

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ**

**ΔΙΔΡΥΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ  
«ΟΡΓΑΝΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΣΤΗ ΧΗΜΙΚΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ»**

**ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ**

**Σύνθεση παραγώγων εστέρων ακριδινίου που  
στοχεύουν σε βιολογικές εφαρμογές**

**ΓΡΗΓΟΡΗ ΑΝΔΡΕΑΣ**

**ΧΗΜΙΚΟΣ**

**ΑΘΗΝΑ  
ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ 2020**



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ**

**ΔΙΔΡΥΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ  
«ΟΡΓΑΝΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΣΤΗ ΧΗΜΙΚΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ»**

**ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ**

**Σύνθεση παραγώγων εστέρων ακριδινίου που  
στοχεύουν σε βιολογικές εφαρμογές**

**ΓΡΗΓΟΡΗ ΑΝΔΡΕΑΣ**

**ΧΗΜΙΚΟΣ**

**ΑΘΗΝΑ  
ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ 2020**



**ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ**

**Σύνθεση παραγώγων εστέρων ακριδινίου που στοχεύουν σε βιολογικές  
εφαρμογές**

**Γρηγόρη Ανδρέας**

**ΑΜ.: 171503**

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:**

**Γεώργιος Χ. Βουγιουκαλάκης, Αναπληρωτής Καθηγητής ΕΚΠΑ**

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**Γεώργιος Χ. Βουγιουκαλάκης, Αναπληρωτής Καθηγητής ΕΚΠΑ**

**Θωμάς Μαυρομούστακος, Καθηγητής ΕΚΠΑ**

**Δημήτριος Γεωργιάδης, Καθηγητής ΕΚΠΑ**



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα ερευνητική εργασία, περιγράφονται ο σχεδιασμός και η σύνθεση χημειοφωταυγών, φωτοενεργών, μιτοτροπικών οργανικών ενώσεων με βάση τους εστέρες ακριδίνης. Συντέθηκαν και μελετήθηκαν N-μεθυλιωμένα και N-αλκυλιωμένα παράγωγα εστέρων ακριδίνης με διαφορετικά δομικά χαρακτηριστικά. Η σύνθεση τους στηρίχθηκε στην αντίδραση εστεροποίησης του οξέος της ακριδίνης με κατάλληλες φαινόλες και στην αντίδραση N-μεθυλίωσης ή N-αλκυλίωσης αντίστοιχα. Στη συνέχεια, αναπτύχθηκε κατάλληλη μεθοδολογία για την παρασκευή εστέρων ακριδίνης που φέρουν μιτοτροπικά φωσφονιακά κατίοντα. Χαρακτηριστικό γνώρισμα των εστέρων αυτών αποτελεί η χημειοφωταύγεια που εμφανίζουν, κάτω από κατάλληλες συνθήκες οξειδωσης, για αυτό και έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως σε αναλυτικές και βιοχημικές εφαρμογές. Στόχος όλων των τελικών παραγώγων αποτελεί η διερεύνηση της χημειοφωταύγειας και της πιθανής φωτοχημικής τους δράσης, στον αναπτυσσόμενο κλάδο της φωτοδυναμικής και στοχευμένης θεραπείας κατά των καρκινικών όγκων, μεταξύ των οποίων και αυτών του εγκεφάλου. Τα ενδιάμεσα και τελικά προϊόντα ταυτοποιήθηκαν με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$  και  $^{31}\text{P}$  NMR) και φασματομετρία μάζας (ESI-MS). Τα παράγωγα αυτά αναμένεται να είναι χημειοφωταυγείς ενώσεις, και η ιδιότητά τους αυτή, σε συνδυασμό με τα υπόλοιπα δομικά χαρακτηριστικά τους, αναμένεται να τους επιτρέπει να είναι χρήσιμα σε βιολογικές εφαρμογές.

**ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ:** Οργανική Σύνθεση

**ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ:** εστέρες ακριδινίου, διοξετάνιο, φωσφονιακά κατίοντα, χημειοφωταύγεια.





## ABSTRACT

In the present research work, the design and synthesis of chemiluminescent, photoactive, mitotropic organic compounds based on acridine esters are described. N-methylated and N-alkylated acridine ester derivatives with different structural characteristics were synthesized and studied. Synthetic routes are based on the esterification reaction of acridine acid with suitable phenols, as well as on the N-methylation or N-alkylation reaction, respectively. An appropriate methodology was then developed for the preparation of acridine esters bearing mitotropic phosphonate cations. Characteristic of these esters is the chemiluminescence they show under suitable oxidation conditions, and, as such, have been widely used in analytical and biochemical applications. The aim of all final derivatives is the investigation of chemiluminescence and their possible photochemical action, in the developing field of photodynamic and targeted therapy, against cancerous tumors, including those of the brain. All intermediate and final products were characterized using NMR ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$  και  $^{31}\text{P}$  NMR) and MS spectroscopy (ESI-MS). These derivatives are expected to be chemiluminescent compounds. This property, in combination with their other structural characteristics, is expected to lead to their utilization in biological applications.

**SUBJECT AREA:** Organic Synthesis

**KEYWORDS:** acridinium esters, dioxetane, phosphonium cations, chemiluminescence.



Στην οικογένεια μου



## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Αναπληρωτή Καθηγητή Γεώργιο Χ. Βουγιουκαλάκη για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, για τη συνεχή βοήθεια και καθοδήγησή του καθ' όλη τη διάρκεια της παρουσίας μου στο εργαστήριο, και κυρίως για την άψογη συνεργασία που είχαμε. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τα υπόλοιπα δύο μέλη της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής, τον Καθηγητή Θωμά Μαυρομούστακο και τον Καθηγητή Δημήτριο Γεωργιάδη για τις υποδείξεις και παρατηρήσεις τους, με σκοπό την ολοκλήρωση και βελτιστοποίηση της παρούσας εργασίας.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα μέλη της Ερευνητικής Ομάδας του Αναπλ. Καθ. Γ. Βουγιουκαλάκη. Ειδικά, ένα μεγάλο ευχαριστώ αξίζει στον μεταδιδάκτορα ερευνητή Δρ. Γιώργο Ρώτα, τη μεταδιδάκτορα Άννα Παντέλια, τον υποψήφιο διδάκτορα Θοδωρή Μικρούλη και τις ερευνήτριες Δανάη Ζησιμοπούλου και Έλενα Κοτρώνη, για τη βοήθεια και την στήριξή τους εντός και εκτός εργαστηρίου. Τέλος, ένα τεράστιο ευχαριστώ στους φίλους μου και στην οικογένεια μου, για τη βοήθεια, την υπομονή, τη συμπαράσταση και τη στήριξή τους, όχι μόνο αυτά τα δύο χρόνια, αλλά και γενικότερα.

Η παρούσα εργασία έλαβε χρηματοδότηση από το πρόγραμμα έρευνας και καινοτομίας Horizon 2020 της Ευρωπαϊκής Ένωσης με αριθμό συμβολαίου 712921.

**This project has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement No 712921.**





## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ .....	xi
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ .....	xv
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ .....	xviii
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ .....	xx
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 .....	2
ΠΟΛΥΜΟΡΦΟ ΓΛΟΙΟΒΛΑΣΤΩΜΑ .....	2
1.1 Εισαγωγή .....	2
1.2 Σύγχρονες θεραπευτικές προσεγγίσεις .....	3
1.2.1 Χειρουργική επέμβαση.....	3
1.2.2 Ακτινοθεραπεία .....	3
1.2.3 Χημειοθεραπεία .....	3
1.2.4 Φωτοδυναμική θεραπεία (PhotoDynamic Therapy, PDT).....	4
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 .....	5
ΦΩΤΟΔΥΝΑΜΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ .....	5
2.1 Γενικά 5	
2.2 Μηχανισμοί δράσης της φωτοδυναμικής θεραπείας .....	5
2.3 Η πρωτοπορφυρίνη ΙΧ ως φωτοευαίσθητοποιητής.....	7
2.4 PDT και μιτοχόνδρια .....	10
2.4.1 Γενικές πληροφορίες για το Μιτοχόνδριο .....	11
2.4.2 Τριφαινυλοφωσφωνιακά κατιόντα (TPP) .....	12
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 .....	14
ΕΣΤΕΡΕΣ ΑΚΡΙΔΙΝΙΟΥ: ΣΥΝΘΕΣΗ, ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ .....	14
3.1 Χημειοφωταύγεια .....	14
3.2 Σύνθεση εστέρων ακριδινίου .....	16
3.3 Εστέρες Ακριδινίου και Χημειοφωταύγεια.....	17
3.3.1 Γενικά .....	17
3.3.2 Μηχανισμός Χημειοφωταύγειας Εστέρων Ακριδινίου.....	18
3.3.3 Παράγοντες που επηρεάζουν τη χημειοφωταύγεια των ΑΕ.....	24

3.4 Σχεδιασμός και σύνθεση εστέρων ακριδινίου για βιολογικές εφαρμογές.....	28
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 .....	37
ΧΗΜΕΙΑ ΤΩΝ 1,2-ΔΙΟΞΕΤΑΝΙΩΝ .....	37
4.1 Γενικά	37
4.2 Σύνθεση των 4-μελών κυκλικών υπεροξειδίων .....	38
4.2.1 1,2-Διοξετάνια.....	38
4.2.2 α-υπεροξυλακτόνες.....	40
4.2.3 1,2-διοξετανοδιόνη.....	41
4.3 Θερμική αποσύνθεση των διοξετανίων .....	41
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 .....	44
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	44
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 .....	47
ΕΣΤΕΡΕΣ ΑΚΡΙΔΙΝΗΣ: ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ Ν-ΜΕΘΥΛΙΩΣΗ.....	47
6.1 Σύνθεση εστέρων ακριδίνης.....	47
6.2 Ν-μεθυλίωση εστέρων ακριδίνης.....	48
6.3 Φάσματοσκοπικός χαρακτηρισμός ΑΕ και σχηματισμός ψευδοβάσης.....	53
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 .....	59
Ν-ΑΛΚΥΛΙΩΜΕΝΟΙ ΕΣΤΕΡΕΣ ΑΚΡΙΔΙΝΙΟΥ .....	59
7.1 Ν-αλκυλίωση με αλκυλοιωδίδια .....	59
7.2 Ν-αλκυλίωση με τριφθορομεθανοσουλφονικούς εστέρες .....	65
7.3 Προσπάθεια σύνθεσης Ν-αλκυλο-φωσφονιακών ΑΕ αλάτων .....	67
7.3.1 Μέσω τριφλικών αλκυλοφωσφονιακών αλάτων .....	67
7.3.2 Μέσω τριφλικών αλκυλοβρωμιδίων .....	70
7.3.3 Μέσω διτριφλικών εστέρων αλκυλοδιολών .....	75
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8 .....	79
ΣΥΝΘΕΣΗ ΠΑΡΑΓΩΓΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΣΤΟ ΦΑΙΝΟΛΙΚΟ ΔΑΚΤΥΛΙΟ ΕΣΤΕΡΩΝ ΑΚΡΙΔΙΝΙΟΥ.....	79



8.1 Παραγωγοποίηση μέσω εστεροποίησης .....	79
8.2 Παραγωγοποίηση μέσω σχηματισμού αμιδίου .....	82
8.2.1 Μέσω γέφυρας ακυλιωμένης πιπεραζίνης .....	82
8.2.2 Μέσω γέφυρας ακυλιωμένης πιπεραζίνης .....	86
8.3 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	97
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9 .....	99
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΠΟΡΕΙΕΣ ΚΑΙ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ .....	99
9.1 Γενικό Πειραματικό Μέρος.....	99
9.1.1 Αντιδραστήρια και Διαλύτες.....	99
9.1.2 Όργανα και Διατάξεις .....	99
9.2 Πειραματικές πορείες και Χαρακτηρισμός Προϊόντων .....	100
9.2.1 Γενική μέθοδος σύνθεσης των Εστέρων Ακριδίνης .....	100
9.2.2 Σύνθεση του τριφθορομεθανοσουλφονικού 9-((2-βρωμοφαινοξυ) καρβονυλο)-10-μεθυλακριδιν-10-ίου 44.....	105
9.2.3 Σύνθεση του τριφθορομεθανοσουλφονικού 9-((2,6-διβρωμο-4-(μεθοξυκαρβονυλ)φαινοξυ)καρβονυλο)-10-μεθυλακριδιν-10-ίου 45 .....	106
9.2.4 Σύνθεση του 9-μεθοξυ-10-μεθυλο-9,10-διϋδροακριδιν-9-καρβοξυλικού 2,6-διβρωμο-4-(μεθοξυκαρβονυλο)φαινολεστέρα 46 .....	107
9.2.5 Σύνθεση του ιωδιούχου 9-((2-βρωμοφαινοξυ)καρβονυλο)-10-εξυλακριδιν-10-ίου 47 .....	108
9.2.6 Σύνθεση του ιωδιούχου 9-((2-βρωμοφαινοξυ)καρβονυλο)-10-(6-ιωδοεξυλο)ακριδιν-10-ίου 48 .....	109
9.2.7 Αντίδραση του εστέρα ακριδινίου 40 με (6-ιωδοεξυλο) τριφαινοξυσουλφονικό ιωδίδιο: Απομόνωση του εξ-5-εν-1-υλοτριφαινοξυσουλφονικού ιωδιδίου 51 .....	110
9.2.8 Σύνθεση του τριφθορομεθανοσουλφονικού εξυλεστέρα 54 <sup>110</sup> .....	111
9.2.9 Γενική μέθοδος σύνθεσης N-ακυλιωμένων εστέρων ακριδινίου .....	112
9.2.10 Γενική μέθοδος σύνθεσης των υδροξυακυλοφωσφονιακών βρωμιδίων 60 .....	115
9.2.11 Σύνθεση του τριφθορομεθανοσουλφονικού 6-βρωμοεξυλεστέρα 63α 117 .....	
9.2.12 Σύνθεση του δις(τριφθορομεθανοσουλφονικού) εστέρα της 1,3-προπανοδιόλης 70α.....	118
9.2.13 Σύνθεση του δις(τριφθορομεθανοσουλφονικού) εστέρα της 2,2'-(αιθανιο-1,2-δισυλοδισ(οξυ))δισ(αιθαν-1-όλης) 70β <sup>114</sup> .....	119
9.2.14 Αντίδραση εστεροποίησης του 3,5-διβρωμο-4-υδροξυβενζοϊκού οξέος με 3-βρωμο-1-προπανόλη. ....	120
9.2.15 Σύνθεση του 4-(3,5-διβρωμο-4-υδροξυβενζόυλο)πιπεραζίνη-1-καρβοξυλικού tert-βουτυλεστέρα 81 .....	122
9.2.16 Σύνθεση του 4-(3,5-δι-tert-βουτυλο-4-υδροξυβενζόυλο)πιπεραζίνη-1-καρβοξυλικού tert-βουτυλεστέρα 89 .....	123
9.2.17 Σύνθεση του τριφθοροοξικού 4-(3,5-διβρωμο-4-υδροξυβενζόυλο)πιπεραζιν-1-ίου 90.....	124

9.2.18	Σύνθεση του ακριδίνη-9-καρβοξυλικού 2,6-διβρωμο-4-(4-(tert-βουτοξυκαρβονυλο)πιπεραζίνη-1-καρβονυλο)φαινυλεστέρα 91.....	125
9.2.19	Σύνθεση του τριφθορομεθανοσουλφονικού 9-((2,6-διβρωμο-4-(4-(tert-βουτοξυκαρβονυλο)πιπεραζίνη-1-καρβονυλο)φαινοξυ)καρβονυλο)-10-μεθυλακριδιν-10-ίου 92.....	126
9.2.20	Σύνθεση του 2,2,2-τριφθοροοξικού τριφθορομεθανοσουλφονικού 9-((2,6-διβρωμο-4-(πιπεραζιν-1-ιο-1-καρβονυλο)φαινοξυ)καρβονυλο)-10-μεθυλακριδιν-10-ίου 93.....	127
9.2.21	Σύνθεση του βρωμιδίου του (9-καρβοξυπεντυλο)τριφαινυλοφωσφονίου 94.....	128
9.2.22	Σύνθεση του 2,2,2-τριφθοροοξικού (6-(4-(3,5-διβρωμο-4-υδροξυβενζοϋλο)πιπεραζιν-1-υλο)-6-οξοεξυλο)τριφαινυλοφωσφονίου 95.....	129
9.2.23	Σύνθεση του 2,2,2-τριφθοροοξικού(6-(4-(4-((ακριδίνη-9-καρβονυλο)οξυ)-3,5-διβρωμοβενζοϋλο)πιπεραζιν-1-υλο)-6-οξοεξυλο)τριφαινυλοφωσφονίου 96.....	131
9.2.24	Σύνθεση του 2,2,2-τριφθοροοξικού4-(4-((ακριδίνη-9-καρβονυλο)οξυ)-3,5-διβρωμοβενζοϋλο)πιπεραζιν-1-ίου 97.....	133
9.2.25	Σύνθεση του τριφθορομεθανοσουλφονικού 9-((2,6-διβρωμο-4-(4-(6-(τριφαινυλοφωσφονιο)εξανοϋλο)πιπεραζίνη-1-καρβονυλο)φαινοξυ)καρβονυλο)-10-μεθυλακριδιν-10-ίου 98.....	134
	<b>ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ- ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ- ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ.....</b>	<b>136</b>
	<b>ΑΝΑΦΟΡΕΣ.....</b>	<b>138</b>

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

<b>Εικόνα 1.</b> Μηχανισμός δράσης της Φωτοδυναμικής Θεραπείας <sup>25</sup> .....	6
<b>Εικόνα 2.</b> Η δομή της πρωτοπορφυρίνης IX (PPIX).....	9
<b>Εικόνα 3.</b> Πρόσληψη TPP παραγωγισμένου φαρμάκου ή ανιχνευτή X στο κυτταρόπλασμα και έπειτα στα μιτοχόνδρια, οδηγούμενο από το δυναμικό μεμβράνης <sup>56</sup> .....	13
<b>Εικόνα 4.</b> Το ενεργειακό διάγραμμα Jablonski. <sup>60</sup> .....	15
<b>Εικόνα 5.</b> Γενικός συντακτικός τύπος των ΑΕ παραγώγων <b>5a-5o</b> . .....	20
<b>Εικόνα 6.</b> Υποκατεστημένα παράγωγα ΑΕ με ισχυρή χημειοφωταύγεια σε ουδέτερα περιβάλλοντα. Σε παρένθεση η αύξηση έντασης της χημειοφωταύγειας σε σχέση με αυτή του μη υποκατεστημένου παραγώγου σε pH=7. ....	28
<b>Εικόνα 7.</b> Χημειοφωταυγειογόνος ανιχνευτής τύπου φουρκέτας, HICS, με συμπληρωματική αλληλουχία στόχου. ....	31
<b>Εικόνα 8.</b> Δομές ακριδινικών εστέρων προς χρήση σε βιολογικές εφαρμογές. ....	33
<b>Εικόνα 9.</b> Δομές ακριδινικών εστέρων που χρησιμοποιούνται για σήμανση σε αυτοματοποιημένα ανοσοχημικά συστήματα. ....	34
<b>Εικόνα 10.</b> Γενική δομή των μιτοτροπικών παραγώγων εστέρων ακριδινίου (ενώσεις στόχοι).....	46
<b>Εικόνα 11.</b> <sup>1</sup> H-NMR (200MHz, CDCl <sub>3</sub> , πάνω) και <sup>13</sup> C-NMR (50MHz, CDCl <sub>3</sub> , κάτω) του εστέρα ακριδίνης <b>42</b> . ....	48
<b>Εικόνα 12.</b> Φάσμα <sup>1</sup> H-NMR (200MHz, CDCl <sub>3</sub> , πάνω) του μίγματος αλκυλίωσης της <b>41</b> πριν την κατεργασία και φάσματα <sup>1</sup> H-NMR (200MHz, CDCl <sub>3</sub> , μέση) και <sup>13</sup> C-NMR (50MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , κάτω) του προϊόντος που απομονώθηκε από τη χρωματογραφία στήλης και αποδίδεται στη <b>46</b> .....	50
<b>Εικόνα 13.</b> Φάσματα μάζας θετικού ιονισμού της αντίδρασης μεθυλίωσης του <b>41</b> από το μίγμα πριν τη χρωματογραφία στήλης (αριστερά) και από το τελικό προϊόν ( <b>46</b> , δεξιά). ....	51
<b>Εικόνα 14.</b> Σύγκριση φασμάτων <sup>1</sup> H-NMR (200MHz, CDCl <sub>3</sub> ) της <b>41</b> (με κόκκινο χρώμα) και του μίγματος της αντίδρασης μεθυλίωσης της <b>41</b> (με μπλέ χρώμα). Ένθετο: Φάσμα ES-MS θετικού ιονισμού του μίγματος. ....	52
<b>Εικόνα 15.</b> Φάσματα NMR της ένωσης <b>45</b> . α) <sup>1</sup> H-NMR (200MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ),	

β) <sup>1</sup> H-NMR (200MHz, CD <sub>3</sub> OD), γ) <sup>1</sup> H-NMR (200MHz, CD <sub>3</sub> CN), δ) <sup>19</sup> F-NMR (188MHz, CD <sub>3</sub> CN), ε) <sup>13</sup> C-NMR (50MHz, CD <sub>3</sub> CN).....	55
<b>Εικόνα 16.</b> Φάσματα ES-MS του παραγώγου <b>45</b> , θετικού ιονισμού (αριστερά) και αρνητικού ιονισμού (δεξιά). .....	56
<b>Εικόνα 17.</b> Φάσματα <sup>1</sup> H-NMR (200MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) του παραγώγου <b>45</b> παρουσία ποσότητας TFA. ....	57
<b>Εικόνα 18.</b> Φάσματα <sup>1</sup> H-NMR (200MHz) σε (α) DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> και (β) CD <sub>3</sub> OD. και φάσμα ES-MS θετικού ιονισμού (γ) της ένωσης <b>44</b> . ....	58
<b>Εικόνα 19.</b> Σχηματική αναπαράσταση του sp <sup>2</sup> τροχιακού στο άτομο αζώτου και της στερεοχημικής παρεμπόδισης που προκαλείται λόγω των δύο ατόμων υδρογόνου. ....	59
<b>Εικόνα 20.</b> Φάσματα <sup>1</sup> H-NMR (200MHz) σε CDCl <sub>3</sub> (πάνω) και DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (κάτω) της ένωσης <b>47</b> . ....	61
<b>Εικόνα 21.</b> Φάσμα <sup>1</sup> H-NMR (200MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) της ένωσης <b>48</b> .....	63
<b>Εικόνα 22.</b> Φάσματα <sup>1</sup> H-NMR (200MHz, πάνω) και <sup>13</sup> C-NMR (50MHz, κάτω) της ένωσης <b>51</b> σε CDCl <sub>3</sub> . ....	64
<b>Εικόνα 23.</b> Φάσματα <sup>1</sup> H-NMR (200MHz, CDCl <sub>3</sub> , πάνω), <sup>13</sup> C-NMR (50MHz, CD <sub>3</sub> CN, μέση), <sup>19</sup> F-NMR (188MHz, CDCl <sub>3</sub> , κάτω) της ένωσης <b>56</b> . ....	67
<b>Εικόνα 24.</b> Δομές των αλκυλοφωσφονιακών αλκοολών <b>60α-γ</b> (α) και φάσματα <sup>1</sup> H (200MHz, β), <sup>13</sup> C (50MHz, γ) και <sup>31</sup> P-NMR (81MHz, δ) της ένωσης <b>60α</b> σε CDCl <sub>3</sub> . ....	69
<b>Εικόνα 25.</b> Φάσματα <sup>1</sup> H-NMR (200MHz, CDCl <sub>3</sub> ) του <b>63α</b> (πάνω) και του μίγματος της αντίδρασης βρωμοεξανόλης με Tf <sub>2</sub> O παρουσία (κάτω). Ένθετα: Φάσματα <sup>19</sup> F-NMR (188MHz, CDCl <sub>3</sub> ). ....	72
<b>Εικόνα 26.</b> Φάσματα <sup>1</sup> H-NMR (200MHz, CDCl <sub>3</sub> ) του μίγματος της αντίδρασης του Σχήματος 27 πριν (α) κατά τη διάρκεια (β) και μετά (γ) τις εκπλύσεις με διαιθυλαιθέρα/τολουόλιο. ....	73
<b>Εικόνα 27.</b> Φάσματα <sup>1</sup> H-NMR (200MHz, CDCl <sub>3</sub> ) των εκπλυμάτων της αντίδρασης του Σχήματος 27 (πάνω) και του καθαρού εστέρα ακριδίνης <b>42</b> (κάτω). Ένθετα: Φάσματα <sup>13</sup> C-NMR (50MHz, CDCl <sub>3</sub> ). ....	73
<b>Εικόνα 28.</b> Φάσματα <sup>1</sup> H-NMR (200MHz, CDCl <sub>3</sub> , α), <sup>31</sup> P-NMR (81MHz, CDCl <sub>3</sub> , β) ES-MS (γ). και πιθανές δομές που αποδίδονται σε κορυφές του φάσματος ES-MS (δ) του μίγματος της αντίδρασης του Σχήματος 28. ....	75
<b>Εικόνα 29.</b> Φάσμα <sup>1</sup> H-NMR (200MHz, CDCl <sub>3</sub> ) του μίγματος της αντίδρασης	

του Σχήματος 31. ....	77
<b>Εικόνα 30.</b> α) Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, $\text{CDCl}_3$ ) του μίγματος της αντίδρασης του Σχήματος 32 σε ACN. β) Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, $\text{CDCl}_3$ ) του <b>70α</b> . γ) Φάσμα $^{31}\text{P-NMR}$ (81MHz, $\text{CDCl}_3$ ) του μίγματος. δ) Φάσμα ES-MS του μίγματος. ....	78
<b>Εικόνα 31.</b> Φάσματα $^1\text{H-NMR}$ (α, 200MHz, $\text{DMSO-}d_6$ ) και ES-MS (β) του μίγματος της αντίδρασης του Σχήματος 35. ....	81
<b>Εικόνα 32.</b> Φάσματα $^1\text{H-NMR}$ (α, 200MHz, $\text{CDCl}_3$ ) και $^{13}\text{C-NMR}$ (β, 50MHz, $\text{CDCl}_3$ ) του μίγματος της αντίδρασης του Σχήματος 37 (1,2 eq <b>80</b> σε DMF). γ) Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, $\text{CDCl}_3$ ) της <b>81</b> . ....	85
<b>Εικόνα 33.</b> Φάσματα $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, $\text{CDCl}_3$ ) α) της <b>91</b> , β) του μίγματος της αντίδρασης του Σχήματος 42 (7 eq TfOMe), γ) της <b>45</b> , δ) της <b>92</b> . ....	89
<b>Εικόνα 34.</b> Φάσματα α) $^1\text{H-NMR}$ (200MHz), β) $^{13}\text{C-NMR}$ (50MHz), γ) $^{31}\text{P-NMR}$ (81MHz), δ) $^{19}\text{F-NMR}$ (188MHz), της <b>96</b> σε $\text{CDCl}_3$ . ....	92
<b>Εικόνα 35.</b> Φάσμα ES-MS της αντίδρασης μεθυλίωσης της <b>96</b> με 7 eq MeOTf. ....	93
<b>Εικόνα 36.</b> Φάσματα α) $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, $\text{CDCl}_3$ ) του μίγματος της αντίδρασης του Σχήματος 46, β) $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, $\text{CDCl}_3$ ), γ) $^{13}\text{C-NMR}$ (50MHz, $\text{CD}_3\text{CN}$ ), δ) $^{31}\text{P-NMR}$ (81MHz, $\text{CD}_3\text{CN}$ ), ε) $^{19}\text{F-NMR}$ (188MHz, $\text{CD}_3\text{CN}$ ), στ) ES-MS της <b>98</b> . ....	95
<b>Εικόνα 37.</b> N-μεθυλιωμένα και N-αλκυλιωμένα παράγωγα που συντέθηκαν στα πλαίσια της παρούσας διατριβής. ....	97
<b>Εικόνα 38.</b> Τελικό παράγωγο-ένωση στόχος της παρούσας διατριβής (98). Πρόσδεση της μιτοτροπικής ομάδας του φωσφονιακού κατιόντος στον δακτύλιο φαινόλης. ....	98

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

<b>Σχήμα 1.</b> Γενικό ρετροσυνθετικό σχήμα παραγώγων εστέρων ακριδινίου. ...	17
<b>Σχήμα 2.</b> Σύνθεση του καρβοξυακριδινίου <b>4</b> με τη μέθοδο Lehmstedt – Wirth. .....	17
<b>Σχήμα 3.</b> Μηχανισμός χημειοφωταύγειας των εστέρων ακριδινίου. ....	19
<b>Σχήμα 4.</b> Τρία γενικά “μονοπάτια” κατά την οξειδωση των ΑΕ: Το “φωτεινό μονοπάτι” (μπλέ) και άλλα δύο “σκοτεινά μονοπάτια”, της υδρόλυσης (πράσινο) και της ψευδοβάσης (κόκκινο). ....	21
<b>Σχήμα 5.</b> Οι σημαντικότερες διεργασίες που επηρεάζουν τη χημειοφωταύγεια των ΑΕ. ....	26
<b>Σχήμα 6.</b> Σύνθεση των εστέρων ακριδινίου <b>15</b> ως μορίων σήμανσης. ....	29
<b>Σχήμα 7.</b> Σύνθεση των αντιδραστηρίων σήμανσης <b>21α,β</b> . ....	32
<b>Σχήμα 8.</b> Συνθετική πορεία των σουλφοβεταΐνο υποκατεστημένων εστέρων ακριδινίου <b>36</b> . ....	35
<b>Σχήμα 9.</b> 4-μελή κυκλικά υπεροξειδία και χημειοφωταύγεια. ....	37
<b>Σχήμα 10.</b> Σύνθεση διοξετανίων με τη Μέθοδο Korecky. ....	39
<b>Σχήμα 11.</b> (α) Σύνθεση των ισομερών <b>37</b> και <b>38</b> . (β) Παραγωγή οξυγόνου απλής κατάστασης με χημικό τρόπο. (γ) Πιθανές παράπλευρες αντιδράσεις κατά τη χρήση μονήρους οξυγόνου. ....	40
<b>Σχήμα 12.</b> Σύνθεση α-υπεροξυλακτονών: (α) μέσω κυκλοποίησης α-υδροϋπερόξυ οξέων με χρήση DCC. (β) από οξυγόνωση κετενών. ....	41
<b>Σχήμα 13.</b> Σύνθεση της 1,2-διοξετανοδιόνης από οξάλυλο παράγωγα. ....	41
<b>Σχήμα 14.</b> Διριζικός μηχανισμός θερμικής αποσύνθεσης των 1,2-διοξετανίων. ....	43
<b>Σχήμα 15.</b> Σύγχρονος μηχανισμός θερμικής αποσύνθεσης των 1,2-διοξετανίων. ....	43
<b>Σχήμα 16.</b> Σύνθεση των εστέρων ακριδίνης <b>40-43</b> . ....	47
<b>Σχήμα 17.</b> Αντίδραση σύνθεσης των εστέρων ακριδινίου <b>44</b> και <b>45</b> . ....	49
<b>Σχήμα 18.</b> Προτεινόμενη δομή και πιθανός μηχανισμός αντίδρασης σχηματισμού της ένωσης <b>46</b> . ....	51
<b>Σχήμα 19.</b> Τα παράγωγα <b>44</b> και <b>45</b> βρίσκονται σε ισορροπία με τις αντίστοιχες “ψευδοβάσεις” <b>44α</b> και <b>45α</b> . ....	56
<b>Σχήμα 20.</b> Αντιδράσεις N-αλκυλίωσης του εστέρα ακριδίνης <b>40</b> με	

αλκυλαλογονίδια. ....	61
<b>Σχήμα 21.</b> Προσπάθεια σύνθεσης του αλκυλιωμένου παραγώγου <b>52</b> από τον εστέρα <b>41</b> . ....	64
<b>Σχήμα 22.</b> Σύνθεση των τριφθορομεθανοσουλφονικών <i>N</i> -έξυλο ΑΕ παραγώγων <b>55</b> και <b>56</b> . ....	65
<b>Σχήμα 23.</b> Ρετροσυνθετικό σχήμα των μιτοτροπικών παραγώγων <b>57</b> μέσω αλκυλίωσης με τριφλικά υποκατεστημένα αλκυλοφωσφονιακά άλατα. ....	68
<b>Σχήμα 24.</b> Ανεπιτυχής προσπάθεια σύνθεσης των <b>59α,β</b> . ....	70
<b>Σχήμα 25.</b> Ρετροσυνθετικό σχήμα των μιτοτροπικών παραγώγων <b>57</b> μέσω αλκυλίωσης με τριφλικά υποκατεστημένα αλκυλοβρωμίδια. ....	70
<b>Σχήμα 26.</b> Αντίδραση εστεροποίησης της βρωμοεξανόλης με τριφλικό ανυδρίτη. ....	71
<b>Σχήμα 27.</b> Αντίδραση αλκυλίωσης προς το σχηματισμό της ένωσης <b>62α</b> . ....	72
<b>Σχήμα 28.</b> Αντίδραση του παραγώγου <b>62α</b> με PPh <sub>3</sub> προς το ΑΕ παράγωγο-στόχο <b>57α</b> . ....	74
<b>Σχήμα 29.</b> Ρετροσυνθετικό σχήμα των μιτοτροπικών παραγώγων <b>68</b> μέσω αλκυλίωσης με διτριφλικές αλκυλοδιόλες. ....	76
<b>Σχήμα 30.</b> Αντίδραση σύνθεσης των παραγώγων <b>70α</b> και <b>70β</b> . ....	76
<b>Σχήμα 31.</b> Προσπάθεια σύνθεσης του παραγώγου <b>68β</b> . ....	77
<b>Σχήμα 32.</b> Προσπάθεια σύνθεσης του <b>72</b> . ....	78
<b>Σχήμα 33.</b> Ρετροσυνθετικό σχήμα του μιτοτροπικού παραγώγου <b>77</b> μέσω εστεροποίησης στο φαινολικό δακτύλιο. ....	80
<b>Σχήμα 34.</b> Αντίδραση εστεροποίησης μεταξύ του οξέος <b>73</b> και της 3-βρωμοπροπανόλης. ....	80
<b>Σχήμα 35.</b> Αντίδραση του βρωμιδίου <b>74</b> με τριφαινυλοφωσφίνη. ....	81
<b>Σχήμα 36.</b> Ρετροσυνθετικό σχήμα του μιτοτροπικού παραγώγου <b>86</b> μέσω παραγωγοποίησης με γέφυρα αμιδίου-πιπεραζίνης-αμίνης. ....	83
<b>Σχήμα 37.</b> Αντίδραση σύζευξης μεταξύ <b>73</b> και Boc-πιπεραζίνης. ....	84
<b>Σχήμα 38.</b> Σύνθεση της ένωσης <b>89</b> . ....	85
<b>Σχήμα 39.</b> Προσπάθεια σύνθεσης του φωσφονιακού παραγώγου <b>84</b> . ....	86
<b>Σχήμα 40.</b> Ρετροσυνθετικό σχήμα του μιτοτροπικού παραγώγου <b>98</b> μέσω παραγωγοποίησης με γέφυρα αμιδίου-πιπεραζίνης-αμιδίου. Εικονίζονται 3 πιθανές πορείες (α κόκκινη, β μαύρη και γ μπλε). ....	87
<b>Σχήμα 41.</b> Σύνθεση του εστέρα ακριδίνης <b>91</b> . ....	88

<b>Σχήμα 42.</b> Αντιδράσεις μεθλίωσης του <b>91</b> με τριφλικό μεθυλεστέρα. ....	88
<b>Σχήμα 43.</b> Προσπάθεια σύνθεσης του παραγώγου στόχου <b>98</b> από τη σύζευξη των <b>93</b> και <b>94</b> . ....	90
<b>Σχήμα 44.</b> Σύνθεση του εστέρα της ακριδίνης <b>96</b> από τη φαινόλη <b>90</b> . ....	91
<b>Σχήμα 45.</b> Σύνθεση του εστέρα της ακριδίνης <b>96</b> από την ακριδίνη <b>91</b> . ....	93
<b>Σχήμα 46.</b> Σύνθεση του τελικού μιτοτροπικού ΑΕ παραγώγου <b>98</b> . ....	94

### ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

<b>Πίνακας 1.</b> Συνθήκες αντίδρασης του εστέρα ακριδίνης <b>40</b> με διιωδοεξάνιο προς σχηματισμό του ΑΕ <b>48</b> . Όλες οι αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν στους 150°C. ....	62
---	----



## **ΠΡΟΛΟΓΟΣ**

Η παρούσα ερευνητική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών κατά την περίοδο Νοέμβριος 2017-Οκτώμβριος 2020 υπό την επίβλεψη του Αναπληρωτή Καθηγητή Γεώργιου Χ. Βουγιουκαλάκη.

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

## ΠΟΛΥΜΟΡΦΟ ΓΛΟΙΟΒΛΑΣΤΩΜΑ

### 1.1 Εισαγωγή

Ο όρος γλοιώμα αναφέρεται σε μια ομάδα όγκων του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ) που διαφοροποιούνται ανάλογα με τα κύτταρα από τα οποία προέρχονται (αστροκύτταρα ή ολιγοδενδροκύτταρα) καθώς και τον βαθμό επιθετικότητάς τους.<sup>1</sup> Ανάλογα με τον ρυθμό ανάπτυξης, τα γλοιώματα διακρίνονται σε αυτά του χαμηλού βαθμού κακοήθειας (I, II) και αυτά του υψηλού βαθμού κακοήθειας (III, IV). Το πολύμορφο γλοιοβλάστωμα (Glioblastoma Multiforme, GBM) αποτελεί την πιο κοινή μορφή γλοιωμάτων του εγκεφάλου, αντιπροσωπεύοντας περίπου το 50% των πρωτοπαθών περιστατικών. Το πολύμορφο γλοιοβλάστωμα, παραμένει ένας από τους πιο κοινούς και επιθετικούς, κακοήθεις καρκίνους στις μέρες μας και ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) το κατατάσσει ως αστροκύτωμα τετάρτου βαθμού (το αστροκύτωμα είναι τύπος γλοιώματος που μπορεί να παρουσιαστεί οπουδήποτε στο κεντρικό νευρικό σύστημα, δηλαδή στον εγκέφαλο και στον νωτιαίο μυελό).<sup>2</sup>

Παρά τις εξελίξεις που έχουν σημειωθεί τα τελευταία 40 χρόνια στους κλάδους της μικροχειρουργικής και της ακτινοθεραπείας, και παρά την ανάπτυξη καινοτόμων χημειοθεραπευτικών παραγόντων, το προσδόκιμο όριο ζωής ασθενών που πάσχουν από το πολύμορφο γλοιοβλάστωμα είναι 12 μήνες, ενώ ποσοστό μικρότερο από 3% επιβιώνει περισσότερο από τρία έτη μετά την διάγνωση της ασθένειας.<sup>3</sup>

Σχετικά με τη συμπτωματολογία, συνήθως εμφανίζεται με επιληπτική κρίση, αλλά σε αρκετές περιπτώσεις, οι ασθενείς δεν παρουσιάζουν συγκεκριμένα νευρολογικά συμπτώματα. Παρατηρείται κάποιες φορές αλλαγή στην προσωπικότητα των ασθενών, απώλεια μνήμης και άλλα συμπτώματα όπως κεφαλαλγία, ναυτία και υπνηλία, εξαιτίας της αυξημένης ενδοκρανιακής πίεσης.<sup>4</sup>

## **1.2 Σύγχρονες θεραπευτικές προσεγγίσεις**

Η σύγχρονη προσέγγιση της αντιμετώπισης του καρκίνου στρέφεται κυρίως στις τεχνικές διάγνωσης και θεραπείας και πολύ λιγότερο στην πρόληψη. Υπάρχουν πολλά είδη θεραπείας του καρκίνου ανάλογα με τη μορφή του καρκίνου καθώς και το στάδιο στο οποίο βρίσκεται.

### **1.2.1 Χειρουργική επέμβαση**

Στόχος είναι η εκτομή ή η ογκομείωση και η αποσυμπίεση του εγκεφάλου, όμως, λόγω του διηθητικού χαρακτήρα των όγκων, δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί η πλήρης αφαίρεσή του.<sup>5</sup> Μπορεί να συνδυαστεί με ακτινοθεραπεία ή χημειοθεραπεία, πριν ή μετά τη χειρουργική επέμβαση. Ορισμένες φορές, όμως, δεν είναι δυνατή αυτού του είδους η θεραπεία, λόγω της δύσβατης περιοχής εμφάνισης του καρκίνου με πιθανότητα να προκαλέσει μόνιμα νευρολογικά προβλήματα.

### **1.2.2 Ακτινοθεραπεία**

Η εξέλιξη της τεχνολογίας επιτρέπει τη χρήση ιονίζουσας ακτινοβολίας στην πρόκληση μοιραίων πληγμάτων στη διπλή έλικα του DNA, τα οποία υπονομεύουν την ικανότητα διπλασιασμού και ανάπτυξης του κυττάρου, επιφέροντας τον θάνατο του, συνήθως μετά από έναν μικρό αριθμό μιτωτικών διαιρέσεων.<sup>6,7</sup> Μια άλλη προσέγγιση αποτελεί η θεραπεία μέσω δέσμευσης νετρονίων βορίου (Boron Neutron Capture Therapy - BNCT). Αυτή η τεχνική βασίζεται στην εκλεκτική μεταφορά μιας μη τοξικής ένωσης του βορίου στα καρκινικά κύτταρα. Ωστόσο, οι έως τώρα μελέτες δείχνουν ότι υστερεί έναντι της συμβατικής ακτινοβολήσης.<sup>8</sup>

### **1.2.3 Χημειοθεραπεία**

Χρησιμοποιείται μετά από τη χειρουργική επέμβαση, αλλά και σε περιπτώσεις που καθίσταται αδύνατη η θεραπεία του καρκίνου μέσω τοπικών θεραπευτικών μεθόδων (χειρουργική επέμβαση ή ακτινοθεραπεία). Αναφέρεται στη χρήση κυτταροτοξικών φαρμάκων που στοχεύουν κυρίως στα καρκινικά κύτταρα, αλλά και στα υγιά, με αποτέλεσμα να εμφανίζονται

σημαντικές παρενέργειες στον ανθρώπινο οργανισμό.<sup>6,7,9,10</sup>

#### **1.2.4 Φωτοδυναμική θεραπεία (PhotoDynamic Therapy, PDT)**

Η φωτοδυναμική θεραπεία εμφανίζεται ως μια πολλά υποσχόμενη λύση για την θεραπεία του καρκίνου. Βασίζεται στην ακτινοβόληση του κακοήθους όγκου με ακτινοβολία μήκους κύματος στην περιοχή του ορατού φωτός, παράλληλα με τη χορήγηση κατάλληλων φωτοευαισθητοποιητών. Η διέγερση του φωτοευαισθητοποιητή οδηγεί σε μία φωτοαντίδραση μεταξύ αυτού και του οξυγόνου, παράγοντας οξυγόνο απλής κατάστασης και ελεύθερες ρίζες, τα οποία είναι κυτταροτοξικά και οδηγούν στην καταστροφή των καρκινικών ιστών.<sup>11-20</sup>

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

### ΦΩΤΟΔΥΝΑΜΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

#### 2.1 Γενικά

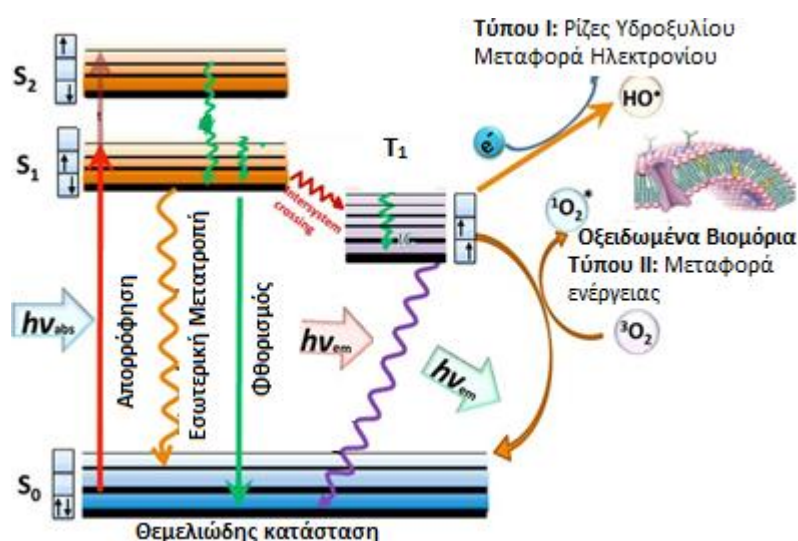
Η φωτοδυναμική θεραπεία (PDT) είναι μια σχετικά σύγχρονη τεχνική αντιμετώπισης του καρκίνου και άλλων ασθενειών. Παρόλο που ιστορικά η φωτοευαισθητοποίηση έχει τις ρίζες της στην αρχαία Αίγυπτο<sup>20,21</sup> εν τούτοις, μόλις το 1978 πραγματοποιήθηκε η πρώτη κλινική εφαρμογή της θεραπευτικής αυτής τεχνικής στον άνθρωπο από την ομάδα του T. J. Dougherty στην κλινική Mayo των Η.Π.Α.<sup>22,23</sup> Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, η δράση της βασίζεται στη συνέργια τριών διαφορετικών στοιχείων: α) του φωτοευαισθητοποιητή (photosensitizer), ο οποίος ενεργοποιείται παρουσία φωτός, β) του φωτός κατάλληλου μήκους κύματος για την ενεργοποίηση του φωτοευαισθητοποιητή, και γ) του οξυγόνου, το οποίο, μετατρέπόμενο σε δραστικές μορφές του, από τον ενεργοποιημένο φωτοευαισθητοποιητή, εμφανίζει κυτταροτοξική δράση.

Η διαδικασία ξεκινάει με χορήγηση, συστηματική ή τοπική, του φωτοευαισθητοποιητή. Έπειτα από κάποιο χρόνο επώασης, ο φωτοευαισθητοποιητής ακτινοβολείται από φως κατάλληλου μήκους κύματος (συνήθως στην περιοχή 600 - 900 nm), διεγείρεται και μεταφέρει την ενέργειά του στα μόρια του οξυγόνου ή σε άλλα γειτονικά μόρια, δημιουργώντας δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS), που οδηγούν σε κυτταρικό θάνατο και στην καταστροφή των ιστών.<sup>24</sup>

#### 2.2 Μηχανισμοί δράσης της φωτοδυναμικής θεραπείας

Όλες οι φωτοφυσικές και φωτοχημικές αντιδράσεις που εμπλέκονται στη φωτοδυναμική θεραπεία έχουν ως απαρχή την απορρόφηση ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας κατάλληλου μήκους κύματος από τα μόρια του φωτοευαισθητοποιητή (PS). Συγκεκριμένα, ο φωτοευαισθητοποιητής, αφού

εισέλθει στο κύτταρο, ακτινοβολείται από φως κατάλληλου μήκους κύματος (στο φάσμα απορρόφησής του), οπότε διεγείρεται από τη θεμελιώδη κατάσταση  $S_0$  στην πρώτη διεγερμένη στάθμη  $S_1$  (Εικόνα 1).<sup>25</sup> Η αποδιέγερση του φωτοευαίσθητοποιητή από την  $S_1$  στην  $S_0$  μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε μέσω εκπομπής φθορισμού, είτε με εσωτερική μετατροπή και αποβολή θερμότητας. Επιπρόσθετα, η διεγερμένη κατάσταση  $S_1$  μπορεί να μεταβεί στην πρώτη τριπλή διεγερμένη ηλεκτρονική κατάσταση  $T_1$ , μέσω διασυστημικής διασταύρωσης, που οφείλεται στην αλλαγή του spin των ηλεκτρονίων.<sup>26</sup> Η μετάβαση από τη στάθμη  $T_1$  στη  $S_0$  είναι απαγορευμένη, με αποτέλεσμα η τριπλή στάθμη να έχει μεγάλη διάρκεια ζωής (έως 1 msec). Ο μεγάλος χρόνος παραμονής στην  $T_1$  ευνοεί τα διεγερμένα μόρια του φωτοευαίσθητοποιητή να αντιδράσουν με τα συστατικά του ιστού και να παραγάγουν τα διάφορα κυτταροτοξικά είδη. Η αλληλεπίδραση αυτή, έχει ως αποτέλεσμα την παρατήρηση δυο τύπων φωτοχημικών αντιδράσεων, τις αντιδράσεις Τύπου I και II.



Εικόνα 1. Μηχανισμός δράσης της Φωτοδυναμικής Θεραπείας<sup>25</sup>.

Ο Τύπος I περιλαμβάνει απόσπαση ατόμων υδρογόνου ή ενός ηλεκτρονίου, λόγω αντίδρασης μεταξύ διεγερμένων καταστάσεων του φωτοευαίσθητοποιητή κι ενός βιολογικού υποστρώματος, με αποτέλεσμα την παραγωγή ελεύθερων ριζών και ελευθέρων ριζικών ιόντων. Οι ρίζες αυτές αλληλεπιδρούν με το μοριακό οξυγόνο, προς σχηματισμό ενεργών μορφών οξυγόνου (reactive oxygen species – ROS), όπως οξυγόνο απλής κατάστασης

( $^1\text{O}_2$ ), ρίζες υδροξυλίου, ή υπεροξειδίου, προκαλώντας οξειδωτικό στρες στα καρκινικά κύτταρα. Εναλλακτικά, στον Τύπο II, η τριπλή  $T_1$  κατάσταση του φωτοευαισθητοποιητή μπορεί να αντιδράσει απευθείας με το οξυγόνο (το οποίο διαθέτει δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια σε αντιδεσμικά π τροχιακά), μεταφέροντας σε αυτό την ενέργειά της, διεγείρωντάς το σε οξυγόνο απλής κατάστασης ( $^1\text{O}_2$ , μονήρες οξυγόνο, singlet oxygen), ενώ ο φωτοευαισθητοποιητής επιστρέφει στη θεμελιώδη κατάσταση. Το  $^1\text{O}_2$  είναι πολύ δραστικό και προκαλεί καταστροφή των πρωτεϊνών και των λιπιδίων στη φωτοευαισθητοποιημένη περιοχή, οδηγώντας σε κυτταρικό θάνατο από απόπτωση ή/και νέκρωση. Αυτοί οι δύο τύποι αντιδράσεων μπορούν να πραγματοποιούνται και ταυτοχρόνως και η αναλογία μεταξύ τους εξαρτάται από τον τύπο του ευαισθητοποιητή που χρησιμοποιήθηκε, τις συγκεντρώσεις του υποστρώματος και του οξυγόνου, καθώς και τη συγγένεια πρόσδεσης του ευαισθητοποιητή με το υπόστρωμα.<sup>27</sup>

Επιπροσθέτως, αυτές οι αντιδράσεις συμβαίνουν στην τοπική περιοχή απορρόφησης φωτός από τον φωτοευαισθητοποιητή. Επομένως, οι βιολογικές αποκρίσεις προς τον φωτοευαισθητοποιητή ενεργοποιούνται μόνο στις συγκεκριμένες περιοχές του ιστού-στόχου που έχουν εκτεθεί στο φως.<sup>18</sup> Λόγω της υψηλής δραστηριότητας και του μικρού χρόνου ημιζωής των ROS, μόνο τα κύτταρα που είναι πλησίον της περιοχής παραγωγής ROS (περιοχές εντοπισμού του φωτοευαισθητοποιητή και ακτινοβόλησης) επηρεάζονται άμεσα. Ενδεικτικά, ο χρόνος ημιζωής του οξυγόνου απλής κατάστασης σε βιολογικά συστήματα είναι  $<0,04 \mu\text{s}$  και, ως εκ τούτου, η ακτίνα της δράσης του οξυγόνου απλής κατάστασης είναι  $<0,02 \mu\text{m}$ .<sup>28</sup>

### **2.3 Η πρωτοπορφυρίνη IX ως φωτοευαισθητοποιητής**

Ως φωτοευαισθητοποιητές χαρακτηρίζονται οι ουσίες εκείνες, οι οποίες, ενεργοποιούμενες από φωτεινή ακτινοβολία κατάλληλου μήκους κύματος, παράγουν χημικώς ενεργά προϊόντα, όπως μονήρες οξυγόνο, ελεύθερες ρίζες, κ.ά. Η ιδανική φωτοευαίσθητη ουσία για εφαρμογές φωτοδυναμικής θεραπείας, πρέπει να είναι απλή σε σύνθεση, μη τοξική, να αποτελεί σταθερό

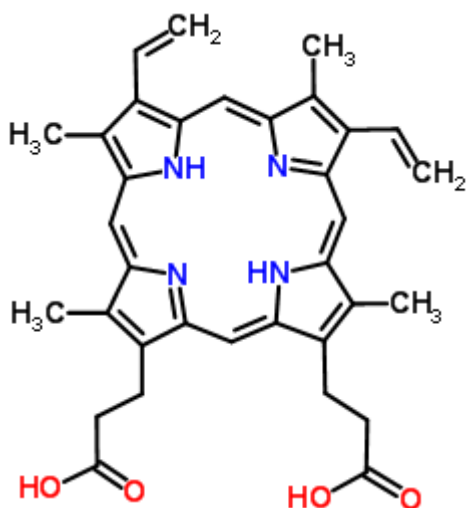
παράγωγο γνωστής χημικής δομής, το οποίο να κατακρατείται με υψηλό βαθμό επιλεκτικότητας από καρκινικούς όγκους-ιστούς, συγκριτικά με τους γειτονικούς προς την περιοχή εκείνη υγιείς ιστούς. Επίσης, πρέπει να απορροφά στην περιοχή του φάσματος της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας όπου το φως παρουσιάζει σχετικά μεγάλο βάθος διείσδυσης στους ιστούς (δηλαδή στην ερυθρή και εγγύς υπέρυθη περιοχή του φάσματος 600-1100 nm) και όπου η ενέργεια των φωτονίων είναι αρκετή, για να επάγει την παραγωγή ελευθέρων ριζών, όπως οξυγόνο απλής κατάστασης. Τέλος, πρέπει να μεταβολίζεται άμεσα μετά την θεραπεία, ώστε να μην προκαλεί παρατεταμένη φωτοευαισθησία στον ασθενή.<sup>29-32</sup>

Οι πορφυρίνες είναι μια ομάδα χρωστικών, ετεροκυκλικών ενώσεων με σημαντική βιολογική δράση, στην οποία περιλαμβάνεται η συμμετοχή τους στη μεταφορά οξυγόνου, στη φωτοσύνθεση στα βιολογικά συστήματα κ.α. Ο βασικός σκελετός τους αποτελείται από ένα ετεροκυκλικό μακρομόριο, γνωστό ως πορφίνη και περιλαμβάνει τέσσερις υπομονάδες πυρρολίου ενωμένες κυκλικά με τέσσερις γέφυρες μεθινίου (=C-). Οι πορφυρίνες και τα παράγωγά τους έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως ως φωτοευαισθητοποιητές στην ανίχνευση και αντιμετώπιση καρκινικών όγκων<sup>14,33</sup> λόγω της χημικής σταθερότητάς τους και της απορρόφησής τους στην ορατή περιοχή, και αποτέλεσαν την 1<sup>η</sup> γενιά φωτοευαισθητοποιητών στην PDT.

Η πρωτοπορφυρίνη IX (PPIX) είναι μία πορφυρίνη η οποία συναντάται σε όλα τα κύτταρα σε μικρές ποσότητες, ως τελικό ενδιάμεσο στη βιοσυνθετική οδό της αίμης (Εικόνα 2). Η τετραπυρρολική δομή της, της επιτρέπει να συμπλέκεται χημικά με μέταλλα μετάπτωσης προς τον σχηματισμό μεταλλοπορφυρίνων, οι οποίες εκτελούν ποικίλες βιολογικές λειτουργίες. Το πιο διαδεδομένο σύμπλοκο είναι αυτό της πρωτοπορφυρίνης IX με τον σίδηρο και αποτελεί την αίμη, ένα συστατικό των αιμοπρωτεϊνών που παίζει κρίσιμο ρόλο στην μεταφορά οξυγόνου, σε διάφορες κυτταρικές λειτουργίες, όπως οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις, στη μεταφορά ηλεκτρονίων κατά την αναπνευστική αλυσίδα κ.α. Τα μόρια της PPIX στα κύτταρα συμμετέχουν ως επί το πλείστον στη σύνθεση της αίμης και μετατρέπονται αποτελεσματικά σε αυτή με τη βοήθεια του ενζύμου φεροχηλατάση (FECH), του τελικού ενζύμου στη βιοσυνθετική οδό της αίμης. Έτσι, τα επίπεδα της PPIX παραμένουν



χαμηλά υπό φυσιολογικές συνθήκες. Κληρονομικές και επίκτητες ασθένειες μπορούν να διαταράξουν τη σύνθεση της αίμης και τους μηχανισμούς ομοιόστασης της PPIX, προκαλώντας συσσώρευση της τελευταίας σε ποσότητες που είναι επαρκείς για να παράγουν φωτοευαισθησία του δέρματος και ηπατική βλάβη.<sup>14,34-38</sup>



**Εικόνα 2.** Η δομή της πρωτοπορφυρίνης IX (PPIX).

Η προκαλούμενη φωτοευαισθησία έδωσε το έναυσμα στη μελέτη και τελικά στην κλινική εφαρμογή της PPIX ως φωτοευαισθητοποιητή στη φωτοδυναμική ανίχνευση και θεραπεία (PDT) του καρκίνου.<sup>29-33</sup> Έχει αποδειχθεί, ότι επαρκής ποσότητα PPIX μπορεί να συντεθεί από εξωγενή χορήγηση 5-αμινολεβουλινικού οξέος (ALA) και να δράσει ως φωτοευαισθητοποιητής μετά από έκθεση στο φως, τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*.<sup>14,33-36,39-41</sup> Η ενδογενής δηλαδή PDT περιλαμβάνει την χορήγηση ALA, ενός φυσικώς απαντώμενου ενδιάμεσου στη βιοσυνθετική οδό της αίμης και πρόδρομου της PPIX. Το τελευταίο βήμα στην αλυσίδα αυτήν περιλαμβάνει τη μη πλήρη μετατροπή της PPIX σε αίμη. Εξωτερική χορήγηση του ALA σε βιολογικούς ιστούς, μπορεί να οδηγήσει σε γρήγορο μεταβολισμό του σε PPIX, το οποίο συσσωρεύεται στους ιστούς, λόγω αδυναμίας ολικής μετατροπής σε αίμη, με επακόλουθο την ενδογενή φωτοευαισθητοποίηση. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί, ότι στα καρκινικά κύτταρα συσσωρεύεται μεγαλύτερη ποσότητα PPIX σε σχέση με τα φυσιολογικά, όταν υποστούν θεραπεία με ALA.<sup>37,38,42</sup> Η

παροδική εκλεκτικότητα αυτών και η υψηλότερη πρόσληψη του ALA στους νεοπλαστικούς ιστούς, πιθανότατα είναι αποτέλεσμα της αυξημένης αγγειακής διαπερατότητας των όγκων, των διαρθρωτικών αγγειακών ιδιαιτεροτήτων τους, όπως οπές στην ενδοθηλιακή εσωτερική μεμβράνη, ασυνέχειες στη βασική μεμβράνη και της αυξημένης συγκέντρωσης των διαλυμένων ουσιών χαμηλού μοριακού βάρους, όπως ελεύθερα αμινοξέα στο μεσοκυττάριο χώρο του όγκου σε σχέση με το πλάσμα.<sup>38,42-44</sup> Έτσι, η εμφάνιση φθορισμού σε όγκους είναι κυρίως το αποτέλεσμα μιας ταχύτερης ανταλλαγής ALA από το πλάσμα στον μεσοκυτταρικό χώρο και κατά συνέπεια την ταχύτερη πρόσληψη από τα κύτταρα του όγκου από ότι τα φυσιολογικά. Η φωτο-ενεργοποίηση της PPIX σε καρκινικά κύτταρα δημιουργεί ενεργές μορφές οξυγόνου, τα οποία μπορεί να προκαλέσουν αποπτωτικό θάνατο, προκαλούμενο από την καταστροφή της κυτταρικής μεμβράνης και των μιτοχονδριακών και κυτταροπλασματικών πρωτεϊνών και λιπιδίων, καθώς και του DNA.<sup>42-46</sup> Ακόμη, μπορεί να προκληθούν βλάβες στα αιμοφόρα αγγεία, που οδηγούν σε αγγειακή απόφραξη, η οποία οδηγεί στην έλλειψη οξυγόνου και των θρεπτικών ουσιών που απαιτούνται για την ανάπτυξη του όγκου.<sup>47</sup> Η φωτοδυναμική επίδραση της PPIX έχει χρησιμοποιηθεί τόσο στη διάγνωση, όσο και στη θεραπεία του καρκίνου, δεδομένου ότι η PPIX εκπέμπει κόκκινο φθορισμό όταν ακτινοβολείται με φως μήκους κύματος από 400-410 nm, καταστρέφοντας τους καρκινικούς ιστούς που έχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις σε PPIX.<sup>45</sup> Ο βαθμός κυτταροτοξικότητας της PPIX εξαρτάται από το μήκος κύματος του φωτός έκθεσης, λόγω του γεγονότος ότι το βάθος διείσδυσης του φωτός στον ιστό είναι έντονα εξαρτώμενο από το μήκος κύματος της πηγής.<sup>48</sup> Συμπερασματικά, οι περισσότερες έρευνες στο πεδίο έχουν επικεντρωθεί στην επιλεκτική συσσώρευση της PPIX στον όγκο για την αντιμετώπιση της κακοήθειας με τη βοήθεια της φωτοδυναμικής θεραπείας, ενώ άλλες έχουν χρησιμοποιήσει την ανίχνευση φθορισμού της PPIX ως εργαλείο για τη διάγνωση ασθενειών.<sup>22</sup>

## 2.4 PDT και μιτοχόνδρια

Η δράση της PDT εξαρτάται από την κατανομή των

φωτοευαισθητοποιητών στο εσωτερικό ενός κυττάρου. Η κατανομή αυτή εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τις ιδιότητες του φωτοευαισθητοποιητή, κυρίως τις φυσικοχημικές (ιοντικό φορτίο, υδροφοβικότητα, κ.α.), και από τον τρόπο εισόδου εντός του κυττάρου. Τα μιτοχόνδρια, τα λυσοσώματα, η κυτταρική μεμβράνη και ο κυτταρικός σκελετός αποτελούν πιθανούς στόχους της PDT.<sup>49</sup>

#### 2.4.1 Γενικές πληροφορίες για το Μιτοχόνδριο

Τα μιτοχόνδρια λειτουργούν ως "εργοστάσια ενέργειας" για το κύτταρο. Ρόλος των μιτοχονδρίων είναι η εξασφάλιση ενέργειας μέσω του μεταβολισμού των βιολογικών μακρομορίων που προσλαμβάνουν οι οργανισμοί μέσω της τροφής τους. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται οξειδωτική φωσφορυλίωση και συντελείται μέσω της ATP-συνθάσης, ενός πολύπλοκου διαμεμβρανικού ενζύμου που βρίσκεται στην εσωτερική μεμβράνη του μιτοχονδρίου.<sup>50</sup> Το μιτοχόνδριο αποτελείται από δύο μεμβράνες, με διπλή λιπιδική στιβάδα, μια εξωτερική και μία εσωτερική.<sup>51</sup> Λόγω της αφθονίας σε κορεσμένα φωσφολιπίδια και της υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες στην εσωτερική μεμβράνη, το μιτοχόνδριο έχει υψηλό δυναμικό μεμβράνης ( $\Delta\psi = -180\text{mV}$ ) σε σύγκριση με το δυναμικό μεμβράνης του πλάσματος ( $\Delta\psi = -60\text{mV}$ ), αποκλείοντας ένα ευρύ φάσμα από ιόντα και μόρια να εισέλθουν σε αυτό.<sup>52</sup>

Τα μιτοχόνδρια διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε αρκετές μορφές μη αποπτωτικού κυτταρικού θανάτου, καθώς είναι βασικοί ρυθμιστές του κυτταρικού θανάτου. Εμπλέκονται σε πολλές πτυχές της ογκογένεσης, όπως για παράδειγμα μεταλλάξεις του μιτοχονδριακού ή του πυρηνικού DNA<sup>53</sup> και αποτελούν γεννήτριες ROS στα κύτταρα προκαλώντας αρκετές παθολογικές ασθένειες, γήρανση, βλάβη του DNA και γενετική αστάθεια (οξειδωτική βλάβη).<sup>54</sup>

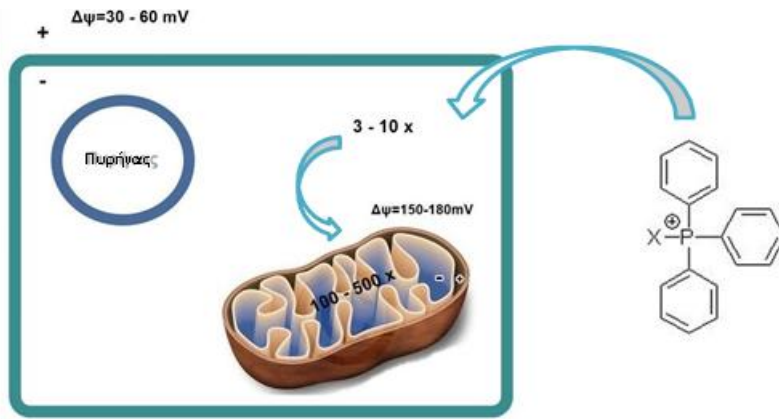
Στα καρκινικά κύτταρα, τα αυξημένα επίπεδα ROS προκαλούν πληθώρα αλλαγών στον πολλαπλασιασμό, στη διαφοροποίηση και στην απόπτωση των κυττάρων. Η αύξηση των ROS, μαζί με τη δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων, καθιστά τα καρκινικά κύτταρα πιο ευάλωτα σε περαιτέρω οξειδωτικό στρες, σε σύγκριση με τα φυσιολογικά, που εμφανίζουν χαμηλότερα ποσοστά ROS. Αναγνωρίζοντας τον ρόλο του μιτοχονδρίου στην

έναρξη και την εξέλιξη του καρκίνου, έχουν εμφανιστεί αρκετοί χημειοθεραπευτικοί παράγοντες που στοχεύουν στο μιτοχόνδριο, οι οποίοι είναι αρκετά ελπιδοφόροι για την καταπολέμηση του καρκίνου, καθώς ενεργούν άμεσα τους μηχανισμούς κυτταρικού θανάτου.<sup>55</sup>

#### **2.4.2 Τριφαινυλοφωσφονιακά κατιόντα (TPP)**

Τα τριφαινυλοφωσφονιακά κατιόντα αποτελούν την πιο γνωστή ομάδα για μιτοχονδριακή στόχευση. Αυτά τα λιπόφιλα μόρια απεντοπισμένου κατιοντικού φορτίου συσσωρεύονται στο μιτοχόνδριο των καρκινικών κυττάρων εκμεταλλευόμενα το αρνητικά φορτισμένο μικρο-περιβάλλον της μιτοχονδριακής μήτρας. Ο κατιοντικός χαρακτήρας χρειάζεται προκειμένου να οδηγηθεί ο φορέας μέσω της κυψελίδας και της μιτοχονδριακής μεμβράνης εντός του μιτοχονδρίου, καθώς και οι δύο έχουν αρνητικό δυναμικό μεμβράνης. Ο απεντοπισμός του θετικού φορτίου μειώνει την ενέργεια ενεργοποίησης που σχετίζεται με τη διαλυτοποίηση του ιόντος πριν από την πρόσληψή του μέσω της υδρόφοβης εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης. Έτσι, το θετικό φορτίο διαχέεται σε μεγάλη επιφάνεια, ώστε να αυξηθεί η ιοντική ακτίνα του, μειώνοντας αποτελεσματικά την αλληλεπίδραση με τα περιβάλλοντα μόρια του νερού.<sup>52</sup> Αποτελούνται από ένα θετικά φορτισμένο άτομο φωσφόρου, το οποίο συνδέεται με τρεις αρωματικού δακτυλίου (υδρόφοβο τμήμα). Το θετικό φορτίο σταθεροποιείται με δομές συντονισμού. Η μεγάλη υδρόφοβη επιφάνειά του, του επιτρέπει την αλληλεπίδραση με τη διπλοστιβάδα της εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης, οδηγώντας σε πρόσληψή του από το μιτοχονδριακό πλέγμα (Εικόνα 3).<sup>56</sup> Για τη μελέτη του μηχανισμού αυτής της αλληλεπίδρασης έχουν χρησιμοποιηθεί αλκυλιωμένα φωσφονιακά κατιόντα.<sup>57</sup>

Στη βιβλιογραφία, αναφέρονται αρκετές εφαρμογές των TPP ως μιτοχονδριακοί στοχευτές π.χ σύζευγμα TPP με χλωροαμβουκίλη (αντικαρκινικός παράγοντας που στοχεύει στο DNA) μείωσε την τιμή του IC<sub>50</sub> κατά δώδεκα φορές, σε σχέση με την απλή δραστική ουσία, σε καλλιέργεια καρκινικών κυττάρων του μαστού.<sup>58</sup>



**Εικόνα 3.** Πρόσληψη TPP παραγωγοποιημένου φαρμάκου ή ανιχνευτή X στο κυτταρόπλασμα και έπειτα στα μιτοχόνδρια, οδηγούμενο από το δυναμικό μεμβράνης<sup>56</sup>.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

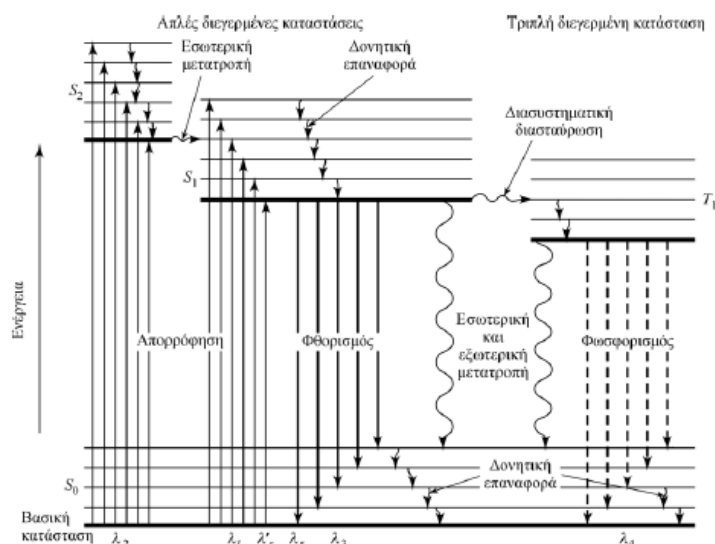
### ΕΣΤΕΡΕΣ ΑΚΡΙΔΙΝΙΟΥ: ΣΥΝΘΕΣΗ, ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

#### 3.1 Χημειοφωταύγεια

Η χημειοφωταύγεια είναι η παραγωγή φωτός από μια χημική αντίδραση. Χημικές ενώσεις αντιδρούν παράγοντας ένα διεγερμένο (υψηλής ενέργειας) ενδιάμεσο, το οποίο, καθώς αποδιεγείρεται και μεταπίπτει στη θεμελιώδη κατάσταση, απελευθερώνει ενέργεια σε μορφή φωτονίων. Υπάρχουν δυο τύποι χημειοφωταύγειας: η άμεση και η έμμεση.

Στην άμεση χημειοφωταύγεια, δυο αντιδραστήρια (το υπόστρωμα και ένα οξειδωτικό), παρουσία ενός καταλυτή και κάποιων συμπαραγόντων σχηματίζουν μια ενδιάμεση διεγερμένη κατάσταση. Το ενδιάμεσο αυτό μεταπίπτει στην  $S_0$ , εκπέμποντας ένα φωτόνιο. Χαρακτηριστικό παράδειγμα άμεσης χημειοφωταύγειας αποτελεί η οξειδωση της λουμινόλης. Σε κάποιες περιπτώσεις όμως, δεν επαρκεί η ενέργεια της διεγερμένης κατάστασης για εκπομπή φωτός και υπό προϋποθέσεις αντιδρά με ένα άλλο μόριο, το οποίο τελικά ευθύνεται για την εκπομπή φωτός. Απαραίτητη προϋπόθεση συνιστά το φάσμα εκπομπής του δότη να βρίσκεται κοντά σε μήκος κύματος με το φάσμα απορρόφησης του δέκτη.<sup>59,60</sup>

Το διεγερμένο μόριο μπορεί να ακολουθήσει μια σειρά από διαδρομές από τις οποίες μπορεί να επιστρέψει στην θεμελιώδη κατάσταση του. Όλοι αυτοί οι μηχανιστικοί οδοί, παρουσιάζονται διαγραμματικά στο ενεργειακό διάγραμμα Jablonski (Εικόνα 4).



**Εικόνα 4.** Το ενεργειακό διάγραμμα Jablonski.<sup>60</sup>

Εκπομπή φωτός πραγματοποιείται μόνο μέσω αποδιέγερσης είτε μιας απλής διεγερμένης κατάστασης (φθορισμός), είτε μέσω μιας τριπλής κατάστασης (φωσφορισμός). Το φως που εκπέμπεται από τις αντιδράσεις χημειοφωταύγειας διαφέρει στη διάρκεια ζωής, στην ένταση, και στο μήκος κύματος. Το φάσμα καλύπτει από την ιώδη μέχρι την εγγύς υπέρυθη περιοχή. Για να μπορέσει μια χημική αντίδραση να οδηγήσει στην εκπομπή φωτός, θα πρέπει να πληρούνται τρεις βασικές προϋποθέσεις.<sup>60</sup>

1. Να ευνοείται ο σχηματισμός ενώσεων στη διεγερμένη κατάσταση.
2. Η αντίδραση να είναι εξώθερμη, με τη μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας να κυμαίνεται στην περιοχή των 170 - 300 kJ mol<sup>-1</sup>.
3. Θα πρέπει να υπάρχει μία ευνοϊκή οδός αποδιέγερσης για την εκπομπή χημειοφωταύγειας και να περιορίζονται στο μέγιστο ανεπιθύμητες διεργασίες που δεν οδηγούν σε εκπομπή φωτός (φαινόμενα ενδο- ή δια-μοριακής μεταφοράς ενέργειας, μοριακής διάστασης, ισομερισμού ή εσωτερικής μετατροπής).

Η ένταση της εκπομπής της χημειοφωταύγειας εξαρτάται από την ταχύτητα της αντίδρασης και την αποτελεσματικότητά της στη διαδικασία δημιουργίας διεγερμένων καταστάσεων. Με τον συντελεστή κβαντικής απόδοσης χημειοφωταύγειας ( $\Phi_{CL}$ ) μπορεί να εκτιμηθεί η απόδοση της εκπομπής και ορίζεται ως:

$$\Phi_{CL} = \frac{\text{συνολικός αριθμός φωτονίων που εκπέμπονται}}{\text{αριθμός μορίων που αντιδρούν}}$$

Τέλος, το περιβάλλον που λαμβάνει χώρα η αντίδραση επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό την κβαντική απόδοση και το μήκος κύματος της χημειοφωταύγειας.<sup>61</sup>

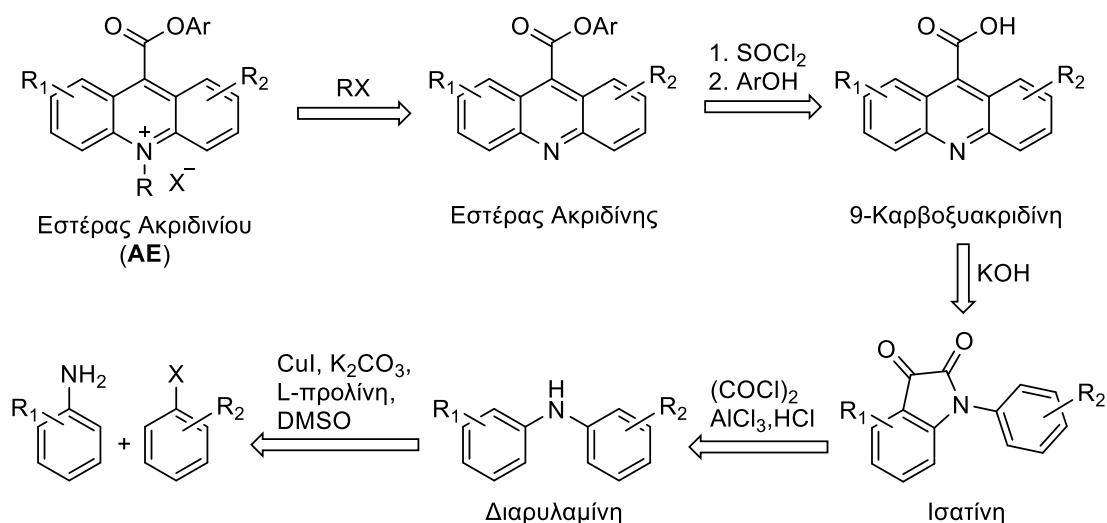
### 3.2 Σύνθεση εστέρων ακριδινίου

Πριν αναφερθούμε στις χημειοφωταυγάζουσες ιδιότητες των εστέρων ακριδινίου, ας μελετήσουμε συνοπτικά τη σύνθεσή τους. Η πιο ευρέως διαδεδομένη μέθοδος σύνθεσης των εστέρων ακριδινίου (ΑΕ) παρουσιάζεται στο Σχήμα 1. Ο ΑΕ προέρχεται από την *N*-αλκυλίωση του αντίστοιχου εστέρα της ακριδίνης. Ο αλκυλιωτικός παράγοντας *RX* συνήθως φέρει πολύ καλή αποχωρούσα ομάδα (πχ τριφθορομεθανοσουλφονικός εστέρας) λόγω της εξαιρετικά ασθενούς πυρηνοφιλικότητας του ακριδινικού αζώτου. Ο εστέρας της ακριδίνης προέρχεται από εστεροποίηση της κατάλληλης φαινόλης με το χλωρίδιο της 9-καρβοξυακριδίνης. Το καρβοξυλικό αυτό οξύ προέρχεται από την αλκαλική υδρόλυση – επανακυκλοποίηση μιας *N*-άρυλο υποκατεστημένης ισατίνης. Αυτή με τη σειρά της προέρχεται από την αντίδραση της κατάλληλης διαρυλαμίνης με οξάλυλο χλωρίδιο. Η διαρυλαμίνη, τέλος, προέρχεται συνήθως από μια αντίδραση αρωματικής αμίνωσης τύπου Buchwald-Hartwig, μεταξύ μιας ανιλίνης και ενός αρυλαλογονιδίου.<sup>62,63</sup>

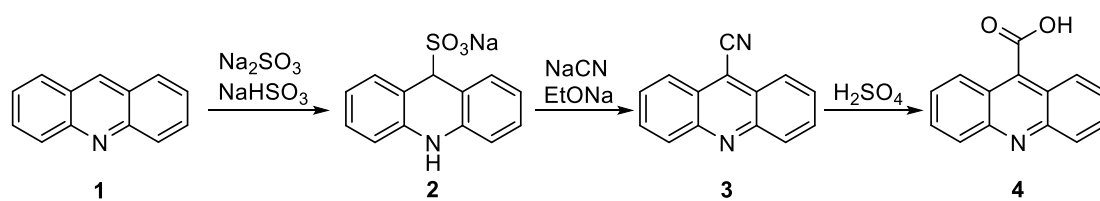
Σε ορισμένες περιπτώσεις που είναι επιθυμητός ένας ΑΕ μη υποκατεστημένος στο ακριδινικό τρικυκλικό σύστημα, η απλή 9-καρβοξυακριδίνη **4** έχει συντεθεί εναλλακτικά και με τη μέθοδο των Lehmstedt και Wirth<sup>64,65</sup> από την ακριδίνη **1** (Σχήμα 2). Συγκεκριμένα, η **1** ανάγεται από θειώδη άλατα προς τη θειώδη 9,10-διυδροακριδίνη **2**, η οποία με επίδραση κυανιούχου νατρίου δίνει την κυανοακριδίνη **3**. Η τελευταία υδρολύεται στο οξύ **4**. Και οι δύο μέθοδοι σύνθεσης της **4** (μέσω διαρυλαμίνης ή μέσω ακριδίνης) είναι αρκετά χρονοβόρες (αρκετά στάδια, επίπονες επεξεργασίες). Αυτό, σε συνδυασμό με το γεγονός ότι τα τελευταία χρόνια η **4** είναι εμπορικά διαθέσιμη και με σχετικά χαμηλό κόστος, έχει οδηγήσει τους περισσότερους ερευνητές σε



αυτή τη λύση.



Σχήμα 1. Γενικό ρετροσυνθετικό σχήμα παραγώγων εστέρων ακριδινίου.



Σχήμα 2. Σύνθεση του καρβοξυακριδινίου 4 με τη μέθοδο Lehmstedt – Wirth.

### 3.3 Εστέρες Ακριδινίου και Χημειοφωταύγεια

#### 3.3.1 Γενικά

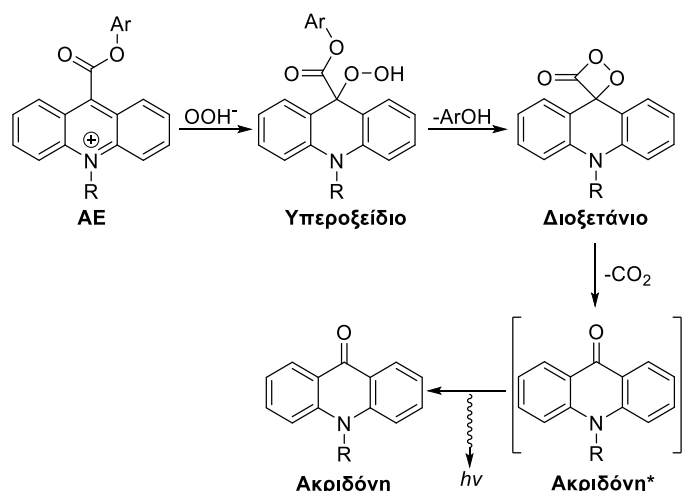
Η χημειοφωταύγεια των εστέρων ακριδινίου περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον F. McCarra τη δεκαετία του 1960 και εισήχθηκε στη διαγνωστική ιατρική είκοσι χρόνια αργότερα. Σε αντίθεση με τα κοινά υδραζίδια φθαλικού οξέος, δεν απαιτούν τη χρήση ενός καταλύτη για την ενεργοποίηση της χημειοφωταύγειας (CL) και γενικά χαρακτηρίζονται από υψηλή προσωρινή ένταση εκπομπής - έως και 100 φορές υψηλότερη από τη λουμινόλη. Οι κβαντικές αποδόσεις των περισσότερων ΑΕ είναι στο επίπεδο του 2% σε υδατικά περιβάλλοντα, οι οποίες μπορούν να θεωρηθούν υψηλές τιμές σε σύγκριση με τη λουμινόλη ( $\Phi_{CL} = 1,23\%$ , το πρότυπο που χρησιμοποιείται σε προσδιορισμούς φωτεινότητας) καθιστώντας δυνατή την άμεση

ποσοτικοποίηση της αναλυόμενης ουσίας σε επίπεδα συγκεντρώσεων femtoM ή και χαμηλότερα.<sup>66</sup> Μεταξύ των διαφόρων επισημάνσεων χημειοφωταύγειας που χρησιμοποιούνται σήμερα στις διαγνωστικές δοκιμασίες, οι εστέρες ακριδινίου είναι ιδιαίτερα ελκυστικοί, επειδή παρουσιάζουν υψηλές κβαντικές αποδόσεις με όρια ανίχνευσης στην περιοχή atto-mol ( $10^{-18}$  mol). Επιπλέον, επιδεικνύουν γρήγορη εκπομπή φωτός με απλούς χημικούς εκκινήτες, και το μικρό τους μέγεθος επιτρέπει απλά πρωτόκολλα σήμανσης πρωτεϊνών και νουκλεϊκών οξέων.<sup>67</sup> Σήμερα, οι εφαρμογές των ΑΕ καλύπτουν μια ευρεία περιοχή της ανοσοδιαγνωστικής, όπου χρησιμοποιούνται σε μια χημικά δεσμευμένη μορφή (CL labels) καθώς και σε περιβαλλοντικές αναλύσεις, όπου χρησιμοποιούνται σε ελεύθερη μορφή (CL indicators). Επισημάνσεις (labels) και δείκτες (indicators) ακριδινίου χρησιμοποιούνται, μεταξύ άλλων, για την ανίχνευση της ανθρώπινης αλφα-φετοπρωτεΐνης ή αλλιώς της α-εμβρουσπρωτεΐνης (AFP), των γοναδοτροπινών, της θυρεοειδοτρόπου ορμόνης (TSH), ιών, δεικτών καρκινικών κυττάρων, νουκλεϊκών οξέων, οξειδωτικών ενζύμων (π.χ. οξειδάση της γλυκόζης, υπεροξειδάση αρμορακίας που βρίσκεται στις ρίζες του χρένου) και σε άλλες σημαντικές βιοαναλύσεις. Οι ακριδινικοί εστέρες χρησιμοποιούνται επίσης για τον προσδιορισμό ιχνών περιβαλλοντικών ρύπων, όπως υπεροξειδίου του υδρογόνου, ή υποκατεστημένες φαινόλες. Πρόσφατα, άλατα ακριδινίου, χρησιμοποιήθηκαν σε κλινικές δοκιμασίες που πραγματοποιήθηκαν με τη βοήθεια αυτοματοποιημένων κλινικών αναλυτών στην τακτική παρακολούθηση της ποιότητας του αίματος για την παρουσία HBC, HCV, HIV-1, HIV-2 και άλλων ιών. Άλλα παραδείγματα διαγνωστικών μεθόδων που αναπτύχθηκαν με τη συμμετοχή των ΑΕ είναι δοκιμασίες συγγένειας που εφαρμόζονται στην έρευνα των νουκλεϊκών οξέων (επίσης σε αυτοματοποιημένες παραλλαγές).<sup>66</sup>

### **3.3.2 Μηχανισμός Χημειοφωταύγειας Εστέρων Ακριδινίου**

Η χημειοφωταύγεια των εστέρων ακριδινίου προκαλείται από την αντίδραση οξειδωσής τους με το ανιόν υπεροξειδίου σε αλκαλικό περιβάλλον. Σχηματικά (Σχήμα 3), ο ΑΕ αντιδρά με το ανιόν υπεροξειδίου προς το υπεροξειδίου της ακριδίνης, το οποίο μετατρέπεται στο διοξετάνιο με μια ενδομοριακή υποκατάσταση του φαινολικού δακτυλίου. Στη συνέχεια το υψηλής ενέργειας διοξετάνιο διασπάται προς τη διεγερμένη ακριδόνη, η οποία αποδιεγείρεται

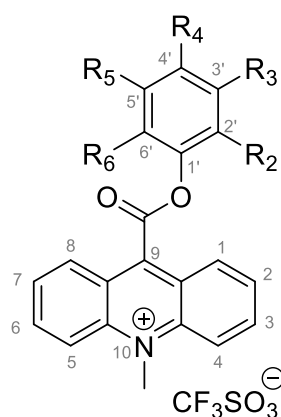
στη θεμελιώδη κατάσταση εκπέμποντας φως.



Σχήμα 3. Μηχανισμός χημειοφωταύγειας των εστέρων ακριδινίου.

Η παραπάνω σχηματική περιγραφή είναι βέβαια ένα μέρος των πιθανών χημικών διεργασιών που μπορεί να συμβαίνουν κατά την αντίδραση οξειδωσης των ΑΕ, αφού πέρα από τις διεργασίες που παράγουν φως, μπορεί να λαμβάνουν χώρα και σκοτεινές διεργασίες (που δεν παράγουν φως, πχ υδρόλυση), οι οποίες είναι ανταγωνιστικές ως προς την επιθυμητή φωταυγάζουσα πορεία. Έχει δειχθεί ότι οι υποκαταστάτες που μπορεί να φέρει ένας ΑΕ επηρεάζουν σημαντικά τη  $\Phi_{CL}$ . Επομένως, ο σχεδιασμός των ΑΕ που πρόκειται να χρησιμοποιηθούν ως χημειοφωταυγείς δείκτες πρέπει να εγγυάται την αυξημένη αντοχή τους στην υδρόλυση και την ισχυρή δυναμική εκπομπής φωτός. Για να εξεταστούν βαθύτερα οι φυσικοχημικές και φωτογόνες ιδιότητες των ΑΕ η ομάδα του Krzyżmiński συνέθεσε μια σειρά χημειοφωταυγών ακριδινικών αλάτων με τη γενική δομή **5** που φαίνεται στην Εικόνα 5, τα οποία διαφέρουν ως προς τη θέση, αλλά και τις ηλεκτρονιακές και στερεοχημικές ιδιότητες του υποκαταστάτη που εισάγεται στον φαινολικό δακτύλιο, και μελέτησε με θεωρητικούς υπολογισμούς τις πιθανές πορείες των αντιδράσεων οξειδωσής τους από το ανιόν υπεροξειδίου.

ΕΝΩΣΗ	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>
<b>5α</b>	F	H	H	H	H
<b>5β</b>	Cl	H	H	H	H
<b>5γ</b>	Br	H	H	H	H
<b>5δ</b>	I	H	H	H	H
<b>5ε</b>	CF <sub>3</sub>	H	H	H	H



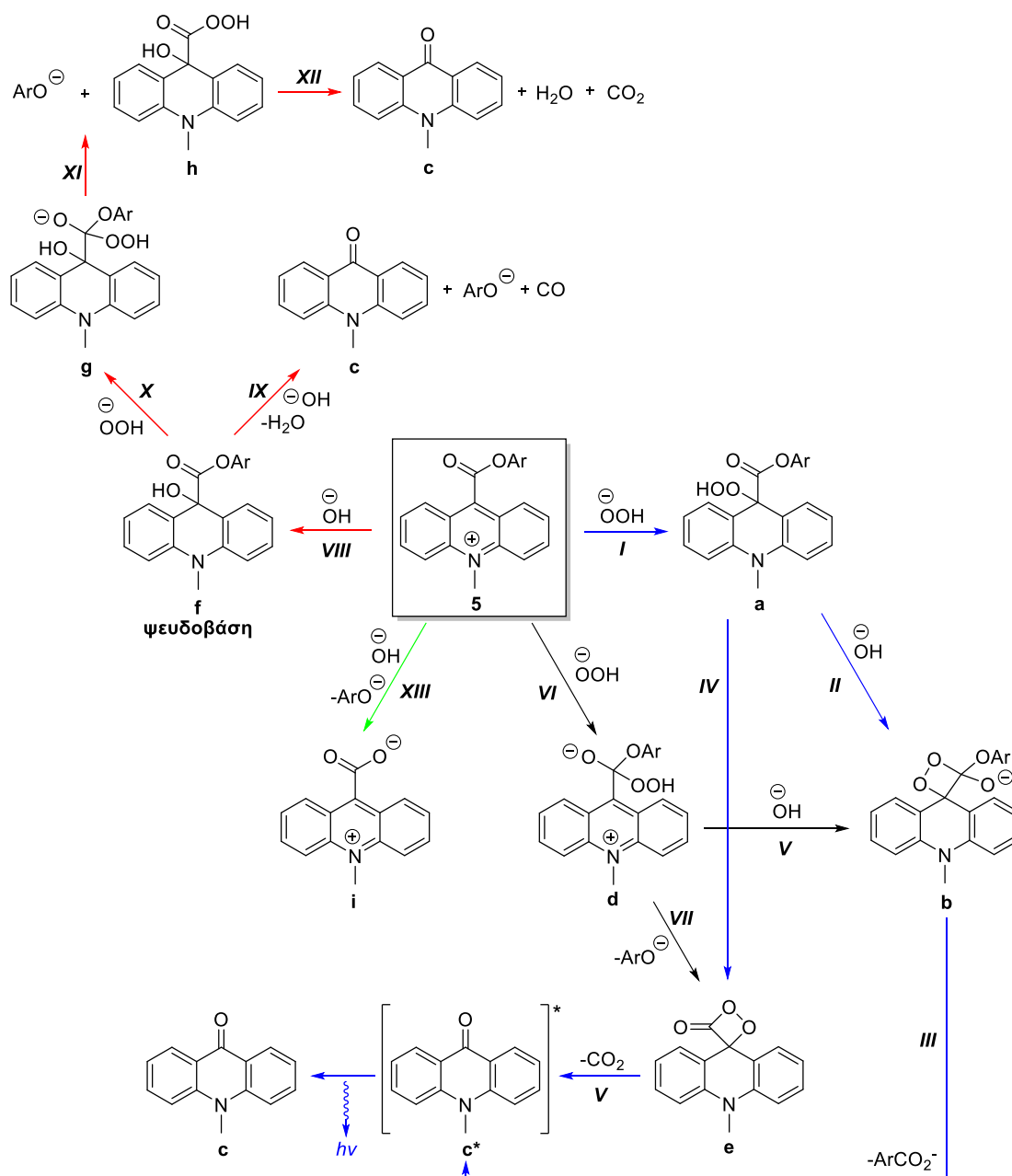
<b>5στ</b>	NO <sub>2</sub>	H	H	H	H
<b>5ζ</b>	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	H
<b>5η</b>	F	H	H	H	F
<b>5θ</b>	Cl	H	H	H	Cl
<b>5ι</b>	Br	H	H	H	Br
<b>5κ</b>	I	H	H	H	I
<b>5λ</b>	H	F	H	H	H
<b>5μ</b>	H	H	F	H	H
<b>5ν</b>	H	H	Cl	H	H
<b>5ο</b>	H	H	Br	H	H

**Εικόνα 5.** Γενικός συντακτικός τύπος των ΑΕ παραγώγων **5a-5o**.

Το πρωταρχικό στάδιο της αντίδρασης (οξειδωσης) είτε με  $\text{OOH}^-$  ή  $\text{OH}^-$  καθορίζεται κυρίως από τη θέση του ηλεκτρονιόφιλου κέντρου στο κατιόν. Σύμφωνα με τη θεωρία μοριακών τροχιακών, το χαμηλότερης ενέργειας μη-κατειλημμένο μοριακό τροχιακό (Lowest Unoccupied Molecular Orbital - LUMO) καθορίζει το μοριακό κέντρο το οποίο είναι ευαίσθητο σε πυρηνόφιλη προσβολή.<sup>66</sup> Ένας γραμμικός συνδυασμός ατομικών τροχιακών ή LCAO (Linear Combination of Atomic Orbitals) είναι μια κβαντική υπέρθεση ατομικών τροχιακών και μια τεχνική για τον υπολογισμό μοριακών τροχιακών στην κβαντική χημεία. Στην κβαντική μηχανική, οι ηλεκτρονιακές διαμορφώσεις των ατόμων περιγράφονται με τη μορφή κυματοσυναρτήσεων – εξίσωση Schrödinger. Στις χημικές αντιδράσεις, οι κυματοσυναρτήσεις τροποποιούνται, δηλαδή η ηλεκτρονιακή πυκνότητα αλλάζει, ανάλογα με τον τύπο των ατόμων που συμμετέχουν στον χημικό δεσμό. Η τιμή του συντελεστή LCAO του  $p_z$  ατομικού τροχιακού στο LUMO των κατιόντων 10-μεθυλο-9-(φαινοξυκαρβόνυλο)ακριδινίου **5** είναι 10 φορές υψηλότερη στον ενδοκυκλικό άνθρακα C-9 απ' ό τι στον καρβονυλικό (0,3 και 0,03 αντίστοιχα). Αυτό δηλώνει ότι ο άνθρακας C-9 και όχι ο καρβονυλικός σηματοδοτεί τη θέση της πρωταρχικής πυρηνόφιλης προσβολής, παρά το γεγονός ότι το μερικό φορτίο Mulliken στον C-9 είναι μικρότερο σε σχέση με τον καρβονυλικό άνθρακα (0,09 και 0,52 αντίστοιχα).

Έτσι, κατά την αντίδραση των εστέρων ακριδινίου με υπεροξειδίο του υδρογόνου σε αλκαλικά διαλύματα, μπορούν να ακολουθηθούν τρία γενικά "μονοπάτια": το "φωτεινό μονοπάτι" (χημειοφωταυγειογόνο) και άλλα δύο "σκοτεινά μονοπάτια" (μη-χημειοφωταυγειογόνα), αυτό της υδρόλυσης και αυτό του σχηματισμού "ψευδοβάσης". Το Σχήμα 4 παρουσιάζει τις πιθανές

διεργασίες που ευθύνονται για τη χημειοφωταύγεια (μπλέ και μαύρο "μονοπάτι", βήματα I-VII), το σχηματισμό της ψευδοβάσης f και τις μη-χημειοφωταυγειογόνες διεργασίες που ακολουθούν μετά το σχηματισμό της (κόκκινο "μονοπάτι", βήματα VIII-XII) καθώς και το "μονοπάτι" της υδρόλυσης προς το σχηματισμό της ένωσης i (πράσινο "μονοπάτι", βήμα XIII).



**Σχήμα 4.** Τρία γενικά "μονοπάτια" κατά την οξείδωση των ΑΕ: Το "φωτεινό μονοπάτι" (μπλέ) και άλλα δύο "σκοτεινά μονοπάτια", της υδρόλυσης (πράσινο) και της ψευδοβάσης (κόκκινο).

Το μπλέ "μονοπάτι" (χημειοφωταυγειογόνο), περιγράφει την

πυρηνόφιλη προσβολή του ανιόντος υδροϋπεροξειδίου ( $\text{HOO}^-$ ) στον άνθρακα C-9 της **5** (βήμα I) σχηματίζοντας το προϊόν προσθήκης **a** το οποίο με επίδραση  $\text{HO}^-$  (βήμα II) υφίσταται κυκλοποίηση σε ένα ενδιάμεσο διοξετάνης (**b**), και με απομάκρυνση του φαινυλο ανθρακικού ανιόντος προκύπτει η ηλεκτρονιακά διεγερμένη 10-μεθυλο-9-ακριδόνη (**c\***, βήμα III), η οποία αποδιεγειρόμενη εκπέμπει ακτινοβολία. Εναλλακτικά, το προϊόν προσθήκης **a** αποβάλλει το φαινόξυ ανιόν προς το ενδιάμεσο διοξετανόνης (**e**, βήμα IV), το οποίο δίνει τη διεγερμένη ακριδόνη (**c**, βήμα V) με αποβολή διοξειδίου του άνθρακα ( $\text{CO}_2$ ). Οι δύο πιθανές οδοί (βήματα II, III και IV, V) εξετάστηκαν με θεωρητικούς υπολογισμούς για τις ενώσεις **5α**, **5ε**, **5στ**, **5ζ**, και **5ι**. Τα θεωρητικά θερμοδυναμικά δεδομένα (ενθαλπία ( $\Delta H^\circ$ ) και ελεύθερη ενέργεια Gibbs ( $\Delta G^\circ$ )) έδειξαν ότι και τα δύο "μονοπάτια" είναι πιθανά. Τα βήματα IV-V είναι θερμοδυναμικά προτιμότερα για τις ενώσεις **5στ** και **5ι**, ενώ τα II-III είναι περισσότερο ευνοούμενα για τις ενώσεις **5α**, **5ε**, **5ζ**. Τα προβλεπόμενα ενεργειακά φράγματα (ελεύθερη ενέργεια ενεργοποίησης) για τα στάδια III και V είναι παρόμοια στην υδατική φάση. Επίσης, η ενέργεια που απελευθερώνεται από τα στάδια III και V υπερβαίνει την ενέργεια που είναι απαραίτητη για να προκαλέσει ηλεκτρονιακή διέγερση της 10-μεθυλο-9-ακριδόνης **c** η οποία είναι  $88.2 \text{ kcal mol}^{-1}$ .

Το κόκκινο "μονοπάτι" περιγράφει την προσβολή του  $\text{HO}^-$  στον άνθρακα C(9) του **5**, σχηματίζοντας την αντίστοιχη "ψευδοβάση" (**f**, βήμα VIII). Με περαιτέρω επίδραση  $\text{HO}^-$  αποχωρεί το φαινόξυ ανιόν καθώς και μονοξειδίο του άνθρακα (βήμα IX), σχηματίζοντας τη μη διεγερμένη 10-μεθυλο-9-ακριδόνη **c**. Εναλλακτικά, μέσω της προσβολής  $\text{HOO}^-$  στον καρβονυλικό άνθρακα της ψευδοβάσης **f** (βήμα X), προκύπτει το ενδιάμεσο **g** (βήμα XI), το οποίο οδηγεί και πάλι στη μη διεγερμένη ακριδόνη **c** μετά από αποβολή φαινοξειδίου (βήμα XII), διοξειδίου του άνθρακα και νερού (βήμα XIII). Τα θεωρητικά προβλεπόμενα θερμοδυναμικά δεδομένα έδειξαν ότι όλα αυτά τα "μονοπάτια" είναι εφικτά για όλες τις υπό εξέταση ενώσεις. Η ενθαλπία (αέρια φάση) και η ελεύθερη ενέργεια Gibbs (αέρια και υδατική φάση), υπολογισμένες σε  $T=298.15 \text{ K}$  και σε κανονική πίεση, υποδεικνύουν ότι η προσθήκη του  $\text{HO}^-$  στον άνθρακα C-9 (βήμα VIII) προτιμάται θερμοδυναμικά έναντι της προσθήκης  $\text{HOO}^-$  στο ίδιο άτομο άνθρακα (βήμα I). Επομένως, η πιθανή οδός

της αντίδρασης εξαρτάται αποκλειστικά από κινητικούς παράγοντες. Επιβεβαιώνεται, με θεωρητικούς υπολογισμούς, ότι τα ενεργειακά φράγματα που χαρακτηρίζουν την προσβολή είτε του  $\text{HO}^-$  είτε του  $\text{HO}^-$  στον άνθρακα C-9 (βήματα I και VIII, αντίστοιχα) καθώς και η προσθήκη του  $\text{HO}^-$  στον καρβονυλικό άνθρακα της "ψευδοβάσης" ακολουθούμενη από την απελευθέρωση του φαινόξυ ανιόντος (βήματα X και XI, αντίστοιχα) είναι αμελητέα. Εν τούτοις, υπάρχουν υπολογίσιμα ενεργειακά φράγματα για τα τελικά στάδια IX και XII. Στην περίπτωση του σταδίου IX, το φράγμα ενεργοποίησης κυμαίνεται μεταξύ  $5\text{-}14 \text{ kcal mol}^{-1}$ , συγκρίσιμο με το ενεργειακό φράγμα που χαρακτηρίζει το στάδιο III ( $12\text{-}14 \text{ kcal mol}^{-1}$ ). Παρ' όλα αυτά, η απελευθερούμενη ενέργεια για το στάδιο αυτό (στάδιο IX) είναι πολύ μικρή για να διεγείρει το παράγωγο **c** (η ελεύθερη ενέργεια Gibbs στην υδατική φάση κυμαίνεται μεταξύ  $-30$  και  $-47 \text{ kcal mol}^{-1}$ ). Οι συνολικές τιμές των θερμοδυναμικών λειτουργιών για το στάδιο XII ( $-118.6 \text{ kcal mol}^{-1}$ ) είναι αρκετά υψηλές ώστε να εξασφαλίσουν την ηλεκτρονιακή διέγερση της παραγόμενης **c**, αλλά το φράγμα ενεργοποίησης που χαρακτηρίζει αυτή τη διεργασία ( $26.2 \text{ kcal mol}^{-1}$ ) είναι σημαντικά υψηλότερο από αυτό του σταδίου III ή IX. Για τους παραπάνω λόγους, το μονοπάτι β δεν μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία χημειοφωταύγειας ("dark pathway"), καθώς σε κάθε περίπτωση παράγεται η ακριδόνη **c** στη βασική της ηλεκτρονιακή κατάσταση.

Το πράσινο "μονοπάτι" εξηγεί το σχηματισμό του παραγώγου **i** (βήμα XIII) με την προσβολή του  $\text{HO}^-$  στον καρβονυλικό άνθρακα της **5** ("μονοπάτι" υδρόλυσης). Ωστόσο, η προσθήκη του  $\text{HO}^-$  στον άνθρακα C-9 (κόκκινο "μονοπάτι") είναι πιθανότερη για τους λόγους που αναφέρθηκαν παραπάνω. Το καρβοξυλικό ανιόν **i** σχηματίζεται κατά την προσβολή του  $\text{HO}^-$  στον άνθρακα του καρβονυλίου με αποβολή του υποκατεστημένου φαινόξυ ανιόντος (βήμα XIII). Τα θεωρητικά θερμοδυναμικά δεδομένα υποδεικνύουν ότι το στάδιο αυτό (βήμα XIII) είναι εφικτό για όλες τις υπό διερεύνηση ενώσεις (**5α**, **5ε**, **5στ**, **5ζ**, και **5ι**). Η αλκαλική υδρόλυση των ακριδινικών εστέρων συμβαίνει με τον σχηματισμό ενός τετραεδρικού ενδιάμεσου, το οποίο αμέσως διασπάται στο προϊόν **i**. Το ενεργειακό φράγμα που χαρακτηρίζει την προσθήκη του  $\text{HO}^-$  στον καρβονυλικό άνθρακα προς το σχηματισμό μιας τετραεδρικής μεταβατικής κατάστασης είναι αμελητέο ( $0.6 \text{ kcal mol}^{-1}$ , μέση τιμή

για **5ε, 5στ, 5ι**) (Σχήμα 4)<sup>66</sup>

Η διεγερμένη ακριδόνη **c** θα μπορούσε επίσης να σχηματιστεί μέσω του σταδίου VI (μαύρο "μονοπάτι"), ωστόσο το "μονοπάτι" αυτό είναι λιγότερο πιθανό από το στάδιο I δεδομένου ότι δεν ευνοείται θερμοδυναμικά (το  $\Delta G^\circ$  για το στάδιο VI είναι μικρότερο από το στάδιο I, απόλυτη τιμή). Επιπρόσθετα, η πιθανότητα πυρηνόφιλης υποκατάστασης του  $\text{HOO}^-$  στον καρβονυλικό άνθρακα είναι μικρότερη σε σχέση με την πυρηνόφιλη προσβολή στον C-9 σύμφωνα με τη θεωρία μοριακών τροχιακών.

Συμπερασματικά, η απόδοση της χημειοφωταύγειας είναι αποτέλεσμα του ανταγωνισμού της πυρηνόφιλης υποκατάστασης είτε από  $\text{HOO}^-$  είτε  $\text{HO}^-$  στο ηλεκτρονιόφιλο κέντρο C-9 και της ικανότητας των ενδιάμεσων προϊόντων να σχηματίζουν την ηλεκτρονικά διεγερμένη 10-μεθυλο-9-ακριδόνη.<sup>68</sup>

### **3.3.3 Παράγοντες που επηρεάζουν τη χημειοφωταύγεια των ΑΕ.**

#### 3.3.3.1 Ηλεκτρονικές επιδράσεις υποκαταστατών

Οι ΑΕ εμφανίζουν σχετικά υψηλές αποδόσεις χημειοφωταύγειας και αυτό οφείλεται κυρίως στην πολύ εύκολα αποχωρούσα ομάδα της φαινόλης. Χημική τροποποίηση του φαινολικού δακτυλίου μπορεί να επηρεάσει την αντίδραση χημειοφωταύγειας με διάφορους τρόπους. Η αλλαγή του  $\text{pK}_a$  της αποχωρούσας ομάδας επηρεάζει άμεσα την κβαντική απόδοση και την ταχύτητα της χημειοφωταύγειας.<sup>69</sup> Η προσθήκη ομάδων-δεκτών ηλεκτρονίων στο φαινολικό δακτύλιο (π.χ. δι-*o*-Br-, *o*-F-, δι-*o*-F-, δι-*o*-Cl-, και δι-*m*-F-AE) μειώνουν το  $\text{pK}_a$  της αντίστοιχης φαινόλης, καθιστώντας την ευκολότερα αποχωρούσα ομάδα, αύξανοντας έτσι την κβαντική απόδοση και τον ρυθμό αντίδρασης της χημειοφωταύγειας. Αντίθετα, η προσθήκη ομάδων-δωτών ηλεκτρονίων (π.χ. *o*- $\text{OCH}_3$ -, δι-*o*- $\text{OCH}_3$ -, *o*-Me-, και δι-*o*-Me-AE) αυξάνει το  $\text{pK}_a$  της αντίστοιχης φαινόλης, καθιστώντας την δυσκολότερα αποχωρούσα ομάδα, με αποτέλεσμα να μειώνεται η κβαντική απόδοση και ο ρυθμός της αντίδρασης. Οι υποκαταστάτες του ακριδινικού τρικυκλικού συστήματος επίσης μεταβάλλουν την ηλεκτρονική πυκνότητα επηρεάζοντας την αντίδραση χημειοφωταύγειας. Οι ομάδες-δέκτες ηλεκτρονίων πολώνουν το

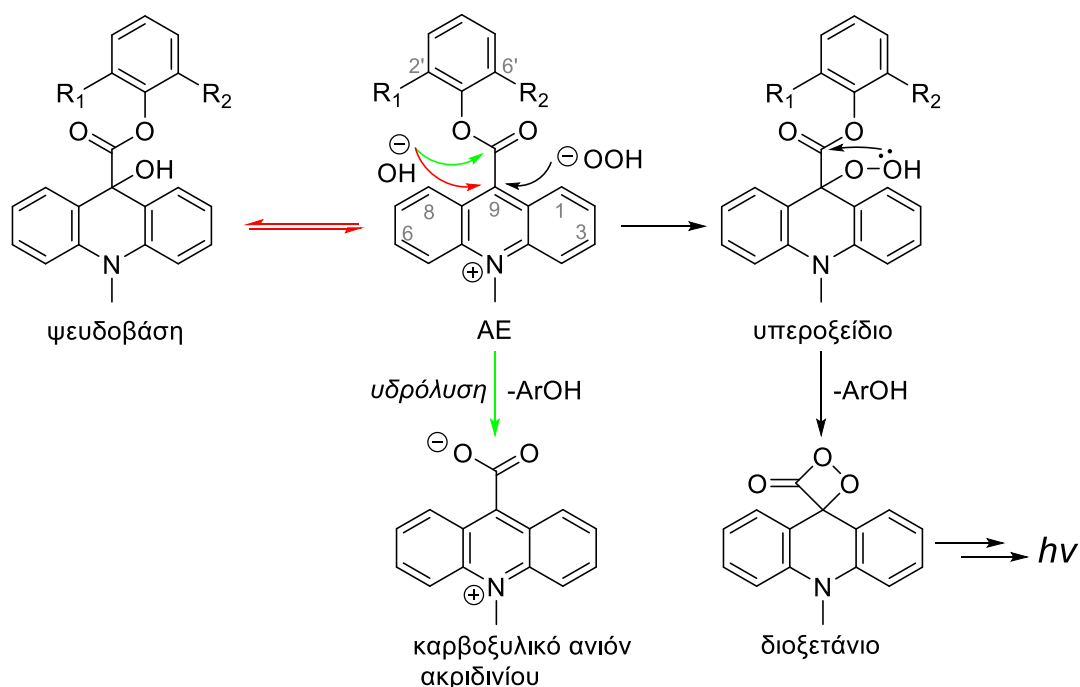


ηλεκτρονικό νέφος προς τον φαινολικό δακτύλιο, μειώνοντας την πυκνότητα φορτίου στη θέση C-9 του ακριδινικού δακτυλίου, με αποτέλεσμα την ταχύτερη αντίδραση με το πυρηνόφιλο  $\text{HOO}^-$  (έναρξη αντίδρασης χημειοφωταύγειας). Αντίθετα, ομάδες-δότες ηλεκτρονίων αυξάνουν την πυκνότητα φορτίου του άνθρακα C-9, επιβραδύνοντας έτσι τον ρυθμό της πυρηνόφιλης προσβολής. Υποκαταστάσεις και στους δύο δακτυλίους (ακριδινικός και φαινυλικός δακτύλιος) δίνουν μόρια των οποίων η ταχύτητα της αντίδρασης είναι αποτέλεσμα σύνθεσης της επίδρασης κάθε υποκαταστάτη ξεχωριστά.

### 3.3.3.2 Στερεοχημικές επιδράσεις υποκαταστατών

Η υποκατάσταση των ΑΕ δεν επηρεάζει μόνο την αντίδραση χημειοφωταύγειας αλλά και την αντίδραση υδρόλυσης. Και οι δύο αντιδράσεις περιλαμβάνουν πυρηνόφιλη προσβολή και ως αποτέλεσμα τη διάσπαση του εστερικού δεσμού. Μπορούμε επομένως να θεωρήσουμε ότι η χημική τροποποίηση επηρεάζει με παρόμοιο τρόπο την υδρόλυση και τη χημειοφωταύγεια. Η υπόθεση αυτή ισχύει σε ορισμένες και όχι σε όλες τις περιπτώσεις. Για παράδειγμα, η προσθήκη ομάδων-δοτών ηλεκτρονίων στον φαινυλικό δακτύλιο (*o*- $\text{OCH}_3$ -, *o*-Me-, *di*-*o*-Me-AE) επιβραδύνει την εκπομπή φωτός και την υδρόλυση των ΑΕ στον ίδιο βαθμό. Προσθήκη ομάδων-δοτών ηλεκτρονίων στον ακριδινικό δακτύλιο (1-Me-, 2,7-*di*-Me-, 4,5-*di*-Me-AE) επιβραδύνει επίσης, τόσο την εκπομπή φωτός, όσο και την υδρόλυση, αλλά όχι στον ίδιο βαθμό. Το μέγεθος της επίδρασης ήταν απροσδόκητα μεγαλύτερο για την υδρόλυση από ό,τι ήταν για την εκπομπή φωτός (π.χ. η διάρκεια εκπομπής φωτός για το παράγωγο 2,7-*di*-Me-AE ήταν 33% μεγαλύτερη σε σχέση με το μη παραγωγοποιημένο, ενώ ο ρυθμός υδρόλυσης ήταν 8 φορές πιο αργός). Αντίθετα, η προσθήκη ομάδων-δεκτών ηλεκτρονίων στον φαινολικό δακτύλιο (*o*-F-AE) επιταχύνει σε μεγάλο βαθμό την εκπομπή φωτός αλλά επιταχύνει και την υδρόλυση. Η προσθήκη δύο ογκωδών ομάδων-δεκτών ηλεκτρονίων σε όρθο θέση (*di*-*o*-Br-AE) επιτάχυνε και πάλι την εκπομπή φωτός, αλλά στην περίπτωση αυτή, η υδρόλυση επιβραδύνθηκε περίπου τέσσερις φορές. Προφανώς, οι στερεοχημικοί παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο στην αντίδραση υδρόλυσης των ΑΕ. Προς απόδειξη της υπόθεσης αυτής, η προσθήκη δύο μεθυλομάδων σε όρθο θέση του φαινυλικού δακτυλίου (*di*-*o*-Me-AE) επιβραδύνει την υδρόλυση πολύ περισσότερο από ότι

η προσθήκη δύο μεθυλομάδων στις θέσεις 2 και 7, 4 και 5, ακόμα και 1 και 8 του ακριδινικού δακτυλίου. Αυτό υποδηλώνει ότι το αποτέλεσμα της στερεοχημικής παρεμπόδισης είναι λιγότερο έντονο στην αντίδραση χημειοφωταύγειας από ότι είναι στην αντίδραση υδρόλυσης. Αυτό γίνεται κατανοητό, επειδή το δραστικό κέντρο στην αντίδραση χημειοφωταύγειας (προσβολή του  $\text{HOO}^\ominus$ ) είναι πιο μακριά από τις ομάδες παρεμπόδισης σε σχέση με το δραστικό κέντρο στην αντίδραση υδρόλυσης (Σχήμα 5). Συνοψίζοντας, η δομική τροποποίηση στις θέσεις 2- και 6- του φαινολικού δακτυλίου προσδίδει μεγαλύτερη σταθερότητα όσον αφορά την υδρόλυση του εστέρα από ότι τα μη υποκατεστημένα ανάλογα, ανεξάρτητα από την ηλεκτρονιακή φύση των υποκαταστατών. Ως εκ τούτου είναι δυνατόν να εντοπιστούν ζεύγη ΑΕ τα οποία διαθέτουν διαφορετικά χαρακτηριστικά χημειοφωταύγειας αλλά να παρουσιάζουν παρόμοια χαρακτηριστικά υδρόλυσης. Παραδείγματα αυτών των ζευγών περιλαμβάνουν τα 1-Me-δι-*m*-F- και 1-Me-AE, δι-*o*-Br- και 2,7-δι-Me-AE καθώς και το ζεύγος *o*-F- με το μη παραγωγισμένο παράγωγο ΑΕ.<sup>62,69</sup>

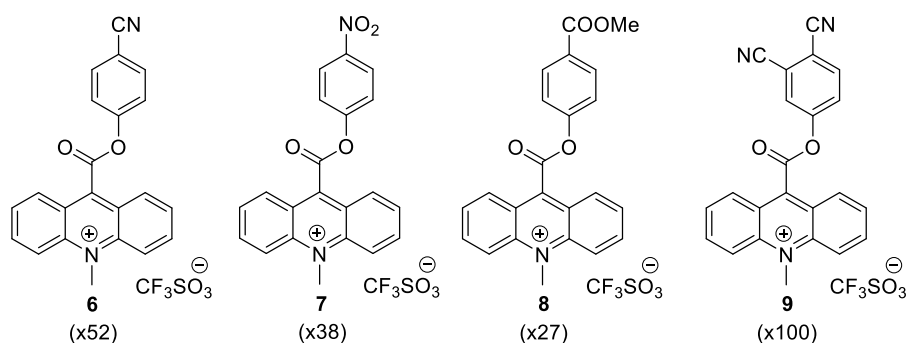


Σχήμα 5. Οι σημαντικότερες διεργασίες που επηρεάζουν τη χημειοφωταύγεια των ΑΕ.

### 3.3.3.3 Οξύτητα διαλύματος

Ένας άλλος παράγοντας που πρέπει να ληφθεί υπόψη είναι το γεγονός ότι σε υδατικά διαλύματα οι ακριδινικοί εστέρες βρίσκονται σε ισορροπία με τις αντίστοιχες ψευδοβάσεις. Ο σχηματισμός τους ευνοείται σε υψηλές τιμές pH. Οι ψευδοβάσεις δεν χημειοφωταυγούν και η καταστολή τους οδηγεί σε αύξηση της έντασης CL.<sup>70</sup> Ο σχηματισμός τους περιορίζεται με προσθήκη περίσσειας οξέος στο σύστημα.<sup>65</sup> Με αυτό τον τρόπο, όμως, μειώνεται δραστικά και η χημειοφωταύγεια του AE, αφού οι αλκαλικές συνθήκες είναι απαραίτητες για την αντίδραση οξειδωσης με το υπεροξειδίο του υδρογόνου.

Ο Nakazono και οι συνεργάτες του συνέθεσαν και μελέτησαν μια σειρά παραγώγων AE, με σκοπό την διερεύνηση πιθανών δομικών χαρακτηριστικών που επιτρέπουν στους AE να φωταυγούν ισχυρά σε ουδέτερα ή ασθενώς αλκαλικά διαλύματα.<sup>70</sup> Έτσι, συντέθηκαν παράγωγα AE μέσω εστεροποίησης του ακριδινοκαρβονυλοχλωριδίου και διαφόρων υποκατεστημένων φαινολών, παρουσία Et<sub>3</sub>N, DMAP σε THF. Ο τριφθορομεθανοσουλφονικός μεθυλεστέρας χρησιμοποιήθηκε για τη Ν-Μεθυλίωση της ακριδίνης σε DCM. Η Φ<sub>CL</sub> κάθε παράγωγου μελετήθηκε σε τιμές pH 7, 8, 9 και 10. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η προσθήκη ομάδων-δεκτών ηλεκτρονίων στη 4-θέση του φαινολικού δακτυλίου ενισχύει δραστικά τη CL. Συγκεκριμένα, η εισαγωγή ισχυρών ηλεκτρονιοελκτικών ομάδων όπως κύανο, αλκοξυκαρβόνυλο και νίτρο στη 4-θέση του φαινολικού δακτυλίου (Εικόνα 6) αυξάνουν την ένταση της χημειοφωταύγειας, ενώ οι ηλεκτρονιοδοτικές ομάδες, μέθυλο και μεθόξυ, τη μειώνουν ως προς το μη υποκατεστημένο AE. Η επίδραση αυτή είναι ισχυρότερη σε ουδέτερα διαλύματα, όπου πχ στο 4,5-δικύανο παράγωγο **9**, η ένταση της χημειοφωταύγειας σε pH=7 είναι περίπου εκατό φορές ισχυρότερη από αυτή του μη υποκατεστημένου παραγώγου. Η ένταση συσχετίζεται προφανώς με το pK<sub>a</sub> της αποχωρούσας φαινόλης.<sup>71</sup> Όταν ηλεκτρονιοελκτικές ομάδες εισάγονται στην πάρα θέση, το pK<sub>a</sub> της αποχωρούσας ομάδας μειώνεται και αυξάνεται η σχετική ένταση CL.



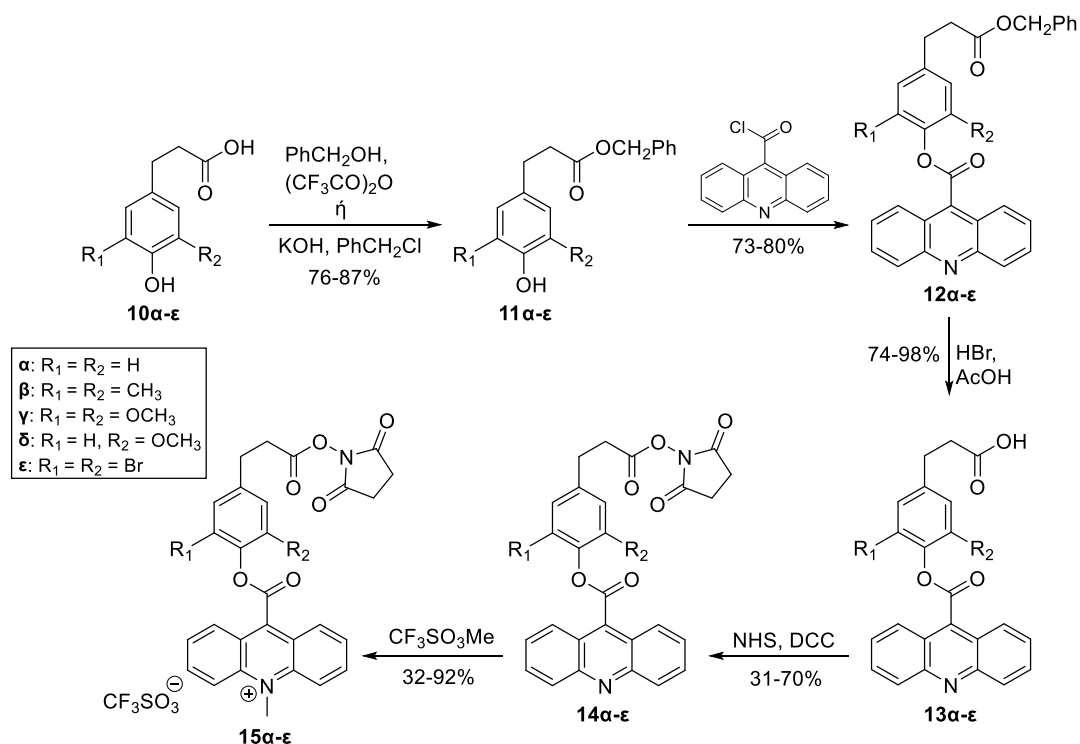
**Εικόνα 6.** Υποκατεστημένα παράγωγα ΑΕ με ισχυρή χημειοφωταύγεια σε ουδέτερα περιβάλλοντα. Σε παρένθεση η αύξηση έντασης της χημειοφωταύγειας σε σχέση με αυτή του μη υποκατεστημένου παραγώγου σε pH=7.

### 3.4 Σχεδιασμός και σύνθεση εστέρων ακριδινίου για βιολογικές εφαρμογές.

Οι περισσότερες αναφορές που περιγράφουν τις εφαρμογές των εστέρων ακριδινίου σε ανοσοπροσδιορισμούς και προσδιορισμούς νουκλεϊκών οξέων χρησιμοποιούν λειτουργικές ομάδες όπως οι *N*-υδροξυσουκινιμιδικό (NHS) εστέρες, συνδεδεμένοι είτε στον φαινυλικό δακτύλιο, είτε στο άζωτο του ακριδινικού δακτυλίου των ΑΕ, για να καταστεί δυνατή η επισήμανση αντισωμάτων και ανιχνευτών DNA.<sup>67</sup> Έτσι, τα παράγωγα ΑΕ συνδέονται ομοιοπολικώς με πρωτεΐνες ή κατάλληλα τροποποιημένα συνθετικά ολιγονουκλεοτίδια, που φέρουν πρωτοταγείς αλειφατικές αμινο ομάδες.

Η ομάδα του Κ. Smith συνέθεσε μια σειρά από NHS τροποποιημένα ΑΕ παράγωγα, με στόχο τη δημιουργία επισημάνσεων με βελτιωμένη σταθερότητα και απόδοση χημειοφωταύγειας.<sup>72</sup> Τα παράγωγα **15α-ε** συντέθηκαν όπως φαίνεται στο Σχήμα 6. Αρχικά, οι καρβοξυ-φαινόλες **10** προστατεύονται και ακολουθεί σύζευξη με το 9-ακριδινιοκαρβόνυλο χλωρίδιο προς τους εστέρες ακριδίνης **12**. Ακολουθεί αποπροστασία, NHS εστεροποίηση και τέλος *N*-μεθυλίωση προς τα επιθυμητά ΑΕ παράγωγα **15**. Θεωρώντας ότι το καθοριστικό στάδιο της ταχύτητας αντίδρασης περιλαμβάνει τη διάσπαση της φαινόξυ ομάδας, οι ομάδες-δέκτες ηλεκτρονίων (-Br) καθιστούν τον δακτύλιο ευκολότερα αποχωρούσα ομάδα, ενώ οι ομάδες-δότες ηλεκτρονίων (-CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub>) τον καθιστούν σχετικά ασθενή αποχωρούσα ομάδα. Επομένως, για ηλεκτρονιακούς λόγους, η διάρκεια ζωής της

χημειοφωταύγειας των ενώσεων αναμένεται να είναι **15β>γ>δ>α>ε**. Πράγματι, οι τιμές pKa της 2,6-διβρωμοφαινόλης (6.4), φαινόλης (9.89), 2-μεθοξυφαινόλης (9.98), 2,6-διμεθοξυφαινόλης (10.2) και της 2,6-διμεθυλοφαινόλης (10.63) είναι ακριβώς αντίστροφες από την ταχύτητα αντίδρασης χημειοφωταύγειας των ενώσεων **15ε**, **α**, **δ**, **γ** και **β**. Συμπερασματικά, το δίβρωμο παράγωγο **15ε**, όπου η σταθερότητα στην υδρόλυση αυξάνεται και παράλληλα η αντίδραση χημειοφωταύγειας επιταχύνεται, κρίνεται ως το καταλληλότερο παράγωγο για χρήση ως μορίου σήμανσης σε πολλές εφαρμογές. Το δίβρωμο παράγωγο **15ε** εκπέμπει ταχύτατα, ενώ το διμέθυλο **15β** και το διμεθόξυ **15γ** λάμπουν αργά, ως αποτέλεσμα της σχετικής δυσκολίας απομάκρυνσης των αντίστοιχων ανιόντων φαινοξειδίου.<sup>72</sup>

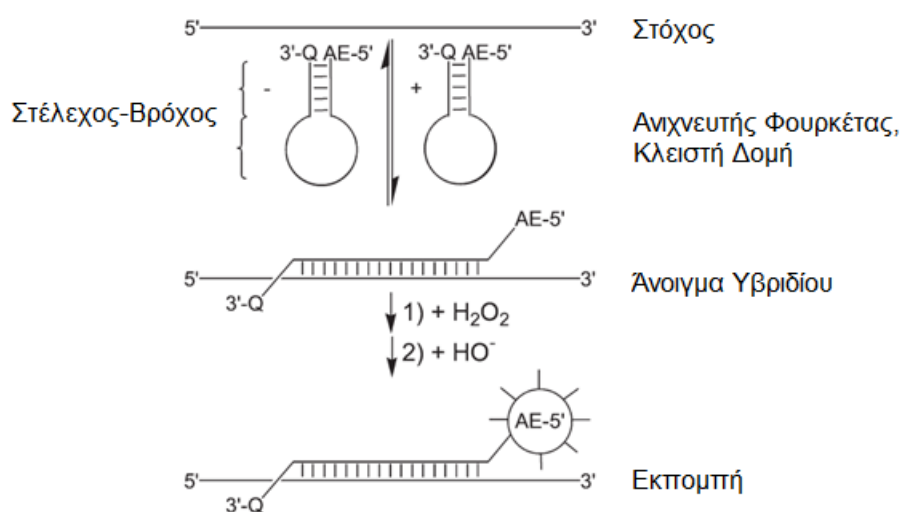


**Σχήμα 6.** Σύνθεση των εστέρων ακριδινίου **15** ως μορίων σήμανσης.

Οι πολικές αρωματικές ενώσεις σε ένα υδατικό περιβάλλον μπορούν να εμπλακούν σε ανεπιθύμητες αλληλεπιδράσεις (υδροφοβικές, συσσωμάτωσης, ιοντικές). Συνεπώς, η σύνδεση της ετικέτας AE με το νουκλεϊκό οξύ θα μπορούσε να μειώσει την απόδοση της χημειοφωταύγειας και να επιβραδύνει την ταχύτητα της αντίδρασης. Επίσης, μπορεί να προκύψουν λιγότερο

ανιχνεύσιμα παράγωγα παρόμοια με την ψευδοβάση (ενυδατωμένο ΑΕ). Παρεμβολή του αρωματικού συστήματος του ΑΕ με το ζεύγος βάσεων του συμπλέγματος της διπλής έλικας του DNA ή ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση μεταξύ του θετικού φορτίου του ΑΕ και του αρνητικού φορτίου της φωσφορικής ομάδας της αλληλουχίας-στόχου θα μπορούσε να οδηγήσει σε ανεπιθύμητες και μη ειδικές αλληλεπιδράσεις. Για να επιτευχθεί ειδική υβριδοποίηση των επισημασμένων με ΑΕ συνθετικών ολιγονουκλεοτιδίων με τους στόχους DNA είναι απαραίτητη η αποτελεσματική απομάκρυνση του μη επισημασμένου ολιγονουκλεοτιδίου.

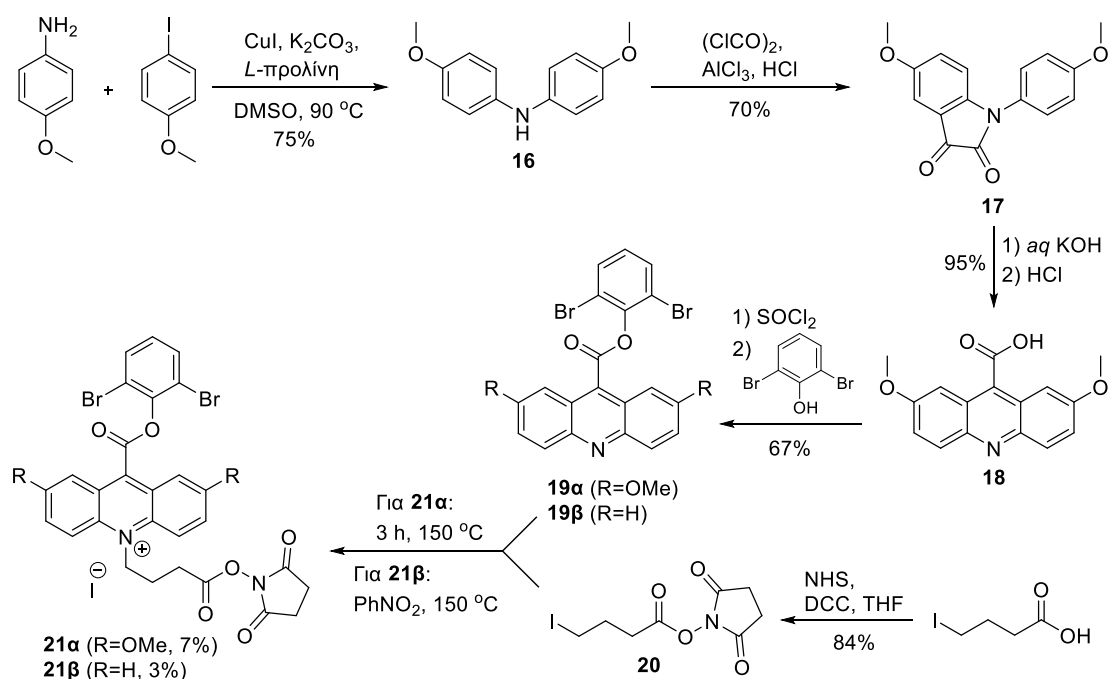
Πρόσφατα, αναπτύχθηκε ένας νέος τύπος ανιχνευτή, αυτός του σήματος χημειοφωταύγειας από υβριδοποίηση (hybridization-induced chemiluminescent signal, HICS).<sup>63,73</sup> Οι ανιχνευτές τέτοιου τύπου, περιλαμβάνουν ένα τμήμα ΑΕ συζευγμένο μέσω της θέσης N(10) του ακριδινίου σε μια θέση κοντά στο ένα άκρο ενός στελέχους-βρόχου (stem-loop) ολιγονουκλεοτιδίου, γνωστό και ως δομή φουρκέτας (hairpin), και ένα τμήμα απόσβεσης (Q, quenching) συνδεδεμένο κοντά στο απέναντι άκρο της φουρκέτας (Εικόνα 7). Κατά την υβριδοποίηση της περιοχής του ανιχνευτή HICS με τον συμπληρωματικό του στόχο, η δομή της φουρκέτας διασπάται, διαχωρίζοντας έτσι τη χημειοφωταυγειογόνο ένωση από τον αποσβέστη (quencher) και επιτρέποντας την ανίχνευση φωτός. Ως εκ τούτου, η περίσσεια ανιχνευτών δεν επηρεάζει την ανάλυση και δεν απαιτείται διαχωρισμός (φυσικός ή χημικός) από τους υβριδοποιημένους ανιχνευτές.



**Εικόνα 7.** Χημειοφωταυγειογόνος ανιχνευτής τύπου φουρκέτας, HICS, με συμπληρωματική αλληλουχία στόχου.

Τα αντιδραστήρια σήμανσης **21α,β** (Σχήμα 7) χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή των HICS ανιχνευτών. Τα αντιδραστήρια αυτά έχουν κάποια ιδιαίτερα χαρακτηριστικά. Πρώτον, οδηγούν σε *N*-συνδεδεμένη πρόσδεση (*N*-linked) στα ολιγονουκλεοτίδια και όχι μέσω της φαινολικής αποχωρούσας ομάδας (*C*-linked). Όταν ενεργοποιείται η χημειοφωταύγεια, το φως εκπέμπεται από τη διεγερμένη *N*-αλκυλακριδόνη που παραμένει συνδεδεμένη με το ολιγονουκλεοτίδιο. Έτσι, απουσία στόχου, η δομή στελέχους-βρόχου αναγκάζει τον πομπό και τον αποσβέστη να παραμένουν σε εγγύτητα επιτρέποντας την εκπομπή ελάχιστης ενέργειας (ως ανιχνεύσιμο φως) κατά την αντίδραση χημειοφωταύγειας. Δεύτερον, περιέχουν ογκώδεις υποκαταστάτες που είναι δέκτες ηλεκτρονίων (-Br) και βοηθούν στην προστασία του εστέρα από την εύκολη υδρόλυση καθώς επίσης μειώνουν και το  $pK_a$  της φαινόλης (αποχωρούσα ομάδα) βοηθώντας τον σχηματισμό της *N*-αλκυλακριδόνης υπό ήπιες αλκαλικές συνθήκες διατηρώντας παράλληλα τον υβριδισμό των νουκλεϊκών οξέων.<sup>63</sup> Οι συνθετικές πορείες των αντιδραστηριών **21α**<sup>63</sup> και **21β**<sup>73</sup> παρουσιάζονται στο Σχήμα 7. Το ακριδινικό οξύ **18** συντίθεται ξεκινώντας από 4-μεθοξυανιλίνη και 4-ιοδοανισόλη με τη μεθοδολογία που περιγράφηκε στο Κεφάλαιο 3.2. Στη συνέχεια, το **18** (όπως και το απλό ακριδινικό οξύ) εστεροποιείται με τη διβρωμοφαινόλη προς τους εστέρες ακριδινών **19α,β**. Έπειτα, η αλκυλίωση επιτυγχάνεται με το ιωδίδιο **20**,

σε υψηλή θερμοκρασία με ή χωρίς τη χρήση διαλύτη, προς τους ΑΕ **21α,β**.



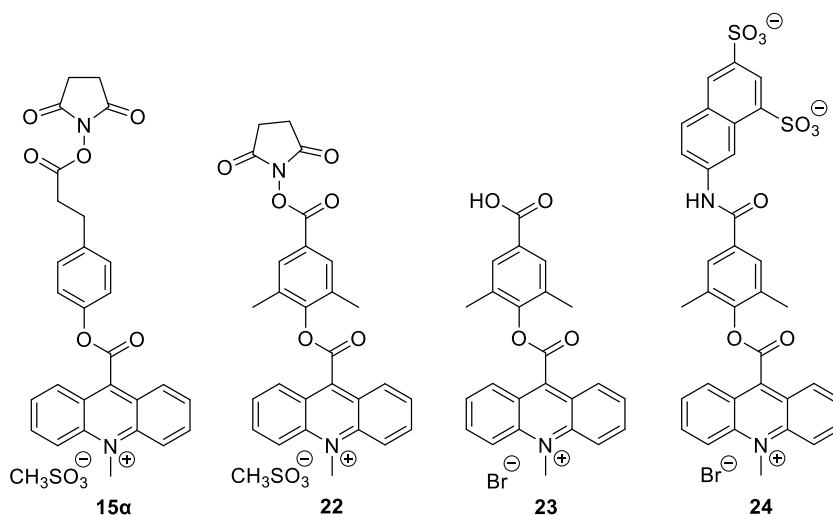
**Σχήμα 7.** Σύνθεση των αντιδραστηρίων σήμανσης **21α,β**.

Οι εστέρες ακριδινίου επιλέγονται συχνά για ενζυματικούς ανοσοπροσδιορισμούς.<sup>74,75</sup> Αντιδρούν αυθόρμητα με πρωτεΐνες (π.χ μονοκλωνικά αντισώματα) για να δώσουν σταθερά, ανοσοδραστικά παράγωγα με υψηλή ειδική δραστηριότητα χημειοφωταύγειας. Η διεγερμένη *N*-μεθυλακριδόνη που παράγεται κατά την αντίδραση είναι ανθεκτική στη σβέση πριν την ακτινοβολία. Για παράδειγμα, το παράγωγο **15α** (Εικόνα 8, η σύνθεση του οποίου περιγράφεται στο Σχήμα 6) είναι ικανό για ομοιοπολική σύζευξη, υπό ήπιες συνθήκες, με αντισώματα και ως εκ τούτου οι επισημασμένες αυτές πρωτεΐνες μπορούν να ανιχνευτούν σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις από ότι οι αντίστοιχες ραδιοεπισημασμένες, οι οποίες ανιχνεύονται μέσω της τεχνικής ραδιοανοσοχημικού προσδιορισμού (RIA).<sup>65</sup>

Η χρήση των *N*-σουκινιμιδικών εστέρων στη χημεία των πρωτεϊνών είναι πολύ καλά μελετημένη.<sup>76</sup> Αντιδρούν γρήγορα και εύκολα με πρωτοταγείς και δευτεροταγείς αμίνες (των πρωτεϊνών-αντισώματα) προς σχηματισμό σταθερού αμιδικού δεσμού. Ως εκ τούτου, το παράγωγο **15α** μπορεί να συζευχθεί με οποιαδήποτε από τις προαναφερθείσες αμίνες, σχηματίζοντας το επισημασμένο κάθε φορά προϊόν σύζευξης ακριδινίου. Κατά συνέπεια,



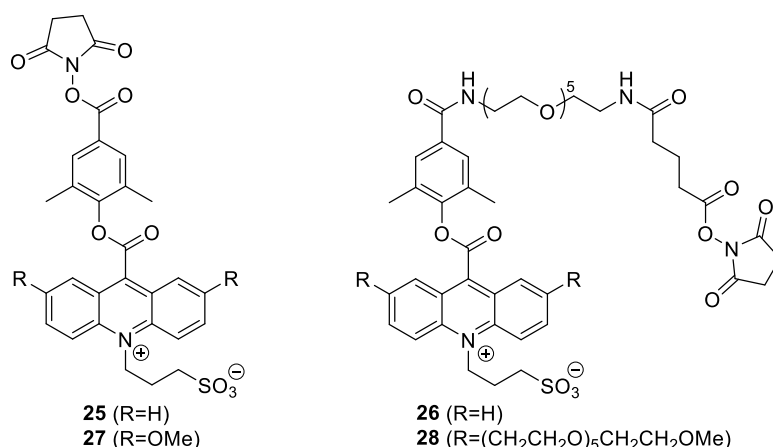
μπορούν να μετρηθούν τα επίπεδα της  $\alpha_1$ -φετοπρωτεΐνης (AFP),<sup>65</sup> θυροτροπίνης (TSH),<sup>77</sup> θυροξίνης (T<sub>4</sub>)<sup>78,79</sup> και διαφόρων άλλων πολυπεπτιδίων μέσω του μη-ισοτοπικού ανοσοπροσδιορισμού, χρησιμοποιώντας επισημασμένα αντισώματα ακριδινικού εστέρα της εκάστοτε προσδιοριζόμενης ουσίας.<sup>80</sup> Το παράγωγο **22** χρησιμοποιείται και αυτό στη σύζευξη με τα διάφορα αντισώματα. Είναι σταθερότερο από το **15α** σε υψηλότερες θερμοκρασίες και σε ουδέτερο pH, για αυτό και διατηρεί πλήρως την ικανότητα χημειοφωταύγειας του για μεγάλο χρονικό διάστημα. Οι ενώσεις **23** και το **24** χρησιμοποιούνται σε μια διαφορετική καινοτόμα μέθοδο ανοσοχημικού προσδιορισμού (Εικόνα 8). Εγκλωβίζονται σε λιποσώματα τα οποία στην επιφάνεια τους υπάρχουν ήδη συνδεδεμένα τα αντισώματα, και δρουν ως ιχνηθέτες για τον προσδιορισμό και την παρακολούθηση διαφόρων πρωτεϊνών.<sup>81</sup>



**Εικόνα 8.** Δομές ακριδινικών εστέρων προς χρήση σε βιολογικές εφαρμογές.

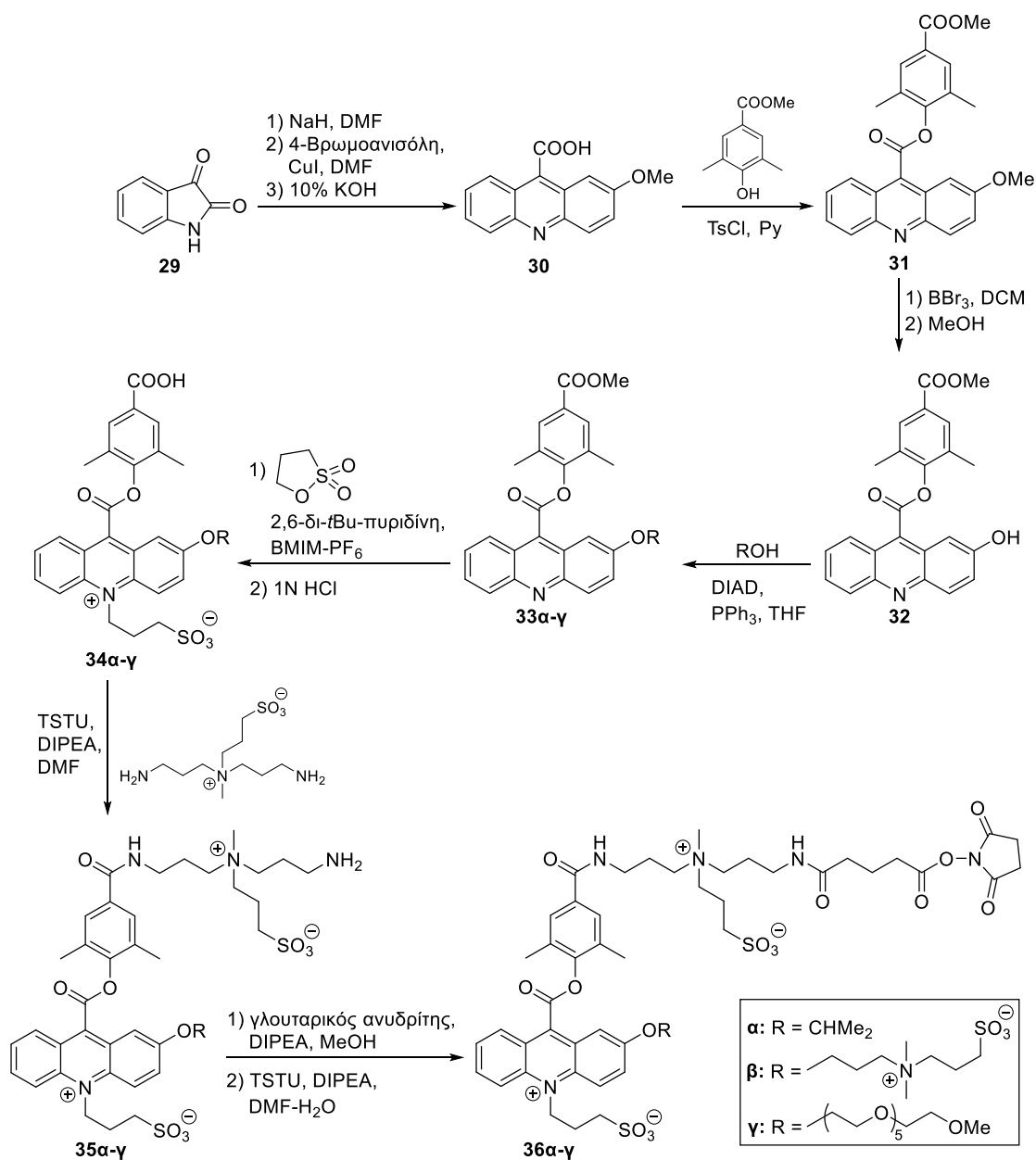
Ο Natrajan και οι συνεργάτες του το 2010 προσπάθησαν να ενισχύσουν την ευαισθησία του ανοσοπροσδιορισμού χρησιμοποιώντας τους ακριδινικούς εστέρες **25-28**, (Εικόνα 9). Απέδειξαν ότι η προσθήκη ηλεκτρονιοδοτικών αλκόξυ ομάδων στον C-2 και C-7 του ακριδινικού δακτυλίου αυξάνουν την απόδοση του φωτός. Επιπλέον, η μελέτη τους έδειξε ότι η χρήση υδρόφιλων ομάδων όπως η εξα(αιθυλενο)γλυκόλη και *N*-σουλφοπυρολυλο ομάδα, δημιουργούν σταθερές σημάνσεις ακριδινικών εστέρων. Τέτοια παράγωγα βελτιώνουν την ευαισθησία της μεθόδου και χρησιμοποιούνται σε

αυτοματοποιημένα συστήματα διαφόρων ανοσοχημικών προσδιορισμών.<sup>67</sup>



**Εικόνα 9.** Δομές ακριδινικών εστέρων που χρησιμοποιούνται για σήμανση σε αυτοματοποιημένα ανοσοχημικά συστήματα.

Όπως προαναφέρθηκε, η εκπομπή φωτός των ΑΕ προκαλείται από αλκαλικό υπεροξειδίο παρουσία κατιοντικών επιφανειοδραστικών ουσιών. Οι επιφανειοδραστικές αυτές ουσίες επιταχύνουν και αυξάνουν τη συνολική απόδοση φωτός επιτρέποντας υψηλή και βελτιωμένη ευαισθησία στους αυτοματοποιημένους ανοσοπροσδιορισμούς. Μέχρι το 2012, καμιά μελέτη δεν είχε διερευνήσει πως οι δομικές αλλαγές στον ακριδινικό δακτύλιο θα μπορούσαν να επηρεάσουν την επίδραση των τασιενεργών ουσιών. Ο Natrajan, και πάλι, με την ερευνητική του ομάδα, συνέθεσαν και μελέτησαν τις ιδιότητες τριών νέων αλκόξυ-υποκατεστημένων ακριδινικών εστέρων (**36α-γ**, Σχήμα 8) όπου η φύση της αλκόξυ ομάδας, στον ακριδινικό δακτύλιο ήταν διαφορετική (υδρόφιλη ή υδρόφοβη).



**Σχήμα 8.** Συνθετική πορεία των σουλφοβεταίνο υποκατεστημένων εστέρων ακριδινίου **36**.

Μεταξύ των τριών αυτών παραγώγων, το παράγωγο **36α**, με την ισοπροπυλοξυ ομάδα στον ακριδινικό δακτύλιο και τον συνδέτη σουλφοβεταΐνη στον φαινολικό εστέρα, παρουσιάζει ικανοποιητική σταθερότητα χημειοφωταύγειας, σχετικά χαμηλή μη-ειδική πρόσδεση, γρήγορη εκπομπή φωτός και υψηλή κβαντική απόδοση.<sup>82</sup> Η σύνθεση των παραγώγων αυτών ξεκινάει από την αρυλίωση της ισατίνης **29**, ακολουθούμενη από ισομερίωση σε αλκαλικές συνθήκες προς το μεθόξυ υποκατεστημένο ακριδινικό οξύ **30**. Ακολουθεί εστεροποίηση και

αποπροστασία προς τον εστέρα ακριδίνης **32**. Η αιθερική ομάδα εισάγεται με μια αντίδραση Mitsunobu μεταξύ της φαινόλης **32** και της κατάλληλης αλκοόλης προς τις ακριδίνες **33α-γ**. *N*-αλκυλίωση με την 1,3-προπάνιο σουλτόνη, ακολουθούμενη από υδρόλυση του μεθυλεστέρα δίνει τους εστέρες ακριδινίου **34α-γ**. Έπειτα, σύζευξη με τη σουλφοβεταΐνη δίνει τους άμινο υποκατεστημένους εστέρες ακριδινίου **35α-γ**. Τέλος, εισάγεται ο NHS εστέρας μετά από αντίδραση με γλουταρικό ανυδρίτη (σχηματισμός οξέος) και TSTU, δίνοντας τα τελικά παράγωγα **36α-γ**.

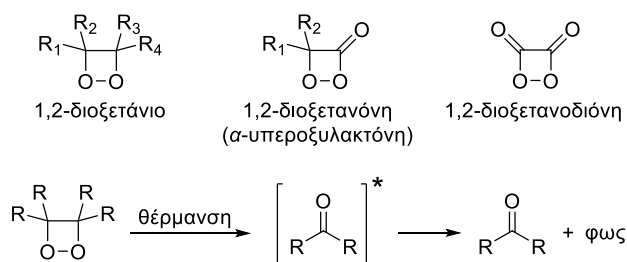
## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

### ΧΗΜΕΙΑ ΤΩΝ 1,2-ΔΙΟΞΕΤΑΝΙΩΝ

#### 4.1 Γενικά

Στο προηγούμενο κεφάλαιο καταδείχθηκε ότι η χημειοφωταύγεια των εστέρων ακριδινίου κατά την οξειδωσή τους οφείλεται στον σχηματισμό ενός ενδιάμεσου παραγώγου διοξετανίου. Αυτό διασπάται προς τη διεγερμένη ακριδόνη, η οποία αποδιεγειρόμενη εκπέμπει φως. Σε αυτό το κεφάλαιο θα παρουσιαστεί εν συντομία η χημεία αυτών των ενδιάμεσων διοξετανίων.

Μεταξύ των κυκλικών υπεροξειδίων με τετραμελείς δακτυλίους, τρεις πιθανοί τύποι είναι γνωστοί στη βιβλιογραφία: 1,2-διοξετάνια, 1,2-διοξετανόνες ή α-υπεροξυλακτόνες και η 1,2-διοξετανοδιόνη, όλα παράγωγα του συστήματος 1,2-διοξακυκλοβουτανίου (Σχήμα 9).<sup>83</sup> Λόγω της θερμικής τους αστάθειας, είναι αρκετά δύσκολο να απομονωθούν και να χαρακτηριστούν. Το πρώτο παράγωγο 1,2-διοξετανίου παρασκευάστηκε για πρώτη φορά από την ομάδα των Korceky και Mumford<sup>84</sup> ενώ το πρώτο παράγωγο 1,2-διοξετανόνης από τους Adam και Liu.<sup>85</sup> Όσον αφορά τις 1,2-διοξετανοδιόνες, παρόλο που έχουν παρασκευαστεί<sup>86</sup> και απομονωθεί,<sup>87</sup> μέχρι και σήμερα είναι δύσκολος ο πλήρης χαρακτηρισμός τους. Η πιο χαρακτηριστική συμπεριφορά αυτών των τετραμελών δακτυλίων είναι παραγωγή χημειοφωταύγειας που συνοδεύει τη θερμική τους αποσύνθεση. Ηλεκτρονιακές διεγερμένες ενώσεις καρβονυλίου παράγονται κατά την αποσύνθεση αυτών των μορίων "υψηλής ενέργειας", των οποίων η αποδιέγερση οδηγεί σε εκπομπή φωτός.<sup>88</sup> Μηχανιστικές μελέτες έδειξαν ότι υπάρχουν πολλά κοινά με το φαινόμενο της βιοφωταύγειας.<sup>89</sup>



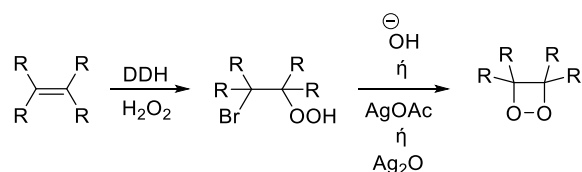
Σχήμα 9. 4-μελή κυκλικά υπεροξειδία και χημειοφωταύγεια.

## 4.2 Σύνθεση των 4-μελών κυκλικών υπεροξειδίων

### 4.2.1 1,2-Διοξετάνια

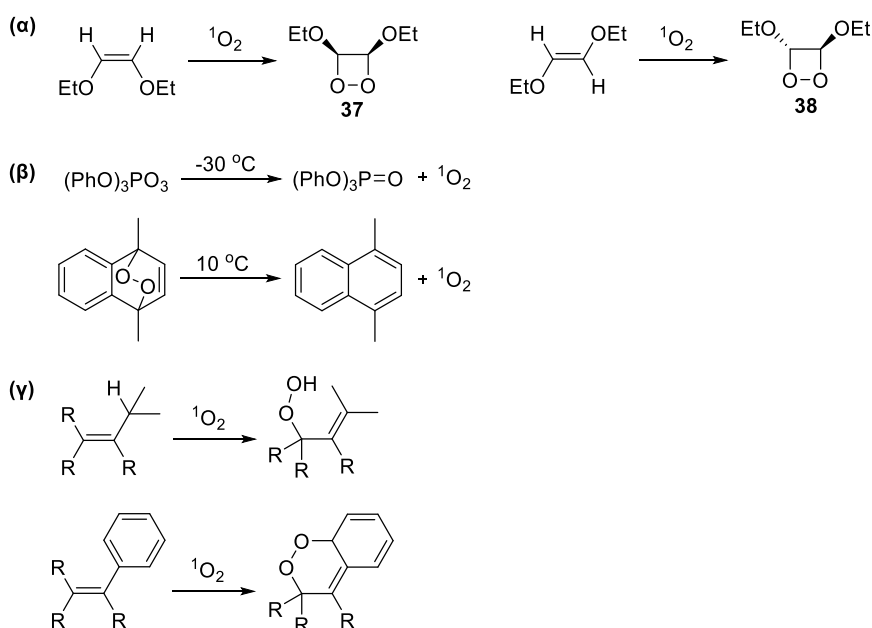
Η αφυδραλογόνωση των β-αλογονοϋδροϋπεροξειδίων αποτελεί την κλασσική μέθοδο σύνθεσης σταθερών τετραμελών κυκλικών υπεροξειδίων και αναπτύχθηκε από τον Korecky και τους συνεργάτες του (Σχήμα 10). Η μέθοδος Korecky, όπως αναφέρεται, είναι ιστορικής σημασίας δεδομένου ότι οδήγησε στην σύνθεση και στον χαρακτηρισμό του πρώτου σταθερού παράγωγου, τριμεθυλο-1,2-διοξετανίου.<sup>84,90</sup> Η αποχωρούσα ομάδα είναι συνήθως το ανιόν βρωμίου αλλά σε μεμονωμένες περιπτώσεις έχουν χρησιμοποιηθεί επίσης χλωρίδια και ιωδιδια. Τα βρωμοϋδροϋπεροξειδια είναι άμεσα διαθέσιμα με βρωμίωση των κατάλληλων αλκενίων χρησιμοποιώντας την 1,3-διβρωμο-5,5-διμεθυλο-υδαντοΐνη (DDH) ως πηγή του Br<sup>+</sup>, παρουσία πυκνού (85-95%) υπεροξειδίου του υδρογόνου. Άλλες πηγές βρωμίου, π.χ. N-βρωμοσουλφονικό οξύ (NBS), μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν. Για πρωτοταγή και δευτεροταγή βρωμίδια απαιτείται βασική κατάλυση ενώ για τριτοταγή βρωμίδια ο οξικός άργυρος ή το οξειδιο του αργύρου είναι πιο αποτελεσματικοί καταλύτες κυκλοποίησης. Η απουσία ιόντων αργύρου κατά την αφυδραλογόνωση τριτοταγών υποστρωμάτων μπορεί να προκαλέσει παράπλευρες αντιδράσεις, όπως ο σχηματισμός αλλυλικών υδροϋπεροξειδίων. Η απόσπαση των ευαίσθητων διοξετανυλικών υδρογόνων (πρωτοταγή και δευτεροταγή υποστρώματα) υπό βασικές συνθήκες είναι πιθανώς ο λόγος για τις χαμηλές αποδόσεις. Λόγω του, εκ φύσεως, ασταθούς δεσμού του υπεροξειδίου η κυκλοποίηση πραγματοποιείται σε χαμηλές θερμοκρασίες (-30 °C μέχρι +10 °C), αλλά τα πιο σταθερά παράγωγα σχηματίζονται σε θερμοκρασία δωματίου (μέχρι 30 °C). Στην καταλυόμενη από ιόντα αργύρου κυκλοποίηση, διαλύτες όπως αλκάνια (πεντάνιο, εξάνιο, κυκλοεξάνιο) και αλκυλαλογονίδια (τετραχλωράνθρακας, διχλωρομεθάνιο, διφθοροδιχλωρομεθάνιο) ευνοούν την αντίδραση. Αντίθετα, στη βασικά καταλυόμενη κυκλοποίηση χρησιμοποιούνται πρωτικοί διαλύτες (νερό, μεθανόλη, αιθανόλη) καθώς και ετερογενή συστήματα διαλυτών (υδατική μεθανόλη σε πεντάνιο). Τα τελευταία έχουν σχεδιαστεί για να ελαχιστοποιήσουν την πιθανή αποσύνθεση του προϊόντος (υπό αλκαλικές

συνθήκες) μεταφέροντάς το μέσω εκχύλισης στη φάση του αλκανίου.<sup>88</sup>



**Σχήμα 10.** Σύνθεση διοξετανίων με τη Μέθοδο Korcecky.

Μια άλλη μέθοδος σύνθεσης 1,2-διοξετανίων είναι μέσω αντίδρασης με μονήρες οξυγόνο. Ηλεκτρονιακά πλούσιες ολεφίνες, ειδικά βινυλικοί αιθέρες,<sup>91</sup> θειοαλκυλο-υποκατεστημένες ολεφίνες<sup>92,93</sup> και εναμίνες<sup>94</sup> αντιδρούν με το οξυγόνο απλής κατάστασης για να δώσουν διοξετάνια (συν-προσθήκη). Τα πρώτα παράγωγα που παρασκευάστηκαν με αυτόν τον τρόπο ήταν τα *cis* και *trans* ισομερή **37** και **38**, αντίστοιχα (Σχήμα 11α). Το οξυγόνο απλής κατάστασης μπορεί να παραχθεί είτε μέσω φωτοευαισθητοποίησης είτε χημικά. Η πρώτη διαδικασία, η πιο πρακτική, επιτυγχάνεται με κατάλληλα συστήματα ευαισθητοποιητή-διαλύτη, όπως για παράδειγμα τετραφαινυλοπορφίνη (TPP) σε διχλωρομεθάνιο. Εξαιρετικές χημικές πηγές είναι το τριφαινυλοφωσφορώδες οζονίδιο και το ενδοϋπεροξειδίο του 1,4-διμεθυλοναφθαλινίου (συντίθενται και χρησιμοποιούνται *in situ*) (Σχήμα 11β). Αυτές οι πρόδρομες ενώσεις απελευθερώνουν οξυγόνο απλής κατάστασης σε επαρκώς χαμηλές θερμοκρασίες για την επιβίωση του προϊόντος διοξετανίου. Αντιδράσεις ενίου (υποστρώματα με αλλυλικά υδρογόνα) και [2+4] κυκλοπροσθήκη (υποστρώματα με αρωματικούς υποκαταστάτες) είναι μερικές από τις πιθανές παράπλευρες αντιδράσεις (Σχήμα 11γ).



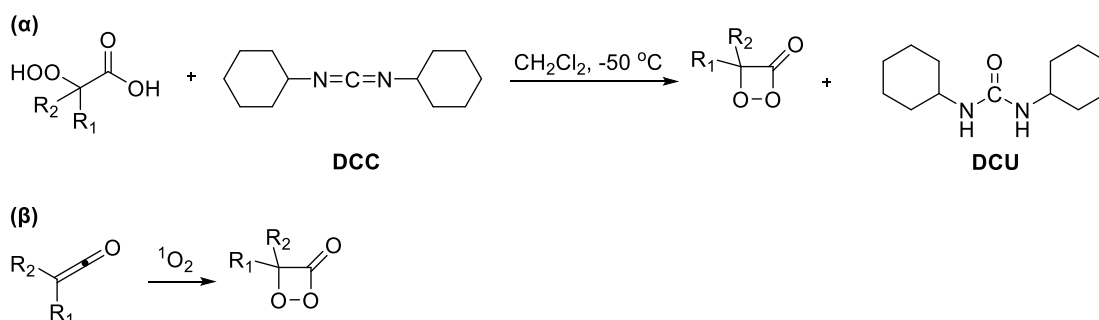
**Σχήμα 11.** (α) Σύνθεση των ισομερών **37** και **38**. (β) Παραγωγή οξυγόνου απλής κατάστασης με χημικό τρόπο. (γ) Πιθανές παράπλευρες αντιδράσεις κατά τη χρήση μονήρους οξυγόνου.

#### 4.2.2 α-υπεροξυλακτόνες

Οι α-υπεροξυλακτόνες συντίθενται με ενδομοριακή κυκλοποίηση-συμπύκνωση των α-υδροϋπερόξυ οξέων. Η γενική συνθετική πορεία της μεθόδου απεικονίζεται στο Σχήμα 12α.<sup>88</sup> Η επιλογή του δικυκλοεξυκαρβοδιϊμιδίου (DCC) ως ουδέτερου και ήπιου αφυδατικού είναι ιδιαίτερα σημαντική. Λόγω της ευαίσθητης φύσης των α-υπεροξυλακτονών καθώς και των α-υδροϋπερόξυ οξέων, το συζευκτικό μέσο πρέπει να μην έχει όξινες, βασικές, πυρηνόφιλες, ηλεκτρονιόφιλες και παραμαγνητικές ιδιότητες. Επιπλέον, το αντιδραστήριο πρέπει να αντιδρά σε χαμηλές θερμοκρασίες έτσι ώστε να μπορεί να πραγματοποιηθεί η κυκλοποίηση προκειμένου να αποφευχθεί η αποκαρβοξυλίωση του προϊόντος. Το DCC ξεχωρίζει και αποτελεί την καλύτερη λύση σε σύγκριση με άλλους παράγοντες αφυδάτωσης που είχαν χρησιμοποιηθεί με επιτυχία στην παρασκευή ευαίσθητων πεπτιδίων. Η δικυκλοεξυλουρία (DCU) που παράγεται, καταβυθίζεται ποσοτικά στις συνθήκες της αντίδρασης. Απόχυση με ταυτόχρονη απόσταξη ισορροπίας (flash distillation) του μίγματος σε χαμηλές θερμοκρασίες επιτρέπει τον διαχωρισμό του προϊόντος από τα αντιδρώντα και την DCU, δίνοντας έτσι καθαρά διαλύματα διάφορων παραγώγων α-υπεροξυλακτονών.



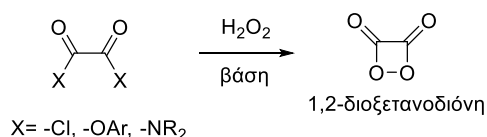
Μια άλλη μέθοδος για την παρασκευή των  $\alpha$ -υπεροξυλακτονών είναι μέσω οξυγόνωσης των κετενών με  $^1\text{O}_2$  (Σχήμα 12β). Οι κετένες είναι επιρρεπείς στην αυτοοξειδωση, για αυτό επιβάλλεται η χρήση χημικώς παραγόμενου μονήρους οξυγόνου.<sup>88,95</sup>



**Σχήμα 12.** Σύνθεση  $\alpha$ -υπεροξυλακτονών: (α) μέσω κυκλοποίησης  $\alpha$ -υδροϋπεροξυ οξέων με χρήση DCC. (β) από οξυγόνωση κετενών.

#### 4.2.3 1,2-διοξετανοδιόνη

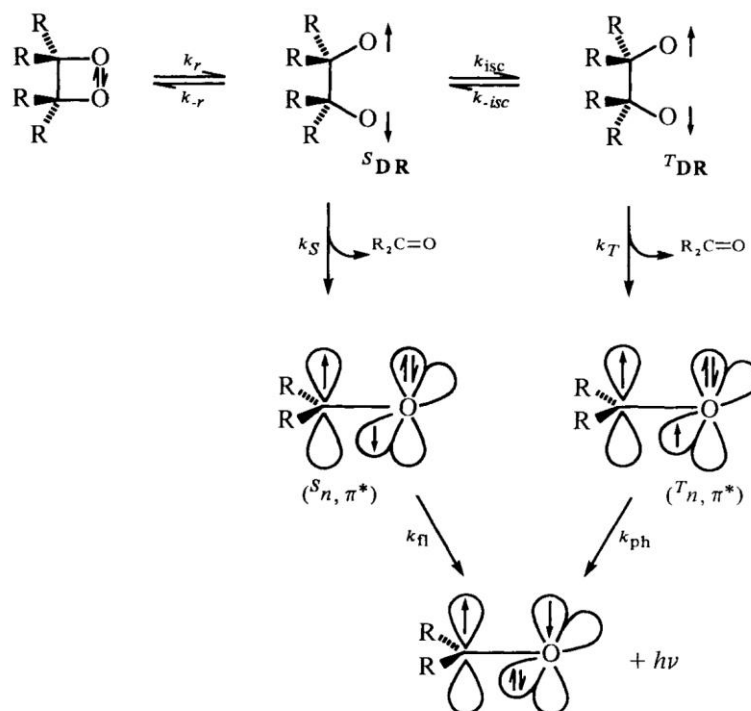
Κατεργασία οξαλυλοχλωριδίου με πυκνό  $\text{H}_2\text{O}_2$  υπό βασικές συνθήκες παρουσία κατάλληλων φθορίζουσων ουσιών οδηγεί σε έντονη χημειοφωταύγεια. Η παρατήρηση αυτή αποδείχθηκε επίσης και για άλλα οξάλυλο παράγωγα και ερμηνεύεται με την εμπλοκή της 1,2-διοξετανοδιόνης ως ενδιάμεσο (Σχήμα 13).<sup>83</sup> Παρά το γεγονός ότι αναφέρεται η απομόνωση του διμερούς διοξειδίου του άνθρακα,<sup>87</sup> δεν υπάρχουν φασματοσκοπικά δεδομένα που να επιβεβαιώνουν την ύπαρξη του.<sup>96</sup> Ακόμη και ο ισχυρισμός της ανίχνευσης του διμερές διοξειδίου του άνθρακα με φασματομετρία μάζας<sup>97</sup> αποδείχθηκε εσφαλμένος.<sup>98</sup> Ως εκ τούτου, εξακολουθεί να είναι αβέβαιο εάν η χημειοφωταύγεια αυτού του συστήματος οφείλεται στην υποτιθέμενη 1,2-διοξετανοδιόνη.



**Σχήμα 13.** Σύνθεση της 1,2-διοξετανοδιόνης από οξάλυλο παράγωγα.

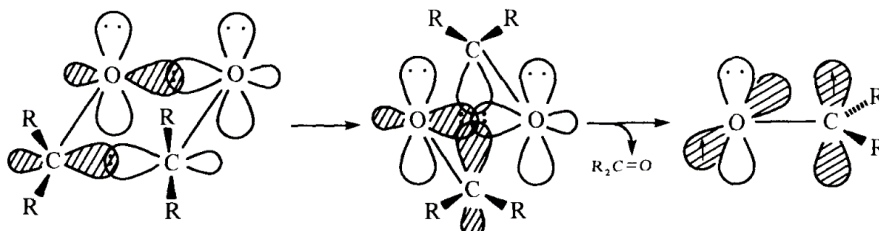
### 4.3 Θερμική αποσύνθεση των διοξετανίων

Δύο μηχανισμοί έχουν προταθεί και είναι αποδεκτοί μέχρι και σήμερα όσον αφορά τη θερμική αποσύνθεση των 1,2-διοξετανίων που οδηγεί στα ηλεκτρονιακά διεγερμένα καρβονυλικά προϊόντα. Ο ένας είναι ο διριζικός μηχανισμός (Σχήμα 14) που προτάθηκε από την ερευνητική ομάδα του Richardson,<sup>99,100</sup> και ο άλλος είναι ο σύγχρονος μηχανισμός (Σχήμα 15) που προτάθηκε από την ομάδα του Turro.<sup>101</sup> Στον διριζικό μηχανισμό, η διάσπαση του διοξετανικού δακτυλίου προχωρεί σταδιακά. Αρχικά, διασπάται ο δεσμός O-O (βήμα  $k_r$ ) οδηγώντας στη διριζική απλή κατάσταση ( $^S\text{DR}$ ). Αυτή η μονήρης δίριζα έχει τρεις επιλογές: α) να επανασηματίσει μέσω του σταδίου  $k_{-r}$  το αρχικό διοξετάνιο, β) να διασπαστεί ο δεσμός C-C μέσω του σταδίου  $k_S$  σχηματίζοντας ένα καρβονυλικό προϊόν στη θεμελιώδη κατάσταση και ένα στη διεγερμένη ( $^S n, \pi^*$ ) απλή κατάσταση, και γ) μέσω διασυστηματικής διασταύρωσης (βήμα  $k_{isc}$ ) να οδηγηθεί στην τριπλή κατάσταση ( $^T\text{DR}$ ). Η τελευταία μπορεί είτε να επιστρέψει στην απλή κατάσταση ( $^S\text{DR}$ , βήμα  $k_{-isc}$ ) μέσω αντίστροφης διαδικασίας, είτε να σχηματίσει το καρβονυλικό προϊόν στην τριπλή διεγερμένη κατάσταση ( $^T n, \pi^*$ , βήμα  $k_T$ ). Τέλος, αποδιέγερση των ( $^S n, \pi^*$ ) και ( $^T n, \pi^*$ ) καρβονυλικών προϊόντων με συνήθεις φωτοφυσικούς και φωτοχημικούς τρόπους, για παράδειγμα, φθορισμό (βήμα  $k_{fl}$ ) και φωσφορισμό (βήμα  $k_{ph}$ ), αντίστοιχα, προκύπτουν τα καρβονυλικά προϊόντα στη θεμελιώδη κατάσταση.



Σχήμα 14. Διριζικός μηχανισμός θερμικής αποσύνθεσης των 1,2-διοξετανίων.

Αντίθετα, στον σύγχρονο μηχανισμό (Σχήμα 15), οι δεσμοί O-O και C-C διασπώνται ταυτόχρονα. Οι δονητικές παραμορφώσεις συστρέφουν τον τετραμελή δακτύλιο οδηγώντας τον σε μια μεταβατική κατάσταση όπου τα τροχιακά του συστήματος είναι κατά το βέλτιστο ευθυγραμμισμένα και δημιουργείται η  $(n, \pi^*)$  διεγερμένη κατάσταση του καρβονυλικού προϊόντος. Υποστηρίζεται ότι κατά τη συστρόφη, η ηλεκτρονιακή πυκνότητα μετατοπίζεται κατά τέτοιο τρόπο ώστε να επιτυγχάνεται σύζευξη τροχιακής στροφορμής και στροφορμής spin (spin-orbit coupling) στο άτομο οξυγόνου, παράγοντας κατά προτίμηση το  $(^1n, \pi^*)$  διεγερμένο καρβονυλικό προϊόν.<sup>83</sup>



Σχήμα 15. Σύγχρονος μηχανισμός θερμικής αποσύνθεσης των 1,2-διοξετανίων.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

### ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Το πολύμορφο γλοιοβλάστωμα είναι ένα από τα πιο επιθετικά είδη καρκίνου που μαστίζει την εποχή μας. Αυτό καθιστά την ανάγκη καταπολέμησης του επιτακτική. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η σύνθεση κατάλληλα σχεδιασμένων χημειοφωταυγών παραγώγων εστέρων ακριδινίου, τα οποία να μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εσωτερική πηγή φωτός σε σχήματα φωτοδυναμικής θεραπείας του πολύμορφου γλοιοβλαστώματος, χωρίς εξωτερική φωτοβολήση. Ο προτεινόμενος σχεδιασμός των ΑΕ πρέπει να εγγυάται την αυξημένη αντοχή τους στην υδρόλυση και την ισχυρή δυναμική εκπομπής φωτός. Αυτές οι ενώσεις θα εμφανίζουν τα εξής ιδιαίτερα χαρακτηριστικά:

- Όταν βρεθούν στις κατάλληλες οξειδωτικές συνθήκες παρουσία  $H_2O_2$  να αντιδρούν γρήγορα (αντίδραση χημειοφωταύγειας με  $\lambda_{max} \approx 426 \text{ nm}$ )
- Να μην αντιδρούν γρήγορα με το  $HO^-$  (σταθερές στην υδρόλυση)
- Να είναι μιτοτροπικές (να φέρουν τριφαινυλοφωσφονιακά άλατα μέσω μιας αλειφατικής αλυσίδας-συνδέτη)
- Να έχουν αυξημένη εκπομπή φωτός σε  $pH \approx 8$  ( $pH$  μιτοχονδρίου)

Η πορεία δράσης των ενώσεων-στόχων εικάζεται ότι θα είναι η ακόλουθη: Η ένωση-στόχος εισέρχεται μέσα στο μιτοχόνδριο του κυττάρου, καρκινικό ή υγιές, λόγω της λιποφιλικότητας που της προσδίδει το κατιόν της τριφαινυλοφωσφίνης. Όταν πρόκειται για καρκινικό εγκεφαλικό αστροκύτταρο τύπου IV, στο εσωτερικό της μιτοχονδριακής του μεμβράνης η συγκέντρωση των ενεργών μορφών οξυγόνου ( $O_2^{\cdot-}$ ,  $HO^{\cdot}$ ), τα οποία παράγονται κατά τη σύνθεση της ATP, είναι αυξημένη. Ακόμη, αυξημένη είναι και η συγκέντρωση της πρωτοπορφυρίνης IX, που δεν αντέδρασε με το  $Fe^{2+}$  για τον σχηματισμό της αίμης, λόγω μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας. Χαρακτηριστικό της

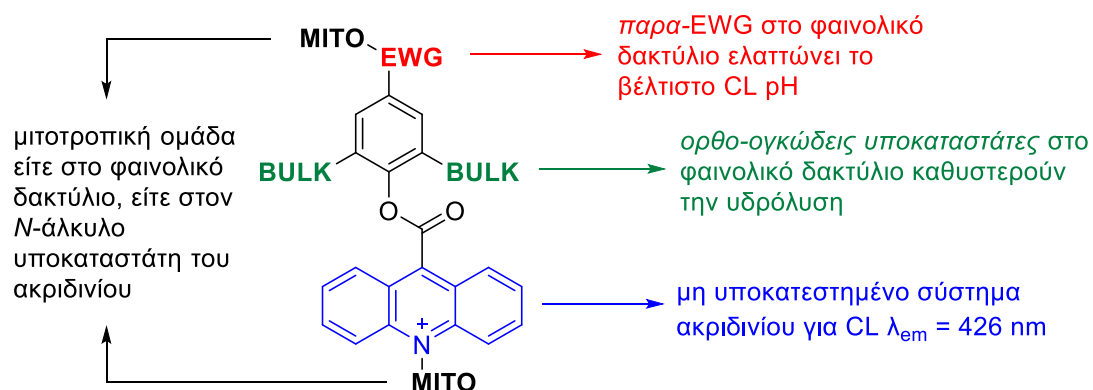
πρωτοπορφυρίνης IX είναι ότι παρουσιάζει ισχυρή απορρόφηση στην περιοχή των 425 nm, σχηματίζοντας, αποδιεγειρόμενη, παρουσία οξυγόνου, οξυγόνο απλής κατάστασης, το οποίο παρουσιάζει ισχυρές κυτταροτοξικές ιδιότητες, καταστρέφοντας έτσι αποπτωτικά το καρκινικό κύτταρο. Με τον τρόπο αυτό, με την εισαγωγή των ειδικά τροποποιημένων (μιτοτροπικοί) εστέρων ακριδινίου στο εσωτερικό του μιτοχονδρίου του καρκινικού κυττάρου, και παρουσία των δραστικών μορφών οξυγόνου  $O_2^{\cdot-}$  και  $HO^{\cdot}$ , θα εκκινήσει η αντίδραση χημειοφωταύγειας. Τότε, θα εκπέμπεται η χαρακτηριστική ακτινοβολία με  $\lambda_{max} \approx 426$  nm, στο μήκος κύματος δηλαδή που απορροφάει η πρωτοπορφυρίνη IX, για την παραγωγή οξυγόνου απλής κατάστασης. Αυτό αναμένεται να αποτελέσει ισχυρό κυτταροτοξικό παράγοντα, ο οποίος θα σκοτώνει επιλεκτικά τα καρκινικά κύτταρα.

Συνοψίζοντας, από άποψη χημικής δομής, οι εστέρες ακριδινίου θα πρέπει να έχουν τα εξής χαρακτηριστικά:

- Δεν πρέπει να υπάρχουν υποκαταστάτες στον δακτύλιο της ακριδίνης, καθώς το μήκος κύματος CL της μητρικής ακριδίνης (426 nm) μεταβάλλεται κατά την εισαγωγή λειτουργικών ομάδων (μετατόπιση προς μεγαλύτερα μήκη κύματος).<sup>67,102</sup>
- Να φέρουν ογκώδεις υποκαταστάτες στις όρθο θέσεις του φαινολικού δακτυλίου για αυξημένη σταθερότητα στην υδρόλυση (Br, Me, tBu).
- Να περιέχουν ηλεκτρονιοελκτικές ομάδες (EWG) σε πάρα θέση για γρήγορη και αποδοτική χημειοφωταύγεια σε χαμηλότερο pH (CN, COOR).
- Να διαθέτουν αλκυλοτριφαινυλοφωσφονιακή αλυσίδα, είτε στον φαινυλικό δακτύλιο, είτε στο ακριδινικό άζωτο. Όσον αφορά την *N*-αλκυλίωση, εκτός από τις δραστικότερες συνθήκες που χρειάζονται, πιθανότατα να προκαλεί απόσβεση της εκπεμπόμενης ακριδίνης. Ωστόσο, μερικές ερευνητικές ομάδες αναφέρουν ότι οι *N*-αλκυλιώσεις παρούσιάζουν καλύτερα CL αποτελέσματα.<sup>103</sup>

Με βάση το παραπάνω σκεπτικό, στόχος της παρούσας διατριβής είναι η σύνθεση μιτοτροπικών παραγώγων εστέρων ακριδινίου που εμφανίζουν τη

γενική δομή της Εικόνας 10. Για τον λόγο αυτό, διερευνήθηκαν 2 παράλληλες συνθετικές πορείες: μία πορεία με στόχο τη σύνθεση ΑΕ παραγώγων που φέρουν τη μιτοτροπική ομάδα στον Ν-άλκυλο υποκαταστάτη του ακριδινίου, και μια άλλη με στόχο ΑΕ παράγωγα που φέρουν τη μιτοτροπική ομάδα στον φαινολικό δακτύλιο.



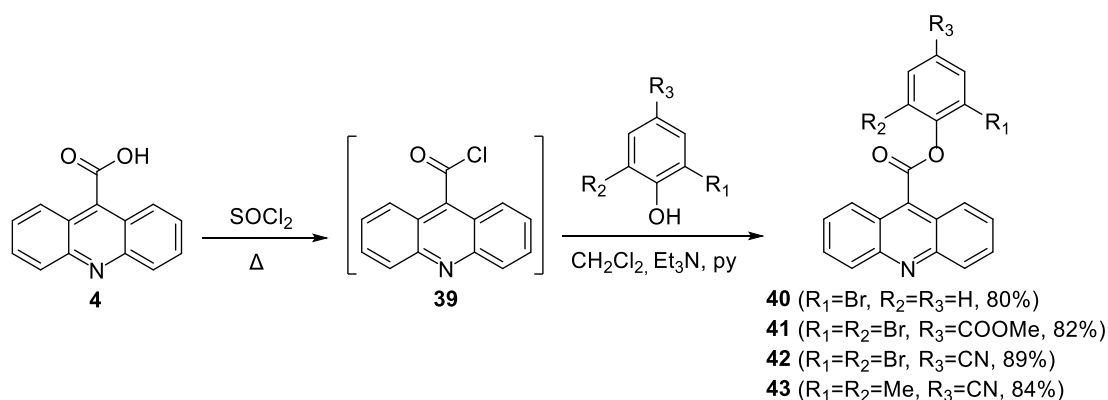
**Εικόνα 10.** Γενική δομή των μιτοτροπικών παραγώγων εστέρων ακριδινίου (ενώσεις στόχοι).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

### ΕΣΤΕΡΕΣ ΑΚΡΙΔΙΝΗΣ: ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ Ν-ΜΕΘΥΛΙΩΣΗ

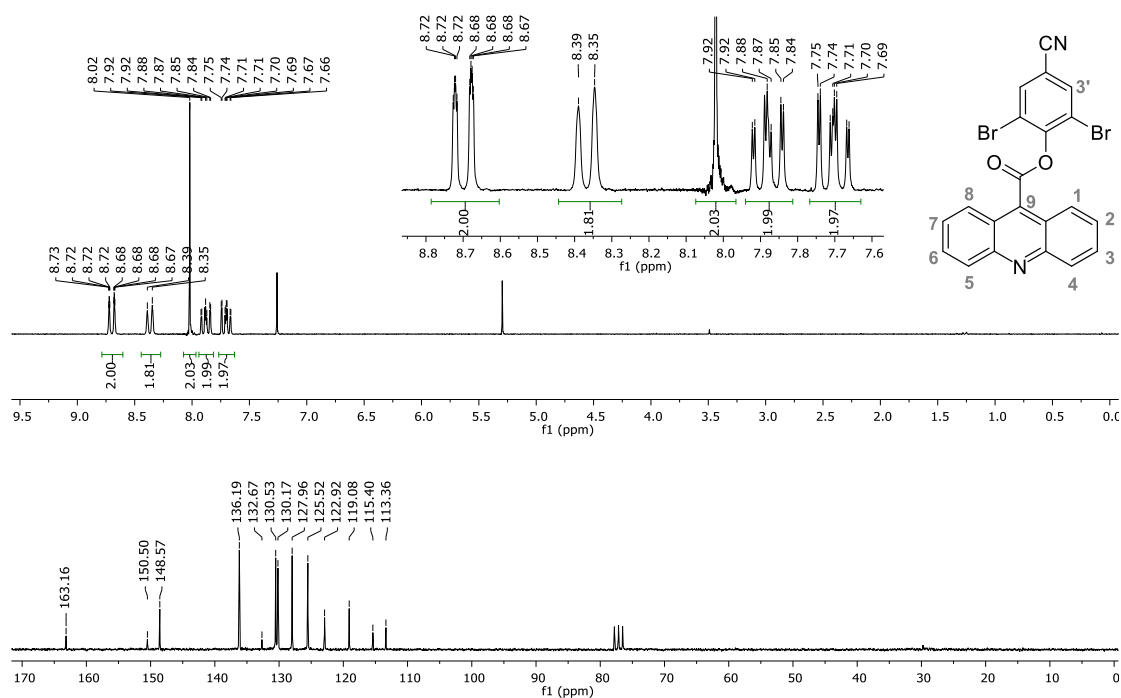
#### 6.1 Σύνθεση εστέρων ακριδίνης

Το πρώτο βήμα στη σύνθεση των εστέρων ακριδινίου είναι η σύνθεση των εστέρων ακριδίνης. Τέσσερα παράγωγα αυτών των εστέρων συντέθηκαν μέσω εστεροποίησης του εμπορικά διαθέσιμου 9-ακριδινη-καρβοξυλικού οξέος **4** με την κατάλληλη φαινόλη, ακολουθώντας το πρωτόκολλο που περιγράφεται από τον Sato.<sup>104</sup> Συγκεκριμένα, βρασμός του οξέος **4** σε θειόνυλο χλωρίδιο δίνει το χλωρίδιο **39** (Σχήμα 16). Αυτό αντιδρά με την κατάλληλη φαινόλη παρουσία τριαιθυλαμίνης και πυριδίνης σε άνυδρες συνθήκες, δίνοντας τους εστέρες ακριδίνης **40-43** σε πολύ καλές αποδόσεις. Συγκεκριμένα, επιλέχθηκε η 2-βρωμοφαινόλη για την αντίδραση οδηγό (**40**), οι 2,6-διβρωμοφαινόλες που φέρουν ηλεκτρονιοελκτικές ομάδες (μεθοξυκαρβόνυλο, κύανο) σε *πάρα* θέση (**41**, **42**) και η 2,6-διμεθυλο-4-κυανοφαινόλη (**43**).



Σχήμα 16. Σύνθεση των εστέρων ακριδίνης **40-43**.

Στην Εικόνα 11 φαίνονται τα  $^1H$  και  $^{13}C$ -NMR φάσματα του εστέρα **42**. Στο πάνω φάσμα (φάσμα  $^1H$ -NMR) εμφανίζονται χαρακτηριστικά οι κορυφές των H-1,8 και H-4,5 ως δύο διπλές στην περιοχή 8,8-8,3 ppm, αυτές των H-2,7 και H-3,6 ως δύο τριπλές στην περιοχή 7,9-7,6 ppm, και η απλή του φαινολικού δακτυλίου (H-3') στα 8.0 ppm. Στο φάσμα  $^{13}C$ -NMR ξεχωρίζουν οι κορυφές του C=O (163,2 ppm) και των C-1' και C-4,10 (150,5 και 148,6 ppm).

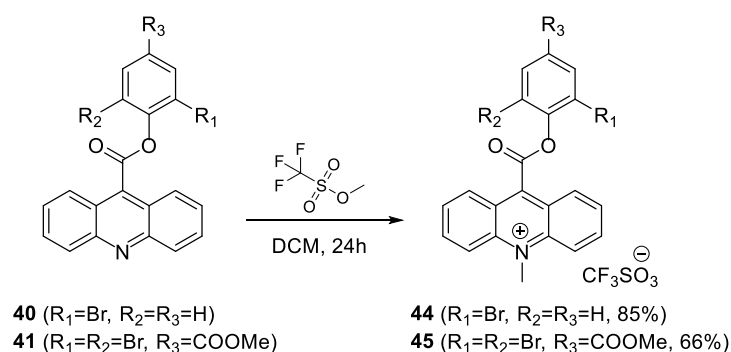


Εικόνα 11.  $^1\text{H-NMR}$  (200MHz,  $\text{CDCl}_3$ , πάνω) και  $^{13}\text{C-NMR}$  (50MHz,  $\text{CDCl}_3$ , κάτω) του εστέρα ακριδίνης **42**.

## 6.2 N-μεθυλίωση εστέρων ακριδίνης

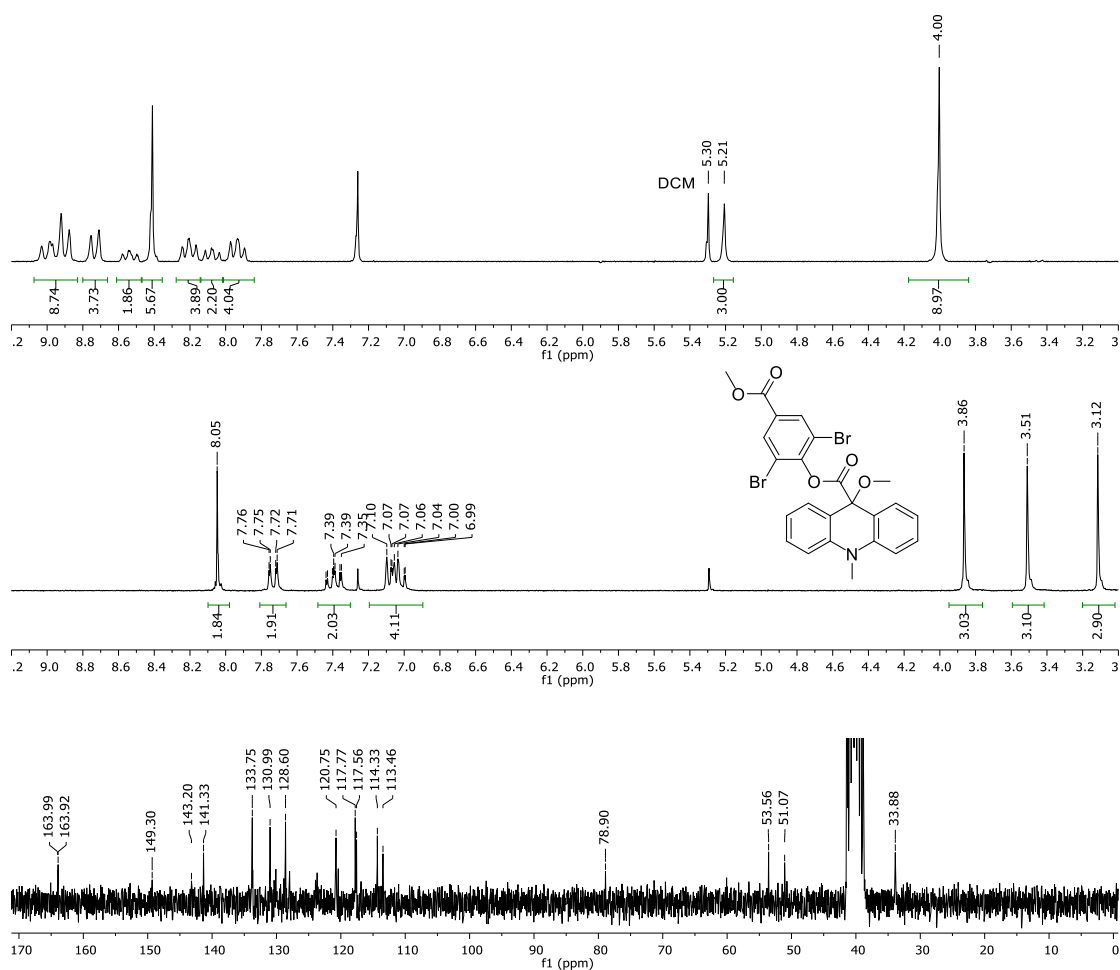
Η *N*-μεθυλίωση των εστέρων ακριδίνης μελετήθηκε για δύο λόγους. Ο πρώτος ήταν για να διερευνηθούν οι συνθήκες της αντίδρασης *N*-αλκυλίωσης, καθώς και η σταθερότητα και τα φασματοσκοπικά δεδομένα των παραγόμενων εστέρων ακριδινίου, ως αντιδράσεις/ενώσεις αναφοράς. Ο δεύτερος λόγος ήταν για να ελεγχθεί η εγγενής μιτοτροπικότητα των παραγόμενων ΑΕ. Επειδή οι παραγόμενοι από την *N*-αλκυλίωση εστέρες ακριδινίου είναι οι ίδιοι απεντοπισμένα (ενδεχομένως λιπόφιλα) κατιόντα, είναι πιθανό να εμφανίζουν μιτοτροπικό χαρακτήρα, χωρίς να χρειαστεί να εισαχθεί επιπλέον μιτοτροπική ομάδα. Ως παράγοντας μεθυλίωσης χρησιμοποιήθηκε ο τριφθορομεθανοσουλφονικός μεθυλεστέρας ( $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{CH}_3$ ) με πολύ καλά αποτελέσματα.<sup>105–107</sup> Αξίζει να αναφερθεί ότι, γενικά, οι τριφθορομεθανοσουλφονικοί εστέρες θεωρούνται ισχυροί παράγοντες αλκυλίωσης, ιδιότητα την οποία προσπαθήσαμε να εκμεταλλευτούμε στην παρούσα διατριβή. Η σύνθεση λοιπόν των **44** και **45** πραγματοποιήθηκε με επίδραση περίσσειας  $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{CH}_3$  (7 eq) σε ξηρό DCM ( $C \approx 0.06 \text{ M}$ ) από τους αντίστοιχους εστέρες ακριδίνης **40** και **41** (Σχήμα 17).





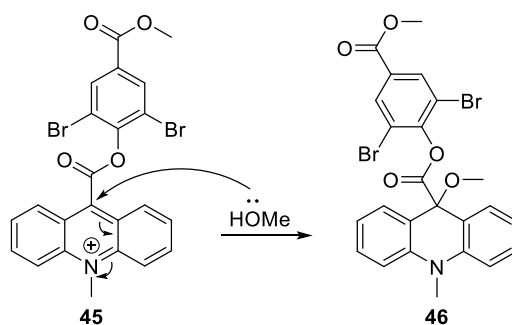
**Σχήμα 17.** Αντίδραση σύνθεσης των εστέρων ακριδινίου **44** και **45**.

Ο καθαρισμός των ΑΕ παραγώγων **44** και **45** ήταν η κυριότερη δυσκολία στην απομόνωση των προϊόντων. Χαρακτηριστική είναι η περίπτωση της αντίδρασης μεθυλίωσης του διβρωμιωμένου παραγώγου **41**, από όπου παραλήφθηκε ένα μίγμα, το οποίο περιείχε το ΑΕ προϊόν **45**. Έλεγχος της αντίδρασης με TLC δείχνει την ύπαρξη αρχικού εστέρα και μιας πολικής, έντονα φθορίζουσας κίτρινης κηλίδας που αποδίδεται στον ΑΕ **45**. Στο φάσμα  $^1H-NMR$  του μίγματος πριν την κατεργασία (Εικόνα 12), η κορυφή στα 5,21 ppm αποδίδεται στο εισαχθέν *N*-μεθύλιο ενώ στα 4,00 ppm συντονίζεται το μεθύλιο του εστέρα. Στη συνέχεια έγινε προσπάθεια καθαρισμού του μίγματος με χρωματογραφία στήλης με σύστημα έκλουσης 5-20% MeOH/DCM. Από αυτή, απομονώθηκε ένα κύριο προϊόν, το φάσμα  $^1H-NMR$  του οποίου δεν είχε καμία σχέση με αυτό του μίγματος πριν την κατεργασία (Εικόνα 12). Το γεγονός αυτό μας προβλημάτισε πολύ και προσπαθήσαμε να διερευνήσουμε τι μπορεί να συνέβη στο μίγμα, κατά το πέρασμα του από τη σίλικα. Συγκεκριμένα, άλλαξε όλη η εικόνα στην αρωματική περιοχή και επίσης παρατηρείται ο σχηματισμός 3 καινούργιων κορυφών με την ίδια σχετική ολοκλήρωση (3,12 ppm, 3,51 ppm, 3,86 ppm, Εικόνα 12), που παραπέμπουν σε 3 καινούργια μεθύλια. Οι κορυφές αυτές συντονίζονται σε υψηλότερα πεδία σε σχέση με το μεθύλιο του τεταρτοταγούς αζώτου (5,21 ppm) αλλά και του μεθυλεστέρα (4,0 ppm), κορυφές οι οποίες εξαφανίζονται μετά τη χρωματογραφία στήλης. Το φάσμα  $^{13}C-NMR$  του προϊόντος, αν και ασθενές λόγω χαμηλής διαλυτότητας, επιβεβαιώνει την ύπαρξη τριών μεθυλίων.



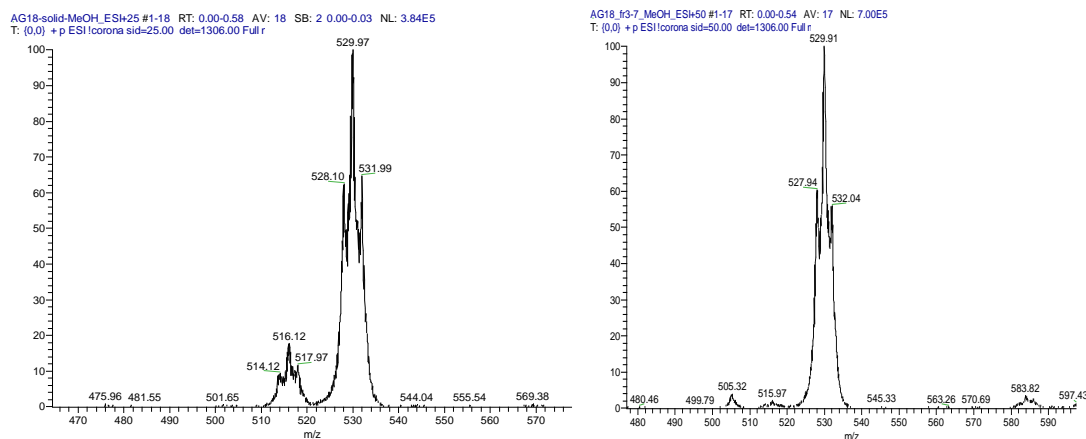
**Εικόνα 12.** Φάσμα  $^1\text{H-NMR}$  (200MHz,  $\text{CDCl}_3$ , πάνω) του μίγματος αλκυλίωσης της **41** πριν την κατεργασία και φάσματα  $^1\text{H-NMR}$  (200MHz,  $\text{CDCl}_3$ , μέση) και  $^{13}\text{C-NMR}$  (50MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ , κάτω) του προϊόντος που απομονώθηκε από τη χρωματογραφία στήλης και αποδίδεται στη **46**.

Έχοντας υπόψη ότι οι εστέρες ακριδινίου είναι γενικά ασταθείς, και ότι σε υδατικά διαλύματα και ιδιαίτερα σε αλκαλικά, σχηματίζεται η αντίστοιχη "ψευδοβάση", καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι το προϊόν από τη χρωματογραφία είναι η ένωση **46** (τύπου "ψευδοβάσης", Σχήμα 18). Υποθέτουμε ότι στις συνθήκες της στήλης (οξείδιο του πυριτίου, μεθανόλη), η μεθανόλη προσβάλλει τον C-9 του AE **45** προς σχηματισμό του εστέρα ακριδίνης **46**. Στα 3,12 ppm συντονίζεται το μεθύλιο του μεθοξειδίου ( $\text{COCH}_3$ ), στα 3,51 ppm το μεθύλιο του ακριδινικού αζώτου ( $\text{NCH}_3$ ), και στα 3,86 ppm το μεθύλιο του μεθυλεστέρα ( $\text{COOCH}_3$ ). Επίσης, ο C-9 της **46** είναι αλειφατικός, στον οποίο μπορεί να αποδοθεί η κορυφή στα 78,9 ppm στο φάσμα  $^{13}\text{C-NMR}$ .



**Σχήμα 18.** Προτεινόμενη δομή και πιθανός μηχανισμός αντίδρασης σχηματισμού της ένωσης **46**.

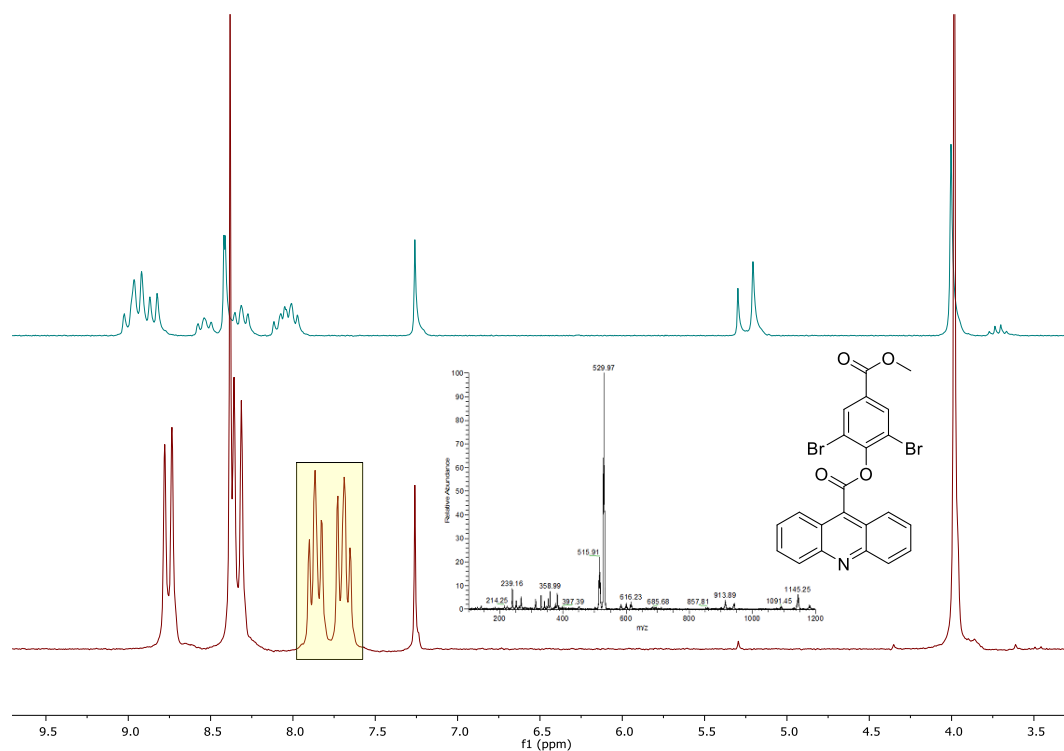
Σημειώνεται ότι ούτε η φασματομετρία μαζών με την τεχνική ηλεκτροψεκασμού (ES-MS) μας βοήθησε να εξάγουμε κάποιο ασφαλές συμπέρασμα. Λήφθηκε φάσμα MS πριν και μετά τη χρωματογραφία στήλης, με κύριο σήμα και στις δύο περιπτώσεις το 528-532 που αντιστοιχεί στο επιθυμητό ΑΕ παράγωγο **45** ( $M^+/M+2/M+4 = 1/2/1$ , λόγω των δύο ατόμων βρωμίου), παρόλο που τα φάσματα  $^1\text{H-NMR}$  παρουσιάζουν μια εντελώς διαφορετική εικόνα. Το σήμα στα 514-518 ( $[M+H]^+$ ) αντιστοιχεί στο κατιόν του αρχικού εστέρα ακριδίνης **41** (Εικόνα 13). Η απουσία σήματος του **46** πιθανότατα να οφείλεται σε διάσπαση ή πολύ ασθενή ιοντισμό του κατά τη διαδικασία λήψης του φάσματος.



**Εικόνα 13.** Φάσματα μάζας θετικού ιονισμού της αντίδρασης μεθυλίωσης του **41** από το μίγμα πριν τη χρωματογραφία στήλης (αριστερά) και από το τελικό προϊόν (**46**, δεξιά).

Η αντίδραση σχηματισμού του ΑΕ **45** επαναλήφθηκε εξετάζοντας άλλες μεθόδους καθαρισμού του μίγματος. Έγινε προσπάθεια καταβύθισης του προϊόντος (προηγήθηκε εξάτμιση όλων των πτητικών συστατικών)

χρησιμοποιώντας διάφορους διαλύτες. Το υπόλειμμα ήταν αδιάλυτο σε EtOH, CH<sub>3</sub>CN και σε AcOEt και πλήρως διαλυτό σε DCM. Το στερεό καταβυθίστηκε με προσθήκη Et<sub>2</sub>O και το <sup>1</sup>H-NMR φάσμα του (μπλε φάσμα, Εικόνα 14, όμοιο με το αντίστοιχο της Εικόνα 12) συγκρίθηκε με αυτό της αρχικής ένωσης **41** (κόκκινο φάσμα, Εικόνα 14). Η εμφανής απουσία των δύο τριπλών κορυφών στα 7.65-7.90 ppm που αντιστοιχούν στα πρωτόνια H-2 και H-3 της μητρικής ακριδίνης, υποδεικνύουν την πλήρη κατανάλωση της αρχικής ένωσης **41** κατά την αντίδραση. Όμως, η χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC) και η φασματομετρία μάζας (διακρίνεται το ιόν της **41**, [M+H]<sup>+</sup>, 515.91) υποδεικνύουν, αντίθετα, την ύπαρξη της δομής **41** (το σήμα στα 529.97 αντιστοιχεί στο επιθυμητό μεθυλιωμένο κατιοντικό παράγωγο **45**). Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι στα δύο φάσματα οι κορυφές που αντιστοιχούν στα πρωτόνια της αρχικής ένωσης **41** δεν ταυτίζονται μεταξύ τους. Υποθέτουμε, δηλαδή, ότι στο μίγμα της αντίδρασης υπάρχει η **41**, οι κορυφές της οποίας στο φάσμα <sup>1</sup>H-NMR (που αντιστοιχούν στα αρωματικά πρωτόνια) μετατοπίζονται σε υψηλότερα πεδία για κάποιο μη σαφή λόγο.



**Εικόνα 14.** Σύγκριση φασμάτων <sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>) της **41** (με κόκκινο χρώμα) και του μίγματος της αντίδρασης μεθυλίωσης της **41** (με μπλέ χρώμα). Ένθετο: Φάσμα ES-MS θετικού ιονισμού του μίγματος.

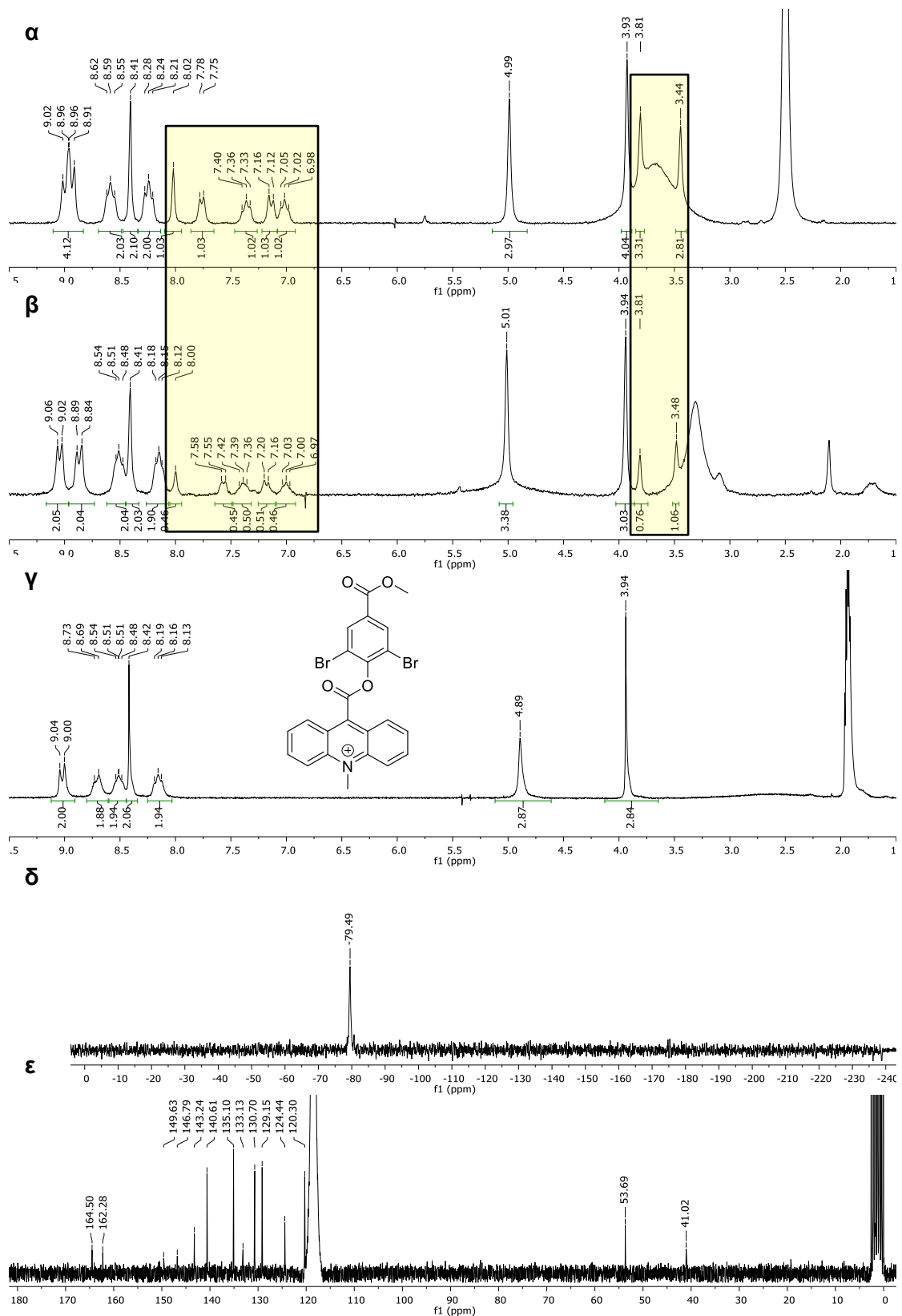
Αυτή η παρατήρηση αποτελεί σύνηθες φαινόμενο στην παρούσα διατριβή. Κατά την αλκυλίωση δηλαδή των εστέρων ακριδίνης, και χωρίς να προηγηθεί κάποιου είδους κατεργασία, οι συχνότητες που συντονίζονται τα πρωτόνια των αρχικών εστέρων στα φάσματα  $^1\text{H-NMR}$ , δεν ταυτίζονται με το φάσμα των εκάστοτε μιγμάτων και μετατοπίζονται σε χαμηλότερα πεδία. Η χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC) και η φασματομετρία μάζας υποδεικνύουν σε κάθε περίπτωση τις δομές των αρχικών ακριδινικών παραγώγων.

Τελικά, το μεθυλιωμένο παράγωγο **45** καθαρίστηκε με εκτεταμένο πλύσιμο με τολουόλιο (υπερήχους / φυγοκέντρηση) και εξάνιο, αφού προηγήθηκαν ανεπιτυχείς εκπλύσεις με  $\text{Et}_2\text{O}$ ,  $\text{AcOEt}$ , και P.E (Πετρελαϊκός αιθέρας  $40-60^\circ\text{C}$ ). Με τον ίδιο τρόπο συντέθηκε και καθαρίστηκε και το παράγωγο **44**.

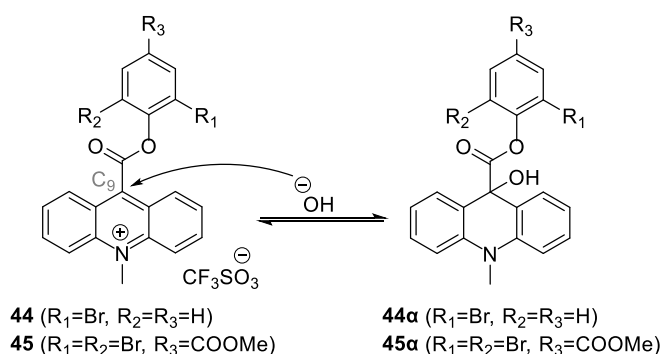
### 6.3 Φάσματοσκοπικός χαρακτηρισμός ΑΕ και σχηματισμός ψευδοβάσης.

Λόγω του ότι τα *N*-μεθυλιωμένα ΑΕ παράγωγα **44** και **45** εμφάνιζαν περιορισμένη διαλυτότητα στο χλωροφόρμιο, λήφθηκαν φάσματα  $^1\text{H-NMR}$  και σε άλλους διαλύτες ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\text{DMSO}$ ,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ) με ενδιαφέροντα αποτελέσματα. Αρχικά λήφθηκαν φάσματα πρωτονίου της ένωσης **45** σε δευτεριωμένο  $\text{DMSO}$  (Εικόνα 15α) και σε δευτεριωμένη μεθανόλη (Εικόνα 15β) και εκ πρώτης όψεως φαινόταν εικόνα μίγματος. Μια λεπτομερέστερη ανάλυση υποδεικνύει την ύπαρξη δύο ενώσεων με ακριβώς τις ίδιες σχάσεις-πολλαπλότητα, αλλά σε διαφορετική αναλογία. Και στα δύο φάσματα στην αρωματική περιοχή υπάρχουν δύο σετ από δύο διπλές κορυφές, δύο φαινομενικά τριπλές κορυφές και μια απλή κορυφή, ενώ στην αλειφατική περιοχή δύο σετ δύο απλών κορυφών. Λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι οι εστέρες ακριδινίου δύναται να βρίσκονται σε ισορροπία με τις αντίστοιχες ψευδοβάσεις τους υπό κάποιες συνθήκες (υδατικό ή αλκαλικό μέσο, υγρασία) και με βάση την αναμενόμενη χημική μετατόπιση των πρωτονίων, καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι η ένωση **45** βρίσκεται σε ισορροπία με την αντίστοιχη

ψευδοβάση **45α** (Σχήμα 19) τόσο στη μεθανόλη όσο και στο DMSO. Συγκεκριμένα, στο δευτεριωμένο DMSO (Εικόνα 15α, χρωματισμένη περιοχή), στα 6,98-8,02 ppm συντονίζονται τα αρωματικά πρωτόνια της **45α**, στα 3,81 ppm τα πρωτόνια του μεθυλεστέρα (OCH<sub>3</sub>) και στα 3,44 ppm το μεθύλιο του ακριδινικού αζώτου (NCH<sub>3</sub>). Παρόμοια εικόνα φαίνεται και στη δευτεριωμένη μεθανόλη (Εικόνα 15β). Σύμφωνα με τις σχετικές ολοκληρώσεις, το ποσοστό της ψευδοβάσης **45α** στο διάλυμα της μεθανόλης σε αναλογία mol είναι ~18% ενώ στο DMSO ~33%. Οι υπόλοιπες κορυφές που έχουν αποτιμηθεί και στα δύο φάσματα αντιστοιχούν στο μεθυλιωμένο παράγωγο **45**. Τέλος, στο CD<sub>3</sub>CN δεν παρατηρήθηκε ο σχηματισμός της ψευδοβάσης. Έτσι, έγινε δυνατό να χαρακτηριστεί πλήρως το ΑΕ παράγωγο **45** με φασματοσκοπία NMR (<sup>1</sup>H, <sup>19</sup>F, <sup>13</sup>C, Εικόνα 15). Χαρακτηριστικές στο φάσμα <sup>1</sup>H-NMR είναι οι μετατοπίσεις των αρωματικών πρωτονίων σε χαμηλά πεδία 9,1-8,1 ppm, όπως και η κορυφή του νεοεισαχθέντος μεθυλίου στα 4,9 ppm. Στο φάσμα <sup>13</sup>C-NMR διακρίνονται τα δύο καρβονύλια (164,5, 162,3 ppm), καθώς και τα δύο μεθύλια (53,7, 41,0 ppm), ενώ στο φάσμα <sup>19</sup>F-NMR εμφανίζεται το σήμα του τριφθορομεθανολουλφονικού αντισταθμιστικού ανιόντος.

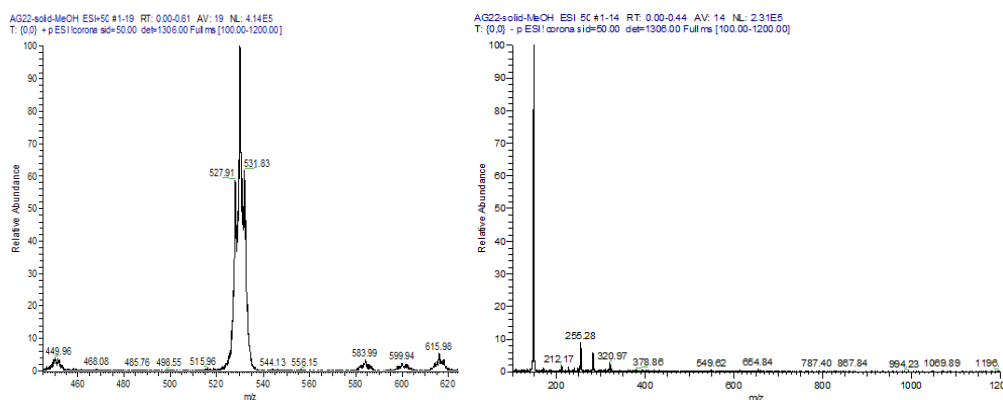


Εικόνα 15. Φάσματα NMR της ένωσης 45. α)  $^1\text{H-NMR}$  (200MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ), β)  $^1\text{H-NMR}$  (200MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ), γ)  $^1\text{H-NMR}$  (200MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ), δ)  $^{19}\text{F-NMR}$  (188MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ), ε)  $^{13}\text{C-NMR}$  (50MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ).



**Σχήμα 19.** Τα παράγωγα **44** και **45** βρίσκονται σε ισορροπία με τις αντίστοιχες "ψευδοβάσεις" **44a** και **45a**.

Είναι αξιοσημείωτο ότι το προϊόν της ψευδοβάσης **45a** δεν ανιχνεύθηκε σε καμία περίπτωση στη φασματομετρία μάζας, καθώς μόνο το παράγωγο **45** διακρίνεται στις κορυφές του ES-MS θετικού ιοντισμού ( $M^+/M+2/M+4$ , 528-532) (Εικόνα 16). Στον αρνητικό ιοντισμό ανιχνεύεται το τριφλικό ανιόν ( $CF_3SO_3^-$ ) με  $m/z$  149.

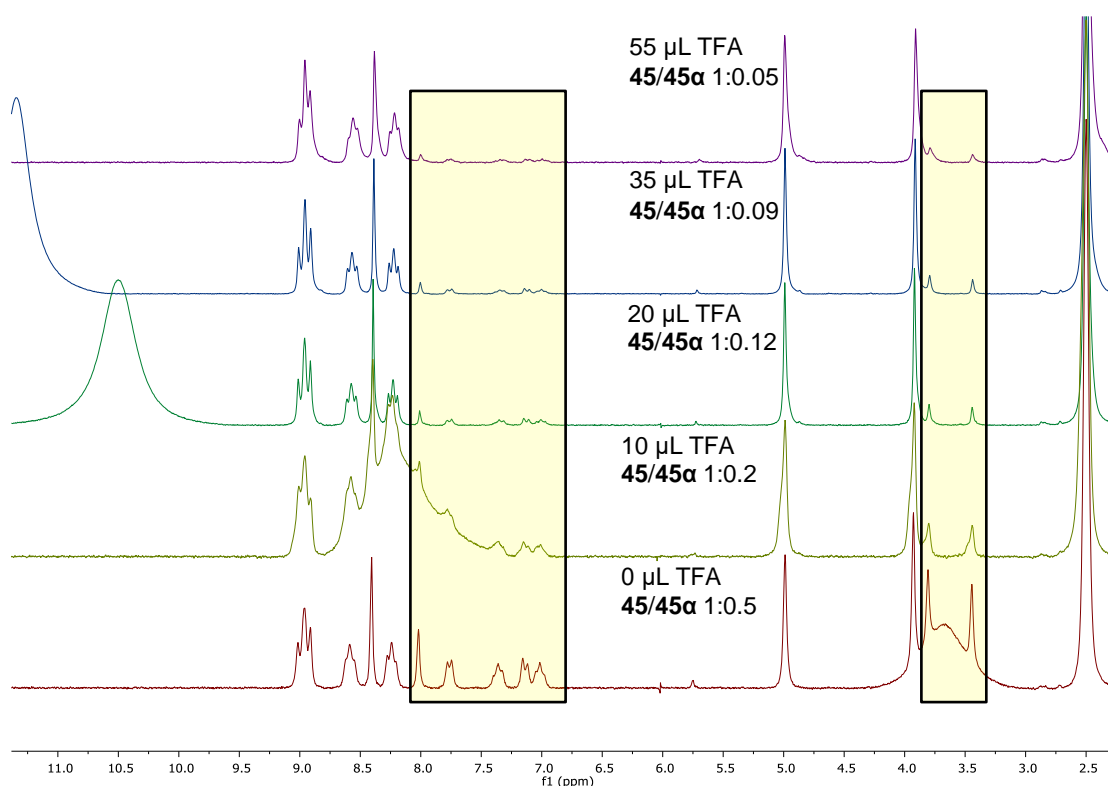


**Εικόνα 16.** Φάσματα ES-MS του παραγώγου **45**, θετικού ιοντισμού (αριστερά) και αρνητικού ιοντισμού (δεξιά).

Εφόσον καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι στους διαλύτες  $CD_3OD$  και  $DMSO-d_6$  ευνοείται ο σχηματισμός της ψευδοβάσης **45a** και σύμφωνα με την βιβλιογραφία γνωρίζουμε ότι ο σχηματισμός της δεν ευνοείται σε όξινα περιβάλλοντα,<sup>65</sup> σκεφτήκαμε να προσθέσουμε τριφθοροοξικό οξύ (TFA) σε διάλυμα της **45** σε  $DMSO-d_6$  και να δούμε την επίδραση του οξέος στην ψευδοβάση. Τα αποτελέσματα των φασμάτων σε κάθε προσθήκη απεικονίζονται στην Εικόνα 17. Απουσία TFA, η μοριακή αναλογία **45/45a** είναι 1/0,5. Κατά την προσθήκη 10μL TFA η αναλογία μειώνεται στα 1/0,2 ενώ



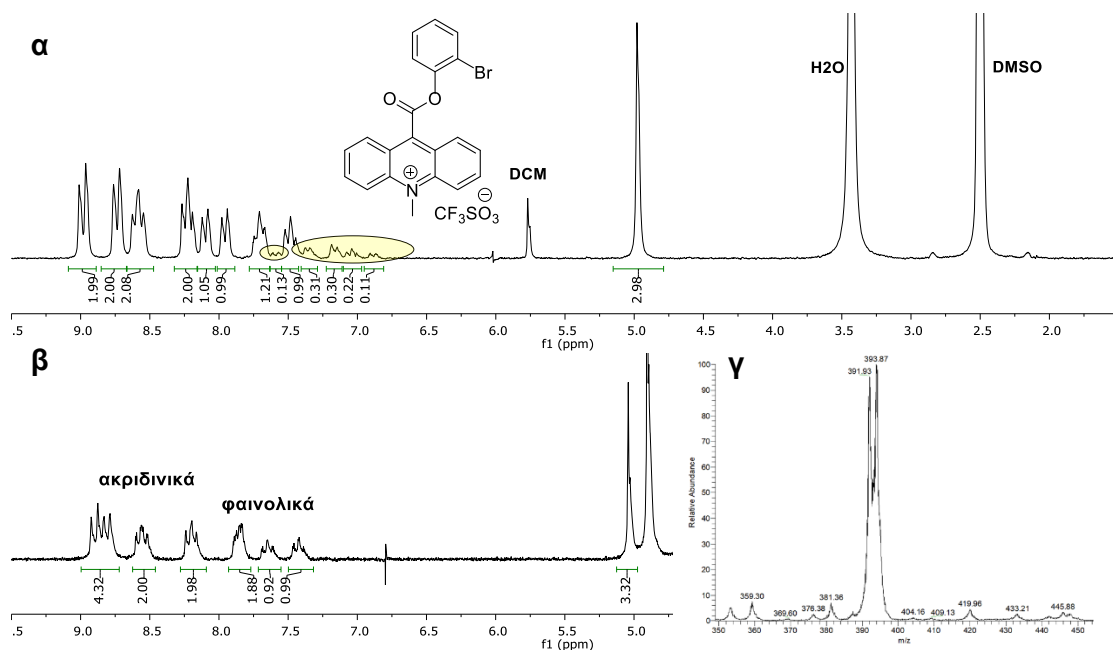
με προσθήκη ακόμα 10μL TFA η αναλογία γίνεται 1/0,12. Τέλος, όταν προσθέσαμε άλλα 15μL TFA η αναλογία γίνεται 1/0,09 και με προσθήκη ακόμη 20μL TFA η αναλογία **45/45α** μειώνεται στο 1/0,05 (Εικόνα 17). Το ποσοστό των mol υπολογίστηκε με βάση τη σχετική ολοκλήρωση της απλής κορυφής στα 4,99 ppm που αντιστοιχεί στα τρία πρωτόνια του μεθυλίου του αζώτου (NCH<sub>3</sub>) και των απλών κορυφών στα 3,81 ppm (OCH<sub>3</sub>) και στα 3,44 (NCH<sub>3</sub>) που αντιστοιχούν στα μεθύλια της **45α**, όπως και στη σχετική ολοκλήρωση των αντίστοιχων αρωματικών πρωτονίων. Πρέπει να αναφερθεί επίσης ότι κάθε φορά που προσθέταμε TFA παρατηρούσαμε και μετατόπιση της ευρείας κορυφής του H<sub>2</sub>O προς μεγαλύτερες συχνότητες.



Εικόνα 17. Φάσματα <sup>1</sup>H-NMR (200MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) του παραγώγου **45** παρουσία ποσότητας TFA.

Στο μεθυλιωμένο παράγωγο **44**, η αντίστοιχη ψευδοβάση **44α** (Σχήμα 19) ανιχνεύθηκε όταν το φάσμα NMR λήφθηκε σε DMSO-*d*<sub>6</sub> αλλά όχι σε CD<sub>3</sub>OD (Εικόνα 18), σε αντίθεση με την περίπτωση του **45**. Αυτό δείχνει ότι η εμφάνιση ή μη της ψευδοβάσης εξαρτάται πιθανότατα από διάφορους παράγοντες (διαλύτης, δομή παραγώγου, συγκέντρωση, ίχνη διαλυτών, υγρασία διαλύματος) και όχι μόνο από τον εκάστοτε διαλύτη. Στο φάσμα <sup>1</sup>H-NMR της **44** σε CD<sub>3</sub>OD (Εικόνα 18β) φαίνονται δύο σετ από 2 διπλές και δύο

τριπλές κορυφές. Το ένα σετ αντιστοιχεί στα ακριδινικά πρωτόνια τα οποία συντονίζονται σε υψηλότερες συχνότητες και το άλλο σετ αντιστοιχεί στα φαινολικά πρωτόνια που συντονίζονται σε χαμηλότερες συχνότητες. Στο αντίστοιχο φάσμα σε DMSO- $d_6$ , εμφανίζονται επιπλέον και οι κορυφές της ψευδοβάσης **44a** στην περιοχή 6,87 – 7,61 ppm. Να αναφέρουμε ότι το μεθύλιο του ακριδινικού αζώτου ( $NCH_3$ ) του κατιοντικού παραγώγου **44** συντονίζεται στα 4,98 ppm ενώ της ψευδοβάσης θα έπρεπε να συντονίζεται κοντά στα 3,40 ppm για αυτό και δεν εμφανίζεται στο φάσμα  $^1H$ -NMR (καλύπτεται από την ευρεία κορυφή του νερού). Τέλος, για ακόμη μια φορά το προϊόν της ψευδοβάσης **44a** δεν ανιχνεύθηκε σε καμία περίπτωση στο φάσμα μάζας ( $[M+H]^+$ , 410) καθώς μόνο το παράγωγο **44** είναι ορατό στον θετικό ιονισμό ( $M^+/M+2$ , 391.93-393.87) με την αναμενόμενη αναλογία κορυφών 1:1.



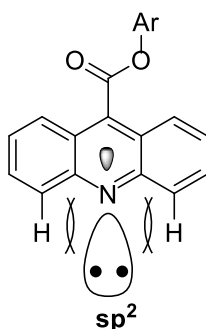
**Εικόνα 18.** Φάσματα  $^1H$ -NMR (200MHz) σε (α) DMSO- $d_6$  και (β) CD<sub>3</sub>OD, και φάσμα ES-MS θετικού ιονισμού (γ) της ένωσης **44**.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

### N-ΑΛΚΥΛΙΩΜΕΝΟΙ ΕΣΤΕΡΕΣ ΑΚΡΙΔΙΝΙΟΥ

#### 7.1 N-αλκυλίωση με αλκυλοιωδίδια

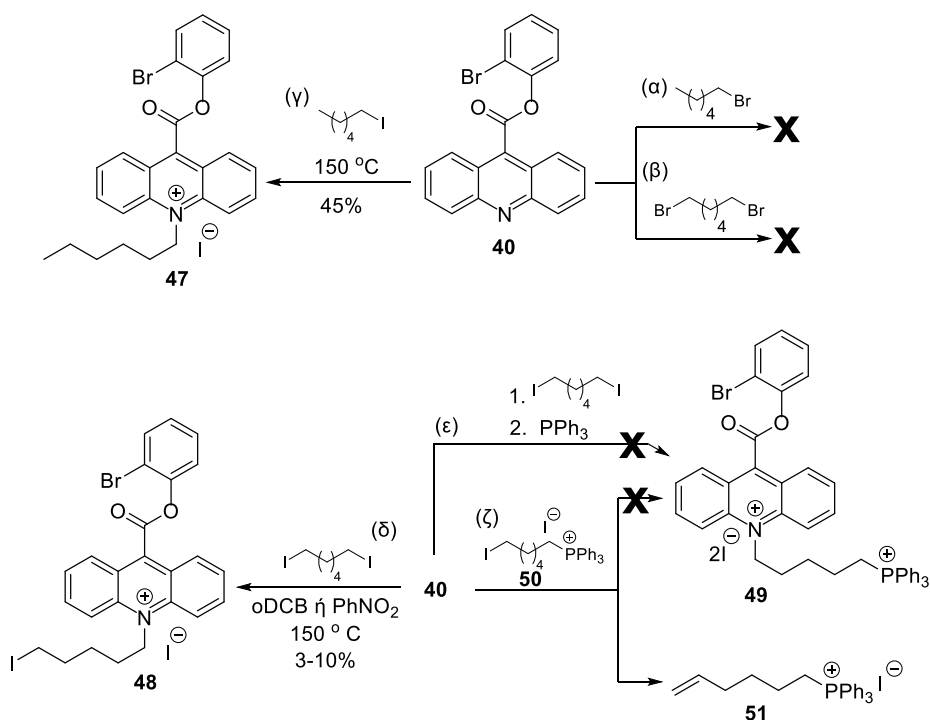
Σε αυτό το κεφάλαιο παρουσιάζονται οι προσπάθειες που έγιναν με σκοπό τη σύνθεση μιτοτροπικών ΑΕ, οι οποίοι θα φέρουν τη μιτοτροπική ομάδα του φωσφωνιακού κατιόντος στην N-άλκυλο αλυσίδα του ακριδινίου. Ως εκ τούτου, επιβάλλεται η μελέτη της N-αλκυλίωσης των εστέρων ακριδινίου. Σε αντίθεση με τις μεθυλιώσεις των έστερων ακριδίνης που προχωρούν σε πολύ καλές αποδόσεις και σε ήπιες συνθήκες (θερμοκρασία δωματίου), οι αλκυλιώσεις (εννοώντας άλκυλο αλυσίδες με αριθμό ατόμων άνθρακα >2) είναι αρκετά δυσκολότερες λόγω στερεοχημικής παρεμπόδισης και απαιτούν δραστικότερες συνθήκες. Το μονήρες ζεύγος ηλεκτρονίων στο άτομο αζώτου καταλαμβάνει ένα υβριδικό τροχιακό  $sp^2$ , το οποίο κατευθύνεται μακριά από τον δακτύλιο. Αυτό το ζεύγος δεν είναι μέρος του συζυγιακού συστήματος, δεν συμμετέχει στη αρωματικότητα και είναι ελεύθερο να λειτουργεί ως βάση και ως πυρηνόφιλο (Εικόνα 19). Εντούτοις, η παρουσία των δύο ατόμων υδρογόνου στον αρωματικό δακτύλιο της ακριδίνης, τα οποία κατευθύνονται και αυτά μακριά από τον δακτύλιο, δυσχεραίνει την προσβολή και τη σύνθεση αλκυλιωμένων παραγώγων, πολύ περισσότερο δε, όταν η άλκυλο ομάδα είναι αρκετά μεγαλύτερη από το μεθύλιο.



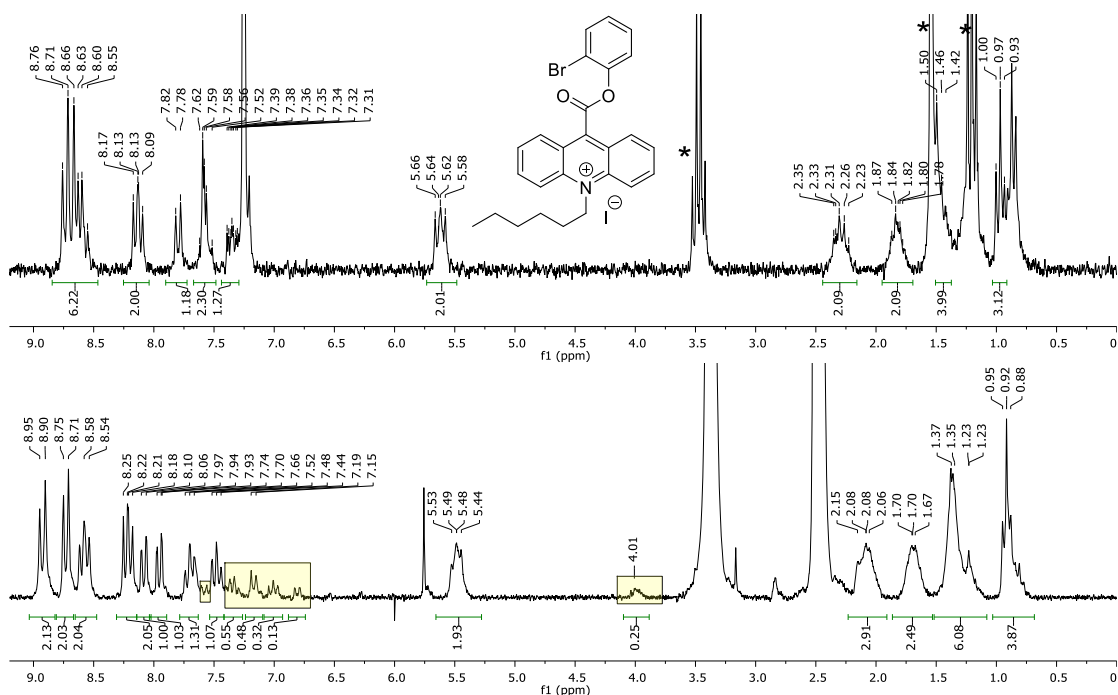
**Εικόνα 19.** Σχηματική αναπαράσταση του  $sp^2$  τροχιακού στο άτομο αζώτου και της στερεοχημικής παρεμπόδισης που προκαλείται λόγω των δύο ατόμων υδρογόνου.

Αρχικά, τα αλκυλαλογονίδια ήταν οι πρώτοι αλκυλιωτικοί παράγοντες που δοκιμάστηκαν. Θέρμανση (130°C) του ΑΕ **40** με αλκυλοβρωμίδια (βρωμοεξάνιο ή διβρωμοεξάνιο) χωρίς παρουσία διαλύτη δεν έδωσε κανένα προϊόν (Σχήμα 20α,β). Στη συνέχεια δοκιμάστηκαν το ιωδοεξάνιο και το διιωδοεξάνιο ως ισχυρότερα ηλεκτρονιόφιλα, λόγω της ευκολότερα αποχωρούσας ομάδας του ιωδιδίου (I<sup>-</sup>) σε σχέση με το βρωμίδιο (Br<sup>-</sup>). Θέρμανση του παραγώγου **40** με δύο ισοδύναμα ιωδοεξανίου στους 150 °C χωρίς παρουσία διαλύτη για μία μέρα, παράγει το αλκυλιωμένο παράγωγο **47** (Σχήμα 20γ) σε απόδοση 14%, ενώ με παρατεταμένη θέρμανση για τρεις μέρες σε απόδοση 45%. Πρέπει όμως να σημειωθεί, ότι η συγκεκριμένη αντίδραση εμφανίζει περιορισμένη επαναληψιμότητα, τόσο ως προς την απόδοση, όσο και την καθαρότητα.

Χαρακτηριστική κορυφή στο φάσμα <sup>1</sup>H-NMR σε CDCl<sub>3</sub> (Εικόνα 20) για την εκτίμηση της προόδου της αντίδρασης είναι η τριπλή κορυφή στα 5,62 ppm όπου συντονίζεται το μεθυλένιο δίπλα στο ακριδινικό άζωτο (N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>). Η φασματομετρία μάζας επιβεβαιώνει την ύπαρξη της ένωσης **47** (M<sup>+</sup>/M+2, 462 – 464). Η ίδια χαρακτηριστική κορυφή του μεθυλενίου στο φάσμα <sup>1</sup>H-NMR σε DMSO-*d*<sub>6</sub> συντονίζεται στα 5,49 ppm. Οι επιπλέον κορυφές οφείλονται στον σχηματισμό της αντίστοιχης ψευδοβάσης (Εικόνα 20), η οποία και πάλι ευνοείται στο DMSO-*d*<sub>6</sub>, και φαίνεται να βρίσκεται σε μοριακή αναλογία ~1:9 ως προς την **47**. Στα 4,01 ppm συντονίζεται το μεθυλένιο του ακριδινικού αζώτου της ψευδοβάσης (NCH<sub>2</sub>). Η απόδοση των κορυφών του φάσματος <sup>1</sup>H-NMR μεταξύ των **47** και **47α**, έγινε με βάση την αναμενόμενη χημική μετατόπιση των πρωτονίων τους.



Σχήμα 20. Αντιδράσεις N-ακυλίωσης του εστέρα ακριδίνης **40** με αλκυλαλογονίδια.



Εικόνα 20. Φάσματα <sup>1</sup>H-NMR (200MHz) σε CDCl<sub>3</sub> (πάνω) και DMSO-d<sub>6</sub> (κάτω) της ένωσης **47**.

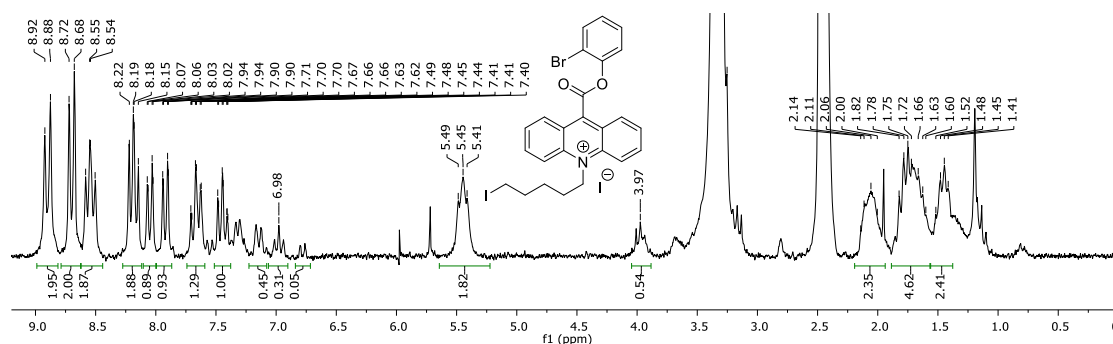
Αφού η αλκυλίωση με ιωδοαλκάνια πραγματοποιήθηκε, επόμενος στόχος ήταν η αντίδραση του εστέρα ακριδίνης **40** με διωδοεξάνιο προς το σχηματισμό του αλκυλιωμένου παραγώγου **48**, με απώτερο στόχο την

περαιτέρω αλκυλίωση με τριφαινυλοφωσφίνη προς τον σχηματισμό του μιτοτροπικού ΑΕ παραγώγου **49** (Σχήμα 20). Αρχικά, πραγματοποιήθηκε η αντίδραση με δύο ισοδύναμα διιωδοεξανίου, χωρίς παρουσία διαλύτη στους 150°C, για τρεις ημέρες, αποδίδοντας ένα σύνθετο μίγμα στο οποίο δεν ήταν δυνατόν να ανιχνευτεί το επιθυμητό προϊόν. Η προσθήκη επιπλέον διιωδοεξανίου (4 eq) δεν απέφερε καμία αλλαγή στην πρόοδο της αντίδρασης. Το μίγμα της αντίδρασης ήταν αδιάλυτο ακόμη και στον διαλύτη DMSO. Παραγωγή προϊόντος σε πολύ χαμηλή απόδοση είχαμε μόνο όταν η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε διαλύτη νιτροβενζόλιο (PhNO<sub>2</sub>)<sup>73</sup> ή σε ο-διχλωροβενζόλιο (oDCB). Οι αντιδράσεις που πραγματοποιήθηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 1. Οι δύο διαλύτες παρουσιάζουν σχεδόν τα ίδια αποτελέσματα. Προσθήκη δύο ισοδυνάμων διιωδοεξανίου σε PhNO<sub>2</sub> ή oDCB για τρεις μέρες στους 150°C δίνει το επιθυμητό προϊόν **48** σε απόδοση 10% (α/α 3 και 4). Αύξηση του χρόνου της αντίδρασης σε τέσσερις μέρες (α/α 5 και 6) δεν αύξησε την απόδοση της αντίδρασης, ενώ προσθήκη λιγότερων ισοδυνάμων (1,2 eq) διιωδοεξανίου μείωσε την απόδοση της αντίδρασης (α/α 7 και 8).

**Πίνακας 1.** Συνθήκες αντίδρασης του εστέρα ακριδίνης **40** με διιωδοεξάνιο προς σχηματισμό του ΑΕ **48**. Όλες οι αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν στους 150°C.

α/α	40 (mg)	Διιωδοεξάνιο (eq)	Διαλύτης	Χρόνος	48 (α%)
1	20	2	-	3 μέρες	-
2	15	2	PhNO <sub>2</sub>	2 μέρες	7 %
3	15	2	oDCB	3 μέρες	10%
4	60	2	PhNO <sub>2</sub>	3 μέρες	10%
5	15	2	oDCB	4 μέρες	10%
6	60	2	PhNO <sub>2</sub>	4 μέρες	10%
7	40	1,2	oDCB	2 μέρες	7 %
8	100	1,2	oDCB	3 μέρες	3 %

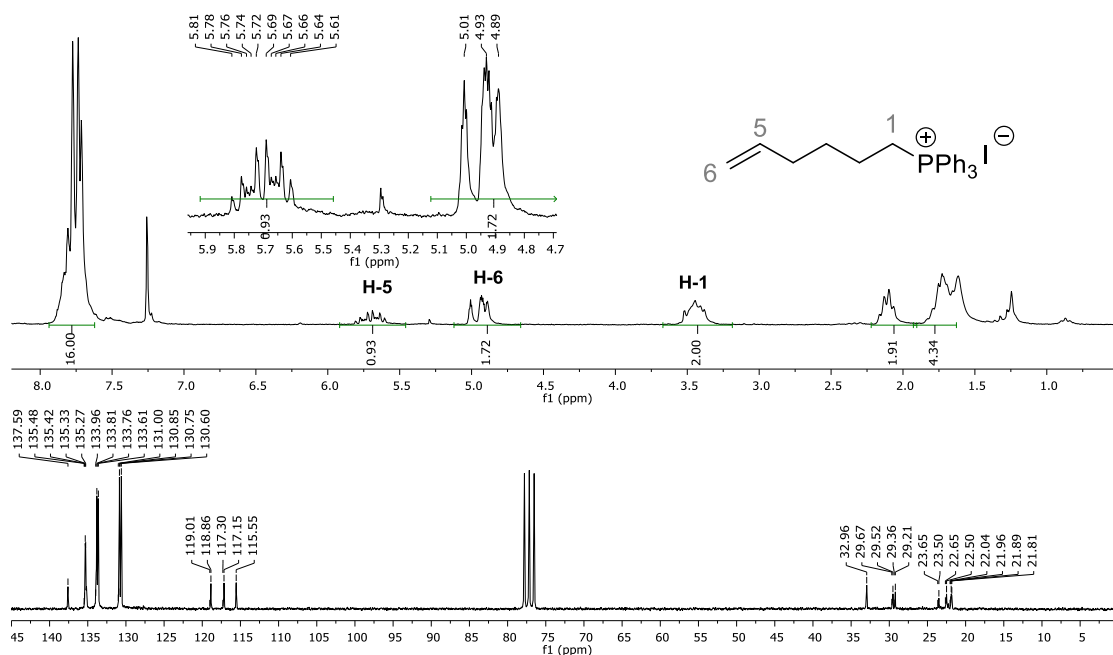
Το φάσμα <sup>1</sup>H-NMR σε DMSO-d<sub>6</sub> της ένωσης **48** ομοιάζει με το αντίστοιχο της **47**, με εμφανείς τις κορυφές της αντίστοιχης ψευδοβάσης (Εικόνα 21).



Εικόνα 21. Φάσμα  $^1\text{H-NMR}$  (200MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) της ένωσης **48**.

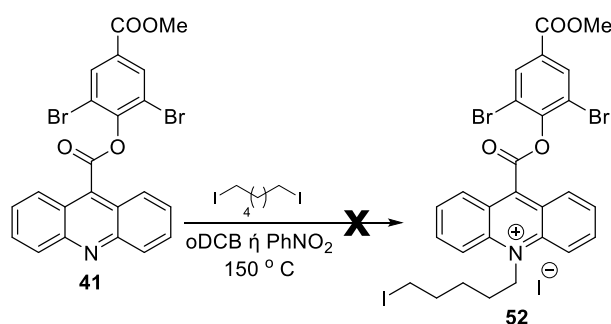
Λόγω της πολύ χαμηλής απόδοσης της αντίδρασης και της δυσκολίας καθαρισμού του παραγώγου **48** (εκτεταμένο πλύσιμο με  $\text{Et}_2\text{O}$  και P.E, φυγοκεντρήσεις), επαναλήφθηκε η αντίδραση, προσθέτοντας, όμως, αργότερα στο μίγμα (μετά από τρεις μέρες) τριφαινυλοφωσφίνη, σε μία προσπάθεια σύνθεσης του φωσφωνιακού παραγώγου-ένωση στόχος **49** σε ένα βήμα, χωρίς όμως αποτέλεσμα (Σχήμα 20ε). Η εναλλακτική προσπάθεια εισαγωγής της χαρακτηριστικής ομάδας φωσφονίου μέσω του ιωδιδίου **50**<sup>108,109</sup> για την αλκυλίωση του εστέρα **40** και πάλι απέτυχε (Σχήμα 20ζ). Μάλιστα, κατά την αντίδραση, το ιωδίδιο **50** υπέστη αντίδραση απόσπασσης σχηματίζοντας το παράγωγο **51**, όπως υποδεικνύουν τα φασματοσκοπικά δεδομένα του προϊόντος, πιθανότατα λόγω των έντονων συνθηκών αντίδρασης.

Το αλκένιο **51** καθαρίστηκε και ταυτοποιήθηκε πλήρως, καθώς δεν έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία. Χαρακτηριστικές κορυφές, όπως υποδεικνύεται και στο  $^1\text{H-NMR}$  φάσμα (Εικόνα 22), είναι κορυφές που αντιστοιχούν στα βινυλικά πρωτόνια και οι κορυφές των πρωτονίων του μεθυλενίου δίπλα στο άτομο του φωσφόρου. Η πολλαπλή κορυφή στα 3,38–3,52 ppm αντιστοιχεί στα πρωτόνια του μεθυλενίου δίπλα στο άτομο του φωσφόρου ( $\text{PCH}_2$ ), η πολλαπλή κορυφή στα 4.89–5.01 ppm αντιστοιχεί στα τελικά πρωτόνια του αλκενίου ( $=\text{CH}_2$ ) και η κορυφή στα 5,71 ppm με χαρακτηριστική σχάση διπλής-διπλής-τριπλής στο H-5 βινυλικό πρωτόνιο. Στο φάσμα  $^{13}\text{C-NMR}$  εμφανίζονται επιπλέον δύο σήματα στην αρωματική περιοχή, ενώ στο ES-MS διακρίνεται η κορυφή του μοριακού ιόντος της ένωσης ( $[\text{M}]^+$ , 344.99).



**Εικόνα 22.** Φάσματα  $^1\text{H-NMR}$  (200MHz, πάνω) και  $^{13}\text{C-NMR}$  (50MHz, κάτω) της ένωσης **51** σε  $\text{CDCl}_3$ .

Τέλος, έγινε προσπάθεια αλκυλίωσης και του εστέρα ακριδίνης **41**, χωρίς όμως επιτυχία. Συγκεκριμένα, αντίδραση του εστέρα **41** με διωδοεξάνιο προς το σχηματισμό του αλκυλιωμένου παραγώγου **52** σε διαλύτη  $\text{PhNO}_2$  ή  $\text{oDCB}$  στους  $150^\circ\text{C}$  για τρεις μέρες, δεν έδωσε κάποιο προϊόν αλκυλίωσης (Σχήμα 21).



**Σχήμα 21.** Προσπάθεια σύνθεσης του αλκυλιωμένου παραγώγου **52** από τον εστέρα **41**.

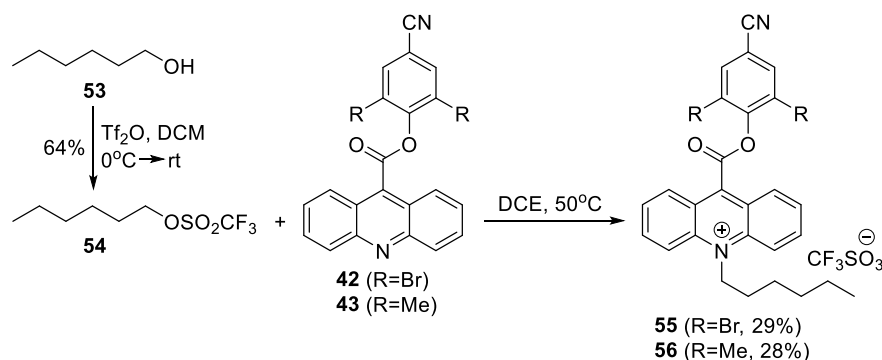
Από τα παραπάνω αποτελέσματα έγινε φανερό ότι τα αλκυλαλογονίδια δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την σύνθεση των επιθυμητών *N*-αλκυλοφωσφονιακών ΑΕ. Οι εξαιρετικά δραστικές συνθήκες που απαιτούνται, σε συνδυασμό με τις χαμηλές αποδόσεις, αλλά και τη δυσκολία στον καθαρισμό, υποδεικνύουν ότι απαιτούνται πιο δραστικά αντιδραστήρια



αλκυλίωσης.

## 7.2 N-αλκυλίωση με τριφθορομεθανοσουλφονικούς εστέρες

Οι τριφθορομεθανοσουλφονικοί εστέρες (τριφλικοί εστέρες) αποτελούν εξαιρετικά δραστικά αντιδραστήρια για αλκυλιώσεις<sup>110</sup> και έχουν χρησιμοποιηθεί εκτενώς και στη σύνθεση των εστέρων ακριδινίου όπως είδαμε πιο πάνω (Κεφάλαιο 3.4). Η χρήση τους, επομένως, φαίνεται ιδιαίτερα ελκυστική, καθώς οι ήπια δραστικές συνθήκες αλκυλίωσης της ακριδίνης που θα απαιτηθούν, θα είναι ενδεχομένως συμβατές με την παρουσία του φωσφονιακού κατιόντος που θέλουμε να εισάγουμε επιπλέον. Αναμένεται, δηλαδή, να υπερκεραστούν τα μειονεκτήματά τους (ευκολία υδρόλυσης, αστάθεια). Έτσι, συντέθηκε ο τριφθορομεθανοσουλφονικός εξυλεστέρας **54**<sup>110,111</sup> από την εξανόλη μετά από αντίδραση με τριφλικό ανυδρίτη (Tf<sub>2</sub>O, Σχήμα 22), προκειμένου να διερευνηθούν οι συνθήκες αλκυλίωσης των εστέρων ακριδινίου. Επιλέχθηκαν τα ακριδινικά παράγωγα **42** και **43** για αλκυλίωση, καθώς φέρουν ογκώδεις υποκαταστάτες στις θέσεις 2 και 6 του φαινολικού δακτυλίου καθώς και νιτρίλιο ως ηλεκτρονιοελκτική ομάδα (EWG).

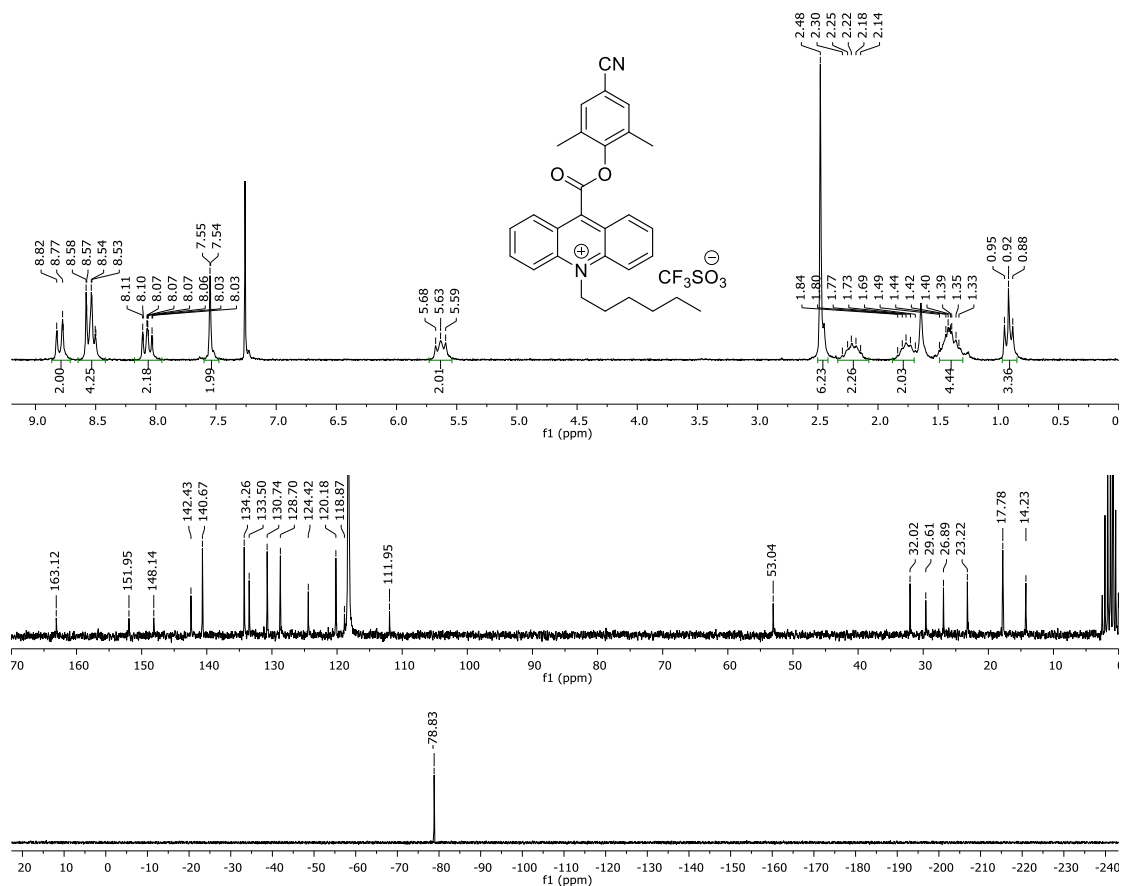


Σχήμα 22. Σύνθεση των τριφθορομεθανοσουλφονικών N-έξυλο ΑΕ παραγώγων **55** και **56**.

Η αλκυλίωση των **42** και **43** πραγματοποιήθηκε με αντίδραση περίσσειας τριφλικού εξυλεστέρα **54** (3 ισοδύναμα) στους 50°C σε διαλύτη 1,2-δichλωροαιθάνιο (DCE) για 18 ώρες, δίνοντας τα ΑΕ παράγωγα **55** και **56** με παρόμοιες αποδόσεις (29% και 28% αντίστοιχα). Είναι προφανές ότι οι συνθήκες που χρησιμοποιήθηκαν εδώ είναι κατά πολύ ηπιότερες από τις

αντίστοιχες αλκυλιώσεις με ιωδοεξάνιο (150°C για 3-4 μέρες, Κεφάλαιο 7.1), δίνοντας παράλληλα ικανοποιητική επαναληψιμότητα. Παράλληλα, όμως, οι συνθήκες είναι δραστικότερες από τις αντίστοιχες μεθυλιώσεις με τριφλικό μεθυλεστέρα, οι οποίες πραγματοποιούνταν σε θερμοκρασία δωματίου (Κεφάλαιο 6.2). Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι το μίγμα της αντίδρασης περιείχε κατά κύριο λόγο τον αρχικό εστέρα ακριδίνης και το προϊόν. Επειδή όμως δεν ήταν δυνατό να πραγματοποιηθεί χρωματογραφικός διαχωρισμός (όπως αναφέρθηκε στο Κεφάλαιο 6.2), τα τελικά προϊόντα παραλήφθηκαν σε καθαρή μορφή μετά από εκτεταμένες εκπλύσεις (αιώρηση με υπερήχους / φυγοκέντρηση / απόχυση). Έγιναν δοκιμές με διάφορους διαλύτες (πετρελαϊκό αιθέρα, διαιθυλαιθέρα, εξάνιο, βενζόλιο, τολουόλιο) και βρέθηκε ότι τα καλύτερα αποτελέσματα επιτυγχάνονταν με μίγμα 50-50 τολουολίου-διαιθυλαιθέρα.

Στην Εικόνα 23 παρουσιάζονται τα φάσματα NMR του ΑΕ παραγώγου **56** όπου φαίνονται οι αναμενόμενες μετατοπίσεις, η υψηλή καθαρότητα, αλλά και η απουσία σημάτων ψευδοβάσης στους χρησιμοποιούμενους διαλύτες (CDCl<sub>3</sub>, CD<sub>3</sub>CN).

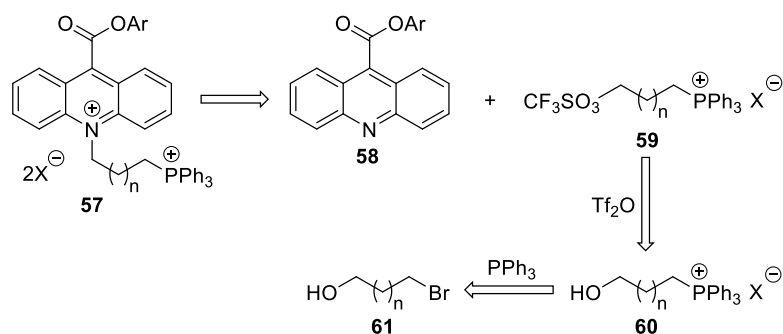


**Εικόνα 23.** Φάσματα <sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>, πάνω), <sup>13</sup>C-NMR (50MHz, CD<sub>3</sub>CN, μέση), <sup>19</sup>F-NMR (188MHz, CDCl<sub>3</sub>, κάτω) της ένωσης **56**.

## 7.3 Προσπάθεια σύνθεσης N-αλκυλο-φωσφονιακών ΑΕ αλάτων

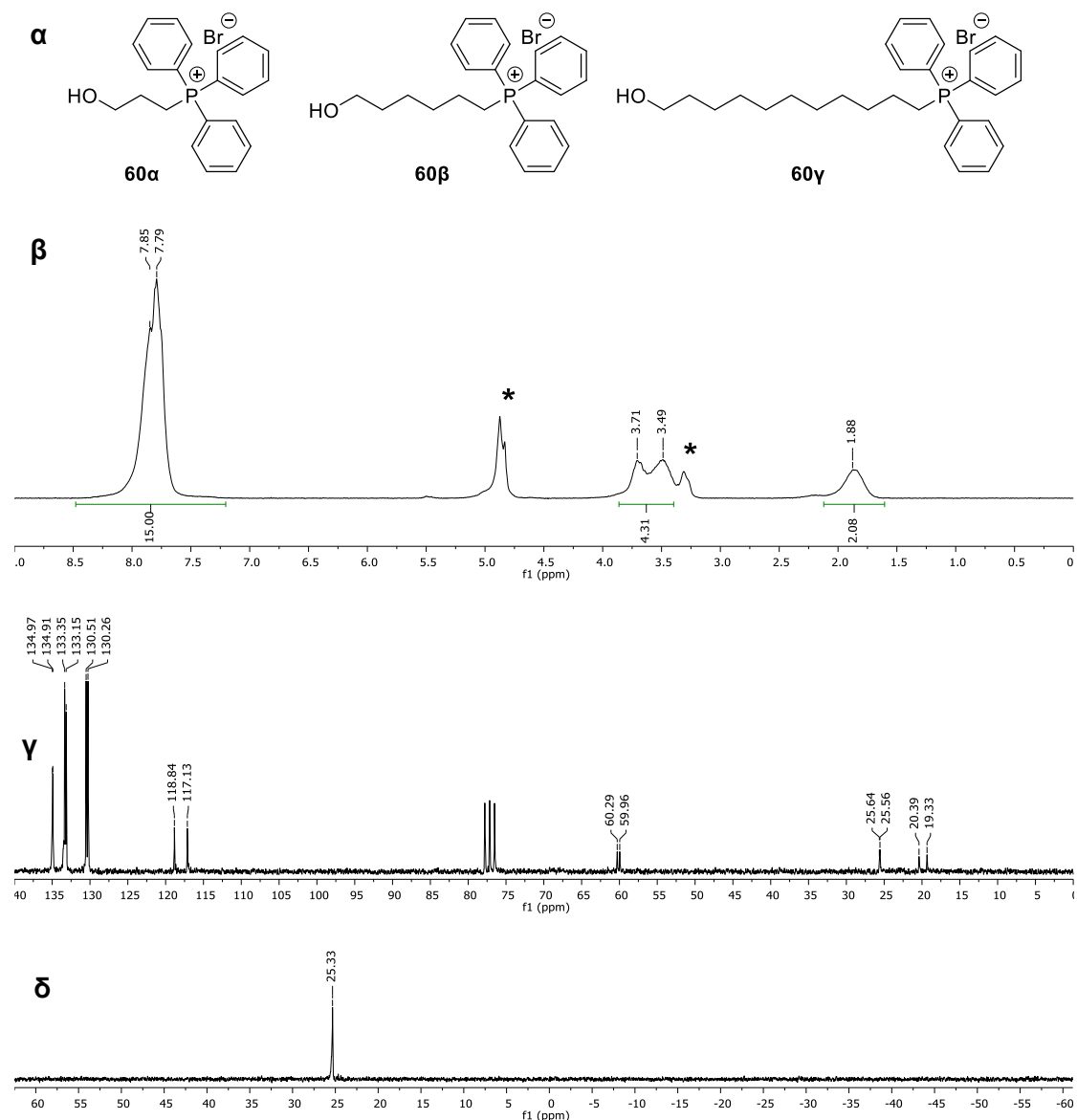
### 7.3.1 Μέσω τριφλικών αλκυλοφωσφονιακών αλάτων

Με αυτά τα δεδομένα, σχεδιάστηκε η ρετροσυνθετική ανάλυση της ένωσης-στόχου **57** που παρουσιάζεται στο Σχήμα 23. Η **57** θα μπορούσε να προέλθει από την αλκυλίωση του ακριδινικού αζώτου των εστέρων ακριδίνης **58** με το κατάλληλο φωσφονιακό παράγωγο **59** το οποίο φέρει την τριφλική ως αποχωρούσα ομάδα. Η ένωση **59** θα προκύψει από την αντίδραση της αλκοόλης **60** με τον τριφλικό ανυδρίτη. Τέλος, η αλκοόλη **60** θα προκύψει από την αντίδραση πυρηνόφιλης αλειφατικής υποκατάστασης μεταξύ της τριφαινυλοφωσφίνης και της βρωμοάλκυλο αλκοόλης.



**Σχήμα 23.** Ρετροσυνθετικό σχήμα των μιτοτροπικών παραγώγων **57** μέσω αλκυλίωσης με τριφλικά υποκατεστημένα αλκυλοφωσφονιακά άλατα.

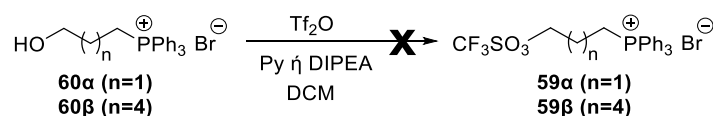
Κατ' αρχήν συντέθηκαν τρία παράγωγα αλκυλοφωσφονιακών αλκοολών διαφορετικού μήκους αλυσίδας, με σκοπό να διερευνηθεί τυχόν επίδραση του μεγέθους της άλκυλο αλυσίδας τόσο στη συνθετική πορεία, όσο και στη βιολογική δραστηριότητα των αντίστοιχων ΑΕ παραγώγων. Η σύνθεση των παραγώγων **60α-γ** (Εικόνα 24) πραγματοποιήθηκε με σχετική ευκολία και σε πολύ καλές αποδόσεις (77-84%). Σε συντομία, διάλυμα της κατάλληλης βρωμοάλκυλο αλκοόλης και τριφαινυλοφωσφίνης σε ξηρό ακετονιτρίλιο έβρασε υπό αναρροή και αργό για 24 ώρες. Το επιθυμητό προϊόν καταβυθίστηκε κατά την προσθήκη διαιθυλαιθέρα και συλλέχθηκε μετά από διήθηση και έκπλυση με διαιθυλαιθέρα ως λευκό στερεό. Και τα τρία παράγωγα χαρακτηρίστηκαν πλήρως. Χαρακτηριστικά, παρατίθενται τα φάσματα NMR της **60α** στην Εικόνα 24. Στα φάσματα  $^1\text{H-NMR}$  στην περιοχή 3,3–3,8 ppm συντονίζονται τα πρωτόνια των μεθυλενίων δίπλα στην υδροξυλομάδα και στον κατιοντικό φωσφόρο, ενώ ξεχωρίζει το σήμα των 15 αρωματικών πρωτονίων στα 7,8 ppm. Στο φάσμα  $^{13}\text{C-NMR}$  είναι χαρακτηριστικές οι σχάσεις των σημάτων όλων των ατόμων άνθρακα λόγω σύζευξης με το φωσφόρο. Το φάσματα  $^{31}\text{P-NMR}$  υποδεικνύει την παρουσία φωσφονιακού κατιόντος καθώς εμφανίζεται σήμα στα ~ 25 ppm, σε αντίθεση με την ουδέτερη  $\text{PPh}_3$  η οποία συντονίζεται στην περιοχή -4 ppm.



**Εικόνα 24.** Δομές των αλκυλοφωσφονιακών αλκοολών **60α-γ** (α) και φάσματα  $^1\text{H}$  (200MHz, β),  $^{13}\text{C}$  (50MHz, γ) και  $^{31}\text{P}$ -NMR (81MHz, δ) της ένωσης **60α** σε  $\text{CDCl}_3$ .

Επόμενο βήμα ήταν η προσπάθεια σύνθεσης των παράγωγων **59** προκειμένου να εισαχθεί η τριφλική ( $\text{CF}_3\text{SO}_3^-$ ) ομάδα. Η αντίδραση του φωσφονιακού παραγώγου **60α** ή **60β** με τον τριφθορομεθανοσουλφονικό ανυδρίτη ( $\text{Tf}_2\text{O}$ ) παρουσία άνυδρης πυριδίνης ή διισοπρωπυλαιθυλαμίνης (DIPEA) προς τον σχηματισμό των **59α** και **59β** αντίστοιχα, δεν ολοκληρώθηκε επιτυχώς (Σχήμα 24). Οι αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν υπό αργό και η εσωτερική θερμοκρασία των μιγμάτων διατηρήθηκε χαμηλότερη των  $-10^\circ\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια των αντιδράσεων. Το αποτέλεσμα, σε κάθε περίπτωση, ήταν μίγμα προϊόντων, όπου όμως δε φαινόταν ίχνος του επιθυμητού

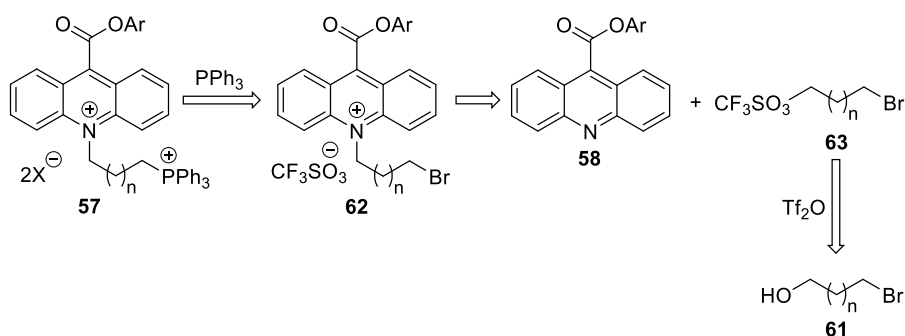
προϊόντος από τα φασματοσκοπικά δεδομένα των μιγμάτων των αντιδράσεων.



Σχήμα 24. Ανεπιτυχής προσπάθεια σύνθεσης των **59α,β**.

### 7.3.2 Μέσω τριφλικών αλκυλοβρωμιδίων

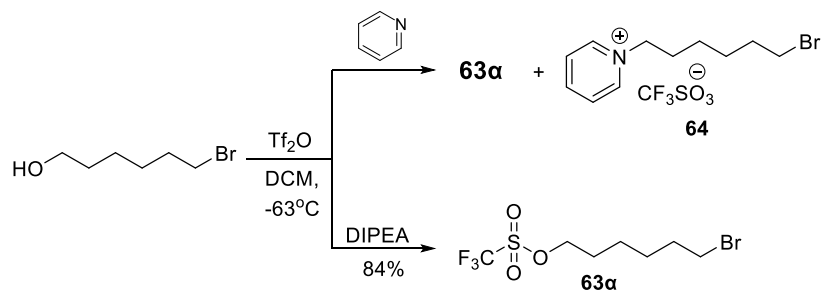
Με αυτά τα δεδομένα, αποφασίσαμε μια διαφορετική προσέγγιση για να φτάσουμε στον επιθυμητό στόχο των παραγώγων **57**, όπου η φωσφίνη εισάγεται στο τελευταίο στάδιο. Όπως φαίνεται στο ρετροσυνθετικό Σχήμα 25, υποθέσαμε ότι η γενική δομή **57** θα μπορούσε να προέλθει από την αντίδραση πυρηνόφιλης αλειφατικής υποκατάστασης μεταξύ της τριφαινυλοφωσφίνης και του ΑΕ βρωμοαλκυλιωμένου παραγώγου **62**. Η ένωση **62** θα προκύψει από την αλκυλίωση του ακριδινικού αζώτου των εστέρων ακριδίνης **58** και του τριφλικού βρωμοάλκυλο παραγώγου **63**, θεωρώντας ότι η αντίδραση θα είναι εκλεκτική λόγω της μεγαλύτερης δραστηριότητας της τριφλικής ομάδας από το βρώμιο. Το **63** με τη σειρά του θα προκύψει από την αντίδραση βρωμοάλκυλο αλκοολών με τριφλικό ανυδρίτη.



Σχήμα 25. Ρετροσυνθετικό σχήμα των μιποτροπικών παραγώγων **57** μέσω αλκυλίωσης με τριφλικά υποκατεστημένα αλκυλοβρωμίδια.

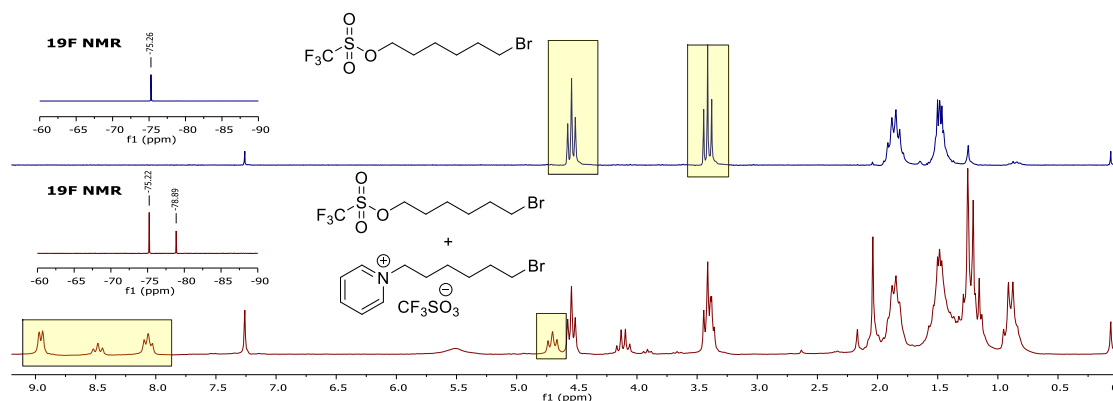
Αρχικά, συντέθηκε το παράγωγο **63α** με μία αντίδραση  $S_N2$  μεταξύ της 1-βρωμοεξανόλης και τριφλικού ανυδρίτη. Πραγματοποιώντας την αντίδραση παρουσία πυριδίνης (ως βάση), εκτός από το επιθυμητό παράγωγο **63α** παράγεται επίσης ένα παραπροϊόν, στο οποίο αποδίδεται η δομή **64**, με βάση το φάσμα  $^1H$ -NMR του μίγματος της αντίδρασης (Σχήμα 26). Το **63α**

απομονώνεται ως μοναδικό προϊόν και σε πολύ καλή απόδοση με χρήση DIPEA ως βάσης. Φαίνεται ξεκάθαρα, ότι η πυριδίνη εκτός από βάση μπορεί να λειτουργήσει και ως πυρηνόφιλο στη συγκεκριμένη περίπτωση. Για τον καθαρισμό της ένωσης **63α**, το μίγμα της αντίδρασης αποχύθηκε σε εξάνιο και περάσε από σελίτη (γη διατόμων).



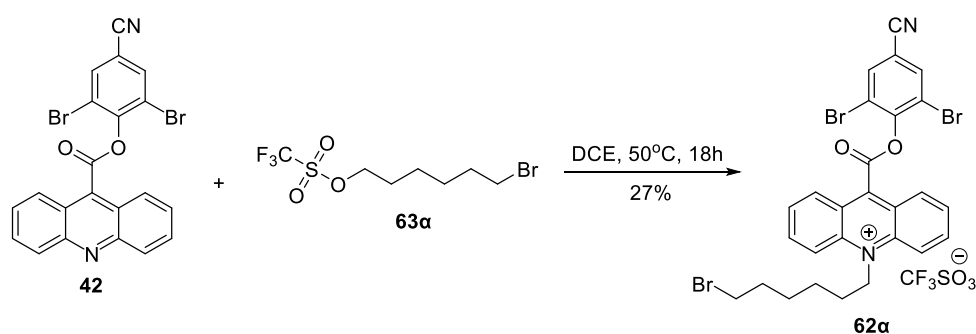
**Σχήμα 26.** Αντίδραση εστεροποίησης της βρωμοεξανόλης με τριφλικό ανυδρίτη.

Στο φάσμα  $^1\text{H-NMR}$  της **63α** (Εικόνα 25, πάνω) ξεχωρίζει η χαρακτηριστική τριπλή κορυφή των μεθυλενικών πρωτονίων δίπλα στην τριφλική ομάδα στα 4,54 ppm,<sup>110,112</sup> καθώς και η κορυφή που αντιστοιχεί στα πρωτόνια δίπλα στο βρώμιο (3,41 ppm). Στο φάσμα  $^1\text{H-NMR}$  του μίγματος της αντίδρασης με πυριδίνη (Εικόνα 25, κάτω), διακρίνονται επιπλέον οι κορυφές που αποδίδονται στο παραπροϊόν **64** με χαρακτηριστικές τις δύο τριπλές και μία διπλή του κατιοντικού δακτυλίου της πυριδίνης και της τριπλής κορυφής στα 4,72 ppm που αντιστοιχεί στα πρωτόνια του μεθυλενίου δίπλα στο κατιοντικό άτομο αζώτου. Επιπλέον, οι δύο κορυφές στο φάσμα  $^{19}\text{F-NMR}$  της αντίδρασης παρουσία πυριδίνης, αποδεικνύουν την ύπαρξη δύο ομάδων πυρήνων φθορίου και συγκεκριμένα στα -75,22 ppm της εστεροποιημένης τριφλικής ομάδας (ένωση **63α**) και στα -78,89 ppm της ανιοντικής τριφλικής ομάδας (ένωση **64**).



**Εικόνα 25.** Φάσματα  $^1\text{H-NMR}$  (200MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) του **63α** (πάνω) και του μίγματος της αντίδρασης βρωμοεξανόλης με  $\text{Tf}_2\text{O}$  παρουσία (κάτω). Ένθετα: Φάσματα  $^{19}\text{F-NMR}$  (188MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

Έχοντας συνθέσει τον βρωμοέξυλο τριφλικό εστέρα **63α**, επόμενο βήμα ήταν η χρήση του για την αλκυλίωση του εστέρα ακριδίνης **42** προς το ΑΕ βρωμοάλκυλο παράγωγο **62α** (Σχήμα 27). Ακολουθήθηκε το τροποποιημένο πρωτόκολλο των Weeks και της ερευνητικής του ομάδας<sup>73</sup> όπου το μίγμα της αντίδρασης αφέθηκε να αντιδράσει για 18 ώρες σε διαλύτη DCE στους  $50^\circ\text{C}$ , δίνοντας το ΑΕ παράγωγο **62α** με 27% απόδοση. Προσπαθήσαμε να βελτιστοποιήσουμε και να αυξήσουμε την απόδοση της αντίδρασης αλλάζοντας τον χρόνο (από 18 ώρες σε 2 μέρες) και τη θερμοκρασία (από  $50^\circ\text{C}$  σε  $83^\circ\text{C}$ / αναρροή) χωρίς όμως αποτέλεσμα. Το κυριότερο πρόβλημα ήταν ο καθαρισμός του ευαίσθητου παραγώγου **62α**, καθώς όπως αναφέρθηκε και πιο πάνω, η χρωματογραφία στήλης δεν συνιστάται ως μέθοδος καθαρισμού μεθυλιωμένων/αλκυλιωμένων παραγώγων. Το προϊόν απομονώθηκε μετά από διεξοδικό πλύσιμο με μίγμα διαιθυλαιθέρα/ τολουολίου 1:1.

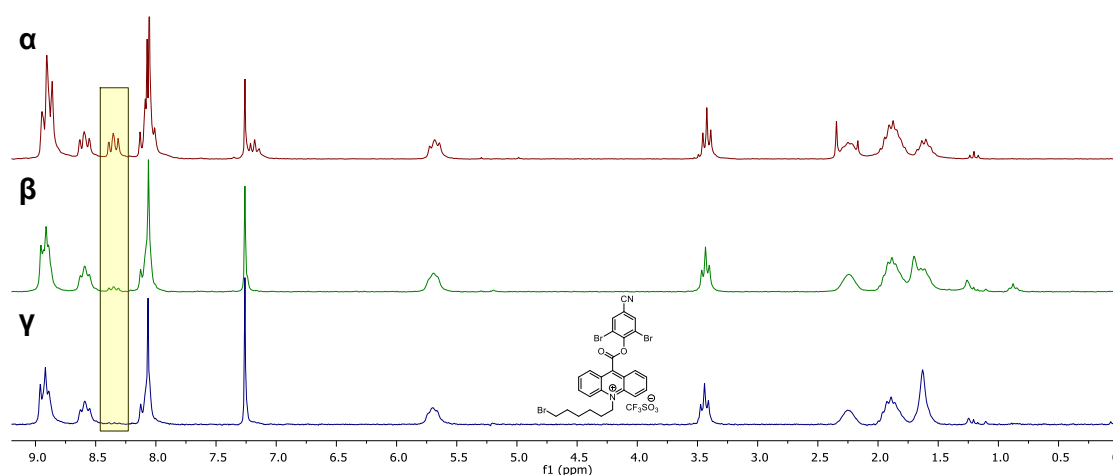


**Σχήμα 27.** Αντίδραση αλκυλίωσης προς το σχηματισμό της ένωσης **62α**.

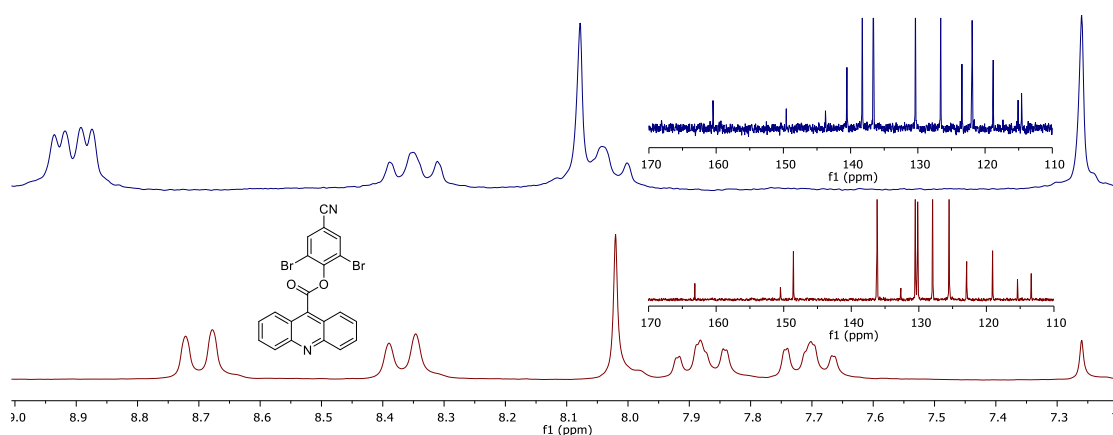
Στην Εικόνα 26, παρουσιάζονται τα φάσματα  $^1\text{H-NMR}$  της αντίδρασης



πριν και μετά τις εκπλύσεις. Παρατηρούμε ότι όσο πλένεται το μίγμα της αντίδρασης με διαιθυλαιθέρα/τολουόλιο τόσο μειώνεται η τριπλή κορυφή (χρωματισμένη περιοχή) στην αρωματική περιοχή που αποδίδεται στον αρχικό εστέρα **42**, έως ότου να εξαφανιστεί και να μείνει καθαρή η ένωση **62α**. Αξιοσημείωτο αποτελεί και πάλι (βλέπε μεθυλιώμενα παράγωγα) το γεγονός ότι ενώ η χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC) και η φασματομετρία μάζας (ισχυρή κορυφή ιόντος της **42**,  $[M+H]^+$ , 482,72) των εκπλυμάτων υποδεικνύουν την αρχική ένωση **42**, τα φάσματα  $^1\text{H-NMR}$  και  $^{13}\text{C-NMR}$  των εκπλυμάτων (Εικόνα 27) δεν ταυτίζονται με αυτά του εστέρα ακριδίνης **42**. Θεωρήθηκε, παρόλα αυτά, ότι τα διηθήματα περιέχουν τον αρχικό εστέρα **42** και το φαινόμενο αυτό δεν διερευνήθηκε περαιτέρω.

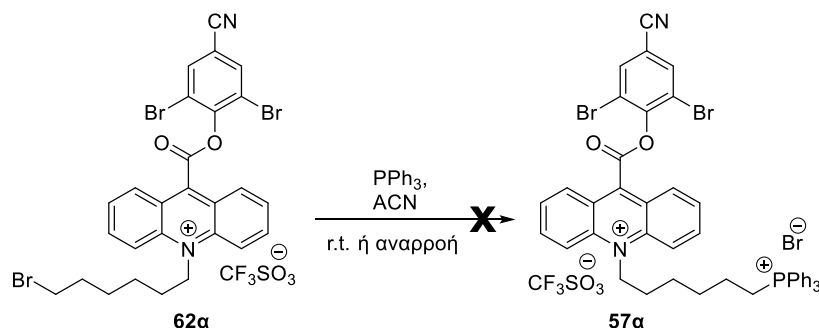


**Εικόνα 26.** Φάσματα  $^1\text{H-NMR}$  (200MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) του μίγματος της αντίδρασης του Σχήματος 27 πριν (α) κατά τη διάρκεια (β) και μετά (γ) τις εκπλύσεις με διαιθυλαιθέρα/τολουόλιο.



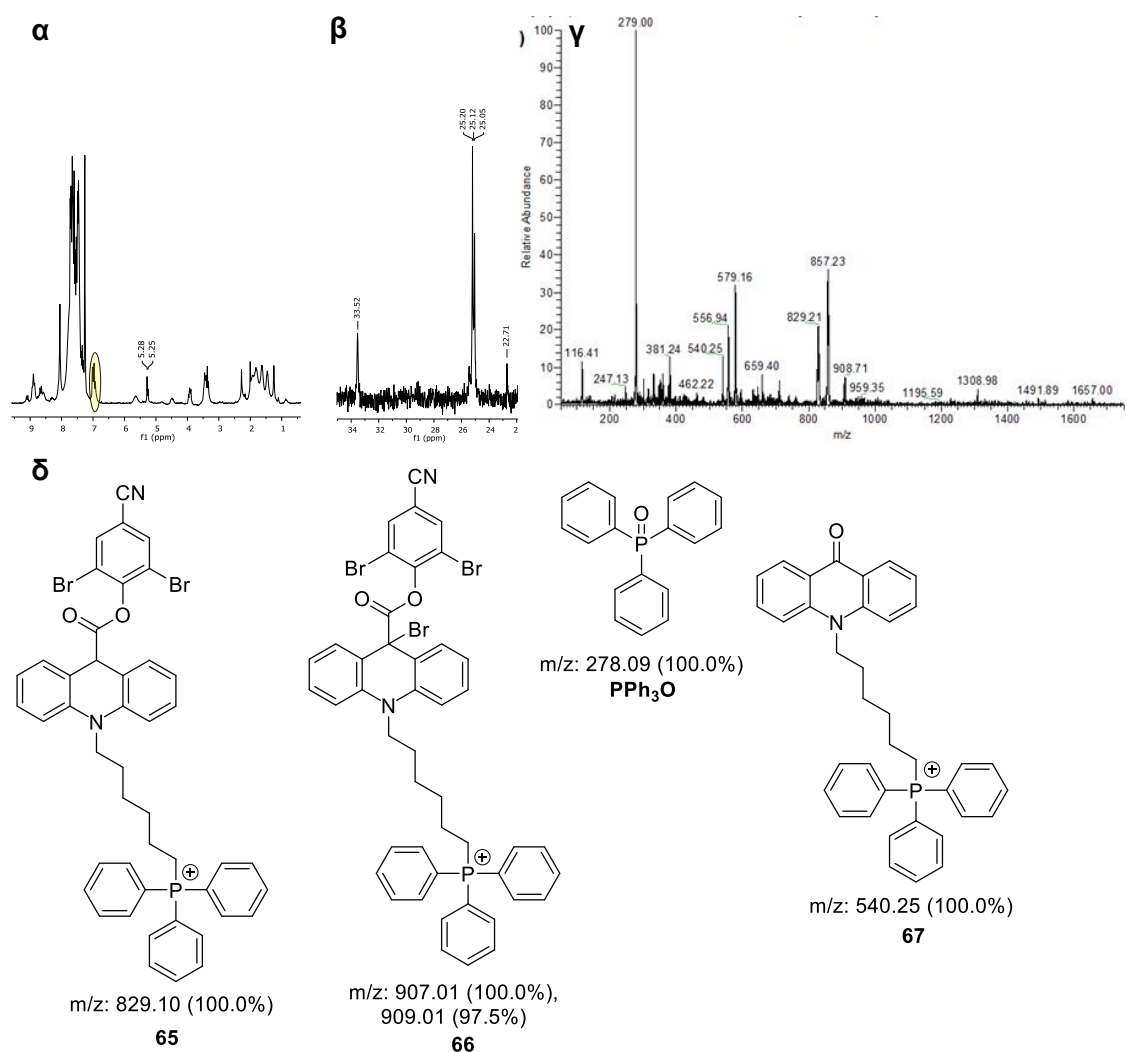
**Εικόνα 27.** Φάσματα  $^1\text{H-NMR}$  (200MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) των εκπλυμάτων της αντίδρασης του Σχήματος 27 (πάνω) και του καθαρού εστέρα ακριδίνης **42** (κάτω). Ένθετα: Φάσματα  $^{13}\text{C-NMR}$  (50MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

Αφού συντέθηκε το βρωμοάλκυλο ΑΕ παράγωγο **62α**, διερευνήθηκε η υποκατάσταση με τριφαινυλοφωσφίνη προς το τελικό παράγωγο-στόχο. Πραγματοποιήθηκαν δύο αντιδράσεις σε ξηρό ακετονιτρίλιο, η μία με βρασμό υπό αναρροή και η άλλη σε θερμοκρασία δωματίου (Σχήμα 28).



**Σχήμα 28.** Αντίδραση του παραγώγου **62α** με PPh<sub>3</sub> προς το ΑΕ παράγωγο-στόχο **57α**.

Και στις δύο περιπτώσεις λάβαμε ένα πολυσύνθετο μίγμα και τα φάσματα <sup>1</sup>H-NMR και <sup>31</sup>P-NMR (Εικόνα 28) δεν ήταν ιδιαίτερα κατατοπιστικά. Στο φάσμα <sup>31</sup>P-NMR διακρίνεται η κορυφή στα 33,52 ppm που αποδίδεται στο τριφαινυλοφωσφινολικό οξύ (PPh<sub>3</sub>=O). Στο φάσμα μαζών, εμφανίστηκαν διάφορα ιόντα, χωρίς όμως να διακριθεί το ιόν της επιθυμητής ένωσης ([M]<sup>2+</sup>, m/z: 414.05). Μεταξύ αυτών, διακρίνονται κορυφές που μπορούν να αποδοθούν στις δομές που φαίνονται στην Εικόνα 28, όπως τριφαινυλοφωσφινολικό οξύ, ανηγμένη ακριδίνη (**65**), υποκατεστημένη ακριδίνη (**66**), ακριδόνη (**67**). Η ύπαρξη των **65** και PPh<sub>3</sub>=O ενδεχομένως υποδεικνύει οξείδωση της τριφαινυλοφωσφίνης, από τον ΑΕ **62α**. Εκτός από το ES-MS, στο φάσμα <sup>1</sup>H-NMR διακρίνονται σήματα τα οποία μπορούν να αποδοθούν στην **65**. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, το πρωτόνιο στον άνθρακα C<sub>10</sub> συντονίζεται στα ~5,20-5,50 ppm, ενώ τα αρωματικά πρωτόνια της ακριδίνης σε υψηλότερα πεδία σε σχέση με το μη ανηγμένο παράγωγο, στην περιοχή κοντά στα 6,77-7,30 ppm.<sup>113</sup> Ανεξαρτήτως από τα πιθανά προϊόντα, το συμπέρασμα είναι ότι δεν σχηματίστηκε το επιθυμητό προϊόν, οπότε εγκαταλείψαμε και αυτήν την προσέγγιση.

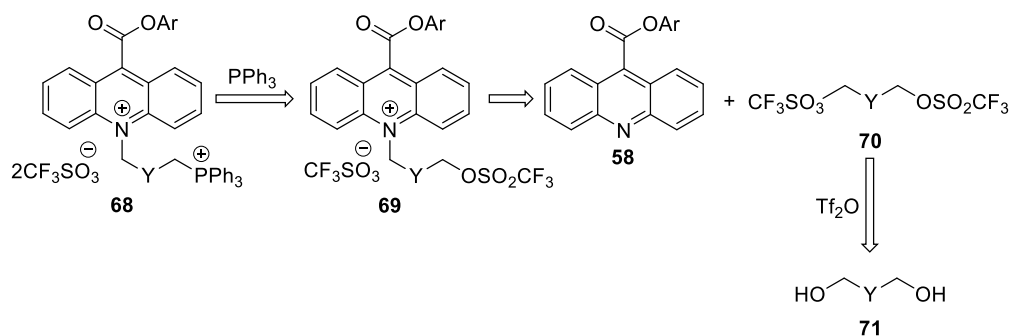


**Εικόνα 28.** Φάσματα  $^1\text{H-NMR}$  (200MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\alpha$ ),  $^{31}\text{P-NMR}$  (81MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\beta$ ) ES-MS ( $\gamma$ ). και πιθανές δομές που αποδίδονται σε κορυφές του φάσματος ES-MS ( $\delta$ ) του μίγματος της αντίδρασης του Σχήματος 28.

### 7.3.3 Μέσω διτριφλικών εστέρων αλκυλοδιολών

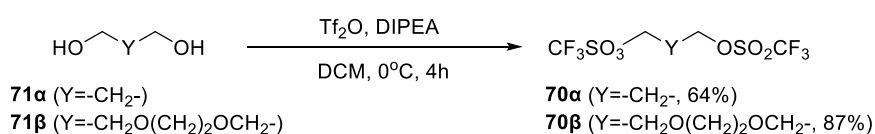
Η τελευταία προσέγγιση που ακολουθήσαμε παρουσιάζεται στο ρετροσυνθετικό Σχήμα 29. Θεωρήσαμε ότι πιο ήπιες συνθήκες αλκυλίωσης και αποφυγή χρήσης βρωμιδίων κατά την αντίδραση ενδεχομένως να είναι η λύση για να αποφευχθούν παραπροϊόντα όπως τα **65** και **66** της Εικόνα 28. Γνωρίζοντας ότι η τριφλική ομάδα είναι καλύτερη αποχωρούσα ομάδα από το βρωμίδιο ακολουθήσαμε την ίδια διαδικασία, αλλά αυτήν τη φορά προσπαθήσαμε να συνθέσουμε τα παράγωγα **69**, τα οποία θα προκύψουν από την αλκυλίωση των εστέρων ακριδινίου **58** με διτριφλικούς εστέρες

αλκυλοδιολών **70**. Αυτοί θα προκύψουν από τις αντίστοιχες διόλες **71**.



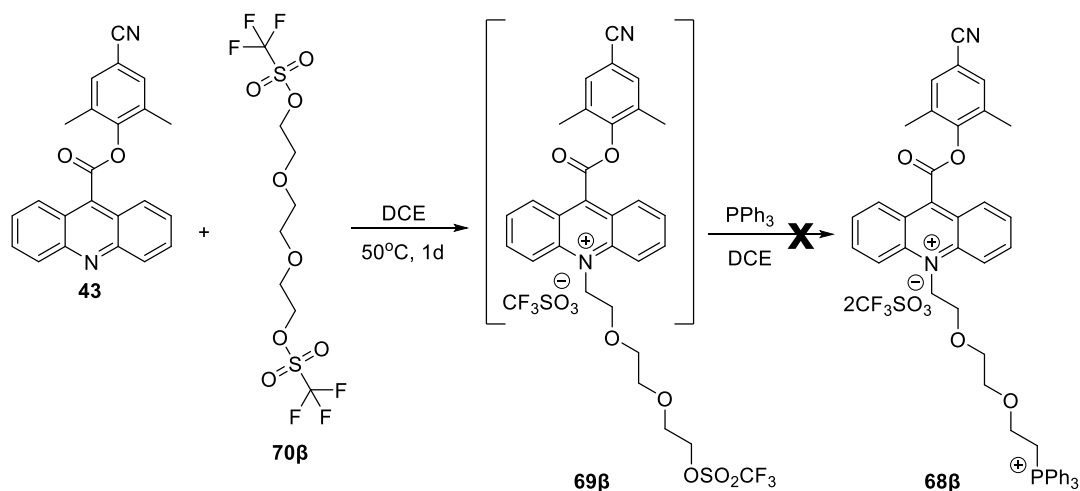
**Σχήμα 29.** Ρετροσυνθετικό σχήμα των μιτοτροπικών παραγώγων **68** μέσω αλκυλίωσης με διτριφλικές αλκυλοδιόλες.

Αποφασίστηκε να συντεθούν δύο διτριφλικά παράγωγα, ένα με άλκυλο και ένα με τριαιθυλενογλυκολική (TEG) αλυσίδα. Ακολουθώντας το πρωτόκολλο του Yamamoto και των συνεργατών του,<sup>114</sup> τα παράγωγα **70α,β** συντέθηκαν εύκολα και σε καλές αποδόσεις (Σχήμα 30). Για τον καθαρισμό των ενώσεων, τα μίγματα αποχύθηκαν και πάλι σε εξάνιο και πέρασαν από σελίτη (γη διατόμων).

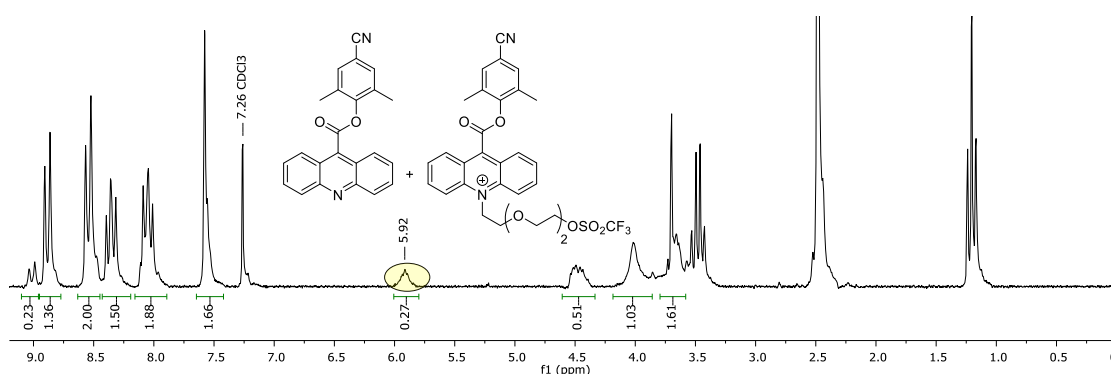


**Σχήμα 30.** Αντίδραση σύνθεσης των παραγώγων **70α** και **70β**.

Στη συνέχεια, το παράγωγο **70β** αφέθηκε να αντιδράσει με τον εστέρα ακριδίνης **43** σε ξηρό DCE στους  $50^\circ\text{C}$  (Σχήμα 31). Αφού πλύθηκε με  $\text{Et}_2\text{O}$  λήφθηκε φάσμα  $^1\text{H-NMR}$  το οποίο υποδεικνύει ότι παράχθηκε λίγο προϊόν **69β**, αφού φαίνεται ξεκάθαρα η χαρακτηριστική κορυφή στα 5,92 ppm που αντιστοιχεί στο μεθυλένιο δίπλα στο ακριδινικό άζωτο (Εικόνα 29). Επειδή δεν υπήρχε τρόπος να καθαρίσουμε το ευαίσθητο προϊόν, και επειδή, σύμφωνα με την σχετική ολοκλήρωση από το φάσμα  $^1\text{H-NMR}$ , η αναλογία **43/69β** ήταν 8:2, προχωρήσαμε στο επόμενη αντίδραση, προσθέτοντας σε αυτό το μίγμα 20 mol%  $\text{PPh}_3$  και αφήνοντάς το να αντιδράσει σε ξηρό DCE. Το αποτέλεσμα ήταν πάλι ένα απροσδιόριστο μίγμα προϊόντων, όπου ο σχηματισμός του επιθυμητού προϊόντος **68β** δεν ήταν δυνατόν να ανιχνευθεί από τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μίγματος της αντίδρασης.



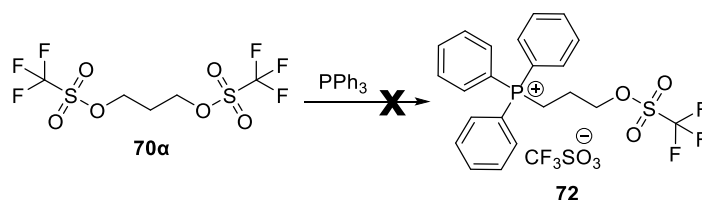
Σχήμα 31. Προσπάθεια σύνθεσης του παραγώγου **68β**.



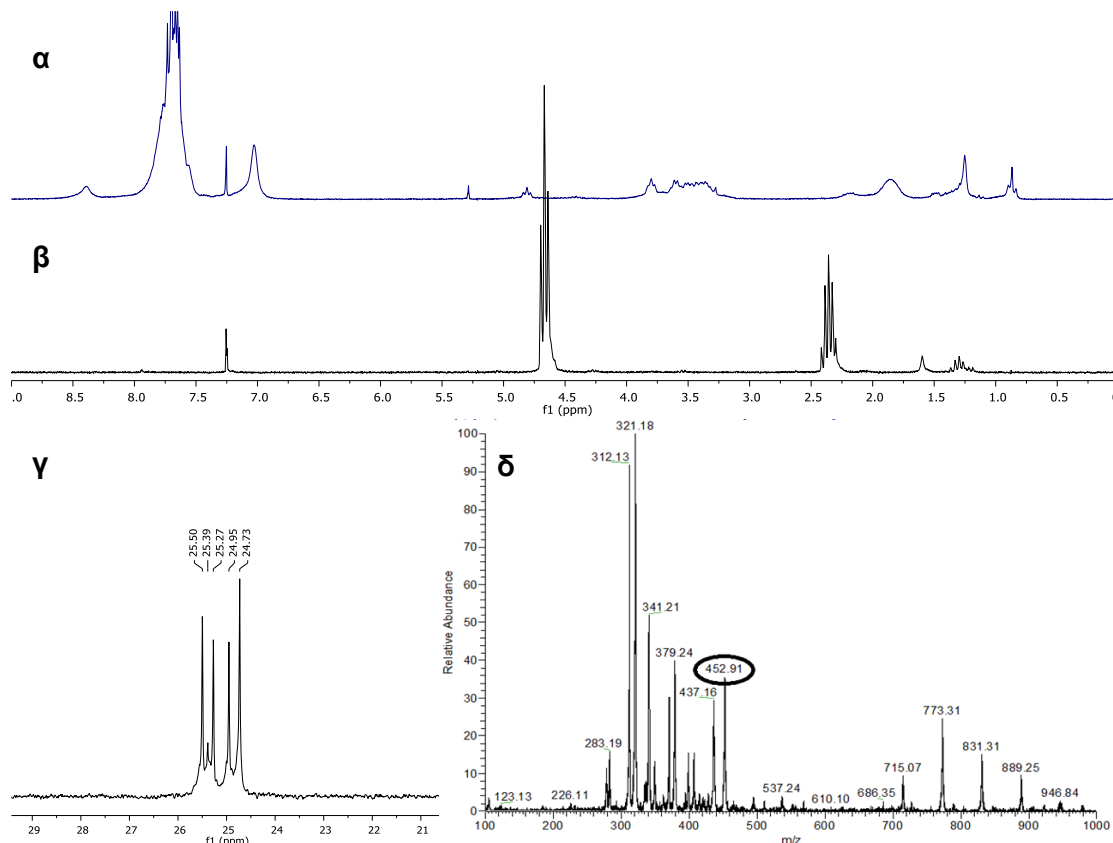
Εικόνα 29. Φάσμα <sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>) του μίγματος της αντίδρασης του Σχήματος 31.

Έπειτα από αυτό το αποτέλεσμα, σκεφτήκαμε να εισάγουμε πρώτα τη φωσφίνη στο διτριφλικό παράγωγο **70α** (Σχήμα 32) και μετά να γίνει η αλκυλίωση της ακριδίνης. Έτσι, δοκιμάστηκε η αντίδραση του **70α** με τριφαινυλοφωσφίνη σε διάφορους διαλύτες (CH<sub>3</sub>CN, Τολουόλιο και DCE). Χρησιμοποιήθηκε περίσσεια της **70α** (5 eq) για αποφυγή διυποκατάστασης και η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε Θ=0-50°C με συνεχή παρακολούθηση με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας έως ότου εξαφανιστεί η κηλίδα της τριφαινυλοφωσφίνης. Σε κάθε περίπτωση σχηματίζεται περίπλοκο μίγμα προϊόντων. Μόνο στην αντίδραση που πραγματοποιήθηκε σε 1,2-διχλωροαιθάνιο, τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μίγματος έδειξαν πιθανό σχηματισμό του επιθυμητού προϊόντος (κορυφή στα 4,80 ppm στο φάσμα <sup>1</sup>H-NMR αποδιδόμενη στη μεθυλένο ομάδα δίπλα στην τριφλική και κορυφή του μοριακού ιόντος στο φάσμα ES-MS (m/z=453), Εικόνα 30). Παρόλα αυτά, το μίγμα ήταν αρκετά περίπλοκο (ενδεικτικές και οι πολλαπλές κορυφές στο

φάσμα  $^{31}\text{P}$ -NMR) και δεν μπορούσε να καθαριστεί. Επανάληψη της αντίδρασης χρησιμοποιώντας μικρότερη περίσσεια της **70α** (1,5 eq) δεν έδινε διαφορετικό φάσμα. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα επομένως δεν μας επιτρέπουν να εξαγάγουμε κάποιο άλλο συμπέρασμα, πέραν του ότι ενδεχομένως να παράγεται κάποιο ελάχιστο προϊόν όταν χρησιμοποιείται το DCE ως διαλύτης.



Σχήμα 32. Προσπάθεια σύνθεσης του **72**.



Εικόνα 30. α) Φάσμα  $^1\text{H}$ -NMR (200MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) του μίγματος της αντίδρασης του Σχήματος 32 σε ACN. β) Φάσμα  $^1\text{H}$ -NMR (200MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) του **70α**. γ) Φάσμα  $^{31}\text{P}$ -NMR (81MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) του μίγματος. δ) Φάσμα ES-MS του μίγματος.

Σε αυτό το σημείο εγκαταλείφθηκε κάθε προσπάθεια σύνθεσης ακριδινικού παραγώγου που φέρει φωσφονιακή ομάδα στην *N*-άλκυλο αλυσίδα, καθώς ήταν φανερό ότι υπάρχει κάποιου είδους ασυμβατότητα μεταξύ της τριφαινυλοφωσφίνης και της ομάδας του τριφλικού εστέρα.

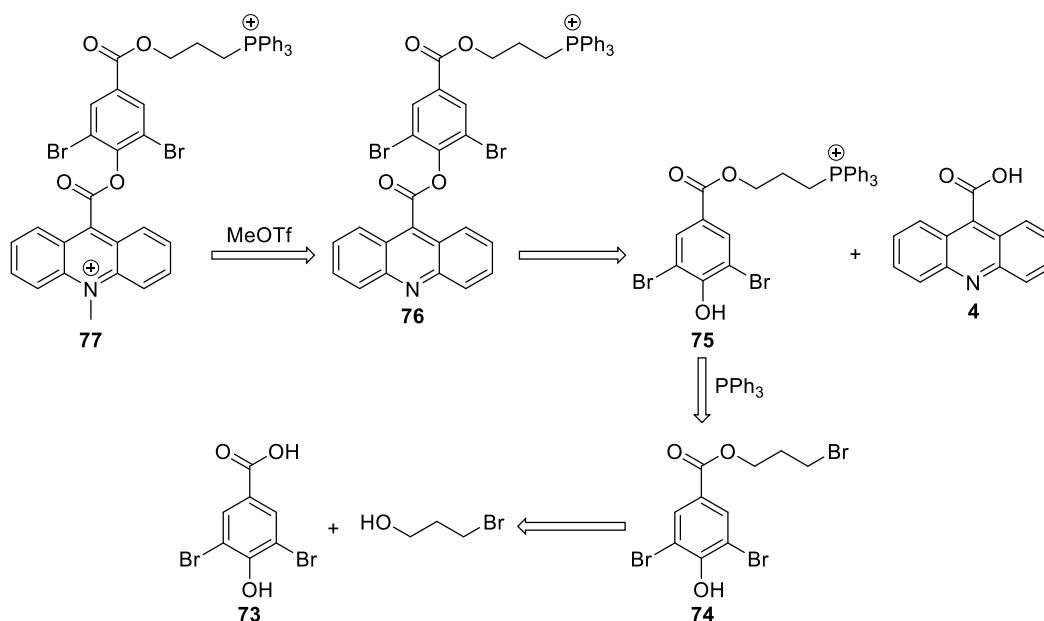
## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8

### ΣΥΝΘΕΣΗ ΠΑΡΑΓΩΓΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΣΤΟ ΦΑΙΝΟΛΙΚΟ ΔΑΚΤΥΛΙΟ ΕΣΤΕΡΩΝ ΑΚΡΙΔΙΝΙΟΥ

Δεδομένου ότι η προσέγγιση για την πρόσδεση της μιτοτροπικής ομάδας του φωσφονιακού κατιόντος στον *N*-άλκυλο υποκαταστάτη του ακριδινίου απέτυχε, διερευνήθηκε η άλλη στρατηγική, αυτή της σύνδεσης του φωσφονιακού κατιόντος στον δακτύλιο φαινόλης. Θεωρήθηκε ότι οι με αυτόν τον τρόπο παραγωγοποιημένοι εστέρες ακριδίνης θα μπορούσαν να συντεθούν σχετικά εύκολα και, έπειτα, οι τελικοί εστέρες ακριδινίου θα συντίθονταν με *N*-μεθυλίωση η οποία, όπως είδαμε (Κεφάλαιο 6) γίνεται σε συνθήκες ηπιότερες από αυτές της *N*-αλκυλίωσης.

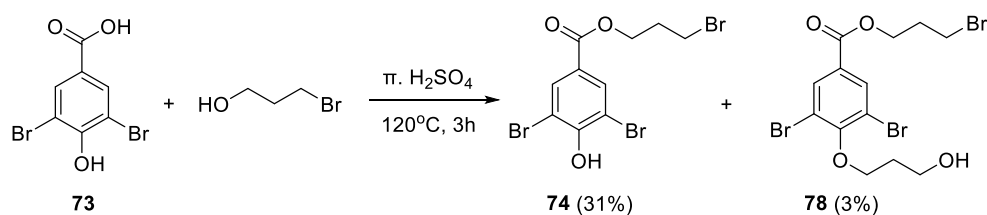
#### 8.1 Παραγωγοποίηση μέσω εστεροποίησης

Με βάση την παραπάνω λογική, σχεδιάστηκε, μεταξύ άλλων, η σύνθεση του παραγώγου **77** (Σχήμα 33), όπου το φωσφονιακό κατιόν είναι συνδεδεμένο στον ΑΕ μέσω εστερικού δεσμού. Η αλυσίδα που συνδέει το φωσφονιακό ιόν με τον εστερικό δεσμό είναι μεγέθους μόλις 3 ατόμων άνθρακα, με σκοπό την παρεμπόδιση της υδρόλυσής του κατά την εισαγωγή σε κυτταρικά περιβάλλοντα από τις εστεράσες. Εν συντομία, η **77** θα προέλθει από τη μεθυλίωση του εστέρα ακριδίνης **76**, ο οποίος θα προέλθει από τη συμπύκνωση του ακριδινικού οξέος **4** με τη φωσφονιακή φαινόλη **75**. Αυτή θα προέλθει από το βρωμίδιο **74**, το οποίο προέρχεται από τη συμπύκνωση του υδρόξυ οξέος **73** με τη βρωμοπροπανόλη.



**Σχήμα 33.** Ρετροσυνθετικό σχήμα του μιτοτροπικού παραγώγου **77** μέσω εστεροποίησης στο φαινολικό δακτύλιο.

Αρχικά, επιχειρήθηκε η σύνθεση την ένωσης **74** μέσω εστεροποίησης Fischer (Σχήμα 34). Το υδροξύ οξύ **73** αφήνεται να αντιδράσει με την 3-βρωμο-1-προπανόλη σε πυκνό διάλυμα θειικού οξέος (~ 98%) για 3 ώρες. Από την αντίδραση απομονώνεται τόσο η επιθυμητή ένωση **74**, όσο και μικρή ποσότητα του παραπροϊόντος **78**, όπου, εκτός από εστεροποίηση στο καρβοξύλιο, έχει γίνει και αλκυλίωση στο υδροξύλιο της **73**. Οι δύο ενώσεις καθαρίστηκαν με χρωματογραφία στήλης και ταυτοποιήθηκαν.

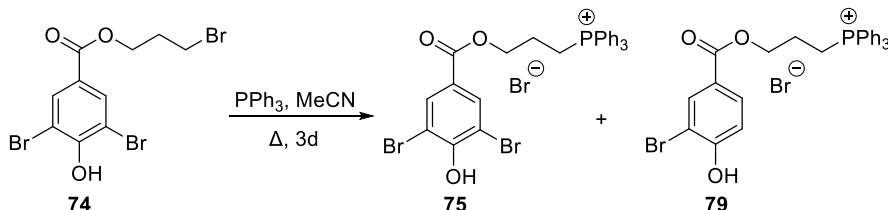


**Σχήμα 34.** Αντίδραση εστεροποίησης μεταξύ του οξέος **73** και της 3-βρωμοπροπανόλης.

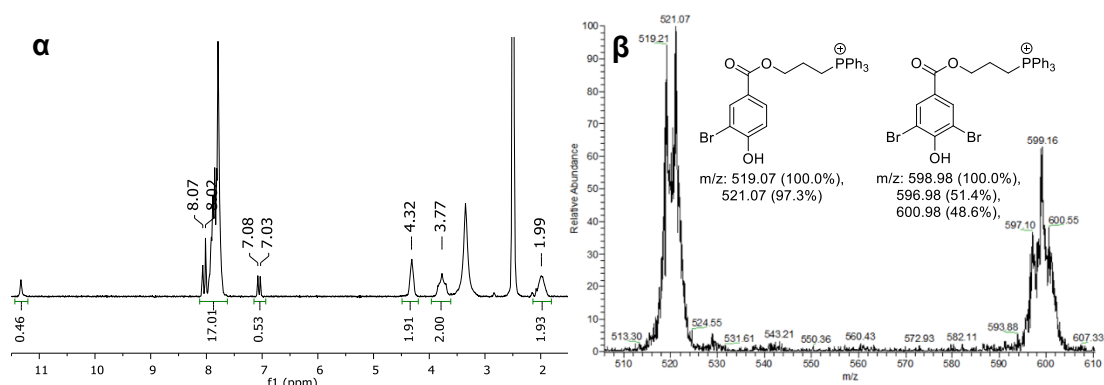
Επόμενο βήμα ήταν η μετατροπή του βρωμιδίου **74** στο φωσφονιακό παράγωγο **75** με μία αντίδραση πυρηνόφιλης αλειφατικής υποκατάστασης (Σχήμα 35). Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε ακετονιτρίλιο υπό βρασμό για τρεις μέρες και βρισκόταν υπό παρακολούθηση με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας. Σχηματίστηκε ένα μίγμα προϊόντων και επιχειρήθηκε



χρωματογραφικός διαχωρισμός, χωρίς όμως αποτέλεσμα. Τα φάσματα  $^1\text{H-NMR}$  και ES-MS που λήφθηκαν μετά την χρωματογραφία στήλης είχαν όλα σχεδόν την ίδια εικόνα (Εικόνα 31). Η διπλή κορυφή στα 7.05 ppm στο φάσμα  $^1\text{H-NMR}$  μας προβλημάτισε, γιατί υποδεικνύει την ύπαρξη γειτονικών αρωματικών πρωτονίων, κάτι μη αναμενόμενο. Αυτό, σε συνδυασμό με τα ευρήματα της φασματομετρίας μάζας, υποδεικνύει την ύπαρξη μίγματος του αναμενόμενου διβρωμιωμένου **75** και του μονοβρωμιωμένου παραγώγου **79** σε αναλογία περίπου 1:1. Ο σχηματισμός του **79** υποδεικνύει ότι υπό τις παρούσες συνθήκες λαμβάνει χώρα αναγωγική αφαλογόνωση.



Σχήμα 35. Αντίδραση του βρωμιδίου **74** με τριφαινυλοφωσφίνη.



Εικόνα 31. Φάσματα  $^1\text{H-NMR}$  (α, 200MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) και ES-MS (β) του μίγματος της αντίδρασης του Σχήματος 35.

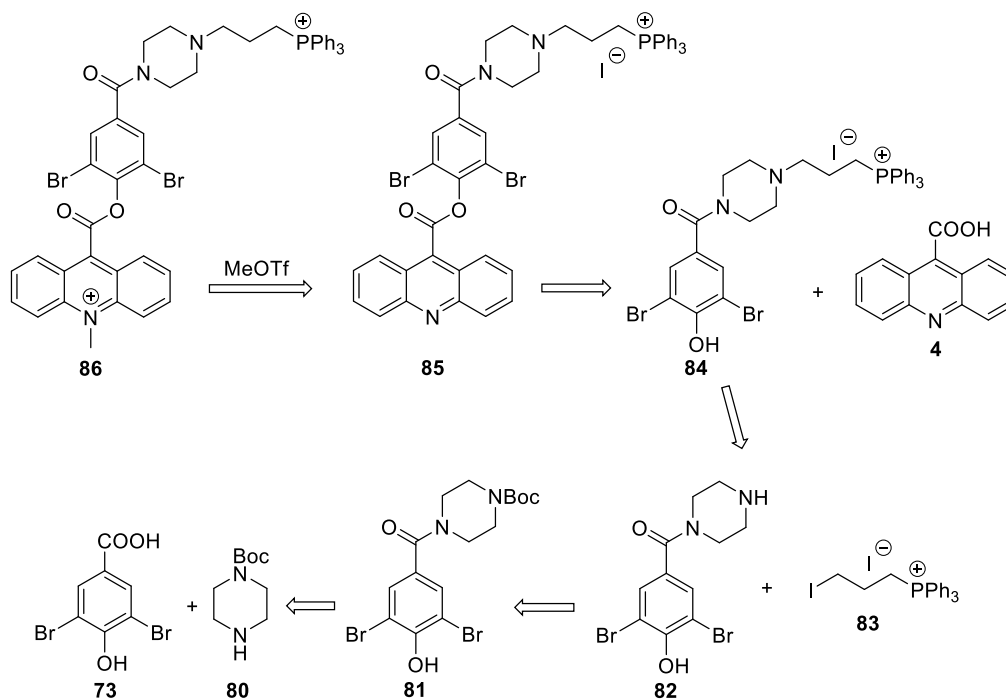
Το γεγονός ότι δεν ήταν εφικτή η απομόνωση του **75** σε καθαρή μορφή, σε συνδυασμό με την έλλειψη χρόνου αλλά και με το ότι ασχολούμασταν παράλληλα με περισσότερες υποσχόμενες πορείες, τόσο από πλευράς σύνθεσης, όσο και πιθανής βιολογικής δράσης των τελικών προϊόντων, μας οδήγησε στο να μη συνεχίσουμε με την περεταίρω διερεύνηση της παραπάνω αντίδρασης και να εγκαταλείψουμε συνολικά την παραγωγοποίηση μέσω εστεροποίησης.

## 8.2 Παραγωγοποίηση μέσω σχηματισμού αμιδίου

Παράλληλα με την παραπάνω πορεία, διερευνήσαμε και την παραγωγοποίηση μέσω αμιδικού δεσμού. Τα αμίδια δεν υδρολύονται τόσο εύκολα στον ανθρώπινο οργανισμό όσο οι εστέρες, οι οποίοι υδρολύονται αμέσως από τα ένζυμα εστεράσες, με αποτέλεσμα τα τελικά προϊόντα να είναι πιο σταθερά και άρα υποσχόμενα από πλευράς βιολογικής δράσης.

### 8.2.1 Μέσω γέφυρας αλκυλιωμένης πιπεραζίνης

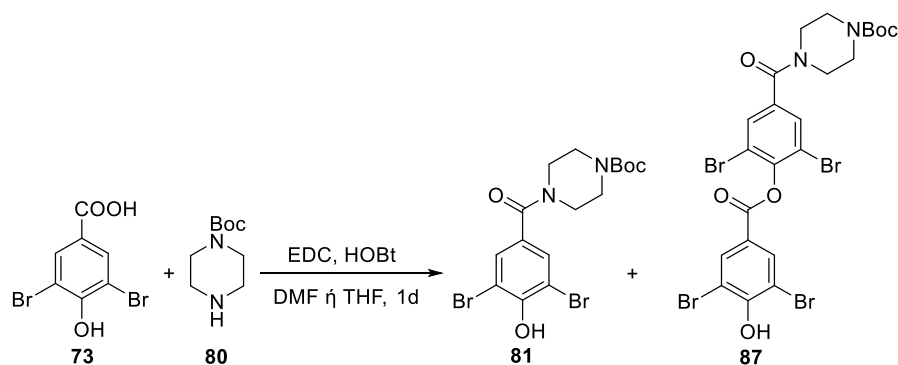
Αποφασίστηκε να χρησιμοποιηθεί ο δακτύλιος της πιπεραζίνης για τη γέφυρα του αμιδικού δεσμού, έτσι ώστε να μην υπάρχουν άτομα υδρογόνου δεσμευμένα σε άζωτο και να μειωθούν έτσι οι πιθανότητες σχηματισμού πιθανών παραπροϊόντων σε κάποιο στάδιο της συνθετικής πορείας. Σχεδιάστηκε λοιπόν η σύνθεση του παραγώγου **86** (Σχήμα 36), το οποίο φέρει τη φωσφονιακή ομάδα στο άλλο άκρο μιας προπυλένο αλυσίδας ενωμένης στο πιπεραζινικό άζωτο. Το **86** προκύπτει από *N*-μεθυλίωση του **85**, προϊόντος σύζευξης του **84** με το οξύ **4**. Το **84** προκύπτει από αλκυλίωση του **82** που προέρχεται από την αποπροστασία του **81**. Τέλος, το **81** προέρχεται από τη σύζευξη του υδρόξυ οξέος **73** με την Βοc-πιπεραζίνη **80**.



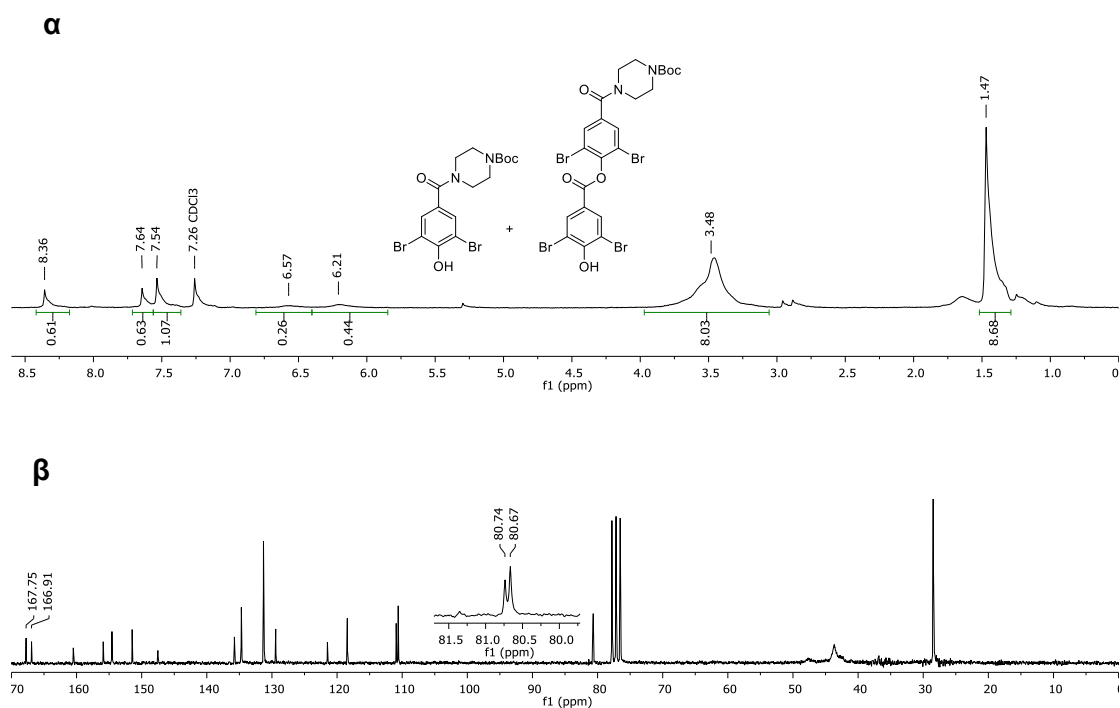
**Σχήμα 36.** Ρετροσυνθετικό σχήμα του μιτοτροπικού παραγώγου **86** μέσω παραγωγοποίησης με γέφυρα αμιδίου-πιπεραζίνης-αμίνης.

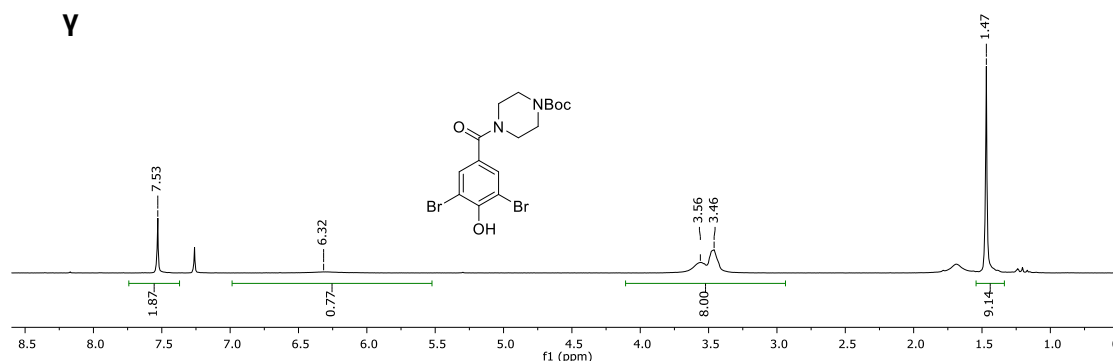
Αρχικά, επιχειρήθηκε η σύνθεση του παραγώγου **81** (Σχήμα 37). Η αμιδική σύζευξη πραγματοποιήθηκε με τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται στη σύζευξη πεπτιδίων (EDC, HOBT). Αρχικά χρησιμοποιήθηκε το DMF ως διαλύτης της αντίδρασης, χρησιμοποιώντας 1,2 ισοδύναμα 1-Boc-πιπεραζίνης.<sup>115</sup> Το αποτέλεσμα της αντίδρασης ήταν να παραχθεί ένα μίγμα 2 προϊόντων, φασματοσκοπική ανάλυση του οποίου υπέδειξε μίγμα των ενώσεων **81** και **87** σε αναλογία περίπου 2:1. Συγκεκριμένα, στο φάσμα <sup>1</sup>H-NMR (Εικόνα 32) στην αρωματική περιοχή παρατηρούνται τρεις απλές κορυφές. Η μία αντιστοιχεί στα αρωματικά πρωτόνια του επιθυμητού παραγώγου **81**, ενώ οι άλλες 2, που έχουν και την ίδια σχετική ολοκλήρωση, αποδίδονται στα αρωματικά πρωτόνια της ένωσης **87**. Παρατηρούνται επίσης 2 ευρείες κορυφές υδροξυλομάδων (6,57 και 6,21 ppm). Στο φάσμα <sup>13</sup>C-NMR εύκολα διακρίνει κάποιος ότι στα 80 ppm περίπου όπου σύντονίζεται το τεταρτοταγές άτομο άνθρακα της προστατευτικής Boc ομάδας υπάρχουν δύο κορυφές και κατ' επέκταση δύο ενώσεις. Επιχειρήθηκε ο διαχωρισμός των δύο ενώσεων με χρωματογραφία, χωρίς όμως αποτέλεσμα. Έτσι, προσπαθήσαμε να βρούμε συνθήκες στις οποίες να μη σχηματίζεται το παράγωγο **87**. Επαναλάβαμε την αντίδραση με τα ίδια

ισοδύναμα 1-Boc-πιπεραζίνης (1,2 eq) αλλά σε διαλύτη THF. Αυτήν τη φορά το παραπροϊόν παράχθηκε σε μικρότερη αναλογία, οπότε και επαναλάβαμε την αντίδραση σε THF, αλλά αυτήν τη φορά με 3 ισοδύναμα 1-Boc-πιπεραζίνης. Πράγματι, η αντίδραση προχώρησε χωρίς ίχνος παραπροϊόντος, δίνοντας την ένωση **81** σε απόδοση 83%. Με τις ίδιες συνθήκες συνθέσαμε και το δις(t-βουτυλιωμένο) παράγωγο **89** (Σχήμα 38).

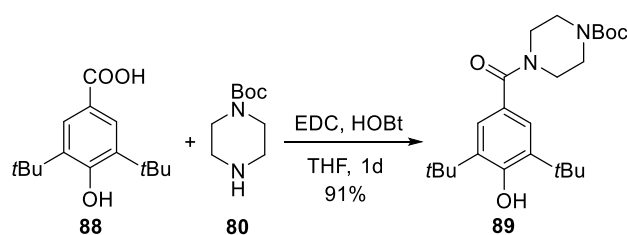


**Σχήμα 37.** Αντίδραση σύζευξης μεταξύ **73** και Boc-πιπεραζίνης.



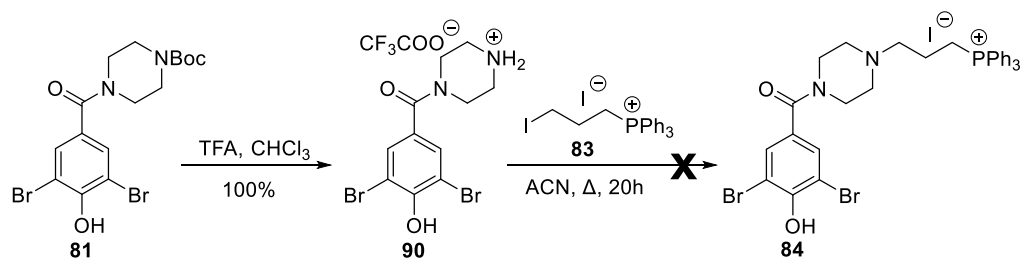


**Εικόνα 32.** Φάσματα  $^1\text{H-NMR}$  (α, 200MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) και  $^{13}\text{C-NMR}$  (β, 50MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) του μίγματος της αντίδρασης του Σχήματος 37 (1,2 eq **80** σε DMF). γ) Φάσμα  $^1\text{H-NMR}$  (200MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) της **81**.



**Σχήμα 38.** Σύνθεση της ένωσης **89**.

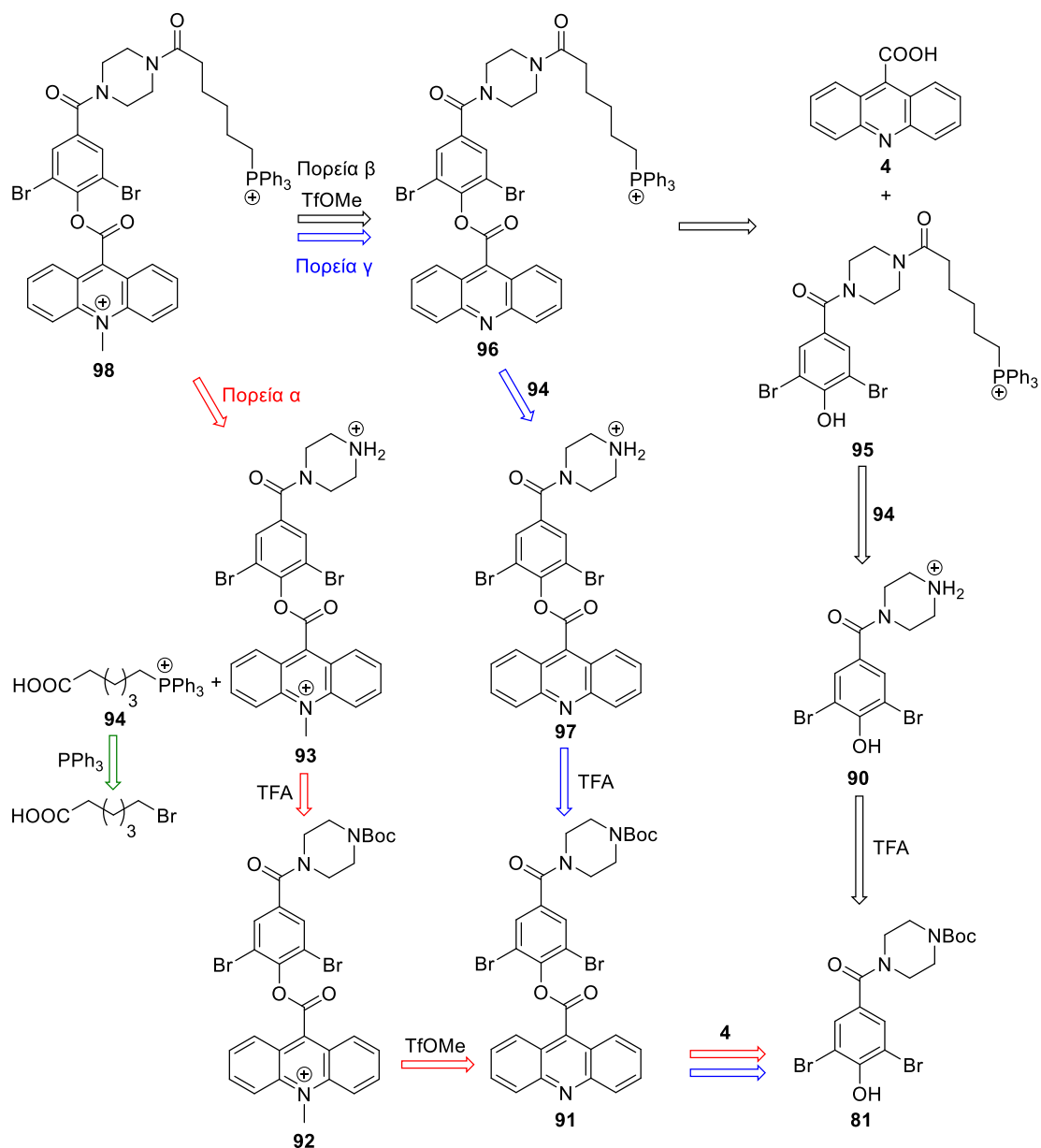
Επόμενο βήμα ήταν η σύνθεση του παραγώγου **84** (Σχήμα 39). Η αποπροστασία του πιπεραζινικού αζώτου της **81** επιτεύχθηκε με όξινη υδρόλυση της Boc ομάδας (με τριφθοροοξικό οξύ). Το προκύπτον αμμωνιακό άλας **90** αφέθηκε να αντιδράσει με το ιωδοάλκυλο φωσφονιακό παράγωγο **83**, το οποίο είχε συντεθεί παλαιότερα<sup>116</sup> στο εργαστήριο μας. Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε παρουσία DIPEA, σε διαλύτη ακετονιτρίλιο υπό αναρροή για 20 ώρες. Το αποτέλεσμα ήταν ένα περίπλοκο μίγμα προϊόντων, το οποίο δεν ήταν δυνατόν να αναλυθεί, αλλά ούτε και να ξεχωρίσει κάποιο χαρακτηριστικό του επιθυμητού προϊόντος. Θεωρήσαμε ότι το αποτέλεσμα αυτό πιθανότατα οφείλεται στη δραστική αμινο ομάδα, τόσο του αντιδρώντος όσο και του προϊόντος, η οποία, αν και τριτοταγής, μπορεί κάλλιστα να δράσει ως πυρηνόφιλο. Μετά από αυτό το αποτέλεσμα αποφασίστηκε να εγκαταλειφθεί και αυτή η πορεία, και να επικεντρωθούμε σε παράγωγα-στόχους που δεν περιέχουν αμινο ομάδα.



Σχήμα 39. Προσπάθεια σύνθεσης του φωσφονιακού παραγώγου **84**.

## 8.2.2 Μέσω γέφυρας ακυλιωμένης πιπεραζίνης

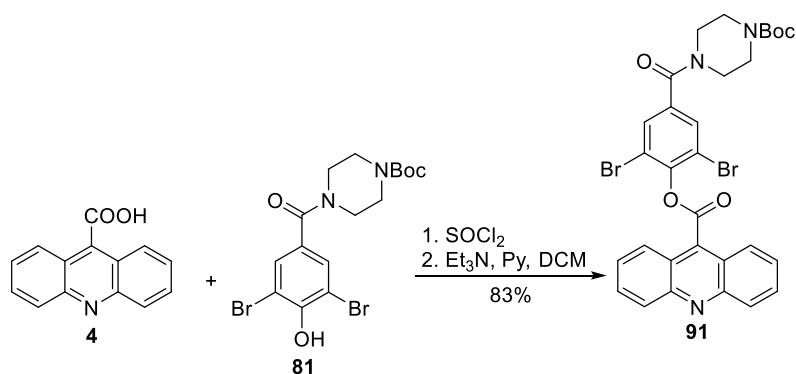
Για να ξεπεράσουμε τα προβλήματα που αντιμετωπίσαμε κατά τη σύνθεση του παραγώγου που φέρει αλκυλιωμένη πιπεραζίνη, αποφασίσαμε να συνθέσουμε το παράγωγο-στόχο **98**, το οποίο περιέχει γέφυρα διακυλιωμένης πιπεραζίνης. Σχεδιάστηκαν και ακολουθήθηκαν 3 πορείες για τη σύνθεση αυτού του παραγώγου (Σχήμα 40). Έτσι, το **98** θα μπορούσε να συντεθεί από τη συμπύκνωση της ΑΕ αμίνης **93** με το καρβόξυ παράγωγο φωσφονίου **94** (πορεία α, κόκκινη). Το **93** είναι προϊόν αποπροστασίας του **92**, το οποίο προέρχεται από τη μεθυλίωση του **91**. Το τελευταίο προέρχεται από τη σύζευξη του ακριδινικού οξέος **4** με τη φαινόλη **81**. Εναλλακτικά, το παράγωγο-στόχος **97** μπορεί να προέλθει από τη μεθυλίωση του ακριδινικού φωσφονίου **96**. Αυτό, μπορεί να προέλθει είτε από τη σύζευξη του ακριδινικού οξέος **4** με τη φαινόλη **95** (πορεία β, μαύρη), είτε από τη σύζευξη του φωσφονίου **94** με την **97** (πορεία γ, μπλέ). Η **95** προέρχεται από την αμίνη **90**, προϊόν αποπροστασίας της **81**, ενώ η **97** από την αποπροστασία της **91**. Και οι τρεις πορείες ξεκινούν από τη φαινόλη **81**, η σύνθεση της οποίας παρουσιάστηκε πιο πάνω.



**Σχήμα 40.** Ρετροσυνθετικό σχήμα του μιτοτροπικού παραγώγου **98** μέσω παραγωγιοποίησης με γέφυρα αμιδίου-πιπεραζίνης-αμιδίου. Εικονίζονται 3 πιθανές πορείες (α κόκκινη, β μαύρη και γ μπλε).

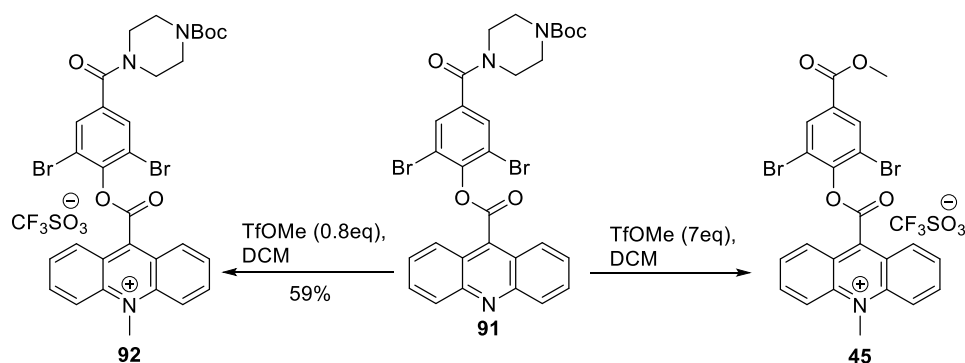
### 8.2.2.1 Πορεία α

Ο πιπεραζινικός εστέρας ακριδίνης **91** συντέθηκε εύκολα και σε καλή απόδοση από τη σύζευξη του ακριδινικού οξέος **4** με τη φαινόλη **81**, μέσω χλωριδίου οξέος (Σχήμα 41).



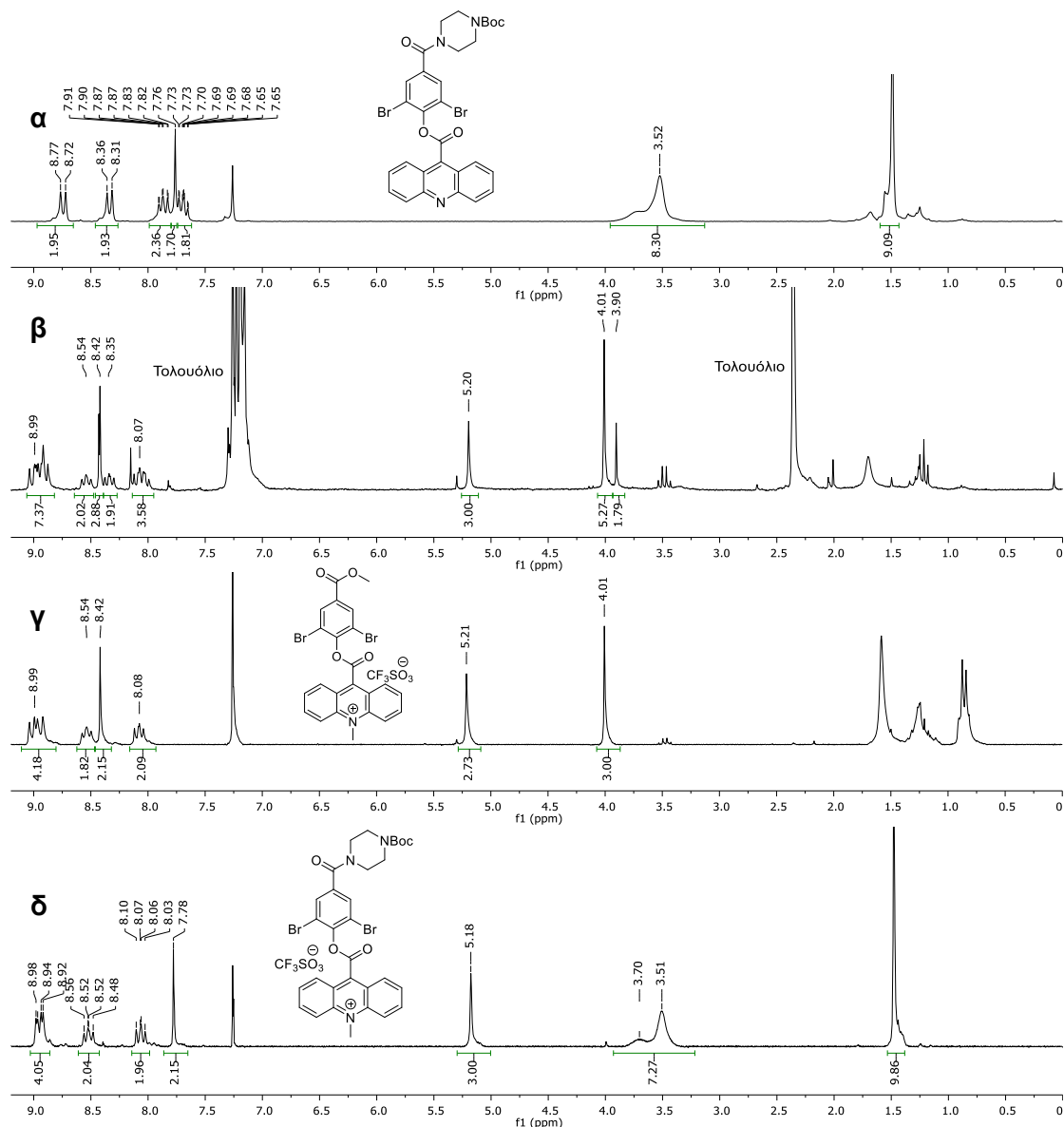
Σχήμα 41. Σύνθεση του εστέρα ακριδίνης **91**.

Στη συνέχεια, επιχειρήσαμε την *N*-μεθυλίωση του **91** (Σχήμα 42) προς την ΑΕ ένωση **92**. Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε με χρήση 7 ισοδυνάμων τριφλικού μεθυλίου, όπως και στις μεθυλίωσεις των απλών ΑΕ (Κεφάλαιο 6.2). Το αποτέλεσμα ήταν μη αναμενόμενο. Το φάσμα  $^1\text{H-NMR}$  του μίγματος, μετά από μια τυπική κατεργασία (καταβύθιση/εκπλύσεις), συγκρινόμενο με αυτό της αρχικής **91**, δείχνει ότι έχουν εξαφανιστεί οι κορυφές που αντιστοιχούν στα πρωτόνια της πιπεραζίνης, υποδεικνύοντας ότι έχει διασπαστεί το μόριο, αλλά εμφανίζεται επίσης η κορυφή στα 5,19 ppm που δηλώνει *N*-μεθυλίωση (Εικόνα 33). Επιπλέον, εμφανίζονται δύο νέες απλές κορυφές στα 3,90 και 4,01 ppm. Εν τέλει, συγκρινόμενο με αυτό του ΑΕ παραγώγου **45** (Κεφάλαιο 6.2), παρατηρείται ταύτιση σε μεγάλο βαθμό. Καταλήξαμε επομένως στο συμπέρασμα ότι πέρα από την *N*-μεθυλίωση, σχηματίστηκε και ο μεθυλεστέρας **45** από μια αντίδραση υποκατάστασης.



Σχήμα 42. Αντιδράσεις μεθυλίωσης του **91** με τριφλικό μεθυλεστέρα.



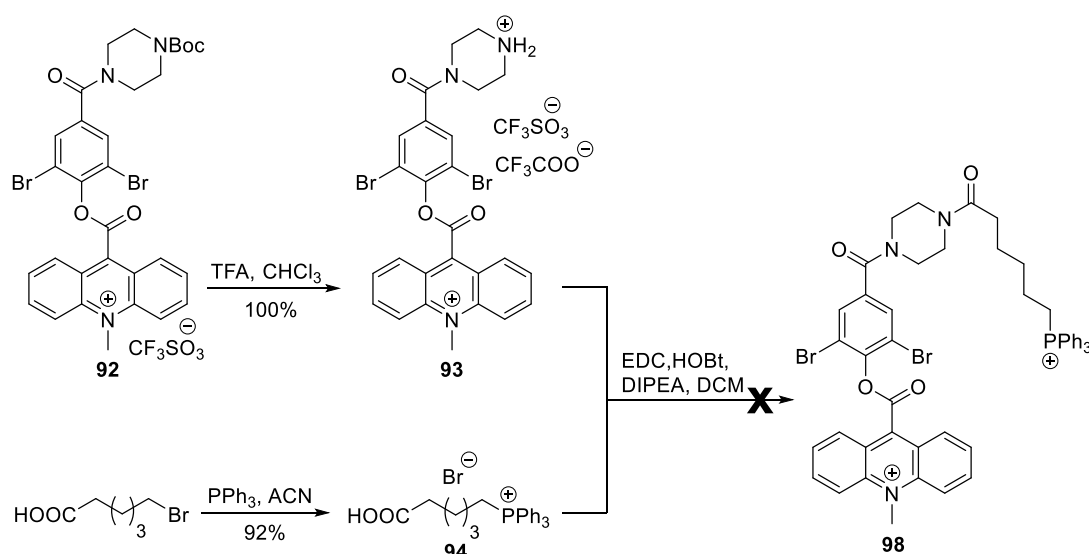


**Εικόνα 33.** Φάσματα  $^1\text{H-NMR}$  (200MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) α) της **91**, β) του μίγματος της αντίδρασης του Σχήματος 42 (7 eq TfOMe), γ) της **45**, δ) της **92**.

Το παραπάνω μη αναμενόμενο αποτέλεσμα, της επιπλέον μεθυλίωσης, υποδεικνύει ότι η χρήση περίσσειας τριφλικού μεθυλεστέρα είναι μάλλον μη επιθυμητή. Έτσι, πραγματοποιήσαμε την ίδια αντίδραση, αλλά αυτήν τη φορά με 1 ισοδύναμο τριφλικού μεθυλεστέρα, οπότε και παρατηρήθηκε για πρώτη φορά ο σχηματισμός του προϊόντος **92** στα φάσματα  $^1\text{H-NMR}$  και ES-MS του μίγματος της αντίδρασης, μαζί με μικρή ποσότητα της **45**. Πραγματοποιώντας την αντίδραση με 0,8 ισοδύναμο τριφλικού μεθυλεστέρα, ελαχιστοποιήθηκε ο σχηματισμός του **45** και απομονώθηκε καθαρό το προϊόν **92**, μετά από εκτεταμένες εκπλύσεις με μίγμα τολουολίου/ διαιθυλαιθέρα 1:1. Στο φάσμα  $^1\text{H-NMR}$  (Εικόνα 33δ) παρατηρούνται και οι αναμενόμενες κορυφές των

πρωτονίων της πιπεραζίνης, του μεθυλίου και των ακριδινικών πρωτονίων.

Αφού συντέθηκε το παράγωγο **92**, αποπροστατεύτηκε η αμινο ομάδα σε όξινες συνθήκες προς το παράγωγο **93** (Σχήμα 43). Παράλληλα, συντέθηκε το καρβόξυ φωσφόνιο **94** από την επίδραση της τριφαινυλοφωσφίνης σε βρωμοεξανοϊκό οξύ. Έπειτα, οι **93** και **94** τοποθετήθηκαν για αντίδραση σύζευξης με χρήση EDC/HOBt. Το αποτέλεσμα της αντίδρασης ήταν ένα πολύπλοκο μίγμα, από τα φάσματα (<sup>1</sup>H-NMR και MS) του οποίου, πριν και μετά την υδατική επεξεργασία, δεν ανιχνεύθηκε η ύπαρξη προϊόντος. Αυτό, σε συνδυασμό με τη σχετική αστάθεια των ΑΕ, μας οδήγησε στο συμπέρασμα ότι το τελευταίο στάδιο της πορείας μάλλον πρέπει να είναι η αντίδραση μεθυλίωσης, αφού δίνει ελάχιστα (έως καθόλου) παραπροϊόντα και απαιτεί σχετικά απλή και μη υδατική επεξεργασία. Έτσι, διερευνήθηκαν οι πορείες β και γ του Σχήματος 40.

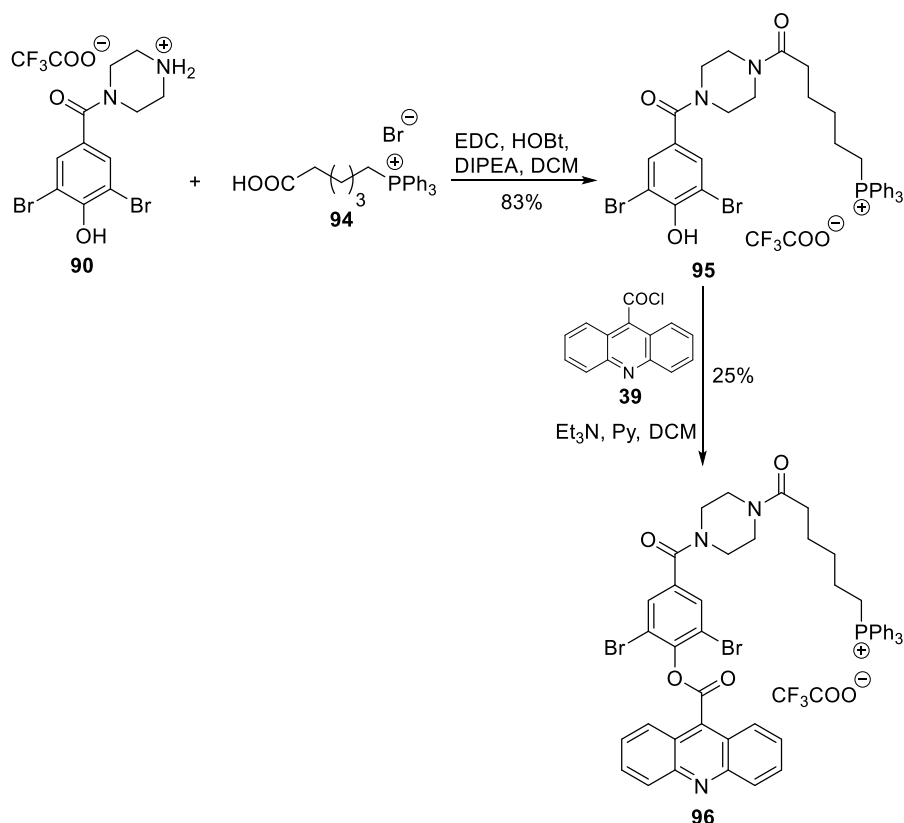


Σχήμα 43. Προσπάθεια σύνθεσης του παραγώγου στόχου **98** από τη σύζευξη των **93** και **94**.

### 8.2.2.2 Πορεία β

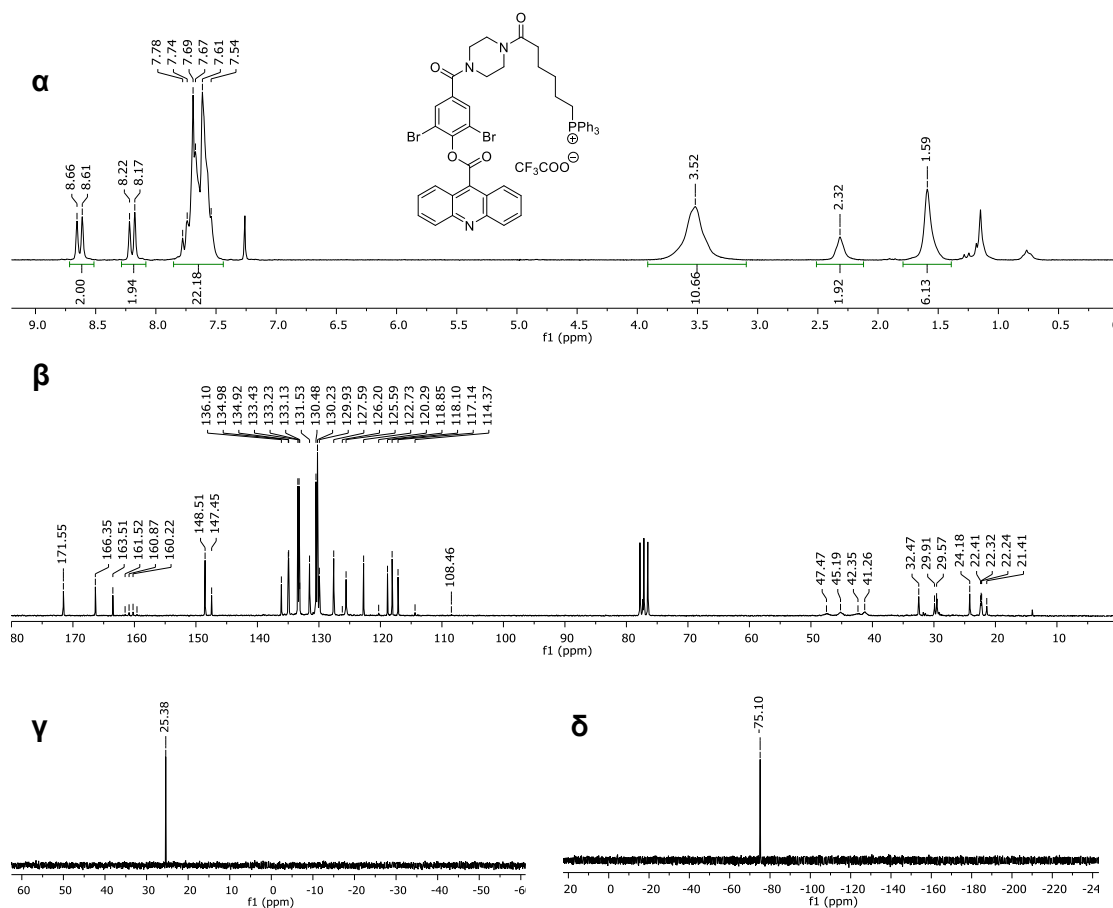
Σύζευξη της αμινο φαινόλης **90** με το καρβόξυ φωσφόνιο **94** με χρήση EDC/HOBt σε διχλωρομεθάνιο, έδωσε την πρόδρομη φαινόλη **95** με απόδοση 83% έπειτα από χρωματογραφικό διαχωρισμό (Σχήμα 44). Να σημειωθεί ότι όταν η αντίδραση έγινε σε διαλύτη THF, η απόδοση της αντίδρασης ήταν 30%

και το προϊόν παραλήφθηκε με χαμηλή καθαρότητα.



**Σχήμα 44.** Σύνθεση του εστέρα της ακριδίνης **96** από τη φαινόλη **90**.

Έπειτα, συντέθηκε η ακριδίνη **96** από τη σύζευξη του ακριδινικού οξέος **4** με τη φαινόλη **95** μέσω χλωριδίου οξέος. Το επιθυμητό παράγωγο **96** απομονώθηκε σε απόδοση 25% μετά από χρωματογραφία στήλης. Στην Εικόνα 34 παρουσιάζονται τα φάσματα NMR της ένωσης **96**. Χαρακτηριστικές κορυφές στο φάσμα <sup>1</sup>H-NMR αποτελούν οι δύο διπλές κορυφές της ακριδίνης στην περιοχή 8-9 ppm, τα φωσφινικά πρωτόνια στα 7,5-7,8 ppm, τα πιπεραζινικά και τα πρωτόνια του μεθυλενίου δίπλα στο άτομο φωσφόρου τα οποία συντονίζονται στα 3,3-3,8 ppm. Στο φάσμα <sup>13</sup>C-NMR διακρίνονται οι τρεις καρβονυλικοί άνθρακες στα 172-163 ppm καθώς και οι 4 πιπεραζινικοί (48-41 ppm) ως διακριτές ευρείες κορυφές. Στο φάσμα <sup>31</sup>P-NMR φαίνεται η κορυφή του φωσφονίου στα 25 ppm και στο φάσμα <sup>19</sup>F-NMR φαίνεται η κορυφή του τριφθοροοξικού ιόντος.

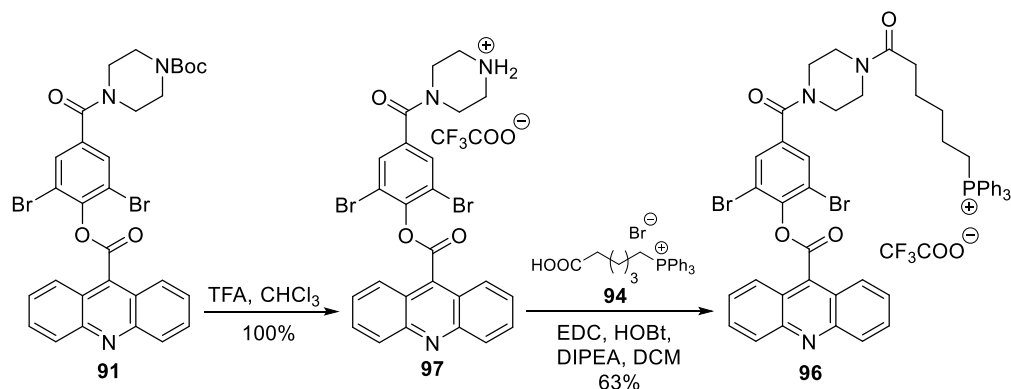


**Εικόνα 34.** Φάσματα α)  $^1\text{H-NMR}$  (200MHz), β)  $^{13}\text{C-NMR}$  (50MHz), γ)  $^{31}\text{P-NMR}$  (81MHz), δ)  $^{19}\text{F-NMR}$  (188MHz), της **96** σε  $\text{CDCl}_3$ .

Η χαμηλή απόδοση στο τελευταίο στάδιο σύνθεσης της **96** (25%) μας οδήγησε στο να διερευνήσουμε την πιθανότητα να βελτιωθεί η μεθοδολογία, ακολουθώντας την πορεία γ του Σχήματος 40.

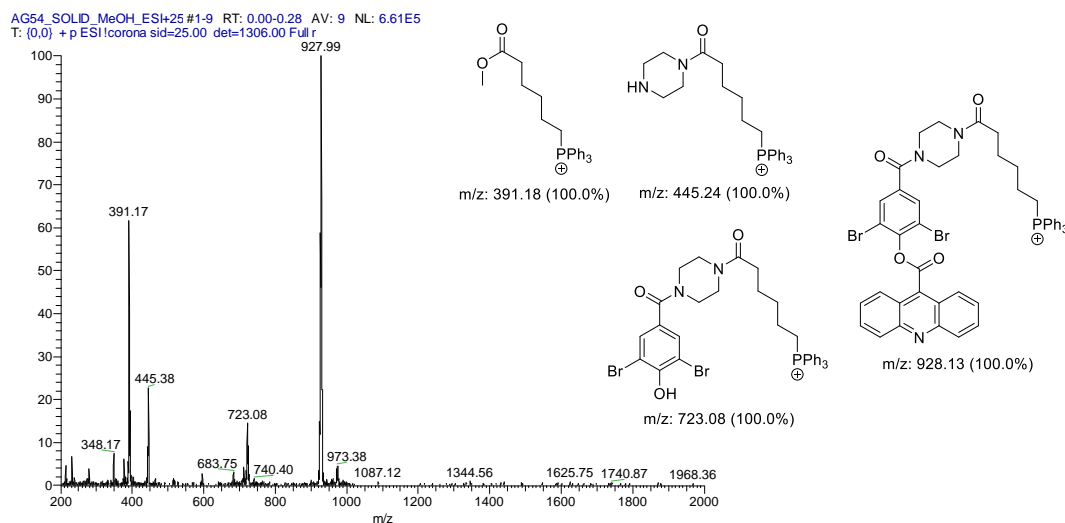
### 8.2.2.3 Πορεία γ

Αποπροστασία του εστέρα ακριδίνης **91** δίνει την αμίνη **97** (Σχήμα 45). Ακολουθεί σύζευξη αυτής με το οξύ του φωσφονίου **94** προς τον εστέρα ακριδίνης **96**. Η απόδοση αυτού του βήματος ήταν 63% και ο χρωματογραφικός διαχωρισμός αρκετά εύκολος, οπότε η μέθοδος αυτή (πορεία γ) προκρίνεται ως αποδοτικότερη για τη σύνθεση της **96** από αυτή της πορείας β (Κεφάλαιο 8.2.2.2).



Σχήμα 45. Σύνθεση του εστέρα της ακριδίνης **96** από την ακριδίνη **91**.

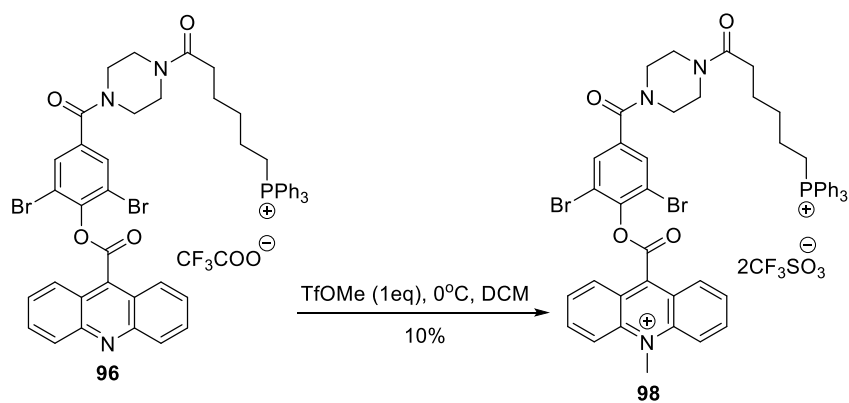
Έχοντας συνθέσει την **96**, διερευνήθηκαν οι συνθήκες μεθυλίωσής της. Πραγματοποιήθηκαν δύο αντιδράσεις με 7 ισοδύναμα τριφλικού μεθυλεστέρα (με τη μέθοδο μεθυλίωσης των απλών εστέρων ακριδίνης, Κεφάλαιο 6.2) σε δύο διαφορετικούς διαλύτες, DCM και DCE. Στο DCE η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε  $T=50^{\circ}\text{C}$ . Και στις δύο περιπτώσεις, παρατηρήθηκε σχηματισμός μίγματος προϊόντων. Στα φάσματα  $^1\text{H-NMR}$  των μιγμάτων δεν παρατηρήθηκε κορυφή *N*-μεθυλίωσης, ενώ τα φάσματα μαζών έδειξαν εκτεταμένη διάσπαση (Εικόνα 35). Παρόμοια εικόνα είχε παρατηρηθεί και κατά τη μεθυλίωση της **91** (Κεφάλαιο 8.2.2.1), όπου το πρόβλημα λύθηκε με χρήση στοιχειακής ποσότητας τριφλικού μεθυλεστέρα αντί της περίσσειας.



Εικόνα 35. Φάσμα ES-MS της αντίδρασης μεθυλίωσης της **96** με 7 eq MeOTf.

Έτσι, αποφασίσαμε να πραγματοποιήσουμε την αντίδραση με 1

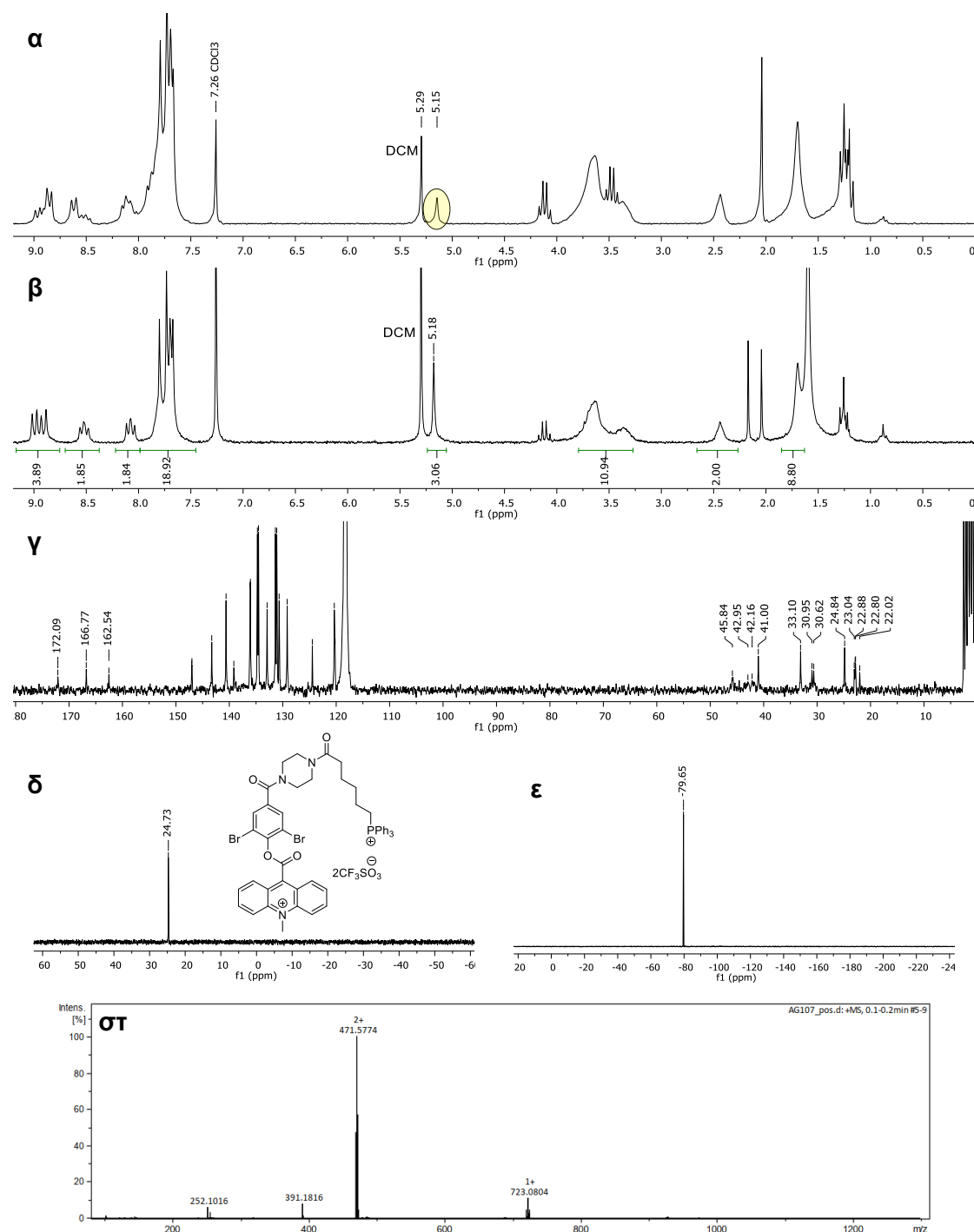
ισοδύναμο τριφλικού μεθυλεστέρα. Το αποτέλεσμα ήταν παρόμοιο μίγμα με αυτό που είχαμε πάρει με χρήση περίσσειας. Η αντίδραση με 1 eq τριφλικού μεθυλεστέρα επαναλήφθηκε, αλλά αφέθηκε να αντιδράσει στους 0°C για 1 μερά (Σχήμα 46). Το φάσμα <sup>1</sup>H-NMR του μίγματος εμφανίζει για πρώτη φορά κορυφή στα 5,15 ppm και στην φασματομετρία μάζας διακρίνεται για πρώτη φορά το μοριακό ιόν της ένωσης στόχου ([M]<sup>2+</sup>, 471). Επανάληψη της αντίδρασης στους 0°C με 7 eq τριφλικού μεθυλεστέρα έδωσε πάλι μίγμα, υποδεικνύοντας ότι τόσο η υψηλή θερμοκρασία, όσο και η περίσσεια τριφλικού μεθυλεστέρα επιδρούν αρνητικά. Έγιναν αρκετές προσπάθειες και φάνηκε ότι οι βέλτιστες συνθήκες ήταν 0°C και 1-2 eq τριφλικού μεθυλεστέρα. Η απόδοση της αντίδρασης ήταν χαμηλή σύμφωνα με το φάσμα <sup>1</sup>H-NMR του μίγματος, πράγμα που δυσκόλεψε τον καθαρισμό. Έγιναν πολλές εκπλύσεις με διάφορους διαλύτες όπως διοξάνη, διαιθυλεθέρας, τολουόλιο, μίγμα διαιθυλεθέρα και τολουόλιο χωρίς κανένα αποτέλεσμα. Μόνο με εκτεταμένο πλύσιμο με AcOEt και με ζεστό AcOEt (χρήση υπερήχων και φυγόκεντρου) παραλάβαμε καθαρό το τελικό μιτοτροπικό ΑΕ παράγωγο **98** με απόδοση 10%.



**Σχήμα 46.** Σύνθεση του τελικού μιτοτροπικού ΑΕ παραγώγου **98**.

Στην Εικόνα 36 παρουσιάζονται τα φάσματα της ένωσης **98**. Χαρακτηριστικές κορυφές στο φάσμα <sup>1</sup>H-NMR αποτελούν η απλή του *N*-μεθυλίου στα 5,2 ppm, οι κορυφές της ακριδίνης στην περιοχή 8-9 ppm, τα φωσφινικά πρωτόνια στα 7,5-8 ppm, τα πιπεραζινικά και τα πρωτόνια του μεθυλενίου δίπλα στο άτομο φωσφόρου τα οποία συντονίζονται στα 3,3-3,8 ppm. Στο φάσμα <sup>13</sup>C-NMR διακρίνονται οι τρεις καρβονυλικοί άνθρακες στα

172-163 ppm καθώς και οι πιπεραζινοικοί (42-45 ppm) ως ευρείες κορυφές. Στο φάσμα  $^{31}\text{P}$ -NMR φαίνεται η κορυφή του φωσφονίου στα 25 ppm και στο φάσμα  $^{19}\text{F}$ -NMR φαίνεται η κορυφή του τριφθορομεθανοσουλφονικού αντισταθμιστικού ιόντος. Τέλος, στο φάσμα μάζας υψηλής ανάλυσης, φαίνεται η κορυφή του μοριακού ιόντος.



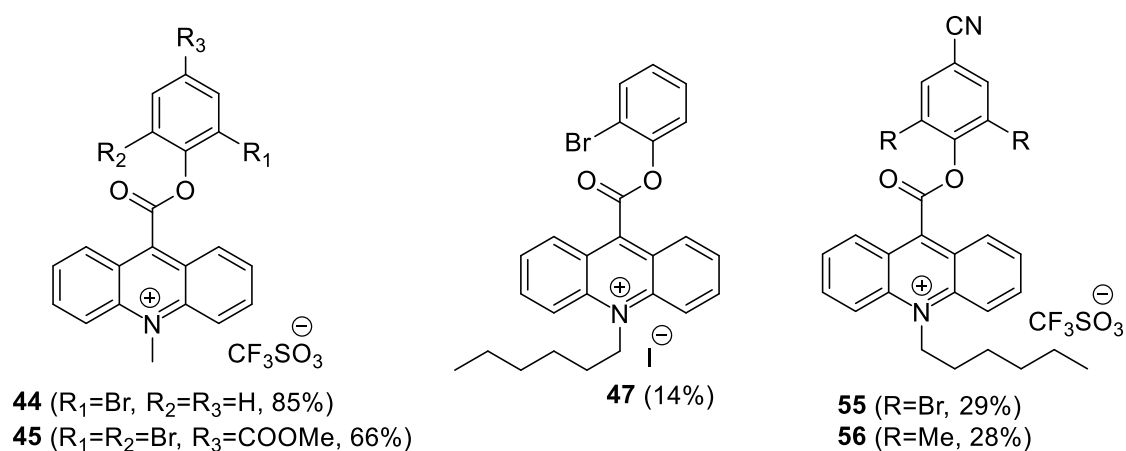
**Εικόνα 36.** Φάσματα α)  $^1\text{H}$ -NMR (200MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) του μίγματος της αντίδρασης του Σχήματος 46, β)  $^1\text{H}$ -NMR (200MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), γ)  $^{13}\text{C}$ -NMR (50MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ), δ)  $^{31}\text{P}$ -NMR (81MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ), ε)  $^{19}\text{F}$ -NMR (188MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ), στ) ES-MS της **98**.





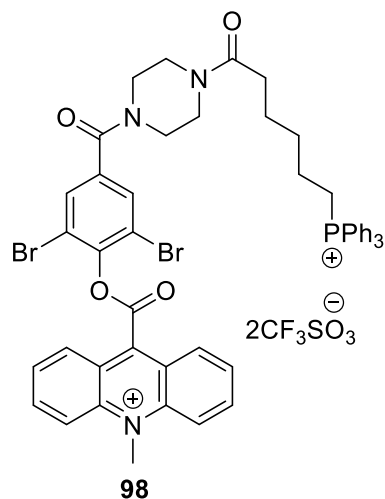
### 8.3 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Κατά τη διάρκεια της έρευνας που πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια της παρούσας διατριβής, συντέθηκαν N-μεθυλιωμένα και N-αλκυλιωμένα παράγωγα εστέρων του ακριδινίου με διαφορετικά δομικά χαρακτηριστικά (Εικόνα 37). Αναλυτικότερα, συντέθηκαν 2 μεθυλιωμένοι εστέρες ακριδινίου σε αρκετά καλές αποδόσεις και 3 αλκυλιωμένοι εστέρες ακριδινίου σε πολύ χαμηλές αποδόσεις, με στόχο τη μελέτη του μηχανισμού χημειοφωταύγειας και της μιτοτροπικής τους ικανότητας.



**Εικόνα 37.** N-μεθυλιωμένα και N-αλκυλιωμένα παράγωγα που συντέθηκαν στα πλαίσια της παρούσας διατριβής

Από τις σχετικές φωτοφυσικές και βιολογικές μελέτες αποδείχθηκε ότι οι εν λόγω ενώσεις παρουσιάζουν ελάχιστη έως και καθόλου μιτοτροπική ισχύ και έτσι ακολουθήθηκε η προσπάθεια σύνθεσης ειδικά σχεδιασμένων βελτιστοποιημένων μιτοτροπικών ακριδινικών παραγώγων. Η σύνθεση N-αλκυλο-φωσφονιακών ΑΕ αλάτων δεν κατέστη εφικτή, παρά τις διαφορετικές προσεγγίσεις που επιχειρήθηκαν. Εντούτοις, συντέθηκε το τελικό παράγωγο **98**, με τη σύνδεση του φωσφονιακού κατιόντος να πραγματοποιείται στον δακτύλιο της φαινόλης (Εικόνα 38).



**Εικόνα 38.** Τελικό παράγωγο-ένωση στόχος της παρούσας διατριβής (98). Πρόσδεση της μιτοτροπικής ομάδας του φωσφονιακού κατιόντος στον δακτύλιο φαινόλης.

Οι φυσικοχημικές μελέτες έδειξαν ιδιαίτερα ενθαρρυντικά βιολογικά σχετιζόμενα αποτελέσματα, καθώς και αυξημένη χημειοφωτάυγεια, αλλά με σχετικά υψηλά επίπεδα τοξικότητας.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9

### ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΠΟΡΕΙΕΣ ΚΑΙ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

#### 9.1 Γενικό Πειραματικό Μέρος

##### 9.1.1 Αντιδραστήρια και Διαλύτες

Τα αντιδραστήρια και οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για τη σύνθεση των ενώσεων που περιγράφονται στην παρούσα εργασία ήταν εμπορικά διαθέσιμα προϊόντα των εταιρειών Sigma-Aldrich, Fluka, Alfa Aesar, Acros, και Fluorochem. Η καθαρότητα των αντιδραστηρίων ήταν μεγαλύτερη του 99% και δεν πραγματοποιήθηκε περαιτέρω καθαρισμός αυτών. Για την ξήρανση των διαλυτών, όπου ήταν αναγκαίο, έγινε απόσταξη ή/και χρησιμοποιήθηκαν μοριακά κόσκινα διαμέτρου 4 Å. Η συμπύκνωση των διαλυτών έγινε υπό ελαττωμένη πίεση σε περιστροφικό εξατμιστήρα ή στη γραμμή κενού.

##### 9.1.2 Όργανα και Διατάξεις

Η ταυτοποίηση των ενώσεων που συντέθηκαν έγινε με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) και με φασματομετρία μάζας (MS). Τα φάσματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{19}\text{F}$  NMR) ελήφθησαν σε όργανο Varian τύπου Mercury 200MHz και ως δευτερωμένοι διαλύτες χρησιμοποιήθηκαν  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , και  $\text{DMSO-d}_6$ . Οι χημικές μετατοπίσεις εκφράζονται σε ppm και οι σταθερές σύζευξης  $J$  σε Hz, ενώ τα δεδομένα των χημικών μετατοπίσεων στα φάσματα  $^1\text{H}$  NMR παρουσιάζονται με την εξής σειρά: αριθμός πρωτονίων, πολλαπλότητα, σταθερές σύζευξης  $J$  και στο τέλος η ταυτοποίηση των κορυφών. Η ταυτοποίηση των κορυφών έγινε βάσει βιβλιογραφικών δεδομένων, σύγκρισης με πρόδρομες ενώσεις, αλλά και υπολογισμών με τη χρήση προγραμμάτων πρόβλεψης φασμάτων NMR.

Τα φάσματα μάζας ελήφθησαν σε όργανο φασματομετρίας μαζών ThermoFinnigan Surveyor MSQ Plus με την τεχνική του ιονισμού μέσω ηλεκτροψεκασμού (electron spray ionization, ESI-MS). Ο διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε ήταν MeOH καθαρότητας HPLC.

Τα φάσματα HRMS ελήφθησαν σε φασματόμετρο QTOF maxis impact (Bruker), όπου ο ιονισμός των ενώσεων έγινε μέσω της τεχνικής ηλεκτροψεκασμού (Electron Spray Ionization, ESI).

Οι πορείες των αντιδράσεων και η σειρά έκλουσης των ουσιών κατά τη διενέργεια χρωματογραφίας στήλης ελέγχθηκαν με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC), για την οποία χρησιμοποιήθηκαν φύλλα αλουμινίου 0.2 mm επιστρωμένα με silica gel 60 και φθορίζοντα δείκτη F254 (Merck, Art. 5714). Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας χρησιμοποιήθηκε επίσης για την επιβεβαίωση της καθαρότητας διαφόρων προϊόντων (σε συνδυασμό με  $^1\text{H}$  και  $^{13}\text{C}$  NMR) (Rf). Για την εμφάνιση των χρωματογραφημάτων χρησιμοποιήθηκαν: λυχνία UV ( $\lambda=254$  nm και 365 nm) ή/και αιθανολικό διάλυμα φωσφομολυβδαινικού οξέος (PMA) 7.5% ή/και όξινο διάλυμα *p*-ανισαλδεΰδης.

Ο καθαρισμός των προϊόντων, όπου ήταν απαραίτητο, έγινε με χρωματογραφία στήλης. Η έκλουση έγινε με εφαρμογή πίεσης αέρα. Στις στήλες χρησιμοποιήθηκε silica gel 60 (230-400 mesh) της Merk. Τα συστήματα έκλουσης που χρησιμοποιήθηκαν αναφέρονται χωριστά για κάθε προϊόν.

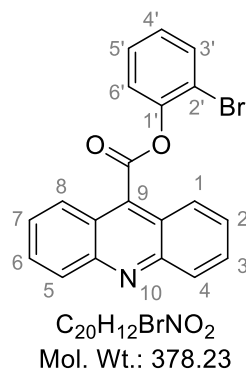
## **9.2 Πειραματικές πορείες και Χαρακτηρισμός Προϊόντων**

### **9.2.1 Γενική μέθοδος σύνθεσης των Εστέρων Ακριδίνης**

Εναιώρημα ένυδρου 9-ακριδινοκαρβοξυλικού οξέος (600 mg, 2,69 mmol) σε θειονυλοχλωρίδιο (6 mL) αφήνεται σε επαναρροή (reflux) υπό αργό για 5 ώρες. Μετά από ψύξη, η περίσσεια θειονυλοχλωριδίου απομακρύνεται υπό υψηλό κενό και έπειτα προστίθεται υπό αργό ξηρό διχλωρομεθάνιο (15 mL). Στο προκύπτον διάλυμα προστίθεται διαδοχικά, η κατάλληλη φαινόλη (2,69 mmol), τριαιθυλαμίνη (0,375 mL, 2,69 mmol) και ξηρή πυριδίνη (0,108

mL, 1,35 mmol) και το διάλυμα αναδεύεται για 18 ώρες. Στη συνέχεια, το μείγμα αποχύνεται σε παγόνερο (100 mL), προστίθεται διχλωρομεθάνιο (30 mL), οι φάσεις διαχωρίζονται και η υδατική εκπλένεται με διχλωρομεθάνιο (2x30 mL). Οι οργανικές φάσεις συνδυάζονται, πλένονται διαδοχικά με 1N HCl (20 mL), κορ. NaHCO<sub>3</sub> (20 mL) και κορ.διάλυμα NaCl (brine) (20 mL), ξηραίνονται (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) και ο διαλύτης εξατμίζεται. Οι επιθυμητοί εστέρες ακριδίνης παραλαμβάνονται ως κίτρινα στερεά μετά από χρωματογραφία στήλης των υπολειμμάτων.

### 9.2.1.1 Ακριδίνη-9-καρβοξυλικός 2-βρωμοφαινυλεστέρας 40



Από 2-βρωμοφαινόλη. Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης 12-20% AcOEt / PE(40-60°C).

Κίτρινο στερεό: 814 mg

Απόδοση: 80%

Μοριακό Βάρος: 378,23

Μοριακός τύπος: C<sub>20</sub>H<sub>12</sub>BrNO<sub>2</sub>

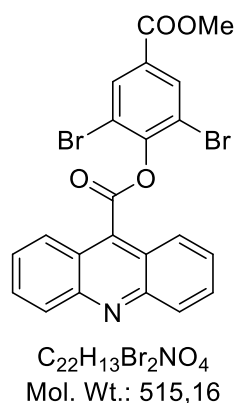
R<sub>f</sub> (AcOEt/PE 10/90): 0,29

<sup>1</sup>H NMR(200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 8,43 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, H-4), 8,34 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, H-1), 7,87 (ddd, *J* = 8,7, 6,6, 1,2 Hz, 2H, H-3), 7,77 (dd, *J* = 8,5, 0,9 Hz, 1H, H-3'), 7,69 (ddd, *J* = 8,6, 6,7, 1,1 Hz, 2H, H-2), 7,56 – 7,46 (m, 2H, H-5',6'), 7,32 – 7,22 (m, 1H, H-4').

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz CDCl<sub>3</sub>) δ: 165,23, 148,61, 148,02, 134,99, 133,89, 130,43, 130,07, 128,87, 128,17, 127,55, 125,16, 123,83, 122,51, 116,04.

ES-MS m/z για  $C_{20}H_{13}BrNO_2$   $[M+H]^+$ : υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 378,01 και 380,01 και βρέθηκε 378,02 και 379,96.

9.2.1.2 Ακριδίνη-9-καρβοξυλικός 2,6-διβρωμο-4-(μεθοξυκαρβονυλο) φαινυλεστέρας 41



Από 3,5-διβρωμο-4-υδροξυβενζοϊκό μεθυλεστέρα. Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης  $CH_2Cl_2$ , EtOAc.

Κίτρινο στερεό: 1,136 gr

Απόδοση: 82%

Μοριακό Βάρος: 515,16

Μοριακός τύπος:  $C_{22}H_{13}Br_2NO_4$

R<sub>f</sub> (DCM): 0,28

$^1H$  NMR (200 MHz,  $CDCl_3$ ) δ: 8,76 (ddd,  $J = 8,8, 1,3, 0,7$  Hz, 2H, H-4), 8,38 (s, 2H, H-3'), 8,34 (ddd,  $J = 8,8, 0,6, 1,1$  Hz, 2H, H-1), 7,86 (ddd,  $J = 8,7, 6,6, 1,4$  Hz, 2H, H-3), 7,69 (ddd,  $J = 8,8, 6,6, 1,3$  Hz, 2H, H-2), 3,98 (s, 3H,  $CH_3$ ).

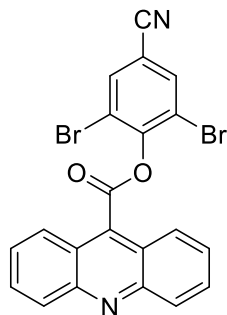
$^{13}C$  NMR (50 MHz  $CDCl_3$ ) δ: 163,69, 163,35, 149,90, 148,63, 133,97, 133,02, 130,73, 130,24, 130,15, 127,62, 125,70, 122,86, 117,93, 52,86.

ES-MS m/z για  $C_{22}H_{14}Br_2NO_4$   $[M+H]^+$ : υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 513,93, 515,93 και 517,92 και βρέθηκε 514,11, 515,99 και 518,01.

ES-HRMS m/z για  $C_{22}H_{14}Br_2NO_4$   $[M+H]^+$ : υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 513,9284, 515,9265 και 517,9249 και βρέθηκε 513,9286, 515,9265 και 517,9248.

9.2.1.3 Ακριδίνη-9-καρβοξυλικός 2,6-διβρωμο-4-κυανοφαινυλεστέρας

**42**



$C_{21}H_{10}Br_2N_2O_2$   
Mol. Wt.: 482,13

Από 3,5-διβρωμο-4-υδροξυβενζονιτρίλιο. Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης 0-1% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

Κίτρινο στερεό: 1,154 gr

Απόδοση: 89%

Μοριακό Βάρος: 482,13

Μοριακός τύπος: C<sub>21</sub>H<sub>10</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

R<sub>f</sub> (DCM): 0,38

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 8,70 (ddd, J = 8,8, 1,3, 0,7 Hz, 2H, H-4), 8,37 (d, J = 8,7 Hz, 2H, H-1), 8,02 (s, 2H, H-3'), 7,88 (ddd, J = 8,8, 6,6, 1,4 Hz, 2H, H-3), 7,70 (ddd, J = 8,8, 6,6, 1,3 Hz, 2H, H-2).

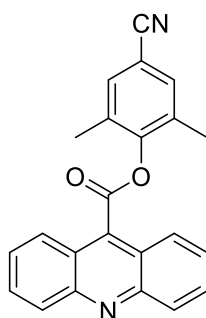
<sup>13</sup>C NMR (50 MHz CDCl<sub>3</sub>) δ: 163,16, 150,50, 148,57, 136,19, 132,67, 130,53, 130,17, 127,96, 125,52, 122,92, 119,08, 115,40, 113,36.

ES-MS m/z για C<sub>21</sub>H<sub>11</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 480,92, 482,92 και 484,91 και βρέθηκε 481,14, 482,84 και 485,03.

ES-HRMS m/z για C<sub>21</sub>H<sub>11</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 480,9182, 482,9163 και 484,9146 και βρέθηκε 480,9185, 482,9169 και 484,9149.

9.2.1.4 Ακριδίνη-9-καρβοξυλικός 4-κυανο-2,6-διμεθυλοφαινυλεστέρας

**43**



C<sub>23</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>  
Mol. Wt.: 352,39

Από 4-υδροξυ-3,5-διμεθυλοβενζονιτρίλιο. Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης 10-50% EtOAc/PE(40-60°C).

Κίτρινο στερεό: 796 mg

Απόδοση: 84%

Μοριακό Βάρος: 352,39

Μοριακός τύπος: C<sub>23</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

R<sub>f</sub> (AcOEt/PE 20/80): 0,23

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 8,41 – 8,32 (m, 4H, H-1,4), 7,87 (ddd, *J* = 9,0, 6,6, 1,2 Hz, 2H, H-3), 7,69 (ddd, *J* = 8,7, 6,6, 1,1 Hz, 2H, H-2), 7,53 (s, 2H, H-3'), 2,46 (s, 6H, CH<sub>3</sub>).

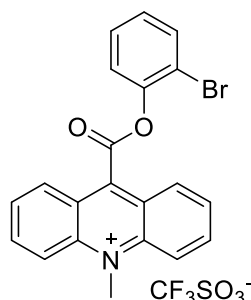
<sup>13</sup>C NMR (50 MHz CDCl<sub>3</sub>) δ: 164,64, 151,88, 148,76, 134,30, 133,00, 132,37, 130,47, 130,46, 127,93, 124,84, 122,75, 118,34, 110,70, 17,74.

ES-MS m/z για C<sub>23</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: υπολογίστηκε 353,13 και βρέθηκε 353,21.

ES-HRMS m/z για C<sub>23</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: υπολογίστηκε 353,1285 και βρέθηκε 353,1285.



## 9.2.2 Σύνθεση του τριφθορομεθανοσουλφονικού 9-((2-βρωμοφαινοξυ) καρβονυλο)-10-μεθυλακρινιδιν-10-ίου 44



C<sub>22</sub>H<sub>15</sub>BrF<sub>3</sub>NO<sub>5</sub>S  
Mol. Wt.: 542,32

Διάλυμα του εστέρα ακριδίνης **40** (40 mg, 0,106 mmol) και τριφλικού μεθυλεστέρα (121,5 mg, 0,740 mmol) σε ξηρό διχλωρομεθάνιο (1,4 mL) αναδεύεται για 24 ώρες υπό αργό. Όλα τα πτητικά εξατμίζονται, και στη συνέχεια το υπόλειμμα διαλύεται σε διχλωρομεθάνιο (0,5 mL) και επανακαταβυθίζεται με την προσθήκη διαιθυλαιθέρα. Ακολουθεί διήθηση και πλύσιμο με τολουόλιο (υπερήχους / φυγοκέντρηση 4x5 mL) και εξάνιο (5 mL). Παραλαμβάνεται ο εστέρας ακριδινίου **44**<sup>66</sup>.

Κίτρινη σκόνη: 36 mg

Απόδοση: 85%

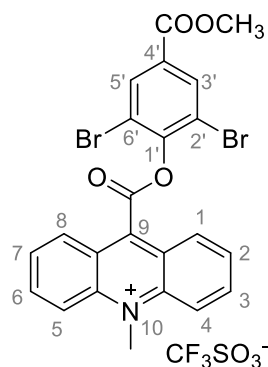
Μοριακό Βάρος: 542,32

Μοριακός τύπος: C<sub>22</sub>H<sub>15</sub>BrF<sub>3</sub>NO<sub>5</sub>S

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, MeOD-d<sub>4</sub>) δ: 8,90 (d, *J* = 9,5 Hz, 2H, H-1), 8,81 (dd, *J* = 8,6, 0,9 Hz, 2H, H-4), 8,56 (ddd, *J* = 9,4, 6,7, 1,4 Hz, 2H, H-3), 8,20 (dd, *J* = 8,7, 6,9 Hz, 2H, H-2), 7,87 (dd, *J* = 7,9, 1,5 Hz, 1H, H-3'), 7,86 (dd, *J* = 8,2, 1,4 Hz, 1H, H-6'), 7,65 (td, *J* = 7,7, 1,6 Hz, 1H, H-5'), 7,42 (td, *J* = 7,8, 1,7 Hz, 1H, H-4'), 5,04 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>).

ES-MS m/z για C<sub>21</sub>H<sub>15</sub>BrNO<sub>2</sub> [M]<sup>+</sup> υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 392,03 και 394,03 και βρέθηκε 391,93 κι 393,87.

### 9.2.3 Σύνθεση του τριφθορομεθανοσουλφονικού 9-((2,6-διβρωμο-4-(μεθοξυκαρβονυλ)φαινοξυ)καρβονυλο)-10-μεθυλακριδιν-10-ίου 45



$C_{24}H_{16}Br_2F_3NO_7S$   
Mol. Wt.: 679.26

Διάλυμα του εστέρα ακριδίνης **41** (40 mg, 0,078 mmol) και τριφλικού μεθυλεστέρα (89 mg, 0,543 mmol) σε ξηρό διχλωρομεθάνιο (1,4 mL) αναδεύεται για 24 ώρες υπό αργό. Όλα τα πτητικά εξατμίζονται, και στη συνέχεια το υπόλειμμα διαλύεται σε διχλωρομεθάνιο (0,5 mL) και επανακαταβυθίζεται με την προσθήκη διαιθυλαιθέρα. Ακολουθεί διήθηση και πλύσιμο με τολουόλιο (υπερήχους / φυγοκέντρηση 4x5 mL) και εξάνιο (5 mL). Παραλαμβάνεται ο εστέρας ακριδινίου **45**.

Κίτρινη σκόνη: 35 mg

Απόδοση: 66%

Μοριακό Βάρος: 679,26

Μοριακός τύπος:  $C_{24}H_{16}Br_2F_3NO_7S$

$^1H$  NMR (200 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 9,02 (ddd,  $J = 8,8, 0,8$  Hz, 2H, H-1), 8,95 (d,  $J = 9,5$  Hz, 2H, H-4), 8,54 (ddd,  $J = 9,3, 6,9, 1,4$  Hz, 2H, H-3), 8,42 (s, 2H, H-3'), 8,08 (ddd,  $J = 8,7, 6,7, 0,8$  Hz, 2H, H-2), 5,21 (s, 3H,  $NCH_3$ ), 4,01 (s, 3H,  $OCH_3$ ).

$^1H$  NMR (200 MHz,  $CD_3CN$ )  $\delta$ : 9,02 (d,  $J = 8,3$  Hz, 2H, H-1), 8,71 (d,  $J = 7,6$  Hz, 2H, H-4), 8,57 – 8,46 (m, 2H, H-3), 8,42 (s, 2H, H-3'), 8,20 – 8,10 (m, 2H, H-2), 4,89 (s, 3H,  $NCH_3$ ), 3,94 (s, 3H,  $OCH_3$ ).

$^1H$  NMR (200 MHz,  $MeOD-d_4$ )  $\delta$ : 9,04 (d,  $J = 8,0$  Hz, 2H, H-1), 8,87 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H, H-4), 8,57 – 8,45 (m, 2H, H-3), 8,41 (s, 2H, H-3'), 8,20 – 8,10 (m, 2H,

H-2), 8,00 (s, 2H, H-3'),\* 7,57 (d,  $J = 7,5$  Hz, 2H, H-4),\* 7,39 (t,  $J = 6,6$  Hz, 2H, H-2),\* 7,18 (d,  $J = 7,5$  Hz, 2H, H-1),\* 7,00 (t,  $J = 6,6$  Hz, 2H, H-3),\* 5,01 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 3,94 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,81 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>),\* 3,48 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>).<sup>\*</sup> Ψευδοβάση: 18 mol% (οι κορυφές της υποδεικνύονται με \*).

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 8,99 (d,  $J = 10,1$  Hz, 2H, H-1), 8,94 (d,  $J = 9,4$  Hz, 2H, H-4), 8,58 (t,  $J = 7,1$  Hz, 2H, H-3), 8,41 (s, 2H, H-3'), 8,24 (t,  $J = 7,2$  Hz, 2H, H-2), 8,02 (s, 2H, H-3'),\* 7,76 (d,  $J = 6,8$  Hz, 2H, H-4),\* 7,36 (t,  $J = 7,3$  Hz, 2H, H-2),\* 7,14 (d,  $J = 7,4$  Hz, 2H, H-1),\* 7,01 (t,  $J = 7,1$  Hz, 2H, H-3),\* 4,99 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 3,93 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,81 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>),\* 3,44 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>).<sup>\*</sup> Ψευδοβάση: 33 mol% (οι κορυφές της υποδεικνύονται με \*).

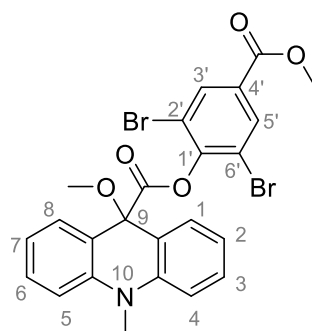
<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CD<sub>3</sub>CN) δ: 164,50, 162,28, 149,63, 146,79, 143,24, 140,61, 135,10, 133,13, 130,70, 129,15, 124,44, 120,30, 118,42, 53,69, 41,02.

<sup>19</sup>F NMR (188 MHz, CD<sub>3</sub>CN) δ: -79,49.

**ES-MS** m/z για C<sub>23</sub>H<sub>16</sub>Br<sub>2</sub>NO<sub>4</sub> [M]<sup>+</sup>: υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 527,94, 529,94 και 531,94 και βρέθηκε 528,10, 529,97 και 531,99.

**ES-HRMS** m/z για C<sub>23</sub>H<sub>16</sub>Br<sub>2</sub>NO<sub>4</sub> [M]<sup>+</sup>: υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 527,9441, 529,9420 και 531,9400 και βρέθηκε 527,9438, 529,9421 και 531,9406.

#### 9.2.4 Σύνθεση του 9-μεθοξυ-10-μεθυλο-9,10-διϋδροακριδίνη-9-καρβοξυλικού 2,6-διβρωμο-4-(μεθοξυκαρβονυλο)φαινυλεστέρα 46



C<sub>24</sub>H<sub>19</sub>Br<sub>2</sub>NO<sub>5</sub>  
Mol. Wt.: 561.23

Διάλυμα του εστέρα ακριδίνης **41** (40 mg, 0,078 mmol) και τριφλικού μεθυλεστέρα (89 mg, 0,543 mmol) σε ξηρό διχλωρομεθάνιο (1,7 mL)

αναδεύεται για 24 ώρες υπό αργό. Στη συνέχεια, όλα τα πτητικά εξατμίζονται, το υπόλειμμα διαλύεται σε διχλωρομεθάνιο (0,5 mL) και το στερεό καταβυθίζεται με την προσθήκη διαιθυλαιθέρα. Ακολουθεί διήθηση και πλύσιμο με εξάνιο. Το προκύπτον στερεό καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης σε σύστημα έκλουσης 5-20% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, δίνοντας τον εστέρα **46**.

Λευκό στερεό: 30 mg

Απόδοση: 69%

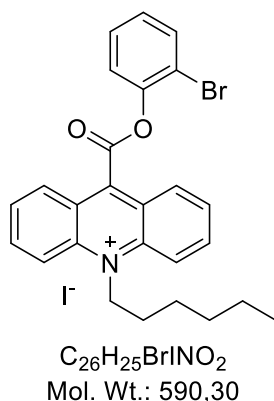
Μοριακό Βάρος: 563,24

Μοριακός τύπος: C<sub>24</sub>H<sub>21</sub>Br<sub>2</sub>NO<sub>5</sub>

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 8,05 (s, 2H, H-3'), 7,73 (dd, *J* = 7,6, 1,5 Hz, 2H, H-1), 7,39 (ddd, *J* = 8,7, 7,2, 1,6 Hz, 2H, H-3), 7,11 – 6,99 (m, 4H, H-2,4), 3,86 (s, 3H, COOCH<sub>3</sub>), 3,51 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 3,12 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>).

ES-MS m/z για C<sub>23</sub>H<sub>16</sub>Br<sub>2</sub>NO<sub>4</sub> [M-MeO]<sup>+</sup>: υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 527,94, 529,94 και 531,94 και βρέθηκε 527,66, 530,07 και 531,91 (Δεν ανιχνεύεται το μοριακό ιόν).

### 9.2.5 Σύνθεση του ιωδιούχου 9-((2-βρωμοφαινοξυ)καρβονυλο)-10-εξυλακριν-10-ίου **47**



Μίγμα του εστέρα ακριδίνης **40** (30 mg, 0,079 mmol) και 1-ιωδοεξανίου (67 mg, 0,316 mmol) αναδεύονται στους 150°C για 2 ημέρες υπό αργό. Μετά την ψύξη σε θερμοκρασία δωματίου, το μίγμα πλένεται με πετρελαϊκό αιθέρα (φυγοκέντρηση, 2x5 mL) και διαιθυλαιθέρα (3x5 mL), δίνοντας τον εστέρα ακριδινίου **47**.

Κίτρινη σκόνη: 14 mg

Απόδοση: 30%

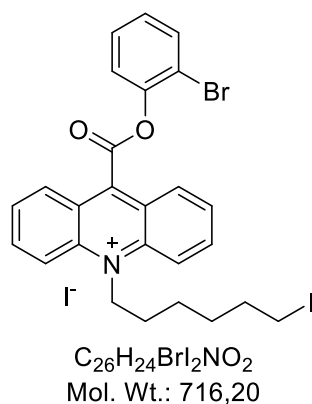
Μοριακό Βάρος: 590,30

Μοριακός τύπος: C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>BrINO<sub>2</sub>

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 8,76 – 8,55 (m, 6H, H-1,2,4), 8,13 (dd, *J* = 8,3, 7,2 Hz, 2H, H-3), 7,80 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H, H-3'), 7,63 – 7,51 (m, 2H, H-5',6'), 7,40 – 7,30 (m, 1H, H-4'), 5,62 (dd, *J* = 10,0, 6,8 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>), 2,39 – 2,21 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1,90 – 1,75 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1,51 – 1,36 (m, 4H, CH<sub>2</sub>), 0,97 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>).

ES-MS *m/z* για C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>BrNO<sub>2</sub> [M]<sup>+</sup>: υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 462,11 και 464,10 και βρέθηκε 462,10 και 464,10.

### 9.2.6 Σύνθεση του ιωδιούχου 9-((2-βρωμοφαινοξυ)καρβονυλο)-10-(6-ιωδοεξυλο)ακριδιν-10-ίου 48



Μίγμα του εστέρα ακριδίνης **40** (15 mg, 0,040 mmol) και 1,6-διιωδοεξάνιου (27 mg, 0,079 mmol) σε ξηρό νιτροβενζόλιο (0,5 mL) αναδεύεται στους 150°C για 2 ημέρες υπό αργό. Μετά από ψύξη, προστίθεται ακετονιτρίλιο (0,5 mL), ακολουθεί προσθήκη διαιθυλαιθέρα (20 mL) και το προκύπτον ίζημα διηθείται και πλένεται με διαιθυλαιθέρα και πετρελαϊκό αιθέρα, λαμβάνοντας τον εστέρα ακριδινίου **48**.

Κίτρινη σκόνη: 6 mg

Απόδοση: 10%

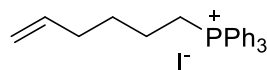
Μοριακό Βάρος: 716,20

Μοριακός τύπος: C<sub>26</sub>H<sub>24</sub>BrI<sub>2</sub>NO<sub>2</sub>

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 8,90 (d, J = 9,3 Hz, 2H, H-4), 8,70 (d, J = 8,7 Hz, 2H, H-1), 8,55 (dd, J = 8,6, 7,2 Hz, 2H, H-2), 8,18 (dd, J = 8,1, 6,8 Hz, 2H, H-3), 8,05 (dd, J = 8,1, 1,5 Hz, 1H, H-3'), 7,92 (dd, J = 8,1, 1,4 Hz, 1H, H-6'), 7,66 (td, J = 7,7, 1,5 Hz, 1H, H-5'), 7,45 (td, J = 7,5, 1,5 Hz, 1H, H-4'), 5,50 – 5,40 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>), 3,27 (t, J = 6,7 Hz, 2H, ICH<sub>2</sub>), 2,15 – 1,95 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1,85 – 1,60 (m, 4H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, ICH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1,52 – 1,41 (m, 2H, CH<sub>2</sub>). Ψευδοβάση: 12 mol%.

ES-MS m/z για C<sub>26</sub>H<sub>24</sub>BrINO<sub>2</sub> [M]<sup>+</sup>: υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 588,00 και 590,00 και βρέθηκε 588,10 και 590,15.

### 9.2.7 Αντίδραση του εστέρα ακριδινίου **40** με (6-ιωδοεξυλο) τριφαινυλοφωσφονιακό ιωδιδίο: Απομόνωση του εξ-5-εν-1-υλοτριφαινυλοφωσφονιακού ιωδιδίου **51**



C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>IP  
Mol. Wt.: 472.35

Μίγμα του εστέρα ακριδίνης **40** (15 mg, 0,040 mmol) και (6-ιωδοεξυλο) τριφαινυλοφωσφονιακού ιωδιδίου **50** (48 mg, 0,079 mmol) σε ξηρό νιτροβενζόλιο (0,5 mL) αναδεύεται στους 150°C για 5 ημέρες υπό αργό. Μετά από ψύξη, προστίθεται ακετονιτρίλιο (0,5 mL), ακολουθεί προσθήκη διαιθυλαιθέρα (20 mL) και το προκύπτον ίζημα διηθείται και πλένεται με διαιθυλαιθέρα και πετρελαϊκό αιθέρα. Παραλαμβάνεται το αλκένιο **51**.

Υποκίτρινο στερεό: 24 mg

Απόδοση: 64%

Μοριακό Βάρος: 472,35

Μοριακός τύπος: C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>IP

R<sub>f</sub> (MeOH/DCM 5/95): 0,13

$^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7,88 – 7,71 (m, 15H, PhH), 5,71 (ddt,  $J = 16,8, 10,2, 6,6$  Hz, 2H, =CHC), 5,02 – 4,89 (m, 2H, =CH<sub>2</sub>), 3,52 – 3,38 (m, 2H, PCH<sub>2</sub>), 2,12 (q,  $J = 6,6$  Hz, 2H, C=CHCH<sub>2</sub>), 1,83 – 1,66 (m, 4H, CH<sub>2</sub>).

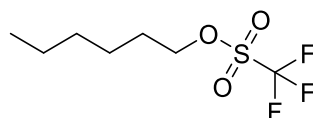
$^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 137,59, 135,30 (d,  $J = 2,9$  Hz, PPh<sub>3</sub> para), 133,71 (d,  $J = 10,0$  Hz, PPh<sub>3</sub> ortho), 130,73 (d,  $J = 12,5$  Hz, PPh<sub>3</sub> meta), 118,01 (d,  $J = 86,1$  Hz, PPh<sub>3</sub> ipso), 115,55, 32,96, 29,37 (d,  $J = 15,9$  Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>P), 23,00 (d,  $J = 50,5$  Hz, CH<sub>2</sub>P), 21,85 (d,  $J = 4,2$  Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>P).

$^{31}\text{P NMR}$  (81 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 25,12.

ES-MS m/z για C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>IP [M]<sup>+</sup>: υπολογίστηκε 345,18 και βρέθηκε 344,99.

ES-HRMS m/z για C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>IP [M]<sup>+</sup>: υπολογίστηκε 345,1767 και βρέθηκε 345,1760.

### 9.2.8 Σύνθεση του τριφθορομεθανοσουλφονικού εξυλεστέρα **54** <sup>110</sup>



C<sub>7</sub>H<sub>13</sub>F<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S  
Mol. Wt.: 234,23

Διάλυμα τριφλικού ανυδρίτη (1,62 mL, 2,72 gr, 9,63 mmol) σε ξηρό διχλωρομεθάνιο (6 mL) προστίθεται στάγδην σε ψυχρό (0°C) διάλυμα εξανόλης (1 mL, 0,820 gr, 8,03 mmol) και *N,N*-δισοπροπυλαιθυλαμίνης (1,68 mL, 1,24 gr, 9,63 mmol) σε ξηρό διχλωρομεθάνιο (6 mL) υπό αργό και υπό συνεχή ανάδευση. Μετά την προσθήκη, το λουτρό ψύξης απομακρύνεται και το μίγμα αφέθηκε σε θερμοκρασία δωματίου για 4 ώρες. Στη συνέχεια, το μίγμα αποχύνεται σε εξάνιο (40 mL) και ακολούθως διηθείται από στρώμα celite (γη διατόμων). Το στρώμα πλένεται με εξάνιο και το διήθημα συμπυκνώνεται, λαμβάνοντας τον τριφλικό εστέρα **54**.

Καφέ έλαιο: 1,45 gr

Απόδοση: 64%

Μοριακό Βάρος: 234,23

Μοριακός τύπος: C<sub>7</sub>H<sub>13</sub>F<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S

Rf (AcOEt/PE 10/90): 0,70 (εμφάνιση με PMA)

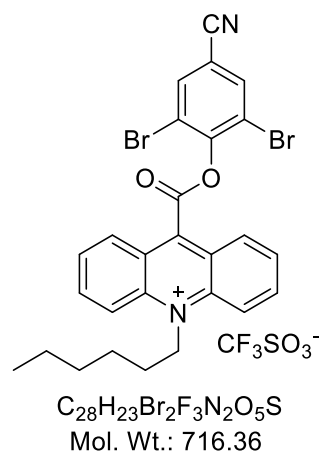
$^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 4,54 (t,  $J = 6,5$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2$ ), 1,82 (quint,  $J = 6,5$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2$ ), 1,51 – 1,21 (m, 6H,  $\text{CH}_2$ ), 0,90 (t,  $J = 6,4$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

$^{19}\text{F NMR}$  (188 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : -75,26.

### 9.2.9 Γενική μέθοδος σύνθεσης N-αλκυλιωμένων εστέρων ακριδινίου

Τριφλικός αλκυλεστέρας (1,5 mmol) προστίθεται σε διάλυμα εστέρα ακριδίνης (0,5 mmol) σε ξηρό 1,2-διχλωροαιθάνιο (5 mL) υπό αργό και το μίγμα αναδεύεται στους 50°C για 18 ώρες. Μετά από ψύξη, ο διαλύτης εξατμίζεται και το υπόλειμμα εκπλένεται εκτεταμένα (>15x υπερήχους / φυγοκέντρηση) με 50% τολουόλιο / διαιθυλαιθέρα. Παραλαμβάνεται ο N-αλκυλιωμένος εστέρας ακριδινίου ως κίτρινη σκόνη.

#### 9.2.9.1 Τριφθορομεθανοσουλφονικό 9-((2,6-διβρωμο-4-κυανοφαινοξυ)καρβονυλο)-10-εξυλακριν-10-ιο 55



Από τον εστέρα ακριδίνης **42** και τριφλικό εξυλεστέρα **54**.

Κίτρινη σκόνη: 104 mg

Απόδοση: 29%

Μοριακό Βάρος: 716,36

Μοριακός τύπος:  $\text{C}_{28}\text{H}_{23}\text{Br}_2\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$



$^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8,94 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H, H-1), 8,83 (d,  $J = 9,4$  Hz, 2H, H-4), 8,56 (ddd,  $J = 9,3, 6,9, 1,1$  Hz, 2H, H-3), 8,12 – 8,05 (m, 4H, H-2, H-3'), 5,74 – 5,62 (m, 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 2,33 – 2,13 (m, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 1,88 – 1,70 (m, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 1,51 – 1,32 (m, 4H,  $\text{CH}_2$ ), 0,92 (t,  $J = 7,1$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

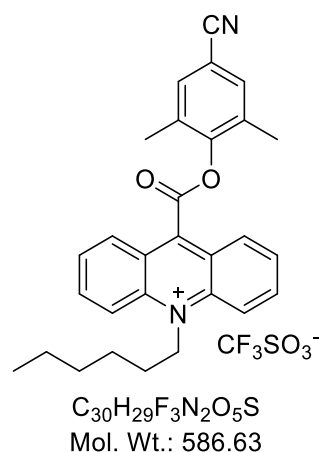
$^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ )  $\delta$ : 162,08, 149,99, 146,43, 142,42, 140,75, 138,09, 130,68, 129,18, 124,58, 120,08, 119,00, 116,25, 114,97, 53,21, 32,02, 29,59, 26,90, 23,22, 14,23.

$^{19}\text{F NMR}$  (188 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : -78,74.

ES-MS  $m/z$  για  $\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_2$   $[\text{M}]^+$ : υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 565,01, 567,01 και 569,01 και βρέθηκε 565,12, 567,08 και 569,09.

ES-HRMS  $m/z$  για  $\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_2$   $[\text{M}]^+$ : υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 565,0121, 567,0102 και 569,0088 και βρέθηκε 565,0122, 567,0111 και 569,0087.

9.2.9.2 Τριφθορομεθανοσουλφονικό 9-((4-κυανο-2,6-διμεθυλοφαινοξυ)καρβονυλο)-10-εξυλακρίδιν-10-ιο 56



Από τον εστέρα ακριδίνης **43** και τριφλικό εξυλεστέρα **54**.

Κίτρινη σκόνη: 82 mg

Απόδοση: 28%

Μοριακό Βάρος: 586,63

Μοριακός τύπος: C<sub>30</sub>H<sub>29</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 8,80 (d, J = 9,8 Hz, 2H, H-1), 8,59 – 8,49 (m, 4H, H-3,4), 8,07 (dd, J = 8,5, 7,1 Hz, 2H, H-2), 7,55 (s, 2H, H-3'), 5,69 – 5,58 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>), 2,48 (s, 6H, ArCH<sub>3</sub>), 2,31 – 2,13 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1,84 – 1,69 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1,51 – 1,30 (m, 4H, CH<sub>2</sub>), 0,92 (t, J = 6,9 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>).

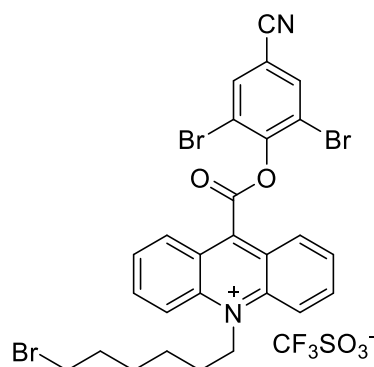
<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CD<sub>3</sub>CN) δ: 163,12, 151,95, 148,14, 142,43, 140,67, 134,26, 133,50, 130,74, 128,70, 124,42, 120,18, 118,87, 111,95, 53,04, 32,02, 29,61, 26,89, 23,22, 17,78, 14,23.

<sup>19</sup>F NMR (188 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: -78,83.

ES-MS m/z για C<sub>29</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [M]<sup>+</sup>: υπολογίστηκε 437,22 και βρέθηκε 437,13.

ES-HRMS m/z για C<sub>29</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [M]<sup>+</sup>: υπολογίστηκε 437,2224 και βρέθηκε 437,2223.

9.2.9.3 Τριφθορομεθανοσουλφονικό 10-(6-βρωμοεξυλο)-9-((2,6-διβρωμο-4-κυανοφαινοξυ)καρβονυλο)ακριδιν-10-ιο 62α



C<sub>28</sub>H<sub>22</sub>Br<sub>3</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S  
Mol. Wt.: 795,26

Από τον εστέρα ακριδίνης **42** και τριφλικό βρωμοεξυλεστέρα **63α**.

Κίτρινη σκόνη: 107 mg

Απόδοση: 27%

Μοριακό Βάρος: 795,26

Μοριακός τύπος: C<sub>28</sub>H<sub>22</sub>Br<sub>3</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 8,97 – 8,87 (m, 4H, H-1,4), 8,59 (ddd, J = 8,2,

6,7, 1,0 Hz, 2H, H-3), 8,13 – 8,05 (m, 4H, H-2, H-3'), 5,75 – 5,64 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>), 3,44 (t, *J* = 6,5 Hz, BrCH<sub>2</sub>), 2,33 – 2,17 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2,00 – 1,79 (m, 4H, NCH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CD<sub>3</sub>CN) δ: 162,14, 150,08, 146,61, 142,52, 140,82, 138,18, 130,74, 129,30, 124,67, 120,13, 119,05, 116,31, 115,07, 53,12, 35,11, 33,32, 29,42, 28,35, 26,38.

<sup>19</sup>F NMR (188 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: -78,69.

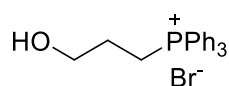
ES-MS m/z για C<sub>27</sub>H<sub>22</sub>Br<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [M]<sup>+</sup>: υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 642,92, 644,92, 646,92 και 648,92 και βρέθηκε 642,79, 644,95, 646,86 και 648,91.

ES-HRMS m/z για C<sub>27</sub>H<sub>22</sub>Br<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [M]<sup>+</sup>: υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 642,9226, 644,9207, 646,9189 και 648,9175 και βρέθηκε 642,9221, 644,9206, 646,9198 και 648,9210.

### 9.2.10 Γενική μέθοδος σύνθεσης των υδροξυαλκυλοφωσφονιακών βρωμιδίων 60

Διάλυμα βρωμοάλκυλο αλκοόλης (1 mmol) και τριφαινυλοφωσφίνης (2 mmol) σε ξηρό ακετονιτρίλιο (6 mL) αναδεύεται υπό αναρροή και υπό αργό για 24 ώρες. Μετά από ψύξη, το επιθυμητό προϊόν καταβυθίζεται κατά την προσθήκη διαιθυλαιθέρα και συλλέγεται μετά από διήθηση και έκπλυση με διαιθυλαιθέρα, ως λευκό στερεό.

#### 9.2.10.1 (3-υδροξυπροπυλο)τριφαινυλοφωσφονιακό βρωμίδιο 60α<sup>117</sup>



C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>BrOP  
Mol. Wt.: 401.28

Από την 3-βρωμοπροπανόλη.

Λευκό στερεό: 318 mg

Απόδοση: 79%

Μοριακό Βάρος: 401,28

Μοριακός τύπος: C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>BrOP

R<sub>f</sub> (MeOH/DCM 10/90): 0,14

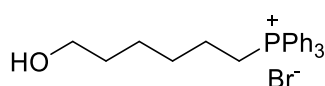
<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, MeOD-d<sub>4</sub>) δ: 7,95 – 7,70 (m, 15H, PhH), 3,75 – 3,35 (m, 4H, OCH<sub>2</sub>, PCH<sub>2</sub>), 2,00 – 1,75 (m, 2H, CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz CDCl<sub>3</sub>) δ: 134,94 (d, *J* = 2,8 Hz, PPh<sub>3</sub> para), 133,25 (d, *J* = 10,0 Hz, PPh<sub>3</sub> ortho), 130,39 (d, *J* = 12,5 Hz, PPh<sub>3</sub> meta), 117,99 (d, *J* = 86,2 Hz, ipso), 60,13 (d, *J* = 16,8 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>P), 25,60 (d, *J* = 4,2 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>P), 19,86 (d, *J* = 53,2 Hz, CH<sub>2</sub>P).

<sup>31</sup>P NMR (81 MHz, MeOD-d<sub>4</sub>) δ: 25,33.

ES-MS m/z για C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>OP [M]<sup>+</sup>: υπολογίστηκε 321,14 και βρέθηκε 321,04.

### 9.2.10.2 (6-υδροξυεξυλο)τριφαινυλοφωσφονιακό βρωμίδιο 60β <sup>118</sup>



C<sub>24</sub>H<sub>28</sub>BrOP  
Mol. Wt.: 443.36

Από την 6-βρωμοεξανόλη.

Λευκό στερεό: 372 mg

Απόδοση: 84%

Μοριακό Βάρος: 443,36

Μοριακός τύπος: C<sub>24</sub>H<sub>28</sub>BrOP

R<sub>f</sub> (MeOH/DCM 10/90): 0,38

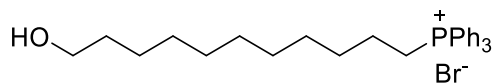
<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7,72 – 7,52 (m, 15H, PhH), 3,66 (bs, 1H, OH), 3,50 – 3,35 (m, 4H, OCH<sub>2</sub>, PCH<sub>2</sub>), 1,55 – 1,25 (m, 8H, CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz CDCl<sub>3</sub>) δ: 134,85 (d, *J* = 2,9 Hz, PPh<sub>3</sub> para), 133,28 (d, *J* = 9,9 Hz, PPh<sub>3</sub> ortho), 130,30 (d, *J* = 12,5 Hz, PPh<sub>3</sub> meta), 117,84 (d, *J* = 85,9 Hz, PPh<sub>3</sub> ipso), 61,02, 31,62, 29,34 (d, *J* = 16,0 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>P), 24,55, 22,12 (d, *J* = 50,6 Hz, CH<sub>2</sub>P), 22,02 (d, *J* = 4,1 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>P).

<sup>31</sup>P NMR (81 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 25,07.

ES-MS m/z για C<sub>24</sub>H<sub>28</sub>OP [M]<sup>+</sup>: υπολογίστηκε 363,19 και βρέθηκε 363,07.

9.2.10.3 (11-υδροξυενδεκυλο)τριφαινυλοφωσφονιακό βρωμίδιο 60γ<sup>119</sup>



C<sub>29</sub>H<sub>38</sub>BrOP  
Mol. Wt.: 513.50

Από την 11-βρωμοενδεκανόλη.

Λευκό στερεό: 395 mg

Απόδοση: 77%

Μοριακό Βάρος: 513,50

Μοριακός τύπος: C<sub>29</sub>H<sub>38</sub>BrOP

R<sub>f</sub> (MeOH/DCM 10/90): 0,25

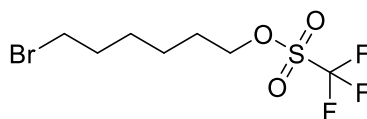
<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, MeOD-d<sub>4</sub>) δ: 7,94 – 7,70 (m, 15H, PhH), 3,56 – 3,35 (m, 4H, OCH<sub>2</sub>, PCH<sub>2</sub>), 1,73 – 1,15 (m, 18H, CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, MeOD-d<sub>4</sub>) δ: 136,16 (d, *J* = 3,0 Hz, PPh<sub>3</sub> para), 134,78 (d, *J* = 10,0 Hz, PPh<sub>3</sub> ortho), 131,49 (d, *J* = 12,5 Hz, PPh<sub>3</sub> meta), 119,93 (d, *J* = 86,2 Hz, PPh<sub>3</sub> ipso), 62,88, 33,59, 31,50 (d, *J* = 16,1 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>P), 30,60, 30,48, 30,43, 30,30, 29,86, 26,86, 23,50 (d, *J* = 4,3 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>P), 22,61 (d, *J* = 50,8 Hz, CH<sub>2</sub>P).

<sup>31</sup>P NMR (81 MHz, MeOD-d<sub>4</sub>) δ: 24,89.

ES-MS m/z για C<sub>29</sub>H<sub>38</sub>OP [M]<sup>+</sup>: υπολογίστηκε 433,27 και βρέθηκε 433,33.

**9.2.11 Σύνθεση του τριφθορομεθανοσουλφονικού 6- βρωμοεξυλεστέρα 63α**



C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>BrF<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S  
Mol. Wt.: 313.13

Διάλυμα τριφλικού ανυδρίτη (748 mg, 2,65 mmol) σε ξηρό διχλωρομεθάνιο (1,5 mL) προστίθεται στάγδην σε ψυχρό (-63°C) διάλυμα 6-βρωμοεξανόλης (240 mg, 1,33 mmol) και *N,N*-δισοπροπυλαιθυλαμίνης (274 mg, 2,12 mmol) σε ξηρό διχλωρομεθάνιο (1,5 mL) υπό αργό και υπό συνεχή ανάδευση. Μετά την προσθήκη, το λουτρό ψύξης απομακρύνεται και το μίγμα αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για 3 ώρες. Στη συνέχεια, το μίγμα αποχύνεται σε εξάνιο (10 mL) και ακολούθως διηθείται από στρώμα celite (γη διατόμων). Το στρώμα πλένεται με εξάνιο και το διήθημα συμπυκνώνεται, λαμβάνοντας τον τριφλικό εστέρα **63α**<sup>120</sup>.

Καφέ έλαιο: 351 mg

Απόδοση: 84%

Μοριακό Βάρος: 313,13

Μοριακός τύπος: C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>BrF<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S

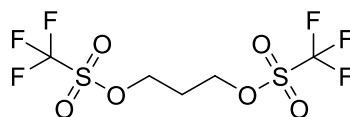
R<sub>f</sub> (AcOEt/PE 10/90): 0,60 (εμφάνιση με PMA)

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 4,54 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>), 3,41 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H, BrCH<sub>2</sub>), 1,96 – 1,77 (m, 4H), 1,58 – 1,39 (m, 4H).

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 118,70 (q, *J* = 319,2 Hz, CF<sub>3</sub>), 77,57, 33,52, 32,42, 29,15, 27,46, 24,40.

<sup>19</sup>F NMR (188 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: -75,26.

### 9.2.12 Σύνθεση του δις(τριφθορομεθανοσουλφονικού) εστέρα της 1,3-προπανοδιόλης **70α**



C<sub>5</sub>H<sub>6</sub>F<sub>6</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub>  
Mol. Wt.: 340.21

Διάλυμα τριφλικού ανυδρίτη (2 mL, 3,35 g, 11,88 mmol) σε ξηρό διχλωρομεθάνιο (5 mL) προστίθεται στάγδην σε ψυχρό (0°C) διάλυμα 1,3-προπανοδιόλη (5,4 mmol) και *N,N*-δισοπροπυλαιθυλαμίνη (2,07 mL, 1,54 g, 11,88 mmol) σε ξηρό διχλωρομεθάνιο (5 mL) υπό αργό και υπό συνεχή

ανάδευση. Μετά την προσθήκη, το λουτρό ψύξης απομακρύνεται και το μίγμα αφέθηκε σε θερμοκρασία δωματίου για 4 ώρες. Στη συνέχεια, το μίγμα αποχύνεται σε εξάνιο (40 mL) και ακολούθως διηθείται από στρώμα celite (γη διατόμων). Το στρώμα πλένεται με εξάνιο και το διήθημα συμπυκνώνεται, δίνοντας τον τριφλικό εστέρα **70α**.

Καφέ έλαιο: 1,18 gr

Απόδοση: 64%

Μοριακό Βάρος: 340,21

Μοριακός τύπος: C<sub>5</sub>H<sub>6</sub>F<sub>6</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub>

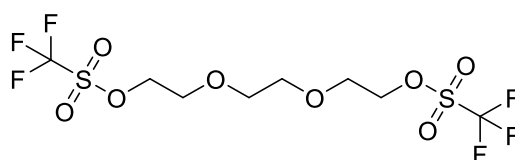
R<sub>f</sub> (AcOEt/PE 10/90): 0,20 (εμφάνιση με PMA)

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 4,67 (t, *J* = 5,8 Hz, 4H, SOCH<sub>2</sub>), 2,36 (qui, *J* = 5,9 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 118,71 (q, *J* = 319,3 Hz, CF<sub>3</sub>), 71,88, 29,28.

<sup>19</sup>F NMR (188 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: -74,91.

### 9.2.13 Σύνθεση του δις(τριφθορομεθανοσουλφονικού) εστέρα της 2,2'-(αιθανιο-1,2-διυλοδισ(οξυ))δισ(αιθαν-1-όλης) **70β**<sup>114</sup>



C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>F<sub>6</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub>  
Mol. Wt.: 414.29

Διάλυμα τριφλικού ανυδρίτη (2 mL, 3,35 g, 11,88 mmol) σε ξηρό διχλωρομεθάνιο (5 mL) προστίθεται στάγδην σε ψυχρό (0°C) διάλυμα τριαιθυλενογλυκόλης (5.4 mmol) και *N,N*-δισοπροπυλαιθυλαμίνη (2,07 mL, 1,54 g, 11,88 mmol) σε ξηρό διχλωρομεθάνιο (5 mL) υπό αργό και υπό συνεχή ανάδευση. Μετά την προσθήκη, το λουτρό ψύξης απομακρύνεται και και το μίγμα αφέθηκε σε θερμοκρασία δωματίου για 4 ώρες. Στη συνέχεια, το μίγμα αποχύνεται σε εξάνιο (40 mL) και ακολούθως διηθείται από στρώμα celite (γη διατόμων). Το στρώμα πλένεται με εξάνιο και το διήθημα

συμπυκνώνεται, λαμβάνοντας τον τριφλικό εστέρα **70β**.

Καφέ έλαιο: 1,95gr

Απόδοση: 87%

Μοριακό Βάρος: 414,29

Μοριακός τύπος: C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>F<sub>6</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub>

R<sub>f</sub> (AcOEt/PE 10/90): 0,13 (εμφάνιση με PMA)

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 4,66 – 4,60 (m, 4H, SOCH<sub>2</sub>), 3,86 – 3,81 (m, 4H, SOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3,70 (s, 4H, CH<sub>2</sub>).

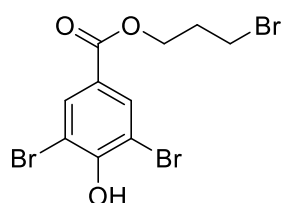
<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 118,69 (q, J = 319,3 Hz, CF<sub>3</sub>), 75,81, 70,98, 68,56.

<sup>19</sup>F NMR (188 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: -75,21.

#### 9.2.14 Αντίδραση εστεροποίησης του 3,5-διβρωμο-4-υδροξυβενζοϊκού οξέος με 3-βρωμο-1-προπανόλη.

Μίγμα 3,5-διβρωμο-4-υδροξυβενζοϊκού οξέος (300 mg, 1,014 mmol), 3-βρωμο-1-προπανόλης (422 mg, 3,042 mmol) και πυκνού θειικού οξέος (30 μL) αναδεύεται στους 120°C υπό αργό για 20 λεπτά (μέχρι την πλήρη διάλυση) και στους 100°C, για 18 ώρες. Μετά από ψύξη, προστίθεται EtOAc (90 mL), πλένεται με νερό (20 mL), υδατ. NaHCO<sub>3</sub> (20 mL) και κορ.διάλυμα NaCl (brine) (20 mL), ξηραίνεται (MgSO<sub>4</sub>) και ο διαλύτης εξατμίζεται. Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (50-50% PE(40-60°C)/διχλωρομεθάνιο, διχλωρομεθάνιο) λαμβάνοντας τον επιθυμητό εστέρα **74** (132 mg, 31%) καθώς και μικρή ποσότητα του διακλυιωμένου εστέρα **78** (12 mg, 3%).

##### 9.2.14.1 3,5-διβρωμο-4-υδροξυβενζοϊκός 3-βρωμοπροπυλεστέρας 74



C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>Br<sub>3</sub>O<sub>3</sub>  
Mol. Wt.: 416.89



Λευκό στερεό: 132 mg

Απόδοση: 31%

Μοριακό Βάρος: 416,89

Μοριακός τύπος: C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>Br<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

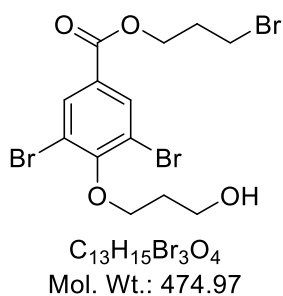
R<sub>f</sub> (DCM/PE 40/60): 0,42

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 8,10 (s, 2H, ArH), 6,43 (bs, 1H, OH), 4,44 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>), 3,52 (t, *J* = 6,5 Hz, 2H, BrCH<sub>2</sub>), 2,30 (qui, *J* = 6,3 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 163,90, 153,43, 133,63, 124,42, 109,83, 63,38, 31,66, 29,48.

ES-MS m/z για C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>Br<sub>3</sub>O<sub>3</sub> [M-H]<sup>-</sup>: υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 412,80, 414,80, 416,80 και 418,80 και βρέθηκε 412,94, 414,90, 416,69 και 418,63.

9.2.14.2 3,5-διβρωμο-4-(3-υδροξυπροποξυ) βενζοϊκός 3-βρωμοπροπυλεστέρας 78



Λευκό στερεό: 12 mg

Απόδοση: 3%

Μοριακό Βάρος: 474,97

Μοριακός τύπος: C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>Br<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

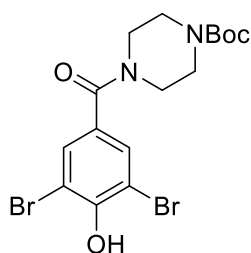
R<sub>f</sub> (DCM/PE 40/60): 0,11

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 8,14 (s, 2H, ArH), 5,30 (s, 1H, OH), 4,40 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H, COOCH<sub>2</sub>), 3,63 – 3,45 (m, 6H, OCH<sub>2</sub>, BrCH<sub>2</sub>), 2,15 – 1,96 (m, 4H,

CH<sub>2</sub>).

**ES-MS** m/z για C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>Br<sub>3</sub>O<sub>4</sub> [M-H]<sup>-</sup>: υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 470,84, 472,84, 474,84 και 476,84 και βρέθηκε 470,76 472,69, 474,82 και 476,76.

### 9.2.15 Σύνθεση του 4-(3,5-διβρωμο-4-υδροξυβενζόυλο)πιπεραζίνη-1-καρβοξυλικούtert-βουτυλεστέρα **81**



C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>  
Mol. Wt.: 464.15

HOBt (259 mg, 1,69 mmol) και EDC (787 mg, 5,07 mmol) προστίθενται διαδοχικά σε ένα διάλυμα 3,5-διβρωμο-4-υδροξυβενζοϊκού οξέος (1 g, 3,38 mmol) και 1-Boc-πιπεραζίνης (1,89 g, 10,14 mmol) σε ξηρό τετραϋδροφουράνιο (40 mL) και το μίγμα αναδεύεται υπό αργό για 7,5 ώρες. Έπειτα το μίγμα αποχύνεται σε παγόνερο, οξινίζεται με 1N HCl και το προκύπτον ίζημα διηθείται. Τέλος, πλένεται με νερό και ξηραίνεται, δίνοντας την επιθυμητή φαινόλη **81**.

Λευκό στερεό: 1,35 gr

Απόδοση: 86%

Μοριακό Βάρος: 464,15

Μοριακός τύπος: C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>

R<sub>f</sub> (MeOH/DCM 10/90): 0,48

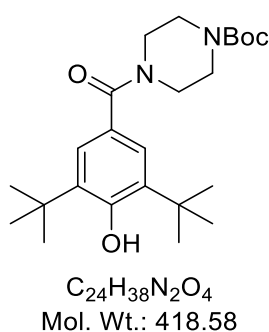
**<sup>1</sup>H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7,53 (s, 2H, ArH), 6,32 (bs, 1H, OH), 3,65 – 3,40 (m, 8H, πιπεραζίνη), 1,47 (s, 9H, tBu).

**<sup>13</sup>C NMR** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 167,90, 154,51, 151,52, 131,10, 129,10, 111,04, 80,64, 47,67 (br), 43,61 (br), 28,36.

ES-MS m/z για  $C_{16}H_{19}Br_2N_2O_4$   $[M-H]^-$ : υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 460,97, 462,97 και 464,97 και βρέθηκε 460,97, 462,94 και 464,91.

ES-HRMS m/z για  $C_{16}H_{20}Br_2N_2O_4Na$   $[M+Na]^+$ : υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 484,9682, 486,9662 και 488,9645 και βρέθηκε 484,9684, 486,9661 και 488,9638.

### 9.2.16 Σύνθεση του 4-(3,5-δι-tert-βουτυλο-4-υδροξυβενζουλο)πιπεραζίνη-1-καρβοξυλικού tert-βουτυλεστέρα **89**



HOBt (270 mg, 1,76 mmol) και EDC (930 mg, 5,99 mmol) προστίθενται διαδοχικά σε ένα διάλυμα 3,5-δι-tert-βουτυλο-4-υδροξυβενζοϊκού οξέος (1 g, 3.99 mmol) και 1-Boc-πιπεραζίνης (2,23 g, 16,38 mmol) σε ξηρό τετραϋδροφουράνιο (40 mL) και το μίγμα αναδεύεται υπό αργό για 7,5 ώρες. Έπειτα το μίγμα αποχύνεται σε παγόνερο, οξινίζεται με 1N HCl και το προκύπτον ίζημα διηθείται. Τέλος, πλένεται με νερό και ξηραίνεται, δίνοντας την επιθυμητή φαινόλη **89**.

Λευκό στερεό: 1,51 gr

Απόδοση: 91%

Μοριακό Βάρος: 418,58

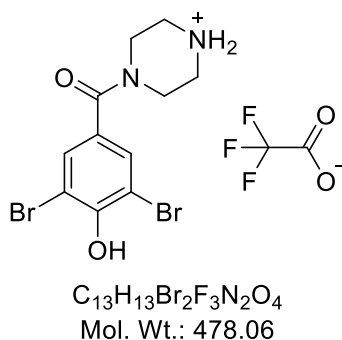
Μοριακός τύπος:  $C_{24}H_{38}N_2O_4$

$^1H$  NMR (200 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7,19 (s, 2H, ArH), 5,50 (bs, 1H, OH), 3,60 – 3,35 (m, 8H, πιπεραζίνη), 1,42 (s, 9H, CO-tBu), 1,38 (s, 18H, Ar-tBu).

$^{13}C$  NMR (50 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 171,69, 155,48, 154,60, 135,96, 126,04, 124,57, 80,23, 43,73 (br), 34,36, 30,13, 28,35.

ES-HRMS m/z για  $C_{24}H_{38}N_2O_4Na$   $[M+Na]^+$ : υπολογίστηκε 441,2724 και βρέθηκε 441,2733.

### 9.2.17 Σύνθεση του τριφθοροοξικού 4-(3,5-διβρωμο-4-υδροξυβενζοΐλο)πιπεραζιν-1-ίου **90**



Φαινόλη **81** (600 mg, 1,29 mmol) προστίθεται σε ένα μίγμα τριφθοροοξικού οξέος (8 mL) και χλωροφορμίου (12 mL) και το διάλυμα αναδεύεται για 1 ώρα. Με συμπύκνωση του μίγματος παραλαμβάνεται ποσοτικά το άλας **90**.

Λευκό στερεό: 615 mg

Απόδοση: 100%

Μοριακό Βάρος: 478,06

Μοριακός τύπος:  $C_{13}H_{13}Br_2F_3N_2O_4$

Rf (MeOH/DCM 10/90): 0,10

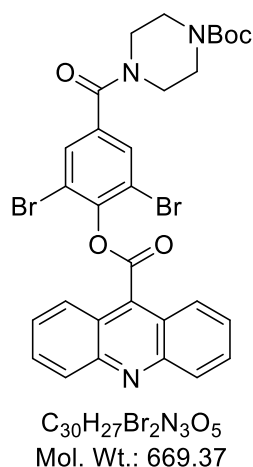
$^1H$  NMR (200 MHz, MeOD- $d_4$ )  $\delta$ : 7,66 (s, 2H, ArH), 3,88 – 3,77 (m, 4H, piperazine), 3,87 – 3,78 (m, 4H, πιπεραζίνη), 3,32 – 3,23 (m, 4H, πιπεραζίνη).

$^{19}F$  NMR (188 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : -77,42.

ES-MS m/z για  $C_{11}H_{13}Br_2N_2O_2$   $[M]^+$ : υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 362,93, 364,93 και 366,93 και βρέθηκε 362,97, 364,91 και 366,82.

ES-HRMS m/z για  $C_{11}H_{13}Br_2N_2O_2$   $[M]^+$ : υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 362,9338, 364,9318 και 366,9297 και βρέθηκε 362,9330 364,9309 και 366,9289.

### 9.2.18 Σύνθεση του ακριδίνη-9-καρβοξυλικού 2,6-διβρωμο-4-(4-(tert-βουτοξυκαρβονυλο)πιπεραζίνη-1-καρβονυλο)φαινυλεστέρα **91**



Εναιώρημα ένυδρου 9-ακριδινοκαρβοξυλικού οξέος (289 mg, 1,29 mmol) σε θειονυλοχλωρίδιο (3 mL) αναδεύεται υπό αναρροή και υπό αργό για 5 ώρες. Μετά από ψύξη, η περίσσεια θειονυλοχλωριδίου απομακρύνεται με χρήση υψηλού κενού και έπειτα προστίθεται ξηρό διχλωρομεθάνιο (7 mL). Στο προκύπτον διάλυμα προστίθενται διαδοχικά φαινόλη **81** (600 mg, 1,29 mmol), τριαιθυλαμίνη (0,36 mL, 2,58 mmol) και πυριδίνη (0,052 mL, 0,65 mmol) και το μίγμα αφήνεται να αντιδράσει για επιπλέον 18 ώρες. Στη συνέχεια, προστίθεται διχλωρομεθάνιο (30 mL) και H<sub>2</sub>O (20 mL), οι φάσεις διαχωρίζονται και η υδατική πλένεται με διχλωρομεθάνιο (2x30 mL). Οι οργανικές φάσεις συνδυάζονται, πλένονται διαδοχικά με 1N HCl (2x20 mL), υδατ. NaHCO<sub>3</sub> (20 mL) και κορ.διάλυμα NaCl (brine) (20 mL), ξηραίνονται (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) και ο διαλύτης εξατμίζεται. Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (10% MeCN/διχλωρομεθάνιο), παραλαμβάνοντας το προϊόν **91**.

Κίτρινο στερεό: 717 mg

Απόδοση: 83%

Μοριακό Βάρος: 669,37

Μοριακός τύπος: C<sub>30</sub>H<sub>27</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>

R<sub>f</sub> (MeCN/DCM 10/90): 0,33

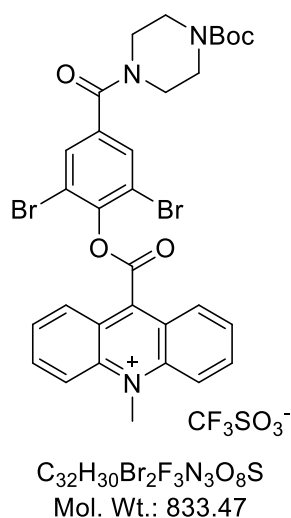
<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 8,74 (d, J = 8,8 Hz, 2H, H-4), 8,34 (d, J = 8,8

Hz, 2H, H-1), 7,87 (ddd,  $J = 8,8, 6,6, 1,4$  Hz, 2H, H-3), 7,76 (s, 2H, H-3'), 7,69 (ddd,  $J = 8,8, 6,7, 1,3$  Hz, 2H, H-2), 3,80 – 3,40 (m, 8H, πιπεραζίνη), 1,49 (s, 9H, *t*Bu).

$^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 166,53, 163,69, 154,43, 148,68, 147,62, 136,32, 133,22, 131,61, 130,36, 130,14, 127,69, 125,71, 122,92, 118,29, 80,58, 47,69 (br), 43,59 (br), 43,31 (br), 42,45 (br), 28,37.

ES-HRMS  $m/z$  για  $\text{C}_{30}\text{H}_{28}\text{Br}_2\text{N}_3\text{O}_5$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 668,0390, 670,0372 και 672,0359 και βρέθηκε 668,0391, 670,0370 και 672,0361.

### 9.2.19 Σύνθεση του τριφθορομεθανοσουλφονικού 9-((2,6-διβρωμο-4-(4-(*tert*-βουτοξυκαρβονυλο)πιπεραζίνη-1-καρβονυλο)φαινοξυ)καρβονυλο)-10-μεθυλακριδιν-10-ίου **92**



Τριφλικός μεθυλεστέρας (33 mg, 0,202 mmol) προστίθεται στο διάλυμα εστέρα ακριδίνης **91** (150 mg, 0,22 mmol) σε ξηρό διχλωρομεθάνιο (2.4 mL) και αφήνεται για 24 ώρες υπό αργό και υπό συνεχή ανάδευση. Τα πτητικά εξατμίζονται και το υπόλειμμα εκπλένεται εκτεταμένα (>x15 υπερήχους/φυγοκεντρήσεις) με 50% τολουόλιο/διαιθυλαιθέρα και στο τέλος με εξάνιο (x2). Λαμβάνεται ο εστέρας ακριδινίου **92**.

Κίτρινη σκόνη: 100 mg

Απόδοση: 59%

Μοριακό Βάρος: 833,47

Μοριακός τύπος: C<sub>32</sub>H<sub>30</sub>Br<sub>2</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>S

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 8,99 – 8,90 (m, 4H, H-1,4), 8,52 (dd, *J* = 8,5, 7,5 Hz, 2H, H-3), 8,06 (dd, *J* = 8,5, 7,0 Hz, 2H, H-2), 7,78 (s, 2H, H-3'), 5,18, (s, 2H, NCH<sub>2</sub>), 3,80 – 3,40 (m, 8H, πιπεραζίνη), 1,48 (s, 9H, *t*Bu).

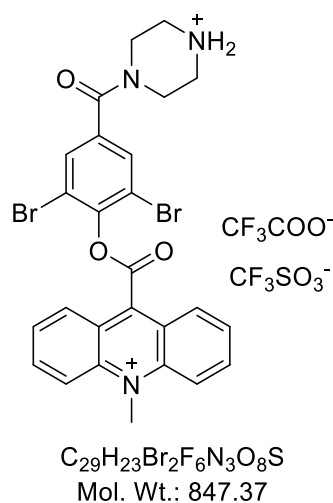
<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 166,07, 160,89, 154,42, 146,37, 145,96, 142,00, 140,11, 137,26, 131,86, 129,65, 128,21, 123,27, 120,54 (q, *J* = 320,4 Hz, TfO), 119,75, 117,77, 80,61, 47,57 (br), 43,75 (br), 43,62 (br), 42,33 (br), 40,52, 28,34.

<sup>19</sup>F NMR (188 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: -78,76.

**ES-MS** *m/z* για C<sub>31</sub>H<sub>30</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> [M]<sup>+</sup>: υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 682,06, 684,05 και 686,05 και βρέθηκε 681,74, 683,90 και 685,66.

**ES-HRMS** *m/z* για C<sub>31</sub>H<sub>30</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> [M]<sup>+</sup>: υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 682,0547, 684,0529 και 686,0516 και βρέθηκε 682,0551, 684,0554 και 686,0527.

### 9.2.20 Σύνθεση του 2,2,2-τριφθοροοξικού τριφθορομεθανοσουλφονικού 9-((2,6-διβρωμο-4-(πιπεραζιν-1-ιο-1-καρβονυλο)φαινοξυ)καρβονυλο)-10-μεθυλακριν-10-ίου 93



Το παράγωγο ακριδινίου **92** (100 mg, 0,12 mmol) προστίθεται σε μίγμα τριφθοροοξικού οξέος (1,1 mL) και χλωροφορμίου (1,1 mL) και το διάλυμα

αναδεύεται για 6 ώρες. Με συμπύκνωση του μίγματος παραλαμβάνεται ποσοτικά το άλας **93**.

Λευκό στερεό: 101 mg

Απόδοση: 100%

Μοριακό Βάρος: 847,37

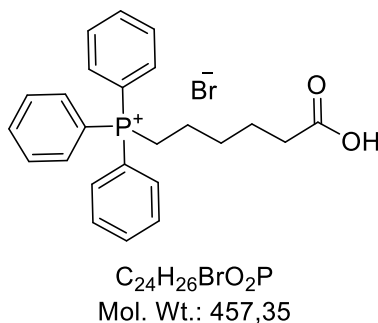
Μοριακός τύπος: C<sub>29</sub>H<sub>23</sub>Br<sub>2</sub>F<sub>6</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>S

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, MeOD-d<sub>4</sub>) δ: 9,09 (d, J = 8,7 Hz, 2H, H-4), 8,90 (d, J = 9,4 Hz, 2H, H-1), 8,56 (dd, J = 8,6, 7,6 Hz, 2H, H-3), 8,19 (dd, J = 8,1, 7,4 Hz, 2H, H-2), 8,06 (s, 2H, H-3'), 5,06 (s, 2H, NCH<sub>2</sub>), 4,03 – 3,70 (m, 5H, πιπεραζίνη), 3,42 – 3,32 (m, 3H, πιπεραζίνη). Ψευδοβάση: 30 mol%.

<sup>19</sup>F NMR (188 MHz, MeOD-d<sub>4</sub>) δ: -77,95, -80,48.

ES-HRMS m/z για C<sub>26</sub>H<sub>23</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> [M]<sup>2+</sup>: υπολογίστηκε 292,5037 και βρέθηκε 292,5035.

### 9.2.21 Σύνθεση του βρωμιδίου του (9-καρβοξυπεντυλο)τριφαινυλοφωσφονίου **94**



Σε προξηραμένη δίλιμη σφαιρική φιάλη υπό αργό προστέθηκαν 2 g (10,25 mmol) 6-βρωμοεξανοϊκού οξέος, 2,56 g (9,77 mmol) τριφαινυλοφωσφίνης και περίπου 15 mL ξηρού ακετονιτριλίου. Στη συνέχεια, η φιάλη τοποθετήθηκε σε ελαιόλουτρο και ακολούθησε ανάδευση με βρασμό υπό αναρροή για 2 μέρες. Το μίγμα ψύχθηκε και αποστάχθηκε το μεγαλύτερο μέρος του διαλύτη. Προστέθηκαν 20 mL οξικού αιθυλεστέρα και το μείγμα τοποθετήθηκε σε λουτρό υπερήχων, οπότε παρατηρήθηκε σχηματισμός θολώματος. Η φιάλη τοποθετήθηκε στο ψυγείο για 1 ημέρα, οπότε και



καταβυθίστηκε το προϊόν, το οποίο παραλήφθηκε με διήθηση, και έκπλυση με με οξικό αιθυλεστέρα δίνοντας το καθαρό οξύ **94** <sup>121</sup>.

Λευκό στερεό: 4,13 g

Απόδοση: 92%

Μοριακό Βάρος: 457,35

Μοριακός τύπος: C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>BrO<sub>2</sub>P

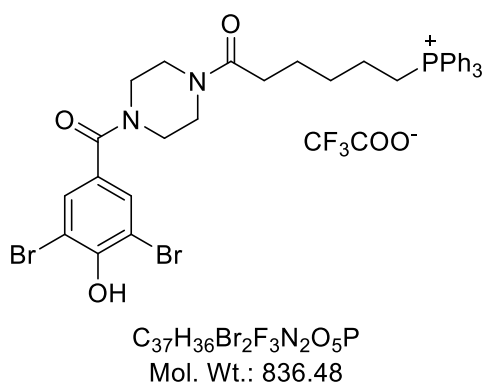
R<sub>f</sub> (MeOH/DCM 10/90): 0,30

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7,91 – 7,57 (m, 15H, ArH), 3,61 (m, 2H, CH<sub>2</sub>P), 2,37 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 1,77 – 1,48 (m, 6H, CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 176,09 (C=O), 135,21 (d, *J* = 2,8 Hz, PPh<sub>3</sub>para), 133,66 (d, *J* = 10,0 Hz, PPh<sub>3</sub>ortho), 130,65 (d, *J* = 12,5 Hz, PPh<sub>3</sub>meta), 118,11 (d, *J* = 86,0 Hz, PPh<sub>3</sub>ipso), 34,25 (CH<sub>2</sub>COOH), 29,58 (d, *J* = 16,2 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>P), 24,06 (CH<sub>2</sub>), 22,55 (d, *J* = 52,1 Hz, CH<sub>2</sub>P), 21,99 (d, *J* = 4,1 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>P).

<sup>31</sup>P NMR (81 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 25,14.

### 9.2.22 Σύνθεση του 2,2,2-τριφθοροοξικού (6-(4-(3,5-διβρωμο-4-υδροξυβενζοΐλο)πιπεραζιν-1-υλο)-6-οξοεξυλο)τριφαινυλοφωσφονίου **95**



HOBt (48 mg, 0,31 mmol) και EDC (146 mg, 0,94 mmol) προστίθενται διαδοχικά σε ένα διάλυμα καρβοξυλικού οξέος **94** (287 mg, 0,63 mmol) σε ξηρό διχλωρομεθάνιο (11 mL) και το μίγμα αναδεύεται υπό αργό για 15 λεπτά. Στη συνέχεια, προστίθεται η φαινόλη **81** (300 mg, 0,63 mmol) και *N,N*-

δισοπροπυλαιθυλαμίνη (162 mg, 1,26 mmol) και αφήνεται υπό ανάδευση για 18 ώρες. Προστίθεται διχλωρομεθάνιο (90 mL) και ακολουθούν εκχυλίσεις με 1N HCl (2x20 mL) και νερό (2x20 mL). Τέλος ξηραίνεται ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), συμπυκνώνεται και παραλαμβάνεται το φωσφονιακό άλας**95**.

Λευκό στερεό: 437 mg

Απόδοση: 83%

Μοριακό Βάρος: 836,48

Μοριακός τύπος:  $\text{C}_{37}\text{H}_{36}\text{Br}_2\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_5\text{P}$

Rf (MeOH/DCM 13/87): 0,68

$^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7,87 – 7,62 (m, 15H,  $\text{PPh}_3$ ), 7,51 (s, 2H, ArH), 3,86 – 3,69 (m, 2H,  $\text{PCH}_2$ ), 3,66 – 3,44 (m, 8H, piperazine), 2,40 (t,  $J = 6,1$  Hz, 2H,  $\text{COCH}_2$ ), 1,80 – 1,54 (m, 6H,  $\text{CH}_2$ ).

$^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 171,52, 167,43, 152,36, 134,72 (d,  $J = 1,9$  Hz,  $\text{PPh}_3$  para), 133,03 (d,  $J = 9,9$  Hz,  $\text{PPh}_3$  ortho), 130,90, 130,11 (d,  $J = 12,5$  Hz,  $\text{PPh}_3$  meta), 127,95, 117,59 (d,  $J = 86,0$  Hz,  $\text{PPh}_3$  ipso), 111,17, 44,94 (br), 41,03 (br), 32,21, 29,50 (d,  $J = 16,4$  Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{P}$ ), 23,90, 21,94 (d,  $J = 3,5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{P}$ ), 21,69 (d,  $J = 51,1$  Hz,  $\text{CH}_2\text{P}$ ).

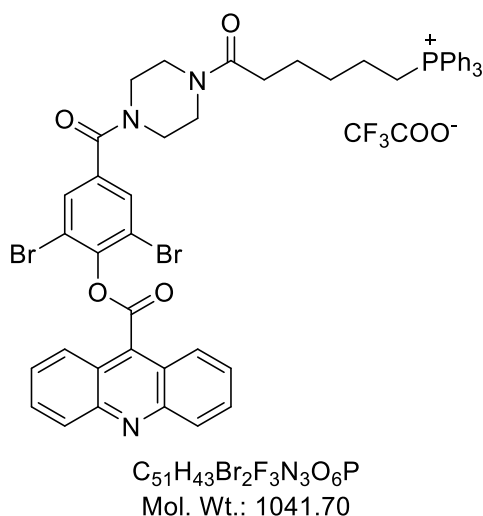
$^{19}\text{F NMR}$  (188 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : -75,35.

$^{31}\text{P NMR}$  (81 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 25,32.

**ES-MS** m/z για  $\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_3\text{P}$   $[\text{M}]^+$ : υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 721,08, 723,08 και 725,08 και βρέθηκε 720,97, 723,07 και 725,07.

**ES-HRMS** m/z για  $\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_3\text{P}$   $[\text{M}]^+$ : υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 721,0825, 723,0808 και 725,0796 και βρέθηκε 721,0835, 723,0817 και 725,0804.

**9.2.23 Σύνθεση του 2,2,2-τριφθοροοξικού(6-(4-(4-((ακριδίνη-9-καρβονυλο)οξυ)-3,5-διβρωμοβενζόυλο)πιπεραζιν-1-υλο)-6-οξοεξυλο)τριφαινυλοφωσφονίου 96**



**Μέθοδος Α.** Εναιώρημα ένυδρου 9-ακριδινοκαρβοξυλικού οξέος (100 mg, 0,45 mmol) σε θειονυλοχλωρίδιο (1,5 mL) αναδεύεται με αναρροή και υπό αργό για 6 ώρες. Μετά από ψύξη, η περίσσεια θειονυλοχλωριδίου απομακρύνεται με χρήση υψηλού κενού και έπειτα προστίθεται ξηρό διχλωρομεθάνιο (3 mL). Στο προκύπτον διάλυμα προστίθενται διαδοχικά φαινόλη **95** (376 mg, 0,45 mmol), τριαιθυλαμίνη (0,125 mL, 0,90 mmol) και πυριδίνη (0,018 mL, 0,22 mmol) και το συνολικό μίγμα αναδεύεται για 18 ώρες. Στη συνέχεια, προστίθεται διχλωρομεθάνιο (30 mL) και H<sub>2</sub>O (20 mL), οι φάσεις διαχωρίζονται και η υδατική πλένεται με διχλωρομεθάνιο (2x30 mL). Οι οργανικές φάσεις συνδυάζονται, πλένονται διαδοχικά με 1N HCl (2x20 mL) και κορ.διάλυμα NaCl (brine) (20 mL), ξηραίνονται (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) και ο διαλύτης εξατμίζεται. Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (5-50% MeOH/διχλωρομεθάνιο), παραλαμβάνοντας το προϊόν **96** ως κίτρινο στερεό (117 mg, 25%).

**Μέθοδος Β.** HOBt (16 mg, 0,12 mmol) και EDC (84 mg, 0,54 mmol) προστίθενται διαδοχικά σε ένα διάλυμα φωσφονιακού καρβοξυλικού οξέος **94** (165 mg, 0,36 mmol) σε ξηρό διχλωρομεθάνιο (4 mL) και το μίγμα αναδεύεται υπό αργό για 15 λεπτά. Στη συνέχεια, προστίθεται το ακριδινικό αμμωνιακό άλας **97** (165 mg, 0,24 mmol) και *N,N*-δισοπροπυλαιθυλαμίνη (0,126 mL, 0,72 mmol) και αφήνεται να αντιδράσει για 24 ώρες. Προστίθεται διχλωρομεθάνιο

(90 mL) και το μίγμα εκπλένεται με 1N HCl (2x20 mL), υδατ. NaHCO<sub>3</sub> (20 mL) και νερό (2x20 mL), ξηραίνεται (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) και συμπυκνώνεται. Το υπόλειμμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης (7-25% MeOH/διχλωρομεθάνιο), παραλαμβάνοντας το προϊόν **96** ως κίτρινο στερεό (158mg, 63%).

Μοριακό Βάρος: 1041,71

Μοριακός τύπος: C<sub>51</sub>H<sub>43</sub>Br<sub>2</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>P

R<sub>f</sub> (MeOH/DCM 13/87): 0,60

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 8,63 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, H-4), 8,20 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, H-1), 7,79 – 7,51 (m, 21H, H-2, 3, 2', PPh<sub>3</sub>), 3,75 – 3,26 (m, 10H, PCH<sub>2</sub>, πιπεραζίνη), 2,39 – 2,22 (m, 2H, COCH<sub>2</sub>), 1,71 – 1,46 (m, 6H, CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 171,55, 166,35, 163,51, 148,51, 147,45, 136,10, 134,95 (d, *J* = 2,7 Hz, PPh<sub>3</sub> para), 133,33 (d, *J* = 9,9 Hz, PPh<sub>3</sub>όρθο), 133,13, 131,53, 130,36 (d, *J* = 12,4 Hz, PPh<sub>3</sub> meta), 130,23, 129,93, 127,59, 125,59, 122,73, 117,99 (d, *J* = 85,9 Hz, PPh<sub>3</sub> ipso), 118,10, 47,47 (br), 45,19 (br), 42,35 (br), 41,26 (br), 32,47, 29,74 (d, *J* = 17,0 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>P), 24,18, 22,28 (d, *J* = 4,1 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>P), 21,91 (d, *J* = 50,4 Hz, CH<sub>2</sub>P).

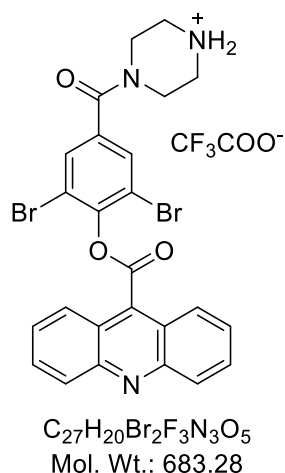
<sup>19</sup>F NMR (188 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: -75,10.

<sup>31</sup>P NMR (81 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 25,38.

ES-MS *m/z* για C<sub>49</sub>H<sub>43</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>P [M]<sup>+</sup>: υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 926,14, 928,13 και 930,14 και βρέθηκε 926,04, 927,90 και 929,93.

ES-HRMS *m/z* για C<sub>49</sub>H<sub>43</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>P [M]<sup>+</sup>: υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 926,1352, 928,1338 και 930,1332 και βρέθηκε 926,1363, 928,1356 και 930,1346.

### 9.2.24 Σύνθεση του 2,2,2-τριφθοροοξικού-4-((ακριδίνη-9-καρβονυλο)οξύ)-3,5-διβρωμοβενζοΐλο)πιπεραζιν-1-ίου 97



Το παράγωγο ακριδίνης **91** (162 mg, 0,24 mmol) προστίθεται στο μίγμα τριφθοροοξικού οξέος (2 mL) και χλωροφορμίου (2 mL) και το διάλυμα αναδεύεται για 4 ώρες. Με συμπύκνωση του μίγματος παραλαμβάνεται ποσοτικά το άλας **97**.

Λευκό στερεό: 165 mg

Απόδοση: 100%

Μοριακό Βάρος: 683,28

Μοριακός τύπος:  $C_{27}H_{20}Br_2F_3N_3O_5$

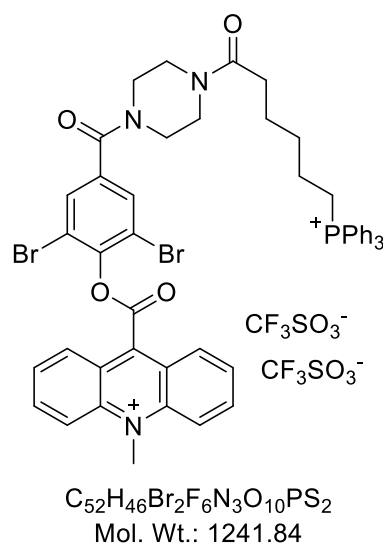
$^1H$  NMR (200 MHz, MeOD- $d_4$ )  $\delta$ : 8,84 (d,  $J = 8,9$  Hz, 2H, H-4), 8,36 (d,  $J = 8,9$  Hz, 2H, H-1), 8,12 (ddd,  $J = 8,8, 6,7, 1,2$  Hz, 2H, H-3), 8,02 (s, 2H, H-3'), 7,89 (ddd,  $J = 8,5, 6,7, 1,1$  Hz, 2H, H-2), 4,03 – 3,83 (m, 4H, πιπεραζίνη), 3,46 – 3,33 (m, 4H, πιπεραζίνη).

$^{19}F$  NMR (188 MHz, MeOD- $d_4$ )  $\delta$ : -77,99.

ES-MS m/z για  $C_{25}H_{20}Br_2N_3O_3$   $[M]^+$ : υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 567,99, 569,98 και 571,89 και βρέθηκε 568,12, 569,87 και 571,99.

ES-HRMS m/z για  $C_{25}H_{20}Br_2N_3O_3$   $[M]^+$ : υπολογίστηκε για τα ισότοπα του βρωμίου 567,9866, 569,9845 και 571,9825 και βρέθηκε 567,9921, 569,9899 και 571,9891.

**9.2.25 Σύνθεση του τριφθορομεθανοσουλφονικού 9-((2,6-διβρωμο-4-(4-(6-(τριφαινυλοφωσφωνιο)εξανούλο)πιπεραζίνη-1-καρβονυλο)φαινοξυ)καρβονυλο)-10-μεθυλακριδιν-10-ίου 98**



Τριφλικός μεθυλεστέρας (41 mg, 0,25 mmol) προστίθεται σε διάλυμα εστέρα ακριδίνης **96** (200 mg, 0,19 mmol) σε ξηρό διχλωρομεθάνιο (2,4 mL) στους 0°C και αναδεύεται σε αυτήν τη θερμοκρασία για 24 ώρες υπό αργό. Όλα τα πτητικά εξατμίζονται και το υπόλειμμα διαλύεται σε απειροελάχιστο όγκο διχλωρομεθανίου και επανακαταβυθίζεται με προσθήκη EtOAc. Το ίζημα πλένεται (υπερήχους/φυγοκεντρήσεις) με EtOAc (3x20 mL), θερμό EtOAc (> 15x20 mL) και εξάνιο (x2). Παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν **98**.

Κίτρινη σκόνη: 24 mg

Απόδοση: 10%

Μοριακό Βάρος: 1241,84

Μοριακός τύπος:  $C_{52}H_{46}Br_2F_6N_3O_{10}PS_2$

$^1H$  NMR (200 MHz,  $CD_3CN$ )  $\delta$ : 9,01 (dd,  $J = 8,8, 1,4$  Hz, 2H, H-4), 8,74 (d,  $J = 9,3$  Hz, 2H, H-1), 8,52 (ddd,  $J = 9,4, 6,9, 1,4$  Hz, 2H, H-3), 8,16 (dd,  $J = 8,8, 6,7$  Hz, 2H, H-2), 7,91 – 7,66 (m, 17H,  $PPh_3$ , H-3'), 4,92 (s, 3H,  $NCH_3$ ), 3,53 (app bs, 8H, πιπεραζίνη), 3,29 – 3,12 (m,  $PCH_2$ ), 2,31 – 2,21 (m, 2H,  $COCH_2$ ), 1,75 – 1,48 (m, 6H,  $CH_2$ ).

$^{13}C$  NMR (50 MHz,  $CD_3CN$ )  $\delta$ : 172,09, 166,77, 162,54, 147,03, 147,00, 143,29, 140,61, 139,16, 136,08 (d,  $J = 2,9$  Hz,  $PPh_3$  para), 134,64 (d,  $J = 10,0$

Hz, PPh<sub>3</sub> ortho), 132,93, 131,25 (d,  $J = 12,6$  Hz, PPh<sub>3</sub> meta), 130,67, 129,17, 124,47, 120,35, 119,35 (d,  $J = 86,3$  Hz, PPh<sub>3</sub> ipso), 118,35, 45,84 (br), 42,95 (br), 42,16 (br), 41,00, 33,10, 30,79 (d,  $J = 16,7$  Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>P), 24,84, 22,84 (d,  $J = 4,2$  Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>P), 22,53 (d,  $J = 51,5$  Hz, CH<sub>2</sub>P).

<sup>31</sup>P NMR (81 MHz, CD<sub>3</sub>CN)  $\delta$ : 24,73.

<sup>19</sup>F NMR (188 MHz, CD<sub>3</sub>CN)  $\delta$ : -79,65.

ES-HRMS m/z για C<sub>50</sub>H<sub>46</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>P [M]<sup>2+</sup>: υπολογίστηκε 471,5781 και βρέθηκε 471,5774.

## ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ- ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ- ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ

ALA	αμινολεβουλινικό οξύ
ACN	ακετονιτρίλιο
Boc	<i>t</i> -βουτοξυκαρβόνυλο
DCC	<i>N,N'</i> -δικυκλοεξυλοκαρβοδιιμίδιο
DCM	διχλωρομεθάνιο
DDH	1,3-διβρωμο-5,5- διμεθυλο-υδαντοΐνη
DIPEA	<i>N,N</i> -διισοπροπυλαιθυλαμίνη
DMAP	4 διμεθυλαμινοπυριδίνη
DMF	διμεθυλοφορμαμίδιο
DMSO	διμεθυλοσουλφοξείδιο
AcOEt	οξικός αιθυλεστέρας
EDC	1-αιθυλο-3-(3-διμεθυλαμινοπροπυλο)καρβοδιιμίδιο
Et	αίθυλο
EWG	ηλεκτρονιοελκτική ομάδα
ES-MS	φάσμα μαζών ιονισμού με ηλεκτροψεκασμό
HOBt	υδροξυβενζοτρίαζόλιο
MS	φασματομετρία μαζών (mass spectrometry)
NMR	πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός
PE	πετρελαϊκός αιθέρας
oDCB	<i>o</i> -διχλωροβενζόλιο



PDT	φωτοδυναμική θεραπεία
Ph	φαινύλιο
PMA	φωσφομολυβδικό οξύ
PpIX	πρωτοπορφυρίνη 9
ROS	ενεργές μορφές οξυγόνου
RT	θερμοκρασία δωματίου
THF	τετραϋδροφουράνιο
Tf	τριφθορομεθανοσουλφόνυλο
TFA	τριφθοροοξικό οξύ

## ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Ostrom, Q. T.; Gittleman, H.; Stetson, L.; Virk, S.; Barnholtz-Sloan, J. S. Epidemiology of Intracranial Gliomas. *Prog. Neurol. Surg.* **2017**, *30*, 1–11.
2. Ryken, T. C.; Frankel, B.; Julien, T.; Olson, J. J. Surgical Management of Newly Diagnosed Glioblastoma in Adults: Role of Cytoreductive Surgery. *J. Neurooncol.* **2008**, *89* (3), 271–286.
3. Ammirati, M.; Galicich, J. H.; Arbit, E.; Liao, Y. Reoperation in the Treatment of Recurrent Intracranial Malignant Gliomas. *Neurosurgery* **1987**, *21* (5), 607–614.
4. Kleihues, P.; Soylemezoglu, F.; Schäuble, B.; Scheithauer, B. W.; Burger, P. C. Histopathology, Classification, and Grading of Gliomas. *Glia* **1995**, *15* (3), 211–221.
5. Corso, C. D.; Bindra, R. S. Success and Failures of Combined Modalities in Glioblastoma Multiforme: Old Problems and New Directions. *Seminars in Radiation Oncology*. W.B. Saunders October 1, **2016**, pp 281–298.
6. Perez and Brady's Principles and Practice of Radiation Oncology - Google Books  
[https://books.google.com.cy/books/about/Perez\\_and\\_Brady\\_s\\_Principles\\_and\\_Practic.html?id=NyeE6-aKnSYC&redir\\_esc=y](https://books.google.com.cy/books/about/Perez_and_Brady_s_Principles_and_Practic.html?id=NyeE6-aKnSYC&redir_esc=y) (accessed Sep 19, **2020**).
7. Steel, G. G. *Basic Clinical Radiobiology*, 3rd ed.; London : Arnold ; New York : Oxford University Press, 262, **2002**.
8. Norden, A. D.; Wen, P. Y. Glioma Therapy in Adults. *Neurologist*. *Neurologist* November **2006**, pp 279–292.
9. Wolf, A. M. D.; Wender, R. C.; Etzioni, R. B.; Thompson, I. M.; D'Amico, A. V.; Volk, R. J.; Brooks, D. D.; Dash, C.; Guessous, I.; Andrews, K.; DeSantis, C.; Smith, R. A. American Cancer Society Guideline for the Early Detection of Prostate Cancer: Update 2010. *CA. Cancer J. Clin.* **2010**, *60* (2), 70–98.
10. Futreal, P. A.; Kasprzyk, A.; Birney, E.; Mullikin, J. C.; Wooster, R.;

- Stratton, M. R. Cancer and Genomics. *Nature*. Nature Publishing Group February 15, **2001**, pp 850–852.
11. Dupont, C.; Vignion, A. S.; Mordon, S.; Reyns, N.; Vermandel, M. Photodynamic Therapy for Glioblastoma: A Preliminary Approach for Practical Application of Light Propagation Models. *Lasers Surg. Med.* **2018**, *50* (5), 523–534.
  12. Bonnett, R. Photosensitizers of the Porphyrin and Phthalocyanine Series for Photodynamic Therapy. *Chemical Society Reviews*. The Royal Society of Chemistry January 1, **1995**, pp 19–33.
  13. Ackroyd, R.; Kelty, C.; Brown, N.; Reed, M. The History of Photodetection and Photodynamic Therapy. *Photochem. Photobiol.* **2001**, *74* (5), 656.
  14. Kennedy, J. C.; Pottier, R. H.; Pross, D. C. Photodynamic Therapy with Endogenous Protoporphyrin. IX: Basic Principles and Present Clinical Experience. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* **1990**, *6* (1–2), 143–148.
  15. Hanahan, D.; Weinberg, R. A. The Hallmarks of Cancer. *Cell*. Cell January 7, **2000**, pp 57–70.
  16. Hanahan, D.; Weinberg, R. A. Hallmarks of Cancer: The next Generation. *Cell*. Elsevier March 4, **2011**, pp 646–674.
  17. Sonnenschein, C.; Soto, A. M. The Aging of the 2000 and 2011 Hallmarks of Cancer Reviews: A Critique. *J. Biosci.* **2013**, *38* (3), 651–663.
  18. Dolmans, D. E. J. G. J.; Fukumura, D.; Jain, R. K. Photodynamic Therapy for Cancer. *Nature Reviews Cancer*. Nature Publishing Group May **2003**, pp 380–387.
  19. Ames, B. N.; Shigenaga, M. K.; Hagen, T. M. Oxidants, Antioxidants, and the Degenerative Diseases of Aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. National Academy of Sciences **1993**, pp 7915–7922.
  20. Epstein, J. H. Phototherapy and Photochemotherapy. *New England Journal of Medicine*. Massachusetts Medical Society April 19, **1990**, pp 1149–1151.
  21. Bensasson, R. V.; Andreoni, A.; Cubeddu, R.; Dall’Acqua, F.; Knox, C. N.; Truscott, T. G. Some Properties of Furocoumarin (FC) Excited

- States. In *Primary Photo-Processes in Biology and Medicine*; Springer US, **1985**; pp 241–258.
22. Dougherty, T. J.; Gomer, C. J.; Henderson, B. W.; Jori, G.; Kessel, D.; Korbely, M.; Moan, J.; Peng, Q. Photodynamic Therapy. *Journal of the National Cancer Institute*. Oxford University Press June 17, **1998**, pp 889–905.
  23. Henderson, B. W.; Dougherty, T. J. HOW DOES PHOTODYNAMIC THERAPY WORK? *Photochemistry and Photobiology*. John Wiley & Sons, Ltd January 1, **1992**, pp 145–157.
  24. Abdel-Kader, M. H. *Photodynamic Therapy: From Theory to Application*; Springer Berlin Heidelberg, **2014**.
  25. Hamblin, M. R.; Abrahamse, H. Inorganic Salts and Antimicrobial Photodynamic Therapy: Mechanistic Conundrums? *Molecules*. MDPI AG December 3, **2018**, p 3190.
  26. Kwiatkowski, S.; Knap, B.; Przystupski, D.; Saczko, J.; Kędzierska, E.; Knap-Czop, K.; Kotlińska, J.; Michel, O.; Kotowski, K.; Kulbacka, J. Photodynamic Therapy – Mechanisms, Photosensitizers and Combinations. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. Elsevier Masson SAS October 1, **2018**, pp 1098–1107.
  27. Baptista, M. S.; Cadet, J.; Di Mascio, P.; Ghogare, A. A.; Greer, A.; Hamblin, M. R.; Lorente, C.; Nunez, S. C.; Ribeiro, M. S.; Thomas, A. H.; Vignoni, M.; Yoshimura, T. M. Type I and Type II Photosensitized Oxidation Reactions: Guidelines and Mechanistic Pathways. *Photochemistry and Photobiology*. Blackwell Publishing Inc. July 1, **2017**, pp 912–919.
  28. Lilge, L.; Olivo, M.; Schatz, S.; MaGuire, J.; Patterson, M.; Wilson, B. *The Sensitivity of Normal Brain and Intracranially Implanted VX2 Tumour to Interstitial Photodynamic Therapy*; Nature Publishing Group, **1996**; Vol. 74.
  29. Webber, J.; Kessel, D.; Fromma, D. *Photodynamic Therapy Using Endogenous Photosensitization for Gastrointestinal Tumors*; Yale Journal of Biology and Medicine, **1997**; Vol. 70.
  30. Diamond, I.; Mcdonagh, A. F.; Wilson, C. B.; Granelli, S. G.; Nielsen, S.; Jaenicke, R. PHOTODYNAMIC THERAPY OF MALIGNANT

- TUMOURS. *Lancet* **1972**, 300 (7788), 1175–1177.
31. Murphree, A. L.; Cote, M.; Gomer, C. J. THE EVOLUTION OF PHOTODYNAMIC THERAPY TECHNIQUES IN THE TREATMENT OF INTRAOCULAR TUMORS. *Photochem. Photobiol.* **1987**, 46 (5), 919–923.
  32. Shumaker, B. P.; Hetzel, F. W. CLINICAL LASER PHOTODYNAMIC THERAPY IN THE TREATMENT OF BLADDER CARCINOMA. *Photochem. Photobiol.* **1987**, 46 (5), 899–901.
  33. Gold, M. H.; Goldman, M. P. 5-Aminolevulinic Acid Photodynamic Therapy: Where We Have Been and Where We Are Going. *Dermatologic Surgery*. Blackwell Publishing Inc. **2004**, pp 1077–1084.
  34. Meerman, L. Erythropoietic Protoporphyrin. An Overview with Emphasis on the Liver. In *Scandinavian Journal of Gastroenterology, Supplement*; **2000**; Vol. 35, pp 79–85.
  35. Dailey, H. A.; Meissner, P. N. Erythroid Heme Biosynthesis and Its Disorders. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2013**, 3 (4), a011676–a011676.
  36. Chen, F. P.; Rishg, H.; Liu, Y.; Bloomer, J. Ferrochelatase Gene Mutations in Erythropoietic Protoporphyrin: Focus on Liver Disease. *Cell. Mol. Biol. (Noisy-le-grand)*. **2002**, 48 (1), 83–89.
  37. Fukuda, H.; Paredes, S.; Alcira, A. M. Tumour-Localizing Properties of Porphyrins in Vivo Studies Using Free and Liposome Encapsulated Aminolevulinic Acid. *Comp. Biochem. Physiol. -- Part B Biochem.* **1992**, 102 (2), 433–436.
  38. Issels, R. D.; Wadepohl, M.; Tiling, K.; Müller, M.; Sauer, H.; Wilmanns, W. Regional Hyperthermia Combined with Systemic Chemotherapy in Advanced Abdominal and Pelvic Tumors: First Results of a Pilot Study Employing an Annular Phased Array Applicator. *Recent Results Cancer Res.* **1988**, 107, 236–243.
  39. Sachar, M.; Anderson, K. E.; Ma, X. Protoporphyrin IX: The Good, the Bad, and the Ugly. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2016**, 356 (2), 267–275.
  40. Donaldson, E. M.; Donaldson, A. D.; Rimington, C. Erythropoietic Protoporphyrin: A Family Study. *Br. Med. J.* **1967**, 1 (5541), 659–663.
  41. Cox, T.; Alexander, G.; Sarkany, R. Protoporphyrin. *Semin. Liver Dis.*

- 1998**, 18 (01), 85–93.
42. Abels, C.; Heil, P.; Dellian, M.; Kuhnle, G. E. H.; Baumgartner, R.; Goetz, A. E. In Vivo Kinetics and Spectra of 5-Aminolaevulinic Acid-Induced Fluorescence in an Amelanotic Melanoma of the Hamster. *Br. J. Cancer* **1994**, 70 (5), 826–833.
  43. Ishizuka, M.; Abe, F.; Sano, Y.; Takahashi, K.; Inoue, K.; Nakajima, M.; Kohda, T.; Komatsu, N.; Ogura, S. I.; Tanaka, T. Novel Development of 5-Aminolevulinic Acid (ALA) in Cancer Diagnoses and Therapy. *Int. Immunopharmacol.* **2011**, 11 (3), 358–365.
  44. Castano, A. P.; Mroz, P.; Hamblin, M. R. Photodynamic Therapy and Anti-Tumour Immunity. *Nature Reviews Cancer*. Nat Rev Cancer July **2006**, pp 535–545.
  45. Bonkowsky, H. L.; Bloomer, J. R.; Ebert, P. S.; Mahoney, M. J. Heme Synthetase Deficiency in Human Protoporphyrin. Demonstration of the Defect in Liver and Cultured Skin Fibroblasts. *J. Clin. Invest.* **1975**, 56 (5), 1139–1148.
  46. Mfouo-Tynga, I.; Abrahamse, H. Cell Death Pathways and Phthalocyanine as an Efficient Agent for Photodynamic Cancer Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG May 6, **2015**, pp 10228–10241.
  47. Jiang, F.; Zhang, X.; Kalkanis, S. N.; Zhang, Z. G.; Yang, H.; Katakowski, M.; Hong, X.; Zheng, X.; Zhu, Z.; Chopp, M. Combination Therapy with Antiangiogenic Treatment and Photodynamic Therapy for the Nude Mouse Bearing U87 Glioblastoma. In *Photochemistry and Photobiology*; NIH Public Access, **2008**; Vol. 84, pp 128–137.
  48. MOAN, J.; BERG, K. THE PHOTODEGRADATION OF PORPHYRINS IN CELLS CAN BE USED TO ESTIMATE THE LIFETIME OF SINGLET OXYGEN. *Photochem. Photobiol.* **1991**, 53 (4), 549–553.
  49. Akhlynina, T. V.; Jans, D. A.; Rosenkranz, A. A.; Statsyuk, N. V.; Balashova, I. Y.; Toth, G.; Pavo, I.; Rubin, A. B.; Sobolev, A. S. Nuclear Targeting of Chlorin E6 Enhances Its Photosensitizing Activity. *J. Biol. Chem.* **1997**, 272 (33), 20328–20331.
  50. Ross, M. F.; Kelso, G. F.; Blaikie, F. H.; James, A. M.; Cochemé, H. M.; Filipovska, A.; Da Ros, T.; Hurd, T. R.; Smith, R. A. J.; Murphy, M. P.

- Lipophilic Triphenylphosphonium Cations as Tools in Mitochondrial Bioenergetics and Free Radical Biology. *Biochem.* **2005**, *70* (2), 222–230.
51. Hall, J. *Medical Physiology*, 13th ed.; Elsevier Health Sciences, **2015**, 1-1168.
  52. Rin Jean, S.; Tulumello, D. V.; Wisnovsky, S. P.; Lei, E. K.; Pereira, M. P.; Kelley, S. O. Molecular Vehicles for Mitochondrial Chemical Biology and Drug Delivery. *ACS Chemical Biology*. ACS Chem Biol February 21, **2014**, pp 323–333.
  53. Fulda, S.; Galluzzi, L.; Kroemer, G. Targeting Mitochondria for Cancer Therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*. Nature Publishing Group June 14, **2010**, pp 447–464.
  54. Trendeleva, T. A.; Rogov, A. G.; Cherepanov, D. A.; Sukhanova, E. I.; Il'yasova, T. M.; Severina, I. I.; Zvyagil'skaya, R. A. Interaction of Tetraphenylphosphonium and Dodecyltriphenylphosphonium with Lipid Membranes and Mitochondria. *Biochem.* **2012**, *77* (9), 1021–1028.
  55. Rich, P. R.; Bonner, W. D. The Sites of Superoxide Anion Generation in Higher Plant Mitochondria. *Arch. Biochem. Biophys.* **1978**, *188* (1), 206–213.
  56. Murphy, M. P. Targeting Lipophilic Cations to Mitochondria. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*. Elsevier July 1, **2008**, pp 1028–1031.
  57. Smith, R. A. J.; Porteous, C. M.; Gane, A. M.; Murphy, M. P. Delivery of Bioactive Molecules to Mitochondria in Vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2003**, *100* (9), 5407–5412.
  58. Millard, M.; Gallagher, J. D.; Olenyuk, B. Z.; Neamati, N. A Selective Mitochondrial-Targeted Chlorambucil with Remarkable Cytotoxicity in Breast and Pancreatic Cancers. *J. Med. Chem.* **2013**, *56* (22), 9170–9179.
  59. Weeks, I. *Chemiluminescence: The Phenomenon*. In *Chemiluminescence Immunoassay*, 1st ed.; Elsevier Science: 1991, Vol. 29, 1-293.
  60. Barni, F.; Lewis, S. W.; Berti, A.; Miskelly, G. M.; Lago, G. Forensic Application of the Luminol Reaction as a Presumptive Test for Latent

- Blood Detection. *Talanta*. Elsevier May 15, **2007**, pp 896–913.
61. Dodeigne, C.; Thunus, L.; Lejeune, R. Chemiluminescence as a Diagnostic Tool. A Review. *Talanta*. Elsevier March 6, **2000**, pp 415–439.
  62. Razavi, Z.; McCapra, F. Stable and Versatile Active Acridinium Esters II. *Luminescence* **2000**, 15 (4), 245–249.
  63. Browne, K. A.; Deheyn, D. D.; El-Hiti, G. A.; Smith, K.; Weeks, I. Simultaneous Quantification of Multiple Nucleic Acid Targets Using Chemiluminescent Probes. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133 (37), 14637–14648.
  64. Lehmstedt, K.; Wirth, E. Über Einige Ms- Acridin- Derivate. *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft (A B Ser.* **1928**, 61 (8), 2044–2049.
  65. Weeks, I.; Beheshti, I.; McCapra, F.; Campbell, A. K.; Woodhead, J. S. Acridinium Esters as High-Specific-Activity Labels in Immunoassay. *Clin. Chem.* **1983**, 29 (8), 1474–1479.
  66. Zadykowicz, B.; Czechowska, J.; Ozóg, A.; Renkevich, A.; Krzyimiński, K. Effective Chemiluminogenic Systems Based on Acridinium Esters Bearing Substituents of Various Electronic and Steric Properties. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, 14 (2), 652–668.
  67. Natrajan, A.; Sharpe, D.; Costello, J.; Jiang, Q. Enhanced Immunoassay Sensitivity Using Chemiluminescent Acridinium Esters with Increased Light Output. *Anal. Biochem.* **2010**, 406 (2), 204–213.
  68. Krzyimiński, K.; Ozóg, A.; Malecha, P.; Roshal, A. D.; Wróblewska, A.; Zadykowicz, B.; Błazejowski, J. Chemiluminogenic Features of 10-Methyl-9-(Phenoxycarbonyl)Acridinium Trifluoromethanesulfonates Alkyl Substituted at the Benzene Ring in Aqueous Media. *J. Org. Chem.* **2011**, 76 (4), 1072–1085.
  69. Nelson, N. C.; Cheikh, A. Ben; Matsuda, E.; Becker, M. M. Simultaneous Detection of Multiple Nucleic Acid Targets in a Homogeneous Format. *Biochemistry* **1996**, 35 (25), 8429–8438.
  70. Nakazono, M.; Oshikawa, Y.; Nakamura, M.; Kubota, H.; Nanbu, S. Strongly Chemiluminescent Acridinium Esters under Neutral Conditions: Synthesis, Properties, Determination, and Theoretical Study. *J. Org. Chem.* **2017**, 82 (5), 2450–2461.



71. McCapra, F. Chemical Mechanisms in Bioluminescence. *Acc. Chem. Res.* **1979**, *9* (6), 201–208.
72. Smith, K.; Yang, J. J.; Li, Z.; Weeks, I.; Woodhead, J. S. Synthesis and Properties of Novel Chemiluminescent Biological Probes: 2- and 3-(2-Succinimidylloxycarbonyl)Phenyl Acridinium Esters. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **2009**, *203* (1), 72–79.
73. Brown, R. C.; Li, Z.; Rutter, A. J.; Mu, X.; Weeks, O. H.; Smith, K.; Weeks, I. Development and Application of a Novel Acridinium Ester for Use as a Chemiluminescent Emitter in Nucleic Acid Hybridisation Assays Using Chemiluminescence Quenching. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7* (2), 386–394.
74. Arakawa, H.; Tsuruoka, K.; Ohno, K. I.; Tajima, N.; Nagano, H. Development of a Highly Sensitive Chemiluminescent Assay for Hydrogen Peroxide under Neutral Conditions Using Acridinium Ester and Its Application to an Enzyme Immunoassay. *Luminescence* **2014**, *29* (4), 374–377.
75. Wang, W.; Ouyang, H.; Yang, S.; Wang, L.; Fu, Z. Multiplexed Detection of Two Proteins by a Reaction Kinetics-Resolved Chemiluminescence Immunoassay Strategy. *Analyst* **2015**, *140* (4), 1215–1220.
76. Anderson, G. W.; Zimmerman, J. E.; Callahan, F. M. The Use of Esters of N-Hydroxysuccinimide in Peptide Synthesis. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86* (9), 1839–1842.
77. WEEKS, I.; STURGESS, M.; SIDDLE, K.; JONES, M. K.; WOODHEAD, J. S. A HIGH SENSITIVITY IMMUNOCHEMILUMINOMETRIC ASSAY FOR HUMAN THYROTROPHIN. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. **1984**, *20* (4), 489–495.
78. STURGESS, M. L.; WEEKS, I.; EVANS, P. J.; MPOKO, C. N.; LAING, I.; WOODHEAD, J. S. An Immunochemiluminometric Assay for Serum Free Thyroxine. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. **1987**, *27* (3), 383–393.
79. Yin, D.; Cui, D.; Gao, F.; He, R.; He, Y.; Liu, Y.; Shen, D.; Wu, M. A Rapid and Sensitive Chemiluminescent Immunoassay of Total Thyroxin with DMAE-NHS-Labeled. *J. Immunoass. Immunochem.* **2008**, *29* (3), 257–265.

80. Weeks, I.; Sturgess, M.; Brown, R. C.; Stuart Woodhead, J. Immunoassays Using Acridinium Esters. *Methods Enzymol.* **1986**, *133* (C), 366–387.
81. Law, S. J.; Miller, T.; Piran, U.; Klukas, C.; Chang, S.; Unger, J. Novel Poly-Substituted Aryl Acridinium Esters and Their Use in Immunoassay. *J. Biolumin. Chemilumin.* **1989**, *4* (1), 88–98.
82. Natrajan, A.; Sharpe, D.; Wen, D. Chemiluminescence from Alkoxy-Substituted Acridinium Dimethylphenyl Ester Labels. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10* (17), 3432–3447.
83. Adam, W. The Chemistry of 1,2-Dioxetanes. *Adv. Heterocycl. Chem.* **1977**, *21* (C), 437–481.
84. Kopecky, K. R.; Mumford, C. Luminescence in the Thermal Decomposition of 3,3,4-Trimethyl-1,2-Dioxetane. *Can. J. Chem.* **1969**, *47* (4), 709–711.
85. Adam, W.; Liu, J. C. An  $\alpha$ -Peroxy Lactone. Synthesis and Chemiluminescence. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94* (8), 2894–2895.
86. Rauhut, M. M. Chemiluminescence from Concerted Peroxide Decomposition Reactions. *Acc. Chem. Res.* **1969**, *2* (3), 80–87.
87. Stauff, J.; Jaeschke, W.; Schlögl, G. Notizen: Chemilumineszenz Des „Dioxetandions“ / Chemiluminescence of „Dioxetanedione“. *Zeitschrift für Naturforsch. B* **2015**, *27* (11), 1434–1435.
88. Adam, W. *Small Ring Heterocycles, Part 3: Oxiranes, Arene Oxides, Oxaziridines, Dioxetanes, Thietanes, Thietes, Thiazetes and Others*; Hassner, A., Ed.; John Wiley & Sons, 1985, **1983**.
89. Adam, W. Biological Light:  $\alpha$ -Peroxylates as Bioluminescent Intermediates. *J. Chem. Educ.* **1975**, *52* (3), 138–145.
90. Kopecky, K. R.; Filby, J. E.; Mumford, C.; Lockwood, P. A.; Ding, J.-Y. Preparation and Thermolysis of Some 1,2-Dioxetanes. *Can. J. Chem.* **1975**, *53* (8), 1103–1122.
91. Bogan, D. J.; Durant, J. L.; Sheinson, R. S.; Williams, F. W. FORMATION AND CHEMILUMINESCENT DECOMPOSITION OF DIOXETANES IN THE GAS PHASE. *Photochem. Photobiol.* **1979**, *30* (1), 3–15.
92. Adam, W.; Liu, J. C. Photooxygenation (Singlet Oxygen) of

- Tetrathioethylenes. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94* (4), 1206–1209.
93. Ando, W.; Watanabe, K.; Suzuki, J.; Migita, T. Singlet Oxygen Reaction. III. "Solvent and Temperature Effects" on the Photosensitized Oxygenation of Vinyl Sulfides and Vinyl Ethers. *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96* (21), 6766–6768.
  94. Foote, C. S.; Dzakpasu, A. A.; H.-P. Lin, J. Chemistry of Singlet Oxygen. XX. Mechanism of the Sensitized Photooxidation of Enamines. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16* (14), 1247–1250.
  95. Bollyky, L. J. Chemiluminescence from the Reaction of Ketenes, Singlet Oxygen, and Fluorescers. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92* (10), 3230–3232.
  96. White, E. H.; Wildes, P. D.; Wiecko, J.; Doshan, H.; Wei, C. C. Chemically Produced Excited States. Energy Transfer, Photochemical Reactions, and Light Emission. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95* (21), 7050–7058.
  97. Cordes, H. F.; Richter, H. P.; Heller, C. A. Mass Spectrometric Evidence for the Existence of 1,2-Dioxetanedione (Carbon Dioxide Dimer). A Chemiluminescent Intermediate. *Journal of the American Chemical Society*. American Chemical Society December 1, **1969**, p 7209.
  98. Decorpo, J. J.; Baronavski, A.; Mcdowell, M. V.; Saalfeld, F. E. On the Formation of C<sub>2</sub>O<sub>4</sub> in Chemiluminescent Reactions. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94* (8), 2879–2880.
  99. O'Neal, H. E.; Richardson, W. H. The Thermochemistry of 1,2-Dioxetane and Its Methylated Derivatives. An Estimate of Activation Parameters. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92* (22), 6553–6557.
  100. Richardson, W. H.; O'Neal, H. E. Thermochemistry and Estimated Activation Parameters for the Thermal Decomposition of 1,2-Dioxetanedione, 4-Tert-Butyl-1,2-Dioxetan-3-One, and 4,4-Dimethyl-1,2-Dioxetan-3-One. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94* (25), 8665–8668.
  101. Turro, N. J.; Lechtken, P. Thermal and Photochemical Generation of Electronically Excited Organic Molecules. Tetramethyl-1,2-Dioxetane and Naphthvalene. *Pure Appl. Chem.* **1973**, *33* (2–3), 363–388.
  102. Smith, J. A.; West, R. M.; Allen, M. Acridones and Quinacridones: Novel Fluorophores for Fluorescence Lifetime Studies. In *Journal of*

- Fluorescence*; Springer, **2004**; Vol. 14, pp 151–171.
103. Natrajan, A.; Wen, D. A Comparison of Chemiluminescent Acridinium Dimethylphenyl Ester Labels with Different Conjugation Sites. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13* (9), 2622–2633.
  104. Sato, N. Synthesis and Properties of New Luminescent 10-Carboxymethylacridinium Derivatives. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37* (47), 8519–8522.
  105. Smith, K.; Li, Z.; Yang, J. J.; Weeks, I.; Woodhead, J. S. Synthesis and Properties of Novel Chemiluminescent Biological Probes: Substituted 4-(2-Succinimidylloxycarbonyl)Phenyl 10-Methylacridinium-9-Carboxylate Trifluoromethanesulphonate. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **2000**, *132* (3), 181–191.
  106. Krzymiński, K.; Malecha, P.; Zadykowicz, B.; Wróblewska, A.; Błaejowski, J. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR Spectra, Structure and Physicochemical Features of Phenyl Acridine-9-Carboxylates and 10-Methyl-9-(Phenoxycarbonyl) Acridinium Trifluoromethanesulphonates - Alkyl Substituted in the Phenyl Fragment. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2011**, *78* (1), 401–409.
  107. Krzymiński, K.; Roshal, A. D.; Zadykowicz, B.; Biak-Bielińska, A.; Sieradzan, A. Chemiluminogenic Properties of 10-Methyl-9-(Phenoxycarbonyl)Acridinium Cations in Organic Environments. *J. Phys. Chem. A* **2010**, *114* (39), 10550–10562.
  108. Lin, T. K.; Hughes, G.; Muratovska, A.; Blaikie, F. H.; Brookes, P. S.; Darley-Usmar, V.; Smith, R. A. J.; Murphy, M. P. Specific Modification of Mitochondrial Protein Thiols in Response to Oxidative Stress. A Proteomics Approach. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277* (19), 17048–17056.
  109. Wang, J.; Zhang, J.; Arbogast, B.; Maier, C. Tandem Mass Spectrometric Characterization of Thiol Peptides Modified by the Chemoselective Cationic Sulfhydryl Reagent (4-Iodobutyl)Triphenylphosphonium—. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2011**, *22* (10).
  110. Hartman, T.; Šturala, J.; Cibulka, R. Two-Phase Oxidations with Aqueous Hydrogen Peroxide Catalyzed by Amphiphilic Pyridinium and Diazinium Salts. *Adv. Synth. Catal.* **2015**, *357* (16–17), 3573–3586.

111. Perrella, F. W.; Chen, S. F.; Behrens, D. L.; Kaltenbach, R. F.; Seitz, S. P. Phospholipase C Inhibitors: A New Class of Agents. *J. Med. Chem.* **1994**, *37* (14), 2232–2237.
112. Armstrong-Chong, R. J.; Matthews, K.; Chong, J. M. Sequential Alkynylation of  $\omega$ -Bromoalkyl Triflates: Facile Access to Unsymmetrical Non-Conjugated Diynes Including Precursors to Diene Pheromones. *Tetrahedron* **2004**, *60* (45), 10239–10244.
113. Akhavan-Tafti, H.; Desilva, R.; Arghavani, Z.; Eickholt, R. A.; Handley, R. S.; Schoenfelner, B. A.; Sugioka, K.; Sugioka, Y.; Paul Schaap, A. Characterization of Acridancarboxylic Acid Derivatives as Chemiluminescent Peroxidase Substrates. *J. Org. Chem.* **1998**, *63* (4), 930–937.
114. Weibel, D.; Gevorgyan, V.; Yamamoto, Y. Synthesis of Polyether Exomethylene Paracyclophanes via an Intramolecular Pd-Catalyzed Bis-Enyne Benzannulation Protocol. *J. Org. Chem.* **1998**, *63* (4), 1217–1220.
115. Tantray, M. A.; Khan, I.; Hamid, H.; Alam, M. S.; Dhulap, A.; Ganai, A. A. Oxazolo[4,5-b]Pyridine-Based Piperazinamides as GSK-3 $\beta$  Inhibitors with Potential for Attenuating Inflammation and Suppression of Pro-Inflammatory Mediators. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. **2017**, *350* (8), e17000222.
116. Δανάη, Ζ. Α. Σύνθεση Αλκυλιωμένων Παραγώγων Του 3-Αμινοφθαλυδραζιδίου Ως Ενώσεων Με Πιθανές Βιολογικές Εφαρμογές. *Ερευνητική Εργασία Διπλώματος Ειδίκευσης, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, 2018*.
117. Würtenberger, I.; Angermaier, B.; Kircher, B.; Gust, R. Synthesis and in Vitro Pharmacological Behavior of Platinum(II) Complexes Containing 1,2-Diamino-1-(4-Fluorophenyl)-2-Alkanol Ligands. *J. Med. Chem.* **2013**, *56* (20), 7951–7964.
118. Culcasi, M.; Casano, G.; Lucchesi, C.; Mercier, A.; Clément, J. L.; Pique, V.; Michelet, L.; Krieger-Liszkay, A.; Robin, M.; Pietri, S. Synthesis and Biological Characterization of New Aminophosphonates for Mitochondrial PH Determination by  $^{31}\text{P}$  NMR Spectroscopy. *J. Med. Chem.* **2013**, *56* (6), 2487–2499.

119. Li, J. M.; Yong, J. P.; Aisa, H. A. Synthesis of (Z/E)-11-Tetradecen-1-ol, a Component of *Ostrinia Nubilalis* Sex Pheromone. *Chem. Nat. Compd.* **2008**, *44* (2), 224–226.
120. Uehling, M. R.; Suess, A. M.; Lalic, G. Copper-Catalyzed Hydroalkylation of Terminal Alkynes. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137* (4), 1424–1427.
121. Lee, C.; Park, H. K.; Jeong, H.; Lim, J.; Lee, A. J.; Cheon, K. Y.; Kim, C. S.; Thomas, A. P.; Bae, B.; Kim, N. D.; Kim, S. H.; Suh, P. G.; Ryu, J. H.; Kang, B. H. Development of a Mitochondria-Targeted Hsp90 Inhibitor Based on the Crystal Structures of Human TRAP1. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137* (13), 4358–4367.