

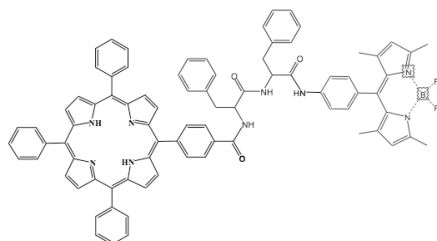


Σχολή Θετικών Και Τεχνολογικών Επιστημών
Πανεπιστήμιο Κρήτης-Τμήμα Χημείας
Εργαστήριο Βιοανόργανης Χημείας

Υπεύθυνος Καθηγητής: Αθανάσιος Γ. Κουτσολέλος

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Σύνθεση υβριδικών ενώσεων διφαινυλαλανίνης
συζευγμένης με χρωμοφόρα πορφυρίνης και bodipy
για εφαρμογές αυτο-οργάνωσης.**



Έλενα Αγαπάκη, Α.Μ. 1985
ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2018

Ευχαριστίες

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω το Τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης και τον Υπεύθυνο Καθηγητή μου Αθανάσιο Γ. Κουτσολέλο για την ευκαιρία που μου έδωσε να εκπονήσω την Διπλωματική μου Εργασία στο Εργαστήριο Βιοανόργανης Χημείας (LBIC) του Πανεπιστημίου Κρήτης και την άψογη συνεργασία μας καθ'όλη την διάρκεια της διπλωματικής εργασίας.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Εμμανουήλ Νικολουδάκη για την πολύτιμη βοήθεια που μου έδωσε, την εξαιρετική συνεργασία μας καθ' όλη την διάρκεια της διπλωματικής εργασίας καθώς και το ευχάριστο περιβάλλον που δημιούργησε για την πραγματοποίηση της διπλωματικής μου.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στα μέλη του εργαστηρίου δρ. Γεώργιο Χαραλαμπίδη, τον Στέλιο Χαρισιάδη, την Ελένη Γλυμενάκη, την Αδελαΐδα Τράπαλη, τον Μιχάλη Παπαδάκη, Γεώργιο Λάνδρου και Μάρα Κανδύλη για το εξαιρετικό περιβάλλον.

Περιεχόμενα

- **Περίληψη**.....σελίδα 5

- **1.0 Εισαγωγή**.....σελίδες 5-18

- **2.0 Σκοπός εργασίας**.....σελίδες 18-19

- **3.0 Πειραματικό Μέρος**.....σελίδες 20-25

- **4.0 Ανάλυση και συζήτηση αποτελεσμάτων**.....σελίδες 26-29

- **5.0 Συμπεράσματα**.....σελίδα 29

- **6.0 Βιβλιογραφία**.....σελίδα 30

- **7.0 Παράρτημα**.....σελίδες 31-33

Περίληψη

Είναι ευρέως γνωστό ότι η «φύση είναι σοφή», γι' αυτό το λόγο η επιστήμη τείνει συχνά να τη μιμείται. Οι χημικοί υπερμοριακής χημείας έχουν μελετήσει μια ποικιλία μοριακών δομικών λίθων για την -ικανότητά τους να αυτό-οργανώνονται σε nano και micro δομές με ενδιαφέρουσες ιδιότητες, όπως ακριβώς κάνει με τεράστια επιτυχία η φύση, που έχει δημιουργήσει καλά οργανωμένες λειτουργικές δομές. Η ικανότητα των πεπτιδίων να οργανώνονται, αποτέλεσε πηγή έμπνευσης για το εργαστήριό μας, προσπαθώντας να ενώσουμε πεπτίδια με πορφυρίνες και να μελετήσουμε την αυτοοργάνωσή τους. Η σύζευξη BDP ή πορφυρίνης με FF οδηγεί στο σχηματισμό υλικών, τα οποία αυτό-οργανώνονται. Αλλάζοντας διάφορες παραμέτρους του πεπτιδίου ή τους διαλύτες, διαμορφώνονται είτε ραβδόμορφες ή σφαιρικές ή πιο περίτεχνες νανοδομές. Στην παρούσα διπλωματική εργασία το διπεπτίδιο διφαινυλαλανίνη συζεύχθηκε τόσο με BDP όσο και με την πορφυρίνη προς σχηματισμό της ένωσης TPP-FF-BDP, η οποία έπειτα από μελέτη με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο εξήγαγε ενθαρρυντικά αποτελέσματα καθώς έχει την ικανότητα να αυτο-οργανώνεται σε διαλύτη $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$ 8:2 δίνοντας σε σφαιρικές νανοδομές.

1.Εισαγωγή

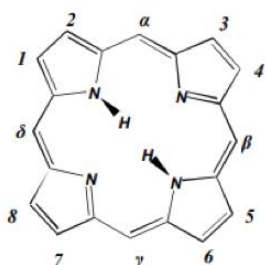
1.1 Πορφυρίνες

Οι πορφυρίνες είναι μια ομάδα ετεροκυκλικών μακροκυκλικών ενώσεων που αποτελούνται από τέσσερις τροποποιημένες υπομονάδες πυρρόλης διασυνδεδεμένες στα α άτομα άνθρακα μέσω μεθινικών γεφυρών (= CH-). Η μητρική πορφυρίνη είναι πορφίνη, μια σπάνια χημική ένωση αποκλειστικά θεωρητικού ενδιαφέροντος. Οι υποκατεστημένες πορφίνες ονομάζονται πορφυρίνες. Με συνολικά 26 π-ηλεκτρόνια, από τα οποία 18 π-ηλεκτρόνια σχηματίζουν ένα επίπεδο και συνεχή κύκλο, η δομή δακτυλίου πορφυρίνης περιγράφεται συχνά ως αρωματική. Ένα αποτέλεσμα του μεγάλου συζευγμένου συστήματος είναι ότι οι πορφυρίνες τυπικά απορροφούν έντονα στην ορατή περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος, δηλαδή έχουν βαθύ χρώμα. Το όνομα "πορφυρίνη" προέρχεται από την ελληνική λέξη πορφύρα, που σημαίνει μωβ. Στις ουδέτερες πορφυρίνες, δηλαδή χωρίς την παρουσία μετάλλου, πρωτόνια βρίσκονται συνδεδεμένα στα δυο από τα τέσσερα άζωτα. Στην ελεύθερη περιοχή στο εσωτερικό του δακτυλίου μπορεί να συνδεθεί ένας τεράστιος αριθμός μεταλλικών ιόντων και κατά συνέπεια όλα τα άζωτα να είναι συνδεδεμένα με το μέταλλο. Στην εικόνα παρακάτω παρουσιάζονται ένας μη μεταλλωμένος και ένας μεταλλωμένος πορφυρινικός δακτύλιος αντίστοιχα.



Εικόνα 1.1: Μη μεταλλωμένος (αριστερά) και μεταλλωμένος (δεξιά) πορφυρινικός δακτύλιος.

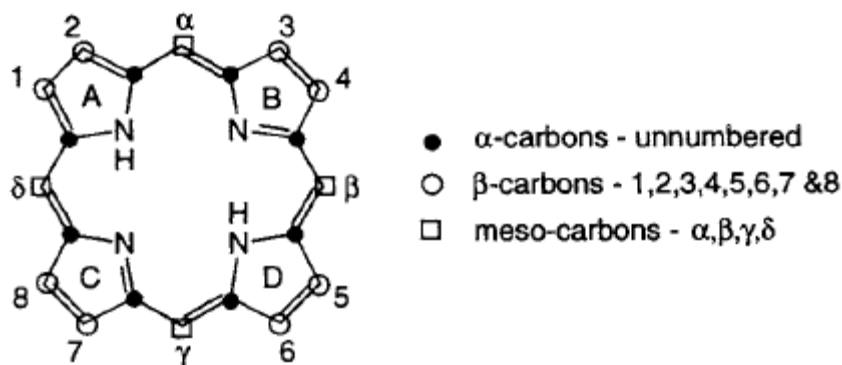
Οι διάφορες πορφυρίνες που υπάρχουν, θεωρούνται σαν τυπικά παράγωγα της πορφίνης με αντικατάσταση των εχο- υδρογόνων 1,2,...,8 ή των μεθινικών υδρογόνων α, β, γ και δ. Οι πρώτες είναι γνωστές ως β- υποκατεστημένες πορφυρίνες π.χ. H₂OEP ενώ οι δεύτερες ως α- ή meso- υποκατεστημένες πορφυρίνες π.χ. H₂TPP.



Εικόνα 1.2: Θέσεις υποκατάστασης του πορφυρινικού δακτυλίου.

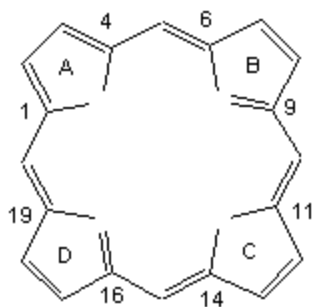
Ονοματολογία πορφυρινών

Ο πρώτος που εφεύρε το σύστημα ονοματολογίας για τις πορφυρίνες ήταν ο Hans Fischer. Οι ονομασίες των ενώσεων αυτών δίνουν πληροφορίες για τις οργανικές πλευρικές ομάδες που είναι συνδεδεμένες στα διάφορα άτομα άνθρακα του πορφυρινικού δακτυλίου. Σύμφωνα με τον Fischer, οι β-υποκατεστημένες θέσεις του δακτυλίου αριθμούνται από το 1 έως 8, οι meso-υποκατεστημένες θέσεις από το α έως δ, ενώ οι α-υποκατεστημένες θέσεις παραμένουν αναρίθμητες (Εικόνα 1.3). Συνήθως οι πορφυρίνες συμμετέχουν σε ηλεκτρονιόφιλες αντιδράσεις ή σε αντιδράσεις ριζών λόγω της αρωματικής φύσης του δακτυλίου. Οι meso θέσεις είναι περισσότερο δραστικές λόγω του ότι είναι ηλεκτρονικά πυκνότερες, αλλά σε περίπτωση που είναι κατειλημμένες συμμετέχουν οι β θέσεις.



Εικόνα 1.3: Επισήμανση των α -, β - και meso- ανθράκων του πορφυρινικού δακτυλίου.

Σύμφωνα με το σύστημα IUPAC, αριθμούνται όλα τα άτομα άνθρακα του δακτυλίου καθώς και τα άτομα του αζώτου (Εικόνα 1.4). Ο αριθμός των όμοιων υποκαταστατών υποδηλώνεται με τα αριθμητικά προθέματα δι-, τρι-, τέτρα-, κτλ. Πριν από την ονομασία του συμπλόκου μπορούμε να θέσουμε τα προθέματα cis, trans, fac, mer προκειμένου να υποδηλώσουμε την μορφή της πορφυρίνης.



Εικόνα 1.4: Αρίθμηση των ατόμων άνθρακα και αζώτου σύμφωνα το σύστημα ονοματολογίας IUPAC.

Όταν είναι γνωστή η διάταξη των αξονικών υποκαταστατών, υποδηλώνεται χρησιμοποιώντας τα α και β πριν από το όνομα κάθε αξονικού υποκαταστάτη. Το α δείχνει ότι ο υποκαταστάτης, βρίσκεται κάτω απ' το επίπεδο, ενώ το β ότι βρίσκεται πάνω απ' αυτό. Όταν το μόριο είναι παρόν ως ανιονικός υποκαταστάτης, τότε παίρνει την κατάληξη -άτο. Οπότε η πορφυρίνη ονομάζεται πορφυρινάτο.

Βέβαια, υπάρχουν πορφυρίνες οι οποίες έχουν κοινή ονομασία και αναφέρονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 1.1: Κοινή ονομασία πορφυρινών και αναλυτική παρουσίαση των υποκαταστατών του πορφυρινικού δακτυλίου

Trivial Name	Rank	Substituents and locants								
		2	3	7	8	12	13	15	17	18
Coproporphyrin I	9	Me	Cet*	Me	Cet	Me	Cet	H	Me	Cet
Cytoporphyrin	11	Me	-CH(OH)CH ₂ R'	Me	Vn	Me	Cet	H	Cet	-CHO
Deuteroporphyrin	1	Me	H	Me	H	Me	Cet	H	Cet	Me
Etioporphyrin I	3	Me	Et	Me	Et	Me	Et	H	Me	Et
Hematoporphyrin	8	Me	-CH(OH)CH ₃	Me	-CH(OH)CH ₃	Me	Cet	H	Cet	Me
Mesoporphyrin	7	Me	Et	Me	Et	Me	Cet	H	Cet	Me
Phylloporphyrin	4	Me	Et	Me	Et	Me	H	Me	Cet	Me
Protoporphyryn	6	Me	Vn	Me	Vn	Me	Cet	H	Cet	Me
Pyroporphyrin	2	Me	Et	Me	Et	Me	H	H	Cet	Me
Rhodoporphyrin	5	Me	Et	Me	Et	Me	-CO ₂ H	H	Cet	Me
Tropoporphyryn I	10	Cm	Cet	Cm	Cet	Cm	Cet	H	Cm	Cet
Phytoporphyryn	12	Me	Et	Me	Et	Me	-C(O)-CH ₂ -		Cet	Me

* Cet = -CH₂CH₂CO₂H.

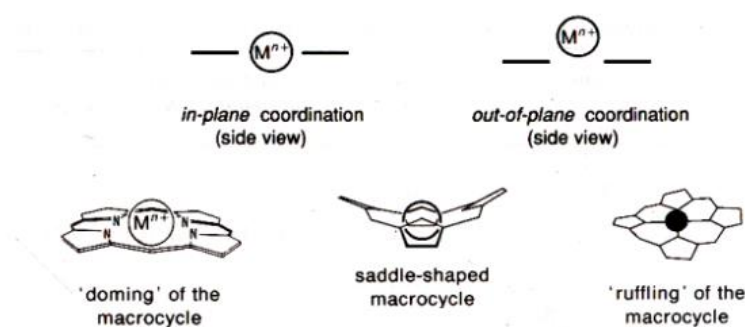
Χαρακτηριστικά του πορφυρινικού δακτυλίου

Τα κυριότερα χαρακτηριστικά του πορφυρινικού δακτυλίου και κατ'επέκταση των πορφυρινών είναι:

- i. Είναι χρωμοφόρες ενώσεις με χαρακτηριστικό χρώμα το έντονο μωβ. Οι πορφυρίνες όπως και τα περισσότερα ανάλογα τετραπυρρολικά συστήματα περιέχουν ένα εκτεταμένο π συζυγιακό σύστημα. Επιπλέον το γεγονός ότι υπακούουν στον κανόνα του Hückel ($4n+2$) προσδίδει ιδιαίτερη σταθερότητα. Ακόμη λόγω της «ετεροατομικότητας» των δακτυλίων υπάρχει μια επιπλέον συνεισφορά στη θερμική τους σταθερότητα. Επίσης, λόγω της εκτεταμένης συζυγίας τους, οι πορφυρίνες καθώς και τα σύμπλοκά τους απορροφούν ισχυρά στην ορατή περιοχή και χαρακτηρίζονται ως «χρωστικές της ζωής».
- ii. Η σταθερότητα του δακτυλίου σαν ένα σύστημα με κεκλιμένη δομή ή σχεδόν κεκλιμένη επιπεδότητα. Παρόλο που το μόριο της πορφυρίνης θεωρείται επίπεδο, δύο από τους πυρρολικούς δακτυλίους είναι ελαφρώς στραμμένοι προς τα πάνω και δύο ελαφρώς στραμμένοι προς τα κάτω, ούτως ώστε τα τέσσερα άτομα αζώτου να βρίσκονται ελαφρώς εκτός επιπέδου. Τόσο τα άτομα των ανθράκων όσο και των αζώτων που «συμμετέχουν» στον σκελετό της πορφυρίνης έχουν sp^2 υβριδισμό με αποτέλεσμα όλα τα μήκη δεσμών να κυμαίνονται από 134–145 pm και οι γωνίες από 107–126° Σαν τετραδραστικοί χηλικοί υποκαταστάτες, που είναι, οι τετραπυρρολικοί δακτύλιοι, μπορούν και συναρμόζονται έτσι ώστε να σταθεροποιούν «ασταθή»

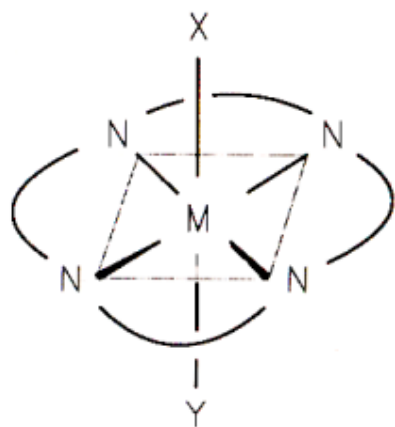
μεταλλικά ιόντα ή μεταλλικά ιόντα με μη σύνηθες οξειδωτικές καταστάσεις.

- iii. Τα μακροκυκλικά ligand είναι συνήθως αρκετά επιλεκτικά σε σχέση με το μέγεθος του συναρμοζόμενου ιόντος. Αυτό ισχύει και για τους πορφυρινικούς δακτυλίους ενώ τους προσδίδει και μια ιδιαίτερη σταθερότητα, λόγω της συζυγίας των διπλών δεσμών. Δομικές μελέτες και υπολογιστικά μοντέλα έδειξαν ότι σφαιρικά ιόντα με ακτίνα από 60–70 pm βρίσκονται ακριβώς στην κεντρική κοιλότητα των τετραπυρρολικών δακτυλίων. Όταν το μέγεθος του ιόντος είναι μεγαλύτερο από 70pm, όπως τα ιόντα των λανθανιδών (85–106pm), βρίσκεται έξω από το επίπεδο που ορίζουν τα τέσσερα άζωτα του πορφυρινικού δακτυλίου.



Εικόνα 1.5: Γεωμετρικές διαμορφώσεις τετραπυρρολικών συμπλόκων.

- iv. Οι πορφυρίνες είναι τετραδραστικά ligand που προτιμούν μια σχεδόν επίπεδη διαμόρφωση, όταν συναρμόζονται με μεταλλικά ιόντα. Αυτή τους η ιδιότητα, υπό την προϋπόθεση ότι ο αριθμός συναρμογής είναι 6 σε κατά προσέγγιση οκταεδρική διαμόρφωση, αφήνει τις δύο κενές θέσεις συναρμογής X, Y σε αξονικές θέσεις (Εικόνα 1.6). Αυτή η διαμόρφωση είναι επιθυμητή για στοιχειομετρικές ή καταλυτικές αντιδράσεις, όπως συμβαίνει σε διάφορα υποστρώματα. Ο λόγος είναι ότι με την παραπάνω διαμόρφωση «εκμεταλλεύονται» το trans-φαινόμενο των υποκαταστατών στις διάφορες αντιδράσεις.

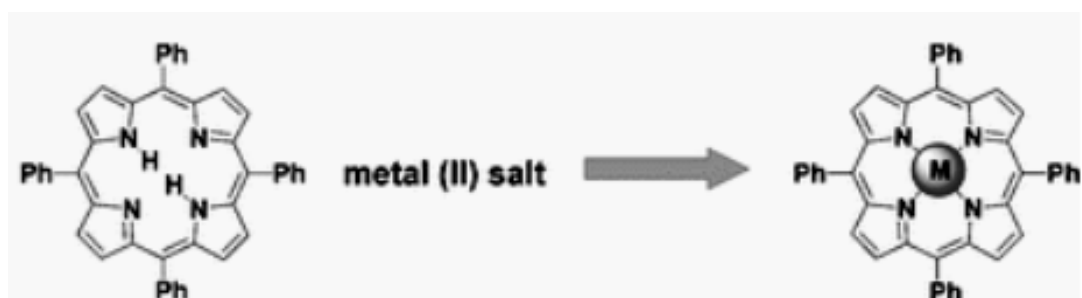


Εικόνα 1.6: Αξονικές θέσεις X, Y σε εξασυναρμοσμένο σύμπλοκο.

v. Η ικανότητα δράσης ως δότες και δέκτες ηλεκτρονίων. Έτσι, κατά τη φωτοεπαγόμενη μετακίνηση ηλεκτρονίων, οι διεργασίες της πρώτης οξειδωσης και της πρώτης αναγωγής γίνονται με μεγάλη ευκολία, με τα σχηματιζόμενα ανιόντα ή κατιόντα αντίστοιχα, είναι αρκετά σταθερά. Η ιδιότητα των τετραπυρρολικών μορίων να απορροφούν φως και η εύκολη οξειδοαναγωγή τους, τα καθιστά ιδανικά για τη μετατροπή της ηλιακής ενέργειας σε ηλεκτρική σε βιολογικά συστήματα. Η λειτουργία σημαντικών πρωτεϊνικών συστημάτων όπως της αιμοσφαιρίνης, των κυτοχρωμάτων και των φωτοσυνθετικών κέντρων εντοπίζεται κυρίως στις προσθετικές τους ομάδες, όπως η αίμη και οι χλωροφύλλες που είναι παράγωγα της πορφυρίνης.

Μεταλλοπορφυρίνες

Οι πορφυρίνες είναι ακόρεστα τετραδοντικά μακροκυκλικά ligands τα οποία μπορούν να προσδεθούν σαν υποκαταστάτες με δισθενή μεταλλικά ιόντα που συμπεριφέρονται ως οξέα κατά Lewis. Η μετάλλωση γίνεται εύκολα με την αποχώρηση των δύο ευκόλως αποχωρούντων πρωτονίων που είναι συνδεδεμένα στα δύο απ' τα άζωτα (Εικόνα 1.7). Επίσης παίζουν σημαντικό ρόλο σε διαδικασίες μεταφοράς ηλεκτρονίων σε ενζυμικά συστήματα και είναι από τους πιο γνωστούς υποκαταστάτες ως προς τη θερμοδυναμική σταθερότητα με φυσικές, χημικές και βιολογικές ιδιότητες. Πιο συγκεκριμένα, οι πορφυρίνες μπορούν να δεχτούν δύο ιόντα υδρογόνου και να σχηματίσουν διπρωτικά οξέα με φορτίο +2, ή να δώσουν δυο πρωτόνια και να γίνουν ανιόντα με φορτίο -2.



Εικόνα 1.7: Αντίδραση μετάλλωσης

Οι μεταλλοπορφυρίνες είναι ενώσεις μεταξύ μέταλλο- ιόντων και πορφυρινικών δακτυλίων και αποτελούν πιθανώς την πιο σπουδαία κατηγορία ενώσεων που περιέχουν μέταλλα σε βιολογικά συστήματα. Αυτή η προσθήκη μπορεί να γίνει άμεσα από τους ζωντανούς οργανισμούς (βιοσύνθεση) ή από χημικούς (σύνθεση από την αντίδραση των πορφυρίνης με

μεταλλικά άλατα). Οι περισσότερες μεταλλοπορφυρίνες έχουν το μεταλλικό ιόν με αριθμό συναρμογής 4. Μερικές έχουν δομή τετραγωνικής διπυραμίδας με αριθμό συναρμογής 5 ή παραμορφωμένου τετράεδρου με αριθμό συναρμογής 6. Τα σύμπλοκα αυτά δημιουργούνται με την προσθήκη ενός ή δυο υποκαταστατών στο μεταλλικό ιόν. Παράδειγμα αποτελεί το σύμπλοκο υψηλού σπίν Fe(III)- πρωτοπορφυρίνη IX (αίμη).

Ενεργειακό πρόβλημα και εφαρμογές πορφυρινών

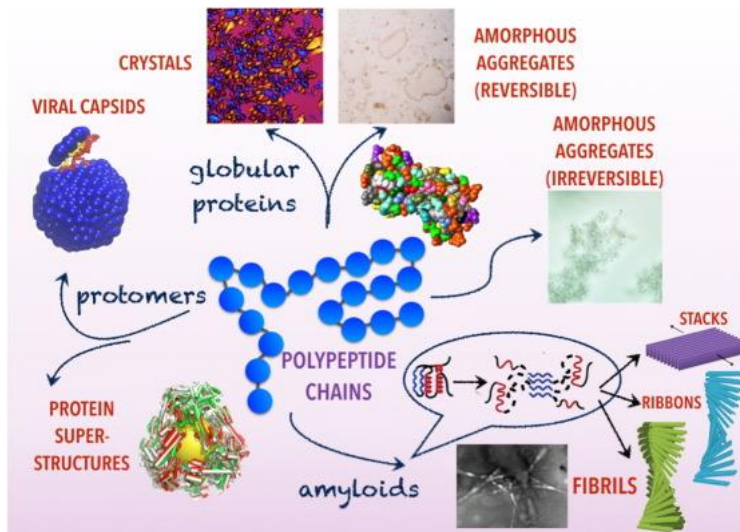
Ατμοσφαιρική ρύπανση είναι η ρύπανση της ατμόσφαιρας, δηλαδή η προσθήκη ουσιών στην ατμόσφαιρα που υπό φυσιολογικές συνθήκες δε θα υπήρχαν. Στη σύγχρονη εποχή, η ρύπανση συχνά είναι αποτέλεσμα της ανθρώπινης δραστηριότητας. Η ρύπανση της ατμόσφαιρας αποτελεί σοβαρό υγειονομικό, περιβαλλοντικό, κοινωνικό και οικονομικό πρόβλημα, γιατί τα αέρια που τη ρυπαίνουν, όπως το διοξείδιο του άνθρακα έχουν σοβαρές συνέπειες, όπως την υπερθέρμανση της γης, αναπνευστικά προβλήματα και άλλα προβλήματα υγείας.

Η συνεχώς αυξανόμενη ανάγκη για μείωση της ρύπανσης της ατμόσφαιρας στρέφει την επιστημονική κοινότητα σε καινοτόμα συστήματα. Ενδιαφέρον έχει αποδοθεί στις πορφυρίνες για την μίμηση της φυσικής φωτοσύνθεσης. Ακόμα, η σύνθεση των πορφυρινών και η διερεύνηση των φυσικό- και ηλεκτρο- χημικών ιδιοτήτων τους έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας. Το εκτενές συζυγιακό π σύστημα των πορφυρινών είναι κατάλληλο για την εφαρμογή τους ως δότες ηλεκτρονίων σε διαδικασίες φωτοεπαγώμενης μεταφοράς ηλεκτρονίων. Γι' αυτό, οι πορφυρίνες και τα παράγωγά τους έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως ως φωτοευαίσθητοποιητές λόγω της χημικής σταθερότητάς τους και της απορρόφησής τους στην ορατή περιοχή. Έτσι, λοιπόν, η πορφυρίνη μπορεί να λειτουργήσει ως ένα φωτοβολταϊκό κέντρο όταν ενωθεί με έναν αποδέκτη ηλεκτρονίων.

Το BDP, χρωμοφόρο είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό, ως υποκαταστάτης για πορφυρίνες και φθαλοκυανίνες, καθώς συνδυάζει υψηλή κβαντική απόδοση φθορισμού, σχετικά μεγάλη διάρκεια ζωής, καλή διεγερμένη κατάσταση ενέργειας και εξαιρετική φωτοσταθερότητα.

1.2 Αυτό-οργάνωση (self-assembling)

Η αυτοοργάνωση των πρωτεϊνών σε μικρής κλίμακας συμπλέγματα, διαδραματίζει ζωτικό βιολογικό ρόλο. Κάτω από ορισμένες συνθήκες, οι πρωτεΐνες αυτο-οργανώνονται σε διάφορες δομές που κυμαίνονται από nm έως μm σε μέγεθος. Η αυτοοργάνωση μπορεί να προκύψει από απλές αλλαγές στις συνθήκες διαλύματος (pH, θερμοκρασία, ιοντική ισχύς, κλπ.)



Εικόνα 1.8: Αυτο-οργάνωση πρωτεϊνών

Αυτό-οργάνωση της διφαινυλαλανίνης-πορφυρίνης (TPP-FF)

Ο πιο αποτελεσματικός μηχανισμός μετατροπής ενέργειας στη φύση είναι η μετατροπή των ηλιακών φωτονίων σε ηλεκτρόνια και έπειτα σε χημική ενέργεια μέσω της φωτοσύνθεσης. Η αξιοποίηση της ενέργειας που παράγεται από τον ήλιο είναι ως εκ τούτου μια ελπιδοφόρος οδός για την ανάπτυξη νέων πηγών ενέργειας. Τα λειτουργικά υβριδικά υλικά που αποτελούνται από ημιαγωγούς και οργανικά συστατικά, αποτελούν μια συναρπαστική νέα περιοχή έρευνας στην επιστήμη των σύγχρονων υλικών. Η καλύτερη εφαρμογή τέτοιων υβριδικών υλικών είναι η μετατροπή του ηλιακού φωτός σε ηλεκτρικό ρεύμα. Από την ανάπτυξη των DSSCs, η έρευνα πάνω στις οργανικές-ανόργανες φωτοβολταϊκές συσκευές έχει αυξηθεί πολύ. Επιπλέον, τα μόρια πορφυρίνης έχουν αναλυθεί από καιρό για χρήση ως φωτοευαίσθητοποιητές σε διάφορους τύπους ηλιακών κελιών. Οι αυτό-οργανωμένες (self-assembled) βιολογικές δομές (ιοί, πρωτεΐνες, πεπτίδια) μπορούν να χρησιμεύσουν ως πρότυπα για να παρασκευάσουμε δομές που θα είναι ικανές να διευκολύνουν τη μεταφορά ηλεκτρονίων και ενέργειας σε ένα διάλυμα.

Έχει πρόσφατα αποδειχθεί ότι τα οργανικά ηλιακά κελιά που αποτελούνται από μια σειρά ολιγομερών πορφυρίνης-πεπτιδίου παρουσιάζουν ενισχυμένη φωτοηλεκτροχημική απόδοση. Μεταξύ των αυτοοργανωμένων πεπτιδικών συστημάτων, τα πεπτίδια διφαινυλαλανίνης (FF) έχουν αναδειχθεί ως ένα καλά μελετημένο σύστημα. Έχει αποδειχθεί ότι οι νανοσωλήνες FF μπορούν να αντέξουν σε ακραίες συνθήκες. Δεδομένης της φυσικής αντοχής και της χημικής αντοχής των νανοσωλήνων-πεπτιδίων (PNTs), η συναρμογή τους με τμήματα πορφυρίνης φαίνεται πολύ ελκυστική. Ως εκ τούτου, επιδιώξαμε να συνδέσουμε τα τμήματα πορφυρίνης με πεπτίδια FF και να μελετήσουμε τις ιδιότητές τους. Αξιοσημείωτη ήταν η παρατήρηση ότι

η TPP-FF ανάλογα τις συνθήκες του διαλύματος μεταβάλλει το μέγεθος των σφαιρών της, καθώς αυτό-οργανώνεται.

Αυτοοργάνωση της διφαινυλαλανίνης συζευγμένης με BDP (FF-BDP)

Η επινόηση της φύσης για την αυτοοργάνωση μικρών μορίων σε πιο πολύπλοκες δομές έχει εμπνεύσει την έρευνα με στόχο το σχεδιασμό νέων υλικών με ξεχωριστές υπερμοριακές αρχιτεκτονικές. Τα βακτήρια που ζουν σε βαθιά νερά σχηματίζουν χλωροσώματα, ομόκεντρους ελικοειδείς νανοσωλήνες που παρασκευάζονται από τον αυτο-οργάνωση της βακτηριοχλωροφύλλης. Αυτές οι αυτο-οργανωμένες δομές είναι τα μεγαλύτερα και πιο αποδοτικά συστήματα μεταφοράς ηλεκτρονίων στη φύση. Παρά την τεράστια πρόοδο της αυτοοργάνωσης τα τελευταία χρόνια, κανένα τεχνητό σύστημα δεν έχει πλησιάσει την πολυπλοκότητα των χλωροσωμάτων.

Η BDP, είναι υψηλής απορρόφησης χρωμοφόρο με διακριτά φασματοσκοπικά χαρακτηριστικά, δηλαδή υψηλή κβαντική απόδοση φθορισμού, μεγάλη διάρκεια ζωής της διεγερμένης κατάστασης και εξαιρετική φωτοσταθερότητα. Λόγω των μοναδικών αυτών ιδιοτήτων, η BDP χρησιμοποιείται ευρέως ως μιμητικό των χλωροφυλλίων και των βακτηριοχλωροφυλλών στην τεχνητή φωτοσύνθεση. Παρόλο που πολλές μελέτες ασχολούνται με την ικανότητά των BDP να αυτο-συναρμολογούνται σε υπερμοριακές δομές, δεν υπάρχουν παραδείγματα που συνδυάζουν αμινοξέα ή πεπτίδια συζευγμένα με BDP. Η σύνθεση BDP-FF και η ικανότητά της να αυτο-οργανώνεται τράβηξε το ενδιαφέρον της έρευνάς μας και ασχοληθήκαμε περεταίρω με τη μελέτη της.

1.3 Αναλυτικές τεχνικές

NMR (Nuclear Magnetic Resonance)

Η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού είναι μια εξαιρετική τεχνική για τον προσδιορισμό της ταυτότητας μιας ένωσης και την απόδειξη της καθαρότητας του δείγματος. Επιπλέον, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για ποσοτική ανάλυση μιγμάτων που περιέχουν γνωστές ενώσεις. Η υψηλή ευαισθησία και η αποτελεσματικότητα αυτής της τεχνικής το καθιστούν απαραίτητο εργαλείο για όλους τους συνθετικούς χημικούς. Η ταυτότητα και η καθαρότητα των ενώσεων που συντέθηκαν σε αυτή την εργασία αποδείχθηκαν με φασματοσκοπία ^1H και ^{13}C 1D NMR καθώς και COZY, HSQC και HMBC, 2D NMR, μετρούμενα σε φασματόμετρα Bruker DPX-300 MHz αι Bruker AVANCE III-500 MHz.



Εικόνα 1.9: Bruker DPX-300 MHz και Bruker AVANCE III-500 MHz

MALDI-TOFF

Στη φασματομετρία μάζας, ο ιονισμός με τη βοήθεια μήτρας είναι μια τεχνική ιονισμού που χρησιμοποιεί ένα λέιζερ για να δημιουργήσει ιόντα με θρυμματισμό μεγάλων μορίων σε μικρά. Έχει εφαρμοστεί στην ανάλυση βιομορίων και μεγάλων οργανικών μορίων, τα οποία τείνουν να είναι εύθραυστα όταν ιονίζονται με πιο συμβατικές μεθόδους ιοντισμού. Το MALDI τυπικά παράγει πολύ λίγα ιόντα πολλαπλών φορτίων (συνήθως τα ιόντα έχουν φορτίο ± 1). Επομένως, έχει αποδειχθεί ότι είναι μια πραγματικά σημαντική τεχνική για την ποιοτική ταυτοποίηση της επιθυμητής ένωσης με ανίχνευση του αντίστοιχου μοριακού ιόντος. Τα φάσματα μάζας υψηλής ανάλυσης λήφθηκαν από ένα Bruker Microflex LRF20 (MALDI-TOF) χρησιμοποιώντας DCTB ως matrix.



Εικόνα 1.10: Maldi-TOFF

SEM (ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης)

Ένα ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) είναι ένας τύπος ηλεκτρονικού μικροσκοπίου που παράγει εικόνες ενός δείγματος με σάρωση της επιφάνειας με εστιασμένη δέσμη ηλεκτρονίων. Τα ηλεκτρόνια αλληλεπιδρούν με τα άτομα στο δείγμα, παράγοντας διάφορα σήματα που περιέχουν πληροφορίες σχετικά με την επιφάνεια και τη σύνθεση της επιφάνειας του δείγματος. Η δέσμη ηλεκτρονίων σαρώνεται σε ένα σχέδιο ράστερ σάρωσης και η θέση της δέσμης συνδυάζεται με το σήμα που ανιχνεύεται για να παράγει μια εικόνα. Το SEM μπορεί να επιτύχει ανάλυση μεγαλύτερη από 1 νανόμετρο. Τα δείγματα μπορούν να παρατηρηθούν σε υψηλό κενό σε συμβατικά SEM ή σε συνθήκες χαμηλού κενού ή υγρού σε μεταβαλλόμενη πίεση ή περιβαλλοντική SEM και σε ευρύ φάσμα κρυογονικών ή υψηλών θερμοκρασιών με ειδικά εργαλεία. Η πιο συνηθισμένη λειτουργία SEM είναι η ανίχνευση δευτερογενών ηλεκτρονίων που εκπέμπονται από τα άτομα που διεγείρονται από τη δέσμη ηλεκτρονίων. Ο αριθμός των δευτερογενών ηλεκτρονίων που μπορούν να ανιχνευθούν εξαρτάται, μεταξύ άλλων, από την τοπογραφία του δείγματος. Με τη σάρωση του δείγματος και τη συλλογή των δευτέρων ηλεκτρονίων που εκπέμπονται χρησιμοποιώντας ειδικό ανιχνευτή, δημιουργείται μια εικόνα που απεικονίζει την τοπογραφία της επιφάνειας. Τα εργαλεία SEM είναι συνήθως εξοπλισμένα με συστήματα EDS. Τα συστήματα EDS

περιλαμβάνουν έναν ευαίσθητο ανιχνευτή ακτίνων X και ένα λογισμικό για τη συλλογή και ανάλυση ενεργειακών φάσεων. Στην ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης, εκπέμπεται μια ακτινογραφία όταν η δέσμη ηλεκτρονίων μετατοπίζει ένα εσωτερικό κέλυφος ηλεκτρονίων που αντικαθίσταται από ένα εξωτερικό κέλυφος ηλεκτρονίων. Επειδή κάθε στοιχείο έχει μια μοναδική διαφορά ενέργειας μεταξύ του εξωτερικού και του εσωτερικού κελύφους ηλεκτρονίων, οι ακτίνες X που ανιχνεύονται αποδίδουν στοιχειακή αναγνώριση. Τα δεδομένα EDS μπορούν να ληφθούν σε ένα σημείο, κατά μήκος μιας γραμμής ή χαρτογραφημένα σε μια περιοχή. Οι δομές των δειγμάτων μπορούν να εξεταστούν φυσικά και να προσδιοριστεί η στοιχειακή σύνθεσή τους. Τα πειράματα SEM πραγματοποιήθηκαν στο Τμήμα Βιολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης χρησιμοποιώντας μικροσκόπιο JEOL JSM-6390LV που λειτουργεί σε 15 και 20kV (για παρατηρήσεις SEM) και JEOL JSM 7000F (FESEM) που λειτουργούν στα 15 kV.



Εικόνα 1.11: Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης

UV Φασματοσκοπία

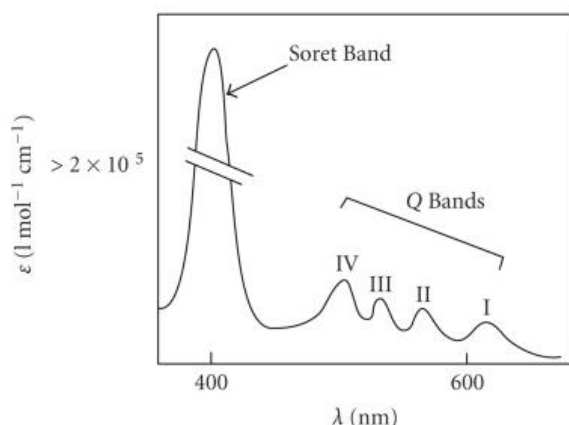
Η φασματοσκοπία UV-Vis αναφέρεται σε φασματοσκοπία απορρόφησης στην φασματική περιοχή του υπεριώδους-ορατού. Αυτό σημαίνει ότι χρησιμοποιεί το φως στις ορατές και γειτονικές σειρές. Παρέχει πληροφορίες σχετικά με τη δομή των ενώσεων μετά τη μελέτη του φάσματος της βασικής και διεγερμένης κατάστασης. Το μήκος κύματος της ακτινοβολίας

κυμαίνεται μεταξύ 200-800nm. Η φασματοσκοπία UV-Vis χρησιμοποιεί το νόμο Beer-Lambert, σύμφωνα με το οποίο η απορρόφηση ακτινοβολίας από ένα δείγμα είναι ανάλογη της συγκέντρωσής του.

Ειδικότερα: $A = \epsilon \times b \times C$,

- όπου A είναι η απορρόφηση
- ϵ είναι η γραμμομοριακή απορροφητικότητα
- b είναι το πάχος του κυττάρου
- C είναι η συγκέντρωση του δείγματος

Οι πορφυρίνες παρουσιάζουν έντονη απορρόφηση ακτινοβολίας μήκους κύματος που βρίσκεται στην περιοχή του UV-Vis. Αυτό οφείλεται στα έντονα 18 π αρωματικά ηλεκτρόνια που εμφανίζονται. Τα φάσματα πορφυρίνης αποτελούνται από έναν αριθμό ζωνών που είναι χαρακτηριστικές για κάθε πορφυρίνη επειδή το φάσμα εξαρτάται από τη φύση των υποκατάστατων αλλά και από το κεντρικό μέταλλο. Οι ζώνες απορρόφησης που εμφανίζονται χωρίζονται σε δύο ομάδες. Στο φάσμα πορφυρίνης, υπάρχουν οι ζώνες Soret και οι Q. Το Soret είναι μια ζώνη με υψηλή απορρόφηση και εμφανίζεται στην περιοχή 380-420 nm. Οι ζώνες Q αποτελούνται από τέσσερις ζώνες χαμηλής απορρόφησης για την πορφυρίνη ελεύθερης βάσης (χωρίς κεντρικό μέταλλο). Για τις πορφυρίνες μετάλλων εμφανίζονται 2 ζώνες, επειδή η συμμετρία τους είναι μεγαλύτερη σε σχέση με την αναλογία της ελεύθερης βάσης πορφυρίνης. Αυτό σημαίνει ότι υπάρχουν λιγότερες δυνατές μεταβάσεις, δηλαδή λιγότερες μπάντες. Οι ζώνες Q εμφανίζονται στην περιοχή των 500-700nm.



Εικόνα 1.12: Soret και Q μπάντες.

Για να ληφθεί ένα φάσμα UV-Vis, χρησιμοποιήσαμε το φασματόμετρο που απεικονίζεται στην παρακάτω εικόνα, το οποίο είναι ένα PharmaSpect UV-1700. Η βασική λειτουργία ενός φασματόμετρου είναι να πάρει σήμα στο φως, να σπάσει τα φασματοσκοπικά συστατικά του,

να ψηφιοποιήσει το σήμα ως συνάρτηση του μήκους κύματος και να το διαβάσει και να το επιδείξει μέσω υπολογιστή.



Εικόνα 1.13: Φασματοφωτόμετρο UV-Vis

2. Στόχος της εργασίας

Στην φύση υπάρχουν πολυάριθμες καλά οργανωμένες δομές όπως πρωτεΐνες, κύτταρα και ιστοί, οι οποίες επιτελούν σημαντικές λειτουργίες και αποτελούν πηγή έμπνευσης για τους χημικούς υπερμοριακής χημείας. Οι τελευταίοι έχουν μελετήσει μια ποικιλία μοριακών δομικών λίθων για την ικανότητά τους να αυτό-οργανώνονται σε nano και micro δομές με ενδιαφέρουσες ιδιότητες. Η αυτό-οργάνωση μικρών μορίων είναι μια καλά μελετημένη bottom up μέθοδος για την δημιουργία τέτοιων δομών. Παρόλο που αρκετά μόρια έχουν μελετηθεί για αυτό-οργάνωση είναι δύσκολο να προβλέψει ή να κατευθύνει κάποιος το είδος των δομών που θα προκύψουν.

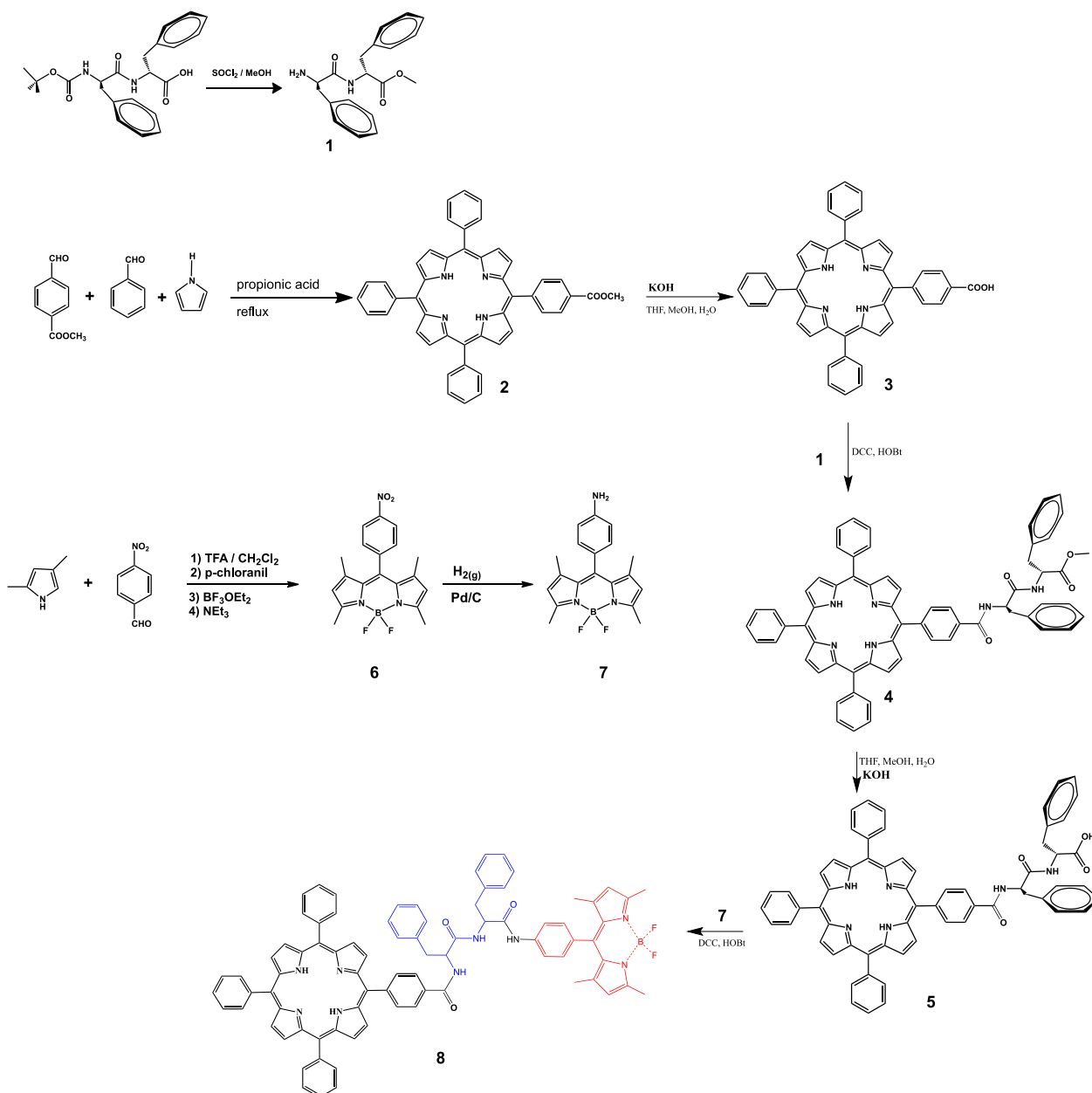
Τα πεπτίδια αποτελούν καλά υποσχόμενες οντότητες για μοριακή αυτό-οργάνωση λόγω των χημικών και φυσικών ιδιοτήτων τους και αποτελούν ένα από τους βασικούς κλάδους της βιοτεχνολογίας. Το πιο καλά μελετημένο δι-πεπτίδιο σε αυτόν τον τομέα είναι η διαφαινυλαλανίνη (PhePhe). Σε παλαιότερες ερευνητικές εργασίες στο εργαστήριο Βιοανόργανης έγινε ομοιοπολική σύζευξη του δι-πεπτιδίου με χρωμοφόρα όπως πορφυρίνες, κορρόλες, βορον-διπυρομεθένια και polyoxometalates και έδειξαν ότι η ικανότητα αυτό-οργάνωσης παραμένει και στις υβριδικές ενώσεις. Η σύζευξη BODIPY ή TPP με FF είναι ικανή να σχηματίσει υλικά που έχουν την ικανότητα να αυτοδιοργανώνονται με διαφορετικές μορφολογίες. Αλλάζοντας διάφορες παραμέτρους όπως η ομάδα προστασίας του πεπτιδίου FF ή τους διαλύτες της διαδικασίας αυτο-συναρμολόγησης, έχουμε τη δυνατότητα να

αποκτήσουμε είτε ραβδόμορφες είτε σφαιρικές νανοδομές. Ο σχηματισμός και η διάσπαση της αυτοοργάνωσης είναι μια αναστρέψιμη διαδικασία που μπορεί να επιτευχθεί με απλή αλλαγή του μίγματος διαλυτών.

Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας συνθέσαμε και να μελετήσαμε την αυτό-οργάνωση της τριάδας **TPP-FF-BDP**. Η ένωση αυτή μπορεί να μελετηθεί και σε διεργασίες μεταφοράς ενέργειας ή ηλεκτρονίων καθώς διαθέτει δύο χρωμοφόρα και μάλιστα σε εκτεταμένη συζυγία μεταξύ τους. Η ταυτοποίηση νεοσυντιθόμενων ενώσεων έγινε με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR), με φασματομετρία υπεριώδους – ορατού (UV-Vis) και με φασματομετρία μάζας (MS, MALDI).

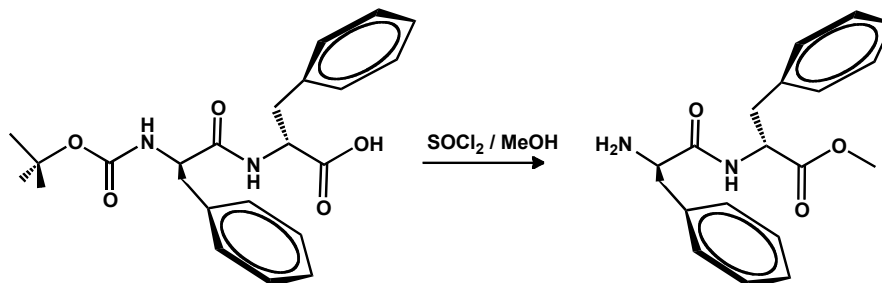
3. Πειραματικό Μέρος

Συνολική συνθετική πορεία της TPP-FF-BDP.



[Υποσημείωση: ο αριθμός στην παρένθεση αναφέρεται στην εκάστοτε συνθετική πορεία σύμφωνα με την παραπάνω εικόνα.]

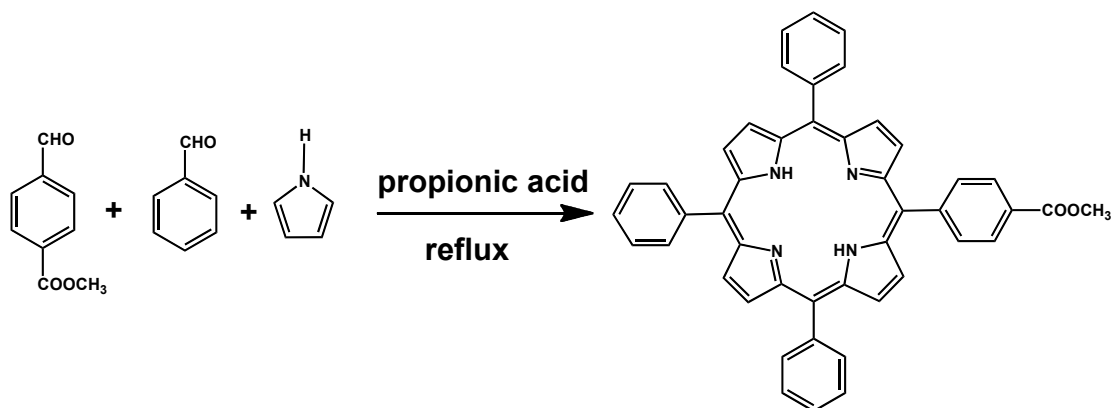
(1) Αντίδραση N-αποπροστασίας και C-προστασίας της Boc-Phe-Phe-OH.



Πειραματική διαδικασία:

Σε σφαιρική των 25 ml τοποθετήθηκαν 75mg της προστατευμένης διφαινυλαλανίνης Boc-Phe-Phe-OH και 6,0 ml μεθανόλης. Η συσκευή τοποθετήθηκε σε παγόλουτρο και συσκευή ανάδευσης. Προστέθηκαν στάγδην και υπό ανάδευση 0,7 ml θειόνυλο χλωρίδιο SOCl_2 και το διάλυμα της αντίδρασης αφέθηκε σε θερμοκρασία δωματίου overnight. Στήθηκε η διάταξη της απόσταξης υπό κενό, με παγίδα ξηρού πάγου σε ακετόνη, και αποστάχθηκε αρχικά η μεθανόλη. Με αύξηση της θερμοκρασίας περίπου στους 50°C αποστάχθηκε και το SOCl_2 . Πραγματοποιήθηκε ανακρυστάλλωση με εξάνιο ως κακό διαλύτη και διχλωρομεθάνιο ως καλό. Παρατηρήθηκε ότι το CH_2Cl_2 δεν διαλύει αρκετά καλά το προϊόν. Μετά την ανακρυστάλλωση έγινε διήθηση υπό κενό. Πήραμε ^1H NMR της ένωσης που παρασκευάσαμε, με διαλύτη το δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3) και επιβεβαιώσαμε τη σύνθεση της ένωσής μας.

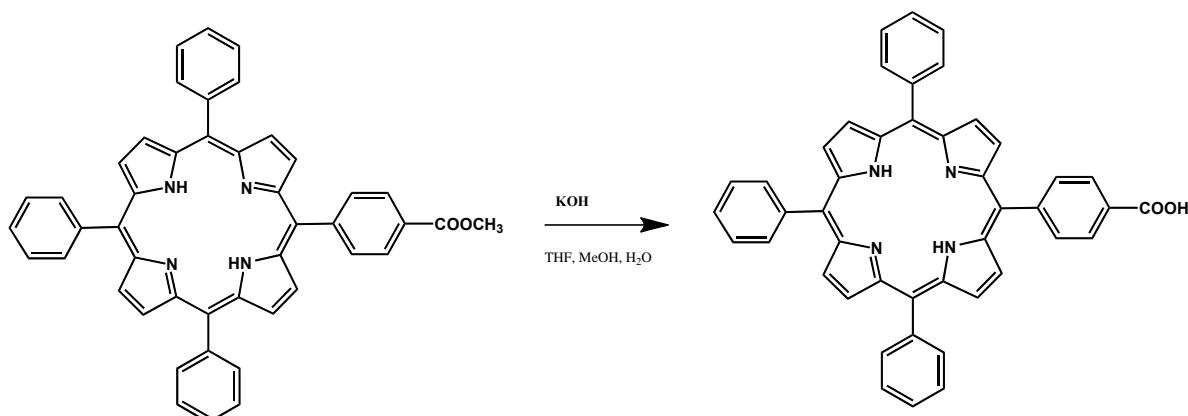
(2) Σύνθεση της ένωσης 5-[4-(Methoxycarbonyl)phenyl]-10,15,20-triphenyl porphyrin.



Πειραματική διαδικασία:

Σε σφαιρική φιάλη των 250ml τοποθετείται βενζαλδεύδη (0.70 mL, 6.89 mmol), methyl 4-formylbenzoate (377 mg, 2.30 mmol) και προπιονικό οξύ (40 mL). Η αντίδραση θερμαίνεται στους 100 °C και πραγματοποιείται η προσθήκη του πυρρολίου (0.64 mL, 9.20 mmol) προσεκτικά και στάγδην. Περιμένουμε η θερμοκρασία να φτάσει στους 140°C. Το μίγμα της αντίδρασης καλύπτεται από το φως με αλουμινόχαρτο και αφήνεται σε συνθήκες reflux για 3 ώρες. Το διάλυμα ψύχεται μέχρι να φτάσει σε θερμοκρασία δωματίου και έπειτα πραγματοποιείται κατεργασία με μεθανόλη και νερό. Το ίζημα καταβυθίζεται και ξεπλένεται με νερό σε χωνί διήθησης υπό κενό. Τοποθετούμε σε φούρνο κενού για επιπλέον ξήρανση. Το μίγμα φιλτράρεται με τη χρήση χρωματογραφίας στήλης με στατική φάση Silica gel και ως διαλύτης έκλυσης CH₂Cl₂:Hexane (4:6) για να παρατηρηθεί η παραπάνω ένωση ως ένα σκούρο μωβ στερεό. Απόδοση (16%).

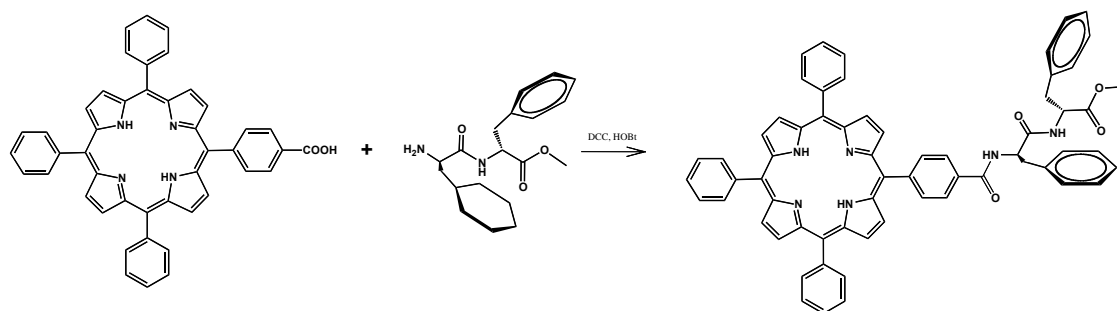
(3) Σύνθεση της ένωσης TPP-COOH.



Πειραματική διαδικασία:

Σε σφαιρική των 100ml που περιείχε το ίζημα προστέθηκε 0,65gr KOH διαλυμένα σε 10ml απιονισμένο νερό, 20ml THF και 8,5ml MeOH. Το διάλυμα αφέθηκε υπό ανάδευση για 24hours. Έπειτα, κάναμε TLC με την ένωση της σφαιρικής και TPP-COOMe, για να διαπιστώσουμε αν έχουμε την αρχική TPP-COOH ένωση. Η απουσία ύπαρξης του αρχικού προϊόντος, προχωράει τη διαδικασία ένα βήμα περαιτέρω ρίχνοντας το pH στο 4 (με HCl 1M) και αποστάζοντας το THF σε θερμοκρασία και πίεση 300bar έως ότου έχω μόνο νερό. Το διηθήουμε και έπειτα κάνουμε πολλές πλύσεις με απιονισμένο νερό. Τοποθετούμε την ένωση μας σε φούρνο υπό κενό.

(4) Σύνθεση της TPP-CO-NH-FF-OMe.

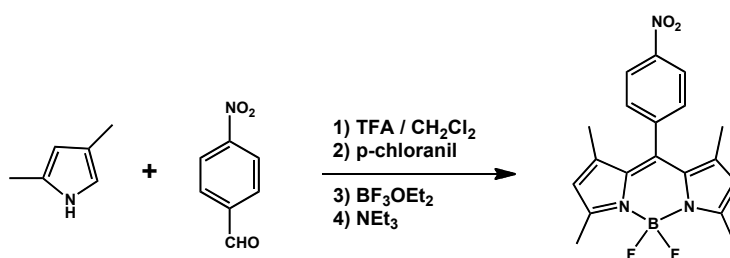


Πειραματική διαδικασία:

Μάζα αντιδρώντων	Μοριακό βάρος (Mr)	mmol	Ισοδύναμα
$m_{\text{TPP-COOH}}=38,4\text{mg}$	658,75	0,058mmol	1eq
$m_{\text{DCC}}=13,20\text{mg}$	206,33	0,064mmol	1,1eq
$m_{\text{HOBT}}=8,65\text{mg}$	135,12	0,064mmol	1,1eq
$m_{\text{FF-NH}_2}=20,88\text{mg}$	326,39	0,064mmol	1,1eq

Σε σφαιρική η οποία βρίσκεται σε παγόλουτρο προσθέτω τα αντιδραστήρια TPP-COOH, DCC, HOBT στις παραπάνω ποσότητες. Έπειτα από μισή ώρα προσθέτω FF-NH₂. Αφήνω overnight. Πραγματοποιούμε TLC, και εφόσον δεν έχει πραγματοποιηθεί η αντίδραση τοποθετούμε τριαιθυλαμίνη και FF προκειμένου να επιτύχουμε το παραπάνω αποτέλεσμα. Με TLC ελέγγω την επιτυχή σύνθεση της ένωσης μας.

(6) Σύνθεση της BDP-NO₂.

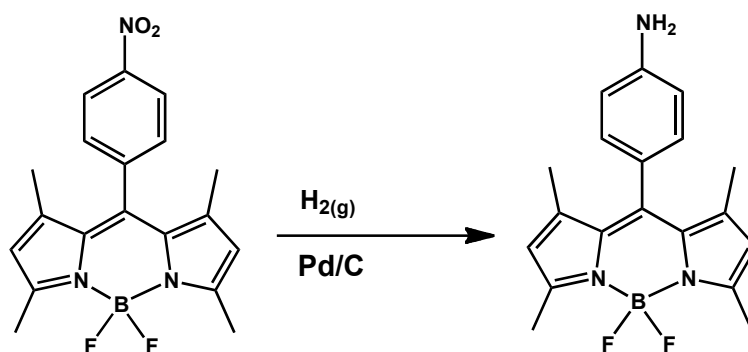


Πειραματική Διαδικασία:

Σε δίλιμη σφαιρική φιάλη με των 250 ml τοποθετήθηκαν 0,5 gr 4-nitrobenzaldehyde και 100 ml άνυδρου CH₂Cl₂. Προστέθηκαν 0,75 ml 2,4-dimethylpyrrole και εφαρμόστηκε ροή Ar με ειδικό επίθεμα. Με το πέρας 5 λεπτών προστέθηκαν 25 μl TFA με σύριγγα Hamilton. Αφαιρέθηκε η ροή αργού, σφραγίστηκε η σφαιρική φιάλη με πώματα και καλύφθηκε με αλουμινόχαρτο. Αφήθηκε υπό ανάδευση overnight σε θερμοκρασία δωματίου. Στην συνέχεια

διαλύθηκαν 0,814 gr p-chloranil (Tetrachloro-1,4-benzoquinone) σε 10 ml dry DCM και προστέθηκαν στην φιάλη της αντίδρασης. Έπειτα από 30 λεπτά προστέθηκαν 7,6 ml $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, αφέθηκε για ακόμη 5 λεπτά και μετά προστέθηκαν 7,8 ml τριαιθυλαμίνης NEt_3 . Αφέθηκε υπό ανάδευση για 6 ώρες και ακολούθησαν 3 εκχυλίσσεις με νερό. Συλλέχθηκε η οργανική φάση (DCM), αποστάχθηκε ο διαλύτης και αποθηκεύτηκε στην κατάψυξη. Διαλύθηκε η ποσότητα του ακάθαρτου προϊόντος σε DCM και πραγματοποιήθηκε φιλτράρισμα με κολώνα SiO_2 με διαλύτη DCM. Πραγματοποιήθηκε κολώνα καθαρισμού με SiO_2 διαστάσεων 3,5 cm x 10 cm και μίγμα διαλυτών DCM : Hexane σε αναλογία 20:80. Η ίδια κολώνα επαναλήφθηκε ακόμη μία φορά για τον καλύτερο καθαρισμό της BDP- NO_2 . Η πορεία καθαρισμού παρακολουθείτο με χρωματογραφία TLC και ελήφθησαν διαγράμματα MALDI-TOF και φάσματα NMR ^1H που επιβεβαίωσαν την σύνθεση του επιθυμητού προϊόντος.

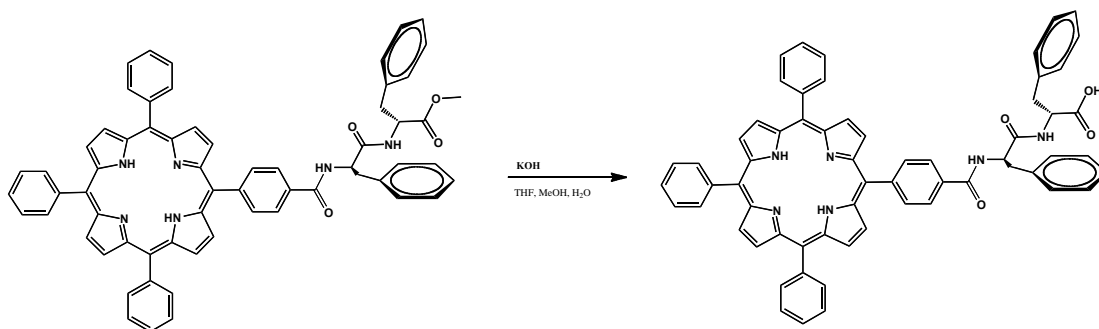
(7) Σύνθεση της BDP- NH_2 .



Πειραματική Διαδικασία:

Σε δίλιμη σφαιρική με βιδωτά εσμιρίσματα εφαρμόζουμε κενό και ανοίγουμε τη ροή αργού για να καθαρίσουμε τη σφαιρική. Προσθέτουμε μαγνητάκι, τη BDP- NO_2 (260mgr) και τον καταλύτη (Pd 10%/C). Έπειτα εισάγουμε 40ml dry THF (0,889gr/ml), 180μl Et_3N (0,7255gr/ml- $M_r=101,19$). Όλα τα αντιδραστήρια προστέθηκαν υπό ροή αργού (Ar). Προσαρμόστηκε λαστιχένιο πάμα με septum και δημιουργήσαμε ατμόσφαιρα H_2 (με τη βοήθεια μπαλονιού). Εφαρμόζω κενό-δημιουργώ ατμόσφαιρα H_2 εναλλάξ μέχρι να βεβαιωθώ ότι υπάρχει μόνο υδρογόνο στην ατμόσφαιρα της αντίδρασης. Αφήνουμε την αντίδρασή μας υπό ανάδευση για 2hours σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια κάνουμε διήθηση με Calcete σε χωνάκι, διαδικασία με την οποία απομακρύνεται ο καταλύτης (Pd/C). Το διήθημα αποστάζεται μέχρι ξηρού και η σφαιρική αποθηκεύεται στο ψυγείο. Στήνουμε κολώνα μεσαίας διαμέτρου και φορτώνουμε τις ουσίες για τον καθαρισμό της BDP- NH_2 . Η σειρά των διαλυτών για την απομόνωση του επιθυμητού κλάσματος ήταν $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Hexane}$ 6:4 έπειτα 8:2 και εν τέλει καθαρό CH_2Cl_2 . Αποστάζουμε και σποτάρουμε για MALDI-TOF.

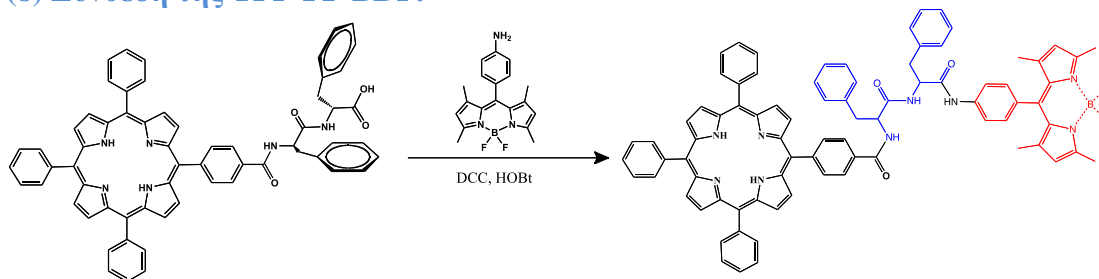
(5) Σύνθεση της TPP-FF-COOH.



Πειραματική διαδικασία:

Διαλύω με 20ml THF τα 30mg της TPP-COOMe και προσθέτω 3pellet ($\cong 0,65\text{gr}$) KOH σε 10ml απιονισμένου H_2O (εξώθερμη αντίδραση). Ξεπλένω τον ογκομετρικό με 8ml MeOH για να πάρω τυχόν υπολείμματα. Σκεπάζω με αλουμινόχαρτο και αφήνω υπό ανάδευση overnight. Ελέγχω με TLC ($\text{MeOH } 1\%/\text{CH}_2\text{Cl}_2$) για τον έλεγχο πραγματοποίησης της αντίδρασης. Δηθύουμε υπό κενό και κάνουμε πολλές πλύσεις με απιονισμένο νερό. Ξηραίνουμε την ένωση μας σε φούρνο κενού χωρίς θέρμανση.

(8) Σύνθεση της TPP-FF-BDP.

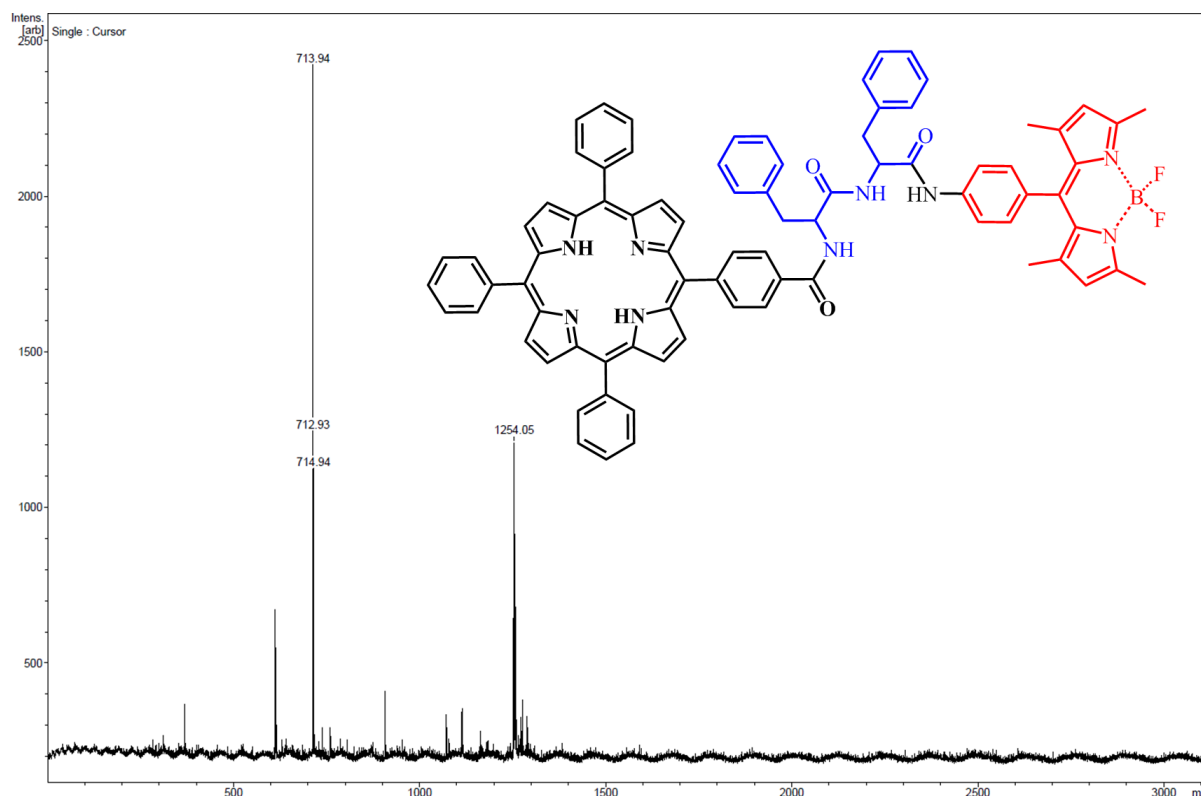


Πειραματική διαδικασία:

Σε σφαιρική των 10ml τοποθετούμε 20mg TPP-FF-COOH ($M_r=953,09\text{-mmol}=0,02\text{-}1\text{eq}$), 4,54mg DCC ($M_r=206,33\text{gr/mol}$ $n=0,022\text{mmol}$ 1,1eq), 2,97mg HOBT ($M_r=135,12$ gr/mol $n=0,0220\text{mmol}$ 1,1eq), 2ml DCM και $2,78 \cdot 10^{-3}\text{ml}$ Et_3N ($d=0,7255\text{gr/ml}$ $M_r=101,19$ gr/ml $n=0,02\text{mmol}$ 1eq). Έπειτα από 30 min τοποθετούμε 7,46mg BDP- NH_2 ($M_r=339,18\text{-mmol}=0,022$ 1,1eq). Αφήνουμε overnight την αντίδραση. Πραγματοποιούμε TLC προκειμένου να διαπιστώσουμε αν διεξήχθη η αντίδραση. Κάνουμε εκχύλιση με νερό ως υδατική φάση και CH_2Cl_2 ως οργανική. Κρατάμε την οργανική φάση και αποστάζουμε. Πραγματοποιούμε κολώνα με $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH } 2\%$. Συλλέγουμε το TPP-FF-BDP.

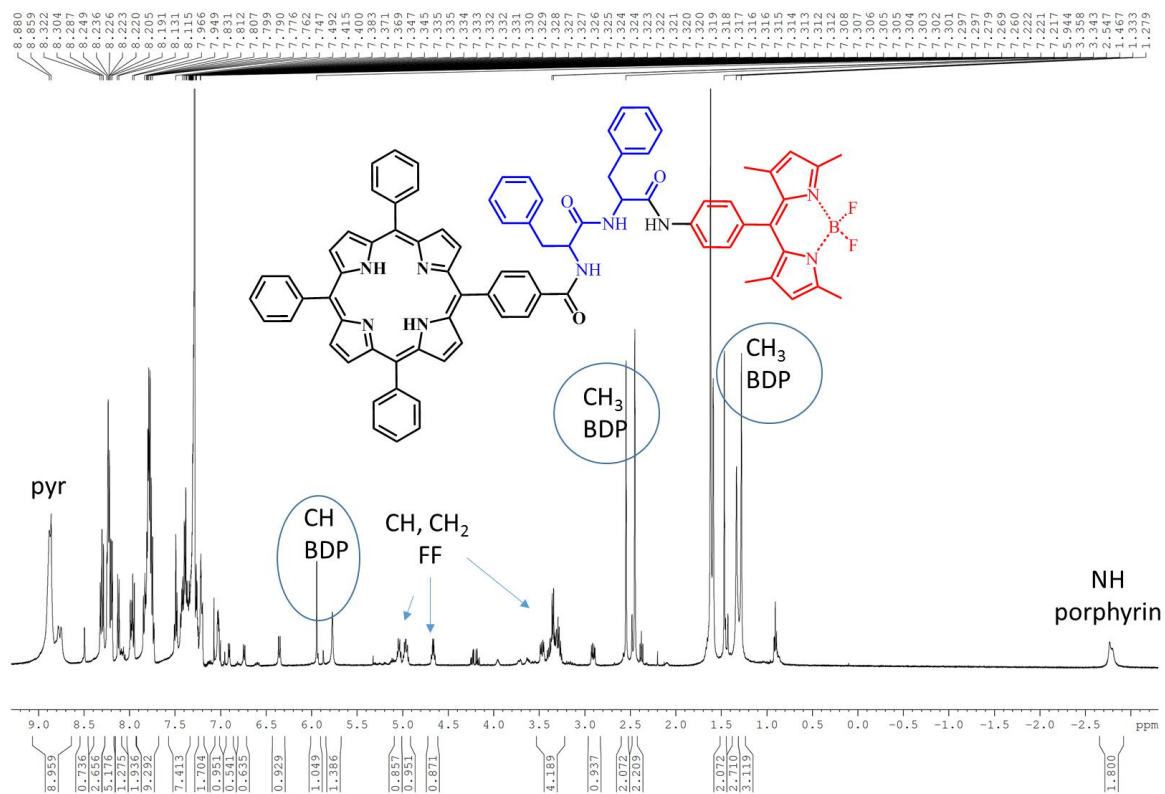
4. Συζήτηση και ανάλυση αποτελεσμάτων

Η επιτυχής σύνθεση της **TPP-FF-BDP** επιβεβαιώθηκε με φασματομετρία μάζας MALDI-TOF όπου εμφανίζεται το μοριακό ιόν της ένωσης (μείον ένα άτομο F).



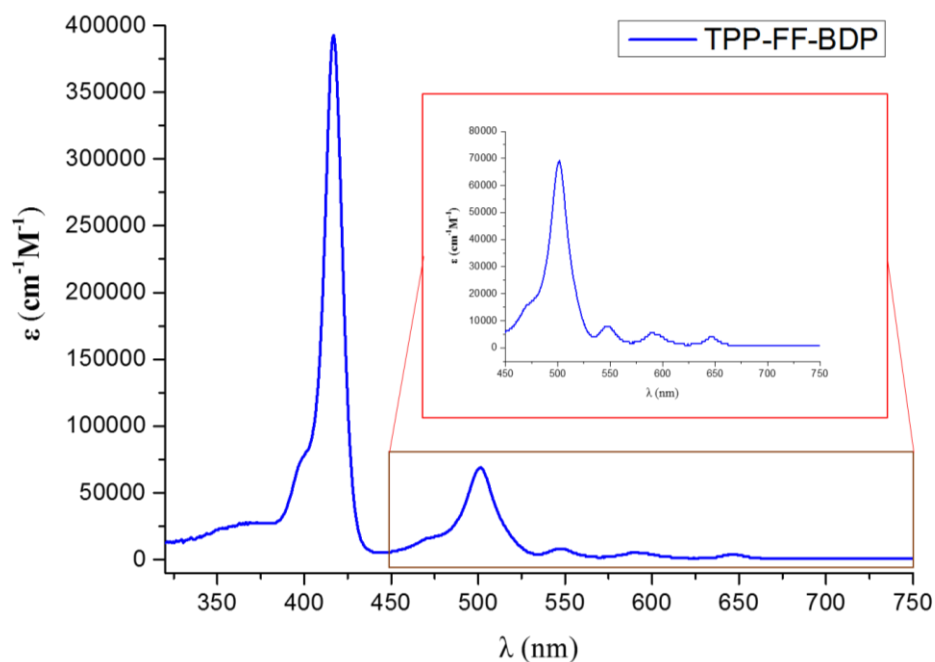
Διάγραμμα 4.1: MALDI-TOFF για την ταυτοποίηση της TPP-FF-BDP.

Στο φάσμα NMR που ελήφθη σε διαλύτη CDCl_3 , διακρίνονται αρκετές χαρακτηριστικές κορυφές της ομάδας της πορφυρίνης και της διφαινυλαλανίνης και της BODIPY, όμως το φάσμα στην περιοχή των αρωματικό είναι αρκετά μπερδεμένο. Έτσι, δεν είναι εύκολο να αποσαφηνιστεί αν η ένωση είναι πλήρως καθαρή.



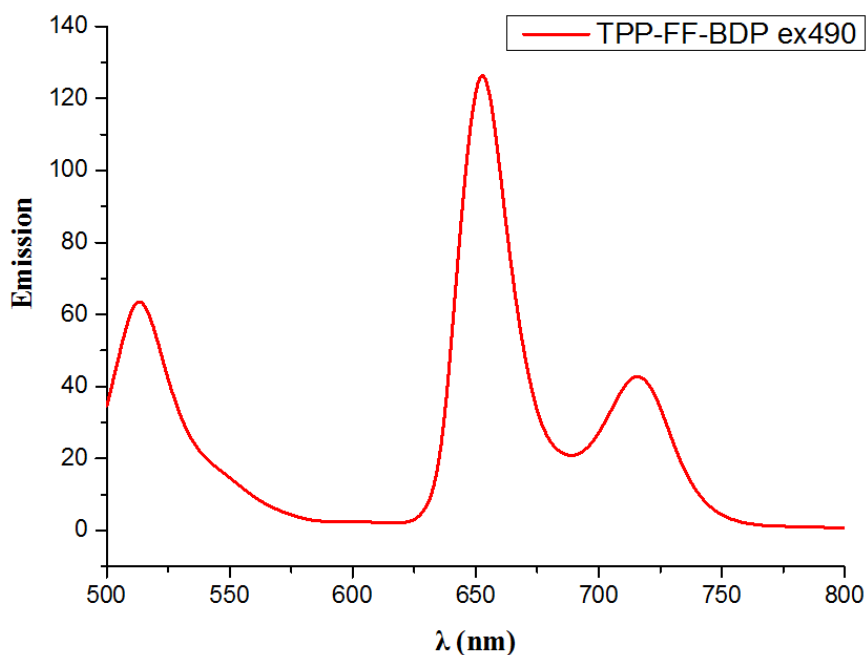
Διάγραμμα 4.2: Φάσμα NMR για την ταυτοποίηση της TPP-FF-BDP.

Ελήφθησαν φάσματα απορρόφησης UV-Vis και φθορισμού τα οποία παρατίθενται παρακάτω. Η γαλάζια ταινία ανήκει στην TPP-FF-BDP, η οποία όταν διαλύθηκε σε διχλωρομεθάνιο, μας έδωσε μια οξεία κορυφή, μεγάλης έντασης που ονομάζεται ταινία Soret και τέσσερις κορυφές μικρότερης έντασης, τις ταινίες Q. Οι κορυφές οφείλονται σε μεταπτώσεις $\pi-\pi^*$, δηλαδή σε s μεταβάσεις ηλεκτρονίων και μπορούν να ερμηνευτούν με βάση το μοντέλο τεσσάρων τροχιακών του Γκούτερμαν. Η συγκεκριμένη θεωρία υποστηρίζει ότι οι απορροφήσεις σε πορφυρινικά συστήματα πηγάζουν από μεταπτώσεις μεταξύ δύο HOMO και δύο LUMO τροχιακών. Είναι οι ταυτότητες των μεταλλικών κέντρων και των υποκαταστατών που επηρεάζουν τις ενέργειες μετάπτωσης. Με την ανάμειξη αυτές οι δύο καταστάσεις διχωρίζονται ενεργειακά δημιουργώντας μια υψηλότερη ενεργειακή κατάσταση, την κορυφή Soret και μια κατάσταση χαμηλότερης ενέργειας δημιουργώντας τις ζώνες Q. Ακόμη η ομάδα της BODIPY απορροφάει περίπου στα 500 nm, ταινία η οποία και πάλι οφείλεται σε $\pi - \pi^*$ μεταβάσεις. Σύμφωνα λοιπόν με το παρακάτω φάσμα η ταινία απορρόφησης του TPP-FF-BDP έχει μία οξεία κορυφή στα 417nm περίπου και τρεις χαμηλότερης έντασης Q στα 547nm, 590nm και 646nm που οφείλονται στην ομάδα της πορφυρίνης και μια στα 501,5nm που οφείλεται στην BDP. Η πρώτη κορυφή Q της πορφυρίνης επικαλύπτεται από την κορυφή της BDP.



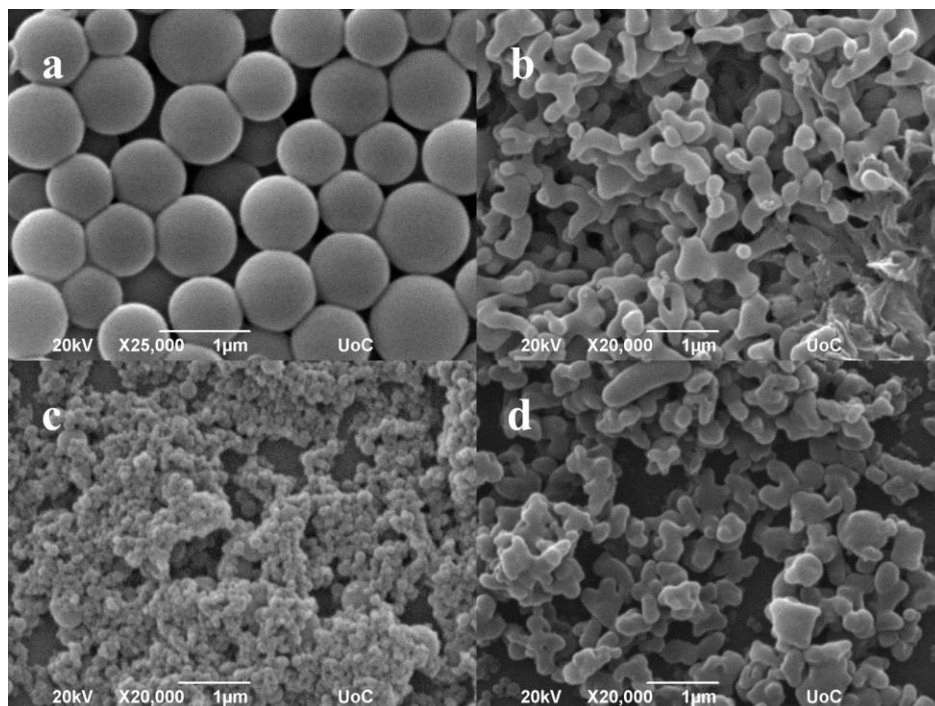
Διάγραμμα 4.3: Φάσμα UV-Vis 300-750nm.

Ακόμη ελήφθησαν φάσματα φθορισμού, όπου φαίνεται ο φθορισμός της ομάδας BDP στα 513 nm και του πορφυρινικού τμήματος στα 653 nm και στα 716 nm. Η διέγερση έγινε στα 490 nm, περιοχή που απορροφάει η BDP και το γεγονός ότι εμφανίστηκε φθορισμός χαρακτηριστικός για πορφυρίνη υποδηλώνει πιθανή ηλεκτρονική επικοινωνία στην διεγερμένη κατάσταση μεταξύ των τμημάτων της BDP προς το τμήμα της TPP. Περαιτέρω φασματοσκοπικές μελέτες απαιτούνται για την επιβεβαίωση και την περαιτέρω διερεύνηση της διαδικασίας.



Διάγραμμα 4.4: Φάσμα φθορισμού της TPP-FF-BDP 500-800nm.

Τέλος, η ένωση TPP-FF-BDP, μελετήθηκε με ηλεκτρονική φασματοσκοπία σάρωσης η οποία σε διαλύτη DCM/EtOH 2:8 αυτοοργανώθηκε σχηματίζοντας ομοιόμορφες σφαίρες, όπως φαίνεται παρακάτω.



Εικόνα 4.1: Εικόνες SEM της TPP-FF-BDP 1 mM σε a) DCM-EtOH 2:8, b) DCM-Heptane 2:8, c) DMSO-H₂O 2:8, d) MeCN-H₂O 2:8.

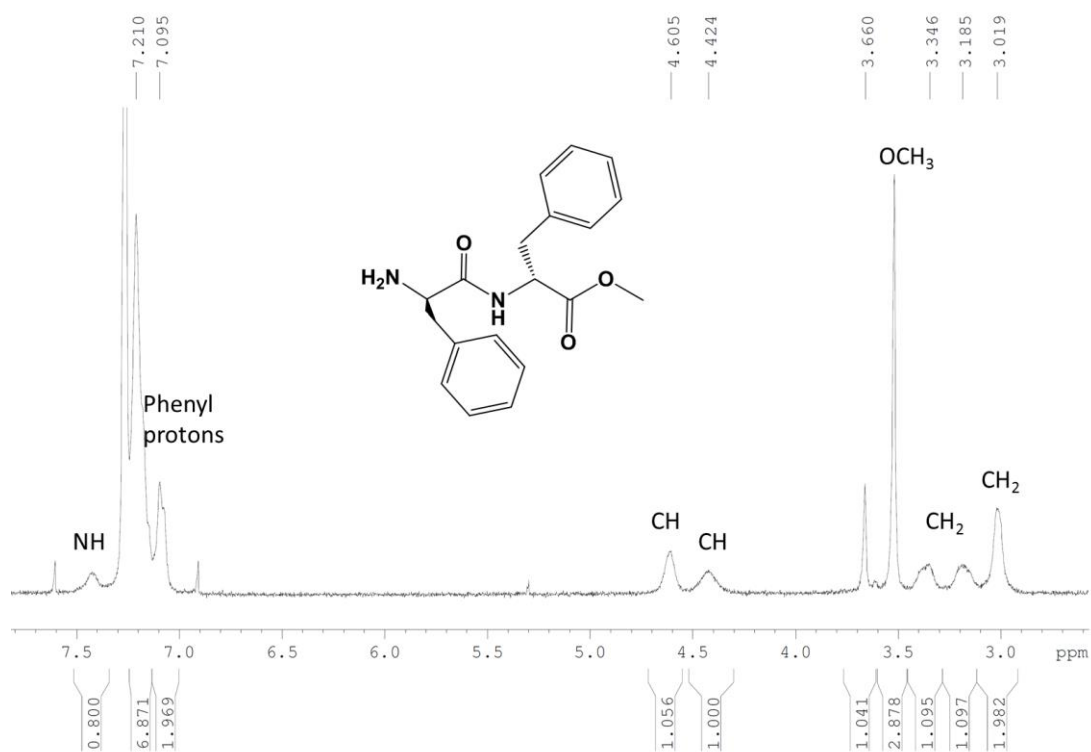
5. Συμπεράσματα

Στην προκειμένη εργασία συντέθηκε η τριάδα πορφυρίνη-δифαινυλαλανίνη-Bodipy (TPP-FF-BDP) με αμιδική σύζευξη τόσο μεταξύ της πορφυρίνης και της δифαινυλαλανίνης όσο και ανάμεσα στη δифαινυλαλανίνη και την Bodipy. Ως καταλύτης χρησιμοποιήθηκαν DCC και HOBT. Η επιθυμητή ένωση απομονώθηκε με χρωματογραφία υγρής στήλης και έπειτα χαρακτηρίστηκε με φασματοσκοπίες NMR, UV-Vis, φθορισμού και φασματομετρία μάζας. Μελέτες ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης απέδειξαν ότι η ένωση που συντέθηκε έχει την ικανότητα αυτοοργάνωσης σε σφαίρες με ομοιόμορφο μέγεθος σε μίγματα διαλυτών DCM-EtOH 2:8 1mM.

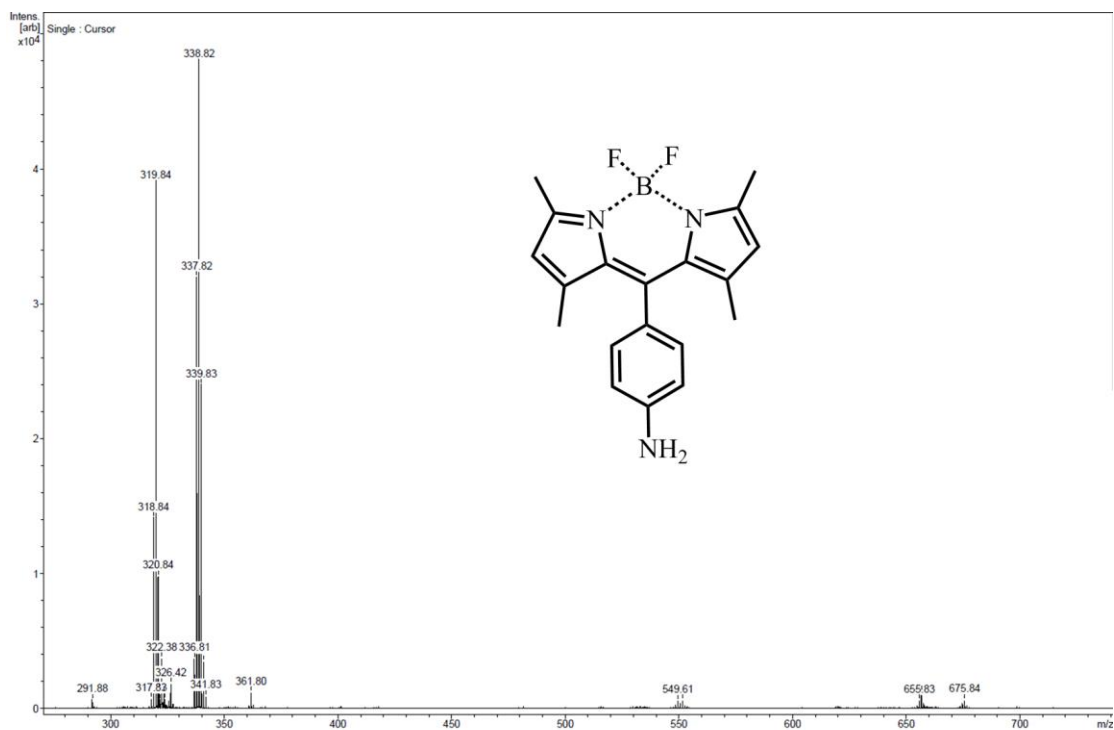
6. Βιβλιογραφία

- Lei Wang, Ya Qing Feng, Jin Qiang Xue, Nai Kun Hu, “Synthesis and characterization of novel series of unsymmetrical porphyrins” Chinese Chemical Letters, (2007), 18, 1021 – 1024
- Jian – guang Jia, Xu – rui Xiao, Jin – mei Xu, Wen – yuan Qian, Bao – wen Zhang and Yi Cao “Photoelectric behaviours of covalently linked porphyrin derivatives” Solar Energy Materials and Solar Cells, (1995), 37, 25 – 31
- Theodore Lazarides, Georgios Charalambidis, Alexandra Vuillamy, Marius Reglier, Emmanuel Klontzas, Georgios Froudakis, Susanne Kuhri, Dirk M. Guldi, and Athanassios G. Coutsolelos, Promising Fast Energy Transfer System via an Easy Synthesis: Bodipy Porphyrin Dyads Connected via a Cyanuric Chloride Bridge, Their Synthesis, and Electrochemical and Photophysical Investigations (2011)
- Kostas Karikis, Aleksandra Butkiewicz, Fotios Folias, Georgios Charalambidis, Chrysoula Kokotidou, Asterios Charisiadis, Vasilis Nikolaou, Emmanouil Nikoloudakis, Jadwiga Frelek, Anna Mitraki and Athanassios G. Coutsolelos, Self-assembly of (boron-dipyrromethane)- diphenylalanine conjugates forming chiral supramolecular materials (2018)
- Jennifer J. McManus^aPatrick Charbonneau^bEmanuela Zaccarelli^{cd}Neer Asherie, The physics of protein self-assembly, 2016
- Kostas Karikis, Evangelos Georgilis, Georgios Charalambidis, Athanasia Petrou, Olena Vakuliuk, Theodore Chatziioannou, Iliana Raptaki, Sofia Tsovolas, ^[11]_{SEP}Ioanna Papakyriacou, Anna Mitraki, Daniel T. Gryko, and Athanassios G. Coutsolelos, Corrole and Porphyrin Amino Acid Conjugates: Synthesis and Physicochemical Properties, 2016
- 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
- https://el.wikipedia.org/wiki/Ατμοσφαιρική_ρύπανση
- Anal. Chem., **1991**, 63 (24), pp 1193A–1203A
- Stokes, Debbie J. (2008). Principles and Practice of Variable Pressure Environmental Scanning Electron Microscopy (VP-ESEM). Chichester: John Wiley & Sons. ISBN 978-0470758748
- E. Nikoloudakis, K. Karikis, M. Laurans, C. Kokotidou, A. Sole-Daura, J. J. Carbo, A. Charisiadis, G. Charalambidis, G. Izzet, A. Mitraki, A. M. Douvas, J. M. Poblet, A. Proust and A. G. Coutsolelos, Dalton Transactions, 2018, 47, 6304-6313.

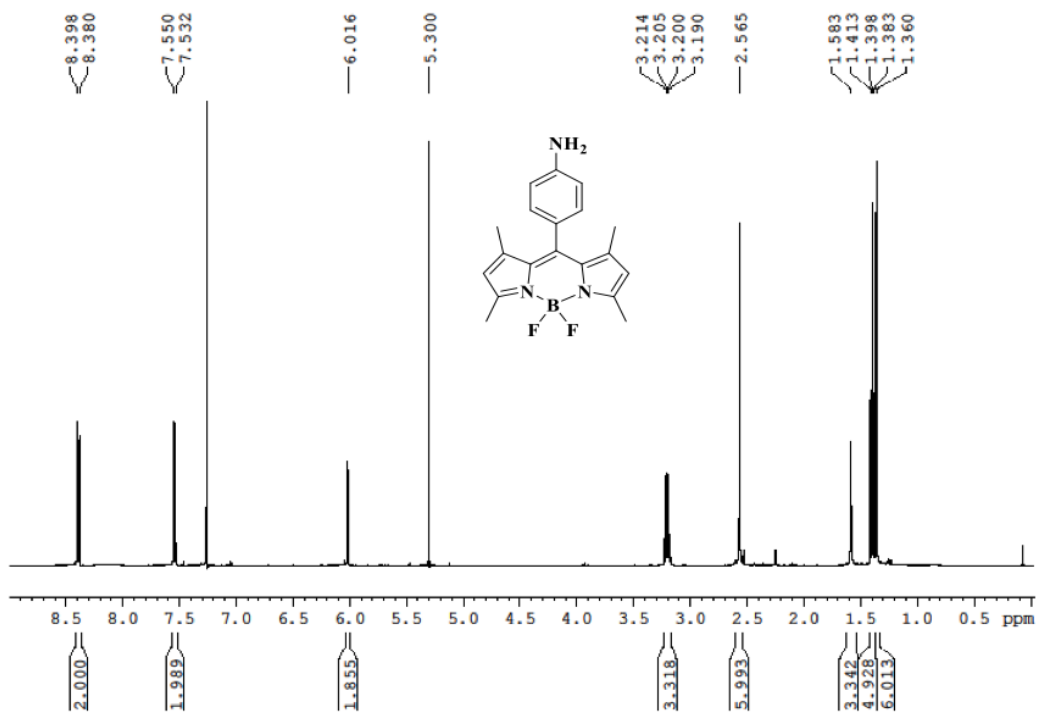
7. Παράρτημα



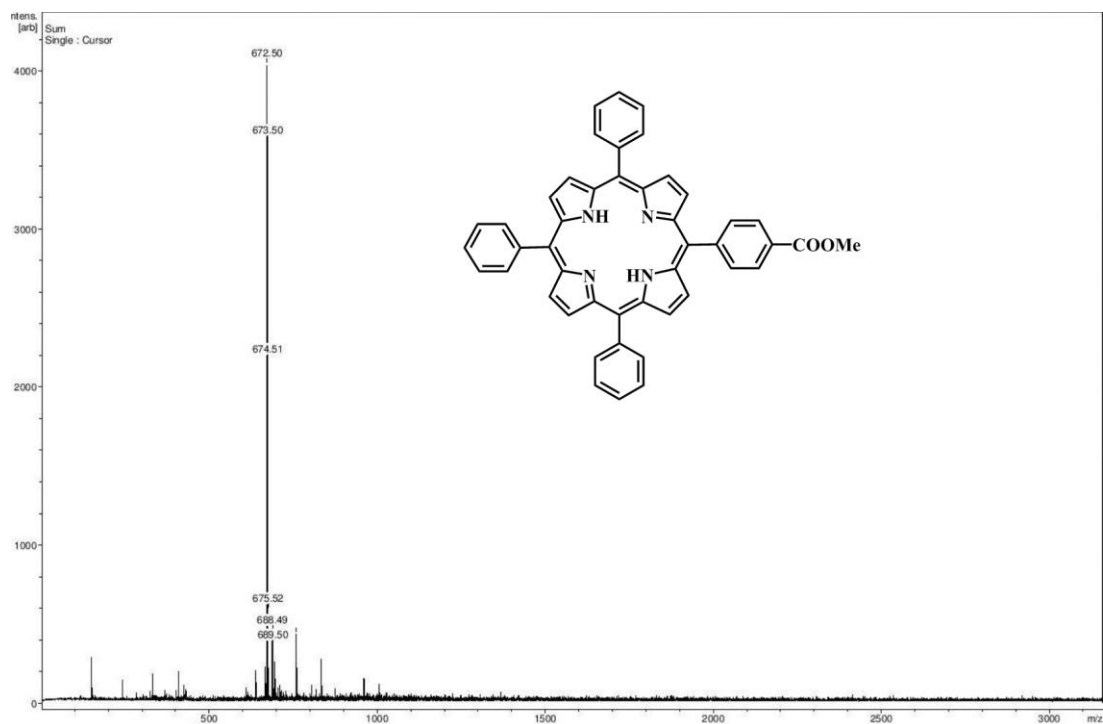
Διάγραμμα 7.1: NMR ¹H για την ταυτοποίηση της Διφαινυλαλανίνης.



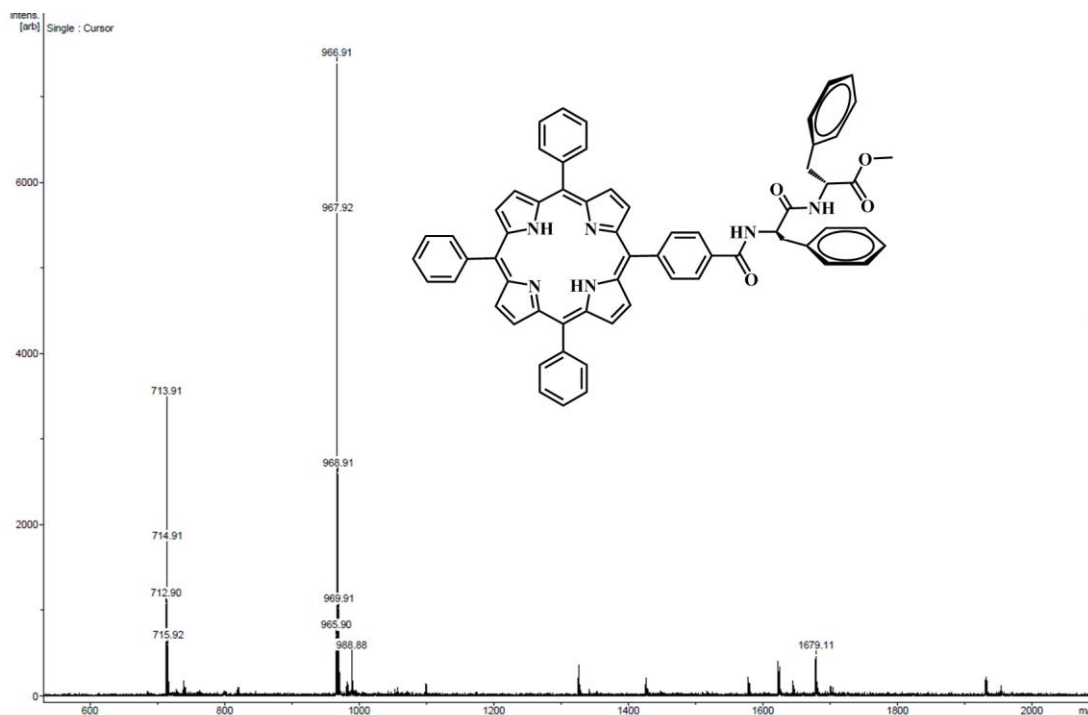
Διάγραμμα 7.2: MALDI-TOFF για την ταυτοποίηση της Αμινο-BDP.



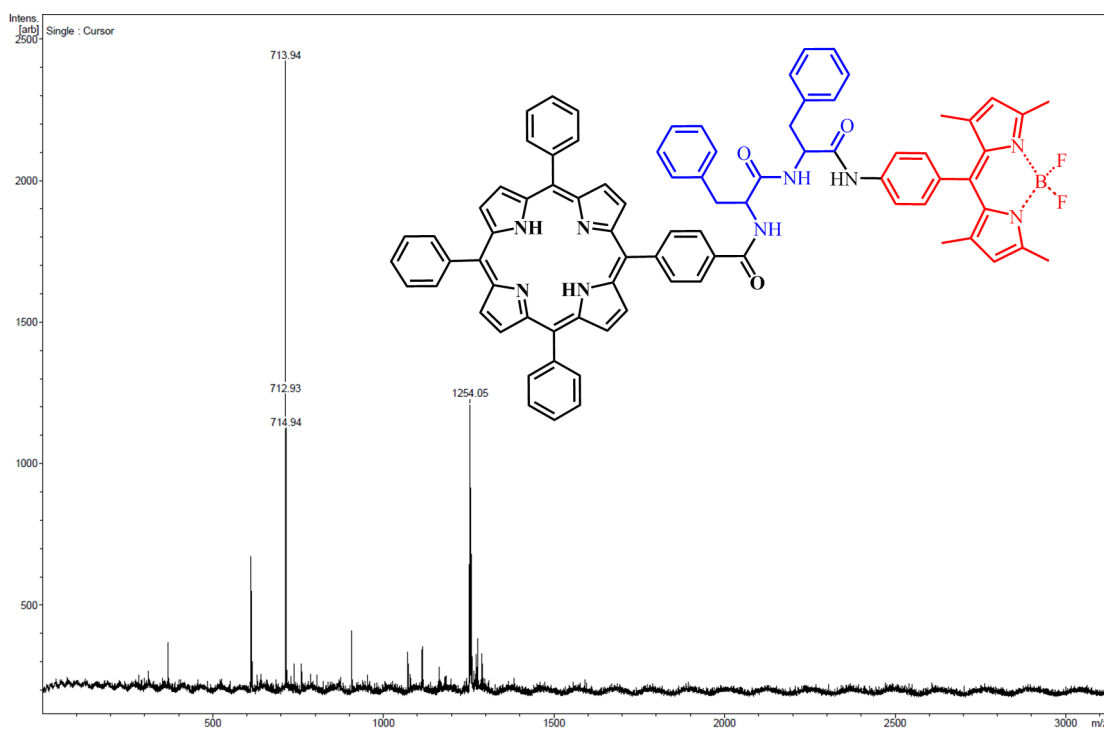
Διάγραμμα 7.3: Φάσμα NMR ^1H για την ταυτοποίηση της Άμινο-BDP.



Διάγραμμα 7.4: MALDI-TOF για την ταυτοποίηση της TPP-COOMe.



Διάγραμμα 7.5: MALDI-TOFF για την ταυτοποίηση της TPP-FF-COOMe.



Διάγραμμα 7.6: MALDI-TOFF για την ταυτοποίηση της TPP-FF-BDP.