



Πανεπιστήμιο
Κύπρου

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

**ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ
ΕΝΕΡΓΩΝ ΟΞΕΙΔΟΑΝΑΓΩΓΙΚΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ
ΒΑΝΑΔΙΟΥ ΜΕ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΙΚΟΥΣ
ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΕΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Μανώλης Χρ. Βλασίου

2017



ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

**ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ
ΕΝΕΡΓΩΝ ΟΞΕΙΔΟΑΝΑΓΩΓΙΚΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ
ΒΑΝΑΔΙΟΥ ΜΕ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΙΚΟΥΣ
ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΕΣ**

Μανώλης Χρ. Βλασίου

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

Απρίλιος 2017

Μανώλης Χρ. Βλασίου

ΣΕΛΙΔΑ ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑΣ

Υποψήφιος Διδάκτορας: Μανώλης Βλασίου

Τίτλος Διατριβής: Σύνθεση και χαρακτηρισμός βιολογικά ενεργών οξειδοαναγωγικών συμπλόκων βαναδίου με πολυφαινολικούς υποκαταστάτες.

*Η παρούσα Διδακτορική Διατριβή εκπονήθηκε στο πλαίσιο των σπουδών για απόκτηση Διδακτορικού Διπλώματος στο **Τμήμα Χημείας** και εγκρίθηκε στις 28-04-2017 από τα μέλη της **Εξεταστικής Επιτροπής**.*

Εξεταστική Επιτροπή:

Ερευνητικός Σύμβουλος:

Δρ. Αναστάσιος Κεραμιδάς, Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κύπρου

.....

Μέλος Επιτροπής: Δρ. Χάρης Θεοχάρης, Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κύπρου

(Πρόεδρος).....

Μέλος Επιτροπής: Δρ. Κωνσταντίνα Καπνίση-Χριστοδούλου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κύπρου

(Εσωτερικό Μέλος).....

Μέλος Επιτροπής: Δρ. Αθανάσιος Κουτσολέλος, Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης

(Εξωτερικό Μέλος).....

Μέλος Επιτροπής: Δρ. Ιωάννης Πλακατούρας, Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, 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

Μανώλης Βλασίου.

Υπογραφή

.....

*Αφιερωμένο σε όποιον πραγματικά θέλησε αυτή η διατριβή
να ολοκληρωθεί με επιτυχία...*

Ευχαριστίες

Σε αυτό το σημείο θα ήθελα να ευχαριστήσω το Πανεπιστήμιο Κύπρου για την παραχώρηση του εργαστηρίου, το Ίδρυμα Προώθησης Έρευνας για τη χρηματοδότηση μέρους της διατριβής, τον καθηγητή Δρ. Αναστάσιο Κεραμιδά για τη λύση των κρυσταλλικών δομών, τις υποδείξεις και το ευχάριστο κλίμα συνεργασίας και την επίκουρο καθηγήτρια Δρ. Χρυσούλλα Δρούζα για τις μετρήσεις EPR και τη συνεργασία που είχαμε κατά τη διάρκεια αυτών των ετών.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής αναπληρώτρια καθηγήτρια Δρ. Κωνσταντίνα Καπνίση - Χριστοδούλου, καθηγητή Δρ. Χάρη Θεοχάρη και τα εξωτερικά μέλη της επιτροπής καθηγητές Δρ. Ιωάννη Πλακατούρα και Αθανάσιο Κουτσολέλο για το χρόνο που αφιέρωσαν και για τις υποδείξεις τους.

Αντί Προλόγου.....

Είμαστε όλοι διαφορετικοί. Αυτό που είναι όμως σημαντικό, είναι η ικανότητα να δημιουργούμε.....Στίβεν Χόκινγκ.

Μανώλης Χρ. Βλασίου

Περίληψη

Στην εργασία αυτή αναπτύχθηκαν νέες μέθοδοι ανάλυσης των πολυφαινολών, συντέθηκαν νέες μεταλλοπολυφαινολικές ενώσεις μοντέλα για τη μελέτη των μεταβολικών μονοπατιών των πολυφαινολών στα τρόφιμα και στους βιολογικούς οργανισμούς και μελετήθηκαν οι μηχανισμοί δημιουργίας ελευθέρων ριζών από την αλληλεπίδραση των μεταλλοϊόντων με τα φαινολικά συστατικά για την πιθανή τους χρήση ως αντικαρκινικά φάρμακα. Για την επίτευξη του στόχου αυτού στις φαινόλες και ιδιαίτερα σε υδροκινόνες και τοκοφερόλες έγινε ιχνηθέτηση με πυρήνες φθορίου F και βαναδίου V (III/IV/V) έτσι ώστε τα οργανικά μόρια να γίνουν ενεργά στις φασματοσκοπίες ^{19}F και ^{51}V NMR, EPR και UV-Vis. Η ποσοτική ανίχνευση των πολυφαινολών με ^{19}F NMR εξετάστηκε με επιτυχία στο ελαιόλαδο. Η αντιοξειδωτική/προοξειδωτική δράση των μεταλλοργανικών ενώσεων μοντέλων όπως και οι μηχανισμοί παραγωγής ριζών μελετήθηκαν κρυσταλλογραφικά, φασματοσκοπικά και ηλεκτροχημικά.

Οι αντιοξειδωτικές ενώσεις που περιέχονται στα τρόφιμα είναι βιομόρια τα οποία είναι ωφέλιμα στον ανθρώπινο οργανισμό διότι μειώνουν το οξειδωτικό στρες στο περιβάλλον του κυττάρου και δρουν ως συντηρητικά των τροφίμων προστατεύοντάς τα από την οξείδωση. Σε αυτή την τάξη ενώσεων ανήκουν και οι υδροκινόνες, όπως είναι για παράδειγμα οι λιπόφιλες τοκοφερόλες, των οποίων η βασική δομή χαρακτηρίζεται από μια μακριά υδρογονοανθρακική αλυσίδα πάνω στην οποία βρίσκεται προσαρμοσμένος στη 2-θέση ένας δακτύλιος χρωμανόλης και οι τοκοτριενόλες, οι οποίες διαφέρουν από τις τοκοφερόλες στο γεγονός ότι παρουσιάζουν τρεις *trans* διπλούς δεσμούς στην υδρογονοανθρακική αλυσίδα. Επιπρόσθετα, οι τοκοφερόλες και οι τοκοτριενόλες έχουν α, β, γ , και δ μορφές και η ονοματολογία τους βασίζεται στον αριθμό και τη θέση των μεθυλομάδων στο χρωμανολικό δακτύλιο. Αυτή λοιπόν η ομάδα των δομικά όμοιων μορίων (τοκοφερολών και τοκοτριενολών) ονομάζεται βιταμίνη E. Η βιταμίνη E είναι ευρέως γνωστή ως λιπόφιλο αντιοξειδωτικό των βιολογικών συστημάτων και έχει δράση ως σταθεροποιητής των ελεύθερων ριζών προστατεύοντας τις κυτταρικές μεμβράνες από τη δράση των ριζών. Επίσης, χρησιμοποιείται ως πρόσθετο στα τρόφιμα και στα καλλυντικά για προστασία από την οξειδωτική τάγγιση.

Οι πολυφαινολικές ενώσεις στα βιολογικά συστήματα και στα τρόφιμα μπορούν να αλληλοεπιδρούν με μεταλλοϊόντα όπου και επάγουν την παραγωγή ελεύθερων ριζών αντί την καταστολή τους προκαλώντας σημαντικά προβλήματα στον οργανισμό. Όμως η παραγωγή των ελεύθερων ριζών αν γίνει ελεγχόμενα μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως όπλο για την προγραμματισμένη απόπτωση των καρκινικών κυττάρων. Ιδιαίτερα η βιταμίνη E και τα παράγωγα της είναι γνωστό ότι συγκεντρώνονται στα μιτοχόνδρια τα οποία θεωρούνται ως ένας εναλλακτικός στόχος των φαρμάκων που δρουν στο DNA για τη θεραπεία του καρκίνου. Είναι πολύ σημαντικό το γεγονός δε, ότι τα οξειδοαναγωγικά παράγωγα της βιταμίνης E, δρουν επιλεκτικά στα καρκινικά κύτταρα και για αυτό δεν έχουν καθόλου τοξικότητα.

Παρόλη τη σπουδαιότητα των παραπάνω αντιδράσεων η μελέτη τους είναι περιορισμένη κυρίως λόγω της δυσκολίας στην άμεση και γρήγορη καταγραφή των αντιδράσεων αυτών στα τρόφιμα και στα βιολογικά συστήματα και στην έλλειψη κατάλληλων μεταλλοργανικών μοντέλων.

Η εργασία αυτή περιλαμβάνει τη σύνθεση μικτών ενώσεων του βαναδίου (III/IV/V) με τροποποιημένες τοκοφερόλες και άλλες υδροκινόνες. Το βανάδιο (IV) χρησιμοποιήθηκε λόγω των εξαιρετικών φασματοσκοπικών του ιδιοτήτων (χρώμα, μαγνητικές ιδιότητες). Λόγω αυτών των ιδιοτήτων η δραστηριότητα των μορίων αυτών μπορεί να καταγράφεται σε πραγματικό χρόνο με φασματοσκοπίες ορατού-υπεριώδους και ηλεκτρονικού παραμαγνητικού συντονισμού όπως και με φασματοσκοπίες πυρηνικού ή ηλεκτρονικού συντονισμού εικόνας.

Τη μελέτη της αντιοξειδωτικής/προοξειδωτικής δράσης των μορίων αυτών. Η κατευθείαν αλληλεπίδραση μέσω της ένταξης των φαινολών με το μεταλλοϊόν θα βοηθήσει στην καλύτερη κατανόηση του μηχανισμού ελεύθερων ριζών στα βιολογικά συστήματα και στα τρόφιμα και θα μπορούσε, επίσης, να χρησιμοποιηθεί και στη σύνθεση φαρμάκων με συγκεκριμένη βιοδιαθεσιμότητα.

Την ανάπτυξη μίας νέας μεθοδολογίας για το γρήγορο ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό των φαινολικών συστατικών σε διάφορα βιολογικά συστήματα και τρόφιμα όπως και την καταγραφή του μεταβολισμού των πολυφαινολών στα βιολογικά συστήματα, τρόφιμα κλπ. Η μέθοδος αυτή εφαρμόστηκε με επιτυχία στο ελαιόλαδο το οποίο είναι ένα καλό μοντέλο των λιπόφιλων κυτταρικών μεμβρανών.

Abstract.

In this work, we studied new transition metal complexes with phenolic ligands which are models for the study of metabolic pathways in food matrixes and biological systems. In addition, we investigated the mechanism of radicals that created studying the interaction of the phenols with metal ions. To evaluate those phenol molecules in biological systems, we developed an analytical method.

Basically, antioxidants are components of foods necessary for the ordinary function of human body. They are used as conservatives in food matrixes against oxidation. Hydroquinones are model molecules for antioxidants. Hydroquinone group include tocopherols and tocotrienols. Tocopherol isoforms contain a saturated phytyl chain and a different placement of methyl groups on the chromanol ring, while, tocotrienol isoforms have an unsaturated side chain. Vitamin E is a generic term that represents a family of compounds composed of various tocopherol and tocotrienol isoforms. Tocopherols display potent anti-angiogenic and antiproliferative activities.

Polyphenolic compounds in biological systems could easily interact with metal ions producing free radical species causing several diseases in human body. On the other hand, the controlled production of free radicals could induce apoptosis of cancer cells. In particular, vitamin E and its analogues are active in mitochondria and are potential drugs against cancer cells, while It is well known that tocopherol analogues target only cancer cells due to their high redox. Although, these interactions are well known, they have not been used to induce apoptosis of cells. In this study, tocopherols analogues are combined with vanadium ions for the first time to induce cell death.

In particular, in the current study, hydroquinones and tocopherols were fluoro- and vanadium-labelled in order to be studied with ^{19}F and ^{51}V NMR, EPR and UV-Vis spectroscopy. The quantification of these molecules via ^{19}F NMR took place in olive oil environment which is very similar to that of cell membrane. The antioxidant action of these metal-organic molecules with the vanadium as well as their radical induced mechanisms were evaluated with spectroscopy, crystallography and electrochemistry.

First, a new analytical method for the speciation and the qualification of the minor OH-molecules in complex matrixes in one pot experiment based on ^{19}F NMR spectroscopy was established. Subsequently, a series of vanadium III, IV and V complexes with phenolic ligands were synthesized and characterized. Furthermore, a simple additivity rule was applied on different ligands in order to predict the oxidation

and reduction potentials of square pyramidal and octahedral vanadyl complexes to elucidate the redox action of vanadium complexes. Finally, different vanadium IV and V with tocopherol complex molecules were synthesized and characterized. The tocopherol vanadium complexes were evaluated for their ability to bind albumin protein and to induce radicals to promote apoptosis to cancer cells.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

		Σελίδες
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ		
1.1	Στόχος και Καινοτομία	1
1.2	Βιβλιογραφική Ανασκόπηση	2
1.2.1	Πολυφαινολικές ενώσεις	2
<i>1.2.1.1</i>	<i>Σχηματισμός και σταθεροποίηση ελευθέρων ριζών</i>	4
1.2.2	Το μιτοχόνδριο ως στόχος αντικαρκινικής δράσης	6
1.2.3	Χημεία τοκοφερολών και βιολογική δράση	9
<i>1.2.3.1</i>	<i>Μέταλλο-οργανικά παράγωγα τοκοφερόλης με αντικαρκινική δράση</i>	11
1.2.4	Χημεία και βιολογική δράση βαναδίου	13
<i>1.4.4.1</i>	<i>Μηχανισμός δημιουργίας ριζών σε φαινολικές ενώσεις του βαναδίου(V/IV)</i>	15
1.2.5	Φασματοσκοπικός προσδιορισμός και παρακολούθηση υδροξο-μορίων σε βιολογικά συστήματα	17
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ		19
2.1	Χημικά αντιδραστήρια	19
2.2	Σύνθεση οργανικών υποκαταστατών	19
2.2.1	Δις (2-μεθυλπυριδυλ)αμίνη (2-dpa) (L ₁)	20
2.2.2	2.5-δις((δις(2-υδροξυμέθυλ)αμινο)μέθυλ)-1.4-ημικινόνη (H ₆ bdeah×2HCl) (L ₂)	21
2.2.3	2.5-δις[N,N-δις(καρβόξυμέθυλ)αμινομέθυλ]υδροκινόνη (H ₆ bicah) (L ₃)	22
2.2.4	2.2'-(((6-υδροξυ-2.8-διμεθυλ-2-(4.8.12-τριμεθυλοτριδεκυλο)χρωμαν-5-ολ)μεθυλ)αζανεδυλ)δισιθανόλη (β-tocdea) (L ₄)	23
2.2.5	5-(((δις(πυρηδιν-2-υλμεθυλ)αμινο)μεθυλ)-2.8-διμεθυλ-2-2(4.8.12-τριμεθυλοτριδεκυλο)χρωμαν-6-ολη (β-tocdpa) (L ₅)	24
2.2.6	2,2'-(((R)-6-υδροξυ-2,8-διμεθυλ-2-((4R,8R)-4,8,12-τριμεθυλτριδεκυλ)χρωμαν-5-υλ)μεθυλ)αζανεδυλ)διοξικό οξύ (β-tocida)	25

	(L ₆)	
2.2.7	(E)-3-(2-((δις(2-υδροξυμεθυλ)άμινο)μέθυλ)-4-υδροξυφένυλ)-1-(2,4-διυδροξυ-6-μεθόξυ-3-(3-μέθυλβουτ-2-εν-1-υλ)φαίνυλ)προπ-2-εν-1-ονη (xndea) (L ₇)	25
2.2.8	(E)-1-(2,4-διυδροξυ-6-μεθόξυ-3-(3-μέθυλβούτυλ-2-εν-1-υλ)φαίνυλ)-3-(4-διυδροξυ-2-(((πύριδιν-3-υλμέθυλ)(πύριδιν-4-υλμέθυλ)άμινο)μέθυλ)φαίνυλ) προπ-2-εν-1-ονη (xndpa) (L ₈)	26
2.2.9	2-((δις(2-υδροξυμέθυλ)άμινο)μέθυλ)-5-μέθυλβένζο-1,4-διόλη (hyquimethyldea) (L ₉)	27
2.2.10	2-((δις(2-υδροξυμέθυλ)άμινο)μέθυλ)-5-(τερτ-βούτυλ)βένζο-1,4-διόλη (hyquitertdea) (L ₁₀)	27
2.2.11	2,4,6-τρις((δις(2-υδροξυμέθυλ)άμινο)μέθυλ)βένζο-1,3,5-τριόλη (benzytrioidea) (L ₁₁)	28
2.3	Σύνθεση σύμπλοκων ενώσεων V(III,IV,V)	27
2.3.1	[V ^{III} ₂ (μ-bicah) ₂ (H ₂ O) ₄]×13H ₂ O (C _{1a})	28
2.3.2	[V ^{III} ₂ (μ-bicah) ₂ (H ₂ O) ₄] · H ₂ O (C _{1b})	29
2.3.3	[V ^{III} ₂ (μ-bicah) ₂ (bipy) ₂] · 4H ₂ O (C ₂)	30
2.3.4	[(VO) ₂ (μ-bdeah)] · xH ₂ O (x=1-2)	30
2.3.5	[(VO) ₂ (μ-bdeah)] (C ₃)	30
2.3.6	[(VO) ₂ (μ-bdeas)(DMSO) ₂] (C ₄) και [(VO) ₂ (μ-bdeas)(CH ₃ OH) ₂] (C ₅)	31
2.3.7	[(VO) ₂ (μ-bdeas)(MeOH) ₂] (C ₆)	31
2.3.8	[VO(β-tocdea)] (C ₇)	31
2.3.9	[VO(β-tocdpa)Cl ₂] (C ₈)	32
2.3.10	[VO(β-tocida)Cl ₂] (C ₉)	32
2.3.11	[VO(xndea)] (C ₁₀)	32
2.3.12	[VO(xndpa)Cl ₂] (C ₁₁)	33
2.3.13	[VO(acac) ₂] (C ₁₂), Na ₂ [VO(hybeb) ₂] (C ₁₃), [VO(salen)] (C ₁₄)	33
2.4	Μέθοδοι ταυτοποίησης των ενώσεων	32
2.5	Ανάπτυξη κρυστάλλων	33
2.6	Φυσικοχημικοί χαρακτηρισμοί των μορίων	34

2.7	Ανάπτυξη αναλυτικής μεθόδου με το ^{19}F NMR	35
2.7.1	Προετοιμασία αντιδραστηρίων	35
2.7.2	Προετοιμασία των προτύπων διαλυμάτων	36
2.7.3	Φασματοσκοπία ^{19}F NMR	36
2.7.4	Ποσοτική ανάλυση και επεξεργασία αποτελεσμάτων	36
2.8	Ανάπτυξη μελέτης αλληλεπίδρασης μορίων με DPPH	37
2.9	Ανάπτυξη μελέτης αλληλεπίδρασης μορίων με BSA	38
2.10	Θεωρητικό Υπόβαθρο	39
2.10.1	Μονοδιάστατη φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού	39
2.10.2	Φασματοσκοπία NMR δύο διαστάσεων	40
2.10.3	Φθόριο ^{19}F NMR (^{19}F NMR)	41
2.10.4	Βανάδιο ^{51}V NMR (^{51}V NMR), Παραμαγνητικό NMR	41
2.11	Φασματοσκοπία ορατού-υπεριώδους	42
2.12	Φασματοσκοπία υπερύθρου	42
2.13	Ηλεκτροχημεία-Κυκλική βολταμετρία	43
2.14	Κρυσταλλογραφία XRD	44
2.15	Φασματοσκοπία EPR	
2.16	Φασματοσκοπία φθορισμού	
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ		45
3.1	Σύνθεση Σύμπλοκων ενώσεων V (III/IV/V)	45
3.2	Κρυσταλλογραφία	49
3.3	Φασματοσκοπία IR και μαγνητική επιδεκτικότητα	63
3.4	Μελέτες διαλύματος με NMR και EPR	64
3.5	Κυκλική βολταμετρία	70
3.6	Μελέτες UV-vis	74
3.7	Ανάπτυξη μεθόδου προσδιορισμού υδρόξο-μορίων –OH, σε περίπλοκα περιβάλλοντα	76
3.8	Αλληλεπίδραση των μορίων με BSA	83
3.9	Κινητική μελέτη των μορίων με DPPH	86

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΜΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ		
4.1	Συμπεράσματα	89
4.2	Μελλοντική Εργασία	91
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ		92
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ		107

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

cyt c	Κυτόχρωμα c
ATP	Τριφωσφορική αδενοσίνη [adenosine triphosphate]
V	Βανάδιο [vanadium]
maltol	3-υδροξυ-2-μεθυλ-πυραν-4-ονη
BMOV	VO(maltol) ₂
NMR	Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού [nuclear magnetic resonance]
¹H NMR	Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού πρωτονίου [proton nuclear magnetic resonance]
¹³C NMR	Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού άνθρακα-13 [carbon-13 nuclear magnetic resonance]
³¹P NMR	Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού φώσφορου-31 [phosphorus-31 nuclear magnetic resonance]
EPR	Φασματοσκοπία ηλεκτρονικού παραμαγνητικού συντονισμού [electron paramagnetic resonance]
h	Σταθερά του Plank
E	Κβαντική ενέργεια [energy]
ν	Συχνότητα
acac	Ακετυλοακετονάτο [acetylacetonate]
2-dpa ή L₁	Δις(2-μεθυλπυριδυλ)αμίνη
MeOH	Μεθανόλη [methanol]
H₆bdeah ή L₂	2.5-δις((δις(2-υδροξυμέθυλ)άμινο)μέθυλ)-1.4-ημικινόνη
(H₆bicah) ή L₃	2.5-δις[N.N-δις(καρβόξυμέθυλ)αμινομέθυλ]υδροκινόνη
β-tocdea ή L₄	2.2'-(((6-υδροξυ-2.8-διμεθυλ-2-(4.8.12-τριμεθυλοτριδεκυλο)χρωμαν-5-ολ)μεθυλ)αζανεδυλ)δισαιθανόλη
β-tocdpa ή L₅	5-((δις(πυρηδιν-2-υλμεθυλ)αμινο)μεθυλ)-2.8-διμεθυλ-2-2(4.8.12-τριμεθυλοτριδεκυλο)χρωμαν-6-ολη
β-tocida ή L₆	2,2'-((((R)-6-υδροξυ-2,8-διμεθυλ-2-((4R,8R)-4,8,12-τριμεθυλτριδεκυλ)χρωμαν-5-υλ)μεθυλ)αζανεδυλ)διοξικό οξύ
xndea ή L₇	(E)-3-(2-((δις(2-υδροξυμεθυλ)άμινο)μέθυλ)-4-υδροξυφένυλ)-1-(2,4-διυδροξυ-6-μεθόξυ-3-(3-μέθυλβουτ-2-εν-1-υλ)φαίνυλ)προπ-2-εν-1-ονη
Xndpa ή L₈	(E)-1-(2,4-διυδροξυ-6-μεθόξυ-3-(3-μέθυλβούτυλ-2-εν-1-υλ)φαίνυλ)-3-(4-διυδροξυ-2-(((πύριδιν-3-υλμέθυλ)(πύριδιν-4-υλμέθυλ)άμινο)μέθυλ)φαίνυλ) προπ-2-εν-1-ονη

hyquimethyldea ή L₉	2-((δισ(2-υδροξυμέθυλ)άμινο)μέθυλ)-5-μέθυλβένζο-1,4-διόλη
Hyquiteridea ή L₁₀	2-((δισ(2-υδροξυμέθυλ)άμινο)μέθυλ)-5-(τερτ-βούτυλ)βένζο-1,4-διόλη
Benzytriodea ή L₁₁	2,4,6-τρικς((δισ(2-υδροξυμέθυλ)άμινο)μέθυλ)βένζο-1,3,5-τριόλη
DMSO	Διμεθυλοσουλφοξείδιο (dimethyl sulfoxide)
DPPH	2,2-διφαινυλο-1-πικρυλυδραζύλη [2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl hydrate]
t_{acq}	Χρόνος απόκτησης (acquisition time)
FID	Σήμα ελεύθερης επαγωγικής απόσβεσης [free induction decay]
⁵¹V NMR	Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού βαναδίου [vanadium-51 nuclear magnetic resonance]
XRD	Κρυσταλλογραφία ακτίνων X [X-ray diffraction]
DMF	Διμεθυλοφορμαμίδιο [N,N'-dimethyl formamide]
NHE	Ηλεκτρόδιο υδρογόνου [Standard hydrogen electrode]
LOD	Χαμηλότερο όριο ανίχνευσης [Lower limit of detection]
LOQ	Χαμηλότερο όριο ποσοτικοποίησης [Lower limit of quantification]

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟΙ ΠΙΝΑΚΕΣ

Πίνακας 3.1:	Κρυσταλλογραφικά δεδομένα για τα σύμπλοκα C _{1a} , C _{1b} , και C ₂ . Όλες οι δομές προσδιορίστηκαν σε θερμοκρασία, $T = 100$ K.
Πίνακας 3.2:	Επιλεγμένα μήκη δεσμών και γωνίες για το σύμπλοκο C _{1a} .
Πίνακας 3.3:	Επιλεγμένα μήκη δεσμών και γωνίες για το σύμπλοκο C _{1b} .
Πίνακας 3.4:	Επιλεγμένα μήκη δεσμών και γωνίες για το σύμπλοκο C ₂ .
Πίνακας 3.5:	Επιλεγμένα μήκη δεσμών και γωνίες για τα σύμπλοκα C ₄ , C ₅ , C ₆ .
Πίνακας 3.6:	Οι κυριότερες χημικές μετατοπίσεις των CH ₃ COO-παραγώγων των υδρόξο μορίων σε δείγμα ελαιόλαδου. Ο χρόνος T1 υπολογίστηκε πειραματικά ως χρόνος ανάκτησης αναστροφής των κορυφών.
Πίνακας 3.7:	Αποτελέσματα μελέτης αλληλεπίδρασης των μορίων με την πρωτεΐνη αλβουμίνη. n είναι ο αριθμός σημείων πρόσδεσης του μορίου με την αλβουμίνη.
Πίνακας 3.8:	Οι σταθερές ταχύτητας β' τάξεως (K_2) της αντίδρασης DPPH• (136 μM) με τα υπό μελέτη μόρια (60-300 μM) σε μεθανόλη. Οι υπολογισμοί έγιναν από τις κλίσεις των γραφημάτων από την απορρόφηση στα 515 nm.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΣΧΗΜΑΤΑ

Σχήμα 1.1:	Μερικά από τα πιο γνωστά φαινολικά οξέα.
Σχήμα 1.2:	Χημικές δομές φλαβονοειδών.
Σχήμα 1.3:	Χημική δομή της ρεσβερατρόλης.
Σχήμα 1.4:	Χημική δομή της κουμαρίνης.
Σχήμα 1.5:	Δημιουργία αθηρωματικής πλάκας σε αρτηρία.
Σχήμα 1.6:	Η υπεροξειδωση των συστατικών της κυτταρικής μεμβράνης από την παρουσία ριζών και ο ρόλος του κυτοχρώματος C.
Σχήμα 1.7:	Μηχανισμός σταθεροποίησης ελευθέρων ριζών από τα φλαβονοειδή. Όπου F=φλαβονοειδές.
Σχήμα 1.8:	Αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων στο μιτοχόνδριο – Κυτταρική αναπνοή.
Σχήμα 1.9:	Προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος.
Σχήμα 1.10:	Δομή τοκοφερολών και τοκοτριενολών.
Σχήμα 1.11:	Οξειδοαναγωγική δράση της ουμπικινόνης στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων.
Σχήμα 1.12:	Μοριακές δομές των στερεοισομερών της βιταμίνης E. Σε κόκκινο κύκλο οι περιοχές των μορίων που μπορούν να τροποποιηθούν συνθετικά.
Σχήμα 1.13:	Σύμπλοκα μαλτολάτο και δυνητικά αντιδιαβητικές ενώσεις με βάση το ΒΜΟV.
Σχήμα 1.14:	Αντικαρκινικές σύμπλοκες ενώσεις βαναδίου με υποκαταστάτη <i>όρθο</i> -φαινοθρολίνη.
Σχήμα 2.1:	Βασική και διεγερμένη κατάσταση στο φθορισμό.
Σχήμα 3.1:	Τα σύμπλοκα του V(III) C _{1a,b} και C ₂ .
Σχήμα 3.2:	Στρατηγική σύνθεσης των συμπλόκων C ₄ , C ₅ , C ₆ .
Σχήμα 3.3:	α) Συνθετική πορεία υποκατεστημένου παραγώγου δ-τοκοφερόλης, β) απλοποιημένος μηχανισμός αντίδρασης Mannich και γ) από αριστερά προς τα δεξιά: οι οργανικοί υποκαταστάτες διπικουλαμίνη και ιμινοδιοξικό οξύ.
Σχήμα 3.4:	α) σύμπλοκο βαναδίου (V) τον υποκαταστάτη <i>β-tocdea</i> , β) σύμπλοκο βαναδίου (IV) με τον υποκαταστάτη <i>β-tocdra</i> .
Σχήμα 3.5:	Διαμόρφωση ORTEP για το σύμπλοκο C _{1b} .
Σχήμα 3.6:	Διαμόρφωση ORTEP για το σύμπλοκο C ₂ .
Σχήμα 3.7:	Σχεδιαγράμματα για τα σύμπλοκα (A) C _{1a} , (B) C _{1b} , (C) C ₂ . Εμφανίζονται οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των καρβοξυλικών/υδροκινονικών οξυγόνων και των ενταγμένων μορίων νερού καθώς και τα ελεύθερα μόρια νερού.
Σχήμα 3.8:	Διάταξη ORTEP συμπλόκου C ₄ .
Σχήμα 3.9:	Διάταξη ORTEP συμπλόκου C ₅ και C ₆ .

Σχήμα 3.10:	Διάταξη ORTEP συμπλόκου C ₆ .
Σχήμα 3.11:	Τα διπυρηνικά με τους δεσμούς υδρογόνου, σχηματίζουν άπειρες ταινίες στο κρυσταλλικό πλέγμα παράλληλες στον άξονα b.
Σχήμα 3.12:	Φάσμα EPR του C ₁ (2mM) στους 120 K σε διαφορετικά pH από 2.6 μέχρι 1.4. Η κόκκινη διακεκομμένη γραμμή, είναι η προσομοίωση σε pH 1.4.
Σχήμα 3.13:	2D { ¹ H} gcosy φάσμα και οι αποδόσεις των κορυφών.
Σχήμα 3.14:	(A) Το σχήμα εμφανίζει την εξάρτηση της θερμοκρασίας του συμπλόκου C ₄ σε DMSO (10 mM) λήφθηκε σε ένα εύρος θερμοκρασιών από 23 μέχρι 120°C. (B) Γράφημα του $\ln((w_{id} - w_i)/(w_{id}))$ vs. 1/T.
Σχήμα 3.15:	Φάσμα EPR του C ₄ σε διάλυμα DMSO (1 mM) στους 100 K. Το βέλος αναφέρεται στην ύπαρξη της κεντρικής κορυφής του V ^{IV} λόγω μερικής διάσπασης του συμπλόκου. Στο σχήμα επίσης φαίνεται και το φάσμα προσομοίωσης μετά από υπολογισμούς.
Σχήμα 3.16:	Κυκλικό βολταμογράφημα των συμπλόκων C _{1a} (0.5mM) (κόκκινο χρώμα) και C ₂ (1mM) (μαύρο χρώμα) σε pH 3.2 και 2.7 αντίστοιχα.
Σχήμα 3.17:	(A) Κυκλική βολταμετρία σε διάλυμα DMSO του συμπλόκου C ₄ (1mM). (B) Κυκλική βολταμετρία σε διάλυμα DMSO-MeOH (4:6) του συμπλόκου C ₄ (1mM).
Σχήμα 3.18:	Κυκλική βολταμετρία του συμπλόκου VO(salen) (1.0 α) σε διάφορους διαλύτες. Όλα τα δυναμικά προσδιορίστηκαν σε ρυθμό σάρωσης 100 mV s ⁻¹ .
Σχήμα 3.19:	(A) Φάσμα UV-vis σε διάφορες θερμοκρασίες του C ₄ σε μίγμα διαλυτών (DMSO-MeOH) (4:6). (B) Διάγραμμα του $\ln(K)$ vs. 1/T.
Σχήμα 3.20:	Αντίδραση φθορίωσης των OH- μορίων.
Σχήμα 3.21:	Γραμμική σχέση που εμφανίζεται με την προσθήκη α-τοκοφερόλης σε CDCl ₃ σε σχέση με την υπολογιζόμενη συγκέντρωση της κορυφής του φθορίου -19 NMR (α-τοκοφερόλης) συγκρινόμενη με αυτή του εσωτερικού προτύπου. Οι τιμές LOD και LOQ βρέθηκαν 16 και 49 mg/L αντίστοιχα
Σχήμα 3.22:	Γραμμική σχέση που εμφανίζεται με την προσθήκη α-τοκοφερόλης σε CDCl ₃ σε σχέση με την α-τοκοφερόλη που προϋπήρχε στο δείγμα με βάση την υπολογιζόμενη συγκέντρωση της κορυφής του φθορίου-19 NMR (α-τοκοφερόλης) συγκρινόμενη με αυτή του εσωτερικού προτύπου. Οι τιμές LOD και LOQ βρέθηκαν 16 και 47 mg/L αντίστοιχα.
Σχήμα 3.23:	Φάσμα φθορίου-19 μίγματος τοκοφερόλης με περίσσεια τριφθοροοξικού ανυδρίτη. Στο φάσμα A η αντίδραση πραγματοποιείται χωρίς την προσθήκη πυριδίνης, στο φάσμα B) η αντίδραση γίνεται με προσθήκη βάσης και στο φάσμα C πραγματοποιείται εκχύλιση με νερό και υδρόλυση των οξέων.

Σχήμα 3.24:	Χημική ανταλλαγή τριφθοροοξικού οξέος και τριφθοροοξικού ανυδρίτη.
Σχήμα 3.25:	Το φάσμα με το μαύρο χρώμα είναι το πραγματικό και παρουσιάζεται το κοίλο της χημικής ανταλλαγής. Το φάσμα με το κόκκινο χρώμα αποτελεί το φάσμα προσομοίωσης στα -75.7005 ppm (84.45 Hz εύρος) με χρήση λόγου Lorentzian/Gaussian ίσο με 0.80 .
Σχήμα 3.26:	Στο σχήμα φαίνεται η μείωση του σήματος φθορισμού σε σχέση με την αύξηση της συγκέντρωσης του L4.
Σχήμα 3.27:	(A) Γράφημα της F_0/F συνάρτηση της συγκέντρωσης του C7. (B) Γράφημα της $F_0/(F_0-F)$ συνάρτηση της $[1/C]$ συγκέντρωσης του C7.
Σχήμα 3.28:	Φάσμα UV-vis που εμφανίζεται η καταστολή της ρίζας DPPH• από το μόριο L4 σε σχέση με το χρόνο (1s-30min). Το DPPH εμφανίζει μέγιστο στα ~ 515 nm. Η μεταβολή της αντίδρασης παρατηρείται με μεταβολή στο χρώμα του διαλύματος από μωβ σε κίτρινο χρώμα.
Σχήμα 3.29:	Αριστερά, καταστολή της ρίζας DPPH• από το μόριο L5 και δεξιά η επαγωγή της από το σύμπλοκο C8 σε σχέση με το χρόνο (1s-30min).

Μανώλης Χρ. Βλασίου

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Μανώλης Χρ. Βλασίου

1.1 Στόχος και Καινοτομία

Σε αυτή την εργασία εστιάσαμε περισσότερο στις πολυφαινολικές ενώσεις. Πρώτα στη μελέτη της δράσης τους και έπειτα στη χημική τους τροποποίηση με στόχο την αύξηση της δραστηριότητάς τους. Τέλος αναπτύξαμε νέες αναλυτικές μεθόδους με σκοπό τον ποσοτικό και ποιοτικό τους προσδιορισμό σε βιολογικά συστήματα.

Συγκεκριμένα μελετήθηκαν σύμπλοκες ενώσεις βαναδίου με τροποποιημένες τοκοφερόλες (υδροκινόνες) και χαρακτηρίστηκαν φασματοσκοπικά και κρυσταλλογραφικά καθώς και ηλεκτροχημικά. Έπειτα προσδιορίστηκαν τέτοιου είδους φαινολικά μόρια με φασματοσκοπία φθορίου NMR σε ελαιόλαδο που προσομοιάζει το περιβάλλον της κυτταρικής μεμβράνης.

Ο άμεσος στόχος ήταν η δημιουργία μορίων με πιθανή αντικαρκινική δράση, μορίων όμως που θα ήταν ενεργά σε γρήγορες φασματοσκοπικές μεθόδους για να μπορούν να προσδιορίζονται ανά πάσα στιγμή στα συστήματα τα οποία δρουν. Ένας δεύτερος στόχος ήταν η μελέτη της δημιουργίας ριζών αυτών των μορίων και της κατανόησης του μηχανισμού δράσης τους μέσω των οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων.

Η καινοτομία αυτής της διατριβής καθορίζεται από το κενό που καλύπτει στην υπάρχουσα βιβλιογραφία καθώς μέχρι πρότινος για ήταν γνωστό το γεγονός ότι τα παράγωγα της βιταμίνης E δρουν επιλεκτικά στα καρκινικά κύτταρα, μειώνοντας το οξειδωτικό στρες, όμως δεν αναφερόταν ότι η δημιουργία παραγώγων τοκοφερόλης με ιόντα μετάλλου θα μπορούσε να επάγει τη δημιουργία ριζών και την επιλεκτική απόπτωση των καρκινικών κυττάρων. Επίσης οι σύμπλοκες αυτές ενώσεις με τις υψηλές οξειδοαναγωγικές δυνατότητες είναι πρωτότυπα μόρια και μιμούνται ενζυμικές δραστηριότητες του ανθρώπινου κυττάρου.

Τέλος ακόμα μια καινοτομία της διδακτορικής αυτής εργασίας είναι η ανάπτυξη φασματοσκοπικών μεθόδων ποσοτικού και ποιοτικού προσδιορισμού φαινολικών ουσιών με υψηλή ευαισθησία, που μέχρι σήμερα περιοριζόταν σε χρωματογραφικές μεθόδους ανάλυσης με μεγαλύτερους χρόνους και υψηλότερα κόστη.

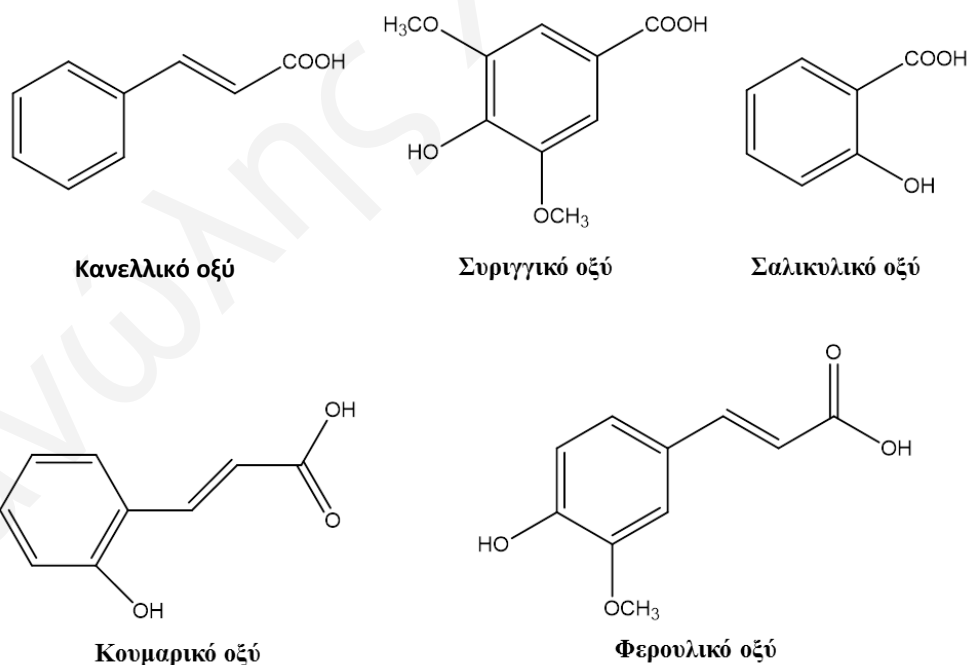
1.2 Βιογραφική Ανασκόπηση

1.2.1 Πολυφαινολικές ενώσεις

Πολυφαινολικές ενώσεις χαρακτηρίζεται μία ομάδα ενώσεων όπου μία ή περισσότερες υδροξυλομάδες είναι απευθείας συνδεδεμένες σε ένα ή περισσότερους ετεροκυκλικούς δακτυλίους. Οι πολυφαινολικές ενώσεις αποτελούν επίσης προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού των φυτών. Οι ενώσεις αυτές είναι γνωστές λόγω της πλούσιας αντιοξειδωτικής τους δράσης. Η κύρια πηγή για τις ενώσεις αυτές είναι τα όσπρια, τα φρούτα, τα λαχανικά, καθώς, επίσης και το κόκκινο κρασί, η σοκολάτα, το πράσινο τσάι και το ελαιόλαδο.^[1,2]

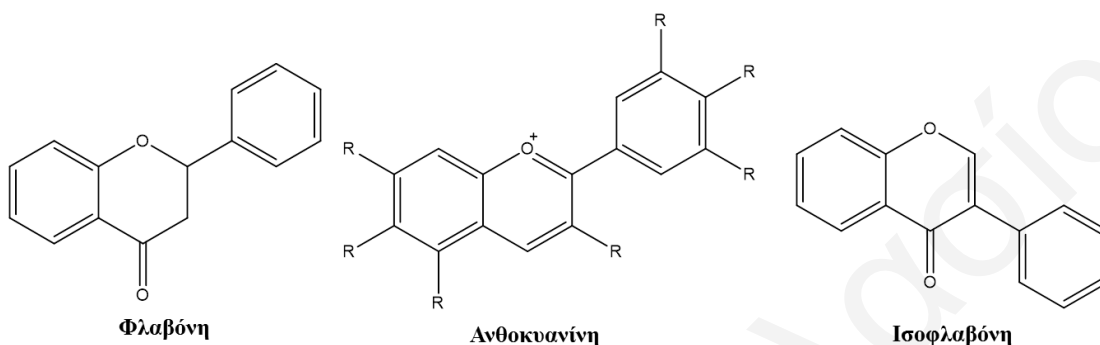
Οι πολυφαινολικές ενώσεις μπορούν να κατηγοριοποιηθούν^[1,2] σε φαινολικά οξέα, φλαβονοειδή, στυλβένια και κουμαρίνες. Σύντομη περιγραφή για την κάθε κατηγορία δίνεται πιο κάτω:

- i) **Φαινολικά οξέα:** είναι παράγωγα του κινναμωμικού και του βενζοϊκού οξέος που βρίσκονται στα φυτά με τη μορφή εστέρων ή γλυκοσιδών. Στην πρώτη κατηγορία συγκαταλέγεται το καφεϊκό οξύ, το κουμαρικό οξύ, το σιναπικό οξύ και το φερουλικό οξύ, ενώ, στη δεύτερη το σαλικυλικό και το γαλλικό οξύ (σχήμα 1.1).



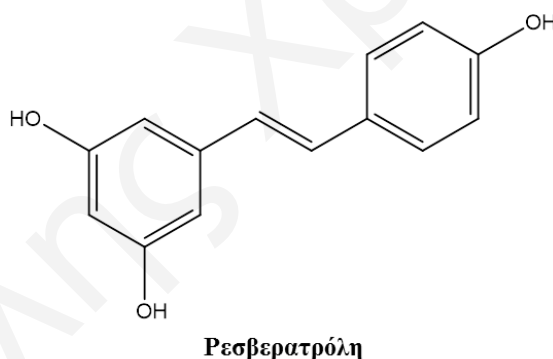
Σχήμα 1.1: Μερικά από τα πιο γνωστά φαινολικά οξέα.

- ii) **Φλαβονοειδή:** αποτελούνται από δύο αρωματικούς δακτυλίους οι οποίοι ενώνονται μεταξύ τους με τρία άτομα άνθρακα προς ένα οξυγονωμένο ετερόκυκλο δακτύλιο. Ανάλογα με τη χημική τους δομή κατατάσσονται σε φλαβονόλες, φλαβόνες, φλαβονόνες, ισοφλαβονοειδή, φλαβανόλες και ανθοκυανίνες (σχήμα 1.2).



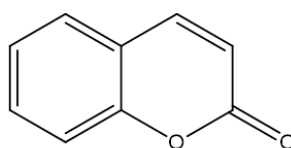
Σχήμα 1.2: Χημικές δομές φλαβονοειδών.

- iii) **Στιλβένια:** συντίθενται από παράγωγα του κινναμωμικού οξέος. Παράγονται από φυτικούς οργανισμούς σε καταστάσεις κινδύνου. Τα στιλβένια απαντούν ευρύτατα στο φυτικό βασίλειο, ενώ η πιο αντιπροσωπευτική τους ένωση αποτελεί η ρεσβερατρόλη (σχήμα 1.3).



Σχήμα 1.3: Χημική δομή της ρεσβερατρόλης.

- iv) **Κουμαρίνες:** ανήκουν στις διαιτητικές φαινόλες και χαρακτηρίζονται από την παρουσία ενός βενζοϊκού δακτυλίου συνδεδεμένο με ένα πυρονικό δακτύλιο. Οι κουμαρίνες (σχήμα 1.4) βρίσκονται σε πολλά είδη φυτών και βοτάνων.



Κουμαρίνη

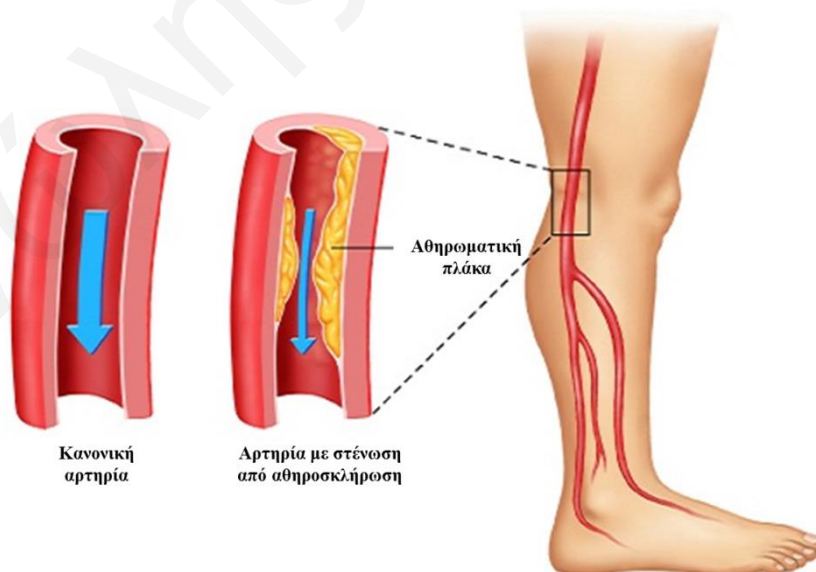
Σχήμα 1.4: Χημική δομή της κουμαρίνης

1.2.1.1 Σχηματισμός και σταθεροποίηση ελευθέρων ριζών

Η αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινολικών ενώσεων έγκειται στη δέσμευση των ελευθέρων ριζών που υπάρχουν στον οργανισμό.

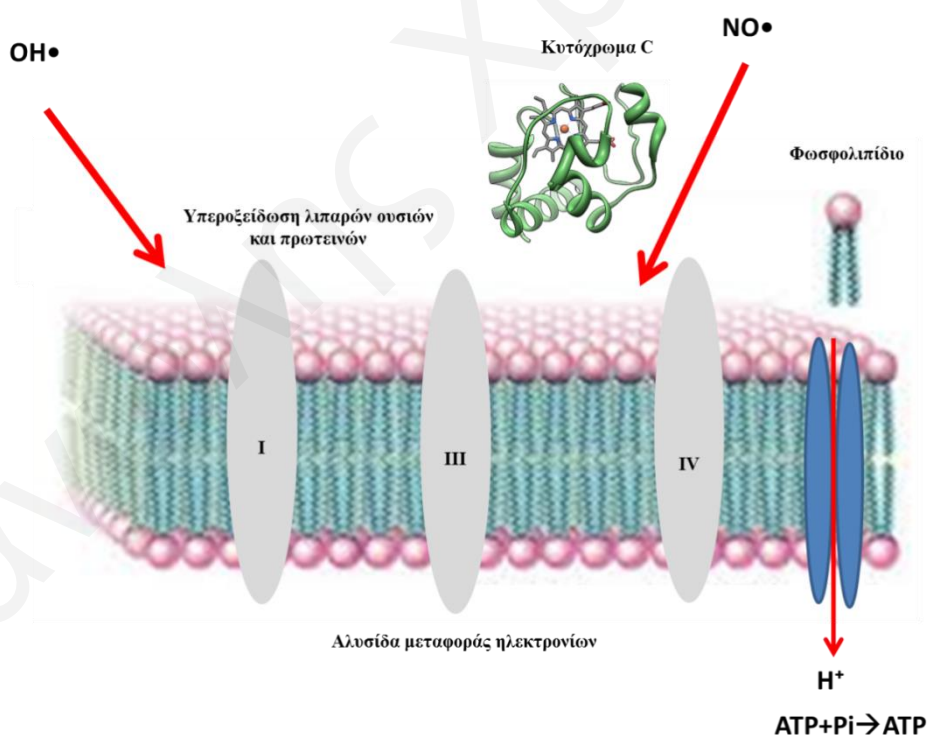
Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (υδρόξυ, αλκόξυ και αλκυλ-περόξυ ρίζες) είναι δυνατόν να εμφανιστούν από την ημιτελή αναγωγή του οξυγόνου στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων από τον καταλυτικό κύκλο των οξειδοαναγωγικών ενζύμων, τα οποία συμμετέχουν στον μεταβολισμό των λιπαρών ουσιών ή στην αντιβακτηριδιακή άμυνα του οργανισμού. Η αποδόμηση των βιομορίων από τις ελεύθερες ρίζες εμπλέκεται με την εμφάνιση διαφόρων ασθενειών όπως η αθηροσκλήρωση (σχήμα 1.5), ο καρκίνος, οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες και η διαδικασία πρόωρης γήρανσης.

Συγκεκριμένα, η υπεροξειδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, η οποία λαμβάνει χώρα στο κλάσμα λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας, είναι γνωστό ότι ενεργοποιεί μία ανοσοαπόκριση κατά την οποία οι τροποποιημένες λιποπρωτεΐνες υποδέχονται μακροφάγους. Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, οι μακροφάγοι καταναλώνουν εστέρες χοληστερίνης και σχηματίζονται έτσι τεράστια μόρια τα οποία επικάθονται στις αρτηρίες και δημιουργούν θρόμβους με αποτέλεσμα την απόφραξη των αρτηριών. Η υπεροξειδωση των λιπαρών μπορεί να λάβει χώρα ακόμα και σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις των εκκινητών των ριζών, γεγονός που επιτείνει αυτό το φαινόμενο.

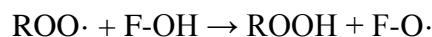
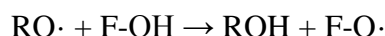
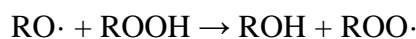
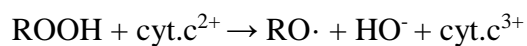


Σχήμα 1.5: Δημιουργία αθηρωματικής πλάκας σε αρτηρία.

Η αντιμετώπιση αυτής της κατάστασης μπορεί να επιτευχθεί με αμυντικούς μηχανισμούς συμπεριλαμβανομένων και αυτών των αντιοξειδωτικών.^[1] Συγκεκριμένα, έχει προταθεί ο μηχανισμός καταστολής ελευθέρων ριζών μέσω φαινολικών ενώσεων και ειδικότερα μέσω φλαβονοειδών, μελετώντας το μηχανισμό αποδόμησης του υδροϋπεροξειδίου του λινολεϊκού οξέος παρουσία του κυτοχρώματος C. Το κυτόχρωμα C (σχήμα 1.6) ή αλλιώς **cyt c** είναι μια σχετικού μικρού μοριακού βάρους αιμοπρωτεΐνη η οποία βρίσκεται στην εσωτερική μεμβράνη του μιτοχονδρίου. Ως πρωτεΐνη είναι ευδιάλυτη στο νερό και είναι απαραίτητος παράγοντας στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων, καθώς μεταφέρει ένα ηλεκτρόνιο και πραγματοποιεί οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις. Μεταφέρει ηλεκτρόνια από το σύμπλοκο III στη ρεδουκτάση του cyt c (συνένζυμο Q) και στο σύμπλοκο IV (οξειδάση του cyt c).^[1,2] Με βάση αυτό το μηχανισμό έχει αποδειχθεί ότι η αποικοδόμηση των φλαβονοειδών είναι πολύ αργή, δίνοντας προϊόντα τα οποία εμφανίζονται σε χαμηλότερα μήκη κύματος στη φασματοσκοπία ορατού. Ο προτεινόμενος μηχανισμός (σχήμα 1.7) για τη σταθεροποίηση των ελευθέρων ριζών φαίνεται πιο κάτω^[1]:



Σχήμα 1.6: Η υπεροξείδωση των συστατικών της κυτταρικής μεμβράνης από την παρουσία ριζών και ο ρόλος του κυτοχρώματος C.



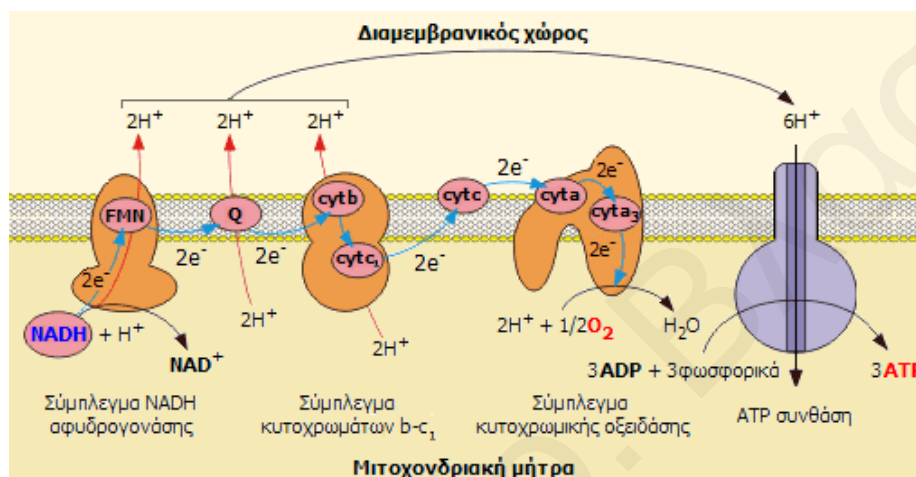
Σχήμα 1.7: Μηχανισμός σταθεροποίησης ελευθέρων ριζών από τα φλαβονοειδή. Όπου F = φλαβονοειδές.

1.2.2 Το μιτοχόνδριο ως στόχος αντικαρκινικής δράσης

Παρά την σταθερή ανάπτυξη που έχει επιτευχθεί στη χημικοθεραπευτική αντιμετώπιση διάφορων μορφών καρκίνου τα τελευταία χρόνια, εντούτοις η ανθρωπότητα βρίσκεται αντιμετώπιη ακόμα με διάφορες μορφές καρκίνου οι οποίες ευθύνονται για τα υψηλά ποσοστά θνησιμότητας. Έχουν ήδη ριχτεί στη μάχη κατά του καρκίνου πάρα πολλά χημικοθεραπευτικά φάρμακα που έχουν ως στόχο τους οργανίδια του κυττάρου και τον κυτταρικό σκελετό.^[3-5]

Τα μιτοχόνδρια είναι η ενεργειακή πηγή του κυττάρου και είναι απαραίτητα για την επιβίωσή του, ενώ, θεωρούνται παρθένοι στόχοι και πολύ υποσχόμενοι για την καταστολή καρκινικών όγκων καθώς καταστρέφοντας την πηγή ενέργειας των κυτταρικών διαίρέσεων που είναι το μιτοχόνδριο, τα κύτταρα εξαναγκάζονται σε προγραμματισμένη απόπτωση.^[5,6] Ο όρος που έχει αποδοθεί σε ενώσεις που έχουν ως στόχο την καταστολή της ενεργειακής δράση του μιτοχονδρίου είναι ‘mitocans’. Οι ενώσεις αυτές δρουν ως αποσταθεροποιητικά του μιτοχονδρίου οδηγώντας το μιτοχόνδριο να εκλύσει από μόνο του αποπτωτικούς παράγοντες, καταστέλλοντας ή μειώνοντας έτσι το μέγεθος του όγκου δραματικά.^[7-17] Επίσης, τα ‘mitocans’ αποσταθεροποιούν το μιτοχόνδριο και προκαλούν κυττοσολική αποδέσμευση παραγόντων απόπτωσης.^[18-23] Κάποια από αυτά τα μόρια-φάρμακα έχουν την ικανότητα να δρουν απευθείας στο μιτοχόνδριο και κάποια άλλα σε διαφορετική περιοχή του κυττάρου, έχοντας ως έμμεσο αποτέλεσμα την αναστολή της δράσης του μιτοχονδρίου.^[23,24] Ο κεντρικός ρόλος του μιτοχονδρίου στο κύτταρο είναι η παραγωγή ενέργειας υπό τη μορφή ATP (τριφωσφορική αδενοσίνη).^[25-32] Συγκεκριμένα, τα ‘mitocans’ προκαλούν αλλαγές στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων (σχήμα 1.8) κατά την παραγωγή της ATP προκαλώντας μεταλλάξεις στο DNA του κυττάρου, με αποτέλεσμα να μειώνονται τα ενεργειακά αποθέματα σε ATP,^[33] να δημιουργούνται ελεύθερες ρίζες^[34] και να αναστέλλεται ο μεταβολισμός

του ασβεστίου από το κύτταρο αφού σταματούν να εργάζονται οι αντλίες ιόντων στη διπλοστοιβάδα των φωσφολιπιδίων λόγω απουσίας ενέργειας. Οι αντλίες ιόντων πραγματοποιούν ενεργειακές μεταφορές των ιόντων εντός και εκτός της κυτταρικής μεμβράνης.^[35-40] Όλοι αυτοί οι παράγοντες προκαλούν υπεροξείδωση των βιομορίων, όπως το μιτοχονδριακό DNA, στις πρωτεΐνες και τα λιπίδια των κυτταρικών μεμβρανών των μιτοχονδρίων, ανοίγοντας έτσι μικροπόρους στις μεμβράνες τους και οδηγώντας τα στην απόπτωση.^[41-49]



Σχήμα 1.8: Αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων στο μιτοχόνδριο – Κυτταρική αναπνοή.

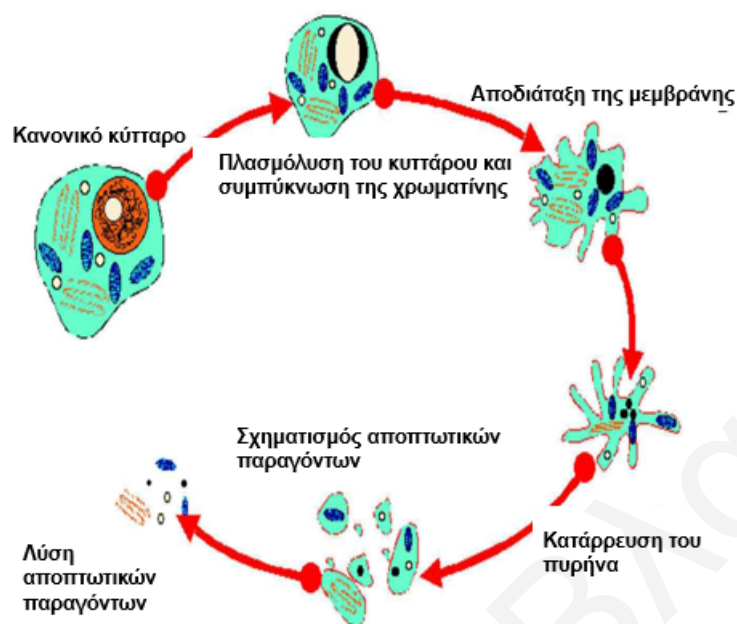
Κατά τη διαδικασία της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης, τα ηλεκτρόνια μεταφέρονται δημιουργώντας μία διαφορά δυναμικού ένθεν και ένθεν της κυτταρικής μεμβράνης του μιτοχονδρίου για παραγωγή ενέργειας υπό τη μορφή ATP. Η παραγωγή ριζών υπεροξειδίου είναι μία από τις κυριότερες βιοχημικές διεργασίες οι οποίες συνδέονται με την κυτταρική αναπνοή. Όταν ένα ηλεκτρόνιο απομακρύνεται από την αλυσίδα μεταφοράς του, ιδιαίτερα από το σύμπλοκο I και III, (του κυτοχρώματος C) της αλυσίδας, τότε αντιδρά με το μοριακό οξυγόνο για να σχηματίσει ρίζα υπεροξειδίου.^[49,50] Κατά τη διάρκεια του μεταβολισμού του κυττάρου παράγονται συνεχώς ρίζες υπεροξειδίου και άλλες ενεργές μορφές οξυγόνου, οι οποίες είναι πολύ ενεργές και ισχυρά τοξικές όταν βρίσκονται σε υψηλές συγκεντρώσεις. Αυτές οι ενεργές μορφές πρέπει να απομακρυνθούν από το κύτταρο με τη βοήθεια αντιοξειδωτικών συστημάτων κυρίως με τη βοήθεια κάποιων ένζυμων όπως τις δισμουτάσες και τις υπεροξειδάσες οι οποίες μεταφέρουν ηλεκτρόνια κατά τις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις.^[56] Η διατήρηση των ενεργών μορφών σε μία ισορροπία είναι ζωτικής σημασίας για την επιβίωση του κυττάρου κάτω από φυσιολογικές συνθήκες.^[57-60] Με άλλα λόγια η υπερπαραγωγή των δραστικών μορφών οξυγόνου ή η μειωμένη

ικανότητα καταστολής τους από πλευράς του κυττάρου, οδηγεί στον φυσιολογικό θάνατο του κυττάρου λόγω της υπεροξειδωσής των λιπαρών οξέων, των οξειδωτικών αλλαγών στο DNA και στις μόνιμες αναστολές στη δράση πρωτεϊνών και ενζύμων.^[61-65] Αυτό μπορεί να βλάψει τα κύτταρα και να σκοτώσει κακοήθη κύτταρα τα οποία είναι μεταβολικός ενεργά και παράγουν υψηλές συγκεντρώσεις ενεργών μορφών οξυγόνου. Τα κακοήθη κύτταρα βρίσκονται ήδη σε οξειδωτικό στρες και είναι επιδεκτικά σε μεγαλύτερο οξειδωτικό στρες από εξωγενείς ενεργές ρίζες^[66-73] (φαινόμενο θετικής ανάδρασης). Αυτός είναι και ο λόγος που οι ενώσεις που έχουν ως στόχο τα μιτοχόνδρια έχουν επιλεκτική δράση στα μιτοχόνδρια των καρκινικών και όχι κατά των υγιών κυττάρων.

Η απόπτωση όπως προαναφέρθηκε είναι ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος όπου συμβαίνει με διαφορετικό μηχανισμό από τον κυτταρικό θάνατο που λαμβάνει χώρα κατά τη νέκρωση του κυττάρου. Κατά τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο, το κύτταρο αυτοκαταστρέφεται με τρόπο που αποτρέπεται η διαρροή των συστατικών του στον εξωκυττάριο χώρο σε αντίθεση με τη κυτταρική νέκρωση. Έτσι μπορούμε να πούμε ότι για ένα πολυκύτταρο οργανισμό η "αυτοκτονία" του κυττάρου είναι ένα φυσιολογικό και καλοήθες συμβάν που απαγορεύει τον απρόσφορο πολλαπλασιασμό και επιβίωση των κυττάρων τα οποία οδηγούν σε διάφορες μορφές καρκίνου. Η απόπτωση των καρκινικών κυττάρων αναμένεται να ακολουθήσει τα ίδια στάδια που ακολουθούν και τα υγιείς κύτταρα κατά τον προγραμματισμένο κύκλο θανάτου τους (σχήμα 1.9):

- 1) Φάση έναρξης η οποία ποικίλει ανάλογα με τον αποπτωτικό παράγοντα και το βιοχημικό μονοπάτι από το οποίο ενεργοποιείται.
- 2) Φάση δέσμευσης κατά την οποία το κύτταρο αποφασίζει το θάνατό του.
- 3) Φάση υποβάθμισης η οποία χαρακτηρίζεται από ενεργοποίηση των καταβολικών υδρολασών (κασπάσες, νουκλεάσες).

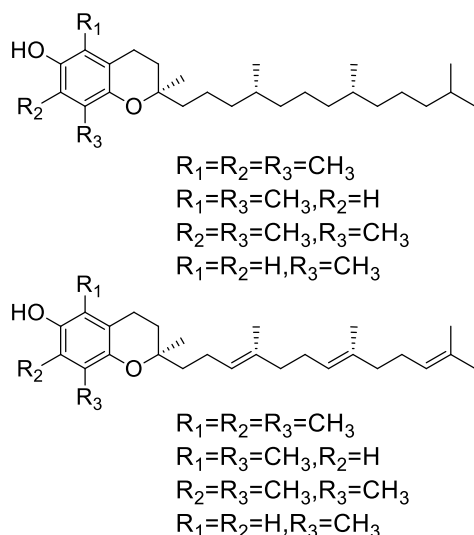
Απόπτωση (Προγραμματισμένος Κυτταρικός Θάνατος)



Σχήμα 1.9: Προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος.

1.2.3 Χημεία τοκοφερολών και βιολογική δράση

Οι τοκοφερόλες είναι παράγωγα των χρωμανολών και αποτελούν μαζί με τις τοκοτριενόλες τις ομάδες μορίων της βιταμίνης E. Ουσιαστικά είναι κινόνες ενωμένες με μεγάλες ανθρακοαλυσίδες οι οποίες αυξάνουν τη λιποφιλικότητά τους και έχουν στοχευμένη δράση στα καρκινικά κύτταρα.^[74] Οι ενώσεις αυτές χαρακτηρίζονται από την ισχυρή αντιοξειδωτική τους δράση μέσα από τη δέσμευση των ελευθέρων ριζών, καθώς, και για την αντικαρκινική τους δράση σε διάφορα καρκινικά κύτταρα. Στο σχήμα 1.10 παρουσιάζονται τα μόρια των τοκοφερολών και των τοκοτριενολών.



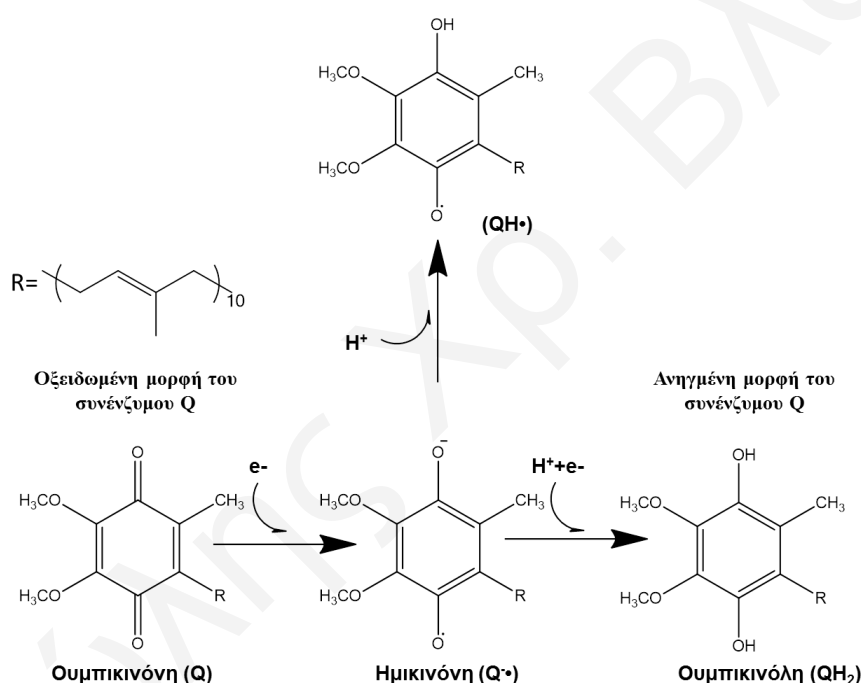
Σχήμα 1.10: Δομή τοκοφερολών και τοκοτριενολών.

Τα συστατικά της βιταμίνης E διακρίνονται σε τρεις βασικές περιοχές (i) την περιοχή των χαρακτηριστικών ομάδων, η οποία είναι υπεύθυνη για την αντιοξειδωτική δράση του μορίου, (ii) την περιοχή σήμανσης η οποία αποτελείται από τους αρωματικούς δακτυλίους (φαινολικό και χρωμανολικό) και ενεργοποιείται από μονοεστεροποίηση δικαρβοξυλικών οξέων με το φαινολικό οξυγόνο και (iii) το υδρόφοβο μέρος του μορίου το οποίο είναι υπεύθυνο για την εισαγωγή του μορίου σε λιπόφιλα περιβάλλοντα, όπως λιποπρωτεΐνες και βιολογικές μεμβράνες.^[75-86] Επιπρόσθετα, η δομή των αλειφατικών αλυσίδων παίζει ρόλο στις αποπτωτικές ιδιότητες των ισόμορφων της βιταμίνης E επηρεάζοντας τη διαλυτότητα των μορίων στις λιπιδικές μεμβράνες.^[87-89]

Οι τοκοφερόλες δεν μπορούν να συντεθούν στον ανθρώπινο οργανισμό και έτσι είναι αναγκαίο να λαμβάνονται μέσω της καθημερινής διατροφής. Ειδικότερα η γ -τοκοφερόλη και η α -τοκοφερόλη είναι οι κυριότερες μορφές τοκοφερόλες οι οποίες υπάρχουν στην ανθρώπινη διατροφή.^[90] Οι τοκοφερόλες, οι οποίες λαμβάνονται με τη διατροφή, απορροφούνται από τον εντερικό βλεννογόνο σε ελεύθερη φαινολική μορφή, ενώ, οι εστέρες τους υδρολύονται από τις παγκρεατικές εστεράσες πριν από την απορρόφησή τους. Καθώς εισάγονται στα χυλομικρά μεταφέρονται στο συκώτι μέσω του λεμφικού συστήματος. Η κύρια οδός του μεταβολισμού των τοκοφερολών είναι μέσω της διάσπασης της πλευρικής αλυσίδας η οποία ενεργοποιείται από την υδροξυλίωση των ω -μεθυλο-ομάδων από τα κυτοχρώματα P450 4F ή 3A, ακολουθούμενη από πέντε κύκλους β -οξείδωσης με σκοπό να αποκοπούν δύο ανθρακο-ομάδες από την κύρια αλυσίδα σε κάθε κύκλο.^[91-102]

1.2.3.1 Μέταλλο–οργανικά παράγωγα τοκοφερόλης με αντικαρκινική δράση

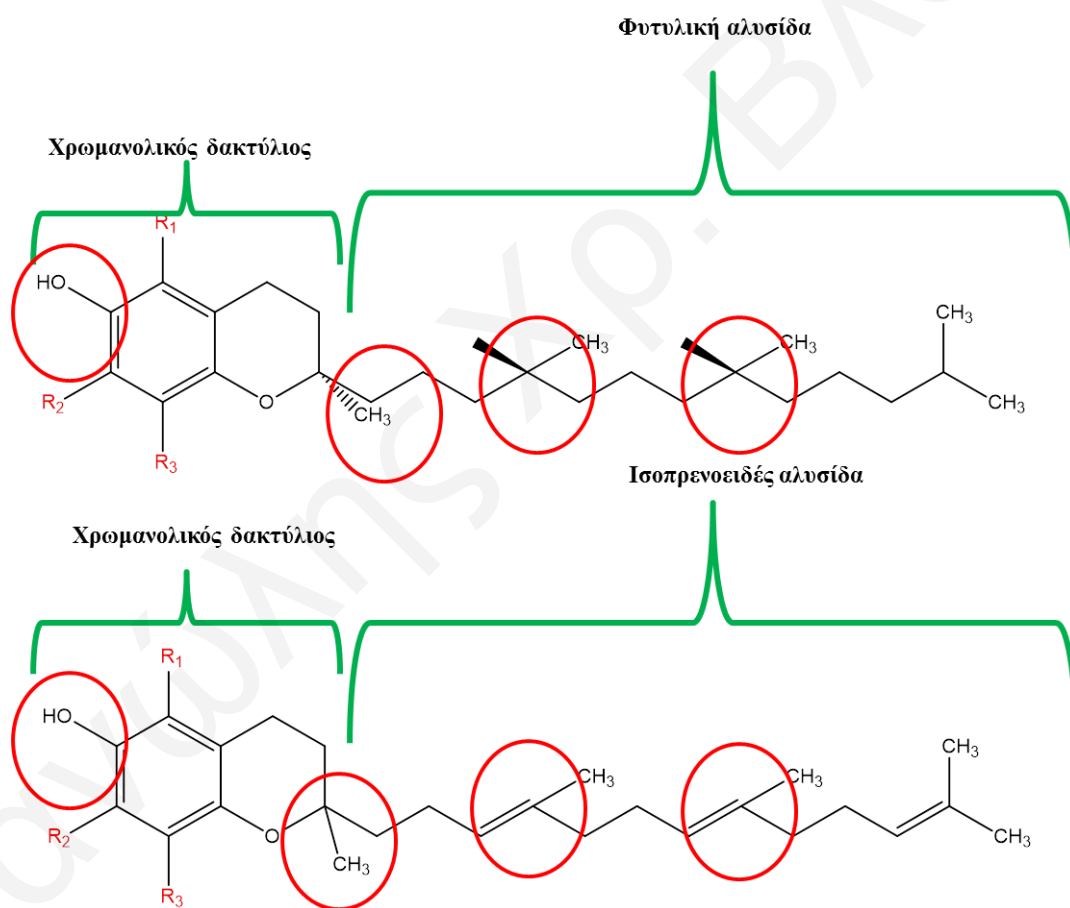
Πρόσφατα έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία^[103-108] παραδείγματα ενώσεων – παραγώγων της τοκοφερόλης, όπως εστέρες και αιθέρες (α -τοκοφερόλη ηλεκτρική, ακετυλικός αιθέρας της α -τοκοφερόλης, και τριφαίνυλο φωσφονικό παράγωγο της τοκοφερόλης), οι οποίες εμφανίζουν στοχευόμενη δράση στο μιτοχόνδριο του κυττάρου.^[109-115] Πιστεύετε ότι η δράση αυτών των παραγόντων έχει να κάνει με την αλληλεπίδρασή τους με το μόριο της ουμπικινόνης (σχήμα 1.11) στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων κατά την αναπνοή του κυττάρου.^[116-121]



Σχήμα 1.11: Οξειδοαναγωγική δράση της ουμπικινόνης στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων.

Ακόμα ένα παράδειγμα αντικαρκινικής δράσης παραγώγων ενώσεων της τοκοφερόλης αποτελεί η προσθήκη οξικού οξέος στην α -τοκοφερόλη, η οποία φάνηκε να έχει ισχυρή αντικαρκινική δράση σε επιθηλιακά καρκινικά κύτταρα του προστάτη, πνευμόνων, ενδομήτριου και στήθους, ενώ επίσης, παρατηρήθηκε και μείωση των ποσοστών μετάστασης καρκινικού όγκου στο στήθος.^[122-133] Οι παραπάνω ενώσεις, επίσης, χρησιμοποιήθηκαν σε συνδυασμό με γνωστά χημειοθεραπευτικά φάρμακα όπως ο αναστολέας κυκλοοξυγενάση-2 και η 9-νιτροκαμποτεχίνη, ενισχύοντας έτσι τη δράση τους.^[134]

Γενικότερα τα μόρια της ομάδας της βιταμίνης E μπορούν να τροποποιηθούν χημικά ως προς το βαθμό κορεσμού και το μήκος της ανθρακικής τους αλυσίδας,^[135-140] τη γεωμετρία και τη θέση των διπλών δεσμών^[141-144] στα ετεροάτομα του κορεσμένου δακτυλίου,^[144-149] στον αριθμό των μέθυλο-υποκαταστάσεων στο βενζολικό δακτύλιο^[149-152] και τέλος στην εστεροποίηση και αμιδοποίηση του υδροξυλίου που βρίσκεται πάνω στον βενζολικό δακτύλιο.^[152-161] Στο σχήμα 1.12 παρουσιάζονται οι θέσεις των μορίων που μπορούν να τροποποιηθούν συνθετικά. Η εστεροποίηση του υδροξυλίου στο βενζολικό δακτύλιο με πολικότερα μόρια ενισχύει τη διαλυτότητα του μορίου στο νερό, καθώς, και τη δραστηρότητά του.^[161-169] Επιπρόσθετα, τα αμίδια, τα οποία προέρχονται από τις α - και δ -τοκοφεραμίνες, έχει αναφερθεί ότι ενισχύουν την αντικαρκινική τους δράση.^[170]



Σχήμα 1.12: Μοριακές δομές των στερεοϊσομερών της βιταμίνης E. Σε κόκκινο κύκλο οι περιοχές των μορίων που μπορούν να τροποποιηθούν συνθετικά.

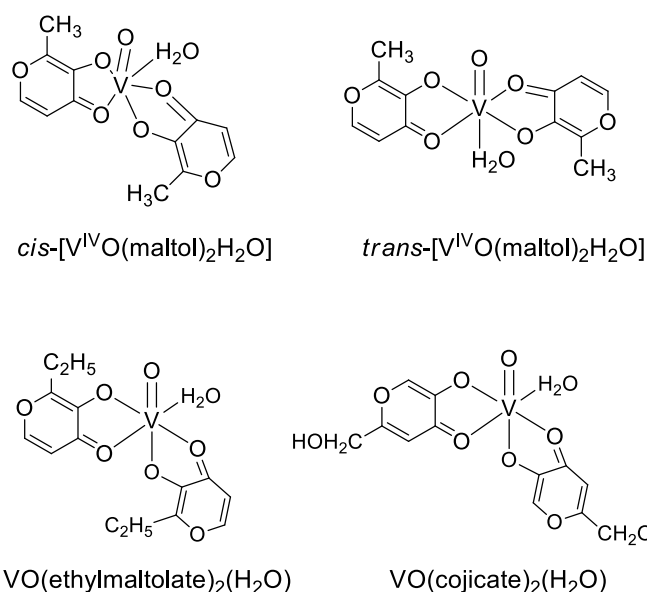
1.2.4 Χημεία και βιολογική δράση βαναδίου

Το βανάδιο (V) είναι μέταλλο της πρώτης κύριας σειράς των μετάλλων μετάπτωσης με ατομικό αριθμό 23 και ατομικό βάρος 50.94 g mol⁻¹. Το στοιχείο αυτό βρίσκεται σε αφθονία της τάξης του 0.019% στον πλανήτη και κατέχει την 18^η θέση ανάμεσα στα μέταλλα. Το V έχει εντοπιστεί στο έδαφος, στο θαλασσίνο νερό και σε ζωντανούς οργανισμούς. Για παράδειγμα στο θαλασσίνο νερό το V κατέχει τη δεύτερη θέση σε αφθονία από τα μέταλλα μετάπτωσης μετά το μολυβδαίνιο και βρίσκεται υπό τη μορφή ανιόντων H₂VO₄⁻.

Το μέταλλο αυτό έχει μελετηθεί ευρέως και προσδιορίζεται η τοξικότητά του. Συγκεκριμένα, η μέγιστη επιτρεπόμενη συγκέντρωση στον οργανισμό είναι 0.05 mg m⁻³. Σε περίπτωση άμεσης έκθεσης η μέγιστη επιτρεπόμενη δόση είναι 7 mg και 35 mg στον εισπνεόμενο αέρα. Στα τρόφιμα δεν αποτελεί άμεσο κίνδυνο καθώς δεν ξεπερνά τα 30 μg kg⁻¹ [171-183].

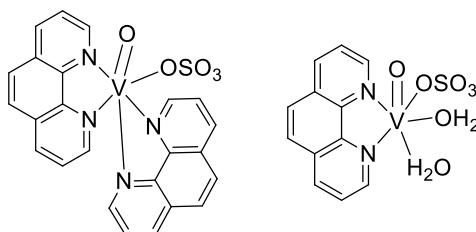
Το V παρουσιάζει μεγάλη βιολογική δράση. Αυτή η δράση εντοπίζεται σε διάφορα βακτήρια τα οποία χρησιμοποιούν το V ως λήπτη ηλεκτρονίων κατά την αναπνοή, ανάγοντας το βαναδικό ιόν (V^{IV}) σε υδροξείδιο του βαναδυλίου (VO₂). Άλλο παράδειγμα της βιολογικής δράσης του V παρουσιάζεται στους θαλάσσιους οργανισμούς *ascidians* οι οποίοι ανάγουν το V^{IV} σε VO²⁺ και το αποθηκεύουν σε μορφή V³⁺ σε ειδικά αιματοκύτταρα. [184-189]

Ενώσεις του V έχουν, επίσης, χρησιμοποιηθεί ως δυνητικά αντιδιαβητικά φάρμακα για τον διαβήτη τύπου I και τύπου II. Σύμπλοκες ενώσεις του V μιμούνται τη δράση των φωσφατάσων στους οργανισμούς, παρέχοντας αντιδιαβητική δράση σε διαβητικούς αρουραίους χωρίς τοξικές παρενέργειες. [190-200] Παρόλα αυτά, αυτή η αντιδιαβητική του δράση φαίνεται να εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τον υποκαταστάτη που θα φέρει το βαναδικό ιόν, καθώς με αυτό τον τρόπο αυξάνεται η σταθερότητά του, η απορρόφησή του, η στοχευόμενη δράση του στα κύτταρα-στόχους και η τοξικότητά του απέναντι στους ιστούς. [201,202(β)] Ένωση κλειδί σε αυτό το τομέα είναι η [VO(maltol)₂]=BMOV, όπου maltol= 3-υδροξυ-2-μεθυλ-πυραν-4-ονη. Στο σχήμα 1.13 φαίνονται δυο από τα μαλτολάτο σύμπλοκα και 2 δυνητικά αντιδιαβητικά σύμπλοκα V με βάση το BMOV.



Σχήμα 1.13: Σύμπλοκα μαλτολάτο και δυνητικά αντιδιαβητικές ενώσεις με βάση το ΒΜΟV.

Οι πρώτες αναφορές για την αντικαρκινική δράση του βαναδίου εμφανίζονται το 1965,^[203] ενώ, οι αναφορές για την πρώτη οργανοβαναδική ένωση (vanadocene Cr_2VCl_2), για καταστολή καρκινικού όγκου, χρονολογούνται το 1986.^[204,205] Μετά από αυτές τις μελέτες ακολούθησαν και άλλες τα επόμενα χρόνια, με επιτυχημένα *in vitro* πειράματα, δείχνοντας ότι οι σύμπλοκες ενώσεις V έχουν ανεπτυγμένη αντικαρκινική δράση σε προ-κλινικό στάδιο. Επιπρόσθετα, πραγματοποιήθηκαν *in vivo* μελέτες σε ζώα, με επίσης καλά αποτελέσματα σε αναπτυσσόμενους και μεταστατικούς όγκους.^[206-208] Παρόλα όμως τα καλά αποτελέσματα, ο μηχανισμός πίσω από τον οποίο κρύβεται η αντικαρκινική δράση του βαναδίου, παραμένει ακόμα απροσδιόριστος. Στο σχήμα 1.14 εμφανίζονται επιλεγμένες μέταλλο-οργανικές ενώσεις V με αντικαρκινική δράση οι οποίες βασίζονται σε υποκαταστάτες της *όρθο*-φαιναθρολίνης.^[209-212]



Σχήμα 1.14: Αντικαρκινικές σύμπλοκες ενώσεις βαναδίου με υποκαταστάτη *όρθο*-φαιναθρολίνη.

1.2.4.1 Μηχανισμός δημιουργίας ριζών σε φαινολικές ενώσεις του βαναδίου(V/IV)

Μία ομάδα από διπυρηνικές, μεταλλο-οργανικές ενώσεις βαναδίου παρουσιάζουν ταυτομέρεια σθένους αφού επάγεται η κίνηση ενός ηλεκτρονίου από τον φαινολικό υποκαταστάτη προς το μέταλλο και αντίστροφα. Αυτό μπορεί να γίνει εφικτό μεταλλάσσοντας κάποιες από τις φυσικές και χημικές ιδιότητες των μορίων.^[213-216] Τέτοιου είδους ενώσεις ουσιαστικά μιμούνται ενδιάμεσες καταστάσεις των ενεργών κέντρων των ενζύμων^[216-222] και μπορούν να θεωρηθούν ως ενδιάμεσα ενζυμικών αντιδράσεων που καταλύονται από μέταλλα σε οργανικά υποστρώματα.^[223] Ένα παράδειγμα τέτοιου είδους συστημάτων αποτελεί η διαμοριακή μεταφορά ηλεκτρονίων.^[224] Οι διαμοριακές μεταφορές ηλεκτρονίων συνήθως επάγονται από φωτοχημική διέγερση,^[225-227] μεταβολές στη θερμοκρασία του συστήματος,^[227] στη μεταβολή της πίεσης,^[229-235] ή ακόμα και του pH.^[236] Μέχρι σήμερα, τα πιο γνωστά παραδείγματα ταυτομέρειας σθένους αποτελούν οι σύμπλοκες ενώσεις μετάλλων με υποκαταστάτες, τα *ο*-διοξολένια.^[237-241] Ειδικότερα, η ενδομοριακή μεταφορά ηλεκτρονίου, επαγόμενη από μεταβολή της θερμοκρασίας, έχει μελετηθεί πάρα πολύ στα σύμπλοκα του $\text{Co}^{\text{III/II}}$ -*ο*-διοξολένιου.^[242-252] Παρόλη τη δράση που επιδεικνύουν οι ενώσεις του *όρθο*-διοξολένιου, όσον αφορά την ταυτομέρεια σθένους δεν υπάρχουν παραδείγματα στη βιβλιογραφία με μεταλλικές ενώσεις του *πάρα*-διοξολένιου. Αυτό συμβαίνει λόγω του μειωμένου αριθμού σταθερών συμπλόκων των *πάρα*-(υδροξο/ημι)κινονών, λόγω της έλλειψης χειλικής πλευράς ένταξης. Μία στρατηγική για τη σύνθεση τέτοιων συστημάτων αποτελεί η υποκατάσταση μορίων *παρα*-υδροκινονών στην *ορθο*-θέση με υποκαταστάτες που παρέχουν ένα ή και περισσότερα άτομα δότες, τα οποία επιτρέπουν στο μεταλλοϊόν να σχηματίσει χειλικούς δακτυλίους. Τα σύμπλοκα $\text{V}^{\text{IV/V}}$ με παράγωγα υδροκινόνης έχουν την ιδιότητα να μεταφέρουν διαμοριακά ηλεκτρόνια με μεταβολή του pH.^[253] Για παράδειγμα η μείωση των αμινο-υδροκινονικών χειλικών δακτυλίων από έξι σε πέντε μετατρέπει τους οξειδοαναγωγικά δραστικούς ("non-innocent") υποκαταστάτες σε μη οξειδοαναγωγικά δραστικούς ("innocent") του V^{V} .^[254,255] Η αλληλεπίδραση *παρα*-(υδροξο/ημι)κινονονικών υποκαταστατών με βανάδιο σε υψηλές οξειδωτικές καταστάσεις παρουσιάζει ενδιαφέρον λόγω της ύπαρξής του σε βιολογικά συστήματα και για αυτό το λόγο τέτοιου είδους ενώσεις δοκιμάζονται για την αντικαρκινική και την αντιδιαβητική τους δράση.^[256] Κατά την μεταφορά του ηλεκτρονίου

δημιουργούνται ρίζες και οι ενώσεις αυτές είναι μοντέλα για το μηχανισμό δημιουργίας ριζών στα βιολογικά συστήματα από μεταλλοϊόντα με άμεσο αντίκτυπο στην αντικαρκινική τους δράση.

Τα τελευταία χρόνια ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η χημεία του V^{III} ,^[257] καθώς μεταλλο-οργανικές ενώσεις του εμφανίζουν αντιδιαβητικές ιδιότητες και αντικαρκινική δράση,^[268] όπως, επίσης, και μαγνητικές ιδιότητες^[269-261] και καταλυτικές ιδιότητες^[262] μέσα από την ενεργοποίηση του δεσμού C-H. Το V^{III} κάτω από αερόβιες συνθήκες οξειδώνεται σε VO^{2+} και για αυτό το λόγο η υδατική χημεία του V^{III} έχει μελετηθεί πολύ περισσότερο από ότι η υδατική χημεία των βαναδικών V^{IV} και V^V . Παρά την οξειδοαναγωγική αστάθεια του V^{III} , αρκετοί θαλάσσιοι οργανισμοί είναι σε θέση να ανάγουν το V^V σε V^{IV} και μετά να το σταθεροποιούν σε V^{III} σε πολύ όξινες συνθήκες (pH~2).^[263] Ο μηχανισμός κατά τον οποίο το V^{IV} ανάγεται σε V^{III} είναι ακόμα αμφιλεγόμενος. Αυτή η αναγωγική διεργασία μπορεί να ξεκινά από το V^{IV} με ένα μη όξο-ενδιάμεσο προϊόν του V^{IV} το οποίο πιθανώς να δημιουργείται λόγω του ασθενούς δεσμού μεταξύ του $V^{IV}=O$ σε ισχυρά όξινο περιβάλλον. Αυτού του είδους ο μηχανισμός ενισχύεται από σχεδόν ταυτόχρονη αναγωγική δράση συμπλόκων του V^{IV} .^[241] Επιπρόσθετα, αμινοκαρβοξυλικά άτομα δότες, έχει φανεί ότι προσφέρουν σε πρωτεΐνες ευνοϊκό περιβάλλον για τη σταθεροποίηση του V^{III} .^[223,237,240] Κατά τον ίδιο λόγο εμφανίζει μεγάλο ενδιαφέρον και η μελέτη της αλληλεπίδρασης των βαναδικών ιόντων με οξειδοαναγωγικά ενεργούς υποκαταστάτες, δίνοντας περισσότερες πληροφορίες όσον αφορά την κατανόηση του μηχανισμού οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα σε βιολογικά συστήματα.^[59-68] Οι *πάρα*-υδροκινόνες θεωρούνται πολύ σημαντικά μόρια σε αρκετές βιολογικές διεργασίες τέτοιου τύπου, ενώ, πρόσφατα έχει φανεί ότι η οξειδωτική κατάσταση του V σε σύμπλοκα με υδροκινονικά παράγωγα μπορεί να ελεγχθεί με μεταβολές στο pH και τη θερμοκρασία.^[69,70]

Τις προηγούμενες δεκαετίες είχε ενταχθεί η έννοια της επίδρασης των υποκαταστατών στα ηλεκτροχημικά δυναμικά σε σχέση με τον αριθμό καρβοξυλομάδων που έχουν στο μόριο τους.^[71] Αργότερα, εφαρμόστηκε σε αρκετές περιπτώσεις^[71,72] υποστηρίζοντας την άποψη ότι υπάρχει τρόπος να προβλεφθούν τα ηλεκτροχημικά δυναμικά. Παρόλα αυτά, ενώ υπάρχει μεγάλο ενδιαφέρον όσον αφορά την πρόβλεψη των δυναμικών σε σύμπλοκα βαναδίου, δεν υπάρχει καμία

αναφορά που να δείχνει την συνεισφορά του υποκαταστάτη σε αυτή την πρόβλεψη. Αυτό συμβαίνει κυρίως λόγω του ότι τα σύμπλοκα του V εμφανίζουν διάφορες γεωμετρίες^[73] και είναι δύσκολο να εφαρμοστούν παράμετροι σε όλους τους τύπους των γεωμετριών. Επιπρόσθετα, χρειάζεται να μελετηθεί ένας μεγάλος αριθμός γεωμετριών από σύμπλοκα V για να μπορέσει αυτό να γίνει εφικτό.

Ένας τρόπος για να γίνει αυτό είναι η επιλογή για παράδειγμα συμπλόκων V με γεωμετρία τετραγωνικής πυραμίδας, καθώς αυτές οι ενώσεις εμφανίζουν πολλά παραδείγματα με αμιδικούς υποκαταστάτες, παραπέμποντας σε αλληλεπιδράσεις των ιόντων με πρωτεΐνες^[74-77] και πεπτίδια.^[78] Επίσης, ο τρόπος αυτός θεωρείται πολύ σημαντικός για τον προσδιορισμό της κίνησης των ηλεκτρονίων από το μέταλλο στο ενεργό κέντρο της πρωτεΐνης.^[79] Η υψηλή ευαισθησία που προσφέρει η ηλεκτροχημεία σε συνδυασμό με τη χρήση μοντέλων ηλεκτροχημικών δυναμικών, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εργαλείο για την αναγνώριση των ατόμων δότη και της δομής των συμπλόκων του βαναδίου σε βιομόρια. Το βανάδιο(III) είναι πιο δραστικό στις αντιδράσεις με οξυγόνο ποιο ισχυρό αναγωγικό όμως αυτό είναι και μειονέκτημα γιατί δεν είναι αρκετά σταθερό και για αυτό η προσπάθειά μας ήταν να το σταθεροποιήσουμε. Η πρόβλεψη των ηλεκτροχημικών δυναμικών μας βοηθάει να βρούμε θερμοδυναμικά ποιες οξειδωτικές καταστάσεις σταθεροποιούνται και με ποιους υποκαταστάτες και μας βοηθάει στην σύνθεση ποιο ενεργών θερμοδυναμικά ενώσεων του βαναδίου με οξυγόνο και την δημιουργία ριζών.

1.2.5 Φασματοσκοπικός προσδιορισμός και παρακολούθηση υδροξο-μορίων σε βιολογικά συστήματα

Το χαρακτηριστικό γνώρισμα των περισσοτέρων μορίων (μικτά οργανικά-ανόργανα), τα οποία εμφανίζουν αντιοξειδωτική ή προ-οξειδωτική δράση, καθώς, και ογκοκατασταλτικές ιδιότητες, είναι η ελεύθερη υδροξυλομάδα πάνω στο φαινολικό δακτύλιο. Τέτοιου είδους μόρια υπάρχουν στη φύση άλλα και παράγονται στο εργαστήριο για να ενισχυθεί η δράση και η αφομοίωσή τους από τον ανθρώπινο οργανισμό.^[128-133] Για το λόγο αυτό είναι πολύ σημαντικός ο προσδιορισμός αυτών των μορίων. Επιπρόσθετα, οι φαινολικές ενώσεις όπως αναφέρθηκε πιο πάνω, χρησιμοποιούνται για τη σταθεροποίηση του οξειδωτικού στρες ή την επαγωγή του, έχοντας εφαρμογή στην ιατρική για καταπολέμηση ασθενειών όπως είναι οι καρδιαγγειακές, οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες και ο καρκίνος.^[128,129] Η σημαντικότητα του προσδιορισμού των υδροξο-ομάδων σε σημαντικά μόρια, έχει

οδηγήσει στην ανάπτυξη καινοτόμων αναλυτικών μεθόδων με εφαρμογές στη χημεία τροφίμων, φαρμακευτική και ιατρική χημεία, καθώς, και στη βιοανόργανη, όπου δηλαδή υπάρχει ανάγκη προσδιορισμού και ανίχνευσης των ενώσεων σε πολύπλοκα βιολογικά υποστρώματα.^[130-134] Η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR), είναι ένα ισχυρό αναλυτικό εργαλείο το οποίο τα τελευταία χρόνια έχει εμφανιστεί στην ανάλυση,^[135-139] αφού συνήθως τέτοιου είδους μελέτες γίνονταν κατά κόρον με χρωματογραφικές μεθόδους λόγω της υψηλής τους ευαισθησίας.^[139-141]

Η φασματοσκοπία NMR, υπερέχει σε θέμα χρόνου ανάλυσης και μακροπρόθεσμου κόστους αφού χρησιμοποιεί πολύ μικρές ποσότητες διαλύτη και μηδαμινή επεξεργασία δείγματος.^[141-149] Παρόλα αυτά, η πολυπλοκότητα αυτών των συστημάτων σε σχέση με τις μικρές ποσότητες των υδρόξο-μορίων έχει επιφέρει κάποιους περιορισμούς σε σχέση με τη χρήση της φασματοσκοπίας NMR, όσον αφορά τους πυρήνες του ^1H και του ^{13}C . Αυτά τα προβλήματα φαίνεται να υπερκαλύπτονται με χρήση άλλων πυρήνων· η χρήση του ^{31}P NMR είναι ένα παράδειγμα, όπου έχει χρησιμοποιηθεί για τον απευθείας προσδιορισμό των υδρόξο-ομάδων με φωσφορυλίωσή τους, χρησιμοποιώντας το αντιδραστήριο 2-χλωρο-4,4,5,5-τετραμεθυλδιοξοφωσφολάνιο.^[150-154] Χημικές ενώσεις όπως διγλυκερίδια, στερόλες, ελεύθερα οξέα και γλυκερόλη μπορούν να προσδιοριστούν απευθείας σε βιολογικό δείγμα, όπως το ελαιόλαδο, με υψηλή ακρίβεια αποτελώντας σήμερα την ταχύτερη υπάρχουσα μέθοδο. Η χαμηλή επιδεκτικότητα του πυρήνα του φωσφόρου και οι μεγάλοι χρόνοι αποδιέγερσής του μειώνουν την ευαισθησία, αυξάνοντας τον χρόνο λήψης του φάσματος. Η βελτίωση αυτών των παραγόντων με χρήση του πυρήνα του ^{19}F NMR είναι ένα από τα θέματα που μελετήθηκε σε αυτή τη διδακτορική διατριβή. Το ελαιόλαδο, είναι ένα υγρό που προσομοιάζει ως προς τη σύσταση σε φαινόλες και λιπαρά οξέα τις κυτταρικές μεμβράνες και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μοντέλο της μεμβράνης για την μελέτη της δράσης των συμπλόκων ενώσεων ως εκκινητές ριζών οξυγόνου. Για να χρησιμοποιηθεί όμως έπρεπε να μπορεί να γίνεται εύκολα και γρήγορα ο προσδιορισμός αυτών των ενεργών συστατικών σε τέτοια περιβάλλοντα καθώς βρίσκονται σε μικρές συγκεντρώσεις. Για αυτό το λόγο αναπτύχθηκε νέα μέθοδος και εφαρμόστηκε σε μια σειρά ελαιόλαδων. Η αξιοπιστία της ελέγχθηκε σε σύγκριση με συμβατές μεθόδους.

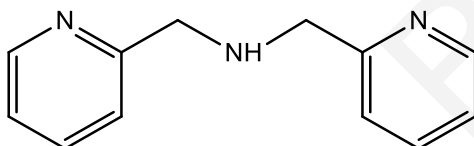
2. Πειραματικό Μέρος

2.1 Χημικά Αντιδραστήρια

Όλα τα χημικά αντιδραστήρια αγοράστηκαν από την Aldrich, με εξαίρεση τα VO(ακετυλοακετονάτο)₂ (VO(acac)₂), VOCl₂ και διπικολυλαμίνη που συντέθηκαν με βάση τη βιβλιογραφία^[155]. Επίσης, με βάση τη βιβλιογραφία^[155] συντέθηκαν και οι υποκαταστάτες H₆bdeah και H₆bicah (οι οποίοι φαίνονται πιο κάτω). Όλοι οι διαλύτες χρησιμοποιήθηκαν χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

2.2 Σύνθεση οργανικών υποκαταστατών

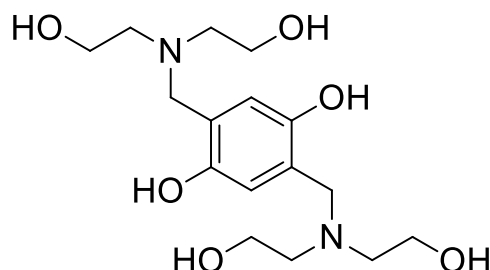
2.2.1 Δις (2-μεθυλπυριδύλ)αμίνη (2-dpa) (L₁)



Ο γνωστός υποκαταστάτης παρασκευάστηκε με βάση τη βιβλιογραφία με κάποιες μικρές τροποποιήσεις. Σε σφαιρική φιάλη (250 mL) προστέθηκαν 2-πυριδύλ-μεθυλαμίνη (8.7 mL, 84 mmol) και 2-πυριδύλ-καρβοξαλδεύδη (8.7 mL, 84 mmol) σε 50 mL μεθανόλη (MeOH). Αμέσως σχηματίστηκε διάλυμα χρώματος πορτοκαλί όπου και αναδεύτηκε για 1 h σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια, προστέθηκε βοροϋδρίδιο του νατρίου (6.36 g, 168 mmol) και το μίγμα αφέθηκε υπό ανάδευση για χρονική περίοδο 2 h όπου και πήρε κίτρινο χρώμα. Στη συνέχεια, με προσθήκη πυκνού υδροχλωρικού οξέος (10 M), το μίγμα ξινίστηκε, και παρατηρήθηκε καταβύθιση λευκού στερεού, καθώς, επίσης και παραγωγή αερίου. Η ανάδευση συνεχίστηκε μέχρι να σταματήσει ο αφρισμός και το μίγμα διηθήθηκε σε πτυχωτό ηθμό για απομάκρυνση του στερεού. Το κίτρινο διάλυμα που συλλέχθηκε εξατμίστηκε υπό κενό και σχηματίστηκε πορτοκαλί ελαιώδες ουσία. Το προϊόν επαναδιαλύθηκε σε ακετονιτρίλιο (100 mL) όπου και καταβύθιστηκε λευκό στερεό. Το μίγμα τοποθετήθηκε για 24 h στους 4 °C για ποσοτική καταβύθιση του στερεού και απομακρύνθηκε με διήθηση σε πτυχωτό ηθμό. Ακολούθως το διάλυμα εξατμίστηκε υπό κενό και έδωσε κίτρινη ελαιώδες ουσία. Απόδοση 12.5 g (75%). δ_H (500 MHz, CDCl₃) 8.44, 8.44, 8.41, 8.41, 7.68, 7.68, 7.24, 7.24, 3.93, 3.93, 3.93, 3.93, 1.45). δ_C

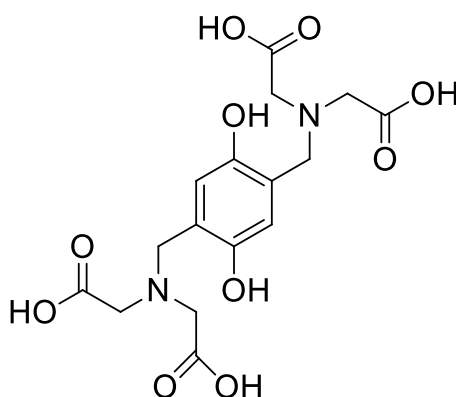
(500 MHz, CDCl₃) 148.20, 148.20, 148.15, 148.15, 136.05, 136.05, 134.62, 134.62, 125.36, 125.36, 53.98, 53.98.

2.2.2 2.5-δισ((δισ(2-υδροξυμέθυλ)άμινο)μέθυλ)-1.4-ημικινόνη (H₆bdeah×2HCl) (L₂)



Σε σφαιρική φιάλη (100 mL) προστέθηκαν διεθανολαμίνη (10.00 g, 75 mmol) και παραφολμαλδεΰδη (2.48 g, 82.6 mmol) μαζί με 50 mL MeOH και αναδεύτηκαν για 10 λεπτά μέχρι να διαλυθεί η παραφολμαλδεΰδη. Στη συνέχεια, προστέθηκε 1.4-υδροκινόνη (4.14 g, 0.0376 mol) και το μίγμα αφέθηκε σε ανάδευση για 17 h σε θερμοκρασία δωματίου. Έπειτα, εξατμίστηκε ο διαλύτης υπό κενό στους 50 °C και παρέμεινε ελαιώδης ουσία χρώματος σκούρου κόκκινου. Το προϊόν επαναδιαλύθηκε σε ζεστό οξικό αιθυλεστέρα και κατά την επαναφορά σε θερμοκρασία δωματίου σχηματίστηκε λευκό στερεό το οποίο ανακρυσταλλώθηκε με ίσους όγκους αιθανόλης και οξικού αιθυλεστέρα. Η απόδοση του H₆bdeah σε σχέση με την υδροκινόνη βρέθηκε 80% κ.μ. Θεωρητικά αποτελέσματα στοιχειακής ανάλυσης για το C₁₆H₂₈N₂O₆: C, 55.80; H, 8.19; N, 8.13. Πειραματική μέτρηση: C, 55.89; H, 8.63; N, 8.31%.

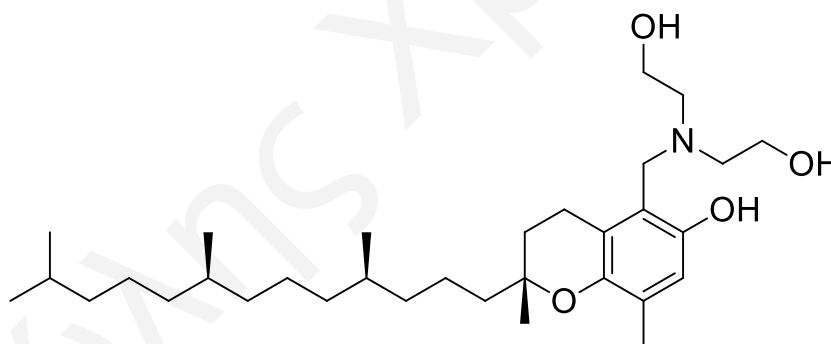
2.2.3 2.5-δισ[N,N-δισ(καρβόξυμέθυλ)αμινομέθυλ]υδροκινόνη (H₆bicah) (L₃)



Σε σφαιρική φιάλη (100 mL) προστέθηκαν ιμινοδιοξικό οξύ (10.00 g, 75 mmol) και παραφολμαλδεΰδη (2.48 g, 82.6 mmol) μαζί με 8 mL H₂O και 2 mL αιθανόλης. Το

μίγμα αναδεύτηκε έντονα με προσθήκη αργού (Ar) για 20 λεπτά. Στη συνέχεια, προστέθηκαν NaOH (6.00 g, 150 mmol) καθώς και 2 mL αιθανόλης προς σχηματισμό κίτρινου διαλύματος. Στο πιο πάνω μίγμα προστέθηκε 1.4-υδροκινόνη (4.14 g, 4.0 mmol) υπό συνεχή προσθήκη Ar και το χρώμα του μίγματος έγινε σκούρο κόκκινο. Το μίγμα τοποθετήθηκε σε reflux για 6 h κάτω από συνθήκες Ar. Προς το τέλος της αντίδρασης σχηματίστηκε λευκό ίζημα. Το μίγμα της αντίδρασης αφέθηκε να κρυώσει σε θερμοκρασία δωματίου υπό αδρανείς συνθήκες και το pH του μίγματος ρυθμίστηκε στο 2.7 με προσθήκη HCl 6M. Το μίγμα της αντίδρασης τοποθετήθηκε σε θερμοκρασία 4 °C για 12 h και διηθήθηκε υπό κενό. Τέλος, το στερεό ξηπλύθηκε με ελαφρός όξινο παγωμένο H₂O (2 X 3 mL) και με αιθανόλη (1 X 2 mL) και ξηράνθηκε υπό κενό. Η απόδοση του H₆bicaH σε σχέση με την υδροκινόνη βρέθηκε 80% κ.μ. Θεωρητικά αποτελέσματα στοιχειακής ανάλυσης για το C₁₆H₂₄N₂O₁₂: C, 44.04; H, 5.54; N, 6.42. Πειραματική μέτρηση: C, 43.89; H, 5.63; N, 6.31%. IR (KBr) 1203 (s, ν(C-O_{υδροκινόνης})).

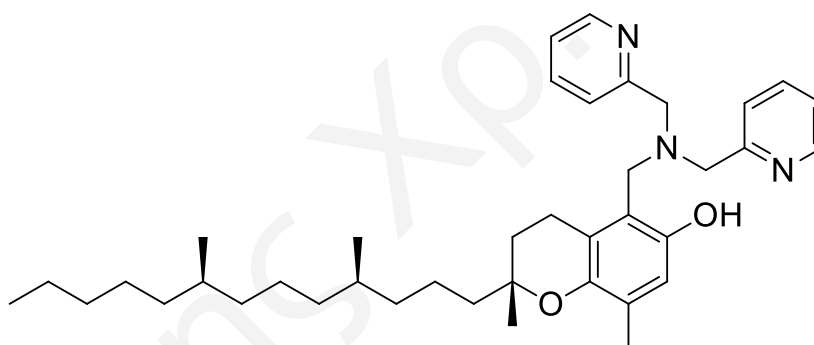
**2.2.4 2.2'-(((6-υδροξυ-2.8-διμεθυλ-2-(4.8.12-τριμεθυλοτριδεκυλο)χρωμ
αν-5-ολ)μεθυλ)αζανεδιυλ)δισαιθανόλη (β-tocdea) (L₄)**



Σε μονόλαιμη σφαιρική φιάλη των 100 mL προστέθηκε στερεή φορμαλδεΰδη (1.02 g, 0.03 mol) και δισαιθιολαμίνη (3.47 g, 0.03 mol) (1:1). Το διάλυμα θερμάνθηκε για 2.5 h στους 70 °C κάτω από αδρανείς συνθήκες (ατμόσφαιρα Ar). Ακολούθως στο διάλυμα προστέθηκε δ-τοκοφερόλη (2.89 g, 7.18 mmol) (αναλογία 4:1). Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε ελαιόλουτρο για 20 h στους 70 °C υπό συνεχή ανάδευση. Η υποκατάσταση επιβεβαιώθηκε με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (αιθυλεστέρα/εξανίου 1:1). Στη συνέχεια, το προϊόν διαλύθηκε σε διχλωρομεθάνιο και ακολούθησε εκχύλιση με νερό μέχρις ότου η υδατική φάση παρέμεινε άχρωμη. Η οργανική φάση ξηράθηκε με θειϊκό μαγνήσιο και ο διαλύτης εξατμίστηκε υπό κενό

προς σχηματισμό ελαιώδους προϊόντος χρώματος πορτοκαλί. Το προϊόν καθαρίστηκε περαιτέρω με χρωματογραφία στήλης χρησιμοποιώντας μίγμα διαλυτών αιθυλεστέρα / εξανίου (1 : 1), ενώ, στη συνέχεια αυξανόταν η πολικότητα της στήλης με αύξηση του ποσοστού του αιθυλεστέρα έναντι του εξανίου. Η καθαρότητα του οργανικού υποκαταστάτη επιβεβαιώθηκε με φασματοσκοπία ^1H NMR και ^{13}C NMR: ^1H NMR, (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 6.64, 3.72, 3.55, 2.95, 2.92, 2.62, 2.42, 2.21, 1.96, 1.71, 1.68, 1.67, 1.66, 1.48, 1.45, 1.40, 1.39, 1.38, 1.35, 1.34, 1.26, 1.25, 1.21, 1.18, 1.16, 1.05, 1.04, 1.02. ^{13}C NMR (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 150.47, 142.93, 124.43, 122.78, 121.21, 116.46, 79.35, 59.25, 59.25, 56.12, 56.12, 52.63, 39.27, 38.41, 37.07, 36.81, 36.81, 34.82, 34.82, 31.73, 28.27, 25.05, 24.63, 23.89, 23.67, 22.73, 22.73, 20.98, 20.40, 20.40, 16.68. $\text{C}_{32}\text{H}_{57}\text{NO}_4$. Στοιχειακή ανάλυση: C, 73.94; H, 11.05; N, 2.69, O, 12.31.

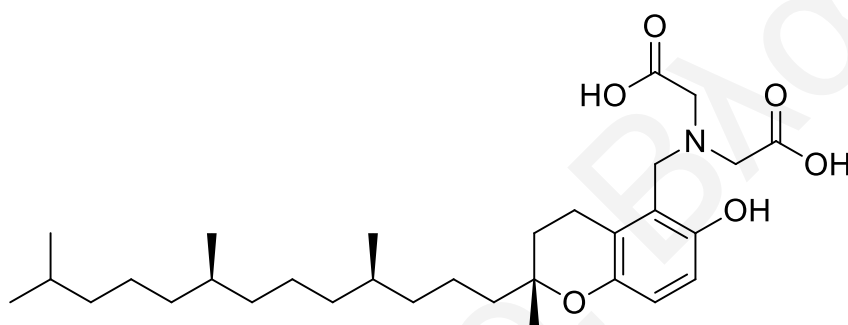
2.2.5 5-((δισ(πυρηδιν-2-υλμεθυλ)αμινο)μεθυλ)-2.8-διμεθυλ-2-2(4.8.12-τριμεθυλοτριδεκυλο)χρωμαν-6-ολη (β -tocopherol) (L_5)



Σε μονόλαιμη σφαιρική φιάλη των 100 mL προστέθηκε διπικολουλαμίνη (0.5 g, 2.51 mmol) και στερεή φορμαλδεϋδη (0.09 g, 3.0 mmol) σε 10 mL αιθανόλης. Στη συνέχεια, ποσότητα δ -τοκοφερόλης (0.5 g, 1.30 mmole) διαλύθηκε σε 10 mL αιθανόλης και προστέθηκε στο προηγούμενο διάλυμα. Μετά από 4 h ανάδευσης σε θερμοκρασία δωματίου, το διάλυμα χρώματος πορτοκαλί, θερμάνθηκε στους 50°C για 72 h. Μετά το πέρας της αντίδρασης, ο διαλύτης εξατμίστηκε υπό κενό και η ουσία που παρέμεινε στη φιάλη διαλύθηκε με εξάνιο, εκχυλίστηκε με νερό και ξηράθηκε με θειϊκό μαγνήσιο. Μετά την εξάτμιση του διαλύτη παρέμεινε ελαιώδης ουσία με κίτρινο χρώμα. Ακολούθησε χρωματογραφία στήλης όπως στη πιο πάνω πειραματική διαδικασία για τη λήψη καθαρής ελαιώδους ουσίας χρώματος κίτρινου. Η καθαρότητα του οργανικού υποκαταστάτη επιβεβαιώθηκε με φασματοσκοπία ^1H NMR και ^{13}C NMR: ^1H NMR

(300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 8.61, 7.79, 7.55, 7.28, 7.21, 6.56, 4.04, 3.87, 3.83, 2.71, 2.41, 2.21, 1.96, 1.71, 1.67, 1.61, 1.59, 1.45, 1.41, 1.35, 1.34, 1.33, 1.29, 1.27, 1.25, 1.24, 1.23, 1.22, 1.05, 1.02. ¹³C NMR (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 158.93, 158.93, 150.47, 147.93, 147.93, 142.93, 138.47, 138.47, 124.43, 122.91, 122.91, 122.78, 121.21, 120.88, 120.88, 116.46, 79.35, 57.69, 57.69, 51.11, 39.27, 38.41, 37.07, 36.81, 36.81, 36.81, 34.82, 34.82, 31.73, 28.27, 25.05, 24.63, 23.89, 23.67, 22.73, 22.73, 20.98, 20.40, 20.40, 16.68. C₄₀H₅₉N₃O₂. Στοιχειακή ανάλυση: C, 78.26; H, 9.69; N, 6.84; O, 5.21.

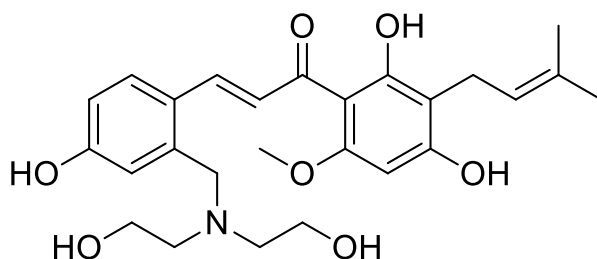
**2.2.6 2,2'-(((R)-6-υδροξυ-2,8-διμεθυλ-2-((4R,8R)-4,8,12-τριμεθυλτριδ
εκυλ)χρωμαν-5-υλ)μεθυλ)αζανεδυλ)διοξικο οξύ (β-tocida) (L₆)**



Η πειραματική διαδικασία είναι παρόμοια με αυτή του *β-tocdpa*, με τη διαφορά ότι χρησιμοποιήθηκε μεθανόλη σαν διαλύτης αντίδρασης και η αντίδραση έγινε με reflux. Τέλος, συλλέχθηκε κίτρινη ουσία ελαιώδους υφής. Η καθαρότητα του οργανικού υποκαταστάτη επιβεβαιώθηκε με φασματοσκοπία ¹H NMR και ¹³C NMR: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 10.54, 6.48, 3.87, 3.75, 3.27, 3.23, 2.43, 2.21, 1.96, 1.71, 1.64, 1.56, 1.44, 1.38, 1.35, 1.34, 1.34, 1.33, 1.32, 1.31, 1.28, 1.25, 1.22, 1.20, 1.03, 1.01, 0.25.

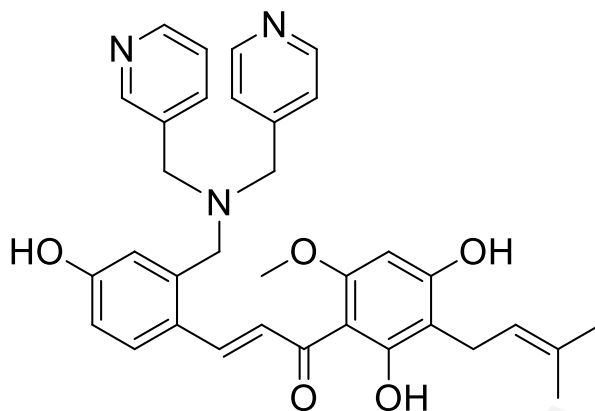
¹³C NMR (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 172.38, 172.38, 150.47, 142.93, 124.43, 122.78, 121.21, 116.46, 79.35, 58.95, 58.95, 51.49, 39.27, 39.17, 36.81, 36.72, 34.82, 31.73, 29.46, 29.20, 28.96, 28.27, 27.27, 25.05, 24.63, 23.67, 23.48, 22.73, 22.73, 20.40, 16.68. C₃₂H₅₃NO₆. Στοιχειακή ανάλυση: C, 70.17; H, 9.75; N, 2.56; O, 17.53.

2.2.7 (E)-3-(2-((δισ(2-υδροξυμεθυλ)άμινο)μέθυλ)-4-υδροξυφένυλ)-1-(2,4-διδυδροξυ-6-μεθοξυ-3-(3-μέθυλβουτ-2-εν-1-υλ)φαίνυλ)προπ-2-εν-1-ονη (xndea) (L7)



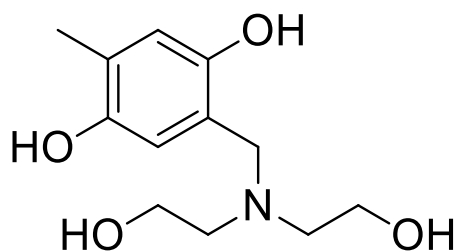
Σε μονόλαιμη σφαιρική φιάλη των 100 mL προστέθηκε στερεή φορμαλδεϋδη (1.02 g, 0.03 mol) και διαιθανολαμίνη (3.47 g, 0.03 mol) (1:1). Το διάλυμα θερμάνθηκε για 2.5 h στους 70 °C κάτω από αδρανείς συνθήκες (ατμόσφαιρα Ar). Ακολούθως, στο διάλυμα προστέθηκε ξανθοχουμόλη (2.54 g, 7.18 mmol) (αναλογία 4:1). Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε ελαιόλουτρο για 20 h στους 70 °C υπό συνεχή ανάδευση. Η υποκατάσταση επιβεβαιώθηκε με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (αιθυλεστέρα / εξανίου 1:1). Στη συνέχεια, το προϊόν διαλύθηκε σε διχλωρομεθάνιο και ακολούθησε εκχύλιση με νερό μέχρις ότου η υδατική φάση παρέμεινε άχρωμη. Η οργανική φάση ξηράθηκε με θειϊκό μαγνήσιο και ο διαλύτης εξατμίστηκε υπό κενό προς σχηματισμό ελαιώδους προϊόντος χρώματος ανοιχτό καφέ. Το προϊόν καθαρίστηκε περαιτέρω με χρωματογραφία στήλης χρησιμοποιώντας μίγμα διαλυτών αιθυλεστέρα / εξανίου (1:1), ενώ, στη συνέχεια αυξανόταν η πολικότητα της στήλης με αύξηση του ποσοστού του αιθυλεστέρα έναντι του εξανίου. Η καθαρότητα του οργανικού υποκαταστάτη επιβεβαιώθηκε με φασματοσκοπία $^1\text{H NMR}$: δ_{H} (500 MHz, CDCl_3) 8.32, 7.42, 7.31, 6.92, 6.86, 6.36, 5.38, 5.13, 3.99, 3.79, 3.79, 3.79, 3.75, 3.73, 3.73, 3.73, 3.73, 3.66, 3.66, 3.56, 3.56, 2.86, 2.86, 2.72, 2.72, 2.61, 2.61, 1.83, 1.83, 1.83, 1.83, 1.83, 1.83.

2.2.8 (E)-1-(2,4-διδροξυ-6-μεθοξυ-3-(3-μέθυλβουτύλ-2-εν-1-υλ)φαίνυλ)-3-(4-διδροξυ-2-((πύριδιν-3-υλμέθυλ)(πύριδιν-4-υλμέθυλ)άμιν ο)μέθυλ)φαίνυλ) προπ-2-εν-1-ονη (xndpa) (L₈)



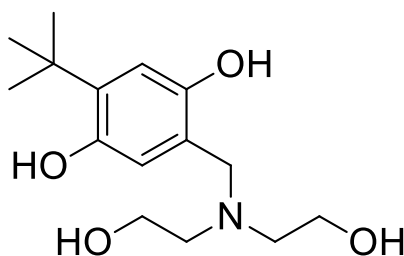
Σε μονόλαιμη σφαιρική φιάλη των 100 mL προστέθηκε διπικολυλαμίνη (0.5 g, 2.51 mmol) και στερεή φορμαλδεϋδη (0.09 g, 3.0 mmol) σε 10 mL αιθανόλης. Στη συνέχεια, ποσότητα ζανθοχουμόλης (0.46 g, 1.30 mmole) διαλύθηκε σε 10 mL αιθανόλης και προστέθηκε στο προηγούμενο μείγμα. Μετά από 4 h ανάδευσης σε θερμοκρασία δωματίου, το διάλυμα χρώματος ανοιχτό καφέ, θερμάνθηκε στους 50 °C για 72 h. Μετά το πέρας της αντίδρασης, ο διαλύτης εξατμίστηκε υπό κενό και η ουσία που παρέμεινε στη φιάλη διαλύθηκε με εξάνιο, εκχυλίστηκε με νερό και ξηράθηκε με θειϊκό μαγνήσιο. Μετά την εξάτμιση του διαλύτη παρέμεινε ελαιώδης ουσία με ανοιχτό καφέ χρώμα. Ακολούθησε χρωματογραφία στήλης όπως στη πιο πάνω πειραματική διαδικασία για τη λήψη καθαρής ελαιώδους ουσίας χρώματος καστανού. Η καθαρότητα του οργανικού υποκαταστάτη επιβεβαιώθηκε με φασματοσκοπία ¹HNMR δ_H (500 MHz, CDCl₃) 8.53, 8.53, 8.51, 8.48, 8.21, 7.77, 7.37, 7.37, 7.34, 7.31, 7.28, 7.01, 6.87, 6.18, 5.42, 4.36, 4.35, 4.24, 4.09, 3.98, 3.87, 3.83, 3.83, 3.83, 3.77, 3.75, 3.55, 3.39, 3.39, 1.84, 1.84, 1.84, 1.84, 1.84, 1.84.

2.2.9 2-((δισ(2-υδροξυμέθυλ)άμινο)μέθυλ)-5-μέθυλβένζο-1,4-διόλη
(*hyquimethyldea*) (*L₉*)



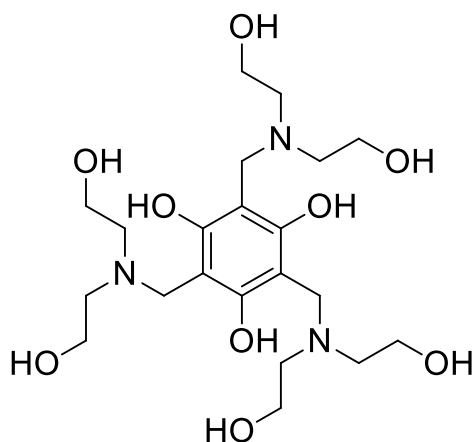
Σε μονόλαιμη σφαιρική φιάλη των 100 mL προστέθηκε διαιθανολαμίνη (0.42 g, 4.0 mmol) και διάλυμα φορμαλδεϋδης 37% (0.32 mL, 4.0 mmol) σε 10 mL μεθανόλης. Το μίγμα αναδεύτηκε για 5 min και ακολούθως προστέθηκε υπό ανάδευση ποσότητα 2-μεθυλ-υδροκινόνης (0.50 g, 4.0 mmol) και KOH (0.05 g, 1 M). Η αντίδραση τοποθετήθηκε σε reflux για περίοδο 2 h και αφού το μίγμα της αντίδρασης κρύωσε σε θερμοκρασία δωματίου, ο διαλύτης εξατμίστηκε υπό κενό στους 50 °C προς σχηματισμό ελαιώδους ουσίας χρώματος σκούρο κόκκινο. Το προϊόν ανακρυσταλλώθηκε με οξικό αιθυλεστέρα και το λευκό στερεό που σχηματίστηκε ξηράνθηκε υπό κενό. Η απόδοση της αντίδρασης έφτασε το 82% και η σύνθεση επιβεβαιώθηκε με φασματοσκοπία NMR και χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας σε μίγμα οξικού αιθυλεστέρα : εξανίου 1:1. δ_H (500 MHz, Chloroform) 6.61, 6.53, 3.83, 3.83, 3.83, 3.83, 3.71, 3.71, 3.59, 3.35, 2.87, 2.87, 2.72, 2.72, 2.32, 2.32, 2.32, 0.75, 0.75.

2.2.10 2-((δισ(2-υδροξυμέθυλ)άμινο)μέθυλ)-5-(τερτ-βούτυλ)βένζο-1,4-διόλη (hyquiteridea) (L₁₀)



Σε μονόλαιμη σφαιρική φιάλη των 100 mL προστέθηκε διαιθανολαμίνη (0.32 g, 4.0 mmol) και διάλυμα φορμαλδεΐδης 37% (0.24 mL, 4.0 mmol) σε 10 mL μεθανόλης. Το μίγμα αναδεύτηκε για 5 min και ακολούθως προστέθηκε υπό ανάδευση ποσότητα 2-τερτ-βούτυλ-υδροκινόνης (0.50 g, 4.0 mmol) και KOH (0.05 g, 1 M). Η αντίδραση τοποθετήθηκε σε reflux για περίοδο 2 h και αφότου το μίγμα της αντίδρασης κρύωσε σε θερμοκρασία δωματίου, ο διαλύτης εξατμίστηκε υπό κενό στους 50 °C προς σχηματισμό ελαιώδους ουσίας χρώματος σκούρο κόκκινο. Το προϊόν ανακρυσταλλώθηκε με οξικό αιθυλεστέρα και το λευκό στερεό που σχηματίστηκε ξηράνθηκε υπό κενό. Η απόδοση της αντίδρασης έφτασε το 79% και η σύνθεση επιβεβαιώθηκε με φασματοσκοπία ¹HNMR και χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας σε μίγμα οξικού αιθυλεστέρα : εξανίου 1 : 1. δ_H (500 MHz, CDCl₃) 6.72, 6.59, 3.66, 3.66, 3.66, 3.66, 3.66, 3.66, 3.43, 2.83, 2.83, 2.57, 2.57, 2.40, 1.40, 1.40, 1.40, 1.40, 1.40, 1.40, 1.40, 1.40, 0.65, 0.65.

**2.2.11 2,4,6-τρις((δις(2-υδροξυμέθυλ)άμινο)μέθυλ)βένζο-1,3,5-τριόλη
(benzytriodea) (L₁₁)**



Σε κωνική φιάλη των 100 mL προστέθηκε αργά ποσότητα διαιθανολαμίνης (1.58 g, 15 mmol) σε 30 mL αιθανόλης και διαλύματος 37% φορμαλδεΰδης (6.64 mL, 30 mmol). Στη συνέχεια, προστέθηκε υπό ανάδευση ποσότητα 1.3.5-βενζοτριόλης (0.63 g, 5.0 mmol). Τέλος, προστέθηκε ποσότητα πυκνού οξικού οξέος (1 mL). Το μίγμα αφέθηκε σε ανάδευση για περίοδο 10 h σε σκοτεινό μέρος προς αποφυγή διάσπασης της φωτοευαίσθητης 1.3.5-βενζοτριόλης. Μετά την πάροδο των 10 h σχηματίστηκε πορτοκαλοκίτρινο ίζημα το οποίο διηθήθηκε υπό κενό, ξεπλύθηκε με 25 mL H₂O και ξηράθηκε υπό κενό. Η σύνθεση του προϊόντος επιβεβαιώθηκε με ¹H NMR σε δευτεριωμένο DMSO. δ_H (500 MHz, CDCl₃) 4.81, 4.81, 4.81, 3.76, 3.76, 3.76, 3.76, 3.76, 3.76, 3.75, 3.75, 3.75, 3.75, 3.75, 3.75, 3.75, 3.75, 3.75, 3.75, 3.75, 3.75, 3.75, 3.75, 3.75, 2.92, 2.92, 2.92, 2.92, 2.92, 2.66, 2.66, 2.66, 2.66, 2.66, 2.66, 1.61, 1.61, 1.61, 1.61, 1.61, 1.61.

2.3 Σύνθεση σύμπλοκων ενώσεων V(III,IV,V)

2.3.1 [V^{III}₂(μ-bicah)₂(H₂O)₄]₂·13H₂O (C_{1a})

Σε μονόλαιμη σφαιρική φιάλη των 100 mL προστέθηκαν 0.57 g (1.3 mmol) του υποκαταστάτη H₆bicah τα οποία ήταν διαλυμένα σε 10 mL H₂O. Στη συνέχεια, έγινε προσθήκη διαλύματος Et₃N (0.80 g, 7.9 mmol) και το διάλυμα θερμάνθηκε μέχρι βρασμού κάτω από αδρανείς συνθήκες (Ar) για 5 min. Μετά το τέλος της θέρμανσης, προστέθηκε στερεό VCl₃ (0.41 g, 2.6 mmol). Το διάλυμα πήρε καφέ χρώμα και το pH του διαλύματος ήταν γύρω στο 2.7. Ακολούθως, το προϊόν τοποθετήθηκε στους 4

°C για περίοδο τριών ημερών. Μετά από τη πάροδο τριών ημερών σχηματίστηκε καφέ κρυσταλλικό προϊόν το οποίο διηθήθηκε υπό κενό και ξηράθηκε. Η απόδοση του προϊόντος βρέθηκε 0.51 g (55%). Θεωρητικά αποτελέσματα στοιχειακής ανάλυσης για το C₁₆H₄₈N₂O₂₇V₂: C, 23.95; H, 6.03; N, 3.49. Πειραματική μέτρηση: C, 23.87; H, 6.11; N, 3.42%. IR (KBr) 3248 (s, ν(O-H_{free} H₂O)), 3073 (s, ν(O-H_{ligated} H₂O)), 2973, 2937, 2924 (w, ν(C-H)), 1606 (vs, ν(C=O)), 1479 (s), 1457 (m), 1447 (m), 1431 (s), 1415 (m), 1384 (s), 1356 (s), 1332 (s), 1260 (m), 1221 (m), 1199 (m, ν(C_{hydroquinone}-O)), 1165 (m), 1110 (m), 1081 (w), 1019 (m), 957 (m), 948 (w), 942 (m), 912 (m), 897 (m), 865 (s), 802 (s), 743 (m), 726 (m), 677 (s), 614 (m), 567 (s), 551 (s), 499(m), 450 (w), 404 (m). ¹H NMP δ (H₂O) (ppm): 8.24 (s, 2H, H53).

2.3.2 [V^{III}₂(μ-bicah)₂(H₂O)₄]·H₂O (C_{1b})

Ο υποκαταστάτης H₆bicah (0.20 g, 0.46 mmol) διαλύθηκε σε 5 mL H₂O με τη προσθήκη Na₂CO₃ (0.15 g, 1.4 mmol). Το διάλυμα θερμάνθηκε μέχρι βρασμού κάτω από συνθήκες Ar για 5 min. Μετά τη πάροδο των 5 min, σταμάτησε η θέρμανση και προστέθηκε στερεό VCL₃ (0.13 g, 0.95 mmol) και το μίγμα της αντίδρασης πήρε καφέ χρώμα. Λήφθηκαν, επίσης, καφέ κρύσταλλοι με αργή διάχυση προσθέτοντας 5 mL ακετόνης και τοποθετώντας το διάλυμα στους 4 °C για περίοδο τριών ημερών. Απόδοση 0.10 g (37 %). Θεωρητικά αποτελέσματα στοιχειακής ανάλυσης για το C₁₆H₂₄N₂O₁₅V₂: C, 32.78 %; H, 4.13 %; N, 4.78 %. Πειραματική μέτρηση: C, 32.51 %; H, 4.30 %; N, 4.62 %.

2.3.3 [V^{III}₂(μ-bicah)₂(bipy)₂]·4H₂O (C₂)

Σε 5 mL H₂O διαλύθηκε ποσότητα του υποκαταστάτη H₆bicah (0.20 g, 0.46 mmol) με προσθήκη Na₂CO₃ (0.15 g, 1.4 mmol). Το διάλυμα θερμάνθηκε μέχρι βρασμού κάτω από συνθήκες Ar και η θέρμανση συνεχίστηκε για 5 min. Καθώς η θέρμανση του διαλύματος σταμάτησε προστέθηκε στερεό VCL₃ (0.15 g, 0.96 mmol) και, τέλος, προστέθηκε ο υποκαταστάτης bipy (0.15 g, 0.96 mmol) διαλυμένος σε ακετόνη (1 mL). Το χρώμα του διαλύματος από καφέ έγινε κόκκινο και το διάλυμα παρέμεινε στους 4 °C για περίοδο δύο ημερών. Μετά την πάροδο των δύο ημερών, σχηματίστηκαν κόκκινοι κρύσταλλοι και διηθήθηκαν υπό κενό. Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 0.25 g (62 %). IR (KBr) 3232 (s, ν(O-H_{free}7H₂O)), 3080 (s, ν(O-H_{ligated} H₂O)), 3080, 2989, 2924 (s, ν(Ψ-H)), 1658 (s, ν(C=O)), 1600 (s, ν(C-C)),

1473 (s), 1441 (s), 1421 (s), 1383 (s), 1341 (s), 1311 (s), 1215 (m), 1195 (m,ν(C_{hydroquinone}-O)), 1161 (w), 1049 (w), 1016 (w), 1011 (w), 969 (w), 930 (m), 902 (m), 884 (m), 862 (s), 794 (m), 763 (s), 733 (s), 668 (m), 621 (m), 539 (s), 495(m), 411 (m). Θεωρητικά αποτελέσματα στοιχειακής ανάλυσης για το C₃₆H₃₈N₆O₁₄V₂: C, 49.10 %; H, 4.35 %; N, 9.54 %. Πειραματική μέτρηση : C, 49.02 %; H, 4.38 %; N, 9.49 %.

2.3.4 [(VO)₂(μ-bdeah)]·xH₂O (x=1-2)

5 mL υδατικού διαλύματος NaVO₃ (0.58 g, 4.8 mmol) προστέθηκαν στάγδην σε 5 mL διαλύματος H₆bdeah·2HCl (1.00 g, 2.40 mmol). Αμέσως μετά την προσθήκη σχηματίστηκε ένα ίζημα χρώματος σκούρο μπλε εξαιρετικά υψηλού ιξώδους και στερεή ουσία ελαφρού γκριζου χρώματος. Το μίγμα έμεινε υπό ανάδευση μέχρι την επόμενη μέρα και το μπλε-γκρίζο ίζημα που σχηματίστηκε διηθήθηκε υπό κενό, ξεπλύθηκε με νερό και μεθανόλη και ξηράθηκε υπό κενό. Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 1.10 g (94%). Θεωρητικά αποτελέσματα στοιχειακής ανάλυσης για το C₁₆H₂₂N₂O₈V₂: C, 39.20 %; H, 4.93 %; N, 5.71 %. Πειραματική μέτρηση : C, 39.33 %; H, 4.89 %; N, 5.70 %.

2.3.5 [(VO)₂(μ-bdeah)] (C₃)

Ποσότητα στερεού [(VO)₂(μ-bdeah)]·xH₂O (0.50 g) διαλύθηκε σε 4 mL DMSO με θέρμανση και το καφέ διάλυμα που σχηματίστηκε διηθήθηκε. Στο διάλυμα προστέθηκαν 15 mL CH₃CN (layering) και αφέθηκε για διάστημα δύο εβδομάδων σε θερμοκρασία δωματίου έτσι ώστε να σχηματιστούν κόκκινο-καφέ κρύσταλλοι. Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 0.40 g (83%). Θεωρητικά αποτελέσματα στοιχειακής ανάλυσης για το C₁₆H₂₂N₂O₈V₂: C, 40.69 %; H, 4.70 %; N, 5.93 %. Πειραματική μέτρηση : C, 40.64 %; H, 4.70 %; N, 5.89 %.

2.3.6 [(VO)₂(μ-bdeas)(DMSO)₂] (C₄) και [(VO)₂(μ-bdeas)(CH₃OH)₂] (C₅)

Στερεή ουσία [(VO)₂(μ-bdeah)]·xH₂O (0.50 g) διαλύθηκε σε 4 mL DMSO με τη βοήθεια θέρμανσης και το παραγόμενο καφέ στερεό που παράχθηκε διηθήθηκε και σε αυτό προστέθηκαν 2 mL CH₃OH. Στο διάλυμα προστέθηκαν 20 mL CH₃OH (layering) και το διάλυμα τοποθετήθηκε στους -10 °C για χρονική περίοδο 2 εβδομάδων. Μετά την πάροδο των 2 εβδομάδων, σχηματίστηκαν μπλε κρύσταλλοι του (4) και του (5). Η απόδοση βρέθηκε 0.37 g (74%).

2.3.7 $[(VO)_2(\mu\text{-bdeas})(MeOH)_2] (C_6)$

Σε 10 mL μεθανολικού διαλύματος $H_6bdeah \times 2HCl$ (1.00 g, 2.40 mmol) και τριεθυλαμίνης (0.48 g, 4.80 mmol) προστέθηκε μεθανολικό διάλυμα 20 mL του $[VO(acac)_2]$ (1.27 g, 4.80 mmol). Το διάλυμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 72 h σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, σε ανοιχτό σωλήνα, μέχρι σχηματισμού στερεού χρώματος μπλε σκούρο. Το στερεό διηθήθηκε υπό κενό και ξεπλύθηκε με MeOH. Η απόδοση βρέθηκε 1.20 g (93%). Θεωρητικά αποτελέσματα στοιχειακής ανάλυσης για το $C_{18}H_{30}N_2O_{10}V_2$: C, 40.31 %; H, 5.64 %; N, 5.22 %. Πειραματική μέτρηση : C, 40.22 %; H, 5.48 %; N, 5.31 %.

2.3.8 $[VO(\beta\text{-tocdea})] (C_7)$

Σε σφαιρική φιάλη (100 mL) προστέθηκε το παράγωγο της τοκοφερόλης $\beta\text{-tocdea}$ (0.48 g, 9.23 mmol) και ποσότητα $VO(acac)_2$ (0.57 g, 11.12 mmol) μαζί με 20 mL MeOH. Το μίγμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 24 h με συνεχή προσθήκη ατμοσφαιρικού αέρα. Κατά αυτή τη χρονική περίοδο έπεσε μπλε ίζημα και τοποθετήθηκε στους 4 °C για 12 h για ποσοτική καταβύθιση του στερεού. Στη συνέχεια, ο διαλύτης εξατμίστηκε υπό κενό και παρέμεινε ελαιώδες ουσία εξαιρετικά υψηλού ιξώδους χρώματος σκούρο μπλε. Η ουσία ξεπλύθηκε με MeOH με σκοπό την απομάκρυνση των μη αντιδρώντων προσμίξεων και το προϊόν εξατμίστηκε υπό κενό. Απόδοση της αντίδρασης (67%) κ.μ. Η σύνθεση του συμπλόκου επιβεβαιώθηκε με 1H NMR και ^{51}V NMR.

2.3.9 $[VO(\beta\text{-tocdpa})Cl_2] (C_8)$

Σε σφαιρική φιάλη (100 mL) προστέθηκε το παράγωγο της τοκοφερόλης $\beta\text{-tocdpa}$ (0.48 g, 7.82 mmol) και ποσότητα $VOCl_2$ (1.26 g, 9.12 mmol) μαζί με 20 mL MeOH. Το μίγμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 12 h σε κλειστή φιάλη. Κατά αυτή τη χρονική περίοδο έπεσε μπλε ίζημα και τοποθετήθηκε στους 4 °C για 12 h για ποσοτική καταβύθιση του στερεού. Στη συνέχεια, ο διαλύτης εξατμίστηκε υπό κενό και παρέμεινε ελαιώδες ουσία εξαιρετικά υψηλού ιξώδους χρώματος σκούρο μπλε. Η ουσία ξεπλύθηκε με MeOH με σκοπό την απομάκρυνση των μη αντιδρώντων προσμίξεων και το προϊόν εξατμίστηκε υπό κενό. Απόδοση της αντίδρασης (64%) κ.μ. Η σύνθεση του συμπλόκου επιβεβαιώθηκε με 1H NMR.

2.3.10 [VO(β -tocida)Cl₂] (C₉)

Σε σφαιρική φιάλη (100 mL) προστέθηκε το παράγωγο της τοκοφερόλης β -tocida (0.43 g, 7.82 mmol) και ποσότητα VOCl₂ (1.26 g, 9.12 mmol), μαζί με 20 mL MeOH. Το μίγμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 12 h σε κλειστή φιάλη. Κατά αυτή τη χρονική περίοδο έπεσε μπλε ίζημα και τοποθετήθηκε στους 4 °C για 12 h για ποσοτική καταβύθιση του στερεού. Στη συνέχεια, ο διαλύτης εξατμίστηκε υπό κενό και παρέμεινε ελαιώδες ουσία εξαιρετικά υψηλού ιξώδους χρώματος σκούρο μπλε. Η ουσία ξεπλύθηκε με MeOH με σκοπό την απομάκρυνση των μη αντιδρώντων προσμίξεων και το προϊόν εξατμίστηκε υπό κενό. Απόδοση της αντίδρασης (59%) κ.μ. Η σύνθεση του συμπλόκου επιβεβαιώθηκε με ¹H NMR.

2.3.11 [VO(*xndea*)] (C₁₀)

Σε σφαιρική φιάλη (100 mL) προστέθηκε παράγωγο της ξανθοχουμόλης *xndea* (0.40g, 8.48 mmol) και ποσότητα VO(acac)₂ (0.45 g, 16.96 mmol) μαζί με 20 mL MeOH. Το μίγμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 24 h με συνεχή προσθήκη ατμοσφαιρικού αέρα. Κατά αυτή τη χρονική περίοδο έπεσε μπλε ίζημα και τοποθετήθηκε στους 4 °C για 12 h για ποσοτική καταβύθιση του στερεού. Στη συνέχεια, ο διαλύτης εξατμίστηκε υπό κενό και παρέμεινε ελαιώδες ουσία εξαιρετικά υψηλού ιξώδους χρώματος σκούρο μπλε. Η ουσία ξεπλύθηκε με MeOH με σκοπό την απομάκρυνση των μη αντιδρώντων προσμίξεων και το προϊόν εξατμίστηκε υπό κενό. Απόδοση της αντίδρασης (69%) κ.μ. Η σύνθεση του συμπλόκου επιβεβαιώθηκε με ¹H NMR και ⁵¹V NMR.

2.3.12 [VO(*xndpa*)Cl₂] (C₁₁)

Σε σφαιρική φιάλη (100 mL) προστέθηκε το παράγωγο της ξανθοχουμόλης *xndpa* (0.45 g, 7.96 mmol) και ποσότητα VOCl₂ (2.19 g, 15.92 mmol) μαζί με 20 mL MeOH. Το μίγμα παρέμεινε υπό ανάδευση για 12 h σε κλειστή φιάλη. Κατά αυτή τη χρονική περίοδο έπεσε μπλε ίζημα και τοποθετήθηκε στους 4 °C για 12 h για ποσοτική καταβύθιση του στερεού. Στη συνέχεια, ο διαλύτης εξατμίστηκε υπό κενό και παρέμεινε ελαιώδες ουσία εξαιρετικά υψηλού ιξώδους χρώματος σκούρο μπλε. Η ουσία ξεπλύθηκε με MeOH με σκοπό την απομάκρυνση των μη αντιδρώντων

προσμίξεων και το προϊόν εξατμίστηκε υπό κενό. Απόδοση της αντίδρασης (61%) κ.μ. Η σύνθεση του συμπλόκου επιβεβαιώθηκε με $^1\text{H NMR}$.

2.3.13 $[\text{VO}(\text{acac})_2]$ (C_{12}), $\text{Na}_2[\text{VO}(\text{hybeb})_2]$ (C_{13}), $[\text{VO}(\text{salen})]$ (C_{14})

Η σύνθεση των συμπλόκων (C_{12}), (C_{13}), (C_{14}) πραγματοποιήθηκε με βάση τη βιβλιογραφία^[162] και η καθαρότητα των μορίων επιβεβαιώθηκε με στοιχειακή ανάλυση για τα C, H, N.

2.4 Μέθοδοι ταυτοποίησης των ενώσεων

Σε αυτή τη διατριβή εκτός από τις φυσικοχημικές μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν για το προσδιορισμό δομής των μορίων που συντέθηκαν, χρησιμοποιήθηκαν και τεχνικές διαχωρισμού (χρωματογραφικές μέθοδοι ανάλυσης) για τον καθαρισμό των οργανικών ενώσεων. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε η χρωματογραφία στήλης και η χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας. Συνοπτικά οι πιο κάτω τεχνικές:

Χρωματογραφία στήλης: Στη στήλη χρωματογραφίας (γυάλινη) τοποθετείται η σταθερή φάση (προσοροφητικό υλικό) και στη βάση της στήλης υαλοβάμβακας για να συγκρατεί το υλικό. Η στήλη πληρώνεται περίπου στο 1/3 της με το μίγμα των διαλυτών που θα χρησιμοποιηθεί για την έκλυση, ή με τον λιγότερο πολικό διαλύτη, αν πρόκειται να επιλέξουμε έκλυση με διαλύτη αυξανόμενης πολικότητας. Κατά τη διαδικασία της έκλυσης επέρχεται ο διαχωρισμός του μίγματος σε ζώνες διαφορετικών συστατικών. Ο κυριότερος παράγοντας από τον οποίο εξαρτάται η επιτυχία ενός χρωματογραφικού διαχωρισμού είναι η σχετική πολικότητα των μορίων στο προς διαχωρισμό μίγμα.

Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας: Η ανάπτυξη του χρωματογραφήματος γίνεται με την τοποθέτηση της πλάκας TLC σε ένα θάλαμο ο οποίος περιέχει το διαλύτη και του οποίου η ατμόσφαιρα είναι κορεσμένη με τους ατμούς του τελευταίου. Ένα κομμάτι διηθητικού χαρτιού, που περιβάλλει το εσωτερικό τοίχωμα του θαλάμου, και είναι εμβαπτισμένο στο διαλύτη, διαποτίζεται από αυτόν και με την συνεπαγόμενη εξάτμιση συντελεί στον κορεσμό του χώρου του θαλάμου. Το ύψος του διαλύτη στο θάλαμο ανάπτυξης πρέπει να είναι τέτοιο ώστε οι κηλίδες να μη βυθίζονται σε αυτόν όταν η πλάκα τοποθετείται προς ανάπτυξη, γιατί θα διαλυθούν από το διαλύτη. Η εμφάνιση του χρωματογραφήματος γίνεται με λάμπα UV.

2.5 Ανάπτυξη κρυστάλλων

Ένας κρύσταλλος αποτελείται από δομικές μονάδες (άτομα, ιόντα ή μόρια) που συγκρατούνται με χημικούς δεσμούς σε διάταξη η οποία επαναλαμβάνεται περιοδικά σε τρεις διαστάσεις. *Κρυσταλλική δομή* είναι η κανονική, γεωμετρική διάταξη στην οποία διευθετούνται οι δομικές μονάδες ενός στερεού. Αν ένα στερεό δεν παρουσιάζει μία ορισμένη κρυσταλλική δομή τότε είναι άμορφο. Σε αυτή τη διατριβή χρησιμοποιήθηκαν κυρίως δύο τρόποι ανάπτυξης κρυστάλλων: η μέθοδος αργής εξάτμισης και η μέθοδος αργής ψύξης.

Μέθοδος αργής εξάτμισης: Αυτή η τεχνική συνήθως χρησιμοποιείται σε υλικά τα οποία παραμένουν σταθερά σε μικρά όρια θερμοκρασίας και είναι η μόνη που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για αυτό το σκοπό. Με μη τοξικούς διαλύτες είναι εφικτή και η εξάτμιση στο περιβάλλον της ατμόσφαιρας. Οι τυπικές παράμετροι κρυσταλλοποίησης αφορούν σταθεροποίηση θερμοκρασίας ± 0.005 °C και ρυθμό εξάτμισης μερικά mL / h. Το πλεονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι το γεγονός ότι ο κρύσταλλος αναπτύσσεται σε σταθερές θερμοκρασίες.

Μέθοδος αργής ψύξης: Θεωρείται η καλύτερη μέθοδος ανάπτυξης κρυστάλλων όσο αφορά σε τεχνικές στο διάλυμα. Ο κυριότερος περιορισμός της τεχνικής είναι η ανάγκη χρησιμοποίησης εύρους θερμοκρασιών. Το πιθανό εύρος των θερμοκρασιών είναι συνήθως μικρό. Για το λόγο αυτό απαιτούνται μεγάλοι όγκοι του διαλύματος. Η χρήση μεγάλου εύρους θερμοκρασιών δεν είναι πάντοτε επιθυμητή, λόγω του ότι μερικές φορές είναι δυνατό να οδηγήσει σε αλλαγή των ιδιοτήτων των μορίων με την αλλαγή της θερμοκρασίας. Συνήθως σε θερμοκρασίες μεταξύ 45-75 °C ξεκινά η διαδικασία της κρυσταλλοποίησης, με χαμηλότερο όριο αυτό της θερμοκρασίας δωματίου.

2.6 Φυσικοχημικοί χαρακτηρισμοί των μορίων

Τα φάσματα υπέρυθρης ακτινοβολίας λήφθηκαν στο φασματοφωτόμετρο Perkin-Elmer Spectrum G-X FTIR με δισκία KBr. Τα ηλεκτρονικά φάσματα λήφθηκαν στο φασματοφωτόμετρο Photonics CCD Array UV-Vis spectrometer. Οι μαγνητικές ροπές μετρήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου με τη μέθοδο Inverse Gouy στο μαγνητικό ζυγό MK-1 Sherwood Magnetic Balance, και σαν πρότυπη ουσία αναφοράς χρησιμοποιήθηκε το σύμπλοκο $[\text{HgCo}(\text{SCN})_2]_x$. Η αγωγιμότητα σε διάλυμα μετρήθηκε σε διχλωρομεθάνιο και μεθανόλη χρησιμοποιώντας

αγωγιμόμετρο Tacussel électronique CD 6NG. Η σταθερά της κυψελίδας αγωγιμότητας προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας υδατικό διάλυμα KCl 0.1 M και βρέθηκε ίση με $\kappa = 1.1025 \text{ cm}^{-1}$. Τα φάσματα κυκλικής βολταμετρίας και βολταμετρίας περιστρεφόμενου δίσκου συνεχόμενης σάρωσης καταγράφηκαν από το EG&G Princeton Applied Research 273A ποτενσιοστάτη / γαλβανοστάτη. Σαν ηλεκτρόδιο εργασίας χρησιμοποιήθηκε ηλεκτρόδιο κυκλικού δίσκου λευκοχρύσου και σαν ηλεκτρόδιο αναφοράς το κανονικό ηλεκτρόδιο υδρογόνου (NHE) (πλατίνας). Τα φάσματα NMR λήφθηκαν στο φασματοφωτόμετρο Bruker Avance 300 και Bruker Avance 500, για τα φάσματα ^{19}F NMR, ^{51}V NMR, ^1H NMR και ^{13}C NMR. Η στοιχειακή ανάλυση C, H, N, πραγματοποιήθηκε στο στοιχειακό αναλυτή NEX CG. Τα δεδομένα για την επίλυση των κρυσταλλικών δομών συλλέχθηκαν από το περιθλασίμετρο XCalibur III τεσσάρων κύκλων με $\lambda = 0.7107 \text{ \AA}$.

2.7 Ανάπτυξη αναλυτικής μεθόδου με το ^{19}F NMR

2.7.1 Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Παρασκευάστηκαν σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο πρότυπα διαλύματα τριφθοροξικού ανυδρίτη και πυριδίνης σε συγκεντρώσεις 1.35 M. Επίσης, παρασκευάστηκαν σε συγκεντρώσεις 0.140 M και 10.0 mM σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο τα πιο κάτω διαλύματα: ολεικού οξέος, α -τοκοφερόλης, β -σιτοστερόλης, τυροσόλης, εικοσανόλης, 1,2- και 1,3-τριγλυκεριδίων, 2,2-διμεθυλοκυκλοεξανόλης, τριτοταγούς βουτανόλης, 2-πεντανόλης, και κυκλοεξανόλης. Όλα τα πρότυπα διαλύματα ποσοτικοποιήθηκαν με βάση το μαλαϊκό οξύ ως πρότυπη ένωση στο ^1H NMR.

2.7.2 Προετοιμασία των προτύπων διαλυμάτων

Σε σωληνάκια NMR μεταφέρθηκαν τα πρότυπα διαλύματα σε όγκους από 10.0 – 200 μL , συγκεντρώσεων 1.40 – 150 mM. Σε κάθε σωλήνα προστέθηκε το πρότυπο (τριτοταγής βουτανόλη ή 2-πεντανόλη, ή κυκλοεξανόλη). Ακολούθησε αντίδραση εστεροποίησης με την προσθήκη τριφθοροξικού ανυδρίτη (50.0 μL , 1.35 mM) και την προσθήκη τριφθοροξικού ανυδρίτη μέχρι τα 500.0 μL . Η προσθήκη του τριφθοροξικού ανυδρίτη πρέπει να γίνεται στον απαγωγό καθώς είναι ατμίζων και διαβρωτικό αντιδραστήριο. Η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε με την προσθήκη βάσης (πυριδίνης ή τριβουτυλο αμίνης, 25-50 μL , 1.35 M σε CDCl_3). Η διαδικασία

επαναλήφθηκε σε τετραπλάσια ποσότητα δειγμάτων. Τέλος, τα δείγματα με την προσθήκη βάσης, εκχυλίστηκαν με κορεσμένο νερό (NaCl, 5x100 μ L). Η οργανική φάση ξηράθηκε με αφυγραντικό υλικό πριν τη φασματοσκοπία ^{19}F NMR. Η διαδικασία επαναλήφθηκε σε τετραπλάσια ποσότητα δειγμάτων.

2.7.3. Φασματοσκοπία ^{19}F NMR

Το φάσμα NMR λήφθηκε με παλμό 90° διάρκειας 16 μ s και με χρόνο μιας συνολικής σάρωσης 2.24 s. Το εύρος του φάσματος ήταν 282.3 ή 470 MHz αντίστοιχα σε όργανο 300 και 500 MHz της Bruker. Οι χημικές μετατοπίσεις των φασμάτων εκφράστηκαν σε κλίμακα δ (ppm). Η περιοχή που μελετήθηκε στα φάσματα ^{19}F NMR εκτείνονται από τα -76.5 ppm μέχρι τα -74.5 ppm. Η βαθμονόμηση του σήματος του ^{19}F NMR έγινε με βάση το CDCl_3 ως πρότυπο.

2.7.4 Ποσοτική ανάλυση και επεξεργασία αποτελεσμάτων

Τα φάσματα ^{19}F NMR που λήφθηκαν επεξεργάστηκαν με το λογισμικό πρόγραμμα (MestreLab Mnova) και χρησιμοποιήθηκε προσομοίωση με αλγόριθμους στα φάσματα για να μειωθεί το κοίλο της χημικής ανταλλαγής του τριφθοροξικού ανυδρίτη με του τριφθοροξικού οξέος παρουσία πυριδίνης, το οποίο εμποδίζει τον ποσοτικό προσδιορισμό. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mgKg^{-1} . Η τελική τιμή δόθηκε ως μέσος όρος των επί μέρους τεσσάρων μετρήσεων.

2.8 Ανάπτυξη μελέτης αλληλεπίδρασης μορίων με 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλυδραζύλη (DPPH)

Οι τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες έχουν την ικανότητα να εξουδετερώνουν ελεύθερες ρίζες, έτσι η *in vitro* κινητική μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης των υποκαταστατών μελετήθηκε με προσδιορισμό της ταχύτητας των αντιδράσεων εξουδετέρωσης ριζών όπως το DPPH \cdot . Επιπρόσθετα, μελετήθηκε και η δημιουργία ελευθέρων ριζών από τα σύμπλοκα του V(IV) και V(V) με τα παράγωγα των τοκοφερολών ως υποκαταστάτες. 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 ενός πρωτονίου, για το σχηματισμό της αντίστοιχης υδραζίνης DPPH-H. Ο ρυθμός της εξαφάνισης του DPPH \cdot ή της αύξησής του μετρήθηκε στα 515 nm σε διάστημα από 1 δευτερόλεπτο μέχρι 30 λεπτά. Τα πρότυπα διαλύματα του DPPH (140 μ M) 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 φυλάχθηκαν 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. Οι σταθερές δευτέρας τάξης υπολογίστηκαν με σκοπό τον προσδιορισμό της ικανότητας δέσμευσης ή επαγωγής ρίζας της ένωσης. Στα πειράματα αυτά, η εξαφάνιση του DPPH από το διάλυμα ακολουθεί κινητική ψευδοπρώτης τάξης, στις συνθήκες της αντίδρασης του $[\text{DPPH}\cdot]_0$ με το $[\text{AH}]_0$, όπου το ένα από τα δύο αντιδρώντα είναι σε μεγάλη περίσσεια συγκριτικά με το άλλο ($[\text{DPPH}\cdot]_0 \ll [(\text{AH})]_0$), έτσι ώστε η συγκέντρωση του δευτερεύοντος συστατικού να μειώνεται εκθετικά. Κινητική ψευδοπρώτης τάξης ακολουθεί και η επαγωγή των ριζών από τα σύμπλοκα. Η συγκέντρωση της ρίζας σε χρόνο t είναι ίση με $[\text{DPPH}\cdot]$, ενώ σε χρόνο μηδέν είναι ίση με $[\text{DPPH}\cdot]_0$ και η σταθερά ψευδοπρώτης τάξης ίση με k_{obsd} .

Η κινητική σταθερά ψευδοπρώτης τάξης k_{obsd} υπολογίστηκε από την κλίση της γραφικής παράστασης της $[\text{DPPH}\cdot]$ συναρτήσεως του χρόνου σε 6 διαφορετικές συγκεντρώσεις για κάθε αντιοξειδωτικό. Η κινητική αυτή σταθερά βρέθηκε να αυξάνεται γραμμικά με τη συγκέντρωση του αντιοξειδωτικού^[242].

2.9 Ανάπτυξη μελέτης αλληλεπίδρασης μορίων με BSA

Παρασκευάστηκε διάλυμα πρωτεΐνης αλβουμίνης BSA ($1 \times 10^{-4} \text{M}$) σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris-HCl και τοποθετήθηκε στους 4°C μέχρι το πείραμα. Επίσης, παρασκευάστηκαν διαλύματα των συμπλόκων βαναδίου ($2 \times 10^{-4} \text{M}$) σε αιθανόλη. Σε 11 δοκιμαστικούς των 5 mL προστέθηκαν 300 μL από το πρότυπο διάλυμα της πρωτεΐνης. Αφού αφέθηκαν να ισορροπήσουν προστέθηκε ποσότητες των συμπλοκων ενώσεων (0, 2.5, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40 και 50 μL) και διαλύθηκαν σε 5 ml ρυθμιστικού διαλύματος. Οι μετρήσεις έγιναν στο φθορισμόμετρο xe-900 Edinburg Instruments με λex 290nm για παρακολούθηση της απόσβεσης φθορισμού από τα παράγωγα μόρια της τοκοφερόλης και τα σύμπλοκα με τα ιόντα βαναδίου. Τα αποτελέσματα ερμηνεύτηκαν με την εξίσωση Stern-Volmer (1) με βάση τη βιβλιογραφία^[243]:

$$F^{\circ}/F=1+K_{SV}[Q]=1+K_q\tau_o[Q] \quad (1)$$

Όπου το F° και F αναφέρονται στις εντάσεις φθορισμού της πρωτεΐνης με και χωρίς την προσθήκη της ουσίας αντίστοιχα. Το K_{SV} είναι η σταθερά Stern-Volmer σε μονάδες $L mol^{-1}$ και $[Q]$ είναι η συγκέντρωση της ουσίας που προκαλεί την απόσβεση σε $L mol^{-1}$. Η σταθερά K_{SV} προσδιορίστηκε με γράφημα F° / F vs $[Q]$. Ο χρόνος τ_o είναι ο μέσος χρόνος ζωής του σήματος της πρωτεΐνης χωρίς προσθήκη οποιασδήποτε ουσίας και είναι συνήθως ίσος με 10^{-8} s. Η σταθερά ένταξης (K) και ο αριθμός των περιοχών ένταξης (n) υπολογίστηκαν με διπλή λογαρίθμηση της ουσίας απόσβεσης φθορισμού με βάση τη βιβλιογραφία^[225] και σύμφωνα με την εξίσωση 2:

$$\log[(F_o-F)/F]=\log K + n\log[Q] \quad (2)$$

2.10 Θεωρητικό Υπόβαθρο

2.10.1 Μονοδιάστατη φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού

Το βασικό πείραμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) περιλαμβάνει μία χρονοκαθυστέρηση η οποία επιτρέπει στα spin των πυρήνων να επανέλθουν σε χημική ισορροπία. Αυτή η χρονοκαθυστέρηση ονομάζεται χρόνος αποδιέγερσης (relaxation delay, t_r), και έχει διάρκεια συνήθως μερικών δευτερολέπτων. Στη συνέχεια, οι πυρήνες βάλονται από μίας υψηλούς ισχύος ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, η οποία δεν διαρκεί περισσότερο από 20 μ s. Με αυτό τον τρόπο εκπέμπεται σήμα ελεύθερης επαγωγικής απόσβεσης, γνωστό ως FID, το οποίο καταγράφεται σε ένα εύρος χρόνου που ονομάζεται χρόνος απόκτησης (acquisition time, t_{acq}) και διαρκεί συνήθως από 50 ms μέχρι μερικά δευτερόλεπτα. Τελικά, λαμβάνει χώρα ένας μετασχηματισμός κατά Fourier του επαγωγικού σήματος με αποτέλεσμα τη λήψη του γνωστού φάσματος του NMR. Ο μετασχηματισμός Fourier καταγράφεται ως η ένταση f (Hz) = FID* $\sin(2\pi ft)$ (όπου FID* $\sin(2\pi ft)$ το εμβαδό περιοχής). Το ολοκλήρωμα αυτής της συνάρτησης έχει ως εξής: $S_{\text{φάσματος}}(f) =$, όπου $S_{\text{φάσματος}}$ η ένταση της συχνότητας, και το εύρος του σήματος ελεύθερης επαγωγικής απόσβεσης. Τα f και t αναφέρονται σε συχνότητα και χρόνο αντίστοιχα. Το ολοκλήρωμα είναι σε σχέση με τον χρόνο όπου είναι και οι οριζόντιοι άξονες του FID. Τέλος, η μαθηματική έκφραση του ολοκληρώματος για το μετασχηματισμό Fourier είναι: $S_{\text{φάσματος}}(f) =$, όπου t_i αναφέρεται στο χρόνο του συγκεκριμένου

δεδομένου που υπολογίζει και , είναι η τιμή του FID που υπολογίζεται σε αυτό τον χρόνο. N είναι ο συνολικός αριθμός των σημείων των δεδομένων^[155,156].

Μια επιπρόσθετη προσέγγιση όσον αφορά τη μονοδιάστατη φασματοσκοπία NMR είναι αυτή των ενεργειακών επιπέδων, όπου εμφανίζονται οι ενεργειακές μεταπτώσεις που λαμβάνουν χώρα σε ένα μόριο και οι οποίες είναι αποτέλεσμα του κβαντισμού της ενέργειας. Το μόριο απορροφώντας φωτόνια μεταβαίνει σε διαφορετική ενεργειακή στάθμη διαχωρίζοντας έτσι ποσοτικά τη διεγερμένη από τη θεμελιώδη κατάσταση.

Ιστορικά ο πρώτος πυρήνας, ο οποίος έχει περισσότερο μελετηθεί στο NMR, είναι το πρωτόνιο. Παρόλα αυτά η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού εξετάζει και άλλους πυρήνες όπως αυτών του ^{13}C , ^{19}F , ^{51}V και άλλους, όπου κατατάσσονται στο ετεροπυρηνικό NMR και χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διατριβή.

Η παρατήρηση των συζεύξεων δίνει πολλές πληροφορίες που έχουν να κάνουν με τη δομή ενός μορίου. Υπάρχουν δυο ειδών βαθμιδωτές συζεύξεις: Οι ομοπυρηνικές οι οποίες λαμβάνουν χώρα μεταξύ ιδίου τύπου πυρήνα και ετεροπυρηνικές συζεύξεις που λαμβάνουν χώρα μεταξύ πυρήνων διαφορετικού τύπου. Οι συζεύξεις αφορούν σήματα που λαμβάνονται λόγω του χημικού δεσμού στο μόριο μεταξύ των πυρήνων των ατόμων του. Σε ποιοτικές αναλύσεις οι συζεύξεις είναι πολύ σημαντικές για να κατανοηθεί το χημικό περιβάλλον και αυτό πραγματοποιείται με τη μέτρηση της τιμής J (σταθερά σύζευξης), η οποία είναι ανεξάρτητη από την ισχύ του μαγνητικού πεδίου του κάθε οργάνου και μετρείται σε μονάδες Hz . Όπου απαιτείται ποσοτική ανάλυση, οι συζεύξεις, και ιδιαίτερα όταν είναι πολλαπλές, προκαλούν προβλήματα στην εγκυρότητα των αποτελεσμάτων. Για αυτό το λόγο χρησιμοποιούνται ειδικές τεχνικές που καθιστούν το NMR ισχυρό όργανο ποσοτικής ανάλυσης, όπως η χρήση ηλεκτρομαγνητικών παλμών ενδιάμεσα του χρόνου αποδιέγερσης όπου και θεωρείται μία από τις πιο διαδεδομένες τεχνικές αποσύζευξης πυρήνων.

Η επεξεργασία ενός φάσματος NMR για τη λήψη πληροφοριών ξεκινά με τη μετατροπή της συχνότητας MHz σε ppm με την πιο κάτω εξίσωση: $\delta(\text{ppm})=10^6 \times \frac{\nu - \nu_{ref}}{\nu_{ref}}$, όπου ν_{ref} είναι η συχνότητα της κορυφής από την κορυφή της πρότυπης ένωσης. Στη συνέχεια, με το ολοκλήρωμα των κορυφών υπολογίζεται ο

αριθμός των πυρήνων και με αυτό τον τρόπο συγκρίνονται ιδίου ή διαφορετικής έντασης κορυφές.

2.10.2 Φασματοσκοπία NMR δύο διαστάσεων

Η δισδιάστατη φασματοσκοπία NMR χρησιμοποιείται ευρέως για προσδιορισμό δομής μορίων με πολυπλοκότερες δομές όπως βιομόρια συμπεριλαμβανομένων πρωτεϊνών και πολυνουκλεοτιδίων. Η βασική ιδέα πίσω από τη φασματοσκοπία NMR δύο διαστάσεων είναι αρκετά απλή. Το πείραμα ξεκινά με μία προπαρασκευαστική περίοδο κατά την οποία η μαγνητική ισορροπία μετατρέπεται σε ένα είδος συνοχής που εξελίσσεται σε χρόνο t_1 . Η προπαρασκευαστική περίοδος αφορά ένα παλμό 90° , ο οποίος προκαλεί εγκάρσια μαγνήτιση (ενιαία κβαντική συνοχή). Η περίοδος εξέλιξης του πειράματος δεν είναι σταθερού χρόνου αλλά αυξανόμενου συστηματικά σε μία σειρά συνεχόμενων πειραμάτων. Στη συνέχεια, ακολουθεί η περίοδος ανάμειξης κατά την οποία η μαγνήτιση η οποία βρίσκεται στο τέλος της χρονικής περιόδου t_1 τροποποιείται σε ένα ανιχνεύσιμο σήμα, το οποίο μπορεί να καταγραφεί σε χρόνο t_2 (περίοδος ανίχνευσης)^[157].

2.10.3 Φθόριο 19 NMR (^{19}F NMR)

Τις περισσότερες φορές, η χρήση του φθορίου NMR (F^{19} -NMR) γίνεται σε περιπτώσεις όπου το πρωτόνιο (^1H) NMR αδυνατεί να δώσει λύση στο πρόβλημα της αλληλοεπικάλυψης των κορυφών. Επιπρόσθετα, ο πυρήνας του ^{19}F πλεονεκτεί στο γεγονός ότι βρίσκεται σε 100% φυσική αφθονία και παρουσιάζει γυρομαγνητικό λόγο παραπλήσιο με αυτό του πυρήνα ^1H . Αυτά τα χαρακτηριστικά σε συνδυασμό με τη μεγάλη ανισοτροπία της χημικής του μετατόπισης, αυξάνουν την ευαισθησία του πειράματος και την ικανότητα ανίχνευσης αλλαγών στο μοριακό βάρος της ένωσης το οποίο οφείλεται σε αλληλεπιδράσεις με άλλα μόρια. Τα βιολογικά συστήματα συνήθως χρειάζονται πολύ εξειδικευμένα ρυθμιστικά διαλύματα για να σταθεροποιηθούν και αυτό προκαλεί, τις περισσότερες φορές, προβλήματα δυναμικού εύρους του φάσματος και επικαλύψεις κορυφών από τα ισχυρά σήματα των κορυφών των ρυθμιστικών διαλυμάτων και των διαλυτών. Αυτά τα προβλήματα αυξάνονται όταν μελετούνται οι αλληλεπιδράσεις σε λιπιδικά μόρια των κυτταρικών μεμβρανών. Έτσι, η επίλυση αυτών των προβλημάτων γίνεται εφικτή με την

ιχνηθέτηση αυτών των μορίων με μόρια τα οποία περιέχουν φθόριο και γίνονται ενεργά στη φασματοσκοπία ^{19}F NMR.^[158]

2.10.4 Βανάδιο ^{51}V NMR (^{51}V NMR), Παραμαγνητικό NMR

Ο πυρήνας του ^{51}V NMR έχει υψηλή φυσική αφθονία της τάξης του 99.75% και υψηλή μαγνητική επιδεκτικότητα, περίπου 2000 φορές περισσότερο από αυτή του ^{13}C . Έχοντας spin ίσο με 7/2, ανήκει στους τετραπολικούς πυρήνες, με σχετικά συγκρίσιμη χαμηλή τετραπολική επιδεκτικότητα, οι οποίοι δίνουν οξείες κορυφές υψηλής διακριτικής ικανότητας ακόμα και σε σύμπλοκα με διαφορετική συμμετρία από την κυβική, επιτρέποντας τις περισσότερες φορές την επίλυση των συζεύξεων spin-spin. Οι χημικές μετατοπίσεις του ^{51}V NMR εκτείνονται σε εύρος 5000 ppm και για αυτό το λόγο είναι ορατές ακόμα και μικρές αλλαγές στην ηλεκτρονιακή διαμόρφωση. Οι χημικές μετατοπίσεις των ιόντων βαναδίου επηρεάζονται πολύ από τις αλλαγές στη θερμοκρασία, τη συγκέντρωση και τον διαλύτη, και για αυτό το λόγο είναι εξαιρετικό εργαλείο για τους χαρακτηρισμούς οργανοβαναδικών ενώσεων.^[159]

2.11 Φασματοσκοπία ορατού-υπεριώδους

Η φασματοσκοπία απορρόφησης βασίζεται στην ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία στην περιοχή μήκος κύματος 160 έως 780 nm. Η φασματοσκοπία μοριακής απορρόφησης πραγματοποιείται με τη μέτρηση της διαπερατότητας, T , ή της απορρόφησης, A , διαλυμάτων που τοποθετούνται σε διαφανείς κυψελίδες οπτικής διαδρομής b/cm . Συνήθως, η συγκέντρωση, C , ενός αναλυτή που απορροφάει συνδέεται γραμμικά με την απορρόφηση σύμφωνα με την εξίσωση:

$A = -\log T = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon bc$. Οι όροι P_0 και P αναφέρονται στην ισχύ της ακτινοβολίας μετά τη διέλευσή της από την κυψελίδα που περιέχει τον διαλύτη και τον αναλύτη, αντίστοιχα.

2.12 Φασματοσκοπία υπερύθρου

Οι σχετικές θέσεις των ατόμων σε ένα μόριο δεν είναι απόλυτα καθορισμένες αλλά κυμαίνονται συνεχώς ως συνέπεια των πολλών διαφορετικών ειδών δονήσεων και περιστροφών γύρω από τους δεσμούς τους με το μόριο. Υπάρχουν δύο βασικές μορφές δονήσεων: δονήσεις έκτασης (stretching) και δονήσεις κάμψης (bending). Η δόνηση έκτασης χαρακτηρίζεται από μία συνολική μεταβολή των αποστάσεων μεταξύ των ατόμων κατά μήκος του άξονα του δεσμού τους. Η δόνηση κάμψης

χαρακτηρίζεται από αλλαγή στη γωνία μεταξύ δύο δεσμών και μπορεί να είναι τεσσάρων ειδών: ψαλιδοειδής (scissoring), λικνιζόμενη (rocking), παλλόμενη (wagging), ή συστρεφόμενη (twisting). Οι απομονωμένες δονήσεις εκπροσωπούνται από ένα απλό μηχανικό μοντέλο που ονομάζεται αρμονικός ταλαντωτής (harmonic oscillator). Τα χαρακτηριστικά μίας ατομικής δόνησης έκτασης προσεγγίζονται με τη δόνηση μίας μάζας προσκολλημένης σε ελατήριο το οποίο κρέμεται από ένα σταθερό σημείο. Εάν η μάζα μετατοπισθεί κατά μήκος του άξονα του ελατηρίου κατά μία απόσταση y από τη θέση της ισορροπίας της, η δύναμη επαναφοράς F είναι ανάλογη της μετατόπισης (νόμος του Hook), δηλαδή, $F=-ky$, όπου k η σταθερά του ελατηρίου και το αρνητικό πρόσημο δηλώνει την αντίθετη κατεύθυνση της δύναμης, τείνοντας να επαναφέρει τη μάζα στην αρχική θέση ισορροπίας της.

2.13 Ηλεκτροχημεία-Κυκλική βολταμετρία

Η βολταμετρία αποτελείται από μία ομάδα ηλεκτροαναλυτικών τεχνικών στις οποίες η πληροφορία για τον αναλυτή προέρχεται από τη μέτρηση του ηλεκτρικού ρεύματος ως συνάρτηση ενός εφαρμοζόμενου δυναμικού σε συνθήκες που ευνοούν την πόλωση ενός ηλεκτροδίου εργασίας. Χρησιμοποιείται και για εργασίες μη αναλυτικού χαρακτήρα, όπως θεμελιώδεις μελέτες οξειδοαναγωγικών διεργασιών σε διάφορα μέσα και μηχανισμούς μεταφοράς ηλεκτρονίων σε χημικώς τροποποιημένες επιφάνειες ηλεκτροδίων. Στην κυκλική βολταμετρία, καταγράφεται το ρεύμα το οποίο διαρρέει ένα μικρό στατικό ηλεκτρόδιο σε ακίνητο διάλυμα, όταν στο ηλεκτρόδιο επιβάλλεται μια τριγωνική κυματομορφή δυναμικού.

Το στοιχείο αποτελείται από τρία ηλεκτρόδια βυθισμένα σε διάλυμα το οποίο περιέχει τον αναλυτή και μία περίσσεια ενός αδρανούς ηλεκτρολύτη, ο οποίος αναφέρεται ως φέρων ηλεκτρολύτης (supporting electrolyte). Ένα από τα τρία ηλεκτρόδια είναι το μικροηλεκτρόδιο, ή ηλεκτρόδιο εργασίας (working electrode), του οποίου το δυναμικό μεταβάλλεται γραμμικά με το χρόνο. Το δεύτερο ηλεκτρόδιο είναι το ηλεκτρόδιο αναφοράς (συνήθως κορεσμένο ηλεκτρόδιο καλομέλανα ή ηλεκτρόδιο αργύρου/χλωριούχου αργύρου) του οποίου το δυναμικό παραμένει σταθερό σε όλη τη διάρκεια του πειράματος. Το τρίτο ηλεκτρόδιο, είναι ένα αντι-ηλεκτρόδιο (counter electrode) το οποίο συνήθως είναι ένα απλό σπείραμα σύρματος λευκόχρυσου ή μία επιφάνεια υδραργύρου, τα οποία απλώς εξυπηρετούν στην αγωγή του ηλεκτρισμού, από την πηγή του σήματος μέσω του διαλύματος προς το μικροηλεκτρόδιο.

Στην κυκλική βολταμετρία (cyclic voltammetry, CV) καταγράφεται το ρεύμα το οποίο διαρρέει ένα μικρό στατικό ηλεκτρόδιο σε ακίνητο διάλυμα, όταν στο ηλεκτρόδιο επιβάλλεται μία τριγωνική μορφή δυναμικού. Σάρωση προς την κατεύθυνση περισσότερο αρνητικών δυναμικών ονομάζεται σάρωση ορθής φοράς (forward scan), ενώ σάρωση προς την αντίθετη κατεύθυνση ονομάζεται σάρωση ανάστροφης φοράς (reverse scan).

2.14 Κρυσταλλογραφία XRD

Οι ακτίνες X παράγονται με την επιβράδυνση ηλεκτρονίων υψηλής ενέργειας ή κατά τις ηλεκτρονιακές μεταπτώσεις στις εσωτερικές στοιβάδες των ατόμων. Γενικότερα είναι ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία μικρού μήκους κύματος η οποία εκτείνεται από την περιοχή των 10^{-5} Å μέχρι την περιοχή των 100 Å, αν και τις περισσότερες φορές περιορίζεται στην περιοχή μεταξύ των 0.1 μέχρι 25 Å. Ουσιαστικά βασίζεται στην μέτρηση εκπομπής, απορρόφησης, σκέδασης, φθορισμού και περίθλασης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας. Για αναλυτικούς σκοπούς λαμβάνονται με τέσσερις τρόπους: (i) με βομβαρδισμό ενός μεταλλικού στόχου με δέσμη ηλεκτρονίων υψηλής ενέργειας, (ii) με έκθεση μιας ουσίας σε πρωτογενή δέσμη ακτίνων X με στόχο τη δημιουργία δευτερογενούς δέσμης φθορισμού ακτίνων X, (iii) με χρήση ραδιενεργού πηγής της οποίας ο μηχανισμός διάσπασης δημιουργεί εκπομπή ακτίνων X και (iv) από πηγές ακτινοβολίας σύγχροτου.

Η περίθλαση που εμφανίζεται σε ένα κρυσταλλικό στερεό προκύπτει από την αλληλεπίδραση των ακτίνων X με τα ηλεκτρόνια του κρυσταλλικού στερεού. Καθώς οι ακτίνες προσβάλλουν τις τρισδιάστατες δομές των κρυστάλλων προκαλούν δόνηση των ηλεκτρονίων, τα οποία συναντούν στη διαδρομή τους, με συχνότητα ίδια με αυτή της συγκεκριμένης ακτινοβολίας X. Τα δονούμενα ηλεκτρόνια του κρυσταλλικού πλέγματος απορροφούν μερική από την ενέργεια των ακτίνων X και ενεργούν ως πηγή νέων κυμάτων, εκπέμποντας ενέργεια του ίδιου μήκους κύματος. Η διαδικασία λέγεται διασπορά, ενώ, η συνεταιριστική διασπορά από ένα τρισδιάστατο πλέγμα είναι γνωστή ως περίθλαση και εκφράζεται από την εξίσωση Bragg:

$$n\lambda = 2d \sin \theta$$

με απαραίτητη προϋπόθεση, η τιμή της γωνίας πρόσπτωσης να ικανοποιείται από τη σχέση $\sin \theta = n\lambda/2d$.^[161-164]

2.15 Φασματοσκοπία EPR (ηλεκτρονικού παραμαγνητικού συντονισμού)

Το spin του ηλεκτρονίου χαρακτηρίζεται από δύο κβαντικούς αριθμούς που διαφέρουν μεταξύ τους κατά μία ακέραια μονάδα, $m_s = \pm 1/2$ (μαγνητικός κβαντικός αριθμός ηλεκτρονικού spin). Σύμφωνα λοιπόν με τη θεωρία της κβαντομηχανικής, οι δύο κατευθύνσεις των καταστάσεων του spin έχουν ίσες τιμές (eigen values), $m_s h/2\pi$, όπου $m_s = \pm 1/2$, και h η παγκόσμια σταθερά του Planck ($h = 6,6256 \times 10^{-27}$ J sec) από την εξίσωση $E = h\nu$, (E η ακτινοβολούμενη κβαντική ενέργεια και ν η συχνότητα). Οι δύο τιμές του m_s σημαίνει ότι το ηλεκτρόνιο με $+1/2$ βρίσκεται στην κατάσταση α και $-1/2$ στην κατάσταση β . Από πειράματα έχει βρεθεί ότι η μαγνητική ροπή του spin του ηλεκτρονίου (μ_s) και το άνυσμά του (μ_{sz}) δίδονται από τις εξισώσεις: $\mu_s = g_e \beta_e \sqrt{s(s+1)}$, $\mu_{sz} = -g_e \beta_e m_s = \gamma_s m_s h/2\pi$ όπου $g_e \approx 2$ (Lande splitting factor, φασματοσκοπικός συντελεστής διάσπασης Lande).

Όταν εφαρμοσθεί εξωτερικό μαγνητικό πεδίο B_0 τότε το ηλεκτρόνιο αποκτά ενέργεια που καλείται ενέργεια Zeeman (energy Zeeman):

$E = -\mu_s B_0$, $E = -\mu_s B_0 \cos\Theta = -\mu_{sz} B_0$ και τελικά η εξίσωση γίνεται:

$E = -\gamma_s /2\pi m_s B_0 = g_e \beta_e m_s B_0$ (όπου Θ είναι η γωνία μεταξύ του ανύσματος μ_s και της προβολής μ_{sz} πάνω στον άξονα του εξωτερικού μαγνητικού πεδίου B_0). Για τις δύο καταστάσεις που υπάρχουν λόγω του μαγνητικού κβαντικού αριθμού του spin $m_s = +1/2$ και $m_s = -1/2$ θα υπάρξει μια διαφορά ενέργειας: $\Delta E = g_e \beta_e B_0$. Αυτό το φαινόμενο σημαίνει ότι το εξωτερικό μαγνητικό πεδίο B_0 διέσπασε τις εκφυλισμένες καταστάσεις α και β των δύο καταστάσεων του spin. Εάν στο σύστημα εφαρμοσθεί ένα ταλαντευμένο μαγνητικό πεδίο B_1 , που εξασκείται από μία ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία με συχνότητα ω , κάθετα ως προς το στατικό μαγνητικό πεδίο, έτσι ώστε να είναι $B_1 \perp B_0$, ώστε να ισχύει:

$h\omega /2\pi = h\nu_0 = g_e \beta_e B_0 = \Delta E$, τότε προκαλείται μία μετάβαση ανάμεσα στα επίπεδα α και β , που καλείται ηλεκτρονικός παραμαγνητικός συντονισμός. Η κατανομή των δύο πληθυσμών στα δύο ενεργειακά επίπεδα δίδεται από την εξίσωση Boltzmann: $n_\alpha/n_\beta = \exp [-\Delta E/kT]$. Από πρακτική άποψη, στην φασματοσκοπία ΗΠΣ οι συνθήκες συντονισμού για τη συχνότητα διατηρείται σταθερή με μία πηγή μικροκυμάτων σε περίπου 9 GHz, ενώ, το εξωτερικό μαγνητικό πεδίο μεταβάλλεται.^[160,161]

2.16 Φασματοσκοπία φθορισμού

Μία μοριακή ηλεκτρονιακή κατάσταση στην οποία όλα τα spin είναι συζευγμένα καλείται απλή (singlet) κατάσταση. Όταν το μόριο με απλή ηλεκτρονιακή κατάσταση εκτεθεί σε ένα μαγνητικό πεδίο δεν παρατηρείται σχάση των ηλεκτρονικών ενεργειακών πεδίων. Αντίθετα, η βασική κατάσταση μίας ελεύθερης ρίζας είναι μία διπλή (doublet) κατάσταση επειδή το μονό ηλεκτρόνιο μπορεί να αποκτήσει δύο προσανατολισμούς σε μαγνητικό πεδίο, το οποίο διαχωρίζει το σύστημα σε δύο ελαφρά διαφορετικές ενεργειακές καταστάσεις όπως παρουσιάζεται στο σχήμα 2.1. Όταν ένα από τα συζευγμένα ηλεκτρόνια ενός μορίου διεγείρεται σε υψηλότερα ενεργειακά επίπεδα σχηματίζεται μια απλή ή μια τριπλή (triplet) κατάσταση. Ωστόσο, πρέπει να σημειωθεί ότι η τριπλή διεγερμένη κατάσταση είναι ενεργειακά χαμηλότερη από την αντίστοιχη απλή διεγερμένη. Ένα ηλεκτρονικά διεγερμένο μόριο επιστρέφει συνήθως στην κατώτατη διεγερμένη κατάσταση με μία σειρά τυχαίων δονητικών επαναφορών και εσωτερικών μετατροπών που δεν προκαλούν εκπομπή ακτινοβολίας. Έτσι, ο φθορισμός συνήθετα είναι αποτέλεσμα μετάπτωσης από το κατώτατο δονητικό επίπεδο της πρώτης διεγερμένης ηλεκτρονιακής κατάστασης σε ένα από τα δονητικά επίπεδα της βασικής ηλεκτρονιακής κατάστασης. Για τις περισσότερες φθορίζουσες ενώσεις, η ακτινοβολία παράγεται με μεταπτώσεις $n \rightarrow \pi^*$ ή $\pi \rightarrow \pi^*$, ανάλογα με το ποια από αυτές είναι λιγότερο ενεργητική.

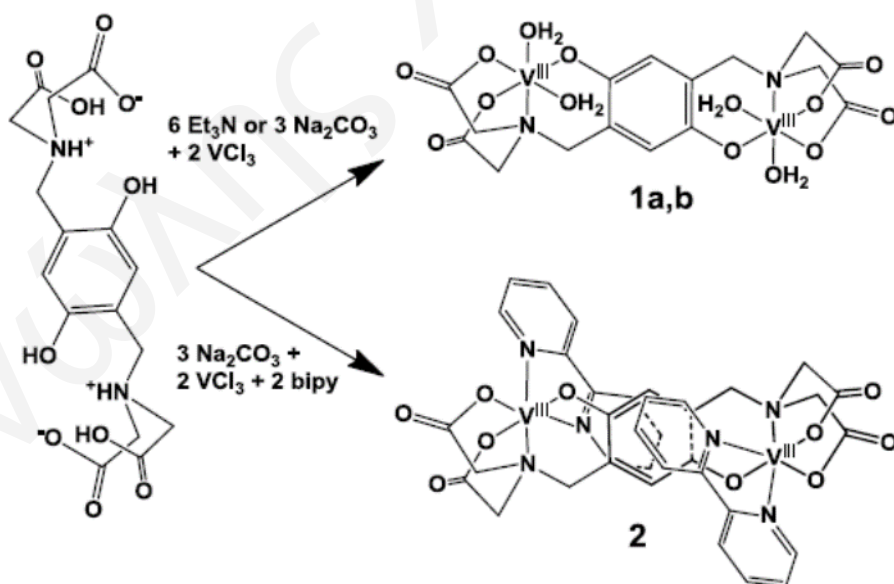


Σχήμα 2.1: Βασική και διεγερμένη κατάσταση στο φθορισμό.

3. Αποτελέσματα και Συζήτηση

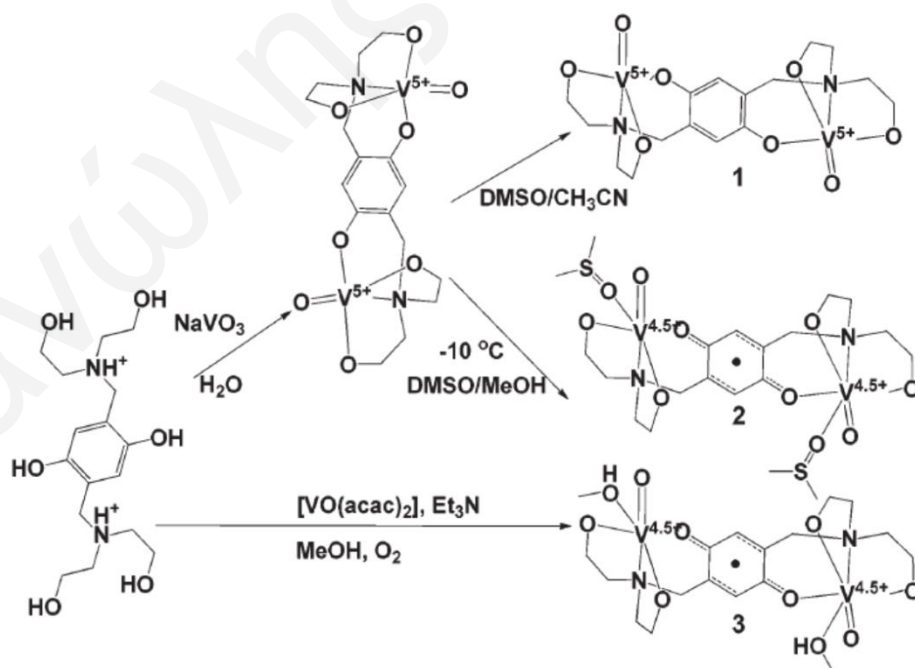
3.1 Σύνθεση Σύμπλοκων ενώσεων V (III/IV/V)

Η σύνθεση των συμπλοκών του V (III) απεικονίζεται στο σχήμα 1.12. Η αντίδραση του VCl_3 με τον αποπρωτονιομένο υποκαταστάτη $bicah^{6-}$ σε H_2O , έδωσε το διπυρηνικό σύμπλοκο του V(III) το **C₁**. Παρά το γεγονός ότι το σύμπλοκο είναι ουδέτερο, εντούτοις η προσθήκη διαφορετικού τύπου βάσης, τριεθυλαμίνης ή Na_2CO_3 , για την αποπρωτονίωση του H_6bicah έδωσε δύο διαφορετικά σύμπλοκα μόρια με διαφορετικό αριθμό μορίων νερού στο κρυσταλλικό πλέγμα. Το **C_{1a}** με $3H_2O$ και το **C_{1b}** με $1H_2O$. Στη συνέχεια, με προσθήκη του υποκαταστάτη *bipy* στο μίγμα αντίδρασης του VCl_3 με τον $bicah^{6-}$ έδωσε το **C₂**, το οποίο περιέχει έναν υποκαταστάτη *bipy* ενταγμένο σε κάθε ιόν βαναδίου, στη θέση των δύο μορίων H_2O , που υπήρχαν στο **C₁** (σχήμα 3.1). Τα σύμπλοκα του V(III) είναι ευαίσθητα στην οξείδωση από το ατμοσφαιρικό οξυγόνο ακόμα και όταν βρίσκονται σε στερεή κατάσταση και για αυτό το λόγο πρέπει πάντοτε να κρατούνται κάτω από αδρανείς συνθήκες. Τα σύμπλοκα αυτά είναι μερικώς διαλυτά στο H_2O .



Σχήμα 3.1: Τα σύμπλοκα του V(III) **C_{1a,b}** και **C₂**.

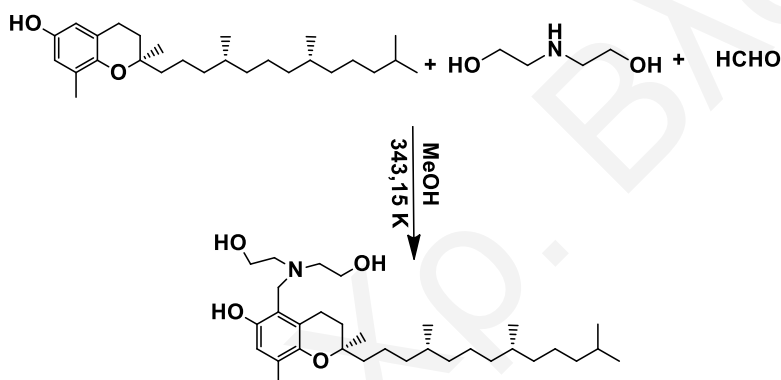
Η αντίδραση υδατικού διαλύματος NaVO_3 και του υποκατάστατη $\text{H}_6\text{bdeah}\cdot 2\text{HCl}$ σε αναλογία (2:1), έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό διαλυμάτων χρώματος γκριζού και σκούρου μπλε με μεταβολή της θερμοκρασίας. Οι φυσικές ιδιότητες και η ανάλυση του στερεού, έδειξαν ότι σχηματίστηκε μίγμα της ένωσης **C4**, και ενός σύμπλοκου βαναδίου παρόμοιας δομής με το **C5** και **C6**. Η ένωση είναι δυσδιάλυτη σχεδόν σε όλους τους διαλύτες εκτός από ζεστό DMSO και λιγότερο διαλυτή σε ζεστό DMF. Το κόκκινου χρώματος σύμπλοκο **C4**, απομονώνεται εύκολα με ανακρυστάλλωση σε μίγμα διαλυτών DMSO- CH_3CN . Παρόλα αυτά, με προσθήκη μεθανόλης σε διάλυμα DMSO, του συμπλόκου σε θερμοκρασία δωματίου, δημιουργούνται σκούροι μπλε κρύσταλλοι του συμπλόκου **C5** και **C6**. Οι κρύσταλλοι σκούρου μπλε χρώματος, είναι το κυρίως ίζημα του διαλύματος σε θερμοκρασίες κάτω των -10°C . Ο διαχωρισμός των ενώσεων **C4** και **C5** δεν είναι εύκολος λόγω του ότι το μέγεθος των κρυστάλλων είναι πολύ μικρό και το σχήμα τους είναι περίπου το ίδιο. Παρόλα αυτά η ένωση **C5** μπορεί να συντεθεί και με εναλλακτικό τρόπο σύνθεσης αντιδρώντας $[\text{VO}(\text{acac})_2]$ μαζί με το H_6bdeah (2:1) σε μεθανόλη. Σε αυτή την αντίδραση, τα ιόντα του V^{V} σχηματίζονται με αργή οξείδωση του $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}^{2+}$ από το ατμοσφαιρικό οξυγόνο. Όλα τα σύμπλοκα εμφανίζονται σταθερά στην στερεή κατάσταση, ενώ σε ζεστό DMSO εμφανίζουν μερική διάσπαση. Η σύνθεση των συμπλόκων **C4**, **C5** και **C6**, απεικονίζεται στο σχήμα 3.2.



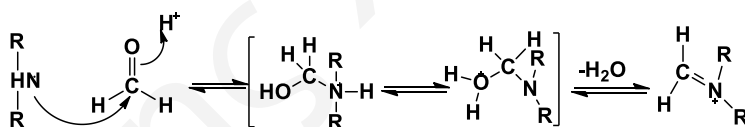
Σχήμα 3.2: Στρατηγική σύνθεσης των συμπλόκων **C4**, **C5**, **C6**.

Η σύνθεση των υποκατεστημένων φυσικών μορίων τοκοφερόλης που περιέχουν αμινικούς υποκαταστάτες (διαιθανολαμίνη, διπικολυλαμίνη και ιμινοδιοξικό οξύ) πραγματοποιήθηκε με αντίδραση Mannich, σε διαλύτες μεθανόλη και αιθανόλη. Η αντίδραση αυτή αναφέρεται στη συμπύκνωση αμμωνίας ή πρωτοταγούς/δευτεροταγούς αμίνης με μια αλδεύδη (φορμαλδεύδη). Στο σχήμα 3.3 , παρουσιάζονται συνοπτικά οι αντιδράσεις σύνθεσης του οργανικού παραγώγου της διαιθανολαμίνης με βάση τη δ-τοκοφερόλη, ο μηχανισμός της αντίδρασης Mannich, και οι δομές των άλλων δύο αμινικών υποκαταστατών, διπικολυλαμίνη και ιμινοδιοξικό οξύ.

α)



β)



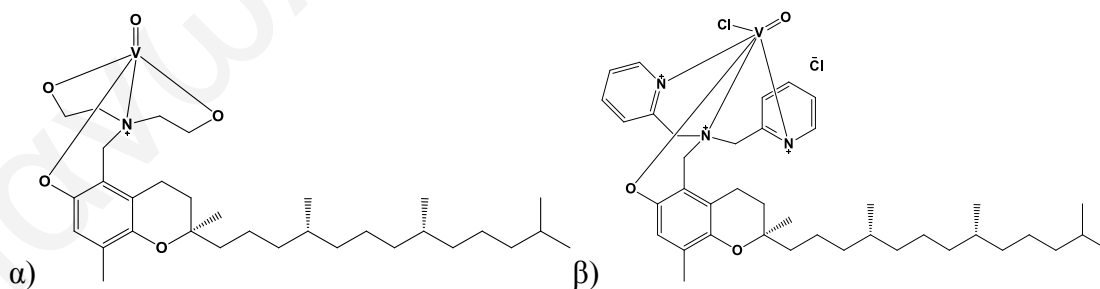
γ)



Σχήμα 3.3.: α) Συνθετική πορεία υποκατεστημένου παραγώγου δ- τοκοφερόλης, β) απλοποιημένος μηχανισμός αντίδρασης Mannich και γ) από αριστερά προς τα δεξιά: οι οργανικοί υποκαταστάτες διπικολυλαμίνη και ιμινοδιοξικό οξύ.

Η σύνθεση των οργανικών υποκαταστατών επιβεβαιώθηκε με φασματοσκοπία ^1H NMR. Η υποκατάσταση έγινε στις λιγότερο στερεοχημικά παρεμποδισμένες θέσεις. Οι αντιδράσεις υποκατάστασης πραγματοποιούνται σχετικά εύκολα όπως επίσης εύκολα πραγματοποιούνται ανεπιθύμητες παράπλευρες αντιδράσεις που δημιουργούν πολυμερικά προϊόντα τοκοφερόλης με αποτέλεσμα η λύση της στήλης χρωματογραφίας να κρίνεται απαραίτητη. Τα μόρια που παράγονται είναι αμφίφυλα, γεγονός που τα κάνει ικανά να μπορούν να διαπεράσουν την κυτταρική μεμβράνη και να δράσουν εντός αυτής. Η διαλυτότητα των μορίων αυτών κυμαίνεται σε ένα μεγάλο εύρος πολικότητας διαλυτών, από χλωροφόρμιο, μεθανόλη, ακετονιτρίλιο και οξικό αιθυλεστέρα. Η μελέτη αυτών των οργανικών μορίων ολοκληρώθηκε με μελέτες δέσμευσης ελευθέρων ριζών με φασματοσκοπία UV-vis και με την απόσβεση του σήματος φθορισμού της αλβουμίνης με φασματοσκοπία φθορισμού..

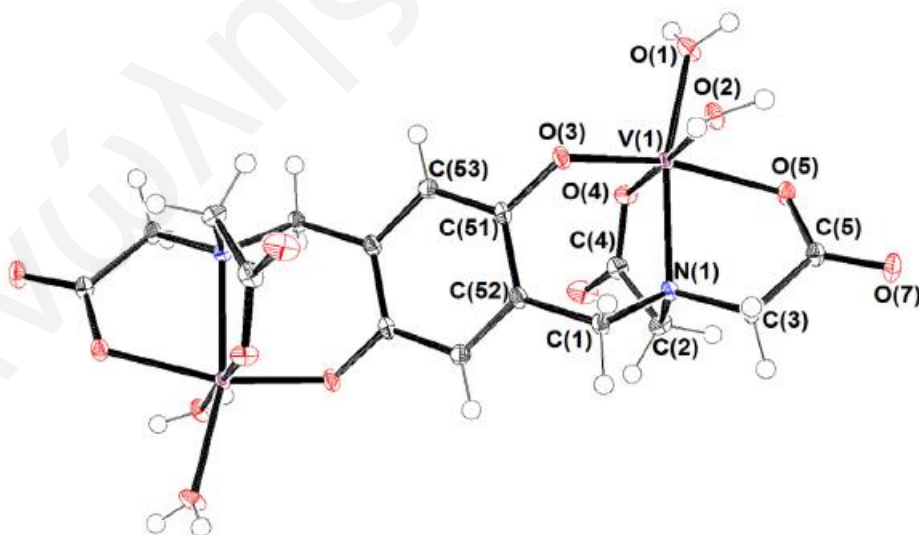
Τα πιο πάνω μόρια συμπλοκοποιήθηκαν με βανάδιο όπως αναφέρεται στο πειραματικό μέρος. Η επιτυχία σύνθεσης των μορίων επιβεβαιώθηκε με ^1H NMR και ^{51}V NMR όπου ήταν δυνατό. Στο σχήμα 3.4 παρατηρούνται δύο από τα τρία σύμπλοκα. Στο σύμπλοκο του βαναδίου με τον υποκαταστάτη (***β -tocdea***), το βανάδιο έχει οξειδωτική κατάσταση +5. Στα σύμπλοκα όπου οι υποκαταστάτες είναι οι ενώσεις (***β -tocdpa***) και (***β -tocida***), το βανάδιο έχει οξειδωτική κατάσταση +4 και για αυτό το λόγο αναμένεται να έχουν μεγαλύτερη δραστικότητα στην κυτταρική μεμβράνη λόγω του ότι είναι παραμαγνητικό και μπορεί να ενεργοποιεί το O_2 . Επίσης, το σύμπλοκο ***β -tocdpaV(IV)*** (***C8***), (σχήμα 3.4(β)) έχει συνολικό θετικό φορτίο και αλληλοεπιδρά ισχυρότερα με το μιτοχόνδριο το οποίο στην επιφάνειά του έχει αρνητικό φορτίο.



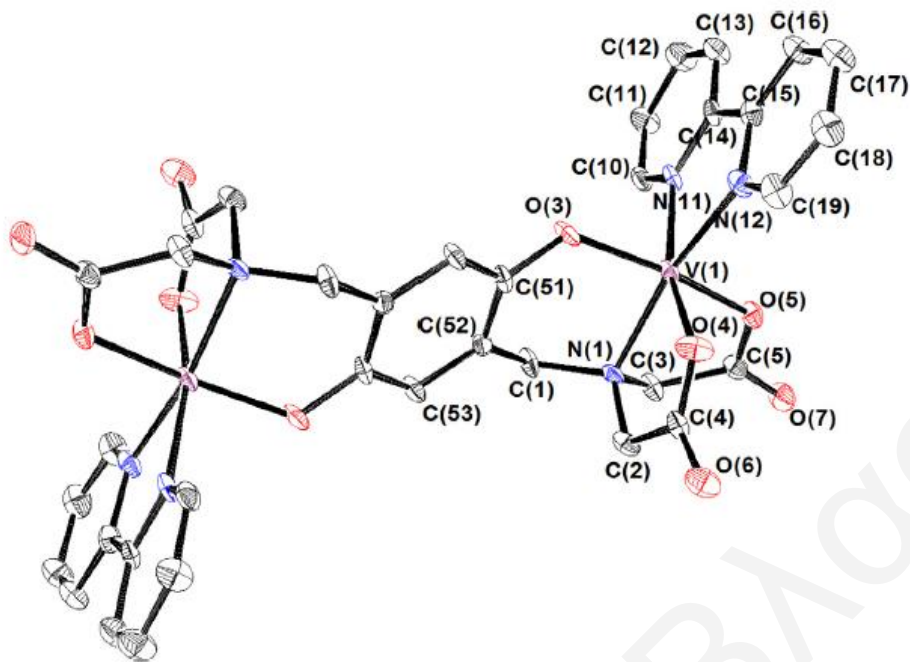
Σχήμα 3.4: α) σύμπλοκο βαναδίου (V) τον υποκαταστάτη ***β -tocdea***, β) σύμπλοκο βαναδίου (IV) με τον υποκαταστάτη ***β -tocdpa***.

3.2 Κρυσταλλογραφία

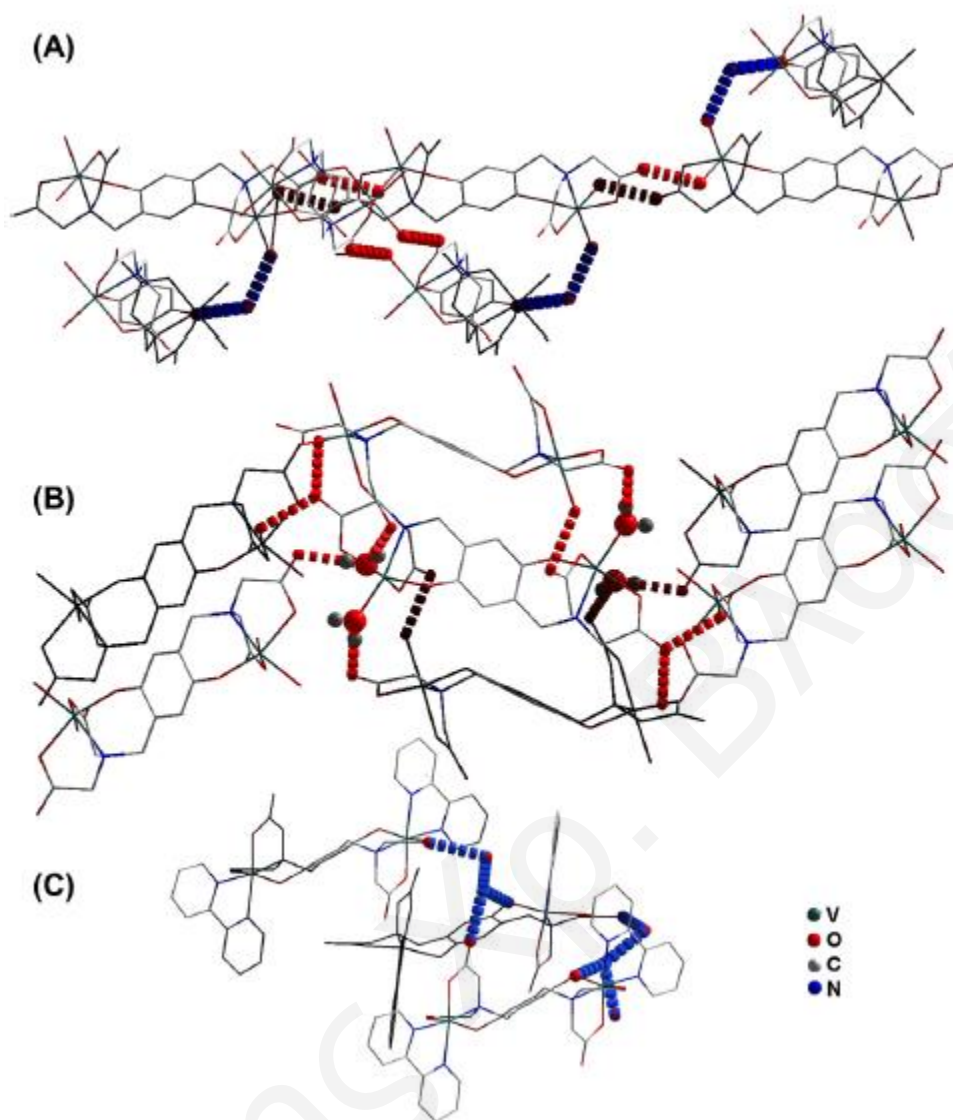
Οι 50 % ORTEP διαμορφώσεις των συμπλόκων C_{1b} , και C_2 παρουσιάζονται στα σχήματα 3.5 και 3.6. Τα κρυσταλλογραφικά δεδομένα των C_{1a} , C_{1b} , και C_2 συνοψίζονται στον πίνακα 3.1. Οι πίνακες 3.2, 3.3, 3.4 περιέχουν επιλεγμένα μήκη δεσμών και γωνίες των συμπλόκων C_{1a} , C_{1b} , και C_2 . Οι δομές X-ray (σχήμα 3.7) εμφανίζουν κεντροσυμμετρικά διπυρηνικά μόρια βαναδίου. Τα $V(III)$ ιόντα είναι ενταγμένα στις δύο θέσεις ένταξης του υποκαταστάτη $bicah^{6-}$ και το περιβάλλον ένταξης γύρω από κάθε βαναδικό κέντρο είναι οκταεδρικό. Οι ακραίες θέσεις του τρίποδα υποκαταστάτη καταλαμβάνονται από το οξυγόνο του H_2O και τα άτομα αζώτου της αμίνης. Τρία άτομα οξυγόνου, τα οποία προέρχονται από τις δύο καρβόξυ- και υδροκινονικές ομάδες του υποκαταστάτη, καταλαμβάνουν τις τρεις από τις τέσσερις θέσεις του οκταέδρου. Η τέταρτη θέση του οκταέδρου καταλαμβάνεται από το οξυγόνο του H_2O . Οι θέσεις από τα δύο άτομα δότες οξυγόνο των δύο *cis*- H_2O ομάδων στα σύμπλοκα C_{1a} και C_{1b} καταλαμβάνονται από τα δύο άτομα δότες αζώτου του χηλικού υποκαταστάτη $bipy$ σε κάθε βαναδικό κέντρο του C_2 . Οι αποστάσεις των δεσμών των $C(51)-O(3)$ οι οποίες είναι 1.361, 1.356 και 1.357 Å αντίστοιχα για τα C_{1a} , C_{1b} , και C_2 , καθώς και οι ευδιάκριτοι δεσμοί C-C των βενζολικών δακτυλίων σε κάθε σύμπλοκο (1.391-1.404 Å), δείχνουν τον υποκαταστάτη να βρίσκεται στην υδροκινονική του μορφή.



Σχήμα 3.5: Διαμόρφωση ORTEP για το σύμπλοκο C_{1b} .



Σχήμα 3.6: Διαμόρφωση ORTEP για το σύμπλοκο C₂.



Σχήμα 3.7: Σχεδιαγράμματα για τα σύμπλοκα (A) C_{1a} , (B) C_{1b} , (C) C_2 . Εμφανίζονται οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των καρβοξυλικών/υδροκινονικών οξυγόνων και των ενταγμένων μορίων νερού καθώς και τα ελεύθερα μόρια νερού.

Τα μήκη των δεσμών μεταξύ των βαναδικών ιόντων και των καρβοξυλικών οξυγόνων κυμαίνονται μεταξύ 1.964 και 2.082 Å και τα μεγέθη αυτά είναι συγκρίσιμα με αμινοκαρβοξυλικά σύμπλοκα του V(III) που βρίσκονται στη βιβλιογραφία^[144]. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο δεσμός V-O(5) είναι σταθερά μεγαλύτερου μήκους από τον V-O(4), μια διαφορά η οποία κυμαίνεται μεταξύ 0.03 και 0.09 Å. Αυτό συμβαίνει λόγω του ότι το *trans* φαινόμενο του υδροκινονικού οξυγόνου είναι ισχυρότερο από αυτό του οξυγόνου του H₂O ή ακόμα και από τα άτομα δότες αζώτου του υποκαταστάτη *bipy*. Επιπρόσθετα, οι δεσμοί V-O(4) στα σύμπλοκα C_{1a} και C_{1b} είναι αρκετά μεγαλύτεροι (>0.04 Å) από τους αντίστοιχους της σύμπλοκης ένωσης C_2 ,

γεγονός το οποίο αντικατοπτρίζει την δεσμική ισχύ των ατόμων δότες σε θέση *trans* στις καρβοξυλομάδες. Η ισχύς του αζώτου του υποκαταστάτη bipy είναι μικρότερη από αυτήν του ατόμου του οξυγόνου του H₂O δότη. Τα σχήματα των συμπλόκων εμφανίζονται στο σχήμα 3.7 και τα σημαντικά μήκη δεσμών καθώς και γωνίες συνοψίζονται στον πίνακα 3.1. Το περιβάλλον ένταξης στα σύμπλοκα C_{1a}, C_{1b}, και C₂ είναι το ίδιο. Όλα τα σύμπλοκα παρουσιάζουν παρόμοια μήκη δεσμών για το δεσμό V-O_{καρβοξυλικό}. Η ίδια τάση ακολουθείται και για το δεσμό V-O_{φαινολικό}. Παρόλα αυτά, αυτή η τάση δεν ακολουθείται και για τον π χαρακτήρα του δεσμού του οποίου μετρείται από τη γωνία C(51)-O(3)-V. Αυτή η γωνία καθώς και ο π χαρακτήρας του δεσμού V-O(3), αυξάνεται συνάρτηση της αύξησης της οξειδωτικής κατάστασης του μετάλλου. (122.5°) για το V(III), 129.0° για το V(IV) και 131.7° για το V(V). Αυτό συμφωνεί με τον ελάχιστο αριθμό ηλεκτρονίων ο οποίος είναι ελεύθερος στα π δεσμικά d τροχιακά του μεταλλοϊόντος σε υψηλότερες οξειδωτικές καταστάσεις. Η μέση απόσταση του δεσμού του μεταλλοϊόντος με τα άτομα δότες, μειώνεται σταδιακά, αυξάνοντας έτσι τον αριθμό οξείδωσης (0.05 Å/αύξηση του αριθμού οξείδωσης). Αυτό οφείλεται κυρίως στη μεταβολή της ιοντικής ακτίνας συνάρτηση της οξειδωτικής κατάστασης των οκταεδρικών βαναδικών ιόντων (0.68, 0.72 και 0.78 Å) για V(V), V(IV) και V(III) αντίστοιχα.

Πίνακας 3.1: Κρυσταλλογραφικά δεδομένα για τα σύμπλοκα **C_{1a}**, **C_{1b}**, και **C₂**. Όλες οι δομές προσδιορίστηκαν σε θερμοκρασία $T=100$ K.

	1a	1b	2
Empirical formula	C ₁₆ H ₄₉ N ₂ O _{27.5} V ₂	C ₈ H ₁₂ NO _{7.5} V	C ₃₆ H ₃₈ N ₆ O ₁₄ V ₂
Formula weight	811.45	293.13	880.60
Crystal system	Monoclinic	orthorhombic	monoclinic
Space group	<i>I2/a</i>	<i>Pbcn</i>	<i>P2₁/c</i>
Unit cell dimensions			
a (Å)	9.9274(8)	25.280(2)	15.423(2)
b (Å)	24.569(2)	6.7542(5)	9.9795(8)
c (Å)	14.274(2)	12.5067(8)	12.898(1)
β (°)	104.046(9)	90.0	110.97(1)
Volume (Å³)	3377.5(5)	2135.4(3)	1853.7(3)
Z,d (g cm⁻³)	4, 1.596	8, 1.823	2, 1.578
μ (mm⁻¹)	0.657	0.960	0.584
F(000)	1700	1200	908
θ range	4.02-29.70	3.12-32.82	1.41-26.37
Limiting indices	-13 ≤ h ≤ 12	-23 ≤ h ≤ 38	-18 ≤ h ≤ 19
	-32 ≤ k ≤ 28	-10 ≤ k ≤ 10	-11 ≤ k ≤ 12
	-19 ≤ l ≤ 18	-18 ≤ l ≤ 10	-12 ≤ l ≤ 15
Reflections collected/unique	10073/3961	12316/3650	7317/3672
R_{int}	0.0614	0.0549	0.0418
Data/parameters	3961/253	3650/175	3672/338
Goodness-on-fit	1.040	1.230	1.051
Final R [I>2σ(I)]	R ₁ =0.0605	R ₁ =0.0521	R ₁ =0.0576
	wR ₂ =0.1398	wR ₂ =0.1464	wR ₂ =0.1569
R (all data)	R ₁ =0.0799	R ₁ =0.0771	R ₁ =0.0640

wR₂=0.1536wR₂=0.1894wR₂=0.1569

Τα ενταγμένα και ελεύθερα μόρια H₂O των C_{1a}, C_{1b}, και C₂ σχηματίζουν ισχυρούς δεσμούς υδρογόνου με τα οξυγόνα των καρβοξυλομάδων και των υδροκινονών. Το αποτέλεσμα αυτού, είναι η δημιουργία πολυμερικών υπερμοριακών 3D δομών, οι οποίες εντάσσονται σε διπυρηνικές ομάδες. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι, παρά το ότι τα σύμπλοκα C_{1a} και C_{1b} περιέχουν την ίδια διπυρηνική ομάδα V(III), εντούτοις παρουσιάζουν διαφορετική περιεκτικότητα ελεύθερου νερού και διαφορετικό κρυσταλλικό πλέγμα. Στο σύμπλοκο C_{1a} ο ισχυρός δεσμός υδρογόνου O(2)-H···O(7), ενώνει τα διπυρηνικά σύμπλοκα στο σχηματισμό 1D πολυμερών. Αυτά τα 1D πολυμερή βρίσκονται διαμορφωμένα παράλληλα το ένα στο άλλο με απόσταση μεταξύ των δύο βαναδικών κέντρων στα 14.467 Å. Τα γειτονικά πολυμερή σχηματίζουν μεταξύ τους γωνία 60.762 Å. Οι αλυσίδες των πολυμερών είναι ενωμένες μεταξύ τους με δεσμούς υδρογόνου από τα ελεύθερα μόρια νερού.

Πίνακας 3.2: Επιλεγμένα μήκη δεσμών και γωνίες για το σύμπλοκο C_{1a}.

Parameter	Value (Å)	Parameter	Value (Å)
V(1)-O(3)	1.871(2)	O(7)-C(5)	1.246(3)
V(1)-O(4)	1.996(2)	C(4)-C(2)	1.526(4)
V(1)-O(1)	2.039(2)	C(5)-C(3)	1.513(4)
V(1)-O(2)	2.066(2)	C(51)-C(53)	1.393(4)
V(1)-O(5)	2.082(2)	C(51)-C(52)	1.402(4)
V(1)-N(1)	2.146(2)	C(52)-C(53) # 1	1.404(4)
O(5)-C(5)	1.290(3)	C(52)-C(1)	1.506(4)
O(4)-C(4)	1.298(4)	C(2)-N(1)	1.503(3)
O(3)-C(51)	1.356(3)	O(7)-C(5)	1.246(3)
O(6)-C(4)	1.236(4)	C(3)-N(1)	1.483(3)
C(53)-C(52) # 1	1.404(4)	N(1)-C(1)	1.501(3)
Parameter	Value (Å)	Parameter	Value (Å)
O(3)-V(1)-O(4)	94.95(9)	O(6)-C(4)-O(4)	123.7(3)

O(3)-V(1)-O(1)	106.85(9)	O(6)-C(4)-C(2)	120.5(3)
O(4)-V(1)-O(1)	90.70(9)	O(4)-C(4)-C(2)	115.7(2)
O(3)-V(1)-O(2)	86.46(9)	O(7)-C(5)-O(5)	124.1(3)
O(4)-V(1)-O(2)	176.69(9)	O(7)-C(5)-C(3)	119.5(2)
O(1)-V(1)-O(2)	86.02(9)	O(5)-C(5)-C(3)	116.4(2)
O(3)-V(1)-O(5)	160.23(9)	O(3)-C(51)-C(53)	121.0(3)
O(4)-V(1)-O(5)	95.15(9)	O(3)-C(51)-C(52)	119.6(2)
O(1)-V(1)-O(5)	89.97(9)	C(53)-C(51)-C(52)	119.4(3)
O(2)-V(1)-O(5)	84.39(8)	C(53) # 1-C(52)-C51	120.7(2)
O(3)-V(1)-N(1)	89.26(9)	C(53) # 1-C(52)-C1	121.8(2)
O(4)-V(1)-N(1)	82.09(8)	C(51)-C(52)-C(1)	117.6(2)
O(1)-V(1)-N(1)	162.93(9)	N(1)-C(2)-C(4)	111.0(2)
O(2)-V(1)-N(1)	100.93(8)	N(1)-C(3)-C(5)	108.7(2)
O(5)-V(1)-N(1)	75.38(8)	C(3)-N(1)-C(1)	109.2(2)
C(5)-O(5)-V(1)	114.8(2)	C(3)-N(1)-C(2)	111.6(2)
C(4)-O(4)-V(1)	117.4(2)	C(1)-N(1)-C(2)	109.4(2)
C(51)-O(3)-V(1)	122.7(2)	C(3)-N(1)-V(1)	107.0(2)
C(1)-N(1)-V(1)	113.2(2)	C(2)-N(1)-V(1)	106.4(2)

Αντίθετα, τα ελεύθερα μόρια νερού στη δομή του C_{1b} δεν συμμετέχουν σε δεσμούς υδρογόνου καθώς τα πιο κοντινά άτομα οξυγόνου βρίσκονται σε αποστάσεις $>3.4 \text{ \AA}$. Οι διπυρηνικές μονάδες ενώνονται μεταξύ τους με ισχυρούς δεσμούς υδρογόνου, μεταξύ των ενταγμένων μορίων νερού και των μη δεσμικών καρβοξυλικών οξυγόνων.

Πίνακας 3.3: Επιλεγμένα μήκη δεσμών και γωνίες για το σύμπλοκο C_{1b}.

Parameter	Value (Å)	Parameter	Value (Å)
V(1)-O(3)	1.871(2)	O(7)-C(5)	1.246(3)
V(1)-O(4)	1.996(2)	C(4)-C(2)	1.526(4)
V(1)-O(1)	2.039(2)	C(5)-C(3)	1.513(4)
V(1)-O(2)	2.066(2)	C(51)-C(53)	1.393(4)
V(1)-O(5)	2.082(2)	C(51)-C(52)	1.402(4)
V(1)-N(1)	2.146(2)	C(52)-C(53) # 1	1.404(4)
O(5)-C(5)	1.290(3)	C(52)-C(1)	1.506(4)
O(4)-C(4)	1.298(4)	C(2)-N(1)	1.503(3)
O(3)-C(51)	1.356(3)	O(7)-C(5)	1.246(3)
O(6)-C(4)	1.236(4)	C(3)-N(1)	1.483(3)
C(53)-C(52) # 1	1.404(4)	N(1)-C(1)	1.501(3)
Parameter	Value (Å)	Parameter	Value (Å)
O(3)-V(1)-O(4)	94.95(9)	O(6)-C(4)-O(4)	123.7(3)
O(3)-V(1)-O(1)	106.85(9)	O(6)-C(4)-C(2)	120.5(3)
O(4)-V(1)-O(1)	90.70(9)	O(4)-C(4)-C(2)	115.7(2)
O(3)-V(1)-O(2)	86.46(9)	O(7)-C(5)-O(5)	124.1(3)
O(4)-V(1)-O(2)	176.69(9)	O(7)-C(5)-C(3)	119.5(2)
O(1)-V(1)-O(2)	86.02(9)	O(5)-C(5)-C(3)	116.4(2)
O(3)-V(1)-O(5)	160.23(9)	O(3)-C(51)-C(53)	121.0(3)
O(4)-V(1)-O(5)	95.15(9)	O(3)-C(51)-C(52)	119.6(2)
O(1)-V(1)-O(5)	89.97(9)	C(53)-C(51)-C(52)	119.4(3)
O(2)-V(1)-O(5)	84.39(8)	C(53) # 1-C(52)-C51	120.7(2)
O(3)-V(1)-N(1)	89.26(9)	C(53) # 1-C(52)-C1	121.8(2)
O(4)-V(1)-N(1)	82.09(8)	C(51)-C(52)-C(1)	117.6(2)
O(1)-V(1)-N(1)	162.93(9)	N(1)-C(2)-C(4)	111.0(2)

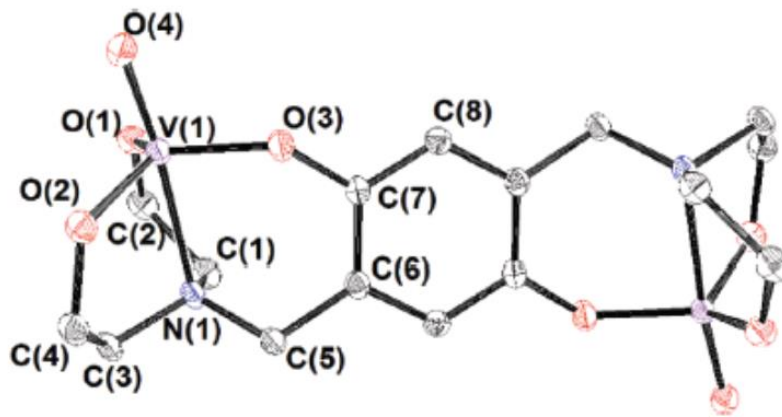
O(2)-V(1)-N(1)	100.93(8)	N(1)-C(3)-C(5)	108.7(2)
O(5)-V(1)-N(1)	75.38(8)	C(3)-N(1)-C(1)	109.2(2)
C(5)-O(5)-V(1)	114.8(2)	C(3)-N(1)-C(2)	111.6(2)
C(4)-O(4)-V(1)	117.4(2)	C(1)-N(1)-C(2)	109.4(2)
C(51)-O(3)-V(1)	122.7(2)	C(3)-N(1)-V(1)	107.0(2)
C(1)-N(1)-V(1)	113.2(2)	C(2)-N(1)-V(1)	106.4(2)

Πίνακας 3.4: Επιλεγμένα μήκη δεσμών και γωνίες για το σύμπλοκο C₂.

Parameter	Value (Å)	Parameter	Value (Å)
V(1)-O(3)	1.899(2)	N(12)-C(19)	1.335(4)
V(1)-O(4)	1.964(2)	N(12)-C(15)	1.350(4)
V(1)-O(5)	1.991(2)	O(6)-C(4)	1.220(4)
V(1)-N(12)	2.108(3)	N(11)-C(10)	1.343(4)
V(1)-N(11)	2.155(3)	N(11)-C(14)	1.353(4)
V(1)-N(1)	2.166(3)	C(52)-C(53)	1.399(4)
O(4)-C(4)	1.304(4)	C(52)-C(51)	1.398(4)
N(1)-C(3)	1.485(4)	C(52)-C(1)	1.501(4)
N(1)-C(2)	1.493(3)	C(3)-C(5)	1.523(4)
N(1)-C(1)	1.503(4)	C(51)-C(53) # 1	1.399(4)
O(5)-C(5)	1.281(4)	C(14)-C(13)	1.386(5)
O(3)-C(51)	1.357(4)	C(14)-C(15)	1.482(5)
O(7)-C(5)	1.229(4)	C(53)-C(51) # 1	1.399(4)
Parameter	Value (Å)	Parameter	Value (Å)
O(3)-V(1)-O(4)	94.4(1)	C(4)-O(4)-V(1)	118.7(2)
O(3)-V(1)-O(5)	161.9(1)	C(3)-N(1)-C(2)	109.7(2)
O(4)-V(1)-O(5)	98.8(1)	C(3)-N(1)-C(1)	110.5(2)
O(3)-V(1)-N(12)	98.7(1)	C(2)-N(1)-C(1)	110.8(2)

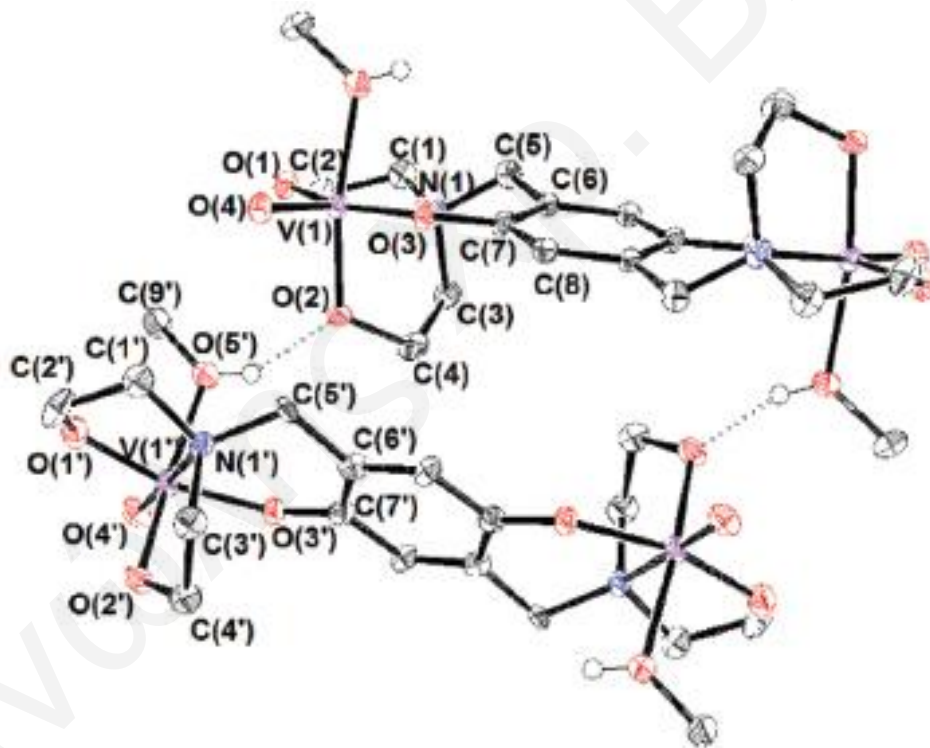
O(4)-V(1)-N(12)	94.4(1)	C(3)-N(1)-V(1)	107.4(2)
O(5)-V(1)-N(12)	92.6(1)	C(2)-N(1)-V(1)	106.6(2)
O(3)-V(1)-N(11)	84.6(1)	C(1)-N(1)-V(1)	111.8(2)
O(4)-V(1)-N(11)	170.0(1)	C(5)-O(5)-V(1)	120.5(2)
O(5)-V(1)-N(11)	84.5(1)	C(51)-O(3)-V(1)	123.8(2)
N(12)-V(1)-N(11)	75.9(1)	C(19)-N(12)-C15	119.3(3)
O(3)-V(1)-N(1)	91.71(9)	C(19)-N(12)-V1	123.1(2)
O(4)-V(1)-N(1)	82.06(9)	C(15)-N(12)-V(1)	117.6(2)
O(5)-V(1)-N(1)	77.98(9)	C(10)-N(11)-C(14)	118.0(3)
N(12)-V(1)-N(1)	169.2(1)	C(10)-N(11)-V(1)	125.5(2)
N(11)-V(1)-N(1)	107.9(1)	C(14)-N(11)-V(1)	116.4(2)

Όσο αφορά το σύμπλοκο **C₄**, διάγραμμα ORTEP (σχήμα 3.8), εμφανίζει ένα κεντροσυμμετρικό διπυρηνικό μόριο βαναδίου. Τα άτομα του βαναδίου εμφανίζουν γεωμετρία τριγωνικής διπυραμίδας. Τα ιόντα V^V, είναι ενταγμένα και στις δυο περιοχές ένταξης του υποκαταστάτη bdeah⁶⁻. Τα δύο αλκόξυ [$d_{V(1)-O(1)} = 1.7939(2) \text{ \AA}$, $d_{V(1)-O(2)} = 1.811(2) \text{ \AA}$] και τα δύο αρωματικά άτομα δότες οξυγόνου, καταλαμβάνουν τις ισημερινές θέσεις των ατόμων του βαναδίου. Το άτομο του αζώτου της αμίνης του υποκαταστάτη bdeah⁶⁻ [$d_{V(1)-N(1)} = 2.326(2) \text{ \AA}$] και η -όξο ομάδα [$d_{V(1)-O(4)} = 1.611(2) \text{ \AA}$] προσδιορίζουν τις θέσεις των αξόνων. Ο πολύ μικρού μήκος δεσμός μεταξύ του βαναδικού ιόντος και του υδροκινονικού οξυγόνου, [$d_{V(1)-O(3)} = 1.810(2) \text{ \AA}$], και η σχετικά ευρεία γωνία V(1)-O(3)-C(7) [137.3(1)°] είναι συγκρίσιμες με αρκετά άλλα υδροκινονικά σύμπλοκα του V^V. Το μήκος του δεσμού C(7)-O(3), [1.362(2) Å], καθώς και οι ευδιάκριτοι δεσμοί C-C των βενζολικών δακτυλίων, [1.395(3)-1.398(3) Å], δείχνουν ότι ο υποκαταστάτης βρίσκεται σε υδροκινονική οξειδωτική κατάσταση.



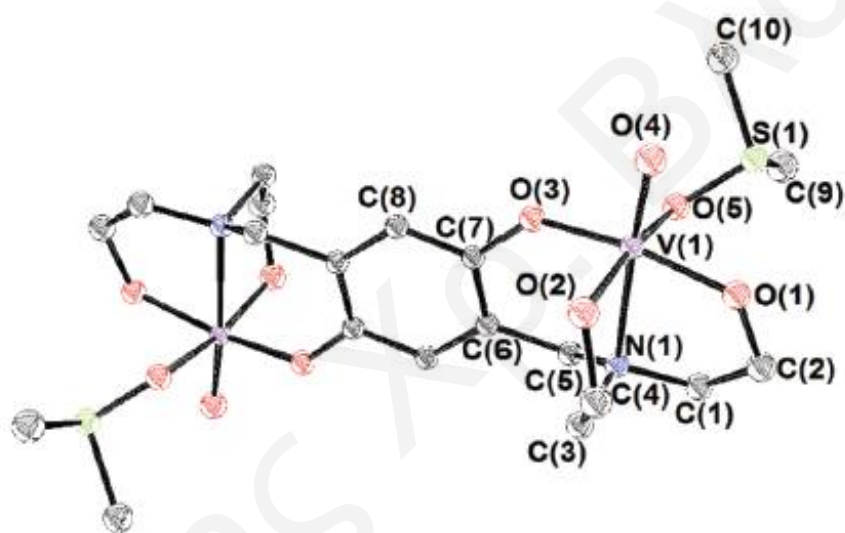
Σχήμα 3.8: Διάταξη ORTEP συμπλόκου C₄.

Οι κρυσταλλικές δομές των C₅ και C₆, δείχνουν διπυρηνικά κεντροσυμμετρικά σύμπλοκα βαναδίου με τον υποκαταστάτη μ-bdeah⁵⁻ (σχήμα 3.9).



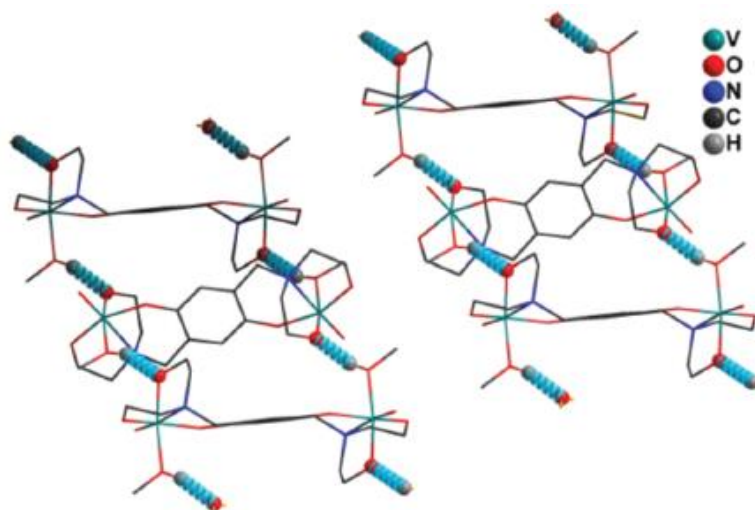
Σχήμα 3.9: Διάταξη ORTEP συμπλόκου C₅ και C₆.

Η σφαίρα ένταξης γύρω από κάθε βαναδικό άτομο είναι οκταεδρικής γεωμετρίας. Τα δύο -αλκόξυ [$d_{V-O_{alkoxy}} = 1.87 \pm 0.05 \text{ \AA}$], και αρωματικά άτομα δότες οξυγόνου, καταλαμβάνουν τις ισημερινές θέσεις κάθε ατόμου βαναδίου. Το άζωτο της αμίνης του υποκαταστάτη $bdeas^{5-}$ [$d_{V(1)-N(1)} = 2.321(3) \text{ \AA}$] για το **C4** και $2.363(5)$, $2.370(4) \text{ \AA}$ για το **C5** και η -όξο ομάδα [$d_{V(1)-O(4)} = 1.612(3) \text{ \AA}$] για το **C5** και $1.607(4)$, $1.602(4) \text{ \AA}$ για το **C6**, καταλαμβάνουν τις αξονικές θέσεις. Οι αποστάσεις των δεσμών $V-O_{alkoxy}$ είναι δυσδιάκριτες για το σύμπλοκο **C5**. Παρόλα αυτά, στην ένωση **C6**, οι αποστάσεις των δεσμών $V(1)-O(2)$ είναι $\sim 0,1 \text{ \AA}$ μεγαλύτερες από ότι του $V(1)-O(1)$. Αυτή η διαφορά αποδίδεται στους ισχυρούς διαμοριακούς δεσμούς υδρογόνου μεταξύ του $O(2)$ και του πρωτονίου της ενταγμένης μεθανόλης στο βαναδικό ιόν (σχήμα 3.10).



Σχήμα 3.10: Διάταξη ORTEP συμπλόκου **C6**.

Τα διπυρηνικά με τους δεσμούς υδρογόνου, σχηματίζουν άπειρες ταινίες στο κρυσταλλικό πλέγμα παράλληλες στον άξονα *b* (σχήμα 3.11).



Σχήμα 3.11: Τα διπυρηνικά με τους δεσμούς υδρογόνου, σχηματίζουν άπειρες ταινίες στο κρυσταλλικό πλέγμα παράλληλες στον άξονα b.

Το μήκος του δεσμού C(7)-O(3) στις ενώσεις C₅ και C₆, [1.335(4) και 1.343(7) Å] αντίστοιχα, είναι κατά πολύ μικρότερο από το αντίστοιχο μήκος δεσμού για την ένωση C₄. Επιπρόσθετα, οι διατομικές αποστάσεις των δεσμών C-C στο δακτύλιο είναι περισσότερο εντοπισμένες, παρουσιάζοντας ένα μοτίβο απόστασης δεσμού (μεγάλο-μικρό-μεγάλο) (πίνακας 3.5). Για το λόγο αυτό, η οξειδωτική κατάσταση της ημικινόνης καθορίζεται από τον υποκαταστάτη σε τέτοιου είδους σύμπλοκα. Οι υπολογισμοί για το αρμονικό μέτρο ταλαντωτή της αρωματικότητας για τα σύμπλοκα C₄, C₅ και C₆ (0.973 C₄, 0.971 C₅, 0.914 C₆) έδειξαν μικρότερη αρωματικότητα για τον ημικινονικό δακτύλιο από τον υδροκινονικό, πράγμα το οποίο συμφωνεί με τις μετρήσεις. Η τιμή Δ επίσης δείχνει το κανονικό φορτίο του υποκαταστάτη. Παρόλο το γεγονός ότι οι τιμές αυτές είναι κατά πολύ μεγαλύτερες από αυτές του συμπλόκου C₄, δεν είναι πολύ κοντά στο -1 όπως είναι αναμενόμενο για τις ημικινόνες. Αυτές οι αποκλίσεις παρατηρήθηκαν επίσης σε άλλα ημικινονικά σύμπλοκα και επηρέασαν τις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις στο κρυσταλλικό πλέγμα. Παρόλα αυτά, η ακρίβεια των ακτινών X όσο αφορά τις αποστάσεις των δεσμών C-C δεν είναι πάρα πολύ καλή και μικρές αποκλίσεις αλλάζουν τις τιμές Δ. Ακόμα ένας καλός δείκτης ο οποίος υποστηρίζει την οξειδωτική κατάσταση των υποκαταστατών για τις ενώσεις C₅ και C₆, είναι η μεγάλη γωνία V(1)-O(3)-C(7) (πίνακας 3.5). Αυτή η γωνία είναι συνήθως μεγαλύτερη για τις V (IV)-ημικινόνες (>136°) από ότι τα οκταεδρικά V (V)-υδροκινονικά σύμπλοκα (<136°). Εντούτοις, είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι τα δύο βαναδικά ιόντα είναι ισοδύναμα και στις δύο δομές, γεγονός που δείχνει ότι τα

spin είναι πιθανός απεντοπισμένα και η οξειδωτική κατάσταση του βαναδίου είναι 4.5.

Πίνακας 3.5: Επιλεγμένα μήκη δεσμών και γωνίες για τα σύμπλοκα C₄, C₅, C₆.

Parameter	Value (Å)	Parameter	Value (Å)
Σύμπλοκο C₄			
V(1)-O(4)	1.6112(16)	V(1)-O(1)	1.7915(17)
V(1)-O(3)	1.8095(15)	V(1)-O(2)	1.8109(17)
V(1)-N(1)	2.326(2)		
O(4)-V(1)-O(1)	99.72(9)	O(4)-V(1)-O(3)	100.46(8)
O(1)-V(1)-O(2)	115.42(8)	O(4)-V(1)-O(2)	98.81(8)
O(4)-V(1)-O(2)	118.53(7)	O(3)-V(1)-O(2)	117.77(8)
O(4)-V(1)-N(1)	174.41(7)	O(1)-V(1)-N(1)	77.84(8)
O(3)-V(1)-N(1)	85.12(6)	O(2)-V(1)-N(1)	78.22(7)
Σύμπλοκο C₅			
V(1)-O(4)	1.612(2)	V(1)-O(2)	1.845(2)
V(1)-O(1)	1.850(2)	V(1)-O(3)	1.880(2)
V(1)-O(5)	2.097(2)	V(1)-N(1)	2.321(2)
O(4)-V(1)-O(2)	100.87(9)	O(4)-V(1)-O(1)	98.35(8)
O(2)-V(1)-O(1)	93.28(8)	O(4)-V(1)-O(3)	98.55(8)
O(2)-V(1)-O(3)	94.03(8)	O(1)-V(1)-O(3)	159.96(8)
O(4)-V(1)-O(5)	96.03(8)	O(2)-V(1)-O(5)	163.09(7)
O(1)-V(1)-O(5)	84.85(7)	O(3)-V(1)-O(5)	82.74(7)
O(4)-V(1)-N(1)	175.95(8)	O(2)-V(1)-N(1)	80.45(7)
O(1)-V(1)-N(1)	77.72(7)	O(3)-V(1)-N(1)	85.14(7)
O(5)-V(1)-N(1)	82.73(7)		
Σύμπλοκο C₆			
V(1)-O(4)	1.607(4)	V(1)-O(1)	1.825(4)

V(1)-O(3)	1.856(4)	V(1)-O(2)	1.920(4)
V(1)-O(5)	2.053(4)	V(1)-N(1)	2.363(5)
V(1')-O(4')	1.602(4)	V(1')-O(1')	1.825(4)
V(1')-O(3')	1.856(4)	V(1')-O(2')	1.917(4)
V(1')-O(5')	2.052(4)	V(1')-N(1')	2.370(4)
O(4)-V(1)-O(1)	97.4(2)	O(4)-V(1)-O(3)	102.5(2)
O(1)-V(1)-O(3)	159.04(18)	O(4)-V(1)-O(2)	97.01(19)
O(1)-V(1)-O(2)	91.48(18)	O(3)-V(1)-O(2)	92.57(18)
O(4)-V(1)-O(5)	96.6(2)	O(1)-V(1)-O(5)	86.64(18)
O(3)-V(1)-O(5)	84.60(18)	O(2)-V(1)-O(5)	166.35(18)
O(4)-V(1)-N(1)	173.11(19)	O(1)-V(1)-N(1)	78.59(18)
O(3)-V(1)-N(1)	82.22(17)	O(2)-V(1)-N(1)	77.58(17)
O(5)-V(1)-N(1)	88.79(17)	O(4)-V(1')-O(1')	97.5(2)
O(4')-V(1')-O(3')	102.8(2)	O(1')-V(1')-O(3')	158.77(18)
O(4')-V(1')-O(2')	96.99(19)	O(1')-V(1')-O(2')	91.56(19)
O(3')-V(1')-O(2')	92.05(18)	O(4')-V(1')-O(5')	96.6(2)
O(1')-V(1')-O(5')	86.46(18)	O(3')-V(1')-O(5')	85.14(18)
O(2')-V(1')-O(5')	166.45(18)	O(4')-V(1')-N(1')	173.10(19)
O(1')-V(1')-N(1')	78.38(17)	O(3')-V(1')-N(1')	81.97(17)
O(2')-V(1')-N(1')	77.73(16)	O(5')-V(1')-N(1')	88.75(17)

3.3 Φασματοσκοπία IR και μαγνητική επιδεκτικότητα

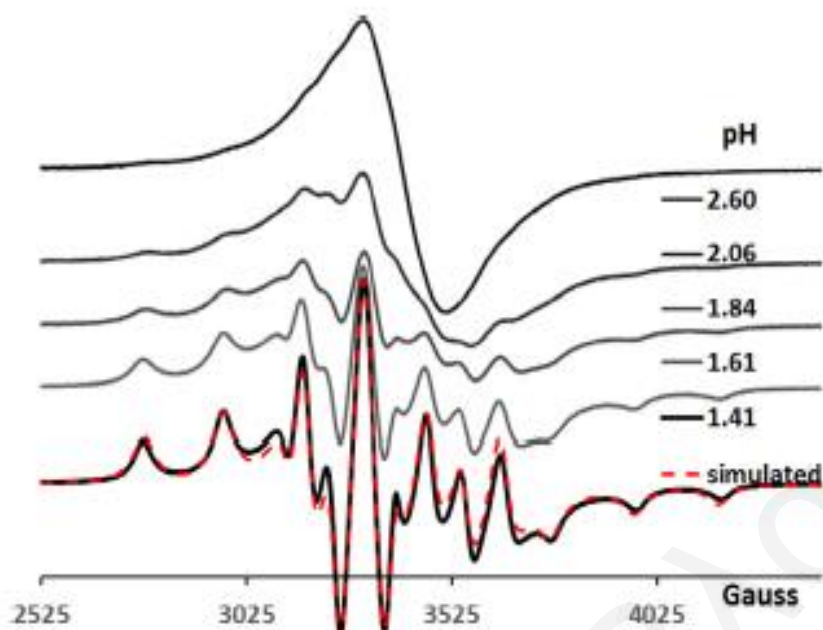
Οι αποδόσεις των κορυφών IR για τα μόρια C_{1a}, C_{1b}, και C₂ καταγράφηκαν στο πειραματικό μέρος. Τα μόρια C_{1a}, C_{1b}, έδωσαν παρόμοιες κορυφές. Οι κύριες διαφορές μεταξύ των δύο αυτών φασμάτων είναι: α) όσο αφορά το C₂, η ισχυρή δόνηση των αρωματικών ν(C-C) στα 1600 cm⁻¹, προκύπτει από τον υποκαταστάτη biry. Η δόνηση ν(C_{υδροκινόνης}-O) στα 1200 cm⁻¹ εμφανίζεται και στις τρεις ενώσεις, γεγονός που επιβεβαιώνει την οξειδωτική κατάσταση της υδροκινόνης στον

υποκαταστάτη. Πολύ ενδιαφέρον γνώρισμα αυτών των μορίων, φαίνεται να είναι η διαφορά στην περιοχή των $\nu(\text{O-H})$ δονήσεων τάσης, η οποία παραπέμπει στο ελεύθερο και ενταγμένο μόριο νερού στο βανάδιο. Το ελεύθερο νερό δονείται σε υψηλότερη ενέργεια (διαφορά $\sim 200 \text{ cm}^{-1}$), σε σχέση με το ενταγμένο μόριο νερού. Και οι δυο κορυφές παρουσιάζονται ευρείες λόγω των εκτεταμένων δεσμών υδρογόνου. Στο μόριο C_2 , η κορυφή του ενταγμένου νερού απουσιάζει, γεγονός αναμενόμενο με βάση την κρυσταλλική δομή του μορίου. Επίσης στο C_{1a} , η κορυφή του ελεύθερου νερού, είναι πιο ευρεία από την αντίστοιχη του C_{1b} , λόγω του μεγαλύτερου αριθμού ελεύθερων μορίων νερού.

Τα σύμπλοκα C_{1a} , C_{1b} , και C_2 , έχουν μαγνητικές ροπές 3.67, 3.71, 3.94 αντίστοιχα, στους 298 K, οι οποίες εμφανίζονται μικρότερες από τις υπολογιζόμενες τιμές του *spin*, για παραμαγνητικά κέντρα δύο ηλεκτρονίων ($4.00 \mu_B$) και για παραμαγνητικά κέντρα ενός ηλεκτρονίου ($2.44 \mu_B$). Οι μειωμένες τιμές μαγνητισμού σε αυτά τα σύμπλοκα υποδεικνύει μια αντιφερομαγνητική χημική ανταλλαγή μεταξύ των δύο παραμαγνητικών κέντρων.

3.4 Μελέτες διαλύματος με NMR και EPR

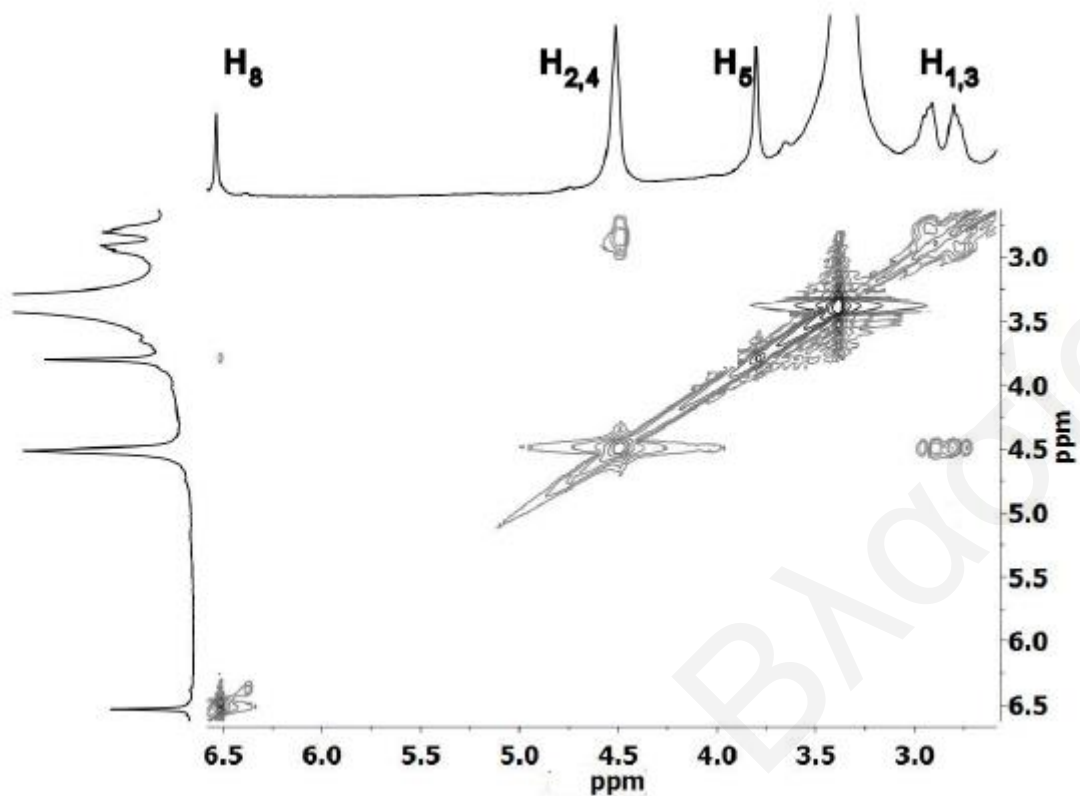
Οι μελέτες στο διάλυμα περιορίστηκαν λόγω της μικρής διαλυτότητας των συμπλόκων του V(III). Επιπρόσθετα, η οξειδοαναγωγική αστάθεια που παρουσιάζουν τα σύμπλοκα αυτά, έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό μικρών ποσοτήτων διαλυτών συμπλόκων V(IV), διευκολύνοντας έτσι την αποδιέγερση των πρωτονίων. Τα αρωματικά πρωτόνια συνήθως έχουν μεγαλύτερους χρόνους αποδιέγερσής από ότι τα αλειφατικά. Το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ σε δευτεριωμένο νερό για τα σύμπλοκα C_{1a} , και C_{1b} , έδωσε μια ευρεία παραμαγνητική κορυφή στα 8.24 ppm, τα οποία αποδίδονται στα αρωματικά πρωτόνια της υδροκινόνης. Τα μεθυλενικά πρωτόνια δεν έδωσαν κορυφή λόγω της γρήγορης παραμαγνητικής αποδιέγερσης. Λόγω του γεγονότος ότι η διαλυτότητα του C_2 , ήταν πολύ μικρότερη από αυτή των C_{1a} , και C_{1b} , για αυτό δεν κατέστη δυνατό να ληφθεί φάσμα NMR. Το φάσμα EPR σε παγωμένο υδατικό διάλυμα του συμπλόκου C_1 , στους 120 K, έδωσε μία ευρεία κορυφή σε $g=1.974$ σε συγκεντρώσεις της τάξης των 10 μM – 10 mM (σχήμα 3.12), pH 2.6 σε διάλυμα 2.0 mM.



Σχήμα 3.12: Φάσμα EPR του C₁ (2mM) στους 120 K σε διαφορετικά pH από 2.6 μέχρι 1.4. Η κόκκινη διακεκομμένη γραμμή, είναι η προσομοίωση σε pH 1.4.

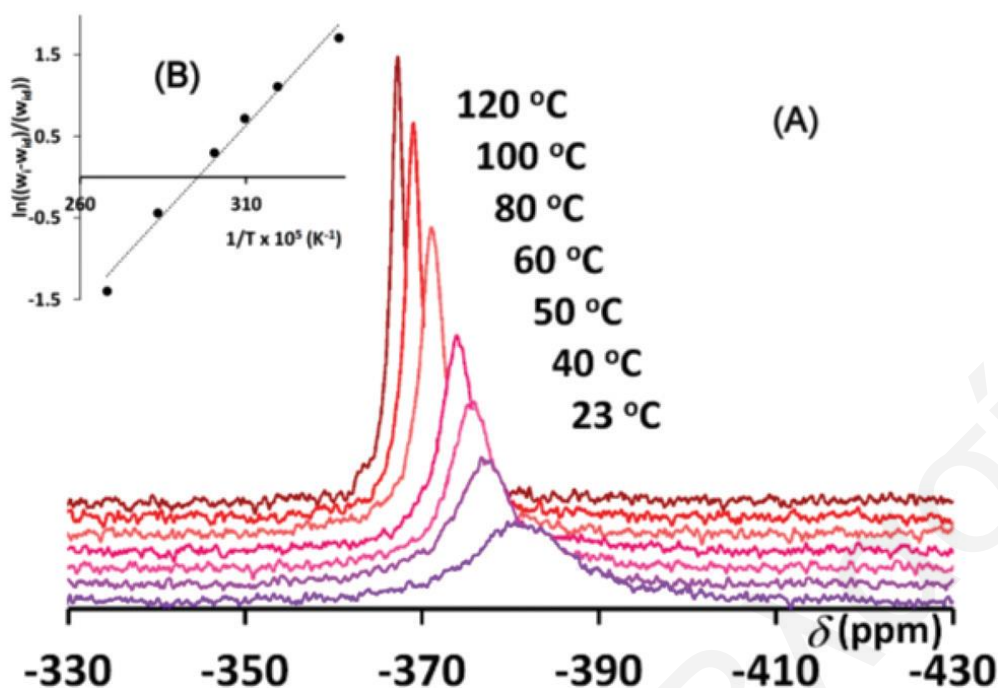
Το ευρύ σήμα αποδίδεται στις μαγνητικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ασύζευκτων ηλεκτρονίων των V(IV) κέντρων, δια μέσω της γέφυρας υδροκινόνης. Το φάσμα επιλύθηκε βαθμιδωτά με προσθήκη οξέος, για να δώσει τελικά το χαρακτηριστικό 16 κορυφών ανισοτροπικό φάσμα των μαγνητικά απομονωμένων ιόντων V(IV) (σχήμα 3.13). Έτσι, τα αποτελέσματα υποστηρίζουν την πρωτονίωση του οξυγόνου της υδροκινόνης σε όξινο pH έχει ως αποτέλεσμα την εξασθένηση των μαγνητικών αλληλεπιδράσεων μετάλλου-μετάλλου δια μέσω της υδροκινονικής γέφυρας. Σε pH μικρότερο του 1.2, το σύμπλοκο ξεκινά να υδρολύεται (χρειάζονται περίπου 4 min μέχρι να υδρολυθεί τελείως μετά την σταθεροποίηση του pH στο 1.2), παράγοντας ίζημα του υποκαταστάτη (H₆bicah), και έτσι το φάσμα EPR ανταποκρίνεται στα ιόντα [VO(H₂O)₅]²⁺.

Το φάσμα ¹HNMR για την ένωση C₄ σε διαλύτη DMSO (10 mM) έδωσε κορυφές στα 6.53, 4.51 ppm (πολλαπλή), 3.80 και 2.85 ppm (πολλαπλή δευτέρας τάξεως) για τα H(8), H(2,4), H(5), και H(1,3) αντίστοιχα. Αυτό το φάσμα βρίσκεται σε συμφωνία με τη συμμετρική δομή D_{2h} των ακτινών X στο σχήμα 3.8. Το 2D {¹H} gCOSY φάσμα και οι αποδώσεις των κορυφών υποδεικνύονται στο σχήμα 3.13.



Σχήμα 3.13: 2D $\{^1\text{H}\}$ gcosy φάσμα και οι αποδώσεις των κορυφών.

Όσο αφορά το φάσμα 2D $\{^1\text{H}\}$ gNOESY-exsy σε θερμοκρασίες από 20 μέχρι 80°C, έδωσε τις αναμενόμενες αρνητικές κορυφές NOESY. Παρόλα αυτά όμως δεν έδειξε κάποια χημική ανταλλαγή. Το φάσμα ^{51}V NMR του συμπλόκου C₄ σε DMSO (10 mM) λήφθηκε σε ένα εύρος θερμοκρασιών από 23 μέχρι 120°C και εμφανίζεται στο σχήμα 3.14.



Σχήμα 3.14: (A) Το σχήμα εμφανίζει την εξάρτηση της θερμοκρασίας του συμπλόκου C₄ σε DMSO (10 mM) λήφθηκε σε ένα εύρος θερμοκρασιών από 23 μέχρι 120°C. (B) Γράφημα του $\ln((w_i - w_j)/(w_i))$ vs. $1/T$.

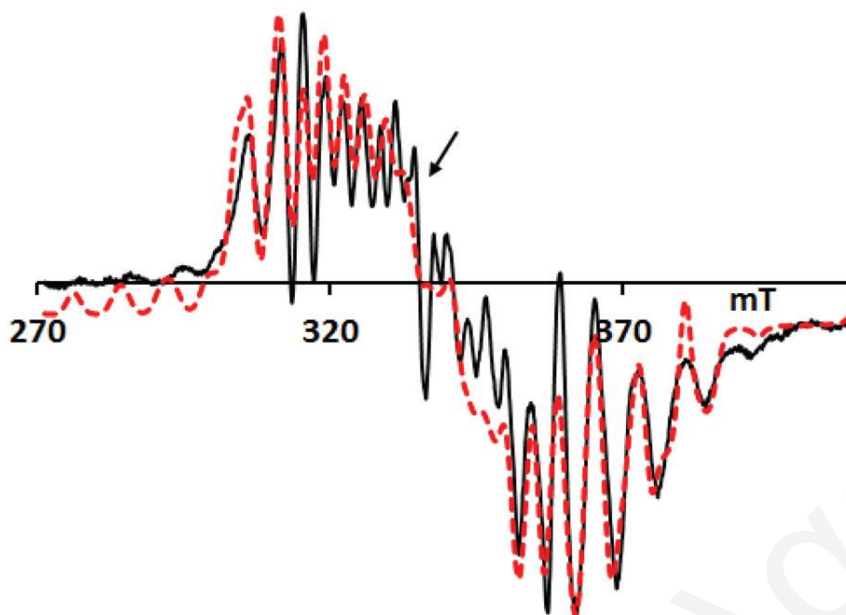
Αν και τα σύμπλοκα με γεωμετρία τριγωνικής διπυραμίδας της σφαίρας ένταξης του βαναδίου εμφανίζουν τα ίδια άτομα δότες με χημικές μετατοπίσεις ~480 ppm, εντούτοις η ένωση C₄, έδωσε μια κορυφή στα ~370 ppm. Η διαφορά στη χημική μετατόπιση που είναι της τάξης των 110 ppm, οφείλεται στη δράση του υποκαταστάτη, λόγω του ότι η αποπροστασία του πυρήνα του βαναδίου αυξάνεται καθώς η ενέργεια LMCT μειώνεται. Καθώς η θερμοκρασία μειώνεται, η κορυφή γίνεται πιο ευρεία, λόγω της γρήγορης χημικής ανταλλαγής η οποία οφείλεται στην αύξηση της συγκέντρωσης των παραμαγνητικών ειδών στο διάλυμα. Ο χρόνος αποδιέγερσης T_i εξαρτάται από τη συγκέντρωση των παραμαγνητικών ειδών P_m , τους φυσικούς χρόνους αποδιέγερσης των διαμαγνητικών T_{id} ($i=1,2$) και παραμαγνητικών ειδών T_{ip} ($i=1,2$) και της χημικής ανταλλαγής t_m και δίνεται από την εξίσωση 3.

$$1/T_i - 1/T_{id} = P_m(1/T_{ip} + 1/t_m) \quad (3)$$

Θα μπορούσε κάποιος να σκεφτεί ότι το T_i επηρεάζεται λιγότερο από τη μεταβολή της θερμοκρασίας από την παρουσία παραμαγνητικών ειδών και ότι η χημική ανταλλαγή του DMSO (t_m) είναι μεγαλύτερη από αυτή του T_{ip} και για αυτό το λόγο το $1/t_m$ δεν συνεισφέρει αρκετά στις κορυφές αποδιέγερσης.

Ο χρόνος αποδιέγερσης T_i είναι αντιστρόφως ανάλογος του εύρους της κορυφής w_i και για αυτό το λόγο η αύξηση του πλάτους της κορυφής του παραμαγνητικού $[(V^{5+}O)_2(bdeah)]$, (w_{id} κορυφή στους $120^\circ C$) πρέπει να είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του παραμαγνητικού μορίου. Έτσι, οι θερμοδυναμικές παράμετροι του **C4**, μπορούν να ληφθούν από το γράφημα $\ln((w_{id}- w_i)/(w_{id}))$ vs. $1/T$, όπου w_{id} είναι το πλάτος της κορυφής στους $120^\circ C$ και το w_i το πλάτος της κορυφής σε κάθε θερμοκρασία. Οι θερμοδυναμικές ποσότητες που λήφθηκαν είναι: $\Delta H = -37 \pm 1 \text{ kJ mol}^{-1}$ και $\Delta S = -109 \pm 3 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ($T_c = 22^\circ C$). Οι τιμές αυτές είναι πολύ κοντά σε αυτές που υπολογίστηκαν με τις μετρήσεις φασματοσκοπίας UV-vis. Η απόκλιση που υπάρχει και είναι γύρω στα $20 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ για το ΔS μεταξύ των δύο πειραμάτων οφείλεται κυρίως στη χρήση διαφορετικών διαλυτών και στη χαμηλή ακρίβεια λόγω του εύρους των κορυφών στη φασματοσκοπία NMR. Ένας τρόπος για να υπολογιστούν με μεγαλύτερη ακρίβεια οι τιμές ΔS είναι να χρησιμοποιείται αντί το εύρος των κορυφών, το ύψος το οποίο μπορεί να υπολογιστεί με μεγαλύτερη ακρίβεια. Το ύψος των κορυφών είναι αντιστρόφως ανάλογο στο εύρος των κορυφών και ανάλογο της συγκέντρωσης του $[(V^{5+}O)_2(bdeah)]$. Το γράφημα $\ln((h_{id}- h_i)/(h_{id}))$ vs. $1/T$ έδωσε $\Delta H = -41 \pm 2 \text{ kJ mol}^{-1}$ και $\Delta S = -119 \pm 3 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ($T_c = 28^\circ C$). Το h_i είναι το ύψος της κορυφής σε κάθε θερμοκρασία. Η διάσπαση του συμπλόκου στο διάλυμα παρακολούθηθηκε κατά τη διάρκεια του πειράματος, όμως φάνηκε ότι είναι αμελητέα.

Το διάλυμα του συμπλόκου **C4** σε DMSO, σε θερμοκρασία δωματίου δεν έδωσε σήμα. Σε αντίθεση, το σύμπλοκο **C5** σε παγωμένο DMSO και μίγμα διαλυτών DMSO-MeOH (4:6), έδωσαν ανισοτροπικό φάσμα 22 κορυφών με κέντρο $g \sim 2.00$. Ο διαχωρισμός των κορυφών κυμάνθηκε από 30 μέχρι 80 G (σχήμα 3.15).



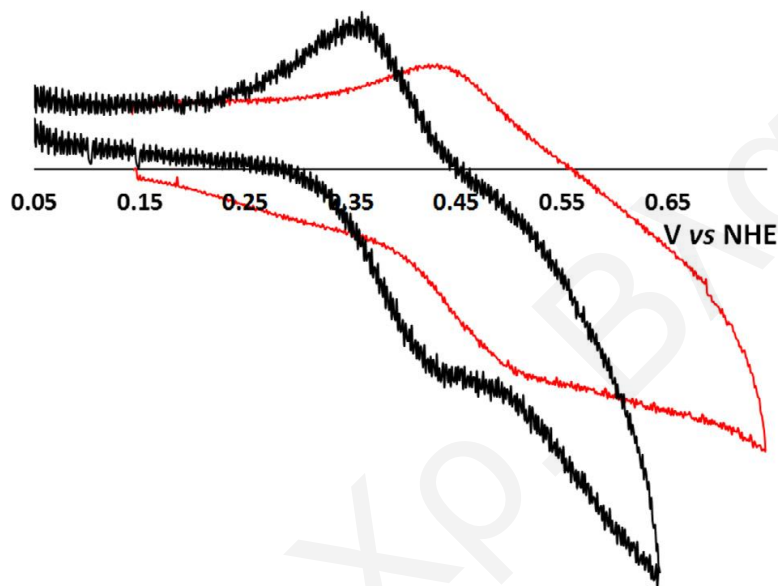
Σχήμα 3.15: Φάσμα EPR του C_4 σε διάλυμα DMSO (1mM) στους 100 K. Το βέλος αναφέρεται στην ύπαρξη της κεντρικής κορυφής του V^{IV} λόγω μερικής διάσπασης του συμπλόκου. Στο σχήμα επίσης φαίνεται και το φάσμα προσομοίωσης, μετά από υπολογισμούς.

Η σύζευξη δείχνει καθαρά ότι τα ηλεκτρόνια εντοπίζονται μερικός στα ιόντα βαναδίου. Το φάσμα επεξεργάζεται καλύτερα με την παραδοχή ότι τα βαναδικά ιόντα είναι spin $1/2$. Επειδή η σύζευξη με τα πρωτόνια των υδροκινονών αναμένεται να είναι μικρή, μικρότερη από 2G, δεν συμπεριλήφθηκε στην επεξεργασία του φάσματος. Επιπρόσθετα, επειδή η επεξεργασία του φάσματος είναι μια διαδικασία πολύ χρονοβόρα και διαρκεί αρκετές μέρες, το σύστημα αξιολογήθηκε βάσει τη θεωρία της διατάραξης της πρώτης φάσης η οποία είναι γρηγορότερη, όμως λιγότερη ανακριβείς. Η ακρίβεια της επεξεργασίας επίσης επηρεάζεται από τη παρουσία μιας μικρής ποσότητας του διασπασμένου μορίου και τη παρουσία των συμπλόκων C_5 και C_6 στο διάλυμα. Η καλύτερη προσομοίωση του φάσματος παρατηρήθηκε για $g_x=1.984$, $g_y=1.987$, $g_z=1.957$, $A_x=-64 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, $A_y=-66 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, $A_z=-146 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, $J_{iso}=267 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ και $J_{dip}=133 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$. Από τα άτομα δότες της συγκεκριμένης εργασίας, η κατανομή του υδροκινονικού/ημικινονικού οξυγόνου δεν είναι ακόμα γνωστή. Παρόλα αυτά, περισσότερο θεωρείται ότι το υδροκινονικό οξυγόνο συνεισφέρει παρόμοια με το φαινολικό οξυγόνο ($-38.6 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, αυτή η τιμή πρέπει να είναι μεγαλύτερη από αυτή του ημικινονικού οξυγόνου) και της MeOH ή του DMSO παρόμοια με του H_2O ($-45.7 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$). Για αυτό το λόγο η υπολογιζόμενη τιμή A_z για το σύμπλοκο του V^{4+} πρέπει να είναι μικρότερη από $-161 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$. Οι πειραματικές τιμές είναι κοντά, αλλά λίγο μεγαλύτερες από τις

θεωρητικές, γεγονός που δείχνει ότι η ηλεκτρονιακή πυκνότητα είναι μερικώς εντοπισμένη στα βαναδικά ιόντα. Αυτά τα αποτελέσματα περιγράφουν καλύτερα ένα διπυρηνικό σύμπλοκο V^{4+} από ότι απεντοπισμένου συμπλόκου $V^{4.5+}$.

3.5 Κυκλική βολταμετρία

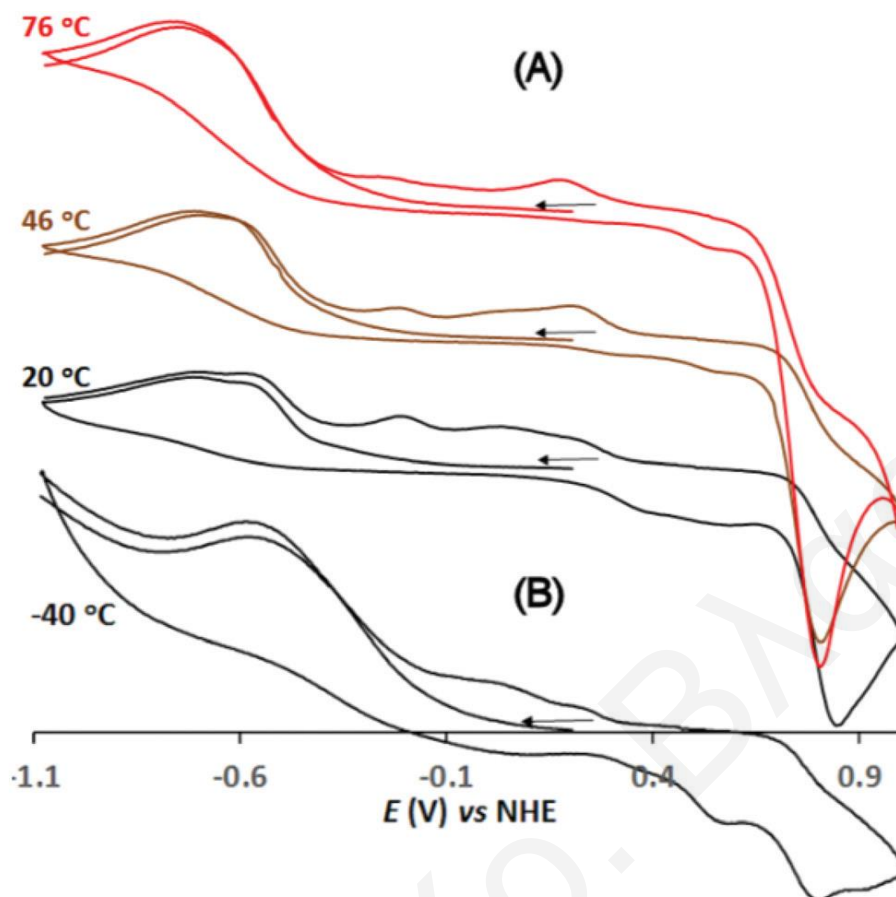
Στο σχήμα 3.16, παρουσιάζονται τα κυκλικά βολταμογραφήματα των συμπλόκων C_{1a} και C_2 σε pH 3.2 και 2.7 αντίστοιχα.



Σχήμα 3.16: Κυκλικό βολταμογράφημα των συμπλόκων C_{1a} (0.5mM) (κόκκινο χρώμα) και C_2 (1mM) (μαύρο χρώμα) σε pH 3.2 και 2.7 αντίστοιχα.

Το κυκλικό βολταμογράφημα του ελεύθερου υποκαταστάτη εμφανίζεται στο σχήμα 3.10. Και τα δύο σύμπλοκα μόρια εμφανίζουν ένα ημιαντιστρεπτό σήμα στα -0.27 V τα οποία οφείλονται στην αναγωγή των καρβοξυλομάδων του οργανικού υποκαταστάτη.

Η κυκλική βολταμογραφία σε διαλύτη DMSO και DMSO-MeOH (4:6) του συμπλόκου C_4 , εμφανίζεται στο σχήμα 3.17.



Σχήμα 3.17: (A) Κυκλική βολταμετρία σε διάλυμα DMSO του συμπλόκου C₄ (1mM). (B) Κυκλική βολταμετρία σε διάλυμα DMSO-MeOH (4:6) ου συμπλόκου C₄ (1mM).

Το βολταμογράφημα του ελεύθερου υποκαταστάτη H₆bdeah·2HCl σε διαλύτη DMSO σε θερμοκρασία δωματίου, εμφάνισε ένα μη αντιστρεπτό κύμα οξείδωσης σε δυναμικό ~0.9 V vs. NHE με ρεύμα στα ~0.9 V. Το κυκλικό βολταμογράφημα για το σύμπλοκο C₄ στους 76°C, έδωσε δύο μη αντιστρεπτά αναγωγικά ρεύματα στα ~-0.60 V vs. NHE και μια θυγατρική κορυφή στα ~-0.55 V η οποία αποδίδεται στις αναγωγές των δύο ηλεκτρονίων και επαναοξειδώσεις των V(V) κέντρων. Στους 20°C, τα δύο κύματα, διαχωρίζονται περισσότερο και δίνουν θυγατρικές κορυφές στα ~0.5 V και ~0.6 V. Επιπρόσθετα, το σύμπλοκο εμφανίζει μη αντιστρεπτή κορυφή οξείδωσης δύο ηλεκτρονίων στα ~0.80 V vs. NHE, και 2 σήματα τα οποία σχετίζονται με τις θυγατρικές κορυφές οξείδωσης στα ~0.2 V και ~0.0 V. Αυτού του είδους η συμπεριφορά, είναι ακριβώς η ίδια με αυτή του ελεύθερου υποκαταστάτη, και για αυτό το λόγο οι κορυφές αποδόθηκαν στην οξείδωση της υδροκινόνης σε κινόνη και στην αναγωγή της κινόνης σε δύο στάδια. Μειώνοντας τη θερμοκρασία, τα δύο μη αντιστρεπτά σήματα των δύο ηλεκτρονίων υδροκινόνης/κινόνης, μειώνονται σε ένταση αναλογικά. Τελικά, στους -40°C, όπου το περισσότερο μέρος του συμπλόκου

βρίσκεται σε $[(V^{4.5+}O)_2(bdeas)S_2]$ μορφή, η κορυφή μετατρέπεται σε ενός ηλεκτρονίου ημιαντιστρεπτό σήμα. Το ευρύ σήμα στα ~ 0.20 V, αυξάνεται σε μέγεθος και συνενώνεται με αυτό του $V(V)/V(IV)$, δίνοντας ένα ευρύ σήμα στα ~ 0.5 V vs. *NHE*. Η ηλεκτροχημεία υποστηρίζει ότι η μεταφορά ηλεκτρονίου σχετίζεται με τη μεταβολή της θερμοκρασίας, η οποία παρατηρείται σε αυτό το σύμπλοκο στο διάλυμα. Η μεγάλη διαφορά μεταξύ της οξειδωσης του υποκαταστάτη και του δυναμικού αναγωγής του μετάλλου (~ 1.4 V), υποδεικνύει υψηλή θερμοδυναμική σταθερότητα. Αυτό συμφωνεί και με τα αποτελέσματα που αναλύθηκαν όσο αφορά την αλλαγή της εντροπίας του συστήματος σε σχέση με τη μεταφορά ηλεκτρονίου.

Σύμπλοκα με γεωμετρία τετραγωνικής πυραμίδας:

Η πρόβλεψη των ηλεκτροχημικών δυναμικών των πιο πάνω μορίων που συντέθηκαν σε αυτή την εργασία παρουσίαζε εξαιρετικό ενδιαφέρον καθώς με αυτό το τρόπο βρισκόμαστε σε θέση να αναγνωρίσουμε την δραστηριότητα αυτών των μορίων. Οι μελέτες πάνω σε σύμπλοκα βαναδίου συνέτειναν πολύ στη διεύρυνση της γνώσης όσο αφορά του τι μπορούμε να περιμένουμε από τα πιο πάνω μόρια.

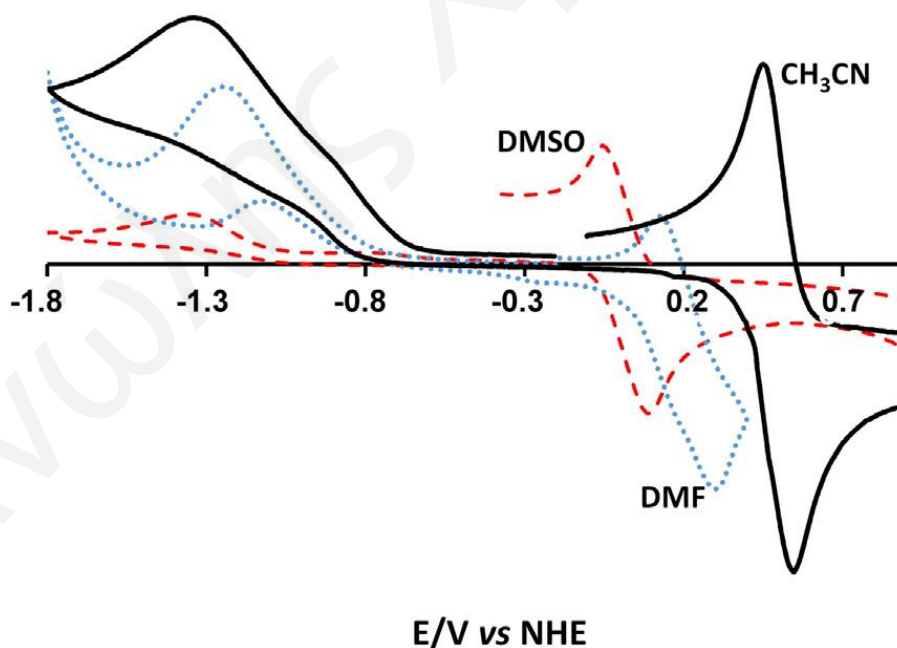
Γενικά, οι υποκαταστάτες χαμηλού φορτίου, σταθεροποιούν τις υψηλότερες οξειδωτικές καταστάσεις του βαναδικού ιόντος. Εξαιρεση αποτελεί το αμιδικό σύμπλοκο $[VO(hyryb)]^-$ ($hyryb^{3-}$), το οποίο παρουσιάζει υψηλότερα δυναμικά από τα $[VO(salen)]$, $[VO(tsalen)]$, και $[VO(acacen)]$, όπου $[tsalen^{2-} = N,N'$ -αιθυλενοδισ(θειοσαλικυλοδιαμινατο), $acacen^{2-} =$ δισ(ακετυλοακετόνη)αιθυλενοδιαμινατο], παρά το χαμηλότερο φορτίο (-2) των ενταγμένων υποκαταστατών από το $hyryb^{3-}$. Το αμιδικό άζωτο άτομο δότης, προσφέρει χαμηλότερη σταθεροποίηση για το $V(V)$, από ότι το φαινολικό οξυγόνο άτομο δότης. Παρόμοια τάση παρατηρείται και στην αναγωγή των συμπλόκων ($VO^{2+} + e^- \leftrightarrow VO^+$) με ενώσεις που εμφανίζονται σε υψηλότερα δυναμικά οξειδωσης, να έχουν επίσης υψηλότερα δυναμικά αναγωγής. Εξαιρεση αποτελεί το $[VO(HQ)_2]$, ($HQ =$ 8-κινονικό) σύμπλοκο, το οποίο είναι θερμοδυναμικά σταθερό σε οξείδωση και αναγωγή, δείχνοντας υψηλή σταθεροποίηση της οξειδωτικής κατάστασης του $V(IV)$, από το άζωτο της πυριδίνης. Οι υποκαταστάτες με ψιλότερα φορτία (-4), δεν παρουσιάζουν αναγωγή στην κυκλική βολταμετρία λόγω του ότι τα δυναμικά βρίσκονται εκτός από τα οξειδοαναγωγικά όρια του διαλύτη. Τα φαινορικά και ενολικά άτομα οξυγόνου, είναι οι καλύτεροι σταθεροποιητές της οξειδωτικής

κατάστασης του V(V). τα αμιδικά άτομα αζώτου και τα άτομα θείου στα σύμπλοκα V(IV) τετραγωνικής πυραμίδας, αυξάνουν ελάχιστα τα δυναμικά αναγωγής ($\text{VO}^{2+} \leftrightarrow \text{VO}^{3+} + e^-$). Η μίνι και περισσότερο τα άζωτα της πυριδίνης, θερμοδυναμικά ευνοούν την οξειδωτική κατάσταση V(IV).

Τα δυναμικά οξείδωσης και αναγωγής σχετίζονται με τα HOMO (higher occupied molecular orbitals) και LUMO (lower unoccupied molecular orbitals) τροχιακά αντίστοιχα. Η συνεισφορά στην ανάμιξη του ατόμου δότη στα δυναμικά οξειδοαναγωγής των συμπλόκων, πρέπει να σχετίζεται με τις φασματοσκοπικές σειρές των ατόμων δότη.

Επίδραση του αξονικού ατόμου δότη στα ηλεκτροχημικά δυναμικά:

Η κενή 6^η θέση στα επίπεδα τετραγωνικά μόρια απέναντι από τις όξο-ομάδες είναι ελεύθερη για ένταξη από τα μόρια του διαλύτη που περιέχουν άτομα δότες. Για παράδειγμα τα σύμπλοκα $[\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{salen})]$ και $[\text{V}^{\text{V}}\text{O}(\text{salen})]$, όταν διαλυθούν σε ενταγμένους διαλύτες τότε σχηματίζουν 6-ενταγμένα σύμπλοκα. Το σχήμα 3.18 δείχνει τις κυκλικές βολταμετρίες του $[\text{VO}(\text{salen})]$ σε διαφορετικούς διαλύτες, σε σειρά ανάλογα με την ευκολία ένταξής τους, CH_3CN , DMF, και DMSO.



Σχήμα 3.18: Κυκλική βολταμετρία του συμπλόκου $\text{VO}(\text{salen})$ (1.0 α) σε διάφορους διαλύτες. Όλα τα δυναμικά προσδιορίστηκαν σε ρυθμό σάρωσης 100 mV s^{-1} .

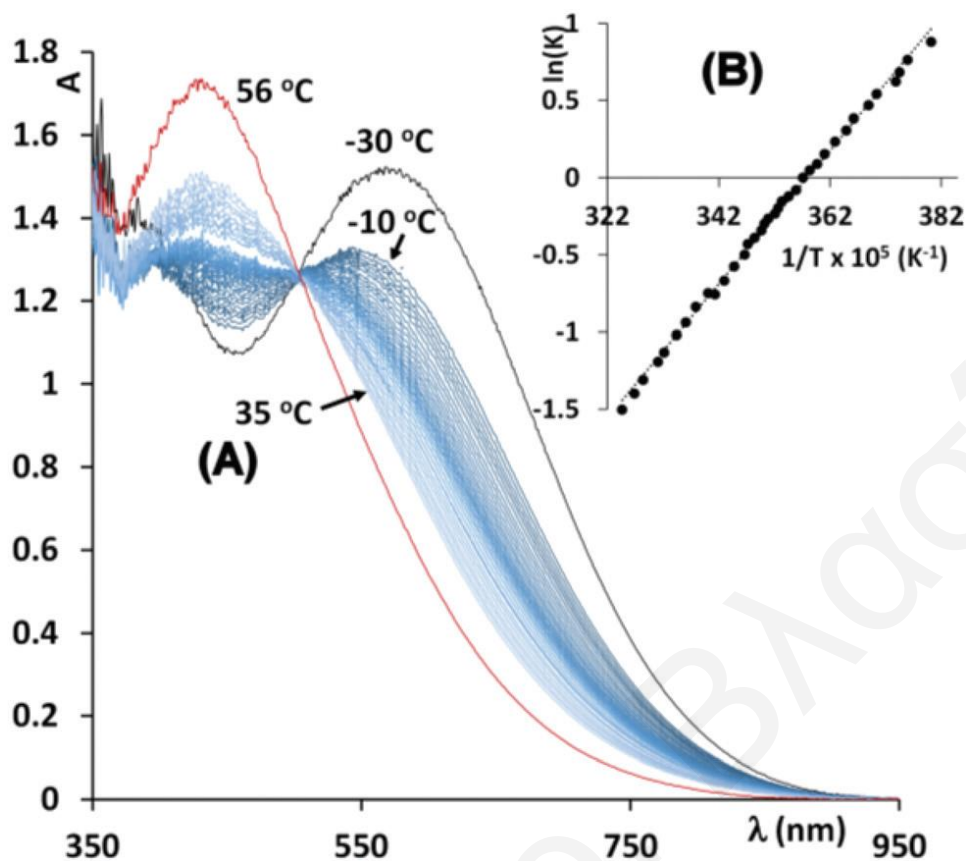
Η κυκλική βολταμετρία έδειξε μετατόπιση των ($\text{VO}^{2+} \leftrightarrow \text{VO}^{3+} + e^-$), σε χαμηλότερα δυναμικά (~0.30 V για το DMSO σε σύγκριση με το CH_3CN), με προσθήκη διαλύτη στη θέση 6 της επίπεδης πυραμίδας $[\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{salen})]$ και η μετατόπιση αυξάνεται με αύξηση της ιδιότητας ένταξης του διαλύτη. Στο αναγωγικό σήμα ($\text{VO}^{2+} + e^- \leftrightarrow \text{VO}^+$) παρατηρείται μετατόπιση σε χαμηλότερα ηλεκτροχημικά δυναμικά. Το ίδιο πείραμα επαναλήφθηκε με το $[\text{VO}(\text{hybeb})]^{2-}$. Το χρώμα των διαφορετικών διαλυμάτων είναι το ίδιο, σε αντίθεση με το $[\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{salen})]$, που εμφανίζει πράσινο χρώμα στο CH_3CN και καφέ στο DMSO, δείχνοντας ότι το $[\text{VO}(\text{hybeb})]^{2-}$ παραμένει σε γεωμετρία τετραγωνικής πυραμίδας σε όλους τους διαλύτες. Πράγματι, οι κυκλικές βολταμετρίες του $[\text{VO}(\text{hybeb})]^{2-}$ είναι ίδιες σε όλους τους διαλύτες, δείχνοντας ότι οι διαλύτες δεν εντάσσονται στο βαναδικό ιόν.

Οι πειραματικές τιμές των οκταεδρικών συμπλόκων, μετατοπίζονται σε τιμές σύμφωνα με την εξίσωση 4. Για παράδειγμα, στο οκταεδρικό σύμπλοκο του $[\text{VO}(\text{L})(\text{dppz})]$, $\text{L} = 2$ - (2-υδροξυβενζυλοδιαμινο)φαινόλη και $\text{dppz} =$ διπυριδο[3,2-a:2',3'-c]φαιναζίνη], το ισημερινό περιβάλλον είναι $\text{O}_{\text{Ph}_2\text{N}_{\text{im}}\text{N}_{\text{Py}}}$, ενώ οι αξονικές θέσεις καταλαμβάνονται από ένα άτομο οξυγόνου και ένα άζωτο πυριδίνης. Τα ηλεκτροχημικά δυναμικά υπολογίστηκαν από την εξίσωση 4 και είναι 0.79 V για το ($\text{VO}^{2+} \leftrightarrow \text{VO}^{3+} + e^-$), και -1.31 V για το ($\text{VO}^{2+} + e^- \leftrightarrow \text{VO}^+$). Οι πειραματικές τιμές είναι 0.44 και -1.41 V αντίστοιχα, μετατοπισμένα σε μικρότερα δυναμικά, όπως ήταν αναμενόμενο για οκταεδρικά σύμπλοκα.

$E_{\text{calc}} = \sum_1^n (\text{DEC})$ (4) όπου $(\text{DEC}) = \sum_1^m E_{\text{calc}} - E_{\text{exp}}$, E_{xp} = πειραματικές μετρήσεις και m = αριθμός των συμπλόκων.

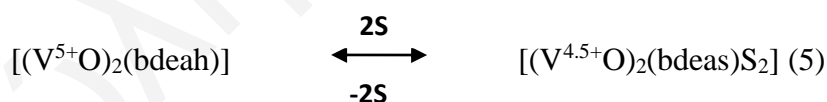
3.6 Μελέτες UV-vis

Είναι εμφανές από τη σύνθεση και το χαρακτηρισμό των στερεών, το γεγονός ότι υπάρχει μια διαδικασία μεταφοράς ηλεκτρονίου συνοδευόμενη και από φορτία της σφαίρας ένταξης του βαναδικού ιόντος. Η μελέτη του συμπλόκου C_4 σε ένα μεγάλο εύρος θερμοκρασιών, με φάσματα απορρόφησης σε μίγμα διαλυτών DMSO-MeOH (4:6), παρουσιάζεται στο σχήμα 3.19.



Σχήμα 3.19: (A) Φάσμα UV-vis σε διάφορες θερμοκρασίες του C4 σε μίγμα διαλυτών (DMSO-MeOH) (4:6). (B) Διάγραμμα του $\ln(K)$ vs. $1/T$.

Στην πιο κάτω εξίσωση (5) φαίνεται η ύπαρξη μιας ισορροπίας η οποία συμφωνεί με τη μεταφορά ηλεκτρονίου, όπου το S=μόριο διαλύτη.



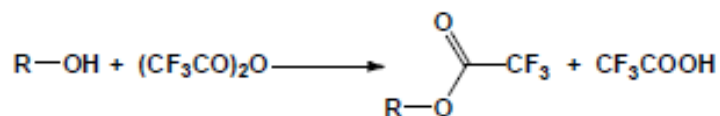
Σε χαμηλές θερμοκρασίες ($-30^{\circ}C$), το σύμπλοκο C4 βρίσκεται σε οξειδωτική κατάσταση $[(V^{4.5+}O)_2(bdeas)S_2]$ και εμφανίζεται μια έντονη κορυφή στα 570 nm ($\epsilon=7000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Με αύξηση της θερμοκρασίας το $[(V^{4.5+}O)_2(bdeas)S_2]$ μετατρέπεται σε $[(V^{5+}O)_2(bdeah)]$. Ως συνέπεια της αύξησης της θερμοκρασίας από τους $-30^{\circ}C$ στους $56^{\circ}C$, είναι η μείωση της έντασης της χαρακτηριστικής κορυφής του $[(V^{4.5+}O)_2(bdeas)S_2]$ και η εμφάνιση μιας νέας στα 435 nm ($\epsilon=8850 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), η οποία είναι χαρακτηριστική του $[(V^{5+}O)_2(bdeah)]$. Στα 505 nm εμφανίζεται ένα ισοασβεστικό σημείο σε εύρος θερμοκρασιών από $-30^{\circ}C$ στους $35^{\circ}C$, γεγονός που δείχνει ότι τα δύο σύμπλοκα του βαναδίου βρίσκονται σε ισορροπία μέσα στο

διάλυμα. Σε υψηλότερες θερμοκρασίες παρατηρείται διάσπαση και σχηματισμός ενός αγνώστου συμπλόκου του V(IV) το οποίο επιβεβαιώθηκε με τη φασματοσκοπία EPR. Στο σχήμα 3.19 εμφανίζεται το διάγραμμα του $\ln(K)$ συναρτήσει του $1/T$ από το οποίο υπολογίζονται οι θερμοδυναμικές ποσότητες ΔH και ΔS . Οι σχετικές συγκεντρώσεις των συμπλόκων ενώσεων στο διάλυμα για κάθε θερμοκρασία λαμβάνονται με τις αλλαγές των εντάσεων στο φάσμα ορατού-υπεριώδους. Οι θερμοδυναμικές ποσότητες οι οποίες λαμβάνονται είναι για το $\Delta H = -36 \pm 2 \text{ KJ mol}^{-1}$ και $\Delta S = -129 \pm 5 \text{ KJ mol}^{-1}$. Αυτές οι τιμές είναι πολύ κοντά σε τιμές που παρατηρήθηκαν και σε άλλα σύμπλοκα Co(III)/Co(II) με κατεχόλες. Η γεωμετρία τριγωνικής πυραμίδας/οκταέδρου σχετίζεται με την ένταξη και αποένταξη του μορίου του διαλύτη και είναι υπεύθυνη για τις θερμοδυναμικές αλλαγές στη φάση της ισορροπίας των δύο διαλυμάτων. Η μεγάλη τιμή εντροπίας του συστήματος είναι υπεύθυνη για τον υψηλό συσχετισμό μεταξύ της μεταβολής της θερμοκρασίας και της μεταφοράς ηλεκτρονίου. Η αρνητική τιμή, σχετίζεται με την ένταξη των δύο μορίων του διαλύτη. Ακόμα ένα ενδιαφέρον γεγονός για την ένωση **C4** είναι οι σχετικά χαμηλές κρίσιμες θερμοκρασίες ($T_c = 7^\circ\text{C}$), κατά τις οποίες υπάρχουν ίσες ποσότητες των ενώσεων $[(V^{5+}O)_2(\text{bdeah})]$ και $[(V^{4.5+}O)_2(\text{bdeas})S_2]$. Η σύμπλοκη ένωση **C4** υπάρχει σε θερμοκρασίες τουλάχιστον 15°C χαμηλότερες από τα σύμπλοκα των Co(III)/Co(II) με τις κατεχόλες, παρά το γεγονός ότι έχουν υπολογιστεί παρόμοιες τιμές ενθαλπίας μεταξύ των δύο ταυτομερών ενώσεων.

3.7 Ανάπτυξη μεθόδου προσδιορισμού υδρόξο-μορίων –OH, σε περίπλοκα περιβάλλοντα

Η επιλογή του τριφθορο-οξικού ανυδρίτη ως αντιδραστηρίου σήμανσης των –OH ομάδων, έγινε γιατί είναι εύκολο στο χειρισμό, και αντιδρά επιλεκτικά σε υψηλές αποδώσεις με τις οργανικές χαρακτηριστικές ομάδες ενδιαφέροντος. Οι χημικές μετατοπίσεις των τριφθορο-οξικών παραγώγων των –OH μορίων, είναι ανάλογες των ομάδων R, των υδρόξο μορίων, δίνοντας σημαντικές πληροφορίες δομής για τις φαινόλες/αλκοόλες ενδιαφέροντος. Η παρουσία τριών ισοδύναμων πυρήνων φθορίου στο τριφθορο-μεθυλ- αντιδραστήριο, που χρησιμοποιήθηκε για την σήμανση των –OH ομάδων, δίνει ένα επιπρόσθετο στοιχείο στην ένταση των κορυφών προσδίνοντας μεγαλύτερη ευαισθησία στο πείραμα. Η μεγάλη ευαισθησία επιτρέπει τον απευθείας προσδιορισμό των –OH ομάδων, ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις, μέσα σε πλήθος άλλων μορίων. Η προετοιμασία των φθοριωμένων μορίων επιτυγχάνεται με

προσθήκη 3-5 φορές περίσσειας του $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$, σε διαλύματα με τα υδρόξο μόρια σε CDCl_3 ή CD_2Cl_2 (σχήμα 3.20).



Σχήμα 3.20: Αντίδραση φθορίωσης των OH- μορίων.

Η αντίδραση που απεικονίζεται στο σχήμα 3.20, είναι για τον ποσοτικό προσδιορισμό αλιφατικών οξέων, πρωτοταγών, δευτεροταγών και κυκλικών αλιφατικών αλκοολών. Επιπρόσθετα η εστεροποίηση των αρωματικών φαινολών και των στερικά παρεμποδισμένων αλκοολών γίνεται μερικώς και πολύ αργά χρονικά, ακόμα και με περίσσεια του ανυδρίτη. Η προσθήκη πολύ μικρών ποσοτήτων βάσης, όπως η πυριδίνη, (βάση/ανυδρίτη ~0.3), καταλύει την αντίδραση προκαλώντας την εστεροποίηση, όλων των -OH μορίων. Οι χημικές μετατοπίσεις (πίνακας 3.6), για τα τριφθορο-παράγωγα των -OH μορίων, καλύπτουν ένα εύρος της τάξης των 2 ppm και ακολουθούν μια συγκεκριμένη σειρά από το χαμηλό προς το υψηλό πεδίο χημικής μετατόπισης: φαινόλες>αλειφατικές πολυαλκοόλες>βενζυλικές αλκοόλες>πρωτοταγής αλκοόλες>κυκλικές δευτεροταγής αλκοόλες>δευτεροταγής αλκοόλες>αρωματικά οξέα>αλειφατικά οξέα>τριτοταγής αλκοόλες.

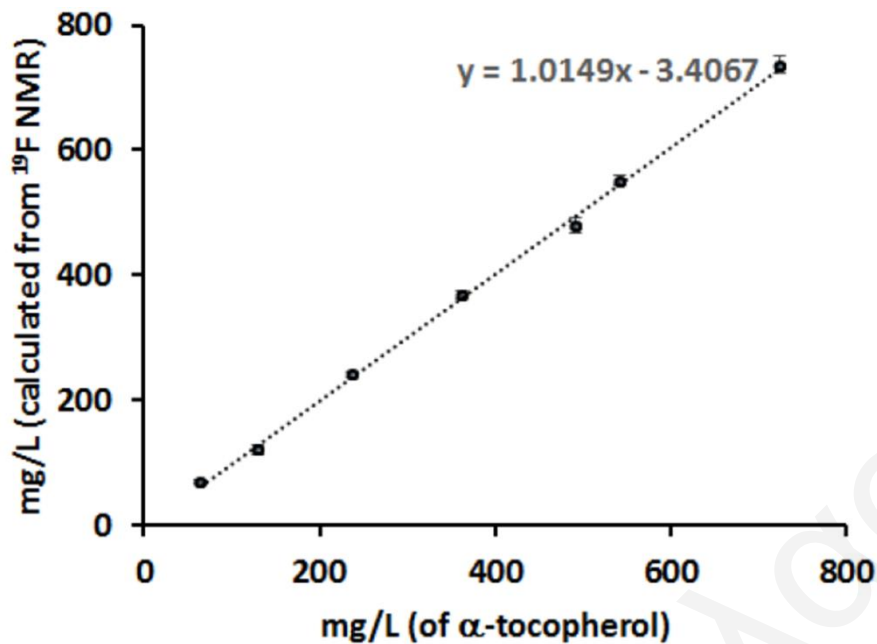
Πίνακας 3.6: Οι κυριότερες χημικές μετατοπίσεις των CH_3COO -παραγώγων των υδρόξο μορίων σε δείγμα ελαιολάδου. Ο χρόνος T1 υπολογίστηκε πειραματικά ως χρόνος ανάκτησης αναστροφής των κορυφών.

OHS	Chemical Shift/ppm	T1/s
α -tocopherol	-74.847	0.72
Tyrosol (aromatic)	-74.965	
1,2-DG	-75.150	0.87
1-MG	-75.185	
1,3-DG	-75.264	0.87
β -sitosterol	-75.562	1.66
Aliphatic alcohols	-75.31 to -75.50	
Other alcohols	-75.558 to -75.554	

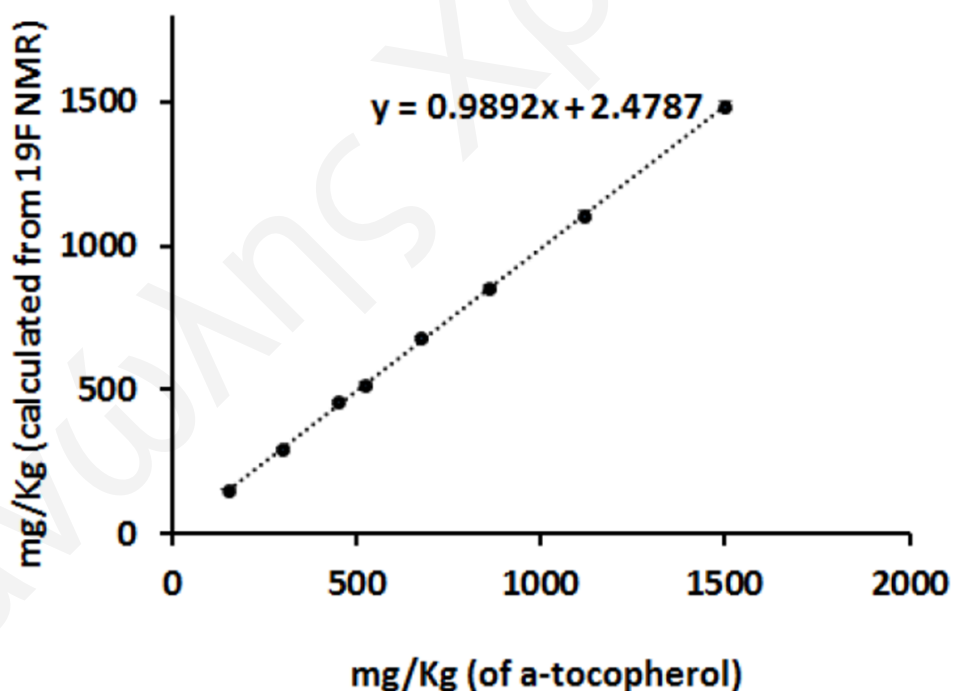
Free fatty acids	-75.929	1.30
Allyl, aromatic acids	-75.632, -75.623	

Η σταθερά προστασίας του πυρήνα ^{19}F , εξαρτάται πολύ περισσότερο από το χημικό περιβάλλον και το φάσμα είναι πολύ απλούστερο από αυτό του ^1H NMR, προσδίδοντας ευκολότερο διαχωρισμό και απόδοση των κορυφών στο φάσμα μείγματος μορίων $-\text{OH}$.

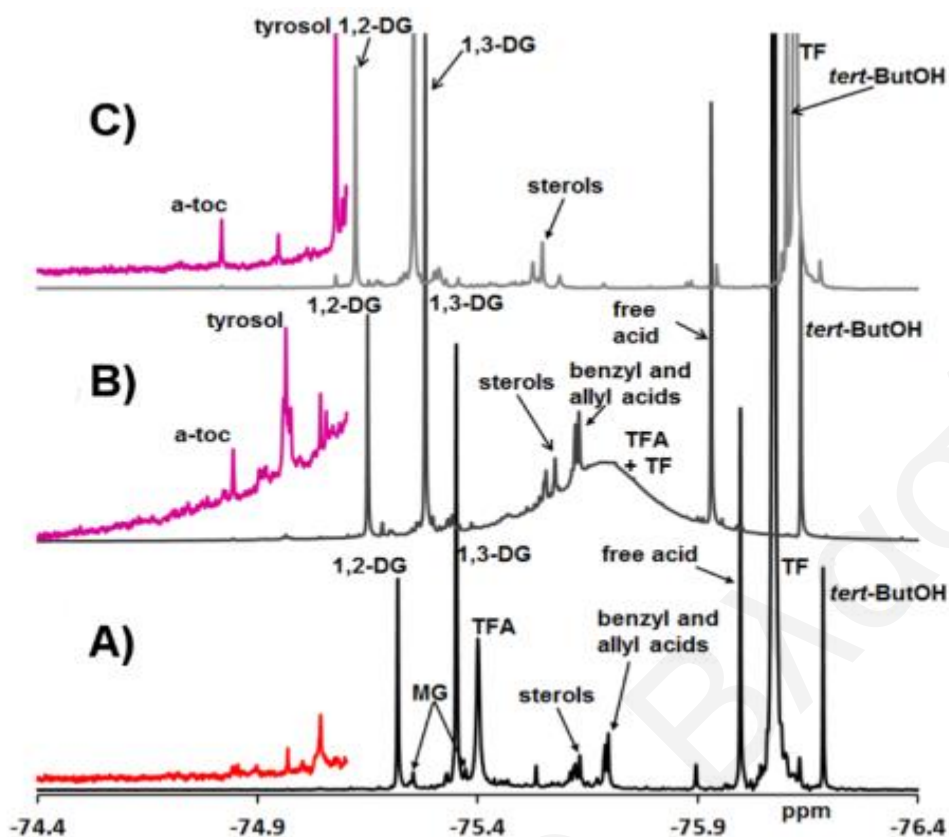
Ο ποσοτικός προσδιορισμός των υδρόξο-μορίων, επικυρώθηκε με πρότυπες καμπύλες σε CDCl_3 . Χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων των υδρόξο-μορίων, (μεταξύ 1.4-15 mM), όπως α -τοκοφερόλης, β -σιτοστερόλης, εικοσανόλης, ομοβανυλικής αλκοόλης, 1,2- και 1,3- διγλυκερίδια, (1,2- και 1,3 DG), 2,2'-διμεθυλοκυκλοεξανόλης και ολεϊκού οξέος τα οποία αντέδρασαν με τριφθοροοξικό ανυδρίτη σε CDCl_3 ή CD_2Cl_2 , παρουσία εσωτερικού προτύπου (τριτοταγούς βουτανόλης). Ο ποσοτικός προσδιορισμός των υδρόξο-μορίων επικυρώθηκε με την δημιουργία καμπύλης βαθμονόμησης σε δείγματα που περιείχαν ελαιόλαδο. Οι καμπύλες των συγκεντρώσεων που μετρήθηκαν με το ^{19}F NMR, και των προστιθέμενων συγκεντρώσεων ήταν γραμμικές αποδεικνύοντας ότι η εστεροποίηση των OH -ομάδων έγινε ποσοτικά και ανεξάρτητα από την παρουσία άλλων ενώσεων που βρέθηκαν στο δείγμα (σχήμα 3.21, 3.22). Οι συγκεντρώσεις των εστεροποιημένων OH -μορίων προσδιορίστηκαν από την ολοκλήρωση των εμβαδών του φθορίου σε σχέση με την ολοκλήρωση των κορυφών του εσωτερικού προτύπου. Οι υπολογιζόμενες συγκεντρώσεις ήταν και αυτές γραμμικές σε σχέση με την συγκέντρωση του εισαγμένου αναλυτή και η ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης των δεδομένων έδωσε συντελεστή συσχέτισης μεγαλύτερο του 0.998. Οι καμπύλες βαθμονόμησης στα μίγματα με τα OH -μόρια έδωσαν παρόμοια αποτελέσματα.



Σχήμα 3.21: Γραμμική σχέση που εμφανίζεται με την προσθήκη α -τοκοφερόλης σε CDCl_3 σε σχέση με την υπολογιζόμενη συγκέντρωση της κορυφής του φθορίου -19 NMR (α -τοκοφερόλης) συγκρινόμενη με αυτή του εσωτερικού προτύπου. Οι τιμές LOD και LOQ βρέθηκαν 16 και 49 mg/L αντίστοιχα.



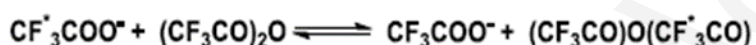
Σχήμα 3.22: Γραμμική σχέση που εμφανίζεται με την προσθήκη α -τοκοφερόλης σε CDCl_3 σε σχέση με την α -τοκοφερόλη που προϋπήρχε στο δείγμα με βάση την υπολογιζόμενη συγκέντρωση της κορυφής του φθορίου -19 NMR (α -τοκοφερόλης) συγκρινόμενη με αυτή του εσωτερικού προτύπου. Οι τιμές LOD και LOQ βρέθηκαν 16 και 47 mg/L αντίστοιχα.



Σχήμα 3.23: Φάσμα φθορίου-19 μίγματος τοκοφερόλης με περίσσεια τριφθοροοξικού ανυδρίτη. Στο φάσμα A η αντίδραση πραγματοποιείται χωρίς την προσθήκη πυριδίνης, στο φάσμα B) η αντίδραση γίνεται με προσθήκη βάσης και στο φάσμα C πραγματοποιείται εκχύλιση με νερό και υδρόλυση των οξέων.

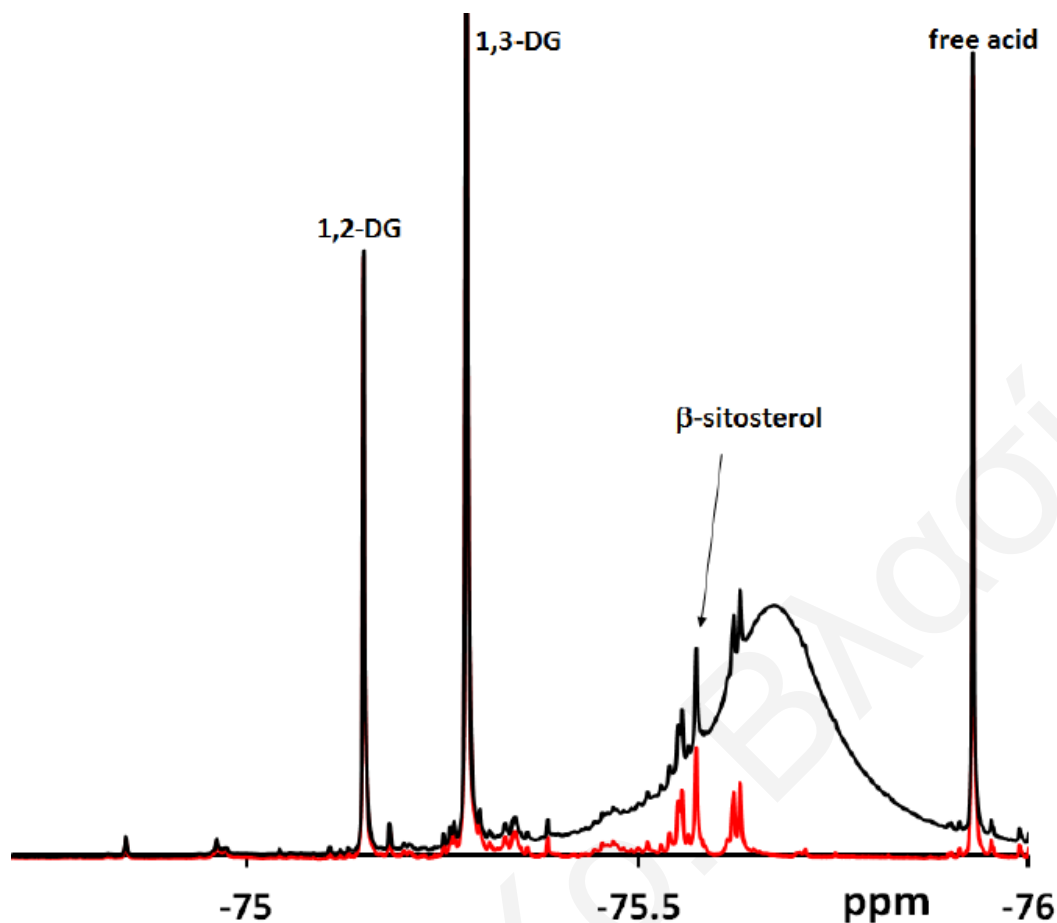
Αναλυτικότερα, δείγματα ελαιολάδου διαφόρων προελεύσεων (0.5 g) αντέδρασαν με περίσσεια τριφθοροοξικού ανυδρίτη (80-150μl), σε διάλυμα CDCl_3 1.35 M με και χωρίς την προσθήκη μικρής ποσότητας βάσης πυριδίνης 25-50 μl σε διάλυμα CDCl_3 1.35 M, μαζί με την προσθήκη πρότυπου διαλύματος κυκλοεξανόλης, ή 2-πεντανόλης ή τριτοταγούς βουτανόλης. Η 2-πεντανόλη έδωσε σήμα το οποίο δεν επικαλυπτόταν από καμιά άλλη κορυφή άλλης ουσίας και για αυτό το λόγο προτιμήθηκε. Επίσης ούτε η τριτοταγής βουτανόλη έδωσε επικαλυπτόμενο σήμα, παρόλα αυτά χρειάστηκε και προσθήκη πυριδίνης για ποσοτική αντίδραση με τον τριφθοροοξικό ανυδρίτη. Η κυκλοεξανόλη έδινε σήμα πολύ κοντά σε αυτό της β -σιτοστερόλης, παρά το γεγονός ότι χρησιμοποιείται συχνά με βάση τη βιβλιογραφία^[220-226] σε ποσοτικούς προσδιορισμούς. Τα φάσματα τα οποία λήφθηκαν χωρίς την παρουσία βάσης έδωσαν κορυφές οι οποίες αποδίδονται στα φθοριωμένα παράγωγα των OH-μορίων, μια κορυφή η οποία ανήκει σε πρότυπη ένωση, μια κορυφή η οποία αποδίδεται στο ελεύθερο τριφθοροοξικό οξύ και μια κορυφή που οφείλεται στον τριφθοροοξικό

ανυδρίτη (σχήμα 3.23(A)). Η παρουσία κορυφής του τριφθοροοξικού ανυδρίτη στο φάσμα, θεωρείται ένας πολύ καλός δείκτης στο να γίνεται γνωστό αν ο ανυδρίτης βρίσκεται σε περίσσεια ή αν καταναλώνεται πλήρως από την αντίδραση με τα ΟΗ-μόρια και το ελεύθερο νερό που υπάρχει στα δείγματα. Η ταυτότητα των κορυφών αποδόθηκε με πειράματα έγχυσης γνωστής ποσότητας διαλυμάτων των υπό μελέτη μορίων. Τα φάσματα στα δείγματα όπου έγινε προσθήκη βάσης, είναι παρόμοια με αυτά που δεν έγινε προσθήκη βάσης με εξαίρεση την αύξηση σε ένταση στις κορυφές των εστεροποιημένων φαινολών, καθώς και στην παρουσία μεγάλης σε εύρους κορυφή που οφείλεται στη χημική ανταλλαγή του τριφθοροοξικού ανυδρίτη με το τριφθοροοξικό οξύ το οποίο περιγράφεται με την πιο κάτω αντίδραση (σχήμα 3.24).



Σχήμα 3.24: Χημική ανταλλαγή τριφθοροοξικού οξέος και τριφθοροοξικού ανυδρίτη.

Η ταχύτητα της αντίδρασης αυξάνεται με την προσθήκη βάσης εμφανίζοντας στο φάσμα ένα κοίλο το οποίο οφείλεται στη χημική ανταλλαγή του τριφθοροοξικού οξέος με του τριφθοροοξικού ανυδρίτη. Αυτές οι δύο κορυφές (οξέος και ανυδρίτη) έχουν μεγάλο εύρος και καλύπτουν ένα μεγάλο μέρος του φάσματος (σχήμα 3.23(B)) δημιουργώντας προβλήματα στον ποσοτικό προσδιορισμό των κορυφών που βρίσκονται κοντά σε εκείνη την περιοχή. Παρόλα αυτά, ο ποσοτικός προσδιορισμός των ΟΗ-μορίων γίνεται εφικτός με προσομοίωση του φάσματος όπως φαίνεται στο σχήμα 3.25.



Σχήμα 3.25: Το φάσμα με το μαύρο χρώμα είναι το πραγματικό και παρουσιάζεται το κοίλο της χημικής ανταλλαγής. Το φάσμα με το κόκκινο χρώμα αποτελεί το φάσμα προσομοίωσης στα -75.7005 ppm (84.45 Hz εύρος) με χρήση λόγου Lorentzian/Gaussian ίσο με 0.80.

Όταν η προσθήκη βάσης γίνεται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις η ταχύτητα της αντίδρασης αυξάνεται κατά πολύ και η χημική ανταλλαγή μεταξύ των δύο κορυφών γίνεται γρηγορότερα δημιουργώντας μια οξεία κορυφή στο φάσμα που αυξάνει σε εύρος, με εμφανείς όμως τις κορυφές των ελεύθερων λιπαρών οξέων με τον ανιδρίτη καθώς επίσης δημιουργεί την εμφάνιση κορυφών που οφείλονται σε παραπροϊόντα του τριφθοροοξικού ανιδρίτη με την πυριδίνη. Οι πιο πάνω επιπλοκές οι οποίες προκαλούν προβλήματα στον ποσοτικό προσδιορισμό των ενώσεων απαλείφονται με την προσθήκη μικρών ποσοτήτων νερού (εκχύλιση) στο προς μελέτη δείγμα. Το τριφθοροοξικό μαζί με το μίγμα τριφθοροοξικού-ελεύθερο οξύ υδρολύονται αμέσως μετά την προσθήκη νερού, το ελεύθερο τριφθοροοξικό οξύ μεταφέρεται από την οργανική στην υδατική φάση και απομακρύνεται. Οι υδρόλυση των ανιδρίτων χρησιμοποιήθηκε επίσης σαν εργαλείο για τη σωστή απόδοση των κορυφών, ξεχωρίζοντας τα ελεύθερα οξέα από τους αλκοολικούς και φαινολικούς

τριφθοροοξικούς εστέρες. Επιπρόσθετα, τα μόρια τα οποία περιέχουν και OH- ομάδες καθώς και COOH- ομάδες ταυτοποιούνται με την υδρόλυση των (RCO)-O-(OCCF₃) οι οποίοι εμφανίζονται αφού στο φάσμα μετακινούνται οι εστέρες R-O-(OCCF₃) σχήμα 3.23(C). Η διαδικασία Β όπως εμφανίζεται στο σχήμα 3.23 προτείνεται για τον πλήρη ποσοτικό προσδιορισμό των OH-μορίων και η διαδικασία Α μπορεί μόνο να χρησιμοποιηθεί για μη αρωματικά OH-μόρια με τη χρήση της 2-πεντανόλης ως εσωτερικό πρότυπο.

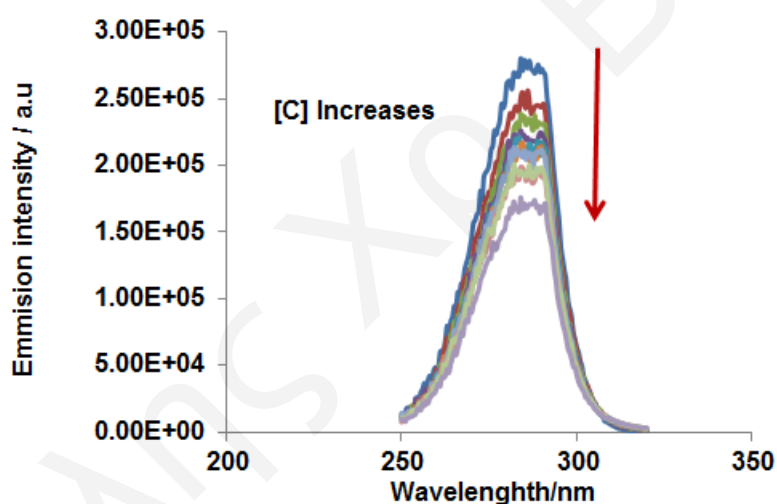
Οι τιμές LOD και LOQ υπολογίστηκαν για όλα τα υπό μελέτη μόρια με τη χρήση πρότυπων διαλυμάτων και καταγράφηκαν στο παράρτημα της εργασίας. Χρησιμοποιώντας αυτή τη μέθοδο λοιπόν μπορούν να προσδιοριστούν ποιοτικά και ποσοτικά βιολογικά ενεργά μόρια μέσα σε περίπλοκα περιβάλλοντα, όπως αυτό των κυτταρικών μεμβρανών.

3.8 Αλληλεπίδραση των μορίων με BSA

Οι αλβουμίνες βρίσκονται στο πλάσμα του αίματος και θεωρούνται ως πρωτεΐνες μεταφορείς για πολλές ενδογενείς και εξωγενείς ενώσεις. Για αυτό το λόγο χρησιμοποιούνται σε μελέτες αλληλεπίδρασης έχοντας μεγάλη προσαρμοστικότητα σε πληθώρα υποκαταστατών. Επιπρόσθετα χαρακτηρίζονται από χαμηλά επίπεδα τρυπτοφάνης και υψηλά επίπεδα κυστεΐνης. Ο φθορισμός τους οφείλεται κυρίως στο αμινοξύ τρυπτοφάνη και όταν μόρια μικρού μοριακού βάρους αλληλοεπιδρούν μαζί του αλλάζει κατά πολύ το χημικό του περιβάλλον δίνοντας αρκετές πληροφορίες όσο αφορά τον τρόπο με τον οποίο σχηματίζεται σύμπλοκο πρωτεΐνης-μορίου ενδιαφέροντος. Τα δυνητικός αντικαρκινικά μόρια τα οποία συντέθηκαν σε αυτή την εργασία είναι ασθενώς διαλυτά στο νερό και η διαλυτότητά τους αυξάνεται σε λιπώδη περιβάλλοντα και πρωτεΐνες. Έτσι κρίθηκε απαραίτητη η μελέτη της αλληλεπίδρασής τους με πρωτεΐνες οι οποίες υπάρχουν στον ορό του αίματος. Τα πιο σημαντικά αποτελέσματα αφορούν τα παράγωγα **L4**, **L5** και οι σύμπλοκες ενώσεις **C7** και **C8** καθώς τα πειράματα του **L6** και **C9** περιορίστηκαν λόγω μειωμένης διαλυτότητας στην πρωτεΐνη.

Με την προσθήκη των **L4**, **L5** μειώθηκε σε ένταση η κορυφή εκπομπής και μετακινήθηκε σε υψηλότερα μήκη κύματος, γεγονός που δείχνει αλληλεπίδραση της πρωτεΐνης με τα παράγωγα τοκοφερόλης. Με αύξηση της συγκέντρωσης των **L4**, **L5** παρατηρήθηκε περαιτέρω μείωση της έντασης φθορισμού και βαθμιδωτή μετακίνησή

της κορυφής σε υψηλότερα μήκη κύματος (σχήμα 3.26). Η απόσβεση του σήματος φθορισμού μιας χρωμοφόρας ομάδας προάγεται από διάφορες μοριακές αλληλεπιδράσεις με μόρια τα οποία αποσβένουν το σήμα φθορισμού. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές μπορεί να είναι είτε δυναμικές είτε στατικές οι οποίες εξαρτώνται από τον τρόπο σύγκρουσης των μορίων και το σχηματισμό συμπλόκου χρωμοφόρας-μορίου σε φάση αποδιέγερσης. Για να μελετηθεί η φύση των στατικών και δυναμικών αλληλεπιδράσεων πρέπει να γίνει μελέτη με μεταβολή θερμοκρασίας πράγμα που δεν έγινε στη συγκεκριμένη μελέτη γιατί ο στόχος ήταν η μελέτη της δραστηριότητας των μορίων και τα είδη των αλληλεπιδράσεων με τους πρωτεϊνικούς μεταφορείς. Από τις γραφικές παραστάσεις F_0/F Vs C και $F_0/(F_0-F)$ Vs $1/C$ υπολογίστηκε η σταθερά K_{sv} (Stern-Volmer) η οποία περιγράφει την απόσβεση σήματος φθορισμού και την σταθερά K (σταθερά πρόσδεσης) από την γραφική παράσταση $\log[(F_0-F)/F]$ Vs $\log C$ όπου C η συγκέντρωση του προς μελέτη μορίου.



Σχήμα 3.26: Στο σχήμα φαίνεται η μείωση του σήματος φθορισμού σε σχέση με την αύξηση της συγκέντρωσης του **L4**.

Παρόμοια συμπεριφορά όσο αφορά την απόσβεση του σήματος φθορισμού έδειξαν και τα σύμπλοκα **C6** και **C7** με διαφορετικές τιμές όμως K_{sv} και K . Στον πίνακα 3.7 φαίνονται αναλυτικά οι πιο πάνω τιμές και στο σχήμα 3.27(A) και 3.27(B) ενδεικτικά γραφήματα από τη μελέτη απόσβεσης σήματος φθορισμού.

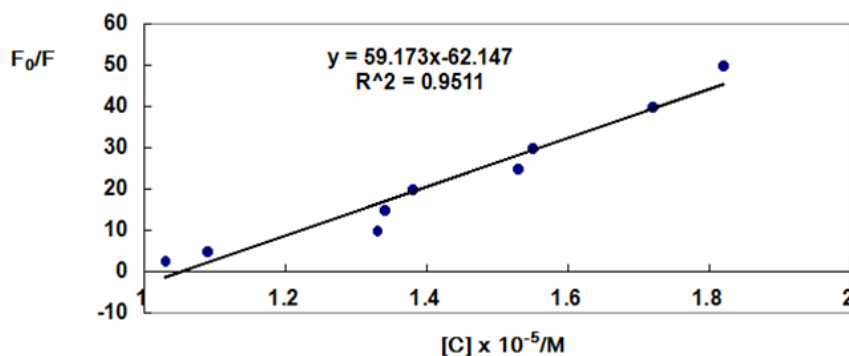
Υπάρχουν τέσσερις κυρίως τρόποι κατά τους οποίους μικρά μόρια ενώνονται με πρωτεΐνες. i) δεσμοί υδρογόνου, ii) δυνάμεις van der Waals, iii) υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις και iv) ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις. Έχοντας υπόψη τη δομή του μορίου της τρυπτοφάνης με την παρουσία αμινομάδας και καρβοξυλομάδας και τη δομή των μορίων **L4**, **L5** προτείνουμε ως επικρατέστερους τύπους

αλληλεπίδρασης την παρουσία δεσμών υδρογόνου και υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων, ενώ για τα σύμπλοκα **C6** και **C7**, τις υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις και τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις ένεκα των ηλεκτρονιακών φορτίων των μορίων αυτών.

Πίνακας 3.7: Αποτελέσματα μελέτης αλληλεπίδρασης των μορίων με την πρωτεΐνη αλβουμίνη. n είναι ο αριθμός σημείων πρόσδεσης του μορίου με την αλβουμίνη.

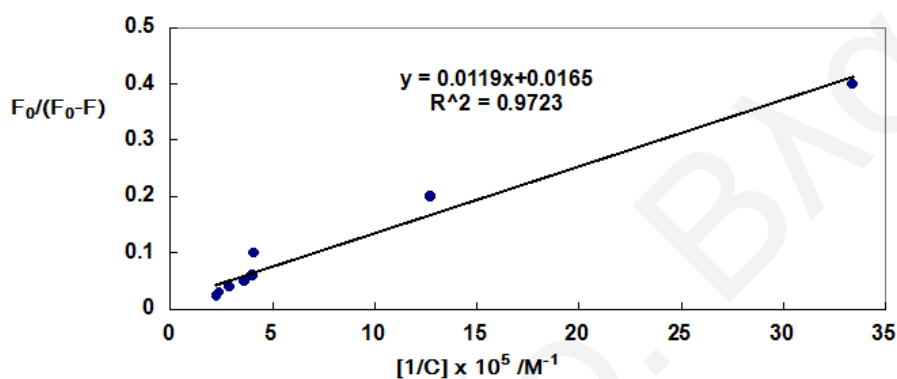
Ένωση	$K_{sv} (M^{-1})$	K	n	T (°C)
L4	4.2×10^{-2}	4.07×10^5	1.7	25
L5	4.5×10^{-2}	3.75×10^5	4.9	25
C6	1.1×10^{-2}	2.5×10^5	1.6	25
C7	9.8×10^{-2}	3.9×10^6	11	25

Τα πιο πάνω αποτελέσματα συμφωνούν με την υπόθεση ότι το παραμαγνητικό σύμπλοκο **C8** με την οξειδωτική κατάσταση +4 έχει ισχυρότερη δράση από το διαμαγνητικό σύμπλοκο **C7** με την οξειδωτική κατάσταση +5 καθώς φαίνεται από τις τιμές K_{sv} και **K** να προσδένεται ισχυρότερα στις μεταφορικές αλβουμίνες οπότε και πιθανότατα να έχει ισχυρότερη και πιο στοχευμένη δράση στο μιτοχόνδριο του κυττάρου επάγοντας την οξειδωτική δράση και καταστρέφοντας την ηλεκτρονιακή ισορροπία στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων προκαλώντας απόπτωση του κυττάρου. Όσο αφορά τα παράγωγα τοκοφερόλης **L4** και **L5** φαίνεται να προσδένονται ισχυρότερα από το **C6** δείχνοντας ότι οι ελεύθερες υδρόξο-ομάδες των μορίων και οι αμιδικές ομάδες αλληλοεπιδρούν επαρκώς με την τρυπτοφάνη του που βρίσκεται στο ενεργό κέντρο της πρωτεΐνης. Όσο αφορά την διάκριση της δραστηρότητας των **L4** και **L5** με βάση τις μετρήσεις φαίνεται να εμφανίζουν παρόμοια δραστηρότητα.



A

Σχήμα 3.27(A): Γράφημα της F_0/F συνάρτηση της συγκέντρωσης του C7.



B

Σχήμα 3.27(B): Γράφημα της $F_0/(F_0-F)$ συνάρτηση της $[1/C]$ συγκέντρωσης του C7.

3.9 Κινητική μελέτη των μορίων με DPPH

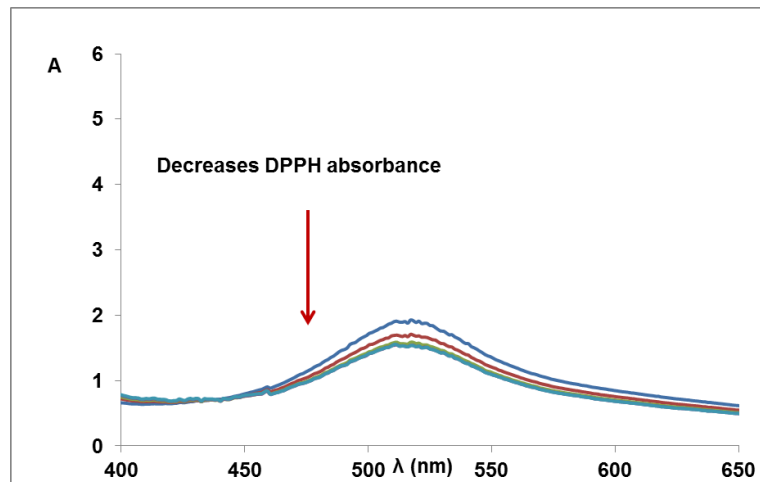
Τα πειράματα κινητικής δέσμευσης ή επαγωγής των ελευθέρων ριζών, στην προκειμένη περίπτωση της DPPH• αποτελούν τον κατεξοχήν τρόπο μελέτης της αντιοξειδωτικής ή προοξειδωτικής δράσης των μορίων ενδιαφέροντος μιας εργασίας. Σε αυτή την μελέτη παρατηρήθηκε η δέσμευση των ριζών για τα παράγωγα μόρια τοκοφερόλης β -tocdea (L4), β -tocdpa (L5) και β -tocida (L6), καθώς και των αντίστοιχων συμπλόκων τους με το βανάδιο, β -tocdeaV(V), (C7), β -tocdpaV(IV), (C8) και β -tocidaV(IV), (C9). Ο σταθερές ταχύτητας δευτέρας τάξεως (K_2), φαίνονται στον πίνακα 3.8. Όπως αναφέρθηκε στην εισαγωγή, οι πολυφαινολικές ενώσεις και ιδιαίτερα τα μόρια και τα παράγωγα της τοκοφερόλης εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση δεσμεύοντας ελεύθερες ρίζες. Συγκεκριμένα οι αναφορές^[241-244] δείχνουν μεταφορά πρωτονίου από τη λειτουργική περιοχή των μορίων αυτών προς το κέντρο της ελεύθερης ρίζας.

Πίνακας 3.8: Οι σταθερές ταχύτητας β' τάξεως (K_2) της αντίδρασης DPPH• (136 μM) με τα υπό μελέτη μόρια (60-300 μM) σε μεθανόλη. Οι υπολογισμοί έγιναν από τις κλίσεις των γραφημάτων από την απορρόφηση στα 515 nm.

Ένωση	K_2 ($\times 10^{-6} \mu\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	T ($^{\circ}\text{C}$)
α -toc	18.17	25
γ -toc	14.67	25
δ -toc	9.00	25
β -tocdea (L4)	3.61	25
β -tocdpa (L5)	4.68	25
β -tocida (L6)	4.82	25
β -tocdeaV(V) (C7)	-2.05*	25
β -tocdpaV(IV) (C8)	-2.92*	25
β -tocidaV(IV) (C9)	-2.39*	25

- * Αφορά την επαγωγή ριζών

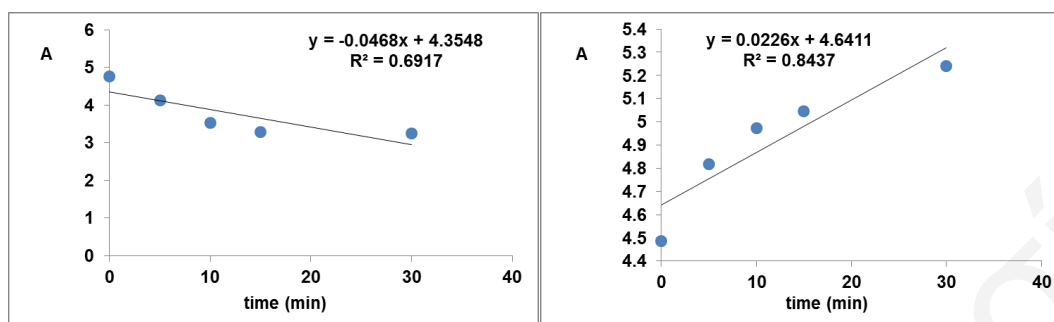
Ο πίνακας 3.8 αναφέρει ότι τα ελεύθερα μόρια της α -τοκοφερόλης, γ -τοκοφερόλης και δ -τοκοφερόλης εμφανίζουν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση από ότι τα παράγωγά τους, όπως αυτά που συντέθηκαν σε αυτή τη διατριβή. Αυτό οφείλεται σε στεreo-ηλεκτρονιακούς παράγοντες που σταθεροποιούν ικανοποιητικά τη ρίζα της α -τοκοφερόλης για παράδειγμα. Η ενέργεια διάσπασης του O-H δεσμού μειώνεται από τη φαινόλη στην τοκοφερόλη. Αυτό συμβαίνει και με τα μόρια **L4**, **L5** και **L6**, τα οποία μειώνουν την ενέργεια του δεσμού O-H αποσταθεροποιώντας τη φαινόλη και σταθεροποιώντας τη ρίζα σαν αποτέλεσμα ηλεκτρονιακών και στερικών παραγόντων.



Σχήμα 3.28: Φάσμα UV-vis που εμφανίζεται η καταστολή της ρίζας DPPH• από το μόριο L4 σε σχέση με το χρόνο (1s-30min). Το DPPH εμφανίζει μέγιστο στα ~ 515nm. Η μεταβολή της αντίδρασης παρατηρείται με μεταβολή στο χρώμα του διαλύματος από μωβ σε κίτρινο χρώμα.

Γενικότερα, οι όρθο-υποκατεστημένες φαινόλες αποσταθεροποιούνται από στερικές παρεμποδίσεις μεταξύ της υδροξυλομάδας και των υποκαταστατών παρουσιάζοντας μικρότερη ενέργεια διάσπασης συγκριτικά με τις μέτα- και πάρα-υποκατεστημένες φαινόλες. Αυτό λοιπόν δικαιολογεί και τη σειρά δραστηρότητας στα πιο κάτω μόρια: **α -toc > γ -toc > L4 > L5 > L6**. Οι ελεύθερες τοκοφερόλες όπως ήταν δηλαδή αναμενόμενο εμφανίζουν ισχυρότερη αντιοξειδωτική *in vitro* ικανότητα, είναι δηλαδή δραστικότεροι αναστολείς ελευθέρων ριζών. Ο κύριος λόγος για τον οποίο η εστεροποίηση δεν καταστέλλει εντελώς την αντιοξειδωτική δράση του μορίου αποδίδεται στο μηχανισμό μεταφοράς ενός ηλεκτρονίου από το οξυγόνο της χρωμανόλης, της φαινόλης ή της αλειφατικής αλυσίδας στη ρίζα DPPH• με ακολουθούμενη διάσπαση του εστερικού δεσμού. Η σταθερότητα του C-O δεσμού σε σχέση με την αστάθεια του O-H δεσμού είναι και αυτή που διαφοροποιεί τον ρυθμό αναστολής ελευθέρων ριζών μεταξύ ελευθέρων και εστεροποιημένων παραγώγων της τοκοφερόλης. Αυτό δεν είναι απαραίτητα αρνητικό καθώς τα σύμπλοκα αυτών των ενώσεων, **C7**, **C8** και **C9** είναι πιο δραστικά, επάγουν την παραγωγή ριζών και είναι πολύ πιθανόν να προκαλούν απόπτωση καρκινικών κυττάρων στοχευόμενα. Επίσης οι μελέτη αλληλεπίδρασης των **L4** και **L5** έδειξε ότι αυτά τα μόρια λόγω των ενεργών τους ομάδων αλληλοεπιδρούν ισχυρότερα με πρωτεϊνικούς μεταφορείς και έχουν καλύτερη δράση από τα μη υποκατεστημένα μόρια τοκοφερόλης παρά το γεγονός ότι τα προηγούμενα έχουν μεγαλύτερη ικανότητα δέσμευσης ριζών. Ουσιαστικά πρέπει να συνυπολογίζεται η συνολική δράση ενός μορίου όσο αφορά την

απορροφητικότητα του στους ιστούς, την στοχευμένη του δράση σε καρκινικά κύτταρα καθώς και στην ικανότητα καταστολής ριζών εντός του υγιούς κυττάρου ή και επαγωγής των ριζών στο μιτοχόνδριο ενός καρκινικού κυττάρου.



Σχήμα 3.29: Αριστερά, καταστολή της ρίζας DPPH• από το μόριο **L5** και δεξιά η επαγωγή της από το σύμπλοκο **C8** σε σχέση με το χρόνο (1s-30min).

Στο σχήμα 3.28 φαίνεται η καταστολή δέσμευση της ρίζας DPPH• από το μόριο **L4** σε σχέση με το χρόνο (1s-30min), ενώ στο σχήμα 3.29 παρατηρείται γραφικά η καταστολή και η επαγωγή της ρίζας από το **L5** και **C8** αντίστοιχα.

Τέλος συγκριτικά τα μόρια **C7**, **C8** και **C9** μεταξύ τους εμφανίζουν διαφορετικές τιμές επαγωγής της ρίζας με το **C7** να παρουσιάζει τη μικρότερη ενώ το **C8** λόγω της παραμαγνητικότητας του (οξειδωτική κατάσταση +4), να παρουσιάζει την μεγαλύτερη επαγωγή ρίζας.

4. Συμπεράσματα και μελλοντική εργασία

4.1 Συμπεράσματα

Με το πέρας αυτής της διατριβής εξάχθηκαν ορισμένα σημαντικά συμπεράσματα τα οποία δίνουν πρόσφορο έδαφος για μελλοντικές μελέτες και εργασίες.

Συγκεκριμένα, συντέθηκαν υδροκινονικά παράγωγα τοκοφερόλης τα οποία έχουν ως στόχο τα καρκινικά κύτταρα και τα παράγωγα αυτά αλληλοεπίδρασαν με μεταλλοϊόντα βαναδίου για να μελετήσουμε το μηχανισμό δημιουργίας ελευθέρων ριζών στα βιολογικά συστήματα. Τέλος αναπτύχθηκε νέα μέθοδος προσδιορισμού μικρού μοριακού βάρους φαινολικών ενώσεων σε περίπλοκα περιβάλλοντα.

Για πρώτη φορά έγινε σύνθεση διπυρηνικών αμφισταθερών σύμπλοκων ενώσεων βαναδίου (IV/V) και για πρώτη φορά καταγράφεται μεταφορά ηλεκτρονίου η οποία σχετίζεται με την υποκατάσταση μορίων του διαλύτη. Επίσης για πρώτη φορά χαρακτηρίστηκαν κρυσταλλογραφικά υδροκινονικά σύμπλοκα του βαναδίου (III), εμφανίζοντας ισχυρούς δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των υποκαταστατών και ενταγμένα μόρια νερού. Ακόμα φάνηκε ισχυρός δεσμός μεταξύ του ιόντος του βαναδίου (III) και του υδροκινονικού οξυγόνου.

Επιπρόσθετα δείξαμε την ηλεκτροχημική συνεισφορά των φαινολικών οξυγόνων και των αζωτούχων ομάδων των αμιδίων όσο αφορά την οξείδωση και την αναγωγή του VO^{2+} σε VO^{3+} και του VO^{2+} σε VO^+ αντίστοιχα. Αυτές οι μετρήσεις μπορούν να προβλέψουν τα ηλεκτροχημικά δυναμικά βαναδικών συμπλόκων με γεωμετρία τετραγωνικής πυραμίδας.

Εν συνεχεία συντέθηκαν πρωτότυπες ενώσεις βαναδίου με υποκατεστημένα παράγωγα τοκοφερόλης με συνολικά φορτία +4 και +5 και δυνητικά αντικαρκινική δράση λόγω της υψηλής τους οξειδωτικής κατάστασης που κατευθύνεται στα μιτοχόνδρια του καρκινικού κυττάρου και της μακριάς υδρογονοανθρακικής αλυσίδας και της γενικής αμφιφιλικότητας των μορίων που τα καθιστά ικανά να διαπερνούν την διπλοστοιβάδα των φωσφολιπιδίων.

Τέλος παρουσιάσαμε την γρηγορότερη ως τώρα μέθοδο ποσοτικού προσδιορισμού των υδρόξο μορίων μέσα σε περιβάλλον ελαιόλαδου χωρίς καμιά επεξεργασία δείγματος με τη χρήση του φθορίου NMR. Αυτή η μέθοδος μπορεί ταυτόχρονα να αναλύσει φαινόλες, αλκοόλες και οργανικά οξέα. Ταυτόχρονα με αυτή τη μέθοδο προσδιορίσαμε ποσοτικά με ακρίβεια συγκρινόμενη των μέχρι σήμερα μεθόδων την

α -τοκοφερόλη, τυροσόλη, διγλυκερίδια, μονογλυκερίδια και στερόλες, μόρια υψηλής βιολογικής σημασίας για τα τρόφιμα και τον ανθρώπινο οργανισμό.

4.2 Μελλοντική εργασία

Η σύνθεση καινούργιων μικτών οργανικών-ανόργανων μορίων με παράγωγα φυσικών μορίων (π.χ χαλκόνες) και ιόντα Zn(II) ως αντιδιαβητικό φάρμακο, ή Mo(IV/V), ή Co(II/III) κατά του HIV, είναι μια πολύ ενδιαφέρουσα μελλοντική εργασία που απορρέει από τα πιο πάνω καθώς και η μελέτη της οξειδωτικής δράσης (δημιουργίας ριζών σε βιολογικά υποστρώματα) οξειδωτικών λιπόφιλων παραγόντων, ή οι μελέτες μεταβολισμού μορίων με υψηλή βιολογική σημασία (*in vivo*) σε βιολογικά υγρά (αίμα, ούρα), με φθορίωση των υδρόξο ομάδων τους.

Επίσης οι χαρακτηρισμοί φαινολικών μορίων σε βιολογικά περιβάλλοντα ως προς τους πρωτογενής και δευτερογενής τους μεταβολίτες καθώς και μελέτες αντοχής οξείδωσης βιολογικών μορίων, είναι εργασίες που χρήζουν διεξοδικής μελέτης στο μέλλον με βάση τα αποτελέσματα της πιο πάνω διατριβής.

5. Βιβλιογραφία

- [1] D. Rehder, *Inorg. Chem. Commun.* 6 (2003) 604.
- [2] K.H. Thompson, *Coord. Chem. Rev.* 219–221 (2001) 1033.
- [3] D. Rehder, *Dalton Trans.* 42 (2013) 11749.
- [4] I. Nakai, C. Numako, K. Okoshi, *Naturwissenschaften* 80 (1993) 268.
- [5] M. Henze, *Z. Physiol. Chem.* 72 (1911) 494.
- [6] A. Levina, P.A. Lay, *Dalton Trans.* 40 (2011) 11675.
- [7] M. Melchior, S.J. Rettig, B.D. Liboiron, K.H. Thompson, V.G. Yuen, J.H. McNeill, *Inorg. Chem.* 40 (2001) 4686.
- [8] P. Buglyó, D.C. Crans, E.M. Nagy, R.L. Lindo, L. Yang, J.J. Smee, W. Jin, L.H. Chi, M.E. Godzala, *Inorg. Chem.* 44 (2005) 5416.
- [9] Y. Zhang, X. Yang, *Chin. Sci. Bull.* 50 (2005) 1854.
- [10] I. Osin'ska-Królicka, H. Podsiadły, K. Bukietyn'ska, M. Zemanek-Zboch, D. Nowak, K. Suchoszek-Łukaniuk, M. Malicka-Błaszkiwicz, *J. Inorg. Biochem.* 98 (2004) 2087.
- [11] A. Evangelou, S. Karkabounas, G. Kalpouzos, M. Malamas, R. Liasko, D. Stefanou, A.T. Vlahos, T.A. Kabanos, *Cancer Lett.* 119 (1997) 221.
- [12] A.M. Evangelou, *Crit. Rev. Oncol./Hematol.* 42 (2002) 249.
- [13] S. Khanra, L. Batchelor, M. Helliwell, F. Tuna, E.J.L. McInnes, R.E.P. Winpenney, *J. Mol. Struct.* 890 (2008) 157.
- [14] W. Kosaka, K. Imoto, Y. Tsunobuchi, S.I. Ohkoshi, *Inorg. Chem.* 48 (2009) 4604.
- [15] W. Müller, M. Christensen, A. Khan, N. Sharma, R.B. MacQuart, M. Avdeev, G.J. McIntyre, R.O. Piltz, C.D. Ling, *Chem. Mater.* 23 (2011) 1315.
- [16] R. Shaw, F. Tuna, W. Wernsdorfer, A.L. Barra, D. Collison, E.J.L. McInnes, *Chem. Commun.* (2007) 5161.
- [17] J.A. Cissell, N. Kaur, S. Nellutla, N.S. Dalal, T.P. Vaid, *Inorg. Chem.* 46 (2007) 9672.
- [18] J.G. Andino, U.J. Kilgore, M. Pink, A. Ozarowski, J. Krzystek, J. Telsler, M.H. Baik, D.J. Mindiola, *Chem. Sci.* 1 (2010) 351.
- [19] R.R. Fernandes, J. Lasri, M.F.C.G. Da Silva, J.A.L. Da Silva, J.J.R. Frausto Da Silva, A.J.L. Pombeiro, *Appl. Catal., A* 402 (2011) 110.
- [20] D.X. Ren, N. Xing, H. Shan, C. Chen, Y.Z. Cao, Y.H. Xing, *Dalton Trans.* 42 (2013) 5379.

- [21] P. Frank, E.J. Carlson, R.M.K. Carlson, B. Hedman, K.O. Hodgson, J. Inorg. Biochem. 102 (2008) 809.
- [22] M.K. Islam, C. Tsuboya, H. Kusaka, S.I. Aizawa, T. Ueki, H. Michibata, K. Kanamori, Biochim. Biophys. Acta 1770 (2007) 1212.
- [23] T. Ueki, H. Michibata, Coord. Chem. Rev. 255 (2011) 2249.
- [24] P. Frank, K.O. Hodgson, Inorg. Chem. 39 (2000) 6018.
- [25] K. Kanamori, M. Sakurai, T. Kinoshita, T. Uyama, T. Ueki, H. Michibata, J. Inorg. Biochem. 77 (1999) 157.
- [26] M.J. Manos, A.J. Tasiopoulos, C. Raptopoulou, A. Terzis, J.D. Woollins, A.M.Z. Slawin, A.D. Keramidas, T.A. Kabanos, J. Chem. Soc., Dalton Trans. (2001) 1556.
- [27] M. Rikkou, M. Manos, E. Tolis, M.P. Sigalas, T.A. Kabanos, A.D. Keramidas, Inorg.Chem. 42 (2003) 4640.
- [28] J. Nilsson, S.B. Colbran, U. Behrens, D. Rehder, E. Nordlander, Inorg. Chim. Acta 392 (2012) 490.
- [29] N. Kawakami, T. Ueki, K. Matsuo, K. Gekko, H. Michibata, Biochim. Biophys. Acta 1760 (2006) 1096.
- [30] S. Samino, H. Michibata, T. Ueki, Mar. Biotechnol. 14 (2012) 143.
- [31] A.S. Roy, P. Saha, N.D. Adhikary, P. Ghosh, Inorg. Chem. 50 (2011) 2488.
- [32] P.B. Chatterjee, O. Goncharov-Zapata, L.L. Quinn, G. Hou, H. Hamaed, R.W. Schurko, T. Polenova, D.C. Crans, Inorg. Chem. 50 (2011) 9794.
- [33] S. Kundu, S. Maity, A.N. Maity, S.C. Ke, P. Ghosh, Dalton Trans. 42 (2013) 4586.
- [34] C. Drouza, M. Stylianou, P. Papaphilippou, A.D. Keramidas, Pure Appl. Chem. 85 (2013) 329.
- [35] P.B. Chatterjee, O. Goncharov-Zapata, G. Hou, O. Dmitrenko, T. Polenova, D.C. Crans, Eur. J. Inorg. Chem. (2012) 4644.
- [36] C.R. Cornman, G.J. Colpas, J.D. Hoeschele, J. Kampf, V.L. Pecoraro, J. Am. Chem. Soc. 114 (1992) 9925.
- [37] M.R. Maurya, M. Bisht, N. Chaudhary, A. Kumar, F. Avecilla, J. Costa, Pessoa, Eur. J. Inorg. Chem. (2012) 4846.
- [38] S.N. Brown, Inorg. Chem. 51 (2012) 1251.
- [39] H. Chun, C.N. Verani, P. Chaudhuri, E. Bothe, E. Bill, T. Weyhermuller, K. Wieghardt, Inorg. Chem. 40 (2001) 4157.

- [40] C. Drouza, V. Tolis, V. Gramlich, C. Raptopoulou, A. Terzis, M.P. Sigalas, T.A. Kabanos, A.D. Keramidas, *Chem. Commun.* (2002) 2786.
- [41] C. Drouza, A.D. Keramidas, *Inorg. Chem.* 47 (2008) 7211.
- [42] J.M. Tanski, P.T. Wolczanski, *Inorg. Chem.* 40 (2001) 346.
- [43] J.M. Tanski, T.P. Vaid, E.B. Lobkovsky, P.T. Wolczanski, *Inorg. Chem.* 39 (2000) 4756.
- [44] C. Drouza, A.D. Keramidas, *J. Inorg. Biochem.* 80 (2000) 75.
- [45] G.M. Sheldrick (Ed.), *SHELXL-97: Program for the Refinement of Crystal Structure*, University of Gottingen, Gottingen, Germany, 1997.
- [46] G.M. Sheldrick (Ed.), *SHELXL-97: Program for the Solution of Crystal Structure*, University of Gottingen, Gottingen, Germany, 1997.
- [47] S. Stoll, A. Schweiger, *J. Magn. Reson.* 178 (2006) 42.
- [48] C. Drouza, A. D. Keramidas, in: K. Kustin, J. C. Pessoa, D. C. Crans (Eds.), *Vanadium: The Versatile Metal*, in: ACS SYMPOSIUM SERIES, vol. 974, 2007, p. 352.
- [49] A. D. Keramidas, C. Drouza, M. Stylianou, in: A. Chandrasekaran (Ed.), *Current Trends in Crystallography*, in: INTECH. Croatia, 2011, p. 137.
- [50] K. Miyoshi, J. Wang, T. Mizuta, *Inorg. Chim. Acta* 228 (1995) 165.
- [51] F.H. Fry, B. Dougan, N. McCann, A.C. Willis, C.J. Ziegler, N.E. Brasch, *Inorg. Chim. Acta* 361 (2008) 2321.
- [52] R. Meier, S. Mitzenheim, H. Pritzkow, R. Van Eldik, *Inorg. Chem.* 50 (2011) 1005.
- [53] K. Kanamori, K. Yamamoto, T. Okayasu, N. Matsui, K.I. Okamoto, W. Mori, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 70 (1997) 3031.
- [54] J.C. Robles, Y. Matsuzaka, S. Inomata, M. Shimoi, W. Mori, H. Ogino, *Inorg. Chem.* 32 (1993) 13.
- [55] C. Drouza, M. Stylianou, A.D. Keramidas, *Pure Appl. Chem.* 81 (2009) 1313.
- [56] U. Auerbach, B.S.P.C. Dells Vedova, K. Wieghardt, B. Nuber, J. Weiss, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* (1990) 1004.
- [57] D. Schulz, T. Weyhermuller, K. Wieghardt, B. Nuber, *Inorg. Chim. Acta* 240 (1995) 217.
- [58] T. Jakusch, W. Jin, L. Yang, T. Kiss, D.C. Crans, *J. Inorg. Biochem.* 95 (2003) 1.
- [59] D. N. Chasteen, in: J. Reuben (Ed.), *Biological Magnetic Resonance*, Plenum Press, New York, Vol. 3, 1981, p. 53.

- [60] T.S. Smith, R. LoBrutto, V.L. Pecoraro, *Coord. Chem. Rev.* 228 (2002) 1.
- [61] M. Stylianou, C. Drouza, Z. Viskadourakis, J. Giapintzakis, A.D. Keramidas, *Dalton Trans.* (2008) 6188.
- [62] C. Stockheim, L. Hoster, T. Weyhermuller, K. Wieghardt, B. Nuber, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1996) 4409.
- [63] (a) E. Evangelio and D. Ruiz-Molina, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2005, 2975; (b) L. Fabbrizzi, M. Licchelli and P. Pallavicini, *Acc. Chem. Res.*, 1999, 32, 846; (c) A. Dei, D. Gatteschi, C. Sangregorio and L. Sorace, *Acc. Chem. Res.*, (2004), 37, 827.
- [64] (a) W. Kaim and J. Rall, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 1996, 35, 43–60; (b) A. M. Morris, C. G. Pierpont and R. G. Finke, *Inorg. Chem.*, (2009), 48, 3496–3498.
- [65] C. G. Pierpont, *Coord. Chem. Rev.*, (2001), 216–217, 99.
- [66] (a) E. Evangelio, M.-L. Bonnet, M. Cabanas, M. Nakano, J.-P. Sutter, A. Dei, Robert and V. D. Ruiz-Molina, *Chem.–Eur. J.*, (2010), 16, 6666–6677; (b) O. Sato, A. Cui, R. Matsuda, J. Tao and S. Hayami, *Acc. Chem. Res.*, (2007), 40, 361–369; (c) D. M. Adams, B. Li, J. D. Simon and D. N. Hendrickson, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, (1995), 34, 1481–1483.
- [67] R. D. Schmidt, D. A. Shultz, J. D. Martin and P. D. Boyle, *J. Am. Chem. Soc.*, (2010), 132, 6261–6273.
- [68] C. Roux, D. M. Adams, J. P. Itie, A. Polian, D. N. Hendrickson and M. Verdagner, *Inorg. Chem.*, (1996) 35, 2846–2852.
- [69] C. Drouza and A. D. Keramidas, *Inorg. Chem.*, (2008) 47,7211–7224.
- [70] (a) M. Affronte, A. Beni, A. Dei and L. Sorace, *Dalton Trans.*, (2007) 5253–5259; (b) K. G. Alley, G. Poneti, J. B. Aitken, R. K. Hocking, B. Moubaraki, K. S. Murray, B. F. Abrahams, H. H. Harris, L. Sorace and C. Boskovic, *Inorg. Chem.*, (2012) 51, 3944–3946; (c) J. Tao, H. Maruyama and O. Sato, *J. Am. Chem. Soc.*, (2009) 128, 1790–1791; (d) A. S. Attia and C. G. Pierpont, *Inorg. Chem.*, (1995) 34, 1172–1179; (e) A. S. Attia and C. G. Pierpont, *Inorg. Chem.*, (1997) 36, 6184–6187.
- [71] (a) D. Ruiz-Molina, J. Veciana, K. Wurst, D. N. Hendrickson and C. Rovira, *Inorg. Chem.*, (2000) 39, 617–619; (b) A. Caneschi, A. Cornia and A. Dei, *Inorg. Chem.*, (1998) 37, 3419–3421.
- [72] (a) C. Drouza and A. D. Keramidas, *J. Inorg. Biochem.*, (2000) 80, 75–80; (b) C. Drouza, M. Stylianou and A. D. Keramidas, *Pure Appl. Chem.*, (2009) 81, 1313–1321; (c) M. Stylianou, C. Drouza, Z. Viskadourakis, J. Giapintzakis and A. D.

Keramidas, Dalton Trans., (2008) 6188–6204; (d) M. Stylianou, A. D. Keramidas and C. Drouza, Bioinorg. Chem. Appl., (2010) DOI: 10.1155/2010/125717; (e) T. Kretz, J. W. Bats, S. Losi, B. Wolf, H. W. Lerner, M. Lang, P. Zanello and M. Wagner, Dalton Trans., (2006) 4914–4921; (f) G. Margraf, T. Kretz, F. Fabrizi de Biani, F. Laschi, S. Losi, P. Zanello, J. W. Bats, B. Wolf, K. Remović-Langer, M. Lang, A. Prokofiev, W. Assmus, H.-W. Lerner and M. Wagner, Inorg. Chem., (2006) 45, 1277–1288.

[73] C. Drouza, V. Tolis, V. Gramlich, C. Raptopoulou, A. Terzis, M. P. Sigalas, T. A. Kabanos and A. D. Keramidas, Chem. Commun., (2002) 2786–2787.

[74] C. Drouza, M. Stylianou, P. Papaphilippou and A. D. Keramidas, Pure Appl. Chem., (2013) 85, 329–342.

[75] (a) P. Frank and K. O. Hodgson, Inorg. Chem., (2000) 39, 6018; (b) H. Michibata and H. Sakurai, Vanadium in ascidians, in Vanadium in Biological Systems, ed. N. D. Chasteen, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, (1990) pp. 153–171.

[76] (a) D. Rehder, Coord. Chem. Rev., (1999) 182, 197; (b) D. Rehder, Bioinorganic Vanadium Chemistry, John Wiley & Sons, Ltd, (2008); (c) C. R. Cornman, G. J. Colpas, J. D. Hoeschele, J. Kampf and V. L. Pecoraro, J. Am. Chem. Soc., (1992) 114, 9925; (d) C. R. Cornman, J. Kampf, M. Soo Lah and V. L. Pecoraro, Inorg. Chem., (1992) 31, 2035; (e) C. J. Schneider, J. E. Penner-Hahn and V. L. Pecoraro, J. Am. Chem. Soc., (2008) 130, 2712–2713; (f) T. Hirao, Chem. Rev., (1997) 97, 2707; (g) S. K. Hanson, T. R. Baker, J. C. Gordon, B. L. Scott and D. L. Thorn, Inorg. Chem., (2010) 49, 5611–5618; (h) G. H. Spikes, S. Sproules, E. Bill, T. Weyhermuller and K. Wieghardt, Inorg. Chem., (2008) 47, 10935–10944; (i) C. Mukherjee, T. Weyhermuller, E. Bothe and P. Chaudhuri, Inorg. Chem., (2008) 47, 11620–11632; (j) C. J. Chang, J. A. Labinger and H. B. Gray, Inorg. Chem., (1997) 36, 5927–5930; (k) P. B. Chatterjee, K. Bhattacharya, N. Kundu, K.-Y. Choi, R. Clrac and M. Chaudhury, Inorg. Chem., (2009) 48, 804–806; (l) V. Conte and B. Floris, Dalton Trans., (2011) 1419–1436; (m) G. J. Colpas, B. J. Hamstra, J. W. Kampf and V. L. Pecoraro, J. Am. Chem. Soc., (1996) 118, 3469–3478; (n) A. G. L. Ligtenbarg, R. Hage and B. L. Feringa, Coord. Chem. Rev., (2003) 237, 89–101

[77] D. C. Crans, B. Zhang, E. Gaidamauskas, A. D. Keramidas, G. R. Willsky and C. R. Roberts, Inorg. Chem., (2010) 49, 4245–4256.

[78] C. Weatherbee, R. Temple and W. J. Burke, J. Org. Chem., (1956) 21, 1138–1141.

- [79] (a) G. M. Sheldrick, University of Göttingen, Göttingen, Germany, (1997); (b) G. M. Sheldrick, University of Göttingen, Göttingen, Germany, 1997.
- [80] S. Stoll and A. Schweiger, *J. Magn. Reson.*, (2006) 178, 42–55.
- [81] D. J. Leggett, *Computational Methods for the Determination of Formation Constants*, Plenum Press, New York, (1985) pp. 159–220.
- [82] A. W. Addison, T. N. Rao, J. Reedjik, J. van Rijn and G. C. Verschoor, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1984) 1349–1356.
- [83] A. D. Keramidas, C. Drouza and M. Stylianou, in *Current Trends in Crystallography*, ed. A. Chandrasekaran, INTECH, Croatia, (2011) pp. 137–160.
- [84] C. Drouza and A. D. Keramidas, in *Vanadium: The Versatile Metal*, ed. K. Kustin, J. C. Pessoa and D. C. Crans, ACS SYMPOSIUM SERIES 974, (2007) pp. 352–363.
- [85] (a) I. D. H. Oswald, W. D. S. Motherwell and S. Parsons, *Acta Crystallogr., Sect. E: Struct. Rep. Online*, (2004) 60, 1967; (b) N. Arulsamy, D. S. Bohie, J. L. Butikofer, P. W. Stephens and G. T. Yee, *Chem. Commun.*, (2004) 1856; (c) A. O. Patil, D. Y. Curtin and I. C. Paul, *J. Am. Chem. Soc.*, (1984) 106, 4010; (d) W. T. Pennington, A. O. Patil, D. Y. Curtin and I. C. Paul, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, (1986) 1693; (e) S. C. Wallwork and H. M. Powell, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, (1980) 641; (f) M. Bolte, G. Margraf and W. Lerner, *Cambridge Crystallographic Database*, (2002); (g) K. Sugiura, J. Toyado, H. Okamoto, K. Okaniwa, T. Mitani, A. Kawamoto, J. Tanaka and K. Nakasuji, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, (1992) 31, 852.
- [86] T. M. Krygowski, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, (1993) 33, 70–78.
- [87] C. G. Pierpont and O.-S. Jung, *Inorg. Chem.*, (1995) 34.
- [88] D. M. Adams, A. L. Rheingold and D. N. Hendrickson, *J. Am. Chem. Soc.*, (1993) 115, 8221.
- [89] O.-S. Jung, D. Hwando, Y.-A. Lee, Y. Soo Sohn and C. G. Pierpont, *Inorg. Chem.*, (1998) 37, 1875–5880.
- [90] D. Rehder, C. Weidemann, A. Duch and W. Pribsch, *Inorg. Chem.*, (1988) 27, 584.
- [91] D. C. Crans and P. K. Shin, *J. Am. Chem. Soc.*, (1994) 116, 1305.
- [92] P. B. Chatterjee, O. Goncharov-Zapata, L. L. Quinn, G. Hou, H. Hamaed, R. W. Schurko, T. Polenova and D. C. Crans, *Inorg. Chem.*, (2011) 50, 9794–9803.
- [93] R. B. Lauffer, *Chem. Rev.*, (1987) 87, 901–927.

- [94] (a) D. N. Chasteen, *Biological Magnetic Resonance*, ed. J. Reuben, Plenum Press, New York, (1981) vol. 3, p. 53; (b) T. S. Smith II, R. LoBrutto and V. L. Pecoraro, *Coord. Chem. Rev.*, (2002) 228, 1–18.
- [95] D. Rehder, *Inorg. Chem. Commun.* 6 (2003) 604–617.
- [96] K.H. Thompson, C. Orvig, *Coord. Chem. Rev.* 219–221 (2001) 1033–1053.
- [97] D. Rehder, *Dalton Trans.* 42 (2013) 11749–11761.
- [98] A. Evangelou, S. Karkabounas, G. Kalpouzou, M. Malamas, R. Liasko, D. Stefanou, A.T. Vlahos, T.A. Kabanos, *Cancer Lett.* 119 (1997) 221–225.
- [99] A.M. Evangelou, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 42 (2002) 249–265.
- [100] D.C. Crans, *J. Inorg. Biochem.* 80 (2000) 123–131.
- [101] D.C. Crans, P.B. Chatterjee, in: J.R. Poeppelemeier (Ed.), *Comprehensive Inorganic Chemistry II*, Second ed. Elsevier, Amsterdam, 2013, pp. 323–342.
- [102] D.C. Crans, J.J. Smee, in: J.A.M.J. Meyer (Ed.), *Comprehensive Coordination Chemistry II*, Pergamon, Oxford, 2003, pp. 175–239.
- [103] C. Redshaw, M.R.J. Elsegood, J.A. Wright, H. Baillie-Johnson, T. Yamato, S.D. Giovanni, A. Mueller, *Chem. Commun.* 48 (2012) 1129–1131.
- [104] P.M. Reis, J. Armando, L. Silva, J.J.R.F. da Silva, A.J.L. Pombeiro, *Chem. Comm.* (2000) 1845–1846.
- [105] M. Sutradhar, N.V. Shvydkiy, M.F.C. Guedes da Silva, M.V. Kirillova, Y.N. Kozlov, A.J.L. Pombeiro, G.B. Shul'pin, *Dalton Trans.* 42 (2013) 11791–11803.
- [106] P. Adao, M.R. Maurya, U. Kumar, F. Avecilla, R.T. Henriques, M.L. Kusnetsov, C.J. Pessoa, I. Correia, *Pure Appl. Chem.* 81 (2009) 1279–1296.
- [107] C. Redshaw, *Dalton Trans.* 39 (2010) 5595–5604.
- [108] C. Redshaw, Y. Tang, *Chem. Soc. Rev.* 41 (2012) 4484–4510.
- [109] K. Oyaizu, N. Hayo, Y. Sasada, F. Kato, H. Nishide, *Dalton Trans.* 42 (2013) 16090–16095.
- [110] E. Evangelio, D. Ruiz-Molina, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2005) 2957–2971.
- [111] L. Fabbrizzi, M. Licchelli, P. Pallavicini, *Acc. Chem. Res.* 32 (1999) 846–853.
- [112] A. Dei, D. Gatteschi, C. Sangregorio, L. Sorace, *Acc. Chem. Res.* 37 (2004) 827–835.
- [113] C.J. Pickett, D. Pletcher, *J. Organomet. Chem.* 102 (1975) 327–333.
- [114] J. Chatt, *Coord. Chem. Rev.* 43 (1982) 337–347.

- [115] A.B.P. Lever, E. Dodsworth, *Inorganic Electronic Structure and Spectroscopy*, in: E.I. Solomon, A.B.P. Lever (Eds.), Volume II: Applications and Case Studies John Wiley & Sons, Inc., 1999, pp. 227–229.
- [116] D.C. Crans, M.L. Tarlton, C.C. McLauchlan, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2014) 4450–4468.
- [117] C.R. Cremo, J.A. Loo, C.G. Edmonds, K. Hatlelid, *Biochem.* 31 (1992) 491–497.
- [118] M.J. Gresser, A.S. Tracey, P. Stankiewicz, *J. Adv. Protein Phosphatases* 4 (1987) 35–57.
- [119] S. Mehtab, G. Gonçalves, S. Roy, A.I. Tomaz, T. Santos-Silva, M.F.A. Santos, M.J. Romão, T. Jakusch, T. Kiss, J.C. Pessoa, *J. Inorg. Biochem.* 121 (2013) 187–195.
- [120] T. Jakusch, J. Costa Pessoa, T. Kiss *Coord. Chem. Rev.* 255 (2011) 2218–2226.
- [121] A.J. Tasiopoulos, A.T. Vlahos, A.D. Keramidas, T.A. Kabanos, Y.G. Deligiannakis, C.P. Raptopoulou, A. Terzis, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 35 (1996) 2531–2533.
- [122] A.D. Keramidas, A.B. Papaioannou, A. Vlahos, T.A. Kabanos, G. Bonas, A. Makriyannis, C.P. Raptopoulou, A. Terzis, *Inorg. Chem.* 35 (1996) 357–367.
- [123] P. Zabierowski, J. Szklarzewicz, R. Grybos, B. Modryl, W. Nitek, *Dalton Trans.* 43 (2014) 17044–17053.
- [124] P. Galloni, A. Coletti, B. Floris, V. Conte, *Inorg. Chim. Acta* 420 (2014) 144–148.
- [125] A.H. Kianfar, S. Mohebbi, *J. Iran. Chem. Soc.* 4 (2007) 215–220.
- [126] S.R. Cooper, Y.B. Koh, K.N. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 5092–5102.
- [127] T.A. Kabanos, A.D. Keramidas, D. Mentzafos, A. Terzis, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* (1990) 1664–1665.
- [128] G.R. Hanson, T.A. Kabanos, A.D. Keramidas, D. Mentzafos, A. Terzis, *Inorg. Chem.* 31 (1992) 2587–2594.
- [129] J.A. Bonadies, C.J. Carrano, *J. Am. Chem. Soc.* 108 (1986) 4088–4095.
- [130] R.A. Rowe, M.M. Jones, *Inorg. Synth.* 5 (1957) 113–115.
- [131] A.J. Bard, M. Stratmann, *Encyclopedia of Electrochemistry*, vol. 7, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2006, pp. 79–106.
- [132] J.K. Money, J.C. Huffman, G. Christou, *Inorg. Chem.* 24 (1985) 3297–3302.

- [133] A. Horn Jr., C.A.L. Filgueiras, J.L. Wardell, M.H. Herbst, N.V. Vugman, P.S. Santos, J.G. Lopes, R.L. Howi, *Inorg. Chim. Acta* 357 (2004) 4240–4246.
- [134] J.A. Bonadies, W.M. Butler, V.L. Pecoraro, C.J. Carrano, *Inorg. Chem.* 26 (1987) 1218–1222.
- [135] A. Kapturkiewicz, *Inorg. Chim. Acta* 53 (1981) L77–L79.
- [136] R. Seangprasertkij, T.L. Riechel, *Inorg. Chem.* 25 (1986) 3121–3124.
- [137] P. Prasad, P.K. Sasmal, R. Majumdar, R.R. Dighe, A.R. Chakravarty, *Inorg. Chim. Acta* 363 (2010) 2743–2751.
- [138] R. Seangprasertkij, T.L. Riechel, *Inorg. Chem.* 23 (1984) 991–994.
- [139] J.C. Dutton, G.D. Fallon, K.S. Murray, *Inorg. Chem.* 27 (1988) 34–38.
- [140] P.R. Klich, A.T. Daniher, P.R. Challen, D.B. McConville, W.Y. Youngs, *Inorg. Chem.* 35 (1996) 347–356.
- [141] T.L. Riechel, D.T. Sawyer, *Inorg. Chem.* 14 (1975) 1869–1875.
- [142] A.S. Borovik, T.M. Dewey, K.N. Raymond, *Inorg. Chem.* 32 (1993) 413–421.
- [143] D.M. Boghaei, S. Mohebi, *J. Mol. Catal. A Chem.* 179 (2002) 41–51.
- [144] S. A. Heleno, A. Martins, M. J. R. P. Queiroz and I. C. F. R. Ferreira, *Food Chemistry*, (2015) 173, 501-513.
- [145] L. Liu, C. Jin and Y. Zhang, *RSC Advances*, (2014) 4, 2879- 2891. 40
- [146] D. Ryan and K. Robards, *Analyst*, (1998) 123, 31R-44R.
- [147] F. Longobardi, A. Ventrella, G. Casiello, D. Sacco, M. Tasioula-Margari, A. K. Kiritsakis and M. G. Kontominas, *Food Chemistry*, (2012) 133, 169-175.
- [148] I. F. F. Benzie and S. W. Choi, in *Advances in Food and 45 Nutrition Research*, (2014) vol. 71, pp. 1-53.
- [149] T. S. Villani, W. Reichert, M. G. Ferruzzi, G. M. Pasinetti, J. E. Simon and Q. Wu, *Food Chemistry*, (2015) 170, 271-280.
- [150] A. Khoddami, M. Wilkes and T. Roberts, *Molecules*, (2013) 18, 2328-2375. 50
- [151] R. Mateos, A. Madrona, G. Pereira-Caro, V. Domínguez, R. M. Cert, J. Parrado, B. Sarriá, L. Bravo and J. L. Espartero, *Food Chemistry*, (2015) 173, 313-320.
- [152] F. Rubio-Senent, B. De Roos, G. Duthie, J. Fernández- Bolaños and G. Rodríguez-Gutiérrez, *European Journal of 55 Nutrition*, 2014.
- [153] R.-M. Valls, M. Farràs, M. Suárez, S. Fernández-Castillejo, M. Fitó, V. Konstantinidou, F. Fuentes, J. López-Miranda, M. Giralt, M.-I. Covas, M.-J. Motilva and R. Solà, *Food Chemistry*, (2015) 167, 30-35. 60

- [154] I. Tarascou, J. M. Souquet, J. P. Mazauric, S. Carrillo, S. Coq, F. Canon, H. Fulcrand and V. Cheynier, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, (2010) 501, 16-22.
- [155] C. M. Ajila, S. K. Brar, M. Verma, R. D. Tyagi, S. Godbout and J. R. Valéro, *Critical Reviews in Biotechnology*, (2011) 31, 65 227-249.
- [156] E. N. Frankel, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (2011) 59, 785-792.
- [157] V. Rastija, *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, (2011) 11, 1256-1267. 70
- [158] K. M. Kalili and A. De Villiers, *Journal of Separation Science*, (2011) 34, 854-876.
- [159] R. Mateos, J. L. Espartero, M. Trujillo, J. J. Ríos, M. León- Camacho, F. Alcludia and A. Cert, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (2001) 49, 2185-2192.75
- [160] K. Robards, *Journal of Chromatography A*, (2003) 1000, 657-691.
- [161] R. J. Robbins, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (2003) 51, 2866-2887.
- [162] R. Popescu, D. Costinel, O. R. Dinca, A. Marinescu, I. 80 Stefanescu and R. E. Ionete, *Food Control*, (2015) 48, 84-90.
- [163] L. Mannina, M. D'Imperio, D. Capitani, S. Rezzi, C. Guillou, T. Mavromoustakos, M. D. M. Vilchez, A. H. Fernández, F. Thomas and R. Aparicio, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (2009) 57, 11550-11556. 85
- [164] G. Le Gall and I. J. Colquhoun, in *Food Authenticity and Traceability*, (2013) pp. 131 155.
- [165] R. Lamanna, in *Annual Reports on NMR Spectroscopy*, (2013) vol. 80, pp. 239-291.
- [166] A. Spyros and P. Dais, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (2000) 48, 802 805.
- [167] G. Vigli, A. Philippidis, A. Spyros and P. Dais, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (2003) 51, 5715-5722.
- [168] A. Spyros and P. Dais, *Progress in Nuclear Magnetic*
- [169] P. Dais and E. Hatzakis, *Analytica Chimica Acta*, (2013) 765, 1-27. 27. C. Lucas-Torres, Á. Pérez, B. Cabañas and A. Moreno, *Food Chemistry*, (2014) 165, 21-28.
- [170] S. André, F. J. Cañada, T. C. Shiao, L. Largartera, T. Diercks, 100 M. Bergeron-Brlek, K. El Biari, A. Papadopoulos, J. P. Ribeiro, M. Touaibia, D. Solís,

- M. Menéndez, J. Jiménez- Barbero, R. Roy and H. J. Gabius, *European Journal of Organic Chemistry*, (2012) 4354-4364.
- [171] M. Braitsch, H. Kählig, G. Kontaxis, M. Fischer, T. Kawada, 105 R. Konrat and W. Schmid, *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, (2012) 8, 448-455.
- [172] P. B. Crowley, C. Kyne and W. B. Monteith, *Chemical Communications*, (2012) 48, 10681-10683.
- [173] K. Fauster, C. Kreutz and R. Micura, *Angewandte Chemie - 110 International Edition*, (2012) 51, 13080-13084.
- [174] F. Michel, S. Hamman, F. Thomas, C. Philouze, I. Gautier- Luneau and J. L. Pierre, *Chemical Communications*, (2006) 4122-4124.
- [175] A. Moghimi, I. Omrani, M. R. Nabid and M. Mahmoodi, 115 *European Polymer Journal*, (2013) 49, 228-234.
- [176] M. Sarkouhi, J. Hassan and M. Shamsipur, *Applied Magnetic Resonance*, (2012) 43, 377-384.
- [177] A. N. Tkachenko, P. K. Mykhailiuk, S. Afonin, D. S. Radchenko, V. S. Kubyshkin, A. S. Ulrich and I. V. Komarov, 120 *Angewandte Chemie - International Edition*, (2013) 52, 1486- 1489.
- [178] B. C. Ahvazi, C. Crestini and D. S. Argyropoulos, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (1999) 47, 190-201.
- [179] F. Huang, S. Pan, Y. Pu, H. Ben and A. J. Ragauskas, *RSC 125 Advances*, (2014) 4, 17743-17747.
- [180] S. L. Manatt, *Journal of the American Chemical Society*, (1966) 88, 1323-1324.
- [181] P. Sleevi, *Analytical Chemistry*, (1979) 51, 1931-1934.
- [182] H. J. Schneider, G. Jung, E. Breitmaier and W. Voelter, 130 *Tetrahedron*, (1970) 26, 5369-5376.
- [183] P. Dais and A. Spyros, *Magnetic Resonance in Chemistry*, (2007) 45, 367-377.
- [184] Brawley, O. W.; Parnes, H. *Eur. J. Cancer* (2000) 36, 1312.
- [185] Kogure, K.; Hama, S.; Kisaki, M.; Takemasa, H.; Tokumura, A.; Suzuki, I.; Fukuzawa, K. *Biochim. Biophys. Acta* (2004) 1672, 93.
- [186] 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.
- [187] Pussinen, P. J.; Lindner, H.; Glatter, O.; Reicher, H.; Kostner, G. M.; Wintersperger, A.; Malle, E.; Sattler, W. *Biochim. Biophys. Acta* (2000) 1485, 129.

- [188] Neuzil, J. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2002) 293, 1309.
- [189] Azzi, A.; Stocker, A. *Prog. Lipid Res.* (2000) 39, 231.
- [190] Mishima, K.; Tanaka, T.; Pu, F.; Egashira, N.; Iwasaki, K.; Hidaka, R.; Matsunaga, K.; Takata, J.; Karube, Y.; Fujiwara, M. *Neurosci. Lett.* (2003) 337, 56.
- [191] Takahashi, K.; Loo, G. *Biochem. Pharmacol.* 2004, 67, 315.
- [192] Schenke, D. C. *J. Nutr. Biochem.* (2002) 13, 2.
- [193] Campbell, S.; Stone, W.; Whaley, S.; Krishnan, K. *Crit. Rev. Oncol./Hematol.* (2003) 47, 249.
- [194] Wolf, G. *Nutr. Rev.* (1997) 55, 376.
- [195] Yu, W.; Simmons-Menchaca, M.; Gapor, A.; Sanders, B.G.; Kline, K. *Nutr. Cancer* (1999) 33, 26.
- [196] 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.; Neuzil, J. *Clin. Cancer Res.* (2002) 8, 863.
- [197] Rose, A. T.; McFadden, D. W. *J. Surg. Res.* (2001) 95, 19.
- [198] Neuzil, J.; Svensson, I.; Weber, T.; Weber, C.; Brunk, U. T. *FEBS Lett.* (1999) 445, 295.
- [199] Israel, K.; Yu, W.; Sanders, B. G.; Kline, K. *Nutr. Cancer* (2000) 36, 90.
- [200] Israel, K.; Sanders, B.G.; Kline, K. *Nutr. Cancer* (2002) 24, 161.
- [201] Ottino, P.; Duncan, J. R. *Nutr. Res.* (1997) 17, 661.
- [202] Birringer, M.; EyTina, J. H.; Salvatore, B. A.; Neuzil, J. *Br. J. Cancer* (2003) 88, 1948.
- [203] Neuzil, 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.
- [204] El-Bayoumy, K. *Mutat. Res.* (2001) 475, 123.
- [205] Alaejos, M. S.; Romero, F. J. D.; Romero, C. D. *Nutrition* (2000) 16, 376.
- [206] Ip, C. *J. Nutr.* (1998) 128, 1845.
- [207] Ip, C. *Fed. Proc.* (1985) 44, 2573.
- [208] Redman, C.; Scott, J. A.; Baines, A. T.; Basyc, J. L.; Clark, L. C.; Calley, C. *Cancer Lett.* (1998) 125, 103.
- [209] Jiang, C.; Wang, Z.; Ganther, H.; Lu, J. *Mol. Cancer Ther.* (2002) 1, 1059.
- [210] Salonen, J. T.; Salonen, R.; Lappetelainen, R.; Maenpaa, P. H.; Alfthan, G.; Puska, P. *Br. Med. J.* (1985) 290, 417.

- [211] Willet, W. C.; Polk, B. F.; Morris, J. S.; Stampfer, M. J.; Pressel, S.; Rosner, B.; Taylor, J. O.; Schneider, K.; Hames, C. G. *Lancet* (1983) ii, 130.
- [212] Shamberger, R. J.; Tytko, S. A.; Willis, C. E. *Arch. Environ. Health* (1976) 31, 231.
- [213] Helzlsouer, K. J.; Huang, H. Y.; Alberg, A. J.; Hoffman, S.; Burke, A.; Norkus, E. P.; Morris, J. S.; Comstock, G. W. *J. Natl. Cancer Inst.* (2000) 92, 2018.
- [214] Zu, K.; Ip, C. *Cancer Res.* (2003) 63, 6988.
- [215] Bax, A.; Summers, M. F. *J. Am. Chem. Soc.* (1986) 108, 2093.
- [216] Valgimigli, L.; Banks, J. T.; Ingold, K. U.; Luszyk, J. J. *J. Am. Chem. Soc.* (1995) 117, 9966.
- [217] Espin, J. C.; Soler-Rivas, C.; Wichers, H. J. *J. Agric. Food Chem.* (2000) 48, 648.
- [218] Wright, J. S.; Johnson, E. R.; DiLabio, G. A. *J. Am. Chem. Soc.* (2001) 123, 1173.
- [219] Glisic-Milosavljevic, S.; Waukau, J.; Jana, S.; Jaiwala, P.; Rovinsky, J.; Ghosh, S. *Cell Prolif.* (2005) 301.
- [220] Zu, K.; Hawthorn, L.; Ip, C. *Mol. Cancer Ther.* (2005) 4, 43.
- [221] Darmon, A. J.; Nicholson, D. W.; Bleackley, R. C. *Nature* (1995) 377, 446.
- [222] Nicholson, D. W.; All, A.; Thornberry, N. A.; Vaillancourt, J. P.; Ding, C. K.; Gallant, M.; Gareau, Y.; Griffin, P. R.; Labelle, M.; Lazebnik, Y. A.; Munday, N. A.; Raju, S. M.; Smulson, M. E.; Yamin, T.-T.; Yu, V. L.; Miller, D. K. *Nature* (1995) 376, 37.
- [223] Neuzil, J.; Tomasetti, M.; Mellick, A. S.; Alleva, R.; Salvatore, B. A.; Birringer, M.; Fariss, M. W. *Curr. Cancer Drug Targets* (2004) 4, 355.
- [224] Yano, Y.; Satoh, H.; Fukumoto, K.; Kumadaki, I.; Ichikawa, T.; Yamada, K.; Hagiwara, K.; Yano, T. *Int. J. Cancer* (2005) 115, 839.
- [225] Mukai, K.; Fukuda, K.; Tajima, K.; Ishizu, K. *J. Org. Chem.* (1988) 53, 430.
- [226] Mukai, K.; Kageyama, Y.; Ishida, T.; Fukuda, K. *J. Org. Chem.* (1989) 54, 552.
- [227] Stennicke, H. R.; Salvesen, G. S. *J. Biol. Chem.* (1997) 272, 25719.
- [228] Evdokiou, A.; Labrinidis, A.; Bouralexis, S.; Hay, S.; Findlay, D. M. *Bone* (2003) 216.
- [229] J. Flarakos, K.L. Morand, P. Vouros, *Anal. Chem.* 77 (2005) 1345–1353.
- [230] D.C. Carter, J.X. Ho, *Adv. Protein Chem.* 45 (1994) 153–203.
- [231] X.M. He, D.C. Carter, *Nature* 358 (1992) 209–215.

- [232] M. Mrksich, P.B. Dervan, *J. Am. Chem. Soc.* 115 (1993) 2572–2576.
- [233] D.C. Carter, B. Chang, J.X. Ho, K. Keeling, Z. Krishnasami, *Eur. J. Biochem.* 226 (1994) 1049–1052.
- [234] R.E. Olson, D.D. Christ, *Annu. Rep. Med. Chem.* 31 (1996) 327–337.
- [235] M. Dockal, D.C. Carter, F. Ruker, *J. Biol. Chem.* 275 (2000) 3042–3050.
- [236] J. Santos, E.A. Mintz, O. Zehnder, C. Bosshard, X.R. Bu, P. Gunter, *Tetrahedron Lett.* 42 (2001) 805–808.
- [237] T. Kamidate, T. Segawa, H. Watanabe, K. Yamaguchi, *Anal. Sci.* 5 (1989) 429–433.
- [238] U. Ucucu, N.G. Karaburun, I. Isikdag, I.L. Farmaco 56 (2001) 285–290.
- [239] H. Gao, L. Lei, J. Liu, Q. Kong, X. Chen, Z. Hu, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 167 (2004) 213–221.
- [240] A. Papadopoulou, R.J. Green, R.A. Frazier, *J. Agric. Food. Chem.* 53 (2005) 158–163.
- [241] Y.J. Hu, Y. Liu, J.B. Wang, X.H. Xiao, S.S. Qu, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 36 (2004) 915–919.
- [242] Y.J. Hu, Y. Liu, W. Jiang, R.M. Zhao, S.S. Qu, *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 80 (2005) 235–242.
- [243] J. Jayabharathi, V. Thanikachalam, K. Jayamoorthy, M. Venkatesh Perumal, *Spectrochim. Acta A* 79 (2011) 6–16.
- [244] P. Gayathri, J. Jayabharathi, N. Srinivasan, A. Thiruvalluvar, R.J. Butcher, *Acta Crystallogr. E* 66 (2010) o2826.
- [245] J. Jayabharathi, V. Thanikachalam, K. Saravanan, M. Venkatesh Perumal, *Spectrochim. Acta A* 79 (2011) 1240–1246.
- [246] J.R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, third ed., Springer Publisher, New York, 2006.
- [247] H. Cao, D. Wu, H. Wang, M. Xu, *Spectrochim. Acta A* 73 (2009) 972–975.
- [248] T.G. Dewey, *Biophysical and Biochemical Aspects of Fluorescence Spectroscopy*, Plenum Press, New York, 1991.
- [249] M.M. Yang, X.L. Xi, P. Yang, *Chin. J. Chem.* 24 (2006) 642–648.
- [250] T. Yuan, A.M. Weljie, H.J. Vogel, *Biochemistry* 37 (1998) 3187–3195.
- [251] R.W. Congdon, G.W. Muth, A.G. Splittgerber, *Anal. Biochem.* 213 (1993) 407–413.

- [252] J. Jayabharathi, V. Thanikachalam, M. Venkatesh Perumal, *Spectrochim. Acta A* 79 (2011) 502–507.
- [253] G.Z. Chen, X.Z. Huang, J.G. Xu, Z.Z. Zheng, Z.B. Wang, *Methods of Fluorescence Analysis*, second ed., Science Press, Beijing, 1990.
- [254] J.N. Miller, *Anal. Div. Chem. Soc.* 16 (1979) 203–208.
- [255] J.H. Tang, F. Luan, X.G. Chen, *Bioorg. Med. Chem.* 14 (2006) 3210–3217.
- [256] B. Klajnert, M. Bryszewska, *Bioelectrochemistry* 55 (2002) 33–35.
- [257] K. Fukui, T. Yonezawa, H. Shingu, *J. Chem. Phys.* 20 (1952) 722–725.
- [258] Q. Sun, Z. Li, X. Zeng, M. Ge, D. Wang, *J. Mol. Struct. (Theochem)* 724 (2005) 167–172.
- [259] W. He, Y. Li, C. Xue, Z.D. Hu, X.G. Chen, *Bioorg. Med. Chem.* 13 (2005) 1837–1844.
- [260] H. Liang, D. Ouyang, X.Y. Hu, J.Z. Tai, J.T. Huo, Y.J. Zhou, *Acta Chim. Sinica* 56 (1998) 662–667.
- [261] Z. Cheng, Y. Zhang, *J. Mol. Struct.* 889 (2008) 20–27.
- [262] J.R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Plenum Press, New York, 1983.
- [263] P.V. Kamat, *J. Phys. Chem.* 93 (1989) 859–864.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

1. Κρυσταλλογραφικά δεδομένα

Table 1 Crystallographic and experimental data for 1–3^a

Parameters	1	2	3
Empirical formula	C ₁₆ H ₂₂ N ₂ O ₈ V ₂	C ₂₀ H ₃₄ N ₂ O ₁₀ S ₂ V ₂	C ₁₈ H ₃₀ N ₂ O ₁₀ V ₂
Formula weight	472.25	628.49	536.32
Temperature	100(2) K	100(2) K	150(2) K
Wavelength	1.54184 Å	1.54184 Å	1.54184 Å
Cryst. syst.	Monoclinic	Monoclinic	Triclinic
Space group	<i>P</i> 12 ₁ / <i>n</i> 1	<i>P</i> 12 ₁ / <i>a</i> 1	<i>P</i> 1̄
<i>a</i> (Å)	6.4465(5)	13.3994(8)	6.8824(5)
<i>b</i> (Å)	11.4952(7)	6.7080(3)	10.9775(9)
<i>c</i> (Å)	12.5252(8)	14.5850(8)	14.849(1)
α (°)	90	90	102.795(7)
β (°)	96.512(2)	110.353(7)	103.336(7)
γ (°)	90	90	90.027(6)
Vol. (Å ³)	922.2(1)	1229.1(1)	1063.0(2)
<i>Z</i>	2	2	2
ρ_{calcd} (Mg m ⁻³)	1.701	1.698	1.676
Abs. coeff. (mm ⁻¹)	8.942	8.485	7.907
θ range for data collection (°)	5.24 to 77.13	3.23 to 77.12	3.14 to 68.55
Index ranges	$-7 \leq h \leq 8,$ $-13 \leq k \leq 14,$ $-10 \leq l \leq 15$	$-16 \leq h \leq 16,$ $-4 \leq k \leq 8,$ $-16 \leq l \leq 18$	$-8 \leq h \leq 8,$ $-13 \leq k \leq 10,$ $-17 \leq l \leq 17$
Collected	3446	4865	6322
Unique	1888	2564	2550
<i>R</i> _{int}	0.0397	0.0299	0.1591
Data/restraints/ parameters	1888/0/128	2546/0/163	3632/2/298
GOF on <i>F</i> ²	1.034	1.064	1.030
Max./min. $\Delta\rho$ (e Å ⁻³)	0.747/−0.798	1.706/−1.130	1.173/−0.891
Final <i>R</i> indices (<i>R</i> , <i>wR</i>) [<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)]	0.0557, 0.1494	0.0379, 0.1042	0.0845, 0.2144
<i>R</i> , <i>wR</i> (all data)	0.0564, 0.1502	0.0414, 0.1082	0.1326, 0.2453

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

Table 2 Selected bond lengths [Å] and angles [°] of 1-3

1^a			
V(1)–O(4)	1.6112(16)	V(1)–O(1)	1.7915(17)
V(1)–O(3)	1.8095(15)	V(1)–O(2)	1.8109(17)
V(1)–N(1)	2.326(2)		
O(4)–V(1)–O(1)	99.72(9)	O(4)–V(1)–O(3)	100.46(8)
O(1)–V(1)–O(3)	115.42(8)	O(4)–V(1)–O(2)	98.81(8)
O(1)–V(1)–O(2)	118.53(7)	O(3)–V(1)–O(2)	117.77(8)
O(4)–V(1)–N(1)	174.41(7)	O(1)–V(1)–N(1)	77.84(8)
O(3)–V(1)–N(1)	85.12(6)	O(2)–V(1)–N(1)	78.22(7)
2^b			
V(1)–O(4)	1.612(2)	V(1)–O(2)	1.845(2)
V(1)–O(1)	1.850(2)	V(1)–O(3)	1.880(2)
V(1)–O(5)	2.097(2)	V(1)–N(1)	2.321(2)
O(4)–V(1)–O(2)	100.87(9)	O(4)–V(1)–O(1)	98.35(8)
O(2)–V(1)–O(1)	93.28(8)	O(4)–V(1)–O(3)	98.55(8)
O(2)–V(1)–O(3)	94.03(8)	O(1)–V(1)–O(3)	159.96(8)
O(4)–V(1)–O(5)	96.03(8)	O(2)–V(1)–O(5)	163.09(7)
O(1)–V(1)–O(5)	84.85(7)	O(3)–V(1)–O(5)	82.74(7)
O(4)–V(1)–N(1)	175.93(8)	O(2)–V(1)–N(1)	80.45(7)
O(1)–V(1)–N(1)	77.72(7)	O(3)–V(1)–N(1)	85.14(7)
O(5)–V(1)–N(1)	82.73(7)		
3^c			
V(1)–O(4)	1.607(4)	V(1)–O(1)	1.825(4)
V(1)–O(3)	1.856(4)	V(1)–O(2)	1.920(4)
V(1)–O(5)	2.053(4)	V(1)–N(1)	2.363(5)
V(1')–O(4')	1.602(4)	V(1')–O(1')	1.825(4)
V(1')–O(3')	1.856(4)	V(1')–O(2')	1.917(4)
V(1')–O(5')	2.052(4)	V(1')–N(1')	2.370(4)
O(4)–V(1)–O(1)	97.4(2)	O(4)–V(1)–O(3)	102.5(2)
O(1)–V(1)–O(3)	159.04(18)	O(4)–V(1)–O(2)	97.01(19)
O(1)–V(1)–O(2)	91.48(18)	O(3)–V(1)–O(2)	92.57(18)
O(4)–V(1)–O(5)	96.6(2)	O(1)–V(1)–O(5)	86.64(18)
O(3)–V(1)–O(5)	84.60(18)	O(2)–V(1)–O(5)	166.35(18)
O(4)–V(1)–N(1)	173.11(19)	O(1)–V(1)–N(1)	78.59(18)
O(3)–V(1)–N(1)	82.22(17)	O(2)–V(1)–N(1)	77.58(17)
O(5)–V(1)–N(1)	88.79(17)	O(4')–V(1')–O(1')	97.5(2)
O(4')–V(1')–O(3')	102.8(2)	O(1')–V(1')–O(3')	158.77(18)
O(4')–V(1')–O(2')	96.99(19)	O(1')–V(1')–O(2')	91.56(19)
O(3')–V(1')–O(2')	92.05(18)	O(4')–V(1')–O(5')	96.6(2)
O(1')–V(1')–O(5')	86.46(18)	O(3')–V(1')–O(5')	85.14(18)
O(2')–V(1')–O(5')	166.45(18)	O(4')–V(1')–N(1')	173.10(19)
O(1')–V(1')–N(1')	78.38(17)	O(3')–V(1')–N(1')	81.97(17)
O(2')–V(1')–N(1')	77.73(16)	O(5')–V(1')–N(1')	88.75(17)

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms: ^a #1 –x, –y + 1, –z + 2. ^b #1 –x + 2, –y, –z + 2. ^c #1 –x + 2, –y, –z + 2. #2 –x + 2, –y + 1, –z + 2.

Datablock: shelxl

Bond precision: C-C = 0.0035 Å

Wavelength=0.71073

Cell: a=9.9274(8) b=24.5689(18) c=14.2742(15)
alpha=90 beta=104.046(9) gamma=90

Temperature: 100 K

	Calculated	Reported
Volume	3377.5(5)	3377.5(5)
Space group	I 2/a	I 1 2/a 1
Hall group	-I 2ya	?
Moiety formula	C16 H22 N2 O14 V2, 13.43(0)	?
Sum formula	C16 H22 N2 O27.43 V2	C16 H49 N2 O27.50 V2
Mr	783.18	811.45
Dx, g cm ⁻³	1.540	1.596
Z	4	4
Mu (mm ⁻¹)	0.655	0.657
F000	1589.9	1700.0
F000'	1593.52	
h, k, lmax	13, 34, 19	13, 32, 19
Nref	4798	3961
Tmin, Tmax	0.967, 0.978	0.596, 1.000
Tmin'	0.842	

Correction method= MULTI-SCAN

Data completeness= 0.826

Theta(max)= 29.700

R(reflections)= 0.0605(3081)

wR2(reflections)= 0.1536(3961)

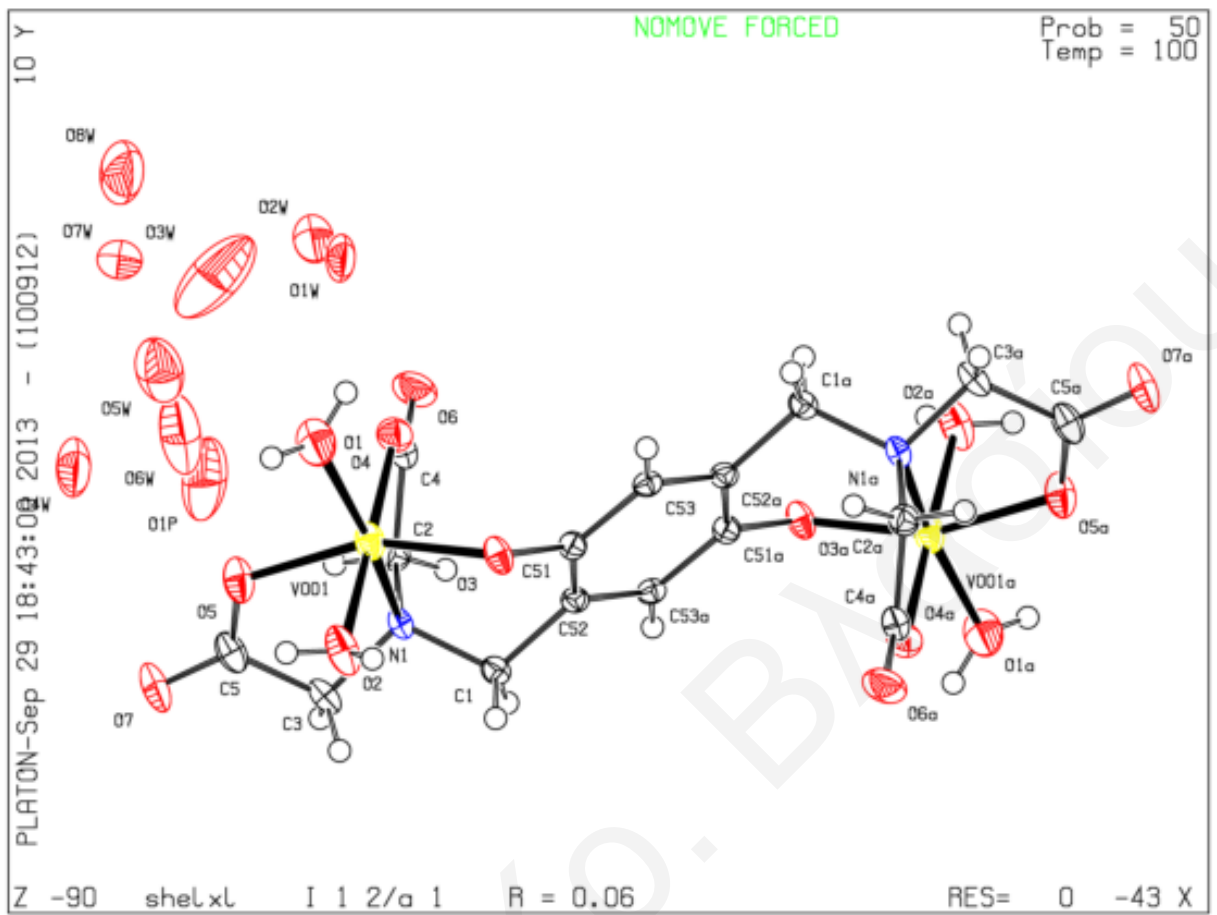
S = 1.040

Npar= 253

Alert level B		
PLAT001_ALERT_2_B	Isolated Oxygen Atom (H-atoms Missing ?)	O1W Check
PLAT002_ALERT_2_B	Isolated Oxygen Atom (H-atoms Missing ?)	O2W Check
PLAT003_ALERT_2_B	Isolated Oxygen Atom (H-atoms Missing ?)	O3W Check
PLAT004_ALERT_2_B	Isolated Oxygen Atom (H-atoms Missing ?)	O4W Check

Alert level C		
PLAT001_ALERT_1_C	The ratio of given/expected molecular weight as calculated from the '_atom_site*' data lies outside the range 0.99 <> 1.01	
	From the CIF: '_cell_formula_units_Z' 4	
	From the CIF: '_chemical_formula_weight' 811.43	
	TEST: Calculate Formula weight from '_atom_site*'	
	atom	mass num sum
	C	12.01 16.00 192.16
	H	1.01 22.00 22.18
	N	14.01 2.00 28.01
	O	16.00 27.43 438.92
	Y	50.94 2.00 101.88
	Calculated formula weight	783.17
PLAT004_ALERT_1_C	Calc. and Reported SumFormula Strings Differ	Please Check
PLAT005_ALERT_1_C	Calculated and Reported Mol. Weight Differ by ..	28.27 Check
PLAT006_ALERT_1_C	Reported F000 Differs from Calcd (or Missing)...	Please Check
PLAT007_ALERT_1_C	Large Non-Solvent H Uiso(max)/Uiso(min) ..	4.8 Ratio
PLAT011_ALERT_2_C	Short Inter H...H Contact H01B .. H01B ..	2.12 Ang.

Alert level G		
PLAT001_ALERT_2_G	There is a discrepancy between the atom counts in the '_chemical_formula_sum' and the formula from the '_atom_site*' data.	
	Atom count from '_chemical_formula_sum': C16 H49 N2 O27.50 V2	
	Atom count from the '_atom_site' data: C16 H22 N2 O27.434 V2	
PLAT002_ALERT_1_G	Difference between formula and atom_site contents detected.	
PLAT003_ALERT_1_G	WARNING: H atoms missing from atom_site list. Is this intentional?	
	From the CIF: '_cell_formula_units_Z' 4	
	From the CIF: '_chemical_formula_sum' C16 H49 N2 O27.50 V2	
	TEST: Compare cell contents of formula and atom_site data	
	atom	Z*formula cif sites diff
	C	64.00 64.00 0.00
	H	198.00 88.00 108.00
	N	8.00 8.00 0.00
	O	110.00 109.74 0.26
	Y	8.00 8.00 0.00
PLAT008_ALERT_2_G	Number of Distance or Angle Restraints on AtSite	3 Note
PLAT009_ALERT_2_G	No '_incr_refine_instructions_details' in the CIF	Please Do !
PLAT001_ALERT_3_G	Number of Unrefined Donor-H Atoms	1 Why ?
PLAT002_ALERT_3_G	Anion/Solvent Disorder	40 Note
PLAT003_ALERT_2_G	Isolated Disordered Oxygen Atom (No H's ?)	O5W Check
PLAT011_ALERT_2_G	Isolated Disordered Oxygen Atom (No H's ?)	O6W Check
PLAT012_ALERT_2_G	Isolated Disordered Oxygen Atom (No H's ?)	O8W Check
PLAT013_ALERT_2_G	Isolated Disordered Oxygen Atom (No H's ?)	O1P Check
PLAT014_ALERT_2_G	Isolated Disordered Oxygen Atom (No H's ?)	O7W Check
PLAT005_ALERT_1_G	Number of Unusual/Non-Standard Labels	8
PLAT006_ALERT_1_G	Overcomplete CIF Bond List Detected (Rep/Expd) .	1.30 Ratio
PLAT007_ALERT_1_G	Centre of Gravity not Within Unit Cell: Seed. #	2
	0	
PLAT008_ALERT_1_G	Centre of Gravity not Within Unit Cell: Seed. #	3
	0	
PLAT009_ALERT_1_G	Centre of Gravity not Within Unit Cell: Seed. #	8



Datablock: shelxl

Bond precision: C-C = 0.0040 Å

Wavelength=0.71073

Cell: a=25.280(2) b=6.7542(5) c=12.5067(8)

alpha=90 beta=90 gamma=90

Temperature: 100 K

	Calculated	Reported
Volume	2135.5(3)	2135.4(3)
Space group	P b c n	P b c n
Hall group	-P 2n 2ab	?
Moiety formula	C16 H22 N2 O14 V2, O	?
Sum formula	C16 H22 N2 O15 V2	C8 H12 N O7.50 V
Mr	584.24	293.13
Dx, g cm ⁻³	1.817	1.823
Z	4	8
Mu (mm ⁻¹)	0.960	0.960
F000	1192.0	1200.0
F000'	1195.14	
h, k, lmax	38, 10, 19	38, 10, 18
Nref	3967	3650
Tmin, Tmax	0.915, 0.946	0.702, 1.000
Tmin'	0.795	

Correction method= MULTI-SCAN

Data completeness= 0.920

Theta(max)= 32.820

R(reflections)= 0.0522(2887)

wR2(reflections)= 0.1886(3650)

S = 1.226

Npar= 179

Alert level B

PLAT306_ALERT_2_B Isolated Oxygen Atom (H-atoms Missing ?) OlW Check

Alert level C

PLAT041_ALERT_1_C Calc. and Reported SumFormula Strings Differ Please Check

PLAT068_ALERT_1_C Reported F000 Differs from Calcd (or Missing)... Please Check

PLAT222_ALERT_3_C Large Non-Solvent H Uiso(max)/Uiso(min) .. 5.4 Ratio

Alert level G

FORMU01_ALERT_2_G There is a discrepancy between the atom counts in the
_chemical_formula_sum and the formula from the _atom_site* data.

Atom count from _chemical_formula_sum: C8 H12 N1 O7.5 V1

Atom count from the _atom_site data: C8 H11 N1 O7.5 V1

CELLZ01_ALERT_1_G Difference between formula and atom_site contents detected.

CELLZ01_ALERT_1_G WARNING: H atoms missing from atom site list. Is this intentional?

From the CIF: _cell_formula_units_Z 8

From the CIF: _chemical_formula_sum C8 H12 N O7.50 V

TEST: Compare cell contents of formula and atom_site data

atom	Z*formula	cif sites	diff
C	64.00	64.00	0.00
H	96.00	88.00	8.00
N	8.00	8.00	0.00
O	60.00	60.00	0.00
V	8.00	8.00	0.00

PLAT002_ALERT_2_G Number of Distance or Angle Restraints on AtSite 6 Note

PLAT005_ALERT_5_G No _iucr_refine_instructions_details in the CIF Please Do !

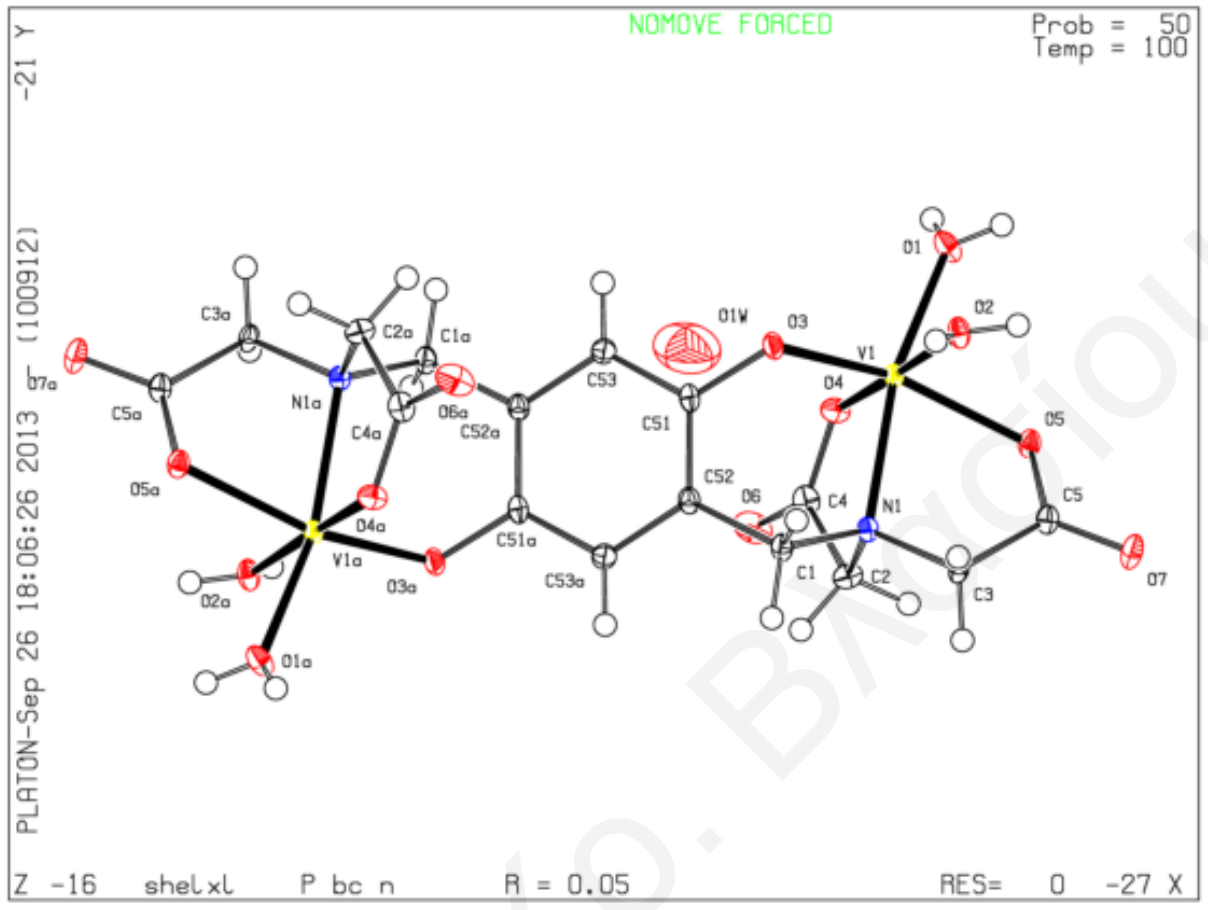
PLAT045_ALERT_1_G Calculated and Reported Z Differ by 0.50 Ratio

PLAT720_ALERT_4_G Number of Unusual/Non-Standard Labels 4

PLAT860_ALERT_3_G Number of Least-Squares Restraints 6 Note

- 0 **ALERT level A** - Most likely a serious problem - resolve or explain
1 **ALERT level B** - A potentially serious problem, consider carefully
3 **ALERT level C** - Check. Ensure it is not caused by an omission or oversight
8 **ALERT level G** - General information/check it is not something unexpected

- 5 ALERT type 1 CIF construction/syntax error, inconsistent or missing data
3 ALERT type 2 Indicator that the structure model may be wrong or deficient
2 ALERT type 3 Indicator that the structure quality may be low
1 ALERT type 4 Improvement, methodology, query or suggestion
1 ALERT type 5 Informative message, check



Datablock: shelxl

Bond precision: C-C = 0.0049 Å Wavelength=0.71073

Cell: a=15.4227(17) b=9.9795(8) c=12.8980(12)
 alpha=90 beta=110.967(12) gamma=90

Temperature: 96 K

	Calculated	Reported
Volume	1853.7(3)	1853.7(3)
Space group	P 21/c	P 1 21/c 1
Hall group	-P 2ybc	?
Moiety formula	C36 H30 N6 O10 V2, 4(H2 O)	?
Sum formula	C36 H38 N6 O14 V2	C36 H38 N6 O14 V2
Mr	880.60	880.60
Dx, g cm-3	1.578	1.578
Z	2	2
Mu (mm-1)	0.584	0.584
F000	908.0	908.0
F000'	909.65	
h, k, lmax	19, 12, 16	19, 12, 15
Nref	3795	3672
Tmin, Tmax	0.928, 0.950	0.694, 1.000
Tmin'	0.862	

Correction method= MULTI-SCAN

Data completeness= 0.968 Theta(max)= 26.370

R(reflections)= 0.0576(3234) wR2(reflections)= 0.1569(3672)

S = 1.051 Npar= 338

Alert level B

PLAT355_ALERT_3_B	Long	O-H (X0.82,N0.98A)	OlW	-	HlWA	...	1.11	Ang.
PLAT415_ALERT_2_B	Short Inter	D-H..H-X	HlWA	..	HlO	..	1.98	Ang.

Alert level C

PLAT029_ALERT_3_C	_diffn_measured_fraction_theta_full	Low	0.968				
PLAT222_ALERT_3_C	Large Non-Solvent	H	Uiso(max)/Uiso(min)	..	6.5	Ratio		
PLAT245_ALERT_2_C	U(iso) H1A	Smaller than U(eq)	C1	by	...	0.011	AngSq	
PLAT245_ALERT_2_C	U(iso) H12	Smaller than U(eq)	C12	by	...	0.015	AngSq	
PLAT355_ALERT_3_C	Long	O-H (X0.82,N0.98A)	OlW	-	HlWB	...	1.05	Ang.

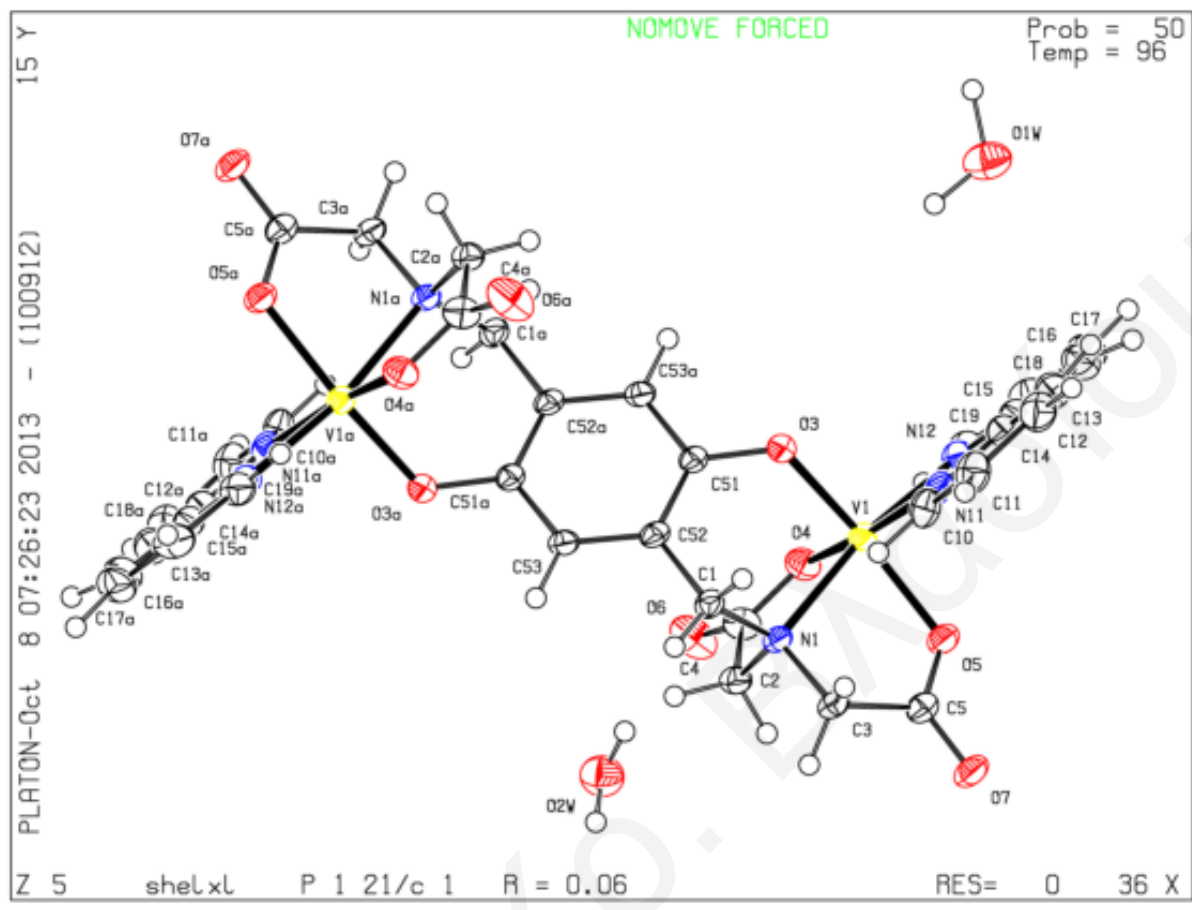
Alert level G

PLAT005_ALERT_5_G	No _iucr_refine_instructions_details	in the CIF	Please Do !
PLAT164_ALERT_4_G	Nr. of Refined C-H H-Atoms in Heavy-Atom Struct.	15	
PLAT720_ALERT_4_G	Number of Unusual/Non-Standard Labels	4
PLAT790_ALERT_4_G	Centre of Gravity not Within Unit Cell: Resd.	#	3

H2 O

- 0 **ALERT level A** - Most likely a serious problem - resolve or explain
2 **ALERT level B** - A potentially serious problem, consider carefully
5 **ALERT level C** - Check. Ensure it is not caused by an omission or oversight
4 **ALERT level G** - General information/check it is not something unexpected

- 0 ALERT type 1 CIF construction/syntax error, inconsistent or missing data
3 ALERT type 2 Indicator that the structure model may be wrong or deficient
4 ALERT type 3 Indicator that the structure quality may be low
3 ALERT type 4 Improvement, methodology, query or suggestion
1 ALERT type 5 Informative message, check



2. Φάσματα NMR και EPR

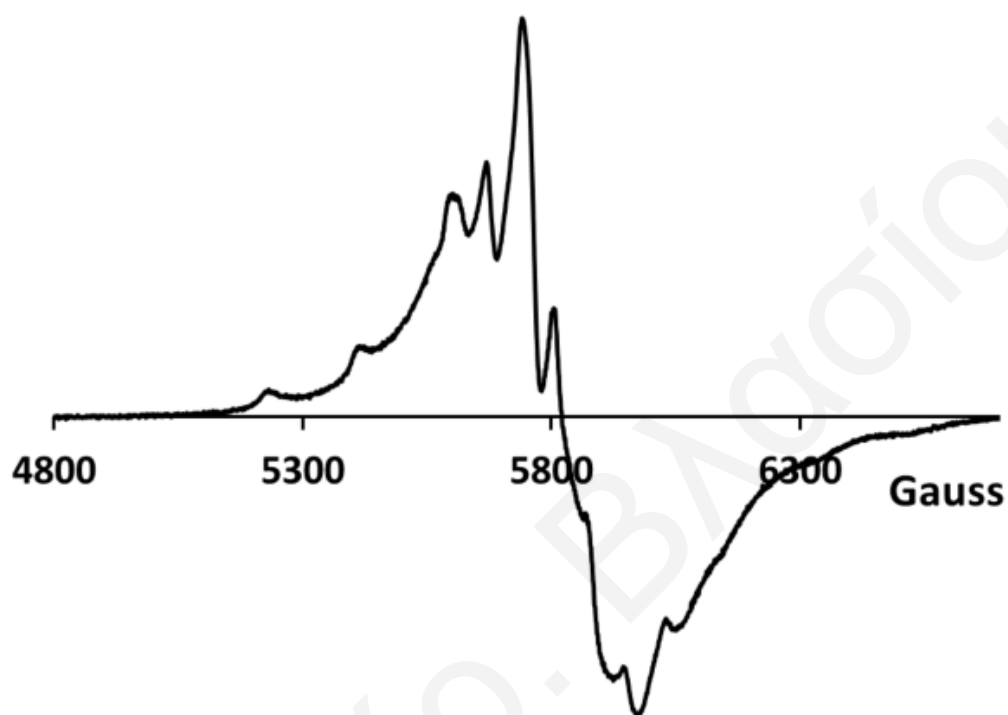


Fig. S1 Powder X-band cw-EPR spectrum of 3 at 100 K.

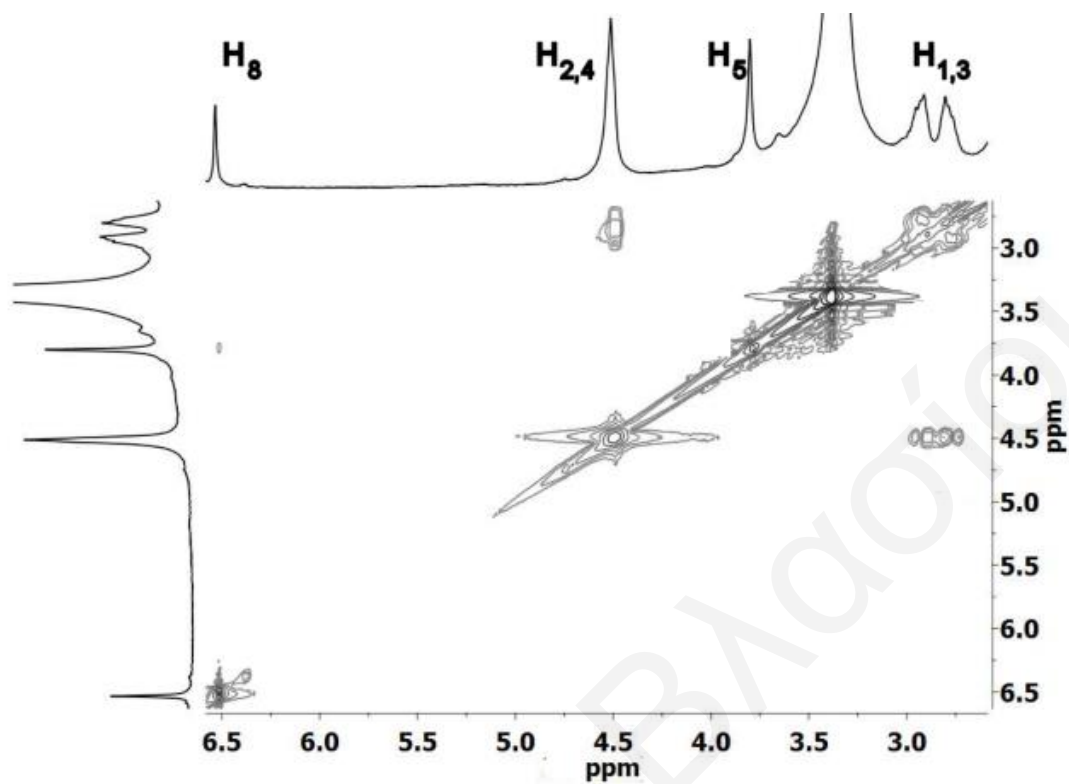


Fig. S2 2D ^1H gCOSY of **1** (10 mM in DMSO- d_6) at room temperature and assignments. Numbering according to Scheme 1.

3. Επικύρωση αναλυτικής μεθόδου

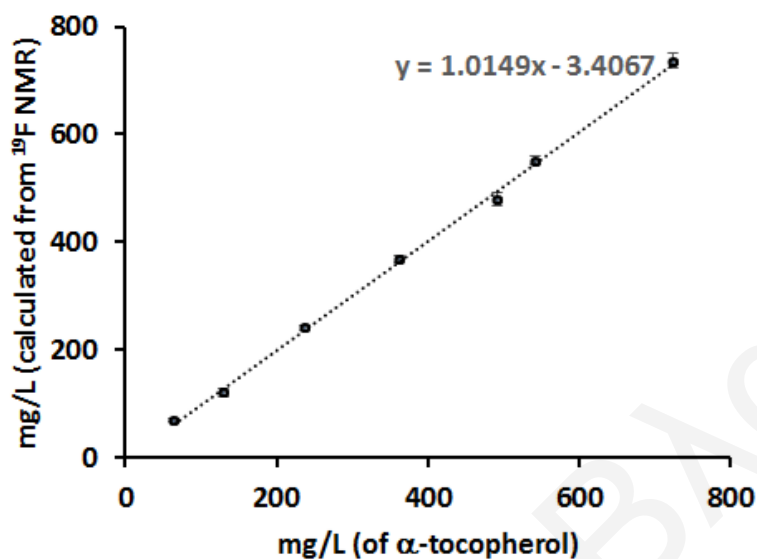


Figure S1. Linear relationship of the added α -tocopherol in CDCl_3 vs the calculated from the integration of the ^{19}F NMR peak of the α -tocopheryl-trifluoroacetate compared to that of the internal standard (2-pentyl-trifluoroacetate). The purity of the commercial α -tocopherol (95.73 %) used in this experiment was determined by ^1H NMR and elemental analysis. The concentration of the added α -tocopherol was accordingly corrected. Experiments performed according to the procedure for the calibration standard solutions. LOD and LOQ were 16 and 49 mg/L respectively based on std calculations. Error bars are too small to see.

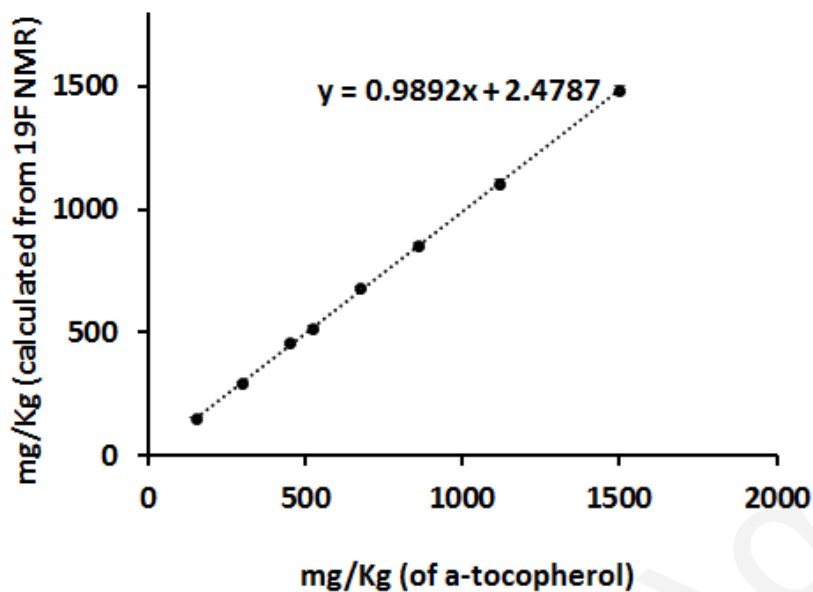


Figure S2. Linear relationship of the concentration of the α -tocopherol (the added plus the natural occurring in the olive oil) vs the calculated from the integration of the ^{19}F NMR peaks of the internal standard (2-pentyl-trifluoroacetate) and the α -tocopheryl-trifluoroacetate. The purity of the commercial α -tocopherol (95.73 %) used in this experiment was measured by ^1H NMR and elemental analysis. The concentration of the added α -tocopherol was accordingly corrected. Experiments performed according to the procedure **B**. LOD and LOQ were 16 and 47 mg/Kg respectively based on std calculations. Error bars are too small to see.

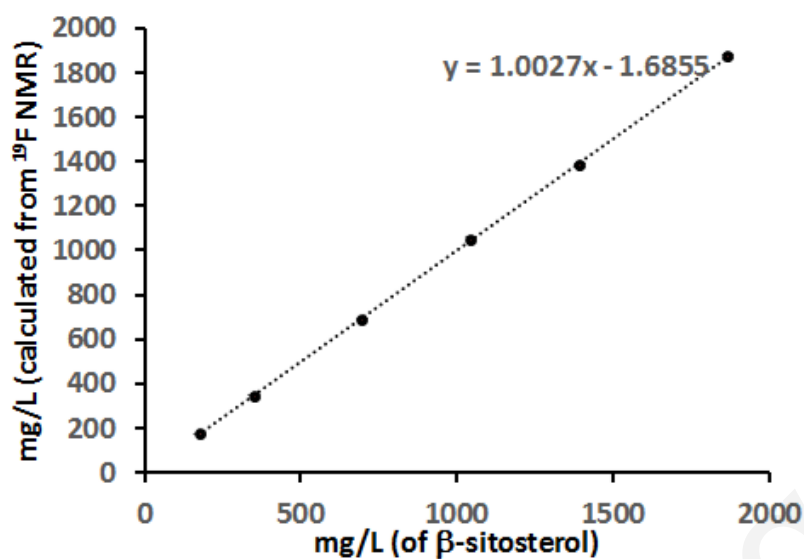


Figure S3. Linear relationship of the added β -sitosterol in CDCl_3 vs the calculated from the integration of the ^{19}F NMR peaks of the β -sitosteryl-trifluoroacetate compared to that of the internal standard (2-pentyl-trifluoroacetate). The purity of the commercial β -sitosterol (78.45 %) used in this experiment was measured by ^1H NMR and elemental analysis. The concentration of the added β -sitosterol was accordingly corrected. Experiments performed according to procedure for the for the calibration standard solutions. LOD and LOQ were 18 and 53 mg/L respectively based on std calculations. Error bars are too small to see.

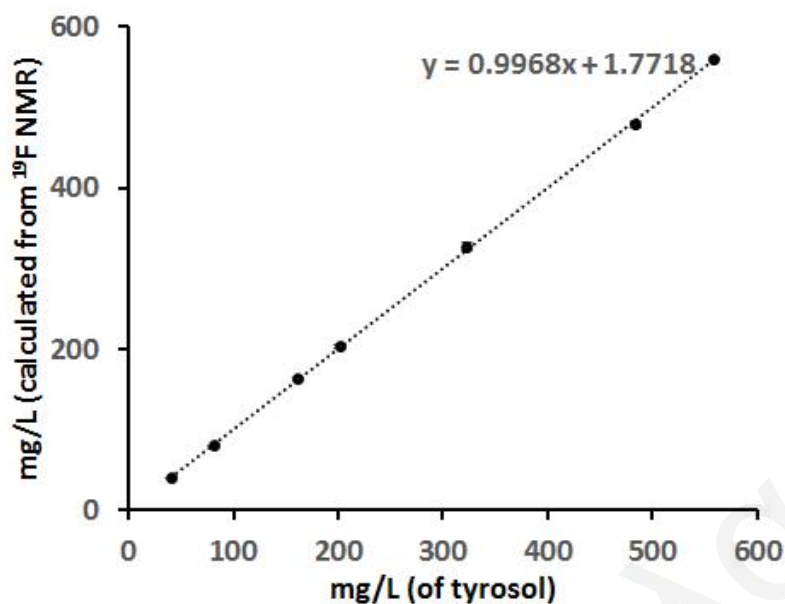


Figure S4. Linear relationship of the added tyrosol in CDCl_3 vs the calculated from the integration of the ^{19}F NMR peaks of the tyrosyl-trifluoroacetate compared to that of the internal standard (2-pentyl-trifluoroacetate). The purity of the commercial tyrosol (98.12 %) used in this experiment was measured by ^1H NMR and elemental analysis. The concentration of the added tyrosol was accordingly corrected. Experiments performed according to procedure for the calibration standard solutions. LOD and LOQ were 7.0 and 22 mg/L respectively based on std calculations. Error bars are too small to see.

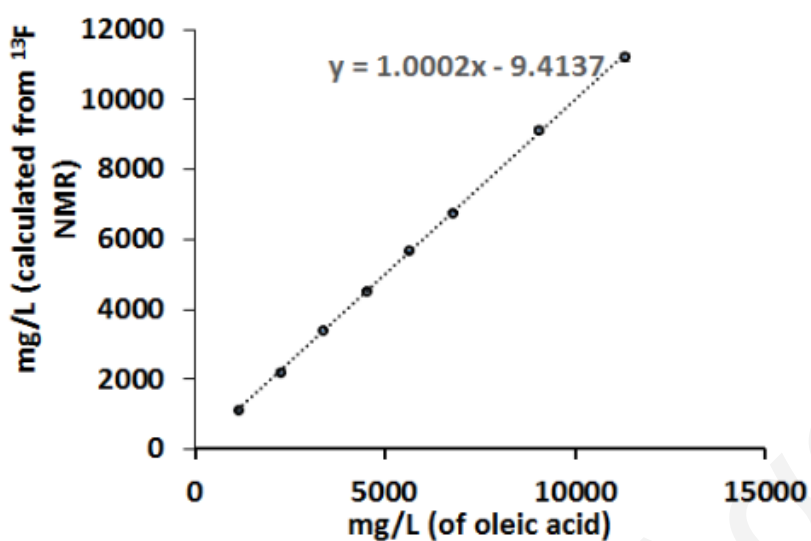


Figure S5. Linear relationship of the added oleic acid in CDCl_3 vs the calculated from the integration of the ^{19}F NMR peaks of the oleic-trifluoroacetic anhydride compared to that of the internal standard (2-pentyl-trifluoroacetate). The purity of the commercial oleic acid (92.02 %) used in this experiment was measured by ^1H NMR and elemental analysis. The concentration of the added oleic acid was corrected accordingly. Experiments performed according to procedure for the calibration standard solutions. LOD and LOQ were 141 and 307 mg/L respectively based on std calculations. Error bars are too small to see.

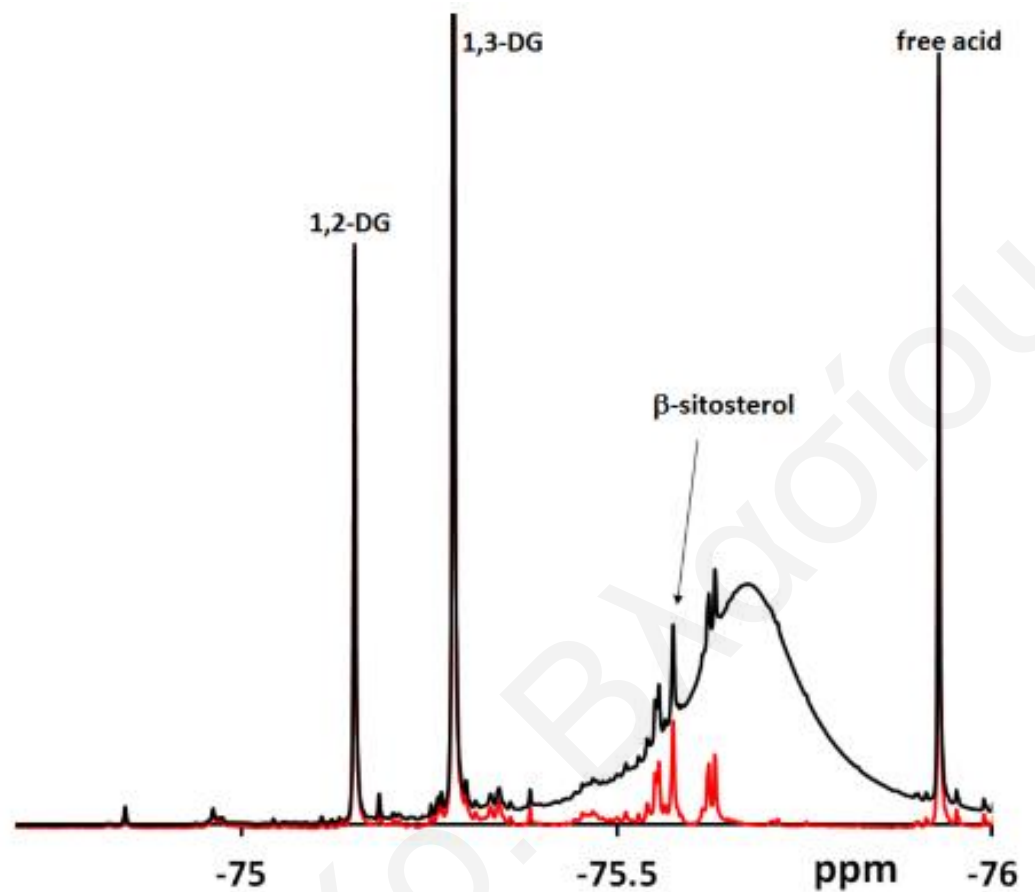


Figure S6. ^{19}F NMR spectrum of virgin olive oil treated with trifluoroacetic anhydride according to procedure **B** (black line) and the ^{19}F NMR spectrum after subtraction of the broad trifluoroacetic acid/trifluoroacetic anhydride coalescent peak (red line). The broad trifluoroacetic acid/trifluoroacetic anhydride peak was subtracted by fitting the peak at -75.7005 ppm of 84.45 Hz width and Lorentzian/Gaussian ratio equal to 0.80. DG=diglycerides.

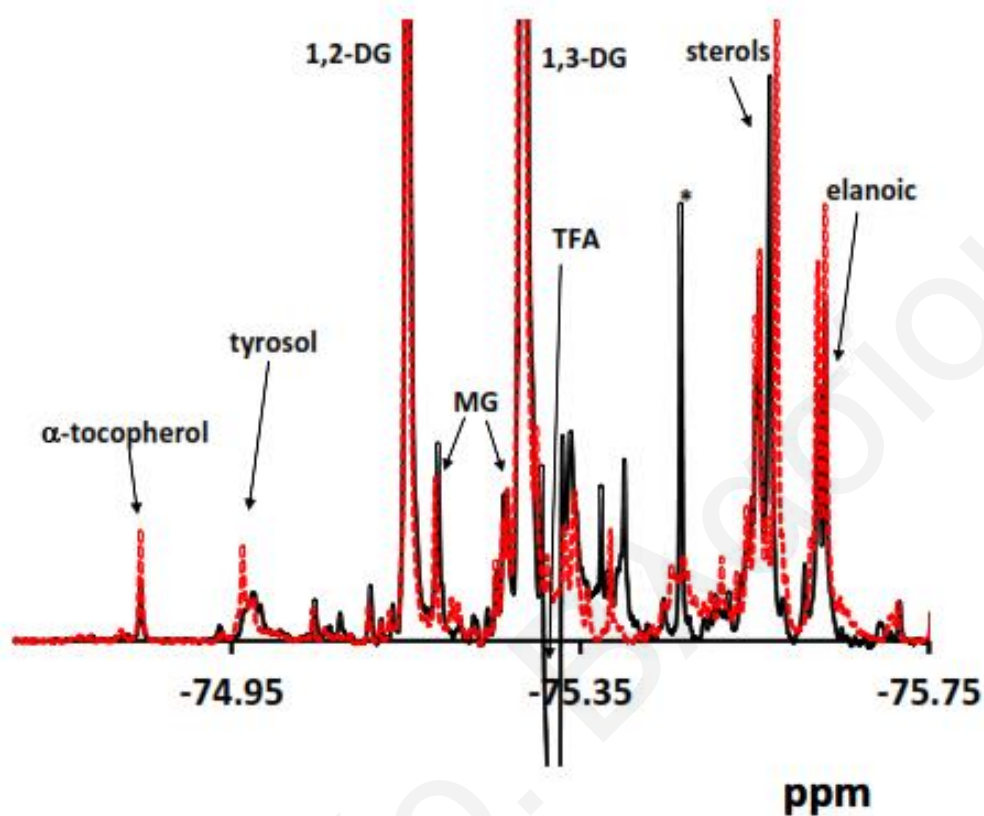


Figure S7. ^{19}F NMR spectrum of a virgin olive oil: treated with trifluoroacetic anhydride according to procedure A (black line) and after the addition of pyridine according to procedure B, (red dashed line). In both ^{19}F NMR spectra the trifluoroacetic acid/trifluoroacetic anhydride peaks have been subtracted. The * indicates an impurity contained in the solvent. DG=diglycerides, MG=monoglycerides, TFA=trifluoroacetic anhydride.

Table S1. ^{19}F NMR chemical shifts of the major CF_3COO -derivatives of the OHs of an oil sample. T1 values calculated from inversion recovery experiments. The sample contained oil (0.457g), *tert*-butanol (50 μL , 0.1400 M in CDCl_3), trifluoroacetic anhydride (100 μL , 1.35 M in CDCl_3), pyridine (30 μL , 1.35 M in CDCl_3) and 100 μL CDCl_3 .

OHS Compounds	Chemical Shift / ppm	T1 / s
α -tocopherol	-74.847	0.72
Tyrosol (aromatic)	-74.965	
1,2-DG	-75.150	0.87
1-MG	-75.185	
1,3-DG	-75.264	0.87
β -sitosterol	-75.562	1.66
aliphatic alcohols	-75.31 to -75.50	
other alcohols	-75.558, -75.554	
free fatty acids	-75.929	1.30
allyl, aromatic acids	-75.632, -75.623	

Table S2. The score of four different independent measurements of α -tocopherol in three different edible oils using ^{19}F NMR according to the procedure **B** and HPLC analysis of α -tocopherol of the same oils. (HPLC analysis was performed by *Medalion Labs*, Method of analysis: Samples are saponified by refluxing in ethanolic KOH. The organic extracts are diluted to standard volumes and are submitted to reverse-phase HPLC analysis using a C8 column with isocratic elution. α -tocopherol is detected using a fluorescence detector. Quantitation was performed by comparison to a standard curve.

Sample / Anal. Method	mg/Kg of α -tocopherol		
	Pomace Oil	Virgin Oil	Sunflower Oil
<u>^{19}F NMR</u>			
measurement 1	214	113	594
measurement 2	216	113	603
measurement 3	215	110	590
measurement 4	217	109	592
Mean Value	216 \pm 2	111 \pm 2	595 \pm 5
<u>HPLC</u>			
measurement	208	111	589

Table S3. The mean values of four different independent measurements of β -sitosterol, 1,2-diglycerides and 1,3-diglycerides in three different edible oils, by ^{19}F NMR according to the procedure **A**, **B** and **C**, and by GC analysis performed by *Food Alergen Laboratory* (values in parentheses).

	β -sitosterol*	1,2-DG	1,3-DG
	mg/Kg	% of all diglycerides	
Pomace Oil	2396 \pm 8 (2375)	36.2 (36.3)	63.8 (63.7)
Virgin Oil	1212 \pm 5 (1199)	29.9 (29.0)	70.1 (71.0)
Sunflower Oil	3249 \pm 9 (3201)	29.4 (28.2)	70.6 (71.8)

* The amount of β -sitosterol is actually the mixture of β -sitosterol and other minor sterols with similar -OH chemical environment such as campesterol etc. These values are the sum of sterols presents in these oils.