



Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Σχολή Επιστημών Υγείας

Τμήμα Φαρμακευτικής

«Σύνθεση, υπολογιστική μελέτη και αξιολόγηση νέων
αντιδραστηρίων παραγωγοποίησης για ανίχνευση και ποσοτικό
προσδιορισμό πρωτοταγών αμινών»

Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης : «Σχεδιασμός και Ανάπτυξη Νέων Φαρμακευτικών
Ενώσεων – Κατεύθυνση: Φαρμακευτική Χημεία»

Κυριαζή Άρτεμις – Ζωή, Χημικός

Αθήνα, Ιανουάριος 2018

Επιβλέποντες Καθηγητές

Κωστάκης Ιωάννης, Επίκουρος Καθηγητής

Γκίκας Ευάγγελος, Επίκουρος Καθηγητής

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

1. Κωστάκης Ιωάννης, Επίκουρος Καθηγητής
2. Γκίκας Ευάγγελος, Επίκουρος Καθηγητής
3. Ντότσικας Ιωάννης, Επίκουρος Καθηγητής

Ευχαριστίες

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τους επιβλέποντες καθηγητές μου κ. Κωστάκη Ιωάννη, κ. Γκίκα Ευάγγελο και κ. Ντότσικα Ιωάννη για την ανάθεση του θέματος αυτού, την εμπιστοσύνη που μου έδειξαν, την καθοδήγηση και την αμέριστη βοήθειά τους. Το ενδιαφέρον και η καθοδήγησή τους, τόσο κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων, όσο και κατά τη συγγραφή της εργασίας, ήταν καταλυτικά.

Στη συνέχεια, ένα μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να πω σε όλα τα μέλη του εργαστηρίου για το εξαιρετικό εργαστηριακό περιβάλλον και τη συμπαράστασή τους. Ιδιαίτερα ευχαριστώ την Καλαμπαλίκη Αμαλία και την Καρέλου Μαίρη για τη βοήθεια και την υποστήριξή τους σε οποιοδήποτε πρόβλημα προέκυπτε.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω πολύ την οικογένειά μου και τους φίλους μου για την αγάπη, την υποστήριξη και την κατανόηση που μου έδειξαν καθ' όλη τη διάρκεια του μεταπτυχιακού.

Abstract

Derivatization is a technique widely used in Analytical Chemistry and Pharmaceutical Analysis, mainly due to the ability to perform detection and quantitation in unstable compounds. The improved chromatographic behavior of the analyte and the increased traceability are some other advantages of this technique. By selecting a fluorescent derivatization reagent, taking advantage of the fluorescence effect, sensitivity to detection and quantification is further enhanced. In the present thesis, 1-bromomethyl-2-nitro-9H-xanthen-9-one and its analogues are synthesized, a derivatization reagent for primary amines. The important advantage of this reagent is that it does not fluoresce, while the derivatization product has intense fluorescence, eliminating the possibility of inhibiting the measurement due to overlapping reagent-product signals. Experimental evaluation of the derivatives resulting from reaction with 2-butylamine, computational study of reagents and derivatives, with respect to reactivity and photochemical properties respectively, and comparison of experimental and theoretical results are followed. Finally, using Multivariate Analysis, a model for prediction of photochemical properties of potential derivatization products is derived.

Περίληψη

Η παραγωγοποίηση είναι μια τεχνική η οποία χρησιμοποιείται ευρέως στην Αναλυτική Χημεία και τη Φαρμακευτική Ανάλυση, κυρίως εξαιτίας της δυνατότητας να πραγματοποιεί ανίχνευση και ποσοτικοποίηση σε ασταθείς ενώσεις. Η βελτιωμένη χρωματογραφική συμπεριφορά της προς ανάλυση ουσίας και η αυξημένη ανιχνευσιμότητα είναι κάποια ακόμα πλεονεκτήματα της τεχνικής αυτής. Επιλέγοντας ένα φθορίζων αντιδραστήριο παραγωγοποίησης, εκμεταλλευόμενοι το φαινόμενο του φθορισμού, αυξάνεται ακόμα περισσότερο η ευαισθησία στην ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό. Στην παρούσα εργασία συντίθενται η 1-βρωμομεθυλο-2-νιτρο-9H-ξανθεν-9-όνη, ως αντιδραστήριο παραγωγοποίησης για πρωτοταγείς αμίνες καθώς και ανάλογα του. Το σημαντικό πλεονέκτημα του αντιδραστηρίου αυτού είναι ότι δε φθορίζει, ενώ το προϊόν παραγωγοποίησης έχει έντονο φθορισμό, με αποτέλεσμα να εξαλείφεται η πιθανότητα παρεμπόδισης στη μέτρηση λόγω αλληλεπικάλυψης σήματος αντιδραστηρίου-παραγώγου. Ακολουθεί πειραματική αξιολόγηση των παραγώγων που προκύπτουν μετά από αντίδραση με τη 2-βουτυλαμίνη, υπολογιστική μελέτη των αντιδραστηρίων και των παραγώγων, όσον αφορά την αντιδραστικότητα και τις φωτοχημικές ιδιότητες αντίστοιχα, και σύγκριση των πειραματικών και θεωρητικών αποτελεσμάτων. Τέλος, κάνοντας χρήση Πολυπαραγοντικής Ανάλυσης, εξάγεται ένα μοντέλο πρόβλεψης φωτοχημικών ιδιοτήτων πιθανών προϊόντων παραγωγοποίησης.

Πίνακας περιεχομένων

1. Εισαγωγή	9
2. Μοριακός Φθορισμός και Φθορισμομετρία.....	10
2.1 Γενικές αρχές φασματοσκοπίας.....	10
2.2 Φωταύγεια	10
2.3 Φθορισμός.....	11
2.4 Φωσφορισμός	11
2.5 Μοριακός Φθορισμός	12
2.6 Αρχή Franck-Condon	14
2.7 Μετατόπιση Stokes	15
2.8 Κβαντική απόδοση φθορισμού και χρόνος φθορισμού	16
2.9 Φθορισμός και δομή	17
2.9.1 Επίδραση της δομικής ακαμψίας στο φθορισμό	18
2.9.2 Επίδραση της θερμοκρασίας και του διαλύτη στο φθορισμό	18
2.9.3 Επίδραση του pH στο φθορισμό	18
2.9.4 Επίδραση του διαλυμένου οξυγόνου στο φθορισμό	19
2.10 Φάσμα φθορισμού.....	19
2.11 Εφαρμογές της φθορισμομετρίας.....	19
3. Υπολογιστική Χημεία.....	21
3.1 Ιστορική Αναδρομή	21
3.2 Γενικά.....	21
3.3 Μέθοδοι υπολογισμών <i>ab initio</i>	22
3.4 Ημι-εμπειρικοί μέθοδοι υπολογισμών	24
3.5 Συνάρτηση Fukui	27
4. Μοριακές περιγραφικές μεταβλητές (Molecular descriptors)	29
4.1 Αμετάβλητες ιδιότητες των μοριακών περιγραφικών μεταβλητών.....	29
4.2 Εκφυλισμός των μοριακών περιγραφικών μεταβλητών	30
4.3 Χαρακτηριστικά των μοριακών περιγραφικών μεταβλητών.....	30
5. Οργανολογία φθορισμομετρίας	32
5.1 Αρχές λειτουργίας	32
5.2 Πηγή υπεριώδους ακτινοβολίας.....	33
5.3 Μονοχρωμάτορες και φίλτρα	34
5.4 Υποδοχέας δείγματος.....	35
5.5 Ανιχνευτής	37

5.6 Καταγραφέας	37
6. Παραγωγοποίηση.....	38
6.1 Γενικά.....	38
6.2 Η τεχνική σχηματισμού παραγώγων με φθορισμοφόρα αντιδραστήρια	39
6.2.1 Παραγωγοποίηση πριν από τη στήλη (Pre-column derivatization).....	40
6.2.2 Παραγωγοποίηση μετά από τη στήλη (Post-column derivatization)	41
6.3 Χαρακτηριστικά και ιδιότητες των φθορισμοφόρων αντιδραστηρίων	42
Επιλογή του αντιδραστηρίου	48
Επιλογή των υποκαταστατών.....	49
7. Χημικό μέρος.....	52
8. Μέτρηση Φθορισμού	64
8.1 Εισαγωγή	64
8.2 Οργανολογία, υλικά και συνθήκες της πειραματικής διαδικασίας.....	64
8.3 Πειραματική πορεία.....	65
8.4 Μετρήσεις	66
8.5 Λήψη φασμάτων	66
8.6 Αποτελέσματα – Συμπεράσματα	72
9. Αποτελέσματα θεωρητικής μελέτης	74
9.1 Γενικά.....	74
9.2 Υπολογιστική μελέτη αντιδραστικότητας βρωμιδίων	74
9.2.1 Αποτελέσματα	74
9.3 Υπολογιστική μελέτη των τελικών παραγώγων.....	76
9.3.1 Μελέτη φθορισμού	76
9.3.2 Ανάλυση διαμορφώσεων	81
9.3.3 Μελέτη αρωματικότητας	84
10. Πολυπαραγοντική Ανάλυση και Μοντελοποίηση	88
10.1 Γενικά.....	88
10.2 Πειραματικό μέρος.....	88
10.3 Αποτελέσματα – Συμπεράσματα	90
11. Συμπεράσματα	93
12. Μελλοντικοί στόχοι.....	98
13. Πειραματικό μέρος.....	99
13.1 Σύνθεση των 1-μεθυλο-2,7-δινιτρο-9H-ξανθεν-9-όνης (13) και 1-μεθυλο-2,5-δινιτρο-9H-ξανθεν-9-όνης (14).	99
1-μεθυλο-2,7-δινιτρο-9H-ξανθεν-9-όνη (13)	99
1-μεθυλο-2,5-δινιτρο-9H-ξανθεν-9-όνη (14)	100

13.2 Σύνθεση της 1-μεθυλο-2-νιτρο-7-βρωμο-9H-ξανθεν-9-όνης (18).....	100
1-μεθυλο-7-βρωμο-9H-ξανθεν-9-όνη (18).....	100
13.3 Γενική μέθοδος παρασκευής των ενώσεων 19-21.	101
1-μεθυλο-2-νιτρο-7-φαιnyλο-9H-ξανθεν-9-όνη (19).....	101
1-μεθυλο-2-νιτρο-7-(3,5-διμεθοξυφαιnyλο)-9H-ξανθεν-9-όνη (20)	101
1-μεθυλο-2-νιτρο-7-(3-φθοροφαιnyλο)-9H-ξανθεν-9-όνη (21)	102
13.4 Σύνθεση της 1-βρωμομεθυλο-2-νιτρο-7-βρωμο-9H-ξανθεν-9-όνης (17).....	102
1-βρωμομεθυλο-2-νιτρο-7-βρωμο-9H-ξανθεν-9-όνη (17)	103
13.5 Γενική μέθοδος παρασκευής των ενώσεων 15, 16, 22 - 24.....	103
1-βρωμομεθυλο-2,7-δινιτρο-9H-ξανθεν-9-όνη (15).....	103
1-βρωμομεθυλο-2,5-δινιτρο-9H-ξανθεν-9-όνη (16).....	104
1-βρωμομεθυλο-2-νιτρο-7-φαιnyλο-9H-ξανθεν-9-όνη (22).....	104
1-βρωμομεθυλο-2-νιτρο-7-(3,5-διμεθοξυφαιnyλο)-9H-ξανθεν-9-όνη (23)	105
1-βρωμομεθυλο-2-νιτρο-7-(3-φθοροφαιnyλο)-9H-ξανθεν-9-όνη (24)	105
13.6 Γενική μέθοδος παρασκευής των ενώσεων 25-33.	106
1-(2-βουtyλο)-3-νιτρο-1H-βενζοπυρανο[4,3,2-bc]ισοϊνδόλιο (25).....	106
1-(2-βουtyλο)-5-νιτρο-1H-βενζοπυρανο[4,3,2-bc]ισοϊνδόλιο (26).....	106
1-(2-βουtyλο)-3-νιτρο-9-βρωμο-1H-βενζοπυρανο[4,3,2-bc]ισοϊνδόλιο (27)	107
1-(2-βουtyλο)-3,9-δινιτρο-1H-βενζοπυρανο[4,3,2-bc]ισοϊνδόλιο (28).....	107
1-(2-βουtyλο)-3,7-δινιτρο-1H-βενζοπυρανο[4,3,2-bc]ισοϊνδόλιο (29).....	107
1-(2-βουtyλο)-3-νιτρο-9-φαιnyλο-1H-βενζοπυρανο[4,3,2-bc]ισοϊνδόλιο (30).....	108
1-(2-βουtyλο)-3-νιτρο-9-(3,5-διμεθοξυφαιnyλο)-1H-βενζοπυρανο[4,3,2-bc]ισοϊνδόλιο (31)	108
1-(2-βουtyλο)-3-νιτρο-9-(3-φθοροφαιnyλο)-1H-βενζοπυρανο[4,3,2-bc]ισοϊνδόλιο (32)	109
14. Βιβλιογραφία.....	110
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	113

1. Εισαγωγή

Ο σχηματισμός παραγώγων φωταύγειας (luminescence derivatization) αποτελεί μια διαδικασία κατά την οποία μόρια με ασθενή ή καθόλου φωταύγεια μετατρέπονται σε παράγωγα υψηλής φωταύγειας (δηλαδή πραγματοποιείται εκπομπή δευτερογενούς ακτινοβολίας μετά από διέγερση). Το βασικό κίνητρο της παραγωγοποίησης είναι η αύξηση της ευαισθησίας με την οποία μπορούν να ανιχνευθούν τέτοιου είδους μόρια. Η μελέτη της εκπομπής ακτινοβολίας σε σχέση με τη μελέτη απορρόφησης παρουσιάζει πολλά πλεονεκτήματα. Οι αναλυτικές μέθοδοι της φωταύγειας των μορίων εμφανίζουν χαμηλότερα όρια ανίχνευσης, έως και 4 τάξεις μικρότερα των αναλύσεων που πραγματοποιούνται με την βοήθεια απορρόφησης ορατού υπεριώδους, δηλαδή παρουσιάζουν μεγαλύτερη ευαισθησία στην ανίχνευση ακτινοβολίας. Επίσης, ενισχύεται η ειδικότητα και η εκλεκτικότητα ως προς το επιθυμητό μόριο, καθώς τα μήκη κύματος απορρόφησης και εκπομπής του μπορούν εύκολα να διαχωριστούν. Το πιο κοινό είδος φωταύγειας είναι ο φθορισμός και εκεί βασίστηκε η ανάπτυξη της τεχνικής σχηματισμού παραγώγων με φθορισμοφόρα αντιδραστήρια. Η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται στην παρούσα εργασία με στόχο τη μελέτη της αντίδρασης μιας σειράς φθορισμοφόρων αντιδραστηρίων με αμίνες και την επιλογή των βέλτιστων αντιδραστηρίων με βάση το φθορισμό.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι:

- i. Η σύνθεση ενός κατάλληλου αντιδραστηρίου και αναλόγων του με τη δυνατότητα σχηματισμού παραγώγων
- ii. Η μελέτη των φασματοσκοπικών ιδιοτήτων των σχηματιζόμενων παραγώγων πειραματικά και θεωρητικά με τη βοήθεια της Υπολογιστικής Χημείας και η σύγκριση των αποτελεσμάτων αυτών και τέλος
- iii. Η εξαγωγή ενός μοντέλου πρόβλεψης των φασματοσκοπικών ιδιοτήτων.

2. Μοριακός Φθορισμός και Φθορισμομετρία

2.1 Γενικές αρχές φασματοσκοπίας

Η Φασματοσκοπία είναι κλάδος της Φυσικής και πραγματεύεται την έρευνα της δομής, της σύστασης και των ιδιοτήτων των φασμάτων της ύλης, καθώς και των διαφόρων ακτινοβολιών. Όταν μια ένωση εξετάζεται φασματοσκοπικά, μελετάται ουσιαστικά η επίδραση ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας διαφόρων μηκών κύματος σε αυτήν. Χρησιμοποιώντας τους κύριους μηχανισμούς της απορρόφησης, της εκπομπής και της σκέδασης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, η φασματοσκοπία μπορεί να μας δώσει σημαντικές πληροφορίες, ποιοτικές ή ποσοτικές, για τα άτομα ή τα μόρια. Ως **απορρόφηση** ορίζεται η μετάβαση από ένα χαμηλότερο σε ένα υψηλότερο ενεργειακό επίπεδο με μεταφορά ενέργειας από την προσπίπτουσα ακτινοβολία στο άτομο ή στο μόριο. Η **εκπομπή** ορίζεται ως η μετάβαση από ένα υψηλότερο σε ένα χαμηλότερο ενεργειακό επίπεδο με ταυτόχρονη εκπομπή ακτινοβολίας. Στην περίπτωση που δεν παρατηρούμε εκπομπή ακτινοβολίας, τότε μιλάμε για μη ακτινοβόλουσα μετάπτωση. Όταν η προσπίπτουσα ακτινοβολία ανακατευθύνεται λόγω της αλληλεπίδρασής της με την ύλη, τότε αναφερόμαστε στη **σκέδαση** της ακτινοβολίας, η οποία μπορεί να συνοδεύεται με ή χωρίς μεταφορά ενέργειας.

2.2 Φωταύγεια

Η φωταύγεια χαρακτηρίζεται ως οποιαδήποτε εκπομπή φωτός χωρίς θέρμανση. Το φαινόμενο της φωταύγειας είναι αυτό που παρατηρείται στα διάφορα σώματα όταν εκπέμπουν ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία που η έντασή της σε ορισμένα μήκη κύματος ή στενές περιοχές του ηλεκτρομαγνητικού φάσματός τους είναι μεγαλύτερη από εκείνη της θερμικής ακτινοβολίας που εκπέμπουν τα ίδια αυτά σώματα στην ίδια θερμοκρασία. Η φωταύγεια παρατηρείται τόσο σε στερεές όσο και σε ρευστές ουσίες, ανόργανες ή οργανικές. Υπάρχουν διάφορα είδη φωταύγειας όπως ο φθορισμός, ο φωσφορισμός, χημιοφωταύγεια, ηλεκτροφωταύγεια κλπ. Σε όλα τα είδη φωταύγειας παρέχεται ενέργεια, η οποία απορροφάται από ηλεκτρόνια των ατόμων της ουσίας και έτσι διεγείρονται. Κατά την αποδιέγερσή τους εκπέμπεται η ενέργεια που είχε απορροφηθεί και προκάλεσε τη διέγερση, με τη μορφή φωτονίων.

2.3 Φθορισμός

Ο φθορισμός είναι η αυθόρμητη εκπομπή ακτινοβολίας, που προκύπτει μετά από ακτινοβόληση ενός δείγματος με φως. Στον φθορισμό, η εκπεμπόμενη ακτινοβολία παύει να υπάρχει αμέσως μόλις σβήσει η διεγείρουσα ακτινοβολία, δηλαδή είναι μια άμεση μετατροπή του απορροφούμενου φωτός σε επανεκπεμπόμενη ακτινοβολία.

Όταν η ακτινοβολία προσπίπτει στο δείγμα, οδηγεί τα άτομα, τα ιόντα ή τα μόρια του δείγματος σε διεγερμένες στάθμες, λόγω της απορρόφησης των φωτονίων της ακτινοβολίας. Η επαναφορά στη θεμελιώδη κατάσταση πραγματοποιείται με αυθόρμητη εκπομπή φωτονίων φθορισμού. Το φωτόνιο που εκπέμπεται από ένα διεγερμένο μόριο, άτομο ή ιόν είναι χαμηλότερης ενέργειας από το φωτόνιο που απορροφήθηκε και οδήγησε στη διέγερση. Η ενεργειακή αυτή διαφορά αποδίδεται ως μοριακή διέγερση ή θέρμανση. Το μήκος κύματος εκπομπής εξαρτάται από το μήκος κύματος απορρόφησης και τη μετατόπιση Stokes της κάθε φθορίζουσας ουσίας.

2.4 Φωσφορισμός

Η πολλαπλότητα της κατάστασης ενός μορίου S δίνεται από την παρακάτω σχέση:

$$S = 2s + 1$$

όπου s το αλγεβρικό άθροισμα των spin των ηλεκτρονίων.

Στις περισσότερες οργανικές ενώσεις (εκτός από τα ιόντα), τα ηλεκτρόνια των μορίων έχουν άρτιο αριθμό και βρίσκονται σε ζεύγη. Επομένως, το ολικό spin ενός μορίου συνήθως είναι μηδέν στη βασική κατάσταση.

Κατά τη μετάβαση από τη βασική κατάσταση σε μια διεγερμένη κατάσταση, το spin του ηλεκτρονίου που μεταβαίνει σε υψηλότερη τροχιά διατηρείται, επομένως, το ολικό spin του μορίου παραμένει μηδέν. Ο εκφυλισμός της κατάστασης αυτής λέγεται απλός και η κατάσταση αυτή ονομάζεται singlet (S).

Υπάρχει όμως περίπτωση, το μετακινούμενο ηλεκτρόνιο να μη διατηρήσει το spin του στη διεγερμένη κατάσταση και να πραγματοποιηθεί αναστροφή του spin, με αποτέλεσμα να υπάρχουν στο ίδιο μόριο δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια με παράλληλο spin. Σύμφωνα με τον παραπάνω τύπο, το αλγεβρικό άθροισμα των spin των ηλεκτρονίων έχει μετατραπεί σε μονάδα και ο εκφυλισμός της κατάστασης αυτής είναι τριπλός. Η κατάσταση αυτή ονομάζεται triplet (T). Η μετάβαση από μια singlet κατάσταση σε μια singlet κατάσταση είναι

επιτρεπτή, ενώ η μετάβαση από μια singlet κατάσταση σε μία triplet κατάσταση είναι απαγορευμένη. Από αυτό συμπεραίνουμε πως και η μετάβαση από μια triplet διεγερμένη κατάσταση σε singlet θεμελιώδη κατάσταση είναι δύσκολη και απαιτεί πολύ περισσότερο χρόνο για να πραγματοποιηθεί. Ο φθορισμός οφείλεται σε μετάβαση από singlet διεγερμένη κατάσταση σε singlet θεμελιώδη κατάσταση και πραγματοποιείται σε χρόνο 10^{-9} - 10^{-6} sec, ενώ ο φωσφορισμός αντιστοιχεί σε μετάβαση από διεγερμένη κατάσταση triplet σε θεμελιώδη κατάσταση singlet και πραγματοποιείται σε χρόνο 10^{-4} - 10^2 sec.

2.5 Μοριακός Φθορισμός

Όταν ένα μόριο, άτομο ή ιόν απορροφά ακτινοβολία, μεταβαίνει σε διεγερμένη ηλεκτρονική στάθμη. Η κάθε ηλεκτρονική στάθμη αποτελείται από αρκετές δονητικές στάθμες. Έτσι, κατά τη διέγερση, το μόριο μεταβαίνει από τη θεμελιώδη κατάσταση S_0 σε κάποια διεγερμένη κατάσταση $S_1, S_2, \dots$, σε οποιαδήποτε δονητική τους στάθμη. Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, η μετάβαση $S \rightarrow T$ είναι απαγορευμένη, έχει πολύ μικρή πιθανότητα να συμβεί και για το λόγο αυτό δε μελετάται περαιτέρω εδώ.

Κατά την αποδιέγερση, το μόριο καταλήγει στη χαμηλότερη δονητική κατάσταση της διεγερμένης ηλεκτρονικής στάθμης S που βρίσκεται μέσω δονητικής ή θερμικής επαναφοράς. Η διεργασία αυτή επιτυγχάνεται με μεταφορά θερμότητας στα μόρια του διαλύτη λόγω κρούσεων. Μια άλλη διεργασία που επιτυγχάνεται είναι η εσωτερική μετατροπή, όπου πραγματοποιείται μετάπτωση από μια δονητική στάθμη χαμηλότερης ενέργειας της κατάστασης S_n σε μια δονητική στάθμη υψηλότερης ενέργειας της κατάστασης S_{n-1} . Η μετάπτωση αυτή μπορεί να γίνει όταν οι δύο δονητικές στάθμες των δύο διεγερμένων ηλεκτρονικών καταστάσεων S_n και S_{n-1} έχουν την ίδια ενέργεια. Έτσι, μέσω των δύο αυτών διεργασιών, όλες οι διεγερμένες S καταστάσεις θα καταλήξουν στη χαμηλότερη δονητική κατάσταση της πρώτης διεγερμένης ηλεκτρονικής κατάστασης S_1 .

Η επαναφορά του μορίου από την S_1 διεγερμένη στη θεμελιώδη κατάσταση S_0 μπορεί να γίνει με διάφορους τρόπους:

Εσωτερική μετατροπή και δονητική επαναφορά: πραγματοποιείται μετάπτωση από μια δονητική στάθμη χαμηλότερης ενέργειας της κατάστασης S_1 σε μια δονητική στάθμη υψηλότερης ενέργειας της κατάστασης S_0 και από εκείνο το σημείο καταλήγει στη χαμηλότερη δονητική στάθμη της κατάστασης S_0 με έκλυση θερμότητας. Αυτός ο τρόπος

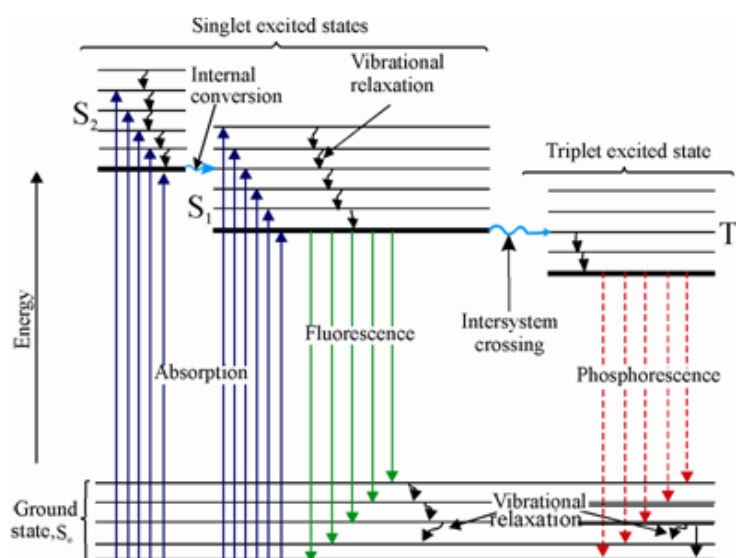
επαναφοράς συναντάται συνήθως σε μόρια με υψηλό βαθμό δονητικής ελευθερίας, όπως είναι τα αλειφατικά μόρια.

Εκπομπή φωσφορισμού: αρχικά πραγματοποιείται διασυστηματική διασταύρωση, κατά την οποία το διεγερμένο μόριο μεταπίπτει στην κατάσταση T_1 . Στη συνέχεια, έχουμε δονητική επαναφορά, με αποτέλεσμα την κατάληξη στο χαμηλότερο δονητικό επίπεδο της κατάστασης T_1 και από εκεί ακολουθεί εκπομπή φωσφορισμού, όπου η μετάπτωση γίνεται σε οποιοδήποτε δονητικό επίπεδο της κατάστασης S_0 . Ακολουθεί δονητική επαναφορά με έκλυση θερμότητας και έτσι το μόριο επανέρχεται στο χαμηλότερο δονητικό επίπεδο της θεμελιώδους κατάστασης S_0 .

Εκπομπή φθορισμού: λαμβάνει χώρα μετάπτωση σε οποιοδήποτε δονητικό επίπεδο της θεμελιώδους κατάστασης S_0 με εκπομπή φθορισμού. Από εκεί, όπως και προηγουμένως, ακολουθεί δονητική επαναφορά προς τη χαμηλότερη δονητική στάθμη της θεμελιώδους κατάστασης S_0 . Ο φθορισμός παρατηρείται κυρίως σε μόρια με περιορισμένη δονητική ελευθερία, όπως είναι τα αρωματικά μόρια και τα μόρια που έχουν εκτεταμένη συζυγία.

Απόσβεση: η επαναφορά στη θεμελιώδη κατάσταση S_0 πραγματοποιείται μέσω συγκρούσεων με μόρια άλλων ουσιών και έτσι ο φθορισμός εξασθενεί ή εξαφανίζεται εντελώς.

Όλες οι διεργασίες που περιγράφηκαν παραπάνω παρουσιάζονται σχηματικά στην Εικόνα Χ. Το διάγραμμα αυτό ονομάζεται διάγραμμα Jablonski και πήρε το όνομά του από τον Πολωνό φυσικό Alexander Jablonski.

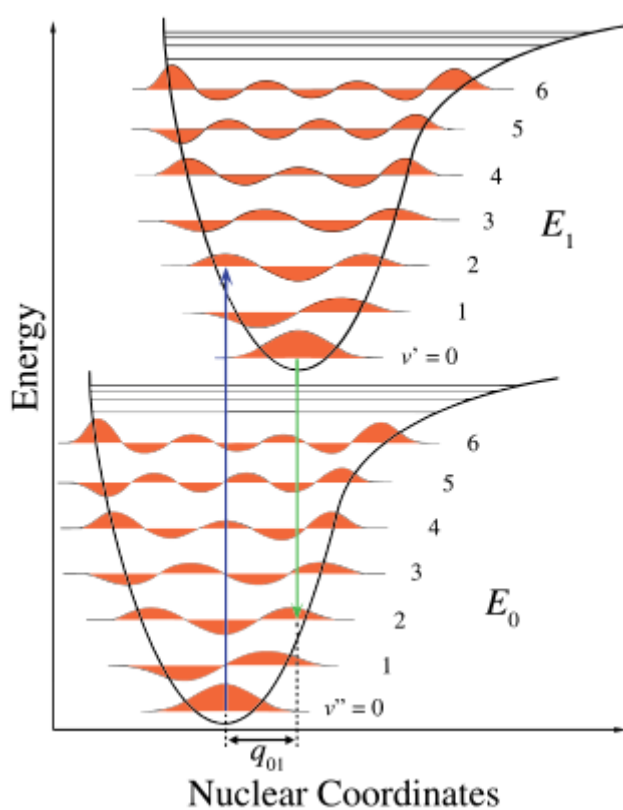


Εικόνα 1. Διάγραμμα Jablonski.

2.6 Αρχή Franck-Condon

Η αρχή Franck-Condon είναι ένας κανόνας στη φασματοσκοπία και στην κβαντική χημεία που επεξηγεί την ένταση των δονητικών μεταβάσεων και συνοψίζεται στο εξής: Λόγω του ότι οι πυρήνες έχουν πολύ μεγαλύτερη μάζα από τα ηλεκτρόνια, μια ηλεκτρονική μετάβαση συμβαίνει σε χρόνο πολύ μικρότερο από το χρόνο απόκρισης των πυρήνων.

Όταν πραγματοποιείται μια μετάβαση, η ηλεκτρονική πυκνότητα στη νέα κατάσταση έχει μεταβληθεί σε σχέση με εκείνη στη βασική κατάσταση. Η αλλαγή αυτή δημιουργεί ένα νέο πεδίο δυνάμεων, στο οποίο οι πυρήνες αποκρίνονται με παλινδρόμηση από και προς την αρχική τους απόσταση. Η νέα τους απόσταση είναι ίδια με την αρχική τους απόσταση, καθώς η ηλεκτρονική μετάβαση συμβαίνει σε πάρα πολύ μικρό χρόνο. Έτσι, η αρχική θέση των ακίνητων πυρήνων είναι πλέον, για την τελική ηλεκτρονική κατάσταση, ένα σημείο αναστροφής. Δεδομένου ότι οι πυρήνες παραμένουν σταθεροί κατά τη διάρκεια της μετάβασης, η παράστασή της μπορεί να γίνει με μια κάθετη γραμμή, που αντιστοιχεί στον



Εικόνα 2. Ενεργειακό διάγραμμα της αρχής Franck-Condon

όρο κάθετη μετάβαση. Το δονητικό επίπεδο όπου καταλήγει η κάθετη μετάβαση είναι εκείνο στο οποίο οι πυρήνες βρίσκονται στην αρχική τους απόσταση.

Όπως παρουσιάζεται και στην Εικόνα 2, οι δονητικές στάθμες και οι δονητικές κυματοσυναρτήσεις αντιστοιχούν σε αυτές των κβαντομηχανικών ταλαντωτών, ή σε πιο περίπλοκες προσεγγίσεις στις πιθανές μοριακές ενέργειες. Σε χαμηλές θερμοκρασίες, το μόριο βρίσκεται στο $v=0$ δονητικό επίπεδο της θεμελιώδους κατάστασης και απορροφώντας φωτόνιο κατάλληλης ενέργειας, μεταβαίνει σε διεγερμένη κατάσταση. Η διαμόρφωση των ηλεκτρονίων στη νέα κατάσταση πιθανόν να φέρει αλλαγή των θέσεων ισορροπίας των πυρήνων που βρίσκονται στο μόριο. Στο διάγραμμα, η αλλαγή αυτή ονομάζεται $q01$. Στην απλούστερη περίπτωση ενός διατομικού μορίου, ο άξονας πυρηνικού συντονισμού ονομάζεται ενδομοριακός διαχωρισμός.

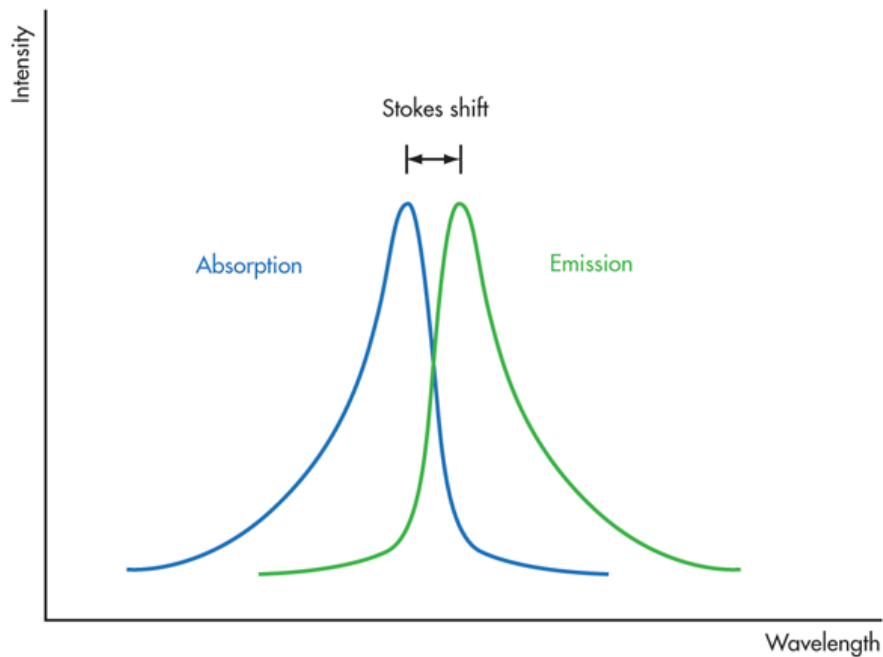
Η κβαντομηχανική προσέγγιση αυτής της αρχής υποστηρίζει ότι η μετάβαση που είναι πιθανότερο να πραγματοποιηθεί είναι εκείνη κατά την οποία οι κυματοσυναρτήσεις της ανώτερης δονητικής κατάστασης και της χαμηλότερης δονητικής κατάστασης του θεμελιώδους επιπέδου έχουν τη μεγαλύτερη ομοιότητα, δηλαδή οι κυματοσυναρτήσεις τους παρουσιάζουν την μεγαλύτερη δυνατή αλληλεπικάλυψη. Η πιθανότητα το μόριο να μεταβεί σε οποιοδήποτε δονητικό επίπεδο είναι ανάλογη του τετραγώνου της κάθετης υπέρθεσης των δονητικών κυματοσυναρτήσεων της αρχικής και τελικής κατάστασης. Στις ηλεκτρονικά διεγερμένες καταστάσεις τα μόρια γρήγορα εκτονώνονται στο χαμηλότερο δονητικό επίπεδο και από εκεί εκπίπτουν στη χαμηλότερη ηλεκτρονική κατάσταση με την εκπομπή φωτονίου.

2.7 Μετατόπιση Stokes

Η διαφορά στο μήκος κύματος μεταξύ μέγιστης εκπομπής φθορισμού και μέγιστης απορρόφησης για την ίδια ηλεκτρονική μετάβαση ονομάζεται μετατόπιση Stokes (Εικόνα 3).

$$\Delta\lambda = \lambda_{max}^{fluor.} - \lambda_{max}^{abs}$$

Όταν ένα άτομο ή μόριο απορροφά ακτινοβολία, αυξάνεται η ενέργειά του και μεταβαίνει σε μια διεγερμένη κατάσταση. Για να επανέλθει το μόριο στην αρχική του ενέργεια, εκπέμπει ακτινοβολία ως φθορισμό ή φωσφορισμό. Ένας ακόμα τρόπος για να χαλαρώσει το μόριο είναι με την απώλεια ενέργειας μέσω θερμότητας. Η μετατόπιση Stokes αναπαριστά τη διαφορά ενέργειας μεταξύ απορροφούμενης και εκπεμπόμενης ακτινοβολίας.



Εικόνα 3. Μετατόπιση Stokes

2.8 Κβαντική απόδοση φθορισμού και χρόνος φθορισμού

Η κβαντική απόδοση φθορισμού είναι ένα από τα πιο σημαντικά κριτήρια επιλογής ενός φθορισμοφόρου στη Φασματοσκοπία φθορισμού ενός μορίου και δείχνει την αποδοτικότητα της διαδικασίας του φθορισμού μιας ένωσης. Ορίζεται ως ο λόγος των εκπεμπόμενων φωτονίων προς τα απορροφούμενα φωτόνια.

$$\Phi = \frac{\# \text{ of emitted photons}}{\# \text{ of absorbed photons}}$$

Οι τιμές που παίρνει ο συντελεστής κβαντικής απόδοσης φθορισμού Φ κυμαίνεται από 0 έως 1. Μπορεί να προσδιοριστεί πειραματικά, μετρώντας το φθορισμό ενός φθορισμοφόρου με γνωστό συντελεστή κβαντικής απόδοσης, χρησιμοποιώντας τις ίδιες πειραματικές παραμέτρους (όπως το μήκος κύματος διέγερσης, το πλάτος σχισμής, η τάση του φωτοπολλαπλασιαστή κλπ.) με το προς μέτρηση μόριο. Ο συντελεστής κβαντικής απόδοσης φθορισμού του μορίου υπολογίζεται από την εξίσωση:

$$\Phi = \Phi_R \times \frac{Int}{Int_R} \frac{1 - 10^{-A_R}}{1 - 10^{-A}} \frac{n^2}{n_R^2}$$

Όπου Φ είναι ο συντελεστής κβαντικής απόδοσης φθορισμού, Int είναι το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη εκπομπής φθορισμού (εκφρασμένο σε nm), A είναι η απορρόφηση του μορίου στο μήκος κύματος διέγερσης και n είναι ο δείκτης διάθλασης του διαλύτη που χρησιμοποιήθηκε. Ο δείκτης R υποδηλώνει τις αντίστοιχες τιμές της ουσίας αναφοράς.

Ο χρόνος μείωσης φθορισμού είναι ο μέσος χρόνος που ένα μόριο μένει στη διεγερμένη κατάσταση S_1 προτού εκπέμψει αυθόρμητα ακτινοβολία. Για οποιαδήποτε στιγμή t ισχύει η σχέση:

$$[S_1] = [S_1]_0 e^{-kt}$$

Όπου $[S_1]$ είναι η συγκέντρωση των διεγερμένων μορίων τη χρονική στιγμή t , $[S_1]_0$ είναι η αρχική συγκέντρωση των διεγερμένων μορίων αμέσως μετά τη διέγερση και k είναι μια σταθερά πρώτης τάξης.

Ο χρόνος φθορισμού δίνεται από τον τύπο:

$$\tau = \frac{1}{k}$$

Όσο μεγαλύτερος είναι ο χρόνος φθορισμού, τόσο μεγαλύτερη είναι η πιθανότητα κατά την αποδιέγερση του μορίου να μην υπάρχει φθορισμός. Η αποδιέγερση του μορίου πιθανότατα θα πραγματοποιηθεί με πιο χρονοβόρες (πχ. φωσφορισμός, απόσβεση) και έτσι η απόδοση φθορισμού είναι χαμηλή. Αντίθετα, η άμεση αποδιέγερση, που πραγματοποιείται με εκπομπή ακτινοβολίας (φθορισμός) αντιστοιχεί σε πολύ μικρό χρόνο φθορισμού και σε υψηλή απόδοση φθορισμού.

2.9 Φθορισμός και δομή

Ο εντονότερος και αναλυτικά χρησιμότερος φθορισμός παρατηρείται σε ενώσεις που περιέχουν αρωματικές δραστικές ομάδες. Πιο σπάνια εμφανίζουν φθορισμό ενώσεις που περιέχουν αλειφατικές και αλεικυκλικές καρβονυλικές δομές ή δομές διπλών δεσμών υψηλής συζυγίας. Οι περισσότεροι μη υποκατεστημένοι αρωματικοί υδρογονάνθρακες φθορίζουν σε διαλύματα. Ο συντελεστής κβαντικής απόδοσης φθορισμού αυξάνεται συνήθως με την αύξηση του αριθμού των δακτυλίων και την αύξηση του αριθμού συμπύκνωσής τους. Οι απλές ετεροκυκλικές ενώσεις, όπως η πυριδίνη, το πυρρόλιο, το φουράνιο και το θειοφαίνιο, δεν εμφανίζουν φθορισμό. Αντίθετα, οι συμπυκνωμένες αρωματικές δομές φθορίζουν. Στις αζωτούχες ετεροκυκλικές ενώσεις, πιστεύεται ότι οι χαμηλότερες ενεργειακά ηλεκτρονιακές μεταπτώσεις μετατρέπονται σε τριπλή κατάσταση μέσω διασυστηματικής διασταύρωσης και με αυτόν τον τρόπο παρεμποδίζουν το φθορισμό. Όμως, συμπύκνωση αρωματικών δακτυλίων σε έναν ετεροκυκλικό πυρήνα αυξάνει τη γραμμομοριακή απορροφητικότητα και μειώνει το χρόνο ζωής της διεγερμένης κατάστασης, με αποτέλεσμα να παρατηρείται φθορισμός σε τέτοιου τύπου ενώσεις. Υποκατάσταση στον αρωματικό δακτύλιο προκαλεί μετατοπίσεις στο μήκος κύματος των κορυφών

απορρόφησης, αλλά και στις κορυφές φθορισμού και συνήθως επηρεάζει και την απόδοση φθορισμού. Μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζει η υποκατάσταση με αλογόνα, όπου παρατηρείται μείωση του φθορισμού καθώς αυξάνεται ο ατομικός αριθμός του αλογόνου. Η μείωση αυτή πιστεύεται ότι οφείλεται μερικώς στην επίδραση του βαρέως ατόμου, το οποίο αυξάνει την πιθανότητα διασυστηματικής διασταύρωσης (spin orbital mixing). Επίσης, η υποκατάσταση ενός αρωματικού δακτυλίου με καρβονυλική ή καρβοξυλική ομάδα μειώνει το φθορισμό.

2.9.1 Επίδραση της δομικής ακαμψίας στο φθορισμό

Μόρια με άκαμπτη δομή ευνοούν το φθορισμό. Η ευκαμψία σε ένα μόριο προκαλεί ενίσχυση της εσωτερικής μετατροπής, άρα αύξηση της πιθανότητας για μη ακτινοβόλο αποδιέγερση. Σε ένα εύκαμπτο μόριο μπορεί να εμφανιστούν δονήσεις χαμηλής συχνότητας και έτσι να προκληθεί μερική απώλεια ενέργειας.

2.9.2 Επίδραση της θερμοκρασίας και του διαλύτη στο φθορισμό

Η αύξηση της θερμοκρασίας στα περισσότερα μόρια μειώνει την απόδοση φθορισμού. Αυτό συμβαίνει γιατί με την αύξηση της θερμοκρασίας, αυξάνεται ο ρυθμός κρούσεων των μορίων και έτσι αυξάνεται και η πιθανότητα αποδιέγερσης των μορίων με εξωτερική μετατροπή. Το ίδιο αποτέλεσμα έχει και η μείωση του ιξώδους του διαλύτη.

Επίσης, διαλύτες που περιέχουν βαρέα άτομα στο μόριό τους μειώνουν επίσης το φθορισμό. Το φαινόμενο είναι το ίδιο με αυτό που συμβαίνει, όταν η φθορίζουσα ένωση διαθέτει βαρέα άτομα, δηλαδή αυξάνεται η πιθανότητα να συμβεί διασυστηματική διασταύρωση.

2.9.3 Επίδραση του pH στο φθορισμό

Ο φθορισμός μιας αρωματικής ένωσης με όξινους ή βασικούς υποκαταστάτες συνήθως εξαρτάται από το pH. Ανάλογα με τη μορφή της ένωσης (ιονισμένη ή μη ιονισμένη) μπορεί να διαφέρει και το μήκος κύματος και η ένταση της εκπομπής. Οι αλλαγές αυτές οφείλονται στον διαφορετικό αριθμό δομών συντονισμού, οι οποίες συνδέονται με την όξινη και τη βασική μορφή των μορίων. Οι επιπλέον δομές συντονισμού σταθεροποιούν περισσότερο την πρώτη διεγερμένη κατάσταση και έτσι η ένωση φθορίζει στην υπεριώδη περιοχή. Σύμφωνα με τα παραπάνω, συμπεραίνουμε πως για τη μέτρηση φθορισμού σε αρωματικές ενώσεις με όξινους ή βασικούς υποκαταστάτες απαιτείται αυστηρός έλεγχος του pH.

2.9.4 Επίδραση του διαλυμένου οξυγόνου στο φθορισμό

Συχνά η παρουσία διαλυμένου οξυγόνου μειώνει την ένταση φθορισμού ενός διαλύματος. Πιθανώς, αυτό οφείλεται σε φωτοχημικά επαγόμενη οξείδωση της φθορίζουσας ένωσης. Παρόλα αυτά, στις περισσότερες περιπτώσεις η απόσβεση οφείλεται στις παραμαγνητικές ιδιότητες του μοριακού οξυγόνου, που διευκολύνει τη διασυστηματική διασταύρωση και τη μετατροπή του διεγερμένου μορίου στην τριπλή κατάσταση. Εκτός από το μοριακό οξυγόνο, και άλλα παραμαγνητικά μόρια μπορούν να προκαλέσουν απόσβεση του φθορισμού.

2.10 Φάσμα φθορισμού

Όλες οι τεχνικές ανίχνευσης φθορισμού χαρακτηρίζονται από υψηλή ευαισθησία, καθώς μια μόνο μια φθορίζουσα χρωμοφόρα ουσία μπορεί να παράγει πολλές εκατοντάδες φωτόνια, ενώ λόγω της απαίτησης για ταυτόχρονο συνδυασμό δύο φαινομένων (διέγερσης και εκπομπής) σε καθορισμένα μήκη κύματος για κάθε ουσία, η ειδικότητα αυξάνεται κατακόρυφα (zero background technique). Κάθε μετάβαση, όπως γνωρίζουμε, χαρακτηρίζεται από απορροφούμενη ενέργεια που ισούται με $h\nu_{\text{exc}}$ και από εκπεμπόμενη ενέργεια που ισούται με $h\nu_{\text{em}}$. Αθροίζοντας όλες αυτές τις μεταβάσεις, για μια φθορίζουσα ουσία, σε ένα μεγάλο φάσμα, προκύπτουν δύο επιμέρους φάσματα: το φάσμα απορρόφησης και το φάσμα εκπομπής φθορισμού. Τα φάσματα αυτά δεν ταυτίζονται, διότι η ενέργεια της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας είναι μικρότερη από την ενέργεια που απορροφήθηκε. Το εύρος των φασμάτων παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην ανιχνευσιμότητα παραπάνω από μιας φθορίζουσας ένωσης, γιατί υπάρχει πιθανότητα επικάλυψης κορυφών μιας ουσίας από κορυφές που έχουν αυξημένο εύρος και αντιστοιχούν σε άλλη ουσία.

2.11 Εφαρμογές της φθορισμομετρίας

Η φθορισμομετρία, αν και πολύ παλιά, εξακολουθεί να είναι ταχύτατα αναπτυσσόμενη τεχνική, η οποία χρησιμοποιείται ευρέως σε διάφορους τομείς όπως η φαρμακευτική ανάλυση, η κλινική φαρμακευτική, η εγκληματολογία, η κλινική παθολογία, η χημεία περιβάλλοντος κλπ. Απόδειξη του ενδιαφέροντος για την τεχνική αυτή αποτελεί η απονομή του βραβείου Nobel δύο φορές την τελευταία δεκαετία σε θέματα που σχετίζονται με τον φθορισμό: το 2014 για την χρήση τεχνικών φθορισμού στην οπτική μικροσκοπία στους Eric Betzig, Stefan W. Hell και William E. Moerner και το 2008 στους Osamu Shimomura, Martin

Chalfie, Roger Y. Tsien για την πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη (GFP - green fluorescent protein). Αρκετές τεχνικές εκμεταλλεύονται ήδη το φαινόμενο του φθορισμού και ορισμένα παραδείγματα αυτών αναφέρονται παρακάτω.

Άμεση φθορισμομετρική ανάλυση: Εδώ υπολογίζεται η ένταση της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας ενός δείγματος και καταγράφονται τα φάσματα διέγερσης και εκπομπής.

Τεχνική σχηματισμού παραγώγων: Στην τεχνική αυτή, χρησιμοποιούνται αντιδραστήρια, τα οποία αντιδρούν με ενώσεις που δε φθορίζουν και λαμβάνεται σαν προϊόν παράγωγο που φθορίζει.

Ανοσοφθορισμός: Ο ανοσοφθορισμός πραγματοποιείται αρχικά με σύνδεση ενός φθορίζοντος μορίου σε ένα αντιγόνο. Στη συνέχεια, το αντιγόνο αυτό συναγωνίζεται το μη επισημασμένο αντιγόνο για δέσμευση με το αντίσωμα.

Μικροσκοπία φθορισμού: Στη συγκεκριμένη τεχνική χρησιμοποιούνται ειδικές φθορίζουσες χρωστικές για τη σήμανση μακρομορίων του κυττάρου. Κατά την εξέταση του κυττάρου σε μικροσκόπιο φθορισμού, τα μακρομόρια αυτά παρατηρούνται ως διαφορετικά χρώματα.

Η φθορισμομετρία έχει σημαντικά πλεονεκτήματα σε σχέση με άλλες τεχνικές. Έχει μεγάλη εκλεκτικότητα και ανιχνεύει μόνο φθορίζουσες ενώσεις σε συγκεκριμένο μήκος κύματος. Αυτό μειώνει σημαντικά την πιθανότητα συμπροσδιορισμού και άλλων ενώσεων που δε φθορίζουν. Επίσης, διαθέτει πολύ μεγάλη ευαισθησία και έτσι, καθίσταται δυνατή η ανίχνευση μιας ένωσης η οποία βρίσκεται σε πολύ μικρή συγκέντρωση σε ένα δείγμα.

Η αυξημένη ευαισθησία της μεθόδου επιτρέπει την ανίχνευση διαφόρων ενώσεων πχ. Φαρμάκων σε βιολογικά υγρά. Οι συγκεντρώσεις φαρμάκων ή μεταβολιτών τους στα βιολογικά υγρά είναι πολύ χαμηλές και γι' αυτό το λόγο απαιτούνται τεχνικές ανάλυσης με μεγάλη ευαισθησία, όπως η φθορισμομετρική ανάλυση, για την παρακολούθηση των θεραπευτικών τους επιπέδων.

3. Υπολογιστική Χημεία

3.1 Ιστορική Αναδρομή

Με βάση τις θεμελιώδεις ανακαλύψεις και θεωρίες στην ιστορία της κβαντικής μηχανικής, οι πρώτοι θεωρητικοί υπολογισμοί στη χημεία ήταν εκείνοι των Walter Heitler και Fritz London το 1927. Τα βιβλία που επηρέασαν την πρώιμη ανάπτυξη της υπολογιστικής κβαντικής χημείας περιλαμβάνουν τα *“Introduction to Quantum Mechanics – With Applications to Chemistry”* (1935) των Linus Pauling και E. Bright Wilson, *“Quantum Chemistry”* (1944) των Walter και Kimball, *“Elementary Wave Mechanics – with Applications to Quantum Chemistry”* (1945) του Heitler και αργότερα το 1952 το εγχειρίδιο του Coulson *“Valence”*, καθένα από τα οποία χρησίμευσε για πρωταρχικές αναφορές για τους χημικούς στις δεκαετίες που ακολουθούν.

Με την ανάπτυξη των υπολογιστών τη δεκαετία του 1940, οι λύσεις περίπλοκων κυματικών εξισώσεων για πολύπλοκα ατομικά συστήματα άρχισαν να είναι ένας υπολογίσιμος στόχος. Στις αρχές της δεκαετίας του 1950, πραγματοποιήθηκαν οι πρώτοι ημι-εμπειρικοί υπολογισμοί ατομικών τροχιακών. Οι θεωρητικοί χημικοί έγιναν εκτεταμένοι χρήστες των πρώιμων ψηφιακών υπολογιστών. Μια πολύ λεπτομερής περιγραφή αυτής της χρήσης στο Ηνωμένο Βασίλειο δίνεται από τους Smith και Sutcliffe. Οι πρώτοι *ab initio* υπολογισμοί με τη μέθοδο Hartree – Fock σε διατομικά μόρια πραγματοποιήθηκαν το 1956 στο MIT, χρησιμοποιώντας ένα βασικό σύνολο των Slater τροχιακών. Για διατομικά μόρια, μια συστηματική μελέτη χρησιμοποιώντας ένα ελάχιστο βασικό σύνολο και ο πρώτος υπολογισμός με ένα μεγαλύτερο βασικό σύνολο δημοσιεύθηκαν από τους Ransil και Nesbet αντίστοιχα το 1960. Οι πρώτοι πολυατομικοί υπολογισμοί χρησιμοποιώντας γκαουσιανά τροχιακά πραγματοποιήθηκαν στα τέλη της δεκαετίας του 1950.

3.2 Γενικά

Η υπολογιστική χημεία είναι κλάδος της χημείας που χρησιμοποιεί προσομοίωση υπολογιστή για να συμβάλλει στην επίλυση χημικών προβλημάτων. Κάνει χρήση μεθόδων της θεωρητικής χημείας, οι οποίες είναι ενσωματωμένες σε υπολογιστικά προγράμματα, και έτσι υπολογίζει τις δομές και τις ιδιότητες των μορίων. Παρόλο που τα αποτελέσματα των θεωρητικών υπολογισμών κανονικά συμπληρώνουν τις πληροφορίες που λαμβάνονται από τα χημικά πειράματα, μπορεί σε ορισμένες περιπτώσεις να προβλέψουν μέχρι τώρα μη

παρατηρούμενα χημικά φαινόμενα. Η υπολογιστική χημεία χρησιμοποιείται ευρέως στον σχεδιασμό νέων φαρμακευτικών ενώσεων και υλικών.

Μερικές από τις ιδιότητες των μορίων που μπορούν να υπολογιστούν με τη βοήθεια της υπολογιστικής χημείας είναι η δομή (δηλαδή, οι αναμενόμενες θέσεις των συστατικών ατόμων), οι απόλυτες και σχετικές ενέργειες (αλληλεπίδρασης), οι ηλεκτρονικές κατανομές πυκνότητας φορτίου, τα δίπολα και οι υψηλότερες πολλαπλές ροπές, οι δονητικές συχνότητες, η αντιδραστικότητα ή και άλλες φασματοσκοπικές ιδιότητες.

Οι χρησιμοποιούμενες μέθοδοι καλύπτουν τόσο τις στατικές όσο και τις δυναμικές καταστάσεις. Σε όλες τις περιπτώσεις, ο υπολογιστικός χρόνος και άλλοι πόροι (όπως η μνήμη και ο χώρος στο δίσκο) αυξάνονται ραγδαία με το μέγεθος του συστήματος που μελετάται. Αυτό το σύστημα μπορεί να είναι ένα μόριο, μια ομάδα μορίων ή ένα στερεό. Οι μέθοδοι υπολογιστικής χημείας κυμαίνονται από πολύ προσεγγιστικές έως εξαιρετικά ακριβείς. Οι τελευταίες είναι συνήθως εφικτές μόνο για μικρά συστήματα. Οι μέθοδοι *ab initio* βασίζονται εξ ολοκλήρου στην κβαντική μηχανική και στις βασικές φυσικές σταθερές. Άλλες μέθοδοι είναι οι ημι-εμπειρικές που ονομάζονται έτσι επειδή χρησιμοποιούν επιπρόσθετες εμπειρικές παραμέτρους για να απλουστεύσουν τους υπολογισμούς *ab-initio* και οι μέθοδοι μοριακής μηχανικής (molecular mechanics) που προσεγγίζουν την μοριακή δομή με μοντέλο μηχανικό μοντέλο που θεωρεί τα μόρια ως σφαίρες που συνδέονται μεταξύ τους με ελατήρια.

3.3 Μέθοδοι υπολογισμών *ab initio*

Οι μέθοδοι υπολογισμών *ab initio* είναι μέθοδοι υπολογιστικής χημείας που βασίζονται στην Κβαντική Χημεία. Ο όρος *ab initio* χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά στην Κβαντική Χημεία από τον Robert Parr και τους συνεργάτες του σε μια ημι-εμπειρική μελέτη των διεγερμένων καταστάσεων του βενζολίου.

Οι μέθοδοι *ab initio* έχουν το πλεονέκτημα ότι μπορούν να συγκλίνουν στην ακριβή λύση, σε αντίθεση με τις ημι-εμπειρικές μεθόδους, όταν όλες οι προσεγγίσεις είναι αρκετά μικρές σε μέγεθος και το πεπερασμένο σύνολο των βασικών συναρτήσεων τείνει προς το όριο ενός πλήρους συνόλου.

Οι πιο δημοφιλείς κλάσεις των μεθόδων ηλεκτρονικής δομής *ab initio* είναι η μέθοδος Hartree – Fock, η μέθοδος Post Hartree – Fock και η μέθοδος Multi – Reference.

Η μέθοδος **Hartree – Fock** (HF) είναι μια μέθοδος προσέγγισης για τον προσδιορισμό της κυματοσυνάρτησης και της ενέργειας ενός κβαντικού συστήματος πολλών σωμάτων σε μια στάσιμη κατάσταση. Η μέθοδος Hartree-Fock συχνά υποθέτει ότι η ακριβής κυματοσυνάρτηση N -σωμάτων του συστήματος μπορεί να προσεγγιστεί με απλές εξισώσεις Slater (στην περίπτωση που τα σωματίδια είναι φερμιόνια) ή Gauss. Μια λύση αυτών των εξισώσεων παράγει την κυματοσυνάρτηση Hartree-Fock και την ενέργεια του συστήματος.

Ειδικά στην παλαιότερη βιβλιογραφία, η μέθοδος Hartree-Fock ονομάζεται επίσης μέθοδος αυτοσυνεπούς πεδίου (SCF). Αποδίδοντας αυτό που τώρα ονομάζεται εξίσωση Hartree ως μια κατά προσέγγιση λύση της εξίσωσης του Schrödinger, ο Hartree απαιτούσε το τελικό πεδίο να είναι "αυτόνομο" σε σχέση με το αρχικό πεδίο που θεωρήθηκε. Έτσι, η αυτοσυνέπεια ήταν απαίτηση της λύσης. Οι λύσεις για τις μη γραμμικές εξισώσεις Hartree-Fock συμπεριφέρονται επίσης σαν να έχει κάθε σωματίδιο υποβληθεί στο μέσο πεδίο που δημιουργείται από όλα τα άλλα σωματίδια (three body problem). Οι εξισώσεις επιλύονται με επαναληπτική μέθοδο, αν και ο αλγόριθμος επανάληψης σταθερού σημείου δεν συγκλίνει πάντα. Αυτό το σχήμα λύσης δεν είναι το μόνο δυνατό και δεν αποτελεί βασικό χαρακτηριστικό της μεθόδου Hartree-Fock.

Η μέθοδος Hartree-Fock τυπικά χρησιμοποιείται για την επίλυση της ανεξάρτητης από το χρόνο εξίσωσης Schrödinger για ένα άτομο ή ένα μόριο πολλών ηλεκτρονίων όπως περιγράφεται στην προσέγγιση Born-Oppenheimer. Δεδομένου ότι δεν υπάρχουν ακριβείς λύσεις για συστήματα πολλών ηλεκτρονίων (υπάρχουν λύσεις για συστήματα ενός ηλεκτρονίου όπως υδρογονικά άτομα και διατομικό κατιόν υδρογόνου), το πρόβλημα επιλύεται αριθμητικά. Λόγω των μη γραμμικοτήτων που εισάγονται από την προσέγγιση Hartree-Fock, οι εξισώσεις επιλύονται χρησιμοποιώντας μια μη γραμμική μέθοδο όπως η επανάληψη, η οποία δημιουργεί το όνομα "μέθοδος αυτοσυνεπούς πεδίου" (self consistent field – SCF).

Οι μέθοδοι Hartree-Fock κάνουν πέντε μεγάλες απλουστεύσεις προκειμένου να αντιμετωπιστεί αυτό το θέμα:

- Η προσέγγιση Born-Oppenheimer ισχύει εγγενώς. Η κυματοσυνάρτηση του πλήρους μορίου είναι στην πραγματικότητα μια συνάρτηση των συντεταγμένων κάθε πυρήνα, καθώς και εκείνων των ηλεκτρονίων.
- Συνήθως, τα σχετικιστικά αποτελέσματα θεωρούνται πλήρως αμελητέα. Ο χειριστής ορμής θεωρείται ότι είναι εντελώς μη σχετικιστικός.

- Η λύση υποτίθεται ότι είναι ένας γραμμικός συνδυασμός ενός πεπερασμένου αριθμού βασικών συναρτήσεων, οι οποίες συνήθως (αλλά όχι πάντα) επιλέγονται να είναι ορθογώνιες. Το πεπερασμένο βασικό σύνολο θεωρείται ότι είναι σχεδόν πλήρες.
- Κάθε ιδιοτιμή ενέργειας ενός μορίου θεωρείται ότι μπορεί να περιγραφεί από μια απλή διακρίνουσα Slater, ένα αντισυμμετρικό γινόμενο κυματοσυναρτήσεων ενός ηλεκτρονίου (δηλαδή, τροχιακών).
- Ισχύει η προσέγγιση του μέσου πεδίου προκειμένου να προσδιοριστεί η αλληλεπίδραση ενός σωματιδίου με το σύνολο των υπόλοιπων. Οι επιδράσεις που προκύπτουν από αποκλίσεις από αυτή την υπόθεση, γνωστές ως συσχέτιση ηλεκτρονίων, αγνοούνται εντελώς για τα ηλεκτρόνια αντίθετου spin, αλλά λαμβάνονται υπόψη για τα ηλεκτρόνια παράλληλου spin.

Η χαλάρωση των δύο τελευταίων προσεγγίσεων δημιουργεί τις λεγόμενες μεθόδους **Post-Hartree-Fock**.

Οι μέθοδοι **post-Hartree-Fock** είναι το σύνολο μεθόδων που αναπτύσσονται για να βελτιώσουν τη μέθοδο Hartree-Fock (HF). Προσθέτουν τη συσχέτιση ηλεκτρονίων, που αποτελεί ακριβέστερο τρόπο για να συμπεριληφθούν οι απώσεις μεταξύ ηλεκτρονίων απ' ότι στη μέθοδο Hartree-Fock, όπου οι απώσεις βασίζονται αποκλειστικά στο μέσο όρο απώσεων μεταξύ των υπόλοιπων ηλεκτρονίων. Συνήθως, οι μέθοδοι post-Hartree-Fock δίνουν πιο ακριβή αποτελέσματα από τους υπολογισμούς Hartree-Fock, με κόστος φυσικά την αύξηση του υπολογιστικού χρόνου.

Μέθοδοι που χρησιμοποιούν διαταραχές ή μεθόδους αλληλεπίδρασης διαμόρφωσης για να βελτιώσουν την περιγραφή της συσχέτισης ηλεκτρονίων ονομάζονται **Multi-Reference**.

3.4 Ημι-εμπειρικοί μέθοδοι υπολογισμών

Οι ημι-εμπειρικές μέθοδοι κβαντικής χημείας βασίζονται στους υπολογισμούς Hartree-Fock, αλλά κάνουν πολλές προσεγγίσεις και περιλαμβάνουν κάποιες παραμέτρους από εμπειρικά δεδομένα. Είναι πολύ σημαντικές στην υπολογιστική χημεία για τη χρήση τους σε μεγάλα μόρια, όπου η πλήρης μέθοδος Hartree-Fock χωρίς τις προσεγγίσεις απαιτεί πολύ χρόνο. Η χρήση εμπειρικών παραμέτρων επιτρέπει επίσης τον υπολογισμό αποτελεσμάτων συσχέτισης ηλεκτρονίων.

Στο πλαίσιο των υπολογισμών Hartree-Fock, ορισμένες πληροφορίες (όπως τα ολοκληρώματα δύο ηλεκτρονίων) μερικές φορές προσεγγίζονται εμπειρικά ή παραλείπονται εντελώς. Προκειμένου να διορθωθεί αυτή η απώλεια, οι ημι-εμπειρικές μέθοδοι παραμετροποιούνται, δηλαδή τα αποτελέσματά τους προσαρμόζονται από σύνολο παραμέτρων, έτσι ώστε να παράγουν αποτελέσματα που συμφωνούν ακριβέστερα με τα πειραματικά δεδομένα, αλλά και με τα αποτελέσματα *ab initio* υπολογισμών.

Οι ημι-εμπειρικοί υπολογισμοί ήταν πιο επιτυχημένοι στην περιγραφή της οργανικών μορίων, όπου χρησιμοποιούνται λίγα μόνο στοιχεία και τα μόρια έχουν μέτριο μέγεθος. Ωστόσο, οι ημι-εμπειρικές μέθοδοι εφαρμόστηκαν επίσης σε στερεά και νανοδομές, αλλά με διαφορετική παραμετροποίηση. Οι μέθοδοι ημι-εμπειρικών υπολογισμών χωρίζονται σε δύο βασικές κατηγορίες: τις μεθόδους περιορισμένες στα π-ηλεκτρόνια και τις μεθόδους που περιορίζονται σε όλα τα ηλεκτρόνια σθένους. Μερικές από τις πιο γνωστές μεθόδους ημι-εμπειρικών υπολογισμών παρουσιάζονται συνοπτικά παρακάτω.

Modified Neglect of Diatomic Overlap (MNDO) είναι το παλαιότερο μοντέλο βασισμένο στην Neglect of Differential Diatomic Overlap (NDDO) που παραμετροποιεί τα ολοκληρώματα δύο ηλεκτρονίων σε ένα κέντρο που βασίζονται σε φασματοσκοπικά δεδομένα για τα απομονωμένα άτομα και αξιολογεί τα ολοκληρώματα δύο ηλεκτρονίων, χρησιμοποιώντας την ιδέα των πολύ-πόλων –πολύ-πόλων αλληλεπιδράσεων από την κλασσική ηλεκτροστατική. Ένα κλασσικό μοντέλο MNDO χρησιμοποιεί μόνο βασικά σύνολα *s* και *p* τροχιακών, ενώ το πιο πρόσφατο MNDO/d, προσθέτει *d*-τροχιακά που είναι ιδιαίτερα σημαντικά για την περιγραφή των υπερπόντιων ειδών θείου και μεταβατικών μετάλλων. Το μοντέλο MNDO έχει πολλές γνωστές ελλείψεις, όπως η αδυναμία να περιγραφεί ο δεσμός υδρογόνου λόγω ισχυρής ενδομοριακής άπωσης. Χαρακτηρίζεται από μια γενικά κακή αξιοπιστία στην πρόβλεψη θερμότητας σχηματισμού. Για παράδειγμα, τα πιο υποκατεστημένα στερεοϊσομερή προβλέπεται να είναι πολύ ασταθή σε σύγκριση με γραμμικά ισομερή, λόγω υπερεκτίμησης της άπωσης σε συστελλόμενα συστήματα.

Austin Model 1 (AM1) υιοθετεί μια παρόμοια προσέγγιση με τη MNDO στην προσέγγιση των ολοκληρωμάτων των δύο ηλεκτρονίων, αλλά χρησιμοποιεί μια τροποποιημένη έκφραση για την άπωση πυρήνα-πυρήνα. Η τροποποιημένη έκφραση οδηγεί σε μη φυσικές ελκτικές δυνάμεις που μιμούνται τις αλληλεπιδράσεις *van der Waals*. Η τροποποίηση απαιτούσε επίσης επαναπαραμετροποίηση του μοντέλου, η οποία πραγματοποιήθηκε με ιδιαίτερη έμφαση στις διπολικές ροπές, στα δυναμικά ιονισμού και στις γεωμετρίες των μορίων. Ενώ αυτό επιτρέπει κάποια περιγραφή του δεσμού υδρογόνου, εξακολουθούν να υπάρχουν

άλλες ελλείψεις, όπως οι συστηματικές υπερεκτιμήσεις των βασικών χαρακτηριστικών. Επίσης, η γεωμετρία χαμηλότερης ενέργειας για το διμερές του νερού προβλέπεται λανθασμένα από το μοντέλο AM1. Παρόλα αυτά, η χαμιλτονιανή AM1 βελτιώνει κάποιες ιδιότητες, όπως οι θερμότητες σχηματισμού, σε σχέση με τη MNDO.

Parametric Method 3 (PM3) χρησιμοποιεί μια χαμιλτονιανή που είναι πολύ παρόμοια με τη χαμιλτονιανή που χρησιμοποιείται στην AM1, αλλά η στρατηγική παραμετροποίησης είναι διαφορετική. Ενώ η AM1 παραμετροποιήθηκε σε μεγάλο βαθμό με βάση ένα μικρό αριθμό ατομικών δεδομένων, η PM3 παραμετροποιείται ώστε να αναπαράγει μεγάλο αριθμό μοριακών ιδιοτήτων. Η διαφορετική παραμετροποίηση και η ελαφρώς διαφορετική επεξεργασία της άπωσης των πυρήνων, επιτρέπουν στην PM3 να επεξεργάζεται δεσμούς υδρογόνου με αρκετή ακρίβεια αλλά σε άλλες περιπτώσεις ενισχύει τις μη φυσικές έλξεις υδρογόνου-υδρογόνου. Αυτό οδηγεί σε σοβαρά προβλήματα όταν αναλύονται οι ενδομοριακές αλληλεπιδράσεις (το μεθάνιο προβλέπεται να είναι ένα διμερές που συνδέεται ισχυρά) ή οι διαμορφώσεις εύκαμπτων μορίων (το OH προσελκύεται έντονα από το CH₃ σε 1-πεντανόλη). Η ακρίβεια των θερμοχημικών προβλέψεων με το PM3 είναι ελαφρώς καλύτερη από αυτή του AM1. Το μοντέλο PM3 έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως για ταχεία εκτίμηση των μοριακών ιδιοτήτων και έχει επεκταθεί πρόσφατα ώστε να περιλαμβάνει πολλά στοιχεία, συμπεριλαμβανομένων ορισμένων μεταβατικών μετάλλων.

Intermediate Neglect of Differential Overlap (INDO) είναι μια παραλλαγή της μεθόδου complete neglect of differential overlap (CNDO/2). Χρησιμοποιεί zero-differential overlap για τα ολοκληρώματα των δύο ηλεκτρονίων, αλλά όχι για τα ολοκληρώματα που είναι πάνω από τα τροχιακά που βρίσκονται στο κέντρο του ίδιου ατόμου. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται τώρα πια σπάνια στην αρχική της μορφή με ορισμένες εξαιρέσεις, αλλά είναι η βάση για αρκετές άλλες μεθόδους, όπως οι MINDO, ZINDO και SINDO.

Zerner's Intermediate Neglect of Differential Overlap (ZINDO) είναι ανάπτυξη της μεθόδου INDO και καλύπτει ένα ευρύ φάσμα του περιοδικού πίνακα, συμπεριλαμβανομένων και των αλκαλικών γαιών. Υπάρχουν δύο ξεχωριστές εκδόσεις της μεθόδου αυτής, η ZINDO/1 και η ZINDO/S. Η **ZINDO/1** χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό των ιδιοτήτων της βασικής κατάστασης, όπως μήκη δεσμών και γωνίες δεσμών. Αναφέρεται σε υπολογισμό SCF με το επίπεδο INDO/1, το οποίο παρέχει τους συντελεστές μοριακών τροχιακών της κατάστασης αναφοράς. Οι διπολικές ροπές και τα δυναμικά ιονισμού της βασικής κατάστασης είναι γενικά πολύ ακριβή. Οι βελτιστοποιήσεις γεωμετρίας είναι ακανόνιστες και αυτό οδήγησε στη βελτίωση της απόδοσης του κώδικα στα τέλη της δεκαετίας του '90. Η **ZINDO/S** (ή αλλιώς

INDO/S) χρησιμοποιεί τα μοριακά τροχιακά της INDO/S για τον υπολογισμό των διεγερμένων καταστάσεων, και κατά συνέπεια των ηλεκτρονικών φασμάτων. Αποτελείται από έναν υπολογισμό CI που περιλαμβάνει μόνο την κατάσταση αναφοράς συν ένα μικρό σύνολο διεγέρσεων ενός ηλεκτρονίου εντός ενός επιλεγμένου ενεργού χώρου, τυπικά πέντε HOMO και πέντε LUMO τροχιακά.

3.5 Συνάρτηση Fukui

Στην υπολογιστική Χημεία, η συνάρτηση Fukui περιγράφει την ηλεκτρονική πυκνότητα των συνοριακών τροχιακών, ως αποτέλεσμα μικρής αλλαγής στο συνολικό αριθμό των ηλεκτρονίων. Η συμπυκνωμένη συνάρτηση Fukui βασίζεται στην ίδια ιδέα, αλλά εφαρμόζεται σε ένα άτομο ενός μορίου και όχι σε ένα σημείο στον τρισδιάστατο χώρο. Συνεπώς, η συνάρτηση Fukui, χρησιμοποιώντας τη Θεωρία Συνάρτησης Πυκνότητας, επιτρέπει την πρόβλεψη των πιο ηλεκτρονιόφιλων και των πιο πυρηνόφιλων πλευρών ενός μορίου.

Η μαθηματική έκφραση της συνάρτησης Fukui είναι:

$$f(r) = \frac{\partial p(r)}{\partial N_{e-}}$$

Για να εξεταστεί η αλλαγή στον συνολικό αριθμό των ηλεκτρονίων, η συνάρτηση αυτή μετατρέπεται στις ακόλουθες δύο συναρτήσεις:

$$f^+(r) = \rho_{N+1}(r) - \rho_N(r)$$

$$f^-(r) = \rho_N(r) - \rho_{N-1}(r)$$

Η μορφή της συνάρτησης εξαρτάται από το αν έχουμε προσθήκη ή απομάκρυνση ηλεκτρονίου από το μόριο. Όταν έχουμε προσθήκη ενός ηλεκτρονίου, τότε η συνάρτηση Fukui έχει τη μορφή $f^+(r)$ και παρουσιάζει τη μοριακή αντιδραστικότητα όπως ένας δέκτης ηλεκτρονίων, ενώ όταν πραγματοποιείται απομάκρυνση ενός ηλεκτρονίου, η συνάρτηση Fukui έχει τη μορφή $f^-(r)$ και παίζει τον ίδιο ρόλο στην αντιδραστικότητα των δεκτών ηλεκτρονίων.

Οι Yang και Mortier εισήγαγαν τις «συμπυκνωμένες» συναρτήσεις Fukui, έτσι ώστε να είναι δυνατό να δοθεί μια τιμή της συνάρτησης Fukui για κάθε άτομο σε ένα μόριο. Οι νέες αυτές

εξισώσεις προκύπτουν με συμπύκνωση των παραπάνω εξισώσεων $f^+(r)$ και $f^-(r)$. Η συνάρτηση Fukui για πυρηνόφιλες αντιδράσεις (electron acceptor) σε ένα άτομο k είναι

$$f_k = q_k(N+1) - q_k(N)$$

και η συνάρτηση Fukui για ηλεκτρονιόφιλες αντιδράσεις σε ένα άτομο k είναι

$$f_k = q_k(N) - q_k(N-1)$$

Όπου $q_k(N)$ είναι το φορτίο που δίνεται στο άτομο k σε ένα μόριο με N ηλεκτρόνια. Οι όροι $q_k(N+1)$ και $q_k(N-1)$ αναφέρονται στο φορτίο του κατιόντος και του ανιόντος αντίστοιχα.

4. Μοριακές περιγραφικές μεταβλητές (Molecular descriptors)

Οι μοριακές περιγραφικές μεταβλητές παίζουν σημαντικό ρόλο στη Χημεία, στις φαρμακευτικές επιστήμες, στην πολιτική προστασίας του περιβάλλοντος, στις έρευνες υγείας και στον ποιοτικό έλεγχο. Αποτελούν τον τρόπο με τον οποίο τα μόρια που αποτελούν ζωντανούς οργανισμούς μετατρέπονται σε αριθμούς, επιτρέποντας κάποια μαθηματική επεξεργασία των χημικών πληροφοριών που περιέχονται στο μόριο. Αυτό ορίστηκε από τον Todeschini και τον Consonni ως εξής:

"Οι μοριακές περιγραφικές μεταβλητές είναι το τελικό αποτέλεσμα μιας λογικής και μαθηματικής διαδικασίας που μετατρέπει τις χημικές πληροφορίες που κωδικοποιούνται μέσα σε μια συμβολική αναπαράσταση ενός μορίου σε έναν χρήσιμο αριθμό ή το αποτέλεσμα κάποιου τυποποιημένου πειράματος".

Σύμφωνα με αυτόν τον ορισμό, οι μοριακές περιγραφικές μεταβλητές διαιρούνται σε δύο κύριες κατηγορίες: στις πειραματικές περιγραφικές μεταβλητές, όπως $\log P$, μοριακή διαθλαστικότητα, διπολική ροπή, πολωσιμότητα και, γενικά, φυσικοχημικές ιδιότητες και στις θεωρητικές μοριακές περιγραφικές μεταβλητές, οι οποίες προέρχονται από συμβολική αναπαράσταση του μορίου και μπορούν να ταξινομηθούν περαιτέρω σύμφωνα με τους διαφορετικούς τύπους μοριακής αναπαράστασης. Οι κύριες κατηγορίες των θεωρητικών μοριακών περιγραφικών μεταβλητών, ανάλογα με το επίπεδο των διαστάσεων που επηρεάζουν τον υπολογισμό τους, είναι: **οι 0D μεταβλητές**, στις οποίες ανήκουν οι περιγραφικές μεταβλητές σύστασης και οι περιγραφικές μεταβλητές αριθμών, **οι 1D μεταβλητές**, για παράδειγμα λίστα των δομικών θραυσμάτων και αποτυπώματα, **οι 2D μεταβλητές**, στις οποίες ανήκουν οι γραφικές παράμετροι, **οι 3D μεταβλητές**, στις οποίες ανήκουν, για παράδειγμα, οι μεταβλητές 3D-MORSE, οι μεταβλητές WHIM, οι μεταβλητές GETAWAY, οι κβαντοχημικές μεταβλητές, οι μεταβλητές μεγέθους, επιφάνειας και όγκου και **οι 4D μεταβλητές**, όπως είναι για παράδειγμα οι μεταβλητές που παράγονται από τις μεταβλητές πλέγματος (GRID descriptors) ή από τις μεθόδους CoMFA και οι παράμετροι Volsurf.

4.1 Αμετάβλητες ιδιότητες των μοριακών περιγραφικών μεταβλητών

Οι αμετάβλητες ιδιότητες των μοριακών περιγραφικών μεταβλητών μπορούν να οριστούν ως η ικανότητα του αλγορίθμου να μπορεί να δώσει για τον υπολογισμό του στην

περιγραφική μεταβλητή μία τιμή, η οποία είναι ανεξάρτητη των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών της μοριακής αναπαράστασης, όπως αρίθμηση ή σήμανση ατόμων, χωρικό πλαίσιο αναφοράς, μοριακές διαμορφώσεις κλπ. Η μεταβολή της μοριακής αρίθμησης ή σήμανσης θεωρείται ως ελάχιστη βασική προϋπόθεση για κάθε περιγραφική μεταβλητή.

Δύο άλλες σημαντικές αμετάβλητες ιδιότητες είναι η μεταφραστική αμεταβλητότητα και η περιστροφική αμεταβλητότητα, δηλαδή η έλλειψη μεταβολής στην τιμή μιας περιγραφικής μεταβλητής σε οποιαδήποτε μετάφραση ή περιστροφή των μορίων στο επιλεγμένο πλαίσιο αναφοράς. Αυτές οι τελευταίες αμετάβλητες ιδιότητες είναι απαραίτητες για τις 3D περιγραφικές μεταβλητές.

4.2 Εκφυλισμός των μοριακών περιγραφικών μεταβλητών

Η ιδιότητα αυτή αναφέρεται στην ικανότητα μιας περιγραφικής μεταβλητής να αποφεύγει ίσες τιμές για διαφορετικά μόρια. Με αυτή την έννοια, οι περιγραφικοί δείκτες δεν μπορούν να δείξουν καθόλου εκφυλισμό, χαμηλό, ενδιάμεσο ή υψηλό εκφυλισμό. Για παράδειγμα, ο αριθμός των ατόμων μορίων και τα μοριακά βάρη είναι περιγραφικές μεταβλητές υψηλού εκφυλισμού, ενώ συνήθως οι 3D περιγραφικές μεταβλητές δείχνουν χαμηλό ή καθόλου εκφυλισμό.

4.3 Χαρακτηριστικά των μοριακών περιγραφικών μεταβλητών

Μια βέλτιστη περιγραφική μεταβλητή θα πρέπει να έχει τα παρακάτω χαρακτηριστικά:

- Θα πρέπει να έχει δομική ερμηνεία
- Θα πρέπει να έχει καλή συσχέτιση με τουλάχιστον μία ιδιότητα
- Θα πρέπει, κατά προτίμηση, να μπορεί να κάνει διάκριση μεταξύ ισομερών.
- Να είναι δυνατή η εφαρμογή της στην τοπική δομή.
- Να είναι δυνατή η γενίκευσή της σε «υψηλότερη» περιγραφική μεταβλητή.
- Θα πρέπει να είναι απλή.
- Να μη βασίζεται σε πειραματικές ιδιότητες.
- Δεν θα πρέπει να σχετίζεται επιτόλεια με άλλες περιγραφικές μεταβλητές.
- Θα πρέπει να είναι δυνατή η κατασκευή της αποτελεσματικά.
- Θα πρέπει να χρησιμοποιεί γνωστές δομικές έννοιες.
- Η αλλαγή στην τιμή της θα πρέπει να γίνεται σταδιακά με σταδιακή αλλαγή στις δομές.

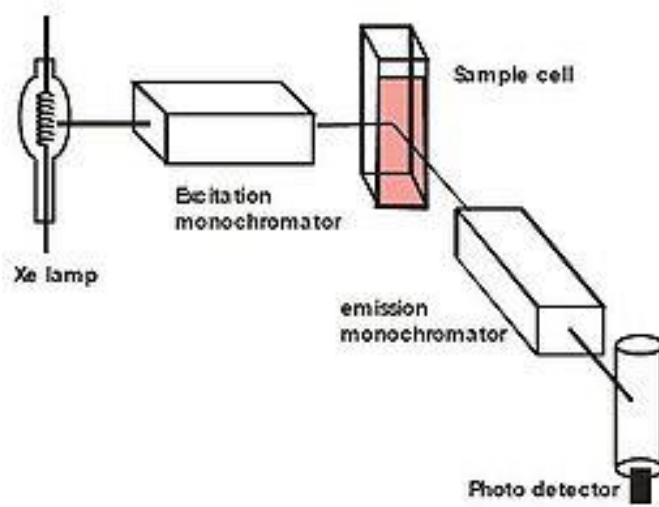
- Αν η περιγραφική μεταβλητή σχετίζεται με το μέγεθος του μορίου, θα πρέπει να έχει τη σωστή εξάρτηση μεγέθους.

5. Οργανολογία φθορισμομετρίας

Τα διάφορα τμήματα των οργάνων μέτρησης φωτοφωταύγειας είναι όμοια με αυτά που χρησιμοποιούνται στα φωτόμετρα ή φασματοφωτόμετρα ορατού/υπεριώδους.

Ένα φθορισμόμετρο αποτελείται από τα εξής μέρη:

- Πηγή υπεριώδους ακτινοβολίας
- Έναν μονοχρωμάτορα ή ένα φίλτρο, που συμβάλλει στην απομόνωση μονοχρωματικής ακτινοβολίας από την πηγή
- Οπτική διαδρομή
- Υποδοχέα δείγματος
- Μονοχρωμάτορα ή φίλτρο, που κατευθύνει την εκπεμπόμενη ακτινοβολία από το δείγμα στον ανιχνευτή
- Ανιχνευτής
- Καταγραφέας



Εικόνα 4. Τυπική διάταξη ενός φθορισμομέτρου

5.1 Αρχές λειτουργίας

Αρχικά, το φως που εξέρχεται από την πηγή εισέρχεται στον μονοχρωμάτορα ή στο φίλτρο, όπου εκεί διαχωρίζεται σε στενές ζώνες συχνοτήτων και εξέρχεται από αυτόν μονοχρωματική ακτινοβολία συγκεκριμένης συχνότητας. Στη συνέχεια η ακτινοβολία αυτή προσπίπτει στην κυψελίδα που φέρει το διάλυμα του δείγματος και τα μόρια της ουσίας διεγείρονται

απορροφώντας την. Κατά την αποδιέγερση των μορίων, εκπέμπεται ακτινοβολία η οποία εισέρχεται σε έναν δεύτερο μονοχρωμάτορα ή φίλτρο, όπου και πάλι απομονώνεται ακτινοβολία ορισμένης συχνότητας και η ακτινοβολία αυτή φτάνει στον ανιχνευτή. Τέλος, το σήμα που εξέρχεται από τον ανιχνευτή, μετατρέπεται κατάλληλα και παρουσιάζεται σε εμάς στον καταγραφέα.

5.2 Πηγή υπεριώδους ακτινοβολίας

Η ακτινοβολία που χρησιμοποιείται συνήθως είναι υπεριώδης με εκπομπή φωτός υψηλής ενέργειας, κατά τη διέγερση του δείγματος, έτσι ώστε να επιτυγχάνεται υψηλή ευαισθησία και χαμηλά όρια ανίχνευσης. Η υψηλής ενέργειας ακτινοβολία οδηγεί σε μεγάλη ένταση φθορισμού. Στα φθορισμόμετρα, οι πιο συνηθισμένες πηγές είναι οι λυχνίες εκπόλωσης αερίου, όπως οι λυχνίες ατμών υδραργύρου και αερίου ξένου. Η *λυχνία ατμών υδραργύρου* είναι λυχνία χαμηλής πίεσης και παράγει γραμμικό φάσμα εκπομπής, ενώ η *λυχνία αερίου ξένου* είναι λυχνία υψηλής πίεσης και δίνει συνεχές φάσμα. Τα τελευταία χρόνια ξεκίνησε η χρήση διαφόρων τύπων laser ως πηγές διέγερσης για πειράματα φωταύγειας, που παρέχουν μονοχρωματική ακτινοβολία υψηλής ενέργειας, καθώς και συντονισμένες πηγές laser όπου το επιθυμητό μήκος κύματος επιτυγχάνεται με τη διέλευση ακτινοβολίας μέσω κατάλληλης χρωστικής.



Εικόνα 5. Λυχνία αερίου ξένου

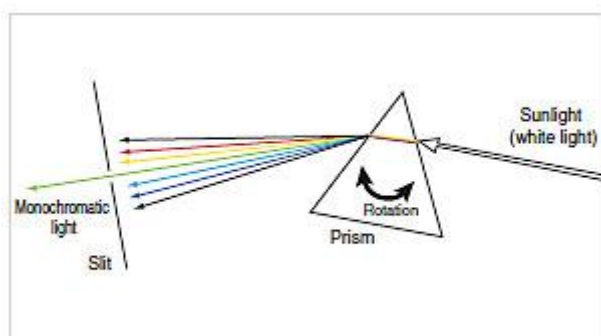
Τα περισσότερα εμπορικά φασματοφθορισμόμετρα διαθέτουν λυχνίες ως πηγή διέγερσης λόγω του χαμηλότερου τους κόστους και της ευκολίας στη χρήση. Παρόλα αυτά, οι πηγές laser προσφέρουν σημαντικά πλεονεκτήματα, τα οποία είναι: η χρήση πολύ μικρής ποσότητας δείγματος, η ικανότητα κατεύθυνσης των δεσμών laser, που είναι τεράστιας σημασίας σε μετρήσεις που γίνονται από απόσταση, καθώς και ο υψηλός βαθμός

μονοχρωματικότητας ο οποίος απαιτείται για τον περιορισμό των παρεμποδίσεων που προέρχονται από άλλες φθορίζουσες ενώσεις.

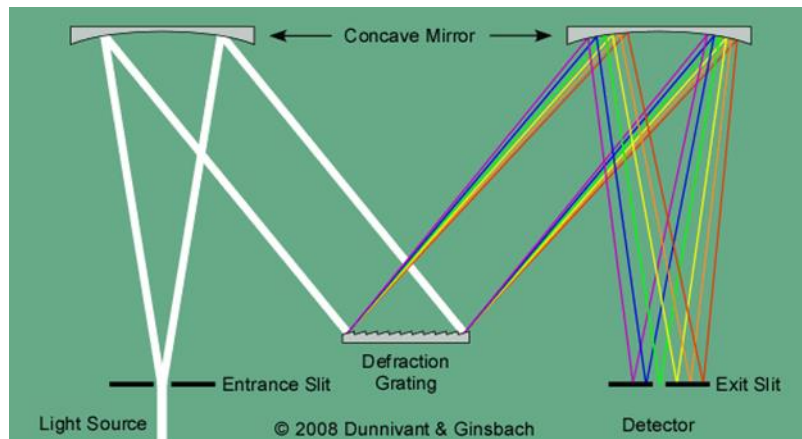
5.3 Μονοχρωμάτορες και φίλτρα

Χρησιμοποιούνται για τη διέλευση ενός μόνο μήκους κύματος ακτινοβολίας. Όπως αναφέρεται παραπάνω, υπάρχουν δύο τέτοιες διατάξεις: η μια βρίσκεται πριν το δείγμα, ώστε η προσπίπτουσα στο δείγμα ακτινοβολία να είναι επιθυμητού μήκους κύματος και η δεύτερη βρίσκεται πριν τον ανιχνευτή, επιτρέποντας τη διέλευση μονοχρωματικής ακτινοβολίας, που οφείλεται στην εκπομπή φωτονίων από το δείγμα, σε αυτόν.

Οι μονοχρωμάτορες διακρίνονται σε δύο κατηγορίες, ανάλογα με τον τρόπο που διαχωρίζεται η ακτινοβολία: τους μονοχρωμάτορες πρίσματος και τους μονοχρωμάτορες φράγματος περίθλασης. Αποτελούνται από πέντε επιμέρους τμήματα, τα οποία είναι: α) μια σχισμή εισόδου της ακτινοβολίας, β) έναν κατευθυντήρα (φακό ή κάτροππο) που κάνει την ακτινοβολία παράλληλη, γ) ένα στοιχείο διασποράς (πρίσμα ή φράγμα περίθλασης) με περιστροφή του οποίου επιλέγεται το επιθυμητό μήκος κύματος, δ) ένα συγκεντρωτικό κάτοπτρο που κατευθύνει την ακτινοβολία στη ε) σχισμή εξόδου η οποία περιορίζει το εύρος της ακτινοβολίας που έχει ως τελικό αποδέκτη το δείγμα ή τον ανιχνευτή. Πολύ βασικό ρόλο στην καλή λειτουργία ενός μονοχρωμάτορα έχουν οι σχισμές εισόδου και εξόδου της ακτινοβολίας. Αυτό ισχύει γιατί το εύρος των σχισμών ελέγχει το ποσό της ακτινοβολίας που εισέρχεται και εξέρχεται από το μονοχρωμάτορα. Συνεπώς, όσο μικρότερο είναι το εύρος των σχισμών, τόσο μικρότερο είναι και το εύρος της διερχόμενης ακτινοβολίας, άρα τόσο μεγαλύτερη εκλεκτικότητα επιτυγχάνεται. Βέβαια, με μείωση του εύρους των σχισμών έχουμε μείωση και της ποσότητας ενέργειας που προσπίπτει στο δείγμα και το διεγείρει, το οποίο οδηγεί επίσης σε μείωση της ποσότητας ενέργειας που θα φτάσει στον ανιχνευτή. Άρα, μείωση του εύρους των σχισμών καταλήγει σε μειωμένη ευαισθησία. Τελικά, η επιλογή του εύρους σχισμής γίνεται ανάλογα με τις ανάγκες της εκάστοτε ανάλυσης.



Εικόνα 6. Μονοχρωμάτορας πρίσματος



Εικόνα 7. Μονοχρωμάτορας φράγματος περίθλασης

Τα φίλτρα ακτινοβολίας έχουν την παρόμοια χρήση με τους μονοχρωμάτορες, δηλαδή επιτρέπουν τη διέλευση σε συγκεκριμένες ζώνες μηκών κύματος. Τα φίλτρα διακρίνονται σε δύο κατηγορίες, τα φίλτρα απορρόφησης και τα φίλτρα συμβολής. Τα φίλτρα απορρόφησης χρησιμοποιούνται κυρίως για την ορατή περιοχή και η λειτουργία τους βασίζεται κυρίως στην απορρόφηση συγκεκριμένων περιοχών φάσματος. Αποτελούνται κυρίως από μια έγχρωμη ύαλο ή μια έγχρωμη ουσία διασπαρμένη σε φιλμ ζελατίνης, το οποίο τοποθετείται ανάμεσα σε δύο γυάλινες πλάκες. Τα φίλτρα συμβολής αποτελούνται από ένα διαφανές διηλεκτρικό υλικό (CaF_2 ή MgF_2) που βρίσκεται μεταξύ δύο ημιπερατών μεταλλικών φιλμ. Η διάταξη αυτή τοποθετείται μεταξύ δύο γυάλινων πλακών. Από το πάχος του διηλεκτρικού καθορίζεται και το μήκος κύματος της διερχόμενης ακτινοβολίας. Η ακτινοβολία που διέρχεται από το φίλτρο ακολουθεί την εξής πορεία: Αρχικά, ένα κλάσμα αυτής ανακλάται στις δύο μεταλλικές επιφάνειες και απομονώνεται μόνο το επιθυμητό μήκος κύματος. Στη συνέχεια, το κλάσμα που ανακλάται στη δεύτερη μεταλλική επιφάνεια ανακλάται και στην εσωτερική επιφάνεια του πρώτου μεταλλικού φιλμ και έτσι, συμβάλλει με τη διερχόμενη ακτινοβολία, η οποία έχει το ίδιο μήκος κύματος, ενισχύοντας την.

5.4 Υποδοχέας δείγματος

Στη φθορισμομετρία, η θέση του υποδοχέα του δείγματος βρίσκεται σε διαφορετική τοποθέτηση των 180° , αντίθετα με άλλες οπτικές μεθόδους. Η ακτινοβολία που μετράμε είναι η εκπεμπόμενη από το δείγμα, η οποία προκύπτει μετά τη διέγερση των μορίων του δείγματος. Η ακτινοβολία αυτή εκπέμπεται προς όλες τις κατευθύνσεις. Παρόλα αυτά, ο ανιχνευτής τοποθετείται σε γωνία 90° σε σχέση με τον υποδοχέα δείγματος, ώστε η μόνη ακτινοβολία που θα ανιχνευτεί να οφείλεται μόνο στην εκπομπή των μορίων και όχι και στη μη απορροφηθείσα ακτινοβολία από την πηγή στην περίπτωση της ευθύγραμμης διάταξης.

Ο υποδοχέας δείγματος είναι συνήθως κυψελίδα ή μικροκυψελίδα, με τη δεύτερη να χρησιμοποιείται ιδιαίτερα σε φθορισμόμετρα που έχουν ως πηγή ακτινοβολίας laser. Ακόμα, χρησιμοποιούνται και βοηθία 96 θέσεων. Γενικά, το σχήμα των κυψελίδων μπορεί να είναι ορθογώνιο ή κυλινδρικό, ενώ το υλικό κατασκευής τους είναι συνήθως χαλαζία. Επίσης, ο θάλαμος τοποθέτησης της κυψελίδας πρέπει να είναι μαυρισμένος ώστε να απορροφά τη σκεδαζόμενη ακτινοβολία.



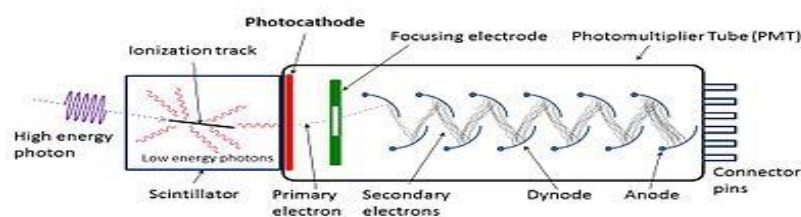
Εικόνα 8. Κυψελίδα χαλαζία



Εικόνα 9. Βοηθίο 96 θέσεων για μετρήσεις φθορισμού

5.5 Ανιχνευτής

Για τη μέτρηση φθορισμού χρησιμοποιούνται κατά κύριο λόγο φωτοπολλαπλασιαστές. Ο φωτοπολλαπλασιαστής αποτελείται από μία κάθοδο εκπομπής φωτονίων, ένα αριθμό δυνόδων και μία άνοδο. Όταν η ακτινοβολία συναντήσει τη φωτοευαίσθητη επιφάνεια, εκπέμπονται ηλεκτρόνια. Τα ηλεκτρόνια αυτά με τη σειρά τους συναντούν μια δεύτερη επιφάνεια θετικά φορτισμένη σε σχέση με τη φωτοευαίσθητη επιφάνεια, που ονομάζεται δύνοδος. Τα ηλεκτρόνια επιταχύνονται και συναντούν τη δύνοδο με μεγαλύτερη κινητική ενέργεια από αυτήν που αρχικά είχαν. Κάθε ηλεκτρόνιο υψηλότερης ενέργειας εκδιώκει περισσότερα από ένα ηλεκτρόνια από τη δύνοδο. Τα νέα ηλεκτρόνια επιταχύνονται και προσκρούουν σε μία δεύτερη δύνοδο, η οποία είναι περισσότερο θετική από την πρώτη. Μετά την πρόσκρουση αυτή, εξάγονται ακόμα περισσότερα ηλεκτρόνια και επιταχύνονται προς μία τρίτη δύνοδο. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται αρκετές φορές, μέχρι να συλλέγονται τελικά τουλάχιστον



Εικόνα 10. Η διάταξη ενός φωτοπολλαπλασιαστή

10^6 ηλεκτρόνια για κάθε φωτόνιο που προσπίπτει στην αρχική φωτοευαίσθητη επιφάνεια/κάθοδο. Έτσι, ένα πολύ ασθενές φως μπορεί να μετατραπεί σε μετρούμενο ηλεκτρικό σήμα.

5.6 Καταγραφέας

Ο καταγραφέας είναι συνήθως ηλεκτρονικός υπολογιστής, ο οποίος είναι συνδεδεμένος με το φθορισμόμετρο και αναλύει το σήμα που εξέρχεται από τον ανιχνευτή. Με χρήση του κατάλληλου λογισμικού, επιτρέπει στο χρήστη τη λήψη και την επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

6. Παραγωγοποίηση

6.1 Γενικά

Η παραγωγοποίηση είναι μια τεχνική που χρησιμοποιείται στη Χημεία, κατά την οποία μια χημική ένωση μετατρέπεται σε προϊόν με παρόμοια χημική δομή. Το προϊόν αυτό ονομάζεται παράγωγο.

Γενικά, μια λειτουργική ομάδα της ένωσης συμμετέχει στην αντίδραση παραγωγοποίησης και μετατρέπει το προϊόν σε παράγωγο με διαφορετικές ιδιότητες, όπως η αντιδραστικότητα, το σημείο βρασμού, η διαλυτότητα, το σημείο τήξεως κλπ σε σχέση με την αρχική ένωση. Όταν πρόκειται για προσδιορισμό μιας ένωσης η οποία βρίσκεται σε μείγμα, η τεχνική της παραγωγοποίησης συνδέεται με κάποια χρωματογραφική τεχνική, όπως με αεριοχρωματογραφία (GC) ή με υγροχρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) και διακρίνεται σε δύο είδη: την παραγωγοποίηση πριν από τη στήλη (pre-column derivatization) και την παραγωγοποίηση μετά τη στήλη (post-column derivatization). Κατά την pre-column derivatization, η αντίδραση πραγματοποιείται πριν το δείγμα ενχυθεί στη στήλη χρωματογραφίας και διαχωρίζεται το τελικό παράγωγο από τις υπόλοιπες ουσίες του μείγματος. Συνήθως προτιμάται όταν η αντίδραση απαιτεί χρόνο προκειμένου να πραγματοποιηθεί σε σημαντική έκταση ή όταν η προς προσδιορισμό ουσία δε διαχωρίζεται εύκολα από τις άλλες ουσίες του μείγματος. Στην post-column derivatization, η αντίδραση παραγωγοποίησης λαμβάνει χώρα μετά το διαχωρισμό των ουσιών του μείγματος. Αυτή το είδος παραγωγοποίησης απαιτεί η αντίδραση να γίνεται ακαριαία.

Κάποια από τα χαρακτηριστικά που πρέπει να έχει μια αντίδραση παραγωγοποίησης είναι:

- Να είναι αξιόπιστη, επαναλήψιμη και ποσοτική. Όσο λιγότερο αντιδρόν απομένει χωρίς να αντιδράσει, τόσο πιο απλή είναι η ανάλυση.
- Να είναι αρκετά γενική, ώστε να επιτρέπεται να αλληλεπιδράσει το αντιδραστήριο με αρκετά υποστρώματα, αλλά να είναι ειδική ως προς μια λειτουργική ομάδα η οποία δίνει την αντίδραση, μειώνοντας έτσι τις περίπλοκες αλληλεπιδράσεις.
- Τα προϊόντα της πρέπει να είναι σταθερά και να μη σχηματίζονται προϊόντα αποικοδόμησης στο χρονικό διάστημα που πραγματοποιείται η ανάλυση.

Στην αεριοχρωματογραφία χρησιμοποιείται μόνο η παραγωγοποίηση πριν από τη στήλη και ο στόχος της είναι η ενίσχυση της πτητικότητας μιας ουσίας, της σταθερότητάς της έναντι της θερμοκρασίας και της ανιχνευσιμότητάς της. Σε περίπτωση που θέλουμε να αναλύσουμε

ουσίες που περιέχουν τις ομάδες $-\text{COOH}$, $-\text{NH}$, $-\text{OH}$ και $-\text{SH}$ με αεριοχρωματογραφία, θα πρέπει να προστατευθούν, καθώς οι ομάδες αυτές μπορούν να δώσουν ενδομοριακούς δεσμούς υδρογόνου και να μειώσουν την πτητικότητα της ουσίας, με αποτέλεσμα να παρεμποδίζεται η ανάλυσή της. Στην αεριοχρωματογραφία, ο σχηματισμός παραγώγου γίνεται με βάση το **είδος της αντίδρασης** και διακρίνονται σε τρία κύρια είδη αντιδράσεων: αλκυλίωση (συνήθως αντίδραση εστεροποίησης), ακυλίωση και σιλυλίωση, με την τελευταία να χρησιμοποιείται κυρίως στην αεριοχρωματογραφία.

Στην υγροχρωματογραφία υψηλής απόδοσης χρησιμοποιούνται και τα δύο είδη παραγωγοποίησης και ο σχηματισμός παραγώγου βασίζεται στο **είδος της ουσίας** προς προσδιορισμό και χρησιμοποιείται για καρβοξυλικά οξέα, αμίνες και αλκοόλες που δεν ανιχνεύονται σε χαμηλές συγκεντρώσεις.

6.2 Η τεχνική σχηματισμού παραγώγων με φθορισμοφόρα αντιδραστήρια

Η τεχνική σχηματισμού παραγώγων με φθορισμοφόρα αντιδραστήρια βασίζεται στη μετατροπή αντιδραστηρίων με ασθενή ή καθόλου φθορισμό σε προϊόντα με υψηλό φθορισμό. Το προϊόν της αντίδρασης αυτής ονομάζεται παράγωγο και εξαιτίας των νέων του φθορισμοφόρων ιδιοτήτων, προσδιορίζεται φθορισμομετρικά. Η τεχνική αυτή, λόγω του φαινομένου του φθορισμού, έχει ιδιαίτερα **αυξημένη ευαισθησία** συγκρινόμενη με τις τεχνικές που χρησιμοποιούν την απορρόφηση στην περιοχή του ορατού υπεριώδους. Ένα ακόμα μεγάλο πλεονέκτημα της τεχνικής αυτής είναι η **εκλεκτικότητα στην ανίχνευση**. Αυτό οφείλεται συνήθως στην εκλεκτικότητα της αντίδρασης μεταξύ του αντιδραστηρίου και της ουσίας και έχει εξέχουσα σημασία στον προσδιορισμό ουσιών που βρίσκονται σε πολύπλοκα μείγματα. Μετά την αντίδραση, τα παράγωγα έχουν νέες φυσικοχημικές ιδιότητες που επιτρέπουν την ανίχνευσή τους παρά την παρουσία των υπόλοιπων ενώσεων του μείγματος.

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, η τεχνική αυτή συνδυάζεται με κάποια χρωματογραφία, όπου στην προκειμένη είναι η υγροχρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC). Ο συνδυασμός αυτός προσφέρει ακόμα μεγαλύτερη ευαισθησία και εκλεκτικότητα στην ανίχνευση. Κάποια ακόμα πλεονεκτήματα που προκύπτουν από το συνδυασμό της τεχνικής της παραγωγοποίησης με τη χρωματογραφική μέθοδο είναι:

- Η βελτίωση της χρωματογραφικής συμπεριφοράς της προς ανάλυση ουσίας, το οποίο χρησιμεύει για την επιλογή συγκεκριμένων στατικών και κινητών φάσεων.
- Η αύξηση της διαχωριστικότητας δομικά παρόμοιων ουσιών.

- Σε κάποιες περιπτώσεις, η βελτίωση της σταθερότητας της προς ανάλυση ουσίας, όταν αυτή μετατραπεί σε παράγωγο.

Στην παραγωγοποίηση με φθορισμοφόρα αντιδραστήρια χρησιμοποιούνται και οι δύο μορφές: η παραγωγοποίηση πριν τη στήλη και η παραγωγοποίηση μετά τη στήλη.

6.2.1 Παραγωγοποίηση πριν από τη στήλη (Pre-column derivatization)

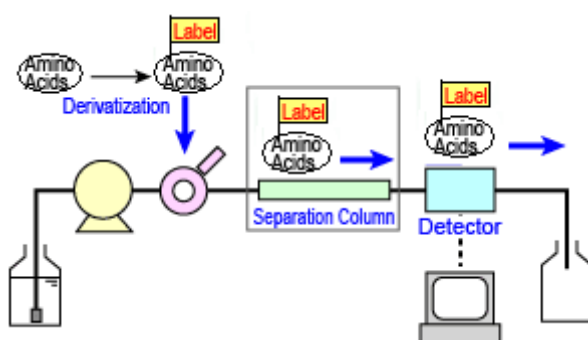
Κατά την παραγωγοποίηση πριν από τη στήλη, η αντίδραση μεταξύ αντιδραστηρίου και επιθυμητής ουσίας πραγματοποιείται πριν γίνει η ένεση στη στήλη. Στη συνέχεια ακολουθεί κατεργασία του δείγματος και τα προϊόντα της αντίδρασης διαχωρίζονται από τις υπόλοιπες ουσίες του μείγματος χρωματογραφικά και ανιχνεύονται. Είναι απαραίτητο η αντίδραση παραγωγοποίησης να είναι ποσοτική και επαναλήψιμη.

Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου αυτής είναι τα ακόλουθα:

- Μεγάλη ευαισθησία, εκλεκτικότητα και μικρούς χρόνους ανάλυσης.
- Τα ποσοστά κατανάλωσης του αντιδραστηρίου ελαχιστοποιούνται καθορίζοντας ένα μικρό σύστημα αντίδρασης. Έτσι, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ακόμα και ακριβά αντιδραστήρια, που δίνουν χαμηλά σήματα υποβάθρου, τα οποία αυξάνουν ακόμα περισσότερο την ευαισθησία της αντίδρασης.
- Δεν υπάρχει περιορισμός ως προς την κινητική της αντίδρασης, δηλαδή μπορούν να επιλεγούν και αντιδράσεις που απαιτούν μεγάλους χρόνους για να πραγματοποιηθούν.
- Πιθανά παραπροϊόντα (προϊόντα αποικοδόμησης ή περίσσεια αντιδραστηρίου) μπορούν σε ορισμένες περιπτώσεις να απομακρυνθούν κατά την κατεργασία του δείγματος πριν αυτό εισέλθει στη στήλη ή και κατά το χρωματογραφικό προσδιορισμό, διευκολύνοντας πιθανότατα έτσι την ανίχνευση.
- Δεν απαιτείται επιπλέον εξειδικευμένος εξοπλισμός πέραν αυτού που χρησιμοποιείται για την HPLC.
- Οι χρωματογραφικές συνθήκες που θα χρησιμοποιηθούν δεν έχουν ιδιαίτερους περιορισμούς, καθώς το δείγμα υφίσταται πρώτα κατεργασία και στη συνέχεια εισέρχεται στη στήλη προς διαχωρισμό.
- Υπάρχει η δυνατότητα χρήσης χρωματογραφίας αντίστροφης φάσης, καθώς μικρά υδρόφιλα μόρια μπορούν να μετατραπούν σε μεγαλύτερα πιο υδρόφιλα.

Τα μειονεκτήματα της μεθόδου είναι τα παρακάτω:

- Επειδή το αντιδραστήριο αναμειγνύεται άμεσα με το δείγμα, η αποτελεσματικότητα της αντίδρασης επηρεάζεται εύκολα από τη μήτρα του δείγματος, όπως πχ από προϋπάρχοντα συστατικά, τυχόν παραπροϊόντα ή τα είδη των διαλυτών.
- Αν τα προϊόντα της αντίδρασης είναι ασταθή, επηρεάζονται και τα αποτελέσματα κατά την ποσοτικοποίηση.
- Σε χαμηλές συγκεντρώσεις δείγματος, οι παρεμποδίσεις που προκύπτουν από την περίσσεια του αντιδραστήριου είναι συνήθως έντονες.



Εικόνα 11. Σχηματικά η παραγωγοποίηση πριν από τη στήλη για αμινοξέα

6.2.2 Παραγωγοποίηση μετά από τη στήλη (Post-column derivatization)

Στην παραγωγοποίηση μετά τη στήλη, ο χρωματογραφικός διαχωρισμός και η αντίδραση παραγωγοποίησης είναι συζευγμένα μεταξύ τους. Αυτό σημαίνει πως πρώτα διαχωρίζεται η προς προσδιορισμό ουσία από το μείγμα στο οποίο βρίσκεται και στη συνέχεια ακολουθεί η αντίδραση παραγωγοποίησης για το σχηματισμό του τελικού παραγώγου. Αυτό επιτυγχάνεται με συνεχή προσθήκη του αντιδραστήριου μέσα από μια δεύτερη αντλία που βρίσκεται μεταξύ της στήλης και του ανιχνευτή, έτσι ώστε μόλις διαχωρίζονται οι ουσίες εξερχόμενες από τη στήλη, να αντιδρούν απευθείας και να μετατρέπονται σε φθορισμοφόρα παράγωγα. Κατά τη μέθοδο αυτή, η αντίδραση παραγωγοποίησης πρέπει να γίνεται ακαριαία.

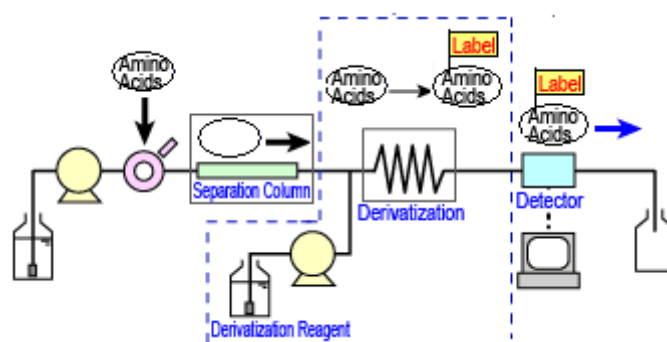
Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου αυτής είναι:

- Η σταθερότητα των παραγώγων δεν επηρεάζει τα ποσοτικά αποτελέσματα, καθώς ανιχνεύονται σε ελάχιστο χρόνο μετά το σχηματισμό τους.

- Υπάρχει η δυνατότητα αυτοματοποίησης των αντιδράσεων.

Τα μειονεκτήματα της μεθόδου είναι:

- Χαμηλότερη ευαισθησία και μεγαλύτεροι χρόνοι ανάλυσης, σε σχέση με την παραγωγοποίηση πριν από τη στήλη.
- Εδώ έχουμε μεγαλύτερη κατανάλωση αντιδραστήριου, γεγονός που συμβάλλει στον περιορισμό του εύρους των επιλογών ως προς τα αντιδραστήρια.
- Απαιτείται πιο εξειδικευμένος εξοπλισμός.
- Δε μπορούμε εύκολα να χρησιμοποιήσουμε χρωματογραφία αντίστροφης φάσης.



Εικόνα 12. Σχηματικά η παραγωγοποίηση μετά από τη στήλη για αμινοξέα.

Συμπερασματικά, η παραγωγοποίηση μετά τη στήλη χρησιμοποιείται συνήθως για αναλύσεις ρουτίνας ποικίλων δειγμάτων, δίνοντας πολύ καλά αποτελέσματα ποσοτικοποίησης, ενώ η παραγωγοποίηση πριν τη στήλη χρησιμοποιείται σε μεγάλη κλίμακα λόγω της μεγάλης της ευαισθησίας, όμως τα δείγματα τα οποία μπορούν να αναλυθούν είναι περιορισμένα.

6.3 Χαρακτηριστικά και ιδιότητες των φθορισμοφόρων αντιδραστηρίων

Τα αντιδραστήρια τα οποία χρησιμοποιούνται ως φθορισμοφόρα θα πρέπει να έχουν τα παρακάτω χαρακτηριστικά και ιδιότητες:

- Θα πρέπει να φέρουν φθορισμοφόρο ομάδα, δηλαδή θα πρέπει να διαθέτουν εκτεταμένο π-ηλεκτρονικό σύστημα εξ αρχής ή αυτό να προκύπτει μετά την αντίδραση παραγωγοποίησης. Ιδανικά, το αντιδραστήριο παραγωγοποίησης δεν παράγει φθορισμό, ενώ το παράγωγο παράγει φθορισμό. Αυτό όμως συμβαίνει σπάνια. Στην περίπτωση που αντιδραστήριο και παράγωγο φθορίζουν, θα πρέπει η

εκπομπή φθορισμού των δύο αυτών ενώσεων να πραγματοποιείται σε διαφορετικό μήκος κύματος ή θα πρέπει οι δύο ενώσεις να μπορούν να διαχωριστούν εύκολα.

- Το τελικό παράγωγο, κατά συνέπεια και το αντιδραστήριο, θα πρέπει να έχει μεγάλη μοριακή απορροφητικότητα, δηλαδή να έχει την ικανότητα να αποθηκεύσει μεγάλα ποσά ενέργειας έτσι ώστε να μπορεί να εκπέμψει φθορισμό.
- Το αντιδραστήριο θα πρέπει να δίνει εκλεκτική αντίδραση με την προς προσδιορισμό ουσία. Θα πρέπει δηλαδή να αντιδρά εκλεκτικά με κάποια χαρακτηριστική ομάδα πχ. αμινομάδα, καρβοξυλομάδα κλπ.
- Η αντίδρασή του με την επιθυμητή ουσία θα πρέπει να είναι ποσοτική και επαναλήψιμη.
- Η αντίδραση δεν πρέπει να δίνει προϊόντα αποικοδόμησης. Σε περίπτωση όμως που δίνει, θα πρέπει αυτά να μην παράγουν φθορισμό ή να μπορούν να διαχωριστούν εύκολα από το τελικό παράγωγο.
- Τέλος, το τελικό παράγωγο πρέπει να είναι αρκετά σταθερό και να παράγει αρκετά έντονο φθορισμό ώστε να μπορεί να προσδιοριστεί.
- Συχνά ενσωματώνεται στο αντιδραστήριο μια αλυσίδα που αποσυζεύγνει τον φθορισμοφόρο σκελετό από την δραστική ομάδα προκειμένου α. να μην μεταβάλλεται ηλεκτρονικά η δομή του αντιδραστηρίου καθώς και β. να αποφευχθεί η στερεοχημική παρεμπόδιση της αντίδρασης.

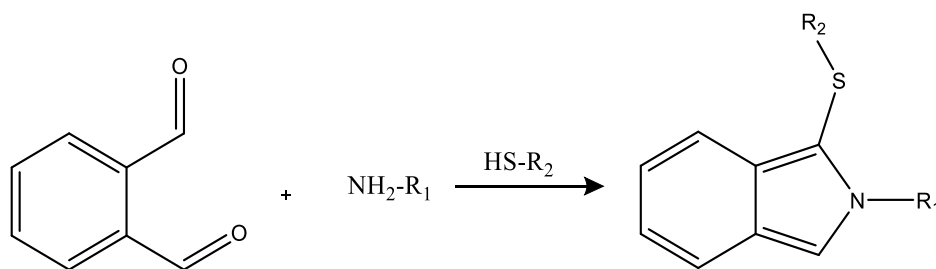
Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, η τεχνική σχηματισμού παραγώγων με φθορισμοφόρα αντιδραστήρια με υγροχρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) για τον προσδιορισμό αμινών, καρβοξυλικών οξέων και αλκοολών.

Υπάρχει μεγάλο ενδιαφέρον για τον προσδιορισμό αμινών και γι' αυτό το λόγο έχουν αναπτυχθεί και αναπτύσσονται διαρκώς νέα αντιδραστήρια. Αυτό συμβαίνει γιατί στην κατηγορία των αμινών ανήκει ένας μεγάλος αριθμός φαρμάκων, καθώς και μεταβολιτών τους. Επίσης, στην ίδια κατηγορία εντάσσονται και άλλα μόρια με μεγάλη βιολογική σημασία, όπως νευροδιαβιβαστές και αμινοξέα. Η παρούσα εργασία έχει στόχο τον προσδιορισμό αμινών και πιο συγκεκριμένα πρωτοταγών αμινών. Οι κατηγορίες ενώσεων που αντιδρούν με αμίνες κατηγοριοποιούνται σε:

- I. Αλδεΐδες και διαλδεΐδες: Πιο συγκεκριμένα, οι αλδεΐδες αντιδρούν με την αμινομάδα σχηματίζοντας βάση του Schiff, ενώ οι διαλδεΐδες δίνουν σταθερά κυκλικά παράγωγα.

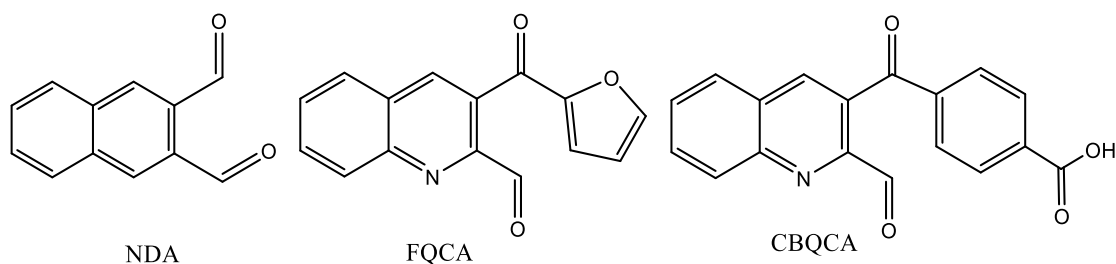
Ο-φθαλαλδεΐδη (OPA)

Η Ο-φθαλαλδεΐδη αντιδρά με πρωτοταγείς αμίνες παρουσία θειολών. Το παράγωγο που προκύπτει διαθέτει έναν ακόμα δακτύλιο και φθορίζει. Μικρές ποσότητες αμινοξέων, πεπτιδίων και πρωτεϊνών μπορούν να ανιχνευθούν εύκολα. Η OPA είναι διαλυτή και σταθερή σε υδατικά ρυθμιστικά διαλύματα με pH < 11.5. Παραλλαγές στο είδος της θειόλης, η υποκατάσταση της αμίνης και η πολικότητα του διαλύτη έχουν μεγάλες επιπτώσεις στα φάσματα φθορισμού του ισοϊνδολίου. Οι παράμετροι αυτές μαζί με το pH και τη χρήση φωσφορικού ή βορικού ρυθμιστικού διαλύματος βρέθηκαν να έχουν δραματικές επιπτώσεις στη διορθωμένη σχετική ένταση φθορισμού.



Εικόνα 13. Σχηματικά η αντίδραση της OPA με πρωτοταγή αμίνη, παρουσία θειόλης.

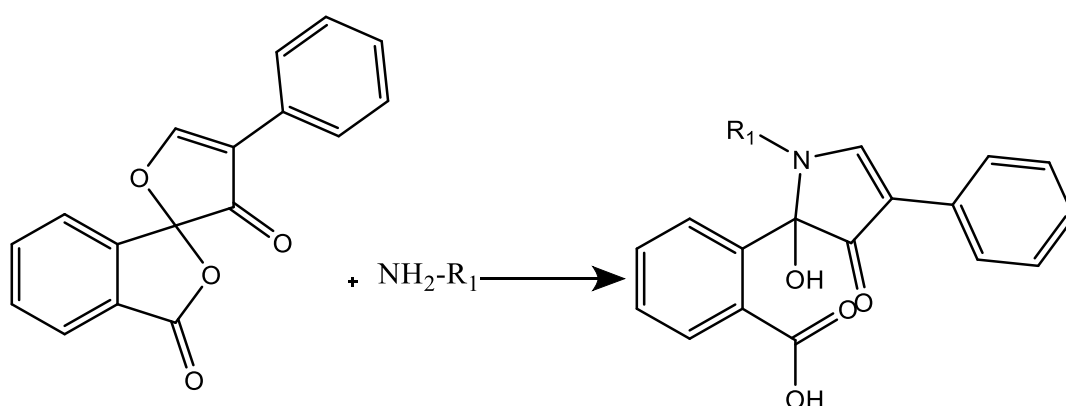
Ανάλογα της Ο-φθαλαλδεΐδης είναι η 2,3-ναφθαλενδιαλδεΐδη (NDA), η 3-(2-φουρουλ)κινολινο-2-καρβαλδεΐδη (FQCA) και η 3-(π-καρβοβενζουλ)κινολινο-2-καρβοξαλδεΐδη (CBQCA) (Εικόνα 14).



Εικόνα 14. Σχηματικά τα ανάλογα της OPA.

Φλουορεσκαμίνη

Η ένωση αυτή αντιδρά με πρωτοταγείς αμίνες, δίνοντας φθορίζοντα προϊόντα, ενώ, αντιδρώντας με δευτεροταγείς αμίνες παράγει μη φθορίζουσες ασταθείς ενώσεις. Η αντίδραση είναι ταχύτατη, συνεπώς η φλουορεσκαμίνη είναι ιδανικό αντιδραστήριο για παραγωγοποίηση μετά τη στήλη. Όμως, τα προϊόντα της αντίδρασής της είναι σταθερά για μικρό χρονικό διάστημα και επιπλέον δε δίνει καλά αποτελέσματα κατά το διαχωρισμό μείγματος αμινοξέων. Η απόδοση της αντίδρασης μεταξύ της φλουορεσκαμίνης και πρωτοταγών αμινών, καθώς και οι εντάσεις φθορισμού των παραγώγων εξαρτώνται από το pH, τη σύνθεση και τη συγκέντρωση του διαλύτη.

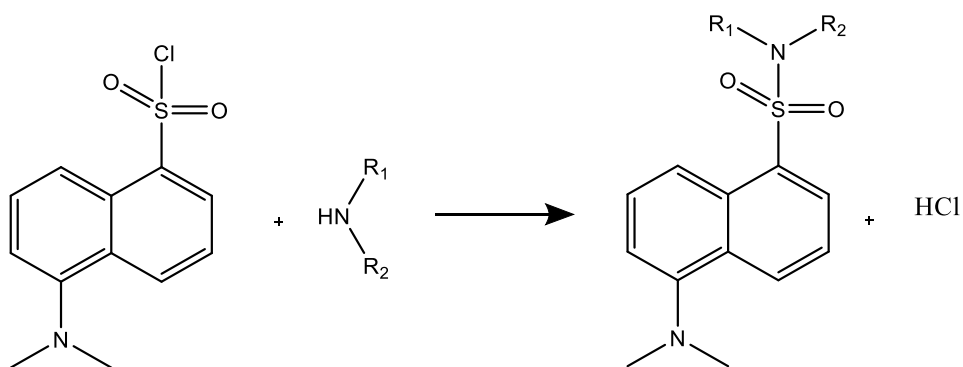


Εικόνα 15. Σχηματικά η αντίδραση της φλουορεσκαμίνης με πρωτοταγή αμίνη.

- II. Σουλφόνυλο-χλωρίδια: Πρόκειται για αντιδραστήρια υψηλής δραστηριότητας και σχηματίζουν με τις αμίνες σταθερά παράγωγα τύπου σουλφοναμιδίων.

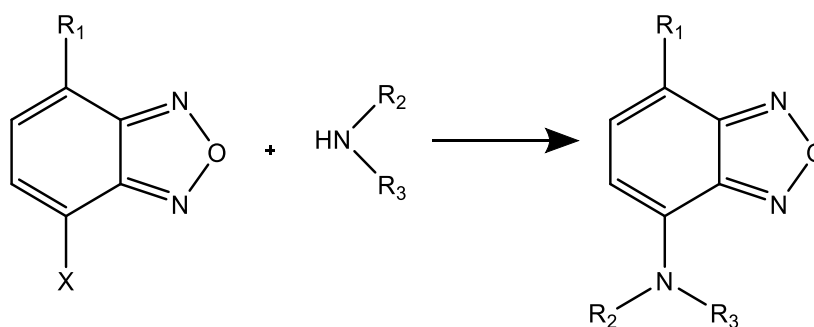
5-διμεθυλαμινοναφθαλενο-1-σουλφονυλ χλωρίδιο (Dansyl chloride)

Αποτελεί το συχνότερα χρησιμοποιούμενο αντιδραστήριο. Αντιδρά με πρωτοταγείς και δευτεροταγείς αμίνες, δίνοντας και στις δύο περιπτώσεις φθορίζοντα παράγωγα και έχει χρησιμοποιηθεί στην επισήμανση πρωτεϊνών, καθώς αντιδρά με όλα τα αμινοξέα εκτός της κυστεΐνης. Το αντιδραστήριο αυτό χρησιμοποιείται για παραγωγοποίηση πριν από τη στήλη.



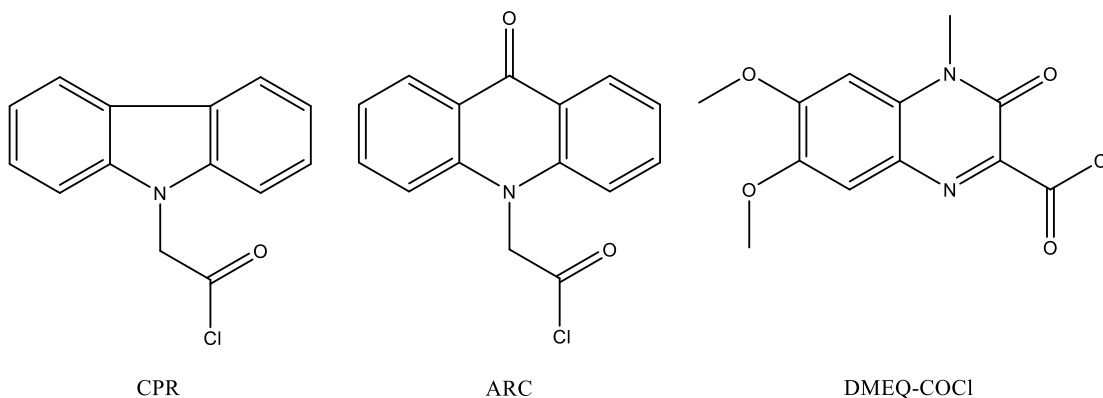
Εικόνα 16. Σχηματικά η αντίδραση του dansyl chloride με δευτεροταγή αμίνη.

- III. Βενζοφουραζάνια: Οι ενώσεις αυτές αντιδρούν με πρωτοταγείς και δευτεροταγείς αμίνες, παράγοντας φθορίζοντα προϊόντα. Όμως, κατά την αντίδραση παράγεται φθορίζον παραπροϊόν και παρεμποδίζεται η ανάλυση.



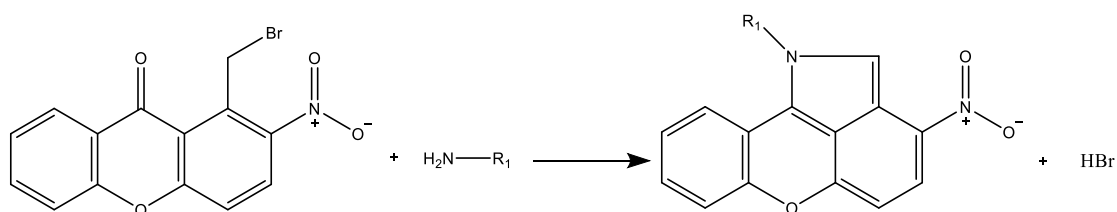
Εικόνα 17. Σχηματικά η αντίδραση βενζοφουραζανίου με δευτεροταγή αμίνη.

Επίσης, έχει αναπτυχθεί μεγάλο επιστημονικό ενδιαφέρον για τη σύνθεση αντιδραστηρίων ποικίλης δομής που μπορούν να λειτουργήσουν γενικά ως αντιδραστήρια παραγωγοποίησης. Μερικά από αυτά παρουσιάζονται ενδεικτικά στο παρακάτω σχήμα.



Εικόνα 18. Σχηματικά αντιδραστήρια με ποικίλες δομές που έχουν χρησιμοποιηθεί για το σχηματισμό φθορίζοντων παραγώγων.

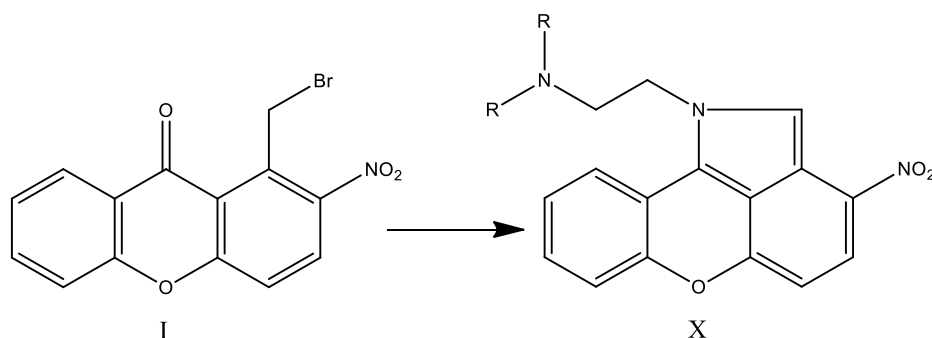
Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται ο σχεδιασμός, η σύνθεση, η υπολογιστική μελέτη και η αξιολόγηση παραγώγων της 1-βρωμομεθυλο-2-νιτρο-9H-ξανθεν-9-όνης ως φθορισμοφόρα αντιδραστήρια. Οι ενώσεις αυτές αντιδρούν εκλεκτικά με πρωτοταγείς αμίνες δίνοντας φθορίζον παράγωγο, όμως το μεγάλο τους πλεονέκτημα είναι το γεγονός ότι το αντιδραστηρίου είναι άχρωμο, σε αντίθεση με το προϊόν της αντίδρασης.



Εικόνα 19. Σχηματικά η αντίδραση της 1-βρωμομεθυλο-2-νιτρο-9H-ξανθεν-9-όνης με πρωτοταγή αμίνη.

Επιλογή του αντιδραστηρίου

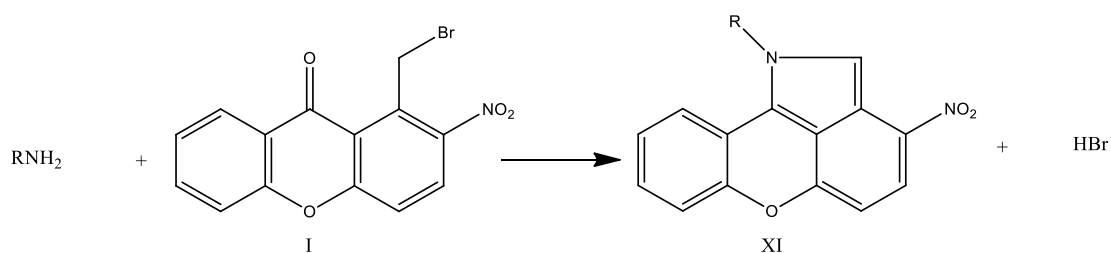
Παλαιότερα, η εργαστηριακή μας ομάδα είχε συνθέσει αμίνες τύπου **X**, οι οποίες εμφάνιζαν αντικαρκινική δράση, χρησιμοποιώντας ως πρώτη ύλη το βρωμίδιο **I** [17]. Σε εκείνο το σημείο, παρατηρήθηκε πως τα προϊόντα της αντίδρασης αυτής (αμίνες τύπου **X**) έχουν έντονο ιώδες χρώμα, σε αντίθεση με το βρωμίδιο **I** το οποίο είναι άχρωμο.



Εικόνα 20. Σύνθεση αμινών με αντικαρκινική δράση με βάση το βρωμίδιο **I**

Με βάση αυτή την παρατήρηση, θεωρήθηκε ότι το βρωμίδιο **I** μπορεί να χρησιμοποιηθεί για το φθορισμομετρικό προσδιορισμό πρωτοταγών αμινών που δεν φθορίζουν. Για τον σκοπό αυτό έγιναν αρκετές μελέτες από την εργαστηριακή μας ομάδα, έχοντας ως πρότυπη ένωση το βρωμίδιο **I**.

Αρχικά, βελτιστοποιήθηκε η συνθετική της πορεία ως προς τη συνολική απόδοση αλλά και ως προς τη διεκπεραίωση των αντιδράσεων, έτσι ώστε να είναι εφικτή η παραγωγή του αντιδραστηρίου σε μεγάλες ποσότητες με χαμηλό κόστος. Επίσης, εξετάστηκε φασματοσκοπικά και διαπιστώθηκε πως τα μήκη κύματος εκπομπής της ένωσης **I** και των αμινών τύπου **XI** διαφέρουν, επιτρέποντας την ανίχνευση των ενώσεων **XI** παρουσία της ένωσης **I**.



Εικόνα 21. Αντίδραση του βρωμιδίου **I** με πρωτοταγή αμίνη

Μια ακόμα μελέτη που πραγματοποιήθηκε αφορά τις συνθήκες της ανωτέρω αντίδρασης με τη βουτυλαμίνη, με το βρωμίδιο να βρίσκεται σε περίσσεια. Εξετάστηκαν οι κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν την απόδοση της αντίδρασης αυτής, οι οποίοι είναι η ποσότητα του βρωμιδίου, ο χρόνος, η θερμοκρασία και η παρουσία ή μη τριτοταγούς βάσεως (δεσμεύει το παραγόμενο βρώμιο) και παρατηρήθηκε ότι η μέγιστη εκπομπή φθορισμού πραγματοποιείται με προσθήκη 10μοριακής ποσότητας βρωμιδίου έναντι της αμίνης, σε θερμοκρασία 60 °C, παρουσία βάσης, σε χρόνο 10 λεπτών από την έναρξη της αντίδρασης. Όσον αφορά το χρόνο, παρατηρήθηκε πως η αντίδραση πραγματοποιείται ταχύτατα, ενώ με την πάροδο του χρόνου η απόκριση μειώνεται υποδεικνύοντας πιθανή καταστροφή του προϊόντος.

Η ανωτέρω μελέτη έδειξε ότι το βρωμίδιο I θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σαν φθορισμοφόρο αντιδραστήριο για τον προσδιορισμό πρωτοταγών αμινών. Το συγκριτικό του πλεονέκτημα σε σχέση με άλλα αντιδραστήρια παραγωγοποίησης είναι το γεγονός ότι το προϊόν παραγωγοποίησης φθορίζει σε αντίθεση με το αντιδραστήριο ή και τις αμίνες που πρόκειται να προσδιοριστούν, με αποτέλεσμα η μέτρηση να μην παρεμποδίζεται από την παρουσία του αντιδραστηρίου καθώς και άλλων ενώσεων που δεν φθορίζουν.

Επιλογή των υποκαταστατών

Επειδή η ταχύτητα αντίδρασης του βρωμιδίου με τις προς μέτρηση αμίνες, καθώς και ο φθορισμός του προϊόντος, είναι δύο πολύ σημαντικά χαρακτηριστικά για να μπορέσει να χρησιμοποιηθεί το βρωμίδιο ως αντιδραστήριο παραγωγοποίησης, θεωρήσαμε ότι είναι απαραίτητος ο σχεδιασμός νέων αντιδραστηρίων με βελτιστοποιημένα τα παραπάνω χαρακτηριστικά.

Όσον αφορά το φθορισμό, είναι γνωστό από τη βιβλιογραφία πως η προσθήκη αρωματικών δακτυλίων σε ήδη φθορίζουσες ενώσεις αυξάνει την ένταση του φθορισμού και επηρεάζει τη μετατόπιση των μηκών κύματος μέγιστης απορρόφησης και μέγιστης εκπομπής των ενώσεων αυτών [19]. Αυτό συμβαίνει γιατί οι αρωματικοί δακτύλιοι αυξάνουν τη συζυγία της ένωσης, προσφέροντας επιπλέον π-ηλεκτρόνια στο συζυγιακό σύστημα. Επίσης, εκτός από αύξηση της συζυγίας, προσφέρουν και αύξηση της επιπεδότητας του συστήματος, που είναι πιθανό λόγω της ελαφριάς κίνησης των αρωματικών δακτυλίων, να ενισχύουν την ένταση του φθορισμού.

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, ο άλλος παράγοντας που πρέπει να εξεταστεί και να βελτιστοποιηθεί είναι η ταχύτητα της αντίδρασης. Οι αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα προς

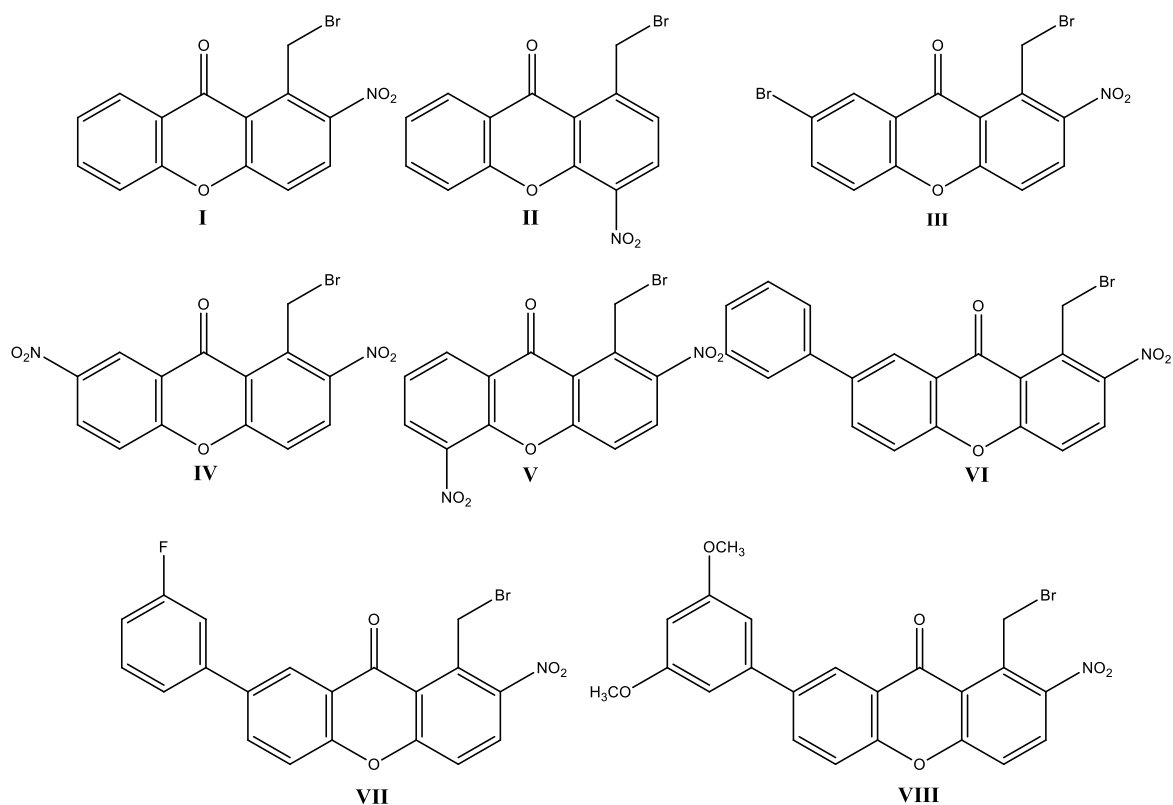
το σχηματισμό του τελικού παραγώγου είναι δύο πυρηνόφιλες αντιδράσεις, αρχικά στον άνθρακα της βρωμομεθυλο ομάδας και στη συνέχεια στον άνθρακα του καρβονυλίου της ξανθενόνης. Για να αυξηθεί λοιπόν η ταχύτητα των επιμέρους αντιδράσεων αυτών, και κατά συνέπεια και η συνολική ταχύτητα, θα πρέπει να αυξηθεί το μερικό θετικό φορτίο που φέρουν οι άνθρακες αυτοί. Αυτό μπορεί να συμβεί με την προσθήκη στον σκελετό της ξανθενόνης υποκαταστατών που έλκουν το ηλεκτρονικό νέφος, αυξάνοντας έτσι το μερικό θετικό φορτίο της ξανθενόνης και κατ' επέκταση των ανθράκων αυτών. Είναι φανερό ότι η ηλεκτρονική πυκνότητα των συγκεκριμένων ανθράκων επηρεάζεται από το είδος και την θέση των ανωτέρω υποκαταστατών.

Με βάση τα παραπάνω, αποφασίστηκε να συντεθούν δύο ομάδες αντιδραστηρίων παραγωγοποίησης:

1. Η πρώτη ομάδα φέρει υποκαταστάτες σε διάφορες θέσεις του ετερόκυκλου, οι οποίοι επηρεάζουν την ηλεκτρονική πυκνότητα του δακτυλίου, πχ. νιτρο ομάδα ή αλογόνο, με σκοπό να μελετηθεί η επίδραση αυτών στην ταχύτητα της αντίδρασης
2. και η δεύτερη ομάδα φέρει διάφορους φαινυλο υποκαταστάτες με σκοπό να μελετηθεί η επίδραση αυτών στον φθορισμό.

Για την ορθότερη και καλύτερη αξιολόγηση των αποτελεσμάτων και με σκοπό την περαιτέρω βελτιστοποίηση των αντιδραστηρίων, πραγματοποιήθηκε και υπολογιστική μελέτη προκειμένου να διαπιστωθεί αν υπάρχει ταύτιση μεταξύ θεωρητικών υπολογισμών και πειραματικών αποτελεσμάτων. Στόχος της μελέτης αυτής ήταν η δημιουργία ενός μοντέλου πρόβλεψης των χαρακτηριστικών των πιθανών αντιδραστηρίων και κατ' επέκταση, η χρήση του ανωτέρω μοντέλου για την περαιτέρω βελτιστοποίηση των αντιδραστηρίων.

Στην Εικόνα 22 παρουσιάζονται τα αντιδραστήρια παραγωγοποίησης που συντέθηκαν και μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία.

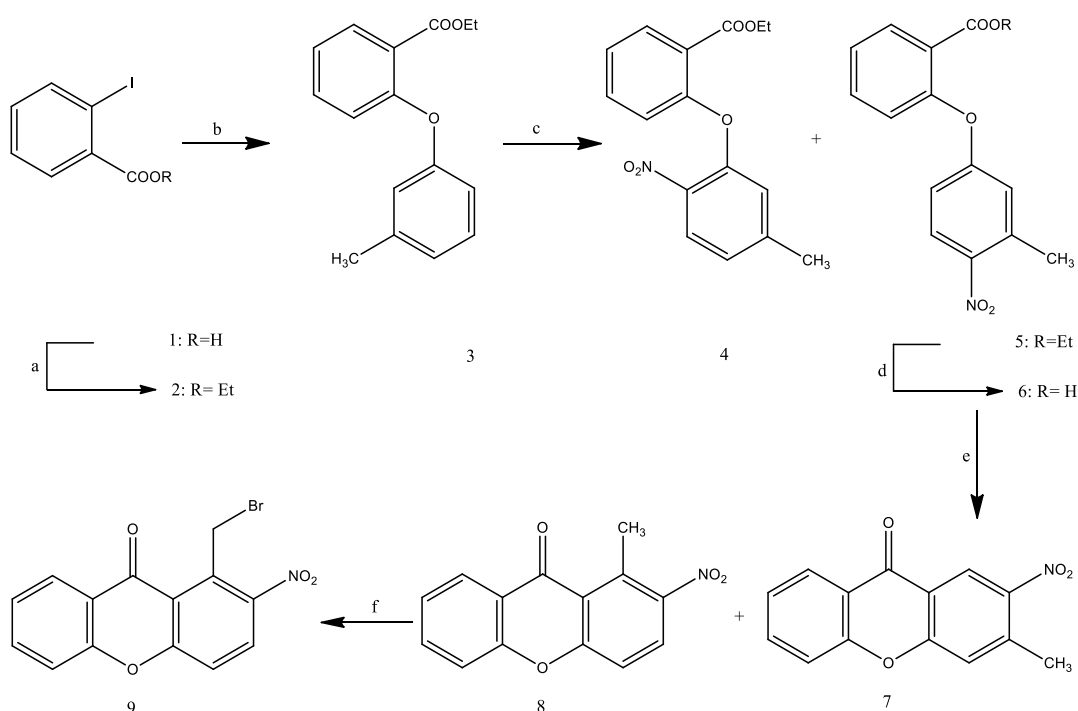


Εικόνα 22. Μόρια- στόχοι

Για την τελική αξιολόγηση των αντιδραστηρίων και την σύγκριση θεωρητικών και υπολογιστικών αποτελεσμάτων, πραγματοποιήθηκε αντίδραση αυτών με την 2-βουτυλαμίνη, προς τον σχηματισμό των τελικών, φθορισμοφόρων, κυκλωμένων παραγώγων, μέτρηση φθορισμού και σύγκριση με τα αποτελέσματα της υπολογιστικής μελέτης.

7. Χημικό μέρος

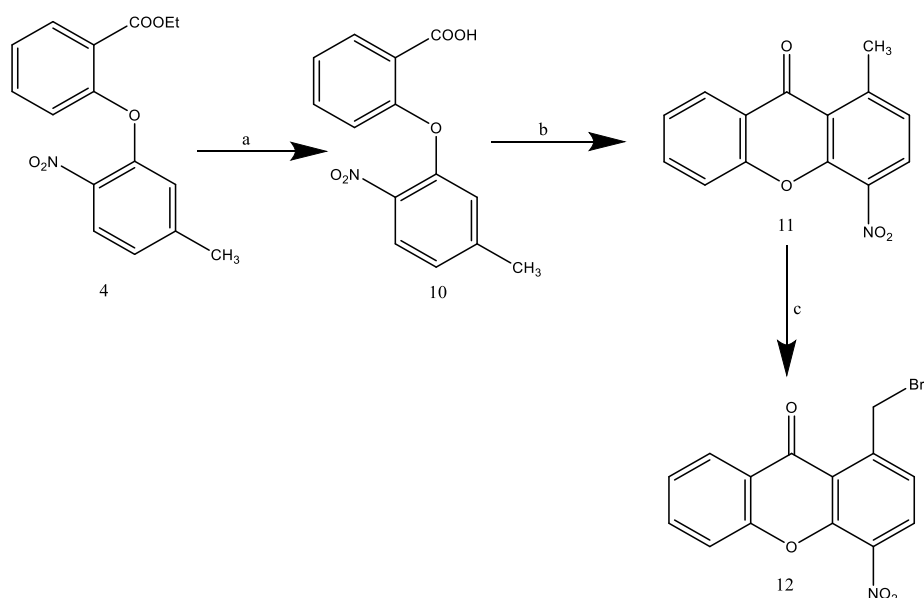
Το αντιδραστήριο παραγωγοποίησης που επιλέχθηκε σαν βασικός σκελετός για την παρούσα μελέτη, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, είναι η **1-βρωμομεθυλο-2-νιτρο-9H-ξανθεν-9-όνη (9)**. Η ένωση αυτή, καθώς και η πρόδρομή της, **1-μεθυλο-2-νιτρο-9H-ξανθεν-9-όνη (8)**, χρησιμοποιήθηκαν ως βασικός σκελετός για τη σύνθεση των βελτιστοποιημένων αντιδραστηρίων. Η σύνθεση του βασικού σκελετού έχει πραγματοποιηθεί και ταυτοποιηθεί από μέλη της εργαστηριακής μας ομάδας, ακολουθώντας την παρακάτω πειραματική πορεία:



Σχήμα 1. (a): π. H_2SO_4 , abs. EtOH, βρασμός. (b): CuCl, K_2CO_3 , πυριδίνη, βρασμός. (c): ατμ. HNO_3 , $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$, 24h, 0 °C. (d): 40% NaOH (aq.), EtOH. (e): πολυφωσφορικός οξύ, 110 °C. (f): N-bromosuccinimide, benzoylperoxide, CCl_4 , UV light (λάμπα 60 W), 8h.

Μετά από εστεροποίηση και αιθεροποίηση τύπου Ullmann συντίθεται ο ενδιάμεσος αιθέρας **3**, από τον οποίο μετά από νίτρωση λαμβάνεται μίγμα των νιτροπαραγώγων **4** και **5** σε αναλογία 4:6. Ακολούθως, από τον εστέρα **5**, μετά από σαπωνοποίηση και ενδομοριακή κύκλωση του ενδιάμεσου οξέος **6** παρασκευάζονται ισομερείς ξανθενόνες **7** και **8**. Το επιθυμητό αντιδραστήριο **9** συντίθεται μετά από βρωμίωση μέσω ελευθέρων ριζών. Πρέπει να τονιστεί ότι η ανωτέρω συνθετική πορεία είναι βελτιστοποιημένη σε σχέση με την ήδη δημοσιευμένη σύνθεση του βρωμιδίου 9. Πιο συγκεκριμένα, η απόδοση της νέας πορείας είναι της τάξεως του 33%, σε αντίθεση με την προηγούμενη συνθετική πορεία που η συνολική απόδοση είναι της τάξεως του 12%.

Η σύνθεση του βρωμιδίου II (Εικόνα 22) παρουσιάζεται στο Σχήμα 2. Αρχικά, από τον εστέρα **4**, μετά από εστεροποίηση και ενδομοριακή κύκλωση λαμβάνεται η ξανθενόνη **11**, από την οποία μετά από βρωμίωση μέσω ελευθέρων ριζών παρασκευάζεται το επιθυμητό βρωμίδιο **12**. Η σύνθεση των ενώσεων **9** και **12** έγινε σύμφωνα με τη βιβλιογραφία [18].



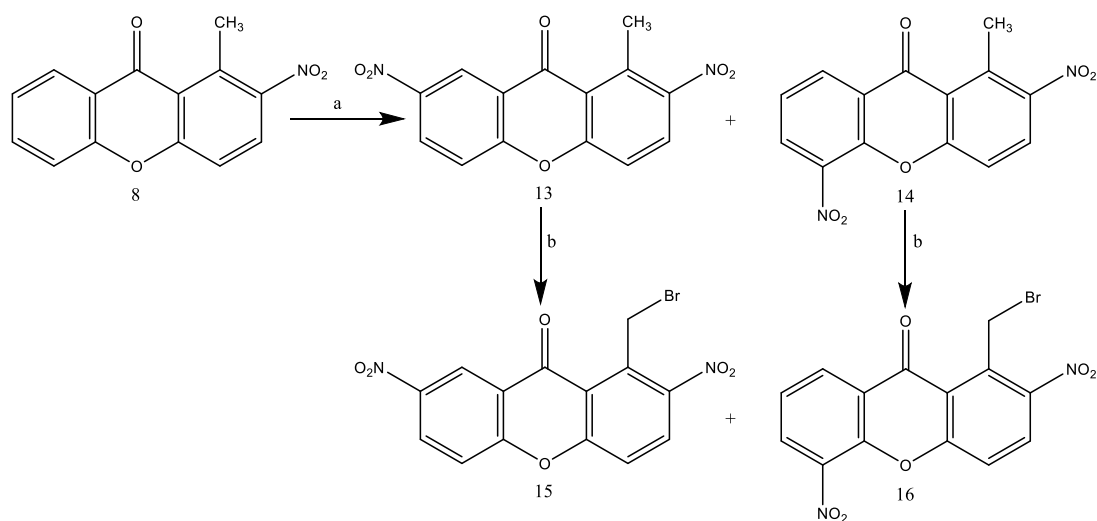
Σχήμα 2. (a): 40% NaOH (aq.), EtOH. (b): πολυφωσφορικό οξύ, 110 °C. (c): N-bromosuccinimide, benzoylperoxide, CCl₄, UV light (λάμπα 60 W), 8h.

Η σύνθεση των 2,5 και 2,7-δινιτρο παραγώγων **IV** και **V** (Εικόνα 22) θα μπορούσε να γίνει μετά από νίτρωση του βρωμιδίου **9**. Η αντίδραση αυτή επιχειρήθηκε με διάφορους τρόπους:

- με επίδραση νιτρικού οξέος 65% εντός μίγματος θειικού οξέος/οξικού οξέος 1/4 σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 15 ώρες,
- με επίδραση νιτρικού οξέος 65% εντός μίγματος θειικού οξέος/οξικού οξέος 1/4 στους 70 °C
- με επίδραση νιτρικού οξέος 65% εντός μίγματος θειικού οξέος/ οξικού οξέος 1 /2 στους 100 °C.

Κατά την μελέτη της αντίδρασης παρατηρήθηκε ότι σε ήπιες συνθήκες λαμβάνεται η πρώτη ύλη, ενώ σε πιο έντονες συνθήκες λαμβάνεται πολύπλοκο μίγμα παραπροϊόντων. Γνωρίζοντας ήδη ότι κατά την νίτρωση της 1-μεθυλοξανθεν-9-όνης λαμβάνεται σε ικανοποιητική απόδοση τα παράγωγα **8** και **13**, θεωρήθηκε ότι το πρόβλημα της ανωτέρω αντίδρασης ήταν η αστάθεια της βρωμομεθυλο ομάδας. Για τον λόγο αυτό, η αντίδραση πραγματοποιήθηκε στο προηγούμενο στάδιο, δηλαδή στο μεθυλο παράγωγο **8**, από το οποίο με επίδραση νιτρικού

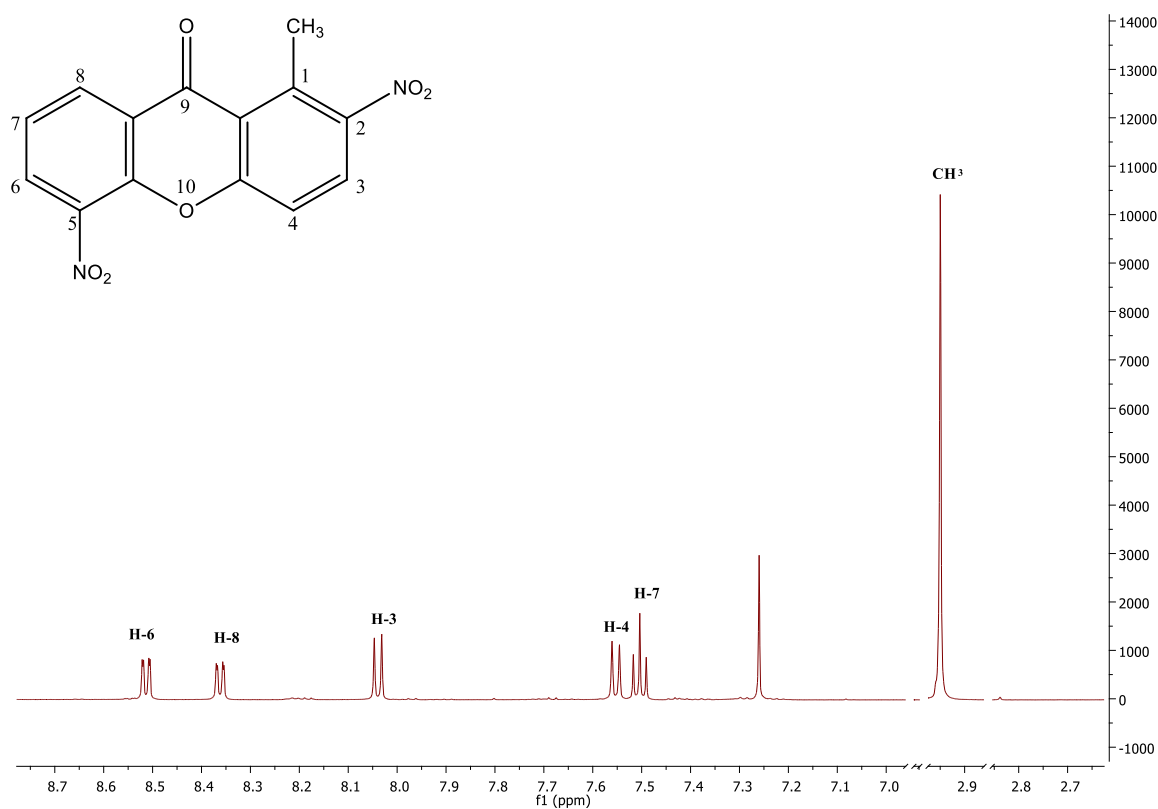
οξέος 65%, εντός μίγματος θειικού οξέος/οξικού οξέος 1/2, στους 70 ° C, λαμβάνεται μίγμα των επιθυμητών νιτρο παραγώγων **13** και **14** σε αναλογία περίπου 2.5 / 1. (Σχήμα 3).



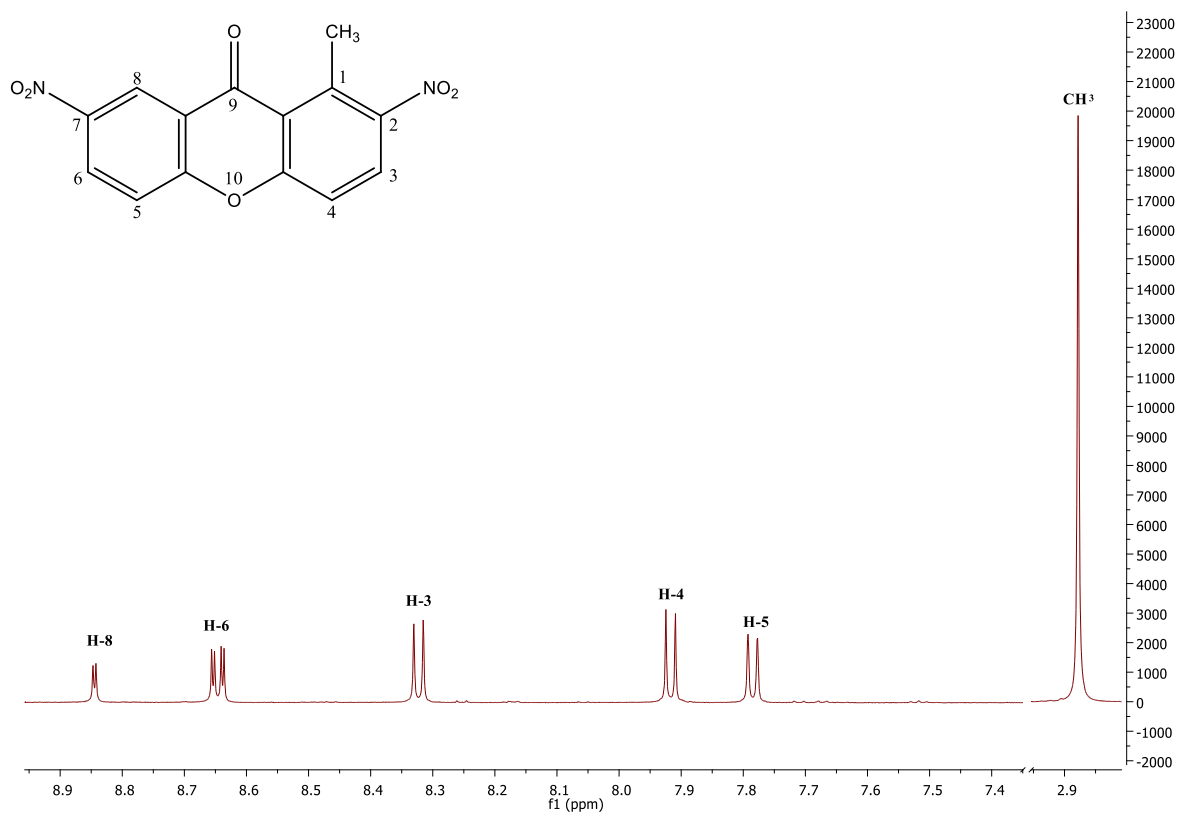
Σχήμα 3. (a): π. HNO₃ 65%, CH₃COOH/H₂SO₄ 2/1, 70 °C, 2h, (b): N-bromosuccinimide, benzoyl peroxide, CCl₄, UVlight (λάμπα 150 W).

Κατά την αντίδραση αυτή είναι δυνατό θεωρητικά να ληφθούν δύο προϊόντα, το 2,5- και το 2,7-δινιτροπαραγώγο, αφού η υπάρχουσα νιτρο ομάδα αποτρέπει την περαιτέρω νίτρωση στον Α δακτύλιο, ενώ ταυτόχρονα το οξυγόνο του δακτυλίου της ξανθενόνης είναι ο-, π-κατευθυντής.

Στο φάσμα ¹H-NMR του δινιτρο παραγώγου **14** παρατηρούμε την ύπαρξη μίας τριπλής κορυφής στην περιοχή των αρωματικών (Εικόνα 23), ενώ στο φάσμα ¹H-NMR του δινιτρο παραγώγου **13** παρατηρούμε την ύπαρξη μίας διπλής κορυφής με J= 2Hz, περίπου στα 8.85 ppm (Εικόνα 24), κάτι αποδεικνύει ότι το παράγωγο **14** είναι το 2,5-δινιτρο υποκατεστημένο ενώ το παράγωγο **13** είναι το 2,7-δινιτρο υποκατεστημένο.

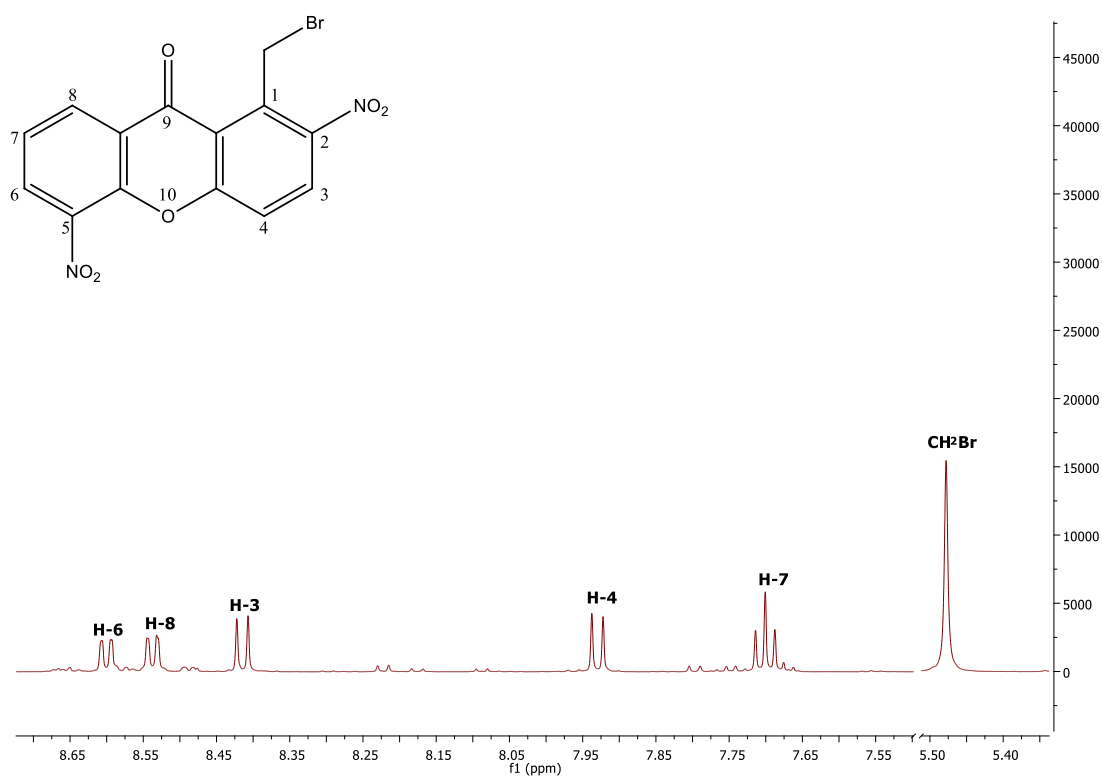


Εικόνα 23. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης 14



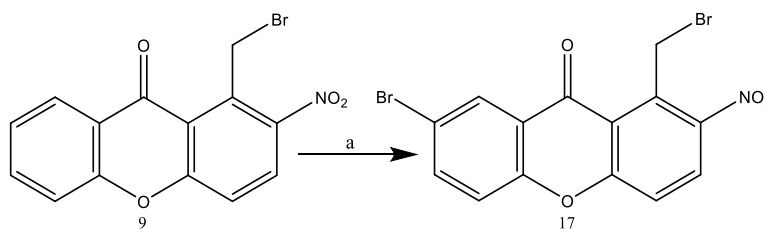
Εικόνα 24. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης 13

Ακολουθώντας, μετά από βρωμίωση μέσω ελευθέρων ριζών επί των παραγώγων **13** και **14** παρασκευάστηκαν τα επιθυμητά βρωμίδια **15** και **16** αντίστοιχα (Σχήμα 3) μέσω ελευθέρων ριζών. Οι βρωμιώσεις αυτές αρχικά επιχειρήθηκαν με την επίδραση N-βρωμοηλεκτριμιδίου, παρουσία διβενζοϋλουπεροξειδίου σε διαλύτη τετραχλωράνθρακα και πηγή ακτινοβολίας λάμπα Oscram Halolux Geram 60W, χωρίς όμως αποτέλεσμα. Ο λόγος που απέτυχε η παραπάνω προσπάθεια είναι το γεγονός ότι τα δινιτρο μεθυλο παράγωγα **13** και **14** είναι εξαιρετικά δυσδιάλυτα στον διαλύτη της αντίδρασης χωρίς θέρμανση. Γι' αυτό, αποφασίστηκε η εφαρμογή ακτινοβολίας υψηλότερης ισχύος, με πηγή ακτινοβολίας λάμπα Oscram Halolux Geram 150W, η οποία εκτός από ακτινοβολία, θερμαίνει το μίγμα της αντίδρασης βελτιώνοντας τη διαλυτότητα. Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του δινιτρο παραγώγου **16** παρατηρείται η ύπαρξη μίας απλής κορυφής στα 5.5 ppm περίπου, η οποία είναι εμφανώς αποθωρακισμένη σε σχέση με την απλή κορυφή που παρατηρείτε στο $^1\text{H-NMR}$ του παραγώγου **14** και αντιστοιχεί στα πρωτόνια της βρωμομεθύλο ομάδας.



Εικόνα 25. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **16**

Για τη σύνθεση του διβρωμο παραγώγου **III** (Εικόνα 22), αρχικά επιχειρήθηκε βρωμίωση του παραγώγου **9**, με επίδραση βρωμίου σε μίγμα οξικού οξέος/ θειικού οξέος 3 / 1 και 1 / 3, στους 100 °C, χωρίς όμως αποτέλεσμα.



Σχήμα 4. (a): N-bromosuccinimide, H₂SO₄, 90 °C

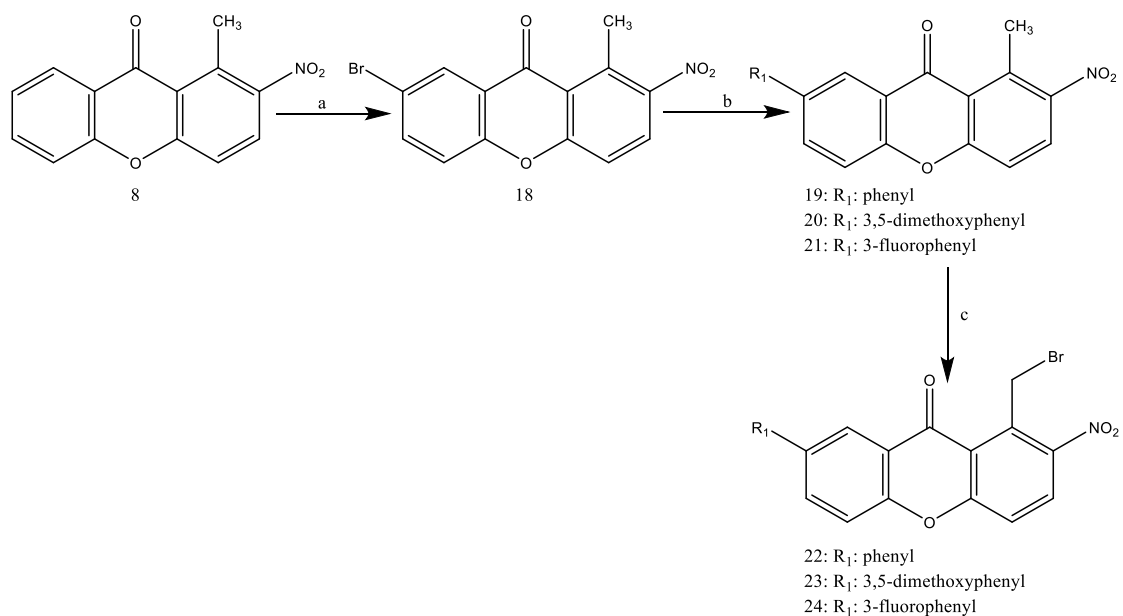
Τελικά, το επιθυμητό παράγωγο **17** λαμβάνεται με επίδραση N-βρωμοηλεκτριμιδίου επί της ένωσης **9** σε πυκνό θειικό οξύ, στους 90 °C (Σχήμα 4). Η απόδοση της συγκεκριμένης αντίδρασης ήταν περίπου 3.5%, εξαιρετικά χαμηλή για μια ένωση η οποία, εκτός από τελικό βρωμίδιο, θα χρησιμοποιούταν ως πρώτη ύλη για τη σύνθεση των φαινυλο υποκατεστημένων βρωμιδίων. Εξάλλου, καθώς η ένωση **17** διαθέτει δύο ομάδες βρωμίου, είναι πιθανό ότι κατά την προσθήκη του φαινυλο υποκαταστάτη μέσω αντίδρασης Suzuki να γίνουν και παράπλευρες αντιδράσεις, μειώνοντας ακόμα περισσότερο τη συνολική απόδοση. Για αυτούς τους λόγους, αποφασίστηκε η βρωμίωση να πραγματοποιηθεί στην πρόδρομη ένωση **8** (Σχήμα 1). Έτσι, με την επίδραση του N-βρωμοηλεκτριμιδίου στην ένωση **8**, σε πυκνό θειικό οξύ στους 90 °C, λαμβάνεται το επιθυμητό βρωμίδιο **18**, ως αποκλειστικό προϊόν της αντίδρασης, από το οποίο μετά από βρωμίωση μέσω ελευθέρων ριζών.

Στο φάσμα ¹H-NMR του βρωμιδίου **18** είναι χαρακτηριστική η ύπαρξη μίας διπλής κορυφής με J= 2Hz, περίπου στα 8.35 ppm (Εικόνα 26), κάτι αποδεικνύει ότι η προσθήκη του βρωμίου έγινε στη θέση 7 και όχι στη θέση 5. Εξάλλου, στα 3 ppm περίπου παρατηρείται μία απλή κορυφή που αντιστοιχεί στο μεθύλιο της θέσης 1.



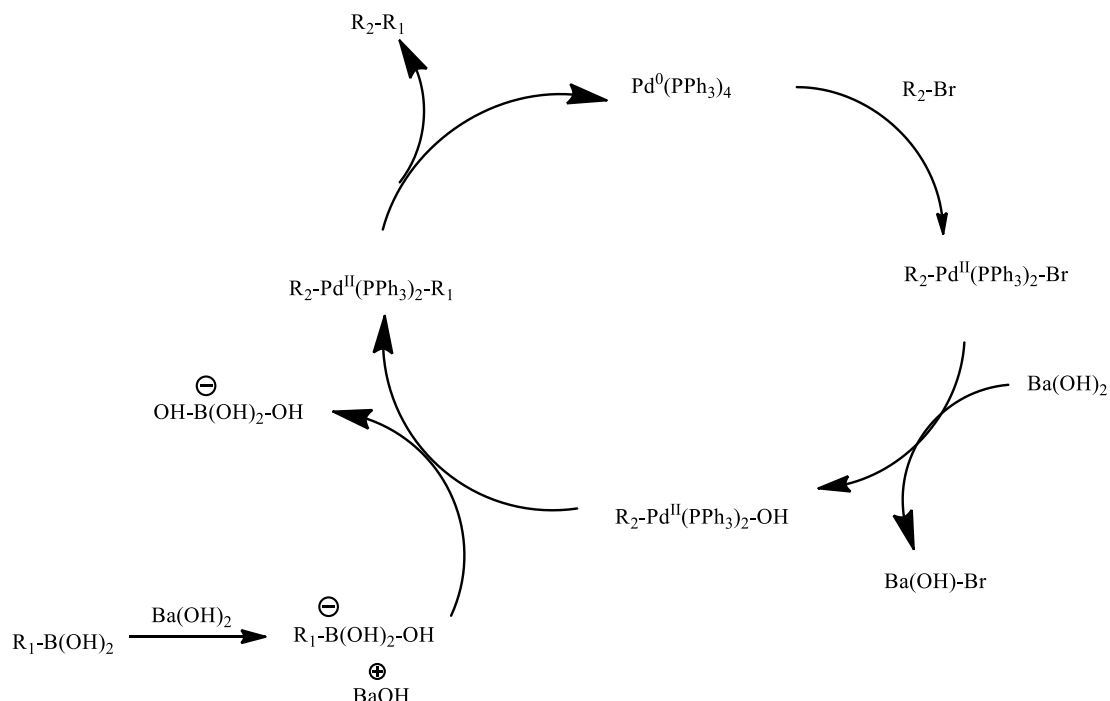
Εικόνα 26. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης 18

Η σύνθεση των επιθυμητών φαινυλο υποκατεστημένων παραγώγων **VI**, **VII**, **VIII** (Εικόνα 22) πραγματοποιήθηκε με εφαρμογή της αντίδρασης Suzuki, χρησιμοποιώντας ως πρώτη ύλη το βρωμίδιο **18** και τα κατάλληλα υποκατεστημένα βορονικά οξέα (Σχήμα 5).



Σχήμα 5. (a): π. H_2SO_4 , N-bromosuccinimide, 90°C , overnight. (b): $\text{R}_1\text{-B(OH)}_2$, $\text{Pd(PPh}_3)_4$, $\text{Ba(OH)}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$, $\text{DME:H}_2\text{O}$ 2:1, αυτόκλειστο, 90°C , overnight. (c) N-bromosuccinimide, benzoyl peroxide, CCl_4 , UVlight (λάμπα 150 W).

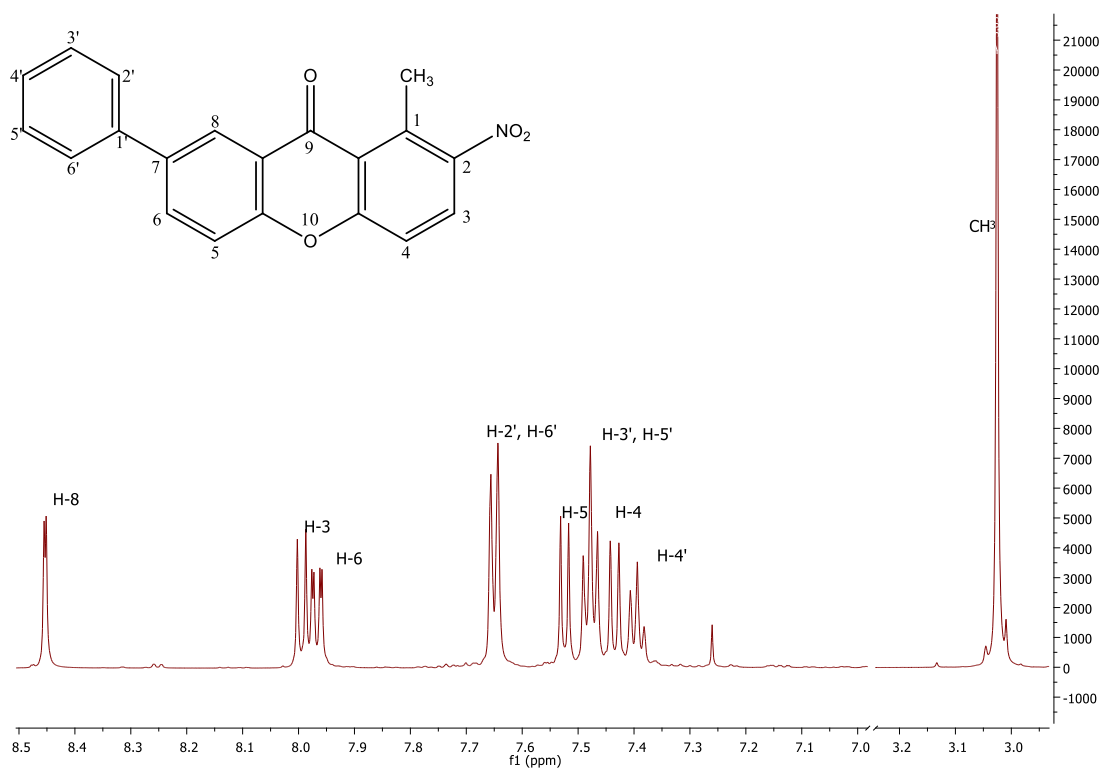
Η αντίδραση Suzuki είναι μια αντίδραση προσθήκης αρυλο-, βινυλο- ή υποκατεστημένων βινυλο ομάδων σε αλογονίδια με καταλύτη παλλάδιο. Ο μηχανισμός (Εικόνα 27) περιλαμβάνει την οξειδωτική προσθήκη του αλογονιδίου, αντίδραση με βάση και διαμετάλλωση με το βορονικό οξύ. Το παλλάδιο (0) (καταλύτης) στη συνέχεια αναγεννάζεται στο στάδιο της αναγωγικής απόσπασης για το σχηματισμό του προϊόντος.



Εικόνα 27. Σχηματικά ο μηχανισμός της αντίδρασης Suzuki με καταλύτη το $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$.

Η αντίδραση Suzuki για το σχηματισμό των φαινυλο μεθυλο ενώσεων **19**, **20** και **21** πραγματοποιήθηκε σε αυτόκλειστο, με καταλύτη $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ και βάση $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$, σε μίγμα διμεθοξυαιθανίου/νερού 2 / 1, στους 90 °C για 15 ώρες.

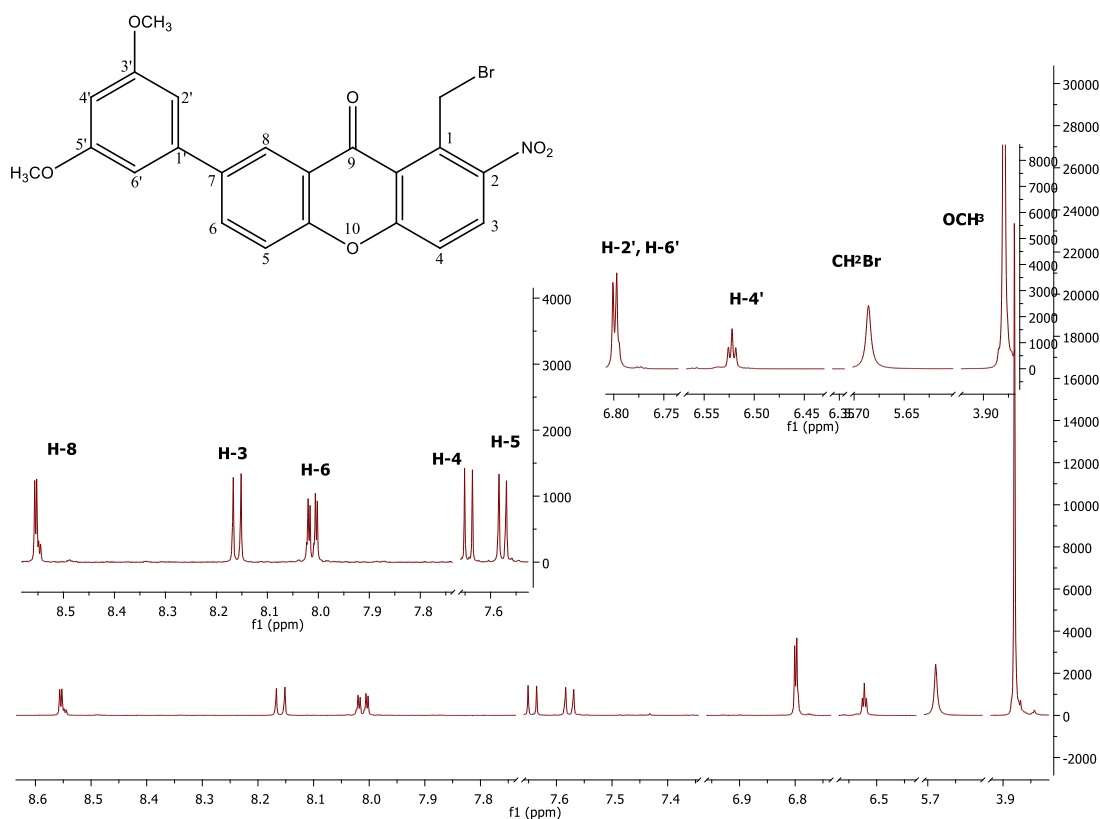
Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του παραγώγου **21** παρατηρούνται 3 κορυφές στα 7.4 ppm, 7.48 ppm και 7.65 ppm, με ολοκλήρωση 1/1/2 που αντιστοιχούν στα πρωτόνια 4', 3', 5' και 2', 6' της φαινυλο ομάδας αντίστοιχα (Εικόνα 28).



Εικόνα 28. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης 19

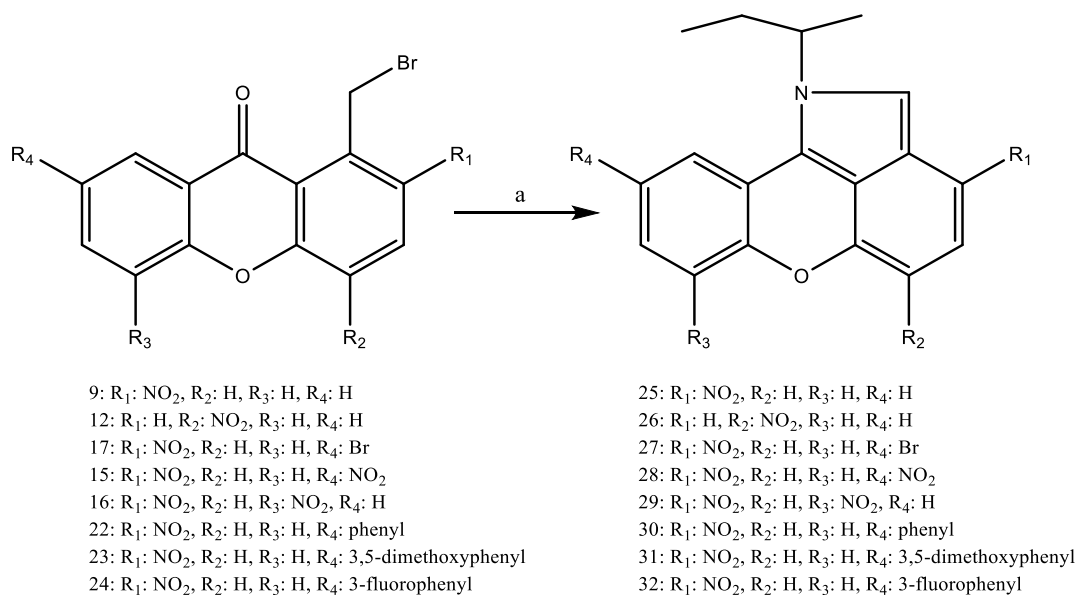
Η σύνθεση των επιθυμητών βρωμομεθυλο παραγώγων **22-24** πραγματοποιήθηκε με τρόπο ανάλογο με αυτόν που χρησιμοποιήθηκε για τη βρωμίωση των δινιτρο παραγώγων **13** και **14** (Σχήμα 3).

Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του παραγώγου **23** παρατηρείται μια απλή κορυφή με ολοκλήρωση 6, στα 3.9 ppm περίπου που αντιστοιχεί στα πρωτόνια των μεθοξυ ομάδων, καθώς και μία απλή κορυφή στα 5.7 ppm περίπου, με ολοκλήρωση 2, που αντιστοιχεί στα πρωτόνια της βρωμομεθυλο ομάδας (Εικόνα 29)



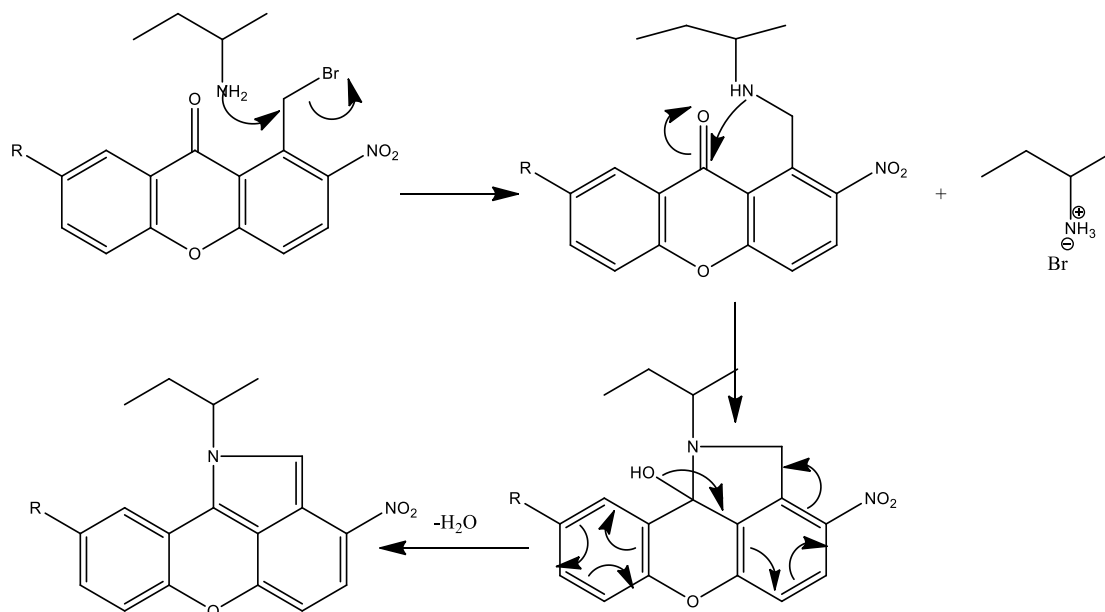
Εικόνα 29. Φάσμα ^1H -NMR της ένωσης 23

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, για να μελετηθεί η αντίδραση (κινητική, απόδοση) αλλά και ο φθορισμός των προϊόντων της αντίδρασης, πραγματοποιήθηκε και η σύνθεση των τελικών παραγώγων (Σχήμα 6). Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε η 2-βουτυλαμίνη, μια πρωτοταγής αμίνη μικρού μεγέθους και χαμηλού κόστους.



Σχήμα 6. (a): abs. EtOH, sec-butylamine, RT

Ο μηχανισμός της αντίδρασης φαίνεται στο παρακάτω σχήμα και γίνεται σε δύο στάδια, μέσω δύο διαδοχικών πυρηνόφιλων αντιδράσεων (Εικόνα 30).



Εικόνα 30. Σχηματικά ο μηχανισμός της αντίδρασης του βρωμιδίου με την 2-βουτυλαμίνη

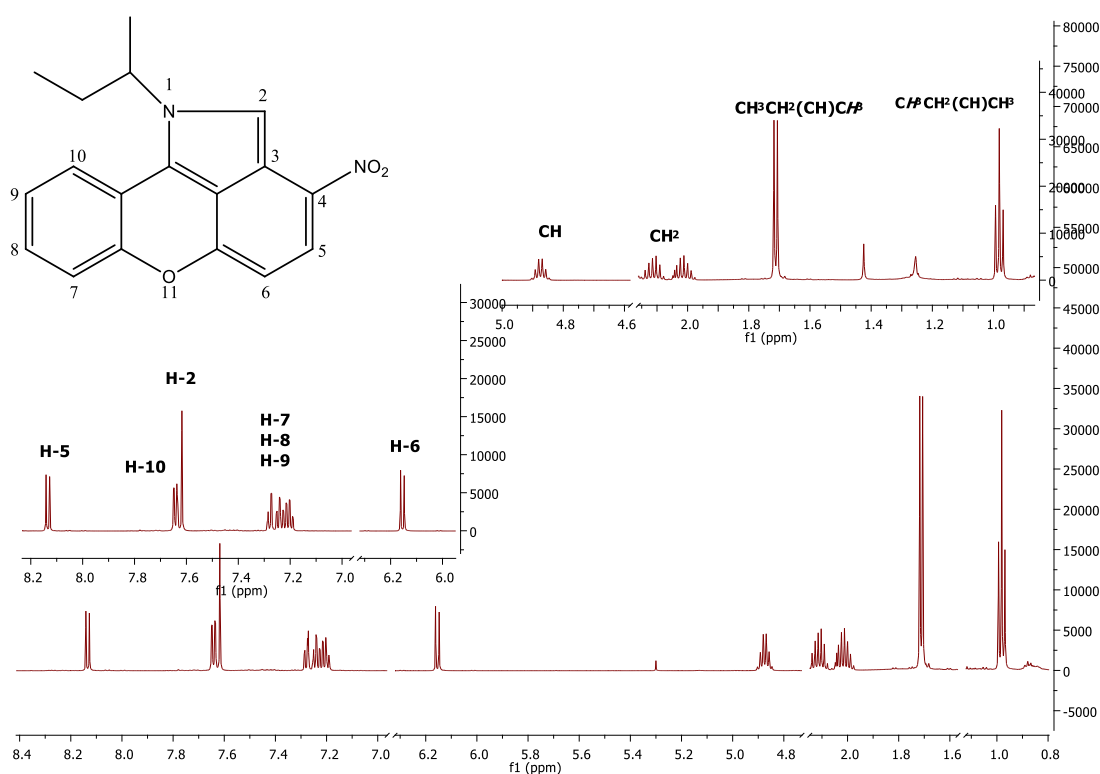
Όπως βλέπουμε και στο σχήμα, για κάθε ένα μόριο βρωμιδίου που αντιδρά απαιτείται τουλάχιστον διμοριακή ποσότητα αμίνης για την πρόοδο της αντίδρασης. Ο διαλύτης που επιλέχθηκε για την αντίδραση αυτή ήταν απόλυτη αιθανόλη, η οποία ενδείκνυται για πυρηνόφιλες αντιδράσεις. Στις περιπτώσεις που τα βρωμίδια ήταν εξαιρετικά δυσδιάλυτα, προστέθηκε στην αντίδραση και μικρή ποσότητα τετραϋδροφουρανίου. Αξίζει να αναφερθεί ότι οι αποδόσεις, στο σύνολο των αντιδράσεων, ήταν ποσοτικές, γεγονός ιδιαίτερα σημαντικό αφού πρόκειται για αντιδραστήρια παραγωγοποίησης. Όπως αναμένεται, όλα τα βρωμίδια δεν αντέδρασαν με την ίδια ταχύτητα. Η παρατηρούμενη σχετική σειρά δραστηρότητας των αντιδρώντων βρωμιδίων προς το σχηματισμό των αντίστοιχων κυκλωμένων παραγώγων με τη χρήση της ίδιας πρωτοταγούς αμίνης είναι:



Μεγάλο ενδιαφέρον παρουσίασε η ένωση **26**, προϊόν της αντίδρασης της **1-βρωμομεθυλο-4-νιτρο-9H-ξανθεν-9-όνης (12)** με την 2-βουτυλαμίνη. Η ένωση αυτή έχει χρώμα κίτρινο και η αντίδραση παραγωγοποίησης σε αυτή την περίπτωση είχε απόδοση 30%, σε αντίθεση με όλα τα υπόλοιπα προϊόντα, που έχουν χρώμα ιώδες και λαμβάνονται από αντιδράσεις με

απόδοση περίπου 100%. Λόγω των ανωτέρω, είναι ασφαλές να θεωρήσουμε πως η νιτρο ομάδα στη θέση 2 της ξανθενόνης είναι απαραίτητη για την παραλαβή των κυκλωμένων φθοριζουσών ενώσεων.

Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του παραγώγου **25** παρατηρείται ότι η μονή κορυφή με ολοκλήρωση 2, στα 5.7 ppm περίπου, έχει πλέον εξαφανιστεί, ενώ στην θέση αυτής έχει εμφανιστεί μία νέα κορυφή, στα 7.6 ppm περίπου, που αντιστοιχεί στο σκελετό το ισοϊνδολίου (Εικόνα 31).



Εικόνα 31. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης **25**

8. Μέτρηση Φθορισμού

8.1 Εισαγωγή

Μετά τη σύνθεση όλων των τελικών παραγώγων, ακολούθησαν οι μετρήσεις εκπομπής φθορισμού. Οι μετρήσεις αυτές πραγματοποιήθηκαν σε πέντε διαλύτες, για να εξετασθεί η επίδραση του διαλύτη στην ένταση φθορισμού του παραγώγου, καθώς και το μήκος κύματος μέγιστης απορρόφησης και μέγιστης εκπομπής φθορισμού. Η επιλογή των διαλυτών έγινε σύμφωνα με παλαιότερη μελέτη φθορισμού σε παρόμοια μόρια και περιλαμβάνει πέντε διαλύτες που ανήκουν σε ευρύ φάσμα πολικότητας.

Είναι ήδη γνωστό πως το αρχικό μόριο (βρωμίδιο) δεν παρουσιάζει φθορισμό, γι' αυτό και δεν μελετάται φθορισμομετρικά. Με βάση λοιπόν τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις φθορισμού που πραγματοποιούνται, μπορεί να γίνει σύγκριση των τελικών παραγώγων ως προς την ένταση του φθορισμού και ως προς τη μετατόπιση του μήκους κύματος μέγιστης εκπομπής σε σχέση με το μήκος κύματος μέγιστης απορρόφησής τους.

8.2 Οργανολογία, υλικά και συνθήκες της πειραματικής διαδικασίας

Οργανολογία

- Ζυγός: KERN 770 ακρίβειας 5 δεκαδικών ψηφίων
- Βοθρίο 96-θέσεων για μετρήσεις φθορισμού της Nunc, μαύρο.
- Φθορισμόμετρο: Tecan Infinite MZ00 PRO



Εικόνα 32. Το φθορισμόμετρο Tecan Infinite MZ00 PRO που χρησιμοποιήθηκε

Λογισμικό

- Magellan Software

Αντιδραστήρια και διαλύτες

- Παράγωγα: Ενώσεις 25-32 που παραλαμβάνονται από τη συνθετική πορεία
- Ακετόνη: Acetone for LC/MS Merck (Darmstad, Germany)
- Ακετονιτρίλιο: Acetonitrile for LC/MS Merck (Darmstad, Germany)
- Οξικός αιθυλεστέρας: Ethyl Acetate, καθαρότητας HPLC
- Απόλυτη Αιθανόλη: absolute Ethanol, καθαρότητας HPLC
- Διχλωρομεθάνιο: dichloromethane, αναλυτικής καθαρότητας

Υλικά

- Πιπέτες Finnpiquette των 200 μ L και των 1000 μ L της Thermo
- Δοκιμαστικοί σωλήνες πολυπροπυλενίου των 5mL της Nunc
- Φιαλίδια Eppendorf των 2mL

Παράμετροι του οργάνου

- Απορρόφηση:
Περιοχή σάρωσης: 400 – 570 nm
Gain: 140
- Εκπομπή φθορισμού:
Περιοχή σάρωσης: 580 – 700 nm
Gain: 160

8.3 Πειραματική πορεία

Αρχικά παρασκευάζονται τα διαλύματα παρακαταθήκης των τελικών παραγώγων σε διαλύτη ακετόνη. Η ακετόνη επιλέχθηκε διότι είναι αναμείξιμη με όλους τους διαλύτες που θα χρησιμοποιηθούν.

Διαλύματα παρακαταθήκης: Ζυγίζονται 0,0005 g του κάθε παραγώγου (ενώσεις 25-32) και διαλύονται σε 2,5 mL ακετόνης και έτσι προκύπτουν διαλύματα 200 μ g/mL.

8.4 Μετρήσεις

Από το κάθε διάλυμα παρακαταθήκης λαμβάνονται 10 μL και αραιώνονται σε 990 μL ακετόνης, οπότε προκύπτει διάλυμα 2 $\mu\text{g/mL}$. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται άλλες τέσσερις φορές για κάθε παράγωγο, χρησιμοποιώντας διαφορετικό διαλύτη κάθε φορά (αιθανόλη, διχλωρομεθάνιο, οξικός αιθυλεστέρας, ακετονιτρίλιο). Έτσι, προκύπτουν πέντε διαλύματα 2 $\mu\text{g/mL}$ για το κάθε παράγωγο. Για κάθε παράγωγο, λαμβάνονται 200 μL από κάθε ένα από τα πέντε διαλύματα 2 $\mu\text{g/mL}$ και τοποθετούνται στα βοηθία μικροτιτλοδότησης προς μέτρηση.

8.5 Λήψη φασμάτων

Στους πίνακες που ακολουθούν αναγράφονται τα μήκη κύματος μέγιστης απορρόφησης και μέγιστης εκπομπής φθορισμού, η μετατόπιση Stokes και η ένταση εκπομπής φθορισμού για κάθε ένα παράγωγο και στους πέντε διαλύτες. Η ένταση εκπομπής φθορισμού μετράται σε Relative Fluorescence Units (RFU).

Πίνακας 1. Τα μήκη κύματος μέγιστης απορρόφησης και μέγιστης εκπομπής φθορισμού, η μετατόπιση Stokes και η ένταση εκπομπής φθορισμού για την ένωση 25 στους πέντε διαλύτες.

Ένωση 25	Απορρόφηση	Φθορισμός	Stokes Shift	RFU
Διαλύτες	λ_{max} (nm)	λ_{max} (nm)	(nm)	-
Acetone	536	587	51	11700
EtOH	534	644	110	2070
CH_2Cl_2	538	585	47	2055
EtOAc	536	584	48	5403
CH_3CN	536	610	74	2621

Πίνακας 2. Τα μήκη κύματος μέγιστης απορρόφησης και μέγιστης εκπομπής φθορισμού, η μετατόπιση Stokes και η ένταση εκπομπής φθορισμού για την ένωση 26 στους πέντε διαλύτες.

Ένωση 26	Απορρόφηση	Φθορισμός	Stokes Shift	RFU
Διαλύτες	$\lambda_{\max}$ (nm)	$\lambda_{\max}$ (nm)	(nm)	-
Acetone	454	528	74	1929
EtOH	456	528	72	1664
CH ₂ Cl ₂	474	545	71	764
EtOAc	474	531	57	559
CH ₃ CN	480	554	74	2222

Πίνακας 3. Τα μήκη κύματος μέγιστης απορρόφησης και μέγιστης εκπομπής φθορισμού, η μετατόπιση Stokes και η ένταση εκπομπής φθορισμού για την ένωση 27 στους πέντε διαλύτες.

Ένωση 27	Απορρόφηση	Φθορισμός	Stokes Shift	RFU
Διαλύτες	$\lambda_{\max}$ (nm)	$\lambda_{\max}$ (nm)	(nm)	-
Acetone	524	579	55	10892
EtOH	524	639	115	13761
CH ₂ Cl ₂	534	626	92	2199
EtOAc	522	614	92	11995
CH ₃ CN	535	632	97	46118

Πίνακας 4. Τα μήκη κύματος μέγιστης απορρόφησης και μέγιστης εκπομπής φθορισμού, η μετατόπιση Stokes και η ένταση εκπομπής φθορισμού για την ένωση 28 στους πέντε διαλύτες.

Ένωση 28	Απορρόφηση	Φθορισμός	Stokes Shift	RFU
Διαλύτες	$\lambda_{\max}$ (nm)	$\lambda_{\max}$ (nm)	(nm)	-
Acetone	525	-	-	-
EtOH	534	635	101	3856
CH ₂ Cl ₂	535	582	47	1701
EtOAc	535	579	44	1740
CH ₃ CN	523	610	87	2425

Πίνακας 5. Τα μήκη κύματος μέγιστης απορρόφησης και μέγιστης εκπομπής φθορισμού, η μετατόπιση Stokes και η ένταση εκπομπής φθορισμού για την ένωση 29 στους πέντε διαλύτες.

Ένωση 29	Απορρόφηση	Φθορισμός	Stokes Shift	RFU
Διαλύτες	$\lambda_{\max}$ (nm)	$\lambda_{\max}$ (nm)	(nm)	-
Acetone	524	614	90	3490
EtOH	524	638	114	8654
CH ₂ Cl ₂	536	582	46	3054
EtOAc	524	605	81	629
CH ₃ CN	524	587	63	37030

Πίνακας 6. Τα μήκη κύματος μέγιστης απορρόφησης και μέγιστης εκπομπής φθορισμού, η μετατόπιση Stokes και η ένταση εκπομπής φθορισμού για την ένωση 30 στους πέντε διαλύτες.

Ένωση 30	Απορρόφηση	Φθορισμός	Stokes Shift	RFU
Διαλύτες	$\lambda_{\max}$ (nm)	$\lambda_{\max}$ (nm)	(nm)	-
Acetone	535	598	63	13113
EtOH	535	652	117	7197
CH ₂ Cl ₂	535	598	63	2935
EtOAc	536	596	60	2949
CH ₃ CN	536	640	104	4438

Πίνακας 7. Τα μήκη κύματος μέγιστης απορρόφησης και μέγιστης εκπομπής φθορισμού, η μετατόπιση Stokes και η ένταση εκπομπής φθορισμού για την ένωση 31 στους πέντε διαλύτες.

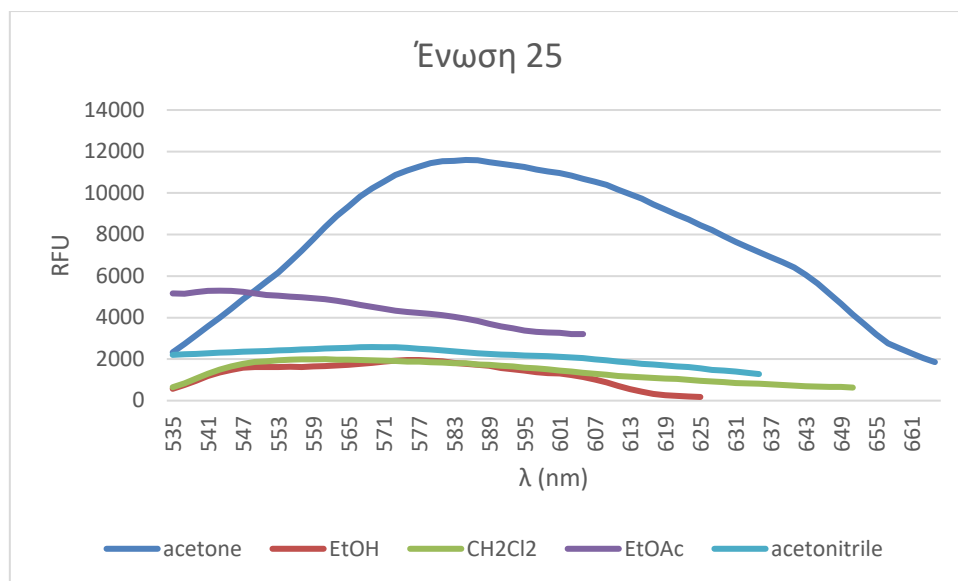
Ένωση 31	Απορρόφηση	Φθορισμός	Stokes Shift	RFU
Διαλύτες	$\lambda_{\max}$ (nm)	$\lambda_{\max}$ (nm)	(nm)	-
Acetone	534	628	64	14144
EtOH	524	610	86	10254
CH ₂ Cl ₂	522	618	96	299
EtOAc	522	615	93	3305
CH ₃ CN	523	618	95	5221

Πίνακας 8. Τα μήκη κύματος μέγιστης απορρόφησης και μέγιστης εκπομπής φθορισμού, η μετατόπιση Stokes και η ένταση εκπομπής φθορισμού για την ένωση 32 στους πέντε διαλύτες.

Ένωση 32	Απορρόφηση	Φθορισμός	Stokes Shift	RFU
Διαλύτες	$\lambda_{\max}$ (nm)	$\lambda_{\max}$ (nm)	(nm)	-
Acetone	536	626	90	8235
EtOH	500	592	92	2413
CH ₂ Cl ₂	536	598	62	2000
EtOAc	524	586	62	1687
CH ₃ CN	536	635	99	3396

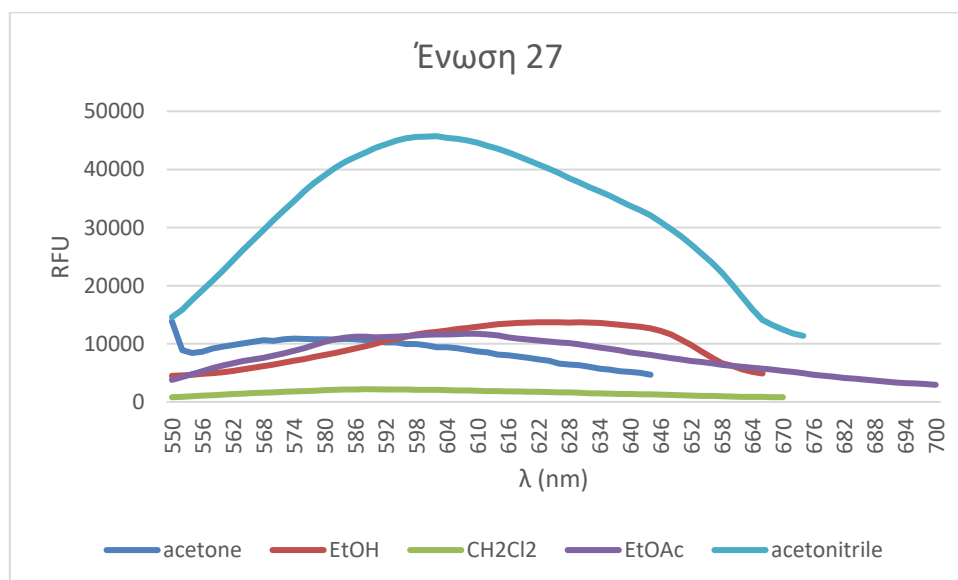
Από τα φάσματα εκπομπής των παραγώγων παρατηρείται πως τη μεγαλύτερη ένταση φθορισμού παρουσιάζουν τα διαλύματα των ενώσεων σε ακετόνη και ακετονιτρίλιο. Πιο συγκεκριμένα, η μεγαλύτερη ένταση φθορισμού για τις ενώσεις 25, 30, 31 και 32 εμφανίζεται στην ακετόνη, ενώ για τις ενώσεις 26, 27 και 28 εμφανίζεται στο ακετονιτρίλιο. Οι διαλύτες αυτοί είναι πολικοί απρωτικοί, όμως η ακετόνη (solvent polarity parameter, 5.1) είναι πιο άπολη από το ακετονιτρίλιο (solvent polarity parameter, 5.8). Όλες οι ενώσεις εμφάνισαν μεγαλύτερη μετατόπιση Stokes στους δύο πιο πολικούς διαλύτες, στην αιθανόλη και το ακετονιτρίλιο. Αυτό συμβαίνει γιατί όσο αυξάνεται η πολικότητα του διαλύτη, τόσο περισσότερο μπορούν τα μόρια του διαλύτη να σταθεροποιήσουν τα μόρια των ενώσεων που βρίσκονται στη διεγερμένη κατάσταση, καθώς στην τελευταία παρατηρείται μεγαλύτερος διαχωρισμός φορτίου. Συνεπώς, η ακτινοβολία που εκπέμπεται έχει χαμηλότερη ενέργεια που αντιστοιχεί σε μεγαλύτερο μήκος κύματος.

Ενδεικτικά, παρουσιάζονται τα φάσματα εκπομπής των ενώσεων 25 και 28 στους διάφορους διαλύτες.



Εικόνα 33. Φάσματα εκπομπής φθορισμού της ένωσης 25

Η ένωση 25, όπως έχει αναφερθεί και στο συνθετικό μέρος, αντιστοιχεί στο τελικό παράγωγο που προέκυψε από την αντίδραση του βρωμιδίου I και της 2-βουτυλαμίνης. Όπως φαίνεται από τον πίνακα και τα φάσματα της ένωσης 25 (Εικόνα 33), η μεγαλύτερη ένταση εκπομπής φθορισμού για το παράγωγο αυτό εμφανίζεται στην ακετόνη, με αρκετά μεγάλη διαφορά από τους υπόλοιπους διαλύτες. Επίσης, η μεγαλύτερη μετατόπιση Stokes παρατηρείται στην αιθανόλη, ενώ η μικρότερη στο διχλωρομεθάνιο.



Εικόνα 34. Φάσματα εκπομπής φθορισμού της ένωσης 27

Παρατηρώντας τα φάσματα (Εικόνα 34) και τον πίνακα της ένωσης 27, φαίνεται ότι η ένωση δίνει τη μεγαλύτερη ένταση εκπομπής φθορισμού στο ακετονιτρίλιο με πολύ μεγάλη διαφορά από τους υπόλοιπους διαλύτες. Συγκεκριμένα, η ένωση 27 σε διαλύτη ακετονιτρίλιο

εμφανίζει τη μεγαλύτερη ένταση εκπομπής φθορισμού από όλα τα τελικά παράγωγα που συντέθηκαν από τα βρωμίδια της παρούσας εργασίας με επίδραση της 2-βουτυλαμίνης. Ακόμα, για το τελικό παράγωγο αυτό, η μεγαλύτερη μετατόπιση Stokes εμφανίζεται στην αιθανόλη.

8.6 Αποτελέσματα – Συμπεράσματα

Σύμφωνα λοιπόν με όλα τα παραπάνω δεδομένα από τα φάσματα των παραγώγων στους διάφορους διαλύτες, προκύπτουν τα εξής συμπεράσματα.

Μετατόπιση Stokes: **30 > 27 > 29 > 25 > 28 > 32 > 31 > 26**

Ένταση εκπομπής φθορισμού: **27 > 29 > 31 > 30 > 25 > 32 > 28 > 26**

Οι παραπάνω κατατάξεις εξάχθηκαν συγκρίνοντας τις βέλτιστες τιμές μετατόπισης Stokes και έντασης φθορισμού αντίστοιχα, για κάθε ένωση. Παρατηρώντας τις δύο αυτές κατατάξεις, φαίνεται ότι η ένωση **26** έχει τη μικρότερη μετατόπιση Stokes καθώς και τη μικρότερη ένταση εκπομπής φθορισμού. Για υπενθύμιση, η ένωση **26** είναι το τελικό παράγωγο που προέκυψε από την αντίδραση της 1-βρωμομεθυλο-4-νίτρο-9H-ξανθεν-9-όνης (**12**) (βρωμίδιο II) με την 2-βουτυλαμίνη. Όπως αναφέρθηκε και στο χημικό μέρος, η νιτρο ομάδα στη θέση 2 της ξανθενόνης φαίνεται να είναι απαραίτητη για την παραλαβή των κυκλωμένων φθοριζόντων τελικών παραγώγων. Αυτό επαληθεύεται και από τις μετρήσεις αυτές, καθώς εμφανίζει με διαφορά τη μικρότερη μετατόπιση Stokes και τη μικρότερη ένταση φθορισμού.

Επίσης, οι ενώσεις **27**, **29** και **30** εμφανίζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Οι ενώσεις αυτές, σύμφωνα με τις παραπάνω κατατάξεις, εμφανίζουν τρεις από τις υψηλότερες εντάσεις εκπομπής φθορισμού και τις μεγαλύτερες μετατοπίσεις Stokes. Οι ενώσεις 27, 29 και 30 αντιστοιχούν στα παράγωγα που προκύπτουν ύστερα από αντίδραση της 2-βουτυλαμίνης με το βρωμίδιο III, το βρωμίδιο V και το βρωμίδιο VI αντίστοιχα. Η ένωση **30**, που φέρει έναν ακόμα φαινυλικό υποκαταστάτη, ήταν αναμενόμενο να εμφανίσει εντονότερο φθορισμό αφού διαθέτει εκτενέστερο π-ηλεκτρονικό σύστημα σε σχέση με την ένωση 25, με αποτέλεσμα να απορροφά και κατά συνέπεια να εκπέμπει μεγαλύτερης έντασης ακτινοβολία. Οι ενώσεις **27** και **29** που φέρουν βρώμιο και νιτρο ομάδα ως υποκαταστάτες αντίστοιχα, αναμενόταν να έχουν μειωμένη ένταση φθορισμού σύμφωνα με τη βιβλιογραφία [20, 21]. Αυτό όμως δεν παρατηρήθηκε εδώ, πιθανότατα εξαιτίας της θέσης της υποκατάστασης αλλά και της παρουσίας άλλων υποκαταστατών.

Λόγω των ανωτέρω, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι στα παράγωγα **27**, **29** και **30** έχει επέλθει βελτιστοποίηση, όσον αφορά το φθορισμό, σε σχέση με το παράγωγο **25**, που προήλθε από αντίδραση του προς βελτιστοποίηση βρωμιδίου **1** με την 2-βουτυλαμίνη. Αντίθετα, το παράγωγο **26**, λόγω της αλλαγής στη θέση της βασικής νιτρο ομάδας, δεν εμφανίζει φθορισμό και έτσι αποτελεί παράδειγμα τροποποίησης του παραγώγου **25** με μη επιθυμητό αποτέλεσμα. Παρόλα αυτά, δεν είναι εφικτό να προκύψει ξεκάθαρο συμπέρασμα για το φθορισμό (ένταση και μετατόπιση Stokes) για όλα τα παράγωγα γιατί δεν μπορεί να γίνει ποσοτικοποίηση της συνεισφοράς των δύο αυτών παραγόντων στο φθορισμό.

9. Αποτελέσματα θεωρητικής μελέτης

9.1 Γενικά

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η βελτιστοποίηση του αντιδραστηρίου μπορεί να επιτευχθεί βελτιστοποιώντας δύο βασικούς παράγοντες: την ταχύτητα με την οποία αντιδρά με την πρωτοταγή αμίνη και το φθορισμό του τελικού παραγώγου. Γι' αυτό το λόγο, η υπολογιστική μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην παρούσα εργασία προσανατολίστηκε σε αυτούς τους δύο παράγοντες. Η μελέτη αντιδραστικότητας πραγματοποιήθηκε στα βρωμίδια, ενώ η μελέτη φωτοχημικών ιδιοτήτων πραγματοποιήθηκε στα τελικά φθορίζοντα παράγωγα. Επίσης, για τα τελικά παράγωγα έγινε ακόμα μελέτη αρωματικότητας και ανάλυση διαμορφώσεων.

9.2 Υπολογιστική μελέτη αντιδραστικότητας βρωμιδίων

Οι θεωρητικοί υπολογισμοί για τη βελτιστοποίηση της γεωμετρίας των βρωμιδίων έγιναν με τη χρήση του προγράμματος Gaussian 09. Επιλέχθηκε να χρησιμοποιηθεί η μέθοδος υπολογισμών Hartree – Fock με ένα βασικό σετ υπολογισμών: HF/ 6-31G+ (d,p), σύμφωνα με τη βιβλιογραφία [22]. Στη συνέχεια, τα αρχεία δεδομένων που προέκυψαν μετά τη βελτιστοποίηση της γεωμετρίας χρησιμοποιήθηκαν από το πρόγραμμα που φαίνεται στον ακόλουθο σύνδεσμο <https://github.com/dmsteglenko/Fukui-function-calculation> για την επίλυση της συνάρτησης Fukui και τον προσδιορισμό της ηλεκτρονιοφιλίας συγκεκριμένων ατόμων των μορίων.

9.2.1 Αποτελέσματα

Όπως φαίνεται και στο μηχανισμό της αντίδρασης παραγωγοποίησης (Βλ. Χημικό μέρος), το άζωτο της πρωτοταγούς αμίνης δίνει διπλή πυρηνόφιλη αντίδραση στο βρωμίδιο, αρχικά στο μεθυλένιο της βρωμομεθυλο ομάδας και στη συνέχεια στο καρβονύλιο, όπου και πραγματοποιείται η κύκλωση, σχηματίζοντας το τελικό παράγωγο. Άρα, η ηλεκτρονιοφιλία των δύο αυτών ανθράκων παίζει τον καθοριστικότερο ρόλο στην ταχύτητα με την οποία πραγματοποιείται η αντίδραση παραγωγοποίησης. Ένας δείκτης για τον υπολογισμό της ηλεκτρονιοφιλίας είναι η συνάρτηση Fukui $f^+(r)$. Όσο μεγαλύτερη θετική τιμή έχει η λύση της $f^+(r)$, τόσο πιο ηλεκτρονιόφιλο είναι το άτομο αυτό. Οι τιμές της $f^+(r)$ για τους δύο άνθρακες κάθε βρωμιδίου παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

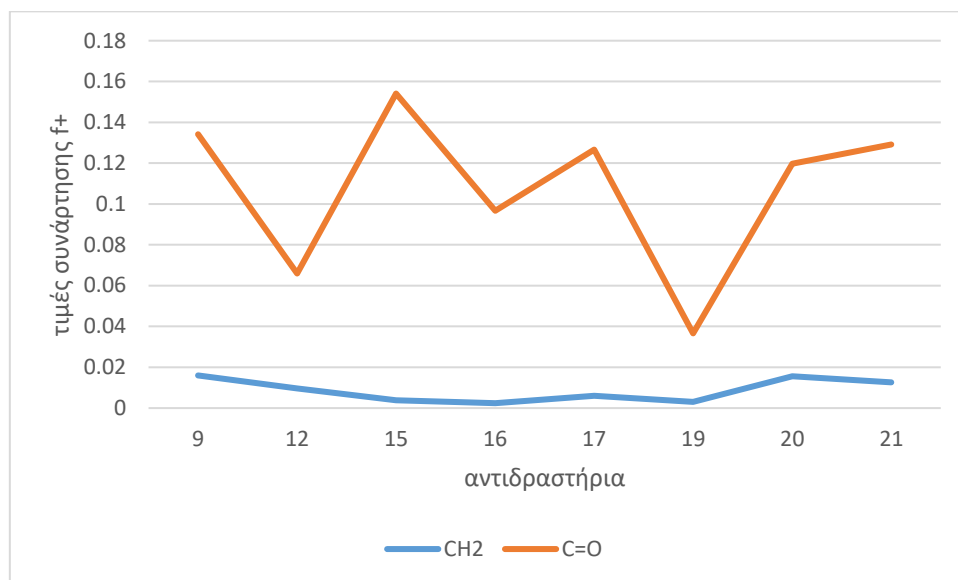
Πίνακας 10. Αποτελέσματα της $f^+(r)$ για τα βρωμίδια I-VIII.

Βρωμίδια	$f^+(r)$	
	CH ₂ (CH ₂ Br)	C=O
Βρωμίδιο I	0.016	0.1341
Βρωμίδιο II	0.0097	0.0659
Βρωμίδιο III	0.0061	0.1266
Βρωμίδιο IV	0.0039	0.1541
Βρωμίδιο V	0.0024	0.0966
Βρωμίδιο VI	0.0031	0.0366
Βρωμίδιο VII	0.0156	0.1197
Βρωμίδιο VIII	0.0126	0.1292

Από τον Πίνακα 1 φαίνεται πως το βρωμίδιο I παρουσιάζει δύο από τις καλύτερες τιμές της συνάρτησης $f^+(r)$ και για τους δύο ηλεκτρονιόφιλους πυρήνες. Παρόλα αυτά, τη μεγαλύτερη αντιδραστικότητα έχει το βρωμίδιο IV, το οποίο φέρει μια ακόμα νιτρο ομάδα στο σκελετό της ξανθενόνης. Αρκετά ηλεκτρονιόφιλο κέντρο φαίνεται να είναι και ο άνθρακας του καρβονυλίου του βρωμιδίου III. Οι τιμές αυτές για τα βρωμίδια III και IV ήταν αναμενόμενες, καθώς και οι δύο ενώσεις αυτές φέρουν μια δεύτερη νιτρο ομάδα σαν υποκαταστάτη. Η νιτρο ομάδα λειτουργεί με δύο τρόπους: αφενός είναι μια αρκετά ηλεκτρονιοελκτική ομάδα, που «απογυμνώνει» από ηλεκτρόνια το βασικό σκελετό της ένωσης δημιουργώντας έτσι ηλεκτρονιόφιλα κέντρα, αφετέρου είναι μια ομάδα η οποία μπορεί να σταθεροποιήσει φορτίο, αυξάνοντας με αυτόν τον τρόπο τις δομές συντονισμού των ενώσεων στις οποίες βρίσκεται και υποβοηθά την μεταβολή στον διαχωρισμό του φορτίου μεταξύ βασικής και διεγερμένης κατάστασης. Αρκετά καλά αποτελέσματα και για τα δύο ηλεκτρονιόφιλα κέντρα δίνουν και τα βρωμίδια VII και VIII, τα οποία φέρουν σαν υποκαταστάτη υποκατεστημένο φαινύλιο.

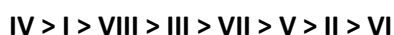
Σύμφωνα με το μηχανισμό της αντίδρασης σχηματισμού των τελικών παραγώγων, η πρώτη πυρηνόφιλη αντίδραση γίνεται στον άνθρακα της βρωμομεθυλο ομάδας. Όμως, το καθοριστικό στάδιο για το σχηματισμό των φθορίζοντων κυκλωμένων παραγώγων είναι η δεύτερη πυρηνόφιλη αντίδραση που πραγματοποιείται στον άνθρακα του καρβονυλίου,

όπως φαίνεται στο ακόλουθο διάγραμμα (Εικόνα 35), καθώς στον άνθρακα του καρβονυλίου παρατηρείται η μεγαλύτερη μεταβολή στις τιμές της συνάρτησης $f^+(r)$ μεταξύ των βρωμιδίων. Γι' αυτό λαμβάνεται υπόψιν η τιμή της συνάρτησης $f^+(r)$ μόνο για τον άνθρακα αυτό για να μπορέσει να υπάρξει σύγκριση μεταξύ των βρωμιδίων.



Εικόνα 35. Διάγραμμα μεταβολής της συνάρτησης Fukui στον μεθυλενικό και καρβονυλικό άνθρακα.

Με βάση αυτά, προκύπτει η ακόλουθη σχετική κατάταξη των βρωμιδίων με φθίνουσα ταχύτητα αντίδρασης:



9.3 Υπολογιστική μελέτη των τελικών παραγώγων

9.3.1 Μελέτη φθορισμού

Η μελέτη του φθορισμού έγινε με τη χρήση του προγράμματος HyperChem 8.0. Επιλέχθηκε η μελέτη να πραγματοποιηθεί με ημι-εμπειρικές μεθόδους υπολογισμών, καθώς απαιτούν πολύ λιγότερο υπολογιστικό χρόνο και, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, τα αποτελέσματά τους είναι σε πολύ μεγάλο ποσοστό ακριβή σε σχέση με τις *ab initio* μεθόδους, αλλά και τα πειραματικά αποτελέσματα.

9.3.1.1 Βελτιστοποίηση γεωμετρίας και ηλεκτρονικά φάσματα

Αρχικά, μελετήθηκε η βιβλιογραφία και παρατηρήθηκε πως για τη βελτιστοποίηση της γεωμετρίας ετεροκυκλικών αρωματικών μορίων χρησιμοποιούνται συνήθως τα μοντέλα AM1, PM3 και ZINDO/1 των ημι-εμπειρικών υπολογισμών με μεγάλη επιτυχία [23, 24, 25]. Τα μοντέλα αυτά δίνουν αποτελέσματα για την ενέργεια των μορίων, τα μήκη δεσμών, τις διεδρες γωνίες, τα φορτία κλπ. Η βελτιστοποίηση γεωμετρίας πραγματοποιήθηκε για όλα τα μόρια στη βασική κατάσταση με τη μέθοδο AM1, ενώ για τη διεγερμένη κατάσταση χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο ZINDO/1.

Αφού βελτιστοποιηθεί η γεωμετρία βασικής κατάστασης όλων των μορίων, υπολογίζεται η αλληλεπίδραση των διαφορετικών ηλεκτρονικών διαμορφώσεων και έτσι εξάγεται το φάσμα απορρόφησης του κάθε μορίου. Το ημι- εμπειρικό μοντέλο που χρησιμοποιείται για τη λήψη των ηλεκτρονικών φασμάτων απορρόφησης και εκπομπής είναι το ZINDO/S. Στη συνέχεια, ακολουθεί βελτιστοποίηση της γεωμετρίας της διεγερμένης κατάστασης των μορίων και τέλος, εξάγεται το φάσμα εκπομπής για κάθε μόριο. Εξαιρέση αποτελεί η θεωρητική μελέτη της ένωσης 27, που φέρει σαν υποκαταστάτη βρώμιο. Εξαιτίας του γεγονότος ότι τα μοντέλα ZINDO δεν έχουν παραμετροποιηθεί για το άτομο του Βρωμίου, η βελτιστοποίηση της γεωμετρίας διεγερμένης κατάστασης και η λήψη των φασμάτων απορρόφησης και εκπομπής της ένωσης αυτής έγιναν με τη χρήση του μοντέλου AM1, καθώς από τη βιβλιογραφία φαίνεται να δίνει τα πιο κοντινά αποτελέσματα με αυτά των μοντέλων ZINDO [26, 27].

Στους Πίνακες 11 και 12 αναγράφονται τα αποτελέσματα των υπολογισμών για την απορρόφηση και την εκπομπή αντίστοιχα, για κάθε μόριο.

Πίνακας 11. Φυσικοχημικές ιδιότητες και επιλεγμένες διεδρες γωνίες για τις ενώσεις 25-32 στη βασική κατάσταση. Γωνία A: N1-C10b-C2a-C5a, Γωνία B: C2a-C10b-C10a-C10, Γωνία C: C7-C6a-O-C5a.

Απορρόφηση							
Ενώσεις	λ (nm)	f	μ	$E_{\text{lumo-homo}}$ (eV)	Γωνία A ($^\circ$)	Γωνία B ($^\circ$)	Γωνία C ($^\circ$)
25	516.2	0.479	9.01	6.819	179.2	178.72	179.55
26	472.8	0.37	11.35	2.197	179.49	179.14	179.65
27	418.9	0.539	6.51	6.82	179.33	178.85	179.63
28	493.9	0.538	2.96	1.464	179.44	179.32	179.34
29	493.9	0.584	9.66	1.737	178.81	177.47	179.36
30	505.9	0.566	9.08	5.442	179.77	179.55	179.87
31	502.8	0.572	8.29	2.353	178.83	177.78	179.57
32	503.6	0.571	7.33	6.812	179.79	179.41	179.91

Πίνακας 12. Φυσικοχημικές ιδιότητες και επιλεγμένες διεδρες γωνίες για τις ενώσεις 25-32 στη διεγερμένη κατάσταση. Γωνία A: N1-C10b-C2a-C5a, Γωνία B: C2a-C10b-C10a-C10, Γωνία C: C7-C6a-O-C5a.

Εκπομπή							
Ενώσεις	λ (nm)	f	μ	$E_{\text{lumo-homo}}$ (eV)	Γωνία A ($^\circ$)	Γωνία B ($^\circ$)	Γωνία C ($^\circ$)
25	560.8	0.691	10.58	2.516	179.68	179.77	180
26	532.8	0.404	12.20	2.242	179.72	179.85	179.73
27	463.1	0.637	6.86	2.817	179.91	178.97	179.4
28	547.3	0.726	4.37	1.514	179.74	179.86	179.71
29	558.5	0.616	10.62	1.784	178.62	177.85	179.29
30	552.9	0.793	10.11	2.508	179.94	179.81	179.95
31	545.2	0.813	9.92	2.504	179.24	178.31	179.23
32	545.8	0.813	9.12	2.353	178.47	179.18	178.89

Οι τιμές $E_{\text{lumo-homo}}$ συσχετίζονται με την αρωματικότητα των μορίων και συνεπώς με τον φθορισμό. Υψηλότερες τιμές χάσματος HOMO-LUMO συναντώνται σε μόρια με εντονότερη αρωματικότητα (Advanced Organic Chemistry, Part A: Structure and Mechanisms, Fifth Edition, Francis A. Carey, Richard J. Sundberg, Springer: 820, 8.1.3. Electronic Criteria for Aromaticity). Όσον αφορά τις διεδρες γωνίες N1-C10b-C2a-C5a, C7-C6a-O-C5a και C2a-C10b-C10a-C10, δεν παρατηρήθηκε ιδιαίτερη μεταβολή. Ο βασικός σκελετός των ενώσεων, καθώς

και ο νέος δακτύλιος που δημιουργείται είναι σχεδόν επίπεδοι στη βασική τους κατάσταση και αυτό διατηρείται και στη διεγερμένη κατάσταση.

9.3.1.2 Ισχύς του αρμονικού ταλαντωτή (Oscillator strength) και μετατόπιση Stokes

Η ισχύς του αρμονικού ταλαντωτή (oscillator strength) f μιας μετάβασης, όπως είναι γνωστό από τη θεωρία, ορίζεται ως:

$$f = 4.319 \times 10^{-9} \int \varepsilon(\nu) d\nu$$

που το $\varepsilon(\nu)$ είναι η μοριακή απορρόφηση μετρούμενη σε $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ σαν συνάρτηση του κυματάριθμου ν (cm^{-1}). Είναι καθαρός αριθμός, ο οποίος ορίζεται σαν το λόγο της έντασης της απορρόφησης (ή της εκπομπής) προς την (υποθετική) ένταση ενός ηλεκτρονίου χρησιμοποιώντας το μοντέλο του αρμονικού ταλαντωτή. Οι τιμές του Oscillator strength κυμαίνονται από 0 έως 1. Μεγάλες τιμές αρμονικού ταλαντωτή υποδεικνύουν μεγάλη τάση απορρόφησης ενός φωτονίου και συναρτώνται με την ικανότητα ενός μορίου να απορροφά (και να αποδίδει) φωτόνια ευχερώς.

Συγκρίνοντας λοιπόν τις τιμές της ισχύς του αρμονικού ταλαντωτή f που προέκυψαν από τα υπολογιστικά πειράματα, η σειρά φθίνουσας έντασης εκπομπής φθορισμού είναι:

$$32, 31 > 30 > 28 > 25 > 27 > 29 > 26.$$

Πίνακας 13. Θεωρητικά αποτελέσματα μετατοπίσεων Stokes για τις ενώσεις 25-32.

Ενώσεις	$\lambda_{\max}$ απορρόφησης	$\lambda_{\max}$ εκπομπής	$\Delta\lambda$
25	516.2	560.8	44.6
26	472.8	532.8	60
27	418.9	463.1	44.2
28	493.9	547.3	53.4
29	493.9	558.5	64.6
30	505.9	552.9	47
31	502.8	545.2	42.4
32	503.6	545.8	42.2

Η μετατόπιση Stokes ορίζεται ως η διαφορά μεταξύ μήκους κύματος μέγιστης εκπομπής φθορισμού και μήκους κύματος μέγιστης απορρόφησης.

$$\Delta\lambda = \lambda_{max}^{fluor.} - \lambda_{max}^{abs}$$

Ο φθορισμός έχει πάντοτε μεγαλύτερο μήκος κύματος μέγιστης εκπομπής, που αντιστοιχεί σε χαμηλότερη ενέργεια. Αυτό συμβαίνει γιατί όλη η ενέργεια που απορροφάται κατά την διέγερση δεν αποδίδεται σε φθορισμό, αλλά μέρος της καταναλώνεται και σε άλλες διαδικασίες όπως δονητική χαλάρωση και διασυστηματική διασταύρωση.

Βλέποντας τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον Πίνακα 4, η σειρά φθίνουσας μετατόπισης Stokes που προκύπτει είναι η εξής:

$$29 > 26 > 28 > 30 > 25 > 27 > 31 > 32$$

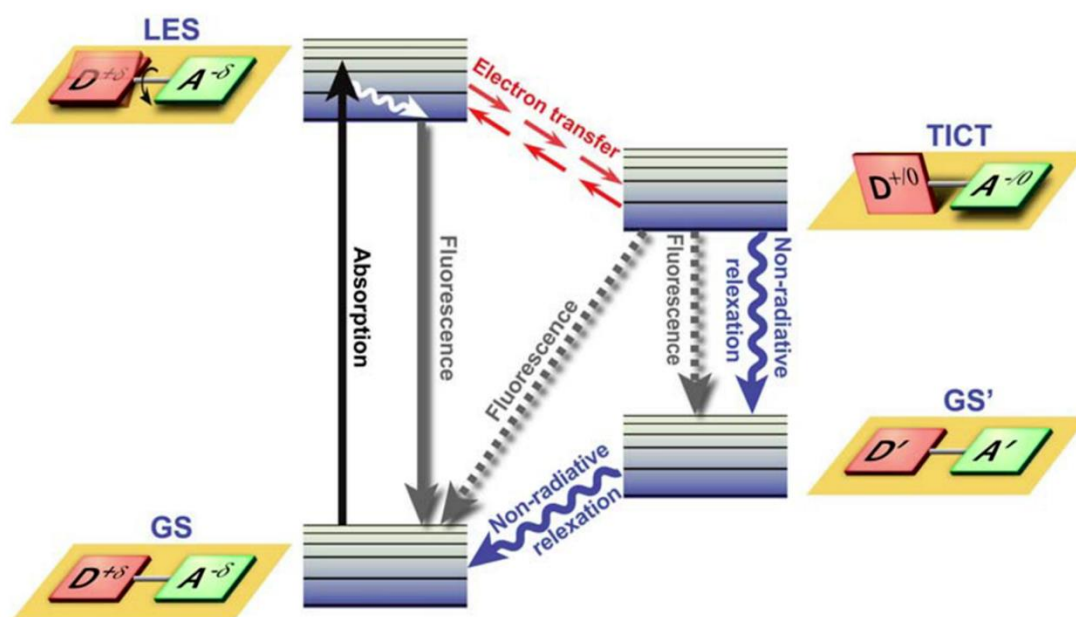
Πίνακας 14. Μήκος δεσμού C9-C1' και διέδρη γωνία C2'-C1'-C9-C10 για τις ενώσεις 30-32 στη βασική και στη διεγερμένη κατάσταση.

Ενώσεις	Απορρόφηση		Εκπομπή	
	C9-C1'	C2'-C1'-C9-C10	C9-C1'	C2'-C1'-C9-C10
Ένωση 30	1.461	39.22	1.46	39.84
Ένωση 31	1.463	141.4	1.465	149.43
Ένωση 32	1.462	38.94	1.465	30.02

Για τις ενώσεις που φέρουν αρωματικούς υποκαταστάτες, μετρήθηκαν επίσης το μήκος δεσμού C9-C1' και η γωνία στρέψης C2'-C1'-C9-C10 και παρουσιάζονται παραπάνω (Πίνακας 14). Το μήκος του δεσμού αυτού δεν μεταβλήθηκε σχεδόν καθόλου, ενώ η γωνία στρέψης C2'-C1'-C9-C10 μεταβλήθηκε 0-9°.

9.3.2 Ανάλυση διαμορφώσεων

Σε φθορίζουσες ενώσεις που φέρουν ως υποκαταστάτη αρωματικό δακτύλιο, υπάρχει περίπτωση, με μεταφορά πλήρους φορτίου, ο αρωματικός υποκαταστάτης να στραφεί σε γωνία 90° , δηλαδή να βρεθεί κάθετα ως προς το βασικό σκελετό της ένωσης. Κατά τη διαμόρφωση αυτή, μειώνεται η αρωματικότητα της ένωσης, καθώς δεν υπάρχει πλέον αλληλεπίδραση μεταξύ των p-τροχιακών του υποκαταστάτη και του υπόλοιπου σκελετού, με συνέπεια τη μείωση του φθορισμού. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται TICT (Twisted Intramolecular Charge Transfer)[28].



Εικόνα 36. Σχηματικά το φαινόμενο TICT.

Πιο συγκεκριμένα, για να διερευνηθεί αν υπάρχει TICT, αλλά και για βρεθούν οι κύριες διαμορφώσεις, στις ενώσεις 30-32 πραγματοποιήθηκε ανάλυση διαμορφώσεων. Αφού έγινε βελτιστοποίηση της γεωμετρίας με το μοντέλο ZINDO/1 για τη βασική και τη διεγερμένη κατάσταση, μεταβάλλοντας τη διεδρη γωνία $C2'-C1'-C8-C9$ κατά 30° κάθε φορά από $0-180^\circ$, σημειώθηκαν το μήκος δεσμού $C8-C1'$ και η ενέργεια του κάθε μορίου για την κάθε διαμόρφωση. Τα αποτελέσματα αυτά παρουσιάζονται παρακάτω στον Πίνακα 15.

Πίνακας 15. Η μεταβολή του μήκους δεσμού C9-C1' καθώς μεταβάλλεται η diedρη γωνία C2'-C1'-C9-C10 για τις ενώσεις 31-33 στη βασική και στη διεγερμένη κατάσταση.

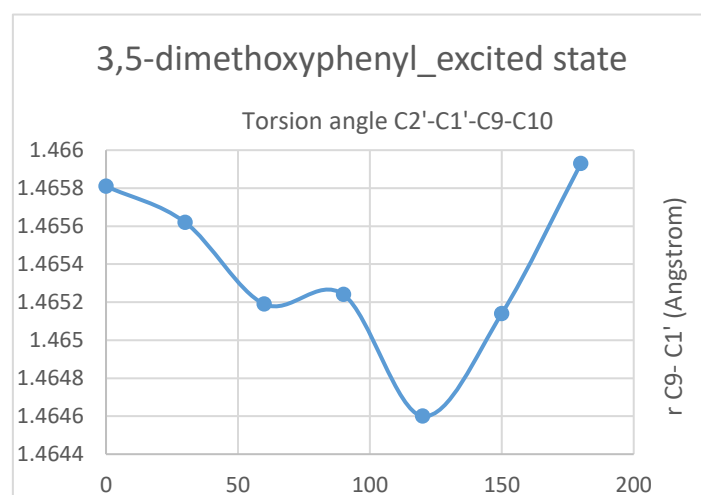
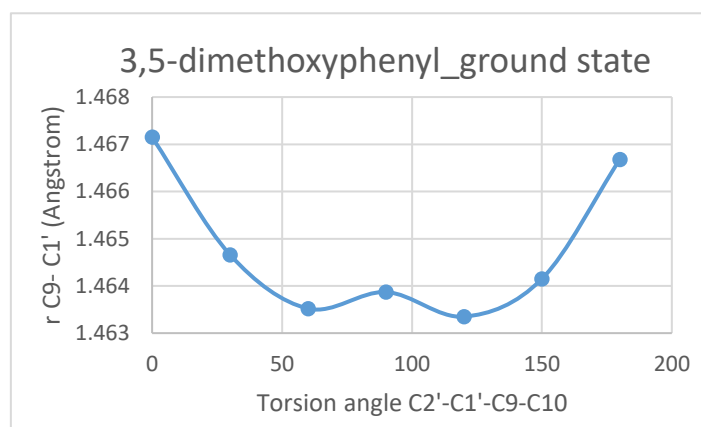
Δίεδρη γωνία C2'-C1'-C9-C10	C9- C1' (ground state) (Angstrom)			C9- C1' (excited state) (Angstrom)		
	Ένωση 30	Ένωση 31	Ένωση 32	Ένωση 30	Ένωση 31	Ένωση 32
0°	1.46683	1.46715	1.46673	1.46558	1.46581	1.46656
30°	1.46495	1.46466	1.46474	1.46468	1.46562	1.46656
60°	1.46414	1.46352	1.46394	1.46535	1.46519	1.46588
90°	1.46456	1.46387	1.4644	1.46572	1.46524	1.46481
120°	1.46381	1.46335	1.4636	1.46468	1.4646	1.46579
150°	1.46388	1.46415	1.46382	1.46401	1.46514	1.46362
180°	1.46618	1.46668	1.46624	1.46612	1.46593	1.46513

Στη βασική κατάσταση όλων των μορίων, παρατηρείται πως τα μεγαλύτερα μήκη του δεσμού C9- C1', καθώς και οι υψηλότερες ενέργειες, αντιστοιχούν στις διαμορφώσεις εκείνες όπου η diedρη γωνία C2'-C1'-C9-C10 είναι 0° ή 180°. Αντίθετα, όταν η diedρη αυτή είναι περίπου 60° ή 120°, τα μόρια παρουσιάζουν τη χαμηλότερη ενέργεια και το μικρότερο μήκος δεσμού C9- C1'. Συμπερασματικά λοιπόν, όταν τα *p* τροχιακά των ανθράκων του υποκαταστάτη είναι σε πλήρη ευθυγράμμιση με τα *p* τροχιακά των ανθράκων του βασικού σκελετού της ένωσης, το μήκος του δεσμού αυτού αυξάνεται λόγω έντονης στερεοχημικής παρεμπόδισης. Η επιμήκυνση του δεσμού αυτού οδηγεί σε αύξηση της ενέργειας και μείωση της αρωματικότητας. Όταν ο φαινυλικός δακτύλιος σχηματίζει diedρη γωνία 60° ή 120° με το βασικό σκελετό των μορίων, υπάρχει μερική αλληλεπίδραση των *p* τροχιακών και μειωμένη στερεοχημική παρεμπόδιση, με αποτέλεσμα τη μείωση του μήκους δεσμού C9-C1' και της ενέργειας και αύξηση της αρωματικότητας. Αντίστοιχα, στη διεγερμένη κατάσταση, οι διαμορφώσεις με την υψηλότερη ενέργεια είναι εκείνες με τη diedρη γωνία να είναι 0° ή 180°, ενώ τη χαμηλότερη ενέργεια έχουν οι διαμορφώσεις με τη diedρη γωνία να είναι 60° ή 120° και 150°, για τον ίδιο λόγο όπως και στη βασική κατάσταση. Η διαμόρφωση με τη diedρη γωνία των 150° στη διεγερμένη κατάσταση για τις ενώσεις 30 και 32 φαίνεται να αυξάνει την αρωματικότητα τους μειώνοντας ακόμα περισσότερο τη στερεοχημική παρεμπόδιση.

Σύμφωνα με τα παραπάνω, κάθε μία από τις ενώσεις 30-32 στη βασική κατάσταση έχει κυρίως τις διαμορφώσεις όπου η diedρη γωνία είναι 60° ή 120°, εφόσον σε αυτές τις διαμορφώσεις σταθεροποιείται περισσότερο η κάθε ένωση. Στη διεγερμένη κατάσταση, η κύρια διαμόρφωση των ενώσεων 30 και 32 είναι εκείνη με τη diedρη γωνία των 150°, ενώ η κύρια διαμόρφωση της ένωσης 31 εξακολουθεί να είναι εκείνη με τη diedρη γωνία των 60°

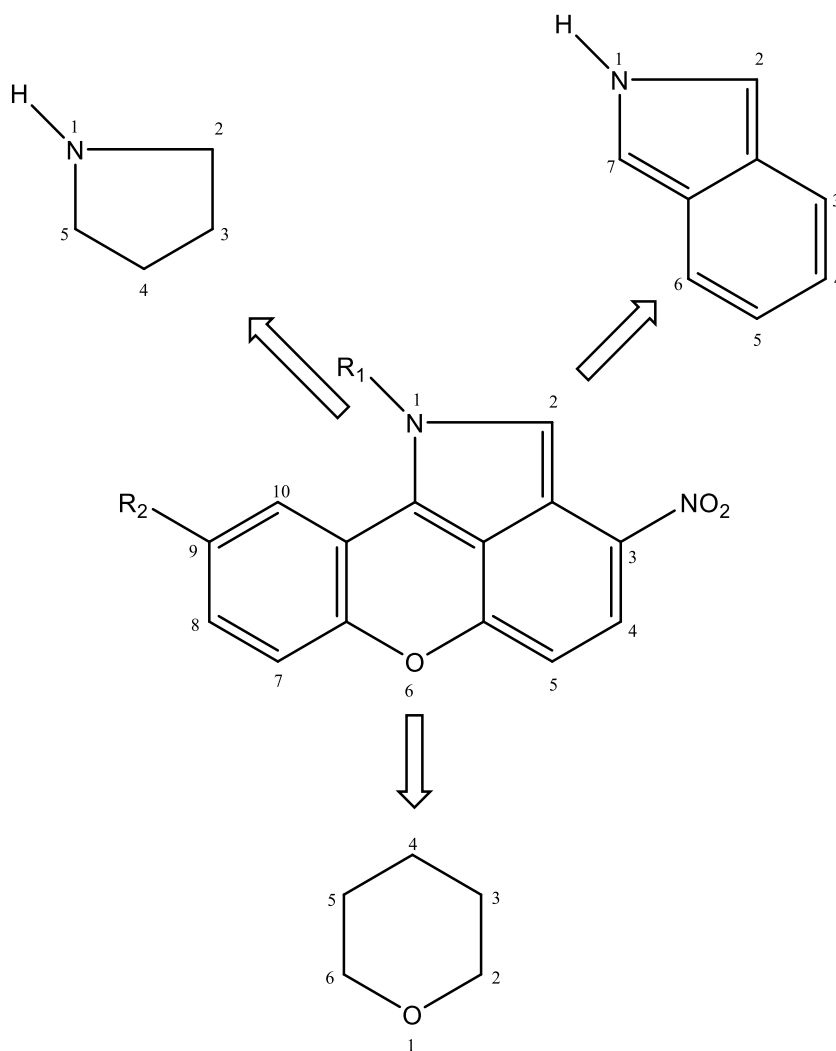
ή 120° . Ακόμα, συγκρίνοντας τα μήκη δεσμού C9-C1' των κυρίων διαμορφώσεων στις δύο καταστάσεις και για τις τρεις ενώσεις, παρατηρείται πως η αρωματικότητα των ενώσεων μειώνεται ελαφρά στη διεγερμένη κατάσταση. Τα μόρια φαίνεται ότι παρουσιάζουν μετακίνηση ηλεκτρονιακής πυκνότητας μεταξύ της βασικής και της διεγερμένης κατάστασης, γεγονός του υποδεικνύει ότι τα μελετούμενα μόρια έχουν αυξήσει τη συζυγία τους και ο φαινυλικός δακτύλιος αποτελεί μέρος της ετεροαρωματικής δομής. Το γεγονός ότι σε καμία περίπτωση δεν προσεγγίζεται γεωμετρία 90° , υποδεικνύει ότι το φαινόμενο TICT δεν παρατηρείται στα μόρια αυτά.

Ενδεικτικά, παρουσιάζεται διαγραμματικά η μεταβολή του μήκους δεσμού C9- C1' καθώς μεταβάλλεται η διεδρη γωνία C2'-C1'-C9-C10 για την ένωση 31 στη βασική και στη διεγερμένη κατάσταση.



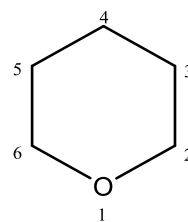
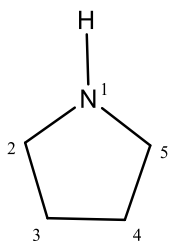
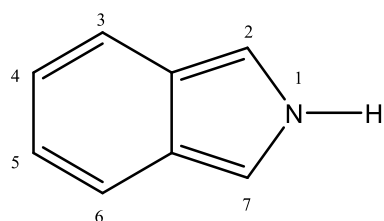
Εικόνες 37 και 38. Διαγράμματα μεταβολής του μήκους δεσμού rC9-C1' συναρτήσει της διεδρης γωνίας C2'-C1'-C9-C10 για την ένωση 31 στη βασική και στη διεγερμένη κατάσταση αντίστοιχα.

9.3.3 Μελέτη αρωματικότητας



Εικόνα 39. Σχηματικά τα επιμέρους τμήματα που μελετήθηκαν για την αρωματικότητα των τελικών παραγώγων.

Για την εκτίμηση της αρωματικότητας του βασικού σκελετού των παραγώγων που έχουν συντεθεί, χωρίζεται το μόριο σε επιμέρους τμήματα, αρωματικά ή όχι, και πραγματοποιείται σύγκριση των δεσμών των τμημάτων αυτών με τους αντίστοιχους δεσμούς των παραγώγων. Όπως φαίνεται στην εικόνα, χωρίζεται ο βασικός σκελετός των παραγώγων σε ισοϊνδόλιο (δεξί τμήμα) και σε πυράνιο (μεσαίο τμήμα). Περαιτέρω, θα μπορούσε να χωριστεί ο νεοσχηματισμένος δακτύλιος των παραγώγων σε πυρολιδίνη.



Τα μήκη δεσμών της ισοϊνδολίου, της πυρρολιδίνης και του πυρανίου στη βασική κατάσταση παρουσιάζονται παρακάτω. Για τη βελτιστοποίηση της γεωμετρίας χρησιμοποιήθηκε η ίδια μέθοδος όπως στις ενώσεις 25-32, δηλαδή η ημι-εμπειρική μέθοδος AM1.

Μήκη δεσμών ισοϊνδολίου
N1-C2: 1.364
C2-C2a: 1.457
C2a-C3: 1.38
C3-C4: 1.407
C4-C5: 1.39
C5-C6: 1.407
C6-C6a: 1.38
C6a-C2a: 1.456
C6a-C7: 1.457
C7-N1: 1,364

Μήκη δεσμών πυρρολιδίνης
N1-C2: 1.46
C2-C3: 1.539
C3-C4: 1.524
C4-C5: 1.539
C5-N1: 1.46

Μήκη δεσμών πυρανίου
O1-C2: 1.423
C2-C3: 1.519
C3-C4: 1.514
C4-C5: 1.514
C5-C6: 1.519
C6-O1: 1.423

Στη συνέχεια παρουσιάζονται επιλεγμένα μήκη δεσμών των ενώσεων 25-32 στη βασική κατάσταση.

Πίνακας 16. Επιλεγμένα μήκη δεσμών για τις ενώσεις 25-32 στη βασική κατάσταση.

Βασική κατάσταση									
Ενώσ εις	Μήκη δεσμών								
	N1-C2	C2-C2a	C2a- C2b	C5a- O6	O6- C6a	C10a- C10b	C10b- N1	C10b- C2b	C9-C1'
25	1.402	1.411	1.435	1.383	1.402	1.442	1.386	1.417	-
26	1.404	1.41	1.436	1.377	1.402	1.442	1.384	1.418	-
27	1.403	1.41	1.435	1.383	1.399	1.445	1.387	1.419	-
28	1.398	1.414	1.434	1.388	1.395	1.442	1.387	1.417	-
29	1.402	1.411	1.433	1.387	1.391	1.445	1.389	1.418	-
30	1.402	1.411	1.435	1.383	1.401	1.443	1.386	1.417	1.461
31	1.405	1.409	1.435	1.382	1.4	1.445	1.387	1.419	1.463
32	1.401	1.412	1.435	1.383	1.401	1.443	1.387	1.417	1.462

Συγκρίνοντας τα μήκη δεσμών του πυρανίου, μιας αλειφατικής ένωσης, με τα μήκη δεσμών C10a-C10b, C5a-O6 και C6a-O6 των ενώσεων 25-32, παρατηρείται ότι υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Οι δεσμοί αυτοί είναι αρκετά μικρότεροι από τους αντίστοιχους του πυρανίου, γεγονός που υποδηλώνει ότι στο κομμάτι αυτό των ενώσεων 25-32 έχει επέλθει αρωματοποίηση. Οι δεσμοί N1-C2 και N1-C10b έχουν αρωματοποιηθεί επίσης, απλά σε μικρότερο βαθμό από τους αντίστοιχους δεσμούς του ισοϊνδολίου. Οι δεσμοί αυτοί έχουν μήκη με τιμές ενδιάμεσες μεταξύ του αρωματικού ισοϊνδολίου και της αλειφατικής πυρολιδίνης. Τέλος, οι δεσμοί C10b-C2b, C2-C2a και C2a-C2b των ενώσεων 25-32 παρατηρείται πως έχουν μειωμένο μήκος σε σχέση με τους αντίστοιχους δεσμούς του ισοϊνδολίου, υποδεικνύοντας πως και αυτοί οι δεσμοί έχουν αρωματικό χαρακτήρα. Τα υπόλοιπα επιμέρους τμήματα του βασικού σκελετού των ενώσεων 25-32 θεωρείται πως είναι αρωματικά.

Σύμφωνα λοιπόν με όλα τα παραπάνω, φαίνεται πως οι ενώσεις αυτές στη βασική κατάσταση έχουν αρωματοποιηθεί.

Πίνακας 17. Επιλεγμένα μήκη δεσμών για τις ενώσεις 25-32 στη διεγερμένη κατάσταση.

Διεγερμένη κατάσταση									
Ενώσ εις	Μήκη δεσμών								
	N1-C2	C2-C2a	C2a- C2b	C5a- O6	O6- C6a	C10a- C10b	C10b- N1	C10b- C2b	C9-C1'
25	1.389	1.4	1.438	1.373	1.375	1.41	1.419	1.425	-
26	1.388	1.4	1.439	1.369	1.376	1.402	1.421	1.434	-
27	1.4	1.419	1.443	1.383	1.396	1.404	1.42	1.444	-
28	1.389	1.404	1.438	1.374	1.373	1.41	1.416	1.427	-
29	1.392	1.403	1.438	1.373	1.368	1.41	1.416	1.427	-
30	1.389	1.404	1.439	1.372	1.374	1.41	1.418	1.425	1.46
31	1.386	1.403	1.438	1.373	1.375	1.411	1.417	1.426	1.465
32	1.387	1.403	1.438	1.373	1.373	1.41	1.416	1.423	1.465

Συγκρίνοντας τα μήκη των επιλεγμένων δεσμών στη διεγερμένη κατάσταση με τα αντίστοιχα μήκη δεσμών στη βασική κατάσταση παρατηρείται πως στους περισσότερους δεσμούς από αυτούς έχει επέλθει μείωση, συνεπώς έχει αυξηθεί ο αρωματικός τους χαρακτήρας. Οι δεσμοί οι οποίοι έχουν μεγαλύτερο μήκος στη διεγερμένη κατάσταση είναι οι δεσμοί C10b-N1 και C10b-C2b. Οι τιμές των μηκών δεσμών αυτών εξακολουθούν όμως να βρίσκονται ενδιάμεσα από τις τιμές των αντίστοιχων δεσμών του ισοϊνδολίου και της πυρρολιδίνης, άρα οι ενώσεις έχουν αρωματικό χαρακτήρα και στη διεγερμένη κατάσταση. Η αύξηση των μηκών δεσμών οφείλεται στην αύξηση του αρνητικού φορτίου των ετεροατόμων N1 και O6 στη διεγερμένη κατάσταση καθώς τα άτομα αυτά διαθέτουν αυξημένη ηλεκτραρνητικότητα συγκρινόμενα με τα άτομα του άνθρακα. Συνεπώς στη διεγερμένη κατάσταση το διεγερμένο τροχιακό θα είναι σε σημαντικό βαθμό εστιασμένο στα παραπάνω ετεροάτομα.

Πίνακας 18. Φορτία των ετεροατόμων N1 και O6 όλων των ενώσεων 25-32.

Ενώσεις	Φορτίο στη βασική κατάσταση		Φορτίο στη διεγερμένη κατάσταση	
	N1	O6	N1	O6
25	-0.052	-0.127	-0.09	-0.235
26	-0.057	-0.092	-0.091	-0.216
27	-0.05	-0.125	-0.161	-0.105
28	-0.043	-0.122	-0.088	-0.229
29	-0.049	-0.09	-0.084	-0.2
30	-0.052	-0.126	-0.088	-0.233
31	-0.054	-0.125	-0.085	-0.234
32	-0.051	-0.125	-0.089	-0.233

10. Πολυπαραγοντική Ανάλυση και Μοντελοποίηση

10.1 Γενικά

Η πολυπαραγοντική ανάλυση είναι ο καλύτερος τρόπος για να συνοψιστούν πίνακες δεδομένων με πολλές μεταβλητές καθώς και για να ανακαλυφθούν οι μεταξύ τους συσχετίσεις. Αυτό επιτυγχάνεται με τη δημιουργία κάποιων νέων μεταβλητών, οι οποίες περιέχουν τις περισσότερες πληροφορίες. Εδώ, θα πραγματοποιηθεί η ανάλυση με χρήση της μεθόδου PLS, κατά την οποία συνοψίζονται ταυτόχρονα δύο πίνακες δεδομένων με σκοπό να αναπτυχθεί κάποια συσχέτιση μεταξύ τους.

10.2 Πειραματικό μέρος

Οι περιγραφείς (molecular descriptors) που χρησιμοποιήθηκαν, ελήφθησαν από τα προγράμματα biotriangle.scbdd.com/chemical/index/ και ChemDraw 2016 και παρουσιάζονται παρακάτω. Αφού προστέθηκαν όλες οι μεταβλητές, καθώς και τα πειραματικά αποτελέσματα ($\lambda_{\max}\text{Abs}$, $\lambda_{\max}\text{Emis}$, Stokes shift, Absorption intensity, Emission intensity) για κάθε ένα από τα παράγωγα (ενώσεις 25-32) έγινε η κατηγοριοποίηση των δεδομένων. Η ανάλυση με τη μέθοδο PLS πραγματοποιήθηκε από το πρόγραμμα SIMCA.

Πίνακας 19. Οι μεταβλητές που χρησιμοποιήθηκαν για τη μοντελοποίηση.

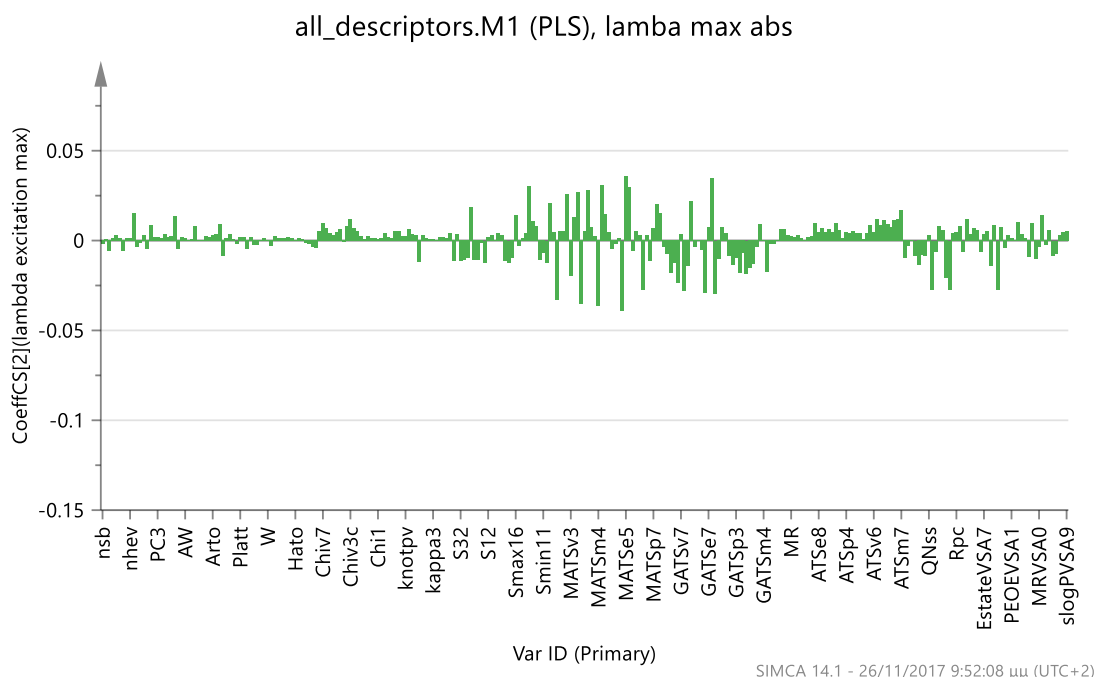
nphos	ndb	nsb	ncoi	ncarb	nsulph
ncof	nnitro	ncobr	naro	ndonr	noxy
nhet	nhev	nhal	naccr	nta	ntb
nring	nrot	Weight	PC2	PC3	PC1
PC6	PC4	PC5	AWeight	ncocl	nhyd
GMTIV	AW	Geto	DZ	Gravto	IDET
Sitov	IDE	TIAC	Arto	Qindex	petitjeant
Hatov	diametert	BertzCT	IVDE	ISIZ	Platt
ZM2	Getov	ZM1	J	radiust	Tsch
Thara	W	MZM2	GMTI	MZM1	lpc
Sito	Tigdi	Pol	Hato	Xu	Chi3ch
knotp	dchi3	dchi2	dchi1	dchi0	Chi5ch
Chiv4	Chiv7	Chiv6	Chiv1	Chiv0	Chiv3
Chiv2	Chi4c	dchi4	Chiv4pc	Chiv3c	Chiv8
Chi3c	Chi8	Chi9	Chi2	Chi3	Chi0
Chi1	Chi6	Chi7	Chi4	Chi5	Chiv5
Chiv4c	Chiv9	Chi4pc	knotpv	Chiv5ch	Chiv3ch
Chiv10	Chiv6ch	Chi10	Chi4ch	Chiv4ch	mChi1
Chi6ch	phi	kappa1	kappa3	kappa2	kappam1

kappam3	kappam2	Smax38	Smax39	Smax34	Smax35
Smax36	Smax37	Smax30	Smax31	Smax32	Smax33
S57	S56	S55	S54	S53	S52
S51	S50	S32	S59	S58	Smax8
Smax9	Smax0	Smax1	Smax2	Smax3	Smax4
Smax5	Smax6	Smax7	Smax29	Smax28	Smax23
Smax22	Smax21	Smax20	Smax27	Smax26	Smax25
Smax24	S44	S45	S46	S47	S40
S41	S42	S43	S48	S49	Smin78
Smin72	Smin73	Smin70	Smin71	Smin76	Smin77
Smin74	Smin75	S79	S78	Smax58	Smax59
Smax56	Smax57	S73	S72	S75	Smax53
S77	S76	Smin69	Smin68	Smin61	Smin32
Smin63	Smin62	Smin65	Smin64	Smin67	Smin66
Smin41	Smin40	Smax49	Smax48	S68	S69
Smax45	Smax44	Smax47	S65	Smax41	Smax40
Smax43	Smax42	Smin54	Smax52	Smin56	Smin57
Smin50	Smin51	Smin52	Smin53	Smin58	Smin59
Smin49	S9	S8	S3	S2	S1
Smin55	S7	S6	S5	S4	Smax78
S66	S67	Smax70	Smax71	Smax72	Smax73
Smax74	Smax75	Smax76	Smax77	Smin43	Smin42
S19	S18	Smin47	Smin46	Smin45	Smin44
S13	S12	S11	S10	S17	S16
S15	S14	S60	S64	Smin16	S61
Smax67	Smax66	Smax65	Smax64	Smax63	Smax62
Smax61	Smax60	Smax69	Smax68	Smin60	Smin36
Smin37	Smin34	Smin35	S62	Smin33	Smin30
Smin31	Smin38	Smin39	Smax12	Smax13	Smax10
Smax11	Smax16	Smax17	Smax14	Smax15	Smin20
Smax18	Smax19	S71	S63	S70	Smax54
Smax55	S39	S38	S35	S34	S37
S36	S31	S30	S33	S74	Smin25
Smin24	Smin27	Smin26	Smin21	Smax50	Smin23
Smin22	Smax51	Smin29	Smin28	Smin6	Smin7
Smin4	Smin5	Smin2	Smin3	Smin0	Smin1
Smin48	Smin8	Smin9	S22	S23	S20
S21	S26	S27	S24	S25	S28
S29	Smin10	Smin11	Smin12	Smin13	Smin14
Smin15	Smax46	Smin17	Smin18	Smin19	GATSm7
MATSV8	MATSp4	MATSp8	MATSV1	MATSp6	MATSV3
MATSV2	MATSV5	MATSV4	MATSV7	MATSV6	MATSm8
MATSp1	MATSm4	MATSm5	MATSm6	MATSm7	MATSm1
MATSm2	MATSm3	MATSe4	MATSe5	MATSe6	MATSe7
MATSe1	MATSe2	MATSe3	MATSe8	MATSp3	MATSp7
MATSp5	MATSp2	GATSp8	GATSe5	GATSV3	GATSe7
GATSV2	GATSe4	GATSV1	GATSp7	GATSp6	GATSp5
GATSV7	GATSp4	GATSV6	GATSp3	GATSV5	GATSe1
GATSV4	GATSp1	GATSe2	GATSm2	GATSe3	GATSp2
GATSV8	GATSe8	GATSe6	GATSm3	GATSm6	GATSm1

GATSm4	GATSm5	GATSm8	TPSA	LogP	LogP2
UI	MR	ATSe1	ATSe2	ATSe3	ATSe4
ATSe5	ATSe6	ATSe7	ATSe8	ATSp8	ATSp3
ATSv8	ATSp1	ATSp7	ATSp6	ATSp5	ATSp4
ATSv1	ATSp2	ATSv3	ATSv2	ATSv5	ATSv4
ATSv7	ATSv6	ATSm8	ATSm1	ATSm2	ATSm3
ATSm4	ATSm5	ATSm6	ATSm7	QNmin	QOss
Mpc	QHss	SPP	LDI	QCmin	Mac
Qass	QNss	QCmax	QOmax	Tpc	Qmax
QOmin	Tnc	QHmin	QCss	QHmax	QNmax
Rnc	Rpc	Qmin	Tac	Mnc	EstateVSA8
EstateVSA9	EstateVSA4	EstateVSA5	EstateVSA6	EstateVSA7	EstateVSA0
EstateVSA1	EstateVSA2	EstateVSA3	PEOEVSA13	PEOEVSA12	PEOEVSA11
PEOEVSA10	VSAEstate0	VSAEstate1	VSAEstate2	VSAEstate3	VSAEstate4
VSAEstate5	VSAEstate6	VSAEstate7	VSAEstate8	LabuteASA	PEOEVSA3
PEOEVSA2	PEOEVSA1	PEOEVSA0	PEOEVSA7	PEOEVSA6	PEOEVSA5
PEOEVSA4	MRVSA5	MRVSA4	PEOEVSA9	PEOEVSA8	MRVSA1
MRVSA0	MRVSA3	MRVSA2	MRVSA9	slogPVSA10	slogPVSA11
MRVSA8	MRVSA7	MRVSA6	EstateVSA10	slogPVSA2	slogPVSA3
slogPVSA0	slogPVSA1	slogPVSA6	slogPVSA7	slogPVSA4	slogPVSA5
slogPVSA8	slogPVSA9	VSAEstate9	VSAEstate10	Hy	

10.3 Αποτελέσματα – Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται γραφικά για όλους τους παράγοντες που θέλουμε να μελετηθούν, οι οποίοι είναι το μήκος κύματος μέγιστης απορρόφησης ($\lambda_{\max}\text{Abs}$), το μήκος κύματος μέγιστης εκπομπής φθορισμού ($\lambda_{\max}\text{Emis}$), η μετατόπιση Stokes (Stokes shift), η ένταση απορρόφησης και η ένταση εκπομπής φθορισμού. Στο παρακάτω διάγραμμα ενδεικτικά απεικονίζεται η συνεισφορά όλων των μεταβλητών στο μήκος κύματος μέγιστης απορρόφησης.



Εικόνα 40. Διάγραμμα συνεισφοράς όλων των περιγραφών στο μήκος κύματος μέγιστης απορρόφησης.

Εξετάζοντας προσεκτικά τα διαγράμματα παρατηρείται πως οι μεταβλητές (ή περιγραφείς) που επηρεάζουν περισσότερο όλες τις παραμέτρους είναι οι ακόλουθες: MATSe, MATSm, MATSv, MATSp, GATSe, GATSm, GATsv, GATSp, AWeight, EstateVSA, PEOEVSA.

Οι Moran autocorrelation descriptors (MATSe, MATSm, MATSv, MATSp) και οι Geary autocorrelation descriptors (GATSe, GATSm, GATsv, GATSp) ανήκουν στους 2D-περιγραφείς αυτοσυσχέτισης (autocorrelation descriptors), το μέσο μοριακό βάρος (AWeight) ανήκει στους περιγραφείς μοριακής σύστασης (Molecular constitutional descriptors) και οι EstateVSA και οι PEOEVSA ανήκουν στους περιγραφείς τύπου MOE.

Πίνακας 20. Οι μοριακοί περιγραφείς με τη μεγαλύτερη συνεισφορά και η σημασία τους.

Molecular descriptor	Descriptor significance
MATSe#	Moran autocorrelation of lag# weighted by atomic Sanderson electronegativity
MATSm#	Moran autocorrelation of lag# weighted by atomic masses
MATSv#	Moran autocorrelation of lag# weighted by atomic van der Waals volume
MATSp#	Moran autocorrelation of lag# weighted by atomic polarizabilities
GATSe#	Geary autocorrelation of lag# weighted by atomic Sanderson electronegativity
GATSm#	Geary autocorrelation of lag# weighted by atomic masses
GATsv#	Geary autocorrelation of lag# weighted by atomic van der Waals volume

GATSp#	Geary autocorrelation of lag# weighted by atomic polarizabilities
AWeight	Average molecular weight
EstateVSA	MOE-type descriptors using Estate indices and surface area contributions
PEOEVSA	MOE-type descriptors using partial charges and surface area contributions

Πίνακας 21. Αποτελέσματα συντελεστών συσχέτισης (R2X, R2Y) και συντελεστή πρόβλεψης (Q2) για κάθε παράμετρο.

Παράμετροι	R2X	R2Y	Q2
Lamda max abs	0.619	0.826	0.214
Lamda max emis	0.828	0.99	0.792
Stokes shift UV	0.71	0.823	0.388
Stokes shift par	0.991	0.952	0.65
UV intensity	0.64	0.935	0.576
Fluor intensity	0.971	0.608	-0.153
Fluor intensity UV	0.631	0.781	0.0912
OPLS Fluor intensity	0.621	0.693	-0.21

Οι συντελεστές συσχέτισης (R2X, R2Y) είναι ένδειξη του πόσο καλά ταιριάζουν τα δεδομένα στο μοντέλο. Μεγάλες τιμές των συντελεστών αυτών (>0.5) είναι απαραίτητη προϋπόθεση για ένα καλό μοντέλο. Όμως, θα πρέπει να συνδυάζονται και με υψηλό συντελεστή πρόβλεψης (Q2 > 0.5).

Από τα αποτελέσματα (Πίνακας 21) φαίνεται ότι το μοντέλο που δημιουργήθηκε έχει αρκετά καλή συσχέτιση και πρόβλεψη όσον αφορά το μήκος κύματος μέγιστης εκπομπής, τη μετατόπιση Stokes και την ένταση απορρόφησης. Η αποτυχία πρόβλεψης των υπολοίπων παραμέτρων μπορεί να οφείλεται σε κακή συσχέτιση των πινάκων δεδομένων, στην ύπαρξη μεγάλου «θορύβου» στα δεδομένα ή από το γεγονός ότι υπάρχουν στα δεδομένα που μελετούμε σημαντικός αριθμός έκτροπων τιμών ή τέλος είναι πιθανό ότι υπάρχουν μοριακοί περιγραφείς που δεν έχουν συμπεριληφθεί.

11. Συμπεράσματα

Έχοντας πραγματοποιήσει την υπολογιστική μελέτη για τα βρωμίδια και τα τελικά παράγωγα και τη σύνθεση και μέτρηση φθορισμού για τα τελικά παράγωγα, μπορεί να πραγματοποιηθεί σύγκριση των αποτελεσμάτων και να διαπιστωθεί αν υπάρχει συμφωνία μεταξύ τους.

Αντιδραστικότητα βρωμιδίων

Οι κατατάξεις που ακολουθούν αφορούν τη σχετική αντιδραστικότητα των βρωμιδίων σύμφωνα με τους θεωρητικούς υπολογισμούς και τα πειραματικά αποτελέσματα.

Θεωρητικά αποτελέσματα: $IV > I > VIII > III > VII > V > II > VI$

Πειραματικά αποτελέσματα: $III, V > IV > VI > VII > VIII > I > II$

Όπως φαίνεται, τα αποτελέσματα αυτά δε συμπίπτουν. Αυτό οφείλεται κυρίως σε δύο λόγους: τη διαλυτότητα των βρωμιδίων στο διαλύτη της αντίδρασης και το σφάλμα στην παρατηρούμενη σειρά αντιδραστικότητας. Στους θεωρητικούς υπολογισμούς δε λαμβάνεται υπόψιν η διαλυτότητα των ουσιών. Πειραματικά, παρατηρήθηκε πως το βρωμίδιο III, που φέρει ένα ακόμα βρώμιο, είναι αρκετά πιο ευδιάλυτο από τα υπόλοιπα βρωμίδια. Επίσης, τα βρωμίδια IV και V, που φέρουν δύο νιτρο ομάδες, είναι εξαιρετικά δυσδιάλυτα και για να μπορέσουν να διαλυθούν προστέθηκε μικρή ποσότητα τετραϋδροφουρανίου στο μείγμα της αντίδρασης (Βλ. Χημικό μέρος). Για τη διεξαγωγή ακριβέστερων και πιο αξιόπιστων συμπερασμάτων θα πρέπει να πραγματοποιηθεί μελέτη της κινητικής αυτών των αντιδράσεων.

Φυσικοχημικές ιδιότητες τελικών παραγώγων

Πίνακας 13. Φυσικοχημικές ιδιότητες των ενώσεων 25-32.

(a) στο κενό, (b) σε ακετόνη, (c) oscillator strength, (d) Relative Fluorescence Unit.

Ενώσεις	Θεωρητικά ^a				Πειραματικά ^b			
	$\lambda_{\max}^{\text{abs}}$	$\lambda_{\max}^{\text{emis}}$	$\Delta\lambda^{\text{theor}}$	f^{c}	$\lambda_{\max}^{\text{abs}}$	$\lambda_{\max}^{\text{emis}}$	$\Delta\lambda^{\text{exp}}$	RFU ^d
25	516.2	560.8	44.6	0.691	536	587	51	11700
26	472.8	532.8	60	0.404	454	528	74	1929
27	418.9	463.1	44.2	0.637	524	579	55	10892
28	493.9	547.3	53.4	0.726	525	-	-	-
29	493.9	558.5	64.6	0.616	524	614	90	3490
30	505.9	552.9	47	0.793	535	598	63	13113
31	502.8	545.2	42.4	0.813	534	628	94	14144
32	503.6	545.8	42.2	0.813	536	626	90	8235

Στον Πίνακα 13 παρουσιάζονται συνοπτικά οι θεωρητικές και πειραματικές τιμές των φυσικοχημικών ιδιοτήτων για τις ενώσεις 25-32. Όπως είναι γνωστό, η ένταση της απορρόφησης και της εκπομπής είναι μέγεθος ανάλογο με τη συγκέντρωση της προς μέτρηση ουσίας. Συνεπώς, δεν είναι δυνατό να ληφθούν απόλυτες τιμές από τους θεωρητικούς υπολογισμούς. Το μέγεθος f , από τα θεωρητικά αποτελέσματα, σχετίζεται ανάλογα με την ένταση της εκπομπής.

Όσον αφορά τα πειραματικά αποτελέσματα, επιλέχθηκε να παρουσιαστούν οι μετρήσεις για τις ενώσεις 25-32 σε διαλύτη ακετόνη, καθώς είναι ένας από τους πιο άπολους διαλύτες από αυτούς που χρησιμοποιήθηκαν.

- Μετατόπιση Stokes

Πίνακας 14. Πειραματικές και θεωρητικές τιμές μετατόπισης Stokes για τις ενώσεις 25-32.
(a) στο κενό, (b) σε ακετόνη

Ενώσεις	$\Delta\lambda_{\text{theor}}^a$	$\Delta\lambda_{\text{exp}}^b$
25	44.53	51
26	59.99	74
27	44.28	55
28	53.35	-
29	64.63	90
30	46.97	63
31	42.47	94
32	42.19	90

Συγκρίνοντας τις θεωρητικές τιμές μετατόπισης Stokes με τις πειραματικές, παρατηρείται μια μικρή απόκλιση μεταξύ τους για τις ενώσεις 25, 26, 27 και 30, ενώ για τις ενώσεις 29, 31 και 32 η απόκλιση είναι αρκετά μεγαλύτερη. Οι αποκλίσεις στη μετατόπιση Stokes είναι αναμενόμενες διότι οι θεωρητικοί υπολογισμοί για τις ενώσεις 25-32 πραγματοποιήθηκαν στο κενό, μη λαμβάνοντας υπόψιν την επίδραση του διαλύτη. Διαλύτες με αυξημένη πολικότητα μετατοπίζουν την απορρόφηση και την εκπομπή σε μεγαλύτερο μήκος κύματος [29, 30].

- Ένταση εκπομπής φθορισμού

Θεωρητικά αποτελέσματα: (32, 31 > 30 > 28 > 25 > 27 > 29 > 26)^a

Πειραματικά αποτελέσματα: (31 > 30 > 25 > 27 > 32 > 29 > 26)^b

Σύγκριση με βάση (a) τον oscillator strength f και (b) την ένταση εκπομπής φθορισμού (RFU) σε διαλύτη ακετόνη.

Εξετάζοντας τα θεωρητικά και τα πειραματικά αποτελέσματα, φαίνεται πως υπάρχει σχετική συμφωνία. Η ένωση 28 δε βρίσκεται στην κατάταξη με τα πειραματικά αποτελέσματα, καθώς δεν παρουσίασε φθορισμό στην ακετόνη. Είναι γνωστό πως η εισαγωγή νιτρο ομάδας σε φθορίζουσες ενώσεις μειώνει σημαντικά ή ακόμα και εξαλείφει το φθορισμό. Παρόμοια επίδραση στο φθορισμό έχει και η εισαγωγή βαρέος ατόμου. Αντίθετα, με την προσθήκη αρωματικών δακτυλίων αυξάνεται η επιπεδότητα και τα π-ηλεκτρόνια του συστήματος και έτσι παρατηρείται αύξηση του φθορισμού. Όλα τα παραπάνω ισχύουν και για τις ενώσεις που εξετάστηκαν εδώ, με μόνη εξαίρεση την ένωση 32, που φέρει σαν υποκαταστάτη την 3-

φθοροφαινυλο ομάδα. Εισάγοντας το ηλεκτραρνητικό Φθόριο στο φαινυλικό υποκαταστάτη, αναμενόταν να αυξηθεί ο φθορισμός του παραγώγου, καθώς θα παρουσιαζόταν ένα push-pull φαινόμενο που κάποιοι υποκαταστάτες έλκουν και κάποιοι αποδίδουν ηλεκτρόνια [30]. Παρόλα αυτά, αυτό δε συμβαίνει εδώ, ίσως λόγω της θέσης του φθορίου στο φαινυλικό δακτύλιο. Ακόμα, παρατηρώντας τα αποτελέσματα για την ένωση 26, συμπεραίνουμε πως η νιτρο ομάδα στη θέση 3 είναι απαραίτητη για το φθορισμό. Πιθανότατα, ένα από τα οξυγόνα της νιτρο ομάδας δημιουργεί ισχυρό δεσμό υδρογόνου με το πρωτόνιο του C2, που όπως έχει φανεί σε παλαιότερη μελέτη, έχει όξινο χαρακτήρα. Ο δεσμός αυτός έχει σαν αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός εξαμελή «ψευδοδακτυλίου», που όπως φαίνεται είναι υπεύθυνος για το φθορισμό των ενώσεων. Η επιβεβαίωση της θεωρίας αυτής μπορεί να γίνει μετρώντας το φθορισμό σε ενώσεις που φέρουν υποκατάσταση και στον C2.

Παρόλα αυτά, για τη μέτρηση φθορισμού χρησιμοποιήθηκαν πέντε διαφορετικοί διαλύτες για κάθε ένωση. Όπως έχει αναφερθεί, ο διαλύτης έχει σημαντική επίδραση στο φθορισμό. Οι μετρήσεις σε διαλύτη ακετόνη βρίσκονται σε σχετική συμφωνία με τα θεωρητικά αποτελέσματα. Αυτό όμως δε συμβαίνει με όλους τους διαλύτες. Ανάλογα με την ένωση που θέλουμε να μετρήσουμε, επιλέγεται και ο κατάλληλος διαλύτης για τη ένταση φθορισμού και τη μετατόπιση Stokes αντίστοιχα. Οι ακόλουθες κατατάξεις περιλαμβάνουν τις βέλτιστες τιμές μετατόπισης Stokes και έντασης φθορισμού για κάθε ένωση.

Μετατόπιση Stokes: $30^a > 27^a > 29^a > 25^a > 28^a > 32^b > 31^b > 26^b$

Ένταση εκπομπής φθορισμού: $27^b > 29^b > 31^c > 30^c > 25^c > 32^c > 28^a > 26^b$

^a αιθανόλη, ^b ακετονιτρίλιο, ^c ακετόνη

Για τη μετατόπιση Stokes, ήταν αναμενόμενο τα καλύτερα αποτελέσματα να παρατηρούνται στους πολικότερους διαλύτες, αιθανόλη και ακετονιτρίλιο. Η ένταση φθορισμού έχει τις βέλτιστες τιμές για όλες σχεδόν τις ενώσεις σε δύο διαλύτες, την ακετόνη και το ακετονιτρίλιο. Η ακετόνη φαίνεται να ενισχύει το φθορισμό των ενώσεων που φέρουν επιπλέον φαινυλικό δακτύλιο, ενώ το ακετονιτρίλιο ευνοεί το φθορισμό των ενώσεων που φέρουν επιπλέον ηλεκτραρνητικό υποκαταστάτη. Για αναλυτικότερη μελέτη της επίδρασης του διαλύτη στο φθορισμό και πιο έγκυρη συσχέτιση με τις πειραματικές μετρήσεις, οι θεωρητικοί υπολογισμοί θα πρέπει να πραγματοποιηθούν εκ νέου σε επιδιαλυτοποιημένο περιβάλλον.

Από τα πειραματικά αποτελέσματα παρατηρούμε πως οι ενώσεις **27**, **29** και **30** έχουν εντονότερο φθορισμό και μεγαλύτερη μετατόπιση Stokes από την ένωση 25. Συνεπώς, στα βρωμίδια **III**, **V** και **VI** έχει επέλθει βελτιστοποίηση σε σχέση με το βρωμίδιο **I**.

Όσον αφορά το μοντέλο πρόβλεψης φυσικοχημικών ιδιοτήτων που δημιουργήθηκε με βάση τα πειραματικά αποτελέσματα των ενώσεων 25-32, απαιτείται βελτιστοποίηση διότι μπορεί να εξάγει καλή πρόβλεψη για το μήκος κύματος μέγιστης εκπομπής, τη μετατόπιση Stokes και την ένταση απορρόφησης, ενώ για την ένταση εκπομπής φθορισμού και το μήκος κύματος μέγιστης απορρόφησης η συσχέτιση των δεδομένων και η προβλεπτική ικανότητα του μοντέλου είναι φτωχή.

12. Μελλοντικοί στόχοι

Η μελέτη των ενώσεων που συντέθηκαν στην παρούσα εργασία παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον και θα μπορούσε να συνεχιστεί εξετάζοντας τα παρακάτω:

- Μελέτη της αντίδρασης σχηματισμού παραγώγων μεταξύ των βελτιστοποιημένων αντιδραστηρίων και άλλων πρωτοταγών αμινών.
- Μελέτη της κινητικής της αντίδρασης παραγωγοποίησης μεταξύ των βελτιστοποιημένων αντιδραστηρίων και της 2-βουτυλαμίνης.
- Σύνθεση και μελέτη φθορισμού τελικών παραγώγων που φέρουν υποκατάσταση στον C2.
- Εκτενέστερη υπολογιστική μελέτη των προϊόντων παραγωγοποίησης.
- Εξαγωγή ενός ακριβέστερου μοντέλου συσχέτισης και πρόβλεψης των φυσικοχημικών ιδιοτήτων με περισσότερους ή και διαφορετικής υφής μοριακούς περιγραφείς.

13. Πειραματικό μέρος

Τα σημεία τήξεως λήφθηκαν σε συσκευή Buchi και δεν είναι διορθωμένα. Οι χρωματογραφίες στήλης πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση silica gel 60AC.C (SDS 35-70 μm). Η παρακολούθηση των αντιδράσεων έγινε με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας σε πλάκες silica gel 60_{F254}. Τα φάσματα ^1H NMR, ^{13}C NMR και δύο διαστάσεων λήφθηκαν σε φασματοφωτόμετρο Bruker Avance 600 στα 600 MHz. Ως διαλύτες χρησιμοποιήθηκαν δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3), ακετόνη (acetone-d_6) και διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO-d_6).

13.1 Σύνθεση των 1-μεθυλο-2,7-δινιτρο-9H-ξανθεν-9-όνης (13) και 1-μεθυλο-2,5-δινιτρο-9H-ξανθεν-9-όνης (14).

Σε σφαιρική φιάλη που φέρει μίγμα οξικού οξέος και πυκνού θειικού οξέος σε αναλογία 2:1 (3 mL) προστίθεται η ένωση **8** (150 mg, 0.558 mmol) και στη συνέχεια πυκνό νιτρικό οξύ 65% (64.9 μL , 0.669 mmol) και το μείγμα της αντίδρασης θερμαίνεται στους 70 °C για 2 ώρες. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης, το μίγμα αφήνεται να έλθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και αποχύνεται σε παγόνερο. Το στερεό που καθιζάνει διηθείται υπό κενό και ξηραίνεται σε ξηραντήρα κενού υπεράνω άνυδρου Na_2SO_4 . Το μίγμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silica gel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης κυκλοεξάνιο: οξικό αιθυλεστέρα 6:1. Λαμβάνονται 100mg της ένωσης **13** (60%) και 42 mg της ένωσης **14** (25%).

1-μεθυλο-2,7-δινιτρο-9H-ξανθεν-9-όνη (13)

Σημείο τήξεως: >250 °C (acetone – n-heptane).

^1H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm): 8.84 (d, J = 2.8 Hz, 1H, H-8), 8.65 (dd, J = 9.2, 2.8 Hz, 1H, H-6), 8.32 (d, J = 9.1 Hz, 1H, H-3), 7.92 (d, J = 9.1 Hz, 1H, H-4), 7.78 (d, J = 9.2 Hz, 1H, H-5), 2.88 (s, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (150 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm): 176.55 (-C=O), 158.1 (C-4a), 157.93 (C-10a), 147.8 (C-2), 143.97 (C-7), 135.09 (C-1), 130.02 (C-3), 129.72 (C-6), 122.28 (C-8), 122.09 (C-8a), 119.99 (C-5), 119.88 (C-4), 118.08 (C-9a), 16.57 (CH_3).

1-μεθυλο-2,5-δινιτρο-9H-ξανθεν-9-όνη (14)

Σημείο τήξεως: 232-235 °C (CH₂Cl₂ – *n*-heptane).

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.51 (dd, *J* = 7.9, 1.5 Hz, 1H, H-6), 8.36 (dd, *J* = 7.9, 1.5 Hz, 1H, H-7), 8.04 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, H-3), 7.55 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, H-4), 7.50 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H, H-7), 2.95 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 176.27 (-C=O), 158.09 (C-4a), 148.55 (C-10a), 147.56 (C-2), 138.36 (C-5), 137.27 (C-1), 132.79 (C-6), 131.14 (C-8), 130.00 (C-3), 124.36 (C-8a), 124.10 (C-7), 120.41 (C-9a), 117.92 (C-4), 17.15 (CH₃).

13.2 Σύνθεση της 1-μεθυλο-2-νιτρο-7-βρωμο-9H-ξανθεν-9-όνης (18)

Σε σφαιρική φιάλη που φέρει πυκνό θειικό οξύ (5 mL) προστίθεται η ένωση **8** (1.13 g, 0.44 mol) και N-βρωμοηλεκτριμίδιο (0.807 g, 0.45 mol) και το μίγμα της αντίδρασης θερμαίνεται στους 90 °C για 2 ώρες. Στη μια ώρα προσθέτονται ακόμα 140 mg N-βρωμοηλεκτριμιδίου (0.78 mmol). Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης, το μίγμα αφήνεται να έλθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και αποχύνεται σε παγόνερο. Το στερεό που καθιζάνει διηθείται υπό κενό και ξηραίνεται σε ξηραντήρα κενού υπεράνω άνυδρου CaCl₂. Το μίγμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silica gel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης κυκλοεξάνιο: διχλωρομεθάνιο 4:1 και παραλαμβάνονται 1.12 g (76%) του παραγώγου **18** ως λευκού ιζήματος.

1-μεθυλο-7-βρωμο-9H-ξανθεν-9-όνη (18)

Σημείο τήξεως: 243-245 °C (CH₂Cl₂ – *n*-heptane)

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.37 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, H-8), 8.01 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, H-3), 7.82 (dd, *J* = 8.8, 2.4 Hz, 1H, H-6), 7.44 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, H-4), 7.38 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, H-5), 3.00 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 176.87 (-C=O), 137.55 (C-1), 138.25 (C-6), 147.98 (C-2), 129.43 (C-3), 117.41 (C-4), 119.65 (C-5), 158.76 (C-4a), 123.95 (C-7), 129.65 (C-8), 118.19 (C-8a), 120.56 (C-9a), 153.72 (C-10a), 17.37 (CH₃).

13.3 Γενική μέθοδος παρασκευής των ενώσεων **19-21**.

Μίγμα της ένωσης **18**, του κατάλληλου βορονικού οξέος, $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ και $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ σε αναλογία 1: 1.3: 2.15: 0.04, σε μείγμα διμεθοξυαιθανίου : νερού σε αναλογία 2:1, θερμαίνεται στους 90 °C, σε αυτόκλειστο, για 16 ώρες. Μετά το τέλος της αντίδρασης, το μείγμα αφήνεται να έλθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, αποχύνεται σε νερό (40 mL) και εκπλένεται με οξικό αιθυλεστέρα (3 x 40 mL), ξηραίνεται (άνυδρο Na_2SO_4) και συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Το μίγμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silica gel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης κυκλοεξάνιο: διχλωρομεθάνιο.

1-μεθυλο-2-νιτρο-7-φαινυλο-9H-ξανθεν-9-όνη (**19**)

Το μίγμα της ένωσης **19** καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silica gel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης κυκλοεξάνιο: διχλωρομεθάνιο 5:1.

Απόδοση αντίδρασης: 96%

Σημείο τήξεως: 210-212 °C (CH_2Cl_2 - pentane)

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.45 (d, J = 2.1 Hz, 1H, H-8), 8.00 (d, J = 9.1 Hz, 1H, H-3), 7.97 (dd, J = 8.6, 2.1 Hz, 1H, H-6), 7.65 (d, J = 7.4 Hz, 2H, H-2', H-6'), 7.53 (d, J = 8.6 Hz, 1H, H-5), 7.48 (t, J = 7.4 Hz, 2H, H-3', H-5'), 7.44 (d, J = 9.1 Hz, 1H, H-4), 7.39 (t, J = 7.4 Hz, 1H, H-4'), 3.03 (s, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 178.1 (-C=O), 158.87 (C-4a), 154.21 (C-10a), 147.78 (C-2), 139.19 (C-1'), 138.15 (C-7), 137.49 (C-1), 134.12 (C-6), 129.11 (C-3), 129.19 (2C, C-3', C-5'), 128.08 (C-4'), 127.18 (2C, C-2', C-6'), 124.77 (C-8), 122.76 (C-8a), 120.69 (C-9a), 118.21 (C-5), 117.44 (C-4), 17.41 (CH_3).

1-μεθυλο-2-νιτρο-7-(3,5-διμεθοξυφαινυλο)-9H-ξανθεν-9-όνη (**20**)

Το μίγμα της ένωσης **20** καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silica gel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης κυκλοεξάνιο: διχλωρομεθάνιο 2:1.

Απόδοση αντίδρασης: 78%

Σημείο τήξεως: 202-204 °C (CH_2Cl_2 – *n*-heptane)

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.46 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, H-8), 8.01 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H, H-3), 7.96 (dd, $J = 8.7, 2.4$ Hz, 1H, H-6), 7.53 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, H-5), 7.46 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H, H-4), 6.78 (d, $J = 2.2$ Hz, 2H, H-2', H-6'), 6.50 (t, $J = 2.2$ Hz, 1H, H-4'), 3.86 (s, 6H, 2 OCH_3), 3.03 (s, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 178.26 ($-\text{C}=\text{O}$), 161.49 (2C, C-3', C-5'), 158.94 (C-4a), 154.44 (C-10a), 147.93 (C-2), 141.43 (C-1'), 138.2 (C-7), 137.54 (C-1), 134.32 (C-6), 129.2 (C-3), 124.95 (C-8), 122.74 (C-8a), 120.77 (C-4), 118.14 (C-9a), 117.42 (C-5), 106.54 (2C, C-2', C-6'), 100.14 (C-4'), 55.68 (2C, 2 OCH_3), 17.44 (CH_3).

1-μεθυλο-2-νιτρο-7-(3-φθοροφαινυλο)-9H-ξανθεν-9-όνη (21)

Το μίγμα της ένωσης **21** καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silica gel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης κυκλοεξάνιο: διχλωρομεθάνιο 5:1.

Απόδοση αντίδρασης: 51%

Σημείο τήξεως: 224-226°C (CH_2Cl_2 – n-heptane)

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.46 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, H-8), 8.02 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H, H-3), 7.96 (dd, $J = 8.6, 2.3$ Hz, 1H, H-6), 7.56 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, H-5), 7.47 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H, H-4), 7.44 (d, $J = 3.9$ Hz, 2H, H-2', H-5'), 7.35 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H, H-6'), 7.10 (m, 1H, H-4'), 3.04 (s, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 178.06 ($-\text{C}=\text{O}$), 164.27/162.64 (C-3'), 158.91 (C-4a), 154.56 (C-10a), 147.78 (C-2), 141.52 (C-1'), 137.55 (C-1), 136.9 (C-7), 134.02 (C-6), 130.79/130.73 (C-2'), 129.25 (C-3), 125.09 (C-8), 122.87 (2C, C-8a, C-5'), 120.58 (C-9a), 118.39 (C-5), 117.41 (C-4), 115.03/114.89 (C-4'), 114.26/114.11 (C-6').

13.4 Σύνθεση της 1-βρωμομεθυλο-2-νιτρο-7-βρωμο-9H-ξανθεν-9-όνης (17)

Σε σφαιρική φιάλη που φέρει πυκνό θειικό οξύ (3 mL) προστίθεται η ξανθενόνη **9** (100 mg, 0.298 mmol) και στη συνέχεια N-βρωμοηλεκτριμίδιο (54 mg, 0.3 mmol) και το μείγμα της αντίδρασης θερμαίνεται στους 90 °C για 15 ώρες. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης, το μίγμα αφήνεται να έλθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και αποχύνεται σε παγόνερο. Το στερεό που καθιζάνει διηθείται υπό κενό και ξηραίνεται σε ξηραντήρα κενού υπεράνω άνυδρου CaCl_2 . Το μίγμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silica gel) χρησιμοποιώντας

ως σύστημα έκλουσης κυκλοεξάνιο: διχλωρομεθάνιο 2:1 και παραλαμβάνονται 4 mg (3.5 %) του παραγώγου **17**.

1-βρωμομεθυλο-2-νιτρο-7-βρωμο-9H-ξανθεν-9-όνη (17)

Σημείο τήξεως: dec (EtOAc)

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.46 (d, $J = 2.5\text{ Hz}$, 1H, H-8), 8.15 (d, $J = 9.2\text{ Hz}$, 1H, H-3), 7.87 (dd, $J = 8.9, 2.5\text{ Hz}$, 1H, H-6), 7.62 (d, $J = 9.2\text{ Hz}$, 1H, H-4), 7.42 (d, $J = 8.9\text{ Hz}$, 1H, H-5), 5.63 (s, 2H, CH_2).

^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 176.23 (C=O), 159.09 (C-4a), 153.59 (C-10a), 146.49 (C-2), 138.76 (C-6), 135.96 (C-1), 130.43 (C-3), 129.98 (C-8), 123.72 (C-7), 120.48 (C-4), 119.64 (C-5), 118.64 (C-8a), 118.57 (C-9a), 23.23 (CH_2).

13.5 Γενική μέθοδος παρασκευής των ενώσεων **15**, **16**, **22** - **24**.

Μίγμα της κατάλληλης ξανθενόνης (**13**, **14**, **19** – **21**), N-βρωμοηλεκτριμίδιου και διβενζοϋλοϋπεροξειδίου σε αναλογία 1: 0.1: 1.1 αντίστοιχα, σε άνυδρο τετραχλωράνθρακα, υπό ατμόσφαιρα αργού, αναδεύεται σε θερμοκρασία βρασμού, ακτινοβολούμενο με λάμπα UV 150 W. Μετά το τέλος της αντίδρασης, το μίγμα αφήνεται να έλθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, εκπλένεται με υδατικό διάλυμα $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (30 mL), νερό (3 x 40 mL), ξηραίνεται (άνυδρο Na_2SO_4) και συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Το μίγμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silica gel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης κυκλοεξάνιο: οξικό αιθυλεστέρα.

1-βρωμομεθυλο-2,7-δινιτρο-9H-ξανθεν-9-όνη (15)

Το μίγμα της ένωσης **15** καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silica gel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης κυκλοεξάνιο: οξικό αιθυλεστέρα 2:1.

Απόδοση αντίδρασης: 63%

Σημείο τήξεως: 230-232 °C (CH_2Cl_2 – pentane)

^1H NMR (600 MHz, Acetone) δ 9.03 (d, $J = 1.7\text{ Hz}$, 1H, H-8), 8.72 (dd, $J = 9.1, 1.7\text{ Hz}$, 1H, H-6), 8.42 (d, $J = 9.2\text{ Hz}$, 1H, H-3), 7.96 (d, $J = 9.2\text{ Hz}$, 1H, H-4), 7.94 (d, $J = 9.1\text{ Hz}$, 1H, H-5), 5.64 (s, 2H, CH_2).

¹³ C NMR (600 MHz, Acetone) δ 177.2 (-C=O), 160.01 (C-4a), 158.99 (C-10a), 148.08 (C-2), 145.62 (C-7), 135.56 (C-1), 132.14 (C-3), 130.92 (C-6), 123.72 (C-8), 123.28 (C-8a), 122.09 (C-4), 120.94 (C-5), 119.24 (C-9a), 24.28 (CH₂).

1-βρωμομεθυλο-2,5-δινιτρο-9H-ξανθεν-9-όνη (16)

Το μίγμα της ένωσης **16** καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silica gel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης κυκλοεξάνιο: οξικό αιθυλεστέρα 16:1.

Απόδοση αντίδρασης: 35%

Σημείο τήξεως: dec (CH₂Cl₂ - pentane)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 8.60 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H, H-6), 8.55 – 8.53 (m, 1H, H-8), 8.41 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, H-3), 7.93 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, H-4), 7.70 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H, H-7), 5.48 (s, 2H, CH₂).

¹³ C NMR (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 175.62 (-C=O), 157.93 (C-4a), 146.97 (C-10a), 146.6 (C-2), 137.97 (C-5), 133.6 (C-1), 132.16 (C-6), 131.51 (C-8), 131.13 (C-3), 124.56 (C-7), 123.71 (C-8a), 121.17 (C-4), 118.09 (C-9a), 24.33 (CH₂Br).

1-βρωμομεθυλο-2-νιτρο-7-φαινυλο-9H-ξανθεν-9-όνη (22)

Το μίγμα της ένωσης **22** καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silica gel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης κυκλοεξάνιο: οξικό αιθυλεστέρα 16:1.

Απόδοση αντίδρασης: 36%

Σημείο τήξεως: 219 °C (CH₂Cl₂ – *n*-heptane)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 8.41 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, H-8), 8.39 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, H-3), 8.25 (dd, *J* = 8.7, 2.2 Hz, 1H, H-6), 7.94 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, H-4), 7.83 – 7.79 (m, 3H, H-5, H-2', H-6'), 7.54 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, H-3', H-5'), 7.44 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, C-4'), 5.56 (s, 2H, CH₂Br).

¹³ C NMR (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 176.19 (-C=O), 158.52 (C-4a), 153.79 (C-10a), 146.02 (C-2), 139.02 (C-1'), 138.28 (C-7), 137.19 (C-1), 134.59 (C-6), 130.45 (C-3), 129.23 (2C, C-3', C-5'), 128.07 (C-4'), 126.84 (2C, C-2', C-6'), 123.45 (C-8), 122.02 (C-8a), 121.11 (C-9a), 118.68 (C-5), 117.89 (C-4), 24.57 (CH₂).

1-βρωμομεθυλο-2-νιτρο-7-(3,5-διμεθοξυφαινυλο)-9H-ξανθεν-9-όνη (23)

Το μίγμα της ένωσης **23** καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silica gel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης κυκλοεξάνιο: οξικό αιθυλεστέρα 16:1.

Απόδοση αντίδρασης: 45%

Σημείο τήξεως: 213-214°C (EtOAc)

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.55 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, H-8), 8.16 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, H-3), 8.01 (dd, *J* = 8.7, 2.3 Hz, 1H, H-6), 7.64 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, H-4), 7.58 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, H-5), 6.80 (d, *J* = 2.2 Hz, 2H, H-2', H-6'), 6.52 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H, H-4'), 5.69 (s, 2H, CH₂), 3.88 (s, 6H, 2 OCH₃).

¹³C (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 177.75 (-C=O), 161.6 (2C, C-3', C-5'), 159.1 (C-4a), 154.28 (C-10a), 146.25 (C-2), 141.28 (C-1'), 138.73 (C-7), 134.82 (2C, C-1, C-6), 130.28 (C-3), 125.24 (C-8), 122.51 (C-8a), 120.51 (C-4), 118.55 (C-9a), 118.15 (C-5), 105.53 (2C, C-2', C-6'), 100.3 (C-4'), 55.71 (2C, 2 OCH₃), 23.29 (CH₂).

1-βρωμομεθυλο-2-νιτρο-7-(3-φθοροφαινυλο)-9H-ξανθεν-9-όνη (24)

Το μίγμα της ένωσης **24** καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silica gel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης κυκλοεξάνιο: οξικό αιθυλεστέρα 16:1.

Απόδοση αντίδρασης: 58%

Σημείο τήξεως: 210-211 °C (CH₂Cl₂ – *n*-heptane)

¹H NMR (600 MHz, acetone-d₆) δ (ppm): 8.51 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, H-8), 8.36 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, H-3), 8.26 (dd, *J* = 8.7, 2.4 Hz, 1H, H-6), 7.91 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, H-4), 7.78 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, H-5), 7.69 – 7.66 (m, 1H, H-6'), 7.63 – 7.57 (m, 2H, H-2', H-5'), 7.24 – 7.20 (m, 1H, C-4'), 5.71 (s, 2H, CH₂).

¹³C NMR (600 MHz, acetone-d₆) δ (ppm); 177.91 (-C=O), 165.09/163.47 (C-3'), 160.07 (C-4a), 155.48 (C-10a), 147.53 (C-2), 142.11 (C-1'), 137.54 (C-7), 135.51 (C-1), 135.46 (C-6), 131.97/131.91 (C-2'), 131.37 (C-3), 125.31 (C-8), 123.9/123.41 (C-6'), 122.07 (C-8a), 121.85 (C-4), 119.59 (C-5), 119.21 (C-9a), 115.61/115.47 (C-4'), 114.74/114.59 (C-5'), 24.45 (CH₂).

13.6 Γενική μέθοδος παρασκευής των ενώσεων 25-33.

Σε εναιώρημα της κατάλληλης βρωμομεθυλοξανθενόνης (10 mg, **9**, **12**, **15-17**, **22-24**) σε απόλυτη αιθανόλη (5 mL), προστίθεται 10μοριακή ποσότητα 2-βουτυλαμίνη και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 1-5 ώρες. Μετά το τέλος της αντίδρασης, η αιθανόλη απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση και το στερεό υπόλειμμα που λαμβάνεται διαλύεται σε διχλωλομεθάνιο (20 mL), πλένεται με νερό (3 X 20 mL), ξηραίνεται (άνυδρο Na_2SO_4) και συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Το μίγμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silica gel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης κυκλοεξάνιο: οξικό αιθυλεστέρα.

1-(2-βουτυλο)-3-νιτρο-1*H*-βενζοπυρανο[4,3,2-*bc*]ισοϊνδόλιο (25)

Το μίγμα της ένωσης **25** καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silica gel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης κυκλοεξάνιο: οξικό αιθυλεστέρα 10:1.

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.13 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, H-4), 7.64 (dd, $J = 7.8, 1.5$ Hz, 1H, H-10), 7.62 (s, 1H, H-2), 7.24 (dddd, $J = 22.1, 14.9, 7.8, 1.5$ Hz, 3H, H-7, H-8, H-9), 6.15 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, H-5), 4.87 (h, $J = 6.8$ Hz, 1H, CH), 2.14 – 2.08 (m, 1H, H_1 από $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH})\text{CH}_3$), 2.06 – 1.98 (m, 1H, H_2 από $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH})\text{CH}_3$), 1.71 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH})\text{CH}_3$), 0.98 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH})\text{CH}_3$).

^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 157.77 (C-5a), 153.15 (C-6a), 131.98 (C-3), 130.21 (C-4), 127.93 (C-8), 125.26 (C-9), 120.71 (C-10), 119.88 (C-2b), 119.69 (C-10b), 118.85 (C-7), 118.6 (C-10a), 115.59 (C-2a), 111.59 (C-2), 98.09 (C-5), 56.98 (CH), 30.69 (CH_2), 21.51 ($\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH})\text{CH}_3$), 10.72 ($\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH})\text{CH}_3$).

1-(2-βουτυλο)-5-νιτρο-1*H*-βενζοπυρανο[4,3,2-*bc*]ισοϊνδόλιο (26)

Το μίγμα της ένωσης **26** καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silica gel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης κυκλοεξάνιο: οξικό αιθυλεστέρα 5:1.

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.66 (dt, $J = 6.9, 3.4$ Hz, 1H, H-10), 7.58 – 7.55 (m, 2H, H-3, H-7), 7.33 – 7.29 (m, 1H, H-8), 7.26 – 7.23 (m, 1H, H-9), 7.07 (s, 1H, H-2), 6.75 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, H-4), 4.88 (h, $J = 6.7$ Hz, 1H, CH), 2.08 – 2.03 (m, 1H, H_1 από $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH})\text{CH}_3$), 2.02 – 1.95 (m, 1H, H_2 από $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH})\text{CH}_3$), 1.67 (d, $J = 6.7$ Hz, 1H, $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH})\text{CH}_3$), 0.98 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH})\text{CH}_3$).

1-(2-βουτυλο)-3-νιτρο-9-βρωμο-1*H*-βενζοπυρανο[4,3,2-*bc*]ισοϊνδόλιο (27)

Το μίγμα της ένωσης **27** καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silica gel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης κυκλοεξάνιο: οξικό αιθυλεστέρα 15:1.

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.16 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-4), 7.69 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, H-10), 7.67 (s, 1H, H-2), 7.31 (dd, *J* = 8.7, 2.2 Hz, 1H, H-8), 7.15 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, H-7), 6.20 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-5), 4.78 (m, 1H, CH), 2.15 – 2.08 (m, 1H, H₁ από CH₃CH₂(CH)CH₃), 2.05 – 1.99 (m, 1H, H₂ από CH₃CH₂(CH)CH₃), 1.73 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, CH₃CH₂(CH)CH₃), 0.99 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, CH₃CH₂(CH)CH₃).

¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 157.27 (C-5a), 152.29 (C-6a), 132.57 (C-3), 130.43 (C-8), 129.98 (C-4), 123.27 (C-10), 120.53 (C-9), 120.5 (C-2b), 120.29 (C-7), 118.02 (C-10a), 117.99 (C-10b), 115.76 (C-2a), 112.66 (C-2), 98.47 (C-5), 57.16 (CH), 30.8 (CH₂), 21.18 (CH₃CH₂(CH)CH₃), 10.71 (CH₃CH₂(CH)CH₃).

1-(2-βουτυλο)-3,9-δινιτρο-1*H*-βενζοπυρανο[4,3,2-*bc*]ισοϊνδόλιο (28)

Το μίγμα της ένωσης **28** καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silica gel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης κυκλοεξάνιο: οξικό αιθυλεστέρα 5:1.

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.43 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, H-10), 8.16 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, H-4), 8.08 (dd, *J* = 9.0, 2.5 Hz, 1H, H-8), 7.75 (s, 1H, H-2), 7.33 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-7), 6.29 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, H-5), 4.90 – 4.83 (m, 1H, CH), 2.14 (m, 1H, H₁ από CH₃CH₂(CH)CH₃), 2.06 (m, 1H, H₂ από CH₃CH₂(CH)CH₃), 1.77 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, CH₃CH₂(CH)CH₃), 1.04 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, CH₃CH₂(CH)CH₃).

¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 157.24 (C-5a), 156.11 (C-6a), 144.63 (C-3), 143.98 (C-9), 131.06 (C-4), 129.32 (C-8), 122.96 (C-10), 120.71 (C-10a), 119.85 (C-2b), 119.16 (C-7), 117.0 (C-10b), 115.77 (C-2a), 113.68 (C-2), 99.2 (C-5), 57.47 (CH), 29.85 (CH₂), 21.45 (CH₃CH₂(CH)CH₃), 10.72 (CH₃CH₂(CH)CH₃).

1-(2-βουτυλο)-3,7-δινιτρο-1*H*-βενζοπυρανο[4,3,2-*bc*]ισοϊνδόλιο (29)

Το μίγμα της ένωσης **29** καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silica gel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης κυκλοεξάνιο: οξικό αιθυλεστέρα 8:1.

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.16 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, H-4), 7.73 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, H-8), 7.72 (s, 1H, H-2), 7.58 (dd, $J = 8.1, 1.1$ Hz, 1H, H-10), 7.24 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H, H-9), 6.33 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, H-5), 4.82 (h, $J = 6.8$ Hz, 1H, CH), 2.18 – 2.09 (m, 1H, H_1 από $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH})\text{CH}_3$), 2.04 (m, 1H, H_2 από $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH})\text{CH}_3$), 1.73 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH})\text{CH}_3$), 1.00 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH})\text{CH}_3$).

^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 155.37 (C-5a), 145.17 (C-6a), 141.04 (C-7), 133.67 (C-3), 129.42 (C-4), 124.59 (C-9), 123.48 (C-8), 122.26 (C-10), 121.28 (C-10a), 120.53 (C-2b), 117.11 (C-10b), 115.54 (C-2a), 113.43 (C-2), 99.55 (C-5), 57.4 (CH), 29.85 (CH_2), 21.59 ($\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH})\text{CH}_3$), 10.7 ($\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH})\text{CH}_3$).

1-(2-βουτυλο)-3-νιτρο-9-φαινυλο-1*H*-βενζοπυρανο[4,3,2-*bc*]ισοϊνδόλιο (30)

Το μίγμα της ένωσης **30** καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silica gel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης κυκλοεξάνιο: οξικό αιθυλεστέρα 15:1.

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.20 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, H-4), 7.81 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, H-10), 7.68 (s, 1H, H-2), 7.60 – 7.57 (m, 2H, H-2', H-6'), 7.51 (dd, $J = 10.5, 4.9$ Hz, 2H, H-3', H-5'), 7.45 (dd, $J = 8.5, 2.0$ Hz, 1H, H-8), 7.42 (t, $J = 6.3$ Hz, 1H, H-4'), 7.37 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, H-7), 6.23 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, H-5), 4.94 (h, $J = 6.7$ Hz, 1H, CH), 2.19 – 2.13 (m, 1H, H_1 από $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH})\text{CH}_3$), 2.09 – 2.02 (m, 1H, H_2 από $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH})\text{CH}_3$), 1.75 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH})\text{CH}_3$), 1.01 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH})\text{CH}_3$).

^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 157.72 (C-5a), 152.74 (C-6a), 140.28 (2C, C-3, C-1'), 138.61 (C-9), 132.23 (C-8), 130.26 (C-4), 129.26 (2C, C-3', C-5'), 127.97 (C-4'), 127.1 (2C, C-2', C-6'), 126.85 (C-10), 120.17 (C-2b), 119.16 (C-7), 119.03 (C-10a), 117.4 (C-10b), 115.74 (C-2a), 111.97 (C-2), 98.36 (C-5), 57.21 (CH), 29.85 (CH_2), 21.55 ($\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH})\text{CH}_3$), 10.84 ($\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH})\text{CH}_3$).

1-(2-βουτυλο)-3-νιτρο-9-(3,5-διμεθοξυφαινυλο)-1*H*-βενζοπυρανο[4,3,2-*bc*]ισοϊνδόλιο (31)

Το μίγμα της ένωσης **31** καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silica gel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης κυκλοεξάνιο: οξικό αιθυλεστέρα 15:1.

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.20 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H-3), 7.78 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, H-10), 7.68 (s, 1H, H-2), 7.43 (dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz, 1H, H-8), 7.35 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H-7), 6.70 (d, $J = 2.2$ Hz, 2H, H-2', H-6'), 6.52 (t, $J = 2.2$ Hz, 1H, H-4'), 6.24 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H-5), 4.93 (d, $J = 6.7$ Hz,

1H, CH), 3.88 (s, 6H, 2 OCH₃), 2.19 – 2.11 (m, 1H, H₁απόCH₃CH₂(CH)CH₃), 2.07 – 1.98 (m, 1H, H₂απόCH₃CH₂(CH)CH₃), 1.75 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, CH₃CH₂(CH)CH₃), 1.01 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, CH₃CH₂(CH)CH₃).

1-(2-βουτυλο)-3-νιτρο-9-(3-φθοροφαινυλο)-1*H*-βενζοπυρανο[4,3,2-
bc]ισοϊνδόλιο (32)

Το μίγμα της ένωσης **32** καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (silica gel) χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης κυκλοεξάνιο: οξικό αιθυλεστέρα 10:1.

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.07 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-4), 7.66 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-10), 7.58 (s, 1H, H-2), 7.36 (td, *J* = 7.9, 6.0 Hz, 1H, H-5'), 7.32 (dd, *J* = 8.5, 2.0 Hz, 1H, H-8), 7.25 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, H-7, H-6'), 7.16 (ddd, *J* = 6.0, 4.1, 2.0 Hz, 1H, H-2'), 7.03 – 6.98 (m, 1H, H-4'), 6.12 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-5), 4.82 (h, *J* = 6.7 Hz, 1H, CH), 2.10 – 2.03 (m, 1H, H₁απόCH₃CH₂(CH)CH₃), 1.99 – 1.92 (m, 1H, H₂απόCH₃CH₂(CH)CH₃), 1.66 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, CH₃CH₂(CH)CH₃), 0.91 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, CH₃CH₂(CH)CH₃).

¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 164.23/162.59 (C-3'), 157.52 (C-5a), 153.01 (C-6a), 142.48 (C-3), 137.24 (C-9), 132.34 (C-1'), 130.8/130.75 (C-2'), 130.12 (C-4), 126.7 (C-10), 126.61 (C-8), 122.71 (C-5'), 120.22 (C-2b), 119.24 (2C, C-7, C-10b), 119.18 (C-10a), 115.69 (C-2a), 114.83/114.69 (C-4'), 114.08/113.94 (C-6'), 112.11 (C-2), 98.38 (C-5), 57.24 (CH), 29.83 (CH₂), 21.47 (CH₃CH₂(CH)CH₃), 10.8 (CH₃CH₂(CH)CH₃).

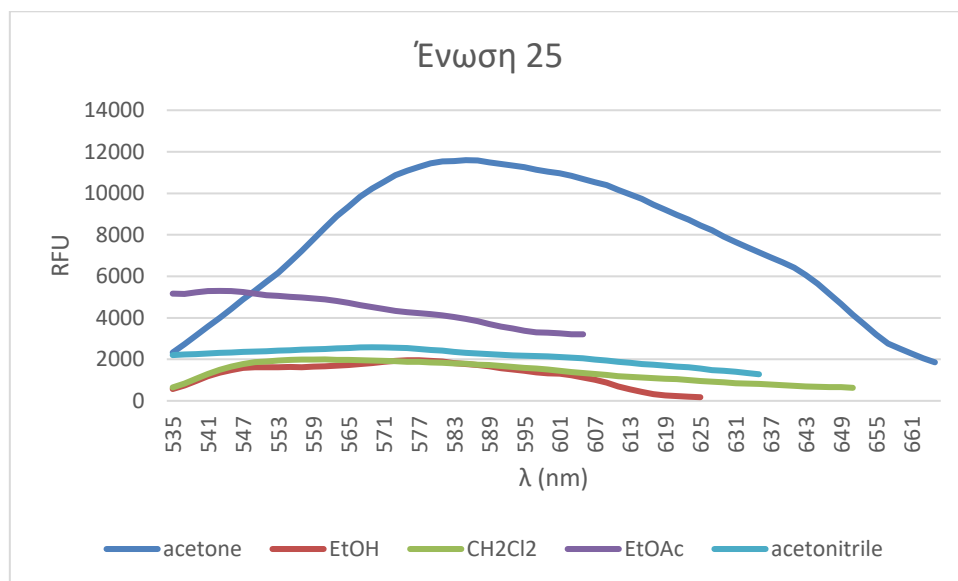
14.Βιβλιογραφία

1. P. Elmer, "An Introduction to Fluorescence Spectroscopy", PerkinElmer Ltd Post Office Lane Beaconsfield Buckinghamshire HP9 1QA (2000).
2. J.R. Lakowicz, "Principles of fluorescence spectroscopy" (3rd edition), Springer Science+Business Media: LLC, Singapore: 954 (2006).
3. P.W. Atkins, "Φυσικοχημεία - Τόμος ΙΙ", Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, (2009).
4. Ε. Γκίκας, Διδακτορική διατριβή (Αθήνα 2000).
5. A.M. Brouwer, "Standards for photoluminescence quantum yield measurements in solution", *Pure Appl. Chem.*, 83 (12): 2213–2228 (2011).
6. D.A. Skoog, F.J. Holler, T.A. Nieman, "Αρχές Ενόργανης Ανάλυσης" (5^η έκδοση), Εκδόσεις Κωσταράκης (2005).
7. W.R.Seitz, R.W.Frei, "Fluorescence Derivatization", *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 8(4): 374-375, 377 (1980).
8. L. Coppel, "Derivatives for HPLC analysis", 16-23 (2000).
9. N.D. Danielson, P.A. Gallagher, J.J. Bao, "Chemical Reagents and Derivatization Procedures in Drug Analysis", *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, R.A Meyers, Ed.; John Wiley & Sons Ltd: Chichester, U.K.: 1-5, (2000).
10. S.J. Smith, B.T. Sutcliffe, "The development of Computational Chemistry in the United Kingdom", *Reviews in Computational Chemistry*. 10: 271–316 (1997).
11. C.J. Cramer," Essentials of Computational Chemistry", Chichester: John Wiley & Sons, Ltd.: 153–189, 191-232 (2002).
12. F. Jensen, "Introduction to Computational Chemistry" (2nd edition), John Wiley and Sons: West Sussex, England: 98–149 (2007).
13. A. Hinchliffe, "Modelling Molecular Structures" (2nd edition), John Wiley and Sons: West Sussex, England: 186 (2000).
14. A. Szabo, N.S. Ostlund, "Modern Quantum Chemistry: Introduction to Advanced Electronic Structure Theory", Dover Publishing: Mineola, New York (1996).
15. P. Fuentealba, E. Florez, W. Tiznado, "Topological Analysis of the Fukui Function", *J. Chem. Theory Comput.*, 6 (5): 1470–1478 (2010).
16. R. Todeschini, V. Consonni, "Handbook of Molecular Descriptors", Wiley-VCH (2000).
17. C. Hadjipavlou, I. Kostakis, N. Pouli, P. Marakos, H. Pratsinis, D. Kletsas, "1-Ethyl-1H-3-nitrobenzopyrano[4,3,2-cd]isoindole: a novel heterocyclic ring system bearing an

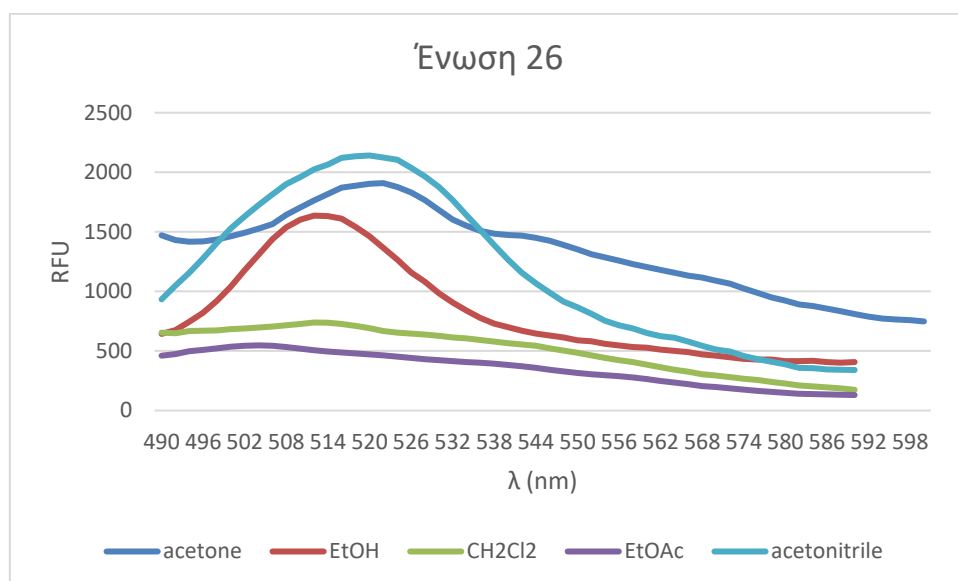
- unusually labile deuterium-exchangeable aromatic proton", *Tett Lett* 47: 3681-3684 (2006).
18. C. Hadjipavlou, I. Kostakis, N. Pouli, P. Marakos, H. Pratsinis, D. Kletsas, "Synthesis and antiproliferative activity of substituted benzopyranoisindoles: A new class of cytotoxic compounds", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 16 :4822–4825 (2006).
 19. P.P. Pershukovich, D.I. Volkovich, L.L. Gladkov, S.V. Dudkin, A.P. Stupak, V.A. Kuzmitssky, "The Fluorescence and Electronic Structure of Phenyl-Substituted Tetraazachlorin Molecules." *Optics and Spectroscopy* 117(5): 722–740 (2014).
 20. T.C. Werner, W. Hawkins, J. Facci, R. Torrisi, T. Trembath, "Substituent Effects on the Fluorescence Properties of Aromatic Esters of 9-Anthroic Acid." *The Journal of Physical Chemistry* 82(3): 298–301 (1978).
 21. T. Ueno, Y. Urano, H. Kojima, T. Nagano, "Mechanism-Based Molecular Design of Highly Selective Fluorescence Probes for Nitrate Stress." *Journal of the American Chemical Society* 128(33): 10640–10641 (2006).
 22. A. Fathima, M. Umadevi, V. Ramakrishnan, "Absorption, Fluorescence Studies and Ab Initio Calculations on Binary Mixture of P-Dimethylaminobenzaldehyde." *Journal of Fluorescence* 18(2): 383–391 (2008).
 23. D. Lathey, "Fluorescence Prediction through Computational Chemistry." (2005).
 24. S. Uchiyama, T. Santa, N. Okiyama, "Semi-Empirical PM3 Calculations Predict the Fluorescence Quantum Yields (Φ) of 4-Monosubstituted Benzofurazan Compounds." *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*: 1199–1207 (2000).
 25. S. Yesylevskyy, A. Klymchenko, A. Demchenko, "Semi-Empirical Study of Two-Color Fluorescent Dyes Based on 3-Hydroxychromone." *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* 755(1–3): 229–239 (2005).
 26. M. Khan, Z. Khan, "Electronic Absorption Spectra of Amino Substituted Anthraquinones and Their Interpretation Using the ZINDO/S and AM1 Methods." *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 59(7): 1409–1426 (2003).
 27. J. Peszke, W. Śliwa, "AM1 CI and ZINDO/S Study of Quaternary Salts of Diazaphenanthrenes with Haloalkanes." *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 58(10): 2127–2133 (2002).

28. S. Sasaki, G. Drummen, G. Konishi, "Recent Advances in Twisted Intramolecular Charge Transfer (TICT) Fluorescence and Related Phenomena in Materials Chemistry." *Journal of Materials Chemistry C* 4(14): 2731–43 (2016).
29. "Solvent and Environmental Effects." *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Springer US: Boston, MA: 205–235 (2006).
30. J. Mannekutla, B. Mulimani, S. Inamdar, "Solvent Effect on Absorption and Fluorescence Spectra of Coumarin Laser Dyes: Evaluation of Ground and Excited State Dipole Moments." *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 69(2): 419–426 (2008).
31. M. Alamiry, A. Benniston, J. Hagon, T. Winstanley, H. Lemmetyinen, N. Tkachenko, "The Fluorine Effect: Photophysical Properties of Borondipyrromethene (Bodipy) Dyes Appended at the Meso Position with Fluorinated Aryl Groups." *RSC Advances* 2(11): 4944–4950 (2012).
32. H. Freitas, T. Barros, M. Castilho, "2D Chemometric Studies of a Series of Azole Derivatives Active against Fluconazole-Resistant *Cryptococcus Gattii*." *Journal of the Brazilian Chemical Society* 24(6): 962–972 (2013).
33. P. Fuentealba, C. Cardenas, R. Pino-Rios, W. Tiznado, "Applications of Topological Methods in Molecular Chemistry", *Challenges and Advances in Computational Chemistry and Physics* 22, Springer: 227–241 (2016).

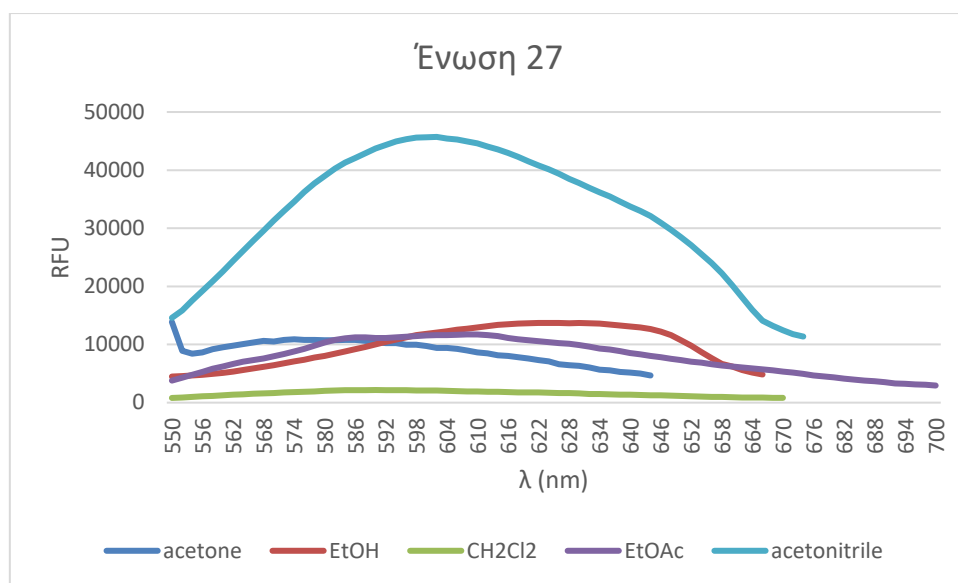
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ



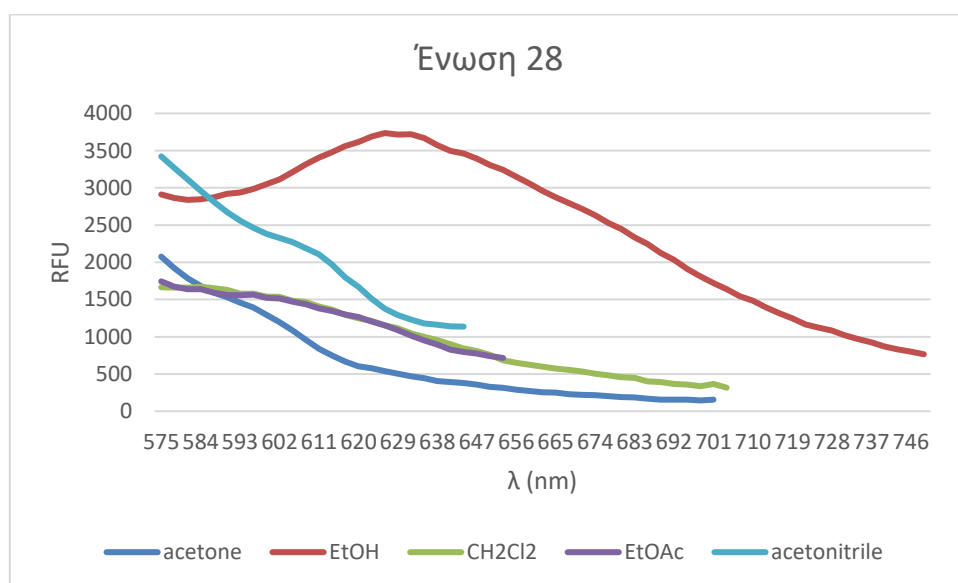
Εικόνα . Φάσματα εκπομπής φθορισμού της ένωσης 25 σε όλους τους διαλύτες.



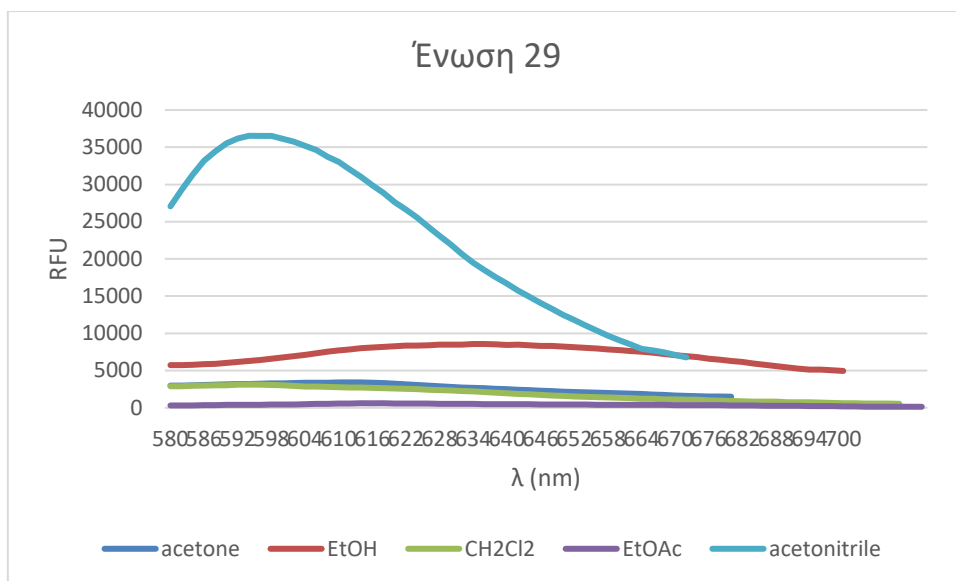
Εικόνα . Φάσματα εκπομπής φθορισμού της ένωσης 26 σε όλους τους διαλύτες.



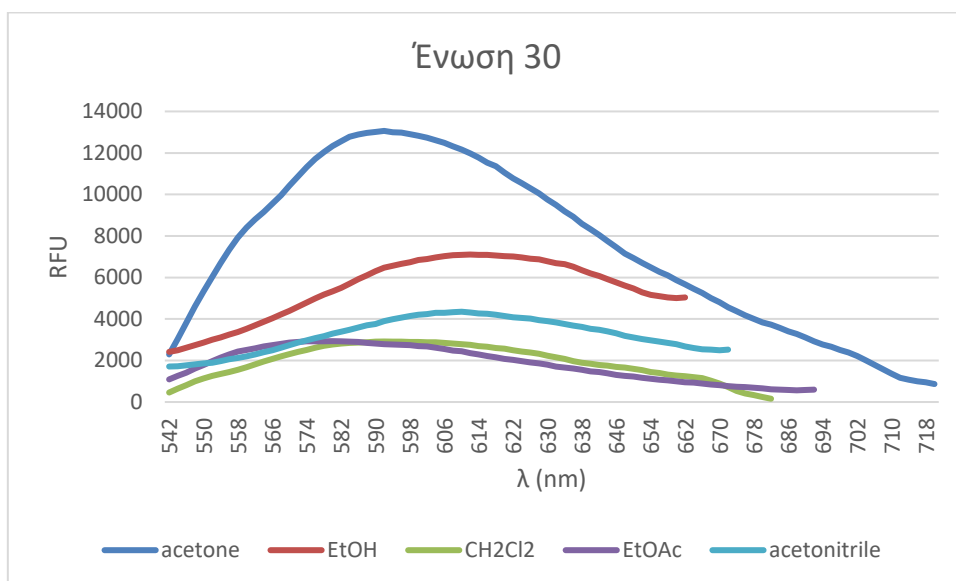
Εικόνα . Φάσματα εκπομπής φθορισμού της ένωσης 27 σε όλους τους διαλύτες.



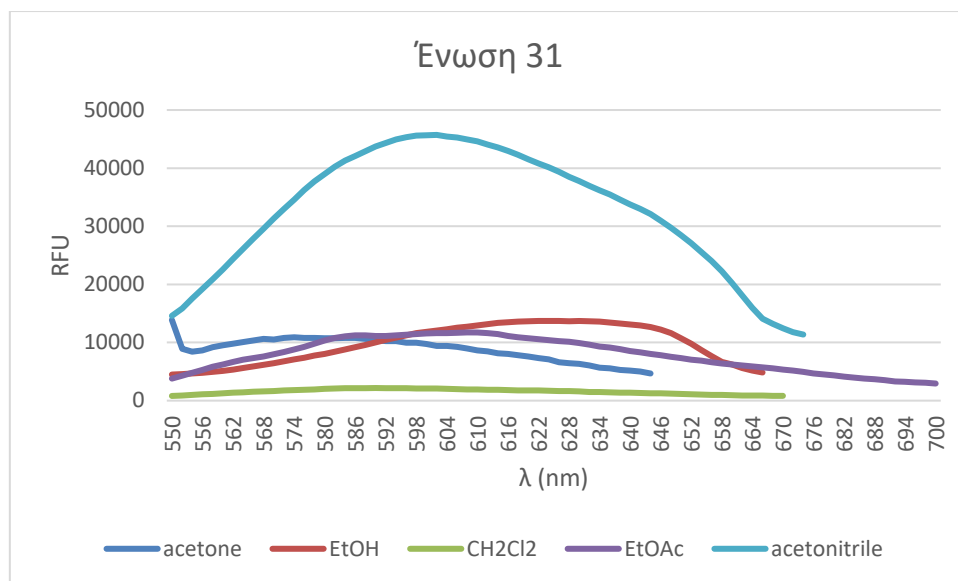
Εικόνα . Φάσματα εκπομπής φθορισμού της ένωσης 28 σε όλους τους διαλύτες.



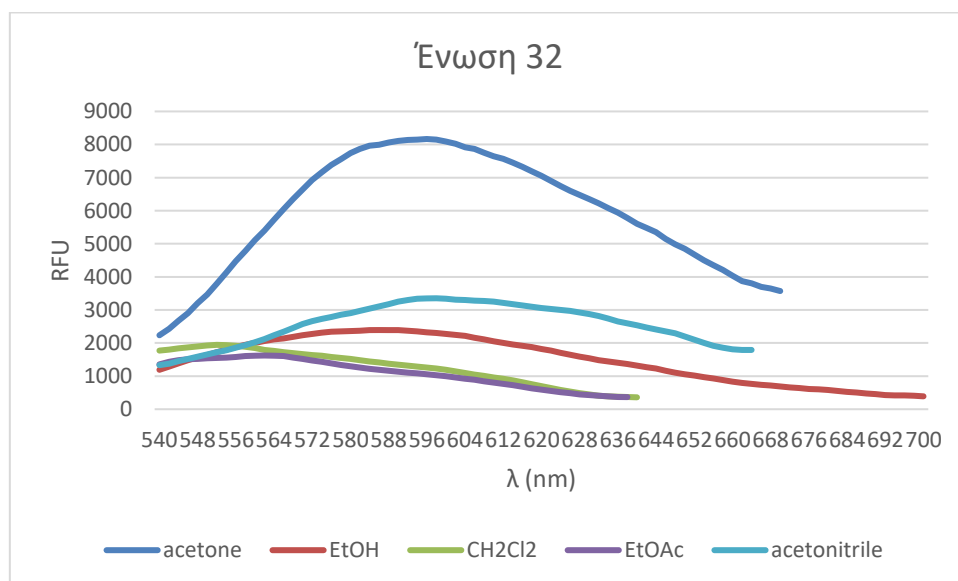
Εικόνα . Φάσματα εκπομπής φθορισμού της ένωσης 29 σε όλους τους διαλύτες.



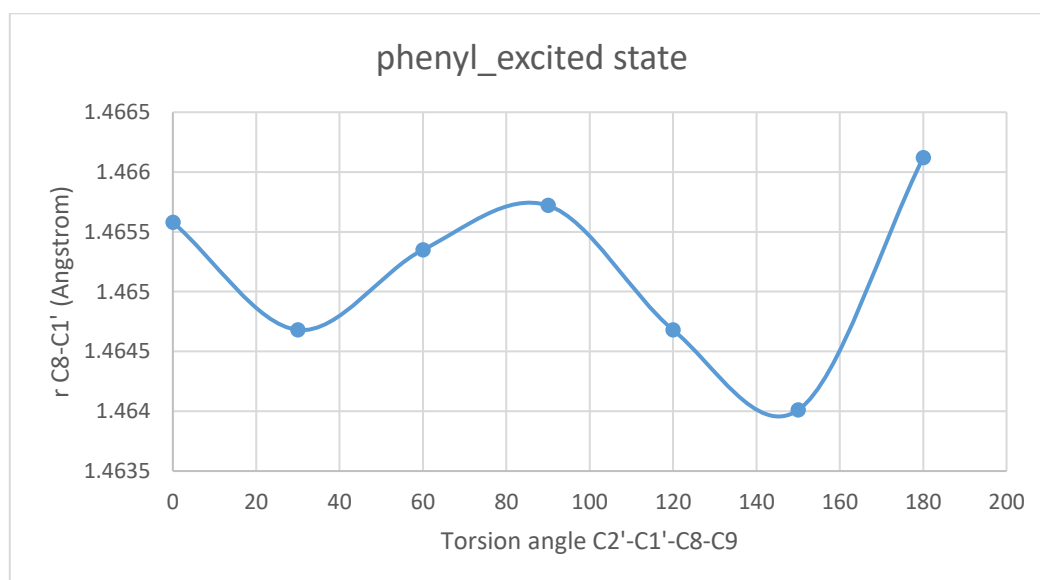
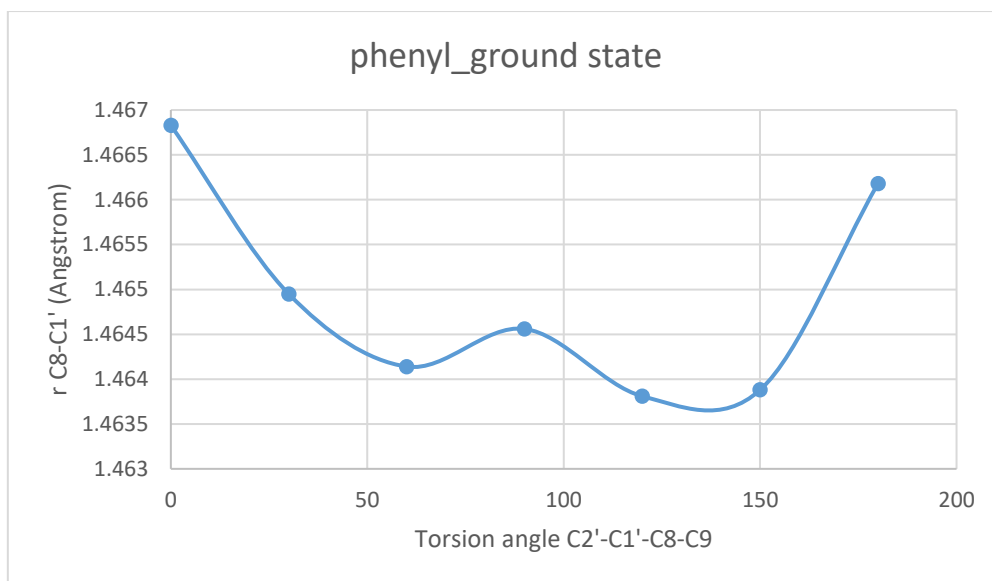
Εικόνα . Φάσματα εκπομπής φθορισμού της ένωσης 30 σε όλους τους διαλύτες.



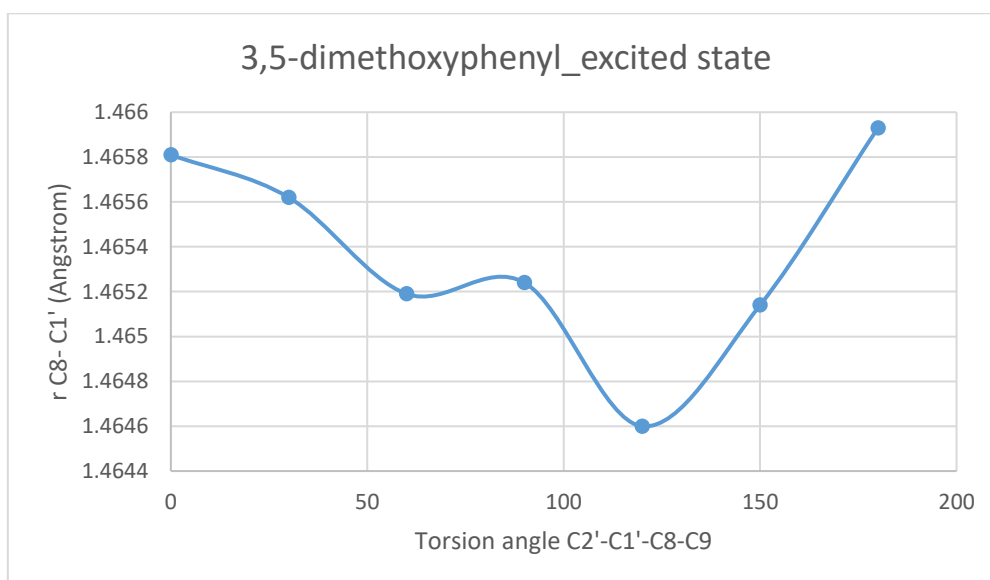
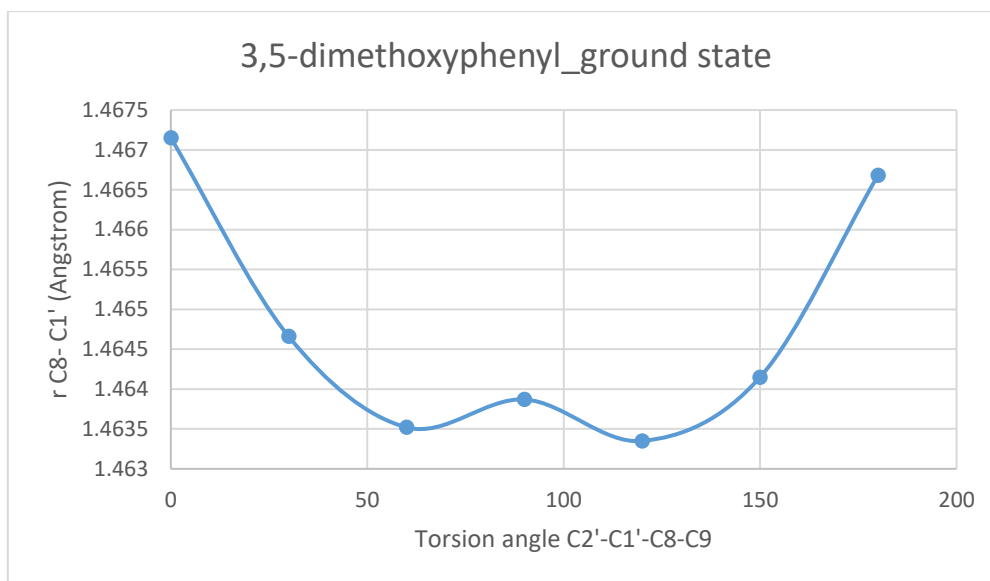
Εικόνα . Φάσματα εκπομπής φθορισμού της ένωσης 31 σε όλους τους διαλύτες.



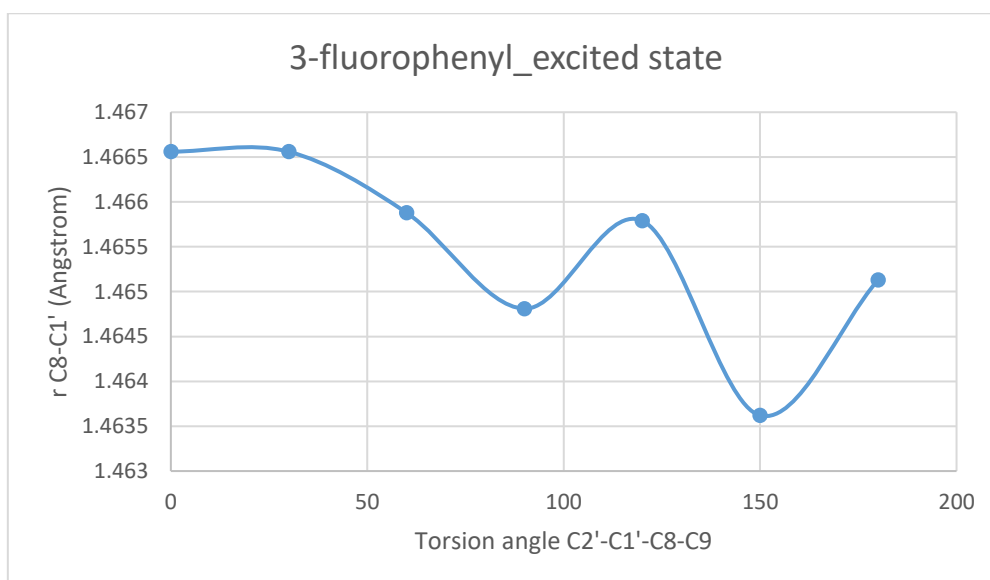
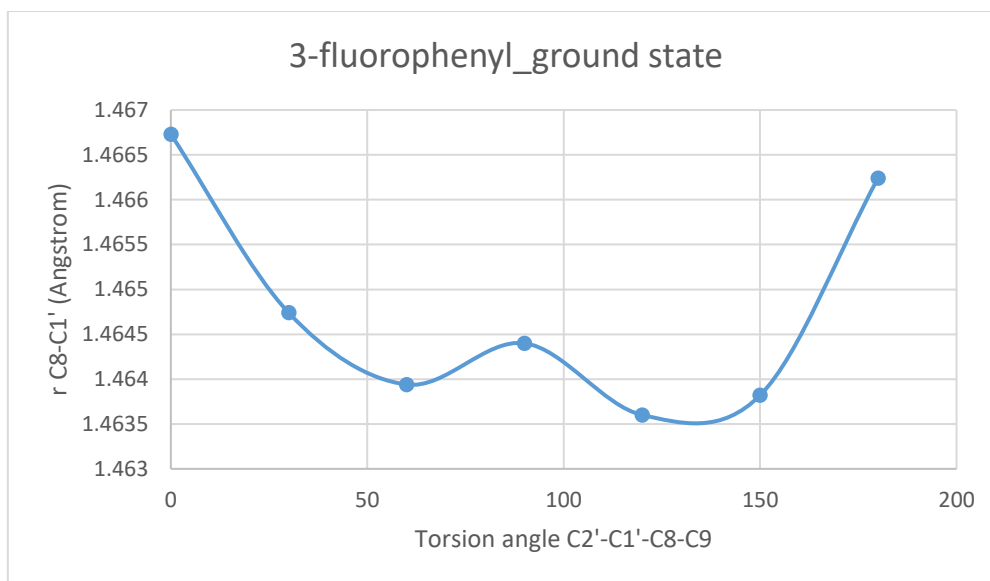
Εικόνα . Φάσματα εκπομπής φθορισμού της ένωσης 32 σε όλους τους διαλύτες.



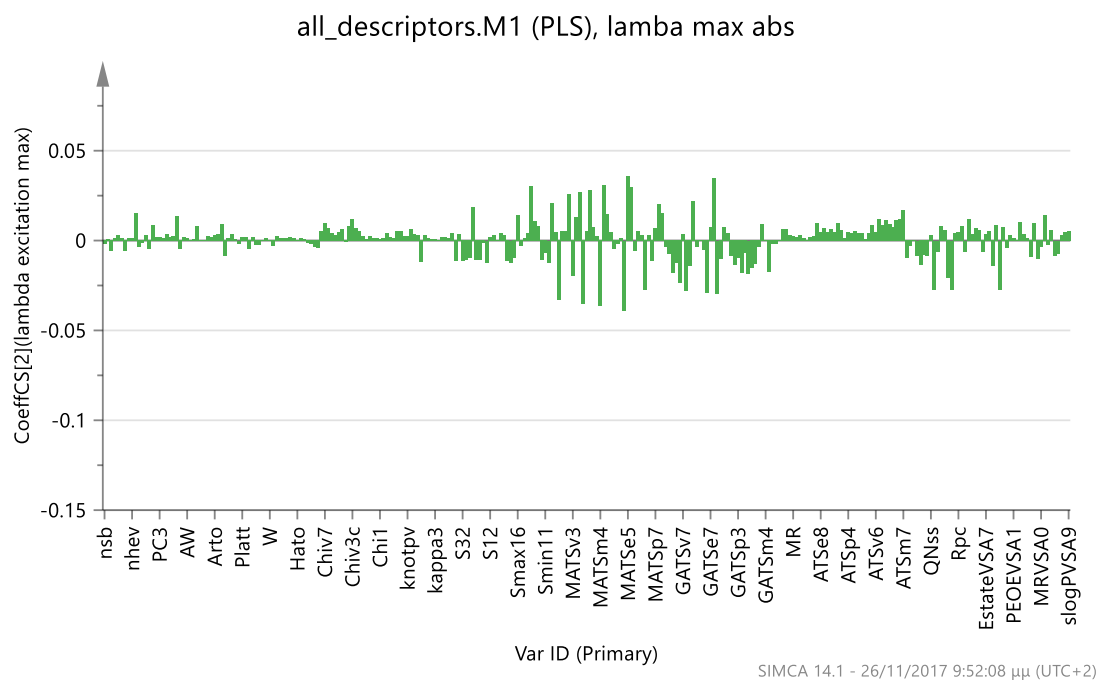
Εικόνες . Διαγράμματα μεταβολής του μήκους δεσμού rC8-C1' συναρτήσει της διέδρης γωνίας C2'-C1'-C9-C10 για την ένωση 30 στη βασική και στη διεγερμένη κατάσταση αντίστοιχα.



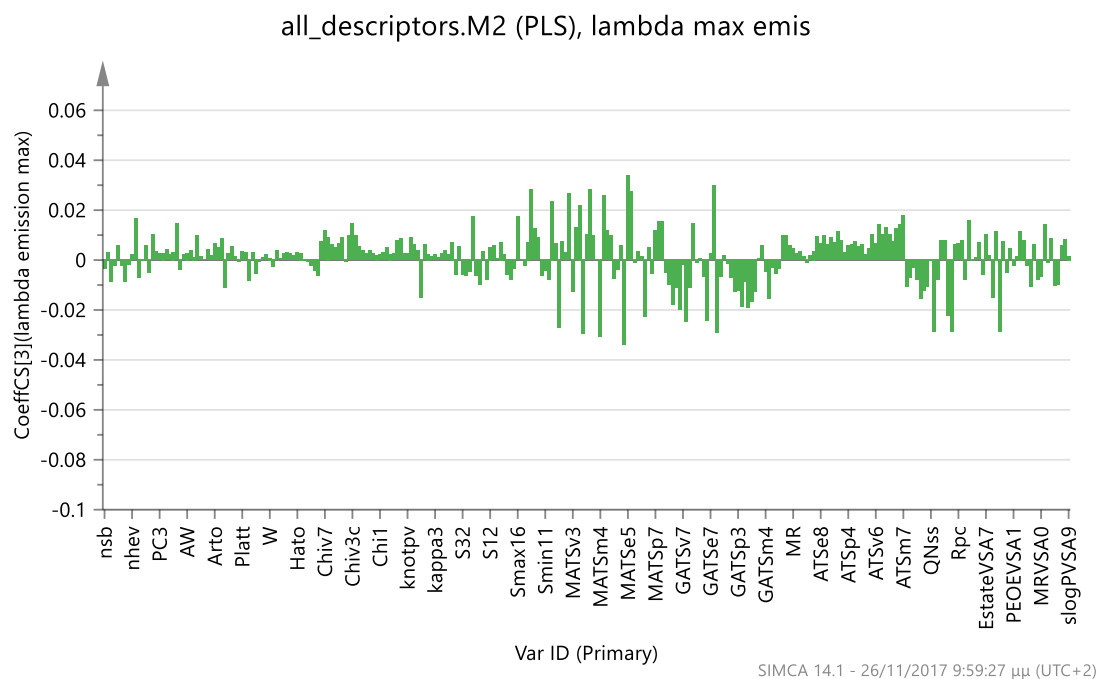
Εικόνες. Διαγράμματα μεταβολής του μήκους δεσμού $r_{C8-C1'}$ συναρτήσει της διέδρης γωνίας $C2'-C1'-C9-C10$ για την ένωση 31 στη βασική και στη διεγερμένη κατάσταση αντίστοιχα.



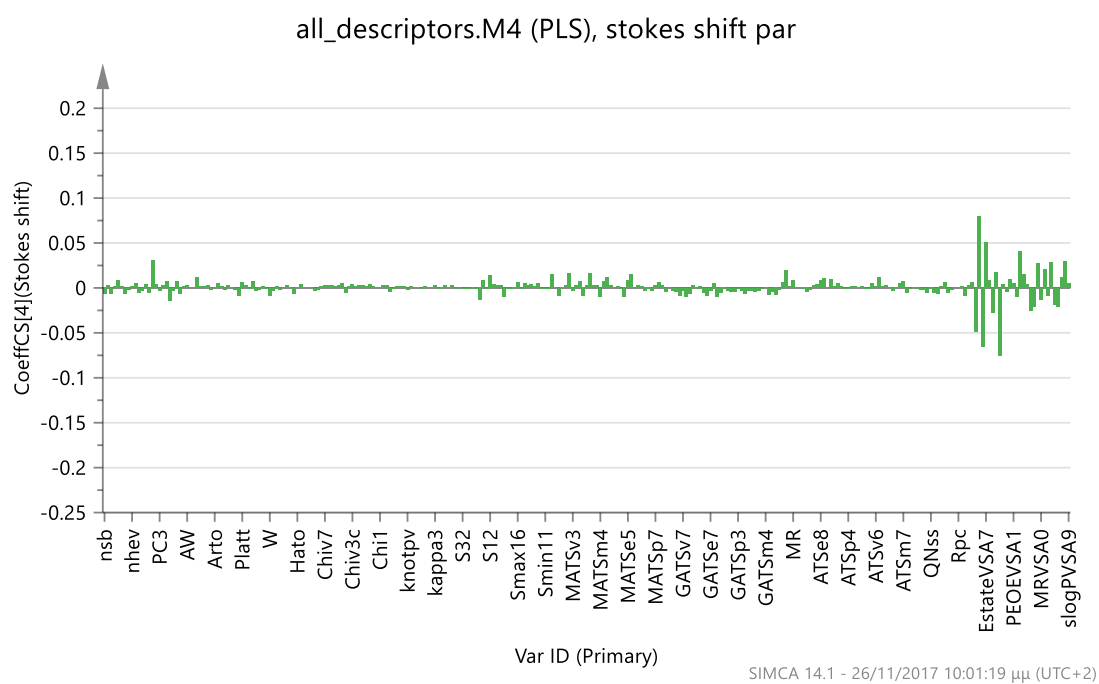
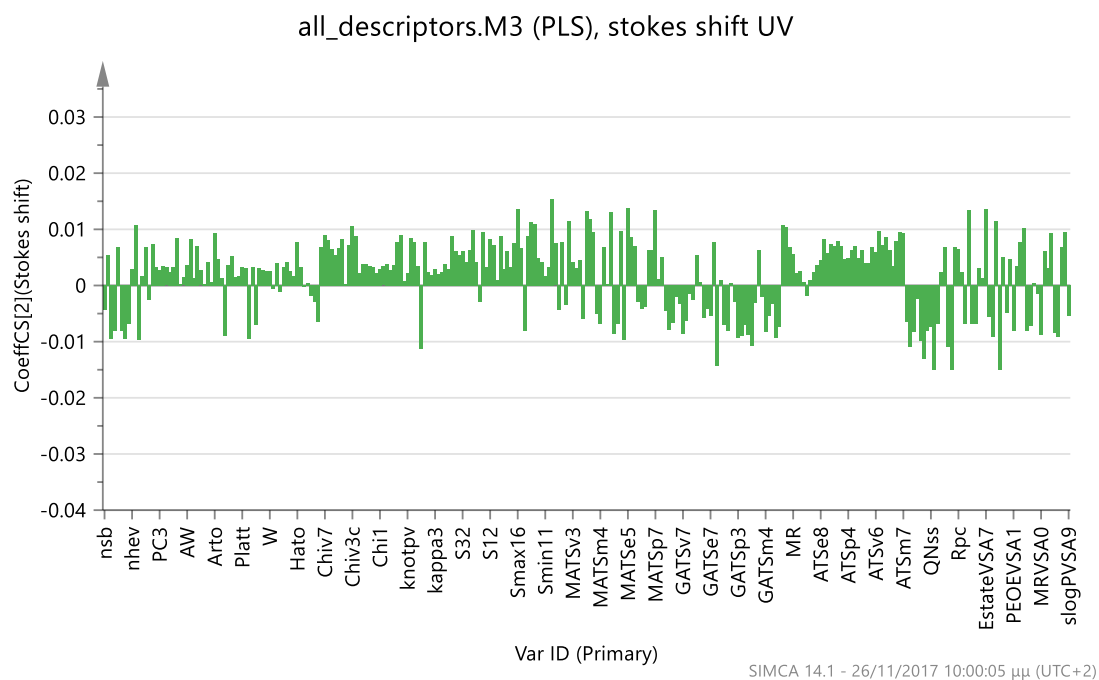
Εικόνες. Διαγράμματα μεταβολής του μήκους δεσμού $r_{C8-C1'}$ συναρτήσει της διέδρης γωνίας $C2'-C1'-C9-C10$ για την ένωση 32 στη βασική και στη διεγερμένη κατάσταση αντίστοιχα.



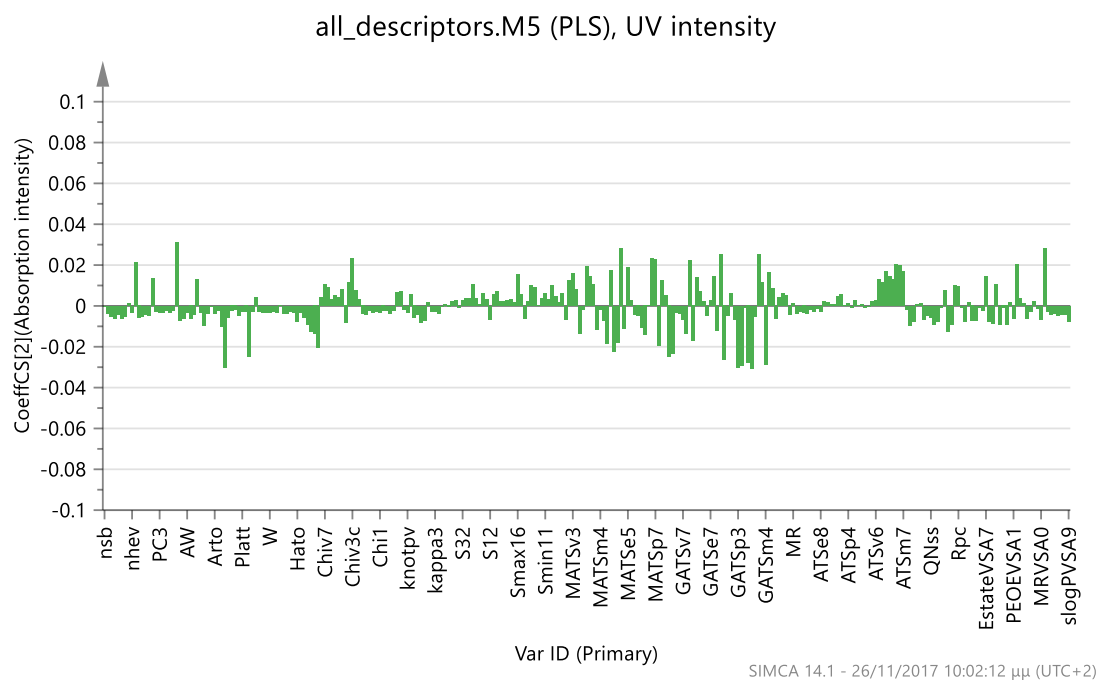
Εικόνα . Διάγραμμα συνεισφοράς όλων των περιγραφέων στο μήκος κύματος μέγιστης απορρόφησης.



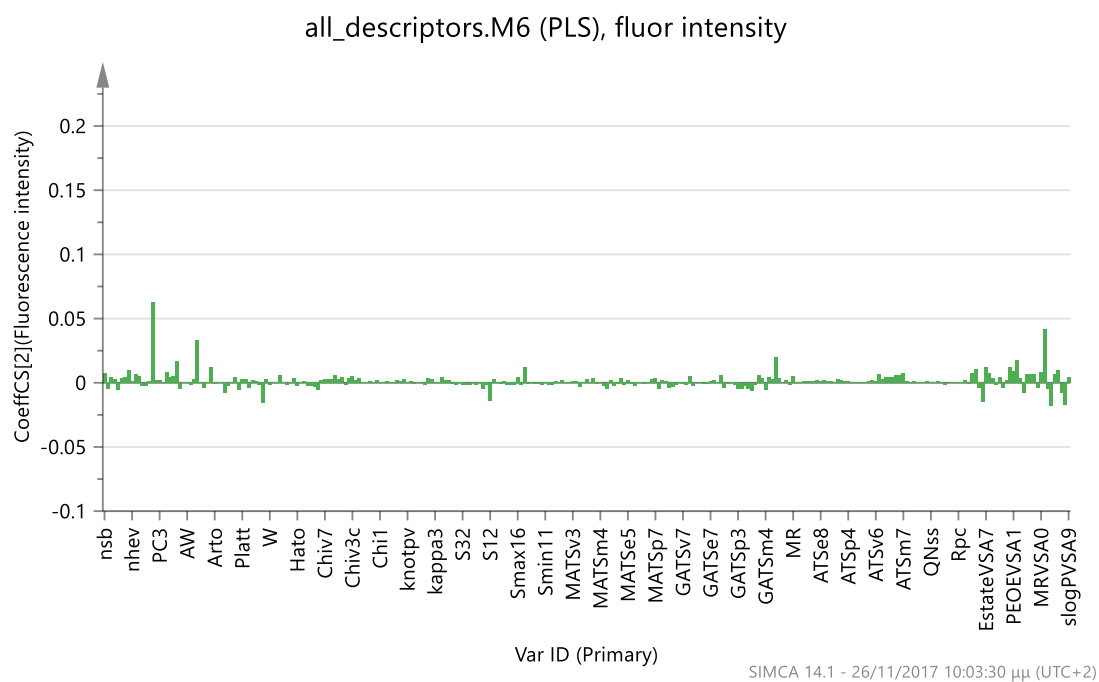
Εικόνα . Διάγραμμα συνεισφοράς όλων των περιγραφέων στο μήκος κύματος μέγιστης εκπομπής.

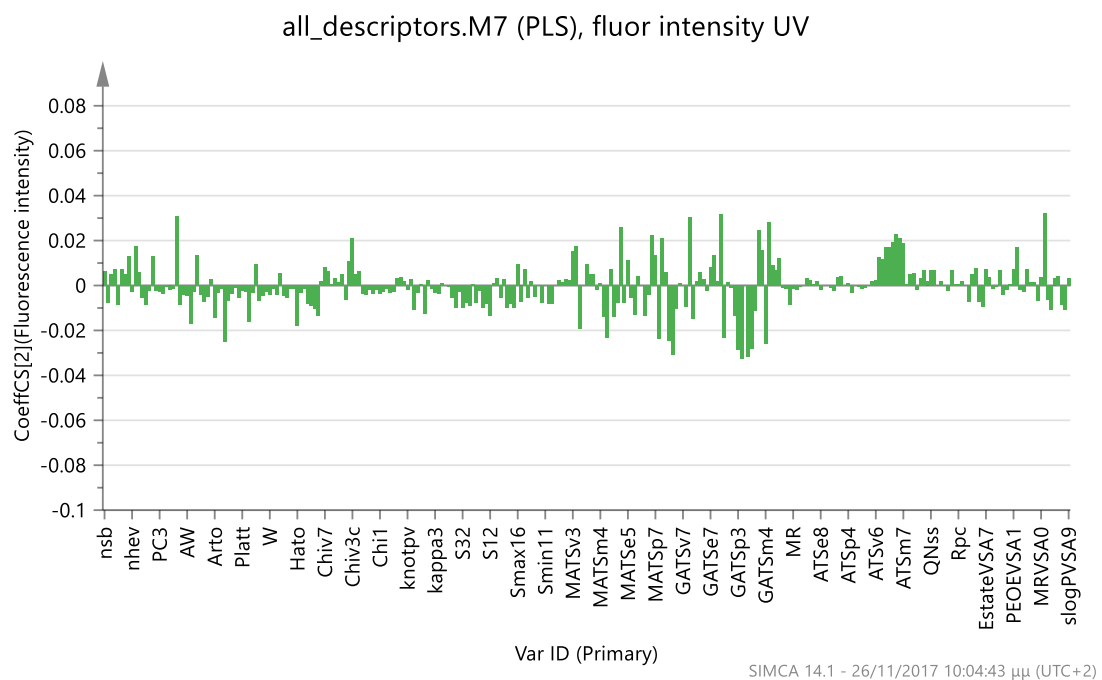


Εικόνες • Διαγράμματα συνεισφοράς όλων των περιγραφέων στη μετατόπιση Stokes.



Εικόνα . Διάγραμμα συνεισφοράς όλων των περιγραφέων στην ένταση απορρόφησης.





Εικόνες • Διαγράμματα συνεισφοράς όλων των περιγραφέων στην ένταση εκπομπής φθορισμού.