



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**

**ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**Σύνθεση και Χαρακτηρισμός Πρωτότυπων Ολιγομερών  
Κυκλοδεξτρινών για Μεταφορά Φαρμάκων**

**ΜΑΝΟΥΗΛΙΔΟΥ ΜΑΛΑΜΑΤΕΝΙΑ  
ΧΗΜΙΚΟΣ, MSc**

**ΑΘΗΝΑ**

**Ιανουάριος 2014**

## **ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

Σύνθεση και Χαρακτηρισμός Πρωτότυπων Ολιγομερών Κυκλοδεξτρινών για Μεταφορά  
Φαρμάκων

**ΜΑΛΑΜΑΤΕΝΙΑ ΜΑΝΟΥΗΛΙΔΟΥ**

**A.M.: 102817**

### **ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:**

**Δρ. Γκιμήσης Αθανάσιος**, Αν. Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, ΕΚΠΑ

### **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ:**

**Δρ. Γκιμήσης Αθανάσιος**, Αν. Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, ΕΚΠΑ

**Δρ. Μουτεβελή-Μηνακάκη Παναγιώτα**, Αν. Καθηγήτρια, Τμήμα Χημείας, ΕΚΠΑ

**Δρ. Γιαννακοπούλου Κωνσταντίνα**, Ερευνήτρια Α΄, Ινστιτούτο Υλικών, Φυσικο-  
χημικών Διεργασιών, Νανοτεχνολογίας & Μικροσυστημάτων, ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος»

### **ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:**

**Δρ. Γκιμήσης Αθανάσιος**, Αν. Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, ΕΚΠΑ

**Δρ. Μουτεβελή-Μηνακάκη Παναγιώτα**, Αν. Καθηγήτρια, Τμήμα Χημείας, ΕΚΠΑ

**Δρ. Γιαννακοπούλου Κωνσταντίνα**, Ερευνήτρια Α΄, Ινστιτούτο Υλικών, Φυσικο-  
χημικών Διεργασιών, Νανοτεχνολογίας & Μικροσυστημάτων, ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος»

**Δρ. Γεωργιάδης Δημήτριος**, Επ. Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, ΕΚΠΑ

**Δρ. Μαγκριώτη Βικτώρια**, Λέκτορας, Τμήμα Χημείας, ΕΚΠΑ

**Δρ. Πελεκάνου Μαρία**, Ερευνήτρια Α΄, Ινστιτούτο Βιοεπιστημών και Εφαρμογών,  
ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος»

**Δρ. Χαιρόπουλος Γεώργιος**, Ερευνητής Α΄, Ινστιτούτο Βιολογίας, Φαρμακευτικής  
Χημείας & Βιοτεχνολογίας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ 23/01/2014



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι κυκλοδεξτρίνες (CDs), κυκλικοί ολιγοσακχαρίτες, οι οποίοι σχηματίζουν υδατοδιαλυτά σύμπλοκα εγκλεισμού με ξενιζόμενα μόρια (G), έχουν τύχει πολλών εφαρμογών ως έκδοχα φαρμάκων. Τα ολιγομερή CDs αποτελούν ελκυστικούς ξενιστές (H) λόγω αυξημένης μοριακής αναγνώρισης και ισχύος σύνδεσης και ως εκ τούτου έχουν μελετηθεί ως πιθανοί ανιχνευτές, καταλύτες, μιμητές ενζύμων, φωτοενεργά συστήματα κ.λ.π. Σκοπός της διατριβής ήταν η σύνθεση νέων ολιγομερών CDs για τον εγκλωβισμό και την μεταφορά φαρμάκων με κριτήρια: (i) την εύκολη σύνθεση, σε υδατικά μέσα, ήπιες συνθήκες και καλές αποδόσεις, (ii) την παραλαβή υδατοδιαλυτών ολιγομερών, με ελεύθερες τις κοιλότητες των CDs, (iii) την επίτευξη πολλαπλών εγκλωβισμών με σταθερά σύνδεσης μεγαλύτερη ή ίση με αυτή της βCD. Η καταλυόμενη από  $\text{Cu}^I$  αντίδραση κυκλοπροσθήκης [3+2] αζιδίου-αλκινίου (CuAAC) σε DMSO/ $\text{H}_2\text{O}$  χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή νέου υδατοδιαλυτού τριμερούς με υψηλή απόδοση. Το τριμερές δεσμεύει τρία μόρια πρότυπου G ενώ διαλυτοποιεί τη κίτρινη ταμοξιφαίνη (TAM-C), συνταγογραφούμενο αντικαρκινικό, και τον ενεργό μεταβολίτη της, *N*-απομεθυλιωμένη-ταμοξιφαίνη (NDTAM), αυξάνοντας τη διαλυτότητά τους κατά >1 τάξη μεγέθους. Επι πλέον, εφαρμόστηκε για πρώτη φορά η βιο-ορθογώνιος σύνδεση Staudinger για την παρασκευή διμερών CDs και αναπτύχθηκε ένας νέος διδραστικός συνδέτης για τη σύνθεση διμερούς σε ένα στάδιο, σε υδατικό/οργανικό μέσο, σε ήπιες συνθήκες και με υψηλές αποδόσεις. Τα διμερή μελετήθηκαν με φασματοσκοπία NMR και βρέθηκε ότι υιοθετούν μια δομή αυτο-εγκλωβισμού σε υδατικά μέσα, η οποία αναδιπλώνεται ελαφρώς σε DMSO και παρουσία κατάλληλου G αναδιπλώνεται τελείως, αφήνοντας τις κοιλότητες ελεύθερες προς συμπλοκοποίηση με αδαμανταναμίνη, ενώ επετεύχθη και διαλυτοποίηση (0.3 mM) της πρακτικώς αδιάλυτης NDTAM. Τα παραπάνω επιβεβαιώθηκαν με πειράματα τιτλοδότησης και DOSY NMR. Η σύνδεση Staudinger θα μπορούσε να αποτελέσει μέθοδο επιλογής για τη σύνθεση διμερών CDs. Επι πλέον, συντέθηκαν με μικρότερη επιτυχία διμερή CDs μέσω αμιδικού δεσμού, τα οποία απαιτούσαν πιο έντονες συνθήκες. Τέλος, παρασκευάστηκαν παράγωγα SNO-βCD και χαρακτηρίστηκαν ως διτροπικά συστήματα μεταφοράς φαρμάκων και απελευθέρωσης NO.

**ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ:** Ολιγομερή Κυκλοδεξτρινών- Μεταφορείς Φαρμάκων

**ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ:** Κυκλοδεξτρίνες, Ολιγομερή, Σύνδεση Staudinger, Κυκλοπροσθήκη [3+2], Σύμπλοκα εγκλεισμού.

## ABSTRACT

Cyclodextrins (CDs) are cyclic hollow oligosaccharide molecules that form water soluble host-guest systems, with many applications in drug formulation and delivery. CD oligomers have been previously studied due to the interest towards smart hosts with enhanced molecular recognition and binding capacity as sensors, catalysts, enzyme mimics, photoreactive systems, etc. The aim of this dissertation was to prepare  $\beta$ CD oligomers for drug inclusion and transport with criteria: (i) ease of preparation, in aqueous media, in short steps, under mild conditions and in good yields, (ii) to obtain oligomers with satisfactory aqueous solubility and full availability of the CD cavities (iv) to achieve multiple binding with strengths better or comparable to those of parent  $\beta$ CD. The copper catalyzed azide-alkyne cyclization (CuAAC) reaction was utilized to prepare a new water soluble cyclodextrin trimer very efficiently. The trimer engulfed three molecules of a model guest and satisfactorily solubilized the chemotherapeutic tamoxifen citrate and its active metabolite, *N*-desmethyltamoxifen, increasing their solubility by >1 order of magnitude. Moreover, for the first time the bioorthogonal Staudinger Ligation was applied to prepare  $\beta$ CD-dimers. For this purpose, a doubly active linker was specifically developed that enabled dimer preparation in a single step, in aqueous/organic media, under mild conditions and with high yields. The above prepared products were studied in detail by NMR spectroscopy and were found to adopt, by self-inclusion, a closed conformation in aqueous solution, which completely opened up in the presence of a suitable guest, leaving the cavities fully available to form the corresponding inclusion complexes. Titration and DOSY NMR experiments confirmed the above and showed that the dimeric species form slowly diffusing aggregates in water, that in the presence of the guest partially disperse. The Staudinger Ligation could thus become the method of choice for preparing CD dimers. Solubilization of practically insoluble *N*-desmethyl-tamoxifen was also achieved to 0.3 mM. Moreover, CD dimers prepared via amide bond formation were less efficient and required harsh conditions. Finally, SNO- $\beta$ CD derivatives were prepared and characterized as bimodal NO and drug carrier systems.

**SUBJECT AREA:** Cyclodextrin Oligomers- Drug Carriers.

**KEYWORDS:** cyclodextrins, dimers, trimers, Staudinger Ligation, [3+2] cycloaddition, complexation.



**Στην οικογένειά μου...**

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές ευχαριστίες μου σε όλους εκείνους που συνέβαλλαν ουσιαστικά, άμεσα ή έμμεσα, στην ολοκλήρωση της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

Ευχαριστώ την Επταμελή Επιτροπή για τις χρήσιμες παρατηρήσεις και το ενδιαφέρον τους.

Ευχαριστώ τον Δρ. Α. Γκιμήση, αναπληρωτή καθηγητή του ΕΚΠΑ, και την Δρ. Π. Μουτεβελή- Μηνακάκη, αναπληρώτρια καθηγήτρια του ΕΚΠΑ, για τη συμμετοχή τους στην τριμελή επιτροπή, καθώς επίσης για τον ενεργό τους ρόλο και το ενδιαφέρον τους καθ' όλη τη διάρκεια της διδακτορικής διατριβής.

Ευχαριστώ ιδιαίτερωσ την Δρ. Κ. Γιαννακοπούλου, Ερευνήτρια Α΄ του ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με ένα τόσο ενδιαφέρον θέμα, τη συνεχή υποστήριξη, την πολύτιμη καθοδήγηση και την βοήθεια της κατά τη διάρκεια της διδακτορικής διατριβής. Όλα αυτά τα χρόνια προσπάθησε όχι μόνο να μου προσφέρει πληροφορίες και γνώση, αλλά να αναπτύξει την κριτική μου ματιά και να μου μάθει αυτό που πραγματικά είναι ο στόχος μιας διδακτορικής διατριβής: να σκέφτομαι, να σχεδιάζω, να απορρίπτω, να συνδυάζω... να κάνω έρευνα.

Ευχαριστώ ιδιαίτερωσ την Δρ. Ε. Μαυρίδου για την πολύτιμη συνεισφορά και τις συμβουλές της. Η στήριξη και το ενδιαφέρον της υπήρξαν απεριόριστα καθ' όλη τη διάρκεια της διδακτορικής διατριβής.

Ευχαριστώ τον Δρ. Ι. Λαζάρου, Ερευνητή Β΄ του ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος» και τον Δρ. Θ. Θεοδοσίου, τον Δρ. Λ. Λεοντιάδη, Ερευνητή Α΄ του ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος» και τον Δρ. Γ. Χαιρόπουλο, Ερευνητή Α΄ του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών, καθώς και τα μέλη του εργαστηρίου Δρ. Linda Piras και Antonio Ricardo Gonçaves, υποψήφιο διδάκτορα, για την εποικοδομητική συνεργασία και το ενδιαφέρον τους.

Ευχαριστώ τον Δρ. Ε. Σαρειδάκη, Ερευνητή Γ΄ του ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος» για τη συνεργασία και κυρίως για τη φιλία του.

Επίσης, θέλω να ευχαριστήσω όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Δομικής και Υπερμοριακής Χημείας για το ευχάριστο περιβάλλον και την άψογη συνεργασία. Ιδιαίτερωσ, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Δρ. Μ. Λαμπροπούλου, την Δρ. Χ. Αγγελίδου, τον Δρ. James Birtley, τον υποψήφιο διδάκτορα Alberto Manfrin και τη Δρ. Α. Καλούδη-Χαντζέα για την στήριξη, τη βοήθεια και κυρίως για την φιλία τους.



Θέλω να ευχαριστήσω το σύζυγό μου Γιάννη, για την απεριόριστη αγάπη, υπομονή και κατανόηση που μου έδειξε, κυρίως τον τελευταίο χρόνο.

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω τους γονείς μου Δημήτρη και Ελευθερία, καθώς και τα αδέρφια μου Χρήστο και Βασίλη για την οικονομική, ηθική και ψυχολογική στήριξη τους καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.



## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	25
---------------	----

### ΜΕΡΟΣ Ι ΕΙΣΑΓΩΓΗ

<b>1. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1- Υπερμοριακή Χημεία- Κυκλοδεξτρίνες.....</b>	<b>31</b>
---	-----------

1.1 Κυκλοδεξτρίνες- Βασική Δομή.....	31
--------------------------------------	----

1.2 Σχηματισμός Συμπλόκων Κυκλοδεξτρινών .....	34
--	----

1.3 Υποκατεστημένες Κυκλοδεξτρίνες .....	37
--	----

<b>2. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2- Ολιγομερή Κυκλοδεξτρινών.....</b>	<b>41</b>
---	-----------

2.1 Ολιγομερή Κυκλοδεξτρινών ως Πιθανοί Πλεονεκτικοί Μεταφορείς Μορίων/ Φαρμάκων .....	41
---	----

2.2 Βιβλιογραφική Επισκόπηση Παρασκευών και Ιδιοτήτων Ολιγομερών .....	43
--	----

2.2.1 Σύνδεση Διμερών Κυκλοδεξτρινών μέσω Αμιδικού Δεσμού, από την Πρωτοταγή πλευρά (Head to Head ή 6-6´).....	43
---	----

2.2.2 Σύνδεση Διμερών Κυκλοδεξτρινών μέσω Αμιδικού Δεσμού από τη Δευτεροταγή πλευρά (Tail to Tail ή 3-3´).....	46
---	----

2.2.3 Σύνδεση Διμερών Κυκλοδεξτρινών μέσω Θειουρεΐδο-ομάδας, από την Πρωτοταγή πλευρά (Head to Head ή 6-6´).....	48
---	----

2.2.4 Σύνδεση Διμερών και Τριμερών Κυκλοδεξτρινών μέσω Σχηματισμού Δεσμού C-C.....	51
---	----

2.2.5 Σύνδεση Διμερών και Τριμερών Κυκλοδεξτρινών μέσω Κυκλοπροσθήκης [3+2] (Click reaction) .....	53
---	----

2.2.6 Αναστροφή της Γλυκόζης Διμερών β-Κυκλοδεξτρίνης και Αυτοεγλωβισμός σε Νερό .....	59
---	----

2.3 Συμπεράσματα και Σκοπός Διατριβής .....	63
---	----

<b>3. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3- Παράγωγα Κυκλοδεξτρινών με Αυτόνομη Βιοδραστικότητα.....</b>	<b>67</b>
--	-----------

3.1 Θετικώς Φορτισμένες Κυκλοδεξτρίνες για Μεταφορά DNA.....	67
--	----

3.2 Θετικώς Φορτισμένες Κυκλοδεξτρίνες ως Παράγοντες Αποκλεισμού Πόρων Τοξινών Επικίνδυνων Μικροβίων.....	69
--	----

3.3 Παράγωγα Κυκλοδεξτρινών με Διτροπική Δράση (Bimodal Action) .....	70
3.4 Συμπεράσματα .....	72
<b>4. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4- Αντίδραση Staudinger- Σύνδεση Staudinger- Σύντομη Επισκόπηση .....</b>	<b>77</b>
4.1 Εισαγωγή .....	77
4.1.1 Αντίδραση Staudinger- Μηχανισμός .....	78
4.1.2 Σύνδεση Staudinger (Staudinger Ligation)- Μηχανισμός.....	79
4.1.3 Μη Ανιχνεύσιμη Σύνδεση Staudinger (Traceless Staudinger Ligation).....	81
4.2 Εφαρμογές .....	82
4.2.1 Σύνθεση Βιο-συζευγμάτων .....	82
4.2.2 Μεταβολική Τροποποίηση Κυττάρων (Metabolic Cell Engineering) .....	84
4.2.3 Σύζευξη Πεπτιδίων με μη Ανιχνεύσιμη Σύνδεση Staudinger.....	86
4.2.4 Σχηματισμός Συστοιχιών (Preparation of Arrays) .....	87
4.3 Συμπεράσματα .....	88

## **ΜΕΡΟΣ II ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

<b>5. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5- Παρασκευή Διμερών β-Κυκλοδεξτρίνης με Σύνδεση Staudinger .....</b>	<b>93</b>
5.1 Εισαγωγή- Σκοπός της Σύνθεσης .....	93
5.2 Σύνθεση και Χαρακτηρισμός των Απαραίτητων Συνδετών.....	94
5.2.1 Σύνθεση και Χαρακτηρισμός του Μεθυλικού Μονοεστέρα του 2- Διφαινυλοφωσφινότερεφθαλικού Οξέος .....	94
5.2.2 Σύνθεση και Χαρακτηρισμός Διμεθυλικού Διεστέρα του 2,5- Διφαινυλοφωσφινότερεφθαλικού Οξέος .....	97
5.3 Σύνθεση και Χαρακτηρισμός των Αζιδο-κυκλοδεξτρινών .....	99
5.4 Μονομερές β-Κυκλοδεξτρίνης μέσω της Σύνθεσης Staudinger .....	102
5.4.1 Σύνθεση, Χαρακτηρισμός και Διαμορφώσεις στο Διάλυμα .....	102
5.4.2 Σχηματισμός Συμπλόκων Εγκλεισμού .....	108
5.4.3 Θεωρητικοί Υπολογισμοί Διαμορφώσεων.....	111
5.5 Νέα Υδατοδιαλυτά Διμερή β-Κυκλοδεξτρίνης .....	111
5.5.1 Σύνθεση και Χαρακτηρισμός Διμερούς από το Μονομερές Staudinger .....	111

5.5.2 Διμερές με Διπλή Σύνδεση Staudinger .....	114
5.5.2.1 Σύνθεση, Χαρακτηρισμός και Διαμορφώσεις στο Διάλυμα .....	114
5.5.2.2 Σχηματισμός Συμπλόκων Εγκλεισμού .....	123
5.5.2.3 Θεωρητικοί Υπολογισμοί Διαμορφώσεων .....	130
5.5.2.4 Συμπλοκοποίηση με <i>N</i> -Απομεθυλιωμένη Υδροχλωρική Ταμοξιφαίνη ( <b>NDTAM</b> ) .....	131
5.6 Συμπεράσματα.....	132
<b>6. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6- Παρασκευή Νέου Υδατοδιαλυτού Τριμερούς β- Κυκλοδεξτρίνης με Αντίδραση Κυκλοπροσθήκης [3+2] .....</b>	<b>135</b>
6.1 Εισαγωγή- Σκοπός της σύνθεσης .....	135
6.2 Σύνθεση και Χαρακτηρισμός του Συνδέτη (1,3,5-Τριαζιδομεθυλο-2,4,6- τριαιθυλοβενζόλιο) .....	136
6.3 Σύνθεση και Χαρακτηρισμός της Μονο(3-αμινοπροπαργυλο-6-δεοξυ)-β- Κυκλοδεξτρίνης .....	138
6.4 Σύνθεση και Χαρακτηρισμός του Τριμερούς .....	140
6.5 Σχηματισμός Συμπλόκων Εγκλεισμού του Τριμερούς.....	145
6.5.1 Συμπλοκοποίηση με 4- <i>t</i> -Βουτυλοβενζοϊκό Οξύ .....	145
6.5.2 Συμπλοκοποίηση με Κιτρική Ταμοξιφαίνη ( <b>TAM-C</b> ) .....	147
6.5.3 Συμπλοκοποίηση με <i>N</i> -Απομεθυλιωμένη Υδροχλωρική Ταμοξιφαίνη ( <b>NDTAM</b> ) .....	150
6.6 Συμπεράσματα.....	151
<b>7. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7- Διμερές β-Κυκλοδεξτρίνης με Υδατανθρακικό Συνδέτη .....</b>	<b>155</b>
7.1 Εισαγωγή- Σκοπός της Σύνθεσης .....	155
7.2 Σύνθεση και Χαρακτηρισμός Υδατανθρακικού Συνδέτη .....	156
7.3 Προσπάθεια Σύνθεσης Διμερούς με Υδατανθρακικό Συνδέτη .....	158
<b>8. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8- Διμερές β-Κυκλοδεξτρίνης με Σχηματισμό Αμιδικού Δεσμού και Άκαμπτο Συνδέτη .....</b>	<b>163</b>
8.1 Εισαγωγή.....	163

8.2 Σύνθεση της Μονο(6-αμινοπροτυλαμινο-6-δεοξυ)-β-κυκλοδεξτρίνης.....	164
8.3 Σύνθεση του Διμερούς .....	167
8.4 Συμπεράσματα .....	169

## **9. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9- Παρασκευή Διτροπικών Παραγώγων β-Κυκλοδεξτρίνης με Δυνατότητα Απελευθέρωσης NO και Μεταφοράς Μορίων..... 173**

9.1 Εισαγωγή .....	173
9.2 Σύνθεση και Χαρακτηρισμός Παραγώγων.....	175
9.3 Μελέτες UV-Vis των προϊόντων .....	180
9.4 Μελέτες Θερμικής Σταθερότητας.....	181
9.5 Πειράματα σε Κύτταρα .....	182
9.6 Συμπεράσματα .....	183

## **ΜΕΡΟΣ III ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ**

### **10. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10: Πειραματικά Δεδομένα ..... 189**

10.1 Γενικά.....	189
10.1.1 Αντιδραστήρια.....	189
10.1.2 Διαλύτες Ανάπτυξης και Εμφάνισης TLC.....	190
10.1.3 Οργανολογία.....	190
10.1.4 Παράμετροι Λήψης Φασμάτων NMR Δύο Διαστάσεων .....	191
10.2 Σύνθεση Ολιγομερών Κυκλοδεξτρινών .....	193
10.2.1 Σύνθεση Συνδετών για την Παρασκευή Ολιγομερών Κυκλοδεξτρινών .....	193
10.2.2 Μονοϋποκατεστημένες Κυκλοδεξτρίνες.....	204
10.2.3 Διμερή Κυκλοδεξτρινών .....	210
10.2.4 Τριμερή Κυκλοδεξτρινών .....	214
10.2.5 Περι-υποκατεστημένες Κυκλοδεξτρίνες .....	215
10.3 Πειράματα Συμπλοκοποίησης .....	216
10.3.1 Τιτλοδότηση του Παραγώγου <b>5.19</b> με <b>adaNH<sub>2</sub>·HCl</b> .....	216
10.3.2 Συμπλοκοποίηση του Παραγώγου <b>5.22</b> με <b>NDTAM</b> .....	216
10.3.3 Τιτλοδότηση του Παραγώγου <b>5.22</b> με <b>adaNH<sub>2</sub>·HCl</b> .....	216
10.3.4 Συμπλοκοποίηση του Παραγώγου <b>6.3</b> με 4- <i>t</i> -Βουτυλοβενζοϊκό οξύ .....	217

10.3.5 Συμπλοκοποίηση του Παραγώγου <b>6.3</b> με <b>TAM-C</b> .....	217
10.3.6 Συμπλοκοποίηση του Παραγώγου <b>6.3</b> με <b>NDTAM</b> .....	217
10.4 Θερμική Σταθερότητα του παραγώγου <b>9.4</b> .....	217
10.5 <i>In Vitro</i> Μελέτες του SNO-παραγώγου <b>9.4</b> .....	218
10.5.1 Υλικά .....	218
10.5.2 Οργανολογία .....	218
10.5.3 Καλλιέργεια Κυττάρων.....	218
10.5.4 Πειράματα Κυτταροτοξικότητας .....	219
<b>Συντμήσεις – Αρκτικόλεξα – Ακρωνύμια</b> .....	<b>220</b>
<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι</b> .....	<b>223</b>
<b>11. ΑΝΑΦΟΡΕΣ</b> .....	<b>227</b>

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1.1 Σχηματική αναπαράσταση των κυκλοδεξτρινών και χημική δομή.....	31
Σχήμα 1.2 Σχηματισμός συμπλόκου εγκλεισμού με υδρόφοβο μόριο σε υδατικό περιβάλλον. ....	32
Σχήμα 1.3 α) Σχετική θέση των ατόμων στη β-κυκλοδεξτρίνη, β) Αρίθμηση του γλυκοπυρανοζικού σκελετού.....	33
Σχήμα 1.4 Τρισδιάστατη απεικόνιση CPK <sup>9</sup> όπου φαίνονται οι διαστάσεις και τα σχετικά μεγέθη των κυκλοδεξτρινών.....	34
Σχήμα 1.5 Σχηματική αναπαράσταση συναρμογής CD και υδρόφοβου μορίου προς σχηματισμό συμπλόκων εγκλεισμού. α) 1:1 (CD:G) και β) 1:2 (CD:G <sub>2</sub> ).....	35
Σχήμα 1.6 Προτεινόμενα μοντέλα συμπλόκων εγκλεισμού της Προσταγλανδίνης E2 με α) αCD, β) βCD και γ) γCD. ....	35
Σχήμα 1.7 Παραδείγματα υποκατεστημένων κυκλοδεξτρινών. ....	38
Σχήμα 2.1 Σχηματική αναπαράσταση πιθανών ολιγομερών κυκλοδεξτρινών, όπου Y ο εκάστοτε συνδέτης και m, n = αριθμός ατόμων άνθρακα.....	42
Σχήμα 2.2 Σχηματική αναπαράσταση συμπλοκοποίησης ολιγομερούς κυκλοδεξτρινών με φάρμακο.....	42
Σχήμα 2.3 Δημιουργία διμερών κυκλοδεξτρινών μέσω αμιδικών δεσμών. ....	44
Σχήμα 2.4 Σύνθεση ξενιζόμενου μορίου των διμερών του Σχ. 2.3. ....	45
Σχήμα 2.5 Σύνθεση διμερούς 3-3'. ....	46
Σχήμα 2.6 Διμερή 3-3' βCD με συνδέτη EDTA και πορφυρίνες ως ξενιζόμενα μόρια. .	47
Σχήμα 2.7 Σύνθεση διμερούς με θειουρείδο συνδέτη. ....	49
Σχήμα 2.8 Σύνθεση διμερών και τριμερούς 6-6' με σχηματισμό δεσμού C-C.....	52
Σχήμα 2.9 Σύνθεση διμερών 2-2' με σύζευξη Sonogashira: a) [Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ], CuI, Et <sub>3</sub> N, DMF, 25 °C, 3h, 98%, b) 1,4-διϊωδοβενζόλιο, [Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ], CuI, πιπεριδίνη, 75 °C, 4 h, 62%. ....	53
Σχήμα 2.10 Σχηματισμός 1,4- και 1,5-διϋποκατεστημένων τριαζολών μέσω 1,3-διπολικής κυκλοπροσθήκης Huisgen.....	54
Σχήμα 2.11 Μηχανισμός της 1,3-διπολικής κυκλοπροσθήκης CuAAC. ....	54
Σχήμα 2.12 Ενεργειακό διάγραμμα της 1,3-διπολικής κυκλοπροσθήκης (CuAAC).....	55
Σχήμα 2.13 Σύνθεση υδροξυλιωμένων, περι-μεθυλιωμένων και περι-ακετυλιωμένων διμερών βCD. ....	56
Σχήμα 2.14 Συνδέτες για την παρασκευή τριμερών κυκλοδεξτρινών.....	57



Σχήμα 2.15 Σχηματική αναπαράσταση της μονο-κυκλοδεξτρίνης και των παραγόμενων διμερών 2-2' .....	58
Σχήμα 2.16 Φάσμα $^1\text{H}$ NMR του διμερούς <b>2.20c</b> (10.5 mM) στους 25 °C α) σε DMSO- $d_6$ , β) σε $\text{D}_2\text{O}$ . .....	60
Σχήμα 2.17 Φάσματα $^1\text{H}$ NMR του διμερούς α) <b>2.20b</b> , β) <b>2.20a</b> σε $\text{D}_2\text{O}$ στους 25 °C...61	61
Σχήμα 2.18 Διαδικασία αναστροφής της υποκατεστημένης γλυκοπυρανόζης του διμερούς <b>2.22c</b> . .....	62
Σχήμα 2.19 Δομές του διμερούς <b>2.20a</b> στο νερό, σε θερμοκρασία δωματίου. α) ανεστραμμένη, β) μη-ανεστραμμένη.....	62
Σχήμα 3.1 α) Κυκλοδεξτρίνη με ικανότητα μεταφοράς μορίων σε κύτταρα (Cell Penetrating CDs, CPCDs), β) απεικόνιση κυττάρων με μικροσκοπία φθορισμού. ....	68
Σχήμα 3.2 α) Περι-6-(3-αμινοπροπυλοθειο)-β-κυκλοδεξτρίνη για φραγή του επταμερούς πόρου του προστατευτικού αντιγόνου PA, β) PA. ....	70
Σχήμα 3.3 α) Απεικόνιση του παραγώγου ( <b>3.1</b> ) και του ξενιζόμενου μορίου ( <b>3.2</b> ), β) απεικόνιση του φωτοδραστικού υπερμοριακού συσσωματώματος. ....	71
Σχήμα 3.4 Σχηματική απεικόνιση συζεύγματος διπλής δράσης CD-πορφυρίνης για μεταφορά φαρμάκων. ....	72
Σχήμα 4.1 Μηχανισμός αντίδρασης Staudinger .....	78
Σχήμα 4.2 Μηχανισμός σύνδεσης Staudinger .....	80
Σχήμα 4.3 α) Ενδιάμεσο σύνδεσης Staudinger, β) Αρχικώς προταθέν ενδιάμεσο.....	81
Σχήμα 4.4 Μηχανισμός μη ανιχνεύσιμης σύνδεσης Staudinger. ....	82
Σχήμα 4.5 Ανασυνδυασμένη έκφραση πρωτεϊνών με αζιδομάδες και επισήμανσή τους με συνδέτες Staudinger. ....	83
Σχήμα 4.6 Μεταβολική τροποποίηση κυτταρικής μεμβράνης με βιοσυνθετικά παρασκευασμένες, αζιδο-τροποποιημένες γλυκοπρωτεΐνες. ....	85
Σχήμα 4.7 Σύνθεση πεπτιδίου με μη ανιχνεύσιμη σύνδεση Staudinger (traceless).....	87
Σχήμα 4.8 Ολική σύνθεση της ριβονουκλεάσης A. ....	87
Σχήμα 4.9 Εκλεκτική ακινητοποίηση πρωτεϊνών μέσω της αντίδρασης Staudinger. ....	88
Σχήμα 5.1 Γενικό σχήμα σύνθεσης διμερών μέσω της σύνδεσης Staudinger. ....	94
Σχήμα 5.2 Σύνθεση ένωσης <b>5.2</b> : i) α) HCl, NaNO <sub>2</sub> / H <sub>2</sub> O, β) KI/ H <sub>2</sub> O, 58%, ii) Ph <sub>2</sub> PH, Pd(OAc) <sub>2</sub> , τριαιθυλαμίνη, MeOH, 48%. ....	94

Σχήμα 5.3 Μέρος φάσματος $^1\text{H}$ NMR του συνδέτη <b>5.2</b> σε $\text{CDCl}_3$ : α) Αραιό διάλυμα, β) Πυκνό διάλυμα.....	95
Σχήμα 5.4 Σχηματική αναπαράσταση πιθανού καρβοξυλικού διμερούς της ένωσης <b>5.2</b> σε διάλυμα.....	96
Σχήμα 5.5 Φάσμα $^{31}\text{P}$ NMR ( $^1\text{H}$ -αποσυζευγμένο) της ένωσης <b>5.2</b> σε $\text{CDCl}_3$ .....	96
Σχήμα 5.6 Σύνθεση του διδραστικού συνδέτη <b>5.6</b> . i) $\text{CH}_3\text{COOH}$ , $\text{H}_2\text{SO}_4$ , $\text{CCl}_4$ , $\text{I}_2$ , $\text{IO}_3$ , $85^\circ\text{C}$ , 4h, αποκλεισμός φωτός, 70%, ii) $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ , $\text{H}_2\text{O}$ , $\text{KMnO}_4$ , θέρμανση με επαναρροή, 24h, αποκλεισμός φωτός, 55%, iii) $\text{KOH}$ (10% w/v), $\text{KMnO}_4$ , θέρμανση με επαναρροή, 4h, αποκλεισμός φωτός, 32%, iv) $\text{MeOH}$ , $\text{H}_2\text{SO}_4$ , θέρμανση με επαναρροή, 5h, 98%, v) ξηρό THF, ξηρό DMF, $\text{Et}_3\text{N}$ , $\text{Pd}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ , $\text{HPPH}_2$ , $70^\circ\text{C}$ , 12h, 100%. .....	97
Σχήμα 5.7 Φάσμα $^{31}\text{P}$ NMR του διδραστικού συνδέτη <b>5.6</b> σε $\text{CDCl}_3$ .....	98
Σχήμα 5.8 Παρασκευή μονοαζιδο-CDs: (i) 3-αζιδοπροπυλαμίνη ( <b>5.16</b> ), $80^\circ\text{C}$ , 14h, ατμόσφαιρα αργού, 85%, (ii) DMF, $\text{NaN}_3$ .....	99
Σχήμα 5.9 Φάσμα $^1\text{H}$ NMR της ένωσης <b>5.15</b> σε $\text{DMSO}-d_6$ .....	100
Σχήμα 5.10 α) Φάσμα $^1\text{H}$ NMR και β) Φάσμα $^{13}\text{C}$ NMR (125 MHz) του προϊόντος <b>5.17</b> σε $\text{D}_2\text{O}$ .....	101
Σχήμα 5.11 Σύνδεση της αζιδο-κυκλοδεξτρίνης <b>5.17</b> με το μεθυλο 2-διφαινυλοφωσφινότερεφθαλικό οξύ ( <b>5.2</b> ): i) $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (2:1), $40^\circ\text{C}$ , 12 h, 48% ή ii) $\text{DMF}:\text{H}_2\text{O}$ (15:1), $40^\circ\text{C}$ , 12 h, 95%. .....	102
Σχήμα 5.12 Φάσμα $^{31}\text{P}$ NMR του προϊόντος <b>5.19</b> από αντίδραση με διαλύτες (α) $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (2:1), (β) $\text{DMF}:\text{H}_2\text{O}$ (15:1).....	103
Σχήμα 5.13: Φάσματα IR των ενώσεων <b>5.17</b> (μπλε) και <b>5.19</b> (κόκκινο).....	103
Σχήμα 5.14 Φάσμα $^{31}\text{P}$ NMR του προϊόντος (α) <b>5.19</b> σε $\text{CDCl}_3$ , (β) <b>5.2</b> σε $\text{D}_2\text{O}$ .....	104
Σχήμα 5.15 Φάσμα $^1\text{H}$ NMR του προϊόντος <b>5.19</b> σε $\text{D}_2\text{O}$ .....	105
Σχήμα 5.16 Μέρος φάσματος ένωσης <b>5.19</b> σε $\text{D}_2\text{O}$ (α) HSQC-edited, β) 2D ROESY. 106	
Σχήμα 5.17 Μέρος φάσματος της ένωσης <b>5.19</b> σε $\text{DMSO}-d_6$ (α) HSQC-edited, β) 2D NOESY.....	107
Σχήμα 5.18 α) Φάσμα MS (MALDI-TOF) του προϊόντος <b>5.19</b> .....	107
Σχήμα 5.19 Τιτλοδότηση διαλύματος του παραγώγου <b>5.19</b> (1 mM) με $\text{adaNH}_2\cdot\text{HCl}$ (έως 3 eq). .....	108
Σχήμα 5.20 Διάγραμμα αλλαγής της χημικής μετατόπισης των CD-H3 του παραγώγου <b>5.19</b> (1 mM) ως προς την αύξηση της συγκέντρωσης της $\text{adaNH}_2\cdot\text{HCl}$ . .....	109
Σχήμα 5.21 α) Μέρος φάσματος ROESY μίγματος του παραγώγου <b>5.19</b> με 1 eq $\text{adaNH}_2\cdot\text{HCl}$ σε $\text{D}_2\text{O}$ (αλειφατική περιοχή), β) Μέρος φάσματος ROESY μίγματος του παραγώγου <b>5.19</b> με 1 eq $\text{adaNH}_2\cdot\text{HCl}$ σε $\text{D}_2\text{O}$ (αρωματική περιοχή).....	110

Σχήμα 5.22 Πιθανές οριακές διαμορφώσεις του μονομερούς <b>5.19</b> : (A) ανοιχτή δομή, (B) αναδιπλωμένη δομή και (Γ) κλειστή δομή συμπλόκου. ....	111
Σχήμα 5.23 Παρασκευή της ένωσης <b>5.21</b> i) HATU, DIPEA, DMF, 5.20, 10%.....	112
Σχήμα 5.24: Φάσμα μάζας MALDI-TOF της ένωσης <b>5.21</b> . ....	113
Σχήμα 5.25: α) Φάσμα $^{31}\text{P}$ NMR της ένωσης <b>5.21</b> σε $\text{D}_2\text{O}$ , β) Φάσμα $^{15}\text{N}$ NMR σε $\text{D}_2\text{O}$ του διμερούς <b>5.21</b> και γ) της μονο- $^{15}\text{N}$ -αμινοκυκλοδεξτρίνης <b>5.20</b> σε $\text{D}_2\text{O}$ . ....	114
Σχήμα 5.26 Σύνθεση του διμερούς <b>5.22</b> . i) $\text{DMF}:\text{CHCl}_3:\text{H}_2\text{O}$ (45:10:2), 60 °C, 48h, Ar, 62%. ....	115
Σχήμα 5.27 Φάσμα $^{31}\text{P}$ NMR του συνδέτη <b>5.6</b> σε $\text{DMSO}-d_6$ α) απουσία του <b>5.17</b> , β) παρουσία του <b>5.17</b> σε $t = 0$ , γ) παρουσία του <b>5.17</b> σε $t = 24$ h, δ) μετά από 72 h. ....	115
Σχήμα 5.28 Φάσμα $^{31}\text{P}$ NMR του μίγματος της μονοϋποκατεστημένης κυκλοδεξτρίνης <b>5.17</b> με το συνδέτη <b>5.6</b> σε $\text{DMSO}-d_6$ α) μετά από 72 h, β) μετά από 5 d, γ) μετά από 6 d και την προσθήκη του $\text{D}_2\text{O}$ , δ) μετά από 8 d, $\text{DMSO}-d_6/\text{D}_2\text{O}$ . ....	116
Σχήμα 5.29 Φάσμα $^1\text{H}$ NMR του συνδέτη <b>5.6</b> σε $\text{DMSO}-d_6$ α) απουσία <b>5.17</b> , β) παρουσία του <b>5.17</b> , γ) παρουσία του <b>5.17</b> μετά από 24 h, δ) παρουσία του <b>5.17</b> μετά από 72 h. ....	117
Σχήμα 5.30 Φάσμα $^1\text{H}$ NMR του μίγματος του παραγώγου <b>5.17</b> με το συνδέτη <b>5.6</b> σε $\text{DMSO}-d_6$ : α) μετά από 72 h, β) μετά από 5 d, γ) μετά από 6 d, ε) μετά από 6 d και την προσθήκη του $\text{D}_2\text{O}$ , δ) μετά από 8 d. ....	117
Σχήμα 5.31 Φάσμα $^{31}\text{P}$ NMR του συνδέτη σε $\text{DMF}-d_7/\text{CDCl}_3$ α) απουσία του <b>5.17</b> , β) παρουσία του <b>5.17</b> , γ) παρουσία του <b>5.17</b> μετά από 24 h. ....	118
Σχήμα 5.32 Φάσμα $^{31}\text{P}$ NMR του μίγματος του παραγώγου <b>5.17</b> με το συνδέτη <b>5.6</b> σε $\text{DMF}-d_7/\text{CDCl}_3$ : α) μετά από 24 h, β) μετά από 48 h, γ) 4 h μετά την προσθήκη του $\text{D}_2\text{O}$ . ....	119
Σχήμα 5.33 Φάσμα $^1\text{H}$ NMR του συνδέτη <b>5.6</b> : α) σε $\text{DMF}-d_7/\text{CDCl}_3$ , β) αμέσως μετά την προσθήκη του <b>5.17</b> , γ) μετά από 24 h, δ) μετά από 48 h, ε) 4 h μετά την προσθήκη του $\text{D}_2\text{O}$ . (Ένθετο: Μεγέθυνση της περιοχής 1.82-2.5 ppm) ....	120
Σχήμα 5.34 Φάσμα μάζας MALDI-TOF του διμερούς <b>5.22</b> . ....	120
Σχήμα 5.35 Φάσμα $^1\text{H}$ NMR σε $\text{D}_2\text{O}$ του διμερούς <b>5.22</b> . ....	121
Σχήμα 5.36 Φάσμα $^{31}\text{P}$ NMR σε $\text{D}_2\text{O}$ του διμερούς <b>5.22</b> . ....	121
Σχήμα 5.37 Μέρος φάσματος ROESY του διμερούς <b>5.22</b> α) καθαρό σε $\text{D}_2\text{O}$ , β) με 4 eq <b>adaNH<sub>2</sub>·HCl</b> σε $\text{D}_2\text{O}$ , γ) καθαρό σε $\text{DMSO}$ . ....	122
Σχήμα 5.38 Τιτλοδότηση διαλύματος του διμερούς <b>5.22</b> (1 mM) με <b>adaNH<sub>2</sub>·HCl</b> (μέχρι 4 eq ως προς το διμερές <b>5.22</b> ). ....	124
Σχήμα 5.39 Αλλαγή της χημικής μετατόπισης (Δδ) των CD-H3 του διμερούς <b>5.22</b> ....	125

Σχήμα 5.40 Μέρος φάσματος edited HSQC (α) του διμερούς <b>5.22</b> (Μαύρο/Κόκκινο), (β) του διμερούς <b>5.22</b> με 4 eq <b>adaNH<sub>2</sub>·HCl</b> (Μπλε/Πράσινο).....	126
Σχήμα 5.41 Μέρος φάσματος του μίγματος διμερούς <b>5.22</b> με 4 eq <b>adaNH<sub>2</sub>·HCl</b> : α) ROESY, περιοχή φαινυλίων, β) edited HSQC.....	126
Σχήμα 5.42 Σύγκριση φασμάτων DOSY του διμερούς <b>5.22</b> (1 mM, μπλε) και του μίγματος του με 4 eq <b>adaNH<sub>2</sub>·HCl</b> (κόκκινο).....	128
Σχήμα 5.43 Διάγραμμα μεταβολής της σταθεράς διάχυσης (D) της βCD ως προς τη συγκέντρωση σε υδατικό διάλυμα.....	129
Σχήμα 5.44 Θεωρητικώς βελτιστοποιημένες οριακές διαμορφώσεις του διμερούς <b>5.22</b> : (Α) «ανοιχτή» δομή, (Β) «αναδιπλωμένη» δομή και (Γ) δομή «συμπλόκου».....	131
Σχήμα 5.45 Φάσμα <sup>1</sup> H NMR μίγματος του διμερούς <b>5.22</b> (1 mM) με 2 eq <b>NDTAM</b> . ...	132
Σχήμα 6.1 Σύνθεση του τριμερούς <b>6.3</b> . i) CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O, ασκορβικό νάτριο, DMSO:H <sub>2</sub> O (15:1), 50 °C, 48 h, 98%. .....	136
Σχήμα 6.2 Σύνθεση του συνδέτη <b>6.2</b> . i) DMF, NaN <sub>3</sub> , 30 °C, 24 h, 54%. .....	137
Σχήμα 6.3 Φάσματα <sup>13</sup> C NMR της ένωσης <b>6.4</b> (125 MHz) (α) και <b>6.2</b> (62.9 MHz) (β) σε CDCl <sub>3</sub> .....	137
Σχήμα 6.4 Φάσμα IR της ένωσης <b>6.2</b> .....	138
Σχήμα 6.5 Σύνθεση της μονο(6-αμινο- <i>N</i> -προπαργυλο-6-δεοξυ)-β-κυκλοδεξτρίνης ( <b>6.1</b> ). i) 60 °C, 24 h, 76%.....	138
Σχήμα 6.6 Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της μονο(6-αμινοπροπαργυλο-6-δεοξυ)-β-κυκλοδεξτρίνης (6.1) σε D <sub>2</sub> O, με κορεσμό της κορυφής του διαλύτη HDO στα 4.75 ppm.....	139
Σχήμα 6.7 Φάσμα edited HSQC της μονο(6-αμινοπροπαργυλο-6-δεοξυ)-β-κυκλοδεξτρίνης ( <b>6.1</b> ) σε D <sub>2</sub> O.....	140
Σχήμα 6.8 Φάσμα <sup>1</sup> H NMR μίγματος αντίδρασης όπου χρησιμοποιήθηκε ως καταλύτης CuI(CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> O) <sub>3</sub> P. ....	141
Σχήμα 6.9 Φάσμα μάζας του τριμερούς <b>6.3</b> .....	143
Σχήμα 6.10 Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της ένωσης <b>6.3</b> σε D <sub>2</sub> O.....	143
Σχήμα 6.11 Φάσμα <sup>13</sup> C NMR του τριμερούς <b>6.3</b> σε D <sub>2</sub> O (125 MHz).....	144
Σχήμα 6.12 Φάσμα NOESY του μίγματος τριμερούς <b>6.3</b> (1 mM) με 3 eq <i>t</i> -βουτυλοβενζοϊκού οξέος (PBS σε D <sub>2</sub> O, 500 MHz, 298 K). .....	146
Σχήμα 6.13 Σχηματική απεικόνιση του συμπλόκου του τριμερούς <b>6.3</b> με το <i>t</i> -βουτυλοβενζοϊκό οξύ. ....	147
Σχήμα 6.14 Φάσμα <sup>1</sup> H NMR του διαλύματος τριμερούς <b>6.3</b> με <b>TAM-C</b> σε υδατικό ρυθμιστικό διάλυμα PBS (pH = 7.4) (500 MHz, 298 K).....	148

Σχήμα 6.15 Μέρος φάσματος NOESY του διαλύματος του τριμερούς <b>6.3</b> με <b>Tam-C</b> σε υδατικό ρυθμιστικό διάλυμα PBS (pH = 7.4). α) Αναμενόμενες διπολικές αλληλεπιδράσεις του τριμερούς (πράσινο πλαίσιο), β) Διπολικές αλληλεπιδράσεις των Ph του <b>TAM-C</b> με τα H3 της βCD (μπλε πλαίσιο).....	149
Σχήμα 6.16 Φάσμα <sup>1</sup> H NMR του διαλύματος τριμερούς <b>6.3</b> με <b>NDTAM</b> σε υδατικό ρυθμιστικό διάλυμα PBS (pH = 7.4) (πράσινο πλαίσιο) (500 MHz, 295 K).....	150
Σχήμα 7.1 Προτεινόμενος σχεδιασμός διμερούς με υδατανθρακικό συνδέτη. ....	155
Σχήμα 7.2 Σύνθεση του συνδέτη <b>7.1</b> . i) a) <i>N,N</i> -διμεθυλαμινοπυριδίνη, ξηρό CHCl <sub>2</sub> , ξηρή πυριδίνη, 0 °C, b) οξικός ανυδρίτης, r.t, 12 h, 85%, ii) <i>p</i> -μεθοξυφαινόλη (PMP), BF <sub>3</sub> OEt <sub>2</sub> , ξηρό CHCl <sub>2</sub> , υπό Ar, r.t, 12 h, 57%, iii) a) ξηρή MeOH, MeONa, β) ξηρή πυριδίνη, τριτυλοχλωρίδιο, 48 h, 45 °C, 28%, iv) a) DMF, NaH, 0°C, 15 min, b) βενζυλοβρωμίδιο, 0 °C, 15 min, c) r.t, 12 h, 88%, v) MeOH:CHCl <sub>3</sub> (1:1), <i>p</i> -τολουόλοσουλφονικό οξύ, r.t, 12 h, 86%, vi) THF:NMP (3:1), προπαργυλοβρωμίδιο, 0 °C, NaH, r.t, 6 h, 56%.....	157
Σχήμα 7.3 Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της ένωσης <b>7.1</b> σε CDCl <sub>3</sub> . ....	158
Σχήμα 8.1 Σύνθεση διμερούς <b>8.4</b> . i) DMF, HATU, DIPEA, CsCO <sub>3</sub> , 100 W, 120 °C, 45 min, ( <b>8.3</b> : 40%, <b>8.4</b> : 25%) ή ii) DMF, HOBt, DCC, CsCO <sub>3</sub> , <i>N</i> -αιθυλομορφολίνη, 100 W, 120 °C, 30 min ( <b>8.3</b> : 64%, <b>8.4</b> : 15%), iii) DMF, HATU, DIPEA, 30 °C, 5 d ( <b>8.3</b> : <10%). .....	163
Σχήμα 8.2 Σύνθεση της μονοϋποκατεστημένης κυκλοδεξτρίνης <b>8.1</b> . i) 1,3-προπανοδιαμίνη, 100 W, 150 °C, 30 min, 91%, ii) 1,3-προπυλενοδιαμίνη, 70 °C, 14h, 88%. ....	164
Σχήμα 8.3 Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της ένωσης <b>8.1</b> σε DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , *: TosOH impurity, <2%. ..	165
Σχήμα 8.4 Μέρος φάσματος edited-HSQC της ένωσης <b>8.1</b> α) σε DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , β) COSY σε DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (500 MHz, 298K). ....	165
Σχήμα 8.5 Τμήμα φάσματος ROESY της ένωσης <b>8.1</b> σε DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> . ....	166
Σχήμα 8.6 (α) Φάσμα <sup>1</sup> H NMR της ένωσης <b>8.3</b> σε D <sub>2</sub> O, (β) φάσμα <sup>1</sup> H NMR της ένωσης <b>8.4</b> σε D <sub>2</sub> O.....	168
Σχήμα 8.7 Φάσμα IR της ένωσης <b>8.3</b> (Κόκκινο), φάσμα IR της ένωσης <b>8.4</b> (Μπλε)....	169
Σχήμα 9.1 Σχηματική απεικόνιση της διπλής δράσης των SNO κυκλοδεξτρινών. ....	174
Σχήμα 9.2 Σύνθεση της μονο-SNO-βCD ( <b>9.2</b> ) και περι-SNO-βCD ( <b>9.4</b> ). i) NaNO <sub>2</sub> (aq), pH 2, DMSO, rt.....	175
Σχήμα 9.3 Φάσμα <sup>1</sup> H NMR α) μονο-SH-βCD ( <b>9.1</b> ), β) μονο-SNO-βCD ( <b>9.2</b> ) σε..... DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> . ....	177

Σχήμα 9.4 Φάσμα $^1\text{H}$ NMR σε $\text{DMSO-}d_6$ α) περι-SH- $\beta\text{CD}$ (9.3), β) πολυ-SNO- $\beta\text{CD}$ (9.4). .....	178
Σχήμα 9.5 Φάσμα $^{13}\text{C}$ NMR της <i>in situ</i> παρασκευασμένης σε $\text{DMSO-}d_6$ πολυ-SNO- $\beta\text{CD}$ . .....	179
Σχήμα 9.6 Φάσματα $^{15}\text{N}$ NMR σε $\text{DMSO-}d_6$ : (α) $\text{GS}^{15}\text{NO}$ , (β) <i>in situ</i> παρασκευασμένης μονο- $\text{S}^{15}\text{NO-CD}$ και (γ) <i>in situ</i> παρασκευασμένης πολυ- $\text{S}^{15}\text{NO-CD}$ παρουσία $\text{Na}^{15}\text{NO}_2$ . .....	179
Σχήμα 9.7 Φάσματα απορρόφησης των απομονωμένων παραγώγων σε διάφορους διαλύτες: —μονο-SNO- $\beta\text{CD}$ (9.2, 1 mM), — περι-SNO- $\beta\text{CD}$ (9.4, 0.5 mM) και — GSNO (1 mM). DMSO: διακεκομμένες γραμμές, PBS: στικτές γραμμές. Ένθετο: Μεγέθυνση των κορυφών στα 548 nm (DMSO). .....	180
Σχήμα 9.8 Θερμική σταθερότητα των SNO- $\beta\text{CDs}$ σε σύγκριση με την GSNO, ένταση κορυφών στα 334 nm ως προς το χρόνο: —μονο-6-SNO- $\beta\text{CD}$ (1 mM, RPMI 1640), —GSNO (1 mM, RPMI 1640), και —πολυ-SNO- $\beta\text{CD}$ (0.5 mM, DMSO). α) 37 °C, β) 45 °C, γ) 60 °C. ....	182
Σχήμα 9.9 Κυτταρική Επιβίωση κυττάρων DU145 (■) και MCF7 (■) μετά από 3 h επώαση με μονο-SNO- $\beta\text{CD}$ : (A) προσδιορισμός στις 0 h μετά την επώαση, (B) προσδιορισμός στις 24 h μετά την επώαση και με πολυ-SNO- $\beta\text{CD}$ : (C) προσδιορισμός στις 0 h μετά την επώαση, (D) προσδιορισμός στις 24 h μετά την επώαση. ....	183

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1.1 Βασικά χαρακτηριστικά και ιδιότητες των φυσικών κυκλοδεξτρινών .....	33
Πίνακας 1.2 Εγκεκριμένα σύμπλοκα φαρμάκων με CDs. ....	36
Πίνακας 2.1 Σταθερές σύνδεσης σχηματιζόμενων συμπλόκων (ITC).....	45
Πίνακας 2.2 Σταθερές σύνδεσης σχηματιζόμενων συμπλόκων.....	48
Πίνακας 2.3 Ξεनिζόμενα μόρια για τη μελέτη συμπλοκοποίησης του διμερούς <b>2.12</b> .....	49
Πίνακας 2.4 Σταθερές σχηματισμού ( $K, M^{-1}$ ) για τα παραγόμενα σύμπλοκα των ενώσεων του Πίνακα 2.3 με τη βCD και το διμερές <b>2.12</b> . ....	50
Πίνακας 5.1 Προσπάθειες παρασκευής του διμερούς <b>5.21</b> . ....	112
Πίνακας 6.1 Προσπάθειες παρασκευής και απομόνωσης επιθυμητού τριμερούς. ....	142
Πίνακας 6.2 Διπολικές αλληλεπιδράσεις οι οποίες εμφανίζονται στο φάσμα ROESY του τριμερούς <b>6.3</b> σε D <sub>2</sub> O στους 25 °C. ....	145





## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα Διδακτορική Διατριβή εκπονήθηκε εξ' ολοκλήρου στο εργαστήριο Δομικής και Υπερμοριακής Χημείας του Ινστιτούτου Προηγμένων Υλικών, Φυσικοχημικών Διεργασιών, Νανοτεχνολογίας και Μικροσυστημάτων του ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», υπό την επίβλεψη της Δρ. Κ. Γιαννακοπούλου κατά το χρονικό διάστημα Μάρτιος 2009 έως Οκτώβριος 2013.

Κατά το ανωτέρω διάστημα, η εργασία χρηματοδοτήθηκε από το ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος» υπό τη μορφή μεταπτυχιακής υποτροφίας. Επίσης, υπήρξε χρηματοδότηση από το ερευνητικό πρόγραμμα του δικτύου Marie Curie Initial Training Networks (FP7-People-ITN-2008), Project No 237962, «Novel multifunctional cyclodextrin-based nanocarriers for drug encapsulation and delivery as a strategy to overcome current therapeutic drawbacks», «CYCLON». Μέρος της διδακτορικής διατριβής αποτελεί ερευνητικό τμήμα του παραπάνω προγράμματος. Τέλος, μέρος των πρώτων υλών που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια της διατριβής ήταν ευγενική χορηγία της εταιρείας Cyclolab.



---

# **ΜΕΡΟΣ Ι**

## **ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

---



---

## Υπερμοριακή Χημεία- Κυκλοδεξτρίνες

---

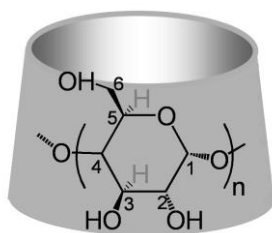


## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1- Υπερμοριακή Χημεία- Κυκλοδεξτρίνες

Η Υπερμοριακή Χημεία είναι νεώτερος κλάδος της χημείας αναφερόμενος σε οργανωμένες μονάδες ανώτερης πολυπλοκότητας, τα υπερμόρια. Ο J. M. Lehn (βραβείο Nobel 1987) την είχε ορίσει ως “Χημεία πέραν του μορίου”.<sup>1</sup> Φαινόμενα μοριακής αναγνώρισης τα οποία συμπεριλαμβάνουν στερεοηλεκτρονική συμπληρωματικότητα, συγκρατούν δύο ή περισσότερα μόρια σε σταθερό (πλην δυναμικό) υπερμοριακό σχηματισμό. Συνήθως προαπαιτείται κατάλληλο μόριο-υποδοχέας (ή ξενιστής, host) και συμπληρωματικού (πλήρως ή μερικώς) μεγέθους ξενιζόμενο μόριο (guest), τα οποία στο διάλυμα συναρμολογούνται σε υπερμόριο. Υπό την επίδραση κατά κανόνα ασθενών, αλλά πολυάριθμων και ποικίλων διαμοριακών δυνάμεων, τα υπερμόρια συγκροτούν διακριτές οντότητες με χαρακτηριστική δομή και ιδιότητες διαφορετικές των μοριακών συστατικών τους. Ως μόρια-ξενιστές δρουν οι κυκλοδεξτρίνες, τα καλιξαρένια, τα κυκλοφάνια, τα κρυπτάνια, οι αιθέρες-στέμματα, κλπ.<sup>2</sup> Η παρούσα εργασία εστιάζει στις κυκλοδεξτρίνες, στην παρασκευή πολυτοπικών παραγώγων τους (δηλαδή ολιγομερών) και στη μελέτη συμπλοκοποίησης μορίων.

### 1.1 Κυκλοδεξτρίνες- Βασική Δομή

Οι φυσικές κυκλοδεξτρίνες (CDs) είναι ομάδα κυκλικών ολιγοσακχαριτών που αποτελούνται από 6, 7 και 8 μονάδες α-D-γλυκοπυρανόζης (α-, β- και γCD αντιστοίχως) σε διαμόρφωση ανακλίντρου, οι οποίες συνδέονται μεταξύ τους με α-1,4-γλυκοζιτικούς δεσμούς (Σχήμα 1.1). Οι φυσικές CDs παράγονται από ενζυματική αποικοδόμηση του αμύλου και επανασύνδεση των τελικών μονάδων της παραγόμενης γλυκόζης σε κυκλικούς σχηματισμούς, μέσω του ενζύμου CD γλυκοζυλοτρανσφεράση, το οποίο παράγεται από αρκετά είδη μικροοργανισμών, όπως οι *Bacillus macerans*, *Klebsiella oxytoca*, *Bacillus circulans* και *Alcalophylic bacillus*.<sup>3</sup>



**Σχήμα 1.1** Σχηματική αναπαράσταση των κυκλοδεξτρινών και αρίθμηση της α-D-γλυκοπυρανόζης. n = 6: αCD, n = 7: βCD, n = 8: γCD.

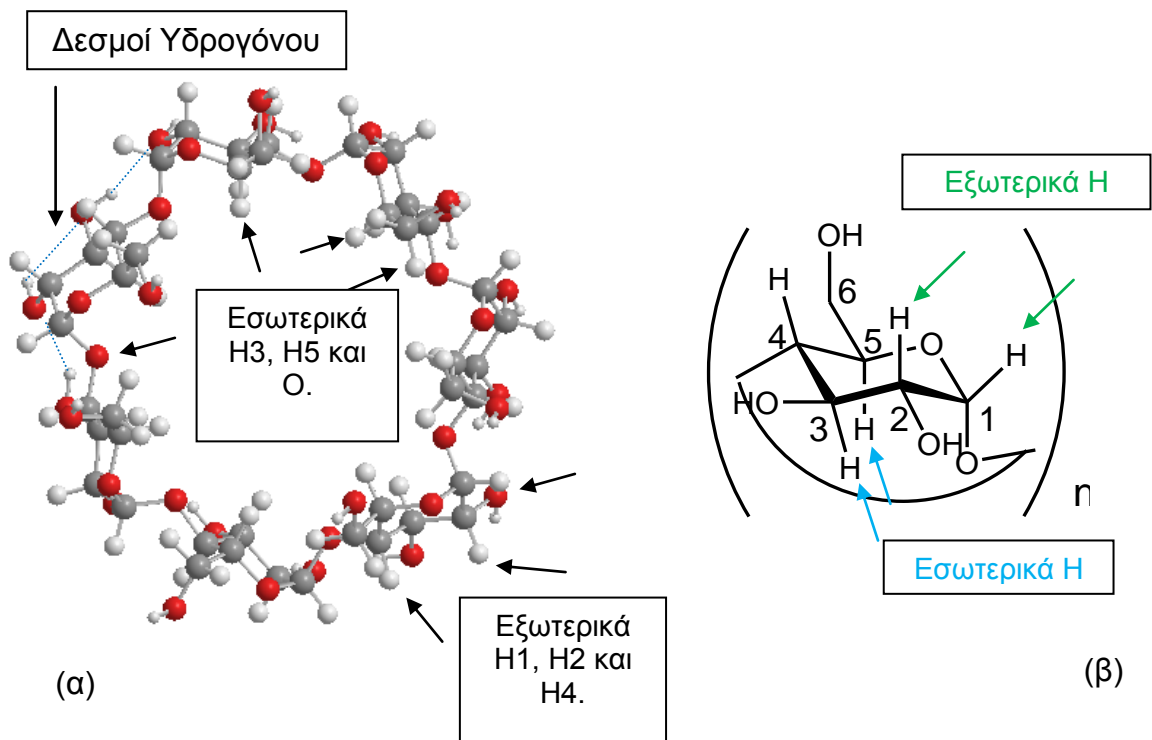
Οι πρώτες αναφορές στις φυσικές κυκλοδεξτρίνες (CDs) εμφανίστηκαν στα τέλη του 19<sup>ου</sup> - αρχές του 20<sup>ου</sup> αιώνα. Έκτοτε, οι κυκλοδεξτρίνες απέκτησαν όλο και πιο σημαντικό ρόλο στον κόσμο της έρευνας. Ο J. Szejtli ανέφερε ότι μέχρι το τέλος του 1997 είχαν δημοσιευθεί περισσότερα από 15000 άρθρα με μελέτες κυκλοδεξτρινών.<sup>4</sup> Οι CDs προσέλκυσαν το ενδιαφέρον των ερευνητών εξαιτίας της κυκλικής και εσωτερικά κενής περιοχής (κοιλότητα) της δομής τους απόρροια της οποίας είναι η δημιουργία συμπλόκων εγκλεισμού με ξενιζόμενα μόρια (Σχήμα 1.2).



**Σχήμα 1.2 Σχηματισμός συμπλόκου εγκλεισμού με υδρόφοβο μόριο σε υδατικό περιβάλλον.**

Σύμφωνα με κρυσταλλογραφικές μελέτες των CDs και των συμπλόκων τους, υπάρχει μια σαφής εικόνα των δομών τους<sup>5</sup> και των αλληλεπιδράσεων τους με τα ξενιζόμενα μόρια στη στερεά κατάσταση. Το σχήμα των CDs μπορεί να παρομοιαστεί με κούρσο κώνο, στο στενότερο άκρο του οποίου βρίσκονται τα πρωτοταγή υδροξύλια των γλυκοπυρανοζικών μονάδων ενώ στο ευρύτερο τα δευτεροταγή τους υδροξύλια (Σχήμα 1.1). Ως εκ τούτου, οι κυκλοδεξτρίνες αποτελούνται από μία εξωτερική υδρόφιλη επιφάνεια όπου εντοπίζονται τα H1, H2 και H4 και μια εσωτερική υδρόφοβη κοιλότητα, όπου βρίσκονται τα H3, H5 και τα άτομα οξυγόνου - γέφυρες που ενώνουν τις μονάδες γλυκοπυρανόζης. Τα H6 μπορούν να είναι στραμμένα προς το εξωτερικό ή το εσωτερικό της κοιλότητας της κυκλοδεξτρίνης, ανάλογα με την περιστροφή του δεσμού C5-C6 (Σχήμα 1.3).<sup>6</sup> Τα μόρια χαρακτηρίζονται από υψηλή συμμετρία, η οποία ενισχύεται, κυρίως στη β-κυκλοδεξτρίνη, από την ύπαρξη ισχυρών διαγλυκοζιτικών δεσμών υδρογόνου μεταξύ του OH2 της γλυκόζης n και του OH3 της γλυκόζης n-1 (Σχήμα 1.3α).<sup>7</sup> Επομένως, συμμετρίες C6, C7 και C8 αντιστοιχούν στις αCD, βCD και γCD. Η ύπαρξη μοριακής συμμετρίας δεν αφορά μόνο στην κρυσταλλική κατάσταση αλλά και το διάλυμα σε υδατικούς και οργανικούς διαλύτες, όπου παρατηρούνται απλά φάσματα NMR, που αντιστοιχούν σε μια μόνον γλυκοζιτική μονάδα.





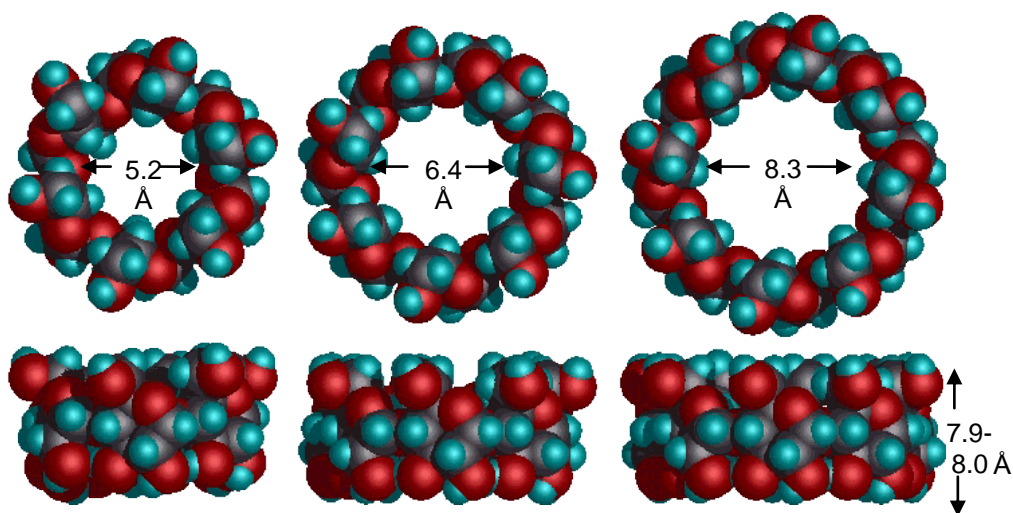
Σχήμα 1.3 α) Σχετική θέση των ατόμων στη β-κυκλοδεξτρίνη, β) Αρίθμηση του γλυκοπυρανοζικού σκελετού.

Στον Πίνακα 1.1 αναφέρονται βασικά χαρακτηριστικά και ιδιότητες των φυσικών CDs και στο Σχήμα 1.4 παρουσιάζονται οι α-, β- και γCD σε τρισδιάστατη απεικόνιση.

Πίνακας 1.1 Βασικά χαρακτηριστικά και ιδιότητες των φυσικών κυκλοδεξτρινών.<sup>8</sup>

CD	αCD	βCD	γCD
Αριθμός μονάδων γλυκοπυρανόζης	6	7	8
Μοριακό βάρος	972.85	1134.99	1297.14
Διαλυτότητα (g/100 mL, H <sub>2</sub> O, 298.2 K <sup>a</sup> )	14.5	1.85	23.2
Διάμετρος κοιλότητας (στενή πλευρά, H5, Å <sup>a</sup> )	4.7	6.0	7.5
Διάμετρος κοιλότητας (ευρεία πλευρά, H3, Å <sup>a</sup> )	5.2	6.4	8.3
Ύψος κοιλότητας (πρωτοταγή έως δευτεροταγή OH, Å <sup>a</sup> )	7.9 - 8.0	7.9 - 8.0	7.9 - 8.0
Όγκος κοιλότητας (Å <sup>3</sup> )	174	262	472
α <sub>D</sub> , deg	+150.5	+162.5	+177.4
pK <sub>a</sub> στους 298.2 K	12.33	12.20	12.08

<sup>a</sup>Υπολογισμένη σύμφωνα με τα μοντέλα Corey-Pauling-Koltun (CPK).

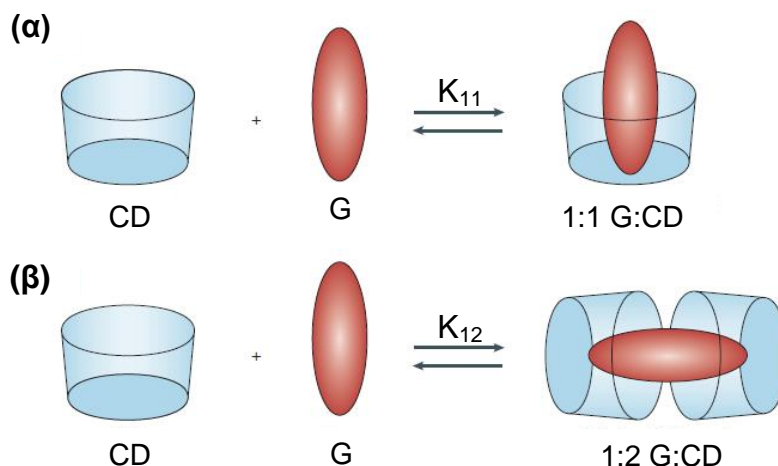


**Σχήμα 1.4** Τρισδιάστατη απεικόνιση CPK<sup>9</sup> όπου φαίνονται οι διαστάσεις και τα σχετικά μεγέθη των κυκλοδεξτρινών.

Παρατηρούμε ότι οι διαλυτότητες των CDs ποικίλουν με ακανόνιστο τρόπο.<sup>10</sup> Η βCD εμφανίζει χαμηλότερη υδατοδιαλυτότητα από την αCD, παρά το γεγονός ότι διαθέτει περισσότερα OH. Το φαινόμενο αυτό αποδίδεται στην ύπαρξη του προαναφερθέντος δικτύου ενδομοριακών δεσμών υδρογόνου. Τροποποίηση της βCD στη δευτεροταγή πλευρά, επιφέρει καταστροφή των δεσμών υδρογόνου, με αποτέλεσμα σε πολλές περιπτώσεις, αναλόγως με την υποκατάσταση που πραγματοποιείται, να επέρχεται αύξηση της υδατοδιαλυτότητας. Επί παραδείγματι, η 6-(2-υδροξυπρόπυλο)-βCD (HPβCD) (Σχήμα 1.7) παρουσιάζει 60% (w/w) επιπλέον υδατοδιαλυτότητα σε σύγκριση με την αρχική βCD.<sup>11</sup>

## 1.2 Σχηματισμός Συμπλόκων Κυκλοδεξτρινών

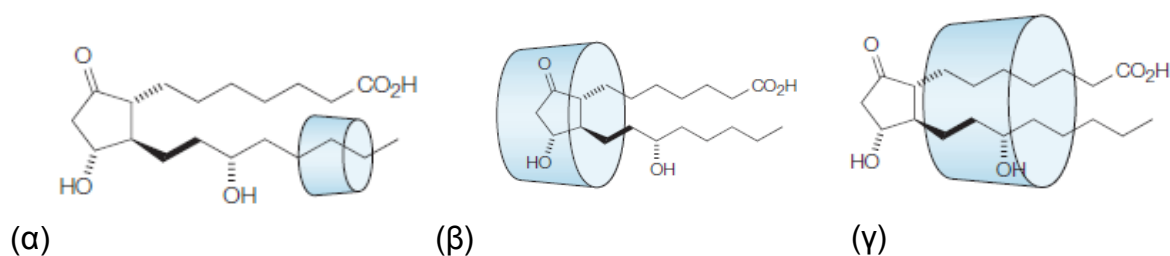
Οι φυσικές και τροποποιημένες CDs προσέλκυσαν το ενδιαφέρον των ερευνητών κυρίως λόγω της ικανότητάς τους να εγκλείουν στην κοιλότητά τους μέρος υδρόφοβων μορίων ή φορτισμένων μορίων με υδρόφοβα τμήματα, σχηματίζοντας έτσι σύμπλοκα τα οποία αναφέρονται συνήθως ως σύμπλοκα εγκλεισμού, σύμπλοκα ξενιστή (host, H) - ξενιζόμενου μορίου (guest, G) ή απλώς σύμπλοκα. Μεταξύ της CD και του G δημιουργούνται μη ομοιοπολικές διαμοριακές αλληλεπιδράσεις, οι οποίες αθροιζόμενες προσδίδουν σταθερότητα στα σύμπλοκα. Η σταθερότητα ποικίλει ανάλογα με τη φύση των συστατικών των συμπλόκων. Η στοιχειομετρία των συμπλόκων μπορεί να είναι: 1:1 (CD:G), 1:2 (CD:G<sub>2</sub>), 2:1 (CD<sub>2</sub>:G), 2:2 (CD<sub>2</sub>:G<sub>2</sub>) κλπ (inclusion complexes) (Σχήμα 1.5).<sup>8</sup>



**Σχήμα 1.5** Σχηματική αναπαράσταση συναρμογής CD και υδρόφοβου μορίου προς σχηματισμό συμπλόκων εγκλεισμού. α) 1:1 (CD:G) και β) 1:2 (CD:G<sub>2</sub>).<sup>12</sup>

Όπως και οι σταθερές σχηματισμού, η στοιχειομετρία προσδιορίζεται μετά από μετρήσεις αλλαγών στις φυσικοχημικές ιδιότητες όπως η διαλυτότητα, η απορρόφηση ορατού/υπεριώδους, η χημική σταθερότητα, οι χημικές μετατοπίσεις στο φάσμα NMR κ.λ.π κατά τη διάρκεια τιτλοδοτήσεων.<sup>13</sup>

Στα σύμπλοκα εγκλεισμού μπορεί να πραγματοποιηθεί εγκλωβισμός ολόκληρου του G ή μέρους του. Η αCD είναι κατάλληλη για τον εγκλωβισμό αλειφατικών αλυσίδων, ενώ η βCD διαθέτει το κατάλληλο μέγεθος για τον εγκλωβισμό αρωματικών δακτυλίων.<sup>12</sup> Στο Σχήμα 1.6 παρουσιάζονται τα σύμπλοκα εγκλεισμού των αCD, βCD και γCD με την Προσταγλανδίνη E2 όπου καταδεικνύεται η διαφορά στη δομή των συμπλόκων αναλόγως της εκλεκτικότητας της κάθε CD.



**Σχήμα 1.6** Προτεινόμενα μοντέλα συμπλόκων εγκλεισμού της Προσταγλανδίνης E2 με α) αCD, β) βCD και γ) γCD.<sup>12</sup>

Οι μελέτες που αφορούν στην συμπλοκοποίηση μορίων με CDs έχουν πραγματοποιηθεί σε υδατικά διαλύματα και ως εκ τούτου η ευκολία σχηματισμού καθώς και η σταθερότητα των συμπλόκων εξαρτώνται σε μεγάλο ποσοστό από το βαθμό ενυδάτωσης της CD και του G.<sup>2b, 3, 8</sup> Ο αριθμός των μορίων νερού τα οποία καταλαμβάνουν την κοιλότητα της CD, εξαρτάται από τη φύση της. Κατά τον ίδιο τρόπο, ο βαθμός ενυδάτωσης του G εξαρτάται επίσης από τη φύση του. Κατά τη συμπλοκοποίηση ο εισερχόμενος υδρόφοβος G εκτοπίζει τα μόρια νερού υψηλής ενέργειας από τη

κοιλότητα της CD, ενώ επίσης και ο ίδιος χάνει μέρος της ενυδάτωσής του, σε μια διαδικασία που χαρακτηρίζεται από αρνητική κανονική ελεύθερη ενέργεια ( $\Delta G^{\circ}$ ) και συνήθως αρνητική εντροπία ( $\Delta S^{\circ}$ ). Οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις ευνοούν τον σχηματισμό του συμπλόκου, η σταθερότητα του οποίου ποικίλει και οφείλεται στην ύπαρξη ή σχηματισμό: α) δεσμών υδρογόνου, β) δυνάμεων Van Der Waals, γ) δυνάμεων διασποράς (London), δ) αλληλεπιδράσεων διπόλου-διπόλου και ε) ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων.<sup>2</sup> Καθώς η δημιουργία των συμπλόκων εγκλεισμού είναι αντιστρεπτή διαδικασία, σε υδατικό διάλυμα υπάρχει δυναμική ισορροπία μεταξύ των συμπλοκοποιημένων και ελευθέρων μορίων (Σχήμα 1.2, 1.5).

Η ικανότητα των CDs να σχηματίζουν σύμπλοκα σε υδατικό περιβάλλον έχει εφαρμοσθεί στον εγκλεισμό και διαλυτοποίηση φαρμάκων, ενώ αρκετές CDs (φυσικές και παράγωγα) έχουν εγκριθεί ως έκδοχα. Στον Πίνακα 1.2 αναγράφονται παραδείγματα συμπλόκων φαρμάκων με CDs, τα οποία κυκλοφορούν στην αγορά.<sup>12</sup>

**Πίνακας 1.2 Εγκεκριμένα σύμπλοκα φαρμάκων με CDs\*.<sup>12</sup>**

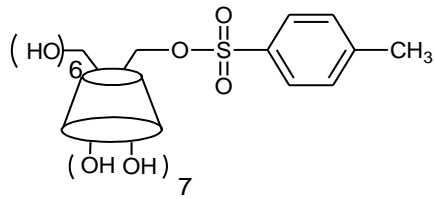
Φάρμακο	Τρόπος χορήγησης	Εμπορική ονομασία	Αγορά κυκλοφορίας
<b>αCD</b>			
Alpostadil (PGE <sub>1</sub> )	Ενδοφλεβίως	Prostavastin, Caverject, Edex	Ευρώπη, Ιαπωνία, ΗΠΑ
Gefotiam hexetil HCl	Από στόματος	Pansporin T	Ιαπωνία
Limaprost	Από στόματος	Opalmon, Prorenal	
<b>βCD</b>			
Benexate	Από στόματος	Ulgut, Lonmiel	Ιαπωνία
Dexamethanose	Επιδερμικά	Glymesason	Ιαπωνία
Iodine	Τοπικά	Mena-Gargle	Ιαπωνία
Nicotine	Υπογλώσσιο	Nicorette	Ευρώπη
Nimesulide	Από στόματος	Nimedex, Mesulid	Ευρώπη
Nitroglycerin	Υπογλώσσιο	Nitropen	Ιαπωνία
Omeprazole	Από στόματος	Omebeta	Ευρώπη
Dinoprostone (PGE <sub>2</sub> )	Υπογλώσσιο	Prostarmon E	Ιαπωνία
Piroxicam	Από στόματος	Brexin	Ευρώπη
Tiaprofenic acid	Από στόματος	Surgamyl	Ευρώπη
<b>2-Υδροξυπροπυλο-βCD (HPβCD)</b>			
Cisapride	Υπόθετο	Propulsid	Ευρώπη
Hydrocortisone	Από στόματος	Dexocort	Ευρώπη
Indomethacin	Κολλύριο	Indocid	Ευρώπη
Itraconazole	Από στόματος, Ενδοφλεβίως	Sporanox	Ευρώπη, ΗΠΑ
Mitomycin	Ενδοφλεβίως	Mitozytrex	ΗΠΑ
<b>Τυχαίως μεθυλιωμένη-βCD (RMβCD)</b>			
17β-Oestradiol	Ρινικό σπρέι	Aerodiol	Ευρώπη
Chloramphenicol	Κολλύριο	Clorocil	Ευρώπη
<b>Σουλφοβουτυλικός αιθέρας-βCD</b>			
Voriconazole	Ενδοφλεβίως	Vfend	Ευρώπη, ΗΠΑ
Ziprasidone maleate	Ενδομυϊκά	Geodon, Zeldox	Ευρώπη, ΗΠΑ
<b>2-Υδροξυπροπυλο-γCD (HPγCD)</b>			
Diclofenac sodium	Κολλύριο	Voltaren	Ευρώπη

\*Εταιρείες οι οποίες παράγουν κυκλοδεξτρίνες για φαρμακευτική χρήση είναι οι: Roquette, Cerestar, Wacker Chemie και CyDex.

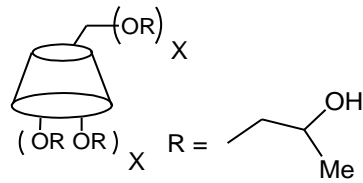
\*\*Βλ. δομές δραστικών ουσιών στο Παράρτημα 1.

### 1.3 Υποκατεστημένες Κυκλοδεξτρίνες

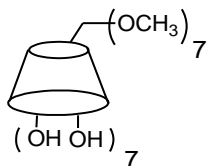
Τα τροποποιημένα παράγωγα CDs μπορεί να διαφέρουν στο σχήμα, στο μέγεθος και σε άλλες φυσικές ιδιότητες της κοιλότητας και της επιφάνειας των CDs, εξ' αιτίας της εισαγωγής νέων λειτουργικών ομάδων. Ως εκ τούτου, με την τροποποίηση μπορούν να παραχθούν κατάλληλοι ξενιστές για συγκεκριμένα μόρια. Εισαγωγή φωτοχημικά ενεργών ομάδων<sup>14</sup> ή ομάδων ευαίσθητων στο pH, μεταβάλλει τις φυσικές ιδιότητες της εξωτερικής επιφάνειας των CDs με αποτέλεσμα τον σχηματισμό μικκυλίων ή μονοστοιβάδων επί καταλλήλων υποστρωμάτων (monolayers). Επίσης, μπορεί να εισαχθούν σημεία συναρμογής (coordination sites) για την παρασκευή μεταλλο-CDs<sup>15</sup> και τέλος να παρασκευασθούν παράγωγα που προσομοιάζουν ένζυμα και καταλύτες.<sup>16</sup> Ο μόνος τρόπος να παραχθούν παράγωγα CDs είναι μέσω τροποποίησης των ομάδων υδροξυλίων. Επειδή κάθε μόριο CD διαθέτει πολλές ομάδες –OH για πιθανή τροποποίηση, οι οποίες τείνουν να αντιδρούν με μη εκλεκτικό τρόπο, συχνά παράγονται πολύπλοκα μίγματα. Τέτοιου είδους μίγματα κυκλοδεξτρινών με διάφορους βαθμούς υποκατάστασης έχουν βρει εφαρμογή στη φαρμακοβιομηχανία ως καλώς χαρακτηρισμένα έκδοχα (π.χ RAMEB, randomly methylated  $\beta$ CD, HP $\beta$ CD, hydroxypropyl  $\beta$ CD) καθώς και στον χρωματογραφικό εναντιοδιαχωρισμό χειρόμορφων χημικών αντιδραστηρίων (για παράδειγμα, ως προσροφημένα σε πηκτή πυριτίας). Έχουν όμως αναπτυχθεί τοπο-εκλεκτικές διαδικασίες υποκατάστασης/ τροποποίησης, οι οποίες περιορίζουν την αντίδραση, έτσι ώστε να πραγματοποιηθεί υποκατάσταση μίας ομάδας –OH ή ενός συγκεκριμένου συνδυασμού ομάδων –OH. Οι μέθοδοι που έχουν αναπτυχθεί για την ελεγχόμενη τροποποίηση των CDs στηρίζονται μεταξύ άλλων στη διαφορετική δραστικότητα των –OH<sub>2</sub>, –OH<sub>3</sub> και –OH<sub>6</sub>, στη δημιουργία συμπλόκων μεταξύ των αντιδραστηρίων και της κοιλότητας των CDs σε υδατικό περιβάλλον [πχ παρασκευή μονο(6-*p*-τολουϋλοσουλφονυλο)- $\beta$ CD, Σχήμα 1.7]<sup>17</sup> και στη χρήση προστατευτικών ομάδων. Οι επιθυμητοί υποκαταστάτες μπορούν να εισαχθούν είτε απ' ευθείας με αλκυλίωση, ακυλίωση και σουλφονυλίωση είτε μέσω πυρηνόφιλης υποκατάστασης, μετά την παρασκευή ενδιάμεσων (όπως σουλφονικοί εστέρες ή αλογονίδια) (Σχήμα 1.7). Με αυτόν τον τρόπο μπορούν να εισαχθούν π.χ αμινομάδες, οι οποίες θα αποτελέσουν πυρηνόφιλα κέντρα για περαιτέρω επεξεργασία. Έτσι, μία ή περισσότερες ομάδες –OH καθίστανται χημικά διακριτές από τις υπόλοιπες και πλέον είναι δυνατή η πραγματοποίηση περαιτέρω αντιδράσεων χωρίς να επηρεάζονται οι υπόλοιπες ομάδες –OH.



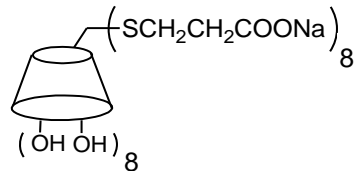
Μονο(6-*p*-τολουϋλοσουλφονυλο)-  
βCD (**bmTos**)



6-(2-Υδροξυπροπυλο)-βCD,  
εγκεκριμένος φορέας φαρμάκων  
(**HPβCD**, Roquette)



Περι(6-μεθυλο-2,3-  
δι-Ο-μεθυλο)-βCD (**pMβCD**)



Περι[6-καρβοξυαιθυλοθειο]-6-δεοξυ]-γCD,  
εγκεκριμένο φάρμακο (SUGAMMADEX, Bridion)

**Σχήμα 1.7 Παραδείγματα υποκατεστημένων κυκλοδεξτρινών.**

---

## Ολιγομερή Κυκλοδεξτρινών

---



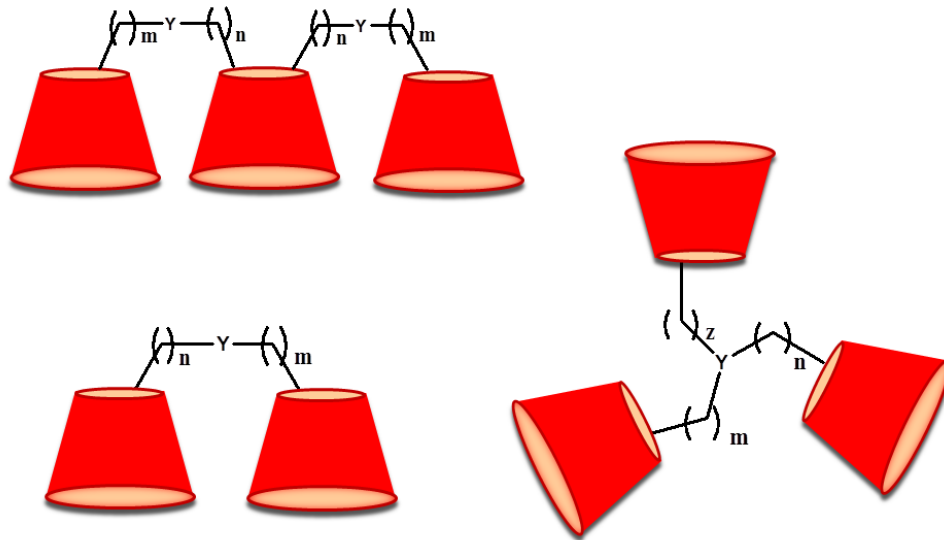


## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2- Ολιγομερή Κυκλοδεξτρινών

### 2.1 Ολιγομερή Κυκλοδεξτρινών ως Πιθανοί Πλεονεκτικοί Μεταφορείς Μορίων/ Φαρμάκων

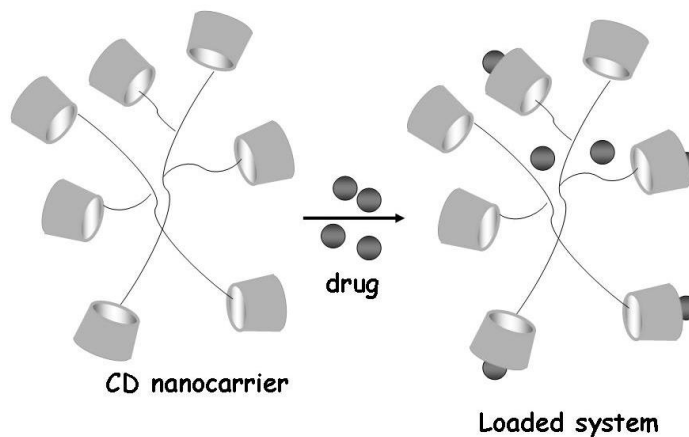
Παρά το γεγονός ότι οι κυκλοδεξτρίνες δημιουργούν σύμπλοκα εγκλεισμού με οργανικά, ανόργανα, οργανομεταλλικά και βιολογικά μόρια,<sup>18</sup> η ισχύς σύνδεσης των μητρικών κυκλοδεξτρινών είναι μέτρια. Το μέγεθος της αλληλεπίδρασης μεταξύ της κυκλοδεξτρίνης και του ξενιζόμενου μορίου ποικίλει, οι δε σταθερές σύνδεσης ( $K_{\text{binding}}$ ) κυμαίνονται από  $10^2 \text{ M}^{-1}$  έως  $10^4 \text{ M}^{-1}$  (για σύμπλοκα 1:1), με συνήθη τιμή  $\sim 10^3 \text{ M}^{-1}$ .<sup>19</sup> Ως εκ τούτου, έχουν συντεθεί στη βιβλιογραφία κατάλληλα τροποποιημένες κυκλοδεξτρίνες για πιο αποτελεσματικό εγκλωβισμό επιλεγμένων μορίων. Συγκεκριμένα, τροποποίηση των ομάδων  $-\text{OH}$  μπορεί να επιμηκύνει τη λειτουργική κοιλότητα και να δημιουργήσει επιπλέον σημεία επαφής με το ξενιζόμενο μόριο ενισχύοντας έτσι την  $K_{\text{binding}}$ .

Τα ολιγομερή (διμερή ή τριμερή) κυκλοδεξτρινών αποτελούν ενδιαφέροντες πολυτροπικούς υπερμοριακούς ξενιστές με μεγαλύτερη σταθερά σύνδεσης από τις απλές CDs (Σχήμα 2.1).<sup>20</sup> Η παρουσία δύο ή τριών διαθέσιμων κυκλοδεξτρινών σε άμεση γεινίαση με το ξενιζόμενο μόριο, αφ' ενός αυξάνει τη σταθερά σύνδεσης για στατιστικούς λόγους, αφ' ετέρου ο συνδέτης που ενώνει τις δύο κυκλοδεξτρίνες, μπορεί επίσης να οδηγήσει σε αύξηση της σταθεράς σύνδεσης δημιουργώντας μια ψευδοκοιλότητα (βλ. κατωτέρω παράδειγμα Σχήματος 2.6).<sup>15</sup> Η συνεργιστική σύνδεση λειτουργεί αποτελεσματικά όταν τα διμερή συνδέονται από τη δευτεροταγή πλευρά και έχει μελετηθεί για εφαρμογή σε πολλούς τομείς (κατάλυση, φωτοχημεία, μοριακή αποτύπωση, μίμηση ενζύμων).<sup>15</sup> Η συνύπαρξη περισσότερων της μιας κυκλοδεξτρινών οι οποίες χαρακτηρίζονται από ανεξάρτητη δραστικότητα σε ένα ολιγομερές όπου η σύνδεση γίνεται κυρίως από την πρωτοταγή πλευρά των CDs, του προσδίδει την ικανότητα σύνδεσης με πολλαπλά ξενιζόμενα μόρια.<sup>21</sup>



**Σχήμα 2.1** Σχηματική αναπαράσταση πιθανών ολιγομερών κυκλοδεξτρινών, όπου Y ο εκάστοτε συνδέτης και m, n = αριθμός ατόμων άνθρακα.

Εκ παραλλήλου, το μεγαλύτερο μοριακό βάρος των ολιγομερών (2-4 KDa)<sup>22</sup> μπορεί να θεωρηθεί ως πλεονέκτημα για εφαρμογές σε μεταφορά φαρμάκων: μεγαλύτερο μοριακό βάρος σημαίνει δυνητικά βραδύτερη αποβολή και παρατεταμένη κυκλοφορία στο αίμα, επομένως αυξημένο φαινόμενο EPR (Enhanced Permeability and Retention effect),<sup>23</sup> το οποίο αποτελεί βασική παράμετρο στην παθητική στόχευση φαρμάκων (Passive Targeting) (Σχήμα 2.2).



**Σχήμα 2.2** Σχηματική αναπαράσταση συμπλοκοποίησης ολιγομερούς κυκλοδεξτρινών με φάρμακο.

Επομένως, η παρασκευή καλώς χαρακτηρισμένων διμερών ή τριμερών αποτελεί ενδιαφέρον αντικείμενο έρευνας με πολλές προκλήσεις.

Η βιβλιογραφία περιέχει αρκετά παραδείγματα σύνθεσης ολιγομερών CDs, χαρακτηριστικά των οποίων παρατίθενται στην ενότητα που ακολουθεί (2.2). Όμως είναι σημαντικό να επισημανθούν τα σημαντικότερα χαρακτηριστικά της μεθοδολογίας παρασκευής, καθώς κατά την εκπόνηση της παρούσας εργασίας έγινε προφανές ότι υπάρχουν αντικειμενικές δυσκολίες και αδυναμίες στην παρασκευή και τον χαρακτηρισμό οι οποίες πρέπει να σημειωθούν.

Επομένως, τίθενται εδώ τα ποιοτικά χαρακτηριστικά και προαπαιτούμενα της επιτυχούς μεθόδου παρασκευής ολιγομερών:

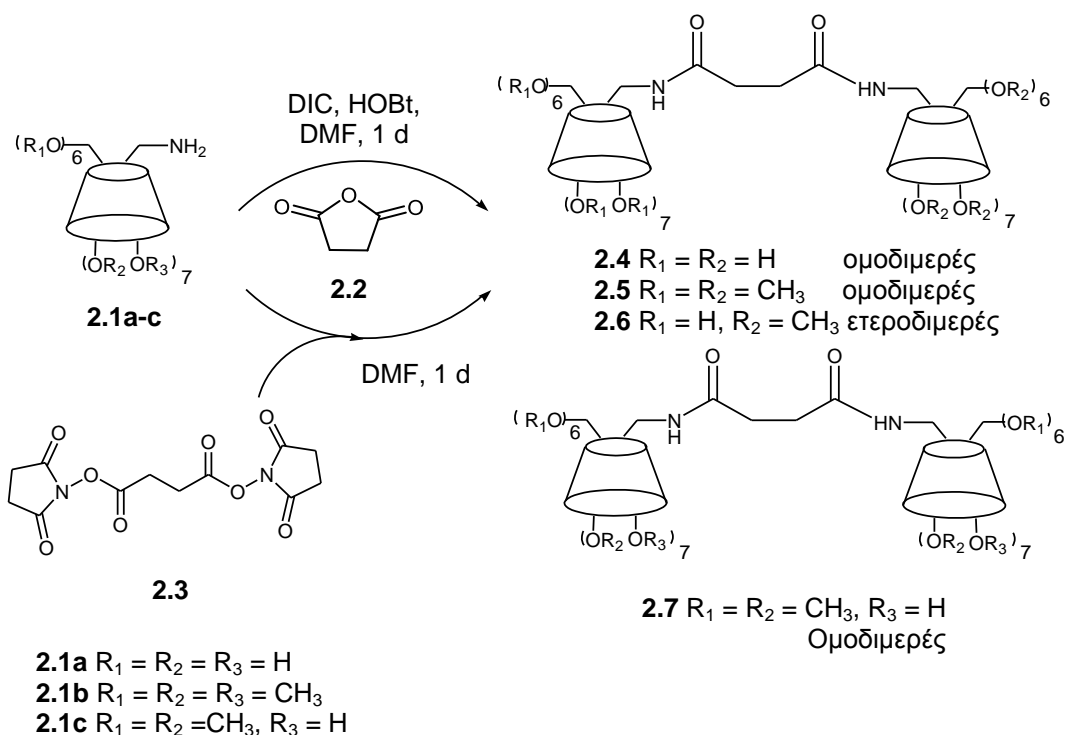
- ευκολία σχηματισμού προϊόντος, (απλές συνθήκες, λίγα βήματα)
- υψηλή απόδοση
- χρήση υδατικού διαλύτη
- υδατοδιαλυτότητα του ολιγομερούς
- διαθεσιμότητα όλων των μονάδων CD προς συμπλοκοποίηση
- σύγκριση με τα αντίστοιχα σύμπλοκα με βCD ώστε να αποκαλυφθεί αν οι κοιλότητες των ολιγομερών δρουν συνεργιστικά (μεγαλύτερη σταθερά σύνδεσης) ή αν δρουν ανεξάρτητα μεταξύ τους (δέσμευση περισσότερων ξενιζόμενων μορίων ανά μόριο ολιγομερούς).

Στα υποκεφάλαια που ακολουθούν, δίνονται παραδείγματα τυπικών αντιδράσεων σύνδεσης.

## **2.2 Βιβλιογραφική Επισκόπηση Παρασκευών και Ιδιοτήτων Ολιγομερών**

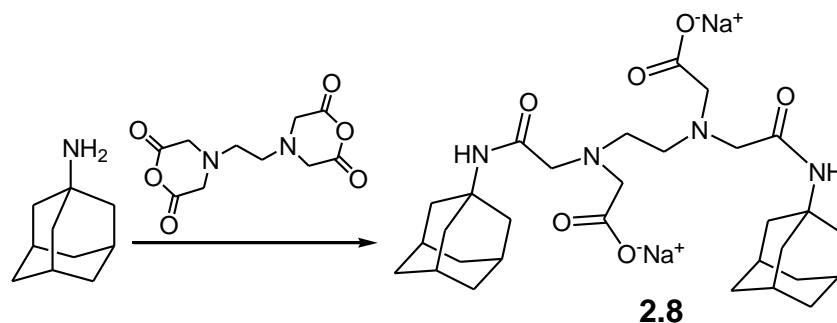
### **2.2.1 Σύνδεση Διμερών Κυκλοδεξτρινών μέσω Αμιδικού Δεσμού, από την Πρωτοταγή πλευρά (Head to Head ή 6-6´)**

Πολλά μόρια μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως γέφυρες για τη σύνδεση δύο ή περισσότερων κυκλοδεξτρινών προς σχηματισμό ολιγομερών μέσω αμιδικού δεσμού. Μια κατηγορία συνδετών είναι τα διοξέα, τα οποία μπορούν εύκολα να συνδέσουν δύο μονο-αμινο-CDs μέσω αμιδικών δεσμών. Ο P. Berthault και οι συνεργάτες του συνέθεσαν τα παράγωγα **2.4 - 2.7**, χρησιμοποιώντας το ηλεκτρικό οξύ (**2.2**) και την ένωση **2.3** ως συνδέτη και την μονο(6-αμινο-6-δεοξυ)-βCD (**2.1a-c**), γνωστό μονοπαράγωγο από τη βιβλιογραφία (Σχήμα 2.3).<sup>21b</sup>



**Σχήμα 2.3** Δημιουργία διμερών κυκλοδεξτρινών μέσω αμιδικών δεσμών.<sup>21b</sup>

Οι συνθήκες της αντίδρασης επηρέαζαν σημαντικά τα προϊόντα **2.4** και **2.6**. Σύμφωνα με τη φασματομετρία μάζας (MALDI-MS) όταν η συγκέντρωση της αμίνης (**2.1a-c**) στο διάλυμα ήταν μεγάλη, λαμβάνονταν μίγματα διμερών και τριμερών (τα τριμερή υπήρχαν σε μικρότερη αναλογία), εξαιτίας της εστεροποίησης του OH6 της ένωσης **2.1a**. Ωστόσο, όταν η συγκέντρωση του διαλύματος ήταν μικρή τόσο η αντίδραση με τον συνδέτη **2.2** όσο και με το συνδέτη **2.3** έδωσαν το επιθυμητό διμερές. Το ίδιο φαινόμενο παρατηρήθηκε με την αύξηση της θερμοκρασίας από τους 25 στους 40 °C. Οι αποδόσεις των ομοδιμερών κυκλοδεξτρινών **2.5** και **2.7** ήταν 74% και 97%, αντιστοίχως, ενώ τα διμερή **2.4** και **2.6** παρελήφθησαν με αποδόσεις 74% και 77%, αντιστοίχως. Χρησιμοποιώντας ισοθερμική θερμιδομετρία τιτλοδότησης (ITC) πραγματοποιήθηκαν αρχικά πειράματα χαρακτηρισμού της συμπλοκοποίησης της βCD με την ένωση **2.8** (Σχήμα 2.4), με την οποία η βCD σχημάτισε σύμπλοκα με στοιχειομετρία 1:2 (G:H).



Σχήμα 2.4 Σύνθεση ξενιζόμενου μορίου των διμερών του Σχ. 2.3.

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις για τη δημιουργία συμπλόκου μεταξύ του διμερούς **2.7** και της ένωσης **2.8** και διαπιστώθηκε δημιουργία συμπλόκου 1:1 (G:H), ενώ με το περισσότερο στερεοχημικά παρεμποδισμένο και ελαφρώς μικρότερο διμερές **2.4** παρατηρήθηκε δημιουργία συμπλόκου 1:1.17 (G:H). Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώθηκαν με τη χρήση φασματομετρίας NMR καθώς επίσης και με θεωρητικούς υπολογισμούς. Στον πίνακα 2.1 παρατίθενται οι μετρηθείσες σταθερές σύνδεσης.

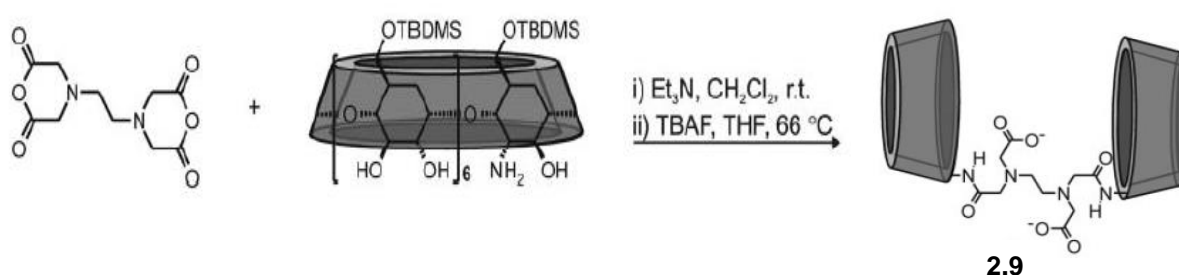
Πίνακας 2.1 Σταθερές σύνδεσης σχηματιζόμενων συμπλόκων (ITC).

	Host (mM)	Guest (mM)	$K_{ax} 10^4 (M^{-1})$	G/H
<b>βCD</b>	0.852	4.002	$3.9 \pm 0.1$	1:2
<b>2.4</b>	0.402	4.002	$32.9 \pm 0.8$	1:1
<b>2.7</b>	1.635	16.067	$0.3 \pm 0.03$	1:1.17

Συμπερασματικά, αποδείχθηκε ότι πραγματοποιείται εγκλωβισμός του ξενιζόμενου μορίου, ενώ δεν κατέστη δυνατόν να καθοριστεί αν το μόριο εισέρχεται στην κοιλότητα από την πρωτοταγή ή τη δευτεροταγή πλευρά της. Τέλος, από τη μικρή σταθερά σύνδεσης του διμερούς **2.7** οι συγγραφείς συμπέραναν ότι οι μεθυλομάδες παρεμποδίζουν την είσοδο του ξενιζόμενου μορίου στην κοιλότητα. Επομένως, το πλέον λειτουργικό ήταν το ομοδιμερές **2.4**. Οι συγγραφείς δεν διερεύνησαν/ σχολίασαν την συμμετοχή (ή όχι) του συνδέτη στη διαδικασία συμπλοκοποίησης, η δε επιλογή διδραστικού ξενιζόμενου μορίου (**2.8**) δεν αποκλείει τη δημιουργία υπερμοριακών πολυμερών, τα οποία θα εξηγούσαν την ασυνήθιστη στοιχειομετρία 1:1.17.

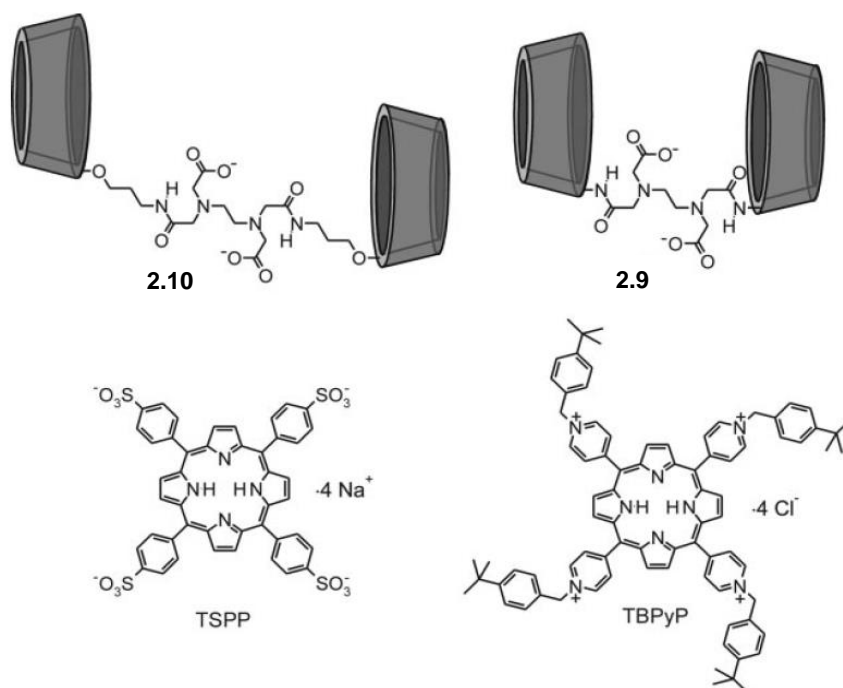
## 2.2.2 Σύνδεση Διμερών Κυκλοδεξτρινών μέσω Αμιδικού Δεσμού από τη Δευτεροταγή πλευρά (Tail to Tail ή 3-3')

Πολλές μελέτες αποδεικνύουν ότι η σύνδεση δύο κυκλοδεξτρινών από τις δευτεροταγείς πλευρές τους (tail-to-tail) οδηγεί σε αυξημένη σταθερά σύνδεσης του συμπλόκου εγκλεισμού G:CD<sub>2</sub> συγκριτικά με το σύμπλοκο εγκλεισμού G:CD. Συνδέοντας δύο κυκλοδεξτρίνες από τη δευτεροταγή πλευρά με το αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ (EDTA) ως συνδέτη, παράγονται διμερή tail-to-tail. Ο N. Reinhoudt και οι συνεργάτες του συνέθεσαν το διμερές **2.9** (Σχήμα 2.5) ακολουθώντας παρόμοια πειραματική διαδικασία με αυτήν του διμερούς **2.10**<sup>24</sup> (Σχήμα 2.6).



Σχήμα 2.5 Σύνθεση διμερούς 3-3'.<sup>15</sup>

Τα επιθυμητά διμερή παρελήφθησαν μετά από τέσσερα βήματα ξεκινώντας από τη φυσική βCD, τα οποία περιλάμβαναν την προστασία των πρωτοταγών –OH, την εισαγωγή μιας ομάδας –NH<sub>2</sub> στη δευτεροταγή πλευρά της CD, την αντίδραση με τον ανυδρίτη EDTA και την αποπροστασία των πρωτοταγών –OH, καταλήγοντας στα υδατοδιαλυτά διμερή **2.9** και **2.10** (με αποδόσεις γύρω στο 60%), των οποίων η δομή επιβεβαιώθηκε με φασματοσκοπία NMR και φασματομετρία μάζας. Η ικανότητα εγκλωβισμού ξενιζόμενων μορίων μεταβαλλόταν είτε με αλλαγή pH είτε με συμπλοκοποίηση με μέταλλα.<sup>15</sup> Ο N. Reinhoudt και οι συνεργάτες του πραγματοποίησαν πειράματα συμπλοκοποίησης των διμερών **2.9** και **2.10** με πορφυρίνες, συγκεκριμένα με την 5,10,15,20-τετρακίς(4-σουλφονυλοφαινυλο)πορφυρίνη (TSPP, αρνητικά φορτισμένη) και την 5,10,15,20-τετρακίς[(N-*p-t*-βουτυλοβενζυλο)-4-πυριδινυλο]πορφυρίνη (TBPYP, θετικά φορτισμένη) (Σχήμα 2.6). Η συμπλοκοποίηση TSPP και TBPYP μελετήθηκε με πειράματα ισοθερμικής θερμιδομετρίας (ITC).



Σχήμα 2.6 Διμερή 3-3' βCD με συνδέτη EDTA και πορφυρίνες ως ξενιζόμενα μόρια.<sup>15</sup>

Βρέθηκε ότι η TSPP σχηματίζει σύμπλοκο 1:1 (G:H) με το διμερές **2.9** καθώς επίσης και με το **2.10**, ενώ η TBPYP, ως ογκωδέστερη, σχηματίζει σύμπλοκο 1:2 (G:H) με το διμερές **2.10**. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η TBPYP διαθέτει μεγαλύτερη πορφυρινική βάση με αποτέλεσμα να μην υπάρχει στερεοχημική παρεμπόδιση ανάμεσα στις κυκλοδεξτρίνες οι οποίες συμπλοκοποιούνται με τα *t*-βουτυλοβενζυλο-τμήματα της TBPYP κι έτσι καθίσταται δυνατή η δημιουργία συμπλόκου 1:2 (G:H). Αντιθέτως, το διμερές **2.9**, εξαιτίας της βραχύτητας του συνδέτη που ενώνει τις δύο κυκλοδεξτρίνες, δεν δύναται να δεσμεύσει διτοπικά τη σχετικά ογκώδη TBPYP. Εν συνεχεία, μελετήθηκε η επίδραση του φορτίου στις σταθερές σύνδεσης των πορφυρινών TSPP και TBPYP με τα διμερή **2.9** και **2.10**. Χρησιμοποιήθηκε συμπλοκοποίηση με μέταλλα (όπως  $\text{Eu}^{3+}$  και  $\text{Ca}^{2+}$ ) για το σχηματισμό ουδέτερων και θετικά φορισμένων διμερών. Στον Πίνακα 2.2 συνοψίζονται οι σταθερές σύνδεσης των διαφόρων συμπλόκων που παρασκευάστηκαν με τις TSPP και TBPYP, με συνολικό φορτίο αρνητικό, μηδέν ή θετικό. Από τον πίνακα 2.2 είναι εμφανές ότι η συμπλοκοποίηση της πορφυρίνης TSPP με το θετικά φορισμένο διμερές ευνοείται σε σύγκριση με τα σύμπλοκα της φυσικής βCD, του ουδέτερου και του αρνητικά φορισμένου διμερούς.

**Πίνακας 2.2 Σταθερές σύνδεσης σχηματιζόμενων συμπλόκων.<sup>15</sup>**

Host	Guest	Stoichiometry (H:G)	$K$ [ $M^{-1}$ ]
CD <sup>[a]</sup>	TSPP	2:1 <sup>[b]</sup>	$(3.1 \pm 0.4) \times 10^4$
<b>2.10<sup>2-</sup></b>	TSPP	1:1	$(6.4 \pm 3.8) \times 10^6$
[H·2.10] <sup>1-</sup>	TSPP	1:1	$(2.0 \pm 1.1) \times 10^7$
[Ca·2.10] <sup>0</sup>	TSPP	1:1	$(2.0 \pm 1.3) \times 10^7$
[Eu·2.10] <sup>1+</sup>	TSPP	1:1	$(3.4 \pm 1.9) \times 10^7$
<b>2.9<sup>2-</sup></b>	TSPP	1:1	$(2.7 \pm 1.0) \times 10^5$
[Ca·2.9] <sup>0</sup>	TSPP	1:1	$(3.1 \pm 0.9) \times 10^5$
[Eu·2.9] <sup>1+</sup>	TSPP	1:1	$(2.7 \pm 1.0) \times 10^5$
<b>2.10<sup>2-</sup></b>	TBPYP	2:1 <sup>[b]</sup>	$(4.4 \pm 1.4) \times 10^6$
[H·2.10] <sup>1-</sup>	TBPYP	2:1 <sup>[b]</sup>	$(9.1 \pm 3.8) \times 10^6$
[Ca·2.10] <sup>0</sup>	TBPYP	2:1 <sup>[b]</sup>	$(6.3 \pm 1.7) \times 10^6$
[Eu·2.10] <sup>1+</sup>	TBPYP	2:1 <sup>[b]</sup>	$(4.1 \pm 1.1) \times 10^5$
<b>2.9<sup>2-</sup></b>	TBPYP	–	$< 2 \times 10^4$

Παρ' όλη την ελκυστικότητα της δομής των διμερών και τις υψηλές  $K_{\text{binding}}$ , είναι εμφανές ότι η διαδικασία παρασκευής είναι πολύπλοκη και ο χαρακτηρισμός καθώς και ο καθαρισμός επίπτονες διαδικασίες, άρα η σύνδεση tail-to-tail δεν θα μπορούσε να αποτελέσει πρακτική μέθοδο σχηματισμού ολιγομερούς.

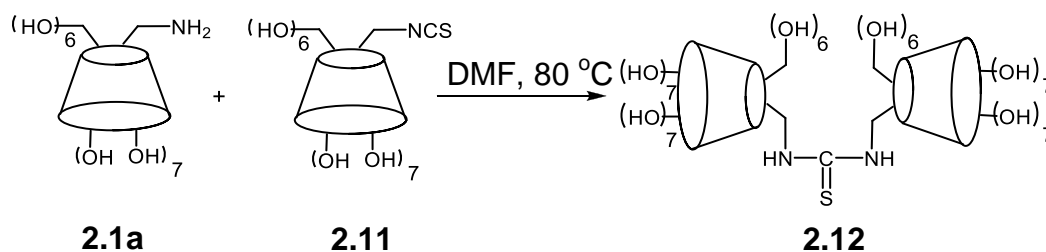
### 2.2.3 Σύνδεση Διμερών Κυκλοδεξτρινών μέσω Θειουρείδο-ομάδας, από την Πρωτοταγή πλευρά (Head to Head ή 6-6')<sup>21a</sup>

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, στις αντιδράσεις σύνθεσης διμερών, δίνεται ιδιαίτερη σημασία στην ευκολία παρασκευής. Για το λόγο αυτό, ο D. Landy και οι συνεργάτες του θεώρησαν τον θειουρείδο-συνδέτη ιδανικό για την παρασκευή διμερών, καθώς για τη δημιουργία του χρησιμοποιείται η εύκολη αντίδραση μεταξύ πρωτοταγούς αμινομάδας και ισοθειοκυανικής-ομάδας, η οποία είναι γνωστή από τη βιβλιογραφία και παρέχει υψηλές αποδόσεις.<sup>25</sup> Επιπροσθέτως, καθώς ο συνδέτης καθορίζει τον σχετικό προσανατολισμό και την απόσταση μεταξύ των δύο κυκλοδεξτρινών, όταν το ξενιζόμενο μόριο είναι μικρότερου μεγέθους από το άθροισμα των δύο κοιλοτήτων των κυκλοδεξτρινών χρησιμοποιούνται βραχείς συνδέτες. Χρησιμοποιώντας τον θειουρείδο-συνδέτη οι δύο κοιλοότητες πλησιάζουν αρκετά (λιγότερο από 5 Å) και μπορούν να εγκλωβίσουν το ξενιζόμενο μόριο αποτελεσματικά και με μεγαλύτερη σταθερά σύνδεσης. Ακόμα, ο θειουρείδο-συνδέτης είναι σταθερός ως προς αλλαγές του pH



(περιορισμένη ικανότητα πρωτονίωσης) με αποτέλεσμα να μην αλλάζει η πολικότητά του και να μην δημιουργούνται επιπλοκές στη συμπλοκοποίηση.

Ο D. Landy και οι συνεργάτες του συνέθεσαν το διμερές **2.12** (head-to-head) από τα παράγωγα **2.1a** και **2.11**<sup>26</sup> με απόδοση 74% (Σχήμα 2.7).<sup>21a</sup>



Σχήμα 2.7 Σύνθεση διμερούς με θειουρέϊδο συνδέτη.<sup>21a</sup>

Η δομή του διμερούς **2.12** επιβεβαιώθηκε με φασματοσκοπία NMR, με φασματομετρία μάζας και με στοιχειακή ανάλυση. Ωστόσο, μεγάλο μειονέκτημα αποτέλεσε το γεγονός ότι το διμερές **2.12** παρουσίασε μικρή υδατοδιαλυτότητα. Εν συνεχεία, μετρήθηκε η σταθερότητα των συμπλόκων των μορίων του πίνακα 2.3 με το διμερές **2.12**, με φασματοσκοπία UV-Vis, χρησιμοποιώντας ως ανταγωνιστικό ξενιζόμενο μόριο την ηλιανθίνη (methyl orange, MO).

Πίνακας 2.3 Ξενιζόμενα μόρια για τη μελέτη συμπλοκοποίησης του διμερούς **2.12**.

Υπόστρωμα	

Αρχικά, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις σταθερότητας των συμπλόκων της ηλιανθίνης με το διμερές **2.12** και τα μονομερή **2.1a** και **2.11**. Και στις τρεις περιπτώσεις δημιουργήθηκε σύμπλοκο 1:1. Η σταθερά σχηματισμού για το σύμπλοκο **2.12**/ MO ήταν  $6.35 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ , μεγαλύτερη από αυτήν της  $\beta$ -CD ( $2.82 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ ) και των μερικώς μεθυλιωμένων κυκλοδεξτρινών ( $3.01 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ). Συνεπώς, η συμπλοκοποίηση ενισχύεται λόγω συνέργειας των δύο μονάδων  $\beta$ CD στο διμερές. Εν συνεχεία, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις UV-Vis για σύμπλοκα του διμερούς **2.12** με την ηλιανθίνη, παρουσία των μορίων του Πίνακα 2.3 και υπολογίσθηκαν οι  $\log K$  (Πίνακας 2.4), οι οποίες κυμαίνονταν από 2.46 έως  $5.04 \text{ M}^{-1}$  και ήταν πάντα μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες της  $\beta$ CD με το ίδιο ξενιζόμενο μόριο. Αυτό οδήγησε στο συμπέρασμα ότι η δεύτερη κοιλότητα  $\beta$ CD στο διμερές όχι μόνο δεν παρεμποδίζει στερεοχημικά τη συμπλοκοποίηση με το ξενιζόμενο μόριο, αλλά δρα συνεργιστικά.

**Πίνακας 2.4 Σταθερές σχηματισμού ( $K, \text{M}^{-1}$ )<sup>21a</sup> για τα παραγόμενα σύμπλοκα των ενώσεων του Πίνακα 2.3 με τη  $\beta$ CD και το διμερές **2.12**.**

	$\beta$ -CD		$(\beta\text{-CD})_2$ thiourea	
	$K$	$\log K$	$K$	$\log K$
4-Fluorophenol	100	2.00	288	2.46
4-Chlorophenol	275	2.44	955	2.98
4-Bromophenol	447	2.65	1738	3.24
4-Iodophenol	871	2.94	4074	3.61
Cyclohexanol	977	2.99	3631	3.56
Naphtalen-1-ol	1585	3.20	2570	3.41
Adamantan-1-ol	34,354	4.54	109,648	5.04
Biphenyl-4,4'-diol	4694	3.67	14,125	4.15
Decane-1,10-diol	1413	3.15	4467	3.65

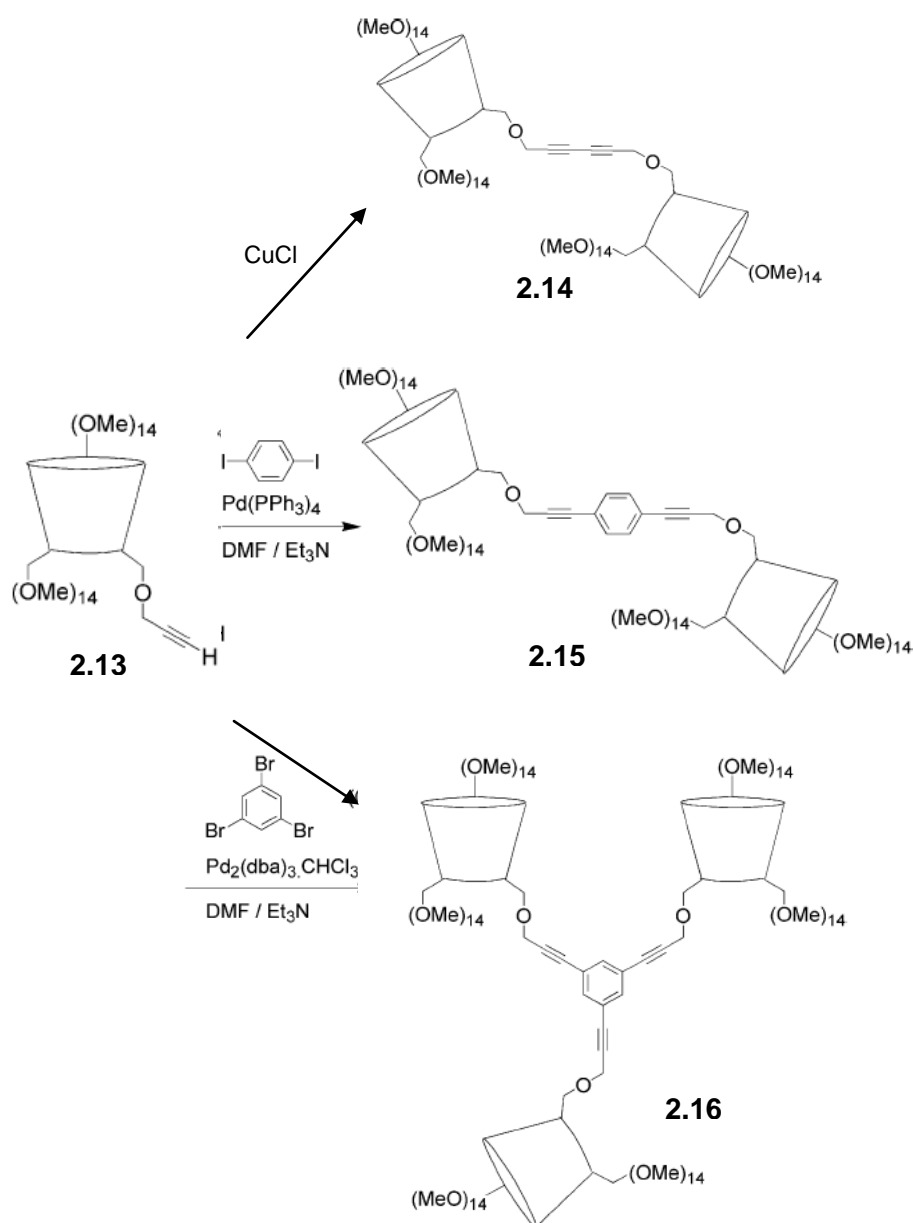
Τέλος, καθώς τα ξενιζόμενα μόρια τα οποία χρησιμοποιήθηκαν ήταν γραμμικά, καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι οι δύο κοιλότητες μπορούν να δράσουν συνεργιστικά μόνο αν ευθυγραμμιστούν. Το γεγονός αυτό επιβεβαιώθηκε με θεωρητικούς υπολογισμούς, όπου αποδείχτηκε ότι σε διαμορφώσεις όπου οι δύο κοιλότητες συνεργάζονται, βρίσκονται η μια απέναντι στην άλλη, χωρίς καμία στερεοχημική παρεμπόδιση.

Συμπερασματικά, σημαντικό μειονέκτημα αποτελεί η μικρή υδατοδιαλυτότητα του διμερούς **2.12**, καθώς ο κύριος σκοπός στην παρασκευή διμερών είναι η χρήση τους για την αύξηση της διαλυτότητας μη υδατοδιαλυτών μορίων στο νερό. Επι πλέον, ενώ η 6-μονο-αμινο-6-δεοξυ- $\beta$ CD (**2.1a**) είναι καλώς χαρακτηρισμένο παράγωγο και εμπορικά

διαθέσιμο, η 6-ισοθειοκυανική-6-δεοξυ-βCD (**2.11**), δεν παρασκευάζεται εύκολα, όπως έδειξε προηγούμενη εμπειρία στο οικείο εργαστήριο, υπάρχουν δε δύο διαμετρικά αντίθετες μέθοδοι παρασκευής<sup>26</sup> που οδηγούν σε προϊόντα με αντικρουόμενα χαρακτηριστικά στα φάσματα <sup>13</sup>C NMR.

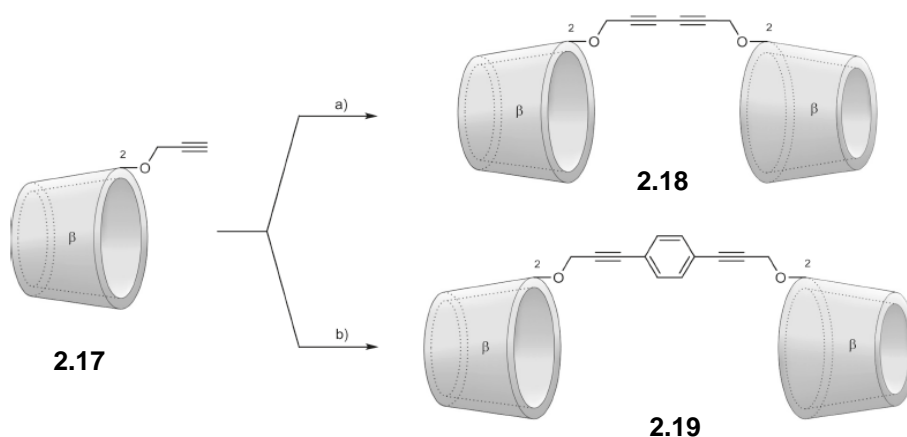
#### 2.2.4 Σύνδεση Διμερών και Τριμερών Κυκλοδεξτρινών μέσω Σχηματισμού Δεσμού C-C

Ενδιαφέρον παρουσιάζει η χρήση ολιγομερών κυκλοδεξτρινών στο σχηματισμό φωτοεπαγωγικών διατάξεων, διαμέσου φωτοενεργών (photoactive) συνδετών, με αποτέλεσμα τη δημιουργία καλωδίων (wires) και ενώσεων (junctions). Η Ζ. Πικραμένου και οι συνεργάτες της, οι οποίοι ασχολήθηκαν και στο παρελθόν με το συγκεκριμένο τομέα έρευνας,<sup>27</sup> σχεδίασαν και συνέθεσαν τα διμερή **2.14** & **2.15** και το τριμερές **2.16** (Σχήμα 2.8), χρησιμοποιώντας ως πρώτη ύλη τη μονοϋποκατεστημένη κυκλοδεξτρίνη, 6-μονοπροπαργυλο-περι-μεθυλιωμένη-βCD (**2.13**).<sup>28</sup> Το παράγωγο **2.13** συντέθηκε εύκολα μέσω τριών σταδίων από τη φυσική βCD (απόδοση 50%). Το οργανοδιαλυτό διμερές **2.14** παρασκευάστηκε μέσω της σύζευξης αλκινίων Glaser-Hay χρησιμοποιώντας ως καταλύτη CuCl με απόδοση 52%. Εν συνεχεία, πραγματοποιήθηκε αντίδραση σύζευξης Sonogashira χρησιμοποιώντας ως καταλύτη Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> και 1,4-διϊωδοβενζόλιο, οπότε συντέθηκε το διμερές **2.15** (53%) μαζί με μικρή ποσότητα μονομερούς, η οποία απομακρύνθηκε με χρωματογραφία στήλης. Τέλος, χρησιμοποιώντας ως καταλύτη Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>·CHCl<sub>3</sub> συντέθηκε το τριμερές **2.16** (απόδοση 82%), το οποίο απομονώθηκε με χρωματογραφία στήλης. Η ταυτοποίηση των **2.14**, **2.15** και **2.16** πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπία NMR, ενώ η φασματομετρία μάζας (MALDI-TOF) και η φασματοσκοπία IR δεν έδωσαν τις επιθυμητές πληροφορίες. Τα παρασκευασθέντα ολιγομερή ήταν πλήρως οργανοδιαλυτά (CHCl<sub>3</sub>, EtOAc), ενώ δεν αναφέρθηκε και δεν μελετήθηκε η υδατοδιαλυτότητα τους, οπότε δεν αναφέρθηκαν και μελέτες συμπλοκοποίησης με ξενιζόμενα μόρια. Ενδέχεται όμως, λόγω της περιμεθυλίωσης, τα ολιγομερή να διαθέτουν υδατοδιαλυτότητα.



Σχήμα 2.8 Σύνθεση διμερών και τριμερών 6-6' με σχηματισμό δεσμού C-C.<sup>28</sup>

Αντίστοιχες αντιδράσεις σύζευξης από Sonogashira αλλά με 2-O-προπαργυλο-βCDs (**2.17**), με σύνδεση 2-2' (Tail to tail) οδήγησαν στην παρασκευή διμερών με άκαμπτους συνδέτες (Σχήμα 2.9). Τα διμερή εδείχθη ότι εγκλωβίζουν χολικά άλατα σχηματίζοντας είτε 1:1 είτε 1:2 σύμπλοκα με σταθερές σύνδεσης μεγαλύτερες αυτών της βCD, οι οποίες εξαρτώνται από το βαθμό διείδυσης των χολικών αλάτων στις κοιλότητες των CDs.<sup>29</sup> Τα χολικά άλατα είναι επιφανειοδραστικές στερεοειδείς ενώσεις, οι οποίες παίζουν σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό και στην απέκκριση της χοληστερόλης στα θηλαστικά.



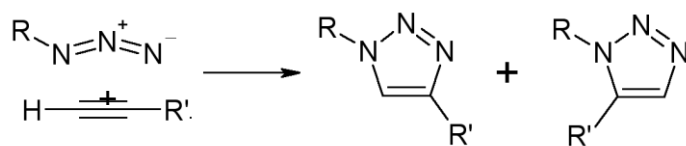
**Σχήμα 2.9** Σύνθεση διμερών 2-2' με σύζευξη Sonogashira: a)  $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2]$ ,  $\text{CuI}$ ,  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{DMF}$ ,  $25\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $3\text{ h}$ ,  $98\%$ , b) 1,4-διϊωδοβενζόλιο,  $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2]$ ,  $\text{CuI}$ , πιπεριδίνη,  $75\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $4\text{ h}$ ,  $62\%$ .

Τα ανωτέρω διμερή φαίνεται ότι παρουσιάζουν επαρκή υδατοδιαλυτότητα και επιλεκτικότητα εγκλωβισμού των χολικών αλάτων ώστε να χρησιμοποιηθούν ως ανιχνευτές. Ωστόσο, η μέθοδος σύνθεσης, αν και παρουσιάζει καλές αποδόσεις ( $98\%$  και  $62\%$  για το διμερές **2.18** και **2.19** αντιστοίχως), απαιτεί καταλύτη παλλαδίου και αμιγώς οργανικούς διαλύτες.

### 2.2.5 Σύνδεση Διμερών και Τριμερών Κυκλοδεξτρινών μέσω Κυκλοπροσθήκης [3+2] (Click reaction)

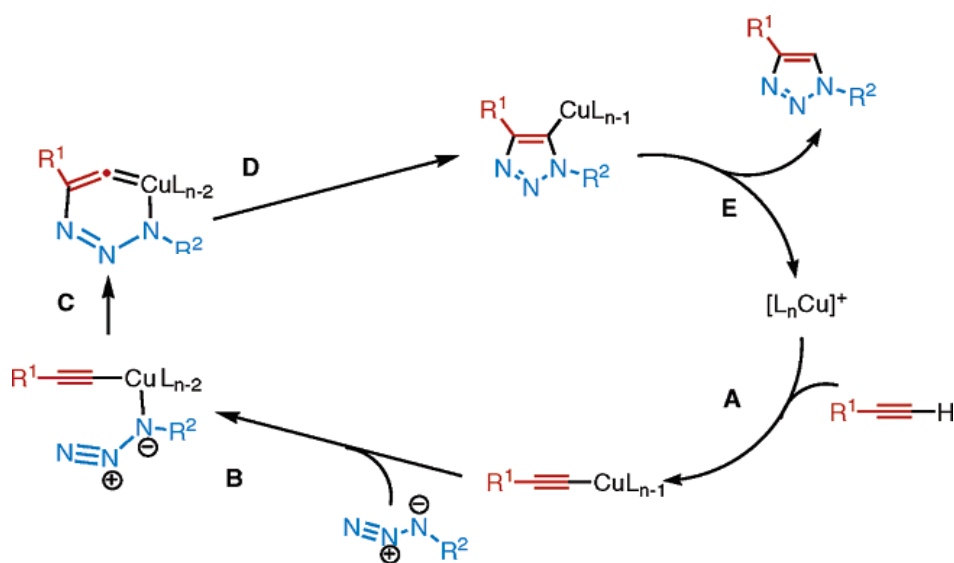
Μετά την πρώτη σύνθεση διμερούς κυκλοδεξτρινών από τον Breslow και τους συνεργάτες του, πραγματοποιήθηκαν πολλές προσπάθειες παρασκευής νέων πρωτότυπων διμερών.<sup>20a</sup> Ωστόσο, οι συνθέσεις οι οποίες εμφανίζονταν στη βιβλιογραφία ήταν περίπλοκες και χρονοβόρες, με οργανικούς διαλύτες και ως εκ τούτου, πραγματοποιήθηκαν προσπάθειες ανάπτυξης νέων αποτελεσματικών μεθόδων για τη σύνθεση διμερών κυκλοδεξτρινών σε ήπιες συνθήκες και υδατικά μέσα.<sup>30</sup> Για τον σκοπό αυτό, χρησιμοποιήθηκε η καταλυόμενη με χαλκό κυκλοπροσθήκη αζιδίου-αλκινίου (click reaction) ή καταλυόμενη από  $\text{Cu}^I$  1,3-διπολική κυκλοπροσθήκη (copper catalyzed azide-alkyne cycloaddition, CuAAC).<sup>31</sup> Αυτή η αντίδραση αποδείχτηκε σημαντική εναλλακτική της σύγχρονης 1,3-διπολικής κυκλοπροσθήκης Huisgen (Σχήμα 2.10), η οποία παρουσίαζε σημαντικά μειονεκτήματα. Η αντίδραση Huisgen, αν και ισχυρά εξώθερμη (ca.  $-50$  με  $-65\text{ kcal/mol}$  για την αντίδραση του μεθυλοαζιδίου με το προπίνιο),<sup>32</sup> απαιτεί μεγάλη ενέργεια ενεργοποίησης, με αποτέλεσμα η ταχύτητα αντίδρασης να είναι ιδιαίτερως μικρή για μη ενεργοποιημένα αντιδρώντα, ακόμα κι σε

υψηλές θερμοκρασίες. Ένα ακόμα μειονέκτημα της αντίδρασης είναι η παραγωγή μίγματος τοπο-ισομερών 1,2,3-τριαζολο- προϊόντων, όταν συμμετέχει στην αντίδραση ασύμμετρα υποκατεστημένο αλκίνιο (Σχήμα 2.10).<sup>33</sup>

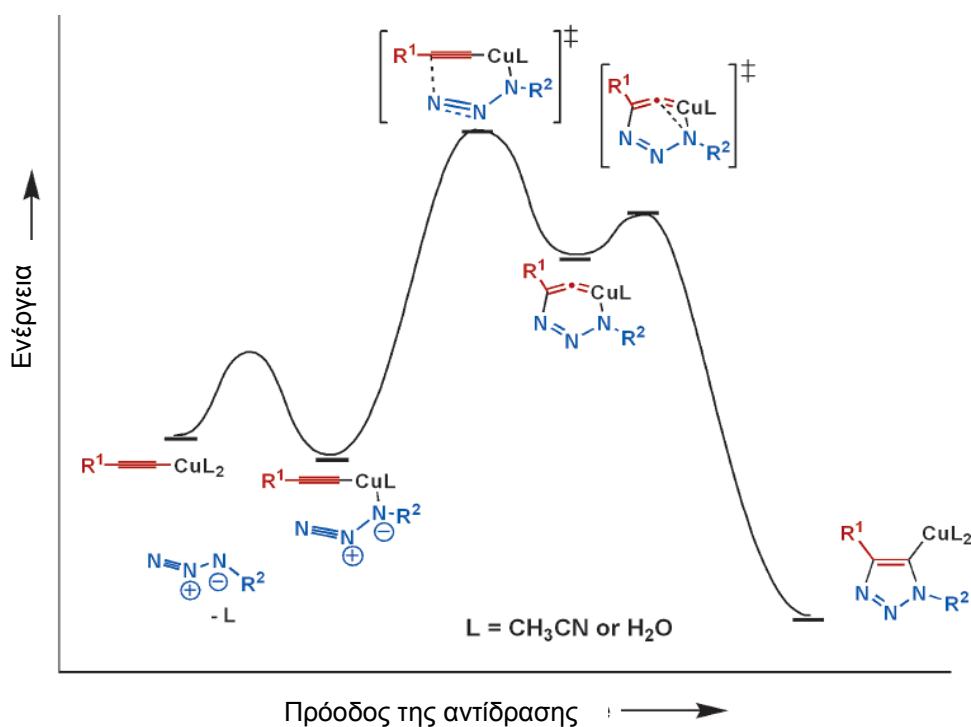


**Σχήμα 2.10** Σχηματισμός 1,4- και 1,5-διυποκατεστημένων τριαζολών μέσω 1,3-διπολικής κυκλοπροσθήκης Huisgen.<sup>34</sup>

Η καταλυόμενη από Cu<sup>I</sup> 1,3-διπολική κυκλοπροσθήκη αποτέλεσε μεγάλη καινοτομία στη χημεία των 1,2,3,-τριαζολίων. Η αντίδραση αναπτύχθηκε από τον B. Sharpless και τους συνεργάτες του πριν από μερικά χρόνια, οδήγησε στη σύνθεση μεγάλου αριθμού 1,2,3-τριαζολικών παραγώγων και αποτελεί βασικό μεθοδολογικό εργαλείο στην οργανική χημεία.<sup>35</sup> Με την καταλυόμενη CuAAC αυξήθηκε σημαντικά η ταχύτητα αντίδρασης (10<sup>7</sup> με 10<sup>8</sup> συγκριτικά με την μη καταλυόμενη αντίδραση).<sup>32</sup> Η αντίδραση μπορεί να εφαρμοσθεί με πληθώρα αντιδραστηρίων, παρουσιάζει μεγάλη ανοχή σε υδατικές και όξινες συνθήκες και τέλος, εμφανίζει τοπο-εκλεκτικότητα, σημαντικό πλεονέκτημα, καθώς είναι δυνατή η απομόνωση ενός από τα δύο πιθανά τοπο-ισομερή. Στο Σχήμα 2.11 παρουσιάζεται ο μηχανισμός της αντίδρασης, ο οποίος δεν είναι πλέον σύγχρονος, όπως στην περίπτωση της 1,3-διπολικής κυκλοπροσθήκης, αλλά περιλαμβάνει πολλά βήματα. Στο Σχήμα 2.12 παρουσιάζεται το ενεργειακό διάγραμμα της 1,3-διπολικής κυκλοπροσθήκης CuAAC.<sup>32</sup>

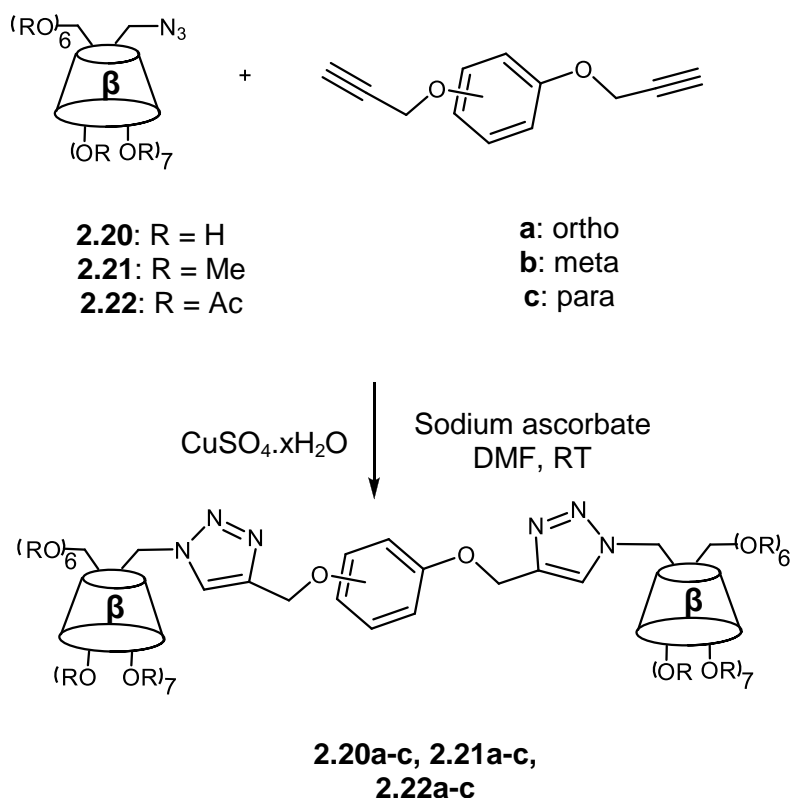


**Σχήμα 2.11** Μηχανισμός της 1,3-διπολικής κυκλοπροσθήκης CuAAC.<sup>32</sup>



**Σχήμα 2.12** Ενεργειακό διάγραμμα της 1,3-διπολικής κυκλοπροσθήκης (CuAAC).<sup>32</sup>

Η αντίδραση click έχει εφαρμοσθεί σε πλήθος υποστρωμάτων, συμπεριλαμβανομένων των κυκλοδεξτρινών. Η T. M Reineke και οι συνεργάτες της συνέθεσαν και χαρακτήρισαν, μέσω της αντίδρασης “click”, μια σειρά από πολυκατιονικά συμπλέγματα κυκλοδεξτρινών.<sup>36</sup> Τα συμπλέγματα αυτά χρησιμοποιήθηκαν για τον εγκλωβισμό και μεταφορά πλασμιδιακού DNA (plasmid DNA, pDNA). Επίσης, η αντίδραση “click” χρησιμοποιήθηκε από τον A. H. Velders και τους συνεργάτες του για τη δέσμευση κυκλοδεξτρινών πάνω σε επιφάνεια, με σκοπό τη δημιουργία μιας “πλατφόρμας” με ικανότητα δημιουργίας συμπλόκων.<sup>37</sup> Η επίτευξη του στόχου τους επιβεβαιώθηκε με τη δέσμευση ροδαμίνης (Rhodamine-Ad<sub>2</sub>), όπως διαπιστώθηκε μέσω μικροσκοπίας φθορισμού (fluorescent microscopy). Επίσης, ο F. Menuel και οι συνεργάτες του παρασκεύασαν διμερή από μονο-6-αζιδο-6-δεοξυ-βCD<sup>38</sup> και *o*-, *m*- και *p*-δι-(προπ-2-ινυλοξυ)βενζόλια, παρουσία ένυδρου θειϊκού χαλκού σε ποσότητα στοιχειομετρική ως προς το αλκίνιο (Σχήμα 2.13).



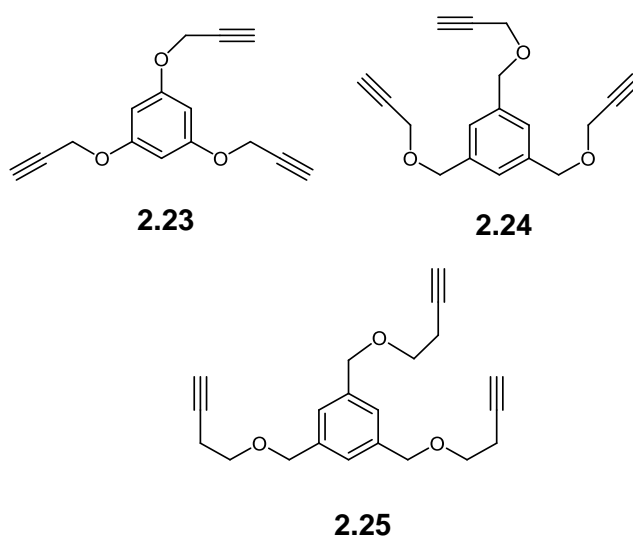
**Σχήμα 2.13** Σύνθεση υδροξυλιωμένων, περι-μεθυλιωμένων και περι-ακετυλιωμένων διμερών βCD.

Η αντίδραση για τα παράγωγα **2.20a-c** πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία δωματίου για 18 h (απόδοση 50-60%). Αν και θα ήταν αναμενόμενο το περισσότερο παρεμποδισμένο ο-δι-(προπ-2-ινυλοξυ)βενζόλιο να αντιδρά δυσκολότερα με τη CD απ' ό,τι τα m- και p- παράγωγα, δεν παρατηρήθηκε κάτι τέτοιο, αποδεικνύοντας ότι η αντίδραση κυκλοπροσθήκης μπορεί να πραγματοποιηθεί το ίδιο εύκολα, τόσο σε μη παρεμποδισμένα όσο και σε παρεμποδισμένα υποστρώματα.<sup>30</sup> Ωστόσο, ήταν απαραίτητη στοιχειομετρική ποσότητα θειϊκού χαλκού, καθώς, κατά τους συγγραφείς, μέρος αυτού συμπλέκεται με τα δευτεροταγή υδροξύλια της CD. Ακολούθησε η παρασκευή των μεθυλιωμένων **2.21a-c** και ακετυλιωμένων παραγώγων **2.22a-c** με απόδοση 70-90% και 40-50%, αντιστοίχως. Τα μεθυλιωμένα παράγωγα ήταν ελάχιστα διαλυτά στο νερό και πλήρως στους οργανικούς διαλύτες ενώ ο χρόνος αντίδρασης ήταν πολύ μικρότερος (15 min) σε σύγκριση με εκείνον των υδροξυλιωμένων παραγώγων (18 h). Η χαμηλότερη απόδοση των περι-ακετυλιωμένων παραγώγων αποδίδεται στην στερεοχημική παρεμπόδιση η οποία εισάγεται στη CD, κάνοντας την αζιδοομάδα λιγότερο διαθέσιμη προς αντίδραση. Τα παράγωγα **2.22a-c** ήταν διαλυτά



σε οργανικούς διαλύτες, αλλά καθόλου διαλυτά στο νερό, ενώ ο χρόνος αντίδρασης ήταν 18 h. Τέλος, πραγματοποιήθηκε αποακετυλίωση του παραγώγου **2.22c** η οποία οδήγησε στο παράγωγο **2.20c**, αποδεικνύοντας ότι τα παραγόμενα διμερή είναι σταθερά κάτω από βασικές συνθήκες.

Εν συνεχεία, αντίδραση κυκλοπροσθήκης [3+2] χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία από τους S. Menuel και E. Monflier για την παρασκευή τριμερών κυκλοδεξτρινών, χρησιμοποιώντας ως πρώτη ύλη είτε την μονο-6-αζιδο-6-δεοξυ-βCD (**2.20a**) είτε το τυχαίως μεθυλιωμένο παράγωγο της και τους συνδέτες του Σχήματος 2.14.<sup>39</sup> Ο χρόνος αντίδρασης για τη σύνθεση των τριμερών ήταν μεγαλύτερος από αυτόν των διμερών (48 h αντί 12 h), ωστόσο η απόδοση ήταν ικανοποιητική (87%), αυξανόμενη σε DMSO. Ακόμα, απαιτήθηκε περίσσεια θειϊκού χαλκού καθώς και του αλκινυλο-παραγώγου (Σχήμα 2.13), ώστε η αντίδραση να είναι πλήρης.<sup>39</sup> Αν και όλα τα προϊόντα ήταν υδατοδιαλυτά, δεν πραγματοποιήθηκαν πειράματα συμπλοκοποίησης, ώστε να διερευνηθεί η διαθεσιμότητα των κοιλοτήτων των CDs.

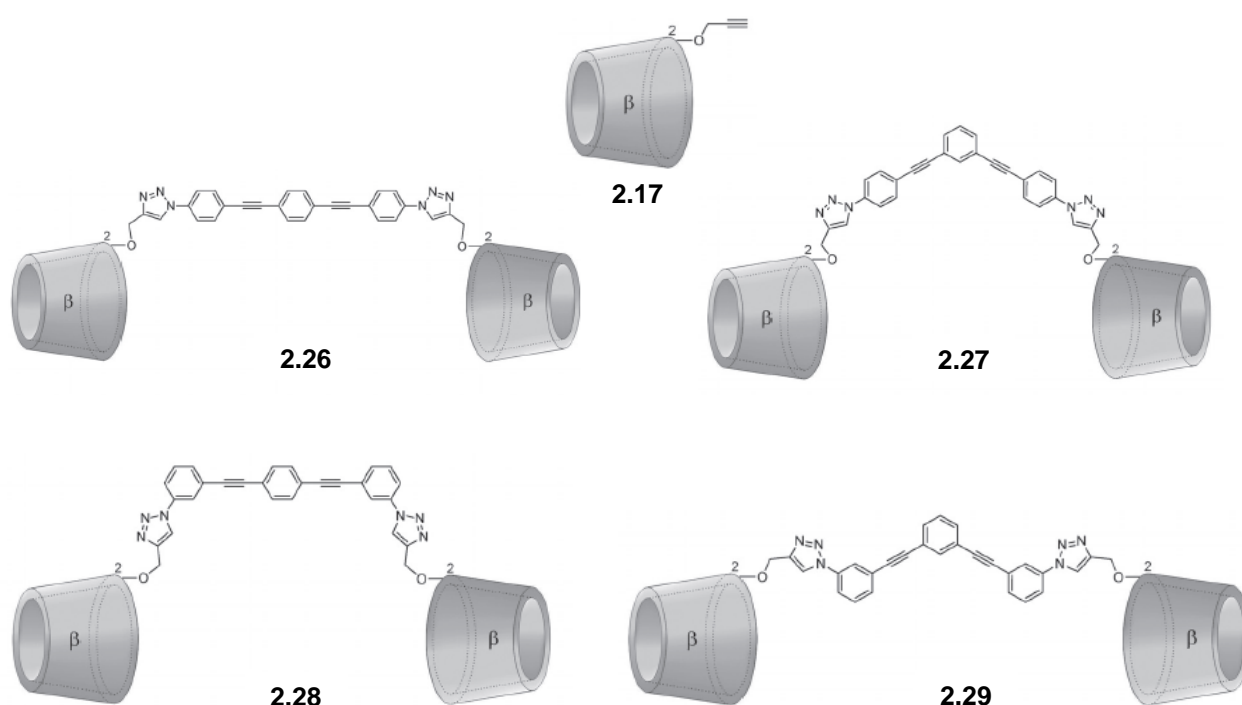


**Σχήμα 2.14** Συνδέτες για την παρασκευή τριμερών κυκλοδεξτρινών.<sup>39</sup>

Σε κάθε περίπτωση, η μελέτη της δομής του τριμερούς και των πιθανών αλληλεπιδράσεων του συνδέτη με το εσωτερικό των κυκλοδεξτρινών καθώς και η ικανότητα εγκλωβισμού μορίων είναι προαπαιτούμενο ώστε να αξιολογηθεί η λειτουργικότητα των τριμερών. Όπως αναφέρεται στην επόμενη ενότητα (2.6) είναι πιθανός ο εγκλωβισμός του συνδέτη στην κοιλότητα της CD. Το γεγονός αυτό καθιστά την κοιλότητα μη διαθέσιμη προς συμπλοκοποίηση.

Επιπροσθέτως, η εφαρμογή μικροκυμάτων (MW) για την κυκλοπροσθήκη [3+2] σε υποστρώματα παρόμοια όπως του Σχήματος 2.14 έχει γίνει με μεγάλη επιτυχία, διότι επιταχύνει σημαντικά την αντίδραση μειώνοντας δραστικά το χρόνο (40 min για την παραγωγή διμερών).<sup>22</sup>

Επιπροσθέτως, ο A. Vargas-Berenguel και οι συνεργάτες<sup>40</sup> του ανέφεραν τη σύνθεση διμερών κυκλοδεξτρινών tail-to-tail αλλά 2-2' μέσω κυκλοπροσθήκης [3+2] χρησιμοποιώντας ως καταλύτη  $\text{CuI} \cdot (\text{EtO})_3\text{P}$  (Σχήμα 2.15). Χρησιμοποιήθηκε ως πρώτη ύλη η μονο-2-O-προπαρυλο-βCD (**2.17**), η οποία συντέθηκε εύκολα σε ένα στάδιο, και πληθώρα άκαμπτων ραβδόμορφων συνδετών διαφόρων μηκών και σχημάτων.



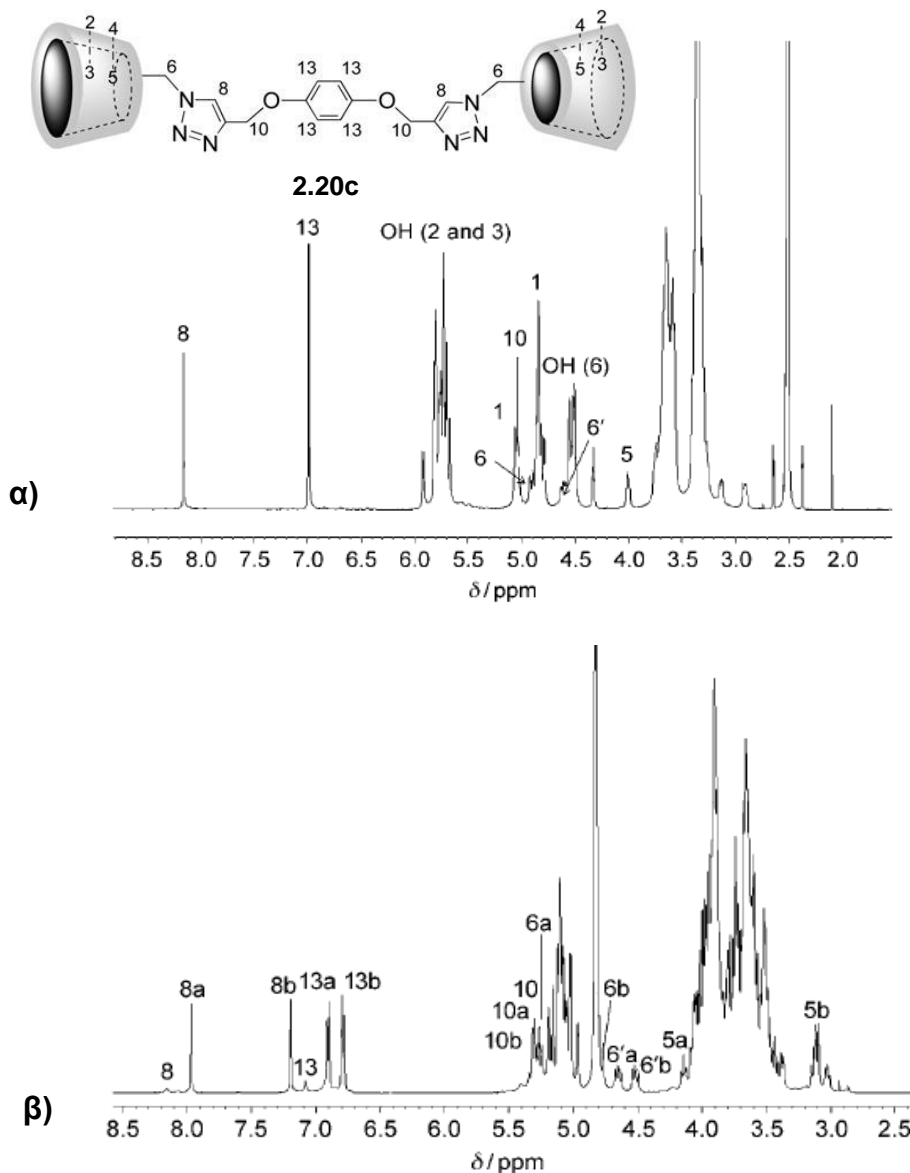
**Σχήμα 2.15** Σχηματική αναπαράσταση της μονο-κυκλοδεξτρίνης και των παραγόμενων διμερών 2-2'.<sup>40</sup>

Μειονέκτημα αποτελεί το γεγονός ότι τα διμερή **2.26-2.29** ήταν ιδιαίτερος δυσδιάλυτα σε όλους τους διαλύτες, εκτός από το DMF και το DMSO. Τα περισσότερο υδατοδιαλυτά διμερή **2.27** και **2.29** απομονώθηκαν μετά από χρωματογραφία στήλης (απόδοση: 65% και 63% αντιστοίχως) ενώ τα διμερή **2.26** και **2.28** απομονώθηκαν με εκχύλιση Soxhlet (απόδοση: 71% και 67% αντιστοίχως). Η ταυτοποίησή τους πραγματοποιήθηκε με φασματομετρία μάζας (MALDI-TOF) και φασματοσκοπία NMR.

Ακολούθησε μελέτη των φασμάτων φθορισμού των ενώσεων **2.27-2.29** σε διάφορες συγκεντρώσεις (το παράγωγο **2.26** ήταν ιδιαίτερος δυσδιάλυτο στο νερό). Και για τα τρία διμερή παρατηρήθηκε αύξηση της έντασης φθορισμού και με την αύξηση της συγκέντρωσης, καθώς επίσης και βαθυχρωμική μετατόπιση του μήκους κύματος εκπομπής, γεγονός που οδήγησε στο συμπέρασμα ότι η έκθεση των διμερών στο νερό μειώνεται σταδιακά, συνεπώς τα διμερή δημιουργούν συσσωματώματα. Τα συσσωματώματα αυτά πιθανώς δημιουργούνται λόγω σταθεροποιητικών π-π αλληλεπιδράσεων. Η δημιουργία συσσωματωμάτων επιβεβαιώθηκε με πειράματα ισοθερμικής θερμιδομετρίας (ITC) καθώς και με πειράματα δυναμικής σκέδασης φωτός (DLS). Τέλος, μελετήθηκε η ικανότητα αναγνώρισης των χολικών αλάτων: [χολικό νάτριο (NaC) και δεοξυχολικό νάτριο (NaDC)], με φασματοσκοπία φθορισμού. Παρατηρήθηκε ότι η ένταση φθορισμού των διμερών **2.26-2.29** μειώθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης των χολικών αλάτων στο διάλυμα. Αυτό είναι ένδειξη της αύξησης της πολικότητας στο περιβάλλον γύρω από το συνδέτη, δηλαδή, παρουσία χολικών αλάτων αυξάνεται η έκθεση του συνδέτη στο διαλύτη. Καθώς οι συνδέτες είναι ιδιαίτερος άκαμπτοι και δεν δύνανται να εγκλωβιστούν στην κοιλότητα της CD, συμπεραίνεται ότι υπάρχει αλληλεπίδραση μεταξύ των χολικών αλάτων και των CDs, η οποία οδηγεί σε αναδιοργάνωση των συσσωματωμάτων στο διάλυμα και έκθεση του συνδέτη στο νερό. Τέλος, η απόσταση των μονάδων βCD στα διμερή λόγω των άκαμπτων συνδετών είναι μεγάλη ( $>15\text{\AA}$ ) οπότε η συνεργασία των δύο κοιλοτήτων για τον αποτελεσματικό εγκλωβισμό ενός ξενιζόμενου μορίου είναι αμφίβολη.

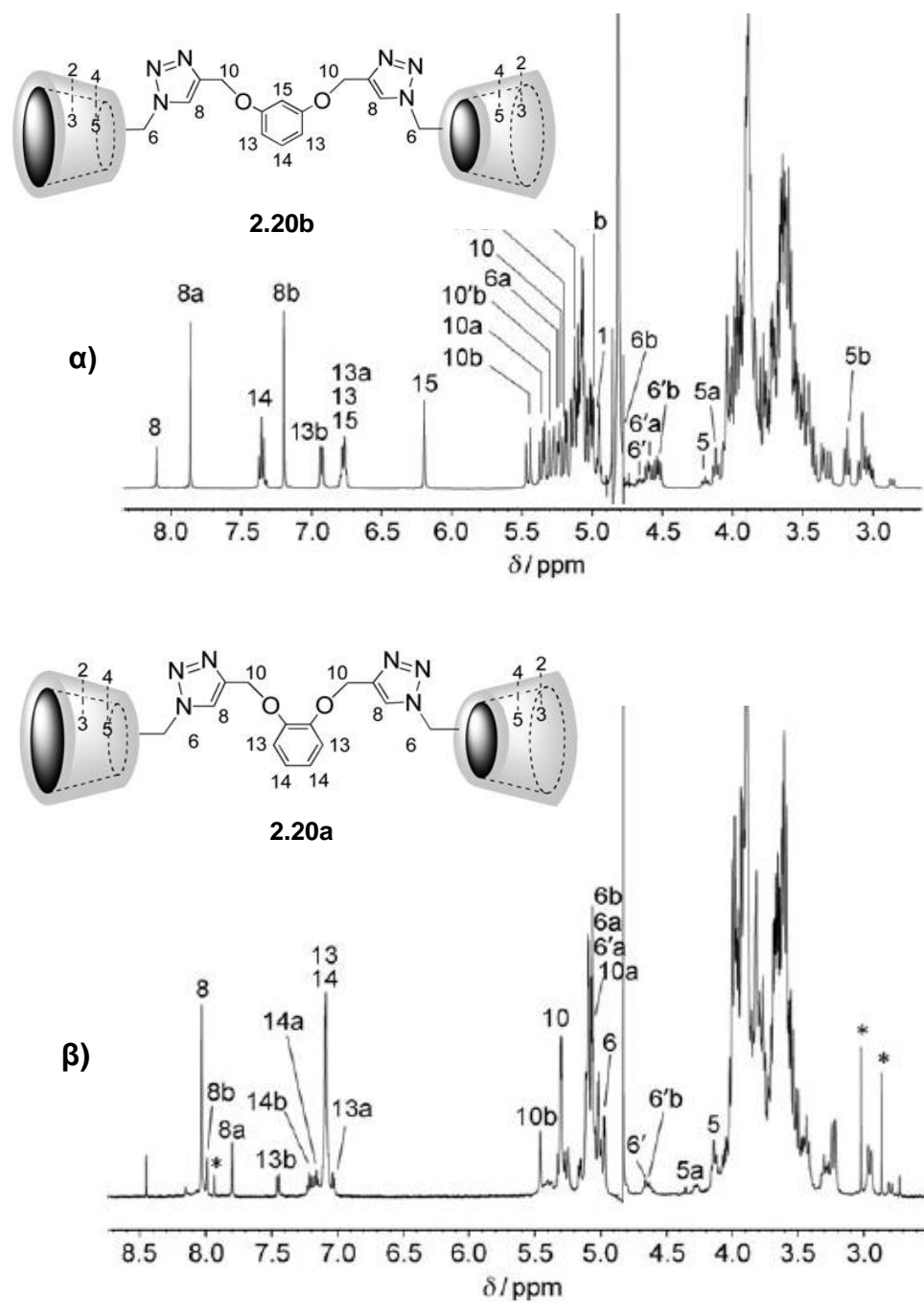
### **2.2.6 Αναστροφή της Γλυκόζης Διμερών β-Κυκλοδεξτρίνης και Αυτοεγκλωβισμός σε Νερό**

Στα έως τώρα παραδείγματα δεν είχε διερευνηθεί ο ρόλος του συνδέτη στη δομή του διμερούς και τη σχετική διευθέτηση των κοιλοτήτων. Τα διμερή του Σχήματος 2.12 και η ασυνήθιστη συμπεριφορά τους έδωσαν αφορμή για ενδελεχείς δομικές μελέτες. Τα διμερή μελετήθηκαν με φασματοσκοπία NMR, όπου παρατηρήθηκε αλλαγή στη διαμόρφωση τους, ανάλογα με τον εκάστοτε διαλύτη. Τα φάσματα  $^1\text{H}$  NMR και των τριών διμερών σε  $\text{DMSO}-d_6$  αντιστοιχούσαν σε απολύτως συμμετρικά μόρια, εμφάνιζαν δε μια απλή κορυφή περίπου στα 8.2 ppm, η οποία αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H8 του τριαζολικού δακτυλίου (Σχήμα 2.16α).



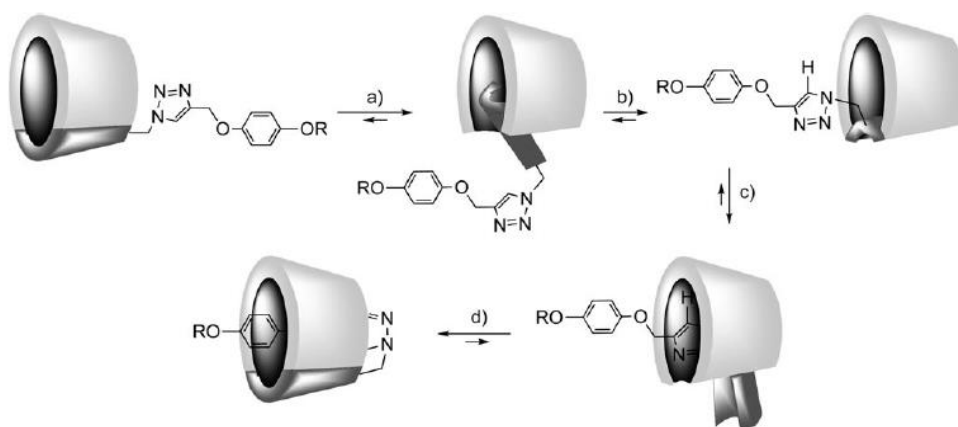
**Σχήμα 2.16** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του διμερούς **2.20c** (10.5 mM) στους 25 °C α) σε  $\text{DMSO-}d_6$ , β) σε  $\text{D}_2\text{O}$ .<sup>41</sup>

Αντιθέτως, η εικόνα των φασμάτων ήταν πολύ διαφορετική σε  $\text{D}_2\text{O}$  (Σχήμα 2.16β). Και στις τρεις περιπτώσεις τα φάσματα υπέδειξαν ότι τα διμερή δεν ήταν συμμετρικά σε υδατικό περιβάλλον. Η εμφάνιση αλληλεπίδρασης μεταξύ του ενός τριαζολικού H8 με τα εσωτερικά H3 της κυκλοδεξτρίνης, αποδόθηκε σε ενδομοριακό εγκλεισμό του τριαζολίου.



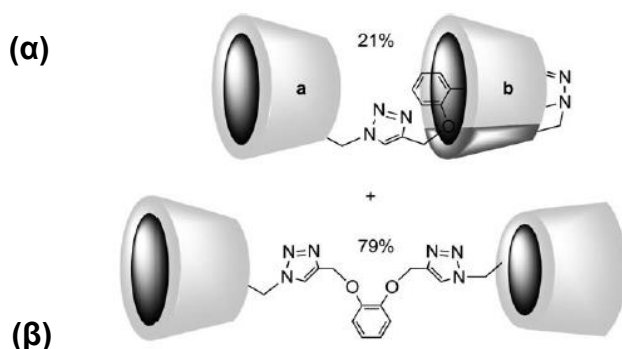
Σχήμα 2.17 Φάσματα  $^1\text{H}$  NMR του διμερούς α) 2.20b, β) 2.20a σε  $\text{D}_2\text{O}$  στους  $25\text{ }^\circ\text{C}$ .<sup>41</sup>

Ο απευθείας εγκλεισμός του τριαζολικού δακτυλίου στην κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης αποκλείστηκε, εξ' αιτίας του μεγάλου μεγέθους του συνδέτη. Η μόνη λογική εξήγηση ήταν η αναστροφή της υποκατεστημένης γλυκόζης γύρω από τον α-1,4-γλυκοζιτικό δεσμό (Σχήμα 2.18).



**Σχήμα 2.18 Διαδικασία αναστροφής της υποκατεστημένης γλυκοπυρανόζης του διμερούς 2.22c.<sup>41</sup>**

Όταν τα διμερή βρίσκονταν διαλυμένα στο νερό, συνυπήρχαν οι συμμετρικές με τις ασύμμετρες δομές, σε διαφορετικές αναλογίες: **2.20c**: 10/90, **2.20b**: 18/85, **2.20a**: 79/21. Με την αύξηση της θερμοκρασίας από τους 7 στους 82 °C φάνηκε να ευνοείται η συμμετρική δομή (**2.20b** 34/66, **2.20a** 90/10), γεγονός αναμενόμενο, καθώς η δημιουργία συμπλόκων γενικώς δεν ευνοείται από την αύξηση της θερμοκρασίας. Ακόμα, η στεreoχημική παρεμπόδιση η οποία εισάγεται από τον τριαζολικό δακτύλιο στην *o*-θέση δικαιολογεί την προτίμηση του *o*-ισομερούς προς τη συμμετρική δομή, καθώς δεν είναι δυνατή η αναστροφή της κωνικής δομής της μιας από τις δύο κυκλοδεξτρίνες (Σχήμα 2.19).



**Σχήμα 2.19 Δομές του διμερούς 2.20a στο νερό, σε θερμοκρασία δωματίου. α) ανεστραμμένη, β) μη-ανεστραμμένη.<sup>41</sup>**

Τέλος, η αντίδραση σύνθεσης του διμερούς **2.20c** πραγματοποιήθηκε σε DMSO (αντί μίγματος DMF/H<sub>2</sub>O), ώστε να αποκλεισθεί η πιθανότητα προ-δημιουργίας συμπλόκου μεταξύ του συνδέτη και της CD. Πράγματι, το φάσμα <sup>1</sup>H NMR του παραγόμενου διμερούς σε DMSO-*d*<sub>6</sub> αντιστοιχούσε σε ένα απόλυτα συμμετρικό μόριο. Στη συνέχεια, το διμερές διαλύθηκε σε D<sub>2</sub>O. Με ολοκλήρωση του φάσματος <sup>1</sup>H NMR παρατηρήθηκε αναλογία συμμετρικής/ασύμμετρης δομής, 10/90, αποδεικνύοντας έτσι ότι η διαδικασία αναστροφής πραγματοποιείται αποκλειστικά στο νερό, μετά την ολοκλήρωση της σύνθεσης. Το φαινόμενο της αναστροφής της γλυκόζης είναι αντιστρεπτό, καθώς μετά την απομάκρυνση του D<sub>2</sub>O και τη διάλυση του διμερούς ξανά σε DMSO-*d*<sub>6</sub>, το φάσμα <sup>1</sup>H NMR αντιστοιχούσε σε 100% συμμετρική δομή. Εν συνεχεία, πραγματοποιήθηκαν πειράματα ισοθερμικής θερμοδομετρίας, προκειμένου να διερευνηθεί η ικανότητα των διμερών να δημιουργούν σύμπλοκα και να βρεθεί ο αριθμός των ελεύθερων προς συμπλοκοποίηση κοιλοτήτων. Ως ξενιζόμενο μόριο χρησιμοποιήθηκε καρβοξυλικό αδαμαντάνιο. Από τις μετρήσεις βρέθηκε ότι ο αριθμός των ελεύθερων κοιλοτήτων του διμερούς **2.20c** είναι σχεδόν ίδιος με της βCD (1.2 και 1.0 αντιστοίχως), γεγονός που αποδεικνύει ότι μόνο μία από τις δύο κοιλότητες του διμερούς είναι ελεύθερη προς συμπλοκοποίηση. Επίσης, οι μετρήσεις για το ο- και m- διμερές συμφωνούν ότι σε υδατικό διάλυμα συνυπάρχουν οι συμμετρικές και η μη συμμετρικές δομές, με αποτέλεσμα να μην είναι διαθέσιμες και οι δύο κοιλότητες προς συμπλοκοποίηση. Η εργασία αυτή αποτελεί σημαντική συνεισφορά στη σχετική βιβλιογραφία διότι έδειξε πως ο σχεδιασμός ελκυστικών διμερών και τριμερών δεν οδηγεί αναγκαστικά σε βελτιωμένα συστήματα μεταφοράς μορίων και πως μελέτες συμπλοκοποίησης είναι αναγκαίες για να διαπιστωθεί η λειτουργικότητα των μονάδων CD.

### 2.3 Συμπεράσματα και Σκοπός Διατριβής

Από όλα τα ανωτέρω παραδείγματα προκύπτει ότι υπάρχει αρκετή βιβλιογραφία σχετική με τον σχεδιασμό και την παρασκευή ολιγομερών κυκλοδεξτρινών με σημαντικό αρχιτεκτονικό ενδιαφέρον, καθώς περιλαμβάνουν ποικιλία συνδετών (βραχείς, άκαμπτοι, εύκαμπτοι, κλπ).

Από την άλλη πλευρά, η επιλογή των συνδετών υπαγορεύτηκε από τη σχεδιαζόμενη τελική εφαρμογή των διμερών (ή τριμερών), η οποία, στις περισσότερες των περιπτώσεων, δεν στόχευε στη μεταφορά φαρμάκων. Εξ' άλλου, σε υδατικά διαλύματα πολλών από τα διμερή ή τριμερή που παρουσιάστηκαν, είναι πολύ πιθανό να μην είναι ελεύθερες όλες οι κοιλότητες κυκλοδεξτρινών προς συμπλοκοποίηση με ξενιζόμενα

μόρια. Ως εκ τούτου, η επιλογή του μορίου συνδέτη πρέπει να γίνεται με ιδιαίτερη προσοχή, ώστε να αποφεύγεται ο εγκλωβισμός του στην κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί, είτε χρησιμοποιώντας συνδέτες μικρότερου μήκους, είτε ογκωδέστερους συνδέτες, ώστε να μην διευκολύνεται αυτοεγκλωβισμός και αναστροφή της γλυκόζης.

Επι πλέον, σε πολλές περιπτώσεις η δυσκολία παρασκευής, καθαρισμού και χαρακτηρισμού έδειξε ότι πρέπει να σχεδιάζονται απλές και υψηλής απόδοσης αντιδράσεις διμερισμού (ή τριμερισμού), είναι δε εξόχως σημαντική η καλή υδατοδιαλυτότητα του τελικού προϊόντος καθώς και η διαθεσιμότητα των μονάδων κυκλοδεξτρινών προς εγκλωβισμό και μεταφορά μορίων.

Σκοπός της διατριβής είναι να διερευνήσει νέες μεθόδους παρασκευής διμερών, σε υδατικές συνθήκες, να αποδείξει την πολυλειτουργικότητα των προϊόντων ως προς τη μεταφορά μορίων/ φαρμάκων και να μελετήσει την μοριακή διαμόρφωση απουσία και παρουσία ξενιζομένου μορίου, συνεισφέροντας στην διερεύνηση του πεδίου παρασκευής ολιγομερών κυκλοδεξτρινών.



---

**Παράγωγα Κυκλοδεξτρινών με  
Αυτόνομη Βιοδραστικότητα**

---



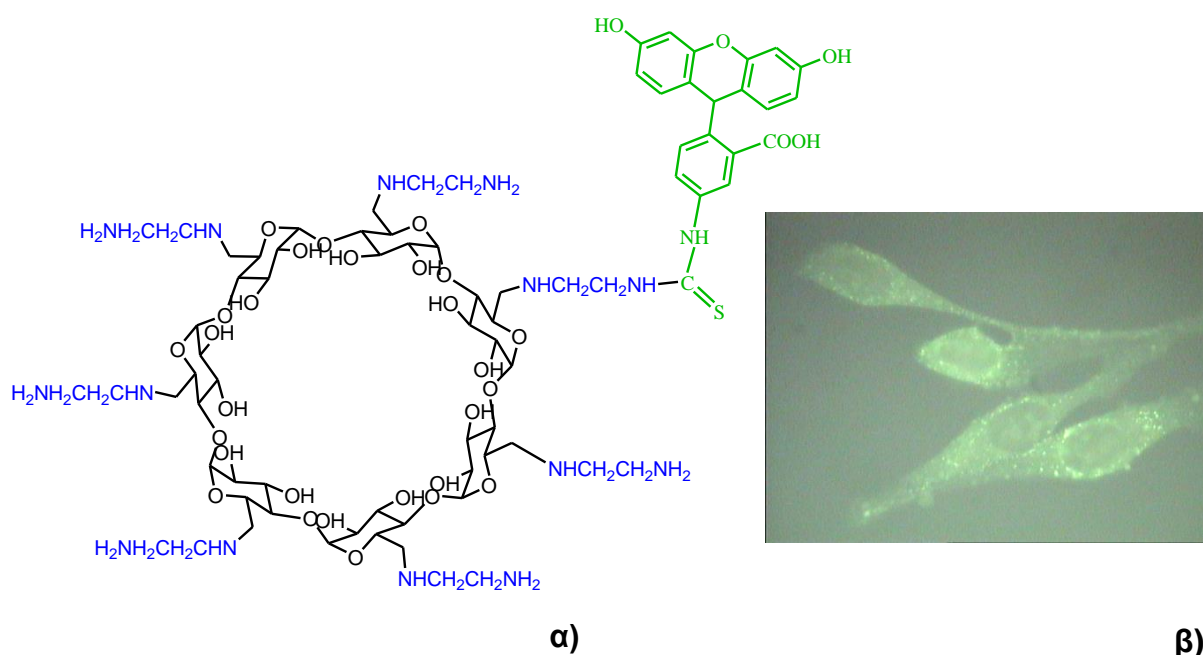
## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3- Παράγωγα Κυκλοδεξτρινών με Αυτόνομη Βιοδραστικότητα

### 3.1 Θετικώς Φορτισμένες Κυκλοδεξτρίνες για Μεταφορά DNA

Πρόσφατη έρευνα στην χημεία των κυκλοδεξτρινών και κατ' αναλογία με τα ερευνητικά επιτεύγματα της οργανικής χημείας σε βιοοργανικές, βιολογικές και άλλες διεπιστημονικές εφαρμογές, έχει οδηγήσει στην παρασκευή πολυλειτουργικών παραγώγων. Συγκεκριμένα, εκτός της διαθέσιμης κοιλότητας για εγκλωβισμό και μεταφορά μορίων, τα νεώτερα παράγωγα μπορεί να παρουσιάζουν ειδική βιοδραστικότητα, ανάλογα με τις ομάδες που φέρουν ή με τα μόρια με τα οποία έχουν συνδεθεί. Επι πλέον, η τροποποίηση των ομάδων –OH με ισάριθμες ενεργές ομάδες άλλου τύπου, δίνει πολυδύναμα παράγωγα με νέες, αυξημένες ιδιότητες. Κατωτέρω, παρατίθενται επιλεγμένα παραδείγματα παραγώγων CDs με πολλαπλές ιδιότητες.

Τα τελευταία 20 χρόνια το ενδιαφέρον πολλών επιστημόνων έχει στραφεί στην μεταφορά γονιδίων μέσα σε κύτταρα, με απώτερο σκοπό τη θεραπεία γενετικών ασθενειών με την παρέμβαση στο DNA των ανθρώπων και των ζώων (γονιδιακή θεραπεία). Ένα από τα μεγαλύτερα προβλήματα στην ανάπτυξη γονιδιακής θεραπείας είναι η έλλειψη εξειδίκευσης και αποτελεσματικής στόχευσης της μεταφοράς του DNA στους πυρήνες των κυττάρων. Το ενδιαφέρον των ερευνητών έχει στραφεί στη χρήση οργανικών ενώσεων, κυρίως πολυάμινο (πολυκατιοντικών) πολυμερών, ως μεταφορέων.<sup>36, 42</sup> Στη συγκεκριμένη κατηγορία συμπεριλαμβάνονται τα δενδριμερή και υψηλού μοριακού βάρους συσσωματώματα όπως είναι τα λιποσώματα. Τα απαραίτητα χαρακτηριστικά που πρέπει να έχουν αυτές οι ενώσεις είναι: βιοσυμβατότητα, εξειδικευμένη στόχευση, χαμηλή τοξικότητα, ικανότητα σύνδεσης με το DNA, ενδοκύττωση, απελευθέρωση από το ενδοσωμάτιο και αποδέσμευση του DNA έτσι ώστε να ανακτήσει την λειτουργική του δομή. Οι κυκλοδεξτρίνες ικανοποιούν τις βασικές προϋποθέσεις της βιοσυμβατότητας και της χαμηλής τοξικότητας. Έχουν παρασκευασθεί πολυμερή κυκλοδεξτρινών οι οποίες συνδέονται μεταξύ τους με αλκυλογουανιδίνες, τα οποία παρουσίαζαν χαμηλή τοξικότητα και ικανότητα για γονιδιακή μεταφορά.<sup>43</sup> Επίσης, έχουν παρασκευαστεί παράγωγα κυκλοδεξτρινών τροποποιημένα με τεταρτοταγή άτομα αζώτου, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την *in vitro* μεταφορά DNA. Το μειονέκτημα των παραγώγων αυτών ήταν ότι απαιτείτο μεγάλη ποσότητα για τη δέσμευση του DNA. Στο οικείο εργαστήριο συντέθηκαν τρεις νέες

ομάδες ενώσεων περι(6-δεοξυ-6-αμινοαλκυλαμινο)- (Σχήμα 3.1) και περι(6-δεοξυ-6-γουανιδινο)-, περι(6-δεοξυ-6-γουανιδινοαμινοαλκυλαμινο)-παραγώγων α-, β- και γ-κυκλοδεξτρινών, όπου αλκυλο =  $-(CH_2)_n-$ ,  $n = 2-6$ .<sup>44</sup> Τα παράγωγα αυτά χαρακτηρίστηκαν από υψηλή υδατοδιαλυτότητα σε ουδέτερο pH και παρουσίασαν νέες βιοδραστικές ιδιότητες και συγκεκριμένα την ικανότητα να μεταφέρουν μόρια μέσα σε κύτταρα. Μετά από επισήμανσή τους με φθορίζουσα ένωση, πραγματοποιήθηκαν πειράματα σε κύτταρα και διαπιστώθηκε μέσω μικροσκοπίας φθορισμού ότι οι κυκλοδεξτρίνες διαπερνούν αποτελεσματικά τις μεμβράνες των κυττάρων και διασπείρονται στο κυτταρόπλασμα (Σχήμα 3.1).<sup>44</sup>

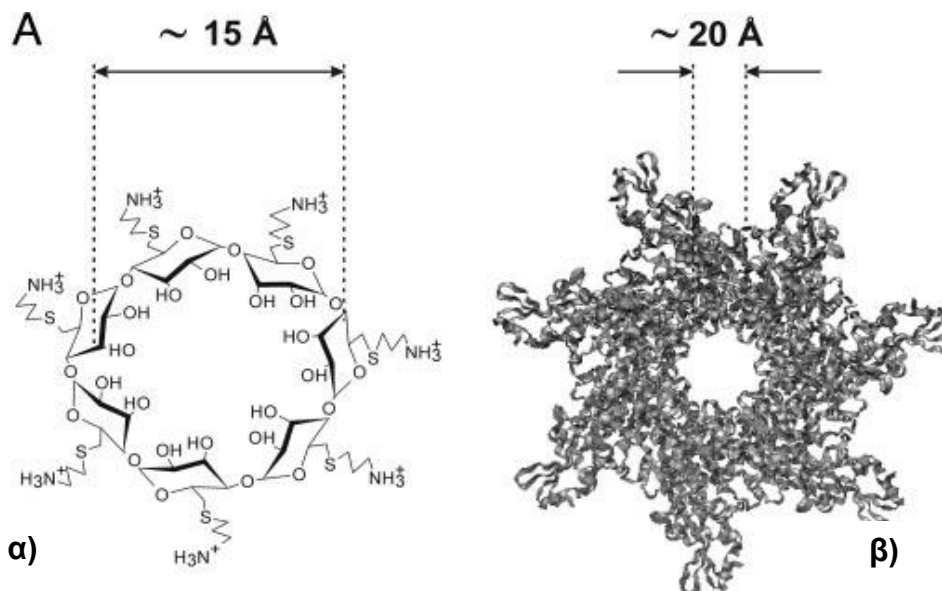


**Σχήμα 3.1 α) Κυκλοδεξτρίνη με ικανότητα μεταφοράς μορίων σε κύτταρα (Cell Penetrating CDs, CPCDs), β) απεικόνιση κυττάρων με μικροσκοπία φθορισμού.**<sup>44</sup>

Τα γουανιδινο-υποκατεστημένα παράγωγα, παρουσιάζουν καλύτερη διεισδυτική ικανότητα από τα αμινο-υποκατεστημένα παράγωγα.<sup>43c</sup> Η ιδιότητα αυτή καθιστά τις ενώσεις πιθανούς υποψήφιους για την μεταφορά «προβληματικών θεραπευτικών φορτίων» μέσα στα κύτταρα. Συνεπώς, μπορούν να δράσουν ως ανάλογα πεπτιδίων που χρησιμοποιούνται για την εισαγωγή ενώσεων στα κύτταρα (CPP, Cell Penetrating Peptides).

### 3.2 Θετικώς Φορτισμένες Κυκλοδεξτρίνες ως Παράγοντες Αποκλεισμού Πόρων Τοξινών Επικίνδυνων Μικροβίων

Μια σημαντική εφαρμογή των θετικώς φορτισμένων CDs είναι η χρήση τους για τον φραγμό πόρων τοξινών επικίνδυνων μικροβίων, όπως είναι ο Άνθρακας. Η λοίμωξη του “Άνθρακα” είναι πολύ δύσκολο να αντιμετωπιστεί, καθώς τα συμπτώματά της, τα οποία είναι παρόμοια με αυτά της κοινής γρίπης, παρουσιάζονται μόνο αφού τα βακτήρια έχουν πολλαπλασιασθεί μέσα στον ανθρώπινο οργανισμό και έχουν αρχίσει να παράγουν τοξίνη, η οποία τελικά οδηγεί στο θάνατο.<sup>45</sup> Σε αυτήν την περίπτωση, ακόμα κι αν πραγματοποιηθεί θεραπεία με αντιβιοτικά, ο θάνατος είναι αναπόφευκτος λόγω συγκέντρωσης τοξινών. Μια λογική αντιμετώπιση της μόλυνσης θα ήταν η χορήγηση αντιβιοτικών για να σταματήσει η ανάπτυξη των βακτηρίων, καθώς και η ταυτόχρονη χορήγηση αντιτοξινών για την εξουδετέρωση της τοξίνης του άνθρακα.<sup>45b, 46</sup> Οι δύο τοξίνες του άνθρακα σχηματίζονται από τρεις πρωτεΐνες: το προστατευτικό αντιγόνο (protective antigen, PA) το οποίο συνδυάζεται είτε με το θανατηφόρο παράγοντα (lethal factor, LF) για να σχηματίσει την τοξίνη (LeTx) είτε με τον παράγοντα οιδήματος (edema factor, EF) ώστε να σχηματίσει την τοξίνη οιδήματος (EdTx). Τα LF και EF είναι ένζυμα τα οποία στοχεύουν υποστρώματα μέσα στο κυτταρόπλασμα, ενώ το PA διευκολύνει τη μεταφορά τους μέσα από τις μεμβράνες σχηματίζοντας έναν επταμερή πόρο, ο οποίος είναι αρνητικά φορτισμένος. Ο V. A. Karginov<sup>47</sup> και οι συνεργάτες του πρώτοι συνέλαβαν την ιδέα του αποκλεισμού του πόρου του PA, του οποίου το εσωτερικό είναι ελαφρώς αρνητικά φορτισμένο, με θετικά φορτισμένα παράγωγα βCD ώστε να μην μπορεί να πραγματοποιηθεί η μεταφορά των LF και EF μέσα στο κυτταρόπλασμα. Επιπλέον, η συμμετρία της βCD (C7) ως συμπληρωματική του επταμερούς πόρου, αναμενόταν να συμβάλλει στην αποτελεσματική κατάληψη του πόρου από τα παράγωγα βCD (Σχήμα 3.2).



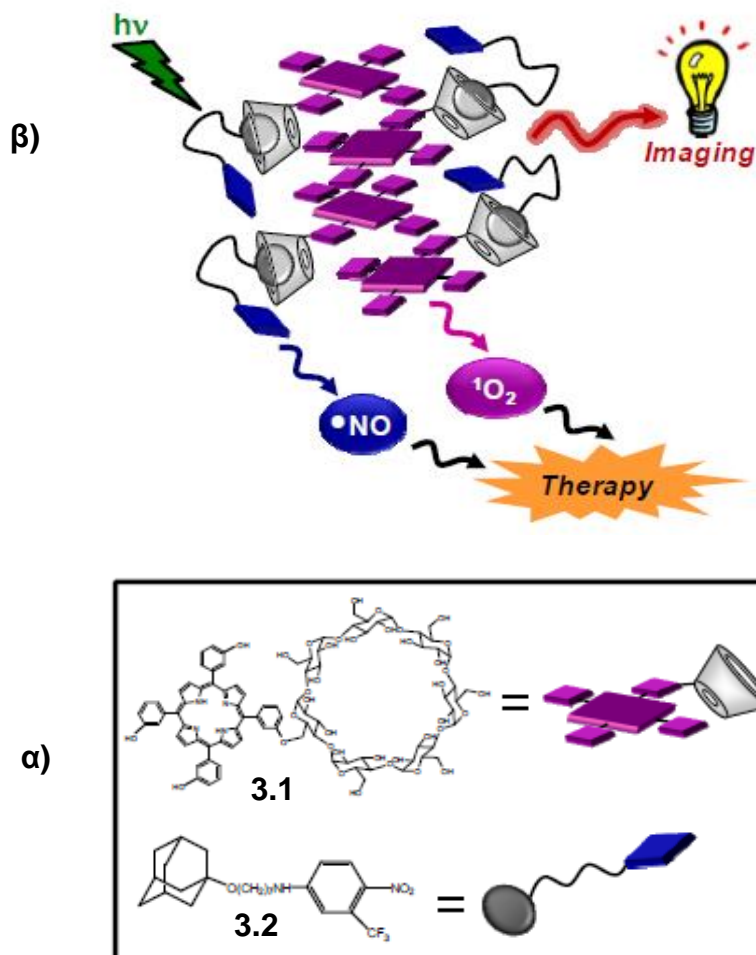
**Σχήμα 3.2 α) Περι-6-(3-αμινοπροπυλοθειο)-β-κυκλοδεξτρίνη για φραγή του επταμερούς πόρου του προστατευτικού αντιγόνου PA, β) PA.<sup>48</sup>**

Δοκιμάστηκαν επιτυχώς επτα-6-αμινοαλκυλοπαράγωγα της βCD, τα οποία εξαιτίας του θετικού φορτίου που συγκρατούν σε φυσιολογικό pH ήταν ιδανικά για να φράξουν τον αρνητικά φορτισμένο πόρο του PA. Αυτά τα παράγωγα ελέγχθηκαν ως προς την ικανότητά τους να αναστέλουν το τοξικό αποτέλεσμα του LeTX σε μακροφάγα ποντικών, όπως τα κύτταρα RAW 264, με μεγάλη επιτυχία.

### 3.3 Παράγωγα Κυκλοδεξτρινών με Διτροπική Δράση (Bimodal Action)

Κύριος στόχος της πολυτροπικής θεραπείας (multimodal) είναι ο σχεδιασμός και η σύνθεση νανοδομών, οι οποίες είναι ικανές να απελευθερώνουν πολλαπλούς αντικαρκινικούς παράγοντες υπό διαφορετικές συνθήκες και εναύσματα.<sup>49</sup> Πρόσφατες συνεργασίες του οικείου εργαστηρίου<sup>14</sup> κατέληξαν στο σχεδιασμό και τη δημιουργία σε υδατικό ρυθμιστικό διάλυμα PBS, νανοσυσσωματωμάτων αποτελούμενων από βCD μονοϋποκατεστημένη με πορφυρίνη (**3.1**), η οποία παρουσία φωτός παράγει μονήρες οξυγόνο ( $^1O_2$ ) ενώ κρατά εγκλωβισμένο κατάλληλα σχεδιασμένο μόριο (**3.2**), το οποίο παρουσία φωτός απελευθερώνει μονοξείδιο του αζώτου (NO) (Σχήμα 3.3). Το  $^1O_2$  είναι το κατ' εξοχήν κυττοτοξικό μόριο που παράγεται στους ιστούς παρουσία πορφυρίνης (ως φωτοευαισθητοποιητής) και φωτός κατάλληλου μήκους κύματος (~600 nm). Η διαδικασία ονομάζεται φωτοδυναμική θεραπεία (Photodynamic Therapy, PDT). Επιπροσθέτως, το NO επίσης παρουσιάζει κυττοτοξικές ιδιότητες. Το συσσωμάτωμα είχε διάμετρο περίπου 13 nm και εμφάνιζε τον χαρακτηριστικό κόκκινο φθορισμό της

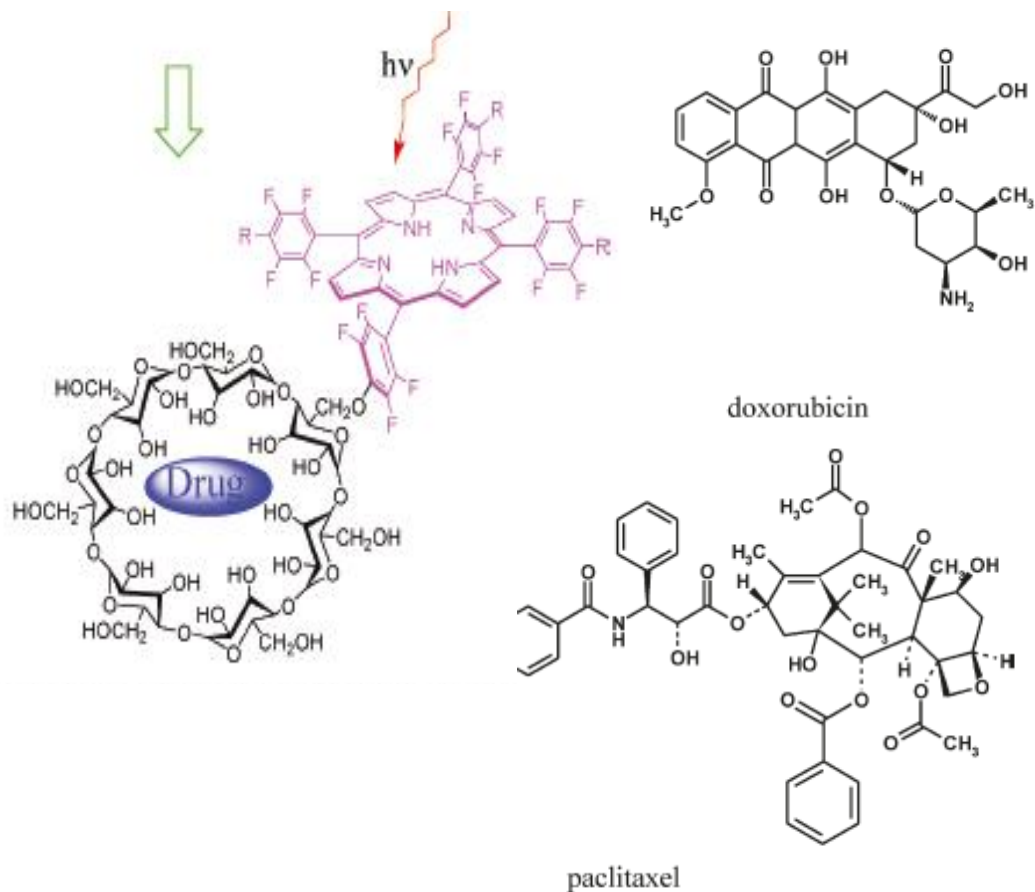
πορφυρίνης, ενώ στις κοιλότητες της κυκλοδεξτρίνης συμπλοκοποιήθηκε ο δότης NO **3.2**, σχηματίζοντας τελικά μια υπερδομή, διαμέτρου 16 nm. Στο Σχήμα 3.3α παρουσιάζονται οι δομές του κυκλοδεξτρινικού παραγώγου (**3.1**) και του ξενιζόμενου μορίου (**3.2**).



**Σχήμα 3.3 α) Απεικόνιση του παραγώγου (3.1) και του ξενιζόμενου μορίου (3.2), β) απεικόνιση του φωτοδραστικού υπερμοριακού συσσωματώματος.**

Η παραγόμενη νανοδομή όχι μόνο διατηρεί το φθορισμό της πορφυρίνης, οπότε και ανιχνεύεται με μικροσκοπία φθορισμού, αλλά είναι και ικανή να παράγει μετά από ακτινοβολήση με ορατό φως, NO και μονήρες οξυγόνο ( $^1\text{O}_2$ ). Εδείχθη ότι το συσσωμάτωμα εισέρχεται σε κύτταρα μελανώματος, εντοπίσθηκε χρησιμοποιώντας μικροσκοπία φθορισμού ενώ προκάλεσε σημαντικό ποσοστό κυτταρικού θανάτου μέσω της συνδυασμένης δράσης των ROS (Reactive Oxygen Species) και RNOS (Reactive NO Species) μετά από ακτινοβολήση.

Άλλο παράδειγμα κυκλοδεξτρινών με αυτόνομη λειτουργικότητα αποτελούν συζεύγματα με πορφυρίνη (Σχήμα 3.4) για μεταφορά αντικαρκινικών φαρμάκων και συνδυασμό με φωτοδυναμική θεραπεία.<sup>50</sup>



**Σχήμα 3.4 Σχηματική απεικόνιση συζεύγματος διπλής δράσης CD-πορφυρίνης για μεταφορά φαρμάκων.<sup>50</sup>**

Τα ανωτέρω συζεύγματα, μετά από ακτινοβολήση και σε συνδυασμό με αντικαρκινικά φάρμακα, επέφεραν σημαντικό κυτταρικό θάνατο σε καρκινικές σειρές κυττάρων, επήγαν δέ μείωση όγκων σε ποντίκια, αποδεικνύοντας την αποτελεσματικότητα της διτροπικής δράσης.

### 3.4 Συμπεράσματα

Τα ανωτέρω επιλεκτικά και σχετικώς πρόσφατα παραδείγματα κατέστησαν σαφή τη σπουδαιότητα σχεδιασμού κατάλληλων παραγώγων κυκλοδεξτρινών καθώς και την ανάγκη σύνθεσης παραγώγων τα οποία να επιτελούν λειτουργίες και να ενεργούν



θεραπευτικά με πολλούς τρόπους. Επι πλέον, η έναρξη των διαφορετικών λειτουργιών είναι δυνατόν να πυροδοτείται με διαφορετικούς και εξωτερικά ελεγχόμενους τρόπους (π.χ φώς). Σε κάθε περίπτωση η σύνθεση διτροπικών/πολυλειτουργικών κυκλοδεξτρινών αποτελεί ενδιαφέρον πεδίο έρευνας και το αντικείμενο μικρού τμήματος της παρούσας διατριβής, που αναλύεται στο κεφάλαιο 9.



# 4

---

## **Αντίδραση Staudinger- Σύνδεση Staudinger- Σύντομη Επισκόπηση**

---



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4- Αντίδραση Staudinger- Σύνδεση Staudinger- Σύντομη Επισκόπηση

### 4.1 Εισαγωγή

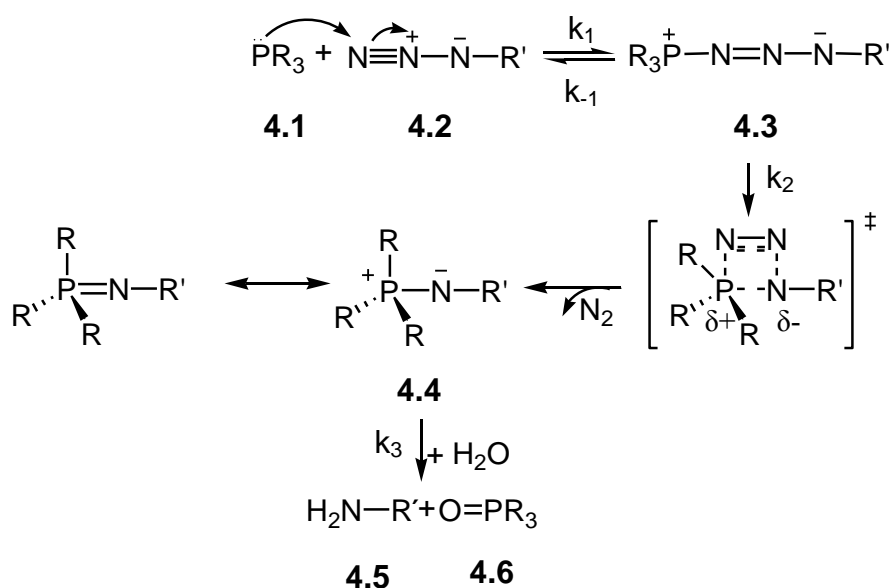
Συχνά οι βιολόγοι και οι χημικοί οι οποίοι μελετούν βιολογικά συστήματα<sup>51</sup> έρχονται αντιμέτωποι με την ανάγκη να συνδέσουν ομοιοπολικά δύο μοριακές οντότητες, όπως για παράδειγμα έναν πολύπλοκο υδατάνθρακα με ένα πεπτιδίο ή πρωτεΐνη ή να επισημάνουν κάποιο βιοπολυμερές με χρωστική. Είναι γνωστό ότι τα βιολογικά συστήματα είναι ιδιαίτεως πολύπλοκα και πολυ-λειτουργικά. Επομένως, είναι απαραίτητη η ανάπτυξη χημειοεκλεκτικών αντιδράσεων σύζευξης μορίου-βιολογικού υποστρώματος, κατά τις οποίες η λειτουργική ομάδα του ενός θα αντιδράσει εκλεκτικά και μόνο με μια λειτουργική ομάδα του άλλου σε υδατικό περιβάλλον υπό φυσιολογικές συνθήκες. Επιπλέον, αυτές οι λειτουργικές ομάδες, εκτός της αμοιβαίας εκλεκτικότητας θα πρέπει να είναι τελείως αδρανείς ως προς άλλες λειτουργικές ομάδες (orthogonal), έτσι ώστε να μην είναι απαραίτητη η χρήση προστατευτικών ομάδων και ιδανικά να αντιδρούν εύκολα σε υδατικό περιβάλλον ή και στο πολύπλοκο περιβάλλον ενός ζωντανού κυττάρου/οργανισμού. Παρόλο που υπάρχουν πολλές τεχνικές για την *in vitro* σύνδεση βιολογικών συστημάτων με άλλα μόρια, οι πραγματικά χημειοεκλεκτικές αντιδράσεις σύζευξης είναι ελάχιστες. Οι περισσότερες αντιδράσεις σύζευξης στηρίζονται στην αντίδραση ενός ηλεκτρονιόφιλου με ένα πυρηνόφιλο. Ωστόσο, τα βιολογικά συστήματα είναι πλούσια τόσο σε ηλεκτρονιόφιλες όσο και πυρηνόφιλες ομάδες κι έτσι ελάχιστες λειτουργικές ομάδες μπορούν να παρουσιάσουν αμοιβαία εκλεκτικότητα για αντίδραση με προσερχόμενο μόριο. Επί παραδείγματι, η εκλεκτική σύζευξη μεταξύ αμίνης και ενεργοποιημένου εστέρα προς σχηματισμό αμιδικού δεσμού είναι πρακτικώς ανεφάρμοστη σε βιολογικά υποστρώματα, παρ' όλη τη δυνατότητα εκτέλεσής της σε υδατικό μέσο.

Τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιούνται ευρέως δύο αντιδράσεις οι οποίες στηρίζονται στην παρουσία μιας αζιδομάδας σε ένα από τα δύο συνδεόμενα μέρη: η αντίδραση κυκλοπροσθήκης [3+2] (click reaction) και η σύνδεση Staudinger (Staudinger ligation). Και στις δύο περιπτώσεις η αζιδομάδα εμφανίζει τα εξής πλεονεκτήματα: 1) είναι μικρού μεγέθους και μπορεί να εισαχθεί σε βιολογικό υπόστρωμα χωρίς να αλλάξει το μοριακό μέγεθος, 2) δεν απαντάται στα βιολογικά συστήματα (bio-orthogonal) και 3) παρά την ιδιαίτερη δραστικότητα της, αντιδρά απολύτως εκλεκτικά με πολύ περιορισμένο αριθμό

λειτουργικών ομάδων. Η αντίδραση κυκλοπροσθήκης [3+2] (click), ενώ έχει τεράστιο πεδίο εφαρμογής, για την πραγματοποίησή της είναι απαραίτητη η χρήση καταλύτη χαλκού. Η σύνδεση Staudinger, μεταξύ μιας φωσφίνης και ενός αζιδίου προς σχηματισμό αζαυλιδίου, δεν προϋποθέτει χρήση καταλυτών. Το παραγόμενο αζαυλίδιο μπορεί στη συνέχεια να αντιδράσει με μια ακυλομάδα προς σχηματισμό ενός σταθερού αμιδικού δεσμού, η δε σύνδεση αποτελεί παραλλαγή της αντίδρασης Staudinger (Σχήμα 4.1) και χρειάζεται κατάλληλο υπόστρωμα- συνδέτη (Σχήμα 4.2).

#### 4.1.1 Αντίδραση Staudinger- Μηχανισμός

Η αντίδραση μεταξύ μιας φωσφίνης (4.1) και μιας αζιδοένωσης (4.2) προς σχηματισμό αζα-υλιδίου (4.4), ανακαλύφθηκε από τον Hermann Staudinger<sup>51,52</sup> και χρησιμοποιήθηκε ευρέως στην οργανική σύνθεση, κυρίως για την παρασκευή αμινών από αναγωγή αζιδίων. Η αντίδραση είναι σχεδόν ποσοτική, πραγματοποιείται κάτω από ήπιες συνθήκες και χωρίς την παραγωγή παραπροϊόντων. Ο μηχανισμός της αντίδρασης παρουσιάζεται στο Σχήμα 4.1.<sup>53</sup>



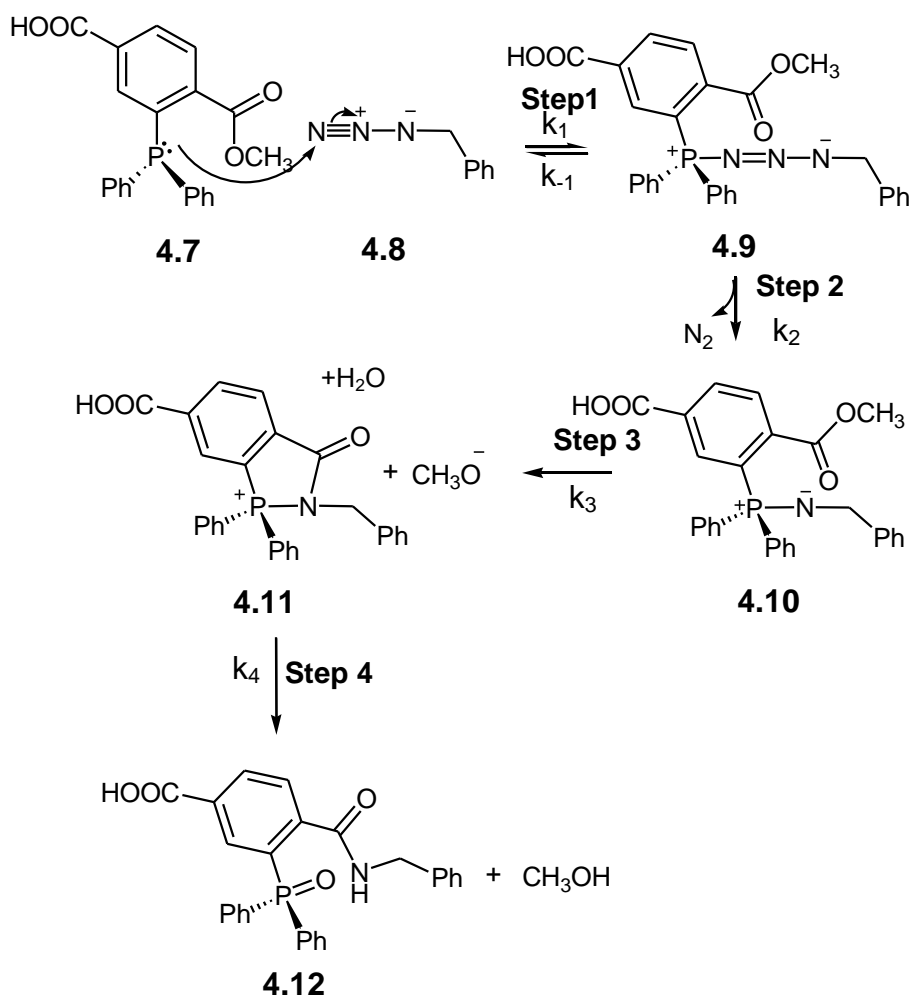
Σχήμα 4.1 Μηχανισμός αντίδρασης Staudinger<sup>53</sup>

Το μονήρες ζεύγος ηλεκτρονίων του φωσφόρου της φωσφίνης 4.1 προσβάλλει το τελικό άζωτο του αζιδίου 4.2 και παράγεται, ως αποτέλεσμα αντιστρεπτής αντίδρασης, το ενδιάμεσο γραμμικό φωσφαζίδιο (4.3).<sup>53</sup> Από το ενδιάμεσο αυτό, προφανώς μέσω

μεταβατικής κατάστασης τετραμελούς δακτυλίου, γίνεται αποβολή αερίου αζώτου προς σχηματισμό ενός δεύτερου ενδιαμέσου, του αζαυλιδίου **4.4** (ή ιμινοφωσφορανίου). Παρουσία νερού, το αζαυλίδιο **4.4** υδρολύεται τελικώς προς σχηματισμό της αμίνης **4.5** και του φωσφινόξειδίου **4.6** (παρασκευή αμινών). Παρουσία αλδεϋδών ή κετονών το πυρηνόφιλο άζωτο του υλιδίου **4.4** αντιδρά και σχηματίζει ιμίνες (aza-Wittig reaction).<sup>54</sup>

#### **4.1.2 Σύνδεση Staudinger (Staudinger Ligation)- Μηχανισμός**

Η C. Bertozzi<sup>52</sup> και οι συνεργάτες της έχοντας εντοπίσει σοβαρούς περιορισμούς στη χρήση της σύζευξης μέσω υδραζόνης για την τροποποίηση της επιφάνειας των κυττάρων, κατέληξαν στην ηπιότερη μέθοδο της σύνδεσης μέσω Staudinger, η οποία μπορούσε πραγματικά να εφαρμοστεί σε ζωντανά κύτταρα, χωρίς να επηρεάσει τις υπόλοιπες βιολογικές διεργασίες. Οι Saxon και Bertozzi σχεδίασαν το συνδέτη **4.7**, στηριζόμενοι στη λογική ότι μια κατάλληλα τοποθετημένη ηλεκτρονιακή παγίδα, όπως ένας μεθυλεστέρας, μέσα στη δομή της φωσφίνης **4.1**, θα εγκλώβιζε το πυρηνόφιλο αζαυλίδιο (**4.10**) μέσω ενδομοριακής κυκλοποίησης (Σχήμα 4.2). Αυτό θα είχε ως τελικό αποτέλεσμα τη δημιουργία αμιδικού δεσμού, αντί της υδρόλυσης του αζα-υλιδίου. Επιπλέον, ο συνδέτης **4.7**, περιέχει στην *p*-θέση καρβοξυλική ομάδα, διαθέσιμη για περαιτέρω αντιδράσεις. Ο συνδέτης **4.7** μπορεί προηγουμένως να συνδεθεί πάνω στο επιθυμητό βιολογικό μόριο ή επιφάνεια με κλασσικές αντιδράσεις εστεροποίησης ή δημιουργίας αμιδικού δεσμού και στη συνέχεια να αντιδράσει σε υδατικές συνθήκες με το επιθυμητό αζίδιο **4.8**.



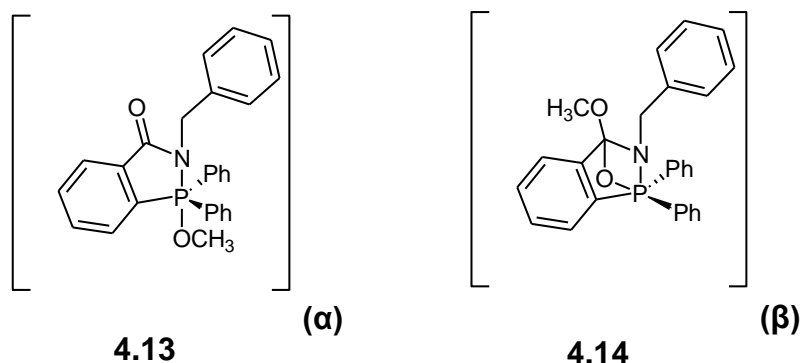
Σχήμα 4.2 Μηχανισμός σύνδεσης Staudinger<sup>53</sup>

Η σύνδεση Staudinger μελετήθηκε διεξοδικά από την Bertozzi και τους συνεργάτες της, όσον αφορά το μηχανισμό της, τις κινητικές παραμέτρους και τα ενδιάμεσα που σχηματίζονται,<sup>53</sup> με πειράματα NMR (<sup>31</sup>P NMR και <sup>1</sup>H NMR) και κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ. Από τα πειράματα αυτά εξήχθησαν τα εξής συμπεράσματα:

1. Η αντίδραση Staudinger μπορεί να είναι πρώτης ή δευτέρας τάξεως ανάλογα με τη φύση των αντιδρώντων, αλλά η σύνδεση Staudinger είναι δευτέρας τάξεως.
2. Το αργό βήμα στη σύζευξη είναι η διαμοριακή αντίδραση δημιουργίας του φωσφαζιδίου **4.9**.
3. Η σταθερά ταχύτητας της σύζευξης επηρεάζεται από την πολικότητα του διαλύτη, επομένως εμπλέκεται φορτισμένο ενδιάμεσο, το αζαυλίδιο.
4. Η σταθερά ταχύτητας της σύζευξης επηρεάζεται από τους υποκαταστάτες της φωσφίνης, αλλά όχι το είδος του εστέρα (αλκυλο-, αρυλο-).



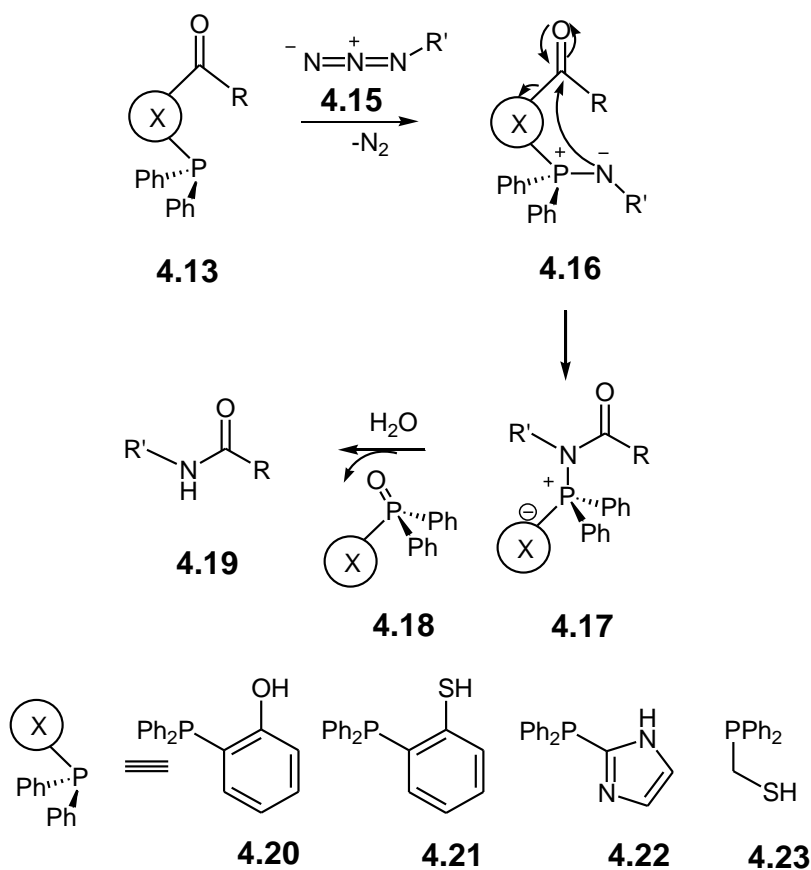
5. Η σταθερά ταχύτητας της σύζευξης επηρεάζεται από τη δομή της ένωσης που περιλαμβάνει την αζιδομάδα: αρυλαζίδια με υποκαταστάτες σταθεροποιητικούς του αζαϋλιδίου, μετατρέπονται στο αμίδιο με βραδύτητα (αργό βήμα).
6. Δημιουργείται το ενδιάμεσο **4.13** το οποίο απομονώθηκε και ταυτοποιήθηκε με φασματοσκοπία NMR και κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ (Σχήμα 4.3α) αντί του αρχικώς προταθέντος **4.14** (Σχήμα 4.3β).



Σχήμα 4.3 α) Ενδιάμεσο σύνδεσης Staudinger,<sup>53</sup> β) Αρχικώς προταθέν ενδιάμεσο.<sup>51</sup>

#### 4.1.3 Μη Ανιχνεύσιμη Σύνδεση Staudinger (Traceless Staudinger Ligation).<sup>51</sup>

Αν και η σύνδεση Staudinger αποδείχτηκε ιδιαίτερως χρήσιμη και αποτελεσματική σε βιολογικό περιβάλλον, τροποποιήθηκε έτσι ώστε να επιτυγχάνεται η δημιουργία αμιδικού δεσμού μεταξύ των δύο επιθυμητών τμημάτων, χωρίς ο συνδέτης να αποτελεί μέρος του τελικού προϊόντος. Η Bertozzi και οι συνεργάτες της<sup>55</sup> παράλληλα με τον Raines και τους συνεργάτες του<sup>56</sup> παρουσίασαν την μη ανιχνεύσιμη σύνδεση Staudinger, όπου το τμήμα του φωσφινουξειδίου απομακρύνεται στο στάδιο της υδρόλυσης (Σχήμα 4.4). Αρχικά, σε αυτή την αντίδραση ακυλιώνονται οι φωσφίνες **4.20-4.23** και στην συνέχεια αντιδρούν με το επιθυμητό αζίδιο. Το πυρηνόφιλο άτομο αζώτου του αζαϋλιδίου προσβάλλει την καρβονυλική ομάδα με ταυτόχρονη αντικατάσταση του συνδέτη. Στη συνέχεια, η υδρόλυση του προϊόντος **4.17** οδηγεί στο σχηματισμό του αμιδίου **4.19** και του ελεύθερου φωσφινουξειδίου **4.18**.



**Σχήμα 4.4 Μηχανισμός μη ανιχνεύσιμης σύνδεσης Staudinger.**

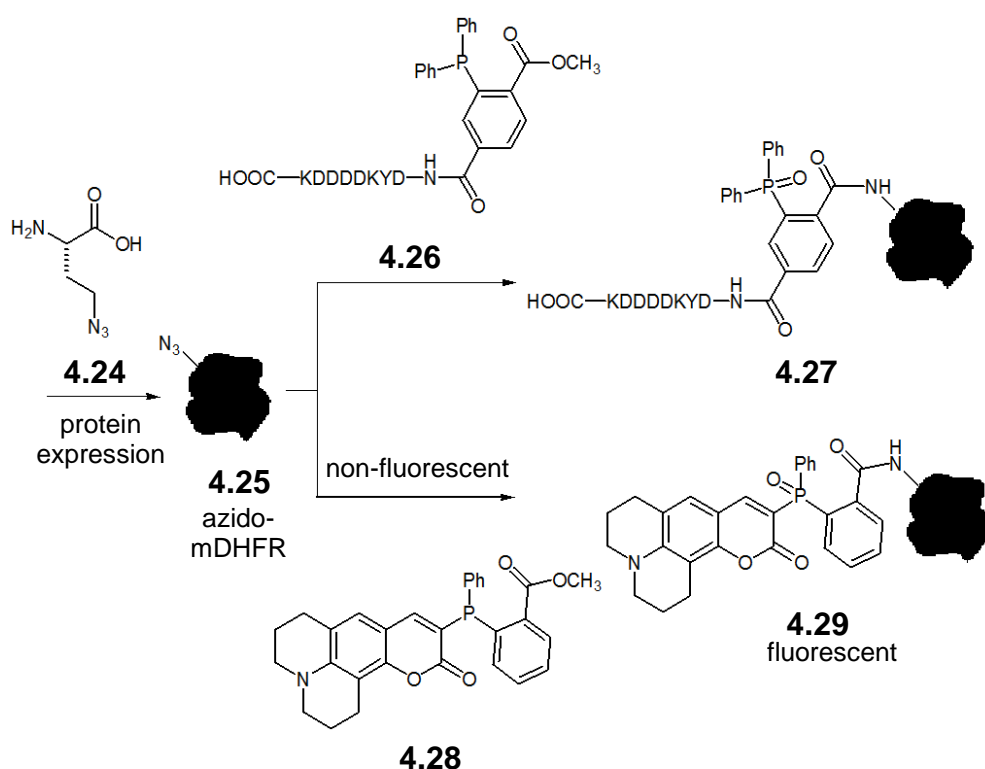
Οι φωσφίνες **4.20** και **4.23** δίνουν τα καλύτερα αποτελέσματα και έχουν τύχει ευρείας εφαρμογής. Ο μόνος περιορισμός όσον αφορά την ένωση **4.23** είναι ότι εξ' αιτίας του αλκυλο- υποκαταστάτη της οξειδώνεται εύκολα στον αέρα κι έτσι χρησιμοποιείται συνήθως ως σύμπλοκο με  $BH_3$ , από το οποίο παραλαμβάνεται μετά από κατεργασία με ισχυρή πυρηνόφιλη αμίνη, όπως είναι το 1,4-διαζαδικυκλο[2.2.2]οκτάνιο (DABCO).

## 4.2 Εφαρμογές<sup>51</sup>

### 4.2.1 Σύνθεση Βιο-συζευγμάτων

Μεγάλη σημασία στη χημική βιολογία έχει η παρασκευή βιοσυμπλόκων, στα οποία μια ομάδα επισήμανσης (χρωστική, αντιγόνο, περιοχή αναγνώρισης κ.λ.π.) προσδένεται σε ένα βιολογικό δείγμα ή βιοπολυμερές. Οι ομάδες των Tirrell και Bertozzi έχουν περιγράψει μια εφαρμόσιμη στρατηγική για την εισαγωγή αζιδομάδων σε τροποποιημένες πρωτεΐνες ώστε να είναι δυνατή η περαιτέρω χημειοεκλεκτική τροποποίηση μέσω της σύζευξης Staudinger.<sup>57</sup> Η αζιδο-ομοαλανίνη (**4.24**) ενεργοποιείται από τη μεθειονυλο-tRNA συνθετάση (MetRS) του *E. coli* και αντικαθιστά

τη μεθειονίνη σε πρωτεΐνες οι οποίες προέρχονται από καλλιέργειες βακτηρίων, οι οποίες στερούνται μεθειονίνης. Σε εφαρμογή της παραπάνω μεθόδου, παρήχθη αζιδο-murine dihydrofolate reductase (mDHFR) (**4.25**) σε *E. coli* methionine auxotroph, σε μέσο πλούσιο σε αζιδο-ομοαλανίνη (**4.24**). Η πρωτεΐνη **4.25**, καθαρίστηκε και υπέστη ανάλυση αμινοξέων, η οποία επιβεβαίωσε την κατά 95±2% αντικατάσταση της μεθειονίνης. Στην καθαρή πρωτεΐνη πραγματοποιήθηκε σύνδεση Staudinger με δύο διαφορετικούς συνδέτες **4.26** και **4.28** (Σχήμα 4.5).<sup>51</sup>



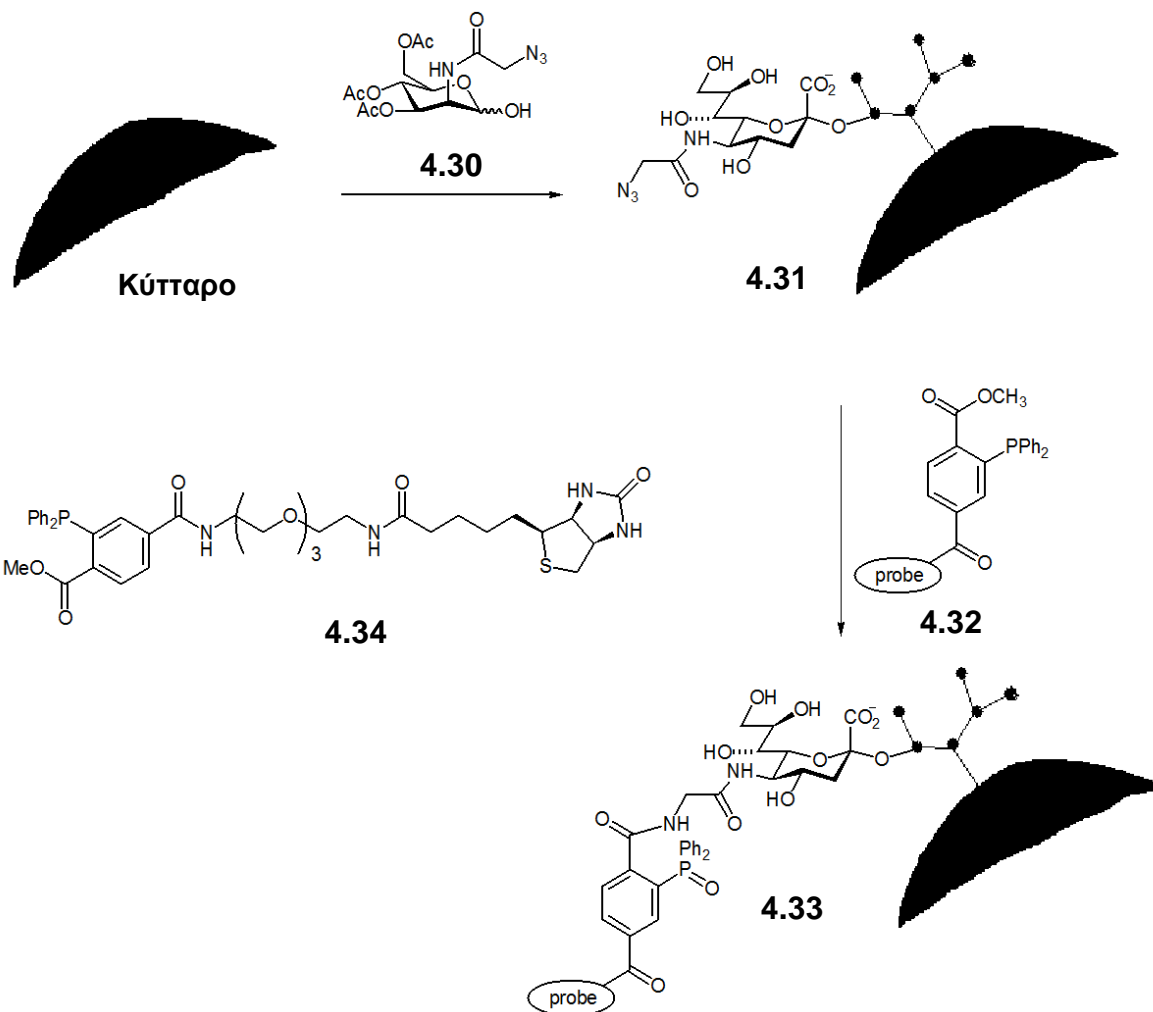
**Σχήμα 4.5** Ανασυνδυασμένη έκφραση πρωτεϊνών με αζιδομάδες και επισήμανσή τους με συνδέτες Staudinger.

Η αζιδο-mDHFR (**4.25**) παρέμεινε με τη φωσφίνη **4.26** (250 μM), η οποία ήταν συνδεδεμένη με το FLAG-πεπτιδίο (Asp-Tyr-Lys-Asp-Asp-Asp-Asp-Lys), σε ρυθμιστικό διάλυμα στους 47 °C, για 6 h. Ο χαρακτηρισμός της επισημασμένης πρωτεΐνης **4.27** πραγματοποιήθηκε είτε με επώαση με αντι-FLAG αντίσωμα FITC (fluorescein isothiocyanate), ή με θρυπτική πέψη και στη συνέχεια με φασματομετρία μάζας MALDI-TOF. Παρ' όλο που η σύνδεση Staudinger πραγματοποιήθηκε σε αρκετά σημεία, δεν παρατηρήθηκε πλήρης αντίδραση και των οκτώ πιθανών σημείων, γεγονός που υποδεικνύει πιθανή αναγωγή μέρους της αζιδο-ομοαλανίνης. Ωστόσο, είναι ενδιαφέρον

ότι η επισήμανση μπορεί να πραγματοποιηθεί ακόμα και σε ένα προϊόν λύσης κυττάρων (cell lysate). Η Bertozzi και οι συνεργάτες της, θέλοντας να αποφύγουν την διαδικασία επισήμανσης δύο σταδίων, η οποία θα έθετε πολλούς περιορισμούς στην εφαρμογή της σε πραγματικά βιολογικά συστήματα, σχεδίασαν τη φθορισμογόνο χρωστική **4.28**, η οποία ως ελεύθερη δεν φθορίζει, αλλά ενεργοποιείται μετά από σύνδεση Staudinger με αζίδια.<sup>58</sup> Η κατεργασία του **4.28** με αζιδο-mDHFR (**4.25**) έδωσε ως αποτέλεσμα στοχευμένη επισήμανση της πρωτεΐνης. Σε αντίθεση με το σύμπλοκο που περιείχε FLAG, η επισημασμένη πρωτεΐνη **4.29** μπορούσε να παρατηρηθεί απευθείας, χωρίς να είναι απαραίτητη περαιτέρω επεξεργασία.

#### **4.2.2 Μεταβολική Τροποποίηση Κυττάρων (Metabolic Cell Engineering)**

Οι αλληλεπιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στην επιφάνεια των κυττάρων είναι μεγάλης σημασίας όσον αφορά τον κυτταρικό κύκλο και την επικοινωνία των κυττάρων μέσα σε πολύπλοκους ιστούς, συμπεριλαμβανομένων των αλληλεπιδράσεων ιών-κυττάρων και της συγκόλλησης κυττάρου-κυττάρου. Κεντρικό ρόλο σε αυτές τις δράσεις έχουν οι υδατάνθρακες. Παρόλο που η στοχευμένη διακοπή γονιδίων γλυκοσυλίωσης έχει προσφέρει σημαντικές πληροφορίες για τη λειτουργία και την ποικιλότητα των υδατανθράκων, αυτή η προσέγγιση έχει πολλούς περιορισμούς όπως θνησιμότητα των εμβρύων ή ενίσχυση εξισορροπητικών μηχανισμών.<sup>59</sup> Γι' αυτό το λόγο υπάρχει μεγάλο ενδιαφέρον στις χημικές μεθόδους που τροποποιούν μόρια που βρίσκονται στις κυτταρικές μεμβράνες, ούτως ώστε να παρακολουθείται η λειτουργία τους στην ενδοκυτταρική επικοινωνία. Η Bertozzi και η ερευνητική της ομάδα, εφάρμοσαν μια μεθοδολογία κατά την οποία μη-φυσικές βιοσυνθετικές πρόδρομες ουσίες μετατρέπονται σε μη-φυσικούς πολυσακχαρίτες κυτταρικών μεμβρανών, οι οποίοι έχουν τροποποιημένες βιολογικές λειτουργίες.<sup>13, 52, 59</sup> Πολύ σημαντική για την εφαρμογή της σύνδεσης Staudinger είναι η παρατήρηση ότι κύτταρα θηλαστικών τα οποία επωάστηκαν με περι-ακετυλιωμένη αζιδοακετυλομανοζαμίνη (Ac4ManNAz, **4.30**), αφομοίωσαν αυτό το υπόστρωμα και το εισήγαγαν στη βιολογική σύνθεση του σιαλικού οξέος τους, ώστε να παράγουν αζιδοακετυλοσιαλικό οξύ (SiaNAz), το οποίο εν συνεχεία ενσωματώθηκε στα γλυκοσυζεύγματα (glycoconjugates) τα οποία βρίσκονται στην κυτταρική επιφάνεια (Σχήμα 4.6).<sup>51</sup>



**Σχήμα 4.6** Μεταβολική τροποποίηση κυτταρικής μεμβράνης με βιοσυνθετικά παρασκευασμένες, αζιδο-τροποποιημένες γλυκοπρωτεΐνες.

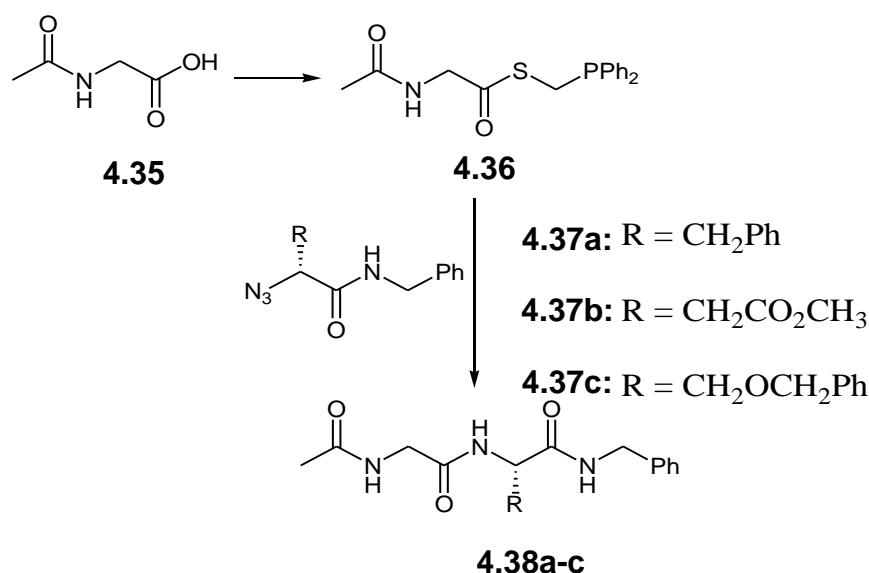
Οι αζιδομάδες που βρίσκονται στην επιφάνεια του κυττάρου αντιδρούν με το σύμπλοκο φωσφίνης-probe **4.32** (για παράδειγμα η βιοτινυλιωμένη φωσφίνη **4.34** ή η FLAG-φωσφίνη **4.26**), μέσω σύνδεσης Staudinger. Με αυτόν τον τρόπο η probe είναι συνδεδεμένη με ομοιοπολικό δεσμό στην επιφάνεια της γλυκοπρωτεΐνης, με αποτέλεσμα να είναι εφικτή η χρήση κυτταρομετρίας ροής για την απόκτηση ποσοτικών αποτελεσμάτων. Η σύνδεση Staudinger υπερτερεί σαφώς της αντίδρασης κετόνης-υδραζίνης, την οποία αρχικά είχε εφαρμόσει η ομάδα Bertozzi. Μερικά από τα πλεονεκτήματα της σύζευξης Staudinger είναι τα εξής:

1. Μετά τον κυτταρικό μεταβολισμό προς το παράγωγο του σιαλικού οξέος, η σύνδεση Staudinger οδήγησε σε διπλάσια αύξηση του φθορισμού σε σύγκριση με αυτόν της αντίδρασης κετόνης-υδραζίνης.
2. Σε αντίθεση με την κετόνη, το αζίδιο αντιδρά εκλεκτικά, λόγω του αβιοτικού χαρακτήρα του.
3. Η απόδοση της σύνδεσης Staudinger δεν επηρεάζεται από το pH στο εύρος 5-8.5, σε αντίθεση με την αντίδραση υδραζίνης-κετόνης, η οποία είναι ιδιαίτερα αργή σε pH 7, ενώ έχει την καλύτερη απόδοση σε pH 6.5, άρα απαιτεί ελαφρώς όξινο περιβάλλον με αποτέλεσμα μερικό κυτταρικό θάνατο.

Τέλος, μετά από πειράματα ελέγχου (control experiments), αποδείχτηκε ότι όχι μόνο δεν πραγματοποιείται αναγωγή του αζιδίου από ενδογενείς μονοθειόλες, αλλά ούτε και το σύμπλοκο φωσφίνης-probe ανάγει τους δισουλφιδικούς δεσμούς στην κυτταρική επιφάνεια.

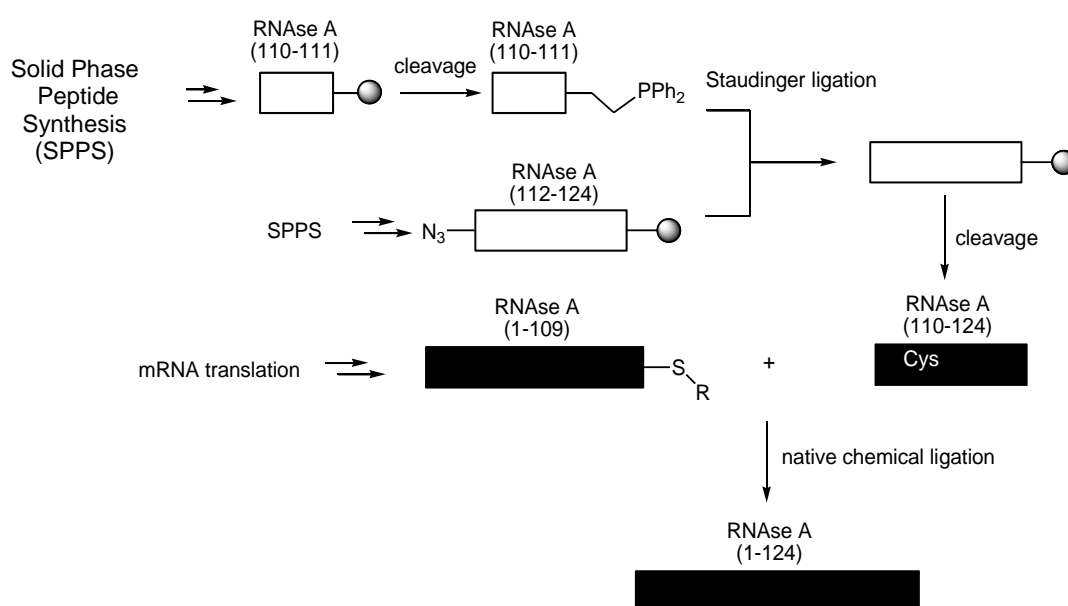
#### 4.2.3 Σύζευξη Πεπτιδίων με μη Ανιχνεύσιμη Σύνδεση Staudinger

Η ολική σύνθεση πρωτεϊνών απαιτεί χημειοεκλεκτικές μεθόδους σύνδεσης κατά τις οποίες μικρότερα πεπτιδία (τα οποία μπορούν να συντεθούν με σύνθεση πεπτιδίων στερεάς φάσης) συνδυάζονται για να δώσουν τελικά την επιθυμητή πρωτεΐνη. Η πιο γνωστή μέθοδος σύζευξης, αυτή των Wieland και Kent, απαιτεί την παρουσία μιας κυστεΐνης στο *N*-τελικό άκρο του σημείου σύνδεσης.<sup>60</sup> Ο Raines και οι συνεργάτες του πρότειναν τη σύνδεση Staudinger ως μέθοδο σύζευξης πεπτιδίων η οποία δεν απαιτεί την παρουσία ακραίας κυστεΐνης. Ως εφαρμογή της ιδέας τους,<sup>56b</sup> μετέτρεψαν την *N*-ακετυλογλυκίνη (**4.35**) στον θειοεστέρα **4.36**, ο οποίος αντέδρασε ήπια με τα προστατευμένα αζιδο-αμινοξέα **4.37a-c**, σε υδατικό THF, για να δώσει τα διπεπτιδία **4.38a-c** με πολύ καλές αποδόσεις χωρίς την εμφάνιση επιμερών (Σχήμα 4.7).<sup>51</sup>



**Σχήμα 4.7** Σύνθεση πεπτιδίου με μη ανιχνεύσιμη σύνδεση Staudinger (traceless).

Ο Raines και οι συνεργάτες του,<sup>61</sup> σε μια εντυπωσιακή προσπάθεια να αποδείξουν την αποτελεσματικότητα της μεθόδου τους, πέτυχαν την ολική σύνθεση της ριβονουκλεάσης A (Σχήμα 4.8).<sup>51</sup>

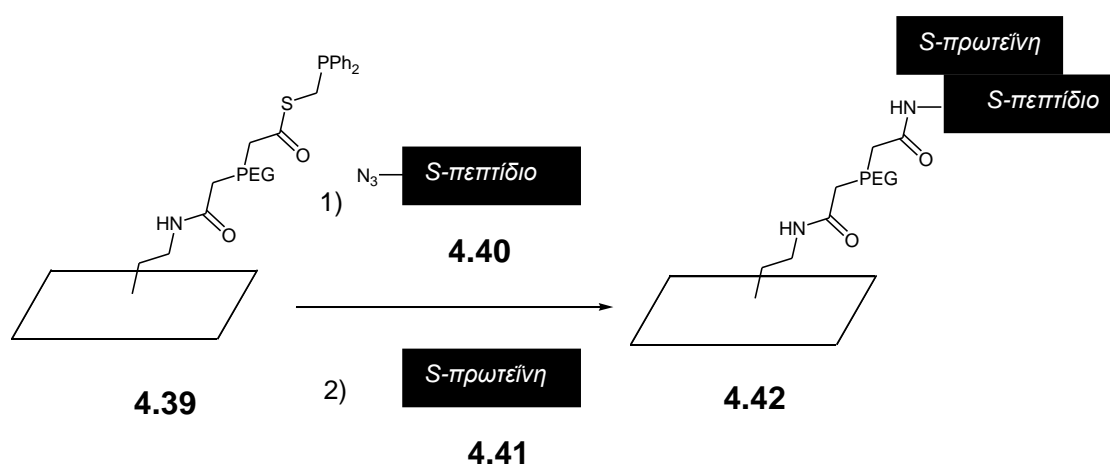


**Σχήμα 4.8** Ολική σύνθεση της ριβονουκλεάσης A.<sup>51</sup>

#### 4.2.4 Σχηματισμός Συστοιχιών (Preparation of Arrays)

Η εξαιρετική χημειοεκλεκτικότητα της σύνδεσης Staudinger έχει οδηγήσει στην ευρεία εφαρμογή της ως τεχνικής ακινητοποίησης για την παραγωγή πρωτεϊνών και

συστοιχιών μικρών μορίων (small-molecule arrays). Ο Raines και οι συνεργάτες του τροποποίησαν ένα κομμάτι υάλου, το οποίο ήταν ήδη επεξεργασμένο με 3-αμινοπροπυλοσιλάνιο, με μια διλειτουργική γέφυρα πολυαιθυλενογλυκόλης (PEG) και τελικά συνέδεσαν τη φωσφίνη **4.23** στην επιφάνεια.<sup>62</sup> Το αζιδο-τροποποιημένο *N*-άκρο του *S*-πεπτιδίου **4.40** (κατάλοιπα 1-15 της RNase A) συνδέθηκε ομοιοπολικά με το κομμάτι υάλου **4.39**, το οποίο προηγουμένως είχε τροποποιηθεί με φωσφαινυλοθειοεστέρα. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε επώαση με την *S*-πρωτεΐνη **4.41** (residues 21-124 της RNase A),<sup>63</sup> κι έτσι δημιουργείται το παράγωγο **4.42**, το οποίο μπορεί να ταυτοποιηθεί βάσει ριβονουκλεοτιδικής δραστηριότητας και ανοσοχρώσης (Σχήμα 4.9).<sup>51</sup>



**Σχήμα 4.9** Εκλεκτική ακινητοποίηση πρωτεϊνών μέσω της αντίδρασης Staudinger.

Με αυτόν τον τρόπο αποδείχθηκε ότι η μη ανιχνεύσιμη σύνδεση Staudinger μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την προετοιμασία συστοιχιών πρωτεϊνών.

### 4.3 Συμπεράσματα

Στο παρόν κεφάλαιο συζητήθηκε η πρόσφατη βιβλιογραφία, η οποία έχει αναθερμάνει το ενδιαφέρον για την παλαιά αντίδραση Staudinger μέσω της αντίστοιχης σύνδεσης. Η τελευταία με την ποικιλία συνδετών, την εξειδίκευση, την ορθογωνικότητα, την απουσία καταλύτη και την ανοχή σε υδατικές συνθήκες, αποτελεί εξαιρετική μεθοδολογία για σχηματισμό διμερών κυκλοδεξτρινών, η οποία για πρώτη φορά μελετήθηκε στο οικείο εργαστήριο και αποτελεί το αντικείμενο μελέτης του κεφαλαίου 5 της διδακτορικής διατριβής.



---

# **ΜΕΡΟΣ ΙΙ**

## **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

---



---

**Παρασκευή Διμερών β-  
Κυκλοδεξτρίνης με Σύνδεση  
Staudinger**

---



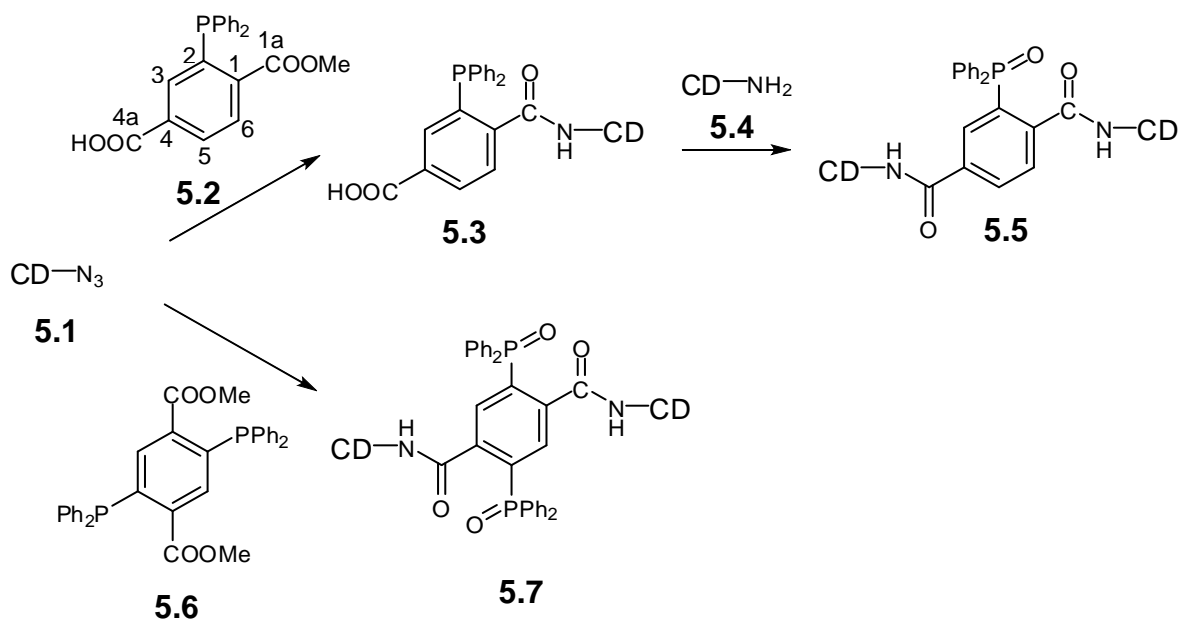
## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5- Παρασκευή Διμερών β-Κυκλοδεξτρίνης με Σύνδεση Staudinger

### 5.1 Εισαγωγή- Σκοπός της Σύνθεσης

Η αντίδραση μεταξύ μιας αζιδομάδας και μιας φωσφίνης προς το σχηματισμό αζα-υλιδίου, είναι γνωστή αντίδραση<sup>51,52</sup> η οποία έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στην οργανική σύνθεση, κυρίως για την μετατροπή αζιδίων σε αμίνες. Όπως αναλύθηκε στο Κεφάλαιο 4, η αντίδραση Staudinger επανεμφανίσθηκε προσφάτως ως σύνδεση Staudinger, δηλαδή ως βιο-ορθογώνιος (bio-orthogonal) μέθοδος, για την επισήμανση βιολογικών δραστικών υποστρωμάτων.

Ένας από τους στόχους της παρούσας διατριβής είναι η ανάπτυξη μεθόδων παρασκευής διμερών κυκλοδεξτρινών κατά το δυνατόν σε υδατικά διαλύματα ή μείγματα νερού/οργανικών διαλυτών. Τα εμφανή πλεονεκτήματα της τροποποιημένης σύνδεσης Staudinger (ligation) όπως περιγράφηκαν στο κεφάλαιο 4 (μεγάλη ταχύτητα, απουσία καταλύτη, άκαμπτος συνδέτης, υδατικό περιβάλλον), συνηγορούν ώστε να δοκιμασθεί ως μέθοδος εύκολης και εκλεκτικής παρασκευής διμερών CDs. Δεδομένου ότι ο συνδέτης **5.2** (Σχήμα 5.1), τον οποίο ανέπτυξε η C. Bertozzi και οι συνεργάτες της, διαθέτει τον κατάλληλο μεθυλεστέρα σε θέση *o*- της φωσφινομάδας, είναι εμφανές ότι κατάλληλο αζιδο-παράγωγο της β-CD (**5.1**), μπορεί να συνδεθεί εύκολα στο καρβονύλιο του μεθυλεστέρα (**5.2**), αφήνοντας το καρβοξύλιο ελεύθερο να αντιδράσει περαιτέρω με αμινο-παράγωγο κυκλοδεξτρίνης και να δώσει διμερές διαμιδο-προϊόν του τύπου **5.5**. Είναι φανερό ότι ο συνδέτης **5.2** επιτρέπει την συναρμογή δύο όμοιων κυκλοδεξτρινών και την δημιουργία ομοδιμερών ή δύο διαφορετικών κυκλοδεξτρινών και τη δημιουργία ετεροδιμερών. Σε κάθε περίπτωση αναμένεται εύκολος σχηματισμός του μονομερούς **5.3**, ακολουθούμενος από αντίδραση σχηματισμού πεπτιδικού δεσμού με ενεργοποίηση του καρβοξυλίου.

Η ανωτέρω μέθοδος, ενώ δίνει κατ'αρχήν τη δυνατότητα δημιουργίας ποικίλων διμερών, εν τούτοις εκμεταλλεύεται τις δυνατότητες της σύνδεσης Staudinger μόνο κατά το ήμισυ. Επομένως, κατέστη σαφές ότι η ανάπτυξη ενός διδραστικού συνδέτη Staudinger (**5.6**) εύκολα θα επέτρεπε διπλή σύνδεση κυκλοδεξτρινών σε ένα βήμα, με μόνο σχετικό μειονέκτημα τη δημιουργία ομοδιμερών (**5.7**).

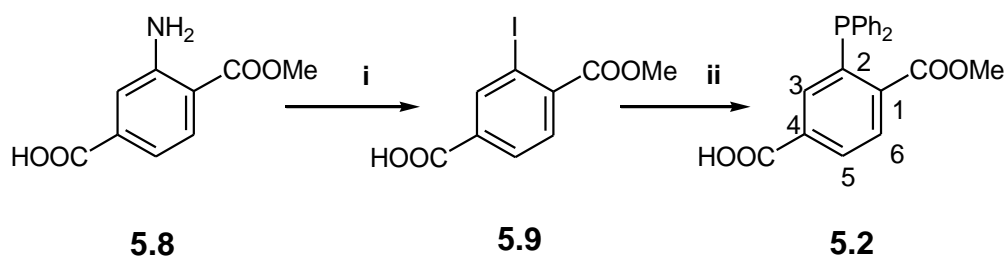


Σχήμα 5.1 Γενικό σχήμα σύνθεσης διμερών μέσω της σύνδεσης Staudinger.

## 5.2 Σύνθεση και Χαρακτηρισμός των Απαραίτητων Συνδετών

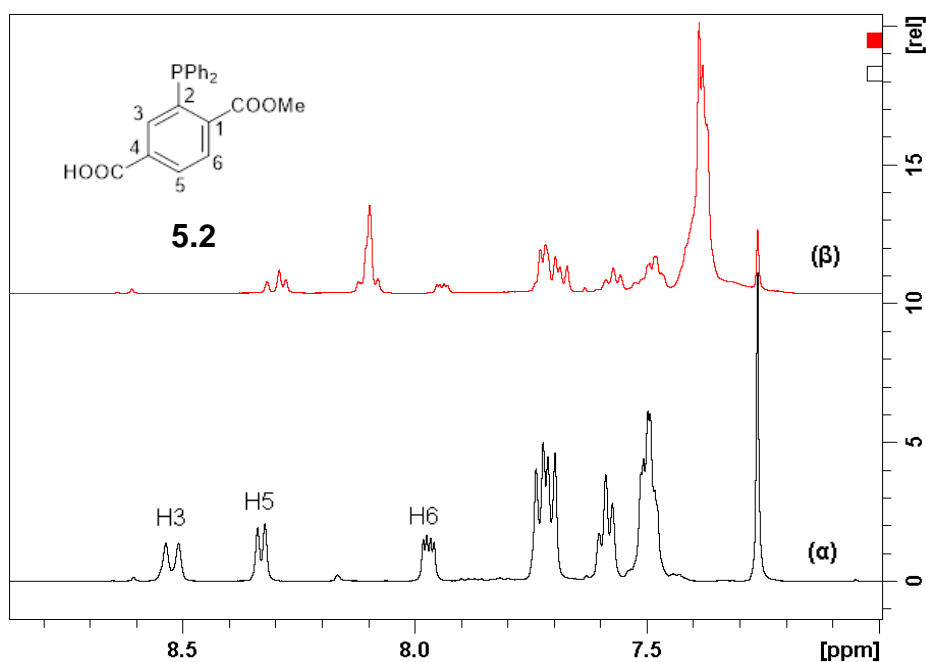
### 5.2.1 Σύνθεση και Χαρακτηρισμός του Μεθυλικού Μονοεστέρα του 2-Διφαινυλοφωσφινότερεφθαλικού Οξέος

Ο μεθυλικός μονοεστέρας του 2-διφαινυλοφωσφινότερεφθαλικού οξέος (**5.2**)<sup>13, 52</sup>, αν και γνωστός συνδέτης, δεν είναι εμπορικά διαθέσιμος. Ο εμπορικά διαθέσιμος μεθυλικός εστέρας του 2-αμινοτερεφθαλικού οξέος (**5.8**) (Σχήμα 5.2), μετατράπηκε στο μεθυλικό εστέρα του 2-ιωδοτερεφθαλικού οξέος (**5.9**) με διαζώτωση της αμίνης σε όξινο περιβάλλον και υποκατάσταση του διαζωτικού ιόντος (-N<sub>2</sub><sup>+</sup>) με ιωδίδιο (I<sup>-</sup>) και εν συνεχεία, με φωσφανυλίωση καταλυόμενη με οξικό παλλάδιο ελήφθη η επιθυμητή ένωση **5.2** (Σχήμα 5.2), με απόδοση 48%.



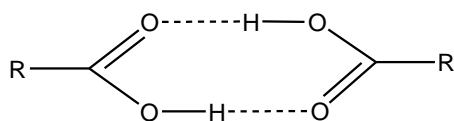
Σχήμα 5.2 Σύνθεση ένωσης 5.2: i) α) HCl, NaNO<sub>2</sub>/ H<sub>2</sub>O, β) KI/ H<sub>2</sub>O, 58%, ii) Ph<sub>2</sub>PH, Pd(OAc)<sub>2</sub>, τριαιθυλαμίνη, MeOH, 48%.

Η ταυτοποίηση του παραγώγου **5.9** πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπία NMR. Στο φάσμα του  $^{13}\text{C}$  NMR παρατηρήθηκε χαρακτηριστική κορυφή στα 93.6 ppm, αποδιδόμενη στον C2 του αρωματικού δακτυλίου της ένωσης **5.9**, ο οποίος έχει ισχυρώς προασπισθεί σε σχέση με τα υπόλοιπα άτομα άνθρακα του μορίου, εξ' αιτίας της σύνδεσης του με το ιώδιο (επίδραση βαρέος ατόμου, heavy atom effect). Η σύνθεση του προϊόντος **5.2** απεδείχθη ιδιαίτερα δύσκολη, καθώς και η διατήρηση του φωσφόρου σε ανηγμένη μορφή (τρισθενής φωσφόρος) που αποτελεί προϋπόθεση για την πραγματοποίηση περαιτέρω αντίδρασης. Ενώ με χρωματογραφία στήλης και ανακρυστάλλωση το επιθυμητό προϊόν παρελήφθη σε χαμηλότερη απόδοση (31%), λόγω οξειδωσης του τρισθενούς φωσφόρου, χωρίς στήλη αλλά μετά από πλύσεις με DMF το καθαρό προϊόν **5.2** παρελήφθη με βελτιωμένη απόδοση (48%). Η παρασκευή του προϊόντος **5.2** επιβεβαιώθηκε με φασματοσκοπία NMR: στο φάσμα  $^1\text{H}$  NMR, παρατηρήθηκε μια διπλή κορυφή στα 8.52 ppm, η οποία αντιστοιχεί στο H3 με χαρακτηριστική σταθερά σύζευξης  $^3J_{\text{H}-\text{P}} = 14$  Hz, μια διπλή κορυφή στα 8.33 ppm, η οποία αντιστοιχεί στο H5 και εμφανίζει ορθο-σύζευξη  $^3J_{\text{H}-\text{H}} = 8$  Hz και τέλος μια διπλή διπλών κορυφή, η οποία αντιστοιχεί στο H6 και εμφανίζει την αντίστοιχη ορθο-σύζευξη  $^3J_{\text{H}-\text{H}} = 8$  Hz και  $^4J_{\text{H}-\text{P}} = 4$  Hz. Το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR μεταβάλλεται με αλλαγή της συγκέντρωσης (Σχήμα 5.3), υποδηλώνοντας διαμοριακές αλληλεπιδράσεις και πιθανό σχηματισμό μικρών συσσωματωμάτων.



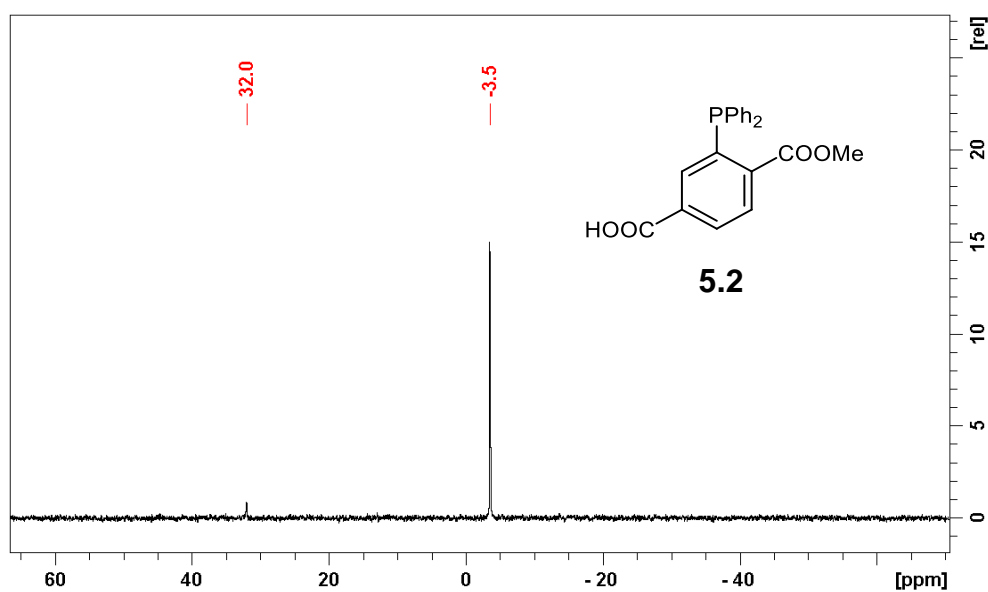
Σχήμα 5.3 Μέρος φάσματος  $^1\text{H}$  NMR του συνδέτη **5.2** σε  $\text{CDCl}_3$ : α) Αραιό διάλυμα, β) Πυκνό διάλυμα.

Το φαινόμενο αυτό μπορεί να οφείλεται σε π-π αλληλεπιδράσεις μεταξύ των φαινυλίων της ένωσης **5.2** αλλά επίσης και σε σχηματισμό καρβοξυλικών διμερών (Σχήμα 5.4), τα οποία προφανώς ευνοούνται σε αυξημένης συγκεντρώσεως διαλύματα.



**Σχήμα 5.4** Σχηματική αναπαράσταση πιθανού καρβοξυλικού διμερούς της ένωσης **5.2** σε διάλυμα.

Επιπλέον, στο φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR του συνδέτη **5.2** παρατηρείται η αναμενόμενη κορυφή για το καρβονύλιο του καρβοξυλίου στα 170.3 ppm, για το καρβονύλιο του εστέρα στα 166.7 ppm και τέλος για την μεθυλομάδα στα 52.7 ppm, σε συμφωνία με τη δομή του **5.2** και τη βιβλιογραφία.<sup>13</sup> Στο Σχήμα 5.5 παρουσιάζεται το φάσμα  $^{31}\text{P}$  NMR της ένωσης **5.2**. Εκτός από την αναμενόμενη κορυφή του προϊόντος στα -3.5 ppm, εμφανίζεται μια μικρή επιπλέον κορυφή στα 32.0 ppm που αντιστοιχεί στο οξειδωμένο προϊόν. Ωστόσο, η ποσότητα του, όπως προκύπτει από ολοκλήρωση των κορυφών, είναι μικρότερη του 6% σε σύγκριση με το επιθυμητό προϊόν, επομένως η καθαρότητα της ένωσης **5.2** (>94%) κρίθηκε επαρκής για περαιτέρω αντίδραση.

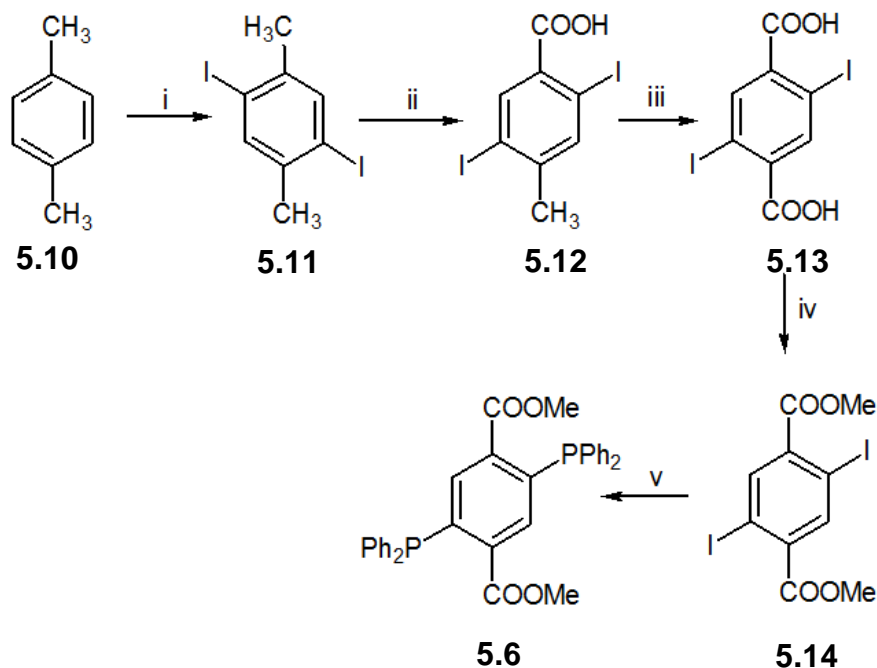


**Σχήμα 5.5** Φάσμα  $^{31}\text{P}$  NMR ( $^1\text{H}$ -αποσυζευγμένο) της ένωσης **5.2** σε  $\text{CDCl}_3$ .



## 5.2.2 Σύνθεση και Χαρακτηρισμός Διμεθυλικού Διεστέρα του 2,5-Διφαινυλοφωσφινότερεφθαλικού Οξέος

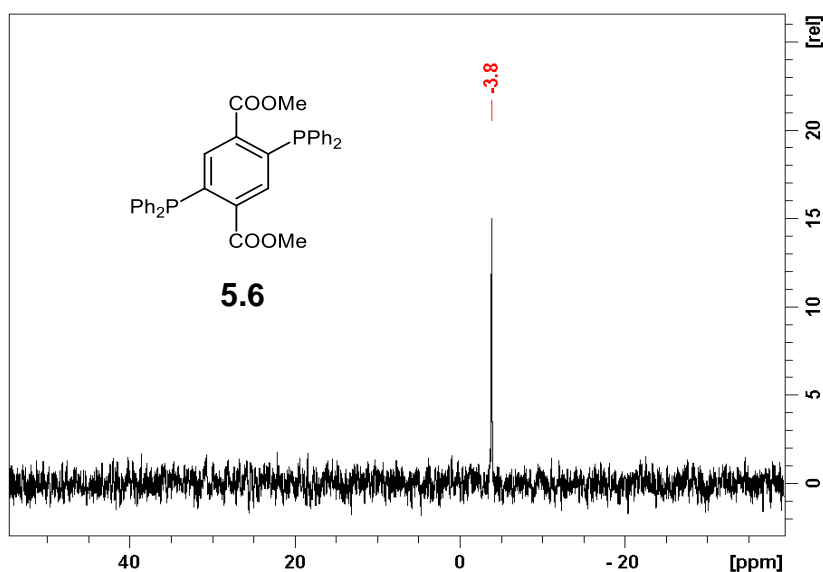
Για την ανάπτυξη του συνδέτη **5.6**, χρησιμοποιήθηκε το εμπορικώς διαθέσιμο *p*-ξυλόλιο (**5.10**) και στη συνέχεια παρασκευάστηκαν οι ενώσεις **5.11**<sup>64</sup>, **5.12**, **5.13**<sup>65</sup> και **5.14**<sup>66</sup> (Σχήμα 5.6).



Σχήμα 5.6 Σύνθεση του διδραστικού συνδέτη **5.6**. **i**)  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{CCl}_4$ ,  $\text{I}_2$ ,  $\text{IO}_3$ ,  $85^\circ\text{C}$ , 4h, αποκλεισμός φωτός, 70%, **ii**)  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{KMnO}_4$ , θέρμανση με επαναροή, 24h, αποκλεισμός φωτός, 55%, **iii**)  $\text{KOH}$  (10% w/v),  $\text{KMnO}_4$ , θέρμανση με επαναροή, 4h, αποκλεισμός φωτός, 32%, **iv**)  $\text{MeOH}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , θέρμανση με επαναροή, 5h, 98%, **v**) ξηρό THF, ξηρό DMF,  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{Pd}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ,  $\text{HPPH}_2$ ,  $70^\circ\text{C}$ , 12h, 100%.

Αρχικά πραγματοποιήθηκε η ιωδίσωση του *p*-ξυλολίου (**5.10**), η οποία επιβεβαιώθηκε αφ' ενός από το φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR, όπου εμφανίστηκε μία χαρακτηριστική κορυφή για τους υποκατεστημένους με ιώδιο C1 και C4 στα 100.6 ppm, αφ' ετέρου από το σημείο τήξεως το οποίο είναι ταυτόσημο με αυτό της βιβλιογραφίας.<sup>64</sup> Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε μερική οξείδωση των μεθυλίων της ένωσης **5.11** προς το μονοκαρβοξυλικό οξύ **5.12**, με βρασμό παρουσία  $\text{KMnO}_4$  σε μείγμα πυριδίνης και  $\text{H}_2\text{O}$  (5/1, v/v). Σε καμία από τις επαναλήψεις της αντίδρασης δεν παρατηρήθηκε ταυτόχρονη οξείδωση των δύο καρβοξυλομάδων. Το προϊόν **5.12** παρελήφθη ως στερεό και ταυτοποιήθηκε με λήψη σημείου τήξεως. Από το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του προϊόντος **5.12** σε  $\text{CDCl}_3$  πιστοποιήθηκε η ύπαρξη μιας καρβοξυλικής ομάδας στα 13.45 ppm, η οποία εμφανίστηκε ως ευρεία κορυφή και μιας μεθυλομάδας στα 2.34 ppm, η οποία

εμφανίσθηκε ως οξεία απλή κορυφή. Επίσης στο φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR εμφανίσθηκε η χαρακτηριστική κορυφή του καρβοξυλίου στα 166.7 ppm και μια κορυφή στα 27.1 ppm, η οποία αντιστοιχεί στη μη οξειδωμένη μεθυλομάδα. Ακολούθησε οξείδωση και της δεύτερης μεθυλομάδας της ένωσης **5.12** προς καρβοξυλομάδα με βρασμό παρουσία  $\text{KMnO}_4$  σε διάλυμα  $\text{KOH}$  (10% v/v). Η ταυτοποίηση του προϊόντος **5.13** πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπία  $^1\text{H}$  NMR, όπου παρατηρήθηκε η εξαφάνιση της κορυφής του μεθυλίου στα 2.34 ppm. Επίσης, στο φάσμα του  $^{13}\text{C}$  NMR εμφανίσθηκε μία μόνο κορυφή στα 166.8 ppm, η οποία αντιστοιχεί στις δύο καρβοξυλομάδες, ενώ απουσίαζε η κορυφή της μεθυλομάδας στα 27.1 ppm. Ωστόσο, το σημείο τήξης της ένωσης **5.13** ήταν 351.7 - 352.1 °C (με αποσύνθεση), θερμοκρασία που διαφέρει σημαντικά από το βιβλιογραφικό σημείο τήξης (140 - 144 °C), ίσως λόγω διαφορετικού τρόπου κρυστάλλωσης. Τα φάσματα NMR της ένωσης **5.13** εμφάνισαν όλες τις αναμενόμενες κορυφές, ενώ το παράγωγό της, η ένωση **5.14**, η οποία δεν είναι βιβλιογραφικά γνωστή, ταυτοποιήθηκε πλήρως με στοιχειακή ανάλυση και φασματοσκοπία NMR. Συγκεκριμένα, εστεροποίηση των καρβοξυλομάδων της ένωσης **5.13** σε διάλυμα  $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{SO}_4$ , έδωσε τον διεστέρα **5.14**, στο φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR του οποίου δεν υπήρχε πλέον η κορυφή των καρβοξυλίων στα 166.8 ppm, ενώ είχε εμφανισθεί μια νέα κορυφή στα 166.1 ppm ( $-\text{COOMe}$ ), συνοδευόμενη από κορυφή στα 53.2 ppm, η οποία αντιστοιχεί στη μεθοξυομάδα ( $-\text{COOMe}$ ). Τέλος, πραγματοποιήθηκε φωσφαναλίωση καταλυόμενη με οξικό παλλάδιο σε ξηρό THF, η οποία έδωσε τελικώς την επιθυμητή ένωση **5.6**. Η ταυτοποίηση του τελικού προϊόντος πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπία NMR, σε ξηρό  $\text{CDCl}_3$  [(επεξεργασμένο με ουδέτερη αλουμίνα (Alumina-neutral))] (Σχήμα 5.7), για την κατά το δυνατό αποφυγή οξείδωσης.

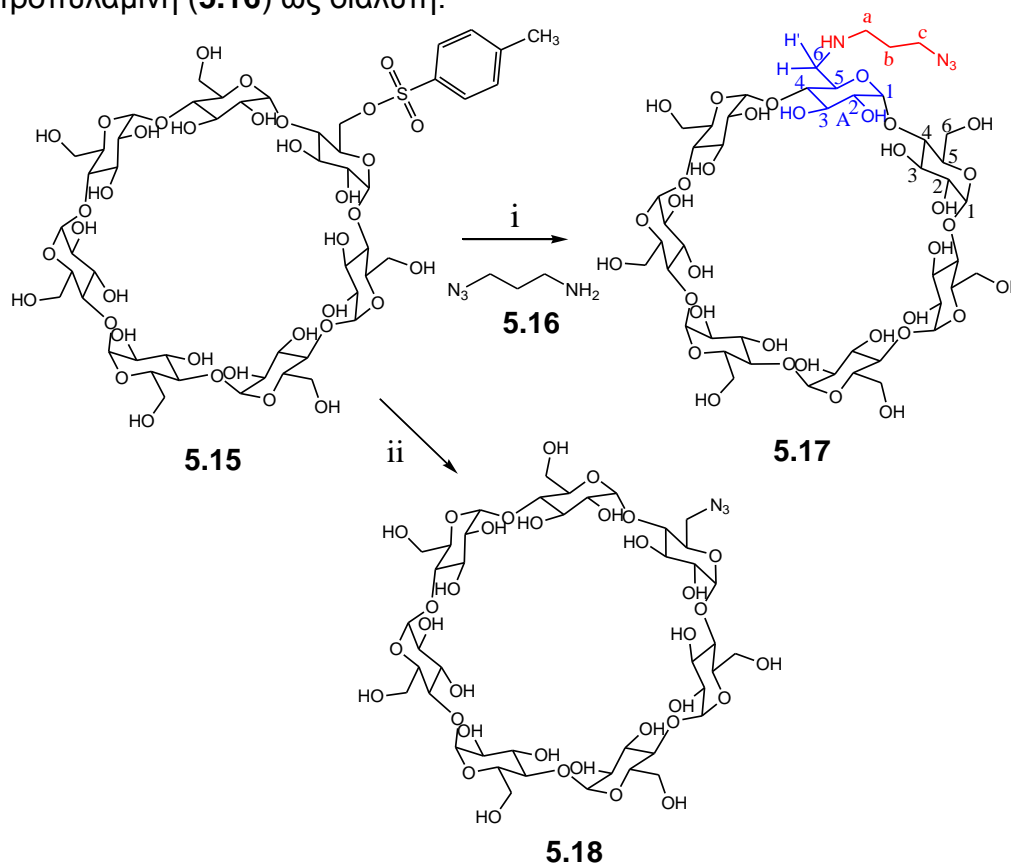


Σχήμα 5.7 Φάσμα  $^{31}\text{P}$  NMR του διδραστικού συνδέτη **5.6** σε  $\text{CDCl}_3$ .

Από το φάσμα  $^{31}\text{P}$  NMR της ένωσης **5.6** (Σχήμα 5.7), βλέπουμε ότι η ένωση είναι ιδιαίτερα καθαρή και ο φωσφόρος βρίσκεται σε ανηγμένη μορφή (-3.8 ppm). Επιβεβαίωση του μοριακού βάρους του προϊόντος **5.6** πραγματοποιήθηκε με φασματομετρία μάζας (ESI-MS), όπου το μοριακό ιόν  $[\text{M}+\text{H}]^+$  ευρέθη 563.3, ενώ θεωρητικώς υπολογίζεται 563.15. Ο τελικός συνδέτης **5.6** είναι ιδιαίτερα ευοξειδωτος, κατ' αντιστοιχία με τον συνδέτη **5.2** (Σχήμα 5.2). Ακόμα και ολιγόλεπτη παραμονή του **5.6** σε ξηρό  $\text{CDCl}_3$ , είναι αρκετή ώστε να προκαλέσει οξείδωση, οπότε το στερεό προϊόν είτε χρησιμοποιείται αμέσως, είτε φυλάσσεται στους  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ .

### 5.3 Σύνθεση και Χαρακτηρισμός των Αζιδο-κυκλοδεξτρινών

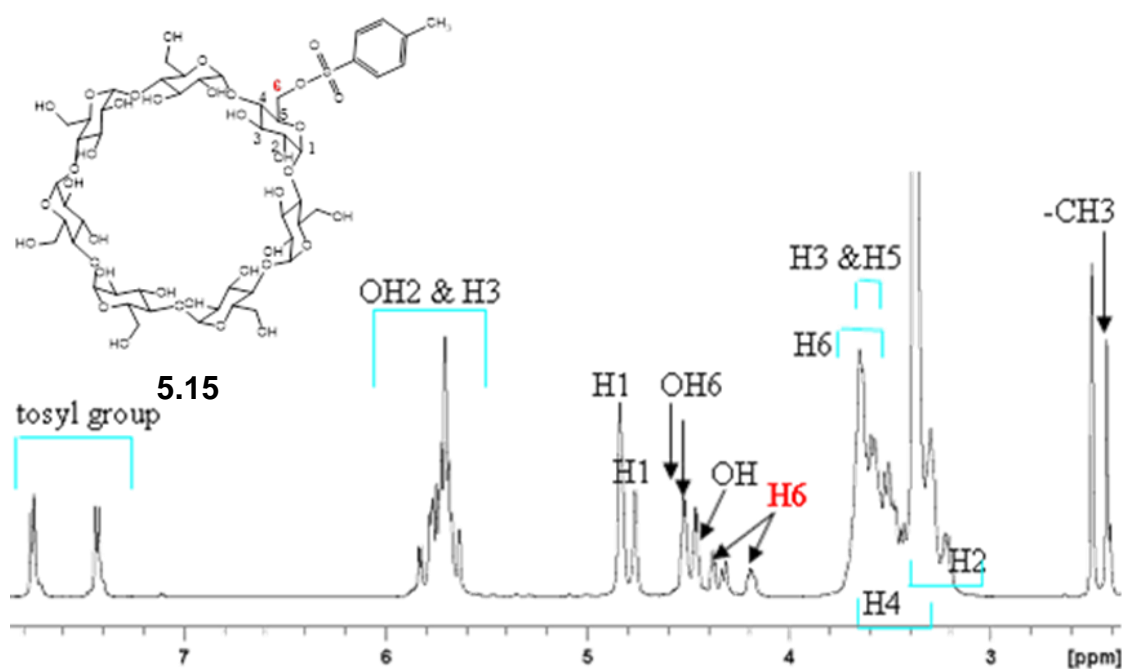
Το αζιδο-παράγωγο της κυκλοδεξτρίνης **5.17** παρασκευάστηκε (Σχήμα 5.8), με υποκατάσταση της μονο(6-*p*-τολουϋλοσουλφονυλο)- $\beta$ CD (**5.15**) με την 3-αζιδοπροπυλαμίνη (**5.16**) ως διαλύτη.



Σχήμα 5.8 Παρασκευή μονοαζιδο-CDs: (i) 3-αζιδοπροπυλαμίνη (**5.16**),  $80\text{ }^\circ\text{C}$ , 14h, ατμόσφαιρα αργού, 85%, (ii) DMF,  $\text{NaN}_3$ .

Η μονο(6-*p*-τολουϋλοσουλφονυλο)- $\beta$ CD (**5.15**) αποτελεί ένα από τα πιο χρήσιμα ενδιάμεσα για την παρασκευή μονοϋποκατεστημένων παραγώγων από τη φυσική  $\beta$ CD.

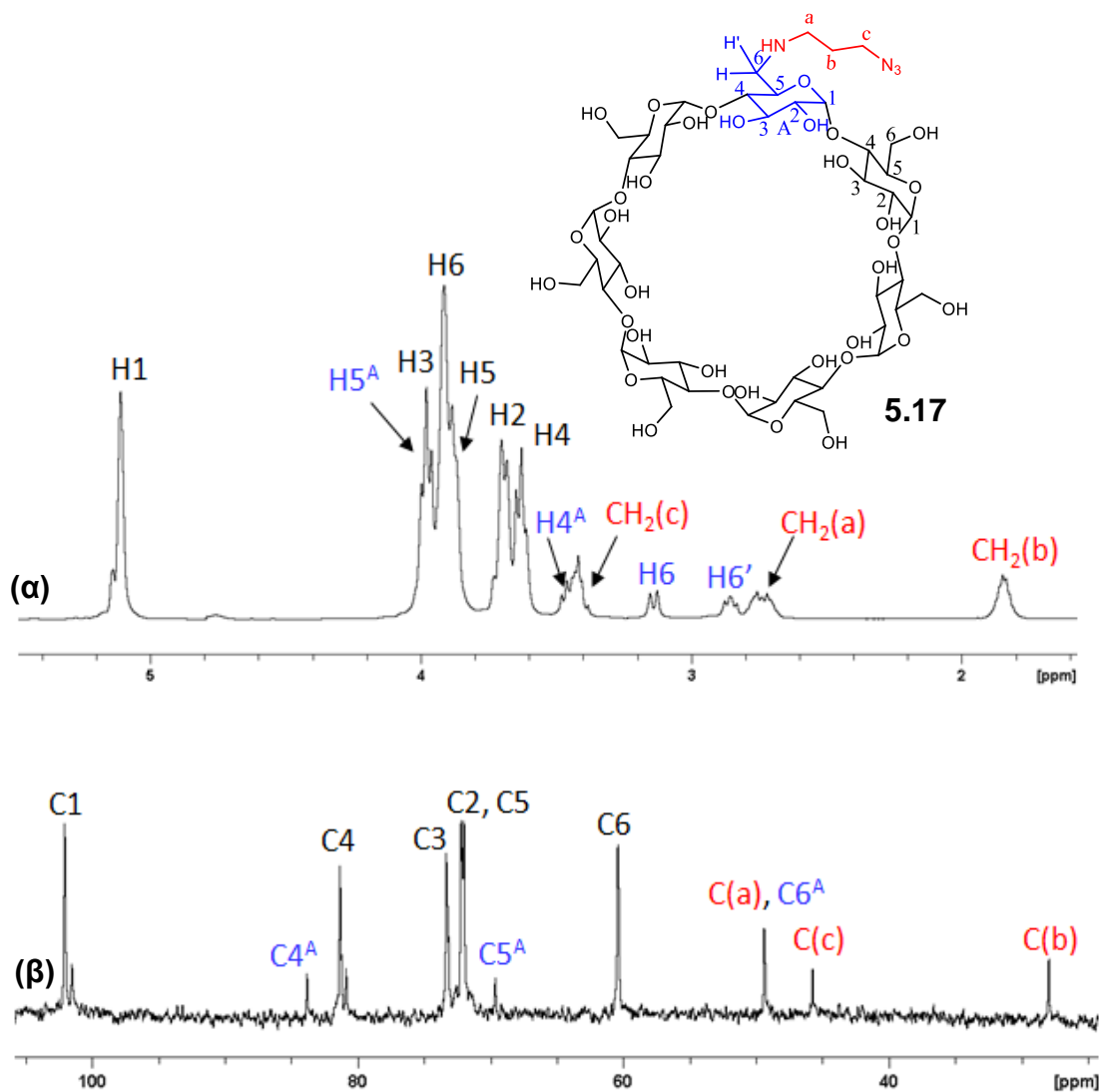
Για τη σύνθεσή της ακολουθήθηκε γνωστή πειραματική διαδικασία,<sup>17</sup> η οποία περιγράφεται αναλυτικά στο πειραματικό μέρος. Σε περίπτωση που το μείγμα της αντίδρασης κατά την κατεργασία έχει pH μικρότερο του 1.5, τότε παρατηρείται συγκαταβύθιση της βCD που δεν αντέδρασε καθώς και *p*-τολουϋλοσουλφονικού οξέος, οπότε απαιτείται διαχωρισμός με διαδοχικές κρυσταλλώσεις. Τέλος, απαραίτητη είναι η πλήρης απομάκρυνση της υγρασίας και η αποθήκευση του προϊόντος στην κατάψυξη, καθώς πραγματοποιείται σταδιακή υδρόλυση. Η ένωση **5.15** ταυτοποιήθηκε με φασματοσκοπία NMR. Στο Σχήμα 5.9 παρουσιάζεται το φάσμα <sup>1</sup>H NMR της ένωσης **5.15** σε DMSO-*d*<sub>6</sub>. Επίσης, προς αποφυγή της σταδιακής υδρόλυσης της ένωσης **5.15** συντέθηκε η μονο(6-ιωδο-6-δεοξυ)-β-CD (**bml**), η οποία είναι πολύ πιο σταθερή από την **5.15**, ωστόσο δεν έδωσε τις επιθυμητές αντιδράσεις.



Σχήμα 5.9 Φάσμα <sup>1</sup>H NMR της ένωσης **5.15** σε DMSO-*d*<sub>6</sub>.

Το αζιδο-προϊόν **5.17** (Σχήμα 5.8) καθαρίστηκε με ανιονανταλλακτική ρητίνη (Amberlite, IRA 400) σε νερό, για την απομάκρυνση του *p*-τολουϋλοσουλφονικού οξέος και κατιονανταλλακτική ρητίνη (Amberlite, IRA-120) σε νερό για την απομάκρυνση της περίσσειας της 3-αζιδοπυροπυλαμίνης. Και στις δύο περιπτώσεις το pH του διαλύματος πρέπει να είναι ελαφρώς αλκαλικό (~9). Τέλος, το προϊόν τοποθετήθηκε σε μεμβράνη διαπίδυσης, για τουλάχιστον τρεις ώρες, έτσι ώστε να απομακρυνθούν τα άλατα που σχηματίστηκαν μετά τον καθαρισμό με τις ρητίνες. Το προϊόν **5.17** παραλήφθηκε ως λευκό στερεό και σε πολύ ικανοποιητική απόδοση (85%). Για την ταυτοποίηση του χρησιμοποιήθηκε φασματοσκοπία NMR (Σχήμα 5.10), φασματομετρία μάζας (MALDI-

TOF) και IR. Στο φάσμα IR του παραγώγου **5.17**, χαρακτηριστική είναι η κορυφή στα  $2104\text{ cm}^{-1}$  η οποία αντιστοιχεί στην ασύμμετρη δόνηση τάσης της ομάδας  $-\text{N}_3$ . Το παράγωγο **5.17** αποτελεί νέα μονο-υποκατεστημένη κυκλοδεξτρίνη. Ακόμα, η ευκολία της σύνθεσης της, και κυρίως ο εύκολος καθαρισμός της, την καθιστούν πολύ ελκυστική για την πραγματοποίηση αντιδράσεων κυκλοπροσθήκης [3+2], ή σύνδεσης Staudinger.



Σχήμα 5.10 α) Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR και β) Φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz) του προϊόντος **5.17** σε  $\text{D}_2\text{O}$ .

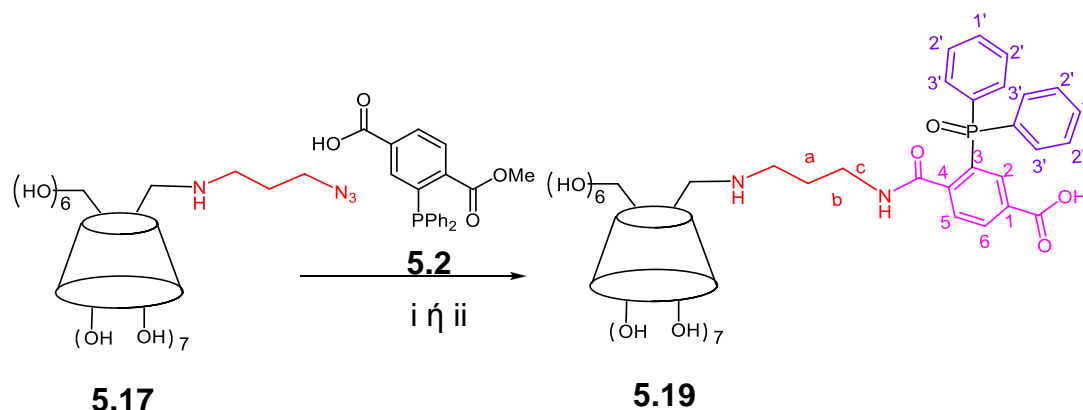
Για να συγκριθεί η δραστηριότητα της αζιδο-CD **5.17**, παρασκευάστηκε επίσης το απλούστερο αζιδο-παράγωγο μονο(6-αζιδο-6-δεοξυ)-β-κυκλοδεξτρίνη (**5.18**), βάσει βιβλιογραφίας,<sup>67</sup> από τη μονο(6-*p*-τολουόλοσουλφονυλο)-β-κυκλοδεξτρίνη (**5.15**).

Το παράγωγο **5.18** παρελήφθη ως λευκό στερεό μετά από καθαρισμό με ανιονανταλλακτική ρητίνη, με απόδοση 88% και ταυτοποιήθηκε πλήρως μέσω φασματοσκοπίας  $^1\text{H}$  και  $^{13}\text{C}$  NMR.

## 5.4 Μονομερές $\beta$ -Κυκλοδεξτρίνης μέσω της Σύνδεσης Staudinger

### 5.4.1 Σύνθεση, Χαρακτηρισμός και Διαμορφώσεις στο Διάλυμα

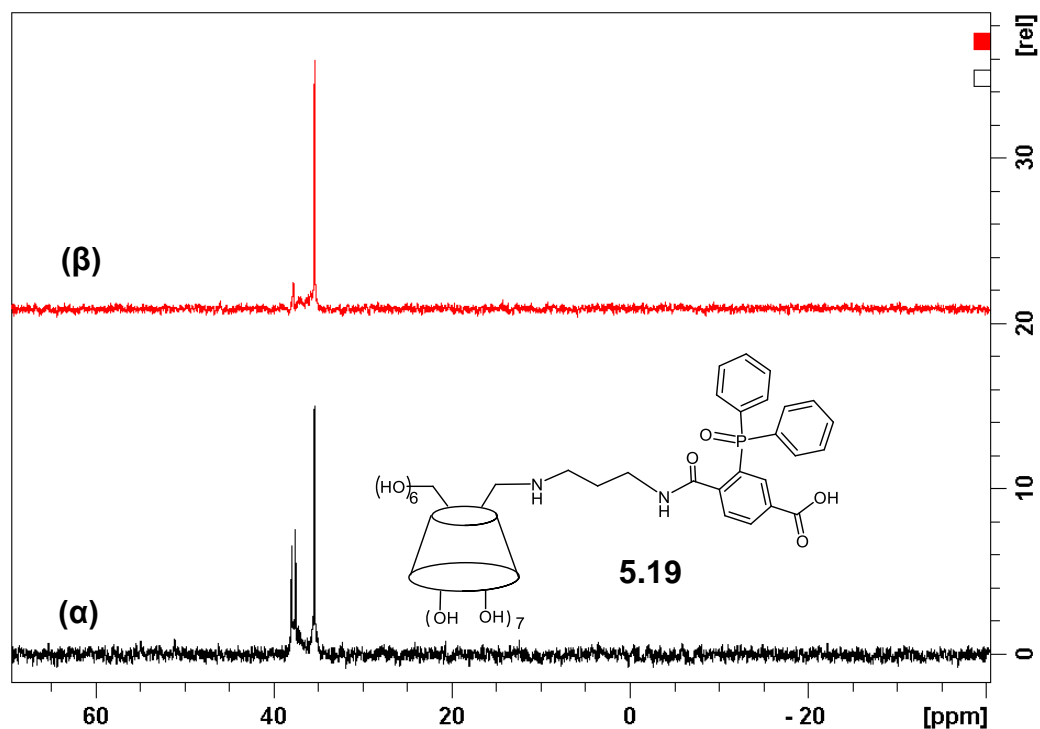
Η αντίδραση παρασκευής του μονομερούς **5.19** (Σχήμα 5.11)<sup>68</sup> πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας ως διαλύτη είτε μίγμα  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  (2:1, v/v) είτε μίγμα  $\text{DMF}:\text{H}_2\text{O}$  (15:1, v/v).<sup>69</sup>



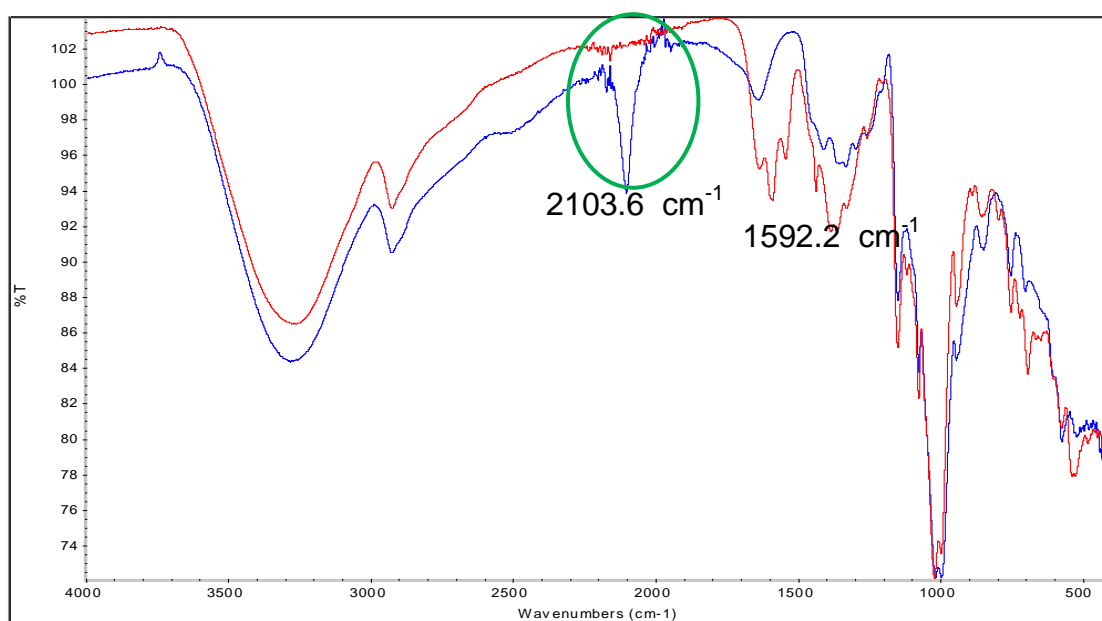
**Σχήμα 5.11** Σύνδεση της αζιδο-κυκλοδεξτρίνης **5.17** με το μεθυλο 2-διφαινυλοφωσφινότερεφθαλικό οξύ (**5.2**): i)  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  (2:1), 40 °C, 12 h, 48% ή ii)  $\text{DMF}:\text{H}_2\text{O}$  (15:1), 40 °C, 12 h, 95%.

Από την αντίδραση σε  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ , παρελήφθη πολύπλοκο μίγμα ενώ η απόδοση του προϊόντος ήταν μόλις 48%. Αντιθέτως, σε DMF η απόδοση της αντίδρασης ήταν πολύ μεγαλύτερη (95%) και η καθαρότητα του προϊόντος υψηλή. Αυτό έγινε εύκολα αντιληπτό από τα φάσματα  $^{31}\text{P}$  NMR των μιγμάτων αντίδρασης με διαλύτη  $\text{CH}_3\text{CN}$  (Σχήμα 5.12α) και διαλύτη DMF (Σχήμα 5.12β), μετά από εκχυλίσεις με  $\text{CHCl}_3$ . Η χρήση του  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  (2:1) ως διαλύτη αντίδρασης, δημιουργούσε προβλήματα διαλυτότητας καθώς το αζιδο-παράγωγο **5.17** δεν ήταν διαλυτό σε  $\text{CH}_3\text{CN}$ . Ακόμα, εξαιτίας της παρουσίας παραπροϊόντων (τρεις κορυφές στο φάσμα  $^{31}\text{P}$  NMR), φαίνεται ότι το  $\text{CH}_3\text{CN}$  πιθανώς αντέδρασε με το συνδέτη **5.2**, καθιστώντας τον ανενεργό. Για τον πλήρη καθαρισμό της ένωσης **5.19** πραγματοποιήθηκαν αρχικά εκχυλίσεις με  $\text{CHCl}_3$  σε όξινο pH για την απομάκρυνση του συνδέτη που οξειδώθηκε πριν αντιδράσει με την κυκλοδεξτρίνη **5.17** και στη συνέχεια εκχύλιση στερεάς φάσης (solid phase extraction,

SPE) με πληρωτικό υλικό όξινη αλουμίνα. Ως διαλύτης έκλουσης χρησιμοποιήθηκε νερό με pH 7 (το pH ρυθμίστηκε με διάλυμα HCl 1M). Το pH του μίγματος πριν την εισαγωγή του στην στήλη ήταν επίσης 7. Το τελικό προϊόν δεν περιείχε καθόλου αρχική κυκλοδεξτρίνη (**5.17**), γεγονός που αποδείχθηκε μέσω του φάσματος IR του προϊόντος **5.19**, όπου απουσίαζε η χαρακτηριστική αζιδομάδα της πρώτης ύλης στα  $2103.6\text{ cm}^{-1}$  (Σχήμα 5.13).

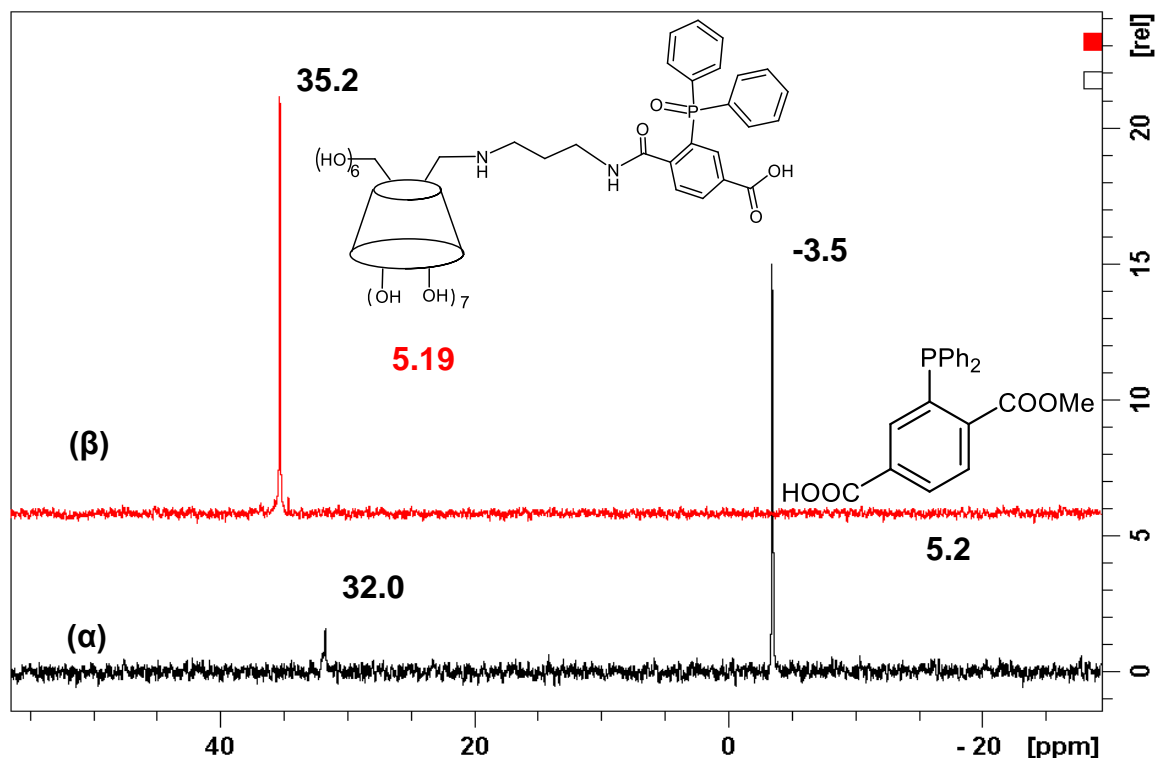


Σχήμα 5.12 Φάσμα  $^{31}\text{P}$  NMR του προϊόντος **5.19** από αντίδραση με διαλύτες (α)  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  (2:1), (β)  $\text{DMF}:\text{H}_2\text{O}$  (15:1).



Σχήμα 5.13: Φάσματα IR των ενώσεων **5.17** (μπλε) και **5.19** (κόκκινο).

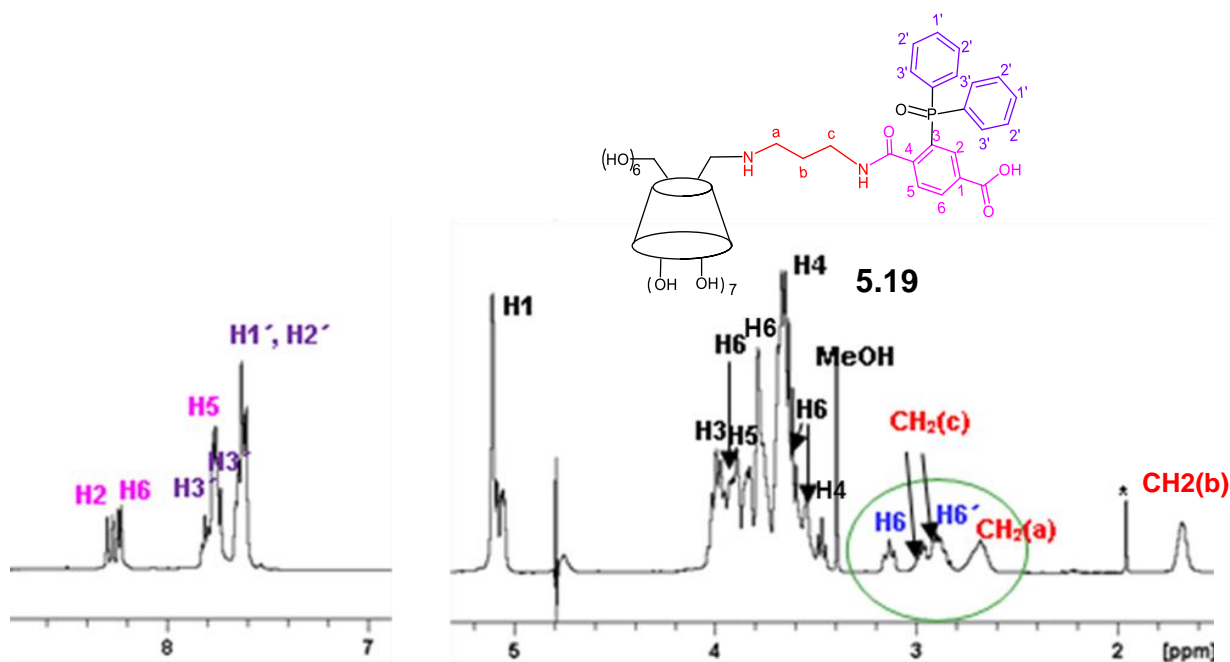
Ακόμα, στην περιοχή των  $1590\text{ cm}^{-1}$  εμφανίσθηκε κορυφή ενδεικτική της παρουσίας αμιδίου (αλληλεπικαλύπτονται η δόνηση τάσης του C=O και η δόνηση κάμψης του N-H). Επίσης, το φάσμα  $^{31}\text{P}$  NMR του προϊόντος **5.19** εμφάνισε μια και μοναδική κορυφή στα  $35.2\text{ ppm}$  (Σχήμα 5.14).



Σχήμα 5.14 Φάσμα  $^{31}\text{P}$  NMR του προϊόντος (α) **5.19** σε  $\text{CDCl}_3$ , (β) **5.2** σε  $\text{D}_2\text{O}$ .

Ο πλήρης χαρακτηρισμός της ένωσης **5.19** πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπία NMR (Σχήματα 5.14, 5.15, 5.16 & 5.17), φασματομετρία μάζας MS (MALDI-TOF) (Σχήμα 5.18) και IR. Στο φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης **5.19** (Σχήμα 5.15), εμφανίσθηκαν δύο χαρακτηριστικές κορυφές, οι οποίες αντιστοιχούν στο διδραστικό συνδέτη: μία διπλή κορυφή στα  $8.27\text{ ppm}$  με  $J = 14\text{ Hz}$  η οποία αντιστοιχεί στο **H2** και μια διπλή κορυφή στα  $8.23\text{ ppm}$  με  $J = 8\text{ Hz}$ , η οποία αντιστοιχεί στο **H6**.

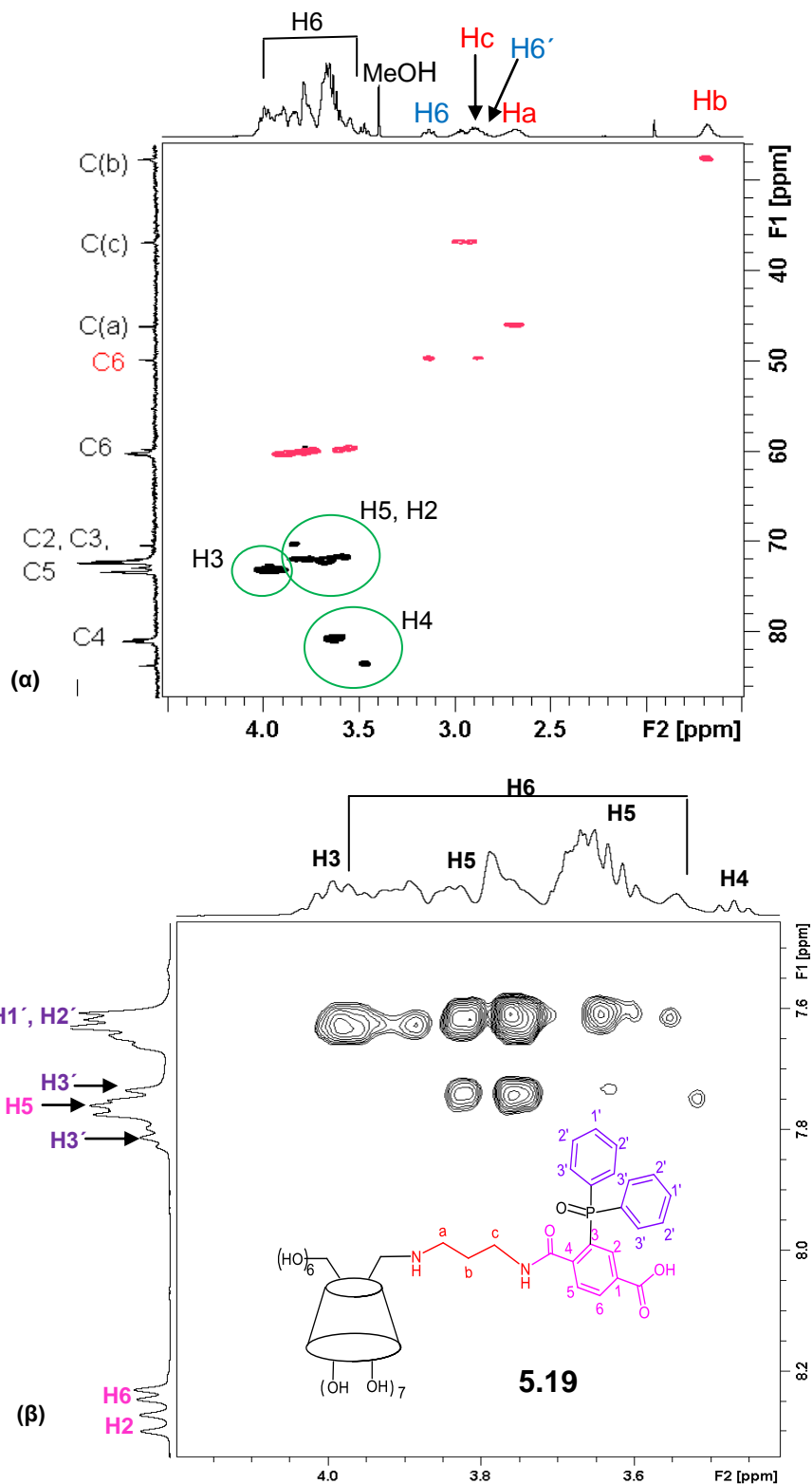




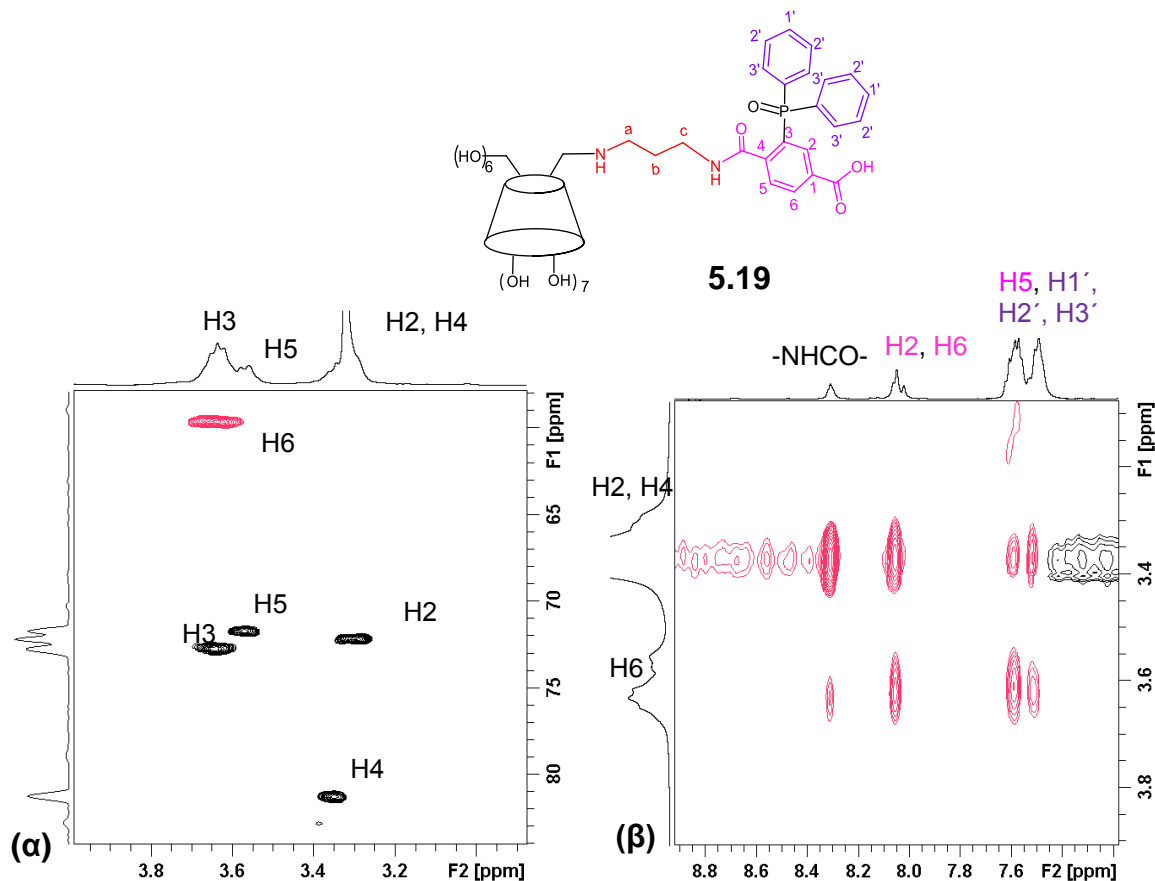
Σχήμα 5.15 Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του προϊόντος 5.19 σε  $\text{D}_2\text{O}$ .

Το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR σε  $\text{D}_2\text{O}$  (500 MHz) εμφάνισε μεγάλη διασπορά κορυφών στην τυπική υδατανθρακική περιοχή 3-4 ppm, οι οποίες όμως αποδόθηκαν μετά από λεπτομερή ανάλυση φασμάτων 2D NMR (Σχήμα 5.16). Επί πλέον, η εμφάνιση πολλών κορυφών στην περιοχή του ανωμερικού H1, επιβεβαίωσε την μονο-υποκατάσταση και την άρση της συμμετρίας του μακροκυκλίου. Το φάσμα ROESY της ένωσης σε  $\text{D}_2\text{O}$  έδειξε τη δημιουργία συμπλόκου μεταξύ της κοιλότητας της κυκλοδεξτρίνης και των φαινυλίων που βρίσκονται στον συνδέτη (Σχήμα 5.16β), το οποίο είναι πολύ πιθανό να δημιουργείται τόσο διαμοριακά όσο και ενδομοριακά, σε υδατικό περιβάλλον. Ο τερεφθαλικός δακτύλιος δεν συμμετείχε στη δημιουργία συμπλόκου εγκλεισμού. Η εικόνα αυτή αντιστοιχεί σε μόριο όπου μέρος του συνδέτη έχει περιστραφεί και πλησιάζει τη στενή πλευρά της βCD ενώ οι ομάδες Ph έχουν εισαχθεί στο εσωτερικό, ώστε να ελαχιστοποιηθεί η έκθεση στο υδατικό μέσο. Εκ παραλλήλου, διαμοριακός εγκλεισμός επίσης είναι εφικτός για τους ίδιους λόγους, ο οποίος πιστοποιείται από την παρατήρηση κορυφών διασταύρωσης Ph με CD-H3 στην ευρεία πλευρά, το οποίο είναι δυνατό μόνο από διαμοριακή προσέγγιση. Επί πλέον, η εξάρτηση των χημικών μετατοπίσεων από την συγκέντρωση επιβεβαιώνει τις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις. Στα φάσματα της 5.19 σε  $\text{DMSO}-d_6$  και συγκεκριμένα στο φάσμα 2D NOESY, εμφανίσθηκαν κορυφές διασταύρωσης που οφείλονται σε διπολικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πρωτονίων των -Ph αφ' ενός και των H2, H4 και H6 της κυκλοδεξτρίνης,

ενώ επίσης, δεν παρατηρήθηκαν κορυφές διασταύρωσης μεταξύ των H του τереφθαλικού δακτυλίου και των εσωτερικών πρωτονίων της βCD (H3 και H5). Τα ανωτέρω δείχνουν ότι ακόμα και στο DMSO-*d*<sub>6</sub> υπάρχει αναδίπλωση του συνδέτη, με αποτέλεσμα την προσέγγιση των -Ph στην πρωτοταγή πλευρά της κυκλοδεξτρίνης (Σχήμα 5.17), παρ' όλο που δεν παρατηρείται εγκλωβισμός.

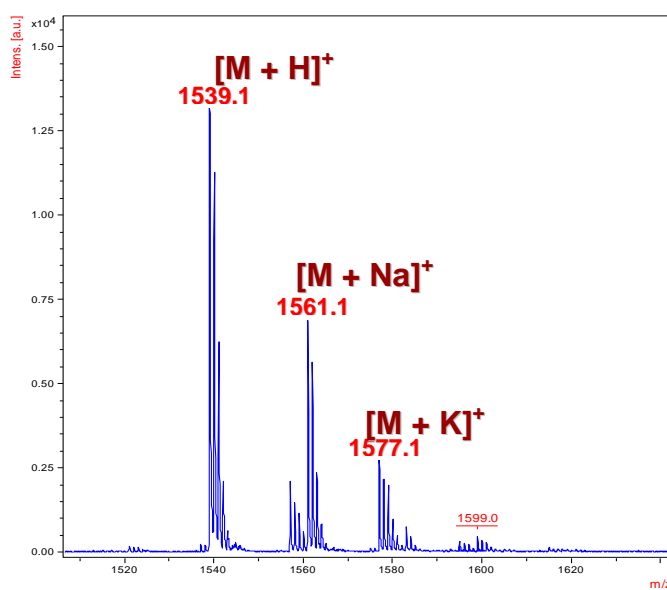


Σχήμα 5.16 Μέρος φάσματος της ένωσης 5.19 σε D<sub>2</sub>O (α) HSQC-edited, (β) 2D ROESY.



Σχήμα 5.17 Μέρος φάσματος της ένωσης 5.19 σε  $\text{DMSO-}d_6$  (α) HSQC-edited, (β) 2D NOESY.

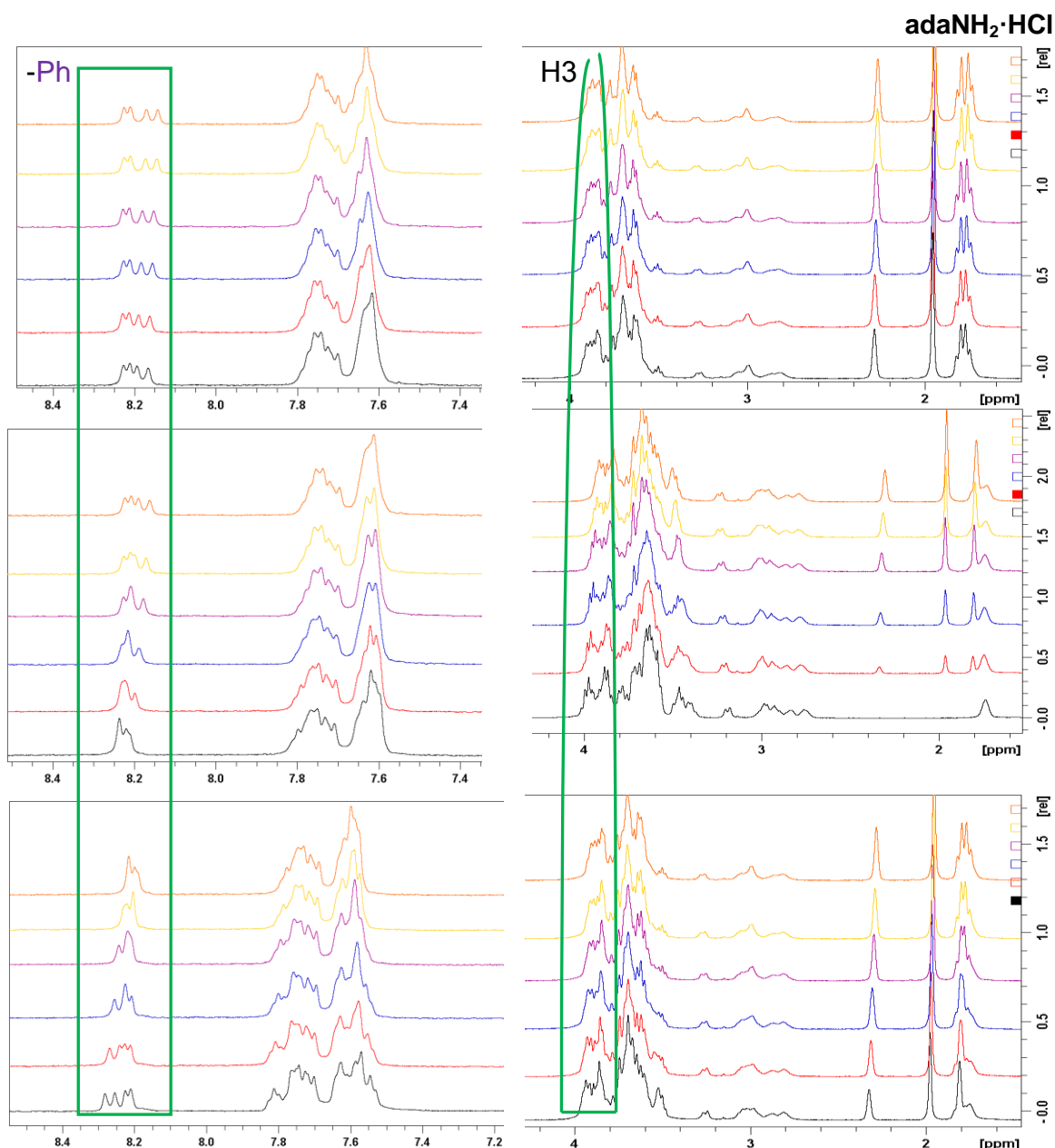
Το φάσμα MALDI-TOF MS, έδειξε καθαρά το θετικώς φορτισμένο μοριακό ιόν (Σχήμα 5.18) του 5.19.



Σχήμα 5.18 α) Φάσμα MS (MALDI-TOF) του προϊόντος 5.19.

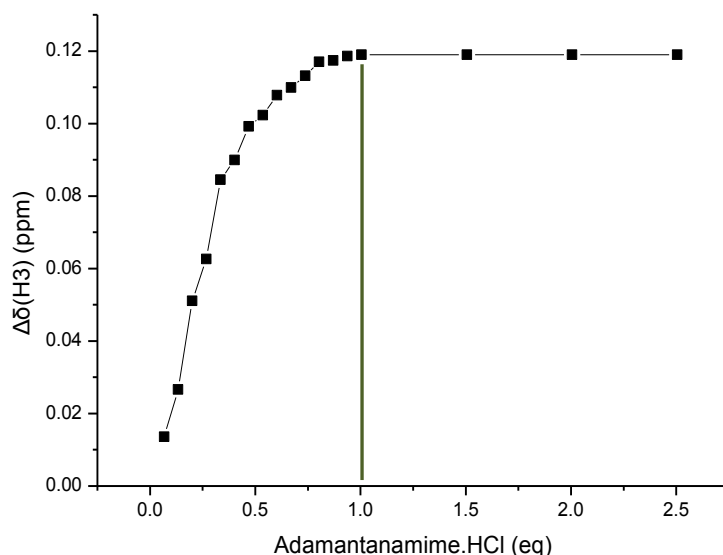
### 5.4.2 Σχηματισμός Συμπλόκων Εγκλεισμού

Η τάση αυτοεγκλωβισμού του **5.19**, ενέχει τον κίνδυνο μη περαιτέρω αντίδρασης, οπότε έγιναν πειράματα τιτλοδότησης με σταδιακή προσθήκη υδροχλωρικής αδαμανταμίνης (**adaNH<sub>2</sub>·HCl**), για να διευκρινιστεί η ικανότητα δημιουργίας συμπλόκων του παραγώγου **5.19**. Στο Σχήμα 5.19, όπου παρατίθενται τα φάσματα <sup>1</sup>H NMR κατά την τιτλοδότηση, παρατηρείται σταδιακή αλλά ισχυρή προάσπιση των H3 της κοιλότητας, κατά 0.119 ppm, ενώ ταυτόχρονα μετακινούνται και οι αρωματικές κορυφές, υποδηλώνοντας πιθανώς περιστροφή του συνδέτη, προφανώς προς τα έξω, σε σχέση με την κοιλότητα της βCD.



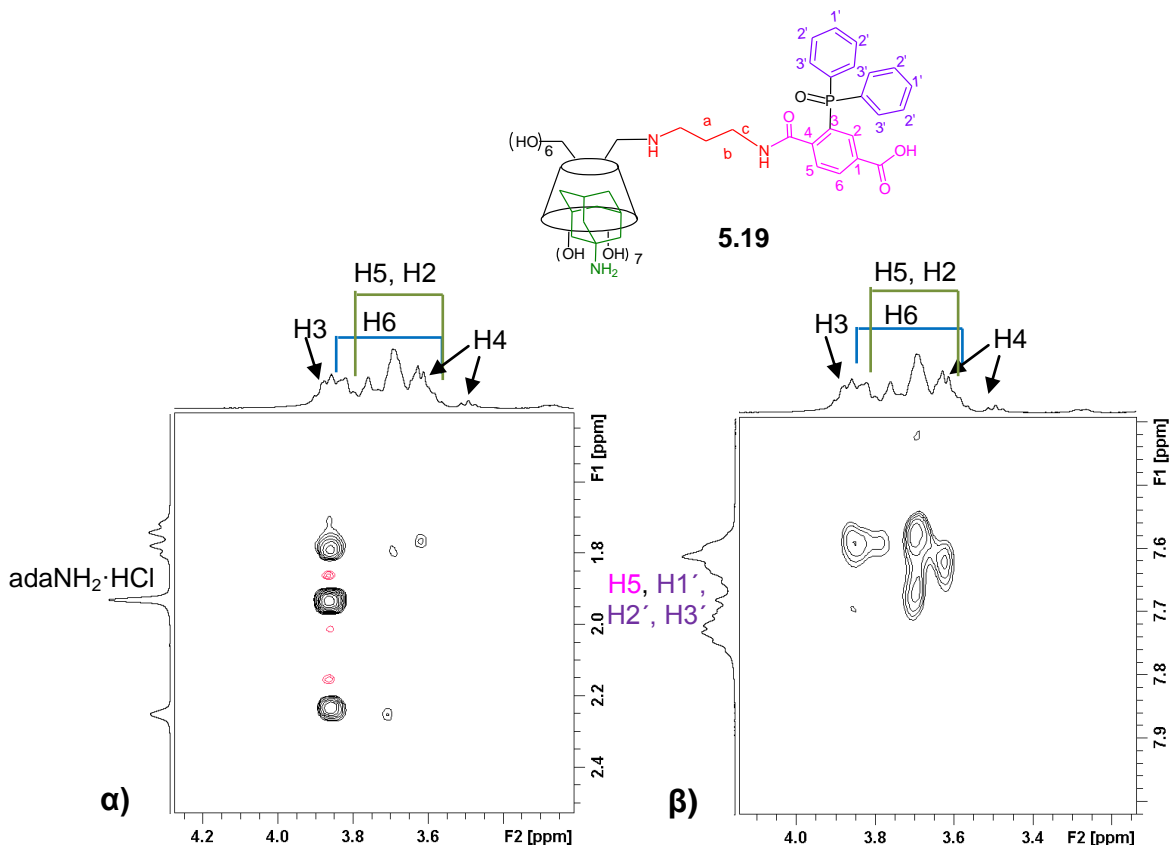
Σχήμα 5.19 Τιτλοδότηση διαλύματος του παραγώγου **5.19** (1 mM) με **adaNH<sub>2</sub>·HCl** (έως 3 eq).

Στο Σχήμα 5.20 παρουσιάζεται η αλλαγή της χημικής μετατόπισης του H3, εσωτερικό της κοιλότητας του **5.19**, ως προς τα προστιθέμενα ισοδύναμα της **adaNH<sub>2</sub>·HCl**, πιστοποιείται δε ο σχηματισμός συμπλόκου 1:1, διότι η Δδ (H3) μηδενίζεται μετά την προσθήκη ενός ισοδυνάμου **adaNH<sub>2</sub>·HCl**.



**Σχήμα 5.20** Διάγραμμα αλλαγής της χημικής μετατόπισης των CD-H3 του παραγώγου **5.19** (1 mM) ως προς την αύξηση της συγκέντρωσης της **adaNH<sub>2</sub>·HCl**.

Κάθε φάσμα <sup>1</sup>H NMR είναι ο μέσος όρος των μορίων του **5.19** που είναι συμπλοκοποιημένα με φαινύλια και αυτών που είναι συμπλοκοποιημένα με **adaNH<sub>2</sub>·HCl**. Η σταδιακή προάσπιση των H3 μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι μέρος των φαινυλίων τα οποία ήταν συμπλοκοποιημένα αρχικά με το παράγωγο **5.19**, αποχωρούν από την κοιλότητα του και τη θέση τους καταλαμβάνει η **adaNH<sub>2</sub>·HCl**, γεγονός το οποίο επιβεβαιώνεται και από το φάσμα ROESY του μίγματος όπου παρατηρούνται διπολικές αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στα H3 της CD και των H της **adaNH<sub>2</sub>·HCl** (Σχήμα 5.21α), ενώ τα H των **-Ph** (H1', H2', H3') δεν παρουσιάζουν διπολικές αλληλεπιδράσεις με τα H3, αλλά με τα H6 και ενδεχομένως με τα H5 (Σχήμα 5.21β).

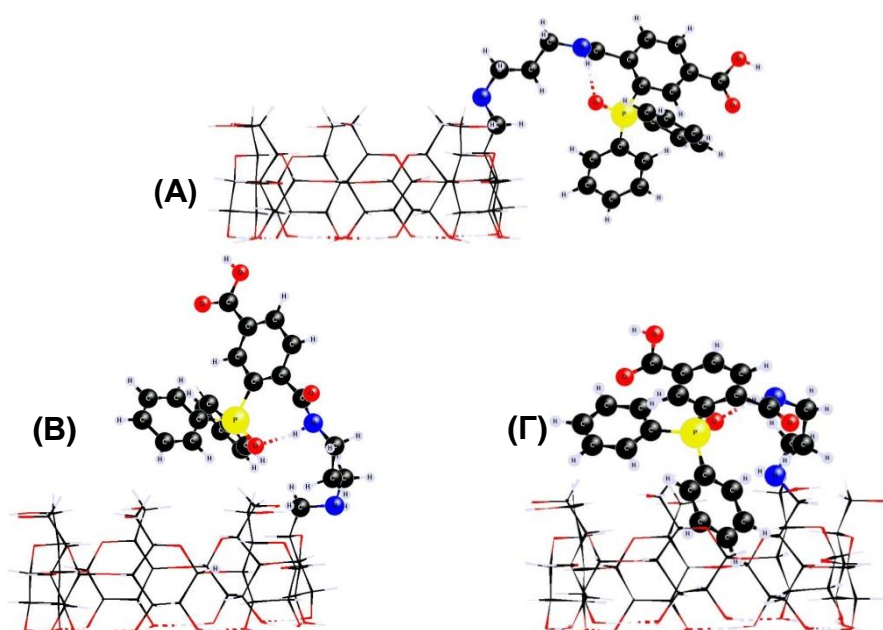


**Σχήμα 5.21 α) Μέρος φάσματος ROESY μίγματος του παραγώγου 5.19 με 1 eq  $adaNH_2 \cdot HCl$  σε  $D_2O$  (αλειφατική περιοχή), β) Μέρος φάσματος ROESY μίγματος του παραγώγου 5.19 με 1 eq  $adaNH_2 \cdot HCl$  σε  $D_2O$  (αρωματική περιοχή).**

Όπως αναμένεται, δεν υπάρχουν ιδιαίτερες διαφορές στις χημικές μετατοπίσεις των **Ha**, **Hb**, **Hc** και H4. Ωστόσο, το **H2** του τερεφθαλικού δακτυλίου του συνδέτη φαίνεται να επηρεάζεται σημαντικά από τις προσθήκες της  **$adaNH_2 \cdot HCl$** . Πιθανώς, με την έξοδο του ενός **-Ph** από την κοιλότητα της CD, ο δεσμός μεταξύ του φωσφόρου και του τερεφθαλικού δακτυλίου περιστρέφεται έτσι ώστε το H2 να απομακρύνεται σταδιακά από το οξυγόνο του φωσφόρου, με αποτέλεσμα να προασπίζεται (Σχήμα 5.19). Τα ανωτέρω δείχνουν ότι στο μονομερές Staudinger ο συνδέτης περιστρέφεται υπεράνω του στενού άκρου της βCD και σε υδατικό περιβάλλον βυθίζει ένα από τα Ph στην κοιλότητα, απ' όπου εύκολα εκδιώκεται παρουσία  **$adaNH_2 \cdot HCl$** , παραμένοντας όμως υπεράνω του στενού ανοίγματος. Οι διαμοριακές αλληλεπιδράσεις όμως που παρατηρήθηκαν παραπέμπουν και σε παρουσία εκτεταμένης δομής, της οποίας τα υδρόφοβα μέρη προστατεύονται στην κοιλότητα γειτονικού μορίου. Θεωρητικοί υπολογισμοί επιβεβαίωσαν την εφικτότητα των προτεινόμενων δομών.

### 5.4.3 Θεωρητικοί Υπολογισμοί Διαμορφώσεων<sup>68b, 70</sup>

Θεωρητικώς βελτιστοποιημένες διαμορφώσεις του **5.19** (Σχήμα 5.22) (ημιεμπειρικοί θεωρητικοί υπολογισμοί PM3, Δρ. Ι. Λαζάρου, ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος»)<sup>68b, 70</sup> έδειξαν ότι η κλειστή διαμόρφωση (inclusion, Γ), μπορεί να προκύψει ως αποτέλεσμα περιστροφής του συνδέτη και σταδιακής μετάβασης από την ανοιχτή μορφή (Α) (ικανή για διαμοριακούς εγκλεισμούς) στην αναδιπλωμένη μορφή (Β), πιθανώς επικρατούσα σε DMSO, (όπου η κοιλότητα παραμένει διαθέσιμη και ο συνδέτης βρίσκεται κοντά στα Η της πρωτοταγούς πλευράς). Οι υπολογισθείσες ενέργειες έδειξαν την ανοιχτή μορφή Α ως τη λιγότερο σταθερή, ενώ οι Β και Γ είχαν παραπλήσια ενέργεια.

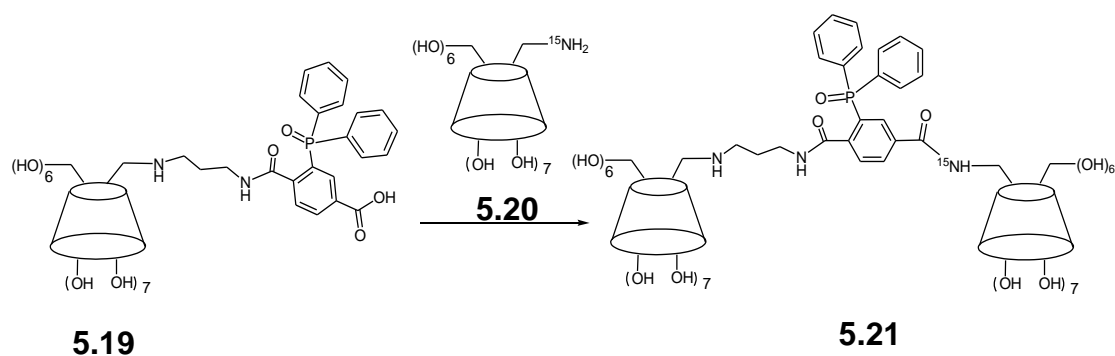


Σχήμα 5.22 Πιθανές οριακές διαμορφώσεις του μονομερούς **5.19**: (Α) ανοιχτή δομή, (Β) αναδιπλωμένη δομή και (Γ) κλειστή δομή συμπλόκου.

## 5.5 Νέα Υδατοδιαλυτά Διμερή β-Κυκλοδεξτρίνης

### 5.5.1 Σύνθεση και Χαρακτηρισμός Διμερούς από το Μονομερές Staudinger

Μετά τον πλήρη καθαρισμό της ένωσης **5.19** ακολούθησε η παρασκευή του διμερούς **5.21** με αντίδραση σχηματισμού αμιδικού δεσμού (Σχήμα 5.23).



**Σχήμα 5.23 Παρασκευή της ένωσης 5.21 i) HATU, DIPEA, DMF, 30 °C, 48 h, 10%.**

Η μονο(6-<sup>15</sup>N-6-δεοξυ)-β-κυκλοδεξτρίνη (**5.20**) (χορηγία της εταιρείας CycloLab), ήταν επισημασμένη με <sup>15</sup>N ώστε με πειράματα <sup>15</sup>N NMR να διευκολυνθεί η ταυτοποίηση του παραγόμενου διμερούς **5.21** και η δημιουργία αμιδικού δεσμού. Για τη σύνθεση ακολουθήθηκαν διάφορες πειραματικές πορείες οι οποίες συνοψίζονται στον Πίνακα 5.1. Με κόκκινο χρώμα εμφανίζονται οι καταλληλότερες συνθήκες σύνθεσης του ετεροδιμερούς 5.21.

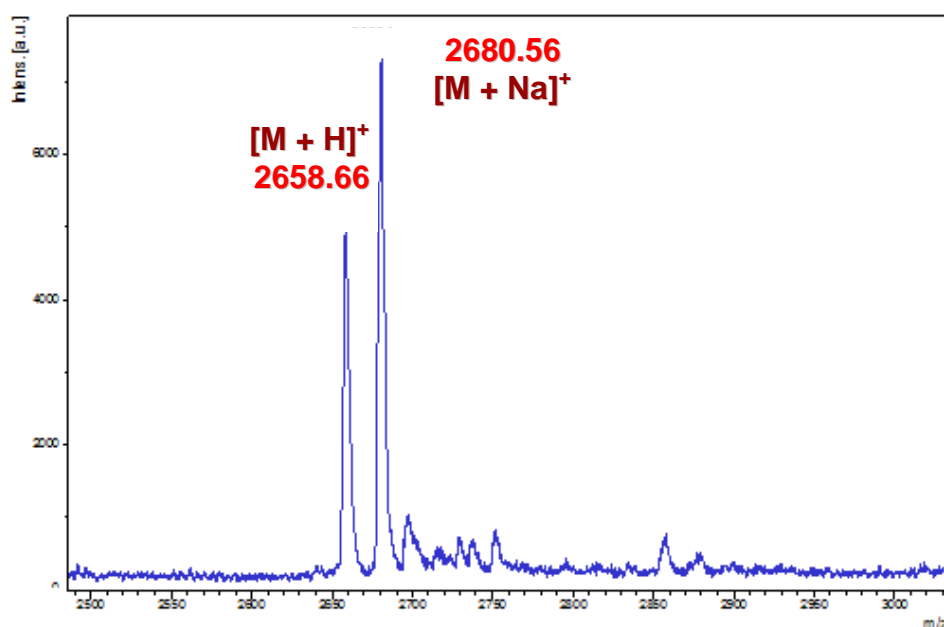
**Πίνακας 5.1 Προσπάθειες παρασκευής του διμερούς 5.21.**

Προσπάθειες	Αναλογία <b>5.20:5.19</b>	Θερμοκρασία °C	Χρόνος μέρες	Αντιδραστήρια	Διαλύτης	Αποτέλεσμα
1 (x2)	1	35	3	HATU/DIPEA	DMF	Προϊόν
2 (x2)	1	40	3	HATU/DIPEA	DMF	Προϊόν
3	1	45	3	HATU/DIPEA	DMF	Προϊόν
4	1.1	30	3	HATU/DIPEA	DMF	Προϊόν
<b>5</b>	<b>1.1</b>	<b>30</b>	<b>2</b>	<b>HATU/DIPEA</b>	<b>DMF</b>	<b>Προϊόν</b>
6	1.1	45	3	DCC/DMAP	DMF	-
7	1	40	4	HOBt/DIPEA	DMF	-
8	1	40	3	COMU/DIPEA	DMF	Προϊόν

Χρησιμοποιήθηκαν ποικίλες μέθοδοι καθαρισμού του μείγματος της αντίδρασης για την απομόνωση του **5.21**, μερικές από τις οποίες είναι: καθαρισμός με στήλη εκχύλισης στερεάς φάσης με πληρωτικό υλικό όξινη αλουμίνα και με στήλη εκχύλισης στερεάς φάσης με πληρωτικό υλικό πυριτική γέλη τροποποιημένη με καρβοξυλομάδες (LC-WCX), με την οποία έγινε δυνατή η απομάκρυνση της μονο(6-<sup>15</sup>N-6-δεοξυ)-β-κυκλοδεξτρίνης **5.20**. Στη συνέχεια, χρησιμοποιήθηκε στήλη εκχύλισης στερεάς φάσης



με πληρωτικό υλικό πυριτική γέλη τροποποιημένη με αμινομάδες (LC-NH<sub>2</sub>) για την απομάκρυνση της κυκλοδεξτρίνης **5.19**, η οποία δεν αντέδρασε, ωστόσο ο διαχωρισμός δεν ήταν επιτυχής. Ακόμα, έγιναν προσπάθειες καθαρισμού με χρωματογραφία στήλης αντίστροφης φάσης C18, με HPLC αντίστροφης φάσης C18 με διάφορους διαλύτες έκλουσης (MeOH:H<sub>2</sub>O, σε διάφορες αναλογίες), παρασκευαστική πλάκα TLC με διαλύτη ανάπτυξης *i*-PrOH:AcOEt:H<sub>2</sub>O:CH<sub>3</sub>COOH (5:3:3:0.1) και τέλος χρησιμοποιήθηκε μεμβράνη διαπίδωσης. Μετά από αλληπαλλήλες προσπάθειες καθαρισμού και συνδυασμού των παραπάνω τεχνικών, έγινε δυνατή η απομόνωση μικρής ποσότητας καθαρού διμερούς. Η ταυτοποίηση του προϊόντος **5.21** πραγματοποιήθηκε με φασματομετρία μάζας MALDI-TOF (Σχήμα 5.24) και φασματοσκοπία NMR (Σχήματα 5.25α και β).

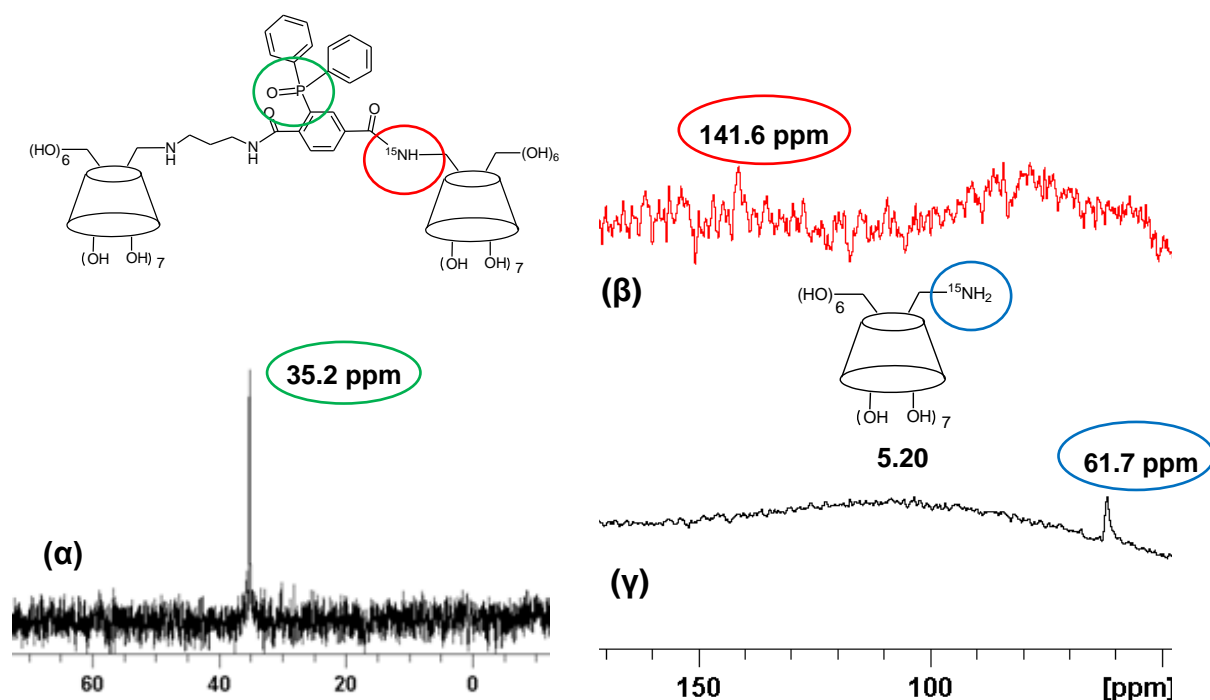


Σχήμα 5.24: Φάσμα μάζας MALDI-TOF της ένωσης **5.21**.

Τα φάσματα <sup>15</sup>N NMR των ενώσεων **5.20** και **5.21** σε D<sub>2</sub>O φαίνονται στα Σχήματα 5.25β και γ. Η κορυφή του <sup>15</sup>N της ένωσης **5.20** εμφανίζεται στα 61.7 ppm ενώ του προϊόντος **5.21** εμφανίζεται στα 141.6 ppm. Η πολύ μικρή ένταση των κορυφών και για τις δύο ενώσεις οφείλεται, στην μικρή ευαισθησία (σε σχέση με το πρωτόνιο) του <sup>15</sup>N (1.04x10<sup>-3</sup>), ενώ για την μικρή ένταση της κορυφής που αντιστοιχεί στο διμερές **5.21** συμβάλει και η πολύ χαμηλή συγκέντρωση.

Ωστόσο, ο πολύπλοκος καθαρισμός του διμερούς **5.21** και η πολύ μικρή απόδοση της αντίδρασης (<10%), μας οδήγησαν στην εγκατάλειψη αυτής της συνθετικής πορείας και

στην αναζήτηση νέου μορίου συνδέτη, το οποίο θα οδηγούσε σε παρασκευή διμερούς με την ταυτόχρονη πραγματοποίηση δύο αντιδράσεων Staudinger.



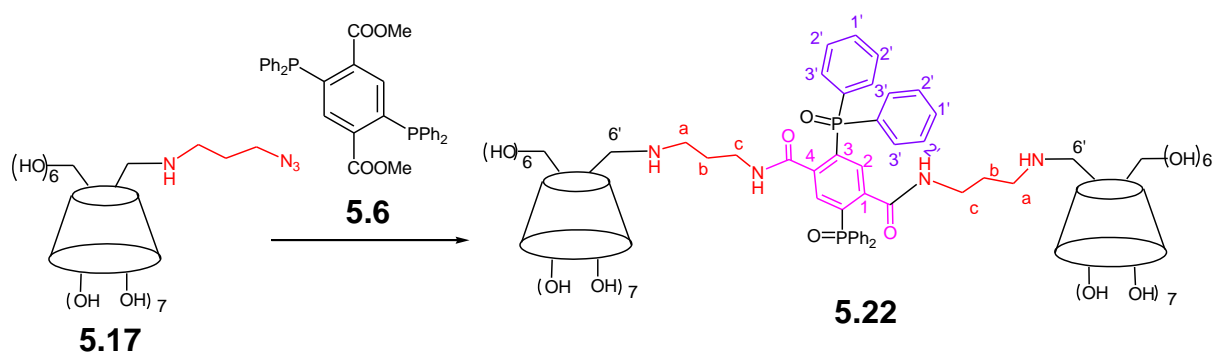
Σχήμα 5.25: α) Φάσμα  $^{31}\text{P}$  NMR της ένωσης 5.21 σε  $\text{D}_2\text{O}$ , β) Φάσμα  $^{15}\text{N}$  NMR σε  $\text{D}_2\text{O}$  του διμερούς 5.21 και γ) της μονο- $^{15}\text{N}$ -αμινοκυκλοδεξτρίνης 5.20 σε  $\text{D}_2\text{O}$ .

## 5.5.2 Διμερές με Διπλή Σύνδεση Staudinger

### 5.5.2.1 Σύνθεση, Χαρακτηρισμός και Διαμορφώσεις στο Διάλυμα

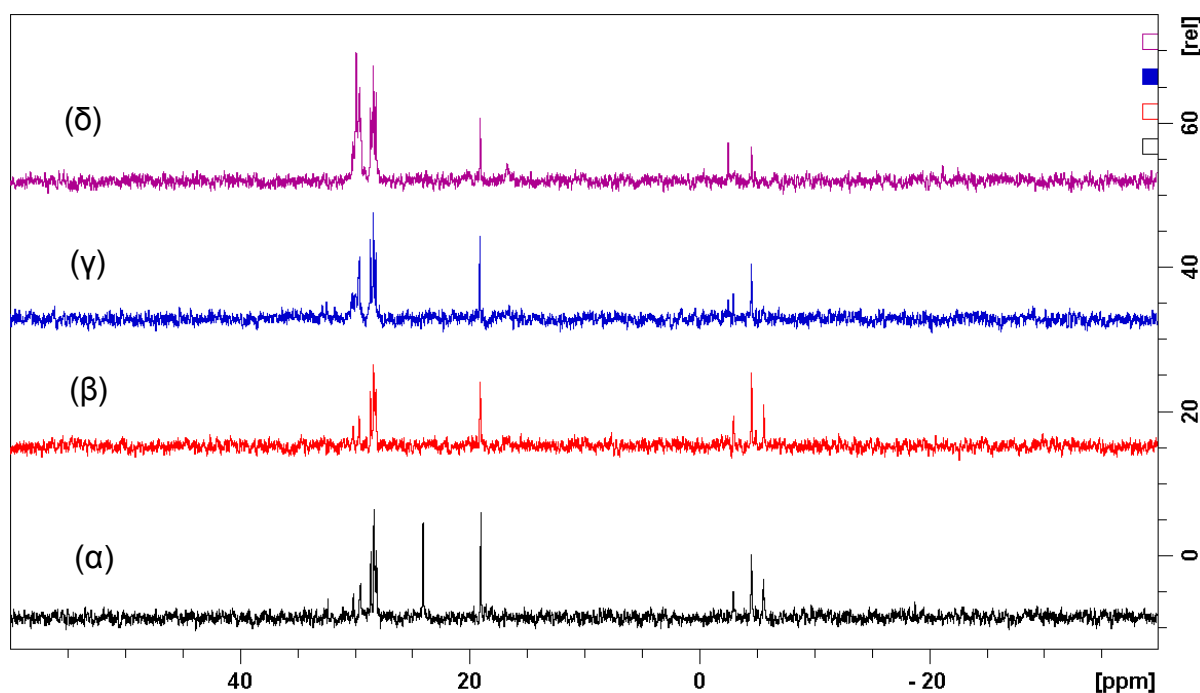
Δεδομένου ότι η σύνδεση Staudinger απεδείχθη εξαιρετικά επιτυχής, ενώ η μετέπειτα σύζευξη οξέος-αμίνης εξαιρετικά δυσχερής από όλες τις απόψεις, το ενδιαφέρον μας στράφηκε στην ανάπτυξη ενός νέου διδραστικού συνδέτη, ο οποίος θα οδηγούσε στον απευθείας σχηματισμό ομοδιμερούς κυκλοδεξτρινών, μέσω διπλής σύνδεσης Staudinger. Η παρασκευή του συνδέτη 5.5 περιγράφηκε ανωτέρω (Σχήμα 5.6).

Η χαμηλή απόδοση του 5.21 και το μέγεθος του συνδέτη, απεκάλυψαν στερεοχημική παρεμπόδιση στην προσέγγιση της  $-\text{N}_3$ , απ' ευθείας συνδεδεμένη με τη  $\beta\text{CD}$ , οπότε και αποφασίσθηκε η εισαγωγή του αζιδίου μέσω αποστάτη τριών ατόμων C (αζιδοπροπυλαμίνη). Για τη σύνθεση του διμερούς 5.22 χρησιμοποιήθηκαν ως πρώτες ύλες ο διδραστικός συνδέτης 5.6 και η μονοϋποκατεστημένη αζιδο-κυκλοδεξτρίνη 5.17 (Σχήμα 5.26).



Σχήμα 5.26 Σύνθεση του διμερούς 5.22. i) DMF:CHCl<sub>3</sub>:H<sub>2</sub>O (45:10:2), 60 °C, 48h, Ar, 62%.

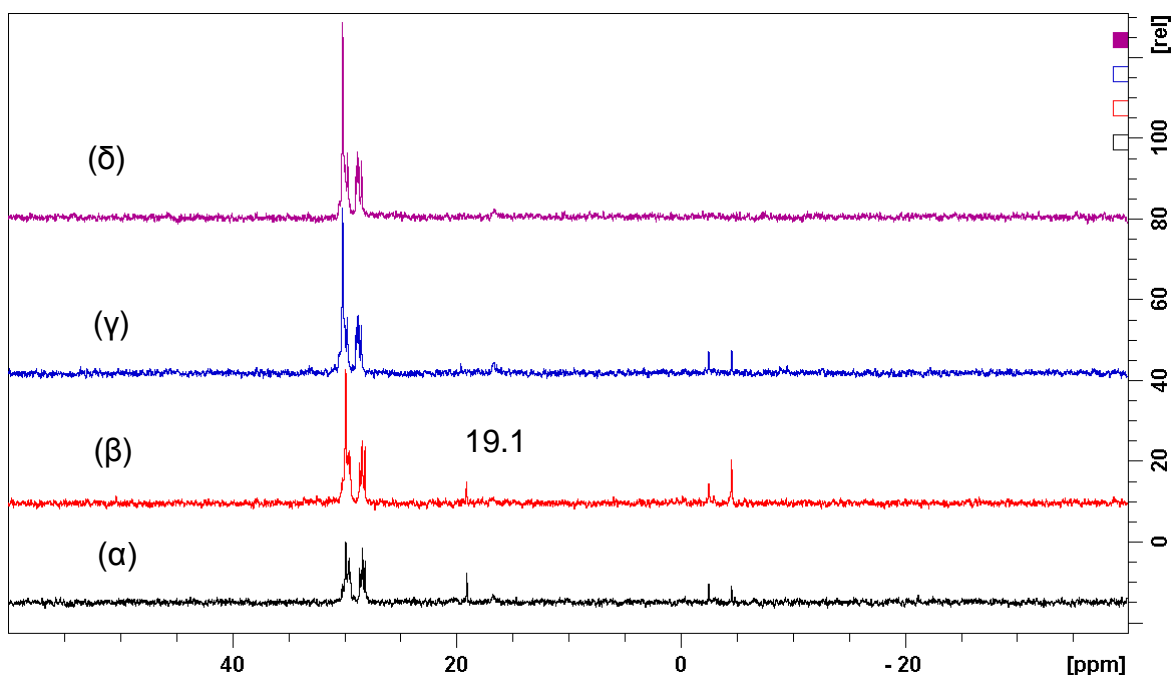
Η αντίδραση διερευνήθηκε για τη βελτιστοποίηση των συνθηκών και το επιθυμητό προϊόν αρχικά παρασκευάστηκε *in situ* σε DMSO-*d*<sub>6</sub> στους 40 °C. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθήθηκε μέσω φασματοσκοπίας NMR (<sup>1</sup>H και <sup>31</sup>P) (Σχήματα 5.27, 5.28, 5.29, 5.30). Ο συνδέτης **5.6** προστέθηκε σε σωληνίσκο NMR με ξηρό DMSO-*d*<sub>6</sub>, στο οποίο η διαλυτότητά του ήταν ιδιαίτερως χαμηλή. Από τα φάσματα <sup>1</sup>H και <sup>31</sup>P NMR ήταν εμφανές ότι ο **5.6** αλληλεπιδρά με το DMSO, λόγω εμφάνισης πολλών σημάτων στο διάλυμα (Σχήμα 5.27α).



Σχήμα 5.27 Φάσμα <sup>31</sup>P NMR του συνδέτη 5.6 σε DMSO-*d*<sub>6</sub> α) απουσία του 5.17, β) παρουσία του 5.17 σε t = 0, γ) παρουσία του 5.17 σε t = 24 h, δ) μετά από 72 h.

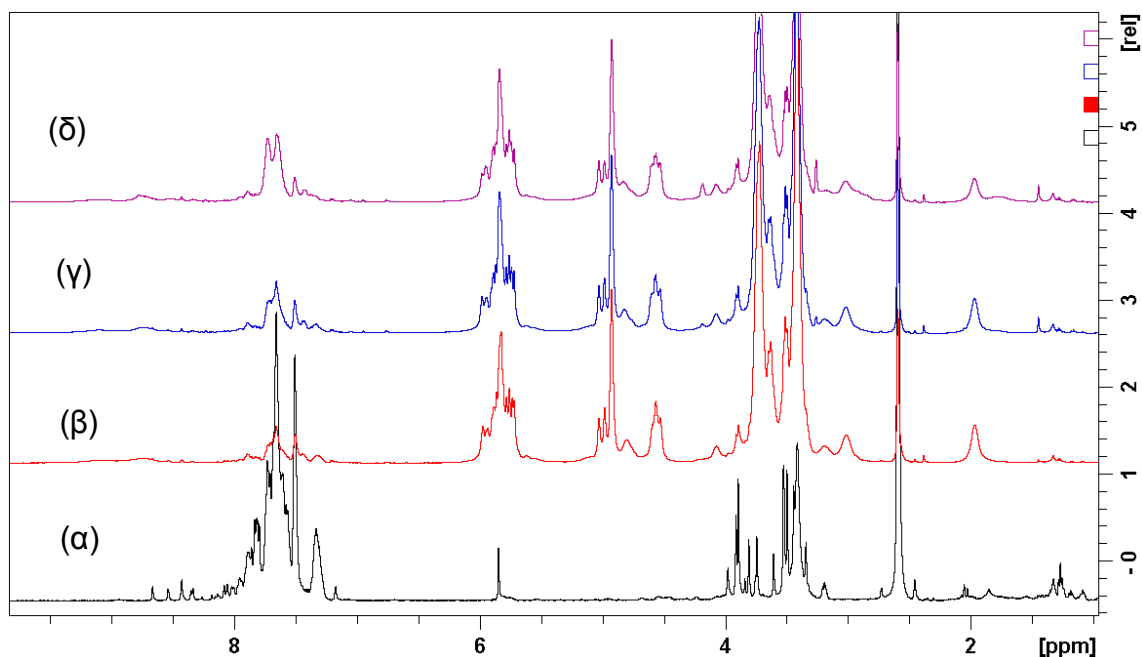
Ωστόσο, μετά από την προσθήκη της μονοϋποκατεστημένης κυκλοδεξτρίνης **5.17** παρατηρήθηκε αλλαγή στο φάσμα <sup>31</sup>P NMR του συνδέτη (Σχήμα 5.27β), ένδειξη ότι

πραγματοποιήθηκε κάποιου είδους αντίδραση. Αρχικά το διάλυμα παρέμεινε για 24 h στους 25 °C, ωστόσο δεν παρατηρήθηκε καμιά αλλαγή. Ακολούθησε αύξηση της θερμοκρασίας στους 40 °C και το διάλυμα παρέμεινε σε σταθερή θερμοκρασία για έξι ημέρες (Σχήμα 5.28γ). Στη συνέχεια, προστέθηκε D<sub>2</sub>O και η αντίδραση παρέμεινε υπό ανάδευση στους 40 °C για δύο ημέρες μέχρι την ολοκλήρωση της (Σχήμα 5.28δ). Η κορυφή, η οποία εμφανίστηκε στα 19.1 ppm, αποδόθηκε στο ενδιάμεσο φωσφαζαϋλίδιο το οποίο δημιουργήθηκε αρχικά.<sup>53</sup> Όπως αναμένεται, η κορυφή εξαφανίστηκε αμέσως μετά την προσθήκη του D<sub>2</sub>O (Σχήμα 5.28δ).

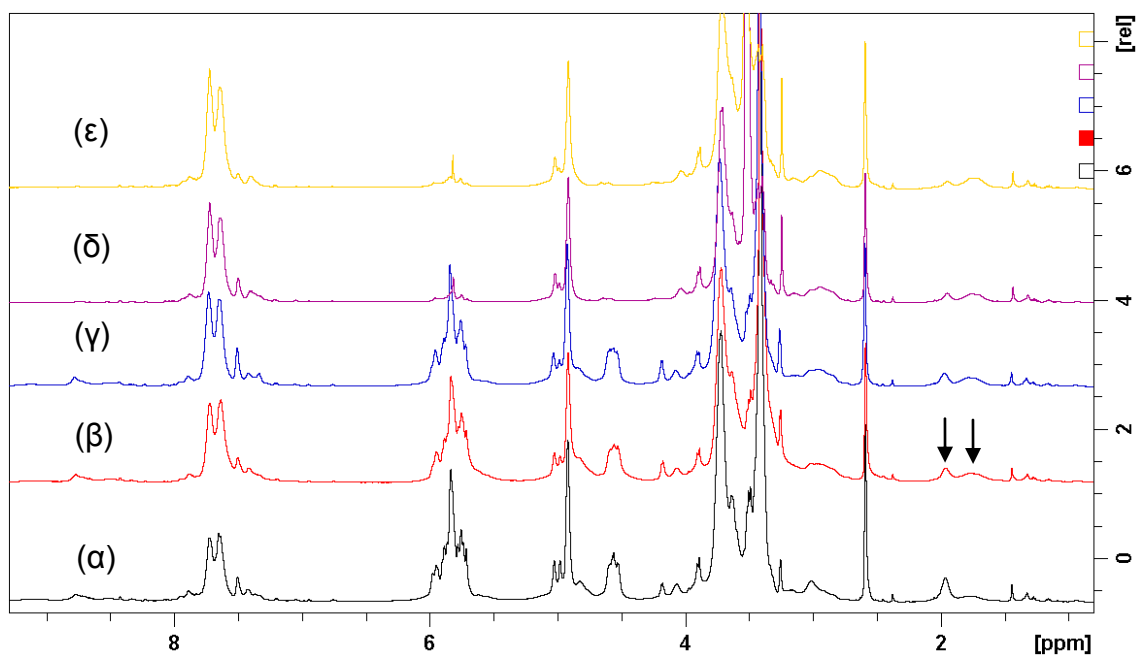


**Σχήμα 5.28** Φάσμα <sup>31</sup>P NMR του μίγματος της μονοϋποκατεστημένης κυκλοδεξτρίνης 5.17 με το συνδέτη 5.6 σε DMSO-*d*<sub>6</sub> α) μετά από 72 h, β) μετά από 5 d, γ) μετά από 6 d και την προσθήκη του D<sub>2</sub>O, δ) μετά από 8 d, DMSO-*d*<sub>6</sub>/D<sub>2</sub>O.

Τα φάσματα <sup>1</sup>H NMR (Σχήματα 5.29 και 5.30) δεν παρουσιάζουν μεγάλες διαφορές, εκτός από την περιοχή 1-2.5 ppm, όπου παρατηρείται σταδιακή εξαφάνιση της κορυφής στα 1.95 ppm, η οποία αντιστοιχεί στο **Hb** της μονοϋποκατεστημένης κυκλοδεξτρίνης 5.17 και η σταδιακή εμφάνιση της κορυφής στα 1.74 ppm, η οποία αντιστοιχεί στο **Hb** του επιθυμητού διμερούς.



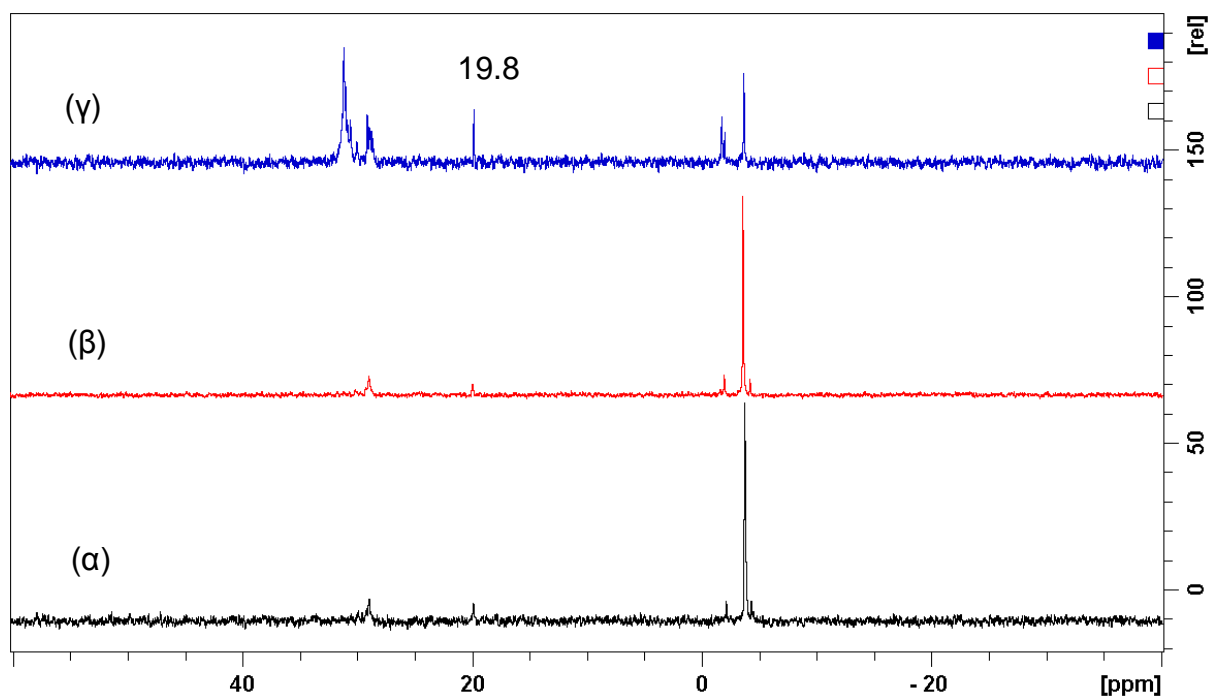
Σχήμα 5.29 Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του συνδέτη 5.6 σε  $\text{DMSO}-d_6$  α) απουσία 5.17, β) παρουσία του 5.17, γ) παρουσία του 5.17 μετά από 24 h, δ) παρουσία του 5.17 μετά από 72 h.



Σχήμα 5.30 Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του μίγματος του παραγώγου 5.17 με το συνδέτη 5.6 σε  $\text{DMSO}-d_6$ : α) μετά από 72 h, β) μετά από 5 d, γ) μετά από 6 d, ε) μετά από 6 d και την προσθήκη του  $\text{D}_2\text{O}$ , δ) μετά από 8 d.

Από την παραπάνω μελέτη, συμπεραίνουμε ότι η μικρή ταχύτητα αντίδρασης στο DMSO οφείλεται στη μικρή διαλυτότητα του συνδέτη **5.6** και στη χαμηλή θερμοκρασία. Παρατηρήθηκε διάλυση του συνδέτη με την πάροδο του χρόνου, ενώ στα φάσματα  $^{31}\text{P}$  NMR, η μη οξειδωμένη κορυφή του συνδέτη **5.6** ήταν εμφανής, σε μικρή συγκέντρωση, καθ' όλη τη διάρκεια της αντίδρασης. Η αύξηση της θερμοκρασίας εκτός των άλλων βοήθησε και στην αύξηση της διαλυτότητας του συνδέτη στο DMSO. Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 40%.

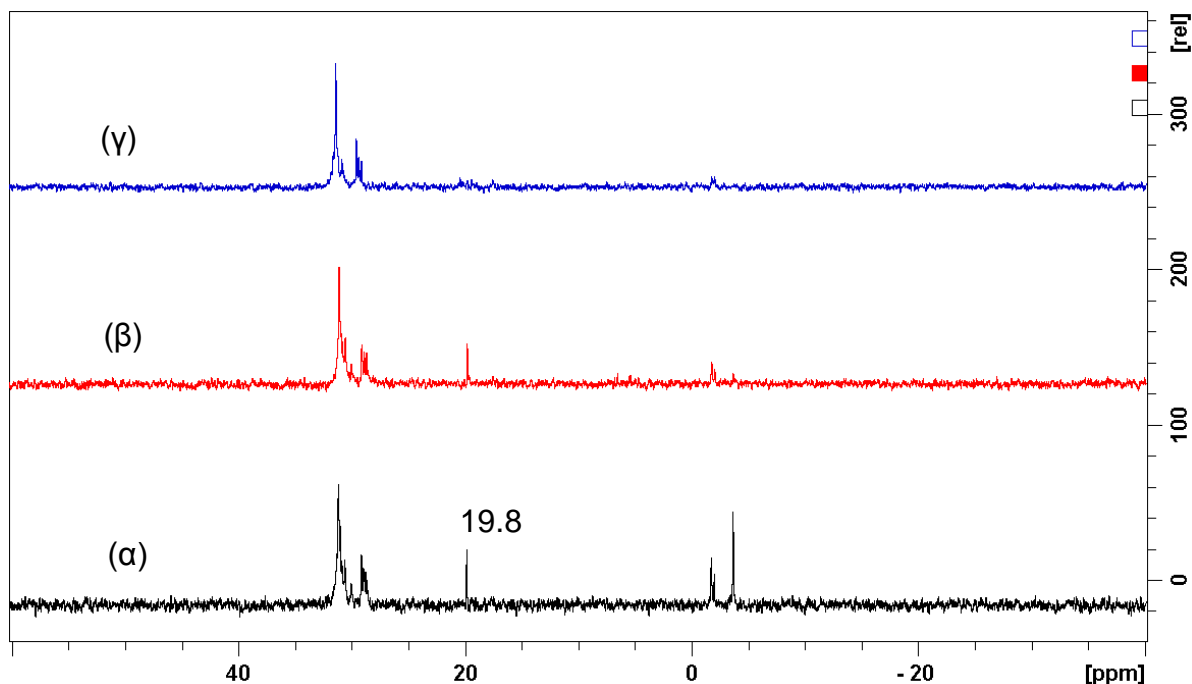
Η αντίδραση επαναλήφθηκε *in situ* σε διαλύτη DMF- $d_7$ /CDCl<sub>3</sub> (45/10, v/v) στους 60 °C, η οποία παρακολουθήθηκε με φασματοσκοπία  $^1\text{H}$  και  $^{31}\text{P}$  NMR (Σχήματα 5.31 και 5.32). Ο συνδέτης **5.6** ήταν πλήρως διαλυτός στο μίγμα και από τα φάσματα  $^1\text{H}$  και  $^{31}\text{P}$  NMR (Σχήμα 5.31α) παρατηρούμε ότι δεν υπήρξε αλληλεπίδραση με το διαλύτη και συνεπώς δεν εμφανίσθηκαν επιπλέον κορυφές, όπως είχε συμβεί στο DMSO (Σχήμα 5.27α).



**Σχήμα 5.31** Φάσμα  $^{31}\text{P}$  NMR του συνδέτη σε DMF- $d_7$ /CDCl<sub>3</sub> α) απουσία του **5.17**, β) παρουσία του **5.17**, γ) παρουσία του **5.17** μετά από 24 h.

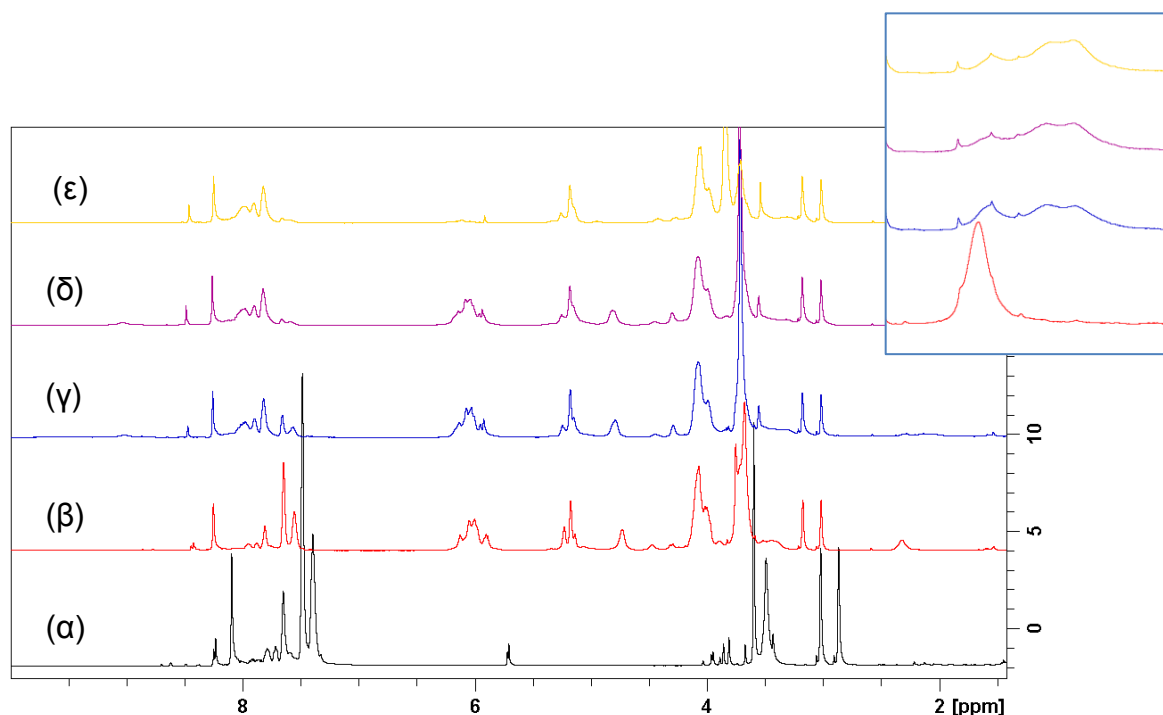
Στη συνέχεια, προστέθηκε η μονοϋποκατεστημένη κυκλοδεξτρίνη **5.17** ως διάλυμα σε DMF- $d_7$  και μετά από 24 h, παρατηρήθηκε δημιουργία προϊόντος (Σχήμα 5.31γ). Στο φάσμα  $^{31}\text{P}$  NMR, κατά τη διάρκεια της αντίδρασης, εμφανίστηκε μια κορυφή στα 19.8 ppm, η οποία αντιστοιχεί στο ενδιάμεσο φωσφαζαύλιδιο. Μετά από 48 h, προστέθηκε D<sub>2</sub>O με αποτέλεσμα την εξαφάνιση της κορυφής του ενδιαμέσου στο φάσμα  $^{31}\text{P}$  NMR

και την ολοκλήρωση της αντίδρασης μετά από ανάδευση για 4 h στους 60 °C (Σχήμα 5.32γ).

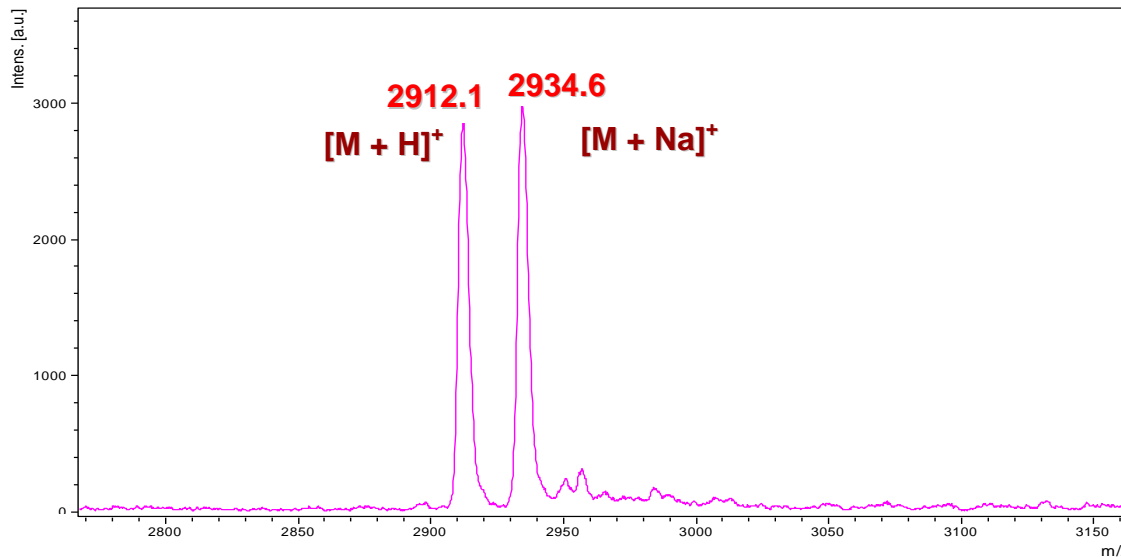


**Σχήμα 5.32** Φάσμα  $^{31}\text{P}$  NMR του μίγματος του παραγώγου **5.17** με το συνδέτη **5.6** σε  $\text{DMF-}d_7/\text{CDCl}_3$ : α) μετά από 24 h, β) μετά από 48 h, γ) 4 h μετά την προσθήκη του  $\text{D}_2\text{O}$ .

Ο χρόνος της αντίδρασης μειώθηκε από οκτώ ημέρες σε δύο και αυτό προφανώς οφείλεται τόσο στην αύξηση της θερμοκρασίας, όσο και στην πλήρη διαλυτότητα του συνδέτη στο DMF. Επίσης, παρατηρήθηκε αύξηση της απόδοσης της αντίδρασης (62%). Τα φάσματα  $^1\text{H}$  NMR δεν παρουσίασαν μεγάλες διαφορές συγκριτικά με το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της μονοϋποκατεστημένης κυκλοδεξτρίνης **5.17**, εκτός από την περιοχή 1.82-2.50 ppm, όπου παρατηρήθηκε σταδιακή εξαφάνιση της κορυφής στα 2.33 ppm, η οποία αντιστοιχεί στο **Hb** της μονοϋποκατεστημένης κυκλοδεξτρίνης **5.17** και η σταδιακή εμφάνιση της κορυφής στα 2.10 ppm, η οποία αντιστοιχεί στο **Hb** του επιθυμητού διμερούς (Σχήμα 5.33). Η ταυτοποίηση του διμερούς **5.22** πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπία NMR σε διαλύτες  $\text{D}_2\text{O}$  και  $\text{DMSO-}d_6$  και φασματομετρία μάζας MALDI-TOF (Σχήμα 5.34). Η παρασκευή του διμερούς αποδείχθηκε ιδιαίτερα απλή, καθώς δεν χρησιμοποιήθηκε κανένα άλλο αντιδραστήριο εκτός από το συνδέτη, την κυκλοδεξτρίνη και τους διαλύτες DMF,  $\text{CHCl}_3$  και  $\text{H}_2\text{O}$ . Το επιθυμητό διμερές απομονώθηκε μετά από χρωματογραφία στήλης με διαλύτες έκλουσης  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  (5:2→1:1) και στη συνέχεια  $\text{EtOH}:\text{H}_2\text{O}$  (1:1).



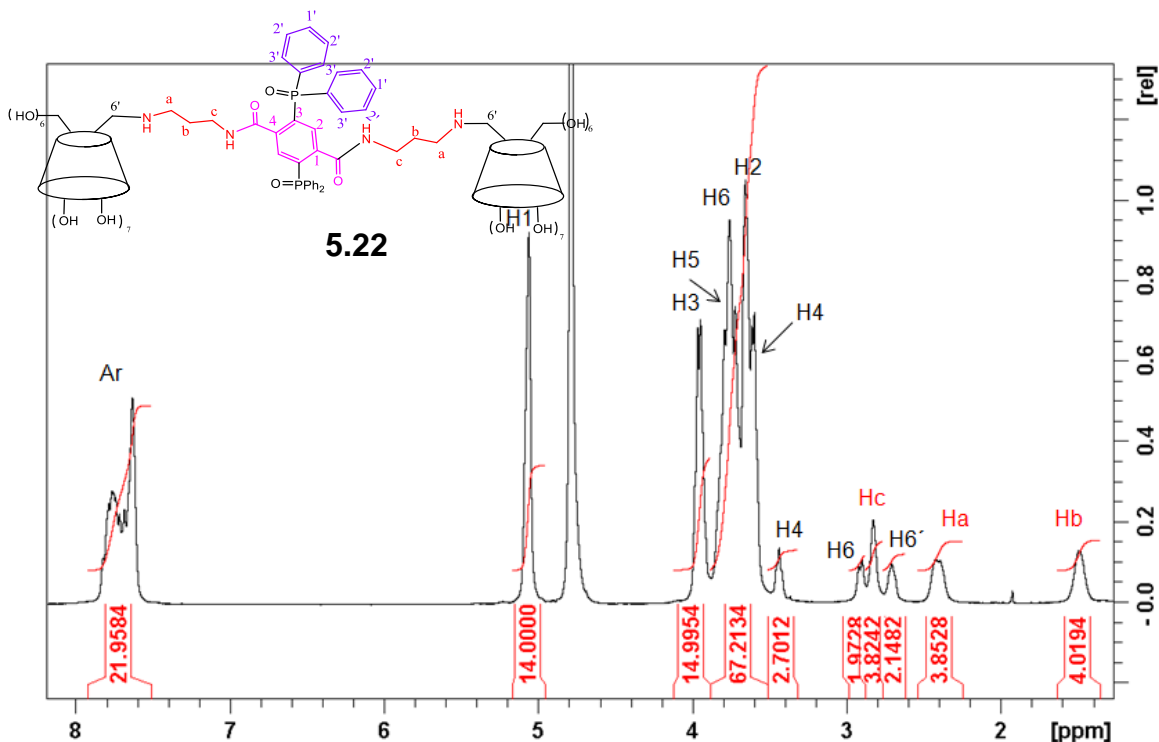
**Σχήμα 5.33** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του συνδέτη 5.6: α) σε  $\text{DMF-}d_7/\text{CDCl}_3$ , β) αμέσως μετά την προσθήκη του 5.17, γ) μετά από 24 h, δ) μετά από 48 h, ε) 4 h μετά την προσθήκη του  $\text{D}_2\text{O}$ . (Ένθετο: Μεγέθυνση της περιοχής 1.82-2.5 ppm)



**Σχήμα 5.34** Φάσμα μάζας MALDI-TOF του διμερούς 5.22.

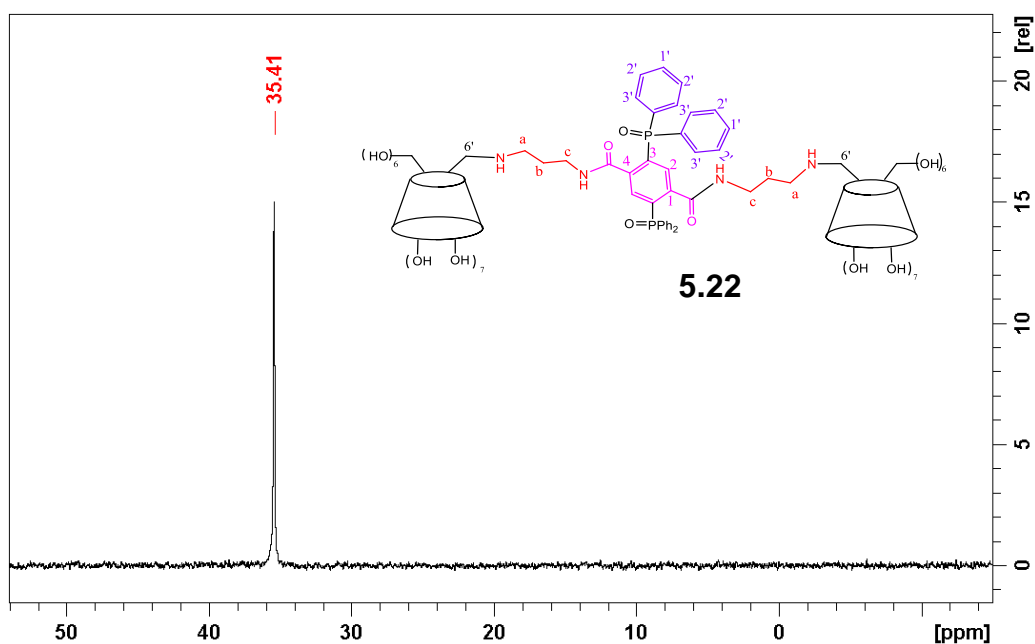
Παρατηρώντας το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR (Σχήμα 5.35) του επιθυμητού διμερούς **5.22** είναι εμφανής η υψηλή συμμετρία του μορίου: οι κορυφές της βCD είναι συνεπτυγμένες, όπως και αυτές των φαινυλίων, σε αντίθεση με την εικόνα του μονομερούς (Σχήμα 5.15) όπου η διασπορά όλων των σημάτων ήταν εμφανής, υποδηλώνοντας μοριακή ασυμμετρία.





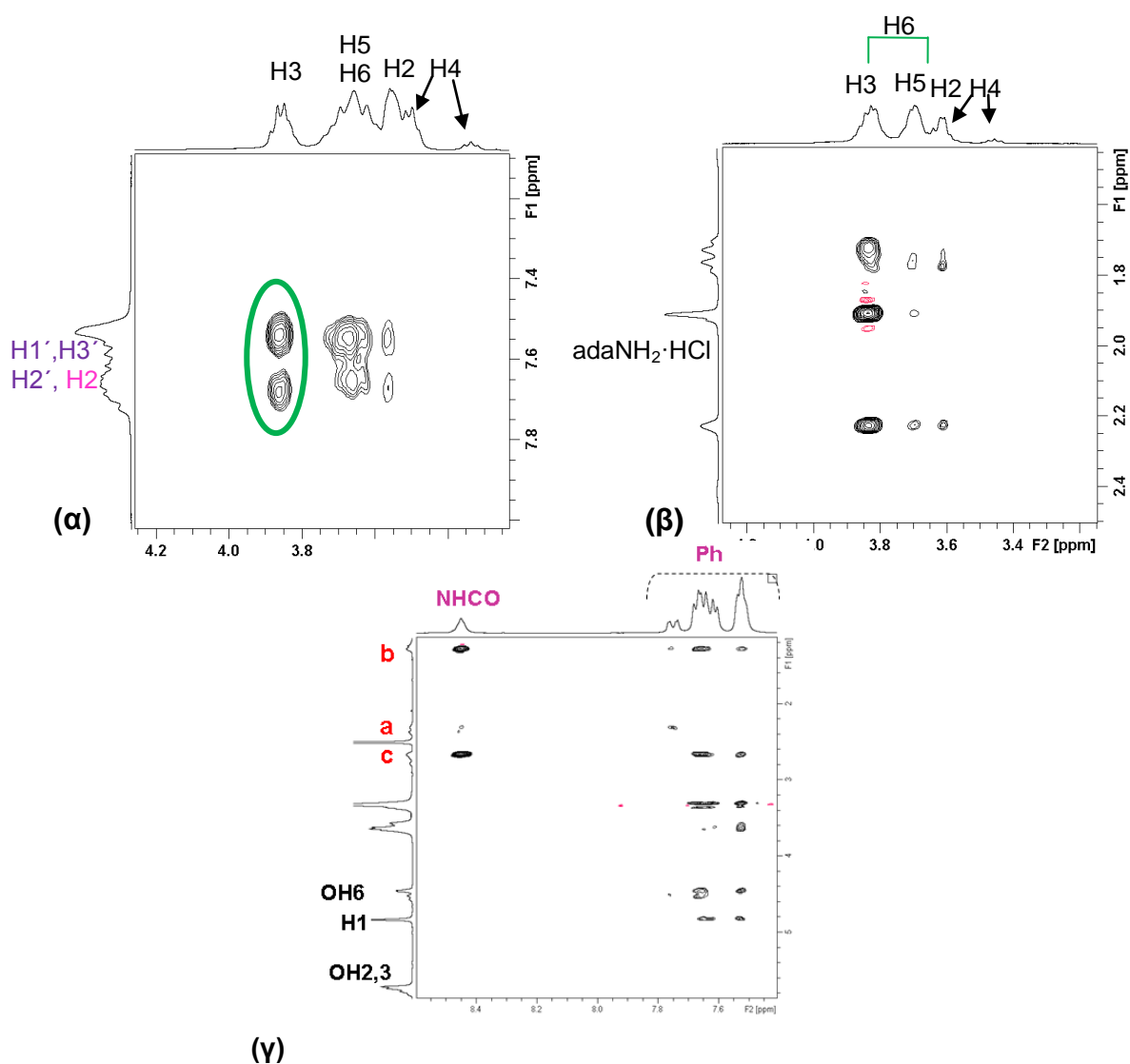
Σχήμα 5.35 Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR σε  $\text{D}_2\text{O}$  του διμερούς 5.22.

Από την ολοκλήρωση των κορυφών που αντιστοιχούν στα H1 των κυκλοδεξτρινών και τα αρωματικά πρωτόνια του μορίου, φαίνεται ότι το προϊόν είναι ιδιαίτερως καθαρό, πράγμα το οποίο αποδεικνύεται επίσης από το φάσμα μάζας (Σχήμα 5.34) και το φάσμα  $^{31}\text{P}$  (Σχήμα 5.36).



Σχήμα 5.36 Φάσμα  $^{31}\text{P}$  NMR σε  $\text{D}_2\text{O}$  του διμερούς 5.22.

Από το φάσμα ROESY του διμερούς **5.22** σε D<sub>2</sub>O φαίνεται ότι δημιουργείται σύμπλοκο μεταξύ των φαινυλίων του διδραστικού συνδέτη και των κοιλοτήτων των κυκλοδεξτρινών του διμερούς (Σχήμα 5.37α). Συγκεκριμένα τα Ph- αλληλεπιδρούν και με τα CD-H3 της δευτεροταγούς πλευράς (έντονα), ως αποτέλεσμα διαμοριακών αλληλεπιδράσεων, αλλά και με τα CD-H5 και H6, ως αποτέλεσμα αναδιπλωμένης ή ενδομοριακώς εγκλωβιζόμενης δομής.



**Σχήμα 5.37** Μέρος φάσματος ROESY του διμερούς **5.22** α) καθαρό σε D<sub>2</sub>O, β) με 4 eq **adaNH<sub>2</sub>·HCl** σε D<sub>2</sub>O, γ) καθαρό σε DMSO.

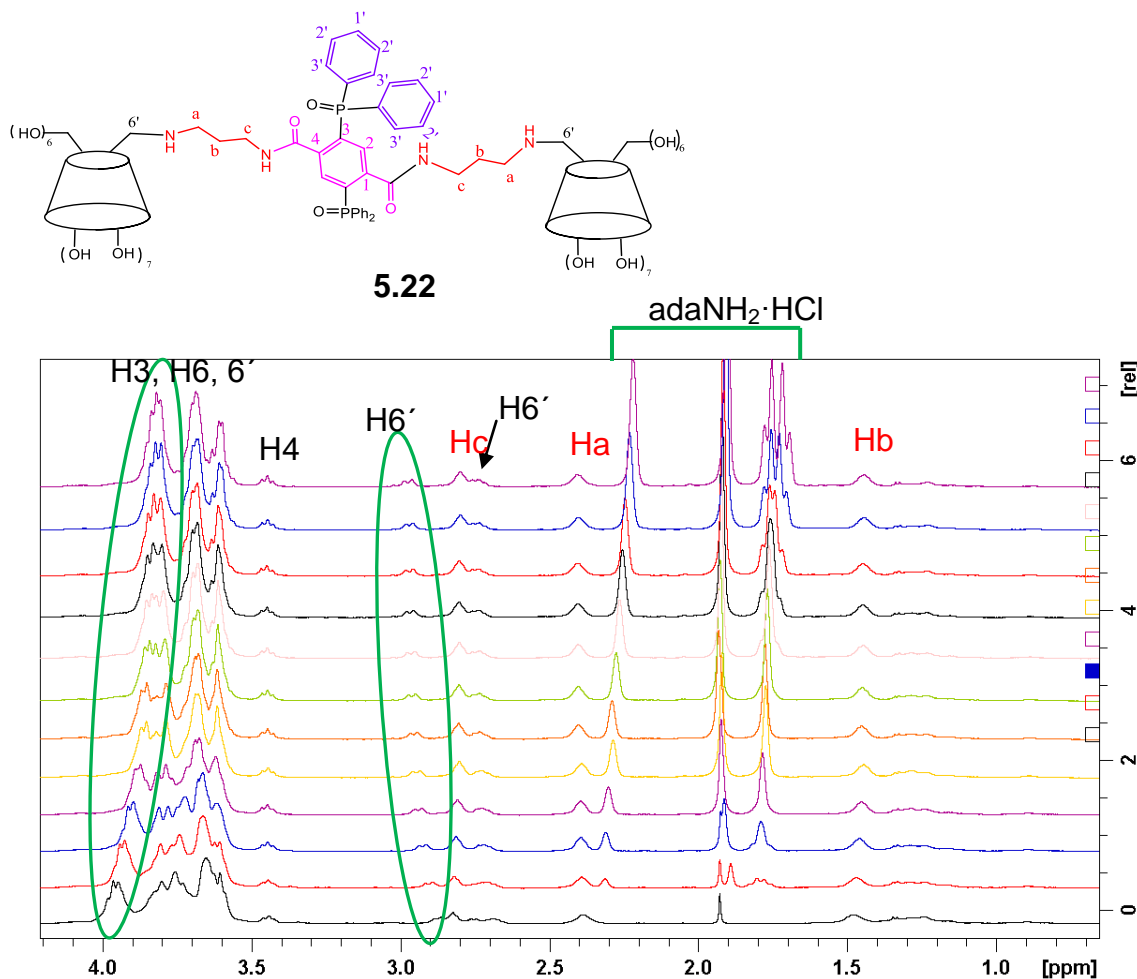
Επίσης, από το φάσμα ROESY της ένωσης **5.22** σε DMSO-*d*<sub>6</sub> (Σχήμα 5.37γ) παρατηρούνται διπολικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των –Ph (H1', H2', H3') και των –OH6, καθώς επίσης και μεταξύ των H2 και των –OH6, γεγονός που υποδεικνύει ότι το μόριο αναδιπλώνεται και τα φαινύλια προσεγγίζουν την πρωτοταγή πλευρά. Τα

ανωτέρω, τελείως ανάλογα με τα ευρήματα του μονομερούς Staudinger **5.19**, δημιουργούν ερωτήματα για την λειτουργικότητα του διμερούς και την ικανότητα του να σχηματίζει σύμπλοκα εγκλεισμού.

### 5.5.2.2 Σχηματισμός Συμπλόκων Εγκλεισμού

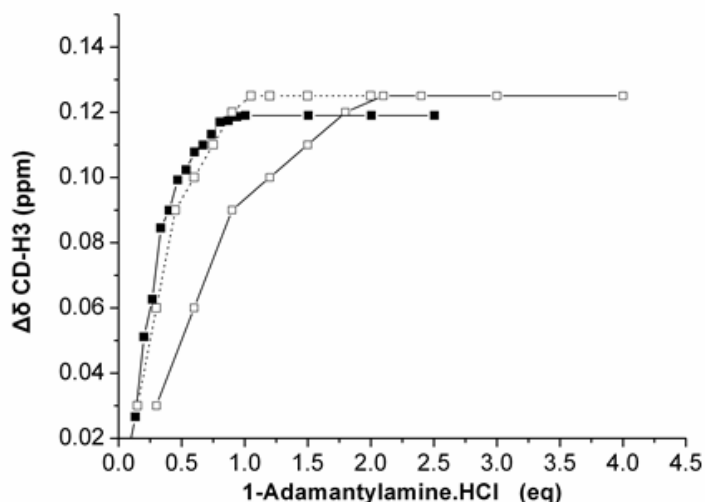
Η ικανότητα δημιουργίας συμπλόκων του διμερούς **5.22** με μόρια- ξενιστές, δηλαδή η ικανότητα του να δρα ως διπλός μοριακός μεταφορέας μελετήθηκε με φάσματα  $^1\text{H}$  και edited HSQC NMR του **5.22** με σταδιακή προσθήκη υδροχλωρικής αδαμανταναμίνης (**adaNH<sub>2</sub>·HCl**). Όπως προναφέρθηκε στην ενότητα 5.4.1 του παρόντος κεφαλαίου, η αδαμανταναμίνη αποτελεί τυπικό και βέλτιστο ξενιζόμενο μόριο, δηλαδή μοντέλο για τη διερεύνηση της διαθεσιμότητας της βCD. Η τιτλοδότηση έγινε σε διάλυμα 1 mM του διμερούς **5.22** σε D<sub>2</sub>O, με σταδιακές προσθήκες **adaNH<sub>2</sub>·HCl** έως 4 eq. Στο φάσμα ROESY του μίγματος διμερούς **5.22** με 4 eq **adaNH<sub>2</sub>·HCl** ήταν εμφανής η δημιουργία συμπλόκου μεταξύ του διμερούς και της **adaNH<sub>2</sub>·HCl** (Σχήμα 5.37β), καθώς παρατηρήθηκαν διπολικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των H της **adaNH<sub>2</sub>·HCl** και των H3 της CD.

Στο Σχήμα 5.38, όπου παραβάλλονται όλα τα φάσματα  $^1\text{H}$  NMR μετά τη κάθε προσθήκη **adaNH<sub>2</sub>·HCl**, παρατηρείται προάσπιση των H3, συνολικά κατά 0.125 ppm.



Σχήμα 5.38 Τιτλοδότηση διαλύματος του διμερούς **5.22** (1 mM) με  $\text{adaNH}_2 \cdot \text{HCl}$  (μέχρι 4 eq ως προς το διμερές **5.22**).

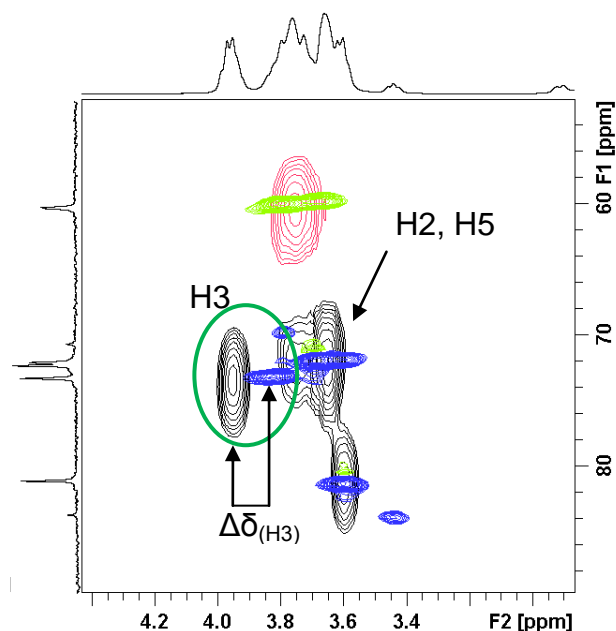
Η σταδιακή προάσπιση των H3 δείχνει ότι μέρος των φαινυλίων τα οποία ήταν εγκλωβισμένα αρχικά στις κοιλότητες των  $\beta\text{CD}$  του διμερούς **5.22**, αποχώρησαν σταδιακά, ενώ τη θέση τους κατέλαβε η  $\text{adaNH}_2 \cdot \text{HCl}$ . Συνεπώς, κάθε φάσμα  $^1\text{H}$  NMR είναι ο μέσος όρος των μορίων διμερούς **5.22** που είναι συμπλοκοποιημένα με φαινύλια και αυτών που είναι συμπλοκοποιημένα με  $\text{adaNH}_2 \cdot \text{HCl}$ , σε ταχεία ανταλλαγή στη κλίμακα χρόνου του NMR. Όπως αναμένεται, δεν υπήρχαν ιδιαίτερες διαφορές στις χημικές μετατοπίσεις των **Ha**, **Hb**, **Hc** και H4. Ωστόσο, ένα από τα H6' της υποκατεστημένης γλυκόζης των κυκλοδεξτρινών φαίνεται να αποπροασπίζεται αρκετά από τη δημιουργία συμπλόκου μεταξύ του διμερούς **5.22** και της  $\text{adaNH}_2 \cdot \text{HCl}$  και δείχνει κατά πάσα πιθανότητα περιστροφή του αμινοπροπυλο τμήματος του συνδέτη, προς τα έξω. Στο Σχήμα 5.38 φαίνεται η αλλαγή στη χημική μετατόπιση των H3 (Δδ) του διμερούς **5.22** παρουσία αυξανόμενης συγκέντρωσης της  $\text{adaNH}_2 \cdot \text{HCl}$ .



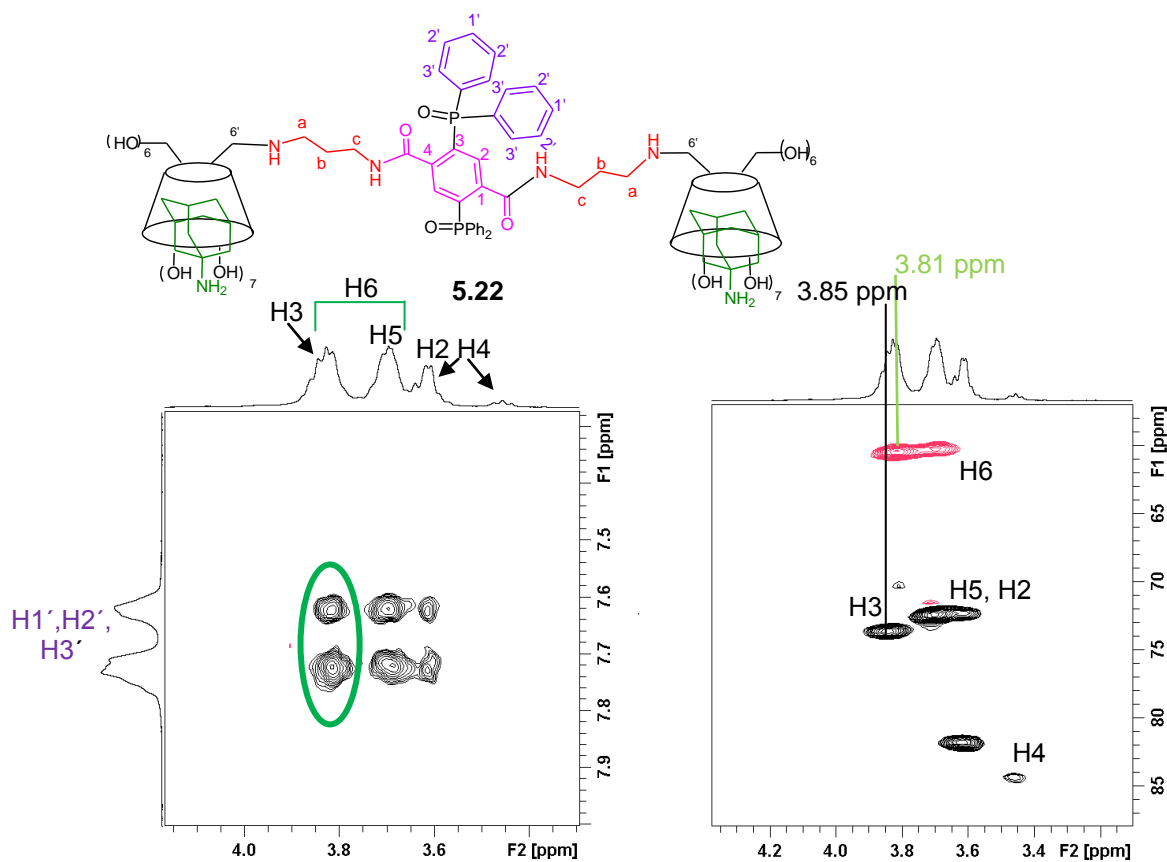
**Σχήμα 5.39** Αλλαγή της χημικής μετατόπισης ( $\Delta\delta$ ) των CD-H3 του διμερούς **5.22** (1 mM,  $\square\text{---}\square$ ) και το διάγραμμα του διμερούς **5.22** ανά κοιλότητα ( $\square\cdots\square$ ) και του μονομερούς **5.19** (0.5 mM,  $\blacksquare\text{---}\blacksquare$ ) ως προς την αύξηση της συγκέντρωσης της  $\text{adaNH}_2\cdot\text{HCl}$  με το αντίστοιχο διάγραμμα του μονομερούς **5.19**.

Στο Σχήμα 5.39 παρατηρούμε σταδιακή προάσπιση των H3 με την αύξηση της συγκέντρωσης της  $\text{adaNH}_2\cdot\text{HCl}$ , μέχρι και την προσθήκη 2 eq. Ακολουθώς, η χημική μετατόπιση των H3 παραμένει σταθερή, γεγονός που αποδεικνύει ότι οι δύο κοιλότητες του διμερούς **5.22** κατελήφθησαν από  $\text{adaNH}_2\cdot\text{HCl}$ . Συνεπώς, αν και το διμερές αρχικά δημιουργεί σύμπλοκα με τα φαινύλια του συνδέτη, όπως έδειξαν τα φάσματα του Σχήματος 5.37α, παρουσία ενός ανταγωνιστικού ξενιζόμενου μορίου δύναται να δημιουργήσει νέα σύμπλοκα. Συγκρίνοντας τα φάσματα edited HSQC του διμερούς **5.22** και του μίγματος του διμερούς **5.22** με 4 eq  $\text{adaNH}_2\cdot\text{HCl}$  (Σχήμα 5.40), παρατηρούμε ότι στην πρώτη περίπτωση τα H2 και τα H5 εμφανίζονται ως δύο ξεχωριστά σήματα ενώ στη δεύτερη περίπτωση τα H5 έχουν προασπιστεί κατά 0.083 ppm με αποτέλεσμα να παρατηρούμε ένα ενιαίο σήμα για αυτά και τα H2, γεγονός το οποίο μαζί με την προάσπιση των H3, επιβεβαιώνει το συμπέρασμα για εγκλωβισμό της  $\text{adaNH}_2\cdot\text{HCl}$ . Προσαρμογή των πειραματικών σημείων σε κατάλληλη εξίσωση για σχηματισμό συμπλόκου 1:1,<sup>71</sup> υποθέτοντας ότι (α) οι δύο μονάδες βCD δρουν ανεξάρτητα και (β) είναι, λόγω συμμετρίας του μορίου, σχεδόν ίδιες, υπολογίσθηκε η σταθερά σχηματισμού του συμπλόκου  $\log K = 4.2 \text{ M}^{-1}$ ,<sup>68b</sup> η οποία αντιστοιχεί σε αντίστοιχες τιμές σύνδεσης της βCD με 1-αδαμανταναμίνη. Εκ των ανωτέρω συνάγεται ότι η βύθιση των φαινυλίων στις κοιλότητες του **5.22** αντιστρέφεται χωρίς θερμοδυναμικό κόστος και οι δύο μονάδες βCD ενεργούν όπως η ελεύθερη βCD. Επί πλέον, εάν το διάγραμμα τιλοδότησης του **5.22** γίνει ως προς την κάθε κοιλότητα,

σχεδόν ταυτίζεται με εκείνο της τιτλοδότησης του μονομερούς **5.19**, πράγμα που υποδεικνύει (α) παρόμοια σταθερά σύνδεσης και (β) παρόμοιες διαμορφώσεις στο υδατικό διάλυμα (Σχήμα 5.39).



Σχήμα 5.40 Μέρος φάσματος edited HSQC (α) του διμερούς **5.22** (Μαύρο/Κόκκινο), (β) του διμερούς **5.22** με 4 εq  $\text{adaNH}_2 \cdot \text{HCl}$  (Μπλε/Πράσινο).



Σχήμα 5.41 Μέρος φάσματος του μίγματος διμερούς **5.22** με 4 εq  $\text{adaNH}_2 \cdot \text{HCl}$ : α) ROESY, περιοχή φαινυλίων, β) edited HSQC.

Στο φάσμα ROESY του μίγματος διμερούς παρουσία 4 eq  $\text{adaNH}_2\cdot\text{HCl}$ , παρατηρείται μαγνητική διπολική αλληλεπίδραση μέσω χώρου μεταξύ των φαινυλίων του συνδέτη με Η που βρίσκονται στην περιοχή 3.75-3.85 ppm, η οποία οφείλεται σε εξωτερικές αλληλεπιδράσεις των φαινυλίων με τα Η6 του διμερούς στα 3.81 ppm και όχι με τα Η3 (3.85 ppm) (Σχήμα 5.41α).

Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνεται και από το φάσμα edited HSQC του μίγματος, καθώς στα 3.81 ppm όπου εντοπίζονται οι κορυφές διασταύρωσης των φαινυλίων, βρίσκονται τα Η6. Τα Η3 είναι ελαφρώς πιο αποπροασπισμένα και συντονίζονται στα 3.85 ppm (Σχήμα 5.41β). Για να διαπιστώσουμε αν οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των φαινυλίων του διμερούς και των Η3 είναι ενδομοριακές ή διαμοριακές πραγματοποιήθηκαν πειράματα φασματοσκοπίας NMR διάχυσης (Diffusion Ordered Spectroscopy, DOSY). Όπως είναι γνωστό τα μόρια κινούνται όταν βρίσκονται στην υγρή ή διαλυμένη κατάσταση. Αυτή η διαχυτική κίνηση (translational motion), είναι γνωστή και ως μοριακή κίνηση Brown, ή απλώς διάχυση (diffusion) ή αυτο-διάχυση (self-diffusion), η οποία εξαρτάται από πολλές φυσικές παραμέτρους, όπως το μέγεθος και το σχήμα του μορίου, η θερμοκρασία και το ιξώδες του διαλύτη. Προϋποθέτοντας σφαιρικότητα του μορίου, ο συντελεστής διάχυσης (D) δίνεται από τη σχέση Stokes-Einstein:

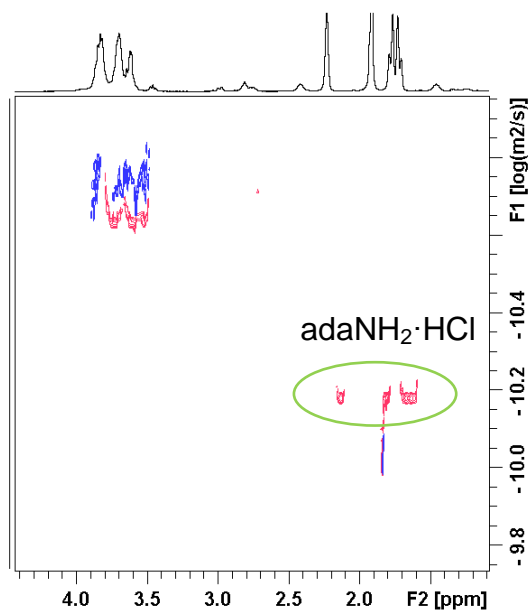
$$D = kT / 6\pi\eta r_s \quad (5.1)$$

Όπου:

$k$ : σταθερά Boltzmann ( $\text{J}\cdot\text{K}^{-1}$ ),  $T$ : θερμοκρασία (K),  $\eta$ : ιξώδες διαλύματος ( $\text{mPa}\cdot\text{s}$ ),  $r_s$ : υδροδυναμική ακτίνα του μορίου.

Με την μέθοδο DOSY-NMR καταγράφεται ο συντελεστής διάχυσης σε συγκεκριμένες συνθήκες και μέσω της σχέσης 5.1 μπορεί να υπολογισθεί η υδροδυναμική ακτίνα του μορίου, οπότε είναι εφικτή η άντληση πληροφοριών για το μέγεθος του μορίου.

Στο Σχήμα 5.42 βλέπουμε το φάσμα DOSY του διμερούς **5.22** (1 mM, μπλε φάσμα) και του μίγματος του διμερούς με 4 eq  $\text{adaNH}_2\cdot\text{HCl}$  (1 mM, κόκκινο φάσμα). Ο συντελεστής διάχυσης στην πρώτη περίπτωση βρέθηκε  $D_{5.22} = 1.7 \pm 0.1 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$ , ενώ στην περίπτωση του μίγματος ο συντελεστής διάχυσης βρέθηκε  $D_{\text{συμπλόκου}} = 2.3 \pm 0.1 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$ . Η θερμοκρασία των πειραμάτων ήταν και στις δύο περιπτώσεις 298 K.



Σχήμα 5.42 Σύγκριση φασμάτων DOSY του διμερούς **5.22** (1 mM, μπλε) και του μίγματος του με 4 eq **adaNH<sub>2</sub>·HCl** (κόκκινο).

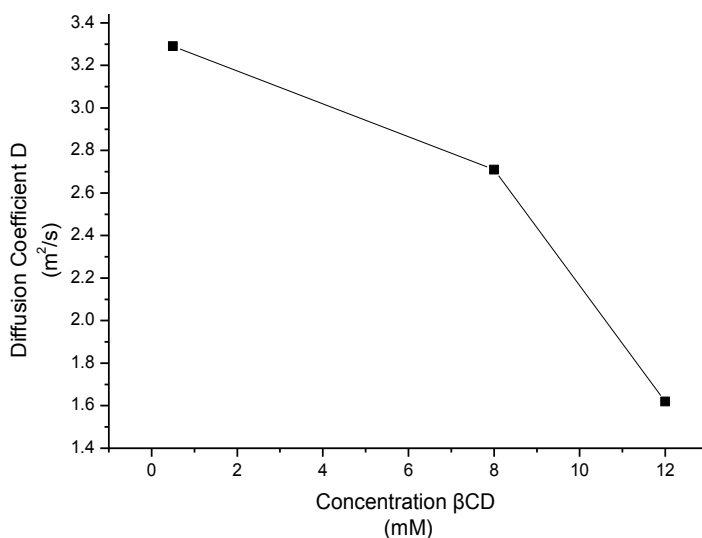
Υπολογισμός της υδροδυναμικής ακτίνας του μορίου έδωσε μη ρεαλιστικές τιμές μοριακού μεγέθους του **5.22**, ενδεχομένως επειδή δεν πρόκειται για σφαιρικό μόριο. Ωστόσο, από τα παραπάνω πειράματα DOSY λαμβάνουμε πληροφορίες για το σχετικό μέγεθος των μορίων. Όπως αναφέρθηκε, ο συντελεστής διάχυσης του καθαρού διμερούς **5.22** είναι μικρότερος από αυτόν του μίγματος του με **adaNH<sub>2</sub>·HCl**, ήτοι το διμερές κινείται πιο δύσκολα (αργά) στο διάλυμα απ' ότι το σύμπλοκό του με **adaNH<sub>2</sub>·HCl**. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι το διμερές **5.22** δημιουργεί συσσωματώματα στο νερό εξαιτίας διαμοριακής συμπλοκοποίησης μέσω των φαινυλίων του συνδέτη με τις κοιλότητες γειτονικών διμερών. Αυτά τα σύμπλοκα καταστρέφονται με την προσθήκη **adaNH<sub>2</sub>·HCl**, καθώς η **adaNH<sub>2</sub>·HCl** εισέρχεται στις κοιλότητες του διμερούς **5.22**, όπως έδειξαν τα πειράματα τιτλοδότησης. Η παρατήρηση αυτή συμφωνεί με τα πειράματα <sup>1</sup>H NMR (Σχήματα 5.38 & 5.39).

Συγκρίνοντας τις ανωτέρω τιμές  $D_{5.22}$  και  $D_{\text{συμπλ.}}$  με αυτές της  $\beta\text{CD}$ , όπως έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία σε παρόμοια συγκέντρωση (0.5 mM),<sup>72</sup>  $D_{\beta\text{CD}} = 3.29 \pm 0.07 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ , συνάγεται ότι  $D_{\beta\text{CD}} \approx 19 D_{5.22}$ , ενώ  $D_{\text{συμπλ.}} \approx 1.3 D_{5.22}$ . Αν και ο λόγος μοριακών βαρών είναι  $FW_{\beta\text{CD}}/FW_{5.22} \approx 0.38$ , ο λόγος των αντίστοιχων συντελεστών διάχυσης είναι πολύ μεγαλύτερος, γεγονός που υποδεικνύει τη σημαντική επίδραση των διαμοριακών έλξεων στην διαχυτική κίνηση του διμερούς. Η παρουσία των μορίων 1-



αδαμανταναμίνης, που καταλαμβάνουν τις δύο διαθέσιμες κοιλότητες, μειώνει τις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις, αλλά δεν τις μηδενίζει.

Επιπλέον, όπως θα αναλυθεί στην επόμενη ενότητα, η διαμόρφωση (και άρα το σχήμα) του διμερούς μεταβαίνει από την κλειστή στην ανοικτή μορφή, επομένως υπάρχουν πολλές παράμετροι που συνεισφέρουν στη μείωση του συντελεστή διάχυσης κατά μια τάξη μεγέθους, σε σύγκριση με τη βCD. Παρεπιμπτόντως, η βCD σε υδατικό διάλυμα σχηματίζει μικρά συσσωματώματα, όπως έχουν δείξει μελέτες Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (DLS)<sup>73</sup> αλλά και NMR DOSY πειράματα<sup>74</sup> (Σχήμα 5.43), οπότε οι παρατηρούμενοι μικροί συντελεστές  $D_{5,22}$  και  $D_{\text{συμπλ.}}$  ενδέχεται να οφείλονται και σε μερική συσσωμάτωση μέσω δεσμών –H μεταξύ των πολυαριθμών –OH των μονάδων βCD στο διμερές, απ' ευθείας ή μέσω πλέγματος μορίων νερού.<sup>73</sup>



**Σχήμα 5.43** Διάγραμμα μεταβολής της σταθεράς διάχυσης ( $D$ ) της βCD ως προς τη συγκέντρωση σε υδατικό διάλυμα.<sup>74b</sup>

Η συμπλοκοποιημένη **adaNH<sub>2</sub>·HCl** δεν έχει τον ίδιο συντελεστή διάχυσης με το διμερές, ενώ τα σχετικά σήματα αντιστοιχούν σε  $D = 6.6 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$  (Σχήμα 5.42). Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι αφ' ενός υπάρχει περίσσεια **adaNH<sub>2</sub>·HCl**, αφ'ετέρου βλέπουμε πάντα το μέσο όρο  $D$ .

Γενικώς, αν ο ξενιστής και το ξενιζόμενο μόριο συνδέονται ισχυρά, θα πρέπει να εμφανίζουν τον ίδιο συντελεστή διάχυσης, δεδομένου ότι στην εξίσωση ( $f =$  γραμμομοριακό κλάσμα)

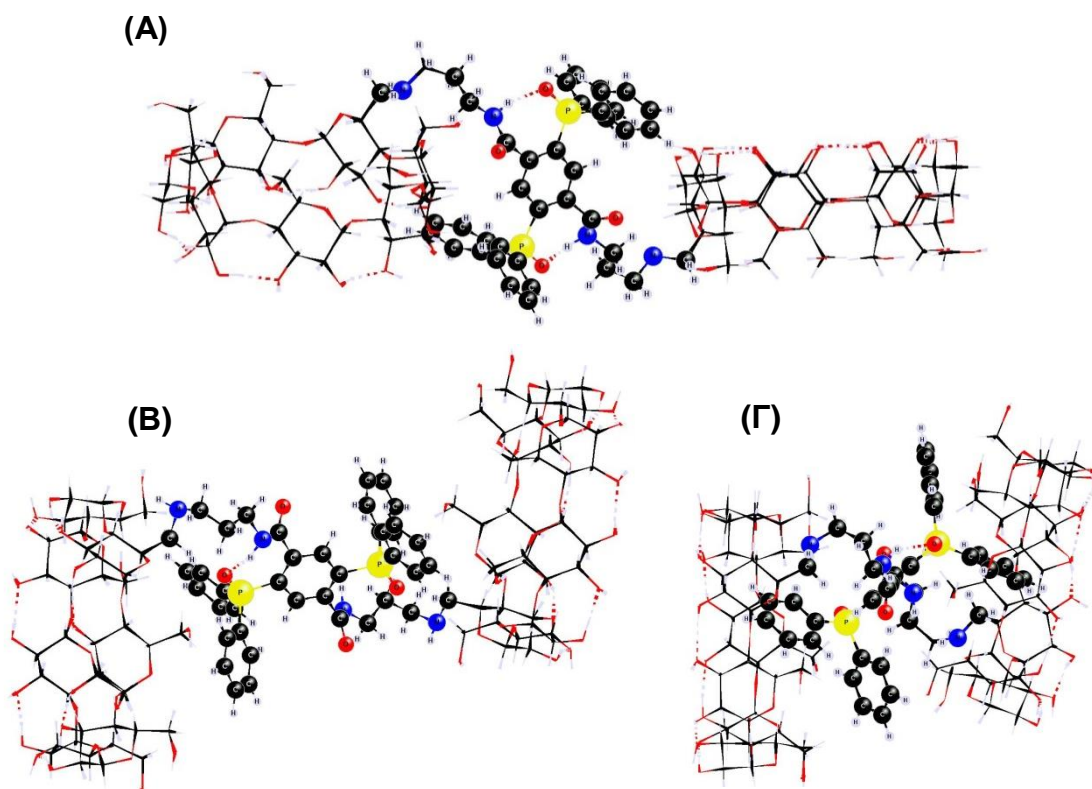
$$D_{\text{obs}} = D_{\text{bound}} \cdot f_{\text{bound}} + D_{\text{free}}(1 - f_{\text{bound}}) \quad (5.2)$$

ο δεύτερος όρος προσεγγίζει το μηδέν. Εάν όμως η σύνδεση είναι μετρίως ισχυρή ή σχετικά ασθενής και επομένως η συγκέντρωση του συμπλόκου στο διάλυμα μικρή, οι συντελεστές διάχυσης των δύο μορίων (ελεύθερο και συμπλοκοποιημένο) πρακτικά δεν διαφέρουν. Τα ανωτέρω ισχύουν σε συνθήκες ταχείας ανταλλαγής στην κλίμακα χρόνου του NMR. Στο Σχήμα 5.42, τα σήματα της **adaNH<sub>2</sub>·HCl** προφανώς αντιστοιχούν σε μέσο όρο  $D_{\text{obs}}$ , δεδομένου ότι η υπολογισθείσα  $K_{\text{συμπλ}}$  δεν είναι αμελητέα, άρα η συγκέντρωση του συμπλόκου είναι υπολογίσιμη, επομένως ο παρατηρούμενος  $D_{\text{obs}}$  είναι σαφώς μικρότερος του  $D_{\text{free-ada}}$ .

### 5.5.2.3 Θεωρητικοί Υπολογισμοί Διαμορφώσεων

Παρ' όλο που το διμερές **5.22** δημιουργεί σύμπλοκα αυτοεγκλεισμού σε υδατικό περιβάλλον, οι κοιλότητες των κυκλοδεξτρινών παραμένουν 100% διαθέσιμες προς συμπλοκοποίηση με εξωτερικά ξενιζόμενα μόρια, καθώς ο συνδέτης αποχωρεί σταδιακά από την κοιλότητα αυξανόμενης της συγκέντρωσης του ξενιζόμενου μορίου.

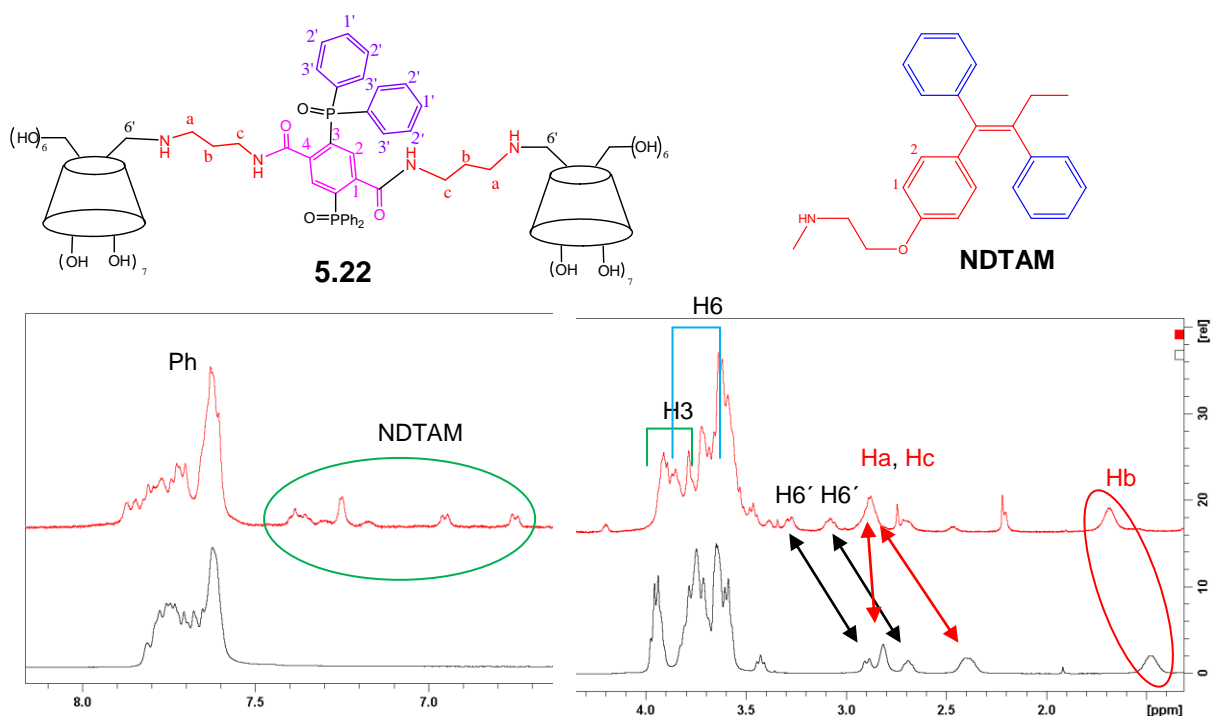
Οι τρεις ακραίες, θεωρητικώς βελτιστοποιημένες διαμορφώσεις του **5.22** (PM3, Δρ. Ι. Λαζάρου, ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος») παρουσιάζονται στο Σχήμα 5.45.<sup>68b</sup> Η ανοιχτή διαμόρφωση (Α), εμφανώς επιτρέπει τη δημιουργία διαμοριακών συμπλόκων, η δε δομή Α αποτελεί στιγμιαία εικόνα του μορίου με τις δύο βCD αντιπαράλληλες και τα φαινύλια του συνδέτη στον ενδιάμεσο χώρο. Η αναδιπλωμένη μορφή Β, ως στιγμιότυπο προ του αυτοεγκλεισμού, δείχνει ότι η κοιλότητα παραμένει διαθέσιμη, αλλά ο συνδέτης βρίσκεται κοντά στην πρωτοταγή πλευρά. Τέλος, η κλειστή μορφή (Γ), όπου πραγματοποιείται ενδομοριακός αυτοεγκλεισμός, είναι εκείνη την οποία έχουν υποδείξει τα πειράματα NMR. Και σε αυτήν την περίπτωση, όπως και στο μονομερές **5.19**, η εναλλαγή μεταξύ αυτών των διαμορφώσεων είναι αποτέλεσμα περιστροφής του συνδέτη. Σε όλες τις περιπτώσεις είναι εμφανής η σχετικώς καλή συμμετρία, σε συμφωνία με τα παρατηρούμενα φάσματα NMR.



Σχήμα 5.44 Θεωρητικώς βελτιστοποιημένες οριακές διαμορφώσεις του διμερούς 5.22: (Α) «ανοιχτή» δομή, (Β) «αναδιπλωμένη» δομή και (Γ) δομή «συμπλόκου».

#### 5.5.2.4 Συμπλοκοποίηση με N-Απομεθυλιωμένη Υδροχλωρική Ταμοξιφαίνη (NDTAM)

Είναι γνωστό ότι οι κύριοι μεταβολίτες κατά τη δράση του αντικαρκινικού TAM είναι η 4-υδροξυταμοξιφαίνη και η **NDTAM**.<sup>75</sup> Ενώ η υδατοδιαλυτότητα του **NDTAM** δεν αναφέρεται, εν τούτοις σε προηγούμενη μελέτη του εργαστηρίου διαπιστώθηκε διαλυτοποίηση του **NDTAM** παρουσία βCD, η δε διαλυτότητα ήταν >0.5 mM, δηλαδή >190 mg/L (**NDTAM/L**).<sup>76</sup> Βάσει των ανωτέρω, συνεχίστηκαν οι μελέτες του διμερούς 5.22 με **NDTAM**. Στο φάσμα ROESY του προκύψαντος διαλύματος είναι εμφανής η συμπλοκοποίηση του **NDTAM** με το διμερές 5.22, καθώς παρατηρήθηκαν διπολικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πρωτονίων του **NDTAM** και των H3 της κυκλοδεξτρίνης, ενώ στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR του μίγματος (Σχήμα 5.45), παρατηρείται προάσπιση των H3 του εσωτερικού της κοιλότητας της κυκλοδεξτρίνης και αλλαγή στις χημικές μετατοπίσεις των Ha, Hb, Hc και των H6'.



Σχήμα 5.45 Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR μίγματος του διμερούς **5.22** (1 mM) με 2 eq **NDTAM**.

Από την ολοκλήρωση των κορυφών που αντιστοιχούν στο **NDTAM** καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι η διαλυτότητα του **NDTAM** υπολογίζεται σε  $>0.3$  mM.

## 5.6 Συμπεράσματα

Η σύνδεση Staudinger χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά στην παρασκευή του μονομερούς **5.19** και του διμερούς **5.22**, με πολύ καλές αποδόσεις και ήπιες συνθήκες σε μίγμα υδατικού και οργανικού διαλύτη. Με τον νέο διδραστικό συνδέτη **5.6** κατέστη δυνατός ο διμερισμός σε ένα στάδιο. Παρ' όλο που τα προϊόντα **5.19** και **5.22** δημιουργούν ενδομοριακά και διαμοριακά σύμπλοκα σε υδατικούς διαλύτες, οι κοιλότητές τους είναι άμεσα προσβάσιμες από τα ξενιζόμενα μόρια, χωρίς η παρουσία των φαινυλίων του συνδέτη να επηρεάζει τη σταθερά σύνδεσης σε σύγκριση με τη βCD. Επι πλέον, τα φαινύλια των συνδετών τόσο στην ένωση **5.19** όσο και στην ένωση **5.22** παραμένουν κοντά στα πρωτοταγή  $-\text{OH}$ , ακόμα και σε διάλυμα DMSO, ενώ είναι πιθανόν οι πλήρως ανοικτές δομές να προάγουν τη συσσωμάτωση, γεγονός το οποίο δικαιολογεί την αργή κίνηση Brown του διμερούς **5.22** στο νερό όπως παρατηρήθηκε μετά από πειράματα DOSY NMR. Τέλος, το διμερές **5.22** αύξησε τη διαλυτότητα της *N*-απομεθυλιωμένης υδροχλωρικής Ταμοξιφαίνης (**NDTAM**) (σε  $\sim 0.3$  mM).

# 6

---

## **Παρασκευή Νέου Υδατοδιαλυτού Τριμερούς β-Κυκλοδεξτρίνης με Αντίδραση Κυκλοπροσθήκης [3+2]**

---

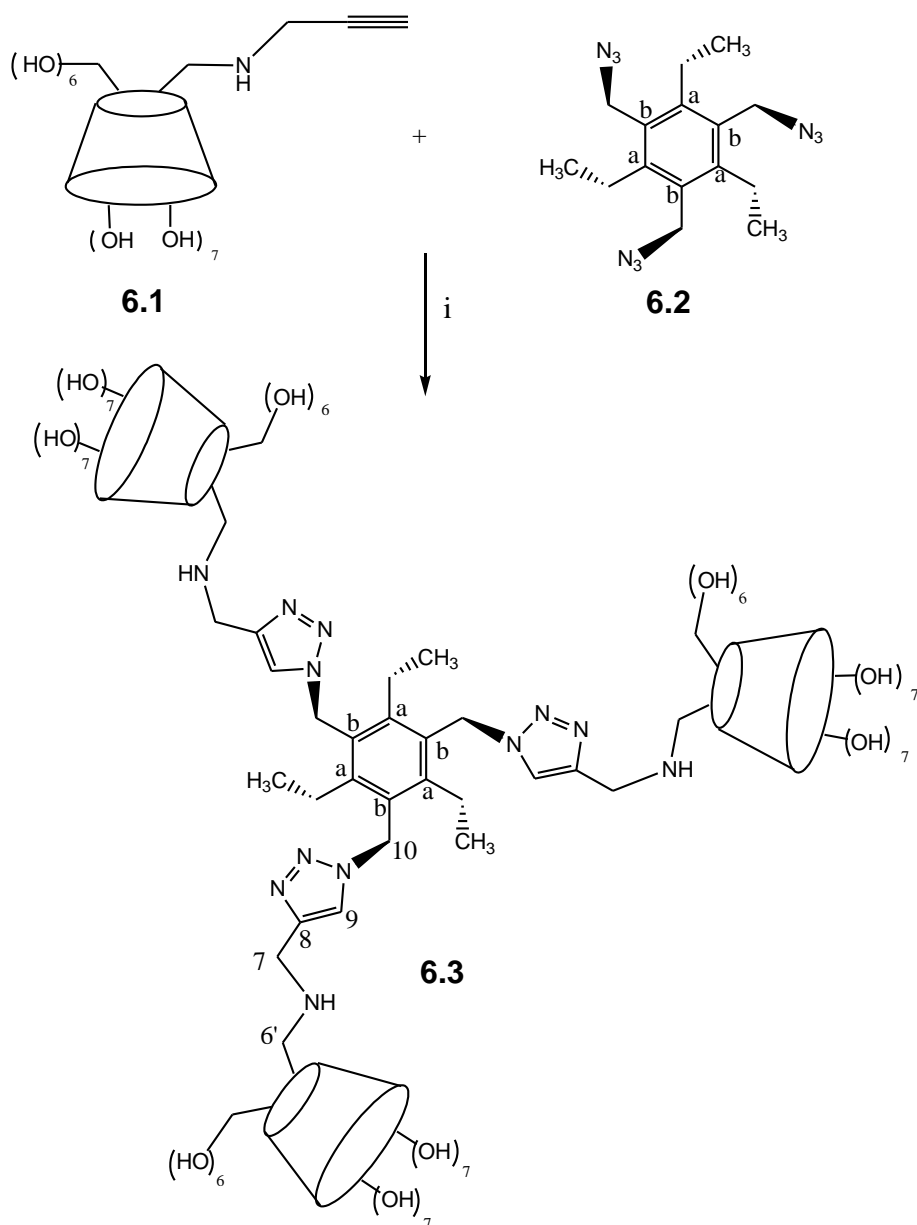


## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6- Παρασκευή Νέου Υδατοδιαλυτού Τριμερούς β-Κυκλοδεξτρίνης με Αντίδραση Κυκλοπροσθήκης [3+2]

### 6.1 Εισαγωγή- Σκοπός της σύνθεσης

Όπως αναφέρθηκε και στο κεφάλαιο 2 η καταλυόμενη από χαλκό κυκλοπροσθήκη [3+2] (αντίδραση click, CuAAC) αποτελεί ιδανική μέθοδο για την παρασκευή ολιγομερών κυκλοδεξτρινών, καθώς μπορεί να πραγματοποιηθεί σε υδατικό περιβάλλον, δεν απαιτεί ιδιαίτερο χειρισμό και δεν παράγονται ανεπιθύμητα παραπροϊόντα. Στόχος μας ήταν η σύνθεση τριμερούς κυκλοδεξτρινών (**6.3**), μέσω εύκολης και γρήγορης αντίδρασης μεταξύ του συνδέτη **6.2** και της κατάλληλα μονοϋποκατεστημένης κυκλοδεξτρίνης **6.1** (Σχήμα 6.1). Όπως επισημάνθηκε στην εισαγωγή (Κεφάλαιο 2, επισκόπηση παρασκευών ολιγομερών CDs), η επιλογή του συνδέτη είναι κεντρικής σημασίας, εάν το στοχευόμενο ολιγομερές πρέπει να διαθέτει ανεξάρτητες μονάδες CD, να μην αυτο-εγκλωβίζει το συνδέτη, να διαθέτει υδατοδιαλυτότητα και να παρασκευάζεται με εύκολο τρόπο.<sup>20</sup>

Κατά την προσέγγιση αυτή, για την παρασκευή τριμερούς επελέγη ο τριαζιδοτριαϊθυλο συνδέτης **6.2**, ο οποίος φαίνεται να μην έχει τη δυνατότητα αυτο-εγκλωβισμού, λόγω μεγέθους. Επιπλέον, ως προαπαιτούμενο παράγωγο CD για την επικείμενη αντίδραση click σχεδιάστηκε το αλκίνιο **6.1**, το οποίο, αντιθέτως από την μονο[6-(3-αζιδοπροπυλαμινο-6-δεοξυ)-β-κυκλοδεξτρίνη (**5.17**), δεν θα παρείχε μεγάλη ευκαμψία στο τελικό προϊόν (Σχήμα 6.1). Επιπροσθέτως, η συμμετρία του **6.2**, ευνοεί εξ' ίσου την κάθε μία από τις ομάδες  $-N_3$  έναντι αντίδρασης με το **6.1**. Τέλος, η αντίδραση σε κάθε μία από τις  $-N_3$ , δεν αναμένεται να παρεμποδίσει τις αντιδράσεις στα άλλα σημεία του **6.2**.

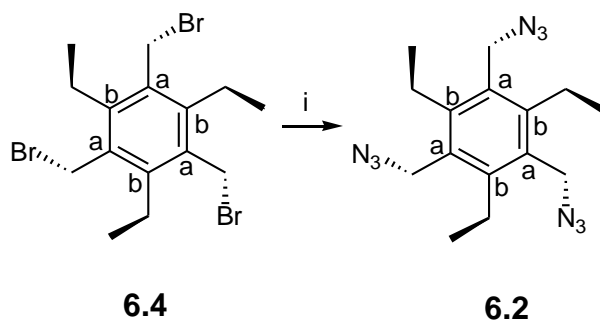


Σχήμα 6.1 Σύνθεση του τριμερούς 6.3. i)  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , ασκορβικό νάτριο,  $\text{DMSO}:\text{H}_2\text{O}$  (15:1), 50 °C, 48 h, 98%.

## 6.2 Σύνθεση και Χαρακτηρισμός του Συνδέτη (1,3,5-Τριαζιδομεθυλο-2,4,6-τριαιθυλοβενζόλιο)

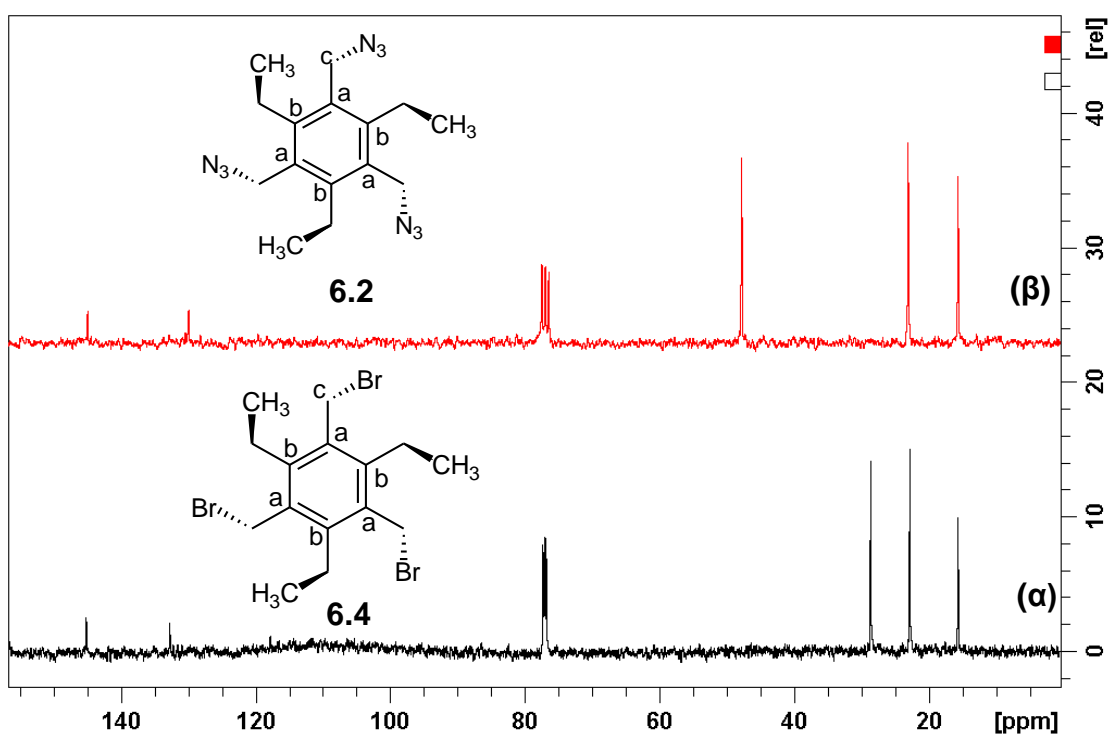
Για τη σύνθεση του επιθυμητού τριμερούς 6.3, παρασκευάστηκε αρχικά σύμφωνα με τη βιβλιογραφία,<sup>77</sup> ο συνδέτης 6.2, χρησιμοποιώντας ως πρώτη ύλη το εμπορικά διαθέσιμο 1,3,5-τριβρωμο-2,4,6-τριαιθυλοβενζόλιο (6.4), το οποίο μετατράπηκε στο τριαζιδο-προϊόν 6.2 (απόδοση 54%) (Σχήμα 6.2).





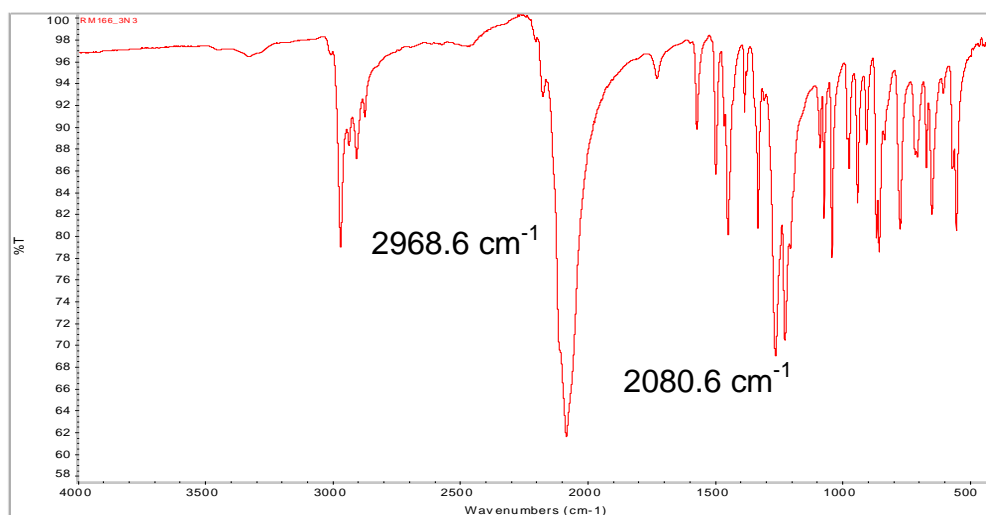
**Σχήμα 6.2** Σύνθεση του συνδέτη **6.2**. i) DMF, NaN<sub>3</sub>, 30 °C, 24 h, 54%.

Η ταυτοποίηση του προϊόντος πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπία NMR.<sup>77</sup> Συγκεκριμένα, από το φάσμα <sup>13</sup>C NMR της ένωσης **6.2** επιβεβαιώνεται η υποκατάσταση του -Br με αζιδομάδα, καθώς είναι εμφανής η μετατόπιση του σήματος Cc, από τα 28.7 ppm (**6.4**) στα 47.9 ppm (**6.2**) (Σχήμα 6.3).



**Σχήμα 6.3** Φάσματα <sup>13</sup>C NMR της ένωσης **6.4** (125 MHz) (α) και **6.2** (62.9 MHz) (β) σε CDCl<sub>3</sub>.

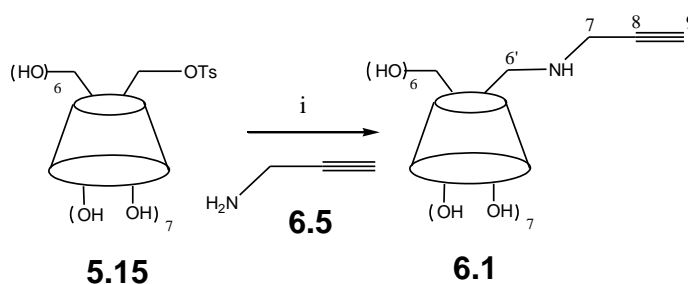
Επίσης, χαρακτηριστικό είναι το φάσμα IR, όπου εμφανίζεται μια ισχυρή κορυφή στα 2080.6 cm<sup>-1</sup> η οποία αντιστοιχεί στην ασύμμετρη δόνηση τάσης της ομάδας -N<sub>3</sub> (Σχήμα 6.4). Το στερεό προϊόν φυλάχθηκε στους -20 °C, όπου ήταν ιδιαίτερος σταθερό.



Σχήμα 6.4 Φάσμα IR της ένωσης 6.2.

### 6.3 Σύνθεση και Χαρακτηρισμός της Μονο(6-αμινο-*N*-προπαργυλο-6-δεοξυ)-β-Κυκλοδεξτρίνης

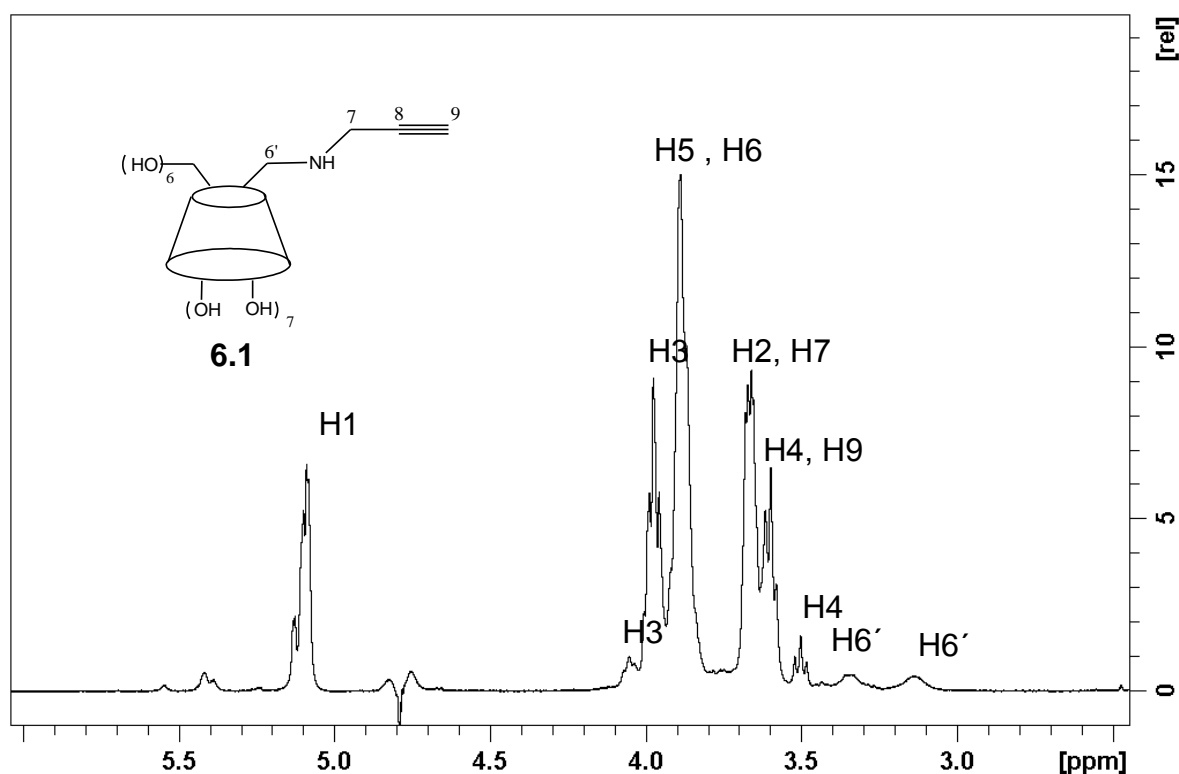
Για τη σύνθεση της μονοϋποκατεστημένης κυκλοδεξτρίνης **6.1** χρησιμοποιήθηκε η γνωστή μονο(6-*p*-τολουϋλοσουλφονυλο)-βCD (**5.15**), η οποία συντέθηκε σύμφωνα με τη βιβλιογραφία.<sup>17</sup> Ως διαλύτης χρησιμοποιήθηκε προπαργλαμίνη (**6.5**) και το διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 24 h στους 60 °C (Σχήμα 6.5).



Σχήμα 6.5 Σύνθεση της μονο(6-αμινο-*N*-προπαργυλο-6-δεοξυ)-β-κυκλοδεξτρίνης (**6.1**). i) 60 °C, 24 h, 76%.

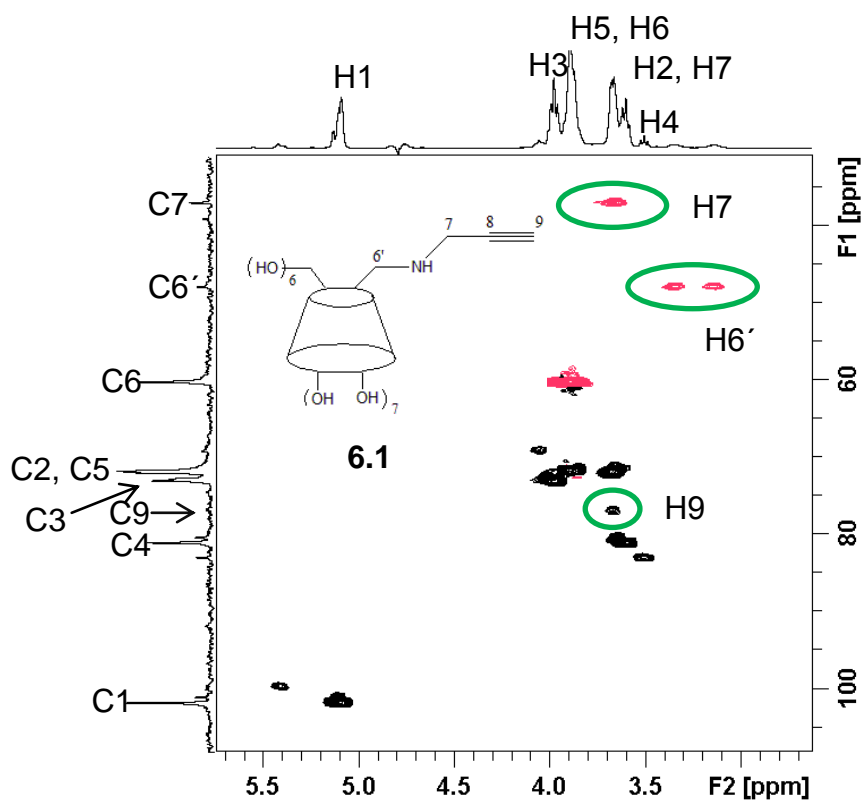
Ο καθαρισμός του προϊόντος **6.1** πραγματοποιήθηκε με ανιονανταλλακτική ρητίνη (Amberlite IRA-400) σε pH 9, για την απομάκρυνση του παραγόμενου *p*-τολουϋλοσουλφονικού οξέος και κατιονανταλλακτική ρητίνη (Amberlite IR120, H<sup>+</sup>) σε pH 9 για την απομάκρυνση της περίσσειας της προπαργλαμίνης (**6.5**). Στη συνέχεια, το προϊόν καταβυθίστηκε με ακετόνη, επαναδιαλυτοποιήθηκε σε νερό, το pH ρυθμίστηκε έως 10 και το διάλυμα εκπλύθηκε με CHCl<sub>3</sub>, για την απομάκρυνση τυχόν

σχηματισθέντων ολιγομερών της προπαργουλαμίνης. Τέλος, το καθαρό υδατοδιαλυτό προϊόν, μετά από τοποθέτηση σε μεμβράνη διαπίδυσης προς απομάκρυνση των αλάτων, παρελήφθη με απόδοση 76%. Η ταυτοποίηση του προϊόντος **6.1** πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπία NMR (Σχήμα 5.6) και φασματομετρία μάζας (MALDI-TOF) όπου παρατηρήθηκε το αναμενόμενο μοριακό ιόν  $m/z$  1195.56  $[M+Na]^+$ , θεωρ.  $C_{45}H_{73}NO_{34}Na$ : 1195.04].



**Σχήμα 6.6** Φάσμα  $^1H$  NMR της μονο(6-αμινο-*N*-προπαργουλο-6-δεοξυ)- $\beta$ -κυκλοδεξτρίνης (**6.1**) σε  $D_2O$ , με κορεσμό της κορυφής του διαλύτη HDO στα 4.75 ppm.

Στο φάσμα  $^1H$  NMR, μεταξύ 3.4 και 3.0 ppm, διακρίνονται τα  $H6'$  της υποκατεστημένης γλυκόζης του προϊόντος **6.1** (Σχήμα 6.6). Επιπροσθέτως, στο φάσμα HSQC-edited (Σχήμα 6.7) της ένωσης **6.1** σε  $D_2O$ , παρατηρούμε το σήμα του  $H7$  της προπαργουλομάδας στα 3.66 ppm καθώς και αυτό του  $H9$  του τριπλού δεσμού στα 3.67 ppm (Σχήμα 6.7), επιβεβαιώνοντας τη δομή **6.1**. Επιπλέον, ο C9 του τριπλού δεσμού δίνει μία ευρεία και χαμηλής έντασης κορυφή στο φάσμα  $^{13}C$  NMR, καθώς έχει μεγάλο χρόνο αποδιέγερσης. Το παράγωγο **6.1** αποτελεί νέα μονοϋποκατεστημένη κυκλοδεξτρίνη.

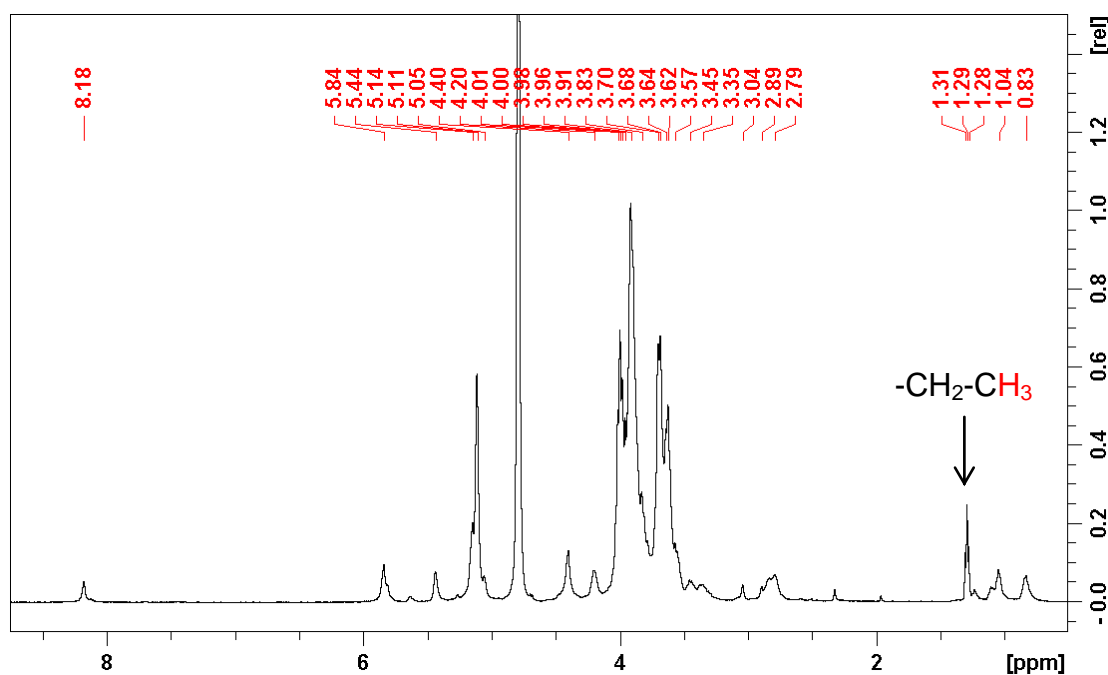


Σχήμα 6.7 Φάσμα edited HSQC της μονο(6-αμινο-*N*-προπαργυλο-6-δεοξυ)-β-κυκλοδεξτρίνης (**6.1**) σε D<sub>2</sub>O.

#### 6.4 Σύνθεση και Χαρακτηρισμός του Τριμερούς

Για τη σύνθεση του επιθυμητού τριμερούς **6.3** (Σχήμα 6.1) χρησιμοποιήθηκαν διάφοροι διαλύτες και καταλύτες χαλκού (Πίνακας 6.1). Πραγματοποιήθηκαν ευάριθμες δοκιμές σύνθεσης με διαφορετικούς καταλύτες χαλκού σε συνδυασμό με αλλαγές στους χρόνους, θερμοκρασίες και διαλύτες των αντιδράσεων, ώστε να βελτιστοποιηθεί η μέθοδος για τη σύνδεση **6.1** με **6.2**. Ένας από τους κατάλύτες, ο CuI(EtO)<sub>3</sub>P (Iodo(triethyl phosphite)copper(I)), κρίθηκε ακατάλληλος καθώς η αντίδραση δεν ολοκληρωνόταν, με αποτέλεσμα να παραλαμβάνεται μίγμα του επιθυμητού τριμερούς **6.3** και διμερούς κυκλοδεξτρινών. Έγιναν προσπάθειες διαχωρισμού αυτών των δύο παραγώγων (Sephadex G15, silica, SPE), ωστόσο ήταν αδύνατο να διαχωριστούν, ίσως διότι πραγματοποιείτο εγκλωβισμός του καταλύτη στις κοιλότητες των κυκλοδεξτρινών του επιθυμητού προϊόντος **6.3** στο διάλυμα, όπως διαπιστώθηκε από το φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Σχήμα 6.8), καθιστώντας αδύνατο τον καθαρισμό. Πραγματοποιήθηκαν προσπάθειες καθαρισμού με στήλη Sephadex G15 με διαλύτη έκλουσης υδατικό διάλυμα NaCl (0.15 M) είτε με διαλύτη έκλουσης υδατικό διάλυμα

NH<sub>4</sub>OH (pH 10), με χρωματογραφία στήλης με σίλικα και διαλύτη έκλουσης CH<sub>3</sub>CN:H<sub>2</sub>O (5:2, v/v), καθώς και με τη χρήση κατιονανταλλακτικής ρητίνης (Amberlite IR120, H<sup>+</sup>), χωρίς καλά αποτελέσματα: από το φάσμα <sup>1</sup>H NMR κλάσματος από προσπάθεια καθαρισμού του μίγματος με Sephadex G15, φαίνεται ξεκάθαρα μια κορυφή στα 1.05 ppm, η οποία αντιστοιχεί στην –CH<sub>3</sub> ομάδα του καταλύτη, καθώς επίσης δύο ευρείες απλές κορυφές οι οποίες αποδίδονται σε δύο διαφορετικές –CH<sub>3</sub> ομάδες (Σχήμα 6.8).



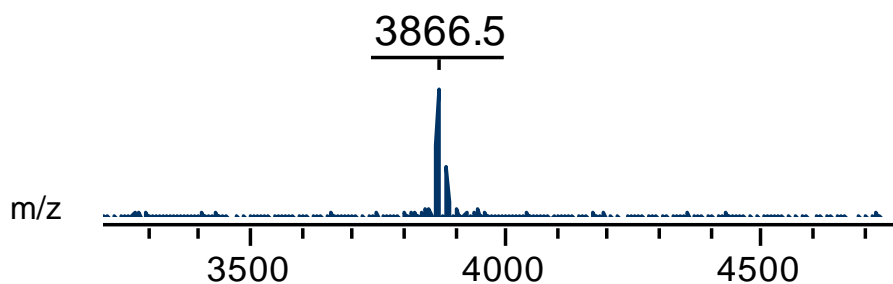
**Σχήμα 6.8** Φάσμα <sup>1</sup>H NMR μίγματος αντίδρασης όπου χρησιμοποιήθηκε ως καταλύτης CuI(CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>P.

Εν συνεχεία, η αντίδραση με CuBr ως καταλύτη, έδωσε πολύπλοκο μίγμα ο καθαρισμός του οποίου ήταν αδύνατος. Τέλος, χρησιμοποιήθηκε CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O ως καταλύτης, ο οποίος έδωσε τα καλύτερα αποτελέσματα. Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε διάφορες θερμοκρασίες, διάφορα μίγματα διαλυτών και με διάφορους χρόνους αντίδρασης. Το μίγμα DMSO:H<sub>2</sub>O αποδείχθηκε ως ο καταλληλότερος διαλύτης. Σημαντικό είναι το γεγονός ότι ο καταλύτης χαλκού πρέπει να χρησιμοποιηθεί σε στοιχειομετρική αναλογία με την ένωση **6.6**, καθώς δημιουργεί σύμπλοκα με τις κυκλοδεξτρίνες και καθίσταται ανενεργός.<sup>30, 39</sup> Επιπροσθέτως, ο χαλκός αναμένεται να δημιουργεί ισχυρά σύμπλοκα και με τους τριαζολικούς δακτυλίους του τελικού προϊόντος **6.3**, συνεπώς, με την πρόοδο της αντίδρασης μειώνεται ακόμα περισσότερο η διαθεσιμότητα του καταλύτη.

**Πίνακας 6.1 Προσπάθειες παρασκευής και απομόνωσης επιθυμητού τριμερούς.**

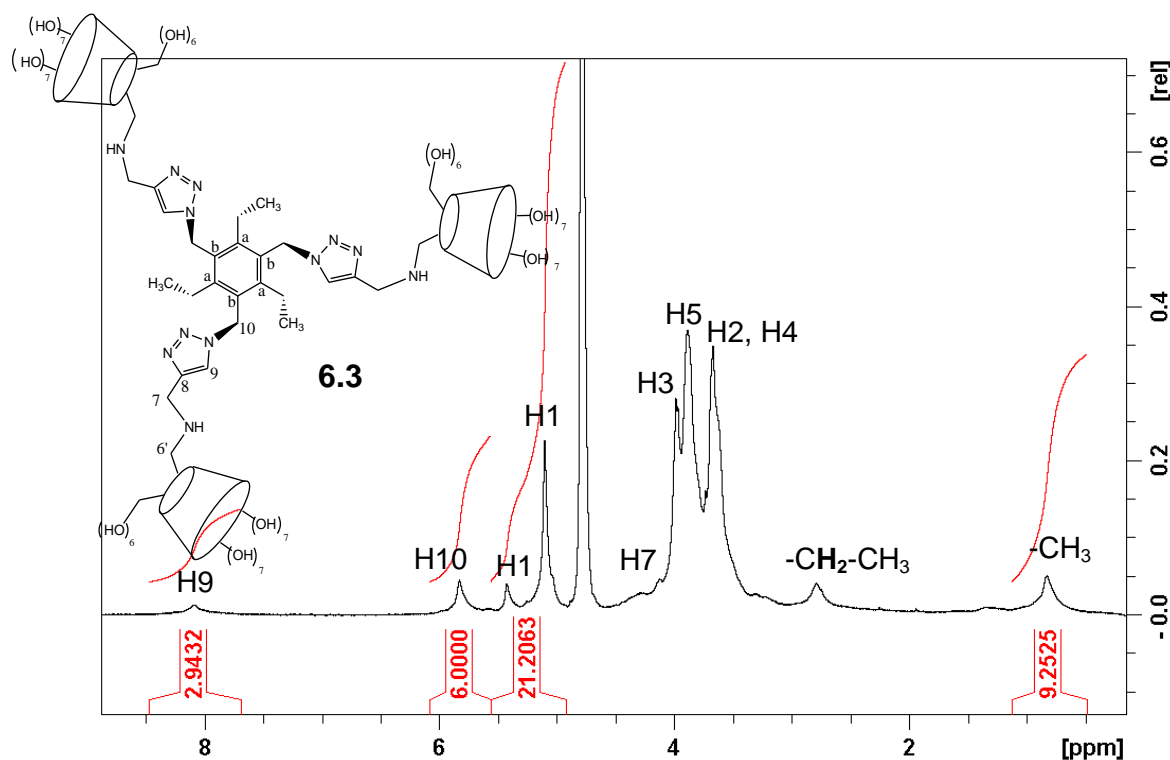
	[6.2]/ [6.1]	Θ (°C)	Χρόνος (ημέρες)	Καταλύτης	Διαλύτης (v/v, mL)	Καθαρισμός Απόδοση
1η (x2)	0.3	30	2	CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	DMF:H <sub>2</sub> O (10:0.1)	Sephadex G15, χαμηλή απόδοση
2η	0.17	40	2	CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	DMF:H <sub>2</sub> O (25:0.1)	Sephadex G15, α = 62%.
3η	0.3	105	1	CuI(EtO) <sub>3</sub> P	DMF	Προσρόφηση του προϊόντος σε στήλη σιλίκας
4η	0.3	105	1	CuI(EtO) <sub>3</sub> P	DMF	Πιθανή αλληλεπίδραση του καταλύτη με τις CDs
5η	0.3	105	2 (sealed)	CuI(EtO) <sub>3</sub> P	DMF	Διάσπαση αρχικής κυκλοδεξτρίνης
6η	0.15	30	2	CuBr	DMF:H <sub>2</sub> O (10:0.1)	Αδύνατος καθαρισμός
<b>7η</b>	<b>0.3</b>	<b>50</b>	<b>2</b>	<b>CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O</b>	<b>DMSO:H<sub>2</sub>O</b> <b>(15:1)</b>	<b>Sephadex G15,</b> <b>α = 98%.</b>

Τελικά, για την παρασκευή του τριμερούς **6.3** παρασκευάστηκε διάλυμα του συνδέτη **6.2** και της κυκλοδεξτρίνης **6.6** σε DMSO και προστέθηκε CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O. Το χαμηλό κόστος του καταλύτη αυτού επιτρέπει τη στοιχειομετρική χρήση του στην αντίδραση. Στο πράσινο διάλυμα που προέκυψε, προστέθηκε σταδιακά προσφάτως παρασκευασμένο υδατικό διάλυμα ασκορβικού νατρίου. Το χρώμα του διαλύματος άλλαξε σε καφέ, προφανώς λόγω αλλαγής της οξειδωτικής κατάστασης του Cu. Η απομάκρυνση του χαλκού πραγματοποιήθηκε με κατιονανταλλακτική ρητίνη (Amberlite IR120, H<sup>+</sup>) σε pH 9. Το επιθυμητό τριμερές **6.3** παρελήφθη μετά από στήλη Sephadex G15 με διαλύτη έκλουσης υδατικό διάλυμα NaCl (0.15 M) και απόδοση 98%. Η ταυτοποίηση του προϊόντος πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπία NMR (1D και 2D) και φασματομετρία μάζας: m/z 3866.5 [M+Na]<sup>+</sup>, θεωρ. για C<sub>105</sub>H<sub>169</sub>N<sub>9</sub>O<sub>68</sub>Na: 3866.53 (Σχήμα 6.9).



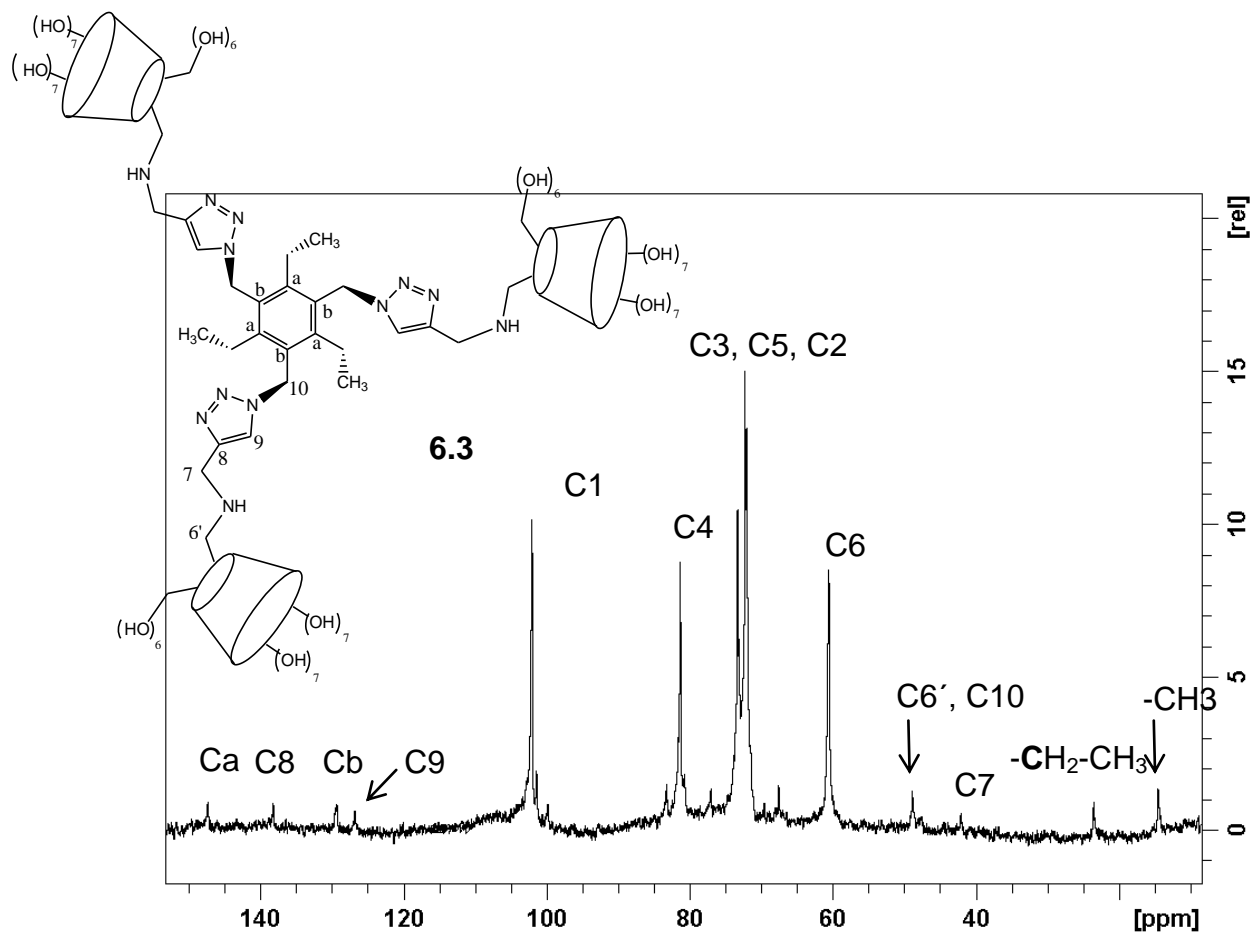
Σχήμα 6.9 Φάσμα μάζας του τριμερούς 6.3.

Στο φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του τριμερούς **6.3** (Σχήμα 6.10), εμφανίζονται ευρείες κορυφές οι οποίες πιθανώς να οφείλονται στα διαμορφομερή της ένωσης **6.3** τα οποία συνυπάρχουν σε υδατικό διάλυμα. Στα 8.10 ppm διακρίνουμε μια ευρεία κορυφή η οποία αντιστοιχεί στο H9 του τριαζολικού δακτυλίου, απόδειξη ότι πραγματοποιήθηκε η αντίδραση “Click”. Επίσης, χαρακτηριστική είναι η κορυφή του προϊόντος **6.3** στα 5.82 ppm, η οποία αντιστοιχεί στο H10 του τριμερούς και παρουσιάζει χαρακτηριστική χημική μετατόπιση πρωτονίου το οποίο βρίσκεται δίπλα σε τριαζολικό δακτύλιο. Τέλος, στα 2.77 και 0.80 ppm διακρίνουμε δύο ευρείες απλές κορυφές οι οποίες αντιστοιχούν στην αιθυλομάδα του συνδέτη. Μέσω της ολοκλήρωσης των κορυφών που αντιστοιχούν στα H1, H9, H10 και τα H της μεθυλομάδας του συνδέτη, αποδεικνύεται ότι πρόκειται για το καθαρό τριμερές.



Σχήμα 6.10 Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης 6.3 σε  $\text{D}_2\text{O}$ .

Στο φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR του τριμερούς **6.3** (Σχήμα 6.11) μπορούμε να διακρίνουμε στα 126.7 ppm τον C9 του τριαζολικού δακτυλίου καθώς επίσης και τους Ca και Cb στα 147.3 και 129.3 ppm αντίστοιχα, οι οποίοι ανήκουν στο αρωματικό τμήμα του τριδραστικού συνδέτη **6.2**.



Σχήμα 6.11 Φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR του τριμερούς **6.3** σε  $\text{D}_2\text{O}$  (125 MHz).

Επίσης, διακρίνουμε τους άνθρακες της αίθυλο ομάδας του συνδέτη στα 23.5 και 14.5 ppm, ενώ ο C6' των υποκατεστημένων γλυκοζών εμφανίζει την ίδια χημική μετατόπιση με αυτήν του C10 του συνδέτη. Στο φάσμα ROESY του τριμερούς **6.3** είναι εμφανείς όλες οι αναμενόμενες διπολικές αλληλεπιδράσεις οι οποίες αναμένονται μετά το σχηματισμό του τριμερούς, οι οποίες συνοψίζονται στον Πίνακα 6.2. Δεν ανιχνεύθηκαν διπολικές αλληλεπιδράσεις του συνδέτη ή των τριαζολικών με το εσωτερικό των  $\beta\text{CDs}$ , επομένως το τριμερές, εκτός από ικανοποιητική υδατοδιαλυτότητα θα έχει και τη δυνατότητα εγκλωβισμού σε τρεις διαφορετικές CDs.



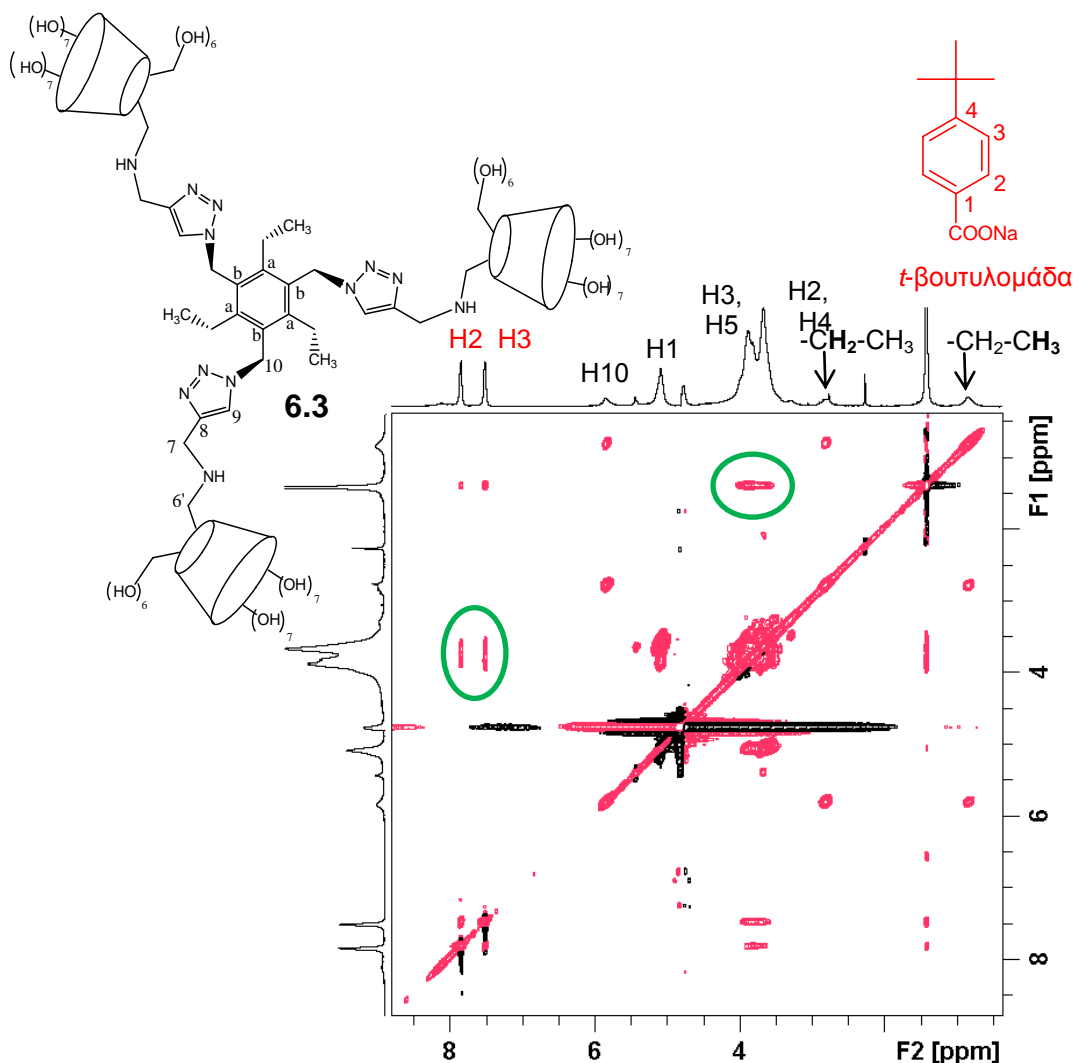
**Πίνακας 6.2 Διπολικές αλληλεπιδράσεις οι οποίες εμφανίζονται στο φάσμα ROESY του τριμερούς 6.3 σε D<sub>2</sub>O στους 25 °C.**

	H7	H9	H10	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>
H7		X		X	X
H9	X			X	X
H10		X		X	X
-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	X	X	X		X
-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	X	X	X	X	

## 6.5 Σχηματισμός Συμπλόκων Εγκλεισμού του Τριμερούς

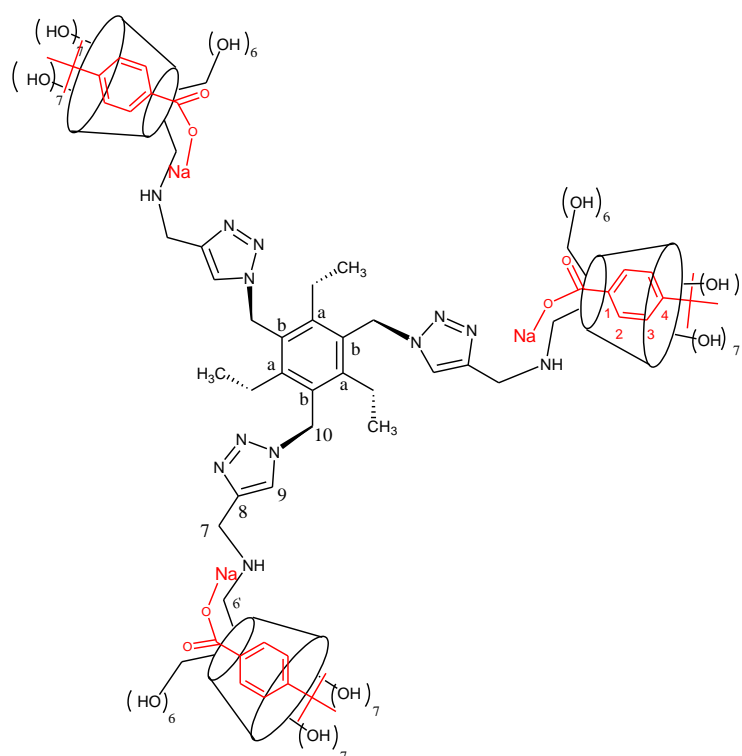
### 6.5.1 Συμπλοκοποίηση με 4-*t*-Βουτυλοβενζοϊκό Οξύ

Μετά τη σύνθεση, την απομόνωση και την ταυτοποίηση του τριμερούς **6.3**, πραγματοποιήθηκαν δοκιμές συμπλοκοποίησης με 4-*t*-βουτυλοβενζοϊκό οξύ, το οποίο αποτελεί ιδανικό ξενιζόμενο μόριο για την κοιλότητα της βCD.<sup>78</sup> Με αυτόν τον τρόπο ερευνήθηκε η διαθεσιμότητα των κοιλοτήτων του τριμερούς προς συμπλοκοποίηση. Αρχικά παρασκευάστηκε διάλυμα του τριμερούς **6.3** σε ρυθμιστικό διάλυμα (PBS σε D<sub>2</sub>O, 1 mM, pH = 7.4) το οποίο παρέμεινε υπό ανάδευση για 12 h μέχρι την πλήρη διαλυτοποίηση του τριμερούς. Εν συνεχεία, προστέθηκαν τρία ισοδύναμα 4-*t*-βουτυλοβενζοϊκού οξέος (ένα ξενιζόμενο μόριο για κάθε κοιλότητα του τριμερούς **6.3**) και το αιώρημα παρέμεινε υπό ανάδευση για 24 h, οπότε και διαυγάστηκε σε διάλυμα. Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR του μίγματος που προέκυψε ήταν εμφανές ότι έχει επέλθει συμπλοκοποίηση, καθώς εμφανίζονταν οι κορυφές του ξενιζομένου μορίου, από την ολοκλήρωση δέ των κορυφών φαίνεται ότι αντιστοιχούν τρία μόρια *t*-βουτυλοβενζοϊκού οξέος για κάθε μόριο τριμερούς **6.3**. Το γεγονός αυτό επιβεβαιώθηκε από φάσμα NOESY (Σχήμα 6.12) όπου εμφανίζονται διπολικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αρωματικών πρωτονίων του ξενιζόμενου μορίου και των H3 και H5 των CDs, καθώς επίσης και της *t*-βουτυλομάδας του ξενιζόμενου μορίου με τα H3 και H5 της κοιλότητας.



Σχήμα 6.12 Φάσμα NOESY του μίγματος τριμερούς 6.3 (1 mM) με 3 eq *t*-βουτυλοβενζοϊκού οξέος (άλας με Na) (PBS σε D<sub>2</sub>O, 500 MHz, 298 K).

Συγκεκριμένα, από το φάσμα NOESY παρατηρούμε διπολική αλληλεπίδραση του **H2** του *t*-βουτυλοβενζοϊκού οξέος με το H5 της CD, ενώ το **H3** του *t*-βουτυλοβενζοϊκού οξέος παρουσιάζει διπολική αλληλεπίδραση με το H3 της CD. Τέλος, η *t*-βουτυλομάδα παρουσιάζει διπολικές αλληλεπιδράσεις με το H3 της CD. Συνεπώς, καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι το *t*-βουτυλοβενζοϊκό οξύ εισέρχεται στην κοιλότητα των κυκλοδεξτρινών από τη δευτεροταγή πλευρά με την καρβοξυλομάδα να προσεγγίζει την πρωτοταγή πλευρά, τη δε *t*-βουτυλομάδα να εξέρχεται από τη δευτεροταγή πλευρά (Σχήμα 6.13), τρόπος που συμφωνεί με τη βιβλιογραφία, και συγκεκριμένα με κρυσταλλογραφική ανάλυση δομής του συμπλόκου του *t*-βουτυλοβενζοϊκού οξέος με τη βCD με ακτίνες Χ.<sup>78</sup>



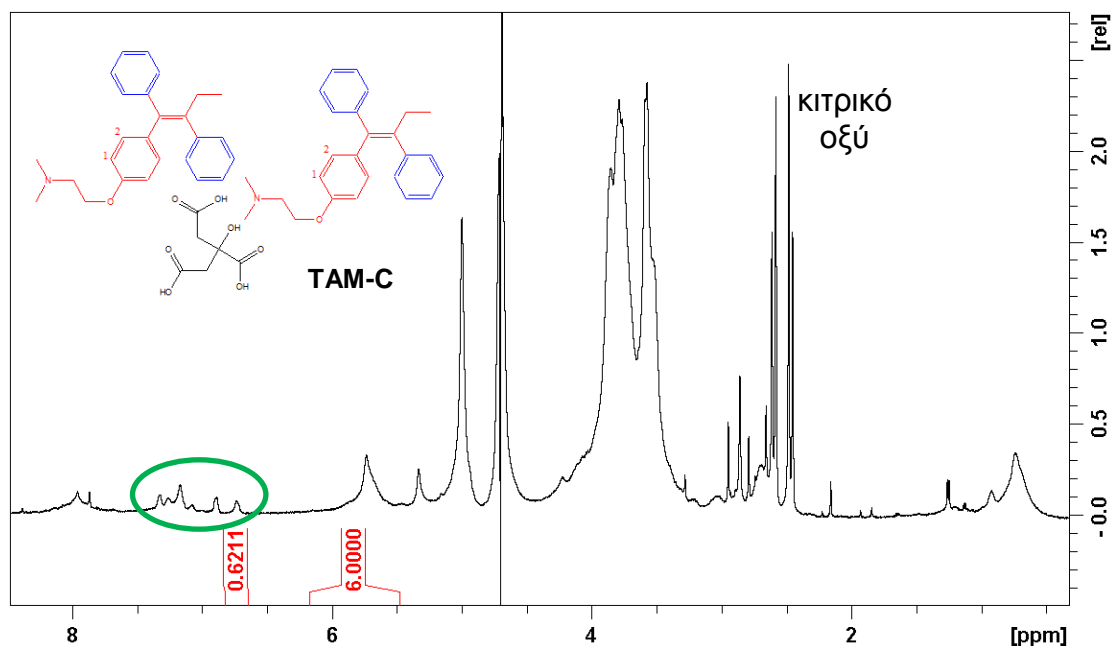
**Σχήμα 6.13 Σχηματική απεικόνιση του συμπλόκου του τριμερούς 6.3 με το *t*-βουτυλοβενζοϊκό οξύ.**

Επίσης, πρέπει να αναφερθεί ότι οι διπολικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ του ξενιζόμενου μορίου και της CD ανιχνεύθηκαν με φάσμα NOESY και όχι ROESY, υποδεικνύοντας ότι το τριμερές με μοριακό βάρος 3843.53 προφανώς συμπεριφέρεται ως μεγαλομόριο και παρουσιάζει  $\omega_0 \cdot \tau_c < 1$ , όπου  $\tau_c$  = χρόνος συσχετισμού (correlation time) και  $\omega_0$  = συχνότητα Larmor (500 MHz), δηλαδή στο διάλυμα περιστρέφεται με  $\tau_c < 0.2 \times 10^{-6}$  s και επομένως εμφανίζει αρνητικά NOE. Συνεπώς, αποδείχτηκε ότι οι κοιλότητες τους τριμερούς 6.3 είναι ελεύθερες προς συμπλοκοποίηση με ξενιζόμενα μόρια και δρουν ανεξάρτητα η μία από την άλλη.

### 6.5.2 Συμπλοκοποίηση με Κιτρική Ταμοξιφαίνη (TAM-C)

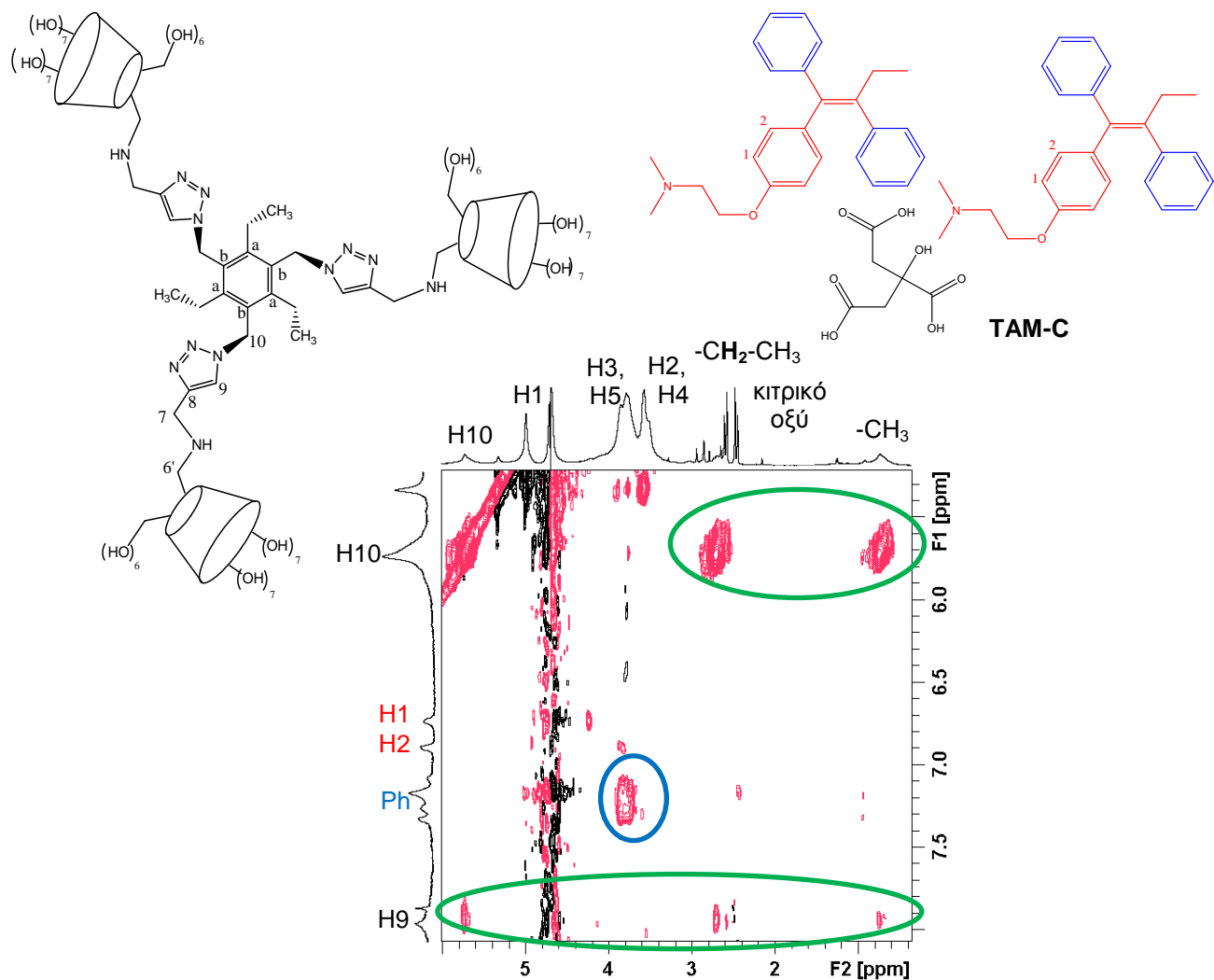
Μετά τα πειράματα συμπλοκοποίησης του τριμερούς 6.3 με 4-*t*-βουτυλο-βενζοϊκό οξύ, σειρά είχαν πειράματα συμπλοκοποίησης με αντικαρκινικά φάρμακα. Οι πρώτες δοκιμές πραγματοποιήθηκαν με την κιτρική ταμοξιφαίνη (Tamoxifen Citrate, **TAM-C**), ένα μη στερεοειδές αντι-οιστρογόνο (selective estrogen receptor modulator, SERM), διατίθεται με την εμπορική ονομασία Nolvadex και χρησιμοποιείται κατά του καρκίνου του μαστού.<sup>79</sup> Αρχικά παρασκευάστηκε διάλυμα του τριμερούς σε υδατικό ρυθμιστικό διάλυμα PBS (1 mM, pH = 7.4) σε δευτεριωμένο D<sub>2</sub>O, το οποίο παρέμεινε υπό

ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 12 h. Μετά την πλήρη διαλυτοποίηση του τριμερούς προστέθηκαν στο διάλυμα 1.3 eq **TAM-C** και το αιώρημα που προέκυψε παρέμεινε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 12 h. Από το  $^1\text{H}$  NMR του διαλύματος διαπιστώθηκε η συμπλοκοποίηση του τριμερούς **6.3** με το **TAM-C** (Σχήμα 6.14), όπου εμφανίζονται οι χαρακτηριστικές κορυφές των αρωματικών δακτυλίων του **TAM-C** στην περιοχή 6.5-7.5 ppm. Από την ολοκλήρωση των κορυφών συμπεραίνουμε ότι η αναλογία είναι σχεδόν 1:0.3 (**6.3/TAM-C**).



Σχήμα 6.14 Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του διαλύματος τριμερούς **6.3** με **TAM-C** σε υδατικό ρυθμιστικό διάλυμα PBS (pH = 7.4) (500 MHz, 298 K).

Ο λόγος για τον οποίο επελέγη το **TAM-C** ως ξενιζόμενο μόριο είναι ότι εμφανίζει κάποια ελάχιστη υδατοδιαλυτότητα, ενώ το ουδέτερο **TAM**, είναι τελείως αδιάλυτο στο νερό. Ωστόσο, από το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR παρατηρούμε ότι η ποσότητα του **TAM** η οποία συμπλοκοποιείται με το τριμερές **6.3** είναι μικρή και είναι πολύ μικρότερη συγκριτικά με αυτή του κιτρικού οξέος. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι το κιτρικό ανιόν δεσμεύεται από τους τριαζολικούς δακτυλίους του τριμερούς **6.3** ως αντισταθμιστικό ιόν, με αποτέλεσμα τη μείωση της υδατοδιαλυτότητας του **TAM-C**, οπότε μικρό μόνο μέρος περνά στο διάλυμα. Η συμπλοκοποίηση επιβεβαιώνεται και από φάσμα NOESY (Σχήμα 6.15), όπου παρατηρούμε διπολικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αρωματικών πρωτονίων του **TAM** και των εσωτερικών υδρογόνων H3 και H5 του τριμερούς **6.3**.

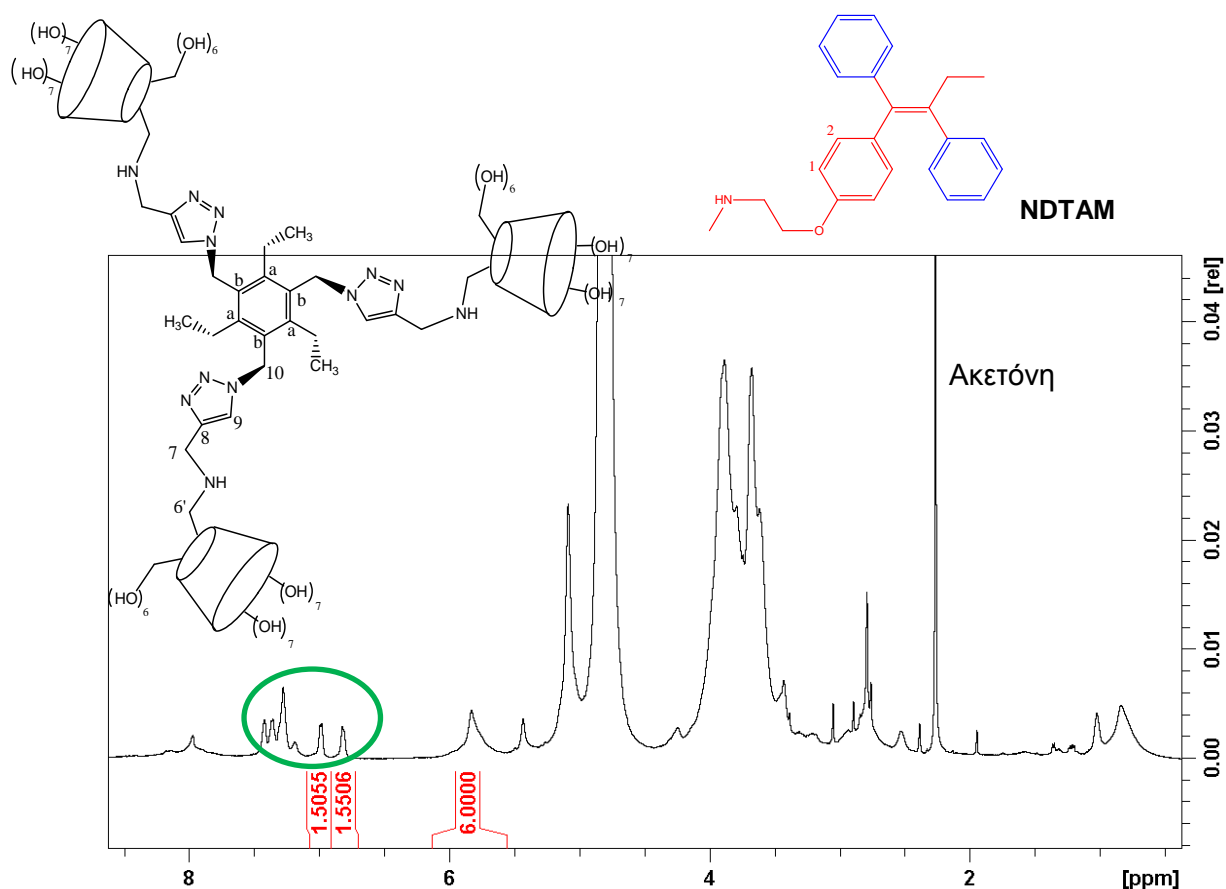


**Σχήμα 6.15** Μέρος φάσματος NOESY του διαλύματος του τριμερούς 6.3 με Tam-C σε υδατικό ρυθμιστικό διάλυμα PBS (pH = 7.4). α) Αναμενόμενες διπολικές αλληλεπιδράσεις του τριμερούς (πράσινο πλαίσιο), β) Διπολικές αλληλεπιδράσεις των Ph του TAM-C με τα H3 της βCD (μπλε πλαίσιο).

Επίσης, είναι εμφανείς οι διπολικές αλληλεπιδράσεις του H9 του τριαζολικού δακτυλίου με την αιθυλομάδα του συνδέτη και το H10, καθώς επίσης και οι αναμενόμενες ενδομοριακές διπολικές αλληλεπιδράσεις του H10 με την αιθυλομάδα του συνδέτη. Η διαλυτότητα του **TAM-C** στο νερό είναι 0.5 mg/L στους 37 °C.<sup>80</sup> Με την προσθήκη του τριμερούς **6.3** η διαλυτότητα του **Tam-C** δεν αυξήθηκε ιδιαίτερα.

### 6.5.3 Συμπλοκοποίηση με *N*-Απομεθυλιωμένη Υδροχλωρική Ταμοξιφαίνη (NDTAM)

Διάλυμα τριμερούς **6.3** σε υδατικό ρυθμιστικό διάλυμα PBS (0.1 mM) παρέμεινε υπό ανάδευση για 12 h μέχρι την πλήρη διαλυτοποίησή του. Εν συνεχεία, προστέθηκαν 3 eq *N*-απομεθυλιωμένης υδροχλωρικής ταμοξιφαίνης (*N*-desmethyltamoxifen·HCl, **NDTAM**) και το αιώρημα παρέμεινε υπό ανάδευση για 48 h. Από το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR, διαπιστώθηκε εγκλωβισμός του **NDTAM** από το τριμερές **6.3**, καθώς εμφανίζονται οι χαρακτηριστικές κορυφές των αρωματικών δακτυλίων του **NDTAM** στην περιοχή 6.7-7.6 ppm (Σχήμα 6.16).



Σχήμα 6. 16 Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του διαλύματος τριμερούς **6.3** με **NDTAM** σε υδατικό ρυθμιστικό διάλυμα PBS (pH = 7.4) (πράσινο πλαίσιο) (500 MHz, 295 K).

Από την ολοκλήρωση του φάσματος προκύπτει ότι δεσμεύεται σχεδόν ένα μόριο **NDTAM** από ένα μόριο τριμερούς **6.3**. Το γεγονός ότι το **NDTAM** είναι τριτοπικό ξενιζόμενο μόριο, δηλαδή είναι δυνατόν να εγκλωβισθεί στην κοιλότητα της βCD από καθένα εκ των φαινυλίων, ενδέχεται παρουσία δύο γειτονικών βCD στο τριμερές να σχηματίζει σύμπλοκο γεφυρώνοντας δύο κοιλότητες, οπότε να μην αποκαθίσταται

αναλογία H:G (1:3), αλλά (1:0.75). Από τις ολοκληρώσεις των κορυφών προκύπτει ότι η διαλυτότητα του **NDTAM/L** είναι  $\approx 275$  mg/L PBS.

## 6.6 Συμπεράσματα

Στο παρόν κεφάλαιο, πραγματοποιήθηκε η σύνθεση και ο καθαρισμός τριμερούς κυκλοδεξτρινών (**6.3**) καθώς και βελτιστοποίηση των συνθηκών παραγωγής του, με αποτέλεσμα την παραλαβή του σε άριστη απόδοση (98%). Πραγματοποιήθηκε μελέτη του τριμερούς **6.3** με φασματοσκοπία NMR, όπου και διαπιστώθηκε ότι δεν υπήρχε εγκλωβισμός του συνδέτη ή των τριαζολικών δακτυλίων από τις κοιλότητες των CDs επομένως ήταν ελεύθερες προς συμπλοκοποίηση. Επιπροσθέτως, πραγματοποιήθηκαν πειράματα εγκλωβισμού με *t*-βουτυλοβενζοϊκό οξύ, όπου διαπιστώθηκε ότι οι τρεις κοιλότητες δρουν ανεξάρτητα η μία από την άλλη, καθώς παρατηρήθηκε δημιουργία συμπλόκου 1:3 (**6.3**: *t*-βουτυλοβενζοϊκό οξύ). Τέλος, πραγματοποιήθηκαν πειράματα εγκλωβισμού με το **TAM-C** και το **NDTAM**, όπου παρατηρήθηκε συμπλοκοποίηση, λειτουργικότητα και των τριών κοιλοτήτων, η οποία αύξησε ιδιαίτερα την υδατοδιαλυτότητα των μορίων.





---

**Διμερές β-Κυκλοδεξτρίνης με  
Υδατανθρακικό Συνδέτη**

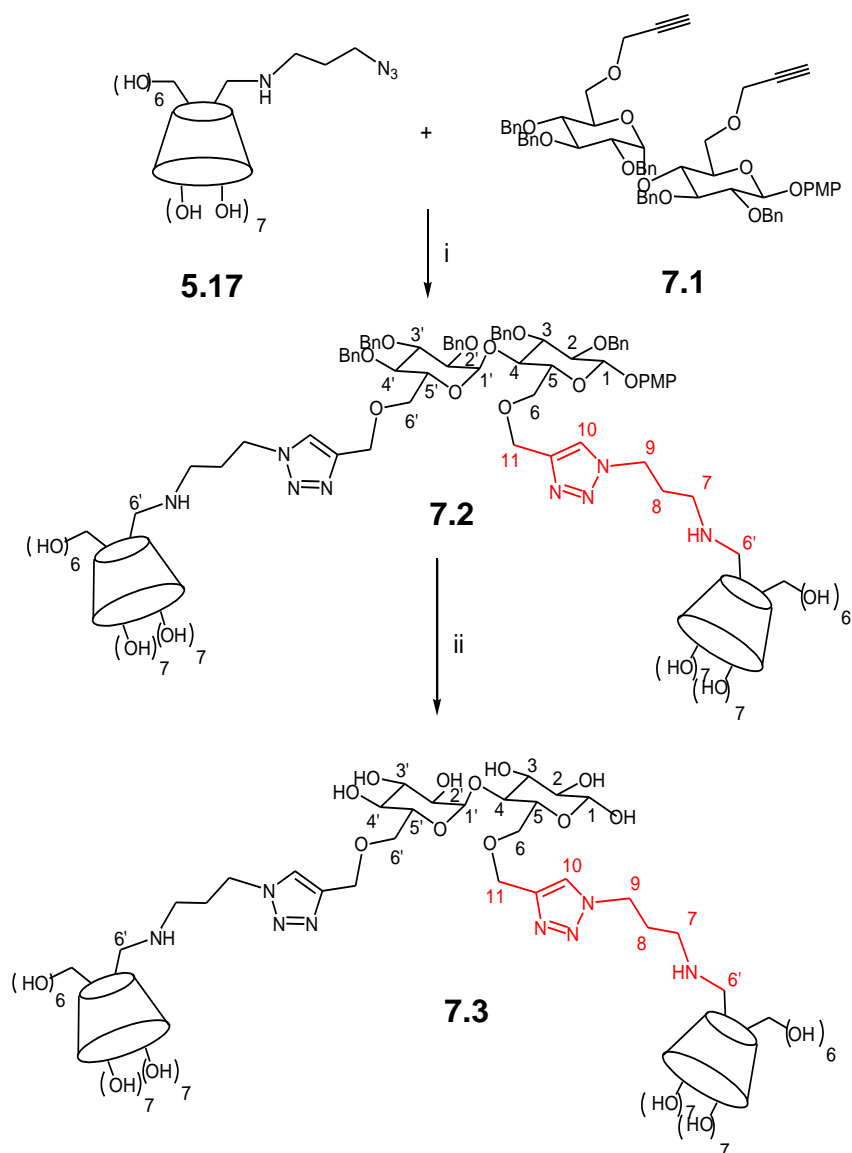
---



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7- Διμερές β-Κυκλοδεξτρίνης με Υδατανθρακικό Συνδέτη

### 7.1 Εισαγωγή- Σκοπός της Σύνθεσης

Όπως είναι γνωστό, οι ιδιότητες ενός διμερούς κυκλοδεξτρινών, επηρεάζονται σημαντικά από το είδος του συνδέτη ο οποίος λειτουργεί σαν γέφυρα μεταξύ τους. Επίσης, είναι ιδιαίτερος σημαντικό, ο συνδέτης να μην παρουσιάζει τοξικότητα και να αποικοδομείται εύκολα, έτσι ώστε το εκάστοτε εγκλωβισμένο μόριο να απελευθερώνεται εγκαίρως στον οργανισμό και να εκτελεί την επιθυμητή δράση. Γι' αυτό το λόγο, θεωρήσαμε ότι θα παρουσιάζε ιδιαίτερο ενδιαφέρον η σύνθεση ενός διμερούς το οποίο θα αποτελέτο εξ' ολοκλήρου από υδατάνθρακες (Σχήμα 7.1).

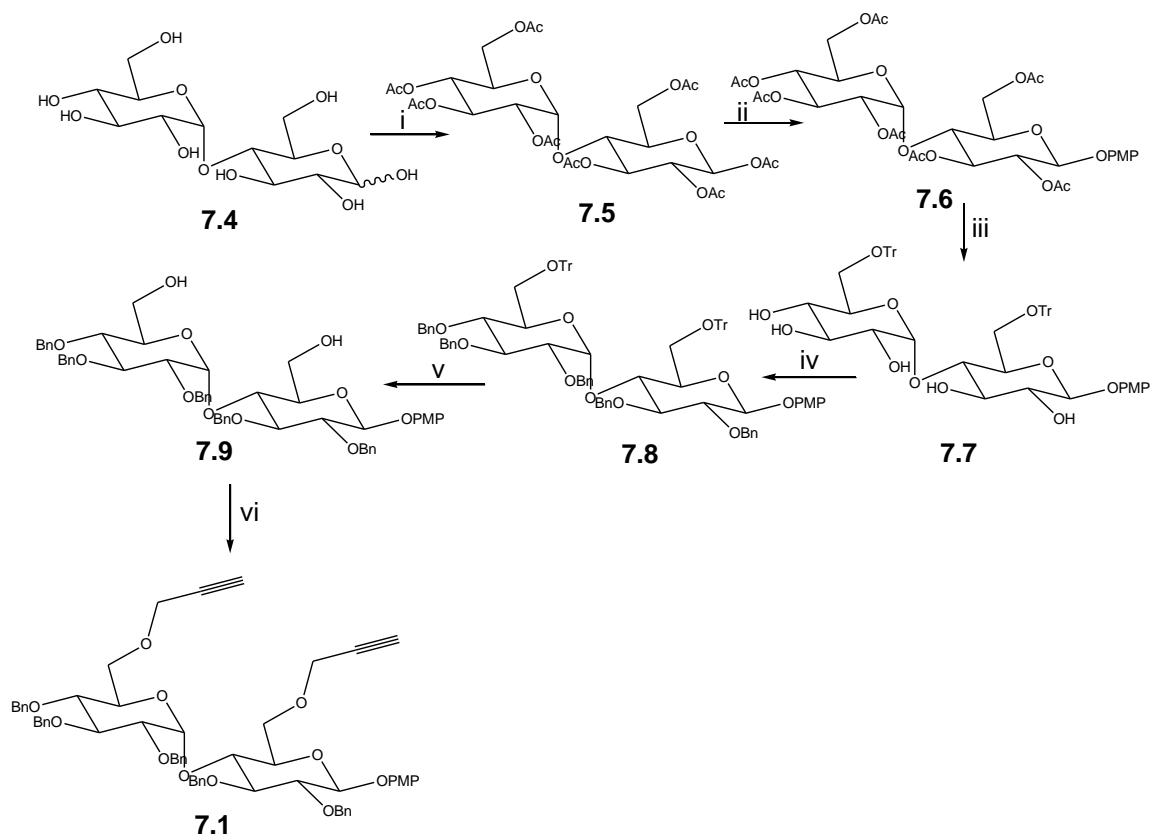


Σχήμα 7.1 Προτεινόμενος σχεδιασμός διμερούς με υδατανθρακικό συνδέτη.

Ένα τέτοιο παράγωγο, αναμένεται να παρουσιάζει αυξημένη υδατοδιαλυτότητα, μηδενική εισχώρηση του συνδέτη στην κοιλότητα, ευκινησία και ανεξαρτησία των κοιλοτήτων και χαμηλή τοξικότητα, ενώ μετά την εισαγωγή του στον οργανισμό, θα ήταν δυνατή η πλήρης απομάκρυνση του μέσω αποικοδόμησης. Με τον ίδιο τρόπο άλλωστε αποβάλλονται και οι κυκλοδεξτρίνες.

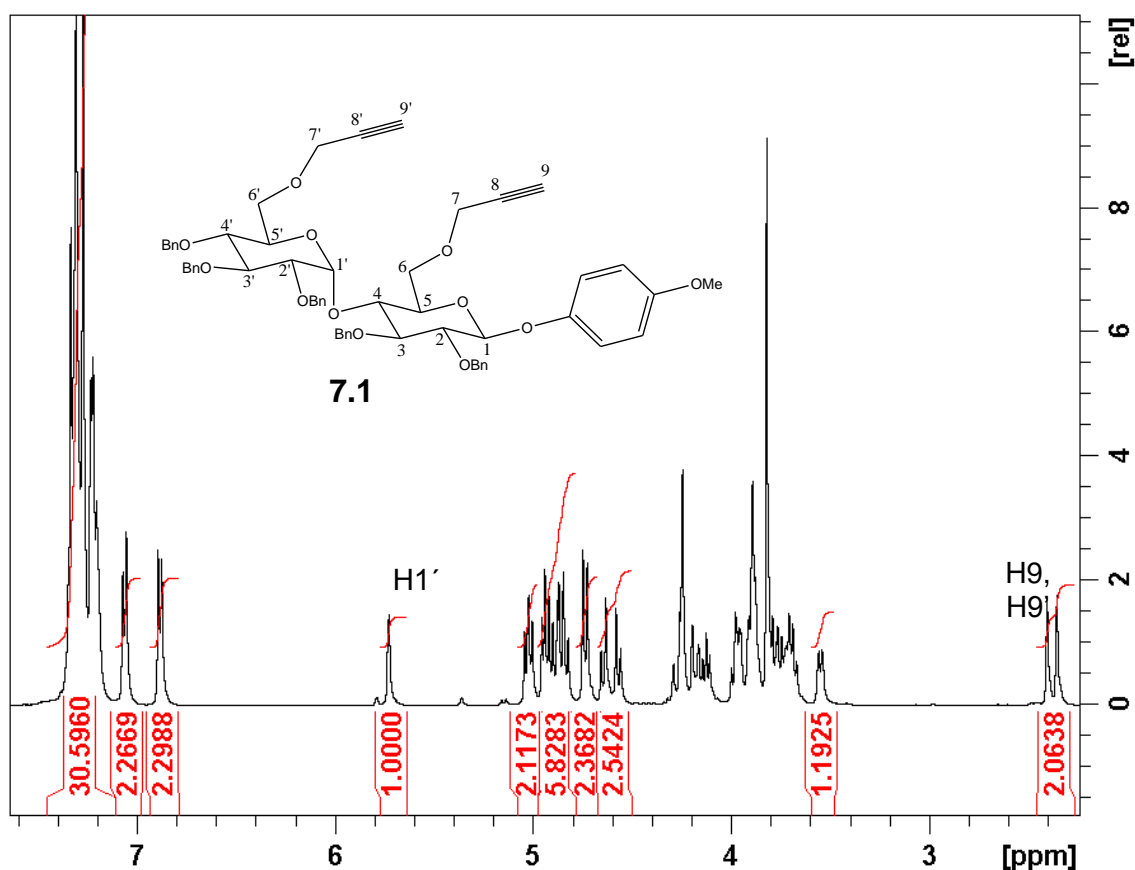
## 7.2 Σύνθεση και Χαρακτηρισμός Υδατανθρακικού Συνδέτη

Για τη παρασκευή του διμερούς **7.2** (Σχήμα 7.1) ήταν απαραίτητη η σύνθεση του διδραστικού συνδέτη **7.1** και της μονοϋποκατεστημένης κυκλοδεξτρίνης **5.17**, η σύνθεση της οποίας έχει ήδη αναφερθεί στο κεφάλαιο 5. Για τη σύνθεση του διδραστικού συνδέτη **7.1** χρησιμοποιήθηκε η εμπορικά διαθέσιμη μαλτόζη **7.4**, η οποία αρχικά μετατράπηκε στο οκταακετυλιωμένο παράγωγο **7.5** ( $\beta$ -ανωμερές), με οξικό ανυδρίτη και διμεθυλαμινοπυριδίνη σε διάλυμα  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :πυριδίνης, με απόδοση 85% (Σχήμα 7.2). Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε υποκατάσταση του  $\alpha$ -ανωμερικού υδροξυλίου με *p*-μεθοξυφαινυλομάδα, χρησιμοποιώντας τριφθοροβορονικό διαιθυλαιθέρα, και μετά από χρωματογραφία στήλης με πηκτή πυριτίας ( $\text{SiO}_2$ ) και διαλύτη έκλουσης *n*-εξάνιο:AcOEt (1:1, v/v) απομονώθηκε η ένωση **7.6** με απόδοση 57%. Ακολούθησε αποπροστασία όλων των υδροξυλίων με MeONa και εκλεκτική προστασία των πρωτοταγών υδροξυλίων με τριτυλομάδα. Το επιθυμητό παράγωγο **7.7** απομονώθηκε μετά από χρωματογραφία στήλης με διαλύτη έκλουσης ακετόνη: $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3:2, v/v) με απόδοση 28%. Εν συνεχεία, πραγματοποιήθηκε βενζυλίωση των δευτεροταγών υδροξυλίων με NaH (97%) και βενζυλοβρωμίδιο. Το επιθυμητό προϊόν **7.8** παρελήφθη μετά από χρωματογραφία στήλης με πηκτή πυριτίας ( $\text{SiO}_2$ ) και διαλύτη έκλουσης AcOEt:τολουόλιο (0-10%, v/v) με απόδοση 88% και υπέστη αποπροστασία των πρωτοταγών υδροξυλίων με *p*-τολουϋλοσουλφονικό οξύ σε διάλυμα MeOH: $\text{CHCl}_3$  (1:1, v/v) προς σχηματισμό του παραγώγου **7.9**. Τέλος, μετά τον καθαρισμό του παραγώγου **7.9** με χρωματογραφία στήλης με πηκτή πυριτίας ( $\text{SiO}_2$ ) και διαλύτη έκλουσης AcOEt:τολουόλιο (0-10%, v/v) (απόδοση 86%), πραγματοποιήθηκε υποκατάσταση των πρωτοταγών υδροξυλίων με προπαργυλοβρωμίδιο, σε διάλυμα THF:NMP (3:1, v/v). Το τελικό προϊόν **7.1** απομονώθηκε μετά από χρωματογραφία στήλης με πηκτή πυριτίας ( $\text{SiO}_2$ ) και διαλύτη έκλουσης *n*-εξάνιο:AcOEt (4:1, v/v), με απόδοση 93%.



**Σχήμα 7.2** Σύνθεση του συνδέτη 7.1. i) a) *N,N*-διμεθυλαμινοπυριδίνη, ξηρό  $\text{CHCl}_2$ , ξηρή πυριδίνη,  $0\text{ }^\circ\text{C}$ , b) οξικός ανυδρίτης, r.t, 12 h, 85%, ii) *p*-μεθοξυφαινόλη (PMP),  $\text{BF}_3\text{OEt}_2$ , ξηρό  $\text{CHCl}_2$ , υπό Ar, r.t, 12 h, 57%, iii) a) ξηρή  $\text{MeOH}$ ,  $\text{MeONa}$ , β) ξηρή πυριδίνη, τριτυλοχλωρίδιο, 48 h,  $45\text{ }^\circ\text{C}$ , 28%, iv) a)  $\text{DMF}$ ,  $\text{NaH}$ ,  $0\text{ }^\circ\text{C}$ , 15 min, b) βενζυλοβρωμίδιο,  $0\text{ }^\circ\text{C}$ , 15 min, c) r.t, 12 h, 88%, v)  $\text{MeOH}:\text{CHCl}_3$  (1:1), *p*-τολουϋλοσουλφονικό οξύ, r.t, 12 h, 86%, vi)  $\text{THF}:\text{NMP}$  (3:1), προπαργυλοβρωμίδιο,  $0\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $\text{NaH}$ , r.t, 6 h, 56%.

Σε όλες τις περιπτώσεις τα προϊόντα ταυτοποιήθηκαν μέσω φασματοσκοπίας NMR (1D και 2D), ενώ τα παράγωγα 7.5 και 7.6 ταυτοποιήθηκαν με σημείο τήξης [στ:  $158.7\text{-}161.0\text{ }^\circ\text{C}$  (βιβλ:  $159\text{-}160\text{ }^\circ\text{C}$ )<sup>81</sup> και στ:  $130.0\text{-}131.3\text{ }^\circ\text{C}$  (βιβλ:  $130\text{-}132\text{ }^\circ\text{C}$ )<sup>82</sup>, αντίστοιχα]. Επίσης, τα παράγωγα 7.7 και 7.1 ταυτοποιήθηκαν με φασματομετρία μάζας. Εξαιτίας της μικρής απόδοσης του προϊόντος 7.7, αποφασίσθηκε να μην πραγματοποιηθεί ο καθαρισμός του και να συντεθεί απευθείας το παράγωγο 7.8 (συνολική απόδοση 41%). Από την ολοκλήρωση του φάσματος  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης 7.1 η αναλογία των κορυφών που αντιστοιχούν στο ανωμερικό υδρογόνο της μαλτόζης και στο πρωτόνιο του τριπλού δεσμού είναι 1:2 ακριβώς. Συνεπώς, αποδεικνύεται η υποκατάσταση και των δύο πρωτοταγών υδροξυλίων της μαλτόζης από την προπαργυλομάδα (Σχήμα 7.3).



Σχήμα 7.3 Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης 7.1 σε  $\text{CDCl}_3$ .

Επιπροσθέτως, εξαιτίας του μεγάλου χρόνου αποδιέγερσης που εμφανίζουν τα όξινα πρωτόνια των τριπλών δεσμών  $\text{H9}$  και  $\text{H9}'$ , είναι απαραίτητο ο χρόνος αναμονής πριν τον επόμενο παλμό ( $d_1$ , relaxation delay) να είναι τουλάχιστον 5 s κατά τη λήψη του φάσματος  $^1\text{H}$  NMR, ούτως ώστε να είναι δυνατή η ακριβής ολοκλήρωση του.

### 7.3 Προσπάθεια Σύνθεσης Διμερούς με Υδατανθρακικό Συνδέτη

Μετά την απομόνωση του υδατανθρακικού συνδέτη 7.1 και της μονοϋποκατεστημένης κυκλοδεξτρίνης 5.17, ακολούθησε η σύνθεση του διμερούς 7.2 (Σχήμα 7.1), η οποία επιδιώχθηκε μέσω αντίδρασης [3+2] CuAAC (Click). Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε DMSO, ώστε να αποφευχθεί τυχόν συμπλοκοποίηση των ενώσεων 7.1 και 5.17 και ως καταλύτης χρησιμοποιήθηκε ο ευρέως διαδεδομένος  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , όπως και κατά την παρασκευή του τριμερούς 6.3 (Κεφ.6). Ο καταλύτης χρησιμοποιήθηκε σε στοιχειομετρική αναλογία με την ένωση 5.17, καθώς ο  $\text{Cu}^I$  δημιουργεί σύμπλοκα με τις κυκλοδεξτρίνες, με αποτέλεσμα την αδρανοποίησή του. Μετά την προσθήκη των παραπάνω ενώσεων σε DMSO προέκυψε πράσινο διάλυμα στο οποίο προστέθηκε ασκορβικό νάτριο διαλυμένο σε νερό. Αμέσως μετά την προσθήκη του ασκορβικού

νατρίου το διάλυμα έγινε καστανό, ένδειξη αλλαγής της οξειδωτικής κατάστασης του χαλκού, και μετά από πέντε λεπτά καταβυθίστηκε ίζημα. Το αιώρημα παρέμεινε υπό ανάδευση στους 50 °C για 48 h, η αντίδραση περατώθηκε με την προσθήκη νερού, το διάλυμα συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση και τοποθετήθηκε σε μηχανική αντλία για την πλήρη απομάκρυνση του DMSO. Το στερεό επαναδιαλυτοποιήθηκε σε νερό και προστέθηκε κατιονανταλλακτική ρητίνη (Amberlite IR120, H<sup>+</sup>) σε pH 9 για την απομάκρυνση του χαλκού. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, αντιμετωπίστηκαν δυσκολίες καθώς το επιθυμητό προϊόν απεδείχθη ιδιαιτέρως δυσδιάλυτο στο νερό. Έτσι, χρησιμοποιήθηκε μίγμα EtOH:H<sub>2</sub>O:CF<sub>3</sub>COOH (1:1:0.1, v/v), όπου το προϊόν ήταν διαλυτό και έγινε προσπάθεια αποπροστασίας των ομάδων βενζυλίου με H<sub>2</sub>/Pd, ώστε να ληφθεί το τελικό προϊόν **7.3**. Πραγματοποιήθηκαν προσπάθειες εύρεσης κατάλληλου μίγματος διαλυτών, το οποίο θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για τον καθαρισμό του μίγματος με χρωματογραφία στήλης με πηκτή πυριτίας, αλλά αποδείχτηκε ότι η ένωση δεσμεύεται ισχυρά πάνω στο πληρωτικό υλικό, με αποτέλεσμα να μην είναι δυνατή η ανάκτησή της. Τελικώς το μίγμα της αντίδρασης διαλυτοποιήθηκε σε H<sub>2</sub>O, προφανώς επειδή μετά την προσθήκη του CF<sub>3</sub>COOH το προϊόν ευρίσκεται υπό την μορφή άλατος, ρυθμίστηκε το pH του διαλύματος 7 και τοποθετήθηκε σε μεμβράνη διαπίδυσης, όπου παρέμεινε για 32 h. Με αυτόν τον τρόπο κατέστη δυνατή η απομάκρυνση μικρών μορίων, καθώς επίσης και τυχόν μονομερών κυκλοδεξτρινών τα οποία υπήρχαν ως παραπροϊόντα. Το διάλυμα συμπυκνώθηκε και πραγματοποιήθηκε φασματοσκοπική μελέτη του προϊόντος με NMR σε D<sub>2</sub>O. Τα φάσματα <sup>1</sup>H NMR και edited HSQC έδειξαν ότι το διάλυμα περιείχε τόσο κυκλοδεξτρίνη όσο και μαλτόζη. Ωστόσο, λόγω αλληλεπικάλυψης των κορυφών, δεν ήταν δυνατή η ολοκλήρωση τους για την πλήρη ταυτοποίηση του προϊόντος **7.3**. Συνεπώς, η συγκεκριμένη προσέγγιση παρασκευής διμερούς δεν φαίνεται να είναι αποδοτική.







---

**Διμερές β-Κυκλοδεξτρίνης με  
Σχηματισμό Αμιδικού Δεσμού και  
Άκαμπτο Συνδέτη**

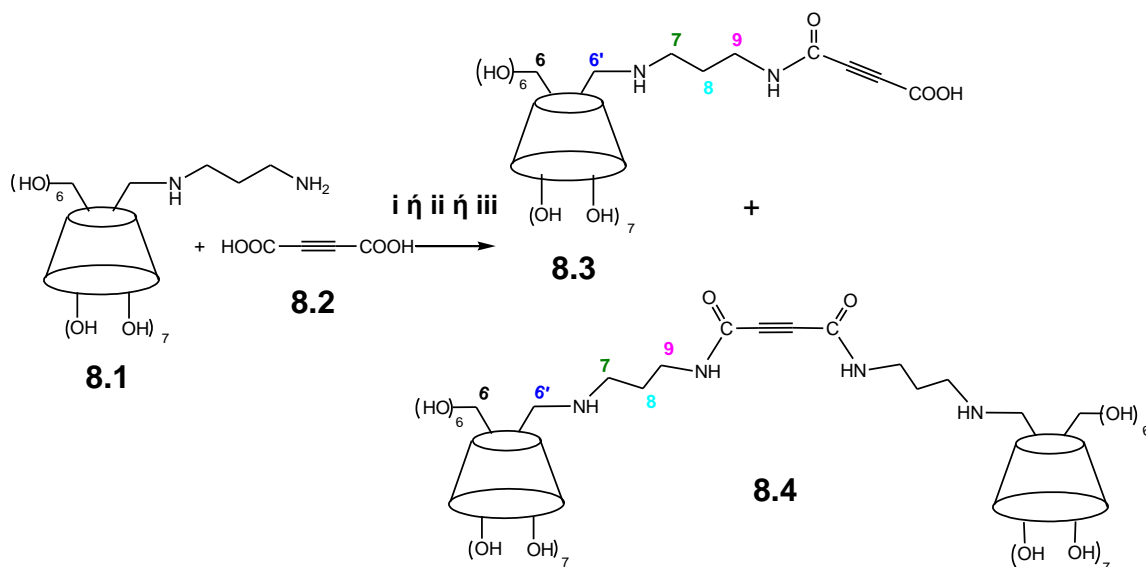
---



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8- Διμερές β-Κυκλοδεξτρίνης με Σχηματισμό Αμιδικού Δεσμού και Άκαμπτο Συνδέτη

### 8.1 Εισαγωγή

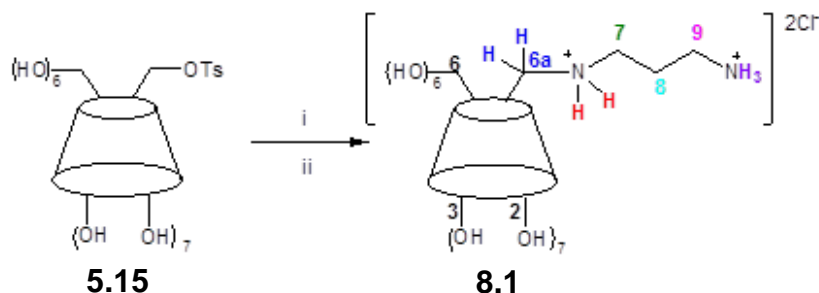
Όπως αναφέρθηκε και στο κεφάλαιο 2, μια από τις πιο διαδεδομένες μεθόδους σύνθεσης διμερών κυκλοδεξτρινών είναι η αντίδραση σύζευξης αμίνης – καρβοξυλικού οξέος και δημιουργία αμιδικού δεσμού. Στόχος μας ήταν η σύζευξη δύο κυκλοδεξτρινών με έναν σχετικά βραχύ και άκαμπτο συνδέτη ο οποίος να μην έχει τη δυνατότητα εγκλωβισμού (μέγεθος, υδρόφοβος χαρακτήρας), ούτως ώστε το προκύπτον διμερές να περιέχει δύο ανεξάρτητες μεταξύ τους κοιλότητες (Σχήμα 8.1). Το διμερές **8.4** αναμένεται να είναι υδατοδιαλυτό και ανάλογο με το μέγεθος και τη στερεοχημεία του εκάστοτε ξενιζόμενου μορίου (G), οι δύο κοιλότητες του μπορούν να δρουν συνεργιστικά δημιουργώντας σύμπλοκα με αναλογία 1:1 (CD:G) λόγω του εύκαμπτου αμινοπροπυλαμινο-υποκαταστάτη, ή να δρουν ανεξάρτητα και να δημιουργούν σύμπλοκα 1:2 (CD:G).



Σχήμα 8.1 Σύνθεση διμερούς **8.4**. i) DMF, HATU, DIPEA, CsCO<sub>3</sub>, 100 W, 120 °C, 45 min, (**8.3**: 40%, **8.4**: 25%) ή ii) DMF, HOBt, DCC, CsCO<sub>3</sub>, *N*-αιθυλομορφολίνη, 100 W, 120 °C, 30 min (**8.3**: 64%, **8.4**: 15%), iii) DMF, HATU, DIPEA, 30 °C, 5 d (**8.3**: <10%).

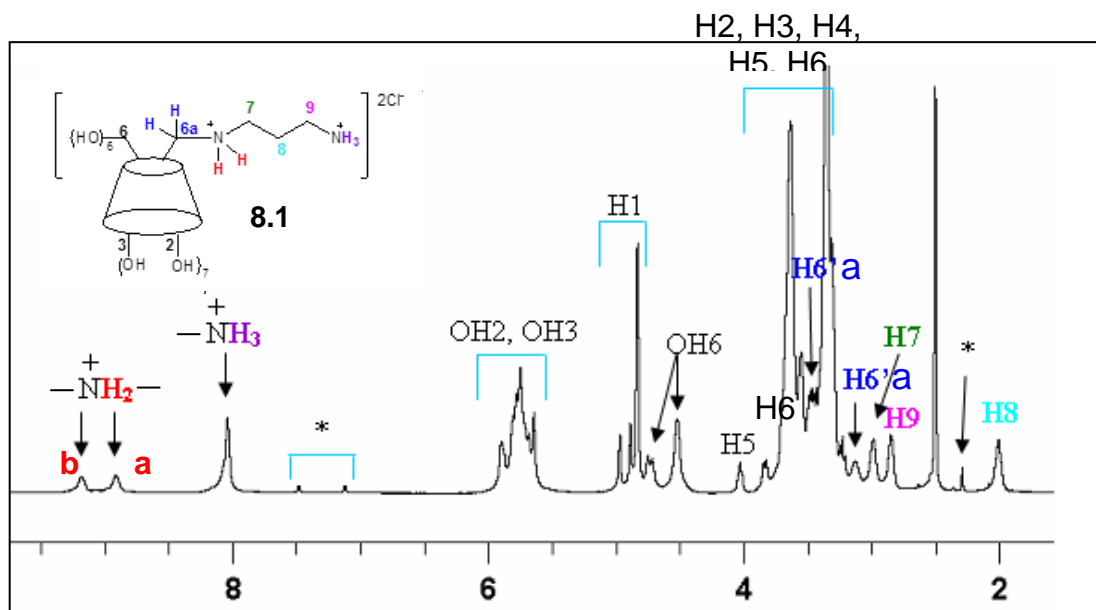
## 8.2 Σύνθεση της Μονο(6-αμινοπροπυλαμινο-6-δεοξυ)-β-κυκλοδεξτρίνης

Για τη σύνθεση της μονοϋποκατεστημένης κυκλοδεξτρίνης **8.1**, αρχικά παρασκευάστηκε η βιβλιογραφικώς γνωστή μονο(6-*p*-τολουϋλοσουλφονυλο)-βCD (**5.15**),<sup>17</sup> η οποία διαλύθηκε σε ξηρή 1,3-προπανοδιαμίνη, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία.<sup>83</sup>



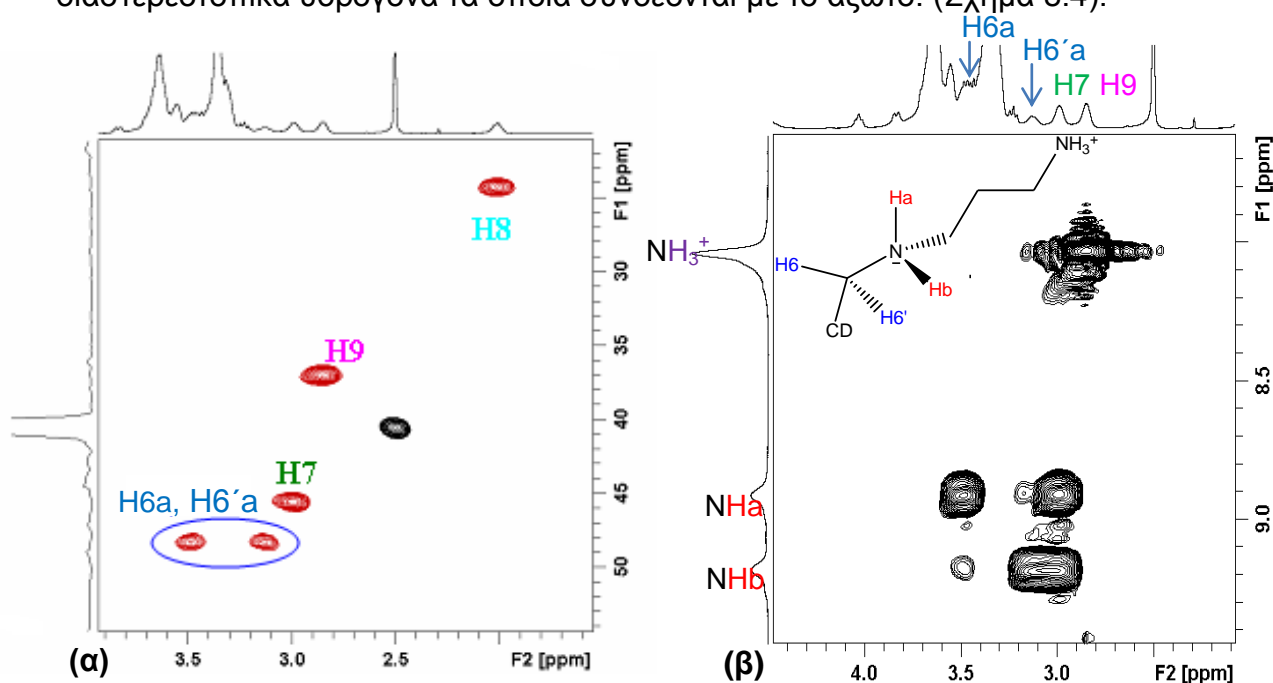
**Σχήμα 8.2** Σύνθεση της μονοϋποκατεστημένης κυκλοδεξτρίνης **8.1**. i) 1,3-προπανοδιαμίνη, 100 W, 150 °C, 30 min, 91%, ii) 1,3-προπυλενοδιαμίνη, 70 °C, 14h, 88%.

Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε επιτυχώς και με πολύ καλή απόδοση σε συσκευή μικροκυμάτων, σε χρόνο (30 min) πολύ μικρότερο σε σύγκριση με τη συμβατική μέθοδο (14 h).<sup>83</sup> Για τον καθαρισμό του προϊόντος **8.1**, χρησιμοποιήθηκε ανιονανταλλακτική ρητίνη (Amberlite, IRA 400) σε H<sub>2</sub>O για την απομάκρυνση του *p*-τολουϋλοσουλφονικού οξέος που ελευθερώνεται κατά τη διάρκεια της αντίδρασης και κατιονανταλλακτική ρητίνη (Amberlite, IRA-120) σε H<sub>2</sub>O για την απομάκρυνση της ελεύθερης 1,3-προπυλενοδιαμίνης. Και στις δύο περιπτώσεις το pH του διαλύματος ήταν ~9. Πραγματοποιήθηκε πλήρης ταυτοποίηση του προϊόντος με φασματοσκοπία NMR (1D και 2D) και φασματομετρία μάζας [MS (ESI): 1191.4 [M+H]<sup>+</sup>, θεωρ. [C<sub>45</sub>H<sub>78</sub>N<sub>2</sub>O<sub>34</sub>H]<sup>+</sup>: 1191.44)].<sup>83</sup> Από το φάσμα <sup>1</sup>H NMR της ένωσης σε DMSO-*d*<sub>6</sub> παρατηρείται ότι η ένωση **8.1** είναι πλήρως πρωτονιωμένη (Σχήμα 8.3), καθώς η κορυφή στα 8.04 ppm όπου αναμένεται το σήμα της πρωτοταγούς αμινομάδας αντιστοιχεί σε τρία πρωτόνια, ενώ για τη δευτεροταγή αμινομάδα εμφανίζονται δύο κορυφές στα 9.18 και 8.91 ppm οι οποίες αντιστοιχούν σε ένα πρωτόνιο η κάθε μία. Η εμφάνιση του καθενός από τα πρωτόνια σε διαφορετική χημική μετατόπιση αποδόθηκε στη γεινίαση της πρωτονιωμένης δευτεροταγούς αμινομάδας με το μεθυλένιο -C6'αH<sub>2</sub>- επί της χειρόμορφης κοιλότητας, επομένως στην ιδιότητα της διαστερεοτοπικότητας των δύο -<sup>+</sup>NH<sub>2</sub>- (διαστερεοτοπικά υδρογόνα Ha και Hb) (Σχήμα 8.3).



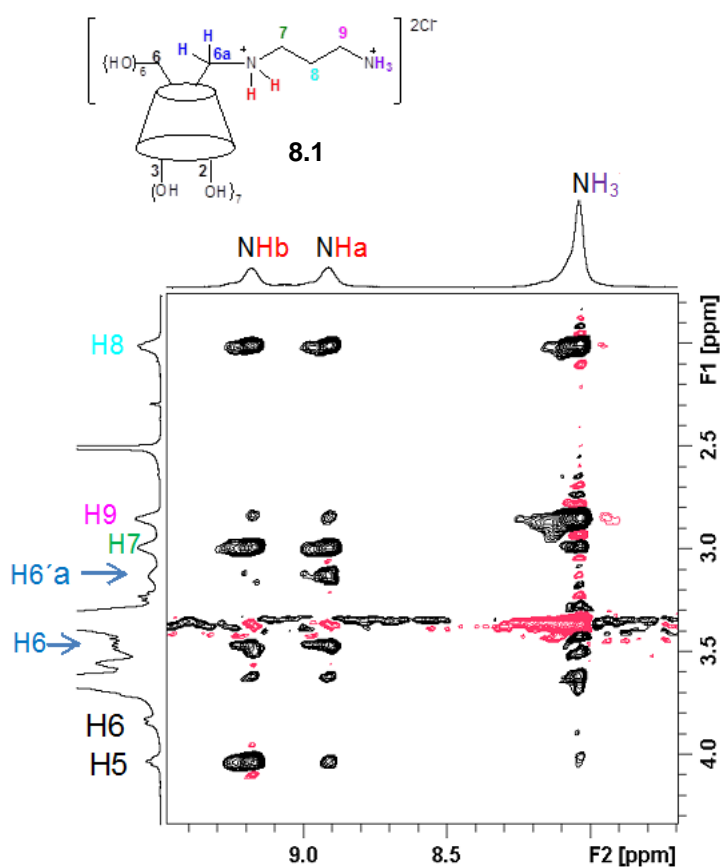
Σχήμα 8.3 Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης 8.1 σε  $\text{DMSO-}d_6$ , \*: TosOH impurity, <2%.

Πράγματι, η υπόθεση αυτή ενισχύθηκε από το φάσμα COSY της ένωσης 8.1, όπου παρατηρήθηκε σύζευξη  $J$  των δύο κορυφών στα 9.18 και 8.91 ppm και μεταξύ τους αλλά και με τα H7 (αναμενόμενο), επιπλέον όμως και με τα δύο υδρογόνα του υποκατεστημένου άνθρακα (C6a). Οι δύο κορυφές επομένως οφείλονται σε διαστερεοτοπικά υδρογόνα τα οποία συνδέονται με το άζωτο. (Σχήμα 8.4).



Σχήμα 8.4 Μέρος φάσματος edited-HSQC της ένωσης 8.1 α) σε  $\text{DMSO-}d_6$ , β) COSY σε  $\text{DMSO-}d_6$  (500 MHz, 298K).

Επίσης, παρατηρούμε ότι το **NHa** (Σχήμα 8.4β) παρουσιάζει ισχυρή σύζευξη με το **H6a** και ασθενή με το **H6'a**, ενώ το **NHb** παρουσιάζει ισχυρή σύζευξη με το **H6'a** και ασθενή με το **H6a**. Ως γνωστόν, η σταθερά σύζευξης  $J$  υπολογίζεται από την εξίσωση Karplus [ $J(\Phi) = A\cos\Phi + B\cos^2\Phi + C$ ], όπου  $J$ , η σταθερά σύζευξης  $^3J$ ,  $\Phi$ , η διεδρη γωνία και  $A$ ,  $B$ ,  $C$ , παράμετροι οι οποίες προκύπτουν εμπειρικά και εξαρτώνται από τα άτομα και τους υποκαταστάτες.<sup>84</sup> Συνεπώς, από τις συζεύξεις του φάσματος COSY, οδηγούμαστε στο συμπέρασμα ότι υφίσταται μια σχετικώς άκαμπτη στερεοχημεία στην αλυσίδα, η δέ διεδρη γωνία  $H6a-N-C6a-H6'a$  πρέπει να είναι  $\approx 90^\circ$ , καθώς επίσης και η διεδρη γωνία  $Hb-N-C6'a-H6a$   $90^\circ$  μεταξύ των δύο πρωτονίων  $Hb$  και  $H6a$ . Συνεπώς δεν υπάρχει ελεύθερη περιστροφή του δεσμού  $-C6aH_2-NH_2^+$  και μάλλον υφίσταται μια σταθερή διαμόρφωση (Σχήμα 8.4). Αυτό πιθανώς οφείλεται στην στερεοχημική παρεμπόδιση που δημιουργείται λόγω της πρωτονίωσης της δευτεροταγούς αμίνης, η οποία συνοδεύεται και από την ύπαρξη των αντισταθμιστικών ιόντων  $Cl^-$ . Από το φάσμα ROESY της ένωσης **8.1** σε  $DMSO-d_6$  παρατηρούμε, όπως ήταν αναμενόμενο, την ύπαρξη διπολικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ του  $-NH_3^+$  και των **H7**, **H8**, **H9** καθώς επίσης και μεταξύ της  $-NH_2^+$  με τα **H7**, **H8** και **H9** (Σχήμα 8.5).



Σχήμα 8.5 Τμήμα φάσματος ROESY της ένωσης **8.1** σε  $DMSO-d_6$ .

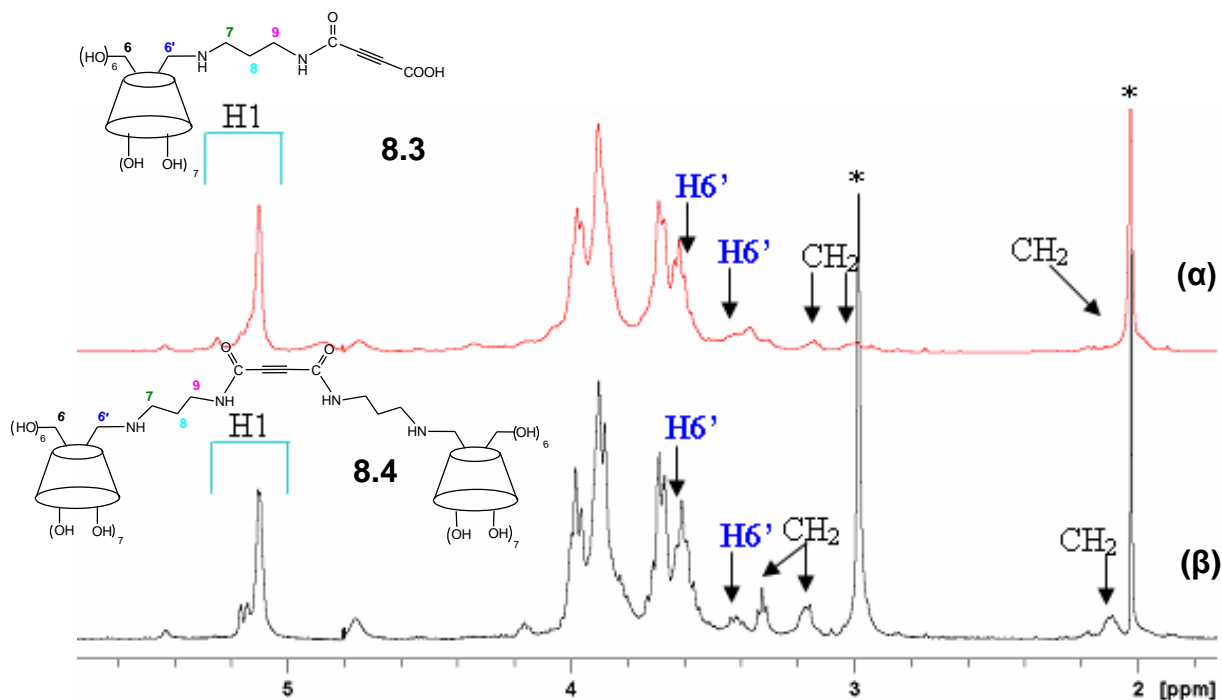
Ωστόσο, παρατηρούνται και διπολικές αλληλεπιδράσεις της πρωτοταγούς αμίνης  $-NH_3^+$  με το H5 καθώς επίσης και με το H6, γεγονός που υποδηλώνει την αναδίπλωση του αλειφατικού άκρου προς το μέρος της κοιλότητας.

### 8.3 Σύνθεση του Διμερούς

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, για τη σύνθεση του διμερούς **8.4** χρησιμοποιήθηκε η μονοϋποκατεστημένη κυκλοδεξτρίνη **8.1** και βουτινοδιικό οξύ (**8.2**). Αρχικά η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε ξηρό DMF (3 mL), χρησιμοποιώντας HATU, ως ενεργοποιητή του διοξέος, και DIPEA στους 30 °C, ενώ το διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση και υπό αργό για πέντε μέρες. Στη συνέχεια, η χρωματογραφία υγρής φάσης-φασματομετρία μάζας (LC-MS) επιβεβαίωσε την ύπαρξη του μονοϋποκατεστημένου προϊόντος **8.3** (<10%), όχι όμως και του επιθυμητού διμερούς **8.4**. Ακολούθως, η αντίδραση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας ξηρό DMF, HATU, DIPEA και  $CsCO_3$ , σε μικροκύματα (100 W), στους 120 °C, το δε διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 45 min. Το  $Cs^+$  είναι ένα μεγάλο θετικώς φορτισμένο ιόν, το οποίο ανήκει στην κατηγορία των χαοτροπικών ιόντων.<sup>85</sup> Τα χαοτροπικά ιόντα αποσταθεροποιούν τη δομή του νερού, με αποτέλεσμα την καταστροφή των δεσμών υδρογόνου. Στη δική μας περίπτωση, υποθέσαμε ότι η αποτυχία παραλαβής του διμερούς **8.4** θα μπορούσε να οφείλεται στο διμερισμό της μονοϋποκατεστημένης κυκλοδεξτρίνης **8.3**, μέσω δημιουργίας δεσμών υδρογόνου μεταξύ των καρβοξυλομάδων. Ως εκ τούτου, χρησιμοποιήθηκε  $CsCO_3$  για την καταστροφή πιθανών δεσμών υδρογόνου.

Η συνύπαρξη τόσο της μονοϋποκατεστημένης κυκλοδεξτρίνης **8.3** (40%), όσο και του διμερούς **8.4** (25%) στο προϊόν της αντίδρασης επιβεβαιώθηκε με LC-MS. Χρησιμοποιώντας και πάλι μικροκύματα (100 W), η αντίδραση επαναλήφθηκε χρησιμοποιώντας HOBt, DCC,  $CsCO_3$  και *N*-αιθυλομορφολίνη, στους 120 °C ενώ το διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 30 min. Η ύπαρξη των δύο προϊόντων, **8.3** και **8.4**, επιβεβαιώθηκε με LC-MS, ωστόσο παρατηρήθηκε μείωση της απόδοσης όσον αφορά το διμερές **8.4** (**8.3**: 64%, **8.4**: 15%). Τα δύο παράγωγα διαχωρίστηκαν χρησιμοποιώντας παρασκευαστική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας η οποία αναπτύχθηκε εις διπλούν, με διαλύτη ανάπτυξης *i*PrOH:AcOEt:H<sub>2</sub>O:NH<sub>4</sub>OH (5:3:3:1). Η ανάπτυξη των προϊόντων παρακολουθήθηκε με τη βοήθεια λυχίας υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) στα 365 nm [ $R_f$ (**8.3**): 0.05, κύριο προϊόν,  $R_f$ (**8.4**): 0.15, δευτερεύον προϊόν]. Παρατηρούμε ότι όπως ήταν αναμενόμενο, το διμερές **8.4** εμφανίζεται σε

μεγαλύτερο Rf (0.15) από το μονομερές **8.3** (0.05), το οποίο διαθέτει μια καρβοξυλομάδα. Τα παράγωγα **8.3** και **8.4** ταυτοποιήθηκαν με φασματά  $^1\text{H}$  NMR (Σχήμα 8.5), φασματομετρία μάζας [ESI-TOF **8.3**: 1289.5,  $[\text{M}+\text{H}+\text{H}^+]^+$ , θεωρ. για  $[\text{C}_{49}\text{H}_{78}\text{N}_2\text{O}_{37}\text{HH}^+]^+$ : 1289.43, **8.4**: 1233.5  $[\text{M}+2\text{H}+2\text{H}^+]^{2+}$ , θεωρ. για  $[\text{C}_{94}\text{H}_{154}\text{N}_4\text{O}_{70}\text{H}_2\text{H}_2^+]^{2+}$ : 1233.1] και φασματοσκοπία IR (Σχήμα 8.6).

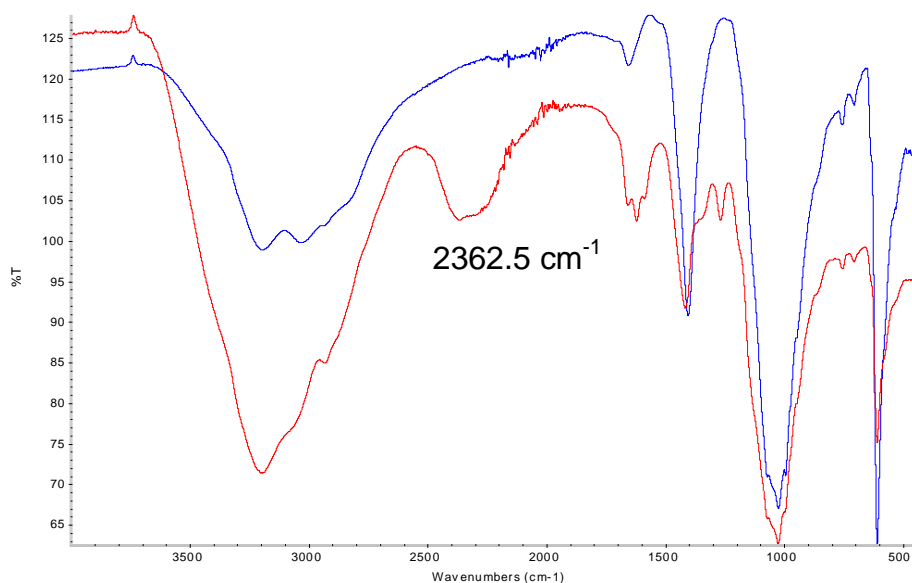


Σχήμα 8.6 (α) Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης **8.3** σε  $\text{D}_2\text{O}$ , (β) φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της ένωσης **8.4** σε  $\text{D}_2\text{O}$ .

Όπως ήταν αναμενόμενο τα φάσματα  $^1\text{H}$  NMR των ενώσεων **8.3** και **8.4** δεν παρουσιάζουν ιδιαίτερες διαφορές και τούτο αποτέλεσε μια από τις δυσκολίες ταυτοποίησης των προϊόντων. Ωστόσο, τα φάσματα IR των δύο ενώσεων παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές, διευκολύνοντας τη μεταξύ τους διάκριση (Σχήμα 8.6). Το φάσμα IR της ένωσης **8.3** εμφανίζει μια κορυφή στα  $2362.5\text{ cm}^{-1}$ , η οποία αποδίδεται στην ύπαρξη ασύμμετρα υποκατεστημένου τριπλού δεσμού (Σχήμα 8.6α). Αντιθέτως, στο φάσμα IR του διμερούς **8.4** όπου δεν εμφανίζεται η συγκεκριμένη κορυφή, ο τριπλός δεσμός πρέπει να είναι συμμετρικά υποκατεστημένος (Σχήμα 3.6β), επειδή η αντίστοιχη δόνηση τάσης, ως μη παράγουσα συνολικά αλλαγή διπολικής ροπής, δεν εμφανίζεται στο IR. Το διμερές **8.4** παραλαμβάνεται σε μικρή απόδοση (25%), ακόμα και στην περίπτωση όπου εφαρμόζονται μικροκύματα για τη σύνθεση



του. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην δημιουργία ενδομοριακού προϊόντος σύζευξης ή ακόμα και σε πολυμερισμό του προϊόντος **8.3**.



Σχήμα 8.7 Φάσμα IR της ένωσης **8.3** (Κόκκινο), φάσμα IR της ένωσης **8.4** (Μπλε).

#### 8.4 Συμπεράσματα

Συμπερασματικά, το επιθυμητό διμερές **8.4** παραλαμβάνεται μόνο όταν η αντίδραση σύζευξης πραγματοποιείται σε συσκευή μικροκυμάτων, ενώ η αρχικά σχηματιζόμενη μονοϋποκατεστημένη κυκλοδεξτρίνη **8.3** προτιμά να ολιγομερίζεται (ή να πολυμερίζεται) και όχι να αντιδρά προς το σχηματισμό του διμερούς **8.4**. Εξαιτίας αυτού, η απόδοση της αντίδρασης είναι ιδιαίτερος χαμηλή, με αποτέλεσμα να εγκαταλείψουμε τις αντιδράσεις σύζευξης αυτού του τύπου και να στρέψουμε το ενδιαφέρον μας σε αντιδράσεις οι οποίες είναι ταχείες και σχεδόν ποσοτικές, όπως η κυκλοπροσθήκη [3+2] και η σύνδεση Staudinger (Κεφάλαια 2 & 4, αντιστοίχως).



---

**Παρασκευή Διτροπικών Παραγώγων  
β-Κυκλοδεξτρίνης με Δυνατότητα  
Απελευθέρωσης NO και Μεταφοράς  
Μορίων**

---



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9- Παρασκευή Διτροπικών Παραγώγων β-Κυκλοδεξτρίνης με Δυνατότητα Απελευθέρωσης NO και Μεταφοράς Μορίων

### 9.1 Εισαγωγή

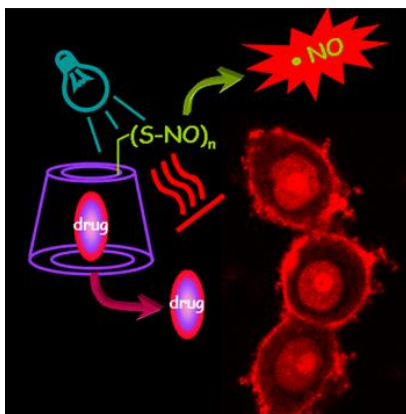
Το μονοξείδιο του αζώτου (NO) είναι μια ελεύθερη ρίζα, η οποία παίζει σημαντικό ρόλο σε πολλές φυσιολογικές διαδικασίες συμπεριλαμβανομένης της νευροδιαβίβασης, της αγγειοδιαστολής και της έκκρισης ορμονών σε ζωντανούς οργανισμούς.<sup>86</sup> Προσφάτως, το ενδιαφέρον έχει επικεντρωθεί στην αντικαρκινική του δράση.<sup>87</sup> Ωστόσο, έχει διαπιστωθεί ότι το NO μπορεί να δράσει είτε ως αντικαρκινικό είτε ως καρκινογόνο, ανάλογα με την τοπική συγκέντρωση, τη δόση και το μικροπεριβάλλον του όγκου.<sup>87</sup> Στην ιατρική χρησιμοποιούνται πολλά μόρια δότες NO,<sup>88</sup> μεταξύ των οποίων και οι S-νιτρωδοθειόλες (RSNOs), ενώσεις γνωστές για την εφαρμογή τους στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και την αγγειοδιαστολή, καθώς και την αντιμικροβιακή δράση τους. Οι RSNOs χρησιμοποιούνται ευρέως ως *in vivo* αποθήκες NO, λόγω της μεγάλης σταθερότητάς τους σε σύγκριση με την απευθείας εισαγωγή NO στα βιολογικά συστήματα (πολύ μικρός χρόνος ημιζωής).<sup>88</sup> Οι νιτρωδοθειόλες νοούνται ως αποτελεσματικοί μεταφορείς τοξικών ποσοτήτων NO, τοπικά στη θεραπεία καρκινικών όγκων, είναι δε συνδεδεμένες με μεγάλο αριθμό βιολογικών αντιδράσεων: εξωκυτταρικά είναι δραστικές μέσω διαφόρων μηχανισμών (εκτός εκείνων που δρουν στην απελευθέρωση NO), ενώ ενδοκυτταρικά επηρεάζουν πολλές μεταβολικές πρωτεΐνες και πρωτεΐνες σηματοδότησης. Οι περισσότερο υποσχόμενες μεταξύ των βιοδραστικών νιτρωδοθειολών είναι η S-νιτρωδο-N-ακετυλοπενικιλαμίνη (SNAP)<sup>89</sup> και η S-νιτρωδογλουταθειόνη (GSNO),<sup>90</sup> οι οποίες είναι αγγειοδιασταλτικές ουσίες. Η αποδέσμευση του NO μπορεί να πραγματοποιηθεί με ομολυτική ή ετερολυτική διάσπαση του δεσμού S-NO, εφαρμόζοντας θέρμανση, υπεριώδη ακτινοβολία, διάφορα ιόντα μετάλλων, υπεροξειδία ή ενώσεις σεληνίου. Η φωτοχημική αποδέσμευση του NO μπορεί να πραγματοποιηθεί με ελεγχόμενο τρόπο, ακτινοβολώντας σε κατάλληλο μήκος κύματος διαλύματα RSNO. Έτσι, οι νιτρωδοθειόλες συνδυαζόμενες με λειτουργικά υπερμόρια, αποτελούν πιθανά θεραπευτικά μόρια για βιοιατρικές εφαρμογές.<sup>91</sup>

Όπως προαναφέρθηκε στο κεφάλαιο 1, οι CDs, μέσω δημιουργίας συμπλόκων εγκλεισμού, δύνανται να αυξήσουν την υδατοδιαλυτότητα υδρόφοβων μορίων, να τα προστατέψουν από την βιολογική αποικοδόμηση, να τα αποδεσμεύσουν με ελεγχόμενο

ρυθμό και να διευκολύνουν τη μεταφορά τους μέσα από βιολογικούς φραγμούς. Έχει αποδειχθεί στο παρελθόν ότι οι  $\alpha$ -,  $\beta$ - και  $\gamma$ -CDs ενισχύουν την σταθερότητα της SNAP.<sup>92</sup> Επίσης, έχει αποδειχθεί σε ποντίκια ότι παρουσία της 2-υδροξυπροπυλο- $\beta$ CD, η SNAP διαπερνά ευκολότερα τον κρανιοεγκεφαλικό φραγμό. Προσφάτως, έχουν αναφερθεί συστήματα αυτοοργάνωσης αποτελούμενα από παράγωγα CDs και μόρια δότες-NO, τα οποία εμφανίζουν την ικανότητα ενεργοποίησης της φωτο-αποδέσμευσης NO σε συνδυασμό με άλλες ιδιότητες, όπως είναι η ικανότητα ταυτόχρονης απεικόνισης κυττάρων με συνεστιακή μικροσκοπία.<sup>91</sup>

Οι πιθανές εφαρμογές παραγώγων κυκλοδεξτρινών ως πολυλειτουργικών νανομεταφορέων (nanocarriers) παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον καθώς τα παράγωγα αυτά μπορεί να έχουν νέες ιδιότητες<sup>43c, 44</sup> ενώ ταυτοχρόνως να έχουν διαθέσιμη την κοιλότητα τους για εγκλωβισμό και μεταφορά επιθυμητών μορίων.

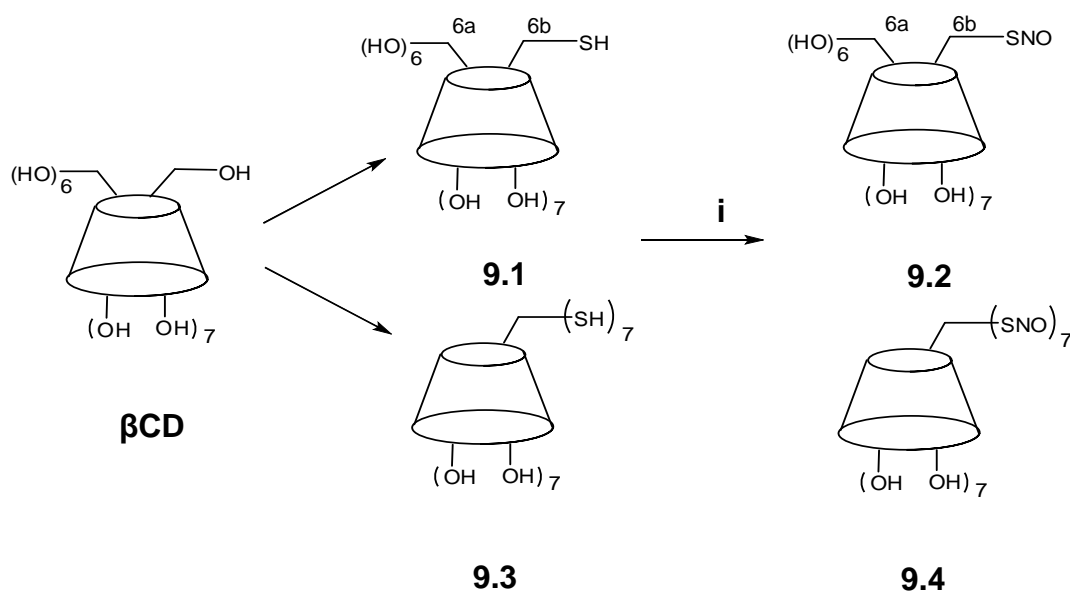
Βάσει των ανωτέρω, οι S-νιπρωδοθειολο-CDs (SNO-CDs) μπορεί να αποτελέσουν ενδιαφέροντες ξενιστές, καθώς θα δύνανται να συνδυάζουν την ικανότητα αποδέσμευσης NO με τη βιολογική δράση επιλεγμένων εγκλωβισμένων φαρμάκων. Επιπροσθέτως, εξαιτίας των πολλών υδροξυλομάδων των κυκλοδεξτρινών, είναι δυνατή η σύνθεση περισσότερων της μιας ομάδων SNO ανά CD, αυξάνοντας έτσι το ποσό του αποδεσμευόμενου NO. Τέλος, θα είναι δυνατή η φωτο-ελεγχόμενη αποδέσμευση του NO, σε επιθυμητά επίπεδα. Στα κατωτέρω εδάφια θα περιγραφεί η παρασκευή και η μελέτη ιδιοτήτων νέων CDs, για ταυτόχρονη μεταφορά μορίων και παραγωγή NO, μέσω εξωτερικώς ελεγχόμενης θερμικής ή φωτοχημικής επίδρασης.<sup>93</sup>



Σχήμα 9. 1 Σχηματική απεικόνιση της διπλής δράσης των SNO κυκλοδεξτρινών.

## 9.2 Σύνθεση και Χαρακτηρισμός Παραγώγων

Η πλέον συνηθισμένη μέθοδος παρασκευής S-νιτρωδοθειολών περιλαμβάνει αντίδραση οργανικών θειολών με *in situ* παραγόμενο νιτρώδες οξύ.<sup>88</sup> Η αντίδραση είναι γρήγορη και ποσοτική, με την προϋπόθεση ότι το αντιδραστήριο νιτρώδωσης μπορεί εύκολα να προσεγγίσει την ομάδα -SH. Η ταχύτητα νιτρώδωσης σε ογκώδη μόρια και τεταρτοταγείς θειόλες είναι πολύ μικρότερη από αυτήν των στερεοχημικά μη παρεμποδισμένων θειολών μικρών μορίων.<sup>88</sup> Επομένως, αναμένεται ότι η πρωτοταγής θειόλη της μονο-(6-μερκαπτο-6-δεοξυ)-βCD (bmSH)<sup>94</sup> θα υποστεί εύκολα νιτρώδωση, ενώ η δραστηριότητα των επτά ομάδων -SH της περι-(6-μερκαπτο-6-δεοξυ)-βCD (bpSH)<sup>25b</sup> αναμένεται πως θα διαφοροποιείται σταδιακά με την πρόοδο της αντίδρασης. Η μονο-6-νιτρωδοθειο-6-δεοξυ-βCD (μονο-SNO-βCD, **9.2**) και η περι-6-νιτρωδοθειο-6-δεοξυ-βCD (περι-6-SNO-βCD, **9.4**) (Σχήμα 9.2) παρασκευάστηκαν από τις θειόλες **9.1** και **9.3** σύμφωνα με την μέθοδο Ceron, κατάλληλα τροποποιημένη.<sup>95</sup>



Σχήμα 9. 2 Σύνθεση της μονο-SNO-βCD (**9.2**) και περι-SNO-βCD (**9.4**). i) NaNO<sub>2</sub> (aq), pH 2, DMSO, rt.

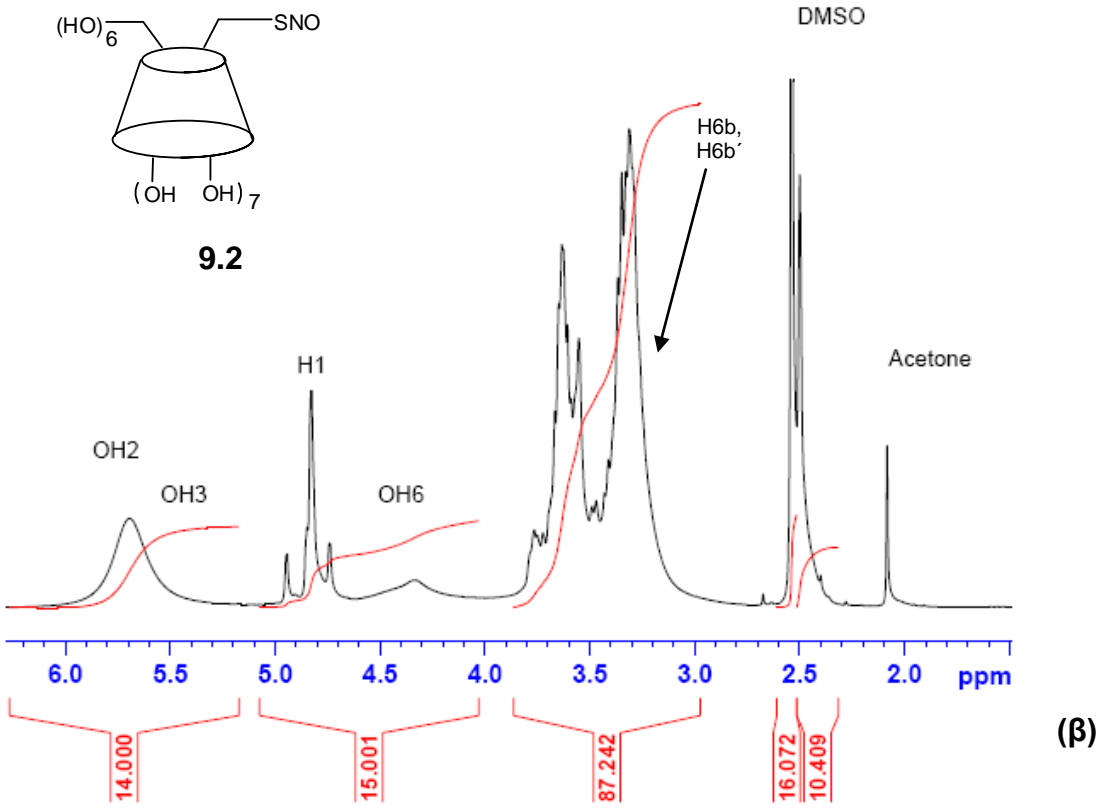
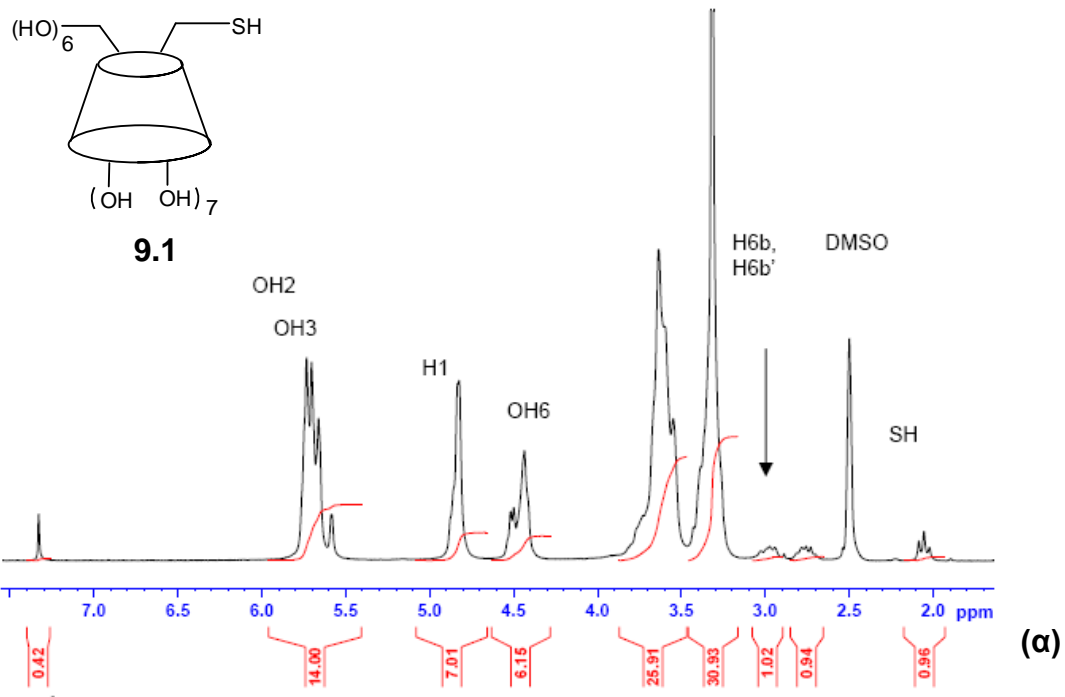
Η παραγωγή των προϊόντων CD-SNO γίνεται άμεσα αντιληπτή, καθώς το διάλυμα αποκτά έντονο κόκκινο χρώμα. Τα παράγωγα **9.2** και **9.4** απομονώνονται ως ροζ στερεά και φυλάσσονται στους -20 °C, απουσία φωτός, προς αποφυγή διάσπασης. Η περι-SNO-βCD παρασκευάστηκε υπό αργό και ήταν διαλυτή μόνο σε DMSO, ενώ η μονο-SNO-βCD ήταν διαλυτή τόσο σε DMSO όσο και σε νερό. Επίσης, παρασκευάστηκε η περι-S<sup>15</sup>NO-βCD χρησιμοποιώντας νιτρώδες νάτριο επισημασμένο με <sup>15</sup>N (Na<sup>15</sup>NO<sub>2</sub>). Τέλος, πραγματοποιήθηκε λεπτομερής ταυτοποίηση τόσο του

απομονωμένου όσο και του *in situ* παραγόμενου προϊόντος, η οποία αποκάλυψε τη σημαντική επίδραση της μακροκυκλικής δομής της CD στην δομή και την σταθερότητα των SNO-CDs.<sup>93</sup>

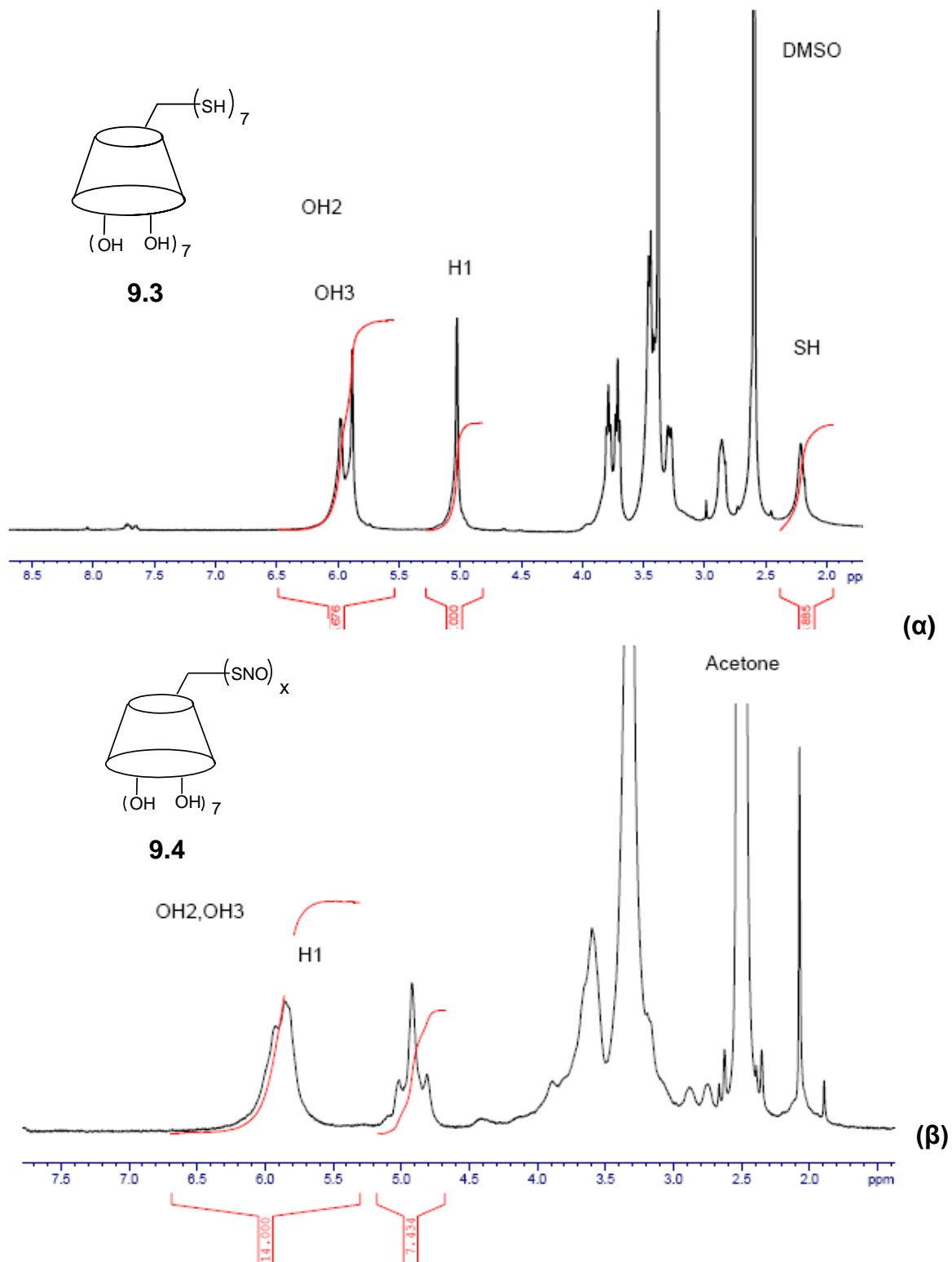
Μετά την *in situ* νιτρώδωση της μονο-SH-βCD (**9.1**) (Σχήμα 9.3α), οι κορυφές οι οποίες αντιστοιχούν στα –CH<sub>6</sub>H<sub>6</sub>’-SNO εμφανίζονται στην περιοχή 3.5-3.1 ppm στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR, ισχυρά αποπροστατευμένες σε σχέση με τα διαστεροτοπικά υδρογόνα –CH<sub>6</sub>H<sub>6</sub>’-SH στα 3.1-2.7 ppm (Σχήμα 9.3β). Αυτές οι παρατηρήσεις συμφωνούν με τη βιβλιογραφία, όπου αναφέρεται ότι στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR μιας απλής ένωσης RCH<sub>2</sub>SNO παρατηρείται αποπροστασία των α-μεθυλενικών υδρογόνων για περισσότερο από ένα ppm, σε σύγκριση με το φάσμα της πρώτης ύλης RCH<sub>2</sub>SH.<sup>96</sup>

Μετά την νιτρώδωση της περι-SH-βCD (**9.3**) παρατηρήθηκε στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR απουσία της κορυφής που αντιστοιχεί στην –SH (Σχήμα 9.4α) και παρουσία ευρέων κορυφών οι οποίες υποδεικνύουν πολυ- και όχι περι- υποκατάσταση (Σχήμα 9.4β). Τα φάσματα <sup>1</sup>H NMR των *in situ* παρασκευασμένων προϊόντων παρέμειναν σταθερά για μέρες. Ακόμα, από τα φάσματα <sup>13</sup>C NMR των θειολών **9.1** και **9.3** σε DMSO-*d*<sub>6</sub>, μετά τη νιτρώδωση παρατηρήθηκε εξαφάνιση των κορυφών οι οποίες αντιστοιχούν στον C6-SH στα ~26 ppm και εμφάνιση νέων κορυφών στα ~35 ppm, γεγονός που αποδεικνύει τη σύνδεση του C6 με ομάδα ηλεκτραρνητικότερη της –SH, υποστηρίζοντας έτσι το σχηματισμό –SNO.<sup>97</sup>



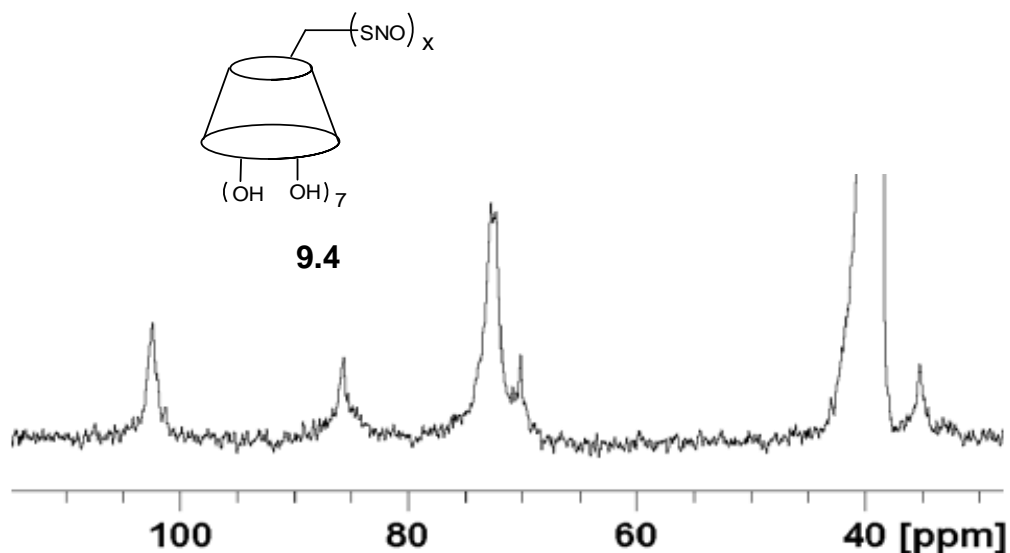


Σχήμα 9.3 Φάσμα <sup>1</sup>H NMR α) μονο-SH-βCD (9.1), β) μονο-SNO-βCD (9.2) σε DMSO-d<sub>6</sub>.



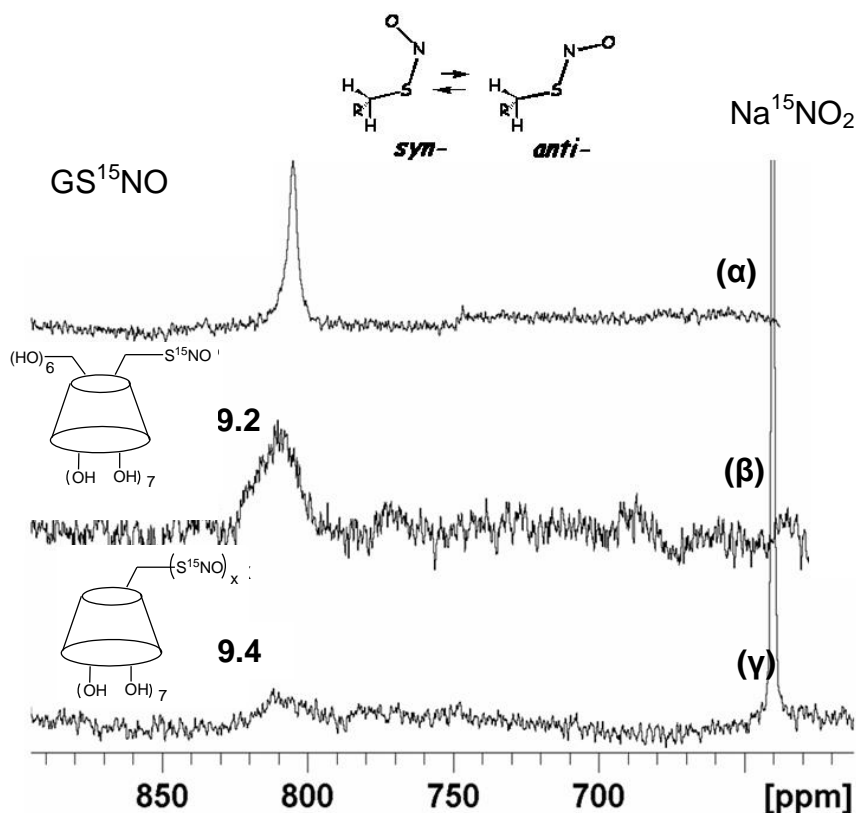
**Σχήμα 9.4** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR σε  $\text{DMSO-}d_6$  α) περι-SH-βCD (9.3), β) πολυ-SNO-βCD (9.4).

Στο φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR της ένωσης **9.4** εμφανίζονται ευρείες κορυφές οι οποίες υποδεικνύουν πολυ- και όχι περι-υποκατάσταση (Σχήμα 9.5).



Σχήμα 9.5 Φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR της *in situ* παρασκευασμένης σε  $\text{DMSO-}d_6$  πολυ-SNO- $\beta$ CD.

Το φάσμα  $^{15}\text{N}$  NMR της  $\text{GS}^{15}\text{NO}$  παρουσιάζει μια διευρυμένη κορυφή (εύρος στο ήμισυ του ύψους, 185 Hz) στα 805 ppm (Σχήμα 9.6α) συγκριτικά με την κορυφή του  $\text{Na}^{15}\text{NO}_2$  στα 640 ppm (41 Hz, Σχήμα 9.6γ).<sup>93</sup>

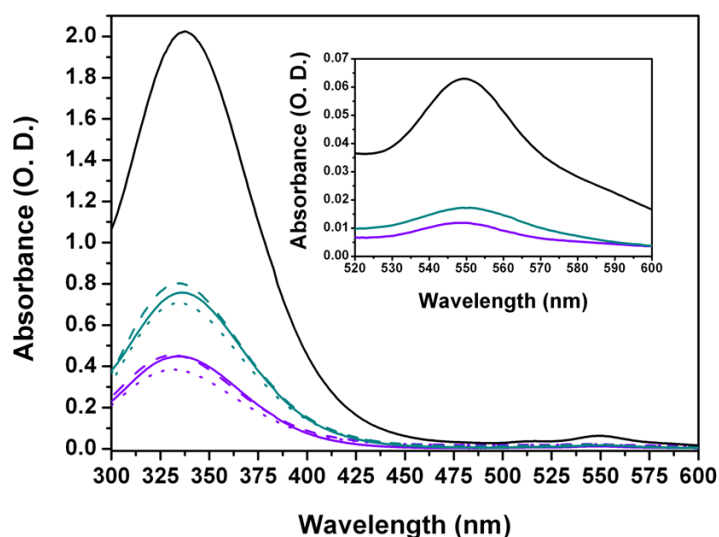


Σχήμα 9.6 Φάσματα  $^{15}\text{N}$  NMR σε  $\text{DMSO-}d_6$ : (α)  $\text{GS}^{15}\text{NO}$ , (β) *in situ* παρασκευασμένης μονο- $\text{S}^{15}\text{NO-CD}$  και (γ) *in situ* παρασκευασμένης πολυ- $\text{S}^{15}\text{NO-CD}$  παρουσία  $\text{Na}^{15}\text{NO}_2$ .

Το παρατηρούμενο εύρος της κορυφής αποδίδεται στην δυναμική ισορροπία μεταξύ της *syn*- και *anti*- διαμόρφωσης της ομάδας  $-S^{15}NO$  (Σχήμα 9.6), η οποία οφείλεται στο χαρακτήρα διπλού δεσμού του δεσμού S-N. Το φαινόμενο αυτό έχει παρατηρηθεί επανειλημμένα για πολλά μικρά μόρια. Όπως φαίνεται και στο Σχήμα 9.6, τα υποκατεστημένα παράγωγα κυκλοδεξτρινών **9.2** και **9.4**, εμφανίζουν κορυφές στα επιθυμητά ppm, αποδεικνύοντας έτσι την ύπαρξη της  $-SNO$  ομάδας. Επίσης, η περιστροφή των δεσμών  $C_5-C_6SNO$  προς το εξωτερικό (*gauche-gauche*) ή το εσωτερικό (*gauche-trans*) της κοιλότητας, είναι πιθανόν να δημιουργεί διαμορφώσεις σχετικά σταθερής ενέργειας οι οποίες να συμβάλλουν στην παρατηρούμενη διεύρυνση των κορυφών  $^{15}N$  στο φάσμα των  $CD-S^{15}NO$ .

### 9.3 Μελέτες UV-Vis των προϊόντων

Μέσω της φασματοσκοπίας ορατού-υπεριώδους (UV-Vis) κατέστη δυνατή η ποσοτικοποίηση της μετατροπής των ομάδων  $-SH$  σε  $-SNO$ . Τα φάσματα των απομονωμένων παραγώγων **9.2**<sup>93</sup> και **9.4** σε διάφορους διαλύτες (Σχήμα 9.7) συμφωνούσαν με αυτά του  $GSNO$ <sup>93</sup> στους αντίστοιχους διαλύτες καθώς επίσης και με προηγούμενες αναφορές σε παράγωγα  $-SNO$ .<sup>89</sup>



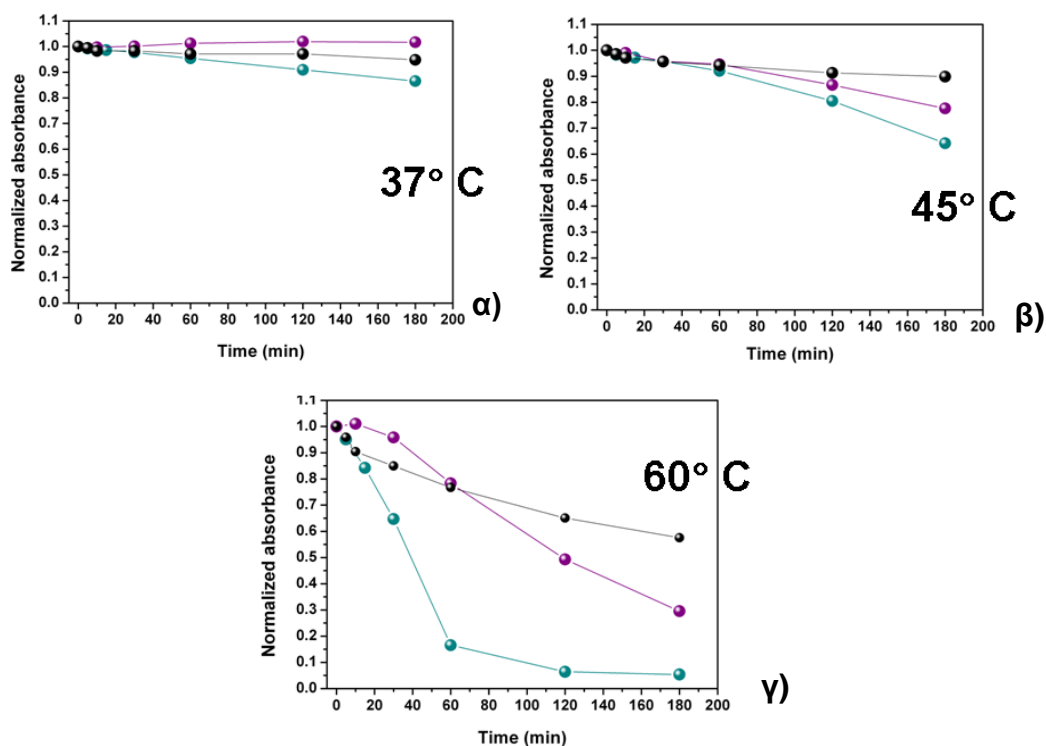
**Σχήμα 9.7** Φάσματα απορρόφησης των απομονωμένων παραγώγων σε διάφορους διαλύτες: — μονο-SNO-βCD (**9.2**, 1 mM), — περι-SNO-βCD (**9.4**, 0.5 mM) και — GSNO (1 mM). DMSO: διακεκομμένες γραμμές, PBS: στικτές γραμμές. Ένθετο: Μεγέθυνση των κορυφών στα 548 nm (DMSO).

Παρατηρήθηκε μια ισχυρή απορρόφηση στα ~334 nm η οποία οφείλεται στην επιτρεπτή μετάπτωση  $n_o \rightarrow \pi^{*12}$  και μια ασθενής απορρόφηση στα ~548 nm η οποία οφείλεται στην απαγορευμένη μετάπτωση  $n_N \rightarrow \pi^{*12}$  της ομάδας –SNO. Η απορρόφηση της GSNO στα 334 nm είναι 1.7 φορές μεγαλύτερη από αυτή του παραγώγου **9.2**, γεγονός το οποίο αποδίδεται εν μέρει στην απώλεια SNO κατά την απομόνωση του προϊόντος.<sup>93</sup> Η απορρόφηση του παραγώγου **9.4** στο DMSO, αν και ήταν αρκετά μεγαλύτερη από αυτή του **9.2** δεν αντιστοιχεί στην αναμενόμενη για επτά ομάδες –SNO.

Για τον υπολογισμό του αριθμού των ομάδων –SNO οι οποίες βρίσκονται στο παράγωγο **9.4** πραγματοποιήθηκαν πειράματα UV-Vis *in situ* ποσοτικοποίησης στα οποία προστέθηκαν σταδιακά ποσότητες  $\text{NaNO}_2$  σε όξινο διάλυμα του παραγώγου **9.3**. Με την προσθήκη μέχρι και επτά ισοδύναμων νιτρώδους νατρίου παρατηρήθηκε σταδιακή αύξηση της απορρόφησης στα 334 nm, παρ' όλο που για το έκτο και έβδομο ισοδύναμο η αύξηση δεν ήταν γραμμική, διότι εμφανίστηκε πλατώ. Από το διάγραμμα της έντασης απορρόφησης ως προς τον αριθμό των ισοδυνάμων, υπολογίστηκε ότι αντιστοιχούν περίπου 5.2 ομάδες –SNO ανά μόριο SNO-CD. Ως εκ τούτου, η *in situ* νιτρώδωση δεν πραγματοποιείται μέχρι τέλους, οπότε παραλαμβάνεται πολυ-SNO-παράγωγο αντί περι-SNO-παράγωγο.<sup>93</sup>

#### 9.4 Μελέτες Θερμικής Σταθερότητας

Οι μελέτες πραγματοποιήθηκαν σε διαλύτη DMSO στους 37, 45 και 60 °C. Το πολυ-SNO-CD παράγωγο (**9.4**) ήταν σταθερό στους 37 °C, ενώ στους 45 °C άρχισε να παρατηρείται, σε μικρό βαθμό, αποδέσμευση NO. Στους 60 °C το **9.4** έχασε <40% της δραστηρότητας του. Σε σύγκριση με την θερμική σταθερότητα του μονο-SNO-CD παραγώγου (**9.2**) και της GSNO,<sup>93</sup> το **9.4** είναι πολύ πιο σταθερό (30%) από το **9.2** και αυτό με τη σειρά του πολύ πιο σταθερό (30%) από τη GSNO. Στο Σχήμα 9.8 παρουσιάζεται το διάγραμμα της θερμικής σταθερότητας του **9.4** σε σύγκριση με εκείνα του **9.2** και της GSNO στις θερμοκρασίες 37 °C, 45 °C και 60 °C.

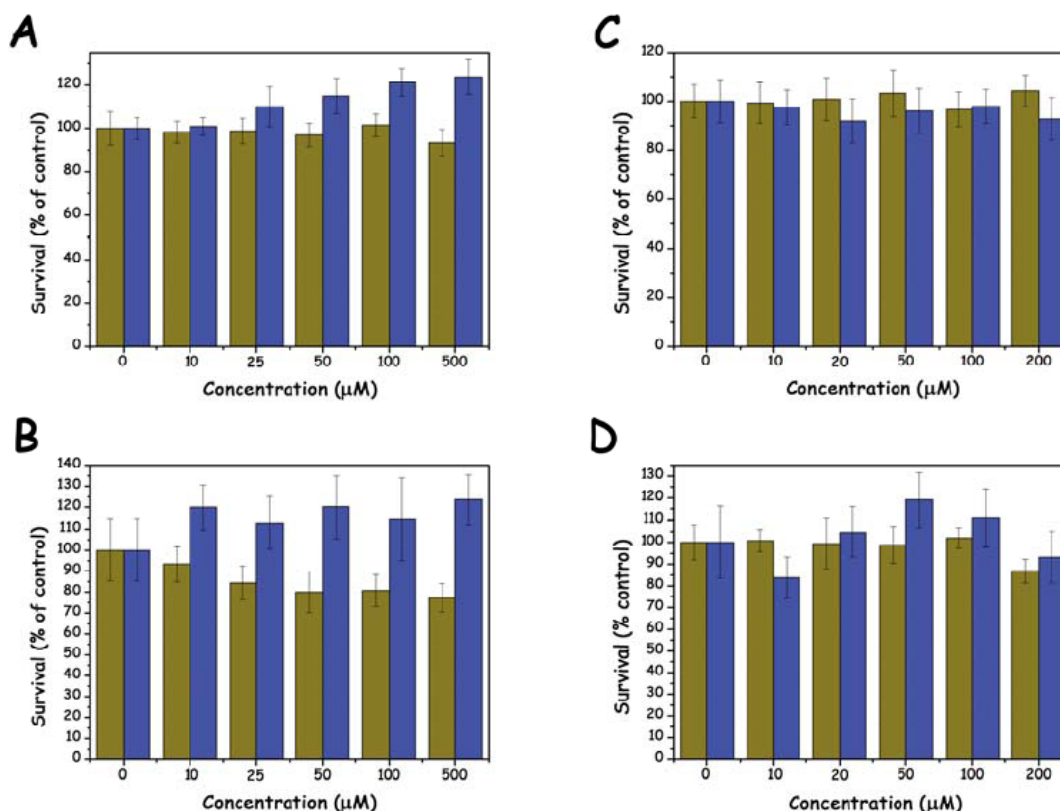


**Σχήμα 9.8** Θερμική σταθερότητα των SNO-βCDs σε σύγκριση με την GSNO, ένταση κορυφών στα 334 nm ως προς το χρόνο: —μονο-6-SNO-βCD (1 mM, RPMI 1640), —GSNO (1 mM, RPMI 1640), και —πολυ-SNO-βCD (0.5 mM, DMSO). α) 37 °C, β) 45 °C, γ) 60 °C.

Σημειώνεται ότι σε συνεργασία του εργαστηρίου με το Πανεπιστήμιο Κατάνια δείχθηκε η φωτοεπαγόμενη απελευθέρωση NO, το οποίο και μετρήθηκε με ειδικό ηλεκτρόδιο NO, μετά από ακτινοβολήση στα 334 και 258 nm.

## 9.5 Πειράματα σε Κύτταρα

Μελέτες κυτταροτοξικότητας έγιναν για δύο κυτταρικές σειρές, την DU145 (καρκινικά κύτταρα του προστάτη)<sup>98</sup> και την MCF7 (καρκινικά κύτταρα του μαστού).<sup>99</sup> Τα κύτταρα επώαστηκαν παρουσία εύρους συγκεντρώσεων των CD-SNO απουσία φωτός, η δε επιβίωση τους προσδιορίσθηκε με την μέθοδο MTT. Η μονο-6-SNO-βCD<sup>93</sup> και η πολυ-6-SNO-βCD δεν βρέθηκαν ιδιαίτερα τοξικές για τα κύτταρα μετά από επώαση 3 h, για κανένα από τα δύο χρονικά σημεία του προσδιορισμού (0 και 24 h), ακόμα και σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις (200 μM για την πολυ-6-SNO-βCD και 500 μM για τη μονο-6-SNO-βCD (Σχήμα 9.9).



**Σχήμα 9.9** Κυτταρική Επιβίωση κυττάρων DU145 (■) και MCF7 (■) μετά από 3 h επώαση με μονο-SNO-βCD: (A) προσδιορισμός στις 0 h μετά την επώαση, (B) προσδιορισμός στις 24 h μετά την επώαση και με πολυ-SNO-βCD: (C) προσδιορισμός στις 0 h μετά την επώαση, (D) προσδιορισμός στις 24 h μετά την επώαση.

Συνεπώς, η έλλειψη κυτταροτοξικότητας σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις δείχνει ότι οι ενώσεις δεν είναι επιβλαβείς απουσία φωτός και θέρμανσης. Σε συνδυασμό με την ικανότητα εγκλωβισμού μορίων όπως η *N*-απομεθυλιωμένη ταμοξιφαίνη και η κιτρική ταμοξιφαίνη,<sup>93</sup> από την υδατοδιαλυτή μονο-SNO-CD, φαίνεται ότι μπορούν να παραχθούν βιοδραστικά σύμπλοκα με διπλή δράση. Τέλος, η μη υδατοδιαλυτή πολυ-SNO-CD, οι οποία διαπερνά τις κυτταρικές μεμβράνες,<sup>93</sup> δύναται να χρησιμοποιηθεί ενδοκυτταρικά ως φορέας αυξημένων ποσοτήτων NO.

## 9.6 Συμπεράσματα

Σχεδιάστηκαν και συντέθηκαν SNO-παράγωγα κυκλοδεξτρινών, τα οποία παρουσιάζουν χαμηλή κυτταρική τοξικότητα και δυνατότητα μεταφοράς ουσιών εξωκυτταρικά ή ενδοκυτταρικά. Τα SNO-παράγωγα είναι θερμικώς περισσότερο σταθερά από τη *S*-νιτρωδογλουταθειόνη και γι' αυτό το λόγο μπορούν να αποτελέσουν

μια καινούρια ομάδα τροποποιημένων κυκλοδεξτρινών για βιολογικές εφαρμογές. Η υδατοδιαλυτή μονο-SNO-βCD μπορεί ταυτόχρονα να αποδεσμεύει NO, καθώς και να μεταφέρει κάποιο φάρμακο στην κοιλότητα της. Η μονο-SNO-βCD, εξαιτίας της υδροφιλικότητας της, προορίζεται κυρίως για εξωκυτταρικές εφαρμογές (π.χ για αποσυσσωμάτωση αιμοπεταλίων). Η πολύ-SNO-βCD είναι διαλυτή σε DMSO, έτσι μπορεί να διαπεράσει τις λιπόφιλες μεμβράνες των κυττάρων. Επιπροσθέτως, είναι πηγή πολλαπλών μορίων NO και γι' αυτό το λόγο θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως ουσία με αγγειοδιασταλτική, καθώς και αντικαρκινική δράση.



---

# **ΜΕΡΟΣ ΙΙΙ**

## **ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ**

---



10

---

**Πειραματικά Δεδομένα**

---



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10: Πειραματικά Δεδομένα

### 10.1 Γενικά

#### 10.1.1 Αντιδραστήρια

Όλοι οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν στις συνθέσεις ήταν αναλυτικής καθαρότητας. Το οξείδιο του δευτερίου ( $D_2O$ ), το δευτεριωμένο διμεθυλοσουλφοξείδιο ( $DMSO-d_6$ ), η δευτεριωμένη μεθανόλη ( $CD_3OD$ ) και το δευτεριωμένο χλωροφόρμιο ( $CDCl_3$ ) τα οποία χρησιμοποιήθηκαν στη φασματοσκοπία NMR ήταν προϊόντα της εταιρείας Deutero GmbH. Σε ορισμένες περιπτώσεις το  $CDCl_3$  υπέστη κατεργασία με ουδέτερη αλουμίνα για την απομάκρυνση της υγρασίας και της εξουδετέρωση τυχόν οξύτητας. Το νατραζίδιο και η *N,N'*-δισοπροπυλοαιθυλαμίνη ήταν της εταιρείας Merck. Η  $\beta$ CD αγοράστηκε από την εταιρεία Cyclolab. Οι κυκλοδεξτρίνες που χρησιμοποιήθηκαν ξηράθηκαν είτε με θέρμανση στους  $70\text{ }^\circ\text{C}$  υπό κενό για 20 ώρες, είτε με λυοφιλίωση για 5 h. Το 1,3-διαμινοπροπάνιο, και η πυριδίνη αποστάχθηκαν από μείγμα  $CaO-KOH$  και φυλάχθηκαν σε φιάλες οι οποίες περιείχαν μοριακά κόσκινα τύπου  $4\text{ \AA}$ , ενώ η προπαργουλαμίνη, πριν χρησιμοποιηθεί σε αντίδραση, παρέμενε υπό ανάδευση για 2 h με  $KOH$ . Το άνυδρο (99.8%) διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF) ήταν της εταιρείας Sigma. Η Ταμοξιφαίνη, η 1-αδαμανταναμίνη και το *p-t*-βουτυλοβενζοϊκό οξύ ήταν από την εταιρεία Sigma-Aldrich. Η μονο-SH- $\beta$ CD παρασκευάστηκε αρχικώς από τη Δρ. Linda Piras, ενώ το NDTAM και το TAM-C παρασκευάστηκαν από τον υποψήφιο διδάκτορα Antonio Ricardo Goncalves. Η μονο- $^{15}NH_2$ - $\beta$ CD ήταν ευγενική χορηγία της εταιρείας Cyclolab, ενώ το  $Na^{15}NO_2$  αγοράστηκε από την εταιρεία Cortecnet. Η μεμβράνη διαπίδυσης (dialysis cellulose tubing, benzoylated, 32 mm) αγοράστηκε από τη Sigma και χρησιμοποιήθηκε για το καθαρισμό ενώσεων με μοριακά βάρη  $\geq 1.200\text{ g/mol}$ . Η ανιονανταλλακτική ρητίνη ιόντων  $Cl^-$  (Dowex Type I 1x2-400) και η κατιονανταλλακτική ρητίνη ιόντων  $H^+$  (Amberlite IR 120) ήταν της εταιρείας Fluka. Η πηκτή πυριτίας (silica gel) η οποία χρησιμοποιήθηκε για τη χρωματογραφία στήλης ήταν της εταιρείας Merck (230-400 mesh), η Sephadex G50 ήταν της εταιρείας Pharmacia, η ουδέτερη αλουμίνα (Alumina-neutral) ήταν της εταιρείας Fluka, οι παρασκευαστικές πλάκες (Silica gel, 20x20 cm, 500 microns) ήταν της εταιρείας Analteck, οι πλάκες οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν για τη χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC) ήταν φύλλα αλουμινίου επικαλυμμένα με Silica gel 60 F<sub>254</sub> της εταιρείας Fluka και τέλος οι στήλες εκχύλισης στερεάς φάσης (SPE, Supelclean LC-WCX, Supelclean LC-NH<sub>2</sub>, Supelclean Alumina-A) ήταν της εταιρείας Supelco.

### 10.1.2 Διαλύτες Ανάπτυξης και Εμφάνισης TLC

Στη χρωματογραφία λεπτής στιβάδας και στη χρωματογραφία στήλης χρησιμοποιήθηκαν τα εξής μίγματα διαλυτών προανάλυσης: ισοπροπανόλη:οξικός αιθυλεστέρας:νερό (5:3:3), ισοπροπανόλη:οξικός αιθυλεστέρας:νερό:αμμωνία (5:3:3:1), ακετονιτρίλιο:νερό (5:3, 5:2, 2:1) και αιθανόλη:νερό (1:1) και η εμφάνιση έγινε είτε μετά από ψεκασμό με αιθανολικό διάλυμα θειικού οξέος και θέρμανση, είτε με ψεκασμό αιθανολικού διαλύματος ανισαλδεΐδης και θέρμανση. Στη χρωματογραφία με Sephadex G50 χρησιμοποιήθηκε υδατικό διάλυμα NaCl (0.15 M) ενώ στην εκχύλιση στερεάς φάσης ως διαλύτης έκλουσης χρησιμοποιήθηκε νερό με pH 7 (το pH ρυθμίστηκε με υδατικό διάλυμα HCl 1M).

### 10.1.3 Οργανολογία

Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR): Τα φάσματα NMR καταγράφηκαν σε φασματόμετρο BRUKER AVANCE III 250 με συχνότητα λειτουργίας (α) 250.13 MHz για  $^1\text{H}$  και 62.90 MHz για  $^{13}\text{C}$  και (β) BRUKER AVANCE DRX 500 με συχνότητα λειτουργίας 500.13 MHz για  $^1\text{H}$  και 125.77 MHz για  $^{13}\text{C}$  (Ινστιτούτο Φυσικοχημείας, Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος»), με ανιχνευτή BBI (inverse broad band probe) και ρύθμιση θερμοκρασίας δείγματος μέσω μονάδας BVT 3000. Τα φάσματα  $^{31}\text{P}$  ( $^{31}\text{P}$  NMR spectra) και  $^{15}\text{N}$  ( $^{15}\text{N}$  NMR spectra) καταγράφηκαν στο φασματόμετρο BRUKER AVANCE DRX 500 στα 202.5 και 50.7 MHz αντιστοίχως, στους 25 °C και όλες οι χημικές μετατοπίσεις καταγράφονται σε μονάδες ppm αναφορικά με τη μετατόπιση του φωσφόρου σε διάλυμα 85% φωσφορικού οξέος ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) στα 0.00 ppm. Στα φάσματα  $^{15}\text{N}$  NMR στους 25 °C, οι χημικές μετατοπίσεις καταγράφηκαν αναφορικά με τη μετατόπιση εξωτερικού δείγματος ουρίας στα 77 ppm.

Φασματοσκοπία υπερούθρου (IR): Τα φάσματα ελήφθησαν σε φασματόμετρο Thermo Scientific Nicolet 6700 FTIR, με σύστημα καθαρισμού  $\text{N}_2$ . Τα φάσματα λαμβάνονται χρησιμοποιώντας μονή ανάκλαση ATR (Attenuated Total Reflection), εφοδιασμένο με SmartOrbit κρύσταλλο διαμαντιού απλής αναπήδησης (single-bounce) (Εύρος φασμάτων: 10,000-55  $\text{cm}^{-1}$ , Γωνία πρόσπτωσης: 45°).

Φασματομετρία Μάζας: Φάσματα MALDI-TOF ή ESI-TOF (μήτρα 2,5-διυδροξυ βενζοϊκό οξύ, DHB ή α-κυανο-4-υδροξυκινναμωμικό οξύ, HCCA), ήταν παροχή υπηρεσιών από το εργαστήριο MS του Ινστιτούτου Χημείας και Βιοχημείας «G. Ronzoni», Μιλάνο, Ιταλία, φάσματα ESI-MS ελήφθησαν από το εργαστήριο Μάζας και Ανάλυσης Διοξινών,

ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος» (Δρ. Λ. Λεοντιάδης) και τέλος φάσματα υψηλής ανάλυσης, ESI-HR-MS, ελήφθησαν από το εργαστήριο Μάζας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών (Κ. Ε. Σιάπη).

Φασματοσκοπία Απορρόφησης Υπεριώδους- Ορατού (UV-Vis): τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας κυψελίδες από χαλαζία μήκους διαδρομής 1 mL/1 cm (Helma GmbH & Co. KG, Müllheim, Germany) με μονή δέσμη, σε φασματοφωτόμετρο Lambda 35 UV/Vis, εξοπλισμένο με σύστημα PCB 1500 Water Peltier, για τη ρύθμιση της θερμοκρασίας (Perkin Elmer, Santa Clara, California, USA).

Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC): τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε υγρό χρωματογράφο Shimadzu LC-10AT, με ανιχνευτή UV-Vis Shimadzu SDD-10A. Χρησιμοποιήθηκε στήλη αντίστροφης φάσης C18 και μίγματα MeOH:H<sub>2</sub>O ως διαλύτες έκλουσης.

Μέτρηση pH: Χρησιμοποιήθηκε πεχάμετρο MP220 της εταιρίας Mettler Toledo.

Μέτρηση Σημείων Τήξεως: Χρησιμοποιήθηκε συσκευή Electrothermal IA9000 Series (Digital Melting Point Apparatus).

Ζύγιση: Χρησιμοποιήθηκε ζυγός 5 δεκαδικών ψηφίων Sartorius BP210D.

Συσκευή μικροκυμάτων: Χρησιμοποιήθηκε αντιδραστήρας μικροκυμάτων CEM (Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών σε συνεργασία με τον Δρ. Γ. Χαιρόπουλο).

Στοιχειακές Αναλύσεις: Χρησιμοποιήθηκε όργανο Perkin Elmer Elemental analyzer 2400 CHN (Κα. Ε. Γιαννακοπούλου, ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος»).

#### 10.1.4 Παράμετροι Λήψης Φασμάτων NMR Δύο Διαστάσεων

Φάσματα <sup>1</sup>H NMR με κορεσμό της κορυφής του διαλύτη (presaturation): ελήφθησαν με D1 = 1.5 s, παλμό 90° και ισχύ ακτινοβολήσης 55-58 dB στη συχνότητα εμφάνισης του διαλύτη (=O1), συνήθως HDO στο D<sub>2</sub>O.

Φάσματα ομοπυρηνικού συσχετισμού 2D COSY: [<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H συσχετισμός μέσω δεσμών (J)]. Τα φάσματα ελήφθησαν στους 298 K στα 500 MHz με χρήση βαθμωτού πεδίου στον άξονα z (z-gradient selection). Οι παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν ήταν: χρόνος αναμονής D1 = 0.7-1 s και ψηφιακή ανάλυση στην F2: ~9-12 Hz/pt και F1: ~20 Hz/pt.

Φάσματα ομοπυρηνικού συσχετισμού 2D ROESY: [<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H συσχετισμός μέσω χώρου (ROE)]. Τα φάσματα ελήφθησαν στους 298 K στα 500 MHz με προ-ακτινοβολήση του σήματος του HDO. Οι παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν ήταν: χρόνος αναμονής D1 =

0.7-1 s, και ψηφιακή ανάλυση F2: 4.88 Hz/pt και F1: 12.5 Hz/pt, χρόνος ανάμιξης (spin-lock time) 300-350 ms.

Φάσματα ομοπυρηνικού συσχετισμού 2D NOESY: [ $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  συσχετισμός μέσω χώρου (NOE)]. Τα φάσματα ελήφθησαν στους 298 K στα 500 MHz με προ-ακτινοβολήση του σήματος του H<sub>2</sub>O. Οι παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν ήταν: χρόνος αναμονής D1 = 0.7-1 s, και ψηφιακή ανάλυση στην F2: 4.88 Hz/pt και στην F1: 12.5 Hz/pt. Ο χρόνος ανάμιξης d8 ήταν 0.3 s.

Φάσματα συνολικού συσχετισμού 2D TOCSY: [ $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  συσχετισμός μέσω διαδοχικών δεσμών]. Τα φάσματα ελήφθησαν στους 298 K στα 500 MHz με προ-ακτινοβολήση του σήματος του H<sub>2</sub>O. Οι παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν ήταν: χρόνος αναμονής D1 = 0.7-1 s, και ψηφιακή ανάλυση στην F2: 2.44 Hz/pt και στην F1: 9.77 Hz/pt, χρόνος ανάμιξης (spin-lock time): 70 ms.

Φάσματα ετεροπυρηνικού συσχετισμού 2D HSQC: [ $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  συσχετισμός μέσω  $^1\text{J}$  με παρατήρηση  $^1\text{H}$ ]. Τα φάσματα ελήφθησαν στους 298 K στα 500 MHz με z-gradients. Οι παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν ήταν: χρόνος αναμονής D1 = 0.8-1 s, μέγεθος πειράματος (TD) 1024 ή 2048 data points στην F2, σαρώσεις (NS) 8 ή 16 και χρόνοι που αντιστοιχούν σε  $^1J_{\text{C-H}} = 140$  Hz.

Φάσματα DOSY (Difussion-Ordered Spectroscopy): Τα φάσματα ελήφθησαν στους 298 K στα 500 MHz με χρήση βαθμωτού πεδίου στον άξονα z (z-gradient selection). Χρησιμοποιήθηκαν 4 cm διαλύτη στο σωληνίσκο NMR ώστε να υπάρχει γραμμικότητα του βαθμωτού πεδίου κατά μήκος του δείγματος και να απουσιάζει βαθμίδωση θερμοκρασίας (κατά το δυνατόν). Ο παλμός 90° ήταν 10 μs ενώ για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκε d1 = 4\*T1, οι οποίες πραγματοποιήθηκαν με την ακολουθία ledbrgspr2s1d (gradient spin echo sequence) και εφαρμόζοντας κορεσμό της κορυφής του διαλύτη. Τα δεδομένα συνελέγησαν με 32 ή 16 σαρώσεις ανά βήμα βαθμίδας, 2.5 ms παλμό (δ). Χρησιμοποιήθηκε γραμμική βαθμίδωση 1632 βημάτων μεταξύ του 2% και του 95% και χρόνο διάχυσης (Δ) 100 ms. Οι συνολικοί χρόνοι λήψης FID ήταν 31 ή 62 min.

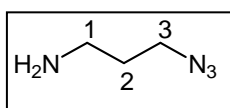
Όλα τα φάσματα επεξεργάστηκαν με το πρόγραμμα Topspin 2.1 (Bruker).



## 10.2 Σύνθεση Ολιγομερών Κυκλοδεξτρινών

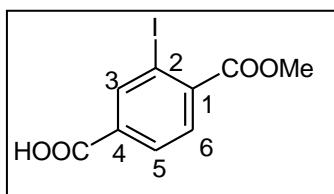
### 10.2.1 Σύνθεση Συνδετών για την Παρασκευή Ολιγομερών Κυκλοδεξτρινών

#### 3-Αζιδοπροπυλαμίνη (5.16)



Σε διάλυμα υδροβρωμικής 3-βρωμοπροπυλαμίνης (3.0 g, 27.4 mmol) σε H<sub>2</sub>O (22.5 mL) προστέθηκαν KI (227.4 mg, 1.37 mmol) και NaN<sub>3</sub> (2.67 g, 41.1 mmol). Το διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 12 h στους 80 °C και εν συνεχεία παρέμεινε για 15 min σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολούθως, προστέθηκε KOH (1.78 g, 31.65 mmol) και το διάλυμα εκχυλίσθηκε με Et<sub>2</sub>O (4x10 mL), η οργανική φάση ξηράνθηκε υπεράνω MgSO<sub>4</sub> και ο Et<sub>2</sub>O απομακρύνθηκε προσεκτικά υπό ελαττωμένη πίεση χωρίς θέρμανση, καθώς το προϊόν είναι ιδιαιτέρως πτητικό. Το επιθυμητό προϊόν παρελήφθη ως άχρωμο, λεπτόρευστο υγρό (2 g, 73%). <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 298 K, 500 MHz) δ 3.40 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, H3), 2.71 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, H1), 1.74 (m, 2H, H2) ppm. <sup>13</sup>C NMR (D<sub>2</sub>O, 298 K, 125 MHz) δ 49.1 (C3), 38.2 (C1), 30.9 (C2) ppm. IR: ν 2091.0 (-N<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup> [σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία].<sup>100</sup>

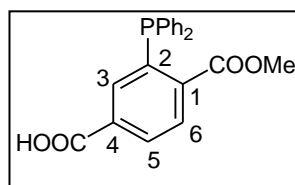
#### Μεθυλικός εστέρας του 2-ιωδοτερεφθαλικού οξέος (5.9)



Διάλυμα NaNO<sub>2</sub> (360 mg, 5.2 mmol) σε H<sub>2</sub>O (2 mL) ψύχθηκε στους 0 °C. Παράλληλα, παρασκευάστηκε διάλυμα του μεθυλικού εστέρα του 2-αμινοτερεφθαλικού οξέος (1.0 g, 5.12 mmol) σε π. HCl (10 mL) στους 0 °C. Στη συνέχεια, το διάλυμα του NaNO<sub>2</sub> προστέθηκε στάγδην στο διάλυμα του μεθυλικού εστέρα του 2-αμινοτερεφθαλικού οξέος. Η θερμοκρασία και των δύο διαλυμάτων διατηρήθηκε στους 0 °C καθ' όλη τη διάρκεια της προσθήκης. Το προκύψαν διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 30 min στους 25 °C, διηθήθηκε από σελίτη και στη συνέχεια προστέθηκε στάγδην σε υδατικό διάλυμα KI (14 mL, 8.6 g, 50.0 mmol). Το σκούρο κόκκινο διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 1 h και στη συνέχεια αραιώθηκε με CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (200 mL). Οι δύο φάσεις διαχωρίστηκαν και η οργανική φάση εκπλύθηκε με κεκορεσμένο υδατικό διάλυμα Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (2 x 20 mL), H<sub>2</sub>O (2 x 40 mL) και κεκορεσμένο υδατικό διάλυμα NaCl (40 mL). Όλες οι υδατικές φάσεις συγκεντρώθηκαν και εκχυλίσθηκαν μια ακόμα φορά με CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (40 mL). Τέλος, οι οργανικές φάσεις ενώθηκαν, ξηράνθηκαν υπεράνω MgSO<sub>4</sub> και εν συνεχεία απομακρύνθηκε ο διαλύτης υπό κενό. Το στερεό που προέκυψε διαλύθηκε στη μικρότερη δυνατή ποσότητα MeOH (10 mL) και στο διάλυμα αυτό προστέθηκε H<sub>2</sub>O στάγδην (4 - 5 σταγόνες) μέχρι να παρατηρηθεί δημιουργία ιζήματος.

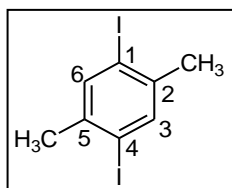
Το διάλυμα παρέμεινε για 12 h στους 0-5 °C και στη συνέχεια το παραχθέν ίζημα παραλήφθηκε με διήθηση υπό κενό, εκπλύθηκε με παγωμένο H<sub>2</sub>O (2 x 2 mL) και ξηράνθηκε υπό κενό στους 30- 40 °C. Το διήθημα συμπυκνώθηκε έως ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση και επαναλήφθηκε η διαδικασία καταβύθισης. Το προϊόν παραλήφθηκε ως υποκίτρινο στερεό (87 mg, 58%). Σ.τ: 161.8- 162.0 °C, R<sub>f</sub> = 0.51 σε διαλύτη ανάπτυξης CHCl<sub>3</sub>:MeOH (8:1), <sup>1</sup>H NMR, (CDCl<sub>3</sub>, 298 K, 500 MHz) δ 8.69 (s, 1H, H3), 8.12 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H5), 7.83 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H6) ppm. <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 298 K, 62.9 MHz) δ 169.8 (-COOH), 166.8 (-COO-), 142.8 (C3), 140.4 (C4), 132.7 (C1), 130.8 (C6), 129.7 (C5), 93.6 (C2), 53.1 (-OCH<sub>3</sub>) ppm [σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία].<sup>52</sup>

### Μεθυλικός εστέρας του 2-διφαινυλοφωσφινότερεφθαλικού οξέος (5.2)



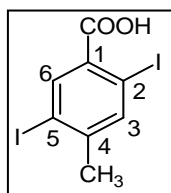
Σε διάλυμα μεθυλικού εστέρα του 2-ιωδοτερεφθαλικού οξέος (150 mg, 0.490 mmol) σε ξηρή MeOH (4.5 mL) προστέθηκε τριαιθυλαμίνη (137 μL, 0.98 mmol) και οξικό παλλάδιο (1.1 mg, 0.005 mmol). Το προκύψαν διάλυμα απαερώθηκε, εν συνεχεία προστέθηκε διφαινυλοφωσφίνη (85.3 μL, 0.49 mmol) και τέλος αφέθηκε υπό ανάδευση για 12 h στους 70 °C. Το διάλυμα επανήλθε σε θερμοκρασία δωματίου και συμπυκνώθηκε υπό ελαττωμένη πίεση. Στο υπόλειμμα προστέθηκε CHCl<sub>3</sub>:H<sub>2</sub>O (1:1, v/v), οι δύο φάσεις διαχωρίστηκαν, η οργανική στιβάδα εκπλύθηκε με υδατικό διάλυμα HCl (1M, 6 mL) και συμπυκνώθηκε υπό ελαττωμένη πίεση μέχρι ξηρού. Το στερεό που απέμεινε διαλύθηκε στη μικρότερη δυνατή ποσότητα MeOH (16.5 mL) και στη συνέχεια προστέθηκε ίση ποσότητα H<sub>2</sub>O (16.5 mL). Το μίγμα παρέμεινε στους 0-5 °C για 2 h οπότε δημιουργήθηκε ίζημα το οποίο παραλήφθηκε μετά από διήθηση υπό κενό και ξήρανσή του σε ξηραντήρα υπό κενό για την πλήρη απομάκρυνση της υγρασίας. Το ξηρό προϊόν συλλέχθηκε ως πορτοκαλόχρουν στερεό (85.7 mg, 48%). Στ: 94-95 °C (βιβλ. 95-96 °C),<sup>13</sup> R<sub>f</sub> = 0.57 σε διαλύτη ανάπτυξης CHCl<sub>3</sub>:MeOH (8:1). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 298 K, 500 MHz) δ 8.52 (d, J = 14 Hz, H3), 8.33 (d, J = 8.0 Hz, H5), 7.97 (dd, J<sub>1</sub> = 8.0 Hz, J<sub>2</sub> = 4 Hz, H6), 7.78-7.13 (10H, -Ar), 3.75 (3H, -OCH<sub>3</sub>) ppm. <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 298 K, 125 MHz) δ 170.3 (-COOH), 166.7 (-COO-), 136.2, 135.9, 134.2, 134.0, 132.5, 132.1, 130.9, 130.3, 129.5, 129.0, 128.9 (-Ar), 52.7 (-OCH<sub>3</sub>) ppm. <sup>31</sup>P NMR (D<sub>2</sub>O, 298K, 202.5 MHz) δ -3.4 ppm [σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία].<sup>52</sup>

#### 1,4-Διϊωδο-*p*-ξυλόλιο (5.11)



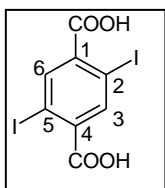
Σε διάλυμα οξικού οξέος (25 mL), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2.5 mL) και H<sub>2</sub>O (2.5 mL) προστέθηκε CCl<sub>4</sub> (2.5 mL), *p*-ξυλόλιο (6.16 ml, 50 mmol), I<sub>2</sub> (10.25 g, 40 mmol) και ιωδικό οξύ (3.90 g, 22 mmol). Το διάλυμα παρέμεινε υπό έντονη ανάδευση, απουσία φωτός, για 4 h στους 85 °C και ακολούθως αποχύθηκε σε κεκορεσμένο διάλυμα NaHSO<sub>4</sub>. Προέκυψε ίζημα το οποίο παρελήφθη με διήθηση και εκπλύθηκε με MeOH (10 mL). Τέλος, το στερεό ανακρυσταλλώθηκε με AcOEt (50 mL) και λίγες σταγόνες MeOH. Το επιθυμητό προϊόν παρελήφθη υπό μορφή λευκών κρυστάλλων (12.24 g, 70%). σ.τ: 102.8-104 °C (βιβλ: 104.0 °C),<sup>64</sup> R<sub>f</sub> = 0.74 σε διαλύτη ανάπτυξης AcOEt:*n*-εξάνιο (1:1). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 298 K, 500 MHz) δ 7.65 (s, 2H, H3 & H6), 2.34 (s, 6H, -CH<sub>3</sub>) ppm. <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 62.9 MHz) δ 140.6 (C2 & C5), 139.3 (C3 & C6), 100.6 (C1 & C4), 26.9 (-CH<sub>3</sub>) ppm [σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία].<sup>64</sup>

#### 4-Μεθυλο-2,5-διϊωδοβενζοϊκό οξύ (5.12)



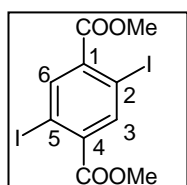
Σε διάλυμα 1,4-διϊωδο-*p*-ξυλολίου (5.00 g, 13.97 mmol) σε πυριδίνη (50 mL) και H<sub>2</sub>O (16.7 mL) προστέθηκε KMnO<sub>4</sub> (2.67 g, 84.4 mmol). Το μείγμα θερμάνθηκε και παρέμεινε υπό βρασμό με επαναρροή, απουσία φωτός για 24 h. Στη συνέχεια, το υπάρχον ίζημα διηθήθηκε εν θερμώ για την απομάκρυνση του στερεού οξειδίου του μαγγανίου, και εκπλύθηκε με θερμό διάλυμα KOH (5% w/v, 20 mL). Τα διηθήματα συλλέχθηκαν, συμπυκνώθηκαν και ξηράθηκαν υπό ελαττωμένη πίεση. Το στερεό που προέκυψε διαλύθηκε σε H<sub>2</sub>O, παρέμεινε υπό βρασμό για 5 min και διηθήθηκε εν θερμώ. Το pH του διηθήματος ρυθμίστηκε με υδατικό διάλυμα HCl 2M, στους 0 °C έως pH 2 και το επιθυμητό προϊόν καταβυθίστηκε ως λευκό στερεό, διηθήθηκε και ξηράθηκε υπό κενό (2.98 g, 55%). σ.τ: 185.4 °C. (βιβλ: 185.0-187.0 °C), R<sub>f</sub> = 0.39 σε διαλύτη ανάπτυξης AcOEt:*n*-εξάνιο (1:1). <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 298 K, 500 MHz) δ 13.45 (bs, 1H, -COOH), 8.09 (s, 1H, H6), 7.94 (s, 1H, H3), 2.34 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>) ppm. <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 62.9 MHz) δ 166.7 (-COOH), 146.6 (C1), 141.7 (C6), 140.1 (C3), 135.7 (C4), 101.1 (C2), 94.9 (C5), 27.1 (-CH<sub>3</sub>) ppm [σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία].<sup>65</sup>

### 2,5-Διϊωδο-1,4-διβενζοϊκό οξύ (5.13)



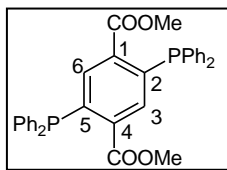
Σε υδατικό διάλυμα 4-μεθυλο-2,5-διϊωδοβενζοϊκού οξέος (1.00 g, 2.58 mmol) σε KOH (10% w/v, 10 mL) προστέθηκε KMnO<sub>4</sub> (1.63 g, 10.31 mmol) και ακολούθησε βρασμός με επαναρροή για 4 h, απουσία φωτός. Ακολούθως, το διάλυμα διηθήθηκε εν θερμώ, για την απομάκρυνση του προκύψαντος οξειδίου του μαγγανίου. Το οξύ του μαγγανίου το οποίο απομακρύνθηκε εκπλύθηκε με ζεστό υδατικό διάλυμα KOH (5% w/v, 20 mL). Το διήθημα συμπυκνώθηκε στο μισό όγκο και προστέθηκε το υδατικό διάλυμα HCl (18% v/v) έως pH 5. Το πρώτο ίζημα που προέκυψε απομακρύνθηκε με διήθηση υπό κενό, καθώς ήταν 4-μεθυλο-2,5-διϊωδοβενζοϊκό οξύ το οποίο δεν είχε αντιδράσει. Στη συνέχεια, το pH του διηθήματος ρυθμίστηκε στο 1.5 με υδατικό διάλυμα HCl (18% v/v) και παρέμεινε στους 0-5 °C για 12 h. Το προκύψαν ίζημα διηθήθηκε υπό κενό και ξηράθηκε. Το επιθυμητό προϊόν παρελήφθη ως λευκό στερεό (347.8 mg, 32%). σ.τ.: 351.7-352.1 °C (dec). R<sub>f</sub> = 0 σε διαλύτη ανάπτυξης AcOEt:n-εξάνιο (2:1). <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 298 K, 500 MHz) δ 13.68 (bs, 2H, -COOH), 8.13 (s, 2H, H<sub>2</sub>) ppm. <sup>13</sup>C NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 62.9 MHz) δ 166.8 (-COOH), 141.2 (C<sub>3</sub>), 140.7 (C<sub>4</sub>), 94.0 (C<sub>2</sub>) ppm [σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία].<sup>65</sup>

### Διμεθυλεστέρας του 2,5-διϊωδοτερεφθαλικού οξέος (5.14)



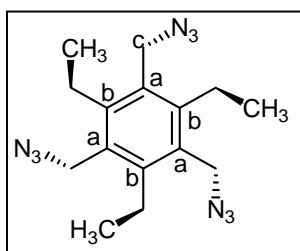
Σε διάλυμα 2,5-διϊωδο-1,4-διβενζοϊκού οξέος (300 mg, 0.72 mmol) σε MeOH (4 mL) προστέθηκε σάγδην π. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0.4 mL). Το διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση και σε βρασμό με επαναρροή για 5 h. Στη συνέχεια, το διάλυμα παρέμεινε στους 0-5 °C για 12 h και το προκύψαν στερεό απομονώθηκε με διήθηση υπό κενό και εκπλύθηκε με ψυχρή μεθανόλη. Το επιθυμητό προϊόν παρελήφθη ως λευκό στερεό (314 mg, 98%). σ.τ.: 164.0-167.3 °C, R<sub>f</sub> = 0.62 σε διαλύτη ανάπτυξης AcOEt:n-εξάνιο (3:1). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 298 K, 500 MHz) δ 8.33 (s, 2H, H<sub>3</sub>, H<sub>6</sub>), 3.95 (s, 6H, -OCH<sub>3</sub>) ppm. <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 298 K, 125 MHz) δ 165.1 (-COO-), 143.1 (C<sub>3</sub>, C<sub>6</sub>), 138.7 (C<sub>1</sub>, C<sub>4</sub>), 93.1 (C<sub>2</sub>, C<sub>5</sub>), 53.2 (-OCH<sub>3</sub>) ppm [σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία].<sup>66</sup> Στοιχειακή ανάλυση: C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>I<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: C, 26.71; H, 1.75; θεωρ. C, 26.93; H, 1.81.

### Διμεθυλεστέρας του 2,5-δισ(διφαινυλοφωσφίνο)τερεφθαλικού οξέος (5.6)



Σε διάλυμα διμεθυλεστέρας του 2,5-διϊώδοτερεφθαλικού οξέος (100 mg, 0.224 mmol) σε ξηρό THF (3 mL) προστέθηκαν τριαιθυλαμίνη (125  $\mu$ L, 0.896 mmol) και καταλυτική ποσότητα οξικού παλλαδίου. Το διάλυμα απαερώθηκε με αργό και αφού προστέθηκε διφαινυλοφωσφίνη (78  $\mu$ L, 0.448 mmol), παρέμεινε υπό ανάδευση και υπό αργό για 12 h στους 70 °C. Στη συνέχεια, το διάλυμα επανήλθε σε θερμοκρασία δωματίου και συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση. Το υπόλειμμα διαλύθηκε σε μίγμα  $\text{CHCl}_3:\text{H}_2\text{O}$  (1:1, v/v) (84 mL), οι δύο φάσεις διαχωρίστηκαν, η οργανική φάση εκπλύθηκε με υδατικό διάλυμα HCl (1M, 4 mL) και εν συνεχεία συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση. Στο προκύψαν στερεό προστέθηκε μικρή ποσότητα ξηρού DMF με αποτέλεσμα το επιθυμητό προϊόν να απομονωθεί ως αδιάλυτο πορτοκαλόχρουν στερεό, με φυγοκέντριση και ξήρανση υπό κενό (126 mg, 100%). Το προϊόν αποθηκεύθηκε υπό αργό στους -20 °C.  $R_f = 0.57$  σε διαλύτη ανάπτυξης  $\text{CHCl}_3$ .  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 298 K, 500 MHz)  $\delta$  7.55-7.40 (m, 22H, -Ar), 3.57 (s, 6H, -OCH<sub>3</sub>) ppm.  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 298 K, 125 MHz)  $\delta$  166.8 (-COO-), 141.1, 140.9 (C1), 137.1 136.9, 136.1, 134.2, 134.0, 129.2, 128.8 (-Ar), 52.2 (-OCH<sub>3</sub>) ppm.  $^{31}\text{P NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 202.5 MHz)  $\delta$  -3.9 ppm. Σ.τ: 199.0-201.0 °C (dec). MS (ESI): m/z 563.3 [M+H]<sup>+</sup>, θεωρ. [C<sub>34</sub>H<sub>28</sub>O<sub>4</sub>P<sub>2</sub>H]<sup>+</sup>: 563.15.

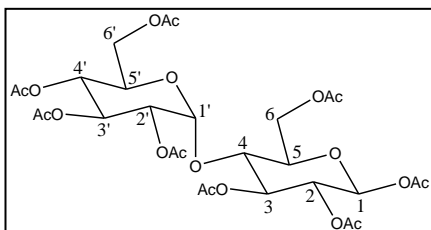
### 1,3,5-τριαζιδομεθυλο-2,4,6-τριαιθυλοβενζόλιο (6.2)



Σε διάλυμα 1,3,5-τριβρωμο-2,4,6-τριαιθυλοβενζολίου (800 mg, 1.81 mmol) σε ξηρό DMF (18 mL) προστέθηκε σταδιακά εντός 30 min, νατραζίδιο ( $\text{NaN}_3$ ) και το προκύπτον διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 24 h στους 30 °C. Στη συνέχεια, συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση και προστέθηκε  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (8 mL). Το διάλυμα εκπλύθηκε με  $\text{H}_2\text{O}$  (2 x 8 mL) και κεκορεσμένο διάλυμα NaCl (8 mL), ξηράνθηκε υπεράνω  $\text{MgSO}_4$  και συμπυκνώθηκε. Ελήφθη ελαιώδες προϊόν, το οποίο μετά την προσθήκη μίγματος  $\text{AcOEt}:\text{n-εξανίου}$  (1:1, v/v) και την ακόλουθη απομάκρυνση των διαλυτών, μετατράπηκε σε λευκό στερεό (320 mg, 54%). Μετά τη σύνθεση του, το προϊόν αποθηκεύθηκε υπό αργό στους -20 °C. στ: 61.2-63.0 °C (βιβλ: 61.0 °C).<sup>77</sup>  $R_f = 0.5$  σε σύστημα ανάπτυξης  $\text{AcOEt}:\text{n-εξάνιο}$  (25:75).  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 298 K, 500 MHz)  $\delta$  4.49 (s, -CH<sub>2</sub>-N<sub>3</sub>, 2H), 2.85 (q,  $J_1 = 8.0$  Hz,  $J_2 = 15.0$  Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.24 (t,  $J = 8.0$  Hz, 3H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm.  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 298 K,

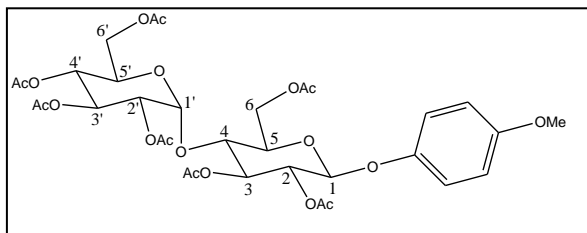
62.9 MHz)  $\delta$  145.0 (Ca), 130.0 (Cb), 47.9 (-CH<sub>2</sub>-N<sub>3</sub>), 23.2 (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 15.8 (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm. IR:  $\nu$  2968.6 (-N<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup>.

### Οκταακέτυλο μαλτόζη (7.5)



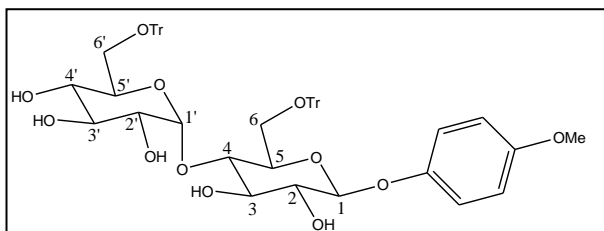
Σε αιώρημα ξηρής μαλτόζης (1 g, 2.92 mmol) σε ξηρό CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (7.6 mL) και ξηρή πυριδίνη (2.5 mL) προστέθηκε 4-διμεθυλαμινοπυριδίνη (DMAP) (7.1 mg, 0.06 mmol), στους 0 °C. Το αιώρημα παρέμεινε υπό ανάδευση για 30 min υπό αργό. Εν συνεχεία, προστέθηκε οξικός ανυδρίτης (2.9 mL, 30.95 mmol) στάγδην στους 0 °C. Το αιώρημα επανήλθε σταδιακά σε θερμοκρασία δωματίου όπου και παρέμεινε υπό ανάδευση για 12 h. Εν συνεχεία, στο προκύψαν διάλυμα προστέθηκε υδατικό διάλυμα HCl (2 M, 10.5 mL), οι δύο φάσεις διαχωρίστηκαν και η υδατική φάση εκχυλίστηκε με CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 2 mL). Τα οργανικά εκχυλίσματα εκπλύθηκαν αρχικώς με κεκορεσμένο υδατικό διάλυμα NaHCO<sub>3</sub> (10.5 mL), εν συνεχεία με κεκορεσμένο υδατικό διάλυμα NaCl (10.5 mL) και τέλος ξηράθηκαν υπεράνω θειϊκού μαγνησίου. Ακολούθησε διήθηση και συμπύκνωση μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση. Το επιθυμητό προϊόν παραλήφθηκε ως λευκό στερεό (1.68 g, 85%) με υψηλή καθαρότητα. στ: 158.7-161.0 °C (βιβλ: 159-160 °C),<sup>81</sup> R<sub>f</sub> = 0.51 σε σύστημα ανάπτυξης AcOEt:κυκλοεξάνιο (4:1). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 298 K, 500 MHz)  $\delta$  5.74 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H1 $\beta$ ), 5.40 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H, H1' $\alpha$ ), 5.35 (t, *J* = 10.0 Hz, 1H, H3'), 5.29 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H, H3), 5.05 (t, *J* = 10.0 Hz, 1H, H4'), 4.97 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H, H2), 4.85 (dd, *J*<sub>1</sub> = 10.5 Hz, *J*<sub>2</sub> = 4.0 Hz, 1H, H2'), 4.45 (dd, *J*<sub>1</sub> = 12.0 Hz, *J*<sub>2</sub> = 1.5 Hz, 1H, H6), 4.28-4.19 (m, 2H, H6 & H6'), 4.05 (s, 1H, H6'), 4.03 (t, *J* = 9.0 Hz, H4'), 3.94 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H, H5'), 3.80-3.90 (m, 1H, H5) ppm. <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 298 K, 125 MHz)  $\delta$  95.7 (C1' $\alpha$ ), 91.3 (C1 $\beta$ ), 75.3 (C3), 73.0 (C5), 72.5 (C4), 71.0 (C2), 70.0 (C2'), 69.3 (C3'), 68.6 (C5'), 68.0 (C4'), 62.5 (C6), 61.5 (C6') ppm [σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία].<sup>82</sup>

*p*-Μεθοξυφαινυλο-2,3,6-τρι-Ο-ακετυλο-4-Ο-(2',3',4',6'-τετρα-Ο-ακετυλο-α-D-γλυκοπυ-  
ρανοζυλο)-β-D-γλυκοπυρανοζίτης (7.6)



Σε διάλυμα ξηρής οκταακέτυλο μαλτόζης (1 g, 1.47 mmol) σε ξηρό CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (7.7 mL) προστέθηκε *p*-μεθοξυφαινόλη (834.4 mg, 6.72 mmol). Το διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 15 min στους 0 °C, εν συνεχεία προστέθηκε τριφθοροβορονικός διαιθυλαιθέρας (BF<sub>3</sub>OEt<sub>2</sub>) (0.55 mL, 4.42 mmol). Το διάλυμα επανήλθε σταδιακά σε θερμοκρασία δωματίου και παρέμεινε υπό ανάδευση για 12 h στην ίδια θερμοκρασία. Κατόπιν προστέθηκαν CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (12 mL) και H<sub>2</sub>O (6 mL). Οι δύο φάσεις διαχωρίστηκαν και η οργανική φάση εκπλύθηκε με H<sub>2</sub>O (6 mL), κεκορεσμένο διάλυμα NaHCO<sub>3</sub> (6 mL) και H<sub>2</sub>O (2 x 6 mL). Η οργανική φάση ξηράνθηκε υπεράνω MgSO<sub>4</sub>, διηθήθηκε και συμπυκνώθηκε υπό ελαττωμένη πίεση προς παραλαβή ελαιώδους μίγματος, από το οποίο παραλήφθηκε το επιθυμητό προϊόν ως λευκό στερεό, έπειτα από καταβύθιση με Et<sub>2</sub>O (216.6 mg). Συμπύκνωση του υπερκείμενου διαλύματος υπό ελαττωμένη πίεση μέχρι ξηρού και χρωματογραφία στήλης με sílika και διαλύτη έκλουσης *n*-εξάνιο: AcOEt (1:1) παρείχε επιπλέον ποσότητα επιθυμητού προϊόντος (405.7 mg, συνολική απόδοση 57 %). σt: 130.0-131.3 °C (βιβλ: 130-132 °C),<sup>82</sup> R<sub>f</sub> = 0.30 σε σύστημα ανάπτυξης AcOEt:*n*-εξάνιο (6:1). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 298 K, 500 MHz) δ 6.93 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, H<sub>o</sub>-O-), 6.82 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, H<sub>m</sub>-O-), 5.43 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H, H1'α), 5.36 (t, *J* = 10.0 Hz, 1H, H3'), 5.30 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H, H3), 5.10-5.00 (m, 2H, H4' & H2), 4.99 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H1β), 4.87 (dd, *J*<sub>1</sub> = 10.0 Hz, *J*<sub>2</sub> = 4.0 Hz, 1H, H2'), 4.48 (dd, *J*<sub>1</sub> = 12.0 Hz, *J*<sub>2</sub> = 2.0 Hz, 1H, H6'), 4.31-4.20 (m, 2H, H6 & H6'), 4.12-4.02 (m, 2H, H6 & H4), 3.97 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H, H5'), 3.80-3.85 (m, 1H, H5), 3.77 (s, 3H, H11) ppm. <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 298 K, 125 MHz) δ 170.6, 170.5, 170.4, 170.1, 169.7, 169.5, (-COO-), 156.0 (C<sub>ipso</sub>-O-), 151.0 (C<sub>ipso</sub>-OMe), 118.9 (C<sub>o</sub>-O-), 114.8 (C<sub>m</sub>-O-), 99.9 (C1β), 95.8 (C1α), 75.6 (C3), 73.6 (C4), 72.5 (C5), 72.3 (C4'), 70.2 (C2'), 69.6 (C3'), 68.8 (C5'), 68.3 (C2), 63.0 (C6'), 61.8 (C6), 55.8 (C11), 21.1, 20.9, 20.8, 20.7 (-COOCH<sub>3</sub>) ppm [σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία].<sup>82</sup>

*p*-Μεθοξυφαινυλο-2,3-δι-υδροξυ-6-τριτυλο-4-Ο-(2',3',4'-τρι-Ο-βενζυλο-6'-τριτυλο-α-D-γλυκοπυρανοζυλο)-β-D-γλυκοπυρανοζίτης (7.7)

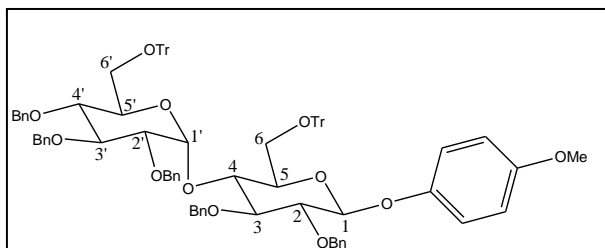


Σε διάλυμα ξηρού *p*-μεθοξυφαινυλο-2,3,6-τρι-Ο-ακετυλο-4-Ο-(2',3',4',6'-τετρα-Ο-ακετυλο-α-D-γλυκοπυρανοζυλο)-β-D-γλυκοπυρανοζίτη (100 mg, 0.135 mmol) σε ξηρή MeOH (1.1 mL) προστέθηκε σταδιακά

MeONa (0.25 mL, 0.2 M). Το διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 12 h στους 30 °C και στη συνέχεια ρυθμίστηκε σε pH 7 με ρητίνη Dowex H<sup>+</sup>, διηθήθηκε και συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση. Κατόπιν επαναδιαλυτοποιήθηκε σε πυριδίνη (0.75 mL) και στο διάλυμα προστέθηκε τριτυλοχλωρίδιο (150.5 mg, 0.54 mmol). Το προκύπτον διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση στους 45 °C για 48 h. Εν συνεχεία, το μίγμα της αντίδρασης συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση, προστέθηκε CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4 mL) και εκπλύθηκε με υδατικό διάλυμα HCl (1 M, 2x2 mL), κεκορεσμένο υδατικό διάλυμα NaHCO<sub>3</sub> (2x2 mL) και H<sub>2</sub>O (2x2 mL). Η οργανική φάση ξηράνθηκε υπεράνω MgSO<sub>4</sub>, διηθήθηκε, συμπυκνώθηκε υπό ελαττωμένη πίεση μέχρι ξηρού και τέλος το επιθυμητό προϊόν παρελήφθη ως λευκό στερεό (35.3 mg, 28%), μετά από χρωματογραφία στήλης με πηκτή πυριτίας και διαλύτη έκλουσης ακετόνη: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3:2). R<sub>f</sub> = 0.61 σε σύστημα ανάπτυξης ακετόνη:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3:2). <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 298 K, 500 MHz) δ 7.38-7.19 (m, 22H, -Tr), 7.15 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, H<sub>o</sub>-O-), 7.12-7.01 (m, 8H, -Tr), 6.79 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, H<sub>m</sub>-O-), 5.68 (s, 1H, OH<sub>3</sub>), 5.50-5.41 (m, 2H, OH<sub>2</sub>, OH<sub>2</sub>'), 5.20 (s, 1H, H1α'), 4.91 (s, 1H, OH<sub>3</sub>), 4.85 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H1β), 4.72 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H, OH<sub>4</sub>'), 3.75 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.59-3.47 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 3.43-3.34 (m, 3H, H<sub>4</sub>, H<sub>4</sub>' & H<sub>6</sub>), 3.29-3.23 (m, 2H, H<sub>2</sub> & H<sub>2</sub>'), 3.23-3.15 (m, 1H, H<sub>3</sub>'), 3.11 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, H<sub>5</sub>'), 3.00 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H, H<sub>6</sub>), 2.87 (dd, *J*<sub>1</sub> = 9.7 Hz, *J*<sub>2</sub> = 3.5 Hz, 1H, H<sub>6</sub>'), 2.60 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H, H<sub>6</sub>') ppm. <sup>13</sup>C NMR (MeOD-*d*<sub>4</sub>, 298 K, 62.9 MHz) δ 155.2 (C<sub>ipso</sub>-O-), 151.8 (C<sub>ipso</sub>-OCH<sub>3</sub>), 144.2, 143.9 (C<sub>ipso</sub>-CPh<sub>2</sub>-O-), 128.7, 128.4, 127.5, 127.4, 126.6 (-OTr), 118.1 (C<sub>o</sub>-O-), 114.0 (C<sub>m</sub>-O-), 101.9 (C1β), 100.7 (C1α), 86.6, 85.9 (-O-CPh<sub>3</sub>), 79.1 (C<sub>4</sub>), 77.2 (C<sub>3</sub>), 74.2 (C<sub>5</sub>), 73.7 (C<sub>3</sub>'), 73.2 (C<sub>2</sub>), 72.6 (C<sub>2</sub>'), 71.9 (C<sub>5</sub>'), 69.7 (C<sub>4</sub>'), 63.6 (C<sub>6</sub>), 62.1 (C<sub>6</sub>'), 54.6 (-OCH<sub>3</sub>) ppm. MS (MALDI-TOF): *m/z* 955.8 [M+Na]<sup>+</sup>, θεωρ. για [C<sub>57</sub>H<sub>56</sub>O<sub>12</sub>Na]<sup>+</sup>: 955.38 [σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία].<sup>82</sup>

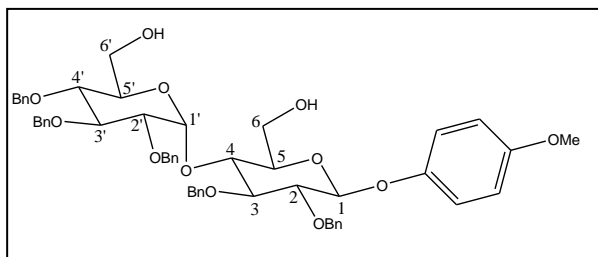


*p*-Μεθοξυφαινυλο-2,3-δι-*O*-βενζυλο-6-*O*-τριτυλο-4-*O*-(2',3',4'-τρι-*O*-βενζυλο-6'-*O*-τριτυλο- $\alpha$ -*D*-γλυκοπυρανοζυλο)- $\beta$ -*D*-γλυκοπυρανοζίτης (7.8)



Σε διάλυμα ξηρού *p*-μεθοξυφαινυλο-2,3-διυδροξυ-6-τριτυλο-4-*O*-(2',3',4'-τρι-*O*-βενζυλο-6'-τριτυλο- $\alpha$ -*D*-γλυκοπυρανοζυλο)- $\beta$ -*D*-γλυκοπυρανοζίτη (25 mg, 0.02 mmol) σε DMF (0.5 mL) προστέθηκε NaH (97%, 6.4 mg, 0.27 mmol). Το μίγμα της αντίδρασης παρέμεινε υπό ανάδευση για 15 min στους 0 °C. Ακολούθως, προστέθηκε βενζυλοβρωμίδιο (0.03 mL, 0.27 mmol) και η ανάδευση συνεχίστηκε για 17 h σε θερμοκρασία δωματίου. Έπειτα προστέθηκε MeOH (0.08 mL) στους 0-10 °C, το διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 15 min και συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού. Στη συνέχεια, προστέθηκε CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL) και εκπλύθηκε με H<sub>2</sub>O (3 x 1 mL). Τέλος, το διάλυμα ξηράθηκε υπεράνω MgSO<sub>4</sub>, διηθήθηκε και συμπυκνώθηκε υπό ελαττωμένη πίεση μέχρι ξηρού. Το καθαρό προϊόν απομονώθηκε μετά από χρωματογραφία στήλης με πηκτή πυριτίας με διαλύτη έκλουσης AcOEt: τολουόλιο (0-10%), ως λευκό στερεό (32.5 mg, 88%). R<sub>f</sub> = 0.8 σε σύστημα ανάπτυξης AcOEt:τολουόλιο (25:75). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 298 K, 500 MHz)  $\delta$  7.50-6.90 (m, 57H, H<sub>o</sub>-O- & -Tr & -CH<sub>2</sub>-Ph), 6.87 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, H<sub>m</sub>-O-), 5.84 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, H1 $\alpha'$ ), 5.18 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>-Ph), 5.14-5.08 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-Ph & H1 $\beta$ ), 4.81 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>-Ph), 4.79-4.72 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-Ph), 4.72-4.60 (m, 5H, -CH<sub>2</sub>-Ph), 4.28 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>-Ph), 4.22 (t, *J* = 9.5 Hz, 1H, H3), 4.00 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H, H4), 3.98-3.90 (m, 2H, H2 & H5), 3.82 (s, 3H, H11), 3.57 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H, H6), 3.55-3.49 (m, 2H, H2' & H4'), 3.49-3.38 (2H, H6 & H3'), 3.38-3.32 (m, 1H, H5'), 3.29 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H, H6'), 3.09 (dd, *J*<sub>1</sub> = 10.0 Hz, *J*<sub>2</sub> = 5.0 Hz, 1H, H6') ppm. <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 298 K, 125 MHz)  $\delta$  155.4 (C<sub>ipso</sub>-O-), 151.9 (C<sub>ipso</sub>-OMe), 144.8, 144.2 (C<sub>ipso</sub>-CPh<sub>2</sub>-O-), 138.9, 138.4 (C<sub>ipso</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 132.2-130.0 (-Tr, -CH<sub>2</sub>-Ph), 118.7 (C<sub>o</sub>-O-), 114.9 (C<sub>m</sub>-O-), 103.0 (C1), 95.1 (C1'), 85.4 (C4), 84.8, 84.5 (-O-CPh<sub>3</sub>), 82.4 (C2), 82.2 (C3'), 79.8 (C2'), 78.2 (C4'), 76.1, 75.3, 75.0 (-CH<sub>2</sub>-Ph), 74.7 (C5), 73.4, 73.2 (-CH<sub>2</sub>-Ph), 71.4 (C5'), 70.8 (C3), 64.1 (C6), 62.3 (C6'), 55.9 (-OCH<sub>3</sub>) ppm [σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία].<sup>82</sup>

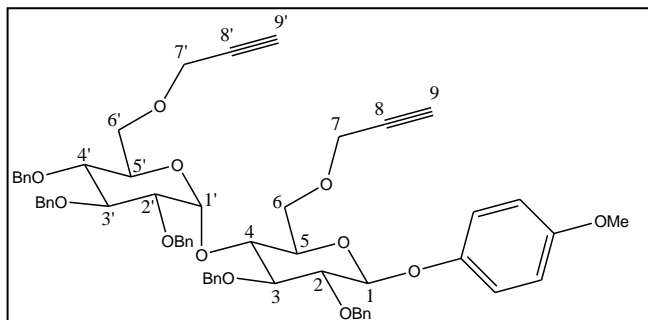
*p*-Μεθοξυφαινυλο-2,3-δι-*O*-βενζυλο-6-υδροξυ-4-*O*-(2',3',4'-τρι-*O*-βενζυλο-6'-υδροξυ- $\alpha$ -*D*-γλυκοπυρανοζυλο)- $\beta$ -*D*-γλυκοπυρανοζίτης (7.9)



Σε διάλυμα *p*-μεθοξυφαινυλο-2,3-δι-*O*-βενζυλο-6-*O*-τριτυλο-4-*O*-(2',3',4'-τρι-*O*-βενζυλο-6'-*O*-τριτυλο- $\alpha$ -*D*-γλυκοπυρανοζυλο)- $\beta$ -*D*-γλυκοπυρανοζίτη (30 mg, 0.022 mmol) σε MeOH:CHCl<sub>3</sub> (1:1, v/v) (0.5 mL)

προστέθηκε *p*-τολουΐλοσουλφονικό οξύ (25.1 mg, 0.13 mmol). Το διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 12 h σε θερμοκρασία δωματίου και ακολούθως προστέθηκε επιπλέον ποσότητα *p*-τολουΐλοσουλφονικού οξέος (25.1 mg, 0.13 mmol). Το διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 12 h σε θερμοκρασία δωματίου και εν συνεχεία, προστέθηκε κεκορεσμένο διάλυμα NaHCO<sub>3</sub> και CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL). Οι δύο φάσεις διαχωρίστηκαν και η οργανική φάση εκπλύθηκε με H<sub>2</sub>O (2 x 10 mL), ξηράθηκε υπεράνω MgSO<sub>4</sub>, διηθήθηκε και συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση. Χρωματογραφία στήλης με πηκτή πυριτίας και διαλύτη έκλουσης τολουόλιο:AcOEt (0-10%) του ακάθαρτου μίγματος παρείχε το επιθυμητό προϊόν ως λευκό στερεό (17.3 mg, 86%). R<sub>f</sub> = 0.66 σε σύστημα ανάπτυξης AcOEt:τολουόλιο (25:75). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 298 K, 500 MHz)  $\delta$  7.63-7.10 (m, 25H, -CH<sub>2</sub>-Ph), 7.00 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, H<sub>o</sub>-O-), 6.87 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, H<sub>m</sub>-O-), 5.76 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H, H1 $\beta$ ), 5.14-4.48 (m, 11H, H1 $\alpha$ , -CH<sub>2</sub>-Ph), 4.16 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H, H4'), 3.99-3.85 (m, 5H, H3, H6 & 2xH6'), 3.81 (s, 3H, -O-CH<sub>3</sub>), 3.78-3.70 (m, 2H, H5 & H2'), 3.65 (dd, *J*<sub>1</sub> = 12.0 Hz, *J*<sub>2</sub> = 6.0 Hz, 1H, H6), 3.61 (dt, *J*<sub>1</sub> = 10.0 Hz, *J*<sub>2</sub> = 3.0 Hz, 1H, H5'), 3.49 (dd, *J*<sub>1</sub> = 10.0 Hz, *J*<sub>2</sub> = 4.0 Hz, 1H, H2), 3.44 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H, H4) ppm. <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 298 K, 125 MHz)  $\delta$  155.6 (C<sub>ipso</sub>-O-), 151.3 (C<sub>ipso</sub>-OCH<sub>3</sub>), 138.8, 138.1 (C<sub>ipso</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 128.7, 128.5, 128.4, 128.2, 128.0, 127.9, 127.8, 127.4, 126.6, (-CH<sub>2</sub>-Ph), 118.4 (C<sub>o</sub>-O-), 114.9 (C<sub>m</sub>-O-), 102.6 (C1 $\alpha$ '), 97.0 (C1 $\beta$ ), 84.8 (C3'), 82.2 (C2'), 82.0 (C3), 79.5 (C2), 78.2 (C4), 75.7, 75.4, 75.1, 74.2, 73.7 (-CH<sub>2</sub>-Ph), 74.9 (C5'), 72.5 (C5), 71.5 (C4'), 62.3 (C6), 61.7 (C6'), 55.9 (-OCH<sub>3</sub>) ppm [σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία].<sup>82</sup>

*p*-Μεθοξυφαινυλο-2,3-δι-*O*-βενζυλο-6-*O*-(προπ-2-ινυλο)-4-*O*-(2',3',4'-τρι-*O*-βενζυλο-6'-*O*-(προπ-2-ινυλο) $\alpha$ -*D*-γλυκοπυρανοζυλο)- $\beta$ -*D*-γλυκοπυρανοζίτης (7.1)

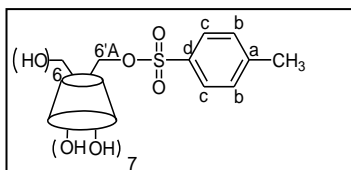


Σε διάλυμα *p*-μεθοξυφαινυλο-2,3-δι-*O*-βενζυλο-6-*O*-τριπυλο-4-*O*-(2',3',4'-τρι-*O*-βενζυλο-6'-*O*-τριπυλο- $\alpha$ -*D*-γλυκοπυρανοζυλο)- $\beta$ -*D*-γλυκοπυρανοζίτη (63.8 mg, 0.071 mmol) [ο οποίος είχε υποστεί ξήρανση με απόσταξη με τολουόλιο σε περιστροφικό εξατμιστή (x3)], σε

διάλυμα THF:NMP (3:1, 0.8 mL) προστέθηκε προπαργυλοβρωμίδιο (25.3  $\mu$ L, 0.28 mmol). Στη συνέχεια, προστέθηκε σταδιακά NaH (97%, 14 mg, 0.64 mmol) στους 0  $^{\circ}$ C και το διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 12 h στους 25  $^{\circ}$ C. Έπειτα προστέθηκε H<sub>2</sub>O (1.5 mL) και AcOEt (13 mL). Η οργανική στιβάδα διαχωρίστηκε, εκπλύθηκε με κεκορεσμένο διάλυμα NaCl (3 x 4 mL) και H<sub>2</sub>O (2 x 4 mL), ξηράνθηκε υπεράνω MgSO<sub>4</sub>, διηθήθηκε και συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση. Το επιθυμητό προϊόν παρελήφθη μετά από χρωματογραφία στήλης με πηκτή πυριτίας και διαλύτη έκλουσης *n*-εξάνιο:AcOEt (4:1) ως ελαιώδες υγρό (64.3 mg, 93%).  $R_f$  = 0.86 σε σύστημα ανάπτυξης AcOEt:τολουόλιο (75:25). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 298 K, 500 MHz)  $\delta$  7.39-7.10 (m, 25H, -CH<sub>2</sub>-Ph), 7.04 (d,  $J$  = 9.0 Hz, 2H, H<sub>o</sub>-O-), 6.87 (d,  $J$  = 9.0 Hz, 2H, H<sub>m</sub>-O-), 5.71 (d,  $J$  = 4.0 Hz, 1H, H1 $\beta$ ), 5.05-4.96 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-Ph), 4.95-4.76 (m, 5H, H1 $\alpha$ , 4x-CH<sub>2</sub>-Ph), 4.72 (d,  $J$  = 10.5 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-Ph), 4.63 (d,  $J$  = 12.0 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>-Ph), 4.55 (d,  $J$  = 12.0 Hz, -CH<sub>2</sub>-Ph), 4.30-4.13 (m, 4H, 2xH7, 2xH7'), 4.11 (t,  $J$  = 10.0 Hz, 1H, H4'), 4.00-3.62 (m, 13H, H2', H3', H3, H4, H5', H5, 2xH6, 2xH6', -O-CH<sub>3</sub>), 3.53 (dd,  $J_1$  = 10.0 Hz,  $J_2$  = 4.0 Hz, 1H, H2), 2.39, 2.34 (2xs, 2H, H9, H9') ppm. <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 298 K, 125 MHz)  $\delta$  155.6 (C<sub>ipso</sub>-O-Ar), 151.7 (C<sub>ipso</sub>-O-CH<sub>3</sub>), 139.9, 138.8, 138.7, 138.2, 138.1 (C<sub>ipso</sub>-CH<sub>2</sub>-Ar), 129.4-126.4 (-CH<sub>2</sub>-Ar), 118.7 (C<sub>o</sub>-O-), 114.8 (C<sub>m</sub>-O-), 102.9 (C1' $\alpha$ ), 97.2 (C $\beta$ ), 85.0-70.6 (C2', C3', C4', C5', C8', C9', C2, C3, C4, C5, C8, C9, -CH<sub>2</sub>-Ar), 68.8, 68.3 (C6, C6'), 59.1-58.8 (C7, C7'), 55.9 (-O-CH<sub>3</sub>) ppm. MS (MALDI-TOF):  $m/z$  998.40 [M+Na]<sup>+</sup>, θεωρ. [C<sub>60</sub>H<sub>62</sub>O<sub>12</sub>Na]<sup>+</sup>: 997.42. [σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία].<sup>82</sup>

## 10.2.2 Μονοϋποκατεστημένες Κυκλοδεξτρίνες

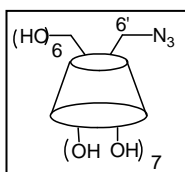
### Μονο(6-*p*-τολουϋλοσουλφονυλο)-β-κυκλοδεξτρίνη (5.15)



Σε υδατικό διάλυμα β-κυκλοδεξτρίνης (4 g, 3.52 mmol) σε NaOH (1.7% w/v, 120 mL) προστέθηκε *p*-τολουϋλοσουλφονυλοχλωρίδιο (1.6 g, 8.4 mmol) και το μίγμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 2 ώρες στους 0-5 °C. Στη

συνέχεια, προστέθηκε επιπλέον ποσότητα *p*-τολουϋλοσουλφονυλοχλωριδίου (2.4 g, 12.56 mmol) και το μίγμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 3 h στους 0-5 °C. Κατόπιν, διηθήθηκε από σελίτη υπό κενό και η θερμοκρασία του διηθήματος διατηρήθηκε στους 0-5 °C. Εν συνεχεία, προστέθηκε υδατικό διάλυμα HCl (10% v/v, 28 mL) μέχρι pH 1.5. Το μίγμα παρέμεινε στους 0 °C για περίπου 30 min και στη συνέχεια διηθήθηκε υπό κενό. Το επιθυμητό προϊόν παρελήφθη ως λευκό στερεό (2.36 g, 52%).  $R_f = 0.57$  σε διαλύτη ανάπτυξης *i*-PrOH:AcOEt:H<sub>2</sub>O:NH<sub>4</sub>OH (5:3:3:1). <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 298 K, 500 MHz) δ 7.75 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H<sub>c</sub>), 7.43 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H<sub>b</sub>), 5.90-5.60 (m, 14H, OH<sub>2</sub>, OH<sub>3</sub>), 4.90-4.80 (m, 5H, H<sub>1</sub>), 4.80-4.70 (m, 2H, H<sub>1</sub>), 4.58-4.48 (m, 3H, OH<sub>6</sub>), 4.48-4.42 (m, 2H, OH<sub>6</sub>), 4.38 (t,  $J = 5.0$  Hz, 1H, OH<sub>6</sub>), 4.32 (d,  $J = 10.0$  Hz, 1H, C<sup>A</sup>H<sub>2</sub>), 4.19 (dd,  $J = 6.0$  Hz,  $J = 4.5$  Hz, 1H, C<sup>A</sup>H<sub>2</sub>), 3.80-3.12 (33H, H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>), 2.40 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>) ppm. <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 298 K, 62.9 MHz) δ 145.3 (C<sub>d</sub>), 133.1 (C<sub>c</sub>), 130.4 (C<sub>b</sub>), 128.0 (C<sub>a</sub>), 102.4, 101.8 (C<sub>1</sub>), 82.0, 81.2 (C<sub>4</sub>), 73.5, 73.2, 72.9, 72.5, 70.2, 69.4 (C<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>5</sub>), 60.4 (C<sub>6</sub>), 21.7 (-CH<sub>3</sub>) ppm [σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία].<sup>17</sup>

### Μονο(6-αζιδο-6-δεοξυ)-β-κυκλοδεξτρίνη (5.18)

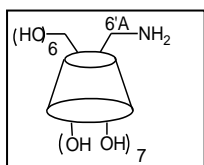


Σε διάλυμα ξηρής μονο(6-*p*-τολουλοσουλφονυλο)-β-κυκλοδεξτρίνης (300 mg, 0.233 mmol) σε DMF (15 ml) προστέθηκε NaN<sub>3</sub> (76 mg, 1.165 mmol) και το μίγμα παρέμεινε υπό ανάδευση στους 60 °C για δύο μέρες.

Μετά το πέρας της αντίδρασης προστέθηκε H<sub>2</sub>O και το μίγμα συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού. Τέλος, το ίζημα επαναδιαλυτοποιήθηκε σε H<sub>2</sub>O, το pH του διαλύματος ρυθμίστηκε 9 με υδατικό διάλυμα NaOH (10%, v/v) και το ελεύθερο *p*-τολουλοσουλφονικό οξύ απομακρύνθηκε με τη χρήση ανιονανταλλακτικής ρητίνης (Amberlite IRA-400, 600 mg). Ακολούθησε διήθηση για την απομάκρυνση της ρητίνης και το επιθυμητό προϊόν παρελήφθη μετά από συμπύκνωση ως λευκό στερεό με απόδοση 88%. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 298 K, 500 MHz) δ 5.70 (m, 14H, OH<sub>2</sub>, OH<sub>3</sub>), 4.81 (m, 7H, H<sub>1</sub>), 4.42 (m, 9H, OH<sub>6</sub>, H<sub>6</sub>') ppm. <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 298 K, 62.9 MHz) δ

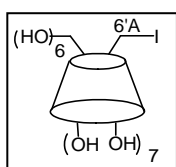
101.9 (C1), 81.5 (C4), 73.0 (C3), 72.4 (C2), 72.0 (C5), 59.9 (C6), 51.1 (C-N<sub>3</sub>) ppm [σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία].<sup>67</sup>

#### Μονο(6-αμινο-6-δεοξυ)-β-κυκλοδεξτρίνη (bmNH<sub>2</sub>)



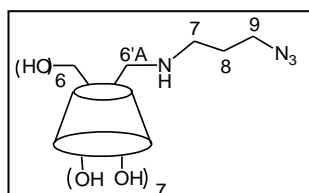
Σε διάλυμα ξηρής μονο(6-αζιδο-6-δεοξυ)-β-κυκλοδεξτρίνης (351 mg, 0.30 mmol) σε DMF (6 mL) προστέθηκε ανακρυσταλλωμένη από εξάνιο PPh<sub>3</sub> (258 mg, 0.99 mmol) και το μίγμα παρέμεινε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 1 h οπότε ελευθερώνεται αέριο N<sub>2</sub>. Ακολούθως, προστέθηκε NH<sub>3</sub> (0.4 mL, 30%) και το μίγμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 48 h σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά το πέρας της αντίδρασης το μίγμα συμπυκνώθηκε μέχρι μικρού όγκου και το επιθυμητό προϊόν καταβυθίστηκε με ακετόνη (70 mL), διηθήθηκε, εκπλύθηκε με ακετόνη, συμπυκνώθηκε, ξηράθηκε και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό με απόδοση 100%. <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 298 K, 500 MHz) δ 5.03 (bs, 2H, H1), 4.98 (bs, 5H, H1), 4.01 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H, H5<sup>A</sup>), 3.94-3.65 (26H, H3, H5, H6), 3.67-3.52 (overlaid dd, 7H, H2), 3.52-3.39 (8H, H4, H6<sup>A</sup>), 3.17 (dd, <sup>1</sup>*J* = 8.0 Hz, <sup>2</sup>*J* = 5.0 Hz, 1H, H6<sup>A</sup>) ppm. <sup>13</sup>C NMR, (D<sub>2</sub>O, 62. 89 MHz) δ 103.4 (C1), 84.0, 82.0 (C4), 74.4 (C3), 73.4 (C2), 71.9 (C5), 60.4 (C6), 41.7 (C6<sup>A</sup>) ppm [σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία].<sup>67</sup>

#### Μονο(6-ιωδο-6-δεοξυ)-β-κυκλοδεξτρίνη (bmi)



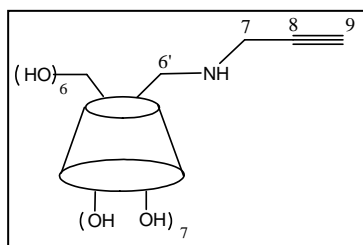
Σε διάλυμα ξηρής μονο(6-ρ-τολουϋλοσουλφονυλο)-β-κυκλοδεξτρίνης (100 mg, 0.08 mmol) σε DMF (5 mL) προστέθηκε KI (97.7 mg, 0.39 mmol) και το μίγμα παρέμεινε υπό ανάδευση στους 70 °C για 18 h. Η αντίδραση περατώθηκε με την προσθήκη νερού και το μίγμα συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση. Το υπόλειμμα επαναδιαλυτοποιήθηκε σε νερό (5 mL), το pH του διαλύματος ρυθμίστηκε 9 με υδατικό διάλυμα NaOH (10%, v/v) και το ελεύθερο ρ-τολουϋλοσουλφονικό οξύ απομακρύνθηκε με τη χρήση ανιονανταλλακτικής ρητίνης (Amberlite IRA-400, 600 mg). Ακολούθησε διήθηση για την απομάκρυνση της ρητίνης και το επιθυμητό προϊόν παρελήφθη μετά από συμπύκνωση ως υποκίτρινο στερεό με απόδοση 80%. <sup>1</sup>H NMR, (D<sub>2</sub>O, 298 K, 500 MHz) δ 5.19 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H, H1), 5.09 (d, *J* = 2.0 Hz, 6H, H1), 4.08-3.90 (t, *J* = 9.0 Hz, 7H, H5), 3.93-3.79 (19H, H3, H6), 3.76 (d, *J* = 12.0 Hz, H6<sup>A</sup>), 3.73-3.64 (επικαλυπτόμενες dd, 7H, H2), 3.64-3.57 (επικαλυπτόμενες t, 7H, H4), 3.57-3.48 (2H, H4, H6<sup>A</sup>) ppm. <sup>13</sup>C NMR (D<sub>2</sub>O, 62. 89 MHz) δ 101.8 (C1), 85.1, 81.1 (C4), 73.1 (C5), 72.0 (C3), 71.8 (C2), 60.3 (C6), 7.8 (C6<sup>A</sup>) ppm.

Μονο[6-(3-αζιδοπροπυλαμινο-6-δεοξυ)-β-κυκλοδεξτρίνη (5.17)



Διάλυμα ξηρής μονο(6-*p*-τολουϋλοσουλφονυλο)-β-κυκλοδεξτρίνης (80 mg, 0.06 mmol) σε 3-αζιδοπροπυλαμίνη (0.1 mL) παρέμεινε υπό ανάδευση για 14 h στους 80 °C. Η αντίδραση περατώθηκε με προσθήκη H<sub>2</sub>O (5 mL) και το μίγμα συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση. Το προκύψαν ελαιώδες μίγμα επαναδιαλυτοποιήθηκε σε H<sub>2</sub>O, το pH του διαλύματος ρυθμίστηκε 9 με υδατικό διάλυμα NaOH (10%, v/v) και η περίσσεια της 3-αζιδοπροπυλαμίνης απομακρύνθηκε με κατιονανταλλακτική ρητίνη (Amberlite IR120, H<sup>+</sup>, 1.4 g). Ακολούθησε διήθηση, το pH του διηθήματος ρυθμίστηκε 9 με υδατικό διάλυμα NaOH (10%) και προστέθηκε ανιονανταλλακτική ρητίνη (Amberlite IRA-400, 600 mg) για την απομάκρυνση του ελεύθερου *p*-τολουϋλοσουλφονικού οξέος. Εν συνεχεία, το διάλυμα διηθήθηκε, το pH του διηθήματος ρυθμίστηκε 7 με υδατικό διάλυμα HCl (10%, v/v) και τοποθετήθηκε σε μεμβράνη διαπίδυσης για 3 h, για την απομάκρυνση των αλάτων. Το επιθυμητό προϊόν απομονώθηκε, μετά από συμπύκνωση μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση, ως λευκό στερεό (483 mg, 85%). R<sub>f</sub> = 0.25 σε διαλύτη ανάπτυξης *i*-PrOH:AcOEt:H<sub>2</sub>O (5:3:1). <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 298 K, 500 MHz) δ 5.31 (bs, 2H, H1), 5.03 (bs, 5H, H1'), 4.11-3.65 (26H, H3, H5, H6), 3.65-3.47 (14H, H2, H4), 3.4 (bs, 2H, H7), 3.06 (d, *J* = 13.0 Hz, 1H, H6A), 2.78 (dd, *J*<sub>6A-6'A</sub> = 13.0 Hz, *J*<sub>6'A-5</sub> = 4.0 Hz, 1H, H6'A), 2.69 (m, 2H, H9), 1.80 (m, 2H, H8) ppm. <sup>13</sup>C NMR (D<sub>2</sub>O, 298 K, 125 MHz) δ 102.4, 100.7 (C1), 81.4 (C4), 75.9 (C3), 72.7 (C2), 71.9 (C5), 60.3 (C6), 49.3 (C6', C7), 45.6 (C9), 27.9 (C8) ppm. IR: ν 2103.6 (-N<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup>. MS (MALDI-TOF): *m/z* 1218.0 [M + H]<sup>+</sup>, θεωρ. για [C<sub>45</sub>H<sub>76</sub>N<sub>4</sub>O<sub>34</sub>H]<sup>+</sup>: 1218.09.

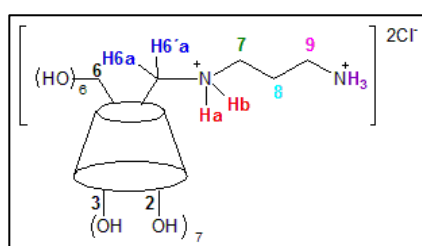
Μονο(6-αμινοπροπαργυλο-6-δεοξυ)-β-κυκλοδεξτρίνη (6.1)



Διάλυμα ξηρής μονο-(6-*p*-τολουϋλοσουλφονυλο)-β-κυκλοδεξτρίνης (500 mg, 0.39 mmol) σε προπαργυλαμίνη (0.5 mL) παρέμεινε υπό ανάδευση για 24 h στους 60 °C, σε αυτόκλειστο σύστημα. Εν συνεχεία, προστέθηκε H<sub>2</sub>O σε θερμοκρασία δωματίου και συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση. Το προκύψαν στερεό επαναδιαλυτοποιήθηκε σε H<sub>2</sub>O, το pH ρυθμίστηκε 9 με υδατικό διάλυμα NaOH (10%, v/v) και χρησιμοποιήθηκε ανιονανταλλακτική ρητίνη (Amberlite IRA-400, 600 mg) για την απομάκρυνση του *p*-τολουϋλοσουλφονικού οξέος. Ακολούθησε διήθηση, στο προκύψαν διήθημα το pH ρυθμίστηκε 9 με υδατικό διάλυμα NaOH (10%, v/v) και προστέθηκε κατιονανταλλακτική

ρητίνη (Amberlite IR120, H<sup>+</sup>, 1.4 g) για την απομάκρυνση της προπαργουλαμίνης. Το διάλυμα διηθήθηκε, συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση, επαναδιαλυτοποιήθηκε σε μικρή ποσότητα H<sub>2</sub>O και καταβυθίστηκε με ακετόνη. Το προκύψαν στερεό διαλύθηκε σε H<sub>2</sub>O, ρυθμίστηκε το pH 10 με υδατικό διάλυμα NaOH (10%, v/v) και εκπλύθηκε με CHCl<sub>3</sub> (3x10 mL). Εν συνεχεία, το pH του διαλύματος ρυθμίστηκε 7 με υδατικό διάλυμα HCl (10%, v/v) και το διάλυμα τοποθετήθηκε σε μεμβράνη διαπίδωσης για 3 h. Το επιθυμητό προϊόν παραλήφθηκε ως λευκό στερεό (354 mg, 76%). R<sub>f</sub> = 0.35 σε σύστημα ανάπτυξης *i*-PrOH:AcOEt:H<sub>2</sub>O (5:3:3), <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 298 K, 500 MHz) δ 5.17-5.05 (m, 7H, H1), 3.98 (t, *J* = 9.0 Hz, 7H, H3), 3.94-3.80 (m, 19H, H5 & H6), 3.72-3.64 (m, 9H, H2 & H7), 3.60 (t, *J* = 9.0 Hz, 7H, H4, H9), 3.50 (t, *J* = 9.5 Hz, 1H, H4), 3.36 (bs, 1H, H6'), 3.14 (bs, 1H, H6') ppm. <sup>13</sup>C NMR (D<sub>2</sub>O, 298 K, 62.9 MHz) δ 101.7, 101.0 (C1), 82.9, 81.0, 80.3, (C4), 73.0 (C3), 71.7 (C2 & C5), 60.2 (C6), 47.9 (C6'), 37.0 (C7) ppm. MS (MALDI-TOF): *m/z* 1195.56 [M+Na]<sup>+</sup>, θεωρ. [C<sub>45</sub>H<sub>73</sub>NO<sub>34</sub>Na]<sup>+</sup>: 1195.04.

#### Μονο(6-αμινοπροπυλαμινο-6-δεοξυ)-β-κυκλοδεξτρίνη (8.1)



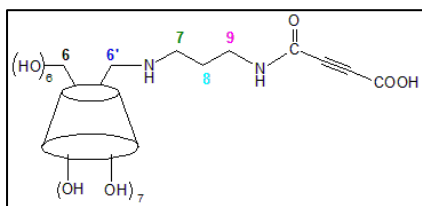
Διάλυμα ξηρής μονο(6-*p*-τολουϋλοσουλφονυλο)-βCD (1.0 g, 0.78 mmol) σε προπυλενοδιαμίνη (10 mL) παρέμεινε υπό ανάδευση στους 70 °C για 18 h. Η αντίδραση περατώθηκε με την προσθήκη νερού και το μίγμα συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη

πίεση. Το στερεό επαναδιαλυτοποιήθηκε σε νερό, το pH ρυθμίστηκε ~ 9 με υδατικό διάλυμα NaOH (10%, v/v) και προστέθηκε κατιονανταλλακτική ρητίνη (Amberlite IR120, H<sup>+</sup>, 1.4 g) για την απομάκρυνση της περίσσειας της προπυλενοδιαμίνης, διηθήθηκε και στο διήθημα προστέθηκε ανιονανταλλακτική ρητίνη (Amberlite IRA-400, 600 mg) για την απομάκρυνση του ελεύθερου *p*-τολουϋλοσουλφονικού οξέος. Το επιθυμητό προϊόν παρελήφθη ως λευκό στερεό (868 mg, 88%).

Δεύτερος τρόπος: Σε διάλυμα ξηρής μονο(6-*p*-τολουϋλοσουλφονυλο)-βCD (300 mg, 0.23 mmol) σε προπυλενοδιαμίνη (1.5 mL) προστέθηκε KI (3.8 mg, 0.02 mmol) και το μίγμα τοποθετήθηκε σε συσκευή μικροκυμάτων στους 150 °C, με ισχύ 100 W για 30 min. Ακολούθως, η αντίδραση περατώθηκε με την προσθήκη νερού και το μίγμα συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση. Το στερεό επαναδιαλυτοποιήθηκε σε νερό, το pH ρυθμίστηκε ~ 9 με υδατικό διάλυμα NaOH (10%, v/v) και προστέθηκε

κατιονανταλλακτική ρητίνη (Amberlite IR120, H<sup>+</sup>, 1.4 g) για την απομάκρυνση της περίσσειας της προπυλενοδιαμίνης, διηθήθηκε και στο διήθημα προστέθηκε ανιονανταλλακτική ρητίνη (Amberlite IRA-400, 600 mg) για την απομάκρυνση του ελεύθερου *p*-τολουόλοσουλφονικού οξέος. Το επιθυμητό προϊόν παρελήφθη ως λευκό στερεό (265 mg, 91%). R<sub>f</sub> = 0.31 σε σύστημα ανάπτυξης *i*PrOH:AcOEt:H<sub>2</sub>O:NH<sub>4</sub>OH (5:3:3:1). <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 298 K, 500 MHz) δ 9.18 (bs, 1H, -NH<sub>2</sub><sup>+</sup>-), 8.91 (bs, 1H, -NH<sub>2</sub><sup>+</sup>-), 8.04 (bs, 3H, -NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 6.05-5.5 (m, 14H, OH<sub>2</sub>, OH<sub>3</sub>), 5.97 (bs, 1H, H<sub>1</sub>), 4.89 (bs, 1H, H<sub>1</sub>), 4.83 (bs, 5H, H<sub>1</sub>), 4.73 (m, 2H, OH<sub>6</sub>), 4.52 (bs, 4H, OH<sub>6</sub>), 4.03 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.83 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H, H<sub>6</sub>), 3.79-3.18 (m, 39H, H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>, H<sub>6a</sub>), 3.13 (bs, 1H, H<sub>6'a</sub>), 2.99 (bs, 2H, H<sub>7</sub>), 2.85 (bs, 2H, H<sub>9</sub>), 2.00 (bs, 2H, H<sub>8</sub>) ppm. <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 298 K, 62.9 MHz) δ 101.8, 101.1 (C<sub>1</sub>), 83.1, 81.4, 81.1, 80.4 (C<sub>4</sub>), 73.0, 72.8, 72.3, 72.0, 71.7 (C<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>5</sub>), 67.4 (C<sub>5</sub>), 60.6, 60.3 (C<sub>6</sub>), 48.3 (C<sub>6</sub>), 45.2 (C<sub>7</sub>) 36.5 (C<sub>9</sub>), 23.5 (C<sub>8</sub>) ppm. MS (ESI): 1191.4 [M+H]<sup>+</sup>, θεωρ. [C<sub>45</sub>H<sub>78</sub>N<sub>2</sub>O<sub>34</sub>H]<sup>+</sup>: 1191.44, σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία.<sup>83</sup>

#### N<sup>4</sup>-(3-αμινο-N-(6-κυκλοδεξτρινιλο-προπυλο)βουτ-2-ιναμίδιο (8.3)

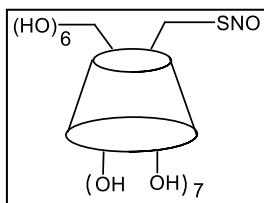


Σε διάλυμα ξηρής μονο(6-αμινοπροπυλαμινο-6-δεοξυ)-βCD (50 mg, 0.04 mmol) σε DMF (3 mL), προστέθηκε DIPEA (36 μL, 0.21 mmol) και το διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση στους 0 °C για 15 min. Ακολούθως,

προστέθηκε HATU (31.9 mg, 0.08 mmol) και το μίγμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 1 h στους 0 °C και για 20 min σε θερμοκρασία δωματίου. Προστέθηκε επιπλέον ποσότητα DIPEA (20 μL) και τέλος προστέθηκε διάλυμα βουτινοδιϊκού οξέος (2.4 mg, 0.02 mmol) σε DMF (0.5 mL). Το διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση στους 30 °C για 120 h, το διάλυμα συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση, επαναδιαλυτοποιήθηκε σε νερό, το pH ρυθμίστηκε 7 με υδατικό διάλυμα NaOH (10%, v/v) και τοποθετήθηκε σε μεμβράνη διαπίδωσης. Παραλήφθηκε το μονοϋποκατεστημένο προϊόν **3.3** σε χαμηλή απόδοση (<10 %). R<sub>f</sub> = 0.05 σε σύστημα ανάπτυξης *i*PrOH:AcOEt:H<sub>2</sub>O:NH<sub>4</sub>OH (5:3:3:1). <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 298 K, 500 MHz) δ 5.10 (s, 7H, H<sub>1</sub>), 4.34 (s, 1H, H<sub>3</sub>), 4.23-3.50 (m, 40H, H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>, H<sub>6'</sub>), 3.48-3.23 (m, 3H, H<sub>6'</sub>, H<sub>7</sub>), 3.02 (m, 2H, H<sub>9</sub>), 1.98 (m, 2H, H<sub>8</sub>) ppm. MS (ESI): 1289.5 [M+H]<sup>+</sup> +H<sup>+</sup>, θεωρ. [C<sub>49</sub>H<sub>78</sub>N<sub>2</sub>O<sub>37</sub>H]<sup>+</sup> +H<sup>+</sup>: 1289.1.



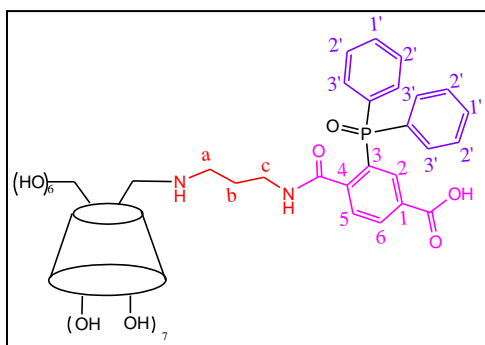
### Μono-(6-S-νιτρωδοθειο-6-δεοξυ)-β-κυκλοδεξτρίνη (9.2)



Σε διάλυμα μονο-(6-μερκαπτο-6-δεοξυ)-β-κυκλοδεξτρίνης (23.0 mg, 0.02 mmol) σε DMSO (200  $\mu$ L, 0.1 M) το pH ρυθμίστηκε 2 με υδατικό διάλυμα HCl (6 M, 10  $\mu$ L, 0.060 mmol) και προστέθηκε υδατικό διάλυμα NaNO<sub>2</sub> (4.0 M, 10  $\mu$ L, 0.040 mmol, 2 eq). Το χρώμα του μίγματος μετατράπηκε από υποκίτρινο σε βαθύ κόκκινο. Η αντίδραση παρέμεινε υπό ανάδευση για 1 min και ακολούθως προστέθηκε ψυχρή ακετόνη (10 mL). Το επιθυμητό προϊόν καταβυθίστηκε ως ροδόχρουν στερεό το οποίο παραλήφθηκε με φυγοκέντριση (21.3 mg, 90%). <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 298 K, 500 MHz)  $\delta$  5.70 (br, 14H, OH<sub>2</sub>, OH<sub>3</sub>), 4.94-4.74 (m, 7H, H<sub>1</sub>), 4.33 (br, 6H, OH<sub>6</sub>), 3.77-3.31 (m, αλληλοεπικάλυψη με H<sub>2</sub>O, 42H, H<sub>3</sub>, H<sub>5</sub>, H<sub>2</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>6a</sub>, H<sub>6b</sub>) ppm. <sup>13</sup>C NMR (D<sub>2</sub>O, 298 K, 62.9 MHz)  $\delta$  102.5 (C<sub>1</sub>), 81.8 (C<sub>4</sub>), 81.3 (C<sub>4a</sub>), 73.7, 72.7, 72.5 (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>2</sub>), 60.9 (C<sub>6b</sub>), 30.9 (C<sub>6a</sub>-SNO) ppm. IR:  $\nu$  3325 (s, O-H, διαμοριακοί δεσμοί υδρογόνου), 2920 (s, C-H), 1023 (C-O, CD-OHs), 1507 (w, N-O), 540 (m, N-S) cm<sup>-1</sup>.

Το ίδιο παράγωγο παρασκευάστηκε με Na<sup>15</sup>NO<sub>2</sub>. <sup>15</sup>N NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 298 K, 50.7 MHz)  $\delta$  808 ppm.

### N<sup>4</sup>-μονοαμιδο-(3-αμινο-N-(6-κυκλοδεξτρίνιλο)-προπυλο)-3-δι(διφαινυλοφωσφορυλο)τε-ρεφθαλικό οξύ (5.19)



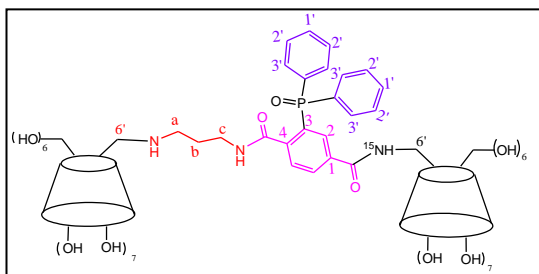
Σε διάλυμα ξηρής μονο[6-(3-αζιδοπροπυλαμινο)-6-δεοξυ]-β-κυκλοδεξτρίνης (30 mg, 0.024 mmol) σε ξηρό DMF (1.5 mL) προστέθηκε σταδιακά 2-διφαινυλοφωσφαναυλοτερεφθαλικός μονομεθυλεστέρας (11.37 mg, 0.03 mmol) σε διάστημα 1 h και παρέμεινε υπό ανάδευση για 15 min στους 40 °C. Εν συνεχεία, προστέθηκε H<sub>2</sub>O (0.1 mL) και το

διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 12 h στους 40 °C. Ακολούθως, το διάλυμα συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση και το προκύψαν στερεό διαλύθηκε σε H<sub>2</sub>O και εκπλύθηκε με CHCl<sub>3</sub> (4 x 15 mL) σε pH 2. Απομονώθηκε η υδατική φάση, ρυθμίστηκε το pH 7 και πραγματοποιήθηκε εκχύλιση στερεάς φάσης με πληρωτικό υλικό όξινη αλουμίνα και διαλύτη έκλουσης νερό. Το επιθυμητό προϊόν παρελήφθη ως λευκό στερεό (35.1 mg, 95%). R<sub>f</sub> = 0.29 σε διαλύτη ανάπτυξης *i*-PrOH:AcOEt:H<sub>2</sub>O (5:3:1). <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 298 K, 500 MHz)  $\delta$  8.27 (d, *J* = 14.0 Hz, 1H, H<sub>2</sub>), 8.23 (d, *J* =

8.0 Hz, 1H, H6), 7.86-7.69 (m, 5H, 4xH3', H5), 7.70-7.60 (m, 5H, 2xH1', 4xH2'), 5.18-4.98 (m, 7H, H1), 4.10-3.72 (m, 21H, H3, H5, H6), 3.73-3.51 (m, 18H, H2, H4, H6), 3.47 (t,  $J = 9.0$  Hz, 1H, H4), 3.13 (d,  $J = 11.0$  Hz, 1H, H6), 2.96 (m, 1H, Hc), 2.94-2.79 (m, 2H, Hc' & H6'), 2.68 (m, 2H, Ha), 1.69 (m, 2H, Hb) ppm.  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 298 K, 500 MHz)  $\delta$  8.31 (s, 1H, -NHCO-), 8.13-7.96 (m, 2H, H2, H6), 7.69-7.37 (m, 11H, H5, -Ph), 5.76 (bs, 14H, OH2, OH3), 4.82 (s, 7H, H1), 4.68-4.34 (m, 7H, OH6), 3.81-3.50 (m, 26H, H3, H5, H6), 3.49-3.07 (m, 14H, H2, H4), 2.80 (t,  $J = 11$  Hz, 1H, H6'), 2.74 (bs, 3H, H6', Hc), 2.44 (bs, 2H, Ha), 1.37 (t,  $J = 5.0$  Hz, 2H, Hb) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (D $_2$ O, 62.9 MHz)  $\delta$  173.1 (COOH), 171.0 (HN-C=O), 141.8 (C1), 138.7 (C4), 134.7 (C2), 133.5 (C6), 133.4-126.9 (C1', C2', C3', C5), 102.0, 101.8 (C1), 83.6, 81.9-80.1 (C4), 73.5-71.22, 70.24 (C2, C3, C5), 60.6-59.1 (C6), 49.7 (C6'), 46.0 (Cc), 36.7 (Ca), 27.5 (Cb) ppm.  $^{31}\text{P}$  NMR, (D $_2$ O, 298K, 202.5 MHz)  $\delta$  35.2 ppm. MS (MALDI-TOF):  $m/z$  1539.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 1561.1  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  και 1577.1  $[\text{M}+\text{K}]^+$ , θεωρ. για  $[\text{C}_{65}\text{H}_{91}\text{N}_2\text{O}_{38}\text{PH}]^+$ : 1539.5,  $[\text{C}_{65}\text{H}_{91}\text{N}_2\text{O}_{38}\text{PNa}]^+$ : 1561.5,  $[\text{C}_{65}\text{H}_{91}\text{N}_2\text{O}_{38}\text{PK}]^+$ : 1577.5.

### 10.2.3 Διμερή Κυκλοδεξτρινών

#### Διμερές (5.21)

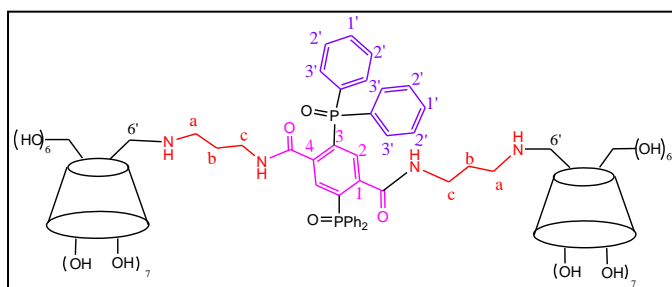


Σε διάλυμα ξηρού **5.19** (48 mg, 0.03 mmol) σε DMF (2 mL) προστέθηκε σταδιακά HATU (947.2 mg, 0.12 mmol) και το διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 1 h στους 0 °C. Ακολουθώντας, η αντίδραση επανήλθε σε θερμοκρασία δωματίου και προστέθηκε διίσοπροπυλοαιθυλαμίνη (15.8

$\mu\text{L}$ , 0.09 mmol) ώστε το pH του μίγματος να κυμαίνεται μεταξύ 8-9. Τέλος, προστέθηκε σταδιακά η μονο(6-αμινο-6-δεοξυ)- $\beta$ -κυκλοδεξτρίνη (38.7 mg, 0.03 mmol) και το διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση για τρεις μέρες στους 35 °C. Καθ' όλη τη διάρκεια της αντίδρασης το pH ήταν  $\sim 9$ . Ο καθαρισμός του προϊόντος πραγματοποιήθηκε με διαδοχικές στήλες εκχύλισης στερεάς φάσης με πληρωτικό υλικό αλουμίνα (Alumina-A) και εν συνεχεία με πληρωτικό υλικό σίλικα τροποποιημένη με καρβοξυλομάδες (LC-WCX), με την οποία έγινε δυνατή η απομάκρυνση της αρχικής μονο(6-αμινο-6-δεοξυ)- $\beta$ -κυκλοδεξτρίνης. Τέλος, το pH του διαλύματος ρυθμίστηκε 7 και τοποθετήθηκε σε μεμβράνη διαπίδυσης για 12 h. Το επιθυμητό προϊόν απομονώθηκε ως λευκό στερεό (4 mg, 10%).  $R_f = 0.06$  σε διαλύτη ανάπτυξης  $i\text{-PrOH}:\text{AcOEt}:\text{H}_2\text{O}$  (5:3:1).  $^1\text{H}$  NMR (D $_2$ O, 298 K, 500 MHz)  $\delta$  8.19 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H, H6), 8.05-7.37 (m, 12H, -Ar), 5.23-5.00 (m,

14H, H1), 4.18-3.85 (m, 53H, H3, H5, H6, H6'), 3.84-3.33 (m, 31H, H2, H4, 2xH6', H6'), 3.28 (bs, 1H, H6'), 3.02 (bs, 3H, Hc, Ha), 1.89 (bs, 2H, Hb) ppm. <sup>13</sup>C NMR (D<sub>2</sub>O, 298 K, 62.9 MHz) δ 139.0-124.9 (-Ar), 101.8 (C1), 80.9, 80.6, 80.1 (C4), 73.0, 72.0, (C2, C3, C5), 59.9, 59.6 (C6), 48.8 (C6'), 45.4 (Cc), 41.1 (C6'), 35.8 (Ca), 25.7 (Cb) ppm. <sup>31</sup>P NMR (D<sub>2</sub>O, 298K, 202.5 MHz) δ 35.2 ppm. <sup>15</sup>N NMR (D<sub>2</sub>O, 298K, 50.7 MHz) δ 141.6 ppm. MS (MALDI): m/z 2658.66 [M+H]<sup>+</sup> και 2680.56 [M+Na]<sup>+</sup>, θεωρ. για [C<sub>119</sub>H<sub>169</sub>N<sub>3</sub>O<sub>71</sub>P<sub>2</sub>H]<sup>+</sup>: 2656.37, [C<sub>119</sub>H<sub>169</sub>N<sub>3</sub>O<sub>71</sub>P<sub>2</sub>Na]<sup>+</sup>: 2678.37.

### Διμερές (5.22)

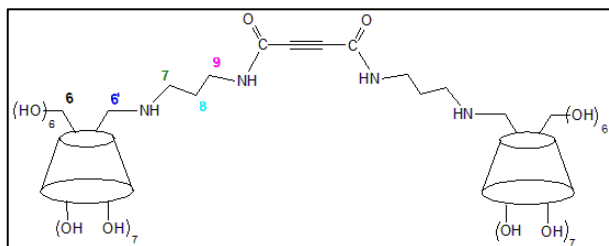


Σε διάλυμα ξηρής μονο[6-(3-αζιδο-προπυλαμινο)-6-δεοξυ]-β-κυκλοδεξτρίνης (12.5 mg, 0.01 mmol) σε ξηρό DMF (450 μL) προστέθηκε διάλυμα διμεθυλο 2,5-δισ(διφαινυλοφωσφανυλο)τερεφθαλικού οξέος (2.7 mg,

0.0047 mmol) σε CHCl<sub>3</sub> (100 μL), το οποίο είχε προσφάτως ξηρανθεί. Το διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση και υπό αργό για 48 h στους 60 °C. Ακολούθως, προστέθηκε H<sub>2</sub>O (20 μL) και το διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 4 h στους 60 °C. Η αντίδραση περατώθηκε με την προσθήκη H<sub>2</sub>O και το διάλυμα συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση. Το επιθυμητό προϊόν παρελήφθη μετά από χρωματογραφία στήλης με síλικα και διαλύτη έκλουσης CH<sub>3</sub>CN:H<sub>2</sub>O (5:2→1:1, v/v) και στη συνέχεια EtOH:H<sub>2</sub>O (1:1, v/v), υπό μορφή λευκού στερεού (8.4 mg, 62%). R<sub>f</sub> = 0.08 σε διαλύτη ανάπτυξης CH<sub>3</sub>CN:H<sub>2</sub>O (5:2). <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 298 K, 500 MHz) δ 7.94-7.44 (m, 22H, 20xH-Ph, H2, H5), 5.06 (s, 14H, H1), 3.96 (d, J = 9.0 Hz, 14H, H3), 3.90-3.70 (m, 38H, H5 & H6), 3.69-3.53 (m, 36H, H2 & H4), 3.44 (t, J = 9.0 Hz, 2H, H4), 2.92 (d, J = 10.0 Hz, 2H, H6), 2.83 (s, 4H, Hc), 2.71 (t, J = 9.0 Hz, 2H, H6'), 2.41 (s, 4H, Ha), 1.49 (s, 4H, Hb) ppm. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 298 K, 500 MHz) δ 8.45 (s, 2H, -NH-C=O), 7.79-7.71 (dd, <sup>1</sup>J = 13.0 Hz, <sup>2</sup>J = 3.0 Hz, 2H, H2), 7.70-7.57 & 7.56-7.44 (20H, H-Ph), 5.88-5.60 (m, 28H, OH2 & OH3), 4.82 (s, 14H, H1), 4.62-4.34 (m, 12H, OH6), 3.76-3.45 (m, 52H, H3, H5, H6), 3.44-3.30 (m, 24H, H2, H4), 2.78 (d, J = 10.0 Hz, 2H, H6'), 2.74-2.58 (m, 6H, 2xH6', 4xHc), 2.36 (bs, 2H, Ha), 2.30 (bs, 2H, Ha), 1.27 (t, J = 6.0 Hz, 4H, Hb), 1.23 (s, 2H, -NH-) ppm. <sup>13</sup>C NMR (D<sub>2</sub>O, 125 MHz) δ 168.6 (HN-C=O), 141.5 (C3), 135.0-127.8 (C-Ph, C1, C2, C4), 102.0, 101.7 (C1), 83.6, 81.0 (C4), 73.2 (C3), 72.2 (C5), 72.0 (C2), 60.1 (C6), 49.5 (C6'), 46.1 (Ca), 37.2 (Cc), 27.8 (Cb) ppm. <sup>31</sup>P NMR (D<sub>2</sub>O, 298K, 202.5

MHz)  $\delta$  35.4 ppm. MS (MALDI-TOF):  $m/z$  2912.1  $[M+H]^+$ , 2934.6  $[M+Na]^+$ , θεωρ.  $[C_{122}H_{176}N_4O_{71}P_2H]^+$ : 2911.97,  $[C_{122}H_{176}N_4O_{71}P_2Na]^+$ : 2933.97.

### Διμερές (8.4)

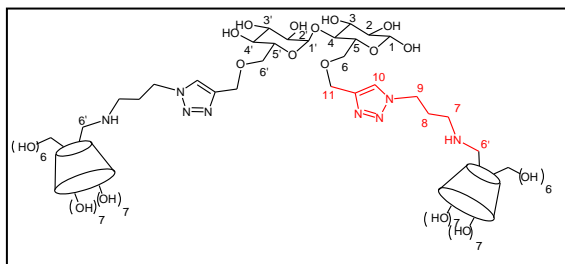


Σε διάλυμα ξηρής μονο(6-αμινο-προπυλαμινο-6-δεοξυ)- $\beta$ CD (50 mg, 0.04 mmol) σε DMF (3 mL), προστέθηκε  $CsCO_3$  (5mg, 0.026 mmol) και το διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 15 min υπό

συνθήκες αργού. Παράλληλα, σε διάλυμα βουτινοδιϊκού οξέος (2.4 mg, 0.02 mmol) σε DMF (0.5 mL) προστέθηκε HATU (31.9 mg, 0.08 mmol) και DIPEA (36  $\mu$ L, 0.21 mmol) και το διάλυμα που προέκυψε προστέθηκε στάγδην στο διάλυμα της κυκλοδεξτρίνης. Το μίγμα τοποθετήθηκε σε συσκευή μικροκυμάτων με ισχύ 100 W και θερμοκρασία 109-133  $^{\circ}C$  για 45 min. Η αντίδραση περατώθηκε με την προσθήκη νερού, το διάλυμα συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση, επαναδιαλυτοποιήθηκε σε νερό και το pH ρυθμίστηκε 7 με υδατικό διάλυμα HCl (10%, v/v) και τοποθετήθηκε σε μεμβράνη διαπίδωσης προς απομάκρυνση των προσμίξεων με μικρό μοριακό βάρος. Εν συνεχεία, προστέθηκε ανιονανταλλακτική ρητίνη (Amberlite IRA-400, 600 mg) για την απομάκρυνση της περίσσειας οξέος, διήθηση και προσθήκη κατιονανταλλακτικής ρητίνης (Amberlite IR120,  $H^+$ , 1.4 g) για την απομάκρυνση του HATU. Τέλος, η μονοϋποκατεστημένη κυκλοδεξτρίνη **3.3** και το επιθυμητό διμερές **3.4** διαχωρίστηκαν και απομονώθηκαν με τη βοήθεια παρασκευαστικής χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας, με διπλή ανάπτυξη σε διαλύτη  $iPrOH:AcOEt:H_2O:NH_4OH$  (5:3:3:1, v/v) (**3.3**: 20.6 mg, 40%, **3.4**: 12.3 mg, 25%) .

Επανάληψη της παραπάνω πειραματικής διαδικασίας με τη διαφορά ότι ως αντιδραστήρια σύζευξης χρησιμοποιήθηκαν HOBt, DCC,  $CsCO_3$ , *N*-αιθυλομορφολίνη, έδωσε τα προϊόντα **3.3** και **3.4** σε διαφορετική αναλογία (**3.3**: 33 mg, 64%, **3.4**: 7.4 mg, 15%).  $R_f(\mathbf{3.3}) = 0.05$  και  $R_f(\mathbf{3.4}) = 0.15$  σε σύστημα ανάπτυξης  $iPrOH:AcOEt:H_2O:NH_4OH$  (5:3:3:1).  $^1H$  NMR ( $D_2O$ , 298 K, 500 MHz)  $\delta$  5.15, 5.13, 5.09 (s, 7H, H1), 4.15 (t,  $J = 8.0$  Hz, 2H, H3), 4.07-3.75 (m, 50H, H3, H5, H6), 3.75-3.46 (m, 30H, H2, H4, 2xH6'), 3.40 (q,  $J_1 = 8.0$  Hz,  $J_2 = 13.0$  Hz, 2H6'), 3.31 (t,  $J = 8$  Hz, 4H, H9), 3.15 (s, 4H, H7), 2.10 (s, 4H, H8) ppm. MS (ESI): 1233.5  $[M+2H]^{2+} + 2H^+$ , θεωρ.  $[C_{94}H_{154}N_4O_{70}H_2]^{2+} + 2H^+$ : 1233.1.

### Διμερές (7.3)

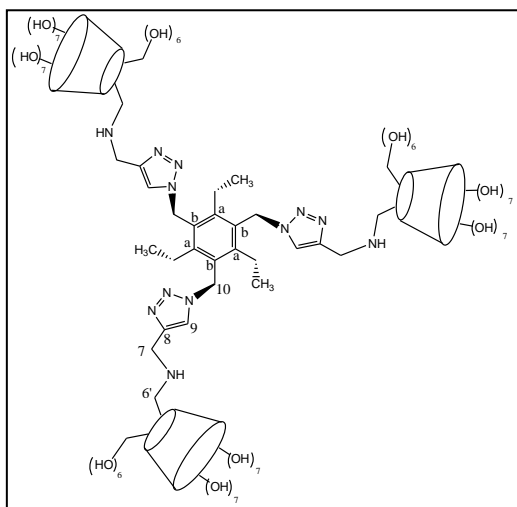


Σε διάλυμα ξηρού *p*-μεθοξυφαινυλο-2,3-δι-*O*-βενζυλο-6-*O*-(προπ-2-ινυλο)-4-*O*-(2',3',4'-τρι-*O*-βενζυλο-6'-*O*-(προπ-2-ινυλο)α-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-β-*D*-γλυκοπυρανοζίτη (**7.1**) (15.6 mg, 0.016 mmol) σε DMSO (1.5 mL)

προστέθηκε CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (16 mg, 0.064 mmol) και το αιώρημα παρέμεινε υπό ανάδευση σε rt για 15 min. Εν συνεχεία, προστέθηκε στάγδην διάλυμα ασκορβικού νατρίου (24 mg, 0.096 mmol) σε H<sub>2</sub>O (0.5 mL), το αρχικό αιώρημα απέκτησε καστανό χρώμα και παρέμεινε υπό ανάδευση στους 50 °C για 5 min, οπότε και παρατηρήθηκε δημιουργία ιζήματος. Ακολούθως προστέθηκε ξανά διάλυμα ασκορβικού νατρίου (24 mg, 0.096 mmol) σε H<sub>2</sub>O (0.5 mL) και το αιώρημα παρέμεινε υπό ανάδευση στους 50 °C για 48 h. Ακολούθησε συμπύκνωση του αιωρήματος μέχρι ξηρού, προσθήκη μίγματος διαλύτη H<sub>2</sub>O:EtOH (1:1) και κατιονανταλλακτική ρητίνη (Amberlite IR120, H<sup>+</sup>, 1.4 g) για την απομάκρυνση του χαλκού. Το μίγμα της αντίδρασης δεν ήταν πλήρως διαλυτό και μέρος του προϊόντος χάθηκε κατά την απομάκρυνση της ρητίνης με απλή διήθηση. Εν συνεχεία, κατέστη δυνατή η διαλυτοποίηση του μίγματος σε μίγμα EtOH:H<sub>2</sub>O:CF<sub>3</sub>COOH (1:1:0.1, v/v) και πραγματοποιήθηκε απομάκρυνση των βενζυλομάδων με υδρογόνωση (10% H<sub>2</sub>/Pd, 1 atm) για δύο μέρες. Τέλος, το διάλυμα συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση, επαναδιαλυτοποιήθηκε σε νερό, το pH ρυθμίστηκε 7 με υδατικό διάλυμα NaOH (10%, v/v) και τοποθετήθηκε σε μεμβράνη διαπίδωσης για 32 h. Τέλος, το διάλυμα συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού και πραγματοποιήθηκαν πειράματα φασματοσκοπίας NMR. Δεν ήταν δυνατή η πλήρης ανάλυση της δομής του μορίου, ωστόσο παρατηρήθηκαν δύο κορυφές στα 99.9 ppm και στα 96.0 ppm στο φάσμα του <sup>13</sup>C, οι οποίες αντιστοιχούν στους ανωμερικούς άνθρακες της μαλτόζης. Με αυτόν τον τρόπο πιστοποιείται η ύπαρξη κάποιου είδους προϊόντος, ωστόσο η πειραματική διαδικασία πρέπει να διερευνηθεί περαιτέρω.

## 10.2.4 Τριμερή Κυκλοδεξτρινών

### Τριμερές (6.3)

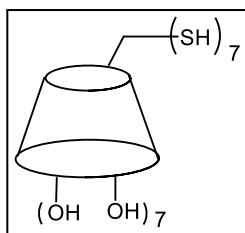


Σε διάλυμα 1,3,5- τριαζιδομεθυλο-2,4,6- τριαιθυλοβενζολίου (3.3 mg, 0.01 mmol) σε DMSO (1.5 mL) προστέθηκε μονο-(6- αμινοπροπάργυλο-6-δεοξυ)-β-κυκλοδεξτρίνη (71.6 mg, 0.061 mmol) και  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (15.2 mg, 0.061 mmol). Στη συνέχεια, προστέθηκε σταδιακά προσφάτως παρασκευασμένο διάλυμα L- ασκορβικού νατρίου σε  $\text{H}_2\text{O}$  (17.8 mg, 0.09 mmol, 0.1 mL) και το διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 48 h στους 50 °C.

Ακολούθως, το διάλυμα συμπυκνώθηκε μέχρι την πλήρη απομάκρυνση του  $\text{H}_2\text{O}$  και πραγματοποιήθηκε καταβύθιση με ακετόνη (5 mL). Το προκύπτον στερεό διαλύθηκε σε νερό, το pH ρυθμίστηκε 9 με υδατικό διάλυμα NaOH (10%, v/v) και προστέθηκε κατιονανταλλακτική ρητίνη (Amberlite IR120,  $\text{H}^+$ , 230 mg), για την απομάκρυνση του χαλκού. Εν συνεχεία, το διάλυμα διηθήθηκε και τοποθετήθηκε σε μεμβράνη διαπίδωσης για 24 h, μετά από ρύθμιση του pH 7 με υδατικό διάλυμα HCl (10%, v/v). Το επιθυμητό τριμερές παραλήφθηκε ως λευκό στερεό μετά από στήλη Sephadex G15 με διαλύτη έκλουσης διάλυμα NaCl (0.15 M). και επαναδιαλυτοποιήθηκε σε  $\text{H}_2\text{O}$ , ρυθμίστηκε το pH 7 με υδατικό διάλυμα NaOH (10%, v/v) και επανατοποθετήθηκε σε μεμβράνη διαπίδωσης για τη απομάκρυνση των αλάτων (12.9 mg, 100%).  $R_f = 0$  σε σύστημα ανάπτυξης  $i\text{-PrOH}:\text{AcOEt}:\text{H}_2\text{O}$  (5:3:3, v/v).  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 298 K, 500 MHz)  $\delta$  8.10 (bs, 3H, H9), 5.82 (bs, 6H, H10), 5.41, 5.10 (s, 21H, H1), 4.51-3.02 (m, 168H, H2, H3, H4, H5, H6, H6', H7), 2.77 (bs, 6H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ), 0.80 (bs, 9H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ) ppm.  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 298 K, 125 MHz)  $\delta$  147.3 (Ca), 138.2 (C8), 129.3 (Cb), 126.7 (C9), 102.0, 101.4 (C1), 83.2, 81.3 (C4), 73.3 (C3), 72.2 (C5), 72.0 (C2), 60.5 (C6), 48.9 (C10, C6'), 42.1 (C7), 23.5 ( $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ), 14.5 ( $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ) ppm. MS (MALDI-TOF, Reflectron mode,  $\text{AcONH}_4$  4 mM):  $m/z$  3866.5  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , θεωρ. για  $[\text{C}_{105}\text{H}_{169}\text{N}_9\text{O}_{68}\text{Na}]^+$ : 3866.53.

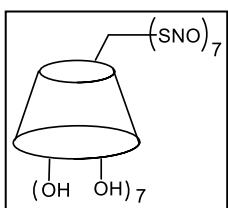
## 10.2.5 Περι-υποκατεστημένες Κυκλοδεξτρίνες

### Περι-(6-μερκαπτο-6-δεοξυ)-β-κυκλοδεξτρίνη (9.3)



Σε διάλυμα ξηρής περι-(6-ιωδο-6-δεοξυ)-β-κυκλοδεξτρίνης (200 mg, 0.105 mmol) σε ξηρό DMF (2 mL) προστέθηκε θειουρία (63 mg, 0.819 mmol) και το διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση και υπό αργό για 19 h στους 70 °C. Ακολούθως, το διάλυμα συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού υπό ελαττωμένη πίεση, το προκύψαν ελαιώδες προϊόν διαλύθηκε σε απαερωμένο H<sub>2</sub>O (1 mL), προστέθηκε στερεό NaOH (50 mg, 1.25 mmol) και το διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση και υπό αργό για 1 h στους 90 °C. Εν συνεχεία, προστέθηκε κεκορεσμένο υδατικό διάλυμα KHSO<sub>4</sub> (0.1 mL, pH 2) οπότε το επιθυμητό προϊόν καταβυθίστηκε ως λευκό στερεό το οποίο διηθήθηκε και εκπλύθηκε με ψυχρό H<sub>2</sub>O (5 mL). Τέλος, το προϊόν ξηράνθηκε παρουσία P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> σε ξηραντήρα και παραλήφθηκε ως λευκό στερεό (93.4 mg, 71%). <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 298 K, 500 MHz) δ 5.97 (d, *J* = 6.0 Hz, 7H, OH<sub>2</sub>), 5.83 (s, 7H, OH<sub>3</sub>), 4.95 (d, *J* = 2.5 Hz, 7H, H<sub>1</sub>), 3.68 (t, *J* = 8.0 Hz, 7H, H<sub>5</sub>), 3.60 (t, *J* = 9.0 Hz, 7H, H<sub>3</sub>), 3.36-3.40 (m, 14 H, H<sub>2</sub>, H<sub>4</sub>), 3.21 (br d, *J* = 14.0 Hz, 7H, H<sub>6b</sub>), 2.79 (m, 7 H, H<sub>6a</sub>), 2.16 (t, *J* = 6.0 Hz, 7H, SH) ppm. <sup>13</sup>C NMR (D<sub>2</sub>O, 298 K, 62.9 MHz) δ 102.2 (C<sub>1</sub>), 85.0 (C<sub>4</sub>), 72.6 (C<sub>2</sub>), 72.3 (C<sub>3</sub>), 72.0 (C<sub>5</sub>), 26.0 (C<sub>6</sub>) ppm, σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία.<sup>25b</sup>

### Πολυ-(6-S-νιτρωδοθειο-6-δεοξυ)-β-κυκλοδεξτρίνη (9.4)



Διάλυμα περι-(6-μερκαπτο-6-δεοξυ)-β-κυκλοδεξτρίνης (25 mg, 0.02 mmol) σε DMSO (200 μL, 0.1 M) αναμίχθηκε με υδατικό διάλυμα NaNO<sub>2</sub> (8.0 M, 35 μL, 7 eq, 0.14 mmol). Στη συνέχεια, προστέθηκε υδατικό διάλυμα HCl (6 N, 30 μL, 0.18 mmol) οπότε το διάλυμα απέκτησε βαθύ κόκκινο χρώμα. Το μίγμα της αντίδρασης ανακινήθηκε ελαφρά για 2 min στους 0 °C. Ακολούθως, προστέθηκε ψυχρή ακετόνη (10 mL) και το επιθυμητό προϊόν παραλήφθηκε μετά από φυγοκέντριση και εκπλύθηκε άλλη μια φορά με ψυχρή ακετόνη (10 mL). Τελικώς, παρελήφθη ροδόχρουν στερεό (10.2 mg, 35%) μετά από ξήρανση υπό κενό στους 0 °C το οποίο αποθηκεύτηκε στους -20 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 298 K, 250 MHz) δ 5.85 (br, 14 H, OH<sub>2</sub>, OH<sub>3</sub>), 4.93 (br, 7 H, H<sub>1</sub>), 4.42-2.70 (br, 49 H, H<sub>5</sub>, H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>, H<sub>6</sub>) ppm. <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub> σε D<sub>2</sub>O, 298 K, 500 MHz) δ 102.4 (br, C<sub>1</sub>), 85.7 (br, C<sub>4</sub>), 75.1 – 70.0 (m, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>), 35.4 (C<sub>6</sub>-SNO) ppm. IR (cm<sup>-1</sup>): ν 3325 (O-H) 2920 (C-H), 1037 (C-O, CD-OHs), 1503 (N-O), 634 (N-S). Το προϊόν ήταν ασταθές υπό

συνθήκες ιονισμού MALDI. Το απομονωμένο προϊόν περιγράφεται καλύτερα ως πολυ-SNO-βCD.

Το ίδιο παράγωγο παρασκευάστηκε με  $\text{Na}^{15}\text{NO}_2$ .  $^{15}\text{N}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ , 298 K, 500 MHz)  $\delta$  810 ppm.

### 10.3 Πειράματα Συμπλοκοποίησης

#### 10.3.1 Τιτλοδότηση του Παραγώγου 5.19 με $\text{adaNH}_2\cdot\text{HCl}$

Σε διάλυμα του παραγώγου **5.19** (1 mM,  $\text{D}_2\text{O}$ ) πραγματοποιήθηκαν δεκαπέντε προσθήκες των 2  $\mu\text{L}$  από 0.067 eq  $\text{adaNH}_2\cdot\text{HCl}$  (16.75 mM,  $\text{D}_2\text{O}$ ) η κάθε μία και στη συνέχεια τέσσερις προσθήκες των 2  $\mu\text{L}$  από 0.5 eq  $\text{adaNH}_2\cdot\text{HCl}$  (125 mM,  $\text{D}_2\text{O}$ ) η κάθε μία. Μετά από κάθε προσθήκη ελήφθη φάσμα  $^1\text{H}$  NMR και edited-HSQC. Η συνολική αύξηση του όγκου από τις προσθήκες της  $\text{adaNH}_2\cdot\text{HCl}$  (προστιθέμενος όγκος: 38  $\mu\text{L}$ , αρχικός όγκος 500  $\mu\text{L}$ , δηλαδή ~7.6% αύξηση του συνολικού όγκου), θεωρείται αμελητέα. Σχεδιάστηκε η καμπύλη τιτλοδότησης [ $\Delta\delta(\text{H}3)$  vs eq] (OriginPro 8) και παρατηρήθηκε δημιουργία συμπλόκου 1:1 (H:G).

#### 10.3.2 Συμπλοκοποίηση του Παραγώγου 5.22 με **NDTAM**

Σε διάλυμα του παραγώγου **5.22** (1 mM,  $\text{D}_2\text{O}$ ) προστέθηκαν 2 eq στερεού **NDTAM** (0.6 mg). Από το φάσμα 2D ROESY παρατηρήθηκε συμπλοκοποίηση, ενώ από το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR υπολογίστηκε η διαλυτότητα του **NDTAM** ~0.3 mM, σύμφωνα με τις ολοκληρώσεις των κορυφών στα 6.70 ppm που αντιστοιχεί στα αρωματικά H1 του **NDTAM** και στα 1.63 ppm που αντιστοιχεί στα Hb του διμερούς **5.22**.

#### 10.3.3 Τιτλοδότηση του Παραγώγου 5.22 με $\text{adaNH}_2\cdot\text{HCl}$

Σε διάλυμα 1 mM του διμερούς **5.22** σε  $\text{D}_2\text{O}$  πραγματοποιήθηκαν σταδιακές προσθήκες διαλύματος  $\text{adaNH}_2\cdot\text{HCl}$  (75 mM,  $\text{D}_2\text{O}$ ). Συνολικά προστέθηκαν 4 eq  $\text{adaNH}_2\cdot\text{HCl}$ . Αρχικά, πραγματοποιήθηκαν οκτώ προσθήκες των 0.3 eq (2  $\mu\text{L}$ ) η κάθε μία, ακολούθως μία προσθήκη των 0.6 eq (4  $\mu\text{L}$ ) και τέλος μια προσθήκη 1 eq (8  $\mu\text{L}$ ). Η συνολική αύξηση του όγκου (προστιθέμενος όγκος: 26  $\mu\text{L}$ , αρχικός όγκος 500  $\mu\text{L}$ , δηλαδή ~5% αύξηση του συνολικού όγκου) θεωρείται αμελητέα. Σχεδιάστηκε η καμπύλη τιτλοδότησης [ $\Delta\delta(\text{H}3)$  vs eq] (OriginPro 8) όπου ήταν εμφανής η δημιουργία συμπλόκου μεταξύ του διμερούς και της  $\text{adaNH}_2\cdot\text{HCl}$  (1:2, H:G).



#### 10.3.4 Συμπλοκοποίηση του Παραγώγου 6.3 με 4-*t*-Βουτυλοβενζοϊκό οξύ

Διάλυμα του τριμερούς **6.3** σε ρυθμιστικό διάλυμα (PBS σε D<sub>2</sub>O, 1 mM, pH = 7.4) παρέμεινε υπό ανάδευση για 12 h μέχρι την πλήρη διαλυτοποίηση του. Εν συνεχεία, προστέθηκαν 3 eq στερεού 4-*t*-βουτυλοβενζοϊκού οξέος (0.3 mg) και το αιώρημα παρέμεινε υπό ανάδευση για 24 h, οπότε και διαυγάστηκε. Από το φάσμα <sup>1</sup>H NMR του μίγματος που προέκυψε (ολοκλήρωση των κορυφών στα 7.51 ppm και στα 5.86 ppm οι οποίες αντιστοιχούν στα H<sub>2</sub> του 4-*t*-βουτυλοβενζοϊκού οξέος και στα H<sub>10</sub> του τριμερούς **6.3**) παρατηρούμε ότι αντιστοιχούν τρία μόρια *t*-βουτυλοβενζοϊκού οξέος για κάθε μόριο τριμερούς **6.3** (σύμπλοκο 1:3, H:G).

#### 10.3.5 Συμπλοκοποίηση του Παραγώγου 6.3 με TAM-C

Διάλυμα του τριμερούς **6.3** σε υδατικό ρυθμιστικό διάλυμα PBS (1 mM, pH = 7.4) σε δευτεριωμένο D<sub>2</sub>O, παρέμεινε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 12 h (πλήρης διαλυτοποίηση). Κατόπιν προστέθηκαν 1.3 eq **TAM-C** (1 mg) και το αιώρημα που προέκυψε παρέμεινε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 12 h. Από την ολοκλήρωση των κορυφών του φάσματος <sup>1</sup>H NMR του υπερκείμενου διαλύματος στα 6.82 ppm και στα 5.82 ppm οι οποίες αντιστοιχούν στο H<sub>1</sub> του **TAM-C** και το H<sub>10</sub> του **6.3**, παρατηρήθηκε αναλογία 0.3:1 (**TAM-C:6.3**).<sup>80</sup>

#### 10.3.6 Συμπλοκοποίηση του Παραγώγου 6.3 με NDTAM·HCl

Διάλυμα του τριμερούς **6.3** σε υδατικό ρυθμιστικό διάλυμα PBS (1 mM) παρέμεινε υπό ανάδευση για 12 h μέχρι την πλήρη διαλυτοποίηση του. Στη συνέχεια προστέθηκαν 3 eq **NDTAM** (0.8 mg) και το αιώρημα παρέμεινε υπό ανάδευση για 48 h. Από τις ολοκληρώσεις των κορυφών του φάσματος <sup>1</sup>H NMR του υπερκείμενου διαλύματος στα 6.82 ppm και 5.83 ppm οι οποίες αντιστοιχούν στο H<sub>1</sub> του **NDTAM** και τα H<sub>10</sub> του **6.3**, παρατηρούμε ότι αναλογία H:G (1:0.75).

#### 10.4 Θερμική Σταθερότητα του παραγώγου 9.4

Πραγματοποιήθηκε μελέτη της θερμικής σταθερότητας του παραγώγου **9.4** μέσω φασμάτων απορροφησης UV-Vis. Χρησιμοποιήθηκε διάλυμα της ένωσης **9.4** συγκέντρωσης 1 mM σε DMSO στους 37, 45 και 60 °C σε διάστημα 3 h. Οι

απορροφήσεις καταγράφησαν μετά από 5 min, 10 min, 15 min, 20 min, 30 min, 60 min, 120 min και 180 min από την έναρξη του πειράματος.

### **10.5 In Vitro Μελέτες του SNO-παραγώγου 9.4**

Όλες οι μελέτες *in vitro* έγιναν με τη βασική συνδρομή του Δρ. Θ. Θεοδοσίου, η συμβολή του οποίου λόγω εκτεταμένης και εις βάθος γνώσεως των *in vitro* διαδικασιών, έπαιξε ουσιαστικό ρόλο στην πρόοδο των αποτελεσμάτων.

#### **10.5.1 Υλικά**

Το τροφικό μέσο RPMI 1640, χωρίς ερυθρό της φαινόλης και L-γλουταμίνη, ο ορός εμβρύου βοός (FBS), το ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (PBS), η πενικιλίνη/στρεπτομυκίνη, η θρυψίνη (EDTA), η L-γλουταμίνη αγοράσθηκαν από την Invitrogen. Το 3-(4,5-διμεθυλο-2-θειαζολυλο)-2,5-διφαινυλο-2H-τετραζόλιο (MTT) αγοράσθηκε από τη Sigma-Aldrich. Για τα πειράματα φωτοτοξικότητας χρησιμοποιήθηκαν οι καρκινικές κυτταρικές σειρές DU145 (καρκινικά κύτταρα του προστάτη)<sup>98</sup> και MCF7 (καρκινικά κύτταρα του μαστού).<sup>99</sup> Τα πειράματα επώασης έγιναν σε θάλαμο νηματικής ροής (laminar flow).

#### **10.5.2 Οργανολογία**

Αναγνώστης Απορρόφησης/Φθορισμού πλακιδίων (multimode plate reader): Τα πειράματα έγιναν με το όργανο της εταιρείας Tecan Infinite 200 series με αυτόματη μέτρηση φθορισμού πλακιδίων, Ινστιτούτο Βιοεπιστημών και Εφαρμογών, ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος».

Ανακίνηση πλακιδίων: Πραγματοποιήθηκε σε Κυκλικό αναδευτή Stuart.

#### **10.5.3 Καλλιέργεια Κυττάρων**

Όλα τα κύτταρα αναπτύχθηκαν σε τροφικό μέσο RPMI 1640 εμπλουτισμένο με 10% ορό εμβρύου βοός (FBS), πενικιλίνη/στρεπτομυκίνη και L-γλουταμίνη σε θερμοκρασία 37 °C και υγρή ατμόσφαιρα 5% CO<sub>2</sub>. Τα κύτταρα τοποθετήθηκαν σε πλακίδια των 96 φρεατίων (2×10<sup>4</sup> κύτταρα/100 μL τροφικό/φρεάτιο) 24 h πριν τα πειράματα κυτταροτοξικότητας.

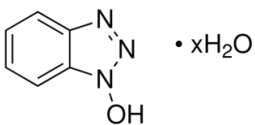
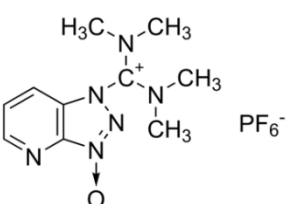
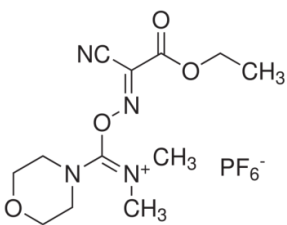
#### 10.5.4 Πειράματα Κυτταροτοξικότητας

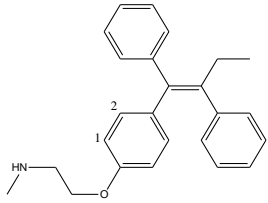
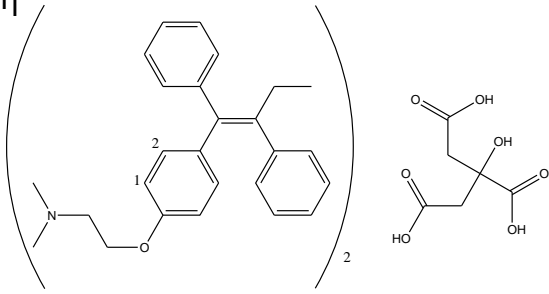
Η αποτίμηση τόσο της φωτοτοξικότητας όσο και της κυτταροτοξικότητας των νέων κυκλοδεξτρινικών παραγώγων έγινε με την μέθοδο ανάλυσης MTT,<sup>101</sup> μια χρωματομετρική δοκιμασία, που βασίζεται στην αναγωγή των αλάτων τετραζολίου (tetrazolium) σε κυανού χρώματος κρυστάλλους φορμαζάνης (formazan) από μιτοχονδριακά ένζυμα των ζωντανών κυττάρων. Η παραγόμενη φορμαζάνη απορροφά στην φασματική περιοχή 550-570 nm και έτσι είναι δυνατός ο φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός της ποσότητας, η οποία είναι (μέσα στη γραμμική περιοχή) ευθέως ανάλογη του αριθμού των επιζώντων κυττάρων. Έτσι, ο λόγος της απορρόφησης της φορμαζάνης σε κύτταρα που έχουν επωασθεί με τις υπό μελέτη ουσίες ως προς την απορρόφηση φορμαζάνης στα αντίστοιχα κύτταρα μάρτυρες που έχουν επωασθεί μόνο με το τροφικό μέσο δίνει το ποσοστό (%) επιβίωσης των κυττάρων.

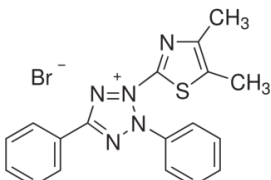
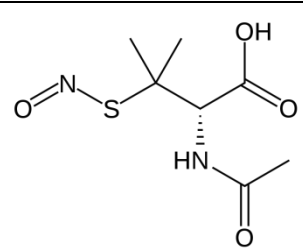
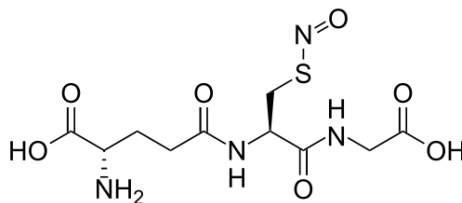
Τα κύτταρα παρέμειναν για 3 h παρουσία διαφόρων συγκεντρώσεων πολυ-SNO-βCD (10-200 μM), χωρίς FBS. Ακολούθως, το τροφικό μέσο αντικαταστάθηκε με νέο (το οποίο περιείχε 10% FBS). Ο έλεγχος της οξειδοαναγωγικής ικανότητας των μιτοχονδρίων (τρόπος ελέγχου της επιβίωσης των κυττάρων) των καρκινικών κυττάρων πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο MTT σε δύο χρονικές στιγμές, αρχικά αμέσως μετά την αλλαγή του τροφικού μέσου και στη συνέχεια, μετά από 24 h. Αυτό πραγματοποιήθηκε αντικαθιστώντας το τροφικό μέσο με νέο το οποίο περιείχε 1 mg/mL MTT και με επώαση στους 37°C σε υγρή ατμόσφαιρα με 5% CO<sub>2</sub> για 2 h. Εν συνεχεία, το μέσο με το MTT απομακρύνθηκε και η παραγόμενη φορμαζάνη αραιώθηκε σε DMSO (100 μL ανά φρεάτιο). Ακολούθως, τα πλακίδια ανακινήθηκαν για 10 min με ταχύτητα 100 rpm. Τέλος, οι μετρήσεις απορρόφησης πραγματοποιήθηκαν στα 562 nm. Ως τυφλά πειράματα πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις σε φρεάτια τα οποία περιείχαν μόνο DMSO και καθόλου κύτταρα.

## Συντημήσεις – Αρκτικόλεξα – Ακρωνύμια

### Ακρωνύμια και ανάπτυξη τους

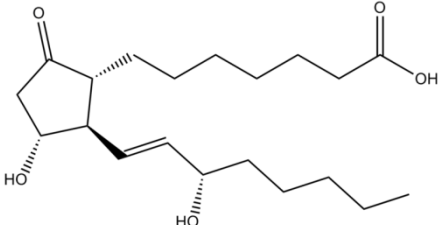
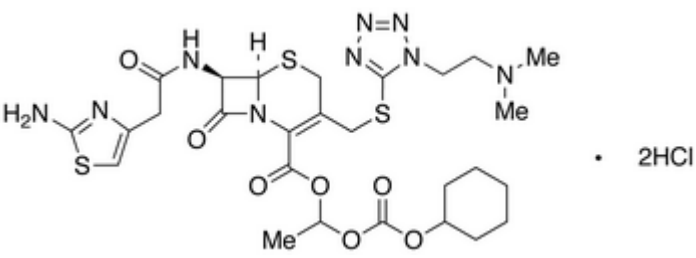
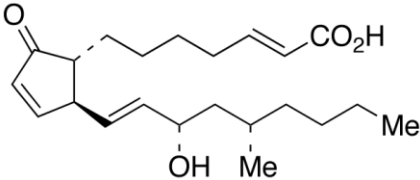
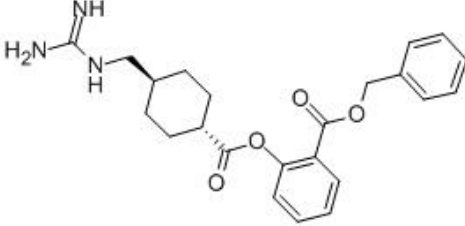
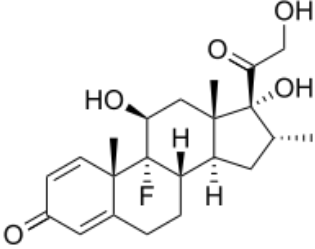
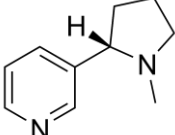
CD	Κυκλοδεξτρίνη	
αCD	α-Κυκλοδεξτρίνη	
βCD	β-Κυκλοδεξτρίνη	
γCD	γ-Κυκλοδεξτρίνη	
HOβCD	Υδροξυπροπυλο-β-κυκλοδεξτρίνη	
MeβCD	Μεθυλο-β-κυκλοδεξτρίνη	
HPβCD	2-Υδροξυπροπυλο-β-κυκλοδεξτρίνη	
HPγCD	2-Υδροξυπροπυλο-γ-κυκλοδεξτρίνη	
RMβCD	Τυχαίως μεθυλιωμένη-β-κυκλοδεξτρίνη	
SNO-CDs	S-Νιτρωδοθειολο-κυκλοδεξτρίνες	
SiO <sub>2</sub> /silica gel	Πηκτή πυριτίας	
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /Alumina	Αλουμίνα	
Ac4ManNAz	Περι-ακετυλιωμένη αζιδοακετυλομανοζαμίνη	
MetRS	Μεθειονυλο-tRNA συνθετάση	
αζιδο-mDHFR	Αζιδο-murine dihydrofolate reductase	
SiaNAz	Αζιδοακετυλοσιαλικό οξύ	
DABCO	1,4-Διαζαδικυκλο[2.2.2]οκτάνιο	
PEG	Πολυαιθυλενογλυκόλη	
HOBt	Υδροξυβενζοτριαζόλιο	
HATU	Τετραμεθυλοουρονικό άλας του εξαφθοροφωσφορικού αζαβενζοτριαζολίου	
COMU	(1-Cyano-2-ethoxy-2-oxoethylideneaminoxy)dimethylamino-morpholino-carbenium hexafluorophosphate.	

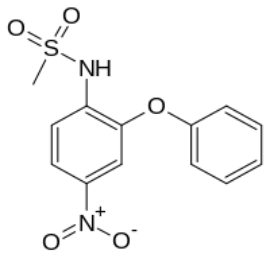
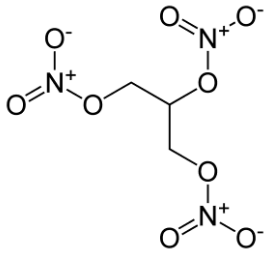
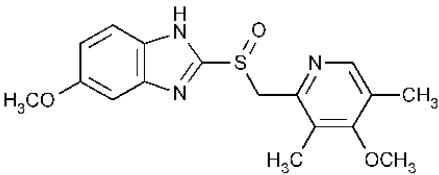
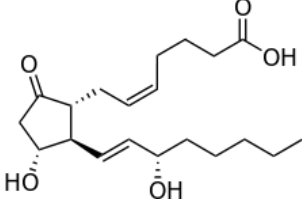
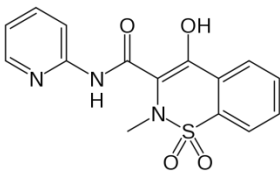
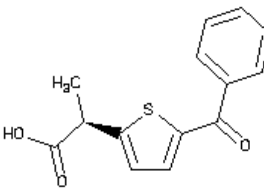
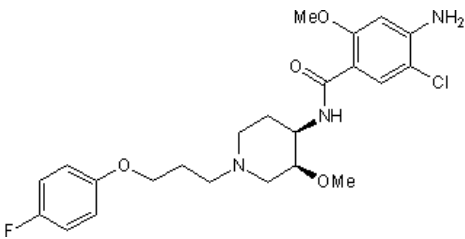
DMF	Διμεθυλοφορμαμίδιο
DIPEA	N,N'-διισοπροπυλαιθυλαμίνη
DCC	N,N'-δικυκλοεξυλοκαρβοδιιμίδιο
ada·NH <sub>2</sub> ·HCl	Υδροχλωριωμένη 1-αδαμαντανταμίνη
EDTA	Αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ
NDTAM	N-απομεθυλιωμένη Ταμοξιφαίνη 
TAM-C	Κιτρική Ταμοξιφαίνη 
SPE	Εκχύλιση στερεάς φάσης
LC-WCX	Στήλη εκχύλισης στερεάς φάσης με πληρωτικό υλικό πυριτική γέλη τροποποιημένη με καρβοξυλομάδες
LC-NH <sub>2</sub>	Στήλη εκχύλισης στερεάς φάσης με πληρωτικό υλικό πυριτική γέλη τροποποιημένη με αμινομάδες
THF	Τετραϋδροφουράνιο
NMP	N-μεθυλοπυρρολιδι-2-όνη
DMAP	4-Διμεθυλοαμινοπυριδίνη
DMSO	Διμεθυλοσουλφοξείδιο
DMSO-d <sub>6</sub>	Δευτεριωμένο διμεθυλοσουλφοξείδιο
DMF-d <sub>7</sub>	Δευτεριωμένο διμεθυλοφορμαμίδιο
TLC	Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας
COSY	COrrrelation SpectroscopY
ROESY	Rotating-frame Overhauser Effect SpectroscopY
NOESY	Nuclear Overhauser Effect SpectroscopY
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
TOCSY	Total Correlation SpectroscopY
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
DOSY	Difussion-Ordered SpectroscopY

FITC	Ισοθειοκυανική φλουορεσκεΐνη
r.t	Θερμοκρασία δωματίου
Ts <sub>2</sub> O	Τοσυλοανυδρίτης
2D NMR	Φάσμα NMR 2 διαστάσεων
TBDMS	Τερτ-βουτυλοδιμεθυλοσιλυλο-
PBS	Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών
FBS	Ορός εμβρύου βοός
RPMI 1640	Τροφικό μέσο
PTD	Φωτοδυναμική θεραπεία
ROS	Reactive Oxygen Species
RNOS	Reactive NO Species
DU145	Καρκινικά κύτταρα του προστάτη
MCF7	Καρκινικά κύτταρα του μαστού
MTT	3-(4,5-διμεθυλο-2-θειαζολυλο)-2,5-δифαινυλο-2H-τετραζόλιο 
SNAP	S-νιπρωδο-N-ακετυλοπενικιλαμίνη 
GSNO	S-νιπρωδογλουταθειόνη 
TSPP	5,10,15,20-τετρακισ(4-σουλφονυλοφαινυλο)πορφυρίνη
TBPyP	5,10,15,20-τετρακισ[(N-p-t-βουτυλοβενζυλο)-4-πυριδινυλο]πορφυρίνη

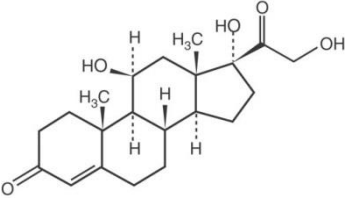
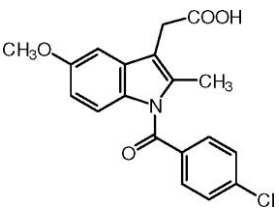
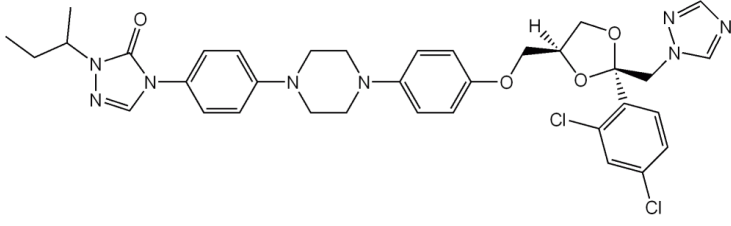
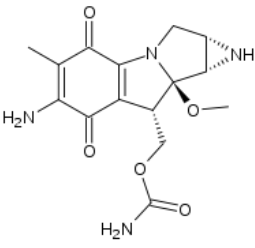
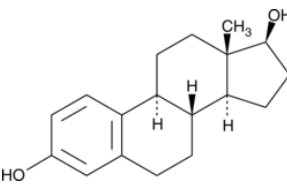
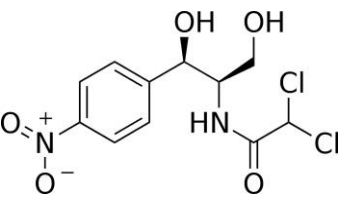
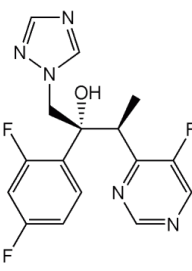
## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

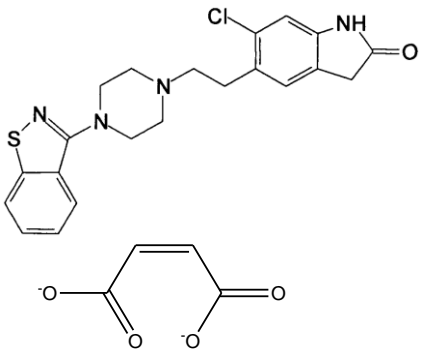
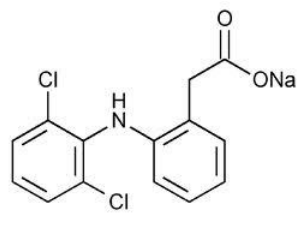
### Δομές Βιοδραστικών ουσιών του Πίνακα 1.2

Βιοδραστικές ουσίες	Δομές
Alpostadil (PGE <sub>1</sub> )	
Gefotiam hexetil HCl	
Limaprost	
Benexate	
Dexamethanose	
Nicotine	

Nimesulide	
Nitroglycerin	
Omeprazole	
Dinoprostone (PGE <sub>2</sub> )	
Piroxicam	
Tiaprofenic acid	
Cisapride	



Hydrocortisone	
Indomethacin	
Itraconazole	
Mitomycin	
17β-Oestradiol	
Chloramphenicol	
Voriconazole	

<p>Ziprasidone maleate</p>	
<p>Diclofenac sodium</p>	



## ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. J.-M. Lehn, *Supramolecular Chemistry-Scope and Perspectives: Molecules, Supermolecules, and Molecular Devices (Nobel Lecture)*, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1988**, 27, 89-112.
2. a) J.-M. Lehn, *Supramolecular Chemistry: Concepts and Perspectives (SCCP)*, VCH Verlagsgesellschaft mbH D-69451 Weinheim, **1995**, , b) F. Vögtle, *Supramolecular Chemistry*, Wiley, **1991**,
3. J. Szejtli, *Cyclodextrin Technology*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, **1988**.,
4. J.z. Szejtli, *Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry*, *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 1743-1754.
5. W. Saenger, *Cyclodextrin Inclusion Compounds in Research and Industry*, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1980**, 19, 344-362.
6. R.J. Clarke, J.H. Coates, S.F. Lincoln, R.S. Tipson, H. Derek, *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry: Inclusion Complexes of the Cyclomalto-Oligosaccharides (Cyclodextrins)*, Academic Press, **1988**, 205-249.
7. a) K. Harata, *Structural Aspects of Stereodifferentiation in the Solid State*, *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 1803-1828, b) W. Saenger, J.I. Jacob, K. Gessler, T. Steiner, D. Hoffmann, H. Sanbe, K. Koizumi, S.M. Smith, T. Takaha, *Structures of the Common Cyclodextrins and Their Larger Analogues Beyond the Doughnut*, *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 1787-1802.
8. C.J. Easton, S.F. Lincoln, *Modified Cyclodextrins- Scaffolds and Templates for Supramolecular Chemistry*, Imperial College Press, **1999**, 5.
9. <http://www.toyama-nct.ac.jp/personal/kawai/cyclodextrin/cyclodextrin.gif>.
10. K. Uekama, F. Hirayama, T. Irie, *Cyclodextrin Drug Carrier Systems*, *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 2045-2076.
11. Z.H. Qi, T. Sikorski Christopher, *Controlled Delivery Using Cyclodextrin Technology in Intelligent Materials for Controlled Release*, *ACS Symposium Series*, American Chemical Society, **1999**, 113-130.
12. M.E. Davis, M.E. Brewster, *Cyclodextrin-based Pharmaceuticals: Past, Present and Future*, *Nat. Rev. Drug Discovery*, **2004**, 3, 1023-1035.

13. E. Saxon, S.J. Luchansky, H.C. Hang, C. Yu, S.C. Lee, C.R. Bertozzi, *Investigating Cellular Metabolism of Synthetic Azidosugars with the Staudinger Ligation*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 14893-14902.
14. A. Fraix, A.R.L. Goncalves, V. Cardile, A.C.E. Graziano, T.A. Theodossiou, K. Yannakopoulou, S. Sortino, *A Multifunctional Bichromophoric Nanoaggregate for Fluorescence Imaging and Simultaneous Photogeneration of RNOS and ROS*, *Asian J. Chem.*, **2013**, doi: 10.1002/asia.201300463.
15. A. Mulder, J. Huskens, D.N. Reinhoudt, *Complexation of Charged Porphyrins by Charged and Metal-Chelated EDTA-Tethered  $\beta$ -Cyclodextrin Dimers: A Thermodynamic Study on the Influence of Tether Charge and Flexibility on Binding Affinity*, *Eur. J. Org. Chem.*, **2005**, 2005, 838-846.
16. C.J. Easton, S.F. Lincoln, *Modified Cyclodextrins- Scaffolds and Templates for Supramolecular Chemistry*, Imperial College Press, **1999**, 43-45.
17. B. Brady, N. Lynam, T. O'Sullivan, C. Ahern, R. Darcy, *6<sup>A</sup>-O-Toluenesulfonyl- $\beta$ -cyclodextrin*, *Org. Synth.*, **2000**, 77, 220.
18. F. Hapiot, S. Tilloy, E. Monflier, *Cyclodextrins as Supramolecular Hosts for Organometallic Complexes*, *Chem. Rev.*, **2006**, 106, 767-781.
19. M.V. Rekharsky, Y. Inoue, *Complexation Thermodynamics of Cyclodextrins*, *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 1875-1918.
20. a) R. Breslow, N. Greenspoon, T. Guo, R. Zarzycki, *Very Strong Binding of Appropriate Substrates by Cyclodextrin Dimers*, *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111, 8296-8297, b) F. Sallas, J. Kovács, I. Pintér, L. Jicsinszky, A. Marsura, *One Step Synthesis of New Urea-linked  $\beta$ -Cyclodextrin Dimers*, *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37, 4011-4014, c) S. Manuel, J.-P. Joly, B. Courcot, J. Elysée, N.-E. Ghermani, A. Marsura, *Synthesis and Inclusion Ability of a Bis- $\beta$ -cyclodextrin Pseudo-cryptand towards Busulfan Anticancer Agent*, *Tetrahedron*, **2007**, 63, 1706-1714.
21. a) V. Baudel, D. Landy, G. Surpateanu, *Inclusion Ability of a Monothiourea-tethered bis( $\beta$ -cyclodextrin)*, *Supramol. Chem.*, **2009**, 21, 442-449, b) C. Hocquelet, C. Jankowski, A. Pelletier, J.-C. Tabet, C. Lamouroux, P. Berthault, *Synthesis and Inclusion Properties Study of some Mono 6-amino  $\beta$ -Cyclodextrin Dimers Bridged by N,N-Succinyldiamide Linkers*, *Journal of Inclusion Phenomena*, **2011**, 69, 75-84.
22. S. Aime, E. Gianolio, F. Arena, A. Barge, K. Martina, G. Heropoulos, G. Cravotto, *New Cyclodextrin Dimers and Trimers Capable of Forming Supramolecular Adducts with Shape-specific Ligands*, *Org. Biomol. Chem.*, **2009**, 7, 370-379.

23. a) Y. Matsumura, H. Maeda, *A New Concept for Macromolecular Therapeutics in Cancer Chemotherapy: Mechanism of Tumoritropic Accumulation of Proteins and the Antitumor Agent Smancs*, *Cancer Res.*, **1986**, 46, 6387-6392, b) P.A. Vasey, S.B. Kaye, R. Morrison, C. Twelves, P. Wilson, R. Duncan, A.H. Thomson, L.S. Murray, T.E. Hilditch, T. Murray, S. Burtles, D. Fraier, E. Frigerio, J. Cassidy, *Phase I Clinical and Pharmacokinetic Study of PK1 [N-(2-Hydroxypropyl)methacrylamide Copolymer Doxorubicin]: First Member of a New Class of Chemotherapeutic Agents—Drug-Polymer Conjugates*, *Clin. Cancer Res.*, **1999**, 5, 83-94.
24. J.J. Michels, J. Huskens, D.N. Reinhoudt, *Noncovalent Binding of Sensitizers for Lanthanide(III) Luminescence in an EDTA-bis( $\beta$ -cyclodextrin) Ligand*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 2056-2064.
25. a) J.M. Benito, M. Gómez-García, C. Ortiz Mellet, I. Baussanne, J. Defaye, J.M. García Fernández, *Optimizing Saccharide-Directed Molecular Delivery to Biological Receptors: Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Glycodendrimer–Cyclodextrin Conjugates*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 10355-10363, b) M.T. Rojas, R. Koeniger, J.F. Stoddart, A.E. Kaifer, *Supported Monolayers Containing Preformed Binding Sites. Synthesis and Interfacial Binding Properties of a Thiolated  $\beta$ -Cyclodextrin Derivative*, *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, 336-343.
26. a) J. García Fernández, C. Ortiz Mellet, J. Jiménez Blanco, J. Fuentes Mota, A. Gabelle, A. Coste-Sarguet, J. Defaye, *Isothiocyanates and Cyclic Thiocarbamates of  $\alpha$ ,  $\alpha'$ -Trehalose, Sucrose, and Cyclomaltooligosaccharides*, *Carbohydr. Res.*, **1995**, 268, 57-71, b) S. Manuel, S. Porwanski, A. Marsura, *New Synthetic Approach to per-O-Acetyl-isocyanates, Isothiocyanates and Thioureas in the Disaccharide and Cyclodextrin Series*, *New J. Chem.*, **2006**, 30, 603-608.
27. a) J.M. Haider, R.M. Williams, L. De Cola, Z. Pikramenou, *Vectorial Control of Energy-Transfer Processes in Metallocyclodextrin Heterometallic Assemblies*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, 42, 1830-1833, b) J.M. Haider, M. Chavarot, S. Weidner, I. Sadler, R.M. Williams, L. De Cola, Z. Pikramenou, *Metallocyclodextrins as Building Blocks in Noncovalent Assemblies of Photoactive Units for the Study of Photoinduced Intercomponent Processes*, *Inorg. Chem.*, **2001**, 40, 3912-3921.

28. J.A. Faiz, N. Spencer, Z. Pikramenou, *Acetylenic Cyclodextrins for Multireceptor Architectures: Cups with Sticky ends for the Formation of Extension Wires and Junctions*, *Org. Biomol. Chem.*, **2005**, 3, 4239-4245.
29. J.M. Casas-Solvas, I. Quesada-Soriano, D. Carreño-Gázquez, J.J. Giménez-Martínez, L.s. García-Fuentes, A. Vargas-Berenguel,  *$\beta$ -Cyclodextrin Dimers Linked through Their Secondary Faces with Rigid Spacer Arms as Hosts for Bile Salts*, *Langmuir*, **2011**, 27, 9729-9737.
30. M. Mourer, F. Hapiot, E. Monflier, S. Manuel, *Click Chemistry as an Efficient tool to Access  $\beta$ -cyclodextrin Dimers*, *Tetrahedron*, **2008**, 64, 7159-7163.
31. R. Huisgen, R. Knorr, L. Möbius, G. Szeimies, *1,3-Dipolare Cycloadditionen, XXIII. Einige Beobachtungen zur Addition organischer Azide an CC-Dreifachbindungen*, *Ber.*, **1965**, 98, 4014-4021.
32. F. Himo, T. Lovell, R. Hilgraf, V.V. Rostovtsev, L. Noodleman, K.B. Sharpless, V.V. Fokin, *Copper(I)-Catalyzed Synthesis of Azoles. DFT Study Predicts Unprecedented Reactivity and Intermediates*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 127, 210-216.
33. B.C. Boren, S. Narayan, L.K. Rasmussen, L. Zhang, H. Zhao, Z. Lin, G. Jia, V.V. Fokin, *Ruthenium-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition: Scope and Mechanism*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, 130, 8923-8930.
34. R. Huisgen, *1,3-Dipolar Cycloadditions. Past and Future*, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1963**, 2, 565-598.
35. H.C. Kolb, M.G. Finn, K.B. Sharpless, *Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, 40, 2004-2021.
36. S. Srinivasachari, K.M. Fichter, T.M. Reineke, *Polycationic  $\beta$ -Cyclodextrin "Click Clusters": Monodisperse and Versatile Scaffolds for Nucleic Acid Delivery*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, 130, 4618-4627.
37. A. González-Campo, S.-H. Hsu, L. Puig, J. Huskens, D.N. Reinhoudt, A.H. Velders, *Orthogonal Covalent and Noncovalent Functionalization of Cyclodextrin-Alkyne Patterned Surfaces*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, 132, 11434-11436.
38. L.D. Melton, K.N. Slessor, *Synthesis of Monosubstituted Cyclohexaamyloses*, *Carbohydr. Res.*, **1971**, 18, 29-37.
39. M. Mourer, F. Hapiot, S. Tilloy, E. Monflier, S. Manuel, *Easily Accessible Mono- and Polytopic  $\beta$ -Cyclodextrin Hosts by Click Chemistry*, *Eur. J. Org. Chem.*, **2008**, 2008, 5723-5730.

40. M.C. Martos-Maldonado, I. Quesada-Soriano, J.M. Casas-Solvas, L. García-Fuentes, A. Vargas-Berenguel, *Secondary Face-to-Face 2–2'  $\beta$ -Cyclodextrin Dimers Linked with Fluorescent Rigid Spacer Arms: A Cyclodextrin-Based Ratiometric Sensor for Bile Salts*, *Eur. J. Org. Chem.*, **2012**, 2012, 2560-2571.
41. S. Menuel, N. Azaroual, D. Landy, N. Six, F. Hapiot, E. Monflier, *Unusual Inversion Phenomenon of  $\beta$ -Cyclodextrin Dimers in Water*, *Chem. Eur. J.*, **2011**, 17, 3949-3955.
42. A. Magnúsdóttir, M. Másson, T. Loftsson, *Self Association and Cyclodextrin Solubilization of NSAIDs*, *Journal of Inclusion Phenomena*, **2002**, 44, 213-218.
43. a) A. Diaz-Moscoso, P. Balbuena, M. Gomez-Garcia, C. Ortiz Mellet, J.M. Benito, L. Le Gourrierec, C. Di Giorgio, P. Vierling, A. Mazzaglia, N. Micali, J. Defaye, J.M. Garcia Fernandez, *Rational Design of Cationic Cyclooligosaccharides as Efficient Gene Delivery Systems*, *Chem. Commun.*, **2008**, 2001-2003, b) N.C. Bellocq, S.H. Pun, G.S. Jensen, M.E. Davis, *Transferrin-Containing, Cyclodextrin Polymer-Based Particles for Tumor-Targeted Gene Delivery*, *Bioconjugate Chem.*, **2003**, 14, 1122-1132, c) N. Mourtzis, K. Eliadou, C. Aggelidou, V. Sophianopoulou, I.M. Mavridis, K. Yannakopoulou, *Per(6-guanidino-6-deoxy)cyclodextrins: Synthesis, Characterisation and Binding Behaviour toward Selected Small Molecules and DNA*, *Org. Biomol. Chem.*, **2007**, 5, 125-131.
44. N. Mourtzis, M. Paravatou, I.M. Mavridis, M.L. Roberts, K. Yannakopoulou, *Synthesis, Characterization, and Remarkable Biological Properties of Cyclodextrins Bearing Guanidinoalkylamino and Aminoalkylamino Groups on Their Primary Side*, *Chem. Eur. J.*, **2008**, 14, 4188-4200.
45. a) D.A. Henderson, T.V. Inglesby, T. O'Toole, J.G. Bartlett, L. Borio, *Management of Anthrax*, *Clin. Infect. Dis.*, **2002**, 35, 851-858, b) J.J. Bull, C.R. Parrish, *A Binding Contract for Anthrax*, *Science*, **2002**, 297, 201-202.
46. a) G.J.A. Rainey, J.A.T. Young, *Antitoxins: Novel Strategies to Target Agents of Bioterrorism*, *Nat. Rev. Microbiol.*, **2004**, 2, 721-726, b) A.M. Friedlander, *Microbiology: Tackling Anthrax*, *Nature*, **2001**, 414, 160-161, c) V.A. Karginov, T.M. Robinson, J. Riemenschneider, B. Golding, M. Kennedy, J. Shiloach, K. Alibek, *Treatment of Anthrax Infection with Combination of Ciprofloxacin and Antibodies to Protective Antigen of Bacillus anthracis*, *FEMS Immun. Med. Microbiol.*, **2004**, 40, 71-74.



47. V.A. Karginov, A. Yohannes, T.M. Robinson, N.E. Fahmi, K. Alibek, S.M. Hecht,  *$\beta$ -Cyclodextrin Derivatives that Inhibit Anthrax Lethal Toxin*, *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14, 33-40.
48. V.A. Karginov, E.M. Nestorovich, M. Moayeri, S.H. Leppla, S.M. Bezrukov, *Blocking Anthrax Lethal Toxin at the Protective Antigen Channel by using Structure-inspired Drug Design*, *PNAS*, **2005**, 102, 15075-15080.
49. D. Lane, *Designer Combination Therapy for Cancer*, *Nat. Biotech.*, **2006**, 24, 163-164.
50. J. Králová, Z.k. Kejík, T.s. Bříza, P. Poučková, A. Král, P. Martásek, V.r. Král, *Porphyrin–Cyclodextrin Conjugates as a Nanosystem for Versatile Drug Delivery and Multimodal Cancer Therapy*, *J. Med. Chem.*, **2010**, 53, 128-138.
51. M. Köhn, R. Breinbauer, *The Staudinger Ligation—A Gift to Chemical Biology*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, 43, 3106-3116.
52. E. Saxon, C.R. Bertozzi, *Cell Surface Engineering by a Modified Staudinger Reaction*, *Science*, **2000**, 287, 2007-2010.
53. F.L. Lin, H.M. Hoyt, H. van Halbeek, R.G. Bergman, C.R. Bertozzi, *Mechanistic Investigation of the Staudinger Ligation*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 2686-2695.
54. H. Staudinger, E. Hauser, *Über neue organische Phosphorverbindungen IV Phosphinimine*, *Helv. Chim. Acta*, **1921**, 4, 861-886.
55. E. Saxon, J.I. Armstrong, C.R. Bertozzi, *A “Traceless” Staudinger Ligation for the Chemoselective Synthesis of Amide Bonds*, *Org. Lett.*, **2000**, 2, 2141-2143.
56. a) B.L. Nilsson, L.L. Kiessling, R.T. Raines, *Staudinger Ligation: A Peptide from a Thioester and Azide*, *Org. Lett.*, **2000**, 2, 1939-1941, b) B.L. Nilsson, L.L. Kiessling, R.T. Raines, *High-Yielding Staudinger Ligation of a Phosphinothioester and Azide To Form a Peptide*, *Org. Lett.*, **2000**, 3, 9-12, c) M.B. Soellner, B.L. Nilsson, R.T. Raines, *Staudinger Ligation of  $\alpha$ -Azido Acids Retains Stereochemistry*, *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 4993-4996.
57. K.L. Kiick, E. Saxon, D.A. Tirrell, C.R. Bertozzi, *Incorporation of Azides into Recombinant Proteins for Chemoselective Modification by the Staudinger Ligation*, *PNAS*, **2002**, 99, 19-24.
58. G.A. Lemieux, C.L. de Graffenried, C.R. Bertozzi, *A Fluorogenic Dye Activated by the Staudinger Ligation*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 4708-4709.
59. S.J. Luchansky, H.C. Hang, E. Saxon, J.R. Grunwell, C. Yu, D.H. Dube, C.R. Bertozzi, *Constructing Azide-Labeled Cell Surfaces Using Polysaccharide*

- Biosynthetic Pathways, *METHODS IN ENZYMOLOGY*, Academic Press, **2003**, 249-272.
60. T. Wieland, E. Bokelmann, L. Bauer, H.U. Lang, H. Lau, *Über Peptidsynthesen. 8. Mitteilung Bildung von S-haltigen Peptiden durch Intramolekulare Wanderung von Aminoacylresten*, *J. Lieb. Ann. Chem.*, **1953**, 583, 129-149.
61. B.L. Nilsson, R.J. Hondal, M.B. Soellner, R.T. Raines, *Protein Assembly by Orthogonal Chemical Ligation Methods*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 5268-5269.
62. M.B. Soellner, K.A. Dickson, B.L. Nilsson, R.T. Raines, *Site-Specific Protein Immobilization by Staudinger Ligation*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 11790-11791.
63. J.-S. Kim, R.T. Raines, *Ribonuclease S-peptide as a Carrier in Fusion Proteins*, *Protein Sci.*, **1993**, 2, 348-356.
64. V.H.O. Wirth, F.U. Herrmann, W. Kern, *Synthese und Eigenschaften von p-Oligophenylenen mit p-Xylol und mit Durol als Grundbausteinen 16. Mitteilung*, *Makromol. Chem.*, **1964**, 80, 120-140.
65. Q. Zhou, T.M. Swager, *Fluorescent Chemosensors Based on Energy Migration in Conjugated Polymers: The Molecular Wire Approach to Increased Sensitivity*, *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, 12593-12602.
66. V. Benin, S. Durganala, A.B. Morgan, *Synthesis and Flame Retardant Testing of New Boronated and Phosphonated Aromatic Compounds*, *J. Mater. Chem.*, **2012**, 22, 1180-1190.
67. P.R. Ashton, R. Königer, J.F. Stoddart, D. Alker, V.D. Harding, *Amino Acid Derivatives of  $\beta$ -Cyclodextrin*, *J. Org. Chem.*, **1996**, 61, 903-908.
68. a) M.D. Manouilidou, K. Yannakopoulou, *Staudinger Ligation as a Tool for the Preparation of Cyclodextrin Dimers*, *ESOC, 17th European Symposium on Organic Chemistry, 10-15 Ιουλίου*, **2011**, Κρήτη, Ελλάδα, poster presentation, b) M.D. Manouilidou, Y.G. Lazarou, I.M. Mavridis, K. Yannakopoulou, *Staudinger Ligation for Preparation of Cyclodextrin Dimers in Aqueous/Organic Media. Advantages and Limitations.*, **2013**, in preparation.
69. M. Pretze, F. Wuest, T. Peppel, M. Köckerling, C. Mamat, *The Traceless Staudinger Ligation with Fluorine-18: a Novel and Versatile Labeling Technique for the Synthesis of PET-radiotracers*, *Tetrahedron Lett.*, **2010**, 51, 6410-6414.

70. M.D. Manouilidou, Y.G. Lazarou, I.M. Mavridis, K. Yannakopoulou, *Locked and Unlocked Conformations in Cyclodextrin Dimers*, *Euromar, 30 Ιουνίου-5 Ιουλίου, 2013*, Hersonissos, Crete, Greece, Poster presentation.
71. A. Botsi, K. Yannakopoulou, E. Hadjoudis, *Inclusion Complexes of Cyclomaltoheptaose ( $\beta$ -Cyclodextrin) and its Methylated Derivatives with the Main Components of the Pheromone of the Olive Fruit Fly*, *Carbohydr. Res.*, **1993**, 241, 37-46.
72. K.S. Cameron, L. Fielding, *NMR Diffusion Spectroscopy as a Measure of Host–Guest Complex Association Constants and as a Probe of Complex Size*, *J. Org. Chem.*, **2001**, 66, 6891-6895.
73. A. Coleman, I. Nicolis, N. Keller, J. Dalbiez, *Aggregation of Cyclodextrins: An Explanation of the Abnormal Solubility of  $\beta$ -Cyclodextrin*, *J. Inclusion Phenom. Mol. Recognit. Chem.*, **1992**, 13, 139-143.
74. a) A. Guerrero-Martínez, G. González-Gaitano, M.H. Viñas, G. Tardajos, *Inclusion Complexes between  $\beta$ -Cyclodextrin and a Gemini Surfactant in Aqueous Solution: An NMR Study*, *J. Phys. Chem. B*, **2006**, 110, 13819-13828,  
b) I. Balomenou, A. Kaloudi-Chantzea, N. Karakostas, K. Yannakopoulou, I.M. Mavridis, G. Pistolis, *Controlling the Stereospecificity of a Volume-Conserving Adiabatic Photoisomerization within a Nanotubular Self-Assembled Cage: A Reversible Light–Heat Torque Converter*, *J. Phys. Chem. B*, **2011**, 115, 10665-10681.
75. G. Gamboa da Costa, L.P. McDaniel-Hamilton, R.H. Heflich, M.M. Marques, F.A. Beland, *DNA Adduct Formation and Mutant Induction in Sprague–Dawley Rats Treated with Tamoxifen and its Derivatives*, *Carcinog.*, **2001**, 22, 1307-1315.
76. C. Aggelidou, T.A. Theodossiou, K. Yannakopoulou, *Protoporphyrin IX– $\beta$ -Cyclodextrin Bimodal Conjugate: Nanosized Drug Transporter and Potent Phototoxin*, *Photochem. Photobiol.*, **2013**, accepted.
77. K.J. Wallacea, R. Hanesa, E. Anslyn, J. Moreyb, K.V. Kilwayc, J. Siegelda, *Preparation of 1,3,5-Tris(aminomethyl)-2,4,6-triethylbenzene from Two Versatile 1,3,5-Tri(halosubstituted) 2,4,6-Triethylbenzene Derivatives*, *Synthesis*, **2005**, 12, 2080-2083.
78. A. Rontoyianni, I.M. Mavridis, E. Hadjoudis, A.J.M. Duisenberg, *The Crystal Structure of the Inclusion Complex of Cyclomaltoheptaose ( $\beta$ -Cyclodextrin) with 4-tert-Butylbenzoic Acid*, *Carbohydr. Res.*, **1994**, 252, 19-32.
79. <http://www.rxlist.com/nolvadex-drug.htm>.

80. <http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/lookup.cfm?setid=2720c2127-ec2786-2742ea-2797e2727-2788dd2726a2195cdb>.
81. [http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty\\_EN\\_CB4398710.htm](http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB4398710.htm).
82. S.A. Nepogodiev, S. Dedola, L. Marmuse, M.T. de Oliveira, R.A. Field, *Synthesis of Triazole-linked Pseudo-starch Fragments*, *Carbohydr. Res.*, **2007**, 342, 529-540.
83. X. Yang, Q. Wang, H. Xu, *Synthesis of Novel Cycloheptaose ( $\beta$ -Cyclodextrin) Derivatives containing the Ebselen Key Moiety of Benzisoselenazolone*, *Carbohydr. Res.*, **2002**, 337, 1309-1312.
84. M. Karplus, *Contact Electron-Spin Coupling of Nuclear Magnetic Moments*, *J. Chem. Phys.*, **1959**, 30, 11-15.
85. R. Zangi, *Can Salting-In/Salting-Out Ions be Classified as Chaotropes/Kosmotropes?*, *J. Phys. Chem. B*, **2009**, 114, 643-650.
86. a) L. Packer, *Methods in Enzymology: Nitric Oxide, Part A. Sources and Detection of NO; NO Synthase*, Academic Press, **1996**, , b) H. Sies, *Methods in Enzymology: Nitric Oxide, Part B. Physiological and Pathological Processes*, Academic Press, **1996**,
87. S. Singh, A.K. Gupta, *Nitric Oxide: Role in Tumour Biology and iNOS/NO-based Anticancer Therapies*, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **2011**, 67, 1211-1224.
88. P.G. Wang, M. Xian, X. Tang, X. Wu, Z. Wen, T. Cai, A.J. Janczuk, *Nitric Oxide Donors: Chemical Activities and Biological Applications*, *Chem. Rev.* , **2002**, 102, 1091-1134.
89. L. Field, R.V. Dilts, R. Ravichandran, P.G. Lenhert, G.E. Carnahan, *An Unusually Stable Thionitrite from N-acetyl-D,L-penicillamine; X-ray Crystal and Molecular Structure of 2-(Acetylamino)-2-carboxy-1,1-dimethylethyl thionitrite*, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1978**, 249-250.
90. T.W. Hart, *Some Observations Concerning the S-nitroso and S-phenylsulphonyl Derivatives of L-cysteine and Glutathione*, *Tetrahedron Letters*, **1985**, 26, 2013-2016.
91. S. Sortino, *Light-controlled Nitric Oxide Delivering Molecular Assemblies*, *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, 39, 2903-2913.
92. J. Bauer, H.-L. Fung, *Chemical Stabilization of a Vasoactive S-Nitrosothiol with Cyclodextrins Without Loss of Pharmacologic Activity*, *Pharm Res*, **1991**, 8, 1329-1334.

93. L. Piras, T.A. Theodossiou, M.D. Manouilidou, Y.G. Lazarou, S. Sortino, K. Yannakopoulou, *S-Nitroso- $\beta$ -Cyclodextrin Derivatives: Synthesis, Characterization, Nitric Oxide Release and Biological Properties*, *Asian J. Chem.*, **2013**, DOI: 10.1002/asia.201300543.
94. B. Jing, X. Chen, X. Wang, Y. Zhao, H. Qiu, *Sol-Gel-Sol Transition of Gold Nanoparticle-Based Supramolecular Hydrogels Induced by Cyclodextrin Inclusion*, *ChemPhysChem*, **2008**, 9, 249-252.
95. P.I. Ceron, D.C. Cremonoz, L.M. Bendhack, A.C. Tedesco, *The Relaxation Induced by S-nitroso-glutathione and S-nitroso-N-acetylcysteine in Rat Aorta is not Related to Nitric Oxide Production*, *J Pharmacol Exp Ther.* , **2001**, 298, 686-694.
96. B. Roy, A. du Moulinet d'Hardemare, M. Fontecave, *New Thionitrites: Synthesis, Stability, and Nitric Oxide Generation*, *J. Org. Chem.*, **1994**, 59, 7019-7026.
97. N. Kandoth, E. Vittorino, S. Sortino, *Gold Nanoparticles Decorated with a Photoactivable Nitric Oxide Donor/Cyclodextrin Host/Guest Complex*, *New J. Chem.*, **2011**, 35, 52-56.
98. a) F. Alimirah, J. Chen, Z. Basrawala, H. Xin, D. Choubey, *DU-145 and PC-3 Human Prostate Cancer Cell Lines Express Androgen Receptor: Implications for the Androgen Receptor Functions and Regulation*, *FEBS Lett.*, **2006**, 580, 2294-2300, b) K.R. Stone, D.D. Mickey, H. Wunderli, G.H. Mickey, D.F. Paulson, *Isolation of a Human Prostate Carcinoma Cell Line (DU 145)*, *Int. J. Cancer*, **1978**, 21, 274-281.
99. a) H.D. Soule, J. Vazquez, A. Long, S. Albert, M. Brennan, *A Human Cell Line From a Pleural Effusion Derived From a Breast Carcinoma*, *J. Natl. Cancer I.*, **1973**, 51, 1409-1416, b) A.S. Levenson, V.C. Jordan, *MCF-7: The First Hormone-responsive Breast Cancer Cell Line*, *Cancer Res.*, **1997**, 57, 3071-3078.
100. R. Mazitschek, V. Patel, D.F. Wirth, J. Clardy, *Development of a Fluorescence Polarization Based Assay for Histone Deacetylase Ligand Discovery*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, 18, 2809-2812.
101. a) M.C. Alley, D.A. Scudiero, A. Monks, M.L. Hursey, M.J. Czerwinski, D.L. Fine, B.J. Abbott, J.G. Mayo, R.H. Shoemaker, M.R. Boyd, *Feasibility of Drug Screening with Panels of Human Tumor Cell Lines Using a Microculture Tetrazolium Assay*, *Cancer Res.*, **1988**, 48, 589-601, b) T. Mosmann, *Rapid*

*Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays*, *J. Immunol. Methods*, **1983**, 65, 55-63.