε μέσω της μεθόδου  $^1\text{H}$  NMR. Ενδεικτικά, παρουσιάζεται η ανάλυση του φάσματος της ένωσης 5'-βρωμο-2'-υδροξυ-4-βρωμοχαλκόνη (3ε) (Εικόνα 25), καθώς και του μίγματος της ένωσης (3δ) και της αντίστοιχης ακετοφαινόνης (Εικόνα 26).



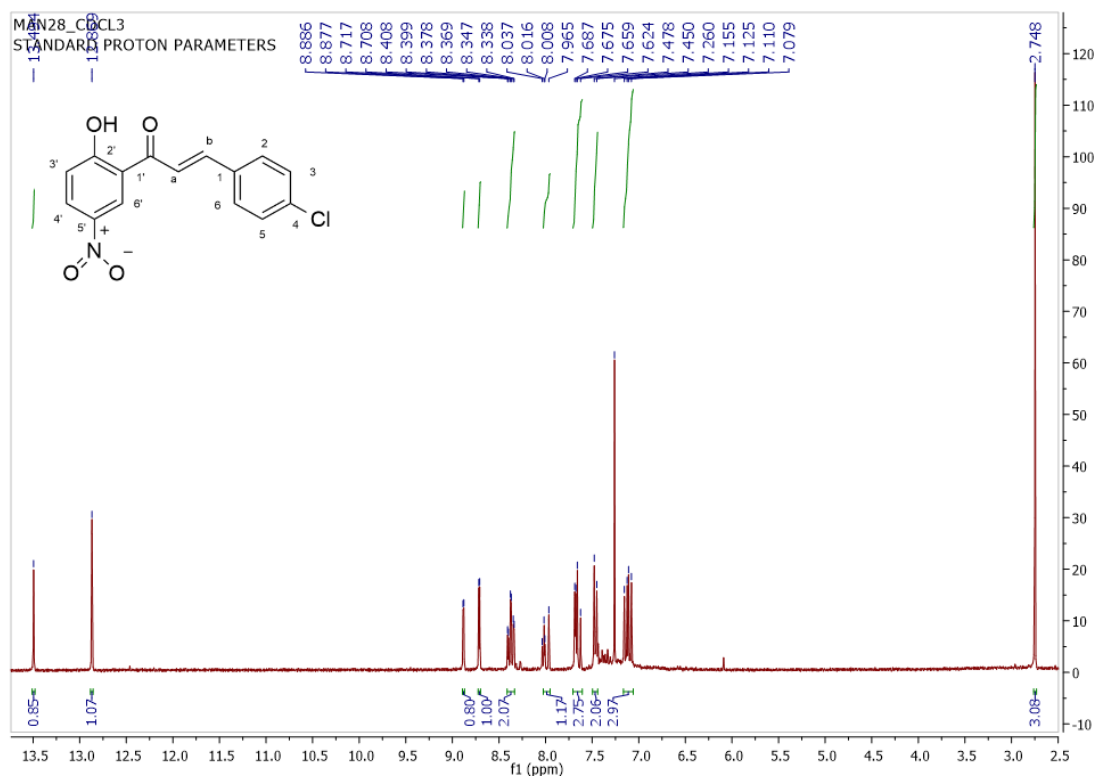
Εικόνα 25: Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης 2'-υδροξυ-5'-βρωμο-4-βρωμοχαλκόνη (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $d_1$ )

Κατά την ανάλυση NMR, στα χαμηλά πεδία του φάσματος εμφανίζονται τα πρωτόνια τα οποία είναι πιο αποπροστατευμένα, λόγω αλληλεπιδράσεων με γειτονικά πρωτόνια και τμήματα του μορίου, ενώ στα υψηλά φάσματα εμφανίζονται τα πρωτόνια που είναι πιο προστατευμένα.

Στα **12,67 ppm** εμφανίζεται μια απλή κορυφή, η οποία ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχεί στο πρωτόνιο του υδροξυλίου της θέσης 2'. Ακολουθεί μια διπλή κορυφή ( $J=2,4$  Hz) στα **7,99 ppm**, η οποία ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχεί στο υδρογόνο της θέσης 6'. Η σχάση της κορυφής



οφείλεται στην αλληλεπίδραση του πρωτονίου αυτού με το πρωτόνιο της θέσης 4' που βρίσκεται σε απόσταση δύο δεσμών. Ακόμα, η διπλή κορυφή ( $J=15,3$  Hz) στα **7,87 ppm**, που ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο, αντιστοιχεί στο βινυλικό υδρογόνο H<sub>b</sub>. Στα **7,61-7,52 ppm** υπάρχει μια πολλαπλή κορυφή που ολοκληρώνει για 6 πρωτόνια και αντιστοιχεί σε αρωματικά πρωτόνια και στο βινυλικό πρωτόνιο H<sub>a</sub>. Τέλος, στα **6,95 ppm** εμφανίζεται μια διπλή κορυφή ( $J=9$  Hz), η οποία ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχεί σε αρωματικό πρωτόνιο.



Εικόνα 26: Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του μίγματος της αντίδρασης σύνθεσης της ένωσης 5'-νιτρο-2'-υδροξυ-4-χλωροχαλκόνη (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $d_1$ )

Από τα 5 φάσματα NMR που εξετάστηκαν τα 3 φάσματα αφορούν μίγματα των χαλκόνων με την αντίστοιχη ακετοφαινόνη. Ενδεικτικά, παρουσιάζεται το φάσμα του μίγματος της 5'-νιτρο-2'-υδροξυ-4-χλωροχαλκόνης με την 5-νιτρο-2-υδροξυ-ακετοφαινόνη.

Παρατηρείται ότι στα **13,49 ppm** και στα **12,87 ppm**, εμφανίζονται δύο απλές κορυφές, που αντιστοιχούν στα πρωτόνια της υδροξυλομάδας της ακετοφαινόνης και της χαλκόνης, αντίστοιχα και έχουν αναλογία περίπου 0,8:1. Αντίστοιχα, οι γειτονικές κορυφές στα **8,89 ppm** και στα **8,88 ppm** έχουν επίσης την ίδια αναλογία και αντιστοιχούν στο πρωτόνιο της θέσης 6 και 6' της ακετοφαινόνης και της χαλκόνης, αντίστοιχα. Η ύπαρξη της ακετοφαινόνης επιβεβαιώνεται και από τη χαρακτηριστική κορυφή του μεθυλίου της ακετυλο-ομάδας στα 2,78 ppm, η οποία ολοκληρώνει για 3 πρωτόνια.

## Αξιολόγηση της ικανότητας αναστολής της λιπιδικής υπεροξειδωσης

Η ένωση 5'-βρωμο-2'-υδροξυ-4-βρωμοχαλκόνη (3ε) αξιολογήθηκε ως προς την ικανότητά της να αναστέλλει τη λιπιδική υπεροξειδωση του λινολεϊκού οξέος που επάγεται από τον εκκινητή ελευθέρων ριζών AAPH. Για τον υπολογισμό της % παρεμπόδισης της δέσμευσης των ελευθέρων ριζών χρησιμοποιήθηκε η εξίσωση (11). Η ένωση εμφάνισε σχετικά χαμηλή αντιοξειδωτική ικανότητα σε ποσοστό 20% για συγκέντρωση χαλκόνης ίση με 10 mM.

## Μελέτη της δράσης αναστολής των ενζύμων AChE και BuChE

Η ένωση (3ε) μελετήθηκε και ως προς την ικανότητα της να αναστέλλει τη δράση των ενζύμων ακετυλοχολινεστεράση (AChE) και βουτυρυλοχολινεστεράση (BuChE) *in vitro* σε συγκέντρωση 100 μM. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 3.

*Πίνακας 3: Ικανότητα αναστολής των ενζύμων AChE και BuChE από ένωση (3ε) για C=100 μM*

Ένωση	% Αναστολή AchE 100μM	% Αναστολή BuChE 100μM
(3ε)	13±11	69±18

Από τα αποτελέσματα των μετρήσεων προκύπτει ότι η 5'-βρωμο-2'-υδροξυ-4-βρωμοχαλκόνη παρουσιάζει ισχυρή αναστολή της δράσης της BuChE, ενώ φαίνεται να μην αναστέλλει αποτελεσματικά την AChE. Επομένως, διαπιστώνεται η εκλεκτικότητα του μορίου ως προς τη BuChE, καθώς με την ίδια ποσότητα ένωσης επιτυγχάνεται ισχυρότερη αναστολή. Η εκλεκτικότητα ως προς την αναστολή της BuChE αποτελεί σημαντικό εύρημα της μελέτης καθώς έχουν βρεθεί πολύ λίγα μόρια που έχουν αυτήν την ιδιότητα. Η επιλεκτική αναστολή της BuChE είναι σημαντική διότι μπορεί να παρακαμφθεί η αναστολή της AChE και να αποτραπεί η χολινεργική τοξικότητα η οποία αποτελεί συνήθη παρενέργεια της αναστολής της AChE. Επίσης όσο εξελίσσεται η νόσος του Alzheimer τα επίπεδα της AChE μειώνονται στον εγκέφαλο ενώ της BuChE παραμένουν σταθερά οπότε η BuChE θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως θεραπευτικός στόχος σε προχωρημένα στάδια της νόσου.<sup>64</sup>

## Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων και μελέτη σταθερότητας

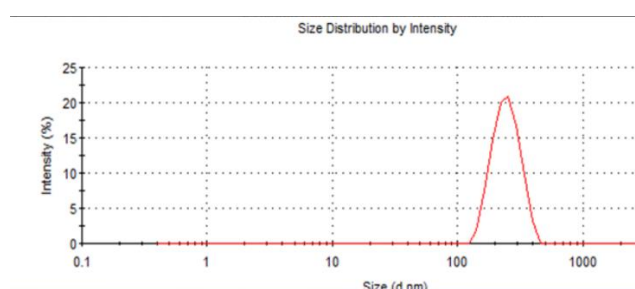
Από τις ενώσεις που συντέθηκαν επιλέχθηκε να πραγματοποιηθεί εγκλωβισμός σε πολυμερικά νανοσωματίδια της ένωσης (3ε), λόγω της σημαντικής ικανότητάς της να αναστέλλει εκλεκτικά τη δράση του ενζύμου BuChE, έναντι της AChE, αλλά και εξαιτίας του γεγονότος ότι παραλήφθηκε με υψηλή απόδοση και καθαρότητα. Ο εγκλωβισμός πραγματοποιείται λόγω της υψηλής λιποφιλίας του μορίου, έτσι ώστε να αυξηθεί η βιοδιαθεσιμότητα του σε

περίπτωση χορήγησης του στον οργανισμό. Επίσης, είναι πιθανό να υπάρχει συνεργιστική δράση του μορίου και του φορέα και να παρουσιάσει βελτιωμένες φαρμακολογικές ιδιότητες.

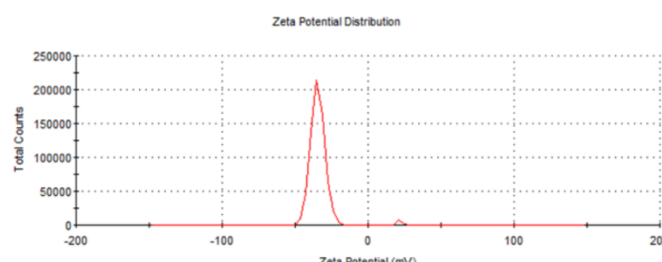
Αναφορικά με τις αποδόσεις, η απόδοση της διεργασίας σύνθεσης της ένωσης (3ε) ήταν υψηλή 82% ενώ η απόδοση εγκλωβισμού της ήταν αρκετά χαμηλή 12%. Η χαμηλή απόδοση εγκλωβισμού είναι πιθανό να οφείλεται στην μη πλήρη διαλυτοποίηση της ένωσης στον διαλύτη λόγω του λιπόφιλου χαρακτήρα της. Θα πρέπει να πραγματοποιηθούν δοκιμές και με άλλους διαλύτες προκειμένου να αυξηθεί η διαλυτότητα της ένωσης.

Τα πολυμερικά νανοσωματίδια που παρασκευάστηκαν εξετάστηκαν ως προς το μέγεθός τους, το δείκτη πολυδιασποράς PDI και το ζ-δυναμικό τους. Επίσης, πραγματοποιήθηκε μελέτη της σταθερότητάς τους ένα μήνα μετά τη σύνθεσή τους. Τα νανοσωματίδια αποθηκεύτηκαν υπό δύο διαφορετικές συνθήκες, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και εντός ψυγείου.

Στις εικόνες 27 και 28 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της δυναμικής σκέδασης φωτός για τα πολυμερικά νανοσωματίδια της ένωσης (3ε)



Εικόνα 27: Κατανομή μεγέθους των πολυμερικών νανοσωματιδίων της ένωσης (3ε)



Εικόνα 28: ζ-δυναμικό των πολυμερικών νανοσωματιδίων της ένωσης (3ε)

Στον Πίνακα 4 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από την ανάλυση της δυναμικής σκέδασης φωτός και της σταθερότητας της διασποράς των νανοσωματιδίων.

Πίνακας 4: Αποτελέσματα μελέτης των νανοσωματιδίων με Δυναμική Σκέδαση Φωτός (DLS)

	ζ-δυναμικό(mV)	Size (nm)	PDI
Κενά νανοσωματίδια	-36.6±3.1	254.5±6.7	0.426±0.028
Νανοσωματίδια που περιέχουν εγκλεισμένη την ένωση (3ε)	-33.0±8.1	441.6±10.2	0.432±0.032
Νανοσωματίδια που περιέχουν εγκλεισμένη την ένωση (3ε) (1 μήνας εκτός ψυγείου)	-45.6±5.8	423.6±14.3	0.556±0.043

Από τα αποτελέσματα του Πίνακα 4 συμπεραίνεται ότι τα κενά νανοσωματίδια είναι πιο μικρά από τα νανοσωματίδια που έχουν εγκλωβισμένη την ένωση. Ο δείκτης PDI όλων των σωματιδίων υποδηλώνει την ύπαρξη διαφορετικών οικογενειών μεγέθους (πολυδιασπορά), ωστόσο από το ζ-δυναμικό φαίνεται πως οι διασπορές είναι αρκετά σταθερές.

Τα νανοσωματίδια εντός ψυγείου ένα μήνα μετά την αποθήκευσή τους δεν ήταν σταθερά και είχαν συσσωματωθεί. Αντιθέτως, η διασπορά των νανοσωματιδίων εκτός ψυγείου ένα μήνα μετά ήταν αρκετά σταθερή, όπως φαίνεται από την υψηλή τιμή του ζ-δυναμικού και τα νανοσωματίδια είχαν παρόμοια υδροδυναμική διάμετρο με τα αντίστοιχα που μετρήθηκαν αρχικά. Το γεγονός ότι ήταν σταθερά εκτός ψυγείου είναι σημαντικό, καθώς τα νανοσωματίδια δύνανται να αποθηκευτούν εύκολα, χωρίς να απαιτούνται ειδικές συνθήκες, π.χ. για τη μεταφορά τους.

### Μελέτη αποδέσμευσης της ένωσης (3ε) από τα πολυμερικά νανοσωματίδια

Στον Πίνακα 5 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της αποδέσμευσης της χαλκόνης (3ε) από τα πολυμερικά νανοσωματίδια.

Πίνακας 5: Αποτελέσματα ποσοστιαίας αποδέσμευσης της χαλκόνης από τα νανοσωματίδια

Χρόνος	% απελευθέρωση
30 min	1,6
1 h	3,5
2 h	3,7
3 h	3,7
4 h	3,8
5 h	3,7
24 h	3,8

Επειδή η απόδοση εγκλωβισμού ήταν αρκετά χαμηλή, η ποσοστιαία αποδέσμευση της ένωσης από τα νανοσωματίδια ήταν, επίσης, πολύ μικρή (Πίνακας 5).

Εκτός από την επιλογή ενός διαφορετικού διαλύτη που προαναφέρθηκε, θα μπορούσαν να γίνουν περαιτέρω πειράματα μελέτης αποδέσμευσης της ένωσης, π.χ. σε πιο χαμηλή τιμή pH ή να πραγματοποιηθούν δοκιμές εγκλωβισμών σε διαφορετική κατηγορία νανοσωματιδίων, όπως τα λιπιδικά νανοσωματίδια.

## ΣΥΝΟΨΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Κατά την εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής εργασίας συντέθηκαν πέντε 2'-υδρόξυ-χαλκόνες, των οποίων η καθαρότητα και η δομή ταυτοποιήθηκαν με φασματομετρία  $^1\text{H NMR}$ . Από τις ενώσεις που συντέθηκαν οι ενώσεις (3α), (3γ) και (3ε) παραλήφθηκαν σε καθαρή μορφή, ενώ οι ενώσεις (3β) και (3δ) παραλήφθηκαν ως μίγμα με την αντίστοιχη ακετοφαινόνη. Την υψηλότερη απόδοση και καθαρότητα εμφάνισε η ένωση (3ε) (απόδοση 82%).

Ακόμα, εξετάστηκαν η ικανότητα της ένωσης (3ε) να αναστέλλει τη λιπιδική υπεροξειδωση του λινολεϊκού οξέος που επάγεται από τον εκκινητή ελευθέρων ριζών AAPH, καθώς και η ικανότητα αναστολής των ενζύμων AChE και BuChE με τη μέθοδο Ellman. Η αντιοξειδωτική δράση ήταν σχετικά χαμηλή (20%,  $C=10\text{ mM}$ ). Επίσης, η ικανότητα αναστολής της AChE ήταν χαμηλή (13%,  $100\mu\text{M}$ ), ωστόσο διαπιστώθηκε αξιόλογη ικανότητα αναστολής της BuChE (69%,  $100\mu\text{M}$ ). Συνεπώς, η συγκεκριμένη χαλκόνη παρουσιάζει μεγάλη εκλεκτικότητα ως προς την αναστολή της δράσης της BuChE, μεταξύ των δύο ενζύμων.

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε εγκλωβισμός της ένωσης (3ε) σε πολυμερικά νανοσωματίδια, με σκοπό την αύξηση της υδατοδιαλυτότητάς της. Τα πολυμερικά νανοσωματίδια χαρακτηρίστηκαν με την μέθοδο της δυναμικής σκέδασης φωτός (DLS) ως προς το μέγεθος και το δείκτη πολυδιασποράς PDI και ως προς το ζ-δυναμικό μέσω ηλεκτροφόρησης. Επίσης, μελετήθηκε η σταθερότητά τους μετά από ένα μήνα αποθήκευσης σε συνθήκες περιβάλλοντος, αλλά και εντός ψυγείου.

Η υδροδυναμική διάμετρος των σωματιδίων στα οποία ήταν εγκλωβισμένη η χαλκόνη (441 nm) ήταν μεγαλύτερη από τη διάμετρο των κενών νανοσωματιδίων (250 nm), ενώ ο δείκτης πολυδιασποράς PDI σε όλες τις περιπτώσεις ήταν μέτριος (0,42-0,55) και υποδηλώνει την ύπαρξη πολλών οικογενειών σωματιδίων διαφορετικής υδροδυναμικής διαμέτρου. Ως προς τη σταθερότητα, οι διασπορές εμφάνισαν αρκετά καλή σταθερότητα, έχοντας ζ-δυναμικό κοντά στην επιθυμητή τιμή των  $-30\text{ mV}$ .

Από τη μελέτη σταθερότητας ένα μήνα μετά τη σύνθεση, τα νανοσωματίδια που ήταν εντός ψυγείου δεν ήταν σταθερά και είχαν συσσωματωθεί, ενώ τα νανοσωματίδια που βρίσκονταν εκτός ψυγείου, είχαν διατηρήσει τη σταθερότητα και το μέγεθός τους. Συνεπώς, τα νανοσωματίδια δύνανται να διατηρηθούν εκτός ψυγείου, οπότε μπορούν να αποθηκευτούν εύκολα, χωρίς να απαιτούνται ειδικές συνθήκες.

Η απόδοση εγκλωβισμού της ένωσης (3ε) στα νανοσωματίδια ήταν πολύ χαμηλή (12%), πιθανότατα εξαιτίας της χαμηλής διαλυτότητάς της στο διαλύτη που χρησιμοποιήθηκε. Για τη βελτίωση της απόδοσης θα μπορούσαν να πραγματοποιηθούν πειράματα διαλυτοποίησης της ένωσης σε διαφορετικούς διαλύτες, όπως DMSO, ώστε να βρεθεί ένας καταλληλότερος διαλύτης.

Επίσης, από τη μελέτη αποδέσμευσης της ένωσης από τα νανοσωματίδια, προέκυψαν πολύ χαμηλά ποσοστά αποδέσμευσης, που πιθανότατα οφείλονται στη χαμηλή απόδοση εγκλωβισμού. Ειδικότερα, η ποσοστιαία αποδέσμευση σε pH=7,4 ήταν πολύ μικρή (3,8% σε 24 h). Συνεπώς, για να πραγματοποιηθεί αποτελεσματικότερη αποδέσμευση της ένωσης από τα νανοσωματίδια, θα πρέπει πρώτα να γίνει μια διερεύνηση, τόσο ως προς το χρησιμοποιούμενο διαλύτη, όσο και ως προς το pH του ρυθμιστικού διαλύματος ή ακόμα και το είδος των νανοσωματιδίων (π.χ. λιπιδικά νανοσωματίδια).

## ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την μελέτη της παρούσας διπλωματικής αποτελούν βάση για περαιτέρω έρευνα στον τομέα της φαρμακευτικής χημείας.

Αρχικά, προτείνεται ο καθαρισμός των μιγμάτων χαλκόνης – ακετοφαινόνης μέσω χρωματογραφικών τεχνικών, με σκοπό την αξιολόγηση της βιοδραστικότητας και αυτών των χαλκονών.

Για τη βελτίωση της απόδοσης εγκλωβισμού θα μπορούσαν να πραγματοποιηθούν πειράματα για τη διαλυτοποίηση των χαλκονών σε διαφορετικούς διαλύτες. Επίσης, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ρυθμιστικά διαλύματα με διαφορετικές τιμές pH, ώστε να διερευνηθεί η αποδέσμευση σε διαφορετικές συνθήκες.

Επιπρόσθετα, θα μπορούσε να μελετηθεί ο εγκλωβισμός και η αποδέσμευση των ενώσεων από διαφορετικούς φορείς, πέρα από τα πολυμερικά νανοσωματίδια, όπως είναι τα λιπιδικά νανοσωματίδια.

Θα μπορούσε, ακόμη, να μελετηθεί η σταθερότητα των νανοσωματιδίων για διάστημα μεγαλύτερο του ενός μήνα, προκειμένου να εξασφαλιστεί η απουσία συσσωμάτωσής τους κατά τη μεταφορά και την αποθήκευση.

Επίσης, προτείνεται να γίνουν πειράματα προσδιορισμού της κυτταροτοξικότητας, τόσο των καθαρών ενώσεων, όσο και των σωματιδίων τους σε κυτταρικές σειρές, καθώς και της αλληλεπίδρασής τους με το ctDNA, ανοίγοντας το δρόμο για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Kumar, S. & Pandey, A. K. Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *The Scientific World Journal*. 2013. 162750.
2. Panche, A. N., Diwan, A. D. & Chandra, S. R. Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*. 5. 2016. 47.
3. Tizazu, A. & Bekele, T. A review on the medicinal applications of flavonoids from aloe species. *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*. 10. 2024. 100135.
4. Gaonkar, S. L. & Vignesh, U. N. Synthesis and pharmacological properties of chalcones: a review. *Research on Chemical Intermediates*. 43. 6043–6077.
5. Nematollahi, M. H., Mehrabani, M., Hozhabri, Y., Mirtajaddini, M. & Irvani, S. Antiviral and antimicrobial applications of chalcones and their derivatives: From nature to greener synthesis. *Heliyon*. 9. 20428.
6. Uddin, J., Ali Shah, S. W., Zahoor, M., Ullah, R. & Alotaibi, A. Chalcones: The flavonoid derivatives synthesis, characterization, their antioxidant and in vitro/in vivo antidiabetic potentials. *Heliyon* 9. 2023. e22546.
7. Constantinescu, T. & Lungu, C. N. Anticancer activity of natural and synthetic chalcones. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. 22. 11306.
8. Narwal, S., Devi, B., Dhanda, T., Kumar, S. & Tahlan, S. Exploring Chalcone Derivatives: Synthesis and Their Therapeutic Potential. *Journal of Molecular Structure*. 1303. 2024. 137554.
9. Rozmer, Z. & Perjési, P. Naturally occurring chalcones and their biological activities. *Phytochemistry Reviews*. 15. 87–120.
10. Baek, S. et al. A novel chalcone derivative exerts anticancer effects by promoting apoptotic cell death of human pancreatic cancer cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 93. 2023. 117458.
11. Rammohan, A., Reddy, J. S., Sravya, G., Rao, C. N. & Zyryanov, G. V. Chalcone synthesis, properties and medicinal applications: a review. *Environmental Chemistry Letters*. 18. 433–458.
12. Padhye, S. et al. Fluorinated 2'-hydroxychalcones as garcinol analogs with enhanced antioxidant and anticancer activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 20. 2010. 5818–5821.
13. Sivakumar, P. M., Prabhakar, P. K. & Doble, M. Synthesis, antioxidant evaluation, and quantitative structure-activity relationship studies of chalcones. *Medicinal Chemistry Research* 20. 2011. 482–492.



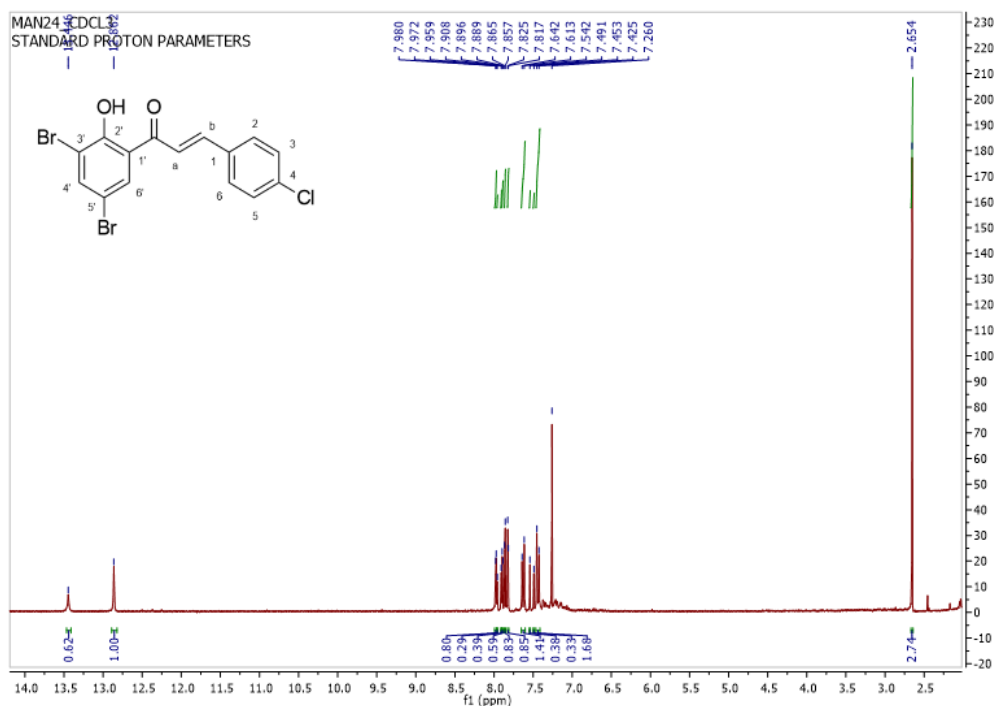
14. Lahsasni, S. A., Al Korbi, F. H. & Aljaber, N. A. A. Synthesis, characterization and evaluation of antioxidant activities of some novel chalcones analogues . *Chemistry Central Journal*. 2014. 8-32.
15. Gutierrez M.P, Ramirez A.M, A. & Saucedo J.V. The potential of chalcones as a source of drugs. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology Review: The potential of chalcones as a source of drugs*. 9. 2015. 237–257.
16. Wang, S. et al. Isolation and biological activity of natural chalcones based on antibacterial mechanism classification. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 93. 2023. 117454.
17. Kostopoulou, I. et al. Exploring the 2'-hydroxy-chalcone framework for the development of dual antioxidant and soybean lipoxygenase inhibitory agents. *Molecules*. 2021. 26. 2777.
18. Ghias, M. et al. 1-Hydroxynaphthalene-4-trifluoromethylphenyl chalcone and 3 hydroxy-4-trifluoromethylphenyl flavone: A combined experimental, structural, in vitro AChE, BChE and in silico studies. *Journal of Molecular Structure* 1253. 2022. 132253.
19. Colovic, M., B. Krstic, D. Z. Lazarevic Pasti, T. D. Bondzic & Vasic, V. M. Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. *Current Neuropharmacology*. 11 (3). 2013. 315-335.
20. Anil, D. A. et al. Exploring enzyme inhibition profiles of novel halogenated chalcone derivatives on some metabolic enzymes: Synthesis, characterization and molecular modeling studies *Computational Biology and Chemistry*. 100. 2022. 107748.
21. Aldunate, R., Casar, J. C., Brandan, E. & Inestrosa, N. C. Structural and functional organization of synaptic acetylcholinesterase. in *Brain Research Reviews*. 47. 2004. 96–104.
22. Sharma, A. & Saraswat, A. Overview on cumulative synthetic approaches for chalcone based functionalized scaffolds. *Journal of the Indian Chemical Society*. 98. 2021. 100028.
23. Silva, G. A. Introduction to nanotechnology and its applications to medicine. *Surg Neurol* 61. 2004. 216–220.
24. Satyanarayana, T. S. V. & Rai, R. Nanotechnology: The future. *Journal of Interdisciplinary Dentistry*. 1. 2011. 93-100.
25. Attia, M. F., Anton, N., Wallyn, J., Omran, Z. & Vandamme, T. F. An overview of active and passive targeting strategies to improve the nanocarriers efficiency to tumour sites. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 71 1185–1198.
26. Farokhzad, O. C. & Langer, R. Impact of nanotechnology on drug delivery. *ACS Nano* 3. 2009. 16–20.

27. Lehner, R., Wang, X., Marsch, S. & Hunziker, P. Intelligent nanomaterials for medicine: Carrier platforms and targeting strategies in the context of clinical application. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 9. 2013. 742–757.
28. Wilczewska, A. Z., Niemirowicz, K., Markiewicz, K. H. & Car, H. Nanoparticles as drug delivery systems. *Pharmacological Reports*. 64(5). 2012. 1020-1037.
29. Ashok D.A, Rajeshree K. A. Nanoparticles-A Review Article. *International Journal of Research Publication and Reviews Journal homepage*. 3(6). 2022. 4129-4135.
30. Kapoor, D., Rahul, G., Mansi, G., Bhupendra, G. P., Gyan, A., Sankha, B., Gehan, M., Polymeric nanoparticles approach and identification and characterization of novel biomarkers for colon cancer. *Results in Chemistry*. 6 .2023. 101167.
31. Norouzi, M., Ahmadi, E. & Mohamadnia, Z. Stimuli-responsive fluorescent polymer nanoparticles: Versatile applications in rapid colorimetric and fluorometric detection of cyanide in blood plasma, pH sensing, paper-based sensors, and intelligent artworks. *Journal of Photochemistry & Photobiology, A: Chemistry* 452. 2024. 115552.
32. Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M. & Rizzolio, F. The history of nanoscience and nanotechnology: From chemical-physical applications to nanomedicine. *Molecules*. 25. 2020. 112.
33. Yadav, N. et al. Solid Lipid Nanoparticles-A Review. *International Journal of Applied Pharmaceutics*. 5(2). 2013. 8-18.
34. Kurozawa, L. E. & Hubinger, M. D. Hydrophilic food compounds encapsulation by ionic gelation. *Current Opinion in Food Science*. 15 50–55.
35. Juárez, G. A.P., Spasojevic, M., Faas, M. M. & Vos, P. Immunological and technical considerations in application of alginate-based microencapsulation systems. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2(26). 2014.
36. Daemi, H. & Barikani, M. Synthesis and characterization of calcium alginate nanoparticles, sodium homopolymannuronate salt and its calcium nanoparticles. *Scientia Iranica* 19(6). 2012. 2023–2028.
37. Doderó, A. et al. An Up-to-Date Review on Alginate Nanoparticles and Nanofibers for Biomedical and Pharmaceutical Applications. *Advanced Materials Interfaces*. 8. 2021. 2100809.
38. Paques, J. P., Linden, E., Van Rijn, C. J. M. & Sagis, L. M. C. Preparation methods of alginate nanoparticles. *Advances in Colloid and Interface Science*. 209. 2014. 163–171.
39. Lankala, C. R. et al. Application of Nanotechnology for Diagnosis and Drug Delivery in Atherosclerosis: A New Horizon of Treatment. *Current Problems in Cardiology*. 48. 2023. 101671.

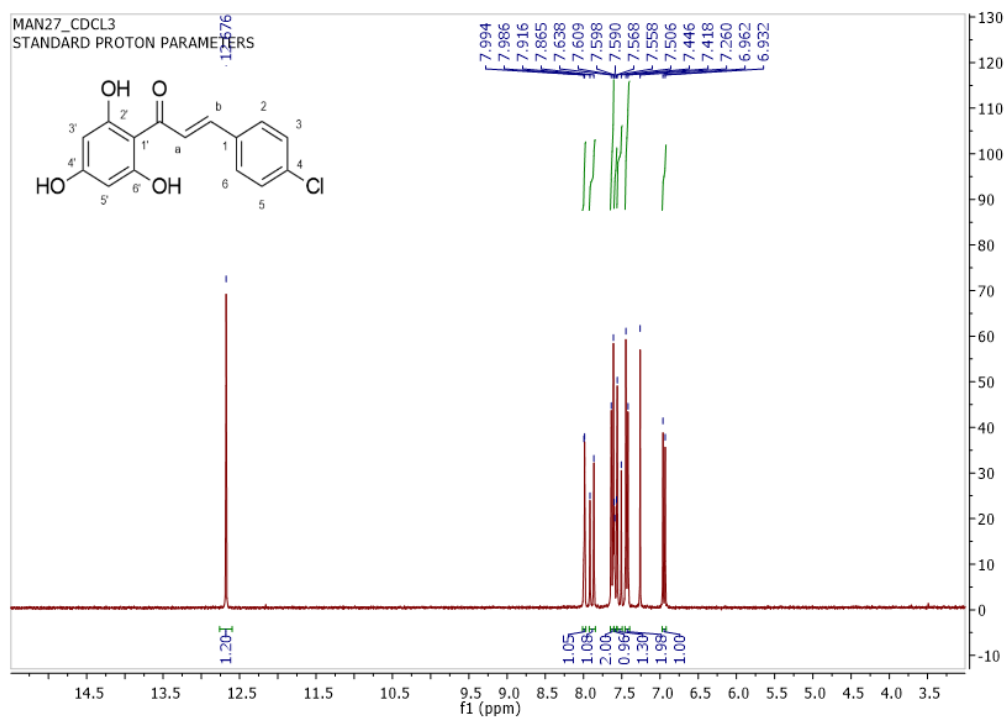
40. Gonzalez, M. A. Introduction to Green and Sustainable Chemistry. in *Encyclopedia of Sustainable Technologies*. 2017. 487–495.
41. Alqahtani, A. S. Indisputable roles of different ionic liquids, deep eutectic solvents and nanomaterials in green chemistry for sustainable organic synthesis. *Journal of Molecular Liquids*. 399. 2024. 124469.
42. Gałuszka, A., Migaszewski, Z. & Namieśnik, J. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. *Trends in Analytical Chemistry* 50. 2013. 78–84.
43. Anastas, P. & Eghbali, N. *Green Chemistry: Principles and Practice*. *Chemical Society Reviews*. 39. 2010. 301–312.
44. Mohammed, W. A., Ali, A.Q. & Errayes, A.O. *Green Chemistry: Principles, Applications, and Disadvantages*. *Chemical Methodologies* 4. 2020. 408–423.
45. Tomé, L. I. N., Baião, V., da Silva, W. & Brett, C. M. A. Deep eutectic solvents for the production and application of new materials. *Applied Materials Today*. 10. 2018. 30–50.
46. Hansen, B. B. et al. Deep Eutectic Solvents: A Review of Fundamentals and Applications. *Chemical Reviews*. 121. 2021. 1232–1285.
47. El Achkar, T., Greige-Gerges, H. & Fourmentin, S. Basics and properties of deep eutectic solvents: a review. *Environmental Chemistry Letters*. 19. 2021. 3397–3408.
48. Karadendrou, M. A., Kostopoulou, I., Kakokefalou, V., Tzani, A. & Detsi, A. L-Proline-Based Natural Deep Eutectic Solvents as Efficient Solvents and Catalysts for the Ultrasound-Assisted Synthesis of Aurones via Knoevenagel Condensation. *Catalysts*. 12. 2022. 249.
49. Zhen, Y. *Natural Deep Eutectic Solvents and Their Applications in Biotechnology. Application of Ionic Liquids in Biotechnology*. 2018. 31–59.
50. Ghandi, K. *A Review of Ionic Liquids, Their Limits and Applications*. *Green and Sustainable Chemistry* .04. 2014. 44–53.
51. Rogers, R. D. & Voth, G. A. Ionic liquids. *Accounts of Chemical Research*. 40. 2007. 1077–1078.
52. Berezianko, I. A. & Kostjuk, S. V. Ionic liquids in cationic polymerization: A review. *Journal of Molecular Liquids*. 397. 2024. 124037.
53. Liu, Y. et al. *Natural Deep Eutectic Solvents: Properties, Applications, and Perspectives*. *Journal of Natural Products*. 81. 2018. 679–690.
54. Kaur, G., Kumar, H. & Singla, M. Diverse applications of ionic liquids: A comprehensive review. *Journal of Molecular Liquids*. 351. 2022. 118556.

55. Yuan, Y., Rezaee, R., Zhou, M. F. & Iglauer, S. A comprehensive review on shale studies with emphasis on nuclear magnetic resonance (NMR) technique. *Gas Science and Engineering*. 120. 2023. 205163.
56. Balthazar, C. F. et al. Nuclear magnetic resonance as an analytical tool for monitoring the quality and authenticity of dairy foods. *Trends in Food Science and Technology*. 108. 2021. 84–91.
57. Raja P. M. V., Barron A. R., *Physical Methods in Chemistry and Nanoscience*, LibreTexts. 4(7) 2021.
58. Skoog, D., Holler, J. & Crouch, S. R. *Fundamentals of Analytical Chemistry*. 2007. 568-623.
59. Bhattacharjee, S. DLS and zeta potential - What they are and what they are not? *Journal of Controlled Release*. 235. 2016. 337–351.
60. Xu, R. Light scattering: A review of particle characterization applications. *Particuology*. 18. 2015. 11–21.
61. Katopodi, A. et al. Synthesis, bioactivity, pharmacokinetic and biomimetic properties of multi-substituted coumarin derivatives. *Molecules*. 26. 2021. 5999.
62. Maillard, M. N. P., Cuvelier, M. E. & Berset C. Antioxidant Activity of Phenolic Compounds in 2,2'-Azobis (2-amidinopropane) Dihydrochloride (AAPH)-Induced Oxidation: Synergistic and Antagonistic Effects. *J Amer Oil Chem Soc*. 80(1). 2003. 1007-1012.
63. Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V. & Featherstone, R. M. A NEW AND RAPID COLORIMETRIC DETERMINATION OF ACETYLCHOLINESTERASE ACTIVITY. *Biochemical Pharmacology*. 7. 1961. 88-95.
64. Dighe, S. N. et al. Discovery and structure-activity relationships of a highly selective butyrylcholinesterase inhibitor by Structure-based virtual screening. *Journal of Medicinal Chemistry*. 59. 2016. 7683–7689.

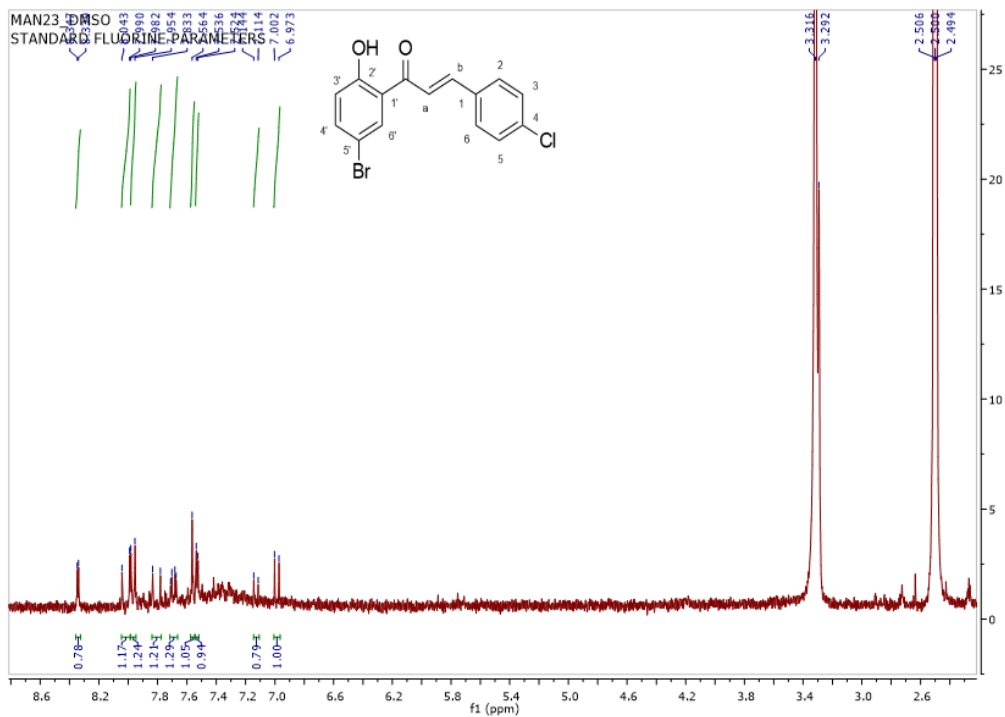
## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ



Σχήμα 29: Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης 3',5'-διβρωμο-2'υδροξυ-4-χλωροχαικόνη (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $d_1$ )



Σχήμα 30: Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης 2',4',6'-τριυδροξυ-4-χλωροχαικόνη (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $d_1$ )



Σχήμα 31: Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης 2'-υδροξυ-5'-βρωμο-4-χλωροχαικόνη (300 MHz, DMSO,  $d_6$ )