



Πανεπιστήμιο Κρήτης

Σχολή Θετικών και Τεχνολογικών Επιστημών

Τμήμα Χημείας

Υπεύθυνος Καθηγητής: Αθ. Γ. Κουτσολέλος

## **ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

---

**ΤΕΤΡΑ-ΥΠΟΚΑΤΕΣΤΗΜΕΝΕΣ ΠΟΡΦΥΡΙΝΕΣ ΜΕ  
ΔΙΠΕΠΤΙΔΙΑ ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΑΥΤΟ-ΟΡΓΑΝΩΜΕΝΩΝ  
ΧΡΩΣΤΙΚΩΝ ΜΕ ΒΕΛΤΙΩΜΕΝΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ**

**ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ ΟΡΦΑΝΟΣ Α.Μ. 2106**

**Ηράκλειο Κρήτης, 2019**



## Περιεχόμενα

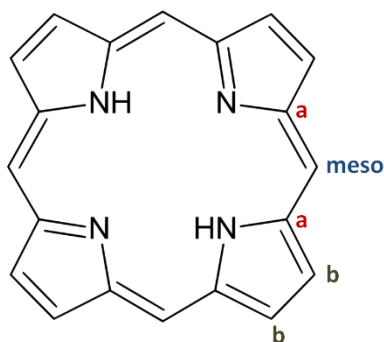
- **Περίληψη**.....σελίδα 3
  
- **1.0 Εισαγωγή**.....σελίδες 4-15
  
- **2.0 Τεχνικές ανάλυσης** .....σελίδες 15-26
  
- **3.0 Πειραματικό Μέρος**.....σελίδες 27-35
  
- **4.0 Συζήτηση αποτελεσμάτων**.....σελίδες 36-45
  
- **5.0 Παράρτημα**.....σελίδες 46-48
  
- **6.0 Βιβλιογραφία**.....σελίδα 49-50

## **ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Είναι γνωστό ότι στη φύση υπάρχουν πολλά συστήματα τα οποία αυτό-οργανώνονται όπως τα λιπίδια τα οποία σχηματίζουν μικκύλια ή το DNA το οποίο αναδιπλώνεται στο χώρο δίνοντας τη δομή διπλής έλικας. Οι χημικοί υπερμοριακής χημείας έχουν μελετήσει μια ποικιλία μοριακών δομικών λίθων για την ικανότητά τους να αυτό-οργανώνονται όπως μόρια, κολλοειδη και διεπιφάνειες σε nano και micro δομές με ενδιαφέρουσες νέες ιδιότητες που δεν εμφανιζόταν μέχρι τότε. Γι' αυτό το λόγο το εργαστήριό μας που ειδικεύεται στη βιοανόργανη τείνει να εμπνέεται από τη φύση και να συνθέτει νέες ενώσεις με ιδιαίτερες ιδιότητες [24,25]. Τα πεπτιδία φέρουν την ικανότητα της αυτό-οργάνωσης, αυτό αποτέλεσε πηγή εφελκυσμού για το εργαστήριό μας, προσπαθώντας να ενώσουμε πεπτιδία με πορφυρίνες και να μελετήσουμε την δυνατότητα για αυτοοργάνωσή τους. Η σύζευξη πορφυρίνης με FF(διφαινυλαλανίνη) ένα από τα πιο μελετημένα διπεπτιδία οδηγεί στο σχηματισμό υλικών, τα οποία αυτό-οργανώνονται. Αλλάζοντας διάφορες παραμέτρους του πεπτιδίου όπως το αν υπήρχε προστατευτική ομάδα ή τους διαλύτες, διαμορφώνονται είτε ραβδόμορφες ή σφαιρικές[23] ή πιο περίτεχνες νανοδομές. Στην παρούσα διπλωματική εργασία το διπεπτιδίο διφαινυλαλανίνη συζεύχθηκε τέσσερις φορές με πορφυρίνη προς σχηματισμό τετραποκατεστημένων ενώσεων όπως  $4(\text{FF-NH}_2)\text{PPH}_2$  καθώς και των  $4(\text{Boc-FF})\text{PPH}_2$ ,  $4(\text{Fmoc-FF})\text{PPH}_2$ . Για την περιγραφή και ταυτοποίηση των ενώσεων, ελήφθησαν φάσματα μάζας (Maldi-TOF). Επίσης, πραγματοποιήθηκε χρήση φασματοσκοπίας ορατού-υπεριώδους(UV-Vis) και φθορισμού. Ταυτόχρονα, για επιπλέον ταυτοποίηση των δομών και χαρακτηρισμό των τρισδιάστατων δομών των συστημάτων ελήφθησαν εικόνες SEM(scanning electron microscope) σε μια πληθώρα μίγματα διαλυτών. Επίσης παρατίθενται οι πειραματικές συνθέσεις TPP-Ile-Ile-Fmoc και TPP-Ile-Ala-Fmoc ενώσεις οι οποίες παρουσιάζουν πολύ ιδιαίτερη αυτό-οργάνωση.

## 1.0 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι πορφυρίνες είναι μακροκυκλικές ενώσεις που αποτελούνται από τέσσερις τροποποιημένους πυρρολικούς δακτυλίους ενωμένους σε μια τελική κυκλική δομή με ομάδες μεθινίου (-C=). Έχουν τη δυνατότητα να συνδέονται με μεγάλο πλήθος περιφερειακών υποκαταστατών σε meso ή β-θέση, οι οποίοι τροποποιούν τις οπτικές ή ηλεκτρονιακές τους ιδιότητες. Είναι αρωματικές ενώσεις οι οποίες υπακούν στον κανόνα του Huckel διαθέτοντας  $4n+2$  ηλεκτρόνια σε p τροχιακά και χαρακτηρίζονται από εκτεταμένη συζυγία. Διαθέτει 22π ηλεκτρόνια αλλά από αυτά μόνο τα 18 συνεισφέρουν στην αρωματικότητα του δακτυλίου, καθώς συμμετέχουν σε ένα απεντοπισμένο σύστημα π ηλεκτρονίων. Έτσι, εμφανίζουν ισχυρές απορροφήσεις στην ορατή περιοχή του φάσματος, κάτι που εξηγεί το έντονο χρώμα τους. Ο πορφυρινικός δακτύλιος είναι επίπεδος με  $sp^2$  υβριδισμό και δρα ως δότης και δέκτης ηλεκτρονίων για διάφορους υποκαταστάτες. Οι πορφυρίνες μπορούν να δεχτούν δύο ιόντα υδρογόνου και να σχηματίσουν διπρωτικά οξέα με +2 φορτίο ή να δώσουν δύο πρωτόνια αποκτώντας -2 φορτίο. Εκείνες με -2 φορτίο συναρμολογούνται μέσω των πυρρολικών αζώτων με μεταλλοϊόντα σχηματίζοντας μεταλλοπορφυρινικά σύμπλοκα. Ακόμα, χαρακτηρίζονται ως ενώσεις με χαμηλή τοξικότητα, έχουν μεγάλη σταθερότητα σε διάφορες συνθήκες και μεγάλο χρόνο ζωής της διεγερμένης κατάστασης τους. Τέλος, χαρακτηρίζονται ως φωτοευαίσθητοποιητές, χρησιμοποιούνται ως καταλύτες σε ποικίλες αντιδράσεις και είναι φθορίζουσες ενώσεις [1].



Εικόνα 1. πορφυρινικός δακτύλιος

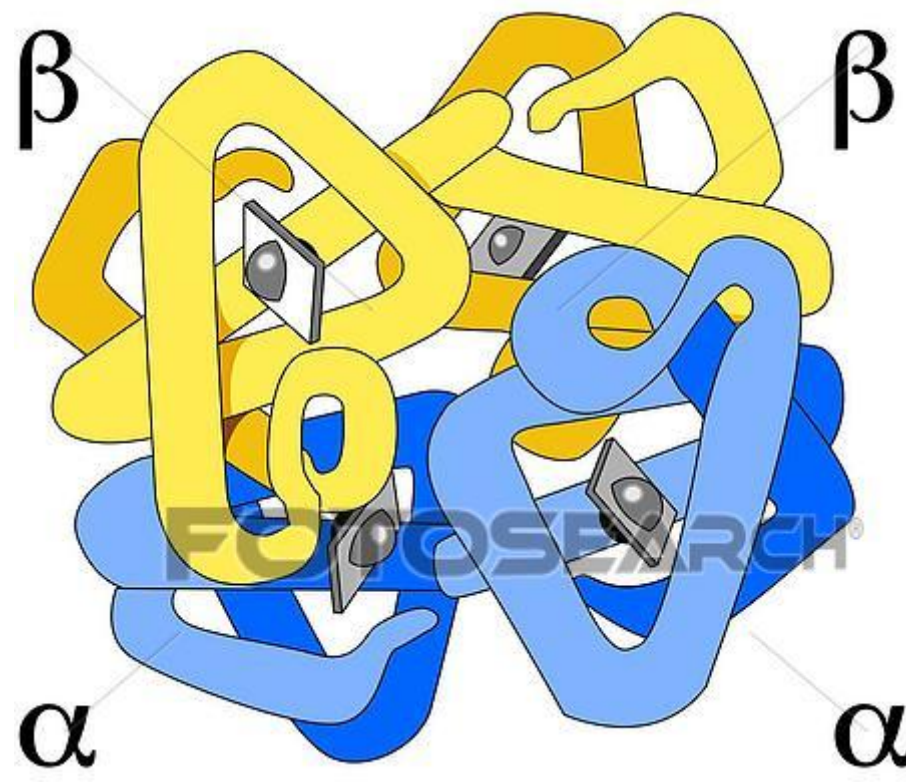
## Εφαρμογές πορφυρινών

Στον άνθρωπο υπάρχουν τρεις μορφές πορφυρίνης:

- Protoporphyrin (PROTO)
- Uroporphyrin (URO)
- Coproporphyrin (COPRO)

Η αίμη είναι ένας πορφυρινικός δακτύλιος συναρμοσμένος με σίδηρο και συναντάται στο ανθρώπινο σώμα. Χαρακτηριστικό της αίμης είναι πως αποτελεί την προσθετική ομάδα πολλών πρωτεϊνών όπως της αιμοσφαιρίνης, της μυοσφαιρίνης και των κυτοχρώματων στις καταλάσες και στις υπεροξειδάσες .

**αιμοσφαιρίνη** : είναι απαραίτητη για την μετάβαση από την αναερόβια ζωή στην αερόβια κατάσταση .

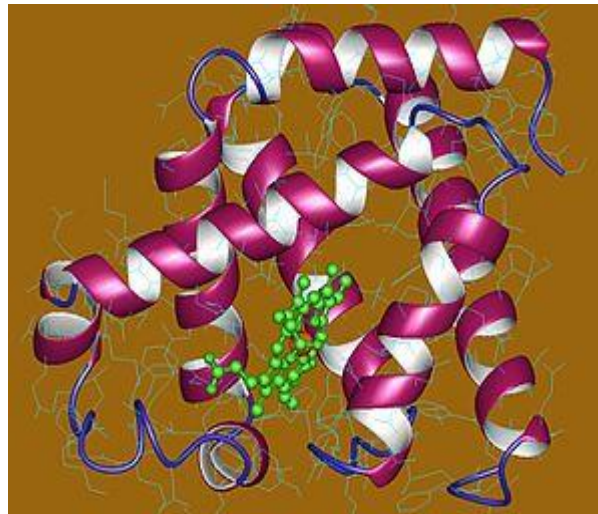


Εικόνα 2. μορφή αιμοσφαιρίνης

### **Χαρακτηριστικά αιμοσφαιρίνης :**

- αποτελείται από 4 υποομάδες δυο α (141 αμινοξέα) και δυο β (146 αμινοξέα) κάθε μια φέρει ένα μόριο αίμης
- η οξυγονωμένη μορφή έχει κόκκινο χρώμα ενώ η μη οξυγονωμένη κόκκινο-μπλε
- έχει μοριακό βάρος 65000
- η αιμοσφαιρίνη δεσμεύει το οξυγόνο όταν ο σίδηρος βρίσκεται στην +2 οξειδωτική κατάσταση
- η αίμη συναρμόζεται μέσω του ιμιδαζολικού δακτυλίου της ιστιδίνης με τη πρωτεΐνη

**Μυοσφαιρίνη:** Η μυοσφαιρίνη είναι η πρωτεΐνη με την οποία αποθηκεύεται το οξυγόνο στους μύες .



Εικόνα 3 μορφή μυοσφαιρίνης

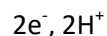
### Χαρακτηριστικά μυοσφαιρίνης :

- αποτελείται από μια πολυπεπτιδική αλυσίδα 153 αμινοξέων
- έχει μοριακό βάρος 16700
- έχει μεγαλύτερη συγγένεια με το οξυγόνο από την μυοσφαιρίνη
- μπορεί να δράσει και σε χαμηλές πιέσεις οξυγόνου

**Κυτοχρώματα:** Είναι ενώσεις της αιματίνης, που συμμετέχουν σε αλυσίδες μεταφοράς ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια. Η μεταφορά  $e^-$  έχει σχέση με τη παρουσία του οξειδοαναγωγικού ζεύγους Fe(III)-Fe(II). Τα ακραία μέλη του κυτοχρώματος πρέπει να έχουν την ικανότητα να αντιδρούν απευθείας με το οξυγόνο επίσης συμμετέχουν στον κύκλο του αζώτου και σε ενζυμικές αντιδράσεις που συνδέονται με τη φωτοσύνθεση. Η κατάταξη των κυτοχρωμάτων στηρίζεται :

- στη φύση του πορφυρινικού δακτυλίου
- στα φασματοσκοπικά δεδομένα των πυρολικών παραγώγων

Ένα από τα πιο γνωστά κυτοχρώματα είναι το κυτόχρωμα το P-450. Αποτελεί μέλος της ομάδας των ενζύμων που καταλύουν τη προσθήκη μοριακού οξυγόνου στο υπόστρωμα με ενεργοποίηση μοριακού οξυγόνου.



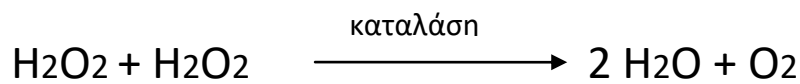
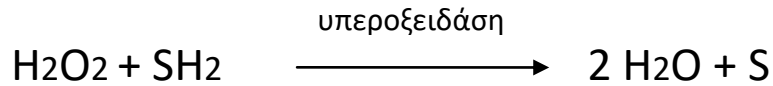
**Μονοοξυγενάσες :**  $R-H + O_2 \longrightarrow R-OH + H_2O$

**Διοξυγενάσες:** εισάγουν και τα δύο άτομα του μοριακού οξυγόνου στο υπόστρωμα

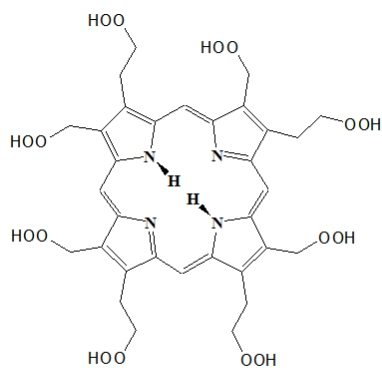
### Τα ένζυμα Υπεροξειδάσες και Καταλάσες

Οι υπεροξειδάσες είναι πρωτεΐνες τις αίμας, που καταλύουν οξειδώσεις, που γίνονται από το υπεροξείδιο του υδρογόνου. Οι καταλάσες καταλύουν την

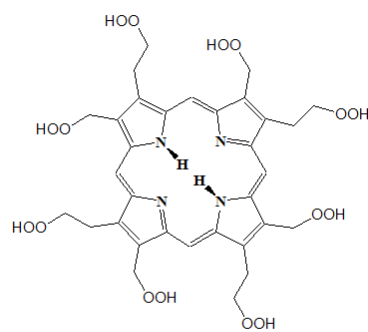
αποπρωτονίωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου και μπορούν να θεωρηθούν σαν ειδικής δράσης υπεροξειδάσες, καθώς το υπόστρωμα που οξειδώνεται είναι ένα άλλο μόριου υπεροξειδίου του υδρογόνου. Κύριος ρόλος τους είναι να προστατεύουν τους ζώντες οργανισμούς από την δημιουργία επικίνδυνων συγκεντρώσεων  $H_2O_2$ , που θα είχε ως συνέπεια μερική αναγωγή του  $O_2$  ( $O_2^-$ ) [2,3].



### Uroporphyrin (URO):



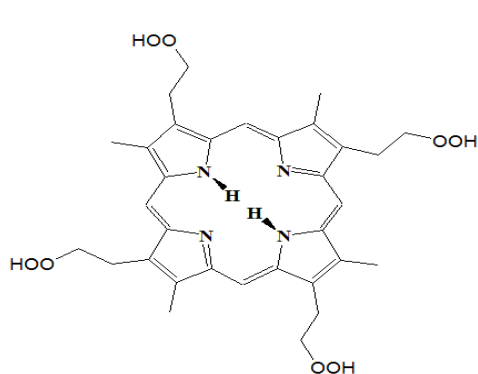
**Uro III**



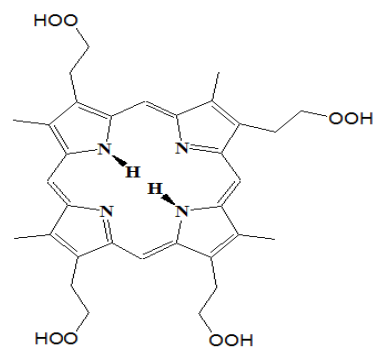
**Uro I**

Εικόνα 4 ουροπορφυρίνη τύπου 3 και τύπου 1

### Coproporphyrin (COPRO):



**Copro I**



**Copro III**

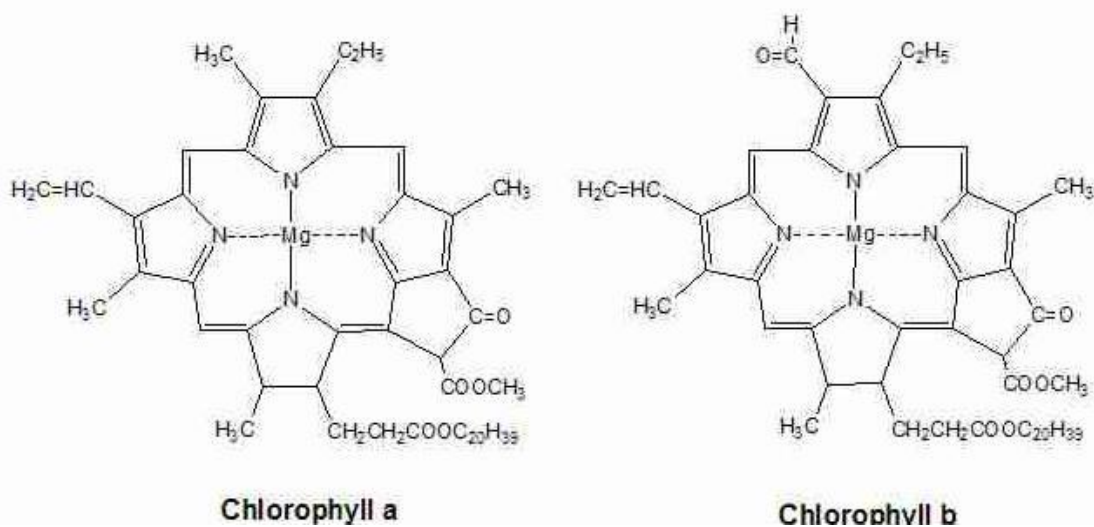
Εικόνα 5 κοπροπορφυρίνη τύπου 1 και 3



Οι ουροπορφυρίνες και οι κοπροπορφυρίνες βρίσκονται και οι δύο τόσο στα ούρα, όσο και στα κόπρανα. Φυσιολογικά, οι χρωστικές αυτές περιέχονται στα ερυθροκύτταρα σε μικρά ποσοστά, ενώ είναι σε αυξημένα επίπεδα σε περιπτώσεις σιδηροπενίας, μολυβδίασης και σιδηροβλαστικής αναιμίας.

### Χλωροφύλλες:

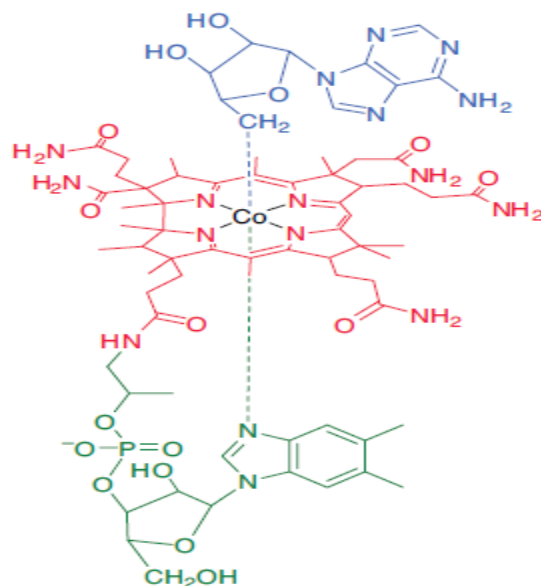
Πολλά από τα χρώματα των ανώτερων φυτών (το πράσινο των φύλλων την άνοιξη και το καλοκαίρι, το κίτρινο ή το κόκκινο των φύλλων το φθινόπωρο διάφορα χρώματα στα πέταλα των λουλουδιών) οφείλονται στην παρουσία συγκεκριμένων μορίων που ονομάζονται χρωστικές. Ο όρος χρωστική αναφέρεται σε κάθε ουσία που απορροφά ορατό φως. Μια από τις κυριότερες φωτοσυνθετικές χρωστικές των ανώτερων φυτών είναι οι χλωροφύλλες. Οι χρωστικές που βρίσκονται στα φυτά σε μεγαλύτερη συγκέντρωση είναι οι χλωροφύλλες α και β οι οποίες είναι σε αναλογία (α:β) περίπου 3:1. Οι χλωροφύλλες (πράσινες χρωστικές) αποτελούνται από τέσσερις πυρρολικούς δακτύλιους, που ενώνονται με ένα άτομο Mg στο κέντρο και μια μακριά λιπιδική «ουρά», τη φυτόλη. Αυτή η υδρόφοβη πλευρική αλυσίδα υδρογονανθράκων ευθύνεται για τη διαλυτότητα των χλωροφυλλών σε μη πολικούς διαλύτες. Η μόνη διαφορά μεταξύ χλωροφύλλης α και β εντοπίζεται στη θέση 3 του δακτυλίου 3. Η χλωροφύλλη α έχει μια μεθυλομάδα ενώ, η χλωροφύλλη β έχει μια αλδεϋδομάδα. Οι χλωροφύλλες απορροφούν φως στο κυανό (450nm) και στο ερυθρό (650-700nm) τμήμα του ορατού. Η απορρόφηση του φωτός έχει ως αποτέλεσμα τη διέγερση ενός ηλεκτρονίου στο μόριο της χλωροφύλλης παρέχοντας έτσι την ενέργεια για την έναρξη της φωτοσυνθετικής διαδικασίας που παράγει NADH και ATP. Η ενέργεια που αποθηκεύεται στα μόρια αυτά χρησιμοποιείται τελικά για τη βιοσύνθεση των υδατανθράκων από το φυτό.



Εικόνα 6 χλωροφύλλη τύπου α και τύπου β

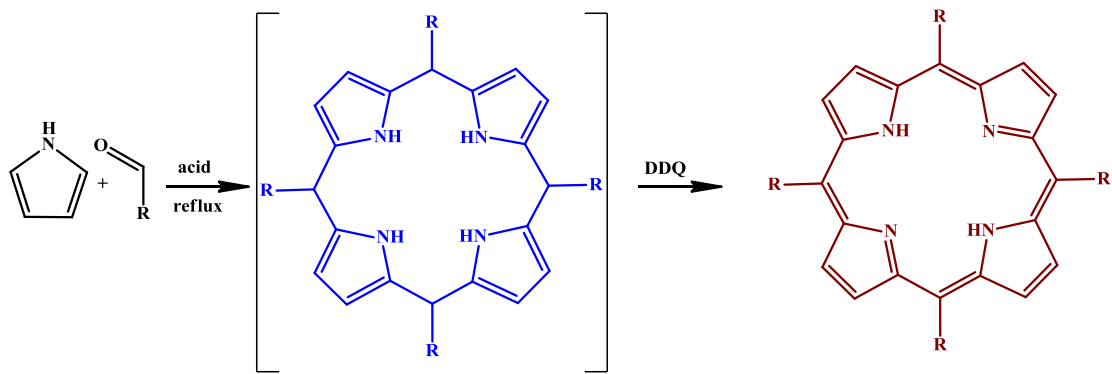
## Κοβαλαμίνη (B<sub>12</sub>)

Η B<sub>12</sub> αποτελείται από ένα άτομο Co συνδεδεμένο με το μακροκυκλικό δακτύλιο (παράγωγο της κορίνης ) καθώς και από ένα οργανικό σύστημα που περιέχει μια φωσφορική ομάδα, σάκχαρο , οργανική βάση και ένα έκτο ligand, X . Η B<sub>12</sub> όταν μεθυλιωθεί (μεθυλοκοβαλαμίνη) δρα σαν συνένζυμο το οποίο το συναντάμε στην αναγέννηση της μεθειονίνης από ομοκυστεΐνη και N<sup>5</sup>-μεθυλοτετραυδροφύλλικό ή στην αναδιάταξη L-μεθυλομηλονύλο-CoA σε ηλεκτρήλο-CoA [2,4].

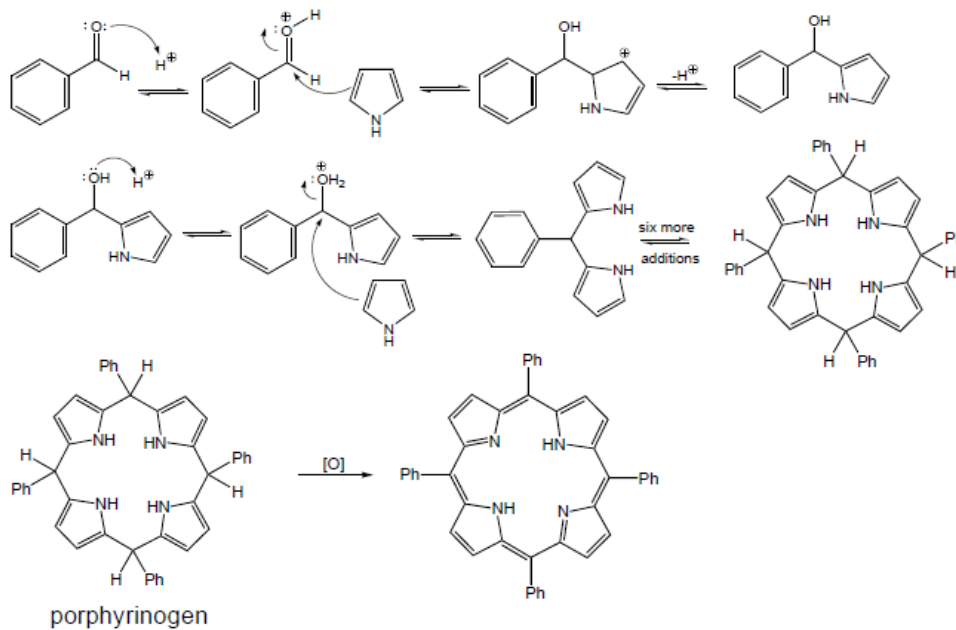


Εικόνα 7 κοβαλαμίνη (B<sub>12</sub>)

Η αρχική συνθετική πορεία για τη λήψη μεσο-υποκατεστημένων πορφυρινών αναπτύχθηκε από την Rothmund με την παρασκευή 5,10,15,20-τετραφαινυλοπορφυρίνης (TPP). Ειδικότερα, η TPPH<sub>2</sub> συντέθηκε χρησιμοποιώντας πυρρόλιο και βενζαλδεΐδη παρουσία πυριδίνης (σε σφραγισμένο σωλήνα στους 220 ° C με 10% απόδοση.) Αυτή η τεχνική στηρίζει πιο σύγχρονη σύνθεση όπως αυτή που περιγράφεται από τους Adler και Longo [5] .Η δράση της 2,3-διχλωρο-5,6-δικυανο-βενζοκινόνης (DDQ) είναι η οξείδωση της παραγόμενης αλδεΐδης με την πρωτονίωση της ομάδας καρβονυλίου. Πορφυρινογένης που παρέχει τον σχηματισμό της επιθυμητής πορφυρίνης. Στην φάσης του διαλύματος, οι όξινες συνθήκες είναι απαραίτητες · το μυρμηκικό οξύ, το οξικό οξύ και το προπιονικό οξύ είναι οι συνήθεις διαλύτες της αντίδρασης ή π-τολουολοσουλφονικό οξύ ή διάφορα οξέα κατά Lewis μπορούν να χρησιμοποιηθούν μαζί με ένα μη όξινο .Η Μεγάλη ποσότητα παραπροϊόντων που σχηματίζεται ,απομακρύνεται συνήθως με ανακρυστάλλωση ή χρωματογραφία στήλης και γενικά οι συνολικές αποδόσεις είναι σχετικά μικρές.



Εικόνα 8 σύνθεση πορφυρινικού δακτυλίου



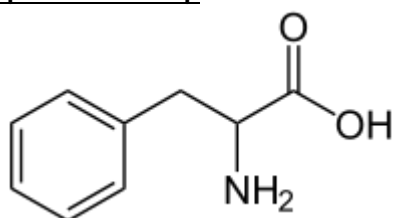
Εικόνα 9 μηχανισμός σύνθεσης πορφυρογόνου και πορφυρίνης από πυρρόλιο και βενζαλδεύδη

## SELF-ASSEMBLY

Η "αυτοσυναρμολόγηση" (self-assembly) είναι μία διαδικασία στην οποία ένα διαταραγμένο σύστημα προϋπαρχόντων συστατικών σχηματίζει μία οργανωμένη δομή ως αποτέλεσμα των ειδικών, τοπικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των ίδιων των συστατικών χωρίς κάποιο εξωτερικό ερέθισμα. Με σκοπό της δημιουργίας νανο- και μικρο-υλικών με βελτιωμένες ιδιότητες. Εμπνευσμένο από φυσικά καλά οργανωμένα συγκροτήματα π.χ διπλή έλικα γενετικού υλικού . Οι υπερμοριακοί χημικοί ερευνούν τη μοριακή αυτοσύνθεση των μικρών δομικών στοιχείων για την κατασκευή τέτοιων υλικών. Εκτός του υλικού που θα προταθεί για αυτό οργάνωση

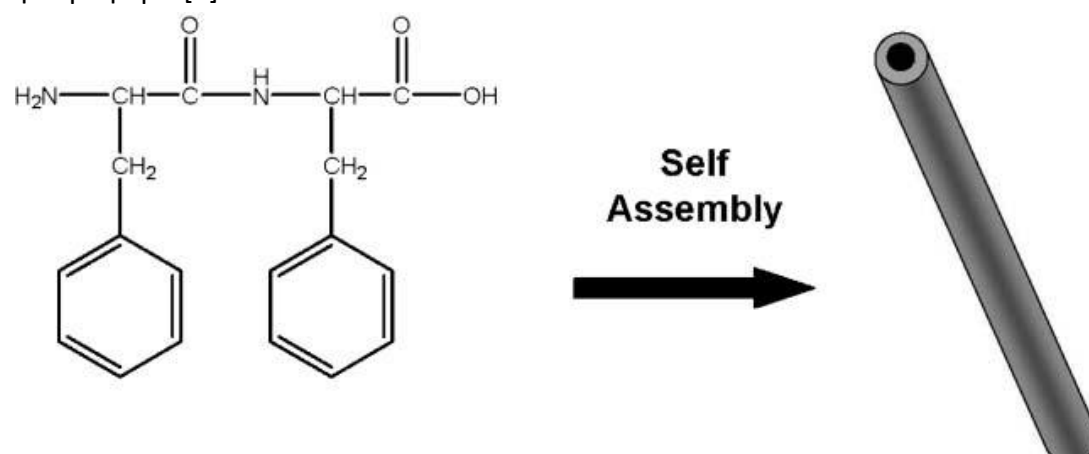
παίζουν ρόλο και άλλες παράμετροι όπως ο διαλύτης, η θερμοκρασία, το pH και η συγκέντρωση διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο. Όμως η πρόβλεψη και ο έλεγχος του σχήματος και ο έλεγχος του μεγέθους των αυτό-οργανωμένων δομών εξακολουθεί να είναι μη εφικτό. Υπάρχουν δύο τύποι αυτο-συναρμολόγησης, η ενδομοριακή και η διαμοριακή αυτο-συναρμολόγηση. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των συστατικών που είναι υπεύθυνες για την αυτο-οργάνωση ή αυτο-συναρμολόγηση είναι "Van der Waals", τριχοειδείς, π-π αλληλεπιδράσεις και υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις καθώς και δεσμοί υδρογόνου. Αυτήν την ιδιότητα εμφανίζει πληθώρα μορίων, συμπεριλαμβανομένων των πορφυρινών όταν φέρουν κατάλληλους υποκαταστάτες στο δακτύλιο[6].

#### φαινυλαλανίνη:



Εικόνα 10 πεπτιδιο φαινυλαλανίνης

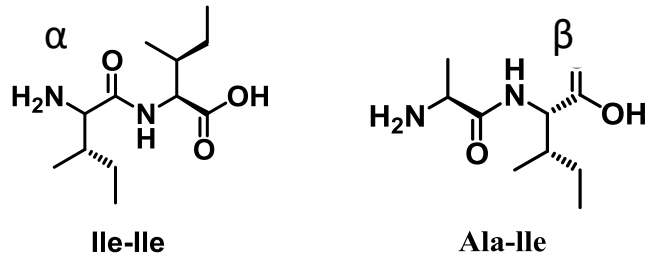
φαινυλαλανίνη διεθνείς συντομογραφίες: Phe και F. Το L-στερεοϊσομερές της είναι ένα από τα 24 πρωτεϊνικά αμινοξέα (δομικές μονάδες των πρωτεϊνών). Χαρακτηρίζεται ως απαραίτητο αμινοξύ που σημαίνει δεν συνθέτει ο ανθρώπινος οργανισμός. Η φαινυλαλανίνη αποτελεί συστατικό όλων σχεδόν των πρωτεϊνών στα οποία όμως απαντάται σε μικροποσότητες (1,4-5,1%). Με ισοηλεκτρικό σημείο (pI) 5,48. Υπάγεται στη κατηγορία των αρωματικών αμινοξέων καθώς και στα μη πολικά ή υδρόφοβα [7].



Εικόνα 11 αυτό-οργάνωση διπεπτιδίου διφαινυλαλανίνης

Η διφαινυλαλανίνη μπορεί να σχηματίσει νανοσωλήνες που είναι άκαμπτη και σχηματίζονται αυθόρμητα κατά την αραιώση τους από οργανικούς διαλύτες σε

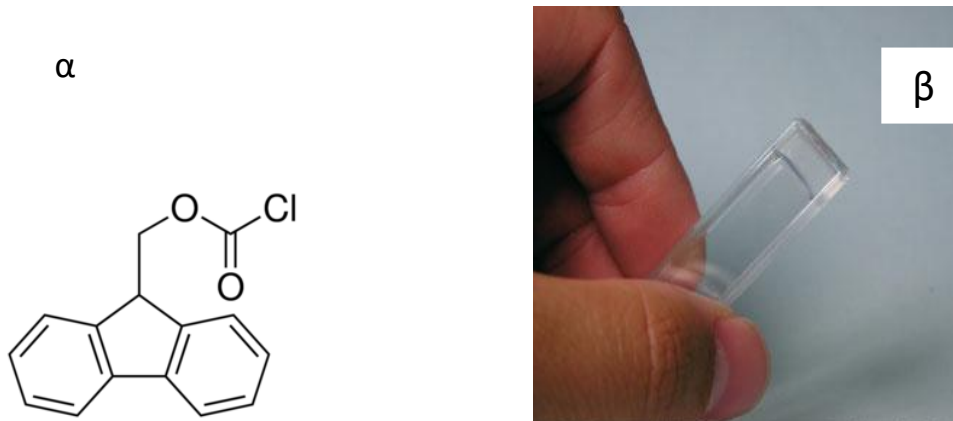
υδατικό διάλυμα ή με θέρμανση και ψύξη ενός υδατικού διαλύματος. Δεν είναι μόνο η διφαινυλαλανίνη (FF) που έχει την ικανότητα να αυτό-οργανώνεται σε υπερμοριακές νανοδομές, καθώς υπάρχουν και άλλα διπεπτίδια όπως η ισολευκίνη-ισολευκίνη (Ile-Ile ή II) και η ισολευκίνη-αλανίνη (Ile-Ala ή IA) που εμφανίζουν παρόμοιες ιδιότητες οι οποίες αποδίδονται στους πολλούς δεσμούς υδρογόνου που μπορούν να σχηματίσουν. Καθως και στα παρόμοια ισηλεκτρικά σημεία (pI) 6,00 για την αλανίνη και 6,02 για την ισολευκίνη[8] .



Εικόνα 12 (α) ισολευκίνη-ισολευκίνη (β) αλανίνη-ισολευκίνη

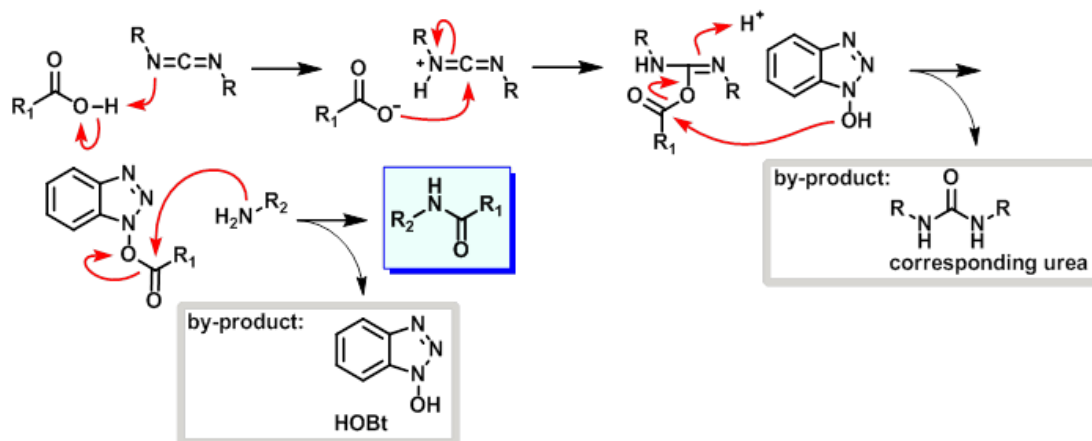
### Ετος-διφαινυλαλανίνης

Η Ετος-διφαινυλαλανίνης δηλαδή η διφαινυλαλανίνη προστατευμένη με Ετος ομάδα. Παρατηρήθηκε ότι μπορεί να σχηματίσει μακροσκοπικές υδρογέλες. Που στηρίχτηκε στο σχηματισμό β-φύλλου και στις π-π αλληλεπιδράσεις[7] .



Εικόνα 13 (α)Ετος προστατευτική ομάδα (β) ετος υδρογέλη

### Μηχανισμός σύνδεσης πεπτιδίου με χρωμοφόρο :

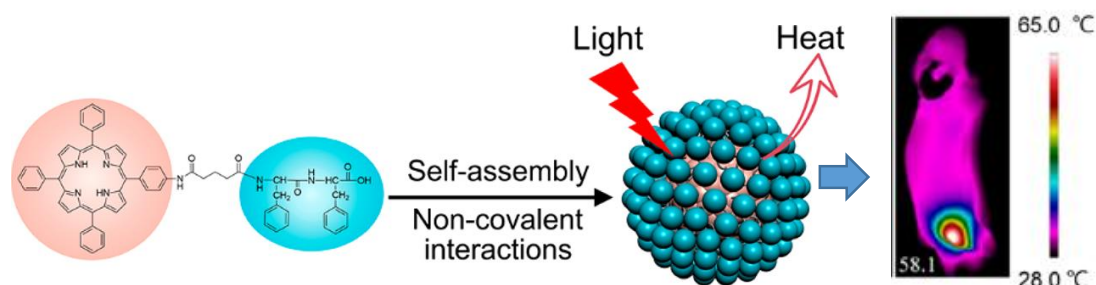


Εικόνα 14 DCC coupling

Αρχικά το ασύζευκτο ζεύγος των ηλεκτρονίων του dcc (δικυκλοεξυλοκαρβαδιμίδιο) δεσμεύει το πρωτόνιο της υδροξυλομάδας του καρβοξυλικού οξέος. Έπειτα το ασύζευκτο ζεύγος ηλεκτρονίων του οξυγόνου προσβάλλει τον κεντρικό άνθρακα του μορίου με αποτέλεσμα την διάνοιξη του διπλού δεσμού C=N. Στη συνέχεια το υδροξύλιο του HObt προσβάλλει τον καρβονύλιο άνθρακα με αποτέλεσμα την δημιουργία εστέρα στο μόριο του HOBT. Τελικά συνδέεται με την αμινική ομάδα του επιθυμητού μορίου R<sub>2</sub>=πορφυρίνη μέσω πετιδικού δεσμού. [20]

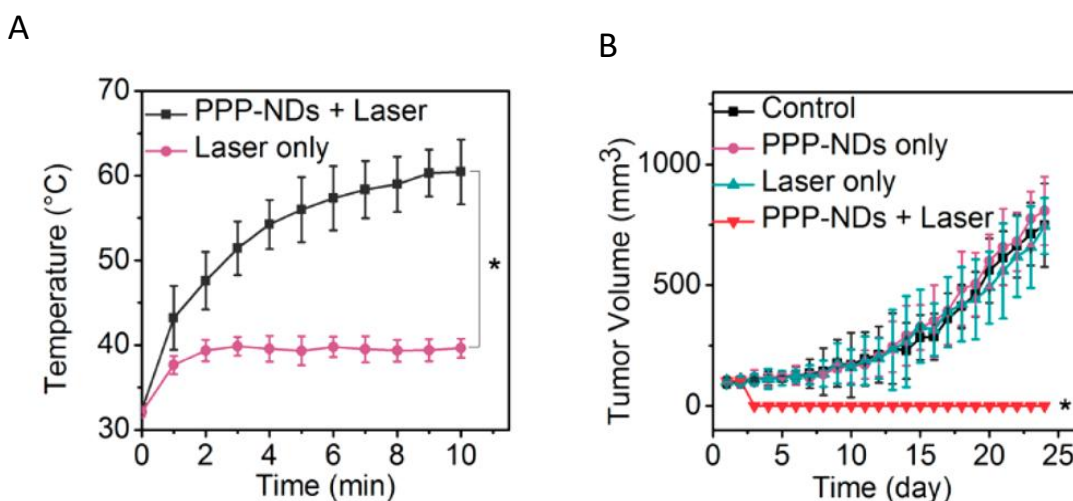
### Εφαρμογή χρωμοφόρου ενωμένο με πεπτίδιο :

Η TPP-G-FF έχουν χρησιμοποιηθεί για τη σύνθεση βιολογικών θερμοδυναμικών νανοδότην που βασίζονται στην αυτό-οργάνωση πεπτιδίου-πορφυρίνης για θεραπεία των καρκινικών όγκων. Οι νανοδότες σχηματίστηκαν λόγω του π-stacking (αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στους αρωματικούς δακτυλίους) και τους δεσμούς υδρογόνου που οδήγησαν στο σχηματισμό J-aggregates δηλαδή τα μόρια αυτό-οργανώνονται “head to tail”.



Εικόνα 15 αυτό-οργάνωση TPP-G-FF

Οι καρκινικοί όγκοι συγκρατούν το 14,3% της ποσότητας της αυτό-οργανωμένης ουσίας. Οι νανοδότες έχουν την ικανότητα να μετατρέπουν την ακτινοβολία που δέχονται σε θερμότητα. Αυτή η τοπική αύξηση της θερμοκρασίας από του 37°C στους 60°C οδηγεί στη καταστροφή των καρκινικών όγκων [9,22].



Εικόνα 16 (A) τοπική αύξηση της θερμοκρασίας με τη χρήση νανοδοτών, (B) αποτελεσματικά νανοδοτών κατά των καρκινικών όγκων

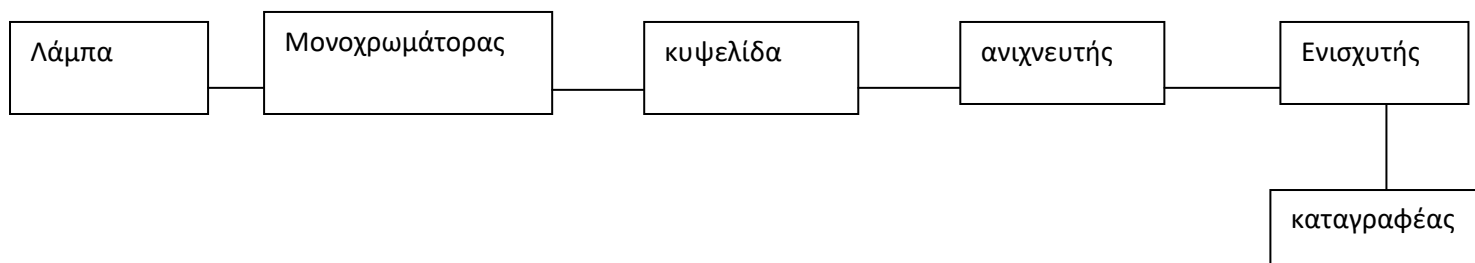
## 2.0 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

### **φασματοσκοπία ορατού υπεριώδους (UV)**

Στη φασματοσκοπία UV το δείγμα ακτινοβολείται στο ευρύ φάσμα της ακτινοβολίας UV (κάτω από τα 400nm). Εάν μια συγκεκριμένη ηλεκτρονιακή μετάβαση ταιριάζει με την ενεργεία ορισμένης ζώνης UV, θα απορροφηθεί. Η υπόλοιπη ακτινοβολία περνά μέσα από το δείγμα και παρατηρείται. Από αυτή την εναπομένουσα ακτινοβολία φάσμα λαμβάνεται με "κενά" σε αυτές τις διακριτές ενέργειες - αυτό ονομάζεται φάσμα απορρόφησης. Η μέθοδος βασίζεται στη μέτρηση της απορρόφησης ακτινοβολίας (A) διαλυμάτων συγκέντρωσης c (M) που τοποθετούνται σε κυψελίδες με οπτική διαδρομή b. Η απορρόφηση παρουσιάζεται σε φάσματα σε σχέση με το μήκος κύματος της ακτινοβολίας και είναι ουσιαστικά η ακτινοβολία που απορροφάται κατά την διέγερση ενός ατόμου ή μορίου από την θεμελιώδη ηλεκτρονιακή κατάσταση στη διεγερμένη. Συνήθως, η απορρόφηση ενός διαλύματος συνδέεται γραμμικά με την συγκέντρωσή του σύμφωνα με την παρακάτω σχέση (νόμος Beer-Lambert) [11]:

$$A = \epsilon cd$$

όπου  $\epsilon$  είναι η μοριακή απορροφητικότητα ( $\text{lt} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) που είναι διαφορετικώς για κάθε ουσία. Η οργανολογία είναι :



### **Κανόνες επιλογής**

Δεν παρατηρούνται όλες οι μεταβάσεις που είναι επιτρεπτές. Για να γίνει μια ηλεκτρονιακή μετάβαση, υπάρχουν ορισμένοι περιορισμοί από την κβαντική μηχανική-αυτοί ονομάζονται "κανόνες επιλογής". Για παράδειγμα ένα ηλεκτρόνιο δεν μπορεί να αλλάξει τον κβαντικό αριθμό του spin του κατά τη διάρκεια μιας μετάβασης-αυτές ονομάζονται "μη επιτρεπτές" Άλλα παραδείγματα:

- Ο αριθμός των ηλεκτρονίων που μπορούν να διεγερθούν σε μια μετάβαση.
- Οι συμμετρικές ιδιότητες του μορίου.
- Συμμετρία ηλεκτρονιακών καταστάσεων

Για να περιπλέξουμε περαιτέρω τα πράγματα, «μη επιτρεπτές» μεταβάσεις παρατηρούνται μερικές φορές (αν και σε χαμηλή ένταση) που οφείλονται σε άλλους παράγοντες [10].



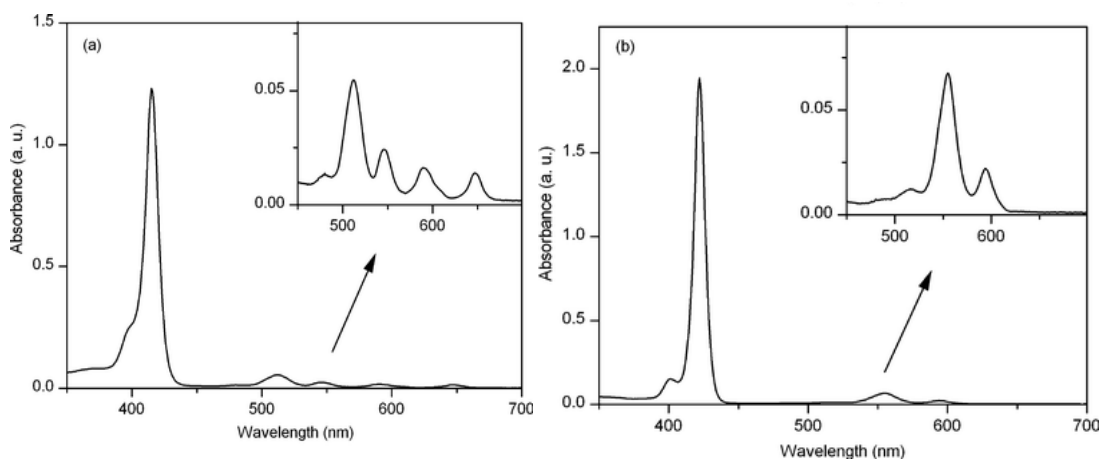
Εικόνα 17 φασματοφωτοφωτόμετρο uv pharmaSpect UV-1700

Οι πορφυρίνες χαρακτηρίζονται ως αρωματικές ενώσεις λόγω των 18π ηλεκτρονίων που έχει ο δακτύλιος τους και εμφανίζουν μεγάλο αριθμό ταινιών στην περιοχή του ορατού οι οποίες είναι χαρακτηριστικές για κάθε πορφυρίνη. Τα φάσματα των πορφυρινών εξαρτώνται από τη φύση των υποκαταστατών του πυρρολικού δακτυλίου, από τη φύση του μετάλλου και από τους γύρω υποκαταστάτες και αποτελούνται από δύο βασικές ομάδες ταινιών απορρόφησης:

1. Τις Q ταινίες οι οποίες είναι τέσσερις, εμφανίζονται στα 450-700 nm και αντιστοιχούν σε ημιεπιτρεπτές διεγερμένες καταστάσεις. Ο αριθμός των Q ταινιών.
2. Τις Soret ταινίες οι οποίες είναι ισχυρότερης έντασης, εμφανίζονται στα 320-450 nm και αντιστοιχούν σε ισχυρώς επιτρεπτές μεταβάσεις.

Στην περίπτωση των μεταλλοπορφυρινών η Soret ταινία είναι ελαφρώς μετατοπισμένη και οι Q ταινίες μειώνονται σε αριθμό καθώς αλλάζει η συμμετρία του συστήματος. Η συμμετρία της πορφυρίνης αυξάνεται. Συγκεκριμένα, από τέσσερις Q ταινίες απορρόφησης, οι οποίες αντιπροσωπεύουν πορφυρίνη συμμετρίας D<sub>2h</sub>, εμφανίζεται μία ταινία που αντιπροσωπεύει πορφυρίνες με συμμετρία D<sub>4h</sub>, το οποίο είναι χαρακτηριστικό πορφυρίνης η οποία έχει συναρμόσει μέσω των τεσσάρων ατόμων N, (με το μονήρες ζεύγος που διαθέτουν), ένα μεταλλικό ιόν [2,].





Εικόνα 18 (α) φάσμα υν μη μεταλλωμένης πορφυρίνης (β) φάσμα υν μεταλλωμένης πορφυρίνης

### ***NMR (Nuclear Magnetic Resonance)***

Η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού είναι μια τεχνική για προσδιορισμό της ταυτότητας μιας ένωσης και την απόδειξη της καθαρότητας του δείγματος, γι'αυτό γίνεται χρήση δευτεριωμένου διαλυτή για να μην δημιουργούνται προβλήματα στο σήμα του πρωτονίου. Η τεχνική στηρίζεται στο ότι όταν ένα μόριο βρίσκεται υπό την επίδραση ενός εξωτερικού μαγνητικού πεδίου οι πυρήνες τους συμπεριφέρονται ως μαγνήτες καθώς οι πυρήνες προσανατολίζονται. Τα ηλεκτρόνια που κινούνται γύρω από κάθε πυρήνα, δημιουργούν μικρά τοπικά μαγνητικά πεδία με αποτέλεσμα ο κάθε πυρήνας να αντιλαμβάνεται διαφορετικό μαγνητικό πεδίο και έτσι να δίνει διαφορετικό σήμα NMR. Όταν το πεδίο των ηλεκτρονίων είναι αντίθετο από το εξωτερικό πεδίο, το φαινόμενο αυτό ονομάζεται προστασία των πυρήνων, ενώ όταν τα πεδία είναι ομόρροπα ονομάζεται αποπροστασία. Η ταυτότητα και η καθαρότητα των ενώσεων που συντέθηκαν σε αυτή την εργασία αποδείχθηκαν με φασματοσκοπία  $^1\text{H}$  και  $^{13}\text{C}$  1D NMR. Πιο αναλυτικά οι πληροφορίες που μπορούμε να αντλήσουμε είναι:

- Ο αριθμός των σημάτων αναφέρεται στα πόσα διαφορετικά είδη πρωτονίων υπάρχουν.
- Η θέση, χημική μετατόπιση των σημάτων είναι το πρωτόνιο θωρακισμένο ή αποπροστατευμένο.
- Η ένταση (ολοκλήρωση) του σήματος αντικατοπτρίζει το πλήθος πρωτονίων αυτού του είδους.
- Σχάση σήματος (πολλαπλότητα) είναι ο αριθμός των γειτονικών

Τα φασματόμετρα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν Bruker DPX-300 MHz και Bruker AVANCE III-500 MHz [12].



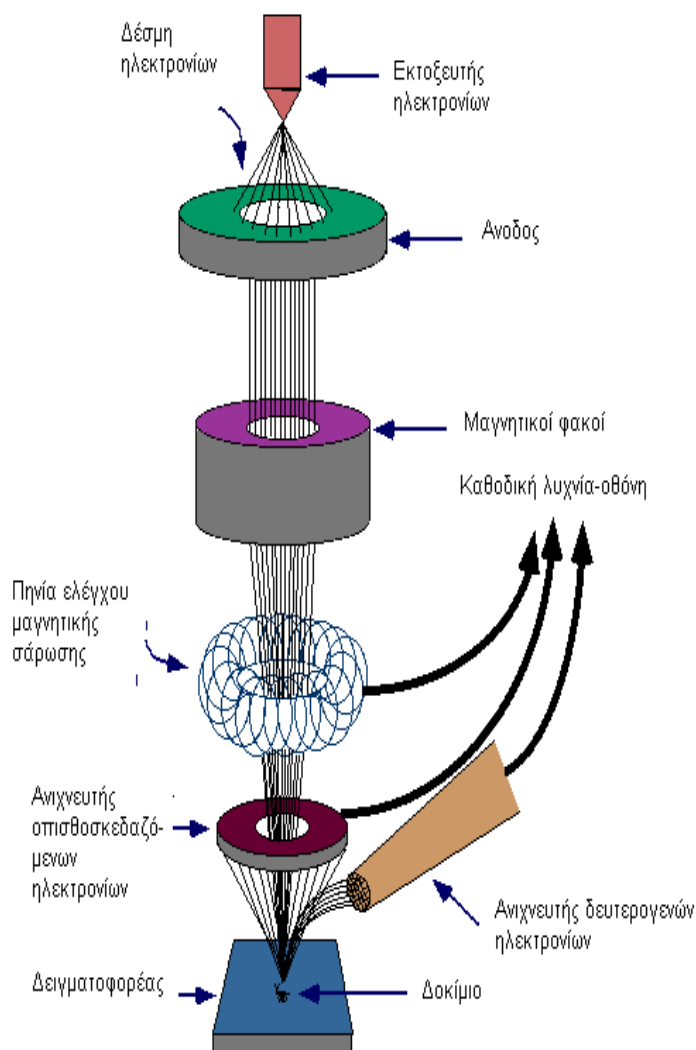
Εικόνα 19 Bruker DPX-300 MHZ και Bruker AVANCE III-500 MHZ

### ***SEM (scanner electron microscope )***

Η λειτουργία του SEM στηρίζεται στις αλληλεπιδράσεις του προς εξέταση δείγματος και της προσπίπτουσας σε αυτό δέσμης ηλεκτρονίων που μας παρέχει μεγάλη μεγέθυνση στο δείγμα[21] . Οι βασικές διατάξεις που υπάρχουν στο μικροσκόπιο είναι το σύστημα παραγωγής δέσμης ηλεκτρονίων, το σύστημα κατεύθυνσης της δέσμης, το σύστημα πληροφοριών και, τέλος το σύστημα κενού.

Τα βασικά στάδια λειτουργίας ενός ηλεκτρονικού μικροσκοπίου είναι:

- i. Σχηματίζεται μία δέσμη ηλεκτρονίων από την πηγή, η οποία επιταχύνεται προς το δείγμα μέσω ενός θετικού ηλεκτρικού δυναμικού περίπου 20.000 V.
- ii. Χρησιμοποιώντας μεταλλικά ανοίγματα, ηλεκτρομαγνητικούς φακούς και πηνία σάρωσης, επιτυγχάνεται μία λεπτή εστιασμένη μονοχρωματική δέσμη, η οποία σαρώνει την επιφάνεια του δείγματος.
- iii. Οι αλληλεπιδράσεις δέσμης – δείγματος καταγράφονται από τους ανιχνευτές και μετατρέπονται σε ψηφιακή εικόνα.



Εικόνα 20 Οργανολογία SEM

Κατά τη χρήση του SEM, η στήλη πρέπει να βρίσκεται υπό κενό για να μπορεί να παραχθεί και διατηρηθεί σταθερή η ακτίνα των ηλεκτρονίων. Ειδάλλως, τα ηλεκτρόνια συγκρούονται με τα μόρια του αέρα και απορροφώνται και δεν φτάνουν στο δείγμα προς ανάλυση. Το κενό επιτυγχάνεται με την χρήση δύο αντλιών και είναι της τάξης των  $2 \cdot 10^{-3}$  Pa. Το δείγμα για να μπορεί να εισήχθη μέσα στο SEM θα πρέπει πρώτα να τοποθετηθεί πάνω σε Carbon tape είναι μια ταινία διπλής όψης η οποία μπορεί να αποτελείται και από ίνες. Τοποθετείται για να εναποθέτεται το δείγμα, δηλαδή να «κολλήσει», έτσι ώστε να μην το απομακρύνει η μηχανή του κενού. Έπειτα χρειάζεται Sputtering εάν κατά τη διάρκεια της μέτρησης πραγματοποιηθεί φόρτιση της επιφάνειας, παρατηρείται ανάκλαση της εκπεμπόμενης ακτίνας. Επόμενος πρέπει να δημιουργηθεί ένα στρώμα, ούτως ώστε να δημιουργηθεί ένα αγωγίμο μονοπάτι, αλλά και όσο γίνεται πιο λεπτό, για να αποφευχθεί η κάλυψη των λεπτομερειών. Συνήθως χρησιμοποιείται στρώμα από χρυσό, γραφίτη ή λευκόχρυσο[13,14].



Εικόνα 21 ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης

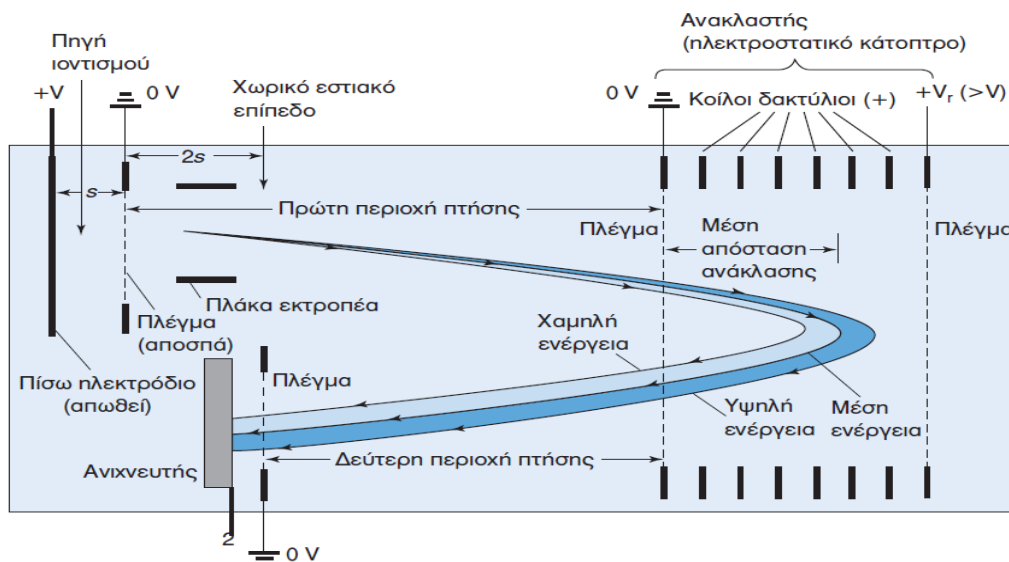
### **MALDI TOF( time of flight)**

#### **Φασματόμετρο μάζας χρόνου πτήσεως**

Ο τρόπος λειτουργίας των φασματομέτρων μάζας χρόνου πτήσεως παρουσιάζεται παρακάτω Εικόνα 22 οργανολογία φασματόμετρο χρόνου πτήσεως. Η πηγή ιοντισμού φαίνεται πάνω αριστερά. Περίπου 3000 με 20000 φορές το δευτερόλεπτο εφαρμόζεται δυναμικό 5000V στο πίσω ηλεκτρόδιο (backplate) ώστε να επιταχυνθούν τα ιόντα προς τα δεξιά και να εκδιωχθούν από την πηγή ιοντισμού στην περιοχή πτήσεως. Εκεί δεν υπάρχει ηλεκτρικό ή μαγνητικό πεδίο και τα ιόντα δεν επιταχύνονται περαιτέρω.

Σε ιδανικές συνθήκες όλα τα ιόντα έχουν την ίδια κινητική ενέργεια ίση με  $(\frac{1}{2}mv^2)$  αλλά διαφορετικές μάζες  $m$  συνεπώς τα ελαφρύτερα κινούνται γρηγορότερα από τα βαρύτερα. Στην απλούστερη μορφή του ένα φασματόμετρο μάζας TOF αποτελείται από έναν μακρύ ευθύγραμμο σωλήνα υπό κενό με την πηγή στο ένα άκρο και τον ανιχνευτή στο άλλο. Τα ιόντα που φεύγουν από την πηγή φτάνουν στον ανιχνευτή ανάλογα με την μάζα τους, καθώς τα ελαφρύτερα ιόντα κινούνται πιο γρήγορα φτάνουν. Ο διαχωρισμός των ιόντων ανάλογα με την μάζα γίνεται κατά την 'πτήση' προς τον ανιχνευτή. Το μοναδικό μειονέκτημα στη διαχωριστική ισχύ ενός τέτοιου αναλυτή οφείλεται στο ότι δεν εξέρχονται όλα τα ιόντα από την πηγή με την ίδια κινητική ενέργεια. Ένα ιόν που παράγεται κοντά στο πίσω ηλεκτρόδιο επιταχύνεται από μεγαλύτερη διαφορά δυναμικού σε σχέση με ένα άλλο που παράγεται κοντά στο πλέγμα, έτσι το πρώτο ιόν θα έχει μεγαλύτερη κινητική ενέργεια. Η διαχωριστική ικανότητα γραμμικών αναλυτών χρόνου πτήσης ιόντων είναι σχετικά περιορισμένη, αλλά βελτιώνεται στα όργανα ανάκλασης. Ο ανακλαστής είναι μια σειρά από κοίλους δακτυλίους στους οποίους εφαρμόζεται αυξανόμενο θετικό δυναμικό και καταλήγει σε ένα πλέγμα όπου το δυναμικό είναι περισσότερο θετικό από το δυναμικό επιτάχυνσης στο πίσω ηλεκτρόδιο της πηγής. Τα ιόντα που εισέρχονται στον ανακλαστή και επιβραδύνονται, σταματούν και ανακλώνονται προς τα αριστερά. Όσο μεγαλύτερη κινητική ενέργεια είχαν στην αρχή τόσο περισσότερο θα προχωρήσουν πριν γυρίσουν πίσω. Με

αυτόν τον τρόπο όλα τα ιόντα με την ίδια μάζα φτάνουν την ίδια χρονική στιγμή στον ανιχνευτή, ανεξάρτητα από την αρχική κινητική τους ενέργεια. Τα φάσματα που προκύπτουν φέρουν την αφθονία στον άξονα  $x$  και στο  $y$  τον λόγο μάζα προς φορτίο  $(m/z)$ [15,16].



Εικόνα 22 οργανολογία φασματομέτρο χρόνου πτήσεως

**Ιοντισμός εκρόφησης με λέιζερ υποβοηθούμενος από μήτρα (MALDI)**

Ο Ιοντισμός εκρόφησης με λέιζερ υποβοηθούμενος από μήτρα (MALDI) είναι μια τεχνική που έχει βοηθήσει τα μέγιστα στην ανάλυση μακρηγοριών ,επιτρέποντας μελέτη πάνω από  $10^6$  KDa . Συνήθως ως μήτρα χρησιμοποιείται κάποιο οξύ όπως το 2,5 διυδροξυβενζοϊκό οξύ ή το νικοτινικό οξύ .

Η μήτρα εξατμίζεται και εξαπλώνεται στην αέρια φάση, μεταφέροντας μαζί της και τον αναλύτη. Ο μεγάλος λόγος μήτρας/δείγματος αποτρέπει την αλληλεπίδραση μεταξύ των μορίων του αναλύτη [15]. Η μήτρα εξυπηρετεί[17] :

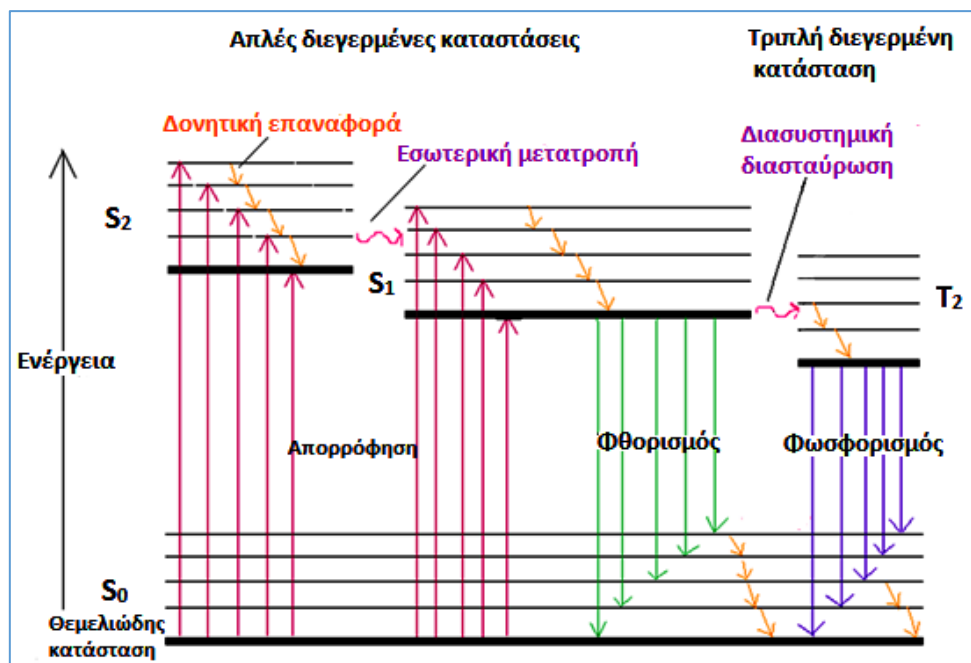
- εξασθένιση των διαμοριακών δυνάμεων του δείγματος
- ευκολότερη απορρόφηση της ακτινοβολίας
- ευκολότερος ιοντισμός των μεγαλομορίων



Εικόνα 23 maldi-tof

## φασματοσκοπία φθορισμού

Η φασματοσκοπία φθορισμού είναι ένας τύπος ηλεκτρομαγνητικής φασματοσκοπίας που αναλύει τον φθορισμό από ένα δείγμα. Περιλαμβάνει δέσμη φωτός, συνήθως υπεριώδους-ορατού φωτός, που διεγείρει τα ηλεκτρόνια σε μόρια ορισμένων ενώσεων και τους αναγκάζει να εκπέμπουν φως. Η φασματοσκοπία φθορισμού αφορά πρωτίστως τις ηλεκτρονικές και τις δονητικές καταστάσεις. Γενικά, το είδος που εξετάζεται έχει μια ηλεκτρονική κατάσταση χαμηλής ενέργειας (ground state) ενδιαφέροντος και μια διεγερμένη ηλεκτρονική κατάσταση υψηλότερης ενέργειας. Σε κάθε μία από αυτές τις ηλεκτρονικές καταστάσεις υπάρχουν διάφορες δονητικές καταστάσεις. Στον φθορισμό, η ουσία αρχικά διεγείρεται, απορροφώντας ένα φωτόνιο, από την θεμελιώδη ηλεκτρονική κατάσταση του εδάφους του σε μία από τις διάφορες δονητικές καταστάσεις στην διεγερμένη ηλεκτρονική κατάσταση. Οι συγκρούσεις με άλλα μόρια αναγκάζουν το διεγερμένο μόριο να χάσει τη δονητική ενέργεια μέχρι να φτάσει στη χαμηλότερη δόνηση της διεγερμένης ηλεκτρονικής κατάστασης. Αυτή η διαδικασία συχνά απεικονίζεται με διάγραμμα Jablonski.



Εικόνα 24 Διάγραμμα jablonski

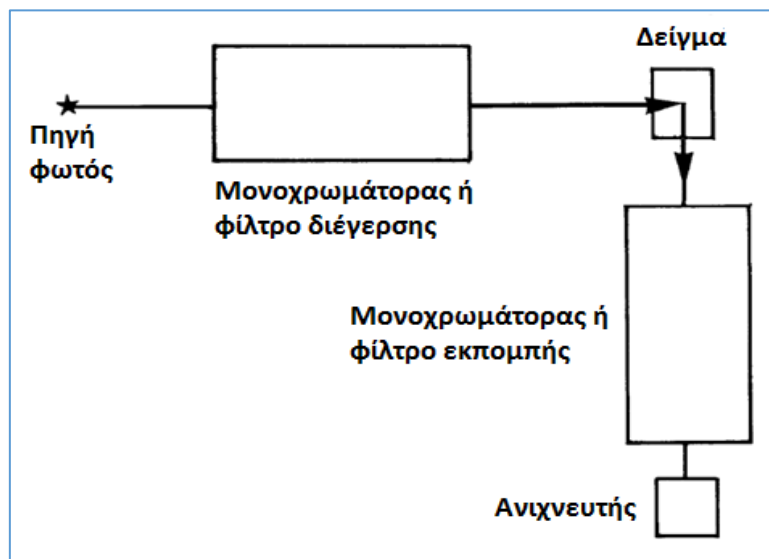
Το μόριο στη συνέχεια πέφτει πάλι σε ένα από τα διάφορα επίπεδα δόνησης της θεμελιώδης (ground state) ηλεκτρονικής κατάστασης, εκπέμποντας εκ νέου ένα φωτόνιο στη διαδικασία. Καθώς τα μόρια μπορούν να πέσουν σε κάποιο από τα διάφορα επίπεδα δόνησης στην θεμελιώδη κατάσταση, τα εκπεμπόμενα φωτόνια θα έχουν διαφορετικές ενέργειες και συνεπώς συχνότητες. Η εκπομπή φωτονίων η οποία συνοδεύει την αποδιέγερση  $S_1 \rightarrow S_0$  ονομάζεται φθορισμός. Παρά το γεγονός ότι η μετάπτωση 0-0 (δηλαδή μεταξύ των δυο χαμηλότερων επιπέδων των καταστάσεων  $S_0$  και  $S_1$ ) είναι της ίδιας ενέργειας για την απορρόφηση και τον φθορισμό, εντούτοις το φάσμα φθορισμού εμφανίζεται σε υψηλότερα μήκη κύματος (χαμηλότερη ενέργεια). Αυτό οφείλεται στην απώλεια ενέργειας στη διεγερμένη κατάσταση εξαιτίας της δονητικής αποδιέγερσης. Επομένως, με την ανάλυση των διαφορετικών συχνοτήτων του φωτός που εκπέμπεται σε



Εικόνα 25 φθορισμομέτρου JASCO FP-6500

φασματοσκοπία φθορισμού, μαζί με τις σχετικές εντάσεις τους, μπορεί να προσδιοριστεί η δομή των διαφορετικών δονητικών επιπέδων.

Στη φασματοσκοπία φθορισμού υπάρχουν δύο τύποι οργάνων τα φθορισμόμετρα και φασματοφθορισμόμετρα, αναλόγως αν αποτελούνται από φίλτρα ή από μονοχρωμάτορες αντίστοιχα. Η ακτινοβολία αρχικά εκπέμπεται από την πηγή φωτός. Διέρχεται από ένα φίλτρο διεγέρσεως το οποίο επιτρέπει τη δίοδο της δέσμης που θα χρησιμοποιηθεί για τη διέγερση των μορίων. Η ακτινοβολία φθορισμού εκπέμπεται από το δείγμα προς όλες τις κατευθύνσεις. Έπειτα διέρχεται από το φίλτρο φθορισμού το οποίο επιτρέπει μόνο την ταινία φθορισμού και τελικά προσπίπτει στον ανιχνευτή (φωτοκύτταρο ή φωτοπολλαπλασιαστής)[18,19].



Εικόνα 26 οργανολογία φθορισμομέτρου

## ΣΚΟΠΟΣ

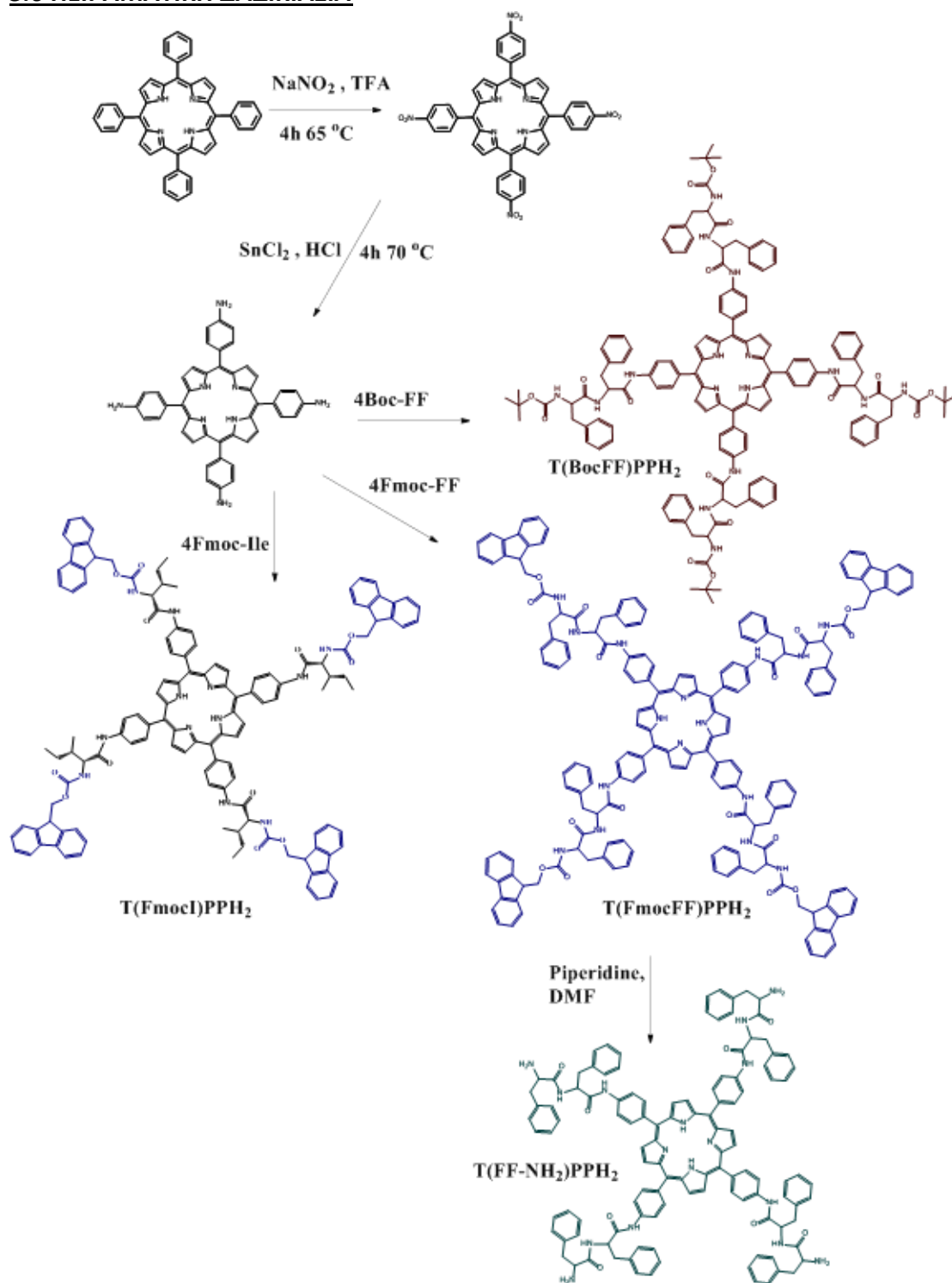
Στην φύση υπάρχουν πολυάριθμες καλά οργανωμένες δομές όπως πρωτεΐνες, κύτταρα και ιστοί, οι οποίες επιτελούν ιδιαίτερα σημαντικές λειτουργίες και αποτελούν πηγή έμπνευσης για την υπερμοριακή χημεία. Η αυτό-οργάνωση μικρών μορίων είναι μια καλά μελετημένη μέθοδος για την δημιουργία τέτοιων δομών καθώς και την εξέλιξη της, στη δημιουργία μεγάλων αυτό-οργανωμένων δομών. Παρόλο που το πεδίο αυτό έχει μελετηθεί εκτεταμένα είναι δύσκολο να προβλέψει ή να κατευθύνει κάποιος το είδος των δομών που θα προκύψουν και τις ιδιότητές τους.

Τα πεπτίδια αποτελούν καλά υποσχόμενες οντότητες για μοριακή αυτό-οργάνωση λόγω των χημικών και φυσικών ιδιοτήτων τους και αποτελούν ένα από τους βασικούς κλάδους της βιοτεχνολογίας. Το πιο ευρέως μελετημένο δι-πεπτίδιο είναι η διαφαινυλαλανίνη (PhePhe).

Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας συνθέσαμε και μελετήσαμε την αυτό-οργάνωση των "tetra" υποκατεστημένων T(BOC-FF)PPH<sub>2</sub>, Tetra-(Fmoc-Phe-Phe)-PPH<sub>2</sub>, Tetra-(NH<sub>2</sub>-Phe-Phe)-PPH<sub>2</sub> καθώς και της, T(FMOC-I)PPH<sub>2</sub> που χρησιμοποιήθηκε το πεπτίδιο της ισολευκίνης καθώς πραγματοποιήθηκαν και οι συνθέσεις των TPP-Ile-Ile-Fmoc και TPP-Ile-Ala-Fmoc με τη χρήση ισολευκίνης αλλανίνης. Η ταυτοποίηση νεοσυντιθέμενων ενώσεων έγινε με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR), με φασματομετρία υπεριώδους – ορατού (UV-Vis) και με φασματομετρία μάζας (MS, MALDI).

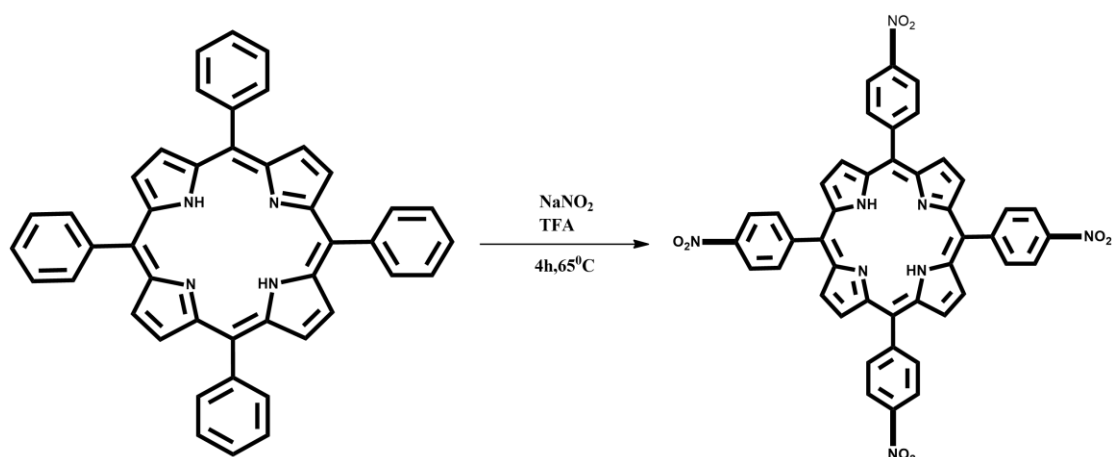


### 3.0 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΑΔΙΚΙΑΣΙΑ



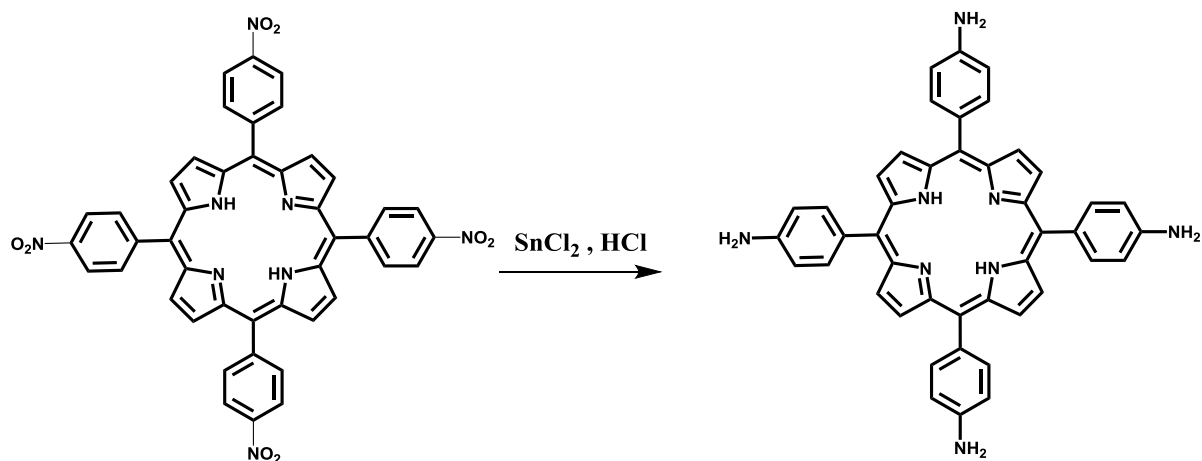
Εικόνα 27 : Synthesis of T(Fmoc-FF)PPH<sub>2</sub>, T(Boc-FF)PPH<sub>2</sub>, T(Fmoc-Ile)PPH<sub>2</sub> and T(Ff-NH<sub>2</sub>)PPH<sub>2</sub>.

### Tetra-(NO<sub>2</sub>)PPH<sub>2</sub>



Αρχικά προστέθηκαν 500mg TPPH<sub>2</sub> σε σφαιρική των 500 ml έπειτα έγινε εισαγωγή 2,5gr NaNO<sub>2</sub>, τα οποία διαλυθήκαν σε TFA (ένα πολύ ισχυρό οξύ). Τοποθετήθηκε ψυκτήρας για αναβρασμό και θερμάνθηκε με ελαιόλουτρο σε θερμοκρασία T=65<sup>0</sup> C το οποίο αφέθηκε για 4 ώρες. Στη συνέχεια προστεθήκαν 100 ml αποσταγμένου νερού, απομακρύνθηκε το ελαιόλουτρο και προστέθηκε παγόλουτρο, το διάλυμα έγινε πράσινο. Έπειτα μεταφέρθηκε το διάλυμα σε διαχωριστική χοάνη. Πραγματοποιήθηκαν εκχυλίσεις με CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (με την υδατική από πάνω και το CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> από κάτω) ώσπου η υδατική φάση να παραμένει άχρωμη. Έπειτα στην οργανική φάση εισήχθη NaHCO<sub>3(sat)</sub> υπό ανάδευση, το χρωμα του διαλύματος από πράσινο μετατράπηκε σε κόκκινο και κατέπεσε ίζημα. Το ίζημα συλλέχθηκε μέσω διηθήσεις υπό κενό ξεπλένοντας το με 100ml H<sub>2</sub>O, 100 ml MeOH και 100 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Πραγματοποιήθηκε tlc (thin layer chromatography). Η ένωση διαλύθηκε σε CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> και σαν διαλύτης εκλούσης χρησιμοποιήθηκε εξάνιο. Αυτό το είδος "τεστ" έδειξε κατά ποσό έχει προχώρηση η αντίδραση καθώς η TPP ανεβαίνει στο tlc ενώ η Tetra-(NO<sub>2</sub>)PPH<sub>2</sub> όχι.

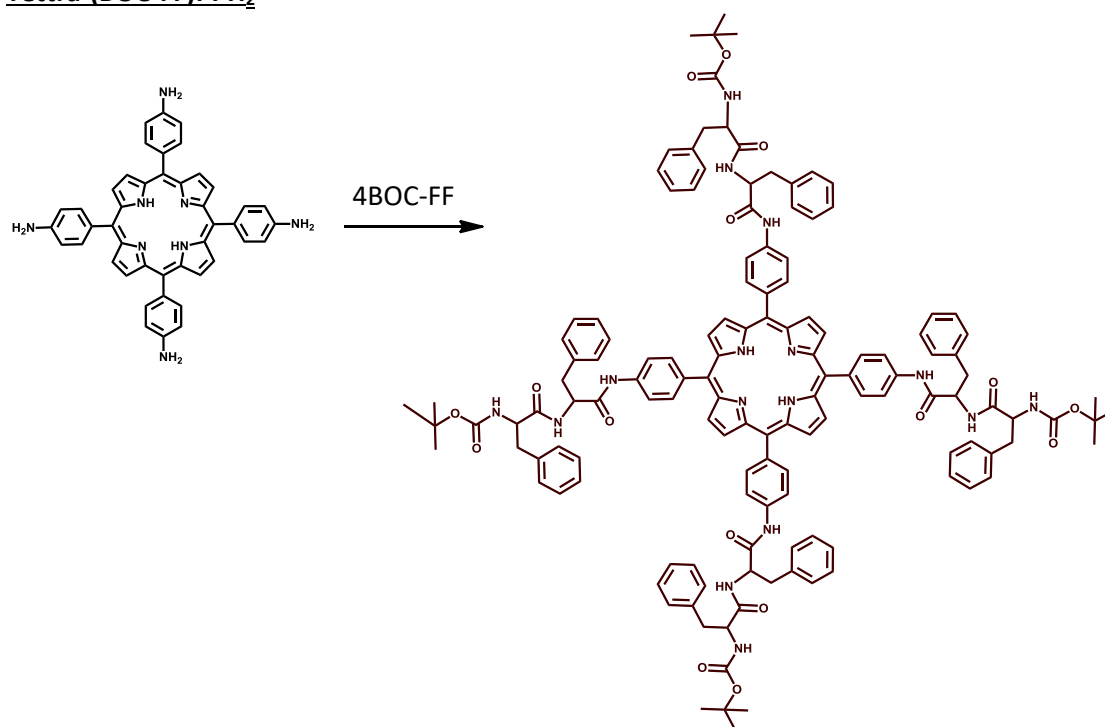
### Tetra-(NH<sub>2</sub>)PPH<sub>2</sub>



Αρχικά προστέθηκε Tetra-(NO<sub>2</sub>)PPH<sub>2</sub> και ο καταλύτης το SnCl<sub>2</sub> 1.350mg. Έπειτα προστέθηκε 100ml HCl προστέθηκε ψυκτήρας για αναρροή και ελαιόλουτρο σε υψηλές θερμοκρασίες για 4 ώρες στους 70<sup>0</sup>C. Αφέθηκε να φτάσει σε θερμοκρασία δωματίου, μετά εισήχθη σε παγόλουτρο για να πραγματοποιηθεί εξουδετέρωση με πυκνή αμμωνία

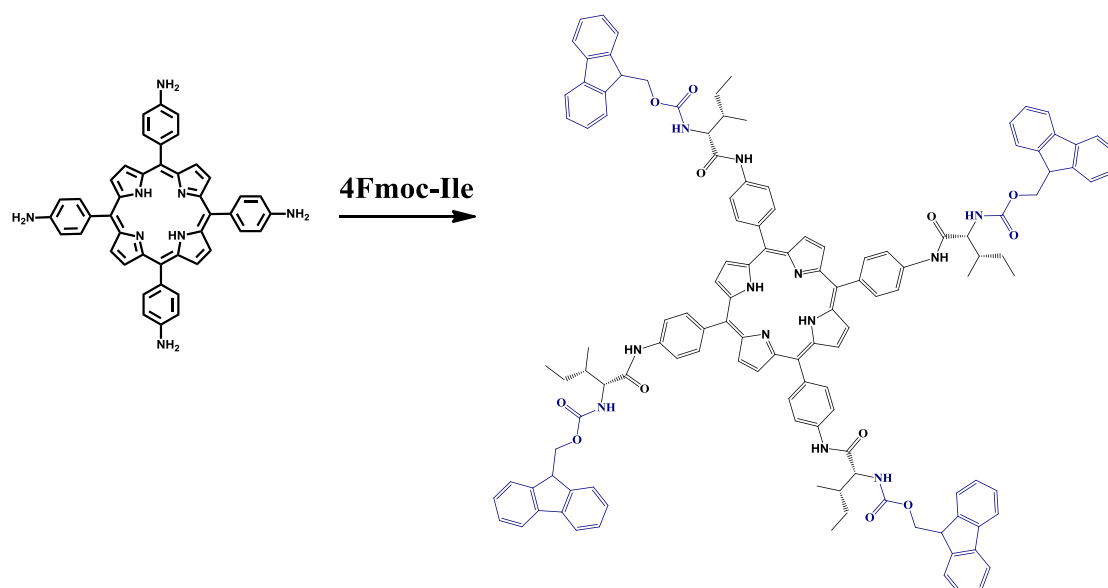
100ml σταδιακά από πράσινο γίνεται κόκκινο το χρώμα του διαλύματος . Το διάλυμα ρυθμίστηκε σε pH= 8 . Έπειτα έγινε διήθηση υπό κενό . Εκχυλίστηκε με SOXLET για μια εβδομάδα με 250 ml CHCl<sub>3</sub> .Μετά το πέρας της εβδομάδας τοποθετήθηκε η υδατική φάση για απόσταξη όπου και συλλέχτηκε το επιθυμητό προϊόν .

### Tetra-(BOC-FF)PPH<sub>2</sub>



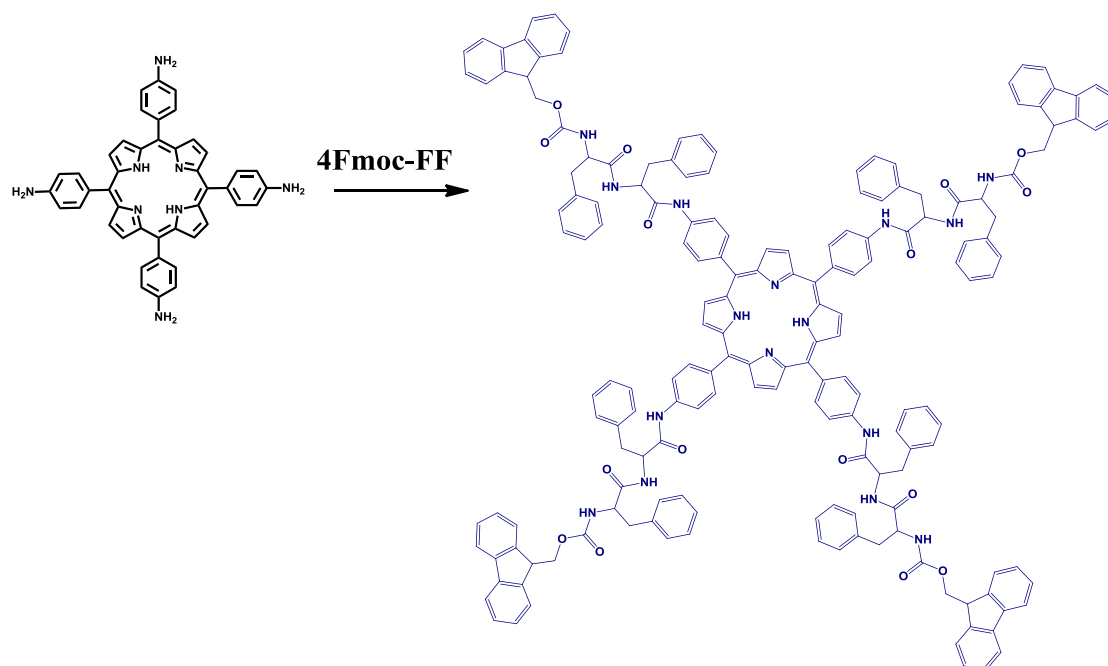
Σε σφαιρική των 25 ml αρχικά προστέθηκε 7ml Cl<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> καθαρό καθώς 51 mgr BOC-FF και DCC 25 mgr . Το DCC παίζει το ρόλο του καταλύτη ενεργοποιώντας την καρβοξυλική ομάδα της BOC. Προστέθηκε πάγολουτρο για να καθυστερήσει την αντίδραση . Έπειτα από μισή ώρα προστέθηκαν σταγόνες THF για να αυξηθεί η διαλυτότητα και προστεθήκαν 20 mgr πορφυρίνη και 17 mgr HOBt το οποίο βοηθάει το καταλύτη να μην σχηματιστούν ενδιάμεσα παραπροϊόντα .Το διάλυμα αφέθηκε για 2 μέρες ώστε να ολοκληρωθεί η αντίδραση . Το δείγμα καθαριστικό σε στήλη αλούμινας με διαλύτη έκλουσης Cl<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> και σταδιακή προσθήκη μεθανόλης .Το δεύτερο κλάσμα περιείχε την επιθυμητή ένωση το οποίο αποδείχθηκε μέσω φάσματος maldi-tof-ms. Έπειτα έγινε προσθήκη ενός " κακού" διαλυτή πεντάνιο για να καταβυθιστεί ίζημα . Τελικά πραγματοποιήθηκε διήθηση υπό κενό και συλλέχθηκε το τελικό προϊόν .

### Tetra-(Fmoc-I)PPH<sub>2</sub>



Αρχικά έγινε η προσθήκη 84mgr I-fmoc το οποίο διαλύθηκε σε 2ml Cl<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> μέσα σε σφαιρική των 100ml ,το διάλυμα εισήχθη σε παγόλουτρο μέχρι να φτάσει τους 0°C . Έπειτα προστέθηκε 35 mgr DCC , 18 mgr HOBT καθώς και 1 ml από τον διαλυτή Cl<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> . Το διάλυμα αφέθηκε για μισή ώρα και έπειτα προστέθηκαν 20mgr T(NH<sub>2</sub>) PPH<sub>2</sub> υπό ανάδευση για 24 ώρες . Μετά την προσθήκη CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> στο μείγμα της αντίδρασης ακλούθησε εκχύλιση με H<sub>2</sub>O ,η οργανική στιβάδα συλλέχθηκε ξηραίνεται υπεράνω Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, διηθήθηκε και συμπυκνώθηκε .

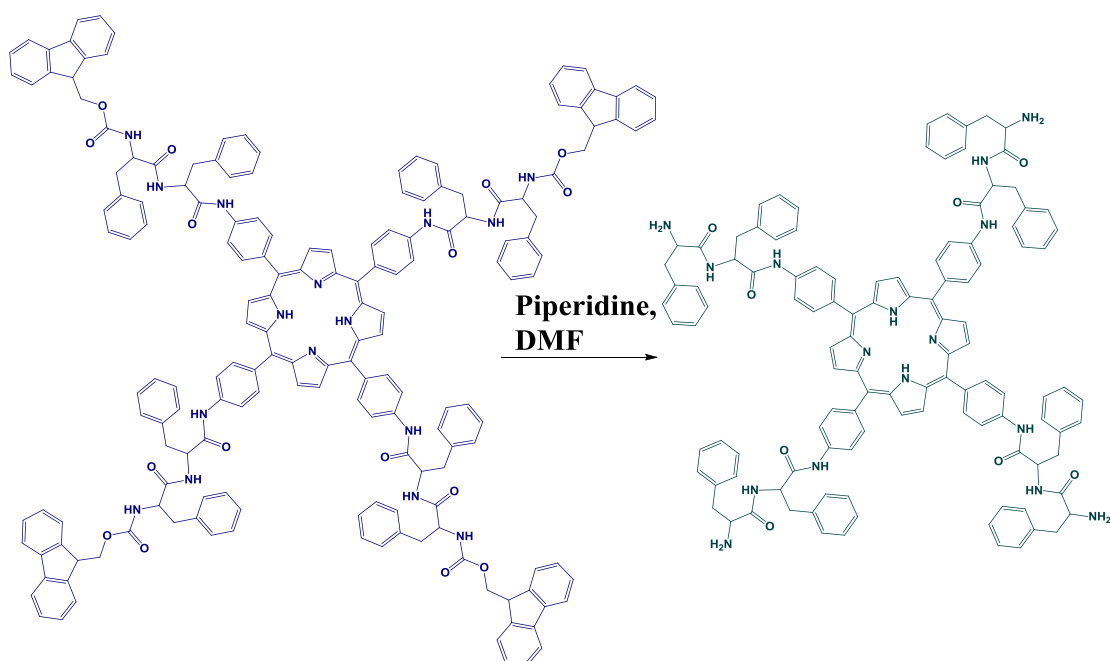
### Tetra-(Fmoc-Phe-Phe)-PPH<sub>2</sub>



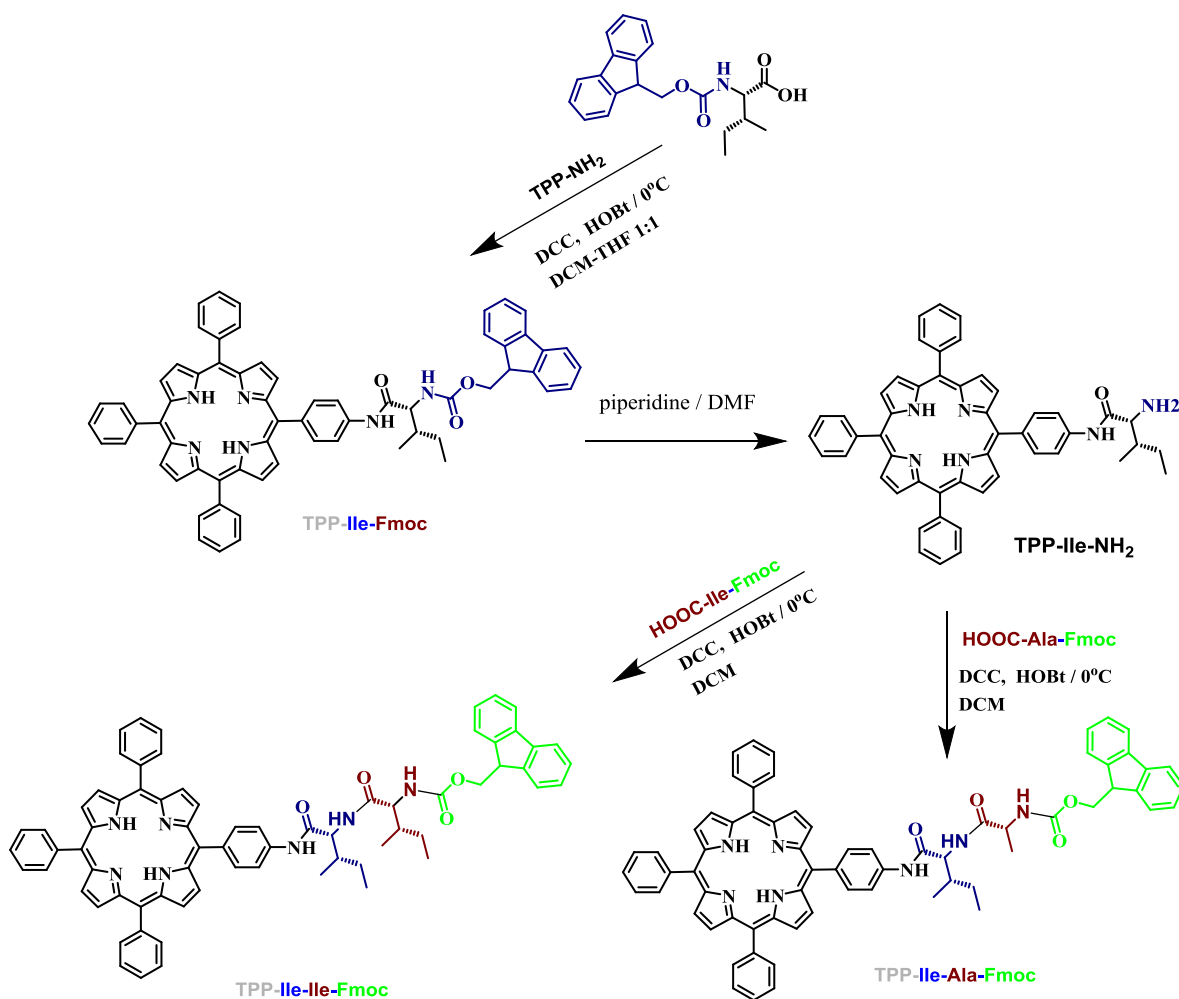
67 mg Fmoc-Phe-Phe-OH διαλύθηκαν σε 7 ml DCM και 2 ml THF και το διάλυμα ψύχθηκε σε λουτρό πάγου στους 0 ° C. Προστέθηκαν DCC, 25,7 mg (4,2 ισοδύναμα) και HOBT, 16,8 mg, (4,2 ισοδύναμα) και έμειναν υπο ανάδευση για επιπλέον 30

λεπτά στους 0 ° C. Στη συνέχεια προστέθηκε Tetra- (NH<sub>2</sub>) PPH<sub>2</sub> 20 mg (1 ισοδ.) Και το προκύπτον μίγμα αναδεύτηκε σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες. Μετά την προσθήκη CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> στο μείγμα της αντίδρασης ακολούθησε εκχύλιση με H<sub>2</sub>O και η οργανική στιβάδα ξηραίνεται υπεράνω Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, διηθήθηκε και συμπυκνώθηκε .Η ουσία καθαρίστηκε σε dry κολώνα silica με διαλυτές εκλούσης CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> ,αιθανόλη και έπειτα με μεθανόλη μέχρι 2% .

### Tetra-(NH<sub>2</sub>-Phe-Phe)-PPH<sub>2</sub>



50 mg από Tetra-(Fmoc-Phe-Phe)-PPH<sub>2</sub> διαλυθήκαν σε 10 ml Cl<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> και 3 ml πιπεριδίνης προστεθήκαν . Το μίγμα της αντίδρασης έμεινε υπό ανάδευση για 2 ώρες και μετά το Cl<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> απομακρύνθηκε υπό κενό. Τελικά πραγματοποιήθηκαν δύο εκχυλίσεις DCM / νερό για να συλλεχτεί το προϊόν .



Εικόνα 28 σύνθεση TPP-Ile-Ala-fmoc και TPP-Ile-Ile-Fmoc

### TPP-Ile-Fmoc:

75 mg Fmoc-Ile-OH διαλύθηκαν σε 3 ml διχλωρομεθανίου και το διάλυμα ψύχθηκε σε λουτρό πάγου στους 0 ° C. Προστέθηκαν N, N'-δικυκλοεξυλοκαρβοδιιμίδιο (DCC, 45 mg, 1,2 ισοδύναμα) και ένυδρη 1-υδροξυβενζοτριάζολη (HOBT, 30 mg, 1,2 ισοδ.) Και αναδεύθηκαν για επιπλέον 30 λεπτά στους 0 ° C. Στη συνέχεια προστέθηκε TPP-NH<sub>2</sub> (110 mg, 1 ισοδ.) Και το προκύπτον μίγμα αναδεύτηκε σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες ακόμα . Μετά την προσθήκη CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> στο μείγμα της αντίδρασης ακολουθεί εκχύλιση με H<sub>2</sub>O και η οργανική στιβάδα ξηραίνεται υπεράνω Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, διηθείται και συμπυκνώνεται. Η ένωση του τίτλου απομονώθηκε με χρωματογραφία στήλης (πήγμα πυριτίας, η πολικότητα μεταβλήθηκε σταδιακά από CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> σε CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / EtOH, 100: 1 v / v).

### TPP-Ile-NH<sub>2</sub>:

240 mg TPP-Ile-fmoc διαλύθηκαν σε 10 ml DMF και προστέθηκαν 3 ml πιπεριδίνης. Το μίγμα της αντίδρασης αναδεύτηκε για 2 ώρες και μετά το DMF απομακρύνθηκε υπό κενό. Εκτελέστηκαν δύο εκχυλίσεις DCM / νερό και η ένωση του τίτλου καθαρίστηκε μέσω χρωματογραφίας στήλης ( Silica gel DCM-EtOH 100: 1 v / v).

### **TPP-Ile-Ile-Fmoc:**

23 mg Fmoc-Ile-OH διαλύθηκαν σε 3 ml διχλωρομεθανίου και το διάλυμα ψύχθηκε σε λουτρό πάγου στους 0 ° C. Προστέθηκαν N, N'-δικυκλοεξυλοκαρβοδιιμίδιο (DCC, 13,5 mg, 1,2 ισοδ.) Και ένυδρη 1-υδροξυβενζοτριάζολη (HOBT, 9 mg, 1,2 ισοδ.) Και αναδεύθηκαν για επιπλέον 30 λεπτά στους 0 ° C. Στη συνέχεια προστέθηκε TPP-Ile -NH<sub>2</sub> (40 mg, 1 ισοδ.) Και το προκύπτον μίγμα αναδεύτηκε σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες. Μετά την προσθήκη CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> στο μείγμα της αντίδρασης ακολουθεί εκχύλιση με H<sub>2</sub>O και η οργανική στιβάδα ξηραίνεται υπεράνω Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, διηθείται και συμπυκνώνεται. Η ένωση απομονώθηκε με χρωματογραφία στήλης (πήγμα πυριτίας, η πολικότητα μεταβλήθηκε σταδιακά από CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> σε CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / EtOH, 100: 1 v / v).

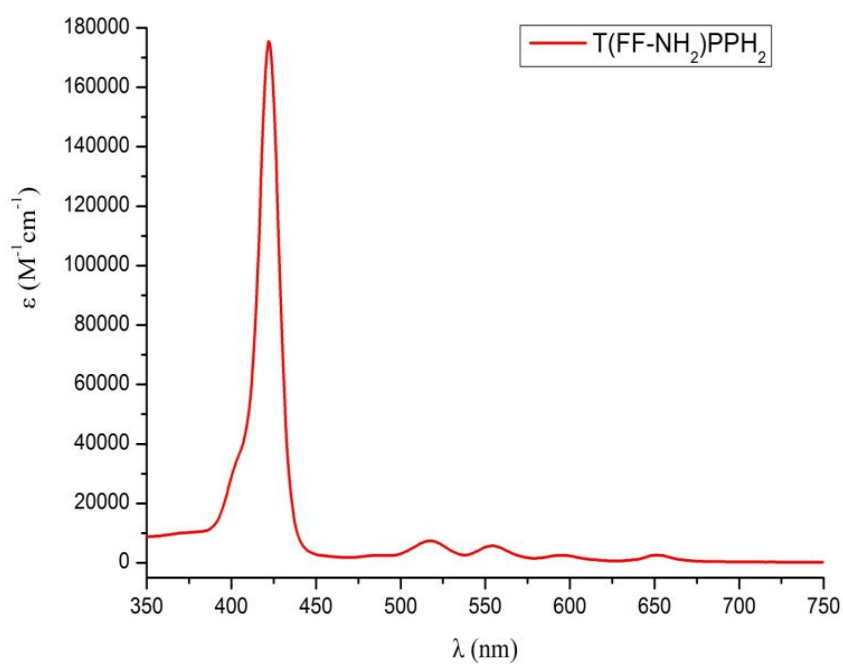
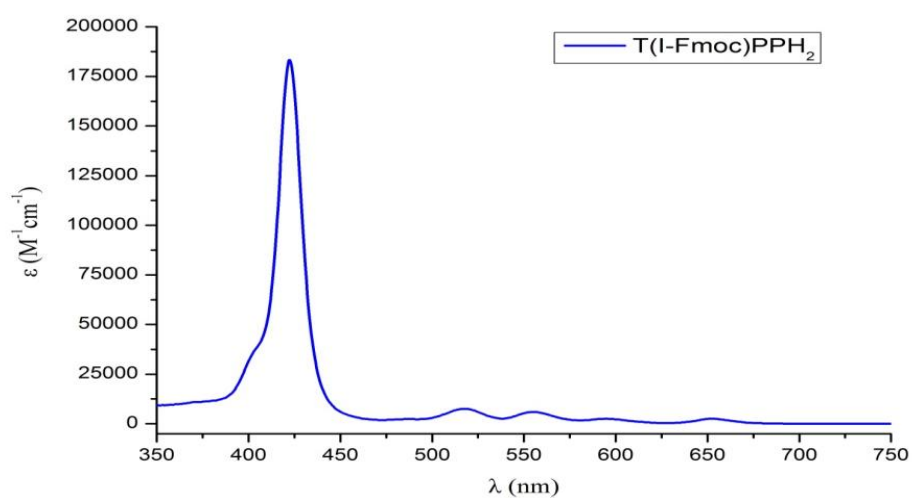
### **TPP-Ile-Ala-Fmoc:**

23 mg Fmoc-Ala-OH διαλύθηκαν σε 3 ml διχλωρομεθανίου και το διάλυμα ψύχθηκε σε λουτρό πάγου στους 0 ° C. Προστέθηκαν N, N'-δικυκλοεξυλοκαρβοδιιμίδιο (DCC, 14,5 mg, 1,2 ισοδ.) Και ένυδρη 1-υδροξυβενζοτριάζολη (HOBT, 9,5 mg, 1,2 ισοδ.) Και αναδεύθηκαν για επιπλέον 30 λεπτά στους 0 ° C. Στη συνέχεια προστέθηκε TPP-ile -NH<sub>2</sub> (43 mg, 1 ισοδ.) Και το προκύπτον μίγμα αναδεύτηκε σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες. Μετά την προσθήκη CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> στο μείγμα της αντίδρασης ακολουθεί εκχύλιση με H<sub>2</sub>O και η οργανική στιβάδα ξηραίνεται υπεράνω Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, διηθείται και συμπυκνώνεται. Η ένωση του τίτλου απομονώθηκε με χρωματογραφία στήλης (πήγμα πυριτίας, η πολικότητα μεταβλήθηκε σταδιακά από CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> σε CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / EtOH, 100: 1 v / v).

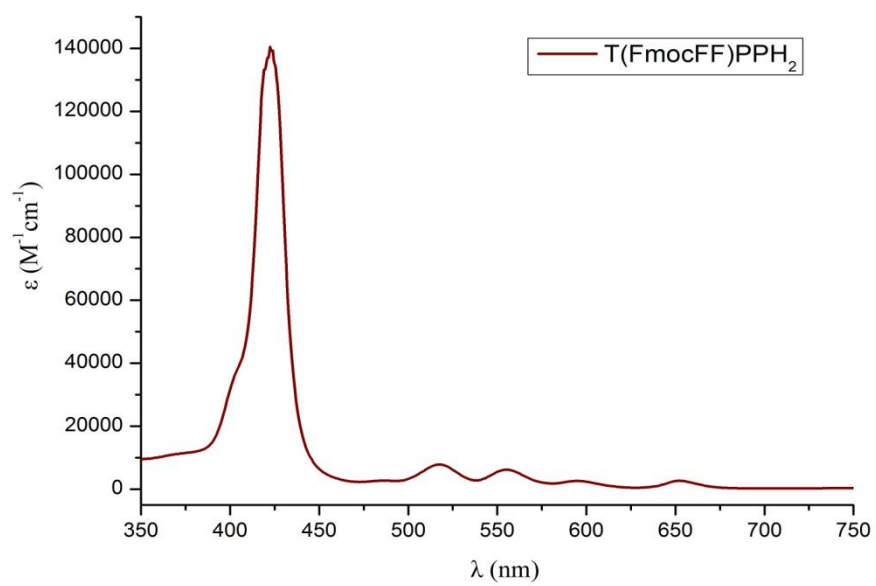
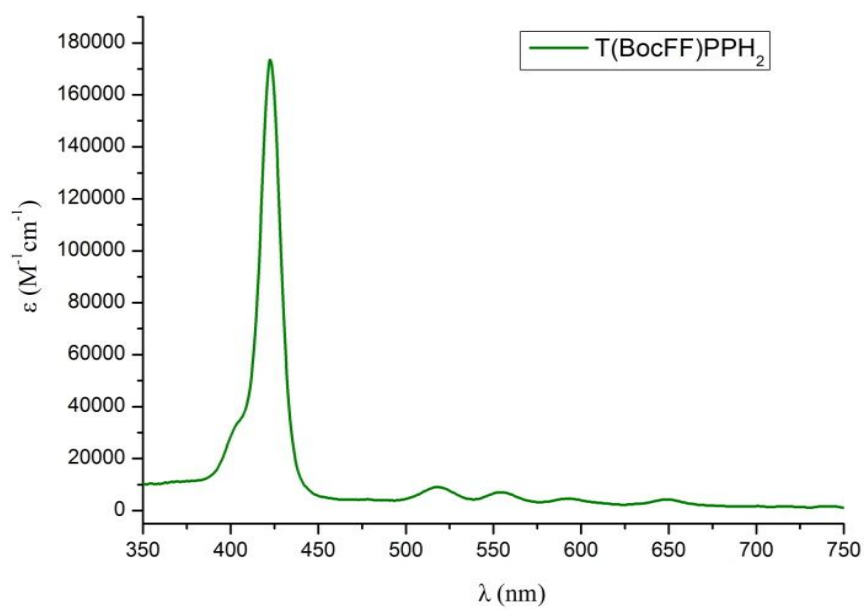
#### **4.0 ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ**

Αρχικά λήφθηκαν τα φάσματα απορόφησης καθώς και τα φάσματα φθορισμού των ενώσεων που συνθέτηκαν .

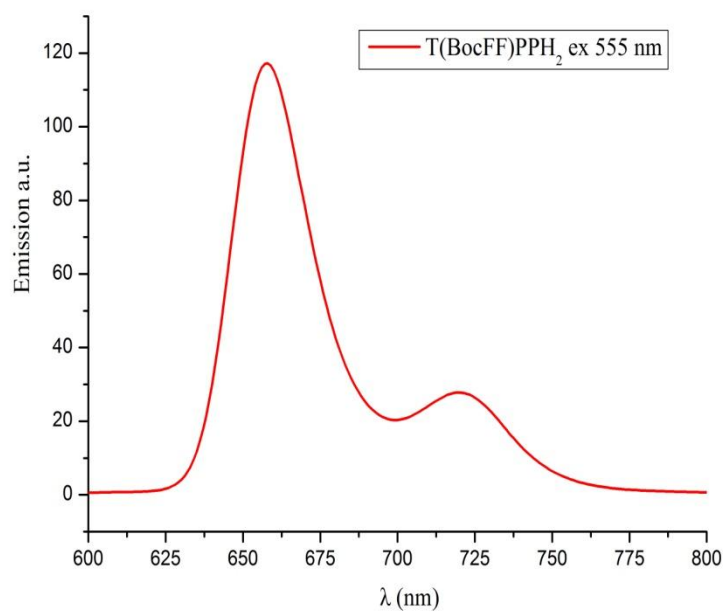
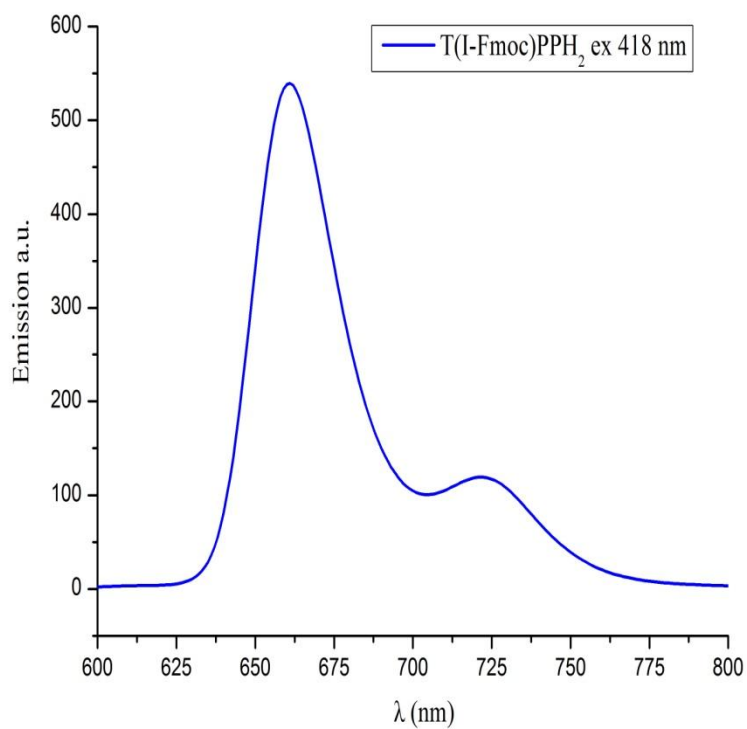
##### **Φάσματα UV-Vis:**

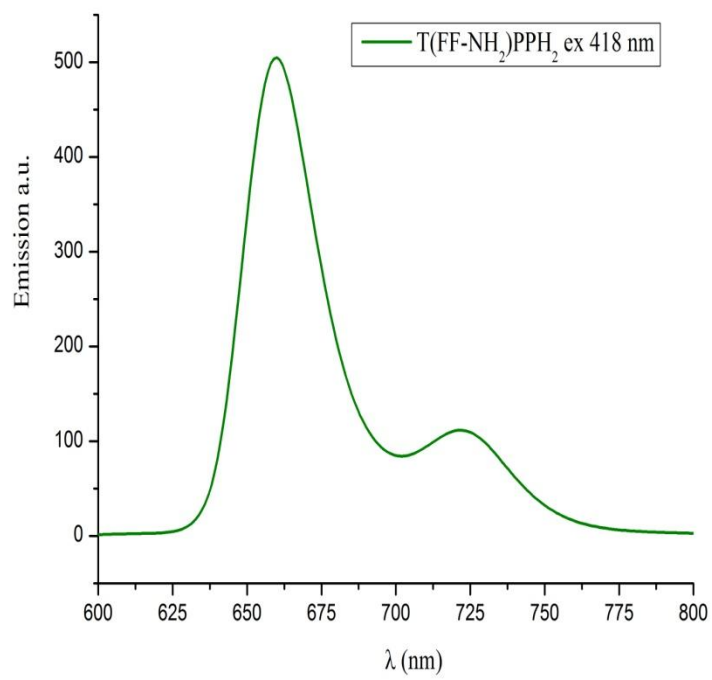
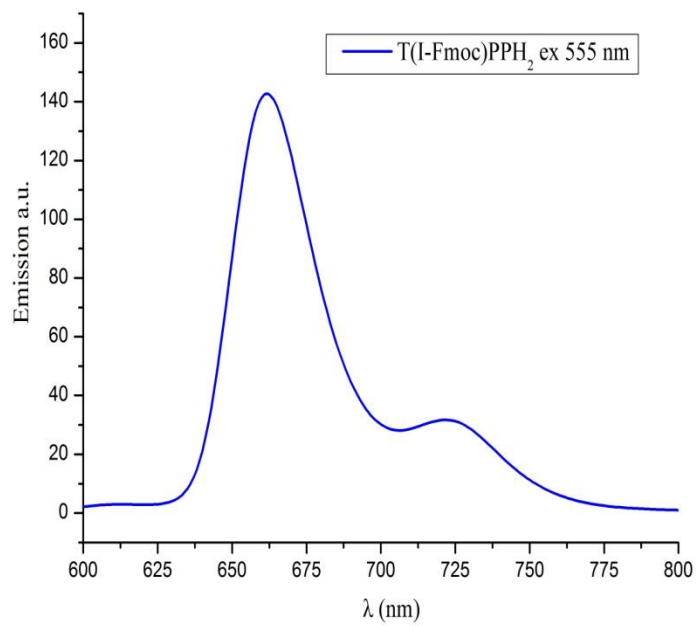


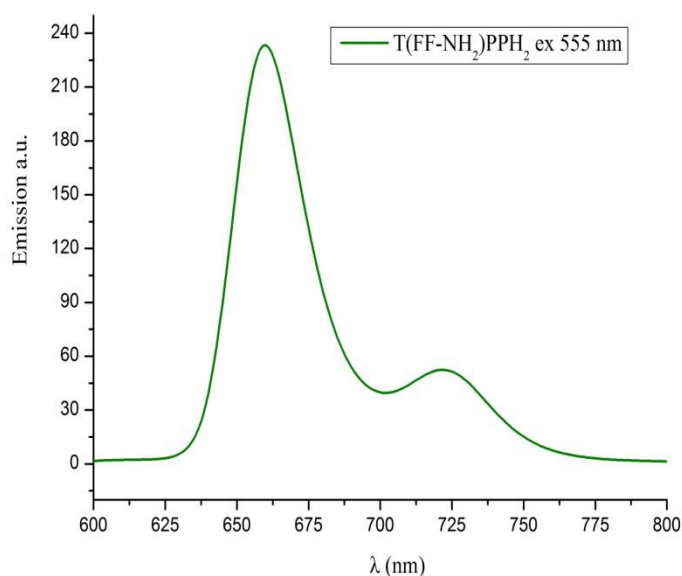




**Φάσματα φθορισμού:**

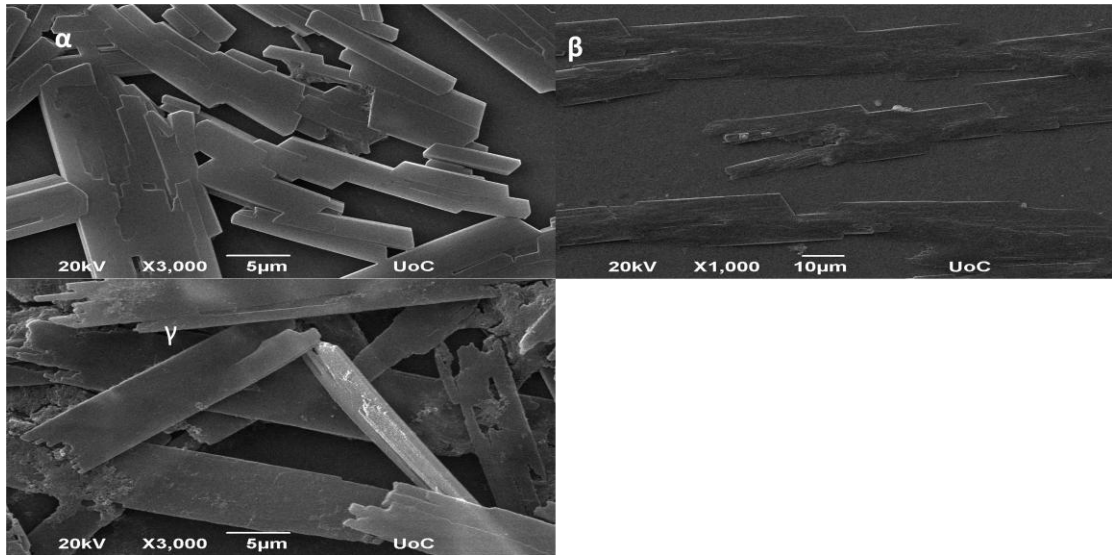






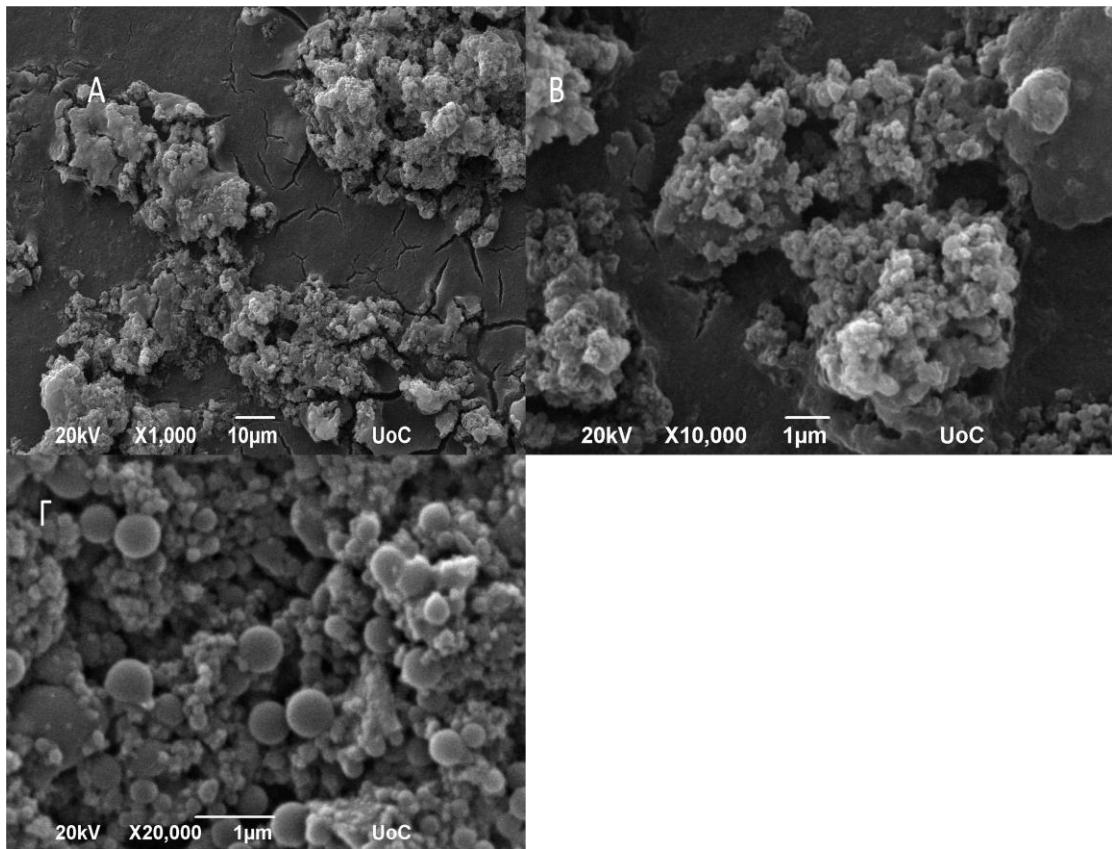
T(FmocFF)PPH <sub>2</sub>	T(Boc-FF)PPH <sub>2</sub>	T(Fmoc-Ile)PPH <sub>2</sub>	T(FF-NH <sub>2</sub> )PPH <sub>2</sub> .
HFIP-H <sub>2</sub> O 2:8	HFIP-H <sub>2</sub> O 2:8	HFIP-MeOH 2:8	HFIP-MeOH 2:8
HFIP-MeOH 2:8	HFIP-MeOH 2:8	HFIP-EtOH 2:8	HFIP-EtOH 2:8
HFIP-MeOH 1:1	HFIP-EtOH 2:8	HFIP-H <sub>2</sub> O 2:8	HFIP-H <sub>2</sub> O 2:8
HFIP-H <sub>2</sub> O 2:8	THF-MeOH 2:8		
THF-EtOH 2:8	THF-EtOH 2:8		
THF-MeOH 2:8			
THF-MeOH 1:1			
DCM- MeOH 1:1			
DCM-Heptane 1:1			

Οι ενώσεις μετά το καθαρισμό σε κολώνα υγρής χρωματογραφίας μελετήθηκαν σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης σε διάφορα μίγματα διαλυτών για να παρατηρηθεί η ικανότητα της αυτό -οργάνωση .Η **T(Fmoc-Ile)PPH<sub>2</sub>** μελετήθηκε σε 3 είδη διαλυτών HFIP-MeOH 2:8, HFIP-EtOH 2:8, HFIP-H<sub>2</sub>O 2:8.Οπου εμφάνισε και στα 3 μίγματα δομή πλακών η οποία μπορεί να αποδοθεί στους δεσμούς υδρογόνου που μπορούν να σχηματιστούν οι πιο καλοσχηματισμένες δομές παρατηρήθηκαν στο , HFIP-H<sub>2</sub>O 2:8 .



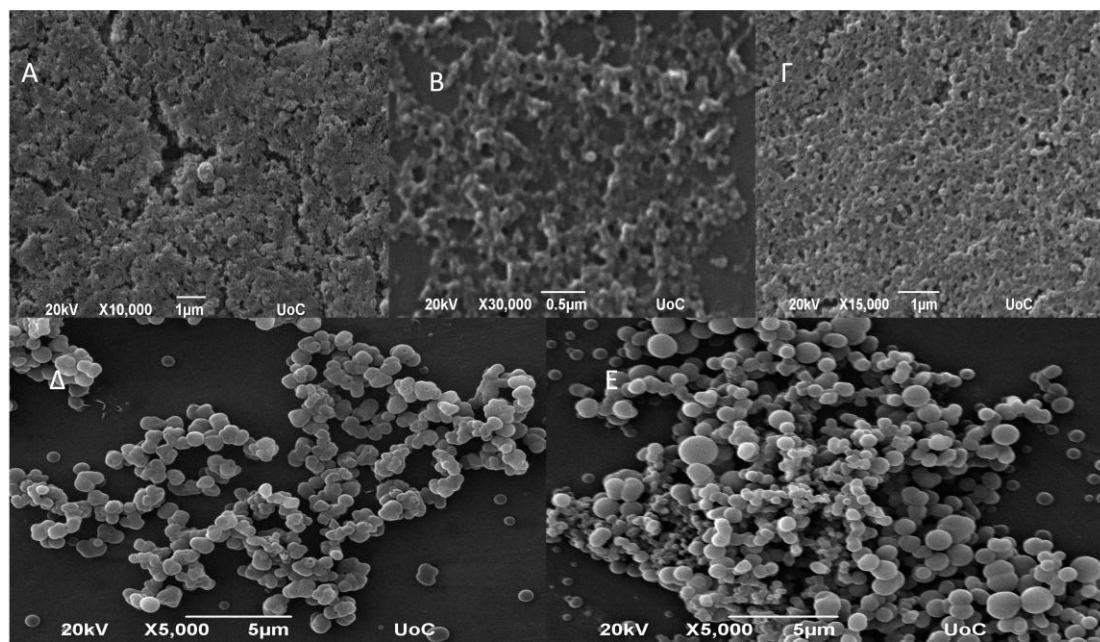
Εικόνα 29 (α)  $T(\text{Fmoc-Ile})\text{PPH}_2$  HFIP-MeOH 2:8 , (β)  $T(\text{Fmoc-Ile})\text{PPH}_2$  HFIP-EtOH 2:8, (γ)  $T(\text{Fmoc-Ile})\text{PPH}_2$  HFIP- $\text{H}_2\text{O}$  2:8

Η ελεύθερη  $T(\text{FF-NH}_2)\text{PPH}_2$  μελετήθηκε στα ίδια μίγματα διαλυτών με την  $T(\text{Fmoc-Ile})\text{PPH}_2$  δηλαδή HFIP-MeOH 2:8, HFIP-EtOH 2:8, HFIP- $\text{H}_2\text{O}$  2:8. Στα πρώτα 2 δεν πραγματοποιήθηκε αυτό-οργάνωση των συστημάτων. Ενώ στο τρίτο μείγμα όπως και πριν παρατηρήθηκαν καλύτερες δομές με τη μορφή σφαίρα. Οι δομές αυτές είναι πιθανών να οφείλονται στις αλληλεπιδράσεις των αρωματικών δακτυλίων της φανηλαλανίνης.



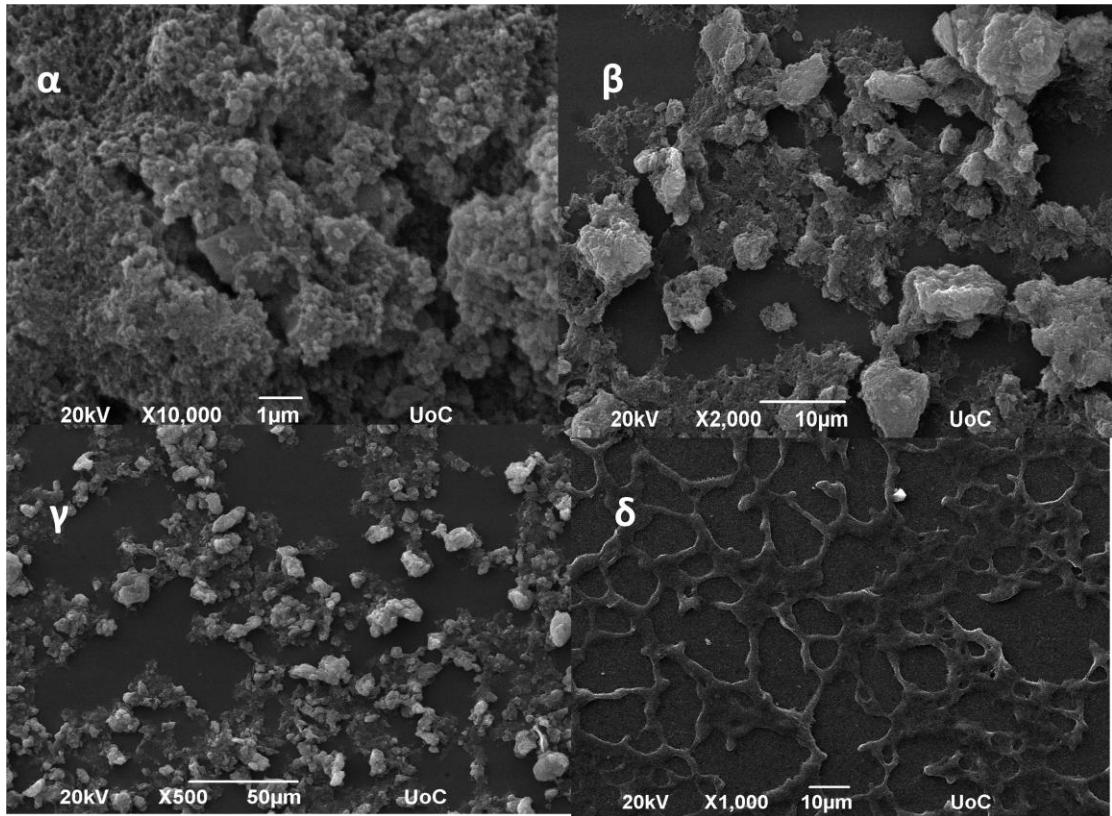
Εικόνα 30(A)  $T(\text{FF-NH}_2)\text{PPH}_2$  HFIP-MeOH 2:8 , (B)  $T(\text{FF-NH}_2)\text{PPH}_2$  HFIP-EtOH 2:8, (Γ)  $T(\text{FF-NH}_2)\text{PPH}_2$  HFIP- $\text{H}_2\text{O}$  2:8

Η  $T(\text{BocFF})\text{PPH}_2$  μελετήθηκε σε 5 μίγματα διαλυτών HFIP-H<sub>2</sub>O 2:8, HFIP-MeOH 2:8, HFIP-EtOH 2:8, THF-MeOH 2:8 THF-EtOH 2:8. Η ένωση δεν κατάφερε να αυτό-οργανωθεί σε κανένα από τα δείγματα που είχε ως καλό διαλυτή HFIP. Αντιθέτως όταν υπήρχε σαν καλός διαλύτης THF τότε παρατηρήθηκαν ευδιάκριτες και καλοσχηματισμένες σφαιρικές δομές .

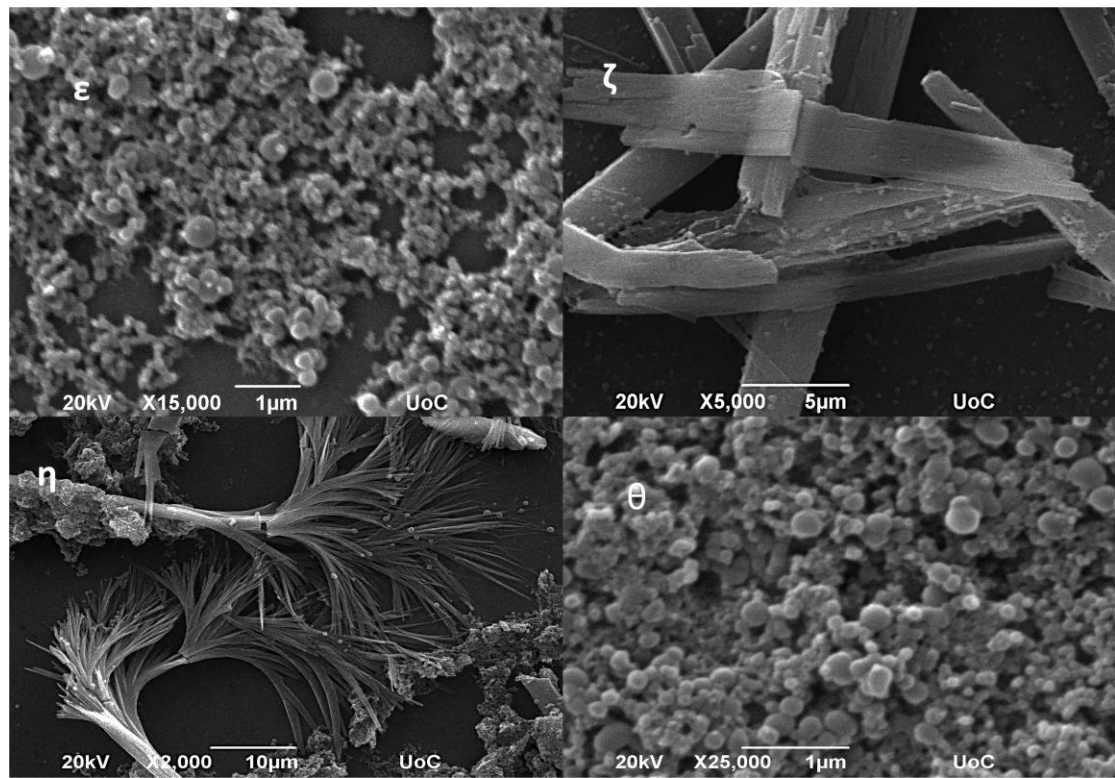


Εικόνα 31 (Α)  $T(\text{BocFF})\text{PPH}_2$  HFIP-H<sub>2</sub>O 2:8, (Β)  $T(\text{BocFF})\text{PPH}_2$  HFIP-MeOH 2:8, (Γ)  $T(\text{BocFF})\text{PPH}_2$  HFIP-EtOH 2:8, (Δ)  $T(\text{BocFF})\text{PPH}_2$  THF-MeOH 2:8, (Ε)  $T(\text{BocFF})\text{PPH}_2$  THF-EtOH 2:8

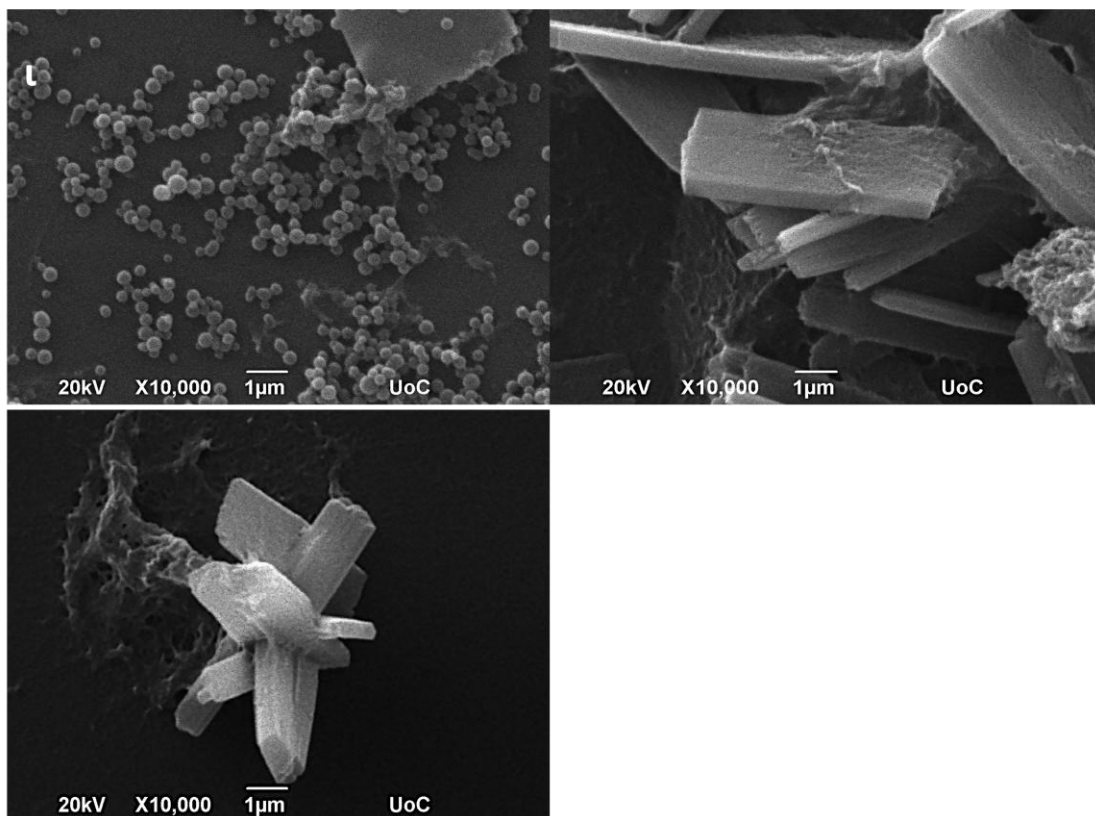
Μεγάλη μελέτη έγινε στην αυτό-οργάνωση της  $T(\text{FmocFF})\text{PPH}_2$  καθώς το ελεύθερο πεπτιδίο έχει την ικανότητα να αυτό-οργανώνεται και να δημιουργεί υδρογέλες . Η  $T(\text{FmocFF})\text{PPH}_2$  μελετήθηκε εννέα διαλυτές όπου παρατηρήθηκε ότι δεν μπορεί να αυτό οργανωθεί στους (α) HFIP-H<sub>2</sub>O 2:8, (β) THF-EtOH 2:8, (γ) THF-MeOH 2:8, (δ) HFIP-MeOH 1-1 . Αντίθετα παρατηρήθηκε αυτό-οργάνωση (ε) HFIP-EtOH 2:8, (θ) HFIP-MeOH 2:8 όπου δημιουργήθηκαν σφαίρες. Στο διαλύτη (ζ) DCM-MeOH 1-1 παρατηρήθηκαν πλάκες , ενώ στον (η)  $T(\text{FmocFF})\text{PPH}_2$  THF-MeOH 1-1, πολλές μικρές ίνες φαίνεται ότι ενώνονται . Στον DCM-Herptane 1-1 παρατηρήθηκε ότι από μικρά σφαιρίδια δημιουργούνται πλάκες και κάποιες αναπτύσσονται σε τυχαίες κατευθύνσεις .



Εικόνα 32 (α) T(FmocFF)PPH<sub>2</sub> HFIP-H<sub>2</sub>O 2:8, (β) T(FmocFF)PPH<sub>2</sub> THF-EtOH 2:8, (γ) T(FmocFF)PPH<sub>2</sub> THF-MeOH 2:8, (δ) T(FmocFF)PPH<sub>2</sub> HFIP-MeOH 1-1



Εικόνα 33 ε) T(FmocFF)PPH<sub>2</sub> HFIP-EtOH 2:8, ζ) T(FmocFF)PPH<sub>2</sub> DCM-MeOH 1-1, η) T(FmocFF)PPH<sub>2</sub> THF-MeOH 1-1, θ) T(FmocFF)PPH<sub>2</sub> HFIP-MeOH 2:8 1mM



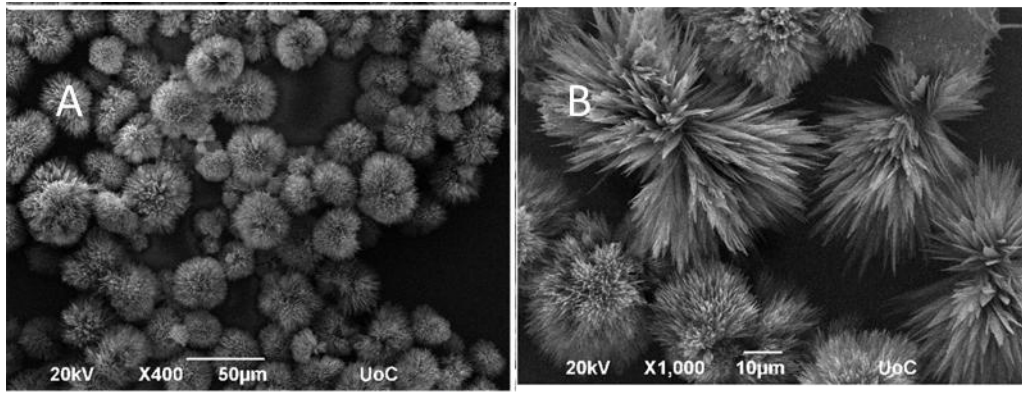
Εικόνα 34 T(FmocFF)PPH<sub>2</sub> DCM-Heptane 1-1

Οι ενώσεις TPP-Ile-Ile-Fmoc και TPP-Ile-Ala-Fmoc μελετήθηκαν επίσης μέσω SEM.

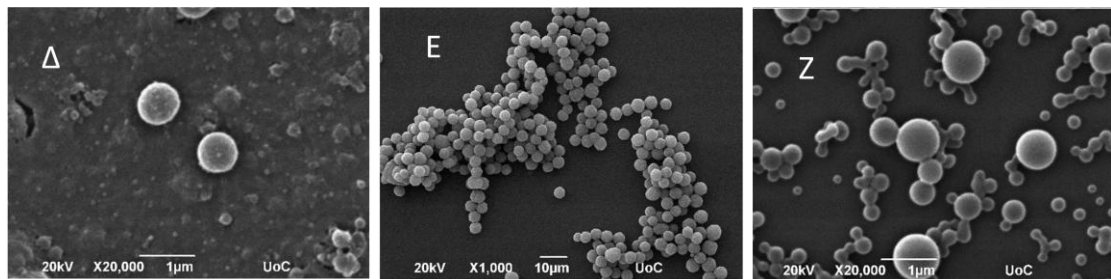
TPP-Ile-Ile-Fmoc	TPP-Ile-Ala-Fmoc
HFIP-EtOH 2:8	HFIP-EtOH 2:8
HFIP-MeOH 2:8	HFIP-MeOH 2:8
HFIP-H <sub>2</sub> O 2:8	HFIP-H <sub>2</sub> O 2:8

Η TPP-Ile-Ile-Fmoc εμφάνισε αγκαθωτές σφαίρες στο μίγμα HFIP-EtOH 2:8 και στο HFIP-MeOH 2:8, ενώ σχηματικέ υδρογέλη στο HFIP-H<sub>2</sub>O 2:8. Η TPP-Ile-Ala-Fmoc και στα τρία μίγματα διαλυτών παρατηρήθηκε αυτό-οργάνωση σε σφαίρες.



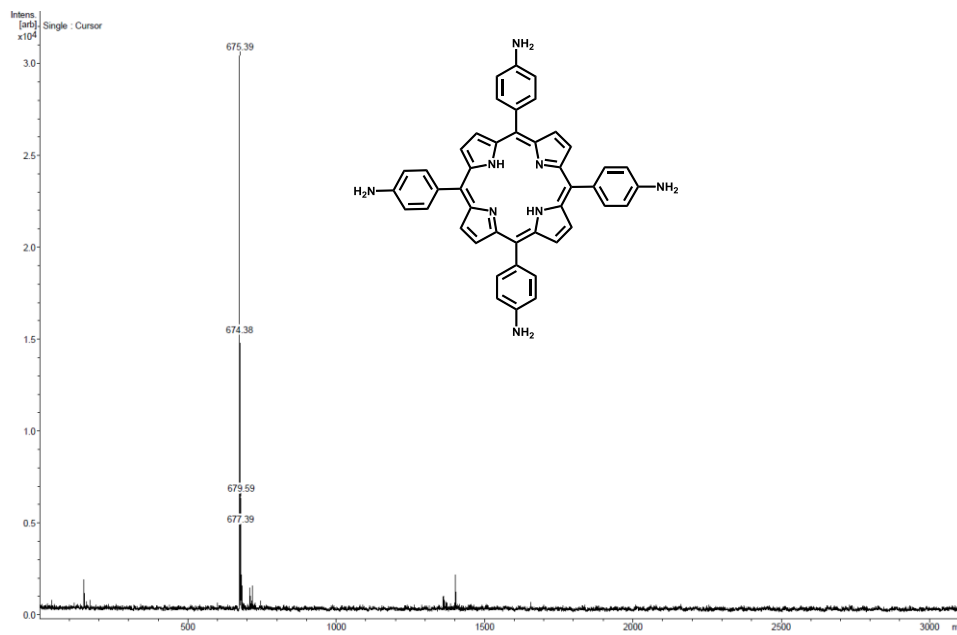


Εικόνα 35 TPP-Ile-Ile-Fmoc σε (Α) HFIP-MeOH 2:8, (Β) HFIP-EtOH 2:8 (Γ) HFIP-H<sub>2</sub>O 2:8

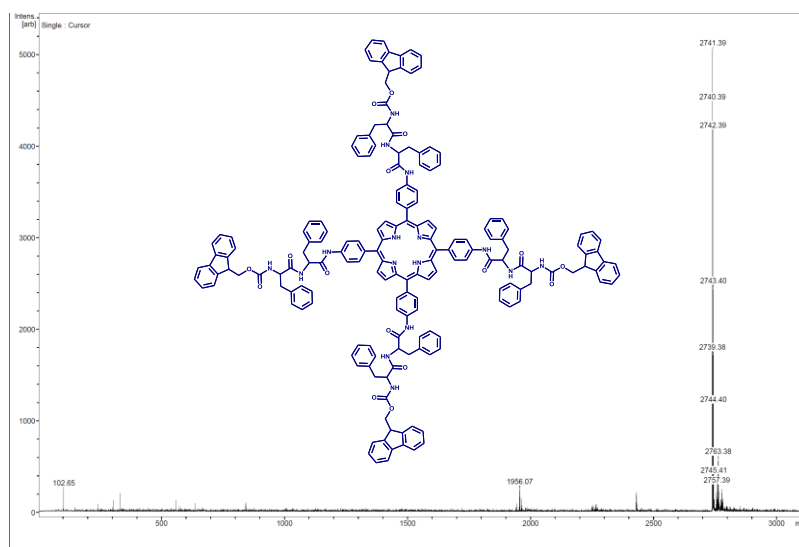


Εικόνα 36 TPP-Ile-Ala-Fmoc σε (Δ) HFIP-H<sub>2</sub>O 2:8 (Ε) HFIP-EtOH 2:8 (Ζ) HFIP-MeOH 2:8

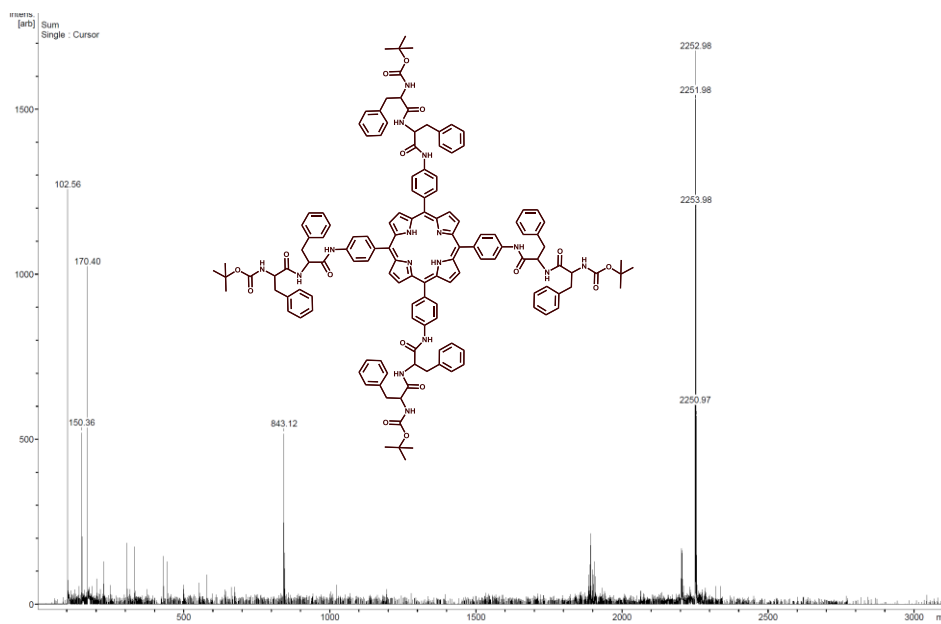
## 5.0 ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ



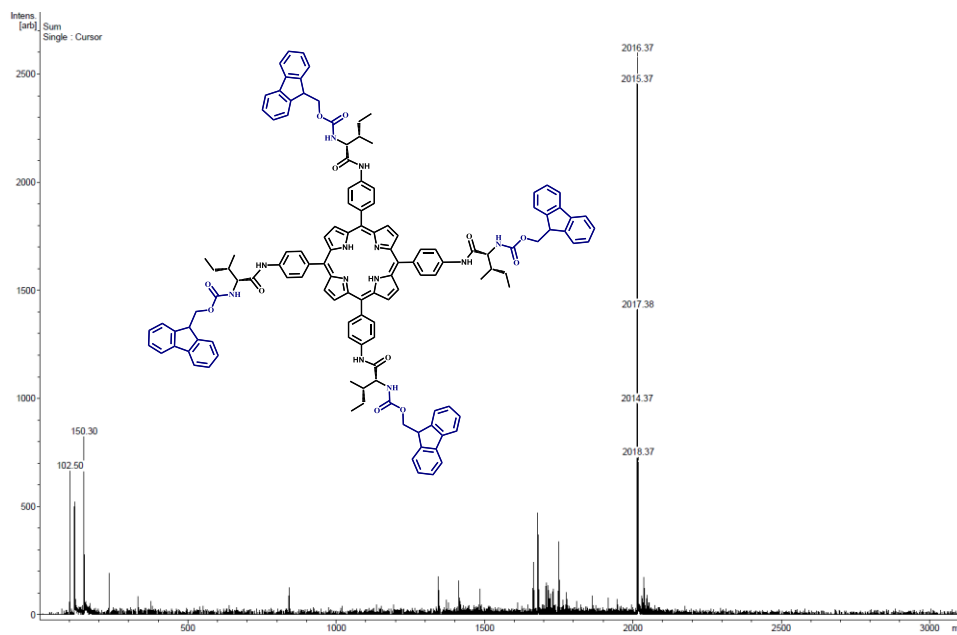
Εικόνα 37 maldi-tof Tetra-(NH<sub>2</sub>)PPH<sub>2</sub>



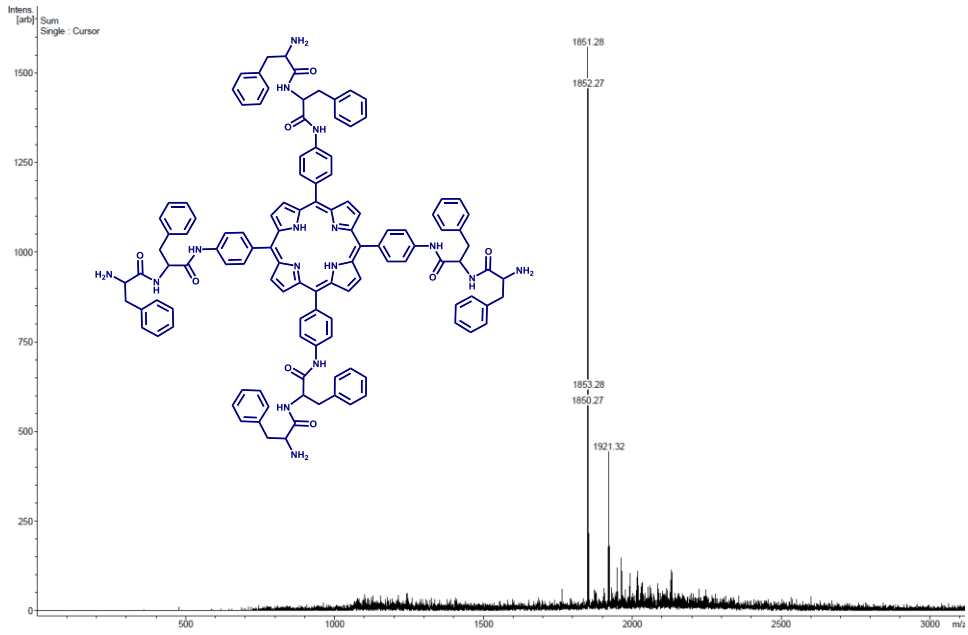
Εικόνα 38 maldi-tof Tetra-(Fmoc-Phe-Phe)-PPH<sub>2</sub>



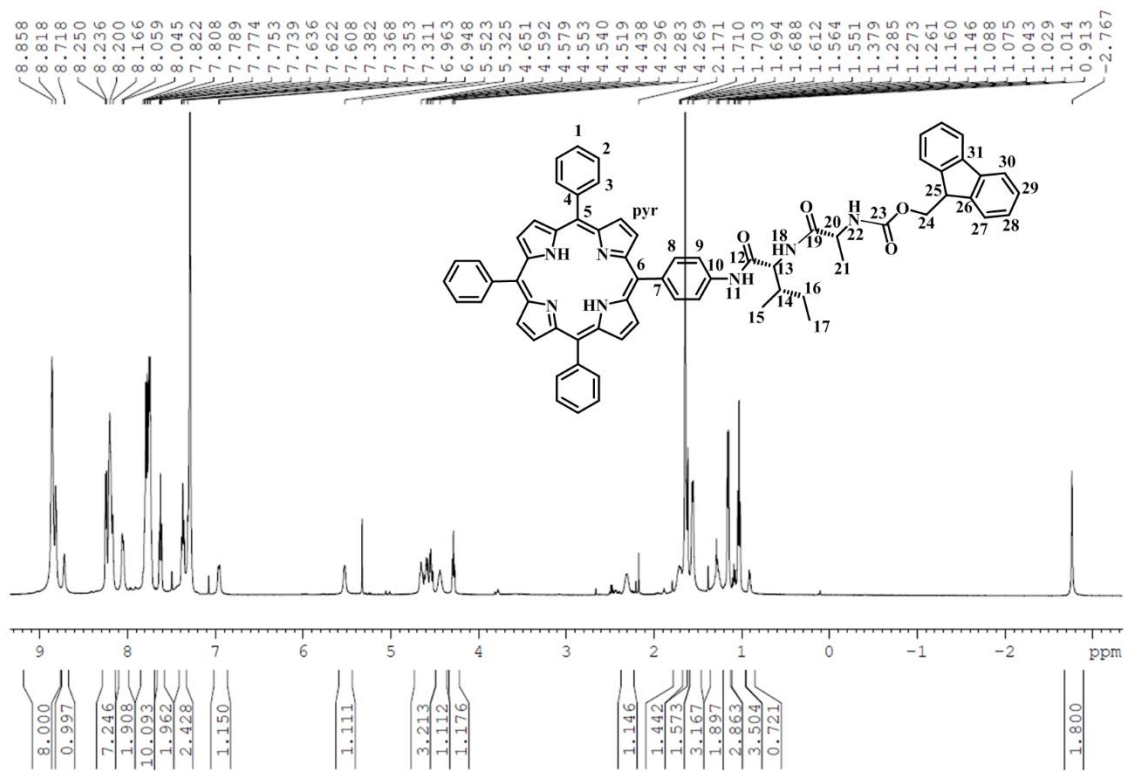
Εικόνα 39 maldi-tof Tetra-(BOC-FF)PPH<sub>2</sub>



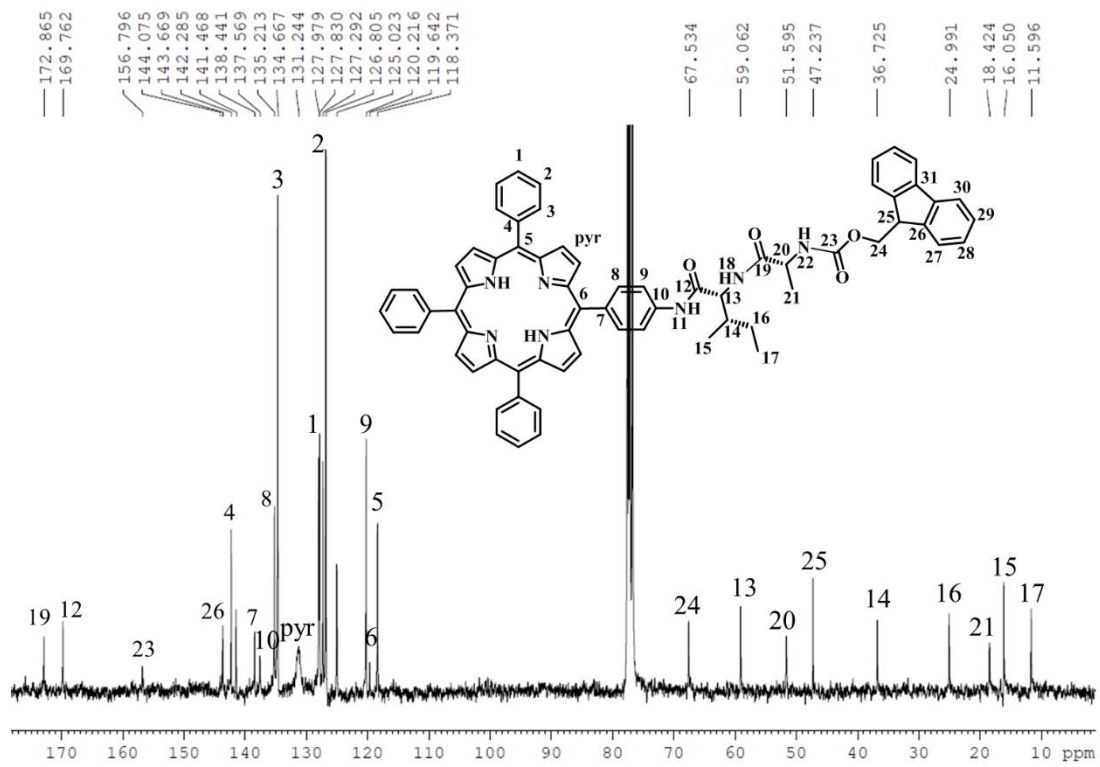
Εικόνα 40 maldi-tof Tetra-(FMOC-I)PPH<sub>2</sub>



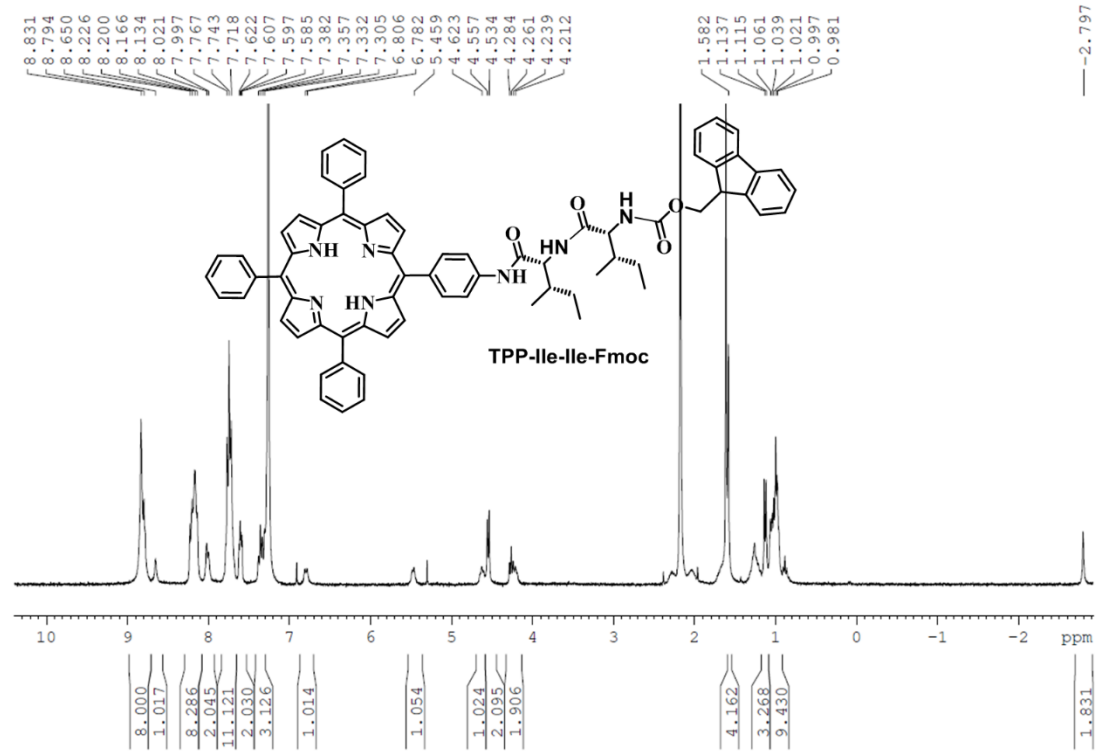
Εικόνα 41 maldi -tof Tetra-(NH<sub>2</sub>-Phe-Phe)-PPH<sub>2</sub>



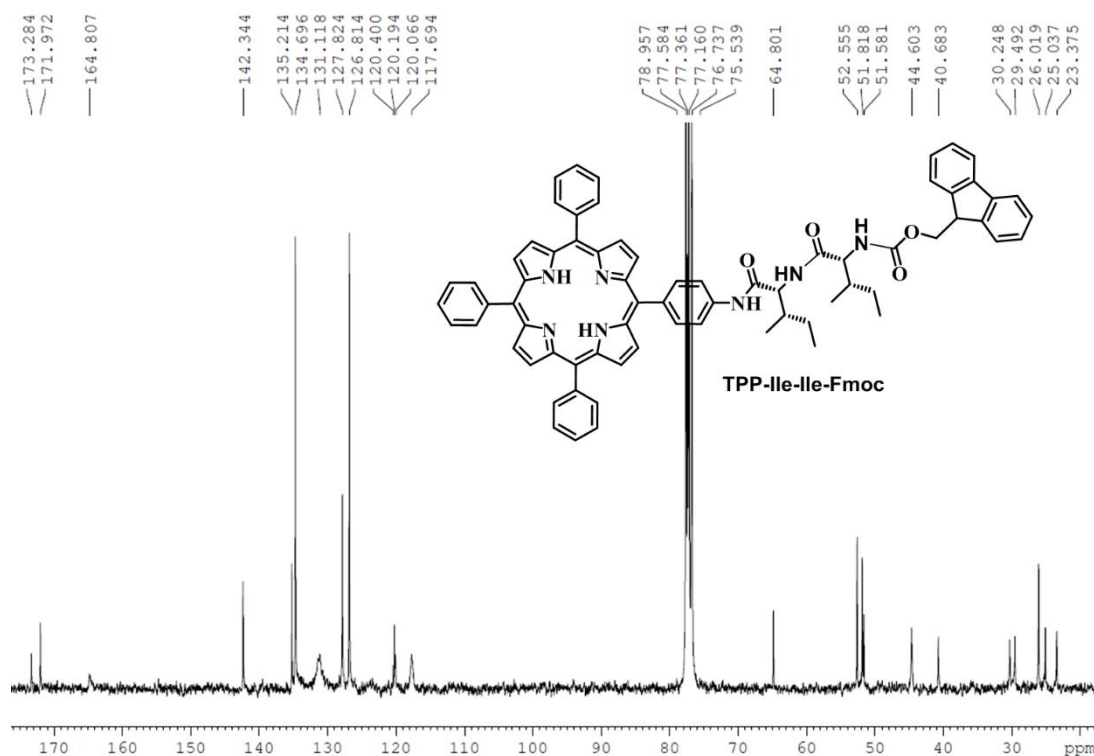
Εικόνα 42 <sup>1</sup>H NMR της Fmoc-Ala-Ile-TPP



Εικόνα 43  $^{13}\text{C}$  NMR της Fmoc-Ala-Ile-TPP



Εικόνα 44  $^1\text{H}$  NMR της Fmoc-Ile-Ile-TPP



Εικόνα 45  $^{13}\text{C}$  NMR της Fmoc-Ile-Ile-TPP

## 6.0 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Inorganic Chemistry, Shriver and Atkins ,Fifth Edition p. 205, 321, 729, 736, 760
- 2.Κεσσίλογλου Δ. ,Ψωμάς Γ. , "ΒΙΟΑΝΟΡΓΑΝΗ ΧΗΜΕΙΑ", εκδόσεις Ζήτη p .99-106, 116-118
- 3.Robert W. Hay , "Βίο-ανόργανη χημεία", εκδόσεις Παπαζήση p.177-180
- 4.J.M.BERG , J. L. TYMOCZKO ,G. J. GATTO, L. STRYER , "ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ" ,8ης αμερικανικής έκδοσης ,Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης p .742
- 5.Jonathan S. Lindsey,\* Irwin C. Schreiman, Henry C. Hsu, Patrick C. Kearney, and Anne M. Marguerettaz , J. Org. Chem. 1987,52,827-836 (σύνθεση πορφυρινης)
6. <https://en.wikipedia.org/wiki/Self-assembly>
- 7.Ehud Gazit , Chem. Soc. Rev., 2007, 36, 1263–1269
- 8.John McMurry "Οργανική Χημεία " ,Παν. Εκδόσεις Κρήτης, 4<sup>η</sup> έκδοση , p.1292
- 9.Qianli Zou, Manzar Abbas, Luyang Zhao, Shukun Li, Guizhi Shen, and Xuehai Yan. *J. Am. Chem. Soc.*, **2017**, 139 (5), pp 1921–1927
10. <http://ecourse.uoi.gr/course/view.php?id=1393&lang=en> Φασματοσκοπία Οργανικών Ενώσεων ,Φασματοσκοπία UV – VIS ,Διδάσκων: Καθηγητής Ιωάννης Γεροθανάσης ,ΣΕΛ 11-22
11. Τοσσίδης Ι., *Χημεία Ενώσεων Συναρμογής*, Εκδόσεις Ζήτη, **2001**.σελ 223

12. [https://eclass.uoa.gr/modules/document/file.php/PHARM110/ir\\_nmr\\_presentation.pdf](https://eclass.uoa.gr/modules/document/file.php/PHARM110/ir_nmr_presentation.pdf) ,  
ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ IR/NMR ΣΕΛ 1-23
13. [http://ph277.edu.physics.uoc.gr/files/Electron\\_Microscopy\\_Notes\\_VBinas2.pdf](http://ph277.edu.physics.uoc.gr/files/Electron_Microscopy_Notes_VBinas2.pdf)  
Σχολή Θετικών και Τεχνολογικών Επιστημών Τμήμα Φυσικής, Πανεπιστήμιο Κρήτης  
Εισαγωγή στην Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Καθ. Γεώργιος Κυριακίδης Δρ. Βασίλειος Μπίνας  
Ηράκλειο 2014
14. [https://eclass.upatras.gr/modules/document/file.php/PHY1973/SEM\\_basics.pdf](https://eclass.upatras.gr/modules/document/file.php/PHY1973/SEM_basics.pdf)  
ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ ΣΑΡΩΣΗΣ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΩΝ Σ.Ε.Μ. ΔΗΜΗΤΡΗΣ ΚΟΥΖΟΥΔΗΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΠΑΤΡΩΝ
15. Daniel C. Harris, *Ποσοτική και Ποιοτική Ανάλυση, τόμος Β΄*, Π.Ε.Κ. **2010**. p.551-552,561
16. [https://eclass.uoa.gr/modules/document/file.php/CHEM165/07-SAT\\_02\\_Mass\\_Spectrometry\\_pt1.pdf](https://eclass.uoa.gr/modules/document/file.php/CHEM165/07-SAT_02_Mass_Spectrometry_pt1.pdf) ( ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΩΝ 17/3/2019)
17. [https://repository.kallipos.gr/bitstream/11419/3677/1/02\\_chapter\\_12.pdf](https://repository.kallipos.gr/bitstream/11419/3677/1/02_chapter_12.pdf)  
(Κεφάλαιο 12: Φασματομετρία Μάζας, Γεώργιος Θεοδωρίδη, 17/3/2019)
18. <http://opencourses.uoa.gr/modules/document/file.php/CHEM104/%CE%94%CE%B9%CE%B4%CE%B1%CE%BA%CF%84%CE%B9%CE%BA%CF%8C%20%CF%80%CE%B1%CE%BA%CE%AD%CF%84%CE%BF/%CE%A0%CE%B1%CF%81%CE%BF%CF%85%CF%83%CE%B9%CE%AC%CF%83%CE%B5%CE%B9%CF%82/pdf/%CE%95%CE%BD%CF%8C%CF%84>  
Ενόργανη Ανάλυση II Ενότητα 3: Φασματομετρία Μοριακής Φωταύγειας ,Θωμαΐδης  
Νικόλαος ,Τμήμα Χημείας Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας
19. Ενόργανη Ανάλυση II **Φθορισμομετρία** ,Κοντογιάννης Χρίστος, Καθηγητής Τμήμα  
Φαρμακευτικής
20. Christian A. G. N., Montalbetti\* and Virginie Falque , ; "Amide bond formation and  
peptide coupling", *Tetrahedron* , .**2005**,vol 61, 10827–10852
21. M.A. Sutton & N. Li & D.C. Joy & A.P. Reynolds & X. Li ,; Scanning Electron Microscopy for  
Quantitative Small and Large Deformation Measurements Part I: SEM Imaging at  
Magnifications from 200 to 10,000, *Exp Mech* ,: **2007**,vol 47 ,775–787
22. K. Liu, R. Xing, Q. Zou, G. Ma, H. Mohwald and X. Yan, *Angew. Chem. int. Ed.*, **2016**, 55,  
3036-3039.
23. Q. Zou et al. , *Angew. Chem. int. Ed.*, **2014**, 53, 2366-2370.
24. Georgios Charalambidis, Emmanouil Kasotakis, Theodore Lazarides, Anna Mitraki, and  
Athanassios G. Coutsolelos, Self-Assembly Into Spheres of a Hybrid Diphenylalanine–  
Porphyrin: Increased Fluorescence Lifetime and Conserved Electronic Properties, 2011
- 25 .N. Gour, D. Kedracki, I. Safir, K. X. Ngo and C. Vebert-Nardin, *Chem. Commun.*, **2012**, 48,  
5440-5442.