

**<<ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ
ΜΙΑΣ ΝΕΑΣ ΣΕΙΡΑΣ ΚΑΤΙΟΝΙΚΩΝ ΠΟΡΦΥΡΙΝΩΝ,
ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥΣ ΜΕ ΤΟ DNA>>**

ΓΡΥΛΛΟΣ ΛΕΩΝΙΔΑΣ

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ : κ. ΑΘ. ΚΟΥΤΣΟΛΕΛΟΣ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ**

**ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ ΤΟΥ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ ΕΠΕΑΕΚ
<<ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ
ΜΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ>>**

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1-ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1.	ΓΕΝΙΚΑ.....	1
1.2.	ΟΙ ΠΟΡΦΥΡΙΝΕΣ.....	2
1.3.	ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΜΕΤΑΛΛΟΠΟΡΦΥΡΙΝΩΝ.....	4
1.3.1.	ΑΙΜΟΠΡΩΤΕΙΝΕΣ.....	4
1.3.2.	ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗ.....	5
1.3.3.	ΚΥΤΟΧΡΩΜΑΤΑ.....	6
1.4.	ΚΑΤΙΟΝΙΚΕΣ ΠΟΡΦΥΡΙΝΕΣ.....	7
1.5.	ΛΑΝΘΑΝΙΔΕΣ.....	
..	8 1.6. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	10
1.7.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	11

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2-ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΤΙΟΝΙΚΩΝ ΠΟΡΦΥΡΙΝΩΝ

2.1.	ΓΕΝΙΚΑ.....	13
2.2.	ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΚΑΤΙΟΝΙΚΩΝ ΠΟΡΦΥΡΙΝΩΝ	14
2.2.1.	ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΚΑΤΕΣΤΗΜΕΝΩΝ ΒΕΝΖΑΛΔΕΥΔΩΝ.....	14
2.2.2.	ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΗΣ ΠΟΡΦΥΡΙΝΗΣ	15
2.2.3.	ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΟΞΕΟΣ ΤΗΣ N-ΜΕΘΥΛ-4-ΠΥΡΙΔΙΝΙΟΥΜ- ΠΟΡΦΥΡΙΝΗΣ..... 17	
2.2.4.	ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΥΔΡΟΞΑΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΤΗΣ ΠΟΡΦΥΡΙΝΗΣ.....	18
2.2.5.	ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΜΕΘΥΛΙΩΣΗΣ.....	20
2.3.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	21

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3-ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ-ΟΡΑΤΟΥ

3.1.	ΓΕΝΙΚΑ.....	22
3.2.	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ.....	25
3.2.1.	ΠΟΡΦΥΡΙΝΕΣ ΤΗΣ ΣΕΙΡΑΣ C4-πάρα.....	25
3.2.2.	ΠΟΡΦΥΡΙΝΕΣ ΤΗΣ ΣΕΙΡΑΣ C4-όρθο, μετά.....	26
3.2.3.	ΠΟΡΦΥΡΙΝΕΣ ΤΗΣ ΣΕΙΡΑΣ C4-όρθο,μέτα.....	27
3.2.4.	ΠΟΡΦΥΡΙΝΕΣ ΤΗΣ ΣΕΙΡΑΣ C5-όρθο,μέτα.....	28
3.3.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	29
3.4.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	34

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4-ΔΟΝΗΤΙΚΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ

3.1.	ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	35
4.2.	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	36
4.3.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	38
4.4.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	40

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5-ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ

5.1.	ΓΕΝΙΚΑ.....	41
5.2.	ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ.....	42
5.3.	ΡΕΥΜΑ ΠΟΡΦΥΡΙΝΙΚΟΥ ΔΑΚΤΥΛΙΟΥ.....	43
5.4.	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	44
5.5.	ΠΟΡΦΥΡΙΝΕΣ ΤΗΣ ΣΕΙΡΑΣ C4-πάρα.....	45
2.2.	ΠΟΡΦΥΡΙΝΕΣ ΤΗΣ ΣΕΙΡΑΣ C4-όρθο,πάρα.....	57
2.3.	ΠΟΡΦΥΡΙΝΕΣ ΤΗΣ ΣΕΙΡΑΣ C4-όρθο,μέτα,πάρα.....	59
2.4.	ΠΟΡΦΥΡΙΝΕΣ ΤΗΣ ΣΕΙΡΑΣ C5-όρθο,πάρα.....	61
2.5.	ΠΟΡΦΥΡΙΝΕΣ ΤΗΣ ΣΕΙΡΑΣ C5-όρθο,μέτα,πάρα.....	62
3.	ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ¹ H-NMR.....	62
4.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	65

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6-ΜΕΛΕΤΗ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΤΟΥ DNA ΜΕ ΤΙΣ ΠΟΡΦΥΡΙΝΕΣ ΜΕ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ ΟΡΑΤΟΥ

6.1.	ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ.....	56
6.2.	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΤΩΝ ΖΕΥΓΩΝ ΒΑΣΕΩΝ ΤΟΥ DNA ΣΤΙΣ ΤΙΤΛΟΔΟΤΗΣΕΙΣ.....	57
6.3.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	59

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7-ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΠΟΡΦΥΡΙΝΩΝ-DNA

7.1.	ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	60
7.1.1.	Η Β-ΜΟΡΦΗ.....	61
7.1.2.	Η Α-ΜΟΡΦΗ.....	62
7.1.3.	Η Ζ-ΜΟΡΦΗ.....	63
7.2.	ΤΟΠΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ DNA.....	65
7.2.1.	ΤΡΟΠΟΙ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΠΟΡΦΥΡΙΝΩΝ-DNA.....	66
7.2.2.1	ΠΑΡΕΜΒΟΛΗ.....	66
7.2.1.2	ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΤΜΗΣΗ ΤΟΥ DNA.....	67
7.2.1.3	ΥΔΡΟΛΥΣΗ ΤΩΝ ΦΩΣΦΟΔΙΕΣΤΕΡΙΚΩΝ ΔΕΣΜΩΝ.....	69
7.2.4	ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΔΡΟΛΥΣΗ ΤΟΥ DNA ΑΠΟ ΤΑ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΛΑΝΘΑΝΙΔΩΝ-ΠΟΡΦΥΡΙΝΗΣ.....	69
7.3.	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	71
7.3.1.	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	73
7.3.1.1	ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ MC4PMH.....	73
7.3.1.2	ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ MC3OMDIH.....	74
7.3.1.3	ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ MC50MPMtriA.....	75
7.4	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	76

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....

88

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....

90

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

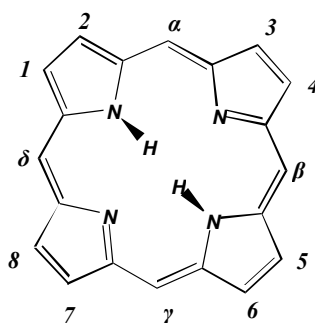
ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΓΕΝΙΚΑ

Τα τελευταία χρόνια οι έρευνες για τον προσδιορισμό νέων φαρμάκων έχουν αλλάξει κατεύθυνση. Δεδομένου ότι ορισμένοι ογκογενείς ιοί παρουσιάζουν αυξημένη αντοχή στις κλασικές φαρμακευτικές θεραπείες, οι έρευνες έχουν μετατοπισθεί σε αλληλεπιδράσεις μορίων απ' ευθείας με το DNA. Τα μόρια αυτά που συντίθενται είναι ικανά να ενώνονται με τα γονίδια και τους ρετροϊούς. Μ' αυτόν τον τρόπο μπορούν να ανακόψουν την περαιτέρω αντιγραφή ή πολλαπλασιασμό του ιού. Τέτοιου είδους μόρια μπορούν να αποτελέσουν μοντέλα τεχνητών νουκλεοτιδίων.

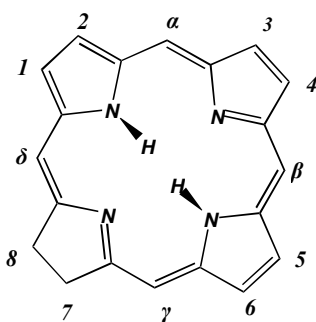
1.2. ΟΙ ΠΟΡΦΥΡΙΝΕΣ

Οι πορφυρίνες είναι κυκλικά συζυγιακά συστήματα αποτελούμενα από τέσσερα πυρρόλια, τα οποία είναι συνδεδεμένα με μεθυλικές γέφυρες. Η βασική μακροκυκλική μονάδα ονομάζεται πορφίνη, (σχήμα 1.2.1) σύμφωνα με την κατά Fisher ονοματολογία, ενώ άλλες παρόμοιες ενώσεις προκύπτουν με την αναγωγή των δεσμών των πυρρολικών δακτυλίων του αρχικού μορίου.

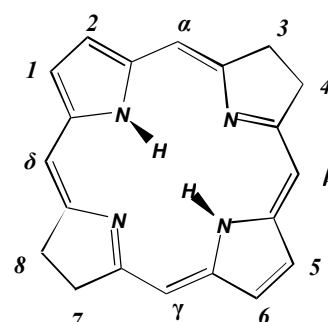


Σχήμα 1.2.1.

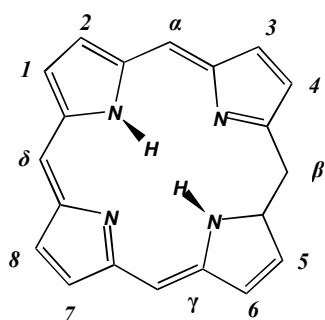
Τέτοιες δομές παρουσιάζονται στο παρακάτω σχήμα όπου στις δύο πρώτες έχουν αναχθεί ένας δεσμός πυρρολικού δακτυλίου, οπότε προκύπτει η χλωρίνη, (σχήμα 1.2.2), και ένας δεσμός δύο απέναντι δακτυλίων, οπότε προκύπτει η βακτηριοχλωρίνη, αντίστοιχα (σχήμα 1.2.3). Ενώ στις επόμενες δύο δομές έχουν αναχθεί, ένας δεσμός μεθυλικής γέφυρας, για το σχηματισμό της φλωρίνης, (σχήμα 1.2.4), είτε και οι τέσσερις δεσμοί γέφυρας, για το σχηματισμό του πορφυρογενούς (σχήμα 1.2.5), αντίστοιχα.



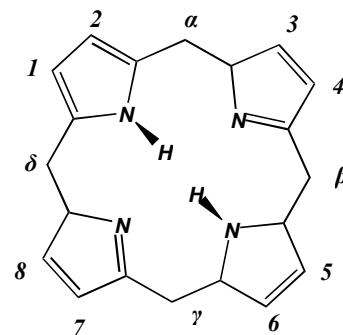
Σχήμα 1.2.2: Χλωρίνη



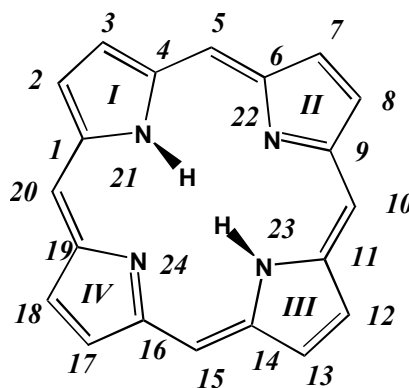
Σχήμα 1.2.3:
Βακτηριοχλωρίνη



Σχήμα 1.2.4: Φλωρίνη

Σχήμα 1.2.5 :
Πορφυρογενές

Μεταγενέστερα, ο Corwin χρησιμοποίησε τον όρο πορφυρίνη στην προσπάθεια του να περιγράψει το μόριο της πορφίνης, μια ονομασία που χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά το 1877^[1] και η οποία ισχύει μέχρι σήμερα. Στο παρακάτω σχήμα 1.2.6 παρουσιάζεται ο τρόπος αρίθμησης των ατόμων της πορφυρίνης καθώς και των πυρρολικών δακτυλίων κατά τον Corwin^[2].



Σχήμα 1.2.6 : Πορφυρίνη

Η βασική δομή των πορφυρινών είναι ευρύτατα διαδεδομένη στη φύση, με βασικές λειτουργίες τόσο στα φυτά όσο και στα ζώα. Ο χαρακτηριστικός τετραπυρρολικός πυρήνας με τη δυνατότητα για περιφερειακή υποκατάσταση εμπλέκεται σε μία εκτεταμένη κλίμακα μοναδικών δραστηριοτήτων. Σε αντίθεση με τη δράση των φυσικών πορφυρινών, οι συνθετικές μέθοδοι προσφέρουν την προσδοκία του σχεδιασμού πορφυρινών με ασυνήθιστα χαρακτηριστικά, οι οποίες

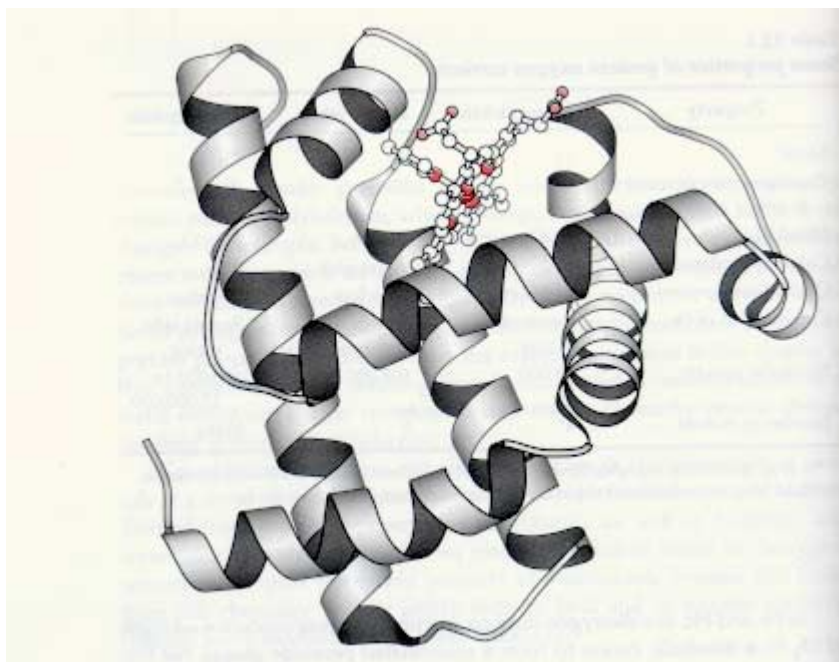
αλληλεπιδρούν με τα νουκλεϊνικά οξέα και βοηθούν στη διερεύνηση της δομής και του ρόλου τους^[3].

1.3. ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΜΕΤΑΛΛΟΠΟΡΦΥΡΙΝΩΝ

Οι σιδηροπορφυρίνες, αιμοσφαιρίνη και μυοσφαιρίνη, διασφαλίζουν τη μεταφορά οξυγόνου στους ιστούς, ενώ οι χλωροφύλλες είναι υπεύθυνες για την φωτοχημική μεταφορά ηλεκτρονίων μέσα στα φωτοσυστήματα των φυτών. Αντιθέτως τα κυτοχρώματα c συμμετέχουν σε οξειδοαναγωγικές δράσεις.

1.3.1 Αιμοπρωτεΐνες

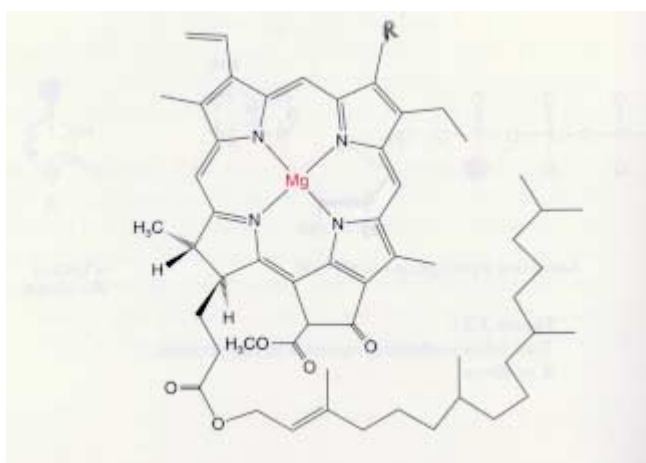
Οι φορείς οξυγόνου στα θηλαστικά είναι οι πρωτεΐνες αιμοσφαιρίνη και μυοσφαιρίνη. Η αιμοσφαιρίνη είναι ένας μεταφορέας οξυγόνου στο αίμα. Αντίθετα η μυοσφαιρίνη, (σχήμα 1.3.1.1)^[11] μεταφέρει οξυγόνο στους μυς. Η λειτουργία αυτών των δύο πρωτεϊνών, οφείλεται στην ύπαρξη της προσθετικής ομάδας, της αίμης. Η αίμη είναι μια σιδηροπορφυρίνη στην οποία ο σίδηρος είναι συναρμοσμένος με τα τέσσερα άζωτα της πορφυρίνης καθώς επίσης και με ένα άζωτο μιας ιστιδίνης από το πρωτεϊνικό τμήμα. Κατά την πρόσληψη του οξυγόνου από τον σίδηρο αλλάζει η δομή της αίμης και ενεργοποιούνται θέσεις υποδοχέων στην πρωτεΐνη.



Σχήμα 1.3.1.1 : Δομή της μυοσφαιρίνης

1.3.2 Χλωροφύλλη

Το πορφυρινικό σύστημα μετέχει επίσης στην σημαντική διαδικασία της φωτοσύνθεσης η οποία γίνεται στους χλωροπλάστες. Ο βασικός φωτοϋποδοχέας των χλωροπλαστών είναι η χλωροφύλλη, (σχήμα 1.3.2.1)^[11] η οποία αποτελείται από μια υποκατεστημένη μαγγάνιο πορφυρίνη. Ο βασικός υποκαταστάτης είναι μια φυτόλη, αλκοόλη με είκοσι άτομα άνθρακα η οποία εστεροποιείται με την πλευρική αλυσίδα ενός οξέος. Η διαφορά της χλωροφύλλης β από τη χλωροφύλλη α οφείλεται στην ύπαρξη μιας φορμυλομάδας αντί μιας μεθυλομάδας σε ένα από τα πυρόλια της, (R).

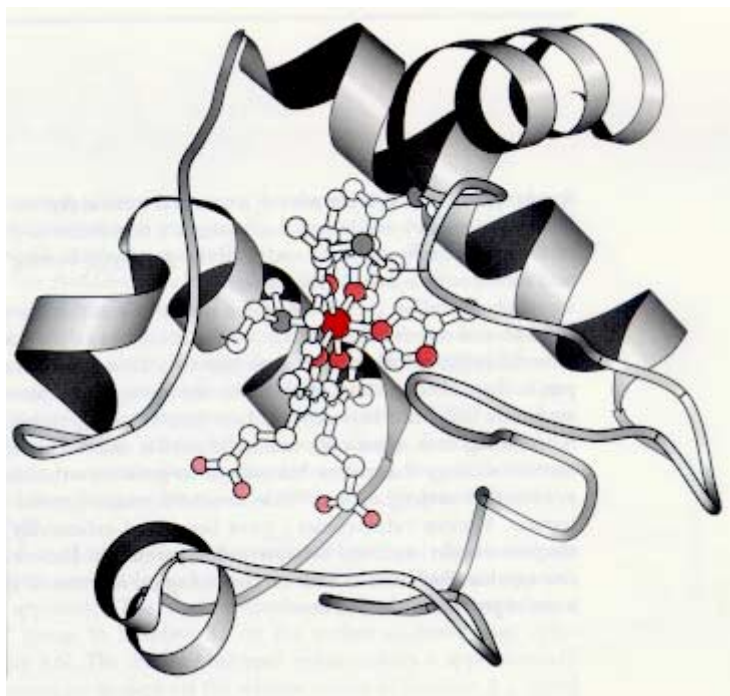


Σχήμα 1.3.2.1 : Δομή ενός μορίου χλωροφύλλης.

Ο ρόλος των χλωροφυλλών είναι η απορρόφηση ηλιακής ακτινοβολίας προκειμένου να μετατραπεί το νερό σε οργανικό υλικό μέσω αυτής της ενέργειας. Οι απορροφήσεις των δύο χλωροφυλλών είναι συμπληρωματικές.

1.3.3 Κυτοχρώματα

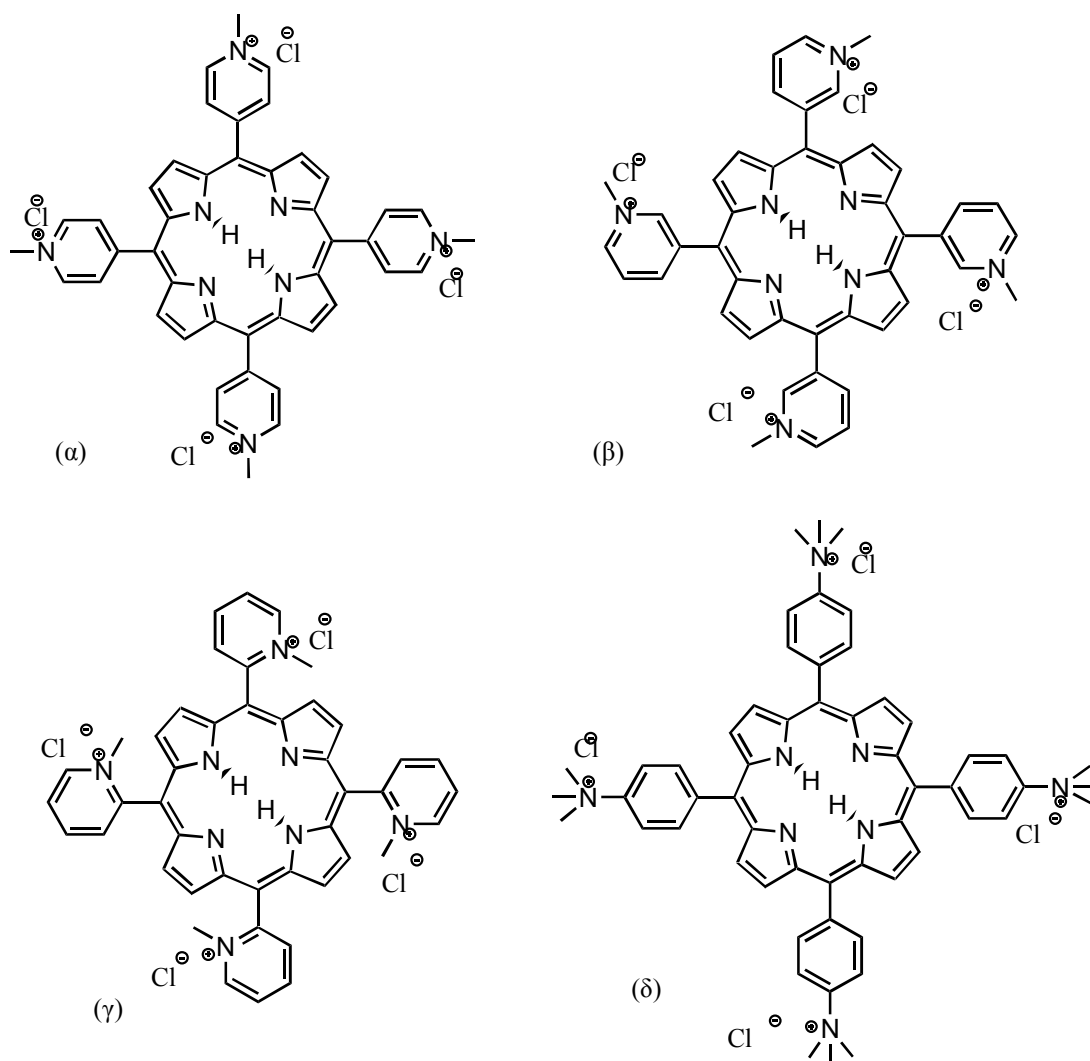
Οι πορφυρίνες συναντώνται επίσης στα κυτοχρώματα, ο ρόλος των οποίων σχετίζεται με την μεταφορά ηλεκτρονίων. Πιο συγκεκριμένα στο κυτόχρωμα c, ο σίδηρος της πορφυρίνης είναι συναρμοσμένος με ένα άτομο αζώτου ιστιδίνης και ένα άτομο θείου μεθειονίνης. Αφού λοιπόν είναι δεσμευμένες και οι έξι θέσεις συναρμογής του σιδήρου ευνοείται ο μηχανισμός μεταφοράς ηλεκτρονίων μέσω του οποίου, στην συγκεκριμένη περίπτωση αποφεύγονται στερεοχημικές παρεμποδίσεις και υψηλά δυναμικά οξειδοαναγωγής. Το κυτόχρωμα c από τόνο (σχήμα 1.3.3.1)^[11] ήταν από τα πρώτα που προσδιορίστηκε η δομή τους.



Σχήμα 1.3.3.1 : Κυτόχρωμα c από τόνο, όπου φαίνεται η συναρμογή της σίδηρο πορφυρίνης με τα πρωτεϊνικά άκρα.

1.4. ΚΑΤΙΟΝΙΚΕΣ ΠΟΡΦΥΡΙΝΕΣ

Για πρώτη φορά το 1979 έγινε γνωστό ότι η συνθετική πορφυρίνη, μέσο-τετράκις-(N-μεθυλ-4-πυριδίνιο)-πορφυρίνη ($H_2TMePyP-4$) παρεμβάλλεται και ενώνεται με το DNA παρά την ενδεχόμενη στερεοχημική παρεμπόδιση εξαιτίας των N-μεθυλ-πυριδιλ-ομάδων.



Σχήμα 1.4.1: Τα τέσσερα ισομερή των κατιονικών παραγώγων: (α) μέσο-τετράκις-(N-μέθυλ-4-πυριδίνιο)-πορφυρίνη ($H_2TMePyP-4$), (β) μέσο-τετράκις-(N-μέθυλ-3-πυριδίνιο)-πορφυρίνη ($H_2TMePyP-3$), (γ) μέσο-τετράκις-(N-μέθυλ-2-πυριδίνιο)-πορφυρίνη ($H_2TMePyP-2$) και (δ) μέσο-τετράκις-(πάρα-N-τριμέθυλ-ανιλίνιο)-πορφυρίνη.

Αργότερα επιβεβαιώθηκε ότι υπάρχει αλληλεπίδραση δεδομένου ότι η $H_2TMePyP-4$ ξετυλίγει το υπερσυσπειρωμένο DNA και ότι εκτείνει το μήκος μικρών γραμμικών τμημάτων του DNA. Η εξήγηση που δόθηκε ήταν ότι τα αρνητικά φορτία του DNA αλληλεπιδρούν με τα θετικά φορτία της περιφέρειας. Για το λόγο αυτό μεταγενέστερα συντέθηκαν μια σειρά από παράγωγα της $H_2TMePyP-4$ προκειμένου να μελετηθεί καλύτερα η αλληλεπίδραση των πορφυρινών με το DNA. Στα παράγωγα αυτά υπάρχει μια μεθυλομάδα σε διαφορετικές θέσεις του δακτυλίου της πυριδίνης^[5,6,7,8,9,10].

1.5. ΛΑΝΘΑΝΙΔΕΣ

Με τον όρο λανθανίδες περιγράφονται τα 14 στοιχεία που ακολουθούν το Λανθάνιο (La), στον περιοδικό πίνακα συμπεραλαμβανομένου και αυτού. Η ηλεκτρονιακή τους διαμόρφωση από το Λανθάνιο $[Xe]5d6s^2$ καταλήγει στο Λουτέτσιο Lu $[Xe]4f^{14}5d6s^2$. Δεδομένου ότι τα 4f ηλεκτρόνια δεν λαμβάνουν μέρος στο σχηματισμό δεσμού ο κύριος αριθμός οξείδωσης είναι +3. Δηλαδή πρόκειται για ηλεκτροθετικά στοιχεία.

Πίνακας 1.5.1. Ηλεκτρονιακή διαμόρφωση λανθανιδών.

Ατομικός αριθμός	Όνομασία	Σύμβολο	Διαμόρφωση	
			Ατόμου	Ιόντος M^{3+}
57	Λανθάνιο	La	$[Xe] 5d6s^2$	$[Xe]$
58	Δημήτριο	Ce	$[Xe] 4f^2 6s^2$	$4f^1$
59	Πρασεοδύμιο	Pr	$[Xe] 4f^3 6s^2$	$4f^2$
60	Νεοδύμιο	Nd	$[Xe] 4f^4 6s^2$	$4f^3$
61	Προμήθειο	Pm	$[Xe] 4f^5 6s^2$	$4f^4$
62	Σαμάριο	Sm	$[Xe] 4f^6 6s^2$	$4f^5$
63	Ευρώπιο	Eu	$[Xe] 4f^7 6s^2$	$4f^6$
64	Γαδολίνιο	Gd	$[Xe] 4f^7 5d6s^2$	$4f^7$
65	Τέρβιο	Tb	$[Xe] 4f^8 6s^2$	$4f^8$
66	Δυσπρόσιο	Dy	$[Xe] 4f^{10} 6s^2$	$4f^9$
67	Όλμιο	Ho	$[Xe] 4f^{11} 6s^2$	$4f^{10}$
68	Έρβιο	Er	$[Xe] 4f^{12} 6s^2$	$4f^{11}$
69	Θούλιο	Tm	$[Xe] 4f^{13} 6s^2$	$4f^{12}$
70	Υττέρβιο	Yb	$[Xe] 4f^{14} 6s^2$	$4f^{13}$
71	Λουτέτσιο	Lu	$[Xe] 4f^{14} 5d6s^2$	$4f^{14}$

Γενικά οι λανθανίδες έχουν παρόμοιες ιδιότητες. Τυχόν μικροδιαφορές οφείλονται στην λανθανιδική συστολή δηλαδή στην σταθερή μείωση της ατομικής και ιοντικής ακτίνας κατά την αύξηση του ατομικού αριθμού. Το φαινόμενο αυτό εξηγείται από το γεγονός ότι τα ηλεκτρόνια που βρίσκονται στα f τροχιακά δεν προστατεύουν ικανοποιητικά τα ηλεκτρόνια των εξωτερικών τροχιακών με αποτέλεσμα να αυξάνεται το αποτελεσματικό πυρηνικό φορτίο.

Πίνακας 1.5.2. Βαθμίδες οξειδωσης λανθανιδών

Ατομικός Αριθμός	Ονομασία	Σύμβολο	+2	+3	+4
57	Λανθάνιο	La		+	
58	Δημήτριο	Ce	(+)	+	+
59	Πρασεοδύμιο	Pr	+	(+)	
60	Νεοδύμιο	Nd	(+)	+	(+)
61	Προμήθειο	Pm		+	
62	Σαμάριο	Sm		(+)	+
63	Ευρώπιο	Eu		+	+
64	Γαδολίνιο	Gd		+	
65	Τέρβιο	Tb	+	(+)	
66	Δυσπρόσιο	Dy	+	(+)	
67	Όλμιο	Ho		+	
68	Έρβιο	Er		+	
69	Θούλιο	Tm		(+)	+
70	Υττέρβιο	Yb		+	+
71	Λουτέτσιο	Ly		+	

Συμβολισμοί: +, στο διάλυμα, (+), μόνο στο στερεό.

Ενώ η χαρακτηριστική κατάσταση οξειδωσης είναι η +3, συναντώνται επίσης οι καταστάσεις +2 και +4. Κυριότερα παραδείγματα δισθενών ιόντων είναι το Eu και το Yb, ενώ το πιο σταθερό τετρασθενές ιόν είναι το Ce. Η αρχική εξήγηση σχετίστηκε με την ενδεχόμενη σταθερότητα των ηλεκτρονιακών διαμορφώσεων. Αυτή η θεωρία όμως απορρίφθηκε δεδομένου ότι δεν μπορούσε να εξηγήσει για παράδειγμα την εμφάνιση του θουλίου με αριθμό οξειδωσης +2 και ηλεκτρονιακή διαμόρφωση $[\text{Xe}]4f^{13}$. Έτσι προκειμένου να εξηγηθούν οι διάφορες οξειδωτικές καταστάσεις συνυπολογίζονται οι ενέργειες ιονισμού και εξαχνώσεως των μετάλλων καθώς επίσης και οι ενέργειες πλέγματος όπως αυτές προκύπτουν από τον κύκλο Born-Haber^[14].

Οι λανθανίδες αν και αναφέρονται και ως σπάνιες γαίες, οι ποσότητες τους στην φύση είναι αρκετά ικανοποιητικές. Το θούλιο το οποίο είναι το πιο σπάνιο από τις λανθανίδες είναι πιο κοινό από άλλα στοιχεία όπως ο Ag, το Cd, ή το Se. Τα πιο γνωστά ορυκτά που περιέχουν λανθανίδες είναι ο μοναζίτης και ο ξενοζίτης. Τα μεγαλύτερα αποθέματα τέτοιων μεταλλευμάτων απαντώνται στην Σκανδιναβία, Βραζιλία, Αυστραλία και στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής.

Τα μέταλλα των λανθανιδών λαμβάνονται κατά την αναγωγή των αλογονιδίων τους. Ειδικότερα τα ελαφρύτερα στοιχεία, δηλαδή από το λανθάνιο μέχρι και το γαδολίνιο, ανακτώνται με την αναγωγή των τριχλωριδίων τους, ενώ τα βαρύτερα, από το τέρβιο μέχρι το λουτέτιο, λαμβάνονται με αναγωγή των τριφθοριδίων τους, επειδή είναι λιγότερο πτητικά από τα τριχλωρίδια^[13,14].

1.6. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η τετρακατιονιοκή πορφυρίνη και τα παράγωγα της είναι γνωστό ότι μπορούν να εισχωρήσουν σε αλυσίδες DNA και να προκαλέσουν φωτοχημική διάσπαση καθώς επίσης και να έχουν αντικαρκινική δράση. Επιπλέον, τέτοια πορφυρινικά παράγωγα έχει αποδειχθεί ότι προκαλούν φωτοχημική διάσπαση του DNA και επίσης, επιδεικνύουν αντικαρκινικές ιδιότητες. Ακόμη, τα υδροξαμικά οξέα προκαλούν υδρολυτική τμήση του DNA παρουσία ιόντων Λανθανιδών^[5,7,9,16,17]. Συνεπώς, η σύνθεση και ο φυσικοχημικός χαρακτηρισμός τέτοιων ενώσεων, με κατάλληλο μέγεθος, είναι πολύ σημαντικός.

Στην παρούσα εργασία αναφέρεται η σύνθεση μιας νέας σειράς κατιονικών πορφυρινών, οι οποίες φέρουν μία, ή δύο αλυσίδες υδροξαμικών οξέων διαφόρων μεγεθών, με σκοπό την παρασκευή μορίων με δράση νουκλεασών. Εξετάζεται η αλληλεπίδραση των πορφυρινών με το DNA παρουσία μετάλλων της σειράς των λανθανιδών, καθώς επίσης και του χαλκού. Όλα τα προϊόντα χαρακτηρίζονται με φασματοσκοπία ¹H-NMR, ¹³C-NMR, υπεριώδους-ορατού και υπέρυθρου.

1.7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] F. Hoppe-Seyler, *Phys. Chem.*, **1987-1988**, 1, 121.
- [2] A. H. Corwin, *Organic Chemistry*, **1943**, Vol. II, 1272, Willey, New York.
- [3] R. J. Fiel, *Biomol. Struct & Dynamics*, **1989**, 6, 1259.
- [4] IUPAC, *Nomenclature of Organic Chemistry*, **1979**, Pergamon.
- [5] M. J. Calvin & R. J. Fiel, *Nucleic Acids Res.*, **1983**, 11, 6121.
- [6] R. F. Pasternack, E. J. Gibbs & J. J. Villafranca, *Biochem.*, **1983**, 22, 2406.
- [7] M. A. Sari, J. B. Battioni, D. Dupre, D. Mansuy & J. B. Le Pecq, *Biochem.*, **1990**, 29, 4205.
- [8] L. A. Lipscomb, F. X. Zho, S. R. Presnell, R. J. Woo, M. E. Peek, R. R. Plaskom & L. D. Williams, *Biochem.*, **1996**, 35, 2818.
- [9] G. Dougherty, *J. Inorg. Biochem.*, **1988**, 34, 95.
- [10] L. G. Marzilli, D. L. Banville, G. Zon & W. D. Wilson, *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, 108, 4188.
- [11] S. J. Lippard, J. M. Berg, *Principles of Bioinorganic Chemistry*, **1994**, Mill Valley, California.
- [12] Α. Κουτσολέλος, Δ. Κεσίσογλου, Θ. Καμπανός, *Βιοανόργανη Χημεία I*, **1999**, Ιωάννινα, Ν. Χατζηλιάδης.
- [13] Γ. Ε. Μανουσάκης, *Γενική και Ανόργανη Χημεία*, **1981**, Θεσσαλονίκη, Εκδ. Κυριακίδη.
- [14] F. A. Cotton, G. Wilkinson, *Advanced Inorganic Chemistry*, **1996**, Sixth Edition.
- [15] J. E. Huheey, *Ανόργανη Χημεία*, **1993**, Εκδ. Ιωάν.
- [16] R. J. Fiel, J. C. Howard, E. H. Mark & N. Datta Gupta, *Nucleic Acids Res.*, **1979**, 6, 3093.
- [17] M. Perret-Fauvet, C. Verchere-Beaur, *Tetrahedron*, **1996**, 52, 13569.

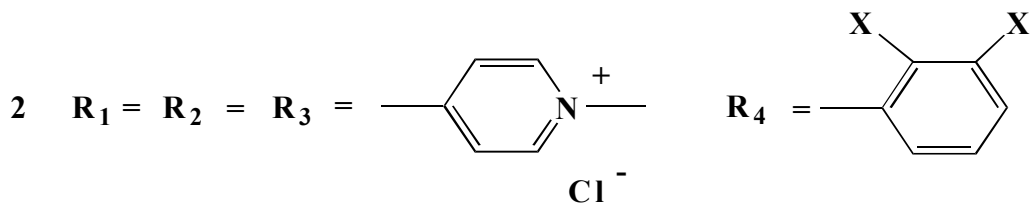
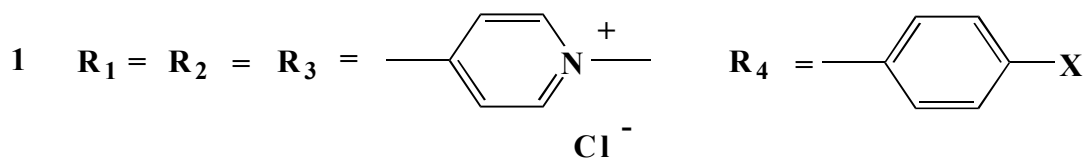
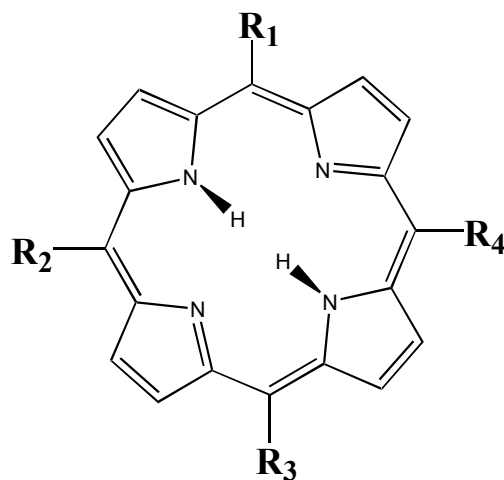
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΤΙΟΝΙΚΩΝ ΠΟΡΦΥΡΙΝΩΝ

2.1.Γενικά

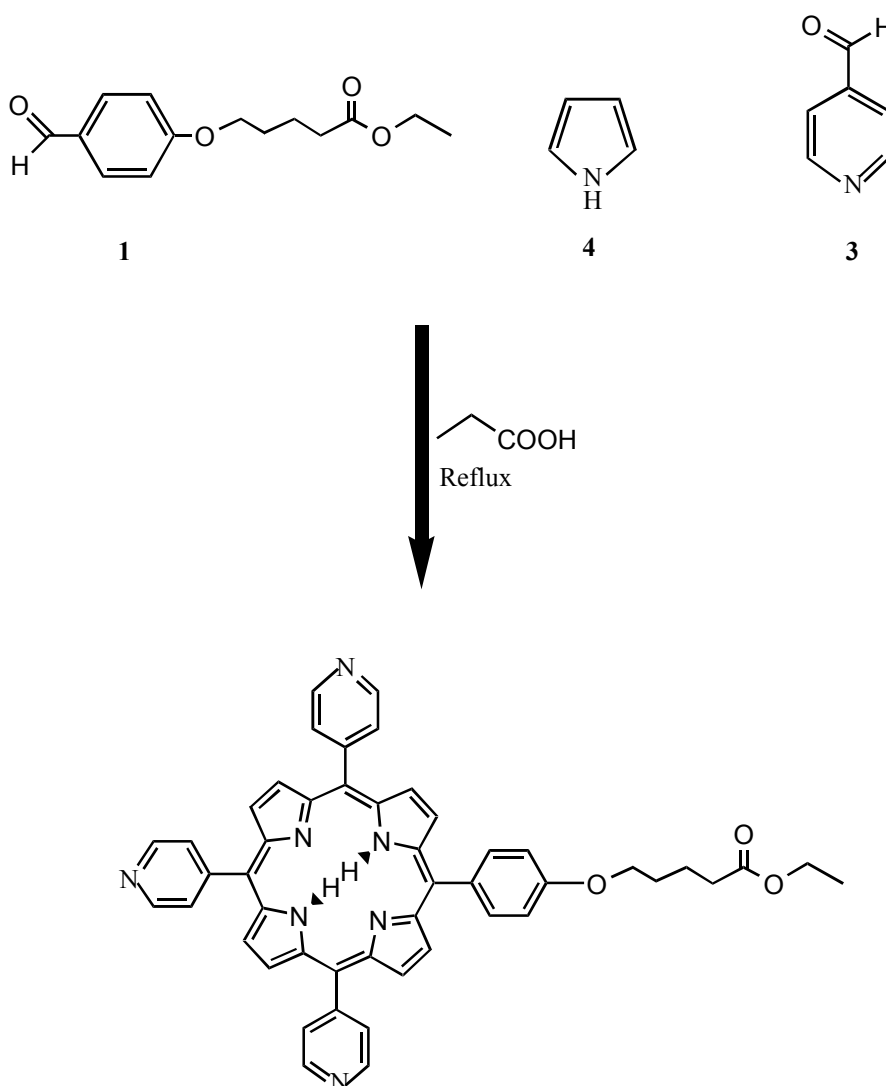
Η πρώτη σύνθεση πορφυρίνης έγινε με συμύκνωση αλδευδών και πυρρολίου. Αυτή η μέθοδος μελετήθηκε για διάφορα είδη αλδευδών όπως αλειφατικές, αρωματικές και ετεροκυκλικές. Η μέσο-τετραφαίνυλ-πορφυρίνη συντέθηκε για πρώτη φορά το 1941 από τους Rothmund και Menotti με την συμύκνωση πυρρολίου και βενζαλδεύδης σε πυριδίνη, θερμαίνοντας στους 220⁰C σε αναερόβιες συνθήκες. Η απόδοση αυτής της αντίδρασης δεν ξεπερνούσε το 5%. Αργότερα οι Alder και Longo, το 1967, βελτίωσαν την προηγούμενη μέθοδο αυξάνοντας την απόδοση στο 20%.^[1] Στην παραπάνω σύνθεση χρησιμοποιήθηκε βενζαλδεύδη και πυρρόλιο σε διαλύτη προπιονικό οξύ σε συνθήκες βρασμού για 30 λεπτά.

Παρακάτω παρουσιάζεται η σύνθεση μίας σειράς μη συμμετρικών κατιονικών πορφυρινών. Το γενικό σχήμα των πορφυρινών που παρασκευάστηκαν στην παρούσα εργασία δίνεται στο σχήμα 2.1.1.

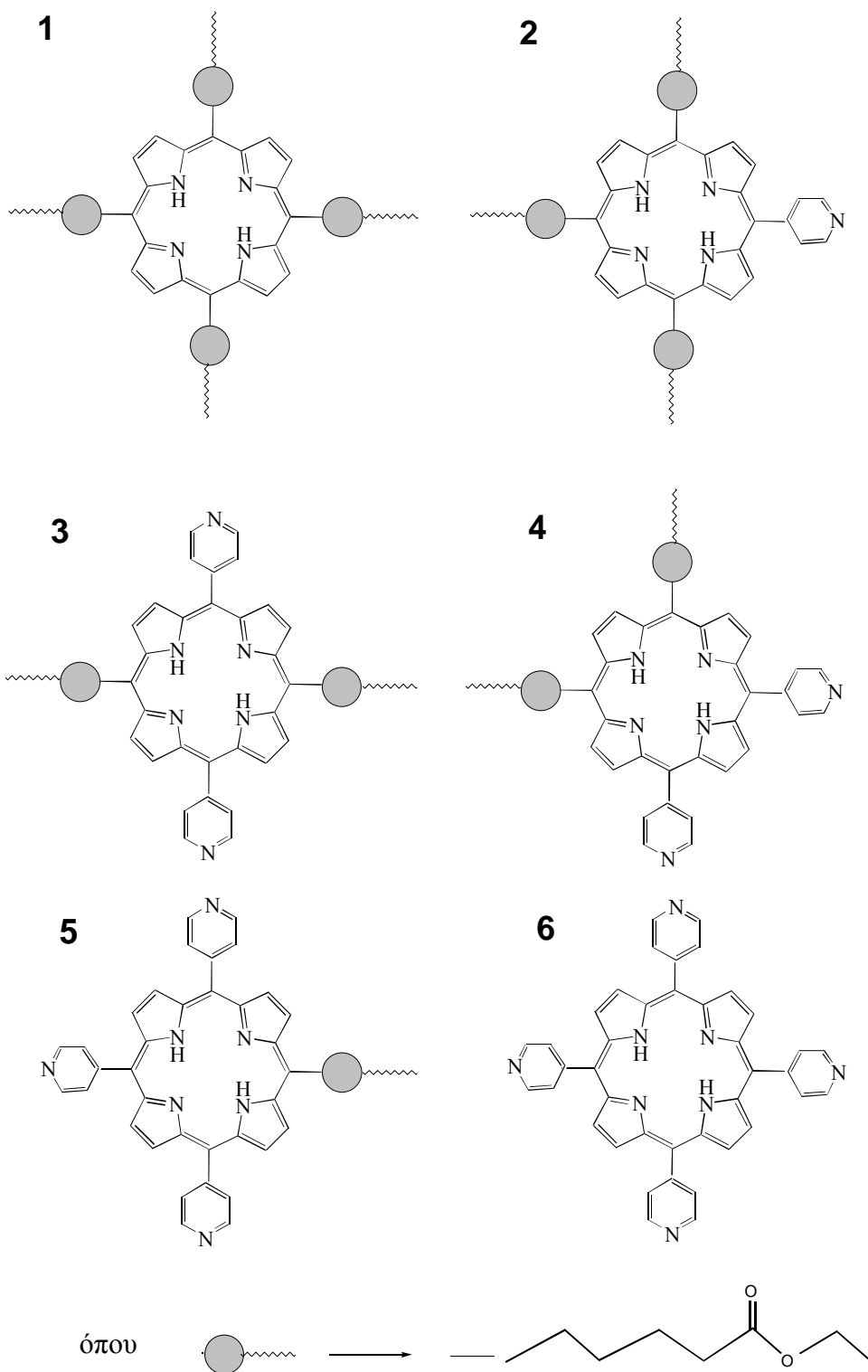


Σχήμα 2.1.1

Σε σφαιρική φιάλη του 1lt, η οποία περιέχει πέτρες βρασμού, προστίθενται 1eq αλδεύδη που συντέθηκε, 3eq 4-πυριδίνη-καρβοξυαλδεύδης και στάγδην 4eq πυρρολιού. Η αντίδραση πραγματοποιείται σε 400ml προπιονικού οξέος με βρασμό για 2,5h. Στη συνέχεια, το διάλυμα αποστάζεται υπό κενό μέχρι ξηρού προκειμένου να απομακρυνθεί το προπιονικό οξύ.



Από την παραπάνω σύνθεση, είναι δυνατόν να προκύψει ένα μίγμα έξι ισομερών τα οποία δίνονται στο σχήμα 2.2.2.2.



Σχήμα 2.2.2.2

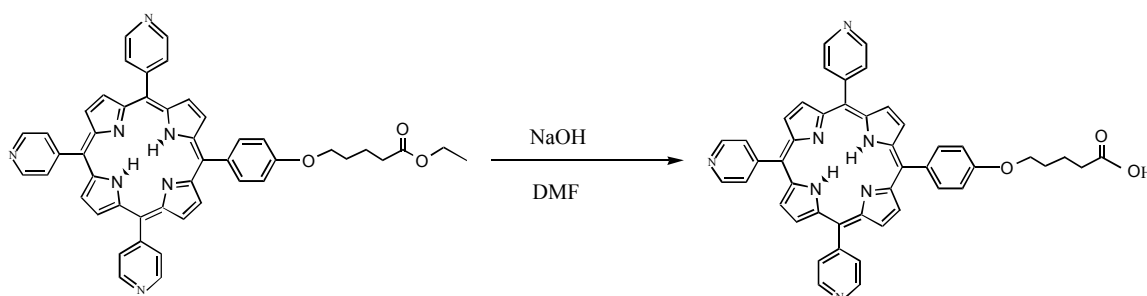
Τα παραπάνω ισομερή διαχωρίζονται στη συνέχεια με τη βοήθεια χρωματογραφίας στήλης με SiO_2 . Ως διαλύτης έκλουσης χρησιμοποιείται διχλωρομεθάνιο στο οποίο σταδιακά προστίθεται αιθανόλη, σε ποσοστά αρχίζοντας από 1 έως και 5% στο τέλος. Με τον τρόπο αυτό λαμβάνονται τα έξι ισομερή με την ακόλουθη σειρά:

1. Τετραεστέρας-πορφυρίνη
2. Τριεστέρας-μονοπυριδύλιο-πορφυρίνη
3. Διεστέρας-διπυριδύλιο-πορφυρίνη (Trans)
4. Διεστέρας-διπυριδύλιο-πορφυρίνη (Cis)
5. Μονοεστέρας-τριπυριδύλιο-πορφυρίνη
6. Τετραπυριδύλιο-πορφυρίνη

Δηλαδή, με αύξηση της πολικότητας του διαλύτη έκλουσης λαμβάνονται τα ισομερή με τον μεγαλύτερο αριθμό πυριδύλιο-ομάδων. Κάθε ισομερές που προκύπτει, υφίσταται έναν επιπλέον καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης. Ακολουθεί απόσταξη των διαλυτών και συλλογή του τους προϊόντος υπό μορφή κρυσταλλικής σκόνης μωβ χρώματος.

2.2.3. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΟΞΕΟΣ ΤΗΣ Ν-ΜΕΘΥΛ-4-ΠΥΡΙΔΙΝΙΟΥΜΥΛ-ΠΟΡΦΥΡΙΝΗΣ^[4]

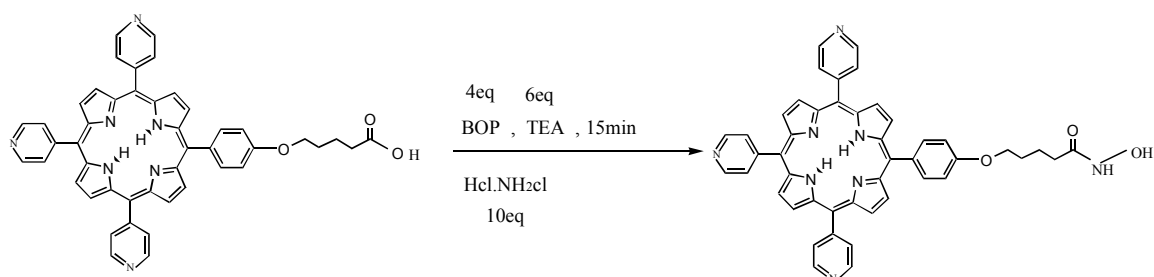
Σε σφαιρική φιάλη των 25ml προστίθονται ο εστέρας της πορφυρίνης και καυστικό νάτριο. Η αναλογία που χρησιμοποιείται ποικίλει ανάλογα με το ισομερές και με τον αριθμό αλυσίδων εστέρα. Για κάθε 1eq πορφυρίνης με μία αλυσίδα εστέρα, απαιτούνται 50eq NaOH. Πρόκειται για μία αντίδραση σαπωνοποίησης, η οποία πραγματοποιείται σε 10ml DMF, σε θερμοκρασία δωματίου υπό ανάδευση και με προστασία από το φως. Η διάρκειά της είναι τρεις ώρες για κάθε αλυσίδα εστέρα της πορφυρίνης. Ακολουθεί προσθήκη νερού και ρύθμιση του pH σε 5-6 με την προσθήκη HCl. Στη συνέχεια, το διάλυμα διηθείται, εκπλένεται με νερό για την απομάκρυνση του DMF και το προϊόν ξηραίνεται.



2.2.4. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΥΔΡΟΞΑΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΤΗΣ ΠΟΡΦΥΡΙΝΗΣ^[4]

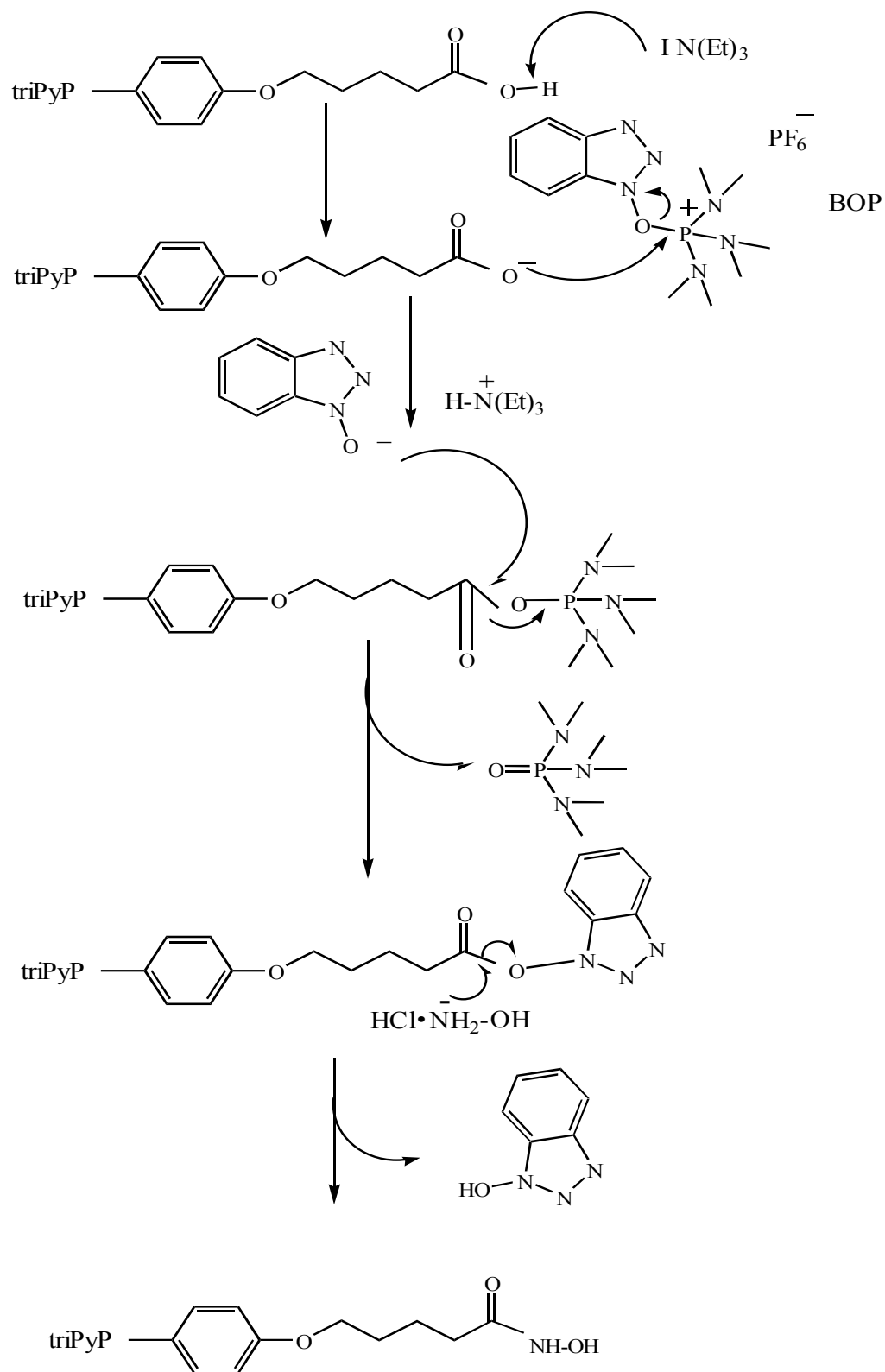
Σε σφαιρική φιάλη των 25ml που φέρει ψυκτήρα προστίθονται το οξύ της πορφυρίνης και 5ml άνυδρου DMF. Στη συνέχεια, προστίθεται τριαιθυλαμίνη (TEA)

και 3-(βρωμοτριαζολ-1-υλοξυ)τρι(διμεθυλαμινο)-φώσφορο-εξαφθοριούχος φώσφορος (BOP). Το διάλυμα αναδεύεται και ταυτόχρονα προστατεύεται από το φως. Η αντίδραση πραγματοποιείται σε ατμόσφαιρα αργού ή αζώτου. Η αντίδραση παρακολουθείται με χρωματογραφία TLC και μετά την ποσοτική αντίδραση του οξέος προστίθεται υδροχλωρική υδροξυλαμίνη (HClNH₂OH). Στο σχήμα που ακολουθεί, δίνεται η αντίδραση, καθώς επίσης και η αναλογία των αντιδραστηρίων για κάθε αλυσίδα οξέος της πορφυρίνης.



Σχήμα 5

Το τέλος της αντίδρασης διαπιστώνεται με τη βοήθεια χρωματογραφίας TLC και κυμαίνεται από 3 έως 12 ώρες. Ακολουθεί προσθήκη νερού (σε αναλογία DMF/H₂O 1/5), διήθηση και έκπλυση με νερό για την απομάκρυνση του DMF. Στη συνέχεια, το προϊόν ξηραίνεται και συλλέγεται. Ο μηχανισμός της παραπάνω αντίδρασης δίνεται στο σχήμα 6.

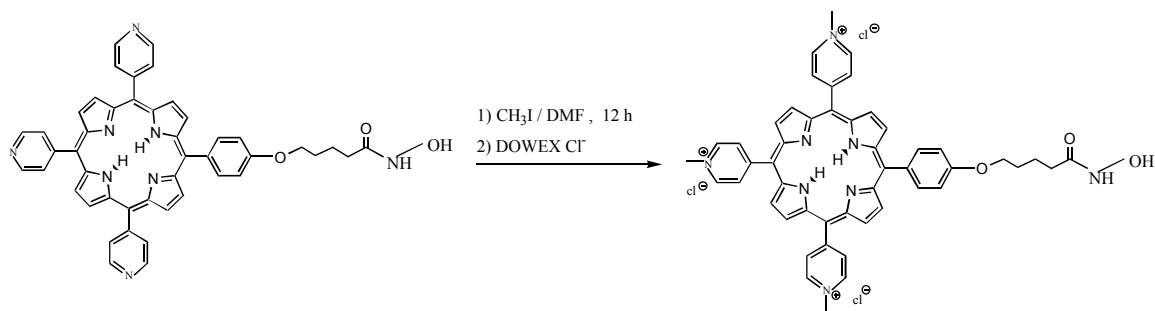


Σχήμα 6

Σύμφωνα με τον παραπάνω μηχανισμό, το οξύ και το BOP αντιδρούν και δίνουν έναν ενεργοποιημένο εστέρα. Παρουσία της βάσης Et_3N γίνεται πυρηνόφιλη προσβολή του υδροξυλίου του καρβοξυλικού οξέος στο ηλεκτρόφιλο κέντρο του BOP, με αποτέλεσμα τη διάσπαση του δεσμού φωσφόρου-οξυγόνου και τη δημιουργία νέου, μεταξύ του οξυγόνου του καρβοξυλικού οξέος και του φωσφόρου του BOP. Η υποκατάσταση αυτή ακολουθείται από την αλκυλίωση της υδροχλωρικής υδροξυλαμίνης από τον ενεργοποιημένο εστέρα. Τα παραπροϊόντα που σχηματίζονται λόγω της διάσπασης του BOP είναι υδατοδιαλυτά, και επομένως απομακρύνονται με διήθηση.

2.2.5. ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΜΕΘΥΛΙΩΣΗΣ^[5,6]

Σε σφαιρική φιάλη των 25ml, η οποία φέρει ψυκτήρα, προστίθενται 3ml άνυδρου DMF, το υδροξυαμικό οξύ που παρασκευάστηκε και ιωδομεθάνιο σε περίσσεια. Η αντίδραση πραγματοποιείται σε θερμοκρασία δωματίου υπό ανάδευση και το διάλυμα προστατεύεται από το φως. Η διάρκεια της αντίδρασης είναι 12 ώρες. Ακολουθεί απόσταξη υπό κενό χωρίς θέρμανση, λόγω της πιθανότητας διάσπασης των δεσμών μεταξύ των αζώτων και των μεθυλομάδων, με σκοπό την απομάκρυνση του ιωδομεθανίου που δεν αντέδρασε. Η απόσταξη συνεχίζεται με θέρμανση έως 60°C , για την απομάκρυνση του DMF. Στη συνέχεια προστίθεται ακετόνη και το διάλυμα διηθείται και εκπλένεται με ακετόνη. Το προϊόν που λαμβάνεται είναι μερικώς διαλυτό στο νερό, λόγω των υδρόφιλων υδροξυαμικών ομάδων. Ακολουθεί αντικατάσταση των ιόντων ιωδίου από ιόντα χλωρίου. Αυτό επιτυγχάνεται με την προσθήκη ιοντοανταλλακτικής ρητίνης DOWEX Cl^- , διαλυμένης σε μικρή ποσότητα νερού. Το διήθημα που προκύπτει αποστάζεται μέχρι ξηρού, το προϊόν ανακρυσταλλώνεται με προσθήκη διαιθυλαιθέρα σε ένα διάλυμα μεθανόλης και λαμβάνεται με τη μορφή κρυσταλλικής σκόνης.



Σχήμα 7: Αντίδραση μεθυλίωσης

Συντέθηκε μία σειρά τέτοιων ενώσεων, προκειμένου να μελετηθεί η αλληλεπίδρασή τους με το DNA, καθώς και η δράση τους ως χημικών νουκλεασών.

2.3. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

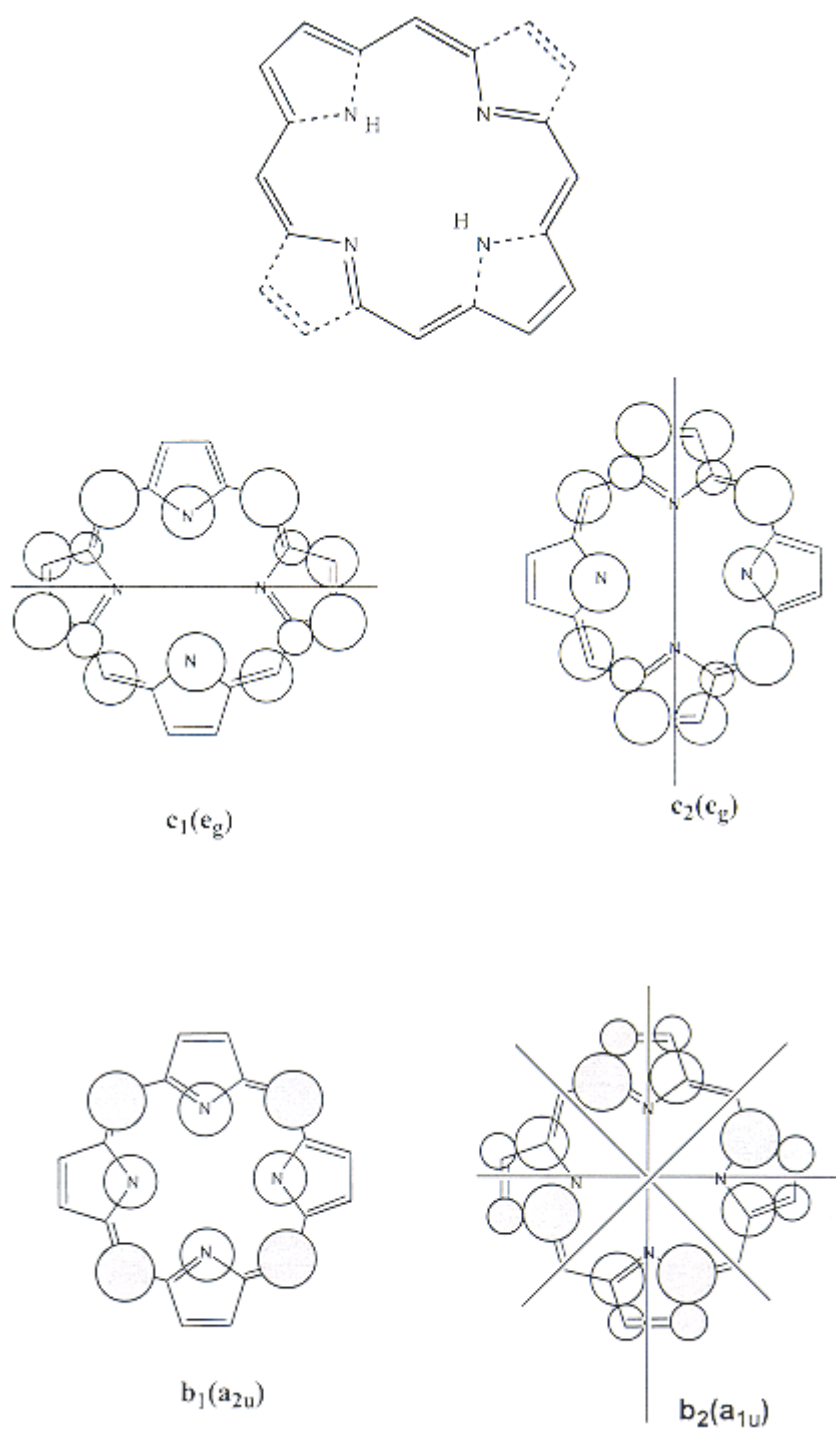
- [1] G. Dougherty, *J. Inorg. Biochem.*, **1988**, 34, 95.
- [2] M. Perree-Fauvet, N. Gresh, *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36, 4227.
- [3] M. Perree-Fauvet, C. Verchere-Beaur, E. Tarnaud, G. Anneheim-Herbelin, N. Bone, A. Gaudemer, *Tetrahedron*, **1996**, 52, 13569.
- [4] Sadler & Karo, *Organic Functional Group Preparation (III)*, **1972**, Academic Press NY and London, 406-432.
- [5] C. Casa, B. Saint-Jalmes, C. Loup, C. Jeffrey Lacey, B. Meunier, *J. Org. Chem.*, **1993**, 58, 2913.
- [6] L. Ding, C. Casa, G. Etemad-Moghadam, B. Maunier, *New J. Chem.*, **1990**, 14, 421.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ ΟΡΑΤΟΥ

3.1 Γενικά

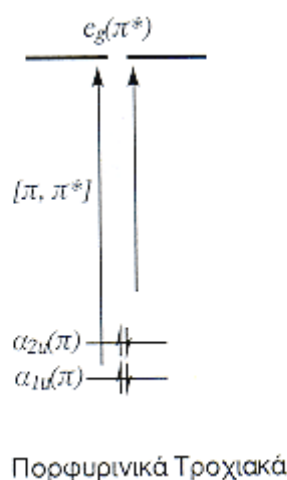
Το χαρακτηριστικό γνώρισμα των πορφυρινών είναι ο δεκαεξαμελής δακτύλιος ο οποίος περιέχει 18π ηλεκτρόνια. Στην συζυγία αυτών των ηλεκτρονίων οφείλονται τα χαρακτηριστικά φάσματα υπεριώδους-ορατού των πορφυρινών. Οι όποιες χημικές μετατροπές στη βασική χημική δομή διαφοροποιούν τα ηλεκτρονικά φάσματα.

Η ελεύθερη πορφυρίνη έχει συμμετρία D_{2h} και τα φάσματα της είναι τύπου normal. Στα φάσματα αυτά εμφανίζεται μια ισχυρή απορρόφηση μεταξύ 320 και 450nm (Soret ή B-ταινία), και τέσσερις μικρότερης έντασης απορροφήσεις από τα 450 έως τα 700nm (Q-ταινίες ($Q_y(1,0)$, $Q_y(0,0)$, $Q_x(1,0)$, και $Q_x(0,0)$). Η ένταση των συγκεκριμένων κορυφών ελαττώνεται προς τα μεγαλύτερα μήκη κύματος. Η B-ταινία αναφέρεται σε ισχυρώς επιτρεπτή διεγερμένη κατάσταση, ενώ η Q σε μία ημιεπιτρεπτή^[1,2].



Σχήμα 3.1.1. : Διάγραμμα HOMO (συμμετρίας a_{1u} και a_{2u}) και LUMO (συμμετρίας e_g) τροχιακών.

Μια πρώτη εξήγηση για τα ηλεκτρονιακά φάσματα της πορφυρίνης δόθηκε από τους Platt^[3] και Simpson^[4]. Όμως αυτό που κυριάρχησε και ισχύει μέχρι σήμερα είναι το αποκαλούμενο μοντέλο των τεσσάρων τροχιακών (four orbital model) του Gouterman^[1,5,6,7,8]. Σύμφωνα με αυτό, η Β-ταινία που αναφέρεται σε μια ισχυρώς επιτρεπτή διεγερμένη κατάσταση, είναι το αποτέλεσμα της ανυσματικής πρόσθεσης των δίπολων της διεργασίας μετάβασης $\pi \pi^*$. Αντιθέτως η Q-ταινία η οποία οφείλεται στην δονητική αλληλεπίδραση, εμφανίζοντας τέσσερις καταστάσεις, είναι το αποτέλεσμα της αφαίρεσης των δύο δίπολων και γι' αυτό το λόγο έχουν μικρότερη ένταση^[9].

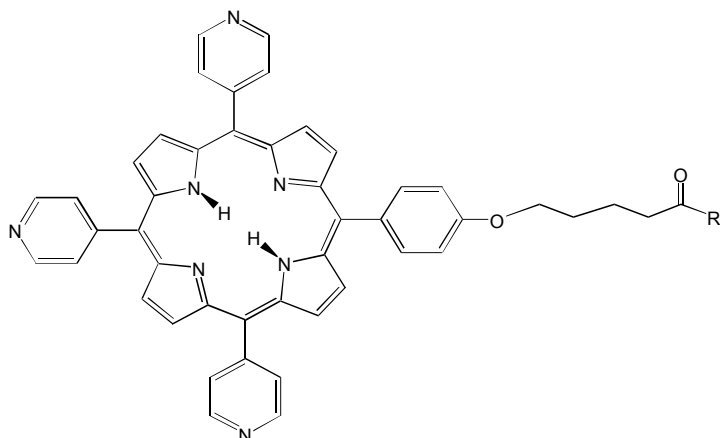


Σχήμα 3.1.2: Διάγραμμα μοριακών τροχιακών για το μοντέλο των τεσσάρων τροχιακών.

3.2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ

3.2.1. ΠΟΡΦΥΡΙΝΕΣ ΤΗΣ ΣΕΙΡΑΣ C4-para.

- α) 5-[4-(5-αιθυλ-κάρβοξυ-βούτυλ-1-όξο)φαίνυλ]-10,15,20-τρι(4-N-πυρίδιλο) πορφυρίνη(C4PME).
- β) 5-[4-(5-βουτανοϊκό οξύ-1-όξο)φαίνυλ]-10,15,20-τρι(4-N-πυρίδιλο) πορφυρίνη (C4PMA).
- γ) 5-[4-(5-βούτυλ-υδροξಾಮικό οξύ -1-όξο)φαίνυλ]-10,15,20-τρι(4-N-πυρίδιλο) πορφυρίνη(C4PMH).
- δ) 5-[4-(5-αιθυλ-κάρβοξυ-βούτυλ-1-όξο)φαίνυλ]-10,15,20-τρι(4-N-μέθυλ-πυρίδιλο) πορφυρίνη(MC4PMH).



1. R= 0-C₂H₅
2. R= OH
3. R= NH-OH

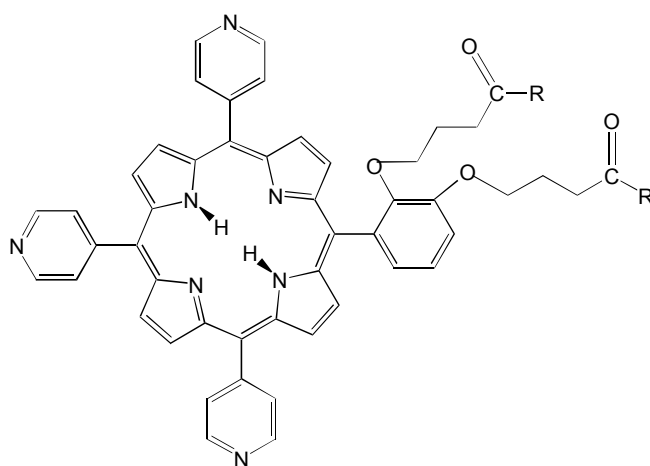
Σχήμα 3.2.1.

Πορφυρίνη	B-ταινία(nm)	Q-ταινίες(nm)				Διαλύτης
C4PME	418 5,42	514 4,39	547 4,16	588 4,13	645 4,02	CH ₂ Cl ₂
C4PMA	418 5,52	519 4,51	556 4,32	592 4,24	648 4,11	CH ₂ Cl ₂
C4PMH	418 5,34	514 4,35	548 4,19	589 4,16	645 4,01	CH ₂ Cl ₂
MC4PMH	428 5,43	519 4,37	556 4,20	589 4,17	646 4,07	DMF

Πίνακας 1: Πορφυρίνες της σειράς C4-para [λ /nm(log_e dm⁻³mol⁻¹cm⁻¹)].

3.2.2. ΠΟΡΦΥΡΙΝΕΣ ΤΗΣ ΣΕΙΡΑΣ C3-ortho, meta.

- α) 5-[2,3-δι(3-αιθυλ-κάρβοξυ-βούτυλ-1-όξο)-φαίνυλ]-10,15,20-τρι(4-N-πυρίδιο) πορφυρίνη(**C3OMDIE**).
- β) 5-[2,3-δι(3-βουτανοϊκό οξύ-1-όξο)φαίνυλ]-10,15,20-τρι(4-N-πυρίδιο) πορφυρίνη(**C3OMDIA**).
- γ) 5-[2,3-δι(3-βούτυλ-υδροξυαμικό οξύ-1-όξο)φαίνυλ]-10,15,20-τρι(4-N-πυρίδιο) πορφυρίνη(**C3OMDIH**).
- δ) 5-[2,3-δι(3-αιθυλ-κάρβοξυ-βούτυλ-1-όξο)φαίνυλ]-10,15,20-τρι(4-N-μέθυλ-πυρίδιο) πορφυρίνη(**MC3OMDIH**).



1. R= OC_2H_5
2. R= OH
3. R= NH-OH

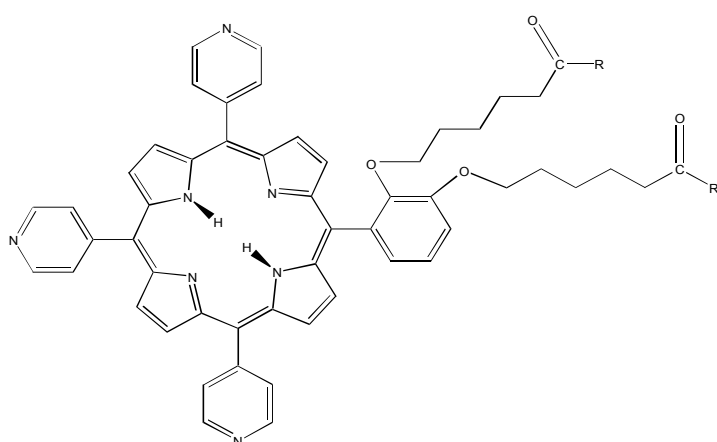
Σχήμα 3.2.2.

Πορφυρίνη	B-ταινία(nm)	Q-ταινίες(nm)				Διαλύτης
		513	547	588	645	
C3OMDIE	418 5,42	513 4,39	547 4,16	588 4,13	645 4,02	CH_2Cl_2
C3OMDIA	418 5,52	517 4,53	554 4,35	591 4,22	647 4,13	CH_2Cl_2
C3OMDIH	418 5,33	513 4,33	547 4,16	588 4,14	646 4,03	CH_2Cl_2
MC3OMDIH	424 5,43	520 4,37	558 4,20	584 4,17	644 4,07	DMF

Πίνακας 2: Πορφυρίνες της σειράς C3-ortho,meta [$\lambda/\text{nm}(\log_e \text{dm}^{-3} \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1})$].

3.2.4. ΠΟΡΦΥΡΙΝΕΣ ΤΗΣ ΣΕΙΡΑΣ C5-ortho,meta.

- α) 5-[2,3-δι(5-αιθυλ-κάρβοξυ-πέντυλ-1-όξο)-φαίνυλ]-10,15,20-τρι(4-N-πυρίδιλο) πορφυρίνη(C5OMDIE).
- β) 5-[2,3-δι(5-πεντανοϊκό οξύ-1-όξο)φαίνυλ]-10,15,20-τρι(4-N-πυρίδιλο) πορφυρίνη(C5OMDIA).
- γ) 5-[2,3-δι(5-αιθυλ-κάρβοξυ-πέντυλ-1-όξο)φαίνυλ]-10,15,20-τρι(4-N-μέθυλ-πυρίδιλο) πορφυρίνη(MC5OMDIA).



1. R=O-C₂H₅

2. R=OH

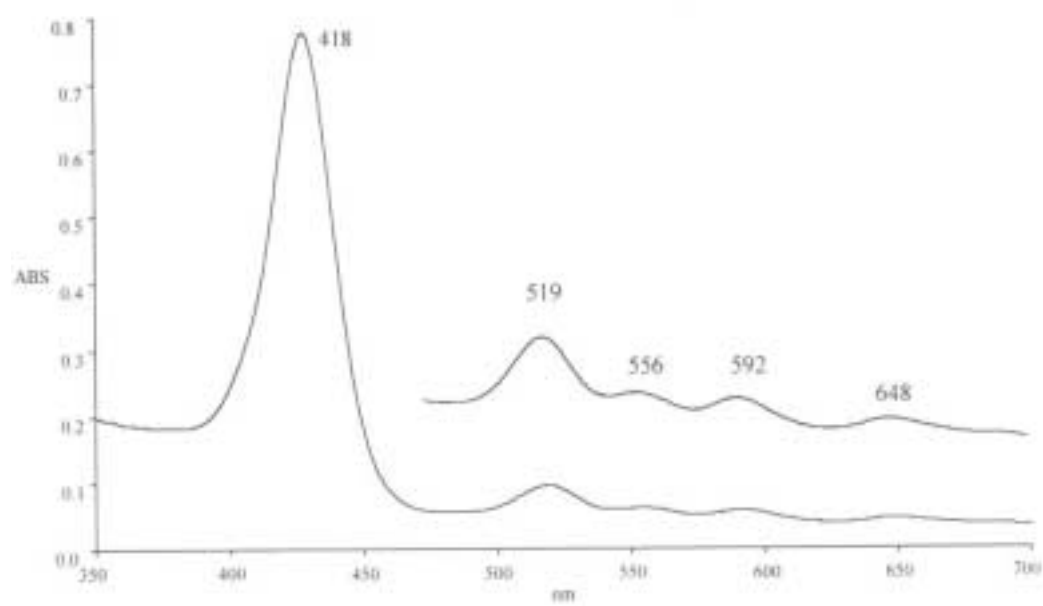
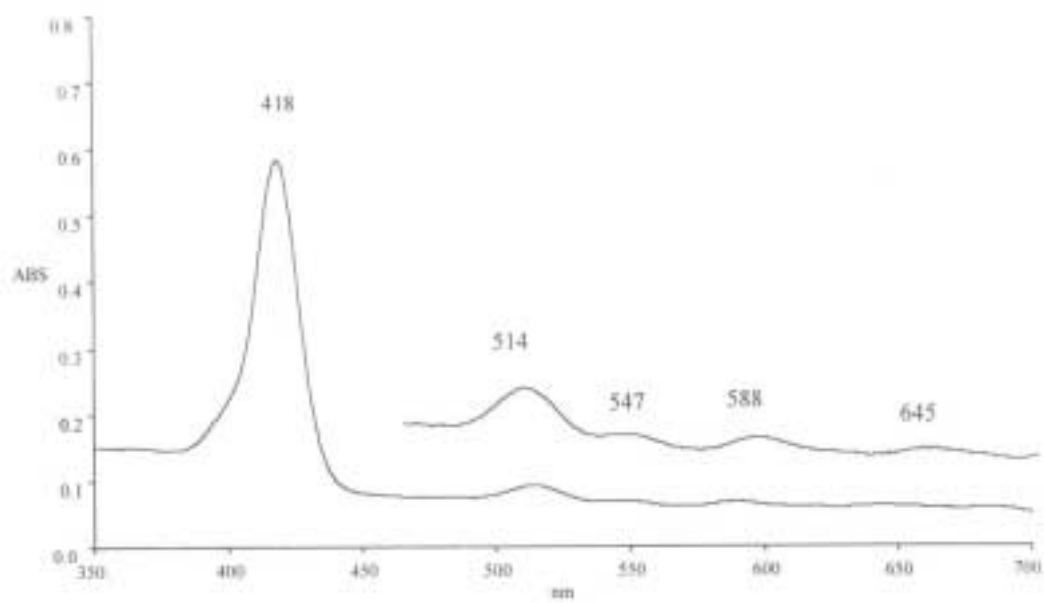
Σχήμα 3.2.4.

Πορφυρίνη	B-ταινία(nm)	Q-ταινίες(nm)				Διαλύτης
C5OMDIE	418	514	550	590	651	CH ₂ Cl ₂
	5,49	4,42	4,19	4,15	4,08	
C5OMDIA	418	514	548	589	649	CH ₂ Cl ₂
	5,58	4,55	4,37	4,35	4,31	
MC5OMDIA	428	520	562	587	644	DMF
	5,51	4,46	4,26	4,24	4,21	

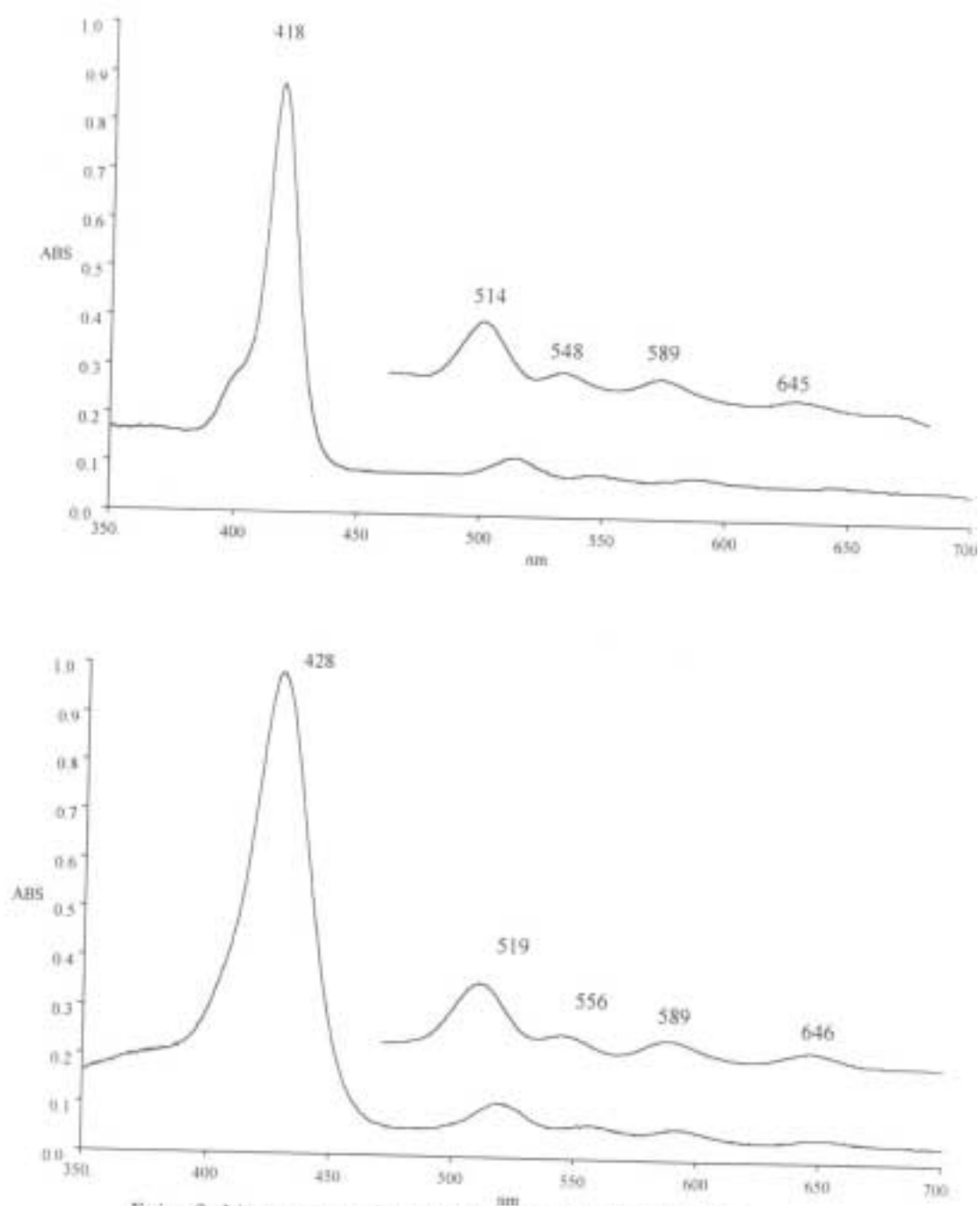
Πίνακας 4: Πορφυρίνες της σειράς C5-ortho,meta [$\lambda/nm(\log_e dm^{-3} mol^{-1} cm^{-1})$]

3.3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

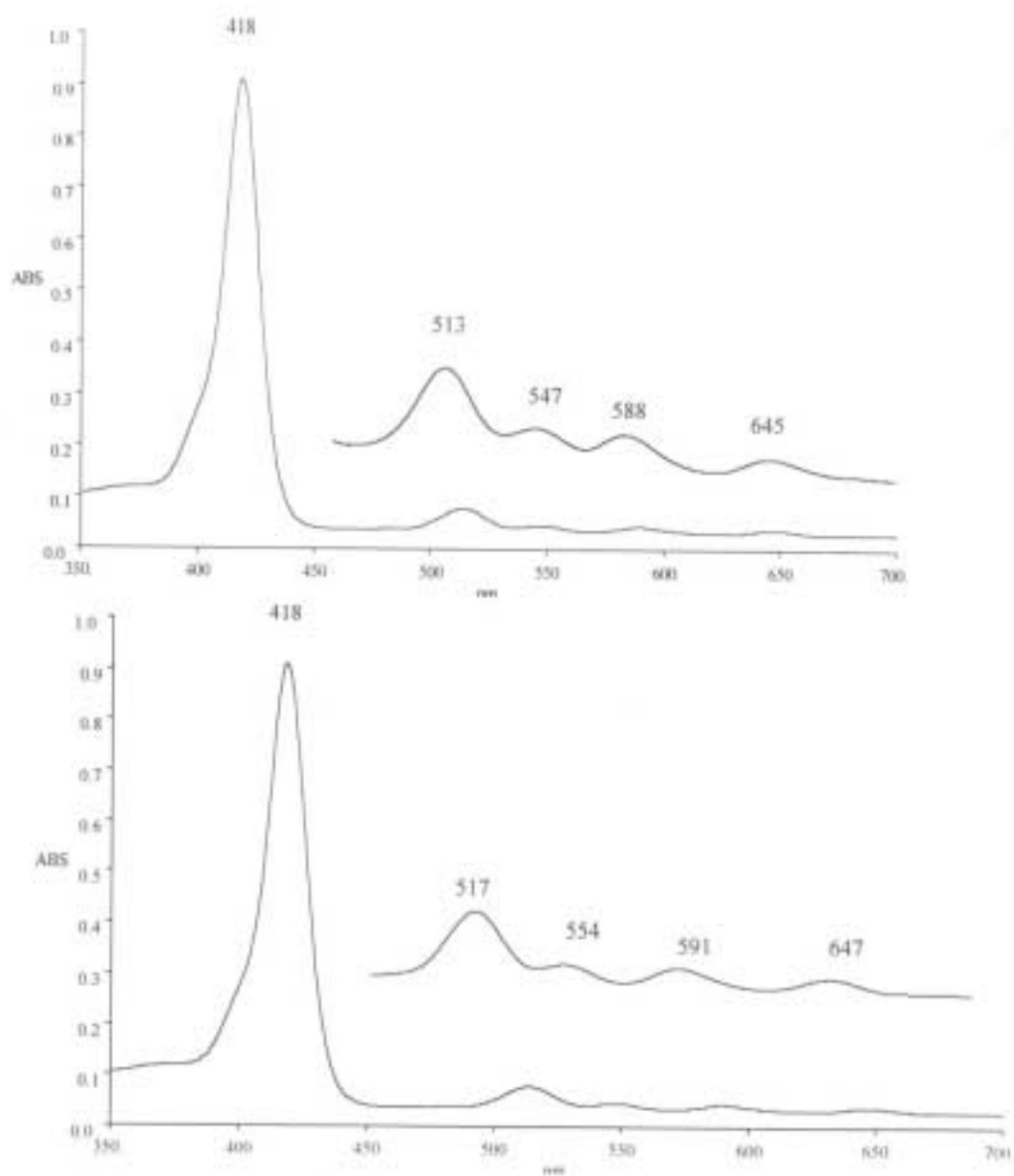
Όπως γίνεται αντιληπτό από το σύνολο των πορφυρινικών παραγώγων που έχουν συντεθεί, η υποκατάσταση στους φαινολικούς δακτυλίους δεν προκαλεί σημαντικές μεταβολές στα φάσματα απορρόφησης, τόσο στις *B*, όσο και στις *Q*-ταινίες. Αυτό οφείλεται στις παρόμοιες διαφορές ενέργειας μεταξύ των HOMO και LUMO τροχιακών. Αντίθετα, οι κατιονικές πορφυρίνες παρουσιάζουν αξιοσημείωτες διαφορές από τις ουδέτερες. Τα γενικά τους χαρακτηριστικά είναι οι μετατοπισμένες ταινίες απορρόφησης. Η *B*-ταινία εμφανίζεται μετατοπισμένη σε μεγαλύτερα μήκη κύματος, της τάξης των 7-10nm. Σημαντική είναι και η μετατόπιση των *Q*-ταινιών. Η μεγαλύτερης έντασης *Q*-ταινία εμφανίζεται μετατοπισμένη κατά 4-6nm, ενώ η επόμενη αυτής κατά 3-13nm. Τα παραπάνω χαρακτηριστικά αποδίδονται στον απεντοπισμό του ηλεκτρονιακού νέφους, λόγω του κατιονικού χαρακτήρα των ενώσεων^[10,11].



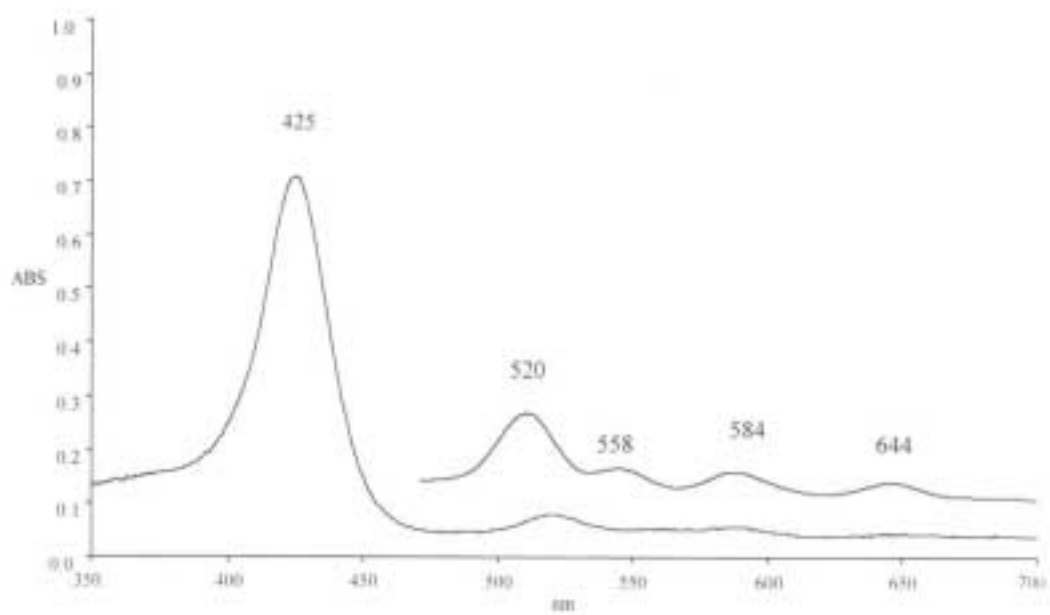
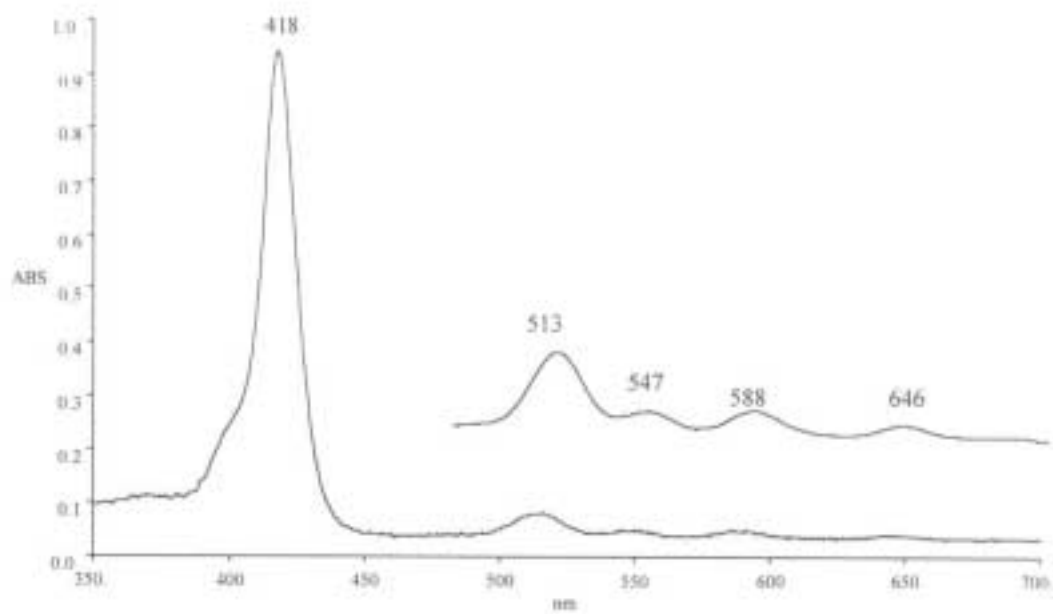
Σχήμα 1: Φάσματα υπεριώδους-ορατού των C4PME και C4PMA.



Σχήμα 2: Φάσματα υπεριώδους-ορατού των C4PMH και MC4PMH.



Σχήμα 3 Φάσματα υπεριώδους-ορατού των C3OMDIE και C3OMDIA



Σχήμα 4 Φάσματα υπεριώδους-ορατού των C3OMDII και MC3OMDII

3.4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] M. Gouterman, in “*The porphyrins*”, D. Dolphin, Academic Press, **1978**, Vol.III, Chapt 1.
- [2] K. Kalyanasundaram, “*Photochemistry of polypyridine and porphyrin complexes*”, Academic Press, **1992**, 376.
- [3] J. R. Platt, “*Radiation Biology*”, A. Hollaender Ed., Mc Graw-Hill Book Co., 1956, Vol.III, Chapt. 2.
- [4] W. T. Simpson, *J. Chem. Phys.*, **1949**, 17,1218.
- [5] M. Gouterman, *J. Chem. Phys.*, **1959**, 30, 5.
- [6] A. H. Corwin, A. B. Chivvis, R. W. Poor, D. G. Whitten and E. W. Baker, *J. Am. Chem. Soc.*, **1968**, 6577.
- [7] J. A. Shelnutz and V. Ortiz, *J. Phys. Chem.*, **1985**, 89, 4733.
- [8] J. W. Buchler, W. Kokisch and P. D. Smith, *Struct. Bonding*, **1978**, 34, 80.
- [9] K. S. Suslick, R. A. Watson, *New J. Chem.*, **1992**, 16, 633.
- [10] P. Hambright, E. B. Fleischer; *Inorg. Chem.*, **1970**, 9, 1757.
- [11] E. Van Caemelbecke, W. Kutner, K. M. Kadish; *Inorg. Chem.*, **1993**, 32, 438.

ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ΔΟΝΗΤΙΚΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ

4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ.

Η δονητική φασματοσκοπία υπέρυθρου των πορφυρινών, άρχισε να αναπτύσσεται από το 1950 ως μία σειρά εμπειρικών συσχετίσεων των παρατηρούμενων ταινιών απορρόφησης με χημικά καθορισμένες δομές. Αυτό οδήγησε στην απόδοση των χαρακτηριστικών ταινιών σε δονήσεις για πολλά τμήματα του πορφυρινικού δακτυλίου, τα οποία παρουσίαζαν καλά καθορισμένες ταινίες απορρόφησης. Αντίθετα, ένας αριθμός δονήσεων χαρακτηριστικών του πορφυρινικού δακτυλίου, δεν ήταν δυνατόν να αποδοθούν^[1,2].

Για να απορροφήσει ένα μόριο την υπέρυθη ακτινοβολία, θα πρέπει όταν δονείται να αλλάζει η διπολική του ροπή. Οι πορφυρίνες παρουσιάζουν αρκετές ταινίες απορρόφησης στο υπέρυθρο, οι οποίες αυξάνουν σε αριθμό, αυξανόμενου και της ασυμμετρίας του μορίου. Έτσι, περισσότερο υποκατεστημένες πορφυρίνες παρουσιάζουν στο φάσμα υπέρυθρου περισσότερες ταινίες.

Οι ταινίες απορρόφησης των πορφυρινών, μελετήθηκαν με σύγκριση αυτών με ένα μεγάλο αριθμό πορφυρινών και μεταλλοπορφυρινών, των οποίων η χημική δομή ήταν καλά καθορισμένη με σύνθεση, στοιχειακή ανάλυση και μία ποικιλία φασματοσκοπικών τεχνικών. Ο Mason^[3], το 1958, μελέτησε τις δονήσεις *N-H* εντός και εκτός επιπέδου του πορφυρινικού δακτυλίου, συγκρίνοντάς τις με αυτές των δευτεριωμένων παραγώγων και του πυρρόλιου. Οι ελεύθερες βάσεις των πορφυρινών

έχουν μειωμένη συμμετρία, λόγω των *NH* ομάδων των πυρρολίων. Μειωμένη συμμετρία προκαλεί και η υποκατάσταση στον πορφυρινικό δακτύλιο, με αποτέλεσμα ο αριθμός των ταινιών να αυξάνει^[4].

4.2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα φάσματα υπερύθρου ελήφθησαν με τη μορφή δισκίων χρησιμοποιώντας ως μέσο διασποράς KBr. Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται οι συχνότητες δόνησης των πορφυρινικών παραγώγων που συντέθηκαν^[5].

Δόνηση	C4PME	C4PMA	C4PMH
$\nu(\text{N-H})_{\text{pyr}}$	3315 972	3318 972	3320 972
$\nu(-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{O}-\text{R})$	1726(<i>s</i>) 1297(<i>s</i>)		
$\nu(-\text{CO}-\text{OH})$		1710(<i>s</i>) 1242(<i>s</i>)	
$N(-\text{CO}-\text{NH}-\text{OH})$			1634(<i>w</i>)
$\nu_{38} \nu(\text{C}_\beta-\text{C}_\beta)$	1590	1594	1595
$\nu(\text{C}_\alpha-\text{N})$	1470	1469	1466
$\nu(\text{N-butyl})$	1400 879 728	1405 879 732	1407 879 730
$\nu_{36} \nu(\text{C}_m-\text{phenyl})$	1350	1350	1350
$N_{51} \delta(\text{C}_\beta-\text{H})_{\text{asym}}$	1068	1068	1086
$\nu_{46} \delta(\text{pyr})_{\text{sym}}$	800	802	802

ν : δονήσεις τάσεων των πυρρολίων

δ : κάμψη εντός επιπέδου

s, w : δείκτες που υποδεικνύουν την ένταση με την οποία οι κορυφές αυτές εμφανίζονται και χαρακτηρίζουν ταινίες με ισχυρή(*s*) και ασθενή(*w*) ένταση.

Πίνακας 1: Συχνότητες δόνησης χαρακτηριστικών ομάδων σε κυματαριθμούς.

Δόνηση	C3OMDIE	C3OMDIA	C3OMDIH	C4OMDIE	C4OMDIA	C4OMDIH
$\nu(\text{N-H})_{\text{pyr}}$	3311 963	3304 667	3313 965	3306 972	3315 664	3310 964
$\nu(-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{O}-\text{R})$	1723(s) 1289(s)			1729(s) 1299(s)		
$\nu(-\text{CO}-\text{OH})$		1708(s) 1262(s)			1706(s) 1261(s)	
$N(-\text{CO}-\text{NH}-\text{OH})$			1647(w)			1651(w)
$N_{38} \nu(\text{C}_\beta-\text{C}_\beta)$	1592	1593	1593	1591	1595	1594
$\nu(\text{C}_\alpha-\text{N})$	1460	1459	1461	1459	1457	1458
$\nu(\text{N-BUTYL})$	1402 880 724	1405 882 728	1402 879 726	1403 882 731	1404 883 729	1400 882 730
$\nu_{36} \nu(\text{C}_m\text{-phenyl})$	1347	1350	1346	1349	1350	1343
$\nu_{51} \delta(\text{C}_\beta-\text{H})_{\text{asym}}$	1074	1068	1073	1068	1070	1065
$N_{46} \delta(\text{pyr})_{\text{sym}}$	797	799	796	799	796	800

ν : δονήσεις τάσεων των πυρρολίων

δ : κάμψη εντός επιπέδου

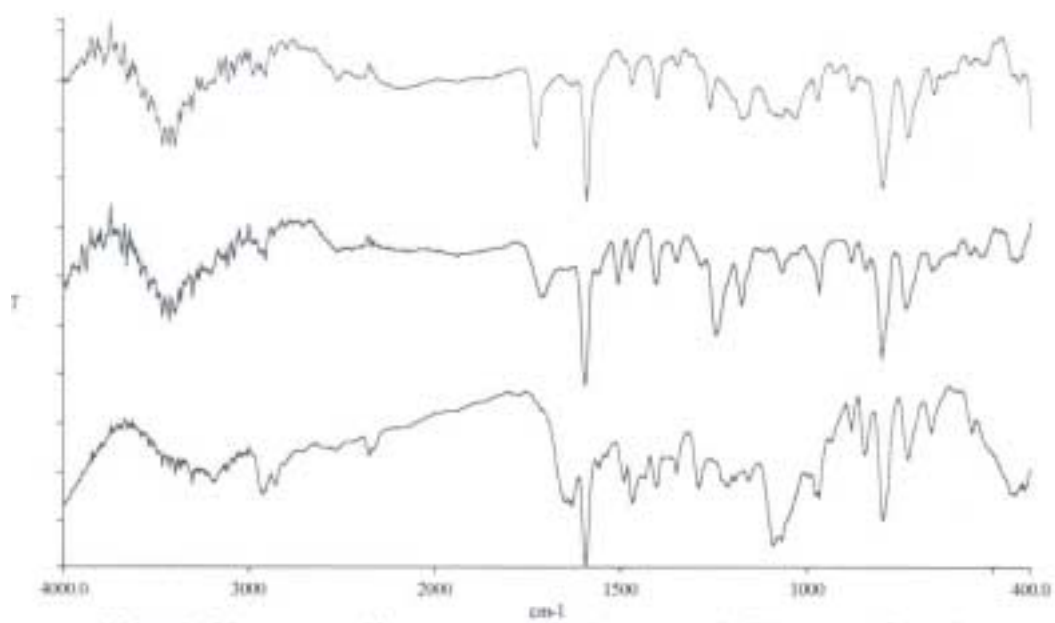
s, w : δείκτες που υποδεικνύουν την ένταση με την οποία οι κορυφές αυτές εμφανίζονται και χαρακτηρίζουν ταινίες με ισχυρή(s) και ασθενή(w) ένταση.

Δόνηση	C5OMDIE	C5OMDIA
$\nu(\text{N-H})_{\text{pyr}}$	3306 972	3315 664
$\nu(-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{O}-\text{R})$	1729(s) 1299(s)	
$\nu(-\text{CO}-\text{OH})$		1706(s) 1261(s)
$\nu(-\text{CO}-\text{NH}-\text{OH})$		
$\nu_{38} \nu(\text{C}_\beta-\text{C}_\beta)$	1591	1595
$\nu(\text{C}_\alpha-\text{N})$	1459	1457
$\nu(\text{N-BUTYL})$	1403 882 731	1404 883 729
$\nu_{36} \nu(\text{C}_m\text{-phenyl})$	1349	1350
$\nu_{51} \delta(\text{C}_\beta-\text{H})_{\text{asym}}$	1068	1070
$\nu_{46} \delta(\text{pyr})_{\text{sym}}$	799	796

4.3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Όπως γίνεται αντιληπτό από την ενότητα των πειραματικών αποτελεσμάτων, η υποκατάσταση στον πορφυρινικό δακτύλιο ελάχιστα επηρεάζει τις δονήσεις των χαρακτηριστικών ομάδων. Ο σκοπός της μελέτης των πορφυρινικών παραγώγων με φασματοσκοπία υπερύθρου, ήταν η επιβεβαίωση της μετατροπής της ομάδας του εστέρα της τριπυρίδιλο-έστερο-πορφυρίνης σε οξύ και στη συνέχεια σε υδροξαμικό οξύ. Πράγματι, παρατηρείται μία μετατόπιση της κορυφής που αντιστοιχεί σε δόνηση τάσεως της εστέρο-ομάδας, από τα $1725-1730\text{cm}^{-1}$ στα $1706-1711\text{cm}^{-1}$, η οποία είναι χαρακτηριστική για τα οξέα. Στη συνέχεια, παρατηρείται εκ νέου μετατόπιση της κορυφής στα $1634-1652\text{cm}^{-1}$, η οποία είναι χαρακτηριστική για την ομάδα του υδροξαμικού οξέος.

Στα σχήματα που ακολουθούν, δίνονται μερικά χαρακτηριστικά φάσματα υπερύθρου των ενώσεων που συντέθηκαν.



Σχήμα 1: Φάσματα υπέρυθρου για τις πορφυρίνες της σειράς C4-*para* και C4-*ortho-para*.

4.4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] J. E. Falk, J. B. Willis; *Aust. J. Sci. Res. Sec.*, **1951**, 579.
- [2] J. O. Alben, In “*The porphyrins*”; D. Dolphin, Ed.; Academic Press, New York, **1979**, Vol III, pp.323.
- [3] S. F. Mason, *J. Chem. Soc.*, **1958**, 976.
- [4] K. M. Smith, “*Porphyrins and Metalloporphyrins*”, Elsevier, Amsterdam, **1976**, 325.
- [5] K. Nakamoto, “*Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*”, J. Wiley and Sons, Third Edition, New York, **1978**, 214.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

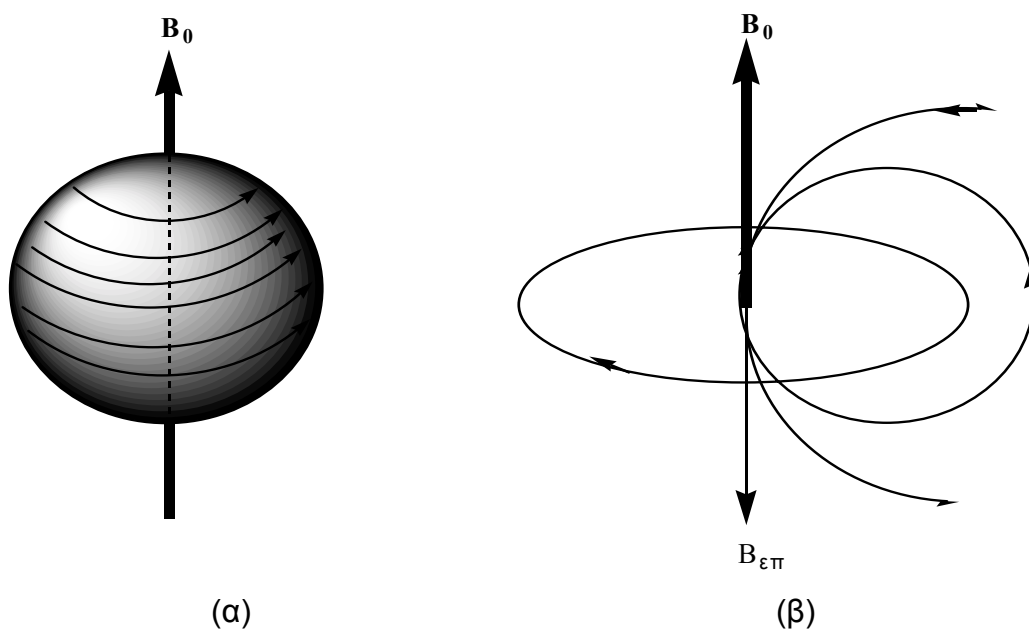
ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ

5.1 Γενικά

Η ανάπτυξη της φασματοσκοπικής τεχνικής πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR), είχε σαν αποτέλεσμα την ραγδαία πρόοδο της μελέτης των δομικών χαρακτηριστικών διάφορων οργανικών, και όχι μόνο, ενώσεων. Οι πορφυρίνες δεν θα μπορούσαν να αποτελούν εξαίρεση.

5.2 Πυρηνική Προστασία

Η φασματοσκοπία NMR βασίζεται στις ηλεκτρομαγνητικές ιδιότητες των πυρήνων των στοιχείων. Είναι γνωστό ότι όταν ένα μόριο βρεθεί κάτω από την επίδραση ενός εξωτερικού μαγνητικού πεδίου οι πυρήνες του συμπεριφέρονται σαν μαγνήτες. Τα ηλεκτρόνια που κινούνται γύρω από κάθε πυρήνα, επάγουν μικρά τοπικά μαγνητικά πεδία. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα ο κάθε πυρήνας, αναλόγως χημικού περιβάλλοντος, να “αντιλαμβάνεται” διαφορετικό μαγνητικό πεδίο και να δίνει ξεχωριστό σήμα NMR (σχήμα 5.2.1)^[1].

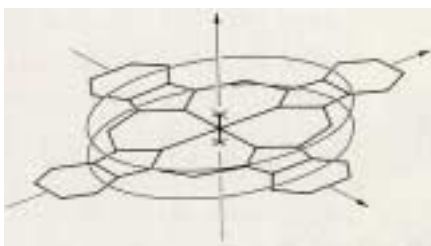


Σχήμα 5.2.1: (α) Διαγραμματική απεικόνιση της περιστροφής του ηλεκτρονιακού φορτίου υπό την επίδραση του εξωτερικού μαγνητικού πεδίου B_0 .
(β) Το επαγόμενο μαγνητικό πεδίο $B_{\epsilon\pi}$.

Το παραπάνω φαινόμενο ονομάζεται προστασία πυρήνα κατά την περίπτωση όπου το πεδίο των ηλεκτρονίων είναι αντίθετο από το εξωτερικό, ενώ στην αντίθετη περίπτωση ορίζεται ως αποπροστασία.

5.3 Ρεύμα Δακτυλίου

Το ρεύμα δακτυλίου είναι ένα φαινόμενο που παρατηρείται σε αρωματικά συστήματα. Οφείλεται δε, στην κίνηση των ηλεκτρονίων τα οποία προκαλούν ένα τοπικό ανισοτροπικό μαγνητικό πεδίο. Πιο συγκεκριμένα για το απλό αρωματικό μόριο του βενζολίου, όπως φαίνεται στο σχήμα, τα π -ηλεκτρόνια που περιστρέφονται πάνω και κάτω από το επίπεδο του μορίου επάγουν ένα τοπικό μαγνητικό πεδίο που είναι αντίθετο στο εξωτερικό B_0 . Αντιθέτως είναι ομόρροπο με το πεδίο των βενζολικών πρωτονίων. Συμπερασματικά, το νέο πεδίο που δημιουργείται προστατεύει τα πρωτόνια που βρίσκονται εκατέρωθεν του δακτυλίου, μετατοπίζοντας το σήμα τους σε μεγαλύτερες τιμές πεδίου. Ενώ τα πρωτόνια, τα οποία βρίσκονται στο ίδιο επίπεδο του δακτυλίου, αποπροστατεύονται και το σήμα τους μετατοπίζεται σε χαμηλότερες τιμές πεδίου.



Σχήμα 5.3.1. Θεωρητικό μοντέλο της τροχιάς των ηλεκτρονίων των Waugh-Fessenden και Johnson-Bovey, για το μόριο της φθαλοκυανίνης.

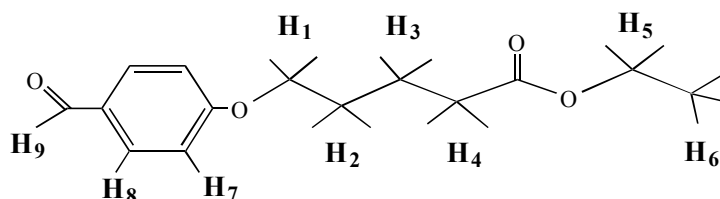
Για το μόριο της πορφυρίνης αναπτύχθηκαν διαφορετικές θεωρίες. Κατ' αρχήν ο Pople^[2] (1956), έκανε την υπόθεση ότι τα π -ηλεκτρόνια κινούνται σε ένα κύκλο περιμετρικά του δακτυλίου της πορφυρίνης ενώ το άνωσμα της διπολικής ροπής βρίσκεται στο κέντρο του μορίου. Αργότερα οι Waugh-Fessenden^[3] και Johnson-Bovey^[4], βελτίωσαν αυτό το μοντέλο θεωρώντας δύο κύκλους κίνησης των ηλεκτρονίων, τοποθετημένους συμμετρικά και εκατέρωθεν του πορφυρινικού επιπέδου. Τελικά ο Abraham^[5] δημιούργησε ένα πιο πολύπλοκο μοντέλο το οποίο λάμβανε υπόψη και τους χηλικούς υποκαταστάτες του μορίου. Αυτό το μοντέλο δεν χρησιμοποιήθηκε επειδή προέβλεπε μεγάλες χημικές μετατοπίσεις.

Τελικά από τις παραπάνω θεωρίες εξήχθησαν ημιεμπειρικοί τύποι οι οποίοι υπολόγιζαν με μεγάλοι ακρίβεια τις χημικές μετατοπίσεις των πορφυρινικών πρωτονίων. Έτσι τα β -πρωτόνια μετατοπίζονται σε χαμηλότερες τιμές πεδίου κατά 5ppm περίπου σε σχέση με τα πυρρολικά. Αντιθέτως τα πρωτόνια N-H

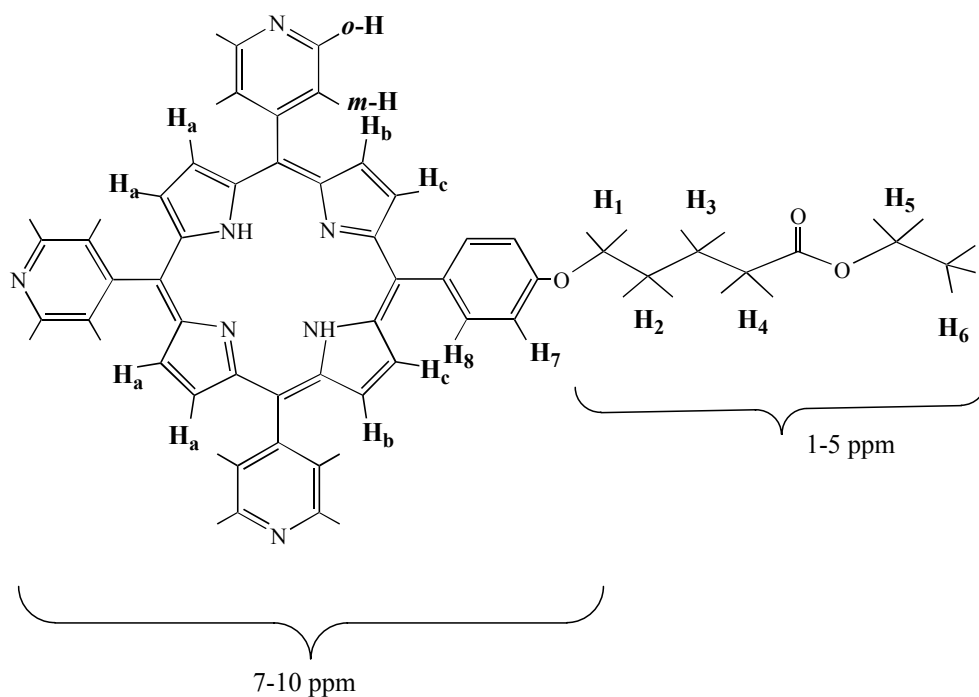
μετατοπίζονται σε υψηλότερες τιμές πεδίου κατά 11ppm περίπου από τα αντίστοιχα του πυρρολίου.

5.4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στα παρακάτω σχήματα δίνονται η δομή και η αρίθμηση των πρωτονίων που χρησιμοποιήθηκε για το αίθυλο-5-(4-φόρμυλ-φαινόξυ)-πεντανοϊκό, (σχήμα 5.4.1) και την C4PME, (σχήμα 5.4.2).



Σχήμα 5.4.1: Αρίθμηση των πρωτονίων του αίθυλο-5-(4-φόρμυλ-φαινόξυ) πεντανοϊκού.



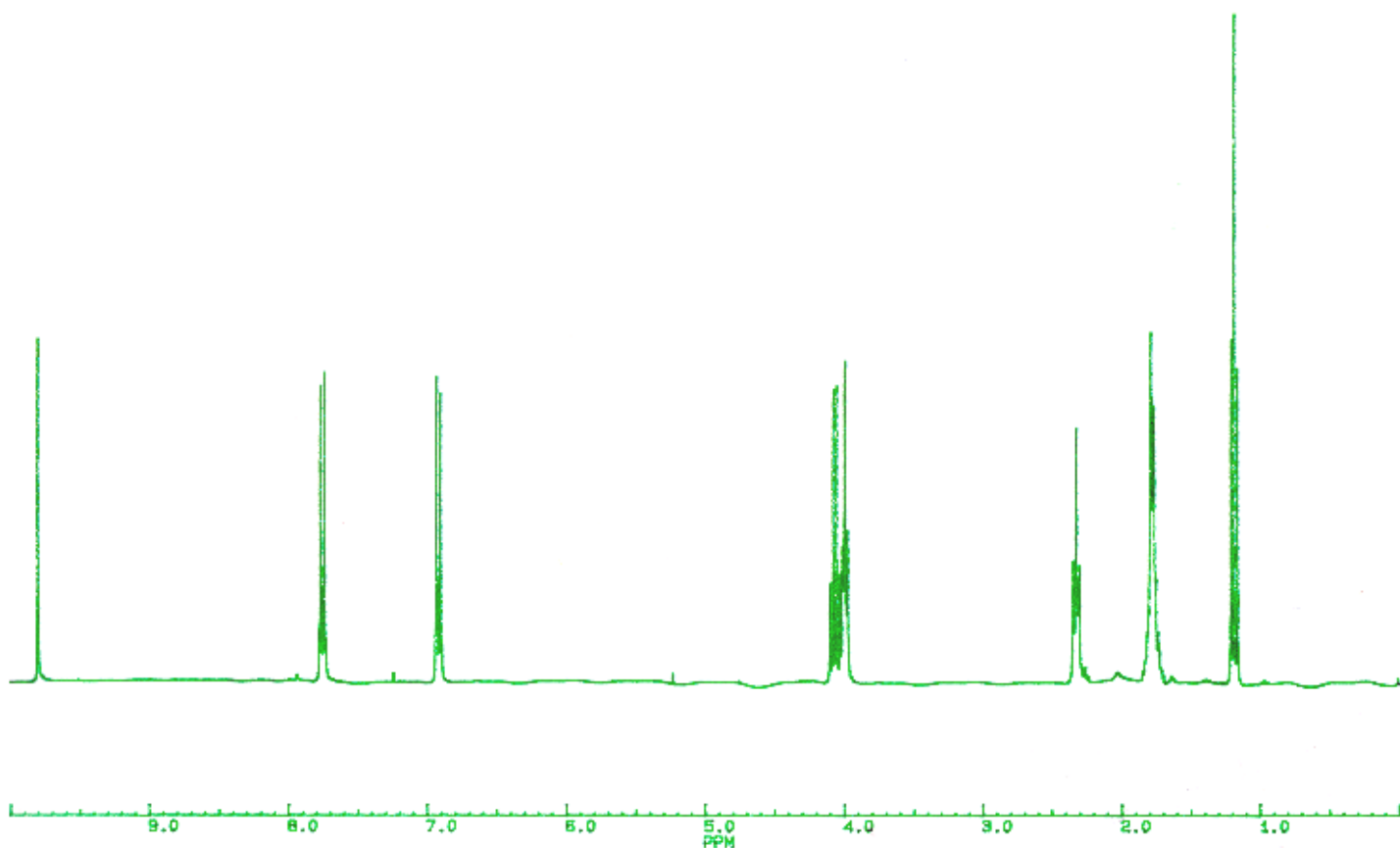
Σχήμα 5.4.2.: Δομή της C4PME και αρίθμηση των πρωτονίων της.

Σημείωση: Με τον ίδιο τρόπο γίνεται και η αρίθμηση των υπόλοιπων προϊόντων.

5.5. ΠΟΡΦΥΡΙΝΕΣ ΤΗΣ ΣΕΙΡΑΣ C4-πάρα

Πίνακας 1: Χημικές μετατοπίσεις των πρωτονίων του αίθυλο-5-(4-φόρμυλ-φαίνοξυ)-πεντανοϊκού.

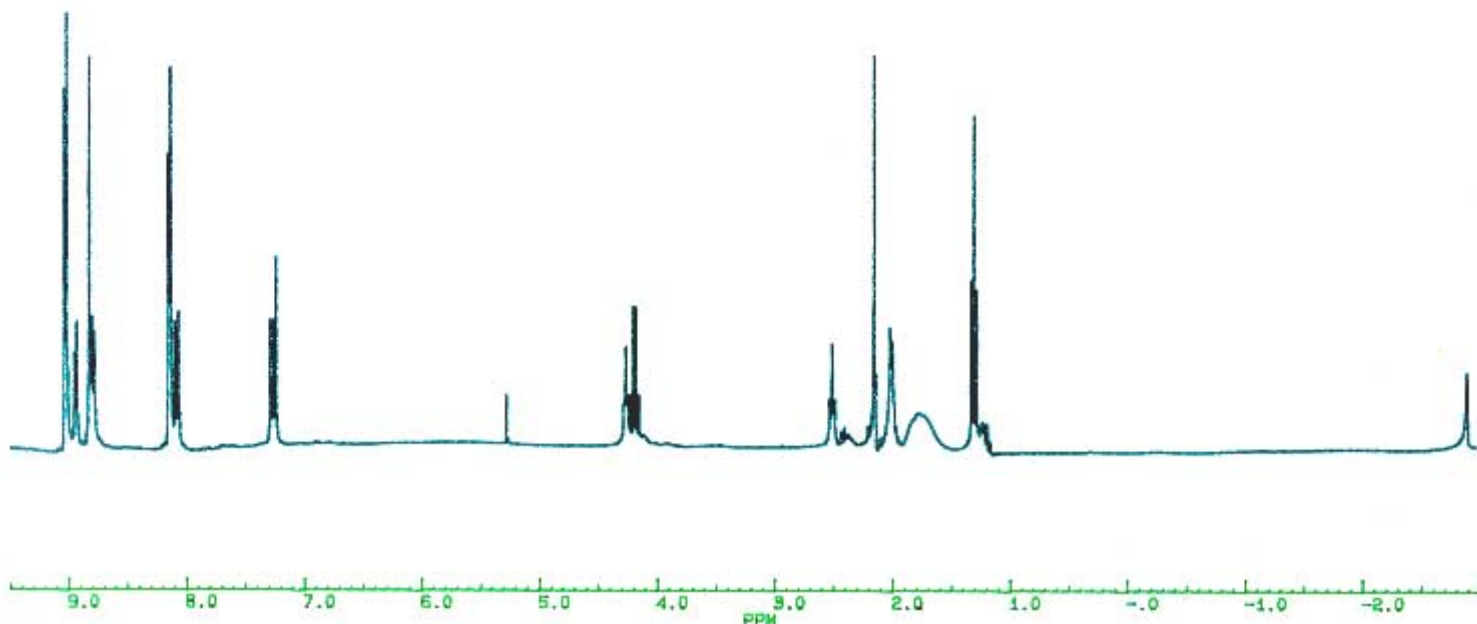
H ₉	9,79s	H ₅	4,06q	H ₂ +H ₃	1,78m
H ₇	7,76d	H ₁	3,98t	H ₆	1,20t
H ₈	6,92d	H ₄	2,31t		



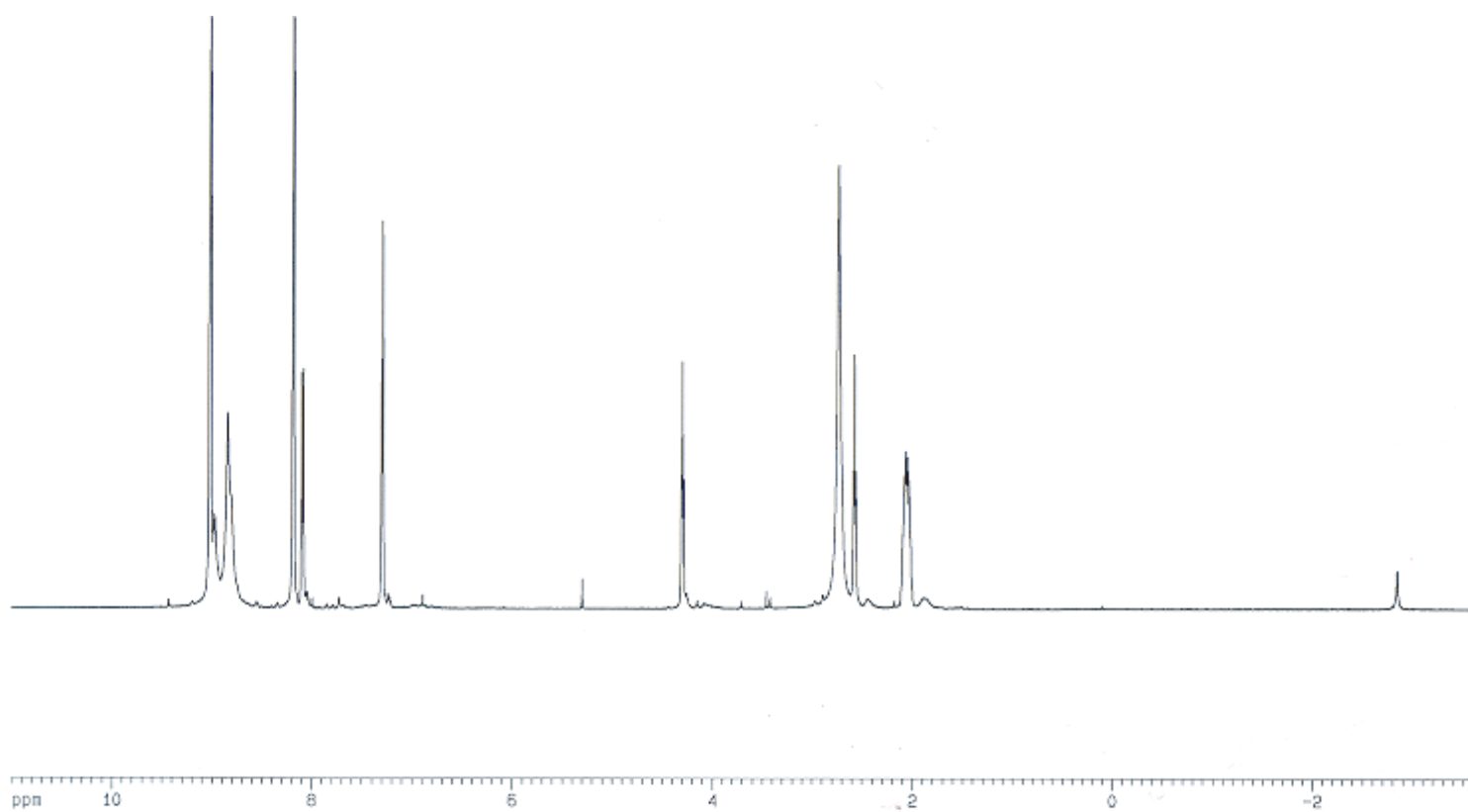
Σχήμα 5.5.1.: Φάσμα ¹H-NMR του αίθυλο-5-(4-φόρμυλ-φαίνοξυ)-πεντανοϊκού.

Πίνακας 2: Χημικές μετατοπίσεις πρωτονίων για τις ενώσεις C4PME, C4PMA, C4PMH.

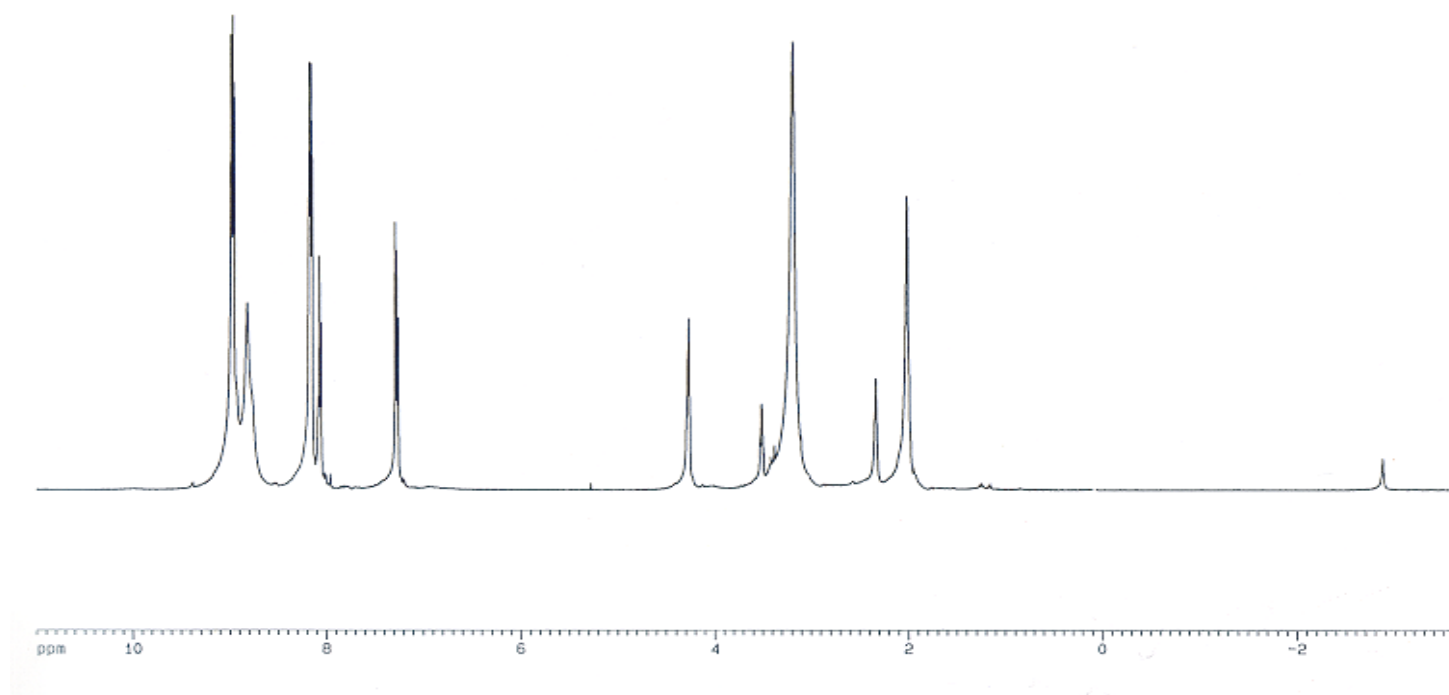
C4PM E	δ (ppm)	C4PM A	δ (ppm)	C4PM H	δ (ppm)
<i>m</i> -H	9,03d	<i>m</i> -H	9,01d	<i>m</i> -H	8,98d
H _b	8,91d	H _b	8,97d	H _b	8,96d
H _a	8,81s	H _a	8,84s	H _a	8,81s
H _c	8,77d	H _c	8,83b	H _c	8,80b
<i>o</i> -H	8,15d	<i>o</i> -H	8,18d	<i>o</i> -H	8,18d
H ₈	8,10d	H ₈	8,09d	H ₈	8,14d
H ₇	7,29d	H ₇	7,30d	H ₇	7,28d
H ₁	4,22t	H ₁	4,30t	H ₁	4,27t
H ₅	4,17q	-	-	-	-
H ₄	2,48t	H ₄	2,56t	H ₄	2,33t
H ₂ +H ₃	1,91m	H ₂ +H ₃	2,08m	H ₂ +H ₃	2,01m
H ₆	1,24t	-	-	-	-
N-H	-2,89s	N-H	-2,84s	N-H	-2,88s



Σχήμα 5.5.2...: Φάσμα ¹H-NMR της C4PME.



Σχήμα 5.5.3: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της C4PMA.

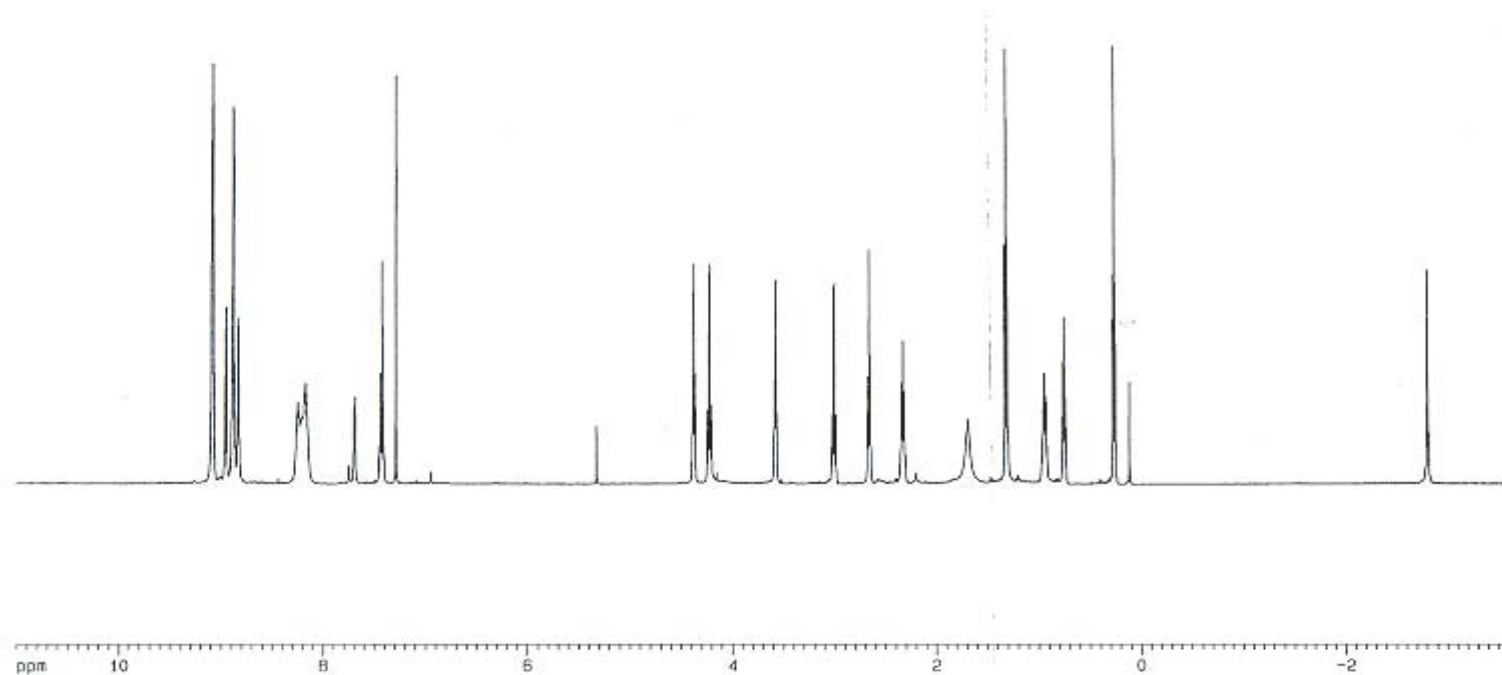


Σχήμα 5.5.4: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της C4PMH.

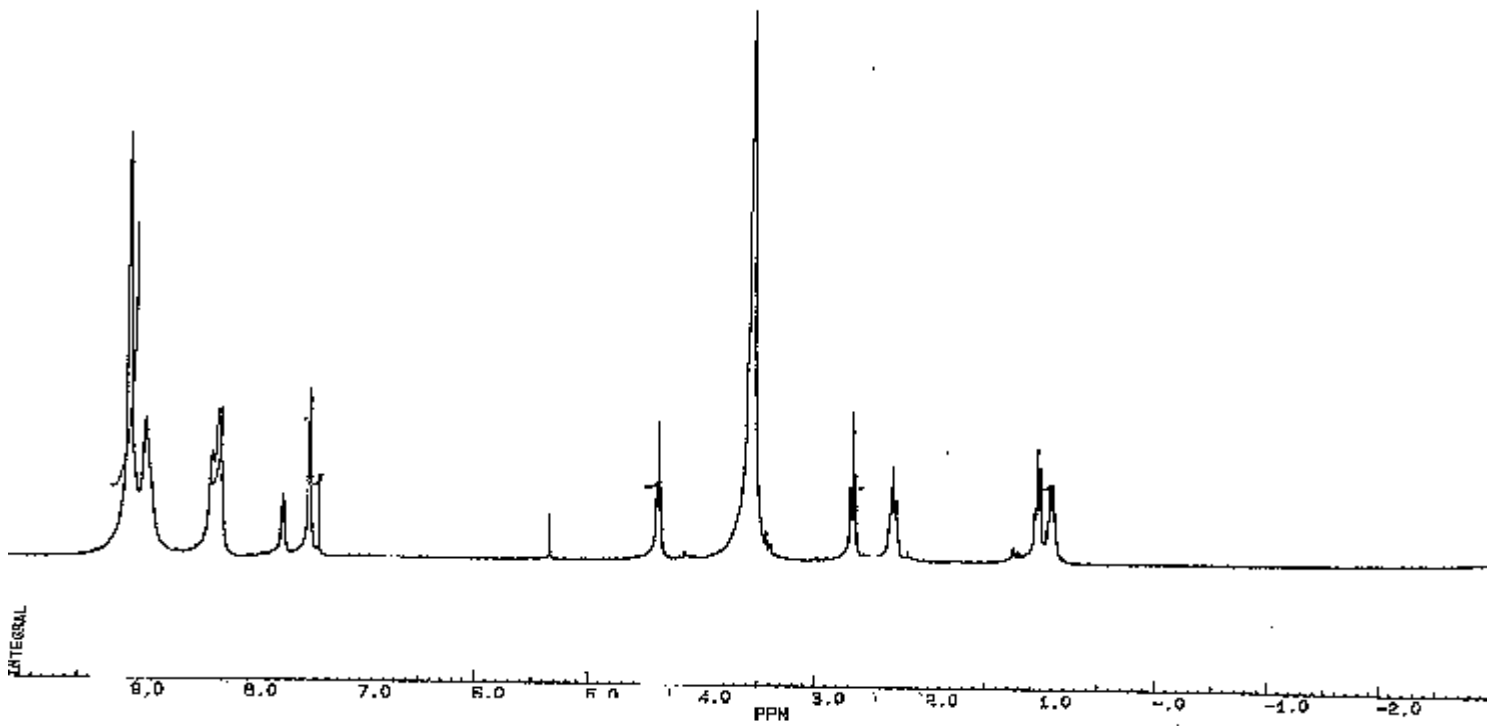
5.6 ΠΟΡΦΥΡΙΝΕΣ ΤΗΣ ΣΕΙΡΑΣ C3-όρθο-μέτα

Πίνακας Χημικές μετατοπίσεις πρωτονίων για τις ενώσεις

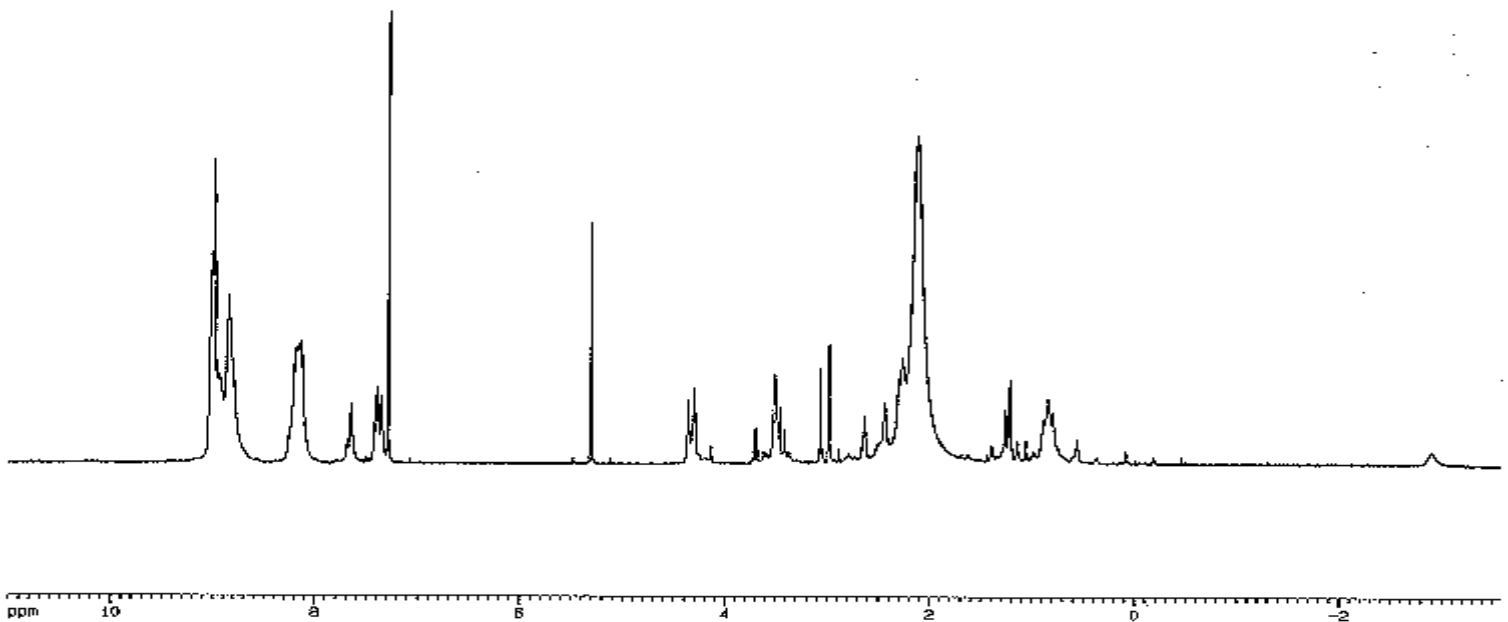
C3OMME	δ (ppm)	C3OMMA	δ (ppm)
H _a	8.88s	H _a	
H _b	8.95d	H _b	
H _c	8.83d	H _c	
H ₁	3.57t	H ₁	
H ₂	3m	H ₂	
H ₃	2.32t	H ₃	
H ₄	0.74t		
H ₅	0.25t		
H ₆	4.37t	H ₆	
H ₇	4.22q	H ₇	
H ₈	2.66t	H ₈	
H ₉	0.94t		
H ₁₀	1.31t		
H ₁₁	4.15q	H ₁₁	
H ₁₂	1.27t	H ₁₂	
H ₁₃ +H ₁₅	7.41m	H ₁₃ +H ₁₅	
H ₁₄	7.68d	H ₁₄	7.33d
H ₁₆	8.17-8.24d	H ₁₆	8.12d
H ₁₇	9.08d	H ₁₇	8.91d
N-H	-2,8s	N-H	



Σχήμα 5.6.1. Φάσμα ¹H-NMR του C3OMDIE



Σχήμα 5.6.2. Φάσμα του C3OMDIA

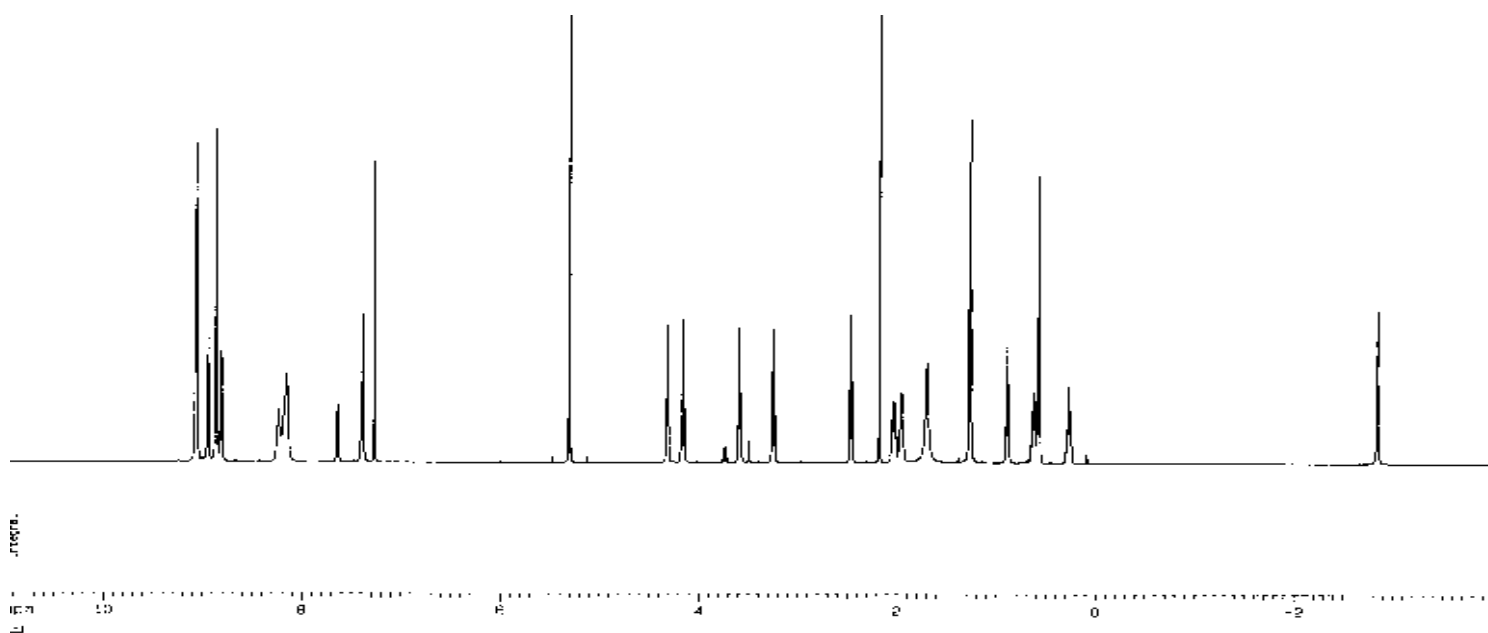


Σχήμα 5.6.2. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του C3OMDII

5.7. ΠΟΡΦΥΡΙΝΕΣ ΤΗΣ ΣΕΙΡΑΣ C4-όρθο-μέτα

Πίνακας Χημικές μετατοπίσεις πρωτονίων για τις ενώσεις

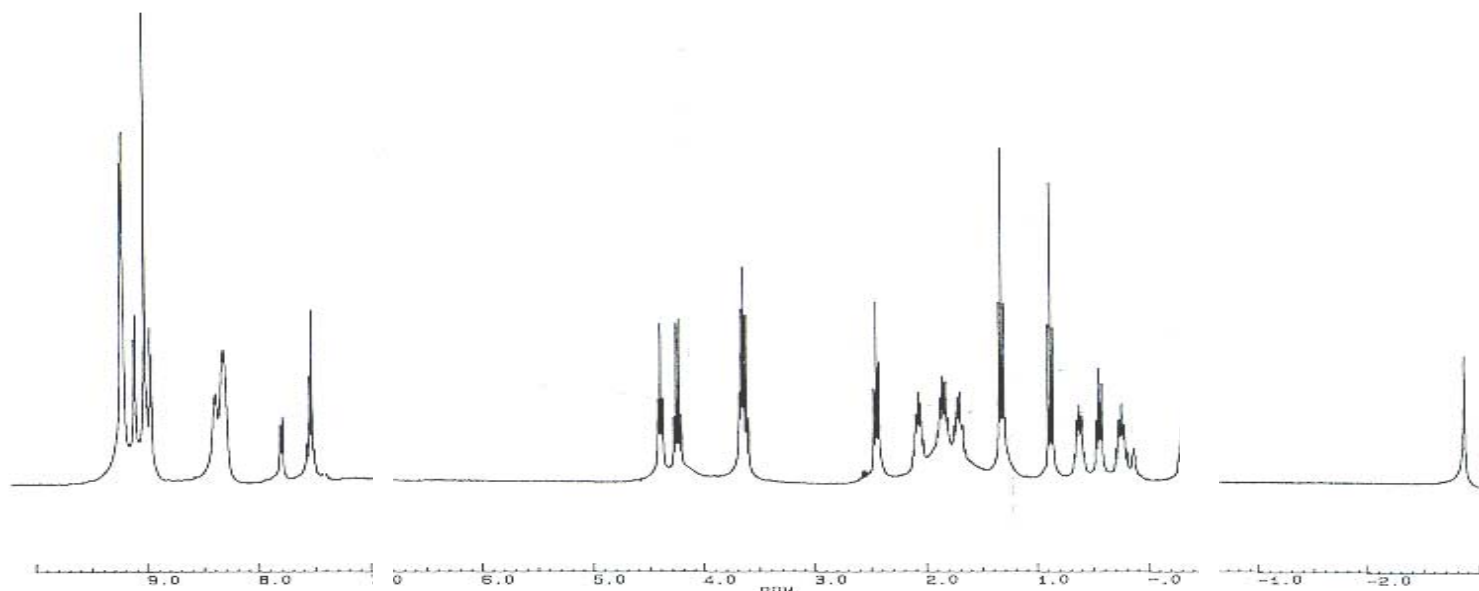
C4OMME	
H _a	8.86s
H _b	8.93d
H _c	8.81d
H ₁	3.58t,
H ₂	0.26m
H ₃	0.62m
H ₄	0.89t
H ₅	3.25q
H ₆	0.57t
H ₇	4.31t
H ₈	2.0m
H ₉	1.95m
H ₁₀	2.46t
H ₁₁	4.15q
H ₁₂	1.27t
H ₁₃ +H ₁₅	7.38m
H ₁₄	7.64m
H ₁₆	8.15d
H ₁₇	9.06d



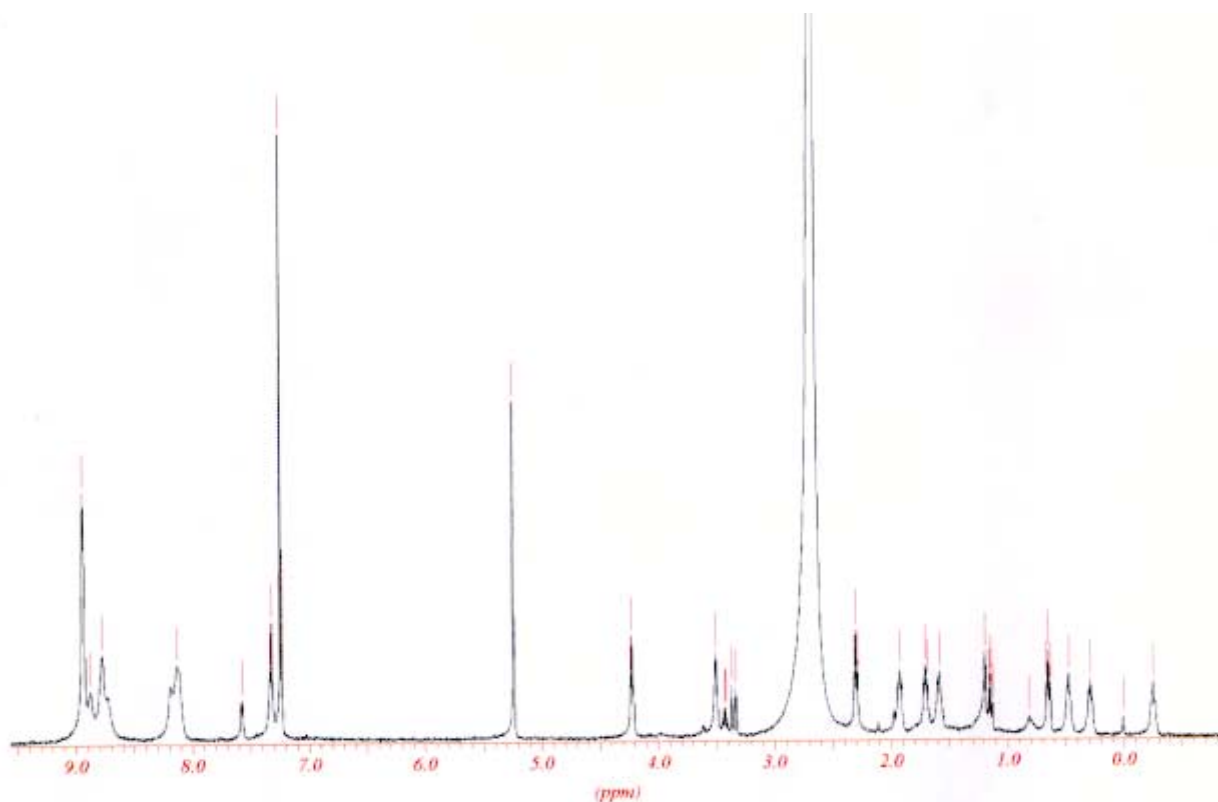
Σχήμα 5.7.1. Φάσμα ¹H-NMR του C4OMDIE

5.8. ΠΟΡΦΥΡΙΝΕΣ ΤΗΣ ΣΕΙΡΑΣ C5-όρθο-μέτα
Πίνακας Χημικές μετατοπίσεις πρωτονίων για τις ενώσεις

C50MDIE	δ ¹ H(Ref.to TMS) (300MHz,CDCl ₃)	C50MDIA	δ ¹ H(Ref.to TMS) (500MHz,CDCl ₃)
H _a	8.83s 2649	H _a	8.83s 2649
H _b	8.91d 2673	H _b	8.91d 2673
H _c	8.77d 2631	H _c	8.77d 2631
H ₁	3.58t,	H ₁	3.58t,
H ₂	0.26m	H ₂	0.26m
H ₃	0.62m	H ₃	0.62m
H ₄	0.89t	H ₄	0.89t
H ₅	3.25q	H ₅	3.25q
H ₆	0.57t	H ₆	0.57t
H ₇	0.77t 231	H ₇	0.77t 231
H ₈	2.0m	H ₈	2.0m
H ₉	1.95m	H ₉	1.95m
H ₁₀	2.46t	H ₁₀	2.46t
H ₁₁	4.15q	H ₁₁	4.15q
H ₁₂	1.27t	H ₁₂	1.27t
H ₁₃ +H ₁₅	7.35m2205	H ₁₃ +H ₁₅	7.35m2205
H ₁₄	7.61m2283	H ₁₄	7.61m2283
H ₁₆	8.13-8.21d 2439-2463	H ₁₆	8.13-8.21d 2439-2463
H ₁₇	9.04d 2712	H ₁₇	9.04d 2712
H14β	1.23t369	H14β	1.23t369



Σχήμα 5.8.1. Φάσμα ¹H-NMR του C50MDIE

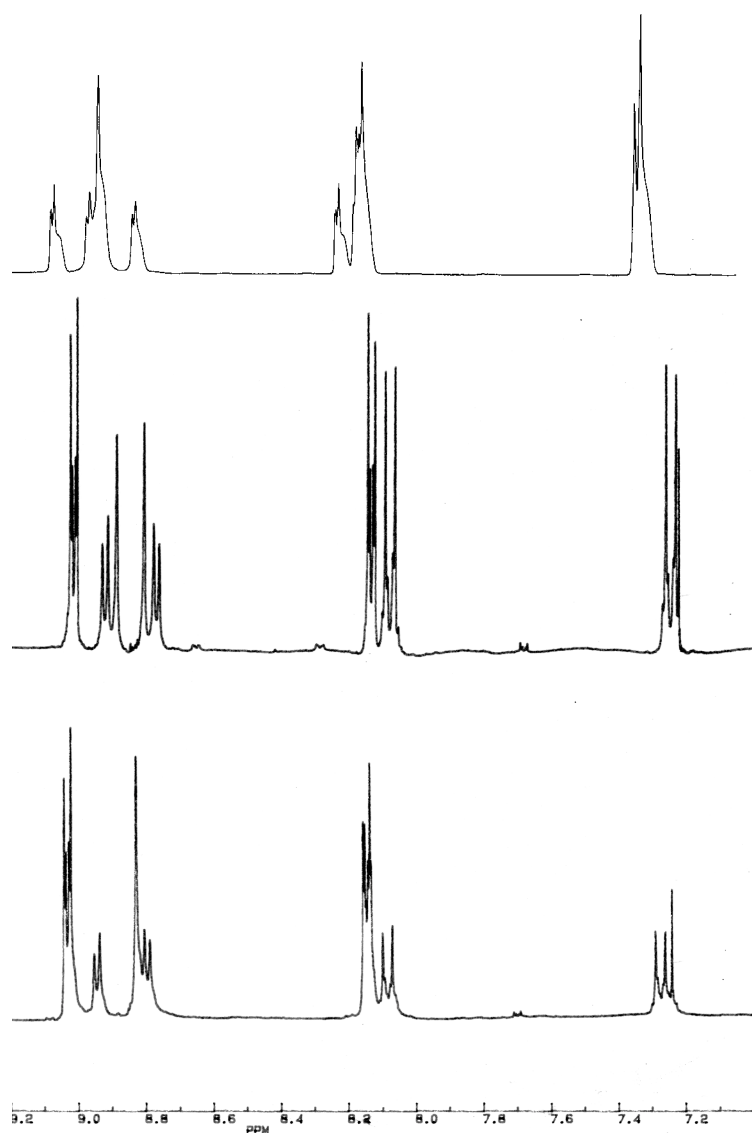


Σχήμα 5.8.2. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του C5OMDIA

5.3. ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ $^1\text{H-NMR}$

Από τους παραπάνω πίνακες αλλά και από τα φάσματα, γίνεται αντιληπτό ότι τα φαίνυλο, τα πυρρολικά και τα πυρίδιλο πρωτόνια εμφανίζονται σε μία περιοχή 7-10ppm. Για τα πρωτόνια αυτά παρατηρείται μετατόπιση σε χαμηλές τιμές πεδίου, καθώς υφίστανται την αποπροστασία του ρεύματος δακτυλίου. Αντίθετα, τα πρωτόνια της αλειφατικής αλυσίδας εμφανίζονται στην περιοχή 1-5ppm. Ακόμη, τα πρωτόνια που αντιστοιχούν στις ομάδες N-H εμφανίζονται σε ακόμη υψηλότερα πεδία, λόγω της ισχυρής προστασίας των πρωτονίων αυτών από το ηλεκτρονιακό ρεύμα του πορφυρινικού δακτυλίου.

Όσο αναφορά τα διάφορα ισομερή, στο παρακάτω σχήμα δίνονται τα φάσματα των τριών ισομερών που διαχωρίστηκαν για την περίπτωση του εστέρα της σειράς C4-πάρα. Οι διαφορές τους αφορά την περιοχή 7-9,2 ppm, δηλαδή την περιοχή στην οποία εμφανίζονται οι χημικές μετατοπίσεις των αρωματικών πρωτονίων.



Σχήμα 16: Τα τρία ισομερή της σειράς C4-πάρα: Τριεστέρας-μονοπυρίδilo-πορφυρίνη (επάνω), διεστέρας-διπυρίδilo-πορφυρίνη (CIS), (στο κέντρο) και μονοεστέρας-διπυρίδilo-πορφυρίνη(κάτω).

Σημείωση: Ισομερή ελήφθησαν μόνο για την περίπτωση της σειράς C4-πάρα και όχι για όλα τα προϊόντα, κάτι το οποίο οφείλεται στην προφανώς μεγάλη στερεοχημική παρεμπόδιση του σχηματισμού αυτών.

Από τους πίνακες 2-6 παρατηρείται ότι η θέση αλλά και το μήκος της αλυσίδας δεν επηρεάζουν σημαντικά τις χημικές μετατοπίσεις. Οι αλλαγές που υπάρχουν οφείλονται μόνο στο γεγονός της ύπαρξης λιγότερων πρωτονίων στο υποκατεστημένο φαινύλιο, στην περίπτωση των δύο ή τριών αλειφατικών αλυσίδων ή περισσότερων λόγω του μεγαλύτερου μήκους των αλυσίδων.

Αντίθετα, ανάμεσα στον εστέρα, το οξύ και το υδροξαμικό οξύ της πορφυρίνης παρατηρούνται αξιοσημείωτες διαφορές στις χημικές μετατοπίσεις των αντίστοιχων πρωτονίων. Η σημαντικότερη διαφορά εμφανίζεται στα H_4 και γενικά στα πρωτόνια που βρίσκονται στο γειτονικό άτομο άνθρακα της χαρακτηριστικής ομάδας. Στην περίπτωση του εστέρα, η τριπλή κορυφή που αντιστοιχεί στα πρωτόνια αυτά εμφανίζεται στα 2,48ppm, ενώ για το οξύ και το υδροξαμικό οξύ εμφανίζεται στα 2,56 και 2,33ppm αντίστοιχα.

3.5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Ι. Γεροθανάσης, 'Εργαστήριο Φασματοχημικών και Φυσικοχημικών Τεχνικών',
Ιωάννινα, Ν. Χατζηλιάδης, **1999**, 93.
- [2] J. A. Pople, J. Chem. Phys., **1956**, 24, 1111.
- [3] J. S. Waygh, R. W. Fessenden, J. Am. Chem. Soc., **1958**, 79, 846.
- [4] C. E. Johnson, F. A. Bovey, J. Chem. Phys., **1958**, 29, 1012.
- [5] R. J. Abraham, Mol. Phys., **1961**, 4, 145.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΤΟΥ DNA ΜΕ ΤΙΣ ΠΟΡΦΥΡΙΝΕΣ ΜΕ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ ΟΡΑΤΟΥ

Βασικές αρχές

Οι φασματομετρικές τιτλοδοτήσεις των πορφυρινών με το DNA πραγματοποιήθηκαν στην περιοχή ανάμεσα στα 350 και 550 nm. Τα φάσματα απορρόφησης των πορφυρινών έγιναν παρουσία του DNA. Το φαινόμενο της παρεμβολής παρατηρείται κατά την προσθήκη του DNA, μέσω της αυξημένης υποχρωμικότητας (>40%) και βαθοχρωμικότητας (>15 nm) της Soret ταινίας, ενώ οι εξωτερικές συνδέσεις χαρακτηρίζονται από την μείωση της υποχρωμικότητας (<25%) και βαθοχρωμικότητας (8 nm) της Soret ταινίας.

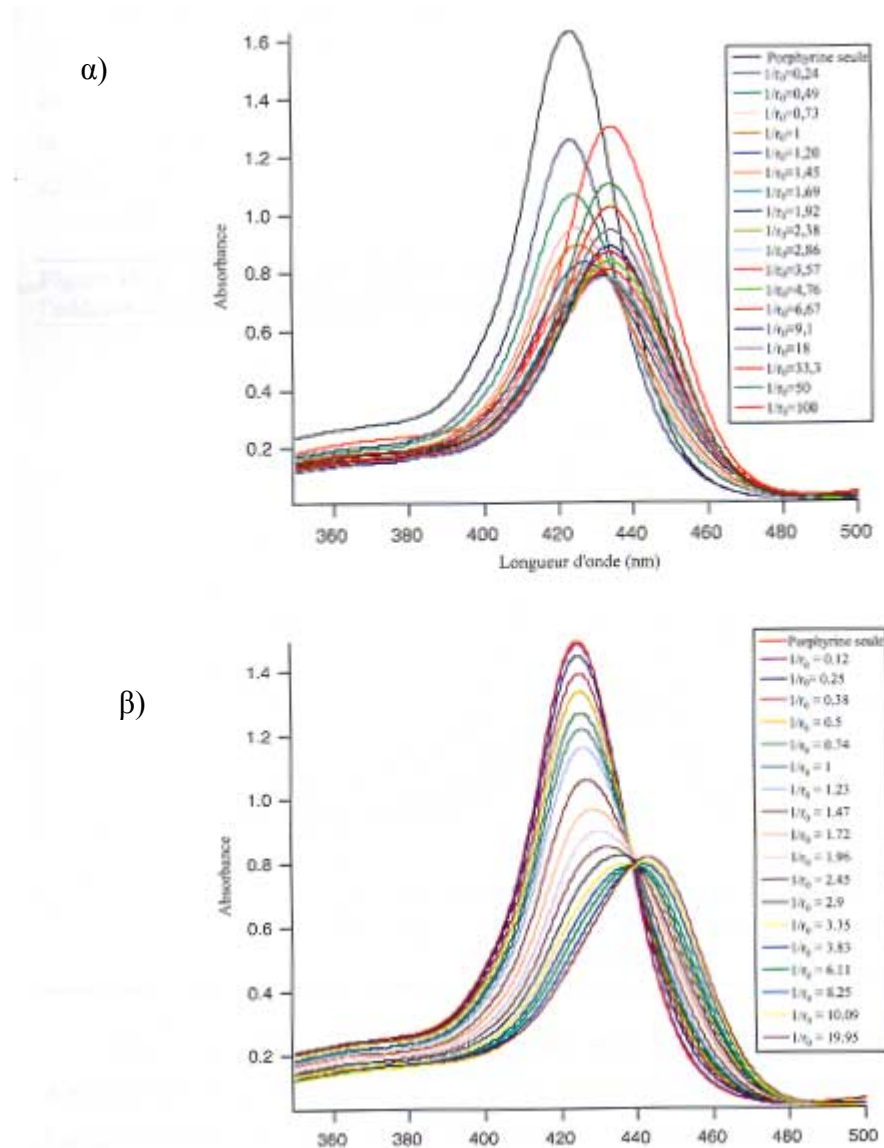
Παρακάτω παρατίθενται οι χρησιμοποιούμενοι όροι :

- 1) Αναλογία αρχικών συγκεντρώσεων $1/r_0 = [\text{DNA}]_0/[\text{P}]_0$
- 2) Βαθοχρωμικότητα : $\Delta\lambda = \lambda - \lambda_0$
 όπου λ_0 : μήκος κύματος της ελεύθερης πορφυρίνης
 λ : μήκος κύματος της πορφυρίνης παρουσία DNA
- 3) Υποχρωμικότητα : $H_{\text{app}}\% = [(A - A_0)] \times 100 / A_0$
 όπου A_0 = απορρόφηση του διαλύματος της πορφυρίνης με αρχική συγκέντρωση $[\text{P}]_0$ στο λ_0
 A = απορρόφηση του διαλύματος της πορφυρίνης στην ίδια συγκέντρωση και παρουσία του DNA στο λ .

6.2. Επίδραση της σύνθεσης των ζευγών βάσεων του DNA στις τιτλοδοτήσεις

Στο σχήμα παρουσιάζεται η τιτλοδότηση της πορφυρίνης τριμεθυλπυριδινιο-μονοφαίνυλδροξαμικό οξύ της σειράς πάρα με DNA de thymus de veau (TV, 42% σε ζεύγη GC) (α), και με DNA de micrococcus lysodeikticus (ML, 72% σε ζεύγη GC) (β) μέχρι αναλογία $1/r_0$. Εξετάστηκε η επίδραση του ποσοστού του ζεύγους GC του DNA, στην αλληλεπίδραση της MeC4pMH με το DNA. Από τις καμπύλες τιτλοδότησης προκύπτει ότι γίνεται παρεμβολή. Έπειτα κατά την προσθήκη του DNA-TV ή του DNA-ML, παρατηρήθηκε μια μεγάλη υποχρωμικότητα (40%) και μια μεγάλη βαθοχρωμικότητα (11 nm με το DNA-tv 22 nm με το DNA ML) της Β ταινίας απορρόφησης. Παρατηρήθηκε επίσης ένα ισοσβεστικό σημείο κατά την τιτλοδότηση του MeC4pMH με το tv μέχρι $1/r_0 = 2$ και με το ml μέχρι $1/r_0 = 20$. Το ισοσβεστικό σημείο υποδηλώνει ότι δύο οντότητες βρίσκονται σε ισορροπία, η ελεύθερη πορφυρίνη και το σύμπλοκο του DNA με την πορφυρίνη που έχει παρεμβληθεί.

Κατά την τιτλοδότηση του MeC4pMH με DNA-TV η καμπύλη τιτλοδότησης αυξάνει πολύ γρήγορα μετά το ισοσβεστικό σημείο κάτι το οποίο σημαίνει ότι εκτός από παρεμβολή παρατηρείται συγχρόνως και εξωτερική σύνδεση. Παρουσία περίσσειας dna τω οι εξωτερικές συνδέσεις γίνονται γρηγορότερα αφού το ποσοστό σε ζεύγη βάσεων AT είναι μεγαλύτερο. Αντιθέτως η παρεμβολή είναι μεγαλύτερη όταν χρησιμοποιείται το dna ml το οποίο είναι πιο πλούσιο σε ζεύγη GC.



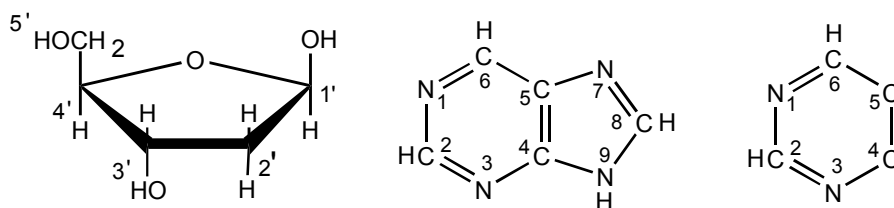
Σχήμα 6.1 Φάσμα απορρόφησης του MeC4pMH στην περιοχή της Soret ταινίας κατά την διάρκεια της τιτλοδότησης με δνα τω (α) και δνα μλ (β)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΠΟΡΦΥΡΙΝΩΝ-DNA

7.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το DNA είναι ένα επίμηκες μόριο το οποίο αποτελείται από νουκλεοτίδια. Τα νουκλεοτίδια αποτελούνται από μια αζωτούχα βάση, ένα σάκχαρο και μια ή περισσότερες φωσφορικές ομάδες. Υπάρχουν τέσσερα είδη αζωτούχων βάσεων. Η αδενίνη και η γουανίνη οι οποίες είναι παράγωγα πουρίνης και η θυμίνη η κυτοσίνη οι οποίες είναι παράγωγα πυριμιδίνης. Το σάκχαρο στο δεοξυριβονουκλεοτίδιο είναι η δεοξυριβόζη. Σε ένα δεοξυριβονουκλεοτίδιο το άτομο άνθρακα C-1 της δεοξυριβόζης δεσμεύεται στο N-1 μιας πυριμιδίνης ή στο N-9 μιας πουρίνης.



Σχήμα 7.1.1.: Δομή της β -D-2 Δεοξυριβόζης, της πουρίνης και της πυριμιδίνης.

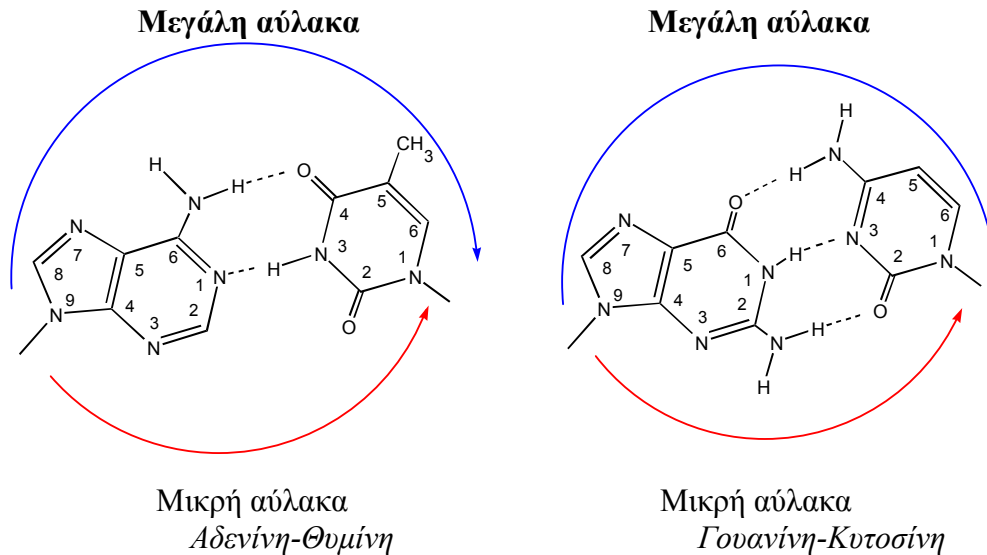
Το 1953 οι J. Watson και F. Crick πρότειναν την τρισδιάστατη δομή του DNA. Σύμφωνα με το μοντέλο αυτό, το οποίο βασίστηκε σε φωτογραφίες περίθλασης από ίνες DNA, δύο πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες περιστρέφονται προς αντίθετες κατευθύνσεις γύρω από ένα κοινό άξονα και σχηματίζουν μία δεξιόστροφη έλικα. Οι πουρινικές και πυριμιδινικές βάσεις βρίσκονται στο εσωτερικό της έλικας και τα φωσφορικά και οι δεοξυριβόζες στο εξωτερικό. Επίσης η αδεΐνη ζευγαρώνει πάντα με την θυμίνη και η γουανίνη με την κυτοσίνη. Τα ζεύγη AT συγκρατούνται με δύο κατευθυνόμενους δεσμούς υδρογόνου ενώ τα ζεύγη GC με τρεις δεσμούς. Ακόμη η διπλή έλικα σταθεροποιείται με αλληλεπιδράσεις μεταξύ των στοιβαγμένων βάσεων της ίδιας αλυσίδας.

Το μόριο του DNA έχει την δυνατότητα να διαμορφώνεται στο χώρο ώστε να αποκτά διάφορες μορφές. Η πιο γνωστή μορφή είναι η B, ενώ απαντάται επίσης με τις μορφές A και Z κατά δεύτερο λόγο.

7.1.1 Η B-μορφή

Σε φυσιολογικές συνθήκες είναι η πιο διαδεδομένη μορφή. Το κύριο χαρακτηριστικό της είναι η παρουσία δύο ειδών αυλάκων, της μεγάλης και της μικρής. Η ύπαρξη τους οφείλεται στους γλυκοζιτικούς δεσμούς κάθε ζεύγους βάσεων, οι οποίοι βρίσκονται εκ διαμέτρου απέναντι ο ένας από τον άλλον. Η μικρή αύλακα περιέχει το πυριμιδινικό O-2 και το πουρινικό N-3 του ζεύγους βάσεων, ενώ η μεγάλη αύλακα βρίσκεται στην απέναντι μεριά του ζεύγους.

Επίσης, η β-μορφή έχει την δυνατότητα να μπορεί να κάμπτεται ή και να υπερσυσπειρώνεται. Αυτή η ιδιότητα είναι πολύ σημαντική βιολογικά επειδή μ' αυτόν τον τρόπο σχηματίζεται κυκλικό DNA.



Σχήμα 7.1.1.1.: Τα ζεύγη βάσεων AT και GC. Η μεγάλη και η μικρή αύλακα χαρακτηρίζονται από διαφορετικούς δυνιτικούς δότες και δέκτες υδρογόνων.

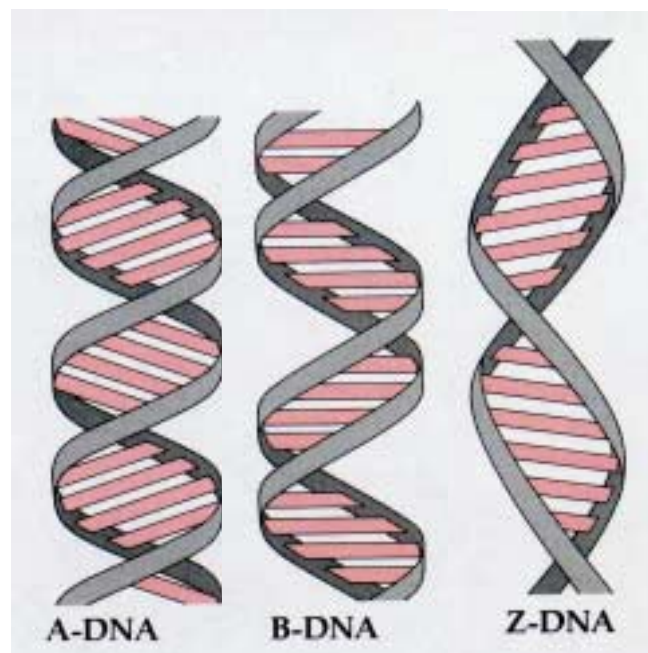
Επίσης, η β-μορφή έχει την δυνατότητα να μπορεί να κάμπτεται ή και να υπερσυσπειρώνεται. Αυτή η ιδιότητα είναι πολύ σημαντική βιολογικά επειδή μ' αυτόν τον τρόπο σχηματίζεται κυκλικό DNA.

7.1.2 Η A μορφή

Η A-μορφή του DNA εμφανίζεται όταν η σχετική υγρασία μειώνεται κάτω από περίπου 75%. Το A-DNA, είναι μία δεξιόστροφη διπλή έλικα που σχηματίζεται από δύο αντιπαράλληλες αλυσίδες συγκρατούμενες μεταξύ τους με ζεύγη βάσεων Watson-Crick. Η έλικα A-DNA είναι κοντότερη και πλατύτερη από ότι η έλικα B-DNA. Τα ζεύγη βάσεων του A-DNA εμφανίζουν μάλλον μία κλίση ως προς τον άξονα της έλικας. Πολλές από τις δομικές διαφορές μεταξύ των δύο τύπων ελίκων προκύπτουν από διαφορετικούς κυματισμούς των ριβοζο-μονάδων. Συγκεκριμένα, οι δακτύλιοι φουναρόζης είναι δυνατόν να αποκτούν πτυχές κατά τέτοιο τρόπο ώστε τέσσερα άτομα να είναι σχεδόν ομοεπίπεδα, και το πέμπτο να απέχει περίπου 0,5 Å από το επίπεδο. Η δομή που σχηματίζεται όταν το C-2' βρίσκεται εκτός του επιπέδου καλείται C₂'-ένδο, ενώ αυτή που σχηματίζεται όταν το C-3' βρίσκεται εκτός του επιπέδου καλείται C₃'-ένδο (σχήμα 3). Επίσης, η μικρή αύλακα σχεδόν εξαφανίζεται και οι φωσφορικές ομάδες της έλικας του A-DNA δεσμεύουν λιγότερα μόρια νερού απ' ότι τα φωσφορικά του B-DNA, με αποτέλεσμα η αφυδάτωση να ευνοεί τη μορφή A^[3].

7.1.3 Η Ζ μορφή

Τόσο η Β όσο και η Α μορφή του DNA είναι δεξιόστροφες έλικες. Η Ζ-μορφή είναι η μόνη αριστερόστροφη. Το Ζ-DNA ανακαλύφθηκε από τον A. Rich και τους συνεργάτες του ως αριστερόστροφη έλικα και μία τεθλασμένη διάταξη των φωσφορικών ομάδων του σκελετού του μορίου του. Παρατηρήθηκε *in vitro* σε μικρά δίκλινα μόρια με αλληλουχία εναλλασσόμενων πυριμιδινών-πουρινών. Η ζιγκ-ζαγκ μορφή, όπως αλλιώς καλείται, οφείλεται στο ότι στη εναλλασσόμενη αλληλουχία πυριμιδινών-πουρινών επιτρέπεται στους γλυκοζιτικούς δεσμούς να εναλλάσσονται μεταξύ *αντι* και *συν* διαμόρφωσης (σχήμα 4). Σε ένα πυριμιδινικό νουκλεοτίδιο απαντάται μόνο *αντι* γλυκοζιτικός δεσμός, ενώ ένα πουρινικό νουκλεοτίδιο μπορεί να έχει έναν *αντι* ή έναν *συν* γλυκοζιτικό δεσμό. Στο Α και στο Β-DNA όλοι οι γλυκοζιτικοί δεσμοί είναι *αντι*, ενώ στο Ζ-DNA οι πυριμιδίνες είναι *αντι* και οι πουρίνες είναι *συν*.



Σχήμα 7.1.: Δομές των τριών μορφών του DNA.

Το 1963, ο J. Vinograd ανακάλυψε μία σημαντική ιδιότητα του κυκλικού DNA την οποία δεν είχε το ευθύγραμμο DNA. Συγκεκριμένα, το κυκλικό DNA μπορεί να είναι είτε *χαλαρό* ή *υπερσπειρωμένο*. Το *χαλαρό* DNA προκύπτει ενώνοντας τα άκρα της διπλής έλικας ενός δίκλωνου μορίου. Το *υπερσπειρωμένο* DNA προκύπτει όταν μία δίκλινη αλυσίδα περιστρέφεται στο χώρο γύρω από τον άξονά της. Η

υπερσπειρωση αλλάζει προφανώς την όλη μορφή του DNA. Ένα υπερσπειρωμένο μόριο DNA είναι περισσότερο συμπαγές από ένα χαλαρό του ίδιου μήκους. Επομένως, το υπερσπειρωμένο DNA μετακινείται ταχύτερα από το χαλαρό DNA όταν το διάλυμα φυγοκεντρείται ή ηλεκτροφορείται.

Πίνακας 1: Σύγκριση των A-, B- και Z- DNA.

Τύπος έλικας	A	B	Z
Μορφή	Μεγαλύτερο πλάτος	Ενδιάμεσο πλάτος	Πλέον επιμηκυσμένες
Άνοδος ανά ζεύγος βάσεων	2,3 Å	3,4 Å	3,8 Å
Διάμετρος έλικας	25,5 Å	23,7 Å	18,4 Å
Περιστροφή	Δεξιόστροφος	Δεξιόστροφος	Αριστερόστροφος
Γλυκοζιτικός δεσμός	<i>Αντι</i>	<i>αντι</i>	<i>αντι για C,T συν για G</i>
Ζεύγη βάσεων ανά μία στροφή της έλικας	11	10,4	12
Βήμα της έλικας	24,6 Å	32,2 Å	45,6 Å
Κλίση των ζευγών βάσεων από το φυσιολογικό στον άξονα της έλικας	19°	1°	9°
Μεγάλη αύλακα	Στενή και πολύ βαθιά	Ευρεία και αρκετά βαθιά	Επίπεδη
Μικρή αύλακα	Πολύ ευρεία και ρηχή	Στενή και αρκετά βαθιά	Πολύ στενή και βαθιά

7.2. Τοπολογία του DNA

Οι γνώσεις γύρω από τη διαμόρφωση του DNA εμπλουτίστηκαν με δεδομένα της Τοπολογίας, ενός κλάδου των μαθηματικών που ασχολείται με τις δομικές ιδιότητες οι οποίες δεν τροποποιούνται από παραμορφώσεις όπως το «τέντωμα» και η «κάμψη». Μία τοπολογική ιδιότητα-κλειδί ενός μορίου κυκλικού DNA είναι ο *αριθμός συνδέσεων* (linking number, L), ο οποίος είναι ο αριθμός που ορίζει το πόσες φορές μία αλυσίδα DNA στρέφεται γύρω από την άλλη προς τη δεξιόστροφη κατεύθυνση. Εκτός του L , χρησιμοποιούνται άλλοι δύο παράγοντες για την περιγραφή του βαθμού υπερσπειρώσεων κυκλικών μορίων DNA. Πρόκειται για τον *αριθμό των στροφών* (twisting number, T) και τον *αριθμό των συστροφών* (writhing number, W). Μόρια που διαφέρουν ως προς τον *αριθμό συνδέσεων* είναι τοπολογικά ισομερή ή *τοποϊσομερή* μεταξύ τους. *Τοποϊσομερή* του DNA μπορούν να προκύψουν μόνο μετά από κόψιμο της μίας ή και των δύο αλυσίδων του DNA. Οι παραπάνω παράγοντες συνδέονται μεταξύ τους σύμφωνα με την παρακάτω σχέση :

$$L=T+W$$

Το T και το W μπορεί και να μην είναι ακέραιοι, ενώ το L πρέπει να είναι ακέραιος αριθμός. Το ξεδιπλωμένο κυκλικό DNA έχει $T=23$ και $W=0$, ενώ το υπερσπειρωμένο DNA έχει $T=25$ και $W=-2$. Αυτές οι μορφές του DNA μπορεί να αλληλομετατρέπονται χωρίς το κόψιμο των αλυσίδων του DNA διότι έχουν την ίδια τιμή $L=23$. Η κατανομή του L μεταξύ του αριθμού των στροφών της έλικας Watson-Crick και της υπερέλικας καθορίζεται από την ενεργητική του συστήματος. Το υπερσπειρωμένο DNA είναι πιο σταθερό σε σύγκριση με ξεδιπλωμένο DNA, γιατί περιέχει περισσότερα ζεύγη βάσεων. Γενικά το T έχει μία τιμή σχεδόν ίση με τον αριθμό των ζευγών βάσεων διά του 10,4. Επομένως, αλλαγές στον αριθμό συνδέσεων του DNA συνήθως οδηγούν σε αλλαγές ως προς τον βαθμό υπερσπείρωσης (τον αριθμό συστροφών) και όχι σε αλλαγές ως προς τον αριθμό των στροφών Watson-Crick (τον αριθμό στροφών). Τοποϊσομερή που διαφέρουν ως προς το L (και επομένως ως προς το W) κατά μία μονάδα ή και περισσότερο, μπορούν εύκολα να διαχωριστούν με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης^[2,3].

7.2.1 ΤΡΟΠΟΙ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΠΟΡΦΥΡΙΝΩΝ-DNA

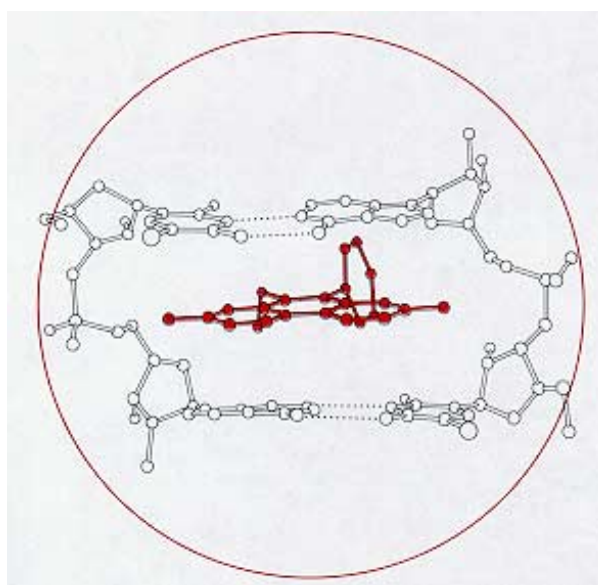
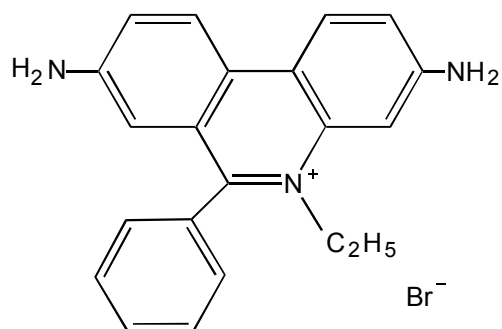
Ο R. J. Fiel πρότεινε τρεις τρόπους αλληλεπίδρασης μεταξύ των πορφυρινών και του DNA. Σύμφωνα με το ονομαζόμενο “three mode binding model”^[5,6,7] είναι δυνατόν να συμβαίνει:

1. Παρεμβολή των πορφυρινών μεταξύ των ζευγών βάσεων.
2. Εξωτερική ένωση μέσω:
 - a) Τοποθέτησης της πορφυρίνης στη μικρή αύλακα.
 - b) Ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων με τον σκελετό του DNA.
3. Συσσώρευση των πορφυρινών κατά μήκος της έλικας.

Η αλληλεπίδραση των πορφυρινών με το DNA διαφοροποιείται ανάλογα με τη φύση των βάσεων που αποτελούν την ακολουθία του DNA. Αναλυτικότερα, παρεμβολή στο DNA συμβαίνει σε περιοχές πλούσιες σε GC, ενώ η εξωτερική αλληλεπίδραση ευνοείται σε περιοχές πλούσιες σε AT. Οι μέταλλο-πορφυρίνες ενώνονται σε συγκεκριμένες ακολουθίες και η εκλεκτικότητα αυτή σχετίζεται με τη φύση και τον αριθμό συναρμογής του μετάλλου. Τα παραπάνω μελετήθηκαν με τη μέθοδο του αποτυπώματος^[8], με κινητικές μετρήσεις^[9] και με φασματοσκοπία NMR^[10].

7.2.1.2 ΠΑΡΕΜΒΟΛΗ

Τα επίπεδα αρωματικά ή πολυαρωματικά μόρια (ακριδίνη, προφλαβίνη, κατιονικές πορφυρίνες) είναι δυνατόν να παρεμβάλονται στα ζεύγη βάσεων του DNA. Όπως έχει ήδη διατυπωθεί, η παρεμβολή αυτή ευνοείται σε περιοχές πλούσιες σε GC. Αυτό συμβαίνει λόγω του ότι τα πολυμερή GC έχουν σημείο τήξης σχεδόν διπλάσιο απ’το αντίστοιχο των πολυμερών AT. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα η έλικα των πολυ(dG-dC)₂ να είναι πολύ σταθερή και συνεπώς ικανή να κρατήσει τη μεγάλη πορφυρίνη στο εσωτερικό της σαν ένα παραμβάλλον μόριο, σε αντίθεση με τα πολυμερή πολυ(dA-dT)₂ τα οποία δεν είναι ικανά να το πετύχουν αυτό^[11]. Στο σχήμα 7 φαίνεται η παρεμβολή του βρωμιούχου αιθιδίου σε DNA της μορφής-B^[4].

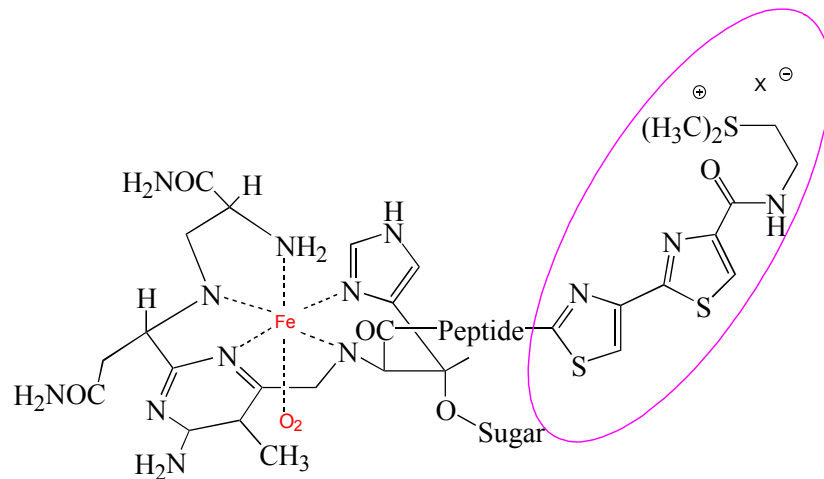


Σχήμα 7: Παρεμβολή του βρωμιούχου αιθιδίου σε DNA της μορφής-B.

7.2.1.3.1. ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΤΜΗΣΗ ΤΟΥ DNA

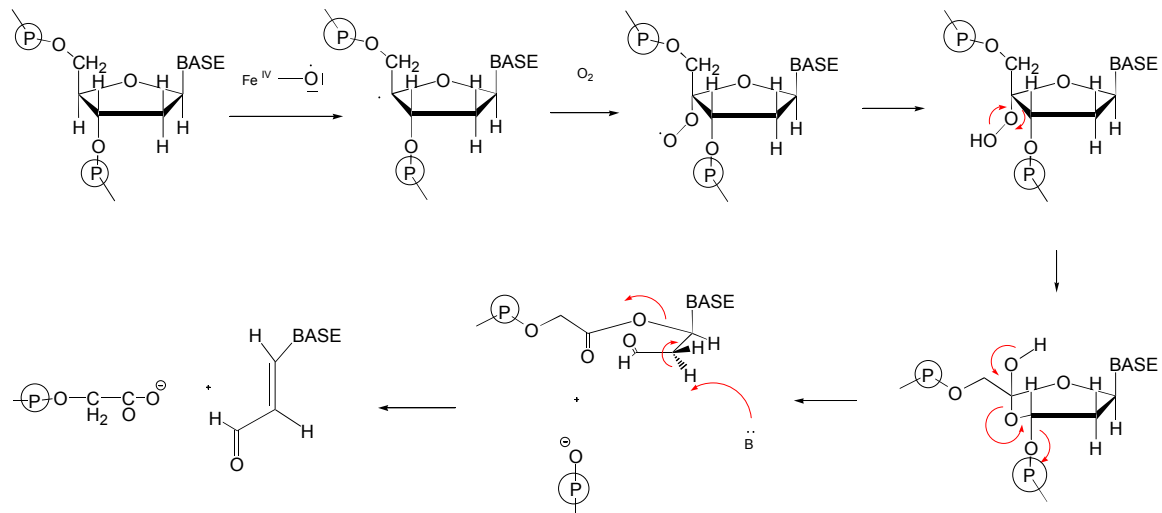
Μερικά από τα σύμπλοκα τα οποία προκαλούν οξειδωτική τμήση του DNA και που χρησιμοποιούνται ως μοντέλα μέταλλο-νουκλεασών είναι η [Fe(II)-βλεομυκίνη] και η [Cu(II)-(φαινανθρολίνη)₂].

Η βλεομυκίνη είναι ένα φυσικό αντιβιοτικό που προκαλεί απο-υδρογόνωση της δεοξυριβόζης, η οποία σχετίζεται με την ύπαρξη σίδηρο-όξο μορίων που οδηγούν σε όξειδο-αναγωγικές διαδικασίες και στο σχηματισμό ελευθέρων ριζών.



Σχήμα 8: Δομή της βλεομυκίνης.

Το παραπάνω μόριο αποτελείται από δύο θέσεις οι οποίες ενώνονται μεταξύ τους μέσω μιας πεπτιδικής αλυσίδας. Η μία από αυτές τις θέσεις είναι υπεύθυνη για την ικανότητα του μορίου απέναντι στο DNA, ενώ η άλλη ενώνεται με τα σίδηρο-όξο μόρια. Ο μηχανισμός με τον οποίο γίνεται η τμήση του DNA δίνεται στο σχήμα 9^[4].



Σχήμα 9: Μηχανισμός οξειδωτικής τμήσης του DNA από τη βλεομυκίνη.

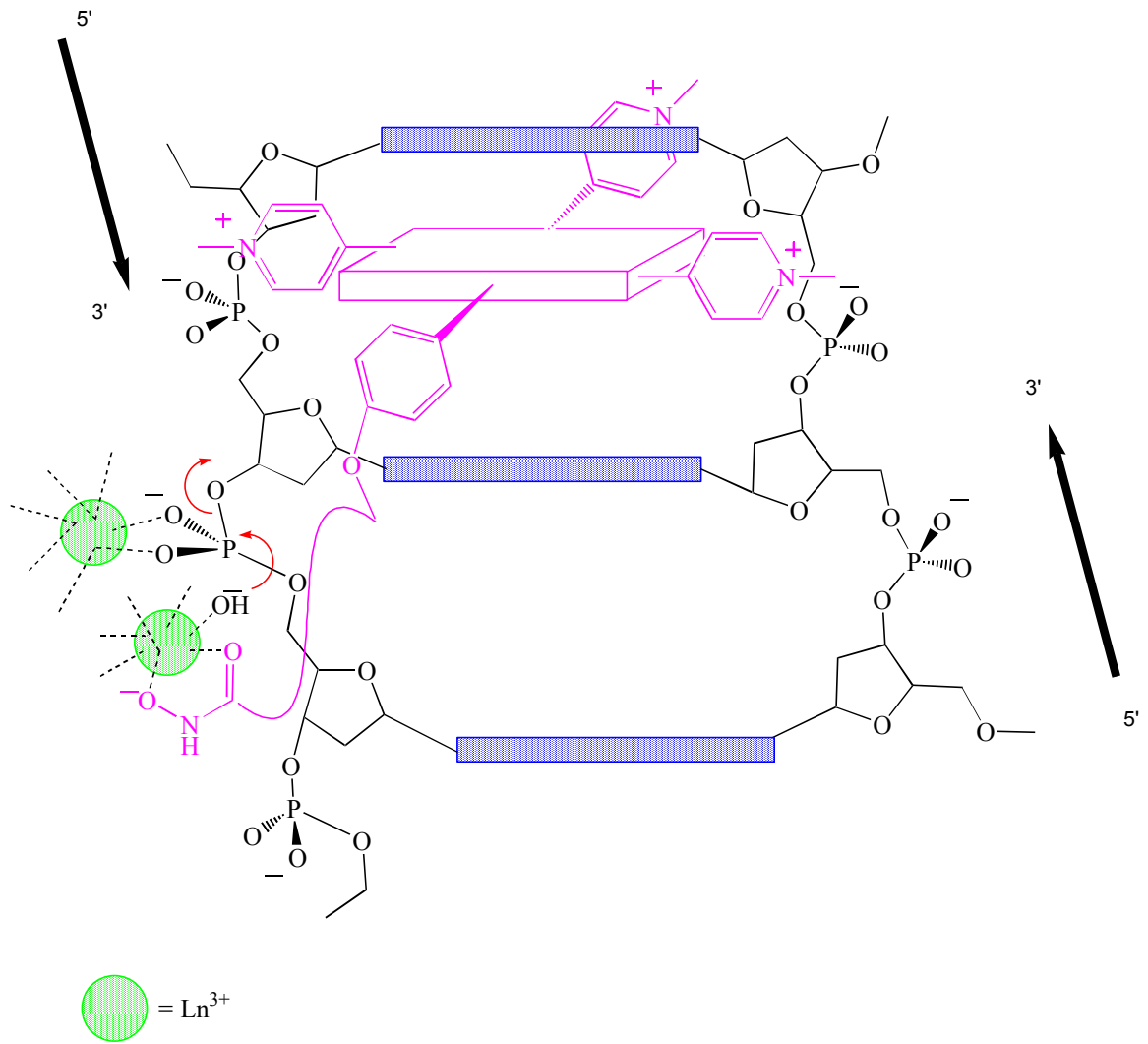
Σύμφωνα με το παραπάνω μηχανισμό, η ελεύθερη ρίζα που σχηματίζεται μπορεί να αποσπάσει ένα άτομο υδρογόνου από το C₄ άτομο της ριβόζης, μία διαδικασία που τελικά οδηγεί στην τμήση του DNA^[4].

7.2.2.1.ΥΔΡΟΛΥΣΗ ΤΩΝ ΦΩΣΦΟΔΙΕΣΤΕΡΙΚΩΝ ΔΕΣΜΩΝ

Εκτός από την οξειδωτική τμήση του DNA είναι δυνατόν να συμβεί και υδρόλυση των φωσφοδιεστερικών δεσμών. Η 1,10-φαινανθρολίνη όταν φέρει αλυσίδα υδροξαμικού οξέως και παρουσία ιόντων της σειράς των λανθανιδών συντελεί στην υδρόλυση του DNA^[12]. Για να συμβεί αυτό απαιτείται ο σχηματισμός ενός ιόντος υδροξειδίου (συναρμοσμένο με ένα μέταλλο) στην κοντινή περιοχή του ατόμου φωσφόρου του DNA. Ακόμη, σημαντικό είναι και το μήκος της αλυσίδας του υδροξαμικού οξέος^[13].

7.2.1.3.1. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΔΡΟΛΥΣΗ ΤΟΥ DNA ΑΠΟ ΤΑ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΛΑΝΘΑΝΙΔΩΝ-ΠΟΡΦΥΡΙΝΗΣ

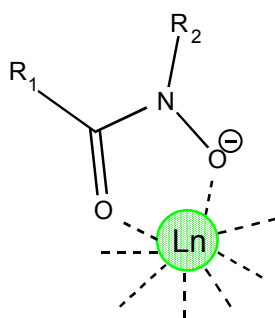
Ένας προτεινόμενος μηχανισμός για την υδρόλυση του DNA δίνεται στο *σχήμα 10*^[12,13,14]. Σύμφωνα με αυτόν, τα οξυγόνα που είναι ενωμένα με τον φώσφορο στο DNA και το υδροξαμικό οξύ συναγωνίζονται για τον σχηματισμό δεσμού με τα ιόντα των λανθανιδών. Το ιόν Ln που είναι συναρμοσμένο με το υδροξαμικό οξύ θα μπορούσε να δράσει σαν βάση και να παρέχει υποκατεστημένα υδροξείδια. Ένα δεύτερο ιόν Ln είναι δυνατόν να δράσει σαν οξύ κατά Lewis και να ενωθεί με το οξυγόνο του φωσφόρου, καθιστώντας έτσι το άτομο του φωσφόρου πιο ευάλωτο σε νουκλεόφιλη προσβολή από το υδροξείδιο. Αυτή η δράση των δύο ιόντων Ln θα μπορούσε να οδηγήσει σε υδρόλυση του DNA.



Σχήμα 10: Προτεινόμενος μηχανισμός για την υδρόλυση των φωσφοδιεστερικών δεσμών από πορφυρίνες που φέρουν αλυσίδα υδροξυαμικού οξέος, παρουσία ιόντων της σειράς των λανθανιδών.

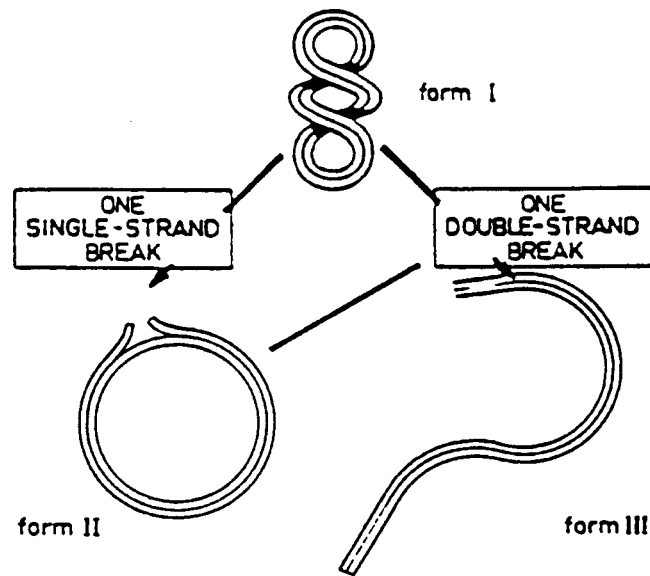
7.3 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Η μελέτη της αλληλεπίδρασης των πορφυρινικών παραγώγων που συντέθηκαν με το DNA, έγινε με ηλεκτροφόρηση σε gel αγαρόζης. Μικρή ποσότητα της ουσίας, περίπου 1mg διαλύεται σε ρυθμιστικό διάλυμα (TRIS-HCl, pH 7,8). Ακολουθεί προσθήκη άλατος των λανθανιδών. Η αναλογία που χρησιμοποιείται είναι 1mole πορφυρίνης και 2mole άλατος. Με αυτόν τον τρόπο, σχηματίζεται ένα σύμπλοκο όπου το μέταλλο ενώνεται με την πορφυρίνη μέσω του υδροξαμικού οξέος(σχήμα 11).



Σχήμα 11: Σύμπλοκο λανθανιδών-υδροξαμικού οξέος.

Στη συνέχεια, υπερσπειρωμένο DNA επωάζεται για μια νύχτα με το διάλυμα του συμπλόκου στο ρυθμιστικό διάλυμα TRIS-HCl. Το μίγμα εφαρμόζεται σε gel αγαρόζης που περιέχει βρωμιούχο αιθίδιο και ηλεκτροφορείται. Το gel αποχρωματίζεται και φωτογραφίζεται κάτω από υπεριώδες φως. Η τμήση του DNA ακολουθείται είτε από σχηματισμό της μορφής II (κυκλικό DNA), ή της μορφής III (γραμμικό DNA), από το αρχικό υπερσπειρωμένο DNA (μορφή I)^[15].



Σχήμα 12: Μηχανισμός σχηματισμού των μορφών II και III ως αποτέλεσμα εγκοπών στη μορφή I.

Ο διαχωρισμός των παραπάνω μορφών με ηλεκτροφόρηση βασίζεται στο γεγονός ότι το υπερσπειρωμένο DNA (μορφή I) μετακινείται πιο γρήγορα από τις άλλες δύο μορφές. Στη συνέχεια, ακολουθεί η μορφή II και τέλος η μορφή III.

7.3 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

7.3.1.1. ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ MC4PMH

Στο *σχήμα 13* δίνονται οι φωτογραφίες του gel αγαρόζης για την περίπτωση της MC4PMH.

Πορφυρίνη	Μορφή	24 h						48 h					
		—	Pr	Sm	Eu	Gd	Tb	—	Pr	Sm	Eu	Gd	Tb
MC4PMH	II												
	I												
Σειρά δραστηριότητας		Pr>Gd>Eu>Sm>Tb>>por						Tb>Eu>Gd>Pr>Sm>por					

Σχήμα 13: Φωτογραφίες του gel αγαρόζης και σειρές δραστηριότητας των λανθανιδών που μελετήθηκαν.

Μετά από 24h επώασης παρουσία Ln παρατηρείται σχηματισμός ιζήματος του συμπλόκου DNA-πορφυρίνης, με τη μορφή χρωματισμένου ιζήματος. Οι ζώνες που αντιστοιχούν στη μορφή II έχουν μικρή ένταση εκτός από την περίπτωση της παρουσίας Tb. Αντίθετα, μετά από 48h επώασης οι ζώνες που αντιστοιχούν στη μορφή II έχουν μεγάλη ένταση, με μεγαλύτερη αυτή του Pr.

Επίσης, παρατηρούνται και στις δύο φωτογραφίες ζώνες που αντιστοιχούν στη μορφή I. Για 24h επώασης οι ζώνες αυτές είναι πολύ μικρής έντασης για την περίπτωση των Sm και Tb και μεγαλύτερης έντασης για την ελεύθερη πορφυρίνη. Ακόμη, είναι αμελητέες στην περίπτωση της επώασης παρουσίας Pr, Eu, και Gd. Συνεπώς, μεγαλύτερη νουκλεϊνική δράση παρουσιάζει το πρασεοδύμιο, Pr, ενώ η μικρότερη παρατηρείται για το τέρβιο, Tb. Αντίθετα, μετά από 48h επώασης, την καλύτερη συμπεριφορά παρουσιάζει το τέρβιο, Tb και την χειρότερη το σαμάριο, Sm. Τα παραπάνω αφορούν υδρολυτική τμήση των φωσφοδιεστερικών δεσμών του DNA λόγω της παρουσίας των ιόντων λανθανιδών.

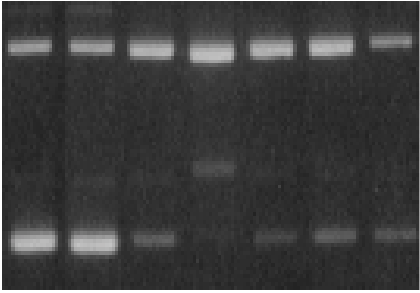
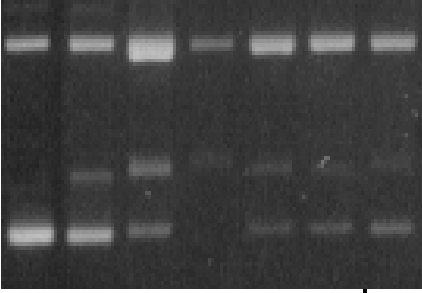


7.3.1.2. ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ MC3OMDIH

		24 h							48 h						
Πορφυρίνη	Μορφή	C	-	Pr	Sm	Eu	Gd	Tb	C	-	Pr	Sm	Eu	Gd	Tb
MC3OMDIH	II														
	I														
Σειρά δραστηριότητας		Gd > Sm Tb > Eu > Pr							Sm > Gd > Eu > Pr > Tb						

Η πορφυρίνη μόνη της δεν παρουσιάζει καμία δράση. Αντιθέτως μετά από 24h επώασης παρουσία Ln παρατηρείται σχηματισμός ιζήματος του συμπλόκου DNA-πορφυρίνης, με τη μορφή χρωματισμένου ιζήματος. Οι ζώνες που αντιστοιχούν στη μορφή II έχουν την μικρότερη ένταση για την περίπτωση του Gd και του Sm. Αντίθετα, μετά από 48h επώασης οι ζώνες που αντιστοιχούν στη μορφή II έχουν μεγάλη ένταση, για το Pr, το Eu και το Tb.

Επίσης παρατηρούνται ζώνες που αντιστοιχούν στην μορφή I για την ελεύθερη πορφυρίνη και για το πρασεοδίομο, Pr, για τις πρώτες 24h. Ενώ δεν εμφανίζονται για το Gd και το Sm. Αυτό σημαίνει ότι από την πρώτη μέρα παρατηρείται υδρολυτική τμήση. Αντίθετα, μετά από 48h επώασης, την καλύτερη συμπεριφορά παρουσιάζει το Eu, το Pr και το Tb.

7.3.1. ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ MC50MDIA

		24 h					48 h						
Πορφυρίνη	Μορφή	-	Pr	Sm	Eu	Gd	Tb	-	Pr	Sm	Eu	Gd	Tb
MC50MDIA	II												
	I												
Σειρά δραστηριότητας		Sm>Eu> Tb>Pr> Gd>Cu					Sm>Eu=Tb>Gd>Pr>Cu						

Σε αυτή την περίπτωση το πο μεγάλο μέρος της μορφής I μετατράπηκε σε μορφή II. Οι ζώνες της μορφής II είναι πιο έντονες μετά από μια μέρα επώασης. Το DNA της μορφής II δεν έχει τμηθεί όπως στην περίπτωση του MC30MDIA. Η δράση του Sm είναι η πιο αποτελεσματική. Παρουσία αυτής της λανθανίδας η νουκλεϊνική δράση του MC50MDIA είναι συγκρίσιμη με αυτή των πορφυρινών που φέρουν υδροξαμικό οξύ.

Μετά από μια μέρα επώασης όλη η μορφή I έχει τμηθεί και παρατηρήθηκε μια έντονη ζώνη για την μορφή II. Επίσης ο σχηματισμός της μορφής III παρατηρήθηκε μετά από μια μέρα επώασης. Ενώ μετά από δύο μέρες επώασης το DNA της μορφής II είχε διασπαστεί σχεδόν ολοκληρωτικά.

7.4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] L. Stryer, “*Biochemistry*”, **1997**, Vol I, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης.
- [2] Κ. Δράϊνας, «*Ενότητα νουκλεϊνικών οξέων*», **1999**, Ιωάννινα, Ν. Χατζηλιάδης.
- [3] L. Stryer, “*Biochemistry*”, **1997**, Vol II, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης.
- [4] S. J. Lippard, J. M. Berg, “*Principles Of Bioinorganic Chemistry*”, **1994**, Mill Valley, California.
- [5] R. J. Fiel, J. C. Howard, E. H. Mark, N. Datta-Gupta, *Nucleic Acids Res.*, **1979**, 6, 3093.
- [6] R. J. Fiel, B. R. Munson, *Nucleic Acids Res.*, **1980**, 8, 2835.
- [7] R. J. Fiel, *Biomol. Struct & Dynamics*, **1989**, 6, 1259.
- [8] B. Ward, A. Skorobaty, J. C. Dabrowiak, *Biochemistry*, **1986**, 25, 7827.
- [9] R. F. Pasternack, E. J. Gibbs, J. J. Villafranca, *Biochemistry*, **1983**, 22, 5409.
- [10] J. A. Strickland, L. G. Marzilli, W. D. Wilson, G. Zon, *Inorg. Chem.*, **1989**, 28, 4191.
- [11] E. J. Gibbs, R. F. Pasternack, *Seminars in Hematology*, **1989**, 26, 77.
- [12] S. Hashimoto, Y. Nakamura, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1995**, 1413.
- [13] S. Hashimoto, Y. Nakamura, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **1996**, 1, 2623.
- [14] M. Komiyama, *J. Biochem.*, **1995**, 118, 665.
- [15] D. Praseuth, A. Gaudemer, J. Verlhac, I. Kralic, I. Sissoëff, E. Guille, *Photochemistry and Photobiology*, **1986**, 44, 717.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα εργασία είχε ως στόχο την παρασκευή μιας νέας σειράς κατιονικών πορφυρινών καθώς επίσης και τον φυσικοχημικό χαρακτηρισμό αυτών . Επίσης την μελέτη της αλληλεπίδρασης των ενώσεων αυτών είτε ως ελεύθερες βάσεις είτε παρουσία ιόντων των λανθανιδών. Απότερος στόχος ήταν η παρασκευή μοντέλων τεχνητών νουκλεασών . Από την παραπάνω μελέτη εξήχθησαν τα παρακάτω συμπεράσματα.

- η υποκατάσταση στον φαινολικό δακτύλιο δεν προκαλεί σημαντικές διαφορές τόσο στα φάσματα περιόδους-ορατού όσο και στα φάσματα υπεριώθρου. Αντίθετα οι κατιονικές πορφυρίνες παρουσιάζουν αξιοσημείωτες διαφορές από τις ουδέτερες και εμφανίζουν μετατοπισμένες ταινίες απορρόφησης.
- παρατηρήθηκε αλληλεπίδραση των προϊόντων που συντέθηκαν με το DNA. Ειδικότερα παρουσία ιόντων των λανθανιδών παρατηρήθηκε υδρολυτική διάσπαση των φωσφοδιεστερικών δεσμών του DNA σε ικανοποιητικό βαθμό.
- οι πορφυρίνες που φέρουν μία ή περισσότερες αλυσίδες υδροξαμικού οξέος είναι δραστικότερες από τις αντιστιγες που φέρουν αλυσίδες καρβοξυλικού οξέος. Αυτό οφείλεται στο ότι στην δεύτερη περίπτωση διασπώνται οι δεσμοί

των λανθανιδών με το οξύ της πορφυρίνης, με αποτέλεσμα η τμήση του DNA να σταματά κατά την πρώτη μέρα επώασης.

-
- σημαντικό ρόλο επίσης παίζει η θέση της αλυσίδας του υδροξαμικού οξέος πάνω στο φαινύλιο δεδομένου ότι η MeC3omDIH παρουσιάζει την πιο σημαντική νουκλεϊνική δράση σε σχέση με την MeC4pMH. Αυτό οφείλεται στο ότι οι δύο αλυσίδες υδροξαμικού οξέος μπορούν να μεταφέρουν τα ιόντα λανθανιδών κοντύτερα στα ιόντα φωσφόρου.