

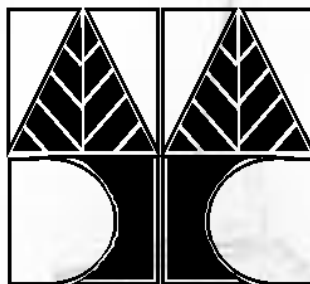
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

**ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΕΝΕΡΓΕΣ, ΜΕΙΚΤΕΣ, ΔΙΦΩΣΦΟΝΙΚΕΣ
ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΖΟΥΣΕΣ ΚΑΡΒΟΞΥΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ
ΜΕ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΗΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ Ε**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΜΑΛΤΕΖΟΥ ΕΛΕΝΑ

2014



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

**Βιολογικά Ενεργές, Μεικτές, Διφωσφονικές
και Φθορίζουσες Καρβοξυλικές Ενώσεις με
συστατικά της Βιταμίνης Ε**

ΕΛΕΝΑ ΜΑΛΤΕΖΟΥ

**Διατριβή η οποία υποβλήθηκε προς απόκτηση διδακτορικού τίτλου
σπουδών στο Πανεπιστήμιο Κύπρου**

ΜΑΪΟΣ 2014

Έλενα Μαλτέζου

ΣΕΛΙΔΑ ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑΣ

Υποψήφιος Διδάκτορας: Έλενα Μαλτέζου

Τίτλος Διατριβής: Βιολογικά ενεργές, μεικτές, διφωσφονικές και φθορίζουσες καρβοξυλικές ενώσεις με συστατικά της Βιταμίνης E

Η παρούσα Διδακτορική Διατριβή εκπονήθηκε στο πλαίσιο των σπουδών για απόκτηση Διδακτορικού Διπλώματος στο Τμήμα Χημείας και εγκρίθηκε στις 12-05-2014 από τα μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής.

Εξεταστική Επιτροπή:

Ερευνητικός Σύμβουλος:

Αναστάσιος Κεραμιδάς, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κύπρου

.....

Μέλος Επιτροπής: Αναστάσιος Τασιόπουλος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κύπρου

(Πρόεδρος).....

Μέλος Επιτροπής: Σάββας Γεωργιάδης, Λέκτορας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κύπρου

(Εσωτερικό Μέλος).....

Μέλος Επιτροπής: Θεμιστοκλής Καμπανός, Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

(Εξωτερικό Μέλος).....

Μέλος Επιτροπής: Άγγελος Ευαγγέλου, Καθηγητής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

(Εξωτερικό Μέλος).....

ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΔΗΛΩΣΗ ΥΠΟΨΗΦΙΟΥ ΔΙΔΑΚΤΟΡΑ

Η παρούσα διατριβή υποβάλλεται προς συμπλήρωση των απαιτήσεων για απονομή Διδακτορικού Τίτλου του Πανεπιστημίου Κύπρου. Είναι προϊόν πρωτότυπης εργασίας αποκλειστικά δικής μου, εκτός των περιπτώσεων που ρητώς αναφέρονται μέσω βιβλιογραφικών αναφορών, σημειώσεων ή και άλλων δηλώσεων.

Έλενα Μαλτέζου

.....

Έλενα Μαλτέζου

Στους γονείς μου,
Ιωάννη και Χρυστάλλα Μαλτέζου

Πρόλογος

Με την ολοκλήρωση των μεταπτυχιακών μου σπουδών, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή μου Δρ. Αναστάσιο Δ. Κεραμιδά, Αναπληρωτή Καθηγητή στο Τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Κύπρου, για τη συνεχή καθοδήγηση και τις πολύτιμες συμβουλές του καθ' όλη τη διάρκεια παραμονής μου στο εργαστήριο. Τον ευχαριστώ επίσης για τις επικοινωνιακές συζητήσεις και πάντοτε εύστοχες υποδείξεις του κατά τη συγγραφή της παρούσας εργασίας.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στον Αναπληρωτή Καθηγητή Αναστάσιο Τασιόπουλο και Λέκτορα Σάββα Γεωργιάδη από το Τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Κύπρου, στους Καθηγητές Θεμιστοκλή Καμπανό και Άγγελο Ευαγγέλου από το Τμήμα Χημείας και Ιατρικής αντίστοιχα του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων για τη συμμετοχή τους στην εξεταστική επιτροπή και την επικοινωνιακή κριτική του κειμένου μου.

Στο σημείο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω τους μεταδιδακτορικούς συνεργάτες Δρ. Μάριο Στυλιανού, Δρ Στέλλα Λοΐζου, Δρ. Sudeshna Roy και Δρ. Νίκο Αραμπατζή για την άριστη συνεργασία που είχαμε, το ευχάριστο κλίμα που επικρατούσε τις ώρες που περνούσαμε μαζί, καθώς και για την κατανόηση που επέδειξαν και την ηθική συμπαράσταση καθ' όλη τη διάρκεια παραμονής τους στο εργαστήριο.

Τέλος, το μεγαλύτερο ευχαριστώ το οφείλω στην οικογένεια και το σύζυγο μου, οι οποίοι εμπιστεύονται τις επιλογές μου και στηρίζουν κάθε μου προσπάθεια. Η μέχρι τώρα πορεία μου οφείλεται στη δική τους αμέριστη αγάπη, κατανόηση και στήριξη.

Περίληψη

Τα τελευταία χρόνια οι μεικτές ενώσεις της τοκοφερόλης με δικαρβοξυλικά οξέα παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω της αποπτωτικής / αντικαρκινικής τους δράσης. Στην παρούσα διατριβή συντέθηκαν και χαρακτηρίστηκαν νέες μεικτές ενώσεις-καρβοξυλικοί εστέρες των συστατικών της βιταμίνης E- ιχνηθετημένες με φθορίζουσες ομάδες έτσι ώστε να είναι δυνατή η οπτική παρακολούθηση της δράσης των μορίων αυτών στα κύτταρα και στους βιολογικούς ιστούς. Η προσθήκη διφωσφονικών ομάδων στις μεικτές ενώσεις είχε ως σκοπό οι ενώσεις αυτές να στοχεύουν τα οστά και να ενισχύεται / συνδιάζεται η αντιοστεολυτική και η αποπτωτική δράση των διφωσφονικών και της γ-τοκοτριενόλης αντίστοιχα, παρεμποδίζοντας με αυτό τον τρόπο την καρκινική μετάσταση. Επίσης αποδείχθηκε με τη μέθοδο της κρυσταλλογραφίας ακτίνων-X πως η δομή των διφωσφονικών παίζει σημαντικό ρόλο στη δέσμευση του ασβεστίου στα οστά σε χαμηλό pH παρόμοιο με αυτό στο οποίο δρουν οι οστεοβλάστες και οι οστεοκλάστες.

Συγκεκριμένα στην παρούσα διδακτορική διατριβή πραγματοποιήθηκε:

I) Σύνθεση, χαρακτηρισμός και μελέτη της δραστηριότητας μόνο- και δικαρβοξυλικών παραγώγων των συστατικών της βιταμίνης E ιχνηθετημένων με φθορίζουσες στύρυλο πυριδινικές ενώσεις προκειμένου να μελετηθεί διεξοδικά η βιοδιαθεσιμότητά τους σε φυσιολογικούς και νεοπλασματικούς ιστούς. Ο χαρακτηρισμός των μορίων πραγματοποιήθηκε στο διάλυμα με φασματοσκοπίες πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού, ορατού-υπεριώδους και φθορισμού. Οι ενώσεις αυτές βρέθηκαν να είναι σταθερές φωτοχημικά και ως προς την υδρόλυση του εστερικού δεσμού. Το μήκος κύματος του εκπεμπόμενου φωτός τροποποιήθηκε με αλλαγή των ομάδων διαφορετικής ηλεκτροαρνητικότητας που συνδέονται στα δύο άκρα της φθορίζουσας στύρυλο ομάδας. Η προσθήκη Br στη β- θέση του ηλεκτρικού οξέος, εκτός από αύξηση της σταθερότητας του μορίου είχε σαν αποτέλεσμα τη μετατόπιση του μήκους κύματος εκπομπής στην περιοχή του κοντινού υπερύθρου κάνοντας τα μόρια αυτά ιδανικά για μελέτη στους ιστούς λόγω της μεγαλύτερης διαπερατότητας της υπέρυθρης ακτινοβολίας. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός πως οι τροποποιήσεις αυτές έγιναν χωρίς να αυξηθεί το μέγεθος των μορίων. Οπτική μελέτη κυττάρων μετά την έκθεσή τους στις ουσίες αυτές έδειξε ότι συγκεντρώνονται εκλεκτικά στα μιτοχόνδρια και τα χρωματίζουν καλύτερα από σκευάσματα που κυκλοφορούν στο εμπόριο. Επίσης, μελετήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα των νέων μεικτών φθορίζοντων εστέρων από την οποία βρέθηκε ότι τα

εστεροποιημένα παράγωγα είναι λιγότερο δραστικά από τα αντίστοιχα συστατικά της βιταμίνης Ε όσον αφορά την ικανότητα αναστολής του DPPH^{*}.

II) Σύνθεση και μελέτη μεικτών παραγώγων της Βιταμίνης Ε με διφωσφονικές ομάδες με απώτερο σκοπό τη μεταφορά τους στο μικροπεριβάλλον των οστών και την παρεμπόδιση της καρκινικής μετάστασης. Για πρώτη φορά στον τομέα της συνθετικής Χημείας πραγματοποιήθηκε με επιτυχία συνένωση των ισχυρά αντικαρκινικών ιδιοτήτων των μορίων της βιταμίνης Ε μαζί με τις αντιοστεολυτικές ιδιότητες των διφωσφονικών οξέων. Η ικανότητα δέσμευσης των ΤοκοΕστέρων από τα κόκκαλα ελέγχθηκε συνθετικά με την τροποποίηση της διφωσφονικής ομάδας, συγκεκριμένα με την παρουσία ή όχι της 1'-OH ομάδας και με τη σύνθεση των διφωσφονικών εστέρων. Οι βιολογικές μελέτες έδειξαν ότι η αντικαρκινική δράση των διφωσφονικών εστέρων που δεν περιέχουν 1'-OH είναι ισχυρότερη από τη δράση των αντίστοιχων διφωσφονικών οξέων. Αυτό αποδόθηκε στη μικρότερη συγγένεια των εστέρων να προσδένονται στα οστά σε σχέση με τα ελεύθερα οξέα.

III) Συμπλοκοποίηση διφωσφονικών με μεταλλοϊόντα Ca^{2+} , Na^+ , Cs^+ και Eu^{3+} και χαρακτηρισμός των ενώσεων που προκύπτουν με κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ. Η βιολογική δραστηριότητα των διφωσφονικών ενώσεων εξαρτάται αποκλειστικά από τη δομή, την τρισδιάστατη διάταξη της πλευρικής τους αλυσίδας στο χώρο και το pH. Η διαπίστωση αυτή καθιστά το δομικό χαρακτηρισμό ως το σημαντικότερο πλέον εργαλείο όσον αφορά την κατανόηση του μηχανισμού δέσμευσης στα οστά. Από τα αποτελέσματα φάνηκε πως καθοριστικό ρόλο στην τελική μορφή του συμπλόκου διαδραματίζει το pH αφού σε όξινες συνθήκες παρόμοιες με αυτές που επικρατούν στα υποξικά καρκινικά κύτταρα παρατηρείται αλλαγή στον τρόπο δέσμευσης (αριθμός ένταξης, γεωμετρία) του ασβεστίου με τα διφωσφονικά. Η δεσμευτική ισχύς των διφωσφονικών με τα οστά υπολογίστηκε λαμβάνοντας υπόψη τις αλληλεπιδράσεις (αποστάσεις δεσμών μεταξύ των ατόμων δοτών και του μεταλλοϊόντος) των φωσφονικών ομάδων, των πλευρικών αλυσίδων, των υδροξυλομάδων και των υδροφοβικών ομάδων του υποκαταστάτη με την οστική επιφάνεια. Το Ca^{2+} σε αντίθεση με άλλα ιόντα βρέθηκε ότι προτιμά να εντάσσεται με τα άτομα οξυγόνου των διφωσφονικών ενώ δεν σχηματίζει δεσμό με το 1'-O~ στις πλείστες των περιπτώσεων. Ο σχηματισμός τέτοιου δεσμού βρέθηκε μόνο σε μία περίπτωση και συνοδεύεται με μείωση του αριθμού ένταξης από 7 σε 6 και αύξηση της ισχύος δέσμευσης του ασβεστίου από τα διφωσφονικά.

Abstract

Over the past few years tocopherol - dicarboxylate conjugated compounds are of particular interest because of the apoptotic / anticancer activity that they exhibit. In the present study, novel carboxylic esters of Vitamin E labeled with fluorescent groups were synthesized and characterized so as to allow their visual monitoring in cells and biological tissues. The addition of bisphosphonate groups to these mixed compounds is expected to direct them towards the bone environment and also to enhance / combine the antiosteolytic and apoptotic action of bisphosphonates and gamma-tocotrienol respectively, preventing in this way cancer metastasis. It was also demonstrated by the method of X-ray crystallography that the bisphosphonate structure plays an important role in the binding of calcium to bone at low pH, similar to that in which osteoblasts and osteoclasts act.

Specifically in this thesis we accomplished the following:

I) Synthesis, characterization and study of the activity of mono- and dicarboxylic derivatives of vitamin E labeled with fluorescent styryl pyridine compounds in order to study extensively their bioavailability in normal and cancer tissues. The molecules were characterized in solution using nuclear magnetic resonance, ultraviolet-visible and fluorescence spectroscopy. These compounds were found to be stable both photochemically and towards the hydrolysis of the ester bond. The wavelength of the emitted light was modified by varying the electronegativity of the groups attached at both ends of the fluorescent styryl compound. The β -addition of bromine to the succinic acid not only increases the stability of the molecule but also shifts the emission wavelength in the near infrared making these molecules ideal for tissue study due to greater permeability of the infrared radiation. Noteworthy is the fact that these modifications were made without increasing the size of the molecules. Optical study of cells after exposure to these substances showed that they selectively concentrate in mitochondria and that the quality of staining is better than stains that are commercially available. Furthermore, the antioxidant properties of the novel fluorescent esters were evaluated and the results showed that the esterified molecules were less effective than the free molecules in scavenging DPPH•.

II) Synthesis and study of mixed derivatives of Vitamin E with bisphosphonates so as to target bone microenvironment and inhibit cancer metastasis. For the first time in the field

of synthetic chemistry, the powerful anticancer properties of the molecules of vitamin E were successfully combined with the antiosteolytic properties of bisphosphonic acids. The binding ability of TokoEsters to bone was tested synthetically by modifying the bisphosphonate group, specifically by the presence or absence of the 1'-OH group. Biological studies have shown that the anticancer activity of bisphosphonate esters not containing the 1'-OH group is stronger than the activity of the corresponding bisphosphonic acids. This was attributed to lower affinity of the ester to bind to bone relative to the free acids.

III) Complexation of bisphosphonates with metal ions such as Ca^{2+} , Na^+ , Cs^+ and Eu^{3+} and characterization of the compounds obtained by X-ray crystallography. The biological activity of bisphosphonates depends exclusively on the structure, the three-dimensional arrangement of the side chain and the pH. These findings make the structural characterization a very useful tool in understanding the mechanism of binding to bone. The results show that the pH plays an important role in the final structure of the complex since in acidic conditions similar to those prevailing in hypoxic cancer cells a change is observed in binding (coordination number, geometry) of calcium with bisphosphonates. The binding strength of bisphosphonates with bone was calculated considering interactions (bond lengths between the donor atoms and the metal ion) of the phosphonate groups, the side chains, the hydroxyl groups and the hydrophobic groups of the ligand with the bone surface. The Ca^{2+} , in contrast with other ions, was found to bond with the oxygen atoms of the bisphosphonates but it does not make a bond with the 1' -O ~ in most cases. The formation of such a bond was found only in one case and is accompanied with a reduction in the coordination number from 7 to 6 and an increase in the binding strength of calcium with the bisphosphonates.

Περιεχόμενα		Σελ.
1.	Εισαγωγή	1
1.1	Στόχος	1
1.2	Βιταμίνη E	5
1.2.1	Δομή τοκοφερολών και τοκοτριενολών	5
1.2.2	Παρουσία στη διατροφή	9
1.2.3	Απορρόφηση, μεταφορά και βιοδιαθεσιμότητα	10
1.2.4	Παράγωγα της βιταμίνης E	12
1.2.4.1	Ηλεκτρική-α-τοκοφερόλη	14
1.2.4.1.1	Δομή	14
1.2.4.1.2	Βιοχημική δράση	15
1.2.4.1.3	Μηχανισμός δράσης	16
1.2.4.2	Σύνθεση ηλεκτρικής-α, β-τοκοφερόλης	19
1.2.4.3	Σύνθεση οξικής-α-τοκοφερόλης	19
1.3	Καρκίνος	20
1.4	Απόπτωση	22
1.5	Φθορίζουσες ενώσεις	27
1.6	Διφωσφονικά	29
1.6.1	Ιστορία	29
1.6.2	Χημεία	30
1.6.3	Σχέση δομής-ενεργότητας	31
1.6.4	Ιδιότητες-αντιοστεοκλαστική και αντιαποπτωτική δράση	32
1.6.5	Μηχανισμοί δράσης διφωσφονικών	34
1.6.6	Κλινικές χρήσεις	35
1.6.7	Βασικές συνθετικές στρατηγικές	39
1.6.7.1	Σύγκριση μεθόδων σύνθεσης	48
1.6.8	Ιδιότητες συμπλοκοποίησης στο διάλυμα	49
1.6.8.1	Σύμπλοκες ενώσεις του μεθάν-1,1-διφωσφονικού οξέος	49
1.6.8.2	Σύμπλοκες ενώσεις του 1-υδρόξυ-αιθάν-1,1-διφωσφονικού οξέος	52
1.6.8.3	Σύμπλοκες ενώσεις του ιμίνο-διμεθυλένο-διφωσφονικού οξέος και των παραγώγων του στο διάλυμα και στη στερεή κατάσταση	54
2.	Πειραματικό Μέρος	57
2.1	Αντιδραστήρια	57

2.2	Συνθέσεις	58
2.2.1	Σύνθεση νέων μεικτών διφωσφονικών ενώσεων με τα συστατικά της Βιταμίνης Ε, τη φαρνεσόλη και τη φυτόλη	58
2.2.2	Σύνθεση διφωσφονικών υποκαταστατών και συμπλοκοποίηση τους με Ca, Cs και Eu (III)	68
2.2.2.1	Σύνθεσης ΔΦ υποκαταστατών	68
2.2.2.2	Σύνθεση ΔΦ συμπλόκων	71
2.2.3	Σύνθεση νέων μεικτών φθορίζοντων μονο- και δικαρβοξυλικών ενώσεων με τα συστατικά της Βιταμίνης Ε, τη φαρνεσόλη και τη φυτόλη	73
2.2.3.1	Σύνθεση φθορίζοντων υποκαταστατών	73
2.2.3.2	Σύνθεση φθορίζοντων μονο- και δικαρβοξυλικών εστέρων με τα συστατικά της Βιταμίνης Ε, τη φαρνεσόλη και τη φυτόλη	81
2.3	Μέθοδοι χαρακτηρισμού των ενώσεων - Οργανολογία	87
2.3.1	Κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ	87
2.3.2	Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού	87
2.3.2.1	Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού 1D NMR	87
2.3.2.2	Φασματοσκοπία ανταλλαγής δύο διαστάσεων 2D { ¹ H} EXSY-NOESY NMR	88
2.3.3	Φασματοσκοπία Υπεριώδους (UV)	89
2.3.4	Φασματοσκοπία Φθορισμού	89
2.4	Μέθοδοι ταυτοποίησης και διαχωρισμού ενώσεων	90
2.4.1	Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας	90
2.4.2	Χρωματογραφία έκλουσης σε στήλη	91
2.4.2.1	Τεχνική διαχωρισμού μείγματος δύο ουσιών	91
2.5	<i>In vitro</i> τεχνική προσδιορισμού αντιοξειδωτικής δράσης με κινητική μελέτη (σύστημα χωρίς κύτταρα)	93
2.5.1	DPPH• αντιοξειδωτική ανάλυση	93
2.6	Στατιστική Ανάλυση Δεδομένων	96
3.	Αποτελέσματα και συζήτηση	98
3.1	Σύνθεση νέων μεικτών διφωσφονικών ενώσεων [6α-6στ], [7α-7στ] με τα συστατικά της Βιταμίνης Ε, τη φαρνεσόλη και τη φυτόλη	98
3.1.1	Μηχανισμός αντίδρασης Steglich	101
3.1.2	Σταθερότητα νέων μεικτών Δ.Φ. ενώσεων	101

3.1.2.1	Γενική Μεθοδολογία	102
3.2	Σύνθεση νέας μεικτής διφωσφονικής ένωσης με τη γ-τοκοφερόλη [11]	103
3.2.1	Σύνθεση καρβοξυλικών παραγώγων [8-10] της βιταμίνης E	103
3.2.2	Σύνθεση συζευγμένου παραγώγου της βιταμίνης E με διφωσφονικά [11]	104
3.3	Σύνθεση διφωσφονικών υποκαταστατών και συμπλοκοποίηση τους με Ca, Cs και Eu (III)	111
3.3.1	Γενική μεθοδολογία σύνθεσης ΔΦ υποκαταστατών	111
3.4	Σύνθεση συμπλοκών ενώσεων Ca, Cs και Eu (III)	114
3.5	Σύνθεση νέων μεικτών φθορίζοντων μόνο- και δικαρβοξυλικών ενώσεων με τα συστατικά της Βιταμίνης E, τη φαρνεσόλη και τη φυτόλη	116
3.6	Χαρακτηρισμός ενώσεων με φασματοσκοπία NMR	123
3.6.1	Νέες μεικτές διφωσφονικές ενώσεις [1-5, 6β] με τα συστατικά της Βιταμίνης E, τη φαρνεσόλη και τη φυτόλη	123
3.6.2	Καρβοξυλικά [8, 9] και διφωσφονικά παράγωγα [11] της βιταμίνης E	130
3.6.3	Διφωσφονικοί υποκαταστάτες (L1, L2, L3 και L4)	136
3.6.4	Νέες μεικτές φθορίζοντες μόνο- και δικαρβοξυλικές ενώσεις με τα συστατικά της Βιταμίνης E, τη φαρνεσόλη και τη φυτόλη	138
3.7	Φασματοσκοπία Φθορισμού	147
3.7.1	Νέες μεικτές φθορίζοντες μόνο- και δικαρβοξυλικές ενώσεις με τα συστατικά της Βιταμίνης E, τη φαρνεσόλη και τη φυτόλη	147
3.8	Κινητική μελέτη	153
3.8.1	Ικανότητα αναστολής της ρίζα DPPH•	154
3.9	Κρυσταλλογραφία ακτίνων-X	157
3.9.1	Κρυσταλλικές δομές των διφωσφονικών υποκαταστατών L1 και L2 σε όξινες συνθήκες (pH 1.2)	157
3.9.2	Κρυσταλλικές δομές των αλάτων νατρίου των υποκαταστατών L2, L3 και L4, σε pH 4.0-4.3	163
3.9.3	Κρυσταλλικές δομές συμπλόκων ασβεστίου με τον υποκαταστάτη L1 σε pH 4.3	175
3.9.4	Κρυσταλλικές δομές συμπλόκων ασβεστίου (C3, C4), κεσίου (C5) και ευρωπαϊίου (III) (C6) με τον υποκαταστάτη L2 σε pH 4.3	180
3.9.5	Κρυσταλλικές δομές συμπλόκων ασβεστίου με τον υποκαταστάτη L2 και L4 σε χαμηλό pH (1.19-1.20)	190

4.	Συμπεράσματα-Μελλοντική εργασία	200
5.	Βιβλιογραφία	205

Έλενα Μαλιτζέζου

Περιεχόμενα Σχημάτων	Σελ.
Σχήμα 1.1: Χημική δομή εστέρων της βιταμίνης E με δικαρβοξυλικά και διφωσφονικά οξέα αντίστοιχα	3
Σχήμα 1.2: Χημικές δομές τοκοφερολών και τοκοτριενολών	6
Σχήμα 1.3: Το μόριο της τοκοφερόλης έχει ένα κεφάλι και μία ουρά	7
Σχήμα 1.4: Το μόριο της τοκοτριενόλης. Η διαφορά μεταξύ των τοκοτριενολών και των τοκοφερολών είναι στην ουρά. Οι τοκοτριενόλες έχουν τρεις διπλούς δεσμούς	7
Σχήμα 1.5: Κύριες περιοχές στη δομή των συστατικών της βιταμίνης E	8
Σχήμα 1.6: Στερεοϊσομερή α-τοκοφερόλης	9
Σχήμα 1.7: Απορρόφηση και μεταφορά τοκοφερολών και τοκοτριενολών στον οργανισμό	11
Σχήμα 1.8: Εστεροποιημένη μορφή της α-τοκοφερόλης	13
Σχήμα 1.9: Κύριες περιοχές στη δομή των παραγώγων της βιταμίνης E	14
Σχήμα 1.10: Υδρόλυση της ηλεκτρικής-α-τοκοφερόλης	15
Σχήμα 1.11: Ακολουθίες μετάδοσης σημάτων που λαμβάνουν χώρα κατά την επαγωγή απόπτωσης από την sa-a-toc	17
Σχήμα 1.12: Σύνθεση των ηλεκτρικών εστέρων της α- και β-toc	19
Σχήμα 1.13: Σύνθεση του οξικού εστέρα της α-toc	19
Σχήμα 1.14: Πιθανά σημεία δράσης χημειοπροστατευτικών και χημειοπροληπτικών ουσιών. Το σύμβολο X αντιπροσωπεύει τους παράγοντες που αναστέλλουν την καρκινογένεση παρεμποδίζοντας είτε το στάδιο σχηματισμού του προκαρκινικού όγκου (φάση έναρξης, φάση προαγωγής), είτε το στάδιο σχηματισμού των καρκινικών κυττάρων (φάση εξέλιξης). Τα τόξα αντιπροσωπεύουν τους παράγοντες που οδηγούν τα προκαρκινικά κύτταρα στην απόπτωση ή τη διαφοροποίηση. Επιπρόσθετα οι ουσίες αυτές μπορούν να οδηγήσουν τα καρκινικά κύτταρα σε απόπτωση	21
Σχήμα 1.15: . Επίδραση της απόπτωσης και του κυτταρικού πολλαπλασιασμού στην ομοιοστασία μίας ομάδας κυττάρων. Το μέγεθος των τόξων αντιπροσωπεύει την αύξηση ή μείωση στο ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού και κυτταρικού θανάτου	22
Σχήμα 1.16: Μορφολογικές διαφορές μεταξύ νέκρωσης και απόπτωσης	24
Σχήμα 1.17: Δομή της κασπάσης-3	25
Σχήμα 1.18: Αναγνώριση υποστρώματος και μηχανισμός διάσπασης από την	26

κασπάση-3	
Σχήμα 1.19: Στόχευση μιτοχονδρίων χρησιμοποιώντας το μόριο DASPMI	27
Σχήμα 1.20: Σύνθεση στύρυλο βαφών	28
Σχήμα 1.21: Δομή διφωσφονικού και πυροφωσφορικού οξέος	29
Σχήμα 1.22: Η δέσμευση από τον υδροξυαπατίτη και η βιολογική δραστηριότητα των διφωσφονικών εξαρτάται από την P-C-P ομάδα και την δομή των R ₁ και R ₂ πλευρικών αλυσίδων	31
Σχήμα 1.23: Εμπορικά διαθέσιμες διφωσφονικές ενώσεις	32
Σχήμα 1.24: Δέσμευση διφωσφονικών από το ασβέστιο στα οστά	33
Σχήμα 1.25: Μηχανισμοί δράσης διφωσφονικών	34
Σχήμα 1.26: Αντιπροσωπευτικές εικόνες του πρώτου ασθενή του Sir James Paget. Φαίνεται η χαρακτηριστική εμφάνιση ενός ηλικιωμένου ο οποίος βρίσκεται σε προχωρημένο στάδιο της ασθένειας: 1) Παραμόρφωση της κνήμης, 2) παραμόρφωση του μηρού και της κνήμης στο πόδι, 3) αύξηση στο μέγεθος του καπέλου (αύξηση στο μέγεθος του κρανίου)	35
Σχήμα 1.27: . Σταδιακή παραμόρφωση της σπονδυλικής στήλης στην οστεοπόρωση	36
Σχήμα 1.28: Δομή μεθυλενοδιφωσφονικού και του αντίστοιχου συμπλόκου με τεχνήτιο	37
Σχήμα 1.29: Εικόνα που λαμβάνεται μετά από σπινθηρογραφικό έλεγχο οστών. Οι περιοχές που φαίνονται πιο έντονα οφείλονται στην απορρόφηση της σύμπλοκης ένωσης ^{99m} Tc-MDP	37
Σχήμα 1.30: Δομή 1-υδρόξυ-αιθυλενοδιφωσφονικού οξέος	38
Σχήμα 1.31: Δομή των υποκαταστατών μεθάν-1,1-διφωσφονικού οξέος (1) και 1-υδρόξυ-αιθάν-1,1-διφωσφονικού οξέος (2)	49
Σχήμα 1.32: Τρόποι ένταξης του 1 σε σύμπλοκα του Co, Al, Mg, Cu, Fe, Ti, Zr, Ni και Zn	50
Σχήμα 1.33: Τρόποι ένταξης του 2 σε σύμπλοκα του Cu, Ca, Zn, Fe, Mn, Ni, Co, Mg, Cd, Sr και Pb	52
Σχήμα 1.34: Δομή των υποκαταστατών ιμίνο-διμεθυλένο-διφωσφονικού οξέος (3) και των παραγώγων του (4,5,6)	54
Σχήμα 1.35: Τρόποι ένταξης των 3,4,5,6 σε σύμπλοκα του Mn, Cd, Co, Pb, Cu, Zn και Zr	55
Σχήμα 2.1: Αλληλουχία παλμών 2D NOESY-EXSY	88

Σχήμα 2.2: Διάγραμμα στο οποίο απεικονίζεται ο διαχωρισμός μείγματος δύο ουσιών Α και Β με χρωματογραφία έκλουσης σε στήλη	92
Σχήμα 2.3: Δομή του DPPH πριν και μετά από αντίδραση του με αντιοξειδωτικά μόρια (ΑΗ)	93
Σχήμα 3.1: Δομή των συστατικών της Βιταμίνης Ε, της φαρνεσόλης και της φυτόλης	98
Σχήμα 3.2: Δομές νέων μεικτών διφωσφονικών ενώσεων με τα συστατικά της Βιταμίνης Ε, τη φαρνεσόλη και τη φυτόλη.	98
Σχήμα 3.3: Συνθετική πορεία των ενώσεων [1]–[7]	99
Σχήμα 3.4: Αντίδραση Steglich	100
Σχήμα 3.5: Δομή των ενεργοποιητών DCC και EDC αντίστοιχα	100
Σχήμα 3.6: Μελέτη σταθερότητας των προϊόντων με TLC για περίοδο τριών εβδομάδων	102
Σχήμα 3.7: Σύνθεση της α-TEA [8] (α-tocopherol ether linked acetic acid analog)	103
Σχήμα 3.8: Μηχανισμός σχηματισμού του άρυλο αιθερικού παραγώγου τοκοφερόλης	103
Σχήμα 3.9: Σύνθεση του συζευγμένου προϊόντος δ-τοκοφερόλης με διφωσφονικά [11] με τη μεθοδολογία Α	104
Σχήμα 3.10: Προτεινόμενος μηχανισμός για το σχηματισμό του συζευγμένου προϊόντος τοκοφερόλης με διφωσφονικά	107
Σχήμα 3.11: Σύνθεση του συζευγμένου προϊόντος α-τοκοφερόλης με διφωσφονικά με τη μεθοδολογία Β	108
Σχήμα 3.12: Μηχανισμός μεθοδολογίας Β για το σχηματισμό του συζευγμένου προϊόντος α-τοκοφερόλης με διφωσφονικά	109
Σχήμα 3.13: Δομές αρχικών καρβοξυλικών οξέων και των αντίστοιχων διφωσφονικών υποκαταστατών που συντέθηκαν	111
Σχήμα 3.14: Δομές καρβοξυλικών οξέων που χρησιμοποιήθηκαν στη σύνθεση αντίστοιχων διφωσφονικών οξέων	112
Σχήμα 3.15: Γενική πορεία σύνθεσης διφωσφονικών οξέων	113
Σχήμα 3.16: Στρατηγική σύνθεσης συμπλόκων και σχηματισμού μονοκρυστάλλων	114
Σχήμα 3.17: Σχηματικό διάγραμμα αντιδράσεων σύνθεσης των συμπλοκών ενώσεων Ca, Cs και Eu (III) με τα άλατα νατρίου των υποκαταστατών L1 , L2 ,	115

L3 και L4 σε α) pH 4-4.3 και σε β) χαμηλό pH. Οι αποδόσεις των αντιδράσεων είναι ως προς το αντίστοιχο άλας νατρίου του υποκαταστάτη	
Σχήμα 3.18: Δομές νέων μεικτών φθορίζοντων μόνο- και δικαρβοξυλικών ενώσεων με τα συστατικά της Βιταμίνης E, τη φαρνεσόλη και τη φυτόλη	116
Σχήμα 3.19: α) Σύνθεση του υποκαταστάτη 4-MeO spy, L6 με δύο διαφορετικούς τρόπους και β) σύνθεση του υποκαταστάτη phspy, L7	117
Σχήμα 3.20: Μήκος κύματος της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας του υποκαταστάτη L6	118
Σχήμα 3.21: Σύνθεση των φθορίζοντων υποκαταστατών L8, L9 και L10	118
Σχήμα 3.22: Πορεία σύνθεσης των καρβοξυλικών οξέων L13-L15	119
Σχήμα 3.23: Πορεία σύνθεσης των δικαρβοξυλικών οξέων L18-L20	119
Σχήμα 3.24: Πορεία σύνθεσης καρβοξυλικών E2-E7 και δικαρβοξυλικών εστέρων E8-E13	120
Σχήμα 3.25: Πορεία σύνθεσης καρβοξυλικών E14 και δικαρβοξυλικών εστέρων E13, E15	121
Σχήμα 3.26: Αντίδραση β-απόσπασης του δικαρβοξυλικού υποκαταστάτη [L18].	121
Σχήμα 3.27: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης [1] σε διαλύτη CDCl_3	123
Σχήμα 3.28: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης [2] σε διαλύτη CDCl_3	124
Σχήμα 3.29: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης [3] σε διαλύτη CDCl_3	125
Σχήμα 3.30: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης [4] σε διαλύτη MeOD	126
Σχήμα 3.31: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης [5] σε διαλύτη MeOD	127
Σχήμα 3.32: Φάσμα $^{13}\text{C-NMR}$ της ένωσης [5] σε διαλύτη MeOD	128
Σχήμα 3.33: Φάσματα (α) $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3), (β) $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) και (γ) $^{31}\text{P-NMR}$ (D_2O) της ένωσης [6β]	129
Σχήμα 3.34: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της α-TEA [8]	130
Σχήμα 3.35: Φάσμα 2D-NOESY του α-TEA [8]	131
Σχήμα 3.36: Φάσμα $^{13}\text{C-NMR}$ του α-TEA [8]	132
Σχήμα 3.37: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της δ-TEA [9]	133
Σχήμα 3.38: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του μείγματος δ-TEA [9] και δ-τοκοφερόλης	133
Σχήμα 3.39: Φάσμα $^{13}\text{C-NMR}$ του δ-TEA [9]	134
Σχήμα 3.40: $^1\text{H-NMR}$ του μείγματος δ-TEA [9] και δ-τοκοφερόλης συζευγμένης με διφωσφονικά [11]. Όπου (') τα πρωτόνια του δ-TEA που είναι παρόντα στο μείγμα	135

Σχήμα 3.41: Φάσμα ^{31}P -NMR της δ-τοκοφερόλης συζευγμένης με διφωσφονικά [11]	135
Σχήμα 3.42: Φάσματα (α) ^1H -NMR (β) ^{13}C -NMR και (γ) ^{31}P -NMR του υποκαταστάτη L1	137
Σχήμα 3.43: Φάσμα ^1H -NMR του υποκαταστάτη L8 σε διαλύτη CDCl_3	138
Σχήμα 3.44: Φάσμα ^1H -NMR του υποκαταστάτη <i>phspy</i> , [L7] σε DMSO	139
Σχήμα 3.45: Φάσμα ^1H -NMR του οργανικού μορίου <i>phspyMe</i> , [L11] σε D_2O	140
Σχήμα 3.46: Φάσμα ^1H -NMR του <i>phspyac</i> , [L12] σε MeOD	141
Σχήμα 3.47: Φάσμα ^1H -NMR του <i>brmaleic phspy</i> , [L16] σε MeOD	142
Σχήμα 3.48: Φάσμα ^1H -NMR του <i>brmaleic spy</i> , [L17] σε DMSO	143
Σχήμα 3.49: Φάσμα ^1H -NMR του υποκαταστάτη L18 σε διαλύτη $\text{D}_2\text{O}/\text{NaOD}$	144
Σχήμα 3.50: Φάσμα ^1H -NMR του <i>phspy-brmaleic-a-toc</i> , [E1] σε CDCl_3	145
Σχήμα 3.51: Φάσμα ^1H -NMR του δικαρβοξυλικού εστέρα της γ-τοκοφερόλης E9 σε διαλύτη CDCl_3	146
Σχήμα 3.52: Φάσματα Απορρόφησης και Εκπομπής των ενώσεων α) L8 , β) L13 και γ) E2 αντίστοιχα	148
Σχήμα 3.53: Φάσματα Απορρόφησης και Εκπομπής των ενώσεων α) L8 και β) L18 αντίστοιχα	149
Σχήμα 3.54: Φάσματα Απορρόφησης και Εκπομπής των δικαρβοξυλικών εστέρων της α) α-τοκοφερόλης (E8), β) γ-τοκοφερόλης (E9), γ) δ-τοκοφερόλης (E10) και δ) γ-τοκοτριενόλης (E11) αντίστοιχα	150
Σχήμα 3.55: Φάσματα Απορρόφησης UV-Vis των ενώσεων α) L12 (βιολετί), L7 (μαύρο), L16 (κόκκινο) και β) L8 (μαύρο), L17 (κόκκινο) σε μεθανόλη συγκέντρωσης 1×10^{-5} M	151
Σχήμα 3.56: Φάσματα Εκπομπής των ενώσεων [L7] (μαύρο), [L16] (πορτοκαλί) και [L17] (μωβ)	152
Σχήμα 3.57: Οι ενώσεις [L7] (μαύρο), [L16] (πορτοκαλί) και [L17] (μωβ) οπτικά κάτω από μαύρο φως	152
Σχήμα 3.58: Πιθανοί μηχανισμοί μεταφοράς πρωτονίου από τη λειτουργική μονάδα της α-toc στην ελεύθερη ρίζα.	154
Σχήμα 3.59: Πειραματικές τιμές ενεργειών διάσπασης δεσμών O-H (BDE) για υποκατεστημένες φαινόλες	155
Σχήμα 3.60: Επίδραση υποκαταστατών στη σταθεροποίηση των φαινολών	156
Σχήμα 3.61: Κρυσταλλική δομή του υποκαταστάτη H4L1 που απομονώνεται	157

στην περιοχή pH 1.2. Κρυσταλλικό σύστημα: Μονοκλινές. Ομάδα χώρου: $P2_1$. Μοναδιαία κυψελίδα: a 6.6147(2); b 9.9122(3); c 6.9166(2) Å, $\alpha=90.00$; $\beta=110.637(4)$; $\gamma=90.00^\circ$	
Σχήμα 3.62: Σχηματική απεικόνιση της μοριακής δομής του οργανικού μορίου H_4L1	159
Σχήμα 3.63: Διάταξη των μορίων στο χώρο κατά μήκος του c κρυσταλλογραφικού άξονα όπου σχηματίζεται δισδιάστατη αλυσίδα	160
Σχήμα 3.64: Κρυσταλλική δομή του υποκαταστάτη H_4L2 που απομονώθηκε στην περιοχή pH 1.2. Κρυσταλλικό σύστημα: Μονοκλινές. Ομάδα χώρου: $P2_1/n$. Μοναδιαία κυψελίδα: a 13.4506(3); b 10.3000(2); c 14.6517(3) Å, $\alpha=90.00$; $\beta=98.233(2)$; $\gamma=90.00^\circ$	161
Σχήμα 3.65: Διάταξη των μορίων στο χώρο κατά μήκος του b κρυσταλλογραφικού άξονα	162
Σχήμα 3.66: Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου NaH_3L2 που απομονώθηκε στην περιοχή pH 4.3. Κρυσταλλικό σύστημα: Μονοκλινές. Ομάδα χώρου: $P2_1/n$. Μοναδιαία κυψελίδα: a 7.2579(8); b 8.9622(14); c 19.394(2) Å, $\alpha=90.00$; $\beta=100.263(14)$; $\gamma=90.00^\circ$	163
Σχήμα 3.67: Σχηματισμός πολυμερικής ένωσης μέσω του κατιόντος νατρίου	166
Σχήμα 3.68: Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου Na_2H_2L3 που απομονώθηκε στην περιοχή pH 4.0. Κρυσταλλικό σύστημα: Μονοκλινές. Ομάδα χώρου: $P2_1/c$. Μοναδιαία κυψελίδα: a 10.5215(11); b 5.9743(8); c 18.167(2) Å, $\alpha=90.00$; $\beta=82.050(9)$; $\gamma=90.00^\circ$	166
Σχήμα 3.69: α) Διάταξη των μορίων στο χώρο κατά μήκος του κρυσταλλογραφικού άξονα b όπου σχηματίζεται πολυμερική αλυσίδα. β) Διάταξη των μορίων στο χώρο κατά μήκος του κρυσταλλογραφικού άξονα c	168
Σχήμα 3.70: Σχηματική απεικόνιση του δομικού πυρήνα Na_2O_2	169
Σχήμα 3.71: Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου Na_2H_2L4 που απομονώθηκε στην περιοχή pH 4.2. Κρυσταλλικό σύστημα: Τρικλινές. Ομάδα χώρου: $P-1$. Μοναδιαία κυψελίδα: a 6.327(5); b 6.967(5); c 11.805(5) Å, $\alpha=93.067(5)$; $\beta=96.222(5)$; $\gamma=113.594(5)^\circ$	170
Σχήμα 3.72: α) Σχηματική απεικόνιση του H_2L4^{2-} όπου φαίνεται η σύνδεση με τα ιόντα νατρίου. β) Σχηματική απεικόνιση του Na_2H_2L4 όπου φαίνεται η σφαίρα ένταξης των ιόντων νατρίου	172
Σχήμα 3.73: α) Πολύεδρα με μεταλλικά κέντρα νατρίου τα οποία σχηματίζουν	173

- γραμμική διάταξη κατά μήκος του άξονα (1,1,0) του κρυστάλλου. β) Σύνδεση των γραμμικών διατάξεων νατρίου με τα διφωσφονικά ανιόντα σχηματίζουν δύο δισδιάστατα φύλλα. γ) Δύο δισδιάστατα στρώματα πακεταρισμένα το ένα παράλληλα στο άλλο κατά μήκος του c άξονα
- Σχήμα 3.74:** Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $\text{CaH}_2\text{L1}$, [C1] που απομονώθηκε στο pH 4.3. Κρυσταλλικό σύστημα: Ορθορομβικό. Ομάδα χώρου: $Pna2_1$. Μοναδιαία κυψελίδα: a 13.784; b 10.554; c 6.931 Å, $\alpha=90.00$; $\beta=90.00$; $\gamma=90.00^\circ$ 175
- Σχήμα 3.75:** Διάταξη των μορίου στο χώρο κατά μήκος του κρυσταλλογραφικού άξονα a 177
- Σχήμα 3.76:** Κρυσταλλική δομή του του συμπλόκου $\text{CaH}_6(\text{L1})_2$, [C2] που απομονώνεται στην περιοχή pH 4.3. Για λόγους ευκρίνειας δεν απεικονίζονται τα άτομα υδρογόνου. Κρυσταλλικό σύστημα: Μονοκλινές. Ομάδα χώρου: $C2/c$. Μοναδιαία κυψελίδα: 14.3396(2); b 14.20390(10); c 11.1369(2) Å, $\alpha=90.00$; $\beta=119.158(2)$; $\gamma=90.00^\circ$ 178
- Σχήμα 3.77:** Διάταξη των μορίου στο χώρο κατά μήκος του κρυσταλλογραφικού άξονα a 179
- Σχήμα 3.78:** Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $\text{CaH}_6(\text{L2})_2$, [C3] που απομονώνεται στην περιοχή pH 4.3. Για λόγους ευκρίνειας δεν απεικονίζονται τα άτομα υδρογόνου. Κρυσταλλικό σύστημα: Μονοκλινές. Ομάδα χώρου: $P2_1/c$. Μοναδιαία κυψελίδα: a 13.0874(2); b 13.73580(10); c 12.3296(2) Å, $\alpha=90.00$; $\beta=108.911(2)$; $\gamma=90.00^\circ$ 180
- Σχήμα 3.79:** Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $\text{CaH}_6(\text{L2})_2$, [C3] στην οποία φαίνεται η παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία που υιοθετεί το μεταλλικό κέντρο ασβεστίου καθώς επίσης και ο σχηματισμός οκταμελούς δακτυλίου 183
- Σχήμα 3.80:** Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $\text{CaH}_2\text{L2}$, [C4] που απομονώνεται στην περιοχή pH 4.3. Για λόγους ευκρίνειας δεν απεικονίζονται τα άτομα υδρογόνου. Κρυσταλλικό σύστημα: Μονοκλινές. Ομάδα χώρου: $P2_1/c$. Μοναδιαία κυψελίδα: a 21.7780(5); b 8.94590(10); c 21.9099(5) Å, $\alpha=90.00$; $\beta=119.386(3)$; $\gamma=90.00^\circ$ 183
- Σχήμα 3.81:** Σχηματισμός δύο ανεξάρτητων πολυμερών 186
- Σχήμα 3.82:** Διάταξη των μορίου στο χώρο κατά μήκος του κρυσταλλογραφικού άξονα b 186
- Σχήμα 3.83:** Κρυσταλλική δομή του του συμπλόκου C5 που απομονώνεται 187

- στην περιοχή pH 4.3. Για λόγους ευκρίνειας δεν απεικονίζονται τα άτομα υδρογόνου. Κρυσταλλικό σύστημα: Μονοκλινές. Ομάδα χώρου: Pc . Μοναδιαία κυψελίδα: a 7.1478(4); b 9.1250(5); c 19.3792(11) Å, $\alpha=90.00$; $\beta=100.521(5)$; $\gamma=90.00^\circ$
- Σχήμα 3.84:** α) Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $\text{EuH}_{13}(\text{L}2)_4$, [C6] που απομονώνεται στην περιοχή pH 4.3. Για λόγους ευκρίνειας δεν απεικονίζονται τα άτομα υδρογόνου. Κρυσταλλικό σύστημα: Τετραγωνικό. Ομάδα χώρου: $P-4_2c$. Μοναδιαία κυψελίδα: a 12.02970(10); b 13.96090(10); c 13.96090(10) Å, $\alpha=90.00$; $\beta=90.00$; $\gamma=90.00^\circ$. β) Σχηματική απεικόνιση όπου φαίνεται η σφαίρα ένταξης του Eu^{3+} 188
- Σχήμα 3.85:** Διάταξη των μορίων στο χώρο κατά μήκος του κρυσταλλογραφικού άξονα c 190
- Σχήμα 3.86:** Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $\text{CaH}_6(\text{L}2)_2$, [C8] που απομονώνεται στην περιοχή pH 1.19. Για λόγους ευκρίνειας δεν απεικονίζονται τα άτομα υδρογόνου. Κρυσταλλικό σύστημα: Μονοκλινές. Ομάδα χώρου: $C2/c$. Μοναδιαία κυψελίδα: a 15.8933(13); b 11.4064(9); c 12.3678(4) Å, $\alpha=90.00$; $\beta=123.485(11)$; $\gamma=90.00^\circ$ 193
- Σχήμα 3.87:** Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $\text{CaH}_2\text{L}4$, [C10] που απομονώνεται στην περιοχή pH 1.2. Για λόγους ευκρίνειας δεν απεικονίζονται τα άτομα υδρογόνου. Κρυσταλλικό σύστημα: Τρικλινές. Ομάδα χώρου: $P-1$. Μοναδιαία κυψελίδα: a 12.9476(8); b 18.1658(13); c 14.2417(9) Å, $\alpha=91.292(5)$; $\beta=99.240(6)$; $\gamma=102.918(5)^\circ$ 194
- Σχήμα 3.88:** Διάταξη του μορίου στο χώρο κατά μήκος του a κρυσταλλογραφικού άξονα 198

Περιεχόμενα Πινάκων	Σελ.
Πίνακας 1.1: Χαρακτηριστικά παραδείγματα διφωσφορικών ενώσεων που συντέθηκαν με τη μέθοδο <i>A1</i>	40
Πίνακας 1.2: Παραδείγματα διφωσφορικών ενώσεων που συντέθηκαν με τη μέθοδο <i>A2</i>	43
Πίνακας 1.3: Παράδειγμα σύνθεσης με τη μέθοδο <i>B</i>	45
Πίνακας 1.4: Παράδειγμα σύνθεσης με τη μέθοδο <i>Γ</i>	46
Πίνακας 1.5: Παραδείγματα σύνθεσης με τη μέθοδο <i>Δ</i>	47
Πίνακας 1.6: Συνθήκες σύνθεσης συμπλόκων του υποκαταστάτη 1	51
Πίνακας 1.7: Συνθήκες σύνθεσης συμπλόκων του υποκαταστάτη 2	53
Πίνακας 1.8: Συνθήκες σύνθεσης συμπλόκων των υποκαταστατών 3,4,5 και 6	56
Πίνακας 2.1: Κρίσιμες τιμές της κατανομής <i>t</i> του Student όπου <i>N</i> είναι ο αριθμός των πειραματικών μετρήσεων	97
Πίνακας 3.1: Σύγκριση απόδοσης προϊόντων σε σχέση με βιβλιογραφία	113
Πίνακας 3.2: Χημικές μετατοπίσεις (ppm) και ταυτοποίηση των απορροφήσεων που παρατηρούνται στο φάσματα ¹ H-, ¹³ C- και ³¹ P-NMR των υποκαταστατών L1 , L2 , L3 και L4 [D ₂ O, pH 3-4.3, 25°C]	136
Πίνακας 3.3: Οι σταθερές ταχύτητας δευτέρας τάξεως (<i>k</i> ₂) της αντίδρασης της DPPH• (136.5 μM) με τους εξουδετερωτές ριζών (60-300 μM) σε μεθανόλη στους 25 °C. Η τυπική απόκλιση δίνεται σε παρένθεση	153
Πίνακας 3.4: Κρυσταλλογραφικά δεδομένα των ενώσεων L1 και L2	158
Πίνακας 3.5: Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού για την ένωση L1 στους 100 K με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις	159
Πίνακας 3.6: Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού για την ένωση L2 στους 100 K με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις	161
Πίνακας 3.7: Κρυσταλλογραφικά δεδομένα των ενώσεων NaH₃L2 , Na₂H₂L3 και Na₂H₂L4	164
Πίνακας 3.8: Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού για την ένωση NaH₃L2 στους 100 K με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις	165
Πίνακας 3.9: Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού για την ένωση Na₂H₂L3 στους 100 K με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις	167
Πίνακας 3.10: Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού για την ένωση Na₂H₂L4 στους 100 K με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις	170
Πίνακας 3.11: Επιλεγμένες γωνίες δεσμού (°) για την ένωση Na₂H₂L4 στους 100	171

Κ με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις	
Πίνακας 3.12: Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού για διφωσφονικά σύμπλοκα Na ⁺ και Ca ²⁺ (ο συμβολισμός των L1, L2, L3, L4 έγινε με βάση το σχήμα 3.13)	174
Πίνακας 3.13: Κρυσταλλογραφικά δεδομένα των ενώσεων C1 και C2	176
Πίνακας 3.14: Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού για την ένωση C1 στους 100 Κ με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις	177
Πίνακας 3.15: Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού για την ένωση C2 στους 100 Κ με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις	179
Πίνακας 3.16: Κρυσταλλογραφικά δεδομένα των ενώσεων C3, C4 και C6	181
Πίνακας 3.17: Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού για την ένωση C3 στους 100 Κ με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις	182
Πίνακας 3.18: Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού για την ένωση C4 στους 100 Κ με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις	184
Πίνακας 3.19: Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού για την ένωση C6 στους 100 Κ με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις	189
Πίνακας 3.20: Κρυσταλλογραφικά δεδομένα των ενώσεων C8 και C10	191
Πίνακας 3.21: Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού για την ένωση C8 στους 100 Κ με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις	192
Πίνακας 3.22: Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού για την ένωση C10 στους 100 Κ με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις	194
Πίνακας 3.23: Μήκη (Å) δεσμού (Ca-O) για το επτα-ενταγμένο Ca(1), Ca(2), Ca(3) και Ca(4) με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις	196
Πίνακας 3.24: Μήκη (Å) δεσμού (Ca-O) για το εξα-ενταγμένο Ca(5) και Ca(6) με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις	197
Πίνακας 3.25: Απόσταση (Å) μεταξύ μεταλλικών κέντρων Ca ^{····} Ca με τις αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις	198
Πίνακας 3.26: Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού όλων των διφωσφονικών συμπλόκων Na ⁺ και Ca ²⁺ που συντέθηκαν και σύγκριση τους με βιβλιογραφικές ενώσεις (ο συμβολισμός των L2, L3, L4 έγινε με βάση το σχήμα 3.13)	199

Σύμβολα και συντμήσεις

Τόκος	Τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες
α-toc	α-τοκοφερόλη
β-toc	β-τοκοφερόλη
γ-toc	γ-τοκοφερόλη
δ-toc	δ-τοκοφερόλη
γ-tot	γ-τοκοτριενόλη
sa-α-toc	ηλεκτρική-α-τοκοφερόλη
VLDL	very low-density lipoproteins
LDL	low-density lipoproteins
HDL	high-density lipoproteins
α-TTP	α-tocopherol transfer protein
PKC	πρωτεϊνική κινάση C
PP2A	πρωτεϊνική φωσφατάση 2A
ROS	reactive oxygen species (ενεργά μόρια οξυγόνου)
O₂^{•-}	ανιόν της ρίζας οξυγόνου
OH[•]	ρίζα υδροξυλίου
ROO[•]	υπεροξειδικές ρίζες
RO[•]	αλκόξυ ρίζες
HO₂[•]	ρίζα υδροϋπεροξειδίου
Cyt c	κυτόχρωμα c
NADPH	φωσφορικό νικοτινο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο

DNA	δεοξυριβονουκλεϊνικό οξύ
EPR	Φσματοσκοπία Παραμαγνητικού Συντονισμού
PARP	poly-ADP-ribose
ICAD	caspase activated DNase inhibitor
CAD	caspase activated DNase
Asp	ασπαρτικό οξύ
DASPMI	διμέθυλ-άμινο-στύρυλ μεθυλπυριδόνιο άλας
ΔΦ	διφωσφονικά
TNF	παράγοντας νεκρώσης του όγκου
HEDP	1-υδρόξυ-αιθυλενοδιφωσφονικό οξύ
MDP	μεθυλενοδιφωσφονικό οξύ
MsOH	μεθανοσουλφονικό οξύ
NaOH	υδροξείδιο του νατρίου
HCl	υδροχλωρικό οξύ
TMSI	ιωδιούχο τριμεθυλοπυρίτιο
DMAP	4-(N,N-διμεθυλαμινο)πυριδίνη
EDCI	1-αιθυλ-3-(3-διμεθυλαμινοπρόπυλ)καρβοδιμίδιο
DCC	1,3-δικυκλοεξυλοκαρβοδιμίδιο
DPPH	2,2-διφαινυλο-1-πικρυλυδραζόλιο
DMEM	Dulbecco's Modified Eagles Medium
CDCl₃	δευτεριωμένο χλωροφόρμιο
D₂O	δευτεριωμένο νερό
CH₃CN	δευτεριωμένο ακετονιτρίλιο

DMSO	διμεθυλοσουλφοξείδιο
NaOD	δευτεριωμένο υδροξείδιο του νατρίου
CD₃OD	Δευτεριωμένη μεθανόλη
CaH₂	υδρίδιο του ασβεστίου
Ar	αέριο αργό
N₂	αέριο άζωτο
NaSO₄	θειικό νάτριο
CH₂Cl₂	διχλωρομεθάνιο
MeOH	μεθανόλη
THF	τετραϋδροφουράνιο
CCl₄	τετραχλωράνθρακας
EtOAc	οξικός αιθυλεστέρας
Hex	εξάνιο
α-toc-bppOEt	α-τοκοφέρυλο διφωσφονικός εστέρας
γ-toc-bppOEt	γ-τοκοφέρυλο διφωσφονικός εστέρας
δ-toc-bppOEt	δ-τοκοφέρυλο διφωσφονικός εστέρας
γ-tot-bppOEt	γ-τοκοτριένυλο διφωσφονικός εστέρας
farn -bppOEt	φαρνέσυλο διφωσφονικός εστέρας
phyt-bppOEt	φύτυλο διφωσφονικός εστέρας
α-toc-bppOH	α-τοκοφέρυλο διφωσφονικό οξύ
γ-toc-bppOH	γ-τοκοφέρυλο διφωσφονικό οξύ
δ-toc-bppOH	δ-τοκοφέρυλο διφωσφονικό οξύ
γ-tot-bppOH	γ-τοκοτριένυλο διφωσφονικό οξύ

farn-bppOH	φαρνέσυλο διφωσφονικό οξύ
phyt-bppOH	φύτυλο διφωσφονικό οξύ
α-TEA	2,5,7,8-τετραμέθυλο-(2R-(4'R,8'R,12'R τριμεθυλοτριδέκυλο) χρώμανο-6-ύλοξυ) οξικό οξύ
δ-TEA	2,8-διμέθυλο-(2R-(4'R,8'R, 12'R τριμεθυλοτριδέκυλο) χρώμανο-6-ύλοξυ) οξικό οξύ
α-TEB	2,5,7,8- τετραμέθυλο-(2R-(4'R,8'R,12'R τριμεθυλοτριδέκυλο) χρώμανο-6-ύλοξυ) βουτυρικό οξύ
H₃PO₃	φωσφορώδες οξύ
PCl₃	τριχλωριούχος φωσφόρος
CaCl₂	Χλωριούχο ασβέστιο
Ca(NO₃)₂	Νιτρικό ασβέστιο
CsNO₃	Νιτρικό κέσιο
EuCl₃	Χλωριούχο ευρώπιο
Ca₃(PO₄)₂	Φωσφορικό ασβέστιο
2-4-OH-ph-4,5-diphimd	2-(4-υδροξυφαινυλ)-4,5-δифαινυλμιδαζόλη
4-MeO spy	4-μεθοξυ-στυρυλ-πυριδίνη
phspy	φαινυλοστυρυλ-πυριδίνη
spy	[4-(διμεθυλαμινο)-στυρυλ]πυριδίνη
4-4-dsq	[4-(4-διμεθυλαμινο)-στυρυλ]κινολίνη
2-4-dsq	2-(4-διμεθυλαμινοστυρυλ)κινολίνη
phspyMe	(4-υδροξυστυρυλ)-1-μεθυλοπυριδινικό άλας του ιωδίου
phspyac	(4-(4-υδροξυστυρυλ)πυριδινίουμ-1-υλ)οξικό οξύ
4-dsp carba	καρβοξυλικό οξύ της [4-(διμεθυλαμινο)-στυρυλ]πυριδίνης

4-4-dsq carba	καρβοξυλικό οξύ της [4-(4-διμεθυλαμινο)-στυρυλ]κινολίνης
2-4-dsq carba	καρβοξυλικό οξύ της [2-(4-διμεθυλαμινο)-στυρυλ]κινολίνης
brmaleic phspy	2-βρωμο-3-καρβοξυ-3-(4-(4-υδροξυστυρυλ)πυριδινίουμ-1-υλ)προπανοϊκό οξύ
brmaleic spy	2-βρωμο-3-καρβοξυ-3-(4-(4-(διμεθυλαμινο)στυρυλ)πυριδινίουμ-1-υλ)προπανοϊκό οξύ
4-dsp dicarba	δικαρβοξυλικό οξύ της [4-(διμεθυλαμινο)-στυρυλ]πυριδίνης
4-4-dsq dicarba	δικαρβοξυλικό οξύ της [4-(4-διμεθυλαμινο)-στυρυλ]κινολίνης
2-4-dsq dicarba	δικαρβοξυλικό οξύ της [2-(4-διμεθυλαμινο)-στυρυλ]κινολίνης
phspy-brmaleic-α-toc	2-βρωμο-3-καρβοξυ-3-(4-(4-υδροξυστυρυλ)πυριδινίουμ-1-υλ)προπανοϊκός εστέρας α -τοκοφερόλης
α-toc-4-dsp carbe	α -τοκοφερυλο καρβοξυλικός εστέρας της 4-(διμεθυλαμινοστυρυλ)πυριδίνης
γ-toc-4-dsp carbe	γ -τοκοφερυλο καρβοξυλικός εστέρας της 4-(διμεθυλαμινοστυρυλ)πυριδίνης
δ-toc-4-dsp carbe	δ -τοκοφερυλο καρβοξυλικός εστέρας της 4-(διμεθυλαμινοστυρυλ)πυριδίνης
γ-tot-4-dsp carbe	γ -τοκοτριένυλο καρβοξυλικός εστέρας της 4-(διμεθυλαμινοστυρυλ)πυριδίνης
phyt-4-dsp carbe	φύτυλο καρβοξυλικός εστέρας της 4-(διμεθυλαμινοστυρυλ)πυριδίνης
farn-4-dsp carbe	φαρνέσυλο καρβοξυλικός εστέρας της 4-(διμεθυλαμινοστυρυλ)πυριδίνης
α-toc-4-dsp dicarbe	α -τοκοφερυλο δικαρβοξυλικός εστέρας της 4-(διμεθυλαμινοστυρυλ)πυριδίνης
γ-toc-4-dsp dicarbe	γ -τοκοφερυλο δικαρβοξυλικός εστέρας της 4-

	(διμεθυλαμινοστυρυλ)πυριδίνης
δ-toc-4-dsp dicarbe	δ-τοκοφέρυλο δικαρβοξυλικός εστέρας της 4-(διμεθυλαμινοστυρυλ)πυριδίνης
γ-tot-4-dsp dicarbe	γ-τοκοτριένυλο δικαρβοξυλικός εστέρας της 4-(διμεθυλαμινοστυρυλ)πυριδίνης
phyt-4-dsp dicarbe	φύτυλο δικαρβοξυλικός εστέρας της 4-(διμεθυλαμινοστυρυλ)πυριδίνης
farn-4-dsp dicarbe	φαρνέσυλο δικαρβοξυλικός εστέρας της 4-(διμεθυλαμινοστυρυλ)πυριδίνης
α-toc-4-4-dsq dicarbe	α-τοκοφέρυλο δικαρβοξυλικός εστέρας της 4-(4-διμεθυλαμινοστυρυλ)κινολίνης
α-toc-2-4-dsq carbe,	α-τοκοφέρυλο καρβοξυλικός εστέρας της 2-(4-διμεθυλαμινοστυρυλ)κινολίνης
α-toc-2-4-dsq dicarbe	α-τοκοφέρυλο δικαρβοξυλικός εστέρας της 2-(4-διμεθυλαμινοστυρυλ)κινολίνης
XRD	Περίθλαση ακτίνων-X
NMR	Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού
NOESY	Δύο διαστάσεων φασματοσκοπία μαγνητικής σύζευξης μέσω του χώρου (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy)
EXSY	Δύο διαστάσεων φασματοσκοπία ανταλλαγής μαγνητισμού
UV-Vis	Φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού
TLC	χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας
RSC	Ικανότητα αναστολής ελευθέρων ριζών (radical scavenger capacity)
k_{obsd}	Κινητική σταθερά ψευδοπρώτης τάξης
k₂	Κινητική σταθερά δευτέρας τάξης

Έλενα Μαλιτζέζου

1. Εισαγωγή

1.1 Στόχος

Η βιταμίνη E αποτελείται από ένα σύνολο οκτώ υποκατεστημένων υδροκινονικών παραγώγων και παρουσιάζει μεγάλη δραστικότητα ως προς την αναστολή σχηματισμού ελευθέρων ριζών. Παρόλο που έχει σπουδαίες αντιοξειδωτικές ικανότητες και προστατεύει τα κύτταρα και τους βιολογικούς οργανισμούς από τις ελεύθερες ρίζες οι οποίες δημιουργούνται κατά την αναπνοή ή από εξωτερικούς παράγοντες όπως υπεριώδης ακτινοβολία, μόλυνση, ραδιενέργεια κλπ, δεν παρουσιάζει άμεση βιολογική δράση. Ως αποτέλεσμα, ένας μέσου βάρους άνθρωπος, μπορεί να λάβει μεγάλες ποσότητες από την βιταμίνη E > 3 g^[1] χωρίς να παρουσιάζει καμία παρενέργεια ή τοξικότητα.

Αντίθετα έχει βρεθεί ότι τα παράγωγα των τοκοφερολών και τοκοτριενολών (Τόκος) που προκύπτουν από την εστεροποίηση^[2] (ΤοκοΕστέρες) ή αιθεροποίηση^[3] (ΤοκοΑιθέρες) του ελεύθερου οξυγόνου παρουσιάζουν σημαντική βιολογική δράση. Τα μόρια αυτά μπορούν να προκαλούν εκλεκτικά απόπτωση των καρκινικών κυττάρων του παχέως εντέρου, στήθους, προστάτη κλπ.^[3,4] Παράγωγα των Τόκος με σελήνιο έδειξαν ακόμα μεγαλύτερη δραστικότητα όπως επίσης και το ότι με κατάλληλες τροποποιήσεις της ενεργής ομάδας είναι δυνατό να αυξήσουμε την δραστικότητα αλλά και τον στόχο των φαρμάκων αυτών στους βιολογικούς οργανισμούς.^[5] Ο μηχανισμός ο οποίος έχει προταθεί είναι μέσω του κύκλου των κασπασών. Σημαντικό ρόλο στο μηχανισμό δράσης των μορίων αυτών παίζει ο αμφίφιλος χαρακτήρας τους και η ικανότητά τους να συγκεντρώνονται στις λιπιδικές μεμβράνες του κυτοχρώματος c.^[6]

Οι γενικοί στόχοι της εργασίας αυτής είναι τρεις:

I) Η διερεύνηση του μηχανισμού δράσης των ΤοκοΕστέρων και ΤοκοΑιθέρων στα κύτταρα και στους ιστούς με τη χρήση νέων οπτικά ενεργών μορίων. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, οι ΤοκοΕστέρες και οι ΤοκοΑιθέρες παρουσιάζουν σημαντική βιολογική δράση. Η πορεία των μορίων αυτών στα κύτταρα και στον οργανισμό είναι σημαντική για την κατανόηση της δράσης τους και τη σύνθεση δραστικότερων ενώσεων. Συγκεκριμένα,

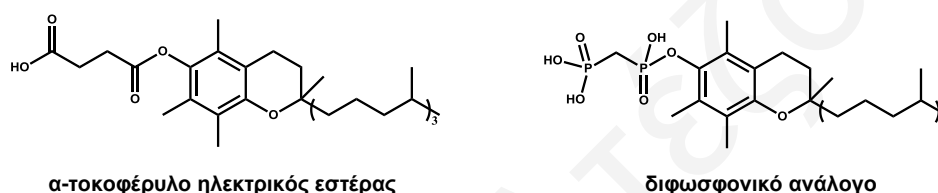
συντέθηκαν νέα μόρια στα οποία προσδέθηκε μία ισχυρά φθορίζουσα ομάδα. Οι ομάδες αυτές σχεδιάστηκαν έτσι ώστε να μπορούν να εκπέμπουν φως σε διάφορα μήκη κύματος του ορατού και υπέρυθρου φάσματος. Σημαντικό ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι τροποποιήσεις των ομάδων αυτών ώστε να εκπέμπουν στην περιοχή του κοντινού υπέρυθρου για να έχουν μεγαλύτερη διεισδυτικότητα εντός των ιστών. Το σχετικά μικρό μέγεθος των οπτικά ενεργών ομάδων αλλά και το θετικό φορτίο του αζώτου κάνει τα μόρια αυτά ιδανικά για τις μελέτες αυτές γιατί: α) το μικρό μέγεθος δεν επηρεάζει δομικά σε σημαντικό βαθμό τα Τόκος και κατά συνέπεια τη δραστηκότητά τους και β) το θετικό φορτίο κάνει τα μόρια αυτά περισσότερο εκλεκτικά στο να στοχεύουν τα μιτοχόνδρια τα οποία είναι αρνητικά φορτισμένα εξωτερικά.^[7]

II) Η σύνθεση και μελέτη παραγώνων των Τοκος με διφωσφονικές ομάδες έτσι ώστε τα μόρια αυτά να στοχεύουν τα οστά και να παρεμποδίζουν την καρκινική μετάσταση.

Πρόσφατες ανεξάρτητες μελέτες έδειξαν ότι ελεύθερα παράγωγα της βιταμίνης E (α- και γ-τοκοφερόλη) έχουν ισχυρή οστεογενετική δράση με παράλληλη προαποπτωτική ικανότητα σε καρκινικές κυτταρικές σειρές από οστικές μεταστάσεις.^[8] Ωστόσο το πρόβλημα που παραμένει όσον αφορά τη χρήση τέτοιων παραγώνων είναι η δράση και η βιοδιαθεσιμότητά τους στο μικροπεριβάλλον των οστών. Τα διφωσφονικά είναι μία σειρά ενώσεων τα οποία έχουν σημαντική αντιοστεολυτική και αντινεοπλασματική δράση.^[9-12] Παρόλο όμως που τα διφωσφονικά είναι αρκετά αποτελεσματικά στο να μειώνουν τον πόνο και να εμποδίζουν παραμορφώσεις του σκελετού λόγω της μετάστασης, δε θεραπεύουν ούτε παρατείνουν την επιβίωση των ασθενών. Κατά συνέπεια είναι αναγκαία μια νέα προσέγγιση στην αντιμετώπιση των οστικών μεταστάσεων, αναπτύσσοντας θεραπείες που θα στοχεύουν επιλεκτικά τα νεοπλασματικά κύτταρα μέσα στο μικροπεριβάλλον του οστού, ενώ ταυτόχρονα θα έχουν άμεση επίδραση στην οστεοκλαστική αποικοδόμηση του οστού.

Η καινοτομία της έρευνας αυτής, έγκειται στο γεγονός ότι για πρώτη φορά στον τομέα της συνθετικής Χημείας συντέθηκαν νέες μεικτές ενώσεις διφωσφονικών οξέων με τα μόρια της βιταμίνης E, ενισχύοντας με τον τρόπο αυτό την αποτελεσματικότητά τους. Στα μεικτά αυτά μόρια συνενώνονται οι ισχυρές αντικαρκινικές ιδιότητες των μορίων της βιταμίνης E μαζί με τις αντιοστεολυτικές ιδιότητες των διφωσφονικών οξέων. Τα διφωσφονικά οξέα, όπως φαίνεται και στο σχήμα 1.1, μοιάζουν με τα δικαρβοξυλικά των οποίων οι εστέρες με τη

βιταμίνη E παρουσιάζουν αντικαρκινική δράση.^[18,13-19] Η επιλεκτική μεταφορά τους στο μικροπεριβάλλον των οστών πραγματοποιείται μέσω της διφωσφονικής λειτουργικής ομάδας λόγω της συγγένειας που έχει με τον υδροξυαπατίτη. Σημαντική παράμετρος είναι ότι και οι δύο ομάδες (διφωσφονικές και βιταμίνη E) είναι μη τοξικές, το κάθε μόριο χορηγείται ως φάρμακο, τα διφωσφονικά για την οστεοπόρωση και η βιταμίνη E ως αντιοξειδωτικό, σε μεγάλες ποσότητες χωρίς σημαντικές παρενέργειες. Τα χαμηλά επίπεδα τοξικότητας των ενώσεων αυτών τα καθιστά «ασφαλή» στα βιολογικά συστήματα ενισχύοντας τη θεραπευτική (π.χ. προαποπτωτική) και ανακουφιστική (π.χ. αντιφλεγμονώδη και αντιοστεολυτική) δράση σε οστικές μεταστάσεις.



Σχήμα 1.1. Χημική δομή εστέρων της βιταμίνης E με δικαρβοξυλικά και διφωσφονικά οξέα αντίστοιχα.

III) Η μελέτη του μηχανισμού πρόσδεσης των διφωσφονικών στα οστά σε σχέση με τη δομή τους. Η βιολογική δραστηριότητα των διφωσφονικών εξαρτάται αποκλειστικά από τη δομή, την τρισδιάστατη διάταξη της πλευρικής τους αλυσίδας στο χώρο και το pH. Η διαπίστωση αυτή καθιστά το δομικό χαρακτηρισμό ως το σημαντικότερο πλέον εργαλείο όσο αφορά το μηχανισμό δέσμευσης στα οστά, την επίδραση στα κύτταρα αλλά και το σχεδιασμό νέων και πιο δραστικών ενώσεων. Για το λόγο αυτό πραγματοποιήθηκε συμπλοκοποίηση διφωσφονικών υποκαταστατών με το ασβέστιο με σκοπό τη μελέτη της συμπεριφοράς τους στο μικροπεριβάλλον των οστών. Καθοριστικό ρόλο στην τελική μορφή του συμπλόκου φαίνεται να παίζει το pH αφού σε όξινες συνθήκες παρατηρείται αλλαγή στον τρόπο δέσμευσης του ασβεστίου με τα διφωσφονικά. Για το λόγο αυτό επιλέχθηκε για πρώτη φορά η μελέτη της συμπλοκοποίησης σε χαμηλό pH αφού στα υποξικά καρκινικά κύτταρα επικρατεί όξινο περιβάλλον.^[20] Η απομόνωση διφωσφονικών συμπλόκων ασβεστίου αποτελεί καινοτομία στην κατανόηση της βιοχημικής, της αντιοστεολυτικής και της αντικαρκινικής δράσης των ενώσεων αυτών. Σε πρόσφατες μελέτες, αρκετές ερευνητικές ομάδες έχουν χρησιμοποιήσει χρωματογραφικές και άλλες μεθόδους για να διερευνήσουν τον τρόπο με τον

οποίο τα διφωσφονικά δεσμεύονται με τον υδροξυαπατίτη.^[21-23] Ωστόσο, επειδή το οστό περιέχει 25-40% πρωτεΐνη (κυρίως κολλαγόνο) και επειδή υπάρχουν μόνο σχετικά χαμηλά επίπεδα υδροξυαπατίτη^[24, 25] (το κύριο συστατικό είναι ο ανθρακικός απατίτης), είναι σημαντικό να εξεταστεί μ' ένα πιο άμεσο τρόπο ο μηχανισμός πρόσδεσης των διφωσφονικών στα οστά. Επιπλέον, οι χρωματογραφικές μέθοδοι δεν παρέχουν κάποια άμεση πληροφόρηση σχετικά με την πρωτονιωμένη κατάσταση των διφωσφονικών. Η μελέτη του μηχανισμού δέσμευσης των διφωσφονικών στα οστά παρουσιάζει επίσης ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τη χρήση τους ως αντιφλεγμονώδη, όπου γενικά η οστική δέσμευση θα μπορούσε να μειώσει την αποτελεσματικότητά τους.

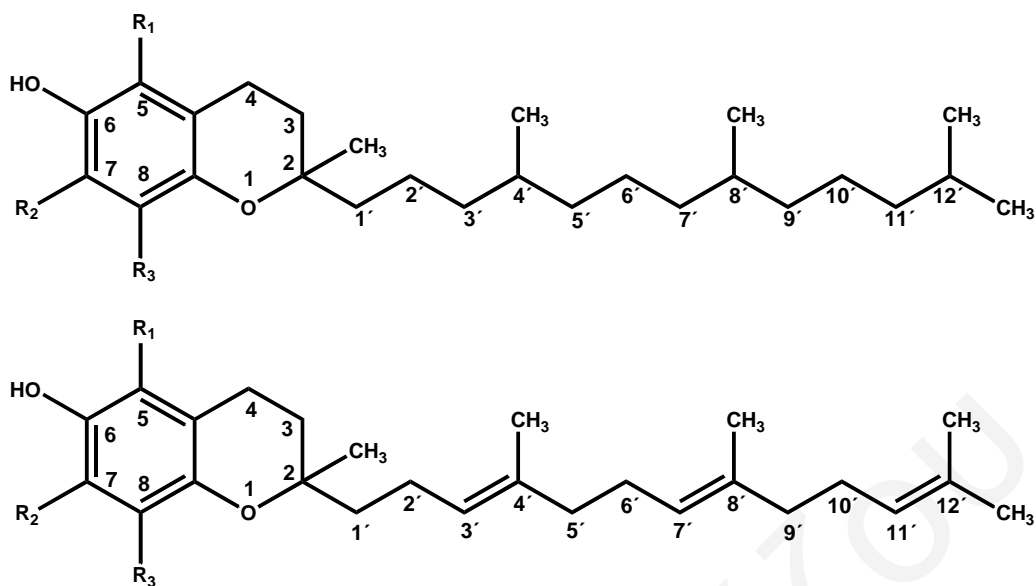
Τα αποτελέσματα της διατριβής αυτής είναι σημαντικά και πρωτοπόρα και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για το σχεδιασμό και τη σύνθεση ισχυρών αντικαρκινικών φαρμάκων. Τα νέα φθορίζοντα μόρια μετά από προσεκτικό σχεδιασμό παραμένουν σταθερά στα βιολογικά μέσα, το φως που εκπέμπουν ελέγχεται συνθετικά και έδειξαν ότι εκλεκτικά στοχεύουν τα μιτοχόνδρια στα κύτταρα. Η δομή των διφωσφονικών ενώσεων έδειξε επίσης ότι σχετίζεται με την ικανότητά τους να δεσμεύουν το ασβέστιο. Η βιολογική δράση των μορίων αυτών αυξάνεται με την μείωση της ικανότητας δέσμευσης του ασβεστίου. Σε σχέση με την δομή των Τόκος, οι τοκοτριενόλες φαίνεται να παρουσιάζουν υψηλότερη βιολογική δράση από τις τοκοφερόλες. Αυτό είναι αντίστροφο της αντιοξειδωτικής τους δράσης ενισχύοντας την άποψη ότι οι υποκατεστημένες φαινόλες δρουν ως προοξειδωτικά.

1.2 Βιταμίνη E

Η βιταμίνη E ανακαλύφθηκε το 1922 από τους Evans και Bishop.^[26] Οι δύο αυτοί επιστήμονες χορηγούσαν στα πειραματόζωα τους μία συγκεκριμένη διατροφή απαλλαγμένη από λαχανικά και παρατήρησαν ένα σύνδρομο ανεπάρκειας στα θηλυκά πειραματόζωα, του οποίου κύρια χαρακτηριστικά ήταν η θνησιμότητα και η αποβολή των εμβρύων. Από τη στιγμή που συμπλήρωσαν τη διατροφή των πειραματόζωων με λαχανικά, παρατήρησαν ότι αναιρέθηκαν τα συμπτώματα αυτά και οδηγήθηκαν στο συμπέρασμα ότι τα λαχανικά περιέχουν ένα ειδικό παράγοντα υπεύθυνο για τις παρατηρήσεις αυτές. Η πολλαπλή δομή της βιταμίνης E άρχισε να εμφανίζεται το 1936 όταν δύο ουσίες που είχαν την ίδια δραστικότητα με την βιταμίνη E απομονώθηκαν από το σιτάλευρο και χαρακτηρίστηκαν.^[27] Τα μόρια αυτά ονομάστηκαν σαν α- και β- τοκοφερόλη (α-τοc, β-τοc) που προέρχεται από τις ελληνικές λέξεις «τοκετός» και «φέρω» + «αλκοόλη». Στα επόμενα χρόνια είχαν απομονωθεί από φυτικά έλαια δύο επιπλέον τοκοφερόλες καθώς και οι τοκοτριενόλες, με αποτέλεσμα σήμερα να είναι γνωστές τέσσερις τοκοφερόλες και τέσσερις τοκοτριενόλες που αποτελούν τη βιταμίνη E.^[28-30] Το 1968 η American Food Nutrition Board αναγνώρισε επίσημα τη βιταμίνη E, ενώ μέχρι τότε οι επιστήμονες είχαν ανακαλύψει το σημαντικό ρόλο της σαν αντιοξειδωτικό στην προστασία της ακεραιότητας των ιστών και στην εξέλιξη της ζωής.

1.2.1 Δομή τοκοφερολών και τοκοτριενολών

Σε αντίθεση με άλλες βιταμίνες που χαρακτηρίζονται από μία χημική δομή η βιταμίνη E αποτελείται από δύο ομάδες λιποδιαλυτών μορίων, τις τοκοφερόλες και τις τοκοτριενόλες. Οι ενώσεις και των δύο ομάδων είναι παράγωγα της 6-χρωμανόλης. Οι τοκοφερόλες φέρουν στο μόριο τους μία κορεσμένη αλειφατική πλευρική αλυσίδα 16 ατόμων άνθρακα στην οποία εντοπίζονται τρία ασύμμετρα κέντρα στις θέσεις 2, 4' και 8' (Σχήμα 1.2). Η αλειφατική αλυσίδα στις τοκοτριενόλες είναι ακόρεστη με διπλούς δεσμούς στις θέσεις 3', 7' και 11'. Τα συστατικά κάθε ομάδας χαρακτηρίζονται σαν α, β, γ και δ ανάλογα με τον αριθμό και τη θέση των μεθυλομάδων στον αρωματικό δακτύλιο.^[31]



Τοκοφερόλη/Τοκοτριενόλη

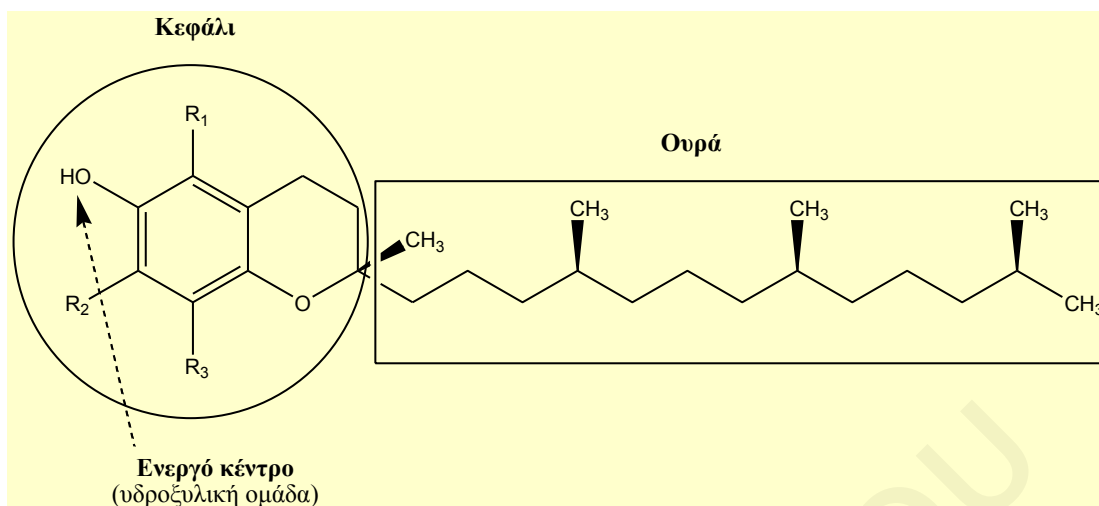
	R ₁	R ₂	R ₃
α-	CH ₃	CH ₃	CH ₃
β-	CH ₃	H	CH ₃
γ-	H	CH ₃	CH ₃
δ-	H	H	CH ₃

Σχήμα 1.2. Χημικές δομές τοκοφερολών και τοκοτριενολών.

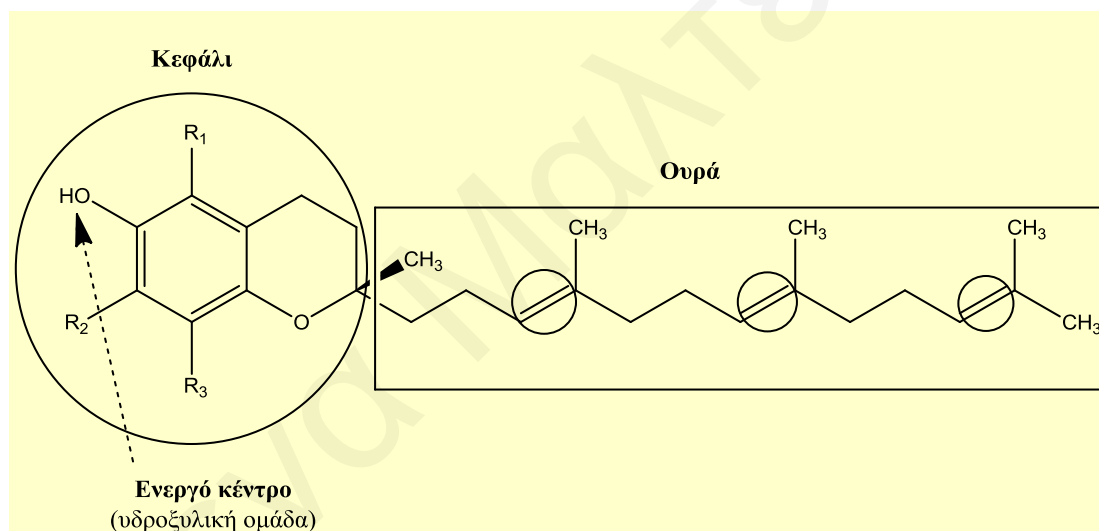
Η δομή των τεσσάρων τοκοφερολών και των τεσσάρων τοκοτριενολών αποτελείται από ένα μεγάλο κεφάλι και μια μακριά ουρά (Σχήματα 1.3 και 1.4).^[32]

Και οι οκτώ ενώσεις μοιράζονται σημαντικά γνωρίσματα:

- Το κεφάλι, ή τον δακτύλιο της χρωμανόλης
- Την ουρά-αλειφατική αλυσίδα
- Την ενεργή ομάδα στο κεφάλι του μορίου-υδροξυλομάδα

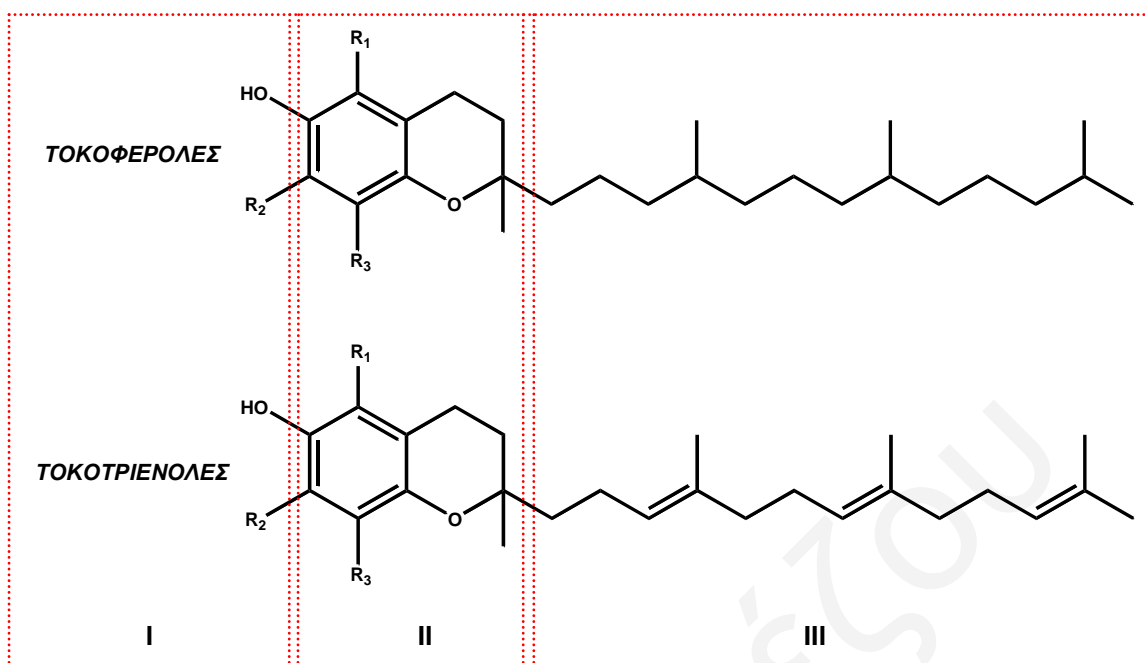


Σχήμα 1.3. Το μόριο της τοκοφερόλης έχει ένα κεφάλι και μία ουρά.



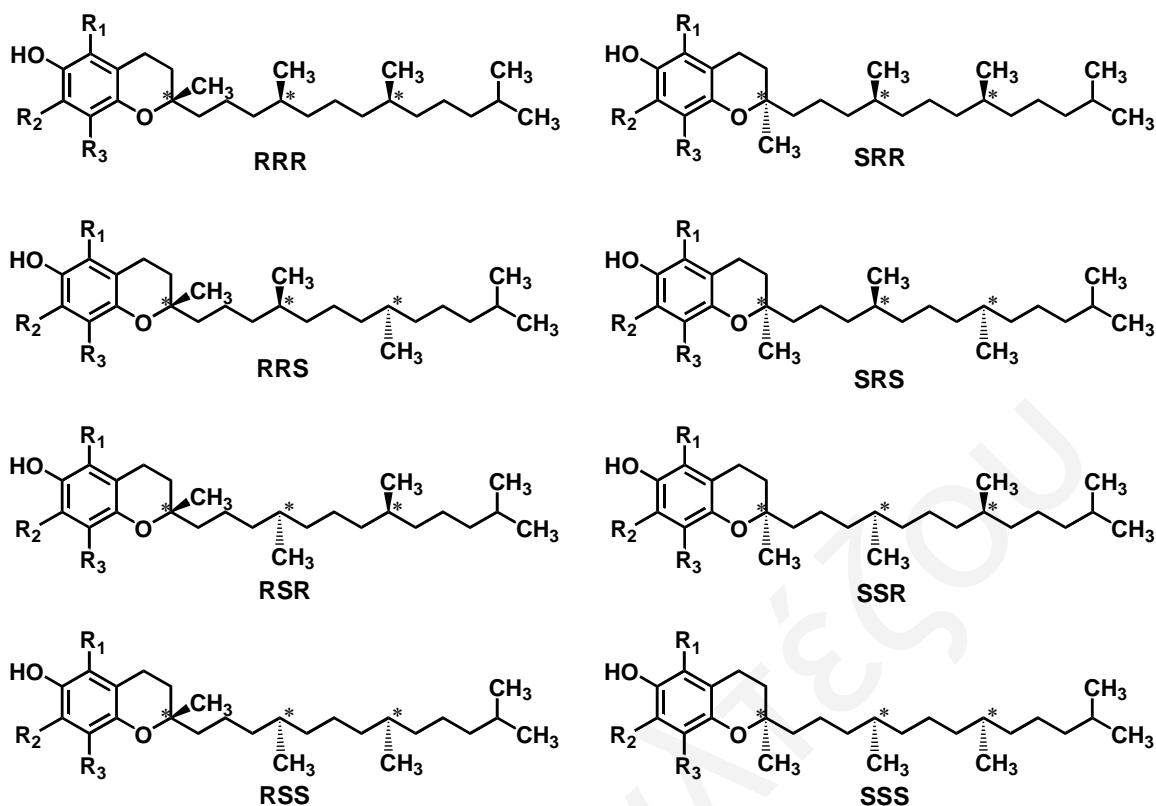
Σχήμα 1.4. Το μόριο της τοκοτριενόλης. Η διαφορά μεταξύ των τοκοτριενολών και των τοκοφερολών είναι στην ουρά. Οι τοκοτριενόλες έχουν τρεις διπλούς δεσμούς.

Τα συστατικά της βιταμίνης Ε αποτελούνται από τρεις κύριες υπομονάδες χαρακτηρισμένες σαν **(I)** λειτουργική περιοχή που περιέχει την υδροξυλομάδα, **(II)** περιοχή σηματοδότησης που αποτελείται από τον αρωματικό δακτύλιο της χρωμανόλης και ενεργοποιείται με εστεροποίηση του φαινολικού οξυγόνου από καρβοξυλικά οξέα,^[13, 33] και **(III)** υδρόφοβη αλειφατική αλυσίδα που είναι υπεύθυνη για τη μεταφορά των μορίων στις λιποπρωτεΐνες και τις λιπιδικές μεμβράνες (Σχήμα 1.5).^[34]



1.5. Κύριες περιοχές στη δομή των συστατικών της βιταμίνης E.

Τα περισσότερα συστατικά της βιταμίνης E διατίθενται εμπορικά σε φυσική μορφή. Μόνο η α -toc είναι διαθέσιμη στην αγορά τόσο σε φυσική όσο και σε συνθετική μορφή. Η βιοσύνθεση των τοκοφερολών στη φύση αποδίδει μόνο το (R, R, R) στερεοϊσομερές. Για παράδειγμα η α -toc που προέρχεται από φυσικές πηγές είναι η $2R, 4R', 8R'$ - α -toc. Αντίθετα, η α -toc που παράγεται από χημική σύνθεση αποτελεί ισομοριακό ρακεμικό μείγμα οκτώ ισομερών (Σχήμα 1.6).



Σχήμα 1.6. Στερεοϊσομερή α -τοκοφερόλης.

1.2.2 Παρουσία στη διατροφή

Η βιταμίνη E είναι απαραίτητο στοιχείο για τον ανθρώπινο οργανισμό το οποίο λαμβάνεται μέσω της διατροφής και συμπληρωμάτων. Η συνιστώμενη ημερήσια δόση κυμαίνεται ανάμεσα σε 8 και 10 mg. Τα οκτώ ισομερή της βιταμίνης E είναι ευρέως διαδεδομένα στη φύση και αντίθετα με τις υδατοδιαλυτές βιταμίνες εμφανίζονται σε τροφές που περιέχουν λίπη και έλαια. Η συγκέντρωση της βιταμίνης E στα φυτά ποικίλει από 4-160 $\mu\text{g/g}$ φυτού. Η κυριότερη πηγή της φυσικής βιταμίνης E είναι τα φυτικά έλαια. Οι σπόροι του ηλιотροπίου περιέχουν σχεδόν αποκλειστικά την α -toc σαν μοναδικό ισομερές. Οι τοκοφερόλες βρίσκονται σε μεγαλύτερη αφθονία στα έλαια που εξάγονται από σπόρους όπως είναι η σόγια, το καλαμπόκι, το βαμβάκι και ο ηλίανθος. Η γ -τοκοφερόλη (γ -toc) είναι η επικρατέστερη στο σογιέλαιο και καλαμποκέλαιο. Οι τοκοτριενόλες εμφανίζονται στα έλαια που εξάγονται από δημητριακά όπως είναι το ρύζι, το κριθάρι, η σίκαλη και το σιτάρι καθώς και στα φοινίκια. ^[35]

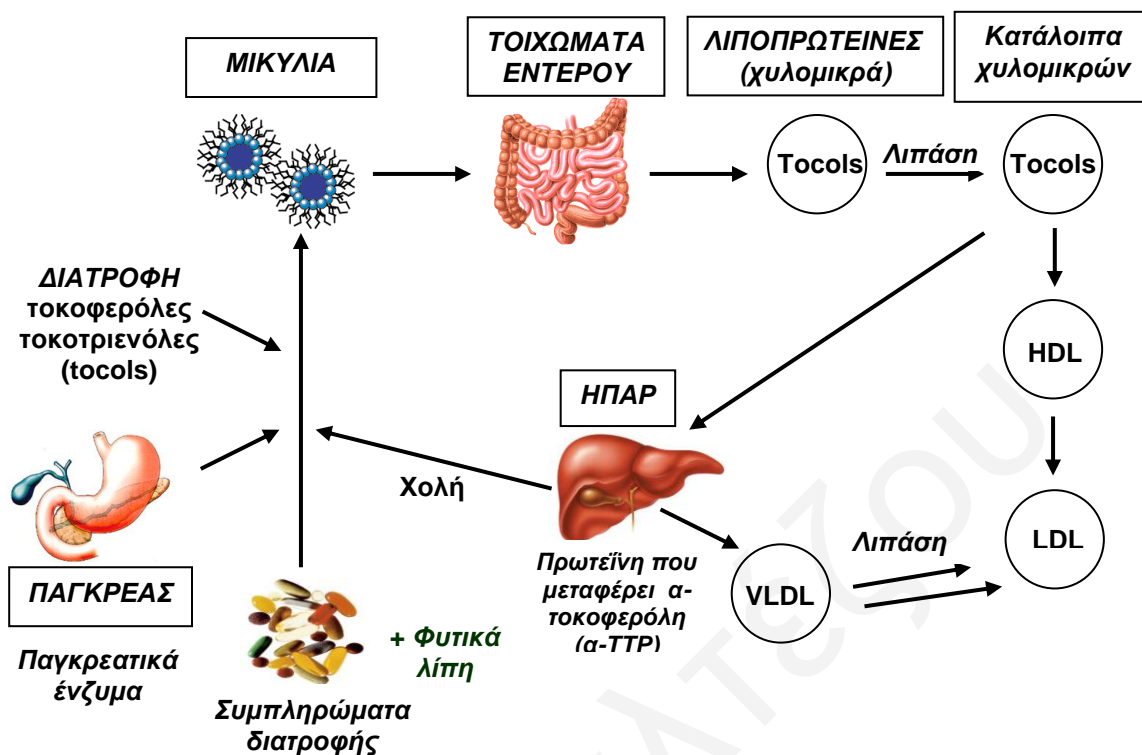
Η ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της αναλογίας των τοκοφερολών και της ποσότητας των ακόρεστων λιπαρών οξέων στα φυτικά έλαια δείχνει ότι η βιταμίνη E αποτελεί το κυριότερο

αντιοξειδωτικό στους φυτικούς ιστούς. Αντίθετα με τα φυτά, οι ιστοί των θηλαστικών περιέχουν σχεδόν αποκλειστικά α-τοc. Η μεγαλύτερη ποσότητα α-τοc εμφανίζεται στο λιπώδη ιστό (150 μg/g), ενώ στα ερυθροκύτταρα η συγκέντρωση της είναι σχετικά χαμηλή (2μg/g).^[35, 36]

Τα συστατικά της βιταμίνης E απομονώνονται από τη διατροφή χρησιμοποιώντας απόσταξη υψηλού κενού. Μείγμα τοκοφερολών / τοκοτριενολών αποστάζεται και συμπυκνώνεται από φυτικά έλαια.^[13, 14] Τα φυτικά έλαια αποτελούνται από τοκοφερόλες / τοκοτριενόλες, φυτικά λίπη, στερόλες, μονο-, δι- και τριγλυκερίδια. Η μέθοδος αποτελείται από μία σειρά αποστάξεων όπου τα συστατικά με χαμηλότερο και ψηλότερο σημείο ζέσεως από τις τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες διαχωρίζονται από αυτές. Απομόνωση των καθαρών συστατικών πραγματοποιείται με χρωματογραφία έκλουσης σε στήλη.

1.2.3 Απορρόφηση, μεταφορά και βιοδιαθεσιμότητα

Η βιταμίνη E, εξαιτίας της υδροφοβικότητάς της, απαιτεί ειδικούς μηχανισμούς μεταφοράς στο υδατικό περιβάλλον του πλάσματος, των υγρών του σώματος και των κυττάρων. Οι τοκοφερόλες απορροφούνται μέσω της ίδιας οδού όπως και άλλα μη πολικά λιπίδια όπως για παράδειγμα η χοληστερόλη και τα τριγλυκερίδια (Σχήμα 1.7). Τα λίπη που λαμβάνονται μέσω της διατροφής βοηθούν στην παραγωγή λιπασών (παγκρεατικά ένζυμα) και χολής που είναι απαραίτητα για την απορρόφηση της βιταμίνης E. Η χολή που παράγεται από το ήπαρ γαλακτοματοποιεί τις τοκοφερόλες μαζί με άλλα λιποδιαλυτά συστατικά της διατροφής. Η λιπόλυση και γαλακτοματοποίηση των παραγόμενων λιπιδικών σταγονιδίων οδηγεί στον αυθόρμητο σχηματισμό μικυλίων, τα οποία απορροφούνται στην εξωτερική μεμβράνη του εντερικού βλεννογόνου με παθητική διάχυση. Οι τοκοφερόλες απορροφούνται από το λεπτό έντερο και εκκρίνονται στα χυλομικρά (λιποπρωτεΐνες) που παράγονται στο εντερικό τοίχωμα.



Σχήμα 1.7. Απορρόφηση και μεταφορά τοκοφερολών και τοκοτριενολών στον οργανισμό.

Οι λιποπρωτεϊνικές λιπάσες καταβολίζουν τα χυλομικρά γρήγορα, ενώ ταυτόχρονα υπάρχει πιθανότητα να μεταφέρεται μία μικρή ποσότητα τοκοφερολών από τα υπολείμματα των χυλομικρών σε άλλες λιποπρωτεΐνες ή ιστούς. Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας μία ειδική πρωτεΐνη που ονομάζεται απολιποπρωτεΐνη E συνδέεται στα υπολείμματα των χυλομικρών. Επειδή το ήπαρ έχει ειδικούς υποδοχείς για την απολιποπρωτεΐνη E, κατακρατεί την πλειοψηφία των υπολειμμάτων αυτών. Οι τοκοφερόλες που βρίσκονται στα υπολείμματα των χυλομικρών εκκρίνονται στις VLDL (**very low-density lipoproteins**) και κυκλοφορούν στο πλάσμα. Οι VLDL υδρολύονται από τη λιποπρωτεϊνική λιπάση και σχηματίζουν τις LDL (**low-density lipoproteins**) οι οποίες μεταφέρουν το μεγαλύτερο ποσοστό τοκοφερολών του πλάσματος και φαίνεται να τις ανταλλάζουν εύκολα με τις HDL (**high-density lipoproteins**).^[32]

Η απορρόφηση των τοκοτριενολών είναι παρόμοια με αυτή των τοκοφερολών. Η μεταφορά και η εισαγωγή στους ιστούς, όμως, φαίνεται να διαφέρει από την α-toc. Οι τοκοτριενόλες εξαφανίζονται από το πλάσμα με τη λιπόλυση των χυλομικρών και αποθηκεύονται με τα τριγλυκερίδια στο λιπώδη ιστό.^[39, 40] Ο ανθρώπινος οργανισμός και οι ιστοί περιέχουν

τουλάχιστο 2-3 φορές περισσότερη α - από γ -toc, παρόλο που η τυπική αμερικάνικη διατροφή περιέχει περισσότερη γ - από α -toc. Η συγκέντρωση των τοκοτριενολών στο πλάσμα και στους ιστούς είναι το ίδιο χαμηλή συγκριτικά με την α -toc. Όλα τα συστατικά της βιταμίνης E απορροφούνται εξίσου καλά. Ωστόσο, αντίθετα με τη μη ειδική εισαγωγή της βιταμίνης E από τα ηπατικά κύτταρα, η ειδική μεταφορική πρωτεΐνη α -TTP (α -tocopherol transfer protein) δεσμεύει εκλεκτικά την α -toc και τη μεταφέρει στις VLDL. Η α -TTP έχει βρεθεί ότι παρουσιάζει στερεοεκλεκτικότητα για το αφθονότερο ισομερές της βιταμίνης E, την RRR- α -toc.^[41-43] Σαν αποτέλεσμα του ειδικού αυτού μηχανισμού μεταφοράς, μεγάλες ποσότητες φυσικών και συνθετικών ισομερών της α -toc αποκλείονται από το πλάσμα και απεκκρίνονται με τη χολή.^[44]

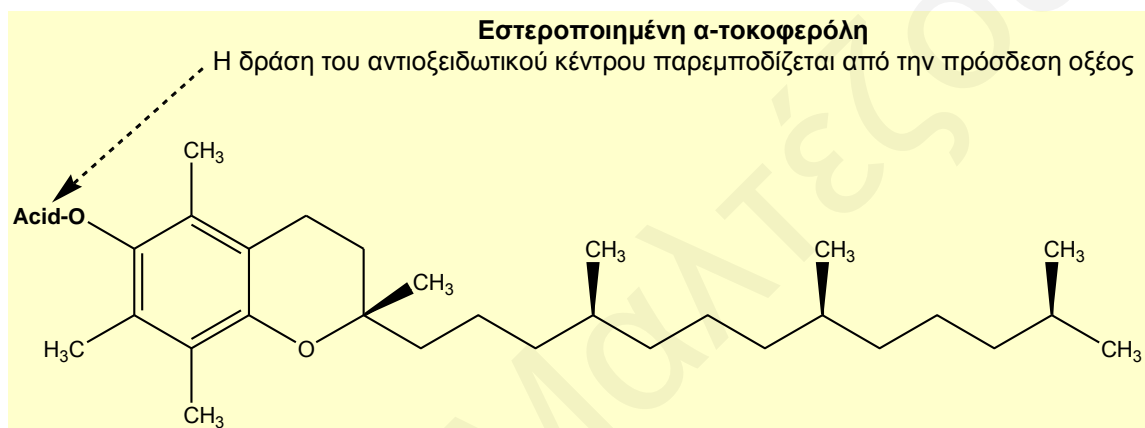
1.2.4 Παράγωγα της βιταμίνης E

Πρωτότυπα παράγωγα της βιταμίνης E έχουν αναγνωρισθεί σαν υποσχόμενοι αντικαρκινικοί παράγοντες.^[21-23] Προηγούμενες επιδημιολογικές παρατηρήσεις που επιχείρησαν να αποδώσουν πιθανή αντικαρκινική δράση στη βιταμίνη E απέτυχαν να δείξουν μεγάλη συσχέτιση με την ασθένεια του καρκίνου.^[24, 25] Η μικρή ή καθόλου συσχέτιση των συστατικών της βιταμίνης E με τον καρκίνο, ίσως να οφείλεται στο γεγονός ότι τα επίπεδα του διατροφικού αυτού παράγοντα στο αίμα και τους ιστούς μπορούν να διαμορφωθούν μόνο οριακά από τη διατροφή.^[41] Σε αντίθεση με τη βιταμίνη E, εστέρες των συστατικών της παρουσιάζουν αντικαρκινική δράση σε μια ποικιλία καρκινικών κυτταρικών σειρών, προκαλώντας απόπτωση.^[16, 50] Για παράδειγμα η ηλεκτρική- α -τοκοφερόλη (sa- α -toc)-που είναι ο εστέρας της α -toc με το ηλεκτρικό οξύ-έχει βρεθεί να εμποδίζει την ανάπτυξη αρκετών καρκινικών κυτταρικών σειρών αναστέλλοντας τη σύνθεση του DNA και επάγοντας απόπτωση αποτελεσματικότερα από την α -toc.^[8, 13, 14, 16, 17, 19, 51]

Όπως είδαμε προηγουμένως, τα οκτώ συστατικά της βιταμίνης E έχουν στη λειτουργική περιοχή της δομής τους μία υδρόξυλο ομάδα. Όλα αυτά τα μόρια αποτελούν ισχυρά αντιοξειδωτικά εξαιτίας της ικανότητας τους να αποδίδουν το άτομο του υδρογόνου της υδρόξυλομάδας σε οξειδωτικά μόρια, όπως είναι για παράδειγμα οι ελεύθερες ρίζες. Ωστόσο η πλειοψηφία των μορίων αυτών δεν είναι ικανά να επάγουν απόπτωση σε καρκινικά κύτταρα.^[52] Αυτός είναι και ο κύριος λόγος που αρκετοί ερευνητές έστρεψαν το ενδιαφέρον

τους σε δομικές αλλαγές στη λειτουργική περιοχή των συστατικών της βιταμίνης E, μέσω εστεροποίησης, με σκοπό την προσθήκη αποπρωτικής ικανότητας στα μόρια αυτά.^[19, 52]

Ένα σημαντικό μειονέκτημα της χρήσης των ελεύθερων συστατικών της βιταμίνης E για θεραπευτικούς σκοπούς είναι το γεγονός ότι η έκθεση τους σε συνθήκες που προκαλούν οξείδωση όπως οξυγόνο, ελεύθερες ρίζες, ακτινοβολία, ψηλές θερμοκρασίες και μέταλλα όπως ο σίδηρος και ο χαλκός οδηγεί στην καταστροφή τους. Η εστεροποίηση της βιταμίνης E την καθιστά σταθερότερη (Σχήμα 1.8).^[32]



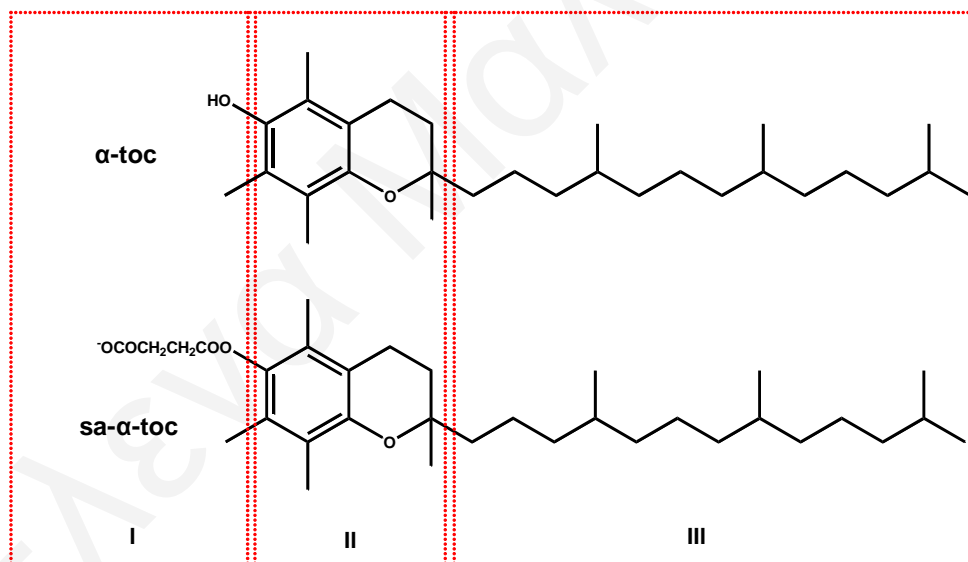
Σχήμα 1.8. Εστεροποιημένη μορφή της α-τοκοφερόλης.

Στο εμπόριο χρησιμοποιούνται διάφορα παράγωγα της α-τοc, όπως είναι η ηλεκτρική α-τοκοφερόλη (sa-α-toc) και η οξική τοκοφερόλη. Τα οξέα που χρησιμοποιούνται για την «προστασία» της βιταμίνης E είναι ασφαλή για τον οργανισμό και προστατεύουν την τοκοφερόλη χωρίς να την καταστρέφουν. Επιπρόσθετα, στα έντερα μας υπάρχουν εξειδικευμένα ένζυμα, οι εστεράσες, τα οποία διασπούν το εστερικό δεσμό αποκρίνοντας το οξύ. Ως εκ τούτου, η αντιοξειδωτική τοκοφερόλη ελευθερώνεται στον οργανισμό.

1.2.4.1 Ηλεκτρική- α -τοκοφερόλη (sa- α -toc)

1.2.4.1.1 Δομή

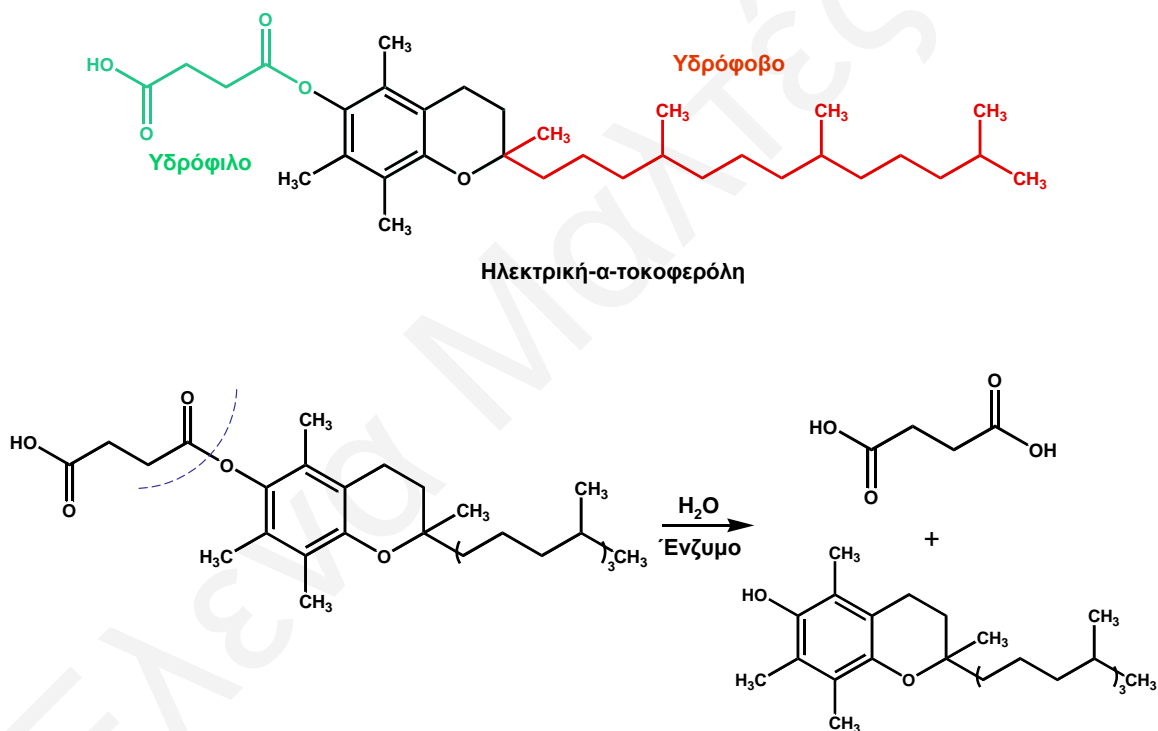
Η α -toc και sa- α -toc έχουν παρόμοια χημική δομή, διαφέρουν μόνο στην υποκατάσταση της υδροξυλομάδας πάνω στο χρωμανολικό δακτύλιο (Σχήμα 1.9). Επομένως, οι περιοχές II και III είναι ακριβώς οι ίδιες στα δύο μόρια, ενώ η περιοχή I διαφέρει. Η περιοχή III (υδρόφοβη αλυσίδα) είναι υπεύθυνη για τη μεταφορά των μορίων στις λιποπρωτεΐνες και στις λιπιδικές μεμβράνες.^[34] Η περιοχή II (περιοχή σηματοδότησης) ενεργοποιεί την αποπτωτική ακολουθία της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC) και της πρωτεϊνικής φωσφατάσης 2A (PP2A).^[6] Τέλος, η περιοχή I (λειτουργική ομάδα) καθορίζει την δραστικότητα της βιταμίνης E στο μόριο της α -τοκοφερόλης. Η παρουσία του υδροξυλίου εξασφαλίζει ουσιαστικά στο μόριο ισχυρή οξειδοαναγωγική ενεργότητα.^[53] Από την άλλη, η ηλεκτρική μονάδα δίνει στο μόριο της ηλεκτρικής α -τοκοφερόλης την ικανότητα να επάγει απόπτωση.^[6, 45]



Σχήμα 1.9. Κύριες περιοχές στη δομή των παραγώγων της βιταμίνης E.

1.2.4.1.2 Βιοχημική δράση

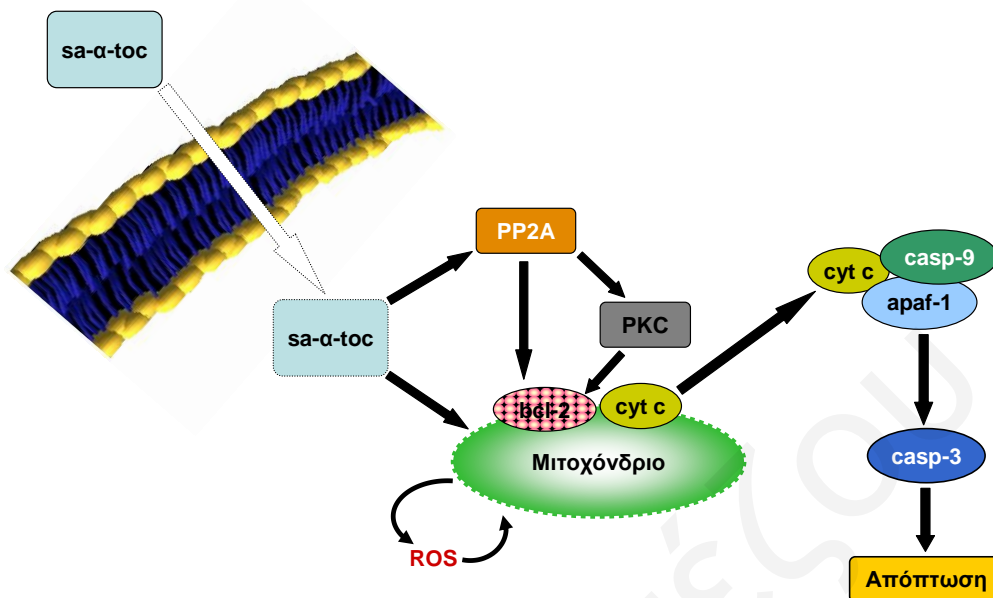
Η αντιοξειδωτική δράση των εστεροποιημένων μορίων είναι μειωμένη λόγω σχηματισμού σταθερού δεσμού με το ενεργό φαινολικό οξυγόνο. Επομένως, η αντικαρκινική δράση της sa- α -toc *in vitro*, που δεν παρατηρείται στην α -toc, μπορεί να αποδοθεί στη δομική τροποποίηση του μορίου της α -toc από τον ηλεκτρικό εστερικό δεσμό που την καθιστά ικανή να αλληλεπιδρά με διαφορετικό τρόπο στα βιολογικά συστήματα.^[50] Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, στον οργανισμό υπάρχουν τα ένζυμα εστεράσες, οι οποίες καταλύουν την υδρόλυση των εστερικών δεσμών. Συνεπώς, η sa- α -toc υδρολύεται *in vivo* με απομάκρυνση του οξέος και ελευθερώνεται η δραστική α -toc με αποτέλεσμα να διατηρείται έτσι η αντιοξειδωτική της δράση (Σχήμα 1.10).



1.2.4.1.3 Μηχανισμός δράσης

Ο πιθανός μηχανισμός δράσης των παραγώγων της βιταμίνης E στην επαγωγή απόπτωσης παρουσιάζεται στο Σχήμα 1.11. Απαραίτητο στοιχείο για την επαγωγή απόπτωσης είναι η παρουσία της ελεύθερης καρβοξυλικής ομάδας στο φαινολικό δακτύλιο. Επίσης, η υδροφοβικότητα των παραγώγων της βιταμίνης E τα καθιστά ικανά να αλληλεπιδρούν με τις βιολογικές μεμβράνες. Ένα αξιοσημείωτο γεγονός στην επαγωγή απόπτωσης από την sa- α -toc είναι η παραγωγή ενεργών μορίων οξυγόνου (ROS). Τα ROS περιλαμβάνουν ένα μεγάλο αριθμό χημικά δραστικών μορίων που προέρχονται από το οξυγόνο.^[54-57] Παραδείγματα ελευθέρων ριζών οξυγόνου είναι το ανιόν της ρίζας οξυγόνου ($O_2^{\cdot-}$), η ρίζα υδροξυλίου (OH^{\cdot}), οι υπεροξειδικές ρίζες (ROO^{\cdot}), οι αλκόξυ ρίζες (RO^{\cdot}), και η ρίζα υδροϋπεροξειδίου (HO_2^{\cdot}). Τα ROS φαίνεται να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο για τη ζωή και τη βιολογική ανάπτυξη του οργανισμού λόγω των ευεργητικών τους λειτουργιών.^[58] Όταν τα μακροφάγα ενεργοποιούνται, παράγουν ROS σε τέτοιες ποσότητες ώστε να σκοτώνουν τους ανεπιθύμητους μικροοργανισμούς που εισέρχονται στον οργανισμό. Επομένως είναι απαραίτητα στοιχεία για την άμυνα του οργανισμού έναντι των βακτηρίων.^[59, 60] Μία άλλη σημαντική λειτουργία των ROS, είναι η συμμετοχή τους στις αποπτωτικές ακολουθίες μετάδοσης σημάτων.^[61] Αυτό μπορεί να συμβεί μέσω της αποπτωτικής οδού των μιτοχονδρίων, όπου με την απελευθέρωση του κυτοχρώματος c (cyt c) μεταφέρονται ηλεκτρόνια από το συνένζυμο NADH (νικοταμιδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο, ανηγμένη μορφή), οδηγώντας στη παραγωγή ριζών. Τα παράγωγα αυτά καταστρέφουν το DNA, των μη λειτουργικών και ήδη γηρασμένων κυττάρων και τα οδηγούν τελικά στην απόπτωση. Επομένως, τα ROS συμβάλλουν στη διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της απόπτωσης για τη φυσιολογική ανάπτυξη του οργανισμού.

Παρόλο που η υπόθεση ότι η παραγωγή των ROS φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην επαγωγή απόπτωσης από την sa- α -toc ίσως να μη φαίνεται πρωτότυπη, εξασφαλίζει μία σημαντική γνώση σχετικά με το μηχανισμό της απόπτωσης που επάγεται από τα παράγωγα της βιταμίνης E. Η εντυπωσιακή διαφορά μεταξύ των παραγώγων της βιταμίνης E που προκαλούν απόπτωση, όπως η sa- α -toc, και των αντίστοιχων ελεύθερων συστατικών έγκειται στο γεγονός ότι τα τελευταία είναι αναστολείς ριζών ενώ τα πρώτα προάγουν την παραγωγή ROS.^[62, 63] Το μέρος του κυττάρου όπου παράγονται και δρουν τα ROS είναι τα μιτοχόνδρια.^[33, 64, 65]



Σχήμα 1.11. Ακολουθίες μετάδοσης σημάτων που λαμβάνουν χώρα κατά την επαγωγή απόπτωσης από την sa-α-toc.

Ο Weber και οι συνεργάτες^[33] του έχουν αποδείξει μέσω φασματοσκοπίας EPR την παραγωγή ROS σε κύτταρα που επώαστηκαν με sa-α-toc αντίθετα με την ελεύθερη α-toc. Συνεπώς, η φορτισμένη ηλεκτρική μονάδα της sa-α-toc ($pK_a < 6$) σχετίζεται άμεσα με την παραγωγή ROS και την αποσταθεροποίηση της μιτοχονδριακής μεμβράνης. Η αποσταθεροποίηση των μιτοχονδρίων οδηγεί στην απελευθέρωση προ-αποπτωτικών παραγόντων όπως το cyt c. Το cyt c προκαλεί ενεργοποίηση της κασπάσης-9 η οποία με τη σειρά της θα ενεργοποιήσει την κασπάση-3 που τελικά θα οδηγήσει στην επαγωγή απόπτωσης, με την προαγωγή καταστροφικών επιδράσεων στο DNA (Σχήμα 1.11). Σημαντικό ρόλο στην επαγωγή απόπτωσης φαίνεται να παίζει και η υδρόφοβη αλυσίδα (περιοχή III), αφού η απομάκρυνση της από τα ενεργά εστεροποιημένα παράγωγα τα καθιστά εντελώς ανενεργά όσον αφορά την ικανότητα επαγωγής απόπτωσης.^[19]

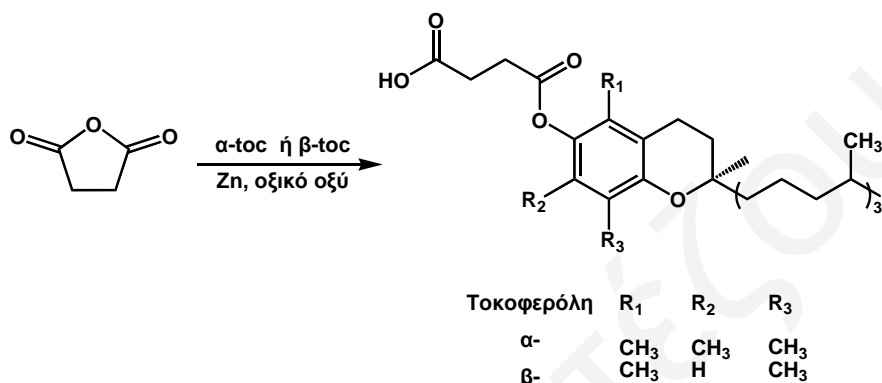
Επιπρόσθετα, η μονάδα της α-toc στο μόριο αυτό, συμμετέχει σε κυτταρικές ακολουθίες μετάδοσης σημάτων, μέσω αναστολής της PKC όπως έχει φανεί σε αρκετούς κυτταρικούς τύπους.^[66-68] Η αναστολή της PKC προκαλείται μέσω ενεργοποίησης της πρωτεϊνικής φωσφατάσης PP2A που οδηγεί στην αποφωσφορυλίωση της PKC.^[69] Η PKC είναι υπεύθυνη για την ενεργοποίηση της αντι-αποπτωτικής πρωτεΐνης bcl-2, επομένως η απενεργοποίηση της πρώτης οδηγεί στην έμμεση απενεργοποίηση της δεύτερης.^[70-72] Επιπλέον, η PP2A μπορεί να

απενεργοποιήσει άμεσα την bcl-2, αποφωσφορυλιώνοντας την (Σχήμα 1.11)^[6] Η περιοχή σηματοδότησης όπως και η υδρόφοβη αλυσίδα στους εστέρες αυτούς, είναι απαραίτητη αλλά όχι αρκετή για την επαγωγή απόπτωσης αφού η α-toc από μόνη της δεν προκαλεί απόπτωση.^[52] Συνεπώς, η παραγωγή ROS και η αποσταθεροποίηση της μιτοχονδριακής μεμβράνης με την ταυτόχρονη ενεργοποίηση της PP2A και αναστολή της PKC οδηγούν στην ενίσχυση της αποπτωτικής διαδικασίας από την sa-α-toc.

Έλενα Μαλιτζέζου

1.2.4.2 Σύνθεση ηλεκτρικής- α , β -τοκοφερόλης

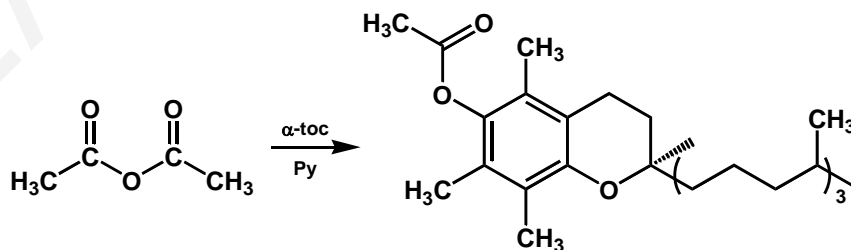
Η σύνθεση των ηλεκτρικών εστέρων της α - και β -toc φαίνεται στο σχήμα 1.12. Διάλυμα της α - ή β -toc σε οξικό οξύ που περιέχει σκόνη ψευδαργύρου, αναμειγνύεται με ηλεκτρικό ανυδρίτη για να αποδώσει τον αντίστοιχο ηλεκτρικό εστέρα της τοκοφερόλης. Η απομόνωση του εστέρα πραγματοποιείται με χρωματογραφία έκλυσης σε στήλη SiO_2 .^[6]



Σχήμα 1.12. Σύνθεση των ηλεκτρικών εστέρων της α - και β -toc.

1.2.4.3 Σύνθεση οξικής- α -τοκοφερόλης

Στο σχήμα 1.13 παρουσιάζεται η σύνθεση του οξικού εστέρα της α -toc. Η εστεροποίηση πραγματοποιείται με αντίδραση του οξικού ανυδρίτη και της α -toc σε διάλυμα πυριδίνης (Py). Ο οξικός εστέρας απομονώνεται με χρωματογραφία έκλυσης σε στήλη SiO_2 .^[73]



Σχήμα 1.13. Σύνθεση του οξικού εστέρα της α -toc.

1.3 Καρκίνος

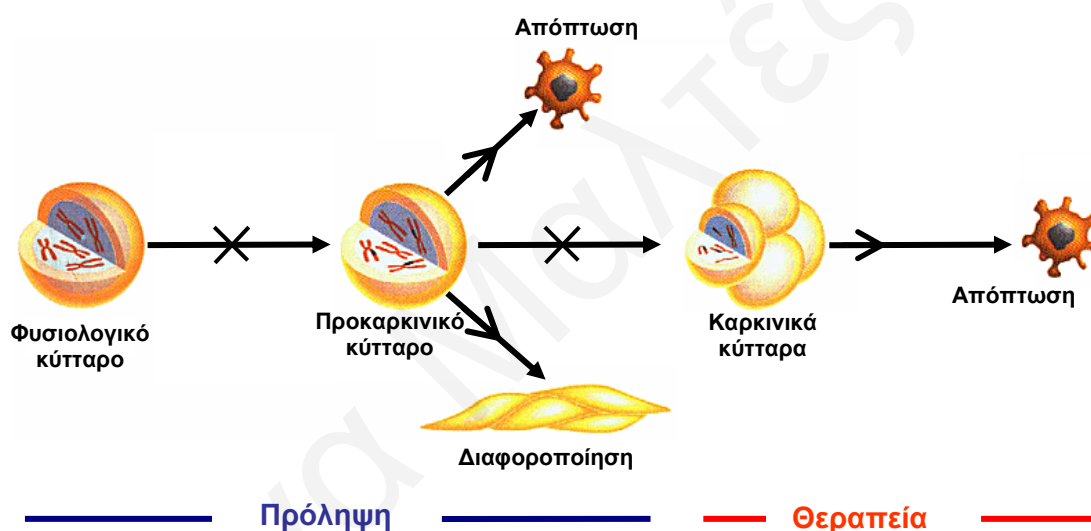
Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, οι εστέρες των συστατικών της βιταμίνης E παρουσιάζουν αντικαρκινική δράση σε μια ποικιλία καρκινικών κυτταρικών σειρών, προκαλώντας απόπτωση.^[16, 50] Ο καρκίνος είναι μία πολυπαραγοντική νόσος και οφείλεται στην αλληλεπίδραση εξωγενών και ενδογενών παραγόντων. Εξωγενείς παράγοντες συνιστούν η κακή διατροφή, το κάπνισμα, η ατμοσφαιρική ρύπανση, οι τοξικές ουσίες ενώ ενδογενείς, οι κληρονομικές μεταλλάξεις, οι ορμόνες και οι μεταλλάξεις που προέρχονται από το μεταβολισμό. Οι παράγοντες αυτοί μπορούν να δράσουν ταυτόχρονα ή διαδοχικά για την έναρξη και την προαγωγή της καρκινογένεσης. Συνήθως η χρονική διάρκεια από την έκθεση σε εξωγενείς παράγοντες μέχρι τη δυνατότητα εντοπισμού του όγκου είναι δέκα ή και περισσότερα χρόνια.

Μεταλλάξεις σε δύο ευρείες κατηγορίες γονιδίων, τα πρωτοογκογονίδια και τα ογκοκατασταλτικά γονίδια, θεωρούνται υπεύθυνες για την ανάπτυξη του καρκίνου. Τα γονίδια αυτά κωδικοποιούν διάφορες πρωτεΐνες που εμπλέκονται στη ρύθμιση της κυτταρικής διαίρεσης ή που ελέγχουν το κυτταρικό θάνατο. Τα πρωτοογκογονίδια μετατρέπονται σε ογκογονίδια μετά από μετάλλαξη και καθίστανται ενεργά για προώθηση της κυτταρικής ανάπτυξης. Τα ογκοκατασταλτικά γονίδια φυσιολογικά περιορίζουν την κυτταρική ανάπτυξη, επομένως μετάλλαξη σε αυτά τα γονίδια οδηγεί στη μη φυσιολογική ανάπτυξη.

Οι τρεις κύριες φάσεις ανάπτυξης του καρκίνου είναι η **έναρξη** (initiation), η **προαγωγή** (promotion) και η **εξέλιξη** (progression).^[74] Η **έναρξη** πραγματοποιείται γρήγορα, μεταξύ ωρών ή ημερών μετά την έκθεση στο καρκινογόνο. Η διαδικασία αυτή λαμβάνει χώρα όταν ένα φυσιολογικό κύτταρο εκτεθεί σε κάποιο καρκινογόνο, το οποίο προκαλεί καταστροφή στο DNA. Από την άλλη, η φάση **προαγωγής** μπορεί να διαρκέσει αρκετά χρόνια, μέχρι να εντοπισθεί, κατά τη διάρκεια των οποίων τα μεταλλαγμένα κύτταρα πολλαπλασιάζονται ανεξέλεγκτα σχηματίζοντας ένα προκαρκινικό όγκο. Η φάση **εξέλιξης** της ακολουθίας του καρκίνου πραγματοποιείται σε σχετικά μικρό χρονικό διάστημα, πιθανόν μικρότερο από ένα χρόνο και κατά τη διάρκεια της περιόδου αυτής συμβαίνουν νέες μεταλλάξεις στα κύτταρα, τα οποία τελικά διαθέτουν όλες τις “ικανότητες” που απαιτούνται για την ανάπτυξη ενός κλινικά έκδηλου καρκίνου. Επιπρόσθετα, τα κύτταρα αυτά παρουσιάζουν ακόμη μεγαλύτερη

ικανότητα πολλαπλασιασμού και είναι περισσότερο διεισδυτικά με αποτέλεσμα αυξημένη πιθανότητα μετάστασης.^[75]

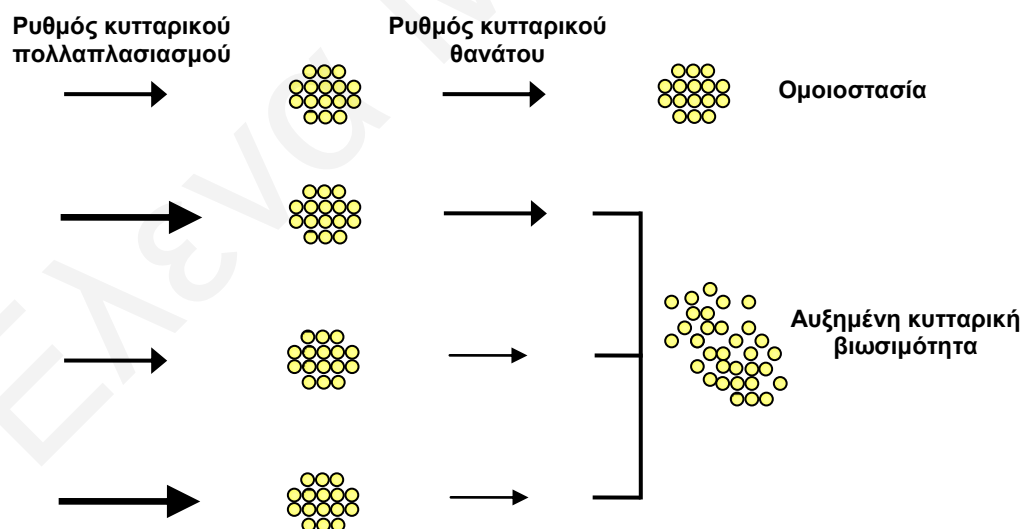
Η αναστολή της καρκινογένεσης και κατ' επέκταση η πρόληψη του καρκίνου μπορεί να πραγματοποιηθεί παρεμποδίζοντας είτε το στάδιο σχηματισμού του προκαρκινικού όγκου (φάση έναρξης, φάση προαγωγής), είτε το στάδιο σχηματισμού των καρκινικών κυττάρων (φάση εξέλιξης). Επιπρόσθετα, η εκτροπή των προκαρκινικών κυττάρων από την πορεία της καρκινογένεσης προς την απόπτωση ή τη διαφοροποίηση μπορεί να αναστείλει την καρκινογένεση. Από την άλλη, η επαγωγή απόπτωσης στα ήδη καρκινικά κύτταρα αποτελεί τον ουσιαστικότερο στόχο θεραπείας του καρκίνου (Σχήμα 1.14).



Σχήμα 1.14: Πιθανά σημεία δράσης χημειοπροστατευτικών και χημειοπροληπτικών ουσιών. Το σύμβολο X αντιπροσωπεύει τους παράγοντες που αναστέλλουν την καρκινογένεση παρεμποδίζοντας είτε το στάδιο σχηματισμού του προκαρκινικού όγκου (φάση έναρξης, φάση προαγωγής), είτε το στάδιο σχηματισμού των καρκινικών κυττάρων (φάση εξέλιξης). Τα τόξα αντιπροσωπεύουν τους παράγοντες που οδηγούν τα προκαρκινικά κύτταρα στην απόπτωση ή τη διαφοροποίηση. Επιπρόσθετα οι ουσίες αυτές μπορούν να οδηγήσουν τα καρκινικά κύτταρα σε απόπτωση.

1.4 Απόπτωση

Από τα κυριότερα χαρακτηριστικά ενός όγκου είναι η αύξηση του αριθμού των κυττάρων. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να οφείλεται σε αυξημένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό ή σε ελαττωμένο κυτταρικό θάνατο ή και στα δύο. Έχουν οριστεί δύο διαφορετικοί τύποι κυτταρικού θανάτου με βάση τη μορφολογία και τη βιοχημεία: η απόπτωση και η νέκρωση. Η **απόπτωση** είναι μία γενετικά καθορισμένη ενεργός διαδικασία με βιολογική σημασία, η οποία παίζει σημαντικό ρόλο αντίθετο της μίτωσης, στη ρύθμιση του μεγέθους των ιστών. Η αύξηση του αριθμού των κυττάρων εξαιτίας της κυτταρικής διαίρεσης, αντισταθμίζεται από τη διαδικασία απομάκρυνσης των κυττάρων, τα οποία είτε δεν είναι πλέον λειτουργικά ή είναι γενετικά αλλοιωμένα. Επομένως, η διατήρηση του φυσιολογικού αριθμού των κυττάρων σε ένα ιστό είναι αποτέλεσμα της ισορροπίας που υπάρχει μεταξύ του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της απόπτωσης. Η διατάραξη της ισορροπίας αυτής συνεπάγεται παθολογική αύξηση του αριθμού των κυττάρων (σχήμα 1.15).^[76] Η ανάπτυξη του καρκίνου, λοιπόν, προέρχεται από τον αυξημένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό ή την ελάττωση του ρυθμού της απόπτωσης ή συνδυασμό και των δύο.

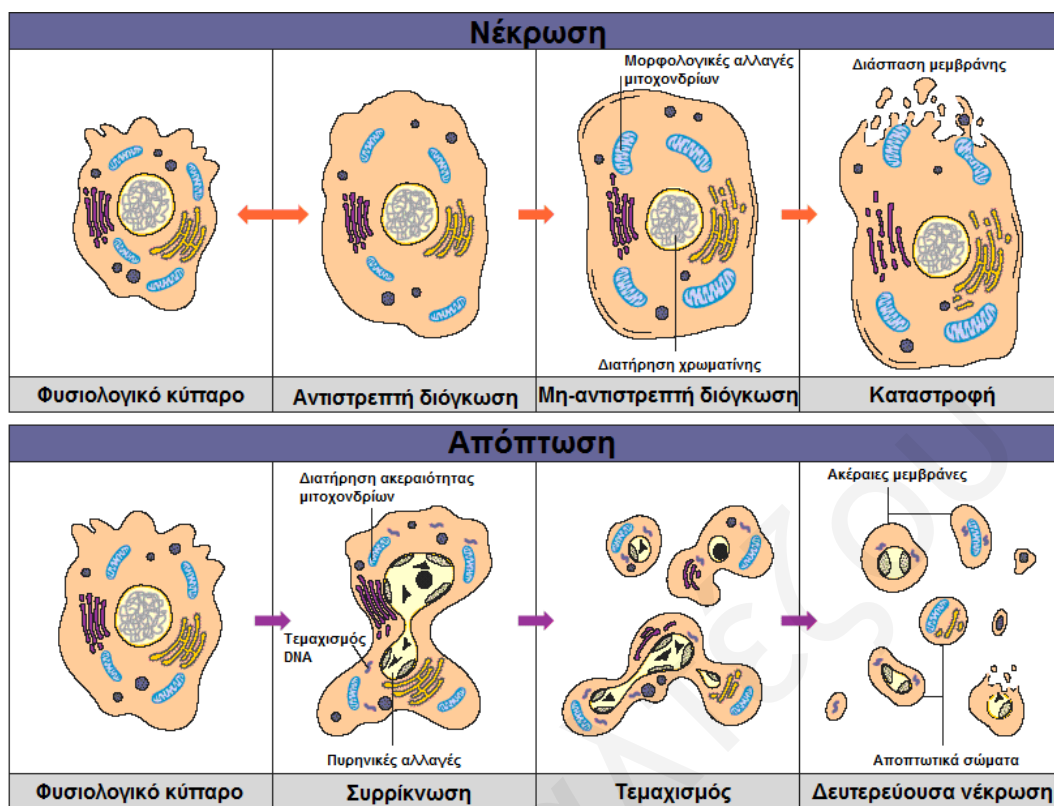


Σχήμα 1.15. Επίδραση της απόπτωσης και του κυτταρικού πολλαπλασιασμού στην ομοιοστασία μίας ομάδας κυττάρων. Το μέγεθος των τόξων αντιπροσωπεύει την αύξηση ή μείωση στο ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού και κυτταρικού θανάτου.

Η **νέκρωση**, αντίθετα, είναι μία τυχαία παθητική διαδικασία που έχει σαν αποτέλεσμα την προοδευτική διάλυση των κυτταρικών δομών. Αυτή συμβαίνει μετά από μη αναστρέψιμη βλάβη που οφείλεται σε περιβαλλοντικές αλλαγές, όπως η ισχαιμία και οι ακραίες θερμοκρασίες.^[77] Υπάρχουν αρκετές αξιοσημείωτες μορφολογικές διαφορές μεταξύ νέκρωσης και απόπτωσης (Σχήμα 1.16).

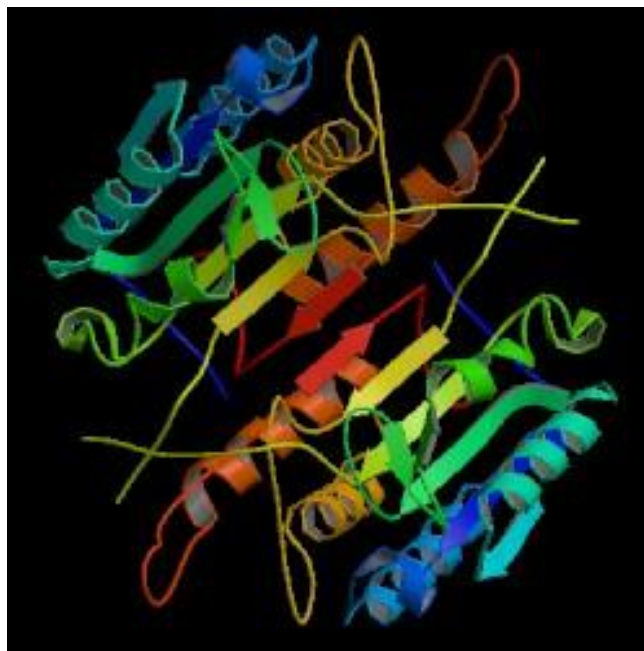
Η απόπτωση είναι μία ταχύτατη διαδικασία κατά την οποία το κύτταρο εξαφανίζεται μέσα σε μερικές ώρες. Η αρχική φάση της απόπτωσης χαρακτηρίζεται μορφολογικά από πύκνωση και περιφερειακή διάταξη της χρωματίνης στην πυρηνική μεμβράνη και ακολουθείται από κατακερματισμό του πυρήνα. Το κυτταρόπλασμα παρουσιάζει και αυτό πύκνωση και σχηματίζει πτυχώσεις οι οποίες περιβάλλουν τα τμήματα των πυρήνων. Επέρχεται στη συνέχεια διάσπαση του κυττάρου σε αποπτωτικά σωματίδια τα οποία αποτελούν τμήματα κυτταροπλάσματος και πυρήνα που περιβάλλονται από μεμβράνη. Τα αποπτωτικά σωματίδια στη συνέχεια φαγοκυτταρώνονται γρήγορα από γειτονικά κύτταρα ή μακροφάγα. Το μικρό μέγεθος και το σύντομο χρονικό διάστημα της ζωής των αποπτωτικών σωματίων εξαλείφουν το ενδεχόμενο φλεγμονής. Έτσι η απόπτωση είναι ο φυσιολογικός κυτταρικός θάνατος ο οποίος συμβαίνει σε μεμονωμένα κύτταρα με ελεγχόμενο μηχανισμό, χωρίς απώλεια της ακεραιότητας του κυττάρου και χωρίς την επαγωγή φλεγμονής.

Η νέκρωση, αντίθετα, είναι ο παθολογικός κυτταρικός θάνατος που συμβαίνει σε ομάδες κυττάρων και οφείλεται σε γενικευμένη πτώση των κυτταρικών ρυθμιστικών μηχανισμών. Η νέκρωση προκαλείται λόγω διαταραχής της ισορροπίας ιόντων και νερού, στο κύτταρο, που έχει σαν συνέπεια την αδυναμία διατήρησης της ακεραιότητας των μεμβρανών με αποτέλεσμα την απελευθέρωση των ενδοκυττάρων ενζύμων. Τα ένζυμα αυτά προκαλούν λύση των κυττάρων και μεταφορά του περιεχομένου στον ενδιάμεσο ιστό με αποτέλεσμα τη δημιουργία φλεγμονής.



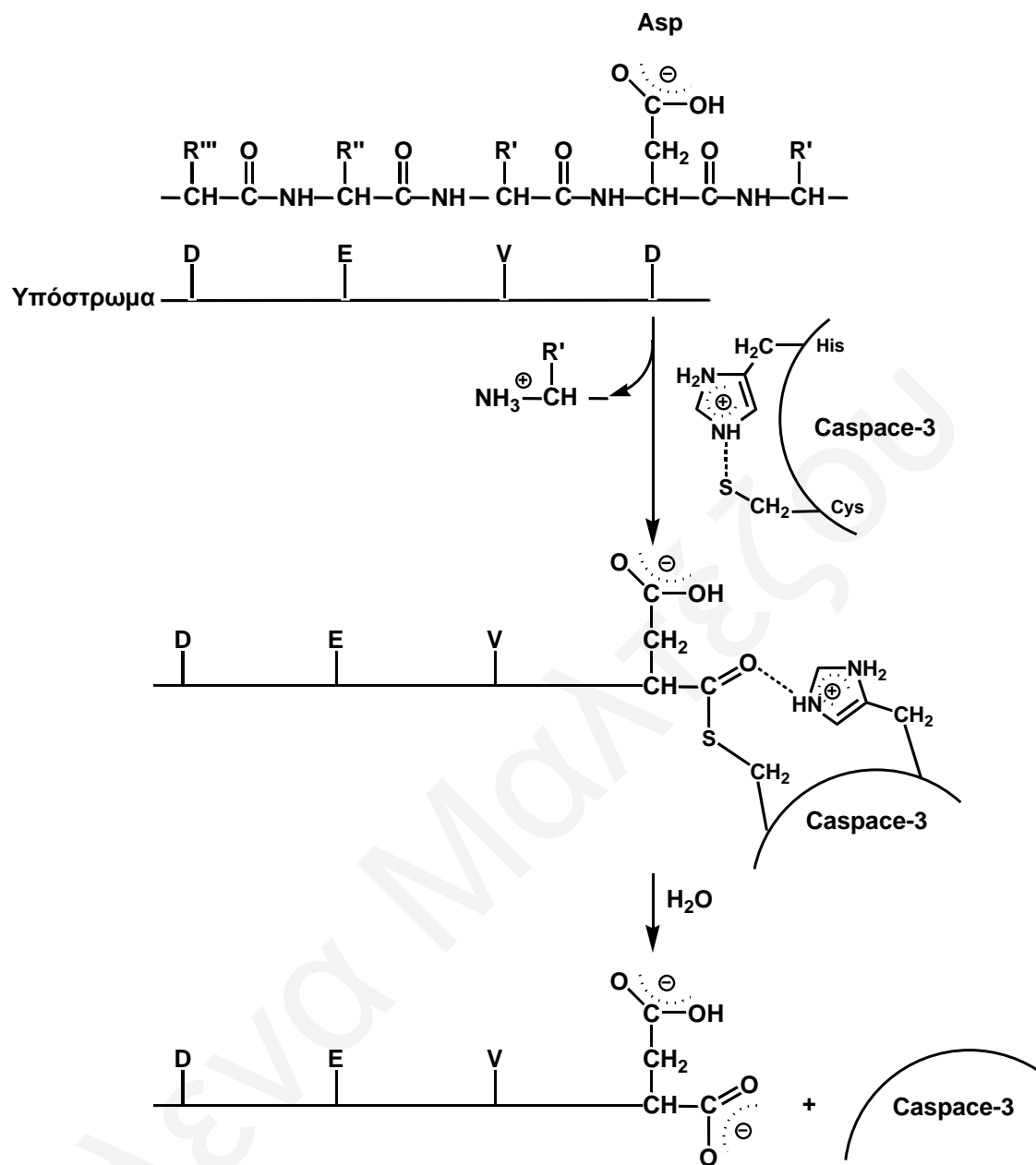
Σχήμα 1.16. Μορφολογικές διαφορές μεταξύ νέκρωσης και απόπτωσης.

Η απόπτωση οφείλεται στην ενεργοποίηση διαφόρων μοριακών μηχανισμών στους οποίους λαμβάνει μέρος και η οικογένεια των πρωτεολυτικών ενζύμων, γνωστά σαν κασπάσες. Υπάρχουν δύο τύποι κασπασών, αυτές που ενεργοποιούν πρωτεολυτικά άλλες κασπάσες και αυτές που ενεργοποιούν άλλες πρωτεΐνες. Στη δεύτερη κατηγορία ανήκει και η κασπάση-3 (Σχήμα 1.17) η οποία είναι γνωστό ότι προκαλεί διάσπαση του αναστολέα ICAD (caspase activated DNase inhibitor) σχηματίζοντας την ενεργή ενδονουκλεάση CAD (caspase activated DNase) προάγοντας έτσι τον κατακερματισμό του DNA. Επιπλέον, η κασπάση-3 απενεργοποιεί την PARP (poly-ADP-ribose), που αποτελεί ένζυμο κλειδί για την επιδιόρθωση του DNA. Επομένως, ενεργοποίηση της κασπάσης-3 σημαίνει οριστική και μη αναστρέψιμη απόπτωση.^[78]



Σχήμα 1.17. Δομή της κασπάσης-3.

Ο μηχανισμός με τον οποίο η κασπάση-3 προκαλεί πρωτεολυτική διάσπαση των υποστρωμάτων της παρουσιάζεται στο Σχήμα 1.18. Το πυρηνόφιλο άτομο του θείου που βρίσκεται στην κυστεΐνη του ενζύμου αυτού σχηματίζει ομοιοπολικό δεσμό με το υπόστρωμα. Ο δακτύλιος του ιμιδαζολίου της ιστιδίνης της κασπάσης-3 συμμετέχει επίσης στο μηχανισμό αυτό διευκολύνοντας την υδρόλυση του αμιδικού δεσμού. Μετά το σχηματισμό του θειϊοκετονικού ενδιάμεσου, αυτό υδρολύεται σε ένα δεύτερο στάδιο απελευθερώνοντας αυτή την κασπάση. Το χαρακτηριστικό της κασπάσης-3 είναι η εκλεκτικότητα που παρουσιάζει κατά την πρωτεολυτική διάσπαση. Ο μηχανισμός διάσπασης συμβαίνει με προσθήκη της κασπάσης-3 σε ένα κατάλοιπο Asp της ακολουθίας Asp-Glu-Val-Asp (DEVD) του πρωτεϊνικού υποστρώματος.^[79]



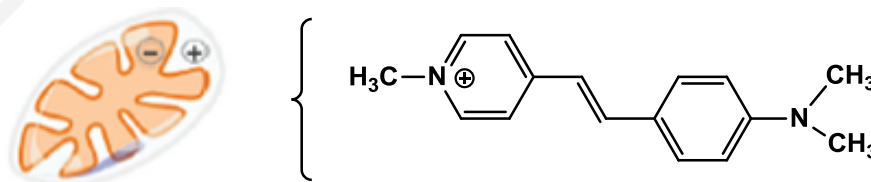
Σχήμα 1.18: Αναγνώριση υποστρώματος και μηχανισμός διάσπασης από την κασπάση-3.

1.5 Φθορίζουσες ενώσεις

Τα τελευταία χρόνια οι φθορίζουσες ενώσεις έχουν προσελκύσει το ενδιαφέρον πολλών ερευνητών λόγω της ευρείας εφαρμογής τους σε συνδυασμό με τη χρήση τους σε ιδιαίτερα ευαίσθητες και εξειδικευμένες μεθόδους ανίχνευσης. Οι στύρυλο βαφές αποτελούν μια κατηγορία φθορίζοντων, λιποφιλικών κατιόντων οι οποίες έχουν χρησιμοποιηθεί ως χρωστικοί δείκτες των μιτοχονδρίων.^[80, 81] Εξαιτίας του ηλεκτροχημικού δυναμικού που αναπτύσσεται κατά μήκος της μιτοχονδριακής εσωτερικής μεμβράνης, αυτά τα λιποφιλικά κατιόντα έχουν την ικανότητα να συσσωρεύονται στα μιτοχόνδρια σύμφωνα με την εξίσωση του Nernst.^[82]

Οι λειτουργίες των μιτοχονδρίων συνδέονται στενά με διάφορες κυτταρικές διεργασίες συμπεριλαμβανομένης της απόπτωσης, της γήρανσης και της διαφοροποίησης. Ως εκ τούτου, οι μιτοχονδριακές δυσλειτουργίες είναι υπεύθυνες για ένα ευρύ φάσμα ανθρώπινων ασθενειών, όπως είναι ο διαβήτης, ο καρκίνος, και οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες.

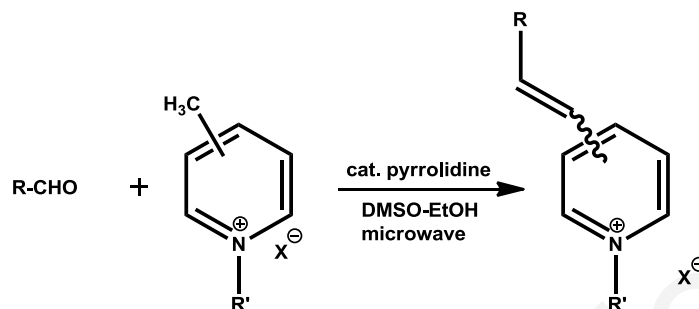
Σε μία έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τον Bereiter-Hahn και τους συνεργάτες του^[80] διερευνήθηκε η καταλληλότητα του διμέθυλ-άμινο-στύρυλ μεθυλπυριδόνιου άλατος (DASPMI) ως χρωστικής σε μιτοχόνδρια *in situ* (Σχήμα 1.19). Το DASPMI είναι μια χαμηλής τοξικότητας χρωστική και σύμφωνα με τα αποτελέσματα που αναφέρθηκαν αποτελεί ένα χρήσιμο ανιχνευτή για τη διερεύνηση των μιτοχονδριακών δραστηριοτήτων σε ζωντανά κύτταρα.



Σχήμα 1.19. Στόχευση μιτοχονδρίων χρησιμοποιώντας το μόριο DASPMI.

Τα μόρια που επιλέγονται για το συγκεκριμένο σκοπό έχουν εκτεταμένο συζυγιακό σύστημα αλλά το μέγεθος της επιτρεπόμενης συζυγίας δεν είναι μεγάλο διότι δεν πρέπει το μέγεθος της

φθορίζουσας ομάδας να επηρεάζει την φαρμακοδυναμική των μορίων. Στο σχήμα 1.20 παρουσιάζεται η σύνθεση των στυρυλ βαφών η οποία πραγματοποιείται με αντίδραση υποκατεστημένων αρωματικών αλδευδών και υποκατεστημένων πυριδινών.^[83]

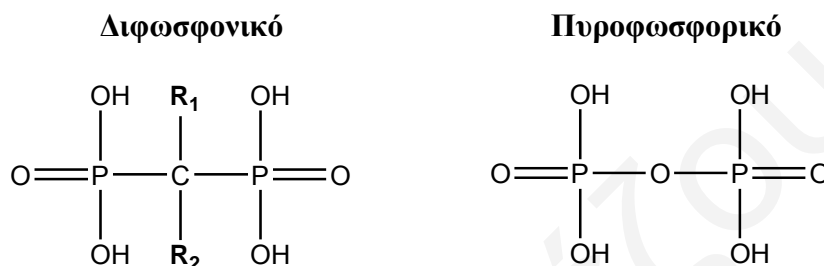


Σχήμα 1.20. Σύνθεση στύρυλο βαφών.

Εκτός από τις ενδιαφέρουσες φασματικές ιδιότητες του DASPMI, αυτό το χρωμοφόρο έχει πολλά άλλα χαρακτηριστικά που υποδηλώνουν την καταλληλότητά του για ομοιοπολική δέσμευση σε πρωτεΐνες ή πεπτιδία. Το σχετικά μικρό μέγεθος και θετικό φορτίο το καθιστούν υδατοδιαλυτό και συνεπώς λιγότερο πιθανό να προκαλέσει αλλαγές στη δομή της ήδη ογκώδους πρωτεΐνης ή πεπτιδίου. Έχει ένα μέγιστο διέγερσης στα 475 nm (σε H₂O), κάνοντας το σχεδόν να συμπίπτει με τη γραμμή εκπομπής στα 488 nm ενός λέιζερ ιόντων αργού, παρέχοντας έτσι μια πηγή για τις μετρήσεις που απαιτούν υψηλή ευαισθησία.

1.6 Διφωσφονικά

Τα διφωσφονικά άλατα (ΔΦ) είναι ενώσεις που στο μόριο τους φέρουν δύο φωσφορικές ομάδες. Πρόκειται για κατηγορία συνθετικών φαρμάκων που έχουν παρόμοια δομή με το φυσικό πυροφωσφορικό οξύ, στη βασική δομή του οποίου στο δεσμό P-O-P γίνεται αντικατάσταση του οξυγόνου με άνθρακα και προκύπτει P-C-P (Σχήμα 1.21).



Σχήμα 1.21. Δομή διφωσφονικού και πυροφωσφορικού οξέος.

Παρόλο που τα διφωσφονικά χρησιμοποιούνταν για περισσότερο από ένα αιώνα στη βιομηχανία, μόνο το 1968 διαπιστώθηκε ότι έχουν βιολογικές επιδράσεις όπως είναι η αναστολή της οστικής απορρόφησης και, όταν χορηγούνται σε μεγάλες ποσότητες, η αναστολή της ασβεστοποίησης.^[84] Στις μέρες μας, τα διφωσφονικά χρησιμοποιούνται κυρίως στην ιατρική για να αναστείλουν την οστική απορρόφηση σε ασθένειες όπως είναι η οστεοπόρωση, η νόσος Paget και η νεοπλασματική νόσος των οστών. Τα διφωσφονικά έχουν την ικανότητα να δεσμεύονται αρκετά αποτελεσματικά από τον υδροξυαπατίτη (κρυσταλλική μορφή του ασβεστίου και του φωσφορικού άλατος στα οστά) και αυτό τα καθιστά πολύ σημαντικά σε ενώσεις οι οποίες χρησιμοποιούνται στο σπινθηρογραφικό έλεγχο των οστών.

1.6.1 Ιστορία

Τα διφωσφονικά ήταν γνωστά στους χημικούς από τα μέσα του 19ου αιώνα, και η πρώτη σύνθεση τους έγινε το 1865 στη Γερμανία.^[85] Χρησιμοποιούνταν σε μεγάλο βαθμό στη βιομηχανία, κυρίως στις βιομηχανίες κλωστοϋφαντουργικών προϊόντων, λιπάσματος και πετρελαίου. Επιπρόσθετα, λόγω της ιδιότητας τους να αναστέλλουν την καταβύθιση του ανθρακικού άλατος του ασβεστίου, χρησιμοποιούνταν ευρέως ως αποσκληρυντικά του ύδατος για να αποφευχθεί η καθαλάτωση λεβήτων και σωληνώσεων.

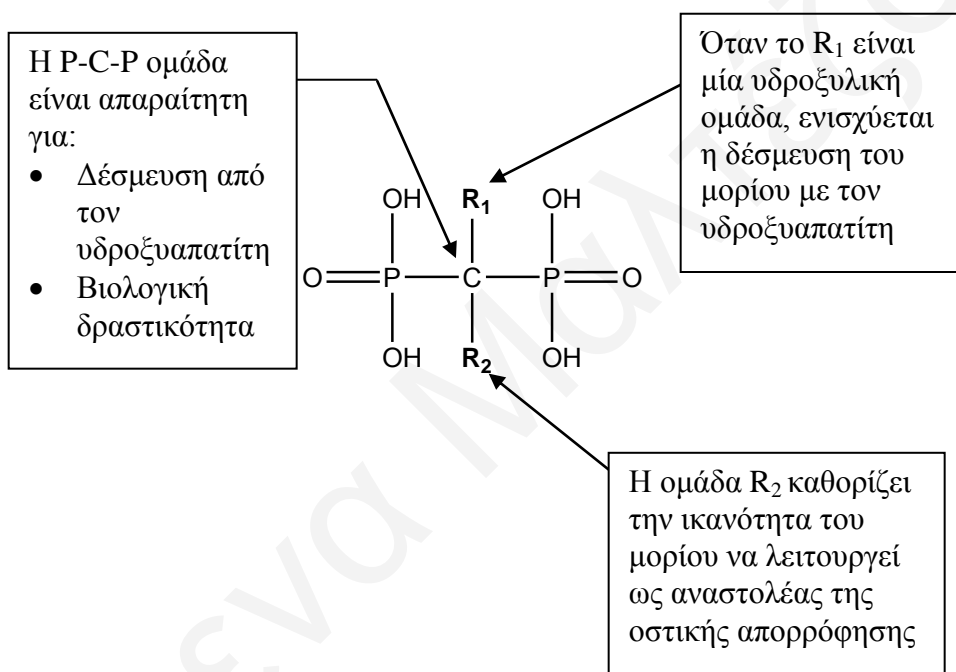
Η μελέτη για τα βιολογικά χαρακτηριστικά τους άρχισε πριν από 30 χρόνια, και η πρώτη αναφορά για αυτά έγινε το 1968 από την ερευνητική ομάδα του Herbert Fleisch.^[86] Η ιδέα προέκυψε από προηγούμενες μελέτες πάνω σε ανόργανα πυροφωσφορικά,^[87] στις οποίες διαπιστώθηκε ότι το πλάσμα και τα ούρα περιείχαν ενώσεις που είχαν την ικανότητα να αναστέλλουν την καταβύθιση του ανθρακικού άλατος του ασβεστίου *in vitro*, και διαπιστώθηκε ότι μέρος αυτής της δραστηριότητας οφειλόταν σε ανόργανα πυροφωσφορικά. Στη συνέχεια βρέθηκε ότι τα πυροφωσφορικά είχαν επίσης την ικανότητα να αναστέλλουν τη διαλυτοποίηση του φωσφορικού άλατος του ασβεστίου *in vitro*. *In vivo*, αυτές οι ενώσεις απέτρεπαν την εκτοπική ασβεστοποίηση αλλά δεν είχαν καμία επίδραση στην οστική απορρόφηση, πιθανόν επειδή καταστρέφονταν τοπικά από φωσφατάσες. Αυτό οδήγησε στην αναζήτηση πυροφωσφορικών ανάλογων που δεν θα καταστρέφονταν ενζυμικά. Τα διφωσφορικά τηρούσαν αυτές τις προδιαγραφές.^[88,89]

1.6.2 Χημεία

Τα διφωσφορικά είναι ενώσεις που χαρακτηρίζονται από δύο δεσμούς C-P. Εάν οι δύο δεσμοί βρίσκονται στο ίδιο άτομο άνθρακα οι ενώσεις ονομάζονται geminal διφωσφορικά και όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, είναι ανάλογα των πυροφωσφορικών. Τα πυροφωσφορικά έχουν την ικανότητα να υδρολύονται πολύ γρήγορα στις αντίστοιχες φωσφορικές ομάδες. Αν το άτομο οξυγόνου που συνδέει τις δύο ομάδες αντικατασταθεί με ένα άτομο άνθρακα, σχηματίζεται ένα διφωσφορικό. Αυτή η μοριακή μεταβολή καθιστά τα ΔΦ ανθεκτικά στην ενζυμική διάσπαση από τις πυροφωσφατάσες του σκελετού, επιτρέποντας έτσι την παραμονή τους στα οστά για πολύ μεγάλο χρονικό διάστημα (~10 έτη). Επίσης, τα ανάλογα αυτά δεν υδρολύονται και είναι από χημικής άποψης εξαιρετικά σταθερά. Λόγω της ομοιότητας τους με το πυροφωσφορικό οξύ, δεσμεύονται εύκολα από τους κρυστάλλους του υδροξυαπατίτη $[Ca_{10}(PO_4)_6]$ στα οστά και εμποδίζουν την αύξηση του μεγέθους και την διαλυτοποίηση τους.^[90]

1.6.3 Σχέση δομής-ενεργότητας

Η βιολογική δραστηριότητα των διφωσφονικών μπορεί να ρυθμιστεί με αλλαγή της δομής των δύο πλευρικών αλυσίδων του ατόμου του άνθρακα. Η δέσμευση στα οστά εξαρτάται από την P-C-P δομή και ενισχύεται όταν συμπεριληφθεί μια υδροξυλική ομάδα στην πλευρική ομάδα R_1 .^[91] Η δομή και η τρισδιάστατη χωροδιάταξη της πλευρικής αλυσίδας R_2 καθορίζει τις κυτταρικές επιδράσεις των διφωσφονικών και την σχετική τους αποδοτικότητα ως αναστολείς της οστικής απορρόφησης (Σχήμα 1.22). Κάθε διφωσφονικό έχει μια ξεχωριστή δραστηριότητα, η οποία υπαγορεύεται από την πλευρική του αλυσίδα, η οποία είναι μοναδική.

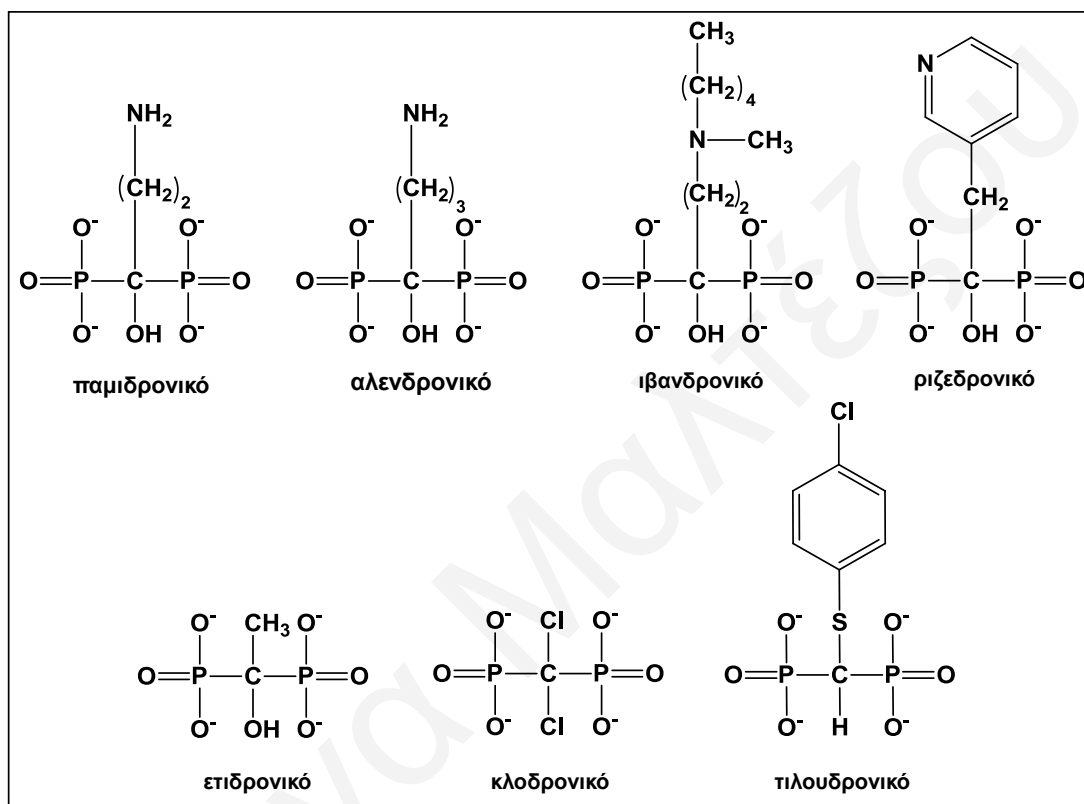


Σχήμα 1.22. Η δέσμευση από τον υδροξυαπατίτη και η βιολογική δραστηριότητα των διφωσφονικών εξαρτάται από την P-C-P ομάδα και την δομή των R_1 και R_2 πλευρικών αλυσίδων.

Γενικά τα διφωσφονικά χωρίζονται σε δύο κύριες κατηγορίες. Στη μία κατηγορία ανήκουν τα διφωσφονικά που περιέχουν άζωτο στη δομή τους (αμινοδιφωσφονικά) όπως το παμιδρονικό, αλενδρονικό, ιβανδρονικό και ριζεδρονικό. Στη δεύτερη κατηγορία ανήκουν αυτά που δεν έχουν άζωτο όπως το ετιδρονικό, τιλουδρονικό και κλοδρονικό. Τα παράγωγα που έχουν μία αμινομάδα στο τέλος της πλευρικής τους αλυσίδας είναι πολύ ενεργά. Η ενεργότητα αυξάνεται ακόμα περισσότερο όταν προστίθενται άλλες ομάδες στο άζωτο, όπως φαίνεται στο

ιβανδρονικό. Τα κυκλικά geminal διφωσφονικά είναι επίσης πολύ ενεργά, ειδικά εκείνα που περιέχουν ένα άτομο αζώτου στο δακτύλιο, όπως η ριζεδρονάτη.^[84]

Μέχρι σήμερα έχουν ερευνηθεί πολλά διφωσφονικά όσον αφορά τις επιδράσεις τους στα ανθρώπινα οστά, και επτά από αυτά είναι εμπορικά διαθέσιμα για τη θεραπεία της νεοπλασματικής νόσου των οστών (Σχήμα 1.23).^[92]



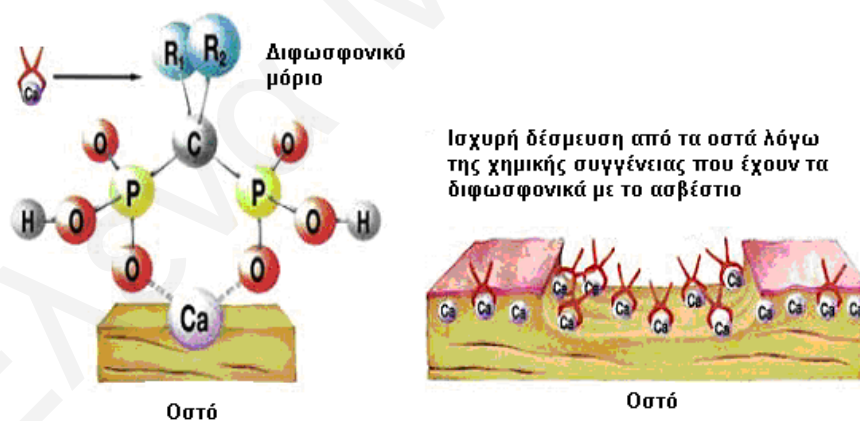
Σχήμα 1.23. Εμπορικά διαθέσιμες διφωσφονικές ενώσεις.

1.6.4 Ιδιότητες-αντιοστεοκλαστική και αντιαποπρωτική δράση

Όπως και τα άλλα όργανα του σώματος, ο οστικός ιστός αποσυντίθεται και αναγεννάται συνεχώς. Ο κύκλος αυτός αναδιοργάνωσης είναι απαραίτητος στην ανάπτυξη, την αποκατάσταση μικροβλαβών που οφείλονται στο καθημερινό στρες και τη συντήρηση ενός σωστά λειτουργικού οργανισμού. Η αποσύνθεση ή η αναρρόφηση του σκελετού πραγματοποιείται μέσω κυττάρων γνωστών ως *οστεοκλάστες* που δημιουργούνται από συγκεκριμένους τύπους αιματικών κυττάρων. Τα κύτταρα αυτά δημιουργούν τρύπες στο οστό

απελευθερώνοντας μικρές ποσότητες ασβεστίου στην αιματική κυκλοφορία που είναι χρήσιμες σε άλλες ζωτικές λειτουργίες. Στη συνέχεια κύτταρα γνωστά ως *οστεοβλάστες* και τα οποία παράγονται από οστικά κύτταρα, ανασυγκροτούν τον σκελετό, αρχικά συμπληρώνοντας τις οπές με κολλαγόνο και μετά εναποθέτοντας κρυστάλλους ασβεστίου και φωσφόρου. Κάθε χρόνο, το 10 με 30% του ενήλικου ανθρώπινου σκελετού ανακατασκευάζεται με αυτόν τον τρόπο. Η ισορροπία οστεοκλαστών – οστεοβλαστών ελέγχεται από ένα σύνθετο μείγμα ορμονικών (π.χ. οιστρογόνα) και χημικών παραγόντων.^[93]

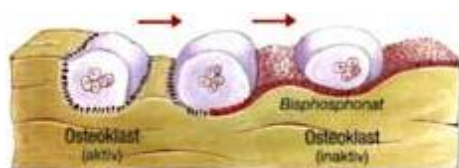
Λόγω της χημικής συγγένειας που έχουν τα διφωσφονικά με το ασβέστιο, απορροφώνται εύκολα από τους οστεοκλάστες (Σχήμα 1.24), οι οποίοι κορεννύονται και αποπίπτουν ή αποσύρονται παρεμποδίζοντας την οστική απορρόφηση (αντιοστεοκλαστική δράση). Εκτός όμως από την αναστολή της οστεοκλαστικής απορρόφησης του οστού, τα διφωσφονικά ασκούν δράση στο αποπτωτικό ένζυμο κασπάση των οστεοκλαστών, επισπεύδοντας την απόπτωσή τους (προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος). Επιπλέον, έχουν και αναβολική δράση στα οστά παρατείνοντας τη διάρκεια ζωής των οστεοβλαστών και των οστεοκυττάρων (αντιαποπτωτική δράση). Με αυτό τον τρόπο αυξάνουν σημαντικά την οστική μάζα μετά από μακροχρόνια χορήγηση.^[94]



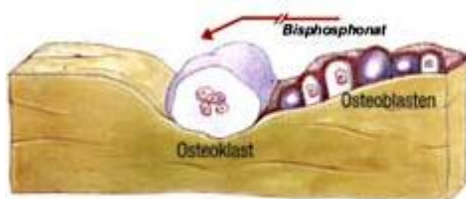
Σχήμα 1.24. Δέσμευση διφωσφονικών από το ασβέστιο στα οστά.^[95]

1.6.5 Μηχανισμοί δράσης διφωσφονικών

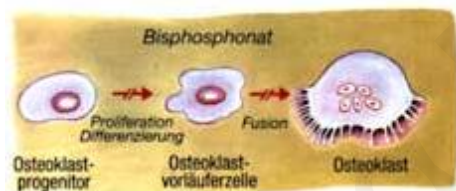
Παρά την πληθώρα των πειραματικών δεδομένων, ο τρόπος δράσης των διφωσφονικών δεν είναι απολύτως γνωστός. Θεωρητικά θα μπορούσαν να ισχύουν διάφοροι μηχανισμοί όπως είναι η αναστολή της ανάπτυξης των προγονικών κυττάρων των οστεοκλαστών, η ελάττωση της στρατολόγησης νέων οστεοκλαστών και η προαγωγή της απόπτωσης των ώριμων οστεοκλαστών, επιβραδύνοντας έτσι το ρυθμό του οστικού μεταβολισμού.^[94, 96] Οι τρεις αυτοί μηχανισμοί φαίνονται στο Σχήμα 1.25.



1. Απευθείας αναστολή της ανάπτυξης των προγονικών κυττάρων των οστεοκλαστών



2. Έμμεση αναστολή της λειτουργίας των οστεοκλαστών μέσω μείωσης του αριθμού τους -ενεργοποίηση δραστηριότητας οστεοβλαστών



3. Ελάττωση της στρατολόγησης νέων οστεοκλαστών

Σχήμα 1.25. Μηχανισμοί δράσης διφωσφονικών.^[97]

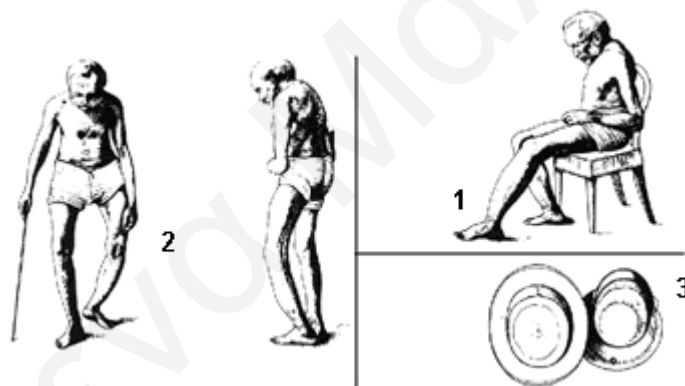
Τα υπάρχοντα δεδομένα συνηγορούν υπέρ του ότι τα διφωσφονικά δρουν τουλάχιστον με ένα, αν όχι με περισσότερους, από αυτούς τους μηχανισμούς. Υπάρχει η άποψη ότι μπορούν να εισέλθουν εντός των οστεοκλαστών και να τους καταστρέψουν. Η κυτταροτοξική τους δράση πιθανόν αφορά τη μικροδομή των οστεοκλαστών, προκαλώντας μεταβολική βλάβη των ώριμων οστεοκλαστών, αναστολή της προσκόλλησής τους στις οστικές επιφάνειες, αναστολή της επιστράτευσης νέων οστεοκλαστών και διαφοροποίηση των προστεοκλαστών. Πρόσφατα έχει επανέλθει στο προσκήνιο η θεωρία ότι τα διφωσφονικά δρουν μέσω των οστεοβλαστών. Προκαταρκτικά ευρήματα υποστηρίζουν την άποψη ότι τα διφωσφονικά εμποδίζουν την οστεοκλαστική δραστηριότητα μειώνοντας τις κυτταροκίνες που προέρχονται από τους οστεοβλάστες.^[98]

1.6.6 Κλινικές χρήσεις

Η πιο κοινή χρήση των διφωσφονικών είναι σε ασθένειες με αυξημένη οστική απορρόφηση όπως είναι (α) η νόσος Paget, (β) η οστεοπόρωση και (γ) η νεοπλασματική νόσος των οστών. Σύμφωνα με την φαρμακοκινητική των ΔΦ, η απορρόφηση τους στον οργανισμό γίνεται από το λεπτό έντερο σε ελάχιστη ποσότητα της τάξης του 1-10%. Η λήψη τροφής, ασβεστίου, σιδήρου, γαλακτοκομικών, καφέ ή πορτοκαλάδας παρεμποδίζει ή εξουδετερώνει την απορρόφηση και τη βιοδιαθεσιμότητα τους σε μεγάλο βαθμό.^[90]

(α) Νόσος του Paget

Η νόσος του Paget είναι μία μεταβολική νόσος του σκελετού, της μέσης και μεγάλης ηλικίας, η οποία χαρακτηρίζεται από έντονα αυξημένη και εντετοπισμένη οστική απορρόφηση και οστικό σχηματισμό (Σχήμα 1.26).^[99] Το αίτιο αυτής της διαταραχής είναι άγνωστο και μέχρι πρόσφατα αποτελούσε την κυριότερη ένδειξη για την χορήγηση των διφωσφονικών.

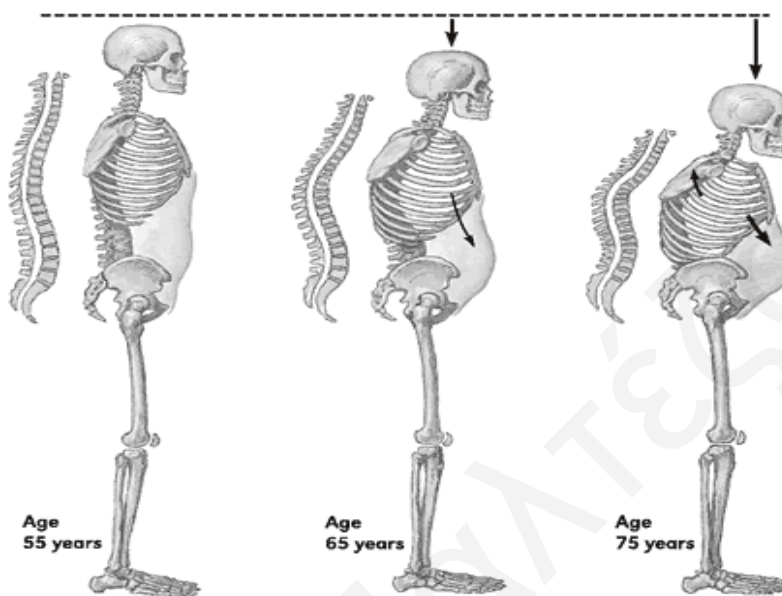


Σχήμα 1.26. Αντιπροσωπευτικές εικόνες του πρώτου ασθενή του Sir James Paget. Φαίνεται η χαρακτηριστική εμφάνιση ενός ηλικιωμένου ο οποίος βρίσκεται σε προχωρημένο στάδιο της ασθένειας: 1) Παραμόρφωση της κνήμης, 2) παραμόρφωση του μηρού και της κνήμης στο πόδι, 3) αύξηση στο μέγεθος του καπέλου (αύξηση στο μέγεθος του κρανίου).^[100]

(β) Οστεοπόρωση

Η οστεοπόρωση είναι μία συστηματική νόσος του σκελετού στην οποία υπερτερούν οι οστεοκλάστες, με αποτέλεσμα να έχουμε μεγαλύτερη απώλεια οστού. Η μικροαρχιτεκτονική των οστών εκφυλίζεται με αποτέλεσμα να αυξηθεί η ευθραυστότητά τους καθώς επίσης και ο κίνδυνος καταγμάτων (Σχήμα 1.27). Τα διφωσφονικά εμποδίζουν την οστική απορρόφηση *in*

in vivo και *in vitro*, αν και ο ακριβής μηχανισμός δράσης τους δεν είναι απόλυτα γνωστός. Έτσι και ανεξαρτήτως μηχανισμού δράσης, τα διφωσφονικά θεωρούνται αντιαπορροφητικοί παράγοντες παρόμοιοι με τις άλλες ουσίες (οιστρογόνα, καλσιτονίνη, ασβέστιο/βιταμίνη D) που χρησιμοποιούνται συχνά στη θεραπεία της οστεοπόρωσης.^[101]

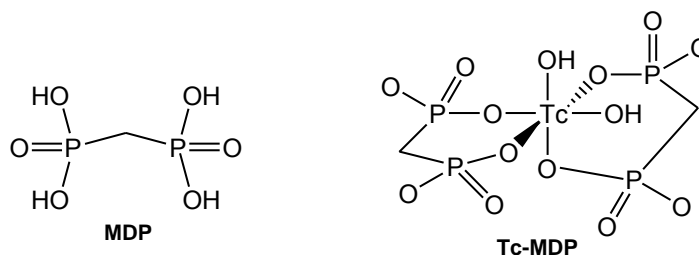


Σχήμα 1.27. Σταδιακή παραμόρφωση της σπονδυλικής στήλης στην οστεοπόρωση.^[102]

(γ) Νεοπλασματική νόσος των οστών

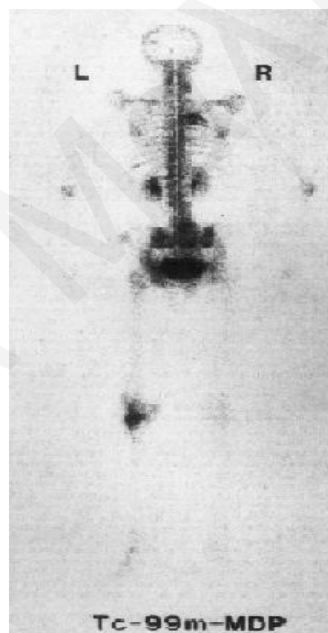
Η αυξημένη οστική απορρόφηση είναι χαρακτηριστικό της οστικής νόσου σε ασθενείς με κακοήθη νοσήματα, λόγω της ενεργοποίησης των οστεοκλαστών από διάφορες κυτταροκίνες, όπως η ιντερλευκίνη 1, η ιντερλευκίνη 6 και ο παράγων νεκρώσεως του όγκου (TNF), αλλά και άλλες διαλυτές ουσίες οι οποίες εκκρίνονται από τα κύτταρα του νεοπλάσματος στο μικροπεριβάλλον του οστού. Έτσι, αφού τα διφωσφονικά αναστέλλουν την οστεοκλαστική δραστηριότητα, θεωρούνται λογική θεραπεία για αυτούς τους ασθενείς.^[101]

Μια άλλη σημαντική εφαρμογή των διφωσφονικών είναι η χρήση τους ως βιολογικοί ιχνηθέτες υπό μορφή παραγώγων του ^{99m}Tc . Η πιο συνηθισμένη διαδικασία διάγνωσης όγκων στα οστά είναι ο σπινθηρογραφικός έλεγχος με χρήση του συμπλόκου μεθυλενοδιφωσφονικού τεχνητίου (^{99m}Tc -MDP, Σχήμα 1.28).



Σχήμα 1.28. Δομή μεθυλενοδιφωσφονικού και του αντίστοιχου συμπλόκου με τεχνήτιο.

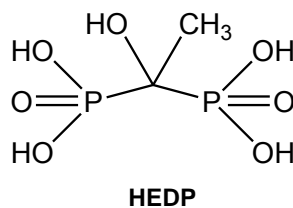
Τα διφωσφονικά σύμπλοκα του ^{99m}Tc ανήκουν στην κατηγορία των ραδιοφαρμακευτικών επειδή η εικόνα διάγνωσης που λαμβάνεται οφείλεται στην ικανότητα του ^{99m}Tc να εκπέμπει ακτίνες γ (Σχήμα 1.29). Οι περιοχές του σκελετού που φαίνονται πιο έντονα στο σπινθηρογράφημα είναι αυτές στις οποίες παρατηρείται αύξηση στη δημιουργία νέου οστού λόγω παρουσίας κακοηθών όγκων.



Σχήμα 1.29. Εικόνα που λαμβάνεται μετά από σπινθηρογραφικό έλεγχο οστών. Οι περιοχές που φαίνονται πιο έντονα οφείλονται στην απορρόφηση της σύμπλοκης ένωσης $^{99m}\text{Tc-MDP}$.^[103]

Η χρήση των διφωσφονικών στον σπινθηρογραφικό έλεγχο των οστών απορρέει από την ικανότητα τους να λειτουργούν ως διδοτικοί γεφυρωτικοί υποκαταστάτες. Ο διδοτικός αυτός χαρακτήρας τους επιτρέπει να γεφυρώνουν δύο μεταλλικά κέντρα, π.χ. το ^{99m}Tc και το ασβέστιο του υδροξυαπατίτη. Η πρώτη διφωσφονική ένωση που χρησιμοποιήθηκε για σπινθηρογραφικό έλεγχο οστών με το ^{99m}Tc ήταν το 1-υδρόξυ-αιθυλενοδιφωσφονικό οξύ

(HEDP, Σχήμα 1.30) το οποίο τελικά αντικαταστάθηκε από το MDP λόγω της μεγαλύτερης συγγένειας που έχει με το ασβέστιο.^[104]



Σχήμα 1.30. Δομή 1-υδρόξυ-αιθυλενοδιφωσφονικού οξέος.

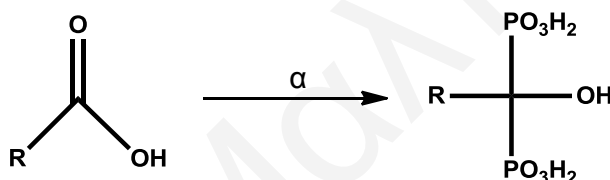
Έλενα Μαλιτζού

1.6.7 Βασικές συνθετικές στρατηγικές για τη σύνθεση διφωσφονικών ενώσεων

Μετά τη διαπίστωση ότι τα διφωσφονικά έχουν σημαντική βιολογική δράση, έχει παρατηρηθεί μία τεράστια έξαρση στη συνθετική φαρμακευτική χημεία. Έτσι έχει επιτευχθεί σημαντική πρόοδος στην ανάπτυξη νέων συνθετικών πορειών για τη σύνθεση διφωσφονικών ενώσεων.

Πιο συγκεκριμένα, υπάρχουν τέσσερεις γενικές μέθοδοι που αναφέρονται στη βιβλιογραφία για την σύνθεση των geminal διφωσφονικών:

Μέθοδος Α1: Σύνθεση 1-υδρόξυ-1,1-διφωσφονικών^[105]



(α) (i) H_3PO_4 , PCl_3 , χλωροβενζόλιο ή MsOH , (ii) H_2O .

Τα 1-υδρόξυ-διφωσφονικά παράγωγα συντέθηκαν από τα αντίστοιχα καρβοξυλικά οξέα στα οποία προστέθηκε μείγμα φωσφορικού οξέος και τριχλωριούχου φωσφόρου. Το μείγμα που προκύπτει από την πιο πάνω αντίδραση ψύχθηκε με νερό. Για την παρασκευή ποσοτήτων σε μικρή κλίμακα χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης το χλωροβενζόλιο, ενώ για μεγαλύτερες ποσότητες προτιμήθηκε το μεθανοσουλφονικό οξύ (MsOH). Οι αμινομάδες που περιλαμβάνονται στην ομάδα R τροποποιήθηκαν περαιτέρω όπου χρειαζόταν με αναγωγική αμίνωση (1η, 1θ; Πίνακας 1.1), ακετυλίωση (1ε; Πίνακας 1.1), ή υδρογόνωση (1ζ; Πίνακας 1.1).

Κάποια πολύ γνωστά διφωσφονικά (π.χ. αλενδρονικό, νεριδρονικό, ολαδρονικό, ιβανδρονικό) που χρησιμοποιούνται ευρέως για τη θεραπεία ασθενειών στο οστά, συντέθηκαν με τη μέθοδο αυτή και παρουσιάζονται στον πιο κάτω πίνακα (Πίνακας 1.1).

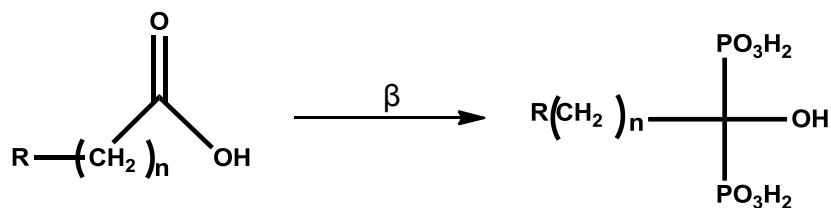
Πίνακας 1.1. Χαρακτηριστικά παραδείγματα διφωσφονικών ενώσεων που συντέθηκαν με τη μέθοδο A1.

Γενική δομή							
Ένωση	R ¹	R ²	R ³	X	m	n	Αναφορά
(1α) 1-υδροξύ-4-άμινο-βουτυλιδένο-1,1-διφωσφονικό οξύ (αλενδρονικό)	H	H				3	[105]
(1β) 1-υδροξύ-6-άμινο-εξυλιδένο-1,1-διφωσφονικό οξύ (νεριδρονάτη)	H	H				5	[105]
(1γ) 1-υδροξύ-3-διμεθυλάμινο προπυλιδένο-1,1-διφωσφονικό οξύ (ολπαδρονικό)	Me	Me				2	[105]
(1δ) 1-υδροξύ-3-(μέθυλ-πεντυλάμινο) προπυλιδένο-1,1-διφωσφονικό οξύ (ιβανδρονικό)	Πεντυλ-	Me				2	[105]

(συνέχεια από την προηγούμενη σελίδα)

(1ε) 1-υδρόξυ-3-ακετυλάμινο προπυλιδένο-1,1-διφωσφονικό οξύ	Ac	H				2	[105]
(1ζ) 1-υδρόξυ-3-μεθυλάμινο προπυλιδένο-1,1-διφωσφονικό οξύ	Me	H				2	[105]
Γενική δομή							
Ένωση	R¹	R²	R³	X	m	n	Αναφορά
(1η) 1-υδρόξυ-3-μεθύλ-3- (διμεθυλάμινο)προπυλιδένο-1,1- διφωσφονικό οξύ	Me	Me	Me				[105]
Γενική δομή							
Ένωση	R¹	R²	R³	X	m	n	Αναφορά
(1θ) 1-υδρόξυ-3-[(3-φαίνυλ- σουλφάνυλ-πρόπυλ) μεθυλάμινο]- προπυλιδένο-1,1-διφωσφονικό οξύ	Me	H		S	3	2	[105]

Μέθοδος Α2: Δεύτερος τρόπος σύνθεσης 1-υδροξυ-1,1-διφωσφονικών^[106]



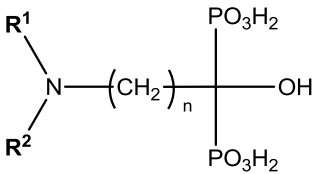
(β) (i) $\text{PCl}_3/\text{H}_3\text{PO}_3$, (ii) H_2O .

Τα 1-υδροξυδιφωσφονικά συντέθηκαν από αντίδραση του κατάλληλου καρβοξυλικού οξέος με φωσφορώδες οξύ και τριχλωριούχο φωσφόρο. Στη συνέχεια έγινε υδρόλυση και στις περισσότερες περιπτώσεις ακολούθησε ρύθμιση του pH (4.3) με προσθήκη διαλύματος 50% NaOH. Τέλος το προϊόν ανακρυσταλλώθηκε με νερό.

Ενώ η απόδοση αυτής της αντίδρασης είναι μέτρια (26-89%), η χρήση φθηνών και εύκολα διαθέσιμων αντιδραστηρίων, σε συνδυασμό με τα απλά στάδια σύνθεσης της, την καθιστούν συνθετικά ελκυστική. Το αρχικό μείγμα της αντίδρασης είναι διφασικό, ο όγκος του οποίου αυξάνεται λόγω των αερίων που παράγονται. Το προϊόν που προκύπτει είναι υαλώδες και παρόλο που αυτό μπορεί να είναι αποδεκτό για την παρασκευή μικρών ποσοτήτων προϊόντος, είναι μη πρακτικό για την παραγωγή μεγαλύτερων ποσοτήτων. Το πρόβλημα αυτό της διαλυτότητας του προϊόντος λύθηκε με την πραγματοποίηση της αντίδρασης σε μεθανοσουλφονικό οξύ. Με τον τρόπο αυτό το μείγμα της αντίδρασης παραμένει διαλυτό, επιτρέποντας κατά συνέπεια την πλήρη μετατροπή του καρβοξυλικού οξέος.

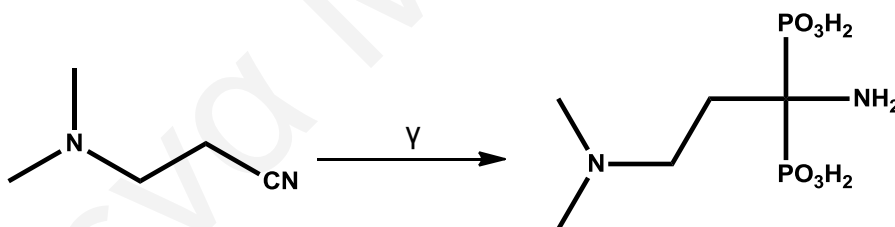
Με τη μέθοδο αυτή παρασκευάστηκαν ενώσεις που συντέθηκαν και με τη μέθοδο Α1 όπως το ολαδρονικό, αλενδρονικό και νεριδρονικό, αλλά και καινούργιες όπως το παμιδρονικό και το ριζεδρονικό (Πίνακας 1.2).

Πίνακας 1.2. Παραδείγματα διφωσφονικών ενώσεων που συντέθηκαν με τη μέθοδο A2.

Γενική δομή				
				
Ένωση	R ¹	R ²	n	Αναφορά
(2α) 1-υδρόξυ-3-διμεθυλάμινο προπυλιδένο-1,1-διφωσφονικό οξύ (ολπαδρονικό)	Me	Me	2	[106]
(2β) 1-υδρόξυ-3-άμινο-προπυλιδένο-1,1-διφωσφονικό οξύ (παμιδρονικό)	H	H	2	[106]
(2γ) 1-υδρόξυ-4-άμινο-βουτυλιδένο-1,1-διφωσφονικό οξύ (αλενδρονικό)	H	H	3	[106]
(2δ) 1-υδρόξυ-6-άμινο-εξυλιδένο-1,1-διφωσφονικό οξύ (νεριδρονικό)	H	H	5	[106]

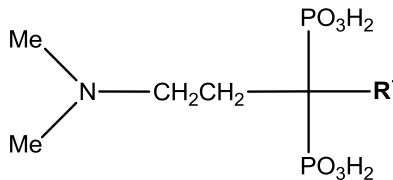
(συνέχεια από την προηγούμενη σελίδα)

Γενική δομή				
Ένωση	R ¹	R ²	n	Αναφορά
(2ε) 2-(3-πυριδύλ)-1-υδροξυ-αιθάν-1,1-διφωσφονικό οξύ (ριζεδρονικό)			1	[106]

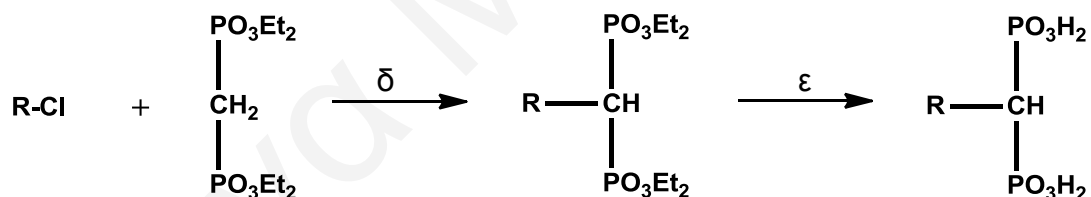
Μέθοδος Β: Σύνθεση 1-αμινο-1,1-διφωσφονικών^[105, 107](γ) H₃PO₄, PBr₃.

Για τη σύνθεση των 1-αμινο-1,1-διφωσφονικών ακολουθήθηκε μία παρόμοια διαδικασία όπως αυτή που έγινε στη μέθοδο Α1. Αρχίζοντας από το 3-(διμεθυλάμινο)προπανονιτρίλιο και με προσθήκη φωσφορικού οξέος και τριβρωμιούχου φωσφόρου, παρασκευάστηκε το 1-άμινο-3-(διμεθυλάμινο) προπυλιδένο-1,1-διφωσφονικό οξύ. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα τέτοιας σύνθεσης φαίνεται στον πίνακα 1.3.

Πίνακας 1.3. Παράδειγμα σύνθεσης με τη μέθοδο Β.

Γενική δομή		
		
Ένωση	R ¹	Αναφορά
(3α) 1-άμινο-3-(διμεθυλάμινο)προπυλιδένο-1,1-διφωσφονικό οξύ	NH ₂	[105, 107]

Μέθοδος Γ: Σύνθεση 1-αμινο-άλκυλ-1,1-διφωσφονικών^[105]



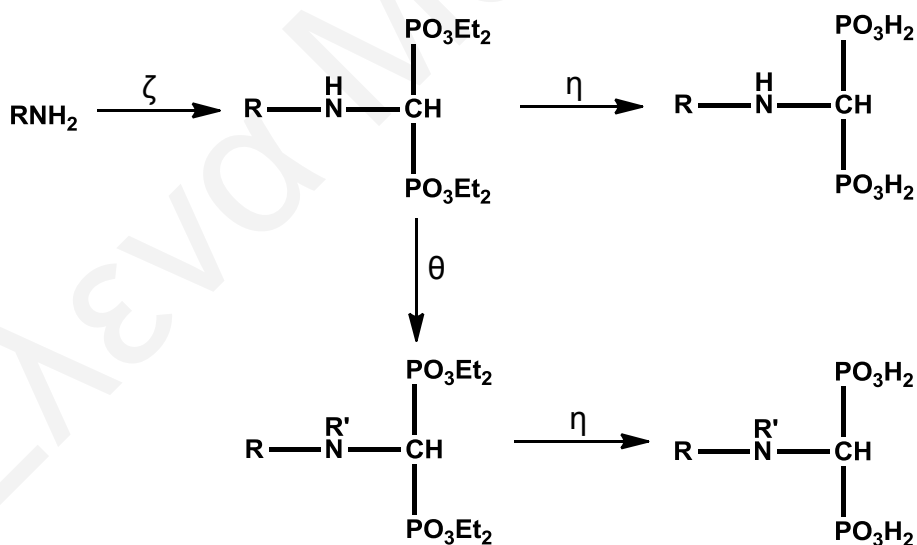
(δ) NaH, THF; (ε) 48% HBr ή TMSBr.

Η σύνθεση διφωσφονικών στα οποία το 1-υδρόξυ υποκατεστημένο αντικαθίσταται από ένα άτομο υδρογόνου (Πίνακας 1.4.) γίνεται με αλκυλίωση του τετρααιθυλ-μεθυλένο-διφωσφονικού. Ακολούθως γίνεται όξινη υδρόλυση του μείγματος και τέλος το προϊόν ανακρυσταλλώνεται με μεθανόλη και ακετόνη.

Πίνακας 1.4. Παράδειγμα σύνθεσης με τη μέθοδο Γ.

Γενική δομή		
Ένωση	R ¹	Αναφορά
(4α) 3-(διμεθυλάμινο) προπυλιδένο-1,1-διφωσφονικό οξύ	H	[105]

Μέθοδος Δ: Σύνθεση 1-άλκυλ- και αρυλάμινο-1,1-διφωσφονικών^[105, 108]



(ζ) HC(OEt)₃, HPO₃Et₂ (2 ισοδύναμα); (η) 1 N HCl ή TMSI; (θ) R'-X, NaH, THF.

Τα ετεροάρυλ-άμινο-μεθανοδιφωσφονικά οξέα συντέθηκαν αρχίζοντας από μία πρωτοταγή αμίνη στην οποία προστέθηκαν τριαιθυλοορθοφορμικό (φορμικός εστέρας) και 2 ισοδύναμα διαίθυλοφωσφίτη. Οι φωσφονικοί εστέρες υδρολύθηκαν με 1M HCl ή ιωδιούχο τριμεθυλοπυρίτιο (TMSI) και έδωσαν τα αντίστοιχα διφωσφονικά οξέα (Πίνακας 1.5).

Πίνακας 1.5. Παραδείγματα σύνθεσης με τη μέθοδο Δ.

Γενική δομή				
Ένωση	Het	R ¹	R ²	Αναφορά
(5α) N-(2-(3-πικολύλ)) άμινο-μεθυλένο διφωσφονικό οξύ				[108]
(5β) (5-μέθυλ-θειάζολ-2-υλ) άμινο-μεθυλένο διφωσφονικό οξύ		Me	H	[105]
(5γ) (βενζύλ-ιμιδαζολ-2-υλ) άμινο-μεθυλένο διφωσφονικό οξύ				[105]

1.6.7.1 Σύγκριση μεθόδων σύνθεσης διφωσφονικών ενώσεων

Μέθοδος A1: Η απόδοση είναι αρκετά ψηλή (92%) και τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται είναι φθηνά και εύκολα διαθέσιμα. Τα μειονεκτήματα της μεθόδου αυτής είναι ότι το χλωροβενζόλιο είναι καρκινογόνο και ότι τα πλείστα αντιδραστήρια όπως για παράδειγμα ο τριχλωριούχος φωσφόρος, το φωσφορικό και το μεθανοσουλφονικό οξύ είναι διαβρωτικά. Επίσης, ο τριχλωριούχος φωσφόρος εκτός από διαβρωτικός είναι και ισχυρά τοξικός.

Μέθοδος A2: Στη μέθοδο αυτή όπως και στην προηγούμενη γίνεται χρήση φθηνών και εύκολα διαθέσιμων αντιδραστηρίων αλλά η απόδοση είναι σχετικά μέτρια (26-89%). Εκτός από τα επικίνδυνα χημικά που χρησιμοποιούνται ένα άλλο πρόβλημα που παρουσιάζεται είναι η φύση του μείγματος της αντίδρασης, η οποία δεν επιτρέπει την πλήρη μετατροπή του καρβοξυλικού οξέος. Το πρόβλημα όμως αυτό ξεπεράστηκε με την πραγματοποίηση της αντίδρασης σε μεθανοσουλφονικό οξύ έτσι ώστε το μείγμα να παραμένει διαλυτό.

Μέθοδος B, Γ και Δ: Παρόλο που τα αρχικά αντιδραστήρια είναι φθηνά και εύκολα διαθέσιμα, τα περισσότερα από αυτά είναι διαβρωτικά και τοξικά. Το τετραϋδροφουράνιο είναι πολύ εύφλεκτο και η απόδοση των αντιδράσεων είναι σχετικά χαμηλή (3-70%). Ιδιαίτερα αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι οι αρωματικές διφωσφονικές ενώσεις συντίθενται συνήθως με τη μέθοδο Δ.

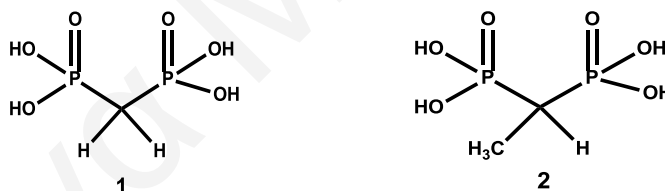
Από τα πιο πάνω φαίνεται ότι οι καλύτερες μέθοδοι σύνθεσης είναι η A1 και η A2 επειδή συνδυάζουν καλές αποδόσεις, χαμηλό κόστος και ευελιξία στο είδος των διφωσφονικών ενώσεων που μπορούν να παρασκευαστούν με τις μεθόδους αυτές. Για τη σύνθεση όμως αρωματικών ενώσεων προτιμάται η μέθοδος Δ παρόλο που έχει τις πιο μικρές αποδόσεις.

1.6.8. Ιδιότητες συμπλοκοποίησης διφωσφονικών ενώσεων στο διάλυμα

Η ικανότητα των διφωσφονικών ενώσεων να δεσμεύονται αποτελεσματικά με διάφορα μεταλλοϊόντα αποτελεί ένα κύριο χαρακτηριστικό όλων των ενώσεων στις οποίες gem-διφωσφονικές ομάδες συνδέονται με τον α-άνθρακα. Αυτό οφείλεται στην κατάλληλη στερική διευθέτηση των φωσφονικών ομάδων οι οποίες παρέχουν κέντρα οξυγόνου για διδοτικό ή δις-διδοτικό τρόπο δέσμευσης, καθώς επίσης και στην τάση που έχουν να σχηματίζουν σταθερές πρωτονιωμένες σύμπλοκες ενώσεις ακόμα και σε διαλύματα με σχετικά υψηλή οξύτητα.^[109]

1.6.8.1 Σύμπλοκες ενώσεις του μεθάν-1,1-διφωσφονικού οξέος (1)

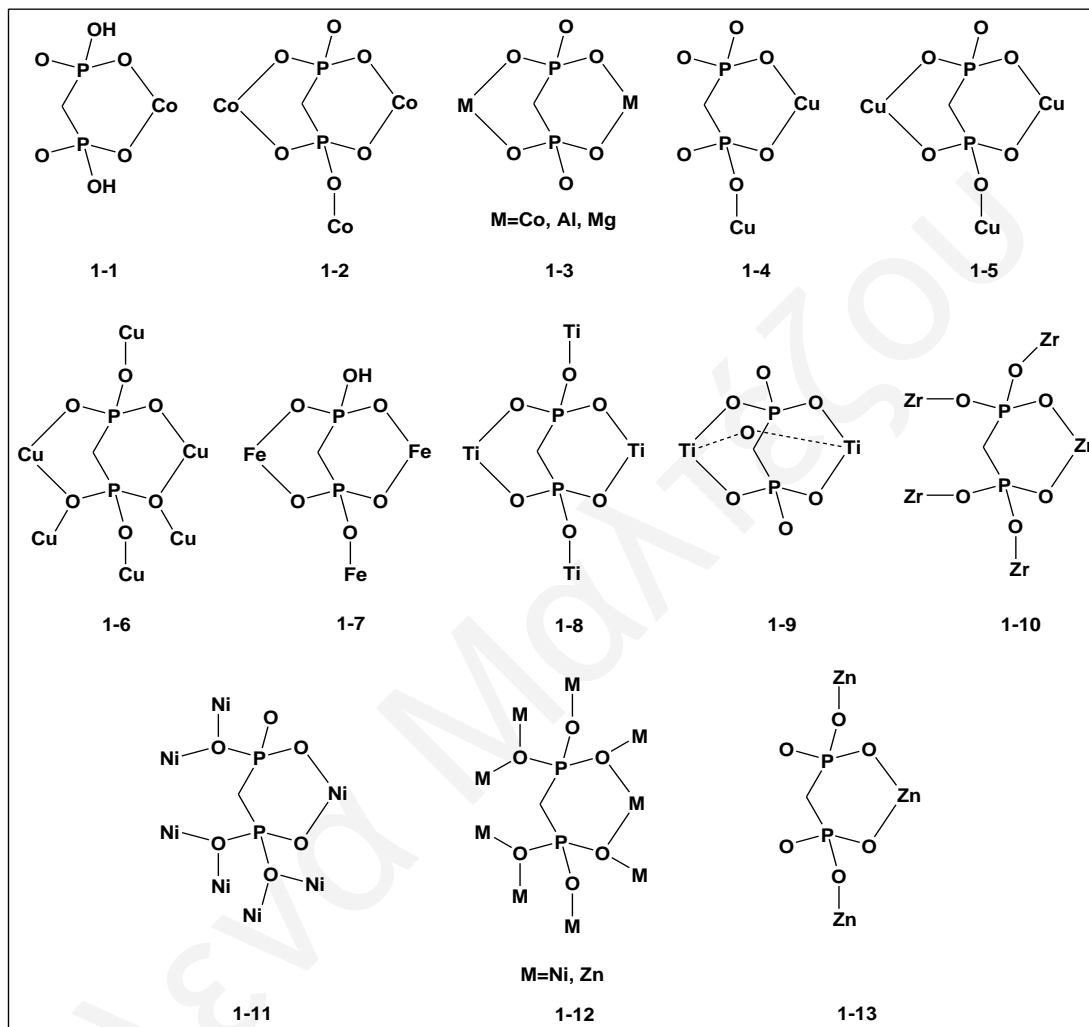
Σύμπλοκες ενώσεις των **1** και **2** με ιόντα των μετάλλων μετάπτωσης καθώς επίσης και των μετάλλων των ομάδων I, II, και IIIA έχουν μελετηθεί ευρέως με χρήση της ποτενσιομετρικής μεθόδου.^[110, 111-119] Ακόμη και τα αλκαλι μεταλλοϊόντα φαίνεται να σχηματίζουν ασθενείς σύμπλοκες ενώσεις με τους υποκαταστάτες **1** και **2** (Σχήμα 1.31).^[119]



Σχήμα 1.31. Δομή των υποκαταστατών μεθάν-1,1-διφωσφονικού οξέος (**1**) και 1-υδρόξυ-αιθάν-1,1-διφωσφονικού οξέος (**2**).

Γενικά, η ένταξη ενός δευτέρου υποκαταστάτη προκειμένου να σχηματιστούν σύμπλοκα με αναλογία μεταλλοϊόντος-υποκαταστάτη 1:2 θεωρείται λιγότερο ευνοημένη λόγω κυρίως των μεγάλων ηλεκτροστατικών απώσεων μεταξύ των αρνητικά φορτισμένων φωσφονικών ομάδων γύρω από το μεταλλοϊόν. Ο σχηματισμός εξαμελών δακτυλίων μέσω των ατόμων οξυγόνου των δύο φωσφονικών ομάδων αποτελεί έναν ευρέως αποδεκτό τρόπο ένταξης στα πρωτονιωμένα και μη-πρωτονιωμένα μονοπυρηνικά σύμπλοκα του **1** και **2**.^[109]

Η ακαμψία της ένωσης **1**, το μέγεθος, η γεωμετρία καθώς επίσης και η τοπολογία των κέντρων σύνδεσης προδιαθέτουν το διδοτικό και δις-διδοτικό τρόπο δέσμευσης. Οι διάφοροι τρόποι ένταξης όλων των διαθέσιμων συμπλόκων του **1** παρουσιάζονται στο σχήμα 1.32.



Σχήμα 1.32. Τρόποι ένταξης του **1** σε σύμπλοκα του Co, Al, Mg, Cu, Fe, Ti, Zr, Ni και Zn.

Η πλειοψηφία αυτών των ενώσεων σχηματίζουν στο κρυσταλλικό πλέγμα αλυσίδες με διάφορα μεταλλοϊόντα ή με το ίδιο μεταλλοϊόν, ανάλογα με τη στοιχειομετρία και τις συνθήκες αντίδρασης. Η ικανότητα τους αυτή έχει σαν αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός μεγάλου αριθμού πολυμερικών δομικών μοτίβων.

Γενική μεθοδολογία σύνθεσης: Όλες οι πιο πάνω ενώσεις συντέθηκαν υδροθερμικά (κάτω από αυτογενή πίεση). Όπως είναι γνωστό, στις υδροθερμικές αντιδράσεις είναι σημαντικοί αρκετοί

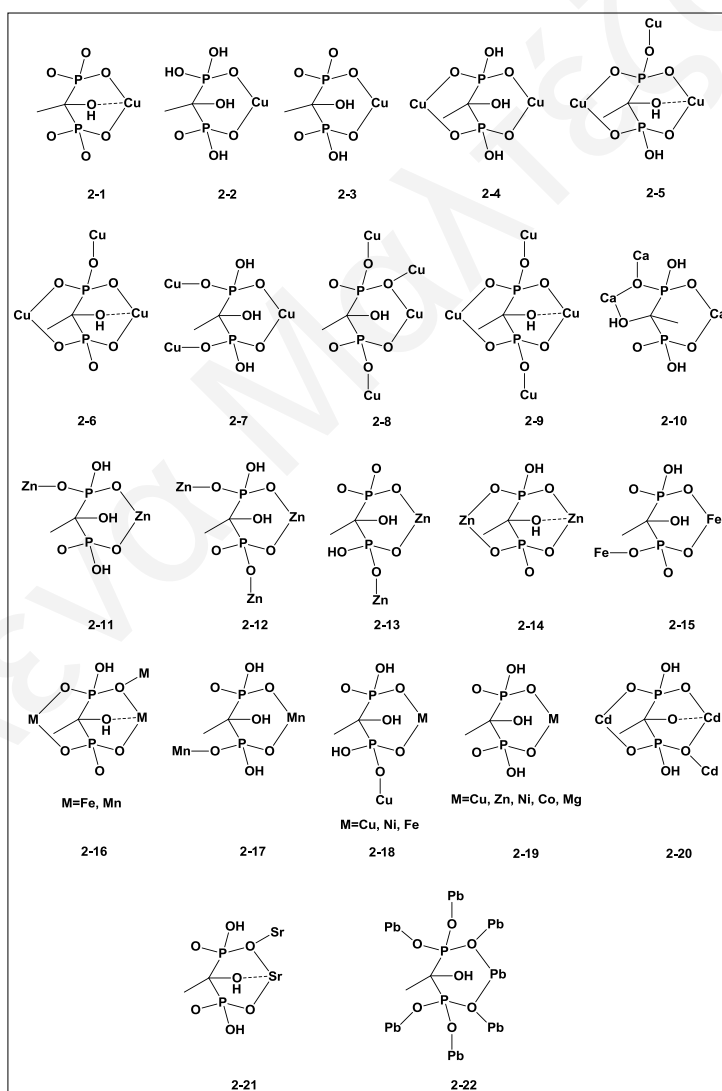
παράγοντες, όπως είναι τα αρχικά αντιδραστήρια, η θερμοκρασία αντίδρασης, το pH, ο χρόνος αντίδρασης, κ.ά. Οι συνθήκες σύνθεσης για μερικά χαρακτηριστικά παραδείγματα συμπλοκών ενώσεων παρουσιάζονται στον πίνακα 1.6.

Πίνακας 1.6. Συνθήκες σύνθεσης συμπλόκων του υποκαταστάτη 1.

Ένωση	Αντιδρώντα	Μοριακή Αναλογία	t(h)	T (°C)	pH	Αναφορά
1-6	Cu(SO ₄)·5H ₂ O CH ₂ (PO ₃ H ₂) ₂ (MDP) H ₂ O	1:1.5:4100	48	150	1.0-1.5	[120]
1-7	Fe ₂ O ₃ CH ₂ (PO ₃ H ₂) ₂ (MDP) H ₂ O	1:3:100	120	200	-	[121]
1-10	ZrOCl ₂ CH ₂ (PO ₃ H ₂) ₂ (MDP) HF H ₂ O	1:1:1:500	72	220	~1	[122]
1-13	ZnCl ₂ CH ₂ (PO ₃ H ₂) ₂ (MDP) H ₂ O	1:1:250	48	170	10	[123]

1.6.8.2. Σύμπλοκες ενώσεις του 1-υδροξυ-αιθάν-1,1-διφωσφονικού οξέος (2)

Η παρουσία ενός επιπρόσθετου κέντρου παροχής ηλεκτρονιακής πυκνότητας (υδροξυλομάδας) επιτρέπει στο μεταλλοϊόν να δεσμευτεί τριδοτικά με τον υποκαταστάτη **2** με αποτέλεσμα να προκύπτουν σημαντικά τροποποιημένες δυνατότητες ένταξης. Από την άλλη πλευρά η υδροξυλομάδα μπορεί να λειτουργήσει ως δότης και δέκτης δεσμών υδρογόνου. Γι' αυτό το λόγο είναι πιθανός ο σχηματισμός δεσμών υδρογόνου ακόμη και σε συστήματα με πλήρως αποπρωτονιωμένες τις φωσφονικές ομάδες του **2**. Οι διάφοροι τρόποι ένταξης των συμπλόκων του **2** παρουσιάζονται στο σχήμα 1.33.^[109]



Σχήμα 1.33. Τρόποι ένταξης του **2** σε σύμπλοκα του Cu, Ca, Zn, Fe, Mn, Ni, Co, Mg, Cd, Sr και Pb.

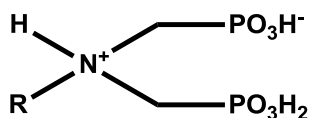
Οι πλείστες σύμπλοκες ενώσεις του υποκαταστάτη **2** λαμβάνονται κάτω από υδροθερμικές συνθήκες. Στον πίνακα 1.7 παρουσιάζονται οι συνθήκες σύνθεσης κάποιων χαρακτηριστικών ενώσεων.

Πίνακας 1.7. Συνθήκες σύνθεσης συμπλόκων του υποκαταστάτη **2**.

Ένωση	Αντιδρώντα	Μοριακή Αναλογία	t(h)	T (°C)	pH	Αναφ.
2-8	Cu(NO ₃) ₂ ·3H ₂ O CH ₃ C(OH)(PO ₃ H ₂) ₂ (hedpH₄) LiF H ₂ C ₂ O ₄ ·2H ₂ O H ₂ O	1:2.5:1:1:444	72	140	~4	[124]
2-15	FeSO ₄ ·7H ₂ O CH ₃ C(OH)(PO ₃ H ₂) ₂ (hedpH₄) LiF H ₂ O	1:5:1:444	48	140	~3	[125]
2-16	MnCl ₂ ·4H ₂ O CH ₃ C(OH)(PO ₃ H ₂) ₂ (hedpH₄) NaF H ₂ O	0.5:2.5:1:444	48	110	3.15	[126]

1.6.8.3 Σύμπλοκες ενώσεις του ιμίνo-διμεθυλένο-διφωσφονικού οξέος (3) και των παραγώγων του (4,5,6) στο διάλυμα και στη στερεή κατάσταση

Όπως και οι υποκαταστάτες **1** και **2** τα ιμινοδιμεθυλενοδιφωσφονικά οξέα (**3,4,5** και **6**) προτιμούν την ισομοριακή στοιχειομετρία μετάλλου-υποκαταστάτη στο διάλυμα (Σχήμα 1.34).



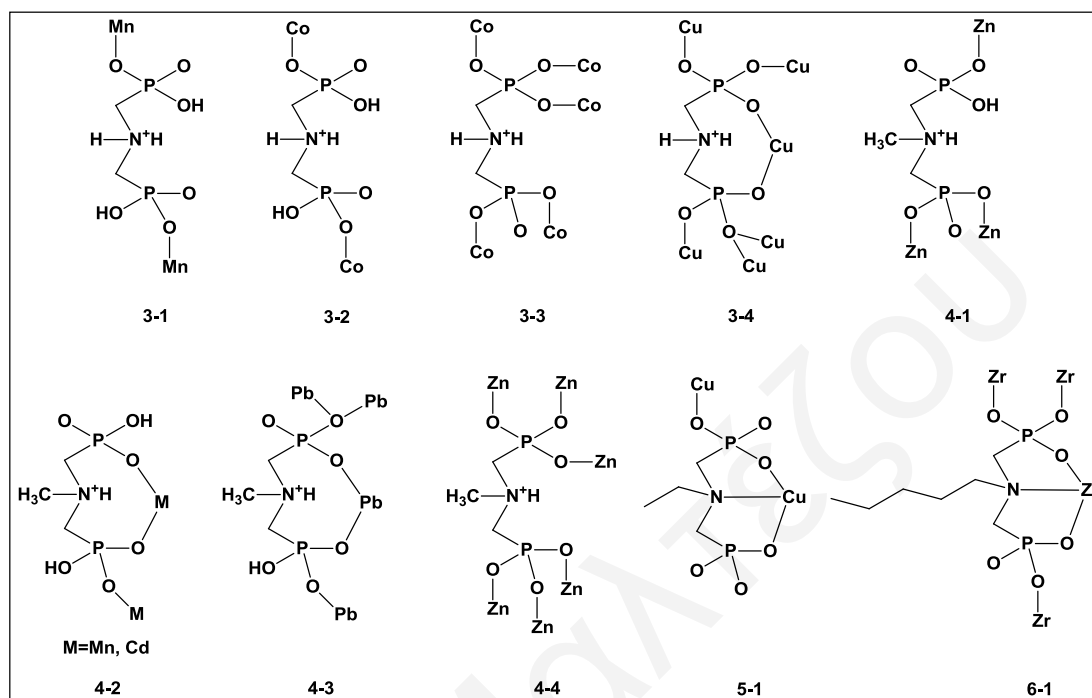
- 3** R=H
- 4** R=Me
- 5** R=Et
- 6** R=*n*-pentyl

Σχήμα 1.34. Δομή των υποκαταστατών ιμίνo-διμεθυλένο-διφωσφονικού οξέος (**3**) και των παραγώγων του (**4,5,6**).

Μελέτες που έγιναν σε διαλύματα έδειξαν ότι όσο πιο όξινο είναι το πρωτόνιο του υδρογόνου τόσο πιο εύκολο είναι για το άζωτο να συμμετέχει στην ένταξη. Εντούτοις, λόγω χαμηλότερης βασικότητας του ιμινικού αζώτου, τα τριδοτικά είδη σχηματίζονται ευκολότερα. Η έκταση του σχηματισμού τους καθώς επίσης και η περιοχή του pH στις οποίες ευνοείται ο σχηματισμός τους εξαρτώνται πρώτιστα από τη συγγένεια του συγκεκριμένου μεταλλοϊόντος με το άτομο του αζώτου.^[109]

Οι σύμπλοκες ενώσεις των ιμινοδιμεθυλοδιφωσφονικών οξέων δίνουν μία πληθώρα δομών με διαφορετικούς τρόπους ένταξης οι οποίοι εξαρτώνται από τις συνθήκες αντίδρασης και τη φύση του μεταλλοϊόντος. Το κοινό χαρακτηριστικό γνώρισμά τους είναι ότι ο υποκαταστάτης λειτουργεί ως γέφυρα μεταξύ των γειτονικών μεταλλικών κέντρων. Ο κενός χώρος που δημιουργεί ο δεσμός C-N-C φαίνεται να είναι υπεύθυνος για τη σημαντικά μεταβαλλόμενη ικανότητα ένταξης των υποκαταστατών. Οι διάφοροι τρόποι ένταξης των πιο πάνω υποκαταστατών σε σύμπλοκα με δισθενή μεταλλοϊόντα, παρουσιάζονται στο σχήμα 1.35. Αρκετά αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι περισσότερες από τις μισές σύμπλοκες ενώσεις

έχουν στη δομή τους έναν οκταμελή χηλικό δακτύλιο, παρόλο που θεωρείται ότι είναι λιγότερο σταθερός.



Σχήμα 1.35. Τρόποι ένταξης των 3,4,5,6 σε σύμπλοκα του Mn, Cd, Co, Pb, Cu, Zn και Zr.

Μελέτες που έγιναν στο παρελθόν έδειξαν ότι η υδροθερμική μέθοδος είναι μία αρκετά υποσχόμενη τεχνική στην παρασκευή αμέτρητων σταθερών πλεγμάτων μετάλλου-υποκαταστάτη τα οποία παρουσιάζουν ενδιαφέρουσες ιδιότητες.^[127] Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου αυτής είναι ότι:

- ✓ Η όλη διαδικασία ολοκληρώνεται σε ένα στάδιο.
- ✓ Ελαχιστοποιείται η ποσότητα ενέργειας που καταναλώνεται.
- ✓ Η αντίδραση πραγματοποιείται σε κλειστό σύστημα-μειώνονται οι περιβαλλοντικές συνέπειες.^[128]

Η πλειοψηφία των συμπλόκων των υποκαταστατών **3,4,5** και **6** λαμβάνεται κάτω από υδροθερμικές συνθήκες. Μερικά χαρακτηριστικά παραδείγματα παρουσιάζονται στον πίνακα 1.8.

Πίνακας 1.8. Συνθήκες σύνθεσης συμπλόκων των υποκαταστατών 3,4,5 και 6.

Ένωση	Αντιδρώντα	Μοριακή Αναλογία	t(h)	T (°C)	pH	Αναφ.
3.3	$\text{Co}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ H_2O $\text{HO}_3\text{PCH}_2\text{NH}_2^+\text{CH}_2\text{PO}_3\text{H}_2$	1.83:555:1.27	48	160	-	[129]
3-4	$\text{HO}_3\text{PCH}_2\text{NH}_2^+\text{CH}_2\text{PO}_3\text{H}_2$ $\text{CuClO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ H_2O	0.1:0.1:555	24	150	~6	[127]
4-1	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ $\text{HO}_3\text{PCH}_2\text{NH}_2^+\text{CH}_2\text{PO}_3\text{H}_2$ H_2O	1:2:278	240	-	-	[130]

2. Πειραματικό Μέρος

2.1 Αντιδραστήρια

Οι ενώσεις α-τοκοφερόλη (α-toc), γ-τοκοφερόλη (γ-toc), δ-τοκοφερόλη (δ-toc) και γ-τοκοτριενόλη (γ-tot) προμηθεύονται από την εταιρία YASOO Health. Οι τοκοφερόλες και η τοκοτριενόλη που χρησιμοποιήθηκαν έχουν εξαχθεί από πολτό ρυζιού χρησιμοποιώντας απόσταξη υψηλού κενού και ήταν φυσικά ισομερή. Φαρνεσόλη, φυτόλη, βοροϋδρίδιο του νατρίου, χλωριούχος ψευδάργυρος, μεθοξείδιο του νατρίου, ελεύθερη ρίζα 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλυδραζόλιο (DPPH), βασικό μέσο καλλιέργειας κυττάρων Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM), TLC οξείδιο του πυριτίου 60 F254, οξείδιο του πυριτίου υψηλού βαθμού καθαρότητας 70-230 mesh 60 Å για χρωματογραφία στήλης, οξικός ανυδρίτης, οξικό οξύ, βρωμοξικό οξύ, χλωροξικό οξύ, βρωμοηλεκτρικό οξύ, 3 αμινοπροπανικό οξύ, 4-αμινοβουτυρικό οξύ, 4-βρωμοβουτυρικό οξύ, 4-χλωροβουτυρικό οξύ, φωσφορικό οξύ, φωσφορώδες οξύ, νιτρικό ασβέστιο (τετραένυδρο), χλωριούχο ασβέστιο (granular, άνυδρο), νιτρικό κέσιο (άνυδρο), χλωριούχο ευρώπιο (εξαένυδρο), φωσφορικό ασβέστιο (διένυδρο), υδροξείδιο του νατρίου, μεθανοσουλφονικό οξύ, τριχλωριούχος φωσφόρος, υδροχλωρικό οξύ 37 %, τετρα αιθυλο μεθυλένο διφωσφονικό, παραφορμαλδεΰδη, διαιθυλαμίνη, p-τολουένοςουλφονικό οξύ, άνυδρο θειικό νάτριο, διβένζυλο μαλονικός αιθέρας, δις-(τριμεθυλσίλυλ) αμιδικό άλας του λιθίου σε διαλύτη τετραυδροφουράνιο (1M), χλωριούχο αμμώνιο, παλλάδιο (10 wt% σε ενεργό άνθρακα), 4-(N,N-διμεθυλαμινο)πυριδίνη (DMAP), 1-αιθυλ-3-(3-διμεθυλαμινοπρόπυλ)καρβοδιμίδιο (EDCI), 1,3-δικυκλοεξυλοκαρβοδιμίδιο (DCC), τριμεθυλοβρωμοσιλάνιο, οξικό αμμώνιο, 1,2-διφαινυλοαιθάνιο-1,2-διόνη, 4-υδροξυβενζαλδεΰδη, 4-διμεθυλαμινοβενζαλδεΰδη, υδροξείδιο του αμμωνίου, 4-μεθοξυβενζαλδεΰδη, 4-πικολίνη (4-μεθυλπυριδίνη), υδροξείδιο του καλίου, 4-μεθυλκινολίνη, 2-μεθυλκινολίνη, ανθρακικό νάτριο, άνυδρο θειικό μαγνήσιο, 1,4-διμεθυλπυριδίνιουμ-ιώδιο, πιπεριδίνη, βρωμομαλεϊκός ανυδρίτης.

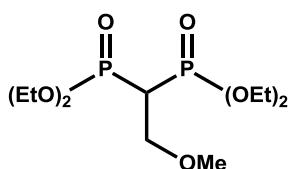
Διαλύτες: ακετόνη, αιθανόλη, ακετονιτρίλιο, διαιθυλαιθέρας, διμέθυλφορμαλδεΰδη, διχλωρομεθάνιο, εξάνιο, μεθανόλη, 2-προπανόλη, τετραϋδροφουράνιο, τετραχλωράνθρακας, τολουόλιο, χλωροφόρμιο.

Δευτεριωμένοι διαλύτες: CDCl₃, CD₃CN, D₂O, DMSO-d₆, NaOD, CD₃OD-d₄.

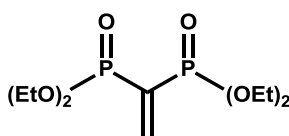
Εμπορικά διαθέσιμες ουσίες χρησιμοποιήθηκαν χωρίς περαιτέρω καθαρισμό. Οι διαλύτες μεθανόλη, τολουόλιο, χλωροφόρμιο, ακετονιτρίλιο, τετραϋδροφουράνιο, τετραχλωράνθρακας, διμεθυλοφορμαμίδιο, ξηράθηκαν με μαγνήσιο το πρώτο και με CaH₂ τα υπόλοιπα πριν χρησιμοποιηθούν. Όπου ήταν απαραίτητο οι αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν υπό συνθήκες αδρανούς ατμόσφαιρας και χρησιμοποιήθηκε υψηλής καθαρότητας αέριο N₂ (99.995 %).

2.2 Συνθέσεις

2.2.1 Σύνθεση νέων μεικτών διφωσφονικών ενώσεων με τα συστατικά της Βιταμίνης E, τη φαρνεσόλη και τη φυτόλη

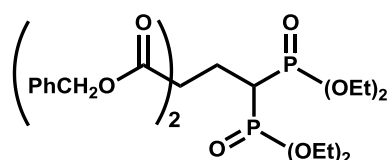


Τετρα αιθυλο (2-μεθοξυ) αιθυλιδενο διφωσφονικό [1].^[131] Σε μονόλαιμη σφαιρική φιάλη προστέθηκαν τετρα αιθυλο μεθυλένο διφωσφονικό (20 mL, 80.70 mmol, 1.0 equiv.), παραφορμαλδεΰδη (12.12 g, 403.6 mmol, 5.0 equiv.), διαιθυλαμίνη (8.4 mL, 81.21 mmol, 1.0 equiv.) και 232 ml μεθανόλη. Το θολό μείγμα που προέκυψε θερμάνθηκε στους 60 °C μέχρις ότου να γίνει διαυγές (90 min) και αφέθηκε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 15h. Μειώθηκε ο όγκος του διαλύτη, προστέθηκε τολουόλιο (40 mL) και εξατμίστηκε μέχρι ξηρού. Στη φιάλη έμεινε υποκίτρινο παχύρευστο υγρό. Προσθήκη επιπρόσθετης ποσότητας τολουολίου (40ml) καθώς επίσης και εξαύτμιση του μείγματος υπό κενό, βοήθησε στην πλήρη απομάκρυνση της μεθανόλης και στην απομόνωση του προϊόντος. (Απόδοση 31.72 g). ¹H NMR δ(CDCl₃, ppm): 1.24 (12H, t, P- OCH₂CH₃); 2.46 (1H, tt, P₂CHCH₂OCH₃); 3.25 (3H, s, -OCH₃); 3.78 (2H, td, P₂CHCH₂OCH₃); 4.06 (8H, m, P-OCH₂CH₃).



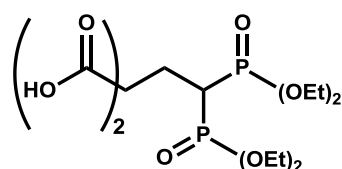
Τετρα αιθυλο αιθυλιδενο διφωσφονικό [2].^[131] Στο προϊόν [1] προστέθηκαν προστέθηκαν καταλυτική ποσότητα *p*-τολουένοςουλφονικό οξύ (0.1 g, 0.58 mmol) και 150 mL ξηρό τολουόλιο. Το υποκίτρινο διαυγές διάλυμα αφέθηκε υπό ανάδευση και θερμάνθηκε μέχρι βρασμού στους 120 °C κάτω από ατμόσφαιρα Ar για 12h (σε ελαιόλουτρο σταθερής θερμοκρασίας). Το ελαφρώς καφέ διαυγές διάλυμα που προέκυψε αφέθηκε να κρυώσει και εκχυλίστηκε με νερό (πολλαπλές εκχυλίσεις της υδατικής φάσεις με τολουόλιο μέχρι να

ανακτηθεί η απαιτούμενη ποσότητα προϊόντος). Μαζεύτηκε η οργανική φάση και ξηράνθηκε με Na_2SO_4 . Ακολούθησε διήθηση και εξάτμιση του διαλύτη. Στη φιάλη έμεινε υποκίτρινο παχύρευστο υγρό. (Απόδοση 8.4 g.) ^1H NMR $\delta(\text{CDCl}_3, \text{ppm})$: 1.27 (12H, t, P-OCH₂CH₃); 4.05-4.15 (8H, m, P-OCH₂CH₃); 7.13 (2H, dd, P₂C=CH₂). ^{13}C NMR $\delta(\text{CDCl}_3, \text{ppm})$: 16.08 (4C, t, P-OCH₂CH₃); 63.00 (4C, d, P-OCH₂CH₃); 132.51 (1C, t, P-C-P); 149.04 (1C, s, -P₂C=CH₂). ^{31}P NMR $\delta(\text{CDCl}_3, \text{ppm})$: 22.73 (s).



Τετρα αιθυλο [3,3 δις(βενζυλοξυκαρβονυλο) προπυλιδενο δις[φωσφονικό] [3]. ^{131}I Σε δύλαμη σφαιρική φιάλη προστέθηκαν τετρα αιθυλο αιθυλιδενο διφωσφονικό (8.54 g, 28.47 mmol, 1.0 equiv.), διβένζυλο

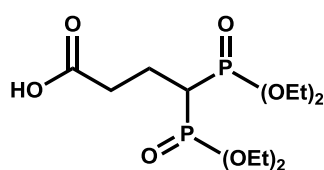
μαλονικός αιθέρας (7 mL, 28.51 mmol, 1.0 equiv.) και 130 mL ξηρό THF. Στο υποκίτρινο διαυγές διάλυμα που προέκυψε προστέθηκε δις-(τριμεθυλσίλυλ) αμιδικό άλας του λιθίου σε διαλύτη τετραυδροφουράνιο (1M) (0.53 mL, 2.821 mmol, 0.1 equiv.) και το διάλυμα αφέθηκε υπό ανάδευση για 1h σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολούθως, προστέθηκε κορεσμένο υδατικό διάλυμα χλωριούχου αμμωνίου (60 mL) και το μείγμα εκχυλίστηκε με διχλωρομεθάνιο (3x50 mL). Η οργανική φάση ξηράνθηκε με Na_2SO_4 και ο διαλύτης εξεταμίστηκε υπό κενό. Το υποκίτρινο παχύρευστο υγρό που παρέμεινε διαλύθηκε σε μείγμα $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (~5 mL, 2:98) και καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης, χρησιμοποιώντας σαν διαλύτη έκλουσης μίγμα $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (2 : 98). Ο διαλύτης εξεταμίστηκε και απέδωσε 4.78 g άχρωμου παχύρευστου υγρού. ^1H NMR $\delta(\text{CDCl}_3, \text{ppm})$: 1.28 (6H, t, OCH₂CH₃); 1.29 (6H, t, OCH₂CH₃); 2.31-2.62 (3H, m); 4.02-4.16 (9H, m); 5.07 (4H, s, -OCH₂Ph); 7.18-7.23 (10H, m). ^{13}C NMR $\delta(\text{CDCl}_3, \text{ppm})$: 16.02 (2C, -OCH₂CH₃); 16.16 (2C, -OCH₂CH₃); 24.73 (1C, m, -CH₂CHP₂); 34.02 (1C, t, P-C-P); 49.81 (1C, t, -C(O)CHRC(O)); 62.58 (4C, m, -OCH₂CH₃); 67.03 (2C, -OCH₂Ph); 127.94 (4C, ortho C); 128.14 (2C, para C); 128.31 (4C, meta C); 135.04 (2C, 1' on Ph); 168.33 (2C, -OC(O)CH). ^{31}P NMR $\delta(\text{CDCl}_3, \text{ppm})$: 25.75 (s).



Τετρα αιθυλο 3,3 δις(φωσφονο)-προπυλιδενο δις(καρβοξυλικό οξύ) [4]. ^{131}I Το τετρα αιθυλο [3,3 δις(βενζυλοξυκαρβονυλο) προπυλιδενο δις[φωσφονικό] (2.16 g, 3.68 mmol), διαλύθηκε σε ξηρό THF (30 mL) και

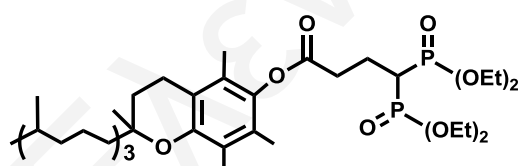
προστέθηκε παλλάδιο με περιεκτικότητα 10 % σε ενεργό άνθρακα (0.3 g, cat.). Το μείγμα αφέθηκε υπό ανάδευση κάτω από ατμόσφαιρα υδρογόνου για 4 μέρες. Στη συνέχεια διηθήθηκε και ξεπλύθηκε με κορεσμένο υδατικό διάλυμα χλωριούχου αμμωνίου (100

mL). Το προϊόν εκχυλίστηκε με διχλωρομεθάνιο (6x100 mL) και ξηράνθηκε με άνυδρο Na₂SO₄. Ο διαλύτης εξατμίστηκε υπό κενό, προστέθηκε διαιθυλαιθέρας και παρατηρήθηκε σχηματισμός υποκίτρινου στερεού. Ακολούθησε διήθηση και ξήρανση του προϊόντος (Απόδοση 0.64 g). ¹H NMR δ(MeOD, ppm): 1.30 (12H, t, -P-OCH₂CH₃); 1.74 (2H, heptet, P₂CHCH₂CH-); 2.66 (1H, tt, P-CHRP); 3.26 (1H, t, -CH₂CH(CO₂H)₂); 4.07-4.19 (8H, m, P-O-CH₂CH₃). ¹³C NMR δ(MeOD, ppm): 16.55 (2C, P-O-CH₂CH₃); 16.68 (2C, P-O-CH₂CH₂CH₃); 25.95 (1C, t, P₂CHCH₂CH-); 35.01 (1C, t, P-CHRP); 51.10 (1C, m, -CH(CO₂H)₂); 64.45 (4C, dd, P-O-CH₂CH₃); 171.84 (2C, -CO₂H). ³¹P NMR δ(MeOD, ppm): 26.16 (s).



Τετρα αιθυλο 4,4-δισ(φωσφονο)-βουτανικό οξύ[5]. ^[131] Το τετρα αιθυλο 3,3 δισ(φωσφονο)-προπυλιδενο δισ(καρβοξυλικό οξύ) (0.2 g, 0.495 mmol) προστέθηκε σε δίλιμη σφαιρική φιάλη και κάτω από ατμόσφαιρα N₂ θερμάνθηκε στους 130° C

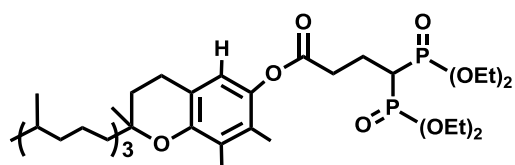
για 3h (σε ελαιόλουτρο σταθερής θερμοκρασίας). Το προϊόν απομονώθηκε ως καφέ λάδι και η απόδοση της αντίδρασης ήταν 0.174 g. ¹H NMR δ(MeOD, ppm): 1.35 (12H, t, OCH₂CH₃); 2.12-2.28 (2H, m, P₂CHCH₂CH₂-); 2.62-2.67 (m, -CDHCO₂H); 2.81 (1H, tt, -PCHP-); 4.13-4.25 (8H, m, P-O-CH₂CH₃). ¹³C NMR δ(MeOD, ppm): 16.57 (2C, P-O-CH₂CH₃); 16.71 (2C, P-O-CH₂CH₃); 21.82-22.10 (1C, m, P₂CHCH₂CH₂-); 32.53-33.07 (1C, m, P₂CHCH₂CH₂CO₂H); 35.87 (1C, t, P-CHR-P); 64.07-64.36 (4C, m, -P-O-CH₂CH₃); 175.85 (1C, -CO₂H). ³¹P NMR δ(MeOD, ppm): 26.73 (s).



α-τοκοφέρυλο διφωσφονικός εστέρας (α-toc-bppOEt, [6a]). Σε δίλιμη σφαιρική φιάλη που περιείχε διάλυμα τετρα-αιθυλ-4,4 δισ(φωσφονο)-βουτανοϊκού οξέος (0.07 g, 0.197 mmol, 1.0

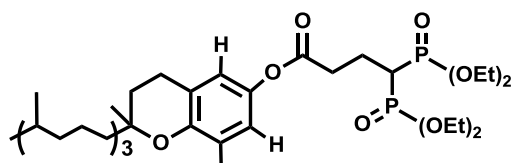
equiv.) σε 10 mL ξηρό διχλωρομεθάνιο προστέθηκαν α-τοκοφερόλη (0.1 g, 0.233 mmol, 1.2 equiv.) και 4-(N,N-διμεθυλαμινο)πυριδίνη (0.005 g, 0.04 mmol, 0.2 equiv.). Η προσθήκη και η ανάμειξη των αντιδρώντων έγινε στους 0 °C, κάτω από ατμόσφαιρα αζώτου. Στη συνέχεια προστέθηκε EDCI (0.045 g, 0.235 mmol, 1.2 equiv.), και το μείγμα αφέθηκε να φτάσει σταδιακά στους 25 °C. Η αντίδραση ολοκληρώθηκε έπειτα από ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 48 ώρες. Το μείγμα εκχυλίστηκε με νερό (3x20 ml), η οργανική φάση ξηράνθηκε με άνυδρο Na₂SO₄ και ο διαλύτης εξατμίστηκε υπό κενό. Η ελαιώδης ουσία που παρέμεινε διαλύθηκε σε μείγμα MeOH : CH₂Cl₂ (~1 mL, 3 : 100) και καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης, χρησιμοποιώντας αρχικά σαν διαλύτες

έκλυσης μείγμα MeOH : CH₂Cl₂ (3 : 100) και τελικά μεθανόλη. Ο διαλύτης εξατμίστηκε και απέδωσε 0.2 g άχρωμου παχύρευστου υγρού (τα φάσματα ¹H, ¹³C και ³¹P-NMR αναλύονται στη συζήτηση και αποτελέσματα).



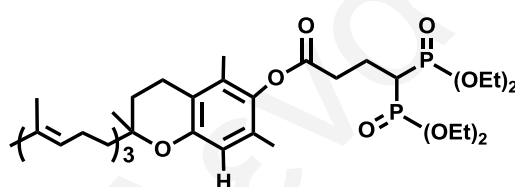
γ-τοκοφερόλο διφωσφονικός εστέρας (γ-toc-bppOEt, [6β]). Το μόριο αυτό παρασκευάστηκε με τη μεθοδολογία της σύνθεσης του α-toc-bppOEt [6α] (0.05 g αιθυλ-4,4 δις(φωσφονο)-

βουτανοϊκό οξύ, 0.07 g γ-τοκοφερόλη, 0.004 g 4-(N,N-διμεθυλαμινο)πυριδίνη, και 0.032 g EDCI Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 0.1 g (παρουσιάζει παρόμοιες χημικές μετατοπίσεις με το [6α] με μία επιπρόσθετη κορυφή λόγω του αρωματικού πρωτονίου στα 6.80 ppm).



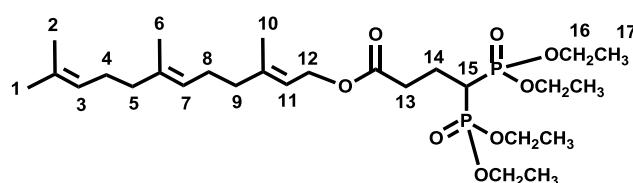
δ-τοκοφερόλο διφωσφονικός εστέρας (δ-toc-bppOEt, [6γ]). Το μόριο αυτό παρασκευάστηκε με τη μεθοδολογία της σύνθεσης του α-toc-bppOEt [6α]. Η απόδοση της αντίδρασης ήταν

0.2 g (παρουσιάζει παρόμοιες χημικές μετατοπίσεις με το [6α] με μία επιπρόσθετη διπλή κορυφή λόγω των αρωματικών πρωτονίων στα 6.88 ppm).



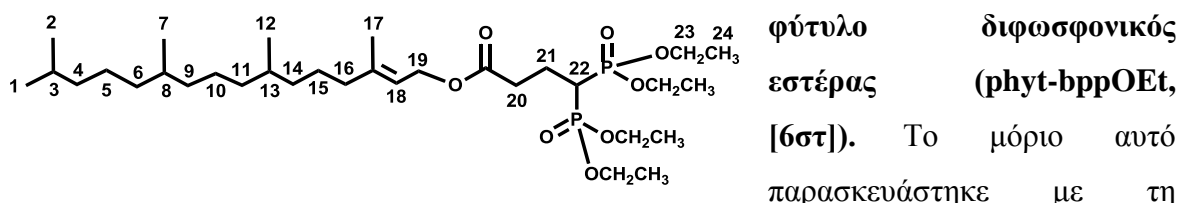
γ-τοκοτριένυλο διφωσφονικός εστέρας (γ-tot-bppOEt, [6δ]). Το μόριο αυτό παρασκευάστηκε με τη μεθοδολογία της σύνθεσης του α-toc-bppOEt [6α]. Η απόδοση της αντίδρασης ήταν

0.1 g (παρουσιάζει παρόμοιες χημικές μετατοπίσεις με το [6α] με μία επιπρόσθετη κορυφή λόγω του αρωματικού πρωτονίου στα 6.55 ppm).

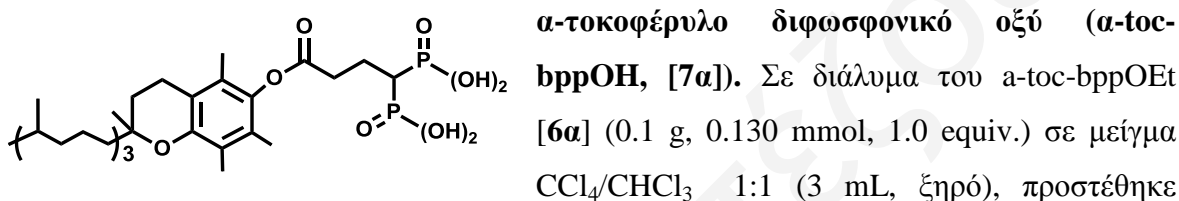


φαρνέσυλο διφωσφονικός εστέρας (farn -bppOEt, [6ε]). Το μόριο αυτό παρασκευάστηκε με τη μεθοδολογία της σύνθεσης του α-toc-bppOEt [6α].

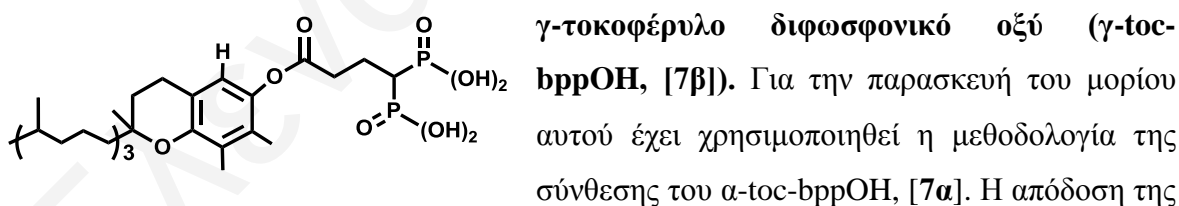
Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 0.2 g. ¹H NMR δ(CDCl₃, ppm): 5.21 (t, 1H, H11); 5.10 9(s, 2H, H3, H7); 4.61 (d, 2H, H12); 4.25 (p, 8H, H16); 2.20 (t, 2H, H13); 1.89 (s, 8H, H4, H5, H8, H9); 1.75 (s, 9H, H1, H6, H10); 1.63 (p, 5H, H2, H14); 1.42 (h, 1H, H15); 1.30 (t, 12H, H17).



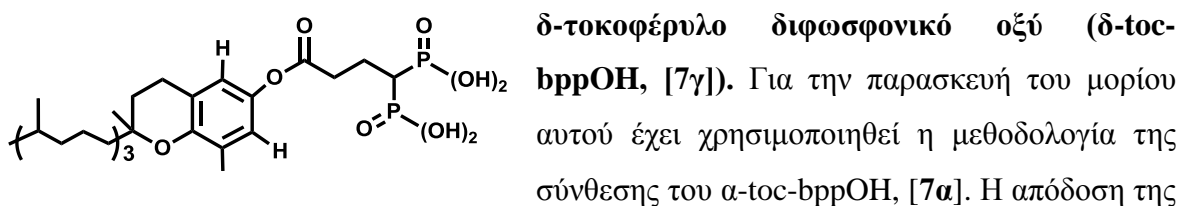
μεθοδολογία της σύνθεσης του α-toc-bppOEt [6α]. Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 0.2 g. $^1\text{H NMR } \delta(\text{CDCl}_3, \text{ppm})$: 5.25 (t, 1H, H18); 4.50 (d, 2H, H19); 4.20 (p, 8H, H23); 2.30 (t, 2H, H20); 1.90 (t, 2H, H16); 1.77 (s, 3H, H17); 1.70-1.45 (m, 6H, H21, H3, H8, H13, H22); 1.35-1.20 (m, 28H, H15, H24, H4, H5, H6, H9, H10, H11, H14); 0.90 (dd, 12H, H7, H12, H1, H2).



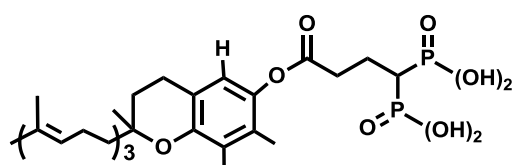
τριμεθυλοβρωμοσιλάνιο (0.5 mL, 0.58 g, 3.79 mmol, 29 equiv.) και το μείγμα αφέθηκε υπό ανάδευση για 24 ώρες κάτω από ατμόσφαιρα αργού. Στη συνέχεια προστέθηκαν 5 mL νερού και το μείγμα εκχυλίστηκε με CHCl_3 . Η οργανική φάση ξηράνθηκε με άνυδρο Na_2SO_4 , ο διαλύτης εξατμίστηκε υπό κενό και απέδωσε 0.08 g καφέ ελαιώδους ουσίας (παρουσιάζει παρόμοιες χημικές μετατοπίσεις με το [6α] με τη διαφορά ότι απουσιάζουν οι κορυφές των πρωτονίων από τις εστερικές ομάδες του διφωσφονικού).



αντίδρασης ήταν 0.05 g (παρουσιάζει παρόμοιες χημικές μετατοπίσεις με το [6β] με τη διαφορά ότι απουσιάζουν οι κορυφές των πρωτονίων από τις εστερικές ομάδες του διφωσφονικού).

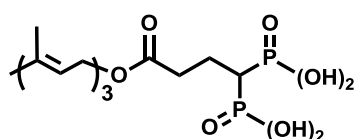


αντίδρασης ήταν 0.06 g (παρουσιάζει παρόμοιες χημικές μετατοπίσεις με το [6γ] με τη διαφορά ότι απουσιάζουν οι κορυφές των πρωτονίων από τις εστερικές ομάδες του διφωσφονικού).



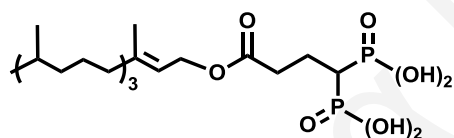
γ-τοκοτριένυλο διφωσφονικό οξύ (γ-toc-bppOH, [7δ]). Για την παρασκευή του μορίου αυτού έχει χρησιμοποιηθεί η μεθοδολογία της σύνθεσης του α-toc-bppOH, [7α]. Η απόδοση

της αντίδρασης ήταν 0.05 g (παρουσιάζει παρόμοιες χημικές μετατοπίσεις με το [6δ] με τη διαφορά ότι απουσιάζουν οι κορυφές των πρωτονίων από τις εστερικές ομάδες του διφωσφονικού).



φαρνέσυλο διφωσφονικό οξύ (farn-bppOH, [7ε]). Για την παρασκευή του μορίου αυτού έχει χρησιμοποιηθεί η μεθοδολογία της σύνθεσης του α-toc-bppOH, [7α]. Η

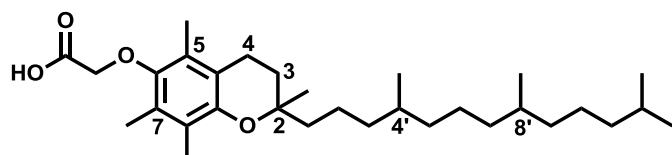
απόδοση της αντίδρασης ήταν 0.08 g (παρουσιάζει παρόμοιες χημικές μετατοπίσεις με το [6ε] με τη διαφορά ότι απουσιάζουν οι κορυφές των πρωτονίων από τις εστερικές ομάδες του διφωσφονικού).



φύτυλο διφωσφονικό οξύ (phyt-bppOH, [7στ]). Για την παρασκευή του μορίου αυτού έχει χρησιμοποιηθεί η μεθοδολογία της σύνθεσης του α-

toc-bppOH, [7α]. Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 0.07 g (παρουσιάζει παρόμοιες χημικές μετατοπίσεις με το [6στ] με τη διαφορά ότι απουσιάζουν οι κορυφές των πρωτονίων από τις εστερικές ομάδες του διφωσφονικού).

2,5,7,8-τετραμέθυλο-(2R-(4'R,8'R,12'R τριμεθυλοτριδέκυλο) χρώμανο-6-ύλοξυ) οξικό οξύ (α-TEA, [8])



Μέθοδος Α: Η σύνθεση έγινε σύμφωνα με την βιβλιογραφία ^[132] με την τροποποίηση ότι

χρησιμοποιήθηκε χλωροξικό οξύ αντί για βρωμοξικό μεθύλιο.

Σε μονόλαιμη σφαιρική φιάλη των 100 mL προστέθηκε R,R,R-α-τοκοφερόλη (0.50 g, 1.16 mmol) η οποία διαλύθηκε σε 20 ml DMF. Στη συνέχεια προστέθηκε χλωροξικό οξύ (0.79 g, 8.30 mmol) και NaOH (1.18 g, 30.0 mmol). Το μείγμα αφέθηκε σε

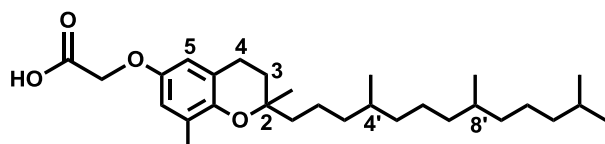
ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 24h με συνεχή έλεγχο της πορείας της αντίδρασης με TLC. Σχηματίστηκε κίτρινο ημι-στερεό. Προστέθηκαν περίπου 10 mL HCl 5M και παρατηρήθηκε σχηματισμός πορτοκαλοκαφέ λαδιού. Το προϊόν εκχυλίστηκε με διαιθυλαιθέρα (3x30 mL) και ακολούθησε έκπλυση της οργανικής φάσης με νερό (3x30 mL) και αλατόνερο (1x30 mL). Η οργανική φάση ξηράνθηκε με Na₂SO₄ και εξάτμιστηκε ο διαλύτης υπό κενό προς σχηματισμό καφέ λαδιού. Ακολούθησε χρωματογραφία στήλης με διαλύτη έκλουσης 19% EtOAc, 2% οξικό οξύ σε εξάνιο. Το πορτοκαλί υγρό επαναδιαλύθηκε σε διαιθυλαιθέρα (30 mL), εκπλύθηκε με νερό (3x20 mL), αλατόνερο(1x20 mL) και ξηράνθηκε με Na₂SO₄. Εξάτμιση του διαλύτη υπό κενό οδήγησε στην απομόνωση πορτοκαλοκαφέ λαδιού το οποίο με ξήρανση έδωσε ένα πορτοκαλοκαφέ παχύρευστο λάδι. Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 0.20 g.

Μέθοδος B: Η σύνθεση έγινε σύμφωνα με την βιβλιογραφία ^[132] με τις εξής τροποποιήσεις: α) χρησιμοποιήθηκε χλωροξικό οξύ στη θέση του βρωμοξικού μεθυλίου, β) προστέθηκε περίσσεια χλωροξικού οξέος και υδροξειδίου του νατρίου, γ) έγινε σταδιακή αύξηση της πολικότητας του διαλύτη έκλουσης στη χρωματογραφία στήλης, δ) έγινε σε μεγαλύτερη κλίμακα.

Σε μονόλαιμη σφαιρική φιάλη των 250 mL προστέθηκε R,R,R-α-τοκοφερόλη (1.50 g, 3.48 mmol) η οποία διαλύθηκε σε 60 mL DMF. Στη συνέχεια προστέθηκε χλωροξικό οξύ (7.05 g, 74.6 mmol) και NaOH (10.8 g, 270 mmol). Τα μείγμα αφέθηκε σε ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 24h με συνεχή έλεγχο της πορείας της αντίδρασης με TLC. Σχηματίστηκε κίτρινο ημι-στερεό. Προστέθηκαν περίπου 15 mL HCl 5M και παρατηρήθηκε σχηματισμός πορτοκαλοκαφέ λαδιού. Το προϊόν εκχυλίστηκε με διαιθυλαιθέρα (6x30 mL) και ακολούθησε έκπλυση της οργανικής φάσης με νερό (6x30 mL) και αλατόνερο (2x30 mL). Η οργανική φάση ξηράνθηκε με Na₂SO₄ και εξάτμιση του διαλύτη υπό κενό οδήγησε στην απομόνωση καφέ λαδιού. Ακολούθησε χρωματογραφία στήλης με διαλύτη έκλουσης 19% EtOAc, 2% οξικό οξύ σε εξάνιο, στην συνέχεια 38% EtOAc, 2% οξικό οξύ σε εξάνιο και στην συνέχεια 57% EtOAc, 2% οξικό οξύ σε εξάνιο. Το πορτοκαλί υγρό επαναδιαλύθηκε σε διαιθυλαιθέρα (30 mL), εκπλύθηκε με νερό (3x20 mL), αλατόνερο (1x20 mL) και ξηράνθηκε με Na₂SO₄. Εξάτμιση του διαλύτη υπό κενό οδήγησε στην απομόνωση πορτοκαλοκαφέ λαδιού το οποίο με ξήρανση έδωσε ένα πορτοκαλοκαφέ παχύρευστο λάδι. Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 1.22g. ¹H-NMR (CDCl₃/TMS,ppm): 0.87 (m,12H, 4a', 8a', 12a',13'-CH₃), 1.07-1.58 (m, 24H, 4'-, 8'-, 12'-CH,1'-, 2'-, 3'-,5'-, 6'-,7'-, 9'-, 10'-, 11'-CH₂, 2a-CH₃), 1.80 (m, 2H, 3-CH₂), 2.08, 2.13, 2.17 (3xs, 9H, 5a-, 7a-, 8a-CH₃), 2.57 (t, J=6.6 Hz, 2H, 4-CH₂), 4.34(s, 2H,

OCH₂); ¹³C-NMR (CDCl₃, ppm): 11.81, 11.89, 12.75 (5a-, 7a-, 8a-CH₃), 19.69, 19.76, (CH₃), 20.63, 21.03, 28.22, (CH), 31.16 (3-CH₂), 32.70, 32.79 (CH), 37.30, 37.41, 37.57, 39.38, 40.05 (CH₂), 69.14 (OCH₂), 75.05 (2-C), 117.85, 123.33, 125.43, 127.30 (aryl C), 146.82, 148.61 (aryl C-O), 172.51 (COOH).

2,8-διμέθυλο-(2R-(4'R,8'R, 12'R τριμεθυλοτριδέκυλο) χρώμανο-6-ύλοξυ) οξικό οξύ, (δ-TEA, [9])



Μέθοδος A: Η σύνθεση έγινε σύμφωνα με την βιβλιογραφία ^[132] με τις εξής τροποποιήσεις: α) χρησιμοποιήθηκε

βρωμοξικό οξύ στην θέση του βρωμοξικού μεθυλίου, β) δεν έγινε διαχωρισμός με χρωματογραφία αλλά διαχωρισμός βάση διαλυτοτήτων, γ) δεν χρησιμοποιήθηκε περίσσεια NaOH.

Σε μονόλαιμη σφαιρική φιάλη των 100 mL προστέθηκε R,R,R-δ-τοκοφερόλη (0.50g, 1.24 mmol) η οποία διαλύθηκε σε 20 ml DMF. Στη συνέχεια προστέθηκε χλωροξικό οξύ (1.23g, 8.87 mmol) και NaOH (0.43g, 10.7 mmol). Το μείγμα αφέθηκε σε ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 24h με συνεχή έλεγχο της πορείας της αντίδρασης με TLC προς σχηματισμό κίτρινου ημι-στερεού. Προστέθηκαν περίπου 10 mL HCl 5M και παρατηρήθηκε σχηματισμός πορτοκαλοκαφέ λαδιού. Το προϊόν εκχυλίστηκε με διαιθυλαιθέρα (3x30 mL) και ακολούθησε έκπλυση της οργανικής φάσης με νερό (3x30 mL) και αλατόνερο (1x30 mL). Η οργανική φάση ξηράνθηκε με Na₂SO₄ και η εξάτμιση του διαλύτη υπό κενό οδήγησε στην απομόνωση καφέ λαδιού. Ακολούθως έγινε προσθήκη εξαίνιου προς δημιουργία θολώματος και καταβύθιση υποκίτρινου στερεού. Το στερεό απομονώθηκε με διήθηση σε χάρτινο πτυχωτό ηθμό και διαλύθηκε σε χλωροφόρμιο. Ο διαλύτης εξατμίστηκε υπό κενό προς σχηματισμό υποκίτρινου λαδιού. Ξήρανσή του υπό κενό οδήγησε στην απομόνωση υποκίτρινου στερεού. Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 0.1g (20% ως προς τοκοφερόλη).

Μέθοδος B: Η σύνθεση έγινε σύμφωνα με την βιβλιογραφία ^[132] με τις εξής τροποποιήσεις: α) χρησιμοποιήθηκε βρωμοξικό οξύ στην θέση του βρωμοξικού μεθυλίου, β) δεν έγινε διαχωρισμός με χρωματογραφία αλλά διαχωρισμός βάση διαλυτοτήτων, γ) χρησιμοποιήθηκε περίσσεια οξέος, δ) το μείγμα αναδευόταν για 48h, ε) έγινε σε μεγαλύτερη κλίμακα.

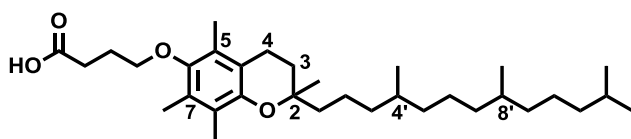
Σε μονόλαιμη σφαιρική φιάλη των 250 mL προστέθηκε R,R,R-δ-τοκοφερόλη (2.00 g, 4.97 mmol) η οποία διαλύθηκε σε 60 mL DMF. Στην συνέχεια προστέθηκε βρωμοξικό οξύ (14.8 g, 107 mmol) και NaOH (10.3 g, 129 mmol). Τα μείγμα αφέθηκε σε ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 24h με συνεχή έλεγχο της πορείας της αντίδρασης με TLC. Σχηματίστηκε κίτρινο ημι-στερεό. Προστέθηκαν περίπου 10 mL HCl 5M και παρατηρήθηκε σχηματισμός πορτοκαλοκαφέ λαδιού. Το προϊόν εκχυλίστηκε με διαιθυλαιθέρα (3x30 mL) και ακολούθησε έκπλυση της οργανικής φάσης με νερό (3x30 mL) και αλατόνερο (1x30 mL). Η οργανική φάση ξηράνθηκε με Na₂SO₄ και η εξάτμιση του διαλύτη υπό κενό οδήγησε στην απομόνωση καφέ λαδιού. Ακολούθως έγινε προσθήκη εξανίου και εκχύλιση με νερό με δημιουργία θολώματος στην υδατική φάση. Εκχύλιση της υδατικής φάσης με χλωροφόρμιο και εξάτμιση του διαλύτη (χλωροφόρμιο) υπό κενό οδήγησε στην απομόνωση υποκίτρινου στερεού. Η οργανική φάση από την πρώτη εκχύλιση με εξάνιο τοποθετήθηκε στο ψυγείο για 24h όπου καταβυθίστηκε υποκίτρινο στερεό το οποίο απομονώθηκε με διήθηση σε χάρτινο πτυχωτό ηθμό. Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 2.17 g .

Μέθοδος Γ: Η σύνθεση έγινε σύμφωνα με την βιβλιογραφία ^[132] με τις εξής τροποποιήσεις: α) χρησιμοποιήθηκε βρωμοξικό οξύ στην θέση του βρωμοξικού μεθυλίου, β) χρησιμοποιήθηκε περίσσεια οξέος, γ) το μείγμα αναδευόταν για 48h.

Σε μονόλαιμη σφαιρική φιάλη των 250 mL προστέθηκε R,R,R-δ-τοκοφερόλη (2.00 g, 4.97 mmol) η οποία διαλύθηκε σε 20 mL DMF. Στην συνέχεια προστέθηκε βρωμοξικό οξύ (14.8g, 107 mmol) και NaOH (10.3 g, 129 mmol). Το μείγμα αφέθηκε σε ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 24h με συνεχή έλεγχο της πορείας της αντίδρασης με TLC. Σχηματίστηκε κίτρινο ημι-στερεό. Προστέθηκαν περίπου 10 mL HCl 5M και παρατηρήθηκε σχηματισμός πορτοκαλοκαφέ λαδιού. Το προϊόν εκχυλίστηκε με διαιθυλαιθέρα (3x30 mL) και ακολούθησε έκπλυση της οργανικής φάσης με νερό (3x30 mL) και αλατόνερο (1x30 mL). Η οργανική φάση ξηράνθηκε με Na₂SO₄ και η εξάτμιση του διαλύτη υπό κενό οδήγησε στην απομόνωση καφέ λαδιού. Ακολούθησε χρωματογραφία στήλης με διαλύτη έκλουσης 19% EtOAc, 2% οξικό οξύ σε εξάνιο, στη συνέχεια 38% EtOAc, 2% οξικό οξύ σε εξάνιο και στη συνέχεια 57% EtOAc, 2% οξικό οξύ σε εξάνιο. Το πορτοκαλί υγρό επαναδιαλύθηκε σε διαιθυλαιθέρα (30 mL), εκπλύθηκε με νερό (3x20 mL) και αλατόνερο (1x20 mL) και ξηράνθηκε με Na₂SO₄. Εξάτμιση του διαλύτη οδήγησε στην απομόνωση πορτοκαλοκαφέ λαδιού το οποίο με ξήρανση έδωσε ένα υποκίτρινο ημι-στερεό. Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 1.10 g. ¹H-NMR (CDCl₃/TMS,ppm): 0.87(m,12H, 4a'-, 8a', 12a'-,13'-CH₃), 1.1-1.58 (m, 24H, 4'-, 8'-, 12'-

CH,1'-, 2'-, 3'-,5'-, 6'-,7'-, 9'-, 10'-, 11'-CH₂, 2a-CH₃), 1.80 (m, 2H, 3-CH₂), 2.16 (s, 3H, 8a-CH₃), 2.71 (t, J=6.6 Hz, 2H, 4-CH₂), 4.60 (s, 2H, OCH₂), 6.49 (d, J=3.0 Hz, 1H, aryl CH), 6.62 (d, J=3.0 Hz, 1H, aryl CH);¹³C-NMR (CDCl₃, ppm): 16.24 (8a-CH₃), 19.65, 19.76, (CH₃), 20.98, (CH₂), 22.64, 22.73 (CH₃), 24.45, 24.81 (CH₂), 27.99 (CH), 31.17 (3-CH₂) 32.70, 32.80, (CH), 37.29, 37.45, 37.5, 39.37, 40.03 (CH₂), 65.86 (OCH₂), 75.86 (2-C), 112.37, 115.64, 121.24, 127.65 (aryl C), 147.38, 149.69 (aryl C-O), 172.27 (COOH)

2,5,7,8- τετραμέθυλο-(2R-(4'R,8'R,12'R τριμεθυλοτριδέκυλο) χρώμανο-6-ύλοξυ) βουτυρικό οξύ, (α-TEB, [10])

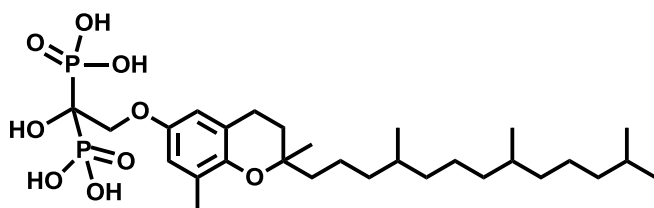


Η σύνθεση έγινε σύμφωνα με την βιβλιογραφία ^[132] με την τροποποίηση ότι δεν έγινε διαχωρισμός με

χρωματογραφία αλλά διαχωρισμός βάση διαλυτοτήτων.

Σε μονόλαιμη σφαιρική φιάλη των 100 mL προστέθηκε R,R,R-α-τοκοφερόλη (0.50 g, 1.16 mmol) η οποία διαλύθηκε σε 20 mL DMF. Στη συνέχεια προστέθηκε 4-βρωμοβουτυρικό οξύ (1.39 g, 8.30 mmol), NaOH (1.20 g, 30.0 mmol) και μερικοί κόκκοι KI. Τα μείγμα αφέθηκε σε ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 24h με συνεχή έλεγχο της πορείας της αντίδρασης με TLC. Σχηματίστηκε κίτρινο ημι-στερεό. Προστέθηκαν περίπου 10 mL HCl 5M και παρατηρήθηκε σχηματισμός πορτοκαλοκαφέ λαδιού. Το προϊόν εκχυλίστηκε με διαιθυλαιθέρα (3x30 mL) και ακολούθησε έκπλυση της οργανικής φάσης με νερό (3x30 mL) και αλατόνερο (1x30 mL). Η οργανική φάση ξηράνθηκε με Na₂SO₄, εξατμίστηκε ο διαλύτης υπό κενό και λήφθηκε καφέ λάδι. Ακολούθως έγινε προσθήκη εξαίνιου προς δημιουργία θολώματος και καταβύθιση καφέ στερεού. Το στερεό απομονώθηκε με διήθηση σε χάρτινο πτυχωτό ηθμό και διαλύθηκε σε χλωροφόρμιο. Ο διαλύτης εξατμίστηκε υπό κενό προς σχηματισμό καφέ λαδιού. Ξήρανσή του υπό κενό οδήγησε στην απομόνωση καφέ στερεού. Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 0.24 g. ¹H-NMR (CDCl₃/TMS,ppm): 0.87(m,12H, 4a'-, 8a', 12a'-,13'-CH₃), 1.17-1.57 (m, 24H, 4'-, 8'-, 12'-CH,1'-, 2'-, 3'-,5'-, 6'-,7'-, 9'-, 10'-, 11'-CH₂, 2a-CH₃), 1.82(m, 2H, 3-CH₂), 2.13, 2.18, 2.19 (3xs, 9H, 5a-, 7a-, 8a-CH₃), 2.62 (t, J=6.6 Hz, 2H, 4-CH₂), 2.91 (t, J=7.2 Hz, 2H, CH₂COOH), 3.54 (t, J=6.1 Hz, 2H, OCH₂)

2,8-διμέθυλο-(2R-(4'R,8'R,12'R **τριμεθυλοτριδέκυλο** **χρώμανο-6-ύλοξυ)**
διφωσφονικό οξύ, [11]

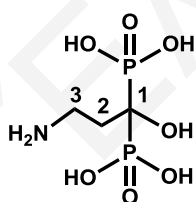


Σε μονόλαιμη σφαιρική φιάλη των 50 mL προστέθηκε δ-TEA, [9] (2.17 g, 4.73 mmol), φωσφορικό οξύ (0.80 g, 9.76 mmol) και τριχλωριούχος

φωσφόρος (3.22 g, 23.4 mmol) υπό αδρανή ατμόσφαιρα (αέριο N₂). Το μείγμα θερμάνθηκε ήπια μέχρι την θερμοκρασία των 80°C για μία ώρα υπό συνεχή ροή αζώτου. Το μείγμα θερμάνθηκε για τέσσερις ώρες στους 80°C και στη συνέχεια το παχύρευστο ημι-στερεό που προέκυψε αναδεύτηκε για δέκα ώρες στους 60°C. Κάτω από αυτές τις συνθήκες το ημι-στερεό στερεοποιήθηκε. Προστέθηκε κρύο νερό και παρατηρήθηκε έκλυση αερίου HCl. Έγιναν πολλές εκπλύσεις με νερό και απόχυσή του και στη συνέχεια έγινε εκχύλιση σε σύστημα διαλυτών χλωροφόρμιο-νερό και εξάτμιση του διαλύτη της οργανικής φάσης. Προστέθηκε HCl 5M και παρατηρήθηκε καταβύθιση κίτρινου ημι-στερεού. Ακολούθησε διήθηση υπό κενό και συλλογή του ημι-στερεού. Η απόδοση ήταν 1.54 g (τα φάσματα ¹H και ³¹P-NMR αναλύονται στη συζήτηση και αποτελέσματα).

2.2.2 Σύνθεση διφωσφονικών υποκαταστατών και συμπλοκοποίηση τους με Ca, Cs και Eu (III)

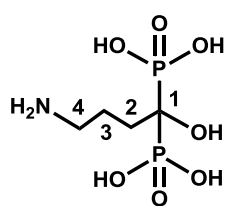
2.2.2.1 Σύνθεση ΔΦ υποκαταστατών: Οι υποκαταστάτες αυτοί παρασκευάστηκαν με τροποποίηση παλαιότερης μεθόδου.



άλας νατρίου του (3-αμινο-1-υδροξυπροπυλιδενο)διφωσφονικού οξέος [παμιδρονάτη, NaH₃L1].^[133] Σε τρίλαιμη σφαιρική φιάλη και κάτω από ατμόσφαιρα Ar προστέθηκαν 3-αμινοπροπανικό οξύ (10.0 g, 112.2 mmol), φωσφορώδες οξύ (9.2 g, 112.2 mmol) και

μεθανοσουλφονικό οξύ (62.3 g, 47.2 mL, 647.8 mmol). Το διάλυμα που προκύπτει θερμάνθηκε μέχρι τους 65 °C και στη συνέχεια προστέθηκε στάγδην τριχλωριούχος φωσφόρος (20.6 mL, 236.1 mmol) σε χρονικό διάστημα 2h. Ακολούθησε παραγωγή υδροχλωρίου και το μείγμα αφέθηκε να βράζει στους 65 °C για 20 h. Αφού κρυώσει το παχύρευστο μείγμα μεταφέρεται σε παγωμένο απιονισμένο νερό το οποίο μετά από ισχυρή ανάδευση και θέρμανση μέχρι βρασμού για 3 h αφήνεται να κρυώσει σταδιακά (25 °C). Το pH του διαλύματος ρυθμίστηκε στα 4.3 με προσθήκη υδατικού διαλύματος 50% NaOH.

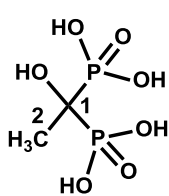
Παρατηρήθηκε σταδιακός σχηματισμός άσπρου ιζήματος και το μείγμα αφέθηκε υπό ανάδευση για 2 h σε παγόλουτρο. Ακολούθησε διήθηση και ξέπλυμα με παγωμένο νερό και αιθανόλη. Απόδοση ακατέργαστου προϊόντος: 21.63 g, 81.9%. Το προϊόν αποκρυσταλλώθηκε σε νερό, διηθήθηκε και ξεπλύθηκε με αιθανόλη. Απόδοση μετά από ξήρανση υπό κενό: 20.0 g. ^1H NMR $\delta(\text{D}_2\text{O}, \text{ppm})$: 3.37 (t, two protons H(-NH₂)); 2.34 (m, two protons H(2)). ^{13}C NMR $\delta(\text{D}_2\text{O}, \text{ppm})$: 72.72 (t, C(1)); 36.33 (s, C(3)); 30.86 (t, C(2)). ^{31}P NMR $\delta(\text{D}_2\text{O}, \text{ppm})$: 20.99 (s). Στοιχειακή ανάλυση (C, H, N): Αναλυτικός υπολογισμός για C₃H₁₀NNaO₇P₂ (f.wt.: 257.05): C, 14.02; H, 3.92; N, 5.45. Βρέθηκε: C, 14.12; H, 3.70; N, 5.30. Το ελεύθερο οξύ απομονώθηκε ακολουθώντας την πιο πάνω διαδικασία αλλά με ρύθμιση του pH στα 1.8 αντί στα 4.3. Απόδοση: 18 g. Αργή διάχυση μεθανόλης σε υδατικό διάλυμα του στερεού (~5 mL, pH 1.8) στους 25 °C οδήγησε στο σχηματισμό μονοκρυστάλλων, κατάλληλων για προσδιορισμό δομής του υποκαταστάτη **H₄L1** με κρυσταλλογραφία ακτίνων-X.



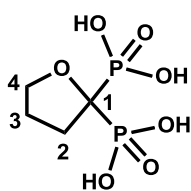
άλας νατρίου του (4-αμινο-1-υδροξυβουτυλιδενο)διφωσφονικού οξέος [αλενδρονάτη, NaH₃L2].^[133] Μείγμα 4-αμινοβουτυρικού οξέος

(10 g, 97.0 mmol), H₃PO₃ (8.0 g, 97.6 mmol) και μεθανοσουλφονικού οξέος (52.8 g, 40 mL, 549.0 mmol) θερμάνθηκε στους 65 °C και

ακολουθώς προστέθηκε PCl₃ (17.5 mL, 200.2 mmol) κάτω από ατμόσφαιρα αργού. Το μείγμα αφέθηκε να βράζει στους 65 °C για 18 h και αφού κρυώσει προστίθεται σε παγωμένο απιονισμένο νερό το οποίο μετά από ισχυρή ανάδευση και θέρμανση μέχρι βρασμού για 5 h αφήνεται να κρυώσει σταδιακά (25 °C). Μετά από ρύθμιση του pH (4.3) χρησιμοποιώντας υδατικό διάλυμα 50% NaOH σχηματίστηκε άσπρο στερεό το οποίο διηθήθηκε και εξατμίστηκε υπό κενό. Απόδοση ακατέργαστου προϊόντος: 22 g, 91%. Ακολούθησε ανακρυστάλλωση σε νερό και σχηματισμός μονοκρυστάλλων μετά από αργή διάχυση μεθανόλης σε υδατικό διάλυμα του στερεού (~5 mL, pH 4.3) στους 25 °C. Απόδοση του ανακρυσταλλωμένου **NaL2**: 19.0 g. ^1H NMR $\delta(\text{D}_2\text{O}, \text{ppm})$: 3.00 (t, two protons H(-NH₂)); 1.97 (m, four protons H(2)(3)). ^{13}C NMR $\delta(\text{D}_2\text{O}, \text{ppm})$: 73.74 (t, C(1)); 22.43 (t, C(2)); 30.84 (s, C(3)); 40.20 (s, C(4)). ^{31}P NMR $\delta(\text{D}_2\text{O}, \text{ppm})$: 20.34 (s). Στοιχειακή ανάλυση (C, H, N): Αναλυτικός υπολογισμός για C₄H₁₃NNaO₁₀P₂ (f.w.:320.08): C, 15.01; H, 4.09; N, 4.38. Βρέθηκε: C, 14.91; H, 4.15; N, 4.29. Το ελεύθερο οξύ απομονώθηκε σε pH 1.8 στους 25 °C υπό μορφή μονοκρυστάλλων, κατάλληλων για προσδιορισμό δομής του υποκαταστάτη **H₄L2** με κρυσταλλογραφία ακτίνων-X.



άλας νατρίου του 1-υδροξύ-αιθάν-1, 1-διφωσφονικού οξέος [ετιδρονάτη, Na₂H₂L₃].^[133] Σε δίλαμη σφαιρική φιάλη, κάτω από ατμόσφαιρα αργού και θερμοκρασία 0 °C, προστίθεται μείγμα οξικού οξέος (9.5 mL, 166.11 mmol), φωσφορώδους οξέος (8 g, 0.096 mmol) και μεθανοσουλφονικού οξέος ((52.8 g, 40 mL, 549.0 mmol). Το μείγμα θερμάνθηκε στους 65 °C, προστέθηκε PCl₃ (17.5 mL, 200.2 mmol) και αφέθηκε σε αυτή τη θερμοκρασία για 18 h. Στη συνέχεια μεταφέρθηκε σε παγωμένο νερό, θερμάνθηκε μέχρι βρασμού για 5 h και ρυθμίστηκε το pH (4.0) του διαλύματος χρησιμοποιώντας υδατικό διάλυμα 6 M NaOH. Παρατηρήθηκε σχηματισμός άσπρο στερεού το οποίο διηθήθηκε και εξατμίστηκε υπό κενό. Ακολούθησε ανακρυστάλλωση σε νερό και το στερεό ξεπλύθηκε με αιθανόλη. Απόδοση προϊόντος: 42.0 g. Μικρή ποσότητα στερεού επαναδιαλύθηκε σε 5 mL νερό (pH 4.0) και αφέθηκε σε θερμοκρασία δωματίου όπου με αργή διάχυση μεθανόλης σχηματίστηκαν άχρωμοι μονοκρυστάλλοι, κατάλληλοι για προσδιορισμό δομής με κρυσταλλογραφία ακτίνων-X. ¹H NMR δ(D₂O, ppm): 1.50 (t, three protons H (2)). ¹³C NMR δ (D₂O, ppm): 72.10 (t, C(2)); 20.20 (s, C(1)). ³¹P NMR δ (D₂O, ppm): 22.50 (s). Στοιχειακή ανάλυση (C, H): Αναλυτικός υπολογισμός για C₂H₁₄Na₂O₁₁P₂ (f.w.: 322.05): C, 7.46; H, 4.38. Βρέθηκε: C, 7.80; H, 4.10.



άλας νατρίου του τετραϋδροφουρανυλο-2, 2-διφωσφονικού οξέος, Na₂H₂L₄.^[134] Μείγμα 4-χλωροβουτυρικού οξέος (7.12 g, 5.54 mL, 58.1 mmol), φωσφορώδους οξέος (3.38 g, 41.2 mmol) και τριχλωριούχου φωσφόρου (6.93 mL, 79.4 mmol) θερμάνθηκε σταδιακά μέχρι τους 80 °C κάτω από ατμόσφαιρα αργού. Το διαφασικό μείγμα που προκύπτει θερμάνθηκε μέχρι βρασμού για 4 h και η κίτρινη μάζα που σχηματίστηκε αφέθηκε να αναδεύεται για 10 h στους 60 °C. Στη συνέχεια προστέθηκε στο μείγμα παγωμένο νερό (125 mL) όπου και παρατηρήθηκε παραγωγή αερίου (HCl). Ακολούθησε θέρμανση μέχρι βρασμού και αφαίρεση του νερού (110 mL) με απόσταξη. Στο μείγμα προστέθηκαν ακόμα 150 mL νερού και ρυθμίστηκε το pH (3.0) του διαλύματος με προσθήκη υδατικού διαλύματος 4 M NaOH. Προσθήκη (150 mL) και ανάδευση του κίτρινου διαλύματος για 12 h στους 25 °C οδήγησε στο σχηματισμό άσπρου στερεού το οποίο και διηθήθηκε υπό κενό. Το κίτρινο διήθημα διαλύθηκε ξανά σε αιθανόλη (100 mL), μειώθηκε ο όγκος για να σχηματιστεί στερεό το οποίο και διηθήθηκε για δεύτερη φορά. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε και τρίτη φορά και απέδωσε 9.75 g προϊόντος. Αργή διάχυση μεθανόλης σε συμπυκνωμένο υδατικό διάλυμα του στερεού (pH = 4.2, 25 °C) οδήγησε στο σχηματισμό

άχρωμων μονοκρυστάλλων, κατάλληλων για προσδιορισμό δομής με κρυσταλλογραφία ακτίνων-X. ^1H NMR $\delta(\text{D}_2\text{O}, \text{ppm})$: 3.90 (t, two protons H(4)); 2.30 (m, two protons, H(2)); 1.99 (p, two protons H(3)). ^{13}C NMR $\delta(\text{D}_2\text{O}, \text{ppm})$: 81.28 (t, C(1)); 70.33, (s, C(4)); 30.24, (s, C(3)); 26.8 (s, C(2)). ^{31}P NMR $\delta(\text{D}_2\text{O}, \text{ppm})$: 21.94 (t). Στοιχειακή ανάλυση (C, H): Αναλυτικός υπολογισμός για $\text{C}_4\text{H}_8\text{Na}_2\text{O}_7\text{P}_2$ (f.w.: 276.02): C, 17.41; H, 2.92. Βρέθηκε: C, 17.38; H, 2.89.

2.2.2.2 Σύνθεση ΔΦ συμπλόκων:

[CaCl₂+NaH₃L1, pH 4.3], (C1). NaH₃L1 (0.3 g) διαλύθηκε σε 3 mL ζεστό νερό. Ακολούθησε αργή διάχυση υδατικού διαλύματος CaCl₂ (0.02 M) σε αυτό του υποκαταστάτη. Το διάλυμα αφέθηκε να κρυσταλλώσει σε θερμοκρασία δωματίου και σε χρονικό διάστημα 3 ημερών καταβυθίστηκαν άχρωμοι εξάγωνοι μονοκρυστάλλοι, κατάλληλοι για προσδιορισμό δομής με κρυσταλλογραφία ακτίνων-X. Απόδοση: 0.08 g. Στοιχειακή ανάλυση (C, H, N): Αναλυτικός υπολογισμός για $\text{C}_3\text{H}_{14}\text{CaNO}_9\text{P}_2$ (f.w.: 310.17): C, 11.62; H, 4.55; N, 4.52. Βρέθηκε: C, 11.52; H, 4.65; N, 4.62.

[Ca(NO₃)₂+NaH₃L1, pH 4.3], (C2). Το μόριο παρασκευάστηκε με μεθοδολογία παρόμοια με τη σύνθεση του συμπλόκου (C1) με τη διαφορά ότι χρησιμοποιήθηκε υδατικό διάλυμα Ca(NO₃)₂ ως πηγή ασβεστίου αντί CaCl₂. Μονοκρυστάλλοι κατάλληλοι για προσδιορισμό δομής με κρυσταλλογραφία ακτίνων-X σχηματίστηκαν σε χρονικό διάστημα 4 ημερών. Απόδοση: 0.16 g. Στοιχειακή ανάλυση (C, H, N): Αναλυτικός υπολογισμός για $\text{C}_6\text{H}_{24}\text{CaN}_2\text{O}_{17}\text{P}_4$ (f.w.: 560.23): C, 12.86; H, 4.32; N, 5.00. Βρέθηκε: C, 12.95; H, 4.21; N, 4.88.

[CaCl₂+NaH₃L2, pH 4.3], (C3). Αργή διάχυση υδατικού διαλύματος CaCl₂ (0.02 M) σε θερμό υδατικό διάλυμα του NaH₃L2 (0.3 g σε 3 mL νερό) στους 25 °C οδήγησε στο σχηματισμό μονοκρυστάλλων, τους οποίους η δομή επιλύθηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων-X. Απόδοση: 0.21 g. Στοιχειακή ανάλυση (C, H, N): Αναλυτικός υπολογισμός για $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{Ca}_{0.50}\text{NO}_{8.50}\text{P}_2$ (f.w.: 291.12): C, 16.50; H, 3.81; N, 4.81. Βρέθηκε: C, 16.75; H, 3.86; N, 4.75.

[Ca(NO₃)₂+NaH₃L2, pH 4.3], (C4). Πραγματοποιήθηκε παρόμοια διαδικασία με αυτήν του συμπλόκου (C3) αλλά χρησιμοποιήθηκε υδατικό διάλυμα Ca(NO₃)₂ ως πηγή ασβεστίου αντί CaCl₂. Παρατηρήθηκε σχηματισμός κυβικών μονοκρυστάλλων κατάλληλων για προσδιορισμό δομής με κρυσταλλογραφία ακτίνων-X. Απόδοση: 0.19 g. Στοιχειακή ανάλυση (C, H, N): Αναλυτικός υπολογισμός για C₁₂H₁₈Ca₃N₃O₃₀P₆ (f.w.: 990.35): C, 14.55; H, 1.83; N, 4.24. Βρέθηκε: C, 14.61; H, 1.75; N, 4.33.

[CsNO₃+NaH₃L2, pH 4.3], (C5). Αργή διάχυση υδατικού διαλύματος CsNO₃ (0.02 M) σε θερμό υδατικό διάλυμα του NaH₃L2 στους 25 °C οδήγησε στο σχηματισμό εξάγωνων μονοκρυστάλλων, τους οποίους η δομή επιλύθηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων-X. Απόδοση: 0.14 g.

[EuCl₃+NaH₃L2, pH 4.3], (C6). NaH₃L2 (0.3 g) διαλύθηκε σε ζεστό νερό (3 mL). Ακολούθησε αργή διάχυση υδατικού διαλύματος EuCl₃ (0.02 M) σε αυτό του υποκαταστάτη. Το διάλυμα αφέθηκε να κρυσταλλώσει σε θερμοκρασία δωματίου και σε χρονικό διάστημα μιας εβδομάδας καταβυθίστηκαν μονοκρυστάλλοι, κατάλληλοι για προσδιορισμό δομής με κρυσταλλογραφία ακτίνων-X. Απόδοση: 0.17 g. Στοιχειακή ανάλυση (C, H, N): Αναλυτικός υπολογισμός για C₁₆H₃₆EuN₄O₄₁P₈ (f.w.: 1340.22): C, 14.34; H, 2.71; N, 4.18. Βρέθηκε: C, 14.39; H, 2.64; N, 4.24.

[Ca₃(PO₄)₂+NaH₃L1, pH 1.2], (C7). NaH₃L1 (0.3 g) διαλύθηκε σε 3 mL ζεστό νερό. Ακολούθησε αργή διάχυση υδατικού διαλύματος Ca₃(PO₄)₂ (0.02 M) σε αυτό του υποκαταστάτη. Στη συνέχεια ρυθμίστηκε το pH του διαλύματος (1.2) με προσθήκη σταγόνων υδατικού διαλύματος 1 M HCl και ακετόνης. Το διάλυμα αφέθηκε να κρυσταλλώσει σε θερμοκρασία δωματίου και σε χρονικό διάστημα 4 ημερών καταβυθίστηκαν άχρωμοι μονοκρυστάλλοι, κατάλληλοι για προσδιορισμό δομής με κρυσταλλογραφία ακτίνων-X. Επίλυση της κρυσταλλικής δομής έδειξε ότι δεν πραγματοποιήθηκε συμπλοκοποίηση αλλά ότι απομονώθηκε ο ελεύθερος υποκαταστάτης H₄L1. Απόδοση: 0.12 g. Στοιχειακή ανάλυση (C, H, N): Αναλυτικός υπολογισμός για C₃H₁₁NO₇P₂ (f.w.: 234.06): C, 15.39; H, 4.74; N, 5.98. Βρέθηκε: C, 15.42; H, 4.79; N, 5.90.

[Ca(NO₃)₂+NaH₃L2, pH 1.2], (C8). Το μόριο παρασκευάστηκε με μεθοδολογία παρόμοια με την προσπάθεια σύνθεσης του συμπλόκου (C7) με τη διαφορά ότι χρησιμοποιήθηκε

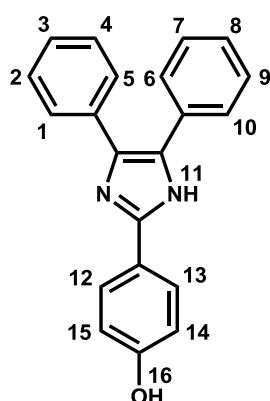
υδατικό διάλυμα $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ως πηγή ασβεστίου αντί $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Μονοκρύσταλλοι κατάλληλοι για προσδιορισμό δομής με κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ σχηματίστηκαν σε χρονικό διάστημα 4 ημερών. Απόδοση: 0.19 g. Στοιχειακή ανάλυση (C, H, N): Αναλυτικός υπολογισμός για $\text{C}_8\text{H}_{23}\text{CaN}_2\text{O}_{14}\text{P}_4$ (f.w.: 535.24): C, 17.95; H, 4.33; N, 5.23. Βρέθηκε: C, 17.85; H, 4.38; N, 5.16.

[$\text{CaCl}_2 + \text{NaH}_3\text{L2}$, pH 1.2], (C9). Ακολουθήθηκε παρόμοια διαδικασία με αυτήν του συμπλόκου (C8) χρησιμοποιώντας υδατικό διάλυμα CaCl_2 ως πηγή ασβεστίου. Μετά από 3 ημέρες σχηματίστηκαν στο διάλυμα μονοκρύσταλλοι οι οποίοι μετά από επίλυση τους έδειξαν ότι πρόκειται για τον ελεύθερο υποκαταστάτη $\text{H}_4\text{L2}$. Απόδοση: 0.18 g. Στοιχειακή ανάλυση (C, H, N): Αναλυτικός υπολογισμός για $\text{C}_8\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_{16}\text{P}_4$ (f.w.: 533.21): C, 18.02; H, 5.48; N, 5.25. Βρέθηκε: C, 18.12; H, 5.43; N, 5.19.

[$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + \text{Na}_2\text{H}_2\text{L4}$, pH 1.2], (C10). Το μόριο παρασκευάστηκε με μεθοδολογία παρόμοια με του συμπλόκου (C9). Απομονώθηκαν μονοκρύσταλλοι κατάλληλοι για προσδιορισμό δομής με κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ. Απόδοση: 0.25 g. Στοιχειακή ανάλυση (C, H, N): Αναλυτικός υπολογισμός για $\text{C}_{24}\text{H}_{72}\text{Ca}_6\text{O}_{54}\text{P}_{12}$ (f.w.: 1836.94): C, 15.69; H, 3.95. Βρέθηκε: C, 15.76; H, 3.89.

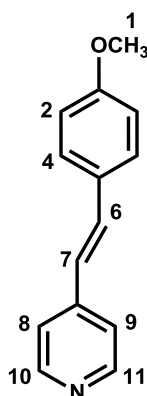
2.2.3 Σύνθεση νέων μεικτών φοθρίζοντων μονο- και δικαρβοξυλικών ενώσεων με τα συστατικά της Βιταμίνης E, τη φαρνεσόλη και τη φυτόλη

2.2.3.1 Σύνθεση φοθρίζοντων υποκαταστατών: Οι υποκαταστάτες αυτοί παρασκευάστηκαν με τροποποίηση παλαιότερων μεθόδων.



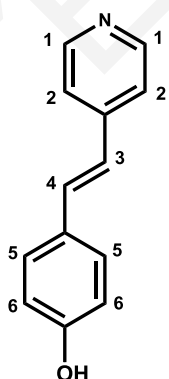
2-(4-υδροξυφαινυλ)-4,5-διφαινυλιμιδαζόλη (2-4-OH-ph-4,5-diphimd, [L5]).^[135] Σε θερμό διάλυμα οξικού αμμωνίου (10.01 g, 129.9 mmol) σε οξικό οξύ (37 mL) προστέθηκε στάγδην διάλυμα 1,2-διφαινυλοαιθάνιο-1,2-διόνης (5.25 g, 25.0 mmol) και 4-υδροξυβενζαλδεΰδης (3.05 g, 25.0 mmol) σε οξικό οξύ (25 mL). Το διάλυμα αφέθηκε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία βρασμού του διαλύτη για μία μέρα. Το πορτοκαλοκίτρινο διάλυμα που προκύπτει

χύθηκε αργά σε διάλυμα αμμωνίας (3 M, 300 mL) μέχρι τον σχηματισμό στερεού, το οποίο διηθήθηκε υπό κενό και αφέθηκε να ξηραθεί σε κενό. Απόδοση προϊόντος: 7.5 g. $^1\text{H NMR } \delta(\text{DMSO}, \text{ppm})$: 12.40 (s, 1H, H11); 9.75 (s, 1H, H16); 7.90 (d, 2H, H12, H13), 7.54-7.21 (m, 10H, H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H10); 6.86 (d, 2H, H14, H15).



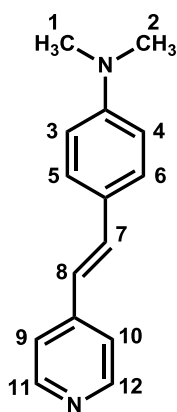
4-μεθοξυ-στυρυλ-πυριδίνη (4-MeO spy, [L6]). Μέθοδος A:^[136] Σε σφαιρική φιάλη προστέθηκαν 4-μεθοξυβενζαλδεΐδη (12.1 mL, 99.5 mmol), 4-πικολίνη (9.7 mL, 99.7 mmol) και οξικός ανυδρίτης (18.9 mL, 199.9 mmol). Το καφέ διάλυμα που προκύπτει θερμάνθηκε στους 95 °C για 6 h. Ακολούθως εξατμίστηκε μερικώς και προστέθηκε διαιθυλαιθέρας. Το μείγμα εκχυλίστηκε με απεσταγμένο νερό και συλλέχθηκε η οργανική φάση η οποία ξηράθηκε με Na_2SO_4 . Το μείγμα διηθήθηκε, εξατμίστηκε μερικώς και αφέθηκε σε ηρεμία. Μετά από 5 μέρες παρατηρήθηκε σχηματισμός κίτρινων βελονοειδών κρυστάλλων. Απόδοση: 8.0 g. $^1\text{H NMR } \delta(\text{CDCl}_3, \text{ppm})$: 8.54 (d, 2H, H10, H11); 7.49 (d, 2H, H6, H7); 7.41-7.26 (m, 4H, H4, H5, H8, H9); 6.92 (d, 2H, H2, H3); 3.85 (s, 3H, H1).

Μέθοδος B:^[137] Μείγμα 4-μεθοξυβενζαλδεΐδης (3.6 mL, 29.6 mmol), 4-πικολίνης (5.7 mL, 58.6 mmol) και υδροξειδίου του καλίου (1.70 g, 30.3 mmol) θερμάνθηκε μέχρι βρασμού στους 125 °C για 1 h. Αφού κρυώσει (25 °C) προστέθηκε παγωμένο απεσταγμένο νερό και παρατηρήθηκε σχηματισμός στερεού. Το μείγμα διηθήθηκε υπό κενό και το στερεό διαλύθηκε σε ζεστή μεθανόλη. Στη συνέχεια προστέθηκε νερό μέχρι το σχηματισμό κίτρινου στερεού. Το προϊόν λήφθηκε μετά από διήθηση υπό κενό. Απόδοση: 3.5 g. $^1\text{H NMR } \delta(\text{CDCl}_3, \text{ppm})$: 8.54 (d, 2H, H10, H11); 7.48 (d, 2H, H6, H7); 7.36-7.24 (m, 4H, H4, H5, H8, H9); 6.88 (d, 2H, H2, H3); 3.84 (s, 3H, H1).

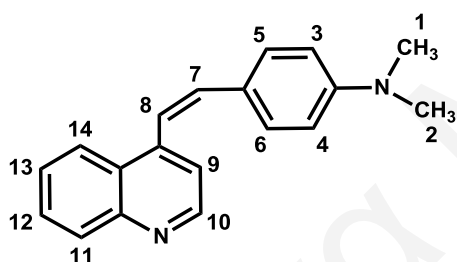


φαινυλοστυρυλ-πυριδίνη (phspy, [L7]). Η σύνθεση έγινε σύμφωνα με τη βιβλιογραφία^[138]. Σε σφαιρική φιάλη των 100ml τοποθετήθηκαν 4-μεθυλοπυριδίνη (4.9ml, 50.4 mmol), 4-υδροξυβενζαλδεΐδη (7.70g, 63 mmol) και οξικός ανυδρίτης (10 ml, 105 mmol). Ακολούθησε ανάδευση του μείγματος σε θερμοκρασία βρασμού του διαλύτη για 24 ώρες. Στη συνέχεια, το μείγμα προστέθηκε σε 500 ml παγωμένου νερού (0°C), όπου αναδεύτηκε για μία ώρα, προς καταβύθιση υποκίτρινου στερεού. Το στερεό διηθήθηκε υπό κενό και εκπλύθηκε με παγωμένο νερό. Ανακρυστάλλωσή του σε αιθανόλη οδήγησε στην απομόνωση υποκίτρινου ημι-στερεού. Προστέθηκαν 100 mL 0.75 M

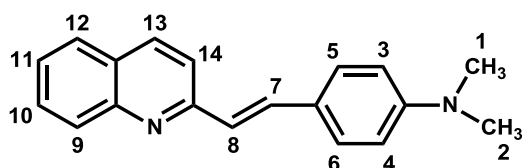
αιθανολικό διάλυμα με υδροξείδιο του νατρίου και τέθηκαν σε θερμοκρασία βρασμού του διαλύτη για περίπου 2 ώρες. Ακολούθως, έγινε προσθήκη οξικού οξέος. Διηθήθηκε το ίζημα υπό κενό και ξεπλύθηκε με παγωμένο νερό. Απόδοση: 3.62 g. $^1\text{H NMR } \delta(\text{DMSO}, \text{ppm})$: 8.43 (s, 2H, H1); 7.61 (d, 2H, H2); 7.53 (s, 1H, H3); 7.31 (s, 1H, H4); 7.14 (d, 2H, H5); 6.91 (d, 2H, H6).



[4-(διμεθυλαμινο)-στυρυλ]πυριδίνη (spy, [L8]).^[137] Μείγμα 4-διμεθυλαμινοβενζαλδεΐδης (4.0 g, 26.8 mmol), 4-πικολίνης (5.2 mL, 53.4 mmol) και υδροξειδίου του καλίου (1.57 g, 27.9 mmol) θερμάνθηκε μέχρι βρασμού στους 125 °C για 1 h. Παρατηρήθηκε σχηματισμός κίτρινου στερεού και αφού κρυώσει (25 °C) προστέθηκε παγωμένο απεσταγμένο νερό. Το μείγμα διηθήθηκε και το στερεό ανακρυσταλλώθηκε σε αιθανόλη. Το προϊόν λήφθηκε υπό μορφή κίτρινου κρυσταλλικού στερεού (flakes) μετά από διήθηση υπό κενό. Απόδοση: 1.60 g. $^1\text{H NMR } \delta(\text{CDCl}_3, \text{ppm})$: 8.50 (d, 2H, H11, H12); 7.44 (d, 2H, H7, H8); 7.34 (d, 2H, H5, H6); 7.24 (d, 2H, H9, H10); 6.70 (d, 2H, H3, H4); 3.01 (s, 6H, H1, H2).

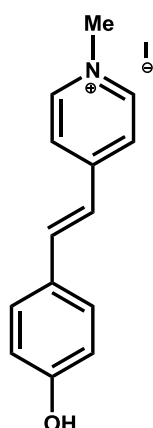


[4-(4-διμεθυλαμινο)-στυρυλ]κινολίνη (4-4-dsq, [L9]).^[137] Μείγμα 4-διμεθυλαμινοβενζαλδεΐδης (8.0 g, 53.6 mmol), 4-μεθυλκινολίνης (14.17 mL, 107.2 mmol) και υδροξειδίου του καλίου (3.14 g, 55.8 mmol) θερμάνθηκε μέχρι βρασμού στους 125 °C για 1 h. Το μείγμα αφέθηκε να κρυώσει και προστέθηκε παγωμένο απεσταγμένο νερό. Λόγω του ότι δεν παρατηρήθηκε σχηματισμός στερεού στο ελαιώδες μείγμα προστέθηκε διαιθυλαιθέρας και εξάνιο και το μείγμα φυλάχθηκε στην κατάψυξη. Παρατηρήθηκε σχηματισμός κίτρινου κρυσταλλικού στερεού το οποίο διηθήθηκε και ανακρυσταλλώθηκε σε αιθανόλη. Απόδοση: 2.68 g. $^1\text{H NMR } \delta(\text{CDCl}_3, \text{ppm})$: 8.82 (d, 1H, H10); 8.30 (t, 1H, H11); 7.81 (t, 1H, H12); 7.67 (d, 2H, H5, H6); 7.63 (d, 1H, H13); 7.54 (d, 2H, H9, H7); 7.40 (d, 1H, H7); 6.72 (d, 2H, H3, H4); 6.73 (d, 2H, H14, H8); 3.05 (s, 6H, H1, H2).



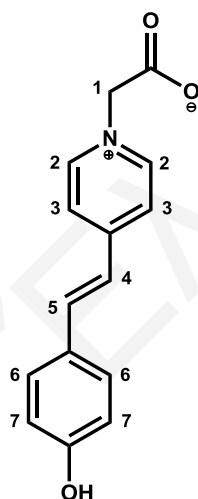
2-(4-διμεθυλαμινοστυρυλ)κινολίνη (2-4-dsq, [L10]).^[137] Σε σφαιρική φιάλη προστέθηκαν 4-διμεθυλαμινοβενζαλδεΐδη (8.0 g, 53.6 mmol), 2-μεθυλκινολίνη (14.48 mL, 107.2 mmol) και υδροξειδίου του καλίου (3.14 g, 55.8 mmol). Το μείγμα θερμάνθηκε μέχρι βρασμού στους 125 °C για 1 h, αφέθηκε να κρυώσει και προστέθηκε παγωμένο απεσταγμένο νερό.

Ακολούθησε διήθηση υπό κενό, ανακρυστάλλωση με αιθανόλη και απομόνωση κίτρινων κρυστάλλων. Απόδοση: 7.4 g. $^1\text{H NMR}$ $\delta(\text{CDCl}_3, \text{ppm})$: 8.12 (t, 2H, H9, H13); 7.75 (d, 1H, H12); 7.70 (t, 2H, H10, H7); 7.54 (d, 2H, H11, H14); 7.48 (t, 3H, H8, H5, H6); 6.70 (d, 2H, H3, H4); 3.05 (s, 6H, H1, H2).

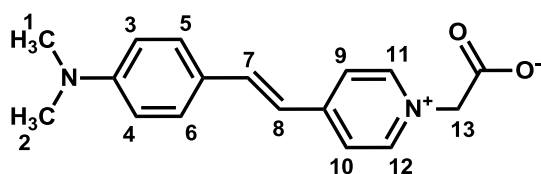


(4-υδροξυστυρυλ)-1-μεθυλοπυριδινικό άλας του ιωδίου (phspyMe, [L11]).^[139] Σε σφαιρική φιάλη των 100ml τοποθετήθηκαν 4-υδροξυβενζαλδεΐδη (2.58g, 21.1 mmol), 1,4-διμεθυλοπυριδινικό άλας του ιωδίου (3.44g, 14.5 mmol) σε διαλύτη μεθανόλη (30 mL, 741.4 mmol). Ακολούθησε ανάδευση του μείγματος σε θερμοκρασία βρασμού του διαλύτη και παρατηρήθηκε ο σχηματισμός πορτοκαλόχρωμου διαλύματος. Προστέθηκε πιπεριδίνη (0.5 mL, 5.06 mmol). Μετά από περίπου 5 ώρες παρατηρήθηκε ο σχηματισμός κόκκινου στερεού. Στη συνέχεια, το μείγμα ψύχθηκε στους -4°C . Το κόκκινο στερεό διηθήθηκε υπό κενό. Έγινε ανακρυστάλλωση με νερό προς σχηματισμό κόκκινου στερεού. Απόδοση: 2.01 g. $^1\text{H NMR}$ $\delta(\text{D}_2\text{O}, \text{ppm})$: 8.43 (d, 2H, H2); 7.81 (d, 2H, H3); 7.51 (d, 1H, H5); 7.50 (d, 2H, H6); 7.01 (d, 1H, H4); 6.80 (d, 2H, H7); 4.12 (s, 3H, H1).

Τα ακόλουθα μόνο- και δικαρβοξυλικά οξέα παρασκευάστηκαν με τροποποίηση βιβλιογραφικής μεθόδου:^[140]

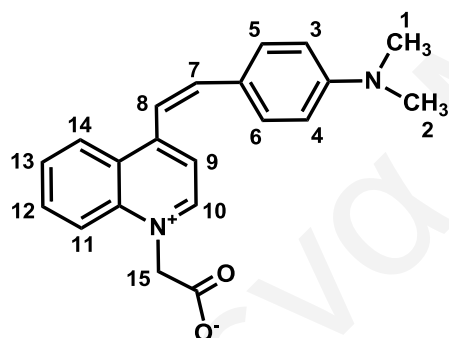


(4-(4-υδροξυστυρυλ)πυριδινίουμ-1-υλ)οξικό οξύ (phspyac, [L12]). Σε σφαιρική φιάλη των 100 mL προστέθηκε υδροξείδιο του καλίου (0.13g, 2.32 mmol) και μεθανόλη (40 mL, 988.5 mmol). Ακολούθως, προστέθηκε φαινυλοστυρυλ-πυριδίνη (**phspy**, [L7]) (0.3 g, 1.52 mmol) προς σχηματισμό πορτοκαλόχρωμου διαλύματος. Προστέθηκε ακολούθως βρωμο-οξικό οξύ (0.3 g, 2.16 mmol) και το μείγμα τέθηκε σε θερμοκρασία βρασμού του διαλύτη για 48 h. Το κίτρινο μείγμα που προέκυψε συμπυκνώθηκε στον περιστρεφόμενο συμπυκνωτή μέχρι ξηρού (κίτρινο στερεό). Ανακρυστάλλωση σε νερό οδήγησε στην απομόνωση πορτοκαλόχρωμου μονοκρυσταλλικού προϊόντος, κατάλληλο για κρυσταλλογραφική ανάλυση με περίθλαση ακτίνων-X. Απόδοση: 0.19 g. $^1\text{H NMR}$ $\delta(\text{MeOD}, \text{ppm})$: 8.58 (t, 2H, H2); 8.06 (d, 2H, H3); 7.82 (d, 2H, H4, H5); 7.62 (d, 2H, H6); 7.22 (dd, 2H, H1); 6.84 (d, 2H, H7).



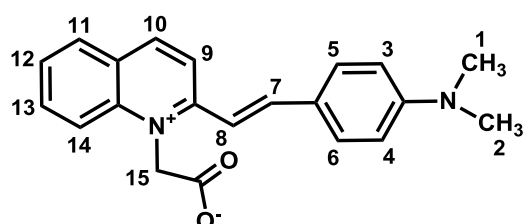
καρβοξυλικό οξύ της [4-(διμεθυλαμινο)-
στυρυλ]πυριδίνης (4-dsp carba, [L13]). 0.42
g (4.46 mmol) χλωροξικού οξέος διαλύθηκαν
σε 50 mL αιθανόλης. Στη συνέχεια

προστέθηκαν 0.96 g (4.46 mmol) του υποκατατάτη [L8]. Το διάλυμα αφέθηκε υπό
ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου και η πορεία της αντίδρασης παρακολούθηθηκε με
TLC. Στην πορεία προστέθηκε στάγδην υδατικό διάλυμα NaOH (0.18 g σε 0.5 mL νερό)
σε χρονικό διάστημα 30 min. Το μείγμα εξατμίστηκε μέχρι ξηρού και το στερεό που
λήφθηκε ανακρυσταλλώθηκε σε μεθανόλη. Το μείγμα αφέθηκε σε ηρεμία στους 4 °C και
παρατηρήθηκε σχηματισμός κρυσταλλικού στερεού το οποίο διηθήθηκε υπό κενό. Το TLC
έδειξε ότι πρόκειται για ποσότητα του [L8] που δεν αντέδρασε. Το διήθημα εξατμίστηκε
μέχρι ξηρού και το στερεό ανακρυσταλλώθηκε σε χλωροφόρμιο. Παρατηρήθηκε
σχηματισμός πορτοκαλοκόκκινου στερεού. Απόδοση: 0.32 g. ¹H NMR δ(CDCl₃, ppm):
9.01 (d, 2H, H11, H12); 8.09 (d, 2H, H9, H10); 7.72 (d, 2H, H5, H6); 6.95 (s, H7, H8);
6.71 (d, 2H, H3, H4); 6.04 (s, 2H, H13); 3.06 (s, 6H, H1, H2).



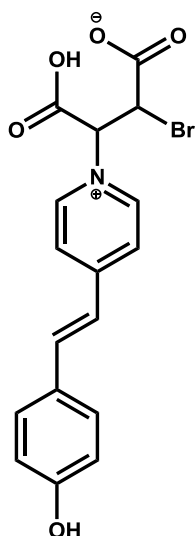
καρβοξυλικό οξύ της [4-(4-διμεθυλαμινο)-
στυρυλ]κινολίνης (4-4-dsq carba, [L14]). 0.34 g
(3.64 mmol) χλωροξικού οξέος διαλύθηκαν σε 50 mL
αιθανόλης. Ακολούθως προστέθηκε 1 g (3.64 mmol)
του υποκαταστάτη [L9]. Το διάλυμα αφέθηκε υπό
ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου και στη συνέχεια
προστέθηκε στάγδην υδατικό διάλυμα NaOH (0.15 g

σε 0.5 ml νερό) σε χρονικό διάστημα 30 min. Το μείγμα διηθήθηκε και εξατμίστηκε μέχρι
ξηρού. Το στερεό ανακρυσταλλώθηκε σε χλωροφόρμιο και παρατηρήθηκε σχηματισμός
μωβ στερεού. Απόδοση: 0.27 g. ¹H NMR δ(CDCl₃, ppm): 9.01 (d, 1H, H10); 8.61 (d, 1H,
H11); 8.40 (d, 1H, H14); 8.25 (t, 1H, H12); 8.15 (t, H13, H9); 7.70 (d, 2H, H5, H6); 6.67
(d, 2H, H3, H4); 6.50 (s, 2H, H7, H8); 6.00 (s, 2H, H15); 3.01 (s, 6H, H1, H2).



καρβοξυλικό οξύ της [2-(4-διμεθυλαμινο)-
στυρυλ]κινολίνης (2-4-dsq carba, [L15]).
Ακολουθήθηκε παρόμοια διαδικασία με αυτή
της σύνθεσης του υποκαταστάτη [L11] και

απομονώθηκαν 0.19 g κόκκινου στερεού. $^1\text{H NMR}$ $\delta(\text{CDCl}_3, \text{ppm})$: 9.05 (d, 1H, H10); 8.70 (d, 1H, H14); 8.35 (d, 1H, H11); 8.15 (t, 1H, H13); 7.93 (t, 1H, H12); 7.65 (d, 2H, H5, H6); 7.10 (d, 1H, H9); 7.00 (t, 2H, H7, H8); 6.40 (d, H3, H4); 6.00 (s, 2H, H15); 3.00 (s, 6H, H1, H2).

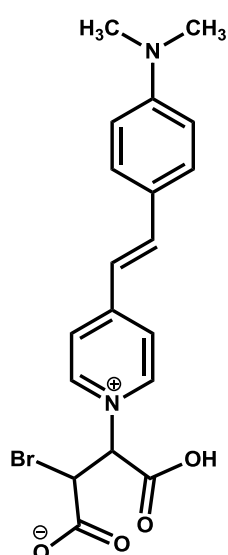


2-βρωμο-3-καρβοξυ-3-(4-(4-υδροξυστυρυλ)πυριδινίουμ-1-υλ)προπανοϊκό οξύ (brmaleic phspy, [L16]). Μέθοδος A:

Σε σφαιρική φιάλη των 100 mL προστέθηκε φαινυλοστυρυλ-πυριδίνη (**phspy**, [L7]) (0.3 g, 1.52 mmol) και μεθανόλη (40 mL, 988.5 mmol). Ακολούθως, προστέθηκε βρωμομαλεϊκός ανυδρίτης (0.21 mL, 2.26 mmol) και παρατηρήθηκε ο σχηματισμός κίτρινου διαλύματος. Στη συνέχεια, έγινε ανάδευση του μείγματος σε θερμοκρασία βρασμού του διαλύτη. Το πορτοκαλόχρωμο διάλυμα που προέκυψε συμπυκνώθηκε στον περιστροφικό συμπυκνωτή μέχρι ξηρού (πορτοκαλί ημι-στερεό).

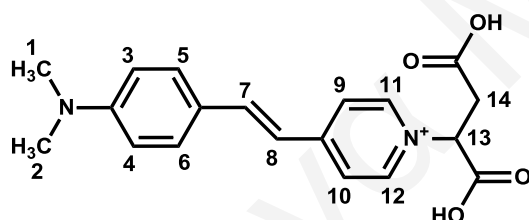
Προστέθηκε υδροχλωρικό οξύ 6M (50 mL, 1.62 mmol) και ακολούθησε βρασμός σε θερμοκρασία βρασμού του διαλύτη για 1 hr. Κατά την διάρκεια του βρασμού του μείγματος παρατηρήθηκε διάλυση όλων των στερεών. Μετά από 1 hr σχηματίστηκε καφεκόκκινο στερεό. Το ίζημα διηθήθηκε υπό κενό και ξηράνθηκε. Απόδοση: 0.14 g.

Μέθοδος B: Σε σφαιρική φιάλη των 100 mL τοποθετήθηκαν υδροξείδιο του καλίου (0.13 g, 2.32 mmol) και μεθανόλη (40 mL, 988.5 mmol) και το μείγμα αναδεύτηκε μέχρι τη διάλυση όλων των στερεών. Ακολούθως, προστέθηκε φαινυλοστυρυλ-πυριδίνη (**phspy**, [L7]) (0.3 g, 1.52 mmol) και το αντιδρών μείγμα αναδεύτηκε για 30 min προς σχηματισμό πορτοκαλόχρωμου διαλύματος. Προστέθηκε βρωμομαλεϊκός ανυδρίτης (0.21 mL, 2.26 mmol) και το μείγμα θερμάνθηκε σε θερμοκρασία βρασμού του διαλύτη για 24 hr. Το σκούρο πορτοκαλί διάλυμα που προέκυψε συμπυκνώθηκε στον περιστρεφόμενο συμπυκνωτή προς σχηματισμό κόκκινου λαδιού. Στο κόκκινο λάδι προστέθηκε υδροχλωρικό οξύ 3M (50 mL, 1.62 mmol) και θερμάνθηκε σε θερμοκρασία βρασμού του διαλύτη για 1 hr. Κατά την διάρκεια του βρασμού παρατηρήθηκε ότι το λάδι διαλύθηκε πλήρως προς σχηματισμό καφεκόκκινου στερεού. Το ίζημα διηθήθηκε υπό κενό και ξηράνθηκε. Απόδοση: 0.17 g. $^1\text{H NMR}$ $\delta(\text{MeOD}, \text{ppm})$: 9.00 (d, 2H, H3); 8.28 (d, 2H, H4); 8.19 (d, 2H, H6, H5); 7.71 (d, 2H, H7); 7.38 (d, 2H, H8); 6.89 (t, 2H, H2, H1).



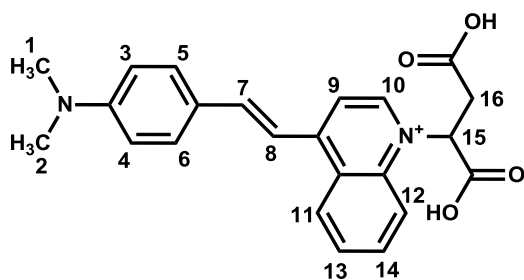
2-βρωμο-3-καρβοξυ-3-(4-(4-(διμεθυλαμινο)στυρυλ)πυριδινίουμ-1-υλ)προπανοϊκό οξύ (brmaleic spy, [L17]). Σε σφαιρική φιάλη των 100 mL τοποθετήθηκαν υδροξείδιο του καλίου (0.11 g, 1.96 mmol) και μεθανόλη (40 mL, 988.5 mmol) και με ανάδευση παρατηρήθηκε διάλυση όλων των στερεών. Ακολούθως, προστέθηκε στυρυλ-πυριδίνη (spy, [L8]) (0.3 g, 1.33 mmol) προς σχηματισμό κίτρινου μείγματος. Στη συνέχεια, προστέθηκε βρωμομαλεϊκός ανυδρίτης (0.18 mL, 1.93 mmol) και το μείγμα τέθηκε σε θερμοκρασία βρασμού του διαλύτη για 48 hr. Το σκούρο καφεκόκκινο μείγμα που προέκυψε συμπυκνώθηκε στον περιστρεφόμενο συμπυκνωτή μέχρι ξηρού (μωβ ημι-στερεό). Στο μωβ ημι-στερεό προστέθηκε υδροχλωρικό οξύ 6M (50 mL, 1.62 mmol)

και τέθηκαν σε θερμοκρασία βρασμού του διαλύτη για 1 hr. Κατά την διάρκεια του βρασμού παρατηρήθηκε ότι η λάσπη διαλύθηκε πλήρως. Το κίτρινο διάλυμα συμπυκνώθηκε στον περιστρεφόμενο συμπυκνωτή προς σχηματισμό κίτρινου λαδιού. Ανακρυστάλλωση σε προπανόλη-2 οδήγησε στην απομόνωση μαύρου στερεού. Απόδοση: 0.20 g. $^1\text{H NMR}$ δ (DMSO, ppm): 9.00 (d, 2H, H3); 8.12 (d, 2H, H4); 7.65 (d, 2H, H7); 7.31 (d, 2H, H6, H5); 6.85 (d, 2H, H8); 4.44 (d, 1H, H1); 3.13 (d, 1H, H2); 3.12 (s, 6H, H9).



δικαρβοξυλικό οξύ της [4-(διμεθυλαμινο)-στυρυλ]πυριδίνης (4-dsp dicarba, [L18]). Σε σφαιρική φιάλη προστέθηκαν βρωμοηλεκτρικό οξύ (0.5 g, 2.54 mmol), ανθρακικό νάτριο (0.125 g, 1.18 mmol) και 50 mL αιθανόλης.

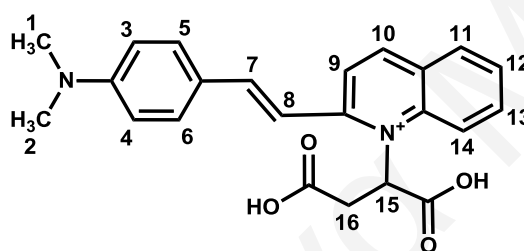
Στο διαυγές διάλυμα που προκύπτει προστέθηκε [4-(διμεθυλαμινο)-στυρυλ]πυριδίνη, [L8] (0.5 g, 2.23 mmol) και το πορτοκαλί μείγμα που προκύπτει θερμάνθηκε μέχρι βρασμού για 3 μέρες. Στη συνέχεια προστέθηκε χλωροφόρμιο το οποίο διαλύει τον αρχικό υποκαταστάτη και φυλάχθηκε στην κατάψυξη. Παρατηρήθηκε σχηματισμός μωβ-κόκκινου στερεού το οποίο και διηθήθηκε υπό κενό. Απόδοση: 0.15 g. $^1\text{H NMR}$ δ (D₂O/NaOD, ppm): 8.41 (d, 2H, H11, H12); 7.71 (d, 2H, H9, H10); 7.49 (t, 2H, H5, H6); 6.84 (t, 2H, H3, H4); 6.49 (s, 2H, H7, H8); 3.31 (d, 1H, H13); 3.00 (d, 2H, H14); 2.92 (s, 6H, H1, H2).



δικαρβοξυλικό οξύ της [4-(4-διμεθυλαμινο)-
στυρυλ]κινολίνης, (4-4-dsq dicarba, [L19]).

Σε μείγμα βρωμοηλεκτρικού οξέος (0.36 g, 1.82 mmol), ανθρακικού νατρίου (0.1 g, 0.91 mmol) και 50 mL αιθανόλης προστέθηκε 4-(4-διμεθυλαμινοστυρυλ)κινολίνη, [L9] (0.5 g,

1.82 mmol). Το μείγμα που προκύπτει θερμάνθηκε μέχρι βρασμού για 3 μέρες και στη συνέχεια προστέθηκε χλωροφόρμιο (10 mL) το οποίο καταβυθίζει τον αρχικό υποκαταστάτη. Το μείγμα φυλάχθηκε στην κατάψυξη και σχηματίστηκε στερεό. Ακολούθησε απομάκρυνση του στερεού με διήθηση και συμπύκνωση του διηθήματος. Παρατηρείται σχηματισμός πράσινου κρυσταλλικού στερεού το οποίο και συλλέχθηκε με διήθηση. Απόδοση: 0.21 g. $^1\text{H NMR}$ $\delta(\text{D}_2\text{O}/\text{NaOD}, \text{ppm})$: 9.00 (d, 1H, H10); 8.55 (d, 1H, H12); 8.35 (d, 1H, H11); 8.20 (t, 1H, H14); 7.90 (t, 1H, 13); 7.70 (d, 2H, H5, H6); 6.90 (s, 2H, H7, H8); 6.70 (d, 2H, H3, H4); 3.01 (s, 6H, H1, H2); 2.65 (p, 1H, H15); 2.52 (d, 2H, H16).



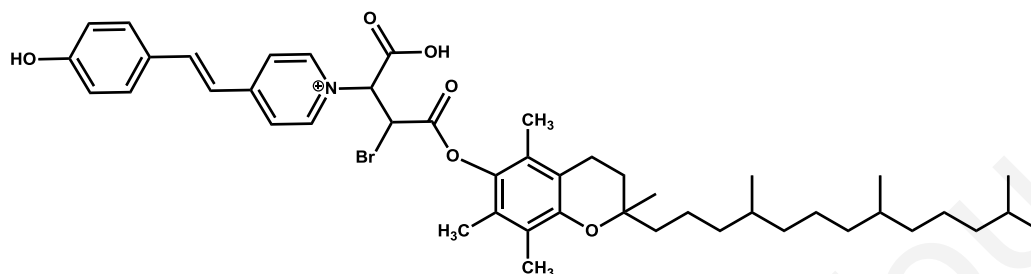
δικαρβοξυλικό οξύ της [2-(4-διμεθυλαμινο)-
στυρυλ]κινολίνης (2-4-dsq dicarba, [L20]).

Το προϊόν απομονώθηκε υπό μορφή σκούρου κόκκινου κρυσταλλικού στερεού ακολουθώντας την ίδια ακριβώς διαδικασία

σύνθεσης του δικαρβοξυλικού οξέος της 4-(4-διμεθυλαμινοστυρυλ)κινολίνης, [L19]. Απόδοση: 0.29 g. $^1\text{H NMR}$ $\delta(\text{D}_2\text{O}/\text{NaOD}, \text{ppm})$: 8.98 (d, 1H, H10); 8.61 (d, 1H, H14); 8.23 (t, 1H, H13); 8.00 (t, 1H, H12); 7.90 (t, 1H, 13); 7.60 (d, 2H, H5, H6); 7.15 (d, 2H, H9); 6.90 (t, 2H, H7, H8); 6.52 (s, 2H, H3, H4); 3.06 (s, 6H, H1, H2); 2.70 (p, 1H, H15); 2.43 (d, 2H, H16).

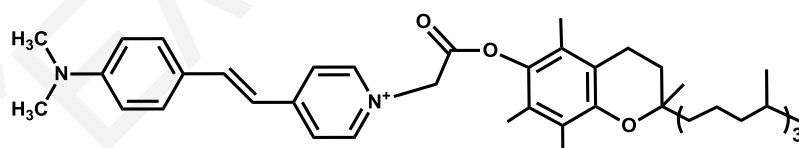
2.2.3.2 Σύνθεση φθορίζοντων μονο- και δικαρβοξυλικών εστέρων με τα συστατικά της Βιταμίνης E, τη φαρνεσόλη και τη φυτόλη

2-βρωμο-3-καρβοξυ-3-(4-(4-υδροξυστυρυλ)πυριδινίουμ-1-υλ)προπανοϊκός εστέρας α-τοκοφερόλης (phspy-brmaleic-a-toc), [E1])



Σε δίλιμη σφαιρική φιάλη των 50 mL κάτω από αδρανή ατμόσφαιρα αέριου N₂. Προστέθηκε το 2-βρωμο-3-καρβοξυ-3-(4-(4-υδροξυστυρυλ)πυριδινίουμ-1-υλ)προπανοϊκό οξύ (**brmaleic spy**, [L17]) (0.15 g, 0.382 mmol), ξηρός διαλύτης διμεθυλοφορμαδεϋδη (DMF) (10 mL, 0.129 mmol), 4-διμεθυλαμινοπυριδίνη (DMAP) (0.05 g, 0.382 mmol), α-τοκοφερόλη (0.16 g, 0.382 mmol) και 1,3-δικυκλοεξυλοκαρβοδιμίδιο (DCC) (0.08 g, 0.382 mmol). Μετά από 30 min παρατηρήθηκε ο σχηματισμός καφέ μίγματος. Το μίγμα αφέθηκε να αντιδράσει για 3 μέρες. Η απομόνωση του εστεροποιημένου προϊόντος έγινε αρχικά με εκχύλιση σε σύστημα διαλυτών εξάνιο-νερό και στη συνέχεια σε χλωροφόρμιο-νερό. Η οργανική φάση με χλωροφόρμιο συμπυκνώθηκε ακολούθως στον περιστρεφόμενο συμπυκνωτή. Απόδοση: 0.042 g (το φάσμα ¹H-NMR αναλύεται στη συζήτηση και αποτελέσματα).

α-τοκοφερυλο καρβοξυλικός εστέρας της 4-(διμεθυλαμινοστυρυλ)πυριδίνης (α-toc-4-



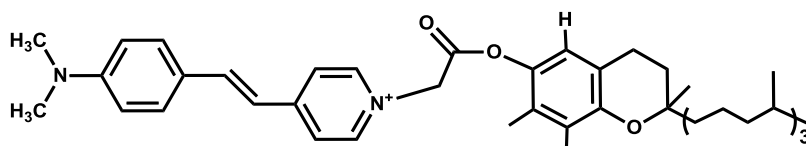
dsp carbe, [E2]). Σε

δίλιμη σφαιρική φιάλη και κάτω από ατμόσφαιρα

N₂ προστέθηκε διάλυμα καρβοξυλικού οξέος [L13] (0.03 g, 0.106 mmol) σε ξηρό διαλύτη διμεθυλοφορμαμίδιο (10 mL). Στη συνέχεια παρουσία καταλυτικής ποσότητας 4-διμεθυλαμινοπυριδίνης (0.0164 g, 0.134 mmol) προστέθηκε α-τοκοφερόλη (0.057 g, 0.134 mmol) διαλυμένη στην ελάχιστη ποσότητα DMF. Στο διάλυμα που προκύπτει προστέθηκε 1-αιθυλ-3-(διμεθυλαμινοπροπυλ)καρβοδιμίδιο (0.2 mL, 1.13 mmol, 0 °C) και το μείγμα αφέθηκε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 48 h. Ο διαλύτης αφαιρέθηκε στη γραμμή κενού, το μείγμα διαλύθηκε σε τολουόλιο και εκχυλίστηκε με νερό (3x20 ml). Η

οργανική φάση ξηράνθηκε με άνυδρο $MgSO_4$ και ο διαλύτης εξατμίστηκε υπό κενό. Η ελαιώδης ουσία που παρέμεινε διαλύθηκε σε μείγμα $CHCl_3$: n-Hex (1 : 1) και καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης. Ο διαλύτης εξατμίστηκε και απέδωσε 0.2 g άχρωμου παχύρευστου υγρού (το φάσμα ^1H-NMR είναι παρόμοιο με αυτό του [E9] το οποίο παρουσιάζεται αναλυτικά στη συζήτηση και αποτελέσματα).

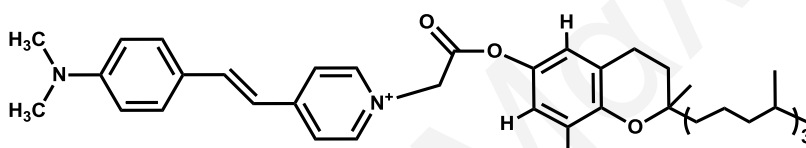
γ-τοκοφύρολο καρβοξυλικός εστέρας της 4-(διμεθυλαμινοστουρυλ)πυριδίνης (γ-toc-4-dsp carbe, [E3]). Το



μόριο αυτό παρασκευάστηκε με τη

μεθοδολογία σύνθεσης του E2. Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 0.045 g (παρουσιάζει παρόμοιες χημικές μετατοπίσεις με το [E2] με μία επιπρόσθετη κορυφή λόγω του αρωματικού πρωτονίου στα 6.80 ppm).

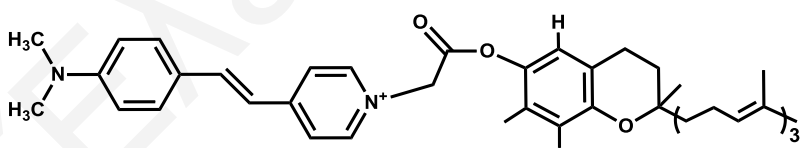
δ-τοκοφύρολο καρβοξυλικός εστέρας της 4-(διμεθυλαμινοστουρυλ)πυριδίνης (δ-toc-4-dsp carbe, [E4]). Το



μόριο αυτό παρασκευάστηκε με τη

μεθοδολογία σύνθεσης του E2. Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 0.052 g (παρουσιάζει παρόμοιες χημικές μετατοπίσεις με το [E2] με μία επιπρόσθετη διπλή κορυφή λόγω των αρωματικών πρωτονίων στα 6.88 ppm).

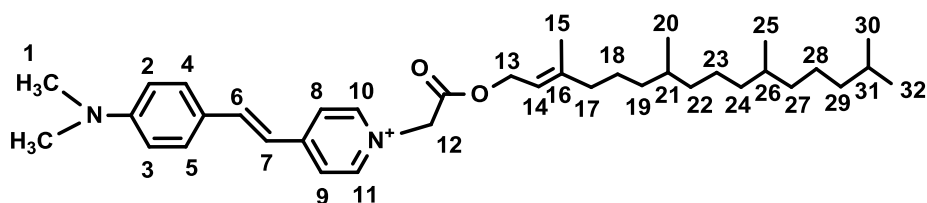
γ-τοκοτριένυλο καρβοξυλικός εστέρας της 4-(διμεθυλαμινοστουρυλ)πυριδίνης (γ-tot-4-dsp carbe, [E5]). Το



μόριο αυτό παρασκευάστηκε με τη

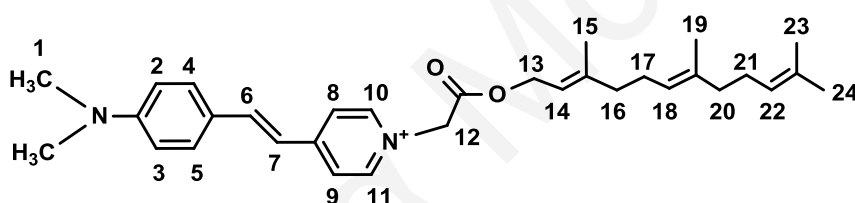
μεθοδολογία σύνθεσης του E2. Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 0.032 g (παρουσιάζει παρόμοιες χημικές μετατοπίσεις με το [E2] με μία επιπρόσθετη κορυφή λόγω του αρωματικού πρωτονίου στα 6.55 ppm).

φύτυλο καρβοξυλικός εστέρας της 4-(διμεθυλαμινοστουρυλ)πυριδίνης (phyt-4-dsp carbe, [E6]).



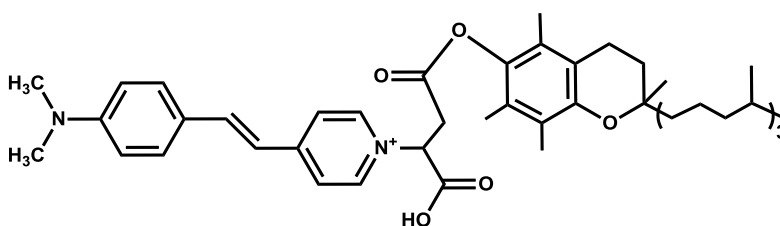
Το μόριο αυτό παρασκευάστηκε με τη μεθοδολογία σύνθεσης του [E2]. Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 0.075 g. ^1H NMR $\delta(\text{CDCl}_3, \text{ppm})$: 9.00 (d, 2H, H10, H11); 8.00 (d, 2H, H8, H9); 7.50 (d, 2H, H4, H5); 6.80 (s, 2H, H6, H7); 6.75 (d, 2H, H2, H3); 5.80 (s, 2H, H12); 5.40 (t, 1H, H14); 4.50 (d, 2H, H13); 3.00 (s, 6H, H1); 1.90-1.80 (m, 3H, H17, H15); 1.65 (p, 3H, H21, H26, H31); 1.30-1.20 (m, 16H, H18, H19, H22, H23, H24, H27, H28, H29); 0.92 (dd, 12H, H20, H25, H30, H32).

φαρνέσυλο καρβοξυλικός εστέρας της 4-(διμεθυλαμινοστουρυλ)πυριδίνης (farn-4-dsp carbe, [E7]).



Το μόριο αυτό παρασκευάστηκε με τη μεθοδολογία σύνθεσης του [E2]. Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 0.068 g. ^1H NMR $\delta(\text{CDCl}_3, \text{ppm})$: 9.00 (d, 2H, H10, H11); 8.00 (d, 2H, H8, H9); 7.50 (d, 2H, H4, H5); 6.80 (s, 2H, H6, H7); 6.75 (d, 2H, H2, H3); 5.80 (s, 2H, H12); 5.40 (t, 1H, H14); 5.10 (s, 2H, H18, H22); 4.50 (d, 2H, H13); 3.00 (s, 6H, H1); 2.00 (s, 8H, H16, H17, H20, H21); 1.75 (s, 9H, H15, H19, H23); 1.60 (s, 3H, H24).

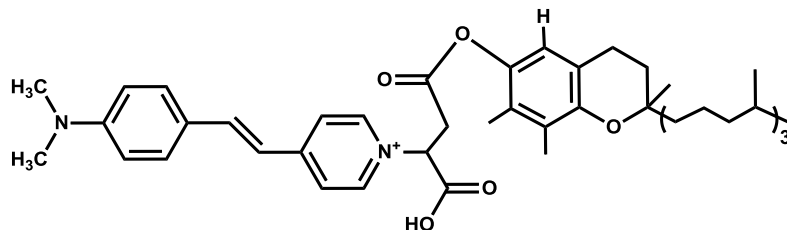
α -τοκοφένυλο δικαρβοξυλικός εστέρας της 4-(διμεθυλαμινοστουρυλ)πυριδίνης (α -toc-4-dsp dicarbe, [E8]). Το



αυτό παρασκευάστηκε με τη μεθοδολογία σύνθεσης του [E2]. Η απόδοση της

αντίδρασης ήταν 0.083 g (παρουσιάζει παρόμοιες χημικές μετατοπίσεις με το [E9] χωρίς την κορυφή από το αρωματικό πρωτόνιο της α-τοκοφερόλης στα 6.80 ppm).

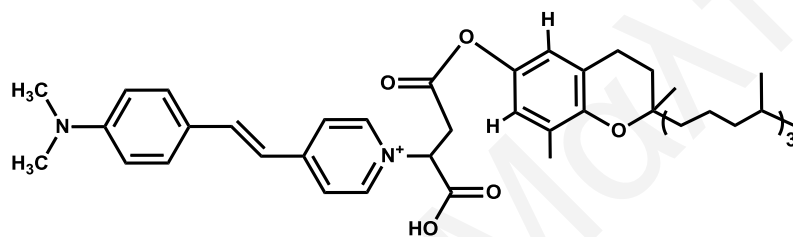
γ-τοκοφέρυλο δικαρβοξυλικός εστέρας της 4-(διμεθυλαμινοστουρυλ)πυριδίνης (γ-toc-



4-dsp dicarbe, [E9]). Το μόριο αυτό παρασκευάστηκε με τη μεθοδολογία σύνθεσης του [E2]. Η απόδοση της

αντίδρασης ήταν 0.065 g (το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ αναλύεται στη συζήτηση και αποτελέσματα).

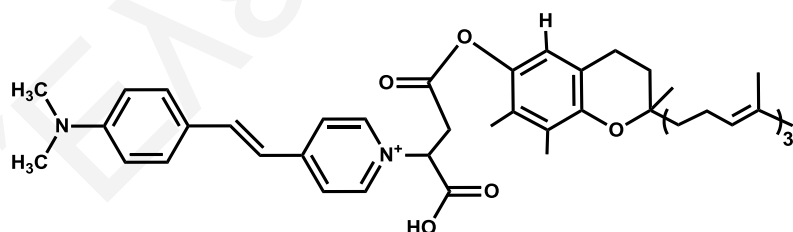
δ-τοκοφέρυλο δικαρβοξυλικός εστέρας της 4-(διμεθυλαμινοστουρυλ)πυριδίνης (δ-toc-



4-dsp dicarbe, [E10]). Το μόριο αυτό παρασκευάστηκε με τη μεθοδολογία σύνθεσης του [E2]. Η απόδοση της

αντίδρασης ήταν 0.075 g (παρουσιάζει παρόμοιες χημικές μετατοπίσεις με το [E8] με μία επιπρόσθετη διπλή κορυφή λόγω των αρωματικών πρωτονίων στα 6.88 ppm).

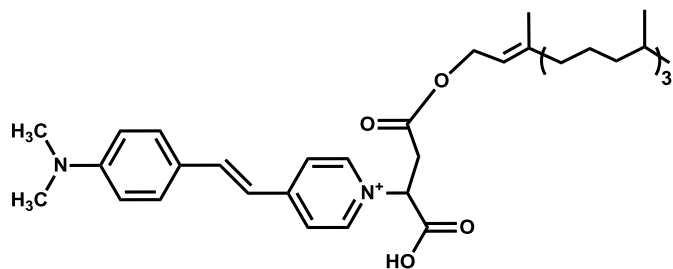
γ-τοκοτριένυλο δικαρβοξυλικός εστέρας της 4-(διμεθυλαμινοστουρυλ)πυριδίνης (γ-tot-



4-dsp dicarbe, [E11]). Το μόριο αυτό παρασκευάστηκε με τη μεθοδολογία σύνθεσης του [E2]. Η απόδοση της

αντίδρασης ήταν 0.038 g (παρουσιάζει παρόμοιες χημικές μετατοπίσεις με το [E8] με μία επιπρόσθετη κορυφή λόγω του αρωματικού πρωτονίου στα 6.55 ppm).

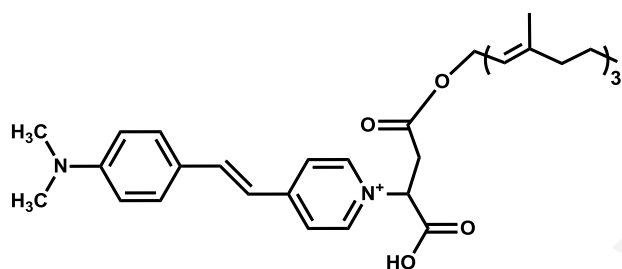
φύτυλο δικαρβοξυλικός εστέρας της 4-(διμεθυλαμινοστουρυλ)πυριδίνης (phyt-4-dsp



dicarbe, [E12]). Το μόριο αυτό παρασκευάστηκε με τη μεθοδολογία σύνθεσης του [E2]. Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 0.070 g (παρουσιάζει παρόμοιες χημικές

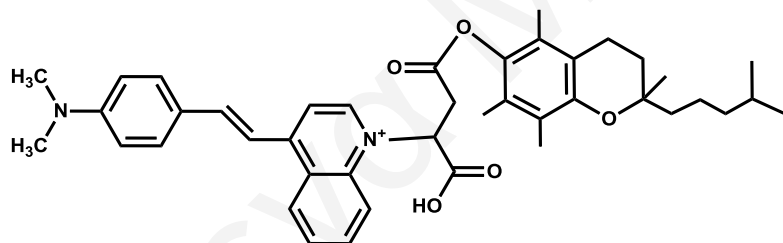
μετατοπίσεις με το [E6]).

φαρνέσυλο δικαρβοξυλικός εστέρας της 4-(διμεθυλαμινοστουρυλ)πυριδίνης (farn-4-



dsp dicarbe, [E13]). Το μόριο αυτό παρασκευάστηκε με τη μεθοδολογία σύνθεσης του [E2]. Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 0.067 g (παρουσιάζει παρόμοιες χημικές μετατοπίσεις με το [E7]).

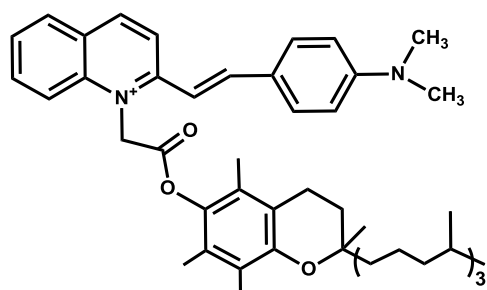
α-τοκοφέρυλο δικαρβοξυλικός εστέρας της 4-(4-διμεθυλαμινοστουρυλ)κινολίνης (α-



toc-4-4-dsq dicarbe, [E14]). Το μόριο αυτό παρασκευάστηκε με τη μεθοδολογία σύνθεσης του [E2]. Η απόδοση της

αντίδρασης ήταν 0.072 g (παρουσιάζει παρόμοιες χημικές μετατοπίσεις με το [E8] με δύο επιπρόσθετες κορυφές στα ~8.50 ppm λόγω των αρωματικών πρωτονίων από τον δακτύλιο της κινολίνης).

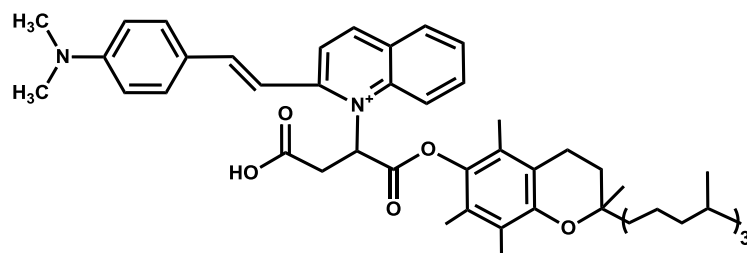
α-τοκοφέρυλο καρβοξυλικός εστέρας της 2-(4-διμεθυλαμινοστουρυλ)κινολίνης (α-toc-



2-4-dsq carbe, [E15]). Το μόριο αυτό παρασκευάστηκε με τη μεθοδολογία σύνθεσης του [E2]. Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 0.066 g (παρουσιάζει παρόμοιες χημικές μετατοπίσεις με το [E2] με δύο επιπρόσθετες κορυφές στα ~8.50

ppm λόγω των αρωματικών πρωτονίων από τον δακτύλιο της κινολίνης).

α-τοκοφερόλυλο δικαρβοξυλικός εστέρας της 2-(4-διμεθυλαμινοστυρυλ)κινολίνης (α-



toc-2-4-dsq dicarbo, [E16].

Το μόριο αυτό παρασκευάστηκε με τη μεθοδολογία σύνθεσης του [E2]. Η απόδοση της

αντίδρασης ήταν 0.071 g (παρουσιάζει παρόμοιες χημικές μετατοπίσεις με το [E8] με δύο επιπρόσθετες κορυφές στα ~8.50 ppm λόγω των αρωματικών πρωτονίων από τον δακτύλιο της κινολίνης).

2.3 Μέθοδοι χαρακτηρισμού των ενώσεων - Οργανολογία

2.3.1 Κρυσταλλογραφία ακτίνων-X

Ο προσδιορισμός της απόλυτης δομής των ενώσεων στη στερεή κατάσταση, στις περιπτώσεις όπου απομονώθηκαν μονοκρυσταλλοί, πραγματοποιήθηκε με την τεχνική περίθλασης ακτίνων-X. Μονοκρυσταλλοί κατάλληλοι για κρυσταλλογραφικό χαρακτηρισμό απομονώθηκαν από τα υδατικά διαλύματα των ενώσεων είτε με αργή διάχυση ενός οργανικού διαλύτη, είτε με αργή εξάτμιση του διαλύματος στην ατμόσφαιρα είτε σε συνθήκες ελεγχόμενης θερμοκρασίας. Τα πειραματικά δεδομένα για την επίλυση των κρυσταλλικών δομών συλλέχθηκαν στους 100 K σε περιθλασίμετρο διάταξης 4-κύκλων X-Calibur III, με ακτινοβολία πηγής μολυβδαινίου ($\text{MoK}\alpha$, $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$). Στην περίπτωση των σύμπλοκων ενώσεων **C2** και **C4** τα πειραματικά δεδομένα για την επίλυση της δομής συλλέχθηκαν σε περιθλασίμετρο διάταξης 4-κύκλων Syntex-P21 με ακτινοβολία πηγής χαλκού ($\text{CuK}\alpha$, $\lambda = 1.54178 \text{ \AA}$). Οι κρυσταλλικές δομές των ενώσεων επιλύθηκαν με χρήση του ηλεκτρονικού προγράμματος SHELX-86^[141] και η βελτιστοποίησή τους πραγματοποιήθηκε με τεχνικές εφαρμογής ελαχίστων τετραγώνων με βάση το ηλεκτρονικό πρόγραμμα SHELX-97.^[142] Όλες οι θέσεις των ατόμων στις κρυσταλλικές δομές (με εξαίρεση τα άτομα υδρογόνου) βελτιστοποιήθηκαν με ανισοτροπικές θερμικές παραμέτρους, ενώ στην περίπτωση των ατόμων υδρογόνου, οι θέσεις τους βελτιστοποιήθηκαν με ισοτροπικές θερμικές παραμέτρους και με βάση το άτομο που δεσμεύονται.

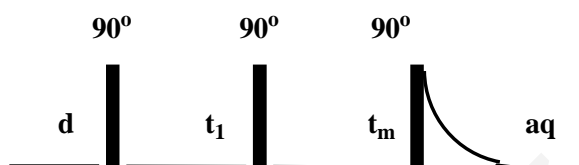
2.3.2 Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού

2.3.2.1 Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού 1D NMR

Τα πειράματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) ^1H και ^{13}C πραγματοποιήθηκαν σε φασματοφωτόμετρο Bruker Avance 300 το οποίο λειτουργεί σε συχνότητες 300.13 MHz, 75.47 MHz και 121.49 MHz για τους πυρήνες ^1H , ^{13}C και ^{31}P αντίστοιχα. Τα δείγματα για τη φασματοσκοπία NMR των ενώσεων παρασκευάστηκαν με διάλυση τους σε CDCl_3 , D_2O και DMSO . Οι συγκεντρώσεις κυμαίνονταν από 10-100 mM.

2.3.2.2. Φασματοσκοπία ανταλλαγής δύο διαστάσεων 2D $\{^1\text{H}\}$ EXSY-NOESY NMR

Στη φασματοσκοπία 2D NOESY NMR, αν θεωρήσουμε ότι έχουμε ένα σύμπλοκο **AX** το οποίο αποτελείται από τους πυρήνες **A** και **X**, πολώνεται ο ένας από τους δύο πυρήνες και στη συνέχεια γίνεται η μέτρηση του μαγνητισμού που μεταφέρεται στον άλλο πυρήνα. Η τεχνική του πειράματος βασίζεται στην αλληλουχία των παλμών $90^\circ_{\text{X}}-t_1-90^\circ_{\text{X}}-t_m-90^\circ_{\text{X}}$ -FID (Σχήμα 2.1).



Σχήμα 2.1. Αλληλουχία παλμών 2D NOESY-EXSY

Το σήμα σε ένα δισδιάστατο φάσμα, παρουσιάζεται σαν συνάρτηση των χημικών μετατοπίσεων δύο αξόνων συντεταγμένων. Ο ένας άξονας αντιπροσωπεύει το ένα φάσμα χημικών μετατοπίσεων, ο δεύτερος άξονας το δεύτερο φάσμα χημικών μετατοπίσεων. Υπάρχει και μια τρίτη διάσταση η οποία αντιπροσωπεύει την ένταση των παρατηρούμενων σημάτων. Το αποτέλεσμα είναι μια μορφή τετράγωνης γραφικής παράστασης όπου οι ισοϋψείς γραμμές αντιστοιχούν στην ένταση σήματος. Σε ένα τέτοιο φάσμα εντοπίζονται ευδιάκριτα σήματα σε μια διαγώνιο τα οποία αντιστοιχούν στην ίδια κορυφή σε κάθε άξονα συντεταγμένων. Επίσης, εντοπίζονται σήματα που βρίσκονται συμμετρικά εκτός της διαγωνίου (cross signals) που δείχνουν τα πρωτόνια τα οποία συζευγνύονται μεταξύ τους. Σε αυτήν την φασματοσκοπία ένας δεδομένος πυρήνας επηρεάζεται από την κατάσταση σπιν ενός άλλου πυρήνα που βρίσκεται κοντά.

Στην μέθοδο NOESY χρησιμοποιείται η διπολική αλληλεπίδραση του σπιν (the nuclear Overhauser effect, NOE) για τη συσχέτιση των πρωτονίων σε αντίθεση με την μέθοδο COSY όπου ο μαγνητισμός μεταφέρεται μέσω βαθμωτής σύζευξης (scalar coupling). Η αλληλεπίδραση μεταξύ δύο πρωτονίων εξαρτάται από την μεταξύ τους απόσταση και συνήθως σήμα παρατηρείται μόνο όταν η απόστασή τους είναι μικρότερη από 5 Å. Το NOESY συσχετίζει όλα τα πρωτόνια τα οποία είναι αρκετά κοντά. Συσχετίζει επίσης τα πρωτόνια τα οποία είναι απομακρυσμένα αλλά βρίσκονται κοντά στο χώρο λόγω της τρισδιάστατης δομής της ένωσης στην οποία ανήκουν.

2.3.3 Φασματοσκοπία Υπεριώδους (UV)

Τα φάσματα υπεριώδους-ορατού λήφθηκαν σε φασματοφωτόμετρο Photonics CCD Array UV-Vis σε θερμοκρασία δωματίου.

2.3.4 Φασματοσκοπία Φθορισμού

Τα φάσματα φθορισμού λήφθηκαν σε φασματοφθοριόμετρο JASCO FP-6300, το οποίο έχει εύρος μήκους κύματος 200nm-900nm. Τα πειράματα φθορισμού των ενώσεων και των πρόδρομων τους μορίων πραγματοποιήθηκαν σε διαλύματα αιθανόλης μοριακής συγκέντρωσης 10 mM, σε θερμοκρασία δωματίου.

Έλενα Μαλιτζού

2.4 Μέθοδοι ταυτοποίησης και διαχωρισμού ενώσεων

2.4.1 Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας

Η χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (Thin Layer Chromatography, TLC) χρησιμοποιείται σαν μια απλή αναλυτική μέθοδος, ελέγχου της πορείας μιας αντίδρασης, της σύστασης ενός μείγματος, ή της ταυτοποίησης μιας ουσίας. Η TLC είναι μια πολύ ευαίσθητη τεχνική και μπορεί να ανιχνεύσει ενώσεις σε πολύ χαμηλή συγκέντρωση (περίπου 100 ppm). Με την TLC προσπαθούμε να εντοπίσουμε μια ή και περισσότερες κηλίδες, καθώς και τη σχετική θέση τους πάνω σε μια λεπτή στοιβάδα προσροφητικού. Τα συνήθη εμπορικά διαθέσιμα πλακίδια TLC είναι πλαστικά και επιστρωμένα με silica gel (SiO_2). Οι ουσίες αναπτύσσονται ανάλογα με την πολικότητά τους και την πολικότητα του διαλύτη. Ως R_f ορίζεται είναι ο λόγος της απόστασης που διανύει μία ουσία από την αρχική της θέση στο πλακίδιο TLC προς την απόσταση που διανύει ο διαλύτης. Σε μη πολικό διαλύτη, οι μη-πολικές ενώσεις αναπτύσσονται ταχύτερα από τις πολικές. Το μείγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε για το διαχωρισμό των εστέρων από τα συστατικά της βιταμίνης E ήταν Hex: CHCl_3 (1:5). Το R_f για τα συστατικά της βιταμίνης E ήταν αρκετά μεγαλύτερα από αυτό των αντίστοιχων εστέρων. Συνεπώς, οι εστέρες είναι πολικότεροι από τις τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες.

Η τεχνική TLC χρησιμοποιήθηκε:

(α) Για την παρακολούθηση της πορείας των αντιδράσεων σύνθεσης. Πραγματοποιείται λήψη πολύ μικρών δειγμάτων από μία αντίδραση σε διάφορα χρονικά διαστήματα για να προσδιορίζεται αν η αντίδραση ολοκληρώθηκε.

(β) Σαν προκαταρκτική εργασία, για την επιλογή των κατάλληλων διαλυτών έκλουσης που απαιτούνται, για τον διαχωρισμό των μειγμάτων με τη χρωματογραφία έκλουσης σε στήλη. Πάντα η TLC προηγείται της χρωματογραφίας στήλης. Η επιλογή του κατάλληλου διαλύτη ή μείγματος διαλυτών έκλουσης είναι σημαντική έτσι ώστε όταν διαχωρίζουμε ένα μείγμα ενώσεων με χρωματογραφία στήλης, τα συστατικά να παρουσιάζουν αρκετή διαφορά στα R_f .

(γ) Για την παρακολούθηση πορείας διαχωρισμού ενός μείγματος με χρωματογραφία έκλουσης σε στήλη. Τα κλάσματα που λαμβάνονται από τη χρωματογραφική στήλη ελέγχονται με TLC, για να διαπιστωθεί πότε αρχίζει να βγαίνει από τη στήλη το κάθε συστατικό, έτσι ώστε να χρησιμοποιηθεί στη συνέχεια πολικότερος διαλύτης ή μείγμα διαλυτών έκλουσης.

(δ) Για τον προσδιορισμό της σταθερότητας των πρωτότυπων μεικτών εστέρων στα βιολογικά μέσα καλλιέργειας. Οι ενώσεις διαλύθηκαν σε αιθανόλη και παρασκευάστηκαν

πρότυπα διαλύματα, παρόμοια με αυτά τα οποία χρησιμοποιούνται στα βιολογικά πειράματα. Στη συνέχεια μικρές ποσότητες από αυτά τα διαλύματα αραιώθηκαν με τα βιολογικά μέσα έτσι ώστε οι τελικές συγκεντρώσεις να είναι αντίστοιχες με αυτές που χρησιμοποιούνται στα βιολογικά πειράματα (από 0.02-0.10 mM). Τα διαλύματα αυτά φυλάχθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για διαφορετικά χρονικά διαστήματα (από μία ημέρα μέχρι ένα μήνα). Στη συνέχεια, τα διαλύματα εκχυλίστηκαν με χλωροφόρμιο και η ταυτοποίηση των ενώσεων έγινε με TLC. Επιβεβαίωση της ταυτότητας των ενώσεων οι οποίες διαχωρίστηκαν στη TLC έγινε και με ^1H NMR. Συγκεκριμένα, η επικάλυψη των TLC πλακών παραλήφθηκε και εκχυλίστηκε με CDCl_3 . Ακολούθως, λήφθηκε το φάσμα ^1H NMR του εκχυλίσματος αυτού.

2.4.2 Χρωματογραφία έκλουσης σε στήλη

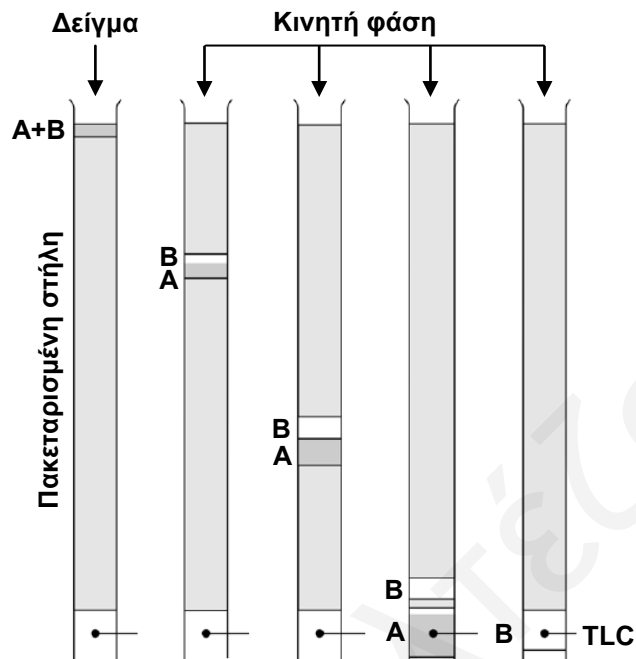
Η χρωματογραφική ανάλυση χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό ενώσεων που έχουν παραπλήσιες ιδιότητες και που δεν μπορούν να διαχωριστούν με τις κλασικές μεθόδους διαχωρισμού. Η παλαιότερη και συνηθέστερη χρωματογραφική μέθοδος είναι η χρωματογραφία στήλης. Η χρωματογραφία στήλης γίνεται συνήθως μετά τη χρωματογραφία TLC, από την οποία βρίσκουμε τις κατάλληλες συνθήκες διαχωρισμού.

2.4.2.1 Τεχνική διαχωρισμού μείγματος δύο ουσιών

Στο Σχήμα 2.2 απεικονίζεται σχηματικά το πως ένα μείγμα που προκύπτει από μια αντίδραση σύνθεσης διαχωρίζεται στα επιμέρους συστατικά σε μια στήλη με χρωματογραφία έκλουσης με μια υγρή κινητή φάση. Η έκλουση συνίσταται στην παραλαβή των ουσιών από τη στήλη με συνεχή προσθήκη καθαρού διαλύτη. Η χρωματογραφική στήλη γεμίστηκε αρχικά με το αιώρημα που δημιουργήθηκε από την ανάμιξη του προσροφητικού μέσου (SiO_2) με το διαλύτη (Hex). Στη συνέχεια προστέθηκε το διάλυμα του μείγματος των ουσιών που θέλαμε να διαχωρίσουμε και ακολούθησε η προσθήκη των διαλυτών έκλουσης.

Ο ρόλος του διαλύτη στη χρωματογραφία στήλης είναι τριπλός: εισάγει το μείγμα στη στήλη, διευκολύνει την ανάπτυξη του χρωματογραφήματος προκαλώντας πλήρη διαχωρισμό των ζωνών και εκλούει την επιθυμητή ουσία από κάθε ζώνη. Η διαχωριστική ικανότητα κάθε διαλύτη εξαρτάται από την πολικότητά του. Η πολικότητα των διαλυτών αυξανόταν συνεχώς {Hex, Hex: CHCl_3 (1:5), CHCl_3 }, έτσι ώστε να απομακρυνθεί αρχικά από τη στήλη η ζώνη των τοκοφερολών και τοκοτριενολών ανάλογα, στο λιγότερο πολικό διαλύτη (Hex). Οι μεικτοί εστέρες που είναι πολικότεροι απομονώθηκαν στους

πολικότερους διαλύτες {Hex:CHCl₃ (1:5), CHCl₃}. Για την αύξηση της ταχύτητας ροής, εφαρμόστηκε κενό.



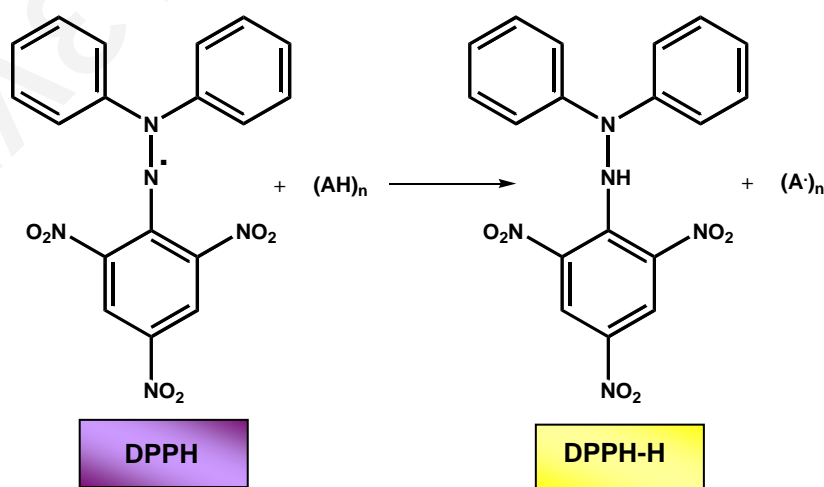
Σχήμα 2.2. Διάγραμμα στο οποίο απεικονίζεται ο διαχωρισμός μείγματος δύο ουσιών A και B με χρωματογραφία έκλουσης σε στήλη.

2.5 In vitro τεχνική προσδιορισμού αντιοξειδωτικής δράσης με κινητική μελέτη (σύστημα χωρίς κύτταρα)

Οι τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες έχουν την ικανότητα να εξουδετερώνουν ελεύθερες ρίζες, συνεπώς η *in vitro* κινητική μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης των πρωτότυπων χρωμοφόρων εστέρων μελετήθηκε με προσδιορισμό της ταχύτητας των αντιδράσεων εξουδετέρωσης ριζών όπως το DPPH•.

2.5.1 DPPH• αντιοξειδωτική ανάλυση

Η ικανότητα αναστολής ελευθέρων ριζών από αντιοξειδωτικές ουσίες είναι ο καλύτερος τρόπος για την εκτίμηση του βαθμού παρεμπόδισης της λιπιδικής υπεροξειδωσης. Το μοντέλο αναστολής της σταθερής ρίζας DPPH• είναι μια ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας αντιοξειδωτικών που αναστέλλουν τη λιπιδική υπεροξειδωση όπως οι τοκοφερόλες και οι τοκοτριενόλες.^[143-145] Κάτω από συνθήκες ψευδοπρώτης τάξης στην παρουσία αντιοξειδωτικών ενώσεων όπως είναι τα συστατικά της βιταμίνης E, ελεύθερες ρίζες όπως η ρίζα φαινοξειδίου (PhO•) και η ABTS• εξαφανίζονται από το διάλυμα πολύ γρήγορα και επομένως είναι απαραίτητη η χρησιμοποίηση τεχνικών όπως η stopped-flow. Ωστόσο, η αναστολή του DPPH• από τα αντιοξειδωτικά αυτά ήταν πιο αργή, επιτρέποντας τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας με τυπική φασματοσκοπία ορατού.^[144] Συνεπώς, στη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκε το DPPH•. Η αναστολή της ρίζας αυτής από τα αντιοξειδωτικά παρουσιάζεται στο Σχήμα 2.3.



Σχήμα 2.3. Δομή του DPPH πριν και μετά από αντίδραση του με αντιοξειδωτικά μόρια (AH).

Το μέγιστο απορρόφησης της ρίζας αυτής εντοπίζεται σε μήκος κύματος 515 nm. Η απορρόφηση σε αυτό το μήκος κύματος μειώνεται σαν αποτέλεσμα της αλλαγής του χρώματος από μωβ σε κίτρινο κατά την αναστολή της ρίζας από τα αντιοξειδωτικά, μέσω μεταφοράς ρίζας υδρογόνου, για το σχηματισμό της αντίστοιχης υδραζίνης DPPH-H. Συνεπώς, η εξαφάνιση του DPPH· είναι ένας δείκτης για την εκτίμηση της ικανότητας των μορίων να δεσμεύουν ελεύθερες ρίζες.

Ο ρυθμός της εξαφάνισης του DPPH· μετρήθηκε στα 515 nm σε διάστημα από 1 δευτερόλεπτο μέχρι 30 λεπτά. Τα πρότυπα διαλύματα του DPPH (140 μM) παρασκευάζονταν, πριν από κάθε πείραμα, με διάλυση της ρίζας σε ξηρή μεθανόλη. Οι υπό μελέτη ουσίες διαλύθηκαν σε ξηρή μεθανόλη και παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα συγκέντρωσης 12 mM τα οποία φυλάχτηκαν σε θερμοκρασία δωματίου. Οι τελικές συγκεντρώσεις των ενώσεων που μελετήθηκαν κυμαίνονταν από 60-300 μM, ενώ το DPPH είχε σταθερή συγκέντρωση 136.5 μM. Τα δείγματα επωάζονταν στους 25 °C για 4 λεπτά και η αντίδραση άρχιζε με την προσθήκη του DPPH·. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν τρεις φορές για κάθε ουσία. Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος που ακολούθησαν ο Espin^[245] και οι συνεργάτες του για τη μελέτη της ικανότητας αναστολής ελευθέρων ριζών (RSC, radical scavenger capacity) φαινολικών ενώσεων με κινητική ανάλυση. Οι σταθερές δευτέρας τάξης υπολογίστηκαν με σκοπό τον προσδιορισμό του RSC του αντιοξειδωτικού.

Στα πειράματα αυτά, η εξαφάνιση του DPPH από το διάλυμα ακολουθεί κινητική ψευδοπρώτης τάξης, στις συνθήκες της αντίδρασης του [DPPH·]₀ με το [AH]₀, όπου το ένα από τα δύο αντιδρώντα είναι σε μεγάλη περίσσεια συγκριτικά με το άλλο ([DPPH·]₀ << [AH]₀), έτσι ώστε η συγκέντρωση του δευτερεύοντος συστατικού να μειώνεται εκθετικά. Η συγκέντρωση της ρίζας σε χρόνο t είναι ίση με [DPPH·], ενώ σε χρόνο μηδέν είναι ίση με [DPPH·]₀ και η σταθερά ψευδοπρώτης τάξης ίση με k_{obsd} (Εξίσωση 2.1, 2.2).

$$[\text{DPPH}\cdot] = [\text{DPPH}\cdot]_0 \cdot e^{-K_{\text{obsd}} \cdot t} \quad \text{Εξ. 2.1}$$

$$\ln[\text{DPPH}\cdot] = \ln[\text{DPPH}\cdot]_0 - K_{\text{obsd}} \cdot t \quad \text{Εξ. 2.2}$$

Η κινητική σταθερά ψευδοπρώτης τάξης k_{obsd} υπολογίστηκε από την κλίση της γραφικής παράστασης της [DPPH·] συναρτήσεως του χρόνου, σε 6 διαφορετικές συγκεντρώσεις για

κάθε αντιοξειδωτικό. Η κινητική αυτή σταθερά βρέθηκε να αυξάνεται γραμμικά με τη συγκέντρωση του αντιοξειδωτικού [AH] (Εξίσωση 2.3).

$$-\frac{d[\text{DPPH}]}{dt} = k_{\text{obsd}} \cdot [\text{DPPH}\cdot] = k_2[(\text{AH})_n] \cdot [\text{DPPH}\cdot] \quad \text{Εξ. 2.3}$$

Από την κλίση της ευθείας k_{obsd} συναρτήσει της [AH] υπολογίζεται η σταθερά δευτέρας τάξης (k_2), η οποία είναι ανάλογη της ικανότητας αναστολής των ελευθέρων ριζών κάθε ένωσης. Τα αποτελέσματα των πειραματικών ρυθμών παρουσιάζονται σαν μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση.

Έλενα Μαλιτζού

2.6 Στατιστική Ανάλυση Δεδομένων

Αφού προσδιοριστούν οι πειραματικές τιμές μιας μέτρησης υπολογίζουμε πάντα την αξιοπιστία των τιμών αυτών. Σε κάθε χημική ανάλυση τα αποτελέσματα παρουσιάζουν κάποια αβεβαιότητα. Ο υπολογισμός του μεγέθους της αβεβαιότητας αν και δύσκολος είναι απαραίτητος για να έχουν αξία τα αποτελέσματα.

Τα συνήθη στατιστικά μεγέθη που υπολογίζουμε είναι:

- 1) Τιμή μέγιστης συχνότητας: η τιμή που παρατηρείται πιο συχνά από τις άλλες
- 2) Μέση τιμή (\bar{x}): το άθροισμα όλων των τιμών δια το πλήθος τους

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{N} \quad \text{Εξ. 2.4}$$

Όπου N = πλήθος τιμών

- 3) Απόκλιση: η απόκλιση μιας τιμής από τη μέση τιμή

$$|x_i - \bar{x}| \quad \text{Εξ. 2.5}$$

- 4) Μέση απόκλιση (α): το άθροισμα των αποκλίσεων από τη μέση τιμή δια το πλήθος των αποκλίσεων

$$\alpha = \frac{\sum |x_i - \bar{x}|}{N} \quad \text{Εξ. 2.6}$$

- 5) Τυπική απόκλιση (S_x): η τετραγωνική ρίζα του αθροίσματος των τετραγώνων των αποκλίσεων δια του πλήθους των πειραματικών τιμών πλην μίας.

$$S_x = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{N - 1}} \quad \text{Εξ. 2.7}$$

Η τυπική απόκλιση εκφράζει την ακρίβεια του πειραματικού αποτελέσματος. Όσο μεγαλύτερη η τιμή της τυπικής απόκλισης τόσο λιγότερη η ακρίβεια της μέτρησης. Από την τυπική απόκλιση και χρησιμοποιώντας την κατανομή +/- βρίσκουμε την ακρίβεια ενός αποτελέσματος σαν σταθερό λάθος σε διαφορετικά όρια εμπιστοσύνης:

$$\pm = t_\alpha \cdot S_x \quad \text{Εξ. 2.8}$$

Όπου t είναι το Student-t για δεδομένο όριο εμπιστοσύνης α και αριθμό μετρήσεων N . Ο παρακάτω πίνακας δίνει τις τιμές της κατανομής t του Student:

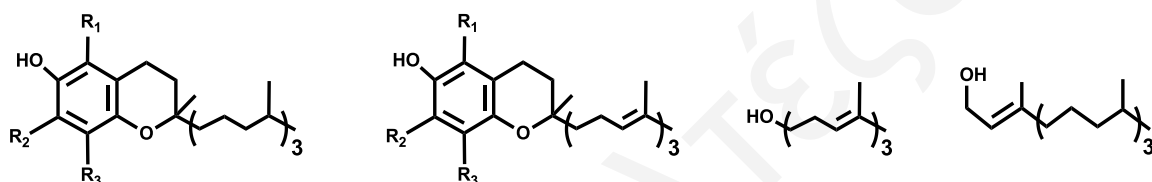
Πίνακας 2.1. Κρίσιμες τιμές της κατανομής t του Student όπου N είναι ο αριθμός των πειραματικών μετρήσεων.

N-1	$\alpha=0,50$	$\alpha=0,80$	$\alpha=0,90$	$\alpha=0,95$	$\alpha=0,98$	$\alpha=0,99$	$\alpha=0,999$
1	1,00	3,08	6,31	12,7	31,8	63,7	637
2	0,816	1,89	2,92	4,30	6,96	9,92	31,6
3	0,765	1,64	2,35	3,18	4,54	5,84	12,9
4	0,741	1,53	2,13	2,78	3,75	4,60	8,61
5	0,727	1,48	2,01	2,57	3,36	4,03	6,86
6	0,718	1,44	1,94	2,45	3,14	3,71	5,96
7	0,711	1,42	1,89	2,36	3,00	3,50	5,40
8	0,706	1,40	1,86	2,31	2,90	3,36	5,04
9	0,703	1,38	1,83	2,26	2,82	3,25	4,78
10	0,700	1,37	1,81	2,23	2,76	3,17	4,59
15	0,691	1,34	1,75	2,13	2,60	2,95	4,07
20	0,687	1,32	1,72	2,09	2,53	2,85	3,85
30	0,683	1,31	1,70	2,04	2,46	2,75	3,65
∞	0,674	1,28	1,64	1,96	2,33	2,58	3,29

3. Αποτελέσματα και συζήτηση

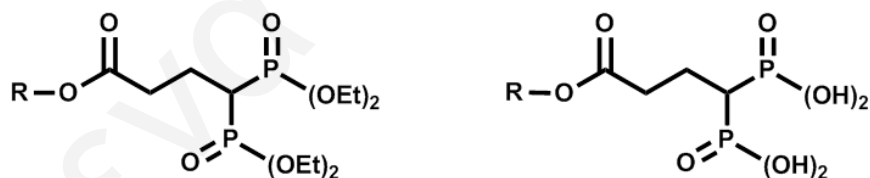
3.1 Σύνθεση νέων μεικτών διφωσφονικών ενώσεων [6α-6στ], [7α-7στ] με τα συστατικά της Βιταμίνης Ε, τη φαρνεσόλη και τη φυτόλη

Τα συστατικά της Βιταμίνης Ε (α-, γ-, δ-τοκοφερόλη, γ-τοκοτριενόλη), η φαρνεσόλη και η φυτόλη χρησιμοποιήθηκαν στη σύνθεση των νέων μεικτών ενώσεων. (Σχήμα 3.1). Η βιταμίνη Ε είναι γνωστή για την ισχυρή αντιοξειδωτική της δράση, ενώ η φαρνεσόλη και φυτόλη μοιάζουν δομικά με την τοκοτριενόλη και τοκοφερόλη αντίστοιχα χωρίς όμως το αρωματικό κομμάτι.



Σχήμα 3.1. Δομή των συστατικών της Βιταμίνης Ε, της φαρνεσόλης και της φυτόλης.

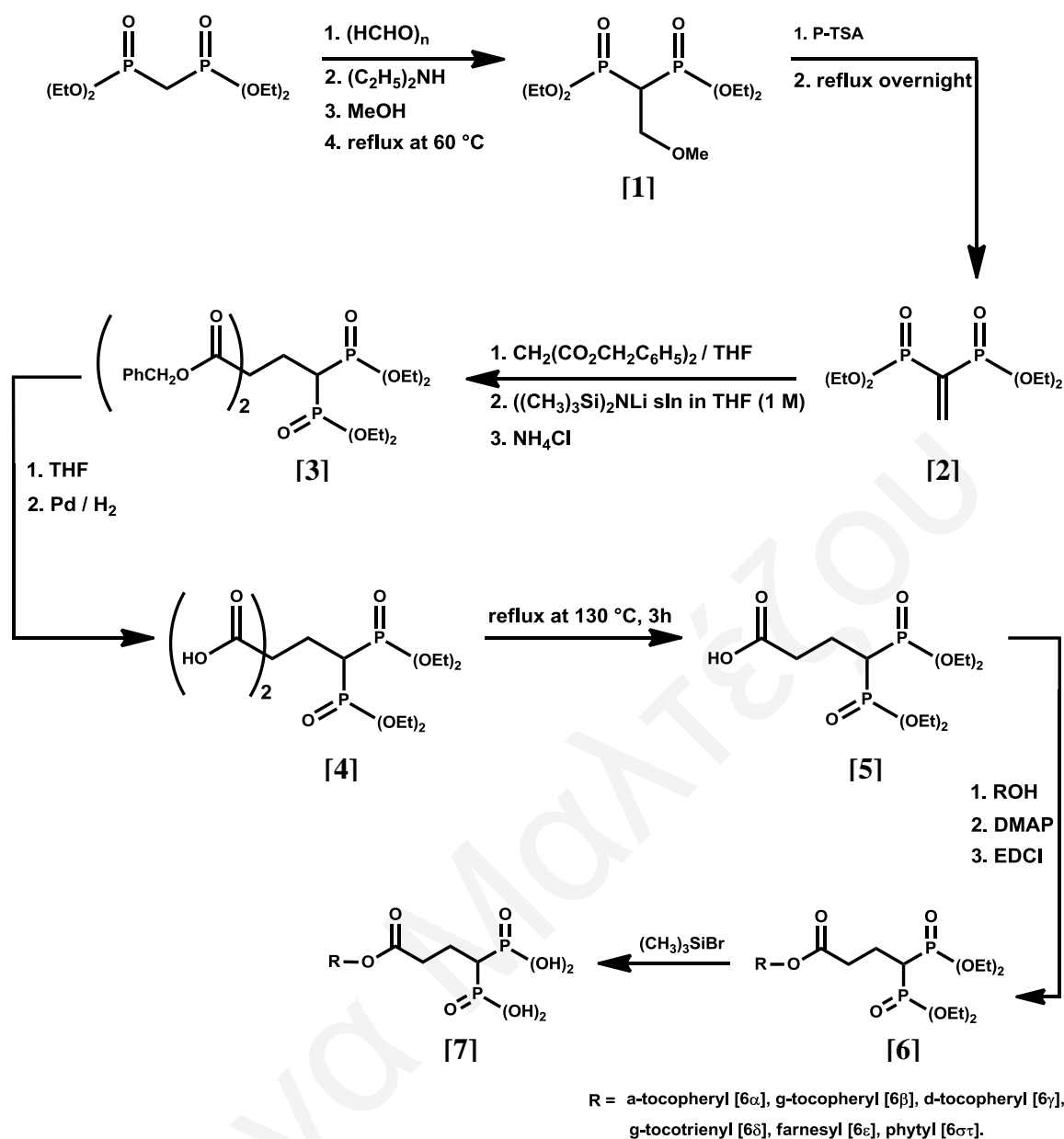
Συνολικά συντέθηκαν δώδεκα νέες μεικτές διφωσφονικές ενώσεις, έξι αιθυλικές εστέρες και τα αντίστοιχα οξέα τους. (Σχήμα 3.2).



[6α]	α-toc-bppOEt	R=α-toc	[7α]	α-toc-bppOH	R=α-toc
[6β]	γ-toc-bppOEt	R=γ-toc	[7β]	γ-toc-bppOH	R=γ-toc
[6γ]	δ-toc-bppOEt	R=δ-toc	[7γ]	δ-toc-bppOH	R=δ-toc
[6δ]	γ-tot-bppOEt	R=γ-tot	[7δ]	γ-tot-bppOH	R=γ-tot
[6ε]	farn-bppOEt	R=farn	[7ε]	farn-bppOH	R=farn
[6στ]	phyt-bppOEt	R=phyt	[7στ]	phyt-bppOH	R=phyt

Σχήμα 3.2. Δομές νέων μεικτών διφωσφονικών ενώσεων με τα συστατικά της Βιταμίνης Ε, τη φαρνεσόλη και τη φυτόλη.

Η γενική πορεία σύνθεσης των διφωσφονικών ενώσεων που απομονώθηκαν παρουσιάζεται στο πιο κάτω σχήμα.

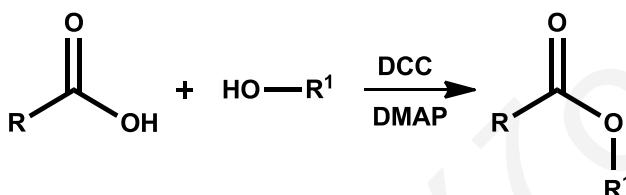


Σχήμα 3.3. Συνθετική πορεία των ενώσεων [1]–[7].

Όπως φαίνεται και στην πιο πάνω πορεία σύνθεσης, το τετρα αίθυλο μεθυλένο διφωσφονικό αντίδρασε με παραφορμαλδεύδη παρουσία μιας βάσης όπως είναι η τριαιθυλαμίνη για να δώσει το αντίστοιχο μεθόξυ μεθυλένο παράγωγο **[1]**. Στη συνέχεια, απώλεια μεθανόλης οδήγησε στο σχηματισμό της μεθυλιδένο ένωσης **[2]**. Προσθήκη διβένζυλο μαλονικού αιθέρα στην ένωση **[2]** παρουσία μιας μη-πυρηνόφιλης βάσης, έδωσε το προϊόν **[3]**. Η αντίδραση αυτή είναι του ίδιου τύπου όπως η προσθήκη Michael. Ακολούθησε υδρογόνωση και έπειτα αποκαρβοξυλίωση (με θέρμανση) η οποία οδήγησε στο σχηματισμό του προϊόντος **[5]**. Τέλος με χρήση του ενεργοποιητή 1-αιθυλο-3-(3-διμεθυλαμινοπροπυλ) καρβοδιιμίδιου (EDCI), παρουσία βάσης επιτεύχθηκε ο

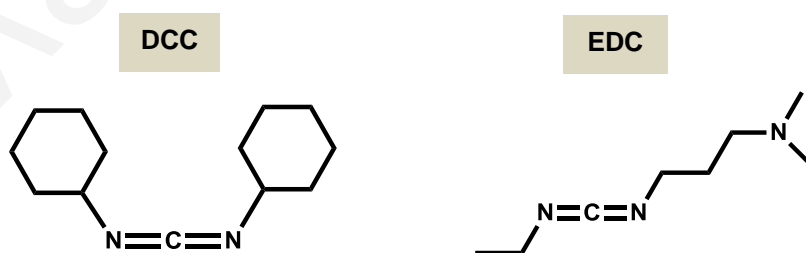
σχηματισμός του επιθυμητού εστέρα [6a]. Οι εστερικές ομάδες του φωσφονικού αφαιρέθηκαν με TMSBr, με αποτέλεσμα την απομόνωση του αντίστοιχου διφωσφονικού οξέος [7a].

Η αντίδραση σύνθεσης των τελικών εστέρων είναι γνωστή ως **εστεροποίηση Steglich** και πραγματοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Wolfgang Steglich το 1978.^[36] Στην εστεροποίηση αυτή χρησιμοποιείται το δικυκλοεξυλκαρβοδιμίδιο (DCC) ως αντιδραστήριο σύζευξης και η 4-διμεθυλαμινοπυριδίνη ως καταλύτης (Σχήμα 3.4).



Σχήμα 3.4. Αντίδραση Steglich.

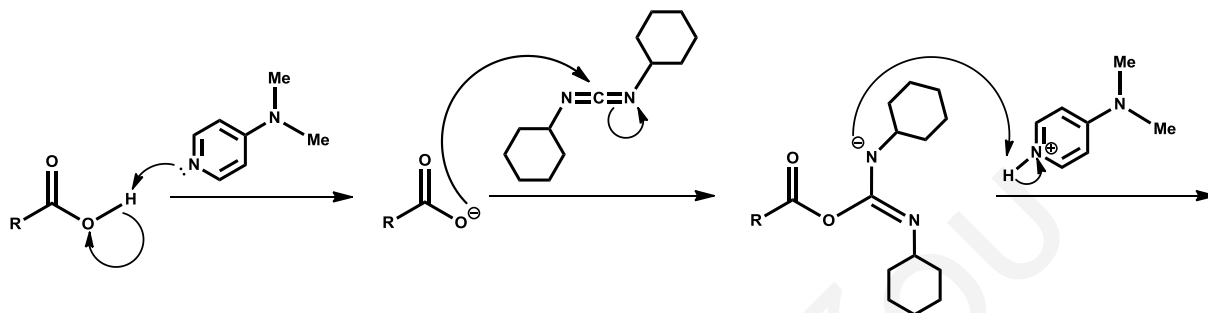
Η αντίδραση πραγματοποιείται συνήθως σε θερμοκρασία δωματίου. Ο πιο συνηθισμένος διαλύτης που χρησιμοποιείται είναι το διχλωρομεθάνιο, ενώ χαρακτηριστική είναι η παραγωγή παραπροϊόντος, δηλ της δικυκλοεξυλουρίας (DCU). Ένα παρόμοιο αντιδραστήριο σύζευξης με το DCC είναι και το EDCI το οποίο και χρησιμοποιήθηκε στη σύνθεση των διφωσφονικών εστέρων στην παρούσα εργασία. Ο ενεργοποιητής αυτός παρουσιάζει παρόμοια δράση με το DCC, είναι υδατοδιαλυτό καρβοδιμίδιο και χρησιμοποιείται σε pH 4-6 (Σχήμα 3.5).



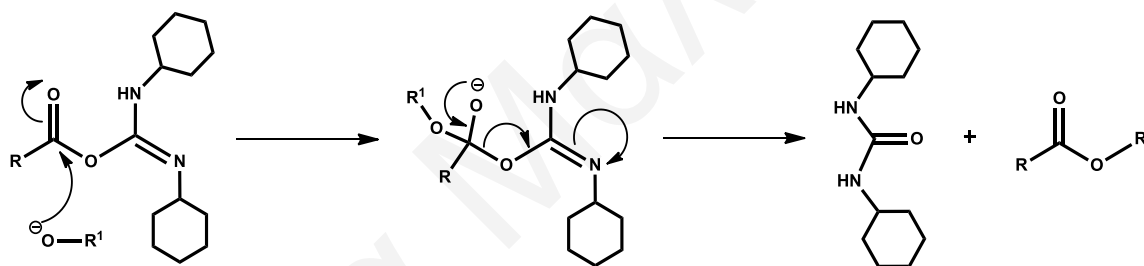
Σχήμα 3.5. Δομή των ενεργοποιητών DCC και EDC αντίστοιχα.

3.1.1 Μηχανισμός αντίδρασης Steglich

- Το καρβοξυλικό οξύ ενεργοποιείται από αντίδραση με το DMAP και στη συνέχεια αντιδρά με το DCC για να σχηματίσει ένα ενδιάμεσο το οποίο είναι δραστικότερο από το ελεύθερο οξύ.



- Η αλκοόλη αντιδρά με το ενδιάμεσο αυτό και σχηματίζει την DCU και τον αντίστοιχο εστέρα.

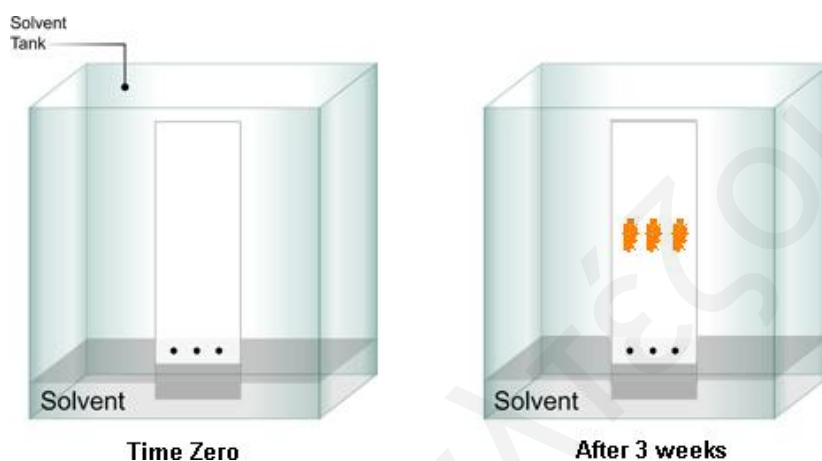


3.1.2 Σταθερότητα νέων μεικτών Δ.Φ. ενώσεων

Όλες οι ενώσεις που έχουν αναφερθεί ([1]-[7]) είναι σταθερές σε στερεά κατάσταση και σε οργανικούς διαλύτες για αρκετούς μήνες. Επιπλέον, η μελέτη της σταθερότητας των ενώσεων σε βιολογικά μέσα καλλιέργειας, όπως είναι το DMEM (pH 7.2-7.4), έδειξε ότι τόσο τα αρχικά μόρια όσο και οι εστέρες τους ήταν σταθερά για περισσότερο από ένα μήνα, όπως έχει αποδειχθεί από το TLC και τη φασματοσκοπία $^1\text{H-NMR}$.

3.1.2.1 Γενική Μεθοδολογία

Σε φιαλίδιο ζυγίζεται 1 mg του προϊόντος στο οποίο προστίθενται 10 μL αιθανόλης (96 Vol.%). Ακολούθως στο διάλυμα αυτό προστίθενται 10 ml complete DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) ούτως ώστε η συγκέντρωση της αιθανόλης στο τελικό διάλυμα να είναι 0.1% (v/v). Το διάλυμα που παρασκευάζεται φυλάγεται στο ψυγείο και λαμβάνεται δείγμα κάθε εβδομάδα για TLC και για φασματοσκοπία $^1\text{H-NMR}$ (Σχήμα 3.6).

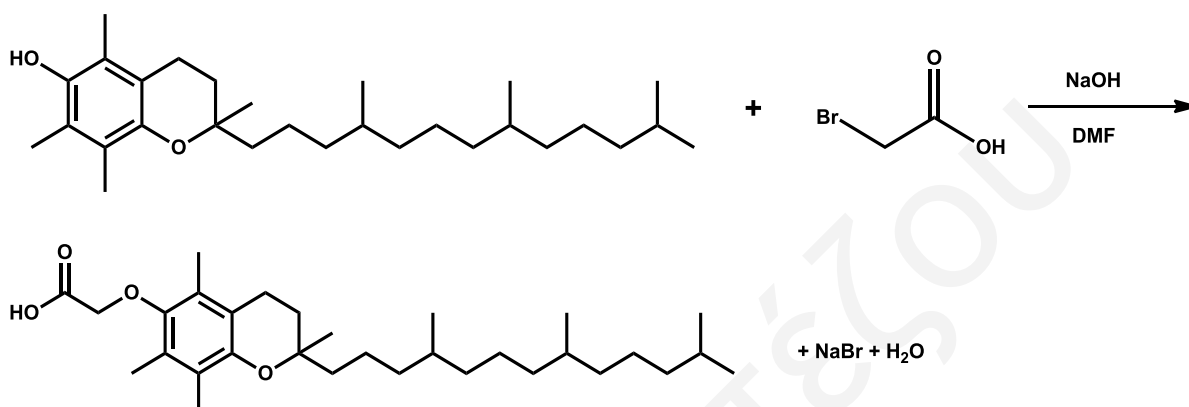


Σχήμα 3.6. Μελέτη σταθερότητας των προϊόντων με TLC για περίοδο τριών εβδομάδων.

3.2 Σύνθεση νέας μεικτής διφωσφονικής ένωσης με τη γ -τοκοφερόλη [11]

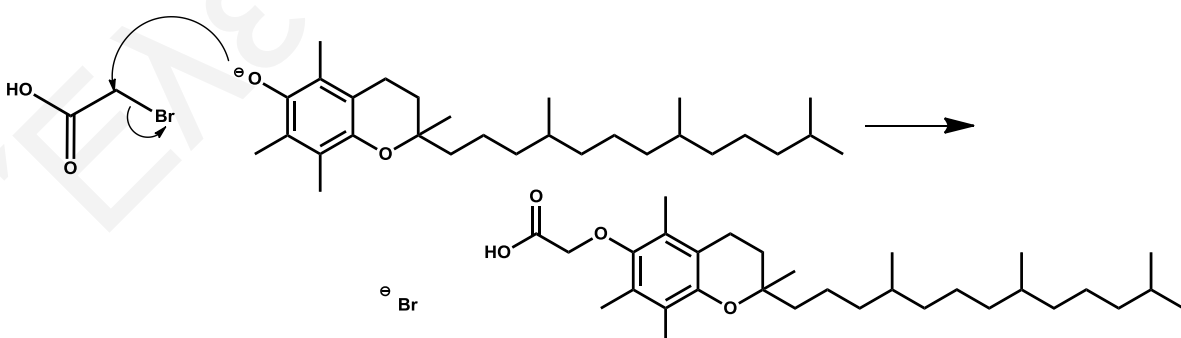
3.2.1 Σύνθεση καρβοξυλικών παραγώγων [8-10] της βιταμίνης E

Παρασκευάστηκαν καρβοξυλικές ενώσεις της τοκοφερόλης με την μεθοδολογία του σχήματος 3.7. ^[132]



Σχήμα 3.7. Σύνθεση της α -TEA [8] (α -tocopherol ether linked acetic acid analog).

Το δ^+ μερικό φορτίο στον άνθρακα που συνδέεται με το βρώμιο στο βρωμοξικό οξύ αποτελεί το ηλεκτρονιόφιλο κέντρο. Το υδροξείδιο νατρίου καθιστά την τοκοφερόλη ισχυρότερο πυρηνόφιλο, αποπρωτονιώνοντας το υδροξύλιο της, με αποτέλεσμα να λαμβάνει χώρα μια S_N2 πυρηνόφιλη υποκατάσταση (σύνθεση Williamson) και σχηματισμός του άρυλο αιθέρα. Ο μηχανισμός απεικονίζεται στο σχήμα 3.8.

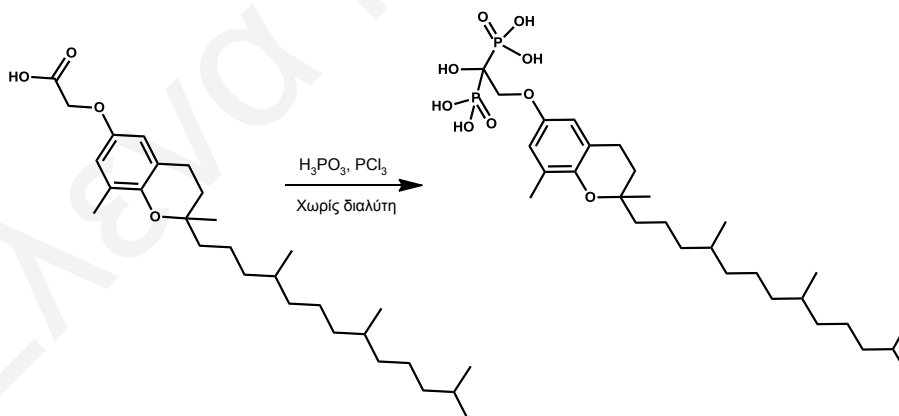


Σχήμα 3.8. Μηχανισμός σχηματισμού του άρυλο αιθερικού παραγώγου τοκοφερόλης.

3.2.2 Σύνθεση συζευγμένου παραγώγου της βιταμίνης E με διφωσφονικά [11]

Έγιναν προσπάθειες για τη σύνθεση παραγώγων της βιταμίνης E με διφωσφονικά με τους εξής τρόπους:

A) Η αντίδραση γίνεται σε ένα μόνο στάδιο (Σχήμα 3.9) αλλά ο μηχανισμός αποτελείται από δύο βασικά μηχανιστικά στάδια: την αφυδάτωση του οξέος της τοκοφερόλης και τη δημιουργία δεσμού C-P. Το PCl_3 έχοντας αφυδατικό χαρακτήρα θα διώξει την υδροξυλομάδα του οξέος της τοκοφερόλης δημιουργώντας μια αποχωρούσα ομάδα. Το πρώτο στάδιο μοιάζει με τα αρχικά στάδια του μηχανισμού της αντίδρασης Vilsmeier-Haack. ^[146, 147] Στο δεύτερο στάδιο, το H_3PO_3 , λόγω των αναγωγικών ιδιοτήτων του φωσφόρου, μετατρέπει το χλωρίδιο που έχει σχηματιστεί σε διφωσφονικό παράγωγο. Το πρώτο βήμα αυτού του σταδίου μοιάζει με το πρώτο βήμα της αντίδρασης Michaelis-Arbuzov. ^[148, 150] Ο μηχανισμός φαίνεται στο σχήμα 3.10. Αξίζει να σημειωθεί ότι μόνο το συζευγμένο προϊόν της δ-τοκοφερόλης έχει παραχθεί. Το συζευγμένο προϊόν της α-τοκοφερόλης δεν απομονώθηκε παρά τις επανειλημμένες προσπάθειες. Το γεγονός αυτό αποδόθηκε στην στερεοχημική παρεμπόδιση που δημιουργούν οι τρεις μεθυλομάδες στο μόριο της α-τοκοφερόλης.

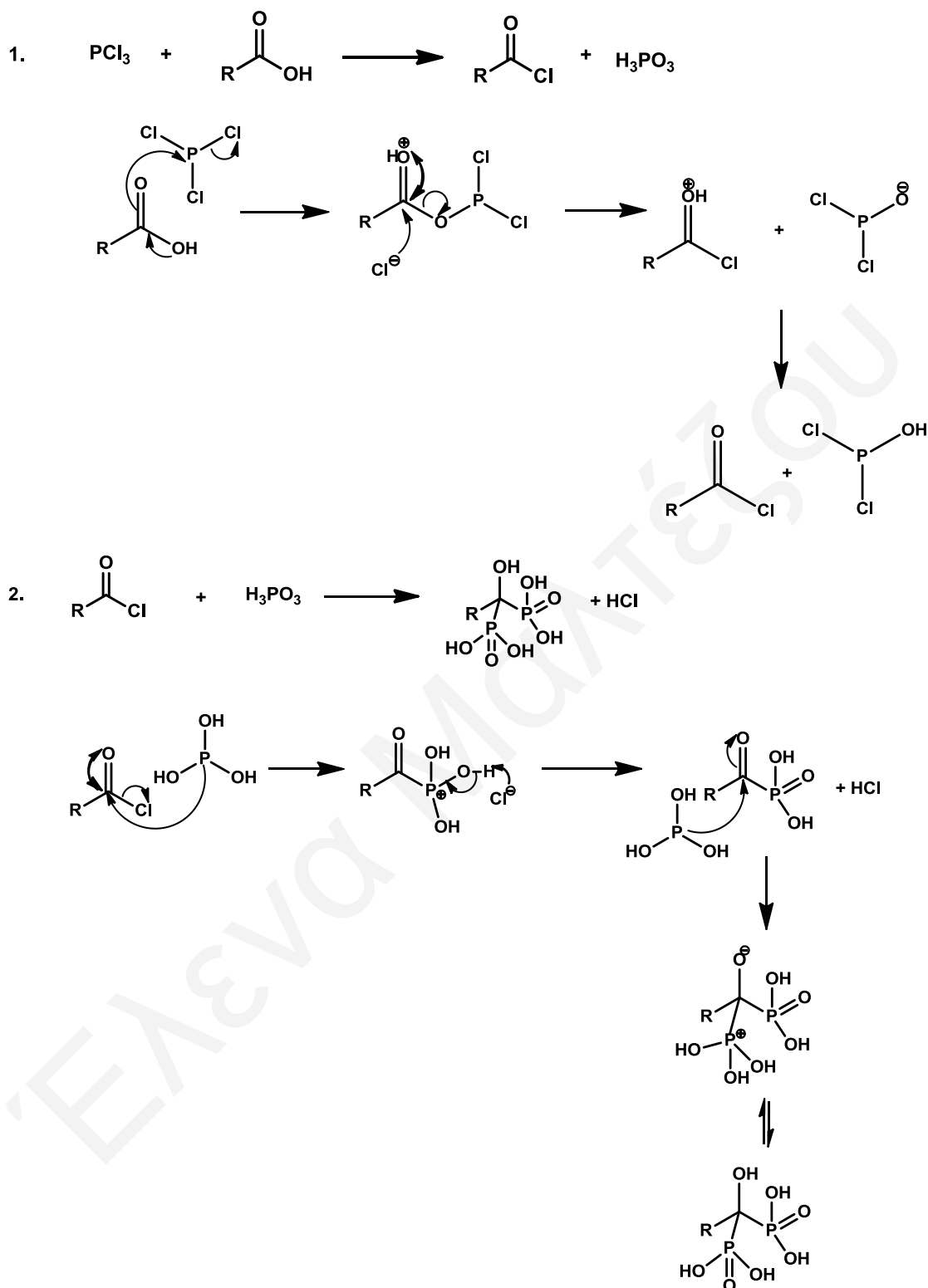


Σχήμα 3.9. Σύνθεση του συζευγμένου προϊόντος δ-τοκοφερόλης με διφωσφονικά [11] με τη μεθοδολογία A.

B) Προτού επιτευχθεί η σύνθεση των διφωσφονικών παραγώγων της δ-τοκοφερόλης με την πιο πάνω μεθοδολογία έγινε προσπάθεια σύνθεσης των παραγώγων αυτών με α-τοκοφερόλη με μία άλλη μεθοδολογία δύο σταδίων (Σχήμα 3.11). ^[151, 152] Στο πρώτο στάδιο σχηματίζεται το χλωροπαράγωγο του οξέος της τοκοφερόλης ενώ το δεύτερο

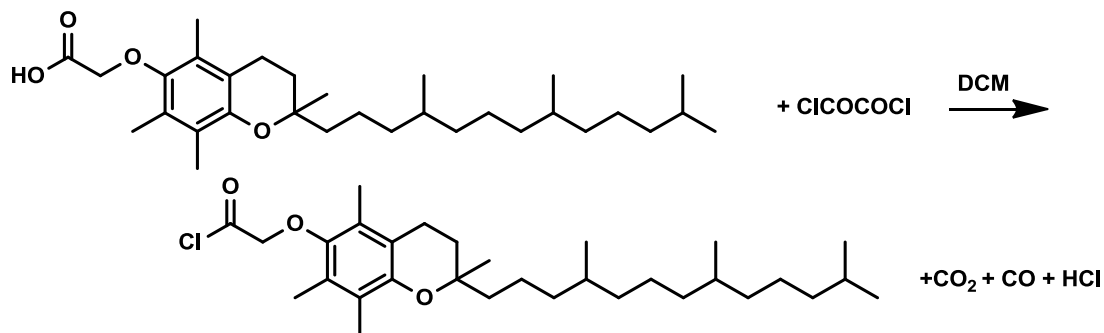
στάδιο δίνει τη διφωσφονική ένωση. Με την μεθοδολογία αυτή δεν έγινε κατορθωτή η σύνθεση του προϊόντος και αυτό επιβεβαιώνει τη στερική παρεμπόδιση που παρουσιάζει η α-τοκοφερόλη. Ο προτεινόμενος μηχανισμός απεικονίζεται στο σχήμα 3.12.

Έλενα Μαλιτζέζου

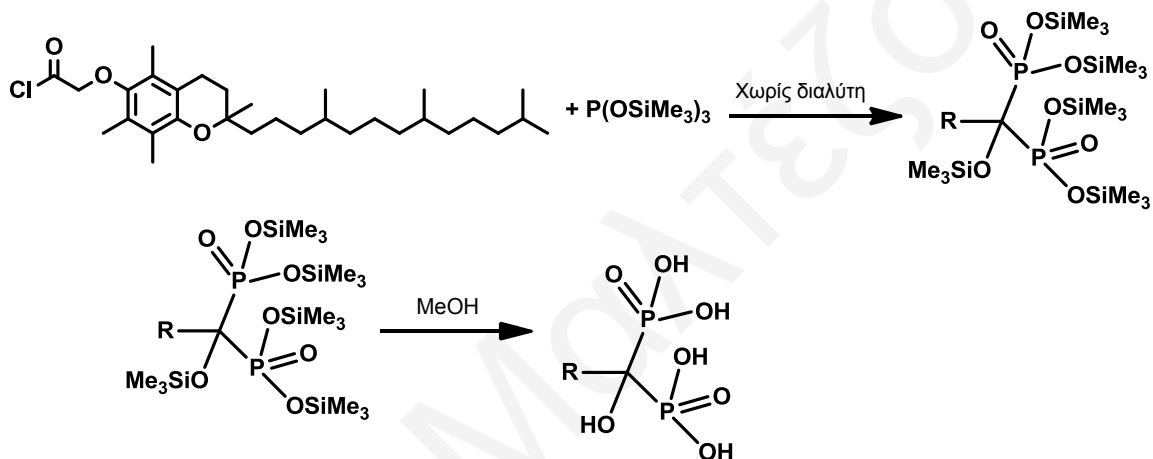


Σχήμα 3.10. Προτεινόμενος μηχανισμός για το σχηματισμό του συζευγμένου προϊόντος τοκοφερόλης με διφωσφονικά.

1.



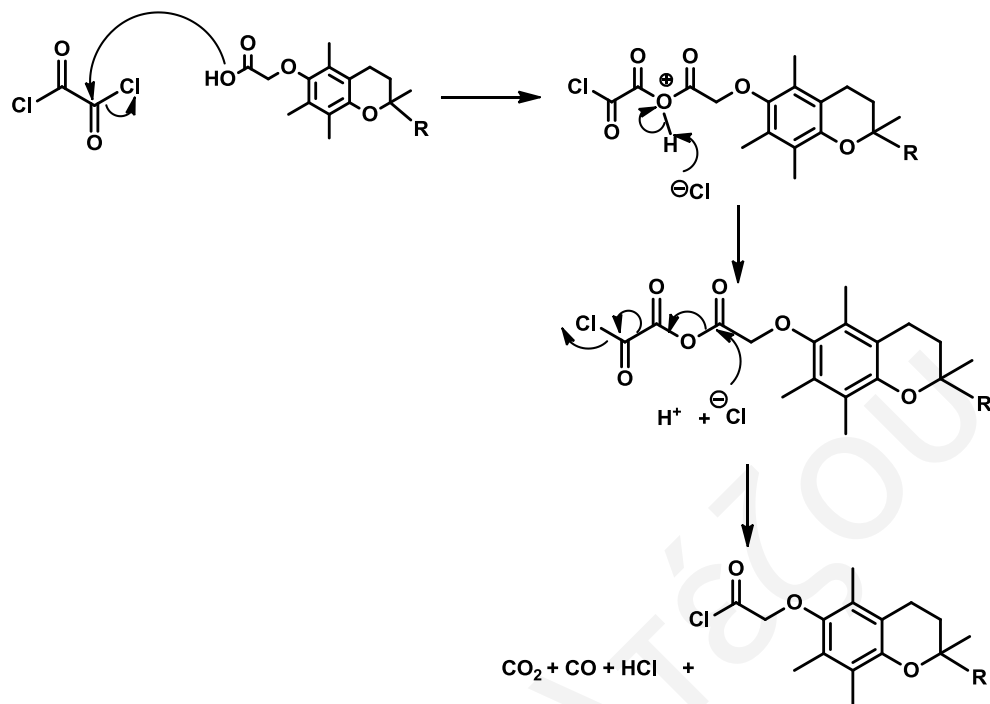
2.



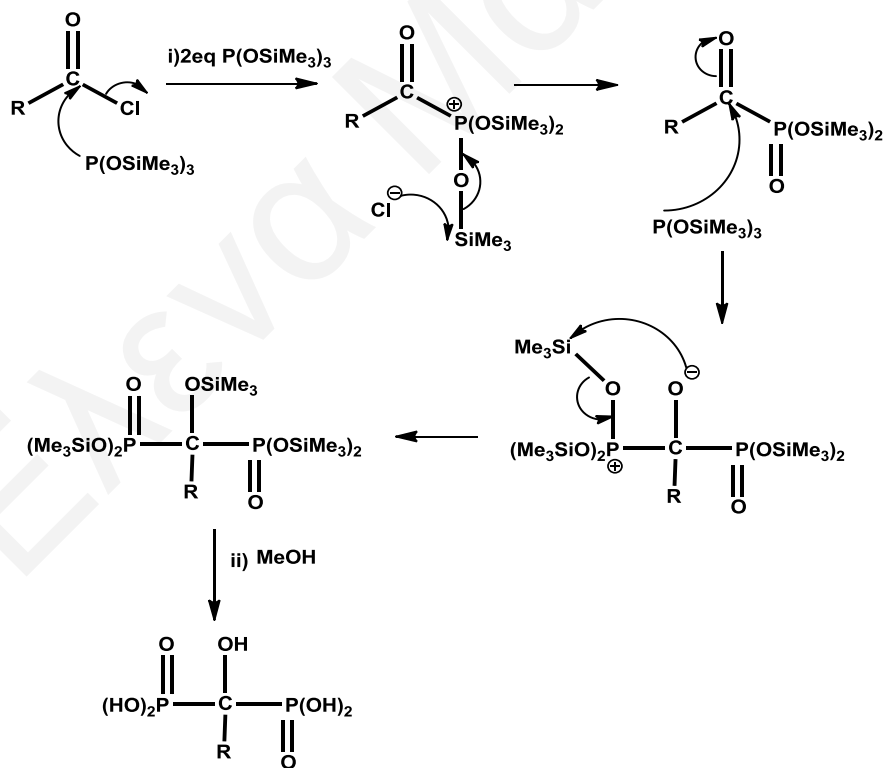
Σχήμα 3.11. Σύνθεση του συζευγμένου προϊόντος α -τοκοφερόλης με διφωσφονικά με τη μεθοδολογία Β.

Στο δεύτερο στάδιο του μηχανισμού της μεθοδολογίας Β η αντίδραση στηρίζεται στο μηχανισμό της αντίδρασης Arbuzov^[148-150] μαζί με μια δεύτερη προσθήκη $\text{P}(\text{OSiMe}_3)_3$.

1.

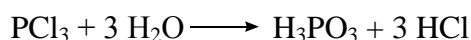
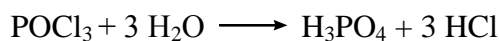


2.



Σχήμα 3.12. Μηχανισμός μεθοδολογίας Β για το σχηματισμό του συζευγμένου προϊόντος α-τοκοφερόλης με διφωσφονικά.

Γ) Δοκιμάστηκαν ακόμα δύο μεθοδολογίες ^[133, 153, 154] για τη σύνθεση των παραγώγων της τοκοφερόλης (τόσο της α- τοκοφερόλης όσο και της δ- τοκοφερόλης) προτού επιλεγθεί η μεθοδολογία Α ως η πιο κατάλληλη. Οι μεθοδολογίες αυτές διαφέρουν από τη μεθοδολογία Α στο γεγονός ότι χρησιμοποιούνται διαλύτες όπως τολουόλιο ή βενζοσουλφονικό οξύ. Διαπιστώθηκε πως απουσία διαλύτη η αντίδραση δεν πραγματοποιήθηκε είτε γιατί σχηματίστηκαν άλλα προϊόντα και όχι το επιθυμητό, είτε γιατί ανακτήθηκαν τα αντιδρώντα. Στη μία μεθοδολογία ^[38] χρησιμοποιήθηκε POCl₃ αντί του PCl₃. Αυτό δεν έχει καμία επίδραση αφού και τα δύο μόρια μπορούν να έχουν τον ίδιο ρόλο κατά τη διάρκεια της αντίδρασης. Επίσης στη συγκεκριμένη μεθοδολογία δε χρησιμοποιούνται άνυδρες συνθήκες αφού προστίθεται περίσσεια POCl₃ και H₃PO₃. Όταν το POCl₃ ή PCl₃ αντιδράσουν με υγρασία τότε δίνουν H₃PO₄ ή H₃PO₃ αντίστοιχα σύμφωνα με τις αντιδράσεις:

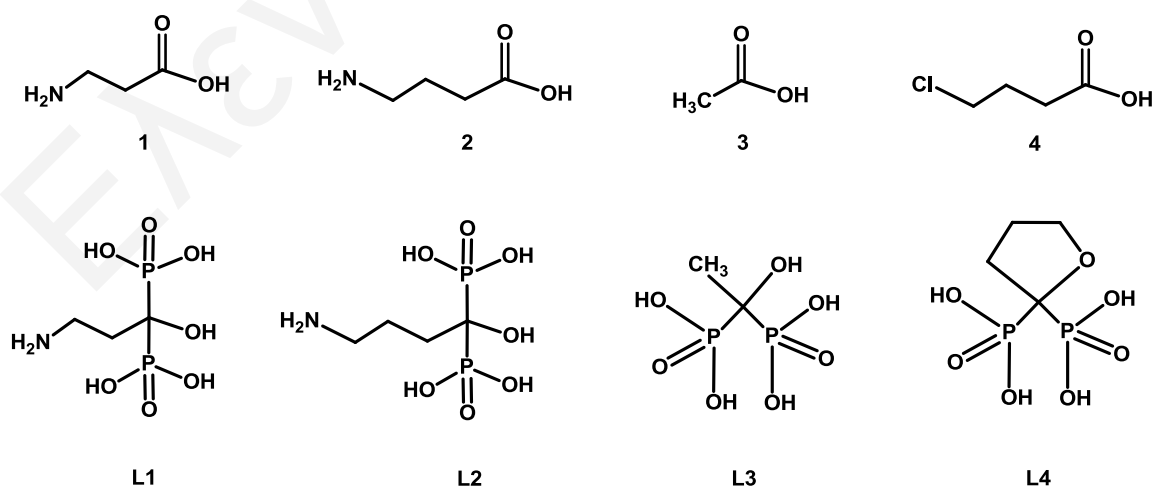


Η πιο πάνω αντίδραση υδρόλυσης αποτέλεσε ένα από τα κύρια προβλήματα της συνθετικής πορείας αφού το παραμικρό ίχνος υγρασίας ακύρωνε την αντίδραση, αν λάβουμε υπόψη ότι οι ποσότητες με τις οποίες δουλεύαμε ήταν πολύ μικρές.

Ένα άλλο πρόβλημα ήταν η διαλυτότητα του νέου προϊόντος. Τα μόρια της τοκοφερόλης συζευγμένης με διφωσφονικά είναι τασιενεργά (surfactants) αφού αποτελούνται από μία υδρόφιλη κεφαλή και μια υδρόφοβη ουρά και έχουν την τάση να σχηματίζουν γαλακτώματα. Δημιουργούν συσσωματώματα (όπως μκκήλια) ή συγκεντρώνονται στην διεπιφάνεια υδατικής-οργανικής φάσης καθιστώντας την απομόνωσή τους δύσκολη. Επιπρόσθετα το προϊόν περιείχε ποσοστό από το αρχικό καρβοξυλικό οξύ σύμφωνα με το φάσμα ¹H-NMR που καταγράφηκε. Η διαλυτότητα αντιδρώντος (καρβοξυλικού οξέος) και προϊόντος (διφωσφονικού οξέος) είναι παρόμοια κάνοντας το διαχωρισμό τους δύσκολο.

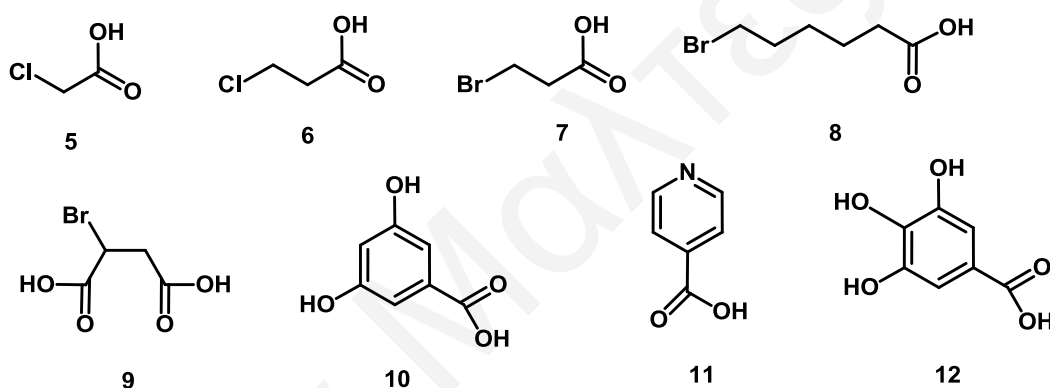
3.3 Σύνθεση διφωσφονικών υποκαταστατών και συμπλοκοποίηση τους με Ca, Cs και Eu**(III)****3.3.1 Γενική μεθοδολογία σύνθεσης ΔΦ υποκαταστατών**

Τα καρβοξυλικά οξέα που χρησιμοποιήθηκαν για τη σύνθεση των αντίστοιχων διφωσφονικών υποκαταστατών παρουσιάζονται στο Σχήμα 3.13. Οι ενώσεις αυτές παρασκευάστηκαν με τροποποίηση παλαιότερης μεθόδου.^[133] Μείγμα κατάλληλου αλειφατικού οξέος, φωσφορώδους οξέος και διαλύτη θερμάνθηκαν στους 65 °C κάτω από ατμόσφαιρα αζώτου. Απαραίτητη ποσότητα τριχλωριούχου φωσφόρου προστέθηκε στάγδην μέσα σε χρονική διάρκεια 2h. Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε είτε παρουσία διαλύτη (μεθανοσουλφονικό οξύ, χλωροβενζόλιο, σουλφολάνιο, *p*-κρεζόλη) είτε και απουσία του. Παρατηρήθηκε παραγωγή υδροχλωρίου καθώς συνεχίστηκε η θέρμανση του μείγματος για 20h (MsOH), 3h (χλωροβενζόλιο),^[155] 3h (σουλφολάνιο),^[156] 4h (*p*-κρεζόλη)^[157] ή για 4h (μέθοδος χωρίς διαλύτη)^[158] κάτω από αδρανείς συνθήκες. Αργή ψύξη του μείγματος και επαναφορά του σε θερμοκρασία δωματίου και ακολούθως προσθήκη παγωμένου νερού οδήγησε σε απόσβεση της αντίδρασης. Υδρόλυση (10-12 h) του μείγματος και ρύθμιση του pH με υδατικό διάλυμα NaOH (50%) οδήγησε στο σχηματισμό των αντίστοιχων ακατέργαστων προϊόντων. Το ίζημα ξεπλύθηκε με παγωμένο νερό και αιθυλική αλκοόλη και ακολούθησε ανακρυστάλλωση του προϊόντος σε νερό.



Σχήμα 3.13. Δομές αρχικών καρβοξυλικών οξέων και των αντίστοιχων διφωσφονικών υποκαταστατών που συντέθηκαν.

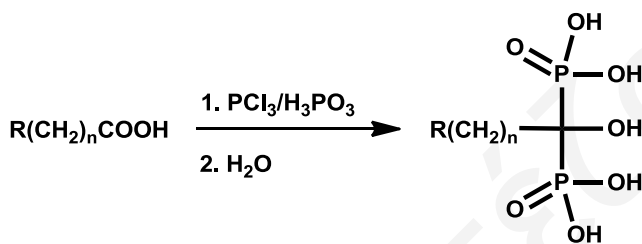
Εκτός από τα καρβοξυλικά οξέα που αναφέρθηκαν πιο πάνω χρησιμοποιήθηκε και μία πληθώρα άλλων οξέων (Σχήμα 3.14) τα οποία όμως έδωσαν πολύ χαμηλή απόδοση ή και δεν αντέδρασαν καθόλου, παρά του ότι δοκιμάστηκαν αναλογίες των διαφορετικών αντιδρώντων, διαφορετικά pH και διάφοροι διαλύτες (αιθανόλη, μεθανόλη, ακετόνη, διαιθυλαιθέρας) με σκοπό την καταβύθιση του επιθυμητού προϊόντος. Από τα φάσματα $^1\text{H-NMR}$ που λήφθηκαν επιβεβαιώθηκε η αποτυχία σχηματισμού καθαρού προϊόντος αφού είτε έδειχναν ότι το αρχικό αντιδραστήριο δεν αντέδρασε καθόλου είτε ότι απομονώθηκε κάποια ποσότητα του επιθυμητού προϊόντος με περίσσεια αρχικού αντιδρώντος που δεν αντέδρασε. Στη συνέχεια έγιναν προσπάθειες απομόνωσης του προϊόντος από το μείγμα, οι οποίες όμως δεν έδωσαν σημαντική ποσότητα διφωσφονικού οξέος.



Σχήμα 3.14. Δομές καρβοξυλικών οξέων που χρησιμοποιήθηκαν στη σύνθεση αντίστοιχων διφωσφονικών οξέων.

Η γενική πορεία σύνθεσης των διφωσφονικών παρουσιάζεται στο Σχήμα 3.15. Ως διαλύτης χρησιμοποιήθηκε το μεθανοσουλφονικό οξύ, το οποίο παρόλο που έδωσε ικανοποιητικές αποδόσεις, χρειάστηκε αρκετές ανακρυσταλλώσεις για να απομακρυνθεί από το προϊόν με αποτέλεσμα να μειώνεται σημαντικά η ποσότητα του καθαρού προϊόντος. Με σκοπό να βελτιωθεί η απόδοση χρησιμοποιήθηκε χλωροβενζόλιο, το οποίο εκτός από πολύ τοξικό παρουσίασε δυσκολία στην απομάκρυνση του από το μείγμα χωρίς επίσης να αυξάνει σημαντικά την απόδοση. Το σουλφολάνιο έδωσε καλύτερες αποδόσεις αλλά παρόλα αυτά ήταν αδύνατη η πλήρης απομάκρυνσή του ενώ η χρήση *p*-κρεζόλης οδήγησε μεν σε σχηματισμό καθαρότερων προϊόντων, όπως φάνηκε στη φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού, αλλά η απόδοση ήταν χαμηλή. Τέλος η αντίδραση

πραγματοποιήθηκε χωρίς τη χρήση κάποιου διαλύτη όπου και παρατηρήθηκε πως ο ρυθμός παραγωγής του προϊόντος ήταν πολύ αργός καθώς ο σχηματισμός διφασικού μείγματος εμπόδιζε την ομαλή ανάδευση και άρα την πλήρη μετατροπή των αντιδραστηρίων σε προϊόν. Τα καρβοξυλικά οξέα που χρησιμοποιήθηκαν για περαιτέρω μελέτη ήταν το 3-αμινοπροπανικό οξύ (1), το 4-αμινοβουτυρικό οξύ (2), το οξικό οξύ (3) και το 4-χλωροβουτυρικό οξύ (4) αντίστοιχα (Σχήμα 3.13). Η χρήση του αλογονομένου οξέος απουσία διαλύτη είχε ως αποτέλεσμα την επιτυχή απομόνωση του κυκλικού φουρανυλικού δακτυλίου $\text{Na}_2\text{H}_2\text{L4}$.



Σχήμα 3.15. Γενική πορεία σύνθεσης διφωσφονικών οξέων.

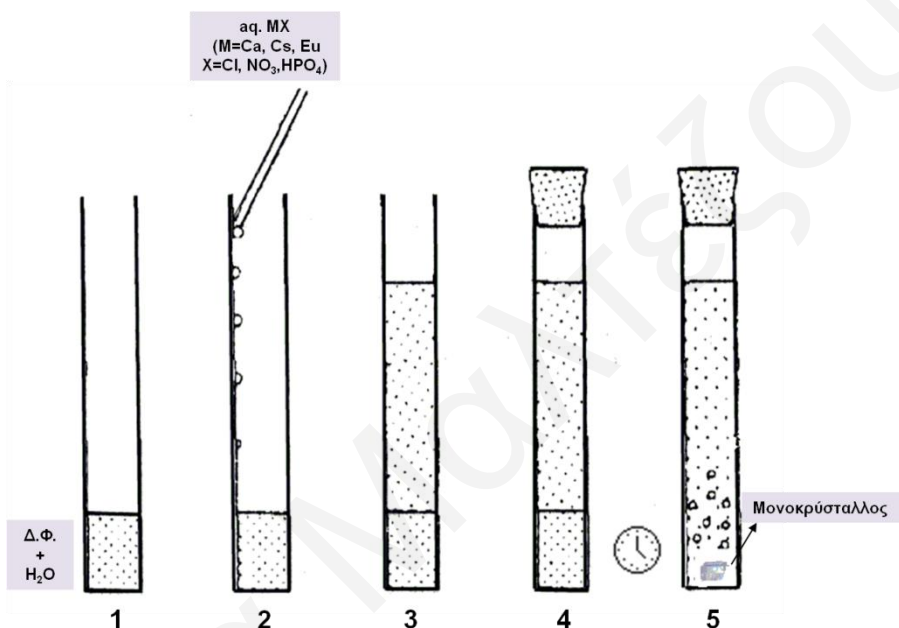
Η απόδοση της αντίδρασης χρησιμοποιώντας διαφορετικές R ομάδες φαίνεται να είναι περίπου η ίδια ή και καλύτερη από προηγούμενες βιβλιογραφικές αναφορές (Πίνακας 3.1). Στην περίπτωση της ένωσης $\text{Na}_2\text{H}_2\text{L4}$ παρατηρείται κλείσιμο του δακτυλίου λόγω του ότι το χλώριο αποτελεί μία πολύ καλή αποχωρούσα ομάδα. Στη συγκεκριμένη περίπτωση το ότι η απόδοση είναι διπλάσια από αυτήν που αναφέρει ο Kieczkowski και οι συνεργάτες του ^[101] οφείλεται στην πραγματοποίηση της αντίδρασης χωρίς τη χρήση μεθανοσουλφονικού οξέος και άρα στην αποφυγή επιμόλυνσης του προϊόντος με άλας του συγκεκριμένου διαλύτη.

Πίνακας 3.1. Σύγκριση απόδοσης προϊόντων σε σχέση με βιβλιογραφία.

Ένωση	R	n	% Απόδοση	Απόδοση Βιβλιογραφίας
$\text{NaH}_3\text{L1}$	NH_2	2	75.8	57 ^[133] , 72 ^[159]
$\text{NaH}_3\text{L2}$	NH_2	3	78.6	89 ^[133] , 56 ^[160] , 65 ^[161]
$\text{Na}_2\text{H}_2\text{L3}$	H	1	78.5	-
$\text{Na}_2\text{H}_2\text{L4}$	Cl	3	65.0	30 ^[133]

3.4 Σύνθεση συμπλοκων ενώσεων Ca, Cs και Eu (III)

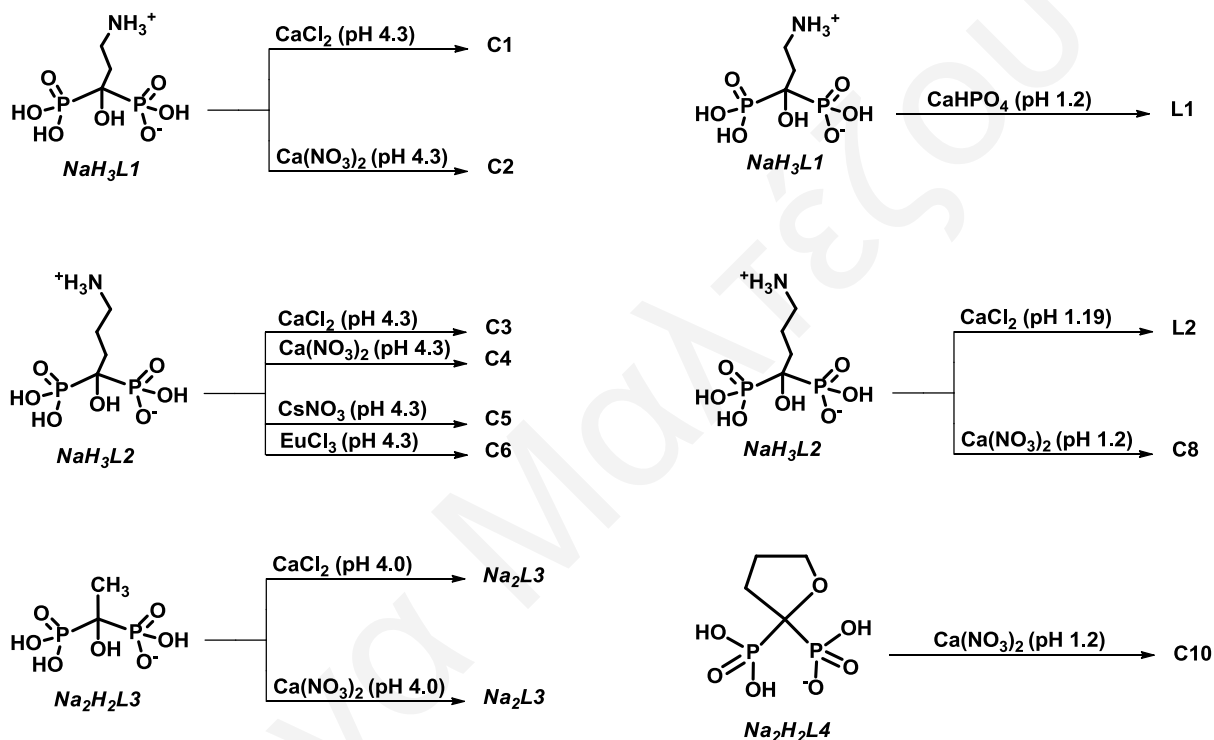
Οι αντιδράσεις συμπλοκοποίησης πραγματοποιήθηκαν εξ' ολοκλήρου σε υδατικά διαλύματα με τους υποκαταστάτες **NaL1**, **NaL2**, **Na₂L3** και **Na₂H₂L4**. Αντιπροσωπευτική στρατηγική σύνθεσης των συμπλόκων στηρίζεται αρχικά σε διαλυτοποίηση του οργανικού υποκαταστάτη με την προσθήκη του ανάλογου μοριακού ισοδύναμου άλατος του μεταλλοϊόντος (Ca, Cs και Eu (III)) και ακολούθως ρύθμιση του pH του διαλύματος (Σχήμα 3.16).



Σχήμα 3.16. Στρατηγική σύνθεσης συμπλόκων και σχηματισμού μονοκρυστάλλων.

Για την απομόνωση των διφωσφονικών συμπλόκων χρησιμοποιήθηκαν τρεις διαφορετικές πηγές ασβεστίου (CaCl_2 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, CaHPO_4) καθώς επίσης και μία πηγή κεσίου (CsNO_3) και μία ευρωπίου (EuCl_3). Στο σχήμα 3.17 παρουσιάζονται διαγραμματικά οι αντιδράσεις σύνθεσης των συμπλόκων ενώσεων Ca, Cs και Eu (III) με τα άλατα νατρίου των υποκαταστατών **L1**, **L2**, **L3** και **L4**. Σε όλες τις περιπτώσεις χρησιμοποιήθηκε πυκνό υδατικό διάλυμα διφωσφονικού, ενώ το διάλυμα του μετάλλου θερμαινόταν πριν από την ανάμειξη του με το άλας νατρίου του υποκαταστάτη. Όπως φαίνεται και στο σχήμα η πηγή μετάλλου φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στη δομή του συμπλόκου που σχηματίζεται αφού για παράδειγμα αντίδραση του **NaL1** με δύο διαφορετικές πηγές ασβεστίου (CaCl_2 και $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) οδήγησε σε σχηματισμό δύο διαφορετικών προϊόντων (**C1** και **C2**). Καθοριστικό ρόλο στην τελική μορφή του συμπλόκου φαίνεται να παίζει και το pH αφού σε όξινες

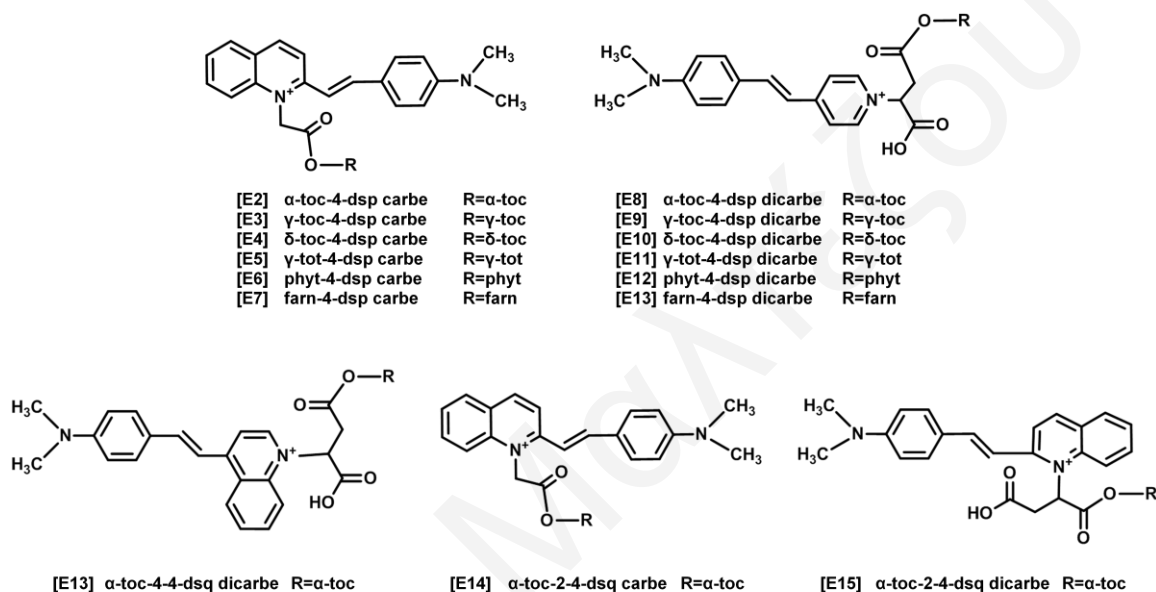
συνθήκες παρατηρείται αλλαγή στον τρόπο δέσμευσης του ασβεστίου με το διφωσφονικό. Η επιλογή της συμπλοκοποίησης σε χαμηλό pH δεν είναι καθόλου τυχαία αφού στα υποξικά καρκινικά κύτταρα επικρατεί όξινο περιβάλλον.^[20] Συγκεκριμένα στο μικροπεριβάλλον του όγκου επικρατεί χαμηλό εξωκυττάριο pH και επομένως χαμηλή συγκέντρωση οξυγόνου. Συνεπώς η σύνθεση συμπλόκων ασβεστίου, όπως είναι οι ενώσεις **C8** και **C10**, μπορεί να δώσει πληροφορίες για τη δράση τους σε βιολογικά συστήματα αφού αναμένεται να στοχεύουν περιοχές στις οποίες παρατηρείται συσσώρευση καρκινικών κυττάρων.



Σχήμα 3.17. Σχηματικό διάγραμμα αντιδράσεων σύνθεσης των συμπλοκών ενώσεων Ca, Cs και Eu (III) με τα άλατα νατρίου των υποκαταστατών **L1**, **L2**, **L3** και **L4** σε α) pH 4-4.3 και σε β) χαμηλό pH. Οι αποδόσεις των αντιδράσεων είναι ως προς το αντίστοιχο άλας νατρίου του υποκαταστάτη.

3.5 Σύνθεση νέων μεικτών φθορίζοντων μόνο- και δικαρβοξυλικών ενώσεων με τα συστατικά της Βιταμίνης E, τη φαρνεσόλη και τη φυτόλη

Στην εργασία αυτή πραγματοποιήθηκε η σύνθεση πλήρως χαρακτηρισμένων φθορίζοντων ηλεκτρικών εστέρων (Σχήμα 3.18). Παράλληλα, έγινε και η σύνθεση των αντίστοιχων καρβοξυλικών εστέρων με σκοπό τη σύγκριση της δραστηρότητας αλλά και της φωταύγειας των δύο ομάδων.

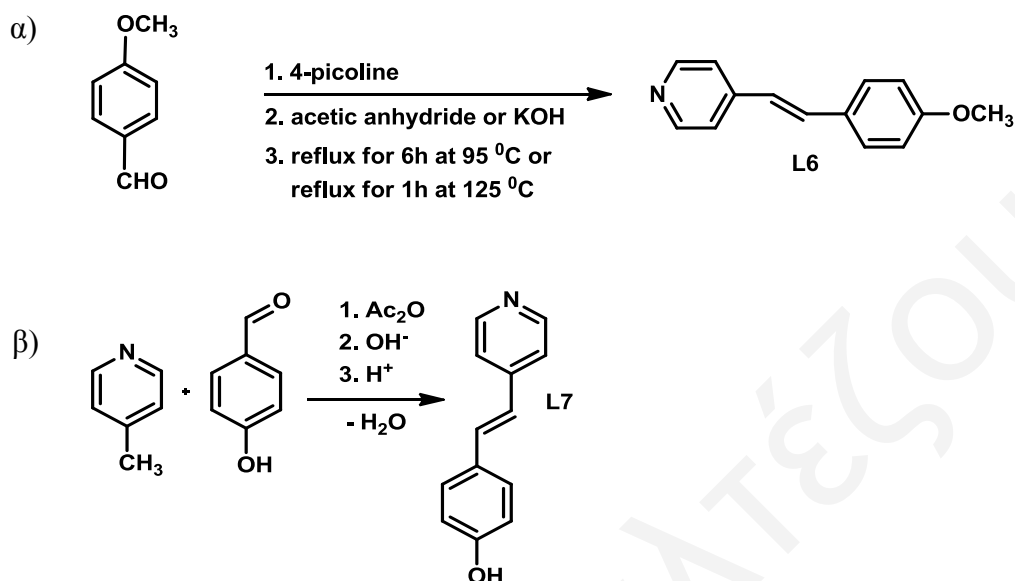


Σχήμα 3.18. Δομές νέων μεικτών φθορίζοντων μόνο- και δικαρβοξυλικών ενώσεων με τα συστατικά της Βιταμίνης E, τη φαρνεσόλη και τη φυτόλη.

Ένας από τους κύριους στόχους της διατριβής αυτής ήταν η σύνθεση φθορίζοντων παραγώγων της βιταμίνης E έτσι ώστε να παρακολουθείται η δράση τους σε βιολογικά συστήματα. Τα μόρια αυτά πρέπει να έχουν μικρό μέγεθος, να είναι σταθερά και να παρουσιάζουν ισχυρό φθορισμό σε μεγάλα μήκη κύματος στην περιοχή του ερυθρού/υπερύθρου. Για το σκοπό αυτό επιλέχθηκαν οι στυρυλοπυριδίνες οι οποίες είναι μικρά μόρια, σχετικά φθηνά και εύκολο να συντεθούν.

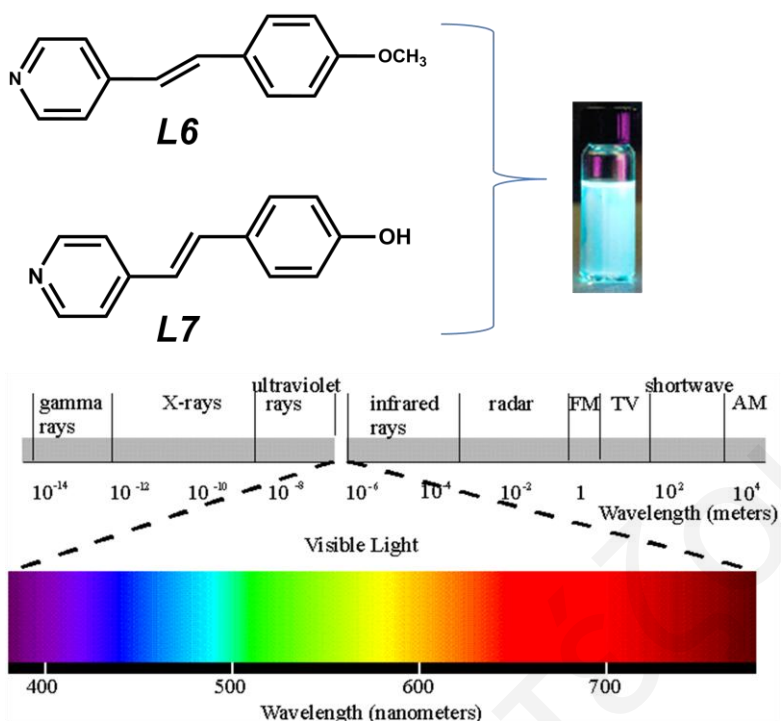
Αρχικά πραγματοποιήθηκε η σύνθεση των υποκαταστατών **4-MeO spy**, [L6] και **phspy**, [L7] όπως φαίνεται στο σχήμα 3.19. Ο υποκαταστάτης [L7] συντέθηκε με δύο διαφορετικούς τρόπους. Και στις δύο περιπτώσεις χρησιμοποιήθηκε η 4-μεθυλπυριδίνη σαν αρχικό

αντιδραστήριο στο οποίο προστέθηκε η κατάλληλη βενζαλδεΐδη είτε παρουσία οξικού ανυδρίτη, είτε υδροξειδίου του καλίου.



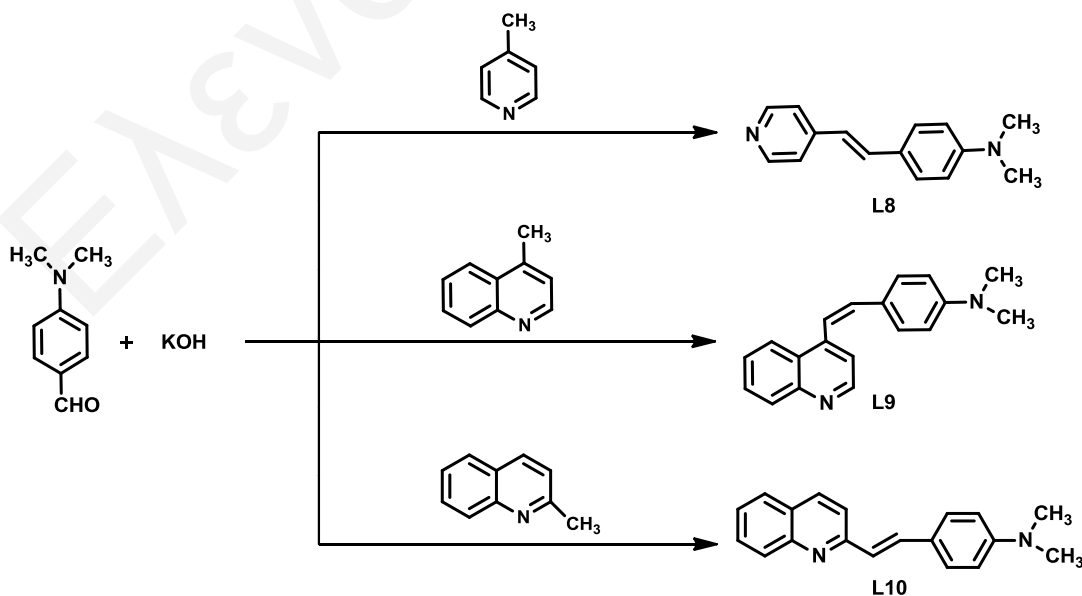
Σχήμα 3.19. α) Σύνθεση του υποκαταστάτη **4-MeO spy**, [L6] με δύο διαφορετικούς τρόπους και β) σύνθεση του υποκαταστάτη **phspy**, [L7].

Το σχήμα 3.20 δείχνει τι χρώμα βλέπει το ανθρώπινο μάτι ανάλογα με το μήκος κύματος της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας. Όταν λοιπόν οι υποκαταστάτες [L6] και [L7] εκτέθηκαν κάτω από λάμπα UV το χρώμα που έδωσαν ήταν γαλάζιο (Σχήμα 3.20). Όπως φαίνεται και στο σχήμα το γαλάζιο χρώμα βρίσκεται κοντά στην περιοχή του υπεριώδους. Οι ενώσεις αυτές λοιπόν δεν αποτελούν την καλύτερη επιλογή αφού πιο κατάλληλα θεωρούνται φθορίζοντα μόρια που εκπέμπουν στην περιοχή κοντινού υπερώθρου για μέγιστη διεισδυτικότητα εντός των ιστών.



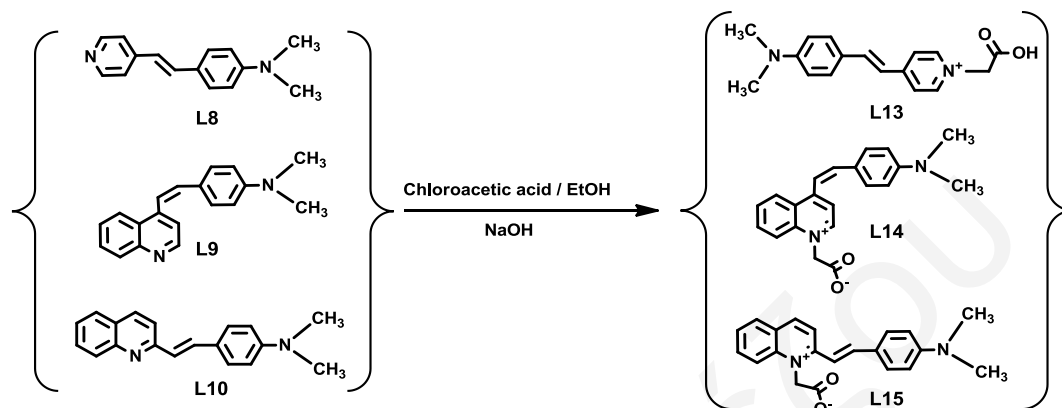
Σχήμα 3.20. Μήκος κύματος της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας του υποκαταστάτη [L6].

Για το σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκε η σύνθεση των φθορίζοντων υποκαταστατών [L8], [L9] και [L10] όπως φαίνεται στο σχήμα 3.21. Ως αρχικό αντιδραστήριο και στις τρεις αντιδράσεις χρησιμοποιήθηκε η 4-(διμεθυλάμινο)βενζαλδεΐδη η οποία αντίδρασε με την κατάλληλη μέθυλ πυριδίνη προς σχηματισμό του αντίστοιχου υποκαταστάτη.



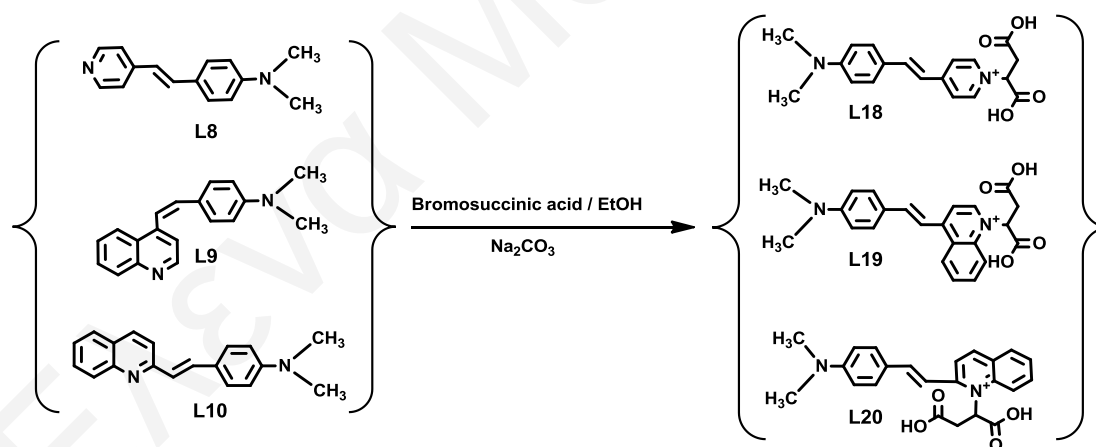
Σχήμα 3.21. Σύνθεση των φθορίζοντων υποκαταστατών [L8], [L9] και [L10].

Τα καρβοξυλικά οξέα συντέθηκαν μετά από αντίδραση του χλωροξικού οξέος και των υποκαταστατών [L8], [L9] και [L10] σε βασικές συνθήκες. Το προϊόν απομονώθηκε με τη μορφή μωβ-κόκκινης σκόνης το οποίο φθόριζε έντονο κόκκινο χρώμα όταν τοποθετήθηκε κάτω από λάμπα UV (Σχήμα 3.22).



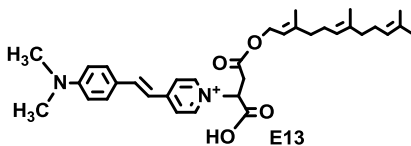
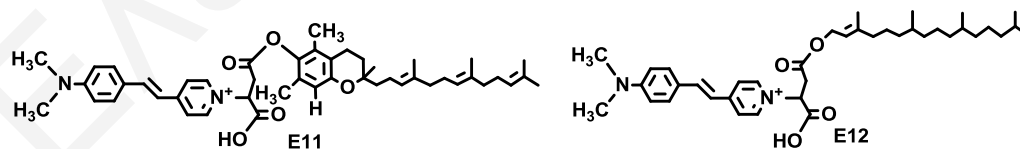
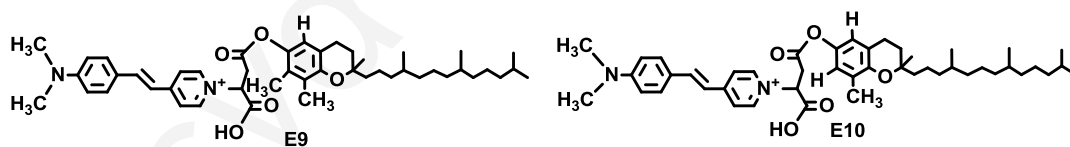
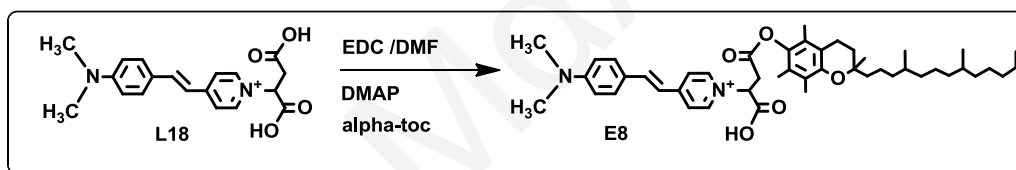
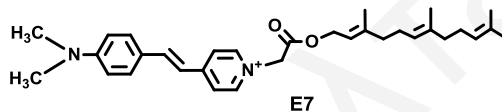
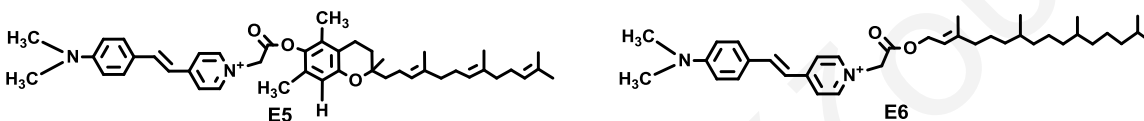
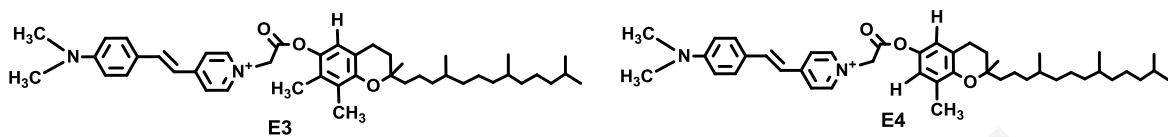
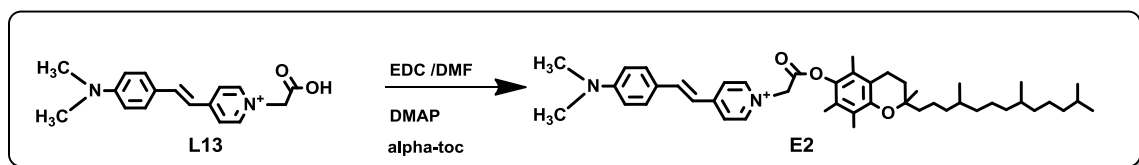
Σχήμα 3.22. Πορεία σύνθεσης των καρβοξυλικών οξέων [L13-L15].

Με παρόμοιο τρόπο συντέθηκαν τα αντίστοιχα δικαρβοξυλικά οξέα, παρουσία βρωμοηλεκτρικού οξέος σε βασικές συνθήκες όπως φαίνεται στο σχήμα 3.23.

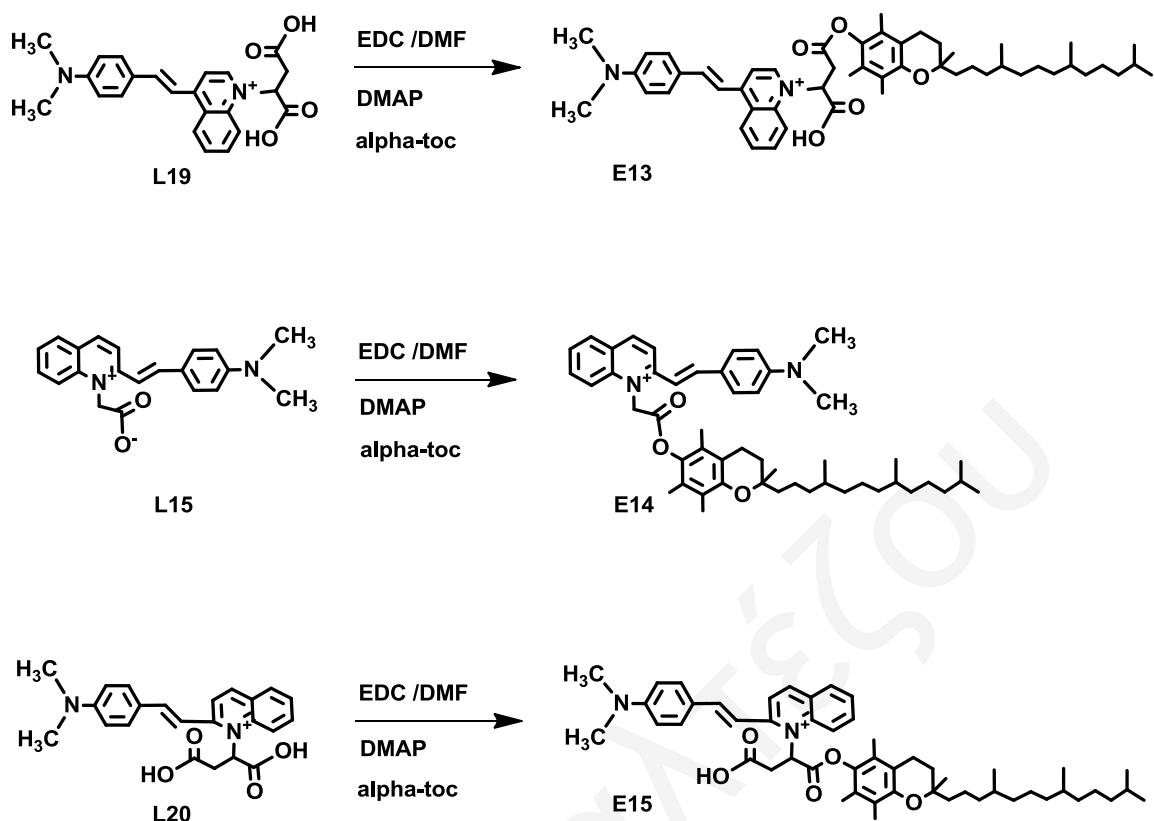


Σχήμα 3.23. Πορεία σύνθεσης των δικαρβοξυλικών οξέων [L18-L20].

Οι τελικοί εστέρες λήφθηκαν με αντίδραση των καρβοξυλικών και δικαρβοξυλικών οξέων με α-τοκοφερόλη, γ-τοκοφερόλη, δ-τοκοφερόλη, γ-τοκοτριενόλη, φυτόλη και φαρνεσόλη, παρουσία DMAP και του ενεργοποιητή EDC σε διαλύτη DMF (Σχήμα 3.24 και 3.25). Όλες οι αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν σε ξηρούς διαλύτες, κάτω από αδρανείς συνθήκες και τα προϊόντα ξηράθηκαν σε γραμμή υψηλού κενού.

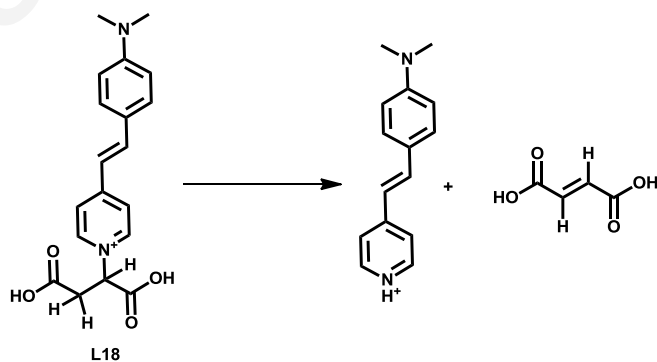


Σχήμα 3.24. Πορεία σύνθεσης καρβοξυλικών [E2-E7] και δικαρβοξυλικών εστέρων [E8-E13].



Σχήμα 3.25. Πορεία σύνθεσης καρβοξυλικών [E14] και δικαρβοξυλικών εστέρων [E13] και [E15].

Ενώ τα μόρια ήταν σταθερά φωτοχημικά και ως προς την υδρόλυση του εστερικού δεσμού, η β -απόσπαση γίνεται πολύ εύκολα σε αλκαλικές συνθήκες δημιουργώντας προβλήματα σταθερότητας (Σχήμα 3.26).



Σχήμα 3.26. Αντίδραση β -απόσπασης του δικαρβοξυλικού υποκαταστάτη [L18].

Το πρόβλημα της σταθερότητας λύθηκε με τη σύνθεση του αντίστοιχου βρωμοϋποκατεστημένου υποκαταστάτη [L17]. Ως εκ τούτου, με τη προσθήκη βρωμίου στο δικαρβοξυλικό χρωμοφόρο η σταθερότητα αυξάνει ως προς τη β-απόσπαση.

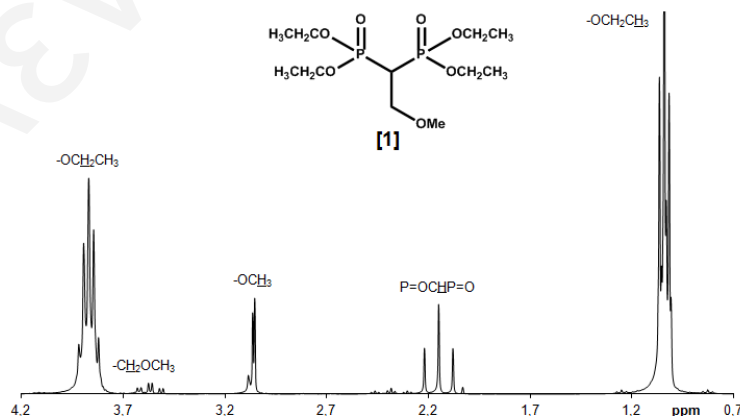
Έλενα Μαλιτζέζου

3.6 Χαρακτηρισμός ενώσεων με φασματοσκοπία NMR

3.6.1 Νέες μεικτές διφωσφονικές ενώσεις [1-5, 6β] με τα συστατικά της Βιταμίνης E, τη φαρνεσόλη και τη φυτόλη

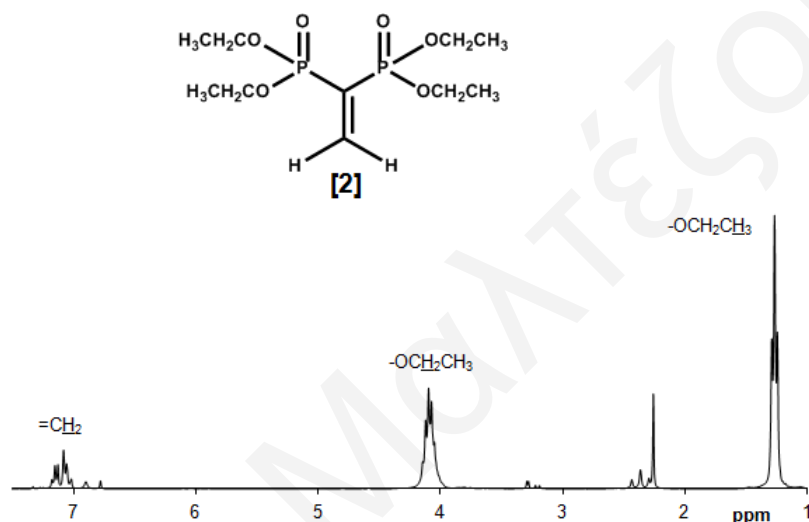
Η φασματοσκοπία NMR είναι μια πολύ καλή μέθοδος προσδιορισμού της δομής των οργανικών και ανόργανων ενώσεων. Η πλήρης ταυτοποίηση των κορυφών πραγματοποιήθηκε με ανάλυση τόσο των χημικών μετατοπίσεων και των ολοκληρωμάτων στα φάσματα ^1H και ^{13}C -NMR, όσο και με ανάλυση των φασμάτων ^{31}P -NMR.

Στο Σχήμα 3.27 παρουσιάζεται το ^1H -NMR του τετρα αιθυλο (2-μέθοξυ) αιθυλιδένιο διφωσφονικού [1], από το οποίο επιβεβαιώθηκε η καθαρότητά του. Παρατηρείται η εμφάνιση πέντε συνολικά απορροφήσεων, οι οποίες αποδίδονται στα πέντε μη-χημικά ισοδύναμα πρωτόνια της ένωσης. Συγκεκριμένα υπάρχει μία τριπλή κορυφή στα 1.24 ppm η οποία οφείλεται στη χημική μετατόπιση των δώδεκα μεθυλικών πρωτονίων $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$. Επίσης παρατηρείται μία τριπλή της τριπλής στα 2.46 ppm η οποία οφείλεται στην χημική μετατόπιση του πρωτονίου $\text{P}=\text{OCH}\text{P}=\text{O}$ λόγω της σύζευξης του φωσφόρου, μία απλή στα 3.1 ppm η οποία οφείλεται στη χημική μετατόπιση των μεθυλικών πρωτονίων $-\text{OCH}_3$. Σε χαμηλότερα πεδία εμφανίζονται δύο κορυφές, μια τριπλή της διπλής στα 3.6 ppm και μία τετραπλή στα 4.06 ppm, οι οποίες οφείλονται στη χημική μετατόπιση των δύο $-\text{CH}_2\text{OCH}_3$ και οκτώ μεθυλενικών πρωτονίων $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ αντίστοιχα.



Σχήμα 3.27. Φάσμα ^1H -NMR της ένωσης [1] σε διαλύτη CDCl_3 .

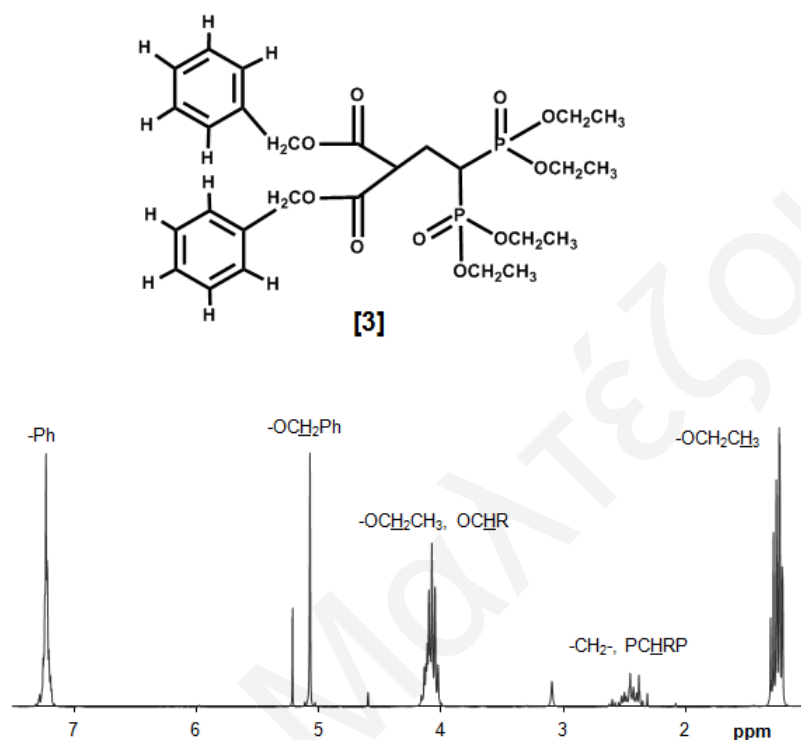
Στο Σχήμα 3.28 παρουσιάζεται το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του τετρα αιθυλο αιθυλιδένο διφωσφονικού [2]. Παρατηρείται η εμφάνιση τριών συνολικά απορροφήσεων, οι οποίες αποδίδονται στα τρία μη-χημικά ισοδύναμα πρωτόνια της ένωσης. Υπάρχει μία τριπλή κορυφή στα 1.27 ppm η οποία οφείλεται στη χημική μετατόπιση των δώδεκα μεθυλικών πρωτονίων $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$. Έπειτα μία τετραπλή στα 4.1 ppm η οποία οφείλεται στην χημική μετατόπιση των οκτώ μεθυλενικών πρωτονίων $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ και μία διπλή της διπλής σε χαμηλότερο πεδίο (7.13 ppm) η οποία οφείλεται στη χημική μετατόπιση των δύο μεθυλενικών πρωτονίων $=\text{CH}_2$.



Σχήμα 3.28. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης [2] σε διαλύτη CDCl_3 .

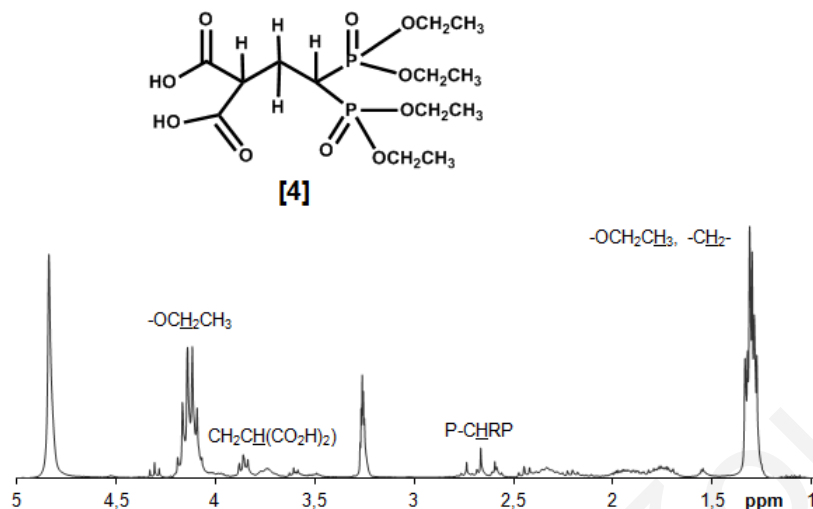
Συνεχίζοντας στο σχήμα 3.29 παρουσιάζεται το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του τετρα αιθυλο [3,3 δις(βενζυλοξυκαρβόνυλο) προπυλιδένο δις[φωσφονικού] [3]. Παρατηρείται η εμφάνιση πέντε συνολικά απορροφήσεων, οι οποίες αποδίδονται στα πέντε μη-χημικά ισοδύναμα πρωτόνια της ένωσης. Αναλυτικότερα, υπάρχει μία τριπλή κορυφή στα 1.27 ppm η οποία οφείλεται στη χημική μετατόπιση των δώδεκα μεθυλικών πρωτονίων $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$. Επίσης, υπάρχει μία πολλαπλή στα 2.4 ppm η οποία οφείλεται στη χημική μετατόπιση των μεθυλενικών πρωτονίων $-\text{CH}_2-$ καθώς και του πρωτονίου $\text{P}-\text{CH}_2\text{R}$ λόγω της σύζευξης του φωσφόρου, και μία πολλαπλή κορυφή στα 4.1 ppm η οποία οφείλεται στη χημική μετατόπιση των οκτώ μεθυλενικών πρωτονίων $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ και του πρωτονίου $\text{O}-\text{CHR}$. Στη συνέχεια παρουσιάζεται μία απλή κορυφή στα 5.1 ppm που οφείλεται στη χημική μετατόπιση των τεσσάρων μεθυλενικών πρωτονίων $-\text{OCH}_2\text{Ph}$ που βρίσκονται δίπλα από τον αρωματικό δακτύλιο.

Προχωρώντας σε υψηλότερα ppm, παρατηρούμε ότι παρουσιάζεται μία πολλαπλή κορυφή στα 7.2 ppm η οποία οφείλεται στα φαινολικά πρωτόνια -Ph.



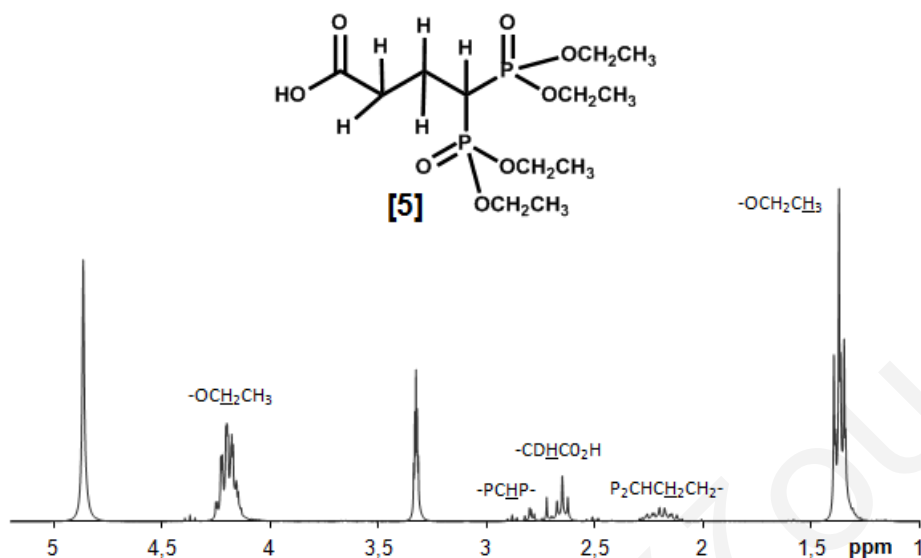
Σχήμα 3.29. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης [3] σε διαλύτη CDCl_3 .

Στο Σχήμα 3.30 παρουσιάζεται το $^1\text{H-NMR}$ του τετρα αιθυλο 3,3 δις(φωσφονο) προπυλιδένιο δις[καρβοξυλικού οξέος] [4]. Παρατηρείται η εμφάνιση τεσσάρων συνολικά απορροφήσεων, οι οποίες αποδίδονται στα τέσσερα μη-χημικά ισοδύναμα πρωτόνια της ένωσης. Συγκεκριμένα υπάρχει μία εξαπλή κορυφή στα 1.25 ppm η οποία οφείλεται στη χημική μετατόπιση των δώδεκα μεθυλικών πρωτονίων $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ και των δύο μεθυλενικών πρωτονίων $-\text{CH}_2-$. Επίσης παρατηρείται μία τριπλή της τριπλής στα 2.65 ppm η οποία οφείλεται στη χημική μετατόπιση του πρωτονίου P-CHRP λόγω της σύζευξης του φωσφόρου και μία τριπλή κορυφή στα 3.7 ppm η οποία οφείλεται στη χημική μετατόπιση του πρωτονίου του $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CO}_2\text{H})_2$. Στην συνέχεια παρουσιάζεται μία εξαπλή κορυφή στα 4.15 ppm που οφείλεται στη χημική μετατόπιση των οκτώ μεθυλενικών πρωτονίων $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$. Τα πρωτόνια των οξέων δεν εμφανίζονται στο φάσμα NMR λόγω του δευτεριωμένου διαλύτη.



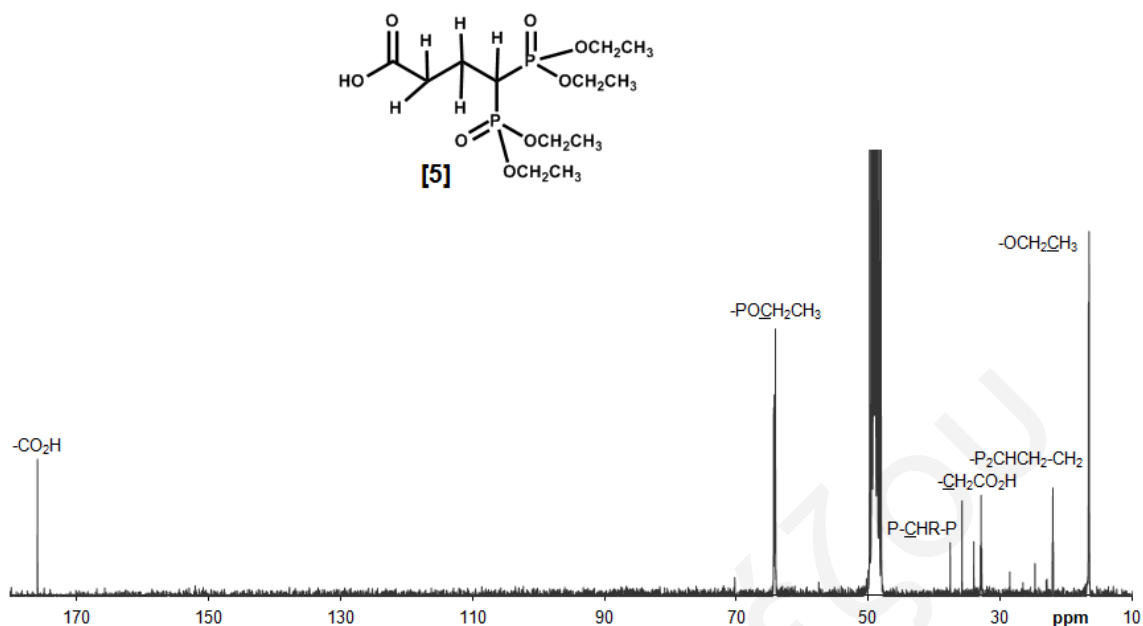
Σχήμα 3.30. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης [4] σε διαλύτη MeOD.

Στο Σχήμα 3.31 παρουσιάζεται το $^1\text{H-NMR}$ του τετρα αιθυλο 4,4-δισ(φωσφονο)-βουτανικού οξέος [5]. Παρατηρείται η εμφάνιση πέντε συνολικά απορροφήσεων, οι οποίες αποδίδονται στα πέντε μη-χημικά ισοδύναμα πρωτόνια της ένωσης. Συγκεκριμένα υπάρχει μία τριπλή κορυφή στα 1.35 ppm η οποία οφείλεται στη χημική μετατόπιση των δώδεκα μεθυλικών πρωτονίων $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$. Επιπλέον παρατηρείται μία πολλαπλή κορυφή στα 2.2 ppm η οποία οφείλεται στη χημική μετατόπιση των δύο μεθυλενικών πρωτονίων $\text{P}_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2-$ και μία πολλαπλή κορυφή στα 2.65 ppm η οποία οφείλεται στη χημική μετατόπιση του πρωτονίου του $-\text{CDHCO}_2\text{H}$. Εμφανίζεται πολλαπλή λόγω της σύζευξης του φωσφόρου. Στη συνέχεια παρουσιάζεται μία τριπλή της τριπλής στα 2.81 ppm που οφείλεται στη χημική μετατόπιση του πρωτονίου $-\text{PCHP}-$, λόγω της σύζευξης του φωσφόρου, και μία πολλαπλή στα 4.2 ppm η οποία οφείλεται στη χημική μετατόπιση των οκτώ μεθυλενικών πρωτονίων $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$. Το πρωτόνιο του οξέος δεν εμφανίζεται στο φάσμα NMR λόγω της γρήγορης χημικής ανταλλαγής με το δευτεριωμένου διαλύτη.



Σχήμα 3.31. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ένωσης [5] σε διαλύτη MeOD.

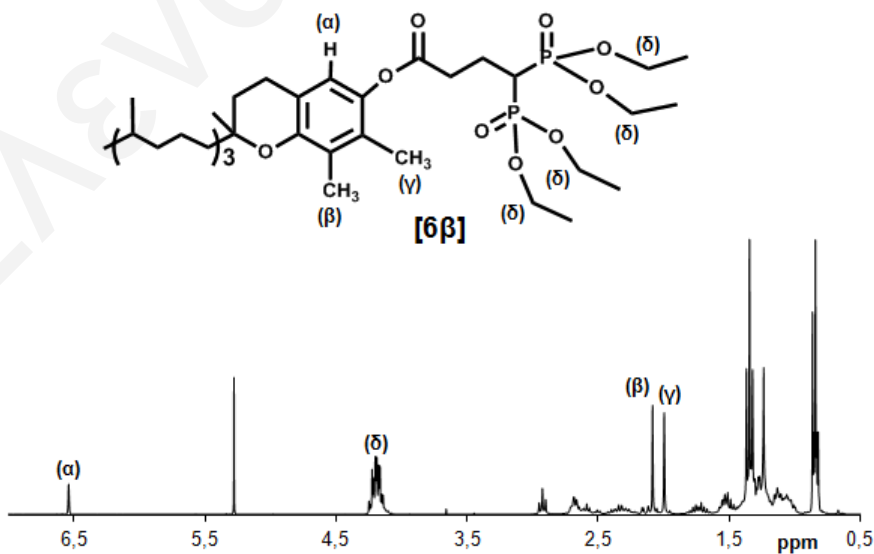
Στο Σχήμα 3.32 παρουσιάζεται το φάσμα $^{13}\text{C-NMR}$ του τετρα αιθυλο 4,4-δισ(φωσφονο)-βουτανικού οξέος [5]. Παρατηρείται η εμφάνιση έξι συνολικά απορροφήσεων, οι οποίες αποδίδονται στους έξι χημικά μη-ισοδύναμους άνθρακες της ένωσης. Συγκεκριμένα υπάρχει μία κορυφή στα 16 ppm η οποία οφείλεται στη χημική μετατόπιση των τεσσάρων ανθράκων του μεθυλίου $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$. Επίσης παρατηρείται μία κορυφή στα 22 ppm η οποία οφείλεται στη χημική μετατόπιση του άνθρακα του $-\text{P}_2\text{CHCH}_2\text{-CH}_2$ και μία κορυφή στα 33 ppm η οποία οφείλεται στη χημική μετατόπιση του άνθρακα του $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ που βρίσκεται πιο κοντά στο οξυγόνο του καρβοξυλίου. Στην συνέχεια παρουσιάζεται μία τριπλή κορυφή στα 36 ppm που οφείλεται στη χημική μετατόπιση του άνθρακα P-CHR-P που βρίσκεται δίπλα από τους φωσφόρους και μια κορυφή στα 64 ppm που οφείλεται στη χημική μετατόπιση των ανθράκων $-\text{POCH}_2\text{CH}_3$ δίπλα στο οξυγόνο. Τέλος, παρουσιάζεται και μία κορυφή στα 175 ppm η οποία οφείλεται στη χημική μετατόπιση του καρβοξυλικού άνθρακα $-\text{CO}_2\text{H}$.



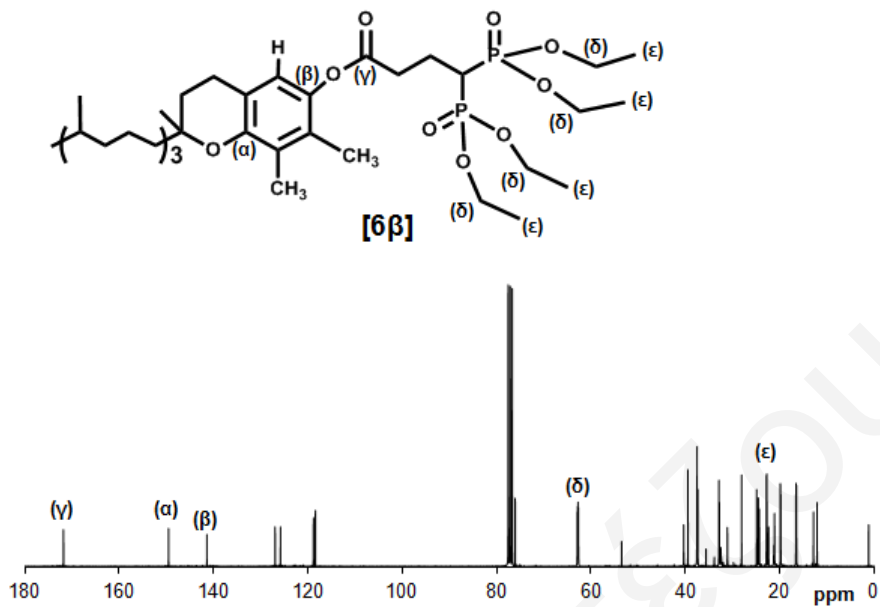
Σχήμα 3.32. Φάσμα $^{13}\text{C-NMR}$ της ένωσης [5] σε διαλύτη MeOD .

Στο σχήμα 3.33 παρουσιάζονται αναλυτικά τα φάσματα $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ και $^{31}\text{P-NMR}$ της ένωσης [6β] στα οποία διακρίνονται χαρακτηριστικές κορυφές οι οποίες επιβεβαιώνουν τον σχηματισμό του προϊόντος. Στο φάσμα $^{31}\text{P-NMR}$ λαμβάνεται μία κορυφή και όχι δύο όπως θα ήταν αναμενόμενο.

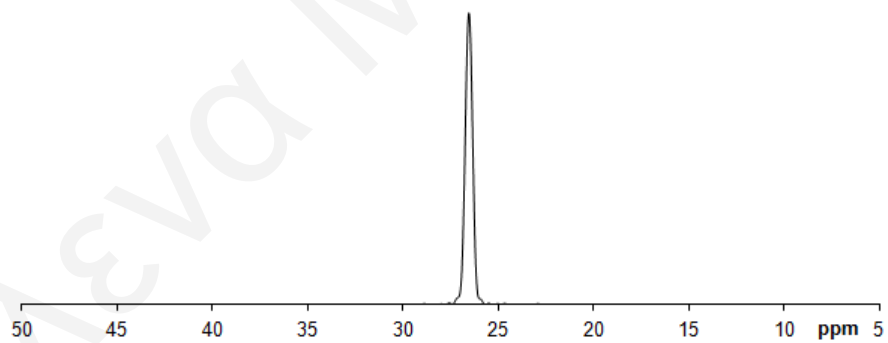
α)



β)



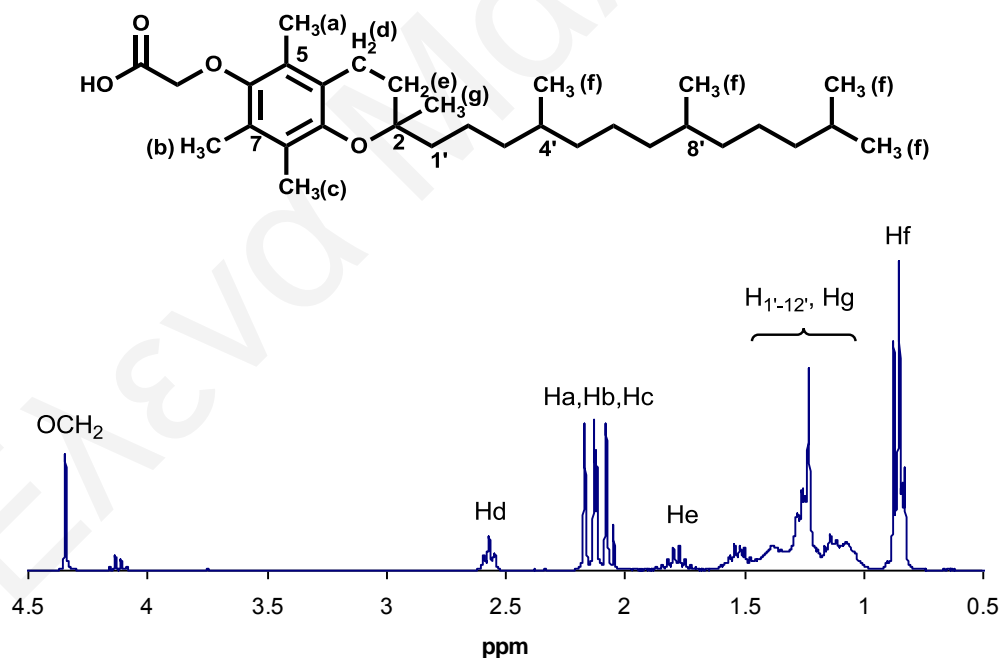
γ)



Σχήμα 3.33. Φάσματα (α) ^1H -NMR (CDCl_3), (β) ^{13}C -NMR (CDCl_3) και (γ) ^{31}P -NMR (D_2O) της ένωσης [6β].

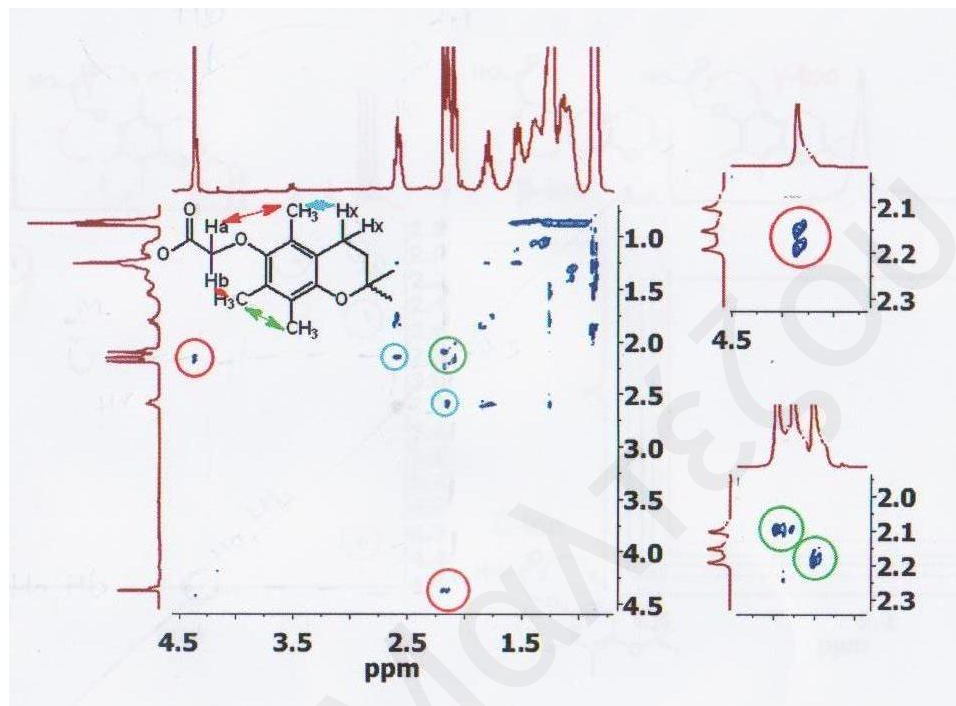
3.6.2 Καρβοξυλικά [8, 9] και διφωσφονικά παράγωγα [11] της βιταμίνης E

Όλα τα φάσματα των ενώσεων καταγράφηκαν σε διαλύτες $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$ και DMSO-d_6 . Στο σχήμα 3.34 φαίνεται το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του $\alpha\text{-TEA}$ [8]. Τα σήματα των εννέα πρωτονίων των αρωματικών μεθυλίων H_a , H_b , H_c δίνουν τρεις απλές κορυφές στα 2.08 ppm, 2.13 ppm και 2.17 ppm. Τα H_d πρωτόνια δίνουν μια τριπλή κορυφή στα 2.57 ppm λόγω της σύζευξης τους με τα δύο ισοδύναμα πρωτόνια H_e . Αυτά δίνουν μια πολλαπλή κορυφή στα 1.80 ppm. Τα $\text{H}_{1'-12'}$ και H_g δίνουν πολλαπλές κορυφές μεταξύ 1.07 ppm και 1.58 ppm. Τα πρωτόνια H_f των πρωτοταγών κορεσμένων μεθυλίων της αλειφατικής αλυσίδας δίνουν πολλαπλή κορυφή στην χαρακτηριστική περιοχή ισχυρού πεδίου στα 0.87 ppm. Στα 4.34 ppm εντοπίζεται η απλή κορυφή που αντιπροσωπεύει τα δύο πρωτόνια της ομάδας OCH_2 . Τα πρωτόνια αυτά εμφανίζονται σε ψηλότερα ppm (χαμηλά πεδία) καθώς βρίσκονται δίπλα από το ηλεκτραρνητικό άτομο του οξυγόνου και δίπλα από μια καρβonyλομάδα τα οποία έχουν την τάση να έλκουν ηλεκτρόνια αποπροστατεύοντας με αυτόν τον τρόπο τα πρωτόνια.



Σχήμα 3.34. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της $\alpha\text{-TEA}$ [8].

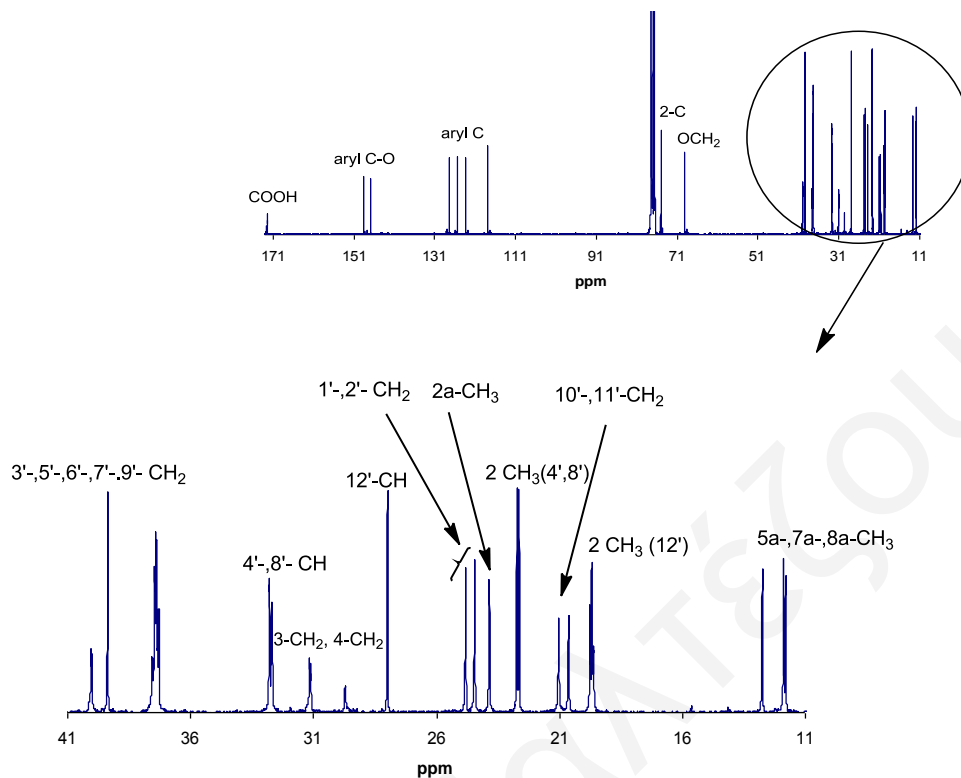
Η ταυτοποίηση των κορυφών έγινε και με 2D-NOESY λόγω πολυπλοκότητας του μονοδιάστατου φάσματος $^1\text{H-NMR}$. Στο φάσμα 2D-NOESY του α -TEA (Σχήμα 3.35) ταυτοποιήθηκαν τρεις αλληλεπιδράσεις.



Σχήμα 3.35. Φάσμα 2D-NOESY του α -TEA [8].

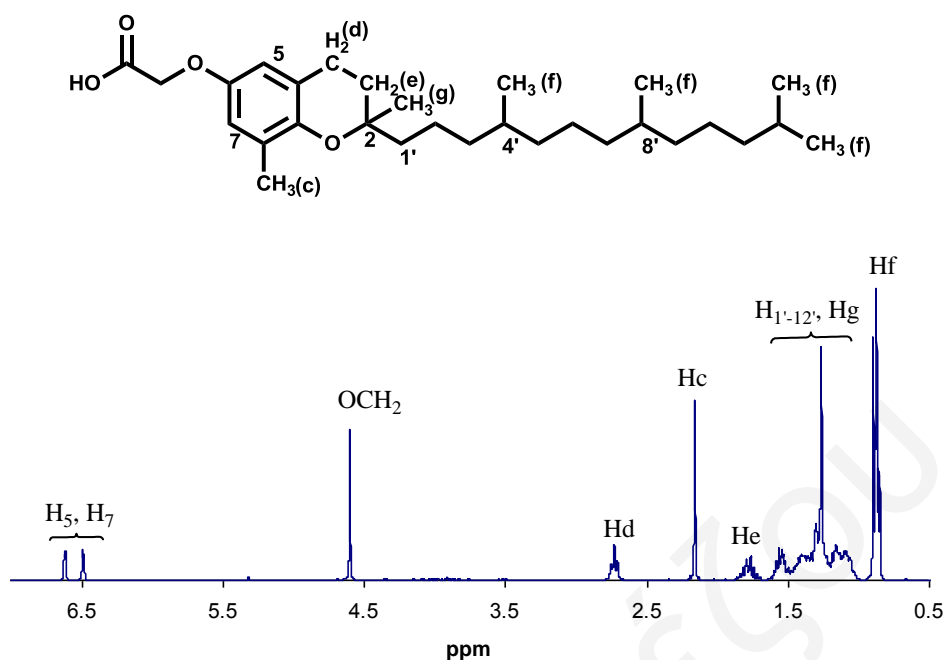
Τα Ha και Hb πρωτόνια της ομάδας OCH₂ (υποδεικνύεται στο Σχήμα 3.34) είναι κοντά στις μεθυλικές ομάδες σε θέση όρθο ως προς την υδροξυλομάδα επιτρέποντας ταυτοποίηση μέσω NOE αλληλεπιδράσεων. Επίσης, παρατηρείται σύζευξη των Hx πρωτονίων με τα υδρογόνα της μεθυλικής ομάδας (CH₃(a)) και από αυτό ταυτοποιείται η κορυφή στα 2.57 ppm. Αλληλεπίδραση παρουσιάζεται και μεταξύ των δύο γειτονικών μεθυλικών ομάδων (CH₃(b) και CH₃(c)). Αυτές οι τρεις αλληλεπιδράσεις μας επιτρέπουν να διακρίνουμε το προϊόν του α -TEA από τα αντίστοιχα με δ - ή γ - τοκοφερόλη. Παρατηρούνται και άλλες σειρές κορυφών όπως αυτή που οφείλεται στην σύζευξη των Hx με τα Hg όπου ταυτοποιείται η κορυφή στα 1.80 ppm.

Η ταυτοποίηση της ένωσης έγινε και με $^{13}\text{C-NMR}$ (Σχήμα 3.36). Όπως ήταν αναμενόμενο ο καρβονυλικός άνθρακας καθώς και οι άνθρακες του αρωματικού δακτυλίου δίνουν κορυφές σε χαμηλό πεδίο ενώ οι άνθρακες της αλυσίδας συντονίζονται σε υψηλότερα πεδία.



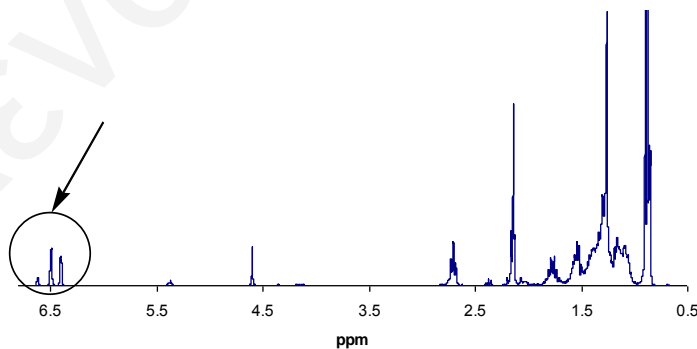
Σχήμα 3.36. Φάσμα ^{13}C -NMR του α -TEA [8].

Το ^1H -NMR φάσμα της δ -TEA [9] φαίνεται στο Σχήμα 3.37. Η περιοχή από 0.8 ppm μέχρι 2.7 ppm μοιάζει με το φάσμα του α -TEA [8] με μόνη διαφορά την απλή κορυφή στα 2.16 ppm, αντί των τριών απλών κορυφών, λόγω της παρουσίας ενός μόνον μεθύλιου στον αρωματικό δακτύλιο. Τα πρωτόνια της ομάδας OCH_2 δίνουν κορυφή στα 4.60 ppm, μετατοπισμένη δηλαδή σε υψηλότερα ppm (χαμηλότερα πεδία) σε σχέση με τα αντίστοιχα της ένωσης με α -τοκοφερόλη. Επίσης, τα H_5 και H_7 πρωτόνια δίνουν δύο διπλές κορυφές στα 6.62 ppm και 6.49 ppm αντίστοιχα.



Σχήμα 3.37. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της δ -TEA [9].

Ένα πρόβλημα που αντιμετωπίζαμε σε αυτές τις συνθέσεις ήταν ότι η αντίδραση δεν ήταν ποσοτική και ποσότητα του αντιδρώντος παραμένει στο προϊόν. Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του μείγματος εμφανίζονται τρεις κορυφές για τα H_5 και H_7 πρωτόνια όπως φαίνεται στο σχήμα 3.38.

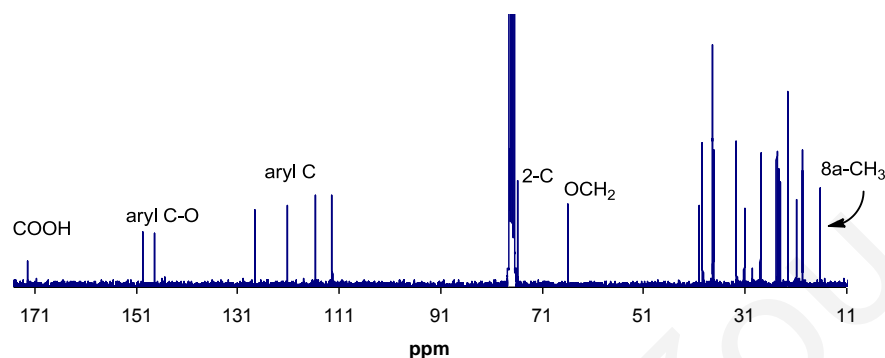


Σχήμα 3.38. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του μείγματος δ -TEA [9] και δ -τοκοφερόλης.

Τα πρωτόνια H_5 και H_7 του αντιδρώντος εμφανίζονται σε υψηλότερα πεδία από τα H_5 και H_7 του προϊόντος. Αυτό γιατί στο προϊόν τα πρωτόνια αποπροστατεύονται περισσότερο λόγω της κοντινής καρβοξυλομάδας που έλκει ηλεκτρόνια. Έτσι γίνεται επικάλυψη των

αντίστοιχων κορυφών και εμφάνιση τριών συνολικά κορυφών στην περιοχή των 6.5 ppm περίπου.

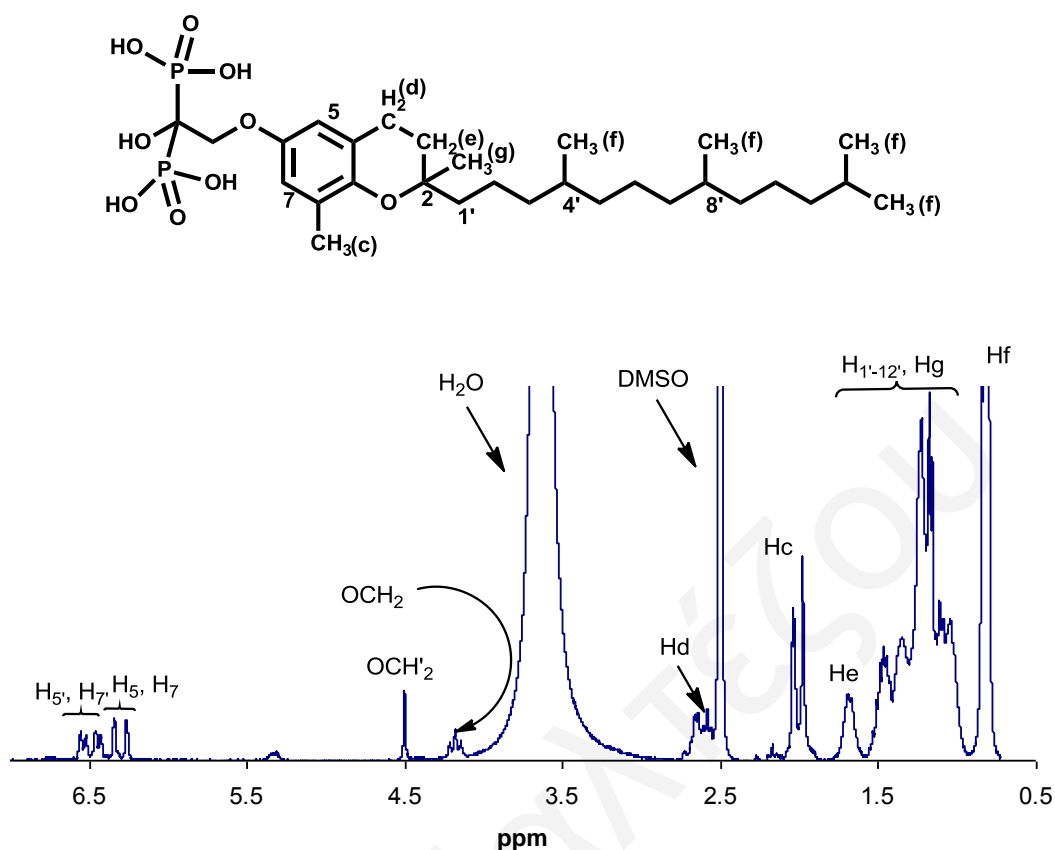
Η ταυτοποίηση της ένωσης έγινε και με ^{13}C -NMR (Σχήμα 3.39).



Σχήμα 3.39. Φάσμα ^{13}C -NMR του δ-TEA [9].

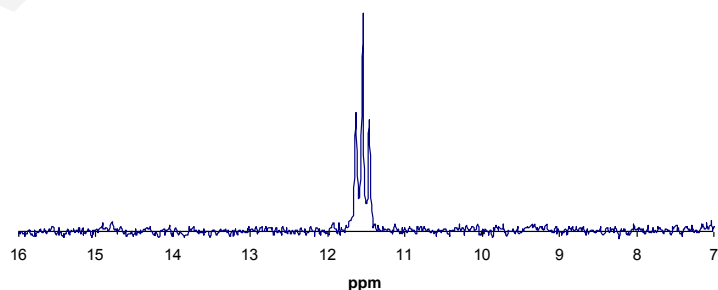
Στο φάσμα ^{13}C -NMR του δ-TEA [9] εμφανίζεται μια κορυφή στα 16.24 ppm, που αντιπροσωπεύει το μεθύλιο του αρωματικού δακτυλίου 8a-CH₃, η οποία είναι ελαφρά μετατοπισμένη σε σχέση με τις τρεις κορυφές των μεθυλίων του αρωματικού δακτυλίου στα 11.81 ppm, 11.89 ppm και 12.75 ppm του α-TEA [8].

Στο σχήμα 3.40 φαίνεται το φάσμα ^1H -NMR της ένωσης 2,8-διμέθυλο-(2R-(4'R,8'R,12'R τριμεθυλοτριδέκυλο) χρώμανο-6-ύλοξυ) διφωσφονικό οξύ, [11]. Όπως φαίνεται, δεν έγινε εφικτό να διαχωριστεί το αντιδρών από το προϊόν. Η κορυφή στα 4.18 ppm που δίνουν τα πρωτόνια OCH₂ της ένωσης με διφωσφονικά είναι τριπλή λόγω σύζευξης με τους φωσφόρους και μετατοπισμένη σε υψηλότερα πεδία. Στα 4.51 ppm εμφανίζεται η απλή κορυφή των πρωτονίων OCH₂ του δ-TEA [9]. Στην περιοχή των 6.5 ppm εμφανίζονται τέσσερις κορυφές. Οι δύο κορυφές που βρίσκονται σε χαμηλότερα πεδία αντιπροσωπεύουν τα H₅ και H₇ πρωτόνια του δ-TEA [9] ενώ αυτές που ακολουθούν αντιπροσωπεύουν τα H₅ και H₇ πρωτόνια της αντίστοιχης ένωσης με διφωσφονικά.



Σχήμα 3.40. Φάσμα ¹H-NMR του μείγματος δ-TEA [9] και δ-τοκοφερόλης συζευγμένης με διφωσφονικά [11]. Όπου (') τα πρωτόνια του δ-TEA που είναι παρόντα στο μείγμα.

Στο σχήμα 3.41 φαίνεται το φάσμα ³¹P-NMR της ένωσης 2,8-διμεθυλο-(2R-(4'R,8'R,12'R τριμεθυλοτριδέκυλο) χρώμανο-6-ύλοξυ) διφωσφονικό οξύ [11]. Η τριπλή κορυφή στα 11.55 ppm αντιπροσωπεύει τους δύο φωσφόρους οι οποίοι είναι μαγνητικά ισοδύναμοι και παρουσιάζουν σύζευξη με τα δύο πρωτόνια της ομάδας OCH₂.

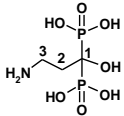
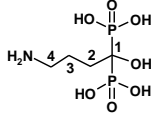
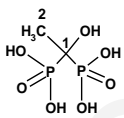
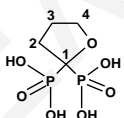


Σχήμα 3.41. Φάσμα ³¹P-NMR της δ-τοκοφερόλης συζευγμένης με διφωσφονικά [11].

3.6.3 Διφωσφονικοί υποκαταστάτες (L1, L2, L3 και L4)

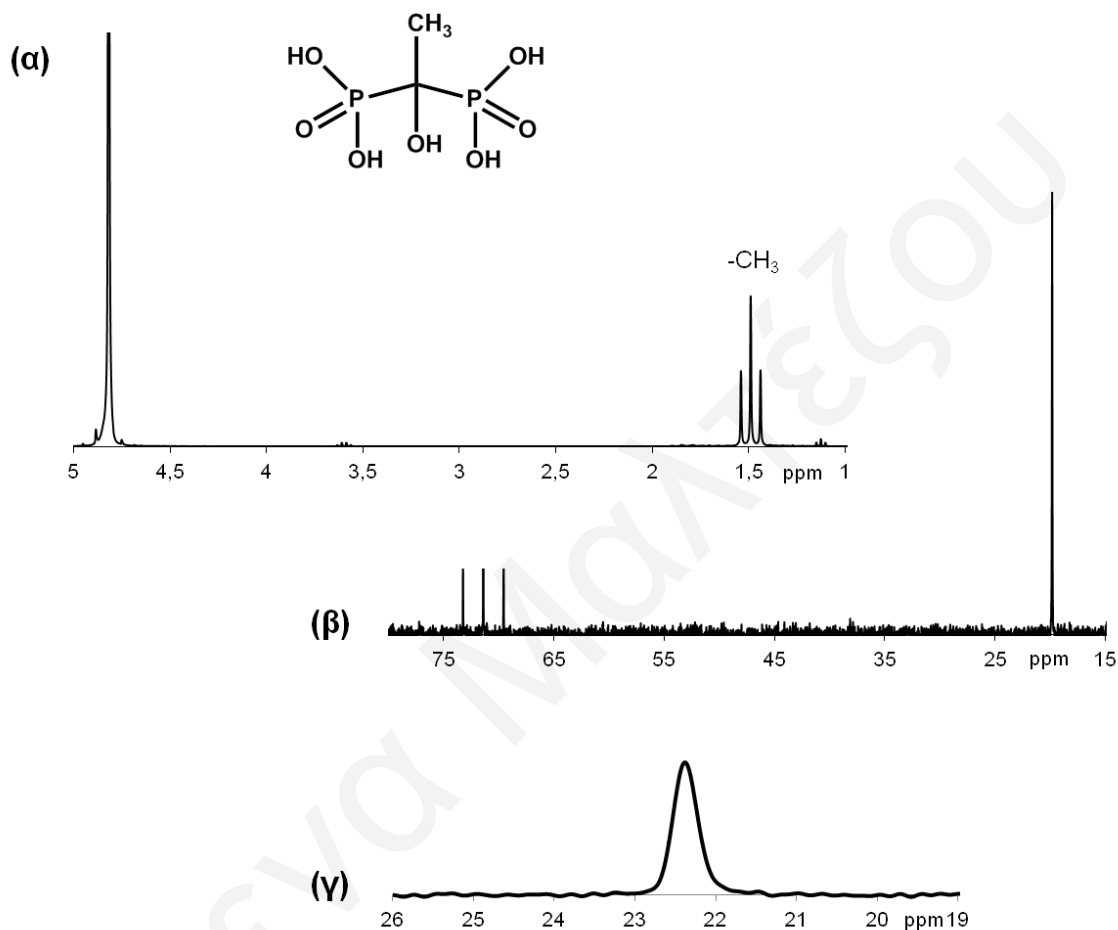
Οι ενώσεις που συντέθηκαν μελετήθηκαν στο διάλυμα με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού ^1H , ^{13}C και ^{31}P -NMR. Στον πίνακα 3.2 παρουσιάζονται συνοπτικά οι χημικές μετατοπίσεις (ppm) και η ταυτοποίηση των απορροφήσεων που παρατηρούνται στο φάσματα ^1H , ^{13}C και ^{31}P -NMR των υποκαταστατών **L1**, **L2**, **L3** και **L4**.

Πίνακας 3.2. Χημικές μετατοπίσεις (ppm) και ταυτοποίηση των απορροφήσεων που παρατηρούνται στο φάσματα ^1H -, ^{13}C - και ^{31}P -NMR των υποκαταστατών **L1**, **L2**, **L3** και **L4** [D_2O , pH 3-4.3, 25°C].

Bisphosphonate (solvent)	^1H (ppm)	^{13}C (ppm)	^{31}P (ppm)
L1 (D_2O) 	C2 = 2.34 (m, 2H) C3 = 3.37 (t, 2H)	C1 = 72.72 (t) C3 = 36.33 (s) C2 = 30.86 (t)	20.99 (s)
L2 (D_2O) 	C2, C3 = 1.97 (m, 4H) C4 = 3.00 (t, 2H)	C1 = 73.74 (t) C2 = 22.43 (t) C3 = 30.84 (s) C4 = 40.20 (s)	20.34 (s)
L3 (D_2O) 	C2 = 1.50 (t, 3H)	C1 = 20.20 (s) C2 = 72.10 (t)	22.50 (s)
L4 (D_2O) 	C2 = 2.30 (m, 2H) C3 = 1.99 (p, 2H) C4 = 3.90 (t, 2H)	C1 = 81.28 (t) C2 = 26.80 (s) C3 = 30.24 (s) C4 = 70.33 (s)	21.94 (t)

Στο σχήμα 3.42 παρουσιάζονται τα αναλυμένα φάσματα ^1H , ^{13}C και ^{31}P -NMR για τον υποκαταστάτη [**L3**]. Στο φάσμα ^1H -NMR εμφανίζεται μόνο μία τριπλή κορυφή στα 1.5 ppm, η οποία οφείλεται στα τρία πρωτόνια της μεθυλομάδας. Στο φάσμα ^{13}C -NMR εμφανίζεται μία απλή κορυφή στα 20 ppm η οποία οφείλεται στον άνθρακα της μεθυλομάδας και μία τριπλή

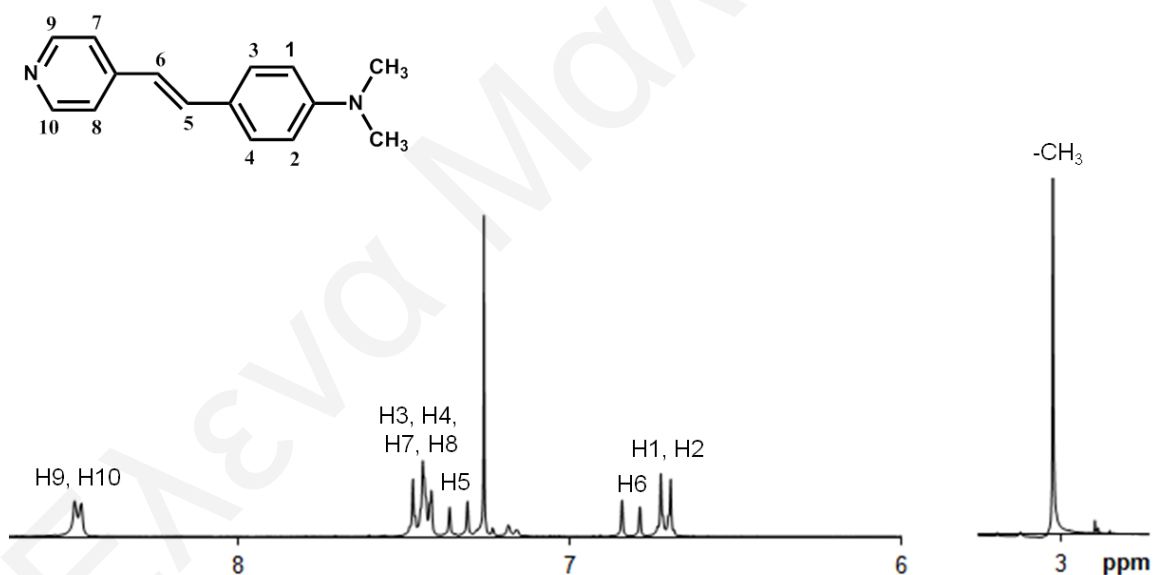
κορυφή στα 71 ppm η οποία οφείλεται στη σγάση του κεντρικού άνθρακα από τους γειτονικούς φωσφόρους. Στο φάσμα ^{31}P -NMR, λόγω του ότι τα άτομα του φωσφόρου βρίσκονται σε πολύ παρόμοιο χημικό περιβάλλον, λαμβάνεται μόνο μία κορυφή στα 22.4 ppm.



Σχήμα 3.42. Φάσματα (α) ^1H -NMR (β) ^{13}C -NMR και (γ) ^{31}P -NMR του υποκαταστάτη [L3].

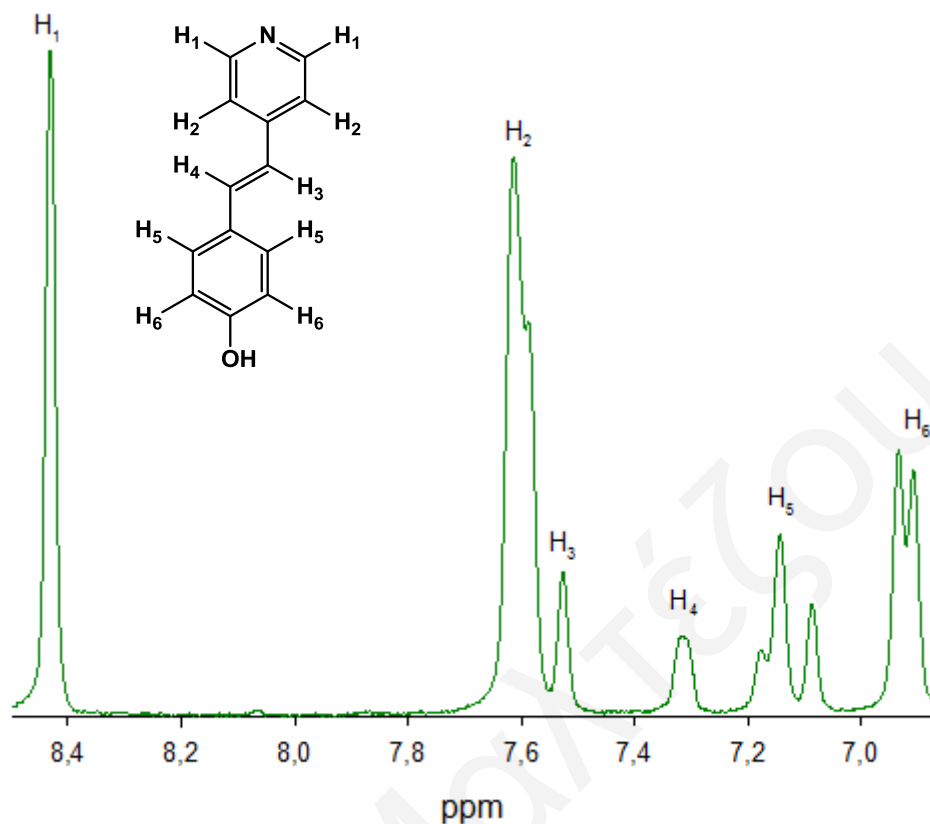
3.6.4 Νέες μεικτές φθορίζουσες μόνο- και δικαρβοξυλικές ενώσεις με τα συστατικά της Βιταμίνης E, τη φαρνεσόλη και τη φυτόλη

Το $^1\text{H-NMR}$ φάσμα του υποκαταστάτη **spy**, [**L8**] σε δευτεριωμένο διαλύτη CDCl_3 , καθώς και η ταυτοποίηση των παρατηρούμενων απορροφήσεων απεικονίζονται στο σχήμα 3.43. Παρατηρείται η εμφάνιση επτά συνολικά απορροφήσεων, οι οποίες αποδίδονται στα επτά μη-χημικά ισοδύναμα πρωτόνια του μορίου. Υπάρχει μία απλή κορυφή στα 3.03 ppm η οποία οφείλεται στην χημική μετατόπιση των έξι μεθυλικών πρωτονίων. Οι χημικές μετατοπίσεις στα 6.70 και 7.44 ppm οφείλονται στη χημική μετατόπιση των τεσσάρων αρωματικών πρωτονίων H1, H2 και H3, H4 αντίστοιχα. Τα δύο πρωτόνια του αιθυλενίου (H5, H6) παρουσιάζουν κορυφές στα 6.81 και 7.33 ppm αντίστοιχα. Υπάρχουν δύο διπλές κορυφές στα 7.42 και 8.48 ppm οι οποίες οφείλονται στη χημική μετατόπιση των πρωτονίων της πυριδίνης H7, H8 και H9, H10 αντίστοιχα.



Σχήμα 3.43. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του υποκαταστάτη **L8** σε διαλύτη CDCl_3 .

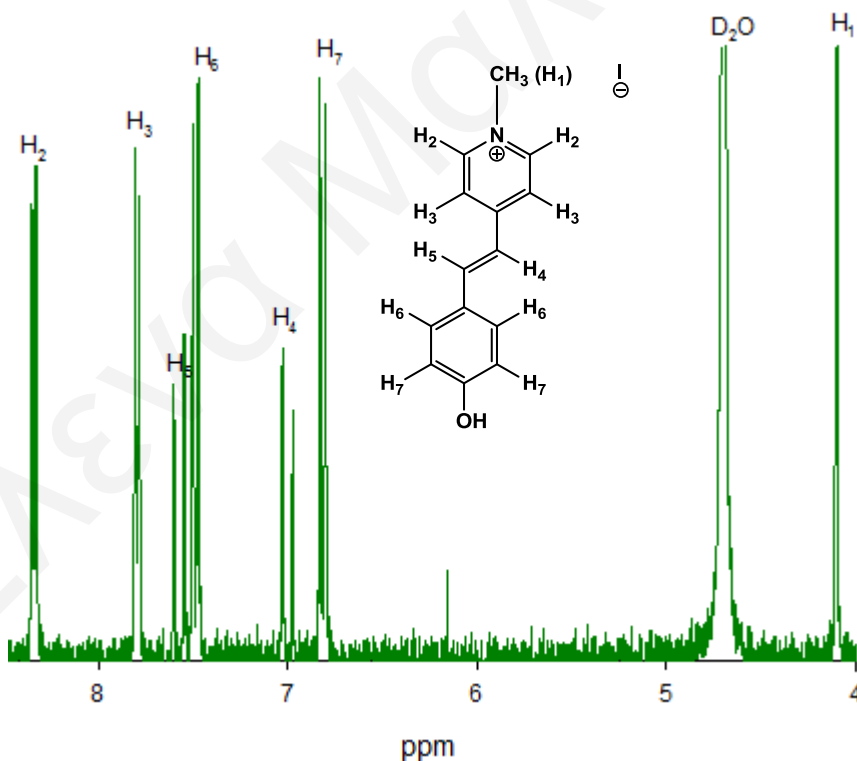
Το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του οργανικού υποκαταστάτη **phspy**, [**L7**] λήφθηκε σε δευτεριωμένο διαλύτη DMSO (σχήμα 3.44).



Σχήμα 3.44. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του υποκαταστάτη **phspy**, [L7] σε DMSO.

Στο πιο πάνω φάσμα του υποκαταστάτη **phspy**, [L7] παρατηρείται η εμφάνιση έξι συνολικά απορροφήσεων, οι οποίες αποδίδονται στα έξι μη-χημικά ισοδύναμα πρωτόνια του μορίου. Και τα έξι πρωτόνια εμφανίζονται σε χαμηλά πεδία (μεγάλα ppm), λόγω της αποπροστασίας τους από τους δύο αρωματικούς δακτυλίους. Συγκεκριμένα, υπάρχει μια κορυφή στα 8.43 ppm (H₁) που οφείλεται στα δύο αρωματικά πρωτόνια του πυριμιδινικού δακτυλίου που βρίσκονται δίπλα στο άζωτο, το οποίο είναι ηλεκτραρνητικό και έχει την τάση να έλκει τα ηλεκτρόνια του δεσμού C-H₁ προς το μέρος του, αποπροστατεύοντας με αυτό τον τρόπο ακόμη περισσότερο τα πρωτόνια H₁. Ακολουθούν τα πρωτόνια H₂ (7.61 ppm), τα οποία είναι λιγότερο αποπροστατευμένα, αφού βρίσκονται πιο μακριά από το ηλεκτραρνητικό άτομο του αζώτου και έτσι εμφανίζονται σε μικρότερα ppm. Τα πρωτόνια H₃ και H₄ εμφανίζονται στα 7.53 ppm και 7.31 ppm αντίστοιχα. Τέλος, τα πρωτόνια H₆ εμφανίζουν μια διπλή κορυφή στα 6.91 ppm και τα H₅ εμφανίζουν μια διπλή κορυφή στα 7.14 ppm.

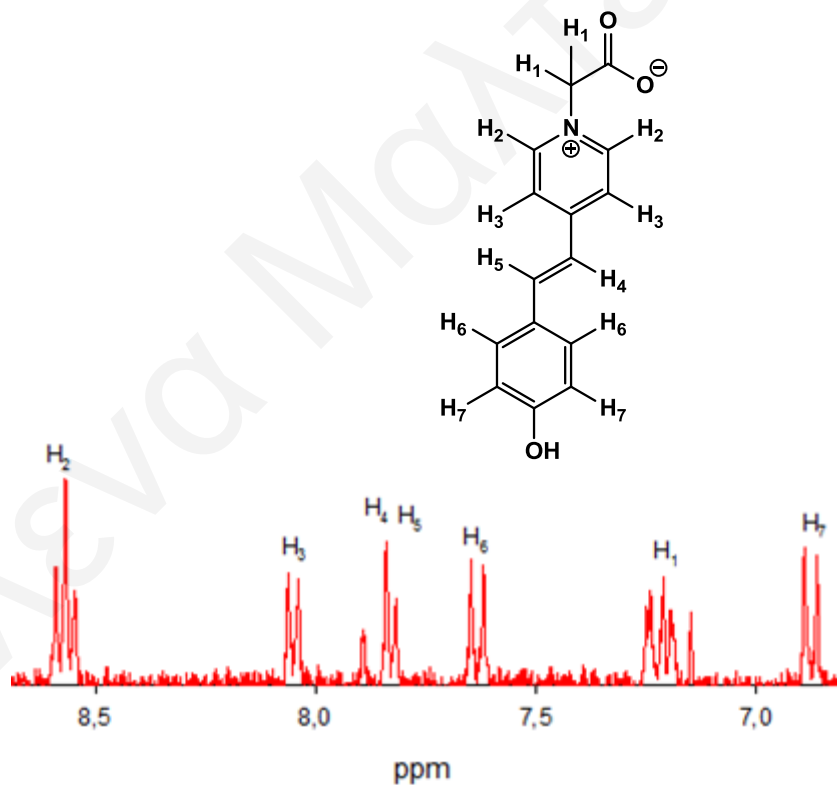
Πιο κάτω (σχήμα 3.45) απεικονίζεται το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ που καταγράφηκε για το οργανικό μόριο **phspyMe**, [L11] σε δευτεριωμένο διαλύτη D_2O . Παρατηρείται η εμφάνιση επτά συνολικά απορροφήσεων, οι οποίες αποδίδονται στα επτά μη-χημικά ισοδύναμα πρωτόνια του μορίου. Έξι πρωτόνια τα οποία εμφανίζονται σε χαμηλά πεδία (μεγάλα ppm), λόγω της αποπροστασίας τους από τους δύο αρωματικούς δακτυλίους. Συγκεκριμένα, υπάρχει μια διπλή κορυφή στα 8.43 ppm (H_2) που οφείλεται στα δύο αρωματικά πρωτόνια του πυριμιδινικού δακτυλίου που βρίσκονται δίπλα στο άζωτο, το οποίο είναι ηλεκτραρνητικό και έχει την τάση να έλκει τα ηλεκτρόνια του δεσμού C-H₂ προς το μέρος του, αποπροστατεύοντας με αυτό τον τρόπο ακόμη περισσότερο τα πρωτόνια H_2 . Ακολουθούν τα πρωτόνια H_3 (7.81 ppm), τα οποία είναι λιγότερο αποπροστατευμένα, αφού βρίσκονται πιο μακριά από το ηλεκτραρνητικό άτομο του αζώτου και έτσι εμφανίζονται σε μικρότερα ppm. Τα πρωτόνια H_4 και H_5 εμφανίζονται στα 7.01 ppm και 7.51 ppm αντίστοιχα. Τέλος, τα τρία ισοδύναμα πρωτόνια του μεθυλίου εμφανίζουν μια απλή κορυφή στα 4.12 ppm.



Σχήμα 3.45. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του οργανικού μορίου **phspyMe**, [L11] σε D_2O .

Στο σχήμα 3.46 απεικονίζεται το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ που καταγράφηκε για το οργανικό μόριο **phspyac**, [L12] σε δευτεριωμένο διαλύτη MeOD . Παρατηρείται η εμφάνιση επτά συνολικά

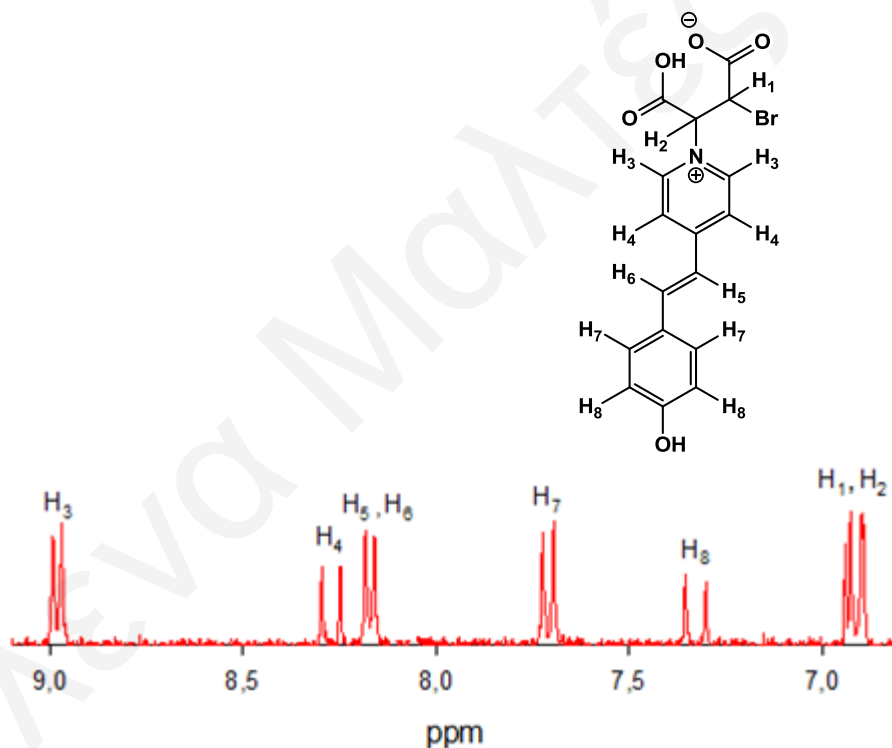
απορροφήσεων, οι οποίες αποδίδονται στα επτά μη-χημικά ισοδύναμα πρωτόνια του μορίου. Και τα επτά πρωτόνια εμφανίζονται σε χαμηλά πεδία (μεγάλα ppm), λόγω της αποπροστασίας τους από τους δύο αρωματικούς δακτυλίους. Συγκεκριμένα, υπάρχει μια κορυφή στα 8.58 ppm (H_2) που οφείλεται στα δύο αρωματικά πρωτόνια του πυριμιδινικού δακτυλίου που βρίσκονται δίπλα στο άζωτο, το οποίο είναι ηλεκτραρνητικό και έχει την τάση να έλκει τα ηλεκτρόνια του δεσμού C-H₂ προς το μέρος του, αποπροστατεύοντας με αυτό τον τρόπο ακόμη περισσότερο τα πρωτόνια H_2 . Ακολουθούν τα πρωτόνια H_3 με μια διπλή κορυφή (8.06 ppm), τα οποία είναι λιγότερο αποπροστατευμένα, αφού βρίσκονται πιο μακριά από το ηλεκτραρνητικό άτομο του αζώτου και έτσι εμφανίζονται σε μικρότερα ppm. Τα πρωτόνια H_4 και H_5 εμφανίζονται στα 7.85 ppm και 7.82 ppm αντίστοιχα. Το πρωτόνιο H_6 παρουσιάζει κορυφή στα 7.62 ppm και το H_7 στα 6.84 ppm. Τέλος, τα δύο πρωτόνια του οξικού οξέως (H_1) εμφανίζουν κορυφή στα 7.22 ppm.



Σχήμα 3.46 Φάσμα ¹H-NMR του phspgac, [L12] σε MeOD.

Το φάσμα ¹H-NMR της ένωσης **brmaleic phspy**, [L16] πάρθηκε σε δευτεριωμένο διαλύτη MeOH. Στο σχήμα 3.47 απεικονίζεται το φάσμα ¹H-NMR που καταγράφηκε για το οργανικό μόριο brmaleic phspy Παρατηρείται η εμφάνιση οκτώ συνολικά απορροφήσεων, οι οποίες αποδίδονται στα οκτώ μη-χημικά ισοδύναμα πρωτόνια του μορίου. Όλα τα πρωτόνια

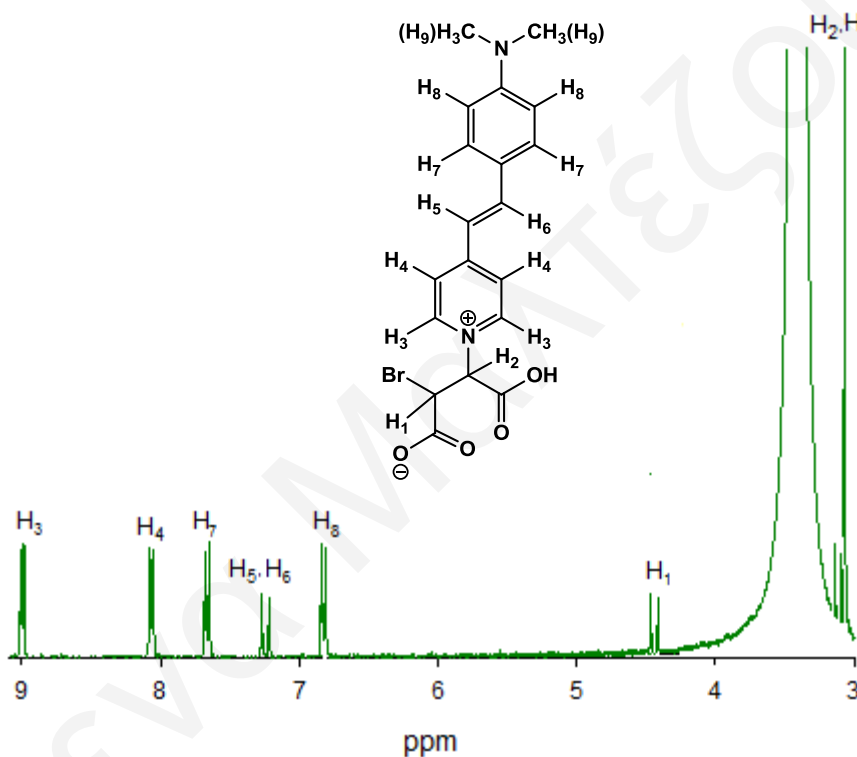
εμφανίζονται σε χαμηλά πεδία (μεγάλα ppm), λόγω της αποπροστασίας τους από τους δύο αρωματικούς δακτυλίους. Συγκεκριμένα, υπάρχει μια διπλή κορυφή στα 9.00 ppm (H_3) που οφείλεται στα δύο αρωματικά πρωτόνια του πυριμιδινικού δακτυλίου που βρίσκονται δίπλα στο άζωτο, το οποίο είναι ηλεκτραρνητικό και έχει την τάση να έλκει τα ηλεκτρόνια του δεσμού C-H₃ προς το μέρος του, αποπροστατεύοντας με αυτό τον τρόπο ακόμη περισσότερο τα πρωτόνια H_3 . Ακολουθούν τα πρωτόνια H_4 (8.28 ppm), τα οποία είναι λιγότερο αποπροστατευμένα, αφού βρίσκονται πιο μακριά από το ηλεκτραρνητικό άτομο του αζώτου και έτσι εμφανίζονται σε μικρότερα ppm. Τα πρωτόνια H_6 και H_5 εμφανίζονται στα 8.19 ppm και τα πρωτόνια H_7 και H_8 εμφανίζουν μια διπλή κορυφή στα 7.71 και 7.38 ppm αντίστοιχα. Τέλος, τα πρωτόνια H_1 και H_2 παρουσιάζει μια τριπλή κορυφή στα 6.89 ppm.



Σχήμα 3.47. Φάσμα ¹H-NMR του **brmaleic phspy**, [L16] σε MeOD.

Στο σχήμα 3.48 παρουσιάζεται το αναλυμένο φάσμα ¹H-NMR που καταγράφηκε για το οργανικό μόριο **brmaleic spy**, [L17] σε δευτεριωμένο διαλύτη DMSO. Παρατηρείται η εμφάνιση εννιά συνολικά απορροφήσεων, οι οποίες αποδίδονται στα εννιά μη-χημικά ισοδύναμα πρωτόνια του μορίου. Και τα εννιά πρωτόνια εμφανίζονται σε χαμηλά πεδία (μεγάλα ppm), λόγω της αποπροστασίας τους από τους δύο αρωματικούς δακτυλίους. Συγκεκριμένα, υπάρχει μια διπλή κορυφή στα 9.00 ppm (H_3) που οφείλεται στα δύο

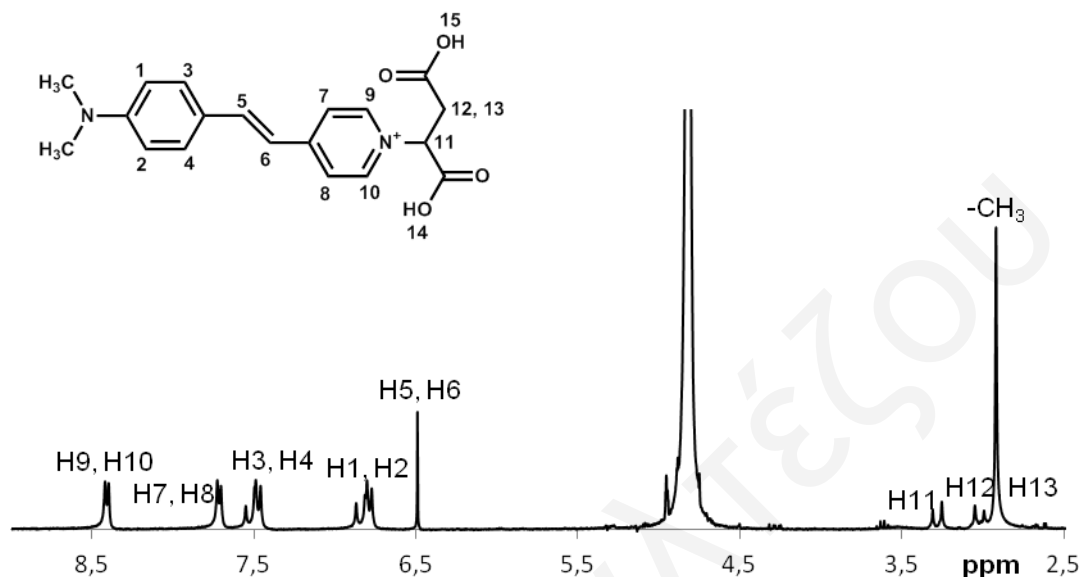
αρωματικά πρωτόνια του πυριμιδινικού δακτυλίου που βρίσκονται δίπλα στο άζωτο, το οποίο είναι ηλεκτραρνητικό και έχει την τάση να έλκει τα ηλεκτρόνια του δεσμού C-H₃ προς το μέρος του, αποπροστατεύοντας με αυτό τον τρόπο ακόμη περισσότερο τα πρωτόνια H₃. Ακολουθούν τα πρωτόνια H₄ (8.12 ppm), τα οποία είναι λιγότερο αποπροστατευμένα, αφού βρίσκονται πιο μακριά από το ηλεκτραρνητικό άτομο του αζώτου και έτσι εμφανίζονται σε μικρότερα ppm. Τα πρωτόνια H₅ και H₆ εμφανίζονται στα 7.31 ppm. Τα έξι μεθυλενικά πρωτόνια (H₉) εμφανίζουν μια απλή κορυφή στα 3.12 ppm. Τέλος, τα πρωτόνια H₁ και H₂ παρουσιάζουν κορυφή στα 4.48 και 3.13 ppm αντίστοιχα.



Σχήμα 3.48. Φάσμα ¹H-NMR του bromaleic spy, [L17] σε DMSO.

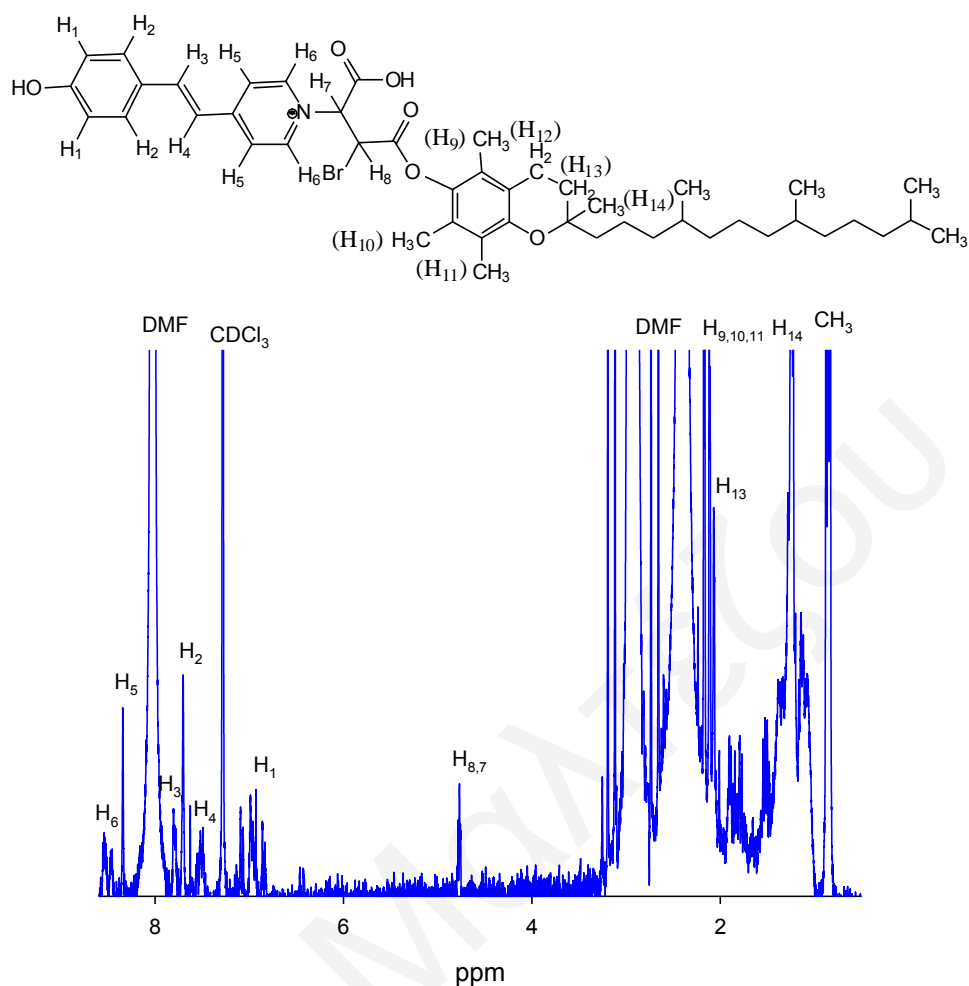
Στο Σχήμα 3.49 παρουσιάζεται το φάσμα ¹H-NMR του δικαρβοξυλικού υποκαταστάτη [L18] σε διαλύτη D₂O/NaOD καθώς και η ταυτοποίηση των παρατηρούμενων απορροφήσεων. Παρατηρείται η εμφάνιση οκτώ συνολικά απορροφήσεων, οι οποίες αποδίδονται στα οκτώ διαφορετικά είδη πρωτονίων της ένωσης. Η απλή κορυφή στα 2.92 ppm οφείλεται στην χημική μετατόπιση των έξι μεθυλικών πρωτονίων. Οι χημικές μετατοπίσεις στα 6.84 και 7.49 ppm οφείλονται στην χημική μετατόπιση των αρωματικών πρωτονίων H₁, H₂ και H₃, H₄ αντίστοιχα. Τα πρωτόνια του αιθυλενίου (H₅, H₆) παρουσιάζουν μία απλή κορυφή στα 6.49 ppm ενώ τα πρωτόνια της πυριδίνης H₇, H₈ και H₉, H₁₀ παρουσιάζουν δύο διπλές κορυφές

στα 7.71 και 8.41 ppm αντίστοιχα. Τα πρωτόνια του διακαρβοξυλικού οξέος (H11, H12, H13) εμφανίζονται στα 3.31 και 3.00 ppm αντίστοιχα.



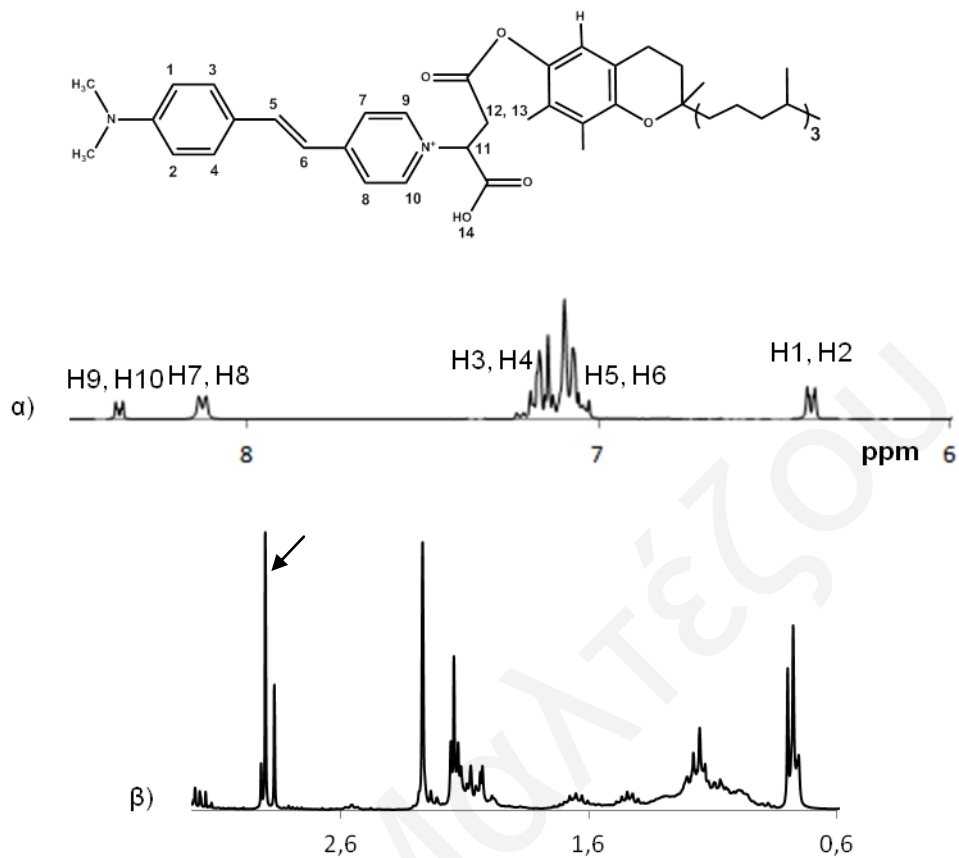
Σχήμα 3.49. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του υποκαταστάτη [L18] σε διαλύτη $\text{D}_2\text{O}/\text{NaOD}$.

Το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του μορίου **phspybrmaleic-a-toc**, [E1] πάρθηκε σε δευτεριωμένο διαλύτη CDCl_3 (Σχήμα 3.50). Παρατηρείται η εμφάνιση δεκαπέντε συνολικά απορροφήσεων, οι οποίες αποδίδονται στα δεκαπέντε μη-χημικά ισοδύναμα πρωτόνια του μορίου. Έξι πρωτόνια, τα οποία εμφανίζονται σε χαμηλά πεδία (μεγάλα ppm), λόγω της αποπροστασίας τους από τους δύο αρωματικούς δακτυλίους. Συγκεκριμένα, υπάρχει μια κορυφή στα 8.04 ppm (H_6) που οφείλεται στα δύο αρωματικά πρωτόνια του πυριμιδινικού δακτυλίου που βρίσκονται δίπλα στο άζωτο, το οποίο είναι ηλεκτραρνητικό και έχει την τάση να έλκει τα ηλεκτρόνια του δεσμού C-H_6 προς το μέρος του, αποπροστατεύοντας με αυτό τον τρόπο ακόμη περισσότερο τα πρωτόνια H_6 . Ακολουθούν τα πρωτόνια H_5 με μια διπλή κορυφή (8.02 ppm). Τα πρωτόνια H_8 και H_7 εμφανίζονται στα 4.79 ppm. Τα πρωτόνια H_2 παρουσιάζει κορυφή στα 7.62 ppm και τα H_1 στα 6.84 ppm. Τέλος, τα πρωτόνια των μεθυλίων εμφανίζουν μια κορυφή στα 0.87 ppm.



Σχήμα 3.50. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του **phspy-brmaleic-a-toc, [E1]** σε CDCl_3 .

Στο Σχήμα 3.51 παρουσιάζεται το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του δικαρβοξυλικού εστέρα της γ-τοκοφερόλης [**E9**] σε διαλύτη CDCl_3 καθώς και η ταυτοποίηση των παρατηρούμενων απορροφήσεων. Λόγω της περιπλοκότητας του φάσματος στο σχήμα 3.50α παρουσιάζεται το δικαρβοξυλικό κομμάτι του εστέρα ενώ στο 3.50β φαίνεται η περιοχή με τις χαρακτηριστικές χημικές μετατοπίσεις της γ-τοκοφερόλης. Οι χημικές μετατοπίσεις στα 6.39 και 7.17 ppm οφείλονται στην χημική μετατόπιση των αρωματικών πρωτονίων H₁, H₂ και H₃, H₄ αντίστοιχα. Τα πρωτόνια του αιθυλενίου (H₅, H₆) παρουσιάζουν μία απλή κορυφή στα 7.09 ppm ενώ τα πρωτόνια της πυριδίνης H₇, H₈ και H₉, H₁₀ παρουσιάζουν δύο διπλές κορυφές στα 8.12 και 8.35 ppm αντίστοιχα. Όπως και στο προηγούμενο φάσμα το πρωτόνιο του διακαρβοξυλικού οξέος (H₁₄) δεν εμφανίζεται λόγω του δευτεριωμένου διαλύτη. Η χημική μετατόπιση των έξι μεθυλικών πρωτονίων (2.89 ppm) φαίνεται στην περιοχή με τις χαρακτηριστικές χημικές μετατοπίσεις της γ-τοκοφερόλης (σχήμα 3.50 β).



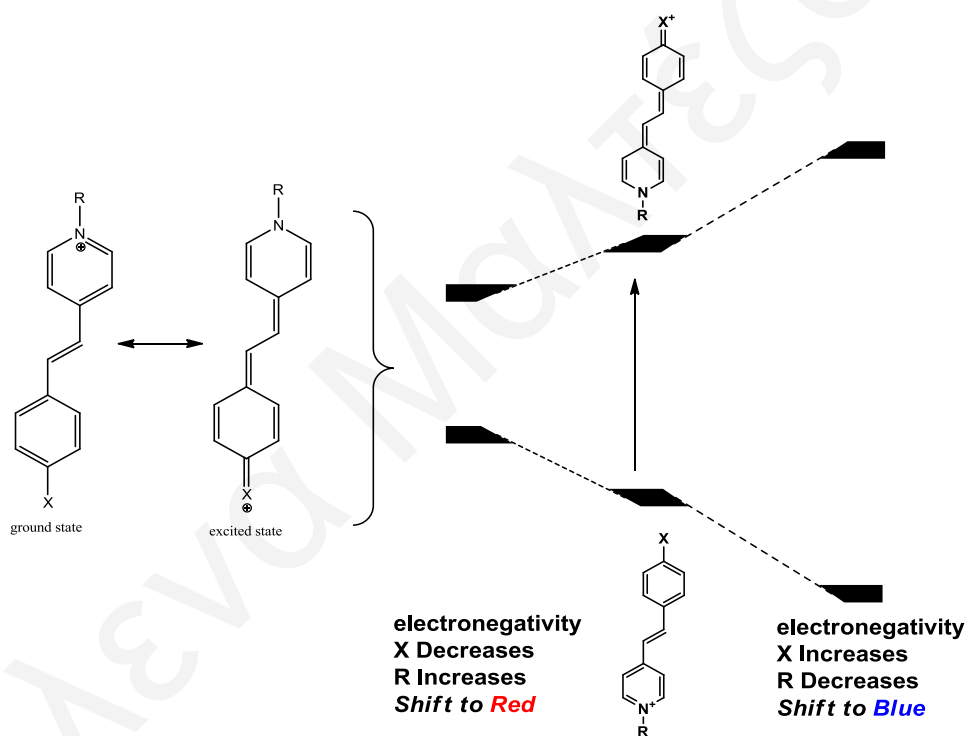
Σχήμα 3.51. Φάσμα ¹H-NMR του δικαρβοξυλικού εστέρα της γ-τοκοφερόλης [E9] σε διαλύτη CDCl₃.

3.7 Φασματοσκοπία Φθορισμού

3.7.1 Νέες μεικτές φθορίζουσες μόνο- και δικαρβοξυλικές ενώσεις με τα συστατικά της Βιταμίνης E, τη φαρνεσόλη και τη φυτόλη

Οι ενώσεις που παρασκευάστηκαν στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκαν περαιτέρω καταγράφοντας τα φάσματα φθορισμού τους. Όλα τα διαλύματα παρασκευάστηκαν σε συγκεντρώσεις $1 \times 10^{-3} \text{M}$, σε θερμοκρασία δωματίου.

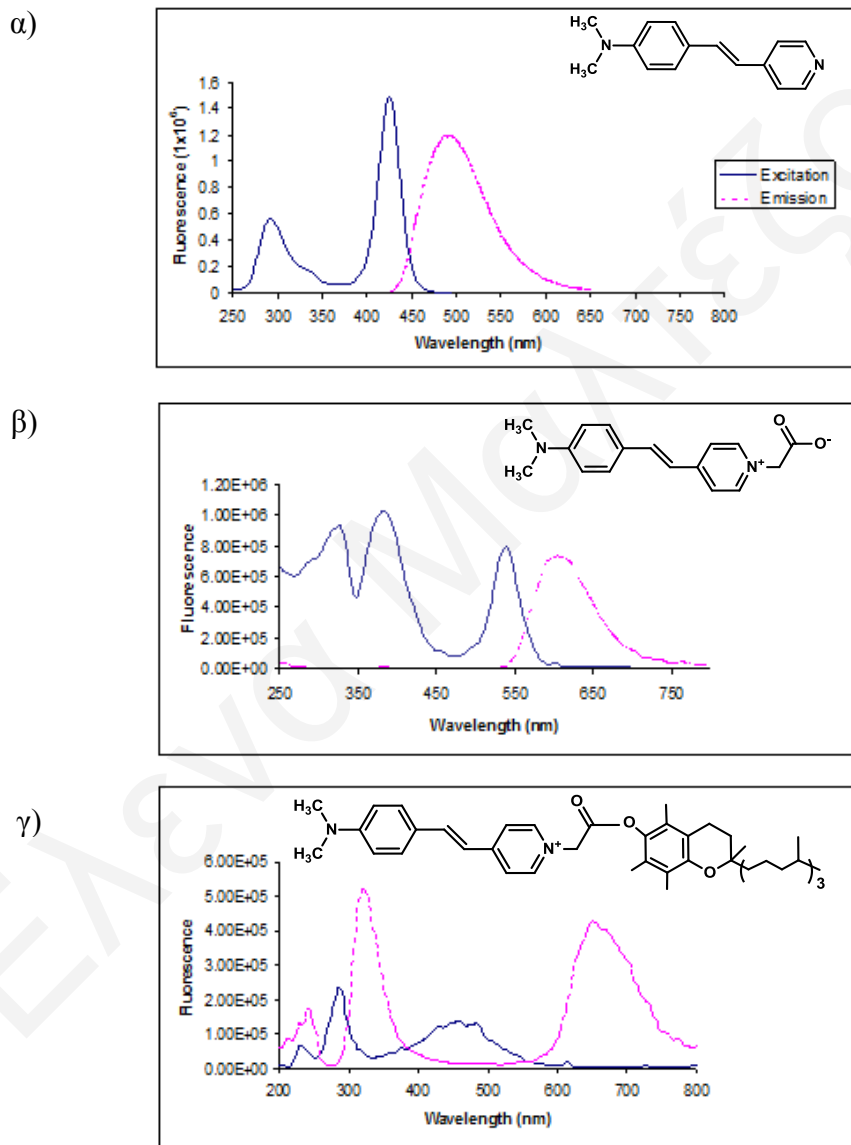
Ο φθορισμός των ενώσεων αυτών οφείλεται στην πιο κάτω μετάπτωση:



Δέκτες ηλεκτρονίων στη θέση R και δότες ηλεκτρονίων στη θέση X σταθεροποιούν ενεργειακά την διεγερμένη κατάσταση και αποσταθεροποιούν την βασική, μειώνοντας το χάσμα ενέργειας μεταξύ της βασικής και διεγερμένης κατάστασης με αποτέλεσμα την μετατόπιση του φάσματος απορρόφησης και εκπομπής σε μεγαλύτερα μήκη κύματος. Η ηλεκτροαρνητικότητα των ομάδων X που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτήν την εργασία μεταβάλλεται με την εξής σειρά $-\text{OH} > -\text{OCH}_3 > -\text{N}(\text{CH}_3)_2$ και αντίστοιχα τα μήκη κύματος

απορρόφησης και εκπομπής για τις ενώσεις **phspy** [L7], **4-MeO spy** [L6], **spy** [L8] όπου R = $-\text{CH}_2\text{COO}^-$ είναι 336.6 & 386.5, 310 & 390, 259.5 & 372 και 428, 470 και 501 nm αντίστοιχα.

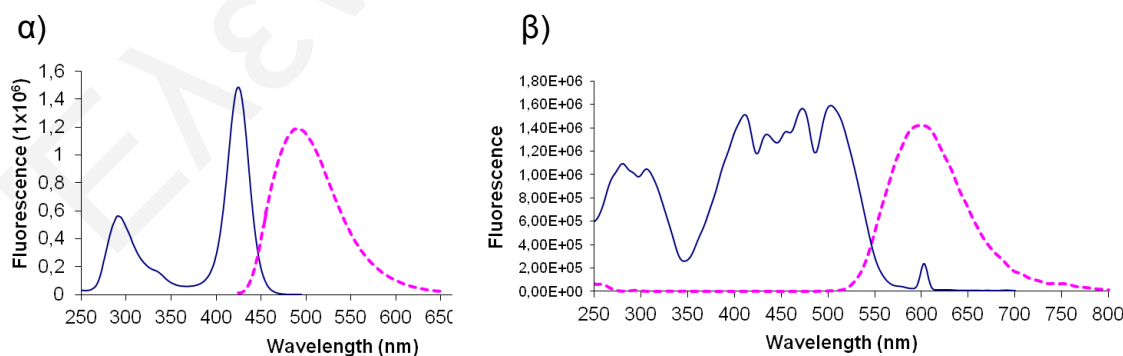
Στην περίπτωση, όπου έχουμε τα παράγωγα των υποκαταστατών που φθορίζουν, ο φθορισμός μετακινείται ακόμη περισσότερο προς το υπέρυθρο, αφού οι καρβοξυλικές ομάδες και ο εστερικός δεσμός έχουν την ιδιότητα να τραβούν ηλεκτρόνια.



Σχήμα 3.52. Φάσματα Απορρόφησης και Εκπομπής των ενώσεων α) [L8], β) [L13] και γ) [E2] αντίστοιχα.

Συγκεκριμένα, στο σχήμα 3.52 παρουσιάζονται αντιπροσωπευτικά τα φάσματα απορρόφησης και εκπομπής των ενώσεων α) [L8], β) [L13] και γ) [E2] αντίστοιχα. Χαρακτηριστικό είναι το γεγονός ότι με προσθήκη της καρβοξυλικής ομάδας και στη συνέχεια του εστερικού δεσμού στο μόριο [L8] παρατηρείται μετατόπιση του μεγίστου εκπομπής από 490 [L8] στα 602.5 [L13] και τέλος στα 650 nm [E2]. Η μετατόπιση από τα 490 στα 602.5 οφείλεται στην προσθήκη της οξικής ομάδας όπου αναπτύσσεται θετικό φορτίο στο πυριδινικό άζωτο. Το αποτέλεσμα είναι η ομάδα αυτή να τραβά ηλεκτρονιακό νέφος αποσταθεροποιώντας τα HOMO τροχιακά. Σε αντίθεση με τις σταθερές Hammett οι οποίες είναι ίδιες για τις καρβοξυλικές και εστερικές ομάδες, η εστερική ομάδα παρουσιάζει μεγαλύτερη ηλεκτροαρνητικότητα από την καρβοξυλική σύμφωνα με τις σ -σταθερές των Brown και Okamoto. Οι σ -σταθερές ηλεκτρονιόφιλης υποκατάστασης είναι μεγαλύτερες για τις εστερικές ομάδες $-C(O)OMe$ (0.368, 0.489) συγκριτικά με τις καρβοξυλικές ομάδες $-COOH$ (0.322, 0.421) δείχνοντας ότι οι εστέρες είναι ηλεκτροαρνητικότεροι. Στο φάσμα εκπομπής της ένωσης [E2] παρατηρούνται δύο κορυφές στα ~ 330 και ~ 605 nm οι οποίες οφείλονται στο φθορισμό του εστεροποιημένου παραγώγου της α -τοκοφερόλης.

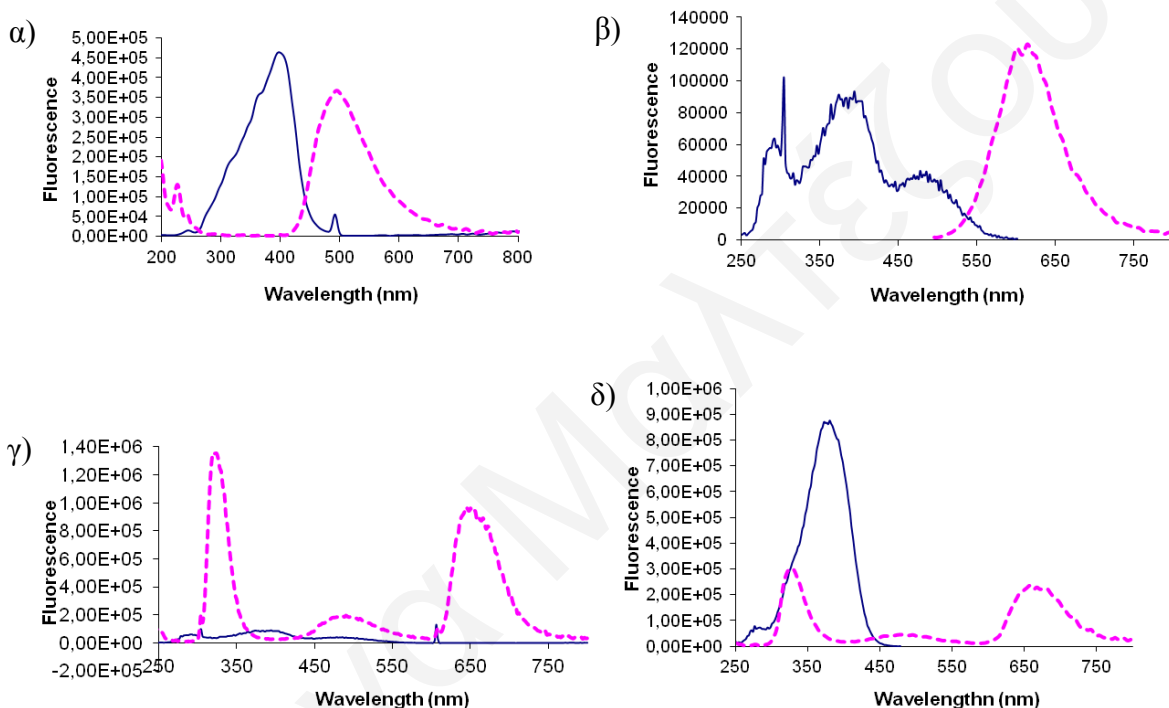
Παρόμοια συμπεριφορά παρατηρήθηκε και στα φάσματα φθορισμού του δικαρβοξυλικού υποκαταστάτη [L18] (Σχήμα 3.53). Συγκεκριμένα, το μέγιστο εκπομπής (~ 500 nm) που παρουσιάζει το φάσμα του πρόδρομου μορίου [L8] μετατοπίζεται στο [L18] σε μεγαλύτερο μήκος κύματος (~ 600 nm) όπως φαίνεται στο φάσμα εκπομπής του δικαρβοξυλικού μορίου [L18].



Σχήμα 3.53. Φάσματα Απορρόφησης και Εκπομπής των ενώσεων α) [L8] και β) [L18] αντίστοιχα.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει ο φθορισμός στα φάσματα απορρόφησης και εκπομπής των δικαρβοξυλικών εστέρων της α) α -τοκοφερόλης [E8], β) γ -τοκοφερόλης [E9], δ -τοκοφερόλης

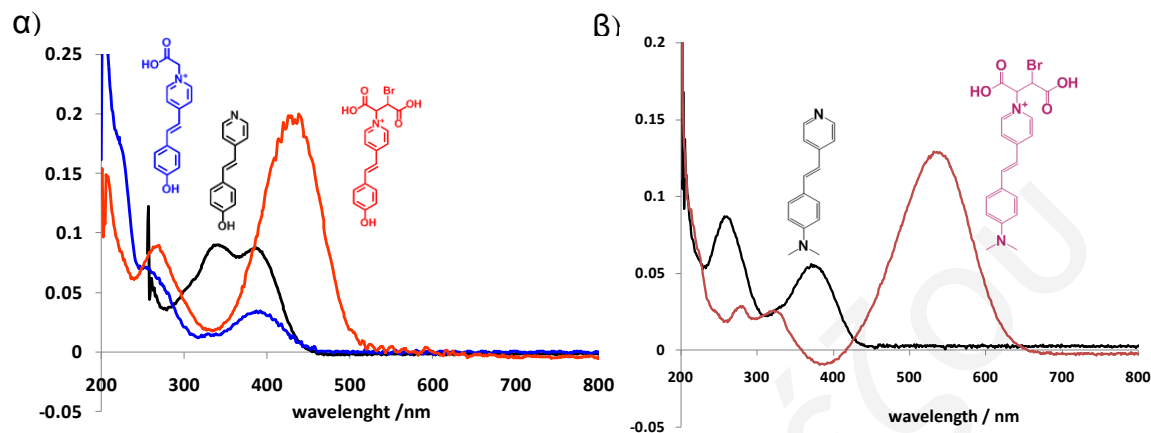
[E10] και γ) γ-τοκοτριενόλης [E11] αντίστοιχα (Σχήμα 3.54). Η μετατόπιση του μεγίστου εκπομπής των εστέρων [E8-E11] σε μεγαλύτερα μήκη κύματος (492.5 (α) 616 (β), 606 (γ), 670 (γ) nm) σε σχέση με το δικαρβοξυλικό υποκαταστάτη [L8] (~500 nm), φαίνεται να επιβεβαιώνει την επιλογή των ενώσεων αυτών στο να λειτουργήσουν σαν δείκτες παρακολούθησης σε βιολογικά συστήματα. Η εκπομπή των ενώσεων αυτών στην περιοχή του κοντινού υπερύθρου αναμένεται να βελτιώσει την ικανότητα διείσδυσης τους εντός των ιστών.



Σχήμα 3.54. Φάσματα Απορρόφησης και Εκπομπής των δικαρβοξυλικών εστέρων της α) α-τοκοφερόλης [E8], β) γ-τοκοφερόλης [E9], γ) δ-τοκοφερόλης [E10] και δ) γ-τοκοτριενόλης [E11] αντίστοιχα.

Πιο κάτω (Σχήμα 3.55α) φαίνονται τα φάσματα απορρόφησης των υποκαταστατών **phspsy** [L7], **phspsyac** [L12] και **brmaleic phspsy** [L16]. Το ελεύθερο **phspsy** εμφάνισε δύο κορυφές απορρόφησης στα 336.6 nm και 386.5 nm, ενώ το **phspsyac** εμφάνισε δύο κορυφές απορρόφησης στα 259 nm, 392.4 nm και ένα ώμο στα 221.4 nm. Το μόριο **brmaleic phspsy** εμφάνισε δύο κορυφές απορρόφησης στα 265.5 nm και 438.9 nm. Το τελευταίο μόριο απορροφά σε μεγαλύτερο μήκος κύματος από όλα τα υπόλοιπα μόρια. Αυτό οφείλεται στην αύξηση της ηλεκτροαρνητικότητας του υποκαταστάτη με την προσθήκη του

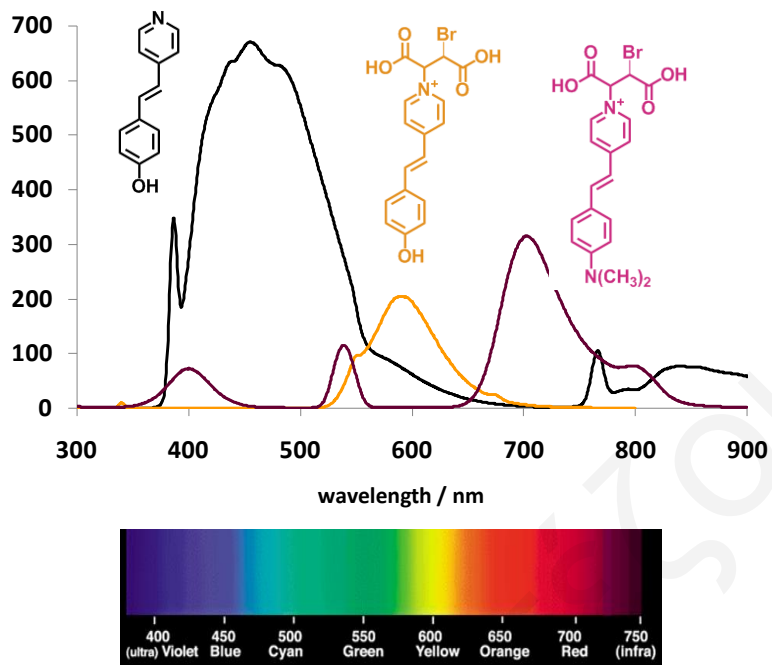
ηλεκτροαρνητικότερου Br στην ομάδα R με αποτέλεσμα τη σταθεροποίηση της διεγερμένης κατάστασης και μείωση του χάσματος ενέργειας μεταξύ της διεγερμένης και βασικής κατάστασης.



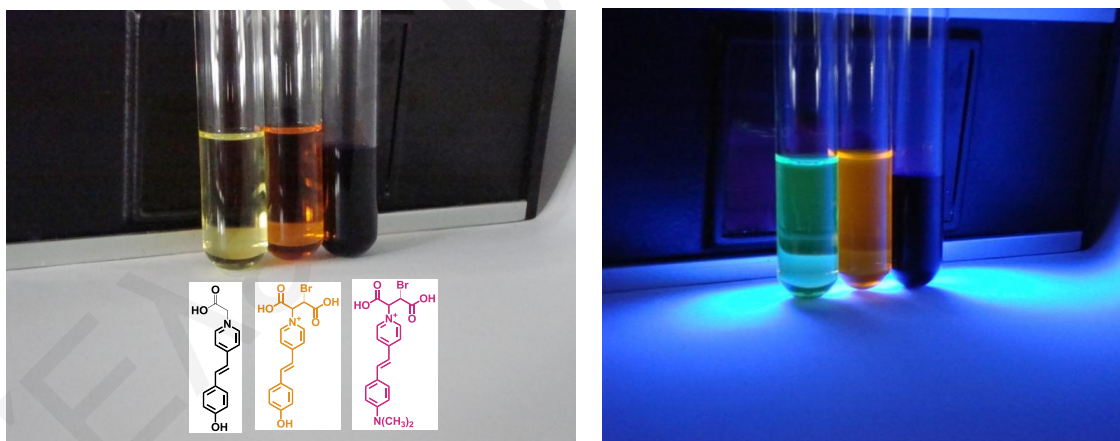
Σχήμα 3.55. Φάσματα Απορρόφησης UV-Vis των ενώσεων α) [L12] (βιολετί), [L7] (μαύρο), [L16] (κόκκινο) και β) [L8] (μαύρο), [L17] (κόκκινο) σε μεθανόλη συγκέντρωσης 1×10^{-5} M.

Η επιβεβαίωση της καταλληλότητας των ενώσεων αυτών ως δείκτες σε βιολογικά συστήματα δόθηκε από τα αποτελέσματα των φασμάτων εκπομπής (Σχήμα 3.56). Η κορυφή μετατοπίζεται από τα 386.5 nm (**phspy** [L7]) στα 438.9 nm (**brmaleic phspy** [L16]) και μετά στα 702.0 nm (**brmaleic spy** [L17]), άρα η εκπομπή μετατοπίστηκε στο εγγύς υπέρυθρο (Σχήμα 3.57).

Το αποτέλεσμα που εξάγεται από τα πιο πάνω είναι πως μικρές τροποποιήσεις των μορίων μπορούν να επιφέρουν σημαντικές μεταβολές στο φθορισμό, χωρίς να αυξηθεί το μέγεθος τους αλλά η σταθερότητά τους.



Σχήμα 3.56. Φάσματα Εκπομπής των ενώσεων [L7] (μαύρο), [L16] (πορτοκαλί) και [L17] (μωβ).



Σχήμα 3.57. Οι ενώσεις [L7] (μαύρο), [L16] (πορτοκαλί) και [L17] (μωβ) οπτικά κάτω από μαύρο φως.

3.8 Κινητική μελέτη

Η αντιοξειδωτική ικανότητα των νέων μεικτών φθορίζοντων εστέρων που παρασκευάστηκαν καθώς και των αρχικών ενώσεων πραγματοποιήθηκε με προσδιορισμό της ταχύτητας των αντιδράσεων αναστολής ριζών με DPPH•.^[162-164] Οι σταθερές ταχύτητας δευτέρας τάξεως (k_2) για την εξουδετέρωση του DPPH• παρατίθενται Στον πίνακα 3.3.

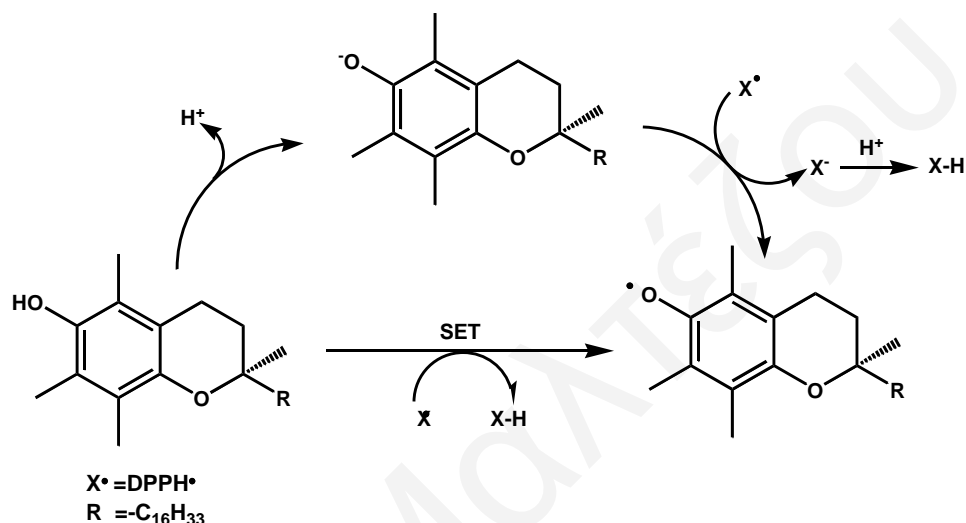
Πίνακας 3.3. Οι σταθερές ταχύτητας δευτέρας τάξεως (k_2) της αντίδρασης της DPPH• (136.5 μM) με τους εξουδετερωτές ριζών (60-300 μM) σε μεθανόλη στους 25 °C. Η τυπική απόκλιση δίνεται σε παρένθεση.

Ένωση	k_2^a ($\times 10^{-6} \mu\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)
α -toc	18.17 (0.075)
γ -toc	14.67 (0.299)
δ -toc	9.00 (0.20)
γ -tot	14.67 (0.068)
phytol	0.083 (0.003)
farnesol	0.167 (0.004)
α -toc-4-dsp dicarbe [E8]	0.919 (0.005)
γ -toc-4-dsp dicarbe [E9]	3.83 (0.08)
δ -toc-4-dsp dicarbe [E10]	1.01 (0.10)
γ -tot-4-dsp dicarbe [E11]	6.73 (0.04)
phyt-4-dsp dicarbe [E12]	0.052 (0.007)
farn-4-dsp dicarbe [E13]	0.123 (0.011)
α -toc-4-4-dsq dicarbe [E14] (<i>para</i>)	1.06 (0.08)
α -toc-2-4-dsq dicarbe [E16] (<i>ortho</i>)	1.50 (0.15)
α -toc-4-dsp carbe [E2]	0.683 (0.008)
γ -toc-4-dsp carbe [E3]	1.02 (0.13)
δ -toc-4-dsp carbe [E4]	0.514 (0.005)
phyt-4-dsp carbe [E6]	0.067 (0.008)
farn-4-dsp carbe [E7]	0.117 (0.008)
α -toc-2-4-dsq carbe [E15] (<i>ortho</i>)	0.562 (0.013)

^aΥπολογίστηκε από τις κλίσεις των γραφημάτων, ταχύτητας ψευδοπρώτης τάξεως k_{obsd} ως προς τη συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών. Οι συγκεντρώσεις υπολογίστηκαν από την απορρόφηση στα 515 nm

3.8.1 Ικανότητα αναστολής της ρίζα DPPH•

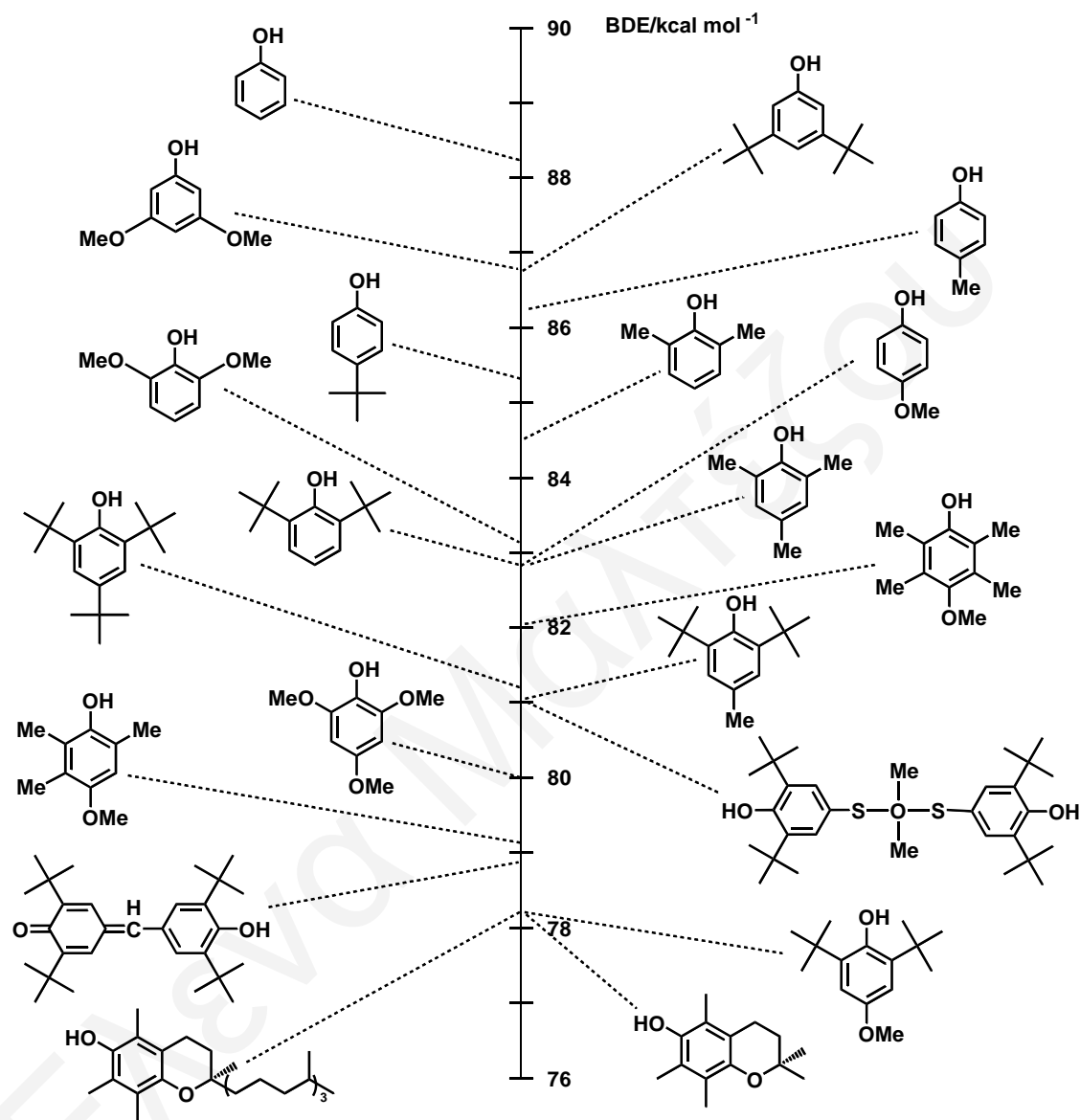
Η βιταμίνη E, όπως έχει ήδη αναφερθεί, είναι ένα μείγμα λιπόφιλων αντιοξειδωτικών το οποίο προστατεύει τους ζωντανούς οργανισμούς από τη λιπιδική υπεροξειδωση, που οδηγεί στην ανάπτυξη καρκίνου. Υπάρχει μία πληθώρα βιβλιογραφικών αναφορών σχετικά με τη μεταφορά του πρωτονίου από τη λειτουργική περιοχή της α-toc στο κέντρο της ελεύθερης ρίζας (Σχήμα 3.58).^[165]



Σχήμα 3.58. Πιθανοί μηχανισμοί μεταφοράς πρωτονίου από τη λειτουργική μονάδα της α-toc στην ελεύθερη ρίζα.

Το ισχυρότερο συστατικό του μείγματος, όσον αφορά στην αναστολή ελευθέρων ριζών, αποτελεί η α-toc (Πίνακας 3.3). Αυτό φαίνεται να οφείλεται σε στερεοηλεκτρονικούς παράγοντες που προσδίδουν εξαιρετική σταθεροποίηση στη ρίζα της α-toc. Αρκετοί ερευνητές έχουν δείξει ότι ο αριθμός και η φύση των υποκαταστατών στο φαινολικό δακτύλιο επηρεάζουν την ισχύ του δεσμού ArO-H.^[166-169] Συγκεκριμένα, η ενέργεια διάσπασης (BDE) του δεσμού O-H έχει βρέθει να μειώνεται με τη μετάβαση από τη φαινόλη στην α-toc (Σχήμα 3.58). Οι υποκαταστάτες που παρατίθενται στο Σχήμα 3.59 βρέθηκαν να μειώνουν την BDE και συνεπώς την ισχύ του δεσμού O-H είτε αποσταθεροποιώντας τη φαινόλη είτε σταθεροποιώντας τη ρίζα φαινοξειδίου σαν αποτέλεσμα ηλεκτρονιακών και στερεικών παραγόντων. Οι όρθο-υποκατεστημένες φαινόλες αποσταθεροποιούνται από στερεικές παρεμποδίσεις μεταξύ της υδροξυλομάδας και των υποκαταστατών με αποτέλεσμα να παρουσιάζουν μικρότερη BDE συγκριτικά με τις μέτα- και πάρα- υποκατεστημένες.^[169] Από

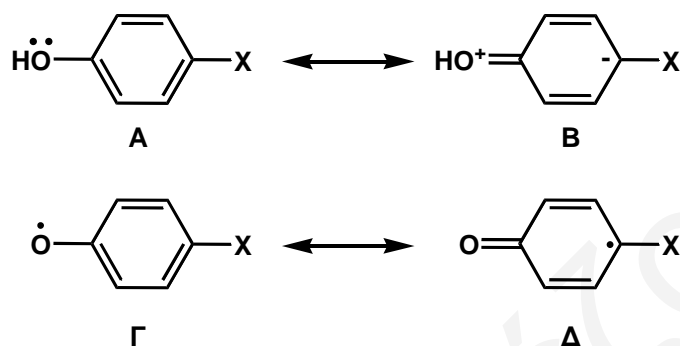
αυτό δικαιολογείται και η μεγαλύτερη δραστηριότητα της α-toc, συγκριτικά με τις γ-toc και γ-tot.



Σχήμα 3.59: Πειραματικές τιμές ενεργειών διάσπασης δεσμών O-H (BDE) για υποκατεστημένες φαινόλες^[17].

Οι ηλεκτρονιακοί παράγοντες είναι επίσης σημαντικοί για τον προσδιορισμό της ισχύος του δεσμού O-H σε φαινόλες με υποκαταστάτες οι οποίοι συζεύγγονται με το αρωματικό σύστημα. Έτσι, υποκαταστάτες δότες ηλεκτρονίων, όπως είναι η μέθοξυ ομάδα στη χρωμανόλη, μειώνουν την ισχύ του δεσμού O-H αποσταθεροποιώντας τη φαινόλη (Σχήμα 3.60, δομή B) και σταθεροποιώντας τη ρίζα φαινοξειδίου (Σχήμα 3.60, δομή Δ). Συνεπώς, η

μεγαλύτερη ικανότητα αναστολής του DPPH• που παρουσιάζουν τα συστατικά της βιταμίνης Ε συγκριτικά με την φυτόλη και φαρνεσόλη Πίνακας 3.3) αποδίδονται στους ηλεκτρονιακούς παράγοντες που σταθεροποιούν τη ρίζα της χρωμανόλης συγκριτικά με τη ρίζα της φυτόλης και της φαρνεσόλης.



Σχήμα 3.60. Επίδραση υποκαταστατών στη σταθεροποίηση των φαινολών.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του Πίνακα 3.3, οι ελεύθερες τοκοφερόλες, τοκοτριενόλη, φυτόλη και φαρνεσόλη είναι δραστικότεροι αναστολείς ελευθέρων ριζών από τις εστεροποιημένες, δηλαδή παρουσιάζουν ισχυρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα *in vitro*. Αυτό ήταν αναμενόμενο αφού στις υποκατεστημένες ενώσεις το δραστικό αντιοξειδωτικό άκρο είναι «μπλοκαρισμένο» λόγω σχηματισμού του εστερικού δεσμού.

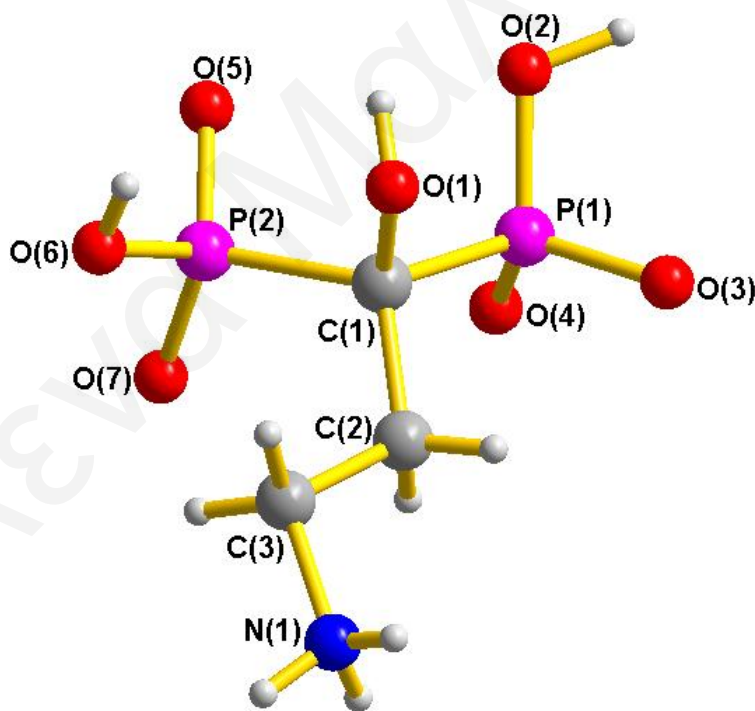
Το γεγονός ότι η εστεροποίηση δεν καταστέλλει εντελώς την αντιοξειδωτική ικανότητα αποδίδεται στο μηχανισμό μεταφοράς ενός ηλεκτρονίου (single electron transferring, SET, Σχήμα 3.58). Κατά το μηχανισμό αυτό, το ηλεκτρόνιο μεταφέρεται γρήγορα από το οξυγόνο της χρωμανόλης, της φαινόλης ή της αλειφατικής αλυσίδας στο DPPH• και ακολουθεί διάσπαση του εστερικού δεσμού.^[113] Οι διαφορές στους ρυθμούς αναστολής ριζών μεταξύ ελεύθερων και εστεροποιημένων ενώσεων αποδίδονται στην σταθερότητα του C-O εστερικού δεσμού συγκριτικά με την αστάθεια του δεσμού O-H.

3.9 Κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ

Ο προσδιορισμός της απόλυτης δομής των διφωσφονικών συμπλόκων στη στερεή κατάσταση, για τις περιπτώσεις όπου απομόνωθηκαν μονοκρύσταλλοι, πραγματοποιήθηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ.

3.9.1 Κρυσταλλικές δομές των διφωσφονικών υποκαταστατών L1 και L2 σε όξινη συνθήκες (pH 1.2)

Η κρυσταλλική δομή του οργανικού μορίου **H₄L1** απεικονίζεται στο σχήμα 3.61. Στον πίνακα 3.4 δίνονται συγκεντρωτικά τα κρυσταλλογραφικά και πειραματικά δεδομένα του υποκαταστάτη που αφορούν την επίλυση της μοριακής δομής του και στον πίνακα 3.5 τα επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού.



Σχήμα 3.61. Κρυσταλλική δομή του υποκαταστάτη **H₄L1** που απομονώνεται στην περιοχή pH 1.2. Κρυσταλλικό σύστημα: Μονοκλινές. Ομάδα χώρου: $P2_1$. Μοναδιαία κυψελίδα: a 6.6147(2); b 9.9122(3); c 6.9166(2) Å, $\alpha=90.00$; $\beta=110.637(4)$; $\gamma=90.00^\circ$.

Πίνακας 3.4. Κρυσταλλογραφικά δεδομένα των ενώσεων **H₄L1** και **H₄L2**.^{α,β}

Ένωση	H ₄ L1	H ₄ L2
Εμπειρικός τύπος	C ₃ H ₁₁ NO ₇ P ₂	C ₈ H ₂₉ N ₂ O ₁₆ P ₄
Μοριακό βάρος	234.06	533.21
T (K)	100	100
λ (Å)	0.71073	0.71073
Κρυσταλλικό σύστημα	Μονοκλινές	Μονοκλινές
Ομάδα χώρου	P2 ₁	P2 ₁ /n
a (Å)	6.6147(2)	13.4506(3)
b (Å)	9.9122(3)	10.3000(2)
c (Å)	6.9166(2)	14.6517(3)
α (°)	90.00	90.00
β (°)	110.637(4)	98.233(2)
γ (°)	90.00	90.00
V (Å ³)	424.40(2)	2008.94(7)
Z	2	4
D _c (g/cm ³)	1.832	1.763
abs coeff (cm ⁻¹)	0.522	0.460
F(000)	242	1116
θ περιοχή συλλογής δεδομένων (°)	3.15-28.81	3.44-28.85
Περιοχή δεικτών Miller (h,k,l)	-5 ≤ h ≤ 8 -11 ≤ k ≤ 13 -9 ≤ l ≤ 8	-9 ≤ h ≤ 18 -13 ≤ k ≤ 13 -19 ≤ l ≤ 19
Αριθμός Ανακλάσεων (σύνολο/ανεξάρτητες)	2823/1830	17803/4819
R _{int}	0.0227	0.0276
Δεδομένα/παράμετροι	1830/1/134	4819/0/339
GOF (με βάση F ²)	1.048	1.025
a, b (σχέση μάζας/w)	0.0533, 0.0371	0.0437, 0.8645
Τελικές ενδείξεις R/R _w [I > 2σ(I)]	0.0315/0.0825	0.0290/0.0818
Τελικές ενδείξεις R/R _w (συνολικά δεδομένα)	0.0329/0.0834	0.0404/0.0861
Μέγιστο/ελάχιστο Δρ ανάκλασης (eÅ ⁻³)	0.494/-0.442	0.500/-0.399

^α $R = \frac{\sum ||F_o| - |F_c||}{\sum |F_o|}$, $wR = \frac{[\sum w(|F_o|^2 - |F_c|^2)]}{\sum w|F_o|^2}]^{1/2}$, $GOF = \frac{[\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2]}{(n - p)]^{1/2}$, $w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (aP)^2 + bP]$, όπου $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$.

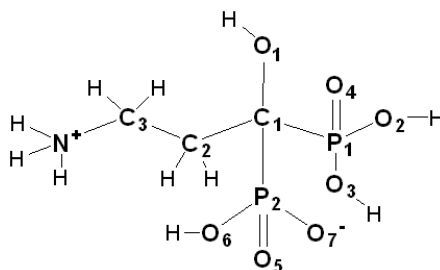
^βΠηγή MoK\α.

Πίνακας 3.5. Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού για την ένωση **H₄L1** στους 100 K με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις.

H₄L1	
P(2)-O(5)	1.506(2)
P(2)-O(7)	1.5147(17)
P(2)-O(6)	1.5691(18)
P(2)-C(1)	1.847(3)
P(1)-O(4)	1.486(2)
P(1)-O(2)	1.554(2)
P(1)-O(3)	1.559(2)
P(1)-C(1)	1.841(3)
O(1)-C(1)	1.441(3)
C(1)-C(2)	1.543(4)
N(1)-C(3)	1.496(3)
C(2)-C(3)	1.529(3)

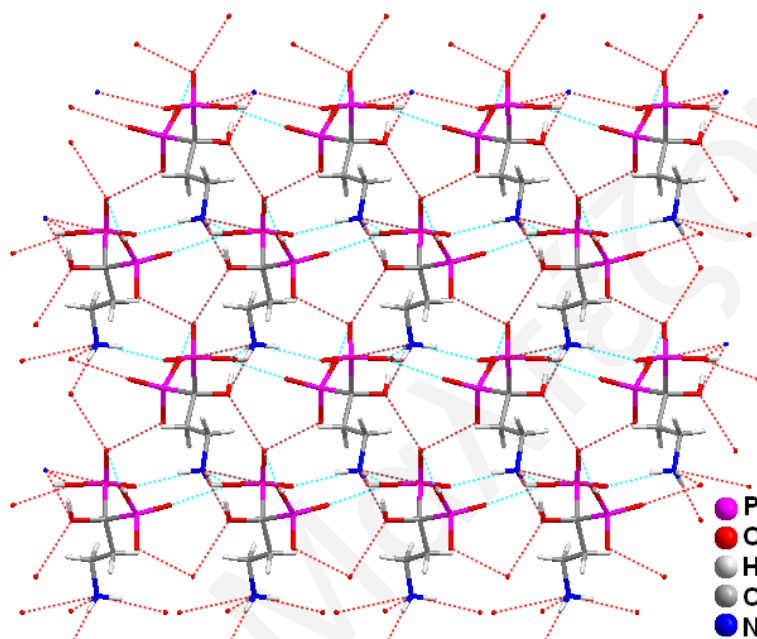
Μετασχηματισμοί συμμετρίας: (1) $x,y,z+1$ (2) $-x+1,y+1/2,-z+2$ (3) $-x+1,y-1/2,-z+2$ (4) $x,y,z-1$

Η κρυσταλλική δομή του οργανικού υποκαταστάτη **H₄L1** (σχήμα 3.62) απομονώθηκε σε pH 1.2 και λόγω των όξινων συνθηκών το αμινικό άτομο αζώτου (N(1)) είναι πρωτονιωμένο. Με βάση τα μήκη δεσμών P-O των φωσφονικών ομάδων μπορεί να ταυτοποιηθεί το είδος δεσμού (P-OH, P=O, P-O⁻). Τα μήκη δεσμών P(1)-O(4) και P(2)-O(5) τα οποία είναι 1.486(2) και 1.506(2) Å αντίστοιχα υποστηρίζουν διπλό δεσμό των ατόμων οξυγόνου με τα άτομα του φωσφόρου. Τα μήκη δεσμών που κυμαίνονται από 1.554(2)-1.569(2) Å υποστηρίζουν πρωτονιωμένα άτομα οξυγόνου (O(2), O(3) και O(6)). Το ενδιάμεσο μήκος δεσμού (P(2)-O(7)) 1.515(2) Å υποστηρίζει ένα αποπρωτονιωμένο άτομο οξυγόνου (O(7)) σε μία φωσφονική ομάδα, το οποίο αντισταθμίζει το θετικό φορτίο του αμινικού ατόμου αζώτου του οργανικού μορίου. Με βάση την ταυτοποίηση για τα συγκεκριμένα μήκη δεσμού στο σχήμα 3.61 απεικονίζεται η μοριακή δομή του υποκαταστάτη.



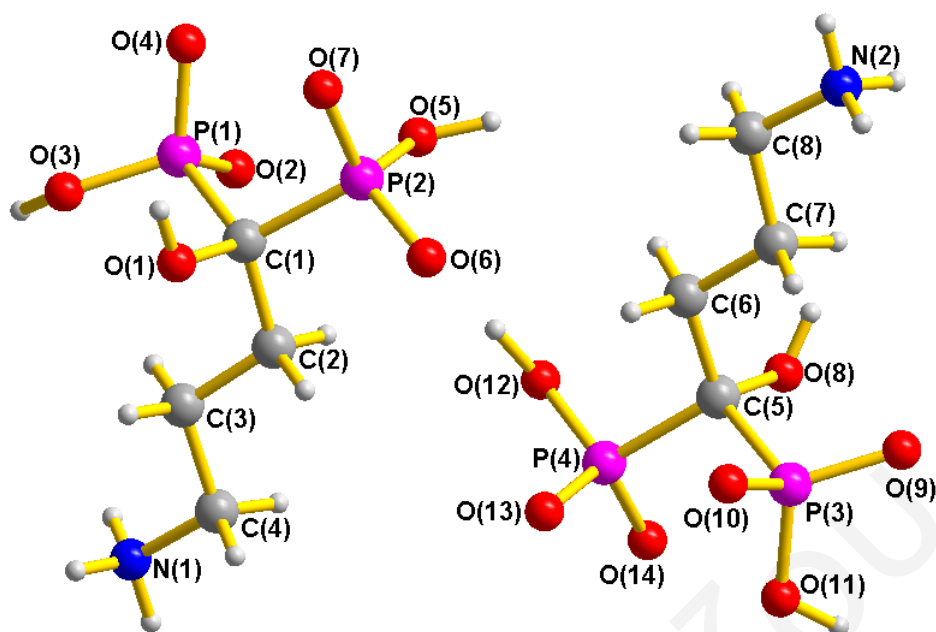
Σχήμα 3.62. Σχηματική απεικόνιση της μοριακής δομής του οργανικού μορίου **H₄L1**.

Στην όξινη περιοχή pH που απομονώθηκε το μόριο αναπτύσσονται διαμοριακές δυνάμεις δεσμών υδρογόνου μεταξύ του αμινικού ατόμου αζώτου (N(1)) με το αποπρωτονιωμένο άτομο οξυγόνου (O(7)). Το αμινικό άτομο αζώτου αλληλεπιδρά επιπλέον μέσω δεσμών υδρογόνου με την υδροξυλομάδα (O(1)) του οργανικού μορίου και τις υδροξυλομάδες των φωσφονικών ομάδων. Οι αλληλεπιδράσεις των δεσμών υδρογόνου μεταξύ των οργανικών μορίων οδηγούν στο σχηματισμό δισδιάστατης αλυσίδας κατά μήκος του *c* κρυσταλλογραφικού άξονα (σχήμα 3.63).



Σχήμα 3.63. Διάταξη των μορίων στο χώρο κατά μήκος του *c* κρυσταλλογραφικού άξονα όπου σχηματίζεται δισδιάστατη αλυσίδα.

Η κρυσταλλική δομή του οργανικού μορίου **H₄L2** απεικονίζεται στο σχήμα 3.64. Στον πίνακα 3.4 δίνονται συγκεντρωτικά τα κρυσταλλογραφικά και πειραματικά δεδομένα που αφορούν την επίλυση της δομής του υποκαταστάτη και στον πίνακα 3.6 επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού. Στο κρυσταλλικό πλέγμα του μορίου συγκρυσταλλώνονται δύο υποκαταστάτες **H₄L2** και δύο μόρια νερού.



Σχήμα 3.64. Κρυσταλλική δομή του υποκαταστάτη H_4L2 που απομονώθηκε στο pH 1.2. Κρυσταλλικό σύστημα: Μονοκλινές. Ομάδα χώρου: $P2_1/n$. Μοναδιαία κυψελίδα: a 13.4506(3); b 10.3000(2); c 14.6517(3) Å, $\alpha=90.00$; $\beta=98.233(2)$; $\gamma=90.00^\circ$.

Πίνακας 3.6. Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού για την ένωση H_4L2 στους 100 K με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις.

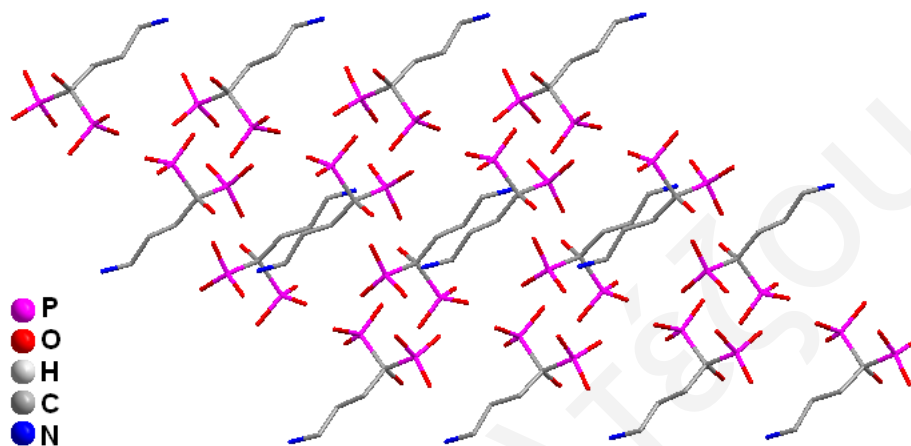
H_4L2			
P(2)-O(6)	1.5059(12)	P(1)-O(3)	1.5456(11)
P(2)-O(7)	1.5172(11)	P(1)-C(1)	1.8498(16)
P(2)-O(5)	1.5598(12)	O(8)-C(5)	1.4498(19)
P(2)-C(1)	1.8360(15)	O(1)-C(1)	1.4403(19)
P(4)-O(13)	1.5134(12)	C(2)-C(3)	1.526(2)
P(4)-O(14)	1.5235(11)	C(2)-C(1)	1.541(2)
P(4)-O(12)	1.5435(12)	C(7)-C(8)	1.516(2)
P(4)-C(5)	1.8361(16)	C(7)-C(6)	1.534(2)
P(3)-O(9)	1.4982(11)	N(2)-C(8)	1.497(2)
P(3)-O(10)	1.5268(12)	C(5)-C(6)	1.547(2)
P(3)-O(11)	1.5649(11)	C(5)-P(3)	1.8489(16)
P(3)-C(5)	1.8490(16)	N(1)-C(4)	1.494(2)
P(1)-O(4)	1.5079(11)	C(3)-C(4)	1.517(2)
P(1)-O(2)	1.5385(12)		

Μετασχηματισμοί συμμετρίας: (1) $-x+1, -y+1, -z+1$

Με βάση τα μήκη δεσμού P-O, ένα άτομο οξυγόνου στη μία από τις φωσφονικές ομάδες του κάθε υποκαταστάτη (P(2)-O(7)= 1.517(1) Å και P(4)-O(13)= 1.513(1) Å) είναι αποπρωτονιωμένο. Το φορτίο αντισταθμίζεται από το κατιοντικό φορτίο του αμινικού

ατόμου αζώτου κάθε οργανικού μορίου. Ο υποκαταστάτης απομονώθηκε στο ίδιο pH με αυτό του **H₄L1** και τα μήκη δεσμών P-O είναι παρόμοια.

Η διάταξη των μορίων στο χώρο κατά μήκος του *b* κρυσταλλογραφικού άξονα παρουσιάζει *zig zag* διευθέτηση με τις υδρόφιλες ομάδες των ατόμων φωσφόρου να προσανατολίζονται η μία απέναντι από την άλλη (Σχήμα 3.65).

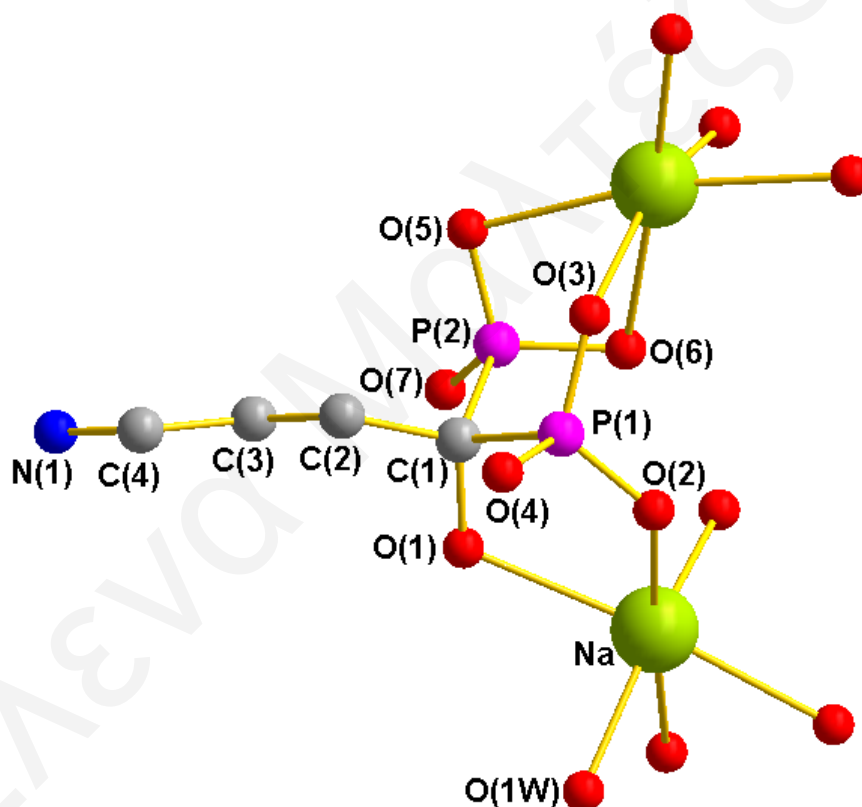


Σχήμα 3.65. Διάταξη των μορίων στο χώρο κατά μήκος του *b* κρυσταλλογραφικού άξονα.

3.9.2 Κρυσταλλικές δομές των αλάτων νατρίου των υποκαταστατών L2, L3 και L4, σε pH 4.0-4.3

Στον πίνακα 3.7 δίνονται συγκεντρωτικά τα κρυσταλλογραφικά και πειραματικά δεδομένα επίλυσης της δομής των συμπλόκων $\text{NaH}_3\text{L2}$, $\text{Na}_2\text{H}_2\text{L3}$ και $\text{Na}_2\text{H}_2\text{L4}$.

Στο σχήμα 3.66 απεικονίζεται η κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $\text{NaH}_3\text{L2}$ και στον πίνακα 3.8 παρουσιάζονται επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού. Το σύμπλοκο απομονώθηκε σε pH 4.3 και στο πλέγμα συγκρυσταλλώνονται δύο μόρια νερού. Η δέσμευση του κατιόντος νατρίου μέσω των οξυγόνων των φωσφονικών ομάδων οδήγησε στην απομόνωση πολυμερικής ένωσης. Το μεταλλοϊόν υιοθετεί παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία.



Σχήμα 3.66. Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $\text{NaH}_3\text{L2}$ που απομονώθηκε στο pH 4.3. Κρυσταλλικό σύστημα: Μονοκλινές. Ομάδα χώρου: $P2_1/n$. Μοναδιαία κυψελίδα: a 7.2579(8); b 8.9622(14); c 19.394(2) Å, $\alpha=90.00$; $\beta=100.263(14)$; $\gamma=90.00^\circ$.

Πίνακας 3.7. Κρυσταλλογραφικά δεδομένα των ενώσεων **NaH₃L2**, **Na₂H₂L3** και **Na₂H₂L4**. ^{α,β}

Ένωση	NaH ₃ L2	Na ₂ H ₂ L3	Na ₂ H ₂ L4
Εμπειρικός τύπος	C ₄ H ₁₃ NNaO ₁₀ P ₂	C ₂ H ₁₄ Na ₂ O ₁₁ P ₂	C ₄ H ₈ Na ₂ O ₇ P ₂
Μοριακό βάρος	320.08	322.05	276.02
T (K)	100	100	100
λ (Å)	0.71073	0.71073	0.71069
Κρυσταλλικό σύστημα	Μονοκλινές	Μονοκλινές	Τρικλινές
Ομάδα χώρου	P2 ₁ /n	P2 ₁ /c	P-1
a (Å)	7.2579(8)	10.5215(11)	6.327(5)
b (Å)	8.9622(14)	5.9743(8)	6.967(5)
c (Å)	19.394(2)	18.167(2)	11.805(5)
α (°)	90.00	90.00	93.067(5)
β (°)	100.263(14)	92.050(9)	96.222(5)
γ (°)	90.00	90.00	113.594(5)
V (Å ³)	1241.3(3)	1141.3(2)	471.4(5)
Z	4	4	2
D _c (g/cm ³)	1.713	1.875	1.945
abs coeff (cm ⁻¹)	0.430	0.505	0.565
F(000)	660	664	280
θ περιοχή συλλογής δεδομένων (°)	3.12-31.21	3.59-31.36	1.75-24.12
Περιοχή δεικτών Miller (h,k,l)	-10 ≤ h ≤ 10 -12 ≤ k ≤ 12 -27 ≤ l ≤ 27	-15 ≤ h ≤ 14 -8 ≤ k ≤ 8 -25 ≤ l ≤ 26	-7 ≤ h ≤ 7 -8 ≤ k ≤ 7 -11 ≤ l ≤ 13
Αριθμός Ανακλάσεων (σύνολο/ανεξάρτητες)	26368/3667	24192/3454	2384/1451
R _{int}	0.0607	0.0422	0.0218
Δεδομένα/παράμετροι	3667/0/175	3454/0/210	1451/0/145
GOF (με βάση F ²)	1.009	0.941	1.148
a, b (σχέση μάζας/w)	0.0778/0	0.0457/0	0.0705/6.4599
Τελικές ενδείξεις R/R _w [I > 2σ(I)]	0.0433/0.1247	0.0326/0.0774	0.0908/0.2158
Τελικές ενδείξεις R/R _w (συνολικά δεδομένα)	0.0679/0.1309	0.0546/0.0797	0.0962/0.2189
Μέγιστο/ελάχιστο Δρ ανάκλασης (eÅ ⁻³)	0.947/-0.885	0.819/-0.809	0.790/-0.820

^α $R = \sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|$, $wR = [\sum w(|F_o|^2 - |F_c|^2) / \sum w|F_o|^2]^{1/2}$, $GOF = [\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / (n - p)]^{1/2}$, $w = 1 / [\sigma^2(F_o^2) + (aP)^2 + bP]$, όπου $P = (F_o^2 + 2F_c^2) / 3$.

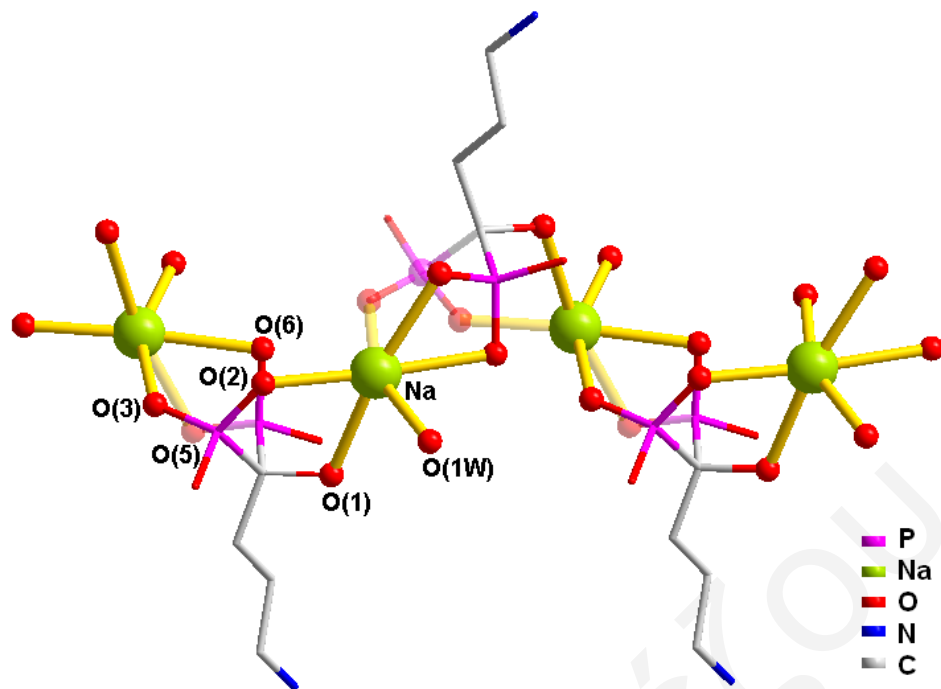
^βΠηγή MoK\α.

Πίνακας 3.8. Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού για την ένωση **NaH₃L2** στους 100 K με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις.

NaH ₃ L2			
P(1)-O(3)	1.5071(18)	Na-O(3)	2.3364(19)
P(1)-O(2)	1.5100(18)	Na-O(2)	2.355(2)
P(1)-O(4)	1.5774(18)	Na-O(6)	2.534(2)
P(1)-C(1)	1.853(2)	Na-O(1)	2.552(2)
P(1)-Na	3.4483(13)	Na-O(5)	2.570(2)
P(2)-O(5)	1.5037(18)	O(1)-C(1)	1.453(3)
P(2)-O(7)	1.5112(18)	N(1)-C(4)	1.501(3)
P(2)-O(6)	1.5808(18)	C(4)-C(3)	1.512(3)
P(2)-C(1)	1.850(2)	C(3)-C(2)	1.535(3)
P(2)-Na	3.0956(12)	C(2)-C(1)	1.543(3)
Na-O(1W)	2.284(2)		

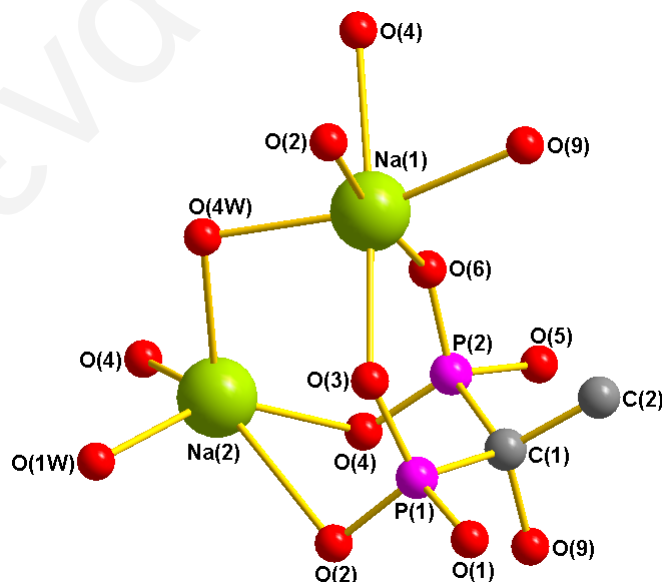
Μετασχηματισμοί συμμετρίας: (1) $-x-1/2, y+1/2, -z+3/2$ (2) $-x+1/2, y+1/2, -z+3/2$ (3) $-x+1/2, y-1/2, -z+3/2$ (4) $-x-1/2, y-1/2, -z+3/2$

Όπως φαίνεται και στο σχήμα 3.67, το ισημερινό επίπεδο ένταξης του μεταλλοϊόντος ορίζεται από τη δέσμευση του με τρία άτομα οξυγόνου των φωσφονικών ομάδων (O(2), O(3) και O(6)) και ένα άτομο οξυγόνου από ένα μόριο νερού (O(1W)). Οι αξονικές θέσεις καταλαμβάνονται από άτομα οξυγόνου μίας φωσφονικής ομάδας (O(5)) και το υδροξύλιο άτομο οξυγόνου (O(1)) του υποκαταστάτη. Με την αποπρωτονίωση των υδροξυλομάδων σε υψηλότερο pH (pH= 4.0) επιτεύχθηκε η δέσμευση του μεταλλοϊόντος. Η διάταξη του μορίου κατά μήκος του *b* κρυσταλλογραφικού άξονα παρουσιάζει τις υδρόφοβες αλυσίδες να διευθετούνται στις εξωτερικές πλευρές της αλυσίδας ενώ οι υδρόφιλες φωσφονικές ομάδες μέσω των κατιόντων νατρίου διευθετούνται εσωτερικά της αλυσίδας.



Σχήμα 3.67. Σχηματισμός πολυμερικής ένωσης μέσω του κατιόντος νατρίου.

Η κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $\text{Na}_2\text{H}_2\text{L3}$ απεικονίζεται στο σχήμα 3.68 και στον πίνακα 3.7 και 3.9 παρουσιάζονται κρυσταλλογραφικά και πειραματικά δεδομένα επίλυσης της δομής και επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού αντίστοιχα. Το σύμπλοκο απομονώθηκε σε pH 4.0 και στο πλέγμα συγκρυσταλλώνονται δύο μόρια νερού.



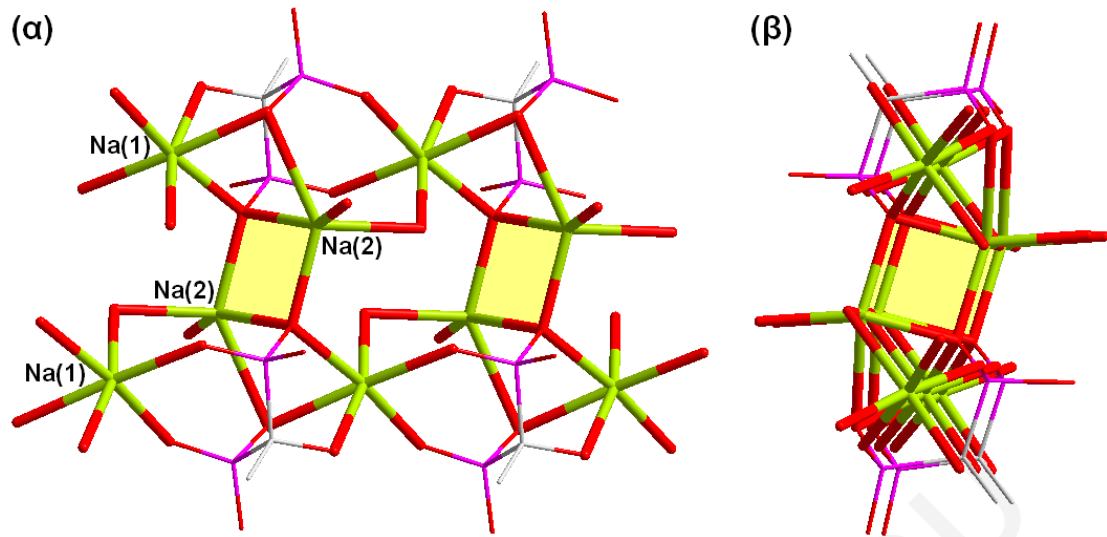
Σχήμα 3.68. Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $\text{Na}_2\text{H}_2\text{L3}$ που απομονώθηκε στην περιοχή pH 4.0. Κρυσταλλικό σύστημα: Μονοκλινές. Ομάδα χώρου: $P2_1/c$. Μοναδιαία κυψελίδα: a 10.5215(11); b 5.9743(8); c 18.167(2) Å, $\alpha=90.00$; $\beta=92.050(9)$; $\gamma=90.00^\circ$.

Πίνακας 3.9. Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού για την ένωση **Na₂H₂L3** στους 100 K με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις.

Na₂H₂L3			
Na(1)-O(6)	2.3002(13)	Na(2)-O(2)	2.7861(15)
Na(1)-O(4W)	2.3474(15)	Na(2)-P(2)	3.2087(9)
Na(1)-O(3)	2.3573(14)	Na(2)-P(2)	3.4087(9)
Na(1)-O(2)	2.4202(15)	Na(2)-Na(2)	3.5081(14)
Na(1)-O(9)	2.4299(14)	P(2)-O(4)	1.5047(12)
Na(1)-O(4)	2.4405(14)	P(2)-O(6)	1.5085(12)
Na(1)-P(2)	3.3252(9)	P(2)-O(5)	1.5778(13)
Na(1)-P(1)	3.4477(9)	P(2)-C(1)	1.8412(17)
Na(1)-Na(2)	3.6639(11)	P(1)-O(1)	1.5035(12)
Na(1)-Na(2)	3.6702(11)	P(1)-O(3)	1.5118(13)
Na(1)-Na(2)	3.9829(11)	P(1)-O(2)	1.5844(14)
Na(2)-O(1W)	2.3028(19)	P(1)-C(1)	1.8375(17)
Na(2)-O(4)	2.3427(13)	O(9)-C(1)	1.449(2)
Na(2)-O(4)	2.3872(14)	C(2)-C(1)	1.539(2)
Na(2)-O(4W)	2.4201(18)		

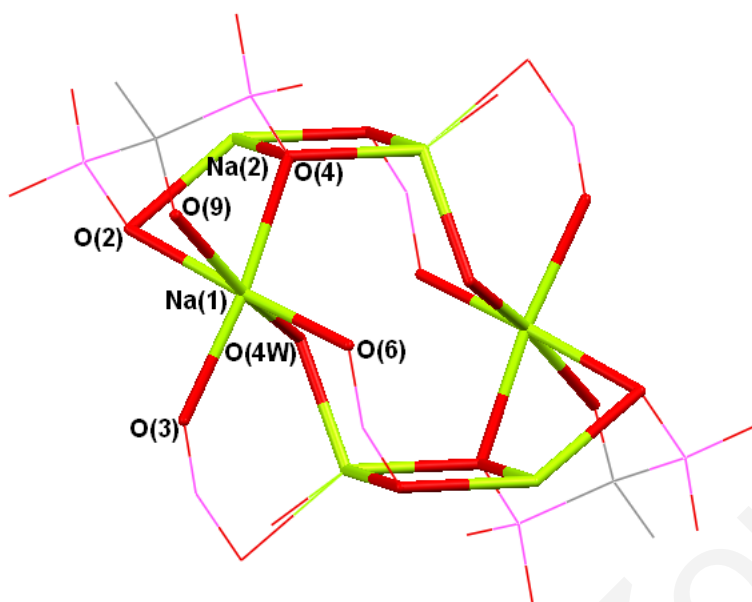
Μετασχηματισμοί συμμετρίας: (1) -x,-y+1,-z (2) -x,-y,-z (3) x,y+1,z (4) x,y-1,z

Με την ένταξη δύο διαφορετικών ιόντων νατρίου (Na(1), Na(2), σχήμα 3.69) απομονώθηκε πολυμερική αλυσίδα του υποκαταστάτη **H₂L3**. Στην ασύμμετρη μονάδα του πλέγματος, τα δύο άτομα νατρίου συνδέονται από τα άτομα οξυγόνου των φωσφορικών ομάδων και της υδροξυλομάδας ενός **H₂L3** προς σχηματισμό πολυμερικής αλυσίδας. Το ένα από τα δύο άτομα νατρίου (Na(2)) είναι πεντα-ενταγμένο. Σύμφωνα με τους Addison και Reedijk^[137] σχετικά με την περιγραφή τους για πεντα-ενταγμένα μόρια, το μεταλλικό κέντρο (Na(2)) αποκλίνει σημαντικά από την ιδανική γεωμετρία τριγωνικής διπυραμίδας με $\tau = 0.17$ ($\tau = [\alpha - \beta] / 60$, όπου α και β αναφέρονται στις *trans* γωνίες που ορίζουν το ισημερινό επίπεδο ένταξης του μεταλλοϊόντος O(4)-Na(2)-O(4W) = 119.2(6) Å και O(4)-Na(2)-O(1W) = 109.1(6) Å αντίστοιχα). Η τιμή τ εκφράζει την απόκλιση από τη γεωμετρία τετραγωνικής πυραμίδας (Για $\tau = 0.00$, γεωμετρία τετραγωνικής πυραμίδας; για $\tau = 1.00$, γεωμετρία τριγωνικής διπυραμίδας). Με βάση αυτό, η γεωμετρία ένταξης που υιοθετεί το μεταλλικό κέντρο (Na(2)) στο **Na₂H₂L3** περιγράφεται ως παραμορφωμένη τετραγωνική πυραμίδα.



Σχήμα 3.69. α) Διάταξη των μορίων στο χώρο κατά μήκος του κρυσταλλογραφικού άξονα b όπου σχηματίζεται πολυμερική αλυσίδα. β) Διάταξη των μορίων στο χώρο κατά μήκος του κρυσταλλογραφικού άξονα c .

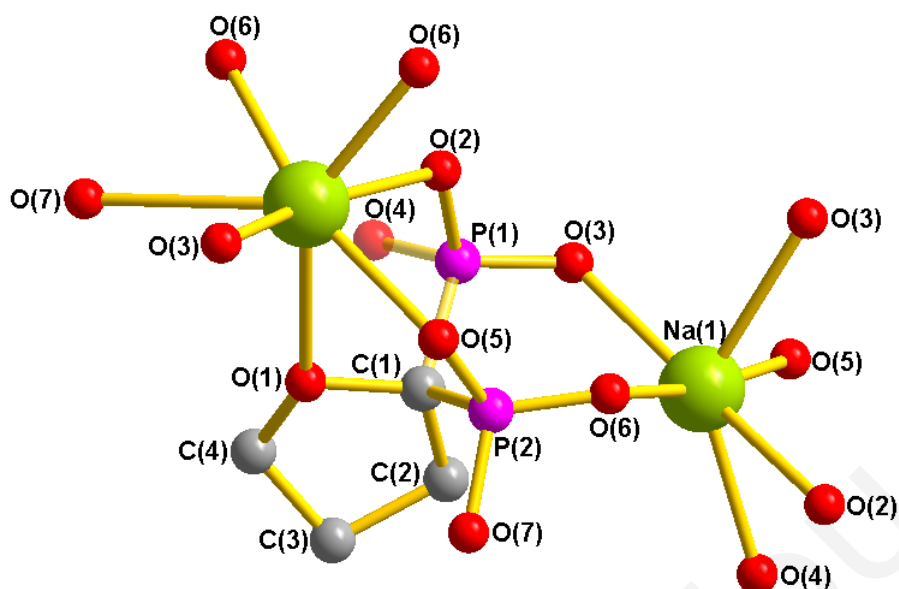
Όπως αναφέρθηκε και πιο πάνω το ένα άτομο νατρίου ($\text{Na}(2)$) είναι πεντα-ενταγμένο και το άλλο είναι εξα-ενταγμένο ($\text{Na}(1)$). Όσο αφορά το πεντα-ενταγμένο νάτριο το ισημερινό επίπεδο ορίζεται από δύο ίδια άτομα οξυγόνου φωσφονικών ομάδων ($\text{O}(4)$, $\text{O}(4')$) και δύο άτομα οξυγόνου από δύο μόρια νερού ($\text{O}(1\text{W})$, $\text{O}(4\text{W})$). Η αξονική θέση καταλαμβάνεται από άτομο οξυγόνου ($\text{O}(2)$) της δεύτερης φωσφονικής ομάδας του υποκαταστάτη. Δύο άτομα οξυγόνου ($\text{O}(4)$, $\text{O}(4\text{W})$) λειτουργούν ως γέφυρα σύνδεσης των δύο ατόμων νατρίου. Το δεύτερο άτομο νατρίου είναι εξα-ενταγμένο ($\text{Na}(1)$) και υιοθετεί παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία. Το ισημερινό επίπεδο ένταξης του $\text{Na}(1)$ ορίζεται από τη δέσμευση του $\text{O}(2)$ και $\text{O}(6)$ των δύο φωσφονικών ομάδων του υποκαταστάτη σε *trans* διευθέτηση μεταξύ τους ($\text{O}(9)$ και $\text{O}(4\text{W})$). Τις αξονικές θέσεις καταλαμβάνουν τα άτομα των φωσφονικών ομάδων $\text{O}(4)$ και $\text{O}(3)$.



Σχήμα 3.70. Σχηματική απεικόνιση του δομικού πυρήνα Na_2O_2 .

Τα άτομα νατρίου ($\text{Na}(2)$) μέσω των ατόμων οξυγόνου ($\text{O}(4)$) των φωσφονικών ομάδων του υποκαταστάτη λειτουργούν ως συνδετικές γέφυρες (Na_2O_2) δύο πολυμερικών αλυσίδων του $\text{H}_2\text{L3}$ με το ένα μεταλλικό κέντρο νατρίου ($\text{Na}(1)$, σχήμα 3.70). Τα άτομα νατρίου $\text{Na}(2)$ σχηματίζουν παράλληλα φύλλα των δύο πολυμερικών αλυσίδων. Η απόσταση των δύο ατόμων νατρίου ($\text{Na}(2)$) στο δομικό πυρήνα Na_2O_2 είναι $3.508(1) \text{ \AA}$ (η γωνία $\text{Na}(2)\text{-O}(4)\text{-Na}(2)$ είναι $95.75(5)^\circ$).

Η κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $\text{Na}_2\text{H}_2\text{L4}$ απεικονίζεται στο σχήμα 3.71 και στον πίνακα 3.7 δίνονται συγκεντρωτικά τα κρυσταλλογραφικά και πειραματικά δεδομένα επίλυσης της δομής του συμπλόκου. Στους πίνακες 3.10 και 3.11 παρουσιάζονται επιλεγμένα μήκη (\AA) και γωνίες ($^\circ$) δεσμού αντίστοιχα. Το σύμπλοκο απομονώθηκε σε pH 4.2.



Σχήμα 3.71. Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $\text{Na}_2\text{H}_2\text{L}_4$ που απομονώθηκε στην περιοχή pH 4.2. Κρυσταλλικό σύστημα: Τρικλινές. Ομάδα χώρου: $P-1$. Μοναδιαία κυψελίδα: a 6.327(5); b 6.967(5); c 11.805(5)Å, $\alpha=93.067(5)$; $\beta=96.222(5)$; $\gamma=113.594(5)^\circ$.

Πίνακας 3.10. Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού για την ένωση $\text{Na}_2\text{H}_2\text{L}_4$ στους 100 K με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις.

$\text{Na}_2\text{H}_2\text{L}_4$			
P(1)-O(3)	1.498(6)	Na(1)-O(3)	2.671(8)
P(1)-O(4)	1.499(6)	Na(1)-Na(2)	3.483(5)
P(1)-O(2)	1.571(7)	Na(1)-Na(2)	3.487(6)
P(1)-C(1)	1.836(9)	Na(1)-Na(1)	3.686(8)
P(1)-Na(1)	3.116(5)	O(5)-Na(2)	2.406(7)
P(1)-Na(1)	3.409(5)	O(7)-Na(2)	2.873(7)
P(2)-O(6)	1.492(6)	O(2)-Na(2)	2.494(6)
P(2)-O(5)	1.506(6)	C(1)-O(1)	1.484(11)
P(2)-O(7)	1.567(6)	C(1)-C(2)	1.497(16)
P(2)-C(1)	1.833(9)	Na(2)-O(3)	2.371(6)
P(2)-Na(2)	3.157(5)	Na(2)-O(6)	2.423(8)
P(2)-Na(1)	3.423(5)	Na(2)-O(6)	2.458(6)
P(2)-Na(2)	3.448(5)	Na(2)-O(1)	2.791(14)
Na(1)-O(6)	2.327(7)	Na(2)-Na(2)	3.508(8)
Na(1)-O(3)	2.335(7)	O(1)-C(4)	1.42(2)
Na(1)-O(4)	2.450(7)	C(2)-C(3)	1.59(3)
Na(1)-O(5)	2.480(7)	C(3)-C(4)	1.50(4)
Na(1)-O(2)	2.619(7)		

Μετασχηματισμοί συμμετρίας: (1) $x+1,y,z$ (2) $x,y-1,z$ (3) $x-1,y,z$ (4) $-x+1,-y+1,-z+1$ (5) $x+1,y+1,z$ (6) $-x,-y,-z+1$ (7) $x,y+1,z$ (8) $x-1,y-1,z$

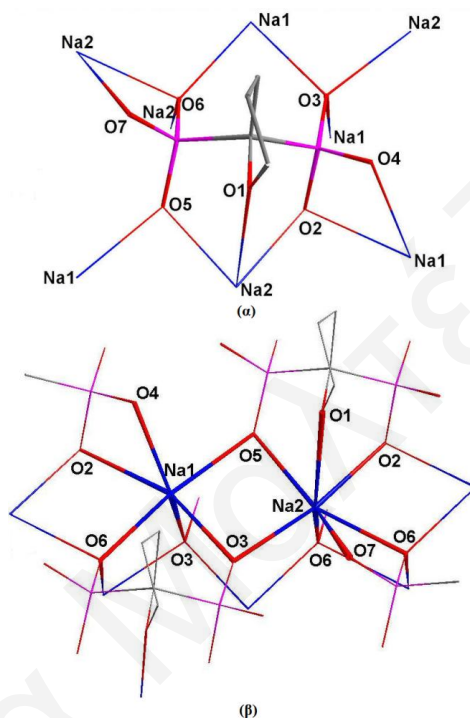
Πίνακας 3.11. Επιλεγμένες γωνίες δεσμού (°) για την ένωση **Na₂H₂L4** στους 100 K με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις.

O(2)–P(1)–O(3)	110.7(3)	O(5)–P(2)–O(6)	115.1(3)
O(2)–P(1)–O(4)	105.5(3)	O(5)–P(2)–O(7)	110.1(4)
O(3)–P(1)–O(4)	116.4(4)	O(6)–P(2)–O(7)	109.3(4)
C(1)–P(1)–O(2)	105.2(4)	C(1)–P(2)–O(5)	108.6(4)
C(1)–P(1)–O(3)	110.9(4)	C(1)–P(2)–O(6)	109.2(4)
C(1)–P(1)–O(4)	107.4(4)	C(1)–P(2)–O(7)	104.0(4)
O(1)–C(1)–P(1)	106.5(6)	O(1)–C(1)–P(2)	105.2(6)
C(2)–C(1)–P(1)	107.9(8)	C(2)–C(1)–P(2)	110.7(8)
O(1)–C(1)–C(2)	112.0(9)	P(1)–C(1)–P(2)	114.6(5)
C(1)–O(1)–C(4)	105.1(12)	C(1)–C(2)–C(3)	99.8(14)
O(1)–C(4)–C(3)	107(2)	C(2)–C(3)–C(4)	103 (2)

Μετασχηματισμοί συμμετρίας: $x, y, z; -x, -y, -z$.

Το διφωσφονικό ανιόν στη δομή του **Na₂H₂L4** έχει συνολικό φορτίο -2, έτσι δύο οξυγόνα των φωσφονικών ομάδων είναι αποπρωτονιωμένα (P-O⁻), δύο είναι πρωτονιωμένα (P-OH) και δύο σχηματίζουν διπλό δεσμό με το φωσφόρο (P=O). Τα δύο άτομα φωσφόρου παρουσιάζουν παραμορφωμένη τετραεδρική γεωμετρία. Τα μήκη δεσμών P-O είναι κοντά στα 1.50 Å για το P-O (αποπρωτονιωμένο) και 1.57 Å για το P-OH (πρωτονιωμένο). Παρόλο που οι δεσμοί P-OH μπορούν εύκολα να εντοπιστούν από τα μήκη δεσμών, οι δεσμοί P-O⁻ και P=O δεν μπορούν να διαχωριστούν εξαιτίας του απεντοπισμού του φορτίου στις ομάδες ⁻O-P=O. Οι γωνίες δεσμού γύρω από το P (1), P(2) κυμαίνονται από 104.0(4) με 116.4(3)°. Οι γωνίες O-P-O οι οποίες περιλαμβάνουν τα δύο αποπρωτονιωμένα άτομα οξυγόνου είναι οι μεγαλύτερες και στις δύο φωσφονικές ομάδες. Τα δύο κέντρα φωσφόρου είναι σχετικά κοντά (3.087(3) Å), λόγω των διχοτομημένων τους θέσεων σε σχέση με τον C(1) του φουρανυλικού δακτυλίου (P(1)-C(1)-P(2) = 114.7(5)°). Η απόσταση P^{···}P είναι λίγο μεγαλύτερη από την απόσταση (3.035(3) Å) που παρατηρείται στην κρυσταλλική δομή αντίστοιχου μορίου το οποίο περιέχει άζωτο αντί οξυγόνο στο δακτύλιο.^[170]

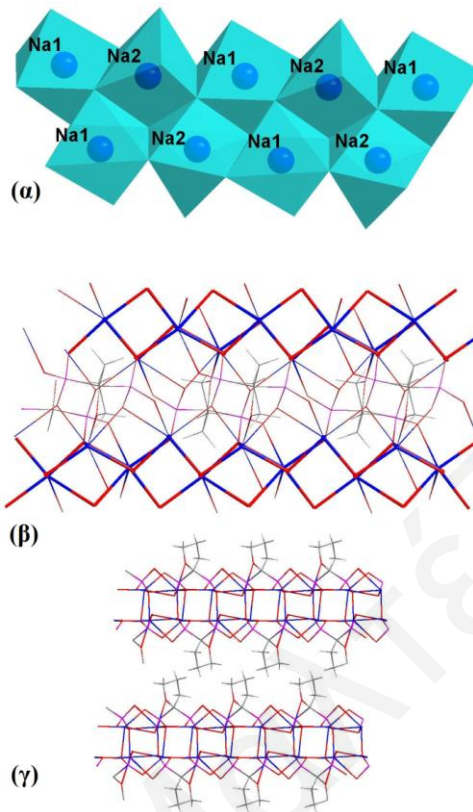
Η σφαίρα ένταξης είναι διαφορετική για κάθε ένα από τα δύο άτομα νατρίου (σχήμα 3.72 (α) και 3.72 (β)). Το Na(1) υιοθετεί παραμορφωμένο οκταεδρικό περιβάλλον το οποίο ορίζεται από τα O(5), O(4), O(2), O(6), O(3) και O(3'). Το Na(2) υιοθετεί καλυμμένη οκταεδρική γεωμετρία με τα O(1), O(2), O(3), O(5), O(6) και O(6') να ορίζουν ένα οκτάεδρο και το O(7) να προστίθεται στην τριγωνική πλευρά η οποία ορίζεται από τα O(1), O(3) και O(6). Οι αποστάσεις δεσμού Na-O κυμαίνονται μεταξύ 2.327(7) και 2.872(7) Å με το Na(2)-O(7) να παρουσιάζει το μεγαλύτερο μήκος δεσμού.



Σχήμα 3.72. α) Σχηματική απεικόνιση του $\text{H}_2\text{L4}^{2-}$ όπου φαίνεται η σύνδεση με τα ιόντα νατρίου. β) Σχηματική απεικόνιση του $\text{Na}_2\text{H}_2\text{L4}$ όπου φαίνεται η σφαίρα ένταξης των ιόντων νατρίου.

Τα οκτάεδρα τα οποία έχουν σαν κέντρο τους το Na(1) και τα καλυμμένα οκτάεδρα σχηματίζουν μία γραμμική διάταξη κατά μήκος του άξονα (1,1,0) του κρυστάλλου (σχήμα 3.73 (α)). Αυτές οι διατάξεις συνδέονται μεταξύ τους με τα διφωσφονικά ανιόντα και σχηματίζουν άπειρα δισδιάστατα φύλλα (σχήμα 3.73 (β)). Τα δύο δισδιάστατα δίκτυα πακετάρονται το ένα πάνω από το άλλο κατά μήκος του άξονα c (σχήμα 3.73 (γ)). Η απόσταση μεταξύ των μέσων επιπέδων που ορίζονται από τα άτομα δύο διαδοχικών φύλλων είναι 11.668(5) Å. Αυτή η απόσταση είναι στην πραγματικότητα το μήκος του άξονα c . Οι φουρανυλικοί δακτύλιοι τοποθετούνται πάνω και κάτω από τα δισδιάστατα δίκτυα δημιουργώντας με αυτό τον τρόπο ένα περιβάλλον μόνωσης για τα ιόντα νατρίου σε κάθε στρώμα. Είναι πιθανόν ότι αυτή η ασυνήθιστη για τα διφωσφονικά δισδιάστατη

δομή ,επάγεται από τους υδροφοβικούς φουρανυλικούς δακτυλίους οι οποίοι εμποδίζουν οποιοσδήποτε ηλεκτροστατικές ενδοστρωματικές αλληλεπιδράσεις.



Σχήμα 3.73. α) Πολύεδρα με μεταλλικά κέντρα νατρίου τα οποία σχηματίζουν γραμμική διάταξη κατά μήκος του άξονα (1,1,0) του κρυστάλλου. β) Σύνδεση των γραμμικών διατάξεων νατρίου με τα διφωσφονικά ανιόντα σχηματίζουν δύο δισδιάστατα φύλλα. γ) Δύο δισδιάστατα στρώματα πακεταρισμένα το ένα παράλληλα στο άλλο κατά μήκος του c άξονα.

Μία πρόσφατη μελέτη^[171] έδειξε ότι η ισχύς της δέσμευσης των μεταλλοϊόντων από τα διφωσφονικά μπορεί να υπολογιστεί λαμβάνοντας υπόψη τις αλληλεπιδράσεις των φωσφονικών ομάδων, της πλευρικής αλυσίδας, της υδροξυλομάδας και της υδρόφοβης ομάδας του υποκαταστάτη με την επιφάνεια του οστού. Πιο σημαντικό είναι το γεγονός ότι έχει βρεθεί πως η υδροξυλική ομάδα παρόλο που είναι απαραίτητη για την ισχυρή δέσμευση των διφωσφονικών στα οστά, η αλληλεπίδραση του -OH με την οστική επιφάνεια είναι ασθενής. Στον πίνακα 3.12 παρουσιάζονται επιλεγμένα μήκη δεσμών του $\text{Na}^+ \text{-O} / \text{Ca}^{2+} \text{-O}$ σε παρόμοιες κρυσταλλικές ενώσεις. Η σύγκριση δείχνει πως οι χηλικές ιδιότητες των υποκαταστατών βρίσκονται σε συμφωνία με τις δεσμευτικές τους ικανότητες στην οστική επιφάνεια. Οι αποστάσεις δεσμού λοιπόν μεταξύ των δοτών ατόμων οξυγόνου των διφωσφονικών υποκαταστατών και των κατιόντων μπορούν να δώσουν μία εκτίμηση της ισχύος της αλληλεπίδρασης των διφωσφονικών με τα οστά. Οι αποστάσεις δεσμού

(Na⁺/Ca²⁺)-O(phosphoryl) είναι παρόμοιες (2.261-2.873 Å), υποδεικνύοντας ότι οι αλληλεπιδράσεις όλων των φωσφονικών ομάδων με τα οστά είναι παρόμοιας ισχύος για όλους τους υποκαταστάτες. Σε όλες τις κρυσταλλικές δομές των διφωσφονικών αλάτων ασβεστίου, εκτός από τη δομή του ετιδρονικού, το μεταλλικό ιόν συνδέεται μόνο με τα φωσφονικά άτομα οξυγόνου. Το φορτίο του υποκαταστάτη σε όλες τις δομές ασβεστίου είναι -2. Αντίθετα, τα ιόντα Na⁺ έχουν βρεθεί να συνδέονται στο φωσφονικό και στο υδροξυλικό οξυγόνο στις δομές των αλάτων νατρίου των αντίστοιχων υποκαταστατών. Εντούτοις, η απόσταση δεσμού Na⁺-O είναι πολύ μικρότερη στις δομές των μονοανιόντικων διφωσφονικών (~2.5 Å) από τις αντίστοιχες διανιόντικές (~ 2.8 Å) συμπεριλαμβανομένης και της ένωσης **Na₂H₂L₄**. Όπως φαίνεται, αυτή η σύγκριση μήκους δεσμού υποδηλώνει ότι η ισχύς δεσμού Na⁺-O(O_{υδροξυ/φουρανυλ}) είναι αντιστρόφως ανάλογη του συνολικού φορτίου του διφωσφονικού υποκαταστάτη. Το μήκος δεσμού αυξάνεται με μείωση του φορτίου του υποκαταστάτη. Επιπρόσθετα, η ασθενής αλληλεπίδραση της υδροξυλικής ομάδας με το οστό^[171] προτείνει ότι το ολικό φορτίο του υποκαταστάτη που δεσμεύεται στην οστική επιφάνεια είναι -2.

Το μήκος δεσμού Na-O που βρέθηκε στην κρυσταλλική δομή της ένωσης **Na₂H₂L₄** είναι πολύ κοντά με το αντίστοιχο μήκος δεσμού του **Na₂H₂L₁** (**L₁** = παμιδρονικό) δείχνοντας πως η συνεισφορά αυτών των δεσμών στην οστική δέσμευση είναι παρόμοια^[172]. Παρόλα αυτά, η τετραυδροφουρανυλική πλευρική αλυσίδα δεν περιέχει ομάδες που θα συνεισφέρουν στην οστική δέσμευση, γι' αυτό και αναμένεται ότι το **H₂L₄²⁻** θα αλληλεπιδρά ασθενέστερα με τα οστά από τα **H₂L₁²⁻**, **H₂L₂²⁻** και **H₂L₃²⁻** (Σχήμα 3.13).

Πίνακας 3.12. Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού για διφωσφονικά σύμπλοκα Na⁺ και Ca²⁺ (ο συμβολισμός των **L₁**, **L₂**, **L₃**, **L₄** έγινε με βάση το σχήμα 3.13).

Ένωση	Φορτίο διφωσφονικού ανιόντος	M- O _{υδροξυ/φουρανυλ} /Å	Μικρότερη M-O _{φωσφορυλ} /Å	Μεγαλύτερη M-O _{φωσφορυλ} /Å	Αναφορές
Na₂H₂L₄	(-2)	2.791(14)	2.327(7)	2.873(8)	Αυτή η μελέτη
CaH₂L₃	(-2)	2.608(2)	2.352(1)	2.608(2)	[174]
NaH₃L₃	(-1)	2.470(4)	2.230(4)	2.447(4)	[175]
NaH₃L₃	(-1)	2.463 (2)	2.293(3)	2.444(2)	[176]
CaH₂L₁	(-2)	^a	2.288(1)	2.387(1)	[177]

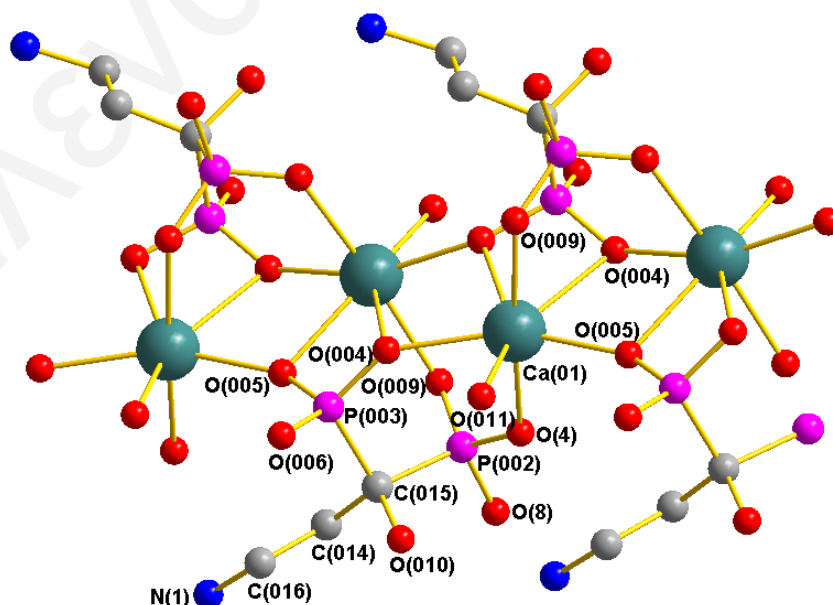
Na₂H₂L1	(-2)	2.828(3)	2.274(3)	2.691(3)	[172]
NaH₃L1	(-1)	2.537 (2)	2.261(2)	2.438(2)	[178]
CaH₂L2	(-2)	^a	2.304(1)	2.345(1)	[173]

^a Non bonding distance above 3 Å.

3.9.3 Κρυσταλλικές δομές συμπλόκων ασβεστίου με τον υποκαταστάτη L1 σε pH 4.3

Στον πίνακα 3.13 δίνονται συγκεντρωτικά τα κρυσταλλογραφικά και πειραματικά δεδομένα επίλυσης της δομής των συμπλόκων **CaH₂L1**, [C1] και **CaH₆(L1)₂**, [C2] με τον υποκαταστάτη L1.

Στο σχήμα 3.74 απεικονίζεται η κρυσταλλική δομή του συμπλόκου **CaH₂L1**, [C1] και στον πίνακα 3.13 παρουσιάζονται επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού. Το σύμπλοκο απομονώθηκε σε pH 4.3 και στο πλέγμα συγκρυσταλλώνεται ένα μόριο νερού. Το μεταλλικό κέντρο ασβεστίου έχει αριθμό ένταξης επτά και υιοθετεί παραμορφωμένη πενταγωνική διπυραμίδα. Οι αξονικές θέσεις ορίζονται από τα οξυγόνα O(4) και O(009) (γωνία δεσμού O(4)-Ca(01)-O(009)= 172.86(19) °). Το ισημερινό επίπεδο ένταξης ορίζεται από τα οξυγόνα O(011), O(004), O(004'), O(005) και O(005'). Όλα τα οξυγόνα προέρχονται από τις φωσφονικές ομάδες. Τα μήκη δεσμού στο ισημερινό επίπεδο κυμαίνονται από 2.303(6)-2.601(5) Å (πίνακας 3.14).



Σχήμα 3.74. Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου **CaH₂L1**, [C1] που απομονώθηκε στο pH 4.3. Κρυσταλλικό σύστημα: Ορθορομβικό. Ομάδα χώρου: $Pna2_1$. Μοναδιαία κυψελίδα: a 13.784; b 10.554; c 6.931 Å, α = 90.00; β = 90.00; γ = 90.00 °.

Πίνακας 3.13. Κρυσταλλογραφικά δεδομένα των ενώσεων **CaH₂L1**, **[C1]^{α,β}** και **CaH₆(L1)₂**, **[C2]^{α,γ}**

Ένωση	CaH ₂ L1	CaH ₆ (L1) ₂
Εμπειρικός τύπος	C ₃ H ₁₄ CaNO ₉ P ₂	C ₆ H ₂₄ CaN ₂ O ₁₇ P ₄
Μοριακό βάρος	310.17	560.23
T (K)	100	100
λ (Å)	0.71073	1.54184
Κρυσταλλικό σύστημα	Ορθορομβικό	Μονοκλινές
Ομάδα χώρου	<i>Pna</i> 2 ₁	<i>C</i> 2/ <i>c</i>
<i>a</i> (Å)	13.784	14.3396(2)
<i>b</i> (Å)	10.554	14.20390(10)
<i>c</i> (Å)	6.931	11.1369(2)
α (°)	90.00	90.00
β (°)	90.00	119.158(2)
γ (°)	90.00	90.00
V (Å ³)	1008.3	1980.90(5)
Z	4	4
D _c (g/cm ³)	2.043	1.879
abs coeff (cm ⁻¹)	0.978	6.641
F(000)	644	1160
θ περιοχή συλλογής δεδομένων (°)	2.43-24.08	4.71-62.18
Περιοχή δεικτών Miller (<i>h,k,l</i>)	-13 ≤ <i>h</i> ≤ 14 -7 ≤ <i>k</i> ≤ 11 -7 ≤ <i>l</i> ≤ 5	-16 ≤ <i>h</i> ≤ 16 -16 ≤ <i>k</i> ≤ 16 -12 ≤ <i>l</i> ≤ 12
Αριθμός Ανακλάσεων (σύνολο/ανεξάρτητες)	1652/1090	29332/1563
R _{int}	0.0215	0.0300
Δεδομένα/παράμετροι	1090/10/181	1563/0/185
GOF (με βάση F ²)	1.098	1.081
<i>a</i> , <i>b</i> (σχέση μάζας/ <i>w</i>)	0.0936/0	0.0417/6.4751
Τελικές ενδείξεις R/R _w [<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)]	0.0444/0.1181	0.0283/0.0758
Τελικές ενδείξεις R/R _w (συνολικά δεδομένα)	0.0486/0.1205	0.0302/0.0770
Μέγιστο/ελάχιστο Δρ ανάκλασης (eÅ ⁻³)	0.680/-0.619	1.412/-0.501

$${}^a R = \sum |F_o| - |F_c| / \sum |F_o|, wR = [\sum w(|F_o|^2 - |F_c|^2) / \sum w |F_o|^2]^{1/2}, GOF = [\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / (n - p)]^{1/2}, w = 1 / [\sigma^2(F_o^2) + (aP)^2 + bP], \text{ όπου } P = (F_o^2 + 2F_c^2) / 3.$$

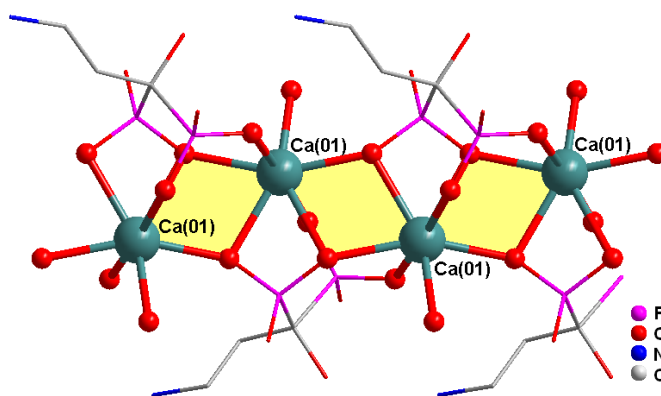
^βΠηγή MoK α , ^γΠηγή CuK α

Πίνακας 3.14. Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού για την ένωση **CaH₂L1**, [C1] στους 100 K με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις.

CaH ₂ L1			
Ca(01)-O(005)	2.303(6)	P(002)-O(4)	1.520(6)
Ca(01)-O(011)	2.369(6)	P(002)-O(8)	1.569(6)
Ca(01)-O(009)	2.371(6)	P(002)-C(015)	1.857(8)
Ca(01)-O(004)	2.379(6)	P(003)-O(004)	1.516(6)
Ca(01)-O(4)	2.380(6)	P(003)-O(005)	1.524(6)
Ca(01)-O(005)	2.456(6)	P(003)-O(006)	1.537(5)
Ca(01)-O(004)	2.601(5)	P(003)-C(015)	1.872(8)
Ca(01)-P(003)	3.049(2)	O(010)-C(015)	1.451(9)
Ca(01)-P(002)	3.460(3)	N(1)-C(016)	1.491(11)
Ca(01)-P(002)	3.481(2)	C(014)-C(015)	1.529(11)
Ca(01)-Ca(01)	3.891(1)	C(014)-C(016)	1.534(11)
P(002)-O(009)	1.506(5)		

Μετασχηματισμοί συμμετρίας: (1) $-x+2,-y,z-1/2$ (2) $-x+2,-y,z+1/2$

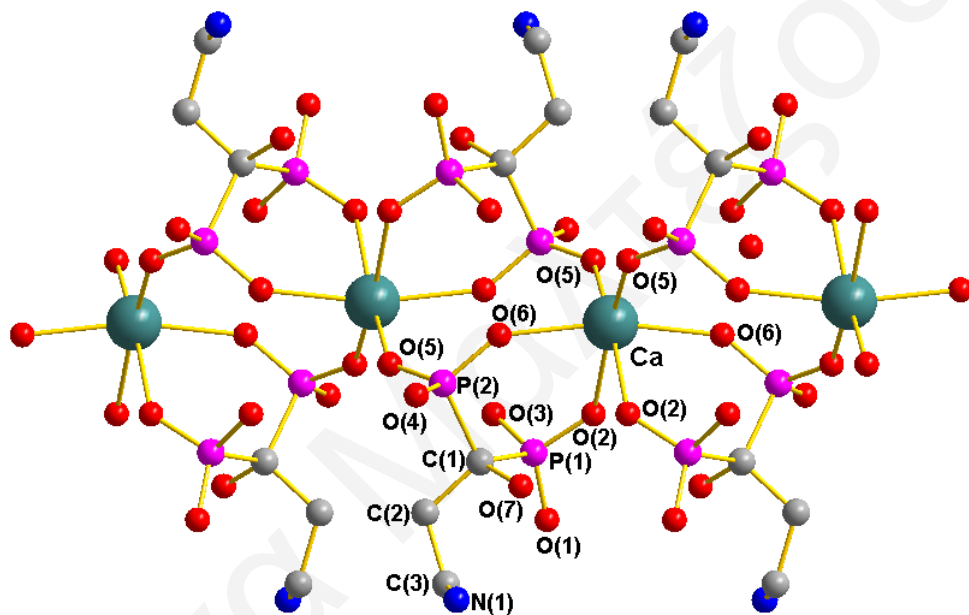
Η δέσμευση του κατιόντος Ca^{2+} μέσω των ατόμων οξυγόνου των φωσφονικών ομάδων οδηγεί στο σχηματισμό πολυμερικής αλυσίδας (σχήμα 3.75). Τα άτομα ασβεστίου διευθετούνται σε ένα επίπεδο με τις υδρόφοβες πλευρικές αλυσίδες να διατάσσονται πάνω και κάτω από το συγκεκριμένο επίπεδο. Οι πολυμερικές αλυσίδες αλληλεπιδρούν μεταξύ τους με διαμοριακές δυνάμεις δεσμών υδρογόνου μέσω των ατόμων οξυγόνου των φωσφονικών ομάδων και των υδρογόνων από τα μόρια νερού που συγκρυσταλλώνονται στο πλέγμα.



Σχήμα 3.75. Διάταξη των μορίων στο χώρο κατά μήκος του κρυσταλλογραφικού άξονα a .

Το δομικό μοτίβο του μορίου είναι παρόμοιο με το αντίστοιχο $\text{Na}_2\text{H}_2\text{L3}$. Τα άτομα ασβεστίου συνδέονται μεταξύ τους με γέφυρες οξυγόνου των ατόμων O(004) και O(005) των φωσφονικών ομάδων του υποκαταστάτη σε δομικό πυρήνα Ca_2O_2 . Η απόσταση μεταξύ των μεταλλικών κέντρων ($\text{Ca}\cdots\text{Ca}$) είναι 3.891(3) Å και οι γωνίες δεσμού Ca(01)-O(004)-Ca(01) και Ca(01)-O(005)-Ca(01) είναι 102.6(2) και 109.6(2) ° αντίστοιχα.

Στο σχήμα 3.76 απεικονίζεται η κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $\text{CaH}_6(\text{L1})_2$, [C2] και στον πίνακα 3.15 παρουσιάζονται επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού. Το σύμπλοκο απομονώθηκε σε pH 4.3. Πρόκειται για ένα μονοδιάστατο κεντροσυμμετρικό πολυμερές και στο πλέγμα συγκρυσταλλώνονται δύο μόρια νερού.



Σχήμα 3.76. Κρυσταλλική δομή του του συμπλόκου $\text{CaH}_6(\text{L1})_2$, [C2] που απομονώνεται στην περιοχή pH 4.3. Για λόγους ευκρίνειας δεν απεικονίζονται τα άτομα υδρογόνου. Κρυσταλλικό σύστημα: Μονοκλινές. Ομάδα χώρου: C2/c. Μοναδιαία κυψελίδα: a : 14.3396(2); b : 14.20390(10); c : 11.1369(2) Å, α : 90.00; β : 119.158(2); γ : 90.00°.

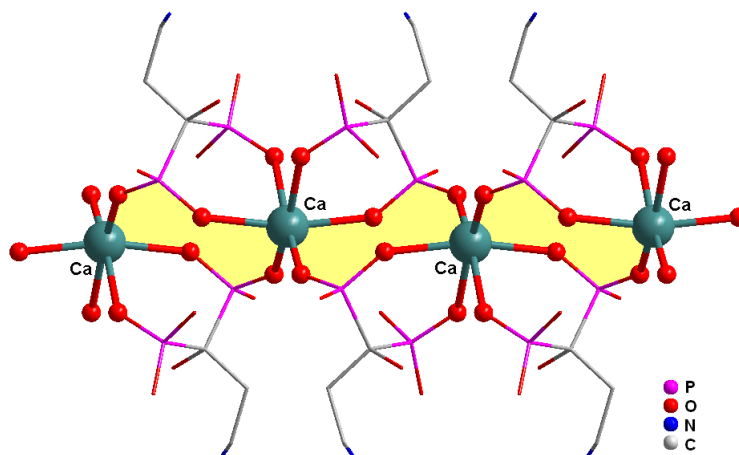
Το κατιόν ασβεστίου συνδέεται από τα άτομα οξυγόνου των φωσφονικών του υποκαταστάτη **L1**. Το μεταλλικό κέντρο υιοθετεί παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία. Το ισημερινό επίπεδο ορίζεται από τα οξυγόνα O(2), O(2'), O(5), O(5') ενώ οι αξονικές θέσεις καταλαμβάνονται από το O(6) και O(6').

Πίνακας 3.15. Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού για την ένωση $\text{CaH}_6(\text{L1})_2$, [C2] στους 100 K με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις.

$\text{CaH}_6(\text{L1})_2$	
Ca-O(5)	2.2916(17)
Ca-O(6)	2.3080(16)
Ca-O(2)	2.3952(17)
P(2)-O(5)	1.4961(17)
P(2)-O(6)	1.5198(17)
P(2)-O(4)	1.5653(18)
P(2)-C(1)	1.847(3)
P(1)-O(1)	1.5016(17)
P(1)-O(2)	1.5124(17)
P(1)-O(3)	1.5707(19)
P(1)-C(1)	1.850(2)
O(7)-C(1)	1.446(3)
C(1)-C(2)	1.542(3)
N(1)-C(3)	1.492(4)
C(3)-C(2)	1.535(4)

Μετασχηματισμοί συμμετρίας: (1) $-x, y, -z+3/2$ (2) $-x, -y+1, -z+1$

Διάγραμμα συσσώρευσης του μορίου στο χώρο, κατά μήκος του a κρυσταλλογραφικού άξονα, δείχνει τις υδρόφοβες αλυσίδες άνθρακα να διατάσσονται εξωτερικά του πολυμερούς (σχήμα 3.77).

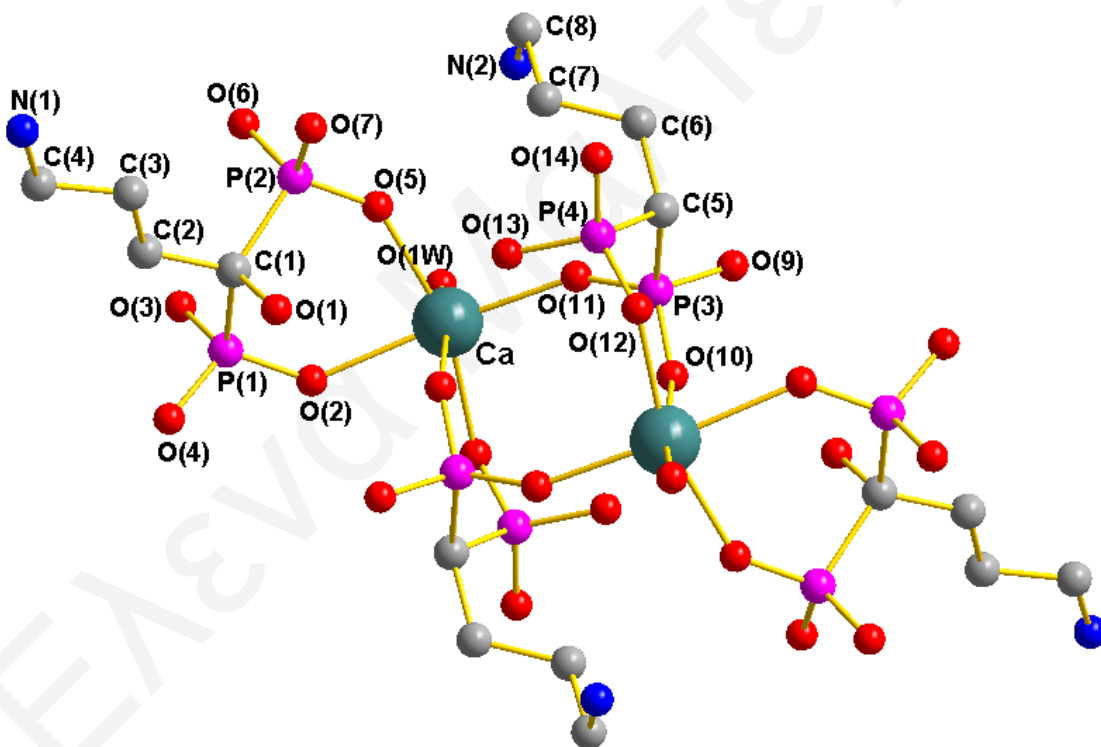


Σχήμα 3.77. Διάταξη των μορίου στο χώρο κατά μήκος του κρυσταλλογραφικού άξονα a .

3.9.4 Κρυσταλλικές δομές συμπλόκων ασβεστίου (C3, C4), κεσίου (C5) και ευρωπίου (III) (C6) με τον υποκαταστάτη L2 σε pH 4.3

Στον πίνακα 3.16 δίνονται συγκεντρωτικά τα κρυσταλλογραφικά και πειραματικά δεδομένα επίλυσης της δομής των συμπλόκων $\text{CaH}_6(\text{L2})_2$, [C3], $\text{CaH}_2\text{L2}$, [C4] και $\text{EuH}_{13}(\text{L2})_4$, [C6] και στους πίνακες 3.17-3.19 παρουσιάζονται επιλεγμένα μήκη δεσμού(Å).

Η κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $\text{CaH}_6(\text{L2})_2$, [C3] απεικονίζεται στο σχήμα 3.78. Το μόριο αυτό φαίνεται να έχει κέντρο συμμετρίας και στο πλέγμα συγκρυσταλλώνονται δύο μόρια νερού. Στην ασύμμετρη μονάδα τέσσερις υποκαταστάτες L2 συνδέονται μεταξύ τους με δύο ιόντα Ca^{2+} μέσω των ατόμων οξυγόνου των φωσφονικών ομάδων των υποκαταστατών.



Σχήμα 3.78. Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $\text{CaH}_6(\text{L2})_2$, [C3] που απομονώνεται στην περιοχή pH 4.3. Για λόγους ευκρίνειας δεν απεικονίζονται τα άτομα υδρογόνου. Κρυσταλλικό σύστημα: Μονοκλινές. Ομάδα χώρου: $P2_1/c$. Μοναδιαία κυψελίδα: a 13.0874(2); b 13.73580(10); c 12.3296(2) Å, $\alpha=90.00$; $\beta=108.911(2)$; $\gamma=90.00^\circ$.

Πίνακας 3.16. Κρυσταλλογραφικά δεδομένα των ενώσεων $\text{CaH}_6(\text{L2})_2$, $[\text{C3}]^{\alpha,\beta}$ $\text{CaH}_2\text{L2}$, $[\text{C4}]^{\alpha,\gamma}$ και $\text{EuH}_{13}(\text{L2})_4$, $[\text{C6}]^{\alpha,\beta}$

Ένωση	$\text{CaH}_6(\text{L2})_2$	$\text{CaH}_2\text{L2}$	$\text{EuH}_{13}(\text{L2})_4$
Εμπειρικός τύπος	$\text{C}_4\text{H}_{11}\text{Ca}_{0.50}\text{NO}_{8.50}\text{P}_2$	$\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{Ca}_3\text{N}_3\text{O}_{30}\text{P}_6$	$\text{C}_{16}\text{H}_{36}\text{EuN}_4\text{O}_{41}\text{P}_8$
Μοριακό βάρος	291.12	990.35	1340.22
T (K)	100	100	100
λ (Å)	1.54184	1.54184	0.71073
Κρυσταλλικό σύστημα	Μονοκλινές	Μονοκλινές	Τετραγωνικό
Ομάδα χώρου	$P2_1/c$	$P2_1/c$	$P-42_1c$
a (Å)	13.0874(2)	21.7780(5)	13.96090(10)
b (Å)	13.73580(10)	8.94590(10)	13.96090(10)
c (Å)	12.3296(2)	21.9099(5)	12.02970(10)
α (°)	90.00	90.00	90.00
β (°)	108.911(2)	119.386(3)	90.00
γ (°)	90.00	90.00	90.00
V (Å ³)	2096.80(5)	3719.35(13)	2344.67(3)
Z	8	4	2
D_c (g/cm ³)	1.844	1.769	1.898
abs coeff (cm ⁻¹)	6.308	7.303	1.731
$F(000)$	1200	2004	1342
θ περιοχή συλλογής δεδομένων (°)	3.57-62.22	4.04-62.26	2.92-28.82
Περιοχή δεικτών Miller (h,k,l)	$-14 \leq h \leq 14$ $-15 \leq k \leq 15$ $-13 \leq l \leq 14$	$-24 \leq h \leq 24$ $-10 \leq k \leq 10$ $-24 \leq l \leq 25$	$-18 \leq h \leq 18$ $-18 \leq k \leq 18$ $-16 \leq l \leq 16$
Αριθμός Ανακλάσεων (σύνολο/ανεξάρτητες)	29725/3293	103600/5875	31787/2982
R_{int}	0.0331	0.0429	0.0306
Δεδομένα/παράμετροι	3293/0/336	5875/0/487	2982/0/153
GOF (με βάση F^2)	1.058	1.440	1.126
a, b (σχέση μάζας/ w)	0.0686/17.1804	2000/0	0.0438/5.9501
Τελικές ενδείξεις R/R_w [$I > 2\sigma(I)$]	0.0640/0.1575	0.0924/0.4078	0.0288/0.0813
Τελικές ενδείξεις R/R_w (συνολικά δεδομένα)	0.0656/0.1588	0.1113/0.4474	0.0299/0.0819
Μέγιστο/ελάχιστο $\Delta\rho$ ανάκλασης (eÅ ⁻³)	1.792/-1.027	1.307/-3.580	1.921/-0.534

$${}^{\alpha}R = \frac{\sum |F_o| - |F_c|}{\sum |F_o|}, wR = \frac{[\sum w(|F_o|^2 - |F_c|^2)/\sum w|F_o|^2]^{1/2}}{F_o}, GOF = \frac{[\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2]/(n-p)]^{1/2}}{w}, w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (aP)^2 + bP], \text{ όπου } P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3.$$

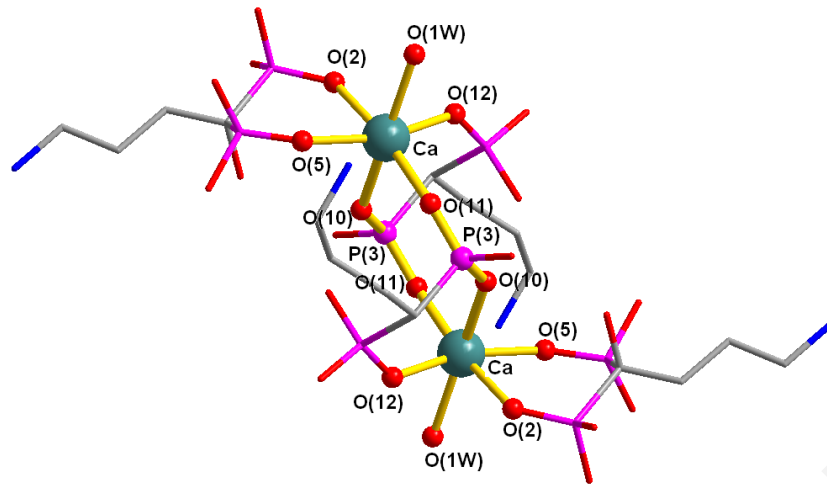
^βΠηγή MoK\α, ^γΠηγή CuK\α

Πίνακας 3.17. Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού για την ένωση $\text{CaH}_6(\text{L2})_2$, [C3] στους 100 K με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις.

$\text{CaH}_6(\text{L2})_2$			
Ca-O(11)	2.224(4)	P(4)-O(12)	1.474(4)
Ca-O(5)	2.245(4)	P(4)-O(14)	1.509(5)
Ca-O(12)	2.266(4)	P(4)-O(13)	1.587(5)
Ca-O(2)	2.360(3)	P(4)-C(5)	1.831(7)
Ca-O(1W)	2.382(6)	O(3)-P(1)	1.571(4)
Ca-O(10)	2.409(4)	O(1)-C(1)	1.447(6)
Ca-P(4')	3.436(7)	O(4)-P(1)	1.510(3)
Ca-P(4)	3.4407(19)	O(12)-P(4')	1.587(8)
Ca-P(2)	3.5457(15)	O(11)-P(3)	1.490(4)
P(1)-O(4)	1.510(3)	N(1)-C(4)	1.494(7)
P(1)-O(2)	1.512(4)	O(8)-C(5)	1.518(8)
P(1)-O(3)	1.571(4)	O(8)-P(4')	1.670(10)
P(1)-C(1)	1.843(5)	O(14)-P(4')	1.782(9)
P(2)-O(5)	1.497(4)	C(2)-C(3)	1.521(7)
P(2)-O(6)	1.509(4)	C(2)-C(1)	1.546(7)
P(2)-O(7)	1.576(4)	C(4)-C(3)	1.524(7)
P(2)-C(1)	1.851(5)	C(6)-C(7)	1.548(10)
P(3)-O(11)	1.489(4)	C(6)-C(5)	1.549(9)
P(3)-O(10)	1.510(4)	C(7)-C(8)	1.486(9)
P(3)-O(9)	1.566(4)	C(5)-P(4')	1.382(10)
P(3)-C(5)	1.890(7)	C(8)-N(2)	1.498(14)
P(4)-P(4')	1.012(9)		

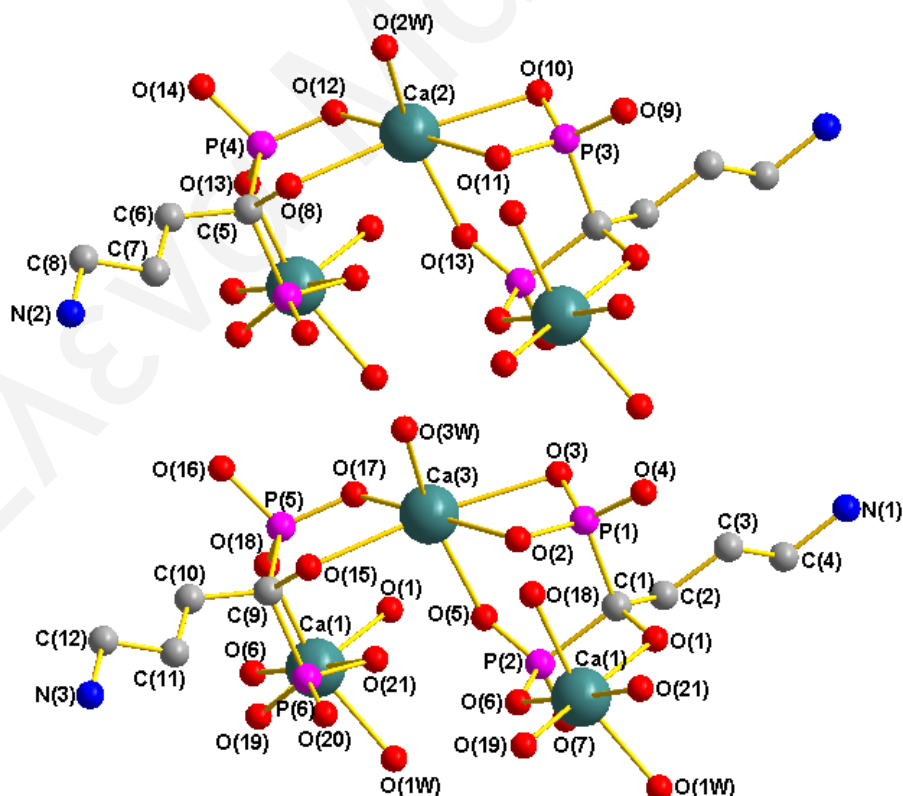
Μετασχηματισμοί συμμετρίας: (1) $-x+1, -y+1, -z+1$ (2) $-x+2, -y+1, -z+1$

Το ισημερινό επίπεδο ένταξης του μεταλλοϊόντος ασβεστίου στη συγκεκριμένη ένωση ορίζεται από τη δέσμευσή του με το O(2) και O(5) από το ένα **L2** και το O(12) και O(11) από το δεύτερο μόριο **L2** (σχήμα 3.79). Η σφαίρα ένταξης του μεταλλοϊόντος ολοκληρώνεται με τις αξονικές θέσεις να καταλαμβάνονται από το O(10) του υποκαταστάτη και το οξυγόνο O(1W) από μόριο νερού έτσι ώστε το μεταλλικό κέντρο να διευθετείται σε παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία. Τα άτομα οξυγόνου O(10) και O(11) λειτουργούν ως γέφυρα σύνδεσης μεταξύ των ατόμων ασβεστίου τα οποία συνδεδεμένα στα άτομα P(3) οδηγούν στο σχηματισμό ενός οκταμελούς δακτυλίου (Ca-O(11)-P3 = 147.5 (4)°, Ca-O(10)-P3 = 137.2 (3)°). Η απόσταση μεταξύ των δύο μεταλλικών κέντρων του ασβεστίου είναι 5.628(2) Å.



Σχήμα 3.79. Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $\text{CaH}_6(\text{L2})_2$, [C3] στην οποία φαίνεται η παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία που υιοθετεί το μεταλλικό κέντρο ασβεστίου καθώς επίσης και ο σχηματισμός οκταμελούς δακτυλίου.

Στο σχήμα 3.80 παρουσιάζεται η κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $\text{CaH}_2\text{L2}$, [C4] και στον πίνακα 3.18 παρουσιάζονται επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού. Το σύμπλοκο απομονώθηκε σε pH 4.3 και στο πλέγμα συγκρυσταλλώνονται πέντε μόρια νερού.



Σχήμα 3.80. Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $\text{CaH}_2\text{L2}$, [C4] που απομονώνεται στην περιοχή pH 4.3. Για λόγους ευκρίνειας δεν απεικονίζονται τα άτομα υδρογόνου. Κρυσταλλικό σύστημα: Μονοκλινές, Ομάδα χώρου: $P2_1/c$. Μοναδιαία κυψελίδα: a 21.7780(5); b 8.94590(10); c 21.9099(5) Å, $\alpha = 90.00$; $\beta = 119.386(3)$; $\gamma = 90.00^\circ$.

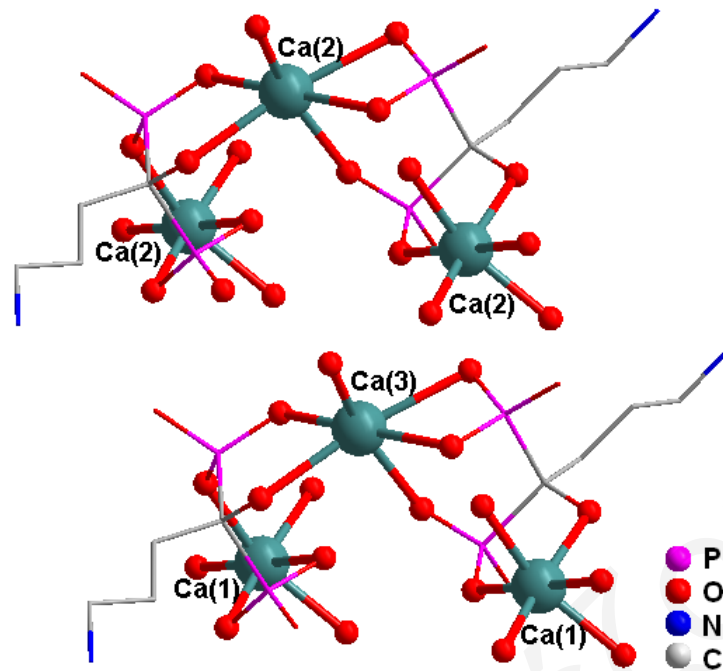
Πίνακας 3.18. Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού για την ένωση **CaH₂L₂, [C4]** στους 100 K με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις.

CaH₂L₂			
P(3)-O(10)	1.499(4)	P(2)-O(6)	1.520(4)
P(3)-O(9)	1.505(4)	P(2)-O(5)	1.523(4)
P(3)-O(11)	1.571(4)	P(2)-O(7)	1.582(4)
P(3)-C(5)	1.865(6)	P(2)-C(1)	1.851(6)
P(3)-Ca(2)	3.095(2)	P(2)-Ca(1)	3.438(2)
P(6)-O(19)	1.498(4)	P(2)-Ca(3)	3.521(2)
P(6)-O(20)	1.504(4)	Ca(1)-O(1W)	2.265(4)
P(6)-O(21)	1.573(4)	Ca(1)-O(18)	2.328(4)
P(6)-C(9)	1.862(5)	Ca(1)-O(6)	2.344(4)
P(6)-Ca(1)	3.093(2)	Ca(1)-O(21)	2.530(4)
P(4)-O(12)	1.513(4)	Ca(1)-O(1)	2.546(4)
P(4)-O(13)	1.522(4)	Ca(1)-O(19)	2.561(4)
P(4)-O(14)	1.587(4)	Ca(2)-O(2W)	2.264(4)
P(4)-C(5)	1.845(6)	Ca(2)-O(13)	2.326(4)
P(4)-Ca(2)	3.436(2)	Ca(2)-O(12)	2.350(4)
P(4)-Ca(2)	3.520(2)	Ca(2)-O(11)	2.531(4)
P(1)-O(3)	1.498(4)	Ca(2)-O(8)	2.546(4)
P(1)-O(4)	1.505(4)	Ca(2)-O(10)	2.563(4)
P(1)-O(2)	1.566(4)	Ca(3)-O(3W)	2.266(4)
P(1)-C(1)	1.860(5)	Ca(3)-O(5)	2.327(4)
P(1)-Ca(3)	3.095(2)	Ca(3)-O(17)	2.343(4)
P(5)-O(17)	1.516(4)	Ca(3)-O(2)	2.531(4)
P(5)-O(18)	1.519(4)	Ca(3)-O(15)	2.544(4)
P(5)-O(16)	1.585(4)	Ca(3)-O(3)	2.564(4)
P(5)-C(9)	1.851(6)	O(15)-C(9)	1.437(6)
P(5)-Ca(3)	3.436(2)	O(8)-C(5)	1.442(7)
P(5)-Ca(1)	3.518(2)	O(1)-C(1)	1.443(6)

N(3)-C(12)	1.520(7)
N(2)-C(8)	1.518(7)
N(1)-C(4)	1.526(7)
C(4)-C(3)	1.495(7)
C(8)-C(7)	1.494(7)
C(3)-C(2)	1.551(7)
C(12)-C(11)	1.491(7)
C(7)-C(6)	1.556(7)
C(11)-C(10)	1.557(8)
C(10)-C(9)	1.533(8)
C(2)-C(1)	1.533(8)
C(6)-C(5)	1.536(8)

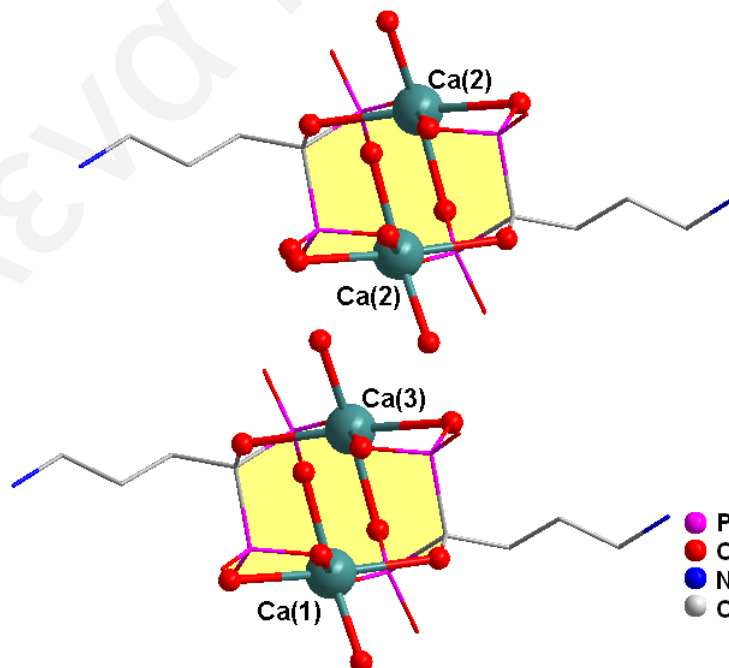
Μετασχηματισμοί συμμετρίας: (1) $x, -y+1/2, z+1/2$ (2) $-x+1, y+1/2, -z+1/2$ (3) $x, -y+3/2, z+1/2$ (4) $x, -y+1/2, z-1/2$ (5) $x, -y+3/2, z-1/2$ (6) $-x+1, y-1/2, -z+1/2$ (7) $-x, y-1/2, -z-1/2$ (8) $-x, y+1/2, -z-1/2$

Στο πλέγμα του μορίου συγκρυσταλλώνονται δύο πολυμερικές αλυσίδες με τρία διαφορετικά άτομα ασβεστίου τα οποία λειτουργούν ως συνδετικές γέφυρες των μορίων οδηγώντας στο σχηματισμό δύο ανεξάρτητων πολυμερών (σχήμα 3.81). Το ένα πολυμερές σχηματίζεται από τη δέσμευση δύο διαφορετικών ατόμων ασβεστίου (Ca(1), Ca(3) μέσω των ατόμων οξυγόνου των φωσφονικών ομάδων. Τα οργανικά μόρια διατάσσονται *zig zag* στην αλυσίδα με τα άτομα ασβεστίου να διευθετούνται μεταξύ τους. Κάθε κατιόν υιοθετεί παραμορφωμένο οκταεδρικό περιβάλλον. Το ισημερινό επίπεδο ορίζεται για κάθε άτομο ασβεστίου από τρία άτομα οξυγόνου των φωσφονικών ομάδων και ένα άτομο οξυγόνου από μόριο νερού (Ca(1): O(1), O(19), O(18), O(1W); Ca(3): O(15), O(3), O(5), O(3W)). Οι αξονικές θέσεις καταλαμβάνονται από τα άτομα οξυγόνου O(6) και O(21) στο Ca(1), O(2) και O(17) στο Ca(3). Τα μήκη δεσμών Ca-O είναι παρόμοια μεταξύ τους. Στο οκταεδρικό περιβάλλον ένταξης των Ca(1) και Ca(3) το δομικό μοτίβο του δεύτερου πολυμερούς με Ca(2) είναι παρόμοιο.



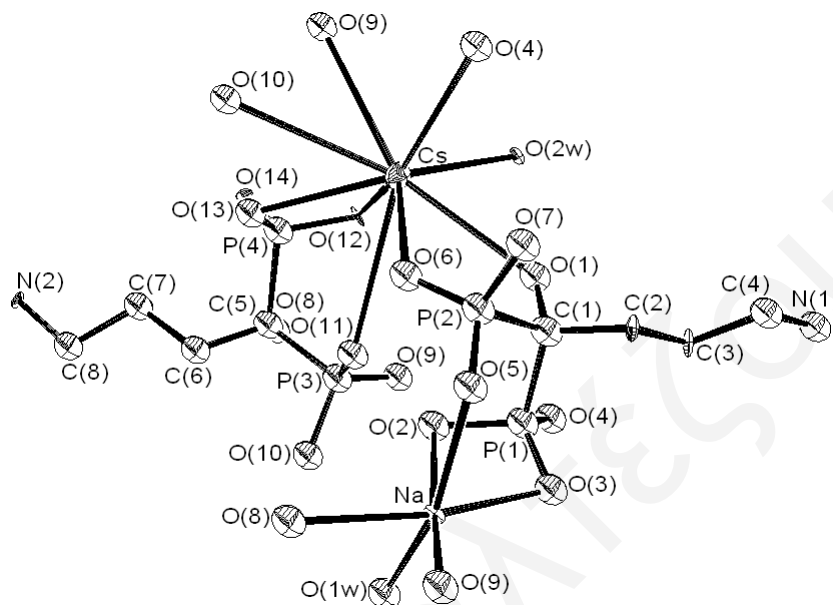
Σχήμα 3.81. Σχηματισμός δύο ανεξάρτητων πολυμερών.

Στο σχήμα 3.82 παρουσιάζεται το διάγραμμα συσσώρευσης του συμπλόκου CaH_2L_2 , [C4] κατά μήκος του b κρυσταλλογραφικού άξονα. Οι πολυμερικές αλυσίδες διατάσσονται παράλληλα και μεταξύ τους μόρια νερού αλληλεπιδρούν με αυτές μέσω διαμοριακών δυνάμεων δεσμών υδρογόνου.



Σχήμα 3.82. Διάταξη των μορίου στο χώρο κατά μήκος του κρυσταλλογραφικού άξονα b .

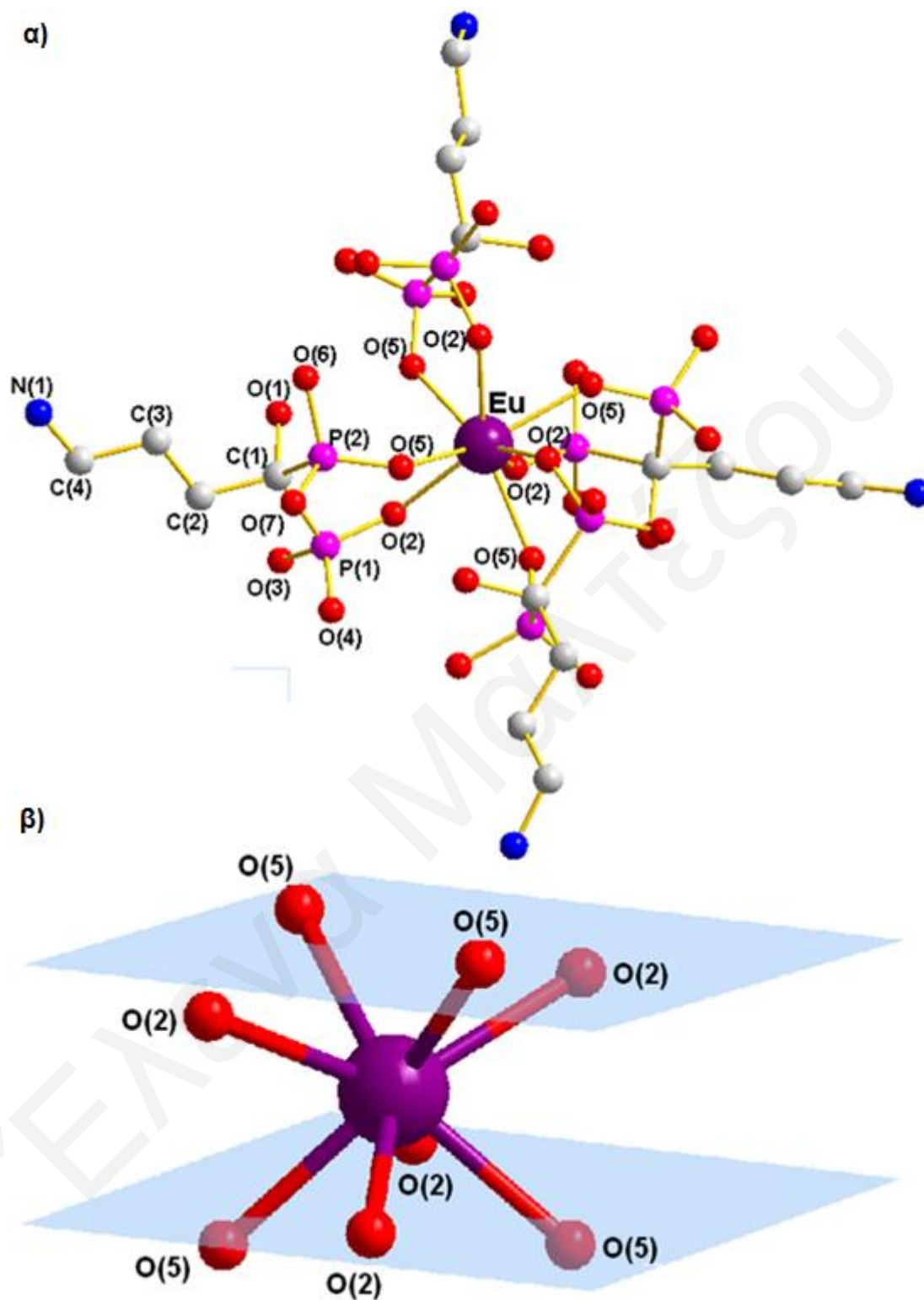
Αντιπροσωπευτική κρυσταλλική δομή του συμπλόκου **C5** απεικονίζεται στο σχήμα 3.83. Το άτομο του κεσίου έχει αριθμό ένταξης 9 και υιοθετεί τρικαλυμμένη πρισματική γεωμετρία.



Σχήμα 3.83. Κρυσταλλική δομή του του συμπλόκου **C5** που απομονώνεται στην περιοχή pH 4.3. Για λόγους ευκρίνειας δεν απεικονίζονται τα άτομα υδρογόνου. Κρυσταλλικό σύστημα: Μονοκλινές. Ομάδα χώρου: *P c*. Μοναδιαία κυψελίδα: *a* 7.1478(4); *b* 9.1250(5); *c* 19.3792(11) Å, $\alpha = 90.00^\circ$; $\beta = 100.521(5)^\circ$; $\gamma = 90.00^\circ$.

Το μονοπυρηνικό σύμπλοκο του **EuH₁₃(L2)₄**, [**C6**] απομονώθηκε σε pH 4.3 και στο πλέγμα συγκρυσταλλώνονται τέσσερα μόρια νερού. Η κρυσταλλική δομή του μορίου απεικονίζεται στο σχήμα 3.84 (α) ενώ στον πίνακα 3.19 παρουσιάζονται επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού. Το μεταλλοϊόν έχει αριθμό ένταξης 8 και υιοθετεί γεωμετρία τριγωνικού δωδεκαέδρου.

Στην κεντροσυμμετρική δομή του **EuH₁₃(L2)₄**, ένα άτομο οξυγόνου από κάθε φωσφονική ομάδα του **L2** (O(2) του P(1) και O(5) του P(2)) δεσμεύεται με το μεταλλοϊόν ευρωπαϊού 3+. Το άτομο ευρωπαϊού συνδέεται με τέσσερις υποκαταστάτες **L2** έχοντας αριθμό ένταξης 8 και υιοθετεί παραμορφωμένη τριγωνική δωδεκαεδρική γεωμετρία. Τα άτομα οξυγόνου (O(2) και O(5)) κάθε **L2** που δεσμεύονται στο μεταλλοϊόν διευθετούνται σε *cis* θέση μεταξύ τους (σχήμα 3.84 (β)).



Σχήμα 3.84. α) Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $\text{EuH}_{13}(\text{L2})_4$, $[\text{C6}]$ που απομονώνεται στην περιοχή pH 4.3. Για λόγους ευκρίνειας δεν απεικονίζονται τα άτομα υδρογόνου. Κρυσταλλικό σύστημα: Τετραγωνικό. Ομάδα χώρου: $P-42_1c$. Μοναδιαία κυψελίδα: a 12.02970(10); b 13.96090(10); c 13.96090(10) Å, $\alpha=90.00^\circ$; $\beta=90.00^\circ$; $\gamma=90.00^\circ$. β) Σχηματική απεικόνιση όπου φαίνεται η σφαίρα ένταξης του Eu^{3+} .

Πίνακας 3.19. Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού για την ένωση $\text{EuH}_{13}(\text{L2})_4$, [C6] στους 100 K με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις.

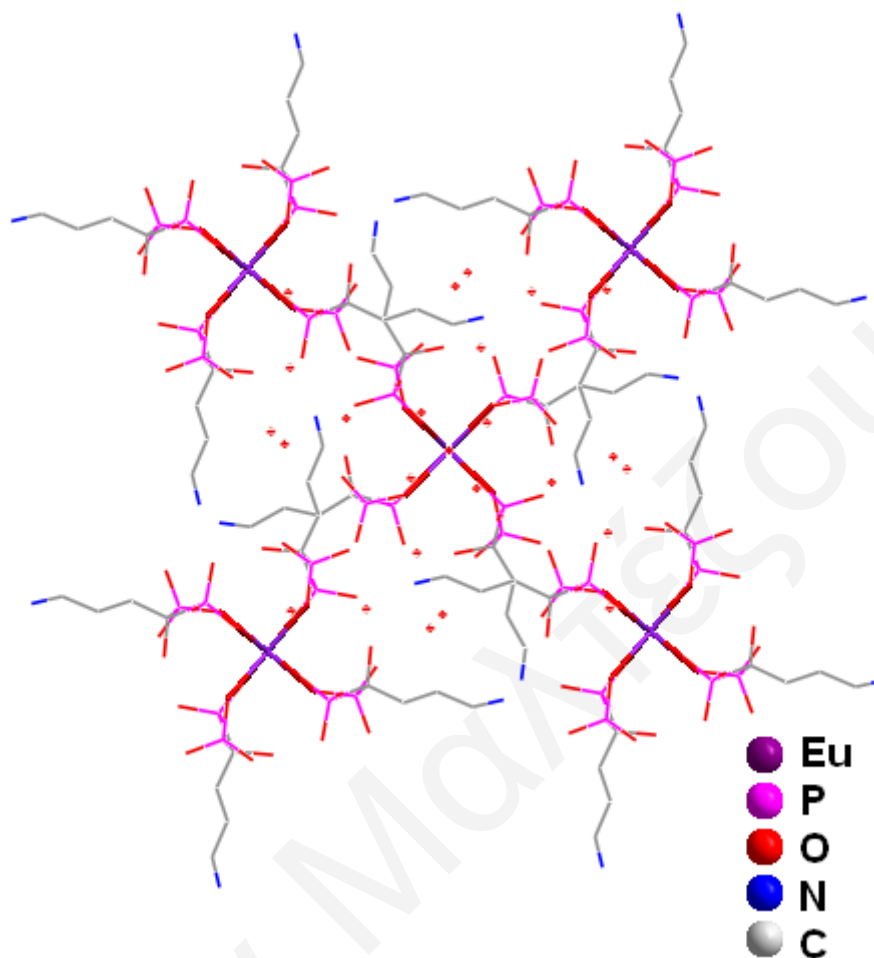
$\text{EuH}_{13}(\text{L2})_4$	
Eu-O(5) x 4	2.363(3)
Eu-O(2) x 4	2.396(3)
P(2)-O(7)	1.501(3)
P(2)-O(5)	1.518(3)
P(2)-O(6)	1.575(3)
P(2)-C(1)	1.854(4)
P(1)-O(2)	1.505(3)
P(1)-O(4)	1.509(3)
P(1)-O(3)	1.573(3)
P(1)-C(1)	1.847(3)
O(1)-C(1)	1.448(4)
N(1)-C(4)	1.432(6)
C(3)-C(4)	1.512(5)
C(3)-C(2)	1.535(5)
C(2)-C(1)	1.538(5)

Μετασχηματισμοί συμμετρίας: (1) $\gamma, -x, -z$ (2) $-\gamma, x, -z$ (3) $-x, -\gamma, z$

Με βάση τα μήκη δεσμών P-O του οργανικού μορίου **L2** μπορεί να ταυτοποιηθεί το είδος δεσμού P-O στην κρυσταλλική δομή $\text{EuH}_{13}(\text{L2})_4$. Τα μήκη δεσμών του P(2) με τα άτομα O(7) και O(6) είναι 1.501(3) και 1.575 (3) Å αντίστοιχα και υποστηρίζουν διπλό (P=O) και απλό πρωτονιωμένο δεσμό (P-OH). Το ενδιαμέσο μήκος δεσμού P(2)-O(5)= 1.518(3) Å υποστηρίζει αποπρωτονιωμένο άτομο οξυγόνου (P-O⁻) το οποίο δεσμεύεται στο Eu^{3+} και αντισταθμίζει το κατιοντικό του φορτίο. Αντίθετα τα μήκη δεσμών P-O στο P(1) δείχνουν πρωτονιωμένο το ένα άτομο οξυγόνου (P(1)-O(3)= 1.573(3) Å) ενώ τα υπόλοιπα έχουν μήκος δεσμού μεταξύ απλού και διπλού (P(1)-O(2)= 1.505(3) Å και (P(1)-O(4)= 1.509(3) Å). Αυτό υποστηρίζει απεντοπισμένη ηλεκτρονιακή πυκνότητα στα άτομα O (O(2) και O(4) με το P(2)). Το μόριο έχει κατιοντικό φορτίο το οποίο οφείλεται στο μεταλλοϊόν Eu^{3+} και τα τέσσερα πρωτονιωμένα άτομα αζώτου των **L2** (N(1)), το οποίο αντισταθμίζεται από τα άτομα οξυγόνου των φωσφορικών που εντάσσονται με το μεταλλοϊόν.

Κατά μήκος του *c* κρυσταλλογραφικού άξονα, τα μονοπυρηνικά σύμπλοκα προσανατολίζουν τις υδρόφοβες αλυσίδες τους τη μία απέναντι από την άλλη και

αλληλεπιδρούν μεταξύ τους με διαμοριακές δυνάμεις δεσμών υδρογόνου μέσω των πρωτονιωμένων ατόμων αζώτου (σχήμα 3.85).



Σχήμα 3.85. Διάταξη των μορίου στο χώρο κατά μήκος του κρυσταλλογραφικού άξονα c.

3.9.5 Κρυσταλλικές δομές συμπλόκων ασβεστίου με τον υποκαταστάτη L2 και L4 σε χαμηλό pH (1.19-1.20)

Στον πίνακα 3.20 δίνονται συγκεντρωτικά τα κρυσταλλογραφικά και πειραματικά δεδομένα επίλυσης της δομής των συμπλόκων $\text{CaH}_6(\text{L2})_2$, [C8] και $\text{CaH}_2\text{L4}$, [C10] και στους πίνακες 3.21-3.22 παρουσιάζονται επιλεγμένα μήκη δεσμού(Å).

Πίνακας 3.20. Κρυσταλλογραφικά δεδομένα των ενώσεων **CaH₆(L2)₂, [C8]** και **CaH₂L2, [C10]**.^{α,β}

Ένωση	CaH ₆ (L2) ₂	CaH ₂ L4
Εμπειρικός τύπος	C ₈ H ₂₃ CaN ₂ O ₁₄ P ₄	C ₂₄ H ₇₂ Ca ₆ O ₅₄ P ₁₂
Μοριακό βάρος	535.24	1836.94
T (K)	100	100
λ (Å)	0.71073	0.71073
Κρυσταλλικό σύστημα	Μονοκλινές	Τρικλινές
Ομάδα χώρου	C2/c	P-1
a (Å)	15.8933(13)	12.9476(8)
b (Å)	12.3678(4)	14.2417(9)
c (Å)	11.4064(9)	18.1658(13)
α (°)	90.00	91.292(5)
β (°)	123.485(11)	99.240(6)
γ (°)	90.00	102.918(5)
V (Å ³)	1870.0(2)	3216.6(4)
Z	4	2
D _c (g/cm ³)	1.901	1.897
abs coeff (cm ⁻¹)	0.755	0.916
F(000)	1108	1896
θ περιοχή συλλογής δεδομένων (°)	3.07-28.81	2.84-28.93
Περιοχή δεικτών Miller (h,k,l)	-21 ≤ h ≤ 21 -16 ≤ k ≤ 16 -14 ≤ l ≤ 5	-17 ≤ h ≤ 17 -19 ≤ k ≤ 18 -24 ≤ l ≤ 22
Αριθμός Ανακλάσεων (σύνολο/ανεξάρτητες)	10577/2272	28823/14691
R _{int}	0.0316	0.0508
Δεδομένα/παράμετροι	2272/0/176	14691/0/825
GOF (με βάση F ²)	1.040	0.942
a, b (σχέση μάζας/w)	0.0378/2.5743	0.1367/0
Τελικές ενδείξεις R/R _w [I > 2σ(I)]	0.0277/0.0704	0.0668/0.2198
Τελικές ενδείξεις R/R _w (συνολικά δεδομένα)	0.0339/0.0722	0.1650/0.2597
Μέγιστο/ελάχιστο Δρ ανάκλασης (eÅ ⁻³)	0.482/-0.484	1.257/-2.977

$${}^{\alpha}R = \sum |F_o| - |F_c| / \sum |F_o|, wR = [\sum w(|F_o|^2 - |F_c|^2) / \sum w|F_o|^2]^{1/2}, GOF = [\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / (n - p)]^{1/2}, w = 1 / [\sigma^2(F_o^2) + (aP)^2 + bP], \text{ όπου } P = (F_o^2 + 2F_c^2) / 3.$$

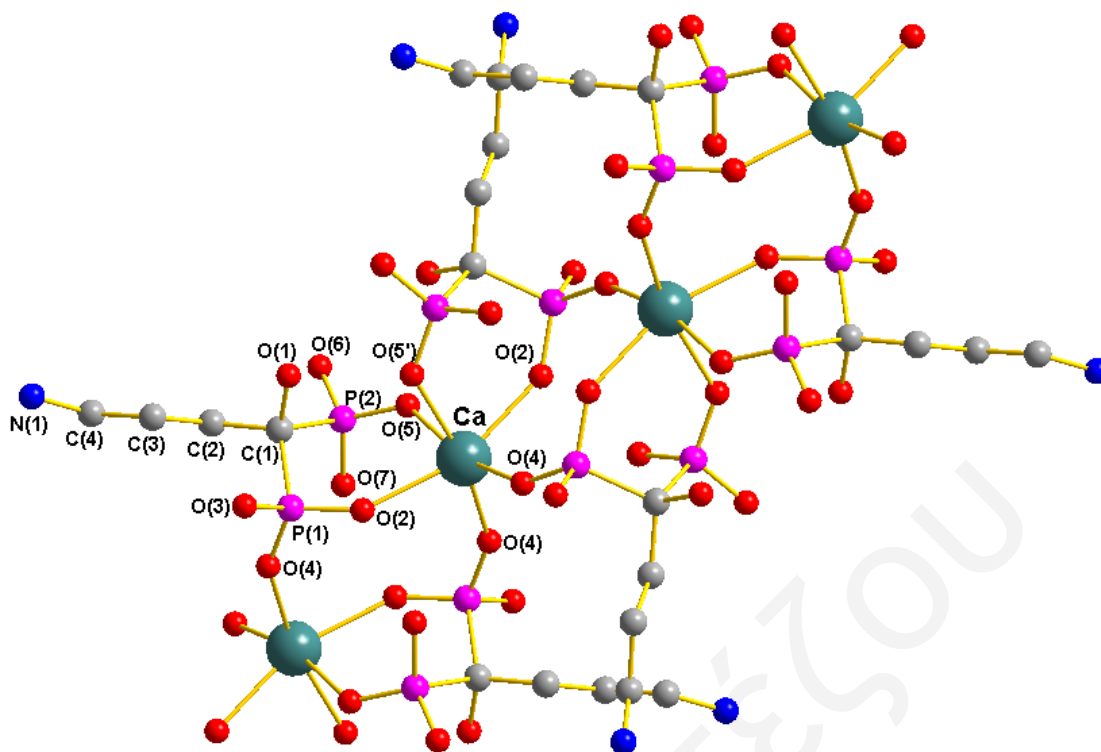
^βΠηγή MoK\α

Πίνακας 3.21. Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού για την ένωση $\text{CaH}_6(\text{L2})_2$, [C8] στους 100 K με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις.

$\text{CaH}_6(\text{L2})_2$	
C(1)-O(1)	1.450(2)
C(1)-C(2)	1.530(2)
C(1)-P(1)	1.8530(17)
C(1)-P(2)	1.8654(18)
Ca(1)-O(4)	2.2991(13)
Ca(1)-O(2)	2.3294(12)
Ca(1)-O(5)	2.3392(13)
Ca(1)-P(2)	3.5314(6)
P(1)-O(4)	1.5042(13)
P(1)-O(2)	1.5206(12)
P(1)-O(3)	1.5609(13)
P(2)-O(5)	1.5070(13)
P(2)-O(6)	1.5099(12)
P(2)-O(7)	1.5686(13)
O(3)-P(1)	1.5610(13)
O(4)-P(1)	1.5043(13)
N(1)-C(4)	1.488(2)
C(4)-C(3)	1.516(3)
C(3)-C(2)	1.536(2)

Μετασχηματισμοί συμμετρίας: (1) $-x, y, -z+3/2$ (2) $-x, -y, -z+2$ (3) $x-1/2, -y+1/2, z-1/2$ (4) $x+1/2, -y+1/2, z+1/2$

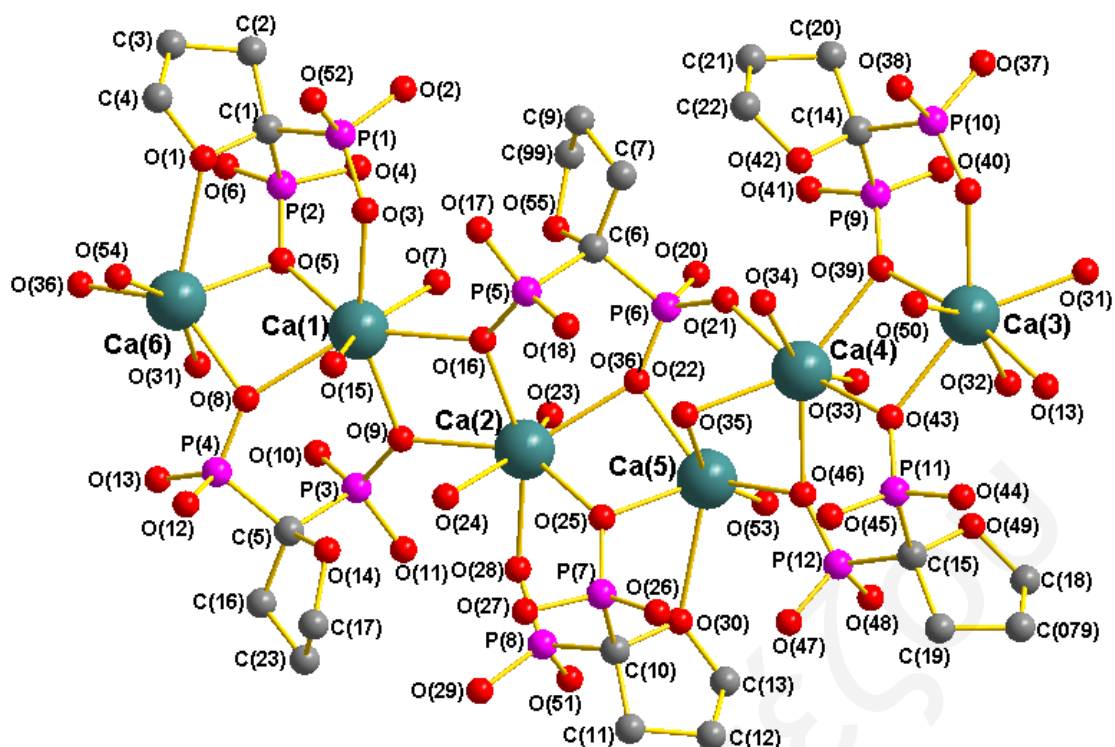
Η κρυσταλλική δομή του μορίου $\text{CaH}_6(\text{L2})_2$, [C8] απεικονίζεται στο σχήμα 3.86 και το μόριο απομονώθηκε σε pH 1.19. Πρόκειται για ένα μονοδιάστατο πολυμερές όπου κατιόντα ασβεστίου μέσω των φωσφονικών ατόμων οξυγόνου συνδέονται μεταξύ τους προς σχηματισμό αλυσίδας. Τα οργανικά μόρια διευθετούνται εξωτερικά της αλυσίδας και ενδιάμεσα τους διατάσσονται άτομα ασβεστίου. Το άτομο ασβεστίου διευθετείται σε παραμορφωμένο οκταεδρικό περιβάλλον. Για κάθε **L2**, ένα άτομο οξυγόνου (O(5)-P(2)) από τη μία φωσφονική ομάδα και δύο άτομα οξυγόνου (O(2)-P(1) και O(4)-P(1)) από την άλλη φωσφονική ομάδα συνδέονται με το Ca^{2+} . Το ισημερινό επίπεδο ένταξης του μεταλλοϊόντος ορίζεται από τα άτομα οξυγόνου O(4), O(4') και O(5), O(5'). Τις αξονικές θέσεις καταλαμβάνουν τα άτομα οξυγόνου O(2).



Σχήμα 3.86. Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $\text{CaH}_6(\text{L2})_2$, [C8] που απομονώνεται σε pH 1.19. Για λόγους ευκρίνειας δεν απεικονίζονται τα άτομα υδρογόνου. Κρυσταλλικό σύστημα: Μονοκλινές. Ομάδα χώρου: $C2/c$. Μοναδιαία κυψελίδα: a 15.8933(13); b 11.4064(9); c 12.3678(4) Å, $\alpha = 90.00$; $\beta = 123.485(11)$; $\gamma = 90.00^\circ$.

Η διάταξη του μορίου κατά μήκος του a κρυσταλλογραφικού άξονα παρουσιάζει σε *zig zag* διευθέτηση τις οργανικές υδρόφοβες αλυσίδες στο εξωτερικό μέρος της πολυμερικής αλυσίδας ενώ τα άτομα ασβεστίου διευθετούνται στο εσωτερικό.

Αντιπροσωπευτική κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $\text{CaH}_2\text{L4}$, [C10] απεικονίζεται στο σχήμα 3.87 και στον πίνακα 3.22 παρουσιάζονται επιλεγμένα μήκη δεσμού(Å). Το μόριο απομονώθηκε σε pH 1.2. Η χειρομορφία του φουρανυλικού δακτυλίου του υποκαταστάτη **L4** οδηγεί στην απομόνωση πολυμερούς με έξι διαφορετικά άτομα ασβεστίου (Ca(1): # ένταξης 7, Ca(2): # ένταξης 7, Ca(3): # ένταξης 7, Ca(4): # ένταξης 7, Ca(5): # ένταξης 6, Ca(6): # ένταξης 6) τα οποία συνδέονται μεταξύ τους με γέφυρες ατόμων οξυγόνου των φωσφονικών ομάδων του υποκαταστάτη (πίνακας 3.23 και 3.24).



Σχήμα 3.87. Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου **CaH₂L₄, [C10]** που απομονώνεται στην περιοχή pH 1.2. Για λόγους ευκρίνειας δεν απεικονίζονται τα άτομα υδρογόνου. Κρυσταλλικό σύστημα: Τρικλινές. Ομάδα χώρου: *P*-1. Μοναδιαία κυψελίδα: *a* 12.9476(8); *b* 18.1658(13); *c* 14.2417(9) Å, $\alpha = 91.292(5)$; $\beta = 99.240(6)$; $\gamma = 102.918(5)^\circ$.

Πίνακας 3.22. Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού για την ένωση **CaH₂L₄, [C10]** στους 100 K με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις.

CaH ₂ L ₄			
Ca(1)-O(15)	2.332(7)	Ca(4)-O(39)	2.434(7)
Ca(1)-O(9)	2.395(7)	Ca(4)-O(34)	2.441(7)
Ca(1)-O(5)	2.402(7)	Ca(4)-Ca(5)	3.401(4)
Ca(1)-O(3)	2.430(7)	Ca(4)-P(11)	3.567(4)
Ca(1)-O(7)	2.435(7)	Ca(4)-Ca(3)	3.7146(18)
Ca(1)-O(8)	2.480(7)	P(6)-O(22)	1.506(7)
Ca(1)-O(16)	2.510(7)	P(6)-O(21)	1.514(8)
Ca(1)-P(3)	3.486(4)	P(6)-O(20)	1.592(7)
Ca(1)-Ca(6)	3.522(8)	P(6)-C(6)	1.821(11)
Ca(1)-Ca(2)	3.8385(16)	P(6)-Ca(5)	3.331(4)
Ca(2)-O(23)	2.330(7)	P(5)-O(16)	1.508(8)
Ca(2)-O(16)	2.394(7)	P(5)-O(18)	1.513(7)
Ca(2)-O(25)	2.404(7)	P(5)-O(17)	1.567(7)
Ca(2)-O(24)	2.430(7)	P(5)-C(6)	1.831(11)
Ca(2)-O(28)	2.433(7)	P(7)-O(25)	1.510(7)

Ca(2)-O(22)	2.472(7)	P(7)-O(26)	1.513(8)
Ca(2)-O(9)	2.499(7)	P(7)-O(27)	1.561(7)
Ca(2)-P(5)	3.485(4)	P(7)-C(10)	1.818(12)
Ca(2)-Ca(5)	3.524(4)	P(7)-Ca(5)	3.188(5)
Ca(3)-O(31)	2.360(8)	P(2)-O(5)	1.501(7)
Ca(3)-O(50)	2.371(8)	P(2)-O(6)	1.507(7)
Ca(3)-O(13)	2.389(7)	P(2)-O(4)	1.558(7)
Ca(3)-O(36)	2.404(8)	P(2)-C(1)	1.826(12)
Ca(3)-O(39)	2.409(7)	P(2)-Ca(6)	3.200(8)
Ca(3)-O(32)	2.436(8)	P(9)-O(40)	1.499(7)
Ca(3)-O(43)	2.437(7)	P(9)-O(39)	1.525(7)
Ca(3)-Ca(6)	3.413(9)	P(9)-O(41)	1.565(7)
Ca(3)-P(9)	3.569(4)	P(9)-C(14)	1.835(12)
Ca(3)-Ca(4)	3.7147(18)	P(11)-O(45)	1.495(7)
Ca(4)-O(33)	2.362(8)	P(11)-O(43)	1.511(7)
Ca(4)-O(35)	2.376(8)	P(11)-O(44)	1.568(8)
Ca(4)-O(21)	2.378(7)	P(11)-C(15)	1.825(12)
Ca(4)-O(46)	2.402(8)	P(8)-O(28)	1.495(7)
Ca(4)-O(43)	2.425(7)	P(8)-O(51)	1.513(8)
P(10)-O(36)	1.491(8)	P(8)-O(29)	1.568(8)
P(10)-O(37)	1.551(7)	P(8)-C(10)	1.834(12)
P(10)-O(38)	1.570(8)	P(1)-O(3)	1.504(7)
P(10)-C(14)	1.831(12)	P(1)-O(52)	1.524(8)
P(10)-Ca(6)	3.402(8)	P(1)-O(2)	1.560(7)
P(12)-O(46)	1.490(7)	P(1)-C(1)	1.835(11)
P(12)-O(47)	1.545(7)	O(14)-C(17)	1.454(12)
P(12)-O(48)	1.563(8)	O(14)-C(5)	1.470(12)
P(12)-C(15)	1.813(12)	O(35)-Ca(5)	2.769(9)
P(12)-Ca(5)	3.393(5)	O(22)-Ca(5)	2.322(7)
P(4)-O(8)	1.496(8)	O(8)-Ca(6)	2.324(10)
P(4)-O(13)	1.510(8)	O(31)-Ca(6)	2.791(13)
P(4)-O(12)	1.580(7)	O(36)-Ca(6)	2.345(11)
P(4)-C(5)	1.810(11)	O(46)-Ca(5)	2.338(8)
P(4)-Ca(6)	3.327(8)	O(25)-Ca(5)	2.235(8)
P(3)-O(9)	1.515(8)	O(49)-C(18)	1.438(13)
P(3)-O(10)	1.523(7)	O(49)-C(15)	1.466(12)
P(3)-O(11)	1.559(7)	O(42)-C(22)	1.445(12)
P(3)-C(5)	1.841(11)	O(42)-C(14)	1.450(12)
C(3)-C(4)	1.498(14)	C(14)-C(20)	1.586(15)
C(3)-C(2)	1.531(15)	C(21)-C(22)	1.491(16)

C(21)-C(20)	1.538(16)
C(12)-C(13)	1.492(15)
C(12)-C(11)	1.548(15)
C(15)-C(19)	1.563(14)
O(54)-Ca(6)	2.260(12)
O(30)-C(10)	1.455(13)
O(30)-C(13)	1.462(13)
O(30)-Ca(5)	2.828(8)
C(079)-C(18)	1.492(16)
C(079)-C(19)	1.540(16)
O(1)-C(1)	1.467(13)
O(1)-C(4)	1.473(13)
O(1)-Ca(6)	2.817(11)
C(10)-C(11)	1.552(15)
C(1)-C(2)	1.529(14)
C(23)-C(17)	1.506(16)
C(23)-C(16)	1.546(14)
C(5)-C(16)	1.558(15)
O(53)-Ca(5)	2.288(9)
O(55)-C(99)	1.454(12)
O(55)-C(6)	1.476(12)
C(6)-C(7)	1.567(15)
C(7)-C(9)	1.525(15)
C(99)-C(9)	1.510(16)
O(5)-Ca(6)	2.256(10)

Μετασχηματισμοί συμμετρίας: (1) x,y,z-1 (2) x,y,z+1

Πίνακας 3.23. Μήκη (Å) δεσμού (Ca-O) για το επτα-ενταγμένο Ca(1), Ca(2), Ca(3) και Ca(4) με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις.

Label	Distance	Label	Distance
Ca(1) -O(15)	2.332(7)	Ca(3) -O(31)	2.360(8)
Ca(1) -O(9)	2.395(7)	Ca(3) -O(50)	2.371(8)
Ca(1) -O(5)	2.402(7)	Ca(3) -O(13)	2.389(7)
Ca(1) -O(3)	2.430(7)	Ca(3) -O(36)	2.404(8)
Ca(1) -O(7)	2.435(7)	Ca(3) -O(39)	2.409(7)
Ca(1) -O(8)	2.480(7)	Ca(3) -O(32)	2.436(8)
Ca(1) -O(16)	2.510(7)	Ca(3) -O(43)	2.437(7)
Ca(2) -O(23)	2.330(7)	Ca(4) -O(33)	2.362(8)
Ca(2) -O(16)	2.394(7)	Ca(4) -O(35)	2.376(8)

Ca(2) -O(25)	2.404(7)	Ca(4) -O(21)	2.378(7)
Ca(2) -O(24)	2.430(7)	Ca(4) -O(46)	2.402(8)
Ca(2) -O(28)	2.433(7)	Ca(4) -O(43)	2.425(7)
Ca(2) -O(22)	2.472(7)	Ca(4) -O(34)	2.441(7)
Ca(2) -O(9)	2.499(7)	Ca(4) -O(39)	2.434(7)

Πίνακας 3.24. Μήκη (Å) δεσμού (Ca-O) για το εξα-ενταγμένο Ca(5) και Ca(6) με τις τυπικές αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις.

Label	Distance	Label	Distance
Ca(5) -O(35)	2.769(9)	Ca(6) -O(8)	2.324(10)
Ca(5) -O(22)	2.322(7)	Ca(6) -O(31)	2.791(13)
Ca(5) -O(46)	2.338(8)	Ca(6) -O(36)	2.345(11)
Ca(5) -O(25)	2.235(8)	Ca(6) -O(5)	2.256(10)
Ca(5) -O(30)	2.828(8)	Ca(6) -O(54)	2.260(12)
Ca(5) -O(53)	2.288(9)	Ca(6) -O(1)	2.817(11)

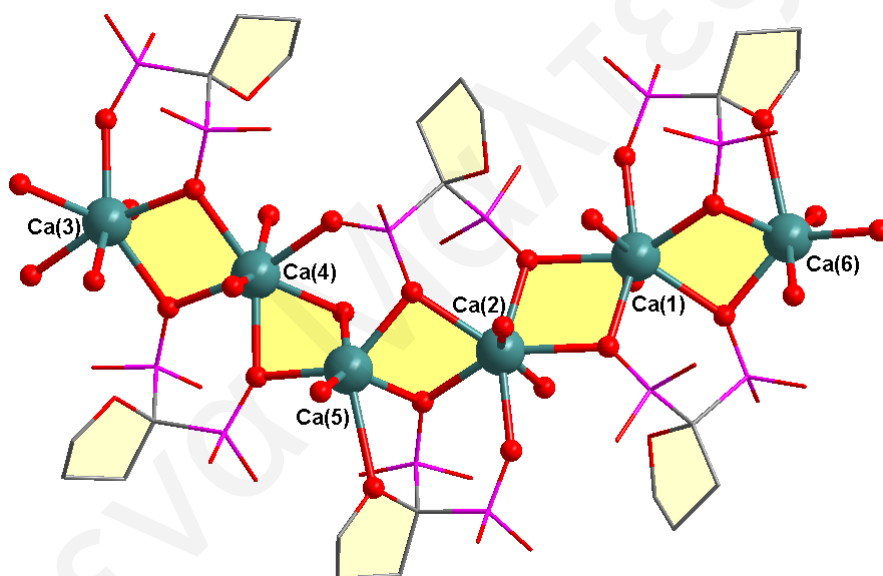
Τα άτομα ασβεστίου παρουσιάζουν μεικτή γεωμετρία ένταξης. Τέσσερα από τα έξι άτομα ασβεστίου (Ca(1), Ca(2), Ca(3) και Ca(4)) διευθετούνται σε παραμορφωμένο περιβάλλον τριγωνικού αντιπρίσματος ενώ τα άτομα ασβεστίου Ca(5) και Ca(6) σε παραμορφωμένη γεωμετρία τριγωνικού πρίσματος. Το μεγαλύτερο μήκος δεσμού Ca-O στην τριγωνική αντιπρισματική γεωμετρία λειτουργεί ως γέφυρα σύνδεσης με γειτονικά άτομα ασβεστίου. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι για την περίπτωση της τριγωνικής αντιπρισματικής γεωμετρίας τα άτομα ασβεστίου δεσμεύονται αποκλειστικά από τα άτομα οξυγόνου των φωσφονικών ομάδων. Για την περίπτωση των εξα-ενταγμένων ατόμων ασβεστίου (Ca(5), Ca(6)) η μία θέση ένταξης του μεταλλοϊόντος καταλαμβάνεται από το άτομο οξυγόνου του φουρανυλικού δακτυλίου.

Η γεφύρωση των μεταλλικών κέντρων δημιουργεί δομικούς πυρήνες Ca_2O_2 ενώ η δέσμευση των ατόμων οξυγόνου των φωσφονικών σε κάθε **L4** οδηγεί στο σχηματισμό εξαμελών δακτυλίων (C-P-O-Ca-O-P-C). Ο μέσος όρος απόστασης μεταξύ των μεταλλικών κέντρων είναι 3.569(4) Å (πίνακας 3.25).

Πίνακας 3.25. Απόσταση (Å) μεταξύ μεταλλικών κέντρων Ca²⁺-Ca με τις αποκλίσεις να δίνονται στις παρενθέσεις.

Label	Distance
Ca(1)···Ca(2)	3.839(3)
Ca(2)···Ca(2)	3.524(4)
Ca(5)···Ca(2)	3.402(5)
Ca(4)···Ca(2)	3.715(3)
Ca(3)···Ca(2)	3.414(1)
Ca(6)···Ca(2)	3.521(9)

Η διάταξη του μορίου στο χώρο κατά μήκος του a κρυσταλλογραφικού άξονα δείχνει ότι τα άτομα ασβεστίου δεν είναι στο ίδιο επίπεδο, με τα οργανικά μόρια να διευθετούνται εξωτερικά της αλυσίδας πάνω και κάτω από τα μεταλλικά κέντρα (σχήμα 3.88).



Σχήμα 3.88. Διάταξη του μορίου στο χώρο κατά μήκος του a κρυσταλλογραφικού άξονα.

Στον πίνακα 3.25 παρουσιάζονται επιλεγμένα μήκη δεσμών του Na⁺-O/Ca²⁺-O των κρυσταλλικών δομών που απομονώθηκαν στη μελέτη αυτή, καθώς επίσης και σύγκριση τους με παρόμοιες βιβλιογραφικές ενώσεις. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός πως σε όλα τα σύμπλοκα ασβεστίου που συντέθηκαν, με εξαίρεση το **CaH₂L2**, [C4], η δέσμευση του μετάλλου γίνεται μόνο με φωσφονικά οξυγόνα των δεσμών O=P και ⁻O-P, χωρίς τη συμμετοχή των φωσφονικών οξυγόνων O(H)-P.

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η δεσμευτική ισχύς των διφωσφονικών με τα οστά συνδέεται άμεσα με τις αποστάσεις δεσμού μεταξύ των δοτών ατόμων οξυγόνου των

διφωσφονικών υποκαταστατών και των κατιόντων. Η διαπίστωση αυτή επιβεβαιώνεται με μια προσεκτική ματιά στα μήκη δεσμού του συμπλόκου **CaH₂L₄**, [**C10**]. Τα έξι άτομα ασβεστίου παρουσιάζουν μεικτή γεωμετρία ένταξης, με τα τέσσερα (Ca(1), Ca(2), Ca(3) και Ca(4)) να διευθετούνται σε παραμορφωμένο περιβάλλον τριγωνικού αντιπρίσματος ενώ τα άτομα ασβεστίου Ca(5) και Ca(6) σε παραμορφωμένη γεωμετρία τριγωνικού πρίσματος. Όσον αφορά όμως την περίπτωση των εξα-ενταγμένων ατόμων ασβεστίου (Ca(5), Ca(6)) παρατηρείται ότι το μεταλλοϊόν δεσμεύεται και με το άτομο οξυγόνου του φουρανυλικού δακτυλίου (Πίνακας 3.25). Επιπλέον το γεγονός αυτό καθιστά ισχυρότερη τη δέσμευση από τις φωσφονικές ομάδες των εξα-ενταγμένων ασβεστίων (**M-O=P**: 2.303(7) Å) σε σχέση με τα επτα-ενταγμένα (**M-O=P**: 2.424(7) Å), κάτι το οποίο είναι αναμενόμενο λόγω της αύξησης του αριθμού ένταξης.

Πίνακας 3.26. Επιλεγμένα μήκη (Å) δεσμού όλων των διφωσφονικών συμπλόκων Na⁺ και Ca²⁺ που συντέθηκαν και σύγκριση τους με βιβλιογραφικές ενώσεις (ο συμβολισμός των **L2**, **L3**, **L4** έγινε με βάση το σχήμα 3.13).

Ένωση	# Ένταξης	Φορτίο ΔΦ ανιόντος	M-O _{υδροξύ/φουρανύλ} /Å	M-O=P /Å	M-O'-P /Å	M-O(H)-P /Å	Αναφορά
NaH₃L₂	6	(-1)	2.552(2)	2.453(2)	2.355(2)	2.534(2)	[179]
Na₂H₂L₃	5, 6	(-2)	2.4299(14)	2.4405(14)	2.3288(13)	2.4202(15)	-
Na₂H₂L₄	6, 7	(-2)	2.791(14)	2.331(7)	2.465(7)	2.619(7)	-
CaH₂L₁ , [C1]	7	(-2)	4.318	2.486(5)	2.380(6)	-	-
CaH₆(L₁)₂ , [C2]	6	(-2)	3.858	2.2916(17)	2.3080(16)	-	-
CaH₆(L₂)₂ , [C3]	6	(-2)	3.882	2.245(4)	2.360(3)	-	-
CaH₂L₂ , [C4]	6	(-2)	2.545	2.564(4)	2.336(4)	2.531(4)	-
CaH₆(L₂)₂ , [C8]	6	(-2)	3.941	2.3192(13)	2.3294(12)	-	[173]
CaH₂L₄ , [C10]		(-2)					-
Ca(1), Ca(2), Ca(3), Ca(4)	7		-	2.424(7)	2.420(7)	-	
Ca(5),Ca(6)	6		2.828(8),2.817(11)	2.303(7)	-	-	
Γνωστές ενώσεις από βιβλιογραφία							
		Φορτίο ΔΦ ανιόντος	M-O _{υδροξύ/φουρανύλ} /Å	Μικρότερη M-O _{φωσφόρυν} /Å	Μεγαλύτερη M-O _{φωσφόρυν} /Å		Αναφορά
CaH₂L₃		(-2)	2.608(2)	2.352(1)	2.608(2)		[174]
NaH₃L₃		(-1)	2.470(4)	2.230(4)	2.447(4)		[175]
NaH₃L₃		(-1)	2.463 (2)	2.293(3)	2.444(2)		[176]
CaH₂L₁		(-2)	^a	2.288(1)	2.387(1)		[177]
Na₂H₂L₁		(-2)	2.828(3)	2.274(3)	2.691(3)		[172]
NaH₃L₁		(-1)	2.537 (2)	2.261(2)	2.438(2)		[178]
CaH₂L₂		(-2)	^a	2.304(1)	2.345(1)		[173]

^a Non bonding distance above 3 Å.

4. Συμπεράσματα-Μελλοντική εργασία

Στη διατριβή αυτή πραγματοποιήθηκε η σύνθεση, ο χαρακτηρισμός και η μελέτη της δραστηριότητας νέων βιολογικά ενεργών μεικτών μορίων των συστατικών της βιταμίνης Ε με ειδικά σχεδιασμένες φθορίζουσες ομάδες και με διφωσφονικά. Επιπρόσθετα μελετήθηκε η αλληλεπίδραση των διφωσφονικών με μεταλλο-ιόντα στοχεύοντας στην κατανόηση των μηχανισμών δέσμευσης των διφωσφονικών στα οστά.

Ειδικότερα:

Ι) Συντέθηκαν μόνο- και δικαρθοξυλικά παραγώγα των συστατικών της βιταμίνης Ε, της φυτόλης και της φαρνεσόλης με φθορίζουσες στύρυλο πυριδινικές ενώσεις προκειμένου να μελετηθεί διεξοδικά η βιοδιαθεσιμότητά τους σε φυσιολογικούς και νεοπλασματικούς ιστούς. Δύο ήταν τα κυριότερα προβλήματα που παρουσιάστηκαν κατά τη σύνθεση των ενώσεων αυτών, η σταθερότητά τους στα βιολογικά μέσα και ο συνθετικός καθορισμός του μήκους κύματος εκπομπής φωτός. Οι ενώσεις αυτές είναι σταθερές φωτοχημικά και ως προς την υδρόλυση του εστερικού δεσμού. Παρόλα αυτά τα παράγωγα με το ηλεκτρικό οξύ παρουσίασαν σημαντική αστάθεια λόγω της β-απόσπασης και απομάκρυνσης της φθορίζουσας ομάδας από το μόριο. Το πρόβλημα αυτό λύθηκε με την προσθήκη βρωμίου στη β-θέση, με αποτέλεσμα τη δημιουργία σταθερότερων μορίων. Το μήκος κύματος του εκπεμπόμενου φωτός τροποποιείται με την αλλαγή των ομάδων διαφορετικής ηλεκτροαρνητικότητας που συνδέονται στα δύο άκρα της φθορίζουσας στύρυλο ομάδας. Σημαντική ήταν η προσθήκη του Br στην β- θέση του ηλεκτρικού οξέος όπου εκτός από την αύξηση της σταθερότητας του μορίου μετατόπισε το μήκος κύματος εκπομπής στην περιοχή του κοντινού υπερύθρου κάνοντας τα μόρια αυτά ιδανικά για μελέτη στους ιστούς λόγω της μεγαλύτερης διαπερατότητας της υπέρυθρης ακτινοβολίας. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός πως οι τροποποιήσεις αυτές έγιναν χωρίς να αυξηθεί το μέγεθος των μορίων και αυτό ίσως να αποτελεί και το σημαντικότερο τους πλεονέκτημα σε σχέση με τις ενώσεις που συναντούμε στη βιβλιογραφία. Η σύνθεση «έξυπνων» φθορίζοντων εστέρων και η αλλαγή των οπτικών τους ιδιοτήτων κατά την υδρόλυση από εστεράσες, παρέχει για πρώτη φορά ένα ισχυρό εργαλείο για τη μελέτη της κατανομής των εστέρων και των προϊόντων υδρόλυσης τους εντός των κυττάρων και των ιστών καθώς και της αλληλεπίδρασής τους με ενδοκυττάρους μοριακούς στόχους. Οπτική μελέτη των κυττάρων μετά την έκθεσή τους στις ουσίες αυτές έδειξε ότι συγκεντρώνονται εκλεκτικά στα μιτοχόνδρια. Μάλιστα η ευκρίνεια ήταν πολύ καλύτερη από εμπορικά σκευάσματα

και για αυτό τα μόρια αυτά θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την ιχνηθέτηση των μιτοχονδρίων. Επίσης μελετήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα των νέων μεικτών φθορίζοντων εστέρων με προσδιορισμό της ταχύτητας των αντιδράσεων αναστολής ριζών με DPPH[•]. Από τις σταθερές ταχύτητας δευτέρας τάξης (k_2) για την εξουδετέρωση του DPPH[•] φαίνεται ότι οι ελεύθερες τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες είναι δραστικότεροι αναστολείς ελευθέρων ριζών από τις υποκατεστημένες, δηλαδή παρουσιάζουν ισχυρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα *in vitro*. Αυτό ήταν αναμενόμενο αφού στις υποκατεστημένες ενώσεις το δραστικό αντιοξειδωτικό άκρο είναι μπλοκαρισμένο λόγω σχηματισμού του εστερικού δεσμού. Ωστόσο, η υδρόλυση των εστερικών δεσμών από εστεράσες *in vivo* θα αναγεννήσει τις οξειδοαναγωγικά δραστικές φαινόλες.

II) Στα πλαίσια της εργασίας αυτής πραγματοποιήθηκε η σύνθεση και μελέτη παραγώγων των Τόκος με διφωσφονικές ομάδες έτσι ώστε τα μόρια αυτά να στοχεύουν τα οστά και να παρεμποδίζουν την καρκινική μετάσταση. Για πρώτη φορά στον τομέα της συνθετικής Χημείας συντέθηκαν νέες μεικτές ενώσεις διφωσφονικών οξέων με τα μόρια της βιταμίνης E επιτυγχάνοντας έτσι τη συνένωση των ισχυρά αντικαρκινικών ιδιοτήτων των μορίων της βιταμίνης E μαζί με τις αντιστεολυτικές ιδιότητες των διφωσφονικών οξέων. Οι ενώσεις αυτές είναι σταθερές σε στερεά κατάσταση και σε οργανικούς διαλύτες για αρκετούς μήνες και χαρακτηρίστηκαν με φασματοσκοπία NMR. Η επιλεκτική μεταφορά των διφωσφονικών στο μικροπεριβάλλον των οστών πραγματοποιείται μέσω της διφωσφονικής λειτουργικής ομάδας λόγω της συγγένειας που έχει με τον υδροξυαπατίτη. Η ικανότητα δέσμευσης των ΤοκοΕστέρων από τα κόκκαλα ελέγχθηκε συνθετικά με την τροποποίηση της διφωσφονικής ομάδας, συγκεκριμένα με την παρουσία ή όχι της 1'-OH ομάδας και με τη σύνθεση των διφωσφονικών εστέρων. Οι βιολογικές μελέτες έδειξαν ότι η αντικαρκινική δράση των διφωσφονικών εστέρων που δεν περιέχουν 1'-OH είναι ισχυρότερη από την δράση των αντίστοιχων διφωσφονικών οξέων. Αυτό αποδόθηκε στην μικρότερη συγγένεια των εστέρων να προσδένονται στα οστά σε σχέση με τα ελεύθερα οξέα. Αυτό είναι σε συμφωνία και με τη βιβλιογραφία όπου η δράση των διφωσφονικών αποδίδεται σε αναστολή της δράσης της συνθάσης της φαρνεσόλης και ως εκ τούτου ισχυρή δέσμευση των διφωσφονικών στα οστά αναμένεται ότι θα μειώνει τη διαθέσιμη συγκέντρωσή τους για να αλληλεπιδράσουν με το ένζυμο.

III) Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η βιολογική δραστηριότητα των διφωσφονικών εξαρτάται αποκλειστικά από τη δομή, την τρισδιάστατη διάταξη της πλευρικής τους αλυσίδας στο χώρο και το pH. Η διαπίστωση αυτή καθιστά το δομικό χαρακτηρισμό ως ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο όσο αφορά την κατανόηση του μηχανισμού δέσμευσης στα

οστά. Για το σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκε συμπλοκοποίηση των διφωσφονικών με μεταλλοϊόντα και χαρακτηρισμός των ενώσεων που προκύπτουν με κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ. Από τα αποτελέσματα φάνηκε πως καθοριστικό ρόλο στην τελική μορφή του συμπλόκου διαδραματίζει το pH αφού σε όξινες συνθήκες παρόμοιες με αυτές στα υποξικά καρκινικά κύτταρα παρατηρείται αλλαγή στον τρόπο δέσμευσης (αριθμός ένταξης, γεωμετρία) του ασβεστίου με τα διφωσφονικά. Η απομόνωση διφωσφονικών συμπλόκων ασβεστίου σε όξινες συνθήκες αποτελεί καινοτομία στην κατανόηση της βιοχημικής, της αντιοστεολυτικής και της αντικαρκινικής δράσης των ενώσεων αυτών. Ένα ιδιαίτερα σημαντικό συμπέρασμα που εξάχθηκε από τη μελέτη αυτή είναι ο ρόλος που διαδραματίζει η δομή των διφωσφονικών σε σχέση με την ικανότητά τους να δεσμεύουν το ασβέστιο. Συγκεκριμένα η δεσμευτική ισχύς των διφωσφονικών στα οστά υπολογίστηκε λαμβάνοντας υπόψη τις αλληλεπιδράσεις (αποστάσεις δεσμών μεταξύ των ατόμων δοτών και του μεταλλοϊόντος) των φωσφονικών ομάδων, των πλευρικών αλυσίδων, των υδροξυλομάδων και των υδροφοβικών ομάδων του υποκαταστάτη με την οστική επιφάνεια. Τα κρυσταλλογραφικά δεδομένα δείχνουν ότι η δεσμευτική ισχύς των διφωσφονικών με τα οστά συνδέεται άμεσα με τις αποστάσεις δεσμού μεταξύ των δοτών ατόμων οξυγόνου των διφωσφονικών υποκαταστατών και των κατιόντων. Το Ca^{2+} σε αντίθεση με άλλα ιόντα βρέθηκε ότι προτιμά να εντάσσεται με τα άτομα οξυγόνου των διφωσφονικών ενώ δεν σχηματίζει δεσμό με το $1'-\text{O}^-$ στις πλείστες των περιπτώσεων. Ο σχηματισμός τέτοιου δεσμού βρέθηκε μόνο σε μία περίπτωση και συνοδεύεται με μείωση του αριθμού ένταξης από 7 σε 6 και αύξηση της ισχύος δέσμευσης του ασβεστίου από τα διφωσφονικά. Εκτός από το Ca^{2+} για την μελέτη με τα διφωσφονικά, χρησιμοποιήθηκαν και τα μεταλλοϊόντα Na^+ , Cs^+ και Eu^{3+} . Η επιλογή τους δεν ήταν τυχαία αφού τα ιόντα αυτά έχουν διαφορετικό φορτίο και μέγεθος έτσι ώστε να γίνει καλύτερα κατανοητός ο ρόλος των παράπλευρων ομάδων στην ένταξη και πως αυτή επηρεάζεται από το μεταλλοϊόν. Από τα αποτελέσματα φάνηκε πως το Na^+ παρόλο που έχει σχεδόν το ίδιο μέγεθος (λίγο μεγαλύτερο) με το Ca^{2+} και μικρότερο φορτίο, αλληλεπιδρά ισχυρότερα με την $1'-\text{OH}$ ομάδα. Το ίδιο γίνεται και με το Cs^+ , παρόλο που το μέγεθός του είναι μεγαλύτερο. Από την άλλη τα μεταλλοϊόντα που αλληλεπιδρούν ισχυρά με τα διφωσφονικά λόγω του υψηλού τους φορτίου, δηλ. το Ca^{2+} και το Eu^{3+} , δεν εντάσσονται ως επί το πλείστον με το $1'-\text{OH}$ αλλά μόνο με τα διφωσφονικά άτομα οξυγόνου. Επιπρόσθετα, ένας άλλος λόγος που επιλέχθηκε το Eu^{3+} είναι λόγω του φθορισμού, αφού είναι γνωστό ότι χρησιμοποιείται ως ένας οπτικά ενεργός αντικαταστάτης του Ca^{2+} στα βιολογικά μόρια και τους ιστούς έτσι ώστε να μπορεί να παρακολουθείται

φασματοσκοπικά. Το Ca^{2+} δεν έχει καμία φασματοσκοπική ιδιότητα και δεν γίνεται να ανιχνευθεί φασματοσκοπικά.

Από τις μέχρι στιγμής βιολογικές μελέτες έχουν εξαχθεί συνοπτικά τα ακόλουθα συμπεράσματα:

α) Η ικανότητα αναστολής του κυτταρικού πολλαπλασιασμού των μεικτών διφωσφονικών εστέρων αλλάζει ανάλογα με την καρκινική κυτταρική σειρά. Συγκεκριμένα, τα παράγωγα της α-τοκοφερόλης είναι τα λιγότερα αποτελεσματικά. Τα παράγωγα της γ-τοκοφερόλης είναι τα πιο αποτελεσματικά στην MB231 καρκινική κυτταρική σειρά μαστού ενώ οι ενώσεις της α-τοκοφερόλης είναι πιο αποτελεσματικές στην MCF-7 σειρά.

β) Εστεροποίηση των διφωσφονικών ενώσεων οδήγησε σε αύξηση της ικανότητας αναστολής του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Συγκεκριμένα, ο μεικτός εστέρας της γ-τοκοτριενόλης παρουσιάζει καλύτερη ικανότητα αναστολής κυτταρικού πολλαπλασιασμού από το ζολενδρονικό, ένα ευρέως διαδεδομένο διφωσφονικό φάρμακο.

γ) Η αναστολή της βιωσιμότητας των κυττάρων είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της ελεύθερης γ-τοκοφερόλης και του εστεροποιημένου διφωσφονικού εστέρα.

δ) Αύξηση του αριθμού αποπτωτικών πυρήνων (συμπύκνωση της χρωματίνης, διάσπαση πυρήνα) σε κυτταρικές καλλιέργειες στις οποίες προστέθηκε μεικτό διφωσφονικό οξύ της γ-τοκοφερόλης ή μείγμα γ-τοκοφερόλης και αρχικού διφωσφονικού παραγώγου (1:1).

ε) Ο διφωσφονικός εστέρας της γ-τοκοφερόλης αλλά και το μείγμα της ελεύθερης γ-τοκοφερόλης και του αρχικού διφωσφονικού παραγώγου (1:1) έδειξαν στατιστικά σημαντική αύξηση της δραστηριότητας της κασπάσης-3 στα καρκινικά κύτταρα μαστού MB23. Η αυξημένη δραστηριότητα της κασπάσης-3 δεν ήταν στατιστικά διαφορετική ανάμεσα στις δύο ενώσεις αλλά ο διφωσφονικός εστέρας της γ-τοκοφερόλης έδρασε πιο γρήγορα (στις 3 hrs) σε σχέση με το μείγμα της ελεύθερης γ-τοκοφερόλης και του αρχικού διφωσφονικού παραγώγου (1:1) (στις 4 hrs). Τα πιο πάνω αποτελέσματα οδηγούν στο συμπέρασμα πως η προαποπτωτική ικανότητα των δύο ενώσεων μπορεί να αποδοθεί στις εστερικές ομάδες του φωσφονικού. Επιπρόσθετα, η εστεροποίηση με την γ-τοκοφερόλη διευκολύνει τη διείσδυση της ένωσης στα κύτταρα όπου και αρχίζει η δράση της πολύ πιο γρήγορα σε σχέση με το μείγμα της ελεύθερης γ-τοκοφερόλης και του αρχικού διφωσφονικού παραγώγου (1:1).

στ) Τα αποτελέσματα δείχνουν για **πρώτη φορά** πως η όχι μόνο γ-τοκοφερόλη έχει ανασταλατική δράση στη διαφοροποίηση και δραστηριότητα των οστεοκλαστών, αλλά το πιο σημαντικό είναι πως το συζευγμένο με γ-τοκοτριενόλη παράγωγο δεσμεύεται

επιλεκτικά με τα οστά και διατηρεί την ανασταλτική του δράση στην οστεοκλαστική διαφοροποίηση και στην οστική απορρόφηση.

η) Η ελεύθερη γ-τοκοτριενόλη και ο αντίστοιχος διφωσφονικός εστέρας παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικό οστικό σχηματισμό σε σύγκριση με την πρωτεΐνη BMP-2 η οποία έχει αποδειχθεί πως διεγείρει την παραγωγή οστού.

θ) Οι φθορίζουσες ουσίες συσσωρεύονται στα μιτοχόνδρια και τα χρωματίζουν με αποτέλεσμα να δίνουν ακόμα καλύτερη εικόνα σε σχέση με τις βαφές που χρησιμοποιούνται στο εμπόριο.

Συνοψίζοντας, οι πρωτότυποι μεικτοί εστέρες των συστατικών της βιταμίνης Ε με τα διφωσφονικά εμφανίζουν σημαντική βιολογική δράση. Η μοναδική ικανότητα τόσο των εστέρων αυτών, όσο και των αντίστοιχων εστέρων της φαρνεσόλης και φυτόλης να σκοτώνουν τα καρκινικά κύτταρα και να προστατεύουν τα φυσιολογικά, τους καθιστά υποσχόμενους αντικαρκινικούς παράγοντες και αποτελεί ίσως το σημαντικότερο πλεονέκτημα τους έναντι των γνωστών χημειοθεραπευτικών φαρμάκων. Υπάρχει βέβαια ακόμα μεγάλος δρόμος μέχρι το στόχο αυτό. Συγκεκριμένα, είναι απαραίτητη η διεξαγωγή περισσότερων πειραμάτων *in vivo* σε προκλινικό επίπεδο για περαιτέρω κατανόηση του μηχανισμού με τον οποίο εκφράζεται η αντικαρκινική τους ικανότητα και εκλεκτικότητα για τα καρκινικά κύτταρα. Η σύνθεση και ο χαρακτηρισμός διφωσφονικών συμπλόκων έδωσε πολύτιμες πληροφορίες για τη συμπεριφορά τους στο μικροπεριβάλλον των οστών καθιστώντας έτσι το δομικό χαρακτηρισμό ως το σημαντικότερο πλέον εργαλείο όσο αφορά το μηχανισμό δέσμευσης στα οστά, την επίδραση στα κύτταρα αλλά και το σχεδιασμό νέων και πιο δραστικών ενώσεων. Τέλος, η σύνθεση καρβοξυλικών παραγώγων των τόκος, της φαρνεσόλης και της φυτόλης ιχνηθετημένων με ισχυρά φθορίζουσες ομάδες οδήγησε στην περαιτέρω κατανόηση της διανομής και δράσης τους σε βιολογικά συστήματα. Στα μελλοντικά σχέδια της ερευνητικής ομάδας του Δρ. Κεραμιδά είναι η μεταφορά μεταλλοϊόντων στα μιτοχόνδρια χρησιμοποιώντας ως όχημα παράγωγα μεικτά μόρια της βιταμίνης Ε έτσι ώστε να αυξηθεί η βιολογική δράση των μορίων αυτών.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Bendich A., Machlin L. J., *Am. J. Clin. Nutr.*, **1988**, *48*, 612
- [2] Philip L. Harris and Marion I. Ludwig, *J. Biol. Chem.*, **1949**, *180*, 611
- [3] Djuric Z., Heilbrun L.K., Lababidi S., Everett-Bauer C.K., Fariss M.W., *Cancer Lett.*, **1997**, *111*, 133
- [4] Brawley O.W., Parnes H., *Eur. J. Cancer*, **2000**, *36*, 1312.
- [5] Vraka P.S., Drouza C, Rikkou M.P., Odysseos A. D., A.D. Keramidas, *Bioorg. & Med. Chem.*, **2006**, *14*, 2684
- [6] Neuzi J., Weber T., Schroder A., Lu M., Ostermann G., Gellert N., Mayne G. C., Olejnicka B., Negre-Salvayre A., Sticha M., Coffey R.J., Weber C., *FASEB*, **2001**, *15*, 403
- [7] Yun Kyung K., Hyung-Ho H., Jun-Seok L., Xuezhi B., Young-Hoon A., Siti H., Jae-Jung L., Young-Tae C., *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 576
- [8] Israel K., Sanders B. G., Kline K., *Nutr. Cancer*, **2002**, *24*, 161
- [9] Mário L. de Lemos, Taylor S.C., Barnett J.B., Hu F., Levin A., Moravan V., O'Reilly S.E., *J Oncol. Pharm. Pract.*, **2006**, *12*, 193
- [10] Lipton, A, Small E., Saad F., *Cancer Invest.*, **2001**, *20*, 45
- [11] Saad, F., Gleason D. M., Murray R., *J. Natl. Cancer Inst.*, **2002**, *94*, 1458
- [12] Coleman, R. E., *Cancer Treat. Rev.*, **2001**, *27*, 165
- [13] Kogure K., Hama S., Kisaki M., Takemasa H., Tokumura M., *Biochim. Biophys. Acta*, **2004**, *1672*, 93
- [14] Weber T., Lu, M., Andera L., Lahm H., Gellert, N., Fariss M.W., Korinek V., Sattler, W., Ucker D.S., Terman, A., Schroder A., Erl, W., Brunk U.T., Coffey R.J., Weber C., and Neuzil J., *Clin. Cancer Res.*, **2002**, *8*, 863
- [15] Rose A. T., McFadden D. W., *J. Surg. Res.*, **2001**, *95*, 19
- [16] Neuzil, J., Svensson, I., Weber, T., Weber, C., and Brunk, U. T., *FASEB Lett.*, **1999**, *445*, 295
- [17] Israel, K., Yu, W., Sanders, B. G., Kline, K., *Nutr. Cancer*, **2000**, *36*, 90
- [18] Ottino P, Duncan J. R., *Nutr. Res.*, **1997**, *17*, 661
- [19] Birringer M., EyTina J.H., Salvatore B.A., Neuzil J., *Br. J. Cancer*, **2003**, *88*, 1948
- [20] Hoöckel M., Vaupel P., *JNCI*, **2001**, *93*, 266
- [21] Lawson M. A., Triffitt J. T., Ebetino F. H., Barnett B. L., Phipps R. J., Locklin R.M., Russell R. G. G., *J. Bone Min. Res.*, **2005**, *20*, S396

- [22] Nancollas G. H., Tang R., Phipps R. J., Henneman Z., Gulde S., Wu W., Mangood A., Russell R. G., Ebetino F. H., *Bone*, **2006**, 38, 617
- [23] Robinson J., Cukrowski I., Marques H. M., *J. Mol. Struct.*, **2006**, 825, 134
- [24] Cho G. Y., Wu Y. T., Ackerman J. L., *Science*, **2003**, 300, 1123
- [25] Kolodziejski W., New Techniques in Solid-State NMR, *Top. Curr. Chem.*, **2005**, 246, 235
- [26] Evans H.M., *Science*, **1922**, 55, 650
- [27] Evans H.M., Emerson G.A., *J. Biol. Chem.*, **1936**, 113, 319
- [28] Emerson O.H., Mohammad A., Evans H.M., *J. Biol. Chem.*, **1937**, 122, 99
- [29] Stern M.H., Weisler L., Baxter J.G., *J. Am. Chem. Soc.*, **1947**, 69, 869
- [30] Pennock J.F., Hemming F.W., Kerr J.D., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1964**, 17, 542
- [31] Kwiatkowska J., *Postepy Biochem.*, **1988**, 34, 461
- [32] Papas A., *The Vitamin E factor*, Harper Perennial, **1999**
- [33] Weber T., Dalen H., Andera L., Negre-Salvayre A., Auge N., Sticha M., Lloret A., Terman A., Witting P.K., Higuchi M., Plasilova M., Zivny J., Gellert N., Weber C., Neuzil J., *Biochemistry*, **2003**, 42, 4277
- [34] Pussinen P.J., Lindner H., Glatter O., Reicher H., Kostner G.M., Wintersperger A., Malle E., Sattler W., *Biochim. Biophys. Acta*, **2000**, 1485, 129
- [35] Papas A., *Antioxidant Status, Diet, Nutrition and Health*, CRC Press, **1999**
- [36] Azzi A., Stocker A., *Prog. Lipid Res.*, **2000**, 39, 231
- [37] Barnicki, Scott D., Summer Jr., Charles E., Williams, Chip H., **1996**
- [38] Barnicki, Scott D., Summer Jr., Charles E., Williams, Chip H., **1997**
- [39] Hayes K.C., Pronczuk A., Liang J.S., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **1993**, 202, 353
- [40] Ikeda I., Imasoto Y. Sasaki E., Sugano M., *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, **1996**, 66, 217
- [41] Kayden H.J., Traber M.G., *J. Lipid Res.*, **1993**, 34, 343
- [42] Arita M., Sato Y., Miyata A., Tanabe T., Takahashi E., Kayden H.J., Arai H., Inoue K., *Biochem. J.*, **1995**, 306, 437
- [43] Hosomi A., Arita M., Sato Y., Kiyose C., Ueda T., Garashi O., Arai H., *FEBS Lett.*, **1997**, 409, 105
- [44] Traber M.G., Kayden H.J., *Am. J. Clin. Nutr.*, **1989**, 49, 517

- [45] Neuzil J., *Biochem., Biophys. Res. Commun.*, **2002**, 293, 1309
- [46] Prasad K.N., Edwards-Prasad J., *Cancer Res.*, **1982**, 42, 550
- [47] Shklar G., Schwartz J., Trickler D.P., Niukian K., *J. Natl., Cancer Inst.*, **1987**, 78, 987
- [48] Albanes D., Malila N., Taylor P.R., Huttunen J.K., Virtamo J., Edwards B.K., Rautalahti M., Hartman A.M., Barrett M.J., Pietinen P., Sipponen P., Lewin K., Teerenhovi L., Hietnen P., Tangres J.A., Virtanen M., Heionen O.P., *Cancer Causes Control*, **2000**, 11, 197
- [49] Heart Protection Study Collaborative Group, *Lancet*, **2000**, 360, 23
- [50] Yu W., Simmons-Menchaca M., Gapor A., Sanders B.G., Klime K., *Nutrition and cancer*, **1999**, 33, 26
- [51] Rose A.T., McFadden D.W., *J. Surg. Res.*, **2001**, 95, 19
- [52] Neuzil J., Tomasetti M., Mellick A.S., Alleva R., Salvatore B.A., Birringer M., Fariss M.W., *Current Cancer Drug Targets*, **2004**, 4, 355
- [53] Neuzil J., Thomas S.R., Stocker R., *Free Radic. Biol. Med.*, **1997**, 22, 57
- [54] Fridovich I., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1999**, 893, 13
- [55] Betteridge D.J., *Metabolism*, **2000**, 49, 3
- [56] Halliwell B., *Free Radic. Res.*, **1999**, 31, 261
- [57] Halliwell B., *Annu. Rev. Nutr.*, **1996**, 16, 33
- [58] McCord J.M., *Am. J. Med.*, **2000**, 108, 652
- [59] Nathan C., *FASEB J.*, **1992**, 6, 3051
- [60] Thomas E.L., Lehrer R.I., Rest R.F., *Rev. Infect. Dis.*, **1988**, 10, S450
- [61] Lander H.M., *FASEB J.*, **1997**, 11, 118
- [62] Kogure K., Morita M., Nakashima S., Hama S., Tokumura A., Fukuzawa K., *Biochim. Biophys. Acta*, **2001**, 1528, 25
- [63] Ottino P., Dincan J.R., *Free Radic. Biol. Med.*, **1997**, 22, 1145
- [64] Alleva R., Tomasetti M., Andera L., Gellert N., Borghi B., Weber C., Murphy M. P., Neuzil J., *FEBS Lett.*, **2001**, 503, 46
- [65] Kelso G.F., Porteous C.M., Coulter C.V., Hughes G., Porteous W.K., Ledgerwood E.C., Smith R.A., Murphy M.P., *J. Biol. Chem.*, **2001**, 276, 4588
- [66] Tasinato A., Boscoboinic D., Bartoli G.M., Maroni P., Azzi A., *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **1995**, 92, 12190
- [67] Deveraj S., Jialal I., *J. Clin. Invest.*, **1996**, 98, 756
- [68] Keaney J.F., Guo Y., Cunningham D., Schwaery G.T., Xu A., Vita K.A., *J.*

- Clin. Invest.*, **1996**, 98, 386
- [69] Ricciarelli R., Tasinato A., Clement S., Ozer N.K., Boscoboinik D., Azzi A., *J. Biochem.*, **1998**, 334, 243
- [70] Mayne G.C., Murray A.W., *J. Biol. Chem.*, **1998**, 273, 24115
- [71] Shao R.G., Cao C.X., Pommier Y., *J. Biol. Chem.*, **1997**, 272, 31321
- [72] Whelan R.D., Parker P.J., *Oncogene*, **1998**, 16, 1939
- [73] Cohen N., Eichel W.F., Lopresti R.J., Neukom C., Saucy G., *J. Org. Chem.*, **1976**, 41, 3505
- [74] Berenblum I., Armuth V., *Biochim Biophys Acta*, **1981**, 651, 51
- [75] Surh Y-J, *Mutat. Res.*, **1999**, 428, 305
- [76] Thompson C.B., *Science* **1995**, 267, 1456
- [77] Cummings M.C., Winterford C.M., Walker N.I., *Am. J. Pathol.*, **1997**, 21, 88
- [78] Gomperts D.B., Kramer M.I., Tatham E.R.P., *Signal Transduction*, **2002**
- [79] Krauss G., *Biochemistry of Signal Transduction and Regulation*, Wiley-VCH, **2001**
- [80] Bereiter-Hahn, *J. Biochim. Biophys. Acta*, **1976**, 423, 1
- [81] Haugland R., *Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals*, 8th ed., Molecular Probes, Inc.: Eugene, OR, **2001**
- [82] Chen L.B., *Annu. Rev. Cell Biol.*, **1988**, 4, 155
- [83] Rosania G.R., Lee J.W., Ding L., Yoon J., Chang Y., *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 1130
- [84] Fleisch H., *Breast Cancer Res.*, **2002**, 4, 30
- [85] Menshutkin M., *Ann. Chem. Pharm.*, **1865**, 133, 317
- [86] Fleisch H., Russel R.G.G., Bisaz S., Casey P., Mühlbauer R., *Calcif. Tissue Res.*, **1968**, 2(suppl), 10
- [87] Fleisch H., Russel R.G.G., Straumann F., *Nature*, **1966**, 212, 901
- [88] Francis M.D, Russell R.G.G., Fleisch H., *Science*, **1969**, 165, 1264
- [89] Fleisch H., Russell R.G.G., Francis M.D., *Science*, **1969**, 165, 1262
- [90] T. John Martin, Vivian Grill, *Australian Prescriber*, **2000**, 23, 130
- [91] Russell R.G., Rogers M.J., Frith JC, Luckman S.P., Coxon F.P., Benford H.L., *J. Bone Miner. Res.*, **1999**, 14(suppl 2), 53
- [92] Kathryn R. Williams, *Journal of Chemical Education*, **2004**, 81, 1406
- [93] Taxel, P., *Geriatrics*, **1998**, 53, 22
- [94] Manolagas S. C., *Endocrin Rev.*, **2000**, 21, 115

- [95] R. Bartl, “*Die Knochenbiopsie in der klin. Osteologie*”, Dr. von Tresckow
- [96] Fleisch H., “Bisphosphonates in bone disease. From the laboratory to the patient”, Academic Press, San Diego, **2000**
- [97] Fleisch H., “Bisphosphonates in Bone Disease”, **1993**
- [98] C. H. Chesnut, *Bone*, **1995**, 17, 517S
- [99] M. R. McClung, C. K. P. Tou, N. H. Goldstein, C. Picot, *Bone*, **1995**, 17, 493S
- [100] Favus, *Reproduced from Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*, 5th ed., Washington, D. C.: **2003**
- [101] Delmas P. D., Biphosphonates in the treatment of bone diseases (editorial). *N. Engl. J. Med.*, **1996**, 335, 1836
- [102] Netter 1987, Netter Illustrations, USA
- [103] S. Jurisson, D. Berning, Wei Jia, and Oangshe Ma, *Chem. Rev.*, **1993**, 93, 1137
- [104] Cathy S. Cutler, Jason S. Lewis, Carolyn J. Anderson, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **1999**, 37, 189
- [105] Leo Widler, Knut A. Jaeggi, Markus Glatt, Klaus Müller, Rolf Bachmann, Michael Bisping, Anne-Ruth Born, Reto Cortesi, Gabriela Guiglia, Heidi Jeker, Rémy Klein Ueli Ramseier, Johann Schmid, Gerard Schreiber, Yves Seltenmeyer, Jonathan R. Green, *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 3721
- [106] Gerard R. Kieczkowski, Ronald B. Jobson, David G. Melillo, Donald F. Reinhold, Victor J. Grenda, Ichiro Shinkai, *J. Org. Chem.*, **1995**, 60, 8310
- [107] Lerch, I.; Kottler, A. Aminoethanediphosphonic acids and their esters, *Ger. Offen.* **1959**, DE1002355
- [108] Michael B. Martin, Joshua S. Grimley, Jared C. Lewis, Huel T. Heath, III, Brian N. Bailey, Howard Kendrick, Vanessa Yardley, Aura Caldera, Renee Lira, Julio A. Urbina, Silvia N. J. Moreno, Roberto Docampo, Simon L. Croft, Eric Oldfield, *J. Med. Chem.*, **2001**, 44, 909
- [109] Ewa Matczak-Jon., Veneta Videnova-Adrabińska, *Coordination Chemistry Reviews*, **2005**, 249, 2458
- [110] S. Bouhsina, P. Buglyó, A. Abi Aad, A. Aboukais, T. Kiss, *Inorg. Chim. Acta*, **2004**, 357, 305
- [111] M. Etienne, P. Rubini, J. Bessiere, A. Walcarius, C. Grison, P.H. Coutrot, *Phosphorus Sulfur Silicon*, **2000**, 161, 75

- [112] L. Alderighi, A. Vacca, F. Cecconi, S. Midollini, E. China, S. Dominiguez, A. Valle, D. Dakternieks, A. Duthie, *Inorg. Chim. Acta*, **1999**, 285, 39
- [113] T.A. Matkovskaya, L.S. Nikolayeva, E.A. Mezhonova, T.M. Balashova, A.M. Evseev, N. M. Dyatlova, *Russ. J. Inorg. Chem.*, **1989**, 34, 1100
- [114] E.N. Rizkalla, M. T. M. Zaki, M. I. Ismail, *Talanta*, **1980**, 27, 715
- [115] H. Wada, Q. Fernando, *Anal. Chem.*, **1971**, 43, 751
- [116] V. Deluchat, B. Serpaud, C. Caullet, J. C. Bollinger, *Phosphorus Sulfur Silicon*, **1995**, 104, 81
- [117] V. Deluchat, J. C. Bollinger, B. Serpaud, C. Caullet, *Talanta*, **1997**, 44, 897
- [118] S. Lacour, V. Deluchat, J. C. Bollinger, B. Serpaud, *Environ. Technol.*, **1999**, 20, 249
- [119] R. I. Carrol, R. R. Irani, *Inorg. Chem.*, **1967**, 6, 1994
- [120] E. Burkholder, V.O. Golub, Ch. J. O'Connor, J. Zubieta, *Inorg. Chim. Acta*, **2002**, 340, 127
- [121] M. Riou-Cavellec, C. Serre, J. Robino, M. Noguès, J. M. Grenèche, G. Férey, *J. Solid State Chem.*, **1999**, 147, 122
- [122] C. Serre, G. Férey, *J. Mater. Chem.*, **2002**, 12, 2367
- [123] K. Barthelet, D. Riou, G. Férey, *Solid State Sci.*, **2002**, 4, 841
- [124] H.-H. Song, L. M. Zheng, Y. J. Liu, X. Q. Xin, A.J. Jacobson, S. Decurtins, *Dalton*, **2001**, 3274
- [125] H. H. Song, L. M. Zheng, G. Zhu, Z. Shi, S. Feng, S. Gao, Z. Hu, X. Q. Xin, *J. Solid State Chem.*, **2002**, 164, 367
- [126] H. H. Song, P. Yin, L. M. Zheng, J.D. Krop, A.J. Jacobson, S. Gao, X. Q. Xin, *Dalton*, **2002**, 2752
- [127] D. Kong, Y. Li, J. H. Ross Jr., A. Clearfield, *Chem. Commun.*, **2003**, 1720
- [128] Masahiro Yoshimura, Wojciech Suchanek, *Solid State Ionics*, **1997**, 98, 197
- [129] A. Turner, P. A. Jaffrès, E. J. MacLean, D. Villemin, V. McKee, *Dalton*, **2003**, 1314
- [130] J. G. Mao, Z. Wang, A. Clearfield, *Dalton*, **2002**, 4457
- [131] Gallagher J. A., Moore J. P. G., Bowler W. B., Page P. C. B., *US 6,140,518*, **2000**
- [132] Sanders B.G., Kline K., Hurley L., Gardner R., Menchaca M., Yu W., Ramanan P.N., Liu S., Israel K., *US 6,417,223 B1*, **2002**
- [133] Kieczkowski G. R., Jobson R. B., Melillo D. G., Reinhold D. F., Grenda V.

- J., Shinkai I., *J. Org. Chem.*, **1995**, *60*, 8310
- [134] Maltezou E., Stylianou M., Roy S., Drouza C., Keramidas A.D., *Bioinorganic Chemistry and Applications*, **2010**, *10*, 1155
- [135] Davidson D., Weiss M., Jelling M., *J. Org. Chem.*, **1937**, *02*, 319
- [136] Horwitz L., *J. Org. Chem.*, **1956**, *21*, 1039
- [137] Stevens C. A., Frutos R., Harvey F. D., Brian A. A., *Bioconjugate Chem.*, **1993**, *4*, 19
- [138] Koopmans C., Ritter H., *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 3502
- [139] Brooker L.G.S., Keyes G.H., Heseltine D.W., *J. Am. Chem. Soc.*, 1951, *73* (11), 5350-5356
- [140] Tian Y., Li L., Zhou Y., Wang P., Zhou H., Wu J., Hu Z., Yang J., Kong L., Xu G., Tao X., Jiang M., *Crystal Growth & Design*, **2009**, *9*, 1499
- [141] Sheldrick, G. M., *SHELXS-86: Program for the Solution of Crystal Structure*. ed.; University of Gottingen: Gottingen, Germany: 1990
- [142] Sheldrick, G. M., *SHELXS-97: Program for the Refinement of Crystal Structure*. ed.; University of Gottingen: Gottingen, Germany: 1997
- [143] Espín J. C., Soler-Rivas C., Wichers H. J., García-Viguera C., *J. Agric. Food Chem.*, **2000**, *48*, 1588
- [144] Espín J. C., Soler-Rivas C., Wichers H. J., *J. Agric. Food Chem.*, **2000**, *48*, 648
- [145] Valgimigli L., Banks J. T., Ingold K. U., Luszyk J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 9966
- [146] Vilsmeier A., Haack A., *Chem. Ber.*, **1927**, *60*, 119
- [147] Meth-Cohn O., Stanforth S. P., *Comp. Org. Syn.*, **1991**, *2*, 777
- [148] Michaelis A., Kaehne R., *Berichte.*, **1898**, *31*, 1048
- [149] Arbuzov A. E., *J. Russ. Phys. Chem. Soc.*, **1906**, *38*, 687
- [150] Arbuzov A. E., *Chem. Zentr.*, **1906**, *II*, 1639
- [151] Guenin E., Monteil M., Bouchemal N., Prange T., Lecouvey M., *Eur. J. Org. Chem.*, **2007**, 3380
- [152] Guenin E., Degache E., Liquier J., Lecouvey M., *Eur. J. Org. Chem.*, **2004**, 2983
- [153] Sanders J.M, Song Y., Chan J.M.W, Zhang Y., Jennings S., Kosztowski T., Odeh S., Flessner R., Schwerdtfeger C., Kotsikorou E., Meints G.A., Ortiz Go´mez A., Gonza´lez-Pacanowska D., Raker A.M., Wang H., Van Beek

- E.R., Papapoulos S.E, Morita C.T., Oldfield E., *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 2957
- [154] Szajnman S.H., Bailey B.N., Docampo R., Rodriguez J.B., *Bioinorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2001**, *11*, 789
- [155] Kabachnik M. I., Medved' T. Ya., Dyaglova N. M., Polikarpov Yu. M., Shcherbakov B. K., Bel'skii F. I., *Russ. Chem. Bull.*, **1978**, *27*, 374
- [156] Vijaykumar M. P., Trinadha R. C., Rajamannar T., *US. 7,214,818*, **2008**
- [157] Subba R. D., Narayan K.A.S.S. G., Srinivasa R. V.N D., Ramesh D., Sivakumaran M., *US. 0173645A1*, **2007**
- [158] Baetz F., Junghans B., *US. 7,214,818*, **2007**
- [159] Blum H., Worms K., *US. 4,327,039*, **1982**
- [160] Blum H., Worms K., *US. 4,407,761*, **1983**
- [161] Rosini S., Staibano G., *US. 4,621,077*, **1986**
- [162] Espín J.C., Soler-Rivas C., Wichers H.J., García-Viguera C., *J. Agric. Food Chem* , **2000**, *48*, 1588
- [163] Espín J.C., Soler-Rivas C., Wichers H.J., *J. Agric. Food Chem* , **2000**, *48*, 648
- [164] Valgimigli L., Banks J. T., Ingold K. U., Luszyk J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 9966
- [165] Wright J.S., Johnson E.R., DiLabio G.A., *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 1173
- [166] Brigati G., Lucarini M., Mugnaini V., Pedulli G.F., *J. Org. Chem.*, **2002**, *67*, 4828
- [167] Mukai K., Kageyama Y., Ishida T., Fukuda K., *J. Org. Chem.*, **1989**, *54*, 552
- [168] Wright J.S., Carpenter D.J., McKay D.J., Ingold K.U., *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, 4245
- [169] Lucarini M., Pedrielli P., Pedulli G.F., Cabiddu S., Fattuoni C., *J. Org. Chem.*, **1996**, *61*, 9259
- [170] Olive G., Ellis D.D., Siri D et al., *Acta Crystallographica, Section C*, **2000**, *56*, 720
- [171] Mukherjee S., Huang C., Guerra F., Wang K., Oldfield E., *Journal of the American Chemical Society*, **2009**, *131*, 8374
- [172] Vega D., Fernandez D., Ellena J.A., *Acta Crystallographica, Section C*, **2002**, *58*, m77
- [173] Fernandez D., Vega D., Goeta A., *Acta Crystallographica, Section C*, **2003**, *59*, m543

- [174] Uchtman V.A., *The Journal of Physical Chemistry*, **1972**, 76, 1304
- [175] Z. Wu, Z. Liu, P. Tian, et al., *Crystal Research and Technology*, **2006**, 41, 1049
- [176] Shkol'nikova L.M., Masyuk A.A., Afonin E.G., *Koordinatsionnaya Khimiya*, **1990**, 16, 902
- [177] Fernandez D., Vega D., Goeta A., *Acta Crystallographica Section C*, **2002**, 58, m494
- [178] Stahl K., Treppendahl S.P., Preikschat H., Fischer E., *Acta Crystallographica Section E*, **2005**, 61, m132
- [179] Vega D., Baggio R., Garland M.T., *Acta Crystallographica Section C*, **1996**, 52, 2198

Έλενα Μαλιτζού