

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**ΟΡΓΑΝΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΝΕΩΝ ΑΖΑ-ΜΑΚΡΟΚΥΚΛΙΚΩΝ
ΚΑΙ ΦΑΙΝΑΝΘΡΟΛΙΝΙΚΩΝ ΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΙΚΩΝ
ΔΕΙΚΤΩΝ ΕΝΙΣΧΥΜΕΝΗΣ ΜΕΤΑΛΛΟΔΕΣΜΕΥΤΙΚΗΣ
ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΤΟΞΙΚΩΝ ΜΕΤΑΛΛΟΪΟΝΤΩΝ ΚΑΙ
ΥΨΗΛΗΣ ΚΒΑΝΤΙΚΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ.**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΒΟΥΤΣΑΔΑΚΗ ΣΤΥΛΙΑΝΗ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2009

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: Χ. Ε. ΚΑΤΕΡΙΝΟΠΟΥΛΟΣ

**UNIVERSITY OF CRETE
SCHOOL OF SCIENCES & ENGINEERING
DEPARTMENT OF CHEMISTRY**

**SYNTHESIS OF NEW AZA-MACROCYCLIC
PHENANTHROLINIC FLUORESCENT PROBES WITH
ENHANCED AFFINITY FOR TOXIC CATIONS AND
HIGH QUANTUM YIELD**

Ph.D. Thesis

VOUTSADAKI STYLIANI

**HERAKLION, CRETE, GREECE
2009**

**SUPERVISOR :
Prof. H. E. KATERINOPOULOS**

Στην οικογένειά μου...

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

- ☞ Χ.Ε. ΚΑΤΕΡΙΝΟΠΟΥΛΟΣ (*Επιβλέπων*) Καθηγητής Πανεπιστημίου Κρήτης
- ☞ Μ. ΟΡΦΑΝΟΠΟΥΛΟΣ Καθηγητής Πανεπιστημίου Κρήτης
- ☞ Φ. ΝΤΑΗΣ Καθηγητής Πανεπιστημίου Κρήτης
- ☞ Ε. ΣΤΡΑΤΑΚΗΣ Αναπληρωτής Καθηγητής
Πανεπιστημίου Κρήτης
- ☞ Ι. ΣΜΟΝΟΥ Αναπληρώτρια Καθηγήτρια
Πανεπιστημίου Κρήτης
- ☞ Γ. ΒΑΣΙΛΙΚΟΓΙΑΝΝΑΚΗΣ Αναπληρωτής Καθηγητής
Πανεπιστημίου Κρήτης
- ☞ Α. ΣΑΛΙΦΟΓΛΟΥ Καθηγητής Πανεπιστημίου
Θεσσαλονίκης

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω το Τμήμα Χημείας για την υλικοτεχνική υποδομή που μου παρείχε ώστε να είναι δυνατή η πραγματοποίηση της παρούσας εργασίας, καθώς και τη Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας για την παροχή τριετούς οικονομικής υποστήριξης μέσω του προγράμματος ‘‘Πρόγραμμα ενίσχυσης του Ερευνητικού Δυναμικού (ΠΕΝΕΔ-2005)’’.

Τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου θα ήθελα να δώσω στον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Χαράλαμπο Κατερινόπουλο τόσο για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε επιλέγοντάς με να εργαστώ στο εργαστήριό του όσο και για τις συμβουλές, την πολύτιμη καθοδήγησή του όλα αυτά τα χρόνια καθώς και τις γνώσεις τις οποίες μου μετέδωσε όσον αφορά το πεδίο έρευνας στο οποίο εργάστηκα.

Ευχαριστώ επίσης και τα άλλα έξι μέλη της επιτροπής, οι οποίοι δέχθηκαν να κρίνουν την ερευνητική μου εργασία, από το Τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης τους καθηγητές κ.κ. Μ. Ορφανόπουλο, Φ. Νταή, Ε. Στρατάκη, Γ. Βασιλικογιαννάκη, κα. Ι. Σμόνου αλλά και τον καθηγητή του Τμήματος Χημικών Μηχανικών του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης κο. Α. Σαλίφογλου.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ αξίζει στον Εμμανουήλ Ρουσάκη η βοήθεια του οποίου υπήρξε πολύτιμη στα πρώτα μου βήματα στο εργαστήριο, αλλά και στα υπόλοιπα μέλη του εργαστηρίου για το ευχάριστο κλίμα στο εργαστήριο και την συμπαράστασή τους καθώς επίσης και σε όλους τους συναδέλφους μεταπτυχιακούς για την εξαιρετική συνεργασία που είχαμε σε διάφορα θέματα.

Ευχαριστώ τον δόκτορα Αντώνη Κουβαράκη για την πολύτιμη βοήθειά του στις αναλύσεις LCQ, τον αναπληρωτή καθηγητή Σ. Περγαντή για τη λήψη των φασμάτων DART-TOF-MS, καθώς και τον επίκουρο καθηγητή Α. Σπύρο για την βοήθειά του στην εκμάθηση των φασματομέτρων NMR. Επίσης τον επίκουρο καθηγητή κ. Π. Τρικαλίτη και τα μέλη του εργαστηρίου του για τις στοιχειακές αναλύσεις.

Τέλος, να εκφράσω τις βαθύτατες ευχαριστίες μου στους γονείς μου Μάρκο και Σπυριδούλα και την αδερφή μου Ελπίδα για την οικονομική αλλά κυρίως για την ηθική υποστήριξη, τη συμπαράσταση και την ενθάρρυνση που έδειξαν και δείχνουν όλα αυτά τα χρόνια, πράγματα πάνω στα οποία «έχτισα» τον εαυτό μου, τους στόχους που έχω πετύχει μέχρι σήμερα καθώς επίσης και την παρούσα διδακτορική διατριβή.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

I. ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ	ii
II. CURRICULUM – VITAE.....	vi
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	1
ABSTRACT	3
A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	4
A. 1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ	4
A. 1. 1. «Βαρέα Μέταλλα»	4
A. 1. 2. Απελευθέρωση στο περιβάλλον.....	4
A. 1. 3. Περιβαλλοντικές επιπτώσεις	5
A. 1. 4. Επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου.....	5
A. 1. 5. Ψευδάργυρος.....	5
A. 1. 6. Μόλυβδος - Υδράργυρος	6
A. 2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	7
A. 2. 1. Μέθοδοι προσδιορισμού μεταλλικών ιόντων σε βιολογικά συστήματα.....	7
A. 2. 1. 1. Αναλυτικές τεχνικές	7
A. 2. 1. 2. Φθορισμομετρικές τεχνικές.....	8
A. 3. ΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΣΥΝΘΕΣΗ ΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ	11
A. 3. 1. Επιλογή χρωμοφόρου	13
A. 3. 2. Επιλογή χηλικού μέρους (ιονοφόρο)	13
A. 3. 2. 1. 1-aza-15-crown-5.....	13
A. 3. 2. 2. 1,4,8,11-τετρααζακυκλοδεκατετράνιο (cyclam).....	15
A. 3. 2. 3. 5-αμινο-1,10-φαινανθρολίνη	15
A. 3. 2. 4. δις-(2-πικολυλ)αμίνη	16
A. 4. «ΤΡΟΠΟΙ ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ» ΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ.....	17
A. 4. 1. Δείκτες μεταφοράς ηλεκτρονίου (electron transfer indicators)	17
A. 4. 2. Δείκτες μεταφοράς φορτίου (charge transfer indicators).....	18
B. ΣΤΟΧΟΣ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ	20
B. 1. ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΟ ΣΧΟΛΙΟ.....	20

Σκοπός	20
Στόχος.....	20
B. 2. ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΕΣ ΔΟΜΕΣ ΔΕΙΚΤΩΝ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ	20
Γ. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ	23
Γ. 1. ΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ - ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑ.....	23
Γ. 1. 1. Δείκτες τύπου 1-aza-15-crown-5	23
Γ. 1. 1. 1. Δείκτες 1-aza-15-crown-5 - κουμαρίνης με μεθυλενικό σύνδεσμο....	23
Γ. 1. 1. 2. Δείκτης 1-aza-15-crown-5 - κουμαρίνης με σύνδεσμο θειοκαρβαμιδίου.....	26
Γ. 1. 2. Δείκτες τύπου cyclam	27
Γ. 1. 2. 1. Δείκτης cyclam-κουμαρίνης με σύνδεσμο θειοκαρβαμιδίου.....	27
Γ. 1. 2. 2. Δείκτης cyclam-κουμαρίνης με αλειφατικό σύνδεσμο	30
Γ. 1. 2. 3. Δείκτης cyclam-κουμαρίνης με ακετυλο-γέφυρα	34
Γ. 1. 2. 4. Προσπάθειες σύνθεσης του δείκτη cyclam-κουμαρίνης με ολεφινική γέφυρα.....	37
Γ. 1. 3. Δείκτες τύπου 5-αμινο-1,10-φαινανθρολίνης.....	38
Γ. 1. 3. 1. Προσπάθειες σύνθεσης του δείκτη φαινανθρολίνης-κουμαρίνης με γέφυρα θειοκαρβαμιδίου	38
Γ. 1. 3. 2. Προσπάθειες σύνθεσης δείκτη με απ' ευθείας σύζευξη φαινανθρολίνης-κουμαρίνης	41
Γ. 1. 3. 3. Παρατηρήσεις στο μόριο της 5-αμινο-1,10-φαινανθρολίνης.....	45
Γ. 1. 4. Δείκτες τύπου πικολυλαμίνης	47
Γ. 1. 4. 1. Δείκτης πικολυλαμίνης-κουμαρίνης με γέφυρα θειοκαρβαμιδίου.....	47
Γ. 1. 4. 2. Προσπάθειες σύνθεσης του δείκτη με απ' ευθείας σύζευξη πικολυλαμίνης-κουμαρίνης.....	48
Γ. 1. 5. Επέκταση συζυγιακού συστήματος 7-αμινοκουμαρινών.....	51
Γ. 2. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ - ΕΠΑΛΗΘΕΥΣΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ.....	52
Γ. 3. ΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ - ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑ	53
Γ. 3. 1. Συνθήκες και παρασκευή διαλυμάτων.....	53
Γ. 3. 2. Μετρήσεις φθορισμού δεικτών	53
Δ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	63
Συνεισφορά στο Επιστημονικό Πεδίο	63
Μελλοντικοί Στόχοι	64
Ε. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ	65
Ε. 1. ΣΥΝΘΕΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	65

Ε. 1. 1. Όργανα και μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν.....	65
Ε. 1. 2. Πειραματική διαδικασία	67
Ε. 2. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΦΑΣΜΑΤΩΝ ^1H NMR ΚΑΙ ^{13}C NMR.....	93
Ε. 3. ΦΑΣΜΑΤΑ ΜΑΖΑΣ.....	141
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	152

I. ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΣΜΥΡΝΗΣ 21, ΗΡΑΚΛΕΙΟ, ΚΡΗΤΗ &
ΠΑΤΡΙΑΡΧΟΥ ΙΩΑΝΝΙΚΕΙΟΥ 11'Α, ΧΑΝΙΑ, ΚΡΗΤΗ
ΤΗΛΕΦΩΝΟ: 6974828867-6976645838 • FAX: 2810545001 • E-MAIL:
SVOUTSADAKI@CHEMISTRY.UOC.GR & STELLA_CHEM740@YAHOO.COM

ΒΟΥΤΣΑΔΑΚΗ ΣΤΥΛΙΑΝΗ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Ημερομηνία Γέννησης: 15 Ιουλίου 1982
Τόπος Γέννησης: Χανιά Κρήτης
Υπηκοότητα: Ελληνική

Διεύθυνση εργασίας: Πανεπιστήμιο Κρήτης
Τμήμα Χημείας
Εργαστήριο Οργανικής Χημείας Α.308
71 003, Ηράκλειο Κρήτης.
Τηλ.: 2810 545042
fax: 2810 545001

ΣΠΟΥΔΕΣ

2000 - 2004: Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης
Διπλωματική εργασία: Τίτλος: «Σύνθεση ενός νέου πεντακυκλικού δικαρβοξυλικού δείκτη ιόντων ψευδαργύρου»

2004 - 2007 : Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης στα πλαίσια του προγράμματος: «Απομόνωση και Σύνθεση Φυσικών Προϊόντων με Βιολογική Δραστικότητα» του Τμήματος Χημείας, Πανεπιστημίου Κρήτης.
Τίτλος: «Σχεδιασμός και σύνθεση μεθυλο-αζα-μακροκυκλικών δεικτών κουμαρινικού τύπου για το φθορισμομετρικό προσδιορισμό ιόντων βαρέων μετάλλων»

2007 – σήμερα Εκπόνηση Διδακτορικού στο Τμήμα Χημείας, Πανεπιστημίου Κρήτης.
Τίτλος: «Οργανική σύνθεση νέων αζα-μακροκυκλικών και φαινανθρολινικών φθορισμομετρικών δεικτών ενισχυμένης μεταλλοδεσμευτικής ικανότητας τοξικών μεταλλοϊόντων και υψηλής κβαντικής απόδοσης»

ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ

- 2000 - 2001 Υποτροφία από το «*Ιδρυμα Κρατικών Υποτροφιών*» (ΙΚΥ) λόγω εισαγωγής στο Τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης με σειρά προτεραιότητας 1^η.
- 2004 - 2005 Υποτροφία από το «*Ιδρυμα Κρατικών Υποτροφιών*» (ΙΚΥ) λόγω καλύτερης επίδοσης για το 1^ο έτος μεταπτυχιακών σπουδών στο πρόγραμμα «Απομόνωση και Σύνθεση Φυσικών Προϊόντων με Βιολογική Δραστικότητα» του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης.
- 2005-2008 Υποτροφία στα πλαίσια του έργου: «*Μελέτη, ανάπτυξη και εφαρμογή φθορισμομετρικών αισθητήρων στον προσδιορισμό τοξικών μεταλλοϊόντων στο περιβάλλον χρησιμοποιώντας HPLC με παραγοντοποίηση μετά τη στήλη.*» ΠΕΝΕΔ2003 03ΕΔ819

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

- 2003-2009 Ερευνητική εργασία κατά την εκπόνηση της διπλωματικής και της μεταπτυχιακής εργασίας, όπως και στα πλαίσια του διδακτορικού διπλώματος.
- 2004: Επιστημονικός Συνεργάτης στο έργο: «*Ανάπτυξη μεθόδων παραγωγής προϊόντων με βάση τις φυσικές βαφές και ταυτοποίηση συστατικών αιθέριων ελαίων φυτών της Κρήτης.*» (HEI-NET)

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ & ΔΙΔΑΚΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

- 2005 - 2006: Εργαστηριακός βοηθός, εργαστήρια Οργανικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης.
- 2006: Παράδοση Φροντιστηριακών Ασκήσεων των μαθημάτων: «*Οργανική Χημεία*» και «*Ρετροσυνθετικές προσεγγίσεις*» Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης.
- 2007 - 2008: Εργαστηριακός βοηθός, εργαστήρια Οργανικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης.

ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΕΣ

Χειρισμός: GC-MS, HPLC, FT-IR, UV, 300MHz NMR, 500MHz NMR, Fluorimetry & πολύ καλή χρήση Η/Υ

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

First Certificate in English, Cambridge University

Zertifikat Elementarstufe Deutsch

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

1. E. Roussakis; **S. Voutsadaki**; E. Pinakoulaki; D. P. Sideris; K. Tokatlidis; H. E. Katerinopoulos
ICPBCZin: A red emitting ratiometric fluorescent indicator with nanomolar affinity for Zn²⁺ ions
Cell Calcium **2008**, 44, 270-275.
2. **S. Voutsadaki**, H.E. Katerinopoulos
Zinc and cadmium ion fluorescent probes incorporating mono- and poly-aza macrocyclic ionophores
Manuscript in preparation.
3. **S. Voutsadaki**, H.E. Katerinopoulos
Potential zinc fluorescent probes incorporating the bis-picolylamine ionophore
Manuscript in preparation.

ΣΥΜΜΕΤΟΧΕΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

Ολική σύνθεση ενός νέου δείκτη ιόντων ψευδαργύρου
Σ. Βουτσαδάκη, Ε. Ρουσάκης, Χ.Ε. Κατερινόπουλος
10^ο Συνέδριο Μεταπτυχιακών Φοιτητών Χημείας
2-4 Ιουλίου 2004, Κολυμπάρι Κρήτης.

Σύνθεση και μελέτες φθορισμού ενός δείκτη ιόντων ψευδαργύρου
Σ. Βουτσαδάκη, Ε. Ρουσάκης, Χ.Ε. Κατερινόπουλος
11^ο Συνέδριο Μεταπτυχιακών Φοιτητών Χημείας
8-10 Ιουλίου 2005, Κολυμπάρι Κρήτης

Synthesis and Spectral Properties of a Potential Fluorescent Zinc Indicator
E. Roussakis, **S. Voutsadaki**, H.E. Katerinopoulos
14th European Symposium on Organic Chemistry, 4-8 July 2005, Helsinki Finland.

Synthesis and Spectral Properties of a Potential Fluorescent Zinc Indicator.
E. Roussakis, **S. Voutsadaki**, H.E. Katerinopoulos
12th Hellenic Symposium of Pharmaceutical Chemistry
27-28 January 2006, Patras Greece.

Coumarin-type dicarboxylate and aza-macrocyclic fluorescent indicators as potential zinc ion concentration probes

S. Voutsadaki, E. Roussakis, H. E. Katerinopoulos

2th Hellenic Symposium of Organic Chemistry

19-21 April 2007, Athens, Greece

Coumarin-type Dicarboxylate and Aza-macrocyclic Fluorescent Indicators as Potential Zinc Ion Concentration Probes

S. Voutsadaki, E. Roussakis, H. E. Katerinopoulos

8th International Conference in Medicinal Chemistry

Patras, Greece March 15-17, 2007

Synthesis and Ion Selectivity Studies of Potential Fluorescent Ion Indicators.

H. E. Katerinopoulos, E. Roussakis, G. K. Tsikalas, **S. Voutsadaki**

236th ACS National Meeting, Philadelphia, PA, August 17-21, 2008, MEDI 79

II. CURRICULUM – VITAE

SMIRNIS 21, HERAKLION, CRETE &
PATRIARCHOU IOANNIKEIOU 11'A, CHANIA, CRETE
PERSONAL PHONE: 6974828867-6976645838 • FAX: 2810545001 • E-MAIL:
SVOUTSADAKI@CHEMISTRY.UOC.GR & STELLA_CHEM740@YAHOO.COM

VOUTSADAKI STYLIANI

PERSONAL INFORMATION

Date of Birth	July 15, 1982
Place of Birth	Hania, Crete, Greece
Nationality	Greek
Home address:	21, Smirnis St. 71201, Heraklion, Crete Τηλ. 6974828867
Business Address:	University of Crete Department of Chemistry 71 003, Heraklion, Crete. Tel.: 30 2810 54 5042 fax: 30 2810 54 5001
E-mail address:	svoutsadaki@chemistry.uoc.gr & stella_chem740@yahoo.com

EDUCATION

2000 - 2004:	B.Sc., Department of Chemistry, University of Crete, Greece
2004 - 2007	M.Sc., Department of Chemistry, University of Crete, Greece.
2007 -	Ph.D., Department of Chemistry, University of Crete, Greece.

FELLOWSHIPS AND AWARDS

2000 - 2001	National Fellowship Foundation Award for being admitted first best in the Undergraduate Program at the Department of Chemistry.
2004 - 2005	National Fellowship Foundation Award for being admitted first best in the Graduate Program at the Department of Chemistry
2005 - 2008	Research Fellowship on project titled: Development and Applications of Fluorescent Sensors for the Detection of Toxic

Metal Ions in the Environment Using HPLC-Post Column Derivatization Technology. PENED-2003 03ED819 Program.

SCHOLASTIC AND PROFESSIONAL ACTIVITIES

- 2003-2009 Research Fellow during the elaboration of B.Sc., M.Sc. and Ph D.
- 2004: Research Fellow in the Regional Programs (*HEI-NET*):
a) Development of Methodology for the Production of Materials Based on Natural dyes and b) Identification of Components of Essential Oils from the Flora of Crete.

TEACHING EXPERIENCE

- 2005 - 2006: Teaching Assistant, Undergraduate Laboratory of Organic Chemistry
- 2006: Teaching Assistant, Recitation on the course “Organic Chemistry III” to chemistry majors.
- 2007 – 2008: Teaching Assistant, Undergraduate Laboratory of Organic Chemistry

TECHNICAL EXPERIENCE

Operation: GC-MS, FT-IR, HPLC, UV, 300MHz NMR, 500MHz NMR, Fluorimetry & excellent knowledge of PC's.

KNOWLEDGE OF FOREIGN LANGUAGES

First Certificate in English, Cambridge University

Zertifikat Elementarstufe Deutsch

PUBLICATIONS

1. E. Roussakis; **S. Voutsadaki**; E. Pinakoulaki; D. P. Sideris; Kostas Tokatlidis; H. E. Katerinopoulos, “ICPBCZin: A red emitting ratiometric fluorescent indicator with nanomolar affinity for Zn²⁺ ions”, *Cell Calcium* **2008**, *44*, 270-275.
2. **S. Voutsadaki**, H.E. Katerinopoulos
Zinc and cadmium ion fluorescent probes incorporating mono- and poly-aza macrocyclic ionophores
Manuscript in preparation.

3. **S. Voutsadaki**, H.E. Katerinopoulos
Potential zinc fluorescent probes incorporating the bis-picolylamine ionophore
Manuscript in preparation.

SCIENTIFIC MEETING PARTICIPATION

Total Synthesis of a new zinc ion probe

S. Voutsadaki, E. Roussakis, H.E. Katerinopoulos
10th Graduate Chemistry Student Meeting
July 2-4, Colymbari, Crete, Greece

Synthesis and Spectral Properties of a Potential Fluorescent Zinc Indicator

E. Roussakis, **S. Voutsadaki**, H.E. Katerinopoulos
14th European Symposium on Organic Chemistry
4-8 July 2005, Helsinki Finland.

Synthesis and Fluorescence Studies of a New Fluorescent Zinc Probe

S. Voutsadaki, E. Roussakis, H.E. Katerinopoulos
11th Graduate Chemistry Student Meeting
July 2-4, Colymbari, Crete, Greece

Synthesis and Spectral Properties of a Potential Fluorescent Zinc Indicator.

E. Roussakis, **S. Voutsadaki**, H.E. Katerinopoulos
12th Hellenic Symposium of Pharmaceutical Chemistry
27-28 January 2006, Patras Greece.

Coumarin-type Dicarboxylate and Aza-macrocyclic Fluorescent Indicators as Potential Zinc Ion Concentration Probes

S. Voutsadaki, E. Roussakis, H. E. Katerinopoulos
2nd Hellenic Symposium of Organic Synthesis:
From Chemistry to Biology, Medicine and Materials Science.
Athens April 19-21, 2007.

Coumarin-type Dicarboxylate and Aza-macrocyclic Fluorescent Indicators as Potential Zinc Ion Concentration Probes

S. Voutsadaki, E. Roussakis, H. E. Katerinopoulos
8th International Conference in Medicinal Chemistry
Patras, Greece March 15-17, 2007

Synthesis and Ion Selectivity Studies of Potential Fluorescent Ion Indicators.

H. E. Katerinopoulos, E. Roussakis, G. K. Tsikalas, **S. Voutsadaki**
236th ACS National Meeting, Philadelphia, PA, August 17-21, 2008, MEDI 79

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα ερευνητική εργασία πραγματοποιήθηκε η σύνθεση επτά φθορίζοντων δεικτών μεταλλοϊόντων, οι οποίοι εμπεριέχουν υποκατεστημένες κουμαρίνες ως χρωμοφόρες ομάδες. Οι τρεις πρώτοι δείκτες περιέχουν ως ιονοφόρο το μόριο 1-aza-15-crown-5, οι επόμενοι δύο το μόριο της πικολυλαμίνης, ενώ οι άλλοι δύο το 1,4,8,11-τετρααζαδεκατετράνιο (cyclam).

Διεξήχθησαν προκαταρκτικές μελέτες φθορισμού με πρότυπα διαλύματα Zn^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} και Pb^{2+} . Οι δύο δείκτες με ιονοφόρο το 1-aza-15-crown-5 και χρωμοφόρο τμήμα την 7-κουμαρίνυλοομάδα συζευγμένα με μεθυλενικό σύνδεσμο, παρουσιάζουν απόκριση σε μεταβαλλόμενες συγκεντρώσεις των ιόντων Zn^{2+} , Cd^{2+} , και για τον ένα από αυτούς επετεύχθη η εξαγωγή σταθερών διάστασης: $K_d = 8.7 \mu M$ για ιόντα Zn^{2+} και $K_d = 16 nM$ για ιόντα Cd^{2+} . Οι παραπάνω τιμές υποδεικνύουν ότι πιθανώς υπάρχει δυνατότητα χρήσης του συγκεκριμένου δείκτη για επιλεκτική ανίχνευση των ιόντων Cd^{2+} παρουσία μεγαλύτερων συγκεντρώσεων ιόντων Zn^{2+} .

Ο δείκτης με ιονοφόρο το 1-aza-15-crown-5 και χρωμοφόρο τμήμα την 7-(4-μεθυλο)κουμαρίνυλοομάδα συζευγμένα με θειοκαρβαμιδικό σύνδεσμο παρουσιάζει πολύ μεγάλη και επιλεκτική απόκριση για το ιόν του υδραργύρου, ενώ η σταθερά διάστασής του για τον Hg^{2+} υπολογίστηκε να είναι $K_d = 13.14 \mu M$. Ο δείκτης με ιονοφόρο το tri-BOC-cyclam και χρωμοφόρο τμήμα την 7-(4-μεθυλο)κουμαρίνυλοομάδα συζευγμένα με θειοκαρβαμιδικό σύνδεσμο παρουσιάζει επίσης πολύ μεγάλη και επιλεκτική απόκριση για το ιόν του υδραργύρου, ενώ η σταθερά διάστασής του για τον Hg^{2+} δεν διαφέρει πολύ από αυτή του προηγούμενου δείκτη και υπολογίστηκε ως $K_d = 35.48 \mu M$.

Ο δείκτης με ιονοφόρο τη δι-(2-πικολυλο)αμίνη και χρωμοφόρο τμήμα την 7-(4-μεθυλο)κουμαρίνυλοομάδα συζευγμένα με θειοκαρβαμιδικό σύνδεσμο παρουσιάζει απόκριση σε μεταβαλλόμενες συγκεντρώσεις Cd^{2+} σε επίπεδα nM, και απόκριση σε συγκεντρώσεις ιόντων Pb^{2+} σε επίπεδα μM . Μελέτη ανταγωνισμού μεταξύ 5 μετάλλων δείχνει ότι ο συγκεκριμένος δείκτης είναι μάλλον επιλεκτικός για μόλυβδο, ωστόσο δεν κατέστη δυνατή η εξαγωγή της σταθεράς διάστασης. Ο δείκτης με ιονοφόρο τη 2-πικολυλο-ομάδα συζευγμένη με το χρωμοφόρο τμήμα της 7-αμινο-(4-μεθυλο)κουμαρίνυλοομάδας παρουσιάζει απόκριση σε μικρό εύρος συγκεντρώσεων Zn^{2+} , με σταθερά διάστασης $K_d = 25.17 \mu M$.

Τέλος, μία μεγάλη σειρά προσπαθειών ενσωμάτωσης της 5-αμινο-1,10-φαινανθρολίνης σαν ιονοφόρο στα συστήματα των δεικτών που προαναφέρθηκαν έδωσε ισχυρές ενδείξεις ότι η ετεροαρωματική αυτή ομάδα, για στερεοηλεκτρονικούς λόγους, δεν ενδείκνυται ως κατάλληλο συνθετικό ενδιάμεσο για την παρασκευή φθοριζόντων δεικτών.

Λέξεις κλειδιά: Φθορίζοντες δείκτες, κουμαρίνες, φθορισμός, 1-aza-15-crown-5, cyclam, 1,4,8,11- tetraazacyclotetradecane, δι-(2-πικολυλο)αμίνη, 5-αμινο-1,10-φαινανθρολίνη, Zn^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} .

ABSTRACT

In this thesis, the synthesis and the fluorescence profile of a series of potential fluorescent heavy metal ion probes is described. All seven probes incorporate in their structure the coumarin moiety as fluorophore. For the first three probes, the 1-aza-15-crown-5 moiety, for the next two, the picolylamine, whereas for the last two ones, the 1,4,8,11-tetraazatetradecane (cyclam) group were chosen as ionophores.

The fluorescence response of these probes to increasing concentrations of Zn^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} and Pb^{2+} ions is described in the next section. The monoazacrown ether probes where the ionophore and fluorophore are bridged with a methylene group, respond to increasing concentrations of Zn^{2+} and Cd^{2+} ions. The former exhibits weaker binding to Zn^{2+} ions with a dissociation constant $K_d = 8.7 \mu\text{M}$ and stronger binding for Cd^{2+} ions ($K_d = 16 \text{ nM}$). These K_d values imply that the compound may be used as a cadmium ions sensor in the presence of higher levels of zinc ions.

The probe where the ionophore, 1-aza-15-crown-5, is coupled with the fluorophore (a 7-(4-methyl)coumarin analog) through a carbamide linker, has a strong response to Hg^{2+} ions. Its K_d was calculated as low as $13.14 \mu\text{M}$. The tri-BOC-cyclam analog of compound mentioned before, is also an efficient mercury ion sensor with a calculated $K_d = 35.48 \mu\text{M}$.

The indicator, where the bis-(2-picolyl)amine ionophore is linked to 7-(4-methyl)coumarin with a carbamide spacer, responds to nanomolar levels of cadmium ions and to millimolar levels of lead ions. Ion competition studies indicate that the probe is Pb^{2+} -selective however, the mode of its response to increasing Pb^{2+} concentrations does not allow for the calculation of an accurate K_d value. The 2-picolyl analog, with the ionophore directly connected to 7-amino-(4-methyl)coumarin, is in turn, zinc-selective with a $K_d = 25.17 \mu\text{M}$.

Finally a series of synthetic studies, aiming to incorporate the 5-amino-1,10-phenanthroline moiety as the probes' fluorophore, led to the conclusion that, due to electronic factors, this heteroaromatic compound is not a suitable synthon for the construction of heavy metal ion fluorescent probes.

Key words: Fluorescent probes, ion sensors, fluorescence, coumarin analogs, 1-aza-15-crown-5, cyclam, 1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane, bis-(2-picolyl)amine, 5-amino-1,10-phenanthroline, zinc, cadmium, mercury, lead ions.

A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

A. 1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ

A. 1. 1. «Βαρέα Μέταλλα»

Ο όρος «βαρύ μέταλλο» αναφέρεται σε οποιοδήποτε μεταλλικό χημικό στοιχείο που έχει μια σχετικά υψηλή πυκνότητα, περίπου 5 φορές μεγαλύτερη του νερού και είναι τοξικό ή δηλητηριώδες στις χαμηλές συγκεντρώσεις.¹ Παραδείγματα των βαρέων μετάλλων περιλαμβάνουν τον υδράργυρο (Hg), το κάδμιο (Cd), το νικέλιο (Ni), το κοβάλτιο (Co), το αρσενικό (As), το χρώμιο (Cr), το θάλλιο (Tl) και το μόλυβδο (Pb).

Τα βαρέα μέταλλα (BM) είναι φυσικά συστατικά του φλοιού της Γης. Δεν μπορούν να αλλοιωθούν ή να καταστραφούν. Σε μικρό ποσοστό εισχωρούν στον οργανισμό μας μέσω των τροφίμων, του πόσιμου νερού και του αέρα. Ως ιχνοστοιχεία, μερικά από αυτά (π.χ. χαλκός, ψευδάργυρος) είναι απαραίτητα για τη διατήρηση του μεταβολισμού του ανθρώπινου σώματος. Εντούτοις, στις υψηλότερες συγκεντρώσεις μπορούν να οδηγήσουν στη δηλητηρίαση. Η δηλητηρίαση από βαρέα μέταλλα θα μπορούσε να προκύψει, παραδείγματος χάριν, από τη μόλυνση πόσιμου νερού (π.χ. σωλήνες μολύβδου), υψηλές περιβαλλοντικές συγκεντρώσεις στον αέρα κοντά στις πηγές εκπομπής, ή την εισαγωγή στον οργανισμό μέσω της τροφικής αλυσίδας.

Τα βαρέα μέταλλα είναι επικίνδυνα επειδή τείνουν να βιοσυσσωρεύονται. Η βιοσυσσώρευση είναι η αύξηση της συγκέντρωσης μιας χημικής ουσίας σε έναν βιολογικό οργανισμό κατά τη διάρκεια του χρόνου, έναντι της συγκέντρωσης της χημικής ουσίας στο περιβάλλον. Ουσιαστικά οι ενώσεις που έχουν αυτήν την ιδιότητα συσσωρεύονται στους ζωντανούς οργανισμούς οποτεδήποτε λαμβάνονται και αποθηκεύονται γρηγορότερα από ότι μεταβολίζονται ή εκκρίνονται.

A. 1. 2. Απελευθέρωση στο περιβάλλον

Το μεγαλύτερο μέρος βαρέων μετάλλων που προκύπτει από ανθρώπινες δραστηριότητες απελευθερώνεται στον αέρα, μέσω της ανάφλεξης καυσίμων, μεταλλείας και καύσης αποβλήτων. Μερικές φορές η απελευθέρωση γίνεται άμεσα στο χώμα ή το νερό με χρήση γεωργικών λιπασμάτων και βιομηχανική απομάκρυνση

των υγρών αποβλήτων. Όλη η ποσότητα βαρέων μετάλλων που απελευθερώνεται στο περιβάλλον θα καταλήξει τελικά στα χώματα ή τα ύδατα επιφάνειας.

A. 1. 3. Περιβαλλοντικές επιπτώσεις

Τα βαρέα μέταλλα βιοσυσσωρεύονται στα σκουλήκια της γης και στα φυτά μέσω μικροοργανισμών του εδάφους και ανόργανων συστατικών, καθώς και στο πλαγκτόν μέσω μολυσμένων υδάτων. Διαμέσου της τροφικής αλυσίδας μεταφέρονται στα ψάρια και στα ανώτερα θηλαστικά με τελική κατάληξη τον άνθρωπο. Τα αποτελέσματα που έχουν τα βαρέα μέταλλα στα ζώα είναι νεφρική ανεπάρκεια, στομαχικά και εντερικά έλκη, υψηλή αρτηριακή πίεση, διαταραχές στο συκώτι, νευρική κι εγκεφαλική καταστροφή, αναπαραγωγική αποτυχία και μετάλλαξη DNA.^{2,3,4,5,6,7}

A. 1. 4. Επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου

Τα βαρέα μέταλλα έχουν ποικίλες επιπτώσεις στον άνθρωπο, οι οποίες μπορούν να αναφερθούν περιληπτικά ως εξής:^{8, 9, 10, 11, 12}

- Διατάραξη του νευρικού συστήματος
- Βλάβη των λειτουργιών του εγκεφάλου
- Βλάβη του DNA και χρωμοσωμική αλλοίωση
- Αλλεργικές αντιδράσεις, με συνέπεια τις αναφυλαξίες δερμάτων, την κούραση και τους πονοκέφαλους
- Αρνητικά αναπαραγωγικά αποτελέσματα, όπως η υποβάθμιση σπέρματος, οι ατέλειες γέννησης και οι αποβολές
- Αύξηση της αρτηριακής πίεσης
- Βλάβη των νεφρών
- Μειωμένες δυνατότητες εκμάθησης των παιδιών
- Προβλήματα συμπεριφοράς των παιδιών, όπως η επιθετικότητα, παρορμητική συμπεριφορά και η υπερδραστηριότητα

A. 1. 5. Ψευδάργυρος

Ενώ ο ψευδάργυρος ανήκει στην κατηγορία των βαρέων μετάλλων, ξεχωρίζει από αυτήν αφενός επειδή είναι μη τοξικός, αφετέρου γιατί έχει σημαντική βιολογική δραστηριότητα. Η επίδραση αλοιφών που περιείχαν ψευδάργυρο στην epύλωση

πληγών ήταν γνωστή από την αρχαιότητα, ενώ κατά την διάρκεια των τελευταίων δεκαετιών, έχουν αυξηθεί οι χρήσεις του Zn σαν φάρμακο για ελλειπή ανάπτυξη οφειλόμενη σε υποσιτισμό¹³. Η έλλειψη Zn μπορεί επίσης να προκαλέσει διάφορα συμπτώματα, όπως ανορεξία, μειωμένη αίσθηση γεύσης, αυξημένη προδιάθεση για φλεγμονές και εξασθένηση του ανοσοποιητικού συστήματος. Ο ψευδάργυρος στις βιολογικές του λειτουργίες συμμετέχει ως δισθενές κατιόν, κυρίως όταν προσδένεται σε ένζυμα και άλλες πρωτεΐνες.

Μεταξύ των πρωτεϊνών που περιέχουν Zn περιλαμβάνεται ένας μεγάλος αριθμός σημαντικών ενζύμων, τα οποία καταλύουν την μεταβολική μετατροπή (συνθετάσες, πολυμεράσες, λιγάσες, τρανσφεράσες) ή την αποδιάταξη (υδρολάσες) πρωτεϊνών, νουκλεϊκών οξέων, λιπιδίων, προδρόμων πορφυρινών και άλλων σημαντικών βιοανόργανων ουσιών.¹³ Δεν αποτελεί έκπληξη το γεγονός ότι η έλλειψη Zn μπορεί να επάγει διάφορους παθολογικούς παράγοντες και ότι τα βαρύτερα ομόλογά του, Cd και Hg, είναι ιδιαίτερα τοξικά επειδή μπορούν να αντικαταστήσουν τον Zn στα ένζυμα που συμμετέχει.

Ο Zn εμφανίζει τρεις λειτουργίες στα ένζυμά του.¹⁴ Στην καταλυτική (catalytic), το μέταλλο συμμετέχει άμεσα στην κατάλυση και αν αφαιρεθεί, το ένζυμο καθίσταται ανενεργό. Ο συνηθέστερος τρόπος συναρμογής στα ένζυμα αυτά, είναι ένα καταλυτικό άτομο ψευδαργύρου ανά υπομονάδα ενζύμου προσδεδεμένο σε 4 υποκαταστάτες. Από αυτούς τα τρία είναι αμινοξέα ενώ το τέταρτο είναι, σε όλα τα καταλυτικά κέντρα, μόριο νερού. Σε ορισμένα από τα ένζυμα αυτά, ο Zn μπορεί να υποκατασταθεί από Co με διατήρηση της δραστηριότητας, αλλά με αύξηση ή μείωση της τάξης μεγέθους της. Στην συνεργιστική λειτουργία (coactive), το άτομο Zn έχει καταλυτική δράση σε συνέργεια με μια άλλη, μη καταλυτική θέση. Στην δομική λειτουργία (structural), τα άτομα Zn είναι απαραίτητα για τη δομική σταθεροποίηση και τη σταθεροποίηση της τεταρτοταγούς δομής ολιγομερών ενζύμων. Οι επικρατέστεροι υποκαταστάτες στα καταλυτικά και δομικά κέντρα των ενζύμων, είναι τα άτομα αζώτου των ιμιδαζολίων και οι θειολο-ομάδες των κυστεϊνών.

A. 1. 6. Μόλυβδος - Υδράργυρος

Η παρουσία τοξικών μεταλλοϊόντων Cd(II), Hg(II), Pb(II), και Ni(II) σε υδάτινα οικοσυστήματα, έχει αναγνωρισθεί ως πρόβλημα για την ανθρώπινη υγεία, την οικολογία των οργανισμών και την παγκόσμια οικονομία. Η εκτίμηση της έκτασης και της σοβαρότητας αυτών των προβλημάτων καθώς και η λήψη

προληπτικών μέτρων για την προστασία της δημόσιας υγείας προϋποθέτει άμεσο προσδιορισμό των μεταλλοτοξινών αυτών στο περιβάλλον.

Εκτεταμένες μελέτες έχουν αποδείξει ότι ο μόλυβδος είναι ισχυρά νευροτοξικός, επηρεάζοντας το νευρικό σύστημα κατά τη διάρκεια της ανάπτυξής του, όπως επίσης έχουν δείξει ότι πιθανώς είναι υπεύθυνος για τη δημιουργία ανθρώπινου καρκίνου.^{15, 16, 17, 18, 19, 20, 21} Επιπλέον η βιοσυσσωρευση του συγκεκριμένου μετάλλου, αυξάνει τις πιθανότητες δηλητηρίασης από αυτό. Οι σοβαρότατες επιπτώσεις τις οποίες μπορεί να προκαλέσει ο μόλυβδος σε περιβαλλοντικά και βιολογικά συστήματα, δημιούργησαν την ανάγκη για την ανάπτυξη επιλεκτικών μεθόδων ανίχνευσής του.

Το δισθενές ιόν του υδραργύρου θεωρείται από τα περισσότερο τοξικά κατιόντα για το περιβάλλον επειδή κατανέμεται ευρέως σε αέρα, νερό και έδαφος.²² Ο υδράργυρος μπορεί να συσσωρευτεί στο ανθρώπινο σώμα και να προκαλέσει μια ποικιλία από νόσους ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις, όπως πεπτικές, νεφρικές και νευρολογικές ασθένειες.²³ Παρόλη την τοξικότητά του ο υδράργυρος και τα άλατά του χρησιμοποιούνται ευρέως σε βιομηχανικές διεργασίες και το μεγαλύτερο ποσοστό της μόλυνσης από υδράργυρο αποδίδεται σε ανθρωπογενείς παράγοντες.

Η συνθετική χημεία του Pb(II) θα αναπτυχθεί έναντι οξόφιλων και θειόφιλων μεταλλοδεσμευτών ενώ για το μαλακότερο Hg(II), ενέχεται και χημεία θειο-υποκαταστατών.

A. 2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Παρακάτω παρουσιάζονται αναλυτικά αφενός το θεωρητικό μεθοδολογικό υπόβαθρο των δεικτών, αφετέρου η επιλογή, καθώς και οι λόγοι της επιλογής, της πειραματικής πορείας που ακολουθήθηκε.

A. 2. 1. Μέθοδοι προσδιορισμού μεταλλικών ιόντων σε βιολογικά συστήματα

A. 2. 1. 1. Αναλυτικές τεχνικές

Η έντονη ερευνητική δραστηριότητα γύρω από την αναλυτική χημεία προσδιορισμού των τοξικών μεταλλοϊόντων, έφερε στο φως πληθώρα μεθόδων ανίχνευσης-προσδιορισμού τους που στην πλειονότητά τους:

α) είναι φασματοσκοπικές με επίπεδα ανίχνευσης ppm (π.χ UV-Vis, AA Flame), ή ppb (AA Graphite, ICP, ICP-MS, NMR)

β) εμφανίζουν μειωμένη εκλεκτικότητα δέσμευσης ΒΜ από τους οργανικούς υποκαταστάτες που συμβάλλουν στον οπτικό χαρακτηρισμό τους (Υπεριώδες-Ορατό, φθορισμομετρία, κ.ά.), και

γ) ως επί το πλείστον απαιτούν πολυδάπανη οργανολογική υποδομή.

Έμφαση έχει δοθεί επίσης στη χρήση μικροηλεκτροδίων²⁴ και χρωματογραφίας HPLC. Η χρωματογραφία προσφέρει ταυτόχρονο προσδιορισμό πολλών μετάλλων σε μια ανάλυση (single run) και δίνει τη δυνατότητα διαχωρισμού και προσδιορισμού μετάλλων, διαφορετικής οξειδωτικής κατάστασης (metal speciation), με διαφοροποιημένη τοξικότητα. Μέχρι σήμερα, η χρωματογραφία HPLC, παρότι αποτελεί αναπόσπαστη αναλυτική οργανολογία κάθε εργαστηρίου, δεν έχει καταφέρει να αντικαταστήσει τις πολυδάπανες φασματοσκοπικές τεχνικές προσδιορισμού μετάλλων σε επίπεδα ppb.

Α. 2. 1. 2. Φθορισμομετρικές τεχνικές

Η ανάπτυξη διαφόρων πεδίων βιολογικής έρευνας τα τελευταία χρόνια κατέστησε αναγκαία την προώθηση ερευνητικών δραστηριοτήτων που στοχεύουν στην ανίχνευση και προσδιορισμό ιόντων και μεταλλοϊόντων (τοξικών²⁵ και μη) σε εξωκυττάρια και ενδοκυττάρια βιολογικά υγρά.^{26, 27} Η ανάγκη αυτή αποκτά μεγαλύτερη σημασία σε υδάτινα οικοσυστήματα, όπου οι οργανισμοί συχνά εκτίθενται σε τοξικά μεταλλοϊόντα. Εν όψει της δυνατότητας αντιμετώπισης προβλημάτων που σχετίζονται με τον προσδιορισμό μεταλλοϊόντων σε κυτταρικό επίπεδο και άρα σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, άρχισε να αναπτύσσεται η ανάγκη εύρεσης μεθόδων που είναι :

α) ευαίσθητες

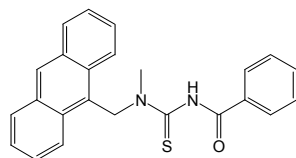
β) επιλεκτικές στην φύση των προς προσδιορισμό μεταλλοϊόντων

γ) ταχείες στην εξαγωγή αποτελεσμάτων

δ) οικονομικά συμφέρουσες από πλευράς υγρής χημικής και οργανολογικής υποδομής με ευρεία εφαρμογή στο περιβάλλον.

Η ανάπτυξη οργανικών υποκαταστατών αποτελεί βασική προϋπόθεση για την αναλυτική ανίχνευση και προσδιορισμό οποιουδήποτε μεταλλοϊόντος και μάλιστα των τοξικών. Έτσι, έχει προωθηθεί η οργανική σύνθεση δομικών υποκαταστατών ικανών προς μεταλλοδέσμευση και δυναμική εκλεκτική ανίχνευση οργανολογικά. Η σύνθεση τέτοιων υποκαταστατών υπαγορεύεται από την ανάγκη μεταλλοδέσμευσης

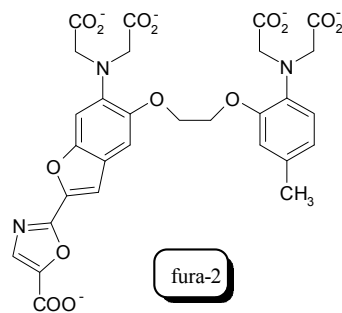
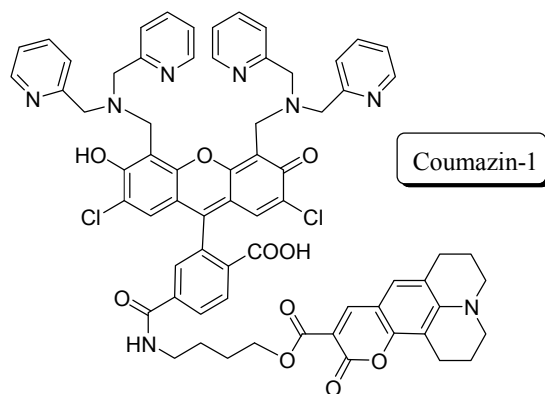
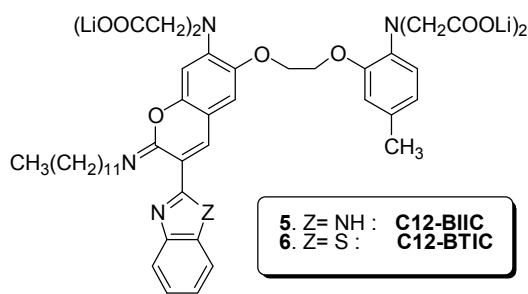
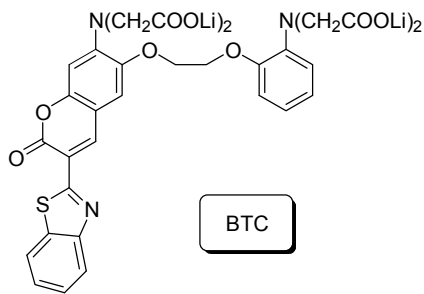
αφενός και την ικανότητα οπτικής παρακολούθησης αφετέρου. Δεσπόζοντα ρόλο στην περίπτωση αυτή διαδραματίζει η φασματοσκοπία φωταύγειας (luminescence spectroscopy)²⁸ και άλλες φθορισμομετρικές τεχνικές. Οι υποκαταστάτες που συντίθενται περιέχουν ως κύριο δομικό συστατικό ομάδα ή ομάδες, οι οποίες είναι στην ουσία φθορίζοντα χρωμοφόρα που είτε ενισχύουν²⁹ είτε αποσβένουν³⁰ τον φθορισμό σε μεταβαλλόμενο βαθμό κατά τη διάρκεια συμπλοκοποίησης με το τοξικό μεταλλοϊόν. Κλασικές τέτοιες ομάδες περιλαμβάνουν N,N-διϋποκατεστημένες N-ακυλοθειουρίες, που είναι άριστοι υποκαταστάτες για την επιλεκτική συμπλοκοποίηση τοξικών μεταλλοϊόντων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα τέτοιων οργανικών υποκαταστατών αποτελούν οι ακυλοθειουρίες με φθορίζοντα πυρένια (π.χ. N-μεθυλο-N-9-(μεθυλοανθρακένιο)-N'-βενζοϋλοθειουρία, MABT.^{31,32}



MABT

Ποικιλία μεταλλοϊόντων έχει εξετασθεί με αυτού του είδους υποκαταστάτες, με σκοπό την εφαρμογή τους στην εύρεση ευαίσθητων μεθόδων ανίχνευσης των ιόντων.

Σε διεθνές επίπεδο, οι φθορισμομετρικές μελέτες εξελίχθηκαν σε σημαντικό μέσο υπολογισμού της συγκέντρωσης των συστατικών αναλυτικών δειγμάτων και βιολογικών συστημάτων.³³ Την τελευταία εικοσαετία έχει δημοσιευθεί μια σειρά από συνθέσεις και μελέτες φασματοσκοπικών ιδιοτήτων φθορίζοντων δεικτών κατιόντων.³⁴ Ιδιαίτερα αξιόλογοι θεωρούνται οι δείκτες εκείνοι που εμφανίζουν ικανότητα μεταβολής του μήκους κύματος διέγερσής τους κατά τη δέσμευση ιόντων (ratiometric probes), επιτρέποντας την εφαρμογή φθορισμομετρίας που αναφέρεται σε λόγους φθορισμού.³⁵ Παραδείγματα τέτοιων δεικτών είναι τα ακόλουθα:



Για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης κατιόντων $[Me^{x+}]$ έχει αναπτυχθεί αλγόριθμος που αφορά δείκτες, οι οποίοι επιδεικνύουν αλλαγή του $\lambda_{max}(exc)$ με τη δέσμευση.³⁶

$$[Me^{x+}] = K_d \frac{R - R_{min}}{R_{max} - R} \left(\frac{S_f(\lambda_1)}{S_b(\lambda_1)} \right)$$

K_d : η σταθερά διάστασης του συμπλόκου "ιόντος-δείκτη".

R_{min} και R_{max} : ο λόγος των εντάσεων φθορισμού στο μήκος κύματος διέγερσης του συμπλόκου (λ_2) ως προς το μήκος κύματος του ελεύθερου δείκτη (λ_1), σε μηδενική $[Me^{x+}]$ και σε επίπεδα κορεσμού του δείκτη αντίστοιχα και,

$S_f(\lambda_1)/S_b(\lambda_1)$: Ο λόγος των συντελεστών αναλογίας φθορισμού του φάσματος διέγερσης, σε $\lambda_{exc}=\lambda_1$.

Η επιλογή των χρωμοφώρων είναι ανάγκη να πληρεί μία σειρά προδιαγραφών συμπεριλαμβανομένων της σταθερότητας της ομάδας, του εύρους των μηκών κύματος διέγερσης κι εκπομπής, της μετατόπισης Stokes (απόσταση μεγίστων

διέγερσης κι εκπομπής), της κβαντικής απόδοσης φθορισμού, της μετατόπισης του μήκους κύματος διέγερσης και/ή εκπομπής κατά τη συμπλοκοποίηση με το ιόν-στόχο, της λιποφιλικότητας και της πιθανής κυτταροτοξικότητας. Η επιλογή των αισθητήρων-υποκαταστατών για κάθε τοξικό μεταλλοϊόν βασίζεται σε χημικά χαρακτηριστικά, όπως:

- μέγεθος μεταλλοϊόντος
- pH-εξαρτώμενη υδρολυτική χημεία
- μαλακότητα-σκληρότητα
- οξοφιλικότητα
- κινητική-θερμοδυναμική σταθερότητα

A. 3. ΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΣΥΝΘΕΣΗ ΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ

Ο σχεδιασμός των προς δημιουργία δεικτών προϋποθέτει την εισαγωγή στη δομή τους συγκεκριμένες λειτουργικές ομάδες οι οποίες θα προσδώσουν τις εξής επιθυμητές ιδιότητες:

α) επιλεκτικότητα για ιόντα βαρέων μετάλλων.

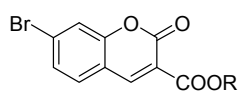
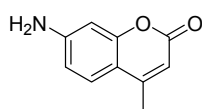
β) μεγάλη συγγένεια ως προς το εκάστοτε ιόν στο μέσο μέτρησης, δηλαδή η τιμή της σταθεράς διάστασης θα πρέπει να είναι στην περιοχή συγκεντρώσεων nM-10μM.

γ) μεγάλη κβαντική απόδοση φθορισμού, και

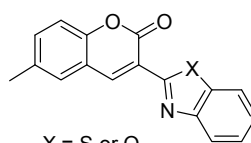
δ) μικρός χρόνος απόκρισης.

Τα κύρια δομικά χαρακτηριστικά των δεικτών που επιλέχθηκαν με βάση τα ανωτέρω κριτήρια, είναι ετεροκυκλικοί σκελετοί κουμαρινικού τύπου, οι οποίοι δρουν ως χρωμοφόρα, καθώς και μονο-αζα-μακροκυκλικά, πολυ-αζα-μακροκυκλικά, φαινανθρολινικά και πικολυλικά (picolyl) συστήματα τα οποία δρουν ως συμπλοκοποιητές ιόντων (ιονοφόρα) (Σχήμα A).

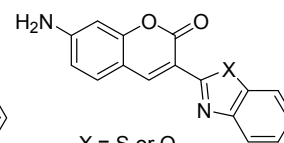
ΧΡΩΜΟΦΟΡΑ



R = Me or Et

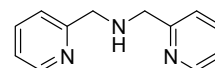
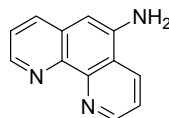
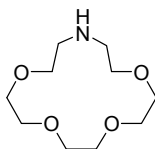
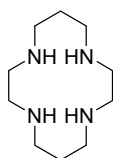


X = S or O



X = S or O

ΙΟΝΟΦΟΡΑ



Σχήμα Α. Δομές χρωμοφόρων και ιονοφόρων της διατριβής.

Παρακάτω αναλύονται οι λόγοι επιλογής των προαναφερθέντων και σημειώνονται παραπομπές για την υπάρχουσα βιβλιογραφία που αφορά τέτοιου τύπου ενώσεις.

A. 3. 1. Επιλογή χρωμοφόρου

Ως χρωμοφόρα στους συγκεκριμένους δείκτες επιλέχθηκαν κουμαρινικά ανάλογα διότι.^{37, 38}

- α) έχουν φωτοσταθερότητα
- β) τα μέγιστα μήκη κύματός τους βρίσκονται στην περιοχή του ορατού ώστε ν' αποφεύγεται ο "θόρυβος" στα σήματα φθορισμού (background fluorescence) από κυτταρικά συστατικά ή βιολογικά υγρά γενικότερα
- γ) εμφανίζουν αρκετά μεγάλη μετατόπιση Stokes προς αποφυγή σημαντικής επικάλυψης των φασμάτων διέγερσης και εκπομπής.
- δ) οι κβαντικές αποδόσεις του φθορισμού τους, επιτρέπουν την ανίχνευση ιόντων με χαμηλές συγκεντρώσεις δείκτη, και
- ε) έχουν την δυνατότητα να εισαχθούν στα κύτταρα είτε με μικροένεση είτε ως παράγωγα με δυνατότητα διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης, χωρίς να καταστρέφουν το κύτταρο.

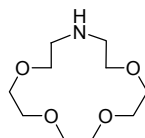
Το εργαστήριο του καθηγητή X. E. Κατερινοπουλου έχει 20-ετή πείρα στην παρασκευή και μελέτη φθορίζοντων δεικτών ασβεστίου και άλλων ενδοκυττάρων ιόντων, με χρωμοφόρα υποκατεστημένες κουμαρίνες και έχει συμβάλλει σημαντικά στο πεδίο της σύνθεσης και μελέτης φθορίζοντων δεικτών.^{34, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 73}

Επιπλέον, οι κουμαρίνες και τα παραγωγά τους έχουν σημαντικές αντιαλλεργικές, αντιμυκητιακές, αντιβακτηριδιακές και αντικές ιδιότητες,^{45, 46, 47, 48} ενώ παρουσιάζουν αντιφλεγμονώδη και αντιοξειδωτική ικανότητα.^{49, 50}

Επίσης, έχει παρατηρηθεί δραστικότητα αυτών έναντι πολλών μορφών καρκίνου στα ζώα.⁵¹

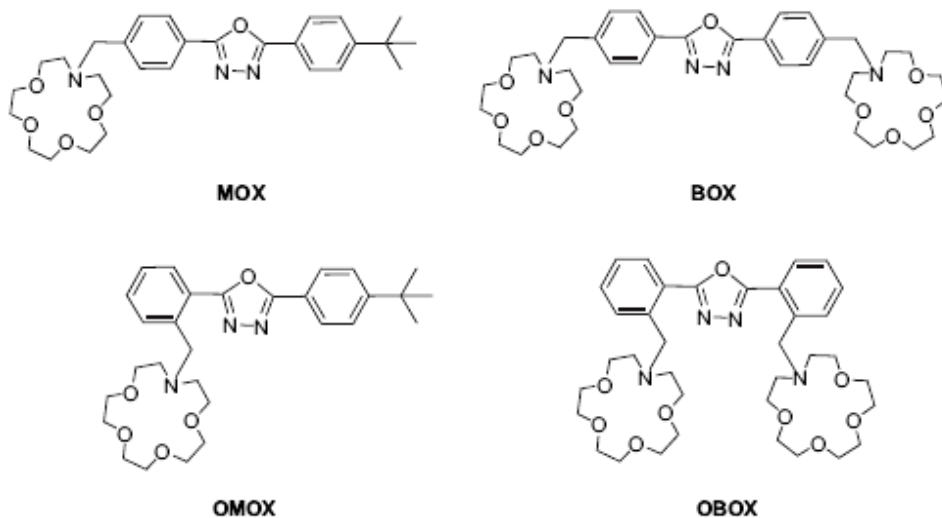
A. 3. 2. Επιλογή χηλικού μέρους (ιονοφόρο)

A. 3. 2. 1. 1-aza-15-crown-5

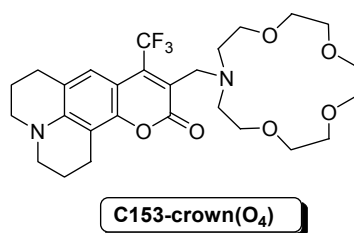


Η επιλογή των χηλικών τμημάτων έγινε με βάση τις βιβλιογραφικές αναφορές συναρμογής τους με βαρέα ή μη μέταλλα.

Συγκεκριμένα, η επιλογή, αρχικά, του 1-aza-15-crown-5 έγινε με βάση το γεγονός ότι αυτό το σύστημα συναρμόζεται με μέταλλα αλκαλίων και αλκαλικών γαιών, ιδιαίτερα με το Ca^{2+} , καθώς και με τον Zn^{2+} .^{52, 53}

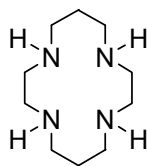


Επίσης, η ερευνητική ομάδα του καθηγητή B. Valeur έχει δημοσιεύσει σύνθεση δείκτη κουμαρινικού τύπου με το συγκεκριμένο ιονοφόρο, ο οποίος δεσμεύει Cd^{2+} και Pb^{2+} σε ακετονιτρίλιο.⁵⁴

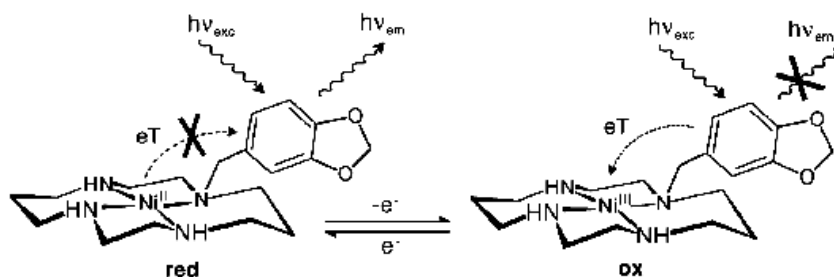


Επιπλέον, η σύνθεση δεικτών με χηλικό μέρος τους μονοάζα-αιθέρες στέματος καθίσταται ευκολότερη καθώς δεν απαιτούνται ενδιάμεσα στάδια προστασίας διαφορετικών αζώτων, καθόσον υπάρχει μόνο ένα άζωτο στο μακροκυκλικό σύστημα.

Α. 3. 2. 2. 1,4,8,11-τετρααζακυκλοδεκατετράνιο (cyclam)

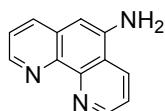


Η επιλογή του 1,4,8,11-τετρααζακυκλοδεκατετράνιου (cyclam) έγινε με σκοπό την δημιουργία δεικτών εκλεκτικών για τα μέταλλα μετάπτωσης. Το cyclam δημιουργεί ιδιαίτερα ισχυρές αλληλεπιδράσεις συναρμογής με δισθενή ιόντα βαρέων μετάλλων, καθώς έχει την ικανότητα τοποθέτησης των τεσσάρων αμινικών αζώτων (δότες) σε θέσεις προτιμητέες από τα περισσότερα μέταλλα μετάπτωσης (π.χ. κορυφές τετραγώνου).⁵⁵ Επιπλέον, το cyclam έχει την δυνατότητα συμπλοκοποίησης μετάλλων σε ασυνήθιστες οξειδωτικές καταστάσεις (π.χ. Ni^{3+} , Cu^{3+} , Ag^{2+} , Ag^{3+}), λόγω ομοεπίπεδων αλληλεπιδράσεων οι οποίες αυξάνουν την ενέργεια των HOMO αντιδεσμικών τροχιακών από τα οποία είναι δυνατόν να αποσπασθεί ένα ηλεκτρόνιο κατά τις οξειδωτικές διαδικασίες.⁵⁵



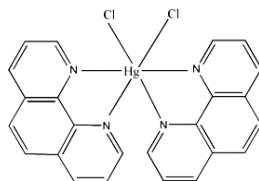
Τέλος, το cyclam παρουσιάζει ομοιότητα με φυσικές βιολογικώς ενεργές ενώσεις, όπως ο πορφυρινικός δακτύλιος στην αίμη, το σύμπλοκο μαγνησίου-χλωρίνης στο μόριο της χλωροφύλλης, ο δακτύλιος βιταμίνης B₁₂-κορίνης και το αντιβιοτικό νονακτίνη (4).^{56, 57}

Α. 3. 2. 3. 5-αμινο-1,10-φαινανθρολίνη



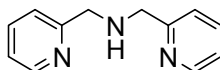
Με βάση τα μέχρι σήμερα βιβλιογραφικά δεδομένα,^{58, 59, 60, 61, 62, 63} τα περισσότερα μέταλλα μετάπτωσης δημιουργούν θερμοδυναμικά και χημικά σταθερά σύμπλοκα με την 1,10-φαινανθρολίνη, ενώ οι φαινανθρολινικοί υποκαταστάτες

γενικά είναι γνωστοί για την δέσμευσή τους, σε συνέργεια με άλλες ομάδες, με ιόντα υδραργύρου.^{64, 65}



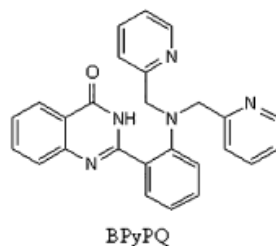
Με βάση τα παραπάνω, η 5-αμινο-1,10-φαινανθρολίνη πρόκειται να χρησιμοποιηθεί ως χηλικό μέρος των αμινοκουμαρινών με σκοπό την εκλεκτική ανίχνευση δισθενούς υδραργύρου (Hg^{2+}).

A. 3. 2. 4. δις-(2-πικολυλ)αμίνη



Η επιλογή της δι-(2-πικολυλ)αμίνης έγινε με βάση την εκτενή χρήση της σε ήδη υπάρχοντες δείκτες ως συμπλοκοποιητή ιόντων ψευδαργύρου.^{66, 67, 68, 69, 70}

Επιπλέον έχει πρόσφατα αναφερθεί η δυνατότητά δημιουργίας συμπλόκων της με ιόντα κοβαλτίου.⁷¹

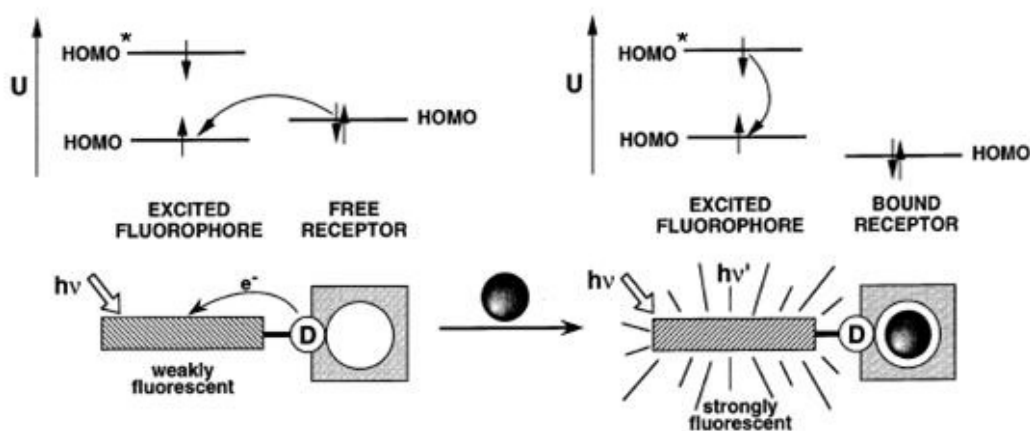


A. 4. «ΤΡΟΠΟΙ ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ» ΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ

Οι κύριες διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα κατά την διέγερση φθορισμομετρικών δεικτών αντιστοιχούν στην ακόλουθη κατηγοριοποίηση των δεικτών αυτών.

A. 4. 1. Δείκτες μεταφοράς ηλεκτρονίου (electron transfer indicators)

Η επιλογή της εισαγωγής μιας μεθυλενομάδας ανάμεσα στο χηλικό και το φθορίζον τμήμα της ένωσης, δεν είναι τυχαία. Αποσκοπεί στη δημιουργία δεικτών μεταφοράς ηλεκτρονίου [fluorescent PET (photoinduced electron transfer) cation sensors].⁷² Στους δείκτες αυτής της κατηγορίας τα ετεροάτομα του χηλικού τμήματος του δείκτη δεν συνδέονται απ' ευθείας με το συζυγιακό σύστημα του χρωμοφόρου. Συνέπεια της επιλογής αυτής είναι ότι, στην ελεύθερη μορφή του δείκτη, η φωτοδιέγερση του χρωμοφόρου επάγει τη μεταφορά ενός ηλεκτρονίου από το υψηλότερο κατειλημμένο δεσμικό μοριακό τροχιακό (HOMO), στο χαμηλότερο μη-κατειλημμένο αντιδεσμικό μοριακό τροχιακό (LUMO). Στην συνέχεια λαμβάνει χώρα μεταφορά ηλεκτρονίου από το HOMO του χηλικού μέρους (δότης) στο HOMO του χρωμοφόρου (δέκτης), με αποτέλεσμα την απόσβεση του φθορισμού (Σχήμα 1). Μετά τη δέσμευση του κατιόντος, αλλάζει το δυναμικό οξειδοαναγωγής του δότη και το HOMO του γίνεται χαμηλότερο σε ενέργεια από αυτό του δέκτη, οπότε δεν είναι δυνατή η μεταπήδηση ηλεκτρονίου, οπότε παρατηρείται αύξηση στην ένταση φθορισμού.



Σχήμα 1. Σχηματική αναπαράσταση των ηλεκτρονιακών μεταπτώσεων στους δείκτες μεταφοράς ηλεκτρονίου

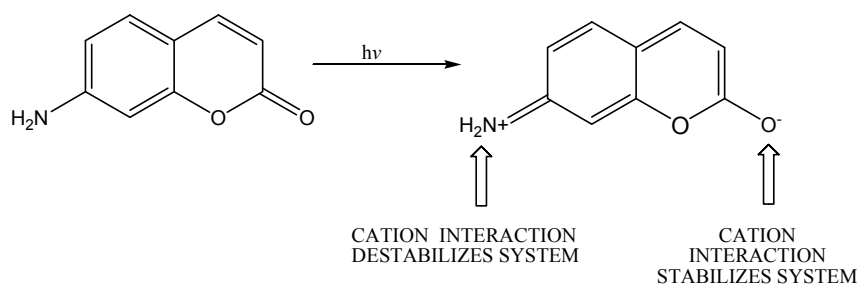
A. 4. 2. Δείκτες μεταφοράς φορτίου (charge transfer indicators)

Όταν η κουμαρίνη είναι απευθείας συνδεδεμένη με μία ομάδα δότη-ηλεκτρονίων, (π.χ. την αμινομάδα των αζα-μακροκυκλικών), τότε λόγω συντονισμού το HOMO του χρωμοφόρου είναι εξαρχής ψηλότερα ενεργειακά από αυτό του δότη οπότε προκύπτει μία διαφορετική κατηγορία δεικτών μεταφοράς φορτίου [fluorescent PCT (photoinduced charge transfer) cation sensors].⁷²

Συγκεκριμένα, όταν ένα χρωμοφόρο εμπεριέχει μία ηλεκτρονιοδοτική ομάδα (στην συγκεκριμένη περίπτωση μία αμινομάδα) η οποία βρίσκεται σε συζυγία με μία ηλεκτρονιοελκτική ομάδα (στην συγκεκριμένη περίπτωση μία καρβονυλομάδα) τότε η φωτοδιέγερση του μορίου προκαλεί ενδομοριακή μεταφορά φορτίου από τον δότη στον δέκτη (Σχήμα 2). Η μεταφορά φορτίου αυτή οδηγεί σε μία μετατόπιση Stokes η οποία εξαρτάται από το μικροπεριβάλλον του χρωμοφόρου.

Όταν ο δότης (αμινομάδα) είναι η ομάδα που αλληλεπιδρά με το κατιόν τότε η ηλεκτρονιοδοτική του ικανότητα ελαττώνεται. Η «μείωση» αυτή του συζυγιακού συστήματος συνεπάγεται μία υποχρωμική μετατόπιση (blue shift) του φάσματος απορρόφησης και ταυτόχρονα ελάττωση του συντελεστή απορρόφησης. Αντίθετα, όταν το κατιόν αλληλεπιδρά με τον ηλεκτρονιοδέκτη (καρβονυλομάδα) ο ηλεκτρονιοελκτικός χαρακτήρας του αυξάνεται με συνέπεια η μεταφορά φορτίου να γίνεται ισχυρότερη, το φάσμα απορρόφησης να υφίσταται βαθοχρωμική μετατόπιση (red-shift) και ο συντελεστής απορρόφησης να αυξάνεται.

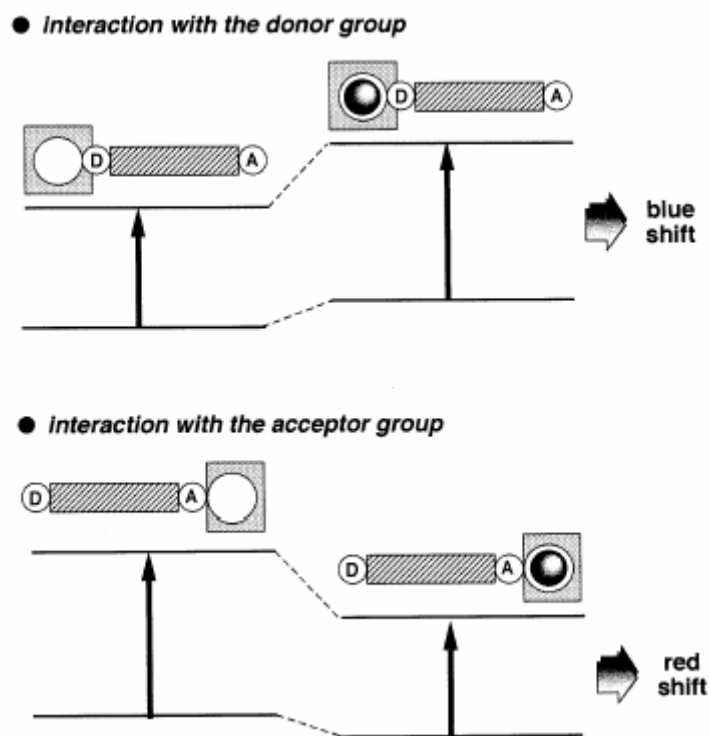
Τα φάσματα εκπομπής ακολουθούν την ίδια κατεύθυνση μετατόπισης με αυτή των φασμάτων απορρόφησης. Όλες οι μεταβολές στο φθορισμομετρικό προφίλ των δεικτών εξαρτώνται προφανώς από το κατιόν που συναρμόζεται με τον δείκτη.



Σχήμα 2. Ενδομοριακή μεταφορά φορτίου.

Οι φωτοφυσικές αλλαγές που προκαλούνται από την εκάστοτε συναρμογή του κατιόντος είναι δυνατόν να ερμηνευτούν και με την θεώρηση της αλληλεπίδρασης διπόλου-φορτίου (charge dipole interaction). Στην περίπτωση όπου η διπολική ροπή

της διεγερμένης κατάστασης του συστήματος είναι μεγαλύτερη αυτής της βασικής κατάστασης και το κατιόν αλληλεπιδρά με τον δότη, τότε η διεγερμένη κατάσταση αποσταθεροποιείται περισσότερο από ότι η βασική και συνεπώς εμφανίζεται μία μικρή υψοχρωμική μετατόπιση (blue shift) στα φάσματα διέγερσης και εκπομπής. Αντίθετα, εάν το κατιόν αλληλεπιδρά με τον ηλεκτρονιοδέκτη η διεγερμένη κατάσταση σταθεροποιείται περισσότερο από την βασική και συνεπώς εμφανίζεται μία βαθοχρωμική (red shift) μετατόπιση στα αντίστοιχα φάσματα (Σχήμα 3).



Σχήμα 3. Καταστάσεις αλληλεπίδρασης κατιόντων με δότη ή δέκτη ηλεκτρονίων.

B. ΣΤΟΧΟΣ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

B. 1. ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΟ ΣΧΟΛΙΟ

Η παρούσα ερευνητική διατριβή πραγματοποιήθηκε με βάση την ανάγκη της επιστήμης για ακριβέστερες, ταχύτερες και πιο ευέλικτες ανιχνεύσεις βαρέων μετάλλων τόσο σε βιολογικά υγρά όσο και σε περιβαλλοντικά δείγματα.

Σκοπός

Σκοπός της συγκεκριμένης διατριβής είναι η εισαγωγή στον επιστημονικό τομέα της ανίχνευσης βιοδραστικών ιόντων, μίας σειράς νέων, βελτιωμένων φθορισμομετρικών δεικτών υψηλής εκλεκτικότητας, καθώς και της ανάπτυξης συνθετικής μεθοδολογίας για την παρασκευή τους.

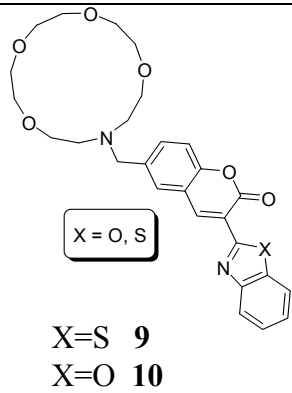
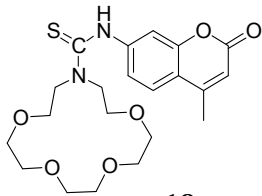
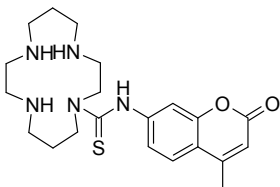
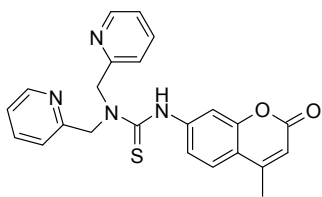
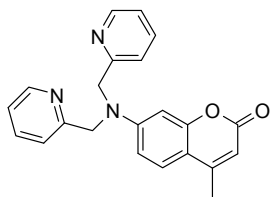
Στόχος

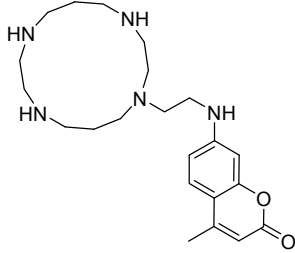
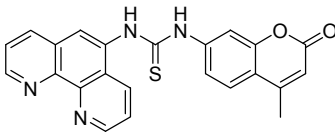
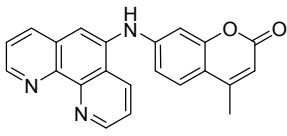
Στόχος της παρούσας εργασίας είναι η σύνθεση νέων αζα-μακροκυκλικών και φαινανθρολινικών φθορισμομετρικών δεικτών τοξικών μεταλλοϊόντων, με ενισχυμένη μεταλλοδεσμευτική ικανότητα και υψηλή κβαντική απόδοση.

B. 2. ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΕΣ ΔΟΜΕΣ ΔΕΙΚΤΩΝ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ

Με βάση το συγκεκριμένο θεωρητικό υπόβαθρο, σχεδιάστηκαν δείκτες στους οποίους η κουμαρίνη θα συνδέεται με το χηλικό μέρος (α) άμεσα, (β) μέσω συζυγίας, (γ) μέσω συμπληρωματικής συναρμογής του ιόντος από αυτήν ή (δ) μέσω μεθυλενομάδας. Οι δείκτες αυτοί αναμένεται να δράσουν ως δείκτες τύπου PCT στις περιπτώσεις (α), (β), (γ), ενώ ως δείκτες τύπου PET στην περίπτωση (δ).

Οι δομές των δεικτών που τέθηκαν ως συνθετικοί στόχοι είναι οι ακόλουθες:

ΔΕΙΚΤΗΣ	ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ
 <p>X = O, S</p> <p>X=S 9 X=O 10</p>	<p>PET</p> <p>σελ. 23</p>
 <p>18</p>	<p>PCT (β)</p> <p>σελ. 26</p>
 <p>20</p>	<p>PCT (β)</p> <p>σελ. 27</p>
 <p>41</p>	<p>PCT (β)</p> <p>σελ. 47</p>
 <p>42</p>	<p>PCT (α) σελ. 48</p> <p>Δεν επιτεύχθηκε η σύνθεση του διπικολινικού προϊόντος αλλά του μονουποκατεστημένου αναλόγου 43 (σελ. 52)</p>

 <p style="text-align: center;">24</p>	<p style="text-align: center;">PCT (γ) σελ. 30</p> <p style="text-align: center;">Δεν επιτεύχθηκε η σύνθεση του συγκεκριμένου δείκτη-στόχου</p>
 <p style="text-align: center;">36</p>	<p style="text-align: center;">PCT (α) σελ. 38</p> <p style="text-align: center;">Δεν επιτεύχθηκε η σύνθεση του συγκεκριμένου δείκτη-στόχου</p>
 <p style="text-align: center;">38</p>	<p style="text-align: center;">PCT (α) σελ. 41</p> <p style="text-align: center;">Δεν επιτεύχθηκε η σύνθεση του συγκεκριμένου δείκτη-στόχου</p>

Συγκεκριμένα,

- ◆ Στην περίπτωση των PET δεικτών, το χηλικό κομμάτι είναι η ένωση 1-aza-15-crown-5 και ο στόχος είναι να συνδεθεί μέσω μεθυλενικής γέφυρας με βενζοξαζόλυλο και βενζοθειαζόλυλο κουμαρίνες.
- ◆ Στην περίπτωση των PCT δεικτών τύπου (α), τα χηλικά μέρη είναι η 5-αμινο-1,10-φαινανθρολίνη, η δι-(2-πικολυλαμίνη) και το cyclam και ο στόχος είναι να συνδεθούν άμεσα με την 7-αμινο-4-μεθυλοκουμαρίνη μέσω καταλυτικής αντίδρασης παλλαδίου Buchwald-Hartwig.
- ◆ Στην περίπτωση των PCT δεικτών τύπου (β), τα χηλικά μέρη είναι επίσης η 5-αμινο-1,10-φαινανθρολίνη, η δι-(2-πικολυλαμίνη) και το cyclam και ο στόχος είναι να συνδεθούν μέσω θειοκαρβαμιδικής γέφυρας με την 7-αμινο-4-μεθυλοκουμαρίνη.
- ◆ Στην περίπτωση των PCT δεικτών τύπου (γ), το χηλικό μέρος είναι το cyclam και ο στόχος είναι να συνδεθεί μέσω αλειφατικής γέφυρας με την 7-αμινο-4-μεθυλοκουμαρίνη.

Γ. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

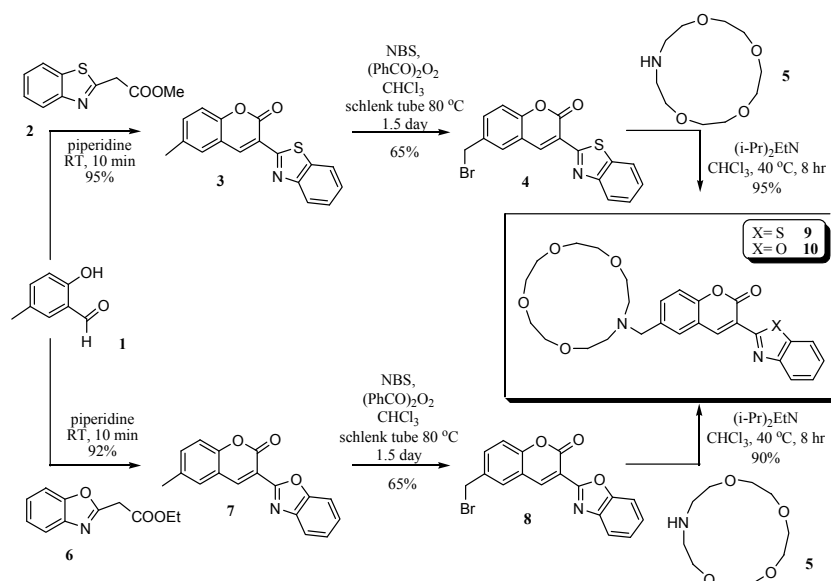
Γ. 1. ΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ - ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑ

Γ. 1. 1. Δείκτες τύπου 1-aza-15-crown-5

Γ. 1. 1. 1. Δείκτες 1-aza-15-crown-5 - κουμαρίνης με μεθυλενικό σύνδεσμο

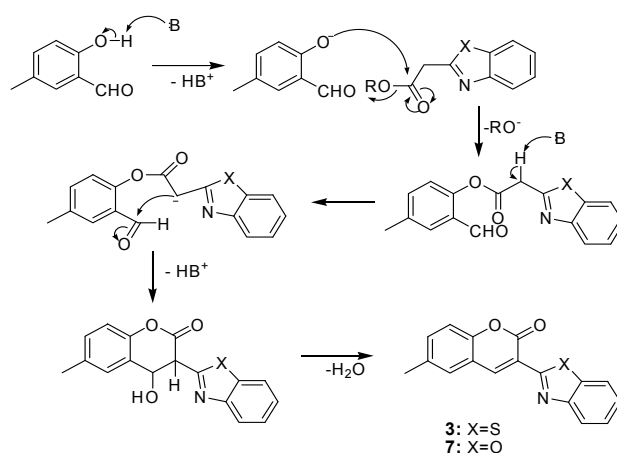
Η επιτυχημένη σύνθεση των ενώσεων **2-10**, **12** και **13** έχει αναφερθεί σε δημοσιευμένη διατριβή (ΜΔΕ-Βουτσαδακη Σ.)¹⁰⁴ ενώ στο παρόν έργο πραγματοποιήθηκαν βελτιώσεις στα πειράματα παρασκευής των ενώσεων **4**, **8**, **9**, **10**.

Η σύνθεση των δεικτών **9** και **10** πραγματοποιήθηκε σε 3 στάδια, με συνολικές αποδόσεις 59% και 54%, αντίστοιχα. Οι πορείες που ακολουθήθηκαν για την επιτυχή σύνθεση των μονο-αζα-μεθυλενο-δεικτών συνοψίζονται στο Σχήμα 4.



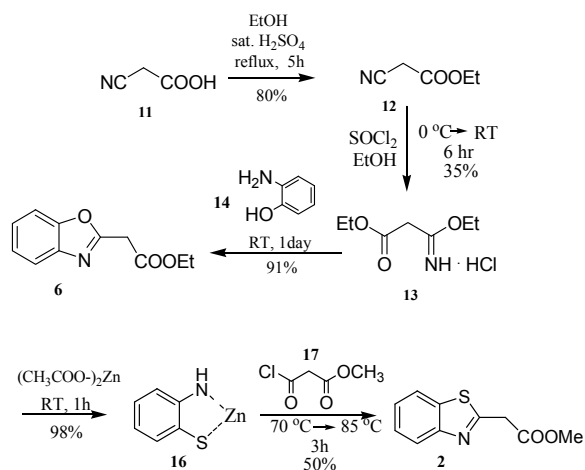
Σχήμα 4. Σύνθεση των δεικτών **9** και **10**

Για τη σύνθεση των δεικτών **9** & **10**, αρχικά δημιουργείται ο βασικός σκελετός των κουμαρινών **7** & **3** αντίστοιχα, με ταυτόχρονη ενσωμάτωση των χρωμοφόρων τμημάτων στα ενδιάμεσα, τα οποία δίνουν τις επιθυμητές ιδιότητες φθορισμού στους τελικούς δείκτες.⁷³ Μια βασικά καταλυόμενη αντίδραση της 2-υδροξυ-5-μεθυλοβενζαλδεΐδης **1** με τον (2-βενζοξαζολυλο)οξικό αιθυλεστέρα **6** και τον (2-βενζοθειαζολυλο)οξικό μεθυλεστέρα **2** (αντίδραση Knoevenagel) δίνει τα επιθυμητά χρωμοφόρα. Ο μηχανισμός της αντίδρασης αυτής απεικονίζεται στο Σχήμα 5.



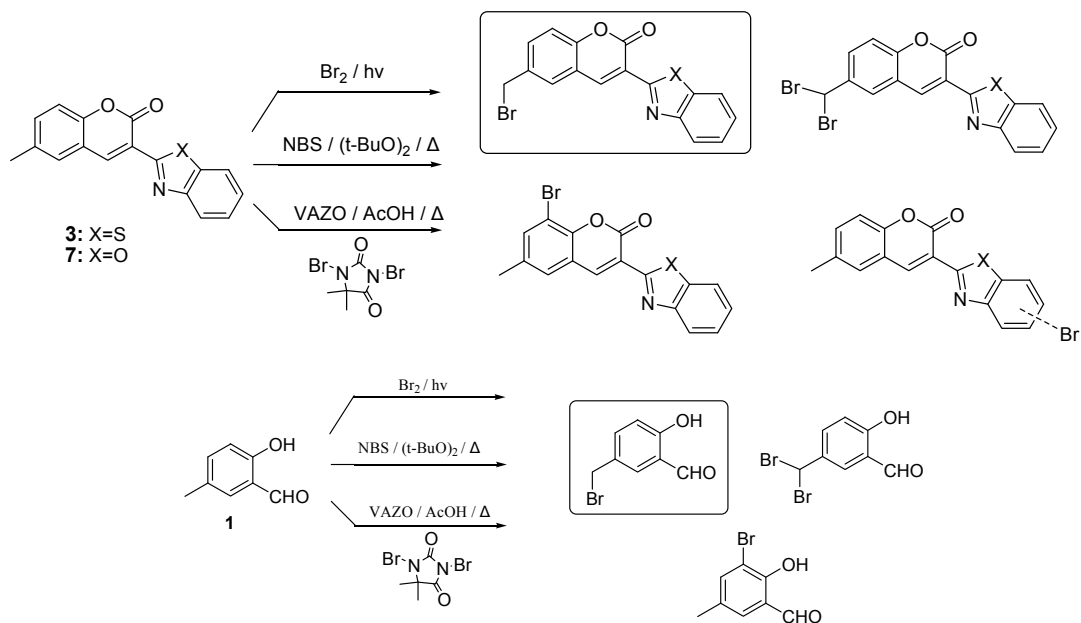
Σχήμα 5. Μηχανισμός σχηματισμού των **3** και **7** μέσω αντίδρασης Knoevenagel.

Οι αντιδράσεις Knoevenagel πραγματοποιήθηκαν πολύ γρήγορα (5 λεπτά), με υψηλές αποδόσεις.

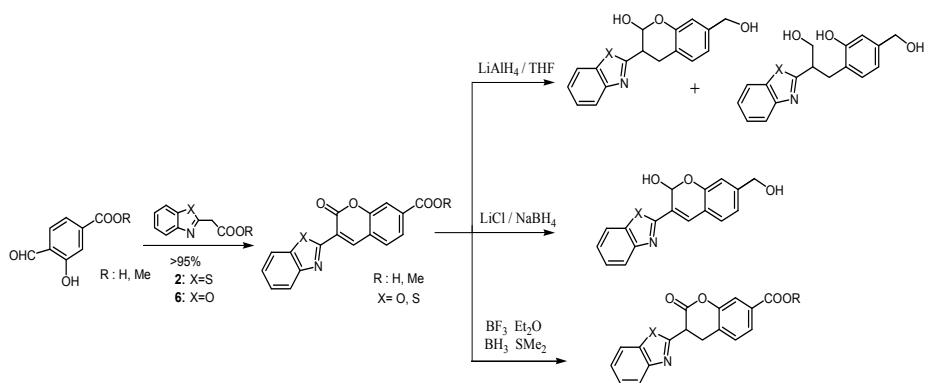


Βοηθητικό σχήμα. Σύνθεση του (2-βενζοθειαζολυλο)οξικού μεθυλεστέρα **2**⁷³ και του (2-βενζοξαζολυλο)οξικού αιθυλεστέρα **6**.¹⁰⁴

Η σημαντικότερη δυσκολία που παρουσιάστηκε στη σύνθεση των δεικτών **9** και **10** ήταν στο δεύτερο στάδιο, δηλαδή στη σύνθεση των βενζυλοβρωμιδίων, όπου δοκιμαστικές βρωμιώσεις με $\text{Br}_2/h\nu$, NBS/*t*-βουτυλο-υδροϋπεροξειδίου/θέρμανση και 1,3-διβρωμο-5,5-διμεθυλοϋδαντοΐνη/1,1'-Αζοδισ-(κυκλοεξανοκαρβονιτρίλιο) (VAZO)⁷⁴ έδωσαν εκτός από το μέθυλο-βρωμιωμένο προϊόν, σημαντικά ποσοστά βρωμίωσης και σε αρωματικές θέσεις των κουμαρινών (Σχήμα 6), ενώ εναλλακτική ρετροσυνθετική προσέγγιση μέσω των αντίστοιχων αλκοολών παρουσίασε προβλήματα στο στάδιο της αναγωγής του επιθυμητού εστέρα (Σχήμα 7).

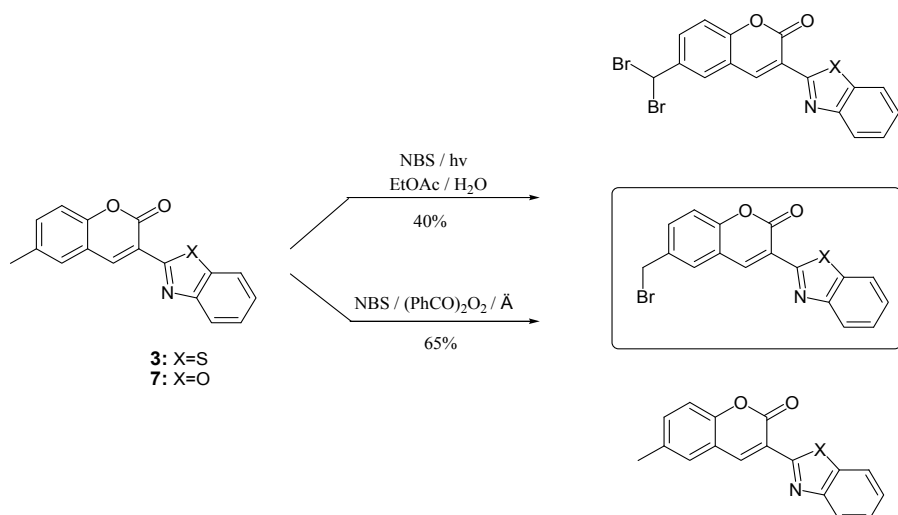


Σχήμα 6. Προσπάθειες βρωμίωσης της μεθυλενομάδας των κουμαρινών 3 και 7, όπως επίσης και της μεθυλοσαλικυλαλδεΐδης 1.



Σχήμα 7. Προσπάθειες αναγωγής του εστέρα της κουμαρίνης.

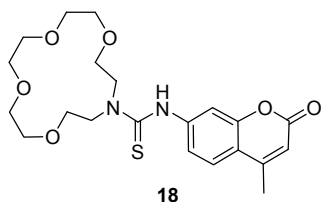
Τα επιθυμητά βρωμίδια **4** και **8** τελικά συντέθηκαν με δύο τρόπους αποφεύγοντας τη δημιουργία αρωματικά βρωμιωμένων παραπροϊόντων: α) NBS σε διφασικό σύστημα EtOAc/H₂O⁷⁵ με ακτινοβολήση με λάμπα ορατού και β) NBS/(PhCO)₂O₂⁷⁶ με θέρμανση. Ωστόσο, η μέγιστη απόδοση σε βρωμίδιο που είχε επιτευχθεί μέχρι τώρα δεν ξεπερνούσε το 50%, ενώ στην παρούσα διατριβή η μέθοδος βελτιώθηκε και οι αποδόσεις φτάνουν το 65%.



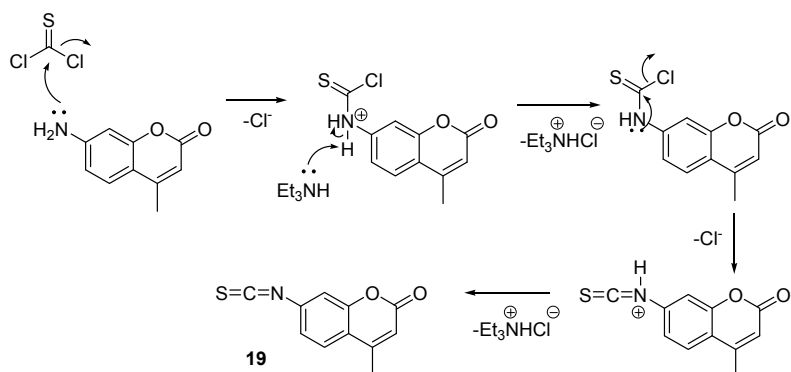
Σχήμα 8. Επιτυχείς προσπάθειες βρωμίωσης της μεθυλενομάδας της κουμαρίνης.

Σημαντική βελτίωση της απόδοσης επιτεύχθηκε επίσης και στο τρίτο και τελευταίο στάδιο της σύζευξης των βρωμιδίων με το 1-aza-15-crown-5 μέσω μηχανισμού S_N2 (δείκτης **9**: 95%, δείκτης **10**: 90%).

Γ. 1. 1. 2. Δείκτης 1-aza-15-crown-5 - κουμαρίνης με σύνδεσμο θειοκαρβαμιδίου

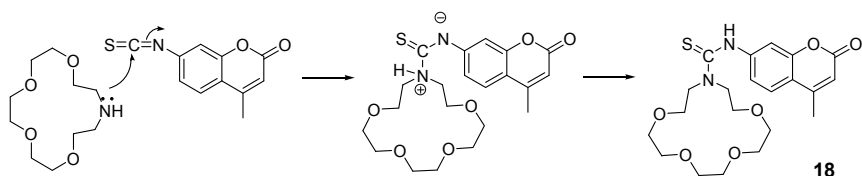


Η δημιουργία του δείκτη **18** επιτεύχθηκε σε μόλις 2 συνθετικά βήματα, με συνολική απόδοση 97%. Η δημιουργία της 4-methyl-7-[(2-thioxoethenylidene)amino]-1H-isochromen-1-one (ένωση **19**) πραγματοποιήθηκε εύκολα με χρήση δύο ισοδυνάμων βάσης, περίσσειας $CSCl_2$, σε διαλύτη διχλωρομεθάνιο, και ελαφρά θέρμανση, 35-40 °C.⁷⁷ Είναι σημαντικό να απομακρυνθεί πλήρως όλη η μη αντιδρώσα ποσότητα θειοφωσγενίου, ώστε να μην αντιδράσει στο επόμενο στάδιο με το mono-aza-crown. Ο μηχανισμός δημιουργίας του ισοθειοκυανικού παραγώγου είναι ο παρακάτω:



Σχήμα 9. Μηχανισμός δημιουργίας του ισοθειοκυανικού παραγώγου της κουμαρίνης **19**.

Στο δεύτερο στάδιο η σύζευξη του **19** με το 1-aza-15-crown-5 υλοποιήθηκε σε διαλύτη CH_2Cl_2 και ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για μισή ώρα, σύμφωνα με το μηχανισμό:

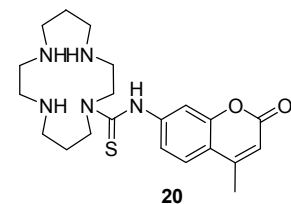


Σχήμα 10. Μηχανισμός σύνθεσης του δείκτη **18**.

Η δημιουργία του ισοθειοκυανικού παραγώγου **19** και η σύζευξη του με το 1-aza-15-crown-5 δεν παρουσίασε κανένα πρόβλημα.

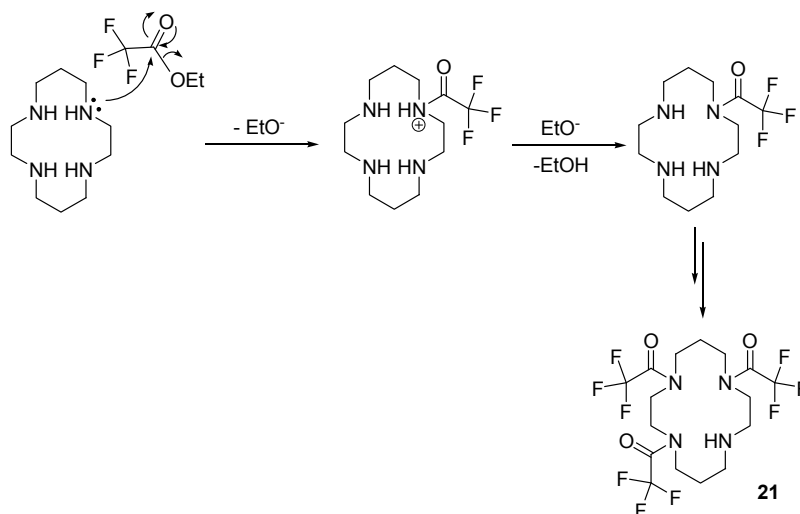
Γ. 1. 2. Δείκτες τύπου cyclam

Γ. 1. 2. 1. Δείκτης cyclam-κουμαρίνης με σύνδεσμο θειοκαρβαμιδίου



Η σύνθεση του δείκτη **20** πραγματοποιήθηκε σε 2 στάδια με απόδοση 70%. Αρχικά κρίθηκε απαραίτητη η προστασία των τριών από τα τέσσερα άζωτα του cyclam προς αποφυγή δημιουργίας μίγματος πολύ-υποκατεστημένων-θειοκαρβαμιδικών προϊόντων. Μετά από πολύ προσεκτική μελέτη της βιβλιογραφίας βρέθηκε η διαδικασία με την οποία έχει επιτευχθεί η προστασία των 3 αζώτων με μεγάλη απόδοση,⁷⁸ με σκοπό την δημιουργία δεικτών μονο-υποκατεστημένων ως προς το cyclam. Η χρήση 4 ισοδυνάμων τριφθοροξικού αιθυλεστέρα και 1

ισοδύναμου βάσης (τριαιθυλαμίνη) παράγει αποκλειστικά το τρι-υποκατεστημένο μακροκυκλικό **21** παρόλη την περίσσεια του προστατευτικού μέσου (Σχήμα 11).



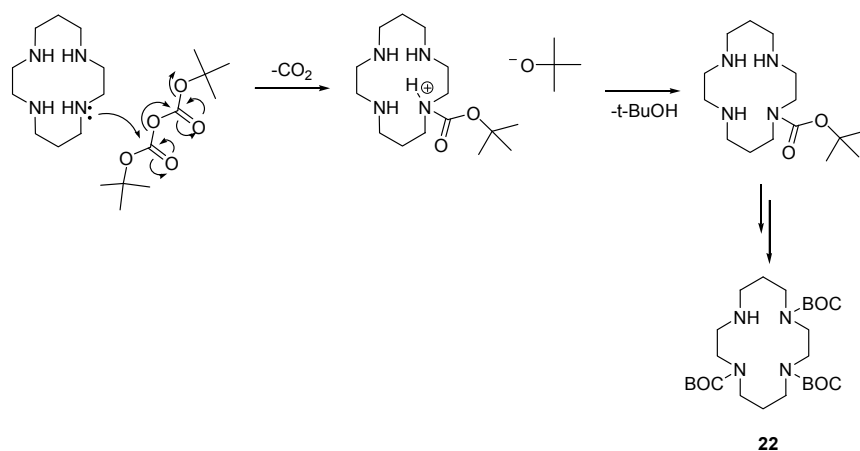
Σχήμα 11. Μηχανισμός τρι-προστασίας του cyclam με τριφθοροξικό αιθυλεστέρα.

Εντούτοις, αυτά η ένωση του **21** με το ισοθειοκυανικό ανάλογο της κουμαρίνης πραγματοποιείται με απόδοση μόνο 50% και επιπλέον η αποπροστασία του μακροκυκλικού (προσπάθειες με Na₂CO₃, KOH, Ba(OH)₂, NaBH₄, NH₃, MeONa, *t*-BuONa)^{79,80,81,82,83,84} επιφέρει διάσπαση της θειοκαρβαμιδικής γέφυρας.

Για να αποφευχθεί το παραπάνω πρόβλημα διάσπασης της θειοκαρβαμιδικής γέφυρας από βασικές ή αναγωγικές συνθήκες, χρησιμοποιήθηκε ως N-προστατευτική ομάδα η ομάδα του BOC η οποία έχει το πλεονέκτημα ότι απομακρύνεται σε όξινες συνθήκες, όπου δεν αναμένεται διάσπαση της θειοκαρβαμιδικής γέφυρας. Προσπάθειες όμως, τρι-προστασίας του cyclam με 3 ισοδύναμα (BOC)₂O και 3 ισοδύναμα βάσης έδωσαν σε μεγάλο ποσοστό τετρα-υποκατεστημένο μακροκυκλικό και μείγμα μονο-, δι-, και τρι-υποκατεστημένων παραγώγων όπου το τρι-υποκατεστημένο βρίσκεται σε μικρή αναλογία.

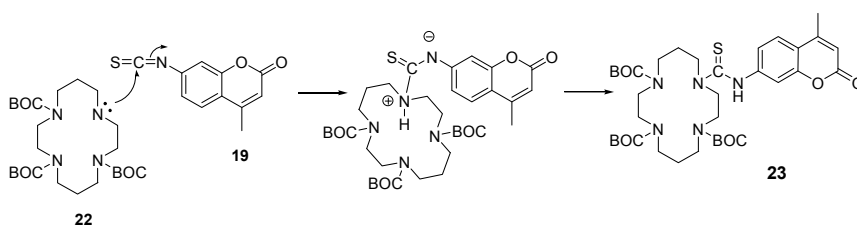
Η καλύτερη μέθοδος παραγωγής του τρι-προστατευμένου-cyclam **22** είναι αυτή στην οποία δεν χρησιμοποιήθηκε καθόλου βάση και η προσθήκη του προστατευτικού μέσου (BOC ανυδρίτης) έγινε πολύ αργά στο διάλυμα του cyclam σε θερμοκρασία -30 °C. Η δημιουργία του τετρα-υποκατεστημένου μακροκυκλικού είναι μικρή, του τρι-υποκατεστημένου μεγάλη (87% απόδοση), ενώ ελάχιστη είναι η δημιουργία μονο- και δι-υποκατεστημένου αναλόγου. Ο διαχωρισμός με υγρή χρωματογραφία βαθμιδωτής έκλουσης του τρι-προστατευμένου cyclam από τα τετρα-,

δι- και μόνο- είναι εύκολος, καθώς τα δι- και μονο-υποκατεστημένα κατακρατώνται ισχυρά από τη silica ενώ το τετρα-υποκατεστημένο απομακρύνεται γρήγορα. Ο μηχανισμός της προστασίας απεικονίζεται στο Σχήμα 12:



Σχήμα 12. Μηχανισμός τρι-προστασίας του cyclam με BOC ανυδρίτη.

Η σύζευξη του tri-BOC-cyclam **22** με την κουμαρίνη πραγματοποιήθηκε μέσω δημιουργίας του ισοθειοκυανικού της παραγώγου **19** σε διαλύτη CHCl₃, και θέρμανση της παρουσία του μακροκυκλικού στους 50 °C για μισή ώρα:

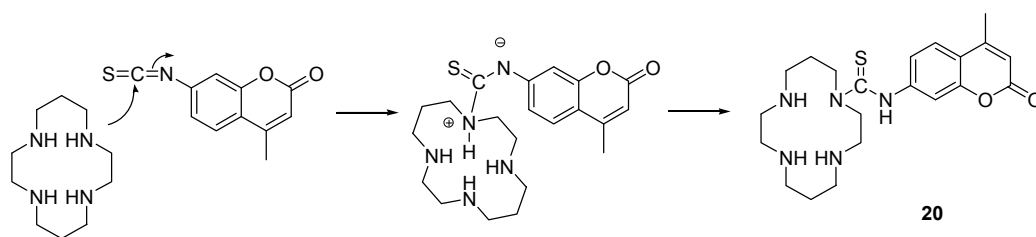


Σχήμα 13. Μηχανισμός σύνθεσης του προστατευμένου δείκτη **23**.

Η απομάκρυνση των BOC έγινε με θέρμανση με αναβρασμό του υποστρώματος σε αιθανολικό διάλυμα με μερικές σταγόνες 37% HCl, μέθοδος η οποία δυστυχώς επιφέρει επίσης διάσπαση της θειοκαρβαμιδικής γέφυρας. Χαρακτηριστική είναι η αναδύομενη μυρωδιά των ενώσεων του θείου μετά το τέλος της αντίδρασης.

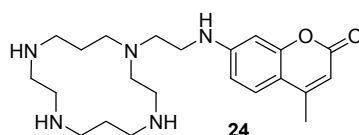
Τελικά, η σύζευξη του cyclam με το **19** επιχειρήθηκε απ' ευθείας με χρήση του μη προστατευμένου μακροκυκλικού. Πραγματοποιήθηκε πολύ αργή προσθήκη υπό χαμηλή θερμοκρασία (-50 °C) διαλύματος του **19** σε διάλυμα περίσσειας cyclam (διπλάσια αναλογία) ώστε ν' αποφευχθεί η πολυ-υποκατάσταση. Η αργή προσθήκη αναμένονταν να αποτρέψει την πολυ-υποκατάσταση του μακροκυκλικού. Παρ' όλα

αυτά παράχθηκε μίγμα προϊόντων, με το επιθυμητό (**20**) να βρίσκεται σε μεγαλύτερο ποσοστό. Μετά από πολλές προσπάθειες καθαρισμού του προϊόντος **20** επιτεύχθηκε πρόσφατα η απομόνωσή του.

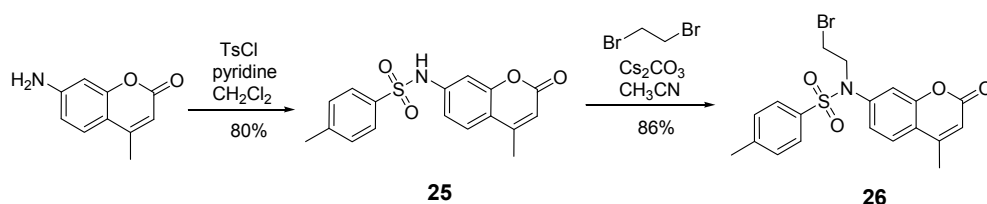


Σχήμα 14. Μηχανισμός δημιουργίας του δείκτη **20**.

Γ. 1. 2. 2. Δείκτης cyclam-κουμαρίνης με αλειφατικό σύνδεσμο



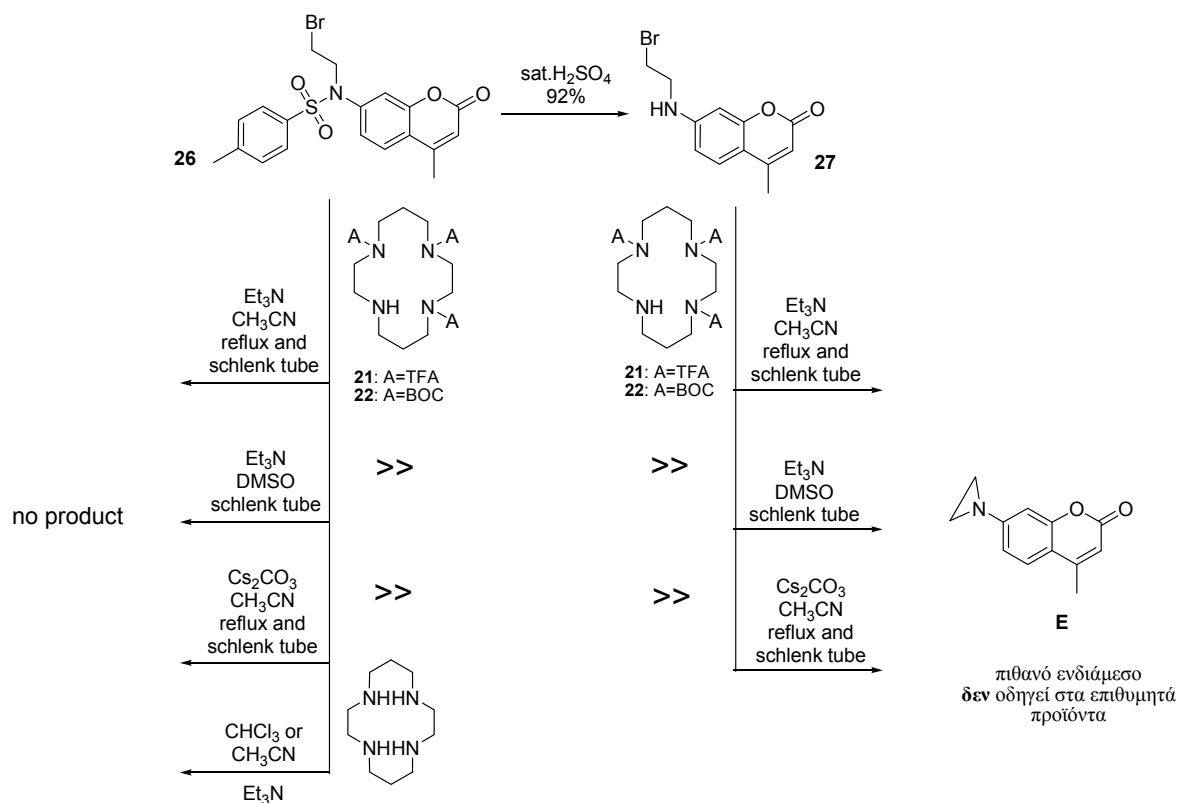
Η σύνθεση του δείκτη **24** προσεγγίστηκε με δύο πορείες. Στην πρώτη συνθετική προσέγγιση η αλειφατική γέφυρα ενσωματώθηκε στην κουμαρίνη κι έπειτα επιχειρήθηκε η ένωση με το τρι-προστατευμένο cyclam. Συγκεκριμένα, αρχικά προστατεύτηκε το αρωματικό άζωτο της κουμαρίνης με τοσυλοχλωρίδιο,⁸⁵ διαδικασία εύκολη και γρήγορη. Η συγκεκριμένη προστατευτική ομάδα επιλέχθηκε με σκοπό την επίτευξη μονο-αλκυλίωσης της 7-αμινοκουμαρίνης στο επόμενο συνθετικό βήμα. Επιπλέον, η απομάκρυνσή της - μετά τον σχηματισμό του N-βρωμοαιθύλου παραγώγου - γίνεται σε όξινες συνθήκες που δεν επηρεάζουν το βρωμίδιο ή την κουμαρίνη. Η αλκυλίωση⁸⁵ πραγματοποιήθηκε σχετικά εύκολα με χρήση περίσσειας αλκυλιωτικού προς αποφυγή δι-υποκατάστασης του 1,2-διβρωμοαιθανίου (Σχήμα 15).



Σχήμα 15. Σύνθεση του αιθύλου βρωμιδίου της N-τόσυλο-προστατευμένης κουμαρίνης **26**.

Επιχειρήθηκε κατόπιν η σύζευξη της N-τόζυλο-N-βρωμοαίθυλοκουμαρίνης με cyclam (προστατευμένο είτε με TFA είτε με BOC), η οποία όμως δεν κατέστη δυνατή, λόγω υψηλής στερεοχημικής παρεμπόδισης. Ως εκ τούτου, δοκιμάστηκε και η εναλλακτική λύση κατά την οποία πρώτα απομακρύνθηκε η τοσυλομάδα και μετά επιχειρήθηκε η σύζευξη. Η απομάκρυνση ήταν γρήγορη όπως και αναμενόταν. Θέρμανση σε πυκνό θειικό οξύ για 10 λεπτά αποπροστατεύει πλήρως την κουμαρίνη ενώ δεν διασπά το βρωμίδιο.⁸⁵ Μολονότι απομακρύνθηκε η ογκώδης τοσυλομάδα, η στερεοχημική παρεμπόδιση παρέμεινε αρκετά μεγάλη ώστε να παρεμποδίσει την σύζευξη του χηλικού με το φθορίζον μέρος σε χαμηλές θερμοκρασίες. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι η σύζευξη αυτή δεν ήταν εφικτή ούτε σε υψηλές θερμοκρασίες καθώς πιθανότατα, αντί για την S_N2 υποκατάσταση του βρωμίου από το τριπροστατευμένο cyclam, σχηματίζεται μη απομονώσιμο προϊόν(τα) ίσως μέσω του αζιριδινικού ενδιάμεσου **E** (Σχήμα 16).

Σημαντική είναι η παρατήρηση ότι η σύζευξη της N-τόζυλο-N-βρωμοαίθυλοκουμαρίνης με μη προστατευμένο cyclam δεν ήταν επίσης εφικτή. Ως πιθανές αιτίες θεωρούμε την (μέτρια) στερεοχημική παρεμπόδιση (δευτεροταγής αμίνη και N-τοσυλο-N-αίθυλοβρωμίδιο) και τη μέτρια διαλυτότητα του cyclam στο ακετονιτρίλιο. Η αντίδραση επαναλήφθηκε σε χλωροφόρμιο, στο οποίο είναι διαλυτό το cyclam, αλλά απέτυχε, πιθανόν λόγω της αδυναμίας αύξησης της θερμοκρασίας αναβρασμού πάνω από 60 °C.

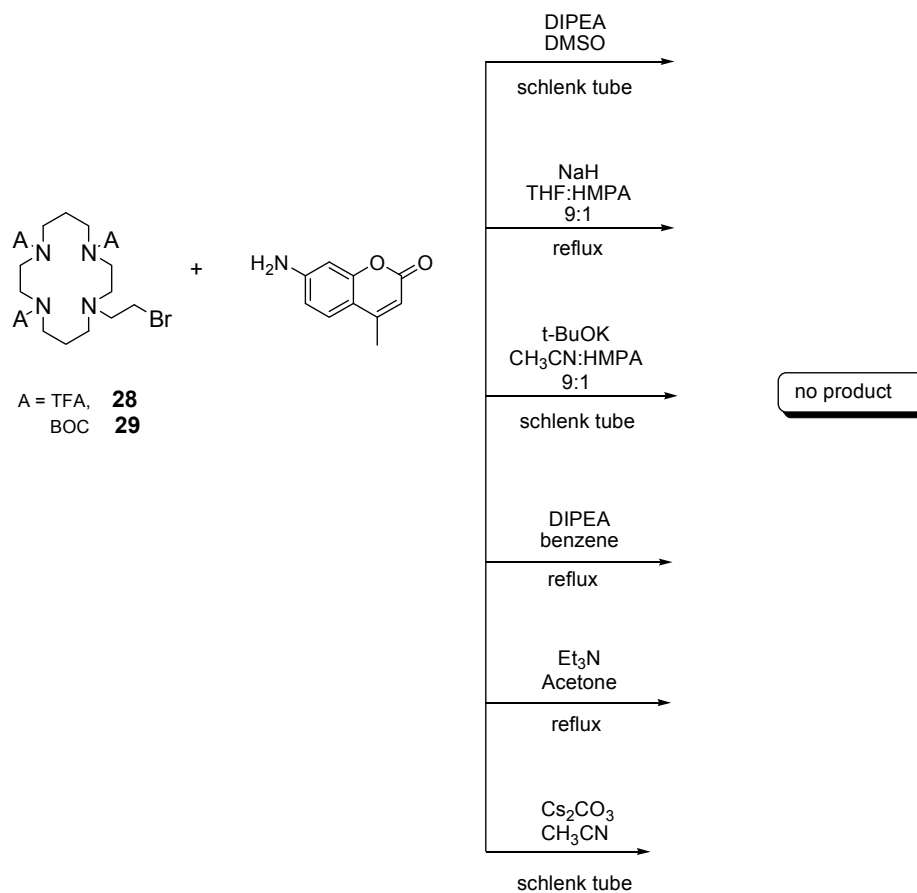
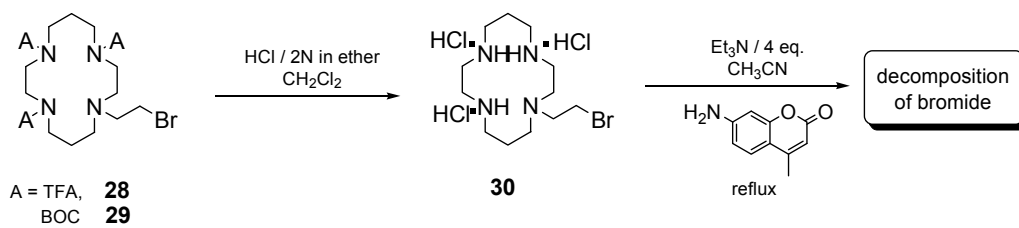


Σχήμα 16. Συνθετική προσέγγιση μέσω βρωμιδίου της κουμαρίνης.

Στην δεύτερη συνθετική προσέγγιση η αλειφατική γέφυρα ενσωματώθηκε στο τρι-προστατευμένο cyclam (είτε με TFA είτε με BOC) κι έπειτα επιχειρήθηκε η σύζευξη με την 7-αμινο-4-μεθυλοκουμαρίνη. Η αλκυλίωση στο ελεύθερο άζωτο του tri-TFA-cyclam με 1,2-διβρωμοαιθάνιο δεν ήταν εύκολη αλλά τελικά επιτεύχθηκε. Παρατηρήθηκε ότι για την πραγματοποίηση της αντίδρασης απαιτούνταν η χρήση του HMPA στο σύστημα διαλυτών σε ποσοστό ~10%, γεγονός που προκαλεί προβλήματα τόσο στη χρήση αυτού του συνδιαλύτη - λόγω τοξικότητας - όσο και στην απομάκρυνσή του μετά το τέλος της αντίδρασης. Ο μόνος τρόπος πλήρους απομάκρυνσής του από το προϊόν είναι ο χρωματογραφικός διαχωρισμός. Η αλκυλίωση του tri-BOC-cyclam με 1,2-διβρωμοαιθάνιο πραγματοποιείται ευκολότερα από την αλκυλίωση του tri-TFA-cyclam και δεν απαιτεί χρήση HMPA. Ωστόσο, η σύζευξη με την 7-αμινο-4-μεθυλοκουμαρίνη δεν είναι εφικτή πιθανώς λόγω στερεοχημικής παρεμπόδισης, η οποία προκύπτει από τις διαμορφώσεις του μακροκυκλικού. Για να σταθεροποιηθεί μία πιο «επίπεδη» μορφή του cyclam προστέθηκε Zn²⁺ ώστε να συμπλοκοποιηθεί από το μακροκυκλικό και να το

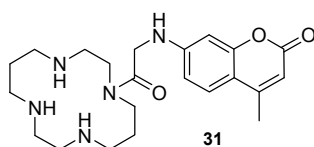
«κλειδώσει» σε διαμόρφωση που πιθανώς θα επιτρέψει την προσβολή του αιθυλοβρωμιδίου του από την 7-αμινο-4-μεθυλοκουμαρίνη. Παρ' όλα αυτά δεν παράχθηκε προϊόν. Δεν είμαστε σε θέση να γνωρίζουμε εάν δεν συμπλοκοποιήθηκε ο ψευδάργυρος - και ίσως έπρεπε να χρησιμοποιηθεί μεγαλύτερο μέταλλο - ή εάν η διαμόρφωση κατά την συμπλοκοποίηση δεν ευνοεί την προσβολή.

Προς αποφυγή της στερεοχημικής παρεμπόδισης, επιχειρήθηκε η N-αποπροστασία των βρωμιδίων πριν την αντίδραση με την κουμαρίνη. Η αποπροστασία επιχειρήθηκε μόνο στο tri-BOC-cyclam-ethylbromide επειδή μπορεί να πραγματοποιηθεί σε όξινες συνθήκες. Η αποπροστασία δοκιμάστηκε σε πυκνό θειϊκό οξύ οπότε παρατηρήθηκαν φουσαλίδες (απομάκρυνση CO₂ και 1,1-διμεθυλοαιθενίου, προϊόντα διάσπασης των BOC). Όταν όμως προστέθηκε υδατικό διάλυμα Na₂CO₃, για την εξουδετέρωση των πρωτονιωμένων αζώτων του cyclam, και κατόπιν επιχειρήθηκε εκχύλιση του προϊόντος με διχλωρομεθάνιο, διαπιστώθηκε ότι το αποπροστατευμένο N-(2-βρωμοαιθύλο)- παράγωγο του cyclam περνάει στην υδατική φάση. Έτσι, απαιτείται απόσταξη του νερού υπό κενό σε θερμοκρασία 55 °C, γεγονός που πιθανώς υδρολύει το βρωμίδιο σε αλκοόλη. Από τα δεδομένα φασματοσκοπίας NMR δεν προέκυψε ασφαλές συμπέρασμα. Η αποπροστασία δοκιμάστηκε εναλλακτικά σε διάλυμα διχλωρομεθανίου και 2N HCl σε αιθέρα. Το προϊόν καθίζανε ως λευκό στερεό υδροχλωρικό αλάτι το οποίο και χρησιμοποιήθηκε με την διαδικασία της *in situ* εξουδετέρωσης για την S_N2 αντίδραση με την αμινοκουμαρίνη, με την προσθήκη 4 ισοδυνάμων τριαιθυλαμίνης. Παρ' όλα αυτά ούτε το N-(2-βρωμοαιθύλο)- παράγωγο του cyclam αντέδρασε με την κουμαρίνη, πιθανώς λόγω καταστροφής του, μέσω δημιουργίας αζιριδινιακού άλατος πριν την συννένωση με την κουμαρίνη (Σχήμα 17).



Σχήμα 17. Συνθετική προσέγγιση μέσω των βρωμιδίων του cyclam **28**, **29**, **30**.

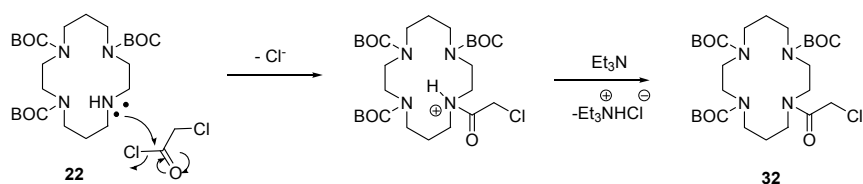
Γ. 1. 2. 3. Δείκτης cyclam-κουμαρίνης με ακετυλο-γέφυρα



Η σύνθεση του δείκτη **31** σχεδιάστηκε με σκοπό την αντικατάσταση της αλκυλο-γέφυρας από 1,2-διβρωμοαιθάνιο με ακυλο-γέφυρα από χλωροακέτυλο χλωρίδιο, ώστε να επιτευχθεί η σύζευξη με γέφυρα μακροκυκλικού και της

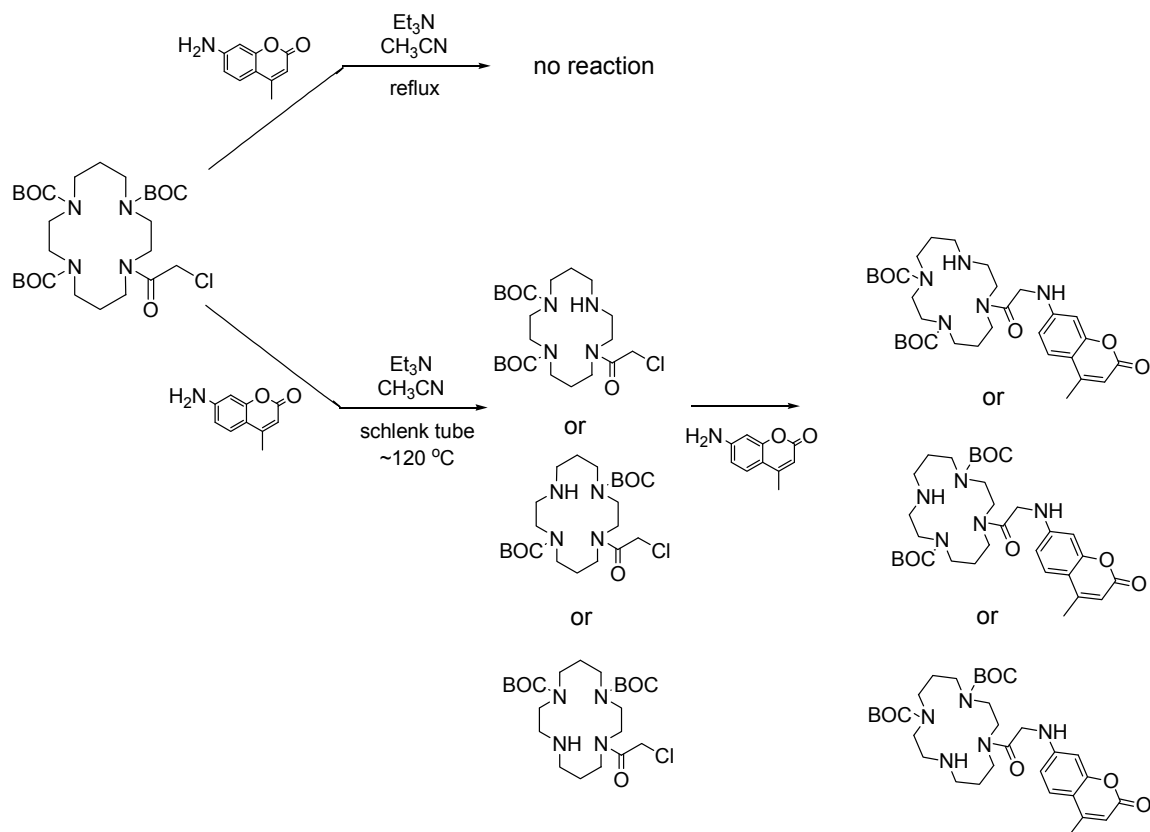
κουμαρίνης μέσω μιας νέου τύπου γέφυρας. Το χλωροακέτυλο χλωρίδιο αναμένεται να αντιδράσει ευκολότερα σε υποκατάσταση σε σχέση με το 1,2-διβρωμοαιθάνιο.

Στις πρώτες συνθετικές προσπάθειες το χλωροακετυλο χλωρίδιο αντέδρασε πρώτα με το tri-BOC-cyclam **22**. Η σύζευξη θα γίνει μέσω της χλωροάκυλο ομάδας. Στην συγκεκριμένη αντίδραση απαιτείται χαμηλή θερμοκρασία και περίσσεια βάσης καθώς παράγεται HCl και μπορεί να υδρολυθεί το ακυλοχλωρίδιο (από την υγρασία της ατμόσφαιρας) σε χλωροξικό οξύ. Τα οξέα αυτά είναι αρκετά ισχυρά ώστε να απομακρύνουν τις προστατευτικές ομάδες. Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε στους -40 °C με αργή προσθήκη διαλύματος ClCOCH₂Cl σε CH₂Cl₂ σε διάλυμα tri-BOC-cyclam σε CH₂Cl₂ και πραγματοποιήθηκε με απόδοση 95%.



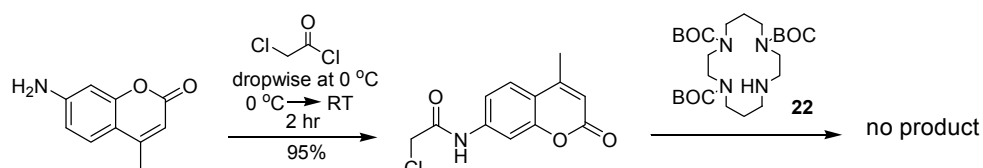
Σχήμα 18. Σύνθεση του tri-BOC-chloroacetyl-cyclam **32**.

Παρά την αναμενόμενη δραστηριότητα του παραχθέντος χλωριδίου, η αντίδραση S_N2 ένωσης του tri-BOC-chloroacetyl-cyclam **32** με την κουμαρίνη δεν πραγματοποιήθηκε σε ικανοποιητικό ποσοστό εξ' αιτίας της υψηλής στερεοχημικής παρεμπόδισης. Στην πραγματικότητα, σε χαμηλές θερμοκρασίες (<80 °C) η σύζευξη δεν πραγματοποιείται, ενώ σε υψηλές θερμοκρασίες (~120 °C) το **32** διασπάται σε δι-BOC-χλωροακετυλο-cyclam - χωρίς να είναι γνωστό ποιό από τα τρία BOC αποσπάται (Σχήμα 19). Επιπλέον η σύζευξη πραγματοποιήθηκε σε ποσοστό μικρότερο του 10%. Παρόλο που ουσιαστικά επιτεύχθηκε η σύνθεση του δείκτη (έστω και μονο- ή δι-προστετευμένου), δεδομένου ότι α) ο χρωματογραφικός καθαρισμός του προϊόντος από τα μη αντιδρώντα υποστρώματα και το διασπασμένο BOC-cyclam είναι δύσκολος και ότι β) η αποπροστασία των BOC του προϊόντος θα μειώσει κατά πολύ το βάρος του τελικού δείκτη, αυτή η συνθετική προσέγγιση θεωρήθηκε μη ικανοποιητική. Για τον λόγο αυτό δεν επιχειρήθηκε λεπτομερής χαρακτηρισμός των προϊόντων της σύνθεσης.



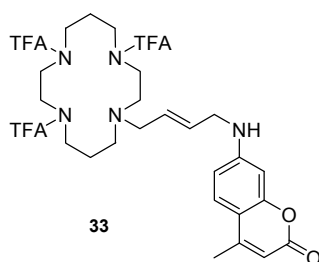
Σχήμα 19. Διάσπαση του tri-BOC-chloroacetyl-cyclam κατά την αντίδραση με την 7-αμινο-4-μεθυλοκουμαρίνη.

Προσπάθειες για την επίτευξη της «αντίθετης» σύνθεσης, δηλαδή της ένωσης του χλωροακετυλοχλωριδίου πρώτα με την αμινοκουμαρίνη και μετά με το tri-BOC-cyclam δεν κατέστησαν δυνατές (Σχήμα 20).



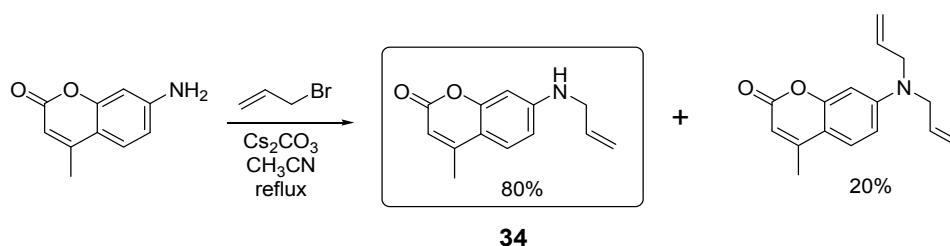
Σχήμα 20. «Αντίθετη» σύνθεση μέσω της χλωροακετυλο κουμαρίνης.

Γ. 1. 2. 4. Προσπάθειες σύνθεσης του δείκτη cyclam-κουμαρίνης με ολεφινική γέφυρα



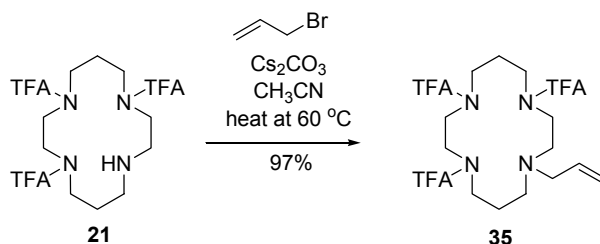
Η σύνθεση του δείκτη **33** σχεδιάστηκε με σκοπό την ένωση του μακροκυκλικού και της κουμαρίνης μέσω αλκενικού-τύπου spacer, με εφαρμογή της καταλυτικής μετάθεσης Grubbs.

Η δημιουργία της μονο-αλλυλο-κουμαρίνης **34** πραγματοποιήθηκε σχετικά εύκολα με αργή προσθήκη και αναβρασμό αλλυλοβρωμιδίου σε διάλυμα αμινοκουμαρίνης και Cs₂CO₃:



Σχήμα 21. Σύνθεση της μονο-αλλυλο-κουμαρίνης **34**.

Η δημιουργία του tri-TFA-allyl-cyclam **35** πραγματοποιήθηκε πιο εύκολα με θέρμανση στους 60 °C αλλυλοβρωμιδίου σε διάλυμα tri-TFA-cyclam **21** και Cs₂CO₃:



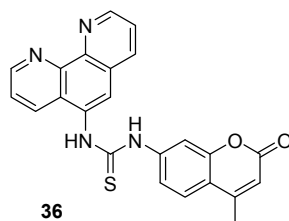
Σχήμα 22. Σύνθεση του tri-TFA-allyl-cyclam **35**.

Η αντίδραση cross μετάθεσης Grubbs με 2^{ns} γενιάς καταλύτη σε απαερωμένο διχλωρομεθάνιο και θερμοκρασία δωματίου δεν παρήγαγε προϊόν. Όταν το μείγμα θερμάνθηκε στους ~ 45 °C άρχισαν να σχηματίζονται 2 τουλάχιστον προϊόντα.

Επειδή η απόδοση των προϊόντων ήταν μικρή και δεν μεταβαλλόταν από ένα σημείο και μετά, ο διαλύτης αντικαταστάθηκε με απαερωμένο χλωροφόρμιο το οποίο έχει υψηλότερο σημείο βρασμού. Η απόδοση εξακολούθησε να είναι μικρή. Μετά τον καθαρισμό ενός από τα προϊόντα, διαπιστώθηκε μέσω φασματοσκοπίας NMR ότι πρόκειται για προϊόν ένωσης του μακροκυκλικού και την κουμαρίνης, στο οποίο όμως υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι έχουν αποσπαστεί μία ή δύο προστατευτικές ομάδες. Αν και ουσιαστικά επιτεύχθηκε η σύνθεση του δείκτη (έστω και μονο- ή δι-προστατευμένου), Δεδομένου ότι α) ο χρωματογραφικός καθαρισμός των προϊόντων (που προέκυψαν από απομάκρυνση ενός ή περισσοτέρων TFA σε άγνωστη θέση) και των μη αντιδρώντων υποστρωμάτων είναι δύσκολος και β) η αποπροστασία των εναπομενόντων TFA του προϊόντος θα μειώσει κατά πολύ το βάρος του τελικού δείκτη, αυτή η συνθετική προσέγγιση θεωρήθηκε μη ικανοποιητική.

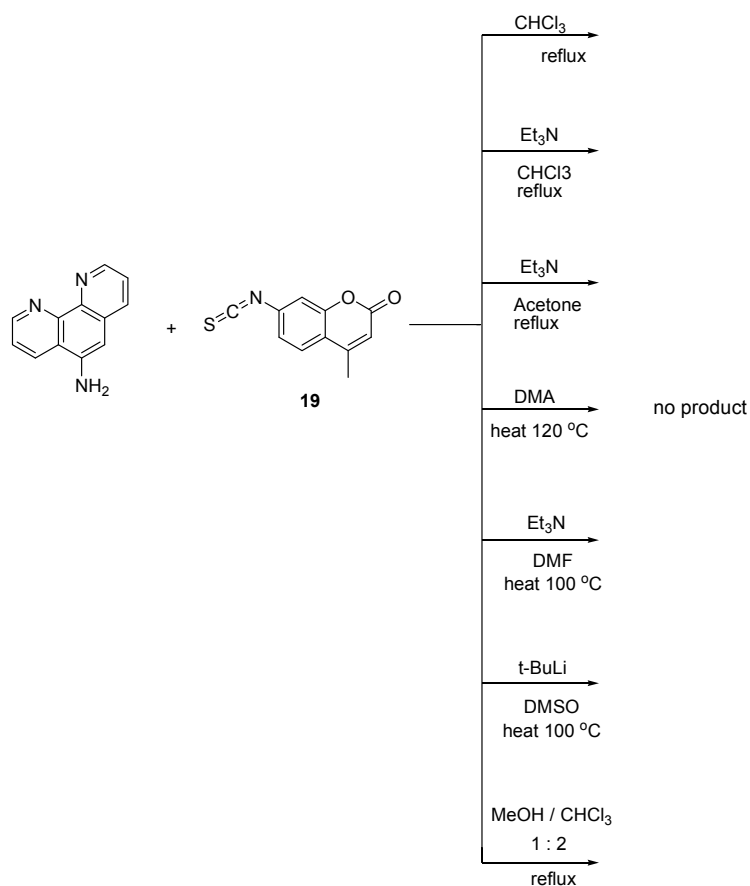
Γ. 1. 3. Δείκτες τύπου 5-αμινο-1,10-φαινανθρολίνης

Γ. 1. 3. 1. Προσπάθειες σύνθεσης του δείκτη φαινανθρολίνης-κουμαρίνης με γέφυρα θειοκαρβαμιδίου



Η ένωση του μορίου της 5-αμινο-1,10-φαινανθρολίνης με την 7-αμινο-4-μεθυλοκουμαρίνη μέσω θειοκαρβαμιδικής γέφυρας προσεγγίστηκε συνθετικά τόσο μέσω του ισοθειοκυανικού παραγώγου της κουμαρίνης, όσο και μέσω του ισοθειοκυανικού παραγώγου της φαινανθρολίνης.

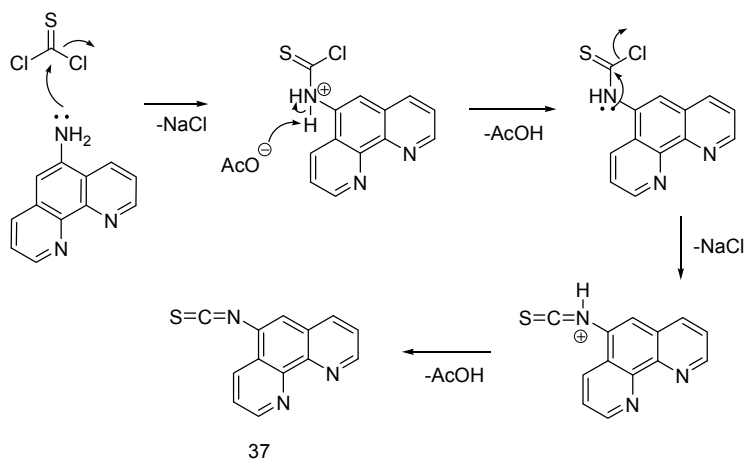
Η δημιουργία του ισοθειοκυανικού παραγώγου **19** πραγματοποιήθηκε όπως προαναφέρθηκε, ενώ η σύζευξη με τη φαινανθρολίνη επιχειρήθηκε στα εξής συστήματα διαλυτών και διαλυτών/βάσεων:



Σχήμα 23. Συνθετικές προσπάθειες αντίδρασης του isothiocyanate της κουμαρίνης **19** με την αμινοφαινανθρολίνη.

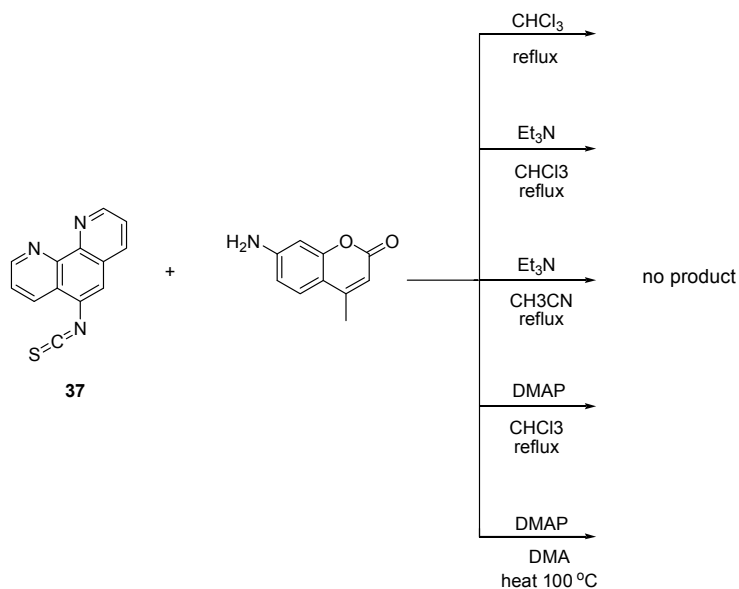
Η δημιουργία του δείκτη δεν κατέστη εφικτή παρά την ευκολία του συγκεκριμένου τύπου αντίδρασης.

Στην «αντίθετη» εναλλακτική πορεία, η δημιουργία του 5-ισοθεικυανουούχου παραγώγου της φαινανθρολίνης δεν ήταν εύκολη, λόγω της μη διαλυτότητας της 5-αμινοφαινανθρολίνης σε διχλωρομεθάνιο, αλλά τελικά επιτεύχθηκε με χρήση υδατικού διαλύματος NaOAc ως βάση και σύστημα διαλυτών διμεθυλοακεταμιδίου / ακετόνης (Σχήμα 24).⁸⁶



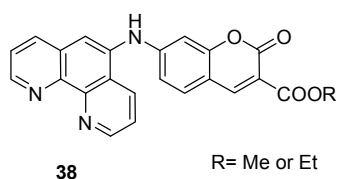
Σχήμα 24. Μηχανισμός δημιουργίας του ισοθειοκυανικού παραγώγου της φαινανθρολίνης **37**.

Το προϊόν **37** καθιζάνει με προσθήκη νερού μετά το τέλος της αντίδρασης οπότε είναι εύκολος ο διαχωρισμός του από το διμεθυλοακεταμίδιο, το NaCl και το οξικό οξύ που δημιουργούνται όπως επίσης και από την ελάχιστη φαινανθρολίνη που δεν έχει αντιδράσει χωρίς να είναι απαραίτητη η χρήση χρωματογραφίας. Η απόδοση της συγκεκριμένης αντίδρασης προσεγγίζει το 94% ωστόσο και στην «αντίθετη» αυτή πορεία, όταν η ένωση **37** χρησιμοποιήθηκε για αντίδραση με την 7-αμινο-4-μέθυλοκουμαρίνη δεν παράχθηκε το επιθυμητό προϊόν (Σχήμα 25).

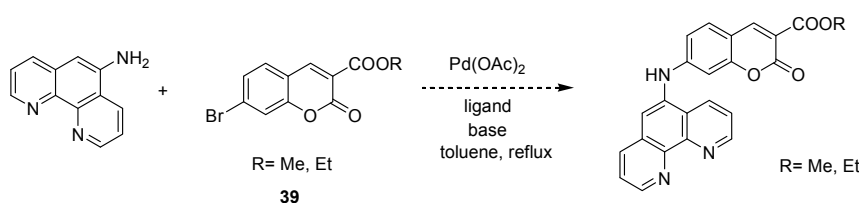


Σχήμα 25. Συνθετικές προσπάθειες αντίδρασης του **37** με την αμινοκουμαρίνη.

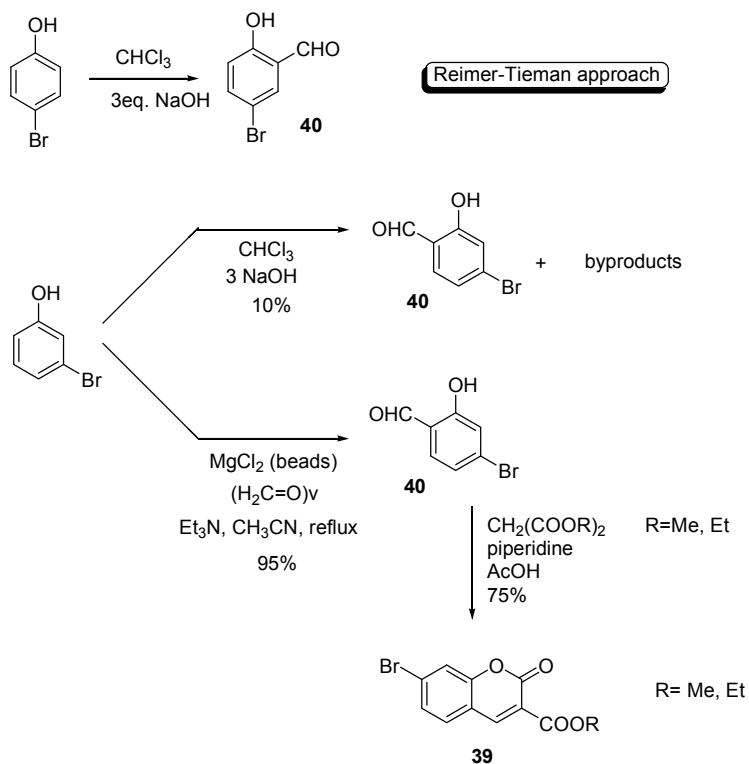
Γ. 1. 3. 2. Προσπάθειες σύνθεσης δείκτη με απ' ευθείας σύζευξη φαινανθρολίνης-κουμαρίνης



Η σύνθεση του δείκτη **38** στον οποίο η φαινανθρολίνη είναι άμεσα συνδεδεμένη με την κουμαρίνη προσεγγίστηκε μέσω δύο οδών. Ο πρώτος τρόπος προσέγγισης ήταν μέσω καταλυτικής αντίδρασης Buchwald^{87, 88, 89, 90, 91, 92, 93} της 5-αμινο-1,10-φαινανθρολίνης και της 7-βρωμοκουμαρίνης **39**:

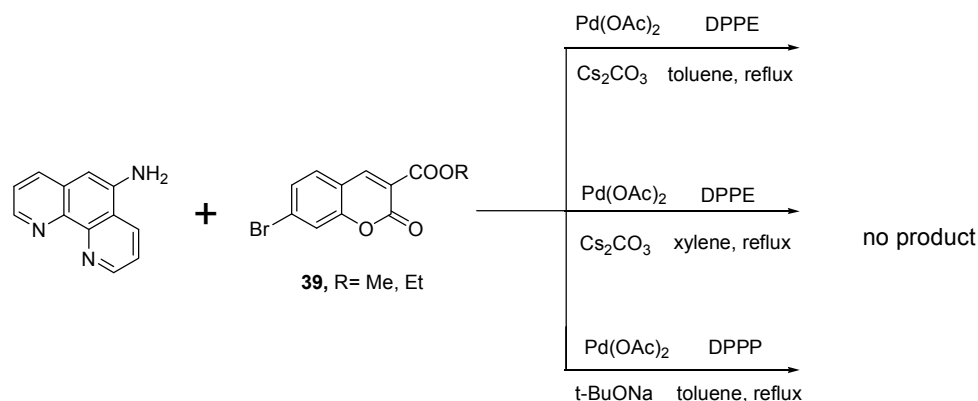


Συγκεκριμένα, αρχικά συντέθηκε η 7-βρωμοκουμαρίνη **39** από 4-βρωμο-2-υδροξυβενζαλδεΐδη (**40**) και μηλονικό μεθυλεστέρα ή μηλονικό αιθυλεστέρα, μέσω αντίδρασης Knoevenagel (Σχήμα 26). Η αντίδραση δεν πραγματοποιείται τόσο εύκολα όσο οι προαναφερθείσες αντιδράσεις Knoevenagel. Απαιτείται αναβρασμός σε περιβάλλον ρυθμιστικού διαλύματος, (πιπεριδίνη, οξικό οξύ) για 2 ώρες, ενώ η απόδοση είναι ελαφρώς μειωμένη (75%). Εκτός όμως από την δυσκολία της συγκεκριμένης αντίδρασης Knoevenagel υπήρξαν και εμπόδια στη σύνθεση της βρωμοσαλικυλαλδεΐδης **40** (Σχήμα 26), καθώς, για το μεγαλύτερο χρονικό διάστημα στο οποίο πραγματοποιούνταν οι συνθετικές προσπάθειες, δεν υπήρχε εμπορικά διαθέσιμη η συγκεκριμένη σαλικυλαλδεΐδη αλλά ισομερή της, τα οποία δεν μας ήταν χρήσιμα εφόσον θα οδηγούσαν σε κουμαρίνη η οποία δεν θα είχε τον επιθυμητό φθορισμό. Επιχειρήθηκε σύνθεση της επιθυμητής σαλικυλαλδεΐδης **40** από την m-βρωμοφαινόλη μέσω φορμυλίωσης Reimer-Tieman.⁹⁴ Παρόλο που η συγκεκριμένη φορμυλίωση δοκιμάστηκε στην p-βρωμοφαινόλη επιτυχώς, στην m-βρωμοφαινόλη έδωσε πληθώρα παραπροϊόντων, με το επιθυμητό προϊόν να έχει απομονωθεί σε ποσοστά μέχρι 10%. Η φορμυλίωση τελικά επιτεύχθηκε με χρήση MgCl₂ (beads) / Et₃N / (CH₂O)_n και θέρμανση υπό αναβρασμό σε ακετονιτρίλιο,^{95, 96} ενώ είχε απόδοση 95%. Αργότερα, η 4-βρωμο-2-υδροξυβενζαλδεΐδη διατέθηκε εμπορικά από την Sigma-Aldrich.



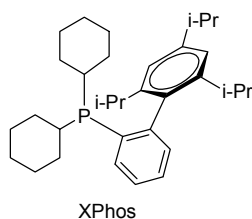
Σχήμα 26. Προσπάθειες φαρμυλίωσης της *m*-βρωμοφαινόλης.

Μετά τη σύνθεση της 7-βρωμοκουμαρίνης **39**, ακολούθησε η αντίδραση Buchwald με δημιουργία Pd^0 με αναβρασμό του $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ και DPPE ή DPPP (ligands) σε απαερωμένο, ξηρό τολουόλιο (Σχήμα 27). Η απαέρωση του διαλύτη είναι απαραίτητη, παρόλο που οι ξηροί διαλύτες φυλάσσονται υπό ατμόσφαιρα αδρανούς αερίου, ώστε το πιθανώς διαλυμένο οξυγόνο να μην επηρεάσει την οξειδωτική κατάσταση του παλλαδίου. Μετά την παραγωγή του Pd^0 προστέθηκαν τα δύο υποστρώματα - η αμινοφαινανθρολίνη και η βρωμοκουμαρίνη - και Cs_2CO_3 το οποίο επιλέχθηκε ως η βάση με την καλύτερη διαλυτότητα. Μολονότι ο αναβρασμός διήρκεσε 10 ώρες, δεν παρατηρήθηκε παραγωγή προϊόντος. Η αντίδραση επαναλήφθηκε με διαλύτη ξυλόλιο, ο οποίος έχει υψηλότερο σημείο βρασμού, αλλά ούτε και με την αλλαγή θερμοκρασίας παράχθηκε προϊόν (Σχήμα 27). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία⁸⁸, δεν υπάρχει η δυνατότητα χρησιμοποίησης διαλυτών υψηλής διπολικής ροπής, όπως διμεθυλοσουλφοξείδιο ή διμεθυλοφορμαμίδιο, επειδή προκαλούν διάσπαση του συμπλόκου παλλαδίου-ligand. Οι πρωτικοί και οι χλωριωμένοι διαλύτες είναι απαγορευτικοί για ευνόητους λόγους με αποτέλεσμα οι αντιδράσεις αυτές να περιορίζονται στους διαλύτες βενζόλιο, τολουόλιο ή ξυλόλιο.

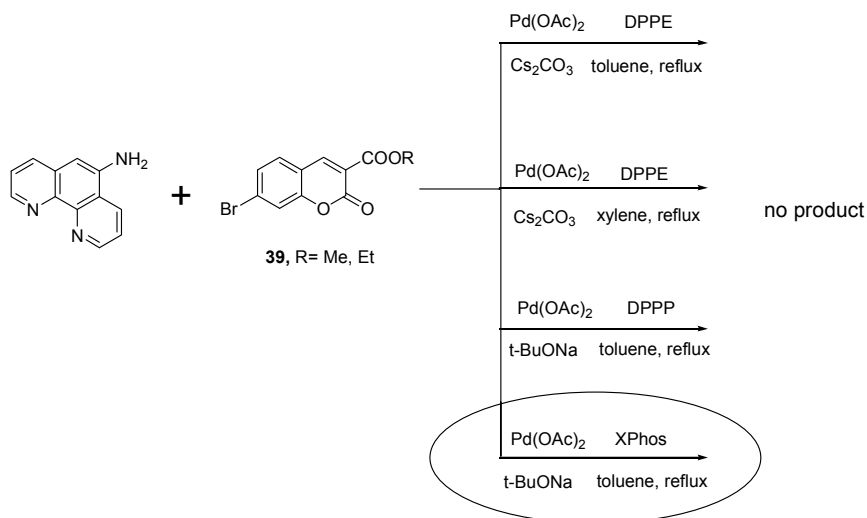


Σχήμα 27. Συνθετικές προσπάθειες ένωσης της 5-αμινο-1,10-φαινανθρολίνης και της 7-βρωμοκουμαρίνης **39** μέσω αντίδρασης Buchwald.

Έπειτα από προσωπική επικοινωνία με τον Professor Stephen L. Buchwald μέσω e-mail, προτάθηκε η χρήση του ligand XPhos (2-Dicyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropylbiphenyl), το οποίο είναι αποτελεσματικότερο από το DPPE, καθώς και η χρήση της ισχυρής βάσης t-BuONa:

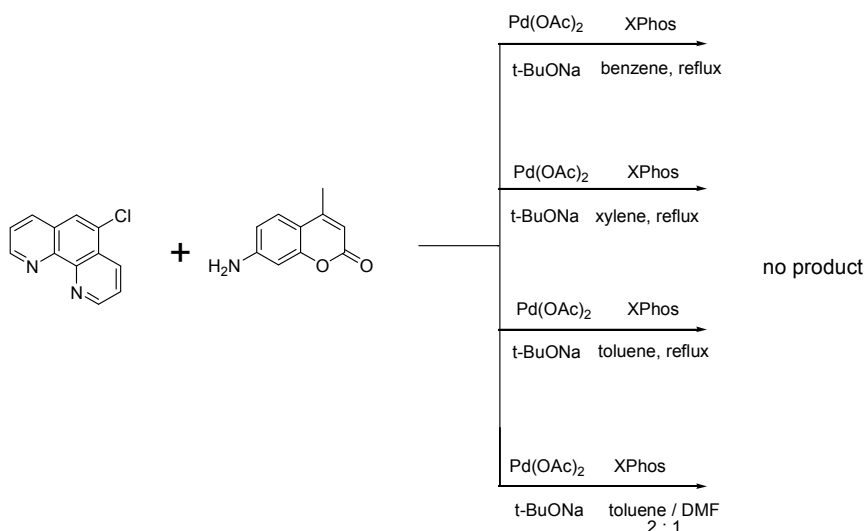


Ως καλύτερος διαλύτης προτάθηκε το τολουόλιο. Ωστόσο μας τονίστηκε ότι η αντίδραση της αμινοφαινανθρολίνης, μόριο το οποίο περιέχει δύο πυριδινικά άζωτα, προβλέπεται αρκετά δύσκολη. Η αντίδραση επαναλήφθηκε με το XPhos καθώς επίσης και με DPPP αλλά και αυτές οι προσπάθειες απέτυχαν (Σχήμα 28).



Σχήμα 28. Συνθετικές προσπάθειες ένωσης της 5-αμινο-1,10-φαινανθρολίνης και της 7-βρωμοκουμαρίνης **39** μέσω αντίδρασης Buchwald και με χρήση του προτεινόμενου ligand XPhos.

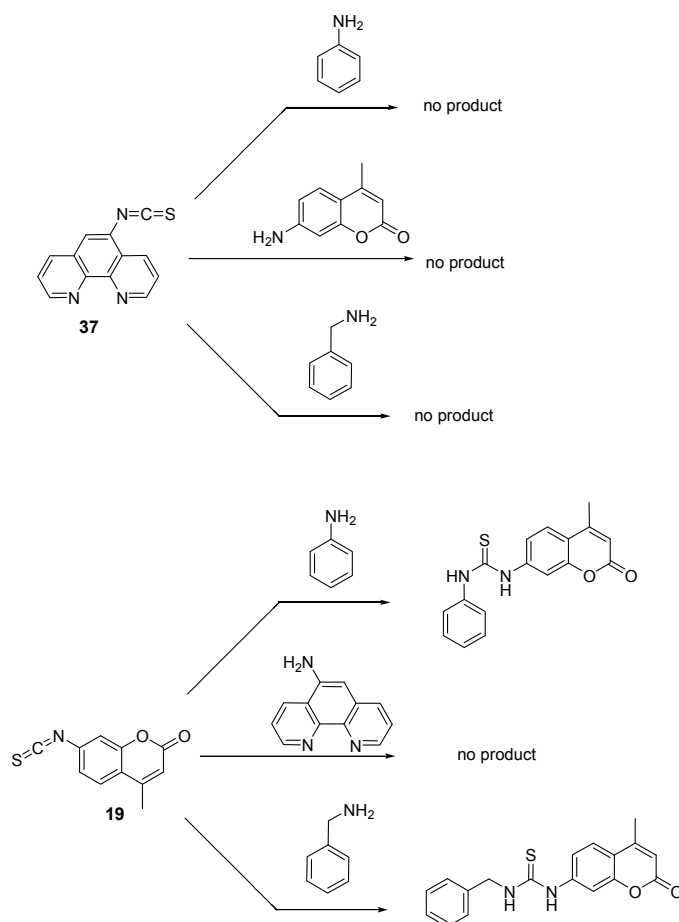
Ο δεύτερος τρόπος προσέγγισης ήταν η «αντίθετη» αντίδραση Buchwald, δηλαδή μεταξύ της εμπορικά διαθέσιμης 5-χλωρο-1,10-φαινανθρολίνης και της 7-αμινο-4-μεθυλοκουμαρίνης. Στην συγκεκριμένη συνθετική πορεία υπήρξε σοβαρό πρόβλημα διαλυτότητας της αμινοκουμαρίνης σε διαλύτες κατάλληλους για πραγματοποίηση αντιδράσεων Buchwald όπως το βενζόλιο, το τολουόλιο ή το ξυλόλιο. Παρ' όλα αυτά η αντίδραση δοκιμάστηκε και στους τρεις διαλύτες, καθώς επίσης και σε μίγμα τολουολίου/DMF (2:1), με ligand το XPhos και βάση το t-BuONa, αλλά δεν απέφερε αποτελέσματα (Σχήμα 29).



Σχήμα 29. Συνθετικές προσπάθειες ένωσης μέσω αντίδρασης Buchwald της 5-χλωρο-1,10-φαινανθρολίνης και της 7-αμινο-4-μεθυλοκουμαρίνης.

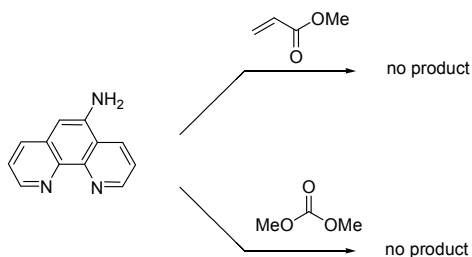
Γ. 1. 3. 3. Παρατηρήσεις στο μόριο της 5-αμινο-1,10-φαινανθρολίνης

Σημαντικές παρατηρήσεις για το μόριο της 5-αμινο-1,10-φαινανθρολίνης έχουν προκύψει από πειράματα τα οποία πραγματοποιήθηκαν για να προσδιορίσουν την δυσκολία της χρήσης αυτού του μορίου συνθετικά. Στα πλαίσια της διερεύνησης της δυνατότητας δημιουργίας κάποιου θειοκαρβαμιδικού δείκτη, ο οποίος θα εμπεριέχει την αμινοφαινανθρολίνη, η 5-ισοθειοκυανική φαινανθρολίνη (**37**) αντέδρασε δοκιμαστικά με ανιλίνη και βενζυλαμίνη, δύο απλά μόρια τα οποία δεν εμπεριέχουν ηλεκτρονιακούς ή στερεοχημικούς παράγοντες που εμποδίζουν την αντίδρασή με το **37**. Ωστόσο, δεν παράχθηκε προϊόν (Σχήμα 30). Η αντίστοιχη 7-ισοθειοκυανική κουμαρίνη **19** δεν παρουσιάζει πρόβλημα προσβολής από την ανιλίνη, την βενζυλαμίνη και τις αλκυλαμίνες (Σχήμα 30). Στη βιβλιογραφία μέχρι σήμερα υπάρχουν ελάχιστες αναφορές για προσβολή της φαινανθρολίνης σε ισοθειοκυανικά ανάλογα και αυτές περιορίζονται στο δίπλωμα ευρεσιτεχνίας των Kuhn, M., Haugland, R. P. και Hoyland, B. M.⁹⁷ Με βάση τα παραπάνω διαπιστώνουμε ότι το μόριο της φαινανθρολίνης είναι αυτό το οποίο, για ηλεκτρονιακούς λόγους κατά πάσα πιθανότητα, ευθύνεται για την αποτυχία δημιουργίας του θειοκαρβαμιδικού δείκτη.



Σχήμα 30. Πειράματα ενδεικτικά της χαμηλής δραστηριότητας της 5-αμινο-1,10-φαινανθρολίνης και του αντίστοιχου ισοθειοκυανικού παραγώγου **37** σε αντιδράσεις απαραίτητες για το σχηματισμό των προτεινόμενων δεικτών.

Στα πλαίσια της διερεύνησης της δυνατότητας της χρήσης της 5-αμινοφαινανθρολίνης ως πυρηνόφιλου, επιχειρήθηκε αντίδραση του μορίου αυτού με ακρυλικό μεθυλεστέρα καθώς επίσης με ανθρακικό διμεθυλεστέρα, μόρια τα οποία αντιδρούν πολύ εύκολα σε αντιδράσεις πυρηνόφιλης προσβολής, όμως και σε αυτές τις περιπτώσεις δεν παράχθηκε προϊόν:



Σχήμα 31. Αντιδράσεις διερεύνησης της πυρηνοφιλίας της 5-αμινοφαινανθρολίνης

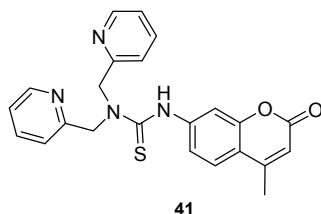
Οι βιβλιογραφικές αναφορές οι οποίες περιέχουν παρόμοιου τύπου επιτυχείς αντιδράσεις είναι λίγες και περιλαμβάνουν πυρηνόφιλη προσβολή επί το πλείστον σε ακυλοχλωρίδια και ανυδρίτες, μόρια εξαιρετικά δραστικά. Ακόμα και σε αυτές τις περιπτώσεις απαιτείται μεγάλος χρόνος αντίδρασης και υψηλές θερμοκρασίες, ενώ οι αποδόσεις είναι μέτριες έως μικρές.^{98,99,100,101}

Τέλος, όσον αφορά την αποτυχία των καταλυτικών αντιδράσεων στις οποίες απαιτείται η συναρμογή της αμίνης της φαινανθρολίνης, όπως στην αντίδραση Buchwald, μια πιθανή ερμηνεία είναι ότι τα πυριδινικά άζωτα συναγωνίζονται στη συναρμογή στο μέταλλο με την πρωτοταγή αμίνη, με αποτέλεσμα να μην πραγματοποιείται αντίδραση.

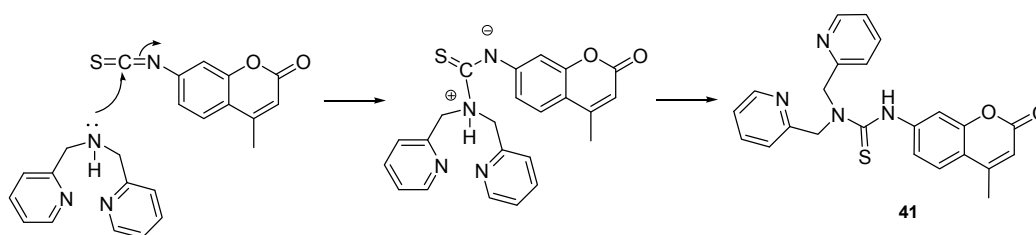
Συμπερασματικά, λόγω α) αρωματικότητας (λιγότερο διαθέσιμο ζεύγος ηλεκτρονίων της 5-αμινομάδας) και β) της παρουσίας πυριδινικών αζώτων, η 5-αμινοφαινανθρολίνη αποτελεί μάλλον ακατάλληλο μόριο για τους επιθυμητούς συνθετικούς χειρισμούς.

Γ. 1. 4. Δείκτες τύπου πικολυλαμίνης

Γ. 1. 4. 1. Δείκτης πικολυλαμίνης-κουμαρίνης με γέφυρα θειοκαρβαμιδίου

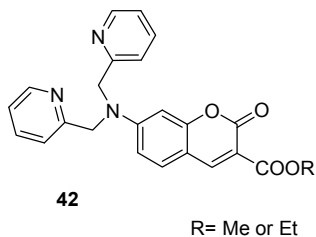


Η σύνθεση του δείκτη **41** πραγματοποιήθηκε σε 2 στάδια, με συνολική απόδοση 96%. Η δημιουργία του ισοθειοκυανικού παραγώγου της κουμαρίνης **19** πραγματοποιήθηκε όπως προαναφέρθηκε, ενώ η σύζευξή του με την δι-(2-πικολυλ)αμίνη σε διαλύτη CHCl_3 και θέρμανση με αναβρασμό για μισή ώρα, δεν παρουσίασε κανένα πρόβλημα (Σχήμα 32).



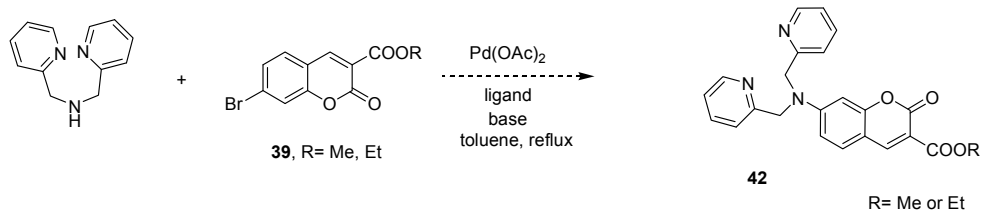
Σχήμα 32. Μηχανισμός σύνθεσης του δείκτη **41**.

Γ. 1. 4. 2. Προσπάθειες σύνθεσης του δείκτη με απ' ευθείας σύζευξη πικολυλαμίνης-κουμαρίνης

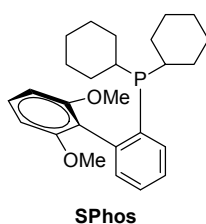


Η σύνθεση του δι-πικολυλικού-δείκτη **42** προσεγγίστηκε μέσω δύο οδών (με ελαφρώς αλλαγμένη την υποκατάσταση στην κουμαρίνη στην κάθε προσέγγιση) αλλά δεν κατέστη εφικτή. Η σύνθεση προχώρησε μέχρι και την μονο-πικολυλική-κουμαρίνη.

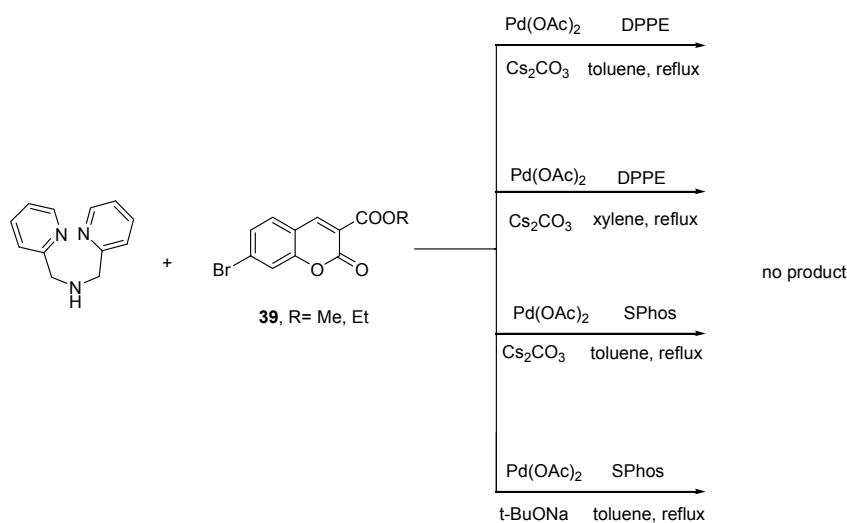
Ο πρώτος τρόπος προσέγγισης ήταν μέσω αντίδρασης Buchwald της δι-(2-πικολυλ)αμίνης και της 7-βρωμοκουμαρίνης **39**:



Στην πρώτη προσπάθεια σύζευξης, ως ligand χρησιμοποιήθηκε το DPPE και ως βάση το Cs₂CO₃, όπως στην περίπτωση των αντιδράσεων της φαινανθρολίνης. Μολονότι ο αναβρασμός διήρκεσε 8 ώρες, δεν παρατηρήθηκε παραγωγή προϊόντος. Η αντίδραση επαναλήφθηκε με διαλύτη ξυλόλιο, ο οποίος έχει υψηλότερο σημείο βρασμού, αλλά ούτε και με την αλλαγή θερμοκρασίας παράχθηκε προϊόν. Προτάθηκε από τον καθηγητή Stephen L. Buchwald η χρήση του ligand SPhos (2-Dicyclohexylphosphino-2',6'-dimethoxybiphenyl) το οποίο είναι αποτελεσματικότερο από το DPPE και δεν είναι πολύ παρεμποδισμένο για αντίδραση με δευτεροταγείς αμίνες όπως το XPhos. Ωστόσο τονίστηκε ότι η αντίδραση της πικολυλαμίνης, μόριο το οποίο περιέχει δύο πυριδινικά άζωτα, προβλέπεται αρκετά δύσκολη.

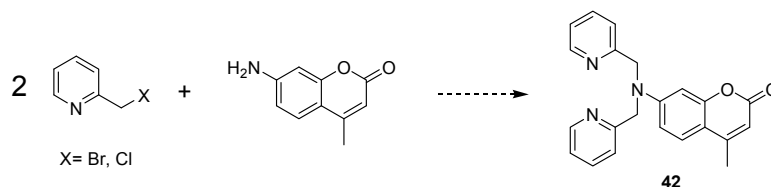


Η αντίδραση επαναλήφθηκε με το SPhos, τόσο με ασθενή βάση όπως μας προτάθηκε (Cs_2CO_3), όσο και με ισχυρή ($t\text{-BuONa}$), αλλά και αυτές οι προσπάθειες απέτυχαν (Σχήμα 33).

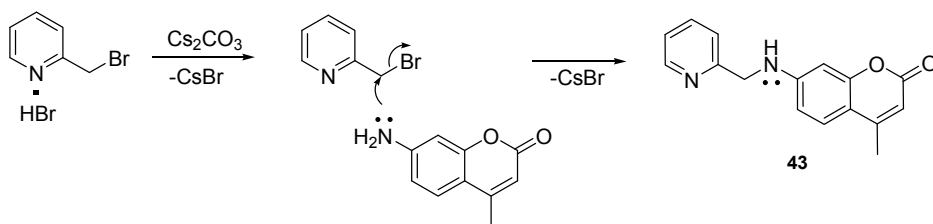


Σχήμα 33. Συνθετικές προσπάθειες σύνθεσης του διπικολυνικού δείκτη **42** μέσω αντίδρασης Buchwald.

Ο δεύτερος τρόπος προσέγγισης ήταν μέσω αντίδρασης $\text{S}_{\text{N}}2$ μεταξύ της 7-αμινο-4-μεθυλοκουμαρίνης και της βρωμομεθυλο- ή χλωρομεθυλοπυριδίνης:

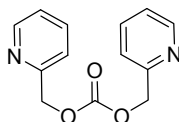


Τόσο το βρωμίδιο, όσο και το χλωρίδιο δεν είναι εμπορικά διαθέσιμα στην ουδέτερή τους μορφή αλλά ως υδροβρωμικό και υδροχλωρικό αλάτι, αντίστοιχα. Η εξουδετέρωση επιτεύχθηκε είτε άμεσα, στο μείγμα της $\text{S}_{\text{N}}2$ αντίδρασης με συστήματα βάσης/διαλύτη: $\text{Et}_3\text{N}/\text{CH}_3\text{CN}$, $(i\text{-Pr})_2\text{EtN}/\text{CH}_3\text{CN}$, DMAP/ CH_3CN , $\text{Cs}_2\text{CO}_3/\text{CH}_3\text{CN}$, $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{EtOH}$, NaH/THF είτε έμμεσα, εξουδετερώνοντας πρώτα το υδροβρωμικό αλάτι της 2-βρωμομέθυλοπυριδίνης σε διάλυμα $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{H}_2\text{O}$ κι έπειτα εκχυλίζοντάς το με Et_2O , ενώ ο διαλύτης της αντίδρασης $\text{S}_{\text{N}}2$ ήταν η ακετόνη. Όλες οι προσπάθειες οδήγησαν μέχρι και το μονο-υποκατεστημένο προϊόν εκτός από αυτήν που πραγματοποιήθηκε σε ακετόνη που δεν απέδωσε καθόλου υποκατάσταση στην κουμαρίνη. Ο μηχανισμός της μονο-υποκατάστασης απεικονίζεται στο Σχήμα 34:



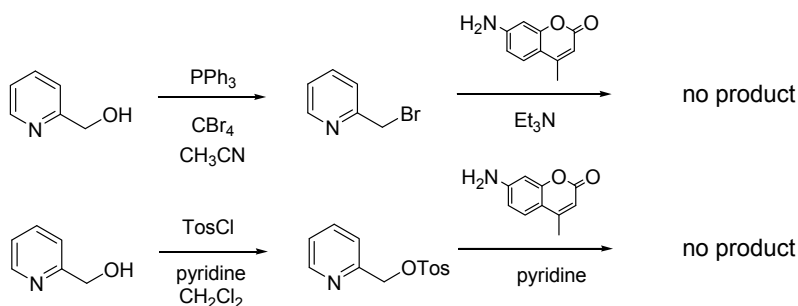
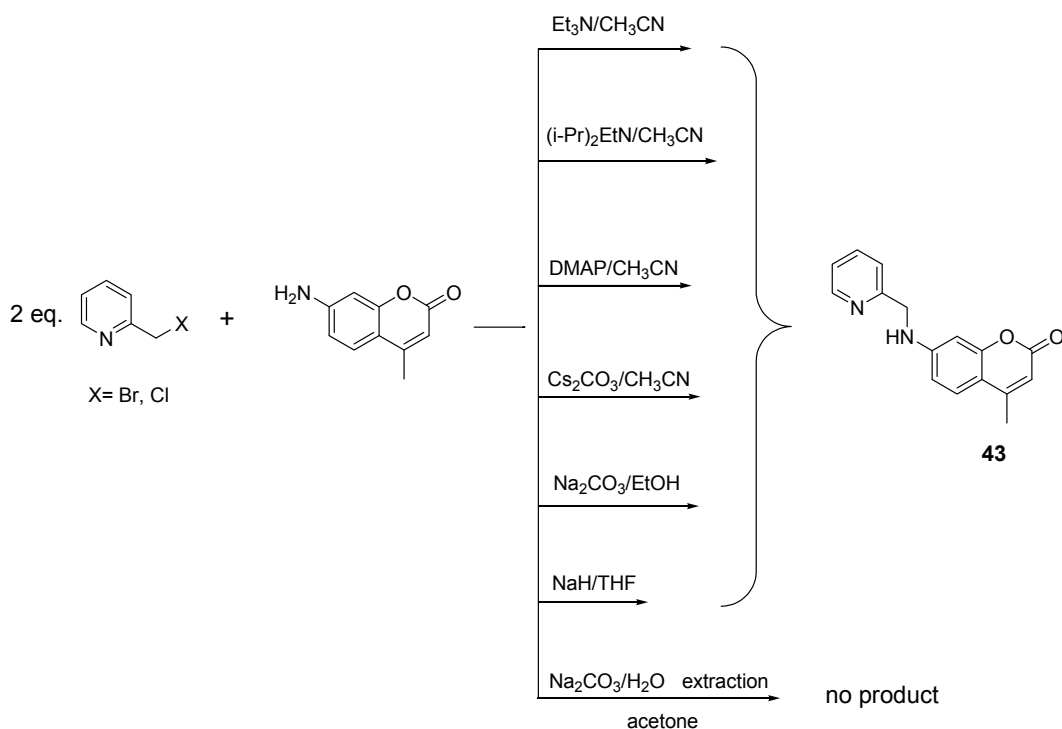
Σχήμα 34. Μηχανισμός σύνθεσης του δείκτη **43**.

Ιδιαίτερη προσοχή δόθηκε στην θερμοκρασία της αντίδρασης εφόσον η βρωμομεθυλοπυριδίνη είναι αρκετά θερμικά ασταθής. Η χρωμομεθυλοπυριδίνη είναι θερμικά σταθερότερη αλλά αντιδρά δυσκολότερα, όπως αναμενόταν. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι σε υψηλές θερμοκρασίες (>90 °C, σε schlenk tube) το ανθρακικό διανιόν αντιδρά με την 2-βρωμομεθυλοπυριδίνη σχηματίζοντας το αντίστοιχο ανθρακικό διεστέρα (ανίχνευση με NMR και GC-MS: MB=244):



Σε αυτό το σημείο τονίζεται ότι η 2-βρωμομεθυλοπυριδίνη συντέθηκε και στην ουδέτερη μορφή της από την αντίστοιχη αλκοόλη με χρήση τριφαινυλοφωσφίνης και τετραβρωμομεθανίου. Αφενός όμως η απομόνωσή της ήταν ανέφικτη λόγω διάσπασης κατά την απόσταξη του διαλύτη, αφετέρου κατά την επακόλουθη αντίδραση S_N2 δεν παράχθηκε ούτε το μονο-υποκατεστημένο προϊόν ακόμα και όταν το παραχθέν βρωμίδιο αντέδρασε απευθείας με την αμινοκουμαρίνη (one flask reaction).

Από την 2-πυριδινομεθανόλη συντέθηκε επίσης και ο αντίστοιχος τοσυλικός εστέρας. Και εδώ υπήρχαν προβλήματα απομάκρυνσης της πυριδίνης, εφόσον δεν ήταν δυνατό να χρησιμοποιηθεί $CuSO_4$ λόγω της πυριδινικής φύσης του προϊόντος, το οποίο συμπλοκοποιείται επίσης με το χαλκό, ενώ η απόσταξη (ακόμα και υπό κενό) της πυριδίνης απαιτεί θέρμανση η οποία διασπάει το προϊόν. Όταν δε, το προϊόν χρησιμοποιήθηκε in situ για την αντίδραση S_N2 , δεν αντέδρασε (Σχήμα 35).

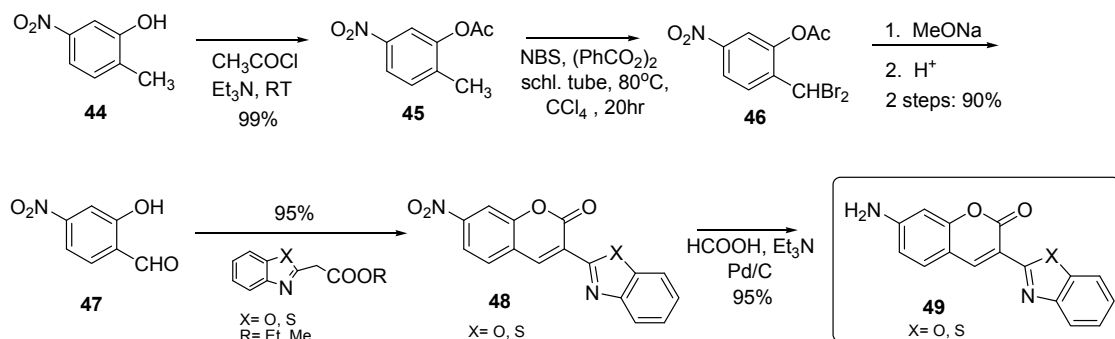


Σχήμα 35. Συνθετικές προσπάθειες δημιουργίας του διπικολινικού δείκτη **42** μέσω αντίδρασης S_N2.

Γ. 1. 5. Επέκταση συζυγιακού συστήματος 7-αμινοκουμαρινών

Προσπάθειες συζυγιακής επέκτασης των 7-αμινοκουμαρινών πραγματοποιήθηκαν με επιτυχία και συνολική απόδοση 80%. Η συνθετική πορεία περιλαμβάνει προστασία της φαινόλης **44** με ακετυλοχλωρίδιο και βενζυλική διβρωμίωση στο ενδιάμεσο **45**. Στην τελευταία αντίδραση η δημιουργία του επιθυμητού προϊόντος ελέγχθηκε με TLC και GC-MS, εφόσον προσπάθειες χρωματογραφικού καθαρισμού οδήγησαν σε διάσπασή του. Κατά την αντίδραση του ενδιαμέσου **46** με μεθοξείδιο του νατρίου επιτεύχθηκε διπλή S_N2 προσβολή της μεθοξυ ομάδας στο διβρωμίδιο προς δημιουργία της αντίστοιχης ακετάλης, η οποία σε ισχυρά όξινες συνθήκες (προσθήκη π. H₂SO₄ στο διάλυμα) υδrolύθηκε στην

αλδεΐδη **47**. Ακόλουθη Knoevenagel αντίδραση προς δημιουργία των 7-νιτροκουμαρινών **48** και αναγωγή της νιτροομάδας¹⁰² οδήγησε στην δημιουργία των τελικών προϊόντων **49** (Σχήμα 36).



Σχήμα 36. Συνθετική πορεία δημιουργίας των επεκταμένου συζυγιακού συστήματος 7-αμινοκουμαρινών **49**.

Γ. 2. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ - ΕΠΑΛΗΘΕΥΣΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ

Η ταυτοποίηση των συντιθέμενων δεικτών έγινε με χρήση φασματοσκοπίας NMR και LC-MS. Όλα τα ενδιάμεσα ταυτοποιήθηκαν συνδυαστικά τόσο με NMR όσο και με κάποια από τις ακολουθούμενες τεχνικές: LC-MS, GC-MS, Elemental Analysis. Τα πειράματα επαναλήφθηκαν με μεγάλη επαναληψιμότητα τόσο στα ποσοστά, όσο και στην καθαρότητα των δεικτών. Οι τελικοί δείκτες δημιουργήθηκαν σε τέσσερα, το μέγιστο, βήματα και είναι δυνατόν να παρασκευαστούν σε ποσότητες γραμμαρίων με τις ίδιες αποδόσεις. Στο εργαστήριο έχουν συντεθεί οι δείκτες **9**, **18**, **41** και **43** σε ποσότητες 1.5-2 g ακολουθώντας τις παρακάτω πειραματικές διαδικασίες (Κεφάλαιο E. 1. 2.) και χρησιμοποιώντας τις ανάλογες ποσότητες.

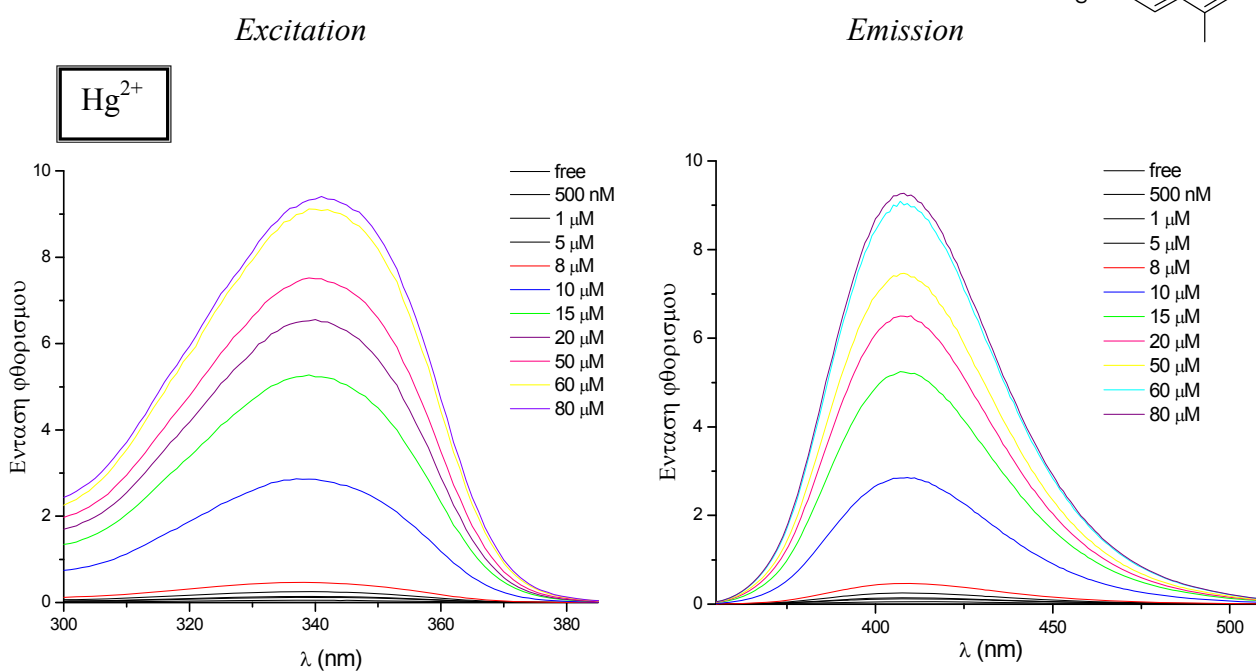
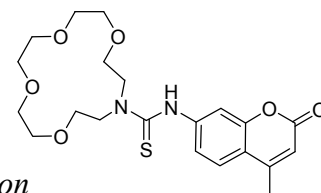
Γ. 3. ΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ - ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑ

Γ. 3. 1. Συνθήκες και παρασκευή διαλυμάτων

Οι θειοκαρβαμιδικοί δείκτες διαλύθηκαν σε κατάλληλη ποσότητα DMSO ώστε να προκύψει διάλυμα με $C = 10 \times 10^{-3} \text{ M}$ (10 mM). Αντιστοίχως, οι συζευγμένοι μονο-aza-crown-methylene- δείκτες καθώς και ο mono-ricolyl-coumarin δείκτης διαλύθηκαν σε κατάλληλη ποσότητα μεθανόλης ώστε να προκύψει διάλυμα με $C = 10 \times 10^{-3} \text{ M}$ (10 mM). Ποσότητες 5 μl από τα παραπάνω διαλύματα των δεικτών προστέθηκαν σε 5 ml μιας σειράς διαλυμάτων που περιείχαν συγκεντρώσεις 0-1000 μM των ιόντων Zn^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , σε υπερκαθαρό νερό. Τα προκύπτοντα διαλύματα περιείχαν τον δείκτη σε τελική συγκέντρωση $10 \times 10^{-6} \text{ M}$ (10 μM). Τα διαλύματα των μετάλλων των θειοκαρβαμιδικών δεικτών διατηρήθηκαν προστατευμένα από το φως - καθώς είναι φωτοευαίσθητα - σε θερμοκρασία δωματίου για 18 ώρες, ώστε να επέλθει ισορροπία στη δέσμευση δείκτη-μέταλλου. Τα διαλύματα των υπόλοιπων δεικτών αφέθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 2 ώρες.

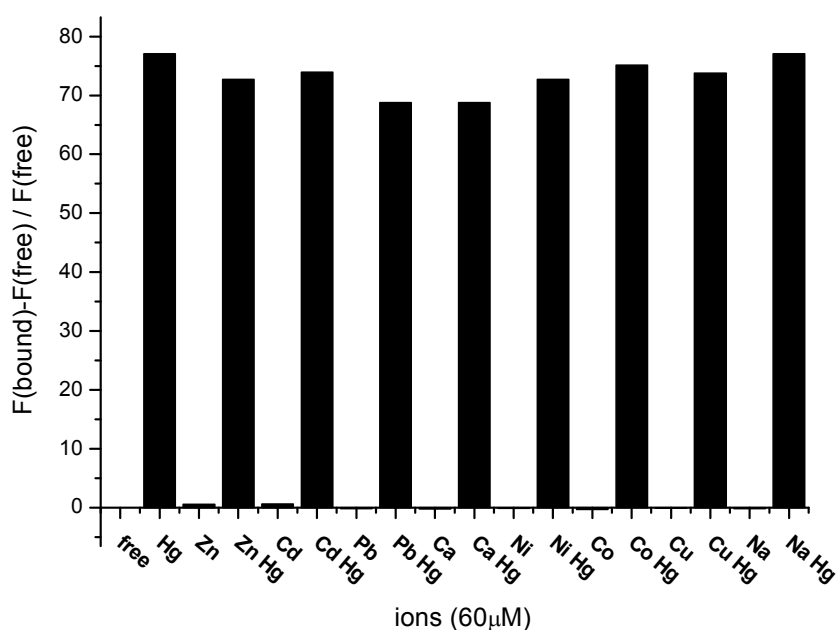
Γ. 3. 2. Μετρήσεις φθορισμού δεικτών

Δείκτης 18



Από τις παραπάνω μετρήσεις φθορισμού, οι οποίες πραγματοποιήθηκαν σε υπερκαθαρό νερό, προκύπτει ότι ο δείκτης **18** δρα ως PET δείκτης - με μηδενικό φθορισμό στην ελεύθερη μορφή του και αύξηση φθορισμού στη δεσμευμένη με μέταλλο μορφή του - και όχι ως PCT όπως αναμενόταν, έχει $\lambda_{\max} = 341$ nm διέγερσης, $\lambda_{\max} = 407$ nm εκπομπής και σταθερά διάστασης $K_d = 13.14$ μM για Hg^{2+} .

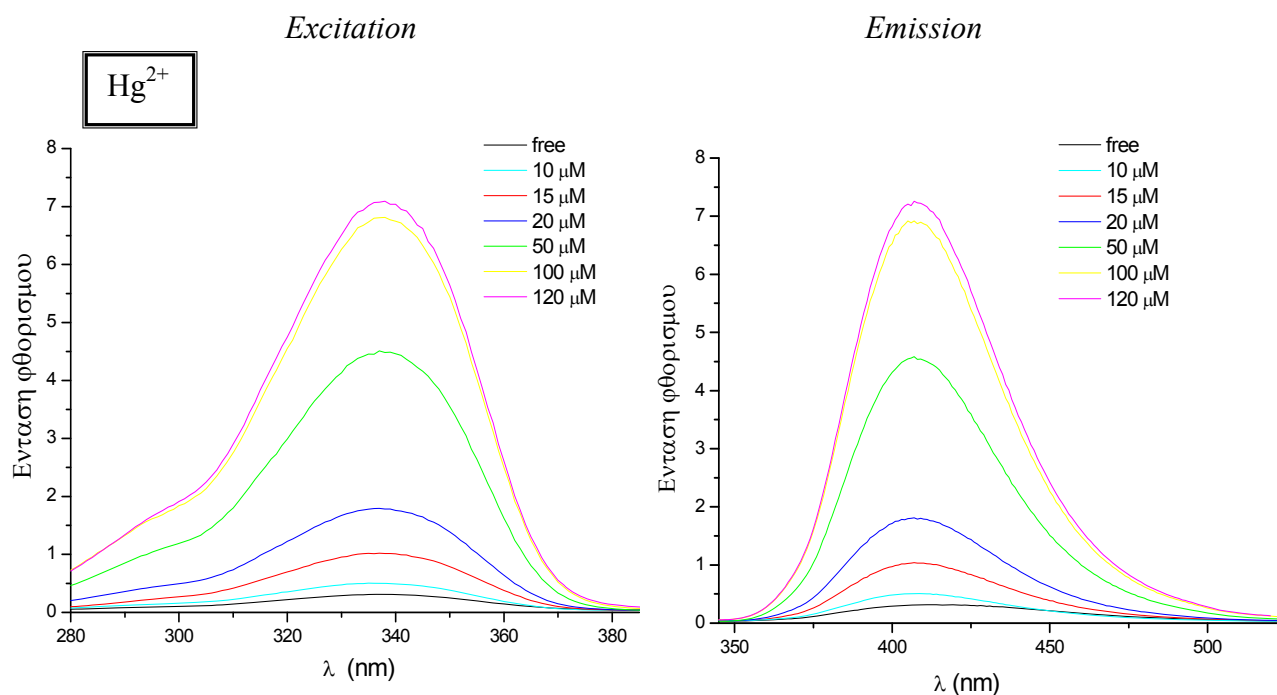
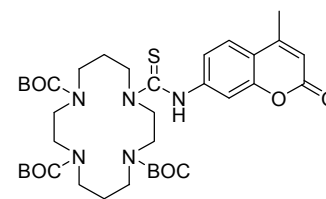
Μελέτη ανταγωνισμού μετάλλων του δείκτη **18**



Από το παραπάνω σχήμα φαίνεται καθαρά ότι ο δείκτης παρουσιάζει επιλεκτικότητα για το ιόν του υδραργύρου παρουσία άλλων βαρέων και μη μετάλλων. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε ως εξής: Στην πρώτη στήλη (bar: free) παρουσιάζεται ο φθορισμός του δείκτη ο οποίος είναι μηδενικός. Στην δεύτερη στήλη (bar: Hg) παρουσιάζεται ο φθορισμός του δείκτη μετά την προσθήκη 60 μM ιόντων υδραργύρου: το φαινόμενο PET ενεργοποιείται και ο φθορισμός αυξάνεται.

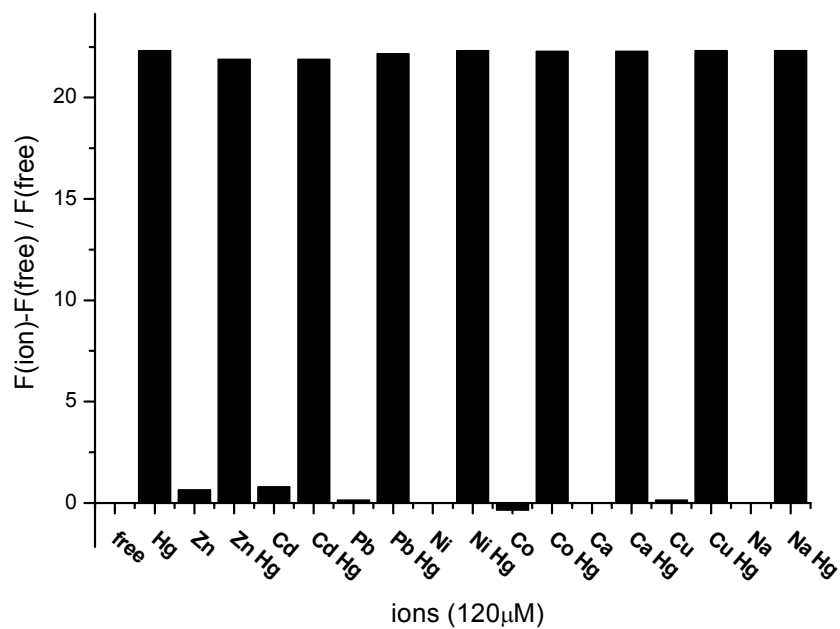
Η επιλεκτικότητα του δείκτη είναι προφανής από τις επόμενες μετρήσεις. Στην τρίτη στήλη (bar: Zn) παρουσιάζεται ο φθορισμός (μηδενικός) του δείκτη παρουσία ιόντων ψευδαργύρου υποδεικνύοντας ότι το φαινόμενο PET δεν ισχύει άρα τα ιόντα Zn^{2+} δεν συναρμόζονται. Στην τέταρτη στήλη (bar: Zn-Hg), έχουν προστεθεί ιόντα υδραργύρου στο διάλυμα της τρίτης στήλης (δείκτης και Zn^{2+}): το φαινόμενο PET ενεργοποιείται, άρα τα ιόντα υδραργύρου έχουν την ίδια δράση και στην ίδια ένταση ανεξάρτητα από την παρουσία ιόντων ψευδαργύρου.

Δείκτης 23



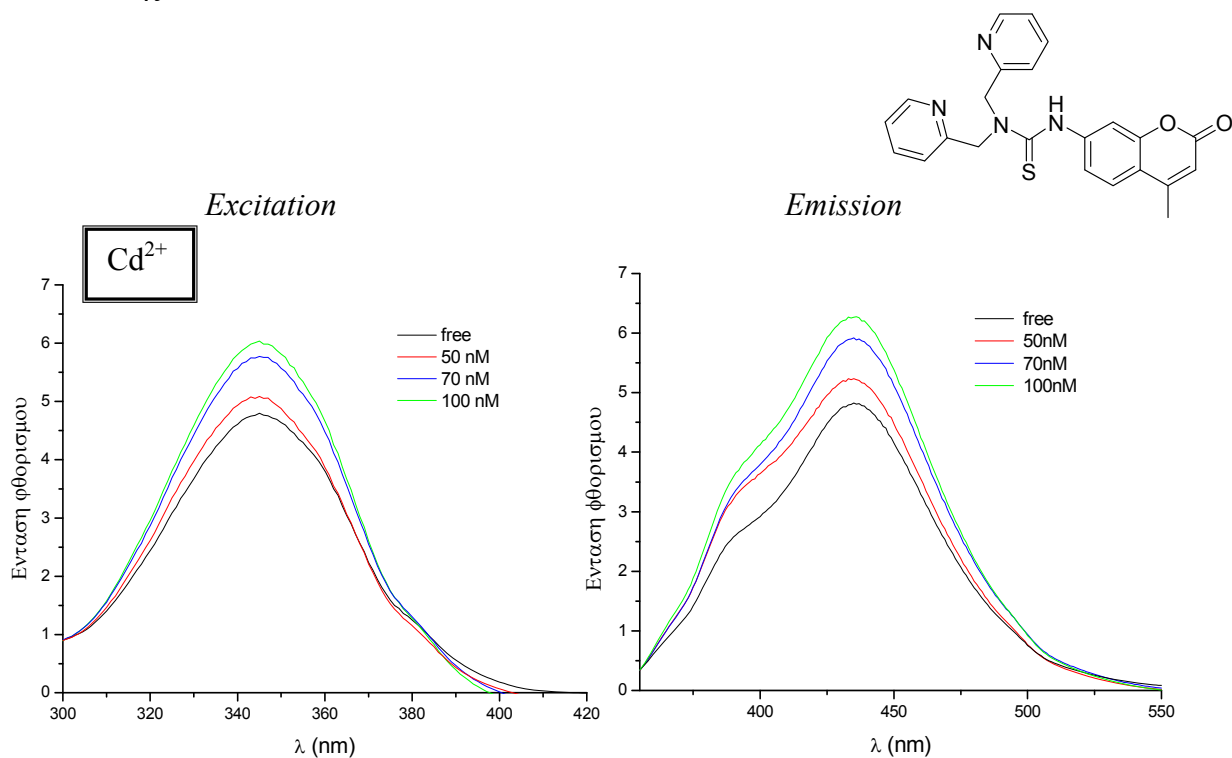
Από τις παραπάνω μετρήσεις φθορισμού, οι οποίες πραγματοποιήθηκαν σε υπερκαθαρό νερό, προκύπτει ότι ο δείκτης **23** δρα ως PET δείκτης και όχι ως PCT όπως αναμενόταν. Στο σημείο αυτό πρέπει να διευκρινιστεί ότι, σε συστήματα όπου το ιονοφόρο και το χρωμοφόρο τμήμα του μορίου βρίσκονται σε συζυγία είναι πιθανότερο, κατά την διέγερση του μορίου, να υπάρξει μεταφορά φορτίου (PCT) αντί της μεταφοράς ηλεκτρονίου (PET). Ο δείκτης έχει $\lambda_{\text{max}} = 338$ nm διέγερσης, $\lambda_{\text{max}} = 407$ nm εκπομπής και σταθερά διάστασης $K_d = 35.48 \mu\text{M}$ για Hg^{2+} . Παρατηρούμε ότι ο δείκτης **23** έχει παρόμοιο φθορισμομετρικό προφίλ με **18** όσον αφορά τόσο στα μέγιστα μήκη κύματος και στην απόκριση ως προς το ιόν του υδραργύρου, γεγονός αναμενόμενο καθώς οι δύο δείκτες δεν διαφέρουν καθόλου ως προς το συζυγιακό σύστημα το οποίο καθορίζει τα λ_{max} . Όσον αφορά την εκλεκτικότητα προς στο συγκεκριμένο ιόν, πιθανώς επειδή και οι δύο δείκτες περιέχουν S η δέσμευση του Hg^{2+} το οποίο είναι θειόφιλο ιόν καθορίζεται σημαντικά από την παρουσία της θειοκετονικής ομάδας.

Μελέτη ανταγωνισμού μετάλλων του δείκτη 23



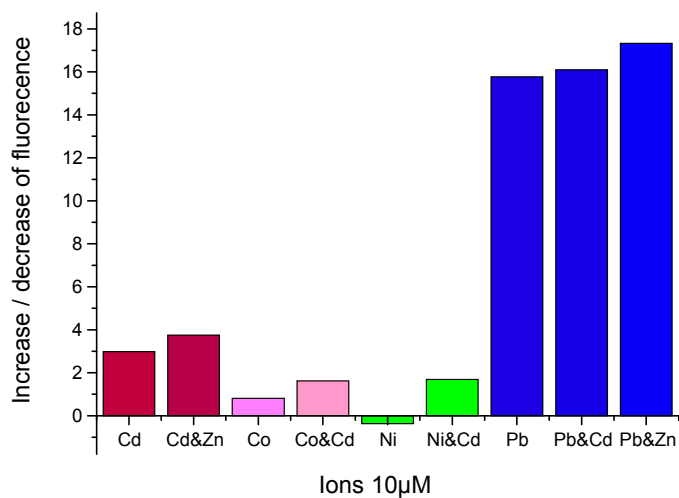
Η μελέτη πραγματοποιήθηκε με τις συνθήκες που περιγράφονται στο αντίστοιχο εδάφιο για την δείκτη **18**. Από το παραπάνω σχήμα φαίνεται καθαρά ότι ο δείκτης **23** παρουσιάζει επιλεκτικότητα για το ιόν του υδραργύρου παρουσία άλλων βαρέων και μη μετάλλων.

Δείκτης 41



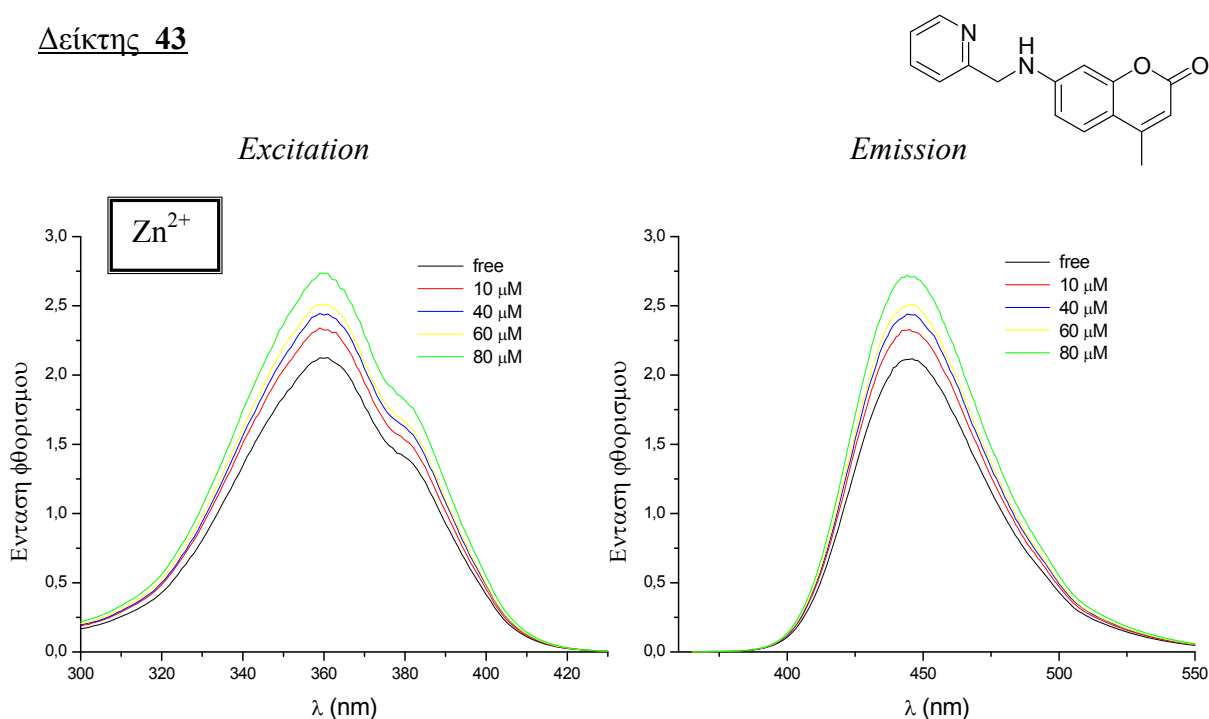
Από τις παραπάνω μετρήσεις φθορισμού, οι οποίες πραγματοποιήθηκαν σε ρυθμιστικό διάλυμα (10mM HEPES, 140mM NaCl, 2.5 mM KCl, pH=7.5), προκύπτει ότι ο δείκτης 41 παρουσιάζει μικρή απόκριση για το ιόν του καδμίου με $\lambda_{\max}(\text{excitation}) : 343 \text{ nm}$, $\lambda_{\max}(\text{emission}) : 429 \text{ nm}$ και $K_d(\text{Cd}^{2+}) \approx 58 \text{ nM}$. Δεν παρατηρείται μετατόπιση του μήκους κύματος.

Φθορισμός και επιλεκτικότητα του δείκτη 41 μεταξύ 5 μετάλλων



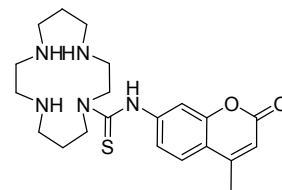
Ωστόσο, κατά την μελέτη επιλεκτικότητας του δείκτη ως προς το ιόν του καδμίου, παρατηρήσαμε ότι στη συγκέντρωση των 10μM έχει μεγάλη απόκριση και επιλεκτικότητα για το ιόν του μολύβδου. Παρ' όλα αυτά δεν κατέστη δυνατή η εξαγωγή σταθεράς διάστασης για το ιόν του μολύβδου. Σύμφωνα με τις μετρήσεις που έγιναν, ο δείκτης δίνει μια αύξηση φθορισμού περίπου 21% για συγκέντρωση ιόντων Pb^{2+} ίση με 10μM. Σε συγκεντρώσεις όμως μεγαλύτερες από αυτήν, ο φθορισμός επανέρχεται στο επίπεδο της ελεύθερης από μέταλλο μορφής του δείκτη ή μειώνεται σημαντικά σε σχέση με αυτή. Τα ίδια αποτελέσματα ελήφθησαν και στις μελέτες φθορισμού σε διαλύτες CH_3CN και $DMSO$. Οι λόγοι για τους οποίους έχουμε σε χαμηλές συγκεντρώσεις αύξηση φθορισμού και σε υψηλότερες μείωση, πιθανώς είναι α) ασθενής δέσμευση του μετάλλου από τον δείκτη εξ' αιτίας ηλεκτρονικού ή στερεοχημικού περιβάλλοντος και β) να ισχύει το φαινόμενο γνωστό ως «heavy atom effect»¹⁰³ δηλαδή το ίδιο το μέταλλο (σε αυτήν την περίπτωση ο μόλυβδος) να προκαλεί μείωση του φθορισμού.

Δείκτης 43

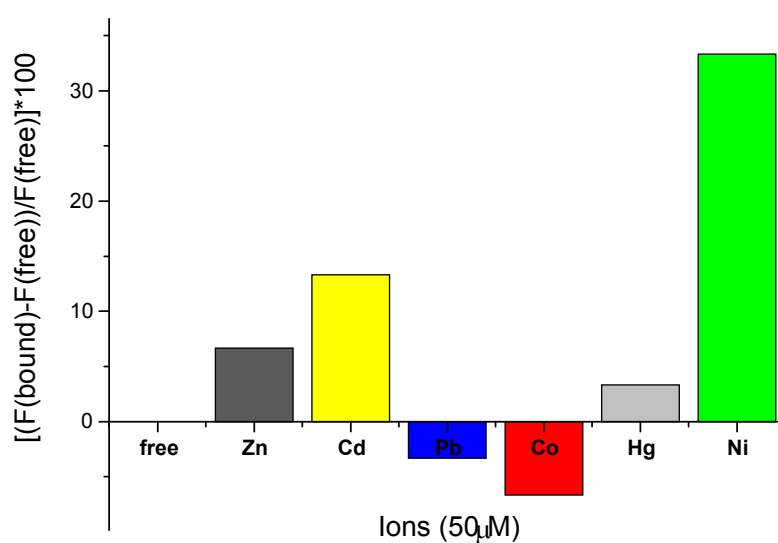


Από τις παραπάνω μετρήσεις φθορισμού, οι οποίες πραγματοποιήθηκαν σε υπερκαθαρό νερό, προκύπτει ότι ο δείκτης **43** έχει $\lambda_{max} = 360$ nm διέγερσης, $\lambda_{max} = 445$ nm εκπομπής και σταθερά διάστασης $K_d = 25.17$ μM για Zn^{2+} . Η χρησιμότητα του δείκτη περιορίζεται από το γεγονός ότι έχει γραμμική απόκριση μόνο στις συγκεντρώσεις 10-80 μM για τον ψευδάργυρο.

Δείκτης 20



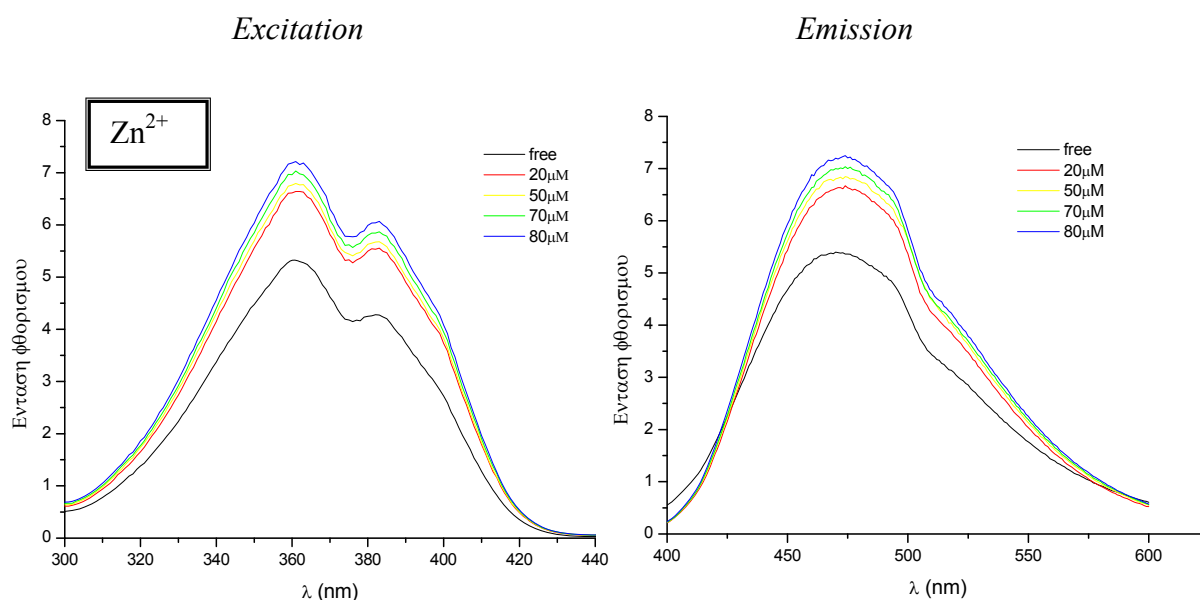
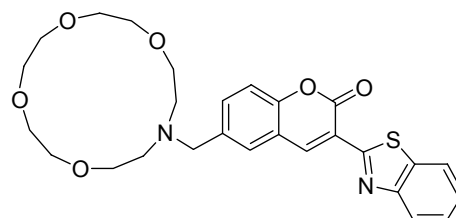
Από προκαταρκτικές μελέτες φθορισμού του δείκτη **20** σε ρυθμιστικά διαλύματα μετάλλων (10mM HEPES, 140mM NaCl, 2.5 mM KCl, pH= 7.5) σε συγκεντρώσεις ιόντων 10, 50 και 100 μM , φαίνεται ότι ο δείκτης αποκρίνεται περισσότερο για το δισθενές ιόν του νικελίου, Ni^{2+} :



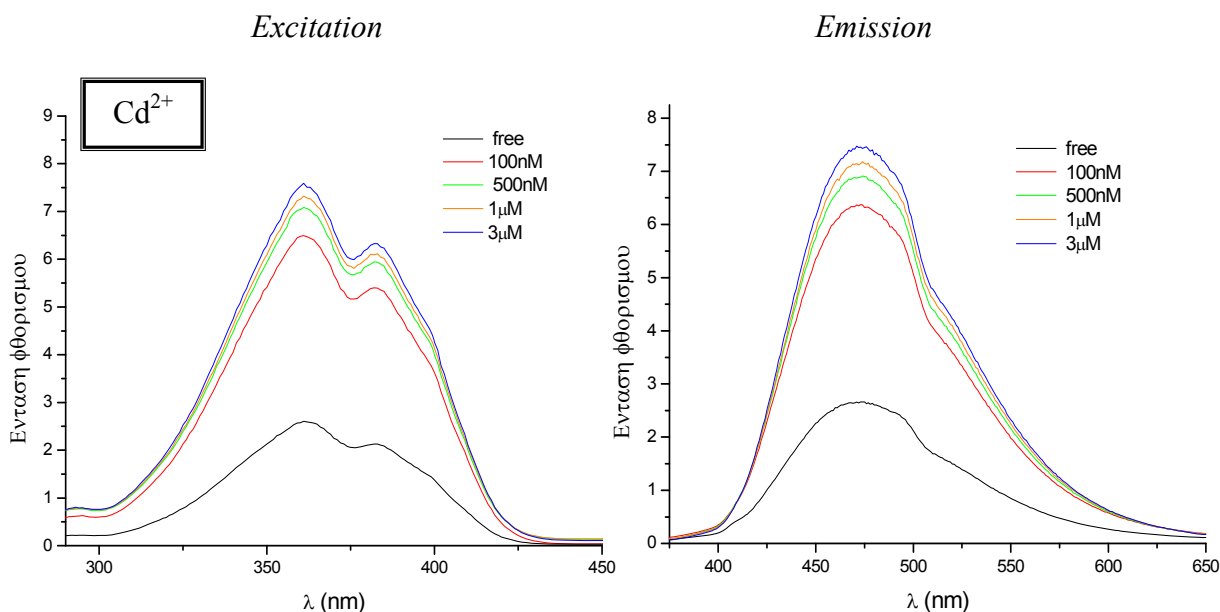
Μελλοντικά θα πραγματοποιηθούν επιπλέον μελέτες φθορισμού, διαφορετικών συγκεντρώσεων για το ιόν του Ni^{2+} , σε διαλύματα με διαφορετικά pH και ιοντική ισχύ, ώστε να εξαχθεί σταθερά διάστασης για αυτό και να βρεθεί το εύρος pH μέσα στο οποίο αποκρίνεται ο δείκτης.

Δείκτης 9

Οι μετρήσεις φθορισμού του δείκτη **9** σε υπερκαθαρό νερό έχουν ήδη δημοσιευτεί (ΜΔΕ-Βουτσαδακη Σ.)¹⁰⁴ και επαναλήφθηκαν στην παρούσα διατριβή, τόσο σε υπερκαθαρό νερό όσο και σε ρυθμιστικό διάλυμα (10mM HEPES, 140mM NaCl, 2.5 mM KCl, pH=7.5) με ταυτόσημα αποτελέσματα.



Από τις παραπάνω μετρήσεις φθορισμού, οι οποίες πραγματοποιήθηκαν σε υπερκαθαρό νερό, προκύπτει ότι ο δείκτης **9** έχει $\lambda_{\max} = 361$ nm διέγερσης, $\lambda_{\max} = 474$ nm εκπομπής και σταθερά διάστασης $K_d = 8.7 \mu\text{M}$ για Zn^{2+} .

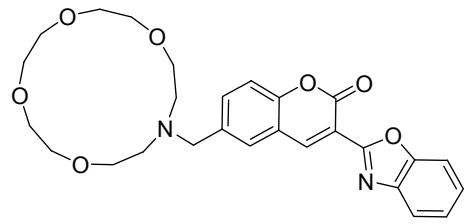
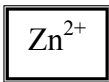


Από τις παραπάνω μετρήσεις φθορισμού, οι οποίες πραγματοποιήθηκαν επίσης σε υπερκαθαρό νερό, προκύπτει ότι ο δείκτης **9** έχει σταθερά διάστασης $K_d = 0.016 \mu\text{M}$ (16 nM) για Cd^{2+} .

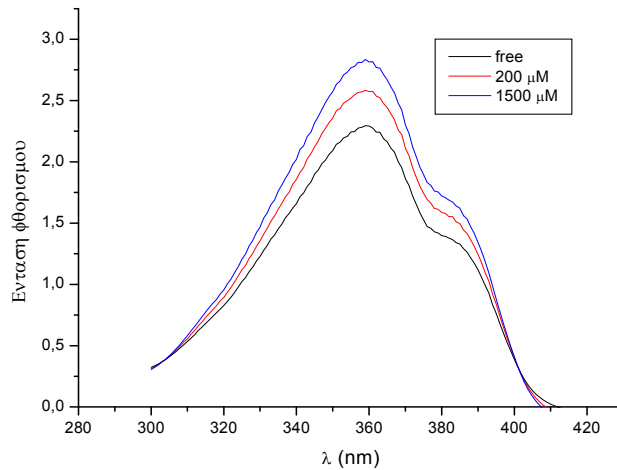
Το γεγονός ότι ο δείκτης **9** παρουσιάζει διαφορετικής τάξης σταθερές διάστασης για τον ψευδάργυρο και το κάδμιο, δίνει την δυνατότητα χρήσης του για επιλεκτική ανίχνευση των συγκεκριμένων ιόντων.

Δείκτης 10

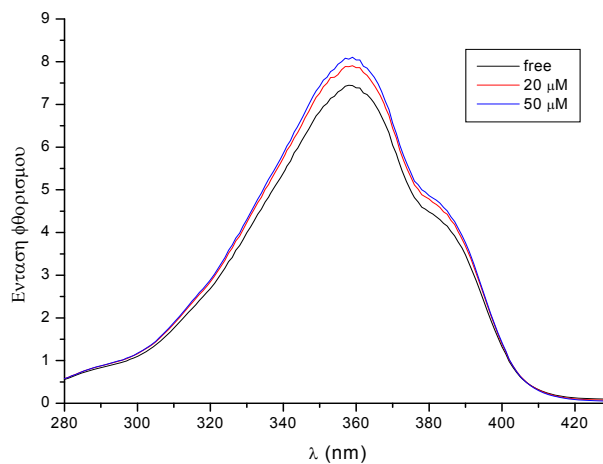
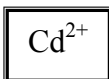
Οι μετρήσεις φθορισμού του δείκτη **10** σε υπερκαθαρό νερό έχουν ήδη δημοσιευτεί (ΜΔΕ-Βουτσαδακη Σ.)¹⁰⁴ και επαναλήφθηκαν στην παρούσα διατριβή, τόσο σε υπερκαθαρό νερό όσο και σε ρυθμιστικό διάλυμα (10mM HEPES, 140mM NaCl, 2.5 mM KCl, pH=7.5) με τα ίδια αποτελέσματα.



Excitation



Excitation



Στις μετρήσεις φθορισμού του δείκτη **10** υπάρχει διακριτή απόκριση παρουσία ιόντων Zn^{2+} ή Cd^{2+} . Ωστόσο, επειδή οι διαφορές στην ένταση φθορισμού είναι ιδιαίτερα μικρές δεν είναι δυνατόν να εξαχθούν εκ του ασφαλούς τιμές σταθερών διάστασης σε υπερκαθαρό νερό. Είναι πιθανόν αντίστοιχες μετρήσεις σε οργανικούς διαλύτες όπως το ακετονιτρίλιο να δώσουν ακριβέστερα αποτελέσματα όπως έχει αναφερθεί στην βιβλιογραφία για την μελέτη παρόμοιων συστημάτων.⁷² Ωστόσο αυτή η μεθοδολογία δεν πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο εφόσον ο δείκτης σχεδιάστηκε και συντέθηκε ώστε να αποκρίνεται σε υδατικά συστήματα.

Δ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συνεισφορά στο Επιστημονικό Πεδίο

Στην παρούσα διατριβή συντέθηκαν με χρήση συμβατικών μεθόδων αντιδραστηρίων σε λίγα στάδια και με μεγάλη απόδοση:

- ♦ Δύο *επιλεκτικοί* PET δείκτες ανίχνευσης χαμηλών συγκεντρώσεων ιόντων υδραργύρου. Στον πρώτο δείκτη (**18**) ο στόχος επιτεύχθηκε χρησιμοποιώντας ως ιονοφόρο ένα γνωστό συμπλοκοποιητή αλκαλικών γαιών και ψευδαργύρου (1-aza-15-crown-5) και ως χρωμοφόρο μία απλή δομικά αμινοκουμαρίνη (7-αμινο-4-μεθυλοκουμαρίνη). Η αλλαγή της επιλεκτικότητας του ιονοφόρου επιτεύχθηκε με την επιλογή της ομάδας του θειοκαρβαμιδίου ως σύνδεσμου (linker) μεταξύ ιονοφόρου και χρωμοφόρου. Στον δεύτερο δείκτη (**23**) κατά τον ίδιο τρόπο, ένας γνωστός, μη εξειδικευμένος, συμπλοκοποιητής βαρέων μετάλλων (cyclam) μετατράπηκε σε επιλεκτικό συμπλοκοποιητή υδραργύρου, με την εισαγωγή α) του θειοκαρβαμιδίου ως σύνδεσμου ιονοφόρου-χρωμοφόρου και β) των ομάδων προστασίας των τριών αζώτων του cyclam. Με την δεύτερη παρέμβαση μειώθηκε η διαθεσιμότητα των ελευθέρων ηλεκτρονίων στα άτομα του αζώτου με προφανές αποτέλεσμα την αλλαγή της εκλεκτικότητας.
- ♦ Ένας δείκτης (**41**) στον οποίο το μόριο της 2-(διπικολυλαμίνης) συνδέθηκε για πρώτη φορά με κουμαρίνη μέσω θειοκαρβαμιδικής γέφυρας και *παρουσιάζει απόκριση για το ιόν του μολύβδου*. Στις μέχρι τώρα μελέτες δεν επιτεύχθηκε ο υπολογισμός σταθεράς διάστασης, λόγω του μικρού εύρους απόκρισης του δείκτη σε συγκεντρώσεις ιόντων μολύβδου. Για τον λόγο αυτό ο δείκτης μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον ποιοτικό αλλά όχι ποσοτικό προσδιορισμό ιόντων μολύβδου.
- ♦ Ένας δείκτης (**41**) στον οποίο το μόριο της 2-πικολυλο-ομάδας είναι απ' ευθείας συνδεδεμένο με την 7-αμινοκουμαρίνη και *παρουσιάζει απόκριση για το ιόν του ψευδαργύρου σε μικρού εύρους περιοχές συγκεντρώσεων*.
- ♦ Επιπλέον, μελετήθηκε εκτενώς η χημεία της 5-αμινο-1,10-φαινανθρολίνης και παρόλο που δεν επιτεύχθηκε σύνθεση δείκτη που να περιέχει το συγκεκριμένο χρωμοφόρο, ο απώτερος στόχος συμπλοκοποίησης ιόντων υδραργύρου (η 5-αμινο-1,10-φαινανθρολίνη είναι γνωστή στη βιβλιογραφία ως

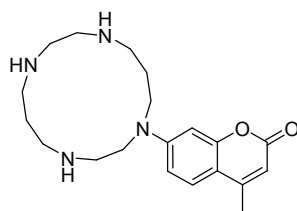
συμπλοκοποιητής του συγκεκριμένου ιόντος, γι αυτό και επιλέχθηκε) πραγματοποιήθηκε με τους δείκτες **18** και **23**.

- ♦ Τέλος έγιναν βελτιώσεις σε δημοσιευμένη συνθετική μεθοδολογία (ΜΔΕ-Βουτσαδάκη Σ.)¹⁰⁴ των δεικτών **9** και **10**. Ο δείκτης (**9**) ανιχνεύει ιόντα ψευδάργυρου και κάδμιου με *διαφορετικής τάξης σταθερές διάστασης για το κάθε ιόν*, γεγονός που δίνει την πιθανότητα χρήσης του για *επιλεκτική ανίχνευση των ιόντων καδμίου σε δείγματα με υψηλές συγκεντρώσεις ιόντων ψευδαργύρου*.

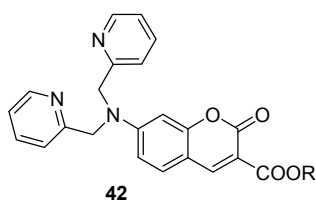
Μελλοντικοί Στόχοι

α) οι επιπλέον προσπάθειες σύζευξης του cyclam με την αμινοκουμαρίνη μέσω αλειφατικής ή ολεφινικής γέφυρας.

β) η προσπάθεια σύζευξης του cyclam με την κουμαρίνη μέσω σταδιακής δόμησης του cyclam στη θέση 7 του συστήματος της κουμαρίνης.



γ) οι επιπλέον προσπάθειες δημιουργίας του διπικολινικού δείκτη **42**.



R= Me or Et

Ε. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

Ε. 1. ΣΥΝΘΕΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Ε. 1. 1. Όργανα και μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν

Οι αντιδράσεις για τις οποίες αναφέρονται ξηρές και αδρανείς συνθήκες πραγματοποιήθηκαν υπό ατμόσφαιρα αργού, ενώ οι συσκευές ξηράνθηκαν με πύρωση υπό κενό. Για τη λήψη των TLC χρησιμοποιήθηκαν υάλινα πλακίδια επιστρωμένα με ξηροπηκτική διοξειδίου του πυριτίου (silica gel, 60F₂₅₄) και τα πλακίδια εμφανίστηκαν σε λάμπα ακτινοβολίας υπεριώδους-ορατού (254 και 366 nm αντίστοιχα), με εμβάπτιση σε αιθανολικό διάλυμα 7% φωσφομολυβδαινικού οξέος και θέρμανση ή σε θάλαμο με ατμούς ιωδίου. Για τις αλδεύδες χρησιμοποιήθηκε κορεσμένο αιθανολικό διάλυμα φαινυλδραζίνης και θέρμανση. Για την χρωματογραφία στήλης χρησιμοποιήθηκε silica gel 60, 230-400 mesh.

Τα φάσματα ¹H NMR ελήφθησαν σε φασματογράφους FT-NMR, AMX500 (500MHz) και MSL300 (300MHz) της εταιρίας Bruker. Οι χημικές μετατοπίσεις των πρωτονίων αναγράφονται σε ppm, σε σχέση με την μετατόπιση του τετραμεθυλσιλανίου (TMS, δ 0.0):

Τα μονοδιάστατα φάσματα ¹H-NMR ελήφθησαν με 64 K πραγματικά δεδομένα (data points). Για κάθε φάσμα ελήφθησαν από 16 έως 64 FIDs οι οποίες αποθηκεύτηκαν στη μνήμη του υπολογιστή. Το φασματικό εύρος ήταν από 12 έως 14 ppm. Χρησιμοποιήθηκαν επίσης 4 ψευδοσαρώσεις (dummy scans) ώστε το σύστημα των σπιν να φτάσει σε δυναμική ισορροπία πριν από την εφαρμογή της επόμενης ακολουθίας παλμών. Ο χρόνος ανάκτησης (acquisition time) ήταν 2,7 s, ενώ ο χρόνος αναμονής (relaxation delay) μεταξύ δυο συνεχόμενων ακολουθιών παλμών ήταν 1 s. Μετά τον μετασχηματισμό Fourier έγινε διόρθωση της γραμμής βάσης του φάσματος με ένα πολυώνυμο τέταρτης τάξης και ακολούθησε διόρθωση φάσης μηδενικής και πρώτης τάξης.

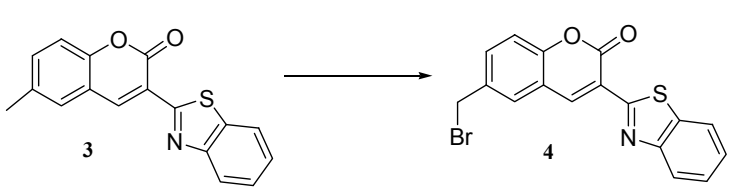
Τα μονοδιάστατα φάσματα ¹³CNMR ελήφθησαν με 64 K πραγματικά δεδομένα και φασματικό εύρος από 200 έως 220 ppm. Για κάθε φάσμα ελήφθησαν από 2000 έως 10000 FIDs, οι οποίες αποθηκεύτηκαν στη μνήμη του υπολογιστή. Χρησιμοποιήθηκαν 4 ψευδοσαρώσεις ώστε η θερμοκρασία του δείγματος και το σύστημα των spin να φτάσει σε δυναμική ισορροπία. Ο χρόνος αναμονής πριν την εφαρμογή της επόμενης ακολουθίας παλμών ήταν 3s. Η τιμή του παλμού 90° είχε

διάρκεια 10.3 μ s. Πριν το μετασχηματισμό Fourier η ελεύθερη επαγωγική απόσβεση (FID) πολλαπλασιάστηκε με μια εκθετική συνάρτηση, με εκθέτη $I_b=3$ Hz, για την αύξηση της ευαισθησίας του πειράματος και τα δεδομένα αυξήθηκαν με την προσθήκη 64 K μηδενικών στη μνήμη του υπολογιστή. Μετά το μετασχηματισμό Fourier έγινε διόρθωση φάσης μηδενικής και πρώτης τάξης και ακολούθησε διόρθωση της γραμμής βάσης του φάσματος με ένα πολυώνυμο τέταρτης τάξης.

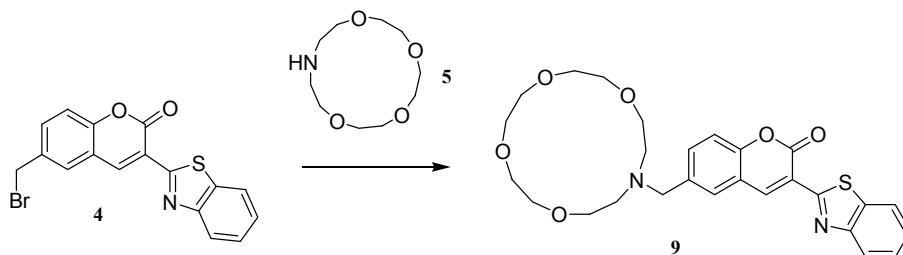
Τα φάσματα μάζας καταγράφηκαν σε φασματογράφους Shimadzu GC-MS-QP5050A με ανιχνευτή μάζας CI, Finnigan LCQAD-3000 καθώς και σε DART-TOF-MS (JEOL: JMS T100TD)¹⁰⁵. Οι στοιχειακές αναλύσεις έγιναν σε αναλυτή Carlo Erba. Τα φάσματα φθορισμού καταγράφηκαν σε φθορισμόμετρο Aminco Bowman (Spectronics Co., USA). Η ανάλυση με GC-MS μερικών εκ των ουσιών έγινε με ένα επιλεκτικό ανιχνευτή μάζας τύπου Shimadzu GCMS-QP 5050 συνδεδεμένο με σύστημα πληροφοριών. Ο αέριος χρωματογράφος (Shimadzu GC-17A), ήταν ενωμένος με μία τριχοειδή στήλη (στατική φάση 5% supelco, SBP-5, διαστάσεων 30m x 0,25 mm x 0,25 μ m film thickness) και με την πηγή των ιόντων. Για την μεταφορά του δείγματος στην στήλη, χρησιμοποιήθηκε auto-injector τύπου Shimadzu AOC – 20i. Σαν φέρον αέριο χρησιμοποιήθηκε Ήλιο (He), υπό πίεση 0,8 atm. Οι συνθήκες ιονισμού και περίθλασης των ηλεκτρονίων ήταν οι ακόλουθες: ενέργεια ιόντων 70 eV, θερμοκρασία πηγής ιόντων 195°C, εύρος μάζας 35 – 450 m/z, χρόνος σάρωσης 1,4 /decade, ηλεκτρονικός πολλαπλασιαστής τάσης 1680 mV. Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της θερμοπρογραμματιζόμενης χρωματογραφίας.

Ε. 1. 2. Πειραματική διαδικασία

Οι συνθετικές μεθοδολογίες παρασκευής των ενώσεων **2-10**, **12**, **13** παρατίθενται σε ήδη δημοσιευμένη διατριβή (ΜΔΕ-Βουτσαδακη Σ.)¹⁰⁴ ενώ στο παρόν έργο πραγματοποιήθηκαν βελτιώσεις στα πειράματα παρασκευής των ενώσεων **4**, **8**, **9**, **10**.

Παρασκευή της ένωσης 4						
						
Ένωση	MB	m (mgr)	n(mmol)	d(gr/ml)	V (ml)	C (M)
3	293,34	500	1.704			0,5
NBS	177,99	333	1.875			
(PhCO ₂) ₂	242,23	10	0,041			
CHCl ₃					4,5	
<p>Σε προξηραμένο αυτόκλειστο σωλήνα (schlenk tube) διαλύθηκαν η ένωση 3 και το NBS στο χλωροφόρμιο υπό ξηρές κι αδρανείς συνθήκες. Έπειτα προστέθηκε με προσοχή το βενζοϋλοϋπεροξειδίο και το διάλυμα θερμάνθηκε στους 80°C για 1,5 μέρα.</p> <p>Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης προστέθηκε νερό και πραγματοποιήθηκαν 2 εκχυλίσσεις με CHCl₃, απόσταση του διαλύτη κι ανακρυσταλλώσεις με CH₂Cl₂/EtOEt για πλήρη απομάκρυνση του διασπασμένου σουκινιμιδίου και την 3 που δεν αντέδρασε.</p> <p>Παράχθηκαν 412 g βρωμιδίου 4. Απόδοση 65 %.</p>						
Επεξήγηση φάσματος ¹HNMR : 300 MHz, σε CDCl ₃						
H_a : d, 7.41 ppm, J _{a-b} = 8.5 Hz • H_b : q(dd), 7.65 ppm, J _{b-a} = 8.5 Hz, J _{b-c} = 2 Hz						
H_c : d, 7.72 ppm, J _{c-b} = 2 Hz						
H_d : s, 9.04 ppm • H_e : m (dd), 7.98 ppm, J _{e-f} = 8 Hz, J _{e-g} = 1 Hz						
H_f : m (ddd), 7.43 ppm, J _{f-e} = 8 Hz, J _{f-g} = 8 Hz, J _{f-h} = 1 Hz						
H_g : m (ddd), 7.53 ppm, J _{g-h} = 8 Hz, J _{g-f} = 8 Hz, J _{g-e} = 1 Hz						
H_h : m(dd), 8.08 ppm, J _{h-g} = 8 Hz, J _{h-f} = 1 Hz • Ar-CH ₂ -Br : s, 4.55 ppm						

Παρασκευή του δείκτη **9**



Ένωση	MB	m (mgr)	n(mmol)	d(gr/ml)	V (ml)	C (M)
4	372,24	100	0,269			0,027
5	219,28	59	0,269			
(i-Pr) ₂ EtN	129,25	35	0,269	0,76	0,046	
CHCl ₃					10	

Σε προξηραμένη σφαιρική φιάλη διαλύθηκαν κάτω από ξηρές κι αδρανείς συνθήκες το βρωμίδιο **4**, η βάση και το 1-Aza-15-crown-5 στο CHCl₃. Το διάλυμα θερμάνθηκε σε θερμοκρασία 40 °C για 8 ώρες. Η φιάλη της αντίδρασης επικαλύφθηκε με αλουμινόχαρτο, ώστε ν' αποφευχθεί διάσπαση του βρωμιδίου από ακτινοβολία ορατού φωτός πριν την αντίδρασή του.

Μετά το τέλος της αντίδρασης πραγματοποιήθηκε απόσταξη του διαλύτη και χρωματογραφία βαθμιδωτής έκλουσης με διαλύτες 50% CH₂Cl₂/PE, CH₂Cl₂, Acetone, MeOH, για τον καθαρισμό του τελικού δείκτη.

Απομονώθηκαν 130 mg δείκτη **9**. Απόδοση 95%

Επεξήγηση φάσματος ¹HNMR : 300 MHz, σε CDCl₃

H_a : d, 7.33 ppm, J_{a-b} = 8.5 Hz • **H_b** : q (dd), 7.61 ppm, J_{b-a} = 8.5 Hz, J_{b-c} = 1 Hz

H_c : d, 7.71 ppm, J_{c-b} = 1 Hz • **H_d** : s, 9.05 ppm • **H_e** : q(dd), 7.94 ppm, J_{e-f} = 8 Hz

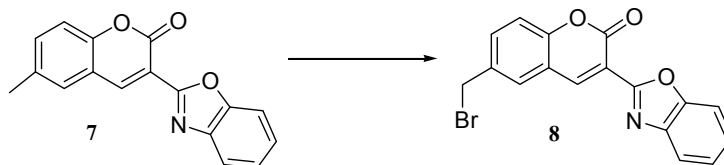
H_f : m(ddd), 7.39 ppm, J_{f-e} = 8 Hz, J_{f-g} = 8 Hz, J_{f-h} = 1 Hz

H_g : m(ddd), 7.50 ppm, J_{g-h} = 8 Hz, J_{g-f} = 8 Hz, J_{g-e} = 1 Hz

H_h : d(dd), 8.05 ppm, J_{h-g} = 8 Hz • **H_i** : m, 2.78 ppm • **H_k** : m, 3.62-3.68 ppm

Ar-CH₂-crown : s, 3.75 ppm

Παρασκευή της ένωσης **8**



Ένωση	MB	m (mgr)	n(mmol)	d(gr/ml)	V (ml)	C (M)
7	277,27	500	1.803			0,5
NBS	177,99	353	1.984			
(PhCO ₂) ₂	242,23	10	0,041			
CHCl ₃					4,6	

Σε προξηραμένο αυτόκλειστο σωλήνα (schlenk tube) διαλύθηκαν η ένωση **7** και το NBS στο χλωροφόρμιο υπό ξηρές κι αδρανείς συνθήκες. Έπειτα προστέθηκε με προσοχή το βενζουλοϋπεροξειδίο και το διάλυμα θερμάνθηκε στους 80°C για 1,5 μέρα.

Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης προστέθηκε νερό και πραγματοποιήθηκαν 2 εκχυλίσεις με CHCl₃, απόσταση του διαλύτη κι ανακρυστάλλωση με CH₂Cl₂/EtOEt για πλήρη απομάκρυνση του διασπασμένου σουκινιμιδίου και της **7** που δεν αντέδρασε.

Παράχθηκαν 417 g βρωμιδίου **8**. Απόδοση 65 %.

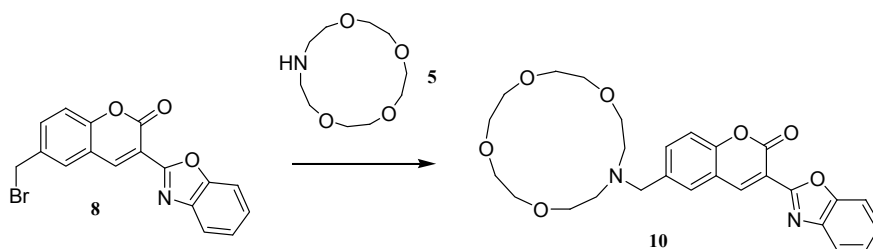
Επεξήγηση φάσματος ¹HNMR : 300 MHz, σε CDCl₃

H_a : d, 7.39 ppm, J_{a-b} = 6 Hz • **H_{b,e}** : m(dd), 7.63 ppm, J_{a-b} = 6 Hz, J_{e-f} = 9 Hz

H_c : s(d), 7.68 ppm • **H_d** : s, 8.74 ppm • **H_{f,g}** : m(ddd), 7.40 ppm

H_h : q (dd), 7.86 ppm, J_{h-g} = 6 Hz, J_{h-f} = 3 Hz • Ar-CH₂-Br : s, 4.55 ppm

Παρασκευή του δείκτη **10**



Ένωση	MB	m (mgr)	n(mmol)	d(gr/ml)	V (ml)	C (M)
8	356,17	200	0,562			0,056
5	219,28	123	0,562			
(i-Pr) ₂ EtN	129,25	73	0,562	0,76	0,096	
CHCl ₃ / DMSO					10	

Σε προξηραμένη σφαιρική φιάλη διαλύθηκαν κάτω από ξηρές κι αδρανείς συνθήκες το βρωμίδιο **8**, η βάση και το 1-Aza-15-crown-5 στο CHCl₃. Το διάλυμα θερμάνθηκε σε θερμοκρασία 40 °C για 8 ώρες. Η φιάλη της αντίδρασης επικαλύφθηκε με αλουμινόχαρτο, ώστε ν' αποφευχθεί διάσπαση του βρωμιδίου από ακτινοβολία ορατού φωτός πριν την αντίδρασή του.

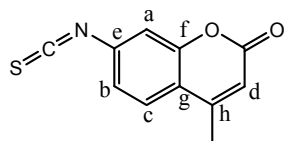
Μετά το τέλος της αντίδρασης πραγματοποιήθηκε απόσταξη του διαλύτη και χρωματογραφία βαθμιδωτής έκλουσης με διαλύτες 50% CH₂Cl₂/PE, CH₂Cl₂, Acetone, MeOH, για τον καθαρισμό του τελικού δείκτη.

Απομονώθηκαν 250 m δείκτη **10**. Απόδοση 90%

Επεξήγηση φάσματος ¹HNMR : 300 MHz, σε CDCl₃

H_a : d, 7.30 ppm, J_{a-b} = 9 Hz • **H_b** : d(dd), 7.58 ppm, J_{b-a} = 8 Hz
H_c : d, 7.73 ppm, J_{c-b} = 0.5 Hz • **H_d** : s, 8.79 ppm
H_e : m (dd), 7.57 ppm, J_{e-f} = 8 Hz, J_{e-g} = 1 Hz
H_{f,g} : m (ddd), 7.35 ppm, J_{f-e} = 8 Hz, J_{g-h} = 8 Hz
H_h : m (dd), 7.82 ppm, J_{h-g} = 8 Hz, J_{h-f} = 1 Hz • **H_j** : m, 2.75 ppm
H_k : m, 3.58 - 3.66 ppm • Ar-CH₂-crown : s, 3.78 ppm

Παρασκευή της ένωσης **19**



Ένωση	MB	m (mgr)	n(mmol)	d(gr/ml)	V (ml)	C (M)
7-amino-4-methylcoumarin	175,19	245	1,4			0,1
CSCl ₂	114,98	483	4,2	1,508	0,320	
Et ₃ N	101,19	283	2,8	0,726	0,390	
CH ₂ Cl ₂					14	

Σε προξηραμένη σφαιρική φιάλη διαλύθηκαν η κουμαρίνη και η τριαιθυλαμίνη στο διχλωρομεθάνιο υπό ξηρές κι αδρανείς συνθήκες. Το διάλυμα θερμάνθηκε στους 35°C για 10 λεπτά. Έπειτα το μείγμα αφέθηκε σε θερμοκρασία δωματίου όπου και προστέθηκε με προσοχή το θειοφωσγένιο και το διάλυμα θερμάνθηκε στους 35°C για 20 λεπτά. Η περίσσεια θειοφωσγενίου είναι απαραίτητη καθώς ορισμένη από την εισαχθείσα ποσότητα στην αντίδραση, υδρολύεται προτού αντιδράσει, ακόμη και σε άνυδρες συνθήκες. Επιπλέον, η φύλαξη του αντιδραστήριου (CSCl₂), όσο προσεκτική κι αν είναι (ψυγείο, ξηρές και αδρανείς συνθήκες), αποφέρει μερική υδρόλυσή του.

Η απομάκρυνση της ποσότητας θειοφωσγενίου που δεν αντέδρασε έγινε με απόσταξη υπό χαμηλή πίεση (rotavapor) με παγίδα υγρού αζώτου, ενώ το υδροχλωρικό αλάτι της τριαιθυλαμίνης απομακρύνθηκε με διήθηση του μείγματος από silica gel. Παράχθηκαν 301 mg isothiocyanate. Απόδοση 98 %

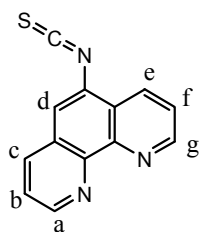
Επεξήγηση φάσματος ¹HNMR : 500 MHz, σε CDCl₃

CH₃ : s, 2.40 ppm • **H_a :** s, 7.08 ppm • **H_b :** d, 7.54 ppm J_{b-c} = 5.5 Hz, • **H_c :** d, 7.11 ppm J_{c-b} = 5 Hz • **H_d :** s, 7.23 ppm

Επεξήγηση φάσματος ¹³CNMR : 500 MHz, σε CDCl₃

CH₃ : 19.27 ppm • **C_d :** 114.18 ppm • **C_a :** 115.65 ppm • **C_c :** 122.43 ppm • **C_b :** 126.36 ppm • **C_g :** 119.39 ppm • **C_e :** 134.87 ppm • **CS :** 139.09 ppm • **C_h :** 151.98 ppm • **C_f :** 154.43 ppm • **CO :** 160.32 ppm

Παρασκευή της ένωσης **37**



Ένωση	MB	m (mgr)	n(mmol)	d(gr/ml)	V (ml)	C (M)
5-amino phenanthroline	195,22	200	1,024			0,14
CSCl ₂	114,98	353	3,072	1,508	0,234	
NaOAc	82,03	168	2,048			
DMA					4	
H ₂ O					1,5	
Acetone					1,5	

Σε προξηραμένη σφαιρική φιάλη διαλύθηκε η αμινοφαινανθρολίνη στο διμεθυλοακεταμίδιο υπό ξηρές κι αδρανείς συνθήκες. Έπειτα προστέθηκε διάλυμα NaOAc σε νερό και το μείγμα αφέθηκε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 10 min. Μετά την πάροδο των δέκα λεπτών προστέθηκε στάγδην, σε διάστημα 10 λεπτών, διάλυμα CSCl₂ σε ακετόνη. Ακολούθησε ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα.

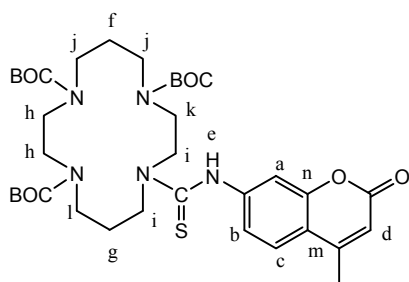
Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης προστέθηκε νερό για την καταβύθιση του προϊόντος και διήθηση για την παραλαβή του.

Παράχθηκαν 238 mg isothiocyanate. Απόδοση 98 %

Επεξήγηση φάσματος ¹HNMR : 500 MHz, σε CD₃OD

H_a : q, 9.04 ppm, J_{a-b} = 4.5 Hz, J_{a-c} = 1 Hz • **H_b** : q, 7.62 ppm J_{b-a} = 8 Hz, J_{b-c} = 8 Hz
 • **H_c** : q, 8.2 ppm J_{c-b} = 8 Hz, J_{c-a} = 1 Hz • **H_d** : s, 7.04 ppm • **H_e** : q, 8.8 ppm J_{e-f} = 8 Hz, J_{e-g} = 1 Hz • **H_f** : q, 7.8 ppm J_{f-e} = 8.5 Hz, J_{f-g} = 8.5 Hz • **H_g** : q, 8.7 ppm J_{g-f} = 8 Hz, J_{g-e} = 1 Hz

Παρασκευή του δείκτη **23**



Ένωση	MB	m (mgr)	n(mmol)	d(gr/ml)	V (ml)	C (M)
22	500,67	143	0,286			0,057
19	217,25	62	0,286			
CHCl ₃					5	

Σε προξηραμένη σφαιρική φιάλη διαλύθηκαν το **19** και το **22** στο χλωροφόρμιο υπό ξηρές κι αδρανείς συνθήκες. Το διάλυμα θερμάνθηκε στους 50 °C για μισή ώρα.

Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης πραγματοποιήθηκε απόσταξη υπό κενό του διαλύτη και υγρή χρωματογραφία βαθμιδωτής έκλουσης για τον καθαρισμό του προϊόντος, με διαλύτες 20, 30, 50% EtOAc/Toluene, EtOAc.

Παράχθηκαν 199 mg δείκτη. Απόδοση 97 %

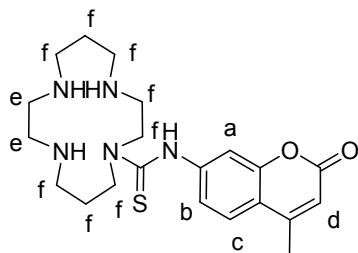
Επεξήγηση φάσματος ¹HNMR : 500 MHz, σε CDCl₃

CH₃ (BOC) : s, 1.42 ppm • **CH₃ (coumarin)** : s, 2.38 ppm • **H_d** : s, 6.18 ppm • **H_{a,b}** : 7.50 ppm • **H_{c,e}** : bd, 7.59 ppm • **H_f** : bm, 1.78 ppm • **H_g** : bm, 1.97 ppm • **H_h** : s, 3.42 ppm • **H_i** : bm, 3.30 ppm • **H_j** : bm, 3.38 ppm • **H_k** : bm, 3.80 ppm • **H_l** : bm, 4.04 ppm

Επεξήγηση φάσματος ¹CNMR : 300 MHz, σε CDCl₃

CH₃ (BOC), C_f : 28.38 ppm • **CH₃ (coumarin)** : 18.63 ppm • **C(CH₃)₃ (BOC)** : 80.10 ppm • **C_g** : 27.63 ppm • **C_{h,k}** : 46.49 ppm • **C_{l,j}** : 48.39 ppm • **C_i** : 50.46 ppm • **C_a** : 111.97 ppm • **C_d** : 113.63 ppm • **C_m** : 121.06 ppm • **C_b** : 116.65 ppm • **C_c** : 124.05 ppm • **coum-C-NH** : 143.65 ppm • **coum-C-CH₃** : 152.44 ppm • **C_n** : 155.53 ppm • **C_e** : 124.05 ppm • **COO (coumarin)** : 161.20 ppm • **COO (BOC)** : 153.67 ppm • **CS** : 180.90 ppm

Παρασκευή του δείκτη **20**



Ένωση	MB	m (mgr)	n(mmol)	d(gr/ml)	V (ml)	C (M)
cyclam	200.33	184	0.920			0.031
19	217,25	100	0,460			0.015
CHCl ₃					30	

Σε προξηραμένη σφαιρική φιάλη διαλύθηκε το cyclam σε 25 ml χλωροφορμίου και το διάλυμα ψύχθηκε στους -50 °C. Η ένωση **19** διαλύθηκε σε 5 ml χλωροφορμίου και προστέθηκε στάγδην στο πρώτο διάλυμα μέσα σε διάστημα 1 ώρας. Μετά την ολοκλήρωση της προσθήκης το διάλυμα αφέθηκε σε θερμοκρασία δωματίου για μισή ώρα.

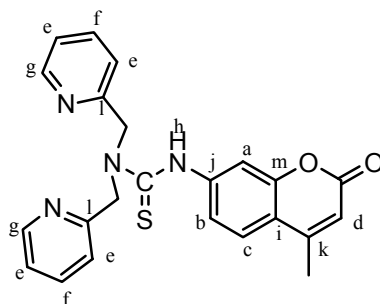
Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης πραγματοποιήθηκε απόσταξη υπό κενό του διαλύτη και καθαρισμός του προϊόντος με διαδοχικές φυγοκεντρίσεις αιθανολικού διαλύματος του μείγματος. Αν χρησιμοποιηθεί μεθανόλη αντί αιθανόλης, δεν επιτυγχάνεται καθαρισμός.

Παράχθηκαν 134 mg δείκτη. Απόδοση 70 %

Επεξήγηση φάσματος ¹HNMR : 300 MHz, σε DMSO-d₆

CH₃, H_e : 3.42 ppm • **H_d** : s, 6.40 ppm • **H_{a,b,c}** : 7.78 ppm • **H_f** : 3.54 ppm

Παρασκευή του δείκτη **41**



Ένωση	MB	m (mgr)	n(mmol)	d(gr/ml)	V (ml)	C (M)
19	217,25	619	2,85			0,28
di-(2-picolylamine)	199,25	568	2,85	1,107	0,513	
CH ₂ Cl ₂					10	

Σε προξηραμένη σφαιρική φιάλη διαλύθηκαν το **19** και η πικολυλαμίνη στο διχλωρομεθάνιο υπό ξηρές κι αδρανείς συνθήκες. Το διάλυμα θερμάνθηκε στους 40 °C reflux για μισή ώρα.

Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης πραγματοποιήθηκε απόσταξη υπό κενό του διαλύτη και υγρή χρωματογραφία βαθμιδωτής έκλουσης για τον καθαρισμό του προϊόντος, με διαλύτες 10, 20, 30, 50% EtOAc/Toluene, EtOAc.

Παράχθηκαν 1162 mg δείκτη. Απόδοση 98 %

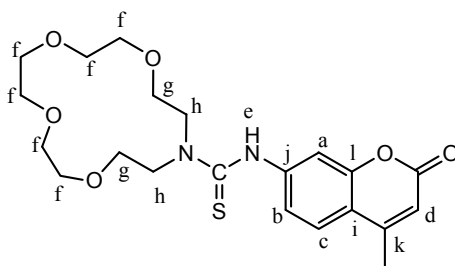
Επεξήγηση φάσματος ¹HNMR : 500 MHz, σε DMSO-d₆

CH₃ : s, 2.38 ppm • **CH₂** : s, 5.13 ppm • **H_d** : s, 6.25 ppm • **H_a** : s, 7.6 ppm • **H_b** : d, 7.46 ppm J_{b-c} = 8.5 Hz • **H_c** : d, 7.67 ppm J_{c-b} = 8.5 Hz • **H_e** : bd, 7.30 ppm • **H_f** : t, 7.75 ppm J_{f-e} = 6 Hz • **H_g** : bs, 8.60 ppm • **H_h** : s, 11.33 ppm

Επεξήγηση φάσματος ¹³CNMR : 500 MHz, σε DMSO-d₆

CH₃ : 18.93 ppm • **CH₂** : 57,08 ppm • **C_a** : 110.62 ppm • **C_d** : 113.31 ppm • **C_i** : 116.21 ppm • **C_b** : 120.34 ppm • **C_e** : 123.26-123.66 ppm • **C_c** : 125.90 ppm • **C_j** : 138.09 ppm • **C_k** : 145.40 ppm • **C_f** : 149.95 ppm • **C_l** : 154.02 ppm • **C_m** : 157.33 ppm • **C_l** : 154.02 ppm • **CO** : 160.90 ppm • **CS** : 183.40 ppm

Παρασκευή του δείκτη **18**



Ένωση	MB	m (mgr)	n(mmol)	d(gr/ml)	V (ml)	C (M)
19	217	132	0,608			0,122
1-Aza-15-crown-5	219,28	133	0,608			
CH ₂ Cl ₂					5	

Σε προξηραμένη σφαιρική φιάλη διαλύθηκαν το **19** και το mono-aza-crown στο διχλωρομεθάνιο υπό ξηρές κι αδρανείς συνθήκες. Το διάλυμα αναδεύτηκε σε θερμοκρασία δωματίου για μισή ώρα.

Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης πραγματοποιήθηκε απόσταξη υπό κενό του διαλύτη και υγρή χρωματογραφία βαθμιδωτής έκλουσης για τον καθαρισμό του προϊόντος, με διαλύτες 10, 20, 30, 50% EtOAc/Toluene, EtOAc.

Παράχθηκαν 263 mg δείκτη. Απόδοση 99 %

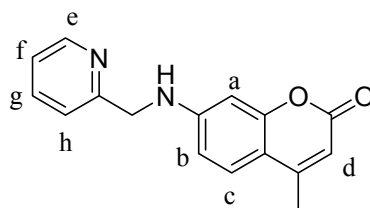
Επεξήγηση φάσματος ¹HNMR : 500 MHz, σε CDCl₃

CH₃ : s, 2.34 ppm • **H_d** : s, 6.11 ppm • **H_a** : d, 7.34 ppm, J_{a-b} = 1 Hz • **H_c** : d, 7.45 ppm, J_{c-b} = 9 Hz • **H_b** : d, 7.52 ppm, J_{b-c} = 9 Hz, J_{b-a} = 1 Hz • **H_e** : s, 9.94 ppm • **H_f** : s, 3.55 ppm • **H_g** : t, 3.66 ppm • **H_h** : bt, 3.95 ppm

Επεξήγηση φάσματος ¹³CNMR : 500 MHz, σε CDCl₃

CH₃ : 19.01 ppm • **C_d** : 110.84 ppm • **C_a** : 113.51 ppm • **C_c** : 120.41 ppm • **C_b** : 124.51 ppm • **C_i** : 116.24 ppm • **C_j** : 144.66 ppm • **C_k** : 152.88 ppm • **C_l** : 154.28 ppm • **CO** : 161.64 ppm • **CS** : 183.04 ppm • **C_h** : 56.64 ppm • **C_g** : 70.65 ppm • **C_f** : 77.55 ppm

Παρασκευή του δείκτη **43**



Ένωση	MB	m (mgr)	n(mmol)	d(gr/ml)	V (ml)	C (M)
7-amino-4-methylcoumarin	175,19	100	0,571			0,11
bromomethyl pyridine hydrobromide	252,95	318	1,256			
Et ₃ N	101,19	243	2,398	0,726	0,334	
CH ₃ CN					5	

Σε προξηραμένη σφαιρική φιάλη διαλύθηκαν η κουμαρίνη, το υδροβρωμίδιο της 2-βρωμομέθυλοπυριδίνης και η βάση στο ακετονιτρίλιο υπό ξηρές, αδρανείς συνθήκες κι απουσία φωτός. Το διάλυμα αναδεύτηκε σε θέρμανση με αναβρασμό για 10 ώρες. Δεν παρατηρείται δημιουργία δι-υποκατεστημένου προϊόντος.

Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης πραγματοποιήθηκε απόσταξη υπό κενό του διαλύτη και υγρή χρωματογραφία βαθμιδωτής έκλουσης για τον καθαρισμό του προϊόντος από τα υποστρώματα που δεν αντέδρασαν, με διαλύτες 10, 20, 30, 50% EtOAc/Toluene.

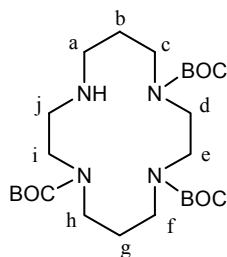
Παράχθηκαν 91 mg δείκτη. Απόδοση 60 %

Ταυτοποίηση και με GC-MS : MW= 266.29

Επεξήγηση φάσματος ¹HNMR : 300 MHz, σε CDCl₃

CH₂: d, 4.27 ppm • **NH** : t, 5.97 ppm • **H_d** : s, 5.70 ppm • **H_a** : d, 6.23 ppm, J_{a-b}= 3 Hz • **H_b** : dd, 6.42 ppm, J_{b-a}= 3 Hz, J_{b-c}= 9 Hz • **H_f** : ddd, 6.98 ppm • **H_{c,h}** : d, 7.12 ppm, J_{c-b}= 9 Hz • **H_g** : ddd, 7.44 ppm, J_{g-f=g-h}= 9 Hz, J_{g-e}= 3 Hz • **H_e** : d, 8.35 ppm, J_{e-f}= 6 Hz

Παρασκευή της ένωσης **22**



Ένωση	MB	m (mgr)	n(mmol)	d(gr/ml)	V (ml)	C (M)
cyclam	200,33	200	0,998			0,03
(BOC) ₂ O	218,25	653	2,994			
CH ₂ Cl ₂					13	
MeOH					20	

Σε προξηραμένη σφαιρική φιάλη διαλύθηκε το cyclam σε 14 ml μεθανόλης υπό ξηρές και αδρανείς συνθήκες. Σε αυτό το διάλυμα προστέθηκε υπό ισχυρή ανάδευση διάλυμα (BOC)₂O σε διχλωρομεθάνιο, με χρήση προσθετικής χοάνης, σε διάστημα 1/2 ώρας.

Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης πραγματοποιήθηκε απόσταξη υπό κενό των διαλυτών και χρωματογραφικός διαχωρισμός βαθμιδωτής έκλουσης του tri-BOC-cyclam από το tetra-BOC-cyclam με διαλύτες 50% EtOAc/PE, EtOAc, 5, 10% EtOAc/MeOH. Το προϊόν έχει αφρώδη υφή.

Παράχθηκαν 435 mg tri-BOC-cyclam. Απόδοση 87 %.

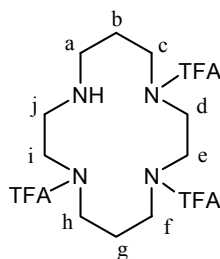
Επεξήγηση φάσματος ¹HNMR : 500 MHz, σε CDCl₃

CH₃ (BOC) : bs, 1.41 ppm • **H_a** : bm, 2.78 ppm • **H_b** : bm, 1.69 ppm • **H_g** : bm, 1.88 ppm • **H_j** : bm, 2.61 ppm • **H_{c,d,e,f,h,i}** : bm, 3.26-3.37 ppm

Επεξήγηση φάσματος ¹³CNMR : 300 MHz, σε CDCl₃ / CD₃OD

CH₃ : 32.25 ppm • **C(CH₃)** : 83.90 & 83.73 ppm • **CO** : 159.67 & 160.38 ppm • **C_{b,g}** : 33.51 ppm • **C_{d,e}** : 49.49 ppm • **C_{h,f}** : 51.56 ppm • **C_i** : 48.42 ppm • **C_a** : 53.59 ppm • **C_{c,j}** : 50.47 ppm

Παρασκευή της ένωσης **21**



Ένωση	MB	m (mgr)	n(mmol)	d(gr/ml)	V (ml)	C (M)
cyclam	200,33	400	1,997			0,4
EtTFA	142,08	1135	7,988	1,194	0,950	
Et ₃ N	101,19	202	1,997	0,726	0,278	
MeOH					5	

Σε προξηραμένη σφαιρική φιάλη διαλύθηκε το cyclam και η τριαιθυλαμίνη σε 5 ml μεθανόλης υπό ξηρές και αδρανείς συνθήκες. Το διάλυμα αφέθηκε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά. Έπειτα προστέθηκαν στάγδην, σε διάστημα 5 λεπτών, 4 ισοδύναμα τριφθοροξικού αιθυλεστέρα. Ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 8 ώρες. Αν και τα ισοδύναμα EtTFA αντιστοιχούν σε τετρα-υποκατάσταση του cyclam, η αντίδραση προχωράει μόνο μέχρι το τρι-υποκατεστημένο, το οποίο είναι και το επιθυμητό προϊόν.

Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης πραγματοποιήθηκε απόσταξη υπό κενό της μεθανόλης, επαναδιάλυση σε EtOAc και διήθηση από silica gel για απομάκρυνση της πρωτονιωμένης τριαιθυλαμίνης και του cyclam που δεν αντέδρασε. Ακολούθησε απόσταξη του οξικού αιθυλεστέρα και παραλαβή του προϊόντος, το οποίο έχει αφρώδη υφή. Παράχθηκαν 887 mg tri-TFA-cyclam. Απόδοση 91%.

Επεξήγηση φάσματος ¹HNMR : 500 MHz, σε CDCl₃

H_a : bm, 2.64 ppm • **H_b** : bm, 1.8 ppm • **H_c** : bm, 3.69 ppm • **H_g** : bm, 2.13 ppm
 • **H_j** : bm, 2.89 ppm • **H_{d,e,f,h,i}** : bm, 3.47-3.55 ppm

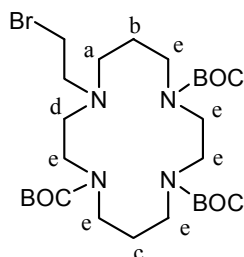
Επεξήγηση φάσματος ¹³CNMR : 300 MHz, σε CDCl₃

C_{b,g} : m(F), 25-30 ppm, • **C_{a,c,d,e,f,h,i}** : m(F), 43-53 ppm • **CF₃** : q(F), 110-122 ppm, J= 1154 Hz • **CO** : q(F), 156-158 ppm.

Στοιχειακή ανάλυση για την ένωση C₁₆H₂₁F₉N₄O₃ :

C, 39.35; H, 4.33; N, 11.47. Found: C, 39.38; H, 4.87; N, 11.43.

Παρασκευή της ένωσης **29**



Ένωση	MB	m (mgr)	n(mmol)	d(gr/ml)	V (ml)	C (M)
22	500,67	70	0,141			0,03
1,2-dibromoethane	187,85	265	1,41	2,18	0,122	
Cs ₂ CO ₃	325,82	92	0,282			
CH ₃ CN					5	

Σε προξηραμένο αυτόκλειστο σωλήνα (schlenk tube) διαλύθηκαν, υπό ξηρές κι αδρανείς συνθήκες, το τρι-προστατευμένο cyclam **22** με το 1,2-διβρωμοαιθάνιο στο ακετονιτρίλιο και προστέθηκε το Cs₂CO₃. Το μείγμα θερμάνθηκε στους 100 °C για 24 ώρες.

Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης πραγματοποιήθηκε διήθηση για την απομάκρυνση του CsBr, απόσταξη υπό κενό του διαλύτη και του BrCH₂CH₂Br, επαναδιάλυση σε CH₂Cl₂ και διήθηση για απομάκρυνση της περίσσειας Cs₂CO₃. Το προϊόν έχει αφρώδη υφή. Παράχθηκαν 84 mg **29**. Απόδοση 98%.

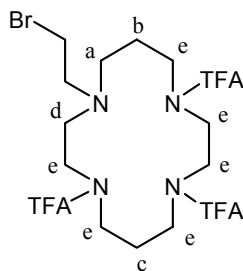
Επεξήγηση φάσματος ¹HNMR : 500 MHz, σε CDCl₃

CH₃ (BOC) : s, 1.42 ppm • **CH₂N** : bt, 2.53 ppm • **CH₂Br** : bt, 3.16 ppm • **H_b** : bm, 1.61 ppm • **H_c** : bm, 1.82 ppm • **H_a** : bm, 2.36 ppm • **H_d** : bm, 2.43 ppm • **H_e** : bm, 3.29 ppm

Επεξήγηση φάσματος ¹³CNMR : 500 MHz, σε CDCl₃

CH₃ (BOC) : 28.92 ppm • **CH₂N** : 52.48 ppm • **CH₂Br & C_c** : 27.59 ppm • **C_b** : 27.09 ppm • **C_{a,d}** : 53.16 ppm • **C_e** : 46.08-48.95 ppm • **C(CH₃)₃** : 79.83 ppm • **CO** : 156.02 ppm

Παρασκευή της ένωσης **28**



Ένωση	MB	m (mgr)	n(mmol)	d(gr/ml)	V (ml)	C (M)
21	488,35	200	0,410			0,04
1,2-dibromoethane	187,85	770	4,10	2,18	0,353	
Cs ₂ CO ₃	325,82	267	0,820			
CH ₃ CN					9	
HMPA					1	

Σε προξηραμένο αυτόκλειστο σωλήνα (schlenk tube) διαλύθηκαν, υπό ξηρές και αδρανείς συνθήκες, το tri-προστατευμένο cyclam **21** με το 1,2-διβρωμοαιθάνιο σε μείγμα διαλυτών CH₃CN : HMPA (1 : 9) και προστέθηκε το Cs₂CO₃. Το μείγμα θερμάνθηκε στους 100 °C για 24 ώρες.Br

Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης πραγματοποιήθηκε διήθηση για την απομάκρυνση του CsBr και χρωματογραφικός διαχωρισμός του HMPA από το προϊόν. Η απόσταξη του HMPA ή η απομάκρυνσή του με εκχυλίσεις δεν κατέστησαν πλήρως δυνατές. Παράχθηκαν 237 mg tri-BOC-cyclam-ethylbromide. Απόδοση 97%.

Επεξήγηση φάσματος ¹HNMR : 300 MHz, σε CDCl₃

CH₂Br: t, 3.44 ppm • **CH₂N** : t, 2.84 ppm • **H_b** : bm, 1.84 ppm • **H_c** : bm, 2.25 ppm • **H_a** : bm, 2.58 ppm • **H_d** : bm, 2.79 ppm • **H_e** : bm, 3.53-3.78 ppm

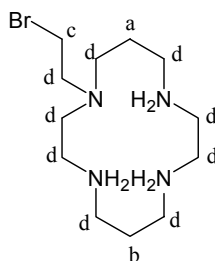
Επεξήγηση φάσματος ¹³CNMR : 300 MHz, σε CDCl₃

CH₂N: 60.31 ppm • **CH₂Br** : 35.52 ppm • **C_b** : 14.07 ppm • **C_c** : m, 20.93 ppm • **C_a** : 56.33 ppm • **C_d** : 62.68 ppm • **C_e** : m(F) 24-31 & 44-57 ppm • **C(CF₃)₃** : q(F), 110.59-122.02 ppm, J = 1143 Hz • **CO** : q(F), 156.13 – 157.92 ppm

Στοιχειακή ανάλυση για την ένωση C₁₈H₂₄BrF₉N₄O₃ :

C, 36.32; H, 4.06; N, 9.41. Found: C, 34.50; H, 4.26; N, 8.75. Περιέχονται 1 Mg²⁺ και 1 μόριο H₂O.

Παρασκευή της ένωσης **30**



Ένωση	MB	m (mgr)	n(mmol)	d(gr/ml)	V (ml)	C (M)
29	607,62	250	0,411			0,068
HCl (2N in ether)					1	
CH ₂ Cl ₂					5	

Σε προξηραμένη σφαιρική φιάλη διαλύθηκε, υπό ξηρές κι αδρανείς συνθήκες, το βρωμίδιο στο διχλωρομεθάνιο. Έπειτα προστέθηκε το υδροχλώριο και το διάλυμα θερμάνθηκε με αναβρασμό για μισή ώρα. Το προϊόν καθιζάνει ως λευκό ίζημα και παραλαμβάνεται με διήθηση κι εκλύσεις με διχλωρομεθάνιο.

Απομονώθηκαν 163 mgr. Απόδοση 95%

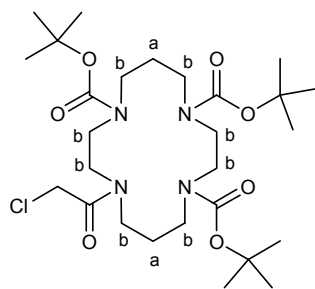
Επεξήγηση φάσματος ¹HNMR : 300 MHz σε CD₃OD

H_{a,b} : bm, 1.8 ppm • **H_{c,d}** : bm, 2.5-3 ppm

Επεξήγηση φάσματος ¹³CNMR : 300 MHz σε CD₃OD

C_a : 25.16 ppm • **C_{b,c}** : 27.30 ppm • **C_d** : 46.9-54 ppm

Παρασκευή της ένωσης **32**



Ένωση	MB	m (mgr)	n(mmol)	d(gr/ml)	V (ml)	C (M)
22	500,67	283	0,565			0,056
ClCH ₂ COCl	112,94	83	0,735	1,418	0,059	
Et ₃ N	101,19	172	1,700	0,726	0,236	
CH ₂ Cl ₂					10	

Σε προξηραμένη σφαιρική φιάλη διαλύθηκε, υπό ξηρές κι αδρανείς συνθήκες, tri-BOC-cyclam **22** στο διχλωρομεθάνιο και προστέθηκε η βάση. Χρησιμοποιήθηκε περίσσεια βάσης ώστε να εξουδετερωθεί πλήρως το HCl που παράχθηκε κατά τη διάρκεια της αντίδρασης, καθώς και το χλωροξικό οξύ που έχει παραχθεί από τη μερική υδρόλυση του ακυλοχλωριδίου. Η εξουδετέρωση των οξέων ήταν πολύ σημαντική για μην κοπούν οι προστατευτικές ομάδες του cyclam (BOC) και παραχθούν προϊόντα πολύ-υποκατάστασης. Το διάλυμα ψύχθηκε στους -40 °C και προστέθηκε στάγδην, σε διάστημα 15 λεπτών, διάλυμα ακυλοχλωριδίου σε διχλωρομεθάνιο. Μετά την ολοκλήρωση της προσθήκης το μίγμα αφέθηκε να φτάσει σε θερμοκρασία δωματίου όπου και αναδεύτηκε για 10 λεπτά. Το χρώμα από διάφανο έγινε κίτρινο-πορτοκαλί.

Για την απομάκρυνση της περίσσειας του ακυλοχλωριδίου προστέθηκε διάλυμα 5% NaHCO₃ κι έγινε μία εκχύλιση. Το ακυλοχλωρίδιο υδrolύθηκε σε χλωροοξικό οξύ, εξουδετερώθηκε από το NaHCO₃ και πέρασε στην υδατική φάση. Δεν χρησιμοποιήθηκε NaOH για να μην υδrolυθεί το χλωρίδιο σε αλκοόλη. Για την απομάκρυνση της Et₃N έγινε μία εκχύλιση με 2,5% CH₃COOH. Η αμίνη πρωτονιώθηκε και πέρασε στην υδατική φάση. Δεν χρησιμοποιήθηκε διάλυμα υδροχλωρικού οξέος για να μην κοπούν οι προστατευτικές ομάδες. Για την

απομάκρυνση τυχόν αλάτων καθώς και των εναπομείναντων ιόντων Na^{2+} έγινε μία εκχύλιση με απεσταγμένο νερό. Η οργανική φάση συλλέχθηκε προσεκτικά και το CH_2Cl_2 αποστάχθηκε υπό κενό. Έπειτα προστέθηκε βενζόλιο με σκοπό τη δημιουργία αζεοτροπικού συστήματος με το νερό για την πλήρη απομάκρυνση του νερού. Το προϊόν έχει αφρώδη υφή.

Απομονώθηκαν 310 mg προϊόντος. Απόδοση 95%.

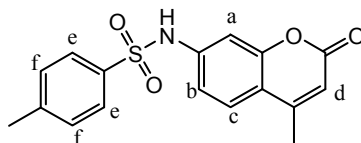
Επεξήγηση φάσματος ^1H NMR : 300 MHz σε CDCl_3

CH_3 (BOC): s, 1.44 ppm • **CH_2Cl** : s, 4.06 ppm • **H_a** : bm, 1.72 ppm • **H_b** : bm, 3.30-3.50 ppm

Επεξήγηση φάσματος ^{13}C NMR : 300 MHz σε CDCl_3

CH_3 (BOC): 28.87 ppm • **$\text{C}(\text{CH}_3)$ (BOC):** 80.36 ppm • **CH_2Cl** : 41.57 ppm • **C_a** : 27.94 ppm • **C_b** : 41.50-50.05 ppm • **CH_2Cl** : 80.36 ppm • **COO - (BOC) :** 156.35 ppm • **COCl** : 128.73 ppm

Παρασκευή της ένωσης **25**



Ένωση	MB	m (mgr)	n(mmol)	d(gr/ml)	V (ml)	C (M)
7-amino-4-methylcoumarin	175,19	500	2,85			0,4
tosylchloride	190,65	1200	6,27			
pyridine					3,5	
CH ₂ Cl ₂					3,5	

Σε προξηραμένη σφαιρική φιάλη προστέθηκαν, υπό ξηρές κι αδρανείς συνθήκες, η αμινοκουμαρίνη και το διχλωρομεθάνιο. Έπειτα προστέθηκε στάγδην η πυριδίνη και σε μικρές ποσότητες το τοσυλοχλωρίδιο. Ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για ½ ώρα.

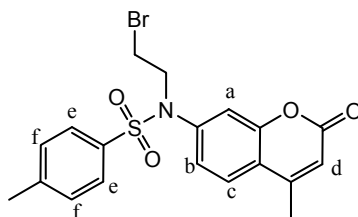
Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης πραγματοποιήθηκαν εκχυλίσεις με διάλυμα οξικού οξέος 5% και κορεσμένο διάλυμα CuSO₄ γι απομάκρυνση της πυριδίνης (οργανικός διαλύτης: CH₂Cl₂). Ξήρανση της οργανικής φάσης με MgSO₄ και απόσταξη του διαλύτη. Ακολούθησε χρωματογραφικός διαχωρισμός, βαθμιδωτής έκλουσης, του προϊόντος από την περίσσεια TsCl με διαλύτες 10, 20, 30, 40% Acetone/Toluene.

Απομονώθηκαν 751 mg προϊόντος. Απόδοση 80%

Επεξήγηση φάσματος ¹HNMR : 500 MHz, σε CDCl₃

CH₃ (coumarin) : d, 2.35 ppm, J_{CH₃-d} = 1 Hz • **CH₃ (tosylate)** : bm, 2.37 ppm • **H_d** : bq, 6.17 ppm • **H_b** : dd, 7.04 ppm, J_{b-c} = 8.5 Hz, J_{b-a} = 2 Hz • **H_e** : bm, 7.02 ppm • **H_a** : bd, 7.26 ppm • **H_c** : d, 7.45 ppm, J_{c-b} = 8.5 Hz • **H_f** : d, 7.73 ppm, J_{f-e} = 8.5 Hz

Παρασκευή της ένωσης **26**



Ένωση	MB	m (mgr)	n(mmol)	d(gr/ml)	V (ml)	C (M)
25	329,38	160	0,486			0,032
Cs ₂ CO ₃	325,82	238	0,729			
1,2-dibromoethane	187,85	913	4,86	2,18	0,42	
CH ₃ CN					15	

Σε προξηραμένη σφαιρική φιάλη διαλύθηκε το tosylate με τη βάση στο ακετονιτρίλιο, υπό ξηρές κι αδρανείς συνθήκες. Μετά από ανάδευση 10 λεπτών σε θερμοκρασία δωματίου προστέθηκε το 1,2-διβρωμοαιθάνιο. Το διάλυμα θερμάνθηκε στους 90 °C (reflux) για 5 ώρες.

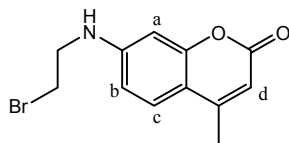
Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης πραγματοποιήθηκε διήθηση για απομάκρυνση των αλάτων και χρωματογραφικός διαχωρισμός, βαθμιδωτής έκλουσης, του προϊόντος από το tosylate που δεν αντέδρασε με διαλύτες 5, 10, 20% Acetone/Toluene.

Απομονώθηκαν 182 mg προϊόντος. Απόδοση 86%

Επεξήγηση φάσματος ¹HNMR : 500 MHz, σε CDCl₃

CH₃ (coumarin + tosylate) : bd, 2.42 ppm • **CH₂Br** : t, 3.39 ppm • **CH₂N** : t, 3.90 ppm • **H_d** : d, 6.29 ppm, J_{d-CH₃} = 1.5 Hz • **H_a** : d, 6.87 ppm, J_{a-b} = 2 Hz • **H_b** : dd, 7.24 ppm, J_{b-a} = 2 Hz, J_{b-c} = 8.5 Hz • **H_f** : d, 7.26 ppm, J_{f-e} = 8 Hz • **H_e** : d, 7.47 ppm, J_{e-f} = 8 Hz • **H_c** : d, 7.58 ppm, J_{c-b} = 8.5 Hz

Παρασκευή της ένωσης **27**



Ένωση	MB	m (mgr)	n(mmol)	d(gr/ml)	V (ml)	C (M)
26	436,34	102	0,234			
sat.H ₂ SO ₄					6-7 drops	

Σε σφαιρική φιάλη προστέθηκαν το βρωμίδιο με το πυκνό θειικό οξύ και το μείγμα θερμάνθηκε στους 90 °C για 15 λεπτά.

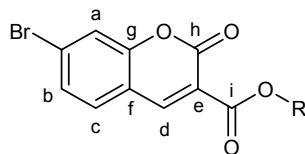
Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης προστέθηκαν αργά 3ml απεσταγμένου νερού και κορεσμένο διάλυμα Na₂CO₃ έως ότου επέλθει εξουδετέρωση του όξινου περιβάλλοντος. Έπειτα έγιναν εκχυλίσσεις με διχλωρομεθάνιο για την παραλαβή του προϊόντος. Ξήρανση με MgSO₄ και απόσταξη υπό κενό του διαλύτη.

Απομονώθηκαν 61 mg προϊόντος. Απόδοση 92%

Επεξήγηση φάσματος ¹HNMR : 500 MHz, σε CDCl₃

CH₃ : s, 2.33 ppm • **HNCH₂CH₂Br** : m, 3.60ppm • **H_d** : s, 6.00 ppm • **H_a** : d, 6.46 ppm, J_{a-b} = 2.4Hz • **H_b** : dd, 6.54 ppm, J_{b-c} = 8.4 Hz, J_{b-a} = 2.4 Hz • **H_c** : d, 7.35 ppm, J_{c-b} = 8.4 Hz

Παρασκευή της ένωσης **39**



Ένωση	MB	equivalents	d(gr/ml)	V (μl)	C (M)
4-bromo-2-hydroxybenzaldehyde	201,02	1			0,5
methyl(or ethyl)malonate		10			
piperidine				6	
acetic acid				1	
MeOH or EtOH					

Σε σφαιρική φιάλη προστέθηκαν όλα τα αντιδραστήρια υπό ξηρές κι αδρανείς συνθήκες και θερμάνθηκαν με αναβρασμό για 2 ώρες. Έπειτα προστέθηκαν άλλα 2 ισοδύναμα οξικού οξέος και η θέρμανση συνεχίστηκε για 5 λεπτά.

Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης ο διαλύτης αποστάχθηκε υπό κενό, προστέθηκε διχλωρομεθάνιο κι έγιναν δύο εκχυλίσεις με διάλυμα 5% οξικού οξέος για την απομάκρυνση της πιπεριδίνης. Έπειτα έγιναν 2 εκχυλίσεις με κορεσμένο διάλυμα Na_2CO_3 ώστε ν' απομακρυνθεί το οξικό οξύ και η σαλικυλαλδεΐδη που δεν αντέδρασε. Ακολούθησε ξήρανση με MgSO_4 , απόσταξη υπό κενό του διαλύτη και ανακρυστάλλωση με $\text{CH}_2\text{Cl}_2 / \text{Et}_2\text{O}$ για την απομάκρυνση του μηλονικού εστέρα.

Απόδοση 75%

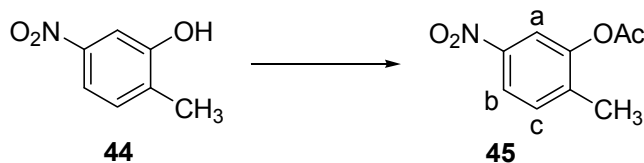
Επεξήγηση φάσματος ^1H NMR : 500 MHz, σε CDCl_3

$\text{H}_{a,b}$: 7.43 ppm • H_c : bd, 7.48 ppm • H_d : bd, 8.46 ppm • **R: CH_3 (methylester)** : s, 3.89 ppm • **R: CH_2 (ethylester)** : q, 4.37 ppm, J= 12 Hz • **R: CH_3 (ethylester)** : t, 1.37 ppm, J= 12 Hz

Επεξήγηση φάσματος ^{13}C NMR : 500 MHz, σε CDCl_3

C_e : 116 ppm • C_f : 118 ppm • C_a : 120 ppm • C_b : 128 ppm • C_c : 130ppm • C_d : 148 ppm • **C-Br** : 129 ppm • C_g : 155 ppm • C_h : 156 ppm • C_i : 163 ppm • **R: CH_3 (methylester)** : 53ppm • **R: CH_2 (ethylester)** : 62 ppm • **R: CH_3 (ethylester)** : 14 ppm

Παρασκευή της ένωσης **45**



Ένωση	MB	m (mgr)	n(mmol)	d(gr/ml)	V (ml)	C (M)
44	153.14	500	3.26			0.33
CH ₃ COCl	78.5	256	3.26	1.104	0.232	
Et ₃ N	101.19	330	3.26	0.726	0.455	
DMAP		traces				
CH ₂ Cl ₂					10	

Σε σφαιρική φιάλη διαλύθηκε η ένωση **44** σε διχλωρομεθάνιο υπό ξηρές και αδρανείς συνθήκες και προστέθηκε το DMAP. Έπειτα από ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 5 λεπτά προστέθηκε η τριαιθυλαμίνη και το ακετυλοχλωρίδιο. Ακολούθησε ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά.

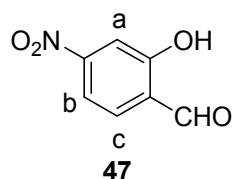
Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης προστέθηκε νερό κι έγιναν δύο εκχυλίσεις για την απομάκρυνση του υδροχλωρικού άλατος της τριαιθυλαμίνης, όπως επίσης και 2 εκχυλίσεις με διάλυμα HCl 0.5 N ώστε να πρωτονιωθεί το DMAP και να απομακρυνθεί στην υδατική φάση. Ακολούθησε ξήρανση με MgSO₄ και απόσταξη υπό κενό του διαλύτη.

Απομονώθηκαν 630 mg ένωσης **45**. Απόδοση 99%.

Επεξήγηση φάσματος ¹HNMR : 500 MHz, σε CDCl₃

H_a : d, 7.91 ppm, J_{a-b}= 2 Hz • **H_b** : dd, 8.01 ppm, J_{b-c}= 8.5 Hz, J_{b-a}= 2 Hz • **H_c** :d, 7.37 ppm, J_{c-b}= 8.5 Hz • **Ar-CH₃**: s, 2.26 ppm • **CH₃CO** : s, 2.34 ppm.

Παρασκευή της ένωσης **47**



Ένωση	MB	m (mgr)	n(mmol)	d(gr/ml)	V (ml)	C (M)
45	195.17	570	2.92			0.2
NBS	177.99	1118	6.28			
(PhCO) ₂ O ₂	101.19	7	0.03			
CCl ₄					15	

Σε σφαιρική φιάλη διαλύθηκε η ένωση **45** σε τετραχλωράνθρακα υπό ξηρές κι αδρανείς συνθήκες και προστέθηκαν το NBS και το βενζοϋλοϋπεροξειδίο. Το διάλυμα θερμάνθηκε στους 80 °C σε schlenk tube για 20 ώρες.

Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης πραγματοποιήθηκε διήθηση για απομάκρυνση των στερεών, απόσταξη του διαλύτη και προσθήκη μεθανολικού διαλύματος μεθοξειδίου, όπου τα ισοδύναμα MeONa υπολογίστηκαν θεωρώντας ότι έχει παραχθεί 100% διβρωμίδιο. Μετά την δημιουργία της ακετάλης προστέθηκαν 10 σταγόνες πυκνού θειϊκού οξέος ώστε να υδρολυθεί η ακετάλη σε αλδεΐδη και να απομακρυνθεί η ακετοξυομάδα.

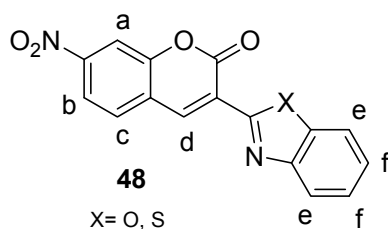
Μετά την ολοκλήρωση της δημιουργίας της **47** αποστάχθηκε η μεθανόλη και έγιναν εκχυλίσεις με CH₂Cl₂/H₂O για την παραλαβή του προϊόντος.

Απομονώθηκαν 439 mg ένωσης **47**. Απόδοση 90%.

Επεξήγηση φάσματος ¹HNMR : 500 MHz, σε CDCl₃

H_a : d, 7.82 ppm, J_{a-b}= 2 Hz • **H_b** : dd, 7.83 ppm, J_{b-c}= 8 Hz, J_{b-a}= 2 Hz • **H_c** :d, 7.76 ppm, J_{c-b}= 8 Hz • **CHO**: s, 10.03 ppm • **OH** : s, 11.12 ppm.

Παρασκευή της ένωσης **48**



Ένωση	MB	equivalents	d(gr/ml)	V (ml)	C (M)
47	167.12	1			1.5
2 ή 6	2: 207.25 6: 205.21	1			
piperidine	101.19	3	0.861		
MeOH					

Σε σφαιρική φιάλη διαλύθηκε η ένωση **2** ή **6** αντίστοιχα, σε μεθανόλη υπό ξηρές κι αδρανείς συνθήκες και προστέθηκε η πιπεριδίνη. Μετά από ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 5 λεπτά, προστέθηκε η σαλικυλαλδεΰδη **47** και ακολούθησε θέρμανση υπό αναβρασμό για 2 ώρες.

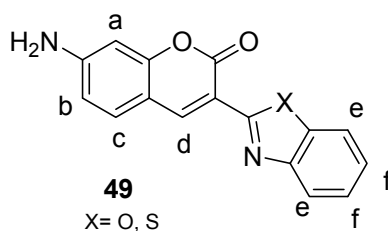
Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης πραγματοποιήθηκε απόσταξη του διαλύτη και χρωματογραφικός καθαρισμός των προϊόντων τύπου **48** με υγρή χρωματογραφία βαθμιδωτής έκλουσης με διαλύτες 10, 20, 30, & 50% ακετόνη/τολουόλιο.

Αποδόσεις 95%.

Επεξήγηση φάσματος $^1\text{H NMR}$ (ένωση **48, X=O):** 500 MHz, σε CDCl_3

H_a : d, 8.24 ppm, J_{a-b} = 1 Hz • **H_b** : dd, 8.20 ppm, J_{b-c} = 8.5 Hz, J_{b-a} = 1 Hz • **H_c** :d, 7.65 ppm, J_{c-b} = 8.5 Hz • **H_d** : s, 8.81 ppm • **H_e** : ddd, 7.86 ppm • **H_f** : ddd, 7.44 ppm

Παρασκευή της ένωσης **49**



Ένωση	MB	m (mg)	n (mmol)	d(gr/ml)	V (μl)	C (M)
48 (X=O)	308.25	83	0.269			0.06
Et ₃ N	101.19				2156	
HCOOH				0.861	269	
10% Pd/C		12				
EtOH					2 (ml)	

Σε σφαιρική φιάλη διαλύθηκε ο αρχικά ο καταλύτης με την τριαιθυλαμίνη σε αιθανόλη υπό ξηρές κι αδρανείς συνθήκες. Έπειτα προστέθηκαν το φορμικό οξύ και η ένωση **48 (X=O)** και το διάλυμα θερμάνθηκε υπό αναβρασμό για 20 λεπτά

Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης έγινε απόσταξη της αιθανόλης, προστέθηκε νερό και το pH ρυθμίστηκε περίπου στο 6 με χρήση διαλύματος HCl 0.5 N. Έπειτα, προστέθηκε CH₂Cl₂ κι έγιναν 2 εκχυλίσεις για την παραλαβή του προϊόντος και την απομάκρυνση της τριαιθυλαμίνης. Τέλος, έγινε 1 εκχύλιση με διάλυμα NaHCO₃ 0.5N για την πλήρη απομάκρυνση του φορμικού οξέος.

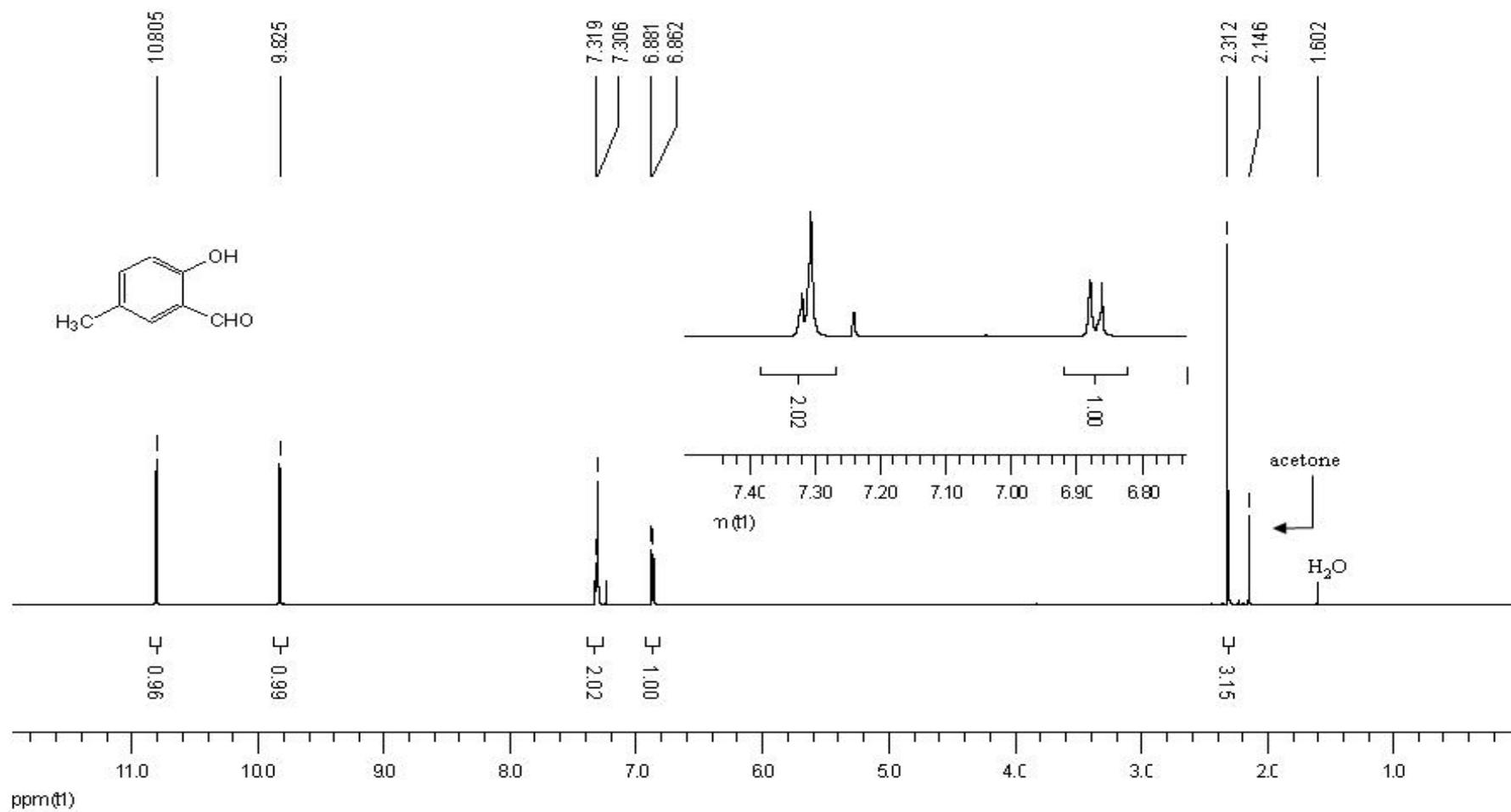
Απομονώθηκαν 71 mg. Απόδοση 95%.

Επεξήγηση φάσματος ¹HNMR (ένωση 49, X=O) : 500 MHz, σε CDCl₃

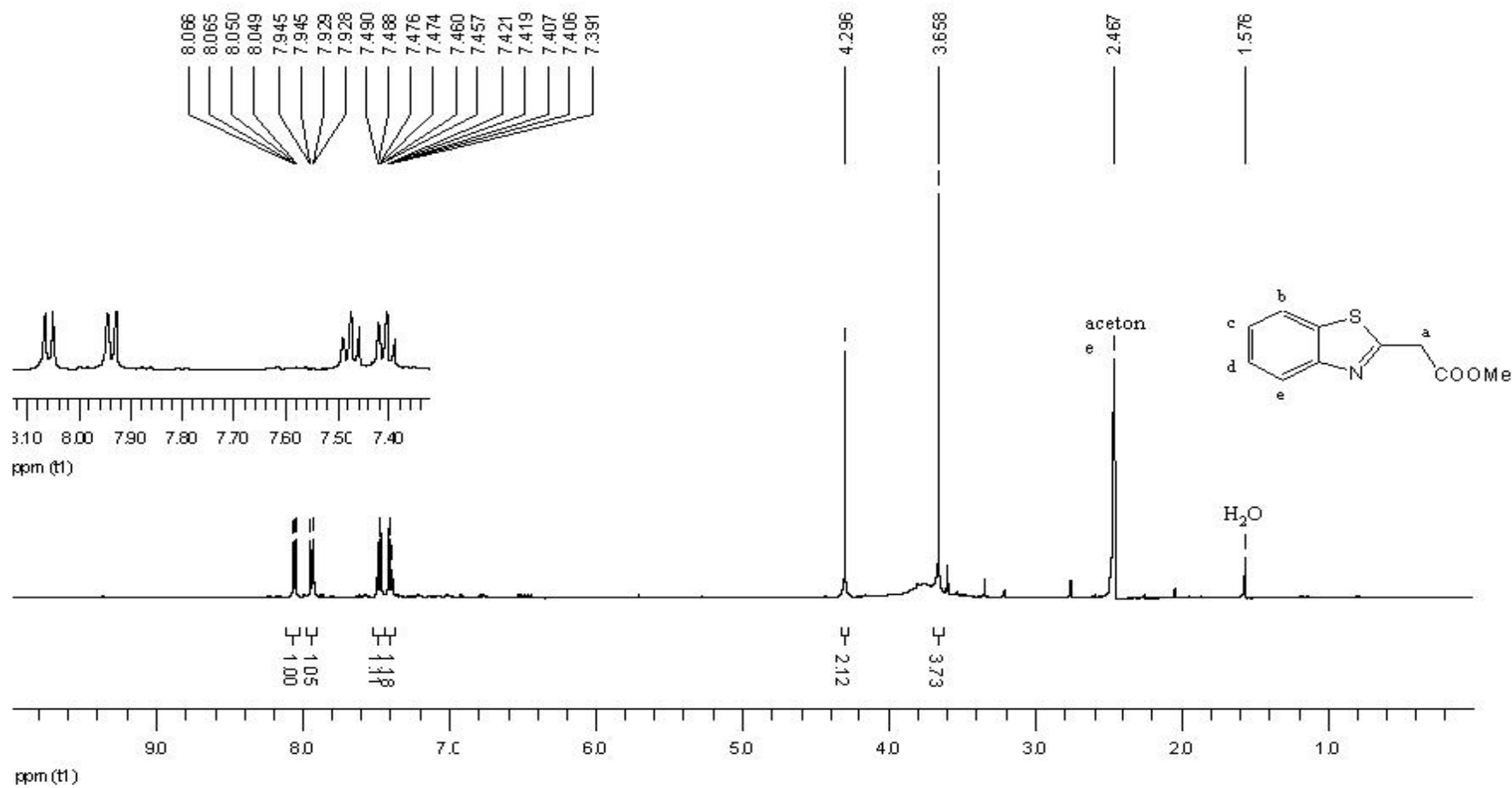
H_a : 6.61 ppm • **H_b** : d, 6.62 ppm, J_{b-c}= 8.5 Hz • **H_c** :d, 7.38 ppm, J_{c-b}= 8.5 Hz • **H_d** : s, 8.61 ppm • **H_{e,f}** : m, 7.33 ppm.

Ε. 2. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΦΑΣΜΑΤΩΝ ^1H NMR ΚΑΙ ^{13}C NMR

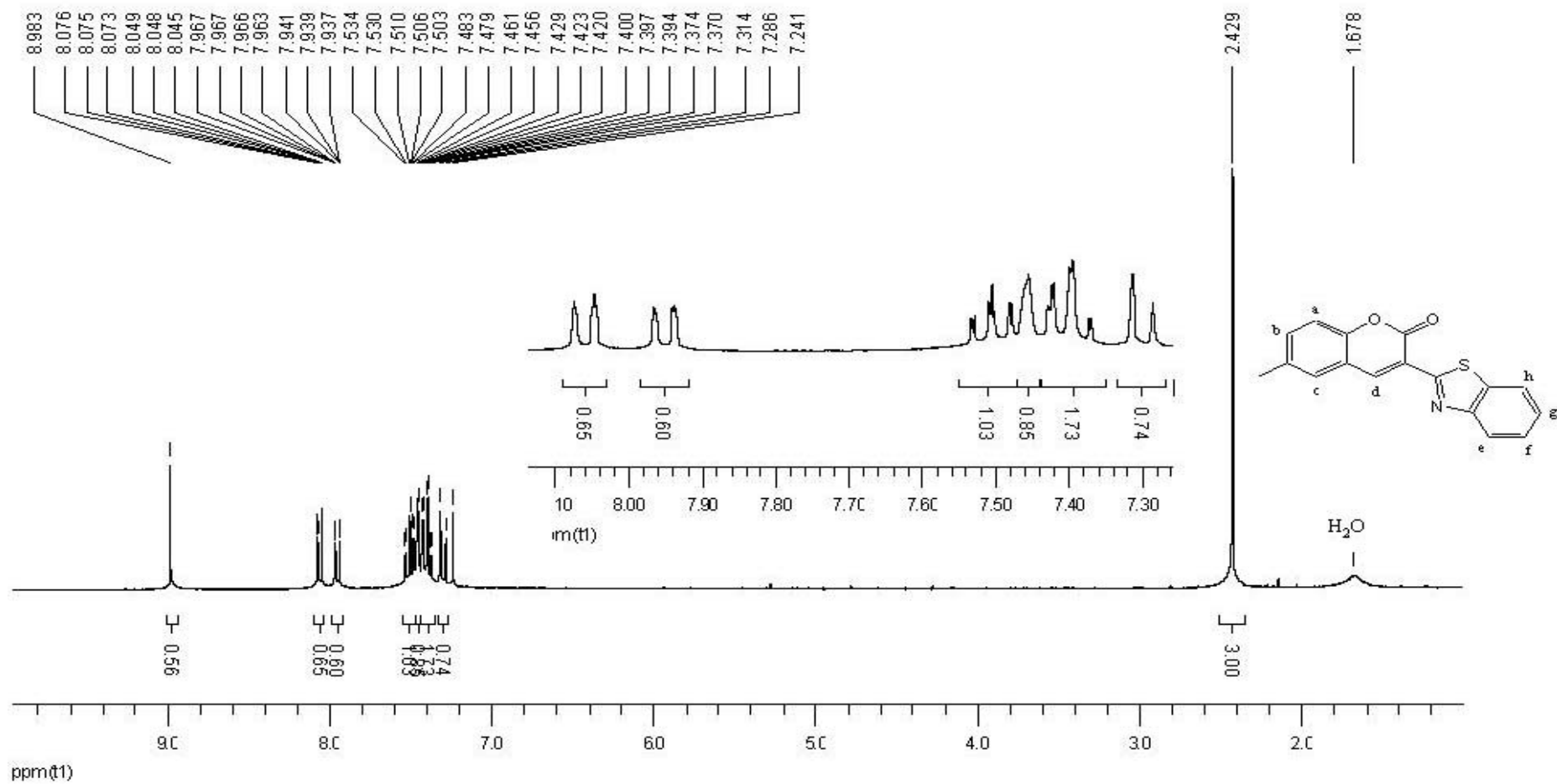
¹H NMR Spectrum of Compound 1



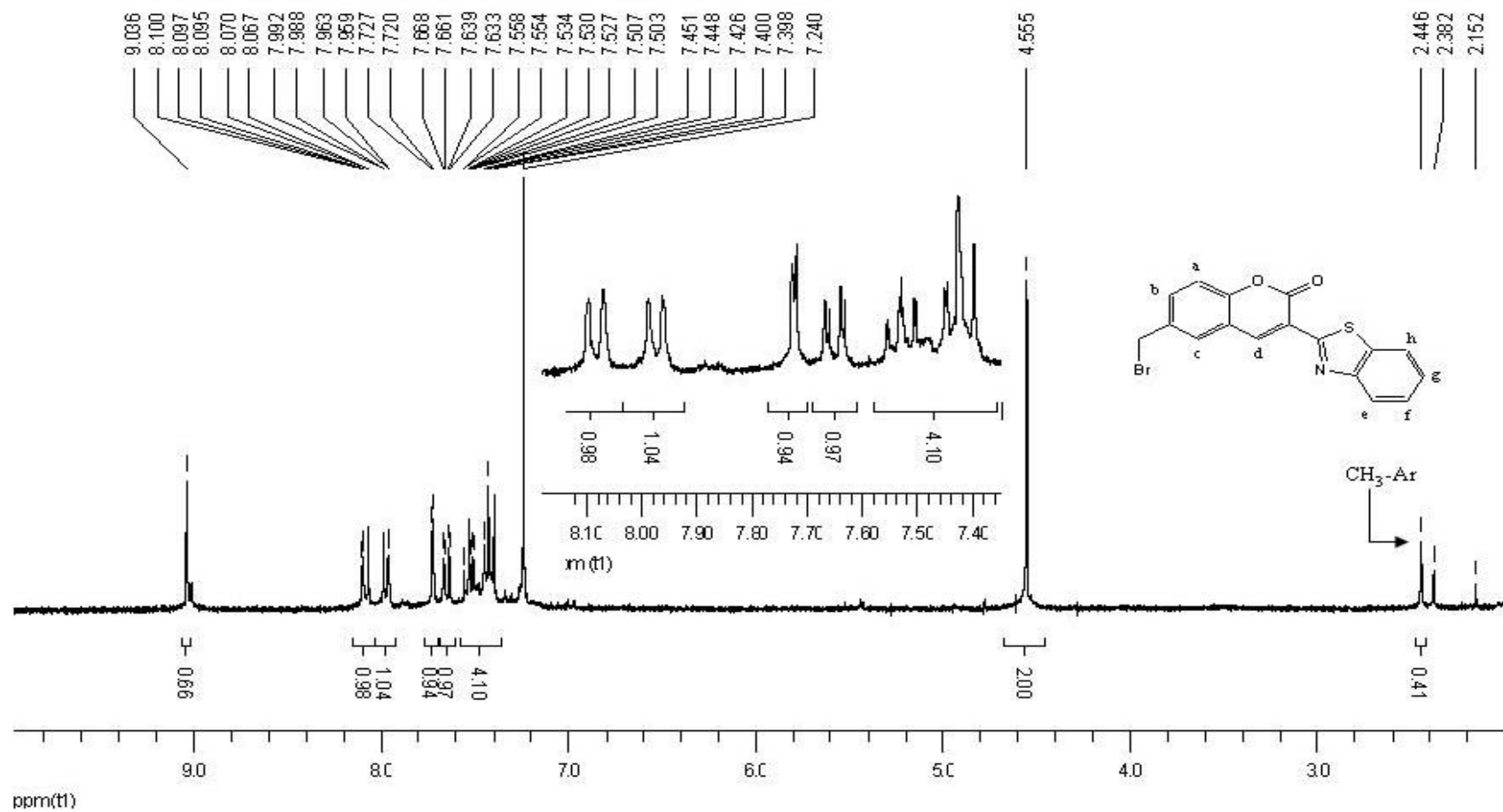
¹H NMR Spectrum of Compound 2



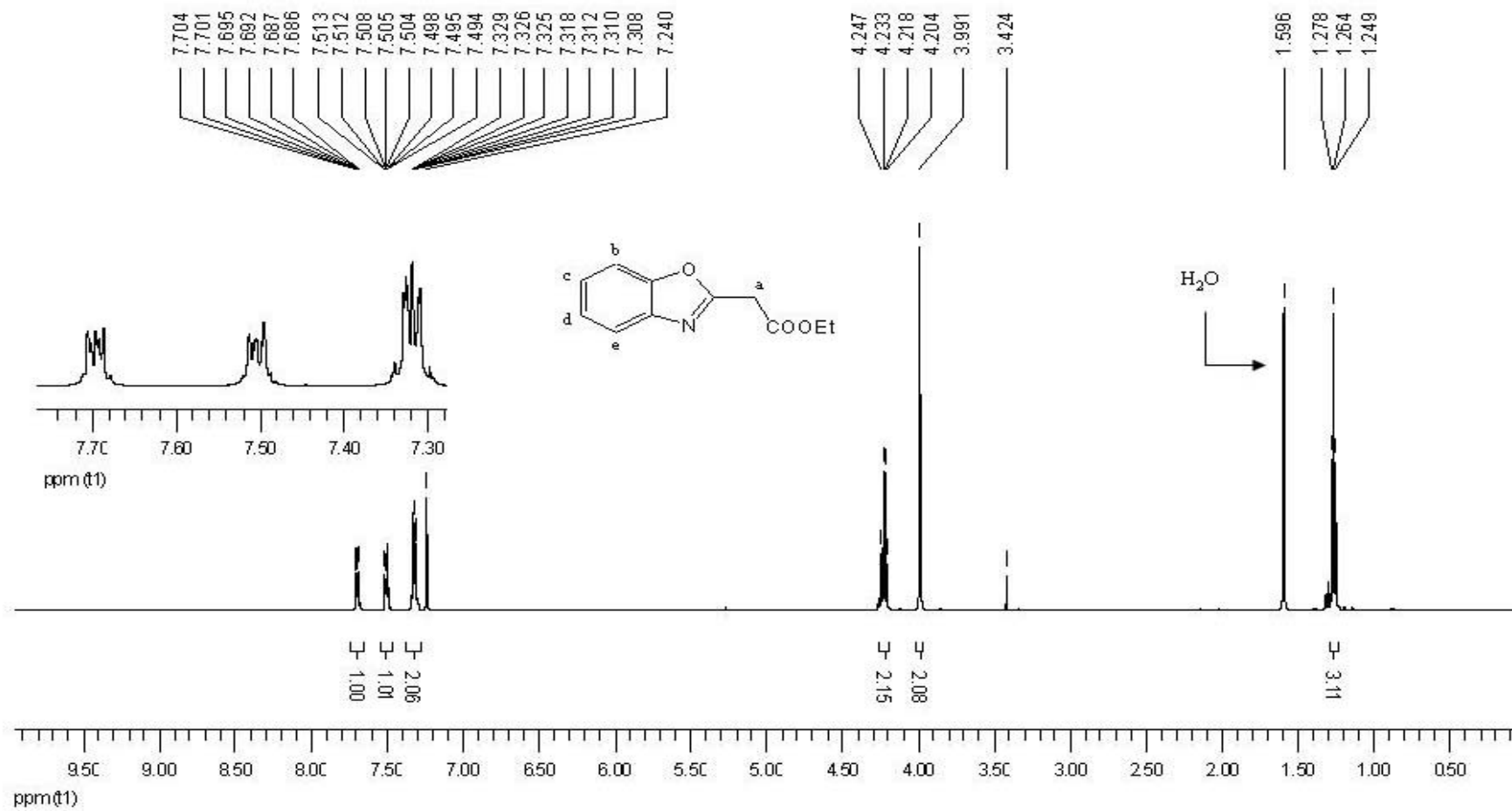
¹H NMR Spectrum of Compound 3



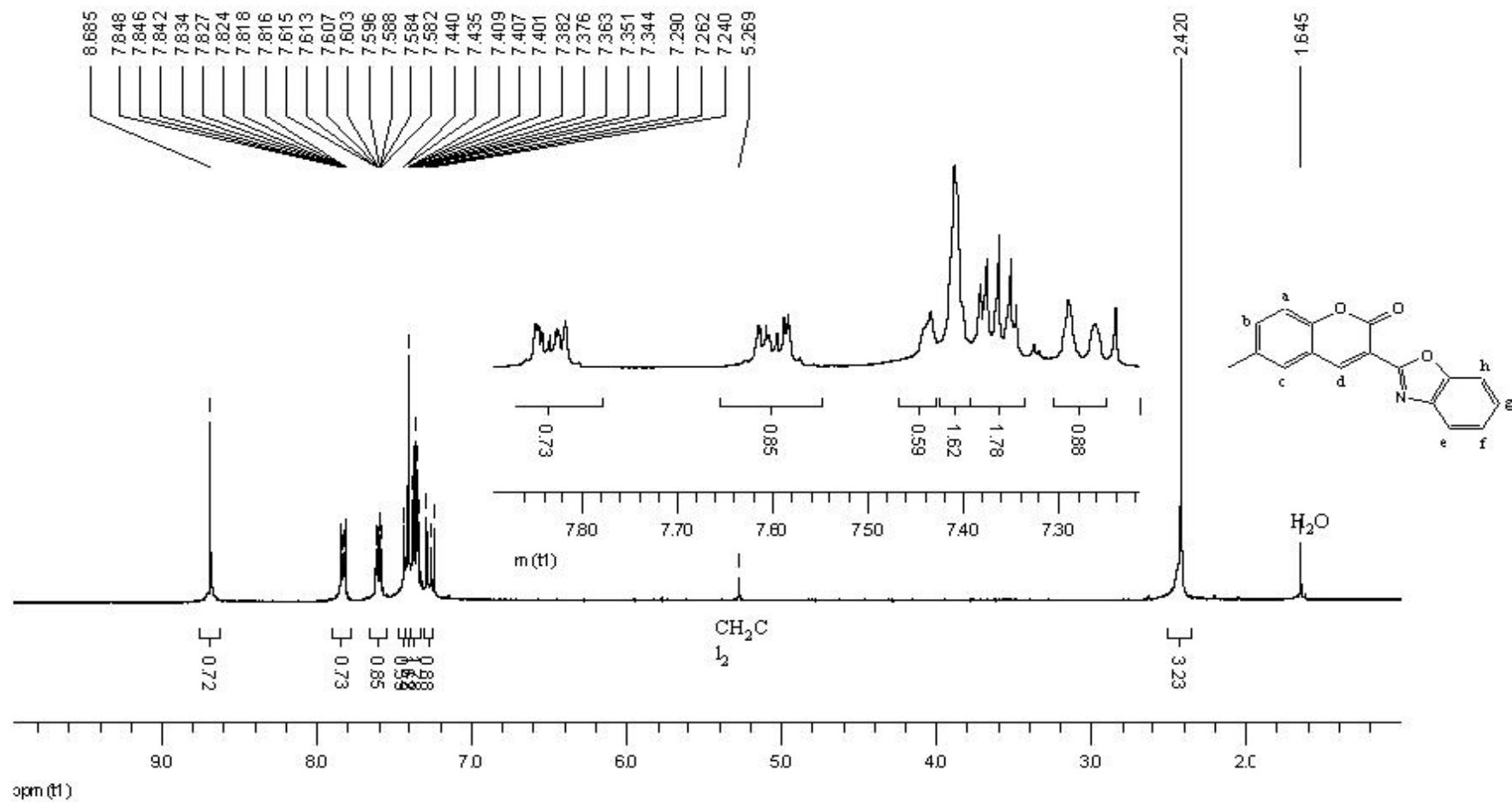
¹H NMR Spectrum of Compound 4



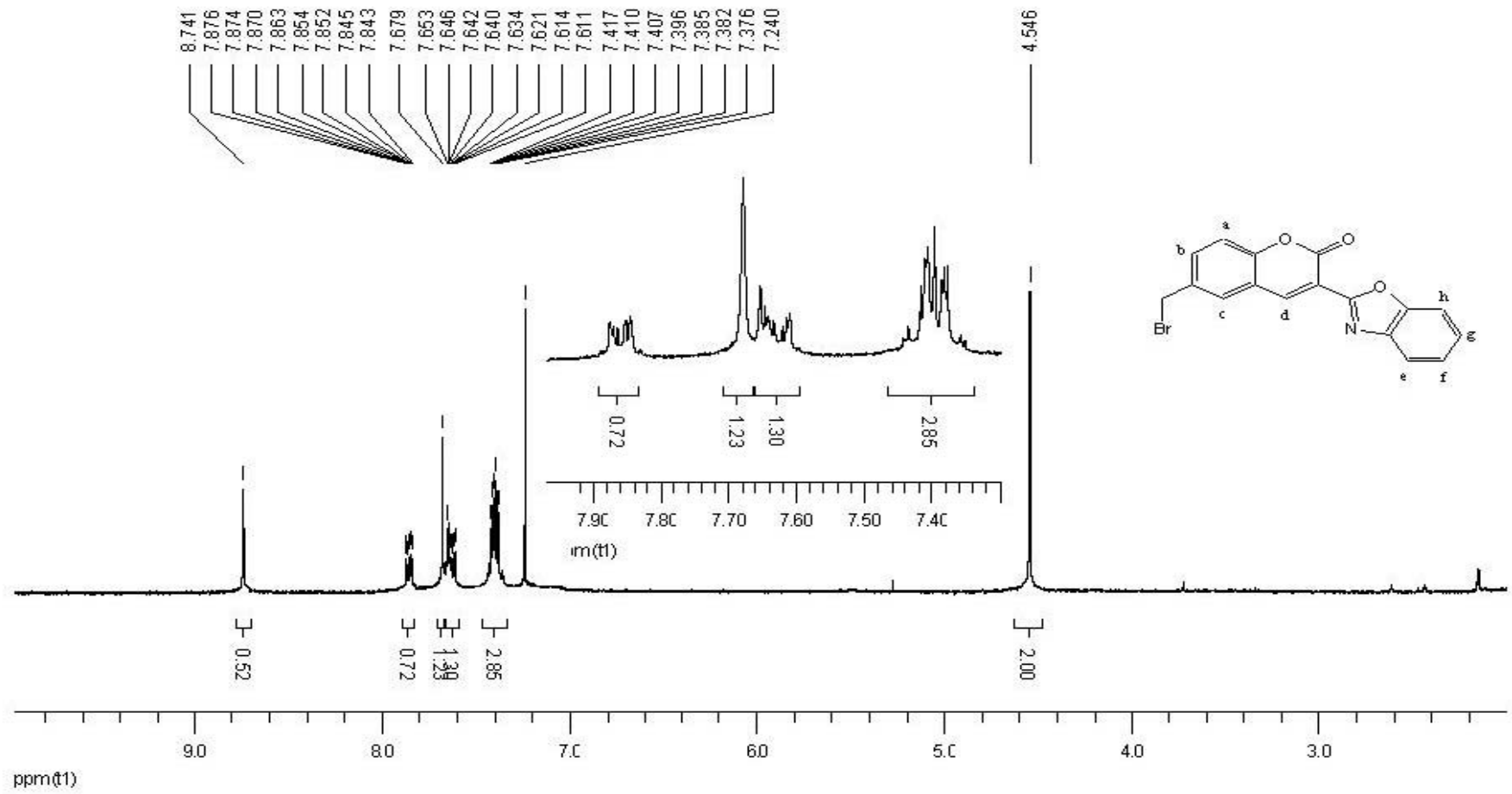
¹H NMR Spectrum of Compound 6



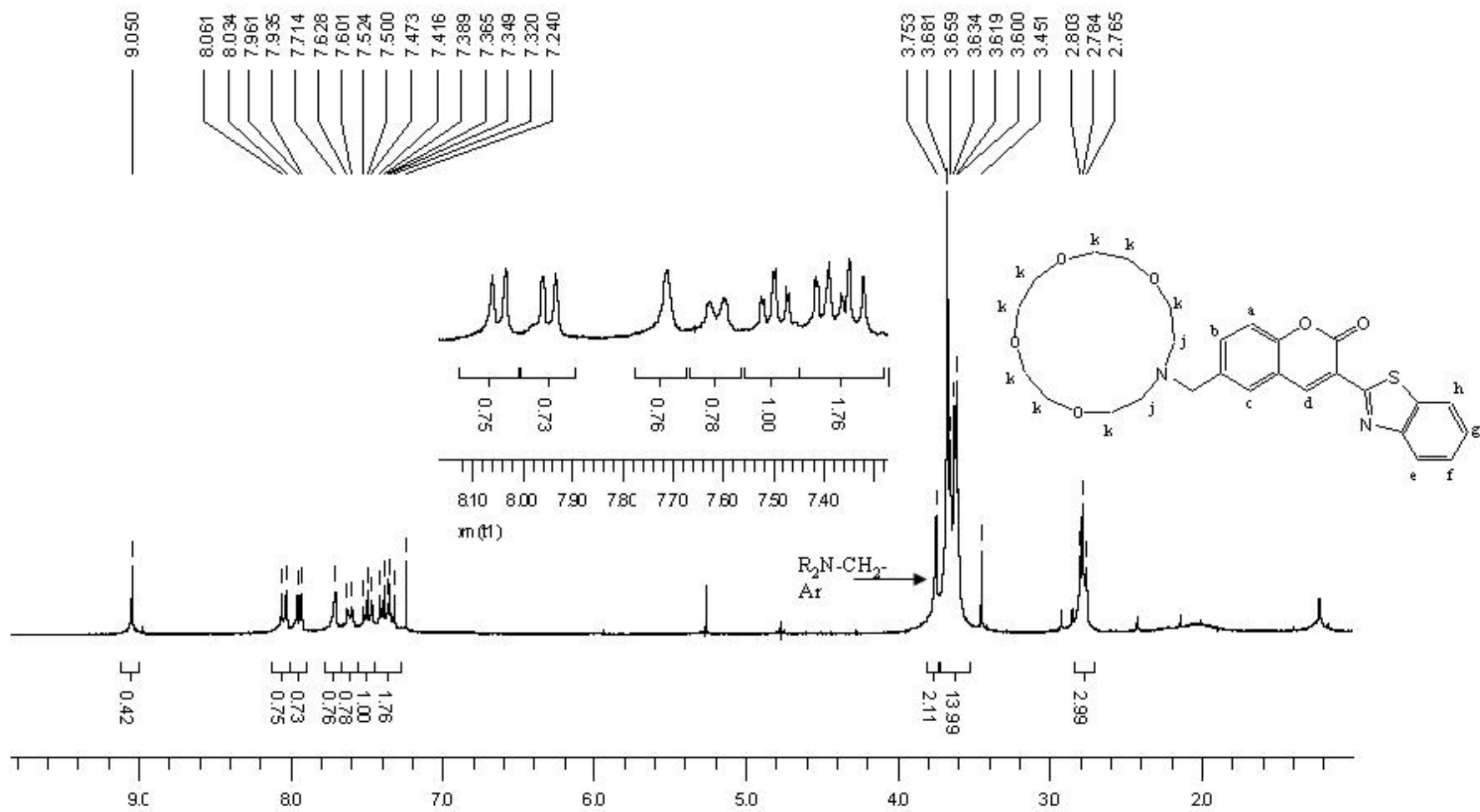
¹H NMR Spectrum of Compound 7



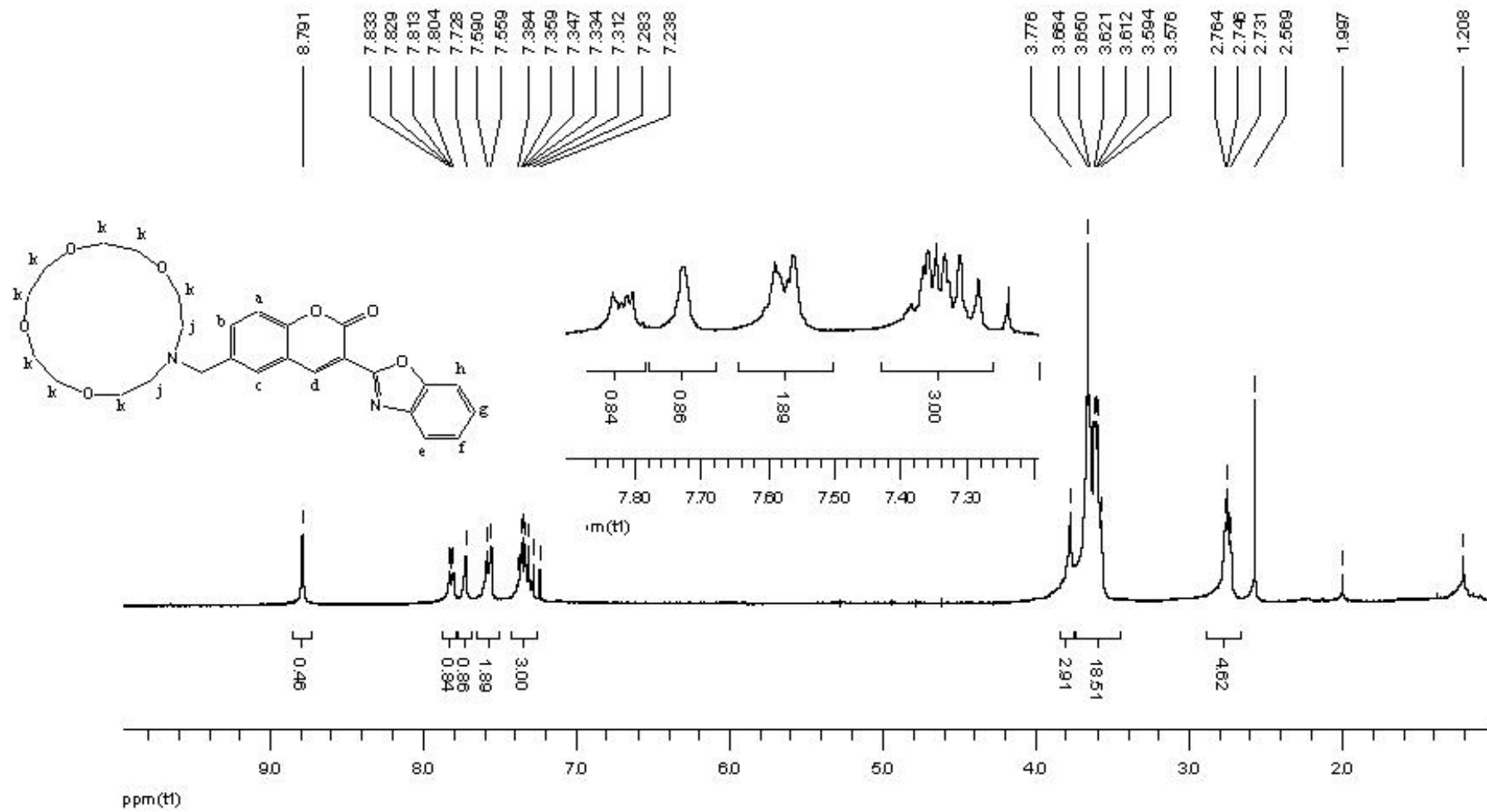
¹H NMR Spectrum of Compound 8



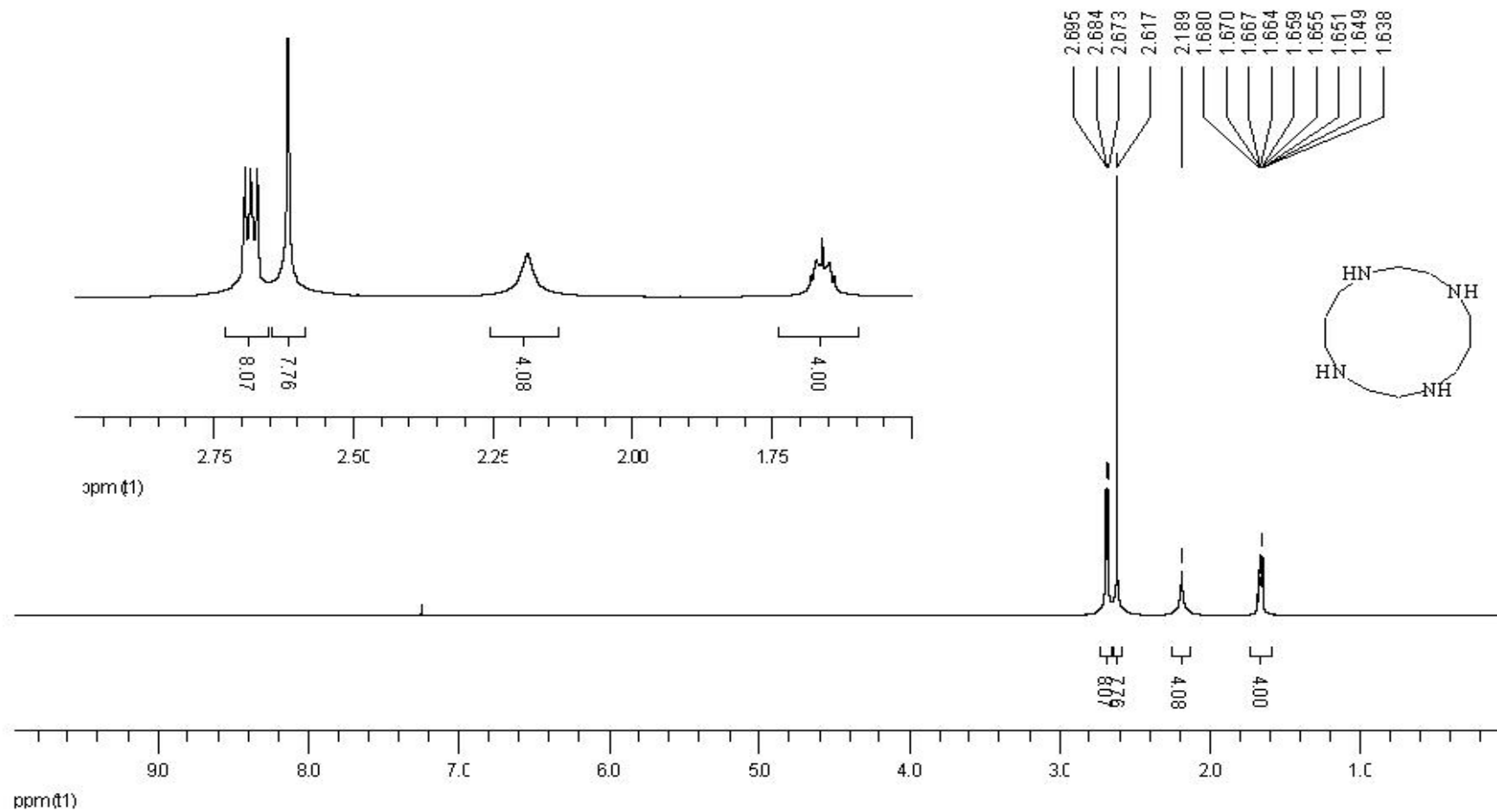
¹H NMR Spectrum of Compound 9



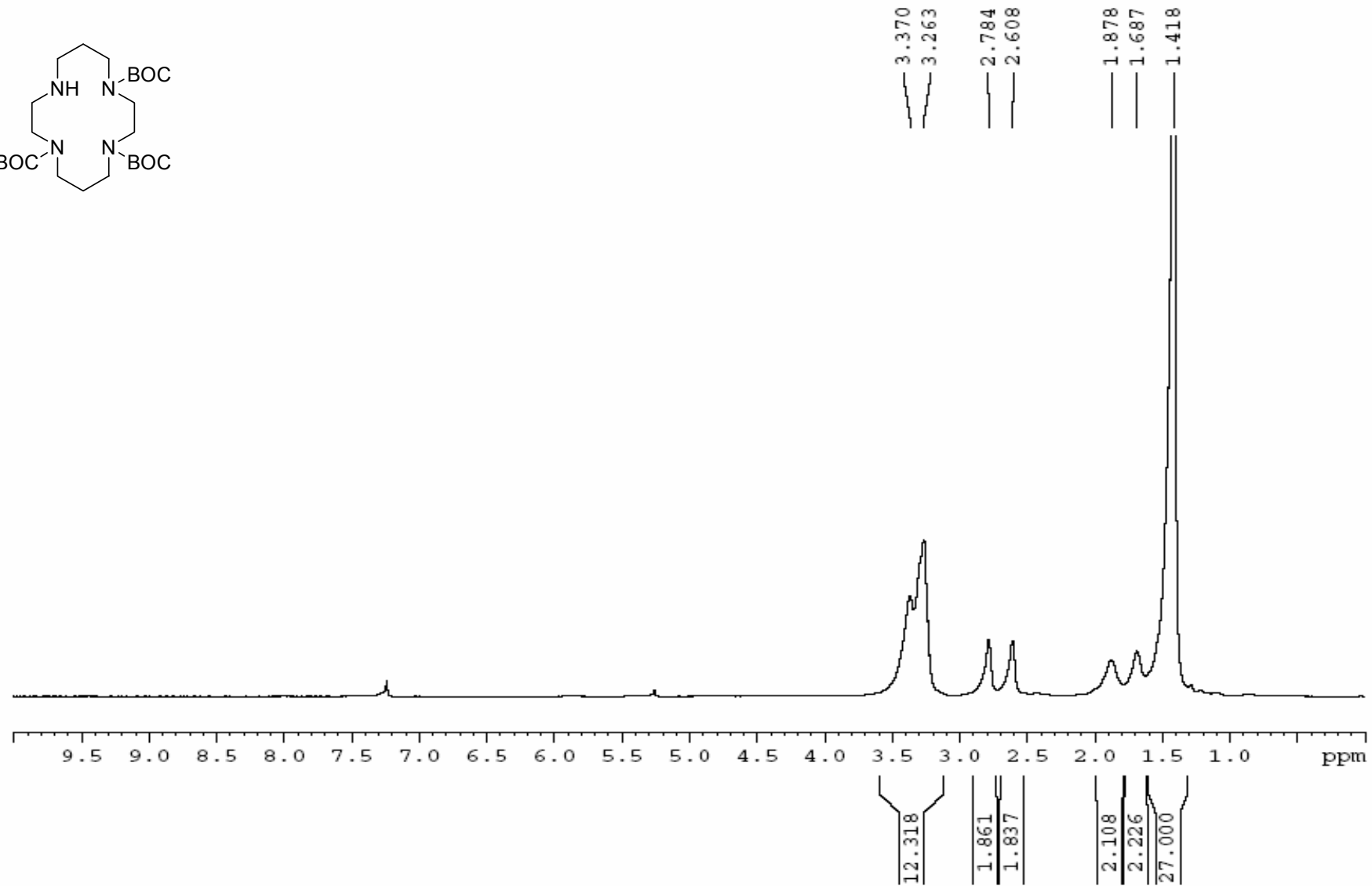
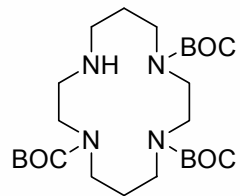
¹H NMR Spectrum of Compound 10



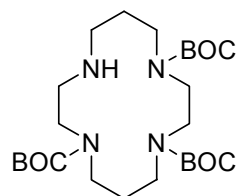
¹H NMR Spectrum of Compound **cyclam**



¹H NMR Spectrum of Compound 22



¹³C NMR Spectrum of Compound **22**

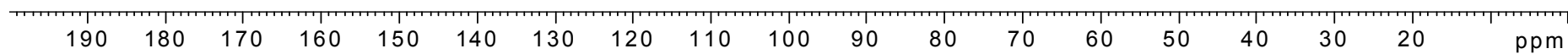


160.395
159.676

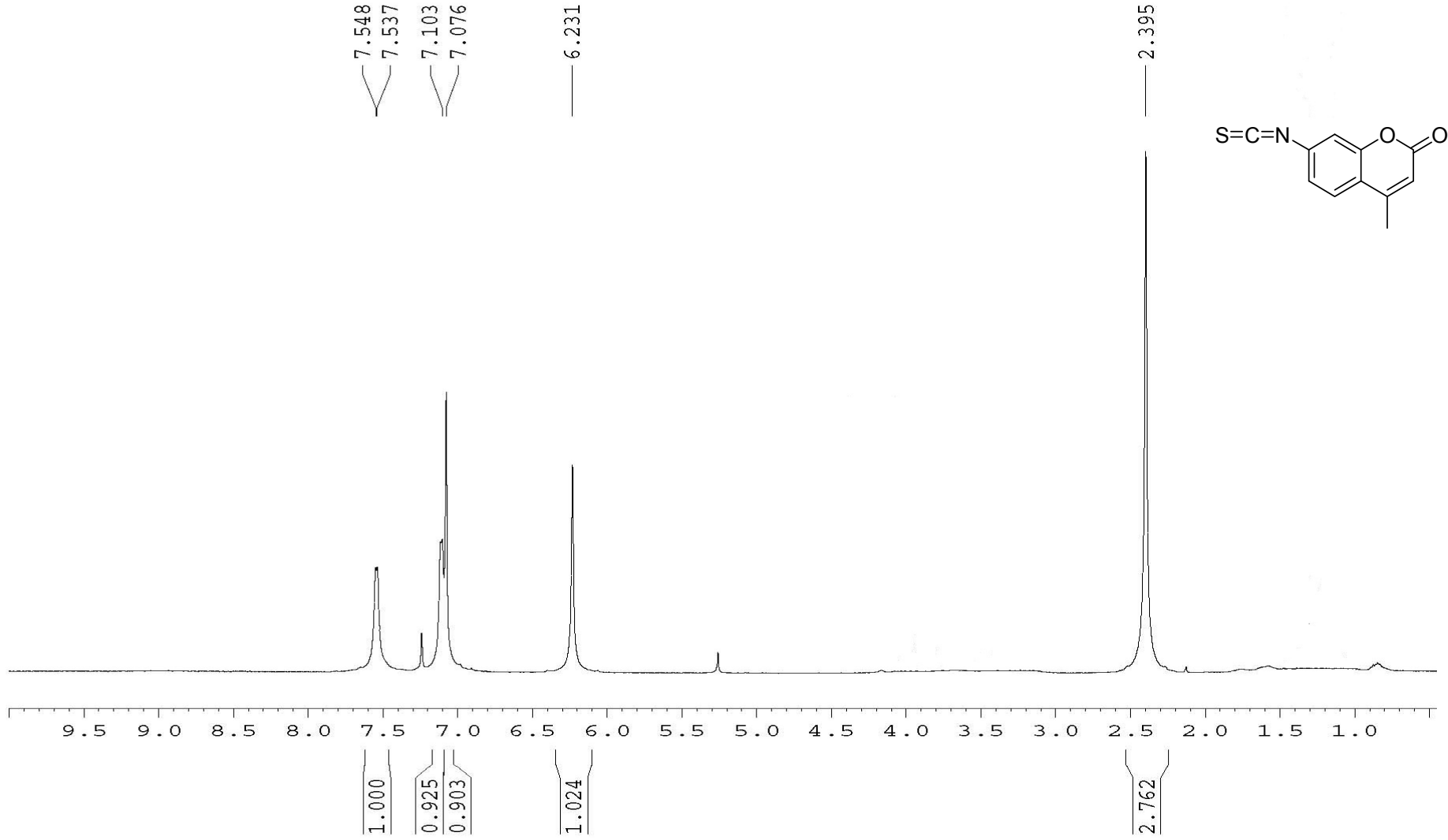
83.891
81.885
81.457
81.029

53.578
53.413
53.124
52.839
52.554
52.269
51.548
50.459
49.472
48.407
32.235

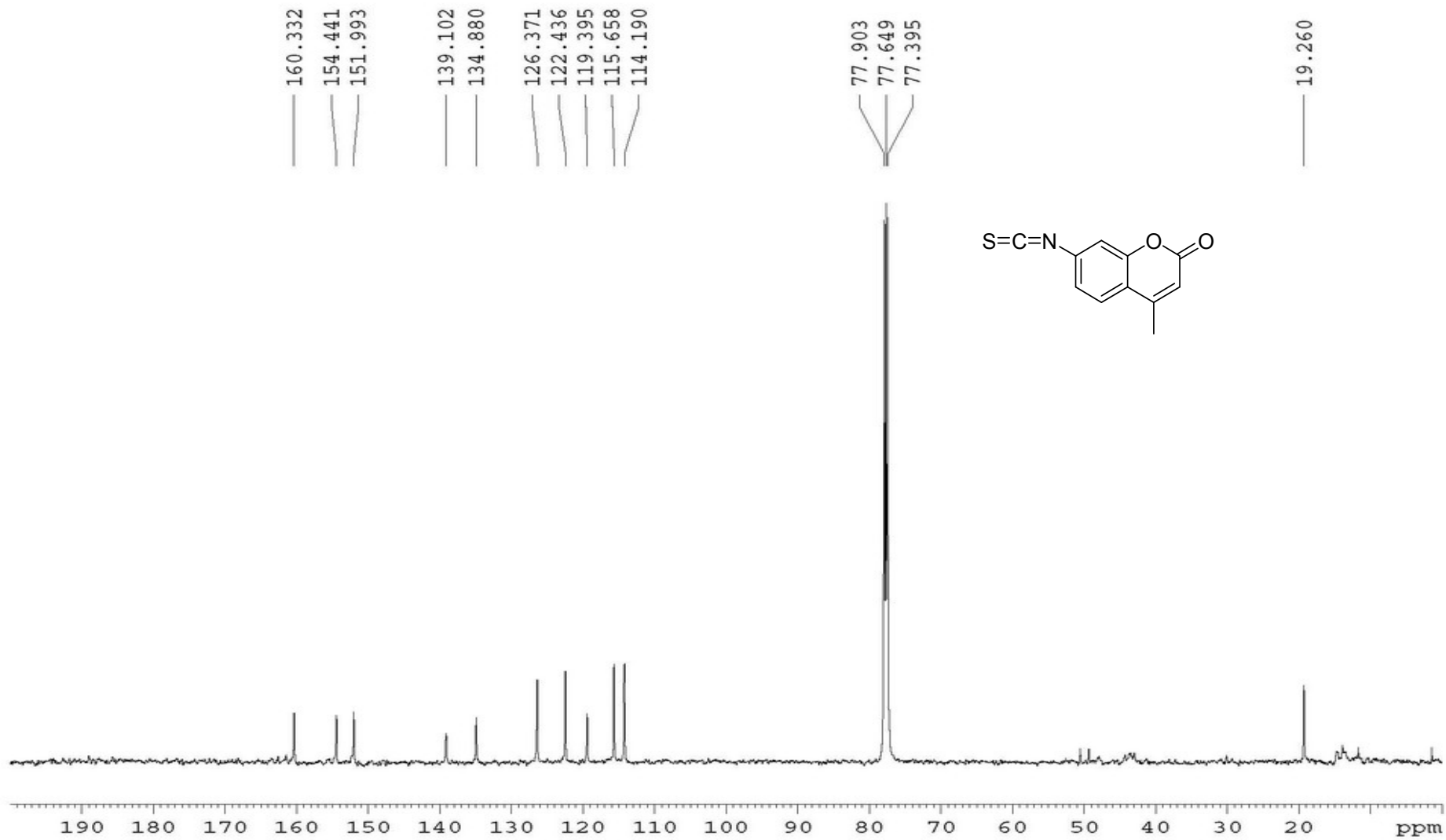
101



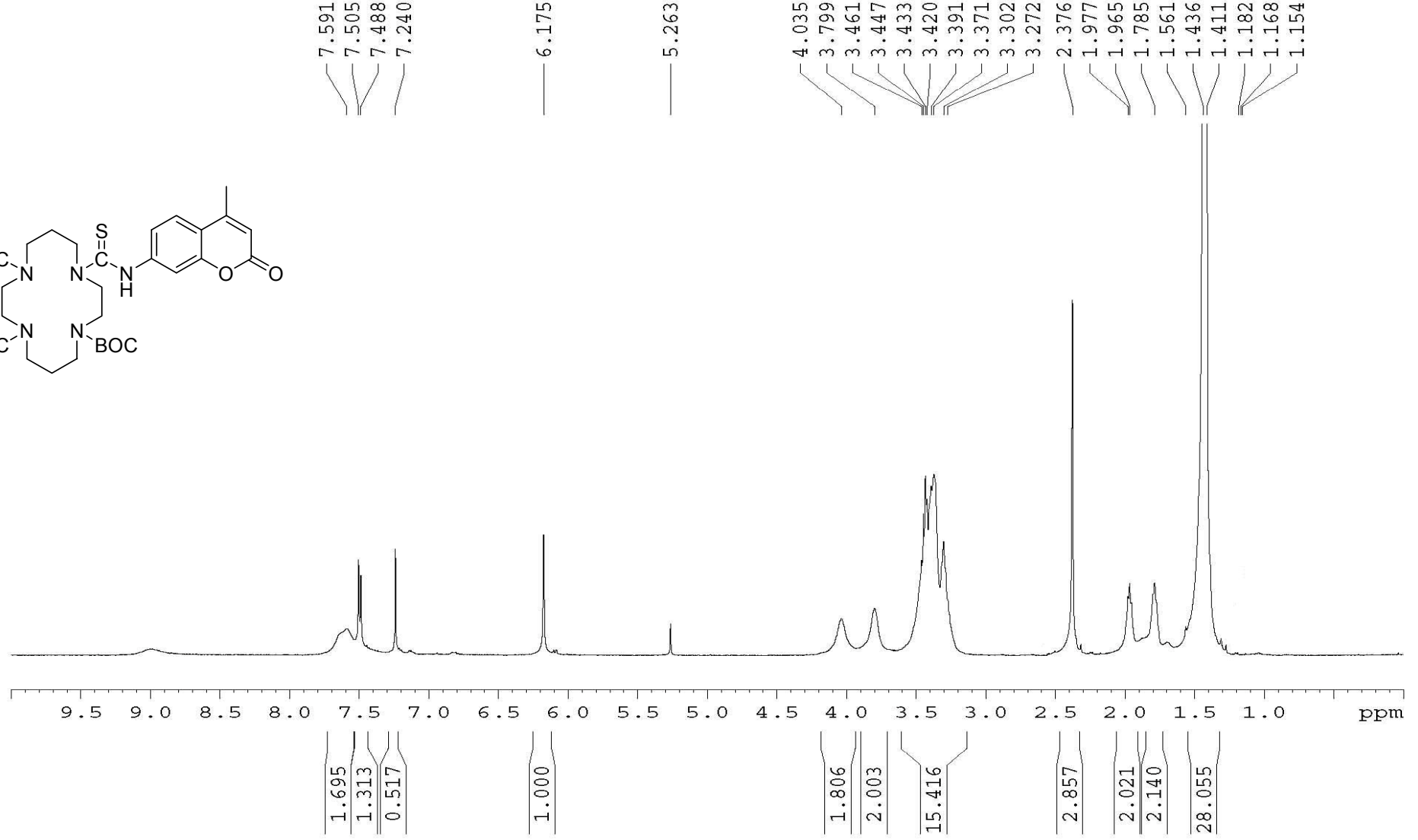
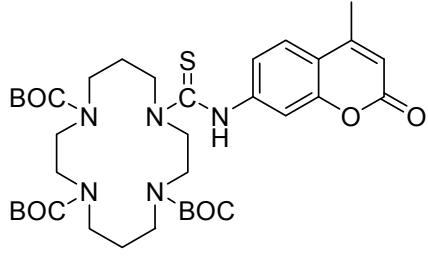
¹H NMR Spectrum of Compound 19



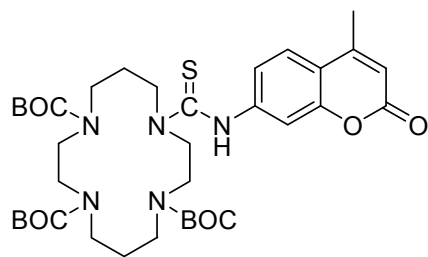
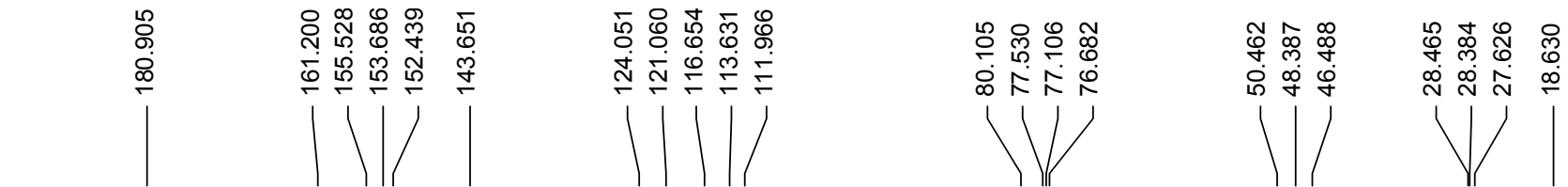
¹³C NMR Spectrum of Compound 19



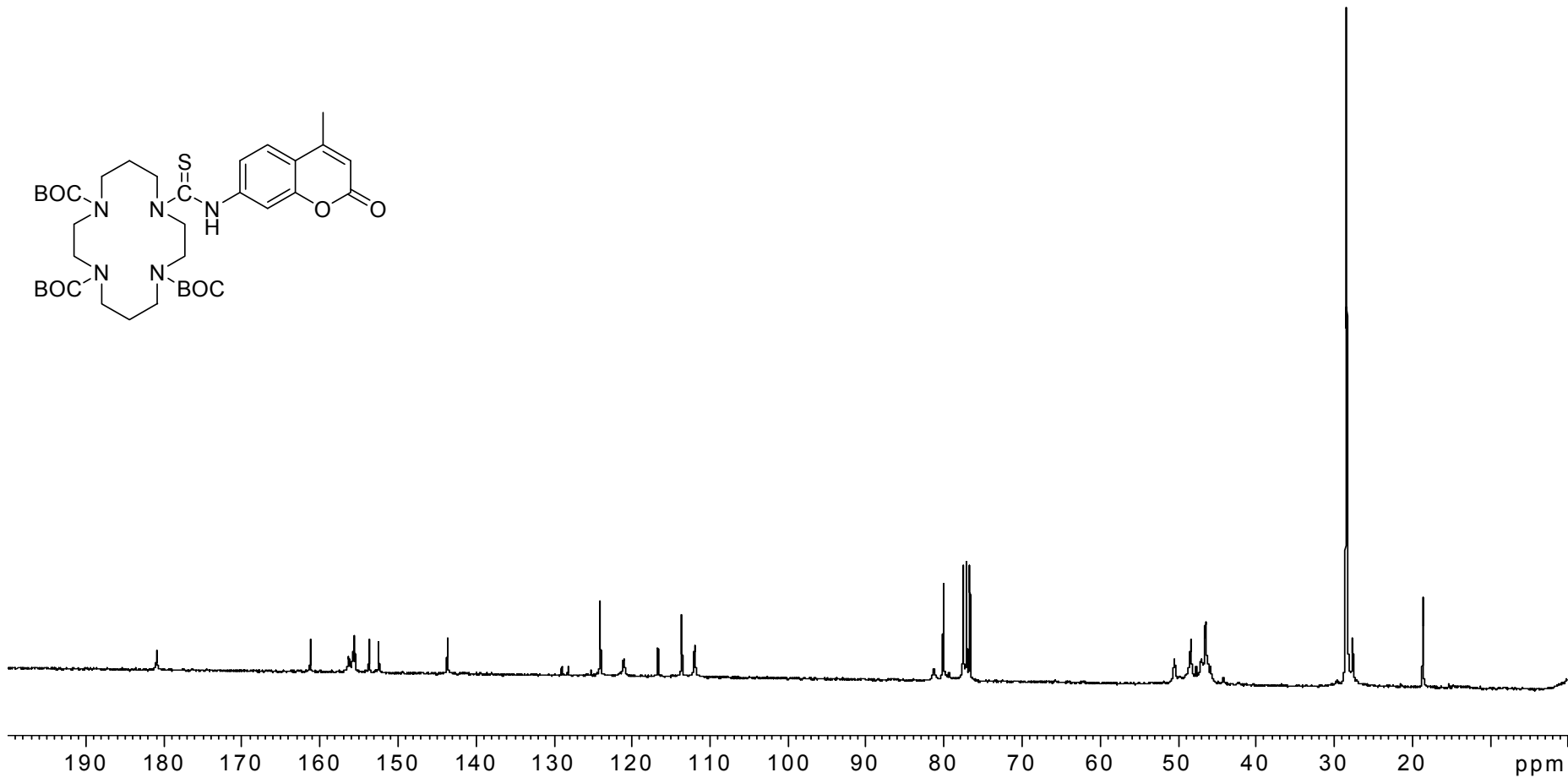
¹H NMR Spectrum of Compound 23



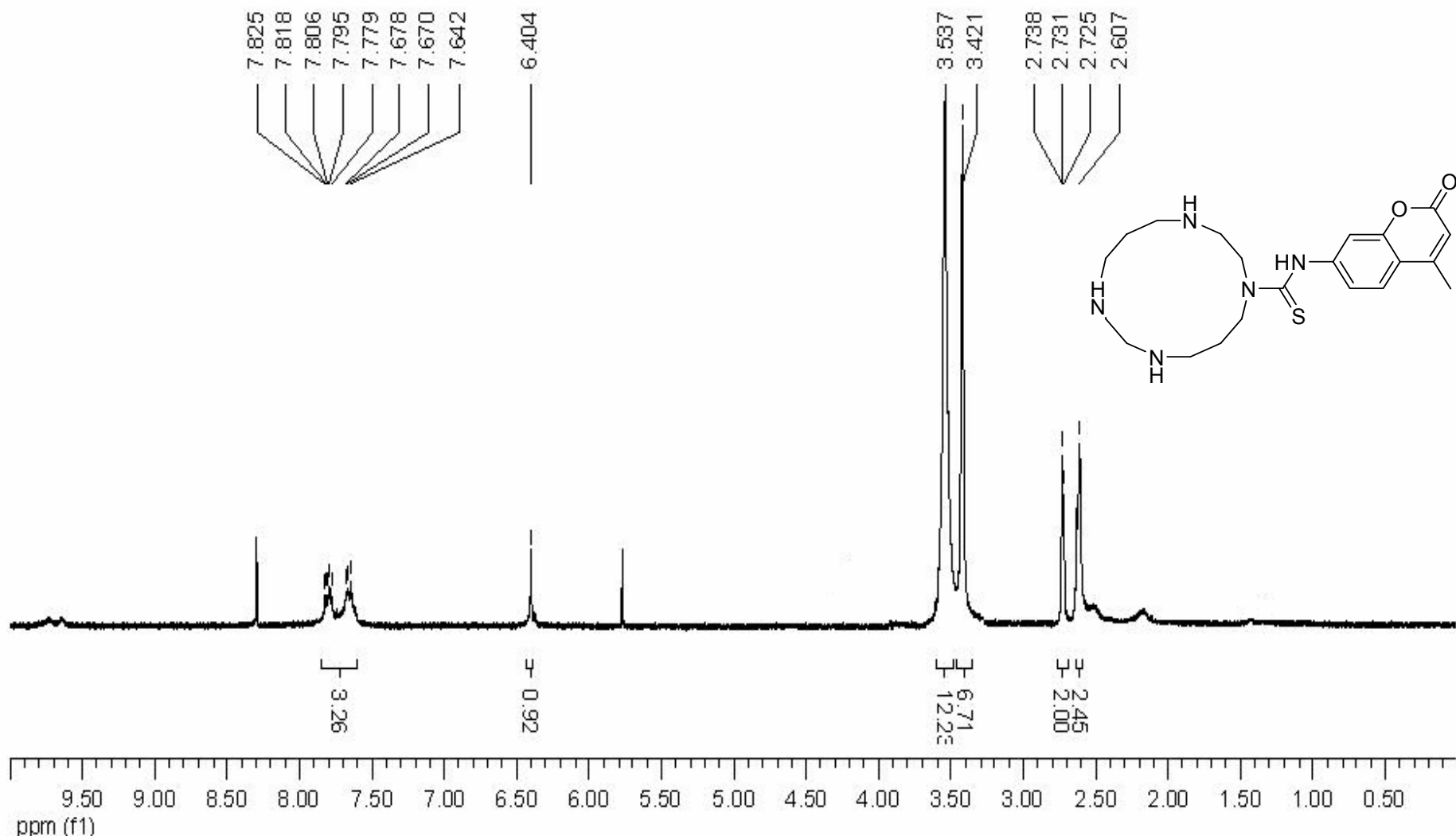
¹³C NMR Spectrum of Compound 23



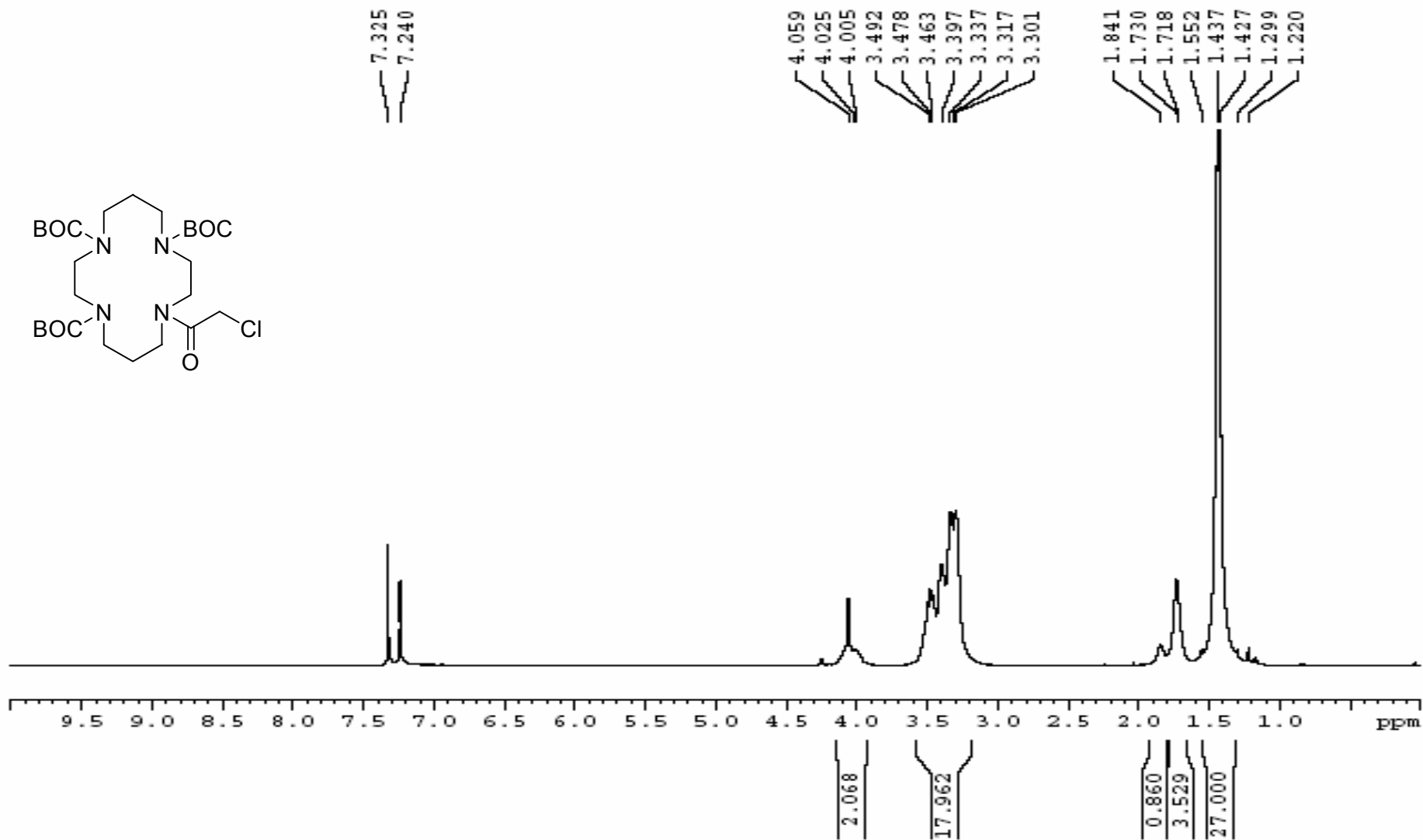
601



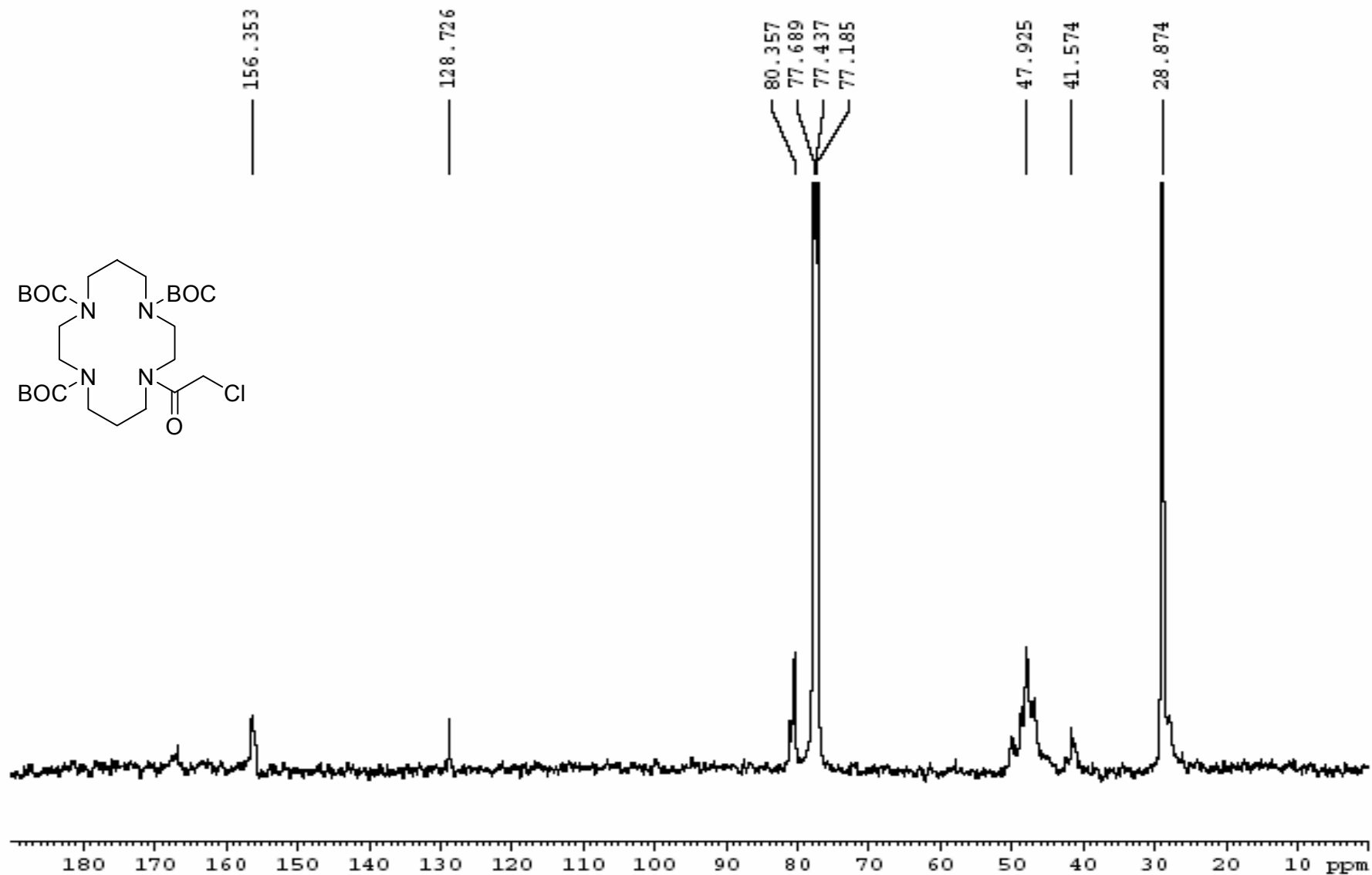
¹H NMR Spectrum of Compound 20



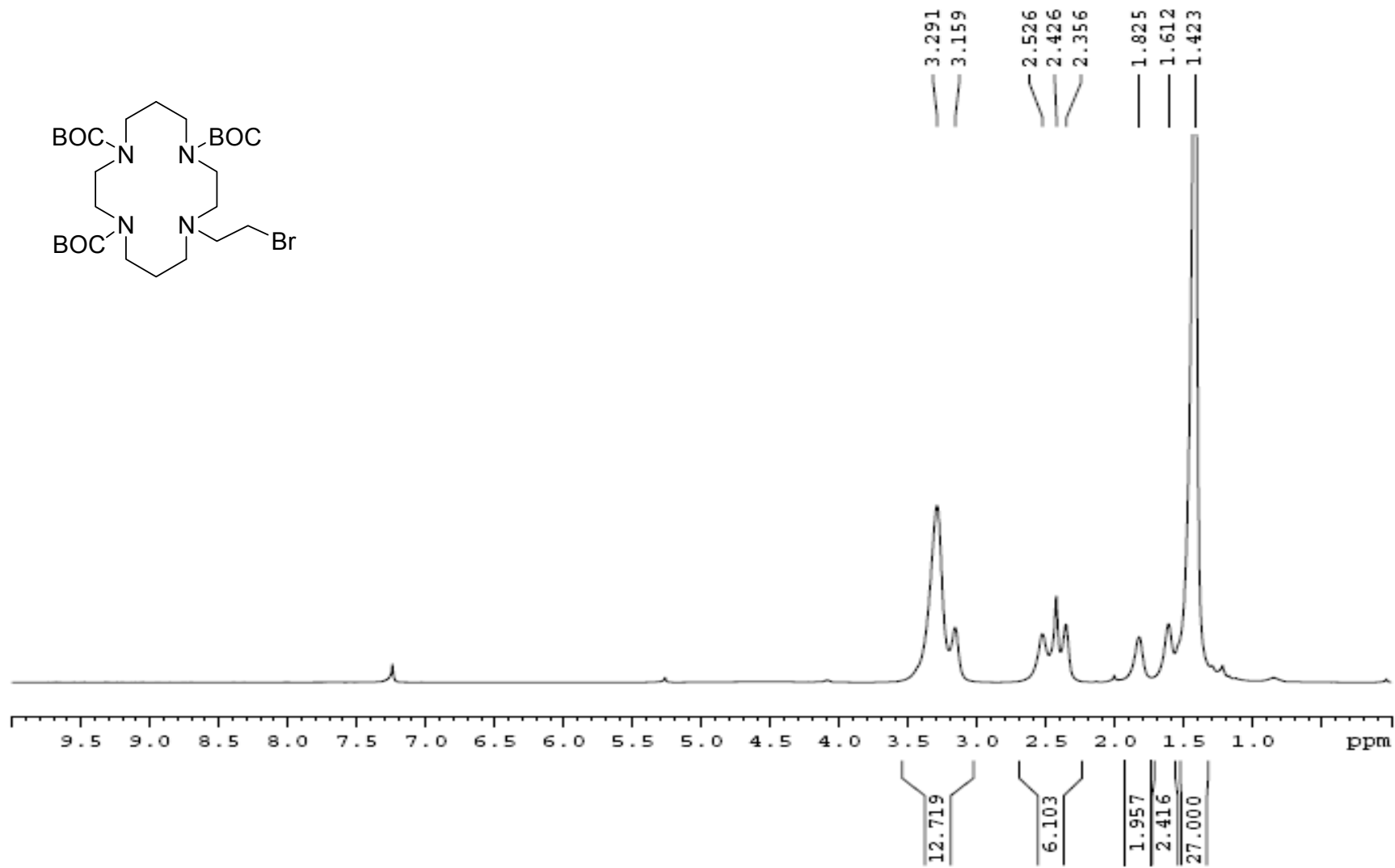
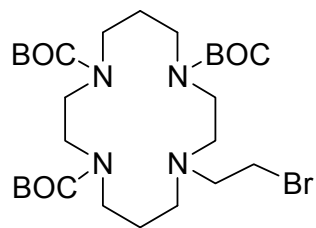
¹H NMR Spectrum of Compound 32



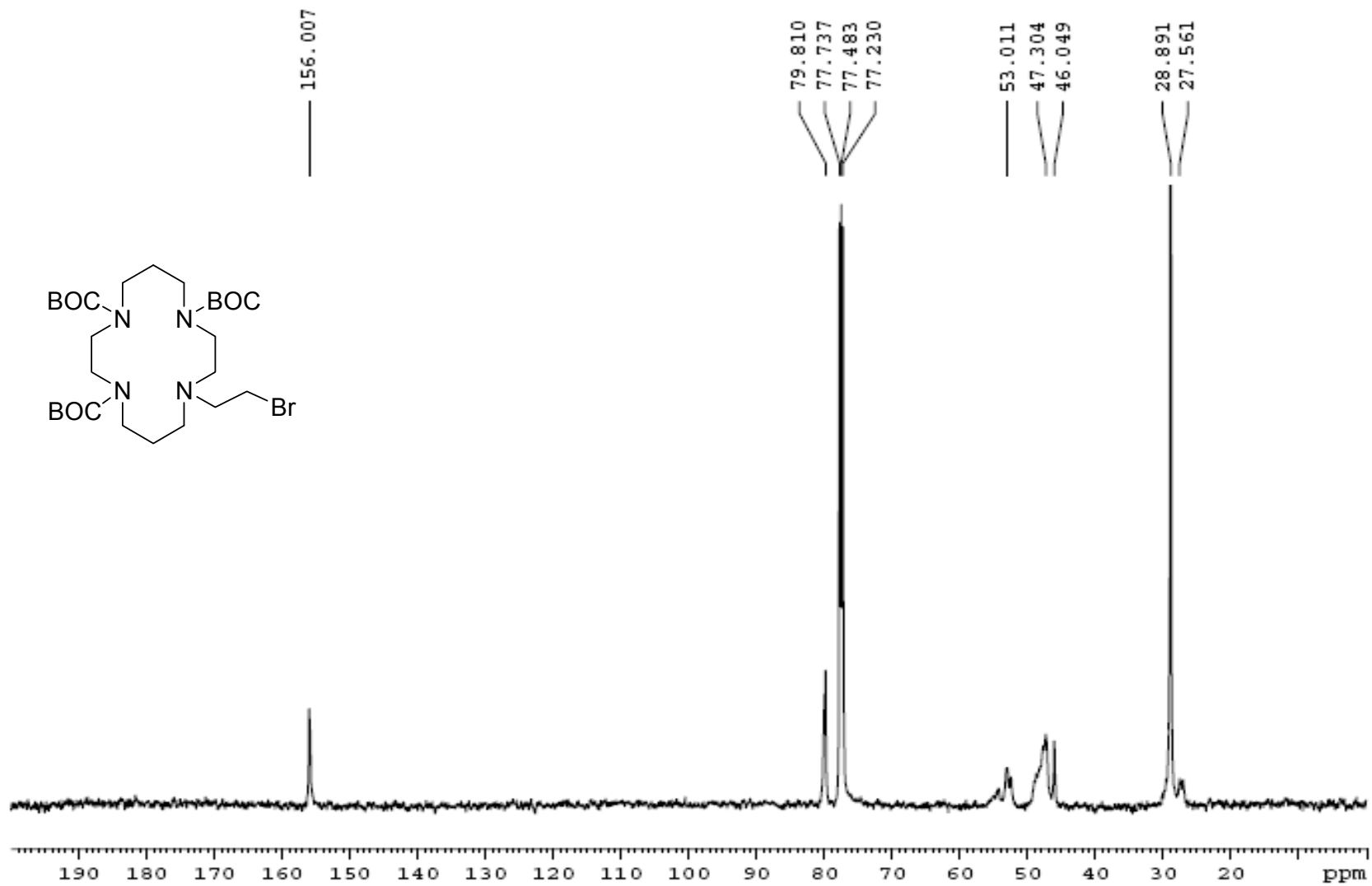
¹³C NMR Spectrum of Compound 32



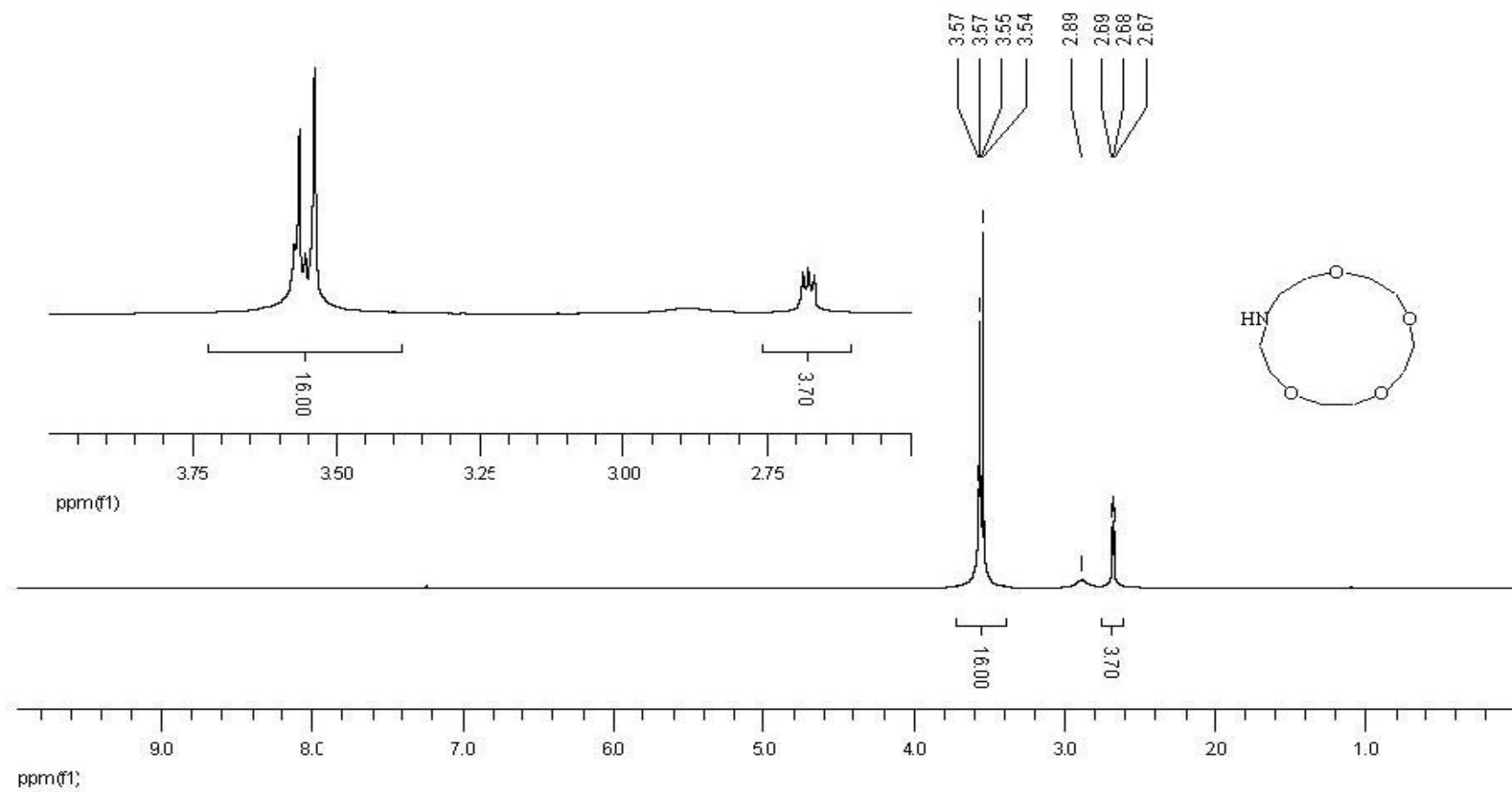
¹H NMR Spectrum of Compound 29

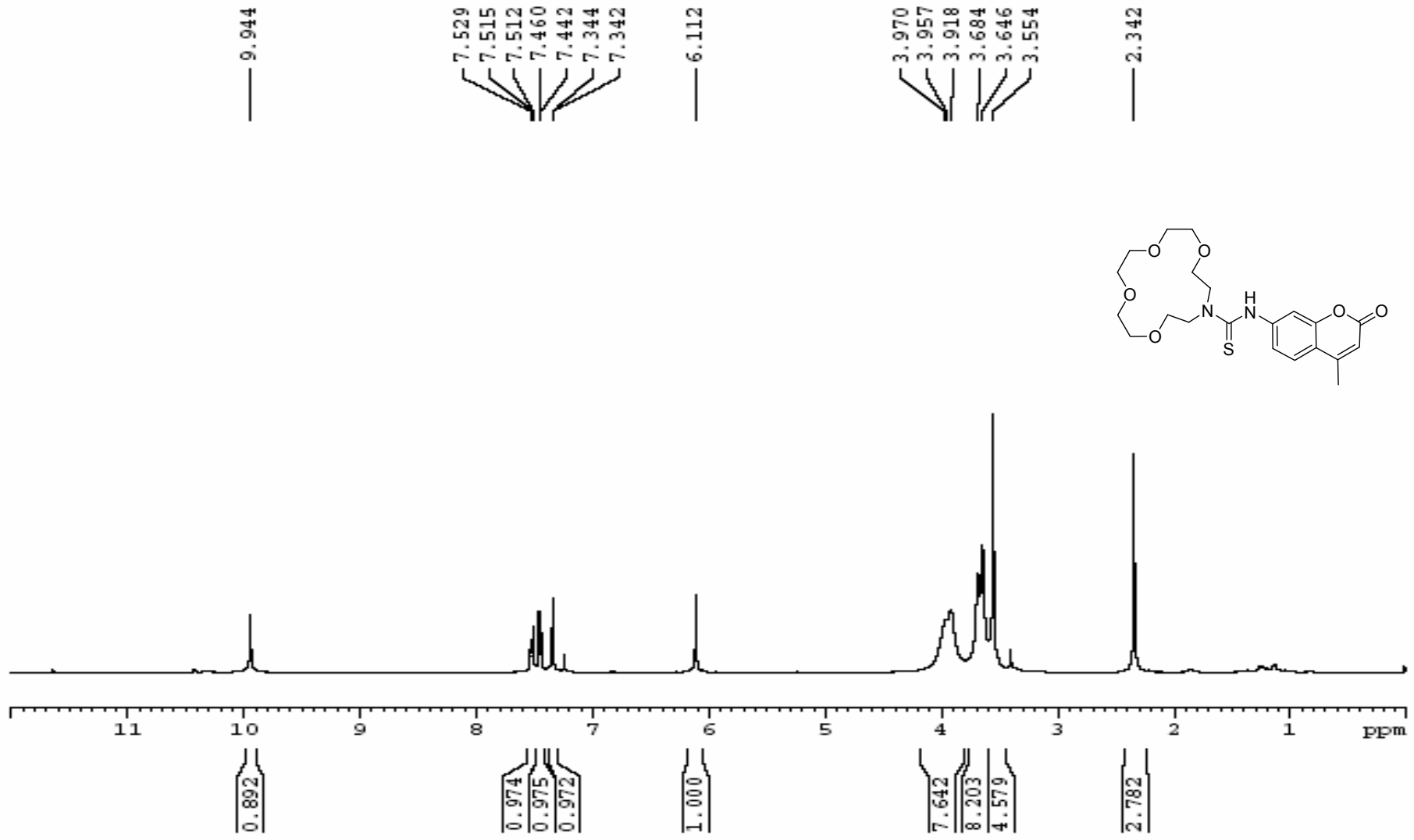


¹H NMR Spectrum of Compound 29

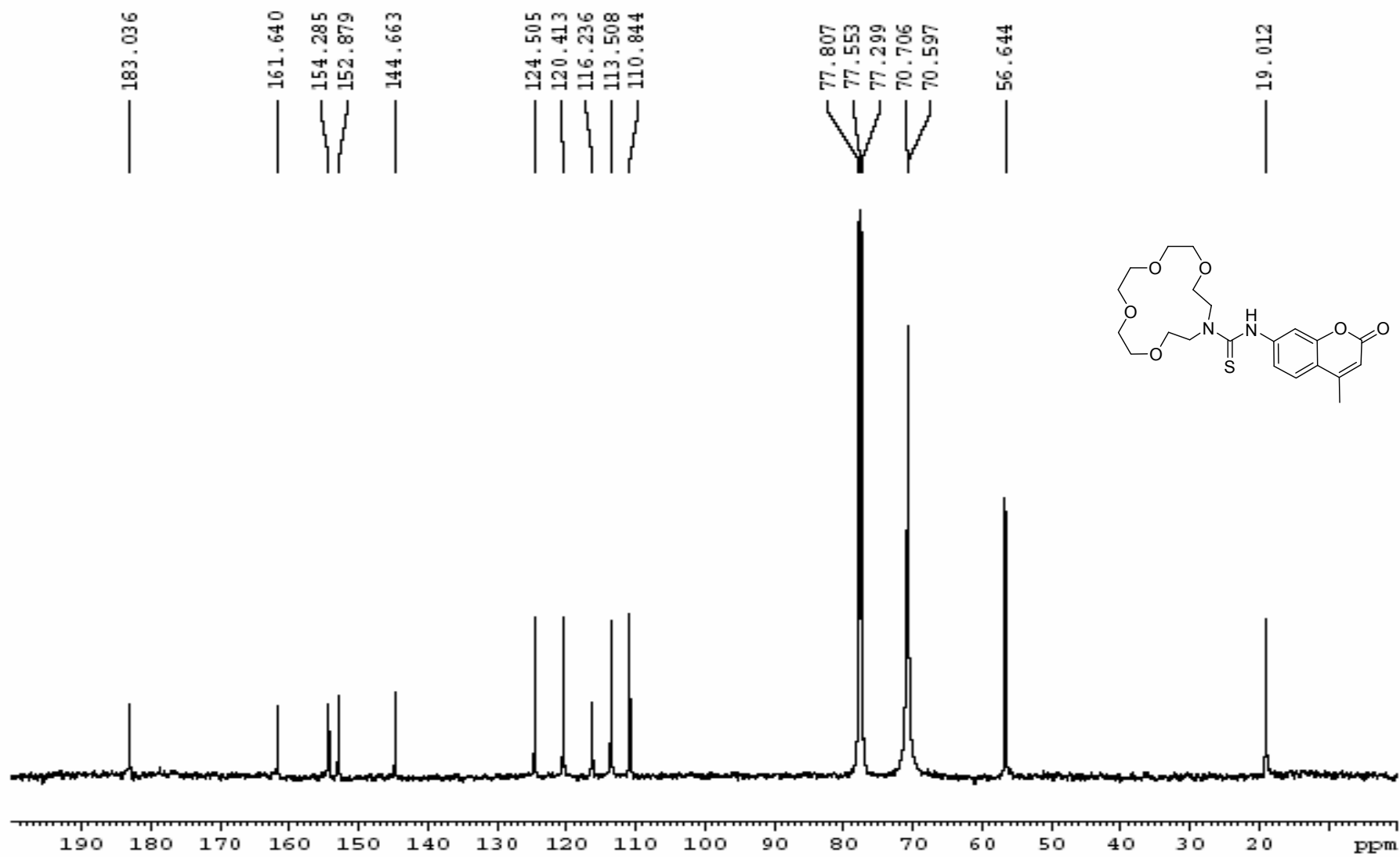


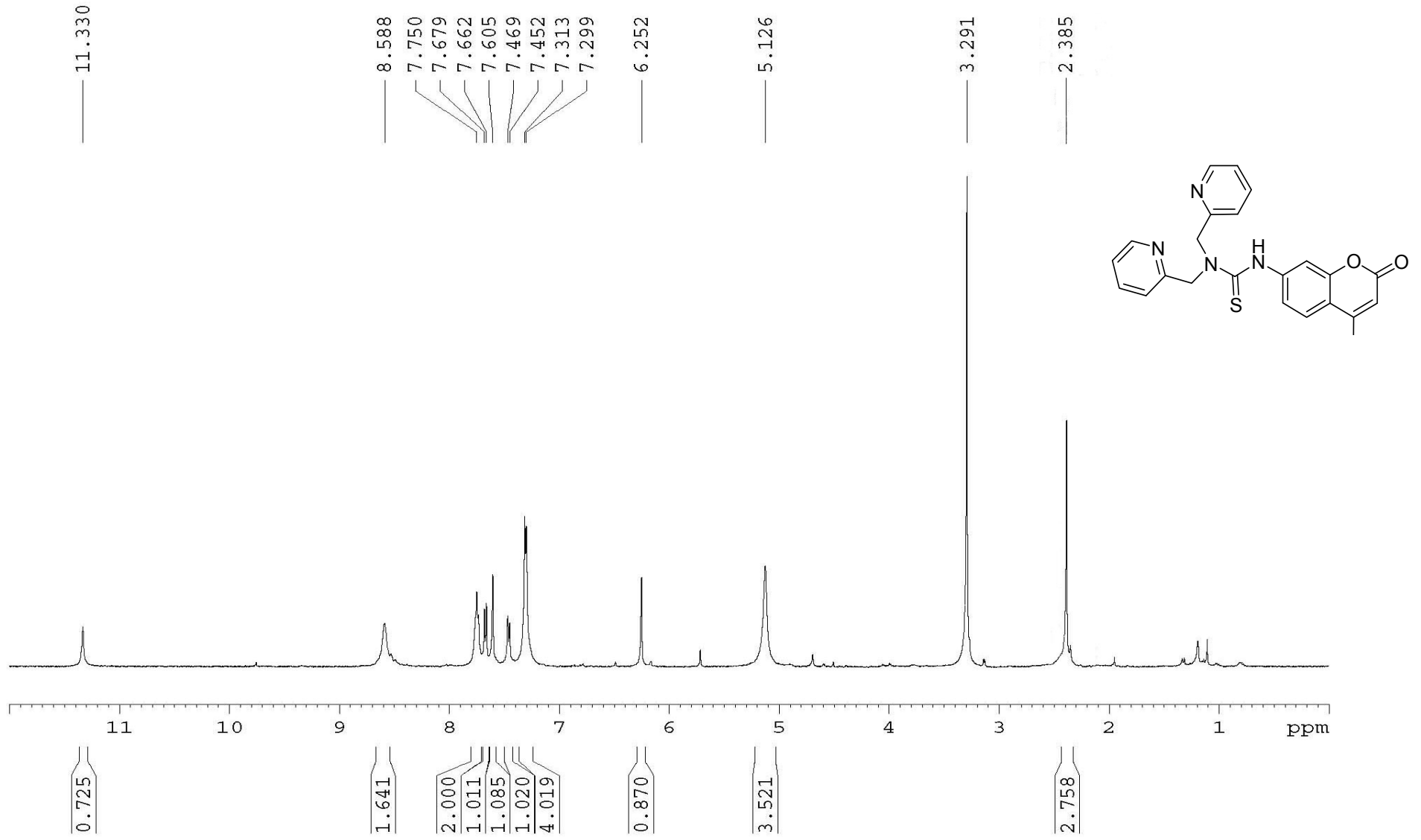
¹H NMR Spectrum of Compound 5

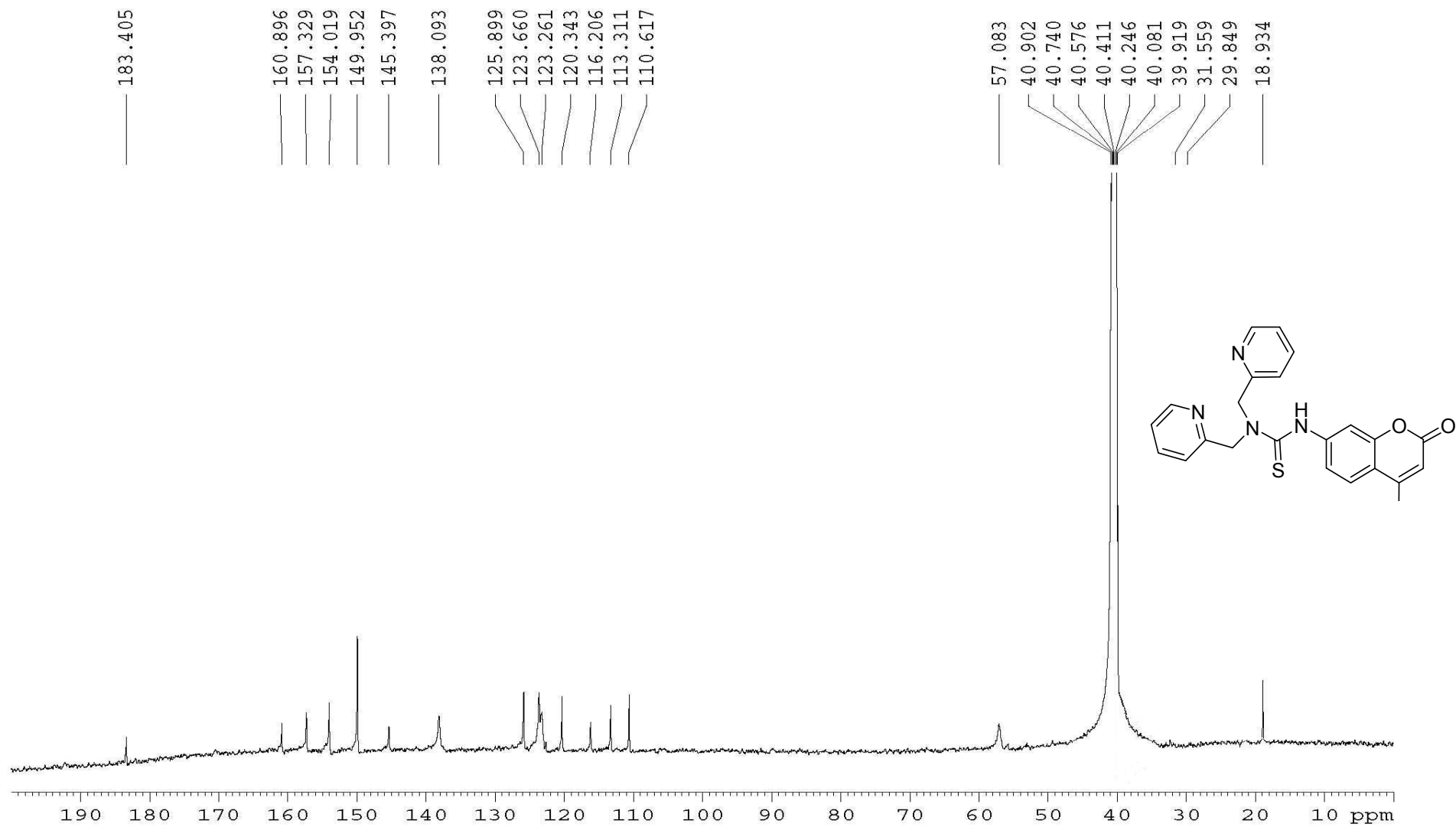


^1H NMR Spectrum of Compound 18

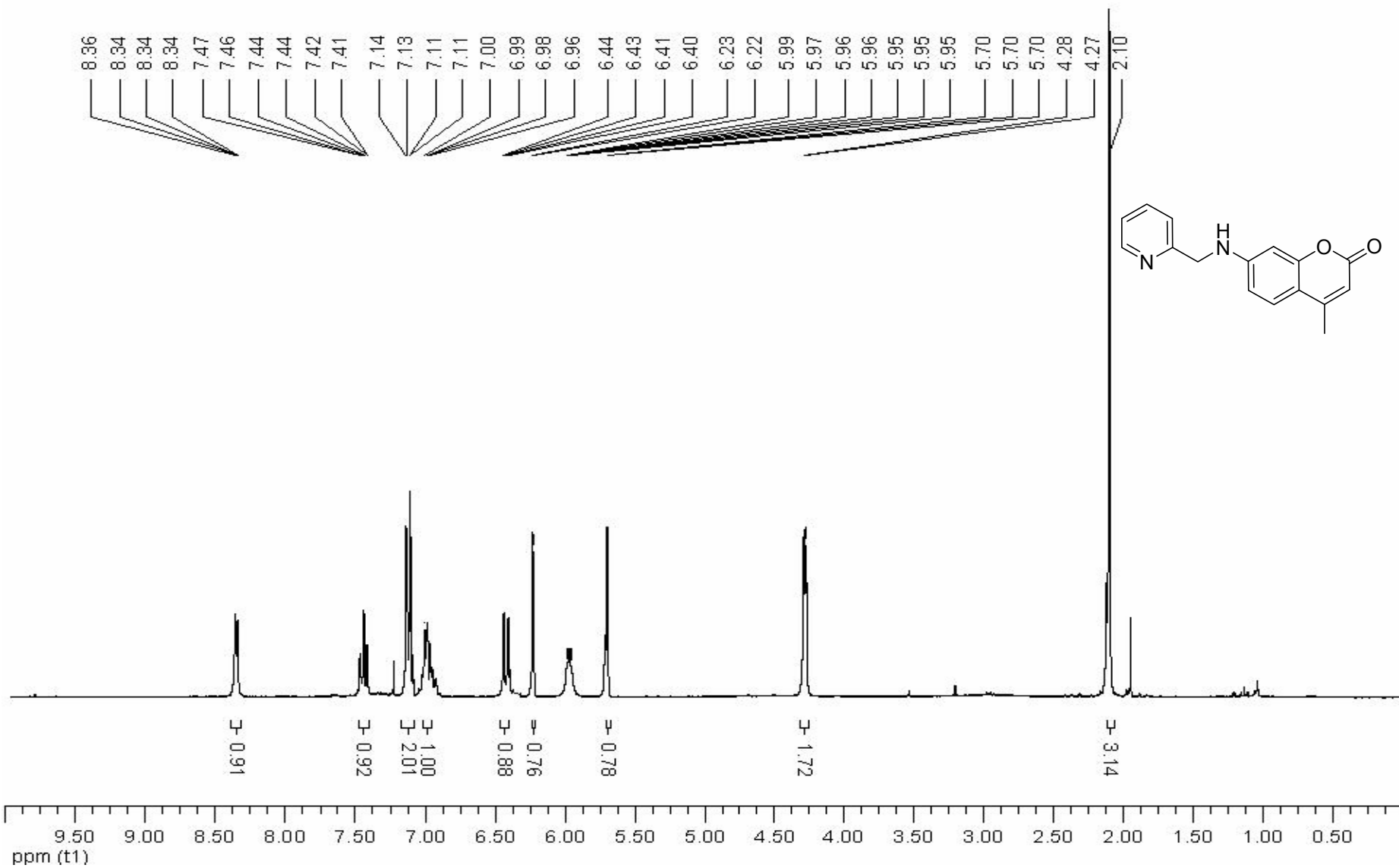
¹³C NMR Spectrum of Compound 18



^1H NMR Spectrum of Compound 41

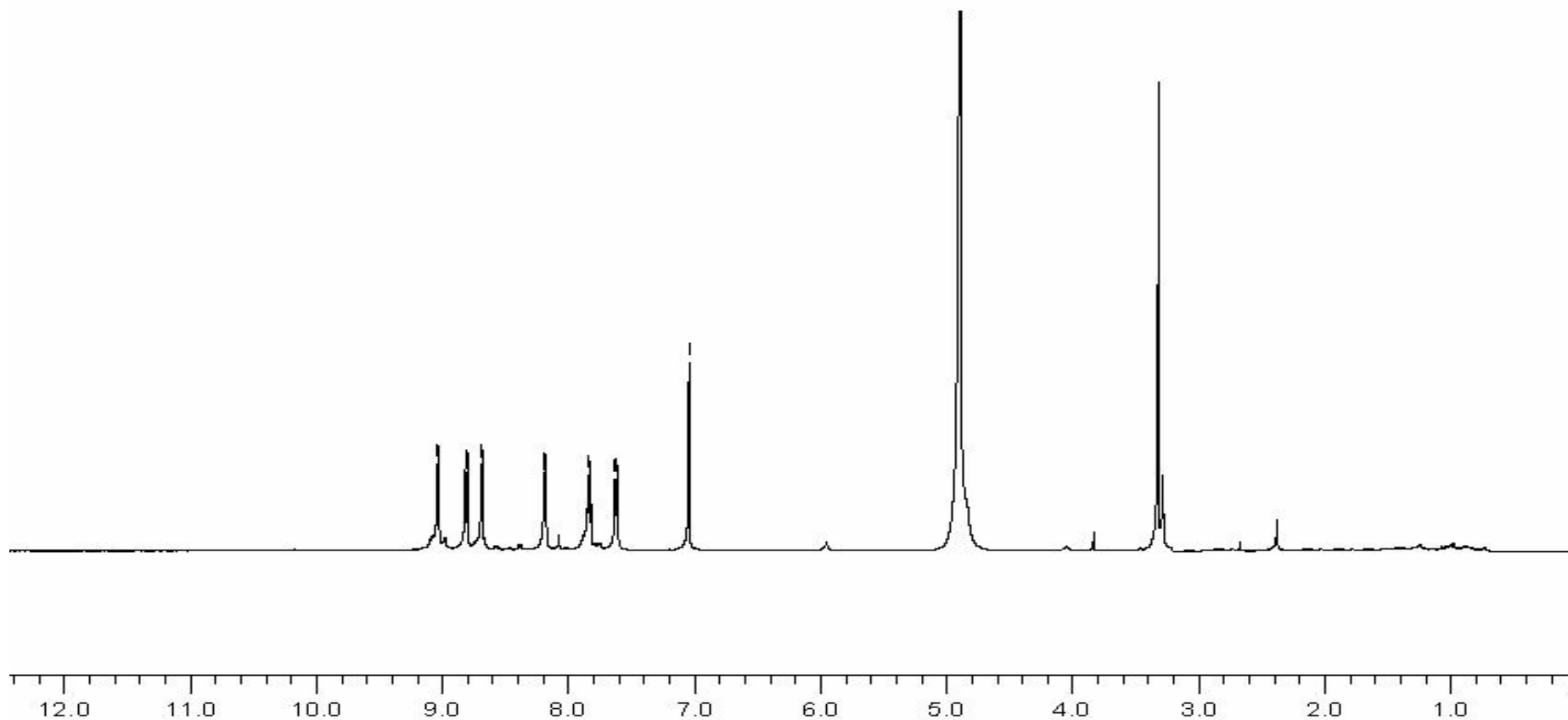
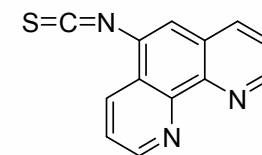
¹³C NMR Spectrum of Compound 41

¹H NMR Spectrum of Compound 43

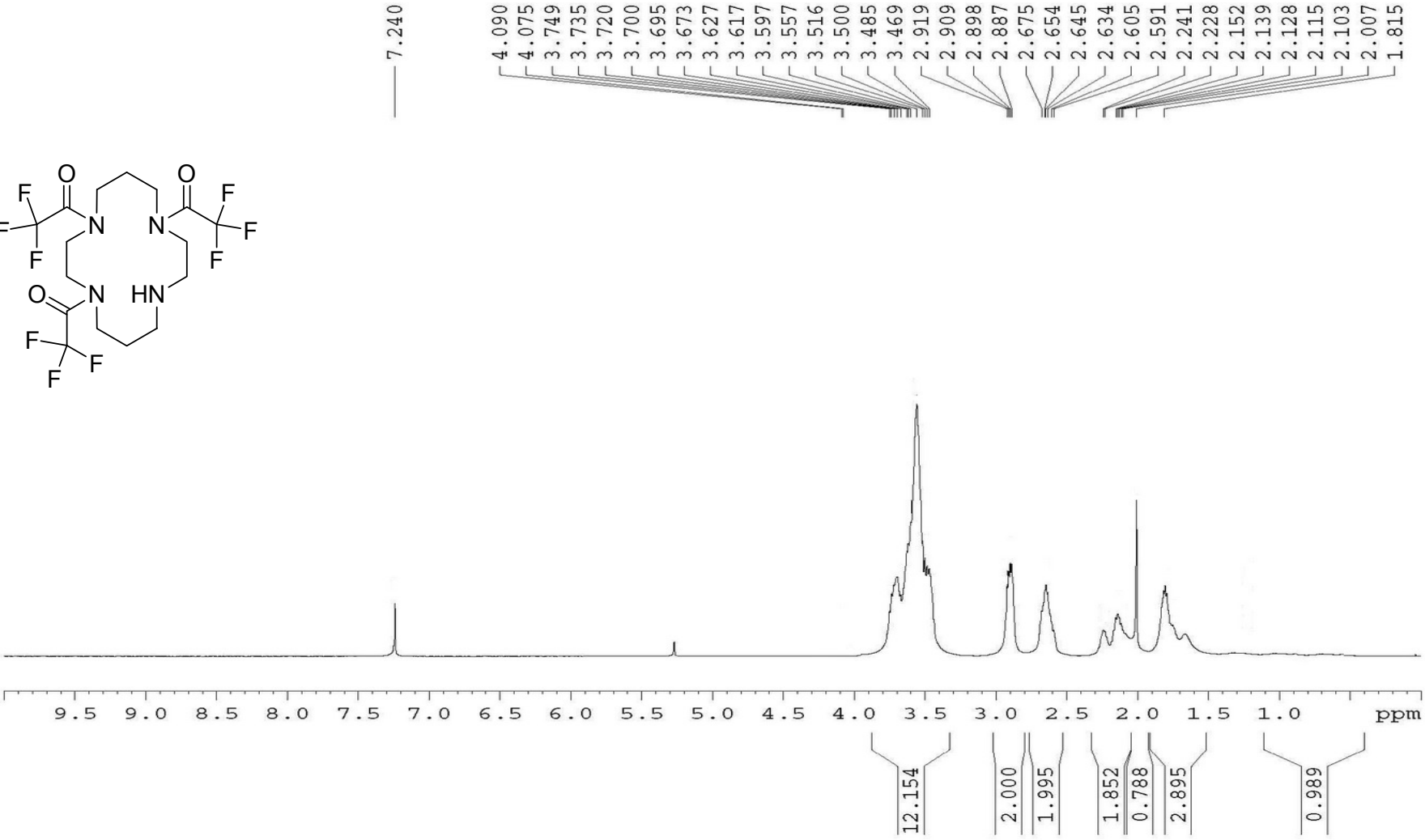
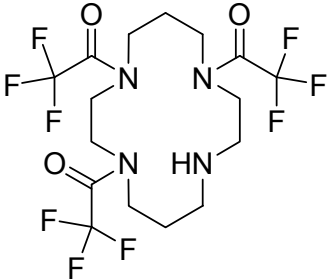


¹H NMR Spectrum of Compound 37

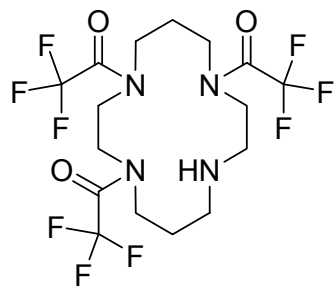
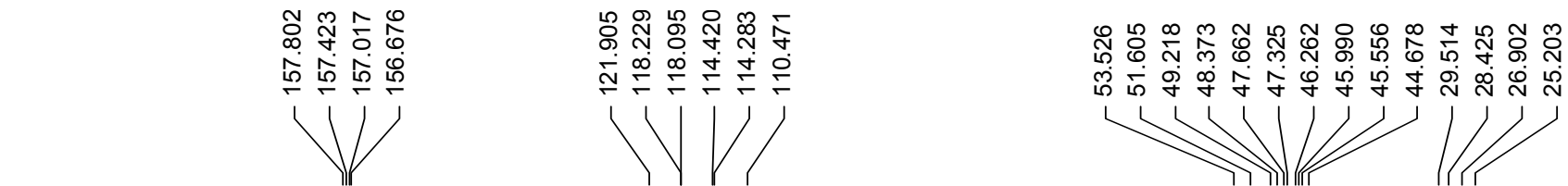
9.039
9.037
9.030
9.027
8.819
8.817
8.803
8.800
8.692
8.689
8.683
8.680
8.196
8.194
8.180
8.177
7.849
7.840
7.832
7.823
7.632
7.623
7.616
7.607
7.045



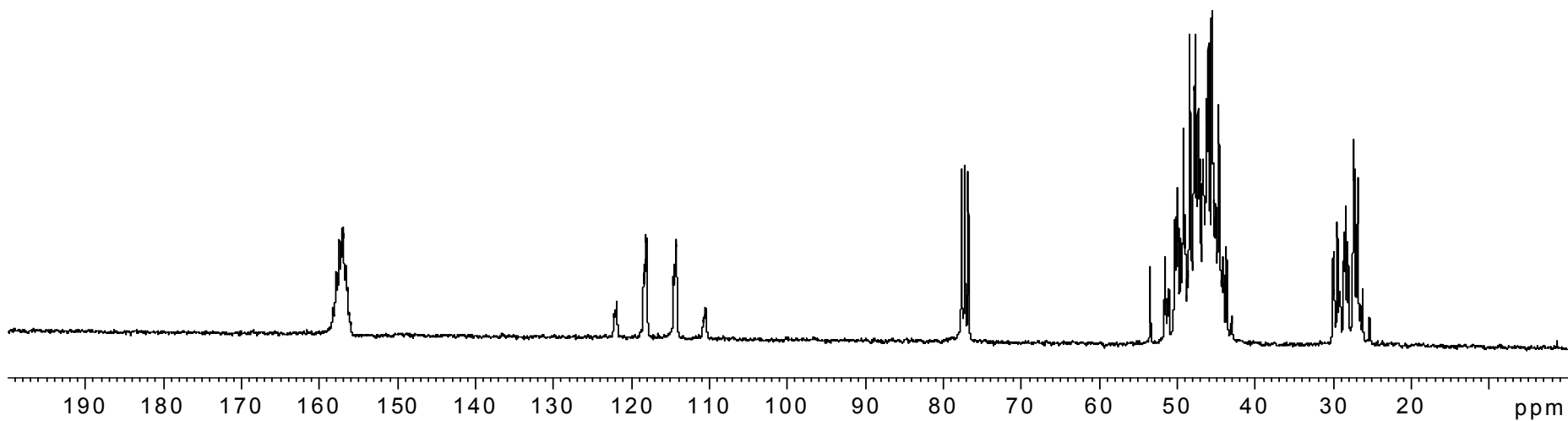
¹H NMR Spectrum of Compound 21



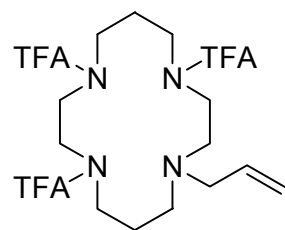
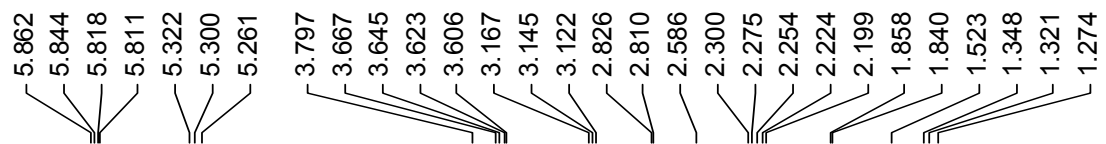
¹³C NMR Spectrum of Compound 21



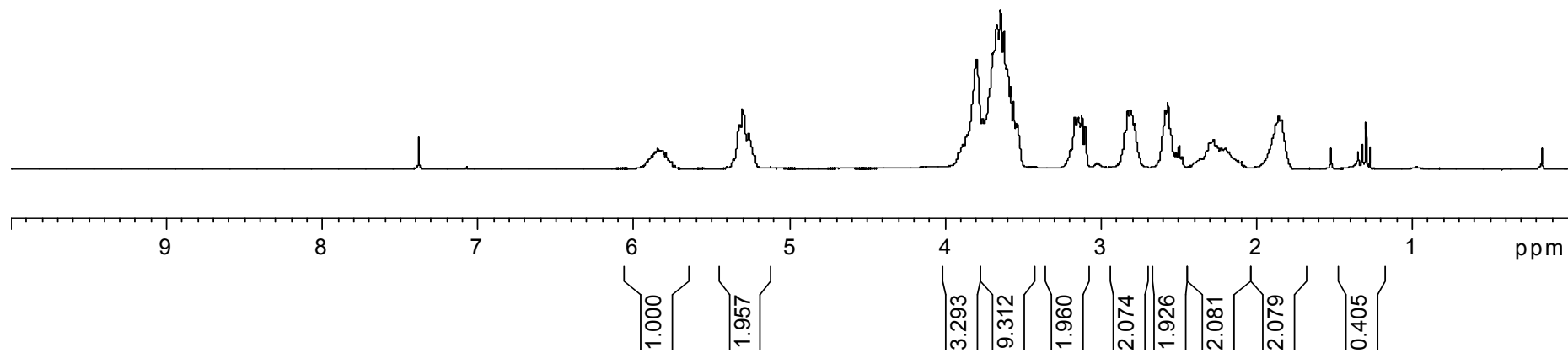
123



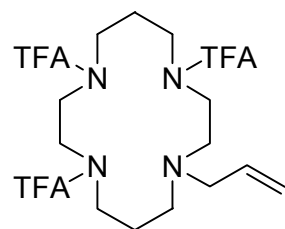
¹H NMR Spectrum of Compound 35



124



¹³C NMR Spectrum of Compound **35**

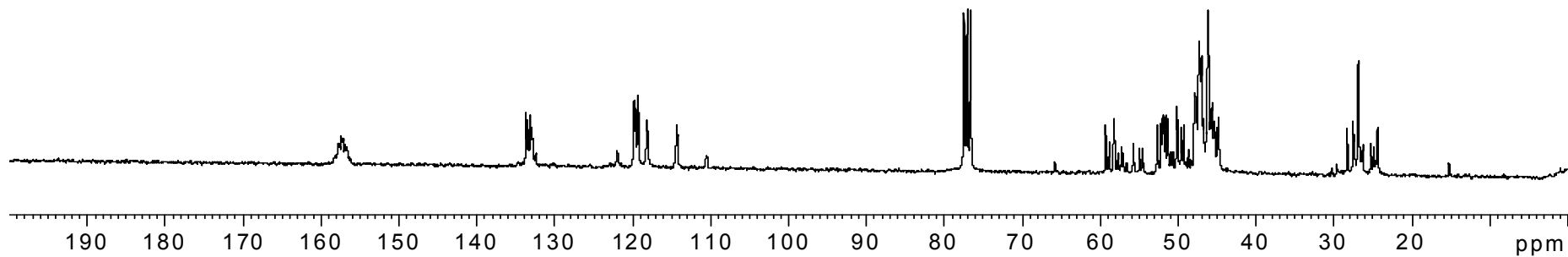


157.118

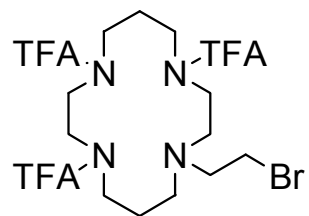
133.710
133.133
121.997
119.825
119.348
118.227
114.381
110.566

65.801
59.310
58.185
55.724
54.948
51.596
51.339
50.158
47.277
46.951
46.227
46.170
44.800
28.278
27.520
26.936
26.819
24.385
15.223

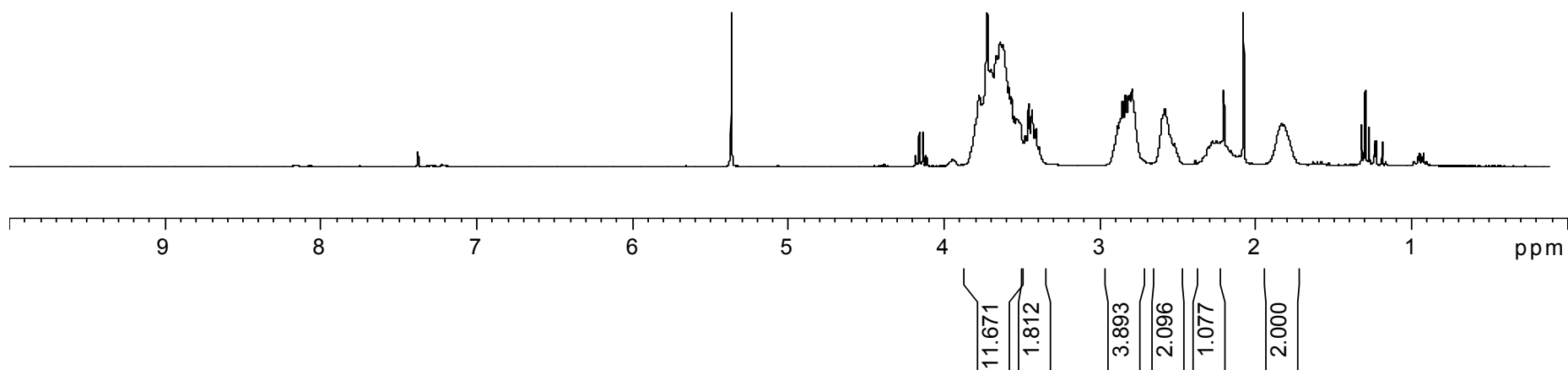
125



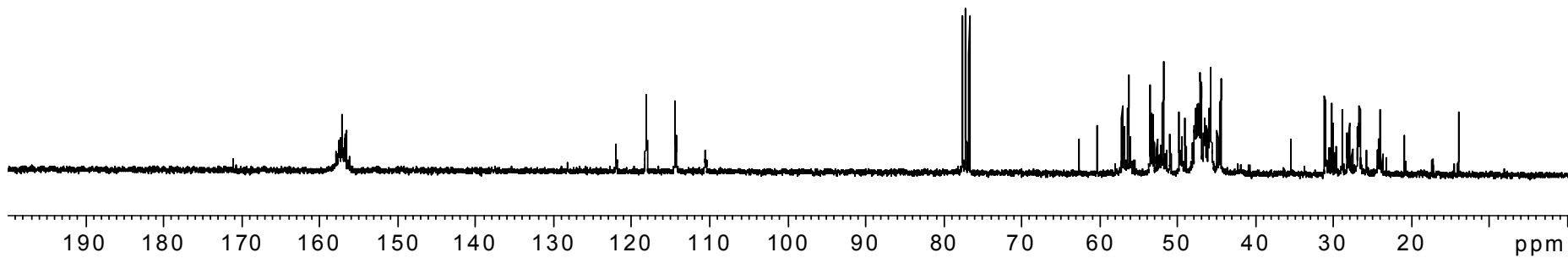
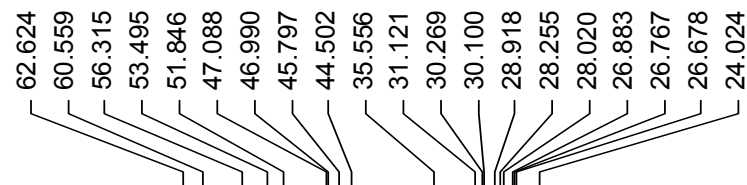
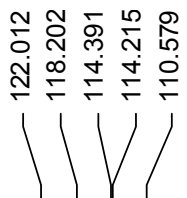
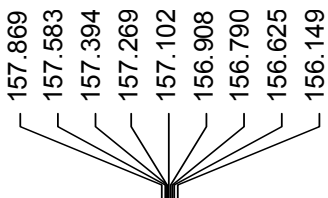
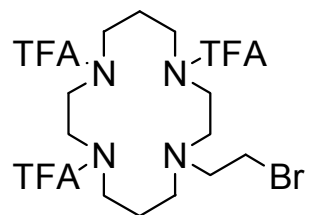
¹H NMR Spectrum of Compound 28



3.725
3.641
3.625
3.459
3.438
3.410
2.857
2.837
2.816
2.795
2.583
2.205
1.837

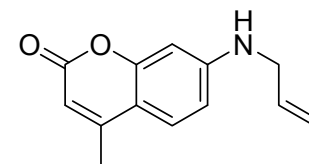


¹³C NMR Spectrum of Compound 28

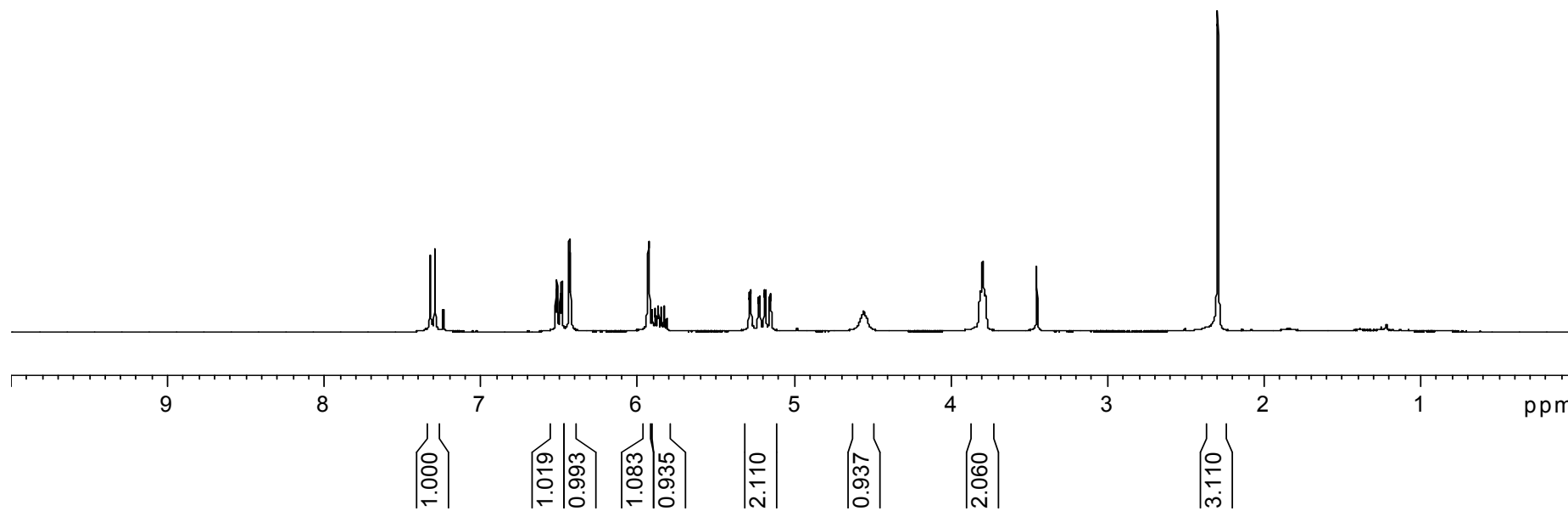


¹H NMR Spectrum of Compound 34

7.322
7.293
7.240
7.239
6.520
6.512
6.491
6.484
6.435
6.427
5.927
5.904
5.887
5.882
5.869
5.864
5.847
5.830
5.813
5.283
5.278
5.226
5.221
5.187
5.183
5.153
5.149
4.554
3.813
3.795
3.778
3.450
2.295
2.293



128



¹³C NMR Spectrum of Compound 34

162.085
155.859
153.117
151.411

133.992

125.476

116.936

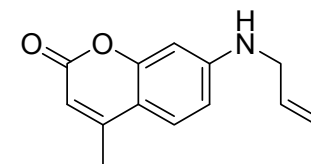
110.474

109.378

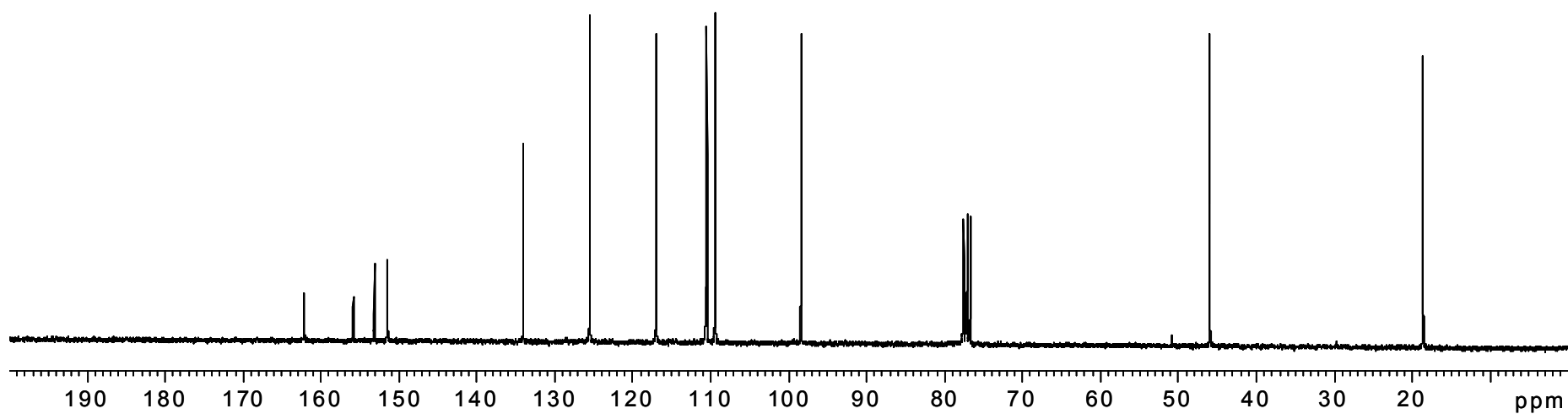
98.376

45.897

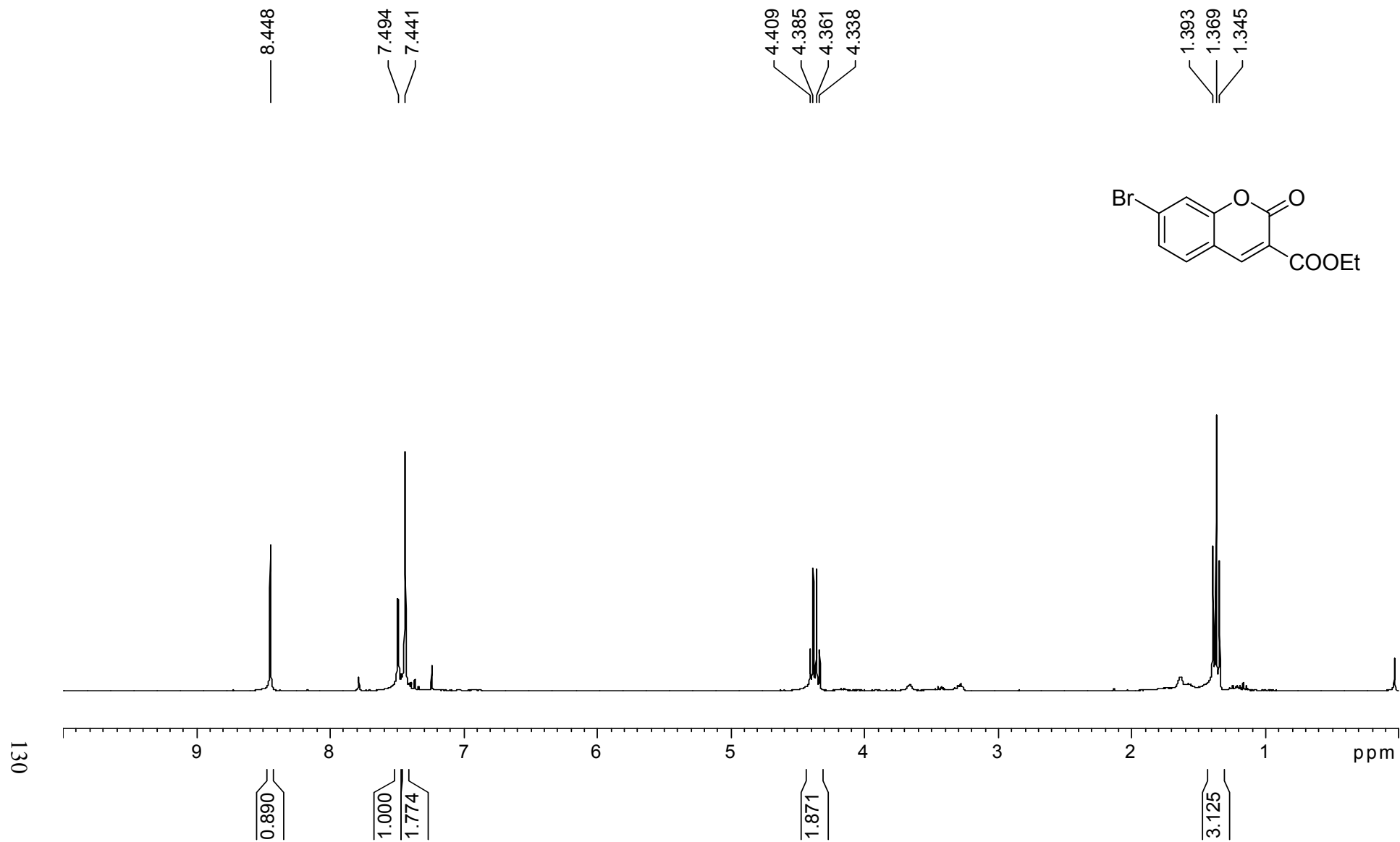
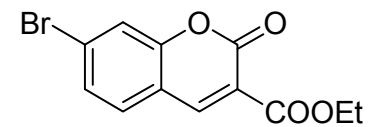
18.542



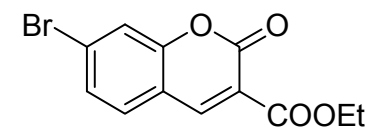
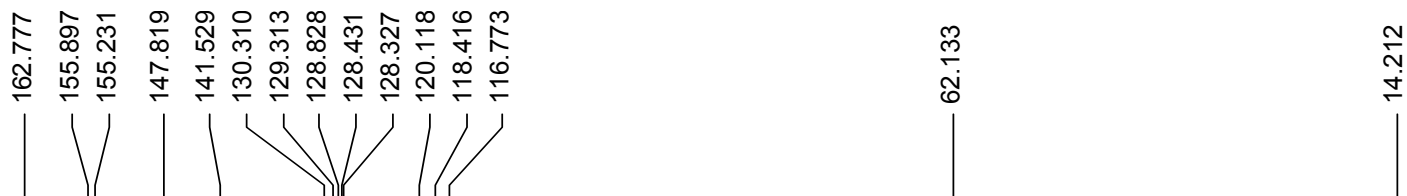
129



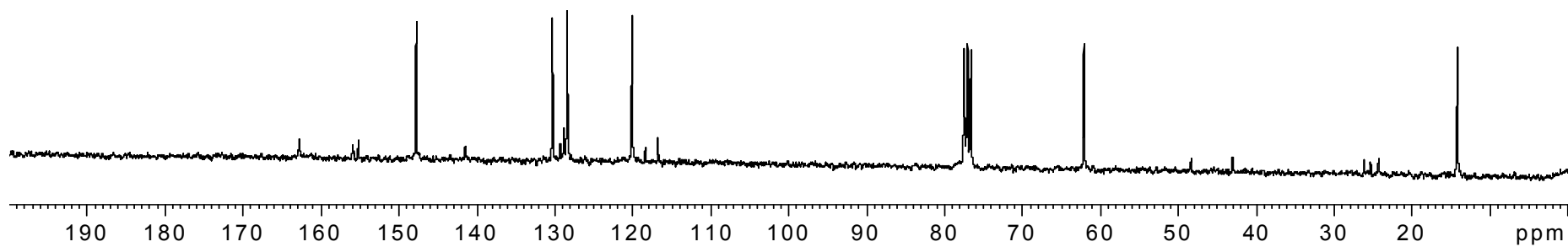
¹H NMR Spectrum of Compound 39 (R= Ethyl)



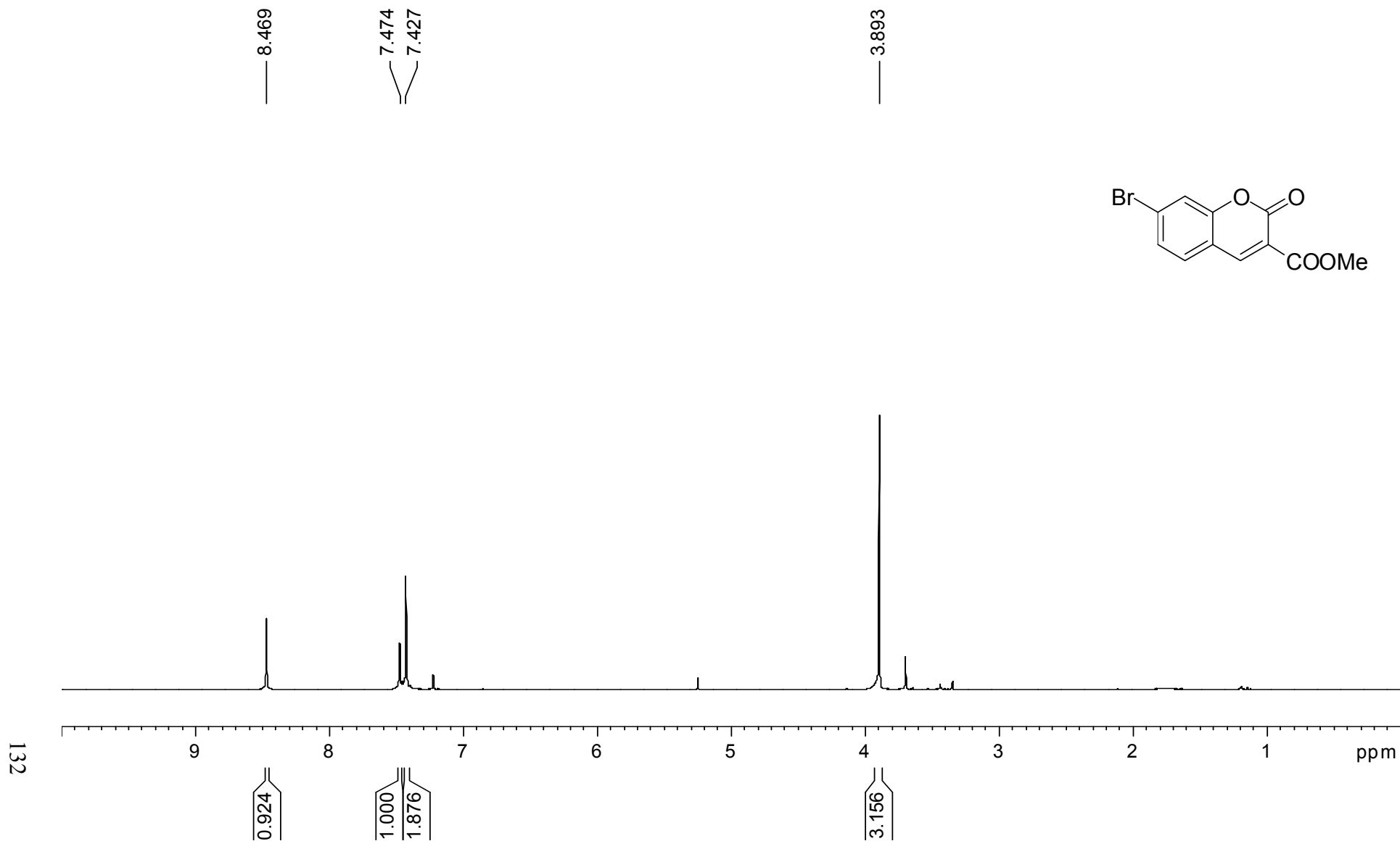
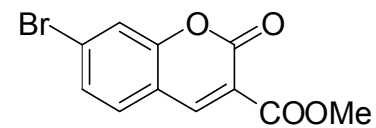
¹³C NMR Spectrum of Compound **39** (R= Ethyl)



131



¹H NMR Spectrum of Compound 39 (R= Methyl)

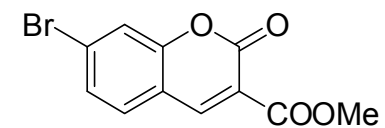


¹³C NMR Spectrum of Compound **39** (R= Methyl)

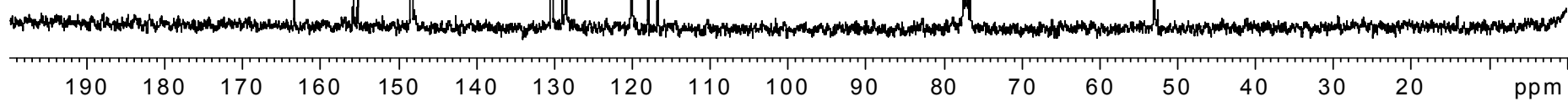
163.435
155.992
155.279
148.469

130.494
129.069
128.515
120.201
118.063
116.796

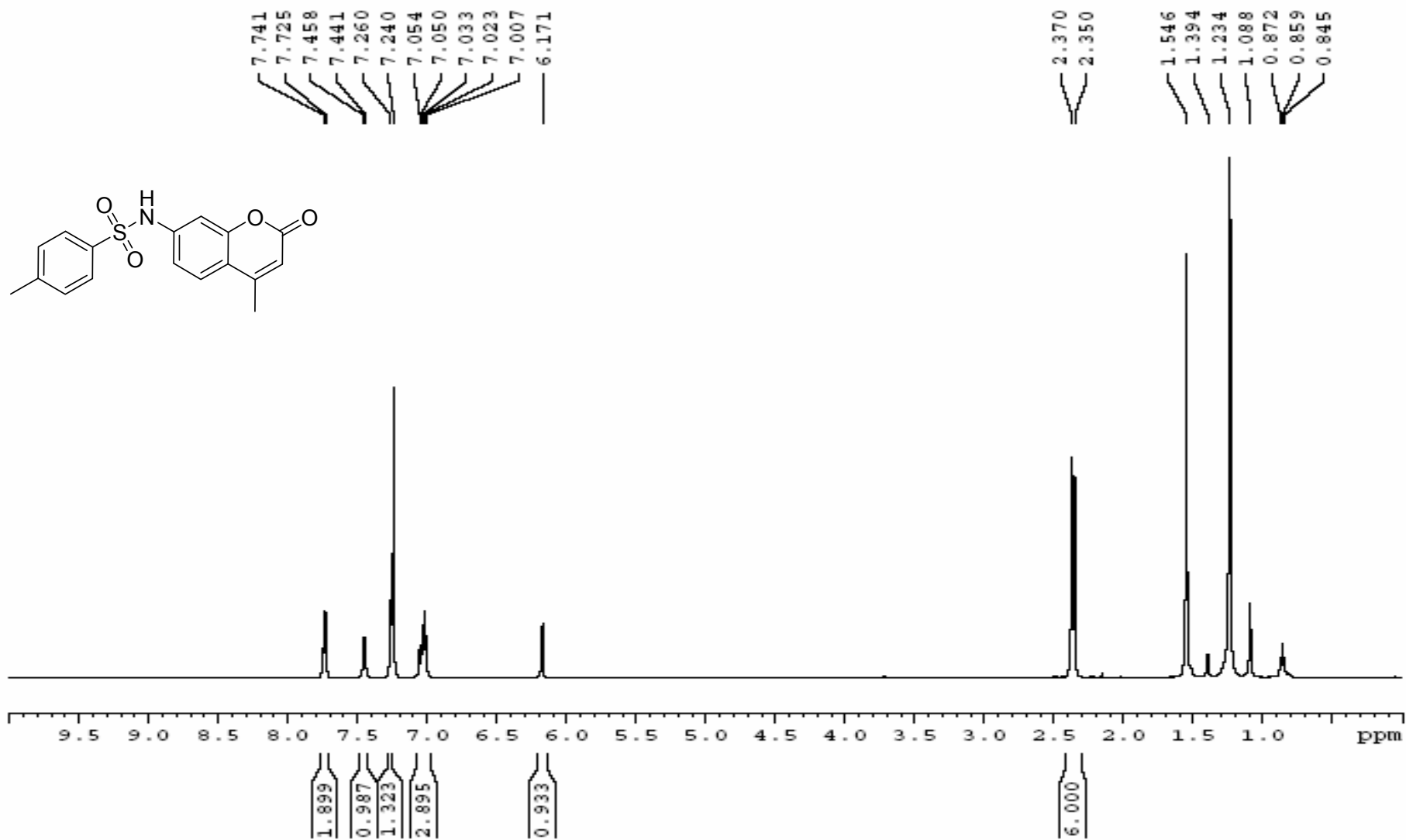
53.053



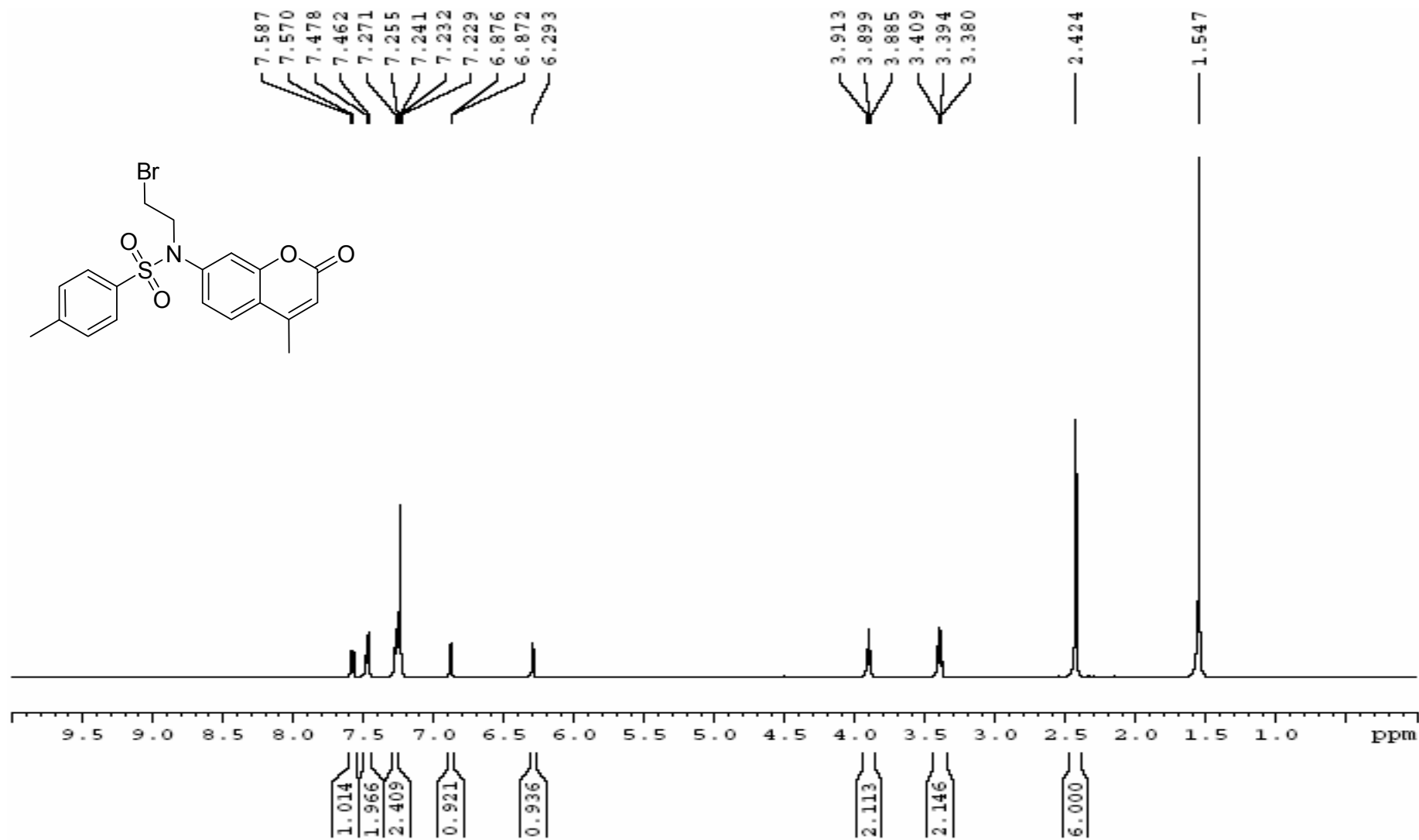
133

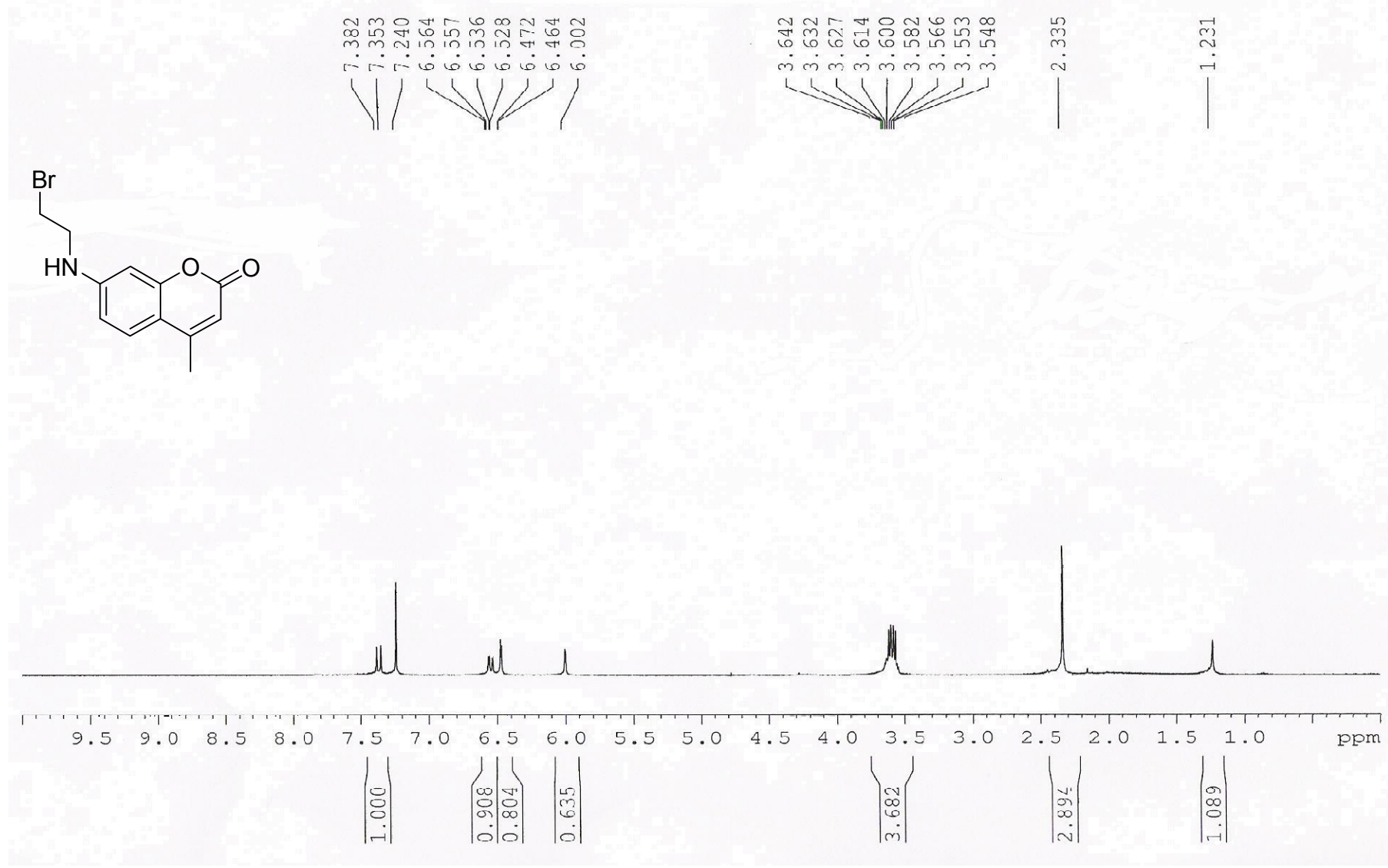


¹H NMR Spectrum of Compound 25

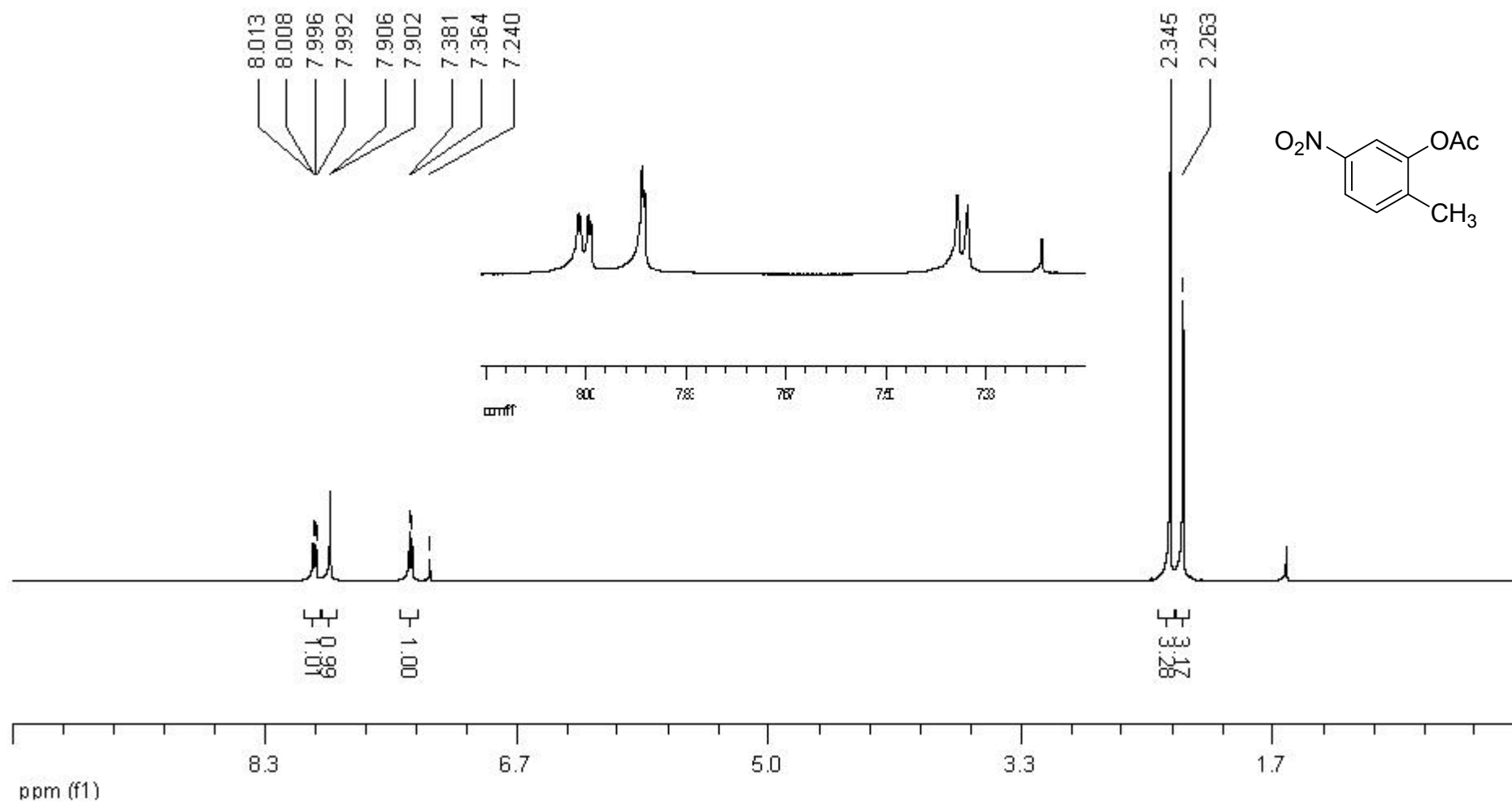


¹H NMR Spectrum of Compound 26

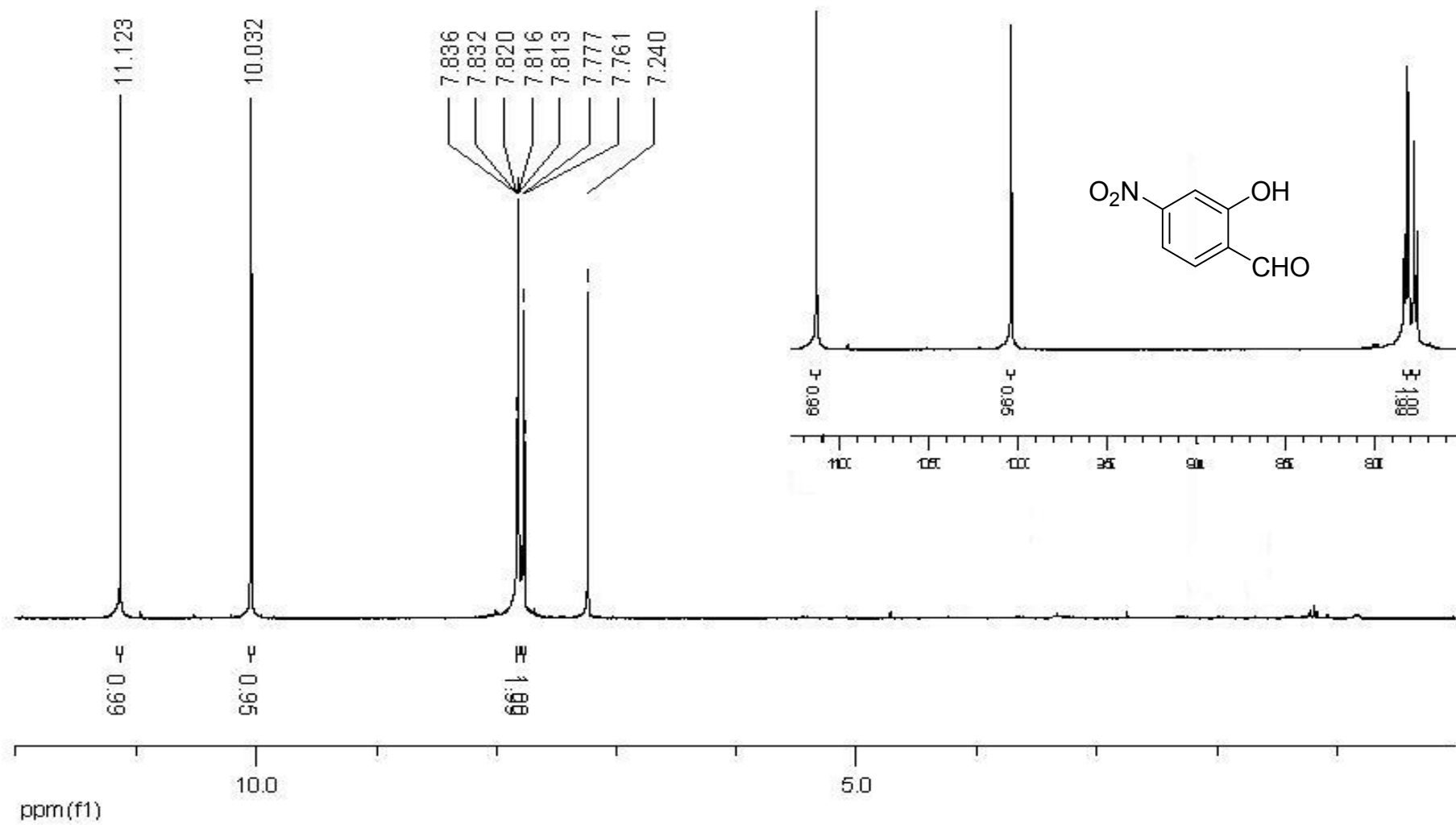


¹H NMR Spectrum of Compound 27

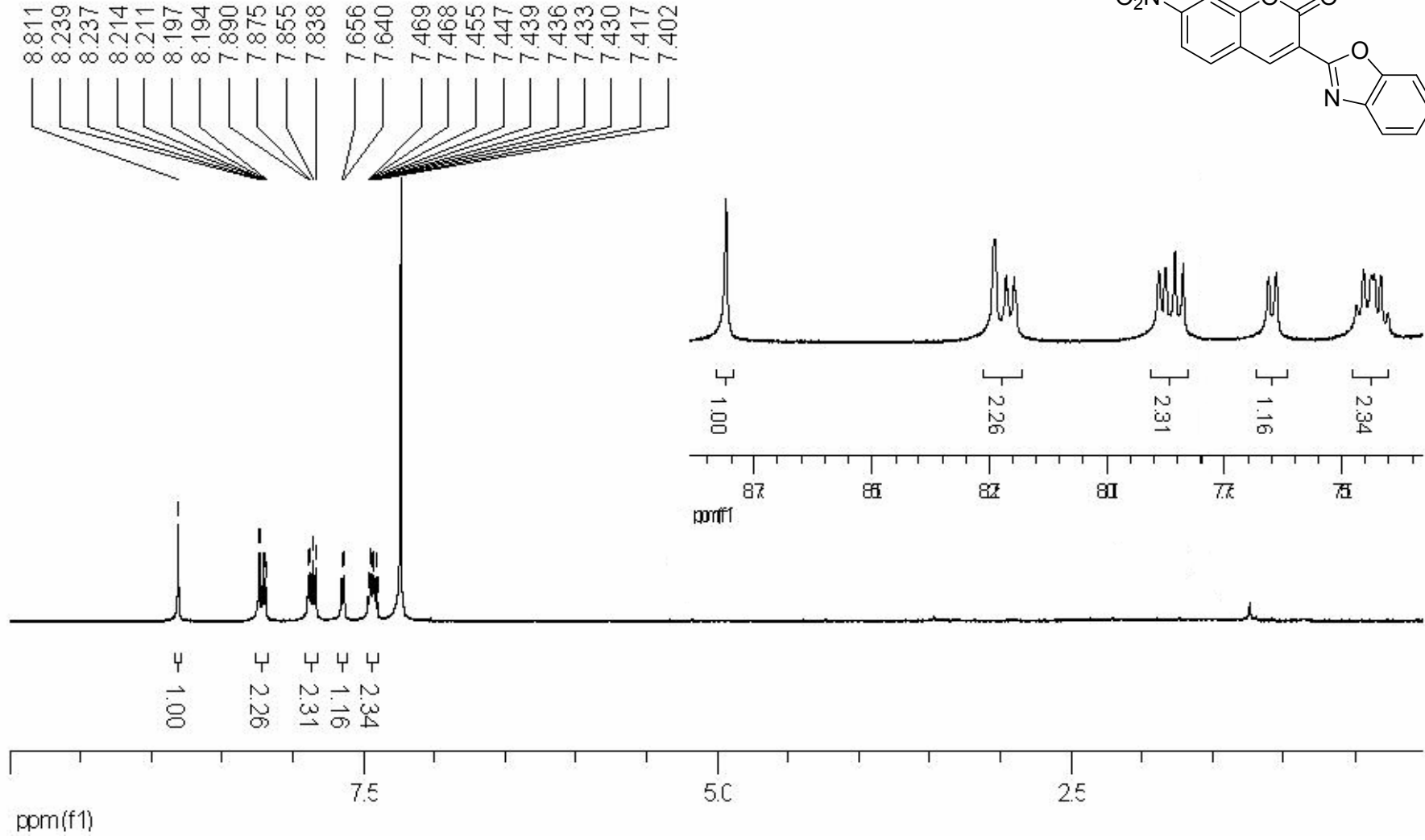
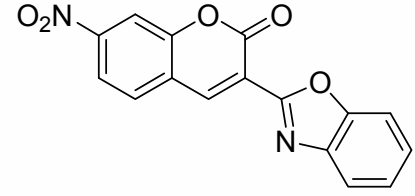
¹H NMR Spectrum of Compound 45



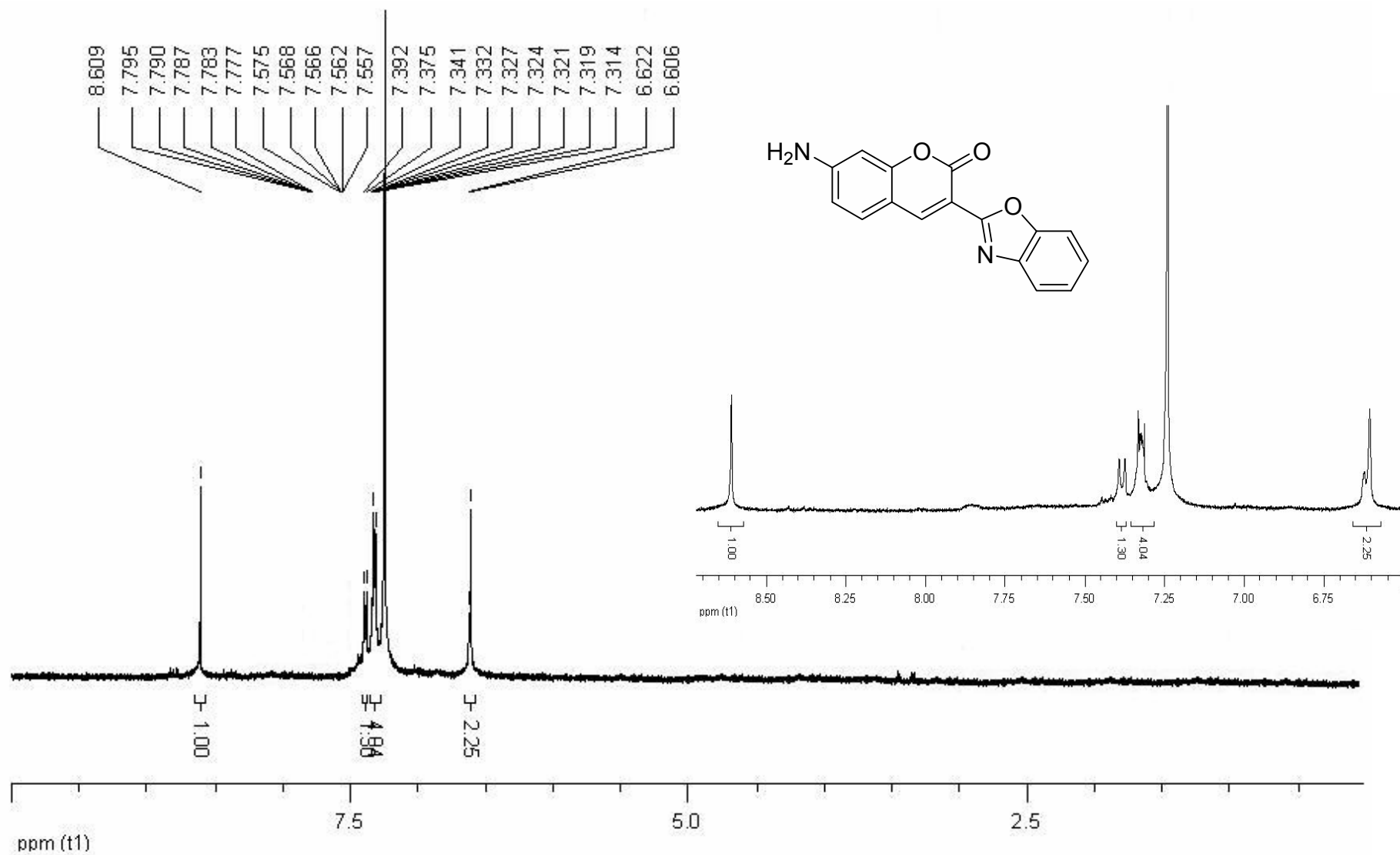
¹H NMR Spectrum of Compound 47



¹H NMR Spectrum of Compound 48



¹H NMR Spectrum of Compound 49

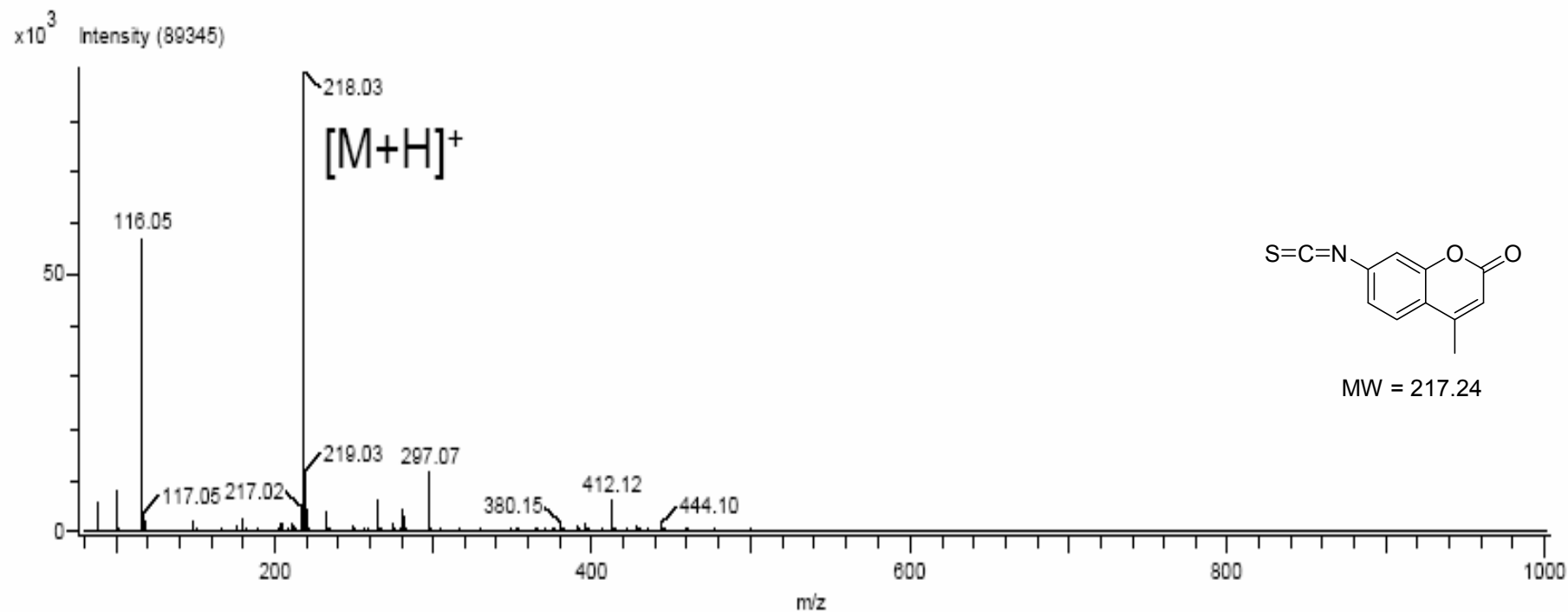


Ε.3. ΦΑΣΜΑΤΑ ΜΑΖΑΣ

Φάσμα μάζας DART της ένωσης **19**

Average(MS[1] Time:0.16..0.17)-1.0*Average(MS[1] Time:0.... Acq. Data Name: 20090328-005

External Sample Id: K-1 at 250C



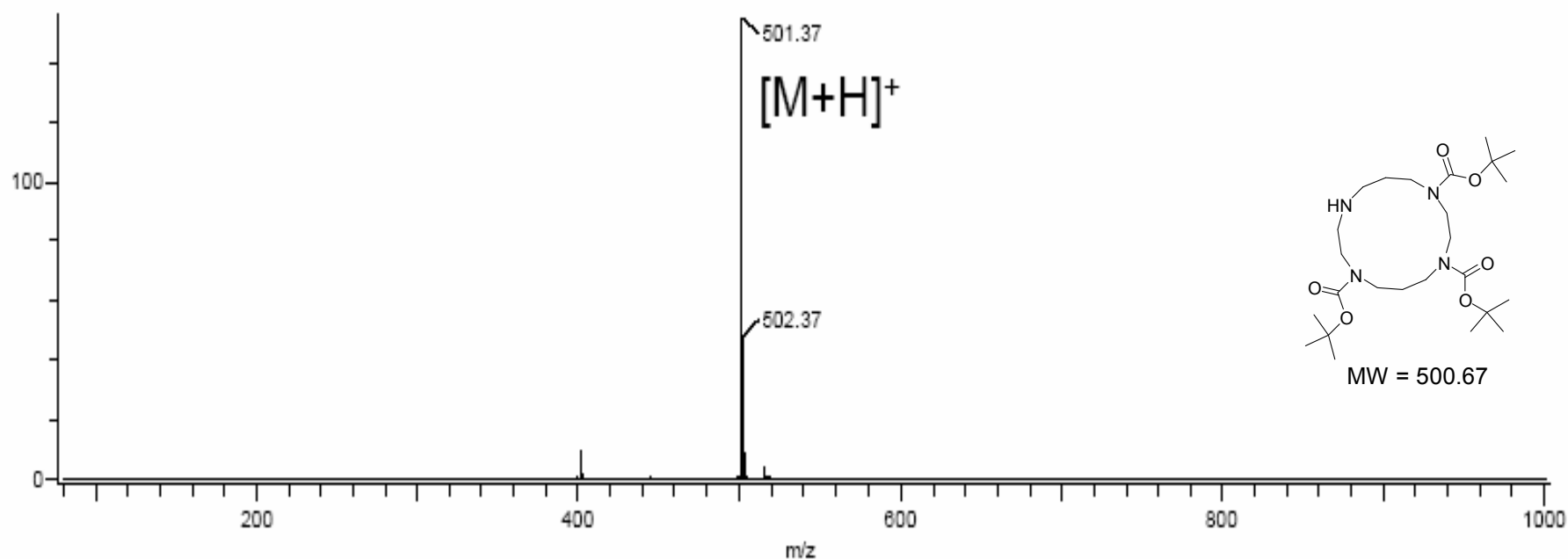
Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
218.02725	277060.25	218.02757	-0.32	-1.49	12C11 1H8 14N 16O2 32S	9.5

Φάσμα μάζας DART της ένωσης 22

Average(MS[1] Time:0.29..0.31)-1.0*Average(MS[1] Time:0.... Acq. Data Name: 20090326-007

External Sample Id: K-3 at 250C

$\times 10^3$ Intensity (154760)

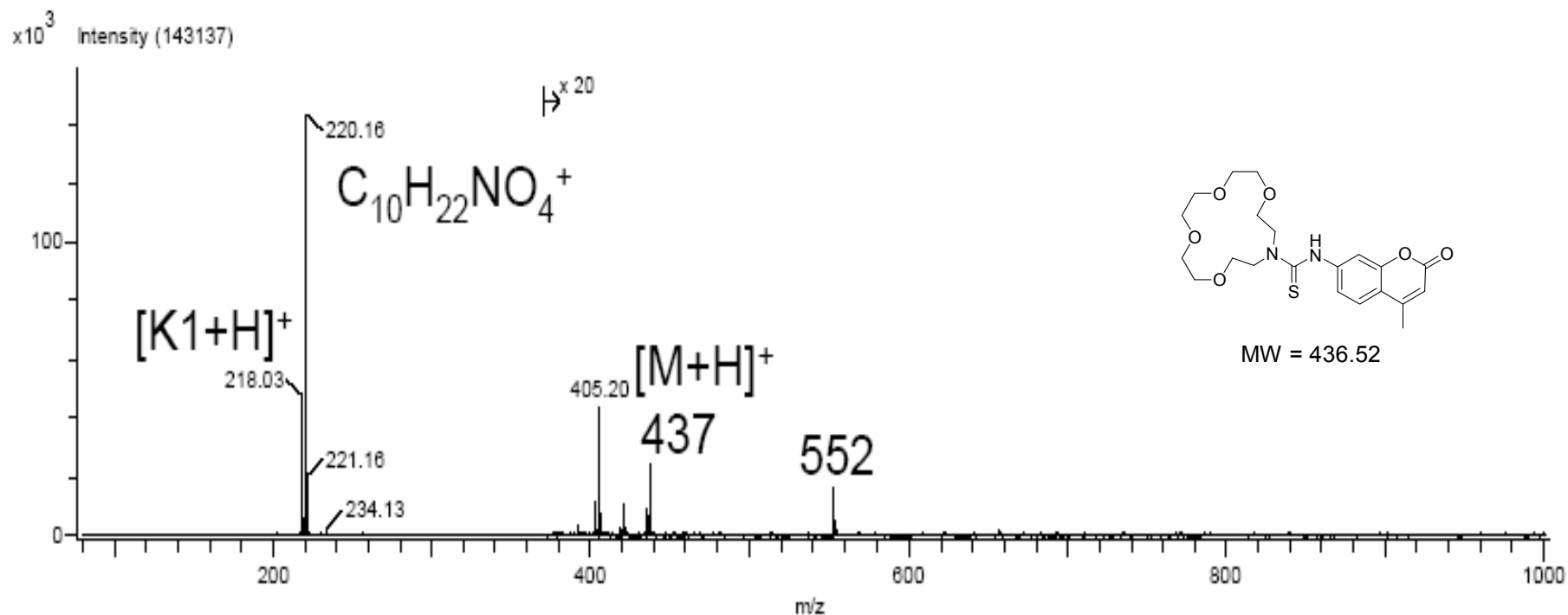


Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
501.36584	634931.71	501.36521	0.63	1.26	12C25 1H49 14N4 16O6	3.5

Φάσμα μάζας DART της ένωσης 18

Average(MS[1] Time:0.63..0.67)-1.0*Average(MS[1] Time:0.... Acq. Data Name: 20090328-008

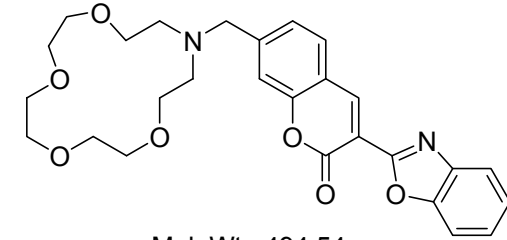
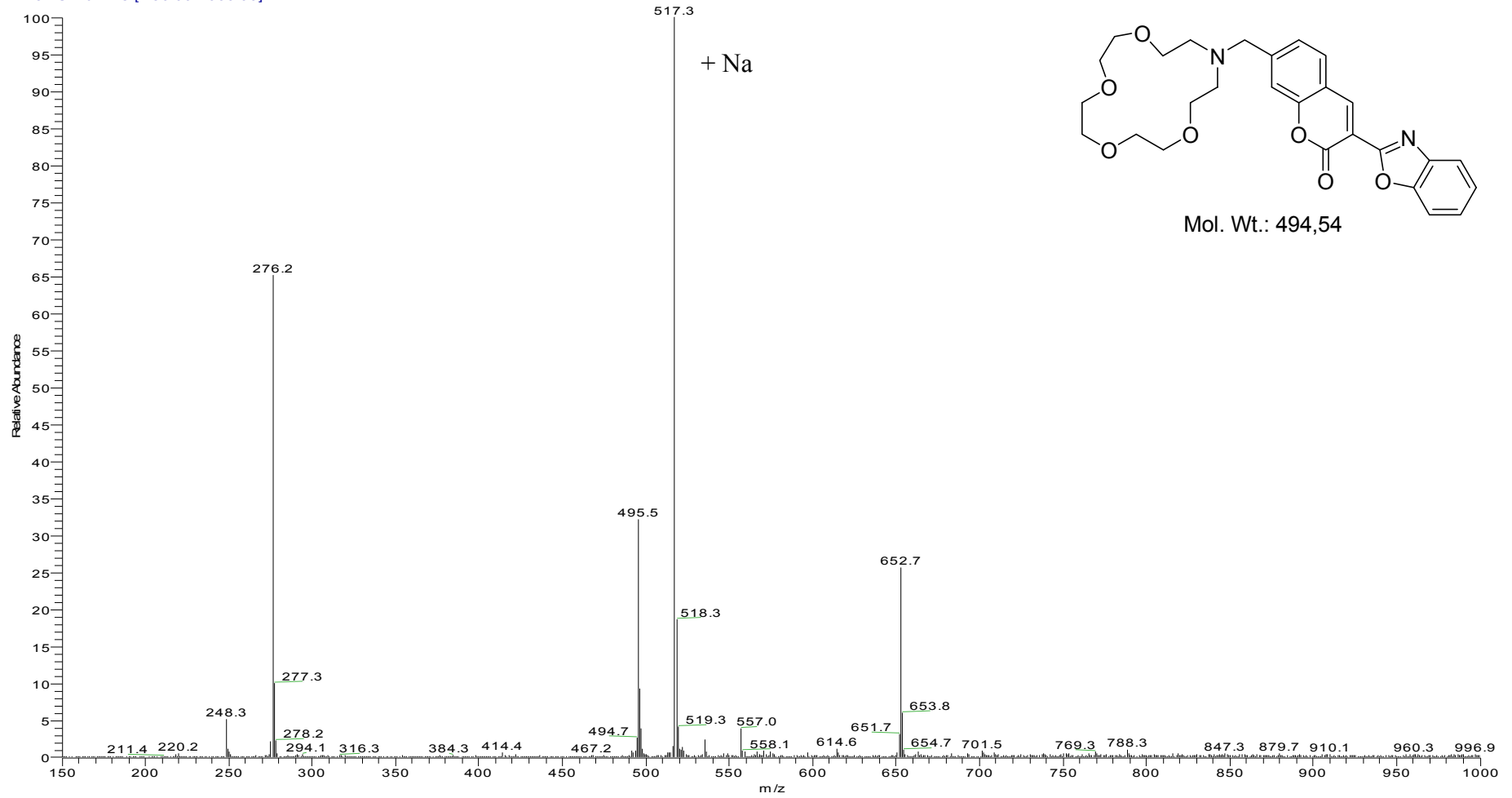
External Sample Id: K-4 at 250C



Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
		437.17463	2.04	4.66	12C21 1H29 14N2 16O6 32S	9.5

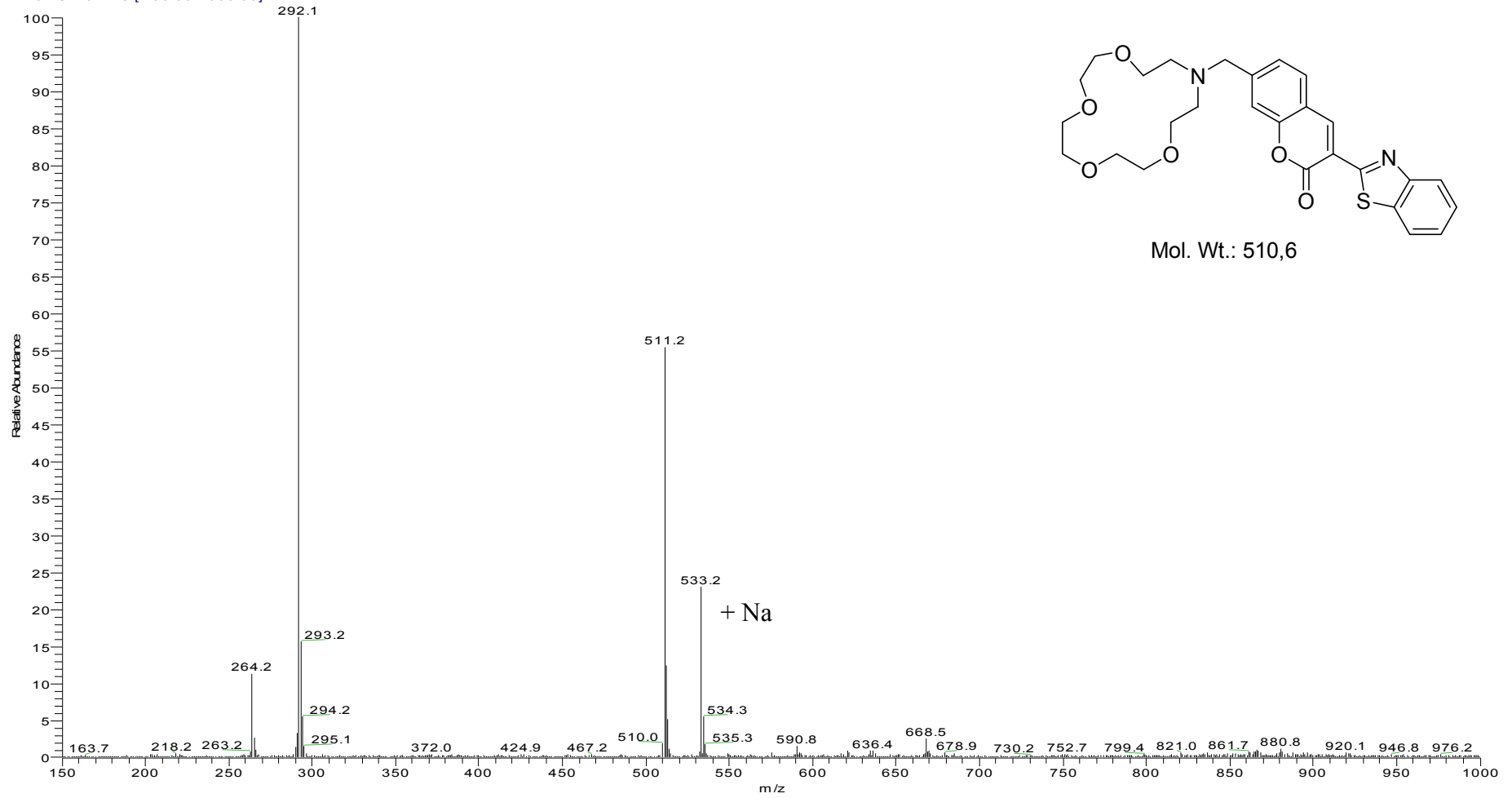
Φάσμα μάζας της ένωσης 10

No3 #9-24 RT: 0.12-0.34 AV: 16 NL: 5.42E7
T: + c ESI Full ms [150.00-1000.00]



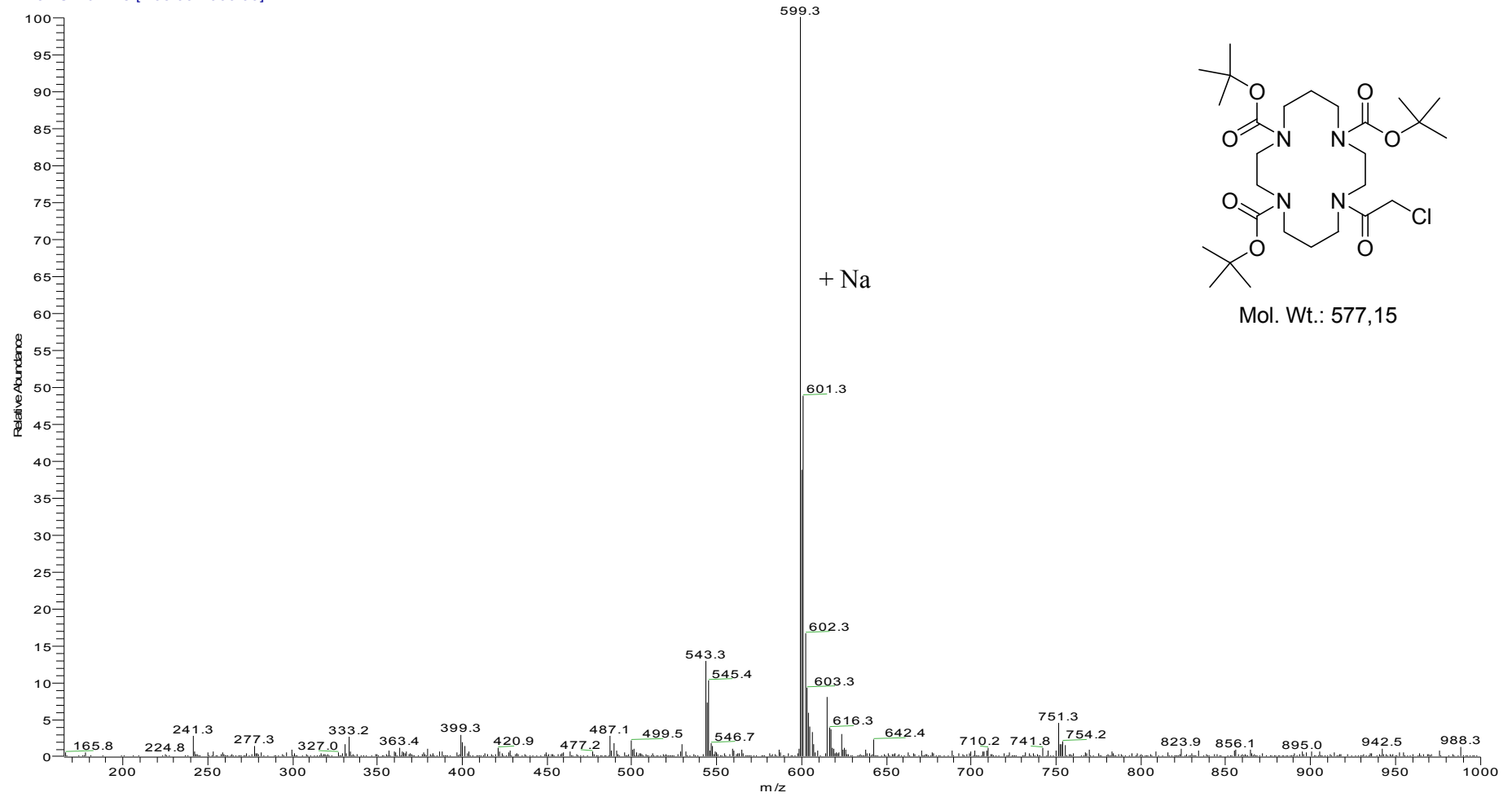
Φάσμα μάζας της ένωσης 9

No2 #7-23 RT: 0.09-0.33 AV: 17 NL: 2.72E7
T: + c ESI Full ms [150.00-1000.00]



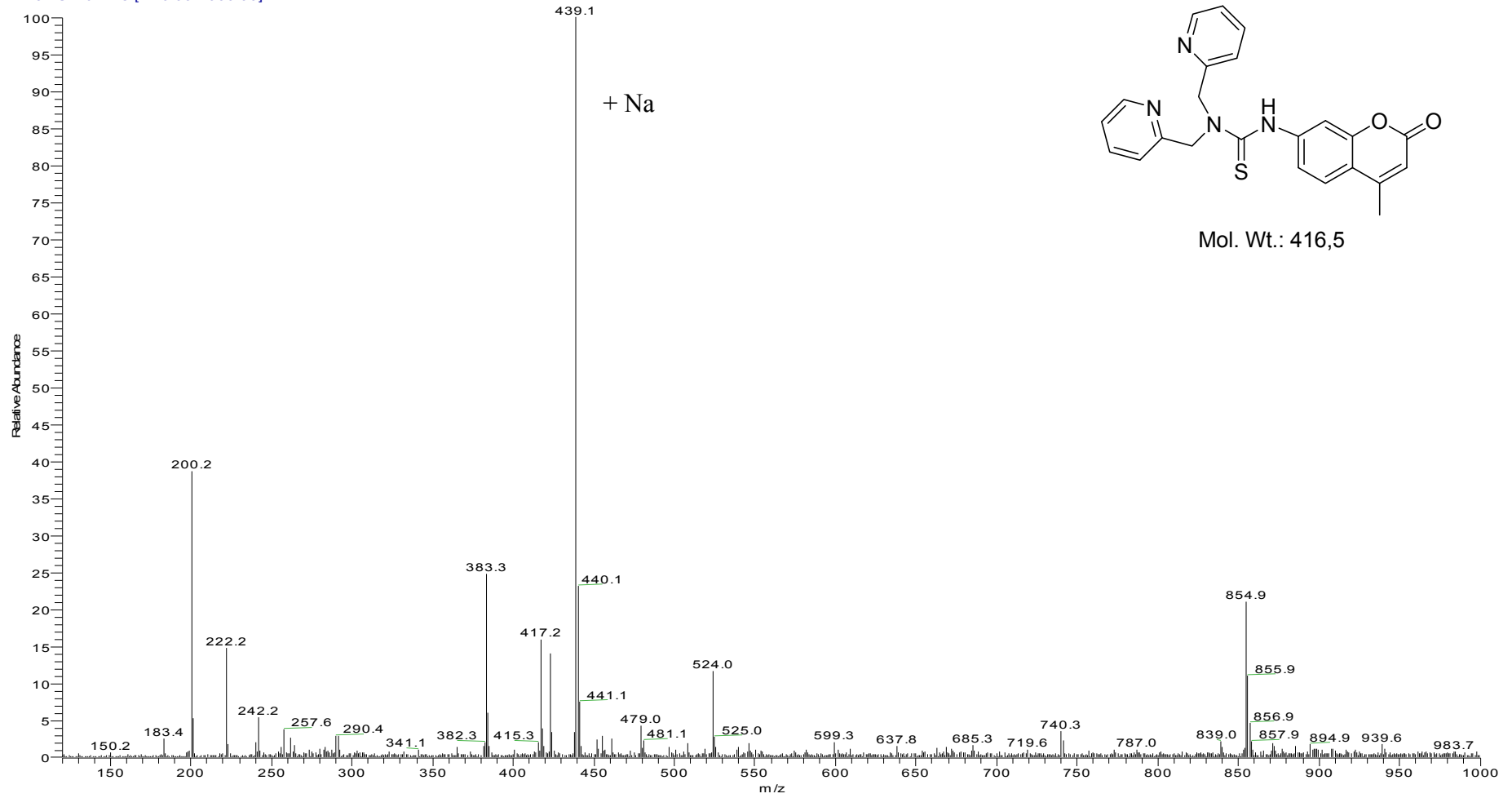
Φάσμα μάζας της ένωσης 32

No4 #132 RT: 2.56 AV: 1 NL: 4.87E7
T: + c ESI Full ms [165.00-1000.00]



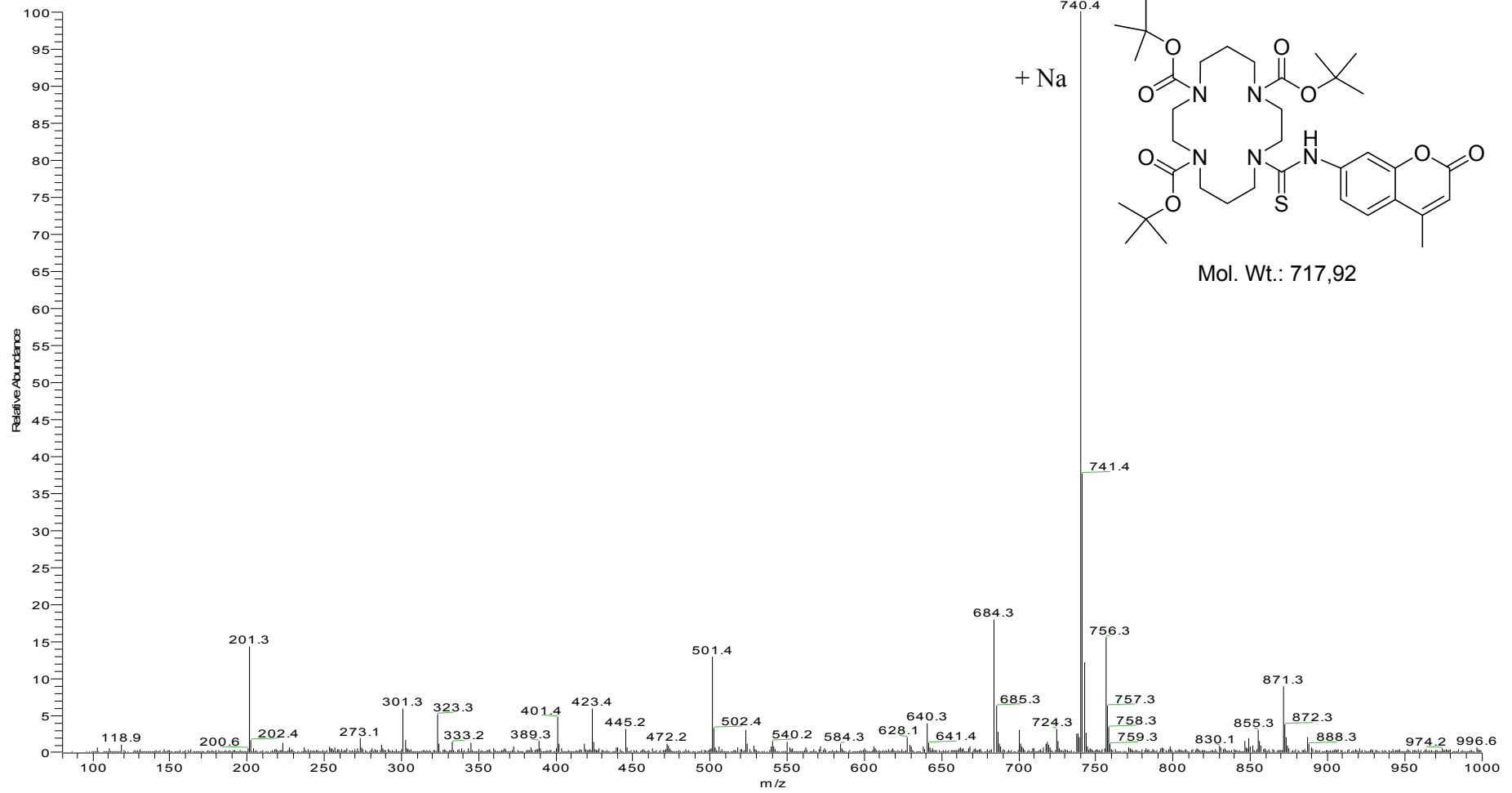
Φάσμα μάζας της ένωσης 41

No5_090408145545 #92-108 RT: 1.85-2.10 AV: 17 NL: 1.06E7
T: + c ESI Full ms [120.00-1000.00]



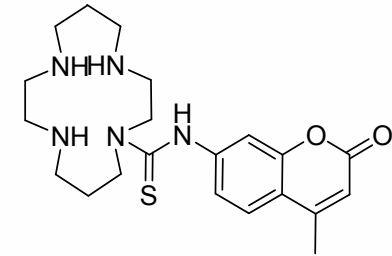
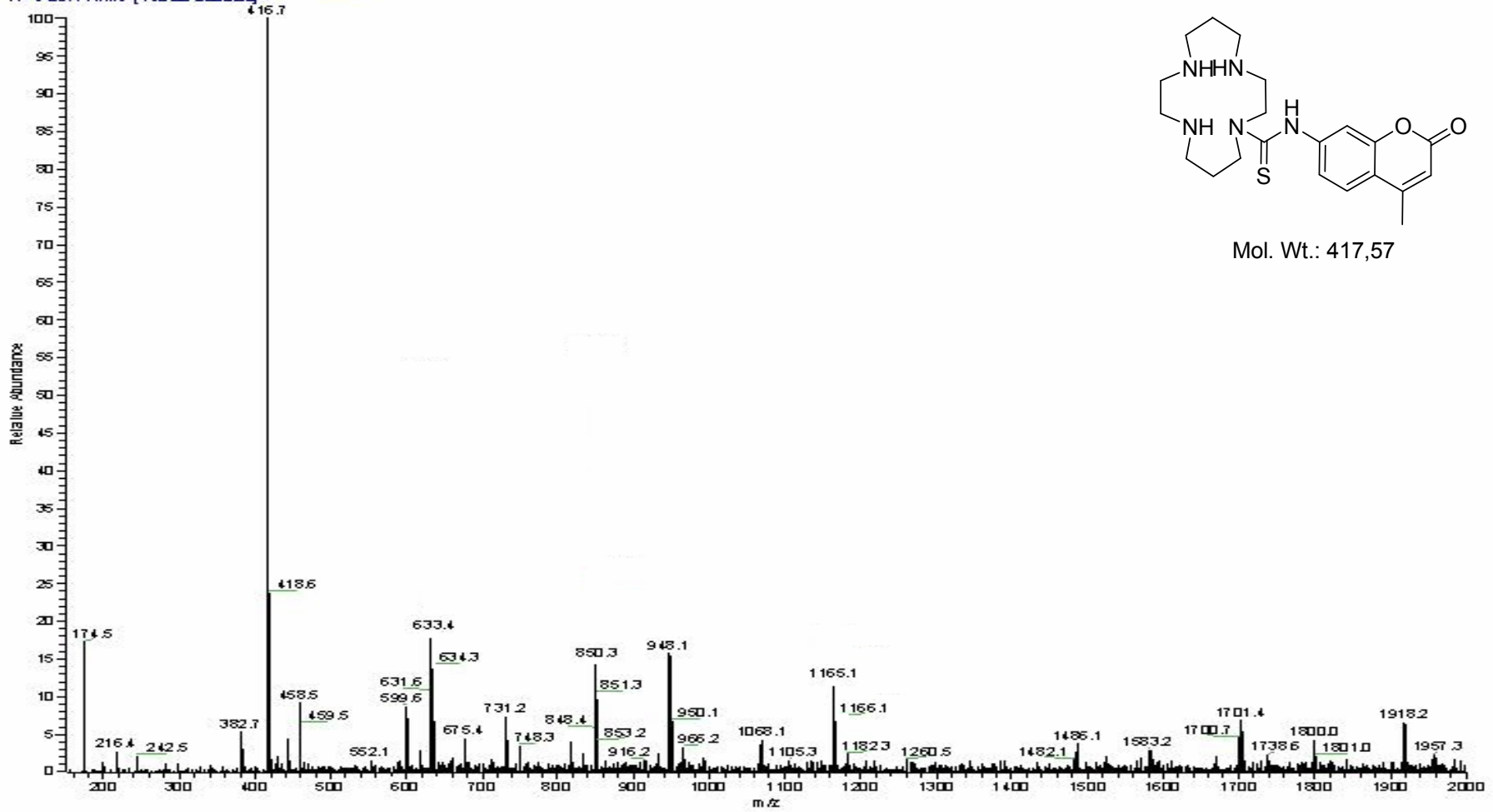
Φάσμα μάζας της ένωσης 23

No6 #2-14 RT: 0.02-0.21 AV: 13 NL: 2.27E7
T: + c ESI Full ms [80.00-1000.00]



Φάσμα μάζας της ένωσης 20

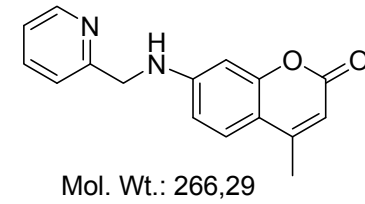
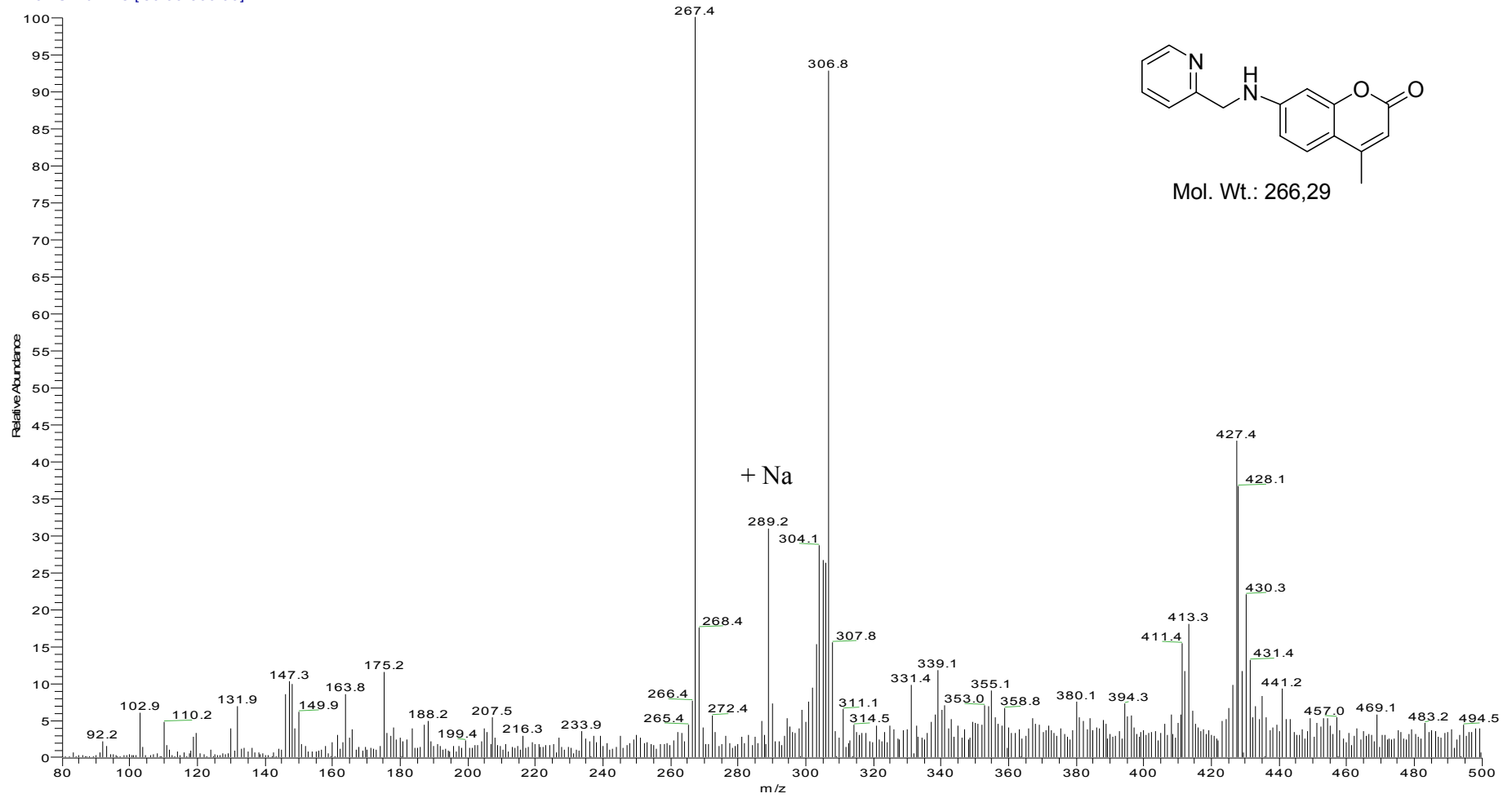
File: 01 #7-16 RT: 0.17-0.42 AU: 10 NL: 251E5
T: -c ESI Full MS [150.00-2000.00]



Mol. Wt.: 417,57

Φάσμα μάζας της ένωσης 43

No7 #29-107 RT: 0.33-1.21 AV: 79 NL: 1.44E6
T: + c ESI Full ms [80.00-500.00]



BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- ¹ Duffus, J. H., *Pure Appl. Chem.*, **74**, 2002, 793.
- ² Socolow, R.; Andrews, C.; Berkhout, F.; Thomas, V., *Industrial Ecology and Global Change*, Cambridge University Press, 1997.
- ³ National Research Council (U.S.). Committee on Biologic Effects of Atmospheric Pollutants, *Lead; airborne lead in perspective*, National Academy of Sciences, 1972.
- ⁴ Lichtenberg, J. J., *Chemical and biological characterization of municipal sludges, sediments, dredge spoils, and drilling muds*, ASTM International, 1988.
- ⁵ Sadler, M. J.; Strain, J. J.; Caballero, B., *Encyclopedia of human nutrition*, Academic Press, 1999.
- ⁶ Anastassopoulou, J.; Collery, P.; Étienne, J.-C., *Metal ions in biology and medicine: proceedings of the Second International Symposium on Metal Ions in Biology and Medicine held in Club Poseidon, Loutraki (Greece) on May 18-22, 1992*, John Libbey Eurotext, 1992.
- ⁷ Water treatment & Air Purification systems. <http://www.lenntech.com> (accessed Feb. 2005).
- ⁸ Fergusson, J. E. In *The Heavy Elements: Chemistry, Environmental Impact and Health Effects*; Pergamon Press: Oxford, 1990.
- ⁹ Hammond, P. B.; Foulkes, E. C. In *Metal Ions in Biology*; Siegel, H., Ed.; Marcel Dekker: New York, 1986; Vol. 20, pp 177-182.
- ¹⁰ Vahter, M.; Berglund, M.; Akesson, A.; Liden, C., *Environ. Res.*, **88**, 2002, 145.
- ¹¹ Sato, K.; Kusaka, Y.; Okada, K., *Toxicol. Lett.*, **80**, 1995, 161.
- ¹² Bay of Fundy Ecosystem Partnership. http://www.bofep.org/heavy_metals.htm (accessed Feb. 2005).
- ¹³ Kaim, W.; Schwederski, B., *Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in the Chemistry of Life, An Introduction and Guide*, 1st ed., John Wiley, West Sussex (1994)
- ¹⁴ Vallee, B. L.; Falchuk, K. H., *Physiol. Rev.*, **73**, 1993, 79.
- ¹⁵ White, L. D.; Cory-Slechta, D. A.; Gilbert, M. E.; Tiffany-Castiglioni, E.; Zawia, N. H.; Virgolini, M.; Rossi-George, A.; Lasley, S. M.; Qian, Y. C.; Riyaz Basha, Md., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **225**, 2007, 1.
- ¹⁶ Kimura, E.; Koike, T., *Chem. Soc. Rev.*, **27**, 1998, 179.
- ¹⁷ a) Fillaut, J.-L.; Andries, J.; Daman Marwaha, R.; Lanoe, P.-H.; Lohio, O.; Toupet, L.; Gareth Williams, J. A., *J. Organomet. Chem.*, **693**, 2008, 228. b) Basheer, M. C.; Alex, S.; George Thomas, K.; Suresh, C. H.; Das, S., *Tetrahedron*, **62**, 2006, 605. c) Valente, J. V.; Buntine, M. A.; Lincoln, S. F.; Ward, A. D., *Inorg. Chim. Acta*, **360**, 2007, 3380.
- ¹⁸ Ngu-Schwemlein, M.; Gilbert, W.; Askew, K.; Schwemlein, S., *Bioorg. Med. Chem.*, **16**, 2008, 5778.
- ¹⁹ a) Kim, S. H.; Choi, J. K.; Kim, S. K.; Sim, W.; Kim, J. S., *Tetrahedron. Lett.*, **47**, 2006, 3737. b) Liu, J.-M.; Bu, J.-H.; Zheng, Q.-Y.; Chen, C.-F.; Huang, Z.-T., *Tetrahedron. Lett.*, **47**, 2006, 1905.
- ²⁰ a) Hayashita, T.; Qing, D.; Minagawa, M.; Lee, J. C.; Kub, C. H.; Teramae, N., *Chem. Commun.*, 2003, 2160. b) Ma, L.-J.; Liu, Y.-F.; Wu, Y., *Chem. Commun.*, 2006, 2702. c) Wu, F.-Y.; Bae, S. W.; Hong, J.-I., *Tetrahedron. Lett.*, **47**, 2006, 8851. d) He, Q.; Miller, E. W.; Wong, A. P.; Chang, C. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 2006, 9316.

-
- ²¹ Domaille, D. W. ; Que, E. L.; Chang, C. J., *Nature Chem. Biol.*, **4**, 2008, 168.
- ²² (a) Basu, N.; Scheuhammer, A.; Grochowina, N.; Klenavic, K.; Evans, D.; O'Brien, M.; Chan, M., *Environ. Sci. Technol.*, **39**, 2005, 3585. (b) Zhang, Z.; Wu, D.; Guo, X.; Qian, X.; Lu, Z.; Zu, Q.; Yang, Y.; Duan, L.; He, Y.; Feng, Z., *Chem. Res. Toxicol.*, **18**, 2005, 1814.
- ²³ (a) Grandjean, P.; Weihe, P.; White, R. F.; Debes, F., *Environ. Res.*, **77**, 1998, , 165. (b) Takeuchi, T.; Morikawa, N.; Matsumoto, H.; Shiraishi, Y., *Acta Neuropathol.*, **2**, 1962, 40. (c) Harada, M., *Crit. Rev. Toxicol.*, **25**, 1995, 1.
- ²⁴ Xie, X. ; Stueben, D.; Berner, Z., *Anal. Lett.*, **38**, 2005, 2281.
- ²⁵ Saarl L. A.; Seltz W. R., *Anal. Chem.*, **55**, 1983, 667.
- ²⁶ Gil C.; Boluda R.; Ramos J., *Chemosphere*, **55**, 2004, 1027.
- ²⁷ Shaw M. J.; Haddad P. R., *Environ. Int.*, **30**, 2004, 403.
- ²⁸ Umland F., "Theorie und Praktische Anwendung von Komplexbildnern", Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt (1971)
- ²⁹ Sandor M.; Geistmann F.; Schuster M.; *Anal. Chim. Acta*, **388**, 1999, 19.
- ³⁰ Hunt A. L.; Alder J. F.; *Anal. Chim. Acta*, **387**, 1999, 207.
- ³¹ Unterreitmaier, E.; Schuster, M., *Anal. Chim. Acta* **309**, 1995, 339.
- ³² Schuster, M.; Unterreitmaier, E., *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **346**, 1993, 630.
- ³³ Czarnik A.W., *Fluorescent Chemosensors for Ion and Molecule Recognition, ACS Symposium, Series 358*, Washington DC, ACS. (1993)
- ³⁴ Katerinopoulos, H. E.; Foukaraki, E., *Curr. Med. Chem.*, **9**, 2002, 275.
- ³⁵ Tsien, R. Y., *Annu. Rev. Neurosci.*, **12**, 1989, 227.
- ³⁶ Grynkiewicz, G.; Poenie, M.; Tsien, R. Y., *J. Biol. Chem.*, **260**, 1985, 3440.
- ³⁷ Katerinopoulos, H. E., *Curr. Pharm. Des.* , **10**, 2004, 3835.
- ³⁸ Atkins, R. L.; Bliss, D. A., *J. Org. Chem.*, **43**, 1978, 1975.
- ³⁹ Liepouri, F.; Foukaraki, E.; Deligeorgiev, T.G.; Katerinopoulos, H.E., *Cell Calcium*, **30**, 2001, 331.
- ⁴⁰ Liepouri, F.; Deligeorgiev, T.G.; Veneti, Z.; Savakis, C.; Katerinopoulos, H.E., *Cell Calcium*, **31**, 2002, 221.
- ⁴¹ Dakanali, M.; Roussakis, E.; Kay, A.R.; Katerinopoulos, H.E., *Tetrahedron Lett.*, **46**, 2005, 4193.
- ⁴² Roussakis, E.; Liepouri, F.; Nifli, A.-P.; Castanas, E.; Deligeorgiev, T.G.; Katerinopoulos, H.E., *Cell Calcium*, **39**, 2006, 3.
- ⁴³ Roussakis, E.; Voutsadaki, S.; Pinakoulaki, E.; Sideris, D.P.; Tokatlidis, K.; Katerinopoulos, H.E., *Cell Calcium*, **44**, 2008, 270.
- ⁴⁴ Roussakis, E.; Pergantis, S.A.; Katerinopoulos, H.E., *Chem. Commun.*, **46**, 2008, 6221.
- ⁴⁵ Kulkarni, A.; Avaji, P. G.; Bagihalli, G. B.; Patil, S. A.; Badami, P. S., *J. Coord. Chem.*, **62**, 2009, 481.
- ⁴⁶ Connor, D. T., *U.S. Patent*, **126,287** (1981).
- ⁴⁷ Rehman, S.U.; Chohan, Z.H.; Gulnazl, F.; Supuran. C.T., *J. Enz. Inhib. Med. Chem.*, **20**, 2005, 333.

-
- ⁴⁸ Laurin, P. ; Ferroud, D. ; Klich, M. ; Dupuis-Hamelin, C. ; Mauvais, P. ; Lassaigne, P. ; Bonnefoy, A. ; Musicki, B., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **9**, 1999, 2079.
- ⁴⁹ Hadjipavlou-Litina, D.; Kontogiorgis, C.; Pontiki, E.; Dakanali, M.; Akoumianaki, A.; Katerinopoulos, H. E., *J. Enzyme Inhib. Med.Chem.*, **22**, 2007, 287.
- ⁵⁰ Hadjipavlou-Litina, D. J.; Litinas, K. E.; Kontogiorgis, C., *Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry*, **6**, 2007, 293.
- ⁵¹ a) Thrones, D.; Daly, L.; Lynch, G.; Browne, H.; Tanner, A.; Keane, F.; O'Loughlin, S.; Corrigan, T.; Daly, P.; Edwards, G., *Eur. J. Surg. Oncol.*, **15**, 1989, 431. b) Omarbasha, B.; Fair, W. R.; Heston, W. D., *Cancer Res.*, **49**, 1989, 3045. c) Raev, L. D.; Voinova, E.; Ivanov, I. C.; Popov, D., *Die Pharmazie*, **45**, 1990, 696. d) Maucher, A., Von Angerer, E., *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **120**, 1994, 502.
- ⁵² Mashraqui, S.H.; Sundaram, S.; Khan, T.; Bhasikuttan, A.C., *Tetrahedron*, **63**, 2007, 11093.
- ⁵³ Mashraqui, S. H.; Sundaram, S.; Bhasikuttan, A. C., *Tetrahedron*, **63**, 2007, 1680.
- ⁵⁴ Bourson, J.; Badaoui, F.; Valeur, B., *J. Fluoresc.*, **4**, 1994, 275-277.
- ⁵⁵ Amendola, V.; Fabbri, L.; Foti, F.; Licchelli, M.; Mangano, C.; Pallavicini, P.; Poggi, A.; Sacchi, D.; Taglietti, A., *Coord. Chem. Reviews*, **250**, 2006, 273.
- ⁵⁶ Khaled, K. F.; Babić-Samardžija, K.; Hackerman, N., *Corros. Sci.*, **48**, 2006, 3014.
- ⁵⁷ Lindoy, L. F., *The Chemistry of Macrocyclic Ligand Complexes*, Cambridge University Press, Cambridge, 1989.
- ⁵⁸ Niu, C.-Y.; Wan, X.-S.; Zheng, X.-F.; Meng, L.-Y.; Zhang, H.-Y.; Yang, R.; Hou, H.-W., *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic and Nano-Metal Chemistry*, **37**, 2007, 97.
- ⁵⁹ Comba, P.; Krämer, R.; Mokhir, A.; Naing, K.; Schatz, E., *Eur. J. Inorg. Chem.*, **21**, 2006, 4442.
- ⁶⁰ Kumar, R. S.; Arunachalam, S.; Periasamy, V. S.; Preethy, C. P.; Riyasdeen, A.; Akbarsha, M. A., *Polyhedron*, **27**, 2008, 1111.
- ⁶¹ Cooke, M. M.; Doeven, E. H.; Hogan, C. F.; Adcock, J. L.; McDermott, G. P.; Conlan, X. A.; Barnett, N. W.; Pfeffer, F. M.; Francis, P. S., *Anal. Chim. Acta*, **635**, 2009, 94.
- ⁶² Niu, S.; Li, F.; Zhang, S.; Wang, L.; Li, X.; Wang, S., *Sensors*, **6**, 2006, 1234.
- ⁶³ Kermak, V.; McKeil, D., *Heterocyclic Compounds*, Elderfield, R. C., Ed., New York: Wiley, 1960, vol.7
- ⁶⁴ Haugland, R. P., *Molecular Probes; Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals*, 9th Edition 2002.
- ⁶⁵ Boghaei, D. M.; Asl, F. B., *J. Coord. Chem.*, **60**, 2007, 1629.
- ⁶⁶ Zhaochao, X.; Xuhong, Q.; Jingnan, C.; Rong, Z., *Tetrahedron*, **62**, 2006, 10117.
- ⁶⁷ Henary, M. M.; Wu, Y.; Fahrni, C. J., *Chem. Eur. J.*, **10**, 2004, 3015.
- ⁶⁸ Walkup, G. K.; Burdette, S. C.; Lippard, S. J.; Tsien, R. Y., *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 2000, 5644.
- ⁶⁹ Maruyama, S.; Kikuchi, K.; Hirano, T.; Urano, Y.; Nagano, T., *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 2002, 10650.
- ⁷⁰ Burdette, S. C.; Frederickson, C. J.; Bu, W.; Lippard, S. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 2003, 1778.
- ⁷¹ Luo, H. Y.; Zhang, X. B.; He, C. L.; Shen, G. L.; Yu, R. Q., *Spectrochim. Acta, Part A*, **70**, 2008, 337.

-
- ⁷² Valeur B, Leray I., *Coord. Chem. Rev.*, **205**, 2000, 3.
- ⁷³ Iatridou, H.; Foukaraki, E.; Kuhn, M. A.; Marcus, E. M.; Haugland, R. P.; Katerinopoulos H.E., *Cell Calcium*, **15**, 1994, 190.
- ⁷⁴ Chang, C. J.; Nolan, E. M.; Jaworski, J.; Okamoto, K-I.; Hayashi. Y.; Sheng, M.; and Lippard, S. J., *Inorg. Chem.*, **43**, 2004, 6774.
- ⁷⁵ Podgoršek, A.; Stavber, S.; Zupan, M.; Iskra, J., *Tetrahedron Lett.*; **47**; 2006; 1097-1099
- ⁷⁶ Hill, B.; Liu, Y.; Taylor, S. D., *Org. Lett.*, **6**, 2004, 4285.
- ⁷⁷ Salameh, B. A.; Sundin, A.; Leffler, H.; Nilsson, U. J., *Biorg. Medic. Chem.*; **14**; 2006; 1215-1220.
- ⁷⁸ Yang, W.; Giandomenico, C. M.; Sartori, M.; Moore, D. A., *Tetrahedron Lett.*, **44**, 2003, 2481.
- ⁷⁹ Weygand, F.; Swodenk, W., *Chem Ber.*, **90**, 1957, 639.
- ⁸⁰ Weygand, F.; Frauendorfer, E., *Chem Ber.*, **103**, 1970, 2437.
- ⁸¹ Halfen, J. A.; Young, V. G. Jr., *Chem. Commun.*, 2003, 2894.
- ⁸² Bergeron, R. J.; McManis, J. S., *J. Org. Chem.*, **53**, 1988, 3108.
- ⁸³ Li, C.; Wong, W.-T., *Tetrahedron*, **60**, 2004, 5595.
- ⁸⁴ Greene, T. G.; Wuts, P. G. M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2nd Edition, Wiley-Interscience, New York, p.p. 353-354.
- ⁸⁵ Mizukami, S.; Nagano, T.; Urano, Y.; Odani, A.; Kikuchi, K., *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 2002, 3920.
- ⁸⁶ Khimich, N. N.; Obrezkov, N. P.; Koptelova, L. A., *Russ. J. Org. Chem.*; **42**, 2006, 555.
- ⁸⁷ Buchwald, S. L.; Mauger, C.; Mignani, G.; Scholze, U., *Adv. Synth. Catal.*, **348**, 2006, 23.
- ⁸⁸ Bhanushali, M. J.; Nandurkar, N. S.; Bhor, M. D.; Bhanage, B. M., *J. Mol. Catal. A: Chemica*, **259**, 2006, 46.
- ⁸⁹ Gajare, A. S.; Toyota, K.; Yoshifuji, M.; Ozawa, F., *J. Org. Chem.*, **69**, 2004, 6504.
- ⁹⁰ Marion, N.; Navarro, O.; Mei, J.; Stevens, E. D.; Scott, N. M.; Nolan, S. P., *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 2006, 4101.
- ⁹¹ Navarro, O.; Marion, N.; Mei, J.; Nolan, S. P., *Chem. Eur. J.*, **12**, 2006, 5142.
- ⁹² Torisawa, Y.; Nishi, T.; Minamikawa, J-I., *Bioorg. Med. Chem.*, **10**, 2002, 4023.
- ⁹³ Bolm, C.; Frison, J-C.; Le Paih, J.; Moessner, C.; Raabe, G., *J. Organomet. Chem.*, **689**, 2004, 3767.
- ⁹⁴ Glennon, R. A.; McKenney, J. D.; Lyon, R. A.; Titelert, M., *J. Med. Chem.*, **29**, 1986, 194.
- ⁹⁵ Hansena, T. V.; Skattebøl, L., *Tetrahedron. Lett.*, **46**, 2005, 3357.
- ⁹⁶ Hofsløkken, N. U.; Skattebøl, L., *Acta Chem. Scand.*, **53**, 1999, 258.
- ⁹⁷ Kuhn, M.; Haugland, R. P.; Hoyland, B. M., United States Patent, **5,648,270** (1997)
- ⁹⁸ Tyson, D. S.; Luman, C. R.; Zhou, X.; Castellano, F. N., *Inorg. Chem.*, **40**, 2001, 4063.
- ⁹⁹ Slim, M.; Sleiman, H. F., *Bioconjugate Chem.*, **15**, 2004, 949.
- ¹⁰⁰ Lenaerts, P.; Driesen, K.; Van Deun, R.; Binnemans, K., *Chem. Mater.*, **17**, 2005, 2148.
- ¹⁰¹ Trammell, S. A.; Goldston, Jr., H. M.; Tran, P. T.; Tender, L. M., *Bioconjugate Chem.*, **12**, 2001, 643.

-
- ¹⁰² Lin, S-T; Yang, F-M; Yang, H-J, Huang, K-F, *J. Chem. Research*, **9**, 1995, 372.
- ¹⁰³ Berberan-Santos M. N., *PhysChemComm.*, **5**, 2000, 18.
- ¹⁰⁴ Βουτσαδάκη Σ., Master Thesis, Αρχαία Βιβλιοθήκης Πανεπιστημίου Κρήτης, 2007.
- ¹⁰⁵ Morlock, G. G.; Ueda, Y., *J. Chromatogr. A*, **1143**, 2007, 243.