

A

№. 13. 90. 2114

129

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

IQANNINA 2000



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η διατριβή αυτή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Γενικής και Ανοργάνου Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Η ανάθεση του θέματος και η συνολική επίβλεψη της διατριβής έγινε από τον καθηγητή Ανοργάνου και Γενικής Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Ν. Χατζηλιάδη, τον οποίο ευχαριστώ θερμά για το αμείωτο ενδιαφέρον του, την πολύτιμη καθοδήγηση και τη βοήθεια που μου προσέφερε σε όλη τη διάρκεια της εκπόνησης και συγγραφής της διατριβής.

Επίσης ευχαριστώ τα μέλη της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής μου, κ. Ν. Ευμοιρίδη, καθηγητή Αναλυτικής Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και κ. Θ. Καμπανό, Αναπλ. Καθηγητή Ανοργάνου Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων για την υποστήριξή τους κατά τη διεξαγωγή της εργασίας αυτής.

Οφείλω επίσης να ευχαριστήσω τη Λέκτορα της Ανοργάνου και Γενικής Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, κ. Μ. Λουλούδη για τις πολύτιμες υποδείξεις και συμβουλές της κατά το πειραματικό μέρος της παρούσης εργασίας καθώς και τη βοήθεια που μου προσέφερε κατά τη διάρκεια της συγγραφής της διατριβής.

Ευχαριστώ ακόμα τους φίλους μου και συναδέλφους Ε. Κατσαρού, Γ. Μαλανδρίνο, Θ. Φιλιππόπουλο, Π. Τσιβεριώτη για τις επικοινωνητικές συζητήσεις και την άψογη συνεργασία τους μαζί μου.

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω τους γονείς μου και τον σύζυγό μου, που ήταν πάντα δίπλα μου και με ενθάρρυναν στην προσπάθεια αυτή.



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΔΙΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Στον γιο μου
Κωνσταντίνο



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	σελ.
A. ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ	1
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1 Γενικά	1
1.2 Διάφορες διαμορφώσεις	3
1.3 Προταθέντες μηχανισμοί	4
(α) Ρόλος πυριμιδίνης	6
(β) Ρόλος θειαζολίου-“ενεργού αλδεϋδης”	11
(γ) Ρόλος πυροφωσφορικής ομάδας και δισθενών μεταλλικών ιόντων	13
1.4 Σύγχρονες απόψεις	16
1.5 Σύντομη αναδρομή των συμπλόκων της θειαμίνης και των παραγώγων της	26
1.5.1 Σύμπλοκα θειαμίνης	26
1.5.2 Σύμπλοκα παραγώγων θειαμίνης, ενδιάμεσων του καταλυτικού κύκλου	29
2 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ	31
2.1 Επιλογή των μετάλλων	31
2.2 Επιλογή των υποκαταστατών	33
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	36
B ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ	40
ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΔΙΣΘΕΝΩΝ ΜΕΤΑΛΛΙΚΩΝ ΙΟΝΤΩΝ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ II_B ΜΕ 2-(α-ΥΔΡΟΞΥ-BENZYL) ΜΟΝΟΦΩΣΦΟΡΙΚΗ ΘΕΙΑΜΙΝΗ (HBTmP)	40
I ΕΙΣΑΓΩΓΗ	40
II ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ	42
1 ΤΑ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΣΤΗ ΣΤΕΡΕΑ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ	42
1.1 Σύνθεση	42



1.2	Δομή του υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$ και του συμπλόκου $\text{Hg}(\text{HBTmPH})_2\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	43
(α)	Δομή του υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^- \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	44
(β)	Δομή του συμπλόκου $\text{Hg}(\text{HBTmPH})_2\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	44
1.3	Φασματοσκοπία υπερύθρου (IR) και Raman	52
1.4	ΦΑΣΜΑΤΑ NMR ΣΕ ΣΤΕΡΕΑ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ	73
(α)	Εισαγωγή	73
(β)	Φασματοσκοπία ^{13}C NMR σε στερεά κατάσταση	74
(γ)	Φασματοσκοπία ^{31}P NMR σε στερεά κατάσταση	85
2	ΤΑ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ	91
2.1	Αγωγιμομετρία	91
2.2	ΦΑΣΜΑΤΑ NMR ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ	92
(α)	^{13}C NMR Φασματοσκοπία	92
(β)	^{31}P NMR Φασματοσκοπία	101
(γ)	^1H NMR Φασματοσκοπία	105
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	115
Γ	ΜΕΡΟΣ ΤΡΙΤΟ	118
	ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΔΙΣΘΕΝΩΝ ΜΕΤΑΛΛΙΚΩΝ ΙΟΝΤΩΝ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ II_B ΜΕ 2-(α-ΥΔΡΟΞΥ-BENZYL) ΠΥΡΟΦΩΣΦΟΡΙΚΗ ΘΕΙΑΜΙΝΗ (HBTTP)	118
I	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	118
II	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ	120
1.	ΤΑ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΣΤΗ ΣΤΕΡΕΑ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ	120
1.1	Σύνθεση	120
1.2	Φασματοσκοπία υπερύθρου (IR) και Raman	121
1.3	Φασματοσκοπία ^{13}C CP/MAS NMR	136
2.	ΤΑ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ	143
2.1	Αγωγιμομετρία	143
2.2	Φασματοσκοπία ^{13}C NMR	144
2.3	Φασματοσκοπία ^{113}Cd NMR	153
2.4	Φασματοσκοπία ^{199}Hg NMR	155
2.5	Φασματοσκοπία ^{31}P NMR	156



2.6	Φασματοσκοπία ^1H NMR	161
2.7	^1H NMR ROESY Φασματοσκοπία σε D_2O	169
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	172
Δ	ΜΕΡΟΣ ΤΕΤΑΡΤΟ	174
	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	174
I.	ΕΝΩΣΕΙΣ ΤΩΝ Zn(II) , Cd(II) , ΚΑΙ Hg(II) ΜΕ 2-(α -ΥΔΡΟΞΥ- BENZYL) ΜΟΝΟΦΩΣΦΟΡΙΚΗ ΘΕΙΑΜΙΝΗ (HBTmP)	174
II	ΕΝΩΣΕΙΣ ΤΩΝ Zn(II) , Cd(II) , ΚΑΙ Hg(II) ΜΕ 2-(α -ΥΔΡΟΞΥ- BENZYL) ΠΥΡΟΦΩΣΦΟΡΙΚΗ ΘΕΙΑΜΙΝΗ (HBTPP)	177
III	ΓΕΝΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	180
Ε	ΜΕΡΟΣ ΠΕΜΠΤΟ	181
	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	181
1.	Αντιδραστήρια	181
2.	Μέθοδοι παρασκευής οργανικών υποκαταστατών και συμπλόκων	181
3.	Μέθοδοι αναλύσεων και όργανα	185
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	187
	ΠΕΡΙΛΗΨΗ	188



ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ ΚΑΙ ΣΥΜΒΟΛΑ

b	: ευρεία
BFD	: βενζοϋλομυρμηκική αποκαρβοξυλάση
δ	: δόνηση παραμόρφωσης
DMF	: διμέθυλοφορμαμίδιο
HBT	: 2(α-υδροξυ-βενζυλ)θειαμίνη
HBTmP	: 2(α-υδροξυ-βενζυλ)μονοφωσφορική θειαμίνη
HBTTP	: 2(α-υδροξυ-βενζυλ)πυροφωσφορική θειαμίνη
HCMT	: α-υδροξυ-α-κυκλοεξυλμεθυλ-θειαμίνη
HET	: υδροξυ-αιθυλ-θειαμίνη
HETTP	: υδροξυ-αιθυλ-πυροφωσφορική θειαμίνη
v	: δόνηση τάσης
om	: ώμος
s	: ισχυρή
Th	: θειαμίνη
TMS	: τετραμέθυλο σιλάνιο
TPP	: πυροφωσφορική θειαμίνη
w	: ασθενής



ALBERT EINSTEIN

(Faint, illegible markings)

1964-1965

7b 7c 7d 7e 7f 7g 7h 7i 7j 7k 7l 7m 7n 7o 7p 7q 7r 7s 7t 7u 7v 7w 7x 7y 7z

DECLASSIFIED BY: 60324 NLS/TAB/STW

~~CONFIDENTIAL~~

14-00000

7-10-60-1000-0-0-0-0 : TICH

10-10-68 10:10 AM

NY 100-36789-Sub E-Confidential 99 FBI

1700-1800

YOUNG J. LTD

100-443887-100

04-11-2009 15:07

on 11/19/2011 11:19 AM

1971-1972

Abstract



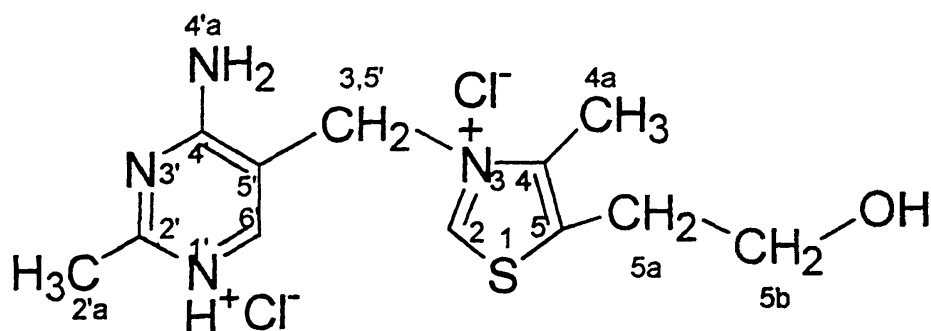
A. ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Γενικά

• Η Θειαμίνη ή βιταμίνη B₁ ή ανευρίνη είναι μια υδατοδιαλυτή βιταμίνη που απομονώθηκε το 1926 από τους Jansen και Donath στη μορφή του υδροχλωρικού της άλατος (1) με σ.τ. 250°C

Η χημική δομή της βιταμίνης B₁ που διευκρινίστηκε από τον Williams (2) και αργότερα επιβεβαιώθηκε με μελέτες ακτίνων X σε μονοκρυστάλλους της (3) φαίνεται στο σχήμα 1.

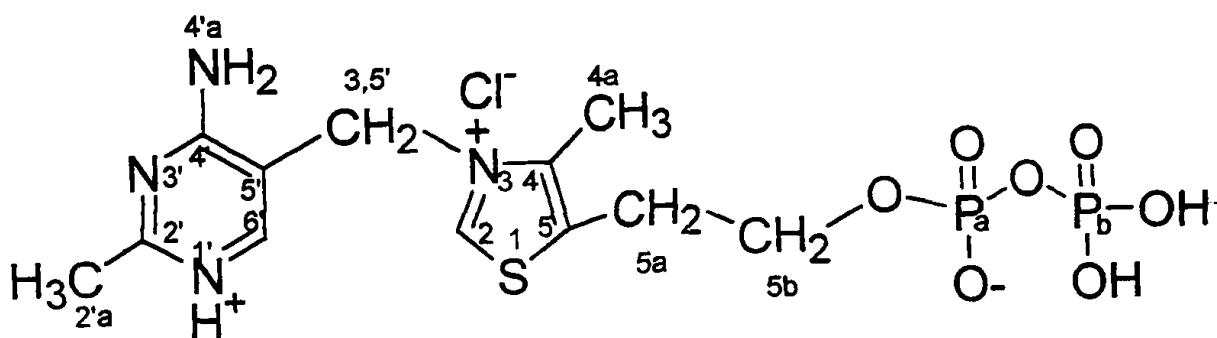
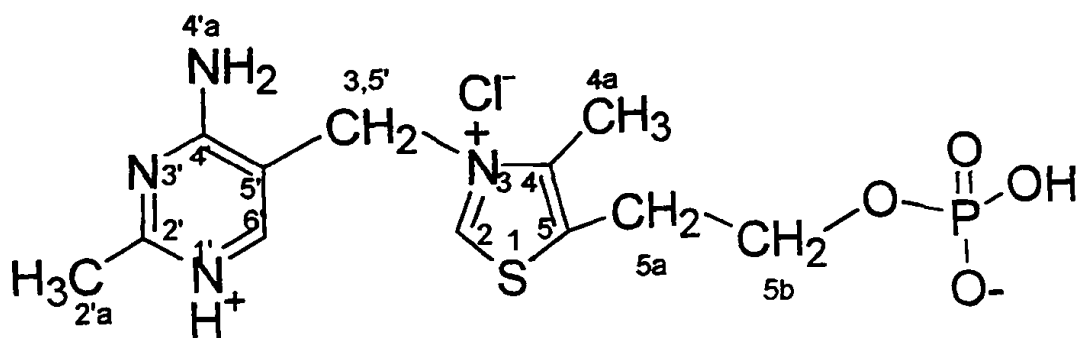


Σχήμα 1

Εκτός από την απλή θειαμίνη που φαίνεται στο προηγούμενο σχήμα υπάρχει η μονοφωσφορική θειαμίνη και η πυροφωσφορική θειαμίνη (σχήμα 2).

Η βιολογική δράση της θειαμίνης οφείλεται κυρίως στον πυροφωσφορικό της εστέρα, ο οποίος είναι το συνένζυμο συνκαρβοξυλάση (cocarboxylase) (σχήμα 2).

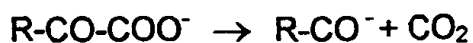




Σχήμα 2

Συντίθεται με απ' ευθείας μεταφορά της πυροφωσφορικής ομάδας από το ATP (4) και λειτουργεί σαν συνένζυμο πολλών ενζύμων που συμμετέχουν κυρίως στον μεταβολισμό των α-κετοοξέων.

Λέγεται συνκαρβοξυλάση επειδή αρχικά είχε βρεθεί ότι ήταν συνένζυμο της καρβοξυλάσης. Είναι όμως συνένζυμο και πολλών άλλων ενζύμων που καταλύουν τη διάσπαση των δεσμών C-C ο οποίος είναι κοντά σε μία καρβονυλομάδα C=O (5). Όλες αυτές οι αντιδράσεις οδηγούν στο σχηματισμό ενός άκυλο-καρβανιόντος, $R-CO^-$

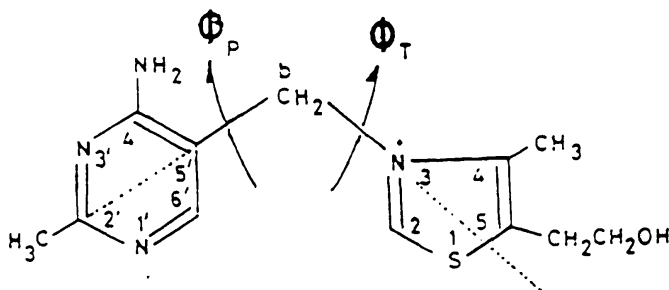


ή ενός ισοδύναμου ενδιάμεσου (6,7). Αυτός ο τύπος του ενδιάμεσου λέγεται "ενεργός αλδεϋδη".



1.2. Διάφορες διαμορφώσεις

Οι σχετικοί προσανατολισμοί πυριμιδίνης και θειαζολίου στη θειαμίνη ορίστηκαν από τους Sax, Pulsineli και Pletcher (8), μετά από κρυσταλλογραφικές μελέτες, και καθορίζονται από τις γωνίες στροφής $\Phi_P = N(3)-C(b)-C(5')-C(4')$ και $\Phi_T = C(5')-C(b)-N(3)-C(2)$ αντίστοιχα (σχήμα 3).



Σχήμα 3

Οι γωνίες αυτές έχουν θετικές τιμές κατά τη φορά των δεικτών του ωρολογίου. Οι τρεις γνωστές διαμορφώσεις της θειαμίνης και των παραγώγων της είναι οι εξής:

S: η οποία κατευθύνει το H(6') κοντά στο N(3) ($\Phi_T = \pm 100^\circ$, $\Phi_P = \pm 150^\circ$) και είναι χαρακτηριστική όταν η θειαμίνη είναι υποκατεστημένη στον C(2).

F: η οποία κατευθύνει το H(2) πάνω απ' τον C(5') ($\Phi_T = 0^\circ$, $\Phi_P = \pm 90^\circ$) και είναι συνήθης όταν δεν είναι υποκατεστημένη η θειαμίνη στον C(2) και

V: ($\Phi_T = \pm 90^\circ$, $\Phi_P = \pm 90^\circ$) όπου εκεί η αμινομάδα της θέσεως 4' πλησιάζει το C(2). (9,10).

Σύμφωνα όμως με τον Schellenberger (11,12) για να αρχίσει ο καταλυτικός κύκλος, η θειαμίνη πρέπει να βρίσκεται στον V τύπο. Το σημαντικό όμως είναι ότι βρέθηκαν μόνο ελάχιστα παραδείγματα παραγώγων της θειαμίνης στην διαμόρφωση V, μετά από ανάλυση των δομών τους με ακτίνες X (13,14). Κανένα όμως από τα παράγωγα αυτά δεν καταλύει τις αντιδράσεις της θειαμίνης.



1.3. Προταθέντες μηχανισμοί

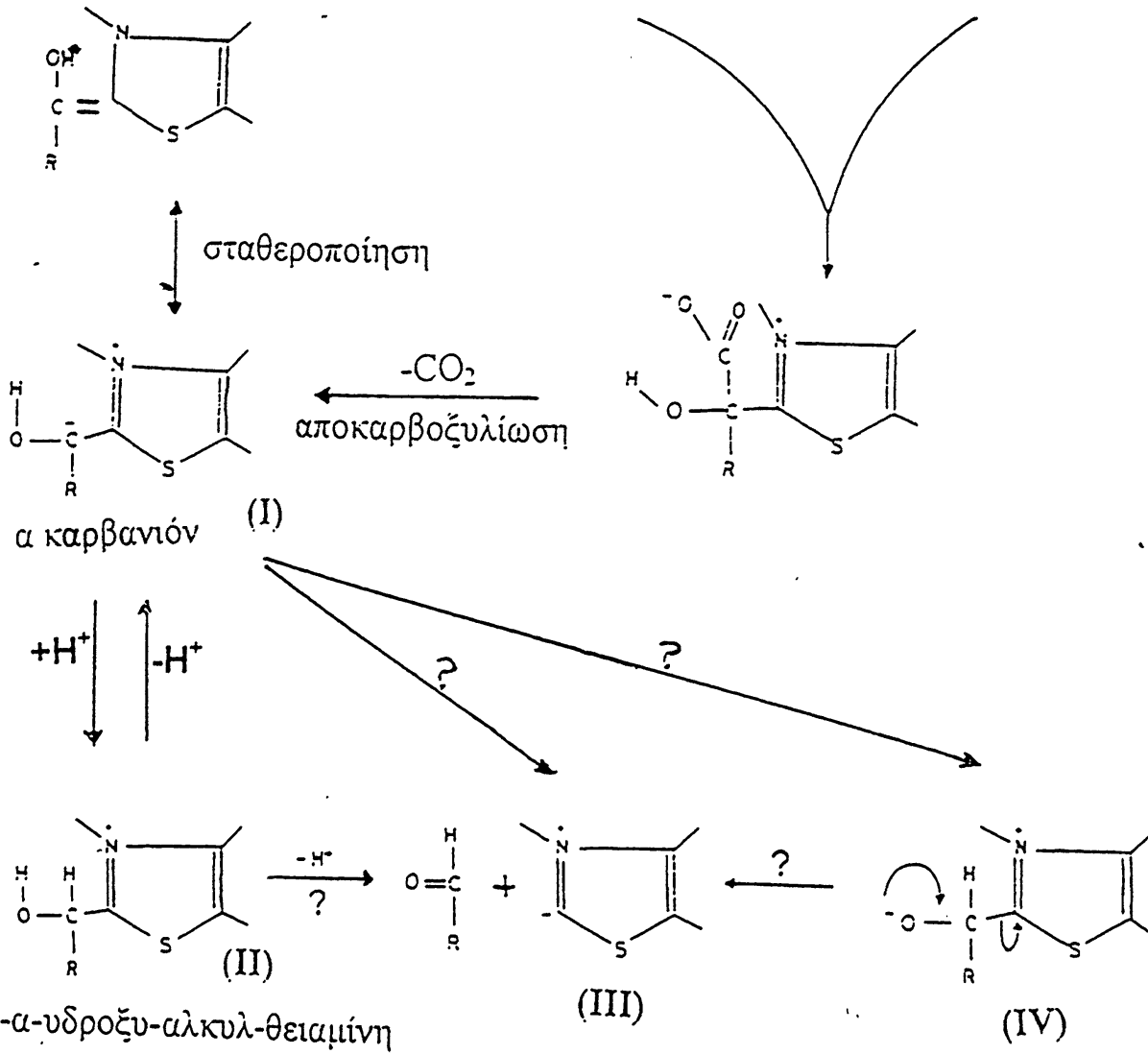
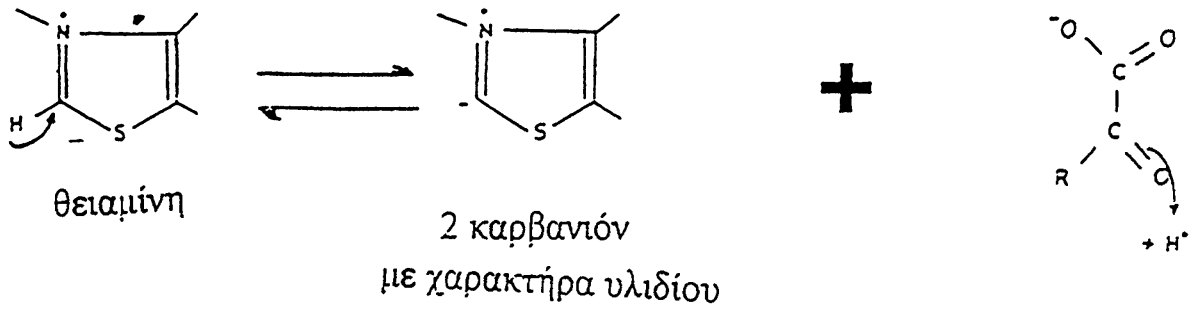
Ο Breslow (6) πρότεινε μηχανισμό ενζυμικής δράσης της θειαμίνης που περιγράφεται στο σχήμα 4. Αυτός περιλαμβάνει απόσπαση του πρωτονίου από τον C-2 του θειαζολικού δακτυλίου και σχηματισμό ενός υλιδίου που μπορεί να προστεθεί σε μια οξοομάδα του υποστρώματος. Έτσι σχηματίζεται ένα ενδιάμεσο το οποίο αποκαρβοξυλιώνεται γρήγορα στο α-καρβανιόν της 2-α-υδροξυ-αλκυλ-θειαμίνης. Το α-καρβανιόν που ονομάζεται “ενεργός αλδεϋδη” σταθεροποιείται μέσω ενός τύπου συντονισμού. Η πιθανότητα ύπαρξης της ισορροπίας πρωτονίωσης μεταξύ του (I) και (II) εξαρτάται από το pH του διαλύματος. Η “ενεργός αλδεϋδη” κατορθώθηκε και απομονώθηκε από το μίγμα της ενζυμικής αντίδρασης (15,16). Τελικά για την απελευθέρωση της αλδεϋδης ο Breslow δεν μπορούσε να διακρίνει αν η αποκαρβοξυλίωση γίνεται από τα ενδιάμεσα πιθανά προϊόντα των τύπων (I), (II) ή (IV).

Περνώντας στην συμπύκνωση της ακυλοΐνης, το α-καρβανιόν (I) είναι το μόνο πιθανό για την προσθήκη στην οξο-ομάδα της αλδεϋδης για σχηματισμό ακυλοΐνης, η οποία είναι συνδεδεμένη με την θειαμίνη.

Παρά την γενική παραδοχή του μηχανισμού του Breslow, παρέμειναν αρκετά σημεία αδιευκρίνιστα όπως είναι ο ρόλος του πυριμιδινικού δακτυλίου της θειαμίνης, ο ρόλος του θειαζολικού δακτυλίου, της πυροφωσφορικής ομάδας και ο ρόλος που παίζουν τα δισθενή μεταλλικά ιόντα κατά την συνενζυμική δράση της θειαμίνης.

Διάφορες προτάσεις έχουν γίνει που αφορούν το μηχανισμό δράσης της θειαμίνης καταδεικνύοντας: α) τον ρόλο της πυριμιδίνης, β) τον ρόλο του θειαζολίου και της “ενεργού αλδεϋδης” και γ) τον ρόλο της πυροφωσφορικής ομάδας και των δισθενών μεταλλικών ιόντων.



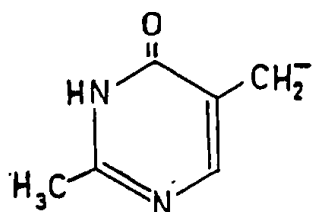


Σχήμα 4

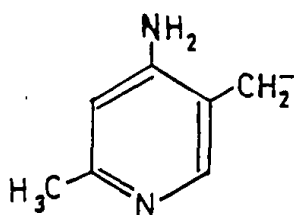


α) Ρόλος πυριμιδίνης

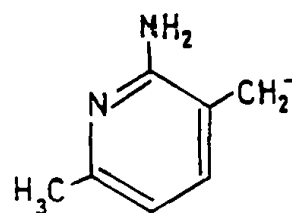
Ο Schellenberger στηριζόμενος στην ιδιαιτερότητα ότι η πυριμιδίνη της θειαμίνης φέρει στη 2' θέση μία μεθυλομάδα και στην 4' θέση μία αμινομάδα, (σχήμα 5) συνέθεσε και δοκίμασε την συνενζυμική δραστηριότητα διαφόρων παραγώγων TPP (17). Αναλυτικότερα αντικατέστησε το αμινο-πυριμιδινικό τμήμα του μορίου της TPP με 4'-υδροξυ-TPP, N(1')-αμινοπυριδίνη και N(3')-αμινοπυριδίνη:



υδροξυ-TPP

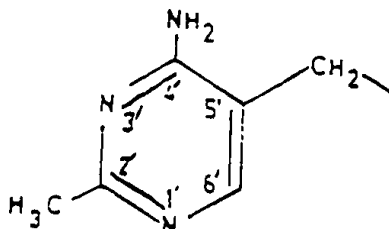


N₁'-αμινοπυριδίνη



N₃'-αμινοπυριδίνη

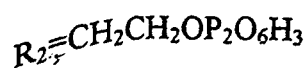
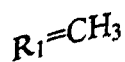
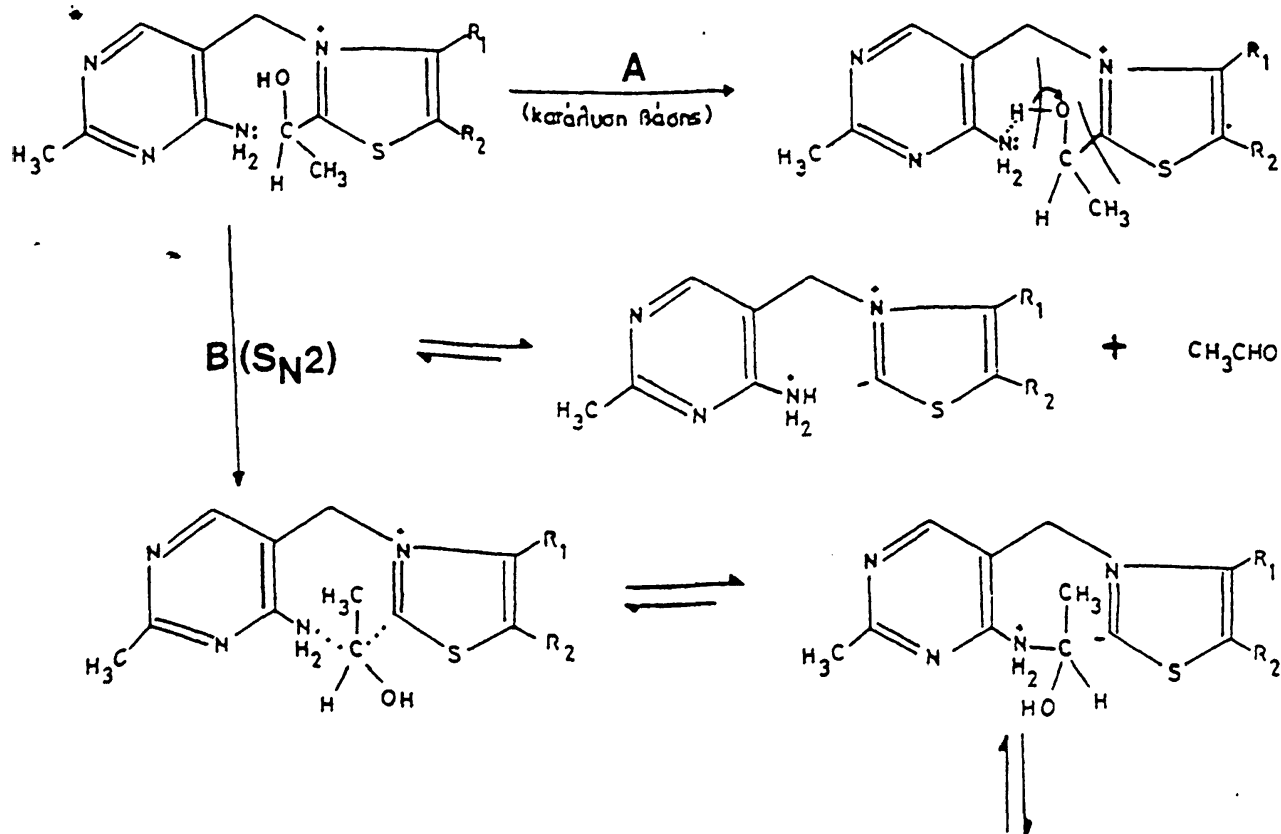
Διαπίστωσε λοιπόν ότι τα δύο πρώτα από τα ανάλογα αυτά της θειαμίνης μπορούν να συνδέονται με το αποένζυμο ενώ το τρίτο όχι. Θεώρησε επομένως ότι το N(1') (σχήμα 5) παίζει σημαντικό ρόλο στην καταλυτική δράση της θειαμίνης.



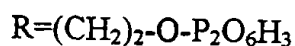
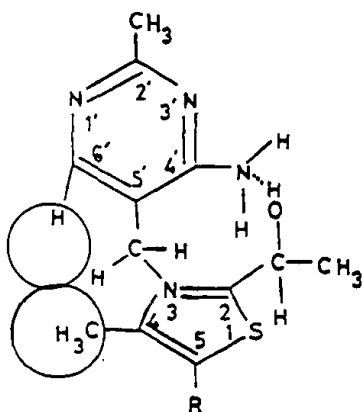
Σχήμα 5



Έτσι συμπεράνε ότι το N(1') της πυριμιδίνης χρησιμεύει για την σύνδεση με το υπόστρωμα μέσω μεταλλικών ιόντων και απέδωσε στην 4'-αμινομάδα της πυριμιδίνης το ρόλο του πρωτονιοδέκτη (ή βάσης κατά Lewis) από το ενδιάμεσο προϊόν "ενεργού αλδεΐδης" με αποτέλεσμα τη διευκόλυνση της απόσπασης αλδεΐδης σύμφωνα με το μηχανισμό:



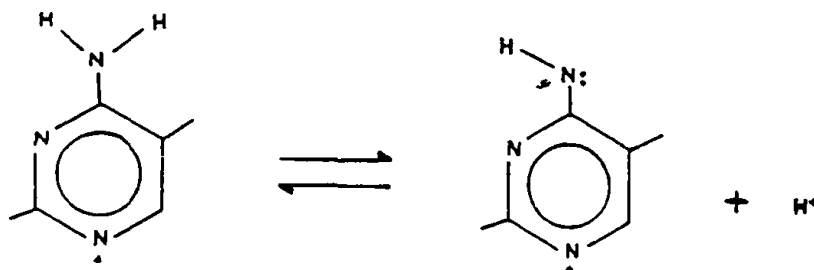
Σύμφωνα με το πρότυπο του Stuart (11), για να μπορέσει η αμινομάδα να δράσει σαν δέκτης πρωτονίων από τη 2 θέση του



θειαζολίου, πρέπει η μεθυλομάδα της 4 θέσης να είναι σχεδόν σε επαφή με το δ'-H.

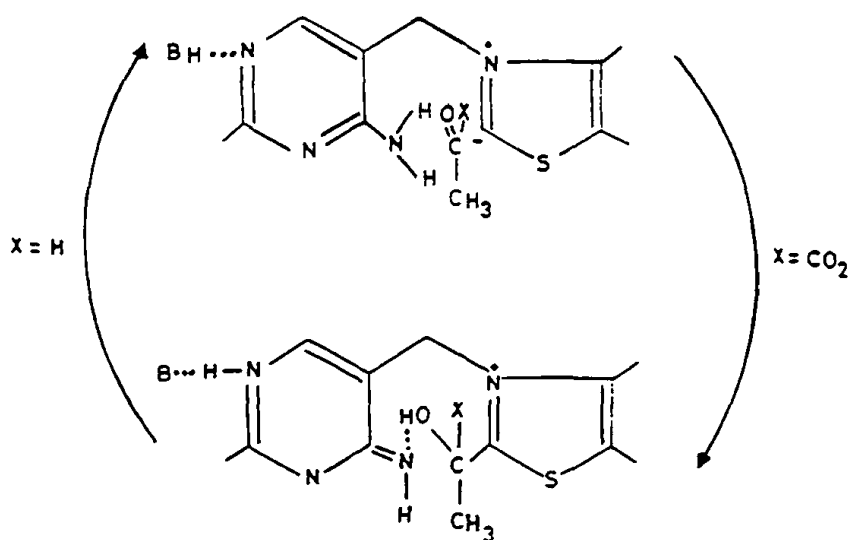
Πράγματι η εισαγωγή μεθυλομάδας στην 6' θέση (6-μεθυλ-TRP) οδηγεί σε στροφή του μορίου γύρω απ' τη γεφυρωμένη μεθυλενομάδα, απομακρύνοντας το μεθύλιο από το C(4)-CH₃ με αποτέλεσμα την πλήρη απώλεια της ενζυμικής δράσης (11).

Οι Jordan και Mariam (18) απέδειξαν ότι η αμινομάδα ενός αναλόγου της θειαμίνης που φέρει θετικό φορτίο πάνω στο N(1') μπορεί να δράσει σαν ασθενές οξύ.



Ένα τέτοιο σύστημα θα μπορούσε να συμμετέχει ενεργά σε μεταφορές πρωτονίων, όπως αυτές καταδεικνύονται στο σχήμα 6, δρώντας σαν πρωτονιοδότης.

Στη συνέχεια ο Schellenberger (12) απέδωσε ρυθμιστική λειτουργία στο πρωτόνιο της 4'-NH₂, η οποία βοηθά στην προσθήκη του υποστρώματος, αλλά και στην απόσπαση της αλδεϋδης απ' τον θειαζολικό δακτύλιο μέσω ενός δεσμού υδρογόνου σύμφωνα με το σχήμα 7. Η λειτουργία όμως αυτή απαιτεί κατάλληλο προσανατολισμό του πυριμιδινικού δακτυλίου σε σχέση με το θειαζόλιο που θα πρέπει να πραγματοποιείται με τη βοήθεια της πρωτεΐνης.



Σχήμα 7

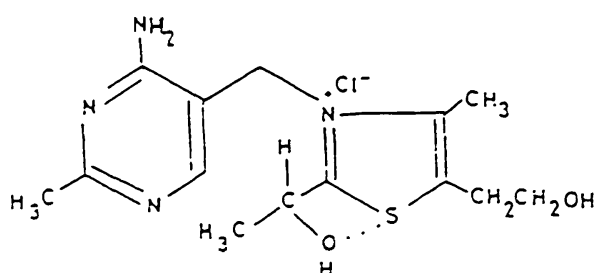
Ο Jordan το 1974 (19) υποστήριξε ότι πιθανώς η αμινομάδα μετέχει σε δεσμούς υδρογόνου, σταθεροποιώντας το ολοένζυμο. Αργότερα (20) πρότεινε ότι η αμινομάδα παίζει κάποιο ρυθμιστικό ρόλο καθώς το pK_a αυτής πέφτει στο 7.5-7.8 στις ενώσεις που είναι πρωτονιωμένες στο N(1').

Αντίθετα με το Schellenberger, οι Washabaugh και Jencks το 1988 (21) με κινητικές μεθόδους έδειξαν ότι η αμινομάδα της πυριμιδίνης δεν μετέχει στην απόσπαση του πρωτονίου C(2) της TPP.



β) Ρόλος θειαζολίου-“ενεργού αλδεϋδης”

Αναφέρθηκε ήδη προηγουμένως (6) ο σχηματισμός “ενεργού αλδεϋδης” μέσω του ιονισμένου C(2) του θειαζολίου και η δημιουργία α-καρβανιόντος. Οι μελέτες ^{13}C -NMR των Gallo και Sable (25) πάνω στην HET (2-α-υδροξυ-αίθυλ-θειαμίνη) και σε ανάλογες ενώσεις οδήγησαν στο συμπέρασμα της ύπαρξης μερικώς θετικού φορτίου πάνω στον C(2) του θειαζολίου, πράγμα που βοηθά να εξηγηθεί η ευκολία σχηματισμού του α-καρβανιόντος τόσο ενζυμικά όσο και στα συστήματα προτύπων ενώσεων.



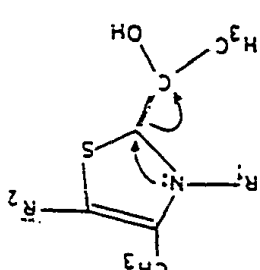
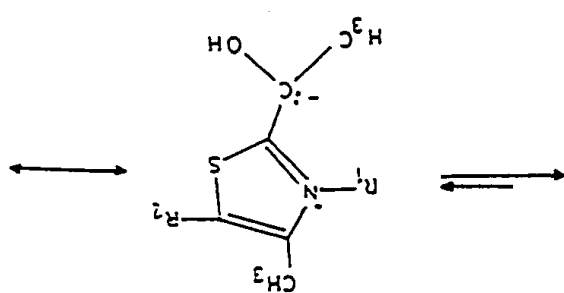
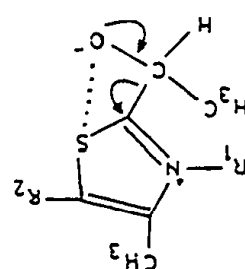
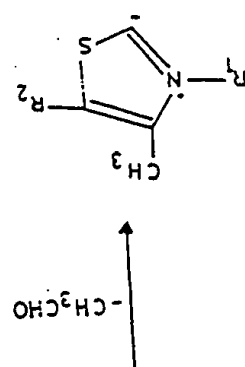
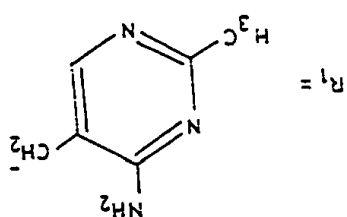
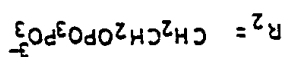
Στις κρυσταλλικές δομές του βρωμιούχου 2-(α-υδροξυ-αιθυλ) 3,4-διμέθυλ-θειαζολίου (23), της HET.HCl (23), της HBT.HCl (24) καθώς και της 2-(α-υδροξυ-βενζυλ) οξυθειαμίνης HCl (25) υπήρχε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ του ατόμου του S και του O της υδροξυ-αίθυλ και υδροξυ-βενζυλομάδας του C(2α) της πλευρικής αλυσίδας. Έτσι ο Hogg (26) πρότεινε κάποιο μηχανισμό της TRP με το πυρουβικό που περιγράφεται στο σχήμα 8.

Σ' αυτόν όλα τα ενδιάμεσα που έχουν υδροξυλομάδα στον α-άνθρακα σταθεροποιούνται σε κάποια έκταση από την αλληλεπίδραση S...O (26). Αυτή η αλληλεπίδραση διευκολύνει επίσης την αποκαρβοξυλίωση οδηγώντας στο ενδιάμεσο της “ενεργού αλδεϋδης” καθώς και στην απόσπαση της αλδεϋδης κατά το τελευταίο στάδιο του μηχανισμού.

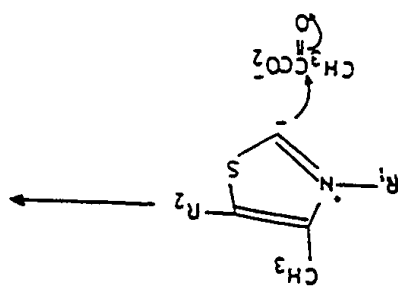
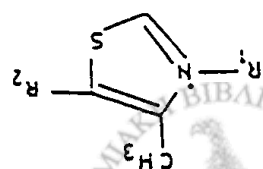
Όσον αφορά την 4-CH₃ ομάδα του θειαζολίου και την 2'-CH₃ ομάδα της πυριμιδίνης, αποτελούν την δεύτερη περιοχή σύνδεσης συνενζύμου-αποενζύμου, η οποία επιτυγχάνεται λόγω υδρόφοβης αλληλεπίδρασής τους με το αποένζυμο (10,27).



8 ηχη8



TPP



γ) Ρόλος πυροφωσφορικής ομάδας και δισθενών μεταλλικών ιόντων

- Όσο για το ρόλο των δισθενών μεταλλικών ιόντων, αρχικά υπέθεσαν ότι τα δισθενή μεταλλικά ιόντα και συγκεκριμένα το Mg^{2+} δρουν σαν γέφυρες μεταξύ του αποενζύμου και της πυροφωσφορικής θειαμίνης (28,29).

Ο Schellenberger (11) μελέτησε με κινητικές μεθόδους την αντίδραση επανασύνδεσης του ολοενζύμου από τα συστατικά του: αποένζυμο, μεταλλικό ιόν και πυροφωσφορική θειαμίνη, ως εξής:

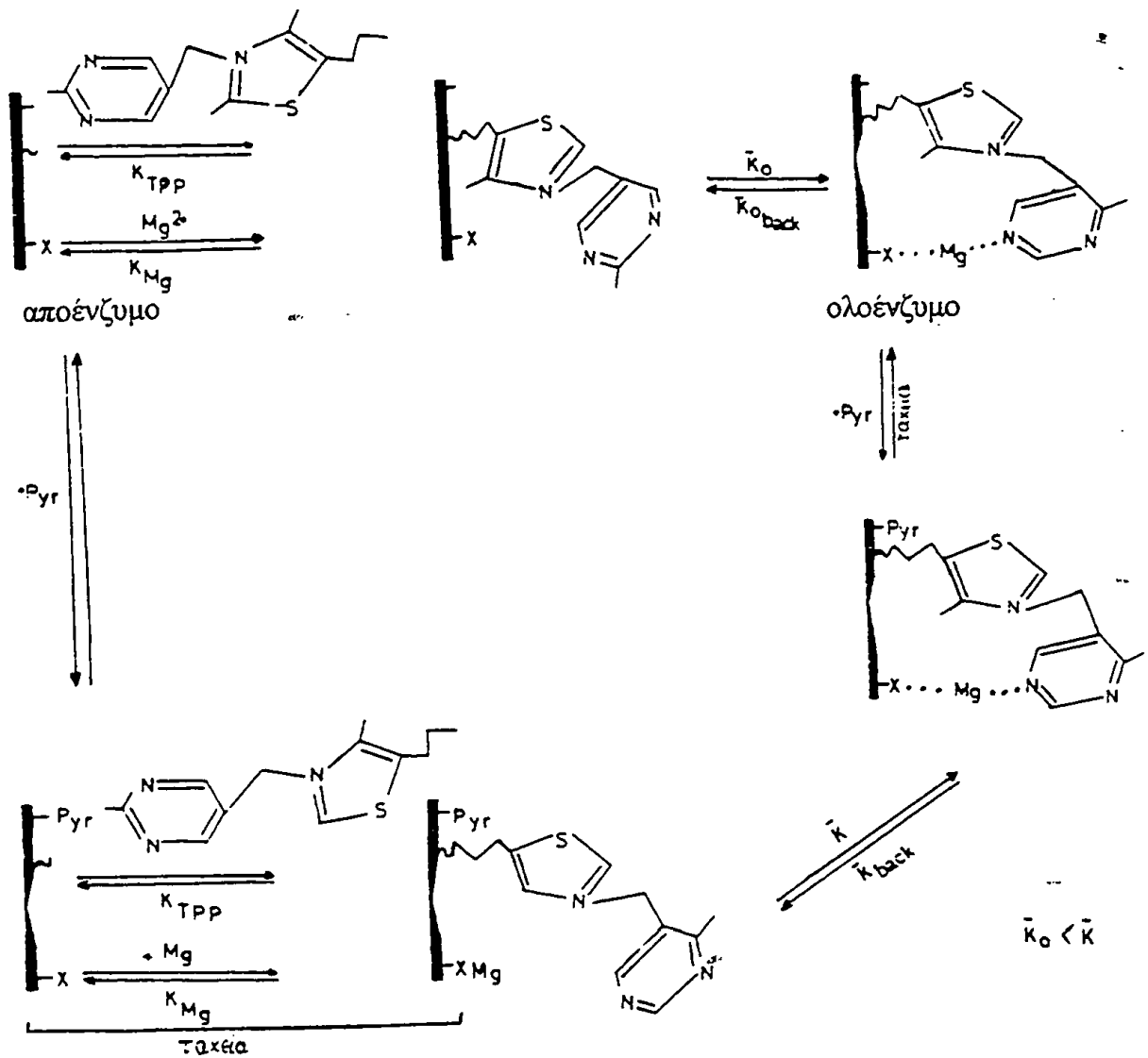


Έτσι βρήκε ότι το Mg^{2+} είναι απαραίτητο για το σταθερό δεσμό του αποενζύμου με την TPP, όπως επίσης και η TPP είναι απαραίτητη για το σταθερό δεσμό του Mg^{2+} . Δηλαδή για το σχηματισμό του θερμοδυναμικά σταθερού ολοενζύμου ήταν απαραίτητα και τα τρία συστατικά, αφού δεν ήταν δυνατόν να ανιχνευτούν σταθεροί δεσμοί μεταξύ TPP και Mg^{2+} μόνο. Επίσης ο σχηματισμός του ολοενζύμου είναι μη αντιστρεπτός. Επιπλέον πρότεινε ότι όπως οι 4-αμινοπυριμιδίνες έτσι και η TPP θα πρωτονιώνεται εκλεκτικά στη θέση N(1') της TPP, ενώ το πυροφωσφορικό της τμήμα θα πρέπει να συνδέεται με το αποένζυμο χωρίς την βοήθεια μεταλλοϊόντος. Όλα τα παραπάνω περιγράφονται στο σχήμα 9.

Πιθανός επομένως ρόλος των μεταλλικών ιόντων είναι να συνδέουν το συνένζυμο με το καταλυτικό κέντρο του ενζύμου δρώντας σαν γέφυρα μεταξύ αυτού και της πυριμιδινικής βάσης όπως είχε προταθεί από τον Schellenberger (11). Οι Aoki και Yamazaki (30) υπερθεματίζοντας πάνω σ' αυτό πρότειναν ότι για να αποκτηθεί η απαιτούμενη στερεοχημεία για την αντίδραση στο καταλυτικό κέντρο, το μέταλλο συνδέεται μάλλον μέσω του N(1'), παρά μέσω της φωσφορικής ομάδας, επειδή η αιθυλ-πυροφωσφορική πλευρική αλυσίδα του C(5) είναι υπερβολικά εύκαμπτη.

Επίσης οι ίδιοι (30) απέδωσαν ένα ακόμη ρόλο στα μεταλλικά ιόντα: ότι επηρεάζουν την ηλεκτρονιακή πυκνότητα του υποκαταστάτη, έλκοντας ηλεκτρόνια προς το μέρος τους, με αποτέλεσμα να ευνοούνται οι αλληλεπιδράσεις της πυριμιδίνης με το υπόστρωμα. Τέλος υπέθεσαν ότι η TPP διατηρεί τη σταθερή F διαμόρφωση όταν συνδέεται με το πυρουβικό ανιόν.



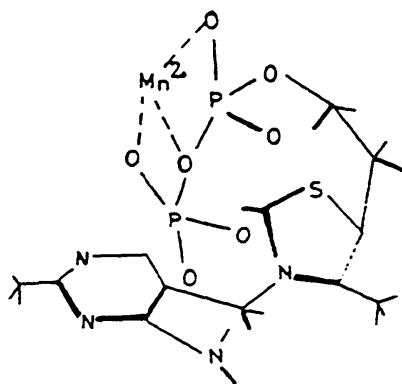


- : θέση σύνδεσης υποστρώματος
- ~: θέση σύνδεσης του πυροφωσφορικού τμήματος της TPP
- X: θέση σύνδεσης μεταλλοϊόντων
- K_0 : λόγος ταχυτήτων ανασύνδεσης- διάσπασης απουσίας Pyr

Σχήμα 9

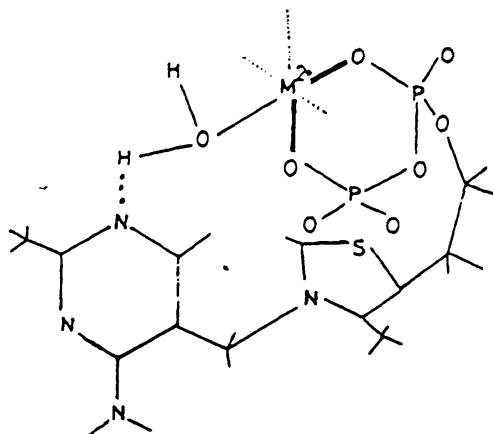


Θα πρέπει να τονιστεί ότι η πυροφωσφορική ομάδα είναι απαραίτητη για την ενζυμική δραστικότητα της TPP (23). Οι Grande κ.α. (31) σε μελέτες αντιδράσεων της TPP με Mn^{+2} με φασματοσκοπίες 1H -NMR και ^{31}P -NMR υπέδειξαν δεσμό του μετάλλου με το πυροφωσφορικό τμήμα του μορίου:



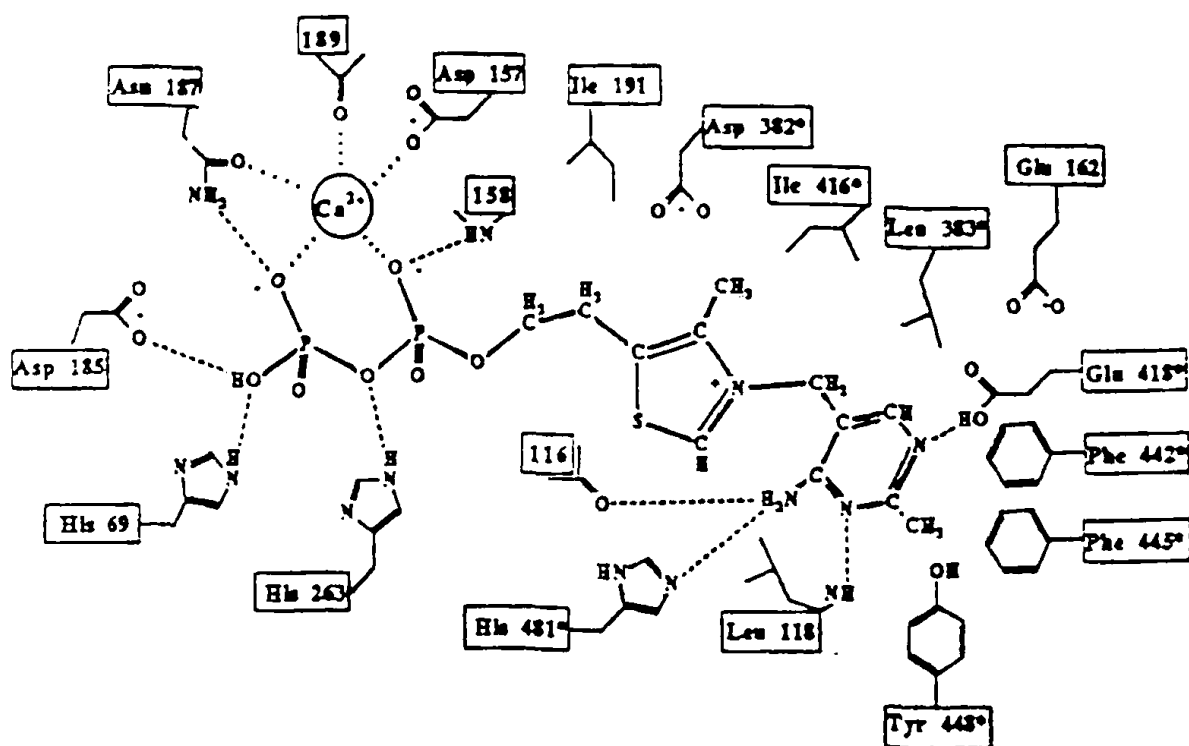
Οι Wittorf και Gubler (27) ανέφεραν επίσης την πυροφωσφορική ομάδα σαν πιθανή περιοχή σύνδεσης του συνενζύμου με το αποένζυμο. Προτείνουν ότι η σύνδεση αυτή γίνεται μέσω ιόντων $Mg(II)$ με διάφορες πολικές ομάδες των αμινοξέων του αποενζύμου και είναι ιονικής φύσης (32).

Επίσης οι White και Drago (33) με μελέτες 1H -NMR και ^{31}P -NMR πρότειναν ότι τα μεταλλοϊόντα Co^{+2} και Ni^{+2} συνδέονται μέσω της πυροφωσφορικής ομάδας και μέσω του πυριμιδινικού δακτυλίου. Αυτό επιβεβαιώθηκε και από τους Gallo κ.α. (34,35) που υποστήριξαν ότι το Ni^{+2} συνδέεται με το N(1') της πυριμιδίνης μέσω ενός μορίου νερού με δεσμό υδρογόνου:



1.4. Σύγχρονες απόψεις

Μέχρι τα τελευταία χρόνια η κατανόηση της ενζυμικής δράσης της θειαμίνης περιοριζόταν από το γεγονός ότι καμία τρισδιάστατη δομή με ακτίνες Χ των ενζύμων της θειαμίνης δεν είχε λυθεί. Έτσι οι Lindqvist κ.α. (36) αρχικά έλυσαν τη δομή της τρανσκετολάσης και προσπάθησαν να ερμηνεύσουν τον μηχανισμό της κατάλυσης της θειαμίνης. Βρήκαν λοιπόν ότι η τρανσκετολάση είναι ένα διμερές ένζυμο με τις ενεργές θέσεις του στην επιφάνεια των δύο υπομονάδων. Βρήκαν επίσης ότι η πυροφωσφορική θειαμίνη συνδέεται ακριβώς πάνω στις θέσεις αυτές και ότι είναι στη V διαμόρφωση. Έτσι δημοσίευσαν ένα σχηματικό διάγραμμα της επίδρασης της πυροφωσφορικής θειαμίνης στο ενεργό κέντρο της τρανσκετολάσης που δίνεται στο σχήμα 10.

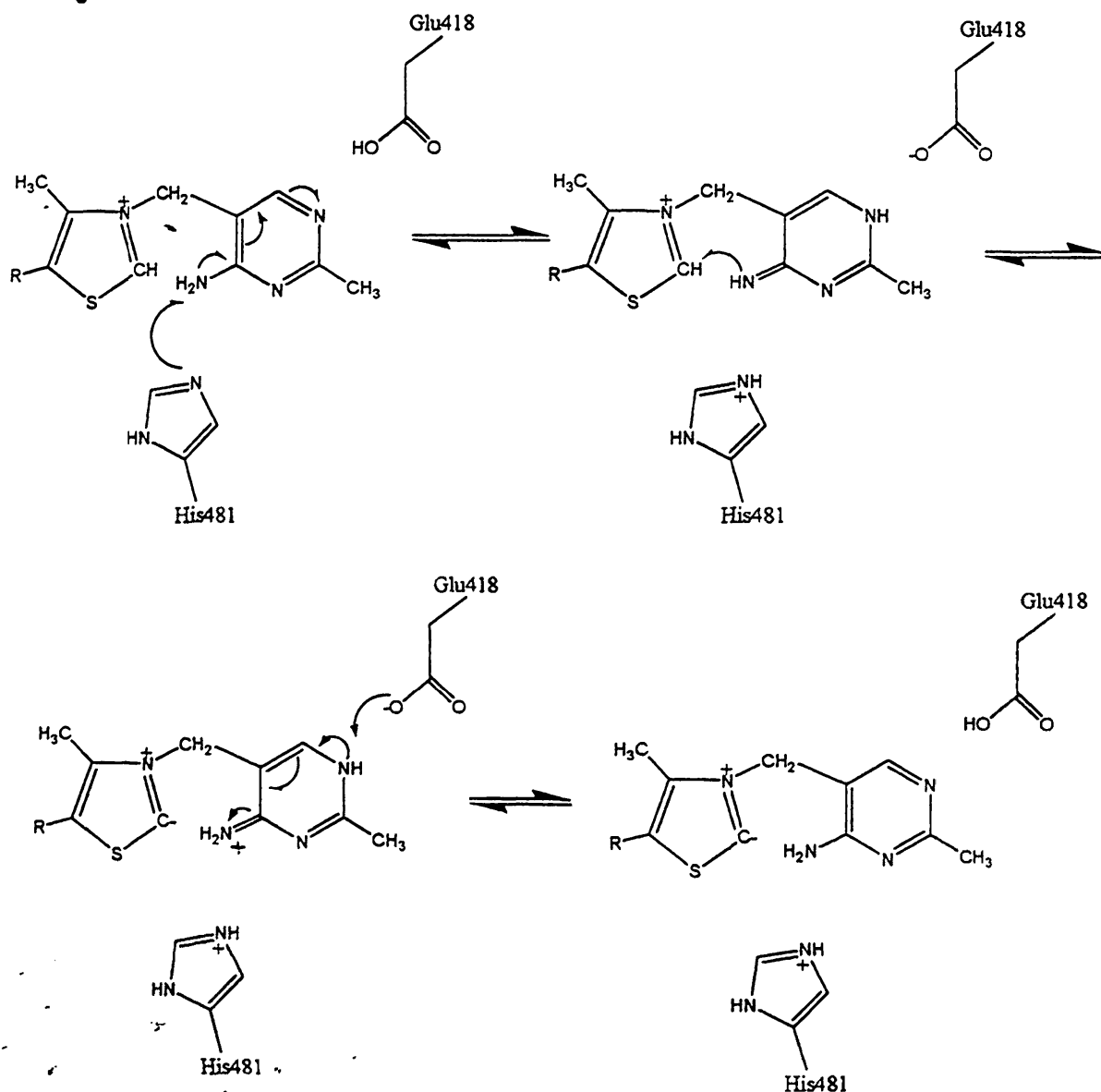


Σχήμα 10

Λίγο αργότερα (37) παρουσιάστηκε από τους ίδιους ένας μηχανισμός βασισμένος στην ανάλυση της τρισδιάστατης δομής της τρανσκετολάσης όπου περιλαμβάνονται τα εξής:



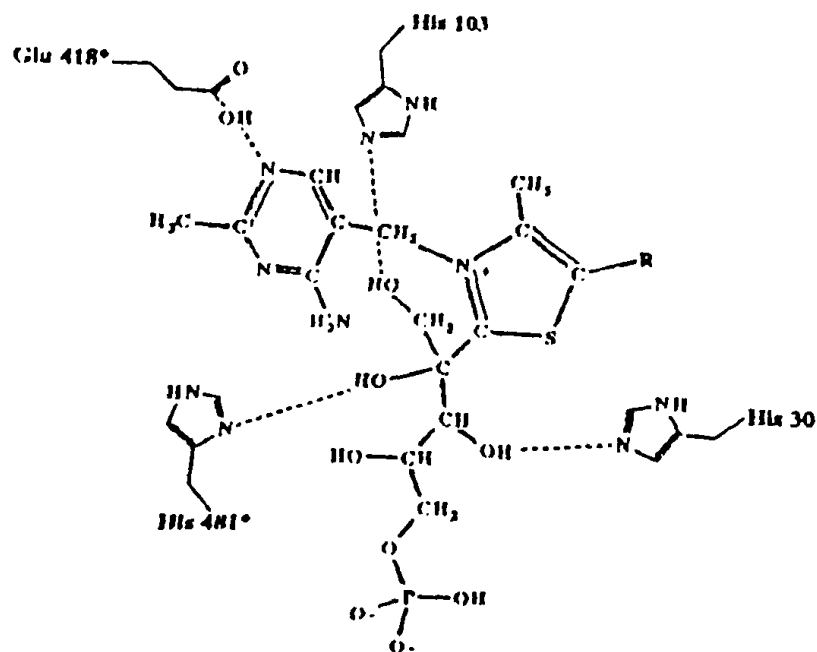
Το πρώτο στάδιο που είναι και το σημαντικότερο της ενζυμικής κατάλυσης της θειαμίνης, είναι η αποπρωτονίωση του C(2) ατόμου της TPP (6). Η αποπρωτονίωση αυτή καταλύεται από την 4ΐμινομάδα της θειαμίνης. Η 4ΐμινομάδα σχηματίστηκε κατόπιν πρωτονίωσης του ιμιδαζολικού δακτυλίου της His 481 με συνακόλουθη πρωτονίωση του N(1ΐ) του πυριμιδινικού δακτυλίου από την Glu 418, όπως φαίνεται και στο σχήμα 11.



Σχήμα 11

Η 4ΐ-NH₂ ομάδα πιθανόν να συμπεριλαμβάνεται και κατά το δεύτερο στάδιο μεταφοράς πρωτονίου, όταν η TPP αντιδρά με το υπόστρωμα δότη. Πιο πιθανό όμως είναι, αυτό το στάδιο να καταλύεται από την πλευρική αλυσίδα της His 481 (σχήμα 12).



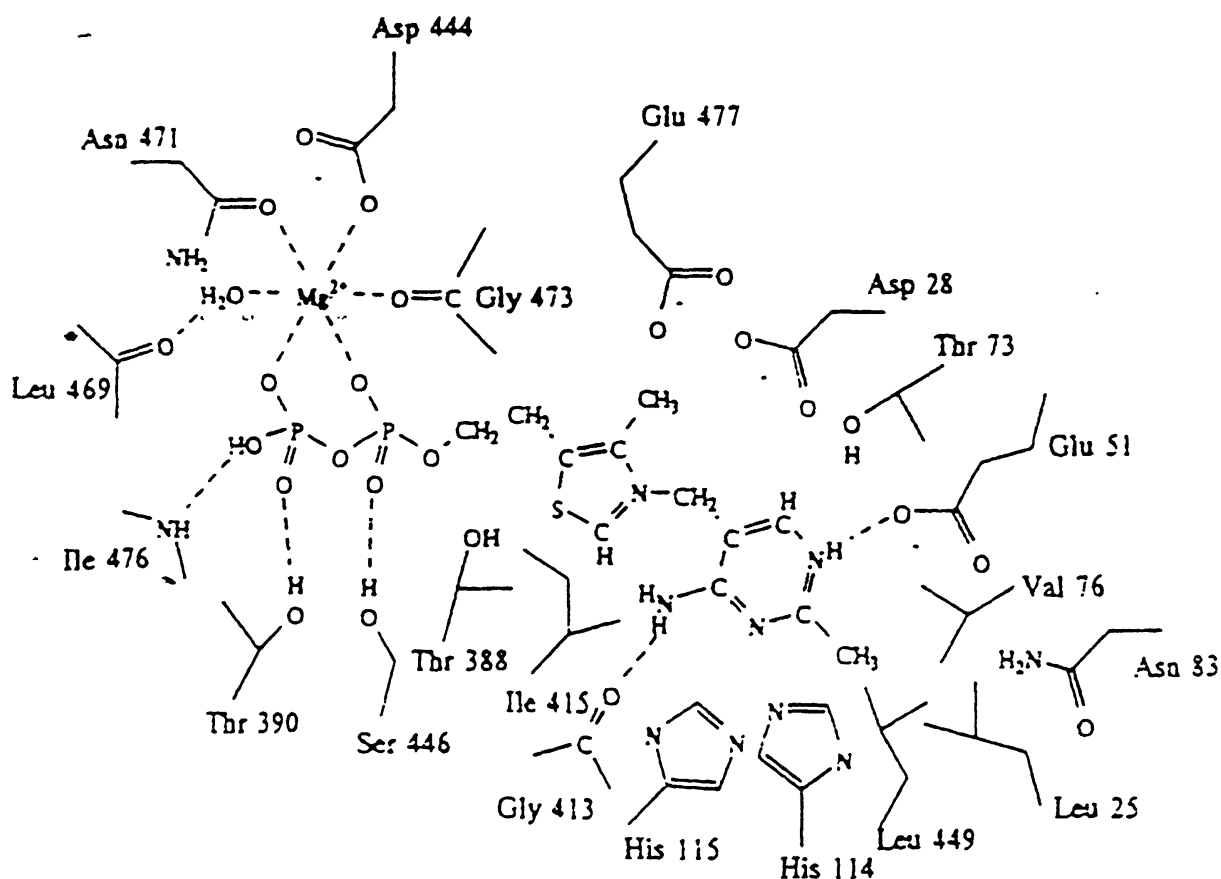


Σχήμα 12

Η τρίτη μεταφορά πρωτονίου λαμβάνει χώρα κατά το σπάσιμο και το σχηματισμό του ενδιάμεσου παραγώγου της TPP με το υπόστρωμα. Προτείνεται ότι σ' αυτό το στάδιο περιλαμβάνεται η πλευρική αλυσίδα της His 30 (σχήμα 12).

Στη συνέχεια ο Dyda κ.α. (38) κατόπιν ανάλυσης της κρυσταλλικής δομής της πυρουβικής αποκαρβοξυλάσης πρότειναν κάτι ανάλογο. Ότι δηλαδή η πυρουβική αποκαρβοξυλάση είναι ένα τετραμερές που περιλαμβάνει 2 διμερή. Τα ενεργά κέντρα που έχουν την πυροφωσφορική θειαμίνη και το Mg (II) βρίσκονται στη διεπιφάνεια των δύο υπομονάδων του κάθε διμερούς. Διαπίστωσαν ότι τα αμινοξέα συμμετέχουν στην κατάλυση ενεργοποιώντας το υπόστρωμα. Αξίζει να αναφερθεί ότι και εδώ η θειαμίνη βρέθηκε στη V διαμόρφωση. Στο σχήμα 13 φαίνεται το πρωτεϊνικό περιβάλλον γύρω από το καταλυτικό κέντρο.





Σχήμα 13

Αργότερα οι Muller κ.α. (39) συνέκριναν τις κρυσταλλικές δομές των ενζύμων τρανσκετολάσης, πυρουβικής οξειδάσης και πυρουβικής αποκαρβοξυλάσης και διαπίστωσαν ότι τα τρία αυτά ένζυμα συνδέονται με τον ίδιο τρόπο με την πυροφωσφορική θειαμίνη και τα μεταλλικά ιόντα.

Τα ένζυμα περιέχουν πολλές πρωτεϊνικές υπομονάδες και κάθε πολυπεπτιδική αλυσίδα διπλώνεται σε τρεις α/β τομείς. Οι δύο από τους τρεις τομείς περιλαμβάνονται στη σύνδεση της πυροφωσφορικής θειαμίνης και του μεταλλικού ιόντος.



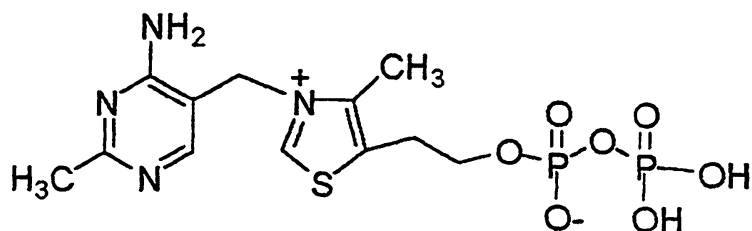
Βασιζόμενοι λοιπόν στην σύγκριση των παραπάνω δομών (39) συμπέραναν ότι για την αρχική αποπρωτονίωση του C(2) του θειαζολίου, ο ίδιος μηχανισμός λαμβάνει χώρα και στα τρία ένζυμα, και πιθανώς και σε όλα τα ένζυμα πυροφωσφορικής θειαμίνης.

Σε όλες τις κρυσταλλικές δομές των ενζύμων που προαναφέραμε, καμιά ομάδα εκτός της 4'-NH₂ δεν είναι αρκετά κοντά στο πρωτόνιο C(2), για να δράσει σαν βάση ώστε να αρχίσει η κατάλυση (40). Έτσι λοιπόν η 4'-αμινομάδα του συνενζύμου είναι στην κατάλληλη θέση για να πάρει αυτό το πρωτόνιο, αν και υπάρχει ένα πρόβλημα στο να δράσει σαν βάση καθώς το R_{Κα} αυτής είναι ακατάλληλο γι' αυτή τη λειτουργία. Οι κρυσταλλικές δομές (40) πρότειναν ένα μηχανισμό με τον οποίο τα ένζυμα μπορούν να ελαττώσουν το R_{Κα} αυτής της αμινομάδας. Ο δεσμός υδρογόνου του N(1') της πυριμιδίνης με ένα γλουταμινικό οξύ της πρωτεϊνικής αλυσίδας, επιτρέπει το σχηματισμό μιας ιμινομάδας, η οποία με τη σειρά της μετά την αποπρωτονίωση μπορεί να δράσει σαν μία βάση για να αποσπάσει το πρωτόνιο του C(2). Πιο αναλυτικά, πειράματα με πρότυπες ενώσεις έχουν δείξει ότι η πρωτονίωση του πυριμιδινικού δακτυλίου στο N(1') μετατοπίζει το R_{Κα} της 4'-αμινομάδας περίπου στο 7.8 (41), κάνοντάς το ιδανικό για μια ομάδα που μπορεί εν δυνάμει να δράσει σαν οξύ/βάση σε φυσιολογικό pH. Αυτή η πρόταση έχει υποστηριχτεί και με βιοχημικές μελέτες που δείχνουν ότι η αντικατάσταση του N(1') με άνθρακα, προκαλεί απώλεια της καταλυτικής δράσης της θειαμίνης, ενώ η αντικατάσταση του N(3') όχι (42). Πειράματα επίσης με την ίδια την πυρουβική αποκαρβοξυλάση προτείνουν ότι η 4'-αμινομάδα συμμετέχει στην μεταφορά του πρωτονίου (43).

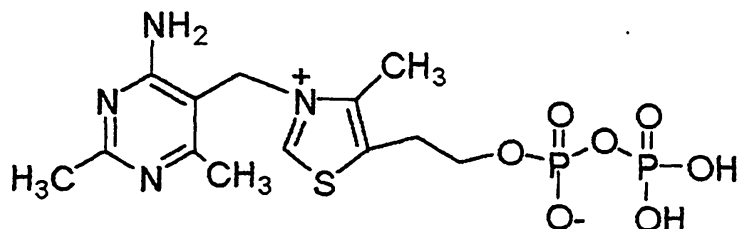
Τα ίδια συμπεράσματα έβγαλαν το 1994 οι Konig κ.α. (44) που με κρυσταλλογραφικές μεθόδους μελέτησαν τα σύμπλοκα της αποτρανσκετολάσης από μαγιά με τα ανάλογα συνενζύμων, την 6'-μεθυλ-πυροφωσφορική θειαμίνη, τη N(1')-πυριδιλ-πυροφωσφορική θειαμίνη και τη N(3')-πυριδιλ-πυροφωσφορική θειαμίνη (σχήμα 14).



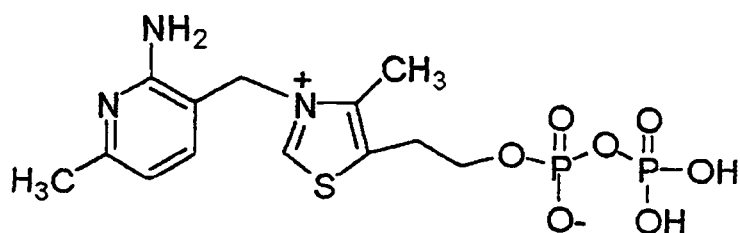
πυροφωσφορική
θειαμίνη



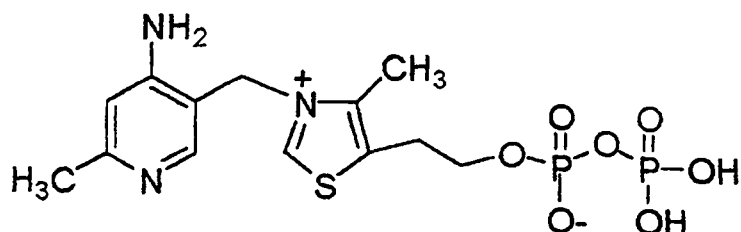
6' μεθυλ-πυροφωσφορική
θειαμίνη



N(3')-πυριδιλ-πυροφωσφορική
θειαμίνη



N(1')-πυριδιλ-πυροφωσφορική
θειαμίνη



Σχήμα 14

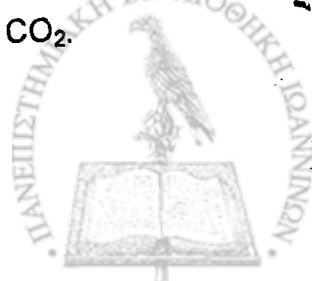
Ανακάλυψαν ότι και τα τρία αυτά ανάλογα ενώνονται με το ένζυμο με τον ίδιο τρόπο που ενώνεται και το πραγματικό συνένζυμο, η πυροφωσφορική θειαμίνη. Η έλλειψη της καταλυτικής δράσης της N(3')-πυριδιλ-πυροφωσφορικής θειαμίνης δεν οφείλεται σε λανθασμένο προσανατολισμό του πυριμιδινικού δακτυλίου, αλλά είναι αποτέλεσμα της απουσίας δεσμού υδρογόνου μεταξύ του N(1') και του Glu 418. Έτσι η ανακάλυψη της δομής παρέχει κι άλλες ενδείξεις για το γεγονός ότι ο δεσμός υδρογόνου μεταξύ του N(1') και της αλυσίδας του γλουταμινικού οξέος είναι πολύ σημαντικός για την ενεργοποίηση του συνενζύμου.

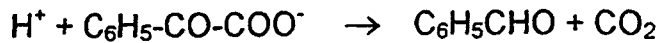


Το 1997 οι Kern κ.α. (45) προσπάθησαν και αυτοί να απαντήσουν στο επίμαχο ερώτημα, πώς η πυροφωσφορική θειαμίνη, που είναι ο ενεργός, βιολογικός τύπος της βιταμίνης B₁, ενεργοποιείται σε διαφορετικά ένζυμα. Έτσι μελέτησαν στο συνένζυμο με θερμοδυναμικές και κινητικές μετρήσεις την αποπρωτονίωση του C(2) της πυροφωσφορικής θειαμίνης, στα ένζυμα πυρουβική αποκαρβοξυλάση και τρανσκετολάση κάνοντας χρήση φασματοσκοπίας NMR, παρακολουθώντας την ταχύτητα ανταλλαγής πρωτονίου-δευτερίου σε ενώσεις που προσομοιάζουν το συνένζυμο. Έτσι βρήκαν και αυτοί ότι η αντίδραση του γλουταμινικού οξέος με το N(1'), ενεργοποιεί την 4'-αμινομάδα στο να δράσει σαν ένας ικανός πρωτονιοδέκτης για το πρωτόνιο του C(2). Η βασικότητα της 4'-αμινομάδας μάλλον πρέπει να αλλάζει δραματικά κατά τη διάρκεια του καταλυτικού κύκλου.

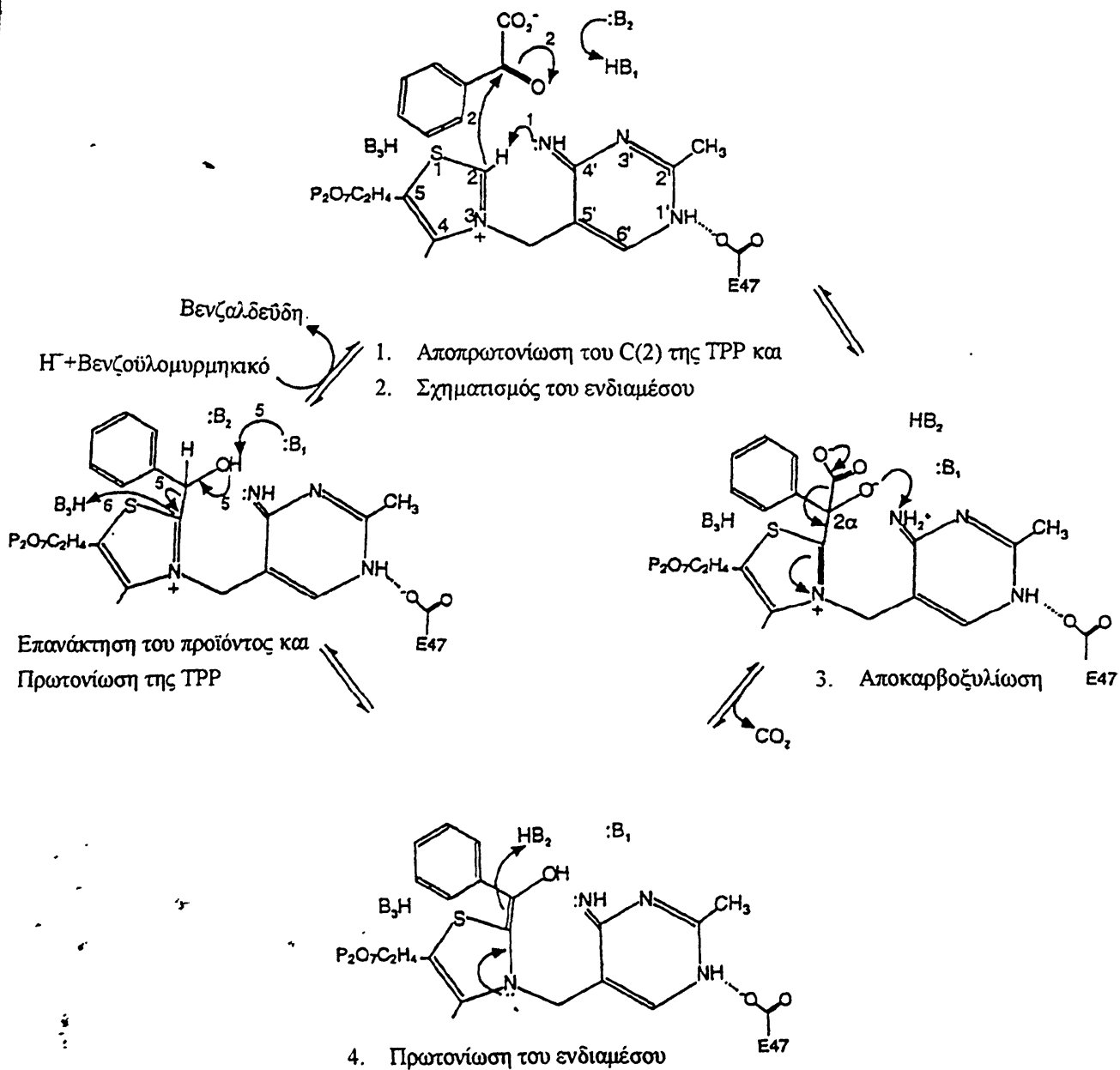
Οι προσπάθειες προς αυτή την κατεύθυνση συνεχίστηκαν (46) με ανάλυση των ακτίνων X της δομής της πυρουβικής αποκαρβοξυλάσης από τον ζυμομύκητα *Z. mobilis*. Βρέθηκε ότι η υπομονάδα αποτελείται από τρεις τομείς, όλοι α/β τύπου. Δύο από τις υπομονάδες σχηματίζουν ένα σφιχτό διμερές με μεγάλη επιφάνεια επαφής. Η θέση σύνδεσης της πυροφωσφορικής θειαμίνης ήταν πάνω σ' αυτή τη διεπιφάνεια και το συνένζυμο βρέθηκε στην V διαμόρφωση αντιδρώντας με το τελικό N-άκρο του τομέα της μιας υπομονάδας και το τελικό C-άκρο του τομέα της δεύτερης υπομονάδας. Σε αντίθεση με άλλες πυρουβικές αποκαρβοξυλάσες το ένζυμο από τον *Z. mobilis* δεν ενεργοποιείται αλλοστερικά με το υπόστρωμα. Όπως και στο ένζυμο από μαγιά έτσι και στο ένζυμο από *Z. mobilis* το σφιχτό δέσιμο των διμερών στο τετραμερές αποτρέπει μεγάλες αλλαγές στη δομή και έτσι το ένζυμο βρίσκεται στην ενεργοποιημένη διαμόρφωση. Η ανάλυση των ακτίνων X όμως δείχνει λεπτές αλλά σημαντικές διαφορές στην ενεργή θέση οι οποίες μπορεί να είναι υπεύθυνες για την διαφοροποίηση των βιοχημικών ιδιοτήτων αυτών των ενζύμων.

Τέλος πρόσφατα μόλις το 1998 οι Hasson κ.α (47) κατάφεραν να λύσουν τη δομή της βενζοϋλομυρμηκικής αποκαρβοξυλάσης (BFD). Το ένζυμο αυτό (48) που απομονώνεται από *Pseudomonas putida*, καταλύει την μετατροπή του βενζοϋλομυρμηκικού οξέος σε βενζαλδεϋδη και CO₂.





Η συνολική αρχιτεκτονική του ενζύμου αυτού μοιάζει με εκείνη των άλλων ενζύμων θειαμίνης όπως π.χ. της πυρουβικής αποκαρβοξυλάσης, τρασκετολάσης, πυρουβικής οξειδάσης κ.λ.π. όσον αφορά τόσο την ύπαρξη της TPP ως συνένζυμο όσο και τη δομή του ενεργού κέντρου. Ο μηχανισμός καταλυτικής δράσης της BFD παρουσιάζεται στο παρακάτω σχήμα (47):

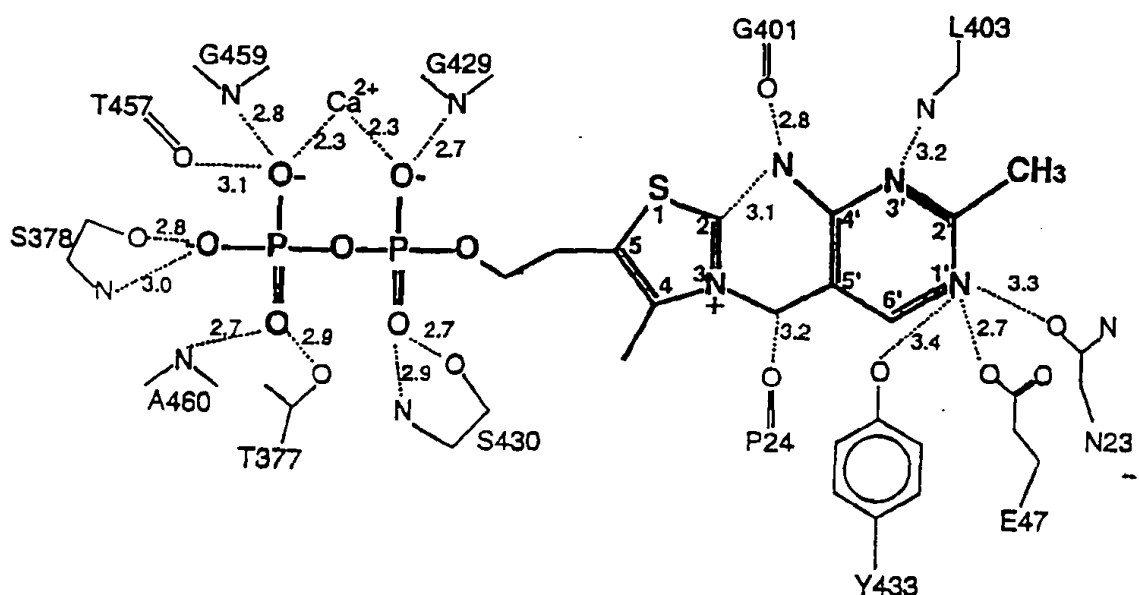


Σχήμα 15



Συγκεκριμένα ο καταλυτικός κύκλος ξεκινά με ιονισμό του C(2) με απόσπαση του πρωτονίου πιθανότατα απ' την 4'-αμινομάδα (12,18,20,49); όπως φαίνεται στο σχήμα 15 στο στάδιο 1. Το υλίδιο που δημιουργείται (στάδιο 2) προσβάλλει τον άνθρακα του καρβονυλίου του βενζοϋλομυρμηκικού και σχηματίζεται το πρώτο ενδιάμεσο τετραεδρικής γεωμετρίας (στάδιο 3). Κατά το επόμενο στάδιο απώλεια CO₂ οδηγεί σε ένα καρβανιόν που βρίσκεται σε συντονισμό με την ταυτομερή του εναμίνη. Πρωτονίωση αυτού του ενδιαμέσου έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία της HBTPP. Ακολούθως ιονισμός του πρωτονίου HO-C(2α) οδηγεί στον σχηματισμό βενζαλδεύδης, αναγέννησης του υλιδίου και τελικά ολοκλήρωσης του καταλυτικού κύκλου.

Ο τρόπος σύνδεσης της θειαμίνης στο BFD (σχήμα 16) είναι παρόμοιος με αυτόν που συναντήσαμε και στα άλλα ένζυμα της TPP.



Σχήμα 16

Συγκεκριμένα το γλουταμικό που αλληλεπιδρά με το N(1') της TPP (Glu 47 στην BFD) καθώς και ο γενικός υδρόφοβος χαρακτήρας του κέντρου διατηρούνται. Επιπλέον και εδώ η TPP βρίσκεται στην V διαμόρφωση (10) με $\Phi_T=95,4^\circ$ και $\Phi_P=-64,7^\circ$.



Παρόμοια και εδώ το δισθενές μεταλλικό ιόν του ενεργού κέντρου εντάσσεται με την πυροφωσφορική ομάδα του συμπαράγοντα TPP υϊοθετώντας οκταεδρική γεωμετρία. Αναλυτικά ως υποκαταστάτες έχει 2 οξυγόνα της φωσφορικής ομάδας της TPP, τις πλευρικές αλυσίδες των Asp 428 και Glu 455, το καρβονύλιο της κύριας αλυσίδας της Thr 457 και τέλος ένα οξυγόνο από ένα μόριο νερού.

Το συμπέρασμα πάντως είναι ότι το N(1') και η 4'-αμινομάδα είναι απαραίτητα για την ενεργοποίηση της TPP. Επίσης πρέπει να τονιστεί ότι σε όλες τις δομές των ενζύμων της θειαμίνης που λύθηκαν βρέθηκε ότι η TPP βρίσκεται στη V διαμόρφωση (39) δηλαδή στη διαμόρφωση όπου η 4'-αμινομάδα πλησιάζει τον C(2) του θειαζολίου, πράγμα που ενισχύει τα παραπάνω για τον μηχανισμό της ενζυμικής δράσης της θειαμίνης. Ακόμη σε όλες τις δομές (36,38,50) βρέθηκαν ότι τα μεταλλικά ιόντα (Mg^{+2}, Ca^{+2}), συνδέονται πάντα άμεσα με την πυροφωσφορική θειαμίνη, μέσω της πυροφωσφορικής ομάδας, καθώς και με την πρωτεΐνη.

Μετά την αποπρωτονίωση του C(2) που απαιτεί την 4'-αμινομάδα να δράσει σαν πρωτονιοδέκτης και τη θειαμίνη να υϊοθετεί την V διαμόρφωση, η προσθήκη του υποστρώματος ίσως να επιβάλλει την S διαμόρφωση στην θειαμίνη (51). Σύμφωνα με τον Hogg (26), η S διαμόρφωση σταθεροποιεί όλα τα ενδιάμεσα της ενζυμικής δράσης της θειαμίνης.



1.5. Σύντομη αναδρομή των συμπλόκων της θειαμίνης και των παραγώγων της

1.5.1. Σύμπλοκα θειαμίνης

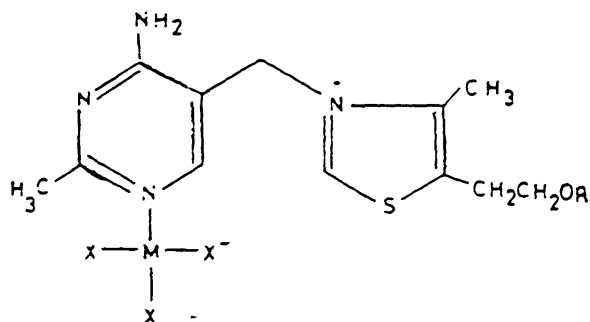
Σύμφωνα με αυτά που έχουν προαναφερθεί, ο πιθανός ρόλος των μετάλλων είναι να συνδέουν το συνένζυμο με το αποένζυμο (11). Χωρίς την παρουσία του αποενζύμου, η θειαμίνη συνδέεται με τα μέταλλα σχηματίζοντας σύμπλοκα και έτσι υποθέτουμε ότι ο σχηματισμός των συμπλόκων παρεμβαίνει στο μηχανισμό σύνδεσης του συνενζύμου με το αποένζυμο. Άλλωστε έχει προταθεί (30) ότι για να αποκτηθεί η απαιτούμενη στερεοχημεία για την αντίδραση στο καταλυτικό κέντρο, το μέταλλο συνδέεται μάλλον μέσω του $N(1')$ της πυριμιδίνης.

Το pK_a όμως του $N(1')$ της πυριμιδίνης της θειαμίνης είναι γύρω στο 5 (52), ενώ η θειαμίνη είναι ασταθής σε $pH > 7$. Έτσι σε $pH < 5$ υπάρχει στο διάλυμα σαν δικατιόν, ενώ από $pH = 5-7$ σαν μονοκατιόν.

Στα παραπάνω οφείλεται το γεγονός ότι ενώ υπήρχαν ενδείξεις ότι τα μεταλλικά ιόντα σε υδατικά διαλύματα συνδέονται μάλλον με το $N(1')$ της πυριμιδίνης, έμμεσα ή άμεσα, όλες οι ενώσεις της θειαμίνης που αρχικά απομονώθηκαν στην στερεά κατάσταση ήταν ιονικά άλατα της μορφής $[MX_4]^{2-}[Th]^{2+}$ ή $[MX_4]^{2-}[Th]^+_2$ ή $[MX_3]_2[Th]^{2+}$ (53-58) όπου $M = Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II), U(VI)$ και $X = Cl^-, Br^-$. Επίσης αυτό οφείλεται και στην ύπαρξη του καθαρού θετικού φορτίου πάνω στο $N(3)$ του θειαζολίου.

Τα πρώτα σύμπλοκα μετάλλων και παραγώγων θειαμίνης τα οποία εμφανίζουν απ' ευθείας δεσμό με το $N(1')$ της πυριμιδίνης είναι αυτά που απομονώθηκαν από τον Ν.Χατζηλιάδη και τους συνεργάτες του (59) με $Pd(II)$ και $Pt(II)$ και αντιστοιχούσαν στον τύπο:





$R = H, PO_3^{2-}, P_2O_7^{3-}$

$M = Pt(II), Pd(II)$

$X = Cl^-, Br^-$

Τα μόρια αυτά ήταν αμφολύτες με θετικό φορτίο που εντοπίζεται πάνω στο N(3) του θειαζολίου και αρνητικό λόγω της περίσσειας των αλογόνων. Ο λόγος για τον οποίο σχηματίστηκαν σχετικά εύκολα τα σύμπλοκα αυτά είναι πιθανότατα η μεγάλη ισχύς των δεσμών Pd-N και Pt-N (59,60) που ανταγωνίζεται επιτυχώς τα H^+ της θέσης N(1') και σε pH=3.5 καταβυθίζει τα προϊόντα του παραπάνω τύπου.

Μερικά άλλα παραδείγματα κρυσταλλικών δομών συμπλόκων θειαμίνης με μεταλλικά ιόντα που να συνδέονται απ' ευθείας με τον υποκαταστάτη είναι τα $Cd(th)Cl_3 \cdot H_2O$ (61), $Cu(th)Cl_2$ (62), $Rh_2(CH_3COO)_4(TMP)_2 \cdot 1.5H_2O$ (30), $Zn(th)Cl_3 \cdot 0.4H_2O$ (63), $Cu(th)Br_2$ (64), $trans-[Pt(dmsO-S)(th)Cl_2](Ph_4B)$ (65). Σ' αυτές τις περιπτώσεις παρατηρήθηκε άμεσος δεσμός μεταξύ των μεταλλικών ιόντων και του N(1') της πυριμιδίνης λόγω της υψηλής βασικότητας αυτής της θέσης ενώ μόνο σ' ένα σύμπλοκο με Cu (66) το μέταλλο συνδέεται μόνο με την πυροφωσφορική ομάδα της TPP. Τα τελευταία χρόνια βέβαια λύθηκε και η δομή του $[TlMe_2TS] \cdot 3H_2O$ (67), όπου αποδείχτηκε ότι ο υποκαταστάτης TS^- ($TS^- = \text{thiamine thiol}$) συνδέεται με το μέταλλο μέσω του θείου και μέσω ενός ατόμου οξυγόνου.

Από όλες όμως τις κρυσταλλικές δομές που προσδιορίστηκαν δεν βρέθηκε καμιά στη V διαμόρφωση. Όμως οι Aoki και οι συνεργάτες του (68), έλυσαν τη δομή τριών αλάτων της οξυθειαμίνης και ενός συμπλόκου της με



λευκόχρυσο και σε ένα από τα άλατα της οξυθειαμίνης βρέθηκε η V' διαμόρφωση. Σ' αυτήν οι γωνίες Φ_T και Φ_P βρέθηκαν $-63.1(6)^\circ$ και $-54.7(6)^\circ$ αντίστοιχα όπου το O(4'α) αλληλεπιδρά ηλεκτροστατικά με τον θειαζολικό δακτύλιο. Επομένως η πρόταση του Schellenberger (11,12) περί προσέγγισης της NH_2 -ομάδας στη θέση 2 του θειαζολίου για να δράσει έτσι σαν βάση κατά Lewis ή πρωτονιοδότης και για την οποία χρειάζεται η V δομή της θειαμίνης, δεν ενισχύεται.

Αντίθετα οι διαμορφώσεις που βρέθηκαν ήταν οι S και F σ' όλα τα σύμπλοκα της θειαμίνης με τα μεταλλοϊόντα. Στη διαμόρφωση S βρέθηκε ότι υπάρχει ισχυρή αλληλεπίδραση μεταξύ του S και του ατόμου του O της πλευρικής αλυσίδας του C(5), λόγω εντοπισμού μερικά θετικού φορτίου πάνω στο άτομο του S (69). Άρα μπορούμε να πούμε ότι η αλληλεπίδραση S...O ίσως διευκολύνει την εισαγωγή των μεταλλοϊόντων απεντοπίζοντας το θετικό φορτίο του N(3) του θειαζολίου.

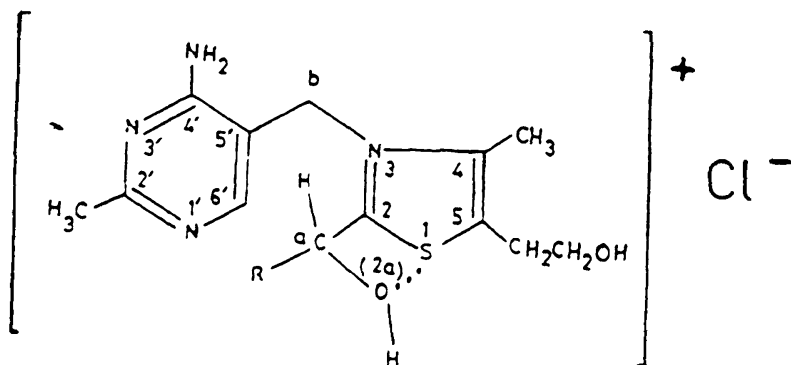
Οι αλληλεπιδράσεις που παρατηρήθηκαν στα σύμπλοκα ήταν ηλεκτροστατικές, δεσμοί υδρογόνου και αλληλεπιδράσεις μεταξύ του πυριμιδινικού και του θειαζολικού δακτυλίου. Επίσης αξιοσημείωτο είναι και το γεγονός ότι εντοπίστηκαν πολλές γεωμετρίες γύρω απ' τα διάφορα μεταλλοκατιόντα. Συγκεκριμένα γύρω από το Cd(II) και τον Zn(II), στα σύμπλοκα $Cd(th)Cl_3 \cdot H_2O$ (61) και $Zn(th)Cl_3 \cdot 0.4H_2O$ (63), εντοπίστηκε ψευδοτετραεδρική γεωμετρία. Γύρω από το Cu(I) στα σύμπλοκα $Cu(th)Cl_2$ (62) και $Cu(th)Br_2$ (65), υπάρχει επίπεδη τριγωνική διαμόρφωση. Γύρω από τον Pt(II), στο σύμπλοκο $Pt(th)Cl_3 \cdot H_2O$ (70) εντοπίστηκε επίπεδη τετραγωνική γεωμετρία και γύρω από το Rh(II) στο σύμπλοκο $Rh_2(CH_3COO)_4(TMP)_2 \cdot 1.5H_2O$ (30), οκταεδρική. Τέλος γύρω απ' τον Cu(II) που συνδέεται μέσω των οξυγόνων της πυροφωσφορικής ομάδας, παρατηρήθηκε περιβάλλον παραμορφωμένης τετραγωνικής πυραμίδας (66).



1.5.2. Σύμπλοκα παραγώγων θειαμίνης, ενδιάμεσων του καταλυτικού κύκλου

Αργότερα στο εργαστήριό μας (71-72) παρασκευάστηκαν σύμπλοκα μετάλλων με παράγωγα “ενεργού αλδεΐδης” με σκοπό την καλύτερη κατανόηση της ενζυμικής δράσης των ενζύμων της θειαμίνης και ειδικότερα του ρόλου που παίζουν σ’ αυτή τα δισθενή μεταλλικά ιόντα.

Έτσι χρησιμοποιήθηκε ο υποκαταστάτης 2-(α-υδροξυ-βενζυλ)θειαμίνη (HBT) και ο 2-(α-υδροξυ-α-κυκλοεξυλμεθυλ) θειαμίνη (HCMT) όπως φαίνεται στο σχήμα 17.



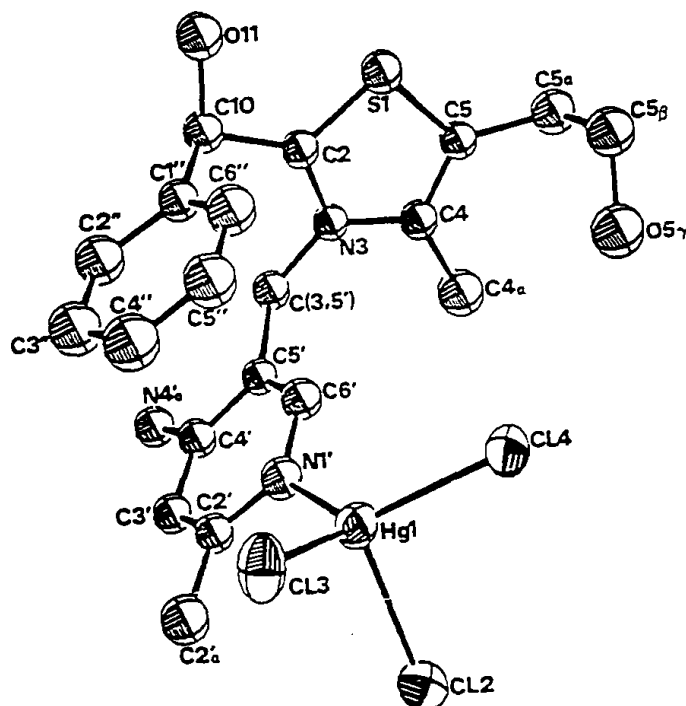
R=C₆H₅- (HBT)

R=C₆H₁₁- (HCMT)

Σχήμα 17

Μελετήθηκαν έτσι αλληλεπιδράσεις των HBT και HCMT με Zn(II), Cd(II), Hg(II), Co(II), Ni(II) και Cu(II). Απομονώθηκαν και χαρακτηρίστηκαν σύμπλοκα του τύπου MLCI₃, όπου M κάποιο από τα παραπάνω μέταλλα εκτός του Cu και L οι υποκαταστάτες του σχήματος 17. Για όλα τα παραπάνω σύμπλοκα προτάθηκαν ψευδοτετραεδρικές δομές, με τα μέταλλα να συνδέονται μέσω της θέσης N(1') των υποκαταστατών. Στην κρυσταλλική δομή του συμπλόκου Hg[2-(α-υδροξυ-βενζυλ)θειαμίνη]Cl₃·H₂O (71) ο υποκαταστάτης HBT βρέθηκε στην S διαμόρφωση με Φ_P=127.7° και Φ_T=-100.0° και ισχυρή αλληλεπίδραση S...O (2.79Å) (βλέπε σχήμα 18). Βέβαια και στα υπόλοιπα σύμπλοκα αποδείχτηκε ότι ο υποκαταστάτης βρίσκεται στην S διαμόρφωση.





Σχήμα 18

Οι τύποι και των δύο συμπλόκων του χαλκού περιλαμβάνουν θειόχρωμα, το οποίο συνδέεται με τα μέταλλα μέσω του N(1') της πυριμιδίνης (72,73). Η οξείδωση της θειαμίνης σε θειόχρωμα απ' το Cu(II) είναι γνωστό ότι συμβαίνει εύκολα σε υδατικά διαλύματα (62,64). Οι κρυσταλλικές δομές των συμπλόκων Cu(th)Cl₂ (62) και Cu(th)Br₂ (64), που λύθηκαν με ακτίνες-Χ περιλαμβάνουν Cu(I), ο οποίος είχε οξειδώσει ένα μέρος της θειαμίνης σε θειόχρωμα.

Τελικά οι παραπάνω μελέτες κατέδειξαν ότι ο σχηματισμός συμπλόκων των δισθενών μεταλλικών ιόντων με τους πιο πάνω υποκαταστάτες είναι ευκολότερος, αφού στους τελευταίους, το καθαρό θετικό φορτίο που βρίσκεται πάνω στο N(3) εξουδετερώνεται εν μέρει ενδομοριακά από τις αλληλεπιδράσεις S...O μετά τη μεταφορά του πάνω στο άτομο του S του θειαζολίου (σχήμα 17).



2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

2.1: Επιλογή των μετάλλων

Με διάφορα πειράματα που είχαν γίνει βρέθηκε ότι η δραστικότητα των μεταλλικών ιόντων στην ενζυμική δράση της θειαμίνης ποικίλει *in vitro* και το πιο δραστικό από αυτά είναι το Mg.

Πιο συγκεκριμένα για την καρβοξυλάση του πάρθηκε από μαγιά (28), η καταλυτική δραστικότητα των μεταλλοϊόντων, μεταβάλλεται ως εξής: $Mg(II) > Mn(II) > Co(II) > Ca(II) > Fe(II) > Cd(II) > Zn(II)$. Για την αποκαρβοξυλίωση του πυρρικού οξέος με καρβοξυλάση που πάρθηκε από σπέρμα σταριού (74), η δραστικότητα ακολουθεί τη σειρά: $Mg(II) > Co(II) > Zn(II) > Fe(II) > Mn(II) > Ni(II) > Cd(II)$. Τέλος για την τρανσκετολάση που πάρθηκε και αυτή από μαγιά (75) η σειρά είναι: $Mn(II) > Mg(II) > Fe(II) > Zn(II) > Co(II) > Ca(II)$.

Για τον σχηματισμό των συμπλόκων μας επιλέξαμε τα δισθενή μεταλλικά ιόντα των στοιχείων Zn, Cd και Hg. Αυτά τα μέταλλα βρίσκονται στην II_b ομάδα και η ηλεκτρονιακή δομή της εξωτερικής στοιβάδας τους είναι $n-1d^{10} ns^2$. Δηλαδή τα δισθενή κατιόντα τους έχουν πλήρως συμπληρωμένα τα d τροχιακά τους, άρα δεν ανήκουν στα στοιχεία μετάπτωσης. Ακόμη μοιάζουν στις ιδιότητες με τα στοιχεία των αλκαλικών γαιών (76).

Στα ιόντα Zn(II) και Cd(II) δεν υπάρχει (Ε.Σ.Κ.Π.) δηλαδή επίδραση σταθεροποίησης λόγω πεδίου υποκαταστατών καθώς έχουν πλήρη τα d τροχιακά τους, γι' αυτό και η στερεοχημεία τους καθορίζεται απόλυτα από σχέσεις μεγέθους, ηλεκτροστατικών δυνάμεων και ομοιοπολικών δεσμών (76).

Επίσης ενώ το Cd ενεργοποιεί την πυρρική αποκαρβοξυλάση (28) ο σχηματισμός συμπλόκου θειαμίνης είναι ίσως πιθανός μηχανισμός προλήψεων δηλητηριάσεων από κάδμιο (57,61). Το Cd είναι ένα από τα πιο τοξικά μέταλλα και δεν υπάρχει μηχανισμός στο σώμα που να ελέγχει την ποσότητα του, όπως υπάρχει για τον έλεγχο της συγκέντρωσης του Zn(II) (76).



Ο Ζη μπορεί πολύ εύκολα να αντικαταστήσει το Mg στο ρόλο του σαν ενεργοποιητή στις ενζυματικά καταλυόμενες αντιδράσεις της θειαμίνης (77). Επίσης παρουσιάζεται σαν ένα από τα πιο σημαντικά βιολογικά μέταλλα και είναι απαραίτητο για την μεταβολική πορεία των ζωντανών οργανισμών. Είναι σταθερός μόνο στην οξειδωτική μορφή +2 και έτσι δεν μπορεί να συμμετέχει σε οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις. Ο αριθμός ένταξής του στη φύση είναι 4 ή 5. Σχηματίζει τετραεδρικά σύμπλοκα πιο εύκολα από ότι τα διοσθενή μεταλλικά ιόντα 3d (63). Όλα αυτά κάνουν τον Ζη πολύ καλό καταλύτη, γιατί ο ρόλος των μεταλλικών ιόντων είναι να δρουν σαν οξέα κατά Lewis, να συνδέουν το συνένζυμο με το υπόστρωμα και να το ενεργοποιούν.

Όσον αφορά τον Hg, η χημεία του διαφέρει πολύ από εκείνες του Cd και του Ζη που μοιάζουν μεταξύ τους. Όλα τα ιόντα της ομάδας II_b σχηματίζουν εύκολα σύμπλοκα, αλλά ιδιαίτερα του Hg(II) έχουν σταθερές σχηματισμού μεγαλύτερες τάξης μεγέθους απ' ότι τα ιόντα των Ζη(II) και Cd(II) (76). Επίσης είναι σταθερός στις οξειδωτικές καταστάσεις +1 και +2. Το ιόν του Hg⁺² έχει ισχυρή τάση να σχηματίζει σύμπλοκα, σε σχέση με την χαμηλή τάση του ιόντος Hg₂⁺², με χαρακτηριστικούς αριθμούς σύνταξης 2 (γραμμική γεωμετρία) και 4 (τετραεδρική γεωμετρία) (76). Όλες οι δομές των συμπλόκων του Hg(II) που έχουν παρατηρηθεί με αριθμούς ένταξης 5 και 6, συνίστανται από μια εσωτερική σφαίρα ένταξης HgX₂ ή HgX₃. Σ' αυτήν ο Hg συμπεριφέρεται σαν ένα οξύ κατά Lewis. Αρχίζει μετά, λιγότερο ισχυρά να διευθετείται προς μια εξωτερική σφαίρα ένταξης με επιπρόσθετους υποκαταστάτες, οδηγώντας κατ' αυτόν τον τρόπο σε αύξηση του αριθμού ένταξης π.χ. HgX₂L_n ή HgX₃L_m (78).

Επίσης οι ενώσεις του Hg παρουσιάζουν τοξική δράση. Ο Hg σχηματίζει πολύ ισχυρούς δεσμούς με το θείο. Προφανώς, αντιδράσεις με πρωτεΐνες και πεπτίδια που περιέχουν θείο, περιλαμβάνονται στην τοξική συμπεριφορά του, αν και μπορεί να σχηματίσει και δεσμούς με τις βάσεις του DNA (πουρίνες-πυριμιδίνες). Ακόμη βρέθηκε ότι δεν είναι δραστήσιος στις ενζυμικά καταλυόμενες αντιδράσεις της θειαμίνης (28,74,75). Παρ' όλα αυτά επιλέχτηκε πολλές φορές, λόγω των ιδιοτήτων που παρουσιάζει, για να ελεγχθεί η πιθανότητα ύπαρξης άμεσου δεσμού μεταξύ της θειαμίνης και ενός



μεταλλικού ιόντος (79-81). Μάλιστα όπως έχει ήδη αναφερθεί (71) υπάρχει κρυσταλλική δομή συμπλόκου ενός παραγώγου της θειαμίνης με Hg.

Τέλος ο Hg(II) έχει την ικανότητα να οξειδώνει την τετραϋδροθειαμίνη σε ένα ανηγμένο παράγωγο του θειοχρώματος (82). Έτσι αυτή του η ιδιότητα αυξάνει περισσότερο το ενδιαφέρον για την επίδραση του Hg(II) πάνω στην ίδια την θειαμίνη.

Γενικά τα δισθενή μεταλλικά ιόντα Zn(II) και Cd(II) επελέγησαν επειδή εμφανίζουν δραστικότητα στις ενζυματικά καταλυόμενες αντιδράσεις της θειαμίνης, (28,74,75) καθώς επίσης και για το γενικότερο βιολογικό ενδιαφέρον που παρουσίαζαν (57,61,63,76).

2.2. Επιλογή των υποκαταστατών

Τα τελευταία χρόνια καταβλήθηκαν προσπάθειες για την απόδειξη ύπαρξης ενός άμεσου δεσμού μεταξύ της θειαμίνης και ενός μεταλλικού ιόντος (11,31,33-35), αν και ο μηχανισμός του Breslow (6) δεν προέβλεπε κανένα ρόλο στα δισθενή μεταλλικά ιόντα κατά την ενζυμική δράση της θειαμίνης. Παρ' όλα ταύτα η παρουσία δισθενών μεταλλικών ιόντων σ' αυτές τις ενζυμικές αντιδράσεις είναι απαραίτητη (28,74,75).

Στις αρχές της δεκαετίας του '70 έγιναν προσπάθειες να απομονωθούν ουσίες που να παρουσιάζουν άμεσο δεσμό μετάλλου-θειαμίνης (53-58) χωρίς όμως επιτυχία. Μετά από μερικά χρόνια όμως απομονώθηκαν τέτοια σύμπλοκα και λύθηκε η δομή τους (30,59,61-64,70) με την βοήθεια της περίθλασης των ακτίνων Χ. Μάλιστα οι Aoki και Yamazaki (30) υπέθεσαν ότι τα μεταλλικά ιόντα ίσως να ευνοούν την σύνδεση του πυρουβικού οξέος με το συνένζυμο, αν κατ' αυτή τη σύνδεση η θειαμίνη διατηρεί την F διαμόρφωση. Όμως οι κρυσταλλικές δομές των HET (8) και HBT (24) δηλαδή δύο ενώσεων "ενεργού αλδεϋδης" και ενός αναλόγου της 2-(α-λακτυλ)θειαμίνης (83) που είναι αρχικό ενδιάμεσο στην αποκαρβοξυλίωση του πυρουβικού, βρέθηκαν στην S διαμόρφωση.

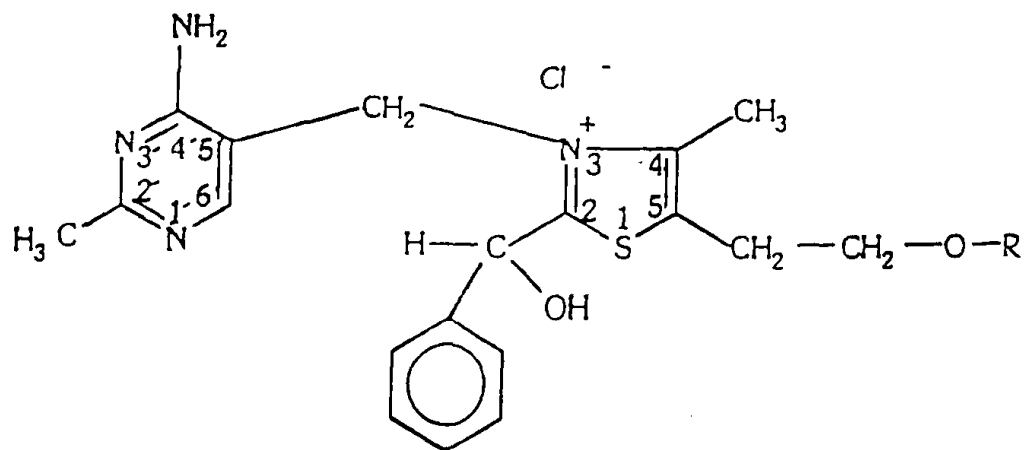
Βέβαια όπως έχει ήδη αναφερθεί (71,72,84), παρασκευάστηκαν και σύμπλοκα δισθενών μεταλλικών ιόντων με παράγωγα "ενεργού αλδεϋδης" της θειαμίνης, όπως η υδροχλωρική 2-(α-υδροξυ-α-κυκλοεξυλ-μεθυλ)θειαμίνη,



HCMT.HCl και η υδροχλωρική 2-(α-υδροξυ-βενζυλ)θειαμίνη, HBT.HCl που δεν φέρουν όμως φωσφορικές ομάδες στην πλευρική αλυσίδα του C(5) του θειαζολίου.

Τα πειραματικά δεδομένα που είχαμε επομένως ήταν ότι η “ενεργός αλδεϋδη” και τα παράγωγά της είναι ενδιάμεσα στην ενζυμική δράση της θειαμίνης (13-16,18-20,85) και ότι ο σχηματισμός συμπλόκων των δισθενών μεταλλικών ιόντων με τους πιο πάνω υποκαταστάτες είναι εύκολος. Δεδομένου του γεγονότος όμως ότι ο πυροφωσφορικός εστέρας της θειαμίνης είναι αυτός που συμμετέχει σε αντιδράσεις βιολογικής σημασίας (4-7), και ότι τα μεταλλικά ιόντα ενώνονται άμεσα με την πυροφωσφορική θειαμίνη μέσω της πυροφωσφορικής ομάδας όπως προέκυψε από αντίστοιχες μελέτες (36,38,39,50), η σύνθεση ενδιάμεσων του καταλυτικού κέντρου που φέρουν φωσφορικές ομάδες παρουσίαζε ιδιαίτερο ενδιαφέρον.

Έτσι συνεχίζοντας την έρευνα πάνω στην βιολογική δράση της θειαμίνης, αποφασίσαμε να παρασκευάσουμε σύμπλοκα δισθενών μεταλλικών ιόντων με παράγωγα της μονοφωσφορικής και πυροφωσφορικής θειαμίνης. Για το λόγο αυτό συνθέσαμε την 2-(α-υδροξυ-βενζυλ) μονοφωσφορική θειαμίνη και την 2-(α-υδροξυ-βενζυλ)πυροφωσφορική θειαμίνη που φέρουν πολλές πιθανές θέσεις σύνδεσης με τα μεταλλικά ιόντα, όπως το N(1'), το S(1) και την φωσφορική και πυροφωσφορική ομάδα αντίστοιχα:



R=PO₃H₂: 2-(α-υδροξυ-βενζυλ) μονοφωσφορική θειαμίνη

R=P₂O₆H₃: 2-(α-υδροξυ-βενζυλ) πυροφωσφορική θειαμίνη



Οι λόγοι επομένως που μας οδήγησαν στην επιλογή και σύνθεση των παραπάνω υποκαταστατών μπορούν να συνοψιστούν ως εξής:

- Η "ενεργός αλδεΐδη" σύμφωνα με τον μηχανισμό του Breslow (6) είναι ένα από τα ενδιάμεσα του καταλυτικού κύκλου των ενζύμων θειαμίνης.
- Ο σχηματισμός συμπλόκων των δισθενών μεταλλικών ιόντων με αυτούς τους υποκαταστάτες θα έπρεπε να είναι ευκολότερος, αφού στους τελευταίους το καθαρό θετικό φορτίο που βρίσκεται πάνω στο N (3) εξουδετερώνεται εν μέρει ενδομοριακά από τις αλληλεπιδράσεις S...O μετά τη μεταφορά του πάνω στο άτομο του S(1) του θειαζολίου.
- Χρησιμοποιούμε μονοφωσφορική και πυροφωσφορική θειαμίνη γιατί όπως προαναφέραμε (4-7), η τελευταία είναι αυτή που υπάρχει στον οργανισμό μας και παίρνει μέρος σε βιολογικές αντιδράσεις. Θεωρούμε επομένως ότι η φωσφορική και η πυροφωσφορική ομάδα πρέπει να παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό των συμπλόκων με τα δισθενή μεταλλικά ιόντα. Τίθεται επομένως το ερώτημα αν το μέταλλο συνδέεται άμεσα με το N (1') της πυριμιδίνης, όπως στα σύμπλοκα με την HBT και την HCMT (71,72,84) ή μήπως όταν η πυροφωσφορική ομάδα είναι παρούσα συμμετέχει καθοριστικά στο σχηματισμό συμπλόκων.

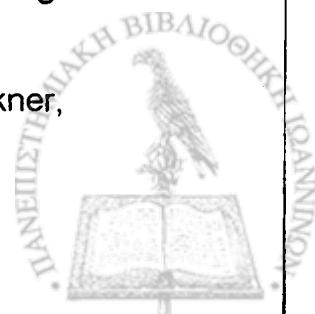


ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. B.C.Jansen, W.F. Donath, Proc. K. Acad. Wetensch Amsterdam, 29 (1926), 1390.
2. R.R. Williams, J. Am. Chem. Soc. 58 (1936), 1063-64.
3. J. Kraut, J.Reed, Acta Crystal. 15 (1962), 747-57.
4. A.White, P. Handler, E.L. Smith, "Principles of Biochemistry" McGraw-Hill, 5th edition, p.1154.
5. J.Fourier, Bull. Soc. Chim. France 5 (1988), 854-61.
6. R.Breslow, J.Am.Chem.Soc. 80 (1958), 3719-26.
7. L.O.Krampitz, "Thiamine Dophosphate and its Catalytic Functions" MARCEL DEKKER, Inc.N. York, 1970
8. M. Sax, Pulsineli, J. Pletcher, J. Am. Chem. Soc. 96 (1974), 155-65.
9. J. Pletcher, M. Sax, A. Turano, C.H. Chang, Ann. N. Y. Acad. Sci. 378 (1982), 454-8
10. W.Shin, J. Pletcher, G. Blank, M. Sax, J. Am. Chem. Soc. 99 (1977), 3491-99.
11. A.Schellenberger, Angew.Chem.Inter.Ed. 6 (1967), 1024-35
12. A.Schellenberger, Ann.N.Acad.Sci. 378 (1982), 51-62.
13. W. Shin, J. Pletcher, M. Sax, Acta Crystal. B 37 (1981), 1719-24.
14. W. Shin, Y.C.Kim, J. Am. Chem. Soc. 108 (1986), 7078-82.
15. H.Holzer, K.Beaucamp, Angaw. Chem. 71 (1959), 776
16. H.Holzer, K.Beaucamp, Biochim. Biophys. Acta 46 (1961), 225-43.
17. A.Schellenberger, V.Muller, K.Winterm, G.Hubner, Hoppe-Seylers Z.Physiol.Chem. 344 (1966), 244.
18. F.Jordan, Y.Mariam, J. Am. Chem. Soc. 100 (1978), 2534-41.
19. F.Jordan, J. Am. Chem. Soc. 96 (1974), 3623-30
20. F.Jordan, G.Chem, S. Nishikawa, B.S.Wu, Ann. N. Y. Acad. Sci. 378 (1982), 14-31.
21. M.Washabaugh,W.Jencks, Biochemistry, 27 (1988), 5044-53.
22. A Gallo, H. Sable, J.Biol.Chem. 251 (1976), 2564-70.
23. M. Sax, P. Pulsinelli, J. Pletcher, J. Am. Chem. Soc. 96 (1974), 155-65.



24. J. Pletcher, M. Sax, G. Blank, M. Wood, J. Am. Chem. Soc. 99 (1977), 1396-403.
25. W. Shin, J. Pletcher, M. Sax, J. Am. Chem. Soc. 101 (1979), 4365-71.
26. J. Hogg, Bioorgan. Chem. 10 (1981), 233-42.
27. J. Wittorf, C. Gubler, Eur. J. Biochem. 22 (1971), 544-50.
28. D.E. Green, D. Herbert, V. Subrahmanyam, J. Biol. Chem. 138 (1941), 327-39.
29. D.E. Green, D. Herbert, V. Subrahmanyam, J. Biol. Chem. 135 (1940), 795-6.
30. K. Aoki, H. Yamazaki, J. Am. Chem. Soc. 107 (1985), 6242-9.
31. H.J. Grande, R.L. Houghton, C. Veeger, Eur. J. Biochem. 37 (1973), 563-69.
32. J.H. Wittorf, C.J. Gubler, Eur. J. Biochem. 14 (1970), 53-60.
33. D. White, R. Grago, Inorg. Chem. 10 (1971), 2727-35.
34. A. Gallo, I. Hansen, H. Sable, T. Swift, J. Biol. Chem. 247 (1972), 5913-20.
35. A. Gallo, H. Sable, J. Biol. Chem. 250 (1975), 4986-91.
36. Y. Lindqvist, G. Schneider, U. Ermler, M. Sundstrom, EMBO J. 11 (1992), 2373-9.
37. G. Schneider, Y. Lindqvist, Biorg. Chem. 21 (1993), 109-17.
38. F. Dyda, W. Furrey, S. Swaminathan, M. Sax, B. Farrenkopf, F. Jordan, Biochemistry 32 (1993), 6165-70.
39. V.A. Muller, V. Lindqvist, W. Furrey, G. E. Schulz, F. Jordan, G. Schneider, Structure 1 (1993) 95-103.
40. V. Lindqvist, G. Schneider, Structural Biology 3 (1993) 896-901.
41. F. Jordan, G. Chen, S. Nishikawa, W. Sundaro, Ann. N.Y. Acad. Sci. 378 (1982) 14-29.
42. R. Golbik, H. Neef, G. Hubner, S. Konig, B. Seliger, L. Meshalkina, G. A. Kochetov, A. Schellenberger, Bioorg. Chem. 19 (1991) 10-17.
43. J. Ermer, A. Schellenberger, G. Hubner, FEBS 299 (1992), 163-5.
44. S. Konig, A. Schellenberger, H. Neef, G. Schneider, J. Biolog. Chemistry, 269 (1994), 10879-82.
45. D. Kern, G. Kern, H. Neef, K. Tittmann, M. Killenberg-Jabs, C. Wikner, G. Schneider, G. Hubner, Science 275 (1997), 67-70.



46. D.Dobritzsch, S. Konig, G. Schneider, G. Lu, J. Biol. Chem. 273 (1998), 20196-204.
47. M.S. Hasson, A. Muscate, M.J. McLeish, L.S. Polovnikova, J.A. Gerlt, G.L. Kenyon, G.A. Petsko, D. Ringe, Biochemistry 37 (1998), 9918-9930).
48. R.Y. Stanier, J. Bacteriol. 54 (1947), 339-348.
49. D. Kern, G. Kern, H. Neef, K.Tittmann, M. Killenbergjabs, C. Wikner, G. Schneider, G. Hubner, Science. 275 (1997) 67-70.
50. M. Nikkola, Y. Lindqvist, G. Schneider, Mol. Biol. 238 (1994), 387-404.
51. G. Malandrinou, M. Louloudi, C. A. Mitsopoulou, I. S. Butler, R Bau, N. Hadjiliadis, J. Biol. Inorg. Chem. 3 (1998), 437
52. J. Suchy, J.Mieyal, G.Bantle, H.Sable, J. Biol. Chem. 247 (1972), 5905-12
53. P.T.Talbert, J.A.Weaver, P. Hambright, J. Inorg. Nucl. Chem. 32 (1970), 2147-52.
54. A.Marzotto, G. Bandoli, D.A.Clemente, F. Benetollo, L. Galzignu, J. Inorg. Nukl. Chem. 35 (1973), 2769-74.
55. M.R. Caira, G.V. Fazakerley, P.W. Linder,L.R. Nussinibeni, Acta Crystal. B 30, (1974), 1660-6.
56. G.V. Fazakerley, J.C. Russell, J. Inorg. Nukl. Chem. 37 (1975), 2377-80.
57. M.F. Richardson, K. Franklin, D.M. Thompson, , J. Am. Chem. Soc. 97 (1975), 3204-9.
58. D.A.Clemente, G. Bandoli, F. Benetollo, A.Marzotto, J. Cryst. Mol. Struct. 4 (1974). 1-4.
59. N. Hadjiliadis, J. Markopoulos, G. Pneumatikakis, D. Katakis, T. Theophanides, Inorg. Chim. Acta, 25 (1977), 21-31.
60. N. Hadjiliadis, J. Markopoulos, Chim. Chron. New Series, 10 (1981), 1-21.
61. R. Cramer. R. Maynard, J. Ibers, J. Am. Chem. Soc. 103 (1981), 76-81.
62. R. Cramer. R. Maynard, R Evangelista, , J. Am. Chem. Soc. 106 (1984), 111-6.
63. A.Bencini, E. Borghi, Inorg. Chim. Anta, 135 (1987), 85-91.



64. E. Archibong, A. Adeyemo, K. Aoki, H Yamazaki, *Inorg. Chim. Acta*, 156 (1989), 77-83.
65. R. Cramer, M.J. Carrie, *Inorg. Chem.*, 32 (1993), 3509-3515.
66. K. Aoki, H. Yamazaki, *J. Am. Chem. Soc.* 102 (1980), 6878-80.
67. J. Casas, E. Castellano, M. Couce, J.R. Leis, A. Sanchez, J. Sordo, M. Suarez-Gimeno, C. Taboada, J. Zukerman-Schpector, *Inorg. Chem.*, 1 (1998), 93-96.
68. N.H. Hu, T. Tokumo, K. Aoki, *Inorg. Chim. Acta*, 295 (1999), 71-83
69. F. Jordan, *J. Am. Chem. Soc.* 98 (1976), 808-13.
70. R. Cramer, R. Kirkup, M. Carrie, *Inorg. Chem.* 27 (1988), 123-30
71. M. Louloudi, N. Hadjiliadis, J. A. Feng, S. Sukumar, R. Bau, *J. Am. Chem. Soc.* 112 (1990), 7233-8.
72. M. Louloudi, N. Hadjiliadis, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* (1991), 1635-38.
73. M. Louloudi, N. Hadjiliadis, *Inorg. Chem.* (1997)
74. T.P. Singer, J. Pensky, *J. Biol. Chem.* 196 (1952), 375-88
75. G.A. Kochetov, P.P. Fillipov, R.A. Usmanov, *Biokhimiya* 34 (1969), 810.
76. A. Cotton, G. Wilkinson, "Advanced Inorganic Chemistry", Wiley, N. York, 1980.
77. A.F. Wagner, K. Folkers, "Vitamins and Coenzymes" Wiley, N. York, 1964.
78. D.P. Graddon, *Inorg. Chem. (Reviews)* 4 (1982), 211-83.
79. J. Gary, A. Adeyemo, *Inorg. Chim. Acta*, 55 (1981), 93-8.
80. N. Hadjiliadis, A. Yannopoulos, R. Bau, *Inorg. Chim. Acta*, 69 (1983), 109-15.
81. A. Adeyemo, *Inorg. Chim. Acta*, 160 (1989), 253-7
82. A. Yannopoulos, N. Hadjiliadis, *Inorg. Chim. Acta*, 92 (1984), L23-L25.
83. A. Turano, W. Furey, J. Pletcher, M. Sax, D. Pike, R. Kluger, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982), 3089-95
84. M. Louloudi, A. Michailidis, J.P. Laussac, R. Bau, N. Hadjiliadis, *C.R. Acad. Sci. Ser. 2*, 309 (1989), 483-8.
85. A. Cain, G. Sullivan, J. Roberts, *J. Am. Chem. Soc.* 99 (1977), 6423-25



B. ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ

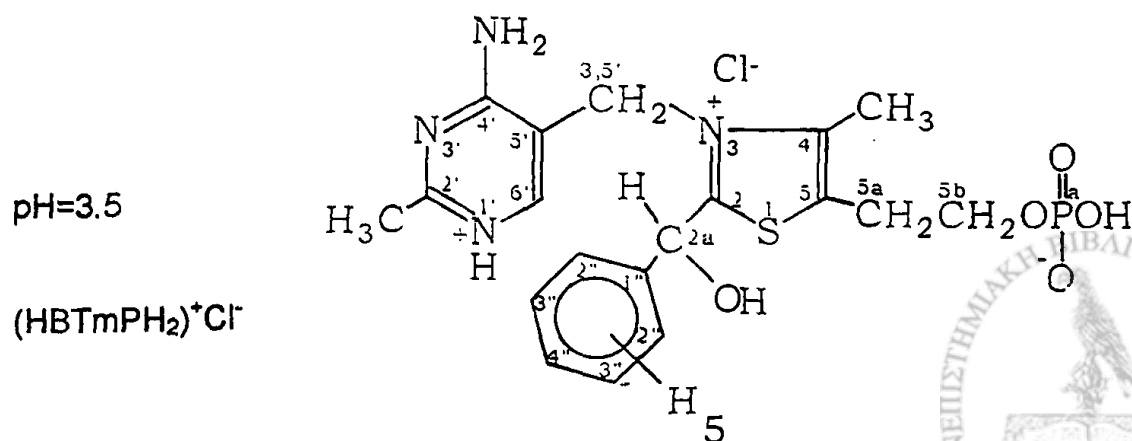
ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΔΙΣΘΕΝΩΝ ΜΕΤΑΛΛΙΚΩΝ ΙΟΝΤΩΝ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ II_B ΜΕ 2-(α-ΥΔΡΟΞΥ-BENZYL) ΜΟΝΟΦΩΣΦΟΡΙΚΗ ΘΕΙΑΜΙΝΗ (HBTmP)

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

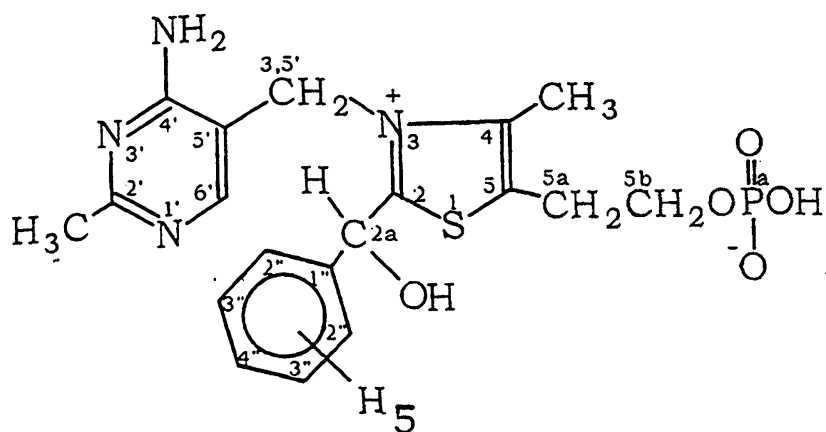
Ο υποκαταστάτης 2-(α-υδροξυ-βενζυλ)-μονοφωσφορική θειαμίνη (HBTmP) χρησιμοποιήθηκε, όπως προαναφέραμε, γιατί θεωρήθηκε ότι η φωσφορική ομάδα μπορεί να παίζει σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό των συμπλόκων με τα δισθενή μεταλλικά ιόντα και θα ήταν ενδιαφέρον να συγκρίνουμε τις δοτικές ιδιότητες του N(1') που είναι γνωστό ότι αποτελεί σημείο δεσμού με μέταλλα, μ' αυτές της φωσφορικής ομάδας.

Γι' αυτό το λόγο συνθέσαμε α) την 2-(α-υδροξυ-βενζυλ)-μονοφωσφορική θειαμίνη (HBTmP) και β) σύμπλοκά της με δισθενή μεταλλικά ιόντα της ομάδας II_B σε διάφορες τιμές του pH, λαμβάνοντας υπ' όψη τα pK_a των πιθανών θέσεων σύνδεσης.

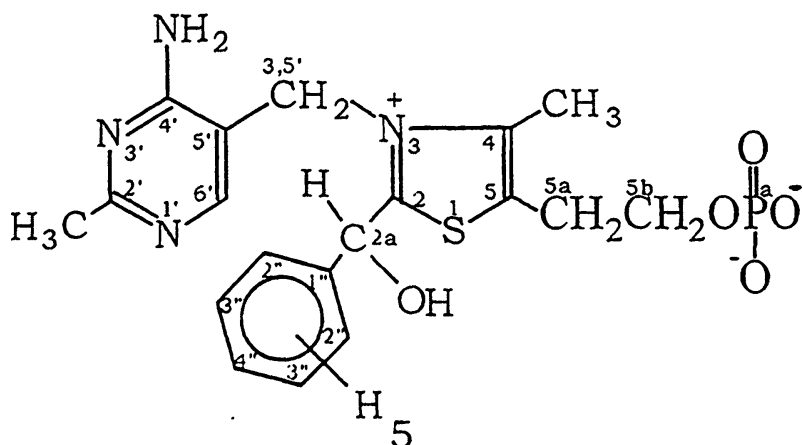
Για να κατανοήσουμε καλύτερα τα συμπεράσματα που θα βγάλουμε από τις διάφορες τεχνικές που χρησιμοποιήσαμε πρέπει να έχουμε υπόψη μας τις μορφές του υποκαταστάτη 2-(α-υδροξυ βενζυλ)-μονοφωσφορική θειαμίνη σε διάφορες τιμές του pH (1). Οι μορφές αυτές του υποκαταστάτη καθώς και ο συμβολισμός που χρησιμοποιήθηκε φαίνονται στο παρακάτω σχήμα:



pH=5.3

(HBTmPH)⁰

pH=6.5

(HBTmP)⁻K⁺

Βλέπουμε επομένως ότι σε pH=3.5 το N(1') της πυριμιδίνης είναι πρωτονιωμένο και η φωσφορική ομάδα αποπρωτονιωμένη (ανιονική). Προχωρώντας σε μεγαλύτερες τιμές του pH (γύρω στο 5.3) η φωσφορική ομάδα παραμένει ανιονική ενώ το N(1') δεν είναι πρωτονιωμένο. Βέβαια όταν το pH είναι μεγαλύτερο του 6 αποσπάται και το άλλο υδρογόνο της φωσφορικής ομάδας και γίνεται διανιονική (1).

II. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

1. ΤΑ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΣΤΗ ΣΤΕΡΕΑ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ

1.1. Σύνθεση

Η σύνθεση του υποκαταστάτη έγινε σύμφωνα με μεθόδους της βιβλιογραφίας (2) και καθαρίστηκε με ακετόνη και με ανακρουσάλλωση από H_2O . Η παρασκευή των συμπλόκων έγινε με ανάμιξη μεθανολικών διαλυμάτων $HBTmP$ και χλωριδίων των μετάλλων. Προηγήθηκε ρύθμιση του pH σε υδατικό διάλυμα του υποκαταστάτη $HBTmP$ στο 5.5 με σκοπό την αποπρωτονίωση της θέσης του $N(1')$ και την αποφυγή σχηματισμού ιονικών αλάτων. Έτσι παρασκευάστηκαν και απομονώθηκαν στην στερεά κατάσταση τα σύμπλοκα του τύπου $MLCl_2$.

Όσον αφορά τις ενώσεις του τύπου $MLCl_3$ παρασκευάστηκαν και απομονώθηκαν με τον ίδιο τρόπο με μόνη διαφορά ότι τα διαλύματα του υποκαταστάτη ρυθμίστηκαν σε pH 3.5. Τα μέταλλα ήσαν $Hg(II)$, $Cd(II)$ και $Zn(II)$. Στην περίπτωση του $Hg(II)$ απομονώθηκε η ένωση του τύπου HgL_2Cl_4 . Η ακριβής πορεία παρασκευής τόσο των συμπλόκων του τύπου $MLCl_2$ όσο και των ενώσεων του τύπου $MLCl_3$ και HgL_2Cl_4 παρατίθεται στο Πειραματικό Μέρος.

Στον πίνακα 1 που ακολουθεί αναφέρονται τα αποτελέσματα της στοιχειακής ανάλυσης των παραπάνω ενώσεων που συμφωνούν με τους αποδιδόμενους τύπους.



Πίνακας 1. Στοιχειακή ανάλυση

Ένωση	C%		H%		N%		S%		M%		Cl%	
	Υπολ.Ευρεθ	Υπολ.Ευρεθ	Υπολ.Ευρεθ	Υπολ.Ευρεθ	Υπολ.Ευρεθ	Υπολ.Ευρεθ	Υπολ.Ευρεθ	Υπολ.Ευρεθ	Υπολ.Ευρεθ	Υπολ.Ευρεθ	Υπολ.Ευρεθ	Υπολ.Ευρεθ
$\{Zn(HBTmPH)^{\circ}Cl_2 \cdot 3H_2O\}_n^*$	35.6	35.1	4.5	4.2	8.7	8.9	5.0	3.7	10.2	11.2	11.1	12.3
$\{Cd(HBTmPH)^{\circ}Cl_2 \cdot 3H_2O\}_n^*$	33.1	32.6	4.2	3.8	8.1	7.9	4.6	3.8	16.3	16.3	10.3	10.9
$Hg(HBTmPH)_2^{\circ}Cl_2 \cdot H_2O$	38.3	38.1	4.0	3.8	9.4	9.1	5.4	5.3	16.9	17.0	6.0	6.2
$Zn(HBTmPH_2)^+Cl_3 \cdot H_2O$	35.6	35.2	3.9	4.0	8.7	8.6	5.0	4.5	10.2	10.5	16.6	17.4
$Cd(HBTmPH_2)^+Cl_3 \cdot H_2O$	33.1	33.1	3.6	3.9	8.1	8.9	4.6	4.4	16.3	16.7	15.5	16.2
$Hg(HBTmPH_2)^+Cl_4$	33.7	33.5	4.4	4.3	8.3	8.3	4.7	4.3	14.8	14.7	10.5	11.0

* Στις επόμενες παραγράφους, τα σύμπλοκα $\{Zn(HBTmPH)^{\circ}Cl_2 \cdot 3H_2O\}_n$ και $\{Cd(HBTmPH)^{\circ}Cl_2 \cdot 3H_2O\}_n$ θα παρουσιάζονται στη μονομερή τους μορφή $Zn(HBTmPH)^{\circ}Cl_2 \cdot 3H_2O$ και $Cd(HBTmPH)^{\circ}Cl_2 \cdot 3H_2O$ για λόγους απλούστευσης.

1.2. Δομή του υποκαταστάτη $(HBTmPH_2)^+Cl^-$ και του συμπλόκου $Hg(HBTmPH)_2^{\circ}Cl_2 \cdot H_2O$

Λεπτομέρειες για τον προσδιορισμό των κρυσταλλικών δομών του $(HBTmPH_2)^+Cl^-$ και του $Hg(HBTmPH)_2^{\circ}Cl_2$ και σχετικές δομικές πληροφορίες δίνονται στους πίνακες 2(α-β) και οι δομές στις εικόνες 1(α-δ).

Οι δομές λύθηκαν απ' τους A. Schreiber και R. Bau στο Παν/μιο της Νότιας Καλιφόρνιας (University of Southern California) στο Los Angeles των Η.Π.Α.(3)

Και οι δύο δομές περιέχουν 4 μόρια σε κάθε κυψελίδα (εικόνες 1α,1β) και η παρουσία των μορίων του νερού σταθεροποιείται από δεσμούς υδρογόνου, ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις και αλληλεπιδράσεις συσσώρευσης (stacking).



α. Δομή του υποκαταστάτη (HBTmPH₂)⁺Cl⁻·3H₂O

Κατάλληλοι κρύσταλλοι για ανάλυση ακτίνων Χ του υποκαταστάτη (HBTmPH₂)⁺Cl⁻·3H₂O (εικόνα 1γ) αναπτύχθηκαν με τη μέθοδο της διάχυσης. Η λύση της δομής του απεκάλυψε χαρακτηριστικά που γενικά ήταν αναμενόμενα. Το μόριο είναι στην S διαμόρφωση, όπως έχει δείχτει και για άλλα παράγωγα της θειαμίνης, υποκατεστημένα στο C(2) του θειαζολίου. Οι γωνίες στροφής $\Phi_T = C(5')-C(3,5')-N(3)-C(2)$ και $\Phi_P = N(3)-C(3,5')-C(5')-C(4')$ οι οποίες δείχνουν τον σχετικό προσανατολισμό πυριμιδίνης-θειαζολίου, βρέθηκαν $-104.1(5)^\circ$ και $+171.9(6)^\circ$ αντίστοιχα (4). Έχει ήδη προταθεί ότι υπεύθυνη για την διαμόρφωση S των υποκατεστημένων στον C(2) παραγώγων της θειαμίνης, είναι η ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση S(1)...O(11) (5,6), που στην περίπτωση μας βρέθηκε 2.703(11) Å. Διαπιστώθηκε αλληλεπίδραση συσώρευσης (stacking) μεταξύ των αρωματικών δακτυλίων πυριμιδίνης και βενζολίου με μέση απόσταση 3.113(9) Å. Οι αποστάσεις δεσμών P(1)-O(5γ) και P(1)-O(5ε) είναι 1.606(5) και 1.585(8) Å αντίστοιχα και δείχνουν ότι υπάρχει πιθανότητα ένας δεσμός O(5ε)-H. Σε αντίθεση, οι αποστάσεις δεσμών P(1)-O(5φ) και P(1)-O(5δ), βρέθηκαν μικρότερες στα 1.503(5) και 1.505(6) Å αντίστοιχα, υποδεικνύοντας ότι υπάρχουν P-O τελικοί δεσμοί και ότι έτσι η φωσφορική ομάδα είναι στην μονοανιονική μορφή (εικόνα 1γ). Αφού λοιπόν ο υποκαταστάτης κρυσταλλώθηκε σε pH~3.5, αυτό σημαίνει ότι η μορφή του στο pH αυτό θα είναι πράγματι αυτή του (HBTmPH₂)⁺Cl⁻.

β. Δομή του συμπλόκου Hg(HBTmPH)₂Cl₂·H₂O

Οι κρύσταλλοι του συμπλόκου αναπτύχθηκαν με τη μέθοδο αργής διάχυσης υγρού διαλύματος σε μίγμα διαλυτών στους 5°C. Η δομή του Hg(HBTmPH)₂Cl₂·H₂O (εικόνα 1δ) παρουσιάζει ενδιαφέροντα στοιχεία και πρέπει να σημειωθεί ότι είναι η τρίτη κρυσταλλική δομή που περιέχει παράγωγο “ενεργού αλδεϋδης” της θειαμίνης (7,8). Σ' αυτό το σύμπλοκο, το μέταλλο συνδέεται με δύο μόρια υποκαταστάτη και η διαμόρφωση γύρω από το άτομο του Hg είναι ψευδοτετραεδρική με μερικές αποκλίσεις από την

καθαρά τρετραεδρική γεωμετρία παρουσιάζοντας αποστάσεις δεσμών Hg-Cl και Hg-N στα 2.391 και 2.341 Å αντίστοιχα. Πρέπει επίσης να σημειωθεί ότι η απόσταση δεσμού του Hg-Cl είναι μικρότερη και η απόσταση δεσμού του Hg-N είναι μεγαλύτερη από αυτές στο σύμπλοκο Hg[2-(α-υδροξυ βενζυλ)θειαμίνη]Cl₃ (7).

Οι γωνία δεσμών C(2')-N(1')-C(6') των 114.9(9) Å και η απόσταση δεσμού C(4')-N(4a') των 1.319(15) Å στο σύμπλοκο είναι μικρότερες από αυτές που βρέθηκαν σε άλλες δομές πρωτονιωμένων και μεταλλομένων παραγώγων θειαμίνης (9), όπως π.χ. 119.4(6) Å και 1.334(9) Å στο (HBTmPH₂)⁺Cl⁻. Στα σύμπλοκα του τύπου MCl₃ (10), αυτές οι γωνίες δεσμού και οι αποστάσεις δεσμών είναι αποτέλεσμα της ισχύος οξέων κατά Lewis των συνδεδεμένων μετάλλων και ακολουθούν τη σειρά Zn⁺²<Cu⁺²<Cd⁺²<Hg⁺²<Pt⁺². Εδώ οι μικρότερες τιμές γωνίας και απόστασης πιθανόν να είναι αποτέλεσμα της διαφορετικής στοιχειομετρίας.

H (HBTmPH₂)⁺Cl⁻·3H₂O, όπως και άλλα παράγωγα της ενεργού αλδεϋδης, κατέχει την S διαμόρφωση με Φ_T=-98.1(9)° και Φ_P=176.1(10)°. Σαν αποτέλεσμα αυτού, η S(1)...O(11) απόσταση είναι 2.711(14) Å και είναι η πιο μικρή που βρέθηκε ποτέ σε υποκατεστημένα σύμπλοκα θειαμίνης με δισθενή κατίοντα. Αυτό είναι σημαντικό γιατί σύμφωνα με τον Hogg (11) η ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση S(1)...O(11), είναι υπεύθυνη για την O(11)-H απελευθέρωση πρωτονίου κατά τη διάρκεια της ενζυμικής πορείας.

Όπως στον υποκαταστάτη (HBTmPH₂)⁺Cl⁻·3H₂O, έτσι και εδώ διαπιστώθηκε αλληλεπίδραση συσσώρευσης μεταξύ πυριμιδίνης και βενζολικού δακτυλίου με μέση απόσταση 3.371(13) Å. Η γωνία που ορίζεται από τα επίπεδα πυριμιδίνης και θειαζολίου στο HgL₂Cl₂·H₂O είναι 73.3(8)°, και είναι επίσης η μικρότερη που έχει βρεθεί για σχετικά σύμπλοκα. Συγκριτικά αναφέρουμε ότι στο (HBTmPH₂)⁺Cl⁻·3H₂O βρέθηκε 80.4(6)°. Αυτό μπορεί να είναι σημαντικό γιατί έχει προταθεί, ότι τα σύμπλοκα με τις μικρότερες γωνίες μεταξύ αυτών των επιπέδων είναι πιο ευαίσθητα στην οξείδωση της θειαμίνης σε θειόχρωμα (9).

Στο Hg(HBTmPH)₂Cl₂·H₂O περιέχονται 2 μεγάλες αποστάσεις P-O και 2 μικρότερες που αποδίδονται σε τερματικούς P-O δεσμούς. Αυτό υποδεικνύει ότι όπως και στην περίπτωση του (HBTmPH₂)⁺Cl⁻, η φωσφορική ομάδα είναι στην μονοανιονική μορφή (βλέπε πίνακα 2α).



Πίνακας 2α: Αποστάσεις δεσμών του υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ και του συμπλόκου $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^0_2\text{Cl}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ σε Å

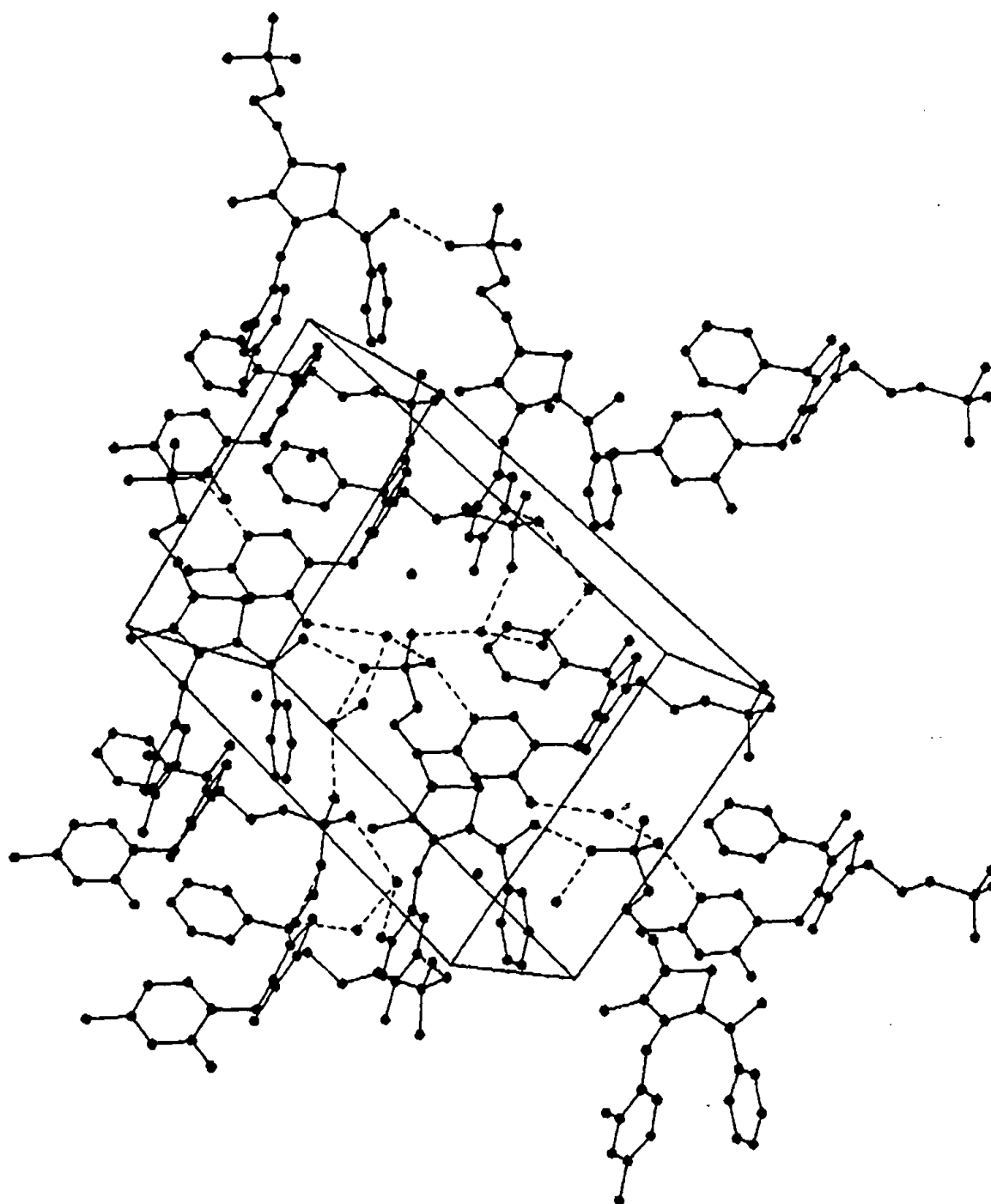
Δεσμοί	$(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-\cdot 3\text{H}_2\text{O}$	$\text{Hg}(\text{HBTmPH})^0_2\text{Cl}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$
Hg(1)-Cl(1)	----	2.391
Hg(1)-Cl(1A)	----	2.391
Hg(1)-N(1')	----	2.341
Hg(1)-N(1'A)	----	2.341
P(1)-O(5γ)	1.606(5)	1.600(9)
P(1)-O(5ε)	1.585(8)	1.566(9)
P(1)-O(5δ)	1.505(6)	1.492(6)
P(1)-O(5φ)	1.503(5)	1.480(8)
O(5γ)-C(5β)	1.452(8)	1.414(15)
C(5β)-C(5α)	1.526(9)	1.509(16)
C(5)-C(5α)	1.491(10)	1.494(21)
S(1)-C(5)	1.756(7)	1.713(11)
S(1)-C(2)	1.698(9)	1.694(13)
C(2)-N(3)	1.338(8)	1.301(15)
N(3)-C(4)	1.415(9)	1.414(17)
C(4)-C(4α)	1.482(8)	1.486(17)
C(2)-C(10)	1.529(9)	1.503(18)
C(10)-O(11)	1.419(8)	1.424(17)
C(10)-C(1'')	1.529(9)	1.525(17)
C(1'')-C(2'')	1.393(11)	1.391(23)
C(2'')-C(3'')	1.424(10)	1.404(23)
C(3'')-C(4'')	1.382(12)	1.369(23)
C(4'')-C(5'')	1.399(11)	1.369(31)
C(5'')-C(6'')	1.406(9)	1.402(21)
C(6'')-C(1'')	1.402(11)	1.372(15)
N(3)-C(3,5')	1.475(10)	1.500(18)
C(3,5')-C(5')	1.513(8)	1.511(13)
C(5')-C(6')	1.363(9)	1.352(15)
C(6')-N(1')	1.360(8)	1.348(12)
N(1')-C(2')	1.361(10)	1.353(18)
C(2')-C(2α')	1.491(10)	1.496(14)
C(2')-N(3')	1.323(9)	1.303(15)
N(3')-C(4')	1.362(8)	1.353(11)
C(4')-N(4α')	1.334(9)	1.319(15)
C(4')-C(5')	1.436(10)	1.432(19)



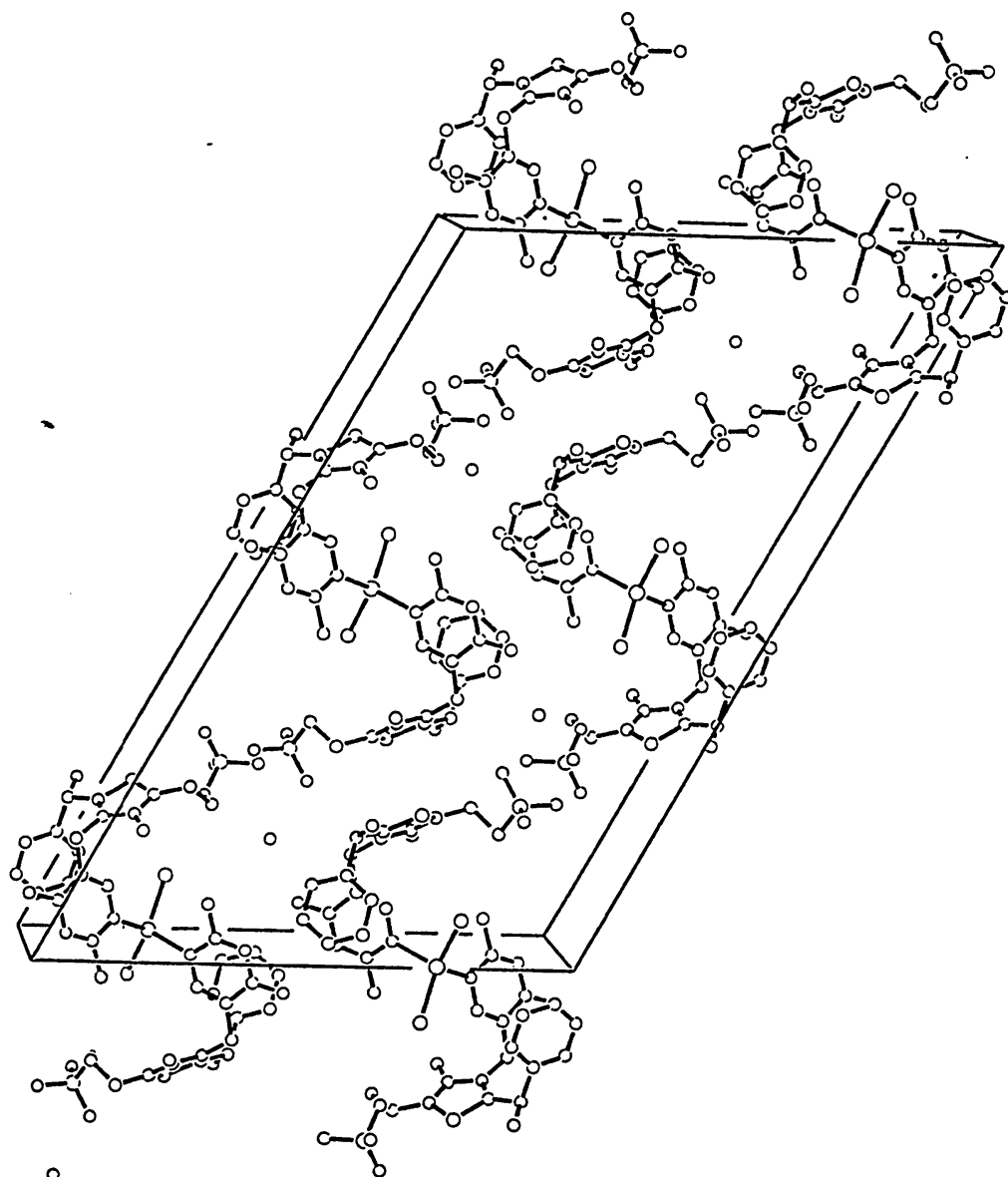
Πίνακας 2β: Γωνίες δεσμών ($^{\circ}$) του υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^- \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ και του συμπλόκου $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^0_2\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$

Γωνίες δεσμών	$(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^- \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	$\text{Hg}(\text{HBTmPH})^0_2\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$
Cl(1)-Hg(1)-N(1')	-----	109.9(3)
Cl(1)-Hg(1)-Cl(1A)	-----	129.6(2)
N(1')-Hg(1)-Cl(1A)	-----	103.2(2)
N(1')-Hg(1)-N(1'A)	-----	96.5(5)
C(2)-S(1)-C(5)	91.4(4)	91.1(6)
O(5γ)-P(1)-O(5δ)	105.2(3)	109.4(5)
O(5δ)-P(1)-O(5ε)	111.5(4)	111.1(5)
O(5δ)-P(1)-O(5φ)	116.9(3)	115.6(4)
O(5γ)-P(1)-O(5ε)	105.0(3)	105.0(4)
O(5γ)-P(1)-O(5φ)	110.3(3)	105.5(5)
O(5ε)-P(1)-O(5φ)	107.3(3)	109.6(5)
P(1)-O(5γ)-C(5β)	118.3(4)	121.0(9)
Hg(1)-N(1')-C(2')	-----	125.5(6)
Hg(1)-N(1')-C(6')	-----	116.9(8)
C(2')-N(1')-C(6')	119.4(6)	114.9(9)
C(2')-N(3')-C(4')	117.7(6)	119.4(11)
C(3,5')-N(3)-C(2)	123.3(6)	123.0(11)
C(3,5')-N(3)-C(4)	121.9(5)	122.6(9)
C(2)-N(3)-C(4)	114.6(6)	114.3(11)
N(1')-C(2')-N(3')	123.4(6)	125.4(9)
N(3')-C(4')-C(5')	121.7(6)	118.9(10)
C(4')-C(5')-C(6')	116.4(5)	115.8(9)
C(4')-C(5')-C(3,5')	119.4(6)	120.2(10)
C(6')-C(5')-C(3,5')	124.3(6)	123.9(12)
N(1')-C(6')-C(5')	121.2(6)	124.8(12)
N(3)-C(3,5')-C(5')	113.9(6)	110.9(9)
S(1)-C(2)-N(3)	111.4(5)	112.1(9)
S(1)-C(2)-C(10)	121.7(6)	119.4(9)
S(1)-C(5)-C(5α)	121.4(5)	121.7(9)
S(1)-C(5)-C(4)	110.7(5)	111.5(10)
C(4)-C(5)-C(5α)	127.5(6)	126.8(11)
C(5)-C(5α)-C(5β)	111.8(5)	112.3(11)
O(5γ)-C(5β)-C(5α)	106.6(5)	112.7(9)
O(11)-C(10)-C(2)	103.8(6)	105.0(11)
O(11)-C(10)-C(1'')	113.0(5)	110.2(10)





Εικόνα 1α: Διάγραμμα της στοιχειώδους κυψελίδας του υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-\cdot 3\text{H}_2\text{O}$



Εικόνα 1β: Διάγραμμα της στοιχειώδους κυψελίδας του συμπλόκου $\text{Hg}(\text{HBTmPH})_2\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$

1.3. Φασματοσκοπία υπερύθρου (IR) και Raman

Οι πίνακες 3α και 3β δείχνουν τις πιο χαρακτηριστικές ταινίες των IR και Raman ενώ στις εικόνες 2(α-η) και 3(α-ζ) φαίνονται τα αντίστοιχα φάσματα του υποκαταστάτη (HBTmPH)⁰ σε pH=5. 5 καθώς και του πρωτονιωμένου στο N(1') της πυριμιδίνης υποκαταστάτη (HBTmPH₂)⁺Cl⁻. Επίσης παρατίθενται τα φάσματα IR και Raman των ενώσεων Zn(HBTmPH)⁰Cl₂, Cd(HBTmPH)⁰Cl₂, Hg(HBTmPH)⁰₂Cl₂ και των Zn(HBTmPH₂)⁺Cl₃, Cd(HBTmPH₂)⁺Cl₃ και Hg(HBTmPH₂)⁺₂Cl₄.

Επειδή τα σύμπλοκα περιέχουν μεγάλο αριθμό ατόμων και η απόλυτη ταυτοποίηση όλων των ταινιών είναι αδύνατη, στους πίνακες αναφέρονται οι συχνότητες των χαρακτηριστικών ομάδων και των ισχυρότερων ταινιών. Επίσης βλέπουμε ότι πολλές από τις ταινίες συμπίπτουν και άλλες καλύπτονται από ασθενέστερες ή παρουσιάζονται σαν ευρείες ταινίες.

Στο IR, στην περιοχή μεταξύ 3400-3100 cm⁻¹ εμφανίζονται ισχυρές ευρείες ταινίες που αποδίδονται στις δονήσεις νOH και νNH₂ καθώς επίσης και σε συζεύξεις μεταξύ τους (12,13). Στην περιοχή αυτή του Raman εμφανίζονται πολύ ασθενείς ταινίες.

Η ισχυρή απορρόφηση στο Raman στα ~3060 cm⁻¹ που παρατηρείται στα σύμπλοκα και στον υποκαταστάτη αποδίδεται σε δόνηση τάσης νCH του φαινυλίου. Επίσης η δόνηση τάσης νCH της αλειφατικής ομάδας -CH₃ και -CH₂- παρατηρείται στα ~2930 cm⁻¹(14).

Στο IR πριν τα 1600 cm⁻¹ εμφανίζονται δύο ισχυρές ταινίες που αποδίδονται στην δόνηση τάσης της πυριμιδίνης (8α) και στην δόνηση κάμψης της αμινομάδας. Πολλές φορές παρατηρείται σύζευξη αυτών των δύο ταινιών (12,15,16). Μετά την δευτερίωση εμφανίζεται μία μόνο ταινία που αποδίδεται στην δόνηση της πυριμιδίνης (8α) Η ταινία αυτή παρουσιάζεται στα 1628 cm⁻¹ αν το N(1') είναι πρωτονιωμένο π.χ. στον υποκαταστάτη (HBTmPH₂)⁺Cl⁻ και στις ενώσεις Zn(HBTmPH₂)⁺Cl₃, Cd(HBTmPH₂)⁺Cl₃ και Hg(HBTmPH₂)⁺₂Cl₄. Η ίδια ταινία στον ελεύθερο υποκαταστάτη (HBTmPH)⁰ σε pH=5.5 φαίνεται στα 1600 cm⁻¹ ενώ στα σύμπλοκα Zn(HBTmPH)⁰Cl₂, Cd(HBTmPH)⁰Cl₂ και Hg(HBTmPH)⁰₂Cl₂ φαίνεται στα 1622, 1620 και 1618 cm⁻¹ αντίστοιχα, ακολουθώντας τη σειρά H⁺>Zn²⁺>Cd²⁺>Hg²⁺ όπως στην



περίπτωση των παρόμοιων συμπλόκων με 2-(α-υδροξυβενζυλ)θειαμίνη (7,13).

Η ισχυρή ταινία στα φάσματα Raman που εμφανίζεται στα $\sim 1600\text{ cm}^{-1}$ αποδίδεται στην δόνηση τάσης του φαινυλίου (8a). Στο IR αυτή η κορυφή εμφανίζεται στην ίδια περιοχή αλλά είναι πολύ ασθενέστερη.

Η ισχυρή ταινία του IR κοντά στα 1550 cm^{-1} αποδίδεται στην δόνηση τάσης του πυριμιδινικού δακτυλίου (8b). Και η ταινία αυτή είναι ευαίσθητη στην πρωτονίωση και στη συμπλοκοποίηση, καθώς εμφανίζεται σε χαμηλότερες συχνότητες στον πρωτονιωμένο υποκαταστάτη, σε ενδιάμεσες στα σύμπλοκα και σε υψηλότερες στον ελεύθερο υποκαταστάτη. Στις ενώσεις $\text{Zn}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$, $\text{Cd}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$ και $\text{Hg}(\text{HBTmPH}_2)^+_2\text{Cl}_4$ η κορυφή αυτή εντοπίζεται σε χαμηλότερες συχνότητες, γεγονός που αποδεικνύει ότι το N(1') είναι πρωτονιωμένο και όχι μεταλλωμένο (13,17).

Τελικά στηριζόμενοι στο γεγονός ότι η δόνηση τάσης του πυριμιδινικού δακτυλίου εμφανίζεται για τα σύμπλοκα σε ενδιάμεσες συχνότητες σε σχέση με τον ελεύθερο και πρωτονιωμένο υποκαταστάτη, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι η συμπλοκοποίηση του υποκαταστάτη γίνεται στην θέση N(1') της πυριμιδίνης στα σύμπλοκα $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^+\text{Cl}_2$, $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^+\text{Cl}_2$ και $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^+_2\text{Cl}_2$, αντικαθιστώντας το πρωτόνιο του υδροχλωρικού υποκαταστάτη της θέσης αυτής (12,18-20).

Οι ταινίες που παρατηρούνται στα 1430 και 1290 cm^{-1} οφείλονται σε δονήσεις του φαινυλικού δακτυλίου. Συγκεκριμένα η πρώτη χαρακτηρίζεται σαν συνδιαστική κίνηση ($\nu_{16}+\nu_5$) σύμφωνα με τις ταινίες του ελεύθερου βενζολίου (21), ενώ η δεύτερη ταυτοποιείται από τις ταινίες που παρατηρήθηκαν σε παράγωγα του φαινυλ-θειαζολίου (22). Σ' αυτή την περιοχή βέβαια υπάρχουν και άλλες ασθενέστερες ταινίες που οφείλονται σε δονήσεις του πυριμιδινικού, θειαζολικού και φαινυλικού δακτυλίου και σε δονήσεις $\delta(\text{CH})$ των αλειφατικών ή αρωματικών ομάδων. Ο χαρακτηρισμός τους όμως είναι δύσκολος, επειδή πολλές από αυτές τις ταινίες θα μπορούσαν να καλύπτονται, να συνδυάζονται ή να συζεύγνυνται μεταξύ τους (14,23-26). Στο Raman, η ταινία στα 1470 cm^{-1} περίπου αποδίδεται στην ασύμμετρη κίνηση $\delta(\text{CH})$ των αλειφατικών ομάδων $-\text{CH}_2-$ και $-\text{CH}_3$ (14).

Οι κορυφές στην περιοχή $1250-900\text{ cm}^{-1}$ αποδίδονται στην φωσφορική ομάδα (16). Η κορυφή στα $\sim 1160\text{ cm}^{-1}$ στο IR φάσμα του ελεύθερου



υποκαταστάτη μετατοπίζεται κατά την μετάλλωση και εμφανίζεται στα φάσματα των συμπλόκων $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^{\circ}\text{Cl}_2$ και $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^{\circ}\text{Cl}_2$ σε χαμηλότερους κυματαριθμούς. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί αποδεχόμενοι ελάττωση της ηλεκτρονιακής πυκνότητας του π δεσμού του $\text{P}=\text{O}$ λόγω της συμπλοκοποίησης του μετάλλου μέσω και της φωσφορικής ομάδας (3). Οι κορυφές στην περιοχή $1100\text{-}1050\text{ cm}^{-1}$ μπορούν να αποδοθούν στις δονήσεις τάσης $\nu(\text{C}-\text{O})$ και $\nu(\text{P}-\text{O}-\text{C})$ (17).

Ένδειξη για πρωτονίωση ή μετάλλωση της φωσφορικής ομάδας από την άλλη μεριά παρέχεται και από την θέση της ταινίας $\nu\text{P}-\text{O}$. Αυτή αποδίδεται στις ταινίες που παρατηρούνται στην περιοχή $950\text{-}920\text{ cm}^{-1}$. Στο Raman βλέπουμε ασθενείς κορυφές στην περιοχή αυτή (Πίνακας 3β).

Αυτό που πρέπει να επισημάνουμε είναι ότι στα φάσματα IR η περιοχή μεταξύ $1200\text{-}900$ είναι πολύ διαφορετική στα σύμπλοκα $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^{\circ}\text{Cl}_2$ και $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^{\circ}\text{Cl}_2$ σε σχέση με τους ελεύθερους υποκαταστάτες και τις ενώσεις $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^{\circ}_2\text{Cl}_2$, $\text{Zn}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$, $\text{Cd}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$ και $\text{Hg}(\text{HBTmPH}_2)^+_2\text{Cl}_4$. Αυτό το γεγονός μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι στα δύο πρώτα σύμπλοκα έχουμε επίσης και δεσμό μετάλλου-φωσφορικής ομάδας. Συγκεκριμένα, στα φάσματα IR των συμπλόκων $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^{\circ}\text{Cl}_2$ και $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^{\circ}\text{Cl}_2$ παρατηρούνται σ' αυτή την περιοχή ισχυρές φαρδιές ταινίες ενώ στους ελεύθερους υποκαταστάτες και στις υπόλοιπες ενώσεις παρατηρούνται πολλές ισχυρές και οξείες ταινίες.

Στο IR οι ταινίες στα 735 και 700 cm^{-1} μπορούν να αποδοθούν σε κινήσεις του φαινολικού ή του θειαζολικού δακτυλίου ($6b(\text{Phe})$ ή $w_7(\text{th})$) (22). Στο Raman οι κινήσεις του φαινολικού ή του θειαζολικού δακτυλίου αποδίδονται στην κορυφή που εμφανίζεται στα 620 cm^{-1} .

Στο IR η δόνηση $\delta(\text{P}-\text{O})$ εμφανίζεται στα 500 cm^{-1} για τον υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$ τονίζοντας ότι και αυτή η ταινία επίσης είναι ευαίσθητη στην πρωτονίωση ή μετάλλωση της φωσφορικής ομάδας (27). Εδώ πρέπει να επισημανθεί ότι η κορυφή αυτή εμφανίζεται στα φάσματα των συμπλόκων $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^{\circ}\text{Cl}_2$ και $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^{\circ}\text{Cl}_2$ σαν μια φαρδιά ταινία, υποδεικνύοντας ότι σ' αυτά τα σύμπλοκα έχουμε άμεση σύνδεση του μετάλλου με τη φωσφορική ομάδα αλλάζοντας έτσι τη μορφολογία της περιοχής αυτής του φάσματος των παραπάνω συμπλόκων.



Οι νM-Cl δονήσεις αναγνωρίζονται εύκολα από την διαφορά τους σε κάθε μέταλλο και από την απουσία της ταινίας αυτής στα αντίστοιχα φάσματα των υποκαταστατών. Έτσι στο Raman εντοπίζεται η ταινία αυτή στα 284 cm^{-1} για το $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$, στα 262 cm^{-1} για το $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$ και στα 277 cm^{-1} για το $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^\circ_2\text{Cl}_2$, ενώ στο IR εμφανίζονται στα 288 cm^{-1} για το $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$, στα 280 cm^{-1} για το $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$ και στα 282 cm^{-1} και 270 cm^{-1} για το $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^\circ_2\text{Cl}_2$.

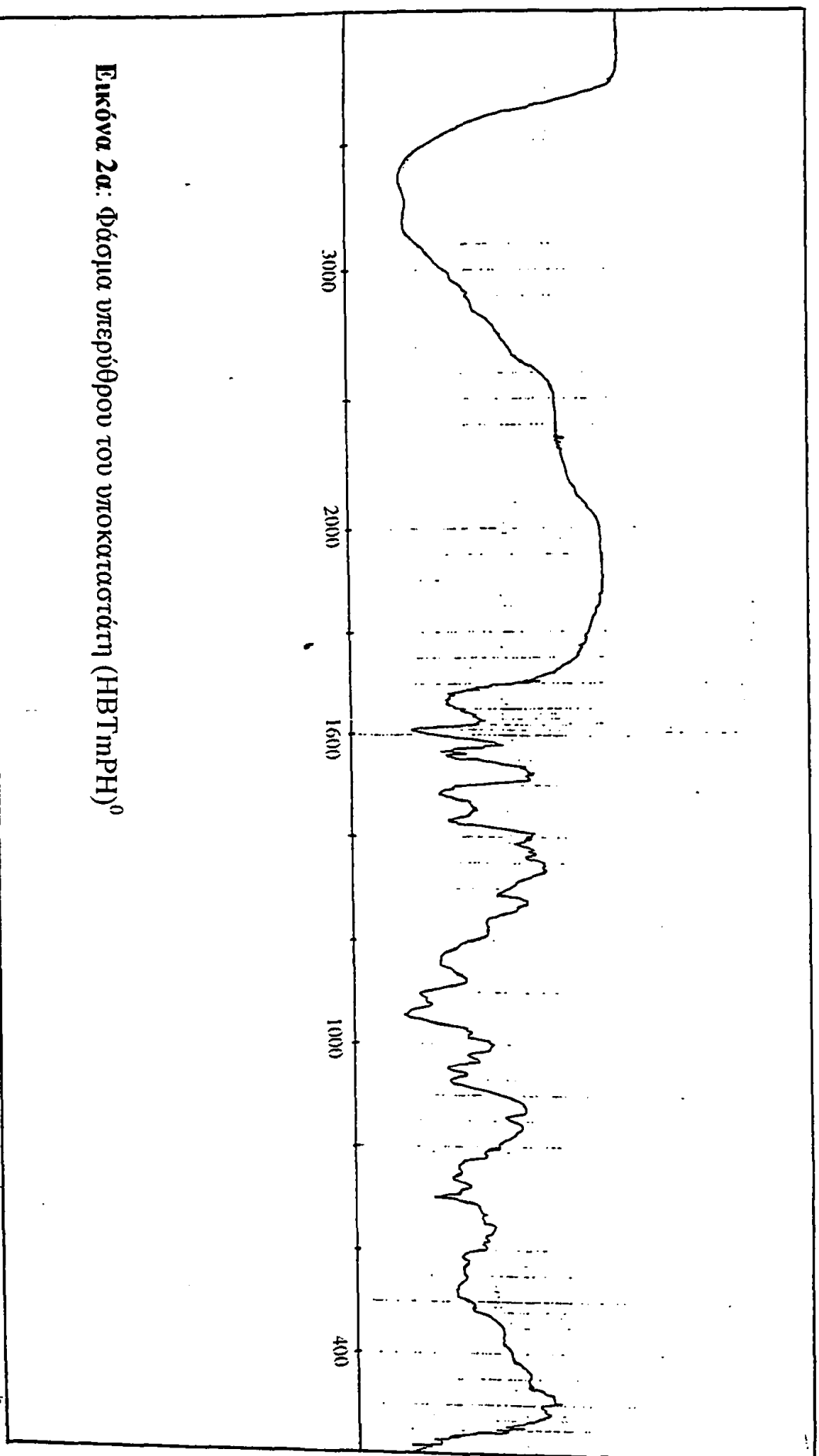


Πίνακας 3α: Φασματοσκοπικά δεδομένα υπερύθρου υποκαταστατών παραγώγου μονοφωσφορικής θειαμίνης και συμπλόκων τους.

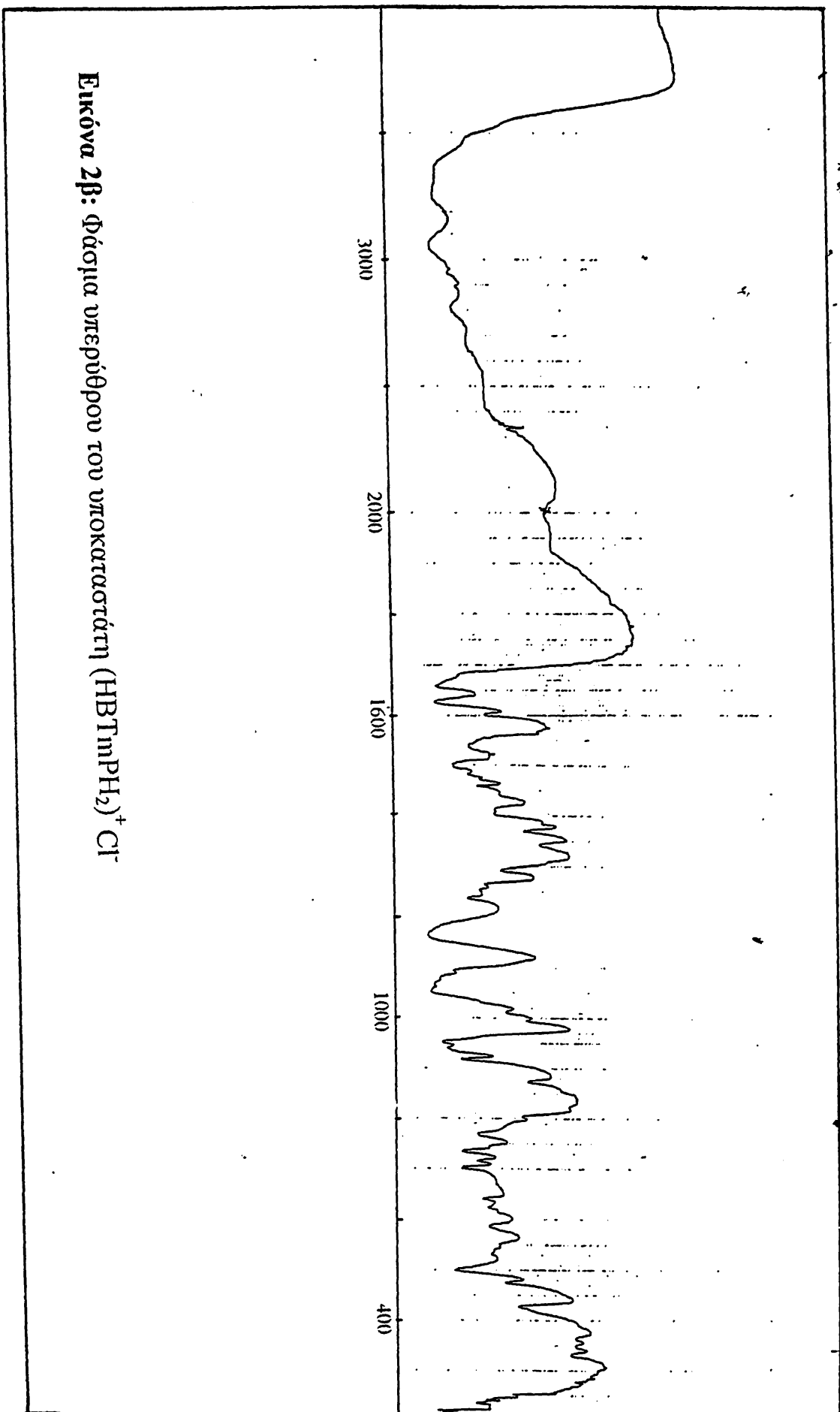
Χαρακτηρισμοί	HB(TmPH) ^a pH=6,0	(HB(TmPH) ₂) ⁺ Cl ⁻ pH=3,5	Zn(HB(TmPH) ^o)Cl ₂	Cd(HB(TmPH) ^o)Cl ₂	Hg(HB(TmPH) ^o) ₂ Cl ₂	Zn(HB(TmPH) ₂) ⁺ Cl ₃	Cd(HB(TmPH) ₂) ⁺ Cl ₃	Hg(HB(TmPH) ₂) ⁺ Cl ₄
νOH	3350b	3370b	3330	3350	3380	3350	3370	3380
νNH ₂	3200b	3240	3220	3180	3250	3140	3200	3200
πυρ.δ.ακτ. (8a)+δNH ₂	1670,1610	1660, 1628	1660,1625	1650,1619	1697,1616	1690,1660,1622	1660,1648	1680,1660
πυρ.δ.ακτ. (8a)	(1660)	(1628)	(1622)	(1620)	(1618)	(1628)	(1630)	(1628)
φαιν. (8a)		1600	1600	1600	1600om		1600	1600
πυρ.δ.ακτ. (8b)	1566,1558	1538	1550,1540	1548	1550	1540	1538	1540
δCH (μεθ)	1482	1460	1477	1472b	1477	1472	1480,70	1482,1470
φαιν(ν16-ν5)	1430	1410	1455	1450	1457	1457,1435w	1458,1440	1455
δCH ₂ (αλειφ)	1290	1290	1290	1285	1280s	1290	1275	1288
ν(P=O)		1235			1250b,1230	1230	1250,1205	1260s,1220
ν(C-O)+ν(P-O-C)	1160b	1163b	1155b	1155b	1158	1200	1170,1140	1180,1150
νP-O	1098,1055	1090-50	1090-60	1080,1060	1097,1063	1065	1075,1048	1085,1055
	1012w	1010w	1000	1000	1020	1023	1000	1008
	953	952	950b	948w	950w	960w	942	950s
	928	940,920	922b	922s	930	925	910	915s
φαιν(6b) ή θειαλ(ω1)	738,702	735,700	735,700s	732om,700s	750-40,702	740,700s	740s,700	742s,703s
δ(P-O)	520	520	540-500	540-500	510	500s	523	532
νM-Cl			288	280	282,270	285	285	270

Πίνακας 3β: Φασματοσκοπικά δεδομένα Raman υποκαταστατών παραγώγου μονοφωσφορικής θειαμίνης και συμπλόκων τους.

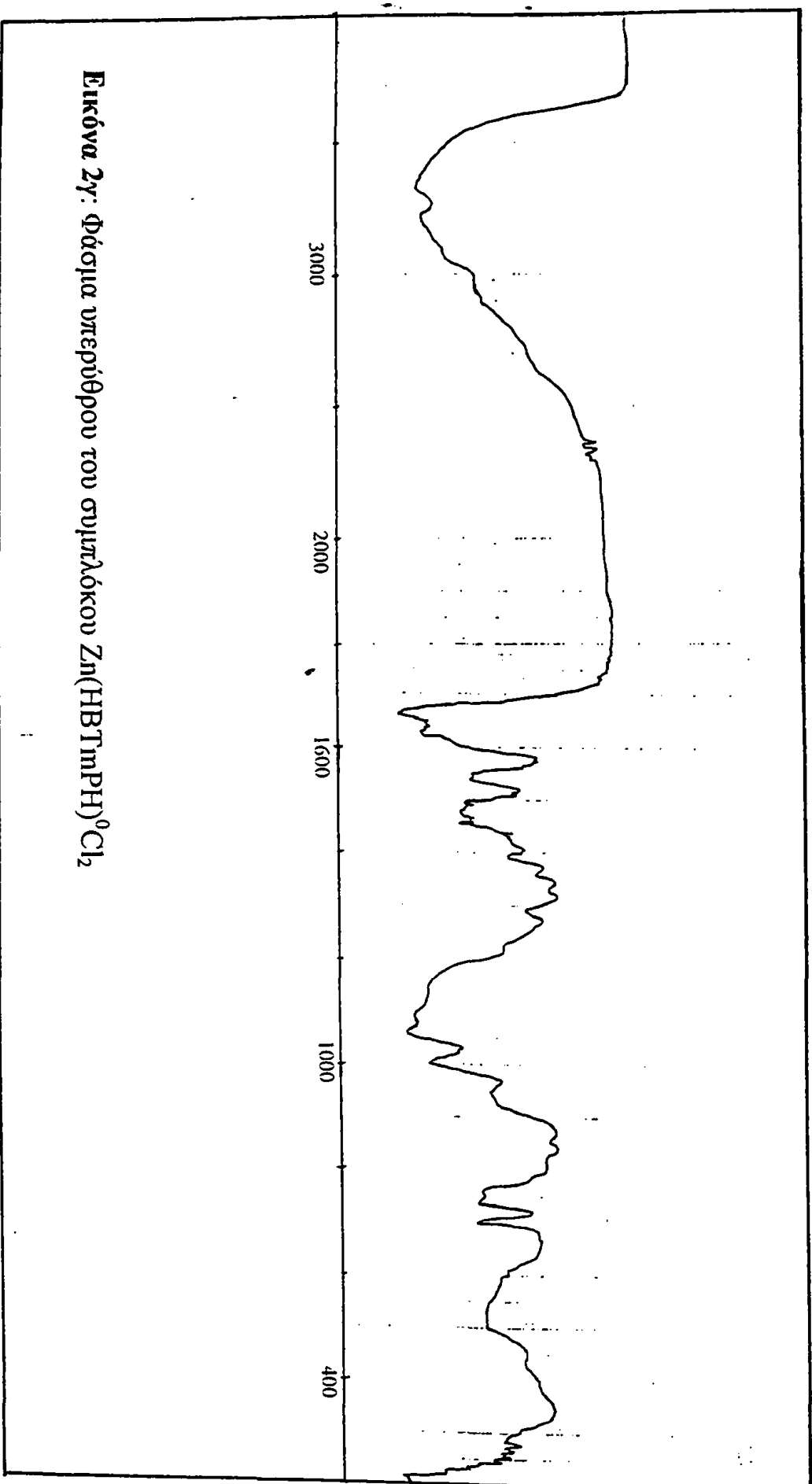
Χαρακτηρισμοί	(HBTmPH ₂) ⁺ Cl ⁻ pH=3,5	Zn(HBTmPH) ^o Cl ₂	Cd(HBTmPH) ^o Cl ₂	Hg(HBTmPH) ^o Cl ₂	Zn(HBTmPH ₂) ⁺ Cl ₃	Cd(HBTmPH ₂) ⁺ Cl ₃	Hg(HBTmPH ₂) ⁺ Cl ₄
νCH (φαιν)	3059	3060	3066	3054s	3058	3069	3055
νCH ₂ ή νCH ₃ (ωλειφ)	2948	2931	2966,2931	2979,2944	2930	2930	2966,2926
φαιν (8α)	1598	1602	1602	1603s	1601s	1600	1601
ν(P=O)	1184	1188	1188	1193	1189		1187,1156
ν(C-O)+ν(P-O-C)	1003b	1003	1003b	1066,1026,1004s	1030,1003s	1003	1099,1002s
ν(P-O)	922,800s	803	806s	806,797	861,806s	805	808,790
φαιν(6b) ή θειαζ(ω ₇)	619	616	619	620	656w,616		618s
δ(P-O)	580,537		542	540	583,526w		537
νM-Cl		284	262	277	304w,236w	236	261



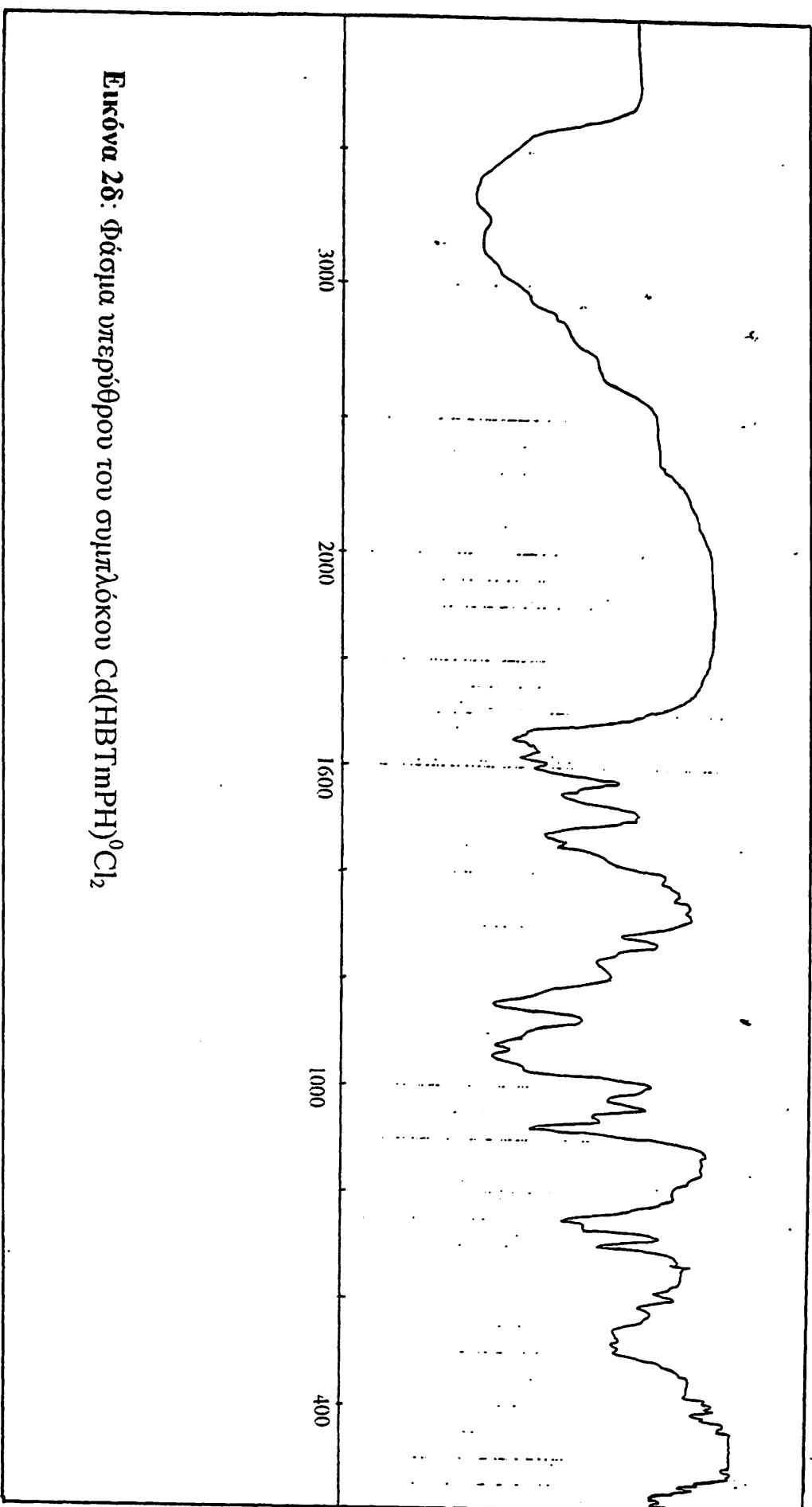
Εικόνα 2α: Φάσμα υπέρυθρου του υποκαταστάτη (HBΓmPH)^ο



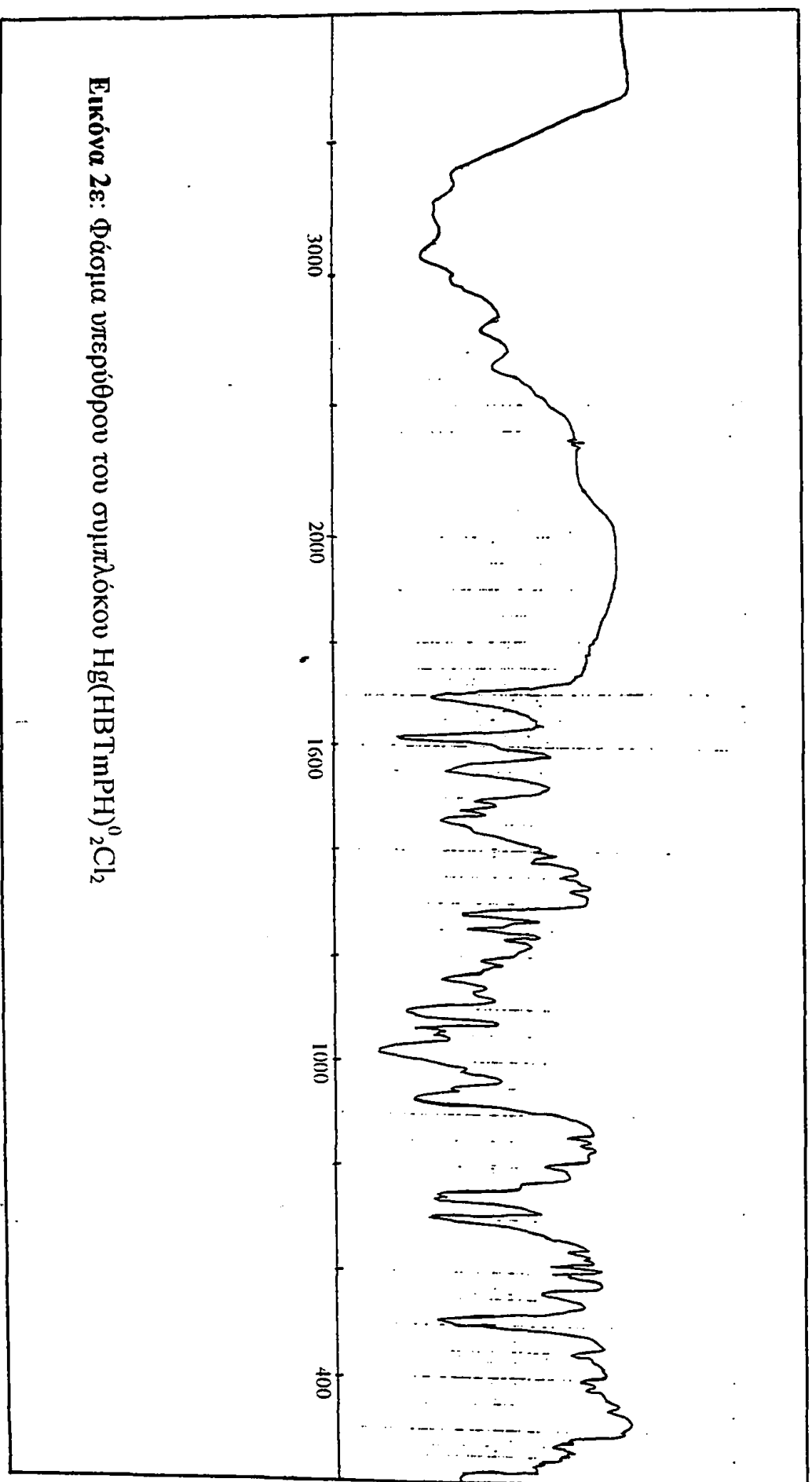
Εικόνα 2β: Φάσμα υπέρυθρου του υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH}_2)^+ \text{Cl}^-$



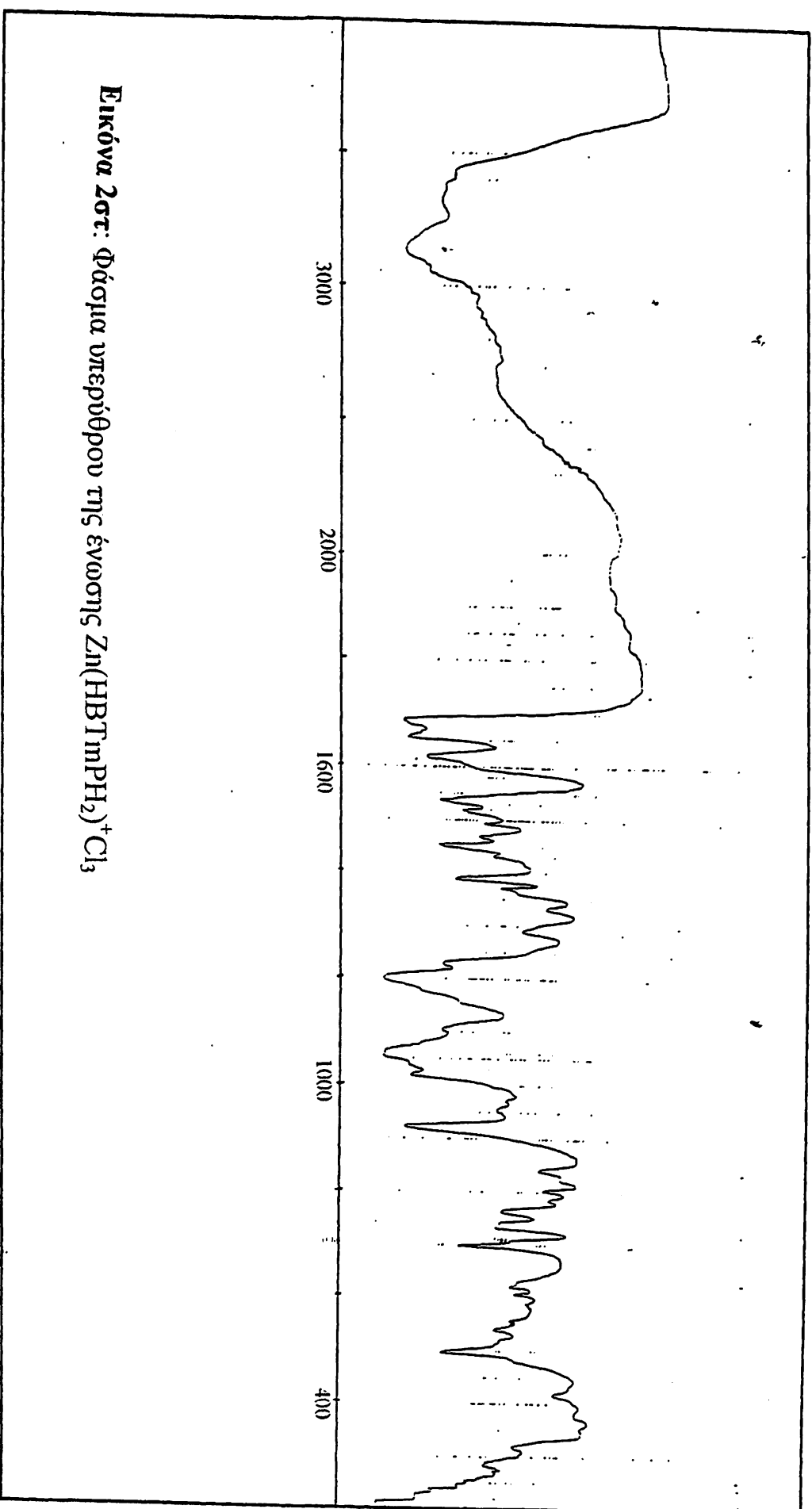
Εικόνα 2γ: Φάσμα υπέρυθρου του συμπλόκου $\text{Zn}(\text{HBTmPH})\text{Cl}_2$



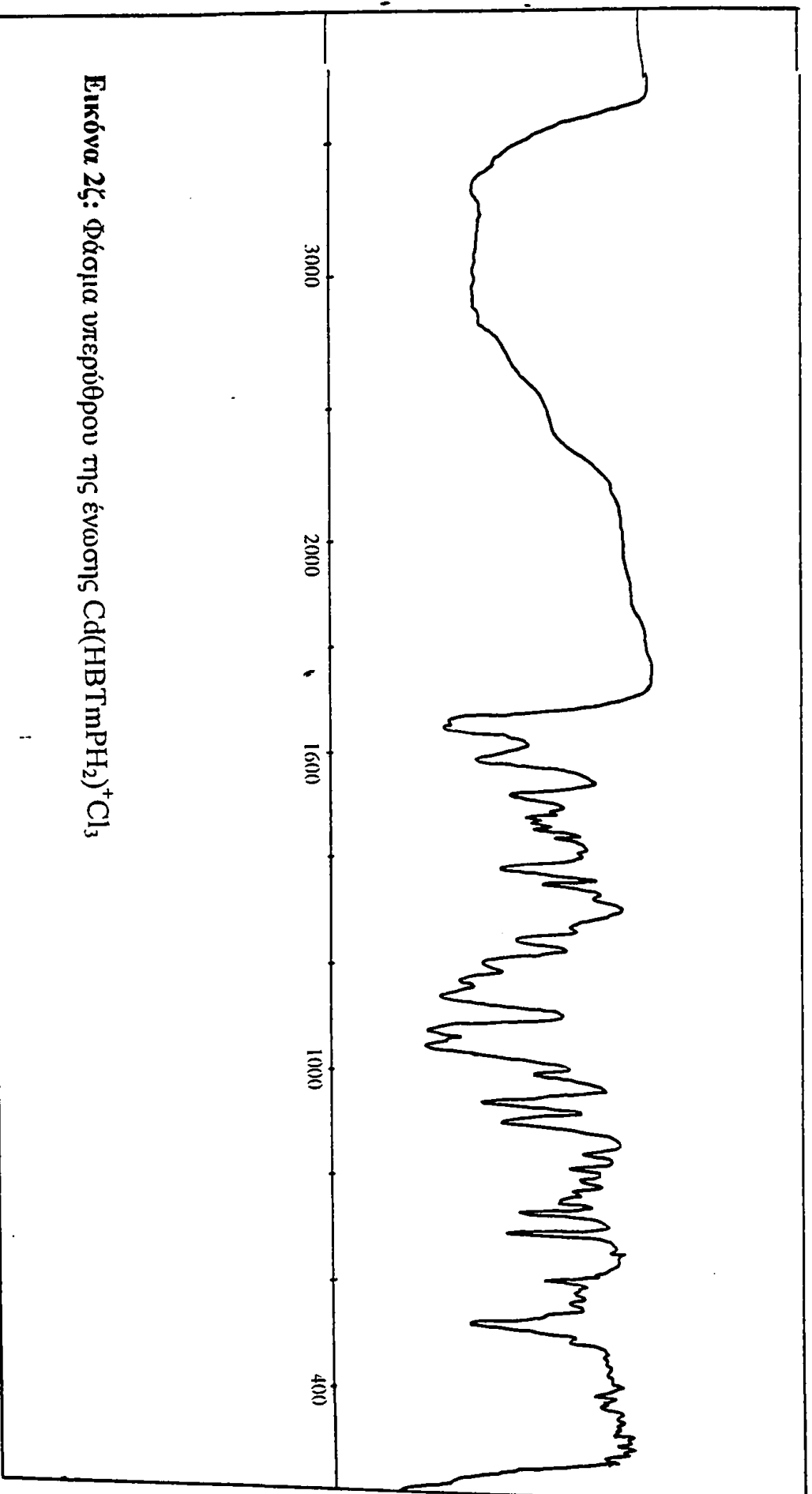
Εικόνα 2δ: Φάσμα υπέρυθρου του συμπλόκου $\text{Cd}(\text{HBTmPH})_9\text{Cl}_2$



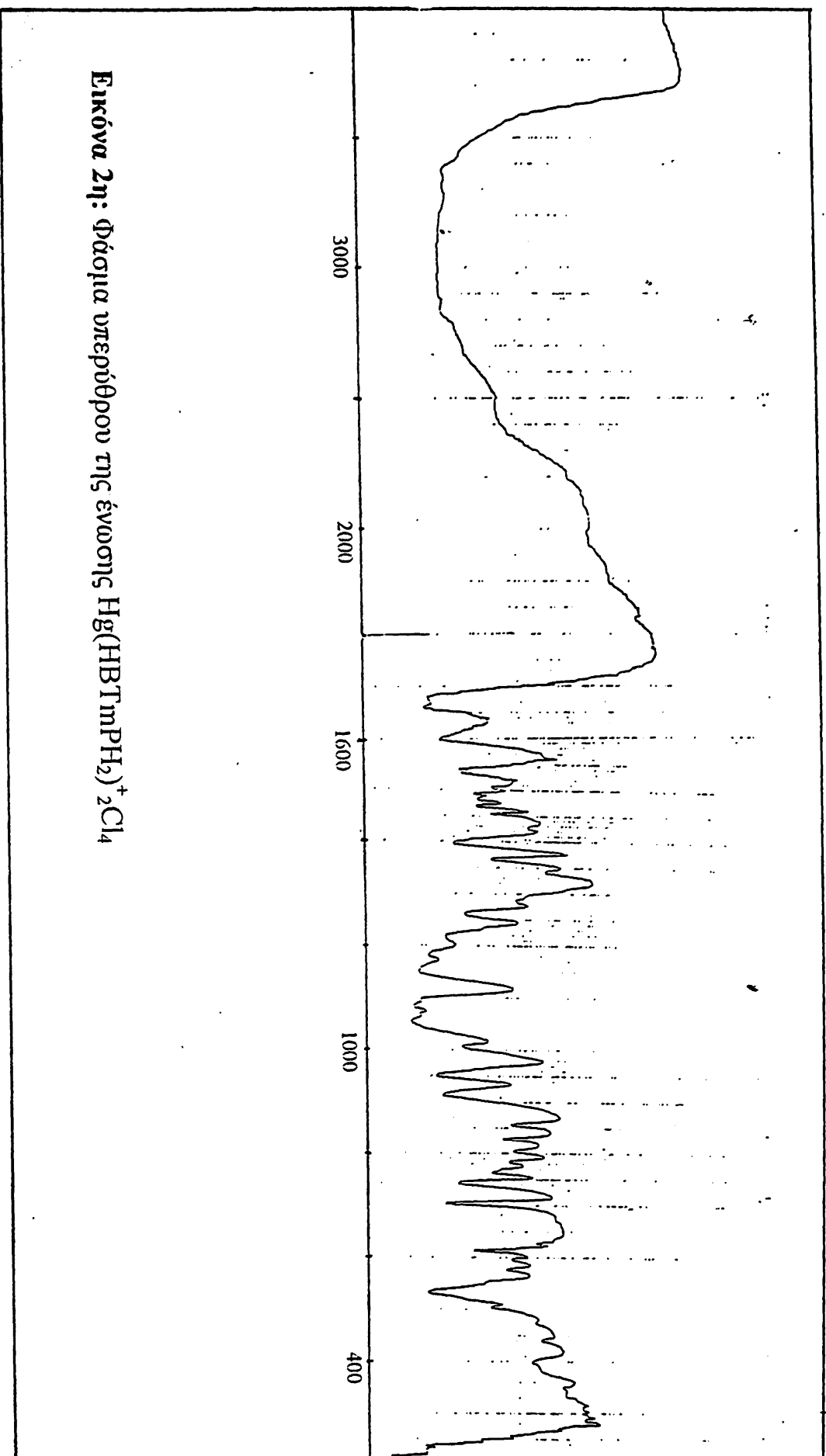
Εικόνα 2ε: Φάσμα υπέρυθρου του συμπλόκου $\text{Hg}(\text{HBTmPH})_2\text{Cl}_2$

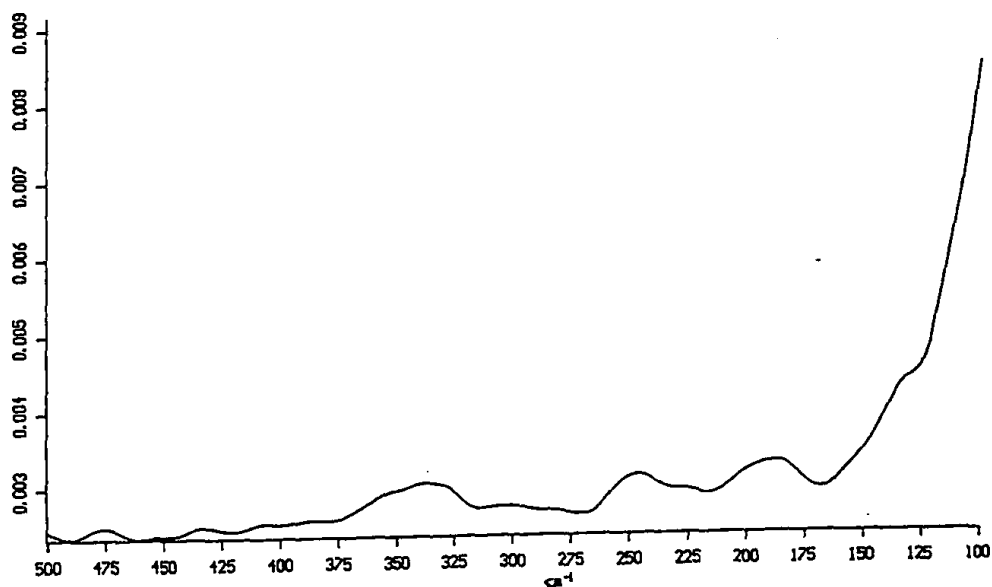
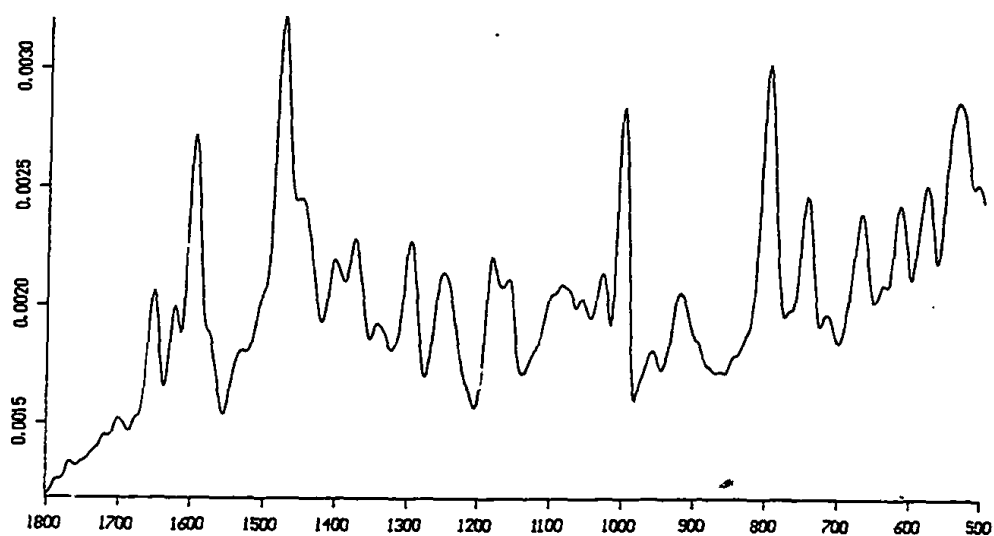
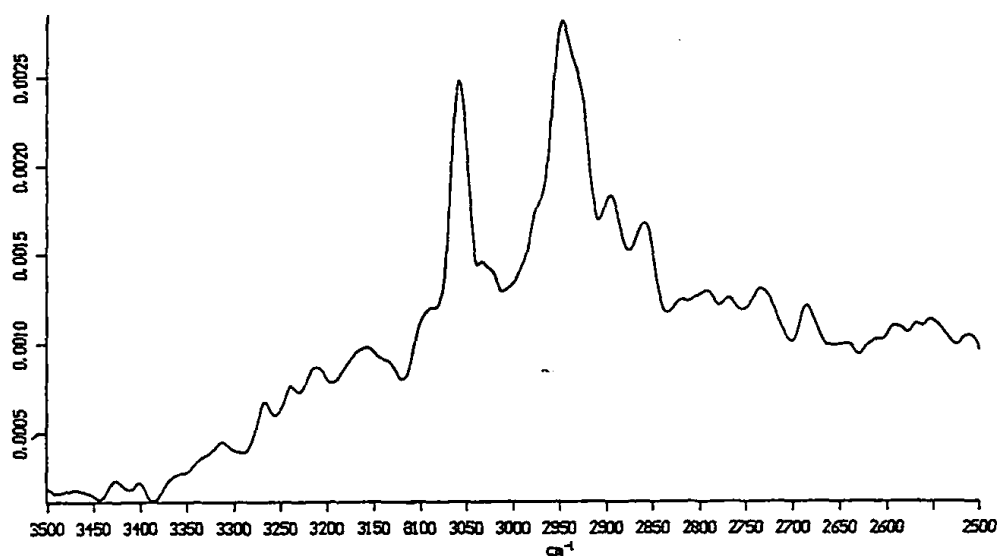


Εικόνα 2στ: Φάσμα υπέρυθρου της ένωσης $\text{Zn}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$



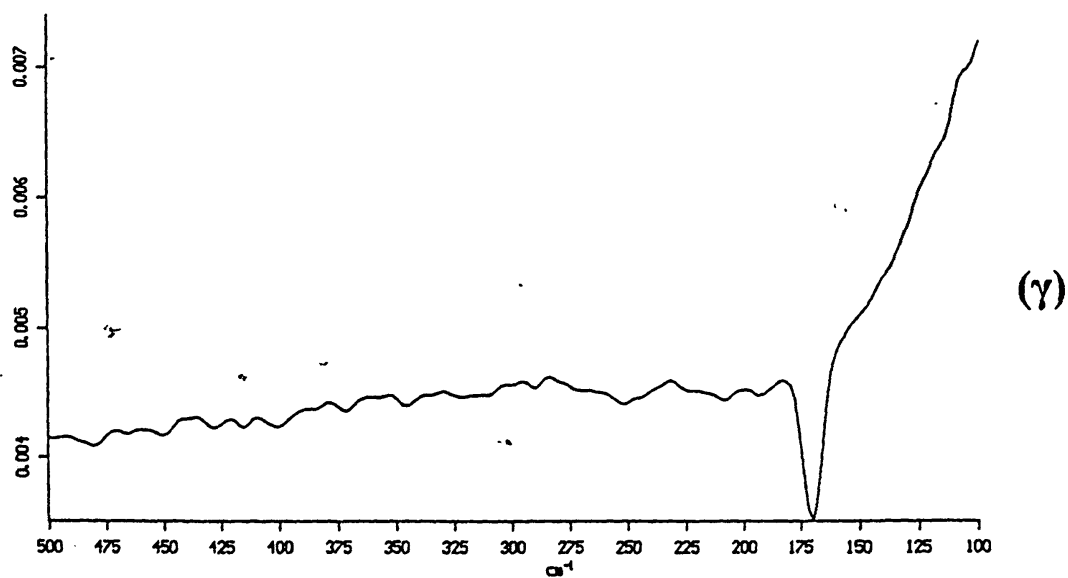
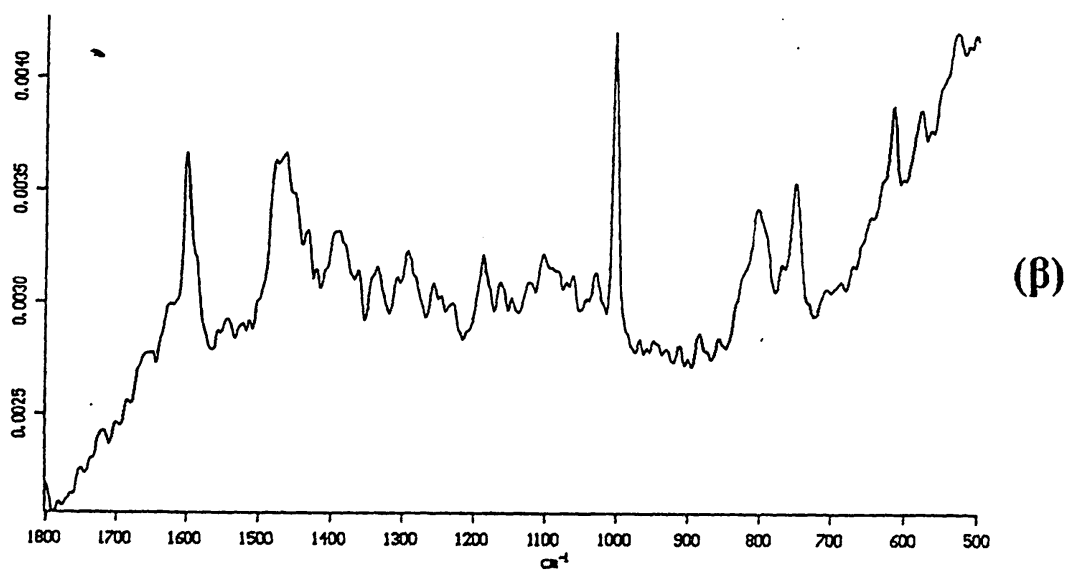
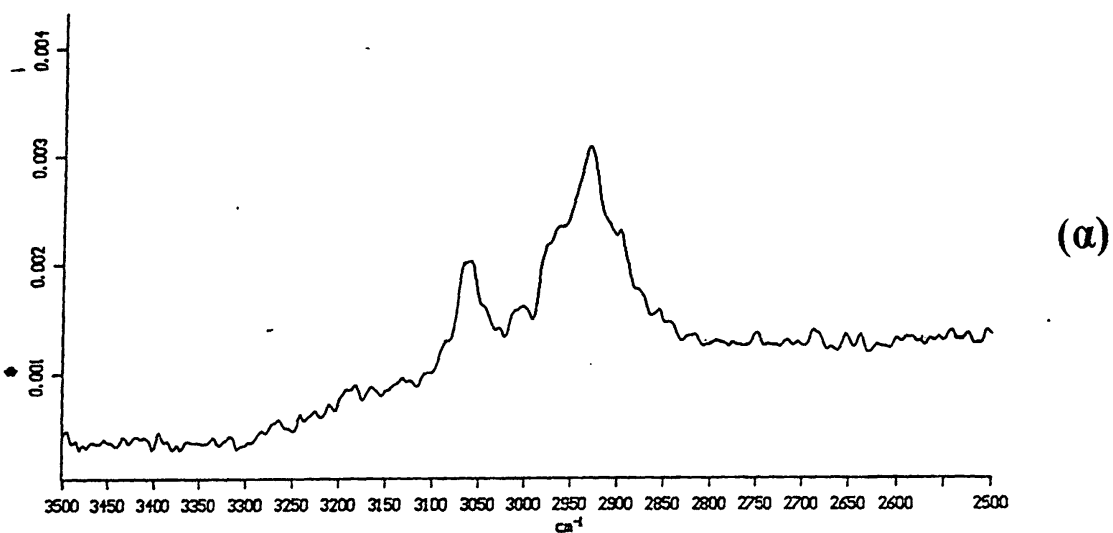
Εικόνα 2ζ: Φάσμα υπέρυθρου της ένωσης $\text{Cd}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$



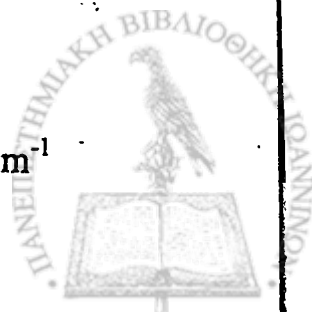


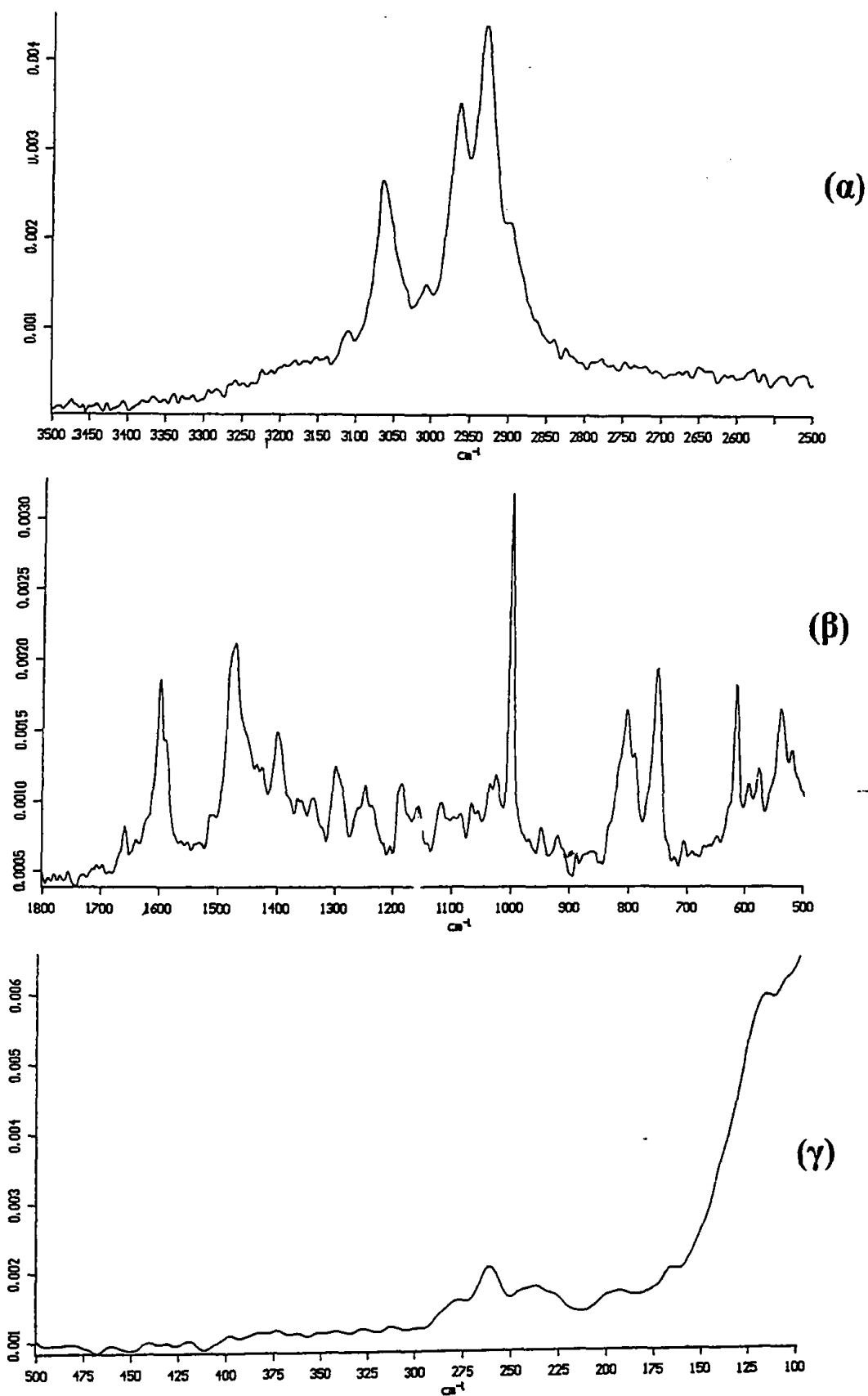
Εικόνα 3α: Φάσμα Raman του υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH}_2)^+ \text{Cl}^-$
 (α). από $3500\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$ (β). από $1800\text{-}500\text{ cm}^{-1}$ (γ) από $500\text{-}100\text{ cm}^{-1}$



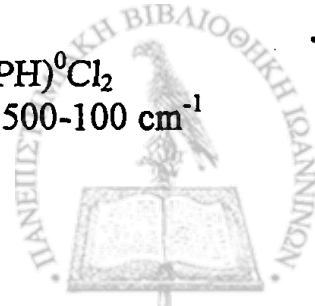


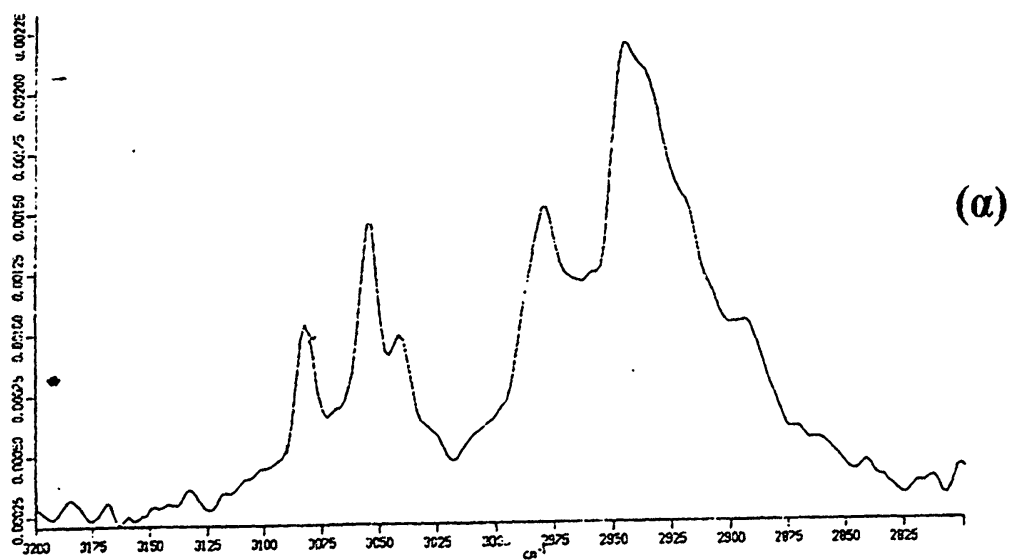
Εικόνα 3β: : Φάσμα Raman του συμπλόκου $\text{Zn(HBTmPH)}^0\text{Cl}_2$
 (α). από 3500-2500 cm^{-1} (β). από 1800-500 cm^{-1} (γ) από 500-100 cm^{-1}



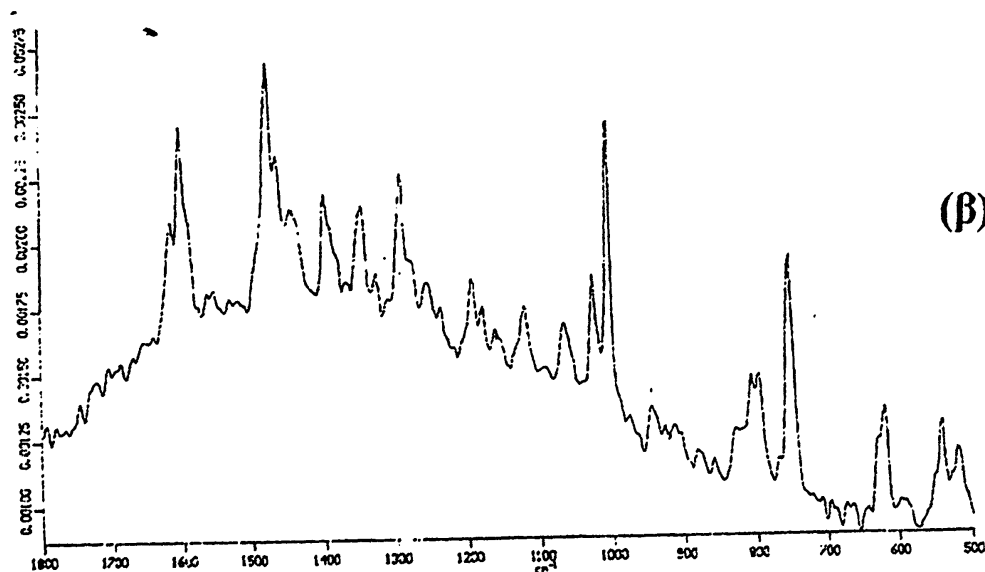


Εικόνα 3γ: : Φάσμα Raman του συμπλόκου $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^0\text{Cl}_2$
 (α). από $3500\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$ (β). από $1800\text{-}500\text{ cm}^{-1}$ (γ) από $500\text{-}100\text{ cm}^{-1}$

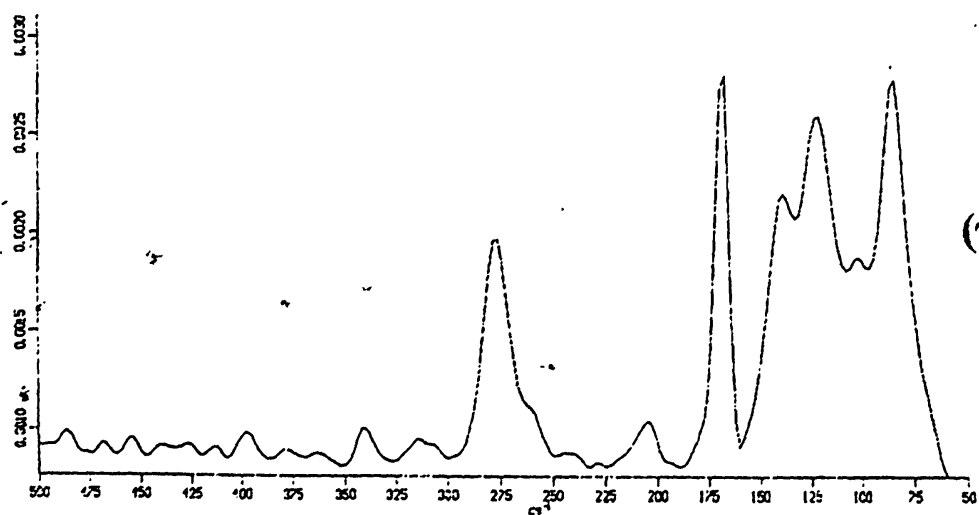




(α)



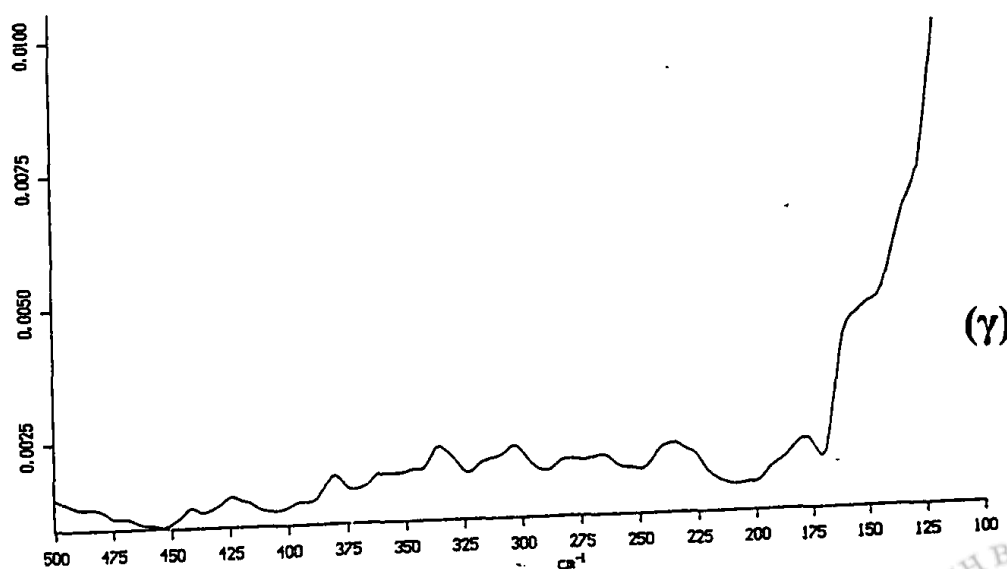
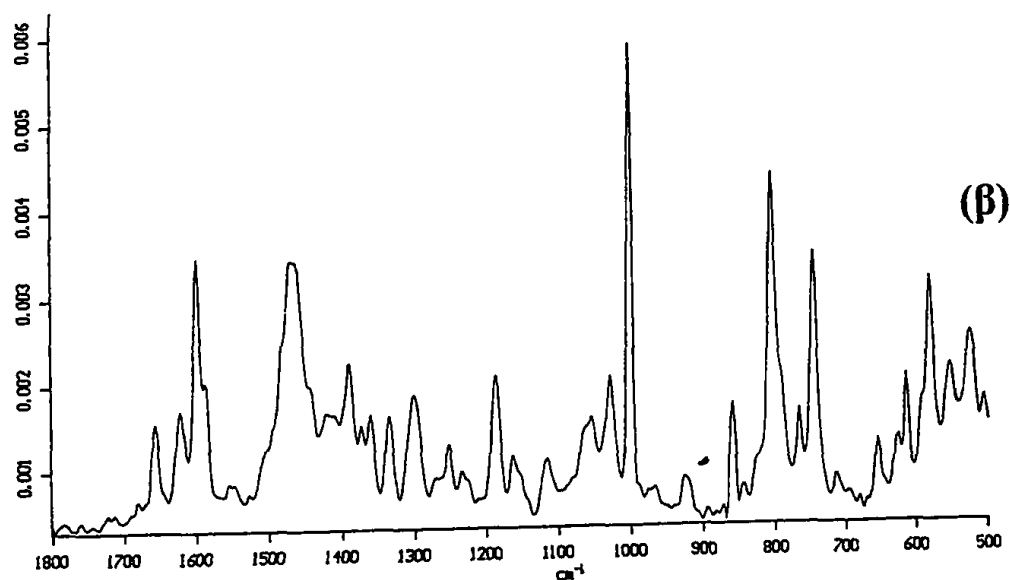
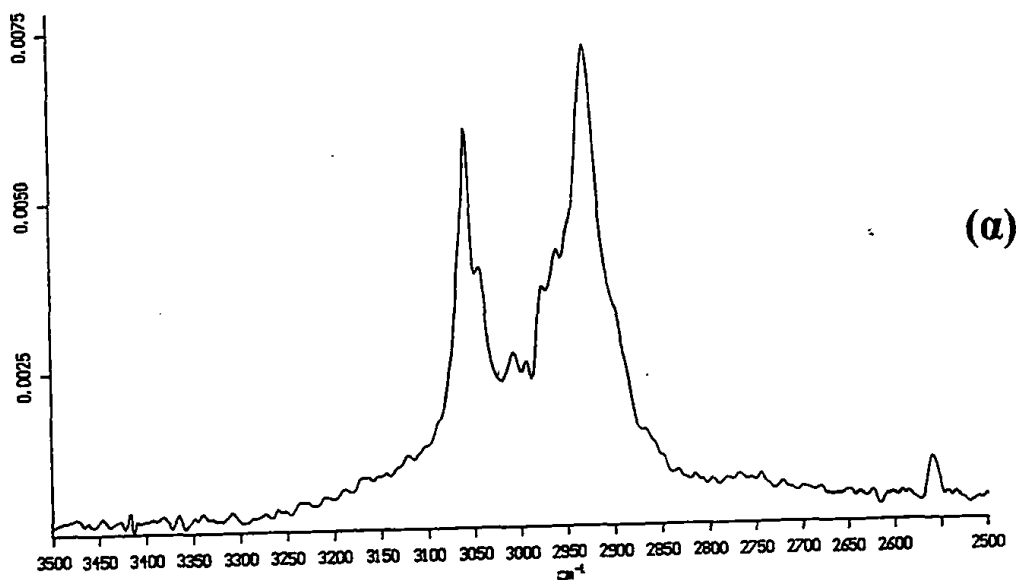
(β)



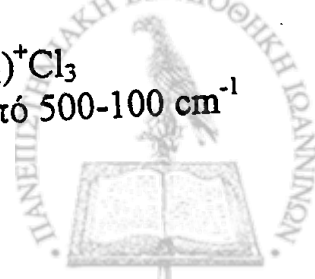
(γ)

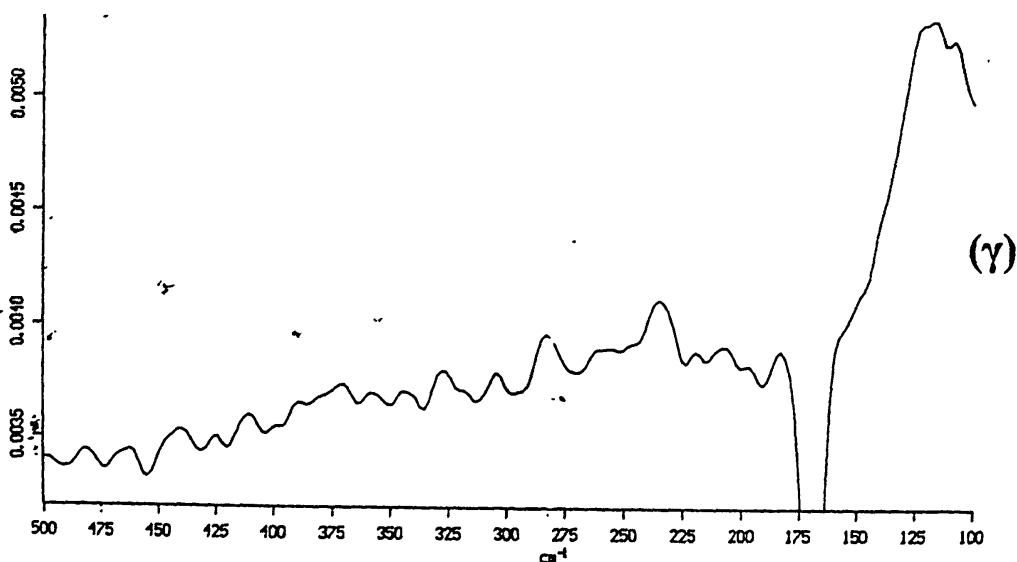
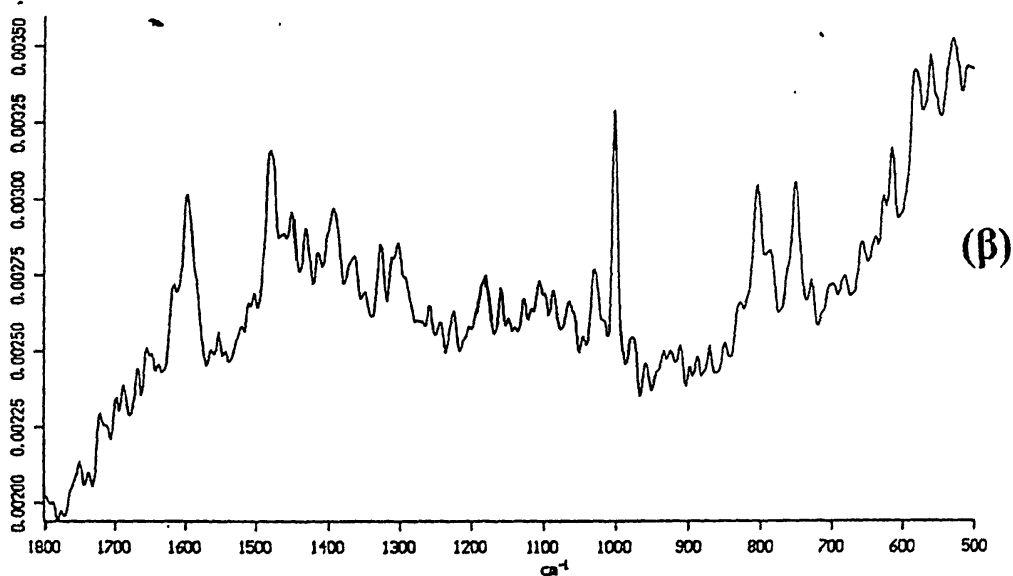
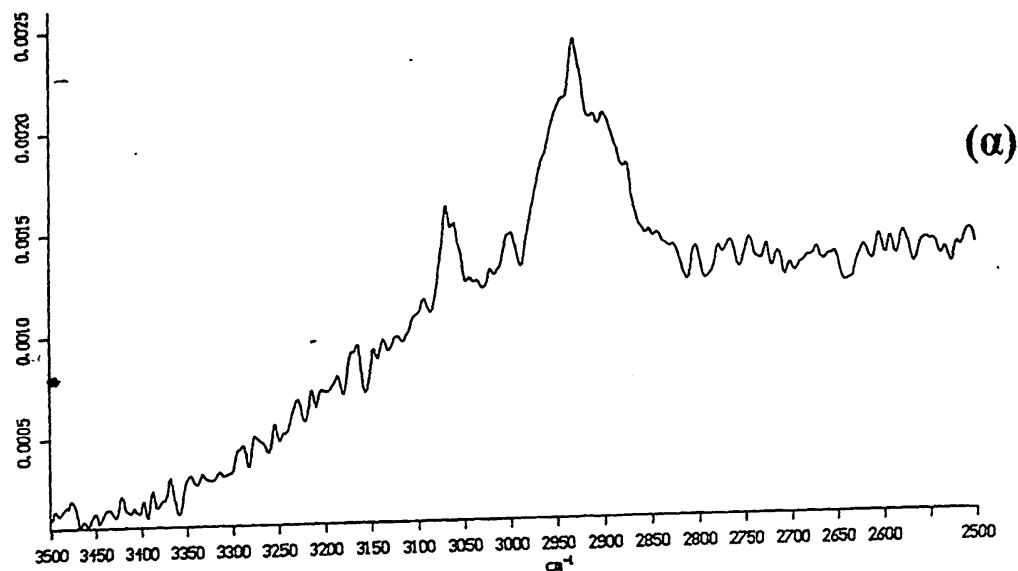
Εικόνα 3δ: : Φάσμα Raman του συμπλόκου $\text{Hg}(\text{HBTmPH})_2\text{Cl}_2$
 (α): από 3200-2800 cm^{-1} (β). από 1800-500 cm^{-1} (γ) από 500-50 cm^{-1}



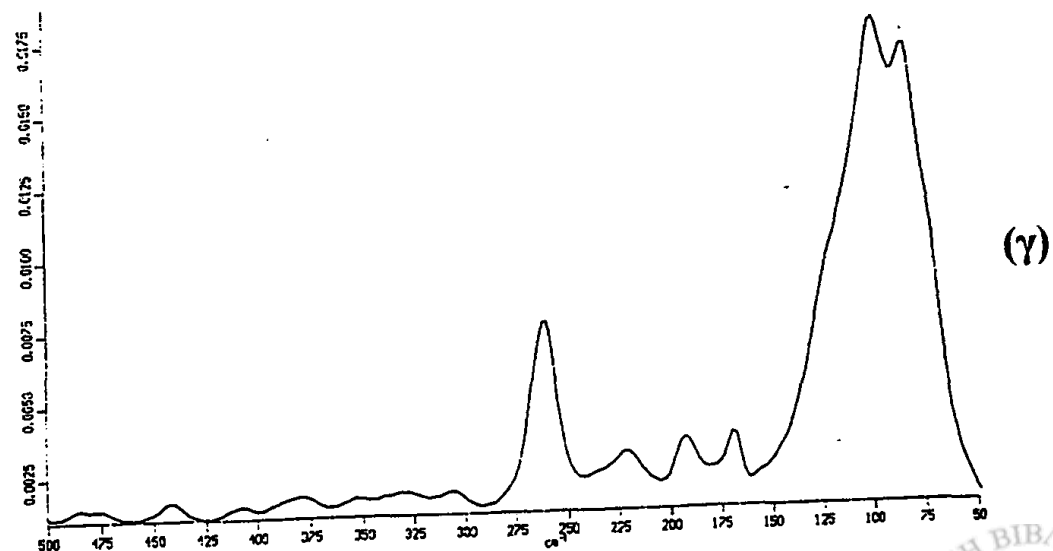
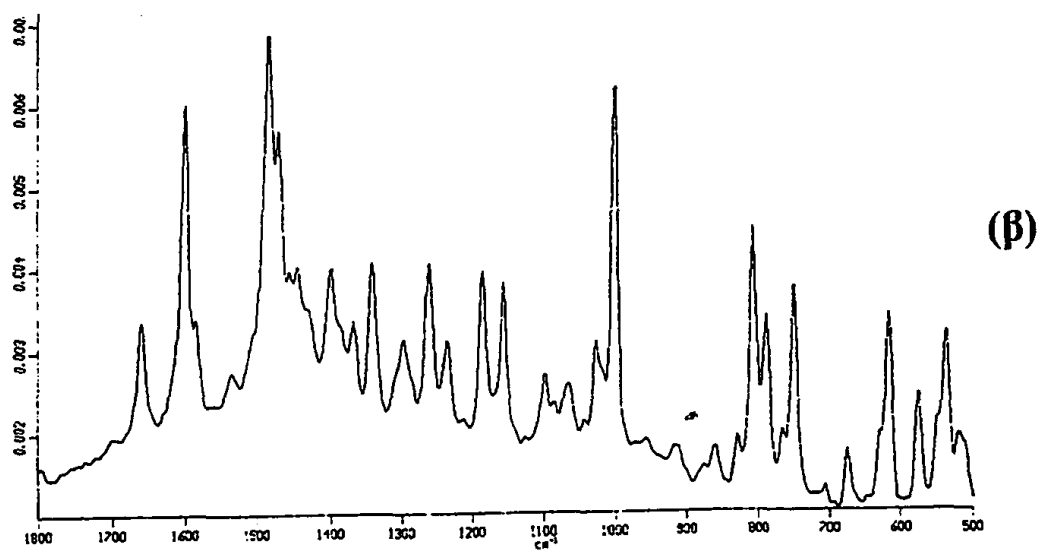
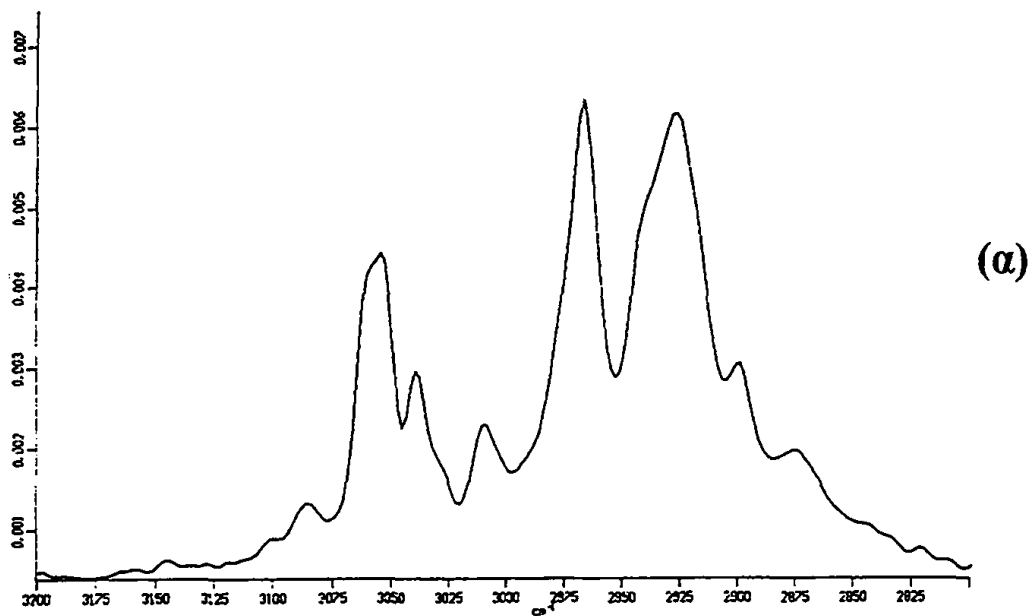


Εικόνα 3ε: Φάσμα Raman της ένωσης $\text{Zn}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$
 (α). από 3500-2500 cm^{-1} (β). από 1800-500 cm^{-1} (γ) από 500-100 cm^{-1}

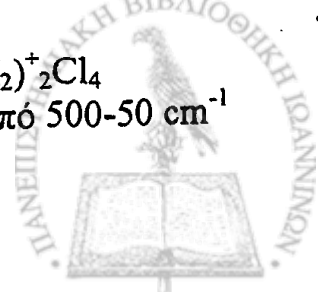




Εικόνα 3στ: Φάσμα Raman της ένωσης $\text{Cd}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$
 (α). από 3500-2500 cm^{-1} (β). από 1800-500 cm^{-1} (γ) από 500-100 cm^{-1}



Εικόνα 3ξ: Φάσμα Raman της ένωσης $\text{Hg}(\text{HBTmPH}_2)_2\text{Cl}_4$
 (α). από 3200-2800 cm^{-1} (β). από 1800-500 cm^{-1} (γ) από 500-50 cm^{-1}



1.4. ΦΑΣΜΑΤΑ NMR ΣΕ ΣΤΕΡΕΑ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ

(α). Εισαγωγή

Τα φάσματα NMR των υγρών ουσιών παρουσιάζουν οξείες φασματικές γραμμές, γιατί οι συζεύξεις διπόλου-διπόλου μεταξύ των spins κατά μέσο όρο είναι μηδενικές. Αυτό όμως δεν συμβαίνει στα στερεά γιατί κάθε spin δεν “βλέπει” μόνο το εξωτερικό μαγνητικό πεδίο, αλλά και τοπικά μαγνητικά πεδία. Το γεγονός αυτό είχε σαν αποτέλεσμα, να αυξάνεται το εύρος των γραμμών και στα φάσματα των στερεών ουσιών να παρουσιάζονται πλατιές γραμμές (28,29).

Βέβαια κατορθώθηκε η λήψη φασμάτων στερεών που παρουσίαζαν υψηλή διαχωριστική ικανότητα και πολύ λεπτές γραμμές (29) συνδυάζοντας τρεις τεχνικές: της διπολικής αποσύζευξης (dipolar decoupling), της “μαγικής γωνίας” (magic angle) και της διασταυρούμενης πόλωσης (cross-polarization).

Με την τεχνική της διπολικής αποσύζευξης, οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ πρωτονίων και ατόμων άνθρακα αποσυνδυάζονται, με αποτέλεσμα να εμφανίζεται μια απλή κορυφή για κάθε ανισοδύναμο μαγνητικά πυρήνα άνθρακα (30).

Με την τεχνική της “μαγικής γωνίας” αποφεύγεται το πλάτος των γραμμών που οφείλεται στην ανισοτροπία της χημικής μετατόπισης. Παρατηρήθηκε ότι η γρήγορη περιστροφή του στερεού και μάλιστα αν η ταχύτητα περιστροφής είναι αρκετά γρήγορη, προκαλεί στένεμα των ταινιών στο φάσμα NMR. Βρέθηκε μάλιστα ότι οι ταινίες γίνονται ακόμη πιο λεπτές όταν η γωνία θ (η γωνία μεταξύ του εφαρμοζόμενου εξωτερικού μαγνητικού πεδίου και του άξονα περιστροφής του δείγματος) γίνει $54^\circ 44'$. Αυτή η γωνία $\theta=54^\circ 44'$ ονομάζεται “μαγική γωνία” (29,30).

Μετά τη λήψη του σήματος, χρειάζεται μεγάλος χρόνος αναμονής ώστε η μαγνήτιση να επανέλθει σύμφωνα με την κατανομή Boltzman και έτσι η λήψη του φάσματος γίνεται δύσκολη. Η τεχνική της διασταυρούμενης πόλωσης επιτρέπει γρήγορη ανακύκλωση και αύξηση του σήματος π.χ. του άνθρακα-13 με την εφαρμογή κατάλληλων ραδιο-παλμών στις συχνότητες συντονισμού του άνθρακα και των πρωτονίων (29).



Έτσι τελικά με τον συνδυασμό των τριών αυτών τεχνικών παίρνουμε φάσματα στη στερεά κατάσταση με λεπτές γραμμές και καλή διαχωριστική ικανότητα όπως και στα διαλύματα.

(β). Φασματοσκοπία ^{13}C NMR σε στερεά κατάσταση

Τα φάσματα ^{13}C NMR των ουσιών στην στερεά φάση παρέχουν χρήσιμες δομικές πληροφορίες, οι οποίες σε διαφορετική περίπτωση, μπορούν να εξαχθούν μόνο με τον προσδιορισμό της δομής του μορίου με περίθλαση ακτίνων-Χ (29,31-33).

Ο πίνακας 4 δείχνει τις χημικές μετατοπίσεις ^{13}C CP/MAS που παρατηρήθηκαν για τον ελεύθερο υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH})^\circ$ σε $\text{pH}=5.5$, τον $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$ σε $\text{pH}=3.5$, των συμπλόκων $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$, $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$ και $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^\circ_2\text{Cl}_2$ και των ενώσεων $\text{Zn}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$, $\text{Cd}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$ και $\text{Hg}(\text{HBTmPH}_2)^+_2\text{Cl}_4$.

Η απόδοση των κορυφών των φασμάτων βασίστηκε σε βιβλιογραφικά δεδομένα καθώς και στα πειράματα διακοπτόμενης αποσύζευξης διασταυρούμενης πόλωσης (cross-polarization interrupted decoupling) στα οποία τα μεθιν- και μεθυλεν- άτομα άνθρακα δεν εμφανίζονται (29,34,35).

Επειδή οι ενώσεις μας είναι άμορφα υλικά, γειτονικές ^{13}C -NMR χημικές μετατοπίσεις, π.χ. $\text{C}(1'')$ - $\text{C}(5)$ και $\text{C}(4'')$ - $\text{C}(3'')$ - $\text{C}(2'')$ δεν μπορούν να αναλυθούν αλλά μάλλον παρουσιάζονται σαν ένα σήμα μέσου όρου. Έτσι η κορυφή του $\text{C}(1'')$ εμφανίζεται γύρω στα 139 ppm και του $\text{C}(5)$ γύρω στα 135 ppm στα φάσματα του υποκαταστάτη και των συμπλόκων $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$, $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^\circ_2\text{Cl}_2$, $\text{Zn}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$ και $\text{Hg}(\text{HBTmPH}_2)^+_2\text{Cl}_4$, αλλά στο φάσμα του $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$ οι χημικές μετατοπίσεις των $\text{C}(1'')$ και $\text{C}(5)$ παρουσιάζονται σαν ένα σήμα με μέσο όρο στα 137 ppm. Οι χημικές μετατοπίσεις των $\text{C}(4'')$ - $\text{C}(3'')$ - $\text{C}(2'')$ παρουσιάζονται στα 130 ppm περίπου, τότε σαν ένα σήμα μέσου όρου (π.χ. στα φάσματα των $(\text{HBTmPH})^\circ$, $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$, $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^\circ_2\text{Cl}_2$, $\text{Zn}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$ και $\text{Hg}(\text{HBTmPH}_2)^+_2\text{Cl}_4$) και τότε σαν τρεις κορυφές οι οποίες είναι πολύ κοντά μεταξύ τους (π.χ. στα φάσματα των $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$, $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$ και $\text{Cd}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$).



Υπενθυμίζουμε ότι ο υποκαταστάτης σε $\text{pH}=3.5$ $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$ είναι πρωτονιωμένος στο $\text{N}(1')$ ενώ αυτός σε $\text{pH}=5.5$ $(\text{HBTmPH})^\circ$ είναι αποπρωτονιωμένος. Έτσι στα φάσματα ^{13}C CP/MAS τα άτομα άνθρακα δίπλα στο $\text{N}(1')$ του $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$ π.χ. οι $\text{C}(2')$ και $\text{C}(6')$ εμφανίζονται στα 163.1 και 138.9 ppm αντίστοιχα, ενώ αυτά του $(\text{HBTmPH})^\circ$ εμφανίζονται μετατοπισμένα σε χαμηλότερα πεδία κατά 2.8 και 6.7 ppm αντίστοιχα. Για τα σύμπλοκα $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$, $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$ και $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^\circ_2\text{Cl}_2$, ο $\text{C}(2')$ μετατοπίζεται σε χαμηλότερα πεδία κατά 1.4, 0.4 και 1.2 ppm αντίστοιχα συγκρινόμενος με αυτόν του ελεύθερου υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH})^\circ$. Επίσης ο $\text{C}(6')$ εμφανίζεται και αυτός μετατοπισμένος σε χαμηλότερα πεδία κατά 1.7, -2.0 και 2.2 ppm αντίστοιχα. Ακόμη, η κορυφή του $2'\text{-CH}_3$ κατά την συμπλοκοποίηση μετατοπίστηκε κατά 3.3, 2.4 και 2.0 ppm αντίστοιχα προς χαμηλότερα πεδία σε σύγκριση με αυτή του υποκαταστάτη. Οι μετατοπίσεις αυτές αποτελούν μια σημαντική ένδειξη πως τα μέταλλα συνδέονται άμεσα με το $\text{N}(1')$ της πυριμιδίνης.

Από την άλλη μεριά η μελέτη των αντίστοιχων φασμάτων για τις ενώσεις $\text{Zn}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$, $\text{Cd}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$, $\text{Hg}(\text{HBTmPH}_2)^+_2\text{Cl}_4$ και η σύγκρισή τους με τον πρωτονιωμένο υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$ δείχνει ότι δεν έχουμε ένταξη μέσω του $\text{N}(1')$ γιατί δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μετατοπίσεις στους άνθρακες που βρίσκονται κοντά σ' αυτό. Άλλωστε σε $\text{pH}=3.5$ που παρασκευάστηκαν οι παραπάνω ενώσεις, αυτή η θέση είναι πρωτονιωμένη.

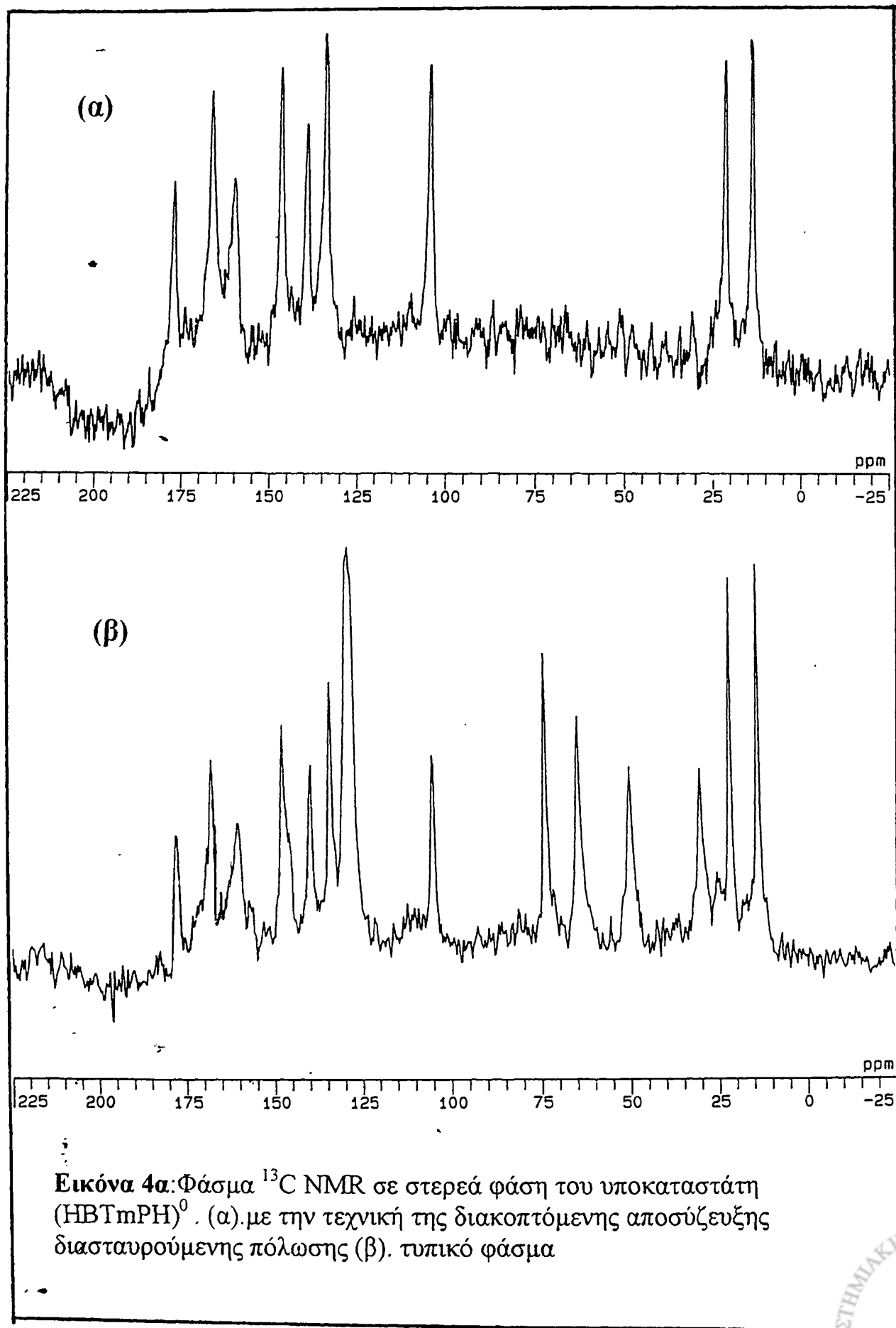
Επίσης πρέπει να αναφέρουμε ότι η χημική μετατόπιση του $\text{C}(3,5')$ στον πρωτονιωμένο υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$, εμφανίζεται στα 48.4 ppm, ενώ στον υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH})^\circ$ σε $\text{pH}=5.5$ στα 50.3 ppm και στα σύμπλοκα σε ενδιάμεσες τιμές. Παρόμοια συμπεριφορά παρουσιάζει η χημική μετατόπιση του $\text{C}(2\alpha)$ στους υποκαταστάτες και τα σύμπλοκα εμφανιζόμενη από τα 73.8 έως τα 71.3 ppm. Όσον αφορά τη χημική μετατόπιση ^{13}C του 4-CH_3 παρουσιάζεται στα 14.3 ppm στον $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$, στα 13.9 ppm στον $(\text{HBTmPH})^\circ$ και από 13.2 έως 11.9 ppm στα σύμπλοκα.

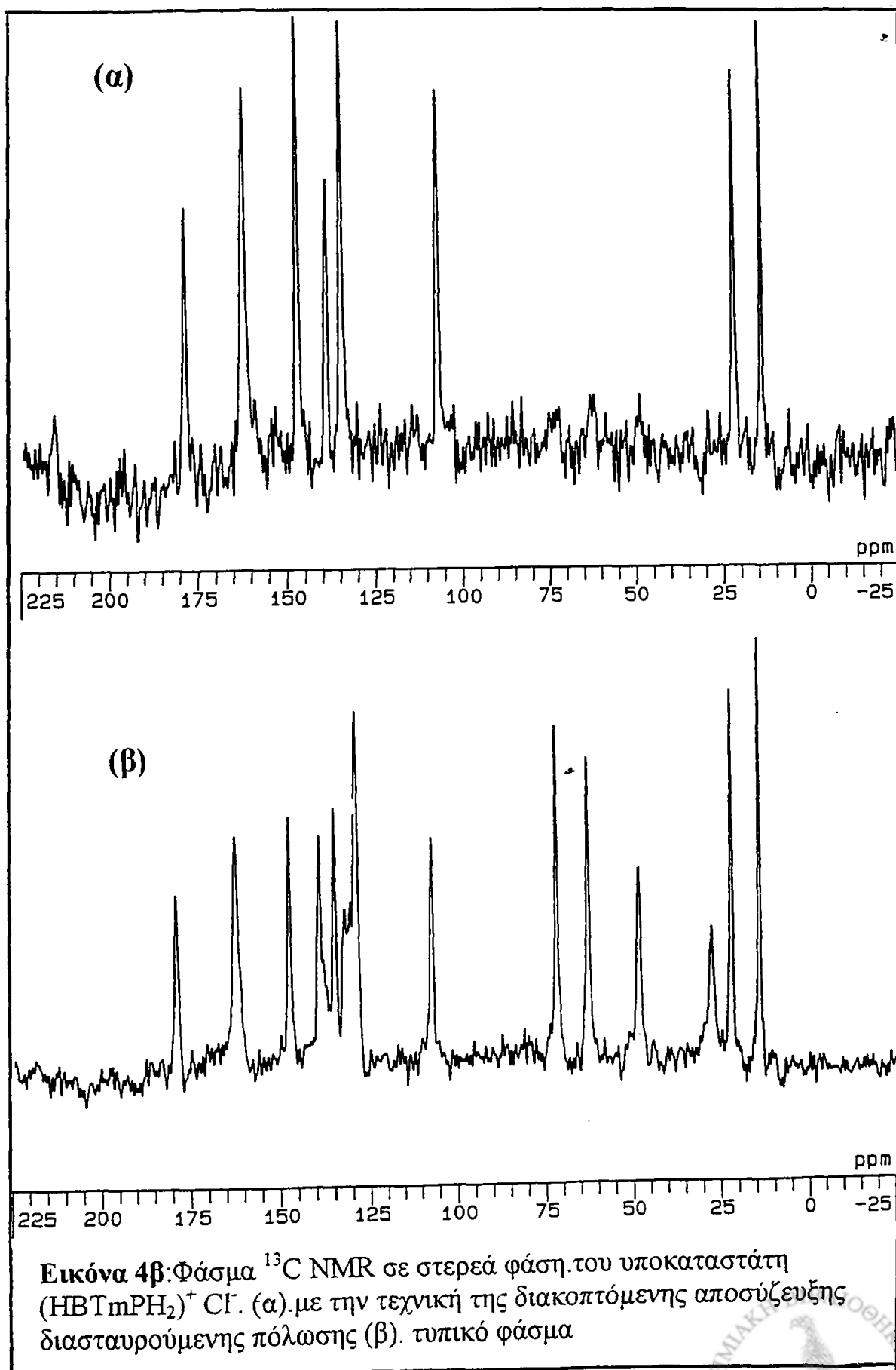
Αναλυτική απόδοση όλων των ατόμων άνθρακα υποκαταστατών και συμπλόκων φαίνονται στον πίνακα 4 ενώ τα φάσματά τους, κανονικά και διακοπτόμενης αποσύζευξης στις εικόνες 4α έως 4η.

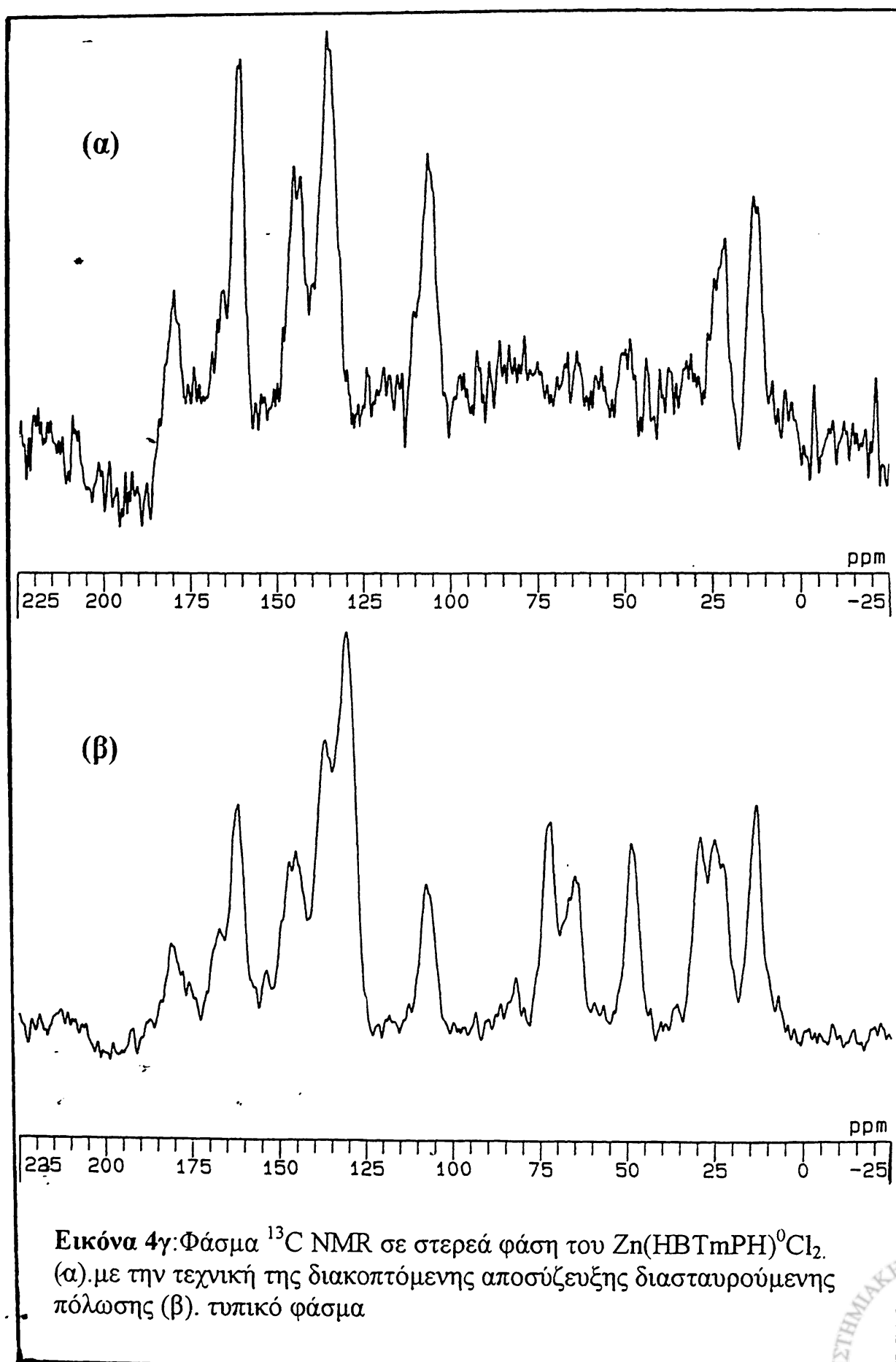


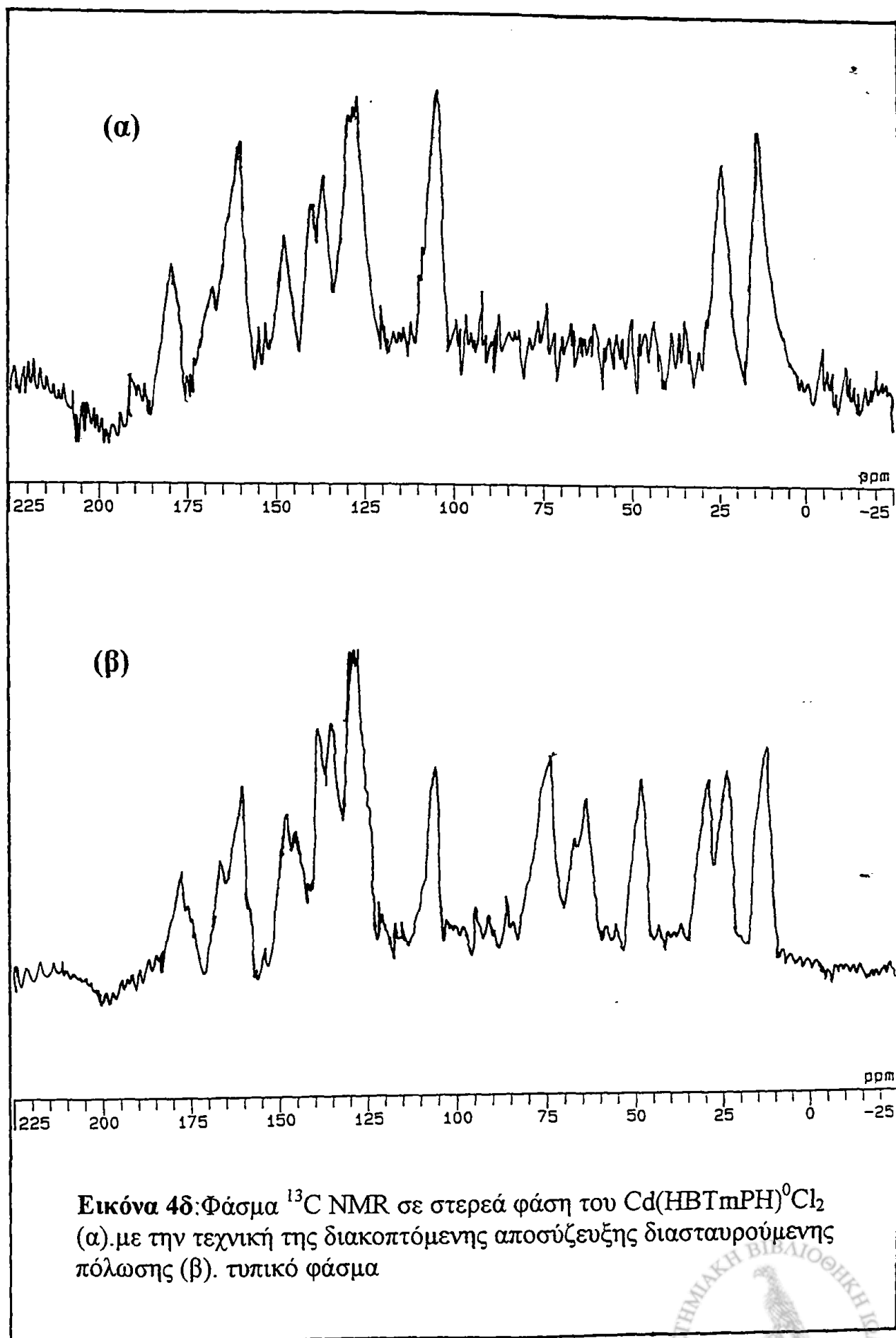
Πίνακας 4: Φασματοσκοπικά δεδομένα ^{13}C CP/MAS NMR υποκαταστατών παραγώγου μονοφωσφορικής θειαμίνης και συμπλόκων τους.

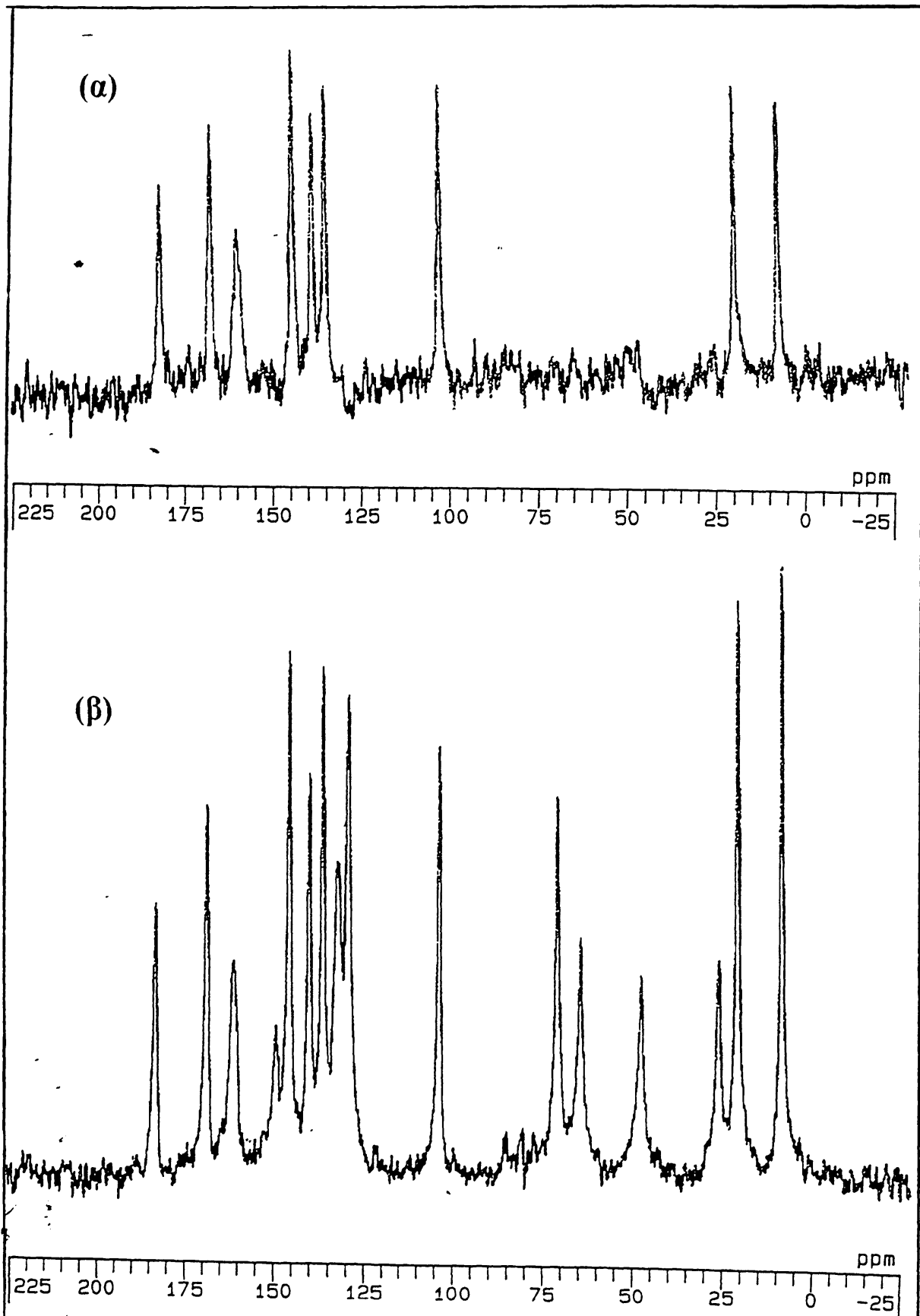
	HBTmPH ^o pH=6.0	(HBTmPH ₂) ⁺ Cl ⁻ pH=3.5	Zn(HBTmPH) ^o Cl ₂	Cd(HBTmPH) ^o Cl ₂	Hg(HBTmPH) ^o ₂ Cl ₂	Zn(HBTmPH ₂) ⁺ Cl ₃	Cd(HBTmPH ₂) ⁺ Cl ₃	Hg(HBTmPH ₂) ⁺ ₂ Cl ₄
C ₂	177.7	178.6	180.6	176.6	181.3	182.3		178.7
C _{2'}	165.9	163.1	167.3	166.3	167.1	164.4	164.1	162.5
C _{4'}	160.4	163.1	162.1	160.9	159.7	162.1	161.4	162.5
C _{6'}	145.6	138.9	147.3	143.6	147.8	141.5		
C ₄	147.2	147.2	145.3	146.9	144.5	146.4	147.6	143.1
C _{1''}	139.5	138.9	136.9	138.1	139.0	138.0	139.5	139.0
C ₅	134.3	134.9		135.3	135.4	134.7		135.1
C _{4''}	128.6	132.4	130.5	130.3	131.6	130.5	130.3	130.5
C _{3''}	128.6	130.5	130.5	129.1	128.5	130.5	129.3	130.5
C _{2''}	128.6	128.9	130.5	127.9	128.5	129.0	127.4	128.8
C _{5'}	104.9	107.1	107.1	106.2	103.9	108.0	108.6	107.2
C _{2a}	73.8	71.8	72.5	73.2	72.2	72.7	71.3	73.3
C _{5b}	64.6	63.0	65.0	63.6	65.9	67.0	64.3	66.3
C _{3,5'}	50.3	48.4	48.6	48.3	49.6	49.4	49.6	47.6
C _{5a}	30.4	27.7	29.2	29.4	28.4	29.4	29.1	29.3
2'CH ₃	21.7	22.0	25.0	24.1	23.7	21.9	22.5	24.2
4CH ₃	13.9	14.3	13.2	13.4	11.9	12.9	14.0	14.0





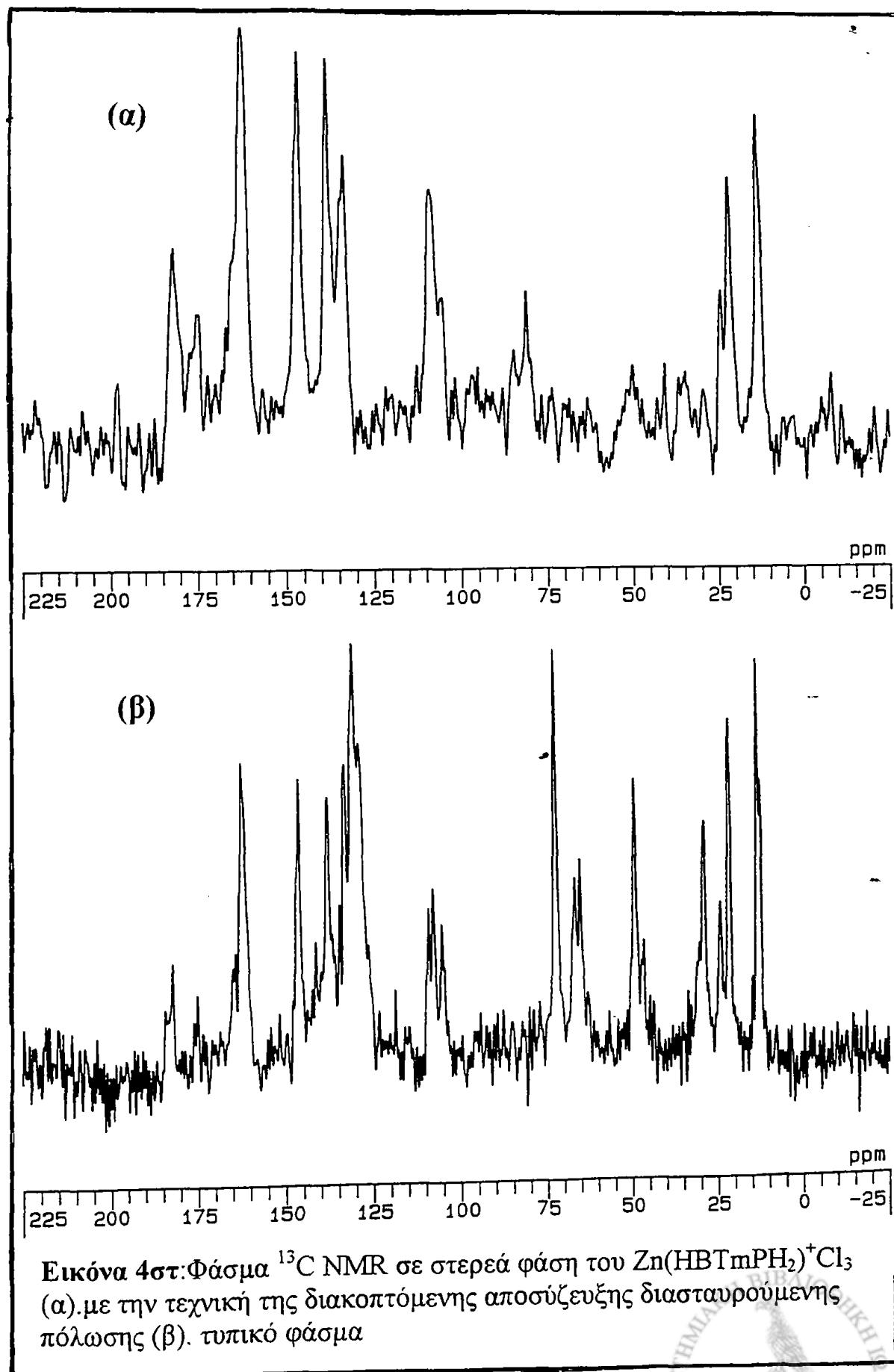


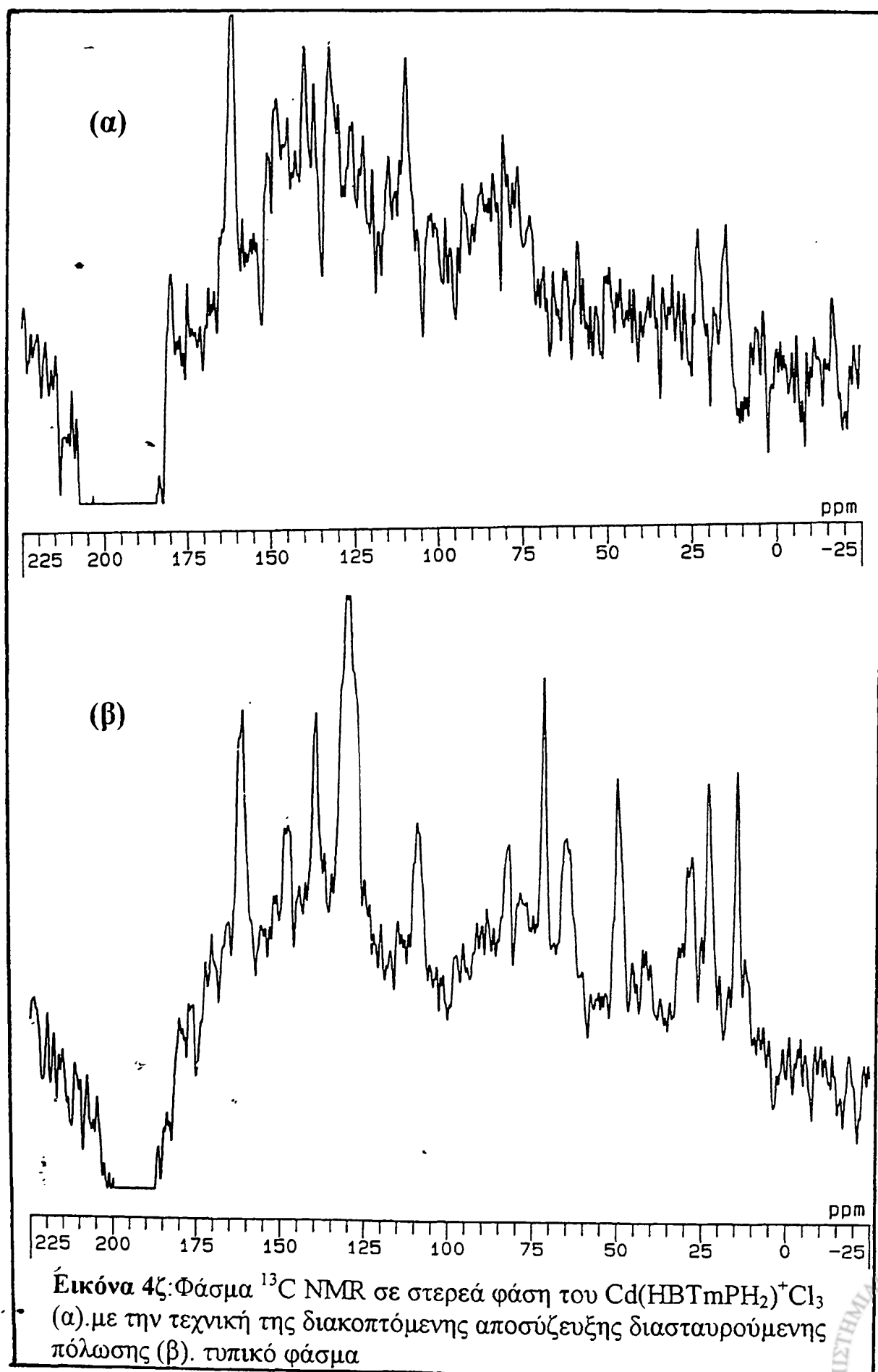


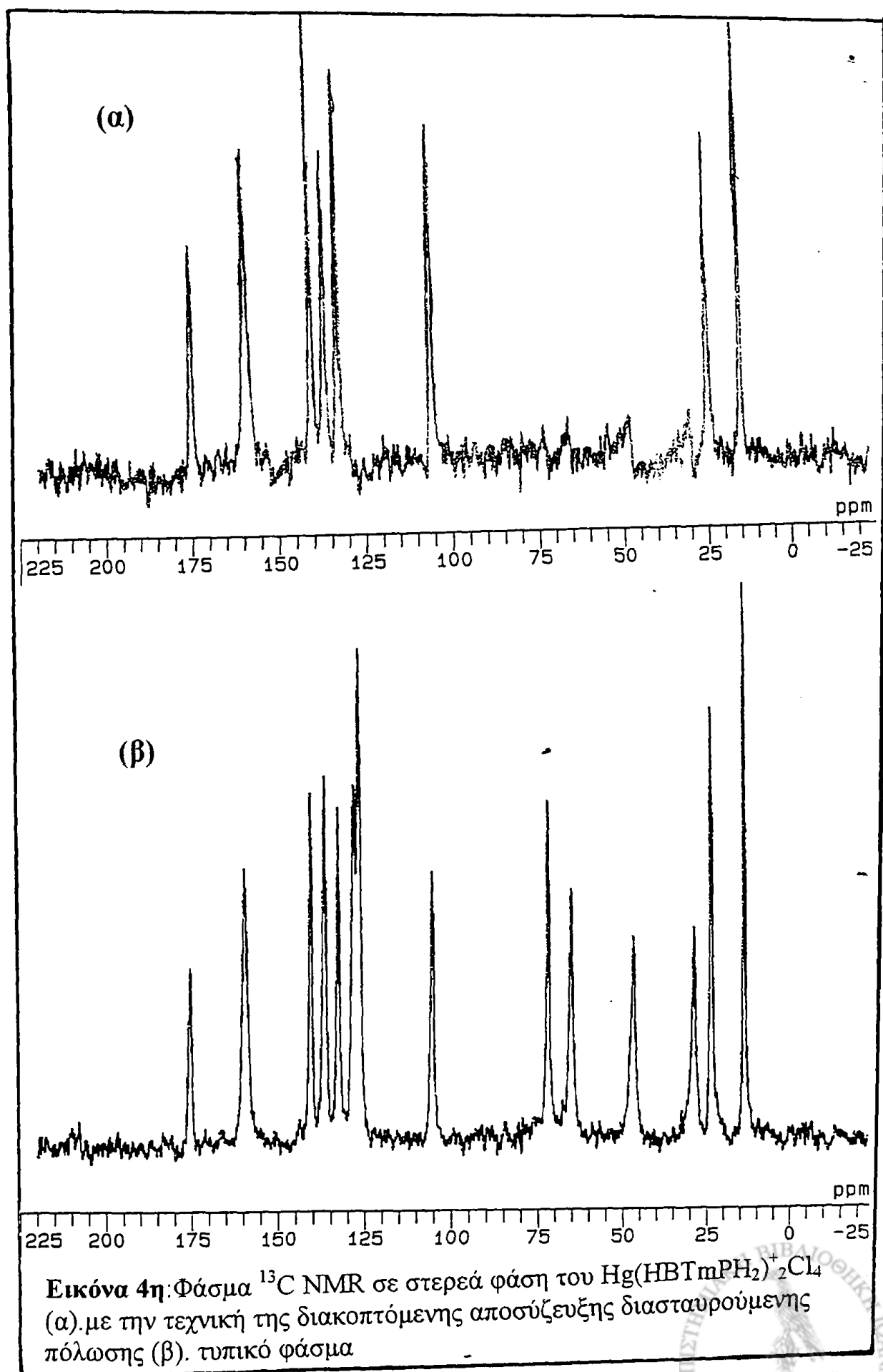


Εικόνα 4ε: Φάσμα ^{13}C NMR σε στερεά φάση του $\text{Hg}(\text{HBTmPH})_2\text{Cl}_2$ (α) με την τεχνική της διακοπτόμενης αποσύζευξης διασταυρούμενης πόλωσης (β). τυπικό φάσμα









(γ). ^{31}P NMR φασματοσκοπία σε στερεά κατάσταση

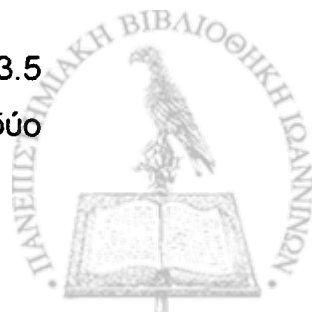
Τυπικά φάσματα ^{31}P NMR στερεάς κατάστασης βασιζόμενα σε πειράματα όπου γίνεται περιστροφή του στερεού δείγματος υπό "μαγική γωνία" (magic-angle spinning MAS) και χρήση της διασταυρούμενης πόλωσης (cross polarisation, CP) (36) τόσο του ελεύθερου υποκαταστάτη όσο και των συμπλόκων του με Zn(II) και Cd(II) παρουσιάζονται στην εικόνα 5α.

• Οι εντάσεις των παράπλευρων απορροφήσεων, αναλύθηκαν με τη μέθοδο των Herzfeld και Berger (37) ώστε να υπολογιστούν οι τιμές των συνιστωσών δ_{11} , δ_{22} , δ_{33} του τανυστή χημικής μετατόπισης. Τα αποτελέσματα έχουν συγκεντρωθεί στον πίνακα 5.

Οι μη συμπλοκοποιημένοι υποκαταστάτες $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$ και $(\text{HBTmPH})^0$ που παρασκευάστηκαν σε $\text{pH}=3.5$ και $\text{pH}=5.5$ αντίστοιχα δίνουν περίπου τις ίδιες ανισοτροπικές παραμέτρους. Οι ανισοτροπίες που παρατηρήθηκαν (μεγάλες θετικές $\Delta\sigma$ τιμές) είναι χαρακτηριστικές για μονοανιονικά φωσφορικά περιβάλλοντα (38-40). Για παράδειγμα, η μονοανιονική μορφή της 2'-φωσφορικής ομάδας του NADPH έχει ανισοτροπικές παραμέτρους $\Delta\sigma=130$ ppm και $\eta=0.56$ (40). Αυτό συμφωνεί με το μήκος δεσμού P-O που παρατηρήθηκε στην κρυσταλλική δομή του $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ που συζητήσαμε στο αντίστοιχο κεφάλαιο.

Όσον αφορά το φάσμα του $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^0\text{Cl}_2$, παρατηρήθηκε σ' αυτό μια απλή κορυφή, αρκετά φαρδιά. Επίσης ενώ οι ισοτροπικές χημικές μετατοπίσεις είναι όμοιες με αυτές που παρατηρήθηκαν για το μη συμπλοκοποιημένο υποκαταστάτη, οι ανισοτροπικές παράμετροι είναι πολύ διαφορετικές. Αυτό υποδεικνύει διαφορά στην ηλεκτρονιακή μετατόπιση του πυρήνα ^{31}P και αλλαγή στο τοπικό περιβάλλον του φωσφόρου. Οι αρνητικές τιμές των $\Delta\sigma$ και κ φανερώνουν ότι η φωσφορική ομάδα είναι διανιονική (38;40). Όμως η τιμή του η , είναι μάλλον υψηλότερη απ' ότι αναμενόταν για μία διανιονική φωσφορική ομάδα. Έτσι πιστεύουμε ότι οι συνιστώσες του τανυστή της χημικής μετατόπισης υποδεικνύουν καθαρά απ' ευθείας σύνδεση του μετάλλου με την φωσφορική ομάδα.

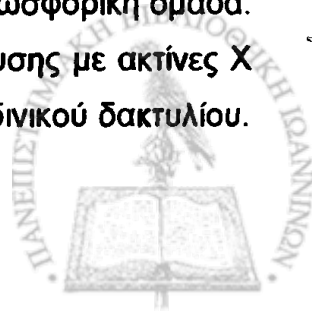
Η ένωση του ψευδαργύρου που παρασκευάστηκε σε $\text{pH}=3.5$ $[\text{Zn}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3]$ δίνει τρεις κορυφές στο ^{31}P NMR φάσμα της. Οι δύο



κύριες κορυφές μπορεί να αποδοθούν σε διαφορετικές φωσφορικές άκρες της ίδιας φάσης, ενώ η τρίτη που είναι ασθενής, είναι πιθανόν να προέρχεται από μια μικρή ακαθαρσία του δείγματος. Και οι δύο από τις κύριες κορυφές έχουν χημικές ανισοτροπίες συγκρινόμενες με αυτές του μη συμπλοκοποιημένου φωσφορικού άκρου, και έτσι υποδεικνύεται καθαρά ότι δεν υπάρχει δεσμός μεταξύ της φωσφορικής ομάδας και του μετάλλου σε αυτό το pH.

Το σύμπλοκο του καδμίου $[\text{Cd}(\text{HBTmPH})^{\circ}\text{Cl}_2]$ που παρασκευάστηκε σε $\text{pH}=6$ δίνει μια φαρδιά κορυφή (~ 58% της συνολικής περιοχής), μια μεγάλη στενή κορυφή (~ 36% της συνολικής περιοχής) και δύο άλλες ασθενείς στενές κορυφές. Ανάλυση των παράπλευρων απορροφήσεων της φαρδιάς κορυφής δίνει συνιστώσες του τανυστή όμοιες με αυτές του $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^{\circ}\text{Cl}_2$, στο οποίο έχει βγεί συμπέρασμα ότι υπάρχει απ' ευθείας δεσμός μετάλλου-φωσφορικής ομάδας. Από την άλλη, η χημική μετατόπιση του τανυστή, της οξείας στενής κορυφής, είναι παρόμοια με αυτή της μη συμπλοκοποιημένης φωσφορικής ομάδας. Έτσι αυτό το δείγμα φαίνεται να είναι ένα μίγμα από δύο φάσεις: Μία με το κάδμιο να ενώνεται απ' ευθείας με την φωσφορική ομάδα και μία άλλη με το κάδμιο να ενώνεται με κάτι άλλο (όπως ήδη έχουμε αποδείξει με το $\text{N}(1')$ της πυριμιδίνης).

Δύο δείγματα από $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^{\circ}_2\text{Cl}_2$ έχουν αναλυθεί με ^{31}P CP/MAS NMR φασματοσκοπία (βλέπε εικόνα 5β). Το πρώτο από αυτά είχε μορφή σκόνης που παρασκευάστηκε με καταβύθιση από υδατικό διάλυμα, ενώ το δεύτερο ήταν κρυσταλλικό, όμοιο με το δείγμα που χρησιμοποιήθηκε για ανάλυση της δομής με ακτίνες Χ. Σε αντίθεση με τα σύμπλοκα $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^{\circ}\text{Cl}_2$ και $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^{\circ}\text{Cl}_2$, και τα δύο δείγματα του συμπλόκου του υδραργύρου δίνουν μια απλή οξεία κορυφή που η ανάλυσή τους δείχνει ότι και τα δύο δείγματα παρουσιάζουν παρόμοιες συνιστώσες του τανυστή όπως φαίνεται στον πίνακα 5. Οι ανισοτροπικές χημικές μετατοπίσεις υποδεικνύουν την ύπαρξη μονοανιονικής φωσφορικής ομάδας και δείχνουν μικρή διαφορά από τον μη συμπλοκοποιημένο υποκαταστάτη, προτείνοντας κατ' αυτόν τον τρόπο ότι ο Hg δεν συνδέεται άμεσα με την φωσφορική ομάδα. Αυτό βρίσκεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της ανάλυσης με ακτίνες Χ που έδειξαν ότι ο Hg συνδέεται μόνο με το $\text{N}(1')$ του πυριμιδινικού δακτυλίου.



Γενικά τα αποτελέσματα ^{31}P NMR είναι ενδεικτικά για φωσφορική ομάδα στην μονοανιονική μορφή. Αυτό βέβαια είναι σε συμφωνία με το γεγονός ότι η ανάλυση της κρυσταλλικής δομής έδειξε αποστάσεις δεσμών P-O, χαρακτηριστικές για τερματικούς P-O δεσμούς.



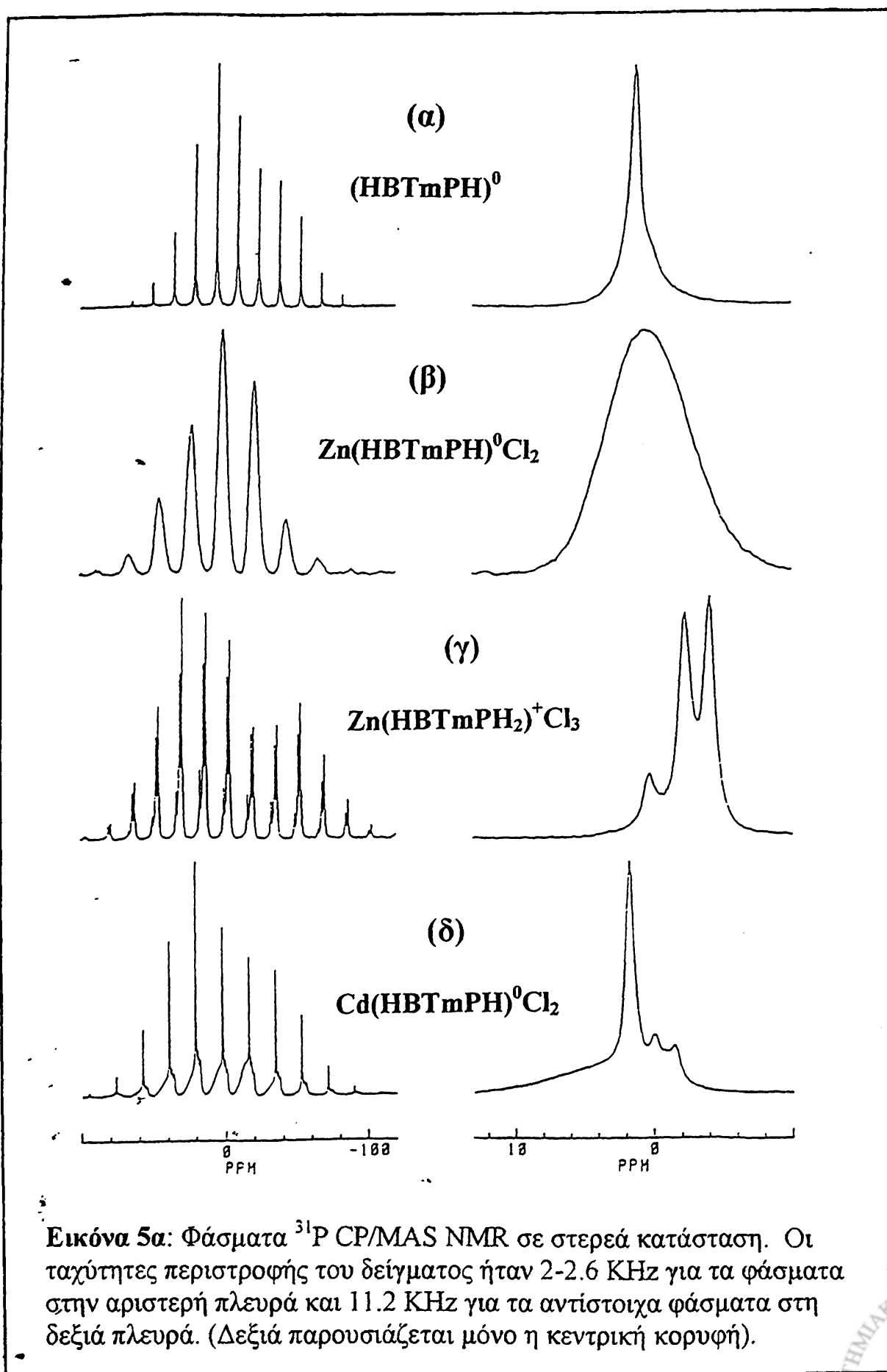
Πίνακας 5: Βασικές συνιστώσες του τανυστή χημικής μετατόπισης ^{31}P των υποκαταστατών $(\text{HBTmPH})^0$, $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$ και των συμπλόκων $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^0\text{Cl}_2$, $\text{Zn}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$, $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^0\text{Cl}_2$ και $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^0_2\text{Cl}_2$ ^{α,β}

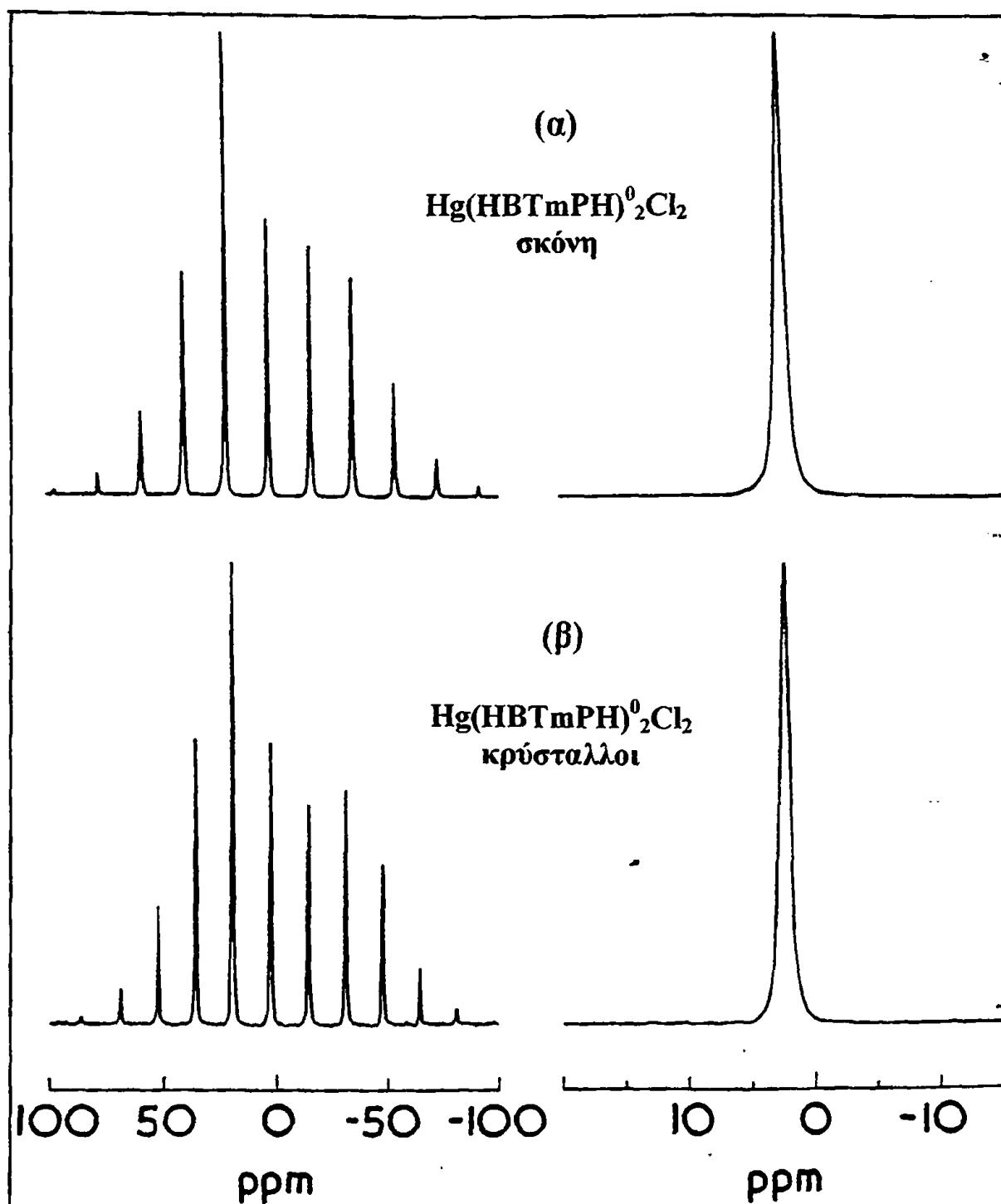
Ένωση	pH	δ_{iso}	δ_{11}	δ_{22}	δ_{33}	$\Delta\sigma$	η	Ω	K
$(\text{HBTmPH})^0$	6.0	1.2	75.2	13.0	-84.6	128.7	0.73	160.0	0.22
$(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$	3.5	0.7	72.4	11.2	-81.5	123.3	0.74	153.8	0.21
$\text{Zn}(\text{HBTmPH})^0\text{Cl}_2$	6.0	0.5(br)	57.6	-5.7	-49.8	-85.3	0.78	107.4	-0.18
$\text{Zn}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$	3.5	0.3(w)	59.9	7.3	-67.9	101.5	0.78	127.8	0.16
		-2.3	68.6	10.4	-85.9	125.3	0.70	154.4	0.25
		-4.1	65.6	14.1	-92.0	131.9	0.5	157.7	0.35
$\text{Cd}(\text{HBTmPH})^0\text{Cl}_2$	6.0	2.9(br)	60.1	-0.9	-51.1	-86.1	0.87	111.2	-0.10
		1.7	68.3	11.7	-74.9	114.9	0.74	143.2	0.21
		0.0(w) ^γ							
		-1.4(w) ^γ							
$\text{Hg}(\text{HBTmPH})^0_2\text{Cl}_2$ (σκόνη)	6.0	2.4	61.0	14.9	-68.7	106.7	0.65	129.7	0.29
$\text{Hg}(\text{HBTmPH})^0_2\text{Cl}_2$ (κρύσταλλοι)	6.0	2.4	59.6	15.9	-67.9	105.6	0.62	127.5	0.32

α: Οι χημικές μετατοπίσεις δίνονται σε ppm με εξωτερική αναφορά 85% H_3PO_4 χρησιμοποιώντας την συνθήκη $\delta_{11} > \delta_{22} > \delta_{33}$. Οι άλλες παράμετροι που αναφέρονται, εξηγούνται στο πειραματικό μέρος.

β: Οι ιστροπικές χημικές μετατοπίσεις παρουσιάζουν ακρίβεια ± 0.2 ppm, εκτός από τις περιπτώσεις όπου οι κορυφές σημειώνονται σαν ευρείες (br) για τις οποίες η ακρίβεια είναι ± 1 ppm. Η προσδιοριζόμενη αβεβαιότητα των συνιστωσών του τανυστή χημικής μετατόπισης είναι ± 1.5 ppm για τις ισχυρές ευρείες κορυφές, ± 3 ppm για το $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^0\text{Cl}_2$ και ± 6 ppm για την ευρεία επικαλυπτόμενη συχνότητα στο $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^0\text{Cl}_2$.

γ: Για τις σθενείς κορυφές (w) δεν προσδιορίστηκαν οι συνιστώσες του τανυστή χημικής μετατόπισης λόγω του μεγάλου ποσοστού επικάλυψης.





Εικόνα 5β: Φάσματα ^{31}P CP/MAS NMR σε στερεά κατάσταση. (α) του συμπλόκου $\text{Hg}(\text{HBTmPH})_2\text{Cl}_2$ σε μορφή σκόνης (ταχύτητα περιστροφής=2290 Hz) και (β) του συμπλόκου $\text{Hg}(\text{HBTmPH})_2\text{Cl}_2$ κρυσταλλικής μορφής (ταχύτητα περιστροφής=2030 Hz).

2. ΤΑ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ

2.1 Αγωγιμομετρία

Οι τιμές της μοριακής αγωγιμότητας που προσδιορίστηκαν σε συγκεντρώσεις 10^{-3} M στους 20°C σε DMF και H_2O δίνονται στον πίνακα 6

Πίνακας 6. Μοριακή αγωγιμότητα

Διαλύτης	$\text{Zn}(\text{HBTmPH})^{\circ}\text{Cl}_2$	$\text{Cd}(\text{HBTmPH})^{\circ}\text{Cl}_2$	$\text{Zn}(\text{HBTmPH}_2)^{+}\text{Cl}_3$	$\text{Cd}(\text{HBTmPH}_2)^{+}\text{Cl}_3$
H_2O	268	254	330	323
DMF	25.7	36.0	41.2	42

Παρατηρούμε ότι σε υδατικά διαλύματα, όλα τα χλώρια αντικαθίστανται αμέσως, με συνέπεια τα σύμπλοκα $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^{\circ}\text{Cl}_2$ και $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^{\circ}\text{Cl}_2$ να αντιστοιχούν σε ηλεκτρολύτη 1:2 ενώ οι ενώσεις $\text{Zn}(\text{HBTmPH}_2)^{+}\text{Cl}_3$ και $\text{Cd}(\text{HBTmPH}_2)^{+}\text{Cl}_3$ να αντιστοιχούν σε ηλεκτρολύτη 1:3 (41).



2.2. ΦΑΣΜΑΤΑ NMR ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ

(α). ^{13}C NMR Φασματοσκοπία

Στην παράγραφο αυτή μελετώνται τα φάσματα ^{13}C NMR του υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$ σε $\text{pH}=3.5$, του υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH})^\circ$ σε $\text{pH}=5.5$ και των συμπλόκων του, $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$ και $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$ καθώς και των $\text{Zn}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$ και $\text{Cd}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$ σε D_2O . Οι αποδόσεις όλων των κορυφών των φασμάτων ^{13}C NMR σε διάλυμα δίνονται στον πίνακα 7 ενώ τα φάσματα παρατίθενται στις εικόνες 6(α-στ).

Οι παραπάνω αποδόσεις έγιναν με βάση την τεχνική ^{13}C NMR-DEPT 135 στην οποία οι μεθυλομάδες και οι μεθινομάδες παρουσιάζονται σαν θετικά σήματα, οι μεθυλενομάδες σαν αρνητικά σήματα ενώ τα τεταρτοταγή άτομα άνθρακα δεν παρουσιάζονται καθόλου.

Παρατηρούμε ότι η πρωτονίωση του υποκαταστάτη στο $\text{N}(1')$ της πυριμιδίνης μετατοπίζει τις κορυφές του $\text{C}(2')$, του $\text{C}(6')$ και του μεθυλίου $2'-\text{CH}_3$ σε υψηλότερα πεδία κατά 1.3, 8.2 και 2.2 ppm αντίστοιχα σε σχέση με εκείνες του αποπρωτονιωμένου υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH})^\circ$ σε $\text{pH}=5.5$ (34,42,43).

Συνεχίζοντας, η συμπλοκοποίηση του υποκαταστάτη στο σύμπλοκο $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$ προκαλεί μετατόπιση των αντίστοιχων κορυφών κατά 1.4 ppm χαμηλότερα και κατά 1.8 και 0.3 ppm υψηλότερα για τους άνθρακες $\text{C}(2')$, $\text{C}(6')$ και $2'-\text{CH}_3$ αντίστοιχα. Στην περίπτωση του συμπλόκου $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$, οι άνθρακες $\text{C}(6')$ και $2'-\text{CH}_3$ μετατοπίζονται κατά 5.6 και 0.2 ppm αντίστοιχα, ενώ δυστυχώς η κορυφή του $\text{C}(2')$ δεν εμφανίστηκε στις συνθήκες λήψης του φάσματος.

Παρατηρούμε δηλαδή ότι η χημική μετατόπιση του $\text{C}(6')$ εμφανίζεται σε υψηλότερα πεδία στον πρωτονιωμένο υποκαταστάτη στο $\text{N}(1')$ σε σχέση με εκείνη στον αποπρωτονιωμένο και σε ενδιάμεσες τιμές στα σύμπλοκα $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$ και $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$, ακολουθώντας τη σειρά H^+ (πρωτονιωμένος υποκαταστάτης) $< \text{M}^{2+}$ (σύμπλοκα με άμεσο δεσμό μετάλλου στο $\text{N}(1')$) $<$ αποπρωτονιωμένος υποκαταστάτης. Αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν κριτήριο διάκρισης του πρωτονιωμένου, μεταλλωμένου και αποπρωτονιωμένου στο $\text{N}(1')$ υποκαταστάτη. Στις ενώσεις



$\text{Zn}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$ και $\text{Cd}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$ παρατηρούμε ότι η κορυφή που αντιστοιχεί στον C(6') παραμένει αμετάβλητη σε σχέση με την αντίστοιχη κορυφή στο φάσμα του $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$ αποδεικνύοντας ότι σ'αυτές τις ενώσεις το N(1') παραμένει πρωτονιωμένο.

Το ίδιο κριτήριο βέβαια δεν μπορούμε να πούμε ότι ισχύει και για τους άλλους άνθρακες που είναι δίπλα στο N(1') δηλαδή για τον C(2') και τον 2'-CH₃. Συγκεκριμένα η χημική μετατόπιση ¹³C του 2'-CH₃ εμφανίζεται στα ίδια ppm τόσο στον αποπρωτονιωμένο υποκαταστάτη όσο και στα σύμπλοκα (σε υψηλότερα όμως πεδία κατά 2.0 περίπου ppm όπως προαναφέραμε σε σχέση με τον πρωτονιωμένο υποκαταστάτη). Όσον αφορά την χημική μετατόπιση του C(2') ακολουθεί την σειρά: H⁺ (πρωτονιωμένος υποκαταστάτης) < αποπρωτονιωμένος υποκαταστάτης < M²⁺ (σύμπλοκα με άμεσο δεσμό μετάλλου στο N(1')).

Περνώντας στα φάσματα των ενώσεων $\text{Zn}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$ και $\text{Cd}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$ των οποίων αναλυτικά όλες οι αποδόσεις των ανθράκων φαίνονται στον πίνακα 7, παρατηρούμε ότι οι αντίστοιχες κορυφές των C(2'), C(6') και 2'-CH₃ δεν μετατοπίζονται σημαντικά σε σχέση με τις αντίστοιχες κορυφές του $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$ σε pH=3.5.

Στα φάσματα του $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$ και του $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$, τα άτομα C(5β) μετατοπίζονται σε χαμηλότερα πεδία κατά 8.6 και 8.5 ppm αντίστοιχα, ενώ παράλληλα τα άτομα C(2α) προστατεύονται κατά 8.0 και 7.5 ppm αντίστοιχα. Την προστασία και αποπροστασία αυτή των ατόμων C(2α) και C(5β) αντίστοιχα, θα μπορούσε να εξηγήσει μία ελάττωση της ισχύος της αλληλεπίδρασης των O(2α)...S(1) με παράλληλη αύξηση της ισχύος της αλληλεπίδρασης των O(5c)...S(1).

Η χημική μετατόπιση ¹³C του C(3,5') παρατηρούμε ότι εμφανίζεται στα 49.4 ppm στον υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$ ενώ στον υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH})^\circ$ και στα σύμπλοκα εμφανίζεται γύρω στα 50 ppm. Οι χημικές μετατοπίσεις ¹³C των ανθράκων του φαινυλίου C(1''), C(2''), C(3'') και C(4'') εμφανίζονται στα 138.7, 130.5, 132.5 και 132.5 ppm περίπου αντίστοιχα και όπως αναμενόταν δεν παρουσιάζουν διαφορά στα φάσματα υποκαταστατών και συμπλόκων. Παρόμοια συμπεριφορά παρατηρούμε και για τους υπόλοιπους άνθρακες, (Πίνακας 7) μιας και είναι μακριά από τις πιθανές θέσεις ένταξης των μεταλλοϊόντων

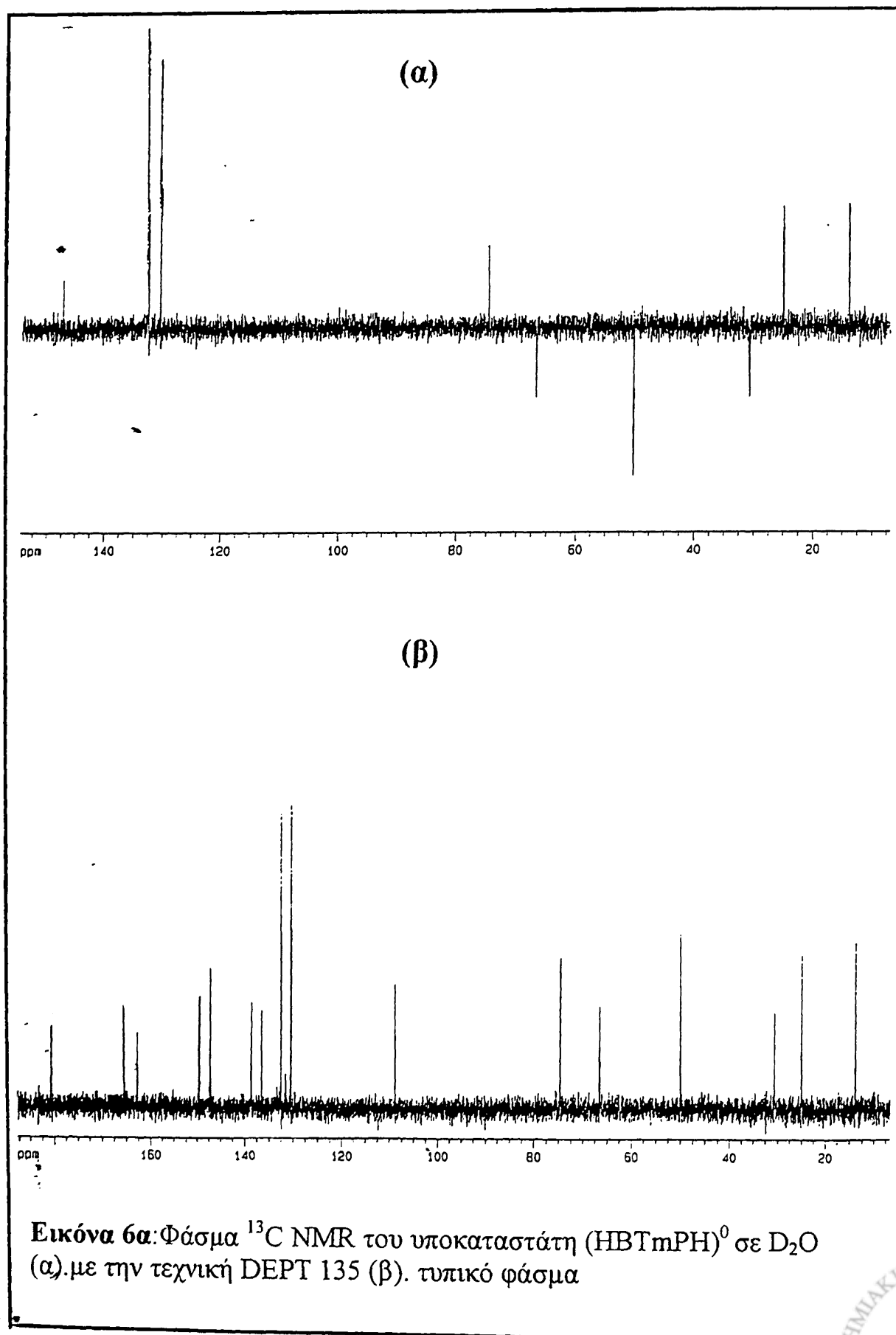


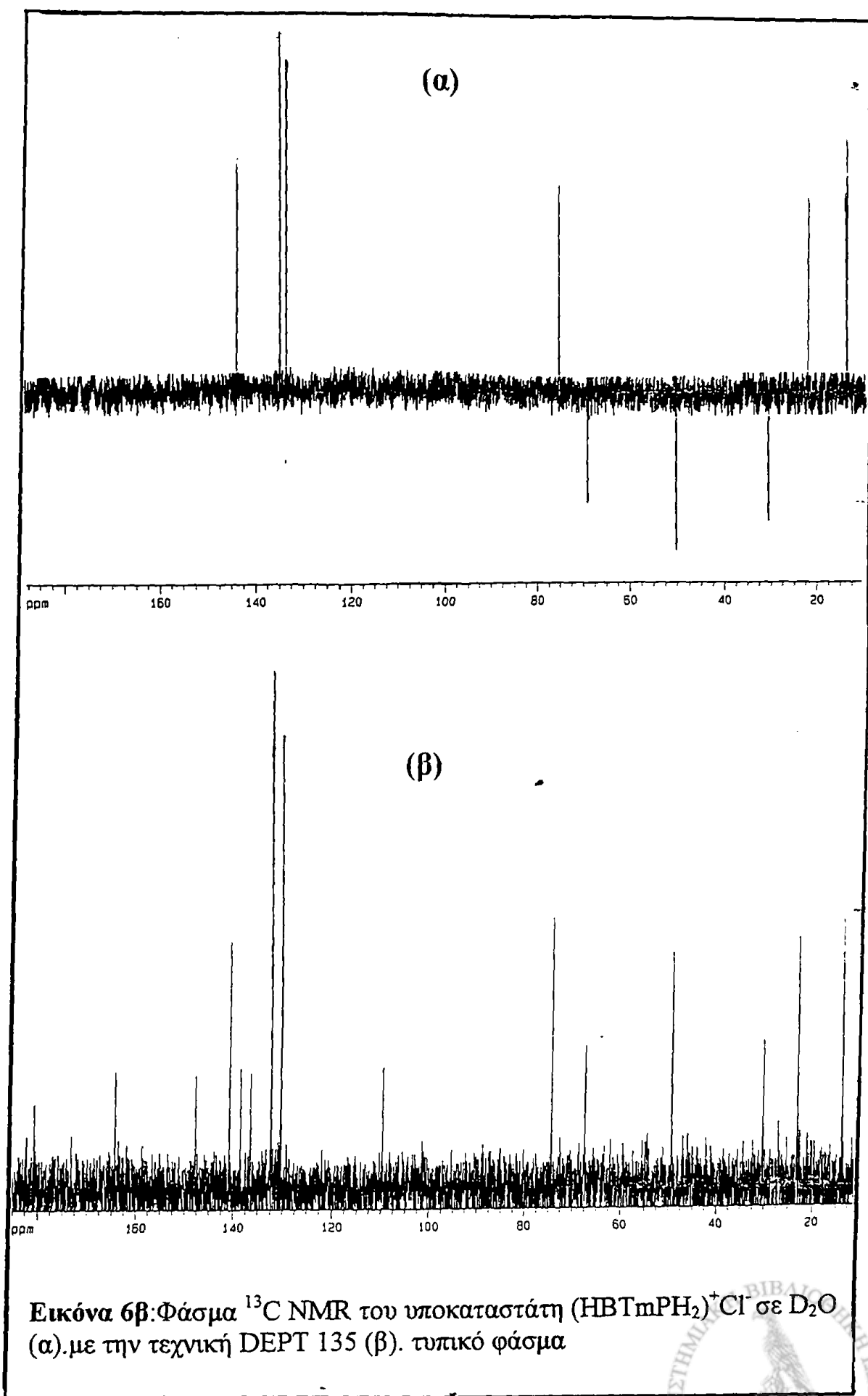
Ολοκληρώνοντας τη μελέτη των φασμάτων ^{13}C NMR σε διάλυμα, θα πρέπει να επισημάνουμε ότι και από την παρούσα ανάλυση ενισχύονται περαιτέρω τα συμπεράσματά μας, ότι δηλαδή τα σύμπλοκα $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$ και $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$ παρουσιάζουν άμεσο δεσμό M-N(1') σε διάλυμα, όπως και στη στερεά κατάσταση ενώ οι ενώσεις $\text{Zn}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$ και $\text{Cd}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$ όχι, έχοντας πρωτονιωμένο το N(1').

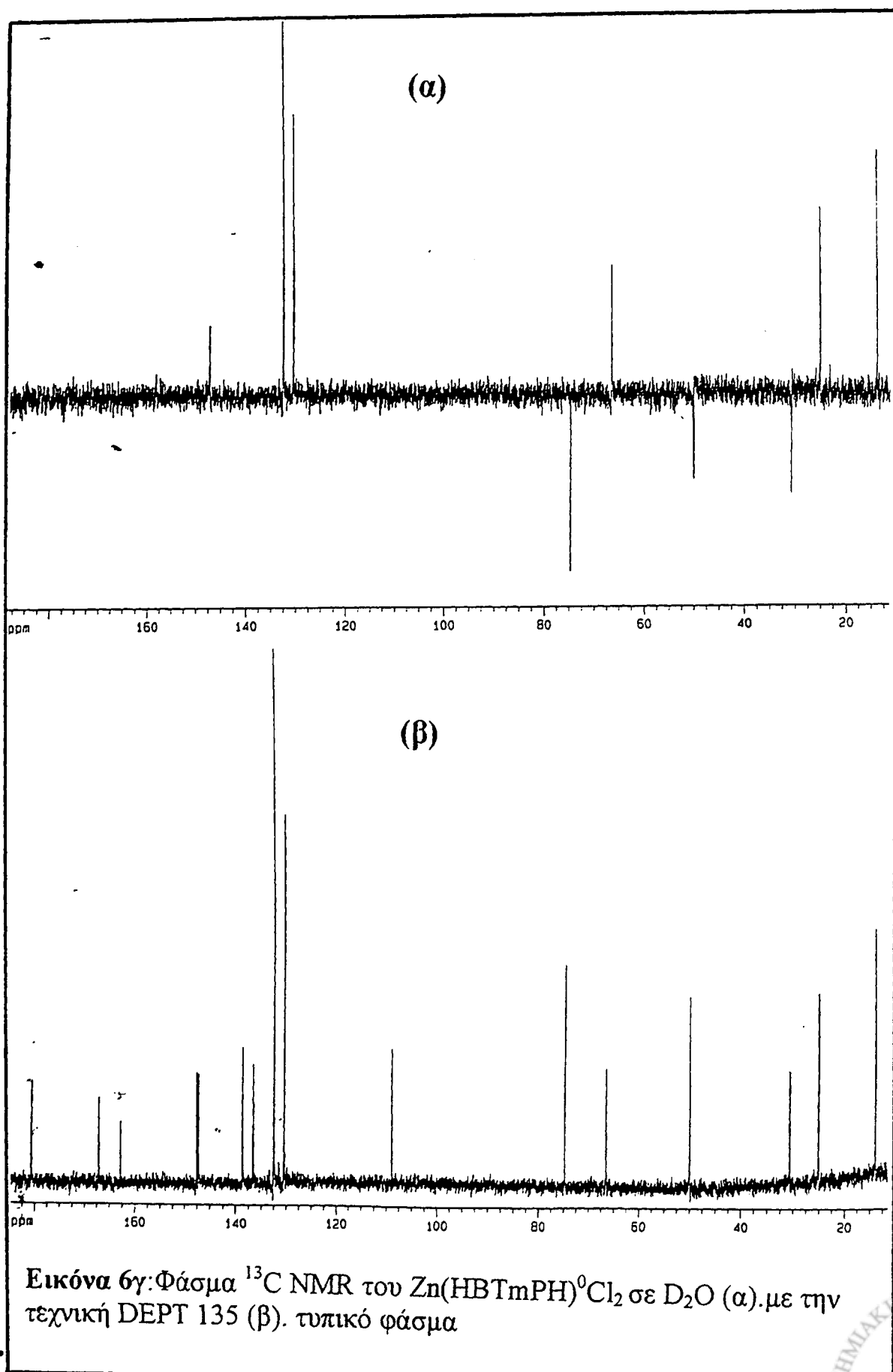
Πίνακας 7: Φασματοσκοπικά δεδομένα ^{13}C NMR σε διάλυμα D_2O υποκαταστατών παραγώγου μονοφωσφορικής θειαμίνης και συμπλόκων τους (δ σε ppm από TMS).

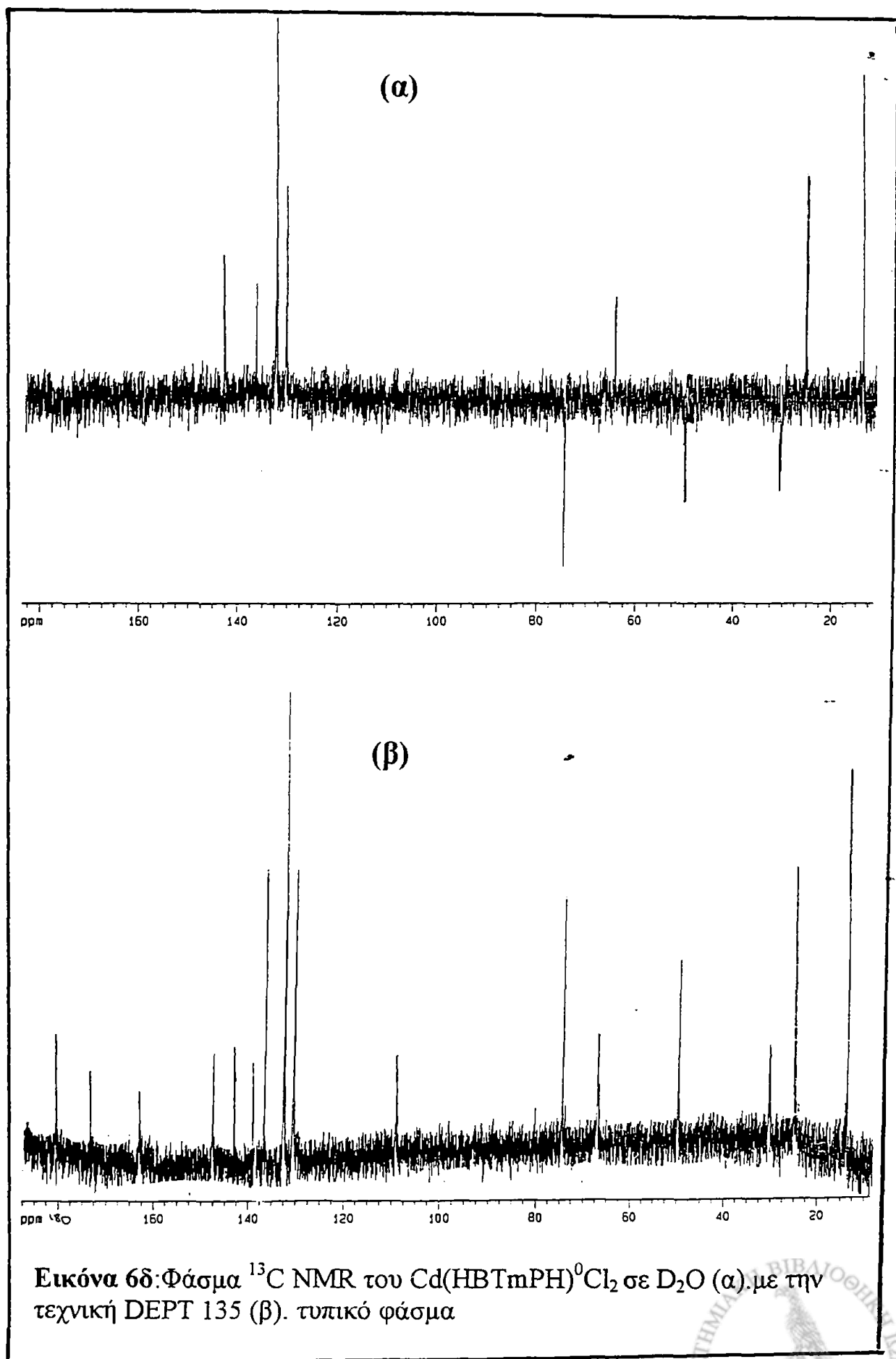
	HBTmPH° pH=6.0	$(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$ pH=3.5	$\text{Zn}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$	$\text{Cd}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$	$\text{Zn}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$	$\text{Cd}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$
C_2	180.4	180.8	181.6	180.6	181.2	181.1
C_2'	165.7	164.4	167.1		164.7	164.4
C_4'	162.2		162.8	163.1		163.7
C_6'	149.1	140.9	147.3	143.5	140.8	140.5
C_4	147.3	147.8	147.7	147.7	147.9	147.7
$\text{C}_{1'}$	138.4	138.7	138.7		139.0	138.8
C_5	136.3	136.6	136.6		137.0	136.7
C_4''	132.3	132.5	132.5	132.7	132.8	132.6
C_3''	132.3	132.4	132.5	132.6	132.8	132.6
C_2''	130.2	130.5	130.5	130.6	130.7	130.6
C_5'	108.4	109.7	108.9	109.2	110.0	109.8
C_{2a}	74.5	74.4	66.5	67.0	74.7	74.5
C_{5b}	66.1	67.5	74.7	74.6	67.0	66.8
$\text{C}_{3,5'}$	50.0	49.4	50.0	49.9	49.7	49.5
C_{5a}	30.5	30.2	30.8	30.6	30.8	30.5
$2'\text{CH}_3$	25.3	23.1	25.0	25.1	23.3	23.1
4CH_3	13.7	13.8	13.9	13.9	14.0	13.8

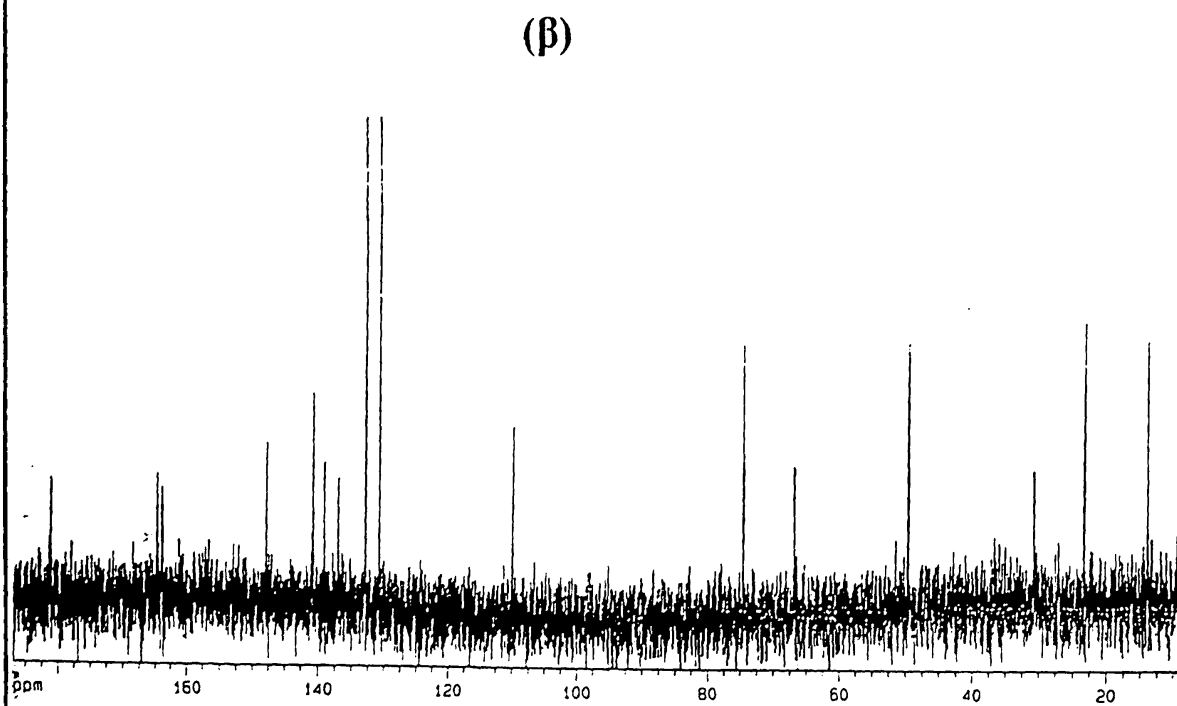
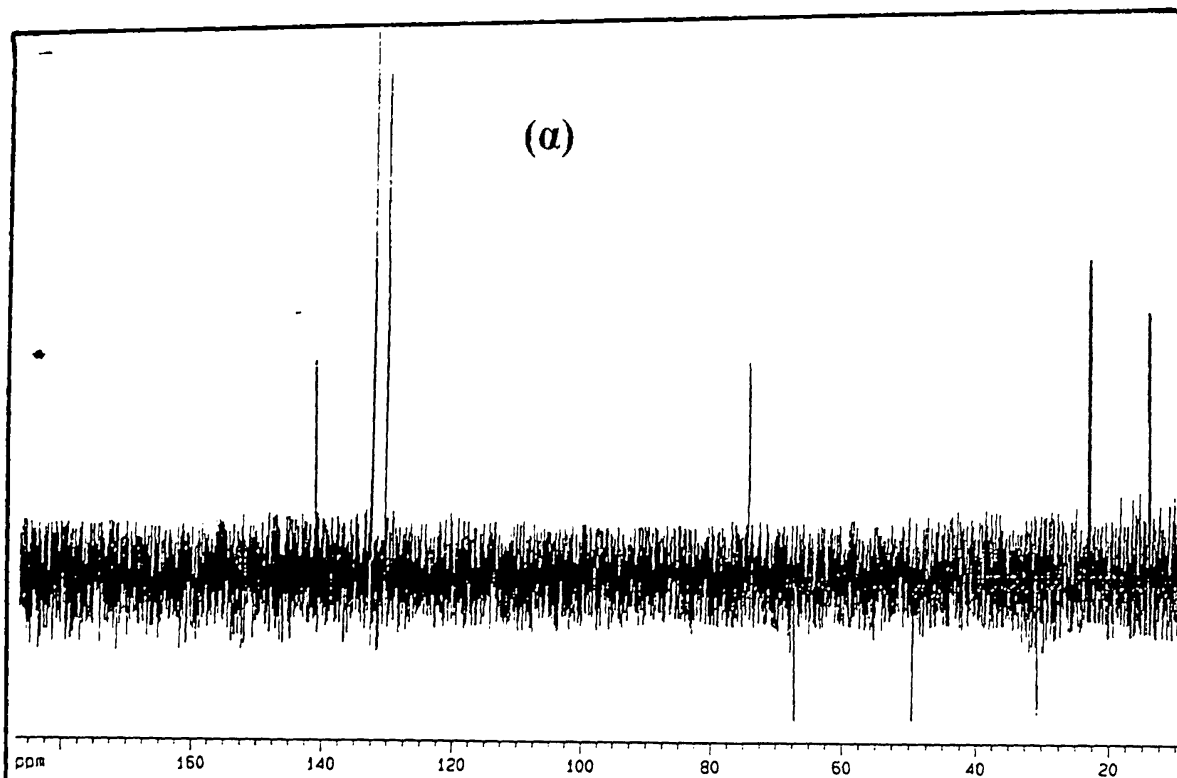






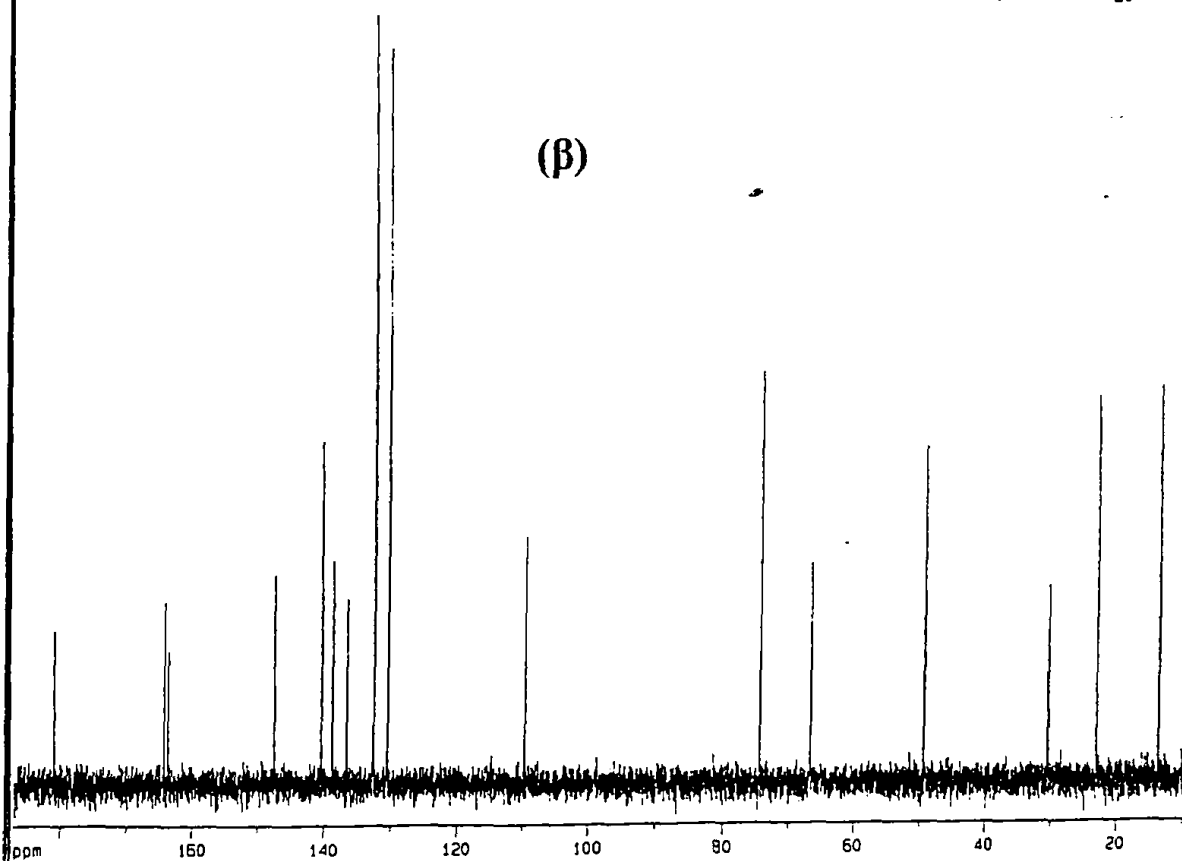
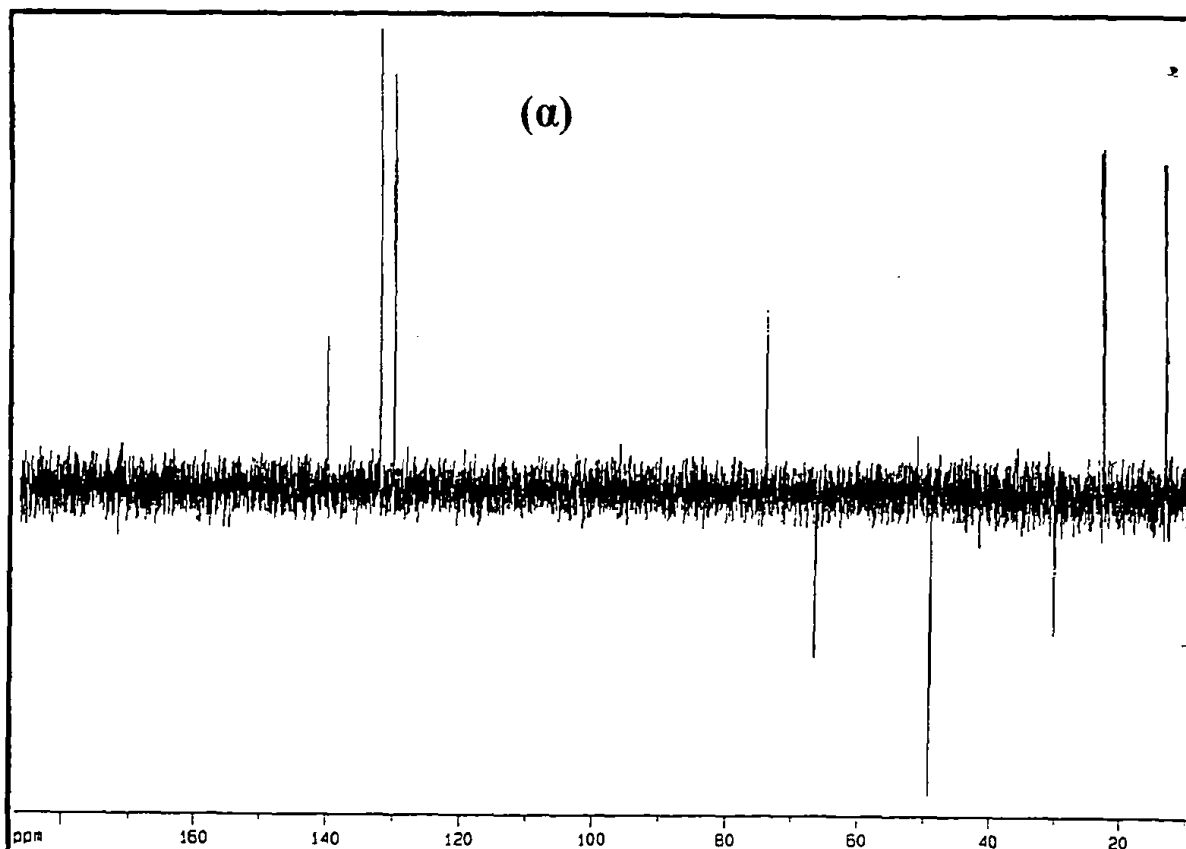






Εικόνα 6ε: Φάσμα ^{13}C NMR του $\text{Zn}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$ σε D_2O (α). με την τεχνική DEPT 135 (β). τυπικό φάσμα





Εικόνα 6στ: Φάσμα ^{13}C NMR του $\text{Cd}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$ σε D_2O (α), με την τεχνική DEPT 135 (β), τυπικό φάσμα

(β). ^{31}P NMR Φασματοσκοπία

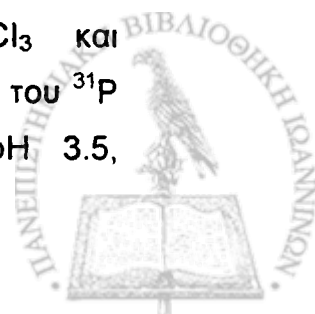
Τα φάσματα ^{31}P NMR του υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$ σε $\text{pH}=3.5$, του υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH})^\circ$ σε $\text{pH}=5.5$ και των συμπλόκων του $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$, $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$ και $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^\circ_2\text{Cl}_2$ και των $\text{Zn}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$ και $\text{Cd}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$ (το φάσμα του $\text{Hg}(\text{HBTmPH}_2)^+_2\text{Cl}_4$ δεν στάθηκε δυνατό να ληφθεί γιατί είναι αρκετά δυσδιάλυτο στο D_2O) φαίνονται στις εικόνες 7α και 7β ενώ οι τιμές των αντίστοιχων κορυφών στον πίνακα 8.

Εδώ πρέπει να σημειώσουμε ξανά ότι η φωσφορική ομάδα είναι αποπρωτονιωμένη σε $\text{pH}=3.5$ (μονοανιονική) και διανιονική σε $\text{pH}>6$. Στην περίπτωση λοιπόν των φασμάτων των υποκαταστατών σε pH 3.5 και 5.5, η φωσφορική ομάδα αναμένεται να έχει την ίδια μονοανιονική μορφή. Η μετατόπιση κατά 0.6 ppm του σήματος του ^{31}P του υποκαταστάτη σε pH 5.5 σε σχέση με εκείνο σε pH 3.5 και κατά συνέπεια η ευαισθησία αυτού του σήματος στην αύξηση του pH , πρέπει να αποδοθεί στο γεγονός ότι στο pH 5.5 πλησιάζουμε πολύ το pK_a (~6.5) και της δεύτερης αποπρωτονίωσης αυτής της ομάδας.

Με δεδομένο ότι όταν διαλύουμε τα σύμπλοκα $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$, $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$, και $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^\circ_2\text{Cl}_2$ το pH των διαλυμάτων τους κατεβαίνει σε τιμές κατά πολύ μικρότερες του 5 (περίπου 4), για να βγάλουμε λοιπόν σωστά συμπεράσματα θα πρέπει να συγκρίνουμε την χημική μετατόπιση του ^{31}P των παραπάνω συμπλόκων με εκείνη του ελεύθερου υποκαταστάτη στην ίδια περίπου τιμή pH , δηλαδή μάλλον κοντά στο 3.5.

Έτσι επομένως παρατηρούμε ότι στα σύμπλοκα $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$, $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$, και $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^\circ_2\text{Cl}_2$ έχουμε μετατόπιση της χημικής μετατόπισης του ^{31}P σε υψηλότερα πεδία κατά 0.75, 1.3 και 0.2 ppm αντίστοιχα σε σχέση με τον ελεύθερο υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$. Αυτό είναι ενδεικτικό άμεσου δεσμού μεταξύ μετάλλου και φωσφορικής ομάδας στα σύμπλοκα $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$, $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$, και πιθανότατα μη ένταξης του υδραργύρου στην φωσφορική ομάδα στην ένωση $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^\circ_2\text{Cl}_2$.

Επίσης στα φάσματα των ενώσεων $\text{Zn}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$ και $\text{Cd}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$ δεν βλέπουμε σημαντική μετατόπιση του σήματος του ^{31}P σε σχέση με εκείνο του υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$ σε pH 3.5,



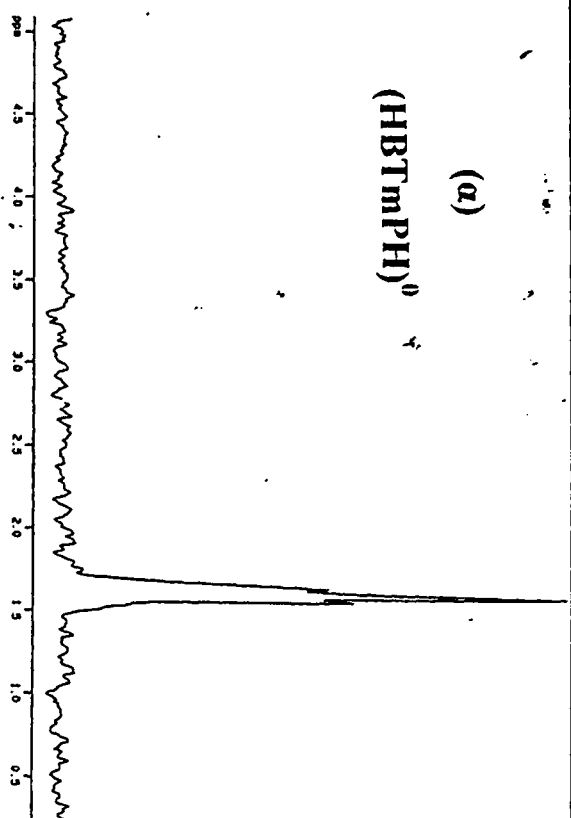
υποδεικνύοντας ξεκάθαρα ότι δεν υπάρχει αλληλεπίδραση μετάλλου-φωσφορικής ομάδας σε υδατικό διάλυμα των παραπάνω ενώσεων.

Πίνακας 8: Φασματοσκοπικά δεδομένα ^{31}P NMR υποκαταστατών παραγώγου μονοφωσφορικής θειαμίνης και συμπλόκων τους σε διάλυμα D_2O (δ σε ppm με εξωτερική αναφορά υδατικό 85% H_3PO_4).

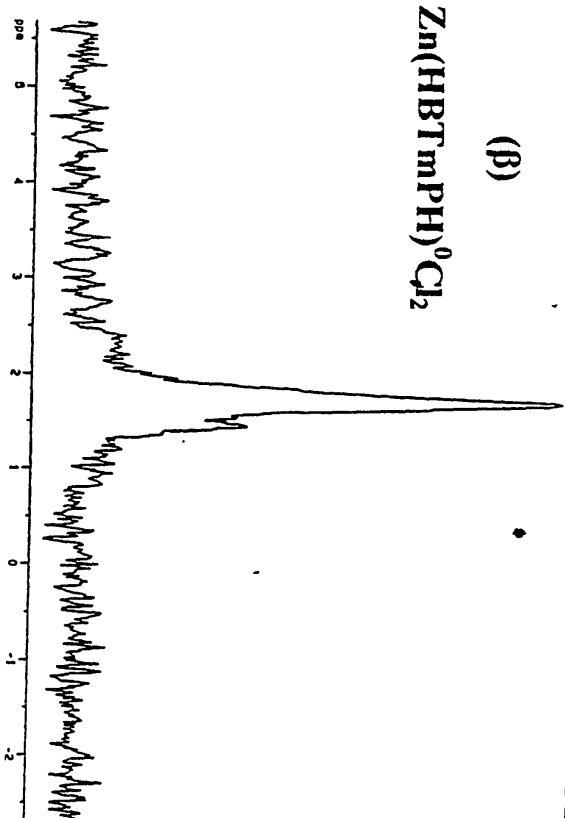
Ένωση	$\delta(\text{ppm})$
HBTmPH^0 pH=5.5	1.65
$(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$ pH=3.5	1.05
$\text{Zn}(\text{HBTmPH})^0\text{Cl}_2$	1.80
$\text{Cd}(\text{HBTmPH})^0\text{Cl}_2$	2.35
$\text{Hg}(\text{HBTmPH})_2^0\text{Cl}_2$	1.25
$\text{Zn}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$	1.10
$\text{Cd}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$	1.10



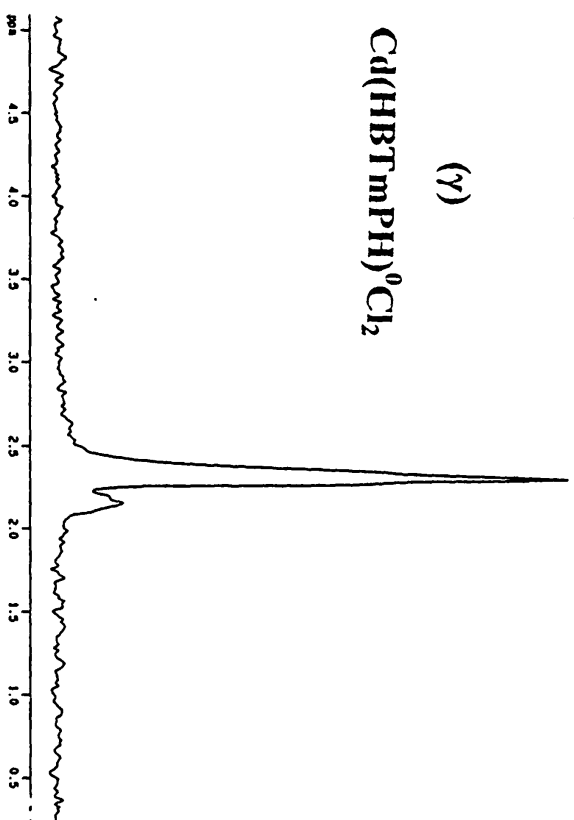
(α)
 $(\text{HBTmPH})^0$



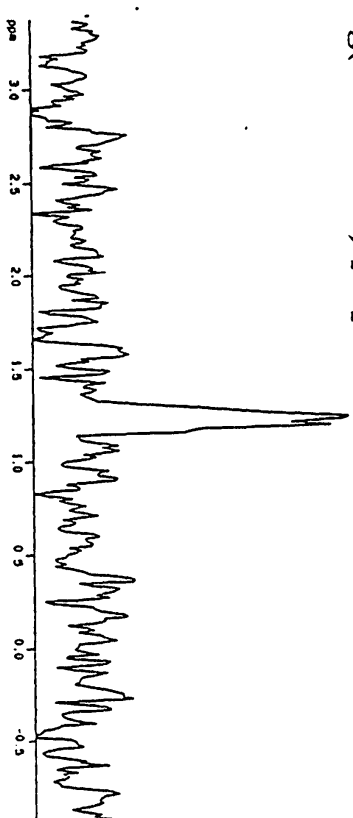
(β)
 $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^0\text{Cl}_2$



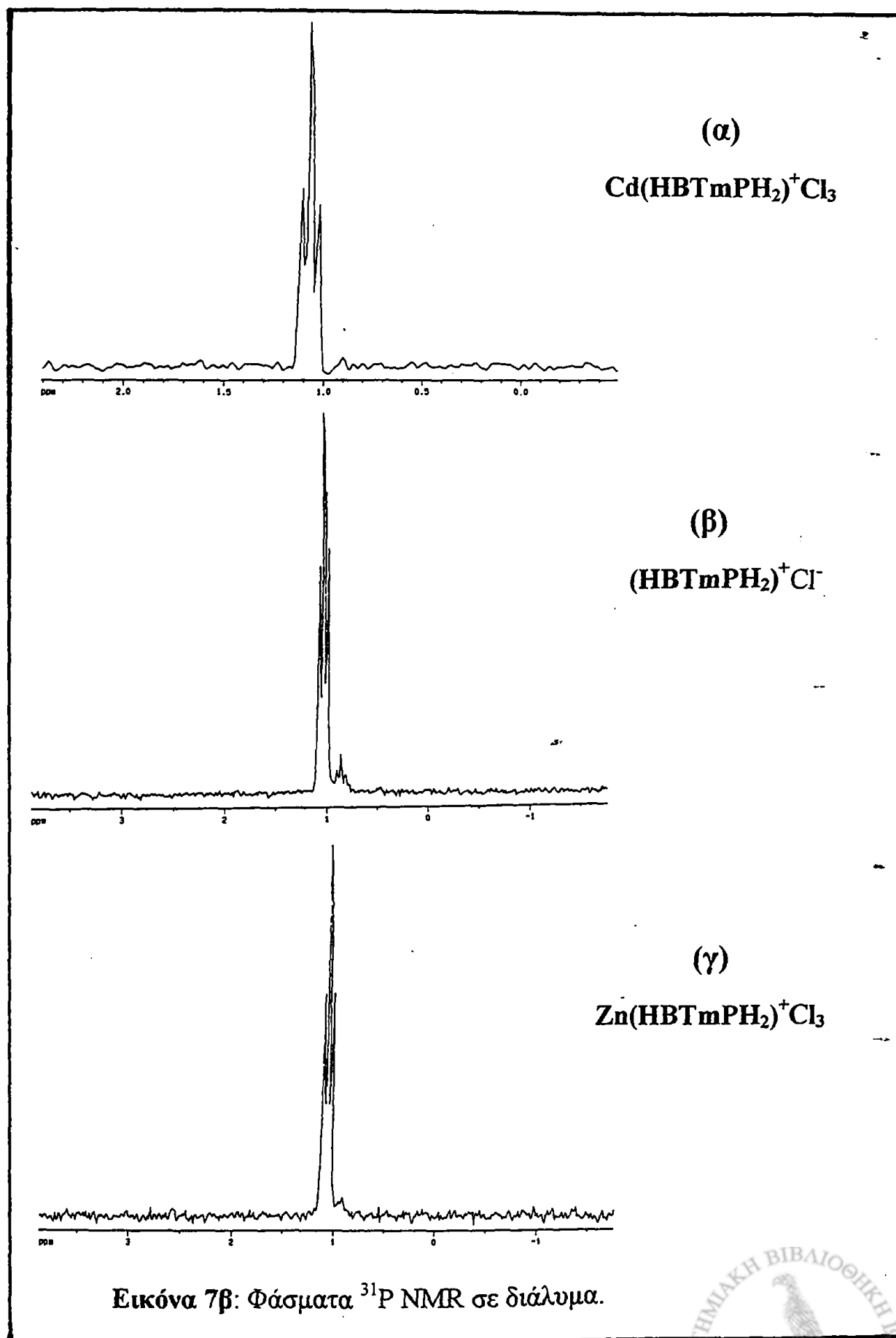
(γ)
 $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^0\text{Cl}_2$



(δ)
 $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^0_2\text{Cl}_2$



Εικόνα 7α: Φάσματα ^{31}P NMR σε διάλυμα.



(γ). $^1\text{H-NMR}$ Φασματοσκοπία

Οι χημικές μετατοπίσεις των ατόμων H του υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$ σε $\text{pH}=3.5$, του υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH})^\circ$ σε $\text{pH}=5.5$ καθώς και των συμπλόκων του $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$, $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$, $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^\circ_2\text{Cl}_2$ και των $\text{Zn}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3^-$, $\text{Cd}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3^-$, $\text{Hg}(\text{HBTmPH}_2)^+_2\text{Cl}_4^{2-}$ σε D_2O φαίνονται στον πίνακα 9 ενώ τα αντίστοιχα φάσματά τους στις εικόνες 8(α-η).

Απ' την μελέτη των φασμάτων αυτών λοιπόν, διαπιστώνουμε ότι η συμπλοκοποίηση στο $\text{N}(1')$ της πυριμιδίνης προκαλεί κάποιες μικρές μόνο χημικές μετατοπίσεις σε σχέση με τον ελεύθερο υποκαταστάτη των πρωτονίων $\text{C}(6')\text{-H}$ και $2'\text{-CH}_3$.

Η μικρή φαινομενικά επίδραση της συμπλοκοποίησης στα πρωτόνια $\text{C}(6')\text{-H}$ και $2'\text{-CH}_3$ είναι αποτέλεσμα της ταυτόχρονης ύπαρξης αντίρροπων δράσεων πάνω σ' αυτά. Έχουμε δηλαδή α) το παραγόμενο ρεύμα του βενζολικού δακτυλίου (44) που προστατεύει τα πυριμιδινικά πρωτόνια, καθώς ο βενζολικός δακτύλιος είναι σχεδόν παράλληλος προς τον πυριμιδινικό, όπως εντοπίστηκε τόσο στη δομή του υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH})^\circ$ όσο και του συμπλόκου $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^\circ_2\text{Cl}_2$ (2) παράλληλα β) με τη συμπλοκοποίηση των μεταλλικών ιόντων με το $\text{N}(1')$ που τα αποπροστατεύει (45,46). Έτσι η συνολική επίδραση στα $\text{C}(6')\text{-H}$ και $2'\text{-CH}_3$ λόγω της αλληλοαναίρεσης αυτών των δράσεων, αναμένεται να εμφανίζεται περιορισμένη.

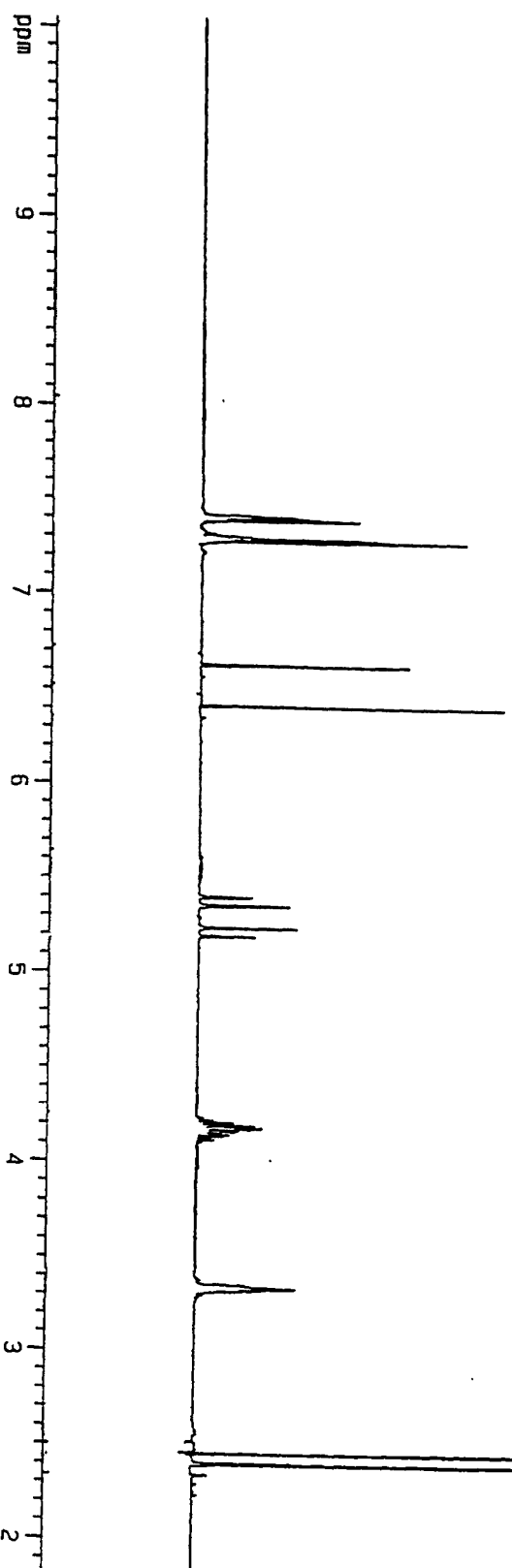
Πρέπει επίσης να αναφέρουμε ότι τα μεθυλενικά πρωτόνια $\text{C}(3,5')\text{H}_2$ στα φάσματα υποκαταστάτη και συμπλόκων, συμπεριφέρονται σαν σύστημα AB. Έτσι σε όλα τα φάσματα παρατηρούμε μια διπλή κορυφή για κάθε ένα απ' αυτά τα πρωτόνια. Όπως αναμενόταν βέβαια, δεν παρατηρούμε μεγάλες διαφορές στις χημικές μετατοπίσεις στα σύμπλοκα σε σχέση με τον υποκαταστάτη, μιας και τα μεθυλενικά πρωτόνια $\text{C}(3,5')\text{H}_2$ εντοπίζονται μακριά από πιθανές θέσεις ένταξης των μεταλλοϊόντων.



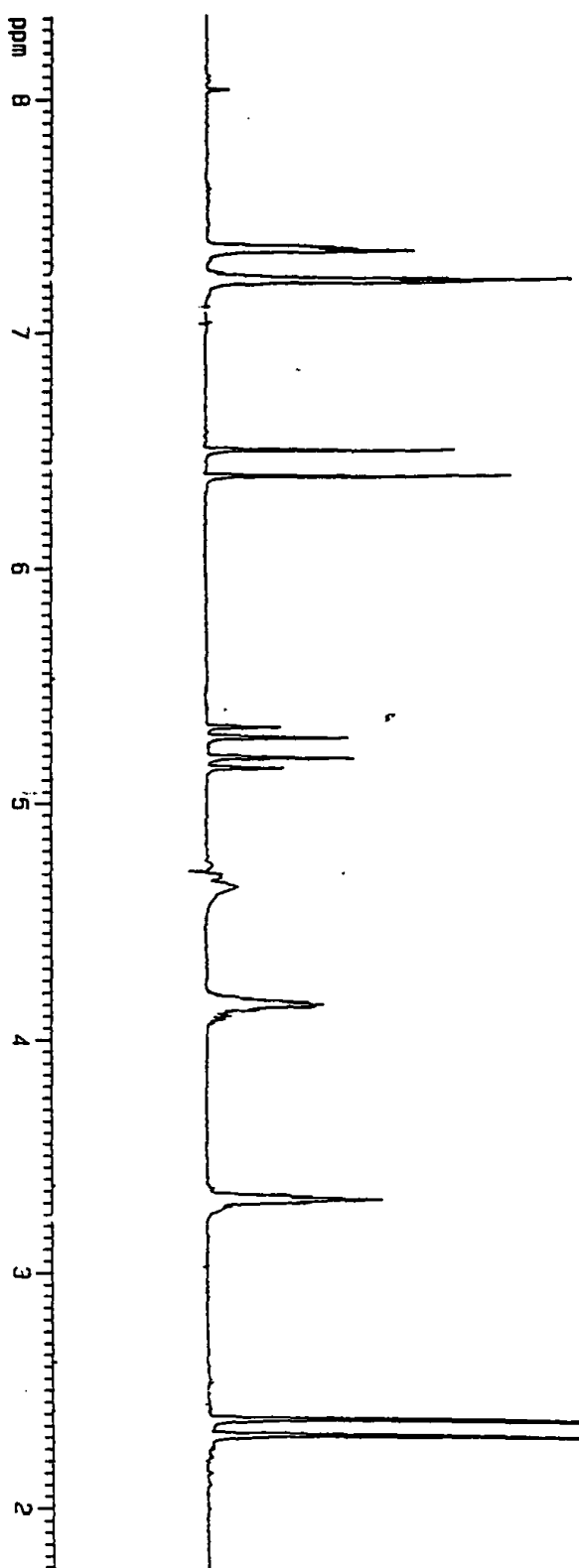
Πίνακας 9: Φασματοσκοπικά δεδομένα ^1H NMR υποκαταστατών παραγώγου μονοφωσφορικής θειαμίνης και συμπλόκων τους σε διάλυμα D_2O .

Ένωση	$\text{C}_2\text{---H}$	$\text{C}_3\text{''',4''---H}$	$\text{C}_6\text{---H}$	$\text{C}_{2a}\text{---H}$	$\text{C}_{3,5'}\text{---H}_2$	$\text{C}_{5b}\text{---H}_2$	$\text{C}_{5a}\text{---H}_2$	$2'\text{---CH}_3$	4---CH_3
$(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$ $\text{pH}=3.5$	7.398	7.288	6.631	6.419	5.360 5.243	4.171	3.324	2.451	2.396
HBTmPH° $\text{pH}=6.0$	7.351	7.216	6.504	6.395	5.284 5.198	4.149	3.313	2.392	2.323
$\text{Zn}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$	7.344	7.260	6.522	6.400	5.311 5.195	4.172	3.335	2.559	2.402
$\text{Cd}(\text{HBTmPH})^\circ\text{Cl}_2$	7.353	7.227	6.542	6.395	5.289 5.197	4.124	3.320	2.390	2.347
$\text{Hg}(\text{HBTmPH})^\circ_2\text{Cl}_2$		7.238		6.394				2.386	2.363
$\text{Zn}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$	7.402	7.306	6.643	6.442	5.377 5.266	4.180	3.354	2.466	2.415
$\text{Cd}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$	7.414	7.310	6.649	6.443	5.381 5.268	4.183	3.374	2.473	2.417
$\text{Hg}(\text{HBTmPH}_2)^+_2\text{Cl}_4$	7.401	7.279	6.633	6.406	5.351 5.221	4.232	3.348	2.448	2.397

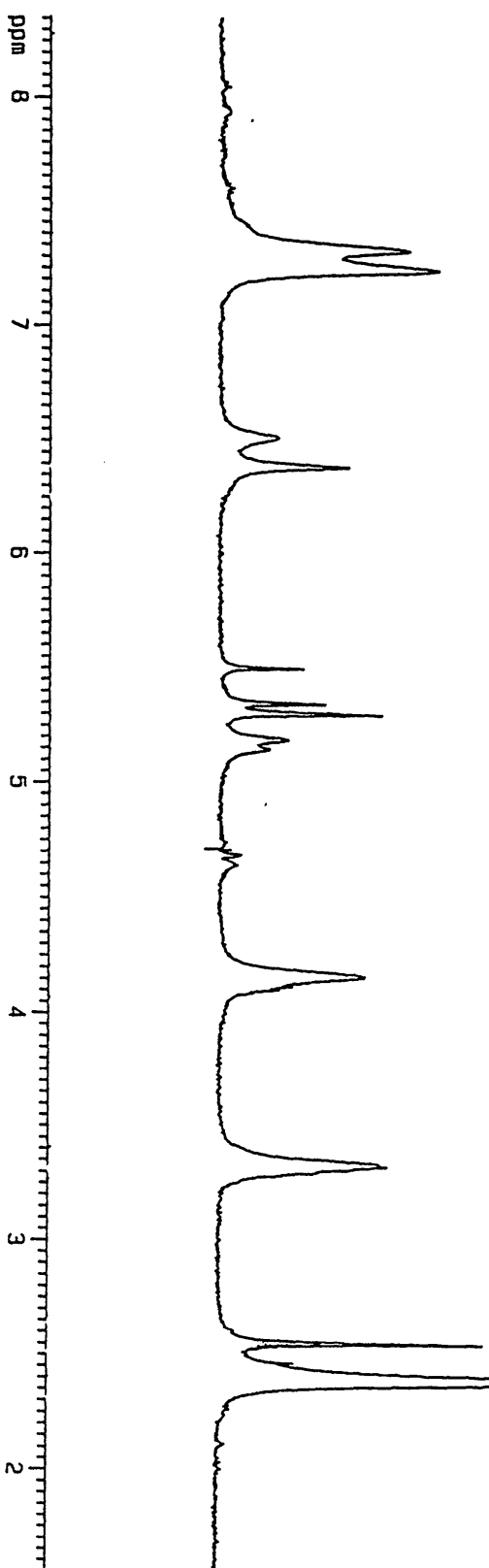
Εικόνα 8α: Φάσμα ^1H NMR του υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$ σε D_2O .



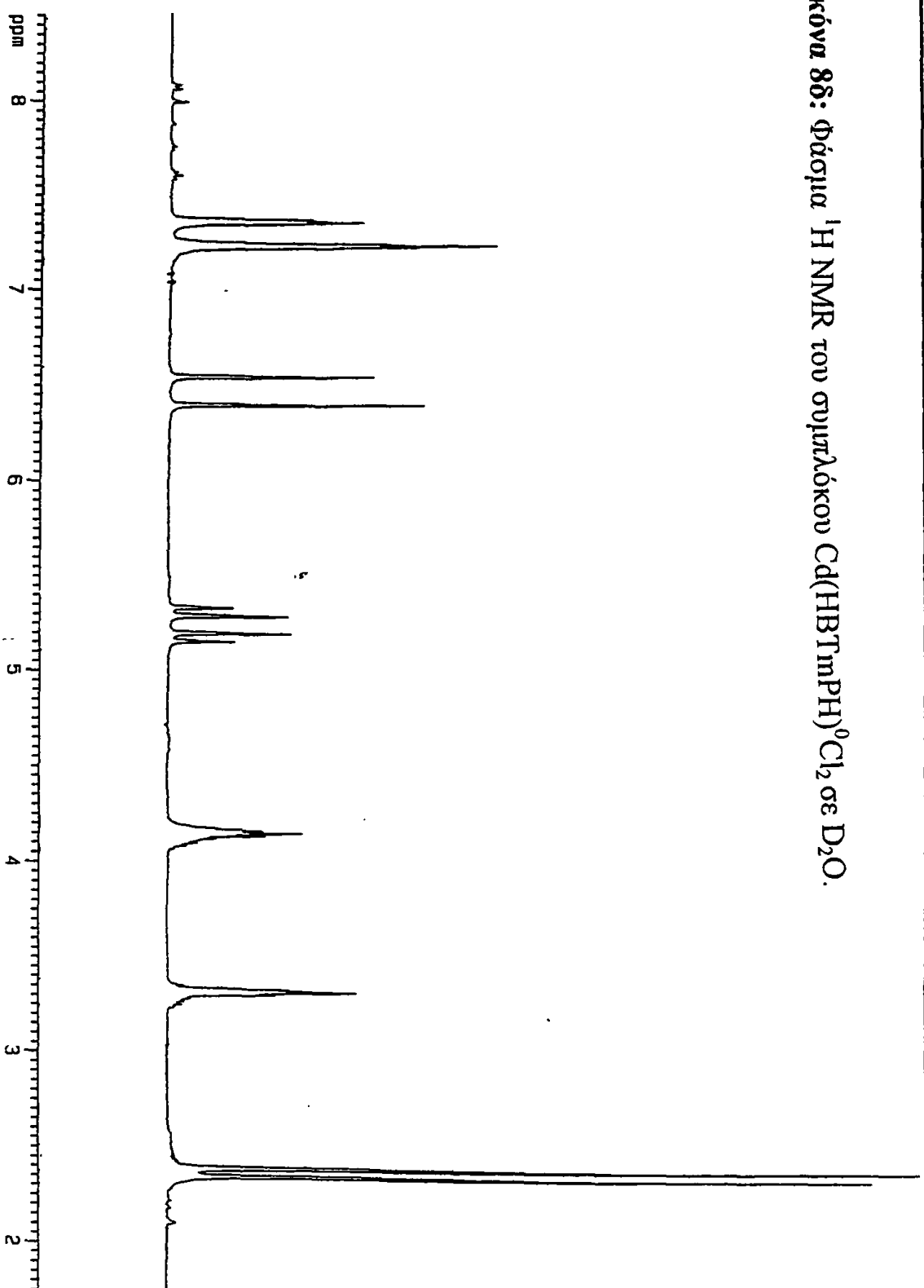
Εικόνα 8β: Φάσμα ^1H NMR του υδροκατασάτη (HBTmPH) 0 σε D_2O



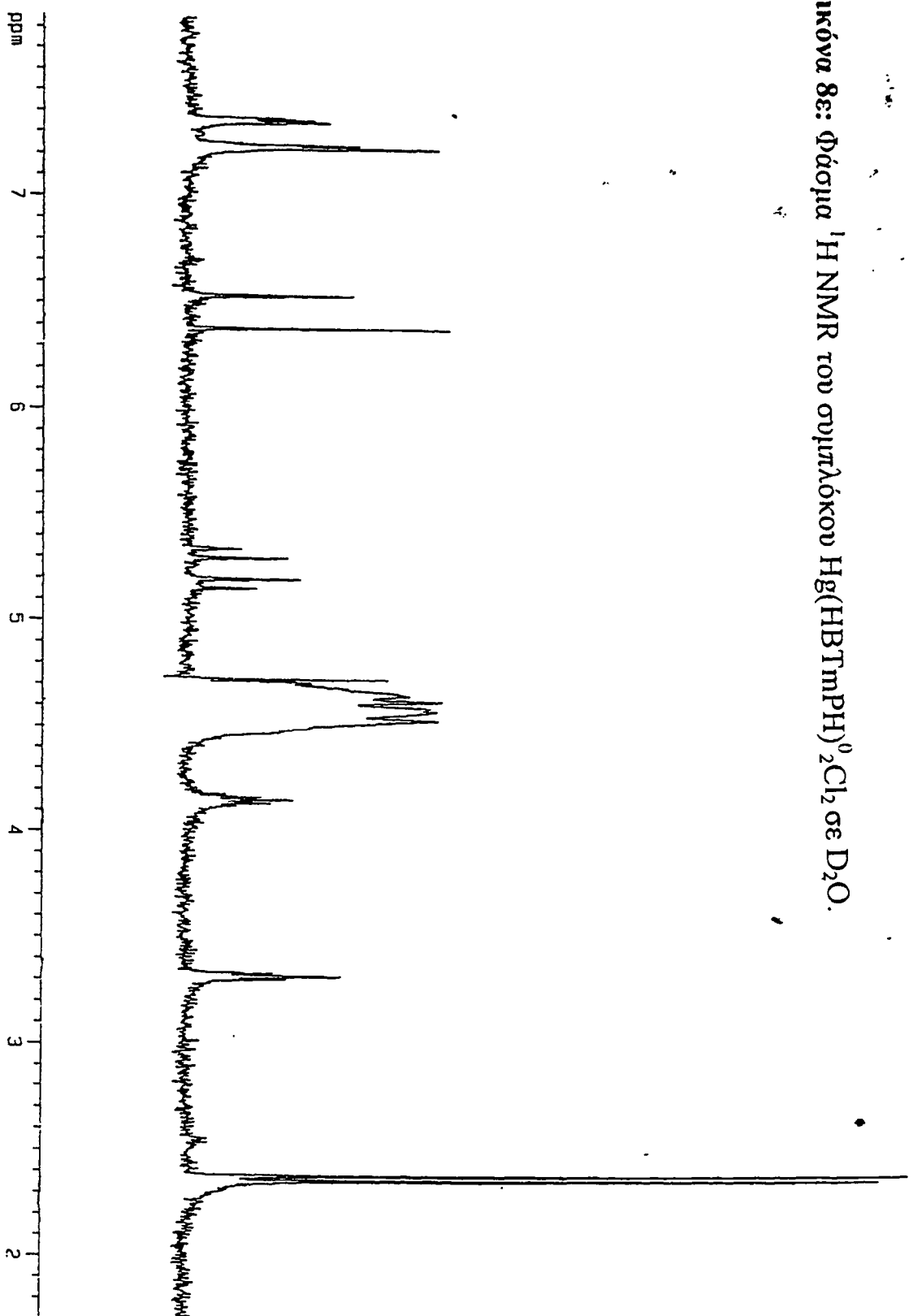
Εικόνα 8γ: Φάσμα ^1H NMR του συμπλόκου $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^0\text{Cl}_2$ σε D_2O .



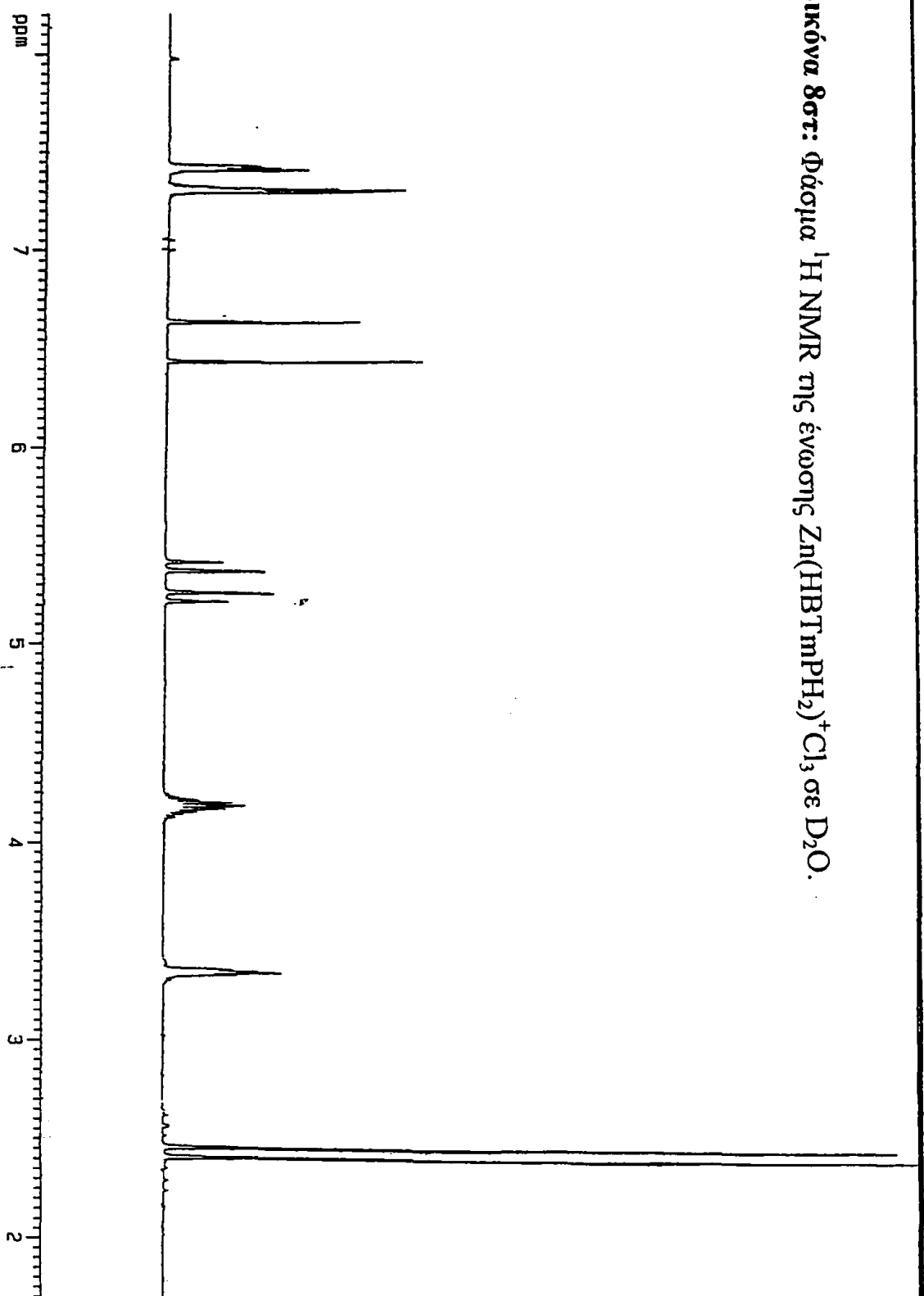
Εικόνα 8δ: Φάσμα ^1H NMR του συμπλόκου $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^0\text{Cl}_2$ σε D_2O .



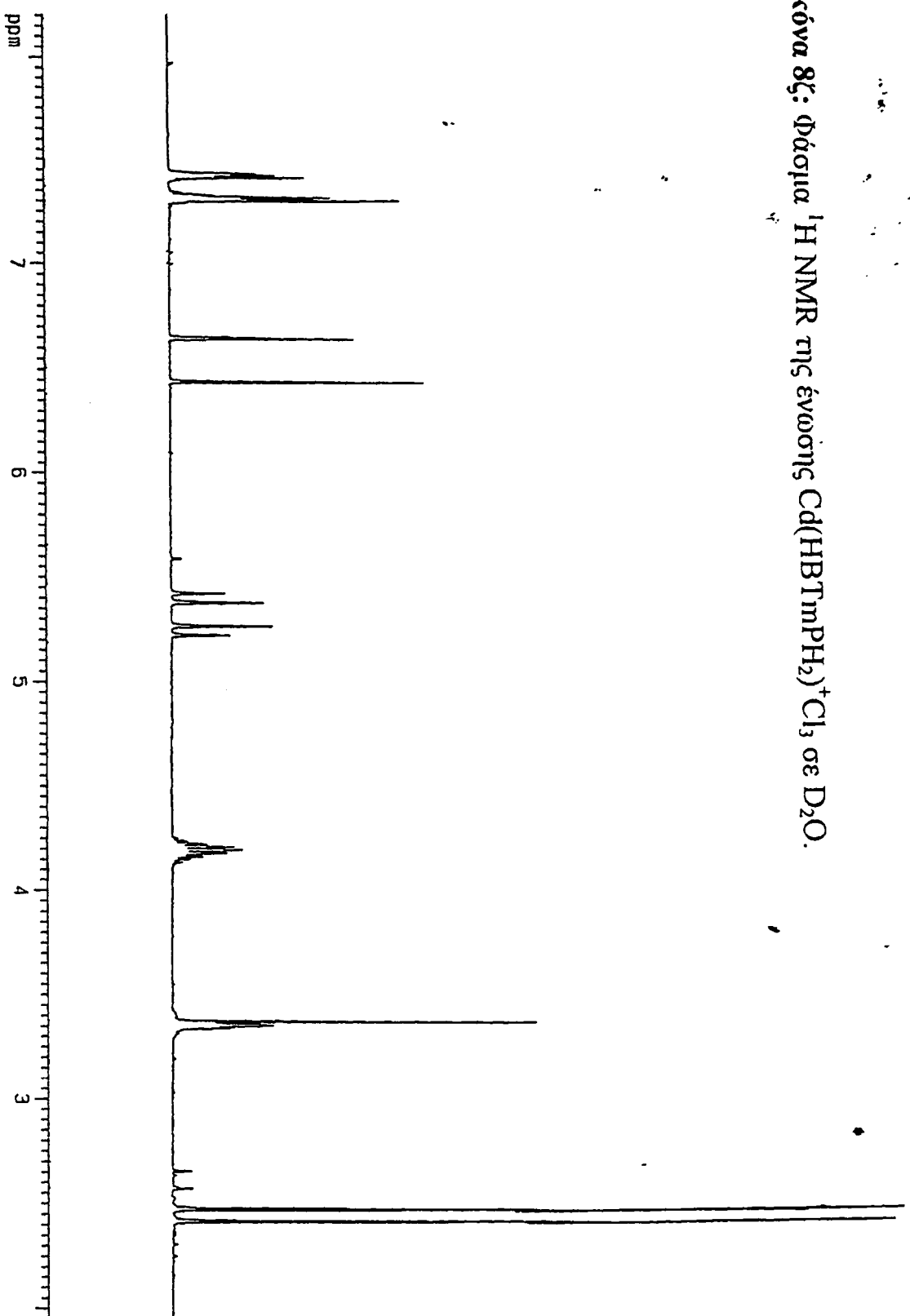
Εικόνα 8ε: Φάσμα ^1H NMR του συμπλόκου $\text{Hg}(\text{HBTmPH})_2\text{Cl}_2$ σε D_2O .



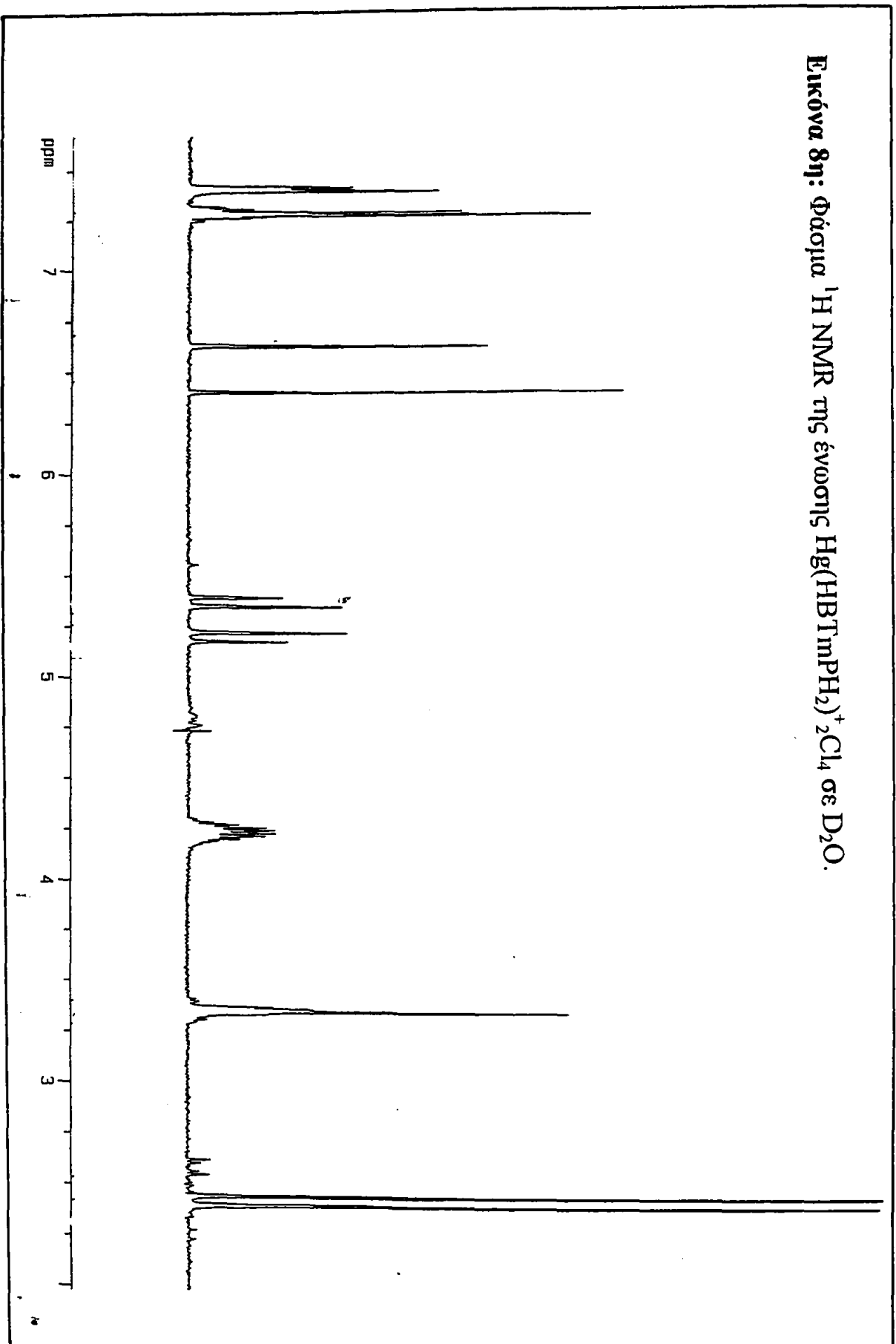
Εικόνα 86: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης $\text{Zn}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$ σε D_2O .



Εικόνα 8ζ: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης $\text{Cd}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$ σε D_2O .



Εικόνα 8η: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης $\text{Hg}(\text{HBImPH}_2)^+ 2\text{Cl}_4$ σε D_2O .



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. J.P.Taglioni, J.Fournier, C.R.Acad. Sc. Paris 288 SerieC, (1979), 141-144
2. J.Mieyal, G.Bantle, R.Votaw, I.Rosner, H.Sable, J.Biol.Chem. 246(1971), 5213-19.
3. K.Dodi, I.P.Gerothanassis, N.Hadjiliadis, A.Schreider, R.Bau, I.S.Butler and P.J.Barrie, Inorg. Chem. 35 (1996), 6513-9
4. J.Pletcher, M.Sax, J. Am. Chem. Soc. 94 (1972), 3998-4005.
5. M. Sax, Pulsineli, J. Pletcher, J. Am. Chem. Soc. 96 (1974), 155-65.
6. J. Pletcher, M. Sax, G. Blank, M.Wood, J. Am. Chem. Soc. 99 (1977), 1396-403.
7. M. Louloudi, N. Hadjiliadis, J. A. Feng, S. Sukumar, R. Bau, J. Am. Chem. Soc. 112 (1990), 7233-8.
8. M. Louloudi, N. Hadjiliadis, J.P. Laussac, Metal Based Drugs, 1 (1994), 221
9. M. Louloudi, N Hadjiliadis, Coord. Chem. Rev. 135 (1994), 429.
10. R. Cramer. R. Maynard, R Evangelista, , J. Am. Chem. Soc. 106 (1984), 111-6.
11. J. Hogg, Bioorgan. Chem. 10 (1981), 233-42.
12. N. Hadjiliadis, J. Markopoulos, Can. J. Spectry. 35 (1990), 27-33
13. N. Hadjiliadis, M. Louloudi, I.S. Butler, Spectrochimica Acta, 47A (1991), 445-53...
14. S. B. Kartha, Spectrochimica Acta, 38A (1982), 859-66
15. N. Hadjiliadis, J. Markopoulos, G. Pneumatikakis, D Katakis, T.Theothanidis, Inorg. Chim. Acta 25 (1977), 21-31
16. N. Hadjiliadis, A Yannopoulos, E. DeGrave, R.Bau, Bull. Soc. Chim. Belg., 98 (1989), 223-35.
17. G. Malandrinou, M. Louloudi, C.A. Mitsopoulou, I.S. Butler, R. Bau, N. Hadjiliadis, (1998), 437-448
18. N. Hadjiliadis, Chim. Cron. (New Series), 6 (1977), 479-85
19. M.Louloudi, A. Michailidis, J. P. Laussac, R Bau, N. Hadjiliadis, C.R. Acad. Sci. Ser. 2, 309 (1989), 463-8



20. M.Louloudi, N. Hadjiliadis, J. Chem. Soc. Dalton, (1991), 1635-38
21. R.D. Mair, D.F. Homing, J. Chem. Phys, 17 (1949), 1236-47.
22. M. Conte, G. Mille, J. Lafon, J. Chouteau, J. Metzger, J. Chem. Phys, 73 (1976), 569-74.
23. G. Sbrana, G. Adembri, S. Califano, Spectrochim. Acta, 22 (1966), 1831-42.
24. K.B. Widerg, A. Shrake, Spectrochim. Acta, 27A (1971), 1139-51.
25. R. Foglizzo, A. Novak, Spectrochim. Acta, 26A (1970), 2281-92.
26. E. Spinner, J. Chem. Soc, (1962), 3119-26.
27. L.J. Bellamy, The infrared spectra of complex molecules, 3rd edn. Chapman & Hall, London, (1975)
28. Α. Βαλαβανίδης "Βασικές αρχές Μοριακής Φασματοσκοπίας και εφαρμογές στην Οργανική Χημεία" ΣΥΓΧΡΟΝΑ ΘΕΜΑΤΑ, Αθήνα 1990
29. G.R. Hays, Analyst, 107 (1982), 241-52
30. G.C. Levy "Topics in Carbon-13 NMR Spectroscopy", Volume 4, A Wiley-Interscience Publication, 1984.
31. G.R. Hays, Nucl. Magn. Reson., 12 (1983), 121-57.
32. P.S. Belton, S.F. Tanner, K.M. Wright, Nucl. Magn. Reson., 15 (1986), 148-90.
33. D.L. Vanderhart, W.L. Earl, A.N. Garroway, J. Magn. Reson., 44 (1981), 361-401.
34. M. Louloudi, N. Hadjiliadis, I.S. Butler, J. Chem. Soc. Dalton Trans., (1992), 1401
35. W. Xiaoling, I. Shanmin and W. Xaewen, J. Magn. Reson 77 (1988), 343
36. C.A. Fyle, Solid State NMR for Chemists, C.F.C. Press, Guelph, Ontario, 1983.
37. J. Herzfeld and A.E. Berger, J. Chem. Phys., 73 (1980), 6021
38. A. Olivieri, J. Magn. Reson. 88 (1990), 1
39. S. Un, M.P. Klein, J. Am. Chem. Soc. 111 (1989), 5119
40. I.P. Gerothanassis, P.J. Barrie, B. Birgall, J. Feeney, J. Eur. Biochem. 226 (1994), 211
41. W.K. Geary, Coord. Chem. 7 (1971), 81-122
42. A Gallo, H. Sable, J. Biol. Chem. 251 (1976), 2564-70



43. J.Casas, E.Castellano, M.Couce, A.Sanchez, J.Sordo, J.Varela,J.Zukerman-Schpector, Inorg. Chem. 34 (1995), 2430
44. J. Mieyal, G. Bantle, R. Votaw, I.Rosner, H.Sable, J. Biol. Chem. 246 (1971), 5213-19
45. R.H. Bible, "Interpretation of NMR spectra" Plenum Press, N.York, 1965
46. L.M. Jackman, S.Sternhell, "Applications of NMR Spectroscopy in Organic Chemistry" 2nd Edition, Pergamon Press, 1969.



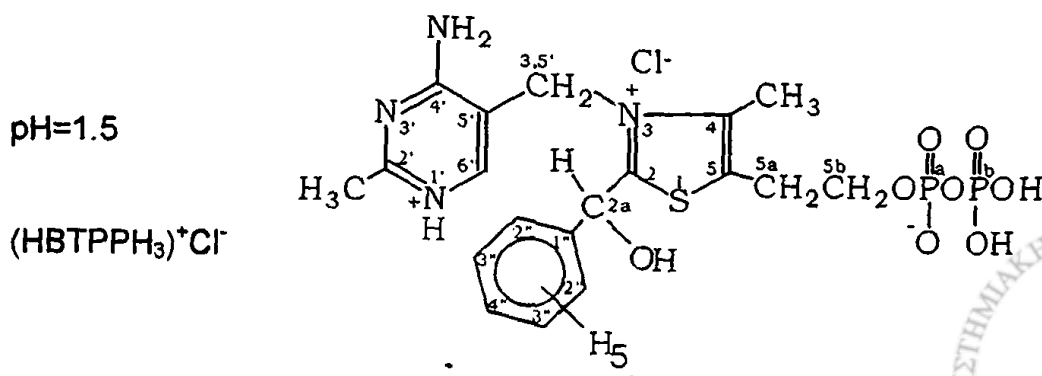
Γ. ΜΕΡΟΣ ΤΡΙΤΟ

ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΔΙΣΘΕΝΩΝ ΜΕΤΑΛΛΙΚΩΝ ΙΟΝΤΩΝ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ II_B ΜΕ 2-(α-ΥΔΡΟΞΥ-ΒΕΝΖΥΛ) ΠΥΡΟΦΩΣΦΟΡΙΚΗ ΘΕΙΑΜΙΝΗ (HBTPP)

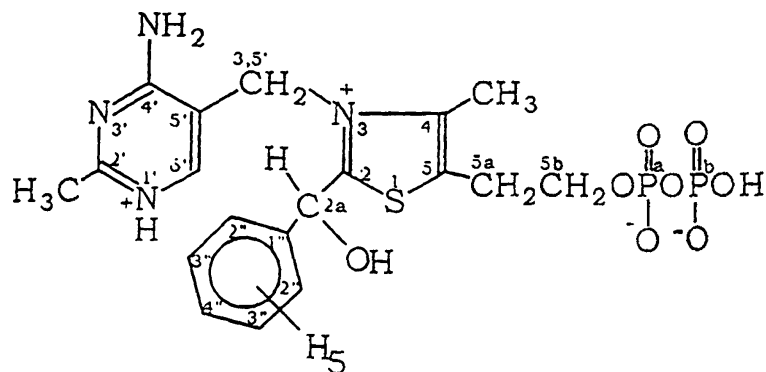
Ι. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Συνεχίζοντας την έρευνα πάνω στην βιολογική δράση της θειαμίνης, παρασκευάσαμε και μελετήσαμε σύμπλοκα δισθενών μεταλλικών ιόντων της ομάδας II_B με την 2-(α-υδροξυ-βενζυλ)πυροφωσφορική θειαμίνη (HBTPP). Χρησιμοποιήσαμε πυροφωσφορική θειαμίνη γιατί, όπως προαναφέραμε, αυτή η μορφή υπάρχει στον οργανισμό μας και παίρνει μέρος στις βιολογικές αντιδράσεις (1-4). Το βένζυλο παράγωγο της θειαμίνης βέβαια δεν υπάρχει στον οργανισμό, αν και υπάρχει στον μικροοργανισμό *Pseudomonas Putida* (5), παρασκευάζεται όμως πολύ πιο εύκολα από το αντίστοιχο 2-(α-υδροξυ-αιθυλ)TRP που είναι η μορφή "ενεργού αλδεϋδης" που προέρχεται από το πυροσταφυλικό οξύ αφ' ενός και αποτελεί αφετέρου επιτυχές μοντέλο του τελευταίου.

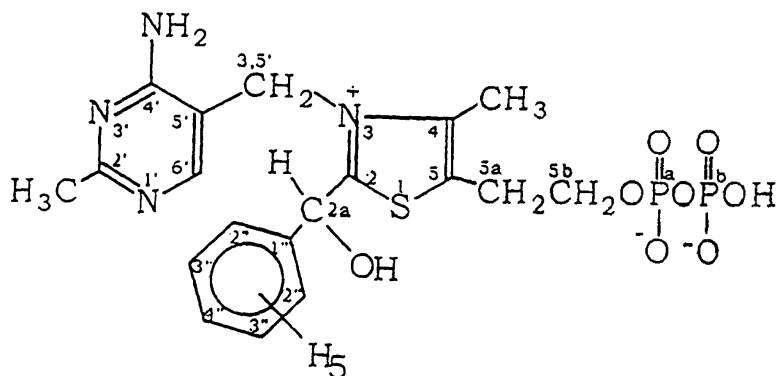
Το N(1') και τα οξυγόνα της πυροφωσφορικής ομάδας σε κάποιες τιμές του pH είναι πρωτονιωμένα και σε κάποιες όχι ανάλογα με το pK_a αυτών των θέσεων (6). Έτσι όσον αφορά τον υποκαταστάτη 2-(α-υδροξυ βενζυλ) πυροφωσφορική θειαμίνη, στο επόμενο σχήμα φαίνονται οι μορφές που παίρνει σε διάφορες τιμές του pH καθώς και ο συμβολισμός που χρησιμοποιούμε:



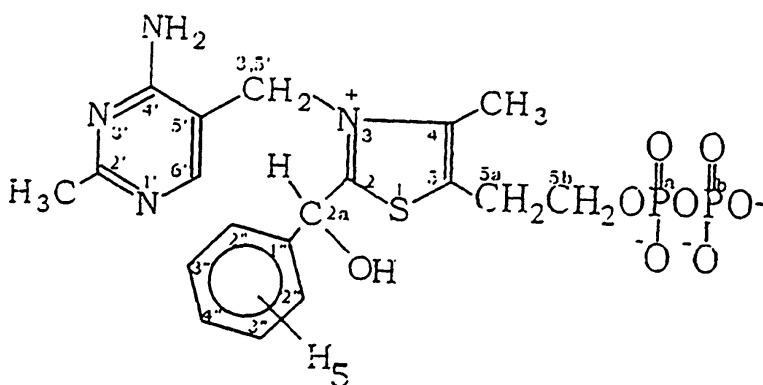
pH=3.5

(HBTPPH₂)⁰

pH=6

(HBTPPH)⁻

pH>6

(HBTPP)⁻²

Συνοψίζοντας, παρατηρούμε ότι σε pH=1.5 το N(1') της πυριμιδίνης είναι πρωτονιωμένο και η πυροφωσφορική ομάδα είναι μονοανιονική (έχει αποσπαστεί ένα υδρογόνο από τον P_α). Σε pH=3.5 το N(1') της πυριμιδίνης εξακολουθεί να είναι πρωτονιωμένο ενώ η πυροφωσφορική ομάδα γίνεται διανιονική (αποσπάζεται κι ένα υδρογόνο από τον P_β). Πηγαίνοντας σε μεγαλύτερες τιμές του pH (γύρω στο 6), το N(1') αποπρωτονιώνεται ενώ η πυροφωσφορική ομάδα εξακολουθεί να είναι διανιονική. Φυσικά σε τιμές του pH μεγαλύτερες από 6, αποσπάζεται και το τρίτο πρωτόνιο της πυροφωσφορικής ομάδας.



II. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

1. ΤΑ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΣΤΗ ΣΤΕΡΕΑ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ

1.1. Σύνθεση

Η σύνθεση και η απομόνωση των συμπλόκων του Zn(II), Cd(II) και Hg(II) με τον υποκαταστάτη HBTPP στη στερεά κατάσταση έγινε σχεδόν με τον ίδιο τρόπο που παρασκευάστηκαν και απομονώθηκαν τα σύμπλοκα των ίδιων μετάλλων με τον υποκαταστάτη HBTmP. Τα σύμπλοκα $\{K[Zn(HBTPRH)^-Cl_2]\}_n$, $\{K_2[Cd(HBTPP)^{2-}Cl_2]\}_n$ και $K_2[Hg(HBTPRH)^-_2Cl_2]$ παρασκευάστηκαν αφού ρυθμίστηκε το pH διαλύματος του υποκαταστάτη στο 6 ενώ το σύμπλοκο του Zn(II) με τύπο $Zn(HBTPRH_2)^0_2Cl_2$ παρασκευάστηκε με ρύθμιση του pH διαλύματος του υποκαταστάτη στο 3.5. Αναλυτικά, η πορεία σύνθεσης των παραπάνω ενώσεων παρατίθεται στο Πειραματικό Μέρος.

Στον πίνακα 10 αναφέρονται τα αποτελέσματα της στοιχειακής ανάλυσης των παραπάνω συμπλόκων καθώς και οι θεωρητικές τιμές για τους αποδιδόμενους τύπους

Πίνακας 10. Στοιχειακή ανάλυση των συμπλόκων

Σύμπλοκο	C%		H%		N%		S%		M%		Cl%	
	Υπολ.Ευρεθ		Υπολ.Ευρεθ		Υπολ.Ευρεθ		Υπολ.Ευρεθ		Υπολ.Ευρεθ		Υπολ.Ευρεθ	
$\{K[Zn(HBTPRH)^-Cl_2] \cdot H_2O\}_n$ $C_{19}H_{23}N_4O_8SP_2Cl_2ZnK \cdot H_2O$	31.6	31.8	3.5	3.6	7.8	7.8	4.4	4.9	9.1	9.5	9.8	9.0
$\{K_2[Cd(HBTPP)^{2-}Cl_2] \cdot 3H_2O\}_n$ $C_{19}H_{22}N_4O_8SP_2Cl_2CdK_2 \cdot 3H_2O$	27.0	26.8	3.3	3.3	6.6	6.5	3.8	4.3	13.3	14.1	8.4	7.5
$K_2[Hg(HBTPRH)^-_2Cl_2] \cdot 3H_2O$ $C_{38}H_{46}N_8O_{16}S_2P_4Cl_2HgK_2 \cdot 3H_2O$	31.2	31.5	3.6	4.1	7.7	7.8	4.4	5.0	13.7	14.2	4.8	4.3
$Zn(HBTPRH_2)^0_2Cl_2 \cdot 2H_2O$ $C_{38}H_{46}N_8O_{16}S_2P_4Cl_2Zn \cdot 2H_2O$	37.0	37.0	4.2	4.7	9.1	9.0	5.2	5.5	5.3	5.8	5.7	5.2



1.2. Φασματοσκοπία υπερύθρου (IR) και Raman

Στις εικόνες 9(α-στ) φαίνονται τα φάσματα IR του υποκαταστάτη $(\text{HBTPRH})^-\text{K}^+$ και $(\text{HBTPRH}_2)^0$ καθώς και των συμπλόκων $\{\text{K}[\text{Zn}(\text{HBTPRH})^-\text{Cl}_2]\}_n$, $\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPP})^{2-}\text{Cl}_2]\}_n$, $\text{K}_2[\text{Hg}(\text{HBTPRH})^-\text{Cl}_2]$ και $\text{Zn}(\text{HBTPRH}_2)^0\text{Cl}_2$. Στον πίνακα 11α, δίνονται οι χαρακτηριστικές συχνότητες των παραπάνω συμπλόκων και υποκαταστατών. Ακόμη τα αντίστοιχα φάσματα Raman φαίνονται στις εικόνες 10(α-δ) ενώ η απόδοση των κύριων ταινιών στον πίνακα 11β.

Πρέπει να σημειωθεί ότι ταυτοποίηση όλων των ταινιών που αναμένονται δεν είναι δυνατή, λόγω του μεγάλου αριθμού ατόμων του συστήματός μας. Έτσι πολλές από τις ταινίες αυτές θα μπορούσαν να συμπίπτουν και οι ασθενέστερες να καλύπτονται από κάποιες ισχυρότερες. Τα φάσματα που παρατίθενται λοιπόν, συζητούνται με βάση τις αναμενόμενες συχνότητες των χαρακτηριστικών ομάδων και ταυτοποιούνται οι ισχυρότερες ταινίες.

Στα φάσματα IR στην περιοχή μεταξύ $3400\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ εμφανίζονται ισχυρές ευρείες ταινίες, όπως και στα φάσματα με τον μονοφωσφορικό υποκαταστάτη, που αποδίδονται στις δονήσεις νOH και νNH_2 καθώς επίσης και σε συζεύξεις μεταξύ τους (7,8).

Στα φάσματα Raman στην περιοχή αυτή εμφανίζονται πολύ ασθενείς ταινίες. Αντίθετα στην περιοχή κοντά στα 3065 cm^{-1} εμφανίζεται μια ισχυρή ταινία που αποδίδεται σε δόνηση τάσης νCH του φαινυλίου. Τα παράγωγα του μονο-φαινυλ-θειαζολίου εμφανίζουν την ταινία νCH του φαινυλίου στα 3062 cm^{-1} (9). Στα φάσματα Raman των συμπλόκων και του υποκαταστάτη παρατηρείται μία ισχυρή ταινία κοντά στα 2930 cm^{-1} που μπορεί να αποδοθεί στην δόνηση τάσης νCH αλειφατικών ομάδων CH_3 - ή $-\text{CH}_2$ - (10). Από την εξέταση της περιοχής αυτής μπορούμε να βγάλουμε το συμπέρασμα ότι δεν υπάρχει δεσμός μεταξύ του $-\text{OH}$ ή του $-\text{NH}_2$ με τα μέταλλα.

Στο IR στην περιοχή πριν τα 1600 cm^{-1} εμφανίζονται δύο ισχυρές ταινίες που πολλές φορές επικαλύπτονται και φαίνεται σαν μια ευρεία ταινία (7,11). Αυτές οι ταινίες μπορούν να αποδοθούν στην δόνηση τάσης της πυριμιδίνης (8α) και στην δόνηση κάμψης της αμινομάδας. Πιο συγκεκριμένα στο φάσμα του υποκαταστάτη $(\text{HBTPRH})^-\text{K}^+$ εμφανίζονται δύο ταινίες στα



1648 και 1617 cm^{-1} ενώ στο φάσμα του πρωτονιωμένου υποκαταστάτη $(\text{HBTPPH}_2)^0$ οι ταινίες αυτές βρέθηκαν στα 1660 και 1630 cm^{-1} . Στα σύμπλοκα του Zn(II) , Cd(II) και Hg(II) οι ταινίες αυτές εμφανίζονται αντίστοιχα στα 1655, 1615, στα 1653, 1612 και στα 1649, 1618 cm^{-1} . Ταυτοποίηση των ταινιών έγινε μετά από δευτερίωση των ενώσεων. Έτσι η ταινία που αντιστοιχεί στην καθαρή δόνηση τάσης της πυριμιδίνης (8α) παρατίθεται στον Πίνακα 11α σε παρένθεση. Εδώ αναλυτικά αναφέρουμε: δόνηση τάσης πυριμιδινικού δακτυλίου (8α) του $(\text{HBTPPH})\text{K}^+$ στα 1615 cm^{-1} , του $(\text{HBTPPH}_2)^0$ στα 1640 cm^{-1} και των συμπλόκων Zn(II) , Cd(II) και Hg(II) στα 1622, 1620 και 1618 cm^{-1} αντίστοιχα. Παρατηρούμε επομένως ότι η πρωτονίωση στο N(1') έχει μεγαλύτερη επίδραση σ' αυτή τη συχνότητα παρά η συμπλοκοποίηση. Έτσι οι συχνότητες δόνησης τάσης της πυριμιδίνης ακολουθούν τη σειρά $\text{H}^+ > \text{Zn}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Hg}^{2+}$ (8,12,13). Αντίθετα η δόνηση κάμψης της αμινομάδας ακολουθεί τη σειρά $\delta\text{NH}_2 (\text{HBTPPH}_2)^0 > \delta\text{NH}_2 (\text{HBTPPH})\text{K}^+ > \delta\text{NH}_2$ συμπλόκων.

Μία οξεία κορυφή στα $\sim 1530 \text{ cm}^{-1}$ που εμφανίζεται και στα σύμπλοκα και στους υποκαταστάτες και είναι ευαίσθητη στην πρωτονίωση και στην συμπλοκοποίηση αποδίδεται στην δόνηση τάσης του πυριμιδινικού δακτυλίου (8b) (8). Σε αντίθεση με τα φάσματα του μονοφωσφορικού υποκαταστάτη και των συμπλόκων του, εδώ η κορυφή αυτή εμφανίζεται σε υψηλότερες συχνότητες στον πρωτονιωμένο υποκαταστάτη, σε χαμηλότερες στον αποπρωτονιωμένο και σε ενδιάμεσες τιμές στα σύμπλοκα.

Στα φάσματα Raman παρατηρείται μια κορυφή στα $\sim 1600 \text{ cm}^{-1}$ και στα σύμπλοκα και στους υποκαταστάτες και αποδίδεται στην δόνηση τάσης του φαινυλίου (8α). Η ταινία στα 1470 cm^{-1} αποδίδεται στην ασύμμετρη κίνηση $\delta(\text{CH})$ των αλειφατικών ομάδων $-\text{CH}_2-$ και $-\text{CH}_3$. Η ταινία στα 1400 cm^{-1} μπορεί να αποδοθεί στην συμμετρική $\delta(\text{CH})$ δόνηση των ίδιων ομάδων. Στο IR η ταινία γύρω στα 1450 cm^{-1} οφείλεται όμοια στην δόνηση κάμψης $\delta(\text{CH})$ του $-\text{CH}_3$.

Περνώντας στην ταυτοποίηση των δονήσεων που οφείλονται στο πυροφωσφορικό τμήμα των ενώσεών μας, αναφέρουμε ότι η ταινία στα IR φάσματα γύρω στα 1215 cm^{-1} μπορεί να αποδοθεί στην δόνηση τάσης του P=O . (12) Στην περιοχή αυτή παρατηρούμε μία διαφορά στα φάσματα των ελεύθερων υποκαταστατών και του συμπλόκου του Hg σε σύγκριση με τα

φάσματα των συμπλόκων του Cd(II) και Zn(II). Στα πρώτα φάσματα βλέπουμε μία οξεία ταινία ενώ στα φάσματα των συμπλόκων του Cd(II) και Zn(II) παρατηρούμε ευρείες ταινίες. Το γεγονός αυτό αποτελεί ένδειξη ότι τα δύο τελευταία μέταλλα συνδέονται και μέσω της φωσφορικής ομάδας. Στο Raman η κορυφή αυτή εμφανίζεται γύρω στα 1190 cm^{-1} .

Στο IR η ταινία στα $\sim 1075\text{ cm}^{-1}$ του ελεύθερου υποκαταστάτη (HBTPRH)⁻K⁺ οφείλεται στην δονήσεις τάσης ν(C-O) και ν(P-O-C) όπως και οι ταινίες σε μικρότερες συχνότητες. Και σ' αυτή την περιοχή το φάσμα του ελεύθερου υποκαταστάτη (HBTPRH)⁻K⁺ ομοιάζει με εκείνο του συμπλόκου K₂[Hg(HBTPRH)₂Cl₂] υποδεικνύοντας ότι στο σύμπλοκο του Hg το μέταλλο δεν συνδέεται μέσω της φωσφορικής ομάδας. Στο Raman οι παραπάνω κινήσεις εμφανίζονται στα $1100\text{-}1030\text{ cm}^{-1}$.

Οι δονήσεις τάσης των ν(P-O) και ν(P-O-P) εμφανίζονται στο IR στα $960\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ ενώ στο Raman στα 1000 cm^{-1} .

Επίσης, οι ταινίες στα 730 και 700 αποδίδονται όπως και στην περίπτωση των συμπλόκων με τον μονοφωσφορικό υποκαταστάτη (βλέπε αντίστοιχο κεφάλαιο), σε κινήσεις του φαινολικού ή του θειαζολικού δακτυλίου 6b(phe) ή w₇(th) (9). Στο Raman η κορυφή αυτή εμφανίζεται στα 616 cm^{-1} .

Στο Raman η δόνηση δ(P-O) εμφανίζεται στα 537 cm^{-1} στα σύμπλοκα του Zn(II) και Cd(II) και στα 539 cm^{-1} για το σύμπλοκο του Hg(II). Στο IR η ταινία αυτή εμφανίζεται στην ίδια περιοχή και είναι ευαίσθητη στην πρωτονίωση και μετάλλωση της φωσφορικής ομάδας (14,15).

Οι νM-Cl μπορούν εύκολα να αναγνωριστούν λόγω της διαφοράς τους σε κάθε μέταλλο. Έτσι στο Raman οι αντίστοιχη ταινία εμφανίζεται στα 276 cm^{-1} για το σύμπλοκο K₂[Hg(HBTPRH)₂Cl₂], στα 259 cm^{-1} για το σύμπλοκο {K₂[Cd(HBTPP)²⁻Cl₂]}_n και στα 240 cm^{-1} για το σύμπλοκο {K[Zn(HBTPRH)⁻Cl₂]}_n. Στο IR η ταινία που αντιστοιχεί στην νM-Cl εμφανίζεται στα 280 , 285 και 288 cm^{-1} αντίστοιχα για τα παραπάνω σύμπλοκα και στα 290 cm^{-1} για το σύμπλοκο Zn(HBTPRH₂)₂Cl₂. Οι δονήσεις νM-N στο Raman εμφανίζονται στα $\sim 180\text{ cm}^{-1}$ και για τα τρία σύμπλοκα.



Πίνακας 11α: Φασματοσκοπικά δεδομένα υπερίθρου υποκαταστατών και συμπλόκων του πυροφωσφορικού παραώγου θειαμίνης

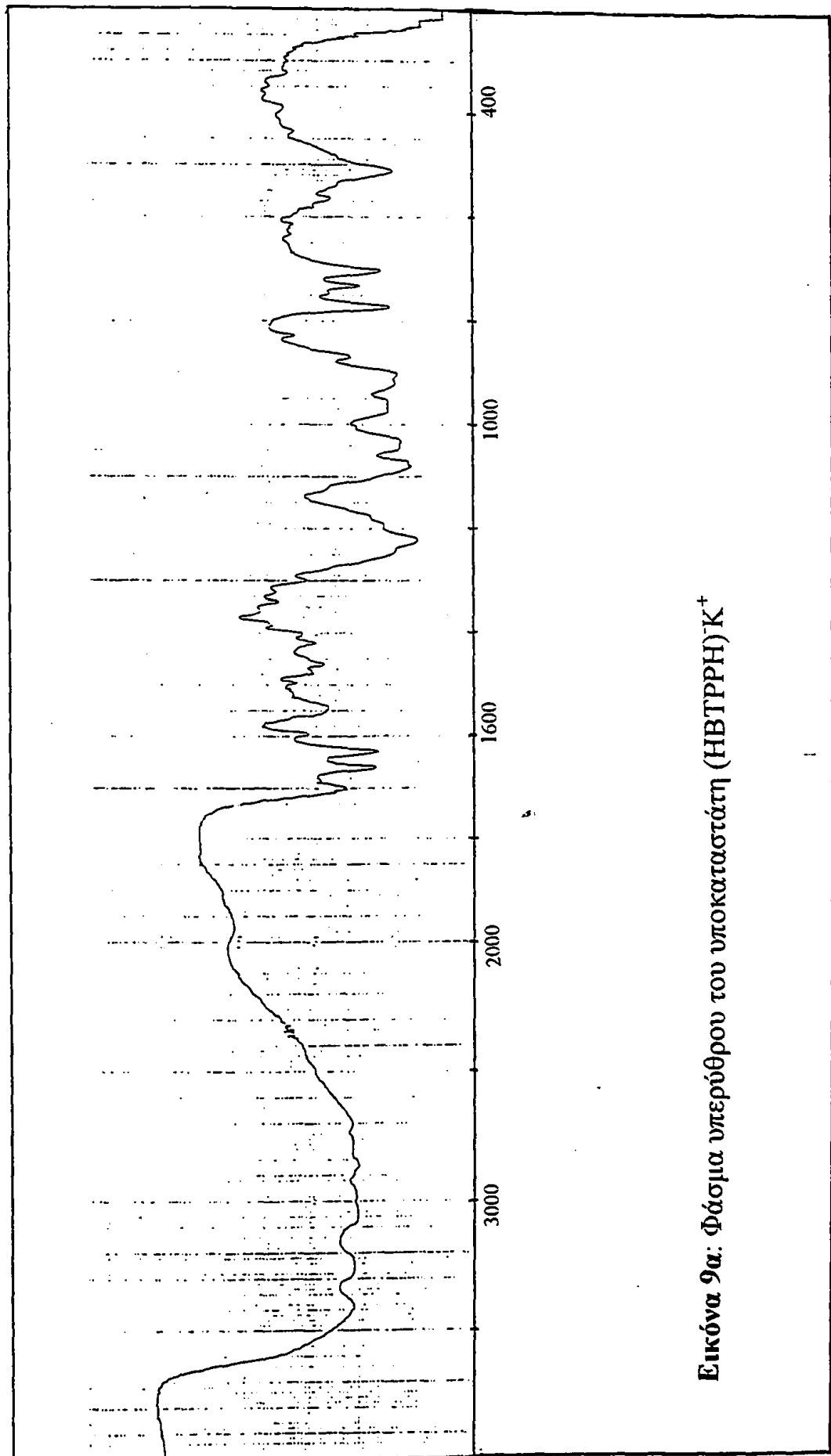
Χαρακτηρισμοί	(HBTPRH) ^{K+} pH=6.0	(HBTPRH) ⁰ pH=3.5	{K[Zn(HBTPRH)CH ₃]} _n	{K ₂ [Cd(HBTPRH) ²⁺ Cl ₂]} _n	K ₂ [Hg(HBTPRH) ₂ Cl ₂]	Zn(HBTPRH) ₂ ⁰ Cl ₂
νOH	3380b	3400b	3340b	3340b	3380b	3380b
νNH ₂	3240b	3250b	3200b	3200b	3250b	3220b
πυρ.δακτ.(8α)+	1685,1648	1700,1660s	1655	1653	1685,1649s	1690,1650s
δNH ₂	1617	1630s	1615	1612	1618s	1620s
πυρ.δακτ.(8α)	(1615)	(1640)	(1622)	(1620)	(1618)	
πυρ.δακτ.(8b)	1530	1545b	1532b	1535b	1535b	1535b
δCH (μεθ)	1448	1460	1450	1450	1450	1450s
ν(P=O)	1215	1220s	1215b	1200b	1215s	1220b
ν(C-O)+ν(P-O-C)	1075,1065	1075b	1090b,1055	1075b	1075s,1065	1080,1065
ν(P-O)+ν(P-O-P)	1040	1040b			1040s	1035b
	960,915	965b,920	930	915	960b,920	955,920
	900	900			900s	
φανν(6b) ή θειαζ(ω-)	728	730s	735	735	730s	730s
	700	700s	700	700s	700s	700s
δ(P-O)	555w,505	562,510	545b	540s	555w,505	560w,510
νM-Cl			288	285	280	290

Πίνακας 11β: Φασματοσκοπικά δεδομένα Raman υποκαταστατών και Συμπλόκων του πυροφωσφορικού παραγώγου θειαμίνης.

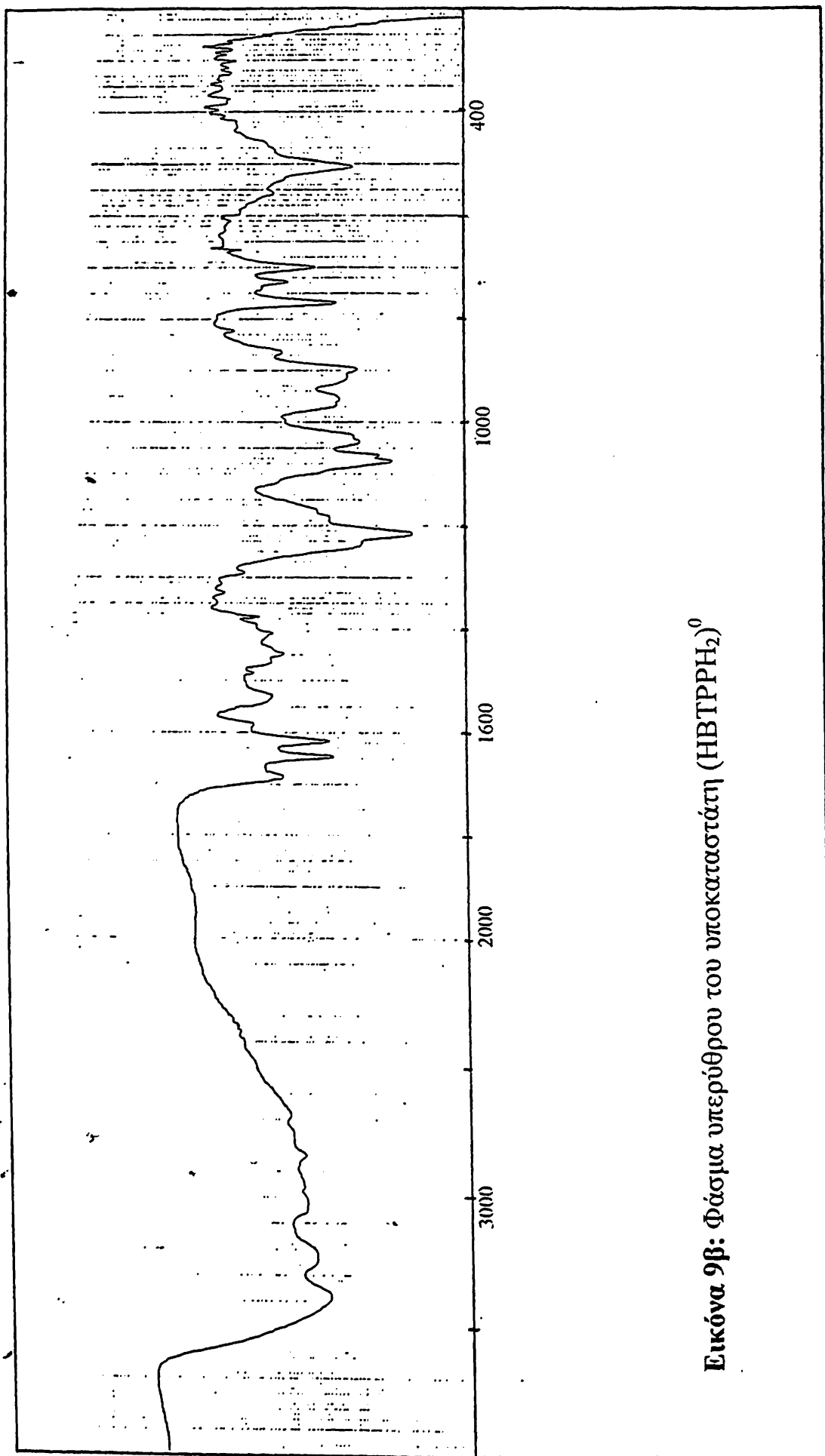
Χαρακτηρισμοί	(HBTPPH) ⁻ K ⁺	{K[Zn(HBTPPH) ⁻ Cl ₂]} _n	{K ₂ [Cd(HBTPP) ²⁻ Cl ₂]} _n	K ₂ [Hg(HBTPPH) ⁻ ₂ Cl ₂]
νCH (φαν)	3065s	3064	3064s	3060
νCH ₂ ή	2933s	2933	2934s	2930
νCH ₃ (αλειφ)				
φαν (8α)	1602s	1601	1601s	1599s
δCH(μεθ)ασυμ.	1472s	1472	1474s	1468,1440
δCH(μεθ)συμ.	1394	1395	1393	1393
ν(P=O)	1188	1192	1189	1186
ν(C-O)+	1104	1107	1101	1100
ν(P-O-C)	1030	1029	1028	1029
ν(P-O)+	1003s	1003s	1003s	1002s
ν(P-O-P)				
φαν(6b) ή	616s	616	616s	616s
θεαλ ₅ (w ₇)				
δ(P-O)	549,526	537	537	539
νM-Cl		240	260	276
νM-N		181	180	180

Τελειώνοντας την ανάλυση των φασμάτων IR και Raman υποκαταστατών και συμπλόκων που φέρουν πυροφωσφορική ομάδα, θα συνοψίσουμε ότι αυτή υποδεικνύει ένταξη των Zn, Cd στα σύμπλοκα {K[Zn(HBTPPH)⁻Cl₂]}_n και {K₂[Cd(HBTPP)²⁻Cl₂]}_n στο N(1') της πυριμιδίνης και στην πυροφωσφορική ομάδα. Στο K₂[Hg(HBTPPH)⁻₂Cl₂] ο Hg εντάσσεται μόνο μέσω του N(1'), ενώ στο Zn(HBTPPH₂)⁰₂Cl₂ ο Zn συνδέεται μόνο μέσω του πυροφωσφορικού τμήματος.

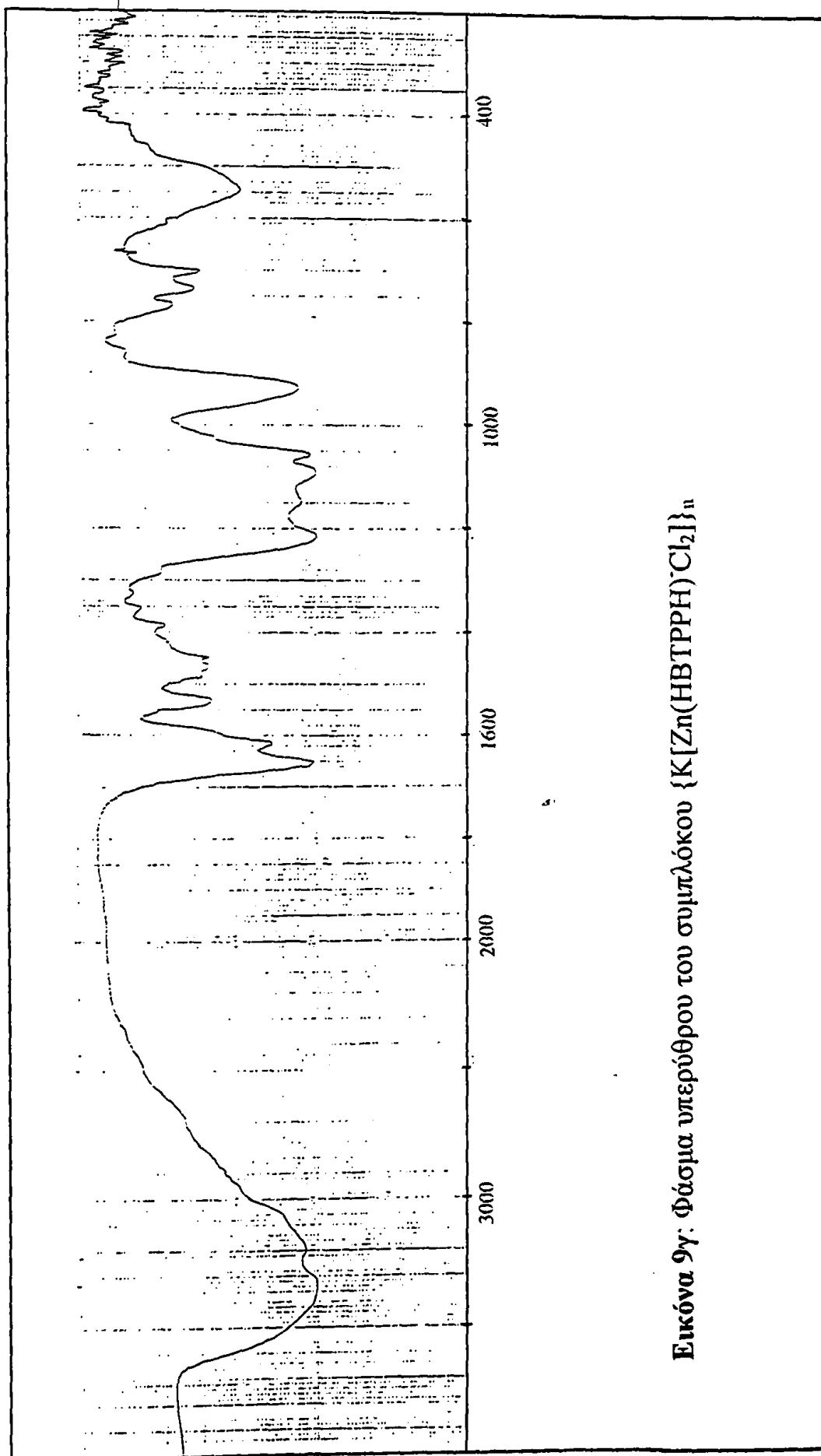


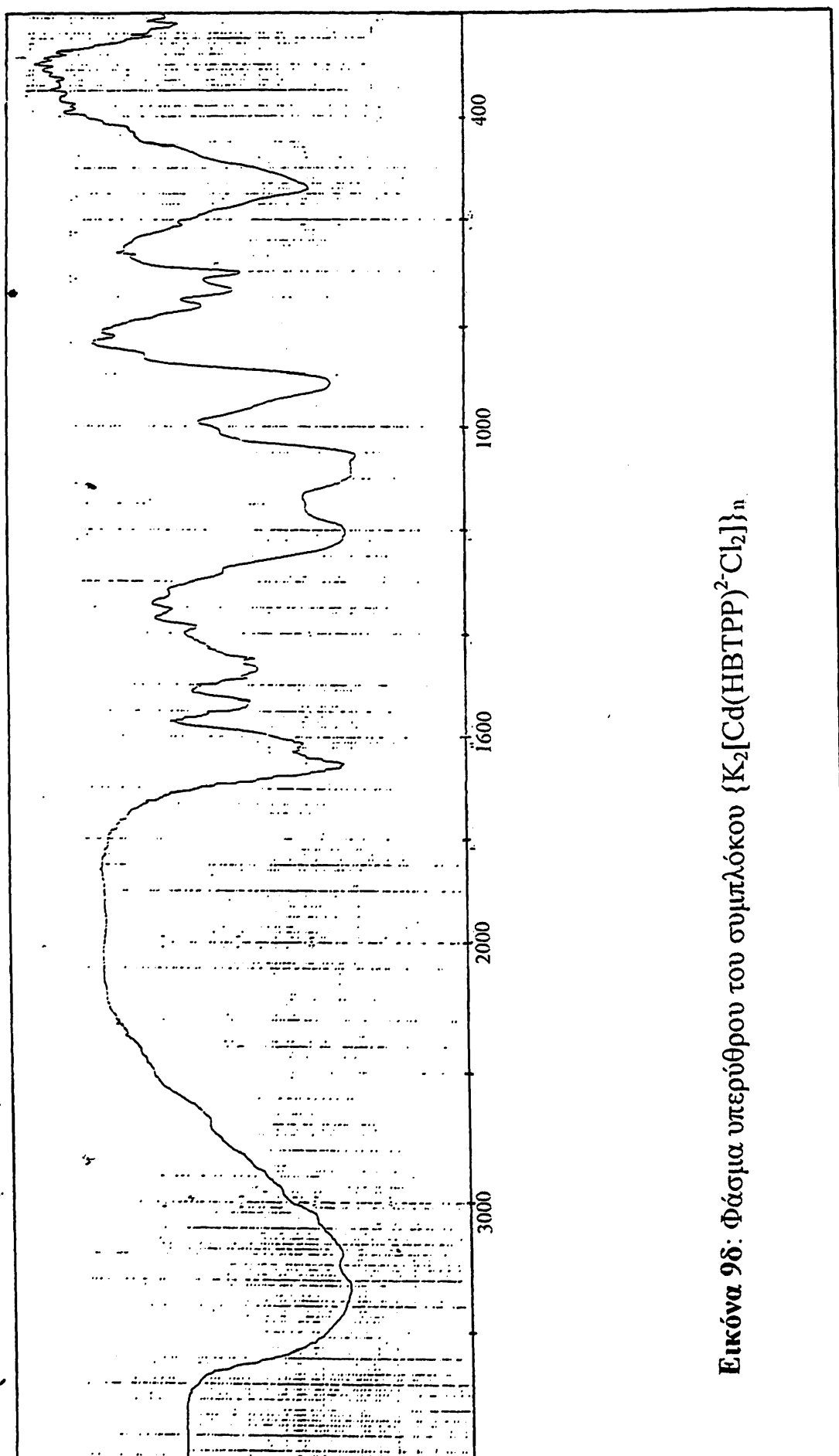


Εικόνα 9α: Φάσμα υπέρυθρου του υποκαταστάτη (H₂TPRH)⁺K⁺

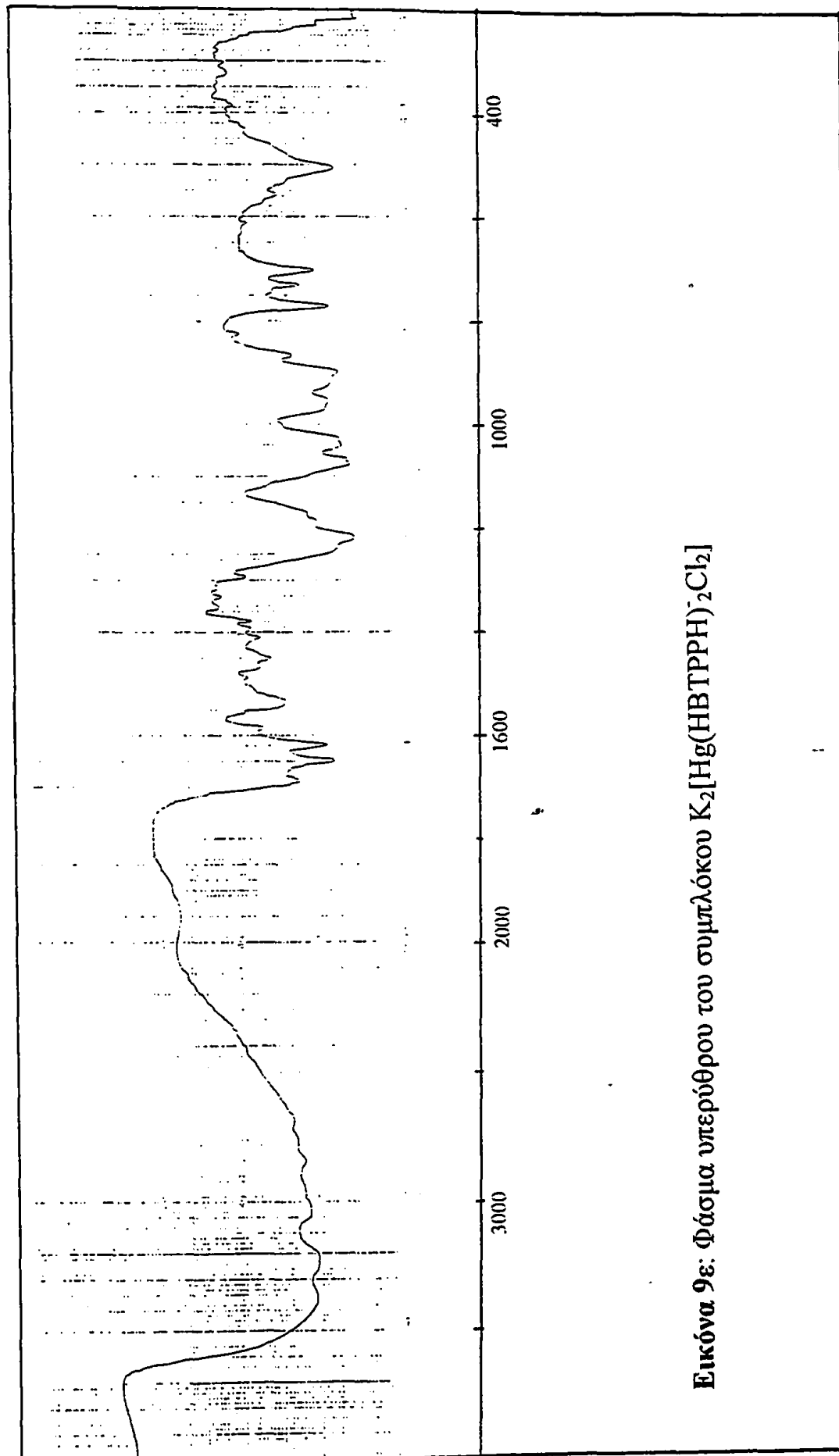


Εικόνα 9β: Φάσμα υπέρυθρου του υποκαταστάτη (HBTPRH₂)⁰

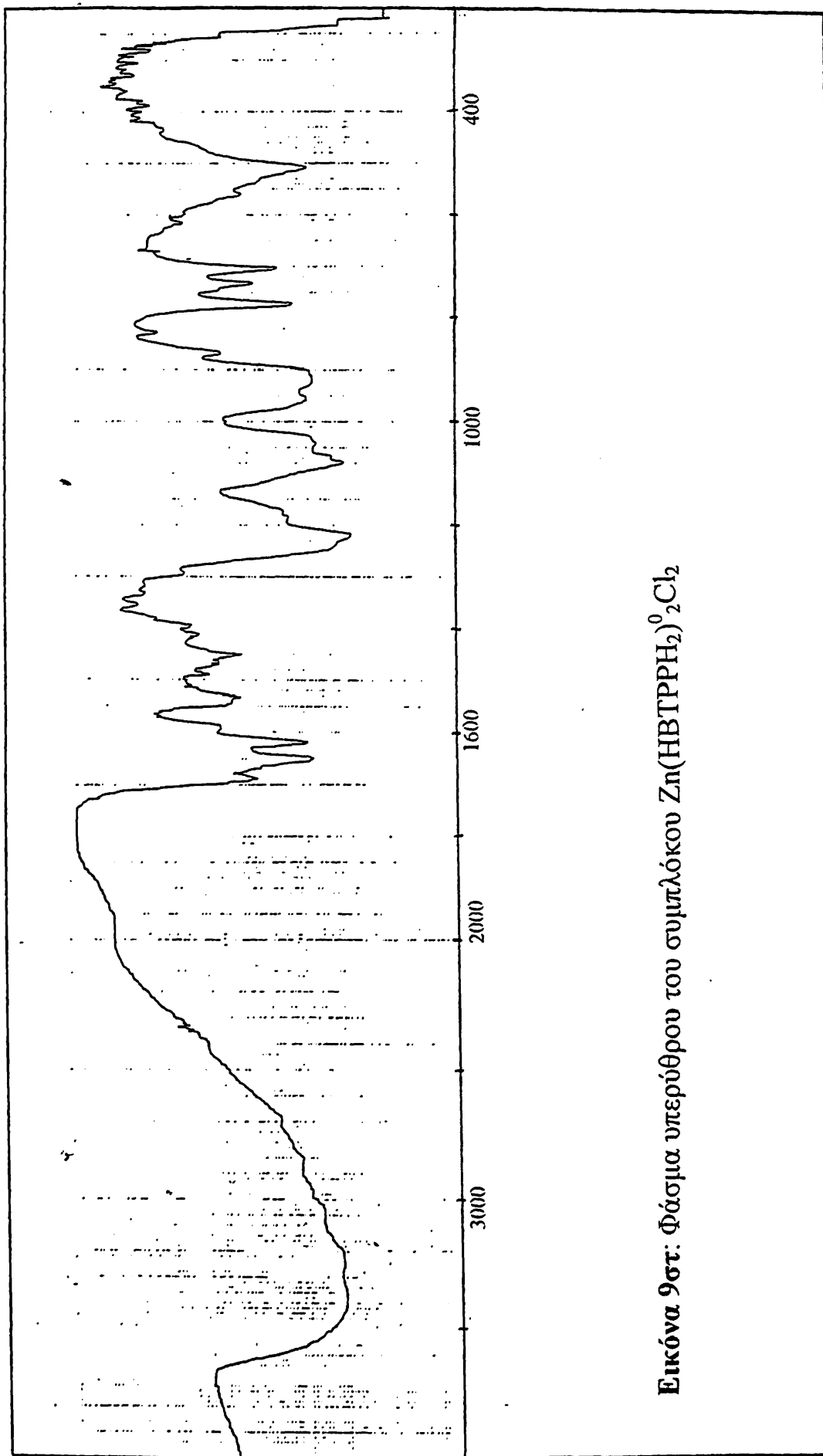




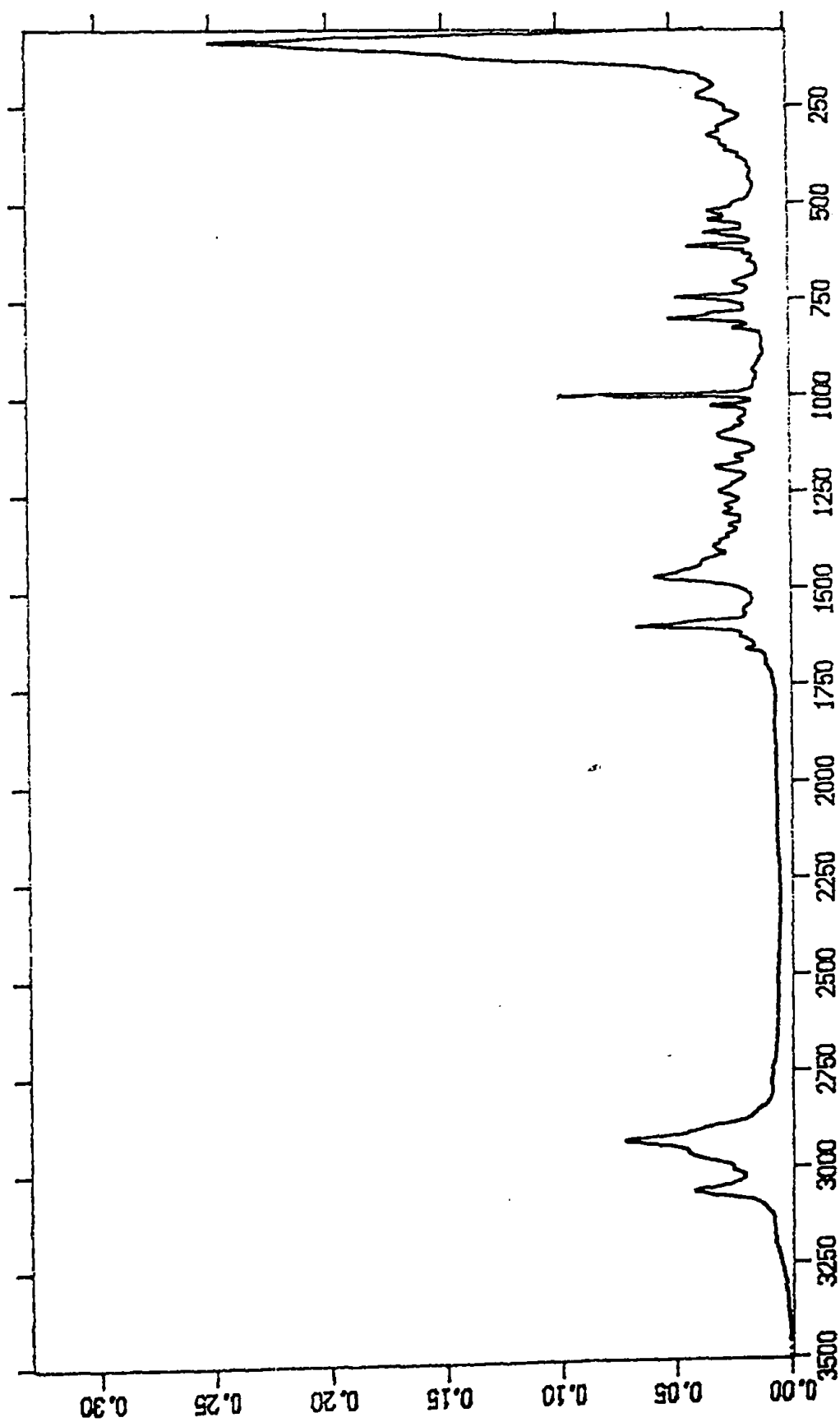
Εικόνα 9δ: Φάσμα υπέρυθρου του συμπλόκου $\{K_2[Cd(HBTPP)_2 \cdot Cl_2]\}_n$



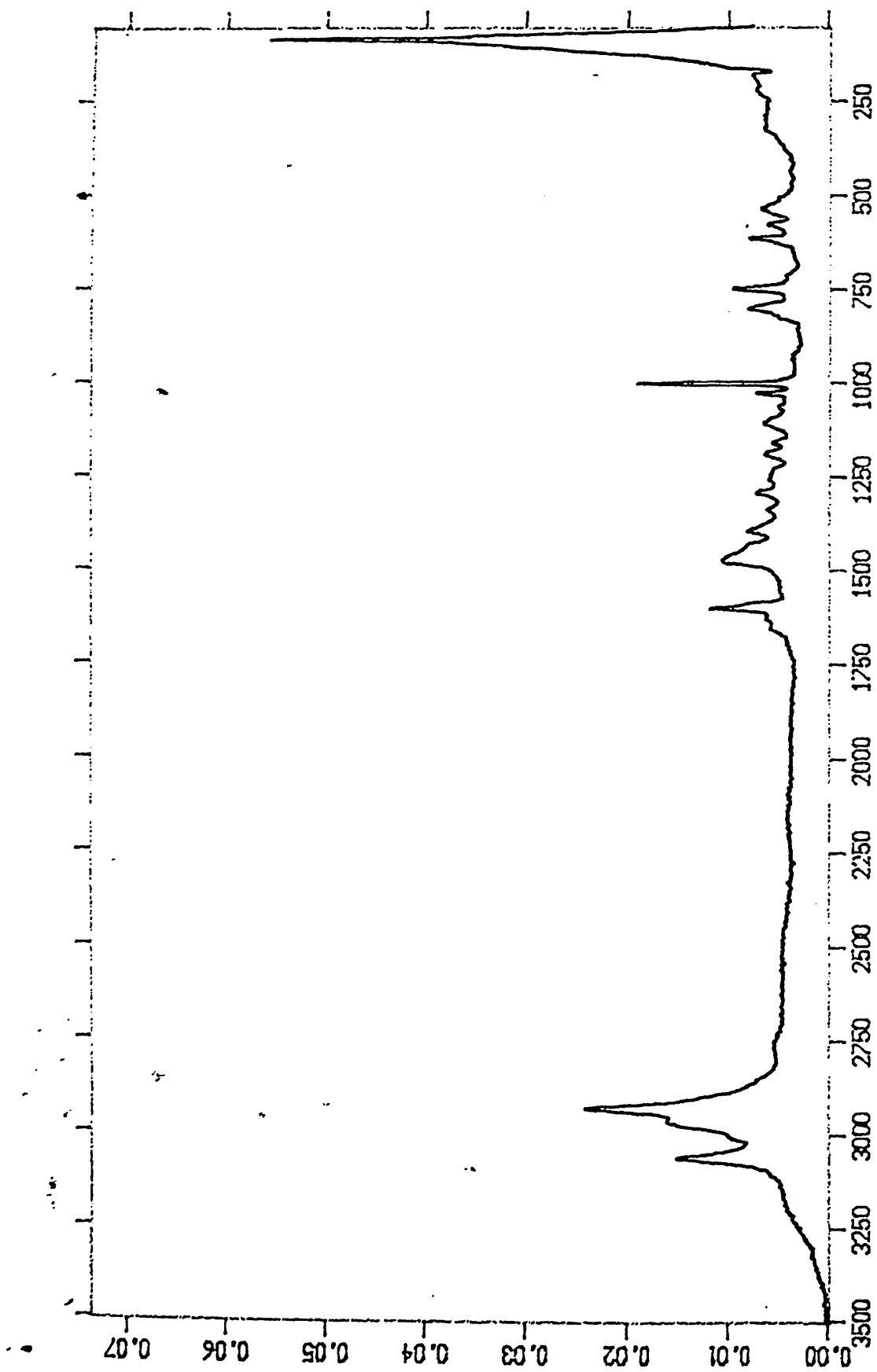
Εικόνα 9ε: Φάσμα υπερύθρου του συμπλόκου $K_2[Hg(HBTTPRH)_2Cl_2]$



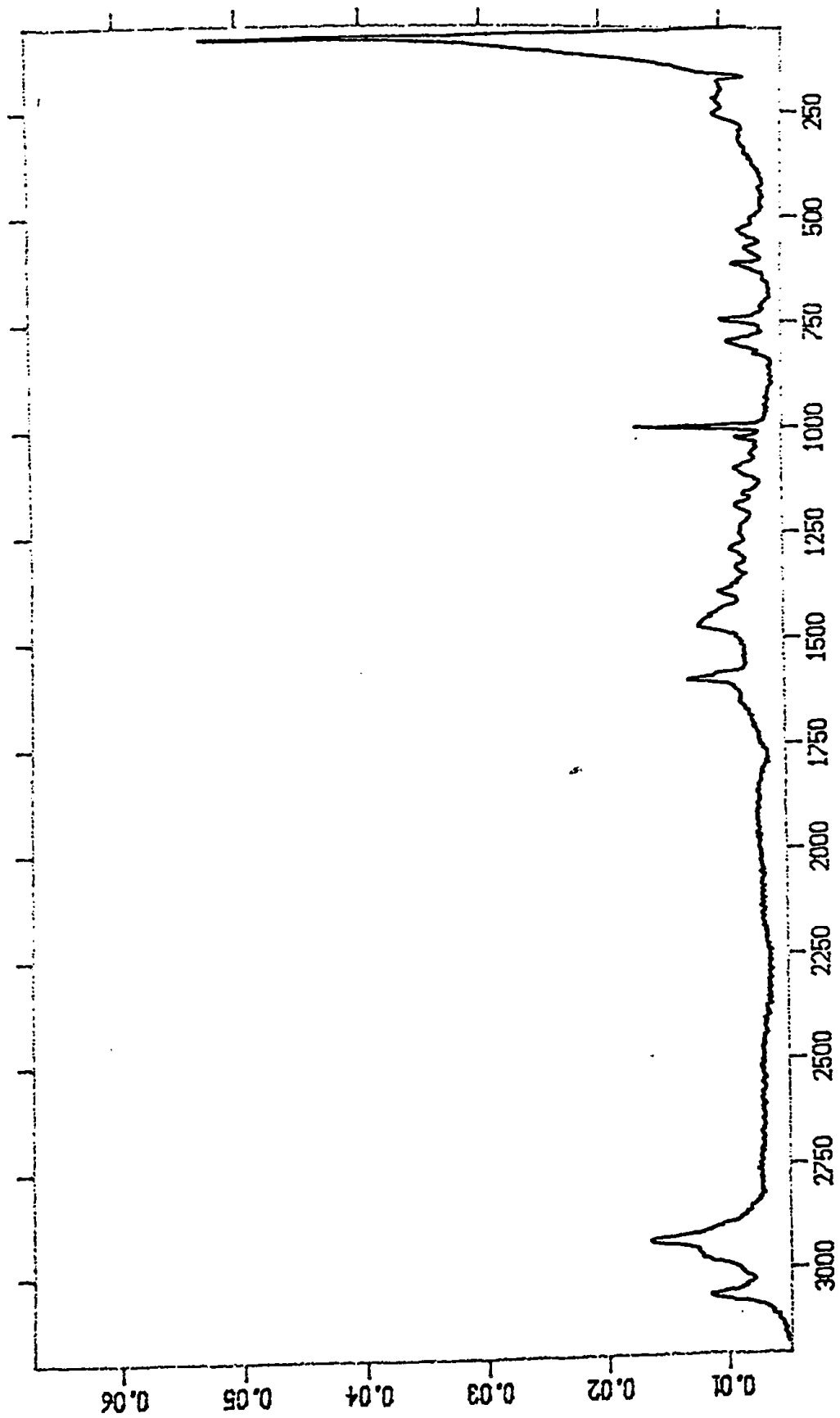
Εικόνα 9στ: Φάσμα υπέρυθρου του συμπλόκου $\text{Zn}(\text{HBTPRH}_2)^0\text{Cl}_2$



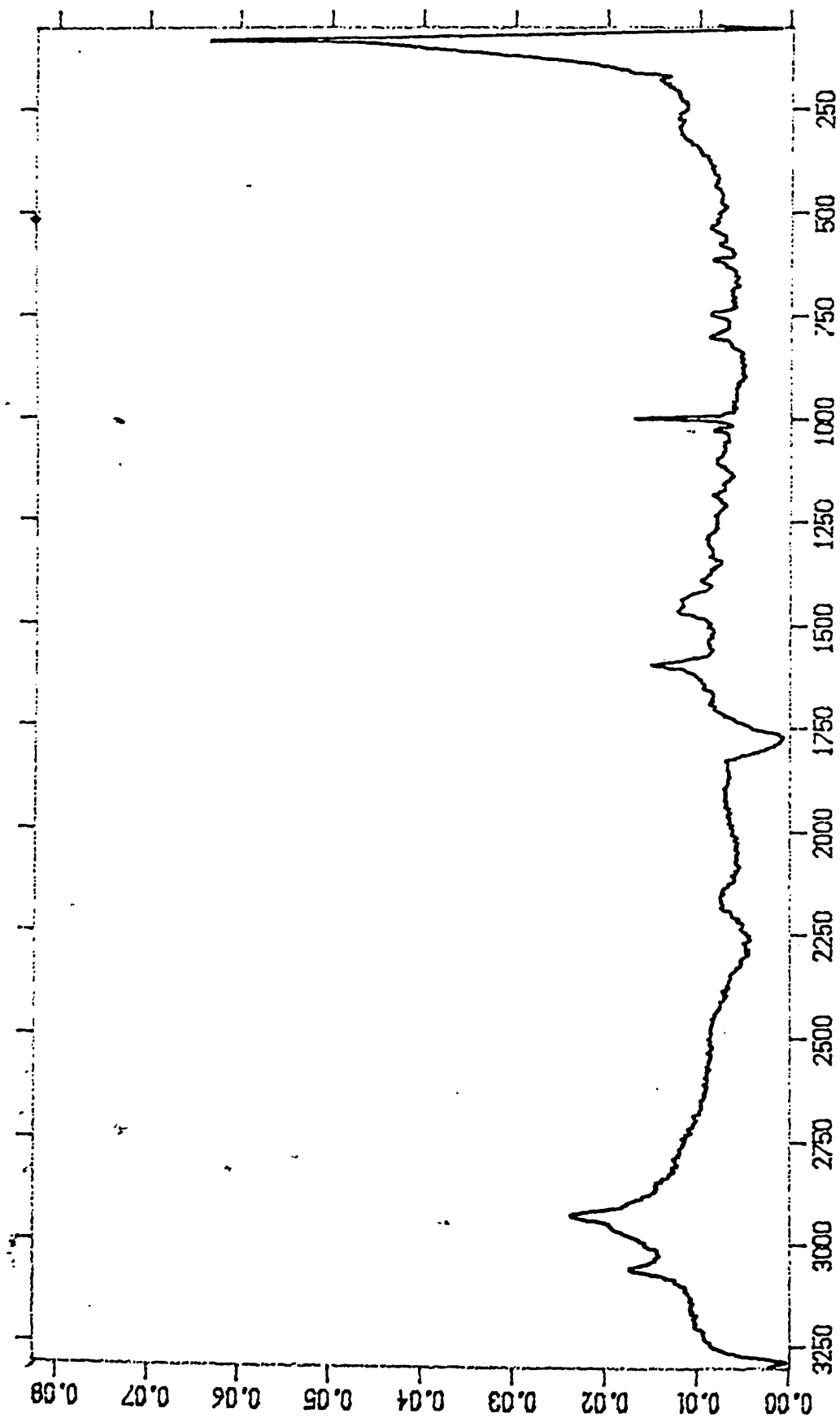
Εικόνα 10α: Φάσμα Raman του υποκαταστάτη (HBTPRH)K⁺



Εικόνα 10β: Φάσμα Raman του συμπλόκου $\{K[Zn(HBTPPH)Cl_2]\}_n$



Εικόνα 10γ: Φάσμα Raman του συμπλόκου $\{K_2[Cd(HBTPP)^2Cl_2]\}_n$



Εικόνα 10δ: Φάσμα Raman του συμπλόκου $K_2[Hg(HBTTPPH)_2Cl_2]$

1.3. Φασματοσκοπία ^{13}C CP/MAS

Ο πίνακας 12 δείχνει τις χημικές μετατοπίσεις ^{13}C CP/MAS που παρατηρήθηκαν στο φάσμα του υποκαταστάτη $(\text{HBTPRH})\text{K}^+$ και στα φάσματα των συμπλόκων $\{\text{K}[\text{Zn}(\text{HBTPRH})\text{Cl}_2]\}_n$, $\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPP})^2\text{Cl}_2]\}_n$, και $\text{K}_2[\text{Hg}(\text{HBTPRH})_2\text{Cl}_2]$. Η απόδοση των κορυφών των φασμάτων βασίστηκε σε βιβλιογραφικά δεδομένα, στα αντίστοιχα φάσματα σε διάλυμα και στα πειράματα διακοπτόμενης αποσύζευξης διασταυρούμενης πόλωσης (cross-polarization interrupted decoupling) στα οποία τα μεθιν- και μεθυλεν- άτομα άνθρακα δεν εμφανίζονται (16,17). Τα φάσματα ^{13}C CP/MAS του υποκαταστάτη $(\text{HBTPRH})\text{K}^+$ και των συμπλόκων $\{\text{K}[\text{Zn}(\text{HBTPRH})\text{Cl}_2]\}_n$, $\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPP})^2\text{Cl}_2]\}_n$, και $\text{K}_2[\text{Hg}(\text{HBTPRH})_2\text{Cl}_2]$ παρουσιάζονται στις εικόνες 11(α-δ).

Λόγω του γεγονότος ότι οι ενώσεις μας είναι άμορφα υλικά, τα αναγραφόμενα φάσματα ^{13}C -NMR σε στερεά κατάσταση του ελεύθερου υποκαταστάτη και των συμπλόκων παρουσιάζουν διευρημένες κορυφές της τάξης των 1-3 ppm. Εξαιτίας αυτού, γειτονικές ^{13}C χημικές μετατοπίσεις, π.χ. $\text{C}(1'')$ - $\text{C}(5)$ και $\text{C}(4'')$ - $\text{C}(3'')$ - $\text{C}(2'')$ δεν μπορούν να αναλυθούν αλλά μάλλον παρουσιάζονται σαν ένα σήμα με χημική μετατόπιση το μέσο όρο αυτών. Συγκεκριμένα, στο φάσμα του υποκαταστάτη $(\text{HBTPRH})\text{K}^+$ παρατηρούμε δύο κορυφές στα 137.1 και 134.3 ppm που αποδίδονται αντίστοιχα στους άνθρακες $\text{C}(1'')$ και $\text{C}(5)$ ενώ και στα τρία φάσματα των συμπλόκων παρατηρούμε μία μόνο κορυφή στα 136.6 ppm. Όσον αφορά τις ^{13}C χημικές μετατοπίσεις των ανθράκων του φαινυλίου $\text{C}(4'')$, $\text{C}(3'')$ και $\text{C}(2'')$, σε όλα τα φάσματα παρουσιάζονται στα 130 ppm περίπου, σαν ένα σήμα. Αυτό που μπορούμε να επισημάνουμε είναι ότι στον υποκαταστάτη αυτό το σήμα εμφανίζεται στα 129.6 ppm ενώ στα σύμπλοκα σε ελαφρώς χαμηλότερα πεδία.

Παρατηρήθηκε επίσης ότι στα φάσματα ^{13}C -NMR οι χημικές μετατοπίσεις των $\text{C}(2)$ και $\text{C}(6')$, παρουσιάζονται και οι δύο σαν φαρδιές απλές ή σαν φαρδιές διπλές ταινίες. Αφού και τα δύο άτομα άνθρακα ενώνονται με άτομο αζώτου, η διαπλάτυνση και ο διπλασιασμός των σημάτων του άνθρακα θα μπορούσαν να αποδοθούν στην επίδραση της τετραπολικής ροπής του αζώτου πάνω στο συντονισμό του ^{13}C (18). Πιο αναλυτικά, στον

ελεύθερο υποκαταστάτη το σήμα του C(2) εμφανίζεται σαν μια διπλή κορυφή στα 186.1 και 180.6 ppm ενώ στα σύμπλοκα μετάλλων των $\{K[Zn(HBTPPH)^-Cl_2]\}_n$ και $\{K_2[Cd(HBTPP)^{2-}Cl_2]\}_n$ σαν μια ευρεία κορυφή σε ελαφρώς υψηλότερα πεδία από ότι ο μέσος όρος της διπλής κορυφής του υποκαταστάτη. Στον ελεύθερο υποκαταστάτη και στο $K_2[Hg(HBTPPH)^-_2Cl_2]$, το σήμα του C(6') είναι μια απλή διαπλατυσμένη κορυφή η οποία γίνεται διπλή στα σύμπλοκα των $\{K[Zn(HBTPPH)^-Cl_2]\}_n$ και $\{K_2[Cd(HBTPP)^{2-}Cl_2]\}_n$.

Στα σύμπλοκα των Zn(II) και Cd(II) η πυροφωσφορική ομάδα έρχεται κοντά στον πυριμιδινικό δακτύλιο γιατί το μέταλλο συνδέεται και με το N(1') της πυριμιδίνης και με την πυροφωσφορική ομάδα. Έτσι στα σύμπλοκα $\{K[Zn(HBTPPH)^-Cl_2]\}_n$ και $\{K_2[Cd(HBTPP)^{2-}Cl_2]\}_n$ μια πιθανή αλληλεπίδραση του C(6')-H με τα πυροφωσφορικά οξυγόνα τα οποία μπορούν να συμβάλλουν στην παρατηρούμενη διπλή ταινία του C(6'), δεν μπορεί να αποκλειστεί. Οι παρατηρούμενες αυξημένες σχάσεις είναι σε συμφωνία με τις τιμές που έχουν δημοσιευτεί για τα μεταλλικά σύμπλοκα της HETPP στα οποία έχει παρατηρηθεί ανάλογο φαινόμενο (14).

Στην περίπτωση των ^{13}C διπλών ταινιών, χρησιμοποιήθηκε ο μέσος όρος της τιμής. Για τα σύμπλοκα $\{K[Zn(HBTPPH)^-Cl_2]\}_n$ και $\{K_2[Cd(HBTPP)^{2-}Cl_2]\}_n$ ο C(6') άνθρακας μετατοπίζεται σε υψηλότερα πεδία κατά 6.2 και 3.9 ppm αντίστοιχα συγκρινόμενος με τον ελεύθερο υποκαταστάτη $(HBTPPH)^-K^+$. Οι C(2') και 2'-CH₃ άνθρακες μετατοπίζονται ελαφρώς και στα δύο σύμπλοκα. Όσον αφορά το σύμπλοκο $K_2[Hg(HBTPPH)^-_2Cl_2]$, οι C(6') και 2'-CH₃ άνθρακες προστατεύονται κατά 8.8 και 1.4 ppm αντίστοιχα, ενώ ο C(2') αποπροστατεύεται κατά 1.4 ppm.

Θα πρέπει να αναφερθεί γενικά ότι οι χημικές μετατοπίσεις του υποκαταστάτη και των συμπλόκων σε στερεά κατάσταση και σε διάλυμα D₂O διαφέρουν κατά 3 ppm το πολύ.

Ο C(2α) εμφανίζεται στο φάσμα του υποκαταστάτη στα 72.2 ppm, στα σύμπλοκα $\{K[Zn(HBTPPH)^-Cl_2]\}_n$ και $\{K_2[Cd(HBTPP)^{2-}Cl_2]\}_n$ σε υψηλότερα πεδία κατά 5.9 και 5.1 ppm αντίστοιχα ενώ στο σύμπλοκο του $K_2[Hg(HBTPPH)^-_2Cl_2]$, μόνο κατά 0.7 ppm υψηλότερα σε σχέση με τον υποκαταστάτη. Επίσης ο C(5β) εμφανίζεται στο φάσμα του υποκαταστάτη στα 65.0 ppm, στα σύμπλοκα $\{K[Zn(HBTPPH)^-Cl_2]\}_n$ και $\{K_2[Cd(HBTPP)^{2-}Cl_2]\}_n$ σε χαμηλότερα πεδία κατά 7.6 και 7.5 ppm αντίστοιχα και στο σύμπλοκο



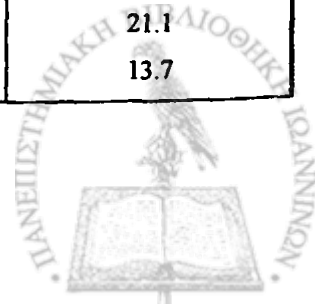
$K_2[Hg(HBTPPH)_2Cl_2]$ μόνο κατά 0.5 ppm προς χαμηλότερα πεδία. Αυτή η προστασία και αποπροστασία των ατόμων C(2α) και C(5β) αντίστοιχα εξηγείται όπως και στην περίπτωση των συμπλόκων της μονοφωσφορικής θειαμίνης με μία ελάττωση της ισχύος της αλληλεπίδρασης των O(2α)...S(1) και παράλληλη αύξηση της ισχύος της αλληλεπίδρασης των O(5c)...S(1).

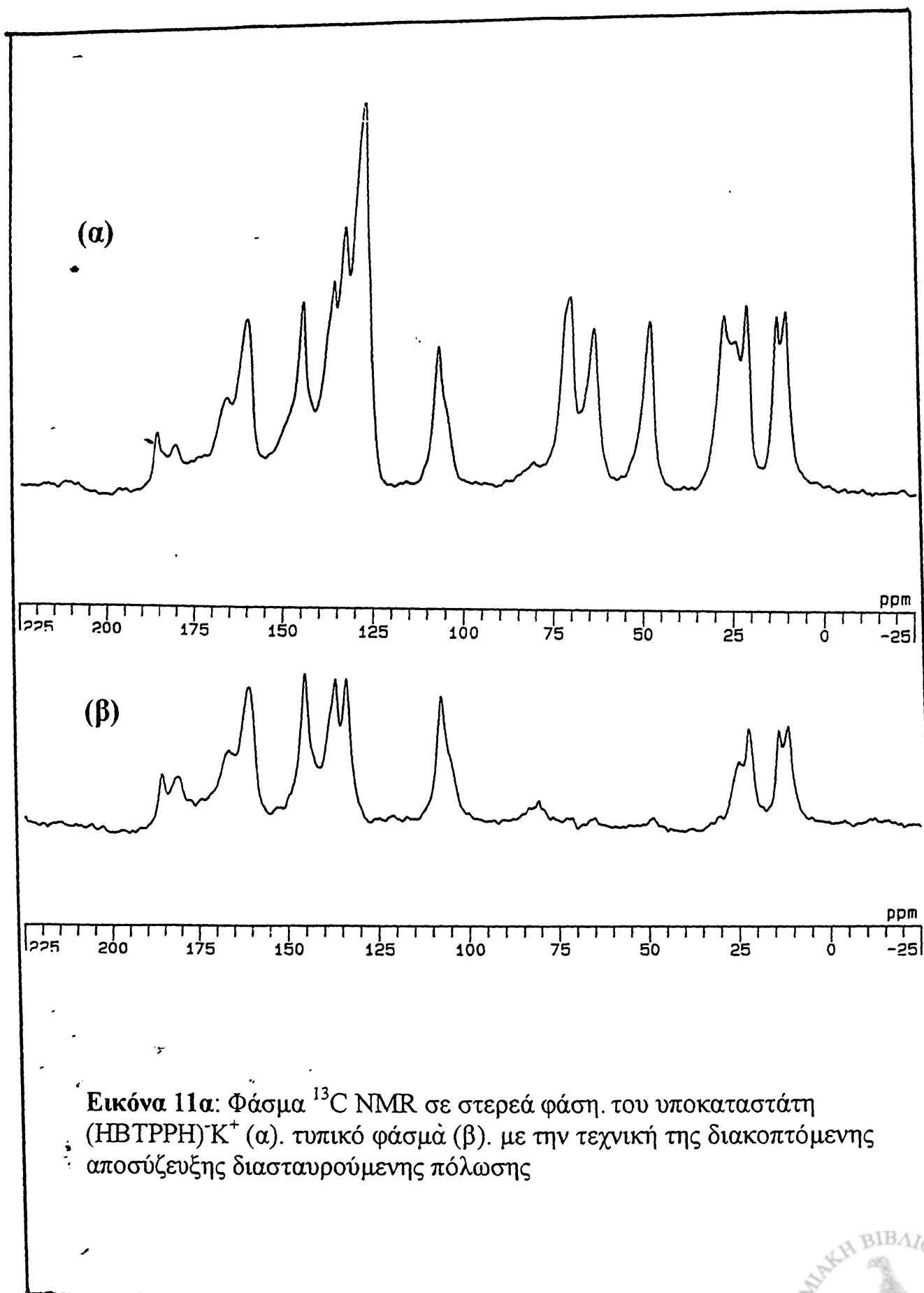
Όσον αφορά την χημική μετατόπιση που αποδίδεται στον C(3,5'), εμφανίζεται γύρω στα 49 ppm και στον υποκαταστάτη και στα σύμπλοκα. Τέλος η χημική μετατόπιση ^{13}C του 4-CH₃ παρουσιάζεται στα 11.9 ppm για τον υποκαταστάτη και σε μεγαλύτερες τιμές στα σύμπλοκα, δηλαδή στα 12.9 ppm για το $\{K[Zn(HBTPPH)_2Cl_2]\}_n$, στα 13.0 ppm για το $\{K_2[Cd(HBTPP)_2Cl_2]\}_n$ και στα 13.7 ppm για το $K_2[Hg(HBTPPH)_2Cl_2]$.

Πίνακας 12: Φασματοσκοπικά δεδομένα ^{13}C CP/MAS NMR του υποκαταστάτη και συμπλόκων του πυροφωσφορικού παραγώγου θειαμίνης.

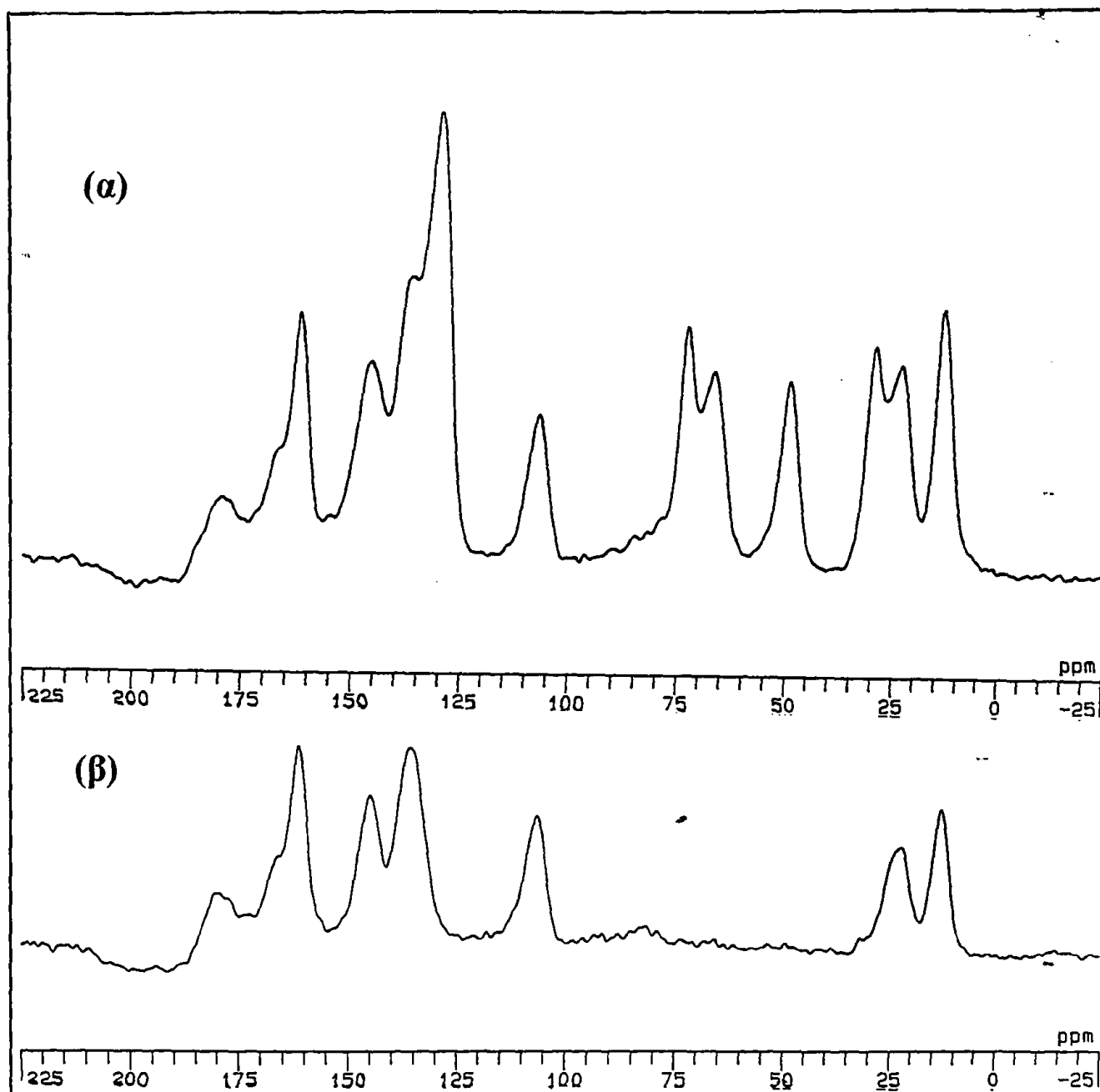
	(HBTPPH) ⁻ K ⁺	$\{K[Zn(HBTPPH)_2Cl_2]\}_n$	$\{K_2[Cd(HBTPP)_2Cl_2]\}_n$	$K_2[Hg(HBTPPH)_2Cl_2]$
C ₂	186.1, 180.6	179.5(br)	179.1(br)	181.2
C _{2'}	166.6	166.8	167.0	168.0
C _{4'}	161.2	161.9	162.1	161.0
C _{6'}	149.8(br)	138.9, 148.3	139.9, 151.9	141.0(br)
		143.6*	145.9*	
C ₄	145.6	145.9	146.0	147.6
C _{1''}	137.1	136.7	136.6	136.6
C ₅	134.3	136.7	136.6	136.6
C _{4''}	129.6	130.0	130.4	130.1
C _{3''}	129.6	130.0	130.4	130.1
C _{2''}	129.6	130.0	130.4	130.1
C _{5'}	107.9	107.0	107.1	107.1
C _{2a}	72.2	66.3	67.1	71.5
C _{5b}	65.0	72.6	72.5	65.5
C _{3,5'}	49.4	49.1	48.8	48.0
C _{3a}	28.7	29.1	28.9	28.1
2'CH ₃	22.5	22.5	22.7	21.1
4CH ₃	11.9	12.9	13.0	13.7

* Ο μέσος όρος των δύο τιμών.

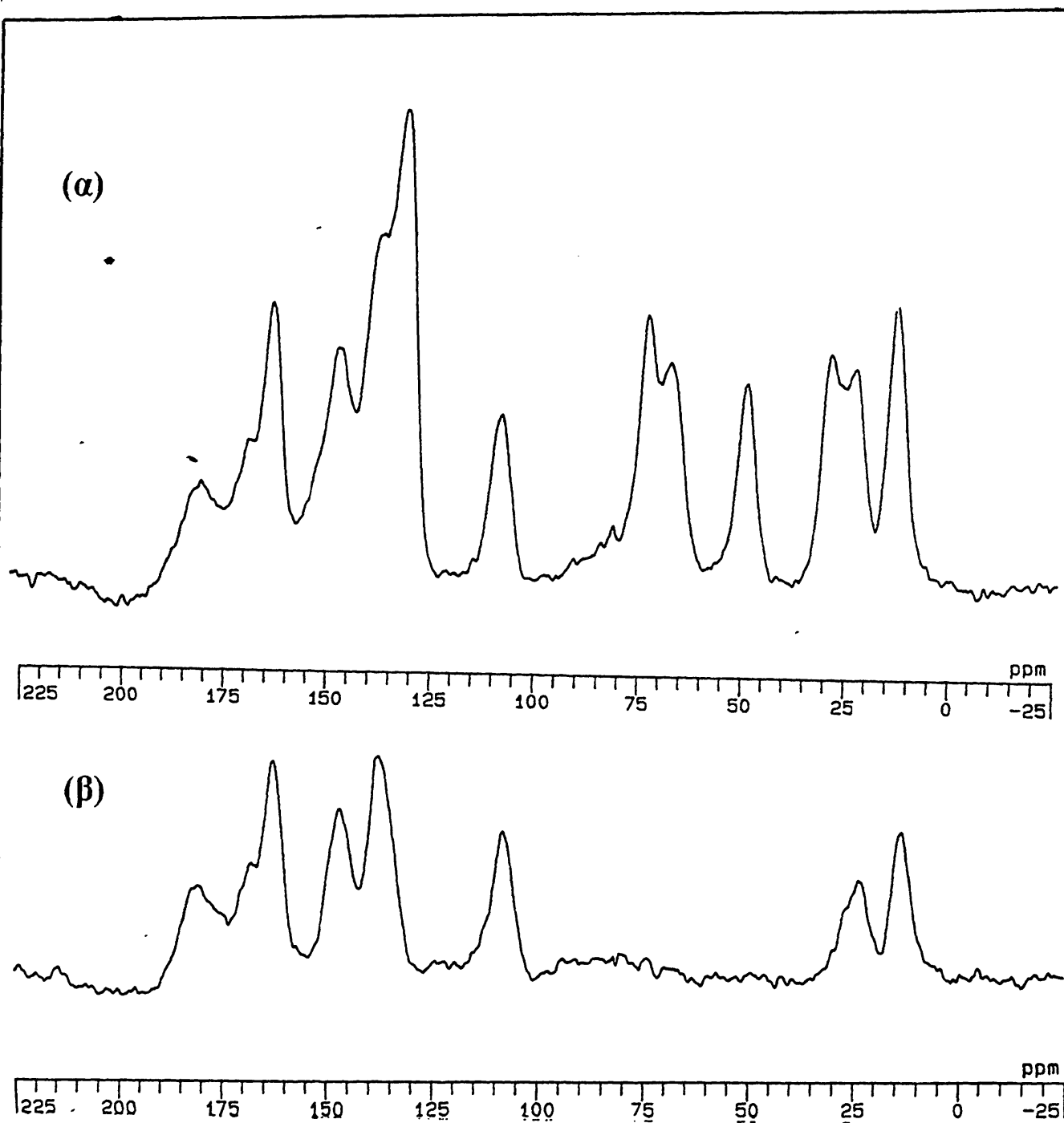




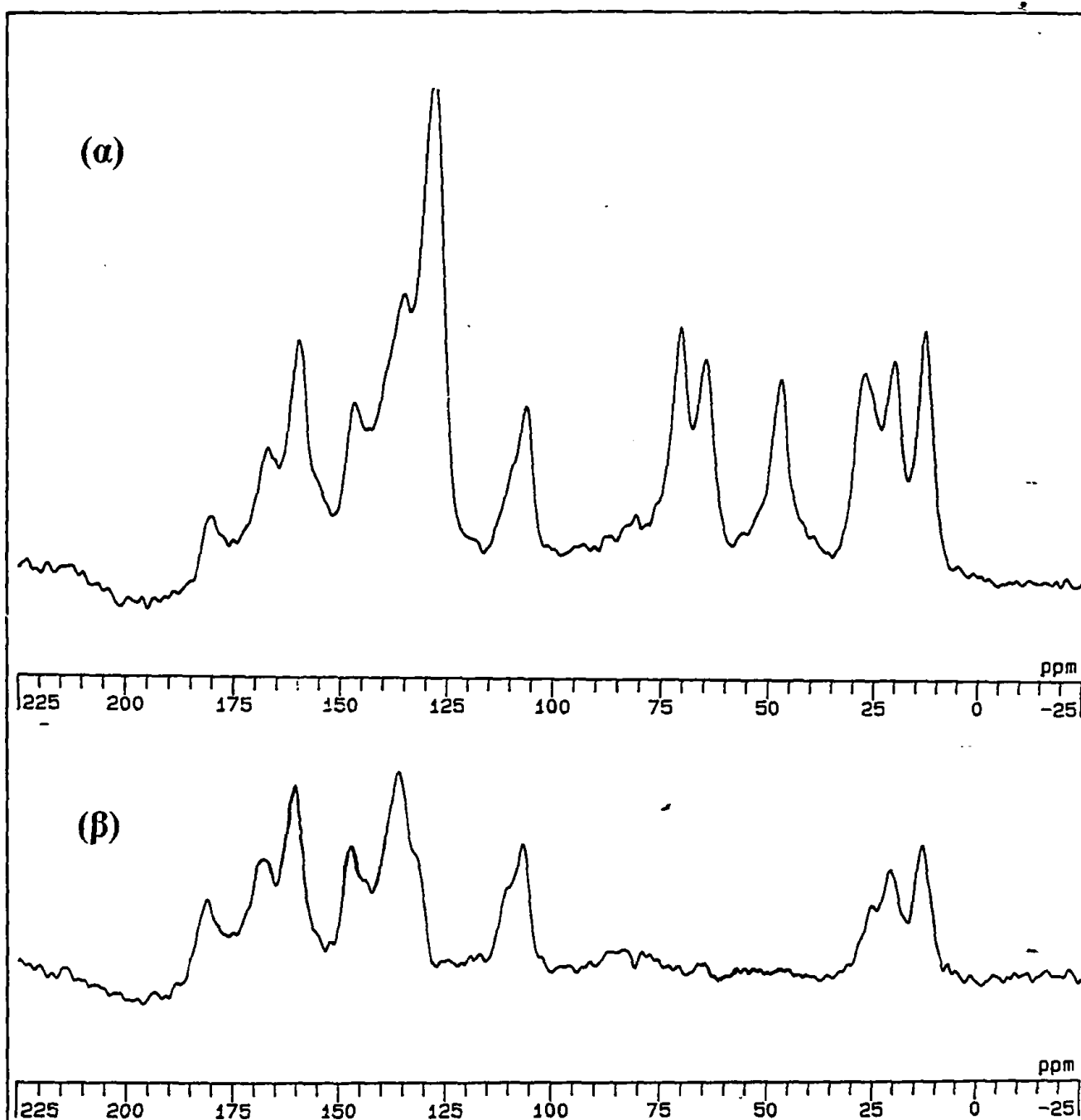
Εικόνα 11α: Φάσμα ^{13}C NMR σε στερεά φάση. του υποκαταστάτη $(\text{HBTTPH})\text{K}^+$ (α). τυπικό φάσμα (β). με την τεχνική της διακοπτόμενης αποσύζευξης διασταυρούμενης πόλωσης



Εικόνα 11β: Φάσμα ^{13}C NMR σε στερεά φάση του συμπλόκου $\{\text{K}[\text{Zn}(\text{HBTPPH})\text{Cl}_2]\}_n$ (α). τυπικό φάσμα (β). με την τεχνική της διακοπτόμενης αποσύζευξης διασταυρούμενης πόλωσης



Εικόνα 11γ: Φάσμα ^{13}C NMR σε στερεά φάση του συμπλόκου $\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPP})^2\text{Cl}_2]\}_n$ (α). τυπικό φάσμα (β). με την τεχνική της διακοπτόμενης αποσύζευξης διασταυρούμενης πόλωσης



Εικόνα 11δ: Φάσμα ^{13}C NMR σε στερεά φάση του συμπλόκου $\text{K}_2[\text{Hg}(\text{HBTPPH})_2\text{Cl}_2]$ (α). τυπικό φάσμα (β). με την τεχνική της διακοπτόμενης αποσύζευξης διασταυρούμενης πόλωσης

2. ΤΑ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ

2.1 Αγωγιμομετρία

Οι τιμές της μοριακής αγωγιμότητας που προσδιορίστηκαν σε συγκεντρώσεις 10^{-3} M στους 20°C σε H_2O αναφέρονται στον πίνακα 13.

Πίνακας 13: Μοριακή αγωγιμότητα

Διαλύτης	$\{\text{K}[\text{Zn}(\text{HBTPPH})\text{Cl}_2]\text{n}$	$\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPP})^2\text{Cl}_2]\text{n}$	$\text{Zn}(\text{HBTPPH}_2)^0_2\text{Cl}_2$
H_2O	235.7	253.5	248.6

Όπως και στα σύμπλοκα με τον μονοφωσφορικό υποκαταστάτη έτσι και σ' αυτή τη σειρά συμπλόκων, παρατηρούμε ότι στο H_2O όλα τα χλώρια αντικαθίστανται αμέσως, με συνέπεια και τα τρία παραπάνω σύμπλοκα να αντιστοιχούν σε ηλεκτρολύτη 1:2 (19)

2.2. Φασματοσκοπία ^{13}C NMR

Μελετήσαμε τα φάσματα ^{13}C NMR του $(\text{HBTPPH})^-\text{K}^+$ σε $\text{pH}=6$, του $(\text{HBTPPH}_2)^0$ σε $\text{pH}=3.5$ και των συμπλόκων $\{\text{K}[\text{Zn}(\text{HBTPPH})\text{Cl}_2]\text{n}$, $\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPP})^-\text{Cl}_2]\text{n}$, $\text{K}_2[\text{Hg}(\text{HBTPPH})_2\text{Cl}_2]$ και $\text{Zn}(\text{HBTPPH}_2)^0_2\text{Cl}_2$ σε D_2O .

Οι αποδόσεις όλων των κορυφών των φασμάτων ^{13}C NMR σε διάλυμα δίνονται στον πίνακα 14 και τα φάσματα στις εικόνες 12(α-στ). Στην απόδοση των κορυφών βασιστήκαμε στην τεχνική ^{13}C NMR-DEPT 135 στην οποία οι μεθυλομάδες και οι μεθινομάδες παρουσιάζονται σαν θετικά σήματα, οι μεθυλενομάδες σαν αρνητικά σήματα ενώ τα τεταρτοταγή άτομα άνθρακα δεν εμφανίζονται καθόλου. Σε όλα τα σύμπλοκα, ο υποκαταστάτης βρέθηκε στην ανιονική του μορφή και σαν ουδέτερος μόνο στο $\text{Zn}(\text{HBTPPH}_2)^0_2\text{Cl}_2$.

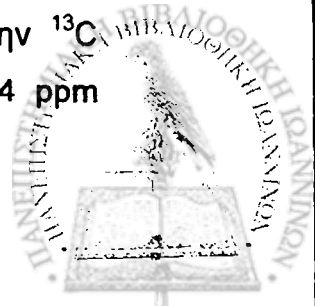
Πηγαίνοντας από το $\text{pH}=6$ στο $\text{pH}=3.5$, ο ελεύθερος υποκαταστάτης πρωτονιώνεται στο $\text{N}(1')$ της πυριμιδίνης ($\text{pK}_a \sim 5.5$) (6). Η πρωτονίωση αυτή μετατοπίζει τις κορυφές του $\text{C}-2'$, του $\text{C}-6'$ και του μεθυλίου $2'-\text{CH}_3$ σε υψηλότερα πεδία κατά 3.5, 8.5 και 2.4 αντίστοιχα (20-22). Συγκεκριμένα οι κορυφές $\text{C}-2'$, $\text{C}-6'$ και $2'-\text{CH}_3$ μετατοπίζονται σε υψηλότερα πεδία κατά 2.4, 6.4 και 2.1 ppm στο $\{\text{K}[\text{Zn}(\text{HBTPPH})\text{Cl}_2]\text{n}$ και κατά 1.8, 4.8 και 1.2 ppm στο $\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPP})^-\text{Cl}_2]\text{n}$, όταν συγκριθούν με εκείνες του $(\text{HBTPPH})^-\text{K}^+$. Στην περίπτωση του $\text{K}_2[\text{Hg}(\text{HBTPPH})_2\text{Cl}_2]$ οι ανάλογες μετατοπίσεις είναι 2.6, 6.3 και 1.8 ppm. Συγκρίνοντας το φάσμα του $\text{Zn}(\text{HBTPPH}_2)^0_2\text{Cl}_2$ με αυτό του $(\text{HBTPPH}_2)^0$ παρατηρούμε ότι ο $\text{C}-6'$ μένει αμετάβλητος, υποδεικνύοντας ότι σ' αυτό το σύμπλοκο το $\text{N}(1')$ παραμένει πρωτονιωμένο. Στα σύμπλοκα $\{\text{K}[\text{Zn}(\text{HBTPPH})\text{Cl}_2]\text{n}$, $\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPP})^-\text{Cl}_2]\text{n}$ και $\text{K}_2[\text{Hg}(\text{HBTPPH})_2\text{Cl}_2]$ παρατηρούμε ότι η κορυφή που αντιστοιχεί στον $\text{C}-6'$ εμφανίζεται σε ενδιάμεσες τιμές. Έτσι η χημική μετατόπιση του $\text{C}-6'$ ακολουθεί τη σειρά H^+ (πρωτονιωμένος υποκαταστάτης) $< \text{M}^{+2}$ (σύμπλοκα με άμεσο δεσμό μετάλλου στο $\text{N}(1')$) $<$ αποπρωτονιωμένος υποκαταστάτης. Αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν κριτήριο διάκρισης του πρωτονιωμένου, μεταλλωμένου και αποπρωτονιωμένου στο $\text{N}(1')$ υποκαταστάτη. Οι άλλες δύο κορυφές που αποδίδονται στο $\text{C}-2'$ και το $2'-\text{CH}_3$ δείχνουν παρόμοιες χημικές μετατοπίσεις, όταν το $\text{N}(1')$ είναι πρωτονιωμένο ή μεταλλωμένο, διαφέροντας μόνο σε σχέση με τις τιμές του αποπρωτονιωμένου υποκαταστάτη.



Σε αντίθεση με τα αντίστοιχα φάσματα σε στερεά κατάσταση, οι γειτονικές ^{13}C χημικές μετατοπίσεις $\text{C}(1'')\text{-C}(5)$ αναλύονται και παρουσιάζονται σαν δύο κορυφές στα 138.7 και 136.6 ppm αντίστοιχα στο φάσμα του πρωτονιωμένου υποκαταστάτη $(\text{HBTPPH}_2)^0$. Στα φάσματα του αποπρωτονιωμένου υποκαταστάτη και των συμπλόκων παρατηρούμε την ίδια συμπεριφορά. Όσον αφορά τις ^{13}C χημικές μετατοπίσεις των υπολοίπων ανθράκων του φαινυλίου $\text{C}(2'')$, $\text{C}(3'')$ και $\text{C}(4'')$, δεν παρουσιάζουν διαφορά όπως αναμενόταν αν συγκρίνουμε τις αντίστοιχες μετατοπίσεις των συμπλόκων με αυτές του υποκαταστάτη.

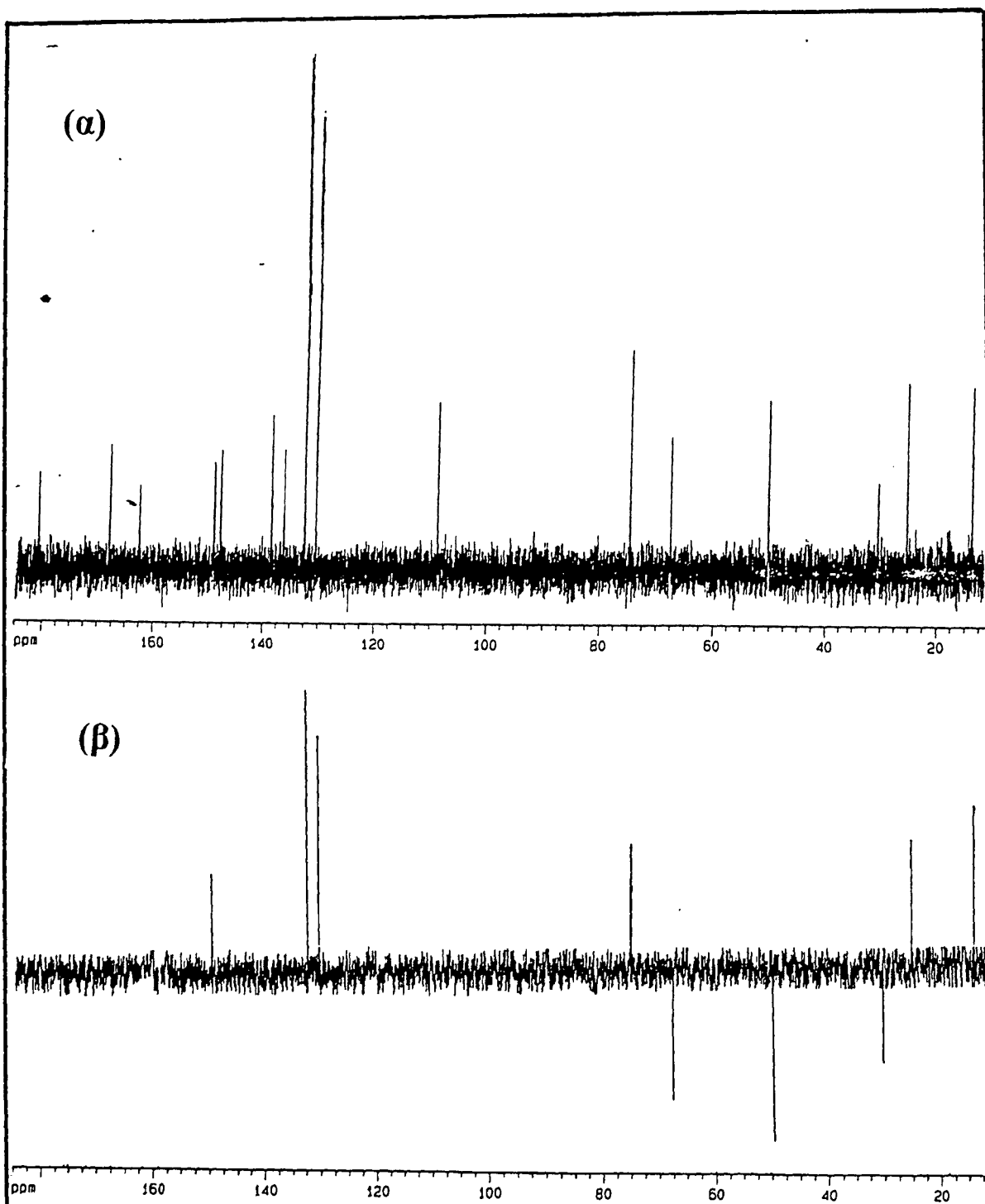
Στα φάσματα του $\{\text{K}[\text{Zn}(\text{HBTPPH})\text{Cl}_2]\text{n}$ και $\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPP})^{2-}\text{Cl}_2]\text{n}$, οι κορυφές των ατόμων $\text{C}(5\beta)$ μετατοπίζονται σε χαμηλότερα πεδία κατά ~7.1 ppm και παράλληλα, εκείνες των ατόμων $\text{C}(2\alpha)$ και στα δύο σύμπλοκα προστατεύονται κατά ~6.9 ppm συγκρινόμενες με τις αντίστοιχες του ελεύθερου υποκαταστάτη $(\text{HBTPPH})\text{K}^+$. Στην περίπτωση του συμπλόκου $\text{Zn}(\text{HBTPPH}_2)_2\text{Cl}_2$, όπου ο $\text{Zn}(\text{II})$ επίσης ενώνεται μέσω της πυροφωσφορικής ομάδας, δεν παρατηρούμε για τον $\text{C}(5\beta)$ παρόμοια συμπεριφορά. Έτσι πιστεύουμε ότι η μη μετατόπιση του $\text{C}(5\beta)$ σε χαμηλότερα πεδία δεν οφείλεται στην σύνδεση του μετάλλου με την πυροφωσφορική ομάδα. Ειδικές αλληλεπιδράσεις των $\text{C}(5\beta)\text{-H}$ και $\text{C}(2\alpha)\text{-H}$ πρωτονίων στο 2D-ROESY φάσμα (που θα δούμε παρακάτω), οι οποίες θα μπορούσαν να εξηγήσουν τις παραπάνω χημικές μετατοπίσεις, δεν παρατηρήθηκαν (23). Εντοπίστηκε μόνο αλληλεπίδραση συσσώρευσης (stacking) των δακτυλίων πυριμιδίνης και βενζολίου (12). Με βάση τα παραπάνω δεδομένα, όπως και στην περίπτωση των συμπλόκων της μονοφωσφορικής θειαμίνης, μία ελάττωση της ισχύος της αλληλεπιδράσης των $\text{O}(2\alpha)\dots\text{S}(1)$ με παράλληλη αύξηση της ισχύος της αλληλεπιδράσης των $\text{O}(5\text{c})\dots\text{S}(1)$ θα μπορούσε να εξηγήσει την παραπάνω προστασία και αποπροστασία των ατόμων $\text{C}(2\alpha)$ και $\text{C}(5\beta)$ αντίστοιχα.

Περνώντας στον $\text{C}(3,5')$, παρατηρούμε ότι η ^{13}C χημική του μετατόπιση παρουσιάζεται στα 50.2 ppm στο φάσμα του υποκαταστάτη $(\text{HBTPPH})\text{K}^+$ σε $\text{pH}=6$, στα 49.4 ppm στο φάσμα του $(\text{HBTPPH}_2)^0$ και στις ίδιες περίπου τιμές στα φάσματα των συμπλόκων. Όσον αφορά την ^{13}C χημική μετατόπιση του άνθρακα 4-CH_3 αυτή παρουσιάζεται στα 14 ppm περίπου τόσο στους υποκαταστάτες όσο και στα σύμπλοκα.

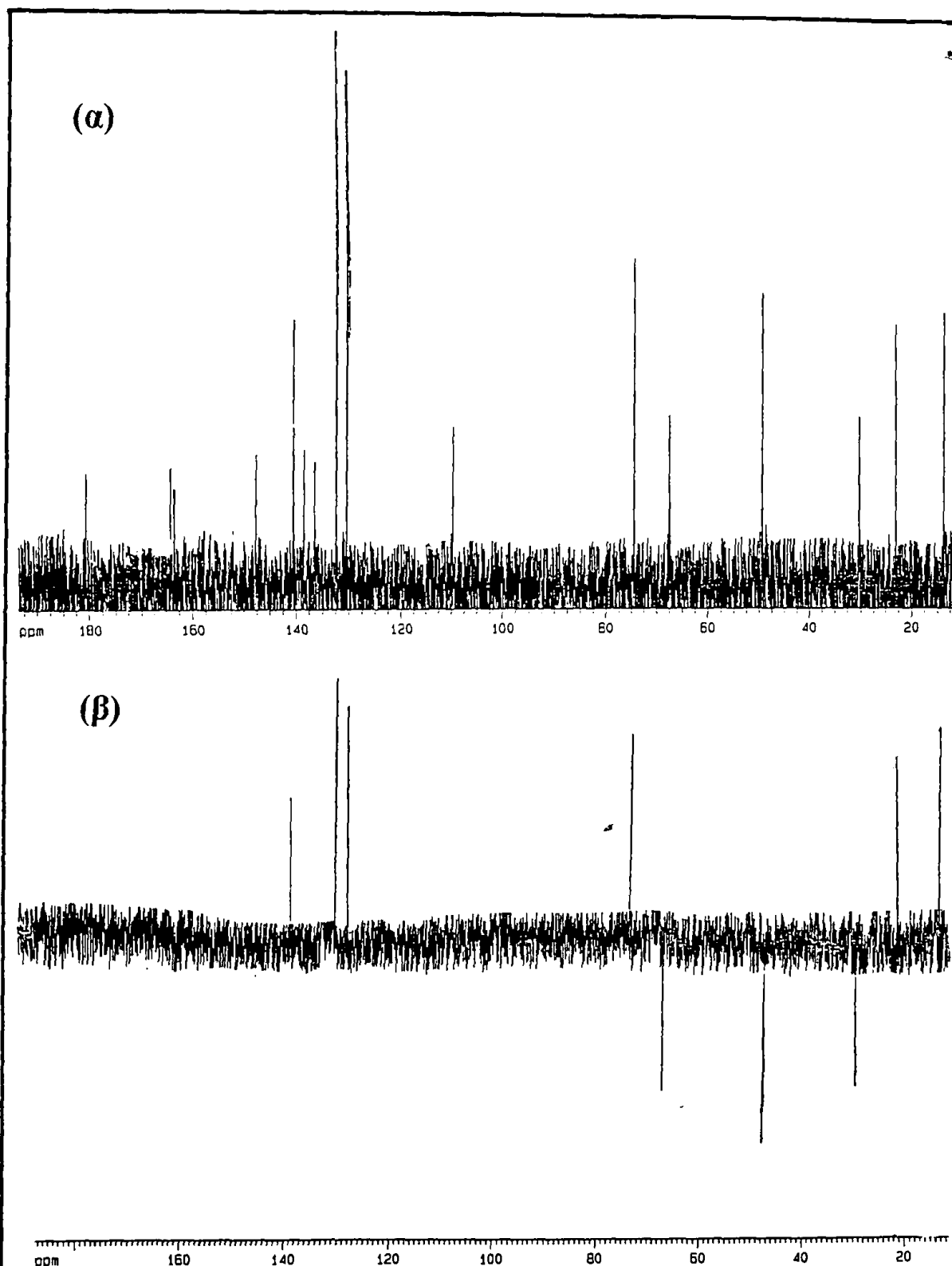


Πίνακας 14: Φασματοσκοπικά δεδομένα ^{13}C NMR υποκαταστατών και συμπλόκων του πυροφωσφορικού παραγώγου θειαμίνης σε διάλυμα D_2O . (δ σε ppm από TMS).

	(HBTPRH) K^+ pH=6.0	(HBTPRH) $_2^0$ pH=3.5	$\{\text{K}[\text{Zn}(\text{HBTPRH})\text{Cl}_2]\}_n$	$\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPR})^2\text{Cl}_2]\}_n$	$\text{K}_2[\text{Hg}(\text{HBTPRH})_2\text{Cl}_2]$	$\text{Zn}(\text{HBTPRH})_2^0\text{Cl}_2$
C_2	180.6	180.8	181.0	180.8	180.7	180.7
C_2'	167.8	164.3	165.4	166.0	165.2	165.0
C_4'	162.5	163.6	163.5	163.3	163.3	163.4
C_6'	149.2	140.7	142.8	144.4	142.9	140.2
C_4	147.9	147.8	148.0	148.0	147.8	147.8
$\text{C}_{1''}$	138.5	138.7	138.7	138.7	138.6	138.6
C_5	136.3	136.6	136.5	136.6	136.4	136.4
C_4''	132.4	132.5	132.7	132.7	132.5	132.5
C_3''	132.4	132.4	132.6	132.6	132.4	132.4
C_2''	130.4	130.5	130.7	130.7	130.4	130.5
C_5'	108.6	109.7	109.6	109.5	109.4	109.5
C_{2a}	74.7	74.4	67.8	67.9	74.4	74.4
C_{3b}	67.5	67.5	74.6	74.7	67.4	67.6
$\text{C}_{3,5'}$	50.2	49.4	49.7	49.8	49.6	49.5
C_{3a}	30.6	30.2	30.3	30.5	30.3	30.2
$2'\text{CH}_3$	25.5	23.1	23.4	24.3	23.7	23.5
4CH_3	13.9	13.8	14.0	14.0	13.8	13.8

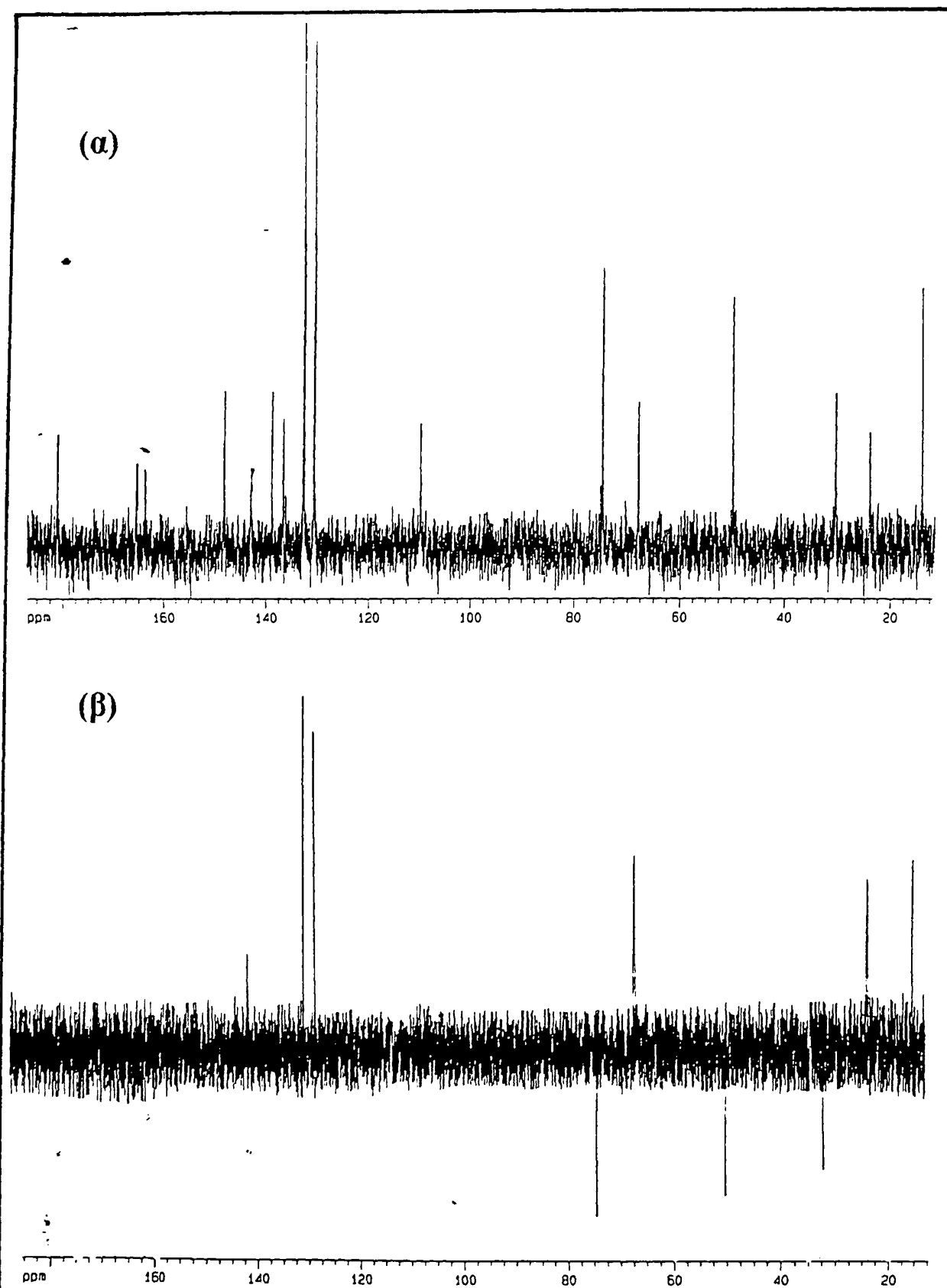


Εικόνα 12α: Φάσμα ^{13}C NMR του υποκαταστάτη $(\text{HBTPRH})\text{K}^+$ σε D_2O (α). τυπικό φάσμα (β). με την τεχνική DEPT 135

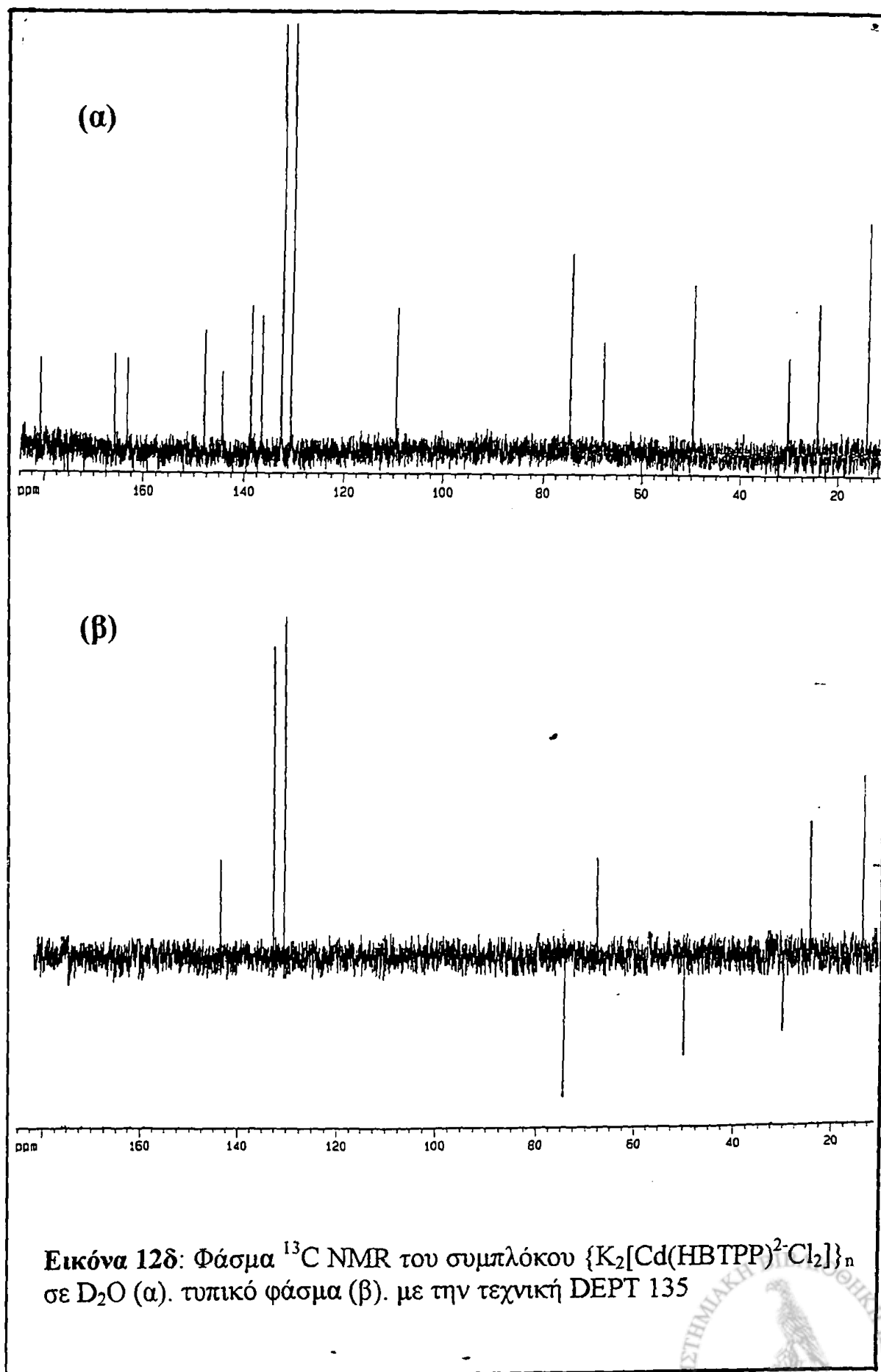


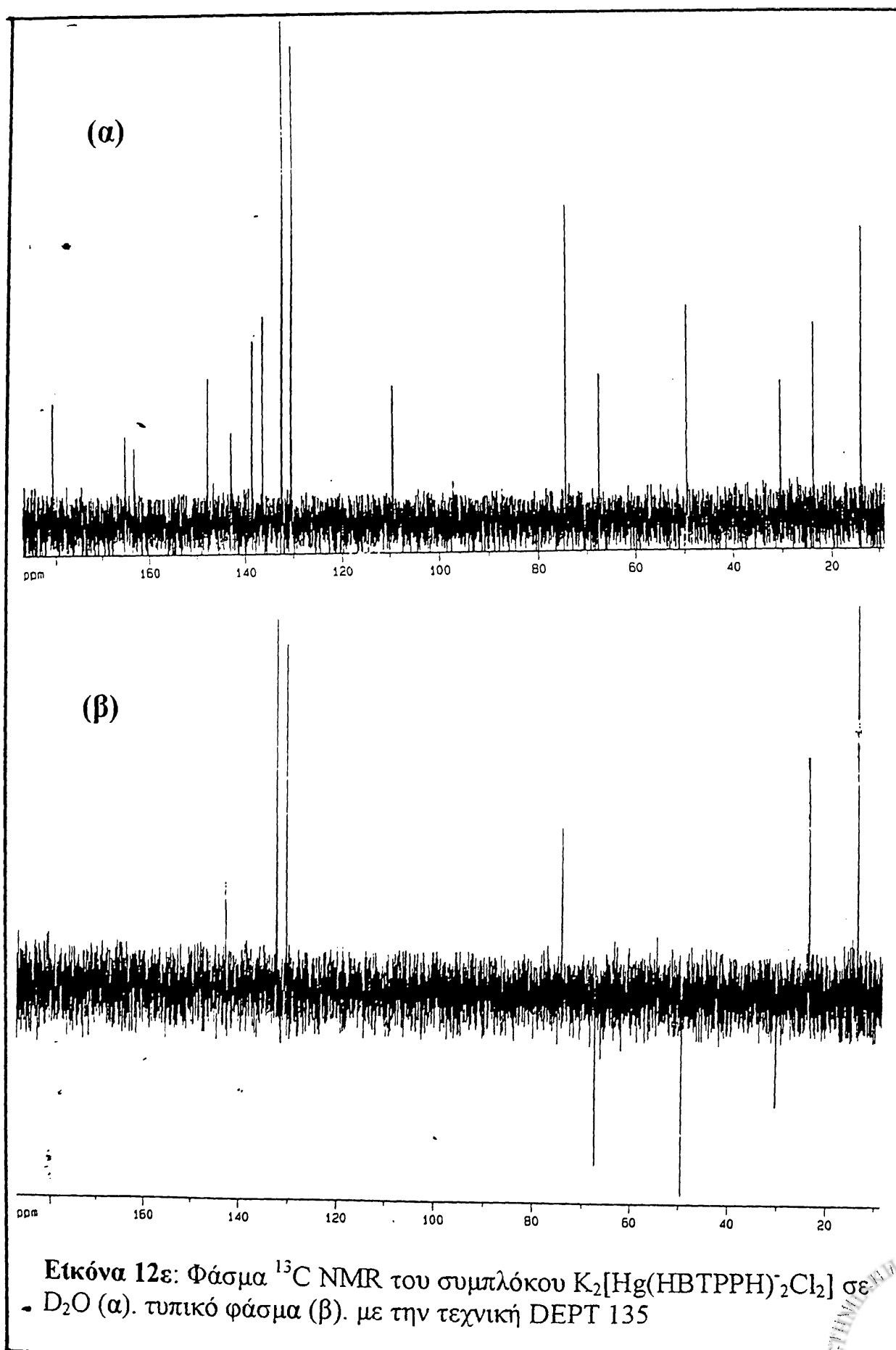
Εικόνα 12β: Φάσμα ^{13}C NMR του υποκαταστάτη $(\text{HBTPRH}_2)^0$ σε D_2O
(α). τυπικό φάσμα (β). με την τεχνική DEPT 135

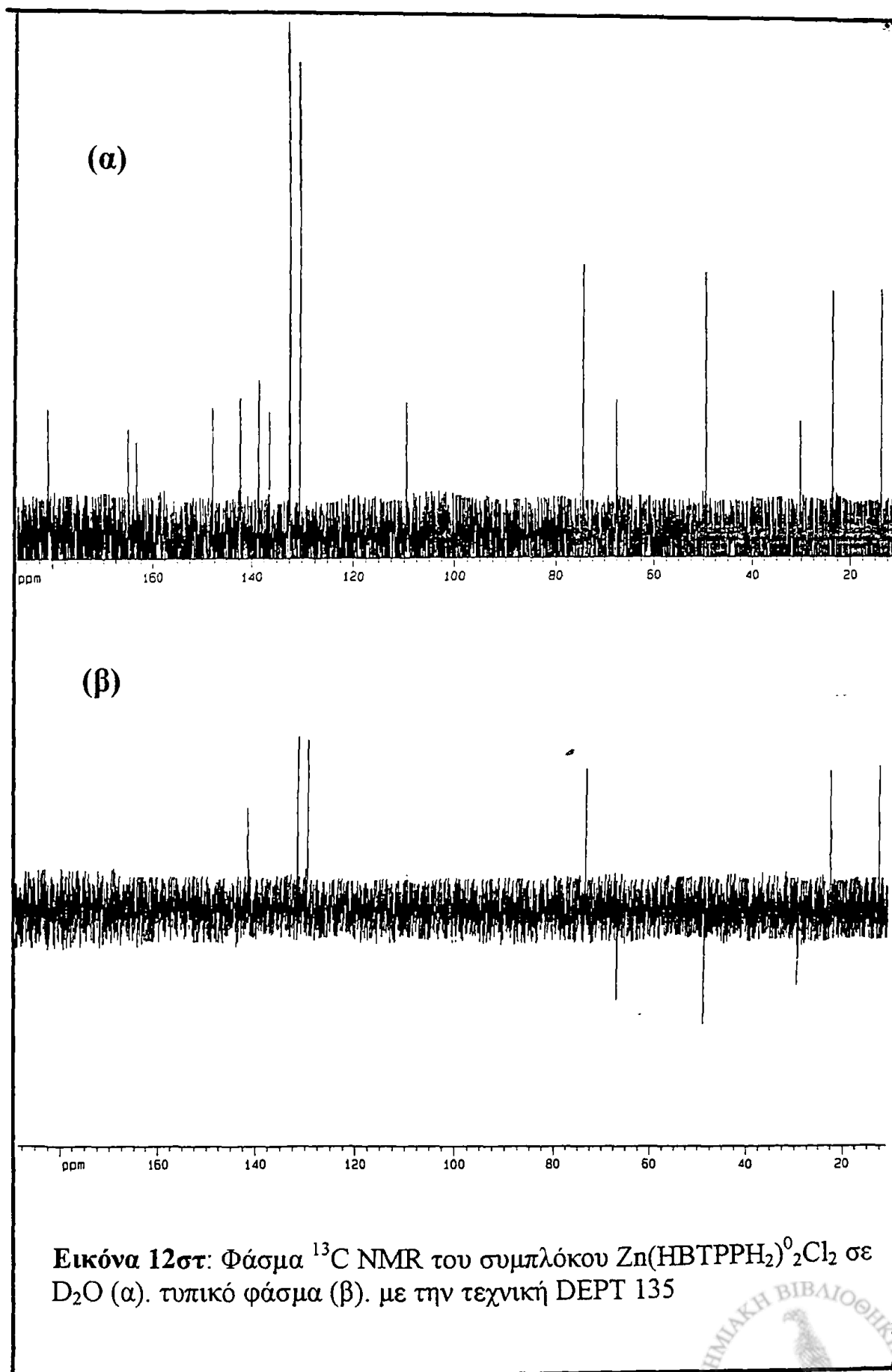




Εικόνα 12γ: Φάσμα ^{13}C NMR του συμπλόκου $\{\text{K}[\text{Zn}(\text{HBTPPH})\text{Cl}_2]\}_n$ σε D_2O (α). τυπικό φάσμα (β). με την τεχνική DEPT 135







2.3. Φασματοσκοπία ^{113}Cd -NMR

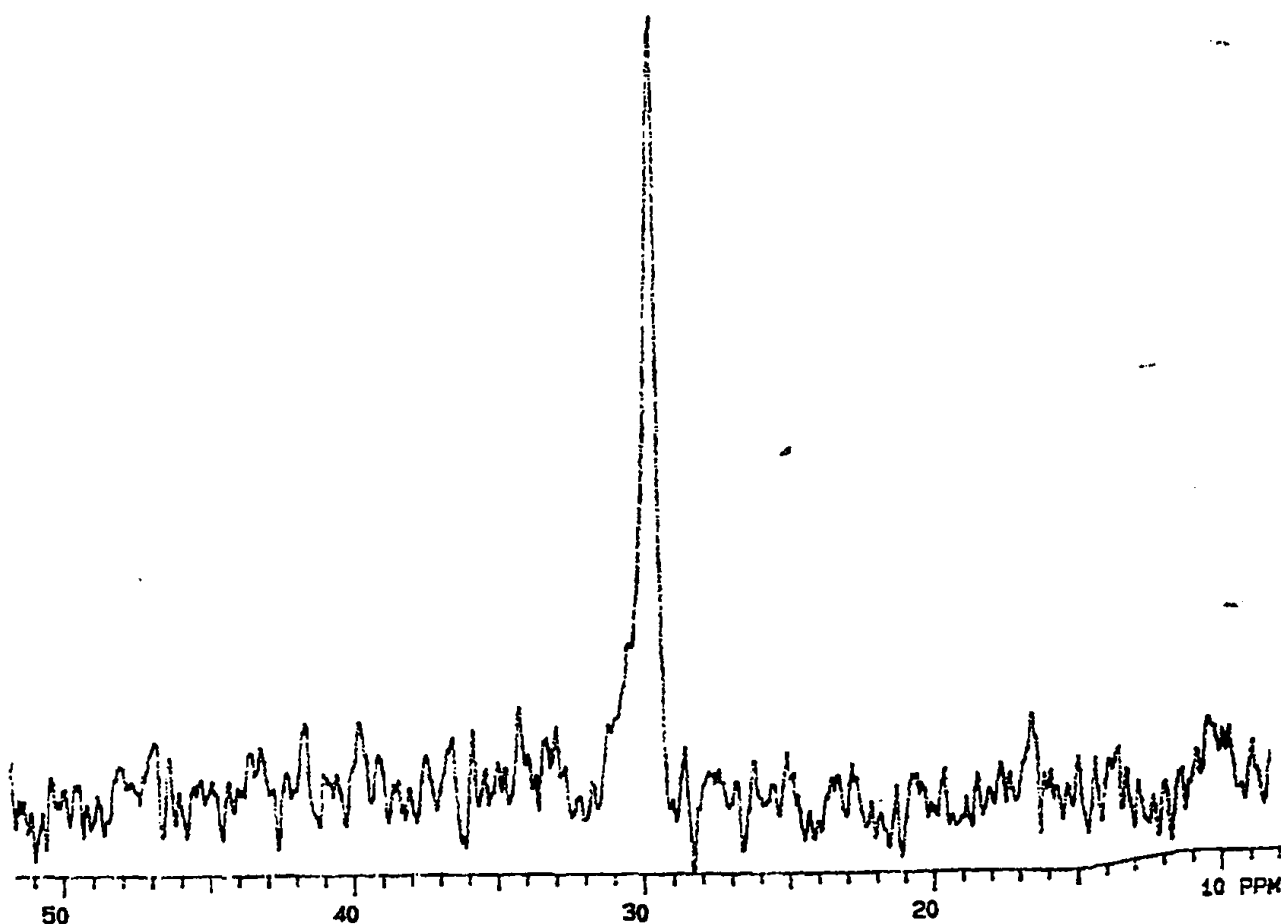
Έχει αποδειχτεί ότι η φασματοσκοπία ^{113}Cd -NMR αποτελεί μια σημαντική τεχνική με την οποία είναι δυνατή η εξέταση του χημικού περιβάλλοντος που εντοπίζεται γύρω από το μεταλλοκατιόν σε ένα μεγάλο πλήθος ενώσεων συμπεριλαμβανομένων των μεταλλοπρωτεϊνών και των μεταλλοενζύμων καδμίου. Για το ^{113}Cd , έχει καθιερωθεί μία ευρεία κλίμακα χημικής μετατόπισης ~ 850 ppm (24).

Στο δικό μας σύστημα, η χημική μετατόπιση του ατόμου του Cd στο σύμπλοκο $\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPP})_2\text{Cl}_2]\}$ παρουσιάζεται στα 31.2 ppm σε D_2O χρησιμοποιώντας ως εξωτερική αναφορά 0.1 M $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$ (εικόνα 13). Στο σύμπλοκο $[\text{Cd}(\text{thiamin})\text{Cl}_3]_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (όπου το Cd συνδέεται με 3 άτομα Cl, 1 άτομο N και 1 άτομο O με γεωμετρία τριγωνικής διπυραμίδας) και στο σύμπλοκο $[\text{Cd}(\text{thiamin})_2\text{Cl}_4]$ (όπου το άτομο του Cd συνδέεται με 4 άτομα Cl και 2 άτομα N), η χημική μετατόπιση του ^{113}Cd έχει παρατηρηθεί στα 74.4 και 100.3 ppm αντίστοιχα (20,25). Σ' αυτές τις περιπτώσεις διαπιστώθηκε ότι λαμβάνει χώρα μερική χημική ανταλλαγή μεταξύ του διαλύτη και του ιόντος χλωρίου. Παρόμοια ανταλλαγή αναμένεται και στα δικά μας σύμπλοκα (14,26). Εξάλλου, στην περίπτωση των συμπλόκων CdL (ένταξη μέσω 1N, κορυφή στα 11 ppm), CdL_2 (ένταξη μέσω 2N, κορυφή στα 42 ppm), CdL_3 (ένταξη μέσω 3N, κορυφή στα 72 ppm) και CdL_4 (ένταξη μέσω 4N, κορυφή στα 101 ppm), όπου ο υποκαταστάτης (L) είναι 4-υποκατεστημένες πυριδίνες, η χημική μετατόπιση του ^{113}Cd αυξάνεται με αύξηση του αριθμού ατόμων αζώτου στη σφαίρα ένταξης του Cd (24). Στο σύμπλοκο $\text{Cd}(\gamma\text{λυκίνη})$ όπου έχουμε ταυτόχρονη ένταξη του Cd(II) μέσω N και O χηλικά, η χημική μετατόπιση του ^{113}Cd παρατηρείται στα 54 ppm. (27). Επιπρόσθετα η χημική μετατόπιση ^{113}Cd στην αλβουμίνη (μία πρωτεΐνη του πλάσματος του αίματος) με ένταξη μέσω ενός ατόμου N και ατόμων οξυγόνου παρουσιάζεται στα 24 ppm.

Παρόμοια χημική μετατόπιση (46 ppm) παρατηρείται τόσο για το ένζυμο concanavalin A (ένταξη μέσω 3 καρβοξυλικών οξυγόνων, 2 μορίων H_2O και ενός ιμιδαζολικού αζώτου His), όσο και για την αλκαλική φωσφατάση (52 ppm) (ένταξη μέσω 2 καρβοξυλικών οξυγόνων, ενός μορίου H_2O και ενός ιμιδαζολικού αζώτου His) (24,28).



Με βάση τα παραπάνω δεδομένα και επιπλέον την τιμή της χημικής μετατόπισης ^{113}Cd που παρατηρείται σ' ένα παρόμοιο σύμπλοκο: $\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HETPP})\text{Cl}_2]\text{n}$ ($\delta=31.5$ ppm), για το οποίο προτείνεται ένταξη μέσω του N(1') και ατόμων οξυγόνου (14), καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι η παρατηρούμενη χημική μετατόπιση στο $\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPP})^2\text{Cl}_2]\text{n}$ στα 31.2 ppm, συνεπάγεται ένταξη του Cd μέσω του N(1'), των οξυγόνων της πυροφωσφορικής ομάδας και πιθανώς και ενός μορίου διαλύτη (H_2O).

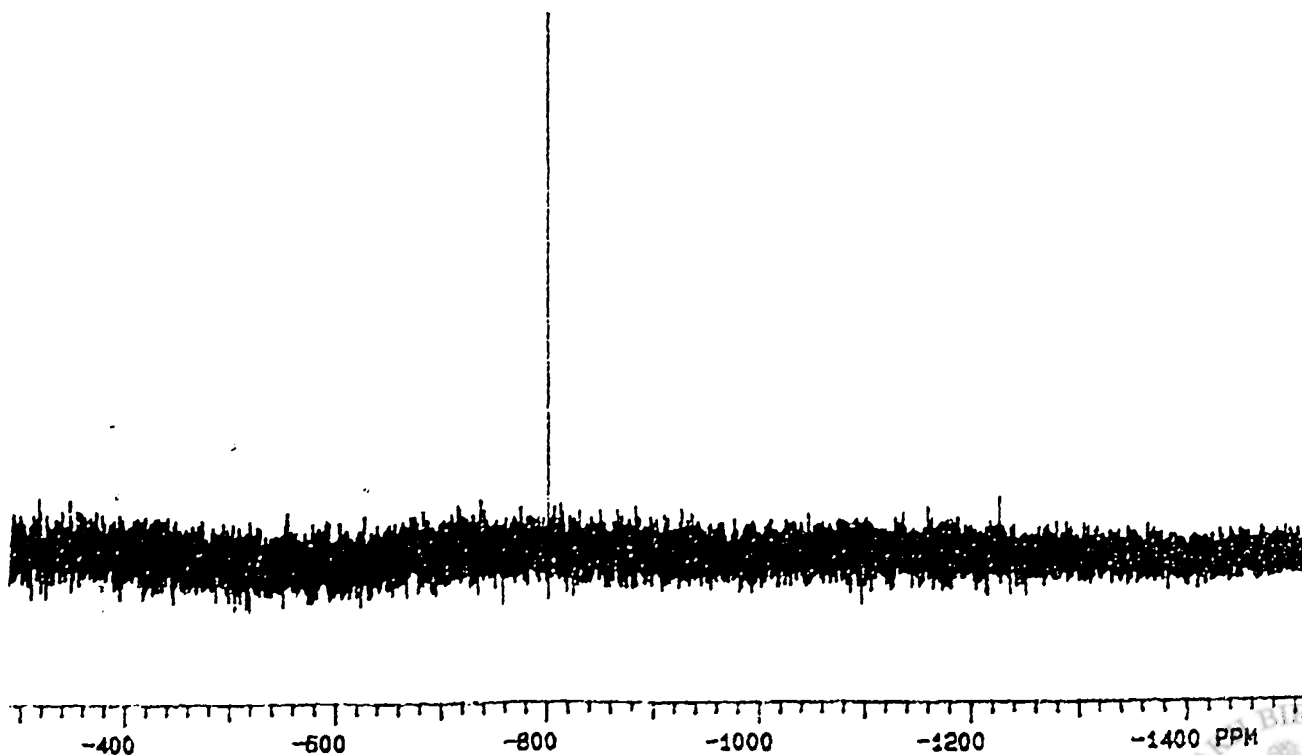


Εικόνα 13: Φάσμα ^{113}Cd -NMR του συμπλόκου $\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPP})^2\text{Cl}_2]\text{n}$ (εξωτ. αναφορά 0.1M $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$)

2.4. Φασματοσκοπία ^{199}Hg NMR

Από την εικόνα 14 όπου δίνεται το αντίστοιχο φάσμα, παρατηρούμε μια απλή κορυφή στα -804 ppm για το πρόσφατα παρασκευασμένο διάλυμα σε D_2O του $\text{K}_2[\text{Hg}(\text{HBTPPH})_2\text{Cl}_2]$, αναφορικά προς τον $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$.

Τα σύμπλοκα του $\text{Hg}(\text{II})$ με τα παράγωγα «ενεργού αλδεϋδης» των $\text{HB}\Gamma$ και HCMT , $\text{HgCl}_3\text{-HB}\Gamma$ και $\text{HgCl}_3\text{-HCMT}$ όπου υπάρχει ένταξη μέσω του $\text{N}(1')$ του πυριμιδινικού δακτυλίου, έδειξαν μία κορυφή για τον ^{199}Hg στα -1200 ppm (21). Αντίστοιχα η κορυφή του ^{199}Hg στο σύμπλοκο HgCl_2 (ημιδαζόλιο) σε διάλυμα Me_2SO έδειξε μια απλή κορυφή στα -1487 ppm (29). Απ' την άλλη πηθανοί υποκαταστάτες του χαλκού στην πλαστοκυανίνη και ρουστικυανίνη είναι δύο άζωτα ιστιδίνης, μία σουλφιδρυλική ομάδα κυστεΐνης και ένας θειοαιθέρας μεθειονίνης. Τα παράγωγά του με τον Hg έδειξαν μια απλή κορυφή ^{199}Hg στα -749 ppm και -706 ppm αντίστοιχα (30). Δεδομένου του γεγονότος ότι οι δότες οξυγόνου προκαλούν μετατοπίσεις σε υψηλότερα πεδία (31) του σήματος ^{199}Hg , η παρατηρούμενη κορυφή στα -804 ppm για το σύμπλοκο $\text{K}_2[\text{Hg}(\text{HBTPPH})_2\text{Cl}_2]$, μπορεί να αποδοθεί σε ένταξη του υδραργύρου της μορφής $[\text{HgN}_2(\text{H}_2\text{O})_n]$.



Εικόνα 14: Φάσμα ^{199}Hg -NMR του συμπλόκου $\text{K}_2[\text{Hg}(\text{HBTPPH})_2\text{Cl}_2]$ (εξωτ. αναφορά $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$)



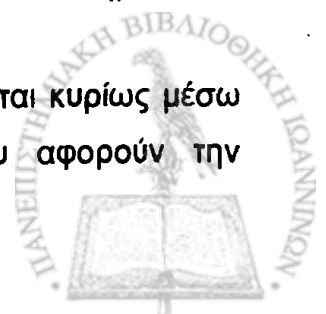
2.5. Φασματοσκοπία ^{31}P NMR

Τα φάσματα ^{31}P NMR των συμπλόκων και του ελεύθερου υποκαταστάτη φαίνονται στις εικόνες 15(α-γ). Οι χημικές μετατοπίσεις των δύο φωσφόρων της πυροφωσφορικής ομάδας καθώς και οι διαφορές σε ppm των κορυφών του ελεύθερου υποκαταστάτη και των συμπλόκων παρατίθενται στον πίνακα 15.

Τα φάσματα ^{31}P NMR του ελεύθερου υποκαταστάτη και των συμπλόκων δείχνουν δύο διπλές κορυφές για την χημική μετατόπιση των ατόμων P_α και P_β , όπως αναμενόταν για ένα AB σύστημα. Ο χαρακτηρισμός των κορυφών αυτών μπορεί να γίνει εύκολα με βάση τα φάσματα ^{31}P NMR στα οποία δεν έγινε αποσύζευξη $^{31}\text{P} - ^1\text{H}$.

Στο φάσμα του υποκαταστάτη σε $\text{pH}=3.5$, οι χημικές μετατοπίσεις παρατηρήθηκαν στα -10.4 και -9.8 ppm αντίστοιχα. Αυξάνοντας το pH στο 6 το σήμα του P_β μετατοπίζεται σε χαμηλότερα πεδία κατά ~ 1.0 ppm. Στα σύμπλοκα $\{\text{K}[\text{Zn}(\text{HBTPRH})\text{Cl}_2]\text{n}$ και $\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPP})^{-2}\text{Cl}_2]\text{n}$, τα σήματα των P_α και P_β μετατοπίζονται κατά 1.3 και 2.5 ppm και κατά 2.2 και 4.8 ppm αντίστοιχα συγκρινόμενα με εκείνα του ελεύθερου υποκαταστάτη $(\text{HBTPRH})^{-}\text{K}^+$. Στην περίπτωση του συμπλόκου $\text{K}_2[\text{Hg}(\text{HBTPRH})^{-2}\text{Cl}_2]$ οι αντίστοιχες κορυφές πρακτικά δεν μετατοπίζονται. Συγκρίνοντας το φάσμα του $\text{Zn}(\text{HBTPP H}_2)^0\text{Cl}_2$ με αυτό του $(\text{HBTPRH}_2)^0$ σε $\text{pH}=3.5$, παρατηρούμε ότι τα σήματα P_α και P_β μετατοπίζονται κατά 1.0 και 2.3 ppm αντίστοιχα. Σε όλα τα σύμπλοκα, εκτός από το $\text{K}_2[\text{Hg}(\text{HBTPRH})^{-2}\text{Cl}_2]$ η μεγάλη μετατόπιση του σήματος P_β είναι μια καθαρή ένδειξη της σύνδεσης του μετάλλου μέσω του $\text{P}_\beta\text{-O}^-$, ενώ η μικρότερη μετατόπιση του P_α αποδεικνύει ότι το $\text{P}_\alpha\text{-O}^-$ αλληλεπιδρά ασθενέστερα με το μέταλλο (32,33). Η διαφορετική μορφή της κορυφής του ^{31}P οφείλεται στην γειτνίασή της με το μεταλλικό κέντρο, το οποίο προκαλεί διαφορετικά φαινόμενα αποδιέγερσης. Η μικρότερη απόσταση του P_β από το μέταλλο έχει σαν αποτέλεσμα πιο διευρημένα σήματα και μεγαλύτερες χημικές μετατοπίσεις ^{31}P . Ανάλογα η μεγαλύτερη απόσταση του P_α από το μεταλλικό κέντρο παρέχει πιο στενά σήματα και μικρότερες χημικές μετατοπίσεις του ^{31}P .

Τα δεδομένα μας ότι ο Zn (II) και το Cd (II), συνδέονται κυρίως μέσω του P_β είναι σε συμφωνία με μελέτες ^{31}P NMR που αφορούν την



αλληλεπίδραση θειαμίνης- Mg^{+2} και την αλληλεπίδραση θειαμίνης- Mg^{+2} παρουσία της πυρουβικής αποκαρβοξυλάσης (34,35). Σ' αυτές τις περιπτώσεις, όταν το $Mg(II)$ συνδέονταν άμεσα με το P_β , ο συντονισμός ^{31}P για το α και β άτομο του φωσφόρου, σε $pH=6.8-8.8$, πέφτει από -10.1 σε -10.7 και από -5.99 σε -6.5 ppm για τα δύο άτομα φωσφόρου αντίστοιχα (34,35).

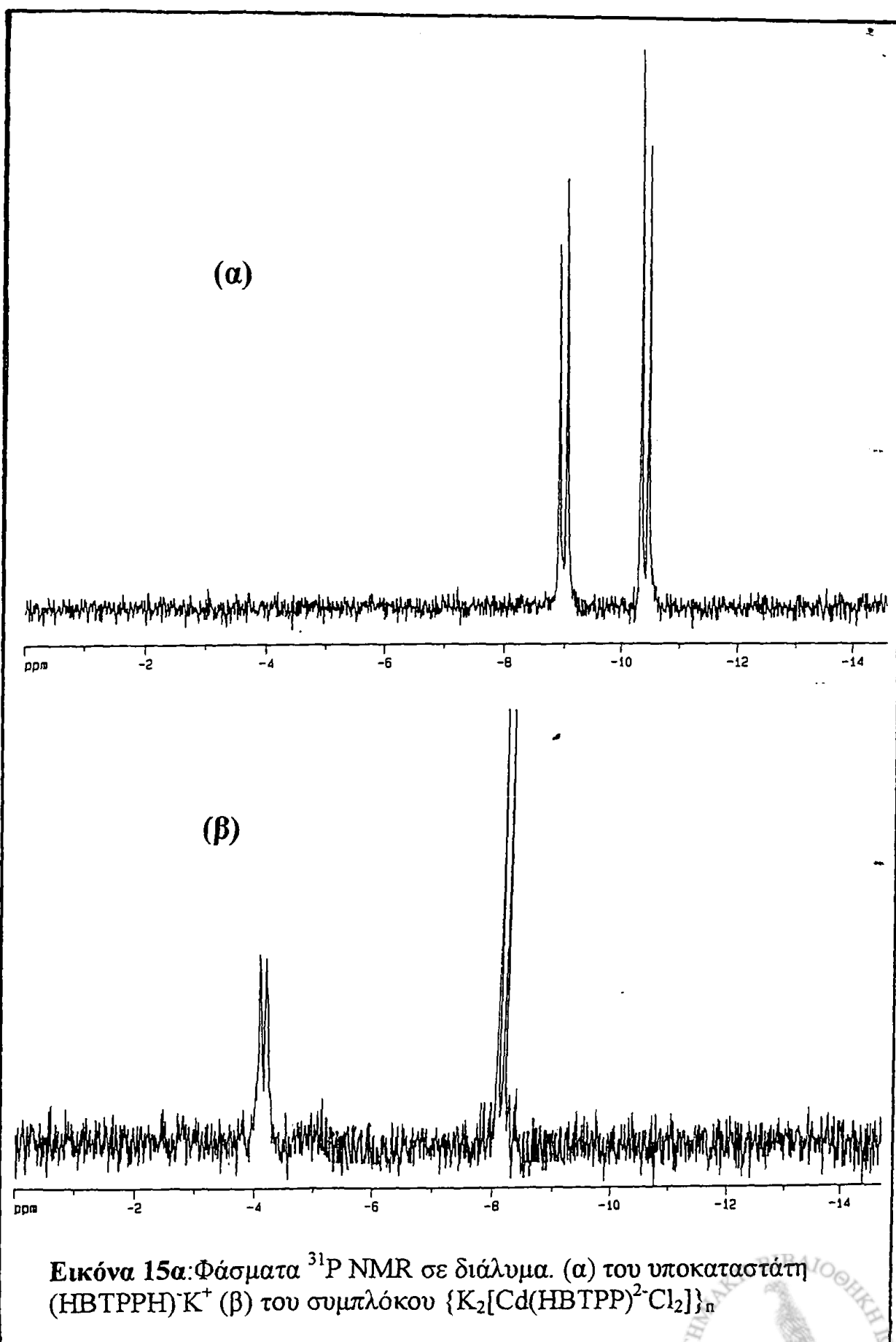
Οι $^2J_{P-P}$ τιμές για όλα τα σύμπλοκα των μετάλλων που μελετήθηκαν εκτός από το $K_2[Hg(HBTPPH)_2Cl_2]$, είναι σημαντικά χαμηλότερες από τη $^2J_{P-P}$ τιμή του ελεύθερου υποκαταστάτη. Τα αποτελέσματά μας είναι σε συμφωνία με τα δεδομένα που έχουν δημοσιευτεί και που αφορούν σύμπλοκα $Zn(II)$ και $Cd(II)$ με τη 2-(α-υδροξυ-αίθυλ) πυροφωσφορική θειαμίνη, όπου οι σταθερές σύζευξης φωσφόρου-φωσφόρου, μειώνονται όταν έχουμε σύνδεση του φωσφόρου με τα μεταλλικά ιόντα.(14).

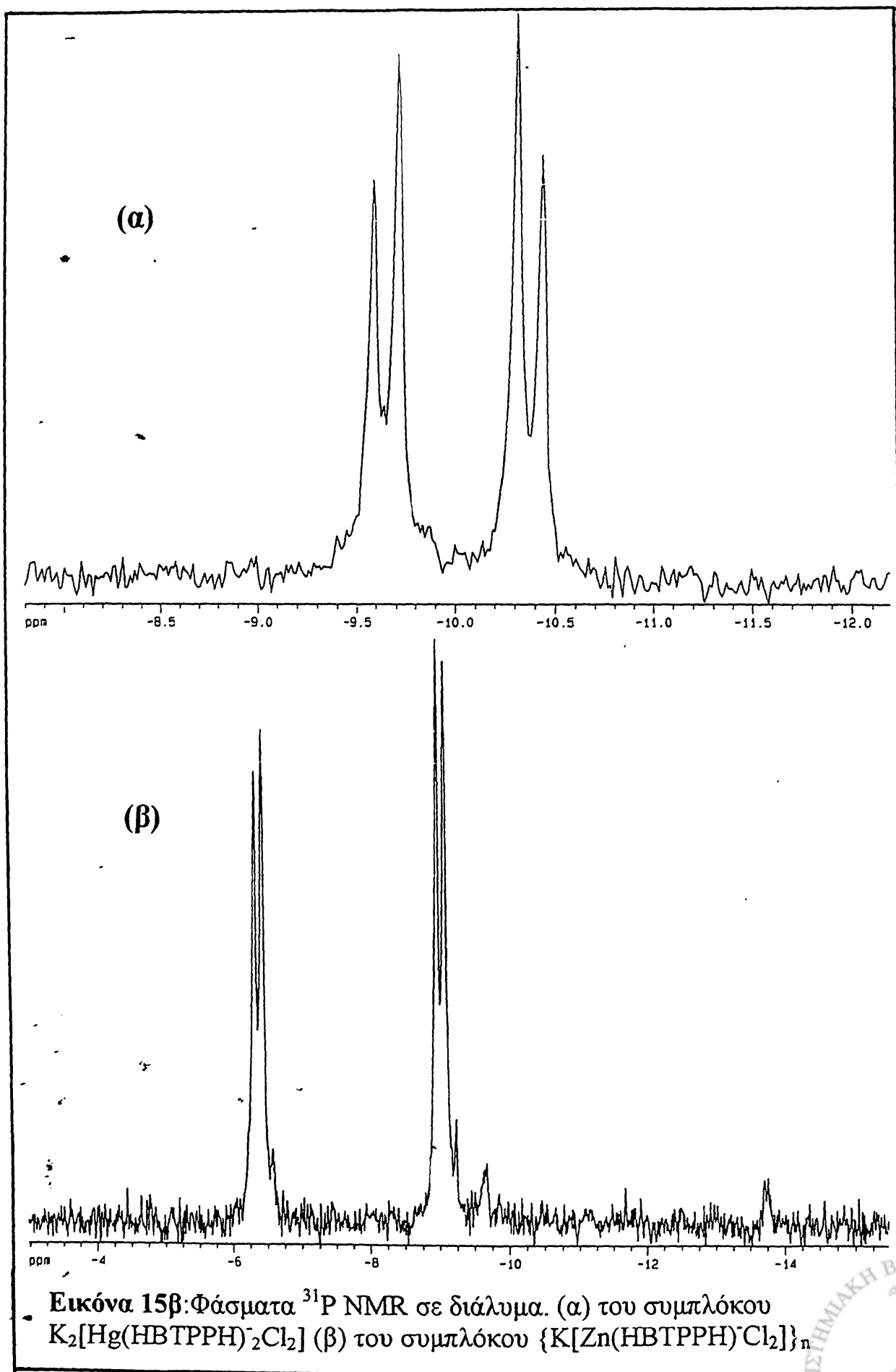
Πίνακας 15: Φασματοσκοπικά δεδομένα ^{31}P NMR υποκαταστατών και συμπλόκων του πυροφωσφορικού παραγώγου θειαμίνης σε διάλυμα D_2O (δ σε ppm με εξωτερική αναφορά υδατικό 85% H_3PO_4).

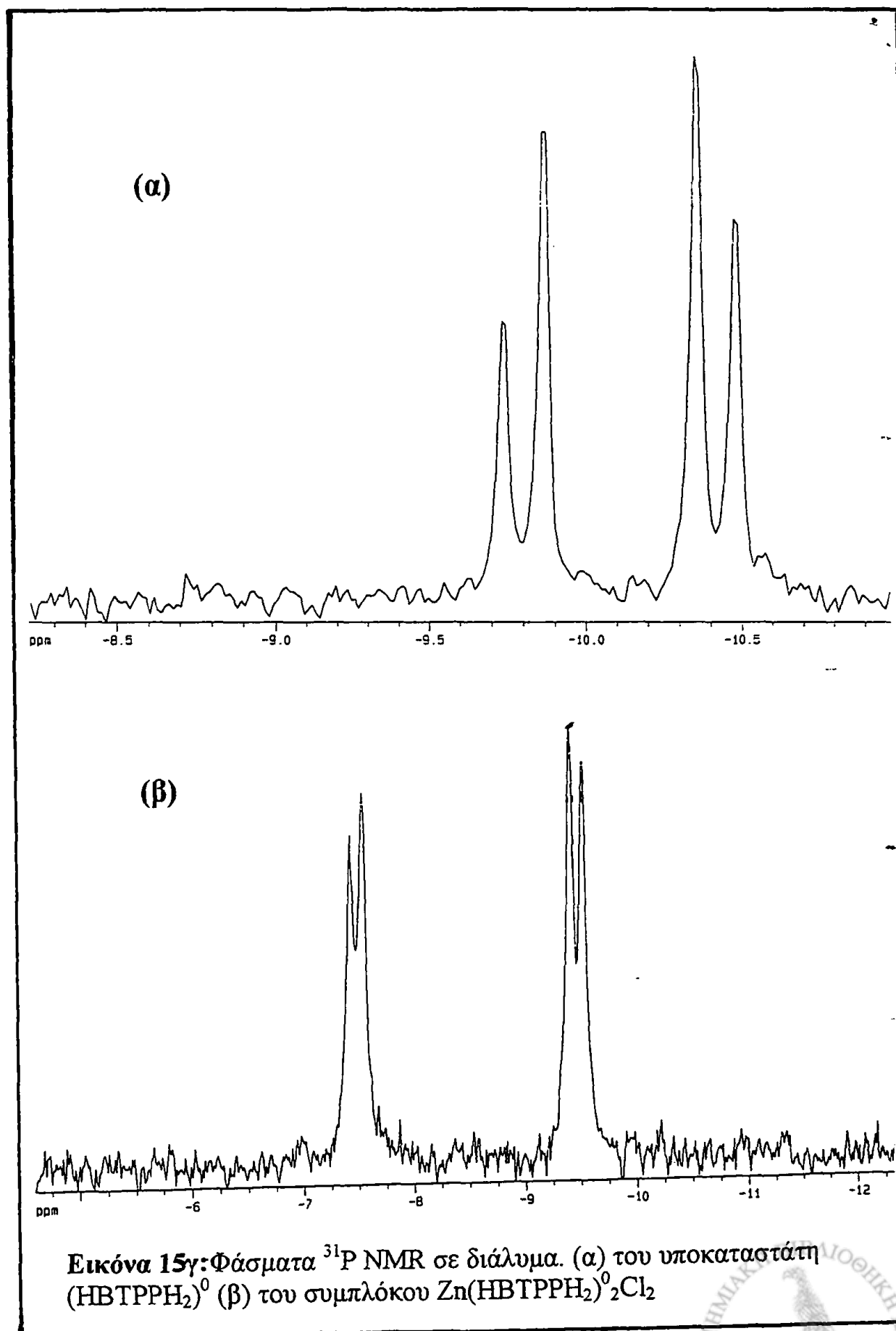
Ένωση	P_α	P_β	$\Delta\delta^*_{Pa}$	$\Delta\delta^*_{P\beta}$	$^2J_{Pa-P\beta}$ (Hz)
$(HBTPPH_2)^0$ $pH=3.5$	-10.4	-9.8	—	—	20.2
$(HBTPPH)K^+$ $pH=6.0$	-10.3	-8.8	—	—	20.2
$\{K[Zn(HBTPPH)Cl_2]\}_n$	-9.0	-6.3	+1.3	+2.5	17.2
$\{K_2[Cd(HBTPP)^2Cl_2]\}_n$	-8.1	-4.1	+2.2	+4.7	16.7
$K_2[Hg(HBTPPH)_2Cl_2]$	-10.4	-9.1	-0.1	-0.3	21.0
$Zn(HBTPPH_2)_2Cl_2$	-9.4	-7.5	+1.0	+2.3	18.0

*Διαφορά σε ppm των σημάτων NMR για τον αντίστοιχο ελεύθερο υποκαταστάτη και για τα σύμπλοκα ($\Delta\delta = \delta_{υποκ.} - \delta_{συμπλ.}$)









2.6. Φασματοσκοπία ^1H -NMR

Οι χημικές μετατοπίσεις των διαφόρων ατόμων H των υποκαταστατών $(\text{HBTPPH}_2)^0$, $(\text{HBTPPH})^-\text{K}^+$ και των συμπλόκων $\{\text{K}[\text{Zn}(\text{HBTPPH})^-\text{Cl}_2]\}_n$, $\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPP})^2-\text{Cl}_2]\}_n$, $\text{K}_2[\text{Hg}(\text{HBTPPH})_2\text{Cl}_2]$ και $\text{Zn}(\text{HBTPPH}_2)^0_2\text{Cl}_2$ συνοψίζονται στον πίνακα 16 και τα αντίστοιχα φάσματα στις εικόνες 16(α-στ).

Από την μελέτη των φασμάτων, διαπιστώνουμε ότι οι τιμές της χημικής μετατόπισης των πρωτονίων κοντά στις αναμενόμενες θέσεις ένταξης δηλαδή των $\text{C}_6\text{-H}$, $2'\text{-CH}_3$ και $5\beta\text{-CH}_2$ δεν παρουσιάζουν σημαντική μεταβολή. Το γεγονός αυτό, δεδομένου ότι υπάρχει σύζευξη μέσω των ατόμων $\text{N}(1')$ και P_β . Ο όπως υπέδειξαν οι φασματοσκοπίες IR, Raman, ^{13}C CP/MAS NMR, ^{13}C NMR σε διάλυμα, ^{113}Cd NMR, ^{199}Hg NMR και ^{31}P NMR σε διάλυμα, που προηγήθηκαν, μπορεί να ερμηνευτεί ως εξής:

α) Για τα σύμπλοκα Cd και Zn μπορούμε να υποστηρίξουμε ότι καθώς το μέταλλο συνδέεται και μέσω του O του P_β (οπότε η χημική μετατόπιση για το πρωτόνιο $5\beta\text{-CH}_2$ θα είναι πολύ μικρή αφού αυτό βρίσκεται πολύ μακριά από τη θέση ένταξης) αυτό θα φέρει αρνητικό φορτίο λόγω της σύνδεσης με δύο επιπλέον άτομα Cl. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τελικά την προστασία των $\text{C}_6\text{-H}$ και $2'\text{-CH}_3$ από την αποπροστασία που προκαλεί η συμπλοκοποίηση στο $\text{N}(1')$, παρουσιάζοντας τελικά πολύ μικρή ως μηδαμινή χημική μετατόπιση προς χαμηλότερα πεδία σε σχέση με τον υποκαταστάτη σε $\text{pH}=6$.

β) Επιπρόσθετα στην μηδαμινή μετατόπιση θα πρέπει να συμβάλλει και η αλληλεπίδραση συσώρευσης (stacking) των δακτυλίων πυριμιδίνης και βενζολίου, όπως αυτή φαίνεται από το φάσμα ^1H -NMR ROESY του συμπλόκου $\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPP})^2-\text{Cl}_2]\}_n$ που ακολουθεί.

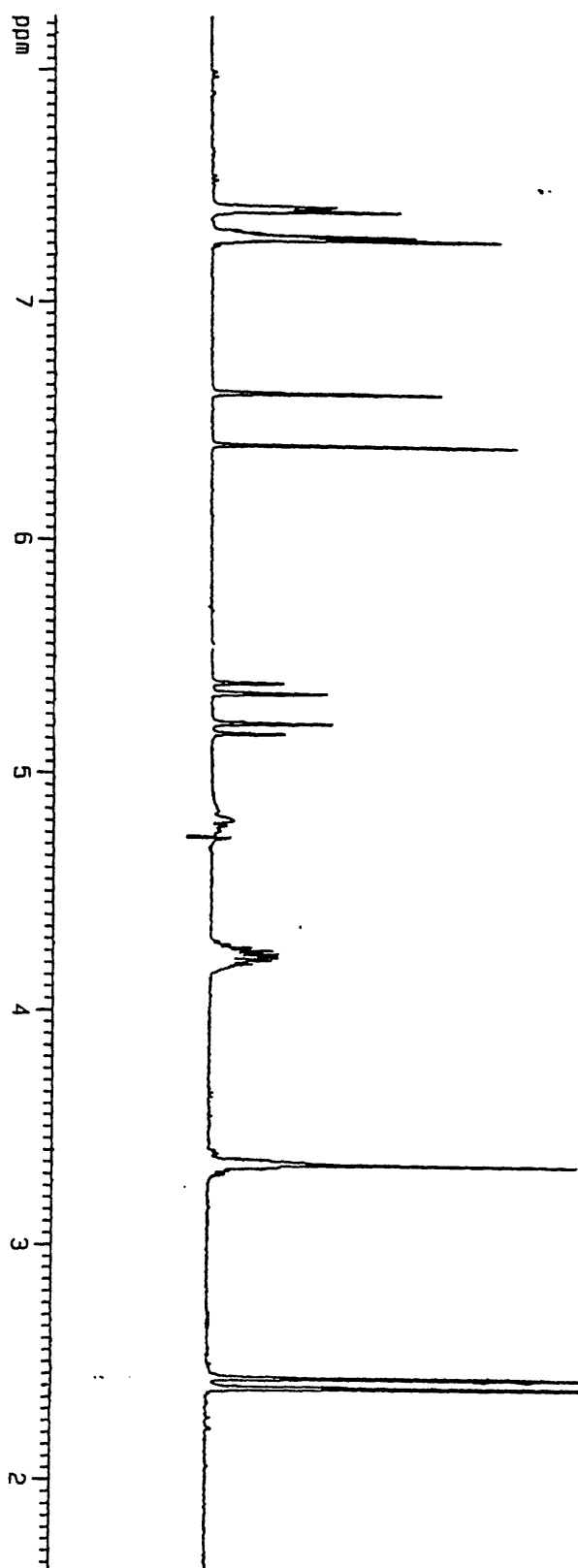
Επίσης στα φάσματα των υποκαταστατών και των συμπλόκων παρατηρούμε μια διπλή κορυφή για κάθε ένα από τα μεθυλενικά πρωτόνια $\text{C}(3,5')\text{H}_2$. Όπως και στην περίπτωση της μονοφωσφορικής θειαμίνης, πρέπει να αναφέρουμε ότι τα μεθυλενικά πρωτόνια $\text{C}(3,5')\text{H}_2$ συμπεριφέρονται σαν σύστημα AB.



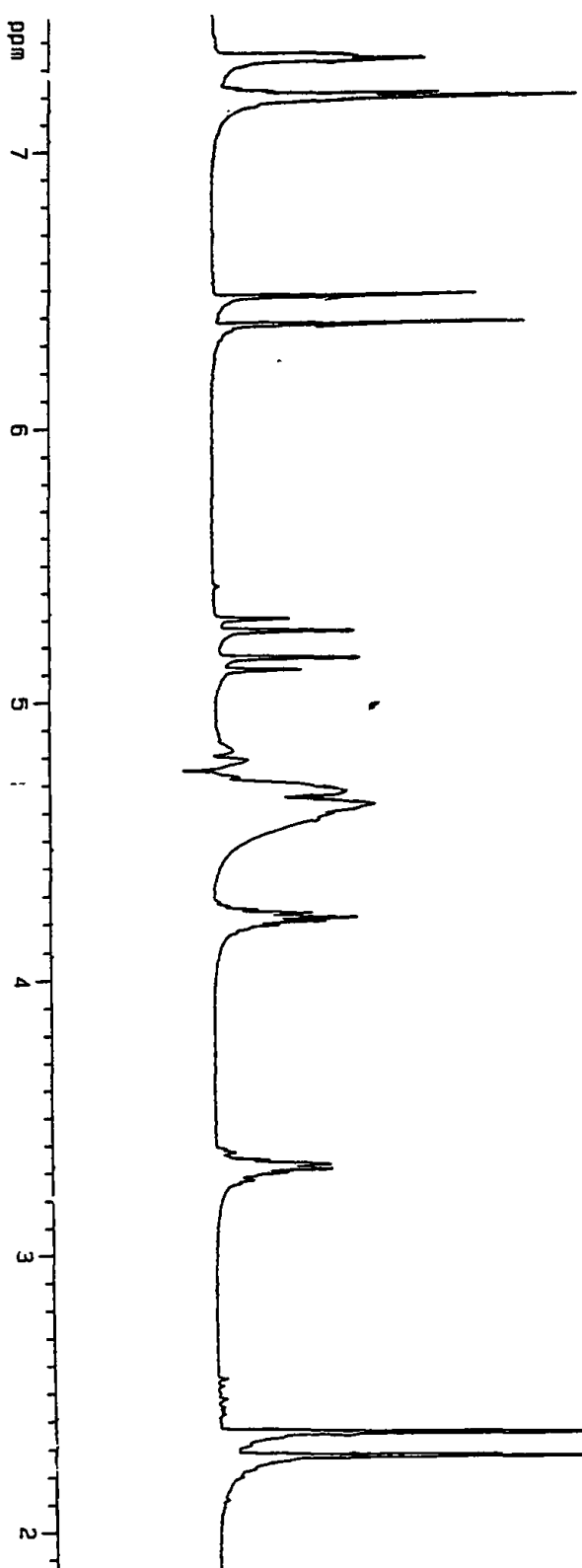
Πίνακας 16: Φασματοσκοπικά δεδομένα ^1H NMR υποκαταστατών και συμπλόκων του πυροφωσφορικού παραγώγου θειαμίνης σε διάλυμα D_2O .

Ένωση	$\text{C}_2\text{---H}$	$\text{C}_3\text{,4---H}$	$\text{C}_6\text{---H}$	$\text{C}_{2a}\text{---H}$	$\text{C}_{3,5}\text{---H}_2$	$\text{C}_{5b}\text{---H}_2$	$\text{C}_{5a}\text{---H}_2$	$2'\text{---CH}_3$	4---CH_3
$(\text{HBTPPH}_2)^0$ pH=3.5	7.395	7.274	6.623	6.403	5.345 5.218	4.226	3.342	2.434	2.392
$(\text{HBTPPH})\text{K}^+$ pH=6.0	7.420	7.180	6.465	6.364	5.253 5.155	4.220	3.330	2.368	2.283
$\{\text{K}[\text{Zn}(\text{HBTPPH})\cdot\text{Cl}_2]\}_n$	7.379	7.263	6.546	6.404	5.326 5.211	4.273	3.347	2.422	2.392
$\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPP})^2\cdot\text{Cl}_2]\}_n$	7.363	7.250	6.629	6.406				2.420	2.380
$\text{K}_2[\text{Hg}(\text{HBTPPH})\cdot\text{Cl}_2]$	7.383	7.258	6.599	6.398	5.329 5.209	4.240	3.344	2.408	2.392
$\text{Zn}(\text{HBTPPH}_2)^0\cdot 2\text{Cl}_2$	7.403	7.269	6.571	6.404	5.336 5.215	4.252	3.346	2.421	2.396

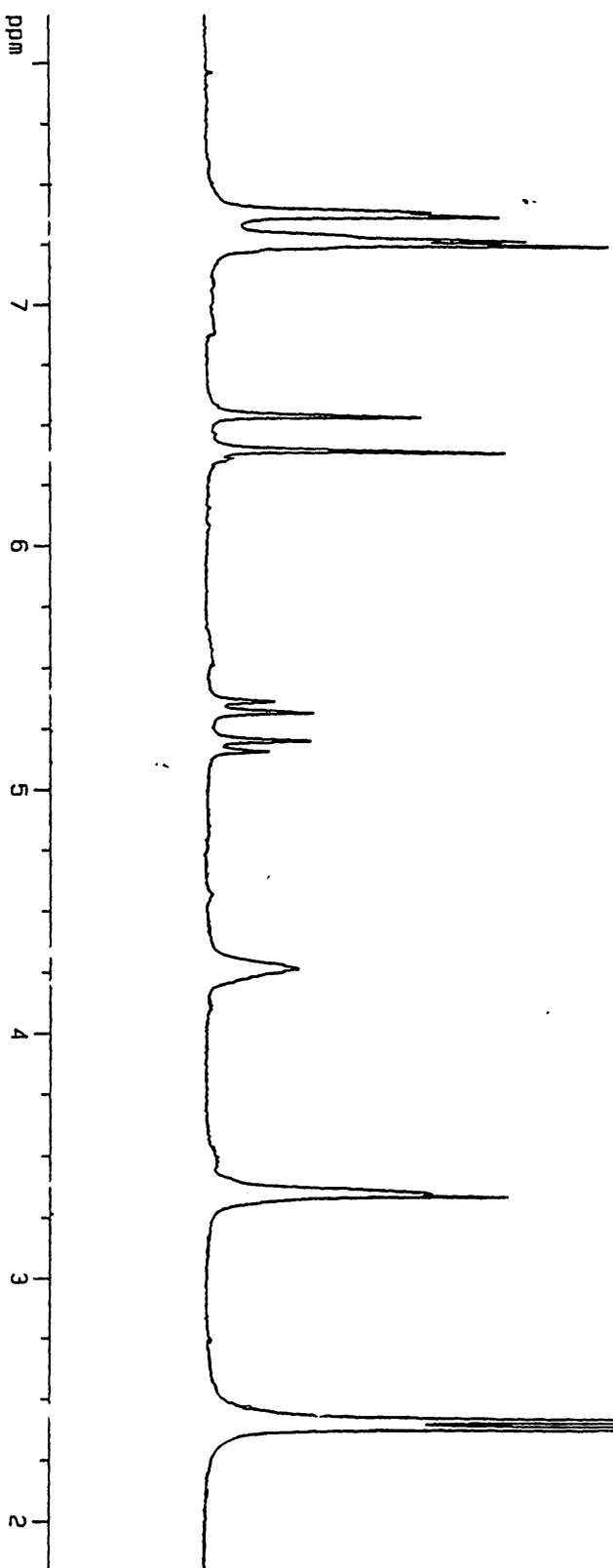
Εικόνα 16α: Φάσμα ^1H NMR του υποκαταστάτη (HBTTPH_2) 0 σε D_2O .



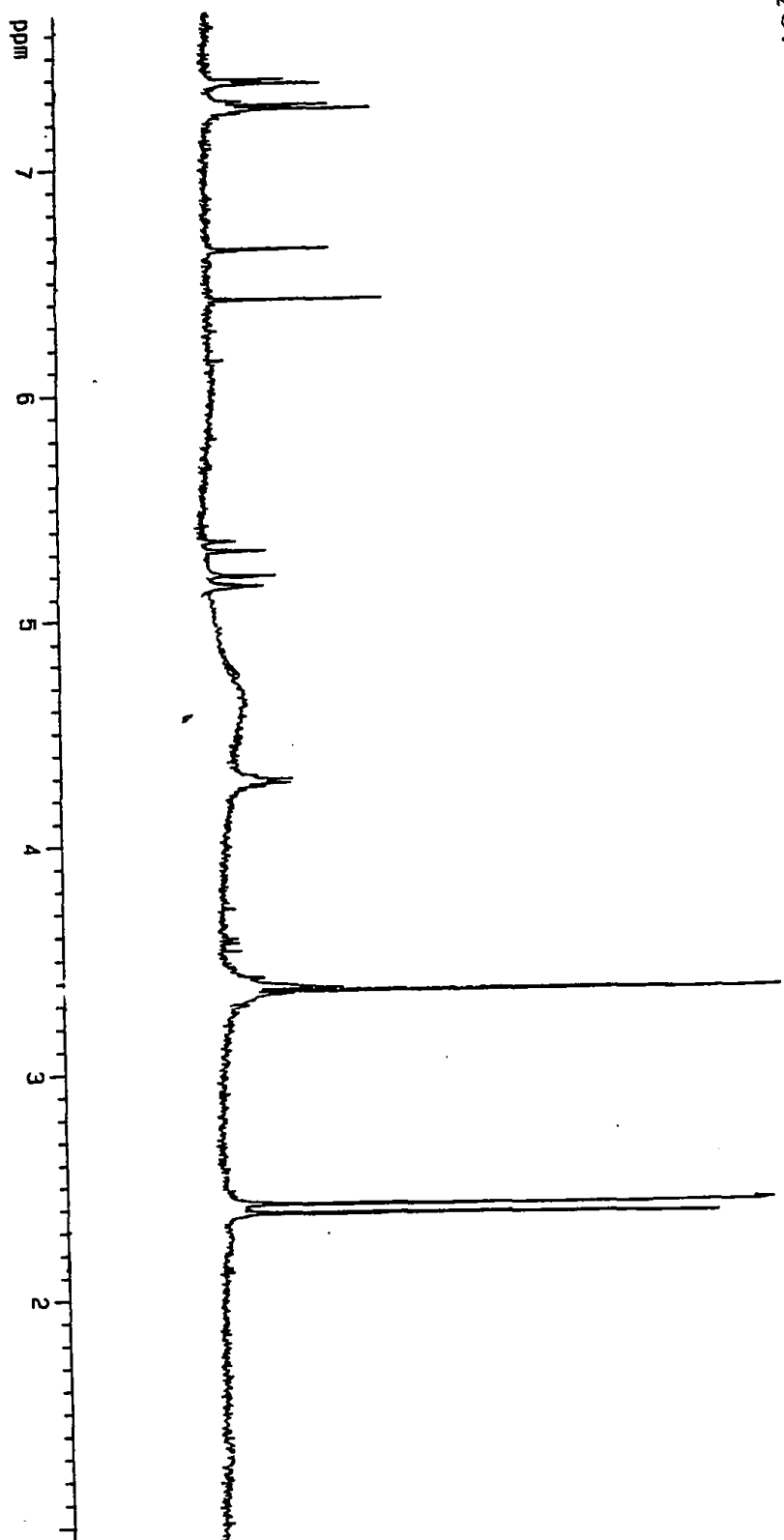
Εικόνα 16β: Φάσμα ^1H NMR του υποκαταστάτη (HBTPH) K^+ σε D_2O



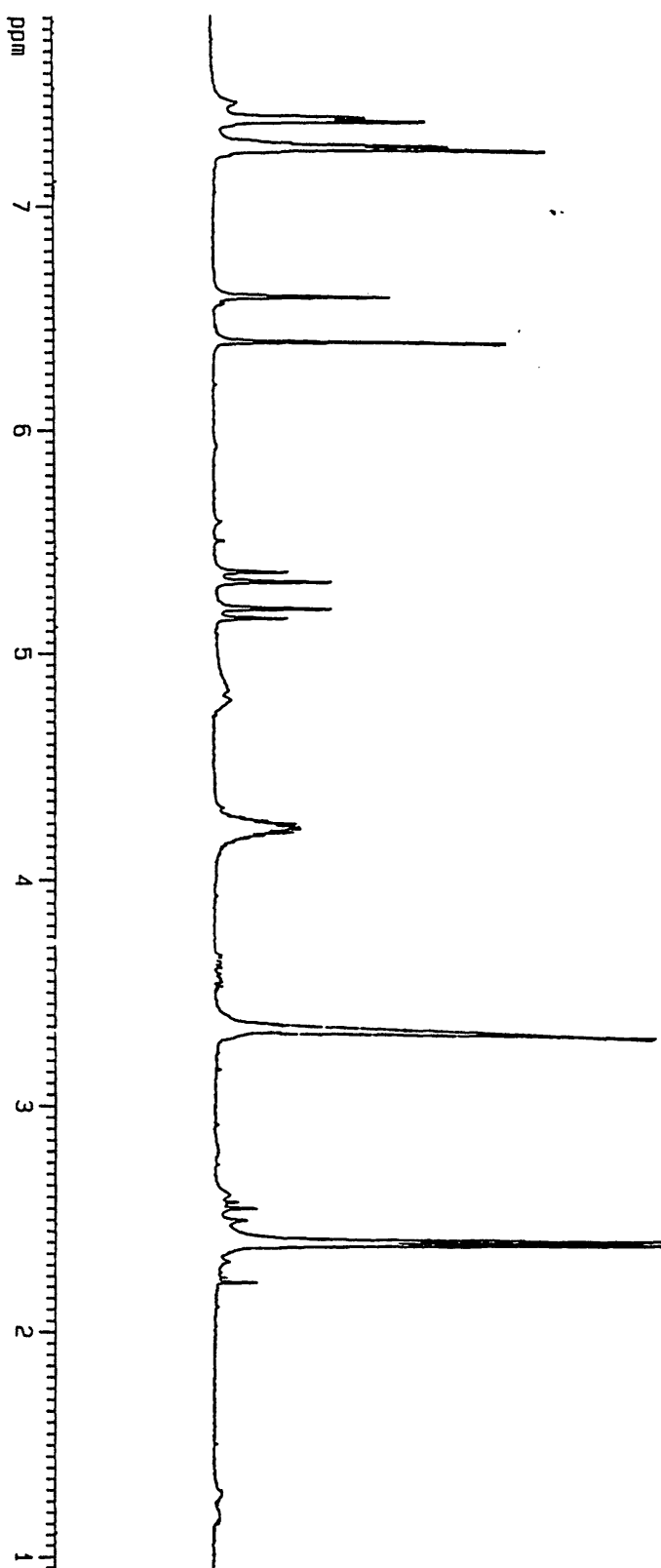
Εικόνα 16γ: Φάσμα ^1H NMR του συμπλόκου $\{\text{K}[\text{Zn}(\text{HBTTPH})\text{Cl}_2]\}_n$ σε D_2O .



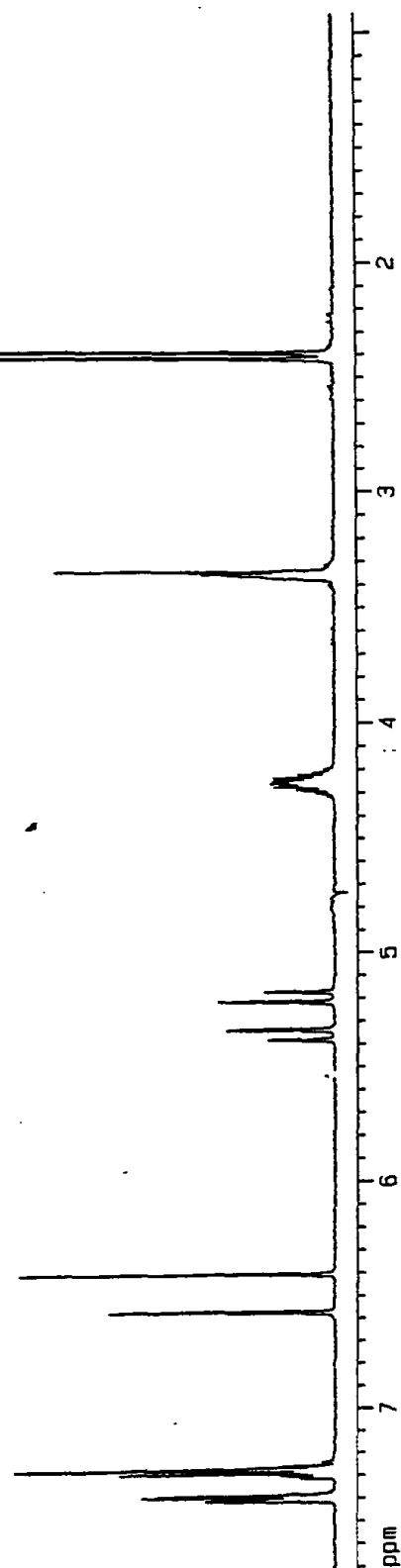
Εικόνα 168: Φάσμα ^1H NMR του συμπλόκου $\{K_2[Cd(HBTP)^2Cl_2]\}_n$ σε D_2O .



Εικόνα 16ε: Φάσμα ^1H NMR του συμπλόκου $\text{K}_2[\text{Hg}(\text{HBTTPH})_2\text{Cl}_2]$ σε D_2O .



Εικόνα 16στ: Φάσμα ^1H NMR του συμπλόκου $\text{Zn}(\text{HBTPPH}_2)^0\text{Cl}_2$ σε D_2O .



2.7. ^1H NMR ROESY φασματοσκοπία σε D_2O .

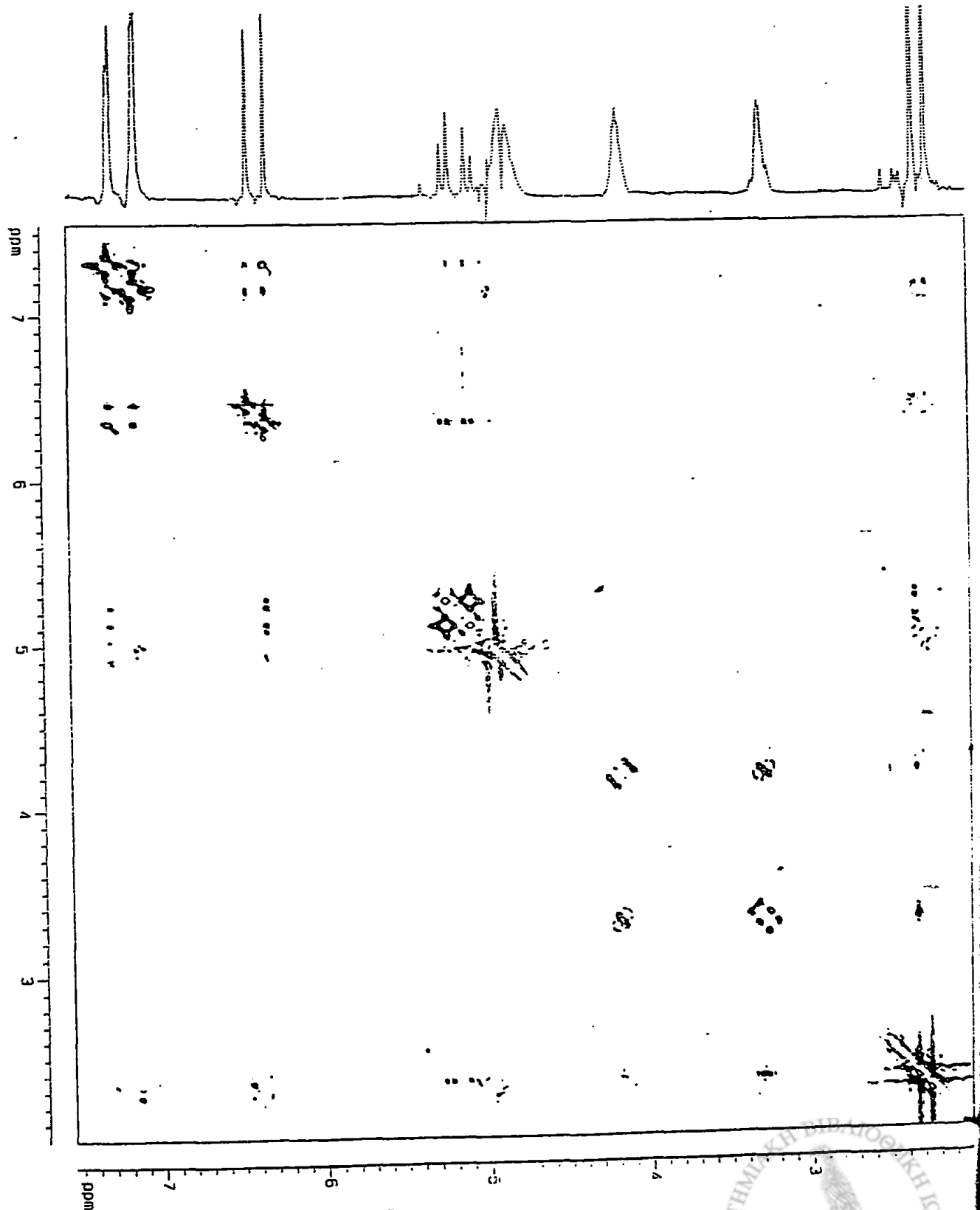
Προκειμένου να ελέγξουμε αν υπάρχει ή όχι και στο παρόν σύστημα αλληλεπίδραση συσσώρευσης (stacking) μεταξύ του βενζολικού και του πυριμιδινικού δακτυλίου, όπως σε όλα τα C(2)-βενζυλ- παράγωγα της θειαμίνης (12,13) καταγράψαμε το 2D-ROESY φάσμα του ελεύθερου υποκαταστάτη και του συμπλόκου $\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPP})\text{Cl}_2]\text{n}$ σε D_2O .

Στο φάσμα του ελεύθερου υποκαταστάτη, υπάρχουν διασταυρούμενες κορυφές μεταξύ των πρωτονίων C(6')-H/C(2'',3'')-H, C(6')-H/C(2α)-H, C(6')-H/C(4)-CH₃ και 2'CH₃/C(3'',4''). (Εικόνα 17α). Επομένως τα πυριμιδινικά πρωτόνια C(6')-H και 2'CH₃ πλησιάζουν τόσο το C(2α)-H όσο και τα βενζολικά πρωτόνια υποδεικνύοντας την ύπαρξη αλληλεπίδρασης συσσώρευσης μεταξύ του πυριμιδινικού και του βενζολικού δακτυλίου στην υγρή φάση. Η διασταυρούμενη κορυφή μεταξύ του C(6')-H και του C(4)-CH₃ υποδεικνύει ότι ο θειαζολικός δακτύλιος περιστράφηκε κατά τον ίδιο τρόπο όπως στο HBTPP και στο μεταλλικό του σύμπλοκο (14).

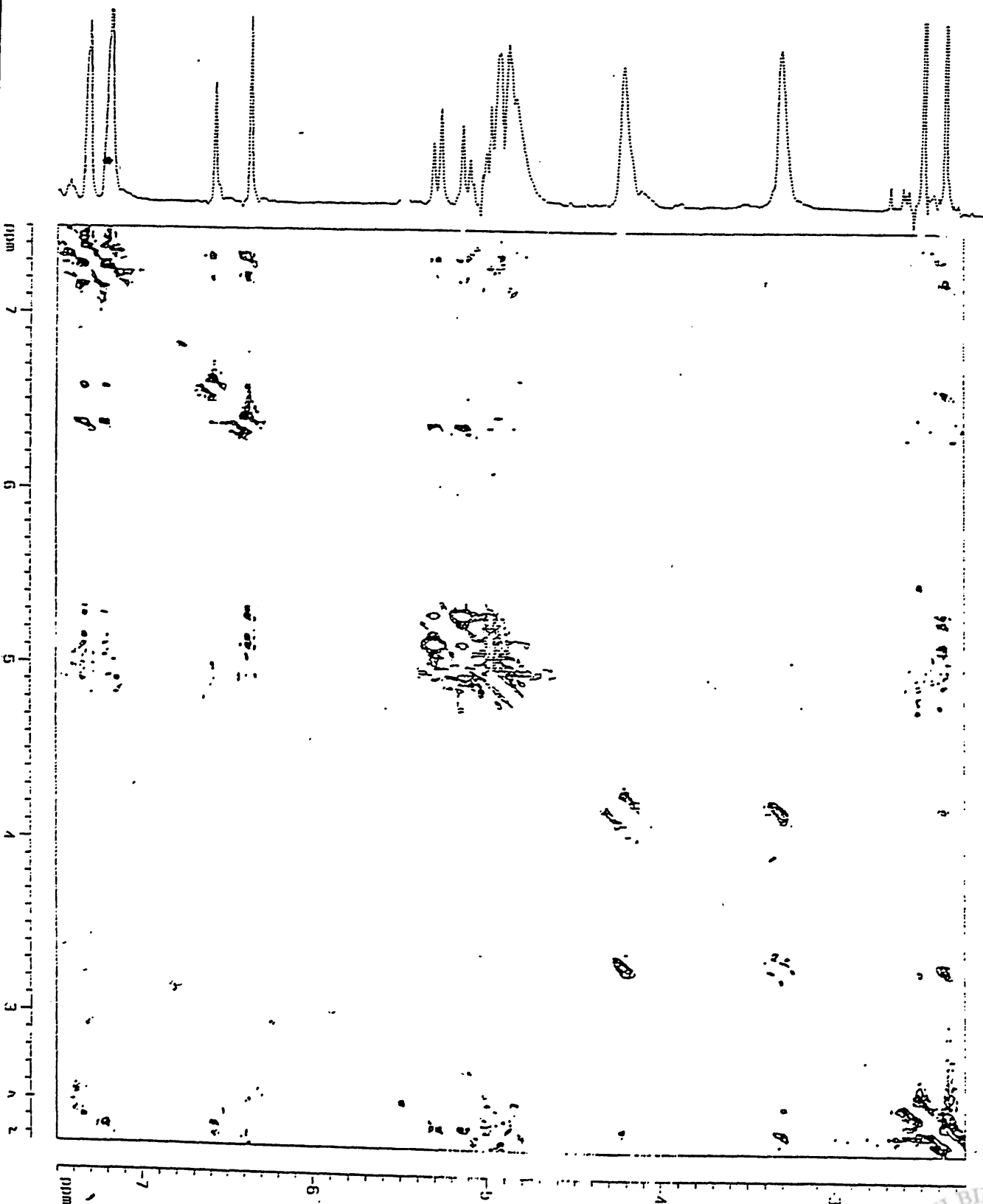
Το φάσμα 2D-ROESY του συμπλόκου $\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPP})\text{Cl}_2]\text{n}$ σε D_2O (Εικόνα 17β) παρουσιάζει τις ίδιες διασταυρούμενες κορυφές μεταξύ των πρωτονίων όπως και ο ελεύθερος υποκαταστάτης. Έτσι η αλληλεπίδραση συσσώρευσης μεταξύ πυριμιδίνης και βενζολικού δακτυλίου της θειαμίνης διατηρείται επίσης και σε διάλυμα του συμπλόκου της με Cd(II).



Εικόνα 17α: Φάσμα ^1H NMR ROESY σε D_2O του υποκαταστάτη $(\text{HBTPPH})\text{K}^+$



Εικόνα 17β: Φάσμα ^1H NMR ROESY σε D_2O του συμπλόκου $\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPP})^{2-}\text{Cl}_2]\}_n$



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. A.White, P. Handler, E.L. Smith, "Principles of Biochemistry" McGraw-Hill, 5th edition, p.1154.
2. J.Fourier, Bull. Soc. Chim. France 5 (1988), 854-61.
3. R.Breslow, J.Am.Chem.Soc. 80 (1958), 3719-26.
4. L.O.Krampitz, "Thiamine Dophosphate and its Catalytic Functions" MARCEL DEKKER, Inc.N. York, 1970
5. R.Y. Stanier, J. Bacteriol. 54 (1947), 339-348
6. J.P.Taglioni, J.Fournier, C.R.Acad. Sc. Paris 288 SerieC, (1979), 141-144
7. N. Hadjiliadis, J. Markopoulos, Can. J. Spectry. 35 (1990), 27-33
8. N. Hadjiliadis, M. Louloudi, I.S. Butler, Spectrochimica Acta, 47A (1991), 445-53
9. M.Conte, G.Mille, J.Lafon, J.Chouteau, J.Metzer, J.Chim.Phys. 73 (1976), 569-74
10. S. B. Kartha, Spectrochimica Acta, 38A (1982), 859-66.
11. N. Hadjiliadis, A Yannopoulos, E. DeGrave, R.Bau, Bull. Soc. Chim. Belg., 98 (1989), 223-35.
12. M. Louloudi, N Hadjiliadis, J. A. Feng, S. Sukumar, R. Bau, J. Am. Chem. Soc. 112 (1990), 7233-8.
13. K.Dodi, I.P.Gerothanassis, N.Hadjiliadis, A.Schreider, R.Bau, I.S.Butler and P.J.Barrie, Inorg. Chem. 35 (1996), 6513-9
14. G. Malandrinos, M. Louloudi, C.A. Mitsopoulou, I.S. Butler, R. Bau, N. Hadjiliadis, J. Biol. Inorg. Chem. (1998), 437-448
15. L.J. Bellamy, The infrared spectra of complex molecules, 3rd edn. Chapman & Hall, London, (1975)
16. G.R. Hays Analyst (London) 107 (1982), 241
17. W.Xiaoling, I. Shanmin and W.Xaewen, J. Magn. Reson 77 (1988), 343
18. N.J.Clayden, Chemica Scripta 28 (1988), 211
19. W.K. Geary, Coord. Chem. 7 (1971), 81-122
20. J.Casas, E.Castellano, M.Couce, A.Sanchez, J.Sordo, J.Varela, J.Zukerman-Schpector, Inorg. Chem. 34 (1995) 2430-37



21. M.Louloudi, N.Hadjiliadis, I.Butler, J.Chem.Soc.Dalton Trans, (1992), 1401-5
22. A Gallo, H. Sable, J.Biol.Chem. 251 (1976), 2564-70
23. K. Dodi, M. Louloudi, G. Malandrinos, N. Hadjiliadis, Inorg. Biochem, (1999), 41-47
24. M.F. Summers, Coord. Chem. Rev. 86 (1988), 43-134
25. J.Casas, A.Castineiras, M.Couce, A.Sanchez, J.Sordo, J.Varela, Polyhedron, 14 (1995), 1825-29
26. N.Hadjiliadis, M. Louloudi, I.S.Butler, J. Chem. Soc. Dalton Trans. (1992) 1401-5
27. H.J. Jakobsen, P.D. Ellis, J. Phys. Chem. 85 (1981), 3367
28. P.J. Sadler, J.H.Viles, Inorg. Chem. 35 (1996) 4490
29. H.Acachi, N.Ueyama, A.Nakamura, Inorg. Chim. Acta, 805 (1992), 198-200
30. L.M. Utschig, T.Baynard, C.Strong, T.V.O'Halloran, Inorg. Chem. 36 (1997), 2926
31. J.J. Wilker, K.E. Wetterhahn, S.J. Lippart, Inorg. Chem. 36 (1997), 2079
32. R.D.Cornelius, P.A.Hart, W.W.Cleland, Inorg. Chem. 16 (1977), 2799
33. J.C.Lautens, R.Kluger, J. Org. Chem. 57 (1992), 6410
34. A.M. Chauvet-Monges, M.Hadida, A.Crevat, E.J.Vincent, Arch. Biochem. Biophys. 207 (1981), 311
35. G.Hubner, S.Konig, K.D.Schnackerz, FEBS 314 (1992), 101



Δ. ΜΕΡΟΣ ΤΕΤΑΡΤΟ

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

I. ΕΝΩΣΕΙΣ ΤΩΝ Zn(II), Cd(II) ΚΑΙ Hg(II) ΜΕ 2-(α-ΥΔΡΟΞΥ-BENZYL)
ΜΟΝΟΦΩΣΦΟΡΙΚΗ ΘΕΙΑΜΙΝΗ (HBTmP).

Από τη μελέτη της δομής του συμπλόκου $\text{Hg}(\text{HBTmP})_2\text{Cl}_2$, βρέθηκε ότι το μέταλλο συνδέεται με δύο μόρια του υποκαταστάτη και η διαμόρφωση γύρω από το άτομο του Hg είναι ψευδοτετραεδρική με μερικές αποκλίσεις μόνο από τη καθαρά τετραεδρική γεωμετρία παρουσιάζοντας αποστάσεις δεσμών Hg-Cl και Hg-N στα 2.391 και 2.341 Å αντίστοιχα. Επίσης η δομή του $\text{Hg}(\text{HBTmP})_2\text{Cl}_2$ έδειξε αποστάσεις δεσμών P-O χαρακτηριστικές για τερματικούς P-O δεσμούς, υποδεικνύοντας ότι δεν έχουμε άμεσο δεσμό μετάλλου-φωσφορικής ομάδας.

Ο υποκαταστάτης στο παραπάνω σύμπλοκο κατέχει την S διαμόρφωση με $\Phi_T = -98.1(9)^\circ$ και $\Phi_P = 176.1(10)^\circ$. Έτσι η S(1)...O(11) απόσταση είναι 2.711(14) Å και είναι η πιο μικρή που βρέθηκε ποτέ σε υποκατεστημένα σύμπλοκα θειαμίνης με δισθενή κατιόντα. Αυτό είναι σημαντικό γιατί υπογραμμίζει τον καθοριστικό ρόλο που παίζει το άτομο του S του θειαζολίου στο σχηματισμό των συμπλόκων των δισθενών μεταλλικών ιόντων με παράγωγα "ενεργών αλδεϋδών".

Από τη μελέτη των φασματοσκοπιών IR, Raman και ^{13}C NMR σε στερεά κατάσταση για τα σύμπλοκα $\text{Zn}(\text{HBTmPH})_2\text{Cl}_2$, $\text{Cd}(\text{HBTmPH})_2\text{Cl}_2$ και $\text{Hg}(\text{HBTmPH})_2\text{Cl}_2$ συμπεραίνουμε ότι η συμπλοκοποίηση του υποκαταστάτη γίνεται στη θέση N(1') της πυριμιδίνης, παίρνοντας τη θέση του πρωτονίου του υδροχλωρικού υποκαταστάτη της θέσης αυτής.

Παράλληλα από τις φασματοσκοπίες IR, Raman και ^{31}P NMR σε στερεά κατάσταση μπορούμε να συμπεράνουμε ότι στα σύμπλοκα $\text{Zn}(\text{HBTmPH})_2\text{Cl}_2$ και $\text{Cd}(\text{HBTmPH})_2\text{Cl}_2$ υπάρχει και απ' ευθείας δεσμός μετάλλου-φωσφορικής ομάδας.



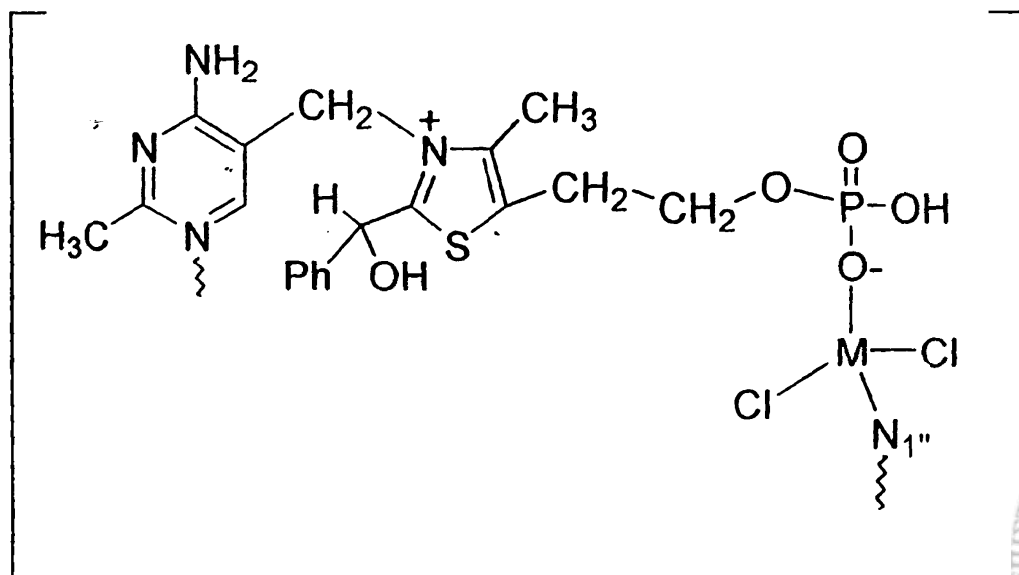
Μελετώντας ακόμη τις φασματοσκοπίες ^{13}C NMR και ^{31}P NMR σε διάλυμα ενισχύονται περαιτέρω τα συμπεράσματά μας, ότι δηλαδή τα $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^{\circ}\text{Cl}_2$, $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^{\circ}\text{Cl}_2$ και $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^{\circ}_2\text{Cl}_2$ παρουσιάζουν άμεσο δεσμό M-N(1') και σε διάλυμα όπως και στη στερεά κατάσταση, όπως επίσης ότι υπάρχει και άμεσος δεσμός μεταξύ μετάλλου και φωσφορικής ομάδας στα $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^{\circ}\text{Cl}_2$ και $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^{\circ}\text{Cl}_2$ ενώ στο $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^{\circ}_2\text{Cl}_2$ όχι.

Όσον αφορά τις ενώσεις $\text{Zn}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$, $\text{Cd}(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}_3$ και $\text{Hg}(\text{HBTmPH}_2)^+_2\text{Cl}_4$ η μελέτη όλων των παραπάνω φασματοσκοπιών υπέδειξε ότι το N(1') της πυριμιδίνης είναι πρωτονιωμένο και όχι μεταλλωμένο καθώς και ότι δεν υπάρχει δεσμός μετάλλου-φωσφορικής ομάδας ούτε σε στερεά κατάσταση ούτε σε διάλυμα.

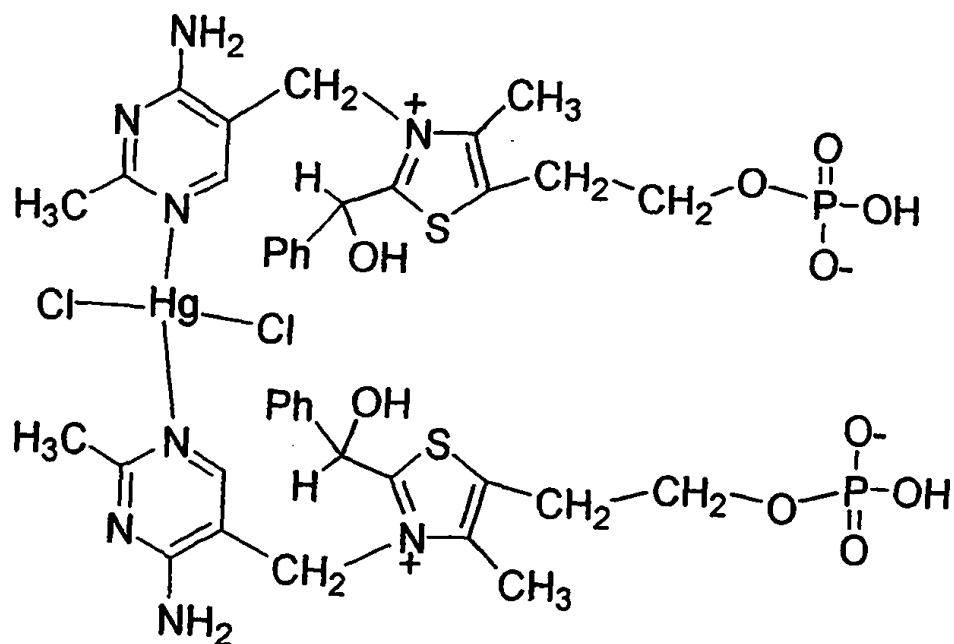
Ανακεφαλαιώνοντας, πρέπει να τονιστεί ότι όλες οι τεχνικές που μελετήθηκαν υπέδειξαν τα εξής:

(α). Χρησιμοποιώντας τον υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$ έχουμε σχηματισμό αλάτων του τύπου $(\text{HBTmPH}_2)^+(\text{MCl}_3)^-$ όπου M: Zn και Cd και του τύπου $2(\text{HBTmPH}_2)^+(\text{HgCl}_4)^{-2}$.

(β). Αντίστοιχα χρησιμοποιώντας τον υποκαταστάτη της μορφής $(\text{HBTmPH})^{\circ}$ έχουμε σχηματισμό συμπλόκων του τύπου $\text{M}(\text{HBTmPH})^{\circ}\text{Cl}_2$ όπου M: Zn και Cd και του τύπου $\text{M}(\text{HBTmPH})^{\circ}_2\text{Cl}_2$ όπου M: Hg. Στα σύμπλοκα των μετάλλων Zn(II) και Cd(II), το μέταλλο συνδέεται με το N(1') της πυριμιδίνης αλλά και τη φωσφορική ομάδα. Έτσι μπορούμε να υποστηρίξουμε ότι τα σύμπλοκα αυτά είναι της μορφής:



Όσον αφορά το σύμπλοκο του Hg(II) έχουμε μόνο άμεσο δεσμό μετάλλου-N(1') της πυριμιδίνης και είναι της μορφής:



(γ) Σε όλα τα παραπάνω σύμπλοκα οι δεσμοί μετάλλου-φωσφορικής ομάδας και μετάλλου-N(1') εξακολουθούν να υφίστανται και σε υδατικά διαλύματα (τουλάχιστον σε πρόσφατα παρασκευασμένα διαλύματα).

(δ) Στο σύμπλοκο του $\text{Hg}(\text{HBTmPH})_2\text{Cl}_2$ η θειαμίνη διατηρεί την S διαμόρφωση.

II. ΕΝΩΣΕΙΣ ΤΩΝ Zn(II), Cd(II) ΚΑΙ Hg(II) ΜΕ 2-(α-ΥΔΡΟΞΥ-BENZYL)

ΠΥΡΟΦΩΣΦΟΡΙΚΗ ΘΕΙΑΜΙΝΗ (HBTPP).

Το κύριο συμπέρασμα που μπορούμε να βγάλουμε για τα σύμπλοκα των μετάλλων Zn(II), Cd(II) και Hg(II) με την 2-(α-υδροξυ-βενζυλ) πυροφωσφορική θειαμίνη (HBTPP), είναι και εδώ ο σχηματισμός συμπλόκων με απ' ευθείας δεσμό μετάλλου-υποκαταστάτη.

Η ανάλυση των φασμάτων IR, Raman, ^{13}C NMR σε στερεά κατάσταση, υποκαταστατών και συμπλόκων υποδεικνύει ένταξη των Zn, Cd και Hg στα σύμπλοκα $\{\text{K}[\text{Zn}(\text{HBTPPH})\cdot\text{Cl}_2]\}_n$, $\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPP})\cdot\text{Cl}_2]\}_n$ και $\{\text{K}_2[\text{Hg}(\text{HBTPPH})\cdot\text{Cl}_2]\}_n$ στο N(1') της πυριμιδίνης ενώ στο σύμπλοκο $\text{Zn}(\text{HBTPP}_2)\cdot\text{Cl}_2$ όχι.

Παράλληλα οι φασματοσκοπίες IR, Raman υποδεικνύουν ένταξη των μετάλλων Zn και Cd μέσω και της πυροφωσφορικής ομάδας στα σύμπλοκα $\{\text{K}[\text{Zn}(\text{HBTPPH})\cdot\text{Cl}_2]\}_n$, $\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPP})\cdot\text{Cl}_2]\}_n$ και $\text{Zn}(\text{HBTPP}_2)\cdot\text{Cl}_2$.

Επιπλέον η φασματοσκοπία ^{13}C NMR σε διάλυμα έδειξε ότι στα $\{\text{K}[\text{Zn}(\text{HBTPPH})\cdot\text{Cl}_2]\}_n$, $\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPP})\cdot\text{Cl}_2]\}_n$ και $\{\text{K}_2[\text{Hg}(\text{HBTPPH})\cdot\text{Cl}_2]\}_n$ το N(1') είναι μεταλλωμένο ενώ στο σύμπλοκο $\text{Zn}(\text{HBTPP}_2)\cdot\text{Cl}_2$ το N(1') παραμένει πρωτονιωμένο υποδεικνύοντας έτσι ότι και σε διάλυμα εξακολουθεί να υπάρχει ο δεσμός μετάλλου-N(1') στα πρώτα τρία σύμπλοκα.

Από τη μελέτη του φάσματος ^{113}Cd NMR του συμπλόκου $\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPP})\cdot\text{Cl}_2]\}_n$ ενισχύεται παραπάνω το συμπέρασμα ότι δηλαδή υπάρχει ένταξη του Cd μέσω του N(1'), των οξυγόνων της πυροφωσφορικής ομάδας και πιθανώς και ενός μορίου διαλύτη.

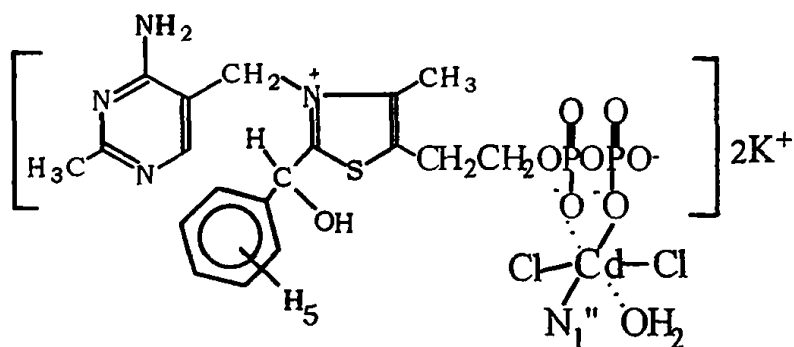
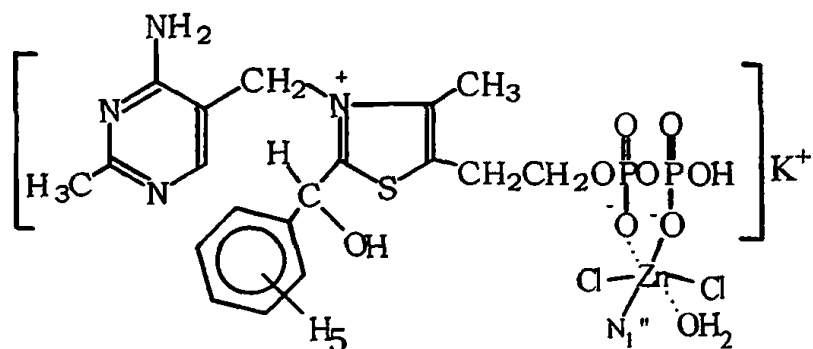
Η μελέτη του φάσματος του ^{199}Hg NMR του συμπλόκου $\{\text{K}_2[\text{Hg}(\text{HBTPPH})\cdot\text{Cl}_2]\}_n$ πρότεινε συμπλοκοποίηση του Hg με σφαίρα ένταξης της μορφής $[\text{HgN}_2(\text{H}_2\text{O})_n]$.

Τέλος στα φάσματα ^{31}P NMR σε διάλυμα, σε όλα τα σύμπλοκα εκτός του $\text{K}_2[\text{Hg}(\text{HBTPPH})\cdot\text{Cl}_2]$ η μεγάλη μετατόπιση του σήματος του P_β υπέδειξε καθαρά τη σύνδεση του μετάλλου μέσω του $\text{P}_\beta\text{-O}^-$, ενώ η μικρότερη μετατόπιση του P_α υπέδειξε ότι το $\text{P}_\alpha\text{-O}^-$ αλληλεπιδρά ασθενέστερα με το μέταλλο.

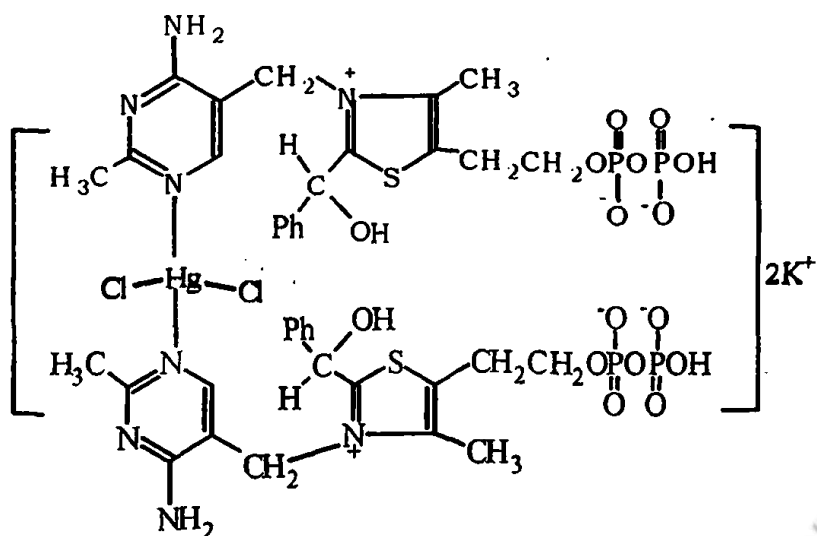


Συνοψίζοντας, μπορούμε να υποστηρίξουμε τα εξής:

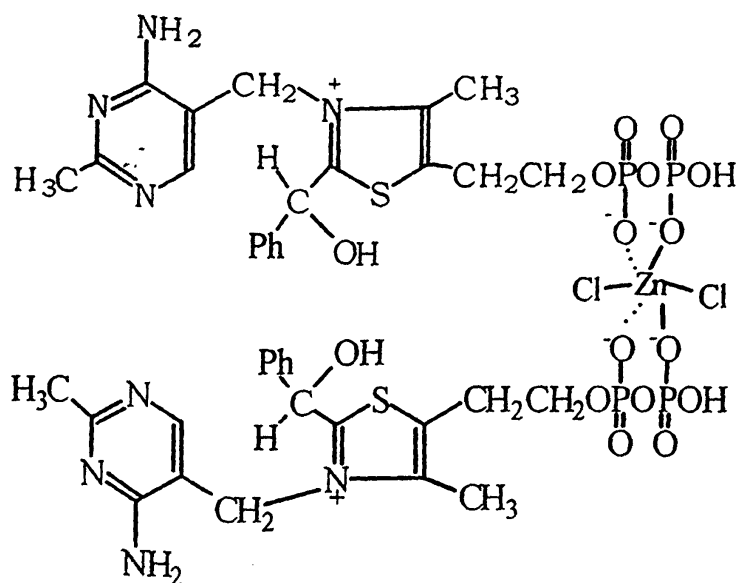
(α) Στα σύμπλοκα $\{K[Zn(HBTPPH)^-Cl_2]\}_n$ και $\{K_2[Cd(HBTPP)^{-2}Cl_2]\}_n$ έχουμε ένταξη των Zn και Cd στο N(1') της πυριμιδίνης και στην π πυροφωσφορική ομάδα σχηματίζοντας σύμπλοκα της μορφής:



(β) Στο σύμπλοκο $K_2[Hg(HBTPPH)_2Cl_2]$ ο Hg εντάσσεται μόνο μέσω του N(1') δύο υποκαταστατών σχηματίζοντας έτσι ένα σύμπλοκο της μορφής:



• (γ) Στο σύμπλοκο $Zn(HBTPP_2)_2Cl_2$, ο Zn συνδέεται μόνο μέσω του πυροφωσφορικού τμήματος με δύο μόρια του υποκαταστάτη σχηματίζοντας ένα σύμπλοκο της μορφής που ακολουθεί:



(δ). Όλοι οι παραπάνω άμεσοι δεσμοί μετάλλου-N(1') και μετάλλου-πυροφωσφορικής ομάδας εξακολουθούν να υφίστανται τουλάχιστον σε πρόσφατα παρασκευασμένα υδατικά διαλύματα. Παράλληλα, σε υδατικά διαλύματα όλων των παρασκευασθέντων συμπλόκων, ο υποκαταστάτης βρέθηκε να διατηρεί την S διαμόρφωση.

III. ΓΕΝΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συνοψίζουμε εδώ τα κυριότερα γενικά συμπεράσματα της εργασίας * αυτής που πιστεύουμε ότι αποτελούν νέα και ίσως σημαντικά στοιχεία για την καλύτερη κατανόηση της ενζυμικής δράσης των ενζύμων της θειαμίνης, παρουσία δισθενών μεταλλικών ιόντων.

Τα σύμπλοκα των μεταλλικών ιόντων $Zn(II)$ και $Cd(II)$ με παράγωγα "ενεργού αλδεϋδης" του φωσφορικού και πυροφωσφορικού εστέρα της θειαμίνης που παρασκευάστηκαν με χρήση των υποκαταστατών $(HBTmPH)^0$ και $(HBTPRH)^-$ αντίστοιχα παρουσίαζαν άμεσο δεσμό με το $N(1')$ της πυριμιδίνης αλλά και με την φωσφορική ομάδα.

Τα σύμπλοκα του $Hg(II)$ με παράγωγα «ενεργού αλδεϋδης» του φωσφορικού και πυροφωσφορικού εστέρα της θειαμίνης που παρασκευάστηκαν χρησιμοποιώντας και εδώ τους υποκαταστάτες $(HBTmPH)^0$ και $(HBTPRH)^-$ αντίστοιχα, παρουσίαζαν άμεσο δεσμό μέσω του $N(1')$ της πυριμιδίνης με δύο μόρια υποκαταστάτη.

Ο $Zn(II)$ συνδέεται και αυτός με δύο μόρια υποκαταστάτη αλλά μέσω της φωσφορικής ομάδας όταν παρασκευάζεται το σύμπλοκο χρησιμοποιώντας τον υποκαταστάτη της μορφής $(HBTPRH_2)^0$.

Ο εύκολος επομένως σχηματισμός αυτών των συμπλόκων σε σχέση με τη δυσκολία που παρουσίαζε η σύνθεση συμπλόκων μετάλλων με την ίδια την θειαμίνη, υποδεικνύει ότι η μεσολάβηση των μεταλλικών ιόντων πιθανώς να ακολουθεί το σχηματισμό των "ενεργών αλδεϋδών" κατά την ενζυμική δράση της θειαμίνης.

Η διατήρηση της S διαμόρφωσης των υποκαταστατών στα σύμπλοκα καθώς και της ισχυρής αλληλεπίδρασης $S...O(11)$ υπογραμμίζει τον καθοριστικό ρόλο που παίζει το άτομο του S του θειαζολίου στο σχηματισμό των συμπλόκων των δισθενών μεταλλικών ιόντων με παράγωγα "ενεργού αλδεϋδης" του φωσφορικού και πυροφωσφορικού εστέρα της θειαμίνης και πιθανώς και στην απόσπαση των C(2α)-υδροξυ-ομάδων απ' τον C(2) του θειαζολίου.



Ε. ΜΕΡΟΣ ΠΕΜΠΤΟ

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των υποκαταστατών και των συμπλόκων είναι τα εξής:

- i) υδροχλωρική μονοφωσφορική θειαμίνη, Sigma Chem. Comp.
- ii) υδροχλωρική πυροφωσφορική θειαμίνη, Sigma Chem. Comp.
- iii) βενζαλδεΰδη C_7H_6O , Merk Chem. Comp
- iv) χλωριούχα άλατα των $Hg(II)$, $Cd(II)$, $Zn(II)$, Aldrich A.G.

Τα παραπάνω αντιδραστήρια χρησιμοποιήθηκαν χωρίς περαιτέρω καθαρισμό εκτός από την βενζαλδεΰδη, ενώ οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν απόλυτης καθαρότητας.

Η βενζαλδεΰδη ήταν πάντα πρόσφατα απεσταγμένη πριν από κάθε χρήση της. Η απόσταξη γινόταν υπό κενό στους $\sim 80^\circ C$. Πρώτα όμως προσθέτονταν 20 ml διαλύματος Na_2CO_3 10% και 5 gr $CaCl_2$ για κάθε 50 ml βενζαλδεΰδης. Πριν την απόσταξη γινόταν διήθηση.

Επίσης οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για την λήψη φασμάτων ήταν φασματοσκοπικά καθαροί.

2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ ΟΡΓΑΝΙΚΩΝ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΩΝ ΚΑΙ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ.

i) Σύνθεση των υποκαταστατών HBTmP και HBTPP

Η σύνθεση των υποκαταστατών HBTmP και HBTPP έγινε σύμφωνα με μέθοδο που περιγράφεται στην βιβλιογραφία (1), ενώ ως πρώτη ύλη χρησιμοποιήθηκε η μονοφωσφορική και η πυροφωσφορική θειαμίνη αντίστοιχα. Πρέπει να σημειωθεί ότι κατά τη διάρκεια της αντίδρασης ήταν απαραίτητο να διατηρείται η θερμοκρασία σταθερή στους $30-35^\circ C$. Η



καθαρότητα των υποκαταστατών αποκτήθηκε κατόπιν πολλών ανακρυσταλλώσεων από H_2O . Οι αποδόσεις ήταν ~40%

ii) Σύνθεση των συμπλόκων $Zn(HBTmPH)^{\circ}Cl_2$ και $Cd(HBTmPH)^{\circ}Cl_2$.

0.5 mmol HBTmP διαλύθηκαν σε νερό και ρυθμίστηκε το pH του διαλύματος στο 5.5 με υδατικό διάλυμα KOH 0.1N. Συμπυκνώθηκε το διάλυμα μέχρι ξηρού. Στη συνέχεια διαλύθηκε σε CH_3OH και με διήθηση απομακρύνθηκε το σχηματιζόμενο KCl πριν αναμιχθεί με 0.5 mmol του χλωριδίου του μετάλλου το οποίο είχε επίσης διαλυθεί σε CH_3OH . Ο συνολικός όγκος του διαλύματος ήταν περίπου 30 ml. Η ανάδευση των αντιδρόντων έγινε σε θερμοκρασία δωματίου για περίπου 2 ώρες κατά τη διάρκεια των οποίων καταβυθίστηκε άσπρο ίζημα το οποίο πλύθηκε με μικρές ποσότητες μεθανόλης και αιθέρα. Η ξήρανση αρχικά έγινε στη θερμοκρασία δωματίου σε ξηραντήρα κενού και στη συνέχεια υπό κενό στους $60^{\circ}C$ παρουσία $CaCl_2$. Οι αποδόσεις των αντιδράσεων ήταν ~45%.

iii) Σύνθεση του συμπλόκου $Hg(HBTmPH)^{\circ}_2Cl_2$

Η σύνθεση του συμπλόκου $Hg(HBTmPH)^{\circ}_2Cl_2$ έγινε όπως και στα προηγούμενα σύμπλοκα, με τη διαφορά πως ο υποκαταστάτης αναμίχθηκε με υδατικό διάλυμα του χλωριούχου μετάλλου. Η ανάδευση των αντιδρόντων εδώ διάρρησε περίπου 24 ώρες κατά τη διάρκεια των οποίων καταβυθίστηκε άσπρο ίζημα. Για την έκπλυση και την ξήρανση του συμπλόκου ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία που ακολουθήθηκε και στα προηγούμενα σύμπλοκα. Η απόδοση ήταν ~45% με βάση το $HgCl_2$.

iv) Σύνθεση των ενώσεων $Zn(HBTmPH_2)^+Cl_3$ και $Cd(HBTmPH_2)^+Cl_3$

Η σύνθεση των παραπάνω ενώσεων έγινε όπως ακριβώς και στα προηγούμενα σύμπλοκα με μόνη διαφορά ότι η ρύθμιση του pH του υποκαταστάτη έγινε στο 3.5 πριν αναμιχθεί με τα μεθανολικά διαλύματα των χλωριδίων των μετάλλων. Επίσης με τον ίδιο τρόπο έγινε και η απομόνωση, η έκπλυση και η ξήρανση των ενώσεων αυτών. Αποδόσεις ~40%



v) Σύνθεση της ένωσης $\text{Hg}(\text{HBTmPH}_2)^+ \text{Cl}_4$

Η σύνθεση της ένωσης $\text{Hg}(\text{HBTmPH}_2)^+ \text{Cl}_4$ έγινε με τον ίδιο τρόπο που ακολουθήθηκε και για τη σύνθεση του $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^0 \text{Cl}_2$. Το pH του διαλύματος του υποκαταστάτη όμως εδώ ρυθμίστηκε στο 3.5. Όμοια η αντίδραση διάρκησε 24 ώρες και ο τρόπος απομόνωσης, έκλυσης και ξήρανσης ήταν ο ίδιος. Η απόδοση ήταν ~45%.

vi) Σύνθεση των συμπλόκων $\{\text{K}[\text{Zn}(\text{HBTPP})\text{Cl}_2]\text{n}$ και $\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPP})\text{Cl}_2]\text{n}$.

0.5 mmol HBTPP διαλύθηκαν σε νερό και ρυθμίστηκε το pH του διαλύματος στο 6 με υδατικό διάλυμα KOH 0.1N. Συμπυκνώθηκε το διάλυμα μέχρι ξηρού. Στη συνέχεια διαλύθηκε σε CH_3OH και με διήθηση απομακρύνθηκε το σχηματιζόμενο KCl πριν αναμιχθεί με 0.5 mmol μεθανολικού διαλύματος του χλωριδίου του μετάλλου. Ο συνολικός όγκος ήταν περίπου 30 ml. Η ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου διάρκησε περίπου 3 ώρες κατά τη διάρκεια των οποίων καταβυθίστηκε άσπρο ίζημα. Η έκπλυση και η ξήρανση των ιζημάτων έγινε όπως και στα προηγούμενα σύμπλοκα. Αποδόσεις ~45%

vii) Σύνθεση του συμπλόκου και $\text{K}_2[\text{Hg}(\text{HBTPP})_2\text{Cl}_2]$.

0.5 mmol HBTPP διαλύθηκαν σε νερό και ρυθμίστηκε το pH του διαλύματος στο 6 με υδατικό διάλυμα KOH 0.1N. Συμπυκνώθηκε το διάλυμα μέχρι ξηρού, προστίθεται CH_3OH και στη συνέχεια γίνεται διήθηση για την απομάκρυνση του KCl πριν αναμιχθεί με υδατικό διάλυμα του HgCl_2 . Η αντίδραση διαρκεί 24 ώρες και τελικά καταβυθίζεται άσπρο ίζημα. Η έκπλυση και η ξήρανση του ιζήματος έγινε όπως και στα προηγούμενα σύμπλοκα. Απόδοση ~50%.

viii) Σύνθεση του συμπλόκου $\text{Zn}(\text{HBTPP})^0 \text{Cl}_2$

0.5 mmol HBTPP διαλύθηκαν σε νερό και ρυθμίστηκε το pH του διαλύματος στο 3.5 με υδατικό διάλυμα KOH 0.1N και υδατικό διάλυμα HCl 0.1N. Συμπυκνώθηκε το διάλυμα μέχρι ξηρού και στη συνέχεια διαλύθηκε σε CH_3OH . Με διήθηση απομακρύνθηκε το σχηματιζόμενο KCl πριν αναμιχθεί με 0.5 mmol του ZnCl_2 το οποίο είχε επίσης διαλυθεί σε CH_3OH . Η ανάδευση



διάρκησε 24 ώρες σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και το σχηματιζόμενο άσπρο ίζημα πλύθηκε με μικρές ποσότητες μεθανόλης και αιθέρα. Οι συνθήκες ξήρανσης ήταν παρόμοιες με εκείνες των προηγούμενων συμπλόκων. Απόδοση ~40%.

ix) Παρασκευή κρυστάλλων HBTmP

Σε ένα δοχείο που περιείχε αιθανόλη τοποθετήθηκε υδατικό διάλυμα του υποκαταστάτη σε δοκιμαστικό σωλήνα (pH=3.5). Το δοχείο αφέθηκε για μερικές μέρες σε θερμοκρασία δωματίου και εμφανίστηκαν κρύσταλλοι στον δοκιμαστικό σωλήνα μετά από διάχυση της αιθανόλης στο υδατικό διάλυμα.

x) Παρασκευή κρυστάλλων $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^{\circ}_2\text{Cl}_2$

Σε δοκιμαστικό σωλήνα τοποθετήθηκε διάλυμα HgCl_2 συγκέντρωσης 0.01M με διαλύτη αιθανόλη-εξάνιο σε αναλογία όγκων 3:2. Στη συνέχεια με σύριγγα τοποθετήθηκε στον πυθμένα του σωλήνα υδατικό διάλυμα του υποκαταστάτη στην ίδια συγκέντρωση, αφού πρώτα ρυθμίστηκε το pH του στο 5.5 με υδατικό διάλυμα KOH 0.1 N. Μετά από μερικές μέρες στο ψυγείο, εμφανίστηκαν κρύσταλλοι στην διεπιφάνεια, κατάλληλοι για ανάλυση ακτίνων-X.

xi) Παρασκευή των δευτεριωμένων αναλόγων των συμπλόκων

20 mg του στερεού συμπλόκου διαλύθηκαν σε περίπου 1 ml D_2O και το διάλυμα που προέκυψε ξηράνθηκε με λυοφιλοποίηση, δίνοντας το δευτεριωμένο σύμπλοκο. Αν ήταν απαραίτητο, η διαδικασία της διάλυσης σε και της ξήρανσης επαναλαμβανόταν.

Η δευτερίωση του συμπλόκου $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^{\circ}_2\text{Cl}_2$ έγινε με παρασκευή του σε διάλυμα D_2O σε μικρότερη όμως κλίμακα (0.1 mmol).



3. ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΑ

- i. Οι στοιχειακές αναλύσεις των μετάλλων έγιναν ογκομετρικά με πρότυπο διάλυμα EDTA (2) και πρότυπο διάλυμα Titriplex (3).
- ii. Το χλώριο προσδιορίστηκε με σταθμική ανάλυση και με ποτενσιομετρική ογκομέτρηση με πρότυπο διάλυμα AgNO_3 0.1 N (2,4).
- iii. Οι στοιχειακές αναλύσεις C, H, N, S των συμπλόκων έγιναν στο εργαστήριό μας χρησιμοποιώντας EA-1108 Carlo Erba αναλυτή.
- iv. Οι μετρήσεις της αγωγιμομετρίας έγιναν με τη χρήση του αγωγιμόμετρου E-365B της Metrohm Ltd, Herisau.
- v. Τα φάσματα υπερύθρου καταγράφηκαν σε φασματοφωτόμετρο Perkin Elmer 783 με μορφή δισκίων KBr και CsBr ή αιωρημάτων σε παραφινέλαιο, Nujol, σε παράθυρα NaCl ή CsI.
- vi. Τα φάσματα Raman λήφθηκαν χρησιμοποιώντας ένα Spex 1403 φασματοφωτόμετρο. Για τη διέγερση χρησιμοποιήθηκε η φασματική γραμμή 514.5 nm ενός laser αργού τύπου Spectra-Physics Model 2020.
- vii. Τα φάσματα ^{13}C NMR στα 100.58 MHz καταγράφηκαν σε ένα φασματοφωτόμετρο Bruker AMX 400 σε θερμοκρασία δωματίου. Για τη σταθεροποίηση του μαγνητικού πεδίου χρησιμοποιήθηκε ένα εσωτερικό σήμα κλειδώματος δευτερίου. Τα δείγματα εξετάστηκαν σε $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Οι ^{13}C χημικές μετατοπίσεις μετρήθηκαν σε ppm με DSS σαν εξωτερική αναφορά.
- viii. Τα φάσματα ^{31}P NMR στα 161.98 MHz σε διάλυμα, καταγράφηκαν σε ένα φασματοφωτόμετρο Bruker AMX 400 με εξωτερική αναφορά υδατικό 85% H_3PO_4 .
- ix. Το φάσμα ^{113}Cd NMR στα 66.547 MHz και το φάσμα ^{199}Hg NMR στα 53.652 MHz καταγράφηκαν σε ένα Varian XL 300 φασματοφωτόμετρο. Η ^{113}Cd χημική μετατόπιση μετρήθηκε σε ppm με εξωτερική αναφορά υδατικό 85% H_3PO_4 . Η ^{199}Hg χημική μετατόπιση μετρήθηκε με εσωτερική αναφορά $\text{Hg}(\text{CH}_3)_2$ που αντιστοιχεί στα 0 ppm.
- x. Τα ^1H NMR ROESY φάσματα δύο διαστάσεων καταγράφηκαν σε θερμοκρασία δωματίου χρησιμοποιώντας Bruker AMX 400 φασματοφωτόμετρο στους 278°K .



- xi. Τα φάσματα ^{13}C NMR στερεάς κατάστασης πάρθηκαν χρησιμοποιώντας την τεχνική της διασταυρούμενης πόλωσης (cross-polarization CP), της περιστροφής υπό μαγική γωνία (magic-angle spinning MAS) και της αποσύζευξης πρωτονίου σε ένα Bruker MSL-300 φασματοφωτόμετρο. Οι χημικές μετατοπίσεις μετρήθηκαν αναφορικά ως προς το TMS.
- xii. Τα φάσματα ^{31}P NMR στερεάς κατάστασης καταγράφηκαν χρησιμοποιώντας την τεχνική της διασταυρούμενης πόλωσης (cross-polarization, CP) και της περιστροφής του στερεού δείγματος υπό μαγική γωνία (magic-angle spinning MAS). Τα φάσματα καταγράφηκαν με αποσύζευξη πρωτονίου σε ένα φασματοφωτόμετρο Bruker MLS 300. Οι ταχύτητες περιστροφής του δείγματος που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 1.8-10 kHz. Απ' τα φάσματα που καταγράφηκαν χρησιμοποιώντας σχετικά μικρή ταχύτητα περιστροφής έγινε δυνατός ο προσδιορισμός των κύριων συνιστωσών του τανυστή χημικής μετατόπισης του ^{31}P . Πιο συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των Herzfeld και Berger (5,6). Σαν εξωτερικό πρότυπο χρησιμοποιήθηκε 85% H_3PO_4 . Για περισσότερες πειραματικές λεπτομέρειες βλέπε (7).
- xiii. Οι δομές των $(\text{LH})^+\text{Cl}^-$ και HgL_2Cl_2 λύθηκαν σε ένα Siemens P₄ περιθλασίμετρο ακτίνων-Χ. Για πειραματικές λεπτομέρειες βλέπε (7).



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. J.J. Mieyal, G. Bantle, R.G. Votaw, J.A. Rosner, H.Z. Sable, J. Biol. Chem. 246 (1971), 5213.
2. A.Vogel "A Text-book of Quantitative Inorganic Analysis" 3rd edition, Longmans, London, 1962.
3. E.Merc, "Complexometric Assay Methods with Titriplex[®]", Darmstadt, Germany, 1982.
4. Θ.Π. Χατζηιωάννου, «Εργαστηριακές Ασκήσεις Ποσοτικής Αναλυτικής Χημείας», Αθήνα, 1980
5. J. Herzfeld, A.E. Berger, J. Chem. Phys. 73 (1980), 6021
6. G.E. Hawkes, K.D. Sales, L.Y. Lian, R. Gobetto, Proc. R. Soc. London A 424 (1989), 93.
7. K.Dodi, I.P.Gerothanassis, N.Hadjiliadis, A.Schreider, R.Bau, I.S.Butler and P.J.Barrie, Inorg. Chem. 35 (1996), 6513.



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η διατριβή αυτή περιλαμβάνει την Εισαγωγή, τα Αποτελέσματα-Συζήτηση που περιγράφονται στο δευτερο και τρίτο μέρος, τα Συμπεράσματα και το Πειραματικό μέρος.

Στην εισαγωγή (Α. Μέρος Πρώτο) επιχειρείται μια γενική ανασκόπηση της ενζυμικής δράσης της θειαμίνης, ο πυροφωσφορικός εστέρας της οποίας είναι το συνένζυμο συνκαρβοξυλάση και ονομάζεται έτσι επειδή είναι συνένζυμο της καρβοξυλάσης αλλά και πολλών άλλων ενζύμων που συμμετέχουν κυρίως στον μεταβολισμό των α-κετοοξέων.

Έτσι το πρώτο μέρος περιλαμβάνει διάφορους μηχανισμούς που προτάθηκαν για τον καταλυτικό κύκλο των ενζύμων θειαμίνης. Στη συνέχεια γίνεται μια αναφορά στις δομές αυτών των ενζύμων που λύθηκαν καθώς και στις σύγχρονες απόψεις σχετικά με τον μηχανισμό της ενζυμικής της δράσης. Επίσης επιχειρείται μια ιστορική αναδρομή στη σύνθεση των συμπλόκων θειαμίνης και παραγώγων της με δισθενή μεταλλικά ιόντα μιας και αναπτύχθηκε η σπουδαιότητα ενός παραγώγου της που ονομάζεται "ενεργός αλδεϋδη" και είναι ενδιάμεσο της καταλυτικής δράσης της.

Το πρώτο μέρος της διατριβής κλείνει με το σκοπό αυτής όπου αναφέρονται οι λόγοι για τους οποίους αποφασίστηκε να παρασκευαστούν σύμπλοκα μεταλλικών ιόντων με παράγωγα της μονοφωσφορικής και πυροφωσφορικής θειαμίνης.

Στην αρχή του Δεύτερου Μέρους (Αποτελέσματα-Συζήτηση), αναφέρονται τα αποτελέσματα που πήραμε από την ανάλυση της δομής του υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$ και του συμπλόκου $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^0_2\text{Cl}_2$ με ακτίνες-Χ.

Συνεχίζοντας αναφέρεται ότι χρησιμοποιώντας τον υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$ έχουμε σχηματισμό αλάτων του τύπου $(\text{HBTmPH}_2)^+(\text{MCl}_3)^-$ όπου M:Zn και Cd και το άλας $(\text{HBTmPH}_2)^+_2(\text{HgCl}_4)^{-2}$. Χρησιμοποιώντας όμως τον υποκαταστάτη $(\text{HBTmPH})^0$ έχουμε σχηματισμό συμπλόκων με άμεσους δεσμούς μετάλλου-υποκαταστάτη του τύπου $\text{M}(\text{HBTmPH})^0\text{Cl}_2$ όπου M:Zn και Cd και του συμπλόκου $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^0_2\text{Cl}_2$ που απομονώθηκαν και χαρακτηρίστηκαν σαν στερεά προϊόντα με στοιχειακή ανάλυση, φάσματα υπερύθρου και Raman, ^{13}C NMR και ^{31}P NMR. Στα πρώτα δύο σύμπλοκα το

μέταλλο συνδέεται με το N(1') της πυριμιδίνης αλλά και τη φωσφορική ομάδα ενώ στο σύμπλοκο $\text{Hg}(\text{HBTPPH})^{\circ}_2\text{Cl}_2$ ο Hg συνδέεται μόνο με το N(1') δύο μορίων υποκαταστάτη.

Επίσης τα παραπάνω σύμπλοκα μελετήθηκαν με φασματοσκοπίες ^{13}C NMR, ^{31}P NMR και ^1H NMR σε διάλυμα και από εδώ συμπεραίνουμε ότι υπάρχει άμεσος δεσμός μετάλλου-N(1') και μετάλλου-φωσφορικής ομάδας σε τουλάχιστον πρόσφατα παρασκευασμένα διαλύματα.

Στο Τρίτο Μέρος (Αποτελέσματα-Συζήτηση) παρουσιάζεται η απομόνωση και ο χαρακτηρισμός των συμπλόκων $\{\text{K}_2\text{Zn}(\text{HBTPPH})^{\circ}_2\text{Cl}_2\}$ η, $\{\text{K}_2\text{Cd}(\text{HBTPP})^{\circ}_2\text{Cl}_2\}$ η, $\{\text{K}_2\text{Hg}(\text{HBTPPH})^{\circ}_2\text{Cl}_2\}$ η και $\text{Zn}(\text{HBTPP}_2)^{\circ}_2\text{Cl}_2$ αρχικά σαν στερεά προϊόντα με στοιχειακή ανάλυση, φάσματα υπερύθρου, Raman και ^{13}C NMR. Στα δύο πρώτα από τα παραπάνω σύμπλοκα το μέταλλο συνδέεται με το N(1') της πυριμιδίνης αλλά και με την πυροφωσφορική ομάδα. Στο σύμπλοκο $\{\text{K}_2\text{Hg}(\text{HBTPPH})^{\circ}_2\text{Cl}_2\}$ η ο Hg συνδέεται μόνο με το N(1') δύο μορίων υποκαταστάτη ενώ τέλος στο σύμπλοκο $\text{Zn}(\text{HBTPP}_2)^{\circ}_2\text{Cl}_2$ ο Zn συνδέεται μόνο με την πυροφωσφορική ομάδα δύο μορίων υποκαταστάτη.

Η μελέτη αυτών των συμπλόκων σε διάλυμα έγινε με φασματοσκοπίες ^{13}C NMR, ^{31}P NMR και ^1H NMR συμπεραίνουμε ότι οι παραπάνω δεσμοί μετάλλου-N(1') και μετάλλου-πυροφωσφορικής ομάδας διατηρούνται σε πρόσφατα παρασκευασμένα διαλύματά τους. Επίσης από την μελέτη των φασμάτων ROESY ελεύθερου υποκαταστάτη και συμπλόκων συμπεραίνουμε ότι ο υποκαταστάτης διατηρεί την S διαμόρφωση και κατά τη συμπλοκοποίησή του.

Στο Τέταρτο Μέρος ανακεφαλαιώνονται τα συμπεράσματα της παρούσας διατριβής.

Τελικά στο Πειραματικό Μέρος αναφέρονται οι συνθετικές πορείες υποκαταστατών και συμπλόκων, τα αντιδραστήρια καθώς και τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν για να ολοκληρωθεί η παρούσα μελέτη.



SUMMARY

This thesis consists of five parts: the Introduction, the Results and Discussion (two parts), the Conclusions and the Experimental part.

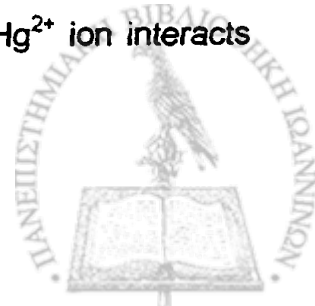
In the Introduction (First Part) a general review of the mechanism of the enzymic action of thiamin is attempted. The pyrophosphate ester of thiamin, the so-called cocarboxylase, is the coenzyme of pyruvate decarboxylase and of many other enzymes which mostly catalyze the metabolism of α -keto acids.

In the first part of Introduction several proposed mechanisms concerning the catalytic cycle of thiamin enzymes are discussed. The more recent results obtained from the crystal structure determinations of these enzymes leading to modern mechanistic conclusions are also reviewed. The intermediates of catalytic cycle of thiamin which are called "active aldehyde" derivatives, play a very important role during its enzymic catalysis. Therefore, a brief review of their metal complexes is included in this thesis.

Finally we describe the goal of the present study which was the interaction of the "active aldehyde" derivatives of thiamine mono- and pyrophosphate with metal ions.

In the Second Part (Results and Discussion) we have summarized the results obtained from the crystal structure determinations of both the ligand $(\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-$ and the complex $\text{Hg}(\text{HPTmPH})^0_2\text{Cl}_2$.

The interaction of HBTmP in the protonated form $((\text{HBTmPH}_2)^+\text{Cl}^-)$ with M^{2+} ($\text{M}=\text{Zn}, \text{Cd}$) results in the formation of ionic salts of the general formulae $(\text{HBTmPH}_2)^+(\text{MCl}_3)^-$. In case of interaction with Hg^{2+} the obtained salt presents the formulae $(\text{HBTmPH}_2)^+_2(\text{HgCl}_4)^{-2}$. Using the zwitterionic form of the ligand $(\text{HBTmPH})^0$, complexes presented direct metal-ligand bonds of the general formulae $\text{M}(\text{HBTmPH})^0\text{Cl}_2$ ($\text{M}=\text{Cd}, \text{Zn}$) and $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^0_2\text{Cl}_2$ were isolated and characterized in the solid state. The techniques used in the solid state characterization were elemental analysis, IR, Raman, ^{13}C CP/MAS NMR and ^{31}P NMR spectroscopies. The metal binding sites, were found to be both the phosphate group and the N(1') in $\text{Zn}(\text{HBTmPH})^0\text{Cl}_2$ and $\text{Cd}(\text{HBTmPH})^0\text{Cl}_2$ metal complexes, while in $\text{Hg}(\text{HBTmPH})^0_2\text{Cl}_2$ complex the Hg^{2+} ion interacts only with the N(1') of two ligand molecules.



On the other hand, the metal binding sites in freshly prepared solutions were found to be both the N(1') and the phosphate group detected by ^{13}C , ^{31}P and ^1H NMR spectroscopies.

In the Third Part (Results and Discussion) we report on the interaction of HBTPP with Zn^{2+} , Cd^{2+} and Hg^{2+} . The isolated solid adducts of formulae $\{\text{K}[\text{Zn}(\text{HBTPPH})\text{Cl}_2]\}_n$, $\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPP})\text{Cl}_2]\}_n$, $\{\text{K}_2[\text{Hg}(\text{HBTPPH})\text{Cl}_2]\}_n$ and $\text{Zn}(\text{HBTPP}_2)_2\text{Cl}_2$ were characterized by elemental analysis, IR, Raman and ^{13}C NMR spectroscopies. In the complexes $\{\text{K}[\text{Zn}(\text{HBTPPH})\text{Cl}_2]\}_n$ and $\{\text{K}_2[\text{Cd}(\text{HBTPP})\text{Cl}_2]\}_n$, the metal ions are coordinated both to the pyrophosphate group and to N(1'), while in the complexes $\{\text{K}_2[\text{Hg}(\text{HBTPPH})\text{Cl}_2]\}_n$ and $\text{Zn}(\text{HBTPP}_2)_2\text{Cl}_2$ coordination takes place either at the N(1') (first complex) or at the pyrophosphate group (second complex).

On the other hand, in freshly prepared solutions of these complexes the coordination mode depicted above is confirmed again by ^{13}C , ^{31}P and ^1H NMR spectroscopies. Based on the ^1H - ^1H - ROESY NMR spectra of the ligand and the metal complexes, we observed that the ligands (both free and coordinated) adopt the S-conformation.

In the Fourth Part our results are summarized.

Finally in the Experimental Part the synthetic procedures of ligands and metal complexes and the techniques used in this study are described.

