

ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



026000265330



**Αφιερώνεται με απέραντη αγάπη και σεβασμό
στη Μητέρα μου
και στη μνήμη
του Γέροντος Βασιλείου Παπουτσόπουλου**

40



EYXΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα Διδακτορική Διατριβή πραγματοποιήθηκε στο Τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων υπό την επίβλεψη του Καθηγητή και νυν Πρύτανη του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Ιωάννη Γεροθανάση.

Θα ήθελα να εκφράσω τις πιο βαθιές μου ευχαριστίες στους Καθηγητές της τριμελούς μου Συμβουλευτικής Επιτροπής κ.κ Γεροθανάση Ιωάννη, Καθηγητή του Τμήματος Χημείας του Παν/μίου Ιωαννίνων, Τρογκάνη Αναστάσιο, Επίκουρο Καθηγητή του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών του Παν/μίου Ιωαννίνων και Θεοδώρου-Κασσιούμη Βασιλική, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια του Τμήματος Χημείας του Παν/μίου Ιωαννίνων, για την ανάθεση του θέματος και την αδιάλειπτη καθοδήγησή τους.

Τμήμα του πειραματικού μέρους της Διατριβής αποτελούν τα φάσματα υπέρυθρης φασματοσκοπίας με μετασχηματισμό Fourier (FT-IR), η λήψη των οποίων πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Για το λόγο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Καθηγητή του Τμήματος Χημείας του Παν/μίου Ιωαννίνων κ. Κοντομηνά Μιχαήλ για την απεριόριστη διάθεση του Εργαστηρίου του.

Επίσης, ευχαριστώ τον Ερευνητή του Ινστιτούτου Φυσικοχημείας του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών, κ. Καμίτσο Ευστράτιο, για τη λήψη φασμάτων υπερύθρου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης σε στερεό.

Βαθεία υποχρέωση αισθάνομαι απέναντι στην Ερευνήτρια του Ινστιτούτου Φυσικοχημείας του Ερευνητικού Κέντρου «ΕΚΕΦΕ ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ», κ. Μαυρίδου Ειρήνη, για την επίλυση της κρυσταλλικής δομής της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης και την παροχή των απαραίτητων πληροφοριών και προγραμμάτων για την ηλεκτρονική επεξεργασία της δομής.



Θα ήθελα ακόμη να ευχαριστήσω θερμά τον κ. Φούλια Στυλιανό, Επίκουρο Καθηγητή του Τμήματος Φυσικής του Παν/μίου Ιωαννίνων για τις εύστοχες παρατηρήσεις του κατά τη συγγραφή της Διατριβής μου.

Τέλος, θα ήθελα ολόψυχα να ευχαριστήσω το Διευθυντή μου, στο Τρίτο Εργοστάσιο της Φαρμακοβιομηχανίας BIANEΞ, όπου εργάζομαι, κ. Καγκάδη Κωνσταντίνο, για την καθοριστική παροχή τρίμηνης άδειας για την ολοκλήρωση του πειραματικού μέρους της ερευνητικής μου εργασίας. Δίχως την άδεια αυτή η περάτωση του παρόντος πονήματος θα ήταν αδύνατη.

Κλείνοντας, θα ήθελα να πω ένα πολύ μεγάλο ευχαριστώ στη μητέρα μου, η οποία στέκεται αδιάκοπα δίπλα μου ενισχύοντας με την αγάπη της το έργο μου.

Μπαρμπαρόσου Κλημεντίνη
Ιωάννινα, 2007



ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. Troganis A., Sicilia E., Barbarossou K., Gerothanassis I. P., Russo N. "Solvation Properties of *N*-substituted *Cis* and *Trans* Amides are Not Identical: Significant Enthalpy and Entropy Changes are Revealed by the Use of Variable Temperature ^1H NMR in Aqueous and Chloroform Solutions and Ab Initio Calculations", *J. Phys. Chem. A* 2005, 109, 11878-11884.
2. "Crystal and Solution Structure of *N*-Acetyl-L-Proline-Docking Calculations and Comparison with *N*-Acetyl-L-Proline Bound to Carbapenem Synthase" (υπό συγγραφή)



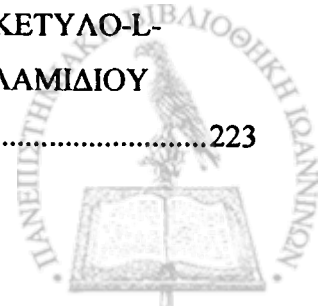
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	7
1.1. ΓΕΝΙΚΗ ΘΕΩΡΗΣΗ	7
1.2. Ν-ΥΠΟΚΑΤΕΣΤΗΜΕΝΑ ΦΟΡΜΑΜΙΔΙΑ	9
1.3. Ν-ΑΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΑΥΤΗΣ.....	10
1.4. ΠΕΠΤΙΔΙΚΟΣ ΔΕΣΜΟΣ.....	13
1.5. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	15
2. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΧΗΜΙΚΗΣ ΘΕΡΜΟΔΥΝΑΜΙΚΗΣ - ΒΑΣΙΚΕΣ ΕΝΝΟΙΕΣ	17
2.1. ΕΣΩΤΕΡΙΚΗ ΕΝΕΡΓΕΙΑ	17
2.2. ΘΕΡΜΟΧΩΡΗΤΙΚΟΤΗΤΑ	18
2.3. ΕΝΘΑΛΠΙΑ	20
2.4. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΕΝΤΡΟΠΙΑ	22
2.5. ΕΛΕΥΘΕΡΗ ΕΝΕΡΓΕΙΑ GIBBS	23
3. ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ	27
3.1. ΔΟΝΗΣΕΙΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΟΜΑΔΩΝ ΟΡΓΑΝΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ	27
3.1.1. ΔΟΝΗΣΕΙΣ ΤΑΣΕΩΣ ΤΟΥ ΥΔΡΟΞΥΛΙΟΥ (-OH).....	29
3.1.2. ΔΟΝΗΣΕΙΣ ΤΑΣΕΩΣ ΤΩΝ ΑΜΙΝΩΝ	31
3.1.3. ΔΟΝΗΣΕΙΣ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ ΤΟΥ ΚΑΡΒΟΞΥΛΙΟΥ (-COOH).....	33
3.1.4. ΔΟΝΗΣΕΙΣ ΤΑΣΕΩΣ ΤΟΥ ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΟΥ ΤΩΝ ΕΣΤΕΡΩΝ, ΤΩΝ ΑΛΟΓΟΝΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΑΝΥΔΡΙΤΩΝ ΤΩΝ ΚΑΡΒΟΞΥΛΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ	36
3.1.5. ΔΟΝΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΑΜΙΔΙΩΝ	36
4. ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ	39
4.1. ΘΕΜΕΛΙΩΔΕΙΣ ΕΝΝΟΙΕΣ	39

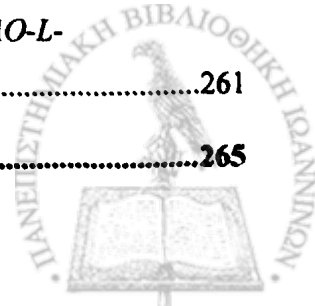


4.2.	ΔΙΑΜΟΡΙΑΚΕΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΔΙΑΛΥΤΗ - ΔΙΑΛΥΜΕΝΗΣ ΕΝΩΣΗΣ.....	42
4.3.	ΠΟΡΕΙΕΣ ΑΠΟΔΙΕΓΕΡΣΗΣ ΤΩΝ ΠΥΡΗΝΩΝ.....	44
4.4.	ΤΕΤΡΑΠΟΛΙΚΗ ΑΠΟΔΙΕΓΕΡΣΗ.....	47
4.5.	Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΤΕΤΡΑΠΟΛΙΚΟΥ ΠΥΡΗΝΑ ΣΤΟ ΣΗΜΑ ΠΡΩΤΟΝΙΟΥ ...	48
4.6.	ΜΕΛΕΤΗ ΔΥΝΑΜΙΚΩΝ ΙΣΟΡΡΟΠΙΩΝ	49
5.	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	53
5.1.	ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΗΣ Ν-ΑΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΑΥΤΗΣ Ν-ΜΕΘΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΚΑΙ ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΑ.....	53
5.2.	ΛΗΨΗ ΦΑΣΜΑΤΩΝ NMR- ¹ H ΜΕΤΑΒΛΗΤΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΘΕΡΜΟΔΥΝΑΜΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΤΟΥ CIS-TRANS ΙΣΟΜΕΡΙΣΜΟΥ	57
5.3.	ΛΗΨΗ NMR- ¹ H ΦΑΣΜΑΤΩΝ ΜΕΤΑΒΛΗΤΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΓΙΑ ΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΔΙΜΕΡΩΝ (ΠΟΛΥΜΕΡΩΝ) ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΧΗΜΙΚΗΣ ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΗΣ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ ΝΗ ΤΟΥ ΑΜΙΔΙΟΥ	59
5.4.	ΦΑΣΜΑΤΑ ΥΠΕΡΥΘΡΗΣ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΜΕ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ FOURIER (FT-IR)	61
6.	ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	63
6.1.	ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ-ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ	63
6.1.1.	N-ΜΕΘΥΛΟΦΟΡΜΑΜΙΔΙΟ ΚΑΙ N-tert-ΒΟΥΤΥΛΟΦΟΡΜΑΜΙΔΙΟ ΣΕ ΙΣΧΥΡΑ ΠΟΛΙΚΟΥΣ ΔΙΑΛΥΤΕΣ.....	69
6.1.1.1.	Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΩΝ ΥΔΑΤΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ	70
6.1.1.2.	Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΩΝ ΜΕΘΑΝΟΛΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ	71
6.1.1.3.	ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ.....	75
6.1.1.3.1.	ΘΕΡΜΟΔΥΝΑΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	78
6.1.1.3.2.	ΕΞΑΡΤΗΣΗ ΤΩΝ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΕΩΝ -NH ΑΠΟ ΤΗ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ, ΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΚΑΙ ΤΟ ΔΙΑΛΥΤΗ.....	84
6.1.2.	ΜΕΛΕΤΕΣ Ν-ΜΕΘΥΛΟΦΟΡΜΑΜΙΔΙΟΥ (NMF) ΚΑΙ N-tert-ΒΟΥΤΥΛΟΦΟΡΜΑΜΙΔΙΟΥ (TBF) ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΑΚΕΤΟΝΙΤΡΙΛΙΟΥ, ΔΙΧΛΩΡΟΜΕΘΑΝΙΟΥ ΚΑΙ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ	89
6.1.2.1.	Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΩΝ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΑΚΕΤΟΝΙΤΡΙΛΙΟΥ	89
6.1.2.2.	Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΩΝ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΔΙΧΛΩΡΟΜΕΘΑΝΙΟΥ	92
6.1.2.3.	Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΩΝ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ.....	96

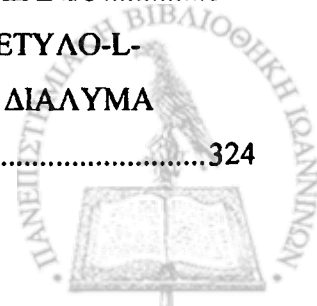
6.1.2.4.	ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	100
6.1.2.4.1.	ΘΕΡΜΟΔΥΝΑΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	102
6.1.2.4.2.	ΕΞΑΡΤΗΣΗ ΤΩΝ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΕΩΝ -ΝΗ ΑΠΟ ΤΗ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ, ΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΚΑΙ ΤΟ ΔΙΑΛΥΤΗ.....	108
6.1.2.4.2.1.	NMF ΚΑΙ TBF ΣΕ ΑΚΕΤΟΝΙΤΡΙΛΙΟ	108
6.1.2.4.2.2.	NMF ΚΑΙ TBF ΣΕ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟ.....	116
6.2.	ΜΕΛΕΤΕΣ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ-ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ	124
6.2.1.	ΜΕΛΕΤΕΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ NMF ΚΑΙ TBF ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΑΚΕΤΟΝΙΤΡΙΛΙΟΥ	131
6.2.2.	ΜΕΛΕΤΕΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ NMF ΚΑΙ TBF ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΔΙΧΛΩΡΟΜΕΘΑΝΙΟΥ	137
6.2.3.	ΜΕΛΕΤΕΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ NMF ΚΑΙ TBF ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ	143
6.3.	ΜΕΛΕΤΕΣ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ ΣΕ ΜΗ ΠΟΛΙΚΟΥΣ ΔΙΑΛΥΤΕΣ - ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΔΙΑΜΟΡΙΑΚΩΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ	150
6.3.1.	Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΩΝ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΤΟΛΟΥΟΛΙΟΥ ΚΑΙ BENZΟΛΙΟΥ ...	150
6.3.2.	Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΩΝ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΕΞΑΝΙΟΥ ΚΑΙ ΚΥΚΛΟΕΞΑΝΙΟΥ ...	158
6.3.3.	ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ.....	168
6.3.3.1.	ΘΕΡΜΟΔΥΝΑΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	170
6.3.3.2.	ΕΞΑΡΤΗΣΗ ΤΩΝ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΕΩΝ -ΝΗ ΑΠΟ ΤΗ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ, ΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΚΑΙ ΤΟ ΔΙΑΛΥΤΗ	177
6.4.	ΜΕΛΕΤΕΣ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ ΣΕ ΜΗ ΠΟΛΙΚΟΥΣ ΔΙΑΛΥΤΕΣ - ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΔΙΑΜΟΡΙΑΚΩΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ	193
6.4.1.	ΜΕΛΕΤΕΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ NMF ΚΑΙ TBF ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΤΟΛΟΥΟΛΙΟΥ ...	193
6.4.2.	ΜΕΛΕΤΕΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ TBF ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΚΥΚΛΟΕΞΑΝΙΟΥ.....	198
6.5.	ΤΟ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΑΝΤΙΠΡΟΠΗΣΗΣ ΕΝΘΑΛΠΙΑΣ – ΕΝΤΡΟΠΙΑΣ.....	200
6.6.	Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΗΣ Ν-ΑΚΕΤΥΛΟ-Λ-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΑΥΤΗΣ	207
6.6.1.	ΓΕΝΙΚΑ ΣΧΟΛΙΑ.....	207
6.6.2.	Η ΚΡΥΣΤΑΛΛΙΚΗ ΔΟΜΗ ΤΗΣ Ν-ΑΚΕΤΥΛΟ-Λ-ΠΡΟΛΙΝΗΣ	214
6.6.3.	ΑΝΑΦΟΡΑ ΣΕ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ	220
6.6.4.	ΦΑΣΜΑΤΑ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΤΗΣ Ν-ΑΚΕΤΥΛΟ-Λ- ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ Ν-ΜΕΘΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΚΑΙ ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΑ	223



6.6.4.1.	ΦΑΣΜΑ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ ΣΤΕΡΕΑΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΗΣ N-ΑΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΣΚΙΑ KBr	223
6.6.4.2.	ΦΑΣΜΑΤΑ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ ΤΗΣ N-ΑΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ.....	224
6.6.4.2.1.	ΓΕΝΙΚΑ ΣΧΟΛΙΑ.....	224
6.6.4.2.2.	ΜΕΛΕΤΕΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ ΤΗΣ N-ΑΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΔΙΜΕΘΥΛΟΣΟΥΛΦΟΞΕΙΔΙΟΥ	227
6.6.4.2.3.	ΜΕΛΕΤΕΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ ΤΗΣ N-ΑΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΑΚΕΤΟΝΙΤΡΙΛΙΟΥ	231
6.6.4.2.4.	ΜΕΛΕΤΕΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ ΤΗΣ N-ΑΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ	235
6.6.4.3.	ΦΑΣΜΑΤΑ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ ΤΟΥ N-ΜΕΘΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΤΗΣ N-ΑΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ.....	240
6.6.4.3.1.	ΜΕΛΕΤΕΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΤΟΥ N- ΜΕΘΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΤΗΣ N-ΑΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΔΙΜΕΘΥΛΟΣΟΥΛΦΟΞΕΙΔΙΟΥ	240
6.6.4.3.2.	ΜΕΛΕΤΕΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΤΟΥ N- ΜΕΘΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΤΗΣ N-ΑΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ	245
6.6.4.3.3.	ΜΕΛΕΤΕΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΤΟΥ N- ΜΕΘΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΤΗΣ N-ΑΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΑΚΕΤΟΝΙΤΡΙΛΙΟΥ	250
6.6.4.4.	Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΟΥ ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΑ ΤΗΣ N-ΑΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗΣ	251
6.6.5.	ΦΑΣΜΑΤΑ ΠΡΩΤΟΝΙΑΚΟΥ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ ΤΗΣ N-ΑΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ N-ΜΕΘΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΚΑΙ ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΑ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ	253
6.6.5.1.	ΜΕΛΕΤΕΣ NMR ΤΗΣ N-ΑΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ.....	258
6.6.5.2.	ΜΕΛΕΤΕΣ NMR ΤΟΥ N-ΜΕΘΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΤΗΣ N-ΑΚΕΤΥΛΟ-L- ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ	259
6.6.5.3.	ΜΕΛΕΤΕΣ NMR ΤΟΥ ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΑ ΤΗΣ N-ΑΚΕΤΥΛΟ-L- ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ.....	261
7.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	265



8. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	273
8.1. <i>N</i> -ΜΕΘΥΛΟΦΟΡΜΑΜΙΔΙΟ ΚΑΙ <i>N-tert</i> -ΒΟΥΤΥΛΟΦΟΡΜΑΜΙΔΙΟ ΣΕ ΙΣΧΥΡΑ ΠΟΛΙΚΟΥΣ ΔΙΑΛΥΤΕΣ.....	275
8.1.1. NMF-ΝΕΡΟ	275
8.1.2. TBF-ΝΕΡΟ.....	276
8.1.3. NMF-ΜΕΘΑΝΟΛΗ	277
8.1.4. TBF-ΜΕΘΑΝΟΛΗ.....	279
8.1.5. ΜΕΛΕΤΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΕΩΝ TBF ΣΕ ΜΕΘΑΝΟΛΗ.....	281
8.2. NMF ΚΑΙ TBF ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΑΚΕΤΟΝΙΤΡΙΛΙΟΥ, ΔΙΧΛΩΡΟΜΕΘΑΝΙΟΥ ΚΑΙ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ	283
8.2.1. NMF-ΑΚΕΤΟΝΙΤΡΙΛΙΟ.....	283
8.2.2. TBF-ΑΚΕΤΟΝΙΤΡΙΛΙΟ	285
8.2.3. NMF-ΔΙΧΛΩΡΟΜΕΘΑΝΙΟ	286
8.2.4. TBF-ΔΙΧΛΩΡΟΜΕΘΑΝΙΟ	288
8.2.5. NMF-ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟ	289
8.2.6. TBF-ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟ	291
8.2.7. ΜΕΛΕΤΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΕΩΝ NMF ΚΑΙ TBF ΣΕ ΑΚΕΤΟΝΙΤΡΙΛΙΟ.....	293
8.2.8. ΜΕΛΕΤΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΕΩΝ NMF ΚΑΙ TBF ΣΕ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟ	297
8.3. ΜΕΛΕΤΕΣ NMR ΣΕ ΜΗ ΠΟΛΙΚΟΥΣ ΔΙΑΛΥΤΕΣ.....	301
8.3.1. NMF-ΤΟΛΟΥΟΛΙΟ.....	301
8.3.2. TBF-ΤΟΛΟΥΟΛΙΟ	302
8.3.3. NMF-BENZΟΛΙΟ	304
8.3.4. TBF-BENZΟΛΙΟ.....	306
8.3.5. NMF-ΕΞΑΝΙΟ.....	308
8.3.6. TBF-ΕΞΑΝΙΟ	310
8.3.7. NMF-ΚΥΚΛΟΕΞΑΝΙΟ	312
8.3.8. TBF-ΚΥΚΛΟΕΞΑΝΙΟ (ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ 1 mM).....	314
8.3.9. TBF-ΚΥΚΛΟΕΞΑΝΙΟ (ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ 0,25 mM).....	316
8.3.10. ΜΕΛΕΤΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΕΩΝ NMF ΚΑΙ TBF ΣΕ ΤΟΛΟΥΟΛΙΟ.....	317
8.3.11. ΜΕΛΕΤΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΕΩΝ TBF ΣΕ ΚΥΚΛΟΕΞΑΝΙΟ	322
8.4. ΜΕΛΕΤΕΣ NMR ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΤΗΣ <i>N</i> -ΑΚΕΤΥΛΟ- <i>L</i> - ΠΡΟΛΙΝΗΣ, <i>N</i> -ΜΕΘΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΚΑΙ ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΑ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ	324



8.4.1. N-MΕΘΥΛΑΜΙΔΙΟ ΤΗΣ N-AΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ	324
8.4.2. ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΤΗΣ N-AΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ	326
9. SUMMARY	329
10. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ	331
10.1. ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	331
10.2. ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	332
10.3. ΑΡΘΡΑ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΟΔΙΚΩΝ	334



1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

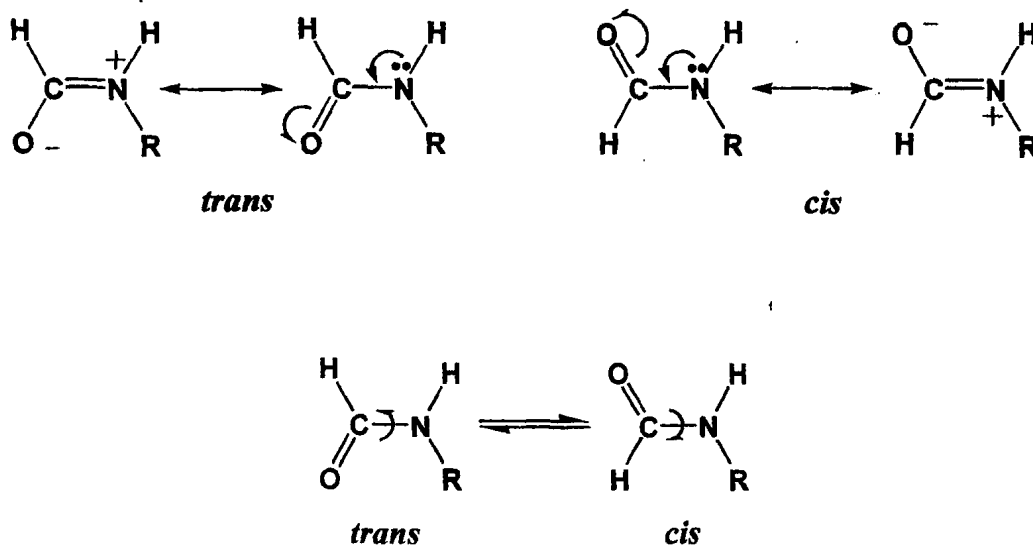
1.1. ΓΕΝΙΚΗ ΘΕΩΡΗΣΗ

Ο πρωταρχικός στόχος της μελέτης μικρών μοντέλων-μορίων είναι η ανάπτυξη μεθόδων, οι οποίες θα μπορούν να εφαρμοστούν κατ' επέκταση σε μεγαλύτερα μόρια, για τον προσδιορισμό δομικών και άλλων χαρακτηριστικών τους. Η κατανόηση, για παράδειγμα, των δεσμών υδρογόνου που σχηματίζονται σε αυτά τα πρότυπα συστήματα θα μπορούσε να αποτελέσει ένα πολύ σημαντικό βήμα στη διερεύνηση του τρόπου αναδίπλωσης και λειτουργίας των πρωτεϊνικών αλυσίδων.

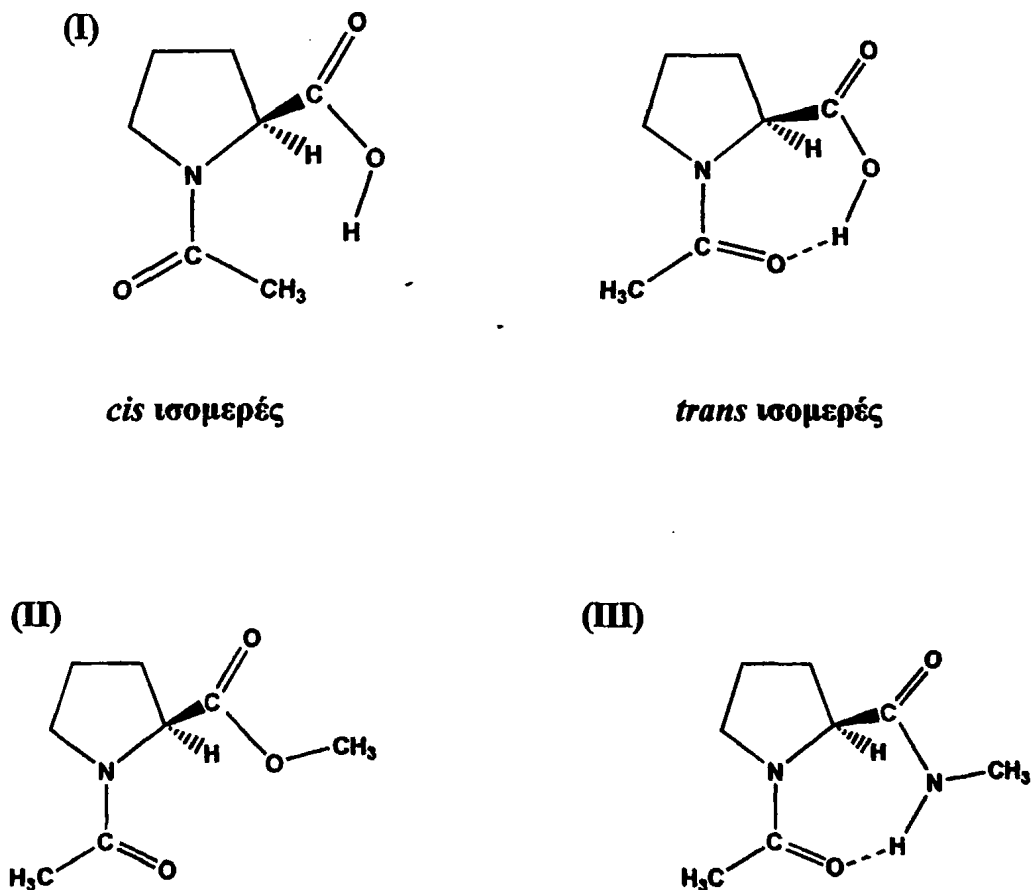
Μοντέλο, σύμφωνα με τον P. W. Atkins (Atkins, 1998), είναι μια απλοποιημένη εκδοχή του συστήματος στο οποίο θέλουμε να εμβαθύνουμε και διατηρεί την ιδιότητα του προβλήματος που μελετάμε.

Στην παρούσα διατριβή γίνεται μελέτη του *cis-trans* ισομερισμού του πεπτιδικού δεσμού πρότυπων ενώσεων πεπτιδίων, ως συνάρτηση του διαλύτη, της συγκέντρωσης της ένωσης, της θερμοκρασίας και του μεγέθους του υποκαταστάτη του αζώτου του αμιδικού δεσμού. Οι πρότυπες ενώσεις αμιδίων που μελετήθηκαν και που παρουσιάζονται στα Σχήματα 1 και 2, είναι τα *N*-υποκατεστημένα φορμαμίδια, *N*-μεθυλοφορμαμίδιο (NMF) και *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιο (TBF), όπως επίσης η *N*-ακετυλο-*L*-προλίνη, το *N*-μεθυλαμίδιο και ο μεθυλεστέρας της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης.





Σχ. 1. *Cis* και *trans* ισομερή των *N*-μονοϋποκατεστημένων φορμαμιδίων (HCONHR), *N*-μεθυλοφορμαμίδιο (NMF, R: $-\text{CH}_3$) και *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιο (TBF, R: $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

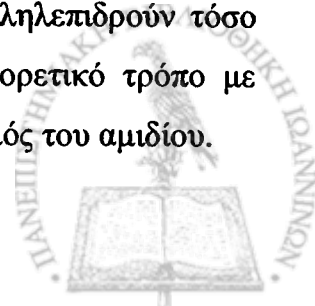


Σχ. 2. (I) *Cis* και *trans* ισομερή της *N*-ακετυλο-L-προλίνης, (II) ο μεθυλεστέρας της *N*-ακετυλο-L-προλίνης και (III) το *N*-μεθυλαμίδιο της *N*-ακετυλο-L-προλίνης. Στα *trans* ισομερή της *N*-ακετυλο-L-προλίνης και του μεθυλαμιδίου αυτής διακρίνεται ο ενδομοριακός δεσμός υδρογόνου (γ -στροφή), ο σχηματισμός του οποίου ενοείται στις συγκεκριμένες δομές.

1.2. Ν-ΥΠΟΚΑΤΕΣΤΗΜΕΝΑ ΦΟΡΜΑΜΙΔΙΑ

Ο *cis-trans* ισομερισμός, η επιδιалύτωση, οι διαμοριακές αλληλεπιδράσεις και, εν γένει, οι φυσικοχημικές ιδιότητες των αμιδίων έχουν αποτελέσει αντικείμενο εκτενών φασματοσκοπικών, φυσικοχημικών και θεωρητικών μελετών (Stewart *et al.*, 1970, Miyazawa *et al.*, 1981, Berkovitch-Yellin *et al.*, 1983, Perin *et al.*, 1984, Gate *et al.*, 1986, Creighton *et al.*, 1988, Chapman *et al.*, 1990, Fischer G., 1994, Wang *et al.*, 1994, Wiberg *et al.*, 1995, Demetropoulos *et al.*, 1996, Ludwig *et al.*, 1997, Vaara *et al.*, 1997, Bushuev *et al.*, 2000, Fischer G., 2000, Kang, 2000, Kupka *et al.*, 2000, Ludwig *et al.*, 2000, Taha *et al.*, 2000, García Martínez *et al.*, 2002, Langley *et al.*, 2002, Zielkiewicz *et al.*, 2002, Troganis *et al.*, 2005, Enriz *et al.*, 2005, DeCamp *et al.*, 2006, Rodriguez-Larrea *et al.*, 2006, Shin *et al.*, 2006, Tsierkezos *et al.*, 2006). Ένας σημαντικός λόγος που ωθεί μία τέτοιου είδους έρευνα, είναι το γεγονός ότι ενώσεις όπως το *N*-μεθυλοφορμαμίδιο, αποτελούν τα απλούστερα μοριακά συστήματα προκειμένου να μελετηθεί τόσο η ενεργειακή διαφορά μεταξύ *cis* και *trans* ισομερών όσο και ο διαμοριακός σχηματισμός δεσμών υδρογόνου. Τέτοιου τύπου αμίδια είναι διαλυτά σε πλήθος διαλυτών και αποτελούν κατάλληλες ενώσεις ώστε να διερευνηθούν οι αλληλεπιδράσεις αυτών με το διαλύτη. Επιπρόσθετα, τα αμίδια αυτά χρησιμεύουν γενικότερα ως ενώσεις-μοντέλα για τη μελέτη του πεπτιδικού δεσμού και της δομής των πρωτεϊνών (Burgar *et al.*, 1981, Jorgensen *et al.*, 1988, Dugave *et al.*, 2003).

Το ενεργειακό φράγμα για την περιστροφή περί τον αμιδικό δεσμό σε *N*-μονοϋποκατεστημένα αμίδια, όπως είναι το *N*-μεθυλοφορμαμίδιο και το *N*-μεθυλοακεταμίδιο έχει υπολογιστεί πειραματικά από μετρήσεις NMR χρησιμοποιώντας ως διαλύτες το 1,2-διχλωροαιθάνιο και το νερό. Βρέθηκε, λοιπόν, πως για τη μετατροπή του *trans* ισομερούς σε *cis* απαιτούνται 22,6 kcal mol⁻¹ ενώ για τη μετατροπή του *cis* ισομερούς σε *trans* απαιτούνται 19,8 kcal mol⁻¹ (Zielkiewicz *et al.*, 2002). Είναι εύκολο να υπολογιστεί πως το *trans* ισομερές είναι σταθερότερο έναντι του *cis* κατά 2,8 kcal mol⁻¹. Εξετάζοντας τη σταθερότητα των διμερών που σχηματίζουν μεταξύ τους *cis* και *trans* ισομερή του *N*-μεθυλοακεταμιδίου βρέθηκε ότι τα διμερή που σχηματίζονται από τη *cis* μορφή του αμιδίου είναι κατά 6,7 kcal mol⁻¹ πιο σταθερά (Zielkiewicz *et al.*, 2002). Αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι *cis* και *trans* ισομερή αλληλεπιδρούν τόσο μεταξύ τους διαμοριακά, όσο και με μόρια του διαλύτη με διαφορετικό τρόπο με αποτέλεσμα να επηρεάζεται σε κάθε περίπτωση ο *cis-trans* ισομερισμός του αμιδίου.



Η παρουσία *N*-αλκυλοϋποκαταστάτη στο άτομο του αζώτου του αμιδικού δεσμού, όπως είναι η περίπτωση των *N*-αλκυλο-φορμαμιδίων παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, καθώς έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του ποσοστού του *cis* ισομερούς και τον περιορισμό του αριθμού των διαμορφώσεων που δύναται να λάβει το υποκατεστημένο φορμαμίδιο.

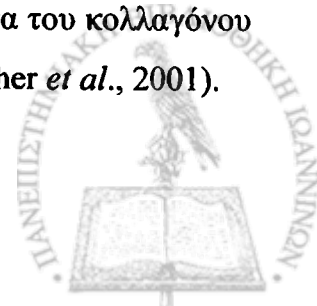
1.3. *N*-ΑΚΕΤΥΛΟ-*L*-ΠΡΟΛΙΝΗ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΑΥΤΗΣ

Η *N*-ακετυλο-*L*-προλίνη και το μεθυλαμίδιο αυτής έχουν μελετηθεί εκτενώς ως μοντέλα για τη διερεύνηση της δευτεροταγούς δομής πεπτιδίων που περιέχουν προλίνες (Hunston *et al.*, 1985, Akiyama *et al.*, 1994, McDonald *et al.*, 1996, Eyles *et al.*, 2000, Kay *et al.*, 2000, Kang, 2006). Έχει επισημανθεί ο σημαντικός ρόλος μορίων αναλόγων της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης στη μελέτη και κατανόηση της λειτουργίας ενεργών κέντρων ενζύμων, όπως το captopril, ο αναστολέας του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης, του οποίου η δράση είναι καθοριστική για τη ρύθμιση της πίεσης του αίματος (Pfuetzner *et al.*, 1988), όπως επίσης και σε θέση αναλόγου υποστρώματος κατά τη διερεύνηση της λειτουργίας βιομορίων με ισχυρή αντιβακτηριδιακή δράση (Clifton *et al.*, 2003). Η προλίνη, το μόνο κυκλικό αμινοξύ, κατέχει μία ιδιαίτερη θέση ανάμεσα στα αμινοξέα και συνδέεται με αλλαγές στη διαμόρφωση πεπτιδίων και πρωτεϊνών.

Από τις δύο διαμορφώσεις, *cis* και *trans*, που δύναται να λάβει ο αμιδικός δεσμός, η *trans* διαμόρφωση είναι πιο σταθερή και απαντάται σε πολύ μεγαλύτερο ποσοστό στις πρωτεΐνες. Η *cis* προλίνη, μολονότι σπανιότερη, υπάρχει σε πολλά βιολογικά ενδιαφέροντα μόρια σε ποσοστό που κυμαίνεται μεταξύ 6% και 10% (Torchia, 1972, Grathwohl *et al.*, 1981, Fischer S. *et al.*, 1994). Η αλληλομετατροπή μεταξύ *cis* και *trans* ισομερούς ως προς τον προλυλο-πεπτιδικό δεσμό που ενώνει την προλίνη με το προηγούμενο αμινοξύ και η ιδιαίτερη τάση εμφάνισης *cis*-προλυλο-πεπτιδικών δεσμών σε πρωτεΐνες που είναι αξιοσημείωτη, επηρεάζουν σε σημαντικό βαθμό την ταχύτητα αναδίπλωσης των πρωτεϊνικών αλυσίδων (Rothe *et al.*, 1976, Fox *et al.*, 1986, Kiefhaber *et al.*, 1992, Kiefhaber *et al.*, 1992, Larive *et al.*, 1992, Eberhardt *et al.*, 1993, Schmid *et al.*, 1993, Eberhardt *et al.*, 1996, Reimer *et al.*, 1997, Wu *et al.*, 1998, Wu *et al.*, 1999, Shi *et al.*, 2004). Έχει επίσης αναφερθεί πως το ποσοστό των *cis*-προλυλο-πεπτιδικών δεσμών διαφέρει μεταξύ εκτεταμένων και αναδιπλωμένων πρωτεϊνικών

αλυσίδων, κάτι που θα πρέπει κατά κύριο λόγο να οφείλεται στη διαφοροποίηση του περιβάλλοντος χώρου από υδρόφιλο στο εξωτερικό της πρωτεΐνης σε υδρόφοβο στο εσωτερικό αυτής (Sugawara *et al.*, 2001). Αυτή ακριβώς η επίδραση του περιβάλλοντος διαλύτη στον ισομερισμό του προλυλο-πεπτιδικού δεσμού είναι ένα από τα θέματα που διερευνώνται στην παρούσα διατριβή.

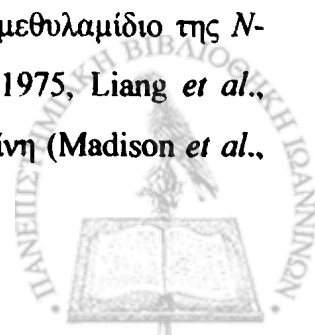
Ο *cis-trans* ισομερισμός σε πολυπεπτιδικές αλυσίδες πλούσιες σε προλίνη είναι μία σχετικά αργή διαδικασία με ένα ενεργειακό φράγμα που κυμαίνεται μεταξύ 15 και 23 kcal mol⁻¹ (Fischer S. *et al.*, 1994, Reimer *et al.* 1997, Wu *et al.*, 1999, Kang *et al.* 2004). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα περιορισμό στη δυνατότητα περιστροφής του αμιδικού δεσμού. Ο περιορισμός αυτός παρέχει ένα πολύ σημαντικό μέτρο ελέγχου σε κινητικές μελέτες καθώς επίσης και σε μελέτες σταθερότητας και ενεργότητας πεπτιδίων και πρωτεϊνών που περιέχουν σημαντικό ποσοστό προλίνης ή/και αναλόγων αυτής (Brandts *et al.*, 1975, Borden *et al.*, 1990, Williams *et al.*, 1991, Kiefhaber *et al.*, 1992, Kiefhaber *et al.*, 1992, Fischer G., 1994, Fischer S. *et al.*, 1994, Kern *et al.*, 1997, Sak *et al.*, 1998, Fischer, 2000). Έχει αποδειχτεί ότι η ταχύτητα του *cis-trans* ισομερισμού του προλυλο-πεπτιδικού δεσμού εξαρτάται από την ικανότητα του περιβάλλοντος διαλύτη να αλληλεπιδρά με την καρβονυλική ομάδα του αμιδίου σχηματίζοντας έναν ή περισσότερους δεσμούς υδρογόνου και σχετίζεται άμεσα με την ισχύ των δεσμών αυτών (Eberhardt *et al.*, 1992, Kang *et al.*, 2004). Τα υποκατεστημένα παράγωγα της προλίνης συχνά χρησιμοποιούνται προκειμένου να μελετηθεί η λειτουργία βιολογικά ενεργών πεπτιδίων λόγω των μοναδικών ιδιοτήτων του δακτυλίου της προλίνης. Ως παράδειγμα, μπορεί να αναφερθεί το κολλαγόνο, μία από τις σημαντικότερες και αφθονότερες πρωτεΐνες των ζώντων οργανισμών. Το κολλαγόνο αποτελείται, *in vivo*, από τρεις πολυπεπτιδικές αλυσίδες οι οποίες ενώνονται ώστε να σχηματίσουν μία εκτεταμένη δεξιόστροφη τριπλή έλικα. Κάθε πολυπεπτιδική αλυσίδα αποτελείται από 300 περίπου επαναλήψεις της αλληλουχίας Gly-Xaa-Yaa, όπου τα αμινοξέα X και Y είναι συχνά η L-προλίνη (Pro) και η 4(R)-υδροξυ-L-προλίνη (Hyp). Καθώς τα αμινοξικά κατάλοιπα μίας τυπικής αλυσίδας κολλαγόνου περιέχουν τα αμινοξέα Pro και Hyp σε ένα ποσοστό 25%, γίνεται αντιληπτό πως οι ιδιότητες των συγκεκριμένων αμινοξέων, όπως ο *cis-trans* ισομερισμός του προλυλο-πεπτιδικού δεσμού, δύνανται να επηρεάσουν σε σημαντικό βαθμό τη σταθερότητα του κολλαγόνου (Eberhardt *et al.*, 1996, Kern *et al.*, 1997, Buevich *et al.*, 2000, Bretscher *et al.*, 2001).



Πέραν της ιδιαιτερότητας της προλίνης για την ενίοτε υιοθέτηση της *cis* διαμόρφωσης του πεπτιδικού δεσμού, έχει αναφερθεί ότι η σαφής, εν γένει, προτίμησή της για την *trans* διαμόρφωση οφείλεται σε στερικά φαινόμενα. Αν και τα φαινόμενα αυτά παίζουν κυρίαρχο ρόλο, δε δύνανται από μόνα τους να δικαιολογήσουν πλήρως τέτοιου τύπου διαμορφωτικές προτιμήσεις. Παράλληλα με τις στερικές αλληλεπιδράσεις, υπάρχουν ηλεκτρονιακά φαινόμενα που επίσης επηρεάζουν ως ένα βαθμό τη σταθεροποίηση των *trans* ισομερών στα πεπτίδια (Panasik *et al.*, 1994, Hinderaker *et al.*, 2003).

Ένα ιδιαίτερα σημαντικό στοιχείο της δομής των σφαιρικών πρωτεϊνών αποτελούν οι αναδιπλώσεις, οι ονομαζόμενες «στροφές» που εμφανίζει η πρωτεϊνική αλυσίδα. Προκειμένου μία μακριά πολυπεπτιδική αλυσίδα να αναδιπλωθεί για να αποκτήσει τη σφαιρική της δομή, είναι απαραίτητο να σχηματίσει αρκετές στροφές που στηρίζονται στο σχηματισμό χαρακτηριστικών δεσμών υδρογόνου. Οι πλέον συνηθισμένες είναι οι β -στροφές και οι γ -στροφές (London, 1979, Aubry *et al.*, 1981, Aubry *et al.*, 1985, Boussard *et al.*, 1985, Jin *et al.*, 2002). Η περίπτωση της γ -στροφής μάλιστα, θα αποτελέσει αντικείμενο εκτενούς συζήτησης στην παρούσα διατριβή, κατά τη μελέτη της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης και του *N*-μεθυλαμιδίου αυτής. Οι γ -στροφές χαρακτηρίζονται από έναν επταμελή δακτύλιο ο οποίος κλείνει μέσω ενός δεσμού υδρογόνου μεταξύ του οξυγόνου του καρβονυλίου του αμινοξέος *i* και του αμιδικού πρωτονίου (NH) του αμινοξέος *i*+2 (Σχ. 2I και 2III).

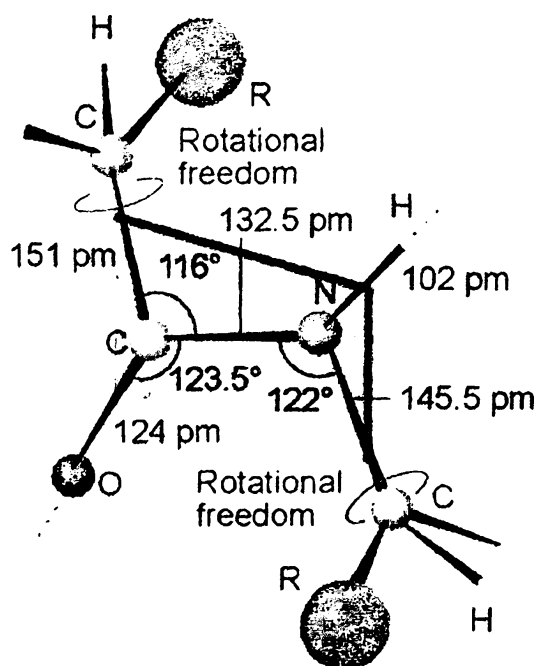
Δομές με στροφές έχουν μελετηθεί σε ευρεία κλίμακα, και έχει πλέον καθιερωθεί πως τμήματα πρωτεϊνικών αλυσίδων πλούσια σε προλίνες είναι ιδιαίτερα σημαντικά για τη δημιουργία στροφών (London, 1979, Jin *et al.* 2002). Αυτό οφείλεται στη μοναδική δομή της προλίνης, της οποίας η παράπλευρη αλυσίδα σχηματίζει έναν πυρολλιδινικό δακτύλιο με το άτομο του αζώτου του πεπτιδικού δεσμού. Προκειμένου να διερευνηθούν οι δομικές διαφορές μεταξύ ισομερών που εμφανίζουν ή δεν εμφανίζουν ενδομοριακό δεσμό υδρογόνου (δημιουργία γ -στροφής) μελετήθηκε και ο μεθυλεστέρας της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης. Στην περίπτωση αυτή δεν υπάρχει δυνατότητα σχηματισμού γ -στροφής, λόγω απουσίας αμιδικού πρωτονίου (Panasik *et al.*, 1994, Hinderaker *et al.*, 2003), κάτι που παρατηρείται στο *N*-μεθυλαμίδιο της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης (Matsuzaki *et al.*, 1971, Higashijima *et al.*, 1975, Liang *et al.*, 1992) και σε μικρότερο ποσοστό στην ίδια την *N*-ακετυλο-*L*-προλίνη (Madison *et al.*, 1970, DeTar *et al.*, 1977).



1.4. ΠΕΠΤΙΔΙΚΟΣ ΔΕΣΜΟΣ

Η γεωμετρία του αμιδικού ή πεπτιδικού δεσμού (Σχήμα 3) είναι πρωταρχικής σημασίας για τον προσδιορισμό της δομής των πολυπεπτιδίων και των πρωτεϊνικών αλυσίδων. Σε δομικές μελέτες πεπτιδίων και πρωτεϊνών γίνεται, εν γένει, αποδεκτό ότι ο πεπτιδικός δεσμός είναι επίπεδος εξαιτίας του ποσοστού διπλού δεσμού που εμφανίζει και το οποίο αντικατοπτρίζεται στις μικρές αποστάσεις C-N (~1,34 Å).

Ωστόσο, αρκετές αναλύσεις δομής που έχουν πραγματοποιηθεί σε αμύδια με περίθλαση ακτίνων X, έχουν δείξει ότι και η μη επίπεδη διαμόρφωση του πεπτιδικού δεσμού είναι αρκετά συνήθης (Winkler *et al.*, 1971, Ramachandran *et al.*, 1973, Stewart *et al.*, 1990, Morris *et al.*, 1992).



Σχ. 3. Οι διαστάσεις που χαρακτηρίζουν τον πεπτιδικό δεσμό. Τα άτομα C-CO-NH-C ορίζουν ένα επίπεδο. Ο δεσμός C-N εμφανίζει μερικώς χαρακτήρα διπλού δεσμού με αποτέλεσμα να παρεμποδίζεται η ελεύθερη περιστροφή, η οποία όμως καθίσταται δυνατή περί τους δεσμούς C-CO και N-C (Atkins, 1998, σελ. 700).

Δύο στοιχεία χαρακτηρίζουν τον πεπτιδικό δεσμό τόσο στα πεπτίδια όσο και στις πρωτεΐνες. Το πρώτο αφορά στη δυσκολία ελεύθερης περιστροφής περί το δεσμό με αποτέλεσμα την εμφάνιση του φαινομένου του *cis-trans* ισομερισμού. Το δεύτερο

αφορά στη σαφή προτίμηση της *trans* έναντι της *cis* διαμόρφωσης (Schulz *et al.*, 1979, Creighton, 1988, Kessler *et al.*, 1990, Kern *et al.*, 1997, Scherer *et al.*, 1998). Η τάση αυτή γίνεται εμφανής από το γεγονός ότι σε πειραματικές μελέτες δευτεροταγών αμιδίων ανιχνεύεται ένα πολύ μικρό ποσοστό της *cis* μορφής ενώ πρακτικά είναι σχεδόν ανύπαρκτη σε κρυσταλλικές δομές πρωτεϊνών. Εξαιρείται η περίπτωση όπου το αμιδικό άζωτο είναι τριτοταγές, κάτι που συμβαίνει για παράδειγμα σε πρωτεϊνικές αλυσίδες πλούσιες στο αμινοξύ προλίνη. Το μικρό ποσοστό της *cis* διαμόρφωσης αποτελεί ουσιαστικό εμπόδιο στον ακριβή πειραματικό προσδιορισμό της ενεργειακής διαφοράς μεταξύ των δύο ισομερών. Ως εκ τούτου, παραμένει ασαφές, αν η προτίμηση της *trans* διαμόρφωσης προέρχεται από καθαρά ενδοπρωτεϊνικούς παράγοντες ή παράγοντες που έχουν σχέση με το περιβάλλον της πρωτεΐνης όπως είναι για παράδειγμα ο διαλύτης ή κάποια άλλη γειτονική ένωση (Jorgensen *et al.*, 1988).

Ο πεπτιδικός δεσμός παρουσιάζει ισχυρή τάση αλληλεπίδρασης και σταθεροποίησης με πολικούς διαλύτες και ιδιαίτερα με το νερό. Ο ισχυρά υδρόφιλος χαρακτήρας του σχετίζεται κυρίως με την τάση σχηματισμού δεσμών υδρογόνου του διαλύτη με το καρβονυλικό οξυγόνο και λιγότερο με την ομάδα NH του αμιδικού δεσμού. Σε υδατικό περιβάλλον η παρατηρούμενη ισορροπία, τόσο κατά τη βιοσύνθεση όσο και κατά την υδρόλυση του πεπτιδικού δεσμού, καθορίζεται αποφασιστικά από την ελεύθερη ενέργεια επιδιαλύτωσης των προϊόντων και των αντιδρώντων κατά τις παραπάνω διεργασίες. Δεν είναι τυχαίο, συνεπώς, το γεγονός ότι σημαντικός αριθμός μορίων νερού που εντοπίζονται σε δομές πρωτεϊνών σχετίζονται με πεπτιδικούς δεσμούς και συγκεκριμένα με την καρβονυλική ομάδα αυτών (Madison *et al.*, 1970).

Η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού είναι μία πολυδύναμη τεχνική που επιτρέπει τη μελέτη της δυνατότητας περιστροφής περί τον πεπτιδικό δεσμό και παρέχει τη δυνατότητα ποσοτικών, θερμοδυναμικών και κινητικών μελετών (Madison *et al.*, 1970, Stewart *et al.*, 1970, Hübner *et al.*, 1991, Jarek *et al.*, 1997). Οι πληροφορίες που συλλέγονται με αυτόν τον τρόπο βοηθάνε στην κατανόηση της σχέσης διαμόρφωσης-βιολογικής δράσης (Quantitative Structure Activity Relationship, QSAR). Λαμβάνοντας υπόψη το στρατηγικό ρόλο του καρβονυλικού ατόμου O και του ατόμου N του πεπτιδικού δεσμού, οι μεθοδολογίες NMR-¹⁷O, NMR-¹⁴N και NMR-¹⁵N μπορούν να θεωρηθούν ως καλή επιλογή διερεύνησης δομικών χαρακτηριστικών του πεπτιδικού δεσμού. Έχει αποδειχτεί, άλλωστε, η ισχυρή επίδραση του δεσμού υδρογόνου στη χημική μετατόπιση του σήματος συντονισμού του ¹⁷O. Η συνδυαστική

χρήση ^{17}O και ^1H - ^{15}N ετεροπυρηνικής NMR φασματοσκοπίας πολλαπλού κβάντου (Heteronuclear Multiple Quantum Coherence, HMQC NMR) αποδεικνύεται αποτελεσματικό εργαλείο για τη μελέτη της στρέβλωσης του πεπτιδικού δεσμού και της πυραμιδικότητας του αμιδικού αζώτου (Burgar *et al.*, 1981, Pawar *et al.*, 1993, Gerothanassis *et al.*, 1995, Gerothanassis *et al.*, 1996, Spyropoulos *et al.*, 2001).

1.5. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπός της εργασίας είναι η σε βάθος μελέτη του *cis-trans* ισομερισμού πρότυπων ενώσεων αμιδίων και η δυνατότητα εξαγωγής συμπερασμάτων που αφορούν πεπτίδια και πρωτεΐνες.

Συγκεκριμένα, τα μοντέλα πεπτιδίων *N*-μεθυλοφορμαμίδιο (NMF), *N*-*tert*-βουτυλοφορμαμίδιο (TBF), *N*-ακετυλο-*L*-προλίνη καθώς και το *N*-μεθυλαμίδιο και ο μεθυλεστέρας αυτής μελετήθηκαν με τη χρήση πρωτονιακής φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR- ^1H), όπως επίσης και υπέρυθρης φασματοσκοπίας με μετασχηματισμό Fourier (FT-IR), προκειμένου να διερευνηθούν οι διαμοριακές αλληλεπιδράσεις αμιδίου-αμιδίου και αμιδίου-διαλύτη σε διαφορετικούς διαλύτες. Χρησιμοποιήθηκαν επιλεγμένοι διαλύτες διαφορετικής διηλεκτρικής σταθεράς και ικανότητας επιδιαλύτωσης, προσομοιάζοντας περιβάλλοντα είτε υδρόφιλων είτε υδρόφοβων ιδιοτήτων, όπως είναι οι περιοχές λιπιδίων των μεμβρανών. Καλύφθηκε ένα ευρύ φάσμα συγκεντρώσεων, από την περίπτωση εξαιρετικά αραιών έως πολύ πυκνών διαλυμάτων. Μετρήσεις των χημικών μετατοπίσεων NH, ως συνάρτηση της συγκέντρωσης είναι δυνατόν να δώσουν πολύτιμες πληροφορίες σχετικά με τη δυνατότητα σχηματισμού διαμοριακών και ενδομοριακών δεσμών υδρογόνου σε βιολογικά μόρια. Παράλληλα, πραγματοποιήθηκαν μελέτες μεταβλητής θερμοκρασίας σε ένα εύρος θερμοκρασιών υπαγορευόμενο από τον εκάστοτε διαλύτη με σκοπό τη θερμοδυναμική μελέτη του φαινομένου. Στόχος της παρούσης ερευνητικής εργασίας είναι η προσπάθεια, μέσω ερμηνείας της τρισδιάστατης δομής απλών μορίων-μοντέλων, να αποσαφηνισθούν τα αίτια που αφενός ωθούν μία πρωτεϊνική αλυσίδα σε συγκεκριμένο τρόπο αναδίπλωσης και αφετέρου τη σταθεροποιούν μέσω δημιουργίας χαρακτηριστικών δεσμών υδρογόνου. Επίσης, διερευνάται η εξάρτηση των σχηματιζόμενων δεσμών υδρογόνου από το υδρόφιλο ή υδρόφοβο περιβάλλον.



Στα πλαίσια μελέτης του *cis-trans* ισομερισμού αποδεικνύεται πως η παρουσία *N*-αλκυλο-υποκαταστάτη, όπως για παράδειγμα στα *N*-αλκυλοφορμαμίδια, και παράπλευρης αλυσίδας, όπως στην περίπτωση της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης και των παραγώγων ενώσεων αυτής, καθώς επίσης και ο τρόπος επιδιалύτωσης του αμιδικού δεσμού είναι παράγοντες που επηρεάζουν τη διαφορετική σταθερότητα των *cis* και *trans* ισομερών μορφών.

Οι σταθερές προάσπισης της πρωτονιακής NMR φασματοσκοπίας είναι ιδιαίτερα ευαίσθητες σε ατομικές και μοριακές ηλεκτρονικές επιδράσεις και, ως εκ τούτου, δύνανται να χρησιμοποιηθούν για τη μελέτη επιδράσεων του διαλύτη επί της *cis-trans* αλληλομετατροπής αμιδικών και πεπτιδικών δεσμών. Ωστόσο, σε πολλές περιπτώσεις οι διαμοριακές επιδράσεις στις πρωτονιακές χημικές μετατοπίσεις είναι της ίδιας τάξης μεγέθους με τις ενδομοριακές και αυτό περιπλέκει την ποσοτική εκτίμηση ειδικών φαινομένων που άπτονται της φύσης του διαλύτη (Gerothanassis *et al.*, 1994).

Οι συγκεντρώσεις των μοντέλων πεπτιδίων επιλέχθηκαν έτσι ώστε να ελαχιστοποιούνται κατά το δυνατόν οι διαμοριακές αλληλεπιδράσεις αμιδίου-αμιδίου (αποφυγή φαινομένων διμερισμού ή/και πολυμερισμού) και να παρατηρείται αποκλειστικά το φαινόμενο του *cis-trans* ισομερισμού. Πρόκειται για μελέτη όπου από το λόγο των ολοκληρωμάτων των κορυφών, που αντιστοιχούν στο *cis* και *trans* ισομερές, δύναται να εξαχθεί η σταθερά ισορροπίας (K_{eq}) μεταξύ των δύο ισομερών. Στη συνέχεια γίνεται προσδιορισμός της σταθεράς ισορροπίας για ένα εύρος θερμοκρασιών, προκειμένου να εξαχθούν ανά περίπτωση οι θερμοδυναμικές παράμετροι ενθαλπίας και εντροπίας. Έτσι, θα υπάρξει δυνατότητα να δοθεί ερμηνεία στον ρόλο του κάθε διαλύτη, στον τρόπο αλληλεπίδρασης αμιδίου-διαλύτη και κατ' επέκταση να αποσαφηνισθεί, ενδεχομένως, το γιατί, σε ποιο βαθμό και υπό ποιές συνθήκες (υδρόφοβο/υδρόφιλο περιβάλλον) ευνοείται η *cis* ή η *trans* διαμόρφωση του πεπτιδικού δεσμού.



2. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΧΗΜΙΚΗΣ ΘΕΡΜΟΔΥΝΑΜΙΚΗΣ - ΒΑΣΙΚΕΣ ΕΝΝΟΙΕΣ

2.1. ΕΣΩΤΕΡΙΚΗ ΕΝΕΡΓΕΙΑ

Εσωτερική Ενέργεια, U , στη Θερμοδυναμική, καλείται η συνολική ενέργεια ενός συστήματος. Αποτελεί το σύνολο της κινητικής και δυναμικής ενέργειας των μορίων που συνθέτουν το σύστημα. Ως ΔU , συμβολίζεται η αλλαγή στην εσωτερική ενέργεια όταν ένα σύστημα μεταβαίνει από μία αρχική κατάσταση, α , με εσωτερική ενέργεια U_α , σε μία τελική κατάσταση, τ , με εσωτερική ενέργεια U_τ :

$$\Delta U = U_\tau - U_\alpha \quad (1)$$

Η Εσωτερική Ενέργεια είναι μία μεταβλητή κατάστασης υπό την έννοια ότι το μέγεθός της εξαρτάται από την αρχική και τελική κατάσταση του συστήματος και όχι από τον τρόπο μετάβασης αυτού από τη μία κατάσταση στην άλλη. Επεμβαίνοντας στις καταστατικές μεταβλητές του συστήματος, όπως για παράδειγμα στην πίεση, επέρχεται αυτόματα αλλαγή και στην U . Η εσωτερική ενέργεια αποτελεί εκτατική ιδιότητα του συστήματος και μετριέται σε Joules (J). Η γραμμομοριακή εσωτερική ενέργεια, όμως, αποτελεί εντατική ιδιότητα, τυπικά εκφράζεται σε kilojoules ανά mole (kJ mol^{-1}) και προσδιορίζεται ως η ενέργεια που αποθηκεύεται στους μοριακούς δεσμούς κατά τη μεταφορική, περιστροφική και δονητική κίνηση των μορίων καθώς και η ενέργεια των μοριακών αλληλεπιδράσεων. Έχει βρεθεί πειραματικά, ότι η εσωτερική ενέργεια ενός συστήματος δύναται να μεταβληθεί είτε παράγοντας έργο στο σύστημα είτε μεταβάλλοντας τη θερμοκρασία του (θέρμανση ή ψύξη). Εάν συμβολιστεί με w το έργο που προσφέρεται από/προς το σύστημα και με q η ενέργεια που μεταφέρεται ως θερμότητα από/προς το σύστημα, τότε η μεταβολή που επάγεται στην εσωτερική ενέργεια, ΔU , ισούται με:



$$\Delta U = q + w \quad (2)$$

Η σχέση (2) αποτελεί τη μαθηματική έκφραση του Πρώτου Θερμοδυναμικού Νόμου σύμφωνα με τον οποίο η εσωτερική ενέργεια ενός απομονωμένου συστήματος παραμένει σταθερή.

Γενικά, για μία απειροστή μεταβολή του συστήματος η εσωτερική του ενέργεια εκφράζεται από τη σχέση:

$$dU = dq + dw \quad (3)$$

Δεδομένων συνθηκών σταθερού όγκου ($V = \text{σταθ.}$), κανένα είδος έργου δεν επιτελείται από το σύστημα συμπεριλαμβανομένου και του μηχανικού. Συνεπώς:

$$dU = dq \quad (4)$$

Η παραπάνω σχέση συνεπάγεται ότι μετρώντας τη θερμότητα που παρέχεται από/προς το σύστημα, όταν ο όγκος του παραμένει σταθερός, στην ουσία υπολογίζεται η μεταβολή της εσωτερικής του ενέργειας.

2.2. ΘΕΡΜΟΧΩΡΗΤΙΚΟΤΗΤΑ

Εάν η μεταφορά θερμικής ενέργειας είναι απειροστή, τότε η αύξηση της θερμοκρασίας είναι ανάλογη της ποσότητας της θερμότητας που προσφέρθηκε. Συνεπώς:

$$dT \propto dq \quad \text{ή} \quad dT = \text{συντελεστής} \times dq \quad (5)$$

Η τιμή του συντελεστή στη σχέση (5), εξαρτάται από το μέγεθος, τη σύσταση και την κατάσταση του συστήματος. Αποδεικνύεται πιο χρήσιμη η τροποποίηση αυτής της σχέσης και η γραφή της ως:

$$dq = C dT \quad (6)$$

όπου ο συντελεστής C καλείται *θερμοχωρητικότητα* και αποτελεί εκτατική ιδιότητα του συστήματος. Εάν είναι γνωστή η θερμοχωρητικότητα, τότε δύναται να μετρηθεί η ενέργεια που παράγεται κατά τη μεταφορά θερμότητας, παρακολουθώντας την αύξηση της θερμοκρασίας που προκαλεί αυτή η μεταφορά. Όταν η C είναι μεγάλη, τότε η παροχή μιας ορισμένης ποσότητας θερμότητας, έχει ως αποτέλεσμα μια μικρή άνοδο της θερμοκρασίας (το σύστημα έχει μεγάλη ικανότητα να απορροφά θερμότητα). Όταν η C είναι μικρή, η ίδια ποσότητα θερμότητας μπορεί να προκαλέσει μεγάλη αύξηση στη θερμοκρασία.

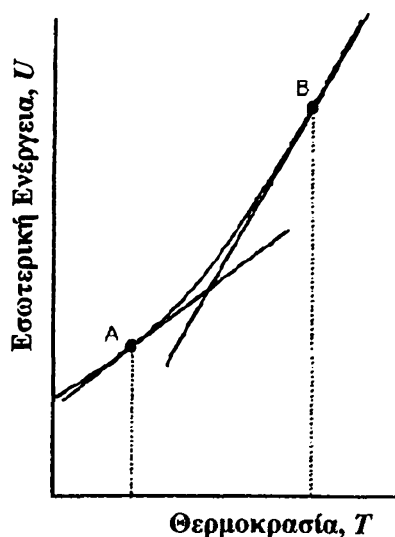
Η θερμοχωρητικότητα εξαρτάται από τις συνθήκες. Έτσι δύνανται να διακριθούν

δύο περιπτώσεις: (α) η θερμοχωρητικότητα υπό σταθερό όγκο, C_v (ισόχωρη θερμοχωρητικότητα) και (β) η θερμοχωρητικότητα υπό σταθερή πίεση, C_p (ισοβαρής θερμοχωρητικότητα). Αυτές οι δύο περιπτώσεις θα εξεταστούν συνοπτικά στη συνέχεια.

Η εσωτερική ενέργεια ενός συστήματος αυξάνει με την άνοδο της θερμοκρασίας. Εάν παρασταθεί η εσωτερική ενέργεια συναρτήσει της θερμοκρασίας, τότε προκύπτει μία καμπύλη όπως αυτή που φαίνεται στο Σχήμα 4. Η κλίση της καμπύλης σε κάποιο σημείο αυτής δίνει την τιμή της θερμοχωρητικότητας, C , του συστήματος για μία δεδομένη θερμοκρασία. Με παραδοχή ότι ο όγκος παραμένει σταθερός, η θερμοχωρητικότητα, C_v , του συστήματος ορίζεται από τη σχέση:

$$C_v = \left(\frac{\partial U}{\partial T} \right)_v \quad (7)$$

Η θερμοχωρητικότητα λοιπόν, υπολογιζόμενη για σταθερό όγκο, μπορεί να χρησιμοποιηθεί προκειμένου να συνδέσει τη μεταβολή στην εσωτερική ενέργεια με τη μεταβολή της θερμοκρασίας ενός συστήματος.



Σχ. 4. Η εσωτερική ενέργεια ενός συστήματος αυξάνεται με την άνοδο της θερμοκρασίας. Το συγκεκριμένο γράφημα δείχνει τη μεταβολή της καθώς το σύστημα θερμαίνεται υπό σταθερό όγκο. Η κλίση της καμπύλης για κάθε θερμοκρασία (όπως φαίνεται από τις εφαπτόμενες στα σημεία A και B) εκφράζει τη θερμοχωρητικότητα του συστήματος στην εν λόγω θερμοκρασία. Γίνεται εμφανές ότι για το σύστημα που αποδίδεται με το συγκεκριμένο γράφημα η θερμοχωρητικότητα στο σημείο B είναι μεγαλύτερη από αυτή στο σημείο A.

Από τη σχέση (7) συνεπάγεται, για απειροστή μεταβολή της θερμοκρασίας, ότι:

$$dU = C_v dT \quad (8)$$

ή όπως προκύπτει από τη σχέση (4):

$$dq = C_v dT \quad (9)$$



2.3. ΕΝΘΑΛΠΙΑ

Η αλλαγή, ωστόσο, της εσωτερικής ενέργειας, U , δεν ισούται με το ποσό της μεταφερόμενης θερμότητας όταν το εξεταζόμενο σύστημα μπορεί ελεύθερα να μεταβάλλει τον όγκο του. Κάτω από αυτές τις συνθήκες η ενέργεια που διοχετεύεται ως θερμότητα στο σύστημα, επιστρέφει στο περιβάλλον του ως δαπανώμενο έργο. Έτσι συμβαίνει $dU < dq$. Ωστόσο, σε αυτήν την περίπτωση και υπό σταθερή πίεση, η θερμότητα που διοχετεύεται από/στο σύστημα είναι πλέον ίση με τη μεταβολή μιας άλλης θερμοδυναμικής ιδιότητας του συστήματος, της *Ενθαλπίας*, H .

Η ενθαλπία ενός συστήματος ορίζεται ως:

$$H = U + PV \quad (10)$$

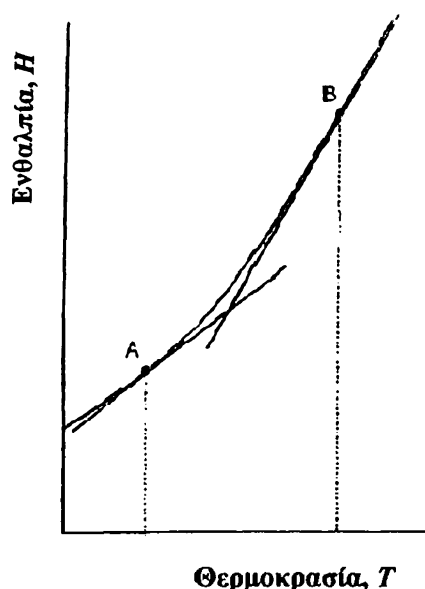
όπου, P είναι η πίεση του συστήματος και V είναι ο όγκος του. Επειδή τόσο η εσωτερική ενέργεια όσο η πίεση και ο όγκος είναι μεταβλητές κατάστασης, προκύπτει το συμπέρασμα ότι και η ενθαλπία είναι μεταβλητή κατάστασης.

Όταν η πίεση του συστήματος διατηρείται σταθερή και δεν επιτρέπεται καμία άλλη μορφή έργου εκτός από το μηχανικό τότε η μεταβολή της ενθαλπίας ισούται με το ποσό της θερμότητας που μεταφέρεται από/προς το σύστημα. Συνεπώς, για μία απειροστή μεταβολή ισχύει:

$$dH = dq \quad (P = \text{σταθ.}) \quad (11)$$

Όπως συμβαίνει και με την εσωτερική ενέργεια, έτσι και η ενθαλπία ενός συστήματος αυξάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας. Η σχέση μεταξύ της αύξησης της ενθαλπίας και της αύξησης της θερμοκρασίας εξαρτάται από τις επικρατούσες συνθήκες (για παράδειγμα σταθερή πίεση ή σταθερός όγκος). Στην παρούσα εργασία, το ενδιαφέρον θα επικεντρωθεί στη περίπτωση της σταθερής πίεσης, η οποία είναι και η πλέον σημαντική. Εάν η ενθαλπία παρασταθεί συναρτήσει της θερμοκρασίας θεωρώντας την πίεση σταθερή, τότε προκύπτει μία καμπύλη όπως αυτή που φαίνεται στο Σχήμα 5. Η κλίση της καμπύλης σε οιοδήποτε σημείο αυτής δίνει την τιμή της *θερμοχωρητικότητας*, C_p , του συστήματος για μία δεδομένη θερμοκρασία.





Σχ. 5. Η ενθαλπία ενός συστήματος αυξάνεται με την άνοδο της θερμοκρασίας. Το συγκεκριμένο γράφημα δείχνει τη μεταβολή της καθώς το σύστημα θερμαίνεται υπό σταθερή πίεση. Η κλίση της καμπύλης για κάθε θερμοκρασία εκφράζει τη θερμοχωρητικότητα του συστήματος στην εν λόγω θερμοκρασία. Καθώς η κλίση της καμπύλης μεταβάλλεται με τη θερμοκρασία είναι εμφανές ότι το ίδιο αναμένεται να συμβαίνει και με τη θερμοχωρητικότητα του συστήματος. Ως εκ τούτου οι θερμοχωρητικότητες στα σημεία Α και Β του γραφήματος είναι διαφορετικές.

Η θερμοχωρητικότητα, C_p , του συστήματος σε αυτή την περίπτωση ορίζεται από τη σχέση:

$$C_p = \left(\frac{\partial H}{\partial T} \right)_p \quad (12)$$

Η θερμοχωρητικότητα λοιπόν, όπως γίνεται φανερό, μπορεί να χρησιμοποιηθεί προκειμένου να συνδέσει τη μεταβολή της ενθαλπίας με τη μεταβολή της θερμοκρασίας ενός συστήματος.

Συνοψίζοντας, μπορεί να λεχθεί, πως εάν ενέργεια μεταφέρεται υπό μορφή θερμότητας υπό σταθερό όγκο και δεν παράγεται έργο, η προκαλούμενη μεταβολή της εσωτερικής ενέργειας ισούται με τη μεταφερόμενη θερμότητα και τότε, για μία μετρήσιμη μεταβολή, γράφεται ότι $\Delta U = q_v$. Εάν μεταφέρεται ενέργεια υπό μορφή θερμότητας, υπό σταθερή πίεση, τότε η ποσότητα της μεταφερόμενης θερμότητας ισούται με τη μεταβολή της ενθαλπίας. Στην περίπτωση αυτή ισχύει $\Delta H = q_p$. Αυτό συνεπάγεται ότι, αν μία αντίδραση ή, εν γένει, μία μεταβολή σε ένα σύστημα πραγματοποιείται υπό σταθερή πίεση, τότε η μεταφορά θερμότητας μπορεί να ταυτιστεί με τη μεταβολή ενθαλπίας. Σε αντιδράσεις όπου περιλαμβάνονται μόνο στερεά ή υγρά, οι όγκοι των οποίων παραμένουν περίπου οι ίδιοι, γίνεται δεκτό ότι $\Delta H \approx \Delta U$.

Στη Χημεία συχνά ενδιαφέρουν μεταβολές της ενθαλπίας σε μία ποικιλία φυσικών και χημικών μεταβολών.



2.4. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΕΝΤΡΟΠΙΑ

Μία αυθόρμητη μεταβολή χαρακτηρίζεται από την τάση για χαοτική διασπορά της ολικής ενέργειας. Ο Πρώτος Νόμος εισάγει την εσωτερική ενέργεια, U , μια μεταβλητή κατάστασης σχετιζόμενη με την αρχή διατήρησης της ενέργειας, που επιτρέπει να εκτιμηθεί εάν μία μεταβολή είναι εφικτή. Ο Δεύτερος Νόμος οδηγεί σε μία άλλη μεταβλητή κατάστασης, την *εντροπία*, S , που επιτρέπει να εκτιμηθεί εάν η μετάβαση από μία κατάσταση σε μία άλλη μπορεί να συμβεί αυθόρμητα. Με άλλα λόγια, ο Πρώτος Νόμος χρησιμοποιεί την εσωτερική ενέργεια, για να αναγνωρίσει τις επιτρεπτές μεταβολές, ενώ ο Δεύτερος Νόμος χρησιμοποιεί την εντροπία, για να εντοπίσει ποιες από τις επιτρεπτές μεταβολές είναι αυθόρμητες. Σύμφωνα με το Δεύτερο Νόμο, η εντροπία ενός απομονωμένου συστήματος αυξάνεται κατά τη διάρκεια μιας αυθόρμητης μεταβολής:

$$\Delta S > 0 \quad (13)$$

Ένας από τους τρόπους προσέγγισης της έννοιας της εντροπίας βασίζεται στη θεώρηση ότι η διασπορά της ενέργειας μπορεί να συσχετιστεί με τη θερμότητα που ανταλλάσσεται σε μία φυσική ή χημική διεργασία και οδηγεί στο θερμοδυναμικό ορισμό της εντροπίας:

$$dS = \frac{dq_{\text{αντ.}}}{T} \quad (14)$$

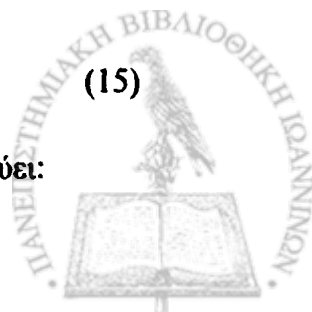
όπου $q_{\text{αντ.}}$ αναφέρεται στην ανταλλαγή θερμότητας q κατά τη διάρκεια μιας αντιστρεπτής διεργασίας. Οι σχέσεις που θα ακολουθήσουν, θα θεωρούνται ότι αναφέρονται σε μία αντιστρεπτή διεργασία.

Όταν η μεταφερόμενη θερμότητα εκφράζεται σε joules και η θερμοκρασία σε Kelvin, τότε η εντροπία εκφράζεται σε joules ανά Kelvin (J K^{-1}). Η γραμμομοριακή εντροπία εκφράζεται σε joules ανά Kelvin ανά mole ($\text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$) όπως ακριβώς η παγκόσμια σταθερά των αερίων, R .

Ας δούμε πώς μεταβάλλεται η εντροπία συναρτήσει της θερμοκρασίας. Εάν είναι γνωστή η εντροπία ενός συστήματος σε θερμοκρασία T_a τότε η εντροπία του συστήματος σε θερμοκρασία T_r δίνεται από την εξίσωση:

$$S(T_r) = S(T_a) + \int_a^r \frac{dq_{\text{αντ.}}}{T} \quad (15)$$

Από τον ορισμό της θερμοχωρητικότητας υπό σταθερή πίεση, ισχύει:



$$(dq_{αντ.})_p = dH = C_p dT \quad (16)$$

Συνεπώς:

$$S(T_r) = S(T_a) + \int_a^r \frac{C_p}{T} dT \quad (17)$$

Η παραπάνω σχέση επιτρέπει τον υπολογισμό της εντροπίας μιας διεργασίας σε οποιαδήποτε θερμοκρασία, αρκεί να υπάρχουν δεδομένα για τη θερμοχωρητικότητα στην περιοχή των θερμοκρασιών που εξετάζεται. Για μικρές περιοχές θερμοκρασιών το C_p μπορεί να θεωρηθεί ανεξάρτητο της θερμοκρασίας και έτσι υπό σταθερή πίεση η εξίσωση (17) γίνεται:

$$S(T_r) = S(T_a) + C_p \int_a^r \frac{1}{T} dT = S(T_a) + C_p \ln\left(\frac{T_r}{T_a}\right) \quad (18)$$

Στην αντίθετη περίπτωση, η θερμοχωρητικότητα εκφράζεται ως συνάρτηση της θερμοκρασίας που παρέχεται από τη σχέση:

$$C_p(T) = a + bT + cT^2 \quad (19)$$

όπου οι a , b και c είναι συντελεστές ανεξάρτητοι από τη θερμοκρασία, οι οποίοι παρέχονται από πίνακες. Βέβαια, η εφαρμογή της σχέσης (19) προϋποθέτει γνώση της εξάρτησης της θερμοχωρητικότητας από τη θερμοκρασία στη θεωρούμενη περιοχή θερμοκρασιών.

2.5. ΕΛΕΥΘΕΡΗ ΕΝΕΡΓΕΙΑ GIBBS

Έστω ένα σύστημα το οποίο βρίσκεται σε θερμική ισορροπία με το περιβάλλον του σε θερμοκρασία T . Όταν συμβαίνει μία μεταβολή στο σύστημα και υπάρχει μεταφορά ενέργειας ως θερμότητα μεταξύ του συστήματος και του περιβάλλοντός του τότε ισχύει:

$$dS - \frac{dq}{T} \geq 0 \quad (20)$$

Αυτή η ανισότητα, γνωστή και ως ανισότητα *Clausius*, μπορεί να μελετηθεί με δύο τρόπους ανάλογα με τις συνθήκες (σταθερός όγκος ή σταθερή πίεση) κάτω από τις οποίες μία διεργασία λαμβάνει χώρα. Όπως προαναφέρθηκε, στην παρούσα εργασία η προσοχή θα επικεντρωθεί στην περίπτωση μεταβολών που συμβαίνουν σε ένα σύστημα κάτω από σταθερή πίεση. Στην περίπτωση αυτή η ανισότητα (20), λαμβάνοντας υπόψη τη σχέση (11) σύμφωνα με την οποία $dH = dq$, μπορεί να γραφεί ως:



$$TdS \geq dH \quad (P = \text{σταθ.}) \quad (21)$$

Από την ανισότητα (21) προκύπτει πως εάν η ενθαλπία του συστήματος παραμένει σταθερή, τότε $dS_{H,P} \geq 0$, ενώ εάν η εντροπία του συστήματος παραμένει σταθερή, τότε $dH_{S,P} \leq 0$.

Η τελευταία αυτή σχέση δύναται να εκφραστεί πιο απλά εισάγοντας μία νέα θερμοδυναμική συνάρτηση, γνωστή ως *Συνάρτηση Gibbs*:

$$G = H - TS \quad (22)$$

Η *Συνάρτηση Gibbs*, που είναι γνωστή και ως *ελεύθερη ενέργεια*, χρησιμοποιείται ευρύτατα στο χώρο της Χημείας, καθώς ενδιαφέρουν περισσότερο οι μεταβολές που πραγματοποιούνται υπό σταθερή πίεση. Για μία απειροστή μεταβολή της κατάστασης ενός συστήματος υπό σταθερή θερμοκρασία, η συνάρτηση Gibbs γράφεται ως εξής:

$$dG = dH - TdS \quad (23)$$

η οποία, βάσει της σχέσης (21), δίνει ότι:

$$(dG)_{T,P} \leq 0 \quad (24)$$

Η ανισότητα (24) κρίνεται πολύ σημαντική για τη θερμοδυναμική καθώς μεταφράζεται ως εξής: «Υπό σταθερή θερμοκρασία και πίεση, οι χημικές μεταβολές βαίνουν αυθόρμητα προς την κατεύθυνση μείωσης της ελεύθερης ενέργειας Gibbs». Υπάρχουν αρκετές μέθοδοι υπολογισμού της συνάρτησης Gibbs μεταξύ των οποίων συγκαταλέγονται η θερμιδομετρία (υπολογισμός της ΔH άμεσα και της ΔS μέσω των θερμοχωρητικοτήτων), η ηλεκτροχημεία και η φασματοσκοπία που είναι και η μεθοδολογία που χρησιμοποιείται στην παρούσα διατριβή.

Από τον ορισμό της συνάρτησης Gibbs ως $G = H - TS$, συνεπάγεται ότι μεταβολές στην G μπορεί να οφείλονται σε μεταβολές των H , T και/ή S . Για απειροστές μεταβολές ισχύει:

$$dG = dH - TdS - SdT \quad (25)$$

Επειδή $H = U + PV$, ισχύει:

$$dH = dU + PdV + VdP \quad (26)$$

Για ένα κλειστό σύστημα όπου εκτελείται μόνο μηχανικό έργο, η dU μπορεί να αντικατασταθεί από τη θεμελιώδη εξίσωση $dU = TdS - PdV$ οδηγώντας στη σχέση:

$$dG = (TdS - PdV) + PdV + VdP - TdS - SdT \quad (27)$$

$$\text{και τελικά: } dG = VdP - SdT \quad (28)$$



Η τελευταία αυτή σχέση δείχνει πως η G μπορεί να θεωρηθεί σαν συνάρτηση των P και T , $G = G(P, T)$, γεγονός που επιβεβαιώνει τη σπουδαιότητα της συνάρτησης *Gibbs* στη χημεία αφού η πίεση και η θερμοκρασία είναι συνήθως οι μεταβλητές που μπορούν να ελεγχθούν. Αποδεικνύεται, πως η G μεταβάλλεται με τη θερμοκρασία και την πίεση σύμφωνα με τις σχέσεις:

$$\left(\frac{\partial G}{\partial T}\right)_P = -S \quad \text{και} \quad \left(\frac{\partial G}{\partial P}\right)_T = V \quad (29)$$

Στην παρούσα διατριβή, η μεταβολή της συνάρτησης *Gibbs* ως συνάρτηση της θερμοκρασίας θα αποδειχτεί ιδιαιτέρως χρήσιμη. Ως εκ τούτου, κρίνεται σκόπιμο να εξεταστεί λίγο πιο διεξοδικά η περίπτωση αυτή.

Αφού $(\partial G / \partial T)_P = -S$ και η S είναι θετική, είναι φανερό ότι για σταθερή πίεση και σύσταση η G μειώνεται με αύξηση της θερμοκρασίας. Επιπλέον, η μείωση είναι εντονότερη όταν η εντροπία της κατάστασης του συστήματος είναι μεγάλη.

Η θερμοκρασιακή εξάρτηση της G μπορεί να εκφραστεί καλύτερα μέσω *ενθαλπίας* παρά μέσω της *εντροπίας* του συστήματος. Από τον ορισμό της ελεύθερης ενέργειας

Gibbs, προκύπτει η σχέση: $S = \frac{(H - G)}{T}$. Έτσι,

$$\left(\frac{\partial G}{\partial T}\right)_P = \frac{G - H}{T} \quad \text{ή} \quad \left(\frac{\partial G}{\partial T}\right)_P - \frac{G}{T} = -\frac{H}{T} \quad (30)$$

Όπως θα φανεί στη συνέχεια, η σταθερά ισορροπίας K μιας αντίδρασης, σταθερά πολύτιμη καθώς από αυτήν προκύπτει η απόδοση μιας φυσικοχημικής διεργασίας, σχετίζεται καλύτερα με το λόγο (G / T) παρά με την ενέργεια *Gibbs* αυτή καθαυτή. Η παρατήρηση αυτή οδηγεί σε μία σχέση εξάρτησης του λόγου (G / T) από την θερμοκρασία, απλούστερη, όπως διευκρινίζεται παρακάτω, από την αντίστοιχη σχέση εξάρτησης της ελεύθερης ενέργειας *Gibbs* (30).

Παραγωγίζοντας τον όρο (G / T) ως προς την θερμοκρασία προκύπτει:

$$\left(\frac{\partial}{\partial T} \left(\frac{G}{T}\right)\right)_P = \frac{1}{T} \left(\frac{\partial G}{\partial T}\right)_P + G \frac{d}{dT} \frac{1}{T} = \frac{1}{T} \left(\frac{\partial G}{\partial T}\right)_P - \frac{G}{T^2} = \frac{1}{T} \left\{ \left(\frac{\partial G}{\partial T}\right)_P - \frac{G}{T} \right\} \quad (31)$$

Η σχέση (31) βάσει της (30) οδηγεί στη σχέση:

$$\left(\frac{\partial}{\partial T} \left(\frac{G}{T}\right)\right)_P = -\frac{H}{T^2} \quad (32)$$

Η εξίσωση (32) είναι γνωστή ως εξίσωση *Gibbs-Helmholtz* και ορίζει πως εάν η



ενθαλπία ενός συστήματος είναι γνωστή, τότε είναι επίσης γνωστή και η θερμοκρασιακή εξάρτηση του λόγου G/T . Η εξίσωση *Gibbs-Helmholtz* είναι πολύτιμη στη μελέτη μεταβολών τόσο φυσικών όσο και χημικών αντιδράσεων και καθίσταται χρήσιμη ιδιαίτερα στη μελέτη της χημικής ισορροπίας.

Η σταθερά θερμοδυναμικής ισορροπίας, K , συνδέεται με τη συνάρτηση *Gibbs* μέσω της σχέσης:

$$\ln K = -\frac{\Delta G}{RT} \quad (33)$$

όπου R , η παγκόσμια σταθερά των αερίων, ίση με $8,31441 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$.

Η μεταβολή του $\ln K$ με τη θερμοκρασία δίνεται από τη σχέση:

$$\frac{d \ln K}{dT} = -\frac{1}{R} \frac{d(\Delta G/T)}{dT} \quad (34)$$

η οποία σε συνδυασμό με την εξίσωση *Gibbs-Helmholtz* (32) οδηγεί στην *ισόχωρη Van't Hoff*, η οποία μπορεί να αποδοθεί με δύο τρόπους:

$$(α) \quad \frac{d \ln K}{dT} = \frac{\Delta H}{RT^2} \quad \text{ή} \quad (β) \quad \frac{d \ln K}{d(1/T)} = -\frac{\Delta H}{R} \quad (35)$$

Η *ισόχωρη Van't Hoff*, συνδέει τη θερμοδυναμική σταθερά ισορροπίας μιας αντίδρασης με την ενθαλπία και τη θερμοκρασία. Ως εκ τούτου, μία πολύ σημαντική εφαρμογή της *ισόχωρης Van't Hoff* αφορά στη μέτρηση ενθαλπιών αντίδρασης σε ένα εύρος θερμοκρασιών. Από την (33), μέσω της αντικατάστασης $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$, (ορισμός της ελεύθερης ενέργειας *Gibbs* για μία μετρήσιμη μεταβολή του συστήματος) προκύπτει τελικά η εξίσωση:

$$\ln K = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R} \quad (36)$$

Από την εξίσωση (36) συνάγεται, ότι με καταχώρηση των τιμών $\ln K$ έναντι των τιμών $1/T$, σε σύστημα ορθογωνίων αξόνων, λαμβάνεται ευθεία η οποία έχει κλίση ίση προς $-\Delta H/R$ και τέμνουσα ίση προς $\Delta S/R$. Πρέπει όμως να σημειωθεί πως τα προαναφερθέντα ισχύουν με την παραδοχή ότι οι όροι ΔH και ΔS δεν επηρεάζονται από τη μεταβολή της θερμοκρασίας, κάτι όμως που σε πολλές περιπτώσεις δεν ισχύει. Έτσι προκύπτει ένα σοβαρό μειονέκτημα της μεθόδου, το οποίο αντιμετωπίστηκε στην παρούσα διατριβή και το οποίο έγκειται στη σημαντική εξάρτηση των όρων αυτών από τη θερμοκρασία με αποτέλεσμα η συγκεκριμένη γραφική παράσταση να μην είναι ευθεία.

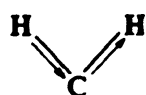
3. ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ

3.1. ΔΟΝΗΣΕΙΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΟΜΑΔΩΝ ΟΡΓΑΝΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

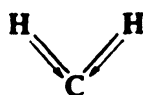
Η φασματοσκοπία υπέρυθρου (Infra-Red Spectroscopy, IR) οφείλεται σε διεγέρσεις δόνησης, τάσεως και κάμψεως των δεσμών, οι οποίες γίνονται στη βασική στάθμη ηλεκτρονικής ενέργειας. Για να εμφανιστεί απορρόφηση στο υπέρυθρο, πρέπει το μόριο κατά τη διάρκεια της δόνησής του να παρουσιάζει μεταβολή της διπολικής του ροπής.

Οι βασικές δονήσεις ενός μορίου διαίρονται σε **δονήσεις τάσεως**, ν (stretching vibrations) και **δονήσεις κάμψεως ή παραμόρφωσης**, δ (bending vibrations), εντός ή εκτός επιπέδου. Μία περαιτέρω διαίρεση αποτελούν οι **συμμετρικές (s)**, **ασύμμετρες (as)** και **εκφυλισμένες** διεγέρσεις, δηλαδή συγκεκριμένες διεγέρσεις που, επειδή απορροφούν στην ίδια συχνότητα με κάποια άλλη, δίνουν μόνο μία ταινία απορρόφησης.

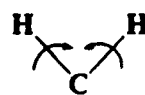
Σε ένα μη γραμμικό μόριο n ατόμων, ο αριθμός των βασικών δονήσεων είναι $3n - 6$. Μία σχηματική παράσταση των προαναφερθέντων δονήσεων που αφορά ενδεικτικά στην περίπτωση της μεθυλενικής ομάδας CH_2 έχει ως εξής:



Ασύμμετρη
δόνηση τάσης
 ν_{as} 2950 cm^{-1}



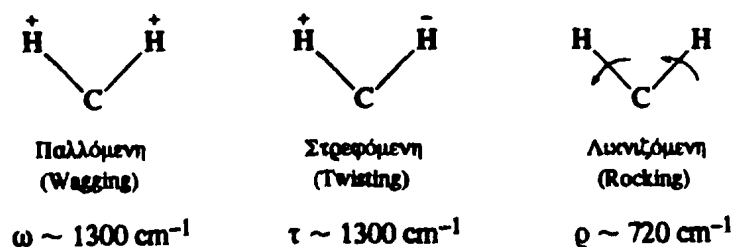
Συμμετρική
δόνηση τάσης
 ν_s 2850 cm^{-1}



Δόνηση κάμψης
(Ψαλιδοειδής)
 δ 1450 cm^{-1}

Εκτός όμως από τις βασικές, υπάρχουν και άλλες δονήσεις κάμψεως, κυρίως εκτός του επιπέδου του μορίου:



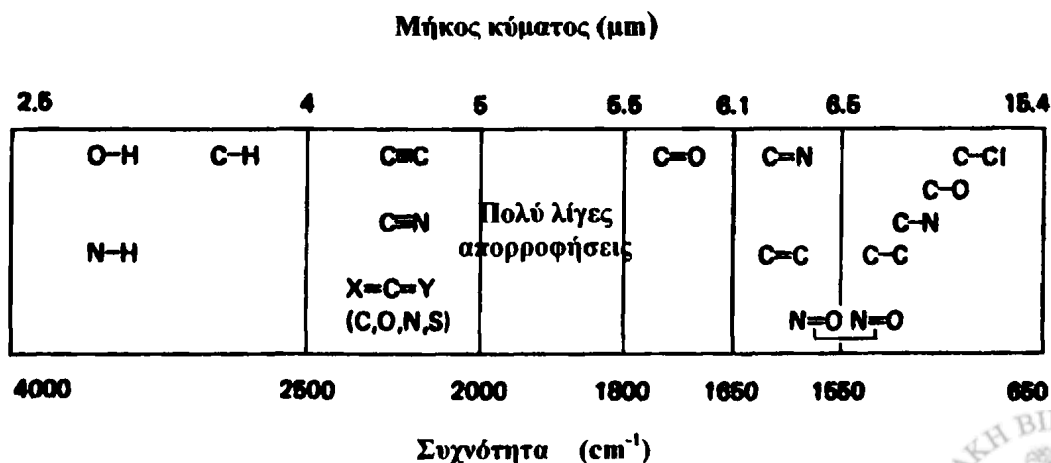


Τα σύμβολα + και - δηλώνουν δονήσεις κάθετες, πάνω και κάτω από το επίπεδο του μορίου, ενώ το βέλος δηλώνει κάμψη στο επίπεδο του μορίου.

Οι πλέον χρήσιμες δονήσεις για την αποτίμηση ενός φάσματος είναι αυτές που περιέχουν ένα μόνο δεσμό του μορίου. Οι σκελετικές δονήσεις ενός μορίου είναι χαρακτηριστικές του μορίου ως συνόλου. Γίνονται σε σχετικά χαμηλή ενέργεια, κάτω των 1500 cm^{-1} και, εν γένει, δεν μπορούν να αποδοθούν σε βασικές δονήσεις. Συχνά εμφανίζονται, επίσης, υπερτονικές (overtone) και συνδυαστικές (combinational) δονήσεις, που δεν μπορούν να αποδοθούν σε συγκεκριμένη δόνηση. Είναι μικρής έντασης και μικρής διαγνωστικής αξίας.

Μία ειδική περίπτωση είναι ο συντονισμός Fermi (Fermi resonance), όπου μία δόνηση υπερτονική ή συνδυασμού συμπίπτει με μία βασική δόνηση, οπότε οι δύο δονήσεις μετακινούνται και εμφανίζονται δύο ταινίες παρόμοιας έντασης, μη αποδιδόμενες σε συγκεκριμένη δόνηση.

Οι απορροφήσεις διαφόρων χαρακτηριστικών ομάδων με ιδιαίτερη διαγνωστική σημασία στην Οργανική Χημεία κατατάσσονται στις παρακάτω τέσσερις κυρίως περιοχές, οι οποίες φαίνονται στο Σχήμα 6.



Σχ. 6. Γενική κατάταξη των απορροφήσεων τάσεως χαρακτηριστικών λειτουργικών ομάδων με ιδιαίτερη διαγνωστική σημασία στην Οργανική Χημεία.



Στην περιοχή άνω των 1500 cm^{-1} απορροφούν οι περισσότερες χαρακτηριστικές ομάδες, όπως O-H, N-H, C-H, C=O κ.α. (δονήσεις τάσεως).

Όσο μικρότερα είναι τα ατομικά βάρη των ατόμων των δεσμών, τόσο σε υψηλότερες συχνότητες απορροφούν. Επίσης, όσο ισχυρότερος είναι ο δεσμός μεταξύ των ατόμων, τόσο μεγαλύτερες οι συχνότητες απορρόφησης, π.χ. $\text{C}=\text{O} > \text{C}-\text{O}$, $\text{C}=\text{C} > \text{C}-\text{C}$ κ.α.

Η συχνότητα δόνησης ενός διατομικού μορίου A-B με ατομικές μάζες m_A και m_B αντίστοιχα δίνεται από την εξίσωση:

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{f}{\mu}} \quad (37)$$

όπου, f , η σταθερά ισχύος (force constant) του δεσμού σε dynes cm^{-1} και μ , η ανηγμένη μάζα:

$$\frac{1}{\mu} = \frac{1}{m_A} + \frac{1}{m_B} \quad \text{ή} \quad \mu = \frac{m_A m_B}{m_A + m_B} \quad (38)$$

Οι δονήσεις κάμψεως αφορούν μόνο μεταβολές στις γωνίες των δεσμών (όχι στα μήκη αυτών) και εμφανίζονται σε χαμηλότερες συχνότητες, συνήθως κάτω των 1500 cm^{-1} .

Ακολουθώς, γίνεται αναφορά σε ορισμένες χαρακτηριστικές ομάδες, πού και πώς απορροφούν, οι οποίες σχετίζονται άμεσα με την παρούσα εργασία καθώς επίσης και στους παράγοντες εκείνους που επηρεάζουν την ακριβή θέση των δονήσεών τους στο φάσμα υπερύθρου.

3.1.1. ΔΟΝΗΣΕΙΣ ΤΑΣΕΩΣ ΤΟΥ ΥΔΡΟΞΥΛΙΟΥ (-OH)

Από φασματοσκοπικής άποψης, οι ενώσεις που φέρουν υδροξύλιο μπορούν να θεωρηθούν ως παράγωγα του νερού, τα οποία προκύπτουν με αντικατάσταση ενός ατόμου υδρογόνου από έναν οργανικό υποκαταστάτη.

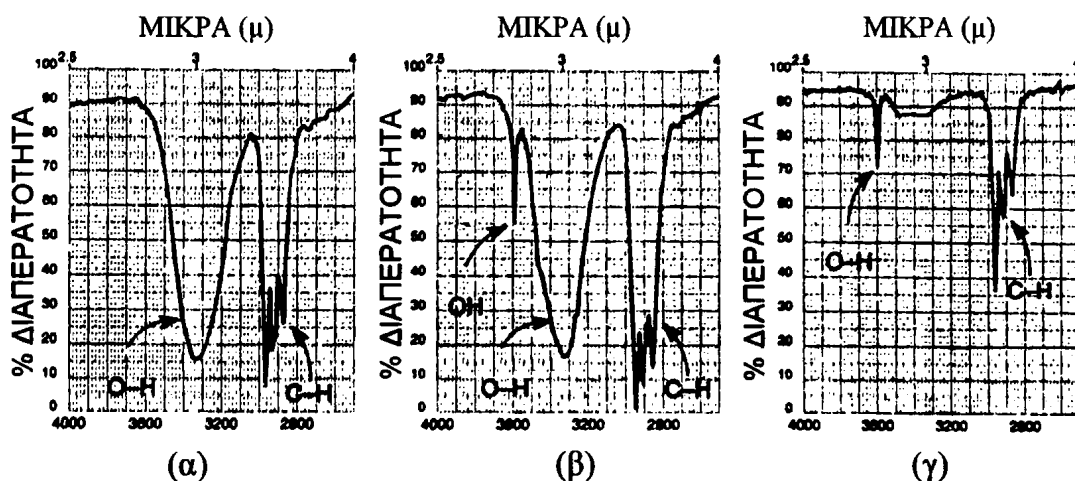
Το μόριο του νερού εμφανίζει τρεις κανονικές δονήσεις, δύο δονήσεις τάσεως εκ των οποίων μία συμμετρική στους 3652 cm^{-1} , και μία αντισυμμετρική στους 3756 cm^{-1} και μία δόνηση κάμψεως στους 1592 cm^{-1} . Η τελευταία αποτελεί ουσιαστικά δόνηση παραμόρφωσης της γωνίας H-Ö-H.

Η δόνηση τάσεως της ελεύθερης ομάδας -OH μιας αλκοόλης ή μιας φαινόλης



εμφανίζεται στην περιοχή του φάσματος μεταξύ 3550 και 3650 cm^{-1} . Για να καταστεί, όμως, δυνατή η παρατήρησή της, θα πρέπει η αλκοόλη να βρίσκεται είτε σε αέρια κατάσταση είτε σε μορφή πολύ αραιού διαλύματος (συγκέντρωση μικρότερη των 5 mM) σε μη πολικούς διαλύτες (π.χ. CCl_4 , CS_2).

Η ομάδα του υδροξυλίου, παρουσιάζει ισχυρή τάση σχηματισμού δεσμών υδρογόνου. Η επίδραση των σχηματιζόμενων δεσμών υδρογόνου στη δόνηση τάσεως της ομάδας OH είναι ιδιαίτερα σημαντική. Το συζευγμένο OH με διαμοριακούς ή ενδομοριακούς δεσμούς υδρογόνου, δίνει απορρόφηση στην περιοχή $3550\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$, η οποία είναι ιδιαίτερα ισχυρή και ευρεία (Σχήμα 7).



Σχ. 7. Επίδραση δεσμών υδρογόνου στη δόνηση τάσεως της ομάδας OH αλκοόλης ως συνάρτηση της συγκέντρωσης: (α) καθαρό υγρό, (β) αραιό διάλυμα, (γ) εξαιρετικά αραιό διάλυμα.

Σε πιο πυκνά διαλύματα, η κορυφή του ελεύθερου OH ελαττώνεται, δίνοντας τη θέση της, σταδιακά, σε μία νέα κορυφή σε χαμηλότερη συχνότητα. Έτσι, σε πυκνά διαλύματα και ακόμα περισσότερο σε στερεά κατάσταση, η δόνηση τάσεως του ελεύθερου υδροξυλίου (νOH) δεν εμφανίζεται διόλου. Αντιθέτως, παρατηρείται μία νέα κορυφή στην περιοχή των 3300 cm^{-1} , κατά μέσο όρο, πολύ πιο πλατειά και έντονη. Το εύρος αυτής της ταινίας οφείλεται σε ένα μεγάλο αριθμό μη διαχωρίσιμων κορυφών, οι οποίες προκύπτουν από ένα πλήθος διαφορετικών αλληλεπιδράσεων των μορίων της αλκοόλης. Σε πολικούς διαλύτες η απορρόφηση της υδροξυλομάδας επηρεάζεται από την αλληλεπίδραση των μορίων της αλκοόλης με τα μόρια του διαλύτη. Η κορυφή

αυτής της ευρείας ταινίας εξαρτάται από τη συγκέντρωση της αλκοόλης, τη φύση του διαλύτη, τη θερμοκρασία και άλλους παράγοντες. Η συγκέντρωση της αλκοόλης παίζει καθοριστικό ρόλο στο σχηματισμό διμερών ή πολυμερών κάτι που έχει ως αποτέλεσμα τη μετατόπιση της ταινίας απορρόφησης προς χαμηλότερες συχνότητες. Η μετατόπιση σε χαμηλότερες συχνότητες της δόνησης τάσεως του συζευγμένου OH οφείλεται στην εξασθένιση της ισχύος f του δεσμού κατά το σχηματισμό ενδομοριακών και διαμοριακών δεσμών υδρογόνου καθώς επίσης και σε αλληλεπιδράσεις μεταξύ της αλκοόλης και του διαλύτη. Βεβαίως, σε περιπτώσεις σχηματισμού ενδομοριακών δεσμών υδρογόνου, μπορεί το διάλυμα της αλκοόλης ή της φαινόλης να είναι πολύ αραιό, αφού οι ενδομοριακοί δεσμοί υδρογόνου σχηματίζονται ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση της ένωσης. Η μελέτη αυτών των ταινιών απορρόφησης είναι πολύ σημαντική στην επίλυση προβλημάτων που σχετίζονται με δομικά χαρακτηριστικά των μορίων.

3.1.2. ΔΟΝΗΣΕΙΣ ΤΑΣΕΩΣ ΤΩΝ ΑΜΙΝΩΝ

Οι πρωτοταγείς και οι δευτεροταγείς αμίνες αναγνωρίζονται στα φάσματα υπερύθρου από τις δονήσεις των ομάδων NH_2 και NH . Ο ηλεκτραρνητικός χαρακτήρας του ατόμου του αζώτου προκαλεί πόλωση αυτών των δεσμών. Στην περιοχή δόνησης του δεσμού NH ($3050\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$), οι πρωτοταγείς αμίνες εμφανίζουν δύο κορυφές, οι δευτεροταγείς μόνο μία ενώ οι τριτοταγείς δεν απορροφούν σε αυτήν την περιοχή.

Οι δεσμός αζώτου-υδρογόνου, NH των αμινών εμφανίζει παρεμφερή συμπεριφορά με αυτή της ομάδας του υδροξυλίου, OH . Αυτό έχει ως αποτέλεσμα σε ορισμένες περιπτώσεις την αλληλοεπικάλυψη των απορροφήσεων των δύο αυτών ομάδων με αποτέλεσμα να καθίσταται δύσκολη η ταυτοποίησή τους. Καθώς το άτομο του αζώτου είναι λιγότερο ηλεκτραρνητικό από το άτομο του οξυγόνου, οι δεσμοί υδρογόνου του τύπου $\text{N-H}\cdots\text{N}$ που δημιουργούνται είναι πιο ασθενείς με συνέπεια να προκαλούν μικρότερες μετατοπίσεις των απορροφήσεων NH . Σε σχέση με τις δονήσεις τάσεως της ομάδας του υδροξυλίου, οι δονήσεις τάσεως της ομάδας NH εμφανίζονται σε χαμηλότερες συχνότητες και μπορούν εύκολα να ταυτοποιηθούν μόνο σε περιπτώσεις πολύ αραιών διαλυμάτων.

Οι πρωτοταγείς αμίνες εμφανίζουν δύο κορυφές στην περιοχή μεταξύ 3500 και 3300 cm^{-1} , που οφείλονται στην ασύμμετρη και στη συμμετρική δόνηση τάσεως, νNH ,



της ομάδας -NH_2 , στους 3500 και 3400 cm^{-1} , αντίστοιχα. Η συχνότητα δόνησης της ομάδας -NH_2 εξαρτάται από τη φύση του οργανικού τμήματος R της εξεταζόμενης αμίνης RNH_2 . Έτσι, οι αλειφατικές πρωτοταγείς αμίνες απορροφούν σε χαμηλότερες συχνότητες και λιγότερο ισχυρά από τις αρωματικές. Πάντως και στις αλειφατικές και στις αρωματικές αμίνες παρατηρείται μία έντονη διαφοροποίηση της ισχύος μεταξύ των συμμετρικών και ασύμμετρων δονήσεων τάσεως νNH της ομάδας -NH_2 , με τις κορυφές που οφείλονται στις ασύμμετρες δονήσεις τάσεως να εμφανίζονται σε υψηλότερες συχνότητες. Το φαινόμενο αυτό εξηγείται λόγω διαφοροποίησης της διπολικής ροπής, καθώς η ομάδα -NH_2 δονείται ασύμμετρα με δυνατότητα συμμετοχής των ελεύθερων ηλεκτρονίων του αζώτου.

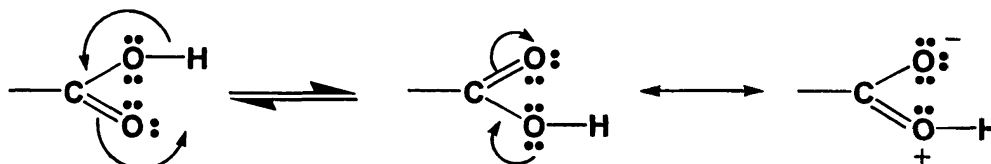
Οι δευτεροταγείς αμίνες του τύπου R-NH-R , σε πολύ αραιά διαλύματα, εμφανίζουν μία μοναδική ταινία απορρόφησης μεταξύ 3300 και 3550 cm^{-1} , η οποία οφείλεται στη δόνηση τάσεως του δεσμού αζώτου-υδρογόνου, νNH . Σε πυκνά διαλύματα, εμφανίζεται μία δεύτερη ταινία σε πιο χαμηλή συχνότητα, η οποία οφείλεται στη δημιουργία δεσμών υδρογόνου. Η διαφορά πάντως των δύο κορυφών που αποδίδονται στη δόνηση τάσεως της ελεύθερης και της δεσμευμένης μέσω δεσμών υδρογόνου αμίνης, σε καμία περίπτωση δεν υπερβαίνει τους 100 cm^{-1} . Η διαφορά μάλιστα αυτή, είναι της ίδιας τάξης μεγέθους με τις μετατοπίσεις που παρατηρούνται στην εν λόγω δόνηση και που προκαλούνται από αλλαγή του διαλύτη ή της φυσικής κατάστασης, χωρίς αυτό να συνεπάγεται απαραίτητα δημιουργία δεσμών υδρογόνου. Πολλές μελέτες έχουν γίνει σχετικά με την ταυτοποίηση των φασμάτων υπερύθρου των αμινών, και μάλιστα με την αναγνώριση των κορυφών που οφείλονται σε διαμοριακούς δεσμούς υδρογόνου του τύπου $\text{N-H}\cdots\text{N}$. Η μικρή αυτή τάση συμμετοχής σε δεσμούς υδρογόνου των αμινών οφείλεται στη σχετικά μικρότερη πόλωση του δεσμού NH απ' ότι του OH .

Όταν μέσα στο ίδιο μόριο της αμίνης υπάρχει πλησίον της αμινομάδας και κάποια ομάδα ικανή να δράσει ως δέκτης πρωτονίων, όπως για παράδειγμα οι ομάδες CO , COOR και NO_2 , ευνοείται ο σχηματισμός ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου. Ο δεσμός αυτός, δεν είναι, εν γένει, ιδιαίτερα ισχυρός, με αποτέλεσμα η διάκριση της δόνησης τάσεως της αμινομάδας που συμμετέχει στο συγκεκριμένο δεσμό να μην είναι εύκολη. Αντίθετα, η επίδραση του ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου στην ομάδα που δρα ως δέκτης πρωτονίου είναι πιο έντονη γεγονός που αντικατοπτρίζεται στην αντίστοιχη περιοχή του φάσματος υπερύθρου.



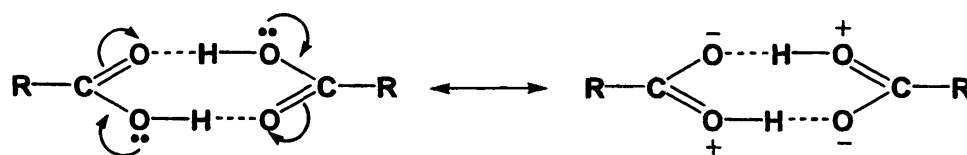
3.1.3. ΔΟΝΗΣΕΙΣ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ ΤΟΥ ΚΑΡΒΟΞΥΛΙΟΥ (-COOH)

Τα οργανικά οξέα του γενικού τύπου, $R\text{-COOH}$, χαρακτηρίζονται από τις δονήσεις της καρβοξυλικής ομάδας, η οποία απαρτίζεται από μία καρβονυλική, $C=O$ και μία υδροξυλική, $-OH$ ομάδα. Οι δύο αυτές χαρακτηριστικές ομάδες μπορούν να ταυτοποιηθούν χωριστά στο υπέρυθρο φάσμα. Εξαιτίας της ταυτομέρειας και του συζυγιακού φαινομένου που λαμβάνει χώρα, εμφανίζονται σημαντικές τροποποιήσεις στη φύση των δεσμών $C=O$ και $C-O-H$.

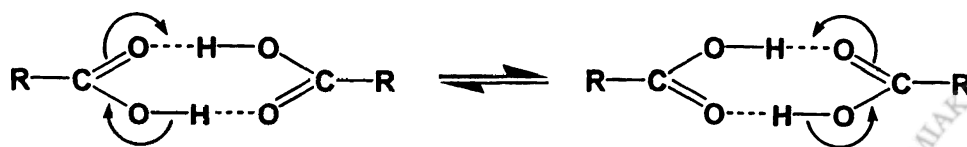


Ως εκ τούτου, κάνουν την εμφάνισή τους νέες χημικές και φασματοσκοπικές ιδιότητες, χαρακτηριστικές της λειτουργικής ομάδας του καρβοξυλίου. Όσον αφορά στο $-OH$, συγκρίνοντας τη δόνηση τάσεως της ομάδας $-OH$ του καρβοξυλίου με την αντίστοιχη δόνηση των κορεσμένων αλκοολών, παρατηρείται ότι εμφανίζεται περίπου 100 cm^{-1} χαμηλότερα. Δηλαδή, η δόνηση ν_{OH} του $-COOH$ των καρβοξυλικών οξέων εμφανίζεται στους 3520 cm^{-1} ενώ η αντίστοιχη δόνηση των κορεσμένων αλκοολών εμφανίζεται στους 3650 cm^{-1} .

Ως γνωστόν, η καρβοξυλική ομάδα εμφανίζει μία έντονη τάση δημιουργίας δεσμών υδρογόνου, σχηματίζοντας συχνά διμερή μόρια του τύπου:



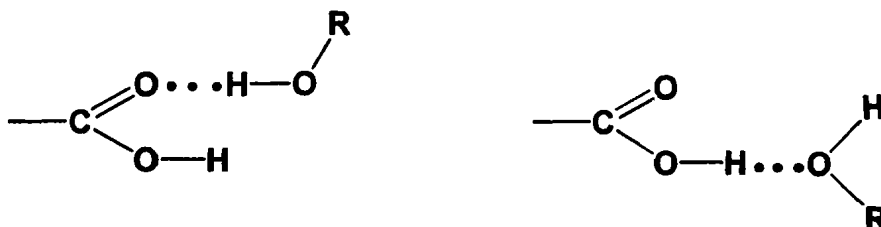
Φαινόμενο Συντονισμού



Φαινόμενο Ταυτομέρειας



Στην περίπτωση των διμερών, η δόνηση τάσεως, ν_{OH} , της καρβοξυλικής ομάδας οργανικών οξέων είναι εξαιρετικά ευρεία και εμφανίζεται στην περιοχή των 3000-2500 cm^{-1} , όπου όμως συνεισφέρουν και άλλες μορφές αλληλεπίδρασης της καρβοξυλικής ομάδας. Σε κρυσταλλική μορφή ή σε πυκνά διαλύματα τα καρβοξυλικά οξέα εμφανίζονται αποκλειστικά ως διμερή. Τα μονομερή δύνανται να ταυτοποιηθούν είτε σε πολύ αραιά διαλύματα, όπου η συγκέντρωση του οξέος σε μη πολικό διαλύτη δεν υπερβαίνει τα 10 mM, είτε σε αέρια κατάσταση. Όταν τα οργανικά οξέα διαλυθούν σε πολικούς διαλύτες σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου με τα μόρια του διαλύτη, οι οποίοι όμως, συγκριτικά, είναι πιο ασθενείς από τους δεσμούς υδρογόνου που σχηματίζονται στα διμερή μεταξύ των δύο καρβοξυλικών ομάδων. Κατά συνέπεια, οι μετατοπίσεις των δονήσεων είναι μικρότερες από τις αντίστοιχες στην περίπτωση των διμερών. Οι δεσμοί αυτοί υδρογόνου μπορούν να σχηματιστούν είτε με το οξυγόνο της ομάδας $\text{C}=\text{O}$ του καρβοξυλίου σε περίπτωση πρωτικού διαλύτη π.χ. ROH, είτε με την ομάδα $-\text{OH}$:



Όσον αφορά στο καρβονύλιο του $-\text{COOH}$, στην περίπτωση των κορεσμένων, αλειφατικών οργανικών οξέων, μπορεί να ταυτοποιηθεί η δόνηση τάσεως της ομάδας $\text{C}=\text{O}$, τόσο στην περίπτωση των μονομερών όσο και στην περίπτωση των διμερών/πολυμερών.

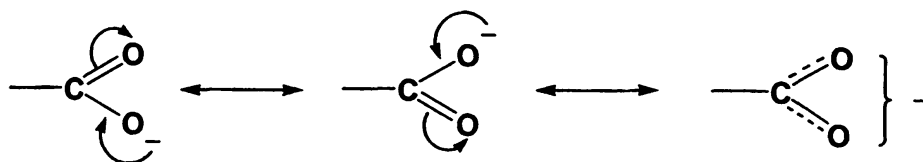
Στην περίπτωση των μονομερών, η ακριβής θέση της δόνησης ν_{CO} εξαρτάται τόσο από τη φύση του οξέος όσο και από τη φύση του διαλύτη. Εμφανίζεται περίπου στους 1790 cm^{-1} , εάν το οξύ βρίσκεται σε αέρια κατάσταση ή στους 1760 cm^{-1} εάν βρίσκεται σε κατάσταση πολύ αραιού διαλύματος και σε μη πολικούς διαλύτες όπως για παράδειγμα ο διθειάνθρακας (CS_2) ή ο τετραχλωράνθρακας (CCl_4). Σε διαλύματα με πολικούς πρωτικούς διαλύτες η δόνηση τάσεως εμφανίζεται χαμηλότερα εξαιτίας των δεσμών υδρογόνου που δημιουργούνται μεταξύ του καρβονυλίου και των μορίων του διαλύτη. Σε αλκοολικά, για παράδειγμα, διαλύματα των οργανικών οξέων οι

σχηματιζόμενοι δεσμοί υδρογόνου προκαλούν μία μετατόπιση της δόνησης τάσεως της ομάδας $C=O$ προς χαμηλότερες συχνότητες, της τάξης των 35 με 40 cm^{-1} .

Στην περίπτωση σχηματισμού διμερών, η δόνηση νCO εμφανίζει μία πολύ ισχυρή κορυφή γύρω στους $1710 \pm 10 \text{ cm}^{-1}$. Η θέση της συγκεκριμένης κορυφής μεταβάλλεται ανάλογα με τις πειραματικές συνθήκες. Μεταβαίνοντας, για παράδειγμα, από την υγρή στην κρυσταλλική κατάσταση είναι δυνατόν να παρατηρηθεί μία μετατόπιση της κορυφής της τάξης των 10 με 26 cm^{-1} ή και περισσότερο, όπως συμβαίνει στη περίπτωση του οξικού οξέος όπου η αντίστοιχη μετατόπιση φτάνει τους 61 cm^{-1} .

Εκτός από την επίδραση του σχηματισμού δεσμών υδρογόνου θα πρέπει να αναφερθεί και η επίδραση υποκαταστατών, η οποία εξαρτάται από φαινόμενα όπως είναι το επαγωγικό (I) και το συζυγιακό (R). Στα αρωματικά οργανικά οξέα, για παράδειγμα, η συχνότητα απορρόφησης νCO εμφανίζεται σε χαμηλότερες τιμές σε σχέση με τη συχνότητα απορρόφησης των αλειφατικών. Αυτό οφείλεται στη συζυγία του αρωματικού δακτυλίου με το καρβονύλιο, η οποία επιφέρει ελάττωση στην τιμή της σταθεράς ισχύος f του δεσμού.

Η συχνότητα δόνησης του καρβονυλίου μεταβάλλεται κατά πολύ στην περίπτωση του καρβοξυλικού ιόντος $-COO^-$. Η ομάδα αυτή εμφανίζει μία ασύμμετρη δόνηση τάσεως, $\nu_{as}C=O$, μεταξύ 1550 και 1610 cm^{-1} και μία συμμετρική δόνηση τάσεως, $\nu_{sym}C=O$ μεταξύ 1300 και 1400 cm^{-1} . Η ταυτοποίηση της συμμετρικής δόνησης είναι σχετικά δύσκολη εξαιτίας του πλήθους άλλων δονήσεων που εμφανίζονται σε αυτήν την περιοχή. Η κορυφή της ασύμμετρης δόνησης τάσεως του καρβοξυλικού ανιόντος είναι πολύ ισχυρή λόγω του έντονου πολικού χαρακτήρα του:



Στην περίπτωση του βενζοϊκού νατρίου η ασύμμετρη και η συμμετρική δόνηση τάσεως του βενζοϊκού ανιόντος εμφανίζονται στα 1549 και 1415 cm^{-1} , αντίστοιχα.



3.1.4. ΔΟΝΗΣΕΙΣ ΤΑΣΕΩΣ ΤΟΥ ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΟΥ ΤΩΝ ΕΣΤΕΡΩΝ, ΤΩΝ ΑΛΟΓΟΝΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΑΝΥΔΡΙΤΩΝ ΤΩΝ ΚΑΡΒΟΞΥΛΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ

Οι εστέρες των κορεσμένων μονοκαρβοξυλικών οξέων (RCOOR'), σε υγρή κατάσταση, εμφανίζουν μία σταθερή απορρόφηση μεταξύ 1735 και 1750 cm^{-1} , η οποία οφείλεται στη δόνηση τάσεως της ομάδας C=O . Η δόνηση αυτή, στην αέρια κατάσταση, μετατοπίζεται υψηλότερα, γύρω στους 1765 cm^{-1} . Σε διαλύματα, η ακριβής θέση της εν λόγω δόνησης εξαρτάται άμεσα από τη φύση του διαλύτη και εμφανίζεται μεταξύ 1735 και 1756 cm^{-1} . Η απορρόφηση των α,β -ακόρεστων και των βενζοϊκών εστέρων εμφανίζεται χαμηλότερα, στην περιοχή $1715\text{-}1730 \text{ cm}^{-1}$.

Τα αλογονίδια των οξέων (RCOX) εμφανίζουν μία ισχυρή απορρόφηση για το καρβονύλιο στην περιοχή $1785\text{-}1815 \text{ cm}^{-1}$, ενώ τα συζυγιακά χαμηλότερα, στην περιοχή $1770\text{-}1800 \text{ cm}^{-1}$.

Οι ανυδρίτες των οξέων ($\text{RCOOCOR}'$), εμφανίζουν δύο απορροφήσεις του C=O , μία ασύμμετρη και μία συμμετρική, στους 1818 και 1750 cm^{-1} , αντίστοιχα.

3.1.5. ΔΟΝΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΑΜΙΔΙΩΝ

Είναι γνωστό, ότι εξαιτίας του άπεντοπισμού των p -ηλεκτρονίων του αζώτου, ο αμιδικός δεσμός C-N θεωρείται επίπεδος και εμφανίζει χαρακτήρα διπλού δεσμού με αποτέλεσμα η αναμενόμενη ελεύθερη περιστροφή γύρω από τον εν λόγω δεσμό να παρουσιάζει δυσκολία. Έτσι, καθίσταται δυνατή η εμφάνιση *cis-trans* ισομερισμού και η σαφής διάκριση των δύο ισομερών μορφών.

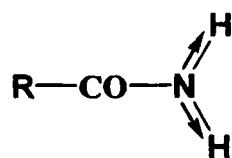
Οι χαρακτηριστικές απορροφήσεις των αμιδίων είναι αυτές που οφείλονται στις δονήσεις των ομάδων NH , C=O και C-N (σε πρωτοταγή και δευτεροταγή αμίδια). Οι κορυφές των συγκεκριμένων δονήσεων εμφανίζονται σε τρεις περιοχές του φάσματος: $3050\text{-}3550$, $1470\text{-}1700$ και $1300\text{-}1400 \text{ cm}^{-1}$, αντίστοιχα, με τις δύο πρώτες να παρουσιάζουν ιδιαίτερο διαγνωστικό ενδιαφέρον κατά τη διερεύνηση δομικών στοιχείων.

Οι κορυφές στην περιοχή των 3000 cm^{-1} οφείλονται στις δονήσεις τάσεως των δεσμών NH των ομάδων -NH_2 και -NHR .

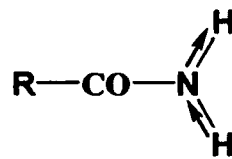
Τα πρωτοταγή αμίδια συμπεριφέρονται όπως οι πρωτοταγείς αμίνες και



εμφανίζουν, σε αραιά διαλύματα, δύο απορροφήσεις στην περιοχή του φάσματος μεταξύ 3415 και 3530 cm^{-1} , που αντιστοιχούν στις συμμετρικές (I) και ασύμμετρες (II) δονήσεις τάσεως της ομάδας -NH_2 :



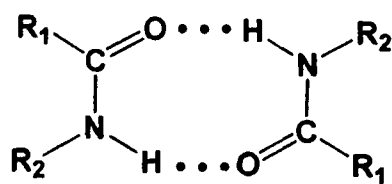
(I)



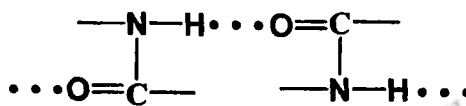
(II)

Σε πυκνά διαλύματα ή σε στερεά κατάσταση ο σχηματισμός δεσμών υδρογόνου προκαλεί μετατόπιση των απορροφήσεων που οφείλονται στις δονήσεις τάσεως, νNH . Έτσι, σε πυκνά διαλύματα απλών αμιδίων σε χλωροφόρμιο, οι κορυφές απορρόφησης της ελεύθερης ομάδας -NH_2 στους 3530 και 3415 cm^{-1} μετατοπίζονται και δίνουν δύο ισχυρές κορυφές στους 3400 και 3180 cm^{-1} περίπου. Οι απορροφήσεις αυτές είναι χαρακτηριστικές των αμιδίων που σχηματίζουν διαμοριακούς δεσμούς υδρογόνου.

Τα πρωτοταγή αμίδια απορροφούν, επίσης, πολύ ισχυρά στην περιοχή μεταξύ 1650 και 1715 cm^{-1} (νCO). Η ακριβής θέση και η ένταση της συγκεκριμένης κορυφής, εξαρτάται άμεσα από τη φύση του διαλύτη και τη συγκέντρωση του αμιδίου στο διάλυμα. Σε αραιά διαλύματα εμφανίζεται μεταξύ 1675 και 1700 cm^{-1} ενώ σε πυκνά διαλύματα ή σε στερεά κατάσταση μεταξύ 1650 και 1670 cm^{-1} . Η μετατόπιση αυτή οφείλεται στη συμμετοχή της καρβονυλικής ομάδας σε δεσμούς υδρογόνου, οι οποίοι μπορεί να δημιουργούνται είτε μεταξύ αμιδίου και μορίων διαλύτη, είτε μεταξύ μορίων αμιδίου δημιουργώντας κυκλικά διμερή (I), τα οποία ευνοούνται κατά την αλληλεπίδραση *cis* ισομερών ή/και πολυμερή (II), τα οποία ευνοούνται κατά την αλληλεπίδραση κυρίως *trans* ισομερών. Τα *cis* ισομερή θα μπορούσαν, ίσως, να δώσουν γραμμικά πολυμερή, αλλά όμως σε μικρότερο ποσοστό αφού τα διμερή είναι σταθερότερα.



(I)



(II)



Τα δευτεροταγή αμίδια, σε αραιά διαλύματα, εμφανίζουν μία μόνο κορυφή στην περιοχή δόνησης της ομάδας NH, η οποία οφείλεται σε δόνηση τάσεως της ελεύθερης ομάδας NH. Τα *N*-αλκυλαμίδια, σε διάλυμα χλωροφορμίου απορροφούν μεταξύ 3400 και 3470 cm^{-1} . Η ένταση της κορυφής, που οφείλεται στην ελεύθερη ομάδα NH, ελαττώνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης του αμιδίου στο διάλυμα. Σε πυκνά διαλύματα και σε στερεά κατάσταση, αυτή η κορυφή εξαφανίζεται, ενώ δύο άλλες κάνουν την εμφάνισή τους στους 3280-3330 και 3060-3100 cm^{-1} που οφείλονται στους δεσμούς υδρογόνου που σχηματίζονται μεταξύ των μορίων ως πολυμερή (κυρίως *trans*) και ως διμερή (*cis*), αντίστοιχα.

Η δόνηση τάσεως της ομάδας του καρβονυλίου, $\nu\text{C}=\text{O}$, στα δευτεροταγή αμίδια του τύπου R-CONH-R', εξαρτάται από τη φύση των υποκαταστατών R και R', από τη συγκέντρωση του αμιδίου στο εκάστοτε διάλυμα και από το διαλύτη. Στη στερεά κατάσταση η συγκεκριμένη δόνηση εμφανίζεται σε χαμηλότερες συχνότητες εξαιτίας της δημιουργίας δεσμών υδρογόνου, περίπου στην περιοχή 1640 cm^{-1} , ενώ σε αραιά διαλύματα στην περιοχή 1680-1700 cm^{-1} .

Τα τριτοταγή, τέλος, αμίδια εμφανίζουν μία μόνο κορυφή απορρόφησης, αυτή της δόνησης τάσεως της ομάδας του καρβονυλίου, στην περιοχή μεταξύ 1615 cm^{-1} και 1680 cm^{-1} . Η συχνότητα εμφάνισης της κορυφής αυτής, εξαρτάται και σε αυτήν την περίπτωση άμεσα από τη φύση του διαλύτη. Το γεγονός αυτό, έχει ως αποτέλεσμα, τη μετατόπισή της προς χαμηλότερες συχνότητες, όταν ο διαλύτης είναι πρωτικός και, ως εκ τούτου, παρουσιάζει την τάση σχηματισμού δεσμών υδρογόνου με το αμίδιο. Σημαντικό επίσης ρόλο, στη δόνηση του καρβονυλίου, έχουν και πάλι οι υποκαταστάτες, τόσο του ατόμου του άνθρακα όσο και του ατόμου του αζώτου του αμιδικού δεσμού, λόγω ηλεκτρονιακών φαινομένων όπως το επαγωγικό ή το συζυγιακό, που δύνανται να προκαλούν κατά περίπτωση.

Η μελέτη του αμιδικού δεσμού είναι πολύ σημαντική στην περίπτωση της έρευνας για τη διεκρίνιση της δομής πεπτιδίων και πρωτεϊνών. Η ταυτοποίηση των δονήσεων των αμιδίων, που προέρχονται από τη απορρόφηση στο υπέρυθρο, έχει γίνει αντικείμενο πλήθους μελετών. Η δυσκολία της ακριβούς ταυτοποίησης των δονήσεων της αμιδικής ομάδας εκπορεύεται από την ποικιλία των δομών λόγω σχηματισμού πολλαπλών δεσμών υδρογόνου.



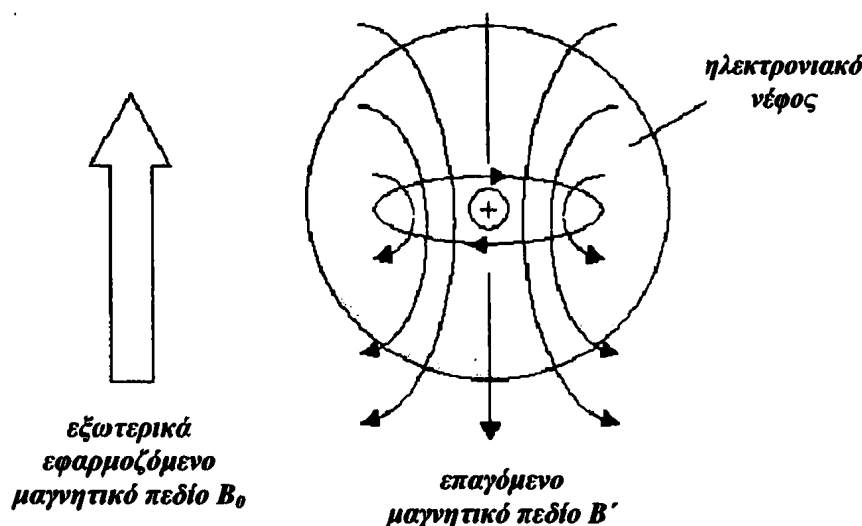
4. ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ

4.1. ΘΕΜΕΛΙΩΔΕΙΣ ΕΝΝΟΙΕΣ

Οι πυρήνες πρωτονίου και άνθρακα-13, αν και είναι οι πλέον χρήσιμοι διότι επιτρέπουν τη λεπτομερή ταυτοποίηση των ανθρακικών αλυσίδων των οργανικών ενώσεων, δεν είναι οι μόνοι που εκδηλώνουν το φαινόμενο του πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού. Οι περισσότεροι πυρήνες έχουν μαγνητικές ιδιότητες όπως το άζωτο-14 και 15, το φθόριο-19, ο φώσφορος-31 κ.λ.π. και εμφανίζουν πυρηνικό spin I που παίρνει τιμές 0, 1/2, 1, 3/2, σε μονάδες $h/2\pi$, όπου h είναι η σταθερά του Planck ($h = 6,62618 \cdot 10^{-27}$ erg·s), ανάλογα με τη φύση του κάθε πυρήνα.

Ένας πυρήνας, εν γένει, δεν υφίσταται απομονωμένος, αλλά περιβάλλεται από ηλεκτρόνια. Έτσι, όταν ένα άτομο βρεθεί εντός ενός εξωτερικά εφαρμοζόμενου μαγνητικού πεδίου έντασης B_0 , τα ηλεκτρόνά του, ως κινούμενα φορτισμένα σωματίδια με γωνιακή ταχύτητα ω_i , υπόκεινται στους νόμους της ηλεκτρομαγνητικής επαγωγής. Το αποτέλεσμα του εξωτερικά εφαρμοζόμενου μαγνητικού πεδίου είναι να υπερθέτει πάνω στην τροχιακή κίνηση των ηλεκτρονίων που περιβάλλουν τον πυρήνα, μία επιπλέον κίνηση γύρω από τον άξονα του εφαρμοζόμενου πεδίου. Ένα τέτοιο ρεύμα προκαλεί ένα τοπικό μαγνητικό πεδίο, έντασης B' , στον πυρήνα που αντιτίθεται στο εφαρμοζόμενο εξωτερικό πεδίο (Σχήμα 8).





Σχ. 8. Ένα εξωτερικά εφαρμοζόμενο μαγνητικό πεδίο έντασης B_0 προκαλεί κυκλοφορία των ηλεκτρονίων ενός ατόμου γύρω από τον άξονα του εφαρμοζόμενου πεδίου. Αυτή η κίνηση επάγει ένα δεύτερο μαγνητικό πεδίο στον πυρήνα, έντασης B' , το οποίο αντιτίθεται στο B_0 . (Gerothanassis *et al.*, 2002).

Το μέγεθος του επαγόμενου πεδίου, B' , είναι μέγιστο όταν το ηλεκτρονιακό νέφος είναι συμμετρικό και ανάλογο του εφαρμοζόμενου μαγνητικού πεδίου B_0 , ήτοι όταν:

$$B' = -\frac{e^2 B_0}{4\pi m c} \quad (39)$$

Έτσι, το αποτελεσματικό (effective) μαγνητικό πεδίο, B_{eff} που επιδρά στον πυρήνα είναι τελικά, μικρότερο από το εφαρμοζόμενο εξωτερικό. Το φαινόμενο αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι τα ηλεκτρόνια προκαλούν προστασία του πυρήνα κατά έναν παράγοντα σB_0 , όπου σ , ο παράγοντας χημικής μετατόπισης (chemical shift) ή η σταθερά πυρηνικής προστασίας ή προάσπισης (screening constant) ενός ατόμου. Η σταθερά προστασίας είναι μέγεθος αδιάστατο, οι δε τιμές της είναι της τάξης των 10^{-6} - 10^{-5} (Gerothanassis *et al.*, 2002 και οι αναφορές εντός αυτής).

Έτσι, στην ουσία, η εξίσωση του συντονισμού έχει τη μορφή:

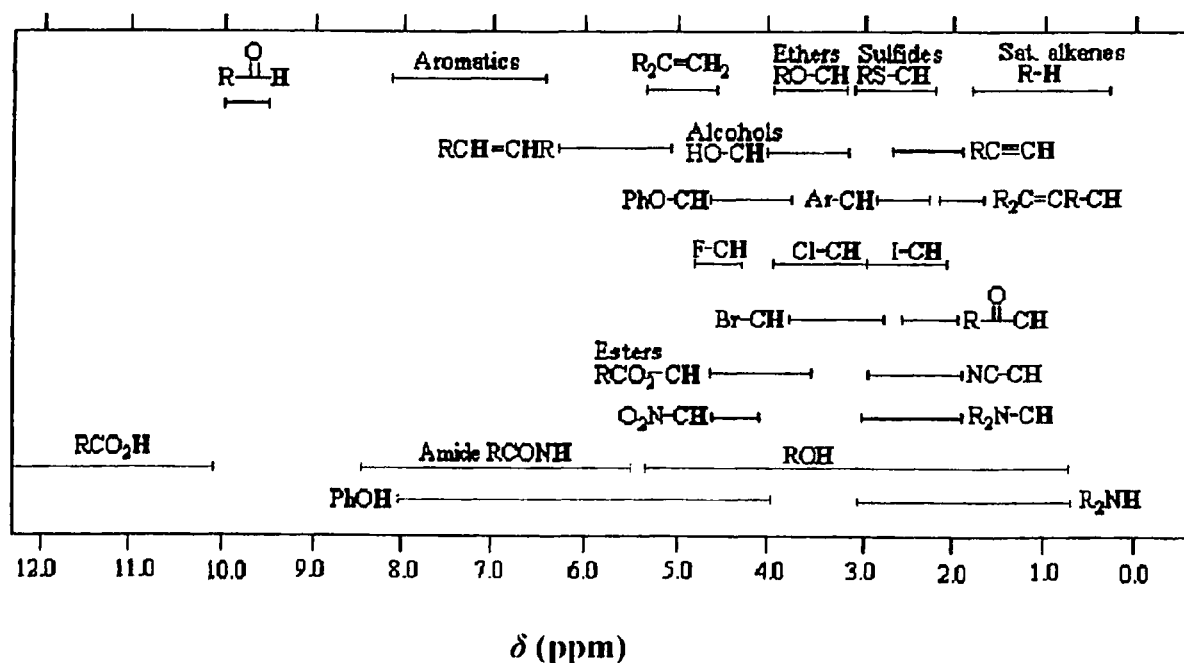
$$h\nu = \frac{\mu B_0 (1 - \sigma)}{I} \quad (40)$$

ή

$$B_{\text{effective}} = B_0 (1 - \sigma) \quad (41)$$



Διαφοροποιήσεις της σταθεράς προστασίας ενός πυρήνα που ανήκει σε μια χαρακτηριστική ομάδα, μπορούν να συμβούν είτε μέσω ενδομοριακών αλληλεπιδράσεων όπως είναι για παράδειγμα η διαφοροποίηση στην πυκνότητα του φορτίου ή στην πολικότητα του δεσμού και τα κυκλικά αρωματικά ρεύματα, είτε σε διαμοριακές αλληλεπιδράσεις όπως τα φαινόμενα επιδιалύτωσης. Οι σταθερές προάσπισης της πρωτονιακής φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR- ^1H) είναι ιδιαίτερα ευαίσθητες σε πολλές ατομικές και μοριακές ηλεκτρονικές επιδράσεις και ως εκ τούτου δύνανται να χρησιμοποιηθούν για τη μελέτη επιδράσεων του διαλύτη επί της *cis-trans* αλληλομετατροπής αμιδικών και πεπτιδικών ομάδων. Χαρακτηριστικά παρατίθενται στο Σχήμα 9 οι χημικές μετατοπίσεις του σήματος συντονισμού του πρωτονιακού πυρήνα διαφόρων ενώσεων. Ωστόσο, σε πολλές περιπτώσεις οι διαμοριακές επιδράσεις πάνω στις πρωτονιακές χημικές μετατοπίσεις είναι της ίδιας τάξης μεγέθους με τις ενδομοριακές και αυτό περιπλέκει την ποσοτική εκτίμηση ειδικών φαινομένων που άπτονται της φύσης του διαλύτη (Gerothanassis *et al.*, 1996).

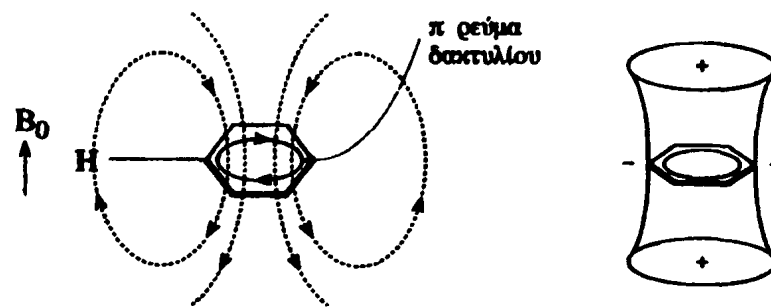


Σχ. 9. Το εύρος των τυπικών χημικών μετατοπίσεων του σήματος συντονισμού του πυρήνα του πρωτονίου, ^1H διαφόρων ενώσεων (Gerothanassis *et al.*, 2002).



4.2. ΔΙΑΜΟΡΙΑΚΕΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΔΙΑΛΥΤΗ - ΔΙΑΛΥΜΕΝΗΣ ΕΝΩΣΗΣ

Ένας διαλύτης μπορεί να επάγει χημική μετατόπιση με τρεις κυρίως τρόπους. Ο πρώτος σχετίζεται με το φαινόμενο της μαγνητικής ανισοτροπίας του διαλύτη. Είναι γνωστό, ότι αρωματικοί διαλύτες προκαλούν μετατοπίσεις των πυρήνων της διαλυμένης ένωσης προς χαμηλότερες συχνότητες. Ένα συνηθισμένο παράδειγμα είναι οι χημικές μετατοπίσεις που επάγονται από το ηλεκτρονιακό νέφος των π -ηλεκτρονίων του βενζολίου (Σχήμα 10).

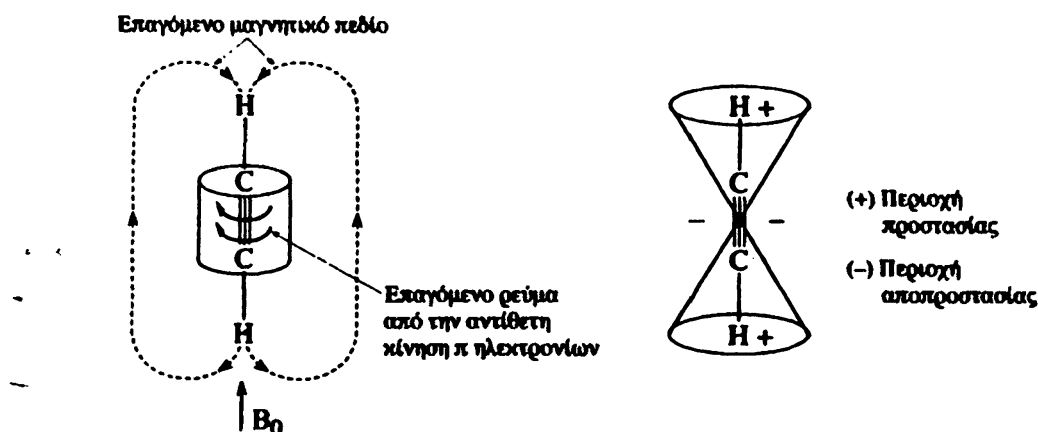


Σχ. 10. Μαγνητική ανισοτροπία του βενζολικού δακτυλίου.

Στο βενζολικό δακτύλιο, υπό την επίδραση του εξωτερικού μαγνητικού πεδίου B_0 , δημιουργείται, λόγω της κίνησης των π -ηλεκτρονίων, το π -ρεύμα του δακτυλίου. Το ηλεκτρονιακό αυτό ρεύμα επάγει δευτερογενές πεδίο, το οποίο, σε σημεία πάνω ή κάτω από το εξάγωνο του δακτυλίου των ανθράκων, αντιτίθεται στο εφαρμοζόμενο πεδίο, έτσι ώστε, εάν ένας πυρήνας ενός μορίου βρεθεί σε αυτήν την περιοχή να υφίσταται προστασία. Το σημείο (+) παριστάνει κωνική περιοχή στην οποία ένα 1H προστατεύεται (μικρότερες τιμές δ). Το σημείο (-) παριστάνει περιοχή αποπροστασίας. Ως εκ τούτου, το επαγόμενο πεδίο έχει φορά παράλληλη με αυτήν του B_0 στη θέση των αρωματικών πρωτονίων.

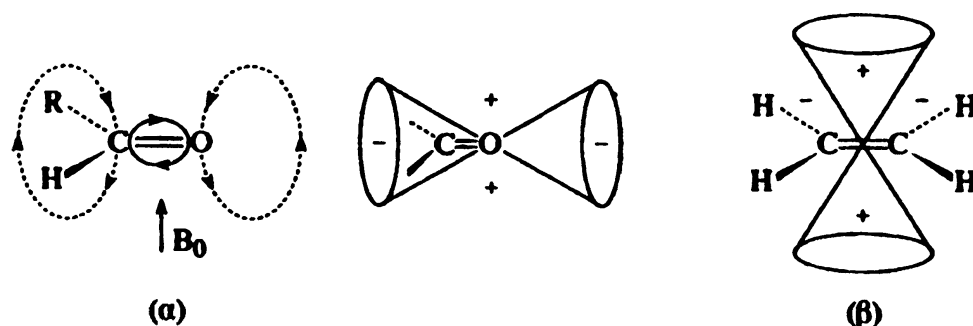
Στην περίπτωση του ακετυλενίου, η επίδραση του εξωτερικού πεδίου B_0 επιφέρει κίνηση των π -ηλεκτρονίων έτσι, ώστε τα ακετυλενικά πρωτόνια να προστατεύονται (Σχήμα 11). Σε κάθετο προσανατολισμό του μορίου ως προς τη διεύθυνση του πεδίου

B_0 , η κίνηση των π-ηλεκτρονίων παράλληλα προς τον άξονα του δεσμού είναι αμελητέα. Ανάλογη είναι και η ανισοτροπία της νιτριλικής ομάδας ($-C\equiv N$).



Σχ. 11. Μαγνητική ανισοτροπία του τριπλού δεσμού.

Τέλος στην περίπτωση του καρβονυλικού και του αιθυλενικού διπλού δεσμού η ανισοτροπία απεικονίζεται στο Σχήμα 12. Η ιδιαίτερα υψηλή συχνότητα συντονισμού (αποπροστασία) του αλδεϋδικού πρωτονίου οφείλεται στο ότι βρίσκεται σε κωνική περιοχή αποπροστασίας [Σχήμα 12 (α)]. Ανάλογη είναι και η ανισοτροπία του αιθυλενικού διπλού δεσμού [Σχήμα 12 (β)].



Σχ. 12. Σχηματική απεικόνιση της ανισοτροπίας (α) του καρβονυλίου, (β) του αιθυλενικού διπλού δεσμού.

Ο δεύτερος τρόπος επίδρασης του διαλύτη στη χημική μετατόπιση πυρήνων της διαλυμένης ένωσης έχει να κάνει με την πολικότητά του. Σε αυτήν την περίπτωση,



«ειδικές» διευθετήσεις των μορίων του διαλύτη γύρω από τα μόρια της διαλυμένης ένωσης ενισχύουν τη διαμαγνητική ανισοτροπία που προκαλείται από το δίπολο του διαλύτη.

Η τρίτη, τέλος, περίπτωση αφορά ειδικές αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στο διαλύτη και στη διαλυμένη ένωση, όπως ο δεσμός υδρογόνου. Η επίδραση του δεσμού υδρογόνου είναι ιδιαίτερα πολύπλοκη και προκαλεί έντονες χημικές μετατοπίσεις.

Τα σήματα συντονισμού κάθε ομάδας μιας ένωσης εμφανίζουν ορισμένη πολλαπλότητα και συμμετρία, λόγω της αλληλεπίδρασης του εξεταζόμενου πυρήνα, έστω πρωτονίου, με τα πυρηνικά spin των γειτονικών πυρήνων. Το φαινόμενο αυτό καλείται **spin-spin σύζευξη** και η απόσταση σε Hz που παρουσιάζουν οι επιμέρους κορυφές κάθε ομάδας καλείται **σταθερά σύζευξης J**.

4.3. ΠΟΡΕΙΕΣ ΑΠΟΔΙΕΓΕΡΣΗΣ ΤΩΝ ΠΥΡΗΝΩΝ

Η διαφορά ενέργειας, ΔE , που αντιστοιχεί στις διεγέρσεις των πυρήνων στα φάσματα NMR είναι εξαιρετικά μικρή. Για το λόγο αυτό, υπάρχει πολύ μικρή περίσσεια των πυρήνων που βρίσκονται στη βασική κατάσταση n_+ σε σχέση με τη διεγερμένη n_- . Ο λόγος n_-/n_+ ακολουθεί κατανομή κατά Boltzman:

$$\frac{n_-}{n_+} = e^{-\frac{\Delta E}{kT}} = e^{-\frac{2\mu B_0}{kT}} \quad \text{ή} \quad \frac{n_+}{n_-} = e^{\frac{2\mu B_0}{kT}} \quad (42)$$

όπου k , η σταθερά Boltzman και T , η απόλυτη θερμοκρασία.

Σε θερμοκρασία, για παράδειγμα, $T = 300\text{K}$, και για $B_0 = 10\text{ kG (T)}$, ισχύει $kT \gg 2\mu B_0$ και συνεπώς $\frac{n_+}{n_-} \cong 1$. Συγκεκριμένα, σε πλήθος 10^5 πυρήνων, ένας μόνο επιπλέον πυρήνας βρίσκεται στη βασική κατάσταση. Είναι φανερό ότι ο λόγος n_+/n_- αυξάνει με αύξηση της έντασης του πεδίου B_0 ή με ελάττωση της θερμοκρασίας T .

Η διαφορά $n_+ - n_-$ παρόλο που είναι πολύ μικρή, είναι ικανή για την εμφάνιση του σήματος συντονισμού. Θα πρέπει όμως να υπάρχει δυνατότητα επαναφοράς του πυρήνα στη βασική κατάσταση από τη διεγερμένη, ώστε να διατηρείται η μικρή αυτή περίσσεια προς όφελος της βασικής. Εάν αυτή η δυνατότητα δεν υπάρχει τότε επέρχεται εξαφάνιση του σήματος, όπως ακριβώς συμβαίνει και στην περίπτωση του κορεσμού. Όταν το πλήθος των πυρήνων που διεγείρονται με απορρόφηση ενέργειας

είναι ίσο με το πλήθος των πυρήνων που αποδιεγείρονται, το τελικό αποτέλεσμα είναι η μη παρατήρηση σήματος συντονισμού.

Η αποδιέγερση ανάμεσα στα ενεργειακά επίπεδα των πυρηνικών spin, είναι μία διεργασία πολύ πιο αργή από τις αποδιεγέρσεις ανάμεσα στα περιστροφικά και δονητικά επίπεδα όπου οι συγκρούσεις των μορίων έχουν ως αποτέλεσμα την εύκολη μεταβολή της περιστροφικής και δονητικής τους κατάστασης. Αντίθετα, η αποδιέγερση μεταξύ των ενεργειακών επιπέδων των πυρηνικών spin είναι μια αρκετά πιο αργή διαδικασία αφού η αλλαγή του προσανατολισμού ενός πυρήνα κρίνεται ως μία αρκετά δυσκολότερη διεργασία. Έτσι, ενώ οι χρόνοι της περιστροφικής και δονητικής αποδιέγερσης είναι της τάξης των 10^{-9} και 10^{-4} δευτερολέπτων αντίστοιχα, οι χρόνοι αποδιέγερσης στη φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού είναι της τάξης των χιλιοστοδευτερολέπτων έως δευτερολέπτων. Οι χρόνοι αποδιέγερσης περιγράφονται από σταθερές χρόνου οι οποίες χαρακτηρίζουν πρώτης τάξης κινητικές διεργασίες και οφείλονται κατά κύριο λόγο στην αλληλεπίδραση των πυρηνικών spin του συστήματος με ταλαντευόμενα τοπικά μαγνητικά πεδία τα οποία επάγονται από πυρήνες του ίδιου ή άλλων μορίων ως αποτέλεσμα της μοριακής τους κίνησης στο διάλυμα. Επάνοδος των πυρήνων στη βασική κατάσταση γίνεται με δύο κυρίως πορείες αποδιέγερσης οι οποίες είναι:

- Η αποδιέγερση spin-πλέγματος (*spin-lattice relaxation*) με σταθερά χρόνου T_1 .
- Η αποδιέγερση spin-spin (*spin-spin relaxation*) με σταθερά χρόνου T_2 .

Κατά την πρώτη πορεία η ενέργεια της διεγερμένης κατάστασης μεταφέρεται ως θερμική στο σύστημα των γειτονικών μαγνητικών πυρήνων, που αποτελούν το λεγόμενο «πλέγμα», με σύγχρονη επάνοδο του πυρήνα στη βασική του κατάσταση. Η θερμική αυτή ενέργεια χρησιμοποιείται για την αύξηση της ενέργειας μεταφοράς και περιστροφής των μορίων του «πλέγματος». Η αποτελεσματικότητα αυτής της πορείας αποδιέγερσης εκφράζεται με το χρόνο αποδιέγερσης T_1 , όπου μεγάλη τιμή T_1 σημαίνει όχι ικανοποιητική πορεία αποδιέγερσης. Στα στερεά ο χρόνος T_1 είναι πολύ μεγάλος, της τάξης της ώρας, λόγω περιορισμού της θερμικής κίνησης στο πλέγμα. Στα υγρά είναι πολύ μικρότερος, της τάξης 10^{-2} - 10^2 s. Ο χρόνος T_1 εξαρτάται από τους γυρομαγνητικούς λόγους των διαφόρων πυρήνων, από το ιξώδες του συστήματος και από την κινητικότητα των μορίων, είναι δηλαδή, συνάρτηση του η/T , όπου η , το ιξώδες του συστήματος και T η θερμοκρασία.



Σύμφωνα με τη δεύτερη πορεία αποδιέγερσης spin-spin, ο πυρήνας αποδιεγείρεται με μεταφορά της ενέργειάς του σε άλλον πυρήνα που βρίσκεται στη βασική κατάσταση με εναλλαγή των spin. Η πορεία αυτή εκφράζεται ποσοτικά με το χρόνο αποδιέγερσης T_2 .

Οι χρόνοι T_1 και T_2 στα υγρά έχουν παραπλήσιες τιμές, στα στερεά όμως, ο T_1 είναι μεγάλος, ενώ ο T_2 είναι πολύ μικρός της τάξης του msec. Ο χρόνος T_2 ελαττώνεται επίσης σημαντικά, όπως και ο T_1 , από παραμαγνητικά κέντρα, όπου η πορεία αποδιέγερσης spin-spin είναι πολύ ταχεία. Ο T_2 καθορίζει κυρίως το πλάτος της καμπύλης απορρόφησης κατά το συντονισμό.

Για να περιγραφούν, λοιπόν, τα φαινόμενα αποδιέγερσης, χρειάζεται να μελετηθεί η κινητική συμπεριφορά των μορίων στο διάλυμα και ιδιαίτερα οι συνιστώσες των συχνοτήτων της κίνησης αυτής. Οι κινήσεις των μορίων διακρίνονται σε γρήγορες, στις οποίες κατατάσσονται οι ηλεκτρονιακές κινήσεις και οι μοριακές δονήσεις και σε «βραδύτερες» κινήσεις όπου υπάγονται οι κινήσεις Brown που είναι οι περιστροφικές κινήσεις των μορίων και οι μεταφορικές κινήσεις διάχυσης που συμβάλλουν στις πυρηνικές πορείες αποδιέγερσης.

Τα φαινόμενα της αποδιέγερσης, εκτός από τη διατήρηση του σήματος συντονισμού, καθορίζουν και το πλάτος της καμπύλης του σήματος συντονισμού, δεδομένου ότι το πλάτος $\Delta\nu$ είναι αντίστροφα ανάλογο του μέσου χρόνου Δt που παραμένει το σύστημα στη διεγερμένη κατάσταση. Η σχέση αυτή προκύπτει από την αρχή της αβεβαιότητας ή απροσδιοριστίας του Heisenberg:

$$\Delta E \Delta t \cong \frac{h}{2\pi} \quad \text{ή} \quad h \Delta \nu \Delta t \cong \frac{h}{2\pi} \quad (43)$$

και συνεπώς:

$$\Delta \nu \cong \frac{1}{2\pi \Delta t} \quad (44)$$

Έτσι, μεγάλος χρόνος Δt (βραδεία αποδιέγερση) συνεπάγεται μικρό πλάτος της καμπύλης συντονισμού, όπως αυτό θεωρείται στο μισό του ύψους της ($\nu_{1/2}$). Στην περίπτωση αυτή είναι έντονο το φαινόμενο του κορεσμού.

Κάθε διεύρυνση $\Delta\nu$, μεγαλύτερη από εκείνη που προβλέπεται από το χρόνο T_1 αποδίδεται στο χρόνο T_2 , στον οποίο επίσης αποδίδεται και κάθε διεύρυνση λόγω εξωτερικών επιδράσεων, όπως είναι, για παράδειγμα, η ανομοιογένεια του μαγνητικού πεδίου B_0 .



Τα στερεά έχουν χρόνο T_1 πολύ μεγάλο και θα έπρεπε να έχουν πλάτος $\Delta\nu$ πολύ μικρό. Στην πραγματικότητα όμως τα στερεά δίνουν φάσματα NMR με ευρείες ζώνες απορρόφησης, μεγάλο $\Delta\nu$, διότι ο χρόνος T_2 είναι πολύ μικρός.

Μεγάλα πλάτη $\Delta\nu$ παρατηρούνται και κατά την προσθήκη παραμαγνητικών ουσιών, γιατί οι χρόνοι T_1 και T_2 είναι μικροί. Το ίδιο φαινόμενο παρατηρείται και σε ενώσεις με πυρήνες με τετραπολική ροπή.

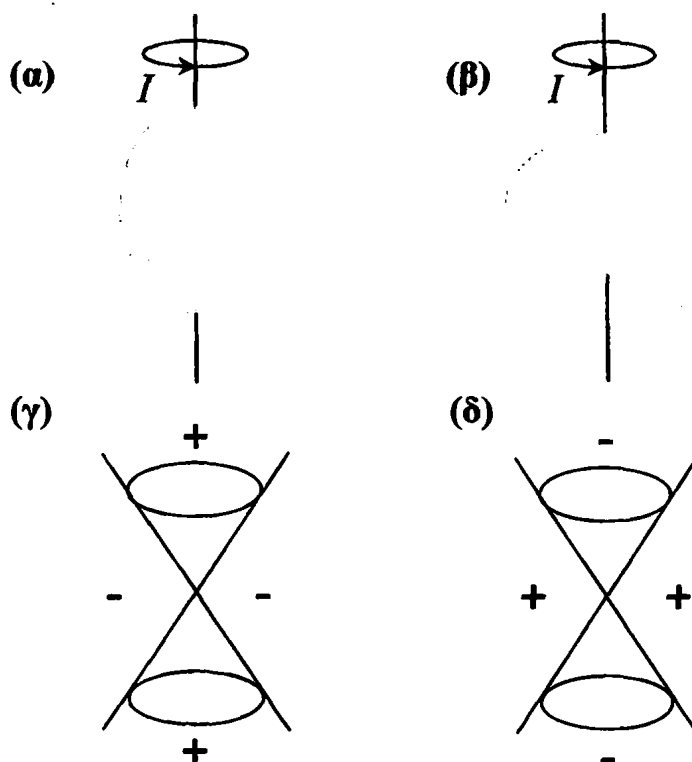
4.4. ΤΕΤΡΑΠΟΛΙΚΗ ΑΠΟΔΙΕΓΕΡΣΗ

Πυρήνες με spin κβαντικό αριθμό μεγαλύτερο του $1/2$, όπως το άζωτο-14 ($I = 1$), καλούνται τετραπολικοί διότι εμφανίζουν πυρηνική τετραπολική ροπή eQ , όπου e είναι το φορτίο του πυρήνα και Q η ηλεκτρική τετραπολική ροπή του, ως αποτέλεσμα της μη-σφαιρικής κατανομής του φορτίου τους. Ένας τετραπολικός πυρήνας μπορεί να απεικονιστεί με δύο δίπολα αντίθετης κατεύθυνσης τα οποία εμφανίζουν μία ελλειψοειδή (ωοειδή ή γαιωειδή) κατανομή του πυρηνικού φορτίου με αντίστοιχα θετική ή αρνητική τετραπολική ροπή (Σχήμα 13).

Στα περισσότερα μόρια τα φορτία τόσο των πυρήνων όσο και των ηλεκτρονίων που τους περιβάλλουν παράγουν ένα ανομοιογενές ηλεκτρικό πεδίο το οποίο επιδρά βαθμωτά στον κάθε πυρήνα. Στην περίπτωση που οι πυρήνες αυτοί είναι τετραπολικοί, η αλληλεπίδρασή τους με το ανομοιογενές ηλεκτρικό πεδίο που προέρχεται από την ασυμμετρία του ηλεκτρονιακού περιβάλλοντός τους, έχει ως αποτέλεσμα την τροποποίηση του φάσματος NMR που θα έδιναν απουσία αυτού του πεδίου. Οι ενέργειες των σφαιροειδών φορτίων εξαρτώνται από τη διευθέτησή τους ως προς την κλίση του ηλεκτρικού πεδίου. Η κλίση του ηλεκτρικού πεδίου είναι ιδιότητα που εξαρτάται από το σύστημα και μπορεί να θεωρηθεί κυρίως ενδομοριακής αλλά και διαμοριακής φύσης.

Σε διάλυμα η γρήγορη ισοτροπική μοριακή περιστροφή έχει ως συνέπεια μία μέση μεταβολή της τετραπολικής ενέργειας, με αποτέλεσμα τη λήψη ενός μόνο σήματος NMR. Το εύρος των απορροφήσεων των τετραπολικών πυρήνων κυμαίνεται από λίγα Hz έως αρκετά kHz.





Σχ. 13. Κατανομή πυρηνικού φορτίου: (α) για θετική τετραπολική ροπή (ωοειδές σφαιροειδές) και (β) για αρνητική τετραπολική ροπή (γαιοειδές σφαιροειδές). Τα (γ) και (δ) αποδίδουν την τετραπολική ροπή των (α) και (β) αντίστοιχα όταν η σφαιρική συμμετρία του φορτίου έχει διαταραχτεί. Επισημαίνεται ότι η κυλινδρική συμμετρία περί της διεύθυνσης του πυρηνικού spin διατηρείται (Harris, 1986, σελ. 132).

4.5. Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΤΕΤΡΑΠΟΛΙΚΟΥ ΠΥΡΗΝΑ ΣΤΟ ΣΗΜΑ ΠΡΩΤΟΝΙΟΥ

Όταν ένας τετραπολικός πυρήνας αλληλεπιδρά με έναν πυρήνα με spin κβαντικό αριθμό ίσο με $\frac{1}{2}$, όπως είναι το πρωτόνιο, τότε, εάν η αποδιέγερση είναι γρήγορη, το ^{14}N Η πρωτόνιο «βλέπει» μόνο ένα μέσο όρο των πιθανών spin καταστάσεων του ^{14}N , $m_I(^{14}\text{N}) = 1, 0$ και -1 . Αυτό έχει ως αποτέλεσμα η αναμενόμενη τριπλέτα του πρωτονιακού σήματος συντονισμού να εκφυλίζεται σε μία απλή κορυφή. Γενικότερα, οι χρόνοι αποδιέγερσης ενός πυρήνα ^{14}N στις περισσότερες οργανικές ενώσεις είναι τέτοιου μεγέθους που δεν οδηγούν σε πλήρη αλλοίωση της σχάσης του σήματος του πρωτονίου. Το πιο σύνηθες αποτέλεσμα μιας τέτοιας αλληλεπίδρασης είναι η παρατήρηση μιας διεύρυνσης, άλλοτε μικρότερης και άλλοτε μεγαλύτερης, του σήματος συντονισμού του πρωτονίου στο φάσμα NMR. Έτσι, προκειμένου να μελετηθεί μία σύζευξη του τύπου $^{14}\text{N}-^1\text{H}$, θα πρέπει να αντιμετωπιστεί αποτελεσματικά

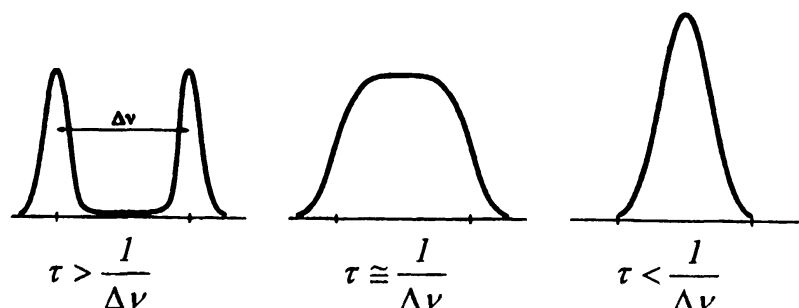
το φαινόμενο της τετραπολικής αποδιέγερσης. Αυτό δύναται να επιτευχθεί είτε αυξάνοντας τη θερμοκρασία, είτε με τη χρήση διαλύτη μικρού ιξώδους.

Η μελέτη της αλληλεπίδρασης ^{14}N -πρωτονίου γίνεται πιο περίπλοκη στην περίπτωση που το πρωτόνιο N-H συμμετέχει σε σχηματισμό δεσμού υδρογόνου. Στις περισσότερες των περιπτώσεων τέτοιου τύπου αλληλεπιδράσεις οδηγούν σε μία επιπλέον διεύρυνση του σήματος του πρωτονίου. Αυτό ακριβώς το φαινόμενο της διεύρυνσης του σήματος συντονισμού, παρατηρήθηκε και στην παρούσα διατριβή κατά τη μελέτη της μετατόπισης του σήματος του αμιδικού πρωτονίου NH υπό τη επίδραση διαμοριακών αλληλεπιδράσεων.

4.6. ΜΕΛΕΤΗ ΔΥΝΑΜΙΚΩΝ ΙΣΟΡΡΟΠΙΩΝ

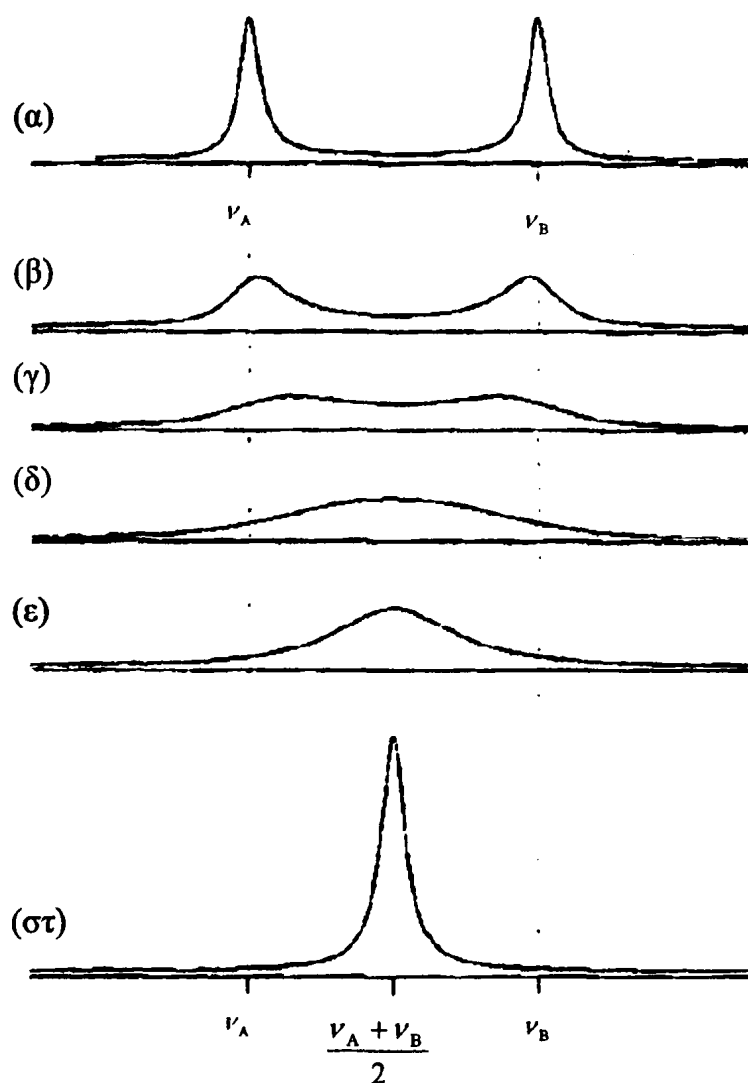
Τα μόρια συνήθως υφίστανται σε δύο (ή περισσότερες) συνυπάρχουσες καταστάσεις, οι οποίες υπόκεινται σε ταχεία αλληλομετατροπή. Μία από τις σπουδαιότερες εφαρμογές της φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού αποτελεί η μελέτη χημικών συστημάτων που βρίσκονται σε δυναμική ισορροπία, όπως ταυτομερών, διαμορφωμερών με παρεμποδισμένη περιστροφή, ισομερών κ.λ.π.

Έστω, η γενική περίπτωση ενός πυρήνα που ανταλλάσσεται μεταξύ δύο διακριτών καταστάσεων A και B με χημικές μετατοπίσεις δ_A και δ_B αντίστοιχα (Σχήμα 14). Στην οριακή περίπτωση όπου καμία ανταλλαγή δεν λαμβάνει χώρα, δύο διακριτά σήματα συντονισμού εμφανίζονται στο φάσμα NMR τα οποία αντιστοιχούν στις δύο διαφορετικές καταστάσεις του μορίου. Εάν η ανταλλαγή συμβαίνει εξαιρετικά γρήγορα, τότε το προκύπτον αποτέλεσμα είναι μία μόνο φασματική γραμμή, στο μέσον ακριβώς των δύο διακριτών σημάτων A και B.



Σχ. 14. Επίδραση του φαινομένου της ανταλλαγής ενός χημικού συστήματος στη μεταβολή ενός υποθετικού φάσματος NMR.





Σχ. 15. Το αποτέλεσμα της χημικής ανταλλαγής σε φάσμα NMR, μεταξύ δύο καταστάσεων A και B (Banwell, 1994).

Στο Σχήμα 15 φαίνεται η επίδραση του φαινομένου της ανταλλαγής σε ένα υποθετικό φάσμα NMR. Οι χρόνοι παραμονής ενός πυρήνα σε κάθε μία από τις δύο καταστάσεις A και B συμβολίζονται με τ_A και τ_B αντίστοιχα ενώ οι συχνότητες συντονισμού για τις δύο περιπτώσεις του εξεταζόμενου πυρήνα είναι ν_A και ν_B .

Όταν ο χρόνος παραμονής του πυρήνα σε κάθε κατάσταση είναι μεγαλύτερος του αντίστροφου της διαφοράς των δύο συχνοτήτων συντονισμού, $\tau_A \gg (\nu_A - \nu_B)^{-1}$ και $\tau_B \gg (\nu_A - \nu_B)^{-1}$, το αποτέλεσμα είναι δύο διακριτά σήματα συντονισμού, οι εντάσεις των οποίων εξαρτώνται από το σημείο ισορροπίας του συστήματος. Υπό αυτές τις συνθήκες της αργής ανταλλαγής οι δύο χρόνοι παραμονής τ_A και τ_B μπορούν να

υπολογιστούν από τη διεύρυνση των σημάτων που προκαλεί το φαινόμενο της ανταλλαγής. Όταν η ανταλλαγή συμβαίνει με τέτοιο τρόπο ώστε $\tau_A < (\nu_A - \nu_B)^{-1}$ και $\tau_B < (\nu_A - \nu_B)^{-1}$, όταν δηλαδή ο χρόνος τ είναι μικρότερος του αντίστροφου της διαφοράς των δύο συχνοτήτων συντονισμού, μόνο ένα σήμα συντονισμού παρατηρείται. Στην περίπτωση αυτή, το εύρος της κορυφής στο σημείο όπου συμπίπτουν οι δύο συχνότητες συντονισμού, εξαρτάται από τους χρόνους παραμονής τ_A και τ_B . Το φαινόμενο αυτό καλείται διεύρυνση λόγω ανταλλαγής.

Εάν ο χρόνος τ , είναι του ίδιου μεγέθους με το αντίστροφο της διαφοράς των δύο συχνοτήτων συντονισμού, $\tau_A \cong \tau_B \cong (\nu_A - \nu_B)^{-1}$, τότε παρατηρείται μία ευρεία καμπύλη, από το εύρος, $\Delta\nu$, της οποίας είναι δυνατό να βρεθεί ο χρόνος αλληλομετατροπής με βάση την αρχή της *απροσδιοριστίας του Heisenberg* (Εξίσωση 43).

Στην πράξη αυτό επιτυγχάνεται με μεταβολή της θερμοκρασίας, T , μέχρις ότου συνενωθούν οι δύο χωριστές κορυφές. Η μέθοδος αυτή εφαρμόζεται σε συστήματα ισορροπίας με συστατικά των οποίων η διάρκεια ζωής είναι της τάξης $10^{-1} - 10^{-4}$ s. Η χρονική αυτή κλίμακα καλύπτει τα περισσότερα μοριακά συστήματα που ενδιαφέρουν την Οργανική Χημεία.



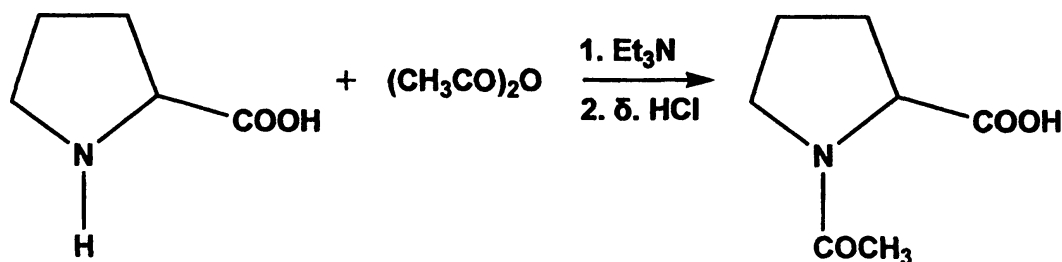


5. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5.1. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΗΣ *N*-ΑΚΕΤΥΛΟ-*L*-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΑΥΤΗΣ *N*-ΜΕΘΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΚΑΙ ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΑ

Η σύνθεση της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης και των παραγώγων ενώσεων αυτής όπως ο μεθυλεστέρας και το *N*-μεθυλαμίδιο της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων σύμφωνα με τις ακόλουθες πορείες:

Σύνθεση της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης. Το αμινοξύ *L*-προλίνη αφέθηκε να αντιδράσει με οξικό ανυδρίτη παρουσία τριαιθυλαμίνης, Et_3N σε διάλυμα διχλωρομεθανίου και ακετονιτριλίου σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια ο διαλύτης απομακρύνθηκε και το στερεό υπόλειμμα διαλύθηκε σε ελάχιστο νερό. Το pH του διαλύματος ρυθμίσθηκε στην τιμή 1 με αραιό υδροχλωρικό οξύ και ακολούθησε εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα:

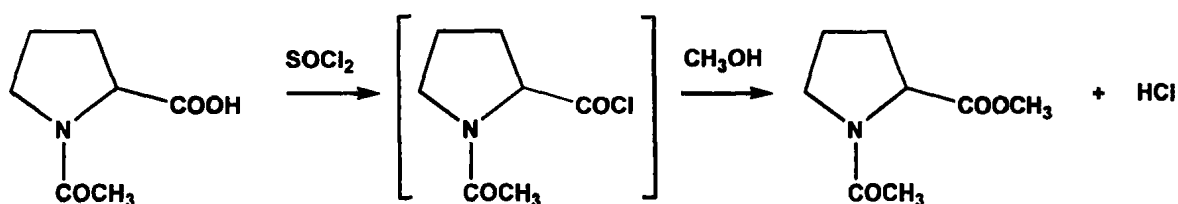


Στη συνέχεια, ο διαλύτης εξατμίστηκε και το προϊόν, που ανακρυσταλλώθηκε από οξικό αιθυλεστέρα, έδωσε καθαρή κρυσταλλική *N*-ακετυλο-*L*-προλίνη με σημείο τήξης



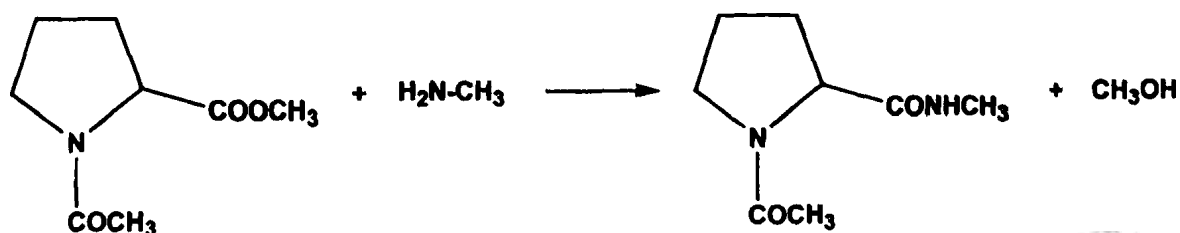
117-118 °C. Απόδοση συνθετικής πορείας: 85%. Οι κρύσταλλοι της *N*-ακετυλο-L-προλίνης μελετήθηκαν με περίθλαση ακτίνων Χ.

Σύνθεση του Μεθυλεστέρα της *N*-ακετυλο-L-προλίνης. Ο μεθυλεστέρας της *N*-ακετυλο-L-προλίνης προέκυψε από την αντίδραση της *N*-ακετυλο-L-προλίνης με θειονυλοχλωρίδιο και απόλυτη μεθανόλη, σύμφωνα με τη συνθετική πορεία που πρότειναν οι Brenner and Huber για την εστεροποίηση των αμινοξέων (Brenner *et al.* 1953):



Το ελαιώδες προϊόν που προέκυψε μετά από συμπύκνωση του διαλύματος υπό κενό, καθαρίστηκε με τη βοήθεια χρωματογραφίας στήλης (Silica Gel), χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης μεθανόλη σε διχλωρομεθάνιο, σύστασης 0-5%. Απόδοση συνθετικής πορείας: 90%.

Σύνθεση του μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-L-προλίνης. Το μεθυλαμίδιο της *N*-ακετυλο-L-προλίνης παρασκευάστηκε από τον μεθυλεστέρα αυτής σύμφωνα με τη μέθοδο των Madison and Shellman (Madison *et al.* 1970):



Αρχικά, ο μεθυλεστέρας της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης διαλύθηκε σε απόλυτη μεθανόλη και αφού ψύχθηκε στους 0 °C, προστέθηκε διάλυμα μεθυλαμίνης σε απόλυτη μεθανόλη. Το αντιδρών σύστημα αφέθηκε στους 25-30 °C για 48 ώρες και κατόπιν συμπυκνώθηκε υπό κενό. Το συμπύκνωμα που προέκυψε καθαρίστηκε με χρήση χρωματογραφικής στήλης (Silica Gel), χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης CH₃OH σε CH₂Cl₂. Ανακρυσταλλώθηκε από διάλυμα οξικού αιθυλεστέρα/διαιθυλαιθέρα (σημείο τήξης κρυστάλλων 104-105 °C). Απόδοση συνθετικής πορείας: 80%.

Η ταυτότητα και η καθαρότητα των προϊόντων που συντέθηκαν πιστοποιήθηκε με φασματοσκοπία υπερύθρου και με πρωτονιακή φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού.

Η λήψη των φασμάτων NMR-¹H έγινε σε φασματογράφο 400 MHz, της εταιρείας Bruker τύπου AMX-400 (συχνότητα συντονισμού ¹H 400 MHz). Το ποσοστό των *cis* και *trans* ισομερών υπολογίστηκε από τα σχετικά ολοκληρώματα των αντιστοίχων σημάτων συντονισμού.

Τα φάσματα υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (FT-IR) της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης και των παραγώγων αυτής σε διάλυμα καταγράφηκαν σε φασματόμετρο υπερύθρου της εταιρείας Perkin-Elmer στο Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, σε θερμοκρασία δωματίου μετά από 32 σαρώσεις για κάθε φάσμα και με διακριτική ικανότητα 4 κυματαριθμών. Για τη λήψη των φασμάτων χρησιμοποιήθηκαν κυψελίδες της εταιρείας SPECTRA-TECH, Inc. BARNES με αναγραφόμενη περιγραφή: «0004-036 Demountable Liquid Cell Kit z11200-3» ενώ για την αύξηση του όγκου του διαλύματος εντός της κυψελίδας χρησιμοποιήθηκαν ειδικές μεμβράνες (spacers) με αναγραφόμενη περιγραφή: «z11, 208-9 1 pkg, Spacers, Teflon, 0.5 mm path length, 32 mm diameter» της εταιρείας Aldrich Chemical Company, Inc.

Για τις φασματοσκοπικές μετρήσεις χρησιμοποιήθηκαν οι διαλύτες CDCl₃, CHCl₃, DMSO and CH₃CN, της εταιρείας Sigma Chemicals, αφού παρέμειναν παρουσία γης διατόμων (molecular sieves) 4 Å για 48 ώρες για την απομάκρυνση της υγρασίας.

Όπως προαναφέρθηκε, κατά τη σύνθεση της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης προέκυψαν κρύσταλλοι από τους οποίους κατέστη δυνατή η επίλυση της κρυσταλλικής δομής της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης που πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Φυσικοχημείας του Κέντρου Ερευνών «ΕΚΕΦΕ- Δημόκριτος».

Η διαδικασία συλλογής των κρυσταλλογραφικών δεδομένων που ακολουθήθηκε ήταν η εξής:



Μετά την επιτυχή κρυστάλλωση της ένωσης και με τη βοήθεια μικροσκοπίου, ο φαινομενικά καλύτερος, ως προς το μέγεθος, σχήμα και συμπεριφορά ως προς το πολωμένο φως, κρύσταλλος αναρτήθηκε σε γωνιομετρική κεφαλή. Η συλλογή των κρυσταλλογραφικών δεδομένων έλαβε χώρα σε περιθλασίμετρο τεσσάρων κύκλων (four-circle diffractometer) με πηγή ακτινοβολίας περιστρεφόμενη άνοδο χαλκού και μήκος κύματος $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ (CuK α) σε θερμοκρασία δωματίου. Οι διαστάσεις της μοναδιαίας κυψελίδας προέκυψαν με επεξεργασία των γωνιακών παραμέτρων ανακλάσεων με γωνία Bragg 2θ στην περιοχή $20\text{-}40^\circ$ μετά από βελτιστοποίηση και των τεσσάρων γωνιών 2θ , ω , ϕ και χ . Στη συνέχεια, μετά την εύρεση του τύπου του κρυσταλλογραφικού πλέγματος, συλλέχτηκαν οι εντάσεις περιθλάσεως με τρόπο σάρωσης θ - 2θ . Πιθανή καταστροφή ή φθορά (decay) του κρυστάλλου λόγω ακτινοβολίας αλλά και η σταθερότητα του ως προς την αρχική θέση ελεγχόταν με παρακολούθηση της έντασης τριών ισχυρών ανακλάσεων. Ο έλεγχος αυτός επαναλαμβανόταν κάθε 97 ανακλάσεις.

Η επίλυση της δομής έγινε με άμεσες μεθόδους με τη βοήθεια του προγράμματος SHELX97 (Sheldrick, 1997). Η πορεία που ακολουθήθηκε για την βελτιστοποίηση της κρυσταλλικής δομής (πρόγραμμα SHELX97) ήταν η εξής: Αρχικά η δομή βελτιστοποιήθηκε μέχρι της τιμής του παράγοντα αξιοπιστίας R περίπου 0,10 ως προς τις συντεταγμένες των μη-υδρογονικών ατόμων και τους ιστροπικούς θερμικούς παράγοντες για κάθε άτομο, οι οποίοι εν συνεχεία μετατράπηκαν σε ανιστροπικούς. Ως προς τα άτομα υδρογόνου, οι θέσεις τους βρέθηκαν από διαφορικούς χάρτες Fourier (εκτός από εκείνα των ατόμων C3 και C4) και αρχικά τους δόθηκαν ιστροπικοί θερμικοί παράγοντες μεγαλύτεροι κατά 25% από τους ιστροπικούς θερμικούς παράγοντες των αντιστοιχών ατόμων, στα οποία ήταν συνδεδεμένα, ενώ κατόπιν βελτιστοποιήθηκαν. Στα άτομα C3 και C4 αποδόθηκαν H σε υπολογισμένες θέσεις. Βελτιστοποίηση έγινε τόσο στις θέσεις όσο και στους θερμικούς παράγοντες όλων των ατόμων, υδρογονικών (ιστροπικών) και μη (ανιστροπικών), μέχρι τελικά να επιτευχθεί σύγκλιση, όπου $R1 = 0,0489$ για 898 ανακλάσεις με ένταση μεγαλύτερη από 2σ , $R1 = 0,0491$ για όλες τις 909 ανακλάσεις και $\text{data GooF} = S = 1,018$.



5.2. ΛΗΨΗ ΦΑΣΜΑΤΩΝ NMR-¹H ΜΕΤΑΒΛΗΤΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΘΕΡΜΟΔΥΝΑΜΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΤΟΥ *CIS-TRANS* ΙΣΟΜΕΡΙΣΜΟΥ

Στα πλαίσια μελέτης του *cis-trans* ισομερισμού μοντέλων πεπτιδίων όπως το *N*-μεθυλοφορμαμίδιο (NMF), το *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιο (TBF), η *N*-ακετυλο-*L*-προλίνη καθώς επίσης το *N*-μεθυλαμίδιο και ο μεθυλεστέρας αυτής υπό την επίδραση διαφόρων διαλυτών, πραγματοποιήθηκε σειρά πειραμάτων φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού πρωτονίου (NMR-¹H), μεταβλητής θερμοκρασίας, σε φασματογράφο 400 MHz, της εταιρείας Bruker. Χρησιμοποιήθηκαν επιλεγμένοι διαλύτες διαφορετικών τιμών διηλεκτρικής σταθεράς και ικανότητας επιδιαλύτωσης προσομοιάζοντας περιβάλλον είτε υδρόφοβων είτε υδρόφιλων ιδιοτήτων. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε τέτοιες συγκεντρώσεις, ώστε να ελαχιστοποιούνται κατά το δυνατόν οι διαμοριακές αλληλεπιδράσεις αμιδίου-αμιδίου (αποφυγή φαινομένων διμερισμού ή/και πολυμερισμού) και να παρατηρείται αποκλειστικά το φαινόμενο του *cis-trans* ισομερισμού.

Ακολούθως, παρατίθενται, σε Πίνακα (Πίνακας 1), οι ομάδες των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν ανά αμίδιο, παραθέτοντας το διαλύτη, το εύρος των μελετηθέντων θερμοκρασιών και τις συγκεντρώσεις των αμιδίων ανά ομάδα. Οι ομάδες αυτών των πειραμάτων πραγματοποιήθηκαν μεταβάλλοντας τη θερμοκρασία σε ένα εύρος θερμοκρασιών υπαγορευόμενο από τον εκάστοτε διαλύτη.



Πίνακας 1. Πειράματα μελέτης του *cis-trans* ισομερισμού του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF), του *N*-*tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), του *N*-μεθυλαμίδιου και του μεθυλεστέρα της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης. Παρατίθενται οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν και το εύρος των θερμοκρασιών που καλύφτηκε ανά περίπτωση.

N-Μεθυλοφορμαμίδιο (NMF)

Διαλύτης	Συγκέντρωση Αμιδίου στο Διάλυμα	Εύρος Θερμοκρασιών (K)
90% H ₂ O/10% D ₂ O	20 mM	363-277
CDCl ₃	2 mM	330-215
CD ₃ CN	2 mM	348-238
Toluene-d ₈	2 mM	363-253
CD ₃ OD	2 mM	327,5-217,5
c-hexane-d ₁₂	~1 mM	345-285
n-hexane-d ₁₄	~1 mM	335-257,5
C ₆ D ₆	1 mM	345-285
CD ₂ Cl ₂	2 mM	305-215

N-*tert*-Βουτυλοφορμαμίδιο (TBF)

Διαλύτης	Συγκέντρωση Αμιδίου στο Διάλυμα	Εύρος Θερμοκρασιών (K)
90% H ₂ O/10% D ₂ O	20 mM	338-288
CDCl ₃	2 mM	330-215
CD ₃ CN	2 mM	348-238
Toluene-d ₈	2 mM	373-223
CD ₃ OD	2 mM	327,5-217,5
c-hexane-d ₁₂	1 mM	345-285
c-hexane-d ₁₂	0,25 mM	345-285
n-hexane-d ₁₄	2 mM	335-257,5
C ₆ D ₆	1 mM	342,5-295
CD ₂ Cl ₂	2 mM	303-223

N-Μεθυλαμίδιο της *N*-Ακετυλο-*L*-Προλίνης

Διαλύτης	Συγκέντρωση Αμιδίου στο Διάλυμα	Εύρος Θερμοκρασιών (K)
CDCl ₃	2 mM	330-217,5

Μεθυλεστέρας της *N*-Ακετυλο-*L*-Προλίνης

Διαλύτης	Συγκέντρωση Αμιδίου στο Διάλυμα	Εύρος Θερμοκρασιών (K)
D ₂ O	2 mM	330-217,5



5.3. ΛΗΨΗ NMR-¹H ΦΑΣΜΑΤΩΝ ΜΕΤΑΒΛΗΤΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΓΙΑ ΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΔΙΜΕΡΩΝ (ΠΟΛΥΜΕΡΩΝ) ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΧΗΜΙΚΗΣ ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΗΣ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ NH ΤΟΥ ΑΜΙΔΙΟΥ

Στα πλαίσια μελέτης διαμοριακών αλληλεπιδράσεων αμιδίου-αμιδίου και αμιδίου-διαλύτη του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF) και του *N*-tert-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF) υπό την επίδραση διαφόρων διαλυτών διεξήχθησαν τα πειράματα που αναγράφονται στους Πίνακες που ακολουθούν. Η μελέτη έγινε με πρωτονιακή φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR-¹H), όπως αναφέρεται στη σελίδα 55.

Οι πρότυπες ενώσεις *N*-μεθυλοφορμαμίδιο, *N*-tert-βουτυλοφορμαμίδιο καθώς και οι δευτεριωμένοι διαλύτες λήφθηκαν από την εταιρεία Sigma Chemicals.

Τα πειράματα που διεξήχθησαν καταγράφονται στους Πίνακες 2 και 3 και κατηγοριοποιούνται ανά διαλύτη παραθέτοντας το εύρος των μελετηθέντων θερμοκρασιών και τις συγκεντρώσεις των αμιδίων ανά ομάδα.

Πίνακας 2. Κατηγοριοποίηση πειραμάτων πρωτονιακού πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR-¹H), μεταβλητής θερμοκρασίας και συγκέντρωσης, για τη μελέτη της χημικής μετατόπισης του πρωτονίου NH του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF) στους διαλύτες δευτεριωμένο ακετονιτρίλιο (CD₃CN), δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl₃) και δευτεριωμένο τολουόλιο (Toluene-*d*₈).

Αμίδιο	Δευτεριωμένος διαλύτης	Θερμοκρασιακό Εύρος	Συγκέντρωση Αμιδίου στο Διάλυμα
NMF	ακετονιτρίλιο (CD ₃ CN)	από 350K έως 236K με βήμα μεταβολής της θερμοκρασίας: 6K	100, 500 mM και 1, 5 και 10 M
	χλωροφόρμιο (CDCl ₃)	από 330K έως 215K, με βήμα μεταβολής της θερμοκρασίας: 5K	0,2, 5, 10, 15, 25, 40, 60, 80, 100, 500 mM και 1, 5 και 10 M
	τολουόλιο (Toluene- <i>d</i> ₈)	από 375K έως 188K, με βήμα μεταβολής της θερμοκρασίας: 10K	0,2, 5, 10, 15, 25, 40, 60, 80, 100, 500 mM και 1, 5 και 10 M



Πίνακας 3. Κατηγοριοποίηση πειραμάτων πρωτονιακού πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR- ^1H), μεταβλητής θερμοκρασίας και συγκέντρωσης, για τη μελέτη της χημικής μετατόπισης του πρωτονίου NH του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιο (TBF) στους διαλύτες δευτεριωμένο ακετονιτρίλιο (CD_3CN), δευτεριωμένη μεθανόλη, δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3), δευτεριωμένο τολουόλιο (Toluene- d_8) και δευτεριωμένο κυκλοεξάνιο (c-hexane- d_{12}).

Αμίδιο	Δευτεριωμένος διαλύτης	Θερμοκρασιακό Εύρος	Συγκέντρωση Αμιδίου στο Διάλυμα
TBF	ακετονιτρίλιο (CD_3CN)	από 350K έως 236K, με βήμα μεταβολής της θερμοκρασίας: 6K	5, 10, 15, 25, 40, 60, 80, 100, 500 mM και 1, και 5 M
	μεθανόλη (CD_3OH)	από 330K έως 210K, με βήμα μεταβολής της θερμοκρασίας: 5K	200 mM και 1, 5 και 8,5 M
	χλωροφόρμιο (CDCl_3)	από 330K έως 215K, με βήμα μεταβολής της θερμοκρασίας: 5K	0,2, 5, 10, 15, 25, 40, 60, 80, 100, 200, 300, 500 mM και 1, 2 και 5 M
	Τολουόλιο (Toluene- d_8)	από 375K έως 188K, με βήμα μεταβολής της θερμοκρασίας: 10K	0,05, 0,2, 5, 10, 15, 25, 40, 60, 80, 100, 200, 300, 500 mM και 1, 2 και 5 M
	Κυκλοεξάνιο (c-hexane- d_{12})	από 345K έως 285K, με βήμα μεταβολής της θερμοκρασίας: 6K	0,05, 5, 10, 15, 25, 40, 60, 80 και 100 mM

5.4. ΦΑΣΜΑΤΑ ΥΠΕΡΥΘΡΗΣ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΜΕ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ FOURIER (FT-IR)

Στα πλαίσια της μελέτης της αλληλεπίδρασης πρότυπων ενώσεων αμιδίων με διαλύτες διαφορετικής πολικότητας και ικανότητας επιδιαλύτωσης πραγματοποιήθηκε μία σειρά από φάσματα υπερύθρου. Στη σειρά αυτών των πειραμάτων εκτός από τον τύπο του διαλύτη, μελετήθηκε και η επίδραση της μεταβολής της συγκέντρωσης του αμιδίου στο διάλυμα, δίνοντας ιδιαίτερη έμφαση στην παρακολούθηση δημιουργίας δεσμών υδρογόνου όπως επίσης και στο πώς οι δεσμοί αυτοί καθορίζουν την διαμόρφωση και συσχέτιση των μορίων του εξεταζόμενου συστήματος.

Η λήψη των φασμάτων υπερύθρου, που πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (25 °C), έγινε σε διαλύματα των πρότυπων αμιδίων χρησιμοποιώντας ως διαλύτες το διχλωρομεθάνιο (CH_2Cl_2), το τολουόλιο, το κυκλοεξάνιο, το ακετονιτρίλιο, και το χλωροφόρμιο.

Η λήψη των φασμάτων υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (FT-IR), πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων όπως περιγράφηκε στη σελίδα 55.

Επίσης, για τη διερεύνηση της σταθεροποίησης της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης μέσω σχηματισμού γ -στροφής (γ -turn), λήφθηκε μία σειρά φασμάτων υπερύθρου, όπου παρέχεται η δυνατότητα παρατήρησης σχηματισμού ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου. Επίσης, μελετήθηκε η επίδραση της συγκέντρωσης του πεπτιδίου στο σύστημα πεπτίδιο-διαλύτη. Παράλληλα, έγιναν συγκριτικές μελέτες με παράγωγα της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης, όπως είναι το *N*-μεθυλαμίδιο, το οποίο είναι γνωστό ότι σχηματίζει ενδομοριακό δεσμό υδρογόνου και ο μεθυλεστέρας αυτής, ένωση η οποία δεν έχει καμία δυνατότητα σχηματισμού γ -στροφής.

Η λήψη του φάσματος υπερύθρου κρυστάλλων της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης πραγματοποιήθηκε στο Ινστιτούτο Θεωρητικής και Φυσικής Χημείας του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών με τη μέθοδο δημιουργίας δισκίου υπό πίεση, μέσω της διασποράς της ένωσης σε ξηρό KBr. Χρησιμοποιήθηκε φασματοφωτόμετρο υπερύθρου, Brucker 113v, της εταιρείας Brucker. Το φάσμα καταγράφηκε στην περιοχή από 5000 έως 400 cm^{-1} , η δε επεξεργασία τους έγινε με το μαθηματικό πρόγραμμα ανάλυσης "Origin 5.0 Professional".



Στους Πίνακες 4 και 5 που ακολουθούν παρατίθενται, οι ομάδες των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν ανά αμίδιο παραθέτοντας το διαλύτη και τις συγκεντρώσεις των αμιδίων ανά ομάδα.

Πίνακας 4. Κατηγοριοποίηση φασμάτων υπέρυθρης φασματοσκοπίας με μετασχηματισμό Fourier, των πρότυπων αμιδίων *N*-μεθυλοφορμαμίδιο (NMF) και *N*-tert-βουτυλοφορμαμίδιο (TBF). Ανά κατηγορία παρατίθεται ο διαλύτης και οι συγκεντρώσεις του αμιδίου στα διαλύματα που μελετήθηκαν.

Αμίδιο	Διαλύτης	Συγκέντρωση
NMF	ακετονιτρίλιο	0,2, 5, 10, 15, 25, 40, 60, 80 και 100 mM
	διχλωρομεθάνιο (CH ₂ CL ₂)	5, 10, 15, 25, 40, 60, 80 και 100 mM
	χλωροφόρμιο	0,2, 5, 10, 15, 25, 40, 60, 80 και 100 mM
	τολουόλιο	0,2, 5, 10, 15, 25, 40, 60, 80 και 100 mM
TBF	ακετονιτρίλιο	0,2, 5, 10, 15, 25, 40, 60, 80 και 100 mM
	διχλωρομεθάνιο (CH ₂ CL ₂)	5, 10, 15, 25, 40, 60, 80 και 100 mM
	χλωροφόρμιο	0,2, 5, 10, 15, 25, 40, 60, 80 και 100 mM
	τολουόλιο	0,2, 5, 10, 15, 25, 40, 60, 80 και 100 mM
	κυκλοεξάνιο	0,2, 1, 5, 10, 15, 25, 40, 60, 80 και 100 mM

Πίνακας 5. Κατηγοριοποίηση φασμάτων υπέρυθρης φασματοσκοπίας με μετασχηματισμό Fourier, της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης, του *N*-μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης και του μεθυλεστέρα της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης. Ανά κατηγορία παρατίθεται ο διαλύτης και οι συγκεντρώσεις του αμιδίου στα διαλύματα που μελετήθηκαν.

Αμίδιο	Διαλύτης	Συγκέντρωση
<i>N</i>-ακετυλο-<i>L</i>-προλίνη	διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO)	0,5, 1, 5, 20, 30, 40, 50, 60 και 100 mM
	ακετονιτρίλιο	0,5, 1, 5, 20, 30, 40, 50, 60, και 100 mM
	χλωροφόρμιο	0,5, 1, 5, 20, 30, 40, 50, 60, και 100 mM
<i>N</i>-μεθυλαμίδιο της <i>N</i>-ακετυλο-<i>L</i>-προλίνης	διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO)	0,5, 1, 5, 20, και 80 mM
	χλωροφόρμιο	0,5, 1, 5, 20, και 80 mM
Μεθυλεστέρας της <i>N</i>-ακετυλο-<i>L</i>-προλίνης	χλωροφόρμιο	-



6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

6.1. ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ-ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Ο πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός (NMR) σε συνδυασμό με θεωρητικούς υπολογισμούς συγκαταλέγεται μεταξύ των σημαντικότερων μεθοδολογιών για τη διερεύνηση του *cis-trans* ισομερισμού του πεπτιδικού δεσμού. Οι μελέτες επικεντρώνονται στην επίδραση του διαλύτη, της θερμοκρασίας και του pH, στο σχηματισμό ενδομοριακών και διαμοριακών δεσμών υδρογόνου και, κατά συνέπεια, στον προσδιορισμό των ταχυτήτων ισομερισμού καθώς επίσης και των αιτιών που δύνανται να τον παρεμποδίσουν (Stewart *et al.*, 1970, Torchia, 1972, Higashijima *et al.*, 1977, Cheng *et al.*, 1977, Radzicka *et al.*, 1988, Yu *et al.*, 1991, Eberhardt *et al.*, 1993, Fischer S. *et al.*, 1994, Wiberg *et al.*, 1995, Wu *et al.*, 1999). Τα ακριβή, ωστόσο, δεδομένα για τη θερμοδυναμική περιγραφή του *cis-trans* ισομερισμού του πεπτιδικού δεσμού είναι περιορισμένα, ενώ τα συμπεράσματα των ερευνών είναι συχνά αντικρουόμενα. Η διαφορά στην ενθαλπία, για παράδειγμα, μεταξύ *cis* και *trans* ισομερών πεπτιδικών δεσμών του τύπου X-Pro σε υδατικό διάλυμα ορίζεται στο μηδέν σε μελέτες πρότυπων πεπτιδίων (Madison *et al.*, 1970, Maia *et al.*, 1971, Raleigh *et al.*, 1992). Ωστόσο, άλλοι ερευνητές αναφέρουν διαφορετικές τιμές για την ενθαλπία ενυδάτωσης τέτοιων συστημάτων που φτάνουν στα $5,4 \text{ kJ mol}^{-1}$ (Torchia, 1972, Cheng *et al.*, 1977, Higashijima *et al.*, 1977, Eberhardt *et al.*, 1993). Ο Radzicka και οι συνεργάτες του (Radzicka *et al.*, 1988) αναφέρουν ότι ο *cis-trans* ισομερισμός απλών αμιδίων είναι ανεξάρτητος του διαλύτη και πως οι τιμές των ελεύθερων ενεργειών επιδιαλύτωσης, ΔG° , των *cis* και *trans* ισομερών φαίνεται να διαφέρουν λιγότερο από $0,4 \text{ kJ mol}^{-1}$. Αναφέρεται επίσης, από τους ίδιους ερευνητές, ότι η μεταφορά ενός πεπτιδικού δεσμού από το εσωτερικό μιας πρωτεΐνης σε μια θέση στην επιφάνειά της

που είναι εκτεθειμένη στο διαλύτη, δε φαίνεται να επηρεάζει την αυθόρμητη τάση του δεσμού για *cis* ή *trans* διαμόρφωση.

Στην παρούσα διατριβή αποδεικνύεται, σε αντίθεση με τους προαναφερθέντες ερευνητές, πως υπάρχει άμεση συσχέτιση του *cis-trans* ισομερισμού του πεπτιδικού δεσμού των πρότυπων μοντέλων πεπτιδίων με τις ιδιότητες του διαλύτη. Αυτό φαίνεται τόσο από τις διαφοροποιήσεις, ανά περίπτωση, του ενθαλπικού και του εντροπικού παράγοντα που διέπουν την *cis-trans* ισορροπία, όσο και από τις μεταβολές στην ελεύθερη ενέργεια Gibbs. Η άποψη αυτή ενισχύεται από υπάρχοντα δεδομένα σύμφωνα με τα οποία, η αναδιοργάνωση που επιφέρει το εκάστοτε περιβάλλον, δηλαδή ο εκάστοτε διαλύτης, στους δεσμούς υδρογόνου και εν γένει, στις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις του συστήματος αμιδίου-διαλύτη, έχει άμεση επίδραση στις θερμοδυναμικές του ιδιότητες (Lee *et al.*, 1996).

Είναι γνωστό, ότι οι ενδομοριακές και διαμοριακές αλληλεπιδράσεις αποτελούν πρωταρχικούς παράγοντες στη διαφοροποίηση της σταθερότητας μεταξύ *cis* και *trans* πεπτιδίων σε υδατικό διάλυμα. Οι πεπτιδικοί δεσμοί αλληλεπιδρούν ισχυρά με το νερό (Jeffrey από το βιβλίο “Hydrogen Bonding in Biological Structure”, 1991 και Wolfenden, 1976). Μία μέτρια, λουπόν, διαφοροποίηση στις ελεύθερες ενέργειες ενυδάτωσης των *cis* και *trans* ισομερών θα μπορούσε να επιφέρει σημαντικές τροποποιήσεις στη δομή πεπτιδίων και πρωτεϊνών.

Η παρούσα μελέτη παρέχει τα πρώτα άμεσα πειραματικά δεδομένα που αποδεικνύουν την άμεση εξάρτηση της ενθαλπίας και της εντροπίας τόσο από την *N*-αλκυλοϋποκατάσταση όσο και από τη φύση του διαλύτη. Γίνεται, επίσης, σύγκριση με βιβλιογραφικά δεδομένα μοντέλων πεπτιδίων (Troganis *et al.*, 2005).

Ειδικότερα, διεξάγοντας πειράματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού μεταβλητής θερμοκρασίας (variable temperature $^1\text{H-NMR}$) σε διάλυμα, σε πρότυπες ενώσεις αμιδίων, τόσο σε πολικούς διαλύτες, όπως είναι το νερό, το ακετονιτρίλιο και η μεθανόλη όσο και σε διαλύτες χαμηλής διηλεκτρικής σταθεράς και ικανότητας επιδιαλύτωσης, όπως είναι το διχλωρομεθάνιο, το χλωροφόρμιο, το τολουόλιο, το βενζόλιο, το *n*-εξάνιο και το κυκλοεξάνιο παρέχεται η δυνατότητα ακριβούς θερμοδυναμικής περιγραφής της *cis-trans* ισορροπίας του προτύπου αμιδίου.

Ορισμένες φυσικές ιδιότητες των διαλυτών που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα ερευνητική εργασία παρατίθενται στον Πίνακα 6 που ακολουθεί.



Πίνακας 6. Χαρακτηριστικές ιδιότητες των διαλυτών που χρησιμοποιήθηκαν στις μελέτες του παρόντος πονήματος.

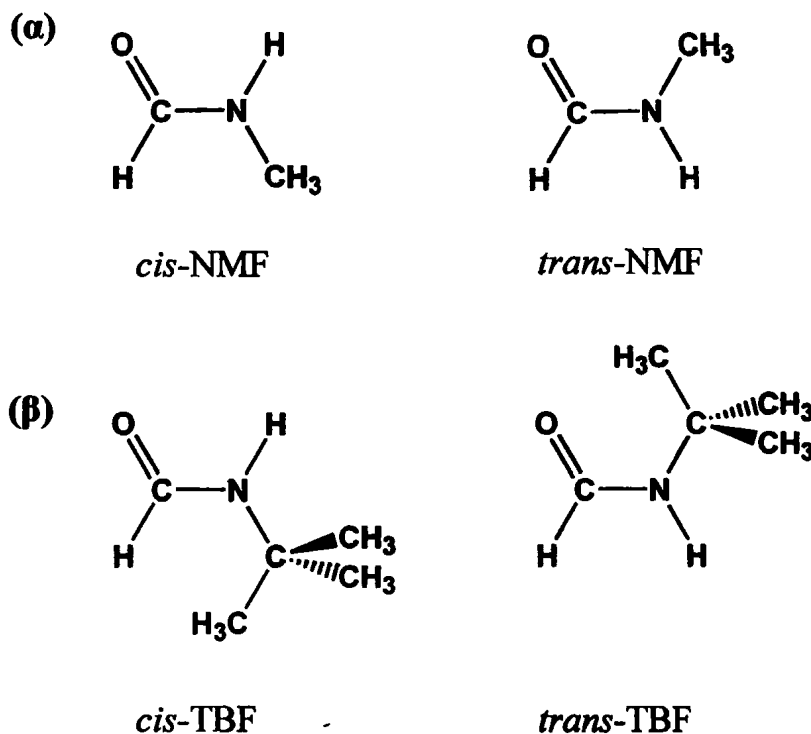
Διαλύτης	Σημείο Πήξης (°C)	Σημείο Ζέσης (°C)	Διηλεκτρική Σταθερά	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
Νερό	0	100	78,5	4,72	-
Διμεθυλοσουλφοξείδιο	18,5	189	46,7	2,49	39,5
Ακετονιτρίλιο	-44	81,6	37,5	1,93	1,28, 118,10
Μεθανόλη	-97,7	64,7	32,7	3,31	49,0
Διχλωρομεθάνιο	-95,1	39,8	8,9	5,31	53,73
Χλωροφόρμιο	-63,5	61,1	4,8	7,26	77,36
Τολουόλιο	-94,9	110,6	2,4	2,09, 7,01, 7,09	21,3, 138,5
Βενζόλιο	5,5	80,1	2,3	7,16	128,7
Τετραχλωράνθρακας	-23	76,7	2,2	-	96,7
Κυκλοεξάνιο	6,6	80,7	2,0	1,4	27,8
n-εξάνιο	-23	69	2,0	0,86, 1,37	14,0, 23,1, 32,2

Η διεξαγωγή πειραμάτων πρωτονιακού μαγνητικού συντονισμού, μεταβλητής θερμοκρασίας έχει τρία σημαντικά πλεονεκτήματα. Πρώτον, αποτελούν αδιαμφισβήτητη μεθοδολογία υπολογισμού των ποσοστών *cis* και *trans* ισομερών πρότυπων μοντέλων πεπτιδίων σε διάλυμα. Το ποσοστό τόσο του *cis* όσο και του *trans* ισομερούς προκύπτει από τα σχετικά ολοκληρώματα των αντίστοιχων κορυφών των NMR- ^1H φασμάτων. Δεύτερον, η ακριβής ταυτοποίηση των κορυφών των φασμάτων NMR των εν λόγω αμιδίων είναι ήδη γνωστή μέσω της φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού δύο διαστάσεων (2D ^1H - ^1H NOESY), όπου παρέχεται η δυνατότητα υπολογισμού των αποστάσεων βάσει της, μέσω χώρου, αλληλεπίδρασης των φορμυλο-C(O)H και των αμιδικών πρωτονίων NH του πεπτιδικού δεσμού (Gerothanassis *et al.*, 1995, Gerothanassis *et al.*, 1996). Η εν λόγω ταυτοποίηση



υποστηρίζεται και από την τιμή της σταθεράς σύζευξης, $^3J_{\text{NHC(O)H}}$ (Stewart *et al.*, 1970, Gerothanassis *et al.*, 1995, Gerothanassis *et al.*, 1996).

Το *N*-μεθυλοφορμαμίδιο (NMF) και το *N*-*tert*-βουτυλοφορμαμίδιο (TBF), σε διάλυμα, βρίσκονται σε ισορροπία δύο ισομερών μορφών, της *cis* και της *trans*, όπως φαίνεται στο Σχήμα 16:



Σχ. 16. *Cis* και *trans* ισομερή των *N*-μονοϋποκατεστημένων φορμαμιδίων (HCONHR), (α) *N*-μεθυλοφορμαμίδιο (NMF) και (β) *N*-*tert*-βουτυλοφορμαμίδιο (TBF).

Η *cis-trans* ισορροπία του πεπτιδικού δεσμού μπορεί να περιγραφεί από τη σταθερά ισορροπίας K_{eq} σύμφωνα με την εξίσωση:

$$K_{eq} = \frac{[trans]}{[cis]} \quad (45)$$

η οποία σχετίζεται άμεσα με την κανονική ελεύθερη ενέργεια Gibbs, ΔG° , μέσω της εξίσωσης (33) (εξ. 33, σελ. 26).

Οι θερμοδυναμικές παράμετροι του *cis-trans* ισομερισμού σε υδατικό διάλυμα μπορούν να εξαχθούν από πειράματα μεταβλητής θερμοκρασίας, λαμβάνοντας ως δεδομένο ότι το *cis* και το *trans* ισομερές υπάρχουν ταυτόχρονα και ότι οι σχετικές

συγκεντρώσεις των δύο ισομερών μορφών μπορούν να υπολογιστούν με ακρίβεια. Όταν η σταθερά ισορροπίας, για τη συγκεκριμένη διεργασία, υπολογιστεί για μία σειρά θερμοκρασιών, τότε, όπως αναφέρθηκε και στο θεωρητικό μέρος, σύμφωνα με την εξίσωση Van't Hoff (εξ. 36, σελ. 26), με καταχώρηση των τιμών $\ln K_{eq}$ έναντι των τιμών $1/T$, σε σύστημα ορθογωνίων αξόνων, προκύπτουν οι τιμές μεταβολής της ενθαλπίας ΔH° και της εντροπίας ΔS° .

Η *cis-trans* ισορροπία για το NMF και για το TBF μπορεί εύκολα να μελετηθεί από τα σχετικά ολοκληρώματα των σημάτων συντονισμού των πρωτονίων του *N*-αλκυλοϋποκαταστάτη ($-\text{CH}_3$ και $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$, αντίστοιχα) ή από τα σχετικά ολοκληρώματα του καρβονυλικού πρωτονίου των δύο ισομερών.

Σε υδατικό διάλυμα, η διαφορά των σχετικών χημικών μετατοπίσεων των πρωτονίων της ομάδας $-\text{CH}_3$ για το *cis* και το *trans* ισομερές του NMF είναι της τάξης του 0,15 ppm. Για το λόγο αυτό, τα σήματα συντονισμού των δύο ισομερών μορφών διακρίνονται πολύ καλά σε φασματογράφο NMR 400 MHz. Οι σχετικές χημικές μετατοπίσεις, όμως, των πρωτονίων της ομάδας $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ του *cis* και *trans* ισομερούς του TBF διαφέρουν περίπου κατά 0,016 ppm. Η διαφορά των συγκεκριμένων χημικών μετατοπίσεων είναι ιδιαίτερα μικρή, με αποτέλεσμα τα σήματα συντονισμού να αλληλοεπικαλύπτονται έντονα σε φασματογράφο των 400 MHz. Η δυσκολία αυτή αντιμετωπίζεται με τη λήψη των φασμάτων σε φασματογράφο των 800 MHz, όπου τα σήματα συντονισμού των $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ πρωτονίων διαχωρίζονται πολύ καλά με αποτέλεσμα η *cis-trans* ισορροπία για το TBF να μπορεί να μελετηθεί εύκολα από τα σχετικά ολοκληρώματα των κορυφών.

Η *cis-trans* ισορροπία τόσο για το NMF όσο και για το TBF σε διάλυμα μη πολικών διαλυτών, όπως για παράδειγμα το CDCl_3 , δεν μπορεί να προσεγγιστεί γραμμικά μέσω της εξίσωσης Van't Hoff, η οποία ισχύει σε ένα μικρό θερμοκρασιακό εύρος, όπου η θερμοχωρητικότητα θεωρείται ότι παραμένει πρακτικά σταθερή. Προκειμένου να ξεπεραστεί αυτό το εμπόδιο στην συγκεκριμένη περίπτωση, εισάγεται στην εξίσωση (36) (εξ. 36, σελ. 26) η θερμοχωρητικότητα υπό σταθερή πίεση.

Οι μεταβολές της ενθαλπίας και της εντροπίας εκφράζονται, μέσω της θερμοχωρητικότητας υπό σταθερή πίεση, από τις σχέσεις:

$$\frac{d(\Delta H)}{dT} = \Delta C_p \quad (46)$$

και



$$\frac{d(\Delta S)}{dT} = \frac{\Delta C_p}{T} \quad (47)$$

ενώ η θερμοχωρητικότητα εκφράζεται ως συνάρτηση της θερμοκρασίας που προσεγγίζεται από την εξίσωση (19) (εξ. 19, σελ. 23). Βέβαια, η εφαρμογή της εξίσωσης (19) προϋποθέτει γνώση της εξάρτησης της θερμοχωρητικότητας από τη θερμοκρασία στη θεωρούμενη περιοχή θερμοκρασιών. Θεωρώντας ότι $\Delta C_p = a$, η εξίσωση Van't Hoff μπορεί να γραφεί ως εξής:

$$\ln K_{eq} = -\frac{\Delta H^\circ_{298}}{RT} + \frac{\Delta S^\circ_{298}}{R} + \frac{a}{R} \left(\ln \frac{T}{298} - \frac{T-298}{T} \right) \quad (48)$$

Η εξίσωση (48) που είναι τριών μεταβλητών χρησιμοποιείται για την επεξεργασία πειραματικών δεδομένων σε μη πολικούς διαλύτες.

Το τρίτο πλεονέκτημα των πρωτονιακών φασμάτων πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού μεταβλητής θερμοκρασίας αφορά στις πολύτιμες πληροφορίες που δύνανται να προκύψουν σχετικά με τις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις του εξεταζόμενου συστήματος.

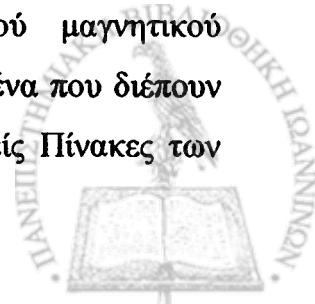
Η σημαντική μετατόπιση που προκαλεί, για παράδειγμα, ο σχηματισμός δεσμού υδρογόνου στο σήμα συντονισμού του αμιδικού πρωτονίου προς υψηλότερες συχνότητες παίζει πρωτεύοντα ρόλο στην ερμηνεία των NMR- ^1H φασμάτων. Σε πολλές περιπτώσεις μάλιστα, αποδεικνύεται πως οι χημικές μετατοπίσεις των πρωτονίων των ομάδων OH και NH εξαρτώνται άμεσα από τη φύση του διαλύτη. Επίσης, οι εν λόγω χημικές μετατοπίσεις δύνανται να έχουν σημαντική διαγνωστική αξία στην επίλυση δομών όπου διαμοριακοί ή ενδομοριακοί (αναγνώριση σχηματισμού β - ή γ -στροφής) δεσμοί υδρογόνου είναι παρόντες (Higashijima *et al.*, 1975, Becker, 1996). Η μετατόπιση του σήματος συντονισμού, του εμπλεκόμενου σε δεσμό υδρογόνου πρωτονίου, προς υψηλότερες συχνότητες είναι αποτέλεσμα της μείωσης της διαμαγνητικής προστασίας γύρω από τον πυρήνα πρωτονίου λόγω μειωμένης ηλεκτρονιακής πυκνότητας. Έχει αποδειχτεί μάλιστα, ότι το σήμα συντονισμού του πρωτονίου NH του πεπτιδικού δεσμού εξαρτάται άμεσα εκτός από το διαλύτη, και από άλλους παράγοντες όπως είναι η συγκέντρωση του αμιδίου και η θερμοκρασία (Stewart *et al.*, 1970, Higashijima *et al.*, 1975, Stevens *et al.*, 1980, Gellman *et al.*, 1989, Gellman *et al.*, 1991, Akiyama *et al.*, 1994, Haque *et al.*, 1994, Garcia-Viloca *et al.*, 1997, Ludwig *et al.*, 1997, Garcia-Viloca *et al.*, 1998, Ohtaki *et al.*, 2000). Η εξάρτηση αυτή μάλιστα, χρησιμοποιείται επιτυχώς σε μελέτες δομικών χαρακτηριστικών

βιομορίων.

Όσον αφορά στην εξάρτηση της χημικής μετατόπισης του αμιδικού πρωτονίου NH από τη συγκέντρωση του αμιδίου αναφέρεται για παράδειγμα, ότι όσο ελαττώνεται η συγκέντρωση του αμιδίου σε διάλυμα CDCl_3 , το πρωτόνιο, τόσο του *cis* όσο και του *trans* ισομερούς, μετατοπίζεται προς χαμηλότερες συχνότητες, με το *trans* πρωτόνιο να εμφανίζει μεγαλύτερη μετατόπιση. Αυτή η μετατόπιση προς χαμηλότερες συχνότητες κατά την αραίωση οφείλεται στη μείωση των διαμοριακών δεσμών υδρογόνου μεταξύ των αμιδίων. Η μεγαλύτερη μετατόπιση που υφίσταται το *trans* ισομερές σε σχέση με το *cis* οφείλεται ενδεχομένως στο γεγονός ότι οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των *trans* ισομερών διασπώνται πιο εύκολα και σε μεγαλύτερο ποσοστό απ' ό,τι στα *cis* ισομερή. Δύο πιθανές εξηγήσεις δίνονται για το συγκεκριμένο φαινόμενο που συνοδεύει τη μεταβολή της συγκέντρωσης. Σύμφωνα με την πρώτη, το *cis* ισομερές σε διάλυμα είναι πιθανόν πιο σταθερό από το *trans*. Με βάση τη δεύτερη εξήγηση, η *cis* μορφή ακόμα και σε υψηλή αραίωση δείχνει να σταθεροποιείται μέσω δεσμών υδρογόνου σχηματίζοντας κυκλικά διμερή ενώ η *trans* μορφή στις ίδιες συγκεντρώσεις συνδέεται σε πολύ μικρότερο ποσοστό με διαμοριακούς δεσμούς υδρογόνου με άλλα αμιδικά μόρια (Stewart *et al.*, 1970).

6.1.1. N-MΕΘΥΛΟΦΟΡΜΑΜΙΔΙΟ ΚΑΙ N-tert-ΒΟΥΤΥΛΟΦΟΡΜΑΜΙΔΙΟ ΣΕ ΙΣΧΥΡΑ ΠΟΛΙΚΟΥΣ ΔΙΑΛΥΤΕΣ

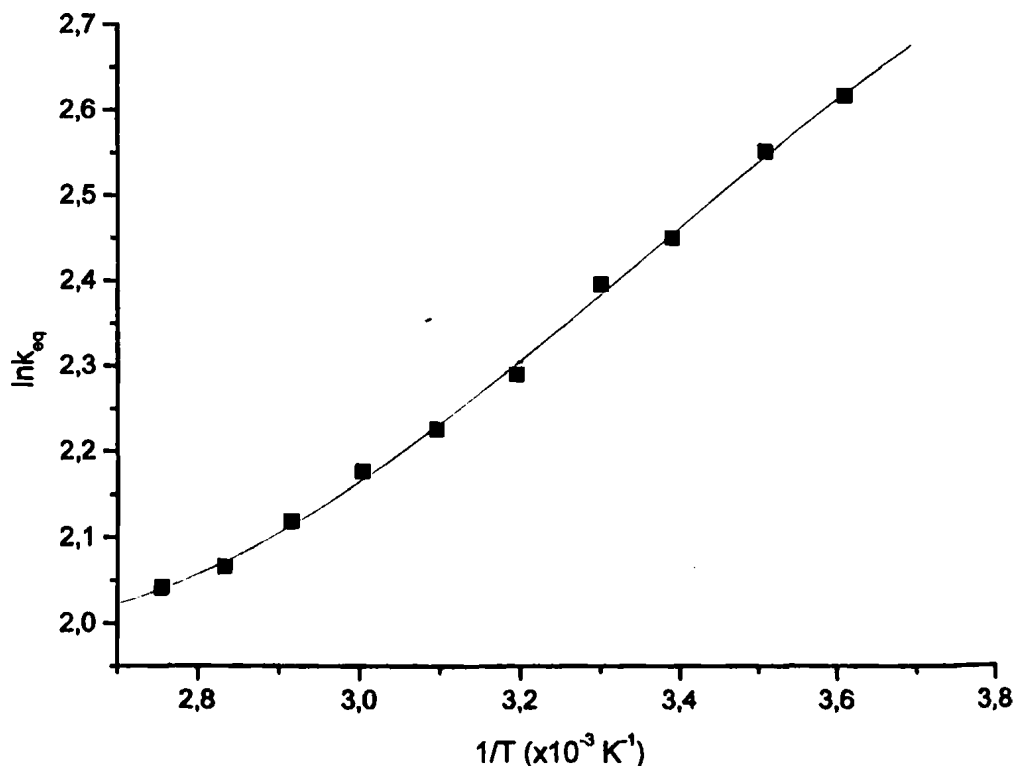
Η συζήτηση των αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής ξεκινάει από την περίπτωση των πολικών διαλυτών. Η επιλογή των συγκεκριμένων διαλυτών βασίστηκε στην προσπάθεια προσομοίωσης ενός περιβάλλοντος υδρόφιλων ιδιοτήτων, όπου θα πρέπει να καταστεί σαφές ότι διερευνάται κυρίως το φαινόμενο του *cis-trans* ισομερισμού του πεπτιδίου. Η συγκέντρωση των διαλυμάτων ήταν αρκετά μικρή (έως 2 mM, με εξαίρεση την περίπτωση των υδατικών διαλυμάτων, όπου η συγκέντρωση ήταν 20 mM), ώστε να ελαχιστοποιούνται κατά το δυνατόν οι διαμοριακές αλληλεπιδράσεις αμιδίου-αμιδίου (αποφυγή φαινομένων διμερισμού και/ή πολυμερισμού) και να παρατηρείται αποκλειστικά το φαινόμενο του *cis-trans* ισομερισμού. Αρχικά παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από τα πειράματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού και στη συνέχεια σχολιάζονται τα θερμοδυναμικά δεδομένα που διέπουν την *cis-trans* ισορροπία των συγκεκριμένων συστημάτων. Λεπτομερείς Πίνακες των



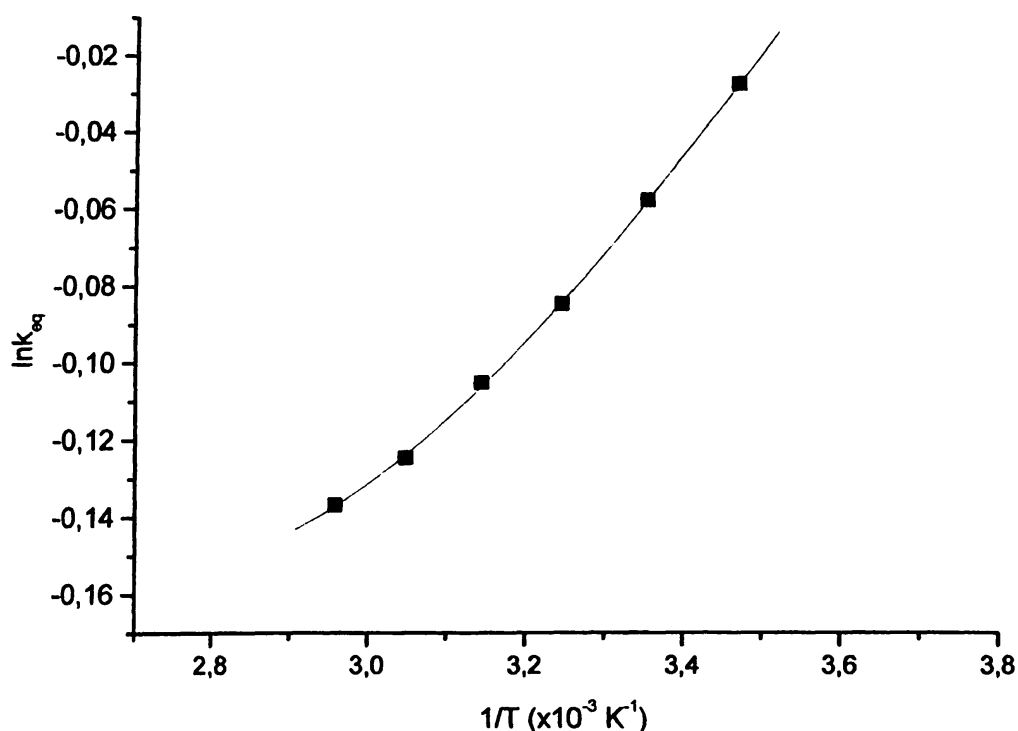
πειραματικών δεδομένων από τους οποίους προέκυψαν τα Διαγράμματα που παρατίθενται, παρουσιάζονται συγκεντρωτικά σε ξεχωριστό Παράρτημα στο τέλος της Διατριβής.

6.1.1.1. Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΩΝ ΥΔΑΤΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ

Στους Πίνακες Π-1 και Π-2 του Παραρτήματος και στο Διάγραμμα 1 παρατίθενται τα δεδομένα ολοκλήρωσης όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, μεταβλητής θερμοκρασίας, κατά τη μελέτη της *cis-trans* ισορροπίας του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF) σε νερό. Επίσης, στους Πίνακες Π-3 και Π-4 του Παραρτήματος και στο Διάγραμμα 2 παρατίθενται τα αντίστοιχα δεδομένα για το *N*-*tert*-βουτυλοφορμαμίδιο (TBF) σε υδατικό διάλυμα.



Διάγραμμα 1. Δεδομένα ολοκλήρωσης των πρωτονίων $-CH_3$ του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF), όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, κατά τη μελέτη της *trans-cis* ισορροπίας του αμιδίου σε διαλύτη 90% H_2O /10% D_2O , συγκέντρωση 20 mM και θερμοκρασίες από 363K έως 277K. Τα σημεία του Διαγράμματος προσεγγίζονται από πολυώνυμο τρίτου βαθμού με τύπο $Y=A+B_1X+B_2X^2+B_3X^3$, συντελεστή R^2 (COD) = 0,99853 και τυπική απόκλιση (SD) = 0,00952. Οι τιμές των συντελεστών του συγκεκριμένου πολυωνόμου είναι: $A = 15,14121 (\pm 6,39512)$, $B_1 = -12,98102 (\pm 6,07426)$, $B_2 = 4,11597 (\pm 1,91578)$ και $B_3 = -0,41025 (\pm 0,20064)$.

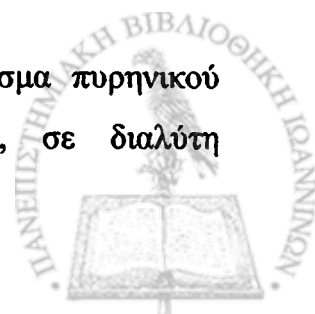


Διάγραμμα 2. Δεδομένα ολοκλήρωσης των πρωτονίων $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, κατά τη μελέτη της *trans-cis* ισορροπίας του αμιδίου σε διαλύτη 90% $\text{H}_2\text{O}/10\% \text{D}_2\text{O}$, συγκέντρωση 20 mM και θερμοκρασίες από 338K έως 288K. Τα σημεία του Διαγράμματος προσεγγίζονται από πολυώνυμο τρίτου βαθμού με τύπο $Y=A+B_1X+B_2X^2+B_3X^3$, συντελεστή $R^2 \text{ (COD)} = 0,99978$ και τυπική απόκλιση (SD) = $9,68847\text{E-}4$. Οι τιμές των συντελεστών του συγκεκριμένου πολυωνύμου είναι: $A = 4,08098 (\pm 3,70489)$, $B_1 = -3,89711 (\pm 3,4668)$, $B_2 = 1,14541 (\pm 1,07969)$ και $B_3 = -0,10481 (\pm 0,11191)$.

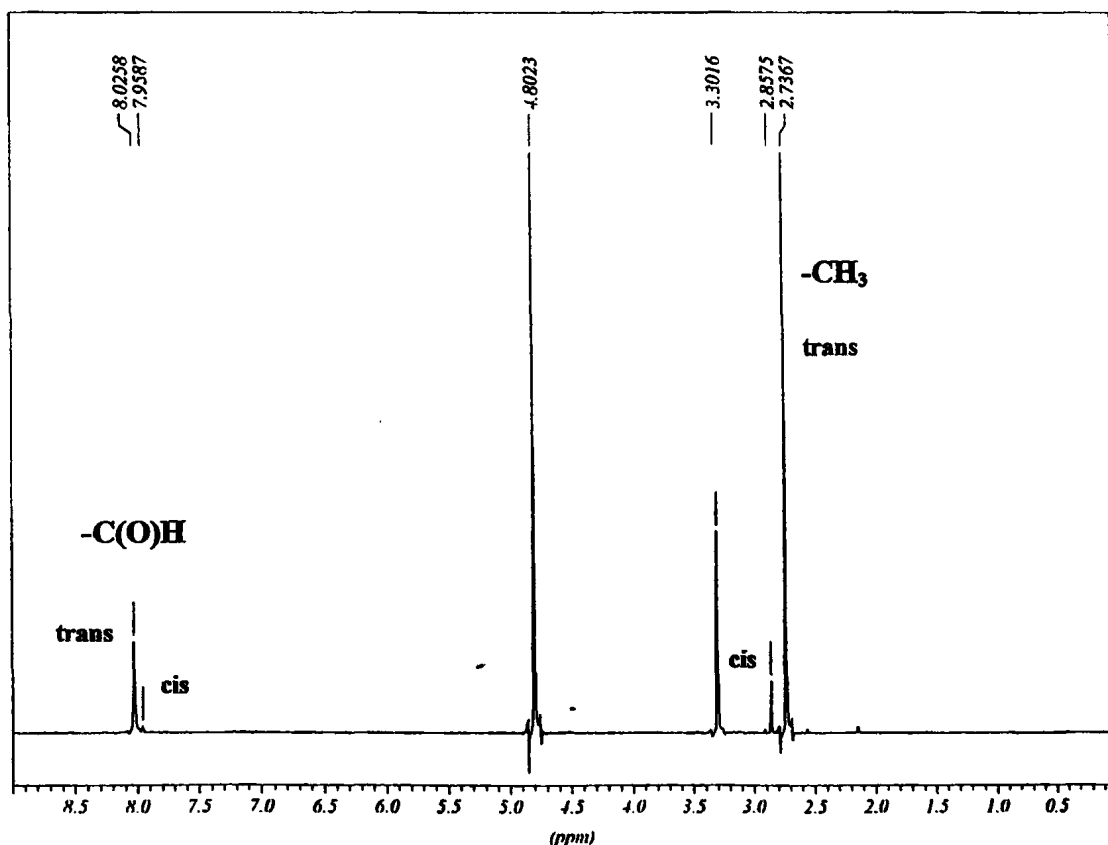
6.1.1.2. Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΩΝ ΜΕΘΑΝΟΛΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ

Στο Σχήμα 17 παρατίθεται ενδεικτικό πρωτονιακό φάσμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF), σε διαλύτη δευτεριωμένη μεθανόλη, CD_3OD με την ταυτοποίηση των απορροφήσεων των πρωτονίων $-\text{CH}_3$ και $\text{C}(\text{O})\text{H}$ του *trans* και του *cis* ισομερούς του αμιδίου. Στο Διάγραμμα 3 και στους Πίνακες Π-5 και Π-6 του Παραρτήματος, παρατίθενται τα δεδομένα ολοκλήρωσης όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, μεταβλητής θερμοκρασίας, κατά τη μελέτη της *cis-trans* ισορροπίας του NMF σε μεθανόλη.

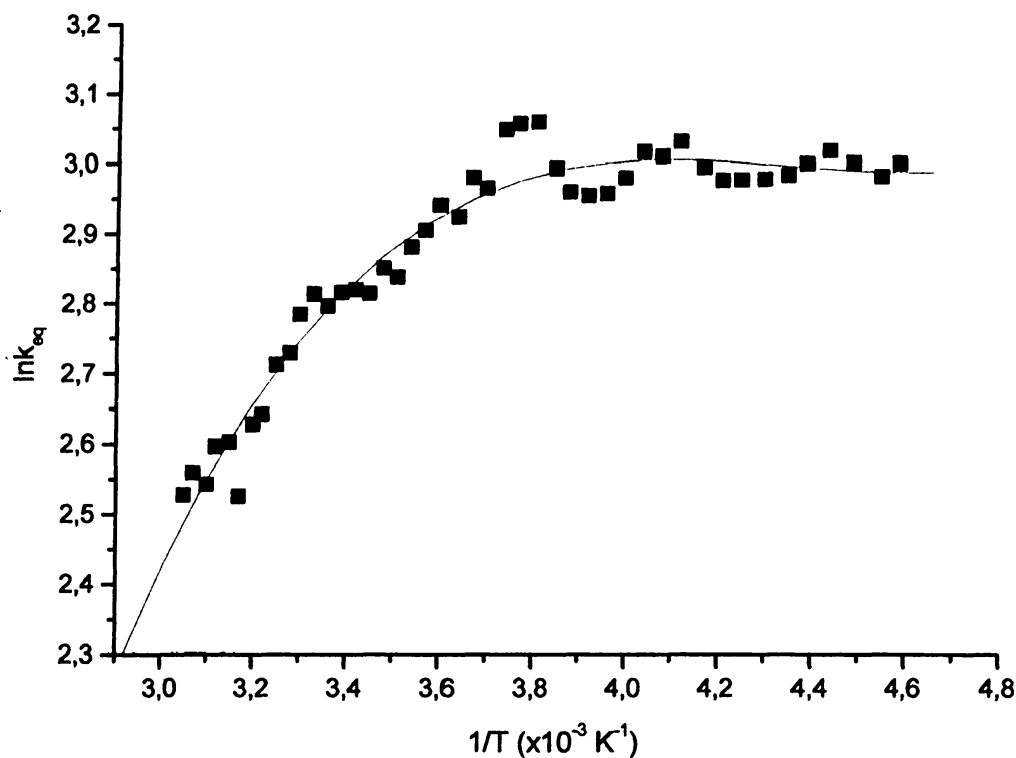
Επίσης, στο Σχήμα 18 παρατίθεται ενδεικτικό πρωτονιακό φάσμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), σε διαλύτη



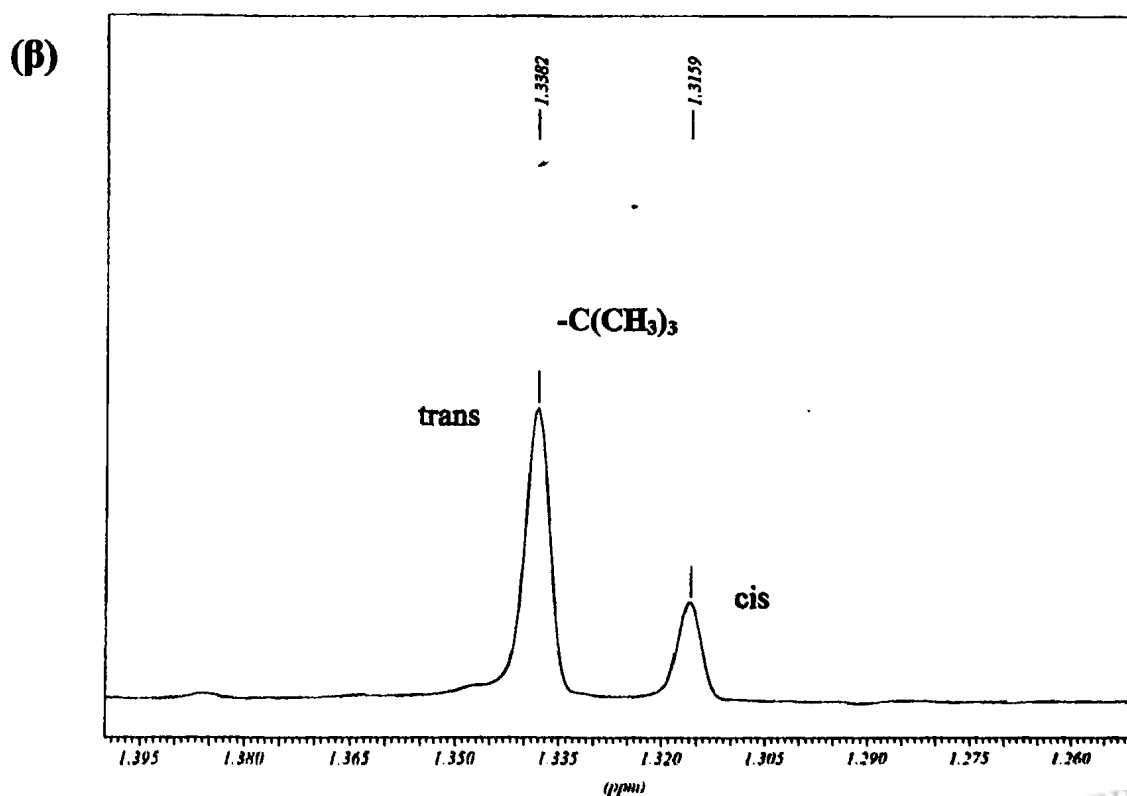
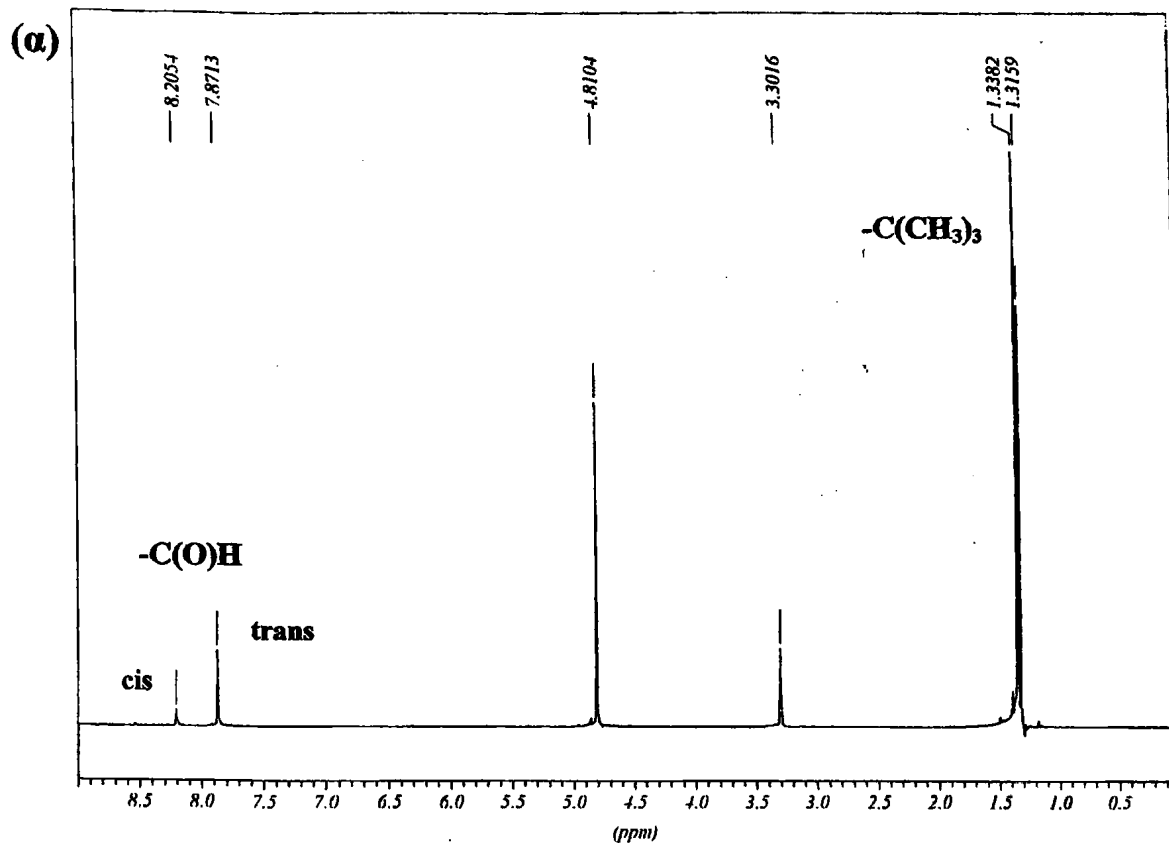
δευτεριωμένη μεθανόλη, CD_3OD με την ταυτοποίηση των απορροφήσεων των πρωτονίων $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ και $\text{C}(\text{O})\text{H}$ του *trans* και *cis* ισομερούς του αμιδίου, καθώς και η ανηγμένη η περιοχή του φάσματος όπου εμφανίζονται τα σήματα συντονισμού των πρωτονίων $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ του αμιδίου. Τέλος, στο Διάγραμμα 4 και στους Πίνακες Π-7 και Π-8 του Παραρτήματος παρατίθενται τα αντίστοιχα δεδομένα για το TBF σε μεθανόλη.



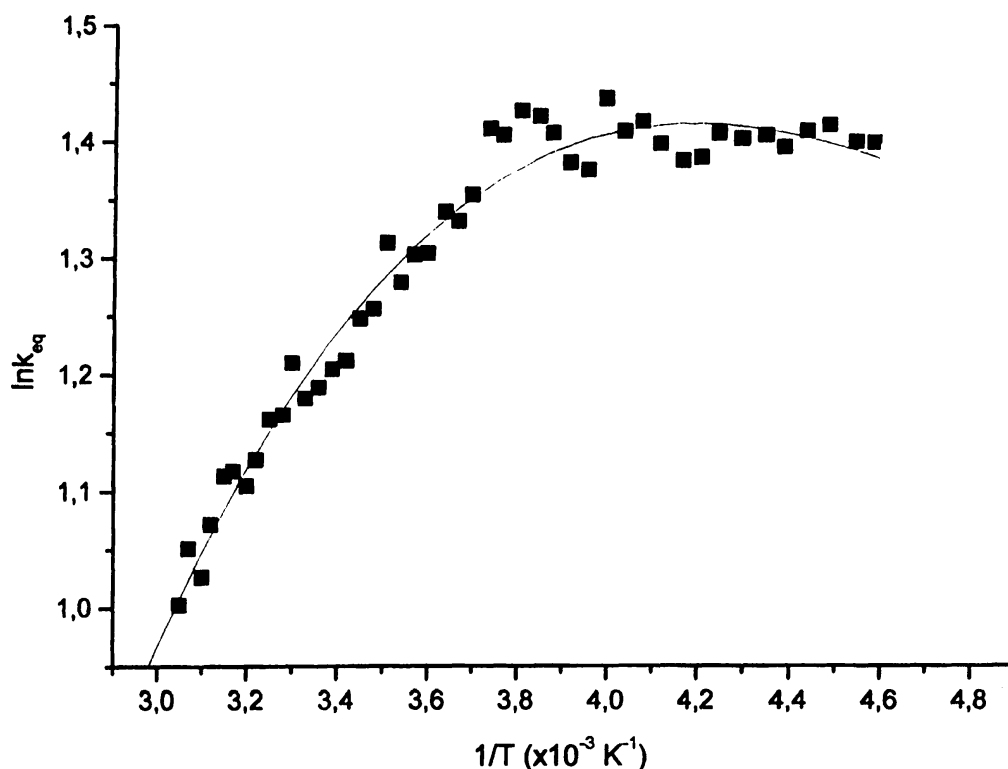
Σχ. 17. Ενδεικτικό πρωτονιακό φάσμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF), σε διαλύτη δευτεριωμένη μεθανόλη, CD_3OD και συγκέντρωση 2 mM, στους 300K. Επισημαίνονται οι κορυφές συντονισμού των πρωτονίων $-\text{CH}_3$ και $\text{C}(\text{O})\text{H}$ του *trans* και του *cis* ισομερούς του αμιδίου.



Διάγραμμα 3. Δεδομένα ολοκλήρωσης των πρωτονίων $-\text{CH}_3$ του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF), όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, κατά τη μελέτη της *trans-cis* ισορροπίας του αμιδίου σε διαλύτη δευτεριωμένη μεθανόλη, CD_3OD , συγκέντρωση 2 mM και θερμοκρασίες από 327,5 έως 217,5K. Το κάθε σημείο του Διαγράμματος προέκυψε από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος. Δίνεται μία πολωνυμική προσέγγιση, τρίτου βαθμού, των σημείων του Διαγράμματος με τύπο $Y=A+B_1X+B_2X^2+B_3X^3$, συντελεστή R^2 (COD) = 0,95315 και τυπική απόκλιση (SD) = 0,03612. Οι τιμές των συντελεστών του συγκεκριμένου πολωνύμου είναι: $A = -18,26302 (\pm 3,92317)$, $B_1 = 14,76372 (\pm 3,14144)$, $B_2 = -3,4055 (\pm 0,83219)$ και $B_3 = 0,26087 (\pm 0,07294)$.



Σχ. 18. (α) Ενδεικτικό πρωτονιακό φάσμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του *N*-teribουτυλοφορμαμιδίου (TBF), σε διαλύτη δευτεριωμένη μεθανόλη, CD₃OD και συγκέντρωση 2 mM, στους 300K. Επισημαίνονται οι κορυφές συντονισμού των πρωτονίων -C(CH₃)₃ και C(O)H του *trans* και *cis* ισομερούς του αμιδίου. (β) Ανηγμένη η περιοχή του φάσματος όπου εμφανίζονται τα σήματα συντονισμού των πρωτονίων -C(CH₃)₃ του αμιδίου.



Διάγραμμα 4. Δεδομένα ολοκλήρωσης των $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ πρωτονίων του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, κατά τη μελέτη της *trans-cis* ισορροπίας του αμιδίου σε διαλύτη δευτεριωμένη μεθανόλη, CD_3OD , συγκέντρωση 2 mM και θερμοκρασίες από 327,5 έως 217,5K. Το κάθε σημείο του Διαγράμματος προέκυψε από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος. Μία καλή προσέγγιση, των σημείων του Διαγράμματος γίνεται με πολυώνυμο τρίτου βαθμού, με τύπο $Y=A+B_1X+B_2X^2+B_3X^3$, συντελεστή R^2 (COD) = 0,97144 και αντίστοιχη τυπική απόκλιση (SD) = 0,02252. Οι τιμές των συντελεστών του συγκεκριμένου πολυωνύμου είναι: $A = -8,24427 (\pm 2,44609)$, $B_1 = 5,99364 (\pm 1,95869)$, $B_2 = -1,21116 (\pm 0,51887)$ και $B_3 = 0,07893 (\pm 0,04548)$.

6.1.1.3. ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Στον Πίνακα 7 που ακολουθεί παρατίθενται συγκεντρωτικά τα ποσοστά των *cis* και *trans* ισομερών, όπως αυτά διαμορφώνονται στην παρούσα ερευνητική εργασία, για το *N*-μεθυλοφορμαμίδιο (NMF) και το *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιο (TBF) σε τρεις ενδεικτικές θερμοκρασίες ανά διάλυμα.



Πίνακας 7. Μεταβολή της κατανομής των *cis* και *trans* ισομερών ανά σύστημα αμιδίου/διαλύτη για τα πρότυπα αμίδια *N*-μεθυλοφορμαμίδιο (NMF) και *N*-*tert*-βουτυλοφορμαμίδιο (TBF).

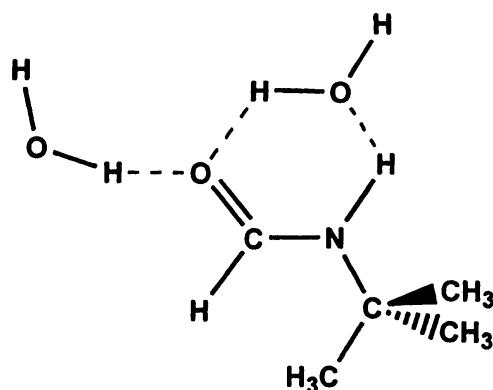
Διαλύτης	NMF		TBF	
	% <i>cis</i>	% <i>trans</i>	% <i>cis</i>	% <i>trans</i>
90% H ₂ O/10% D ₂ O (20 mM)	11,5 (363K)	88,5 (363K)	53,4 (338K)	46,6 (338K)
	8,4 (303K)	91,6 (303K)	51,5 (298K)	48,5 (298K)
	6,8 (277K)	93,2 (277K)	50,7 (288K)	49,3 (288K)
CD ₃ OD (2 mM)	7,4 (327,5K)	92,6 (327,5K)	26,8 (327,5K)	73,2 (327,5K)
	5,7 (300K)	94,3 (300K)	23,5 (300K)	76,5 (300K)
	4,8 (217,5K)	95,2 (217,5K)	19,9 (217,5K)	80,1 (217,5K)

Δύο στοιχεία του Πίνακα 7 χρήζουν επιμέρους αξιολόγησης. Το πρώτο αφορά στη διαφοροποίηση των ποσοστών των *cis* και *trans* ισομερών μεταξύ διαφορετικών αμιδίων ενώ το δεύτερο έχει να κάνει με το πώς η μεταβολή της θερμοκρασίας επηρεάζει τη *cis-trans* ισορροπία για το κάθε πεπτίδιο χωριστά.

Από τις τιμές του Πίνακα 7 γίνεται σαφής η διαφοροποίηση του ποσοστού του *cis* ισομερούς μεταξύ του NMF και του TBF. Πιο συγκεκριμένα, το ποσοστό του *cis* ισομερούς στην περίπτωση του *N*-*tert*-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF) είναι σημαντικά μεγαλύτερο από το αντίστοιχο ποσοστό του NMF τόσο στο νερό όσο και στη μεθανόλη. Η διαφορά αυτή μπορεί να αιτιολογηθεί ως αποτέλεσμα αυξημένων στερικών παρεμποδίσεων μεταξύ της *tert*-βουτυλομάδας και του αμιδικού οξυγόνου. (Gerothanassis *et al.*, 1995, Gerothanassis *et al.*, 1996). Έχει παρατηρηθεί, εν γένει, ότι στα *N*-αλκυλοφορμαμίδια το ποσοστό του *cis* ισομερούς αυξάνει με την αύξηση του μεγέθους του *N*-αλκυλοϋποκαταστάτη. Παρ' όλα αυτά όμως, ικανοποιητική εξήγηση δεν έχει δοθεί για τη γενικότερη επικράτηση του *trans* ισομερούς σε *N*-αλκυλοφορμαμίδια όπως το *N*-μεθυλοφορμαμίδιο όπου δεν υπάρχουν στερικοί παράγοντες που να ευνοούν κάτι τέτοιο ή σε *N*-αλκυλοφορμαμίδια όπως το *N*-*tert*-βουτυλοφορμαμίδιο, όπου, αντίθετα, υπάρχουν στερικοί παράγοντες που ευνοούν την υπεροχή του *cis* ισομερούς (Stewart *et al.*, 1970).

Στην περίπτωση του NMF τόσο σε υδατικό διάλυμα όσο και σε διάλυμα μεθανόλης επικρατεί σαφώς η *trans* διαμόρφωση επαληθεύοντας την άποψη περί μεγαλύτερης σταθερότητάς της. Στην περίπτωση του TBF σε διάλυμα μεθανόλης επικρατεί επίσης η *trans* διαμόρφωση. Αντίθετα, στην περίπτωση του TBF σε υδατικό διάλυμα και σε όλες τις θερμοκρασίες φαίνεται να υπερτερεί σε ένα μικρό ποσοστό η *cis* διαμόρφωση.

Μία προσπάθεια ερμηνείας αυτής της υπεροχής της *cis* διαμόρφωσης του TBF σε H_2O βασίζεται σε θεωρητικούς υπολογισμούς (Nguyen *et al.*, 1997) σύμφωνα με τους οποίους, μία ενεργειακά ιδιαίτερα σταθερή διαμόρφωση σε τέτοιου τύπου συστήματα, είναι αυτή που διευθετεί τα μόρια του νερού σε τέτοια θέση, ώστε να γεφυρώνουν το καρβονυλικό οξύγονο με το υδρογόνο του αζώτου του αμιδικού δεσμού στο *cis* ισομερές προσδίδοντάς του μία επιπρόσθετη σταθερότητα. Κάτι τέτοιο ενδεχομένως να ισχύει και στη συγκεκριμένη περίπτωση όπως προσεγγιστικά απεικονίζεται στο Σχήμα 19 που ακολουθεί. Οι ίδιοι θεωρητικοί υπολογισμοί αναφέρουν αντίστοιχες διαμοριακές αλληλεπιδράσεις και σε διάλυμα μεθανόλης. Στην παρούσα ερευνητική εργασία, όμως, ακόμη και αν γίνει δεκτό ότι σχηματίζονται τέτοιες γέφυρες, δε φαίνεται να επηρεάζουν τα ποσοστά των δύο διαμορφώσεων σε τόσο μεγάλο βαθμό όπως συμβαίνει στην περίπτωση του νερού. Ίσως στο νερό οι διαμοριακές αλληλεπιδράσεις να οδηγούν σε πιο σταθερά συστήματα.



Σχ. 19. Πιθανή αλληλεπίδραση μορίων νερού με το *cis* ισομερές του TBF. Διακρίνεται ο σχηματισμός γέφυρας μέσω δύο δεσμών υδρογόνου (μεταξύ του καρβονυλικού οξύγονου και του αμιδικού υδρογόνου) μέσω ενός μορίου νερού. Η διαμοριακή αυτή αλληλεπίδραση καθιστά ιδιαίτερα σταθερή τη *cis* διαμόρφωση του αμιδίου.

Τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής έρχονται σε καλή συμφωνία με υπάρχουσες αντίστοιχες μελέτες, σύμφωνα με τις οποίες σε διάλυμα CD_3OD το *cis* ισομερές του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF) βρίσκεται σε ένα ποσοστό ~6% και σε υδατικά διαλύματα σε ποσοστό ~9%, ενώ αυξάνει στο 17% για το *N*-αιθυλοφορμαμίδιο (NEF) σε υδατικό διάλυμα. Στο TBF το ποσοστό του *cis* ισομερούς έχει υπολογιστεί



στο 46% (Gerothanassis *et al.*, 1995, Gerothanassis *et al.*, 1996, Pawar *et al.*, 1998, García Martínez *et al.*, 2002).

Όσον αφορά στην επίδραση της θερμοκρασίας στη μεταβολή των ποσοστών των δύο ισομερών, παρατηρείται πως και στους δύο διαλύτες, το *cis* ισομερές τόσο του NMF όσο και του TBF παρουσιάζει μία σχετική αύξηση με την αύξηση της θερμοκρασίας. Μία πιθανή εξήγηση του φαινομένου βασίζεται στο γεγονός ότι η αύξηση της θερμοκρασίας έχει ως συνέπεια τη μείωση της ενεργειακής διαφοράς μεταξύ των δύο ισομερών του αμιδίου, με αποτέλεσμα μία μικρή μετατόπιση της ισορροπίας του συστήματος σε όφελος του *cis* ισομερούς.

6.1.1.3.1. ΘΕΡΜΟΔΥΝΑΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Στον Πίνακα 8 δίνονται οι τιμές μεταβολής της ενθαλπίας (ΔH°), της εντροπίας (ΔS°) και της ελεύθερης ενέργειας Gibbs υπολογισμένες στους 298K για τον *cis-trans* ισομερισμό των πρότυπων αμιδίων NMF και TBF σε υδατικό διάλυμα και σε διάλυμα μεθανόλης.

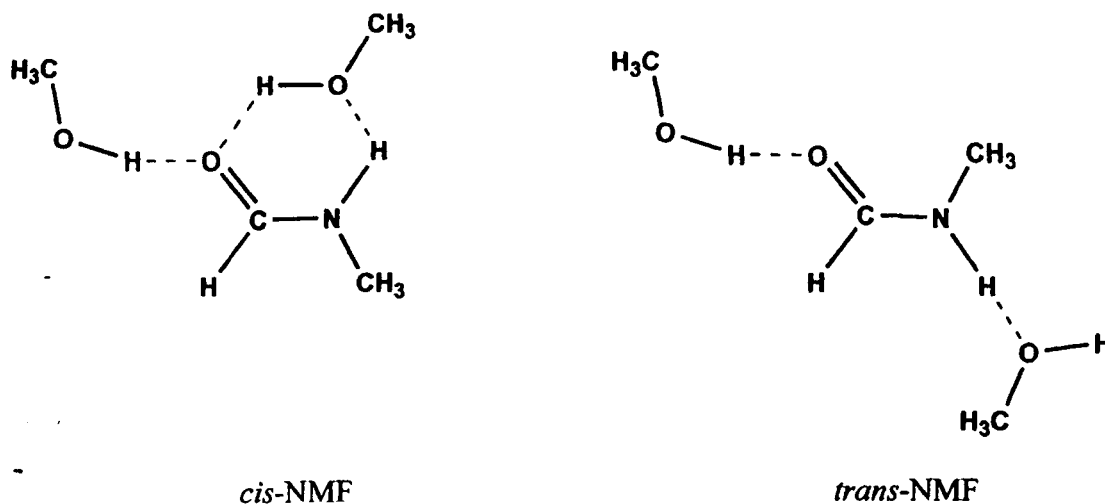
Πίνακας 8. Μεταβολές στις τιμές των θερμοδυναμικών παραμέτρων ΔH° , ΔS° and ΔG° κατά τον *cis-trans* ισομερισμό του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF) και του *N*-tert-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF) σε υδατικό διάλυμα και σε διάλυμα μεθανόλης στους 298K, όπως προκύπτουν μέσω μη-γραμμικής προσέγγισης.

<i>N</i>-μεθυλοφορμαμίδιο (NMF)				
Διαλύτης	ΔH° (kJ mol ⁻¹)	$T \cdot \Delta S^\circ$ (kJ mol ⁻¹)	ΔS° (J K ⁻¹ mol ⁻¹)	ΔG° (kJ mol ⁻¹)
90% H ₂ O/10% D ₂ O	-5,79±0,18	0,23±0,17	0,77±0,57	-6,02±0,18
CD ₃ OD	-5,92	0,99	3,32	-6,91
<i>N</i>-tert-βουτυλοφορμαμίδιο (TBF)				
Διαλύτης	ΔH° (kJ mol ⁻¹)	$T \cdot \Delta S^\circ$ (kJ mol ⁻¹)	ΔS° (J K ⁻¹ mol ⁻¹)	ΔG° (kJ mol ⁻¹)
90% H ₂ O/10% D ₂ O	-1,72±0,06	-1,87±0,06	-6,28±0,20	0,15±0,06
CD ₃ OD	-4,35	-1,36	-4,55	-2,99



Στην περίπτωση, όμως, της μεθανόλης, η διαφορά της εντροπίας κατά τον *cis-trans* ισομερισμό του αμιδίου είναι μεγαλύτερη ($3,32 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$), κάτι που υποδηλώνει πως η μεταβολή στην ελεύθερη ενέργεια ΔG° κατά $-6,91 \text{ kJ mol}^{-1}$, στους 298K, θα πρέπει μεν να οφείλεται κατά κύριο λόγο σε ύπαρξη σταθεροποιητικών παραγόντων, όπως είναι οι δεσμοί υδρογόνου, όχι όμως στον ίδιο βαθμό με την περίπτωση του υδατικού διαλύματος. Ο διαλύτης σε αυτήν την περίπτωση πιθανώς να επηρεάζει διαφορετικά, απ' ότι στο υδατικό διάλυμα, την ισορροπία του συστήματος αφού ο τρόπος που αλληλεπιδρά με το αμίδιο ενδέχεται να είναι διαφορετικός σε σχέση με το νερό. Στην περίπτωση αυτή, η μεθανόλη θα πρέπει να αλληλεπιδρά με το καρβονυλικό οξύγονο του αμιδικού δεσμού, ευνοώντας το σχηματισμό δύο δεσμών υδρογόνου κυρίως με το *cis* ισομερές. Με το *trans* ισομερές ενδεχομένως σχηματίζει έναν δεσμό υδρογόνου, αντί για δύο, λόγω της σχετικής στερεοχημικής παρεμπόδισης μεταξύ των μεθυλομάδων του αμιδίου και του διαλύτη όπως φαίνεται στο Σχήμα 21. Έτσι, η κινητικότητα του συστήματος επηρεάζεται σε σχετικά μικρότερο βαθμό από ό,τι συμβαίνει στο νερό με αποτέλεσμα να προκύπτουν πιο αυξημένες οι τιμές της εντροπίας. Στο συμπέρασμα αυτό καταλήγουν και πρόσφατες μελέτες για τον τρόπο αλληλεπίδρασης του παρεμφερούς αμιδίου *N*-μεθυλοακεταμίδιο με το νερό και με τη μεθανόλη (DeCamp *et al.*, 2005). Οι συγκεκριμένοι ερευνητές, κάνοντας χρήση υπέρυθρης φασματοσκοπίας δύο διαστάσεων αποδεικνύουν πως υπάρχει πολύ ισχυρή αλληλεπίδραση του αμιδίου με τρία μόρια νερού (σχηματισμός δύο δεσμών υδρογόνου με το καρβονυλικό οξύγονο και ένας με το πρωτόνιο NH του αμιδίου). Αντίθετα, αναφέρεται πως σε διάλυμα μεθανόλης υπάρχουν ισομερείς μορφές του αμιδίου που δύνανται να σχηματίσουν είτε έναν είτε δύο δεσμούς υδρογόνου με μόρια του διαλύτη.





Σχ. 21. Πιθανή αλληλεπίδραση των μορίων της μεθανόλης με το *cis* και το *trans* ισομερές του NMF. Στο *cis* ισομερές διακρίνεται, όπως και στην περίπτωση του υδατικού διαλύματος του αμιδίου, πιθανός σχηματισμός γέφυρας μέσω δύο δεσμών υδρογόνου (μεταξύ του καρβονυλικού οξυγόνου και του αμιδικού υδρογόνου) μέσω ενός μορίου μεθανόλης.

Στην περίπτωση του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF) η διαφορά στην ενθαλπία σε υδατικό διάλυμα 90% H₂O/10% D₂O κατά τον *cis-trans* ισομερισμό ελαττώνεται σημαντικά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην περίπτωση του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου ($\Delta H^\circ = -1,72 \text{ kJ mol}^{-1}$). Αντίθετα, η τιμή της εντροπίας στους 298K εμφανίζεται ελαφρά μεγαλύτερη ($T\Delta S^\circ = -1,87 \text{ kJ mol}^{-1}$), σε απόλυτους όρους, από αυτήν της ενθαλπίας (Πίνακας 8, σελ. 78).

Η μείωση της ενθαλπίας ενδεχομένως να οφείλεται σε ισχυρά στερικά φαινόμενα εξαιτίας της ογκώδους *tert*-βουτυλομάδας και στη μειωμένη επιδιαλύτωση της καρβονυλικής ομάδας στην περίπτωση του *trans* ισομερούς. Το συμπέρασμα αυτό έρχεται σε συμφωνία με προηγούμενες, εξειδικευμένες μελέτες NMR από τις οποίες αποδεικνύεται πειραματικά πως στο *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιο, το *trans* ισομερές επιδιαλυτώνεται με διαφορετικό τρόπο σε σύγκριση με το *cis* ισομερές λόγω της παρουσίας της ογκώδους *tert*-βουτυλομάδας (Gerothanassis *et al.*, 1996). Επιπλέον, προηγούμενες μελέτες NMR-¹⁷O σε *N*-υποκατεστημένα αμίδια (Gerothanassis *et al.*, 1994, Gerothanassis *et al.*, 1995, Gerothanassis *et al.*, 1996) έδειξαν μία μετατόπιση του σήματος συντονισμού του ¹⁷O κατά 20 ppm προς υψηλότερες συχνότητες, αποτέλεσμα της αποπροστασίας του καρβονυλικού οξυγόνου του αμιδικού δεσμού του *trans N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου σε σχέση με το *cis* ισομερές. Αυτή η αποπροστασία του πυρήνα ¹⁷O αποδόθηκε σε μείωση της δυνατότητας προσέγγισης του διαλύτη στο αμιδικό

οξυγόνο και/ή σε σημαντική, εκτός επιπέδου, στρέβλωση του αμιδικού δεσμού στην *trans* μορφή του αμιδίου.

Στην περίπτωση της μεθανόλης το *trans* ισομερές του TBF, το ποσοστό του οποίου είναι πολύ μεγαλύτερο απ'ότι στο νερό (βλ. Πίνακα 7), δείχνει να ευνοείται ενθαλπικά ($\Delta H^\circ = -4,35 \text{ kJ mol}^{-1}$), ενώ διαφαίνεται ένα εντροπικό κόστος ($T\Delta S^\circ (298\text{K}) = -1,36 \text{ kJ mol}^{-1}$), κάτι που οδηγεί στο συμπέρασμα πως η μεθανόλη θα πρέπει να αλληλεπιδρά, όπως και το νερό, με το καρβονυλικό οξυγόνο του αμιδικού δεσμού ευνοώντας το σχηματισμό δεσμών υδρογόνου και περιορίζοντας με τον τρόπο αυτό την «αταξία» του συστήματος.

Στον Πίνακα 9 δίνονται, για συγκριτικούς λόγους, οι τιμές για τη μεταβολή της ενθαλπίας (ΔH°), της εντροπίας (ΔS°) και της ελεύθερης ενέργειας Gibbs (ΔG°) στους 298K για τα *cis* και *trans* ισομερή ορισμένων μοντέλων πεπτιδίων σε υδατικό διάλυμα.

Πίνακας 9. Μεταβολές στις τιμές της των θερμοδυναμικών παραμέτρων ΔH° , ΔS° and ΔG° κατά τον *cis-trans* ισομερισμό μοντέλων πεπτιδίων σε υδατικό διάλυμα στους 298K.

Μοντέλα Πεπτιδίων	Διαλύτης	ΔH° (kJ mol^{-1})	$T\Delta S^\circ$ (kJ mol^{-1})	ΔS° ($\text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$)	ΔG° (kJ mol^{-1})
Gly-L-Pro ^a	D ₂ O	-4,20	-2,91	-9,70	-1,29
Ac-Gly-[β, δ - ¹³ C]Pro-OMe ^b	90%H ₂ O/10%D ₂ O	-5,33	-0,32	-1,05	5,01
Ac-L-Pro-D-Ala-NHMe ^c	90%H ₂ O/10%D ₂ O	-5,14	-1,64	-5,47	-3,50

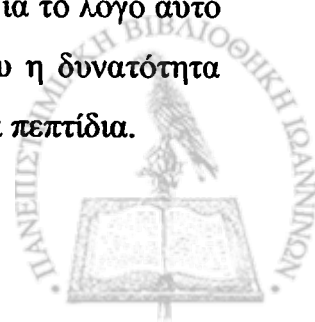
^a(Cheng *et al.* 1977), ^b(Eberhardt *et al.* 1993), ^c(Searle *et al.* 1995)

Οι Cheng και Bovey (Cheng *et al.*, 1977) μελέτησαν, κάνοντας χρήση NMR-¹³C, το πεπτίδιο γλυκυλο-L-προλίνη και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το *trans* ισομερές ευνοείται ενθαλπικά, όχι όμως και εντροπικά. Το συμπέρασμα αυτό αποδίδεται στην ακινητοποίηση του διαλύτη από το *trans* ισομερές. Πιο πρόσφατα, ο Eberhardt και οι συνεργάτες του (Eberhardt *et al.*, 1993) μελέτησαν τις θερμοδυναμικές αρχές που διέπουν τον ισομερισμό περί τον προλυλο-πεπτιδικό δεσμό του ρακεμικού διπεπτιδίου Ac-Gly-[β, δ -¹³C]Pro-OMe σε υδατικό διάλυμα και διάλυμα τολουολίου. Κατέληξαν στο συμπέρασμα, ότι η διαφορά στην ελεύθερη ενέργεια, ΔG° στα X-Pro ισομερή καθορίζεται, τόσο στο υδατικό διάλυμα όσο και σε διάλυμα τολουολίου, που είναι ένας

μη πολικός διαλύτης, σχεδόν αποκλειστικά από τη διαφορά στην ενθαλπία ($\Delta H^\circ = -5,33 \text{ kJ mol}^{-1}$). Οι διαφορές στην εντροπία, αν και μικρές, ευνοούν το *cis* ισομερές και στους δύο διαλύτες. Το εντροπικό αυτό πλεονέκτημα, όμως, βρέθηκε να είναι μικρότερο στην περίπτωση του υδατικού διαλύματος ($\Delta S^\circ = -1,05 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$) απ' ό,τι στην περίπτωση του διαλύματος τολουολίου ($\Delta S^\circ = -2,97 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$). Αυτό δικαιολογήθηκε λόγω μικρότερης ικανότητας προσέγγισης του διαλύτη στην καρβονυλική ομάδα, του αμιδικού δεσμού στο *trans* ισομερές, το οποίο ελαττώνει την ικανότητα του καρβονυλικού οξυγόνου να δεσμεύσει σταθερά μόρια του H_2O μέσω δεσμών υδρογόνου.

Πειράματα NMR- ^1H μεταβλητής θερμοκρασίας σε H_2O , που πραγματοποιήθηκαν στο προστατευμένο πρότυπο διπεπτίδιο Ac-L-Pro-D-Ala-NHMe (Ac είναι η αμινοτελική προστατευτική ομάδα, $-\text{COCH}_3$, και η $-\text{NHCH}_3$ είναι η καρβοξυ-τελική προστατευτική ομάδα), έδειξαν, επίσης, ότι η *trans* μορφή του διπεπτιδίου ευνοείται ενθαλπικά, ενώ δεν ευνοείται εντροπικά σε σχέση με τη *cis* μορφή (Troganis *et al.*, 2000). Το πρότυπο αυτό διπεπτίδιο είναι ένα από τα απλούστερα συστήματα που μπορούν να εμφανίσουν β -στροφή η οποία δημιουργείται μέσω ενός ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου του τύπου $(i+3) \rightarrow i$ (Boussard *et al.*, 1985, Aubry *et al.*, 1985) τόσο σε οργανικούς διαλύτες όσο και σε κρυσταλλική κατάσταση (Aubry *et al.*, 1981). Η διαφορά στην ελεύθερη ενέργεια ΔG° του *cis* και του *trans* ισομερούς του ακετυλο-L-προλυλο πεπτιδικού δεσμού οφείλεται κατά κύριο λόγο σε διαφοροποιήσεις στην ενθαλπία, κάτι που έρχεται σε συμφωνία με τα συμπεράσματα του Eberhardt και των συνεργατών του (Eberhardt *et al.* 1993). Ωστόσο, η συνεισφορά της εντροπίας βρέθηκε να είναι σημαντικά μεγαλύτερη σε απόλυτους όρους. Αυτό αποδίδεται στην έντονη αναδίπλωση του *trans* ισομερούς με αποτέλεσμα τη μείωση της ελεύθερης κίνησης και των βαθμών ελευθερίας που διέπουν τη διαμόρφωση του πεπτιδίου (Troganis *et al.*, 2000).

Από τα πειραματικά δεδομένα μοντέλων πεπτιδίων του Πίνακα 9, προκύπτει ότι ο εντροπικός όρος παρουσιάζει σημαντικές μεταβολές, οι οποίες δεν είναι εύκολο να ερμηνευτούν λόγω των πολύπλοκων αλληλεπιδράσεων που προέρχονται από μεταβολές στη διαμόρφωση και στην κίνηση του συστήματος πεπτιδίου-διαλύτη. Για το λόγο αυτό κρίνεται προτιμότερο οι μελέτες να γίνονται σε πρότυπα αμίδια, όπου η δυνατότητα μεταβολής της διαμόρφωσης είναι σχετικά περιορισμένη σε σχέση με τα πεπτίδια.

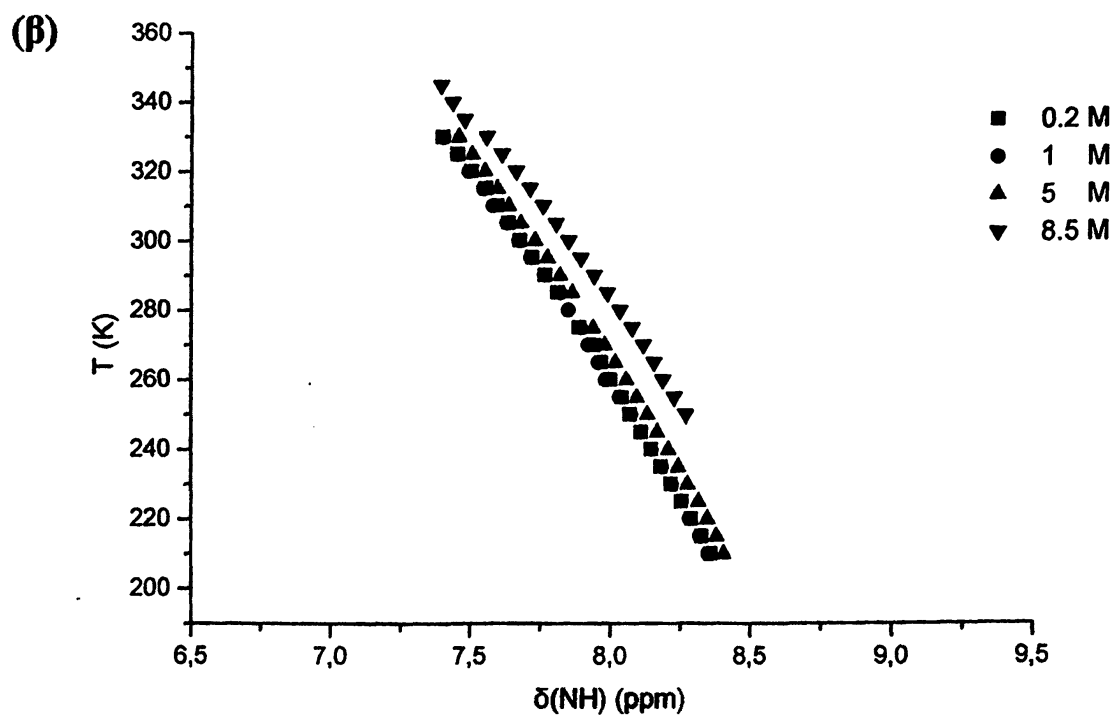
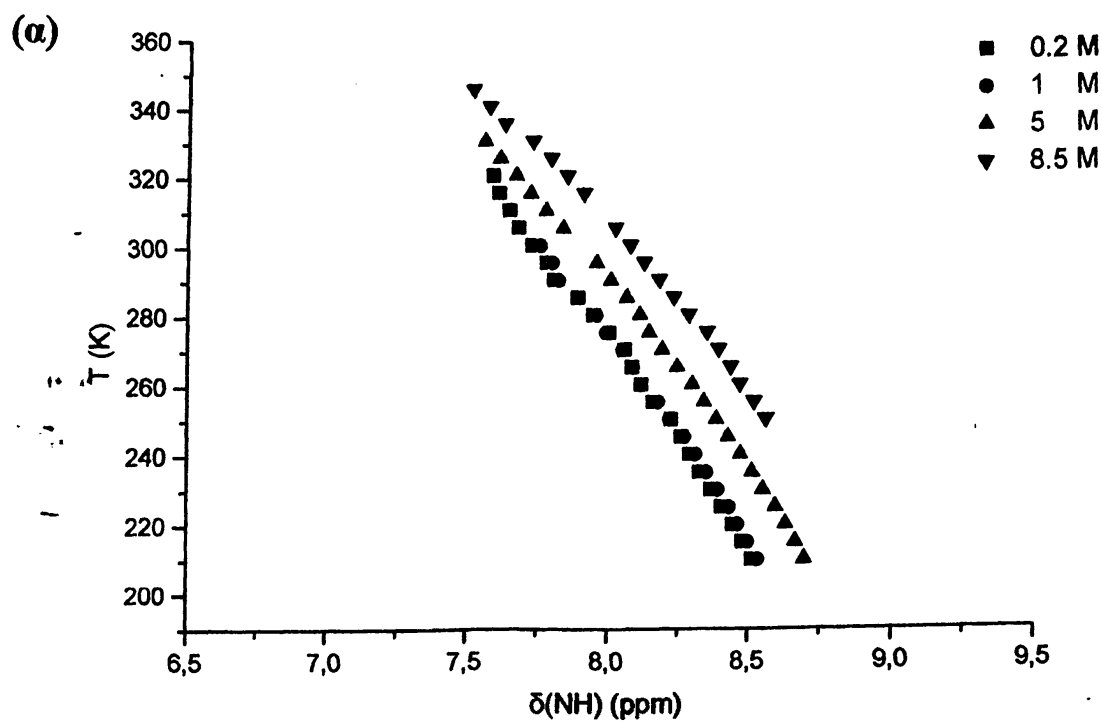


Στη συνέχεια γίνεται συζήτηση για τον τρόπο με τον οποίο επηρεάζονται οι χημικές μετατοπίσεις του αμιδικού πρωτονίου NH από τη συγκέντρωση του αμιδίου και από τη θερμοκρασία, στα φάσματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του TBF σε διάλυμα μεθανόλης.

6.1.1.3.2. ΕΞΑΡΤΗΣΗ ΤΩΝ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΕΩΝ -NH ΑΠΟ ΤΗ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ, ΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΚΑΙ ΤΟ ΔΙΑΛΥΤΗ

Στα Διαγράμματα 5 (α) και 5 (β) που ακολουθούν, όπως και στους Πίνακες Π-9 και Π-10 του Παραρτήματος, φαίνεται η εξάρτηση χημικών μετατοπίσεων του πρωτονίου της ομάδας NH του *cis* και του *trans* ισομερούς του TBF από τη θερμοκρασία, το διαλύτη και τη συγκέντρωση του αμιδίου σε διάλυμα μεθανόλης.





Διάγραμμα 5. Χημικές μετατοπίσεις του αμιδικού πρωτονίου NH ($\delta(\text{NH})$ σε ppm, (α) του *cis* και (β) του *trans* ισομερούς του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF) ως συνάρτηση της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του αμιδίου, σε διαλύτη CD_3OH .



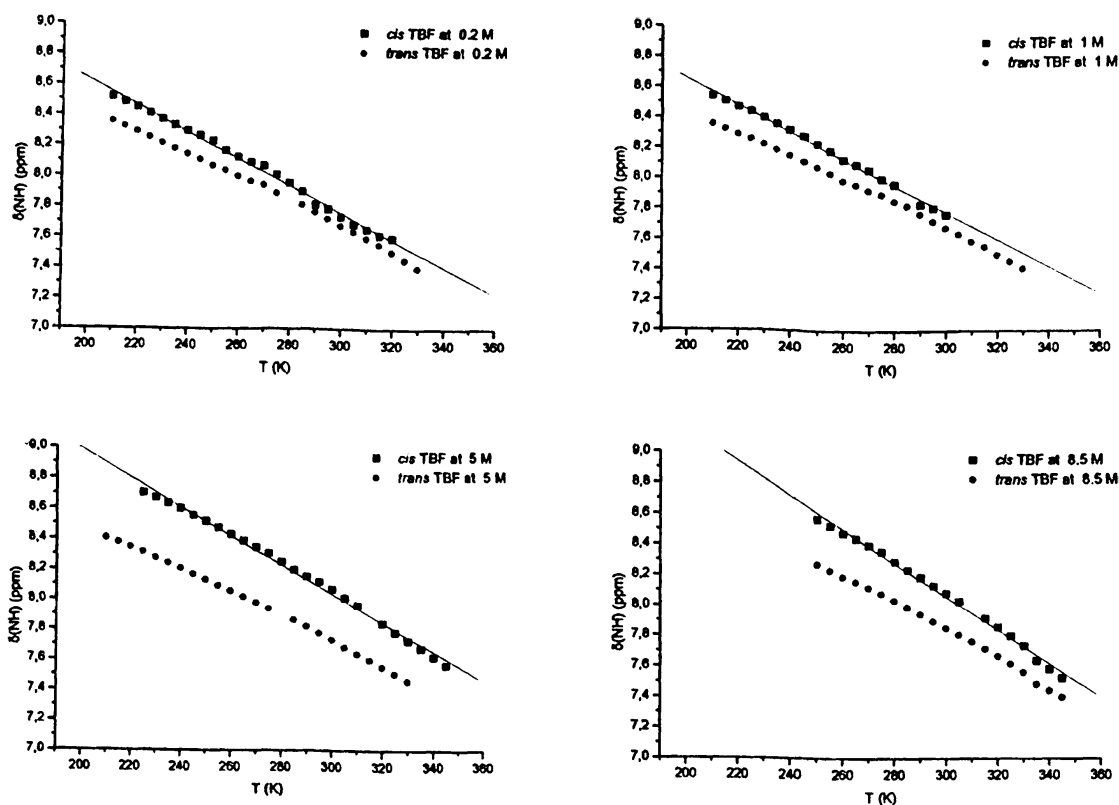
Παρατηρώντας τα Διαγράμματα 5 (α) και 5 (β), γίνεται αντιληπτό ότι σε διάλυμα μεθανόλης οι χημικές μετατοπίσεις NH, τόσο του *cis* όσο και του *trans* ισομερούς του TBF οφείλονται σχεδόν αποκλειστικά σε δημιουργία δεσμών υδρογόνου μεταξύ αμιδίου και διαλύτη αφού ελάχιστα φαίνεται να επηρεάζονται από τη μεταβολή της συγκέντρωσης. Στην περίπτωση αυτή, όπως διεξοδικά συζητήθηκε παραπάνω, η επίδραση του διαλύτη είναι πολύ ισχυρή αλληλεπιδρώντας τόσο με το καρβονυλικό οξυγόνο όσο και με το πρωτόνιο NH του αμιδίου εμποδίζοντας τα μόρια του αμιδίου σε κάθε συγκέντρωση να αλληλεπιδράσουν μεταξύ τους.

Στο συμπέρασμα αυτό συνηγορεί και η τιμή της μεταβολής της χημικής μετατόπισης του αμιδικού πρωτονίου, η οποία υπολογίζεται συναρτήσει της θερμοκρασίας, $[\Delta(\delta)/\Delta(T)]$ σε τέσσερις διαφορετικές συγκεντρώσεις του αμιδίου. Όπως γίνεται αντιληπτό από τις τιμές του Πίνακα 10 και τα Διαγράμματα του Σχήματος 22, η παράμετρος $\Delta(\delta)/\Delta(T)$ παραμένει πρακτικά αμετάβλητη σε όλες τις εξεταζόμενες συγκεντρώσεις. Το γεγονός ότι η τιμή $\Delta(\delta)/\Delta(T)$ δεν παρουσιάζει εξάρτηση από τη συγκέντρωση αποτελεί ένδειξη της απουσίας διαμοριακών αλληλεπιδράσεων μεταξύ μορίων του TBF. Επίσης, η τιμή της παραμέτρου $\Delta(\delta)/\Delta(T)$ ανταποκρίνεται σε τιμές που έχουν προσδιοριστεί σε ανάλογες μελέτες για αμιδικά πρωτόνια που είναι πλήρως εκτεθειμένα σε πολικούς διαλύτες και αλληλεπιδρούν με αυτούς μέσω δεσμών υδρογόνου. Ενδεικτικά, αναφέρεται ότι, σε υδατικά διαλύματα, η χημική μετατόπιση ενός αμιδικού πρωτονίου πλήρως επιδιαλυμένου, εμφανίζει εξάρτηση από τη θερμοκρασία ίση ή και μεγαλύτερη των 5 ppb K⁻¹ (Stevens *et al.*, 1980, Gellman *et al.*, 1991).

Πίνακας 10. Εξάρτηση της παραμέτρου $\Delta(\delta)/\Delta(T)$ από τη μεταβολή της συγκέντρωσης του *cis* και του *trans* ισομερούς του TBF σε μεθανόλη.

Συγκέντρωση	<i>Cis</i> Ισομερές $\Delta\delta/\Delta T$ (ppb/K)	<i>Trans</i> Ισομερές $\Delta\delta/\Delta T$ (ppb/K)
0,2 M	-8,81±0,14	-7,84±0,90
1 M	-8,79±0,15	-7,85±0,91
5 M	-9,56±0,15	-7,92±0,87
8,5 M	-1,02±0,20	-9,24±0,14





Σχ. 22. Εξάρτηση της παραμέτρου $\Delta(\delta)/\Delta(T)$ από τη μεταβολή της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του *cis* και του *trans* ισομερούς του TBF σε μεθανόλη.

Η μετατόπιση του σήματος του NH πρωτονίου και για τις δύο ισομερείς μορφές προς υψηλότερες συχνότητες με τη μείωση της θερμοκρασίας δικαιολογείται βάσει της ισχυροποίησης των δεσμών υδρογόνου που προκαλεί η μείωση της κινητικότητας του συστήματος και που οδηγεί σε περαιτέρω αποπροστασία του πρωτονιακού πυρήνα.

Επιγραμματικά η συζήτηση που προηγήθηκε οδηγεί στα εξής συμπεράσματα:

- (α) Η αύξηση του όγκου του *N*-αλκυλο-υποκαταστάτη στην περίπτωση του TBF έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του *cis* ισομερούς σε συστήματα απλών μοντέλων πεπτιδίων σε ισχυρά πολικούς διαλύτες.
- (β) Ο τύπος του διαλύτη μπορεί να παίζει καθοριστικό ρόλο στην παρεμπόδιση της αλληλεπίδρασης μεταξύ μορίων του πεπτιδίου. Όπως διεφάνη στην περίπτωση του συστήματος TBF-μεθανόλη, οι NH χημικές μετατοπίσεις που παρατηρούνται στη συγκέντρωση των 200 mM και που οφείλονται σε αλληλεπιδράσεις των μορίων του TBF με τη μεθανόλη, διατηρούνται σχεδόν αμετάβλητες ακόμα και στην υψηλή συγκέντρωση των 8,5 M του πεπτιδίου. Τα δεδομένα αυτά επιβεβαιώνουν

την υπόθεση της ανταγωνιστικής δράσης του διαλύτη έναντι των μορίων του αμιδίου, δημιουργώντας δεσμούς υδρογόνου κυρίως με το καρβονυλικό οξυγόνο, αλλά και με το αμιδικό πρωτόνιο και δυσχεραίνοντας έτσι τη δημιουργία διμερών ή/και πολυμερών αλυσίδων.

- (γ) Η αύξηση της θερμοκρασίας προκαλεί, εν γένει, αύξηση του ποσοστού του *cis* ισομερούς. Μείωση της θερμοκρασίας έχει ως αποτέλεσμα μία περαιτέρω αποπροστασία του αμιδικού πρωτονίου αφού περιορίζεται η κινητικότητα των μορίων και ισχυροποιούνται οι δεσμοί υδρογόνου.
- (δ) Η θερμοδυναμική ανάλυση έδειξε ότι στο NMF τόσο σε υδατικό διάλυμα όσο και σε διάλυμα μεθανόλης, η *trans* μορφή φαίνεται να ευνοείται ενθαλπικά σε σημαντικό βαθμό ενώ η θετική επίδραση της εντροπίας είναι πολύ μικρή. Αυτό υποδηλώνει ότι η μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας, θα πρέπει να καθορίζεται κυρίως από τον ενθαλπικό παράγοντα που μεταφράζεται σε δημιουργία δεσμών υδρογόνου που σταθεροποιούν το σύστημα. Στην περίπτωση του TBF σε υδατικό διάλυμα η *trans* μορφή ευνοείται ενθαλπικά σε σημαντικά μικρότερο βαθμό σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην περίπτωση του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου. Αυτό οφείλεται πιθανότατα σε ισχυρά στερικά φαινόμενα εξαιτίας της ογκώδους *tert*-βουτυλομάδας και στη μειωμένη επιδιалύτωση της καρβονυλικής ομάδας στην περίπτωση του *trans* ισομερούς. Τα δεδομένα αυτά δικαιολογούν και το αυξημένο ποσοστό του *cis* ισομερούς στο υδατικό διάλυμα (βλ. Πίνακα 16). Αντίθετα, η τιμή της εντροπίας στους 298K εμφανίζεται ελαφρά μεγαλύτερη. Στην περίπτωση της μεθανόλης το *trans* ισομερές δείχνει να ευνοείται ενθαλπικά, ενώ διαφαίνεται ένα εντροπικό κόστος, κάτι που οδηγεί στο συμπέρασμα πως η μεθανόλη θα πρέπει να αλληλεπιδρά, όπως και το νερό, με το καρβονυλικό οξυγόνο του αμιδικού δεσμού ευνοώντας το σχηματισμό δεσμών υδρογόνου και περιορίζοντας με τον τρόπο αυτό την «αταξία» του συστήματος. Προσπάθεια ερμηνείας των θερμοδυναμικών δεδομένων σε λίγο πιο πολύπλοκα πεπτίδια προκαλούν σύγχυση επιβεβαιώνοντας την άποψη ότι οι έρευνες σε πρότυπα μοντέλα πεπτιδίων όπως αυτά που μελετώνται στην παρούσα διατριβή αποτελούν την καλύτερη επιλογή προκειμένου να βγουν κάποια ασφαλή συμπεράσματα σχετικά με τη συμπεριφορά του αμιδικού δεσμού σε διαφορετικές συνθήκες.



6.1.2. ΜΕΛΕΤΕΣ *N*-ΜΕΘΥΛΟΦΟΡΜΑΜΙΔΙΟΥ (NMF) ΚΑΙ *N*-*tert*-ΒΟΥΤΥΛΟΦΟΡΜΑΜΙΔΙΟΥ (TBF) ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΑΚΕΤΟΝΙΤΡΙΛΙΟΥ, ΔΙΧΛΩΡΟΜΕΘΑΝΙΟΥ ΚΑΙ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ

Στα διαγράμματα που ακολουθούν παρατίθενται τα δεδομένα ολοκλήρωσης, όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, μεταβλητής θερμοκρασίας, κατά τη μελέτη της *cis-trans* ισορροπίας του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF) και του *N*-*tert*-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF) σε ακετονιτρίλιο, διχλωρομεθάνιο και χλωροφόρμιο. Η επιλογή των συγκεκριμένων διαλυτών βασίστηκε στην προσπάθεια σταδιακής μετάβασης και μελέτης του αμιδίου σε ένα περιβάλλον λιγότερο πολικό από το νερό και τη μεθανόλη. Η συγκέντρωση των διαλυμάτων και σε αυτήν την περίπτωση διατηρήθηκε αρκετά μικρή (έως 2 mM) ώστε να περιορίζεται η πιθανότητα διαμοριακών αλληλεπιδράσεων αμιδίου-αμιδίου (αποφυγή φαινομένων διμερισμού και/ή πολυμερισμού). Στόχος και στην περίπτωση αυτή ήταν η προσπάθεια παρατήρησης αποκλειστικά του φαινομένου του *cis-trans* ισομερισμού.

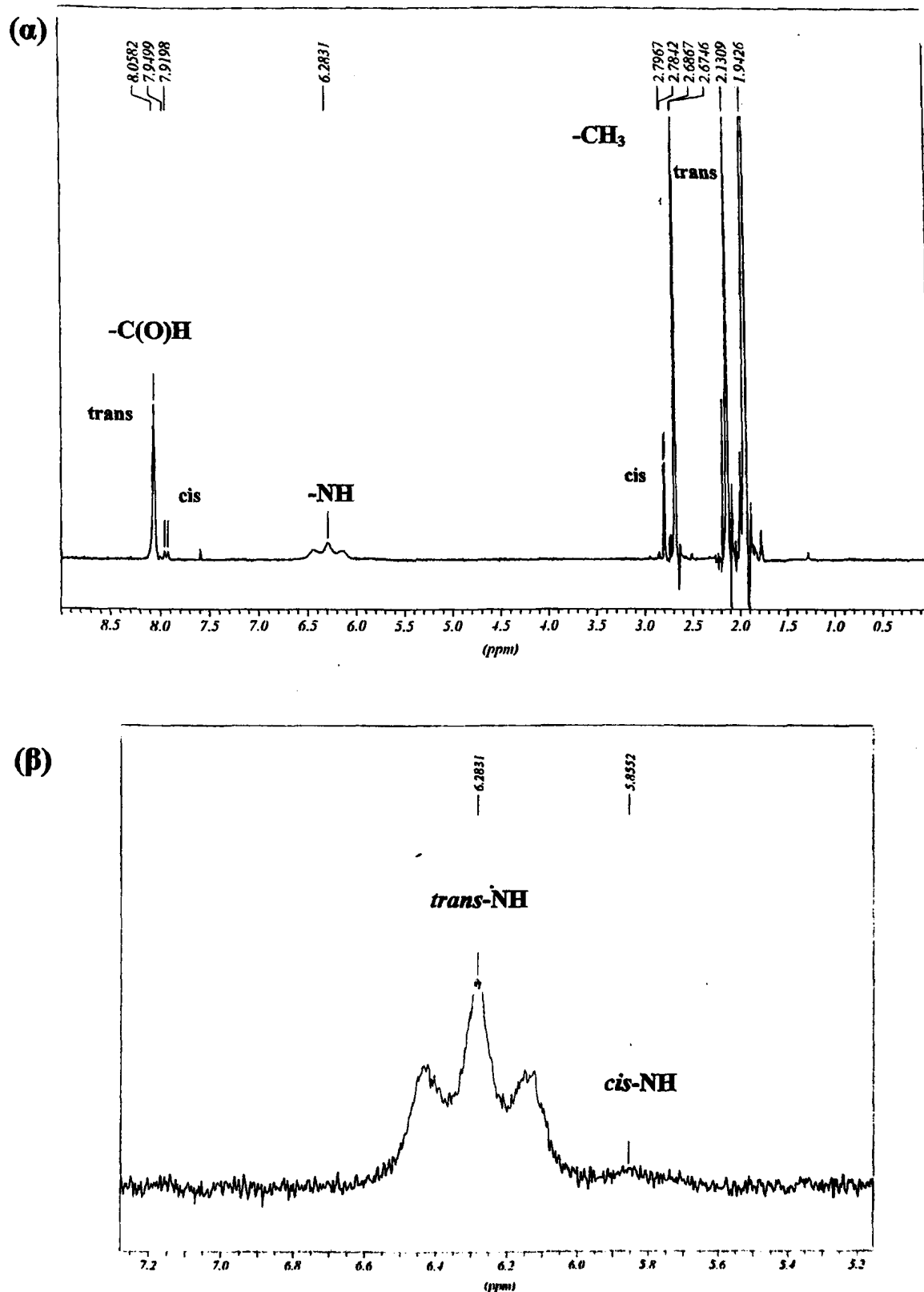
Μετά την παράθεση των αποτελεσμάτων ακολουθεί λεπτομερής συζήτηση των παρατηρούμενων διαμοριακών αλληλεπιδράσεων σε κάθε σύστημα αμιδίου-διαλύτη.

6.1.2.1. Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΩΝ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΑΚΕΤΟΝΙΤΡΙΛΙΟΥ

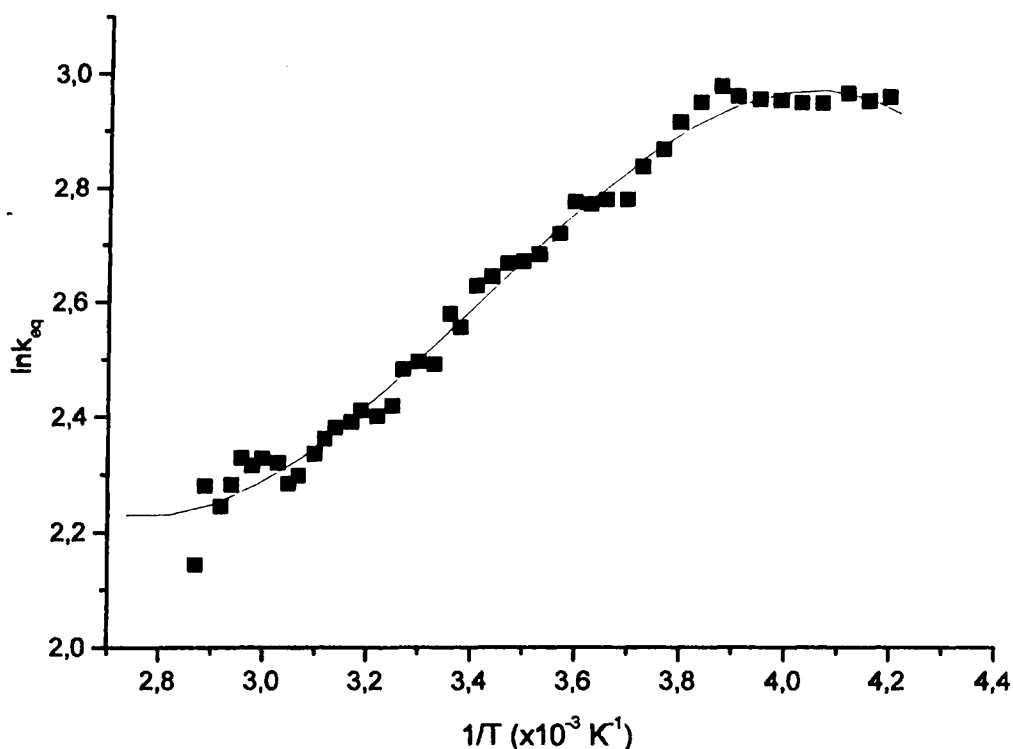
Στο Σχήμα 23 παρατίθεται ενδεικτικό πρωτονιακό φάσμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF), σε διαλύτη δευτεριωμένο ακετονιτρίλιο, CD₃CN με την ταυτοποίηση των απορροφήσεων των πρωτονίων -CH₃, NH και C(O)H του *trans* και του *cis* ισομερούς του αμιδίου και η ανηγμένη περιοχή του φάσματος, όπου εμφανίζονται τα σήματα συντονισμού των πρωτονίων NH τόσο του *trans* όσο και του *cis* ισομερούς του αμιδίου. Στο Διάγραμμα 6 και στους Πίνακες Π-11 και Π-12 του Παραρτήματος παρατίθενται τα δεδομένα ολοκλήρωσης, όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, μεταβλητής θερμοκρασίας, κατά τη μελέτη της *cis-trans* ισορροπίας του NMF σε διαλύτη ακετονιτρίλιο.

Επίσης, στο Διάγραμμα 7 και στους Πίνακες Π-13 και Π-14 του Παραρτήματος παρατίθενται τα αντίστοιχα δεδομένα για το *N*-*tert*-βουτυλοφορμαμίδιο (TBF) σε διάλυμα ακετονιτρίλιου.

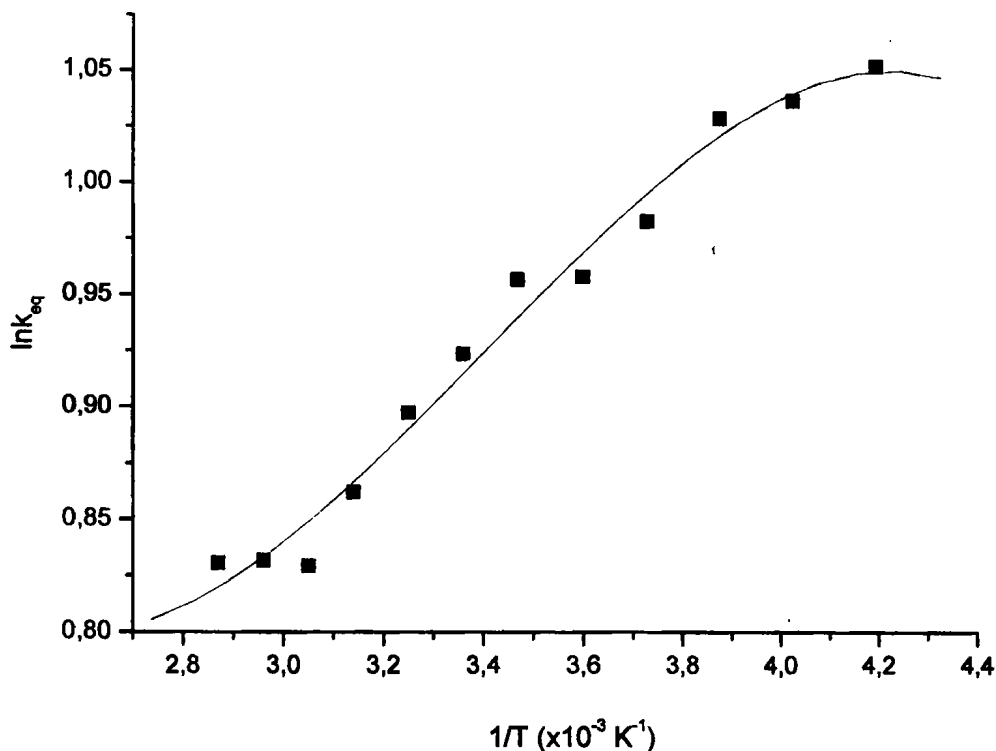




Σχ. 23. (α) Ενδεικτικό πρωτονιακό φάσμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF), σε διαλύτη δευτεριωμένο ακετονιτρίλιο, CD_3CN και συγκέντρωση 2 mM, στους 298K. Επισημαίνονται οι κορυφές συντονισμού των πρωτονίων $-\text{CH}_3$, NH και $\text{C}(\text{O})\text{H}$ του *trans* και του *cis* ισομερούς του αμιδίου. (β) Ανηγμένη η περιοχή του φάσματος όπου εμφανίζονται τα σήματα συντονισμού των πρωτονίων NH τόσο του *trans* όσο και του *cis* ισομερούς του αμιδίου.



Διάγραμμα 6. Δεδομένα ολοκλήρωσης των πρωτονίων $-\text{CH}_3$ του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF), όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, κατά τη μελέτη της *trans-cis* ισορροπίας του αμιδίου σε διαλύτη δευτεριωμένο ακετονιτρίλιο, CD_3CN , συγκέντρωση 2 mM και θερμοκρασίες από 348K έως 238K. Το κάθε σημείο του Διαγράμματος προέκυψε από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος. Τα σημεία του Διαγράμματος θα μπορούσαν να προσεγγιστούν ικανοποιητικά με πολυώνυμο τρίτου βαθμού, με τύπο $Y=A+B_1X+B_2X^2+B_3X^3$, συντελεστή R^2 (COD) = 0,98783 και αντίστοιχη τυπική απόκλιση (SD) = 0,02967. Οι τιμές των συντελεστών του συγκεκριμένου πολυωνύμου είναι: $A = -27,55844 (\pm 4,01534)$, $B_1 = -23,6312 (\pm 3,46429)$, $B_2 = 7,16682 (\pm 0,98986)$ και $B_3 = -0,69914 (\pm 0,09368)$.



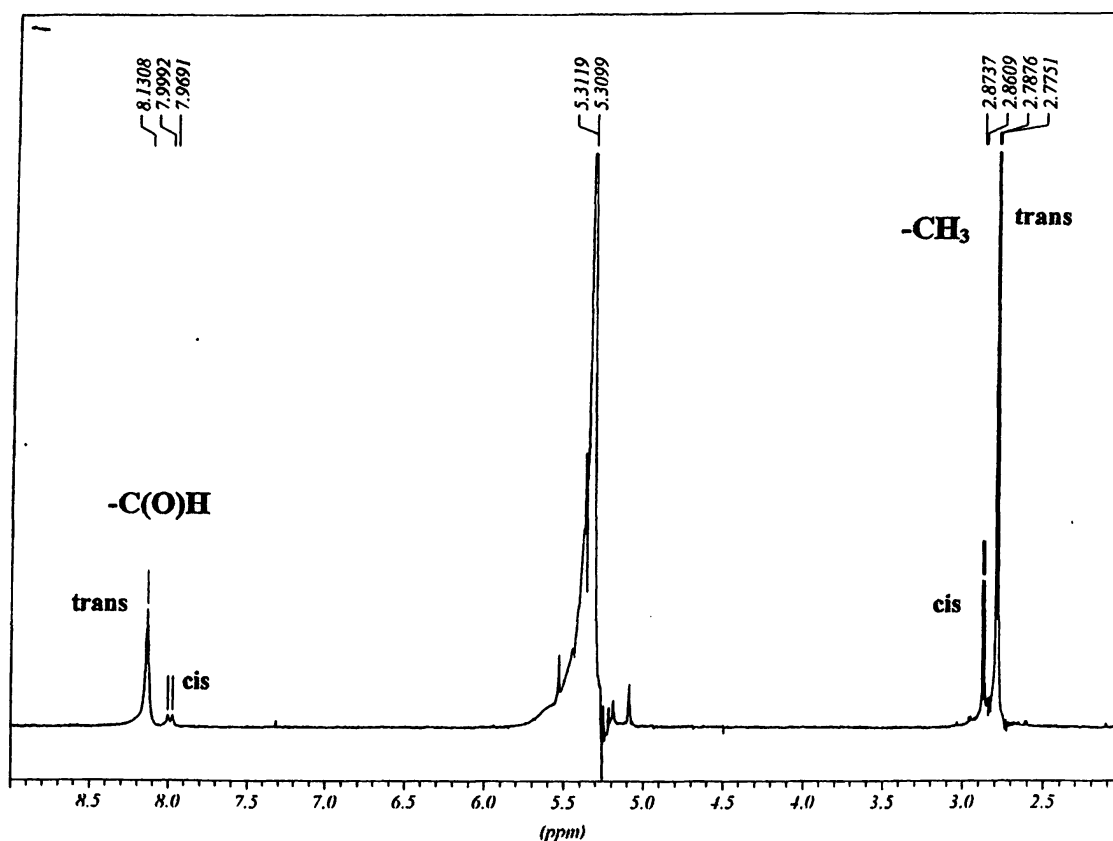
Διάγραμμα 7. Δεδομένα ολοκλήρωσης των πρωτονίων $-C(CH_3)_3$ του *N-tert*-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF), όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, κατά τη μελέτη της *trans-cis* ισορροπίας του αμιδίου σε διαλύτη δευτεριωμένο ακετονιτρίλιο, CD_3CN , συγκέντρωση 2 mM και θερμοκρασίες από 348K έως 238K. Το κάθε σημείο του Διαγράμματος προέκυψε από τέσσερις επαναλήψεις του ίδιου πειράματος. Μία πολύ καλή προσέγγιση των σημείων του Διαγράμματος γίνεται με πολυώνυμο τρίτου βαθμού, με τύπο $Y=A+B_1X+B_2X^2+B_3X^3$, συντελεστή R^2 (COD) = 0,98306 και αντίστοιχη τυπική απόκλιση (SD) = 0,01269. Οι τιμές των συντελεστών του συγκεκριμένου πολυωνύμου είναι: $A = 4,54327 (\pm 2,88272)$, $B_1 = -3,64586 (\pm 2,48526)$, $B_2 = 1,13826 (\pm 0,70898)$ και $B_3 = -0,11148 (\pm 0,06693)$.

6.1.2.2. Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΩΝ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΔΙΧΛΩΡΟΜΕΘΑΝΙΟΥ

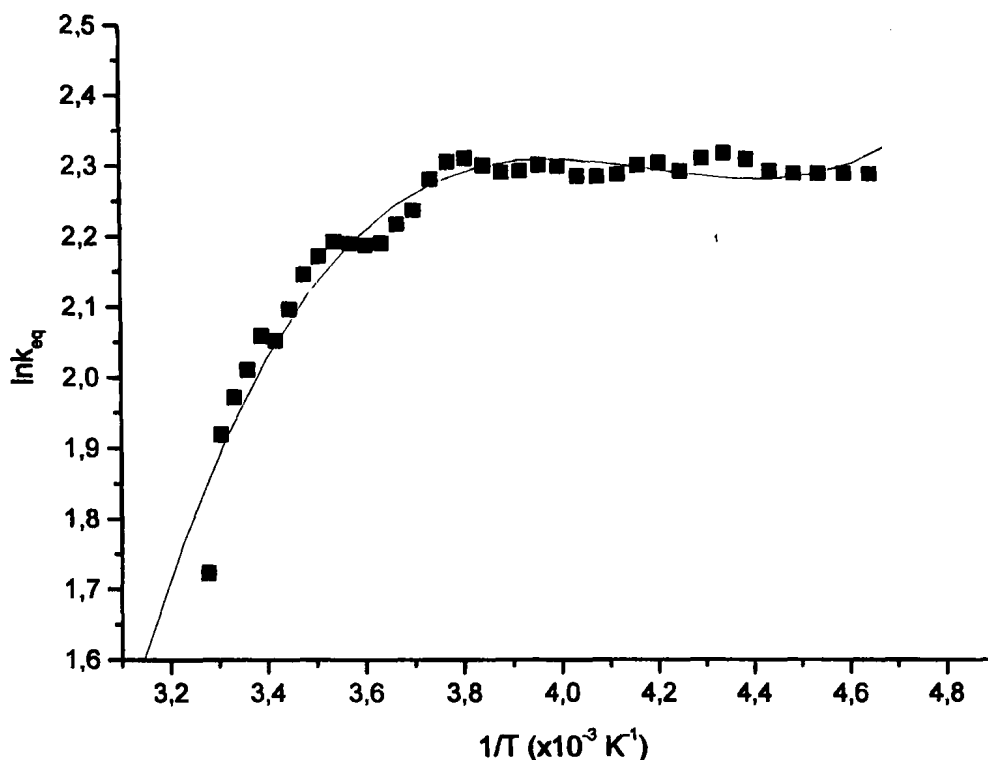
Στο Σχήμα 24 παρατίθεται ενδεικτικό πρωτονιακό φάσμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF), σε διαλύτη δευτεριωμένο διχλωρομεθάνιο, CD_2Cl_2 , όπου επισημαίνονται οι κορυφές συντονισμού των πρωτονίων των ομάδων $-CH_3$ και $C(O)H$ του *trans* και του *cis* ισομερούς του αμιδίου. Στο Διάγραμμα 8 και στους Πίνακες Π-15 και Π-16 του Παραρτήματος παρατίθενται τα δεδομένα ολοκλήρωσης όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, μεταβλητής θερμοκρασίας, κατά τη μελέτη της *cis-trans* ισορροπίας του NMF σε διαλύτη διχλωρομεθάνιο.



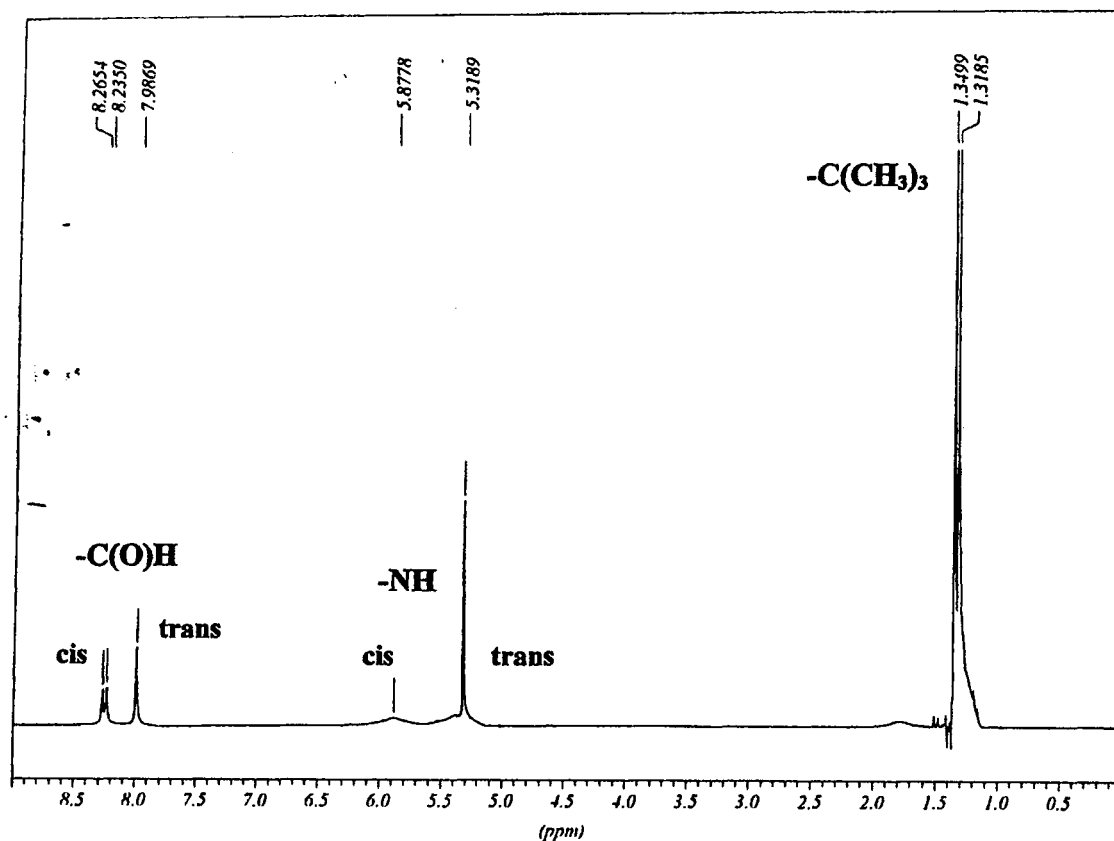
Στο Σχήμα 25 παρατίθεται ενδεικτικό πρωτονιακό φάσμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του *N-tert*-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF), σε διαλύτη δευτεριωμένο διχλωρομεθάνιο, όπου επισημαίνονται οι κορυφές συντονισμού των πρωτονίων των ομάδων $-C(CH_3)_3$, NH και $C(O)H$ του *trans* και *cis* ισομερούς του αμιδίου. Επίσης, στο Διάγραμμα 9 και στους Πίνακες Π-17 και Π-18 του Παραρτήματος παρατίθενται τα αντίστοιχα δεδομένα για το TBF σε διάλυμα διχλωρομεθανίου.



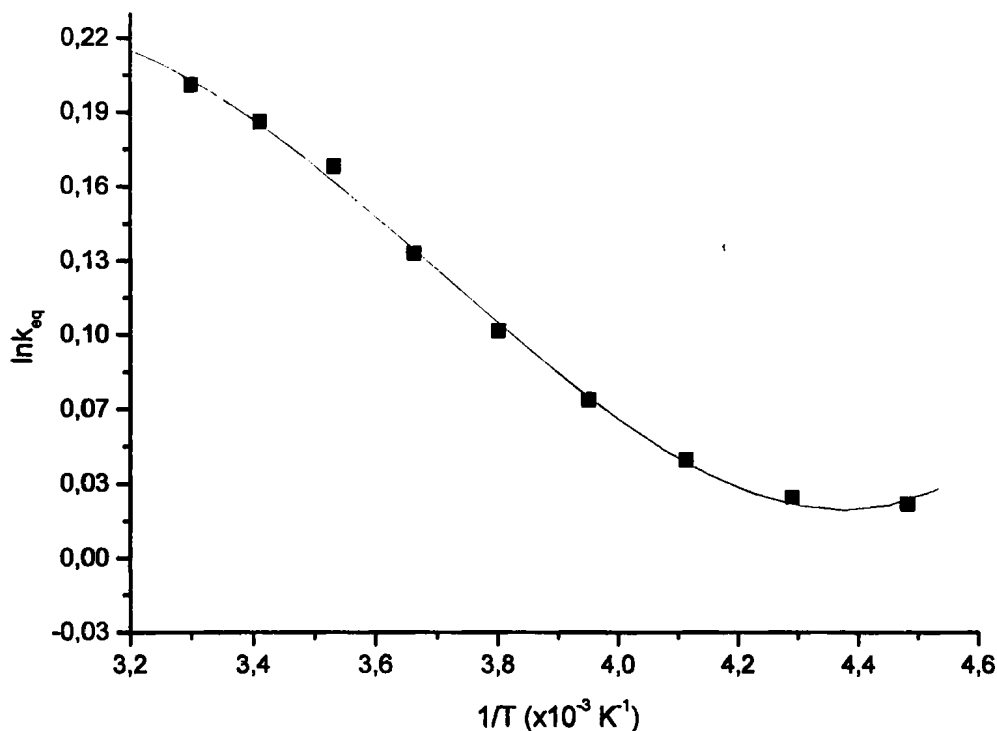
Σχ. 24. Ενδεικτικό πρωτονιακό φάσμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF), σε διαλύτη δευτεριωμένο διχλωρομεθάνιο, CD₂Cl₂ και συγκέντρωση 2 mM, στους 298K. Επισημαίνονται οι κορυφές συντονισμού των πρωτονίων των ομάδων $-CH_3$ και $C(O)H$ του *trans* και του *cis* ισομερούς του αμιδίου. Η κορυφές συντονισμού των πρωτονίων NH επικαλύπτονται από την κορυφή του διαλύτη.



Διάγραμμα 8. Δεδομένα ολοκλήρωσης των πρωτονίων -CH₃ του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF), όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, κατά τη μελέτη της *trans-cis* ισορροπίας του αμιδίου σε διαλύτη δευτεριωμένο διχλωρομεθάνιο, CD₂Cl₂, συγκέντρωση 2 mM και θερμοκρασίες από 305 έως 215K. Το κάθε σημείο του Διαγράμματος προέκυψε από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος. Τα σημεία του Διαγράμματος προσεγγίζονται αρκετά ικανοποιητικά από πολυώνυμο τρίτου βαθμού, με τύπο $Y=A+B_1X+B_2X^2+B_3X^3$, συντελεστή R^2 (COD) = 0,94681 και αντίστοιχη τυπική απόκλιση (SD) = 0,03253. Οι τιμές των συντελεστών του συγκεκριμένου πολυωνύμου είναι: $A = -48,03403 (\pm 6,17353)$, $B_1 = 36,16865 (\pm 4,73909)$, $B_2 = -8,64007 (\pm 1,20594)$ και $B_3 = 0,68612 (\pm 0,10173)$.



Σχ. 25. Ενδεικτικό πρωτονιακό φάσμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του *N*-tert-βουτύλοφορμαμίδιου (TBF), σε διαλύτη δευτεριωμένο διχλωρομεθάνιο (η κορυφή στα 5,31 ppm), CD_2Cl_2 , και συγκέντρωση 2 mM, στους 303K. Επισημαίνονται οι κορυφές συντονισμού των πρωτονίων των ομάδων $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$, NH και C(O)H του *trans* και *cis* ισομερούς του αμίδιου.

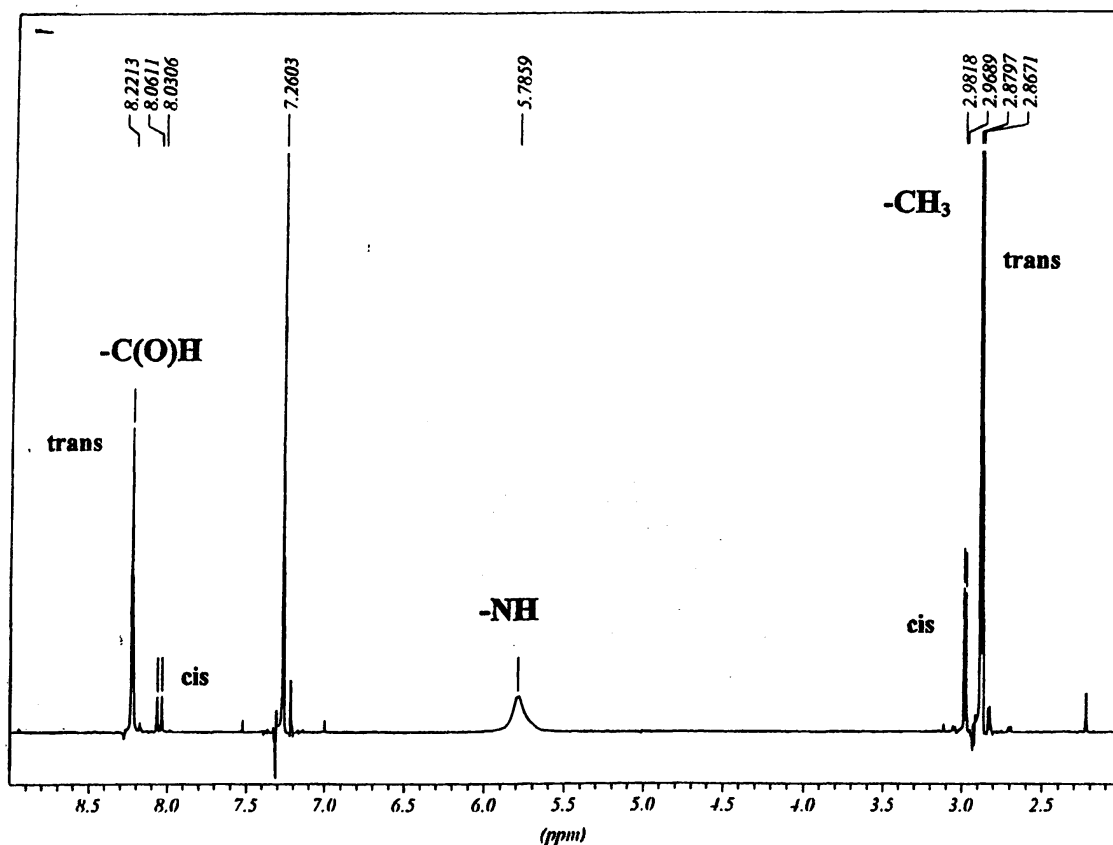


Διάγραμμα 9. Δεδομένα ολοκλήρωσης των πρωτονίων $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ του *N-tert*-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF), όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, κατά τη μελέτη της *trans-cis* ισορροπίας του αμιδίου σε διαλύτη δευτεριωμένο διχλωρομεθάνιο, CD_2Cl_2 , συγκέντρωση 2 mM και θερμοκρασίες από 303K έως 223K. Το κάθε σημείο του Διαγράμματος μέχρι τους 263K προέκυψε από τέσσερις επαναλήψεις, ενώ από τους 253K έως τους 223K προέκυψε από οκτώ επαναλήψεις του ίδιου πειράματος. Γίνεται πολύ καλή πολυωνμική προσέγγιση, τρίτου βαθμού, των σημείων του Διαγράμματος με εξίσωση $Y=A+B_1X+B_2X^2+B_3X^3$, συντελεστή $R^2 \text{ (COD)} = 0,99804$ και αντίστοιχη τυπική απόκλιση (SD) = 0,00369. Οι τιμές των συντελεστών του συγκεκριμένου πολυωνύμου είναι: $A = -6,95241 (\pm 1,75709)$, $B_1 = 6,17124 (\pm 1,36827)$, $B_2 = -1,72715 (\pm 0,35338)$ και $B_3 = 0,15568 (\pm 0,03027)$.

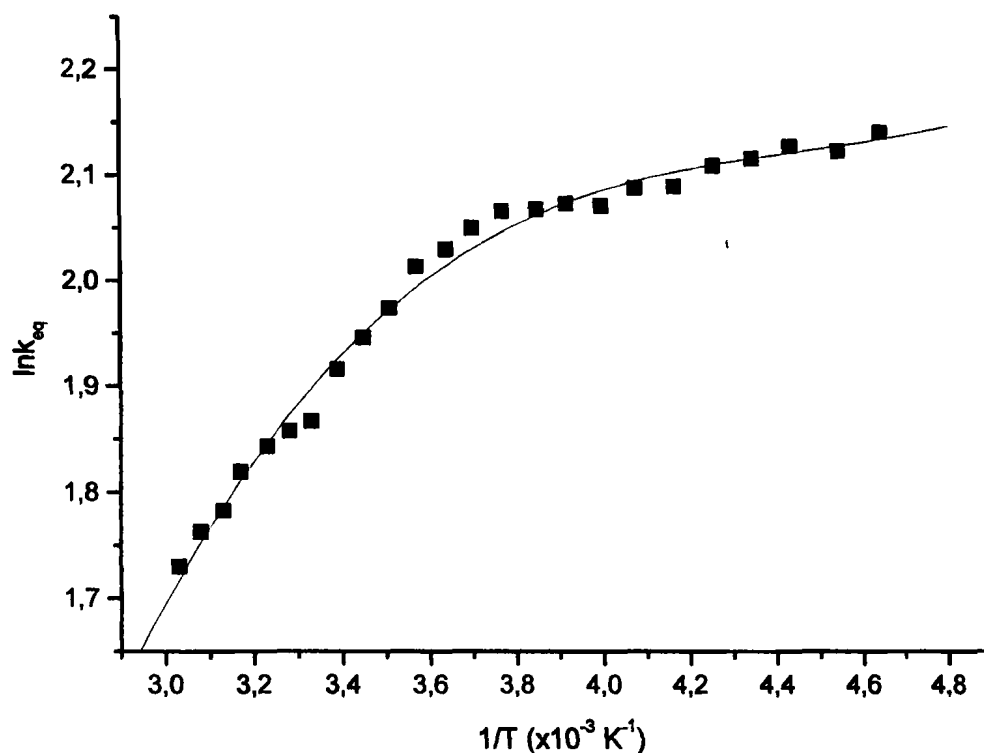
6.1.2.3. Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΩΝ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ

Στο Σχήμα 26 παρατίθεται ενδεικτικό πρωτονιακό φάσμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF), σε διαλύτη δευτεριωμένο χλωροφόρμιο, CDCl_3 με την ταυτοποίηση των απορροφήσεων των πρωτονίων $-\text{CH}_3$, NH και $\text{C}(\text{O})\text{H}$ του *trans* και του *cis* ισομερούς του αμιδίου. Επίσης, στο Διάγραμμα 10 και στους Πίνακες Π-19 και Π-20 του Παραρτήματος παρατίθενται τα δεδομένα ολοκλήρωσης όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, μεταβλητής θερμοκρασίας, κατά τη μελέτη της *cis-trans* ισορροπίας του NMF σε διαλύτη χλωροφόρμιο.

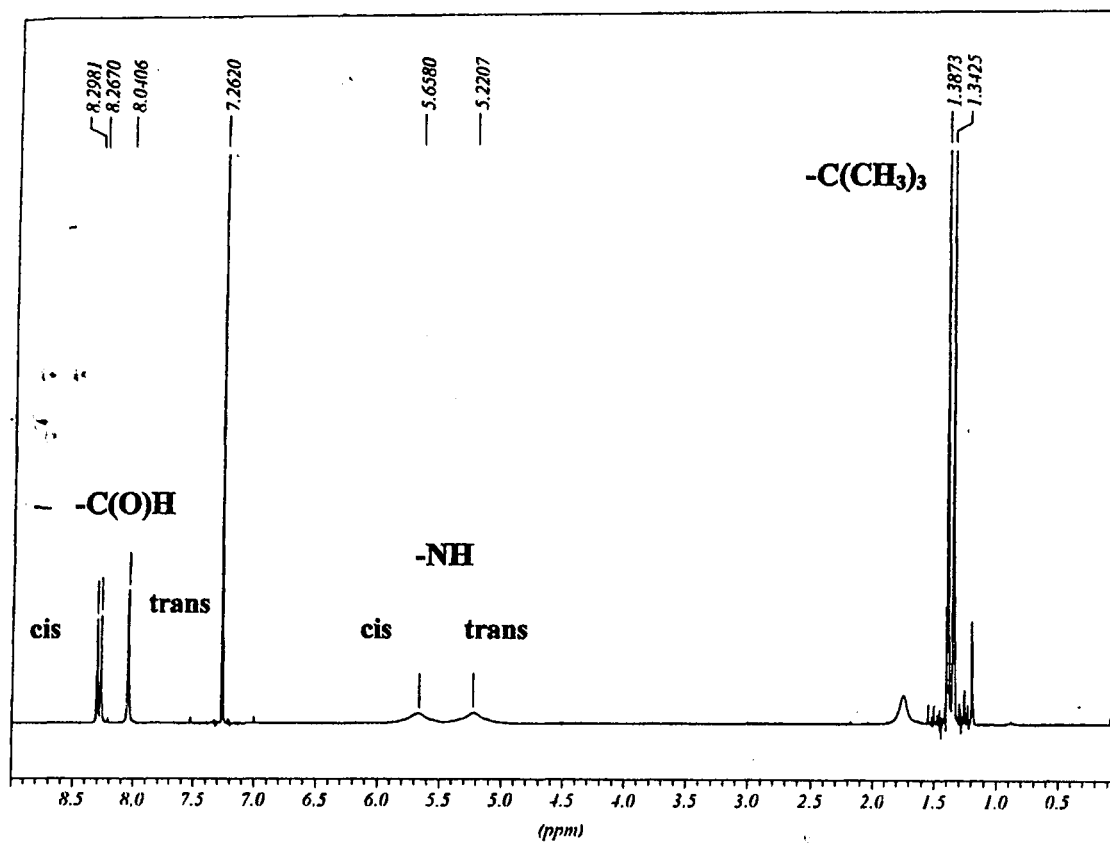
Στο Σχήμα 27 παρατίθεται ενδεικτικό πρωτονιακό φάσμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του *N*-*tert*-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF), σε διαλύτη δευτεριωμένο χλωροφόρμιο, CDCl_3 , όπου επισημαίνονται οι απορροφήσεις των πρωτονίων $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$, NH και $\text{C}(\text{O})\text{H}$ του *trans* και του *cis* ισομερούς του αμιδίου. Τέλος, στο Διάγραμμα 11 και στους Πίνακες Π-21 και Π-22 του Παραρτήματος παρατίθενται τα αντίστοιχα δεδομένα για το TBF σε διάλυμα χλωροφορμίου.



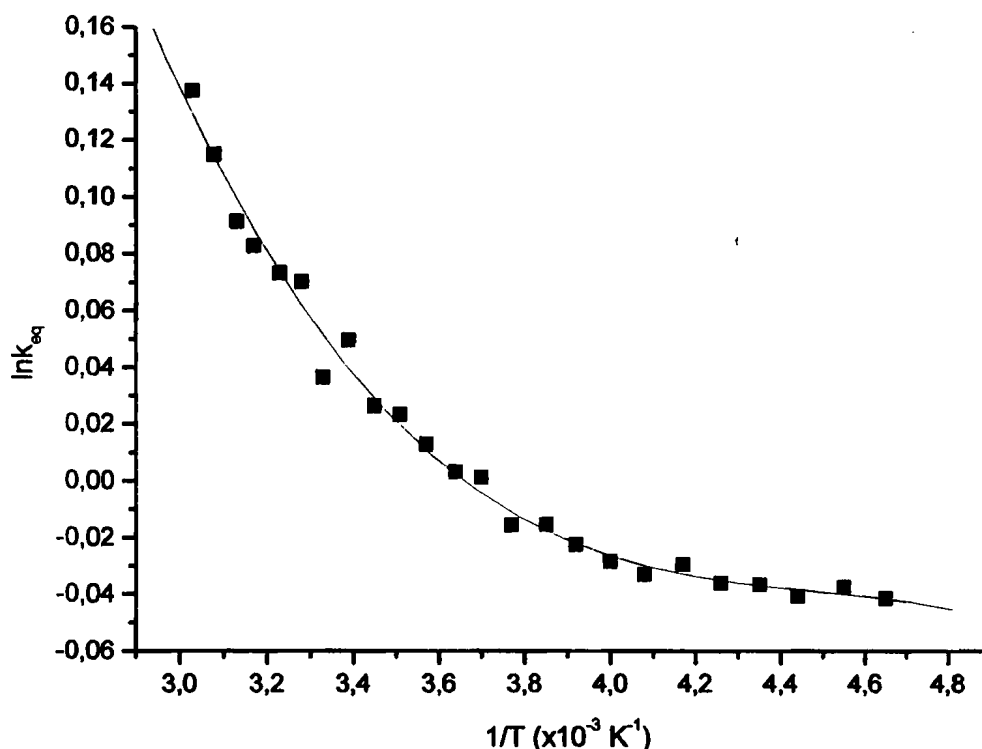
Σχ. 26. Ενδεικτικό πρωτονιακό φάσμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF), σε διαλύτη δευτεριωμένο χλωροφόρμιο, CDCl_3 και συγκέντρωση 2 mM, στους 300K. Επισημαίνονται οι κορυφές συντονισμού των πρωτονίων $-\text{CH}_3$, NH και $\text{C}(\text{O})\text{H}$ του *trans* και του *cis* ισομερούς του αμιδίου.



Διάγραμμα 10. Δεδομένα ολοκλήρωσης των πρωτονίων $-CH_3$ του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF), όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, κατά τη μελέτη της *trans-cis* ισορροπίας του αμιδίου σε διαλύτη δευτεριωμένο χλωροφόρμιο, $CDCl_3$, συγκέντρωση 2 mM και θερμοκρασίες από 330K έως 215K. Το κάθε σημείο του Διαγράμματος προέκυψε από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος. Πολύ καλή προσέγγιση των σημείων του Διαγράμματος γίνεται με πολυώνυμο τρίτου βαθμού με τύπο $Y=A+B_1X+B_2X^2+B_3X^3$, συντελεστή R^2 (COD) = 0,99071 και αντίστοιχη τυπική απόκλιση (SD) = 0,01342. Οι τιμές των συντελεστών για το συγκεκριμένο πολυώνυμο έχουν ως εξής: $A = -7,90002 (\pm 1,66651)$, $B_1 = 6,62813 (\pm 1,32929)$, $B_2 = -1,47351 (\pm 0,35042)$ και $B_3 = 0,11012 (\pm 0,03053)$.



Σχ. 27. Ενδεικτικό πρωτονιακό φάσμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του *N*-tert-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF), σε διαλύτη δευτεριωμένο χλωροφόρμιο, CDCl_3 , και συγκέντρωση 2 mM, στους 300K. Επισημαίνονται οι κορυφές συντονισμού των πρωτονίων $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$, NH και $\text{C}(\text{O})\text{H}$ του *trans* και του *cis* ισομερούς του αμιδίου.



Διάγραμμα 11. Δεδομένα ολοκλήρωσης των $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ πρωτονίων του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, κατά τη μελέτη της *trans-cis* ισορροπίας του αμιδίου σε διαλύτη δευτεριωμένο χλωροφόρμιο, CDCl_3 , συγκέντρωση 2 mM και θερμοκρασίες από 330K έως 215K. Το κάθε σημείο του Διαγράμματος προέκυψε από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος. Πολύ καλή προσέγγιση των σημείων του Διαγράμματος γίνεται με πολυώνυμο τρίτου βαθμού, το οποίο έχει εξίσωση $Y=A+B_1X+B_2X^2+B_3X^3$, συντελεστή παλινδρόμησης R^2 (COD) = 0,98991 και αντίστοιχη τυπική απόκλιση (SD) = 0,00584. Οι τιμές των συντελεστών για το συγκεκριμένο πολυώνυμο έχουν ως εξής: $A = 4,31309 (\pm 0,72553)$, $B_1 = -2,88007 (\pm 0,57872)$, $B_2 = 0,63848 (\pm 0,15256)$ και $B_3 = -0,04742 (\pm 0,01329)$.

6.1.2.4. ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Στον Πίνακα 11 που ακολουθεί παρατίθενται συγκεντρωτικά τα ποσοστά των *cis* και *trans* ισομερών, όπως αυτά διαμορφώνονται για το *N*-μεθυλοφορμαμίδιο (NMF) και το *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιο (TBF), σε τρεις ενδεικτικές θερμοκρασίες ανά διάλυμα.



Πίνακας 11. Μεταβολή της κατανομής των *cis* και *trans* ισομερών ανά σύστημα αμιδίου/διαλύτη για τα πρότυπα αμείδια *N*-μεθυλοφορμαμίδιο (NMF) και *N*-tert-βουτυλοφορμαμίδιο (TBF).

Διαλύτης	NMF		TBF	
	% <i>cis</i>	% <i>trans</i>	% <i>cis</i>	% <i>trans</i>
CD ₃ CN (2 mM)	10,5 (348K)	89,5 (348K)	30,3 (348K)	69,7 (348K)
	7,7 (300,5K)	92,3 (300,5K)	28,4 (298K)	71,6 (298K)
	5,0 (238K)	95,0 (238K)	25,9 (238K)	74,1 (238K)
CD ₂ Cl ₂ (2 mM)	15,1 (305K)	84,9 (305K)	45,1 (303K)	54,9 (303K)
	12,2 (300K)	87,8 (300K)	45,5 (293K)	54,5 (293K)
	9,2 (215K)	90,8 (215K)	49,3 (223K)	50,7 (223K)
CDCl ₃ (2 mM)	15,1 (330K)	84,9 (330K)	46,6 (330K)	53,4 (330K)
	13,4 (300K)	86,6 (300K)	49,1 (300K)	50,9 (300K)
	10,5 (215K)	89,5 (215K)	51,0 (215K)	49,0 (215K)

Τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής, όπως προκύπτει από τον Πίνακα 11, έρχονται σε καλή συμφωνία με υπάρχουσες, αντίστοιχες μελέτες, σύμφωνα με τις οποίες, σε διάλυμα CD₂Cl₂ ή CDCl₃, το *cis* ισομερές του NMF βρίσκεται σε ένα ποσοστό ~12%, ενώ αυξάνεται στο ~18% και 15% για το *N*-αιθυλοφορμαμίδιο (NEF) σε διάλυμα CD₂Cl₂ και CDCl₃, αντίστοιχα (Gerothanassis *et al.*, 1995, Gerothanassis *et al.*, 1996, Pawar *et al.*, 1998, García Martínez *et al.*, 2002). Στο TBF το ποσοστό του *cis* ισομερούς φαίνεται να εξαρτάται έντονα από τη φύση του διαλύτη, αφού σε διάλυμα CD₃CN φτάνει το 25% ενώ σε διαλύματα λιγότερο πολικών διαλυτών όπως είναι το CD₂Cl₂ και το CDCl₃ φτάνει το ποσοστό του 45% και 48%, αντίστοιχα. Εξαίρεση σε αυτόν τον κανόνα φαίνεται να αποτελεί η περίπτωση του υδατικού διαλύματος του TBF, όπου το *cis* ισομερές εμφανίζεται σε ιδιαίτερα υψηλά ποσοστά (βλ. Πίνακα 7, σελ. 76).

Ένα γενικό συμπέρασμα που βγαίνει από τα ποσοστά του Πίνακα 11, σε συνδυασμό με τα βιβλιογραφικά δεδομένα, αφορά στην *N*-αλκυλοϋποκατάσταση. Όσο πιο ογκώδης είναι ο *N*-αλκυλοϋποκαταστάτης του αμιδίου τόσο περισσότερο ευνοείται η αύξηση του *cis* ισομερούς. Αυτό φαίνεται λογικό εάν ληφθεί υπόψη πως ευνοείται, εν γένει, λόγω στερεοχημείας, η αλληλεπίδραση μορίων του διαλύτη με το *cis*, κατά κύριο λόγο, ισομερές των αμιδίων.

Εμφανής, επίσης, είναι και η επίδραση της θερμοκρασίας στη διαμόρφωση των ποσοστών των δύο ισομερών μορφών. Στην περίπτωση του NMF, το *cis* ισομερές



φαίνεται να αυξάνει με την αύξηση της θερμοκρασίας και στους τρεις διαλύτες. Έτσι, αύξηση στη θερμοκρασία έχει ως αποτέλεσμα μία σχετική αύξηση της δυνατότητας περιστροφής περί τον αμιδικό δεσμό που επιφέρει κατ' επέκταση μικρή μετατόπιση της ισορροπίας του αμιδίου προς τη *cis* διαμόρφωση. Στο TBF όμως, αυτό δείχνει να συμβαίνει μόνο στο διάλυμα ακετονιτρίλιου. Αντίθετα, σε λιγότερο πολικούς διαλύτες όπως είναι το διχλωρομεθάνιο και το χλωροφόρμιο, το *cis* ισομερές του TBF φαίνεται να μειώνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας. Στην περίπτωση αυτή, καθώς η θερμοκρασία αυξάνει, θα πρέπει να διαφοροποιείται ο τρόπος αλληλεπίδρασης των ισομερών του αμιδίου τόσο μεταξύ τους όσο και με τα μόρια του διαλύτη. Ενδεχομένως, τα κυκλικά διμερή μεταξύ *cis* ισομερών, ο σχηματισμός των οποίων ευνοείται σε μη πολικούς διαλύτες, αποσταθεροποιούνται λόγω της κινητικότητας που επιφέρει η αύξηση της θερμοκρασίας. Η διαφορετική εικόνα που παρατηρείται στην περίπτωση του ακετονιτρίλιου, πιθανά οφείλεται στο γεγονός ότι δεν ευνοείται ο σχηματισμός διμερών, αφού ο διαλύτης αλληλεπιδρά μέσω δεσμών υδρογόνου, με το αμιδικό πρωτόνιο τόσο του *cis* όσο και του *trans* ισομερούς. Έτσι, αύξηση της θερμοκρασίας διευκολύνει, όπως και στην περίπτωση του NMF τη μετατόπιση της ισορροπίας σε όφελος του *cis* ισομερούς συνδυάζοντας τη μεγαλύτερη ευχέρεια περιστροφής του αμιδικού δεσμού με την ευνοϊκότερη, λόγω στερεοχημικών παραγόντων, αλληλεπίδραση του διαλύτη με το *cis* ισομερές του TBF. Περαιτέρω πληροφορίες σχετικές με το πρόβλημα αυτό θα προσπαθήσει να δώσει η θερμοδυναμική ανάλυση των εξεταζόμενων συστημάτων αμιδίου/διαλύτη που ακολουθεί.

6.1.2.4.1. ΘΕΡΜΟΔΥΝΑΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Στον Πίνακα 12 δίνονται οι τιμές μεταβολής της ενθαλπίας (ΔH°), της εντροπίας (ΔS°) και της ελεύθερης ενέργειας Gibbs υπολογισμένες στους 298K για τον *cis-trans* ισομερισμό των πρότυπων αμιδίων NMF και TBF στους διαλύτες ακετονιτρίλιο, διχλωρομεθάνιο και χλωροφόρμιο.



Πίνακας 12. Μεταβολές στις τιμές της των θερμοδυναμικών παραμέτρων ΔH° , ΔS° και ΔG° κατά τον *cis-trans* ισομερισμό του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF) και του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF) στους διαλύτες ακετονιτρίλιο, διχλωρομεθάνιο και χλωροφόρμιο στους 298K, όπως προκύπτουν μέσω μη-γραμμικής προσέγγισης.

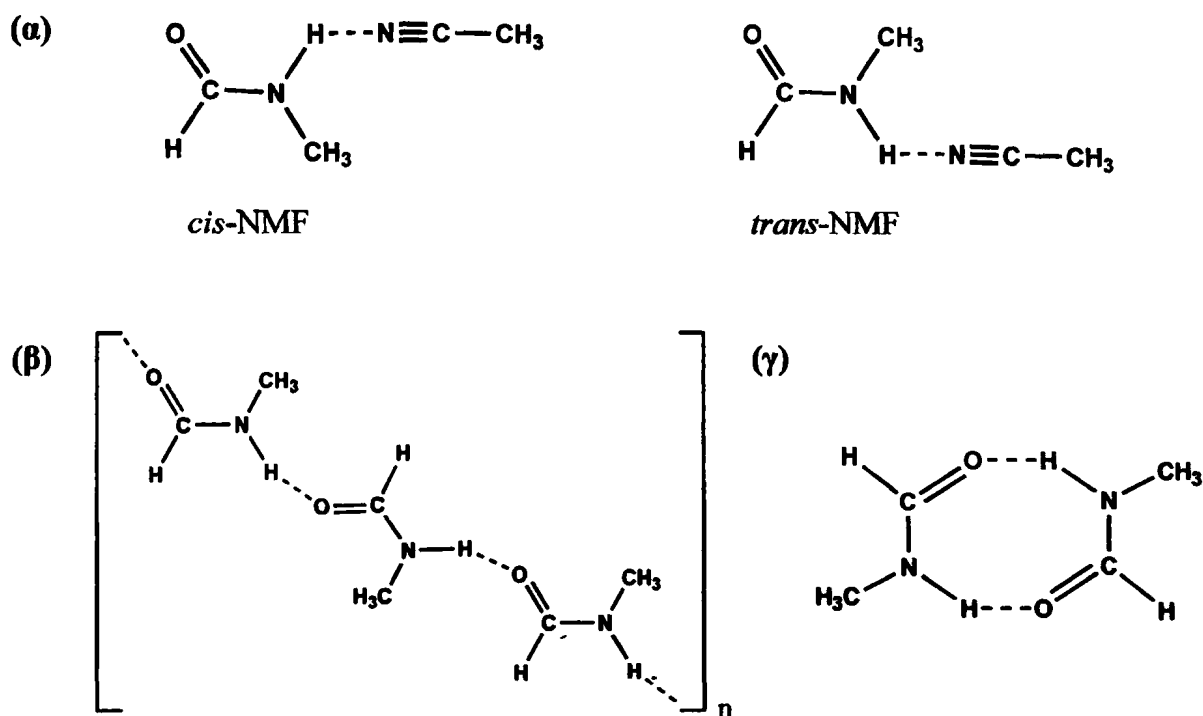
<i>N</i> -μεθυλοφορμαμίδιο (NMF)				
Διαλύτης	ΔH° (kJ mol ⁻¹)	$T \cdot \Delta S^\circ$ (kJ mol ⁻¹)	ΔS° (J K ⁻¹ mol ⁻¹)	ΔG° (kJ mol ⁻¹)
CD ₃ CN	-4,85	1,36	4,58	-6,21
CD ₂ Cl ₂	-12,36	-7,52	-25,08	-4,88
CDCl ₃	-3,71±0,17	1,02±0,19	3,42±0,65	-4,73±0,19
<i>N-tert</i> -βουτυλοφορμαμίδιο (TBF)				
Διαλύτης	ΔH° (kJ mol ⁻¹)	$T \cdot \Delta S^\circ$ (kJ mol ⁻¹)	ΔS° (J K ⁻¹ mol ⁻¹)	ΔG° (kJ mol ⁻¹)
CD ₃ CN	-1,96	0,30	1,02	-2,27
CD ₂ Cl ₂	1,22	1,69	5,67	-0,47
CDCl ₃	1,60±0,09	1,71±0,10	5,75±0,33	-0,11±0,10

Είναι εμφανές από τις τιμές του Πίνακα 12 ότι οι μεταβολές τόσο της ενθαλπίας ΔH° όσο και της εντροπίας ΔS° διαφέρουν σημαντικά για τα δύο αμίδια.

Όσον αφορά στο *N*-μεθυλοφορμαμίδιο σε διάλυμα ακετονιτρίλιου, η *trans* μορφή ενονοείται ενθαλπικά σε σημαντικό βαθμό σε σχέση με τη *cis* μορφή ($\Delta H^\circ = -4,85$ kJ mol⁻¹), ενώ η θετική επίδραση της εντροπίας είναι πολύ μικρή ($298\Delta S^\circ = 1,36$ kJ mol⁻¹).

Στην περίπτωση του ακετονιτρίλιου η διαφορά της εντροπίας κατά τον *cis-trans* ισομερισμό του αμιδίου είναι μεγαλύτερη ($\Delta S^\circ = 4,58$ J K⁻¹ mol⁻¹) συγκριτικά με το νερό ($\Delta S^\circ = 0,77$ J K⁻¹ mol⁻¹). Αυτό, υποδηλώνει πως η μεταβολή στην ελεύθερη ενέργεια ΔG° κατά -6,21 kJ mol⁻¹ στους 298K, θα πρέπει μεν να οφείλεται σε ύπαρξη σταθεροποιητικών παραγόντων, όπως είναι οι δεσμοί υδρογόνου, πλην όμως η αλληλεπίδραση του αμιδίου με το ακετονιτρίλιο δεν θα πρέπει να οδηγεί σε συστήματα αναλόγως σταθερά όπως συμβαίνει με την περίπτωση του νερού. Ο τρόπος που αλληλεπιδρά ο διαλύτης, σε αυτήν την περίπτωση, με το αμίδιο, φαίνεται να είναι διαφορετικός σε σχέση με το νερό. Πράγματι, το ακετονιτρίλιο έχει τη δυνατότητα να σχηματίζει δεσμούς υδρογόνου με το πρωτόνιο του αζώτου, τόσο του *cis* όσο και του

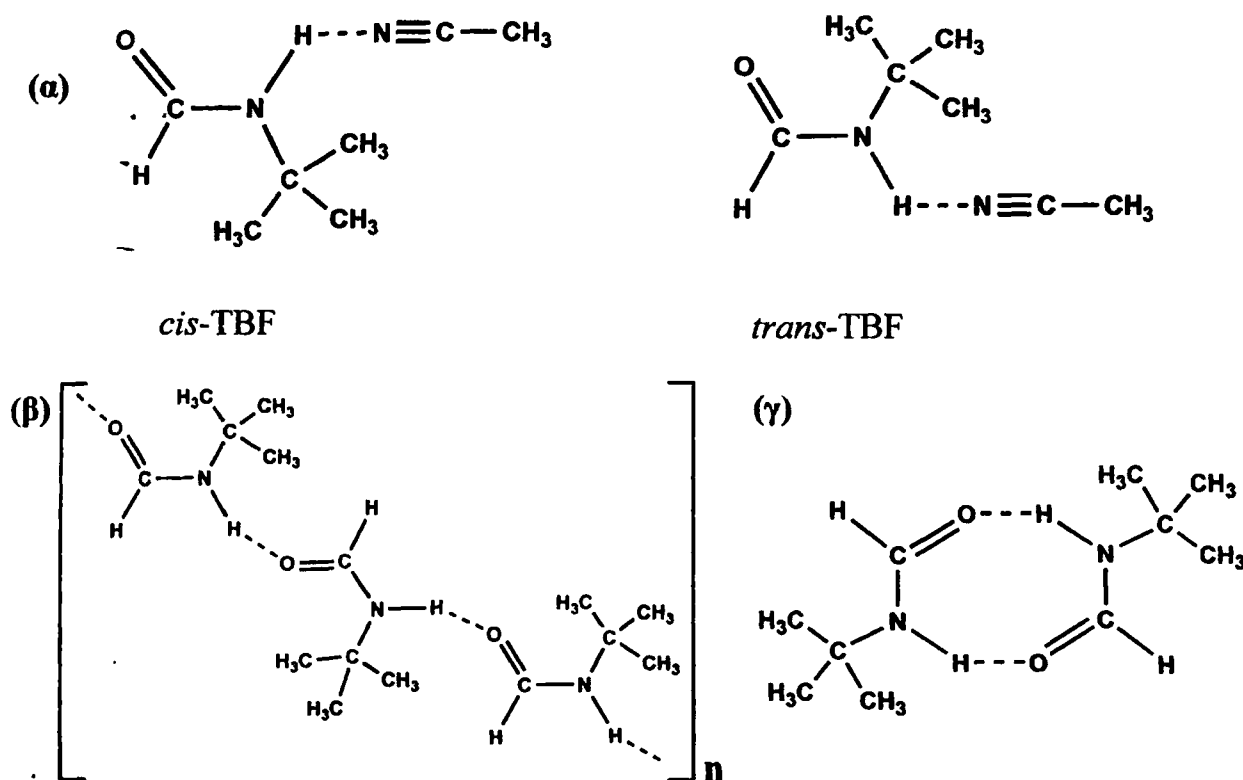
trans ισομερούς το οποίο, εν γένει, έχει αποδειχτεί ότι σχηματίζει πιο ασθενείς δεσμούς υδρογόνου σε σχέση με το καρβονυλικό οξυγόνο. Παράλληλα, υπάρχει η μικρή, λόγω χαμηλής συγκέντρωσης του αμιδίου, πιθανότητα να σχηματιστούν διμερή ή/και πολυμερή όπως προσεγγιστικά φαίνεται στο Σχήμα 28. Έτσι, η κινητικότητα του συστήματος περιορίζεται σε σχετικά μικρότερο βαθμό από ό,τι συμβαίνει στο νερό και αυτό αντικατοπτρίζεται στις πιο αυξημένες τιμές της εντροπίας.



Σχ. 28. Διευθέτηση μορίων του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου σε διαλύτη ακετονιτρίλιο. Με βάση τις μεταβολές ενθαλπίας και εντροπίας υπάρχει πιθανότητα (α) αλληλεπίδρασης του διαλύτη με το αμιδικό πρωτόνιο μέσω σχηματισμού δεσμών υδρογόνου, (β) σχηματισμού γραμμικών πολυμερών αλυσίδων μεταξύ κυρίως *trans* ισομερών του αμιδίου και (γ) σχηματισμού κυκλικών διμερών μεταξύ *cis* ισομερών του αμιδίου.

Στην περίπτωση του ακετονιτρίλιου το *trans* ισομερές του *N*-*tert*-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF) φαίνεται να ευνοείται ενθαλπικά ($\Delta H^\circ = -1,96 \text{ kJ mol}^{-1}$). Παράλληλα, φαίνεται να υπάρχει και κάποιο εντροπικό όφελος, μολονότι μικρό ($T\Delta S^\circ (298\text{K}) = 0,30 \text{ kJ mol}^{-1}$). Η μικρή αύξηση στην εντροπία πρέπει πιθανόν να οφείλεται στη σχετική δυσχέρεια επιδιαλύτωσης του *trans* ισομερούς του αμιδίου με αποτέλεσμα ένα μικρό περιορισμό στη δυνατότητα σχηματισμού δεσμού υδρογόνου με το πρωτόνιο

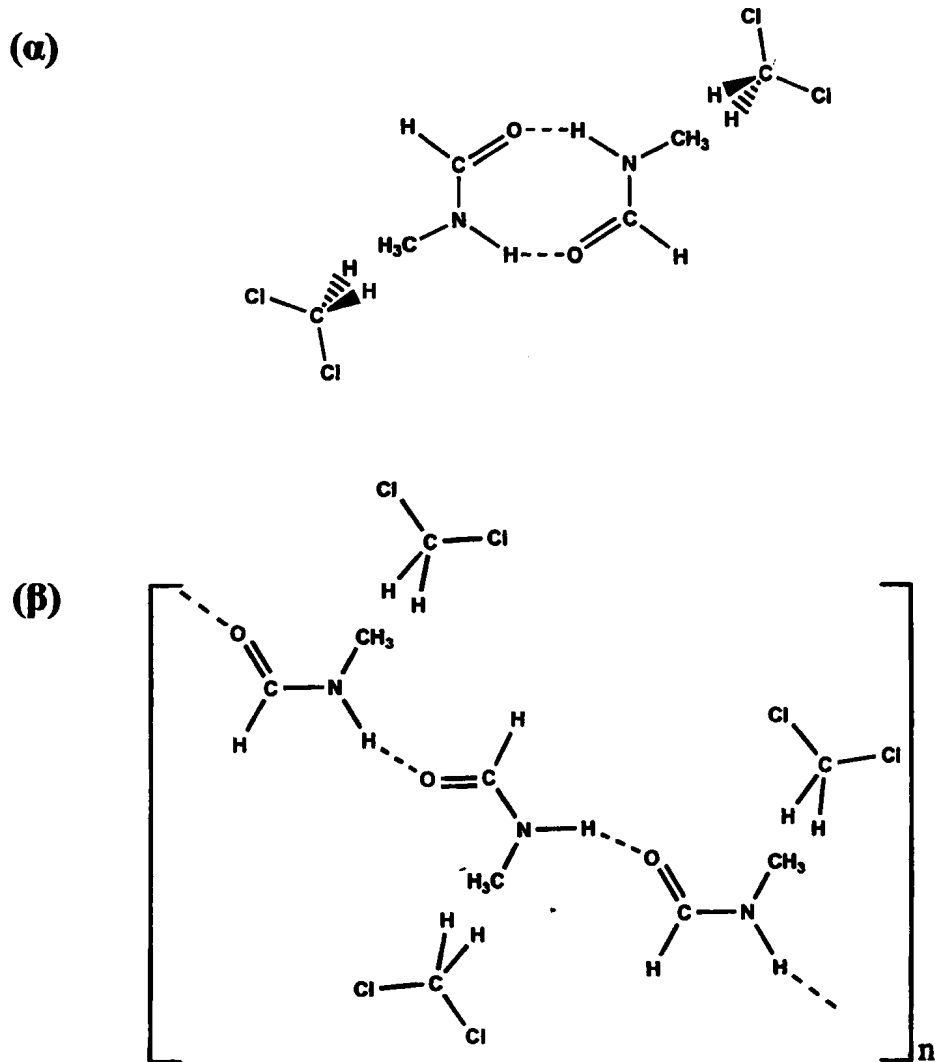
NH λόγω του ογκώδους *N*-αλκυλοϋποκαταστάτη. Έτσι, το αμίδιο καταλήγει να διατηρεί την ελευθερία της κίνησής του αφού πιθανότατα συμμετέχει σε μικρότερο βαθμό σε δεσμούς υδρογόνου απ' ότι το NMF (Σχήμα 29).



Σχ. 29. Διευθέτηση μορίων του *N*-*tert*-βουτυλοφορμαμίδιου σε διαλύτη ακετονιτρίλιο. Με βάση τις μεταβολές ενθαλπίας και εντροπίας υπάρχει πιθανότητα (α) αλληλεπίδρασης του διαλύτη με το αμιδικό πρωτόνιο μέσω σχηματισμού δεσμών υδρογόνου, (β) σχηματισμού γραμμικών πολυμερών αλυσίδων μεταξύ κυρίως *trans* ισομερών του αμιδίου και (γ) σχηματισμού κυκλικών διμερών μεταξύ *cis* ισομερών του αμιδίου.

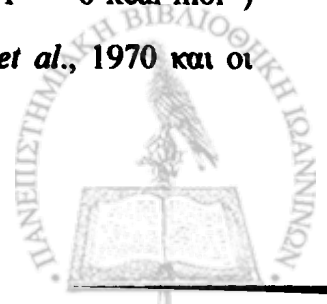
Σε διάλυμα διχλωρομεθανίου η *trans* μορφή του NMF ευνοείται ισχυρότατα ενθαλπικά ($\Delta H^\circ = -12,36 \text{ kJ mol}^{-1}$), ενώ δεν ευνοείται καθόλου εντροπικά ($\Delta S^\circ = -25,08 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$, $T\Delta S^\circ (298\text{K}) = -7,52 \text{ kJ mol}^{-1}$). Η ισχυρή μείωση του παράγοντα της εντροπίας θα πρέπει να οφείλεται σε σημαντικό περιορισμό της κινητικότητας του αμιδίου. Ο περιορισμός αυτός της κινητικότητας του NMF αποδίδεται κατά κύριο λόγο σε σταθεροποίηση του αμιδίου μέσω δημιουργίας ισχυρών δεσμών υδρογόνου, οι οποίοι θα πρέπει να προέρχονται από τη δημιουργία κυκλικών διμερών (μεταξύ *cis* ισομερών) ή/και πολυμερών αλυσίδων (κυρίως μεταξύ *trans* ισομερών) μεταξύ μορίων

του αμιδίου ακόμα και από τη συγκέντρωση των 2 mM, με το διαλύτη να μην επηρεάζει διόλου την *cis-trans* ισορροπία του αμιδίου (Σχήμα 30).



Σχ. 30. (α) Σχηματισμός διμερών μεταξύ *cis* ισομερών του NMF και (β) σχηματισμός πολυμερών αλυσίδων κυρίως μεταξύ των *trans* ισομερών του NMF σε διάλυμα διχλωρομεθανίου.

Θερμοδυναμικές μελέτες, που απαντώνται στη διεθνή βιβλιογραφία, σε αραιά διαλύματα αμιδίων σε μη πολικούς διαλύτες όπως είναι ο CCl_4 , έχουν αποδείξει τη δημιουργία διμερών με παράλληλη μείωση τόσο της ενθαλπίας ($\Delta H^\circ = -6 \text{ kcal mol}^{-1}$) όσο και της εντροπίας ($\Delta S^\circ = -14,5 \text{ eu (entropy units)}$) (Stewart *et al.*, 1970 και οι αναφορές εντός αυτής).



Σε διάλυμα διχλωρομεθανίου η *trans* μορφή του TBF σε αντίθεση με το NMF δεν ευνοείται ενθαλπικά ($\Delta H^\circ = 1,22 \text{ kJ mol}^{-1}$) ενώ αντίθετα, ευνοείται εντροπικά ($\Delta S^\circ = 5,67 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$, $T\Delta S^\circ (298\text{K}) = 1,69 \text{ kJ mol}^{-1}$). Η διαφοροποίηση των τιμών σε σχέση με το NMF θα πρέπει να οφείλεται κατά κύριο λόγο, όπως και στις προηγούμενες περιπτώσεις, στην ύπαρξη της *tert*-βουτυλομάδας που καθιστά δύσκολες τις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις. Η αύξηση στην τιμή της εντροπίας υποδηλώνει πιθανόν την έλλειψη σταθεροποιητικών παραγόντων όπως είναι για παράδειγμα η ύπαρξη κάποιων δεσμών υδρογόνου από δημιουργία διμερών ή πολυμερών αλυσίδων με αποτέλεσμα να μην επηρεάζεται η ευκινησία του αμιδίου.

Σε διάλυμα CDCl_3 η *trans* μορφή του NMF επίσης ευνοείται έντονα ενθαλπικά ($\Delta H^\circ = -3,71 \text{ kJ mol}^{-1}$) με μία μικρή θετική συνεισφορά από την πλευρά της εντροπίας ($\Delta S^\circ = 3,42 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$, $T\Delta S^\circ (298\text{K}) = 1,029 \text{ kJ mol}^{-1}$). Αυτό υποδηλώνει ότι, σε θερμοκρασία δωματίου, η μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας, ΔG° , καθορίζεται κυρίως από τον ενθαλπικό παράγοντα με αμελητέα την επίδραση του διαλύτη στην κινητικότητα του συστήματος.

Στη βιβλιογραφία αναφέρεται πως από τη συγκέντρωση των 10 mM και πάνω ευνοούνται οι διαμοριακές αλληλεπιδράσεις και ο σχηματισμός διμερών σε διαλύματα γραμμικών πεπτιδίων σε χλωροφόρμιο. Αυτός ο σχηματισμός διμερών συνοδεύεται στους 36 °C από σημαντική μείωση τόσο της ενθαλπίας ($\Delta H^\circ = -27 \text{ kJ (mol dimer}^{-1})$) όσο και της εντροπίας ($\Delta S^\circ = -71 \text{ J K}^{-1} \text{ (mol dimer}^{-1})$) (Sugawara *et al.*, 1980).

Στην περίπτωση του *N-tert*-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF) η διαφορά στην ενθαλπία σε CDCl_3 κατά τον *cis-trans* ισομερισμό ελαττώνεται σημαντικά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην περίπτωση του NMF ενώ το *trans* ισομερές δεν φαίνεται να ευνοείται ενθαλπικά ($\Delta H^\circ = 1,60 \text{ kJ mol}^{-1}$). Αντίθετα, η τιμή της εντροπίας στους 298K εμφανίζεται ελαφρά μεγαλύτερη ($T\Delta S^\circ = 1,71 \text{ kJ mol}^{-1}$) από αυτή της ενθαλπίας (Πίνακας 12, σελ. 103).

Η μείωση της ενθαλπίας ενδεχομένως να οφείλεται, όπως και στην περίπτωση του υδατικού διαλύματος, σε ισχυρά στερικά φαινόμενα εξαιτίας της ογκώδους *tert*-βουτυλομάδας και στη μειωμένη επιδιαλύτωση της καρβονυλικής ομάδας στην περίπτωση του *trans* ισομερούς.

Προκειμένου να εκτιμηθεί ο τρόπος αλληλεπίδρασης μεταξύ μορίων του αμιδίου όταν μεταβάλλεται η συγκέντρωση του αμιδίου και η θερμοκρασία σε μέτρια πολικούς



διαλύτες ακολουθεί η μελέτη των χημικών μετατοπίσεων -NH, οι οποίες επηρεάζονται ιδιαίτερα κατά τη δημιουργία δεσμών υδρογόνου.

6.1.2.4.2. ΕΞΑΡΤΗΣΗ ΤΩΝ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΕΩΝ -NH ΑΠΟ ΤΗ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ, ΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΚΑΙ ΤΟ ΔΙΑΛΥΤΗ

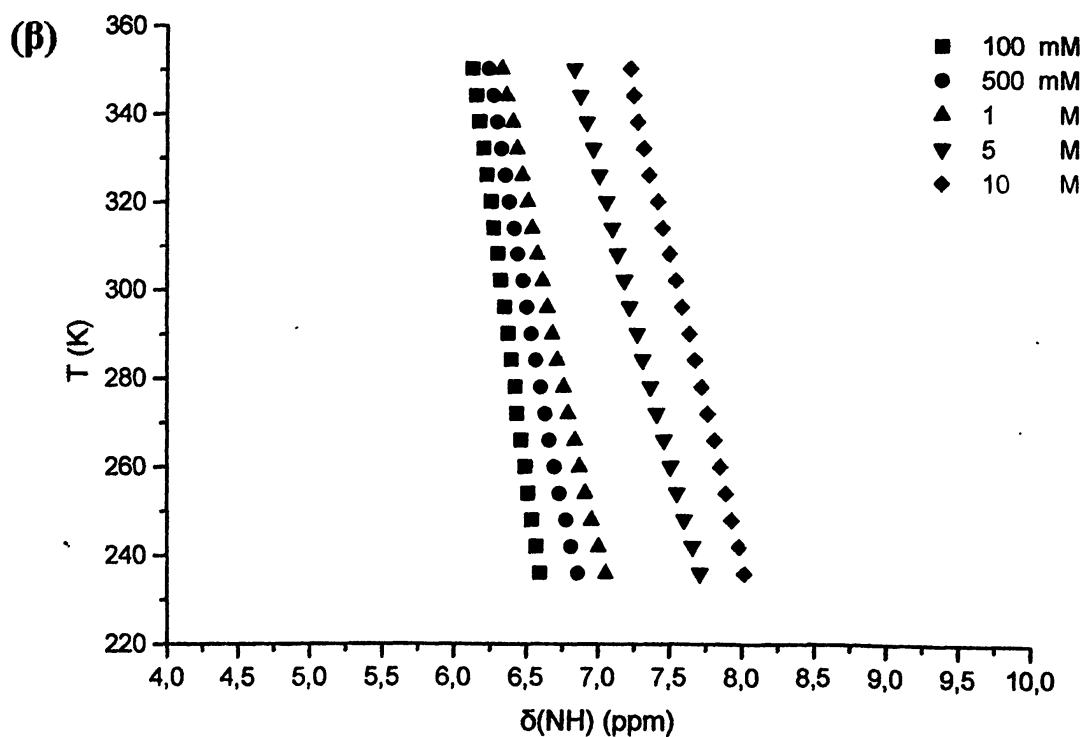
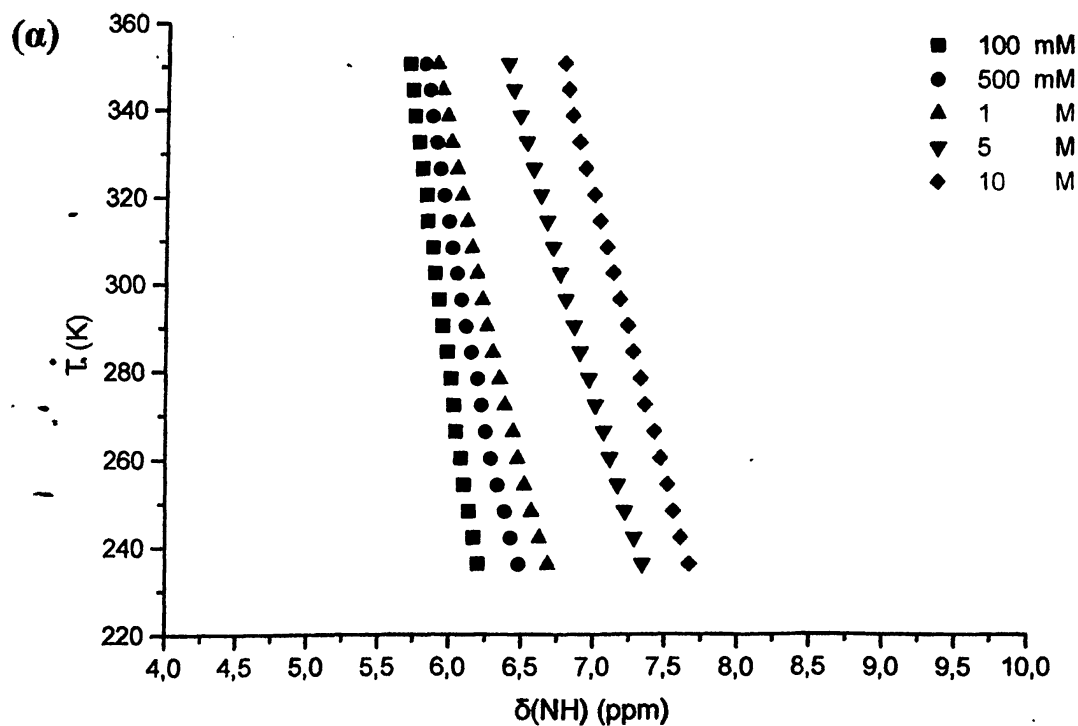
Στα Διαγράμματα που ακολουθούν φαίνεται η εξάρτηση χημικών μετατοπίσεων του αμιδικού πρωτονίου NH του *cis* και του *trans* ισομερούς των πρότυπων μοντέλων πεπτιδίων από τη θερμοκρασία, το διαλύτη και τη συγκέντρωση του αμιδίου.

6.1.2.4.2.1. NMF ΚΑΙ TBF ΣΕ ΑΚΕΤΟΝΙΤΡΙΛΙΟ

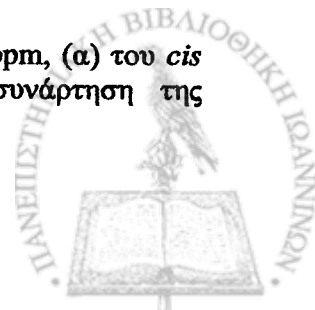
Στα Διαγράμματα 12 (α) και 12 (β) όπως και στους Πίνακες Π-23 και Π-24 του Παραρτήματος παρατίθενται τα δεδομένα των χημικών μετατοπίσεων -NH του *cis* και του *trans* ισομερούς του NMF σε διαλύτη ακετονιτρίλιο.

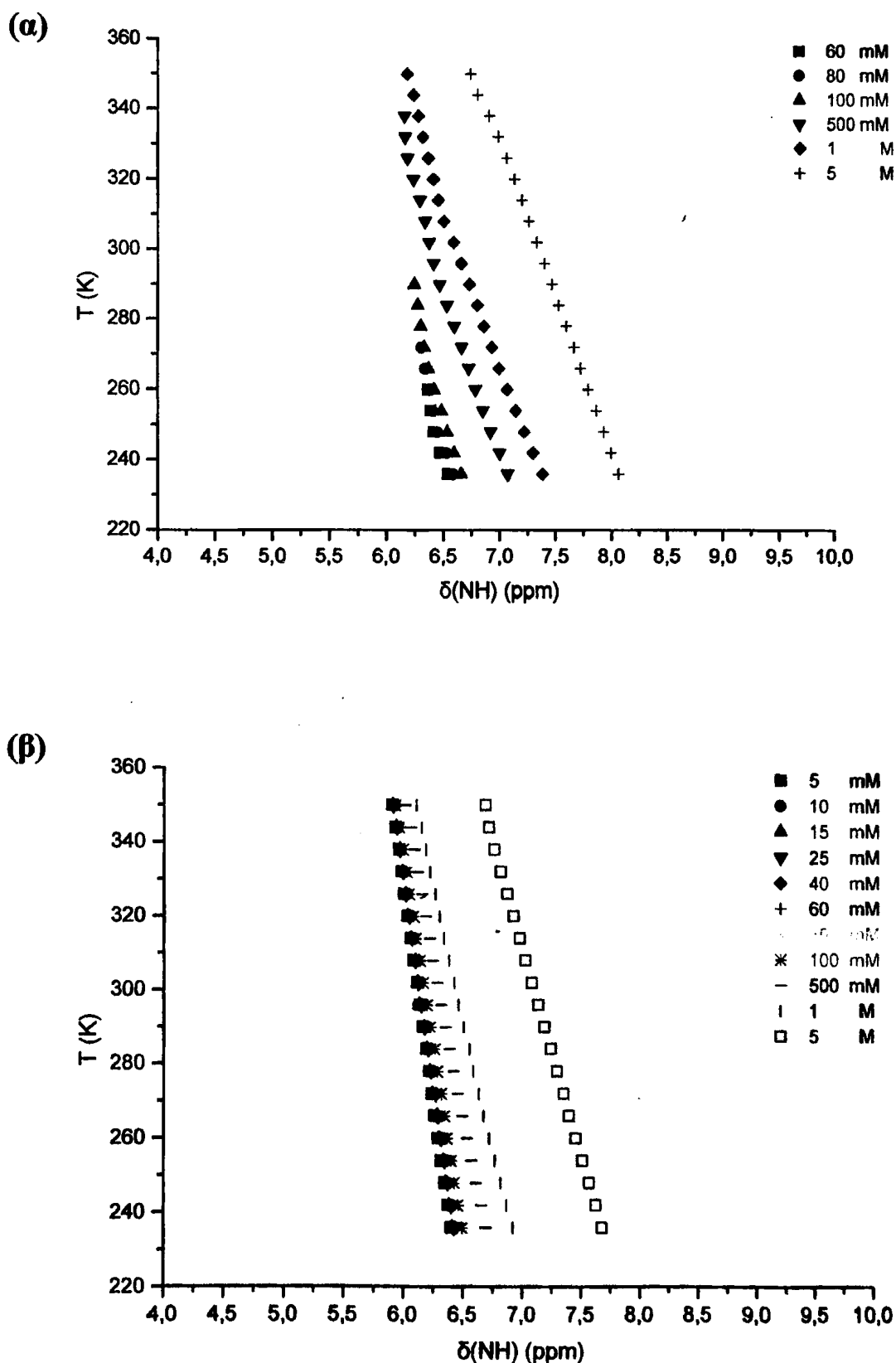
Επίσης, στα Διαγράμματα 13 (α) και 13 (β) που ακολουθούν και στους Πίνακες Π-25 και Π-26 του Παραρτήματος, παρατίθενται τα δεδομένα των χημικών μετατοπίσεων -NH του *cis* και του *trans* ισομερούς του TBF σε διαλύτη ακετονιτρίλιο.





Διάγραμμα 12. Χημικές μετατοπίσεις του αμιδικού πρωτονίου NH ($\delta(NH)$) σε ppm, (α) του *cis* και (β) του *trans* ισομερούς του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF) ως συνάρτηση της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του αμιδίου, σε διαλύτη CD_3CN .





Διάγραμμα 13. Χημικές μετατοπίσεις του αμιδικού πρωτονίου NH (δ NH) σε ppm, (α) του *cis* και (β) του *trans* ισομερούς του *N-tert*-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF) ως συνάρτηση της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του αμιδίου, σε διαλύτη CD_3CN .



Τόσο το *cis* όσο και το *trans* ισομερές του NMF σε διάλυμα ακετονιτριλίου αλληλεπιδρά με μόρια του διαλύτη με αποτέλεσμα η δυνατότητα των μορίων του αμιδίου να σχηματίσουν διμερή ή/και πολυμερή να είναι περιορισμένη. Αυτό φαίνεται από τις χημικές μετατοπίσεις NH των δύο ισομερών έως και την υψηλή συγκέντρωση του 1 M, οι οποίες μένουν πρακτικά ανεπηρέαστες από την αύξηση της συγκέντρωσης. Μόνο όταν η συγκέντρωση του αμιδίου στο διάλυμα αυξάνει πάρα πολύ φτάνοντας τα 5 και τα 10 M παρατηρείται πλέον έντονα το φαινόμενο σχηματισμού διμερών ή/και πολυμερών. Στις συγκεντρώσεις αυτές δεν μπορεί πλέον ο διαλύτης να ανταγωνιστεί τις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις μεταξύ μορίων του αμιδίου.

Η ίδια εικόνα παρατηρείται και στα Διαγράμματα 13 (α) και 13 (β) που παρουσιάζουν τις χημικές μετατοπίσεις NH των δύο ισομερών του TBF σε ακετονιτρίλιο. Ομοίως, μέχρι τη συγκέντρωση των 100 mM υπερτερούν οι αλληλεπιδράσεις με το διαλύτη, ενώ ο σχηματισμός πολυμερών είναι πολύ μικρότερης σημασίας. Σε συγκεντρώσεις, όμως, μεγαλύτερες των 500 mM αυτό φαίνεται να ανατρέπεται και οι διαμοριακές αλληλεπιδράσεις ιδιαίτερα μεταξύ των *cis* ισομερών του αμιδίου είναι πλέον έκδηλες. Τα *trans* ισομερή του αμιδίου φαίνεται να αλληλεπιδρούν πολύ πιο δύσκολα μεταξύ τους, κάτι, που όπως έχει ήδη συζητηθεί, είναι αναμενόμενο, εξαιτίας της ογκώδους *tert*-βουτυλομάδας στο άζωτο του αμιδικού δεσμού. Έτσι, μόνο στη συγκέντρωση των 5 M φαίνεται να συμμετέχουν σε ισχυρούς διαμοριακούς δεσμούς υδρογόνου.

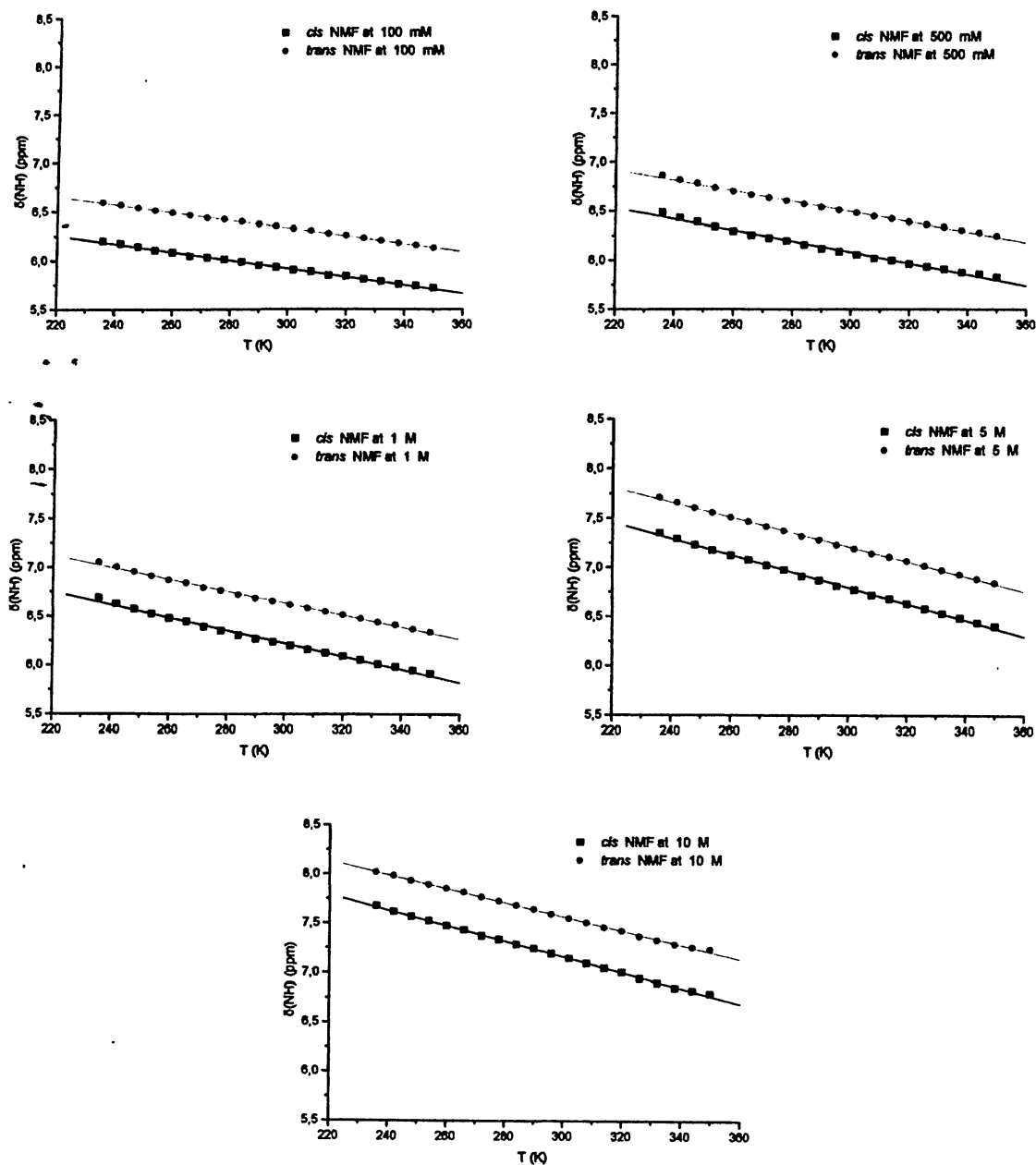
Στους Πίνακες 13 και 14 καθώς και στα Διαγράμματα των Σχημάτων 31 και 32 παρατίθενται οι τιμές της μεταβολής της χημικής μετατόπισης ως προς τη θερμοκρασία, $\Delta(\delta)/\Delta(T)$, σε όλες τις εξεταζόμενες συγκεντρώσεις, για το NMF και το TBF, αντίστοιχα. Από τη μεταβολή των τιμών της παραμέτρου $\Delta(\delta)/\Delta(T)$ και για τα δύο αμίδια προκύπτει το συμπέρασμα ότι σε χαμηλές συγκεντρώσεις υπερτερούν οι αλληλεπιδράσεις με τα μόρια του ακετονιτριλίου, ενώ σε υψηλότερες συγκεντρώσεις υπερισχύουν οι διαμοριακές αλληλεπιδράσεις μεταξύ μορίων του αμιδίου όπως παρουσιάζεται και σε ανάλογες μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία (Higashijima *et al.*, 1975, Stevens *et al.*, 1980, Gellman *et al.*, 1991). Τα συγκεκριμένα δεδομένα έρχονται σε άριστη συμφωνία με την ανάλυση που προηγήθηκε.



Πίνακας 13. Εξάρτηση της παραμέτρου $\Delta(\delta)/\Delta(T)$ από τη μεταβολή της συγκέντρωσης του *cis* και του *trans* ισομερούς του NMF σε CD_3CN .

Συγκέντρωση	Cis Ισομερές	Trans Ισομερές
	$\Delta\delta/\Delta T$ (ppb/K)	$\Delta\delta/\Delta T$ (ppb/K)
100 mM	-4,23±0,05	-4,02±0,02
500 mM	-5,65±0,12	-5,27±0,07
1 M	-6,68±0,11	-6,16±0,07
5 M	-8,30±0,07	-7,57±0,06
10 M	-7,85±0,06	-7,17±0,06





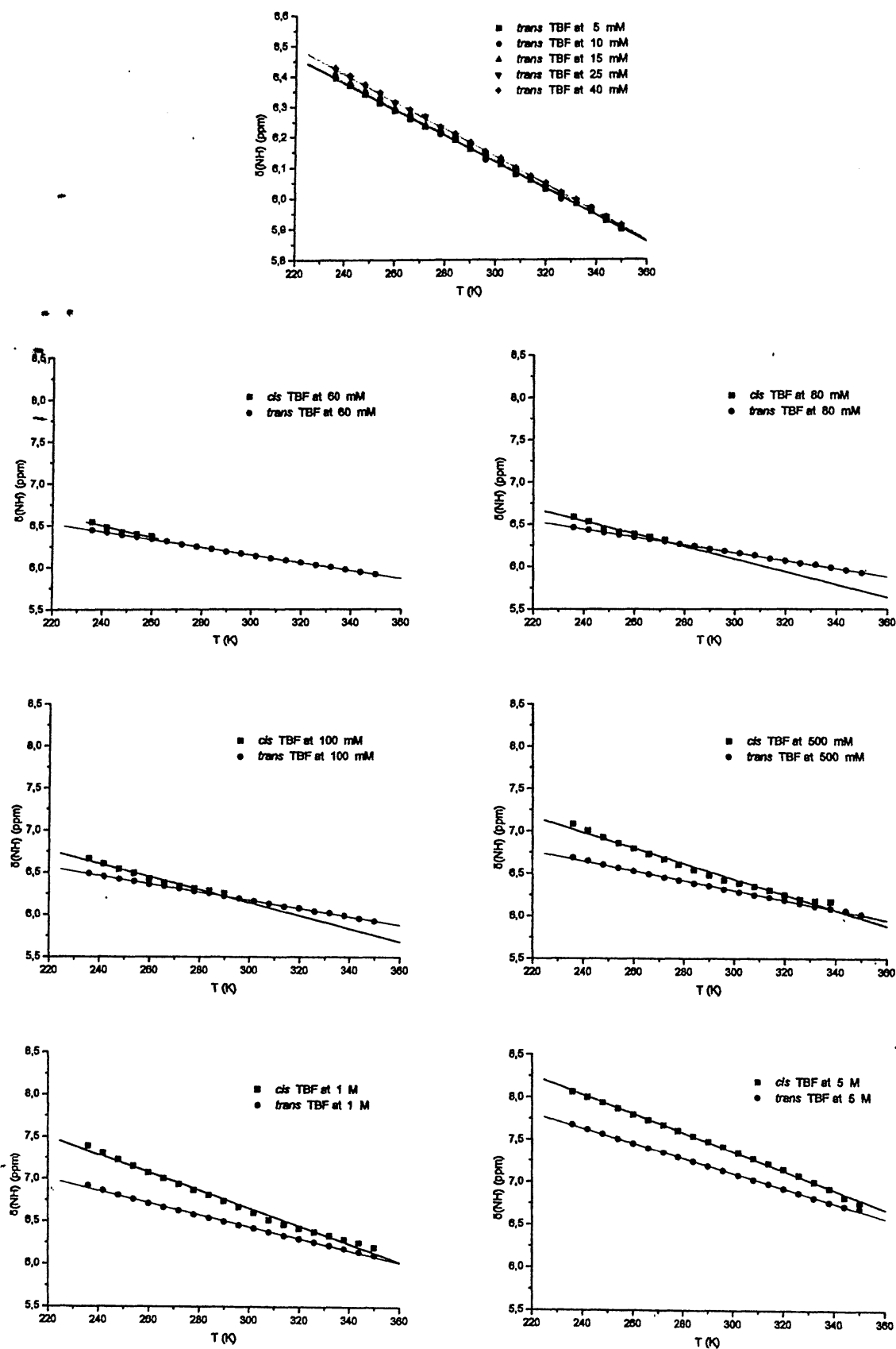
Σχ. 31. Εξάρτηση της παραμέτρου $\Delta(\delta)/\Delta(T)$ από τη μεταβολή της συγκέντρωσης του *cis* και του *trans* ισομερούς του NMF σε CD_3CN .



Πίνακας 14. Εξάρτηση της παραμέτρου $\Delta(\delta)/\Delta(T)$ από τη μεταβολή της συγκέντρωσης του *cis* και του *trans* ισομερούς του TBF σε CD_3CN .

Συγκέντρωση	Cis Ισομερές	Trans Ισομερές
	$\Delta\delta/\Delta T$ (ppb/K)	$\Delta\delta/\Delta T$ (ppb/K)
5 mM	-	-4,31±0,02
10 mM	-	-4,31±0,05
15 mM	-	-4,37±0,03
25 mM	-	-4,51±0,02
40 mM	-	-4,53±0,02
60 mM	-7,18±1,00	-4,70±0,02
80 mM	-7,51±0,65	-4,72±0,02
100 mM	-7,71±0,41	-4,91±0,03
500 mM	-9,17±0,29	-5,82±0,06
1 M	-10,52±0,23	-7,05±0,08
5 M	-11,29±0,10	-8,85±0,05





Σχ. 32. Εξάρτηση της παραμέτρου $\Delta(\delta)/\Delta(T)$ από τη μεταβολή της συγκέντρωσης του *cis* και του *trans* ισομερούς του TBF σε CD_3CN .



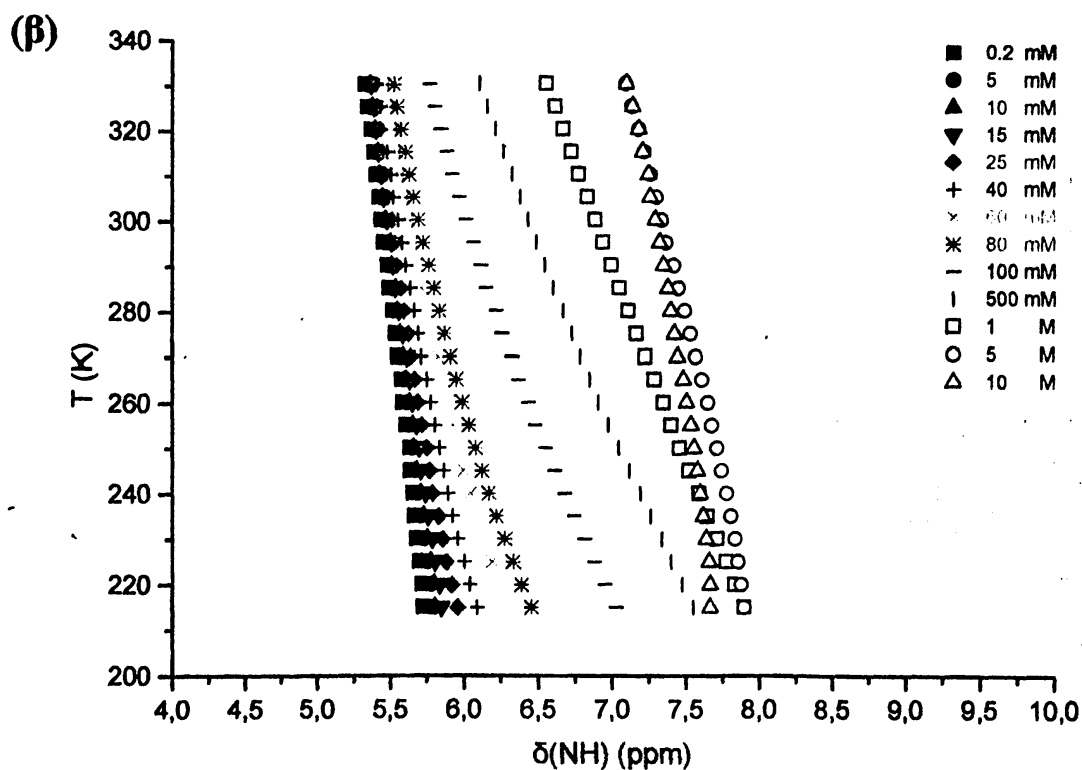
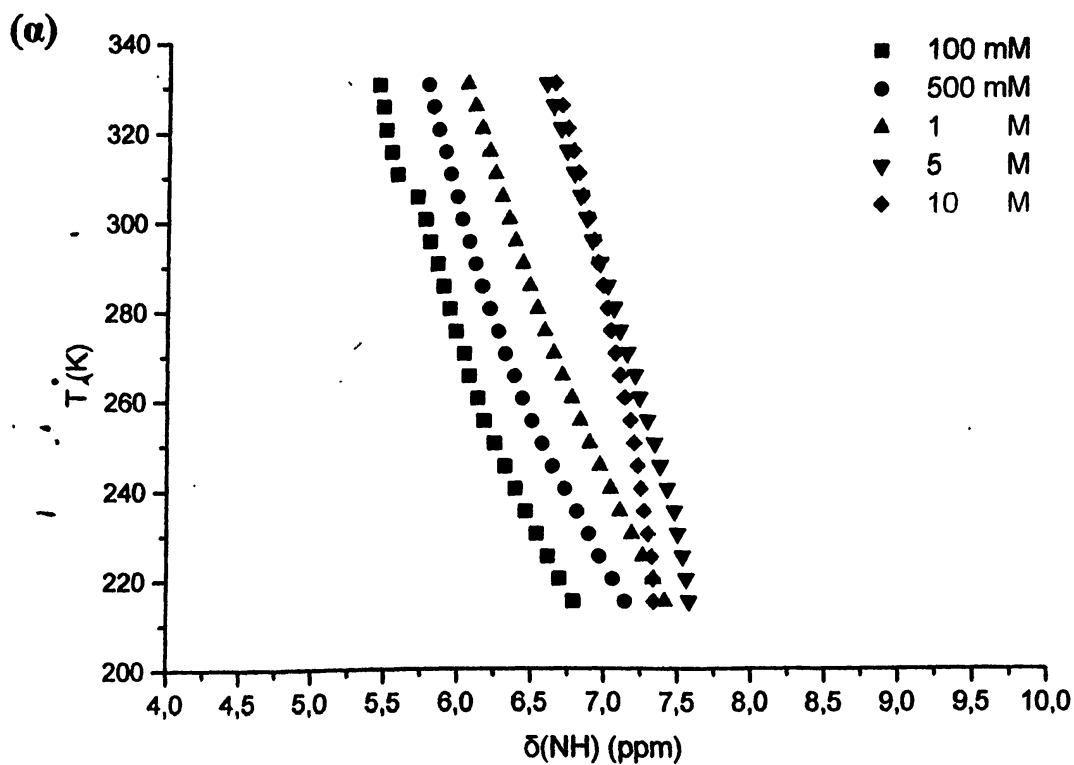
Η ήσσονος σημασίας αποπροστασία του αμιδικού πρωτονίου και στα δύο αμίδια κατά τη μείωση της θερμοκρασίας έχει να κάνει απλά με την ισχυροποίηση των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων καθώς το σύστημα αμίδιο-διαλύτης ψύχεται και σταθεροποιείται.

6.1.2.4.2. NMF ΚΑΙ TBF ΣΕ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟ

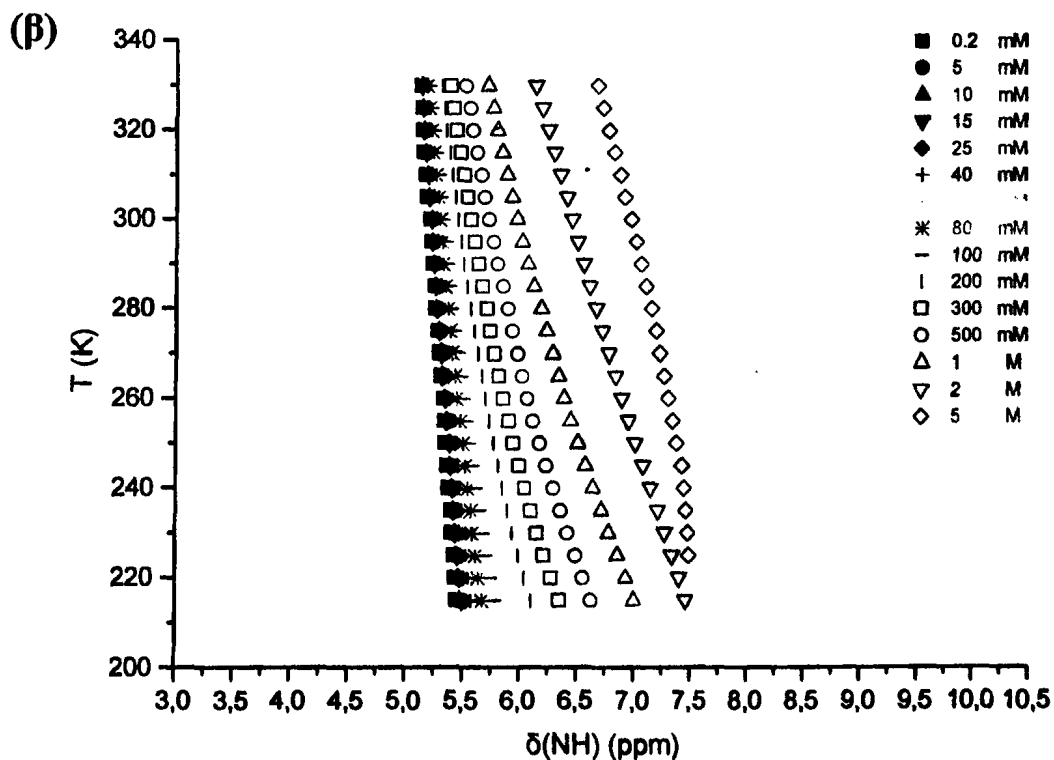
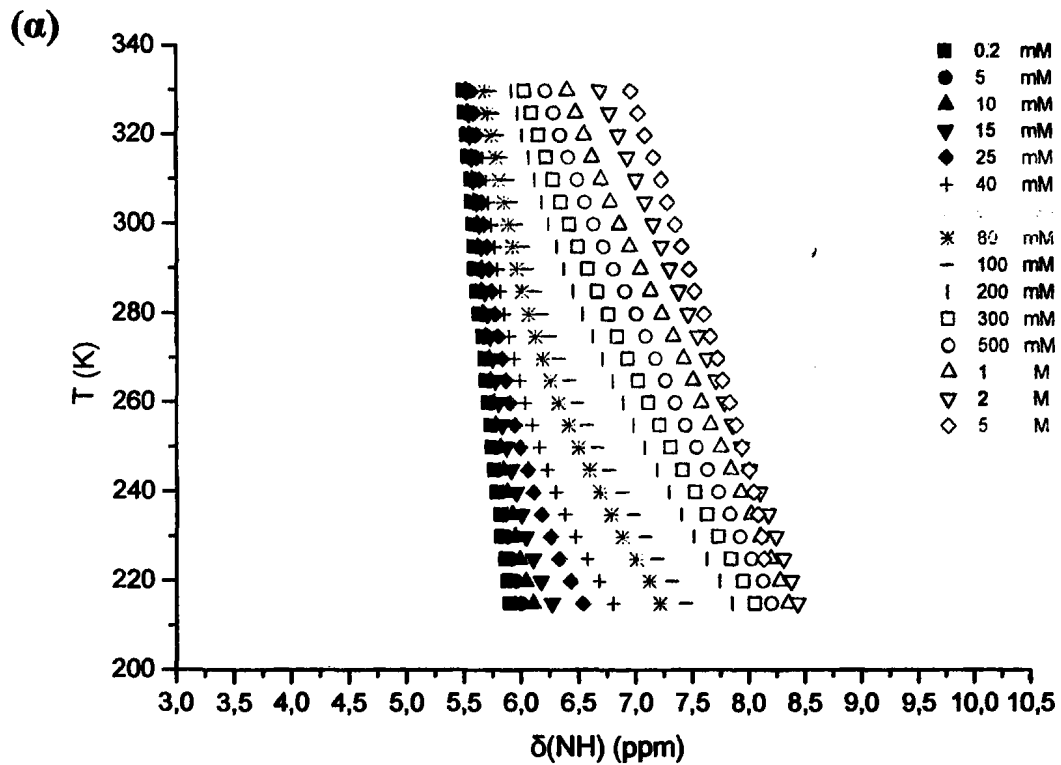
Στα Διαγράμματα 14 (α) και 14 (β) που ακολουθούν και στους Πίνακες Π-27 και Π-28 του Παραρτήματος παρατίθενται τα πειραματικά δεδομένα των χημικών μετατοπίσεων -NH του *cis* και του *trans* ισομερούς του NMF σε διαλύτη χλωροφόρμιο.

Στα Διαγράμματα 15 (α) και 15 (β) που ακολουθούν όπως και στους Πίνακες Π-29 και Π-30 του Παραρτήματος παρατίθενται τα πειραματικά δεδομένα των χημικών μετατοπίσεων -NH του *cis* και του *trans* ισομερούς του TBF σε διαλύτη χλωροφόρμιο.

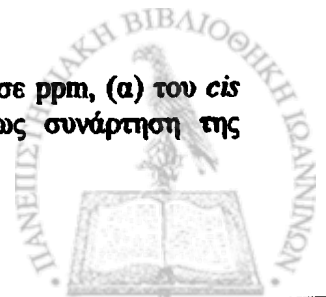




Διάγραμμα 14. Χημικές μετατοπίσεις του αμιδικού πρωτονίου NH ($\delta(NH)$) σε ppm, (α) του *cis* και (β) του *trans* ισομερούς του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF) ως συνάρτηση της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του αμιδίου, σε διαλύτη $CDCl_3$.



Διάγραμμα 15. Χημικές μετατοπίσεις του αμιδικού πρωτονίου NH ($\delta(\text{NH})$) σε ppm, (α) του *cis* και (β) του *trans* ισομερούς του *N*-*tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF) ως συνάρτηση της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του αμιδίου, σε διαλύτη CDCl_3 .

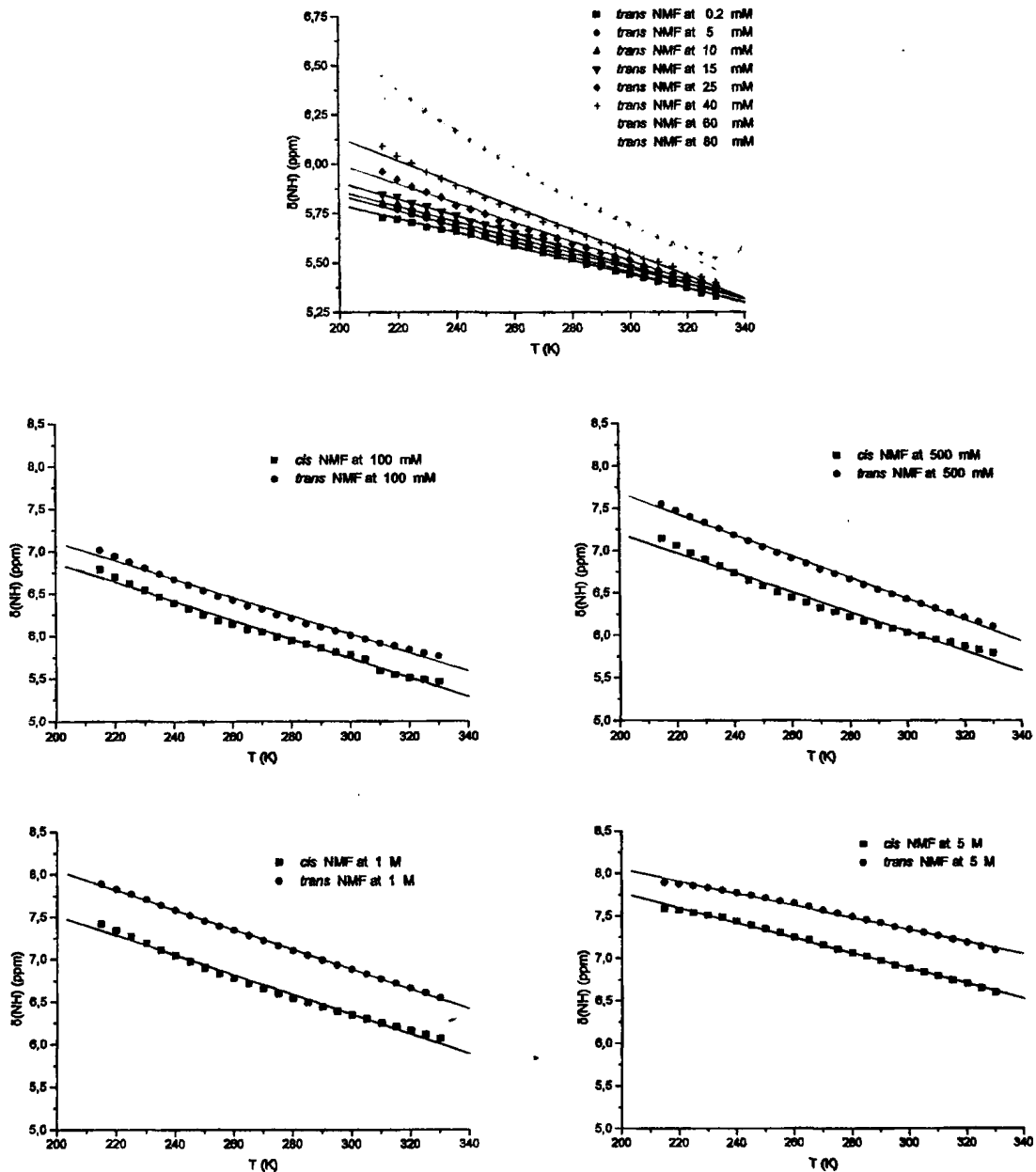


Από τις χημικές μετατοπίσεις του πρωτονίου NH του *cis* ισομερούς του NMF σε διάλυμα χλωροφορμίου είναι εμφανής η συμμετοχή του στο σχηματισμό κυρίως διμερών αλλά και πολυμερών σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις σε σχέση με την περίπτωση του ακετονιτριλίου. Το ίδιο συμβαίνει και στην περίπτωση του *trans* ισομερούς κυρίως σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες των 100 mM, όπου ο σχηματισμός πολυμερών αλυσίδων είναι το κυρίαρχο φαινόμενο. Η ύπαρξη διαμοριακών αλληλεπιδράσεων είναι εμφανής από την ισχυρή εξάρτηση των τιμών της μεταβολής της χημικής μετατόπισης ως προς τη θερμοκρασία στις προαναφερθείσες συγκεντρώσεις, όπως φαίνεται από τα δεδομένα του Πίνακα 15 και τα Διαγράμματα του Σχήματος 33 που ακολουθούν. Οι υψηλές τιμές $\Delta(\delta)/\Delta(T)$, ιδιαίτερα από τη συγκέντρωση των 100 mM και πάνω, αποδίδονται στην ύπαρξη έντονων διαμοριακών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μορίων του αμιδίου (Stevens *et al.*, 1980).

Πίνακας 15. Εξάρτηση της παραμέτρου $\Delta(\delta)/\Delta(T)$ από τη μεταβολή της συγκέντρωσης του *cis* και του *trans* ισομερούς του NMF σε χλωροφόρμιο.

Συγκέντρωση	<i>Cis</i> Ισομερές $\Delta\delta/\Delta T$ (ppb/K)	<i>Trans</i> Ισομερές $\Delta\delta/\Delta T$ (ppb/K)
0,2 mM	-	-3,52±0,04
5 mM	-	-3,92±0,03
10 mM	-	-3,93±0,03
15 mM	-	-4,26±0,04
25 mM	-	-4,88±0,09
40 mM	-	-5,82±0,09
60 mM	-	-7,04±0,17
80 mM	-	-7,94±0,20
100 mM	-11,29±0,25	-10,90±0,22
500 mM	-11,56±0,35	-12,55±0,16
1 M	-11,59±0,24	-11,66±0,07
5 M	-8,90±0,11	-7,15±0,11





Σχ. 33. Εξάρτηση της παραμέτρου $\Delta(\delta)/\Delta(T)$ από τη μεταβολή της συγκέντρωσης του *cis* και του *trans* ισομερούς του NMF σε χλωροφόρμιο.

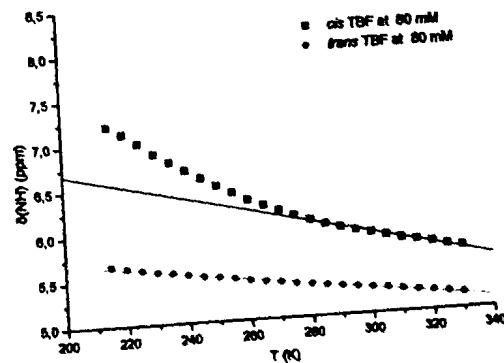
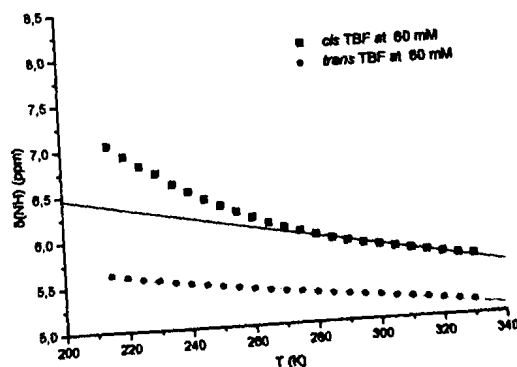
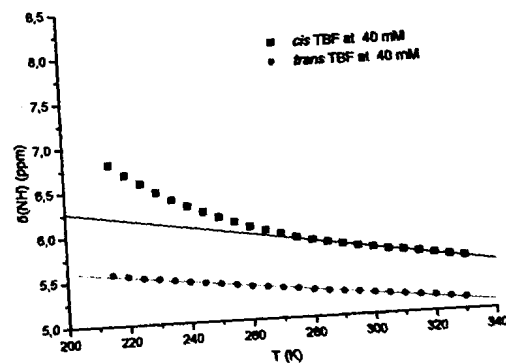
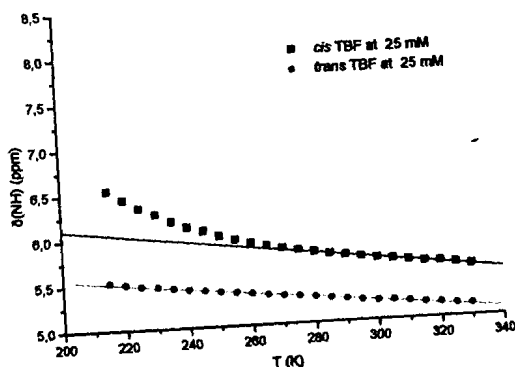
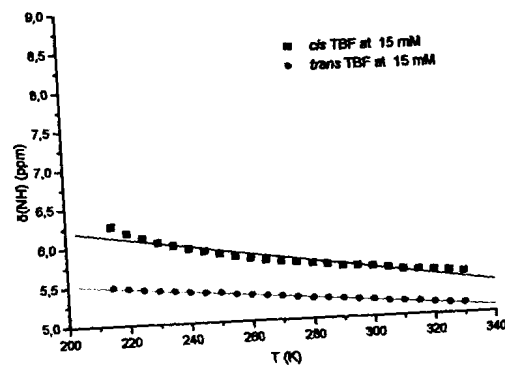
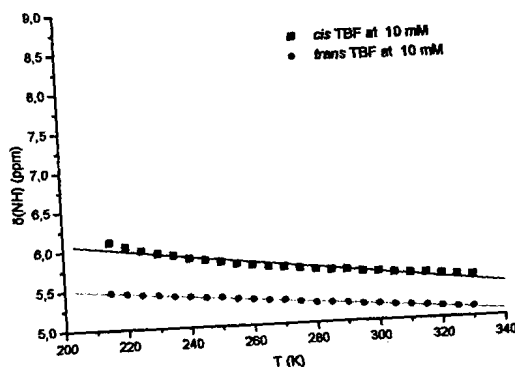
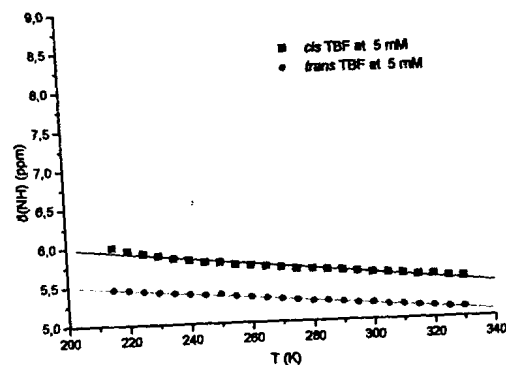
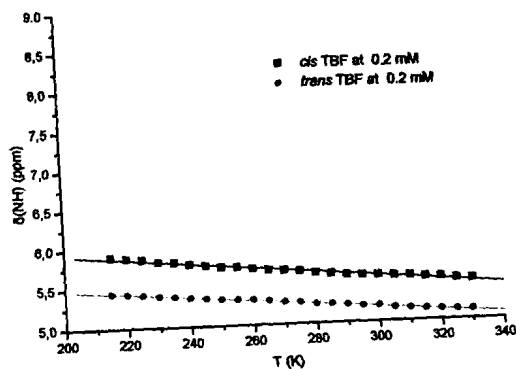
Όσον αφορά στο TBF σε διάλυμα χλωροφορμίου, παρατηρούνται ακριβώς οι ίδιες τάσεις όπως και στην περίπτωση του NMF. Εδώ όμως η διαφοροποίηση μεταξύ *cis* και *trans* ισομερούς είναι πιο έντονη. Πράγματι, το *cis* ισομερές φαίνεται να συμμετέχει σε δεσμούς υδρογόνου με άλλα μόρια σχηματίζοντας κυκλικά διμερή, σε μεγαλύτερο ποσοστό απ' ότι το *trans* ισομερές αφού η επίδραση της συγκέντρωσης στο αμιδικό πρωτόνιο NH του *cis* ισομερούς είναι σαφώς μεγαλύτερη. Στην περίπτωση αυτή, η εξήγηση της διαφοροποίησης μεταξύ των δύο ισομερών στηρίζεται και πάλι σε στερεοχημικές παρεμποδίσεις που επιφέρει ο *N*-αλκυλοδικοκαταστάτης στις

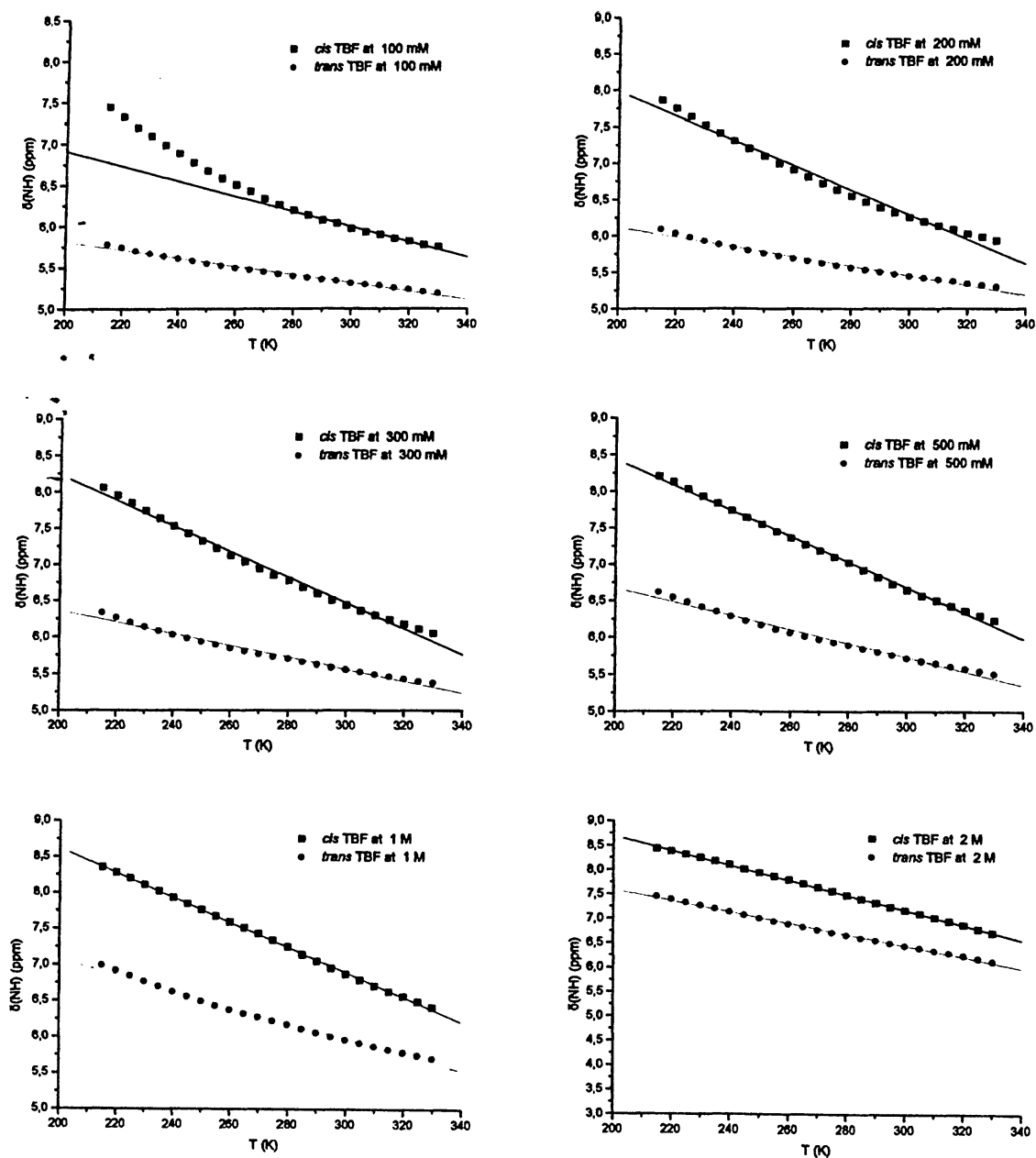
διαμοριακές αλληλεπιδράσεις του *trans* ισομερούς του αμιδίου. Τα ίδια συμπεράσματα προκύπτουν και από τα δεδομένα του Πίνακα 16 και των Διαγραμμάτων του Σχήματος 34 που ακολουθούν, όπου παρατίθεται η εξάρτηση της χημικής μετατόπισης του αμιδικού πρωτονίου και των δύο ισομερών του αμιδίου, από τη θερμοκρασία, σε όλο το εξεταζόμενο εύρος συγκεντρώσεων.

Πίνακας 16. Εξάρτηση της παραμέτρου $\Delta(\delta)/\Delta(T)$ από τη μεταβολή της συγκέντρωσης του *cis* και του *trans* ισομερούς του TBF σε χλωροφόρμιο.

Συγκέντρωση	<i>Cis</i> Ισομερές $\Delta\delta/\Delta T$ (ppb/K)	<i>Trans</i> Ισομερές $\Delta\delta/\Delta T$ (ppb/K)
0,2 mM	-3,37±0,09	-2,91±0,04
5 mM	-3,83±0,15	-2,99±0,04
10 mM	-4,62±0,22	-3,09±0,03
15 mM	-5,72±0,32	-3,16±0,03
25 mM	-4,18±0,12	-3,40±0,04
40 mM	-5,18±0,12	-3,70±0,05
60 mM	-6,35±0,24	-4,04±0,07
80 mM	-7,74±0,25	-4,17±0,06
100 mM	-9,18±0,32	-5,01±0,11
200 mM	-16,91±0,46	-6,67±0,19
300 mM	-17,70±0,33	-8,11±0,23
500 mM	-17,57±0,19	-9,46±0,25
1 M	-17,25±0,09	-11,10±0,23
2 M	-15,29±0,06	-11,51±0,12







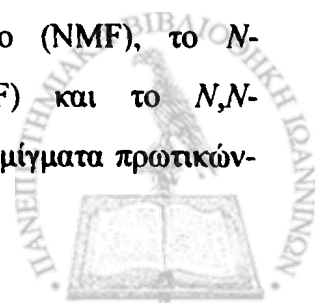
Σχ. 34. Εξάρτηση της παραμέτρου $\Delta(\delta)/\Delta(T)$ από τη μεταβολή της συγκέντρωσης του *cis* και του *trans* ισομερούς του TBF σε χλωροφόρμιο.

6.2. ΜΕΛΕΤΕΣ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ-ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

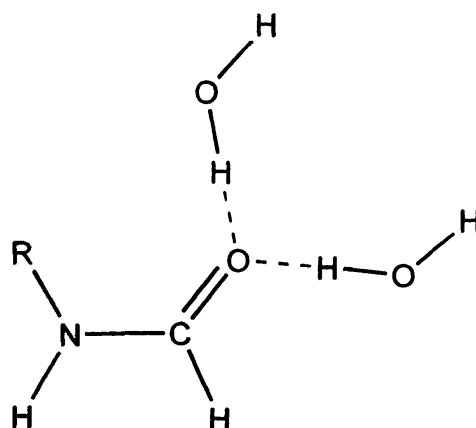
Προκειμένου να υπάρξουν συμπληρωματικά δεδομένα που να αποσαφηνίζουν τα φαινόμενα που εξετάζονται, χρησιμοποιήθηκε και η φασματοσκοπία υπερύθρου. Η δονητική φασματοσκοπία υπερτερεί έναντι της φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού στο γεγονός ότι δύναται να μελετήσει δομές ο σχηματισμός των οποίων λαμβάνει χώρα σε χρόνους πολύ μικρότερους από αυτούς που μπορεί να μελετήσει το NMR. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη δυνατότητα ανίχνευσης τις περισσότερες φορές διακριτών σημάτων που αποδίδονται στην ύπαρξη διαφορετικών δομών στο εξεταζόμενο σύστημα, σε αντίθεση με το NMR, όπου λαμβάνεται μία εικόνα που αποδίδεται, εν γένει, στο μέσο όρο των υπαρχόντων δομών (Gerotheranassis *et al.*, 1994). Η διεθνής βιβλιογραφία άλλωστε, βρίθει μελετών, οι οποίες βασίστηκαν κατά κύριο λόγο στα αποτελέσματα της δονητικής φασματοσκοπίας (Schweitzer-Stenner, 2006). Η ραγδαία, μάλιστα, ανάπτυξη της υπερύθρου φασματοσκοπίας δύο διαστάσεων παρέχει πολύ πιο λεπτομερείς και ακριβείς πληροφορίες κάνοντας αυτή τη μεθοδολογία ανάλυσης πολύτιμο εργαλείο στη μελέτη βιολογικών συστημάτων (DeCamp *et al.*, 2005, Park *et al.*, 2006, Sul *et al.*, 2006). Μία μικρή αναφορά σε κάποια στοιχεία που κρίνονται σημαντικά για την κατανόηση της αξιολόγησης των αποτελεσμάτων της παρούσας ερευνητικής εργασίας παρατίθενται στο κείμενο που ακολουθεί.

Η εξάρτηση της δόνησης τάσεως ν_{NH} από τη θερμοκρασία και το διαλύτη (όπως και της χημικής μετατόπισης του σήματος συντονισμού του αμιδικού πρωτονίου NH σε πειράματα NMR) αποτελούν χρήσιμα εργαλεία στη μελέτη διαμοριακών και ενδομοριακών δεσμών υδρογόνου σε πεπτίδια (Stevens *et al.*, 1980, Ludwig *et al.*, 1998, Yang *et al.*, 1998, Akiyama *et al.*, 1999, Castaneda *et al.*, 2003). Όπως και οι χημικές μετατοπίσεις έτσι και οι δονήσεις τάσεως στην υπέρυθη φασματοσκοπία είναι πολύ ευαίσθητες ακόμα και σε πολύ μικρές αλλαγές στο ηλεκτρονικό περιβάλλον του δεσμού που δονείται (Ludwig *et al.*, 1998, Kupka *et al.*, 2000, Huelsekopf *et al.*, 2001).

Υπάρχουσες φασματοσκοπικές μελέτες υπερύθρου και θεωρητικοί υπολογισμοί σχετικά με την επιδιαλύτωση του πεπτιδικού δεσμού πρότυπων ενώσεων πεπτιδίων όπως το φορμαμίδιο, το ακεταμίδιο, το *N*-μεθυλοφορμαμίδιο (NMF), το *N*-μεθυλακεταμίδιο (NMA), το *N,N*-διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF) και το *N,N*-διμεθυλακεταμίδιο (DMA) τόσο σε καθαρούς διαλύτες όσο και σε μίγματα πρωτικών-



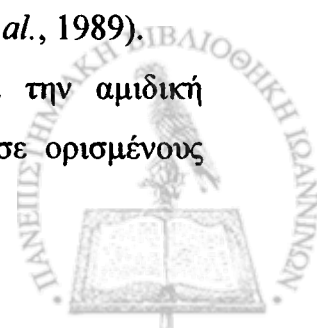
μη πρωτικών διαλυτών σε χαμηλές συγκεντρώσεις, έδειξαν μία σαφή προτίμηση επιδιαλύτωσης της καρβονυλικής ομάδας του πεπτιδικού δεσμού έναντι της ομάδας NH (Gerotheranassis *et al.*, 1994). Ιδιαίτερα, σε αραιά υδατικά διαλύματα, η παρουσία ελεύθερων ομάδων NH και OH στα φάσματα υπερύθρου αποδεικνύουν ότι οι ομάδες NH δε συμμετέχουν όλες σε δεσμούς υδρογόνου με το διαλύτη σε αντίθεση με τις καρβονυλομάδες, οι οποίες αποδεικνύεται ότι συμμετέχουν σε δύο δεσμούς υδρογόνου όπως φαίνεται στο Σχήμα 35 (Eaton *et al.*, 1988, Eaton *et al.*, 1989).



Σχ. 35. Το καρβονυλικό οξυγόνο του αμιδικού δεσμού, σε υδατικά διαλύματα, έχει την τάση να σχηματίζει δύο δεσμούς υδρογόνου με μόρια νερού. Εάν η υπόλοιπη γεωμετρία του πεπτιδικού δεσμού το επιτρέπει, τότε, οι δύο αυτοί δεσμοί υδρογόνου βρίσκονται στο ίδιο επίπεδο, η γωνία $O-H \cdots O$ (αμιδικό) είναι 180° ενώ η γωνία $C=O \cdots H$ προσεγγίζει τις 120° (Kollman, 1972, Leiserowitz *et al.*, 1977, Leiserowitz *et al.*, 1978, Eaton *et al.*, 1988, Gellman *et al.*, 1989).

Η δημιουργία δεσμών υδρογόνου προκαλεί μετατόπιση της δόνησης τάσεως της καρβονυλομάδας προς χαμηλότερες συχνότητες, η δε μετατόπιση είναι ανάλογη τόσο της ισχύος των δεσμών υδρογόνου που σχηματίζονται όσο και του αριθμού αυτών (Eaton *et al.*, 1988). Η σταδιακή χρήση λιγότερο πρωτικών διαλυτών προκαλεί μετατόπιση της δόνησης τάσεως της καρβονυλομάδας προς υψηλότερες συχνότητες, γεγονός που αποτελεί ένδειξη της συμμετοχής του καρβονυλικού οξυγόνου σε έναν δεσμό υδρογόνου αντί για δύο. Τέλος, σε καθαρά μη πρωτικούς διαλύτες οι συχνότητες εμφάνισης της δόνησης τάσεως της ομάδας $C=O$ αποτελούν ένδειξη της μη συμμετοχής της καρβονυλομάδας σε δεσμούς υδρογόνου (Eaton *et al.*, 1988, Eaton *et al.*, 1989).

Ο συγκεντρωτικός Πίνακας 17 δίνει τις δονήσεις τάσεως για την αμιδική καρβονυλομάδα αραιών διαλυμάτων των προαναφερθέντων αμιδίων σε ορισμένους



χαρακτηριστικούς διαλύτες όπως αναφέρονται σε δημοσιεύσεις του Eaton και των συνεργατών του (Eaton *et al.*, 1988, Eaton *et al.*, 1989).

Πίνακας 17. Δονήσεις τάσεως (cm^{-1}) της αμιδικής καρβονυλομάδας ($>\text{C}=\text{O}$), αραιών διαλυμάτων, πρότυπων αμιδικών ενώσεων, σε χαρακτηριστικούς διαλύτες στην περιοχή απορρόφησης $1600\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$ (Eaton *et al.*, 1988, Eaton *et al.*, 1989).

Διαλύτης	Πρότυπη Αμιδική Ένωση ($\nu\text{C}=\text{O}$)					
	Φορμαμίδιο	NMF	DMF	Ακεταμίδιο	NMA	DMA
n-εξάνιο	-	-	1695	-	1697	1672
Τριαιθυλαμίνη	1715	1697	1691	1687	1685	1667
Τετραϋδροφουράνιο	1713	1694	1683	1685	1683	1660
Ακετονιτρίλιο	1707	1689	1676	1680	1674	1644
Διχλωρομεθάνιο	1710	1688	1674	1677	1673	1640
Διμεθυλοσουλφοξείδιο	1700	1679	1671	1676	1667	1638
Μεθανόλη	1698	1676 / 1664	1668 / 1656	1675	1660 / 1637	1631 / 1613
Νερό	1691	1661	1655	1665	1628	1608
Εξαφθοροϊσοπροπανόλη	1687	1657	1654	1658	1623	1605

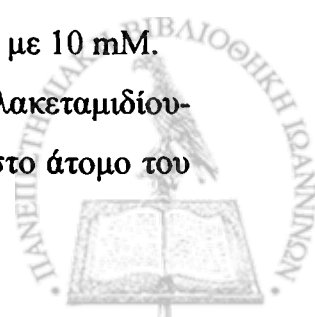
Ένα πολύ σημαντικό στοιχείο του Πίνακα 17 αφορά στα διαλύματα των αμιδίων σε μεθανόλη. Εκτός από το φορμαμίδιο και το ακεταμίδιο, όλα τα άλλα αμίδια εμφανίζουν δύο δονήσεις τάσεως για την καρβονυλομάδα. Η δεύτερη δόνηση σε χαμηλότερες συχνότητες προσεγγίζει τις αντίστοιχες τιμές σε υδατικά διαλύματα. Οι πρώτες τιμές αποδίδονται, εν γένει, στο σχηματισμό ενός μόνο δεσμού υδρογόνου μεταξύ του διαλύτη και του καρβονυλικού οξυγόνου ενώ οι δεύτερες τιμές αποδίδονται στο σχηματισμό δύο δεσμών υδρογόνου μεταξύ του διαλύτη και του καρβονυλικού οξυγόνου. Η συγκεκριμένη υπόθεση οδηγεί εύλογα στο συμπέρασμα, ότι στην περίπτωση του φορμαμιδίου και του ακεταμιδίου σχηματίζονται δύο δεσμοί υδρογόνου μεταξύ του καρβονυλικού οξυγόνου και του διαλύτη. Αντίθετα, στα υπόλοιπα αμίδια

που είναι *N*-υποκατεστημένα, διαφαίνεται να υπάρχει και ένα ποσοστό του οποίου το καρβονυλικό οξύγονο σχηματίζει ένα μόνο δεσμό υδρογόνου με μόρια του διαλύτη. Αυτό οδηγεί στην πιθανή εξήγηση πως ο *N*-υποκαταστάτης του πεπτιδικού δεσμού επηρεάζει τις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις μεταξύ αμιδίου και διαλύτη καθώς ανάλογα με τον όγκο του δύναται να παρεμποδίσει την εύκολη προσέγγιση μορίων του διαλύτη στο οξύγονο του καρβονυλίου (Eaton *et al.*, 1989).

Η παρουσία στο *N*-μεθυλοφορμαμίδιο (NMF), στο *N*-αιθυλοφορμαμίδιο (NEF), όπως και στο *N*-tert-βουτυλοφορμαμίδιο (TBF), δύο λειτουργικών ομάδων (καρβονύλιο και αμινομάδα) παρέχει τη δυνατότητα αλληλεπίδρασης του αμιδίου με το διαλύτη με δύο τρόπους. Στην πρώτη περίπτωση, πρωτικοί διαλύτες, όπως είναι το H_2O και η CH_3OH , δρουν ως δότες πρωτονίου σχηματίζοντας δεσμούς υδρογόνου με το καρβονυλικό οξύγονο. Ανάλογη συμπεριφορά παρουσιάζει και το CHCl_3 , του οποίου το H είναι σχετικά όξινο και αλληλεπιδρά με το καρβονυλικό οξύγονο. Στη δεύτερη περίπτωση, βασικοί ή μη πρωτικοί διαλύτες, όπως το CH_3CN , το διμεθυλοσουλφοξείδιο, η ακετόνη, το διοξάνιο κ.λ.π. δρουν ως δέκτες πρωτονίου σχηματίζοντας δεσμούς υδρογόνου με το πρωτόνιο της ομάδας NH. Σε διαλύματα CD_2Cl_2 και CDCl_3 έχουν αναφερθεί επίσης και «δεσμοί υδρογόνου» του τύπου $\text{CH}\cdots\text{O}$ (Gerothanassis *et al.*, 1995, Gerothanassis *et al.*, 1996).

Οι ενδομοριακές και οι διαμοριακές αλληλεπιδράσεις έχουν μελετηθεί με υπέρυθρη φασματοσκοπία σε γραμμικά πεπτίδια, σε διαλύτη χλωροφόρμιο και σε συγκεντρώσεις 0,26, 15 και 50 mM (Sugawara *et al.*, 1980). Από τα αποτελέσματα προέκυψε πως όταν υπάρχει αλληλεπίδραση των πεπτιδίων, η δεσμευμένη, μέσω δεσμού υδρογόνου, αμιδική ομάδα NH εμφανίζει κορυφή στην περιοχή $3350\text{--}3370\text{ cm}^{-1}$, ενώ η ελεύθερη ομάδα NH εμφανίζει κορυφή στην περιοχή $3430\text{--}3450\text{ cm}^{-1}$. Επίσης, είναι φανερό και η εξάρτηση του τύπου της αλληλεπίδρασης από τη συγκέντρωση του πεπτιδίου. Έτσι, στην περίπτωση της πολύ χαμηλής συγκέντρωσης (0,26 mM), τυχόν ταινία σε χαμηλότερες συχνότητες αποδίδεται στην ύπαρξη ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου, όταν αυτό είναι δυνατόν, ενώ αύξηση της έντασης της ίδιας ταινίας σε υψηλότερες συγκεντρώσεις αποδίδεται, εν μέρει, στο σχηματισμό διμερών (διαμοριακές αλληλεπιδράσεις). Φαίνεται μάλιστα, πως η αλληλεπίδραση μεταξύ των πεπτιδίων σε διάλυμα χλωροφορμίου θεωρείται υπολογίσιμη ήδη από συγκέντρωση ίση με 10 mM.

Μελέτες επιδιαλύτωσης σε συστήματα ακεταμιδίου-νερού, *N*-μεθυλακεταμιδίου-νερού και *N,N*-διμεθυλακεταμιδίου-νερού έδειξαν πως η υποκατάσταση στο άτομο του



αζώτου του αμιδίου ελάχιστα επηρεάζει το φαινόμενο της επιδιαλύτωσης, γεγονός που ενισχύει την άποψη πως τα μόρια του νερού έχουν την τάση να αλληλεπιδρούν κυρίως με το καρβονύλιο του πεπτιδικού δεσμού (Wolfenden *et al.*, 1978, Gerothanassis *et al.*, 1994, Akiyama, 2002).

Μετρήσεις των δονήσεων τάσεως των ομάδων NH και C=O του *N*-μεθυλακεταμιδίου έδειξαν ότι οι διαμοριακοί δεσμοί υδρογόνου μεταξύ αμιδίων είναι μέτριας ισχύος και δεν ευνοούνται σε πολικούς διαλύτες. Συνεπώς, παρουσία σε περίσσεια ανταγωνιστικού παράγοντα ως προς το σχηματισμό δεσμού υδρογόνου, όπως είναι το νερό, η διαμοριακή αλληλεπίδραση μεταξύ αμιδίων δεν ευνοείται. Το φαινόμενο αυτό επίσης εμφανίζεται και στην περίπτωση του πυρηνόφιλου διοξανίου το οποίο αλληλεπιδρά με το αμιδικό πρωτόνιο NH, ενώ εξασθενεί στην περίπτωση που ως διαλύτης χρησιμοποιείται ο τετραχλωράνθρακας (Mizushima *et al.*, 1951, Klotz *et al.*, 1962, Burgar *et al.*, 1981, Gellman *et al.*, 1991, Akiyama *et al.*, 2002). Ο Ludwig και οι συνεργάτες του (Ludwig *et al.*, 1998) επέλεξαν ως διαλύτη τον CCl₄ προκειμένου να μελετήσουν το *N*-μεθυλακεταμίδιο (NMA) με φασματοσκοπία υπερύθρου μεταβλητής θερμοκρασίας. Η επιλογή του συγκεκριμένου διαλύτη αναφέρεται ότι έγινε επειδή ο τετραχλωράνθρακας δεν αλληλεπιδρά με το *N*-μεθυλακεταμίδιο ή με άλλα παρεμφερή αμίδια με αποτέλεσμα να μην παρεμποδίζει το σχηματισμό διαμοριακών δεσμών υδρογόνου. Το ενδιαφέρον εστιάζεται σε τρεις περιοχές του φάσματος υπερύθρου που σχετίζονται με τις δονήσεις του αμιδικού δεσμού. Η πρώτη περιοχή σχετίζεται με τις δονήσεις τάσεως της ομάδας NH, η δεύτερη περιοχή με τις δονήσεις τάσεως της ομάδας C=O και η τρίτη περιοχή αναφέρεται στις δονήσεις τάσεως του δεσμού (O)C-N σε συνδυασμό με τις δονήσεις κάμψεως εντός επιπέδου του δεσμού N-H. Οι τρεις αυτές ομάδες στην περίπτωση του συστήματος NMA-CCl₄ αναμένεται να δώσουν κορυφές στις περιοχές 3250-3300 cm⁻¹, 1630-1700 cm⁻¹ και 1510-1570 cm⁻¹, αντίστοιχα. Με βάση την αποτίμηση των φασμάτων υπερύθρου του NMA σε διάλυμα CCl₄ συγκέντρωσης 1 M, αναφέρεται ότι η ελεύθερη ομάδα NH απορροφά στην περιοχή 3450-3480 cm⁻¹, η δεσμευμένη, μέσω δεσμών υδρογόνου, απορροφά στην περιοχή 3200-3400 cm⁻¹, ενώ οι ευρείες ταινίες στην περιοχή 1665-1675 cm⁻¹ αποδίδονται στις δονήσεις τάσεως του καρβονυλίου που είναι δεσμευμένο μέσω δεσμών υδρογόνου. Ο Ludwig και οι συνεργάτες του διαπίστωσαν ακόμα πως, ενώ οι δονήσεις τάσεως του δεσμευμένου NH μετατοπίζονται με τη μείωση της θερμοκρασίας κατά 30 cm⁻¹ χαμηλότερα, λόγω ισχυροποίησης των δεσμών υδρογόνου, οι δονήσεις τάσεως του

ελεύθερου NH παραμένουν ουσιαστικά αμετάβλητες. Με την αύξηση της θερμοκρασίας παρατηρείται μετατόπιση της δόνησης τάσεως που αποδίδεται στο δεσμευμένο NH προς υψηλότερες συχνότητες κάτι που δικαιολογείται απόλυτα, καθώς η άνοδος της θερμοκρασίας προκαλεί χαλάρωση ή/και διάσπαση των δεσμών υδρογόνου, επιτρέποντας μεγαλύτερη κινητικότητα στο δεσμό N-H.

Η αύξηση της θερμοκρασίας προκαλεί διαφορετική μετατόπιση στις δονήσεις τάσεως των ομάδων C=O και C-N. Έτσι, για αύξηση της θερμοκρασίας κατά 70 βαθμούς, από 283K σε 353K, παρατηρείται μία μετατόπιση της δόνησης τάσεως $\nu\text{C=O}$ κατά 10 cm^{-1} υψηλότερα, ενώ η δόνηση τάσεως $\nu\text{C-N}$ μετατοπίζεται κατά 15 cm^{-1} χαμηλότερα (Kupka *et al.*, 2000, Ludwig *et al.*, 1998).

Μελέτες δομής σε *N*-μεθυλαμίδια αναφέρουν πως στα κυκλικά διμερή η δόνηση τάσεως της ομάδας NH εμφανίζεται στους 3060 cm^{-1} , ενώ στην περίπτωση σχηματισμού γραμμικών πολυμερών αλυσίδων μέσω σχηματισμού δεσμών υδρογόνου, η δόνηση τάσεως της ομάδας NH εμφανίζεται στους 3210 cm^{-1} (Leiserowitz *et al.*, 1978). Αυτό συμβαίνει, προφανώς, λόγω μεγαλύτερης ισχύος των δεσμών υδρογόνου των κυκλικών διμερών. Η μέση απόσταση του δεσμού N-H...O στα δευτεροταγή *trans* αμίδια υπολογίζεται στα $2,85\text{ \AA}$.

Τα *trans* αμίδια συνδέονται διαμοριακά μέσω ενός δεσμού υδρογόνου. Αντίθετα, τα *cis* αμίδια μπορούν να αλληλεπιδρούν διαμοριακά μέσω N-H...O δεσμών με δύο χαρακτηριστικούς τρόπους. Ο ένας αφορά στη δημιουργία κυκλικών διμερών μέσω σχηματισμού δύο N-H...O δεσμών με μέση απόσταση $2,84\text{ \AA}$, ενώ ο άλλος αφορά στο σχηματισμό πολυμερών αλυσίδων μέσω ενός N-H...O δεσμού με μέση απόσταση $2,85\text{ \AA}$. Η δεύτερη περίπτωση, αν και πιο σπάνια, δεν είναι ασυνήθιστη. Τα δεδομένα αυτά αποδεικνύουν πως το μήκος των σχηματιζόμενων δεσμών υδρογόνου στα δευτεροταγή αμίδια δεν φαίνεται να εξαρτάται ούτε από το μηχανισμό σχηματισμού τους (κυκλικά διμερή ή πολυμερή) ούτε από το αν το αμίδιο βρίσκεται στην *trans* ή στη *cis* διαμόρφωση (Leiserowitz *et al.*, 1978).

Έχοντας μία γενικότερη εικόνα περί των φαινομένων που απασχολούν την παρούσα διατριβή, ακολουθεί αναλυτική παράθεση των αποτελεσμάτων όπως αυτά προέκυψαν από τα πειράματα που διεξήχθησαν. Παράλληλα, επιχειρείται η ερμηνεία των πειραματικών αυτών δεδομένων με απώτερο στόχο την αναγωγή των συμπερασμάτων σε βιολογικό επίπεδο.



Ακολούθως, εξετάζονται τα φάσματα υπερύθρου των δύο προτύπων αμιδίων NMF και TBF σε διάλυμα ακετονιτριλίου, διχλωρομεθανίου και χλωροφορμίου αποσκοπώντας στην εξαγωγή συμπληρωματικών πληροφοριών που να διαφωτίζουν ακόμη περισσότερο τις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις των πρότυπων αμιδικών ενώσεων *N*-μεθυλοφορμαμίδιο και *N*-*tert*-βουτυλοφορμαμίδιο σε περιβάλλον μέτρια πολικών διαλυτών.

Στο τέλος παρατίθενται συγκεντρωτικά συμπεράσματα συνδυάζοντας δεδομένα από την φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού, από τη φασματοσκοπία υπερύθρου και από τη θερμοδυναμική ανάλυση των εξεταζόμενων συστημάτων.

Στους Πίνακες που ακολουθούν παρατίθενται οι χαρακτηριστικές ταινίες απορρόφησης των FT-IR φασμάτων των αμιδίων ανά διαλύτη και συγκέντρωση διαλύματος. Οι Πίνακες συνοδεύονται με τα αντίστοιχα φάσματα υπερύθρου. Παράλληλα, γίνεται συζήτηση των πειραματικών δεδομένων και σύγκριση με τα συμπεράσματα που προέκυψαν από τη φασματοσκοπική μελέτη πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού των εξεταζόμενων συστημάτων αμιδίου-διαλύτη.



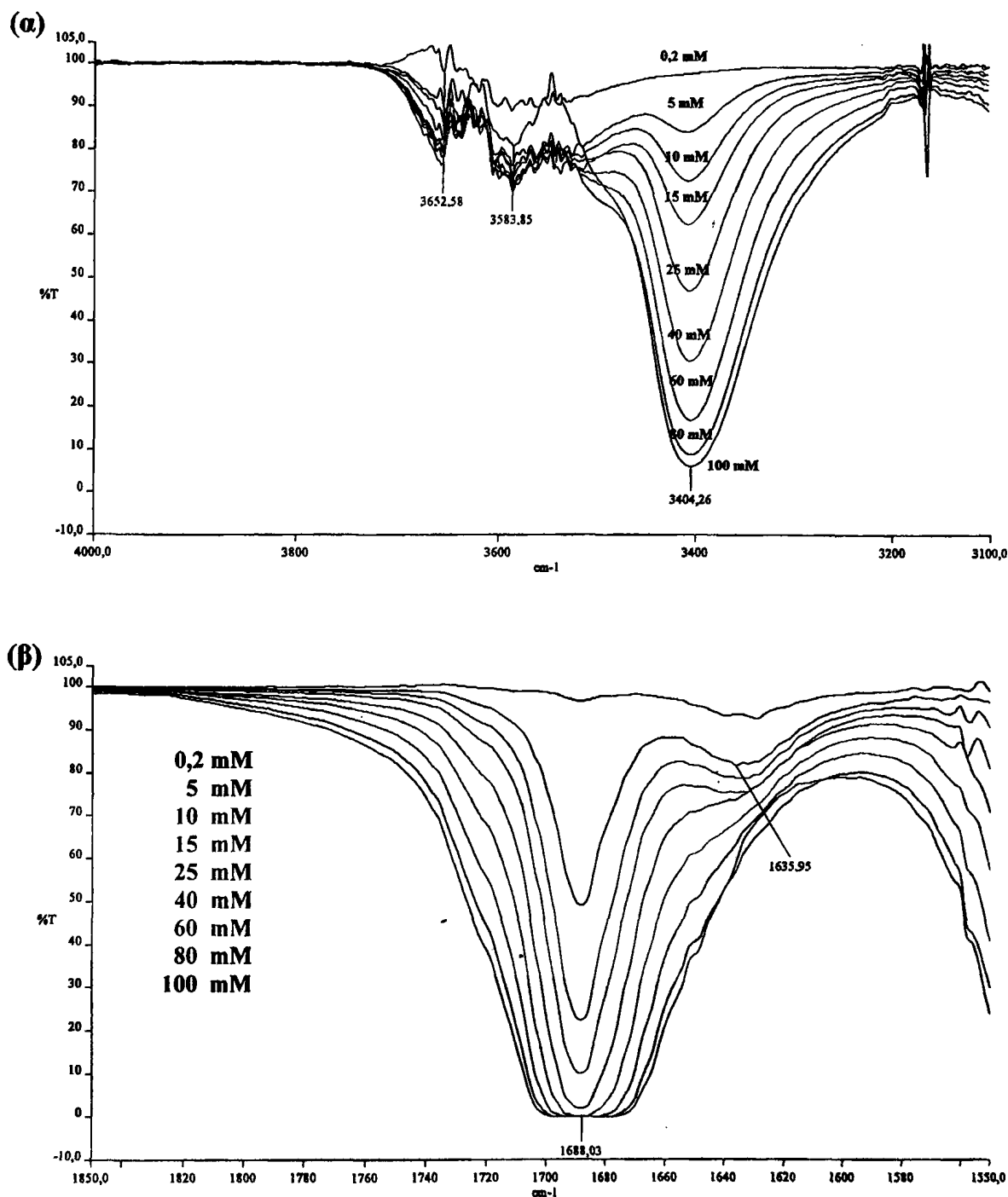
6.2.1. ΜΕΛΕΤΕΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ NMF ΚΑΙ TBF ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΑΚΕΤΟΝΙΤΡΙΛΙΟΥ

Στον Πίνακα 18 και στα Σχήματα 36 (α) και 36 (β) παρατίθενται τα δεδομένα της φασματοσκοπίας υπερύθρου από μία σειρά πειραμάτων του NMF σε διάλυμα ακετονιτρίλιου.

Πίνακας 18. Χαρακτηριστικές δονήσεις τάσεως (cm^{-1}) των FT-IR φασμάτων του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF) στην περιοχή απορρόφησης 4000-1000 cm^{-1} , σε διαλύτη ακετονιτρίλιο και συγκεντρώσεις από 5 έως 100 mM.

Χαρακτηριστικές δονήσεις τάσεως (cm^{-1})	Συγκέντρωση <i>N</i> -μεθυλοφορμαμιδίου (NMF) (mM)							
	(Διαλύτης: Ακετονιτρίλιο)							
	5	10	15	25	40	60	80	100
3653	3653	3653	3653	3653	3653	3653	3653	3653
3584	3584	3584	3584	3584	3584	3584	3584	3584
3404	3404	3404	3404	3404	3404	3404	3404	3404
1688	1688	1688	1688	1688	1688	1688	1688	1688
1636	1636	1636	1636	1636sh*	1636sh	1636sh	1636sh	1636sh

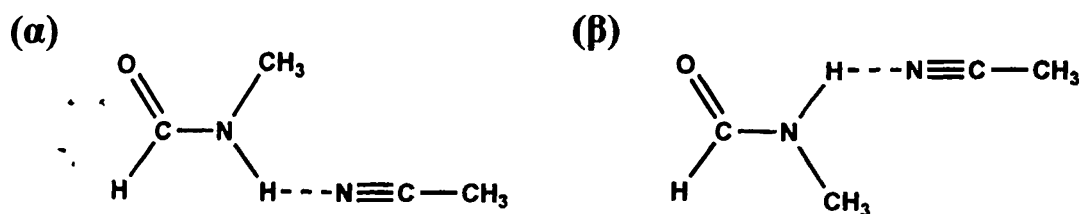
*Η συντομογραφία sh υποδηλώνει την ύπαρξη ώμου (shoulder) στο φάσμα.



Σχ. 36. Φάσματα υπερύθρου του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF) (α) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας NH και (β) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της C=O ομάδας, σε διαλύτη ακετονιτρίλιο και συγκεντρώσεις από 0,2 έως 100 mM.

Σε διάλυμα ακετονιτρίλιου το NMF εμφανίζει μία πολύ έντονη και ευρεία ταινία περίπου στους 3404 cm⁻¹ που αποκλίνει σαφώς από τους 3450 cm⁻¹ με 3460 cm⁻¹, όπου, εν γένει, παρατηρείται η δόνηση τάσεως του ελεύθερου NH [Σχήμα 36 (α)]. Η

απόκλιση αυτή αποδίδεται κατά κύριο λόγο στη δημιουργία δεσμών υδρογόνου μεταξύ του αμιδίου και του διαλύτη και όχι στο σχηματισμό διμερών, όπως παραστατικά φαίνεται στο Σχήμα 37.



Σχ. 37. Διαμοριακή αλληλεπίδραση, μέσω σχηματισμού δεσμού υδρογόνου μεταξύ ενός μορίου διαλύτη και ενός (α) *trans* και (β) *cis* μορίου NMF σε διάλυμα ακετονιτρίλιου.

Το ακετονιτρίλιο αποδεικνύεται πως είναι πολύ ασθενέστερος δέκτης πρωτονίου από το ίδιο το αμίδιο, αφού οι δονήσεις τάσεως νNH που προκύπτουν από το διμερισμό ή/και τον πολυμερισμό των αμιδίων εμφανίζονται γύρω στα 3320 cm^{-1} (Gellman *et al.*, 1991). Από την έλλειψη ταινίας σε αυτήν την περιοχή του φάσματος εξάγεται το συμπέρασμα πως η πιθανότητα διαμοριακών αλληλεπιδράσεων μεταξύ μορίων του NMF, στο συγκεκριμένο διαλύτη ελαχιστοποιείται. Αυτό συμβαίνει τουλάχιστον μέχρι τη συγκέντρωση των 100 mM. Η παρατήρηση αυτή έρχεται σε καλή συμφωνία με τα συμπεράσματα που προέκυψαν από τη μελέτη των χημικών μετατοπίσεων του αμιδικού πρωτονίου NH του NMF σε διάλυμα ακετονιτρίλιου.

Στην περιοχή δόνησης της καρβονυλικής ομάδας του NMF σε ακετονιτρίλιο [Σχ. 36 (β)], η εικόνα είναι ασαφής με αποτέλεσμα τα συμπεράσματα που βγαίνουν να μην είναι ασφαλή. Η πολύ ευρεία ταινία που εμφανίζεται στους 1688 cm^{-1} θα μπορούσε να αποδοθεί στο καρβονύλιο τόσο του *trans* όσο και του *cis* NMF, χωρίς όμως να είναι εφικτός ο διαχωρισμός των δύο ισομερών του αμιδίου. Επίσης, διακρίνεται καθαρά μία επίσης ευρεία ταινία στους 1636 cm^{-1} που θα μπορούσε, ενδεχομένως να αποδοθεί σε δονήσεις κάμψης της αμινομάδας NH, δ_{NH} . Στα πυκνά διαλύματα η κορυφή αυτή γίνεται ευρεία λόγω πολλαπλών αλληλεπιδράσεων.



Ανάλογη εικόνα με το *N*-μεθυλοφορμαμίδιο παρουσιάζουν και τα φάσματα υπερύθρου του TBF σε διάλυμα ακετονιτρίλιου.

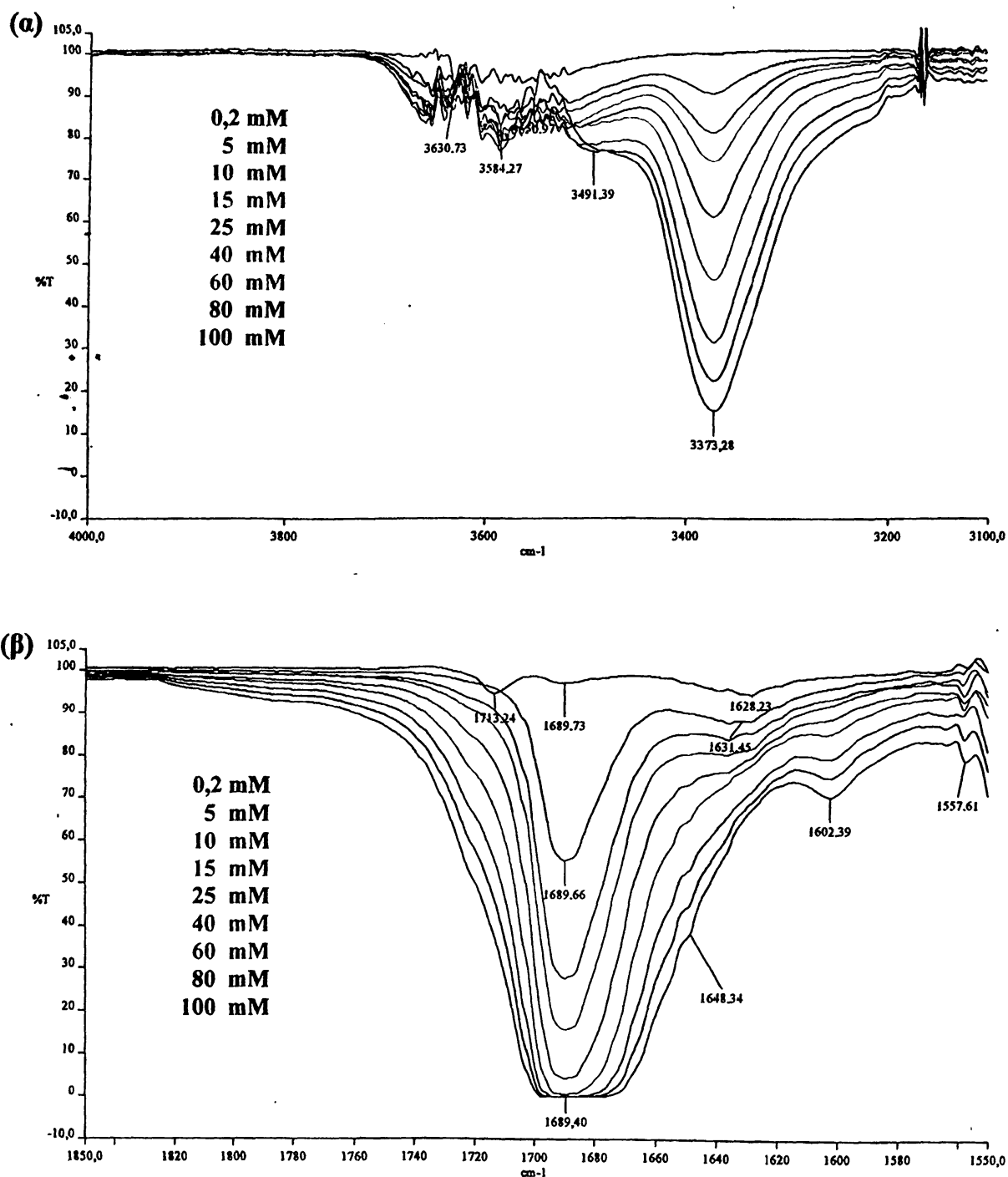
Στον Πίνακα 19 και στα Σχήματα 38 (α) και 38 (β) παρατίθενται τα δεδομένα της φασματοσκοπίας υπερύθρου από μία σειρά πειραμάτων του NMF σε διάλυμα ακετονιτρίλιου.

Πίνακας 19. Χαρακτηριστικές δονήσεις τάσεως (cm^{-1}) των FT-IR φασμάτων του *N*-tert-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF) στην περιοχή απορρόφησης $4000\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$, σε διαλύτη ακετονιτρίλιο και συγκεντρώσεις από 5 έως 100 mM.

	Συγκέντρωση <i>N</i> -tert-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF) (mM)							
	(Διαλύτης: Ακετονιτρίλιο)							
	5	10	15	25	40	60	80	100
Χαρακτηριστικές ταλανίτες απορρόφησης (cm^{-1})	3631	3631	3631	3631	3631	3631	3631	3631
	3584	3584	3584	3584	3584	3584	3584	3584
	3491	3491	3491	3491	3491	3491	3491	3491
	3373	3373	3373	3373	3373	3373	3373	3373
	1690	1690	1690	1690	1690	1690	1690	1690
	-	-	-	-	1648	1648	1648	1648
	1629	1629	1629	1629sh*	1629sh	1629sh	1629sh	1629sh
	-	-	1602	1602	1602	1602	1602	1602

*Η συντομογραφία sh υποδηλώνει την ύπαρξη ώμου (shoulder) στο φάσμα.





Σχ. 38. Φάσματα υπερόθρου του *N-tert*-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF) (α) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας NH και (β) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας C=O, σε διαλύτη ακετονιτρίλιο και συγκεντρώσεις από 0,2 έως 100 mM.

Μία ευρεία ταινία που εντοπίζεται στους 3491 cm^{-1} θα πρέπει να αποδοθεί στο νερό που περιέχει το υγροσκοπικό ακετονιτρίλιο και οφείλεται στις δονήσεις τάσεως νOH μορίων του νερού που αλληλεπιδρούν με το διαλύτη μέσω δεσμών υδρογόνου. Αντίστοιχη ταινία εμφανίζεται και στην περίπτωση του NMF [βλ. Σχήμα 36 (α), σελ.

132]. Η εξήγηση αυτή υποστηρίζεται και από το γεγονός ότι η ταινία αυτή υπάρχει και παραμένει αμετάβλητη σε όλες τις συγκεντρώσεις του αμιδίου.

Η ευρεία ταινία στους 3373 cm^{-1} αποδίδεται στη δόνηση τάσεως νNH του πρωτονίου του αζώτου του αμιδικού δεσμού που είναι δεσμευμένο μέσω δεσμού υδρογόνου με το διαλύτη [Σχήμα 38 (α)].

Στην περιοχή δόνησης της καρβονυλικής ομάδας του TBF η εικόνα είναι και πάλι ασαφής [Σχήμα 38 (β)]. Η ερμηνεία της περιοχής αυτή του φάσματος είναι ανάλογη με την αντίστοιχη περιοχή του φάσματος στην περίπτωση του NMF [βλ. Σχήμα 36 (α), σελ. 132]. Η ταινία στους 1690 cm^{-1} θα μπορούσε να αποδοθεί στην καρβονυλομάδα τόσο του *trans* όσο και του *cis* ισομερούς του αμιδίου χωρίς δυνατότητα περαιτέρω διάκρισης. Η ταινίες στους 1630 cm^{-1} , και στους 1602 cm^{-1} , θα μπορούσαν να αποδοθούν, όπως και στην περίπτωση του NMF που προηγήθηκε σε δονήσεις κάμψεως της αμινομάδας NH και του νερού που φέρει ο διαλύτης.

Γενικά, τόσο στο NMF όσο και στο TBF, στην περιοχή απορρόφησης του καρβονυλίου, εμφανίζεται μία εξαιρετικά ευρεία ταινία που δεν παρέχει τη δυνατότητα ταυτοποίησης, ίσως λόγω αλληλοεπικάλυψης πολλών μορφών καρβονυλικών ομάδων.



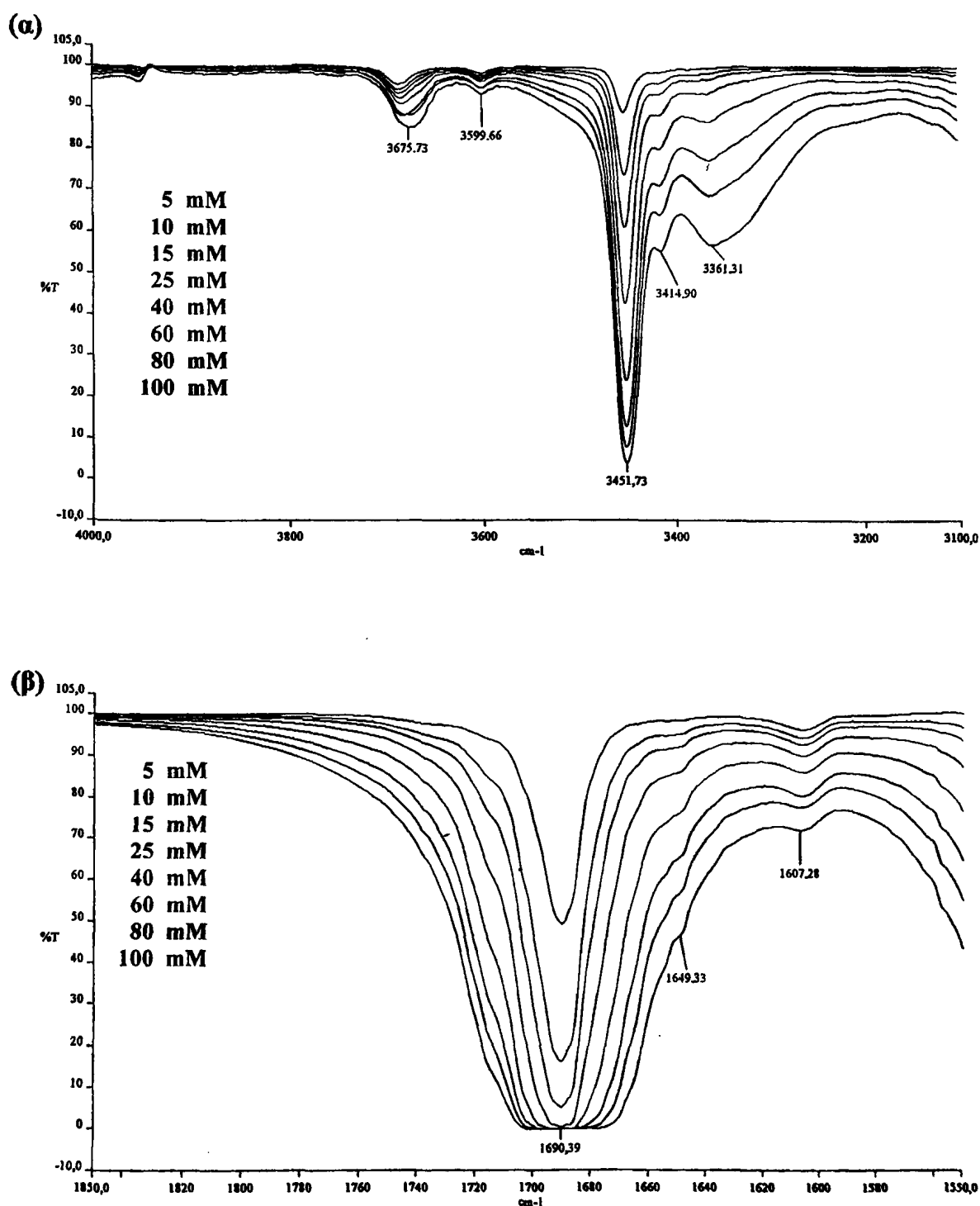
6.2.2. ΜΕΛΕΤΕΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ NMF ΚΑΙ TBF ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΔΙΧΛΩΡΟΜΕΘΑΝΙΟΥ

Στον Πίνακα 20 και στα Σχήματα 39 (α) και 39 (β) παρατίθενται τα δεδομένα της φασματοσκοπίας υπερύθρου από μία σειρά πειραμάτων του NMF σε διάλυμα διχλωρομεθανίου.

Πίνακας 20. Χαρακτηριστικές δονήσεις τάσεως (cm^{-1}) των FT-IR φασμάτων του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF) στην περιοχή απορρόφησης $4000\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$, σε διαλύτη διχλωρομεθάνιο και συγκεντρώσεις από 5 έως 100 mM.

	Συγκέντρωση <i>N</i> -μεθυλοφορμαμιδίου (NMF) (mM)							
	(Διαλύτης: Διχλωρομεθάνιο)							
	5	10	15	25	40	60	80	100
Χαρακτηριστικές ταινίες απορρόφησης (cm^{-1})	3676	3676	3676	3676	3676	3676	3676	3676
	3452	3452	3452	3452	3452	3452	3452	3452
	3415	3415	3415	3415	3415	3415	3415	3415
	-	-	-	3360	3360	3360	3360	3360
	1690	1690	1690	1690	1690	1690	1690	1690
	-	1649	1649	1649	1649	1649	1649	1649
	1607	1607	1607	1607	1607	1607	1607	1607





Σχ. 39. Φάσματα υπέρυθρου του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF) (α) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας NH και (β) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας C=O, σε διαλύτη διχλωρομεθάνιο και συγκεντρώσεις από 5 έως 100 mM.

Σε διαλύτη διχλωρομεθάνιο, δεν υπάρχει δυνατότητα αλληλεπίδρασης, μέσω σχηματισμού δεσμών υδρογόνου, του αμιδίου με το διαλύτη. Αντίθετα, υπάρχει έντονο το φαινόμενο του διμερισμού και του πολυμερισμού μεταξύ μορίων του αμιδίου, το οποίο σχετίζεται και ενισχύεται άμεσα με την αύξηση της συγκέντρωσης του αμιδίου στο διάλυμα.

Έτσι, οι ταινίες στους 3452 cm^{-1} και 3415 cm^{-1} θα μπορούσαν να αποδοθούν στη δόνηση τάσεως του αμιδικού πρωτονίου NH που δε συμμετέχει σε δεσμό υδρογόνου, του *trans* και του *cis* ισομερούς του αμιδίου, αντίστοιχα [Σχήμα 39 (α)]. Οι ταινίες αυτές είναι εμφανείς ακόμα και στη συγκέντρωση των 5 mM και διατηρούνται έως τη συγκέντρωση των 100 mM. Με την αύξηση, όμως, της συγκέντρωσης κάνει την εμφάνισή της μία ευρεία κορυφή γύρω στους 3361 cm^{-1} που οφείλεται σε διαμοριακές *trans-trans*, *cis-cis* και *trans-cis* αλληλεπιδράσεις μεταξύ μορίων του αμιδίου. Στην ποικιλομορφία των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων, άλλωστε, οφείλει η ταινία αυτή το μεγάλο εύρος της.

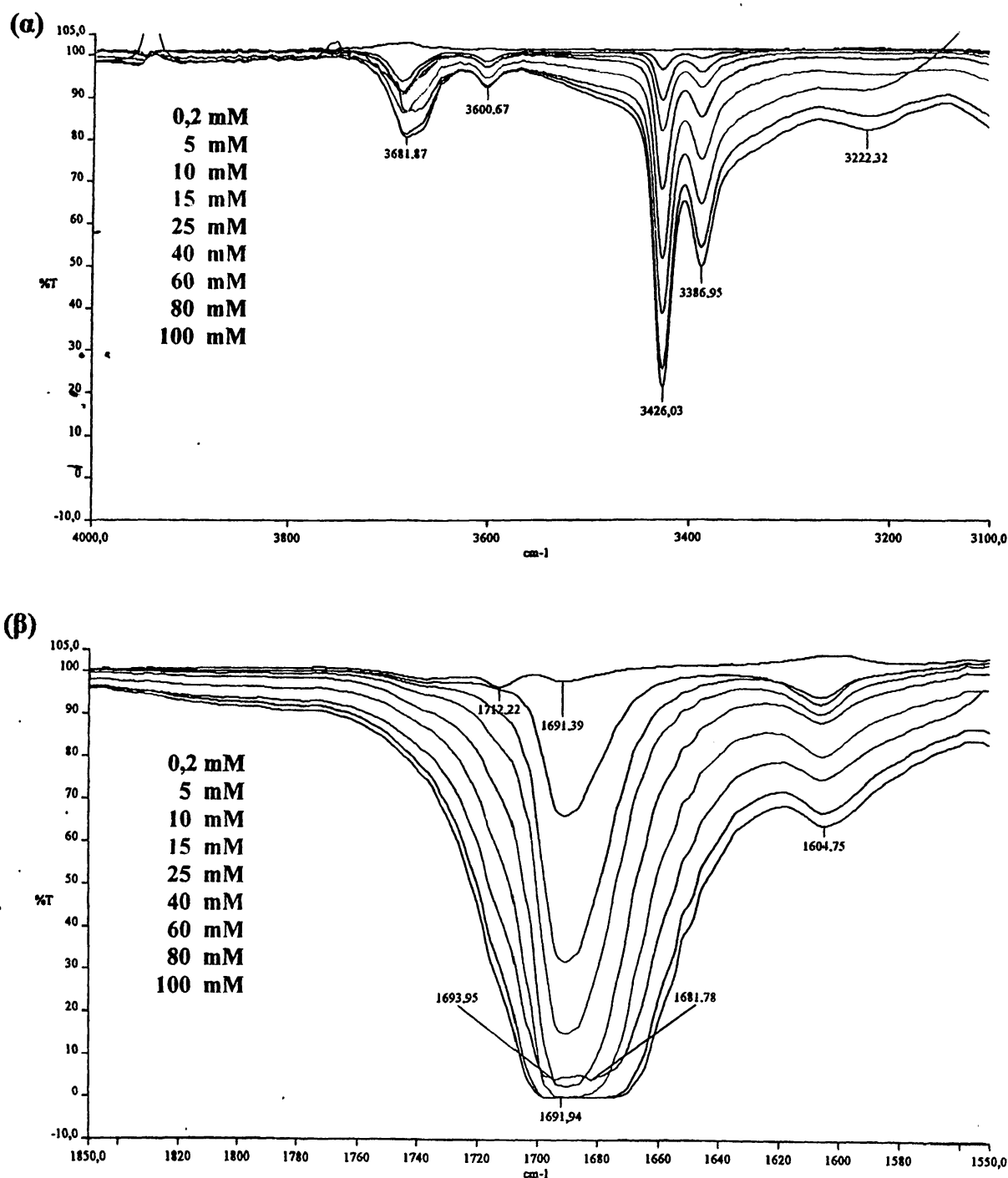
Η περιοχή όπου απορροφά το καρβονύλιο δεν είναι σαφής καθώς δίνει μία εξαιρετικά ευρεία ταινία με κέντρο στους 1690 cm^{-1} , η οποία αντικατοπτρίζει την πολυπλοκότητα του συστήματος [Σχήμα 39 (β)].



Στον Πίνακα 21 και στα Σχήματα 40 (α) και 40 (β) παρατίθενται τα δεδομένα της φασματοσκοπίας υπερύθρου από μία σειρά πειραμάτων του ΤΒΦ σε διάλυμα διχλωρομεθανίου.

Πίνακας 21. Χαρακτηριστικές δονήσεις τάσεως (cm^{-1}) των FT-IR φασμάτων του *N*-tert-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF) στην περιοχή απορρόφησης $4000\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$, σε διαλύτη διχλωρομεθάνιο και συγκεντρώσεις από 5 έως 100 mM.

	Συγκέντρωση <i>N</i> -tert-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF) (mM)							
	(Διαλύτης: Διχλωρομεθάνιο)							
	5	10	15	25	40	60	80	100
Χαρακτηριστικές ταινίες απορρόφησης (cm^{-1})	3682	3682	3682	3682	3682	3682	3682	3682
	3601	3601	3601	3601	3601	3601	3601	3601
	3426	3426	3426	3426	3426	3426	3426	3426
	3387	3387	3387	3387	3387	3387	3387	3387
	1691	1691	1691	1692	1692	1694	1692	1692
	-	-	-	-	1682	1682	1682	1682
	1605	1605	1605	1605	1605	1605	1605	1605



Σχ. 40. Φάσματα υπέρυθρου του *N-tert*-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF) (α) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας NH και (β) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας C=O, σε διαλύτη διχλωρομεθάνιο και συγκεντρώσεις από 0,2 έως 100 mM.

Στα ίδια συμπεράσματα, όπως στην περίπτωση του NMF, οδηγούν και τα φάσματα υπέρυθρου του TBF σε διάλυμα διχλωρομεθανίου. Στην περίπτωση αυτή, όμως, το ποσοστό του *cis* ισομερούς είναι ιδιαίτερα υψηλό (~ 45,5%) (βλ. Πίνακα 11, σελ. 101). Για το λόγο αυτό, λοιπόν, η κορυφή που αποδίδεται στη δόνηση τάσεως νNH του *cis*

μονομερούς στους 3387 cm^{-1} είναι πιο έντονη και ευδιάκριτη από την αντίστοιχη κορυφή απορρόφησης στην περίπτωση του NMF, όπου το ποσοστό του *cis* ισομερούς είναι μόλις 12%. Η ταινία στους 3426 cm^{-1} αποδίδεται στο *trans* ισομερές του TBF [Σχήμα 40 (α)]. Στους 3361 cm^{-1} με την αύξηση της συγκέντρωσης εμφανίζεται μία ευρεία ταινία που αποδίδεται σαφώς στους δεσμούς υδρογόνου που δημιουργούνται μεταξύ μορίων του αμιδίου. Λόγω, όμως, του ογκώδους *N*-αλκυλο-υποκαταστάτη, οι διαμοριακές αλληλεπιδράσεις αναμένεται να λαμβάνουν χώρα σε μικρότερη έκταση σε σχέση με το NMF. Ως εκ τούτου, η ταινία στο φάσμα υπερύθρου, που είναι απόρροια αυτών των αλληλεπιδράσεων, είναι εύλογα μικρότερης έντασης από την αντίστοιχη ταινία στα φάσματα του NMF. Η ευρεία ταινία στους 3222 cm^{-1} που εμφανίζεται και ενισχύεται με την αύξηση της συγκέντρωσης θα πρέπει να αποδοθεί στα κυκλικά διμερή που σχηματίζονται μεταξύ των *cis* ισομερών.

Ομοίως, όπως και στο NMF, η ίδια ασάφεια επικρατεί στην περιοχή απορρόφησης της δόνησης τάσεως της καρβονυλομάδας. Ενδεχομένως, οι ταινίες που παρατηρούνται στους 1712 cm^{-1} και 1691 cm^{-1} σε εξαιρετικά αραιό διάλυμα συγκέντρωσης 0,2 mM θα μπορούσαν να αποδοθούν στο *trans* και στο *cis* μονομερές του αμιδίου αντίστοιχα [Σχήμα 40 (β)].

Πολύ ενδιαφέρον παρουσιάζει η ανάλυση των φασμάτων υπερύθρου των NMF και TBF σε διάλυμα χλωροφορμίου που ακολουθεί.



6.2.3. ΜΕΛΕΤΕΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ NMF ΚΑΙ TBF ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ

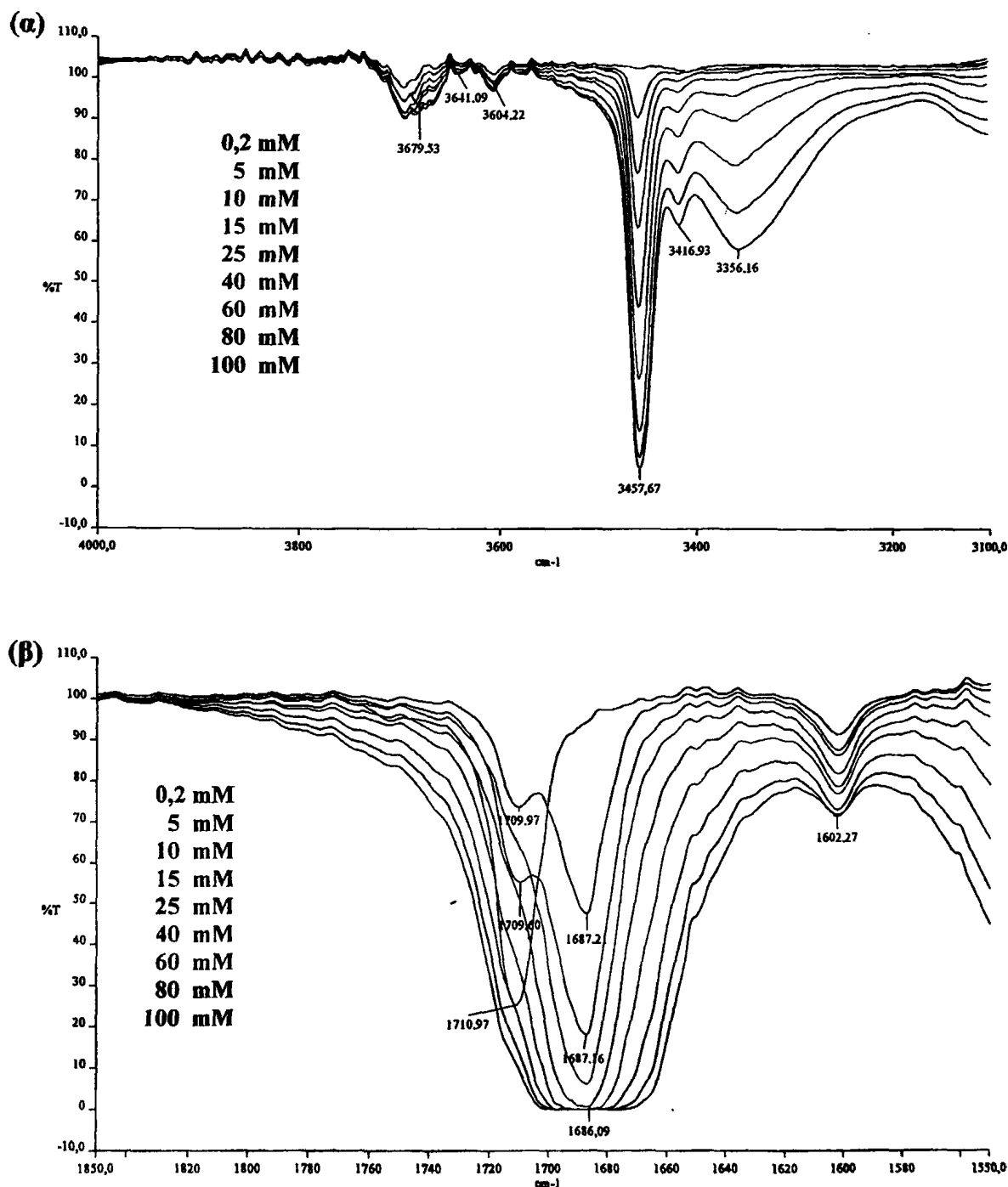
Στον Πίνακα 22 και στα Σχήματα 41 (α) και 41 (β) παρατίθενται τα δεδομένα της φασματοσκοπίας υπερύθρου από μία σειρά πειραμάτων του NMF σε διάλυμα χλωροφορμίου.

Πίνακας 22. Χαρακτηριστικές δονήσεις τάσεως (cm^{-1}) των FT-IR φασμάτων του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF) στην περιοχή απορρόφησης $4000\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$, σε διαλύτη χλωροφόρμιο και συγκεντρώσεις από 5 έως 100 mM.

	Συγκέντρωση <i>N</i> -μεθυλοφορμαμίδιου (NMF) (mM)							
	(Διαλύτης: Χλωροφόρμιο)							
	5	10	15	25	40	60	80	100
Χαρακτηριστικές ταινίες απορρόφησης (cm^{-1})	3458	3458	3458	3458	3458	3458	3458	3458
	3417	3417	3417	3417	3417	3417	3417	3417
	-	-	3356	3356	3356	3356	3356	3356
	1710	1710	-	-	-	-	-	-
	1687	1687	1687	1687	1687	1687	1687	1687
	1602	1602	1602	1602	1602	1602	1602	1602

Στα φάσματα υπερύθρου του NMF σε χλωροφόρμιο, οι ταινίες απορρόφησης στους 3458 cm^{-1} 3417 cm^{-1} θα μπορούσαν να αποδοθούν στη δόνηση τάσεως του πρωτονίου NH που δε συμμετέχει σε δεσμό υδρογόνου, του *trans* και του *cis* ισομερούς του αμιδίου, αντίστοιχα [Σχήμα 41 (α)] (Shin *et al.*, 2006). Αντίθετα, η ευρεία κορυφή στους 3356 cm^{-1} οφείλει την ύπαρξή της στο πλήθος των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων που συμβαίνουν μέσω σχηματισμού δεσμών υδρογόνου στο διάλυμα. Η ταινία αυτή αρχίζει να διακρίνεται, ήδη, από τη συγκέντρωση των 10 mM.





Σχ. 41. Φάσματα υπερύθρου του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF) (α) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας NH και (β) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας C=O, σε διαλύτη χλωροφόρμιο και συγκεντρώσεις από 0,2 έως 100 mM.

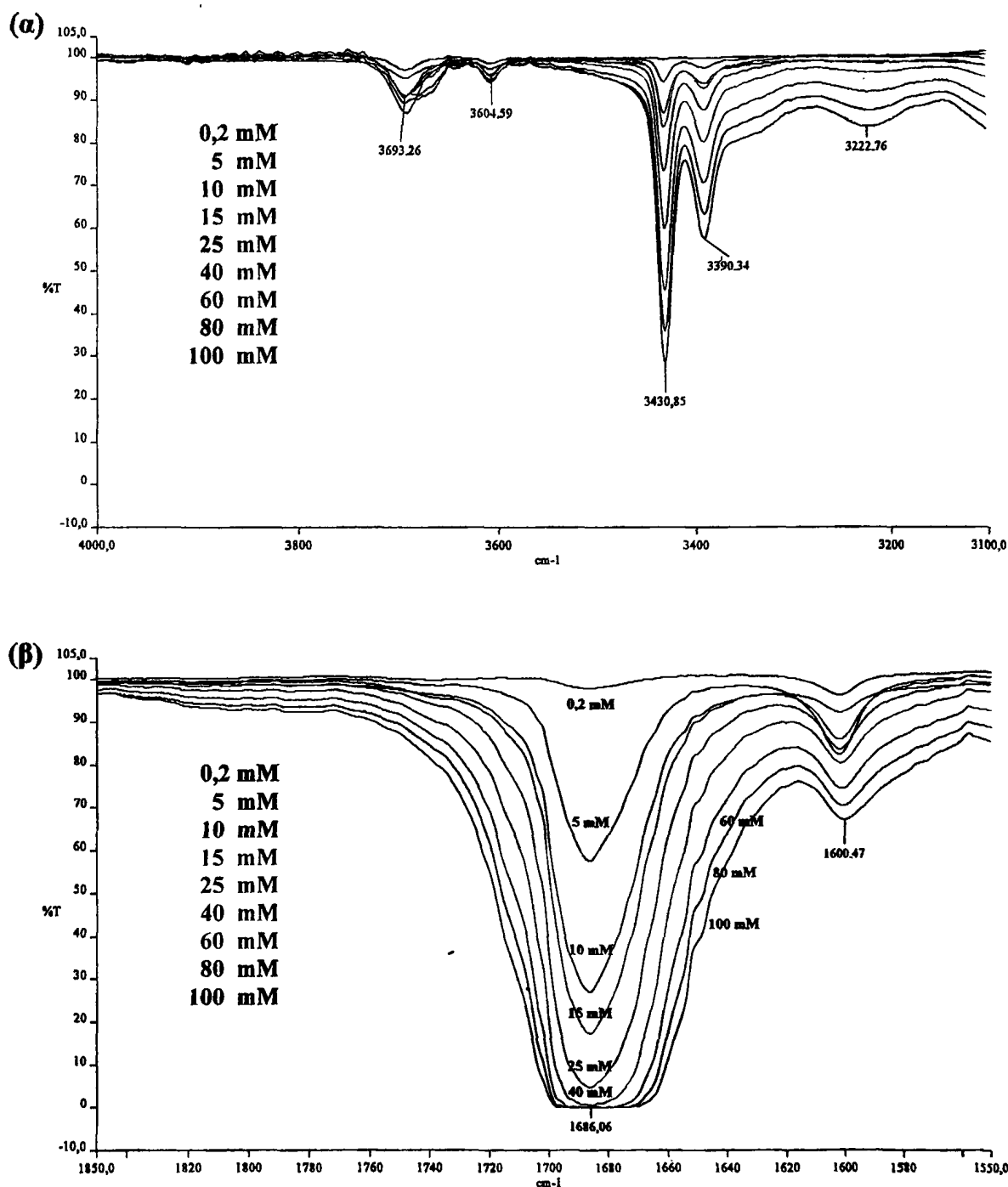
Στην περιοχή απορρόφησης της δόνησης τάσεως του καρβονυλίου, $\nu_{C=O}$ παρατηρείται σε συγκέντρωση 0,2 mM μία πολύ ισχυρή ταινία στους 1711 cm^{-1} που θα μπορούσε να αποδοθεί στη δόνηση τάσεως του *trans* αλλά και του *cis* ισομερούς του

NMF που δεν εμπλέκεται σε διαμοριακές αλληλεπιδράσεις [Σχήμα 41 (β)]. Η ένταση της κορυφής αυτής σταδιακά, με την αύξηση της συγκέντρωσης του αμιδίου σε 5 και 10 mM, μειώνεται μέχρι που από τη συγκέντρωση των 15 mM και πάνω παρατηρείται μία πολύ ευρεία ταινία στην περιοχή $1711-1640\text{ cm}^{-1}$ που αντικατοπτρίζει και σε αυτήν την περίπτωση την πολυπλοκότητα των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων στα διαλύματα χλωροφορμίου του NMF.

Στον Πίνακα 23 και στα Σχήματα 42 (α) και 42 (β) παρατίθενται τα δεδομένα της φασματοσκοπίας υπερύθρου από μία σειρά πειραμάτων του TBF σε διάλυμα χλωροφόρμιο.

Πίνακας 23. Χαρακτηριστικές δονήσεις τάσεως (cm^{-1}) των FT-IR φασμάτων του *N-tert*-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF) στην περιοχή απορρόφησης $4000-1000\text{ cm}^{-1}$, σε διαλύτη χλωροφόρμιο και συγκεντρώσεις από 5 έως 100 mM.

	Συγκέντρωση <i>N-tert</i> -βουτυλοφορμαμιδίου (TBF) (mM)							
	(Διαλύτης: Χλωροφόρμιο)							
	5	10	15	25	40	60	80	100
Χαρακτηριστικές ταινίες απορρόφησης (cm^{-1})	3693	3693	3693	3693	3693	3693	3693	3693
	3605	3605	3605	3605	3605	3605	3605	3605
	3431	3431	3431	3431	3431	3431	3431	3431
	3390	3390	3390	3390	3390	3390	3390	3390
	3223	3223	3223	3223	3223	3223	3223	3223
	1686	1686	1686	1686	1686	1686	1686	1686
	1600	1600	1600	1600	1600	1600	1600	1600



Σχ. 42. Φάσματα υπερύθρου του *N-tert*-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF) (α) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας NH και (β) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας C=O, σε διαλύτη χλωροφόρμιο και συγκεντρώσεις από 0,2 έως 100 mM.

Στα φάσματα υπερύθρου απορρόφησης του TBF σε χλωροφόρμιο, παρατηρούνται όπως ακριβώς και στα φάσματα του NMF τρεις βασικές κορυφές στην περιοχή των νNH δονήσεων.

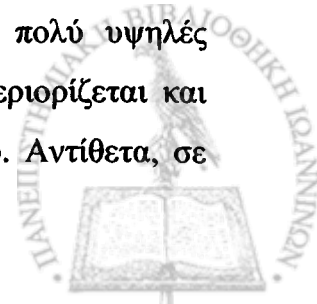
Η κορυφή στους 3431 cm⁻¹ αποδίδεται στο ελεύθερο *trans* ισομερές ενώ η έντονη

κορυφή στους 3390 cm^{-1} αποδίδεται στο ελεύθερο *cis* ισομερές του αμιδίου [Σχήμα 42 (α)]. Η δεύτερη κορυφή είναι πολύ πιο έντονη από την αντίστοιχη που εμφανίζεται στα φάσματα του NMF κάτι που είναι αναμενόμενο αφού εδώ το ποσοστό του *cis* TBF είναι σχεδόν ίσο με αυτό του *trans* (Βλ. Πίνακα 11, σελ. 101). Η ευρεία ταινία στους 3223 cm^{-1} αποδίδεται στη δόνηση τάσεως των δεσμευμένων μέσω δεσμών υδρογόνου NH (σχηματισμός κυκλικών διμερών και πολυμερών αλυσίδων). Η ταινία αυτή είναι μικρότερης έντασης από την αντίστοιχη ταινία στα φάσματα του NMF, γεγονός που υποδηλώνει την συγκριτικά μικρότερη τάση του TBF για διαμοριακές αλληλεπιδράσεις.

Στην περιοχή απορρόφησης της καρβονυλομάδας [Σχήμα 42 (β)], δεν παρατηρείται σε χαμηλή συγκέντρωση καμία ταινία γύρω στους 1710 cm^{-1} , όπως παρατηρήθηκε στην περίπτωση του NMF. Ενδεχομένως, λόγω της εξίσωσης των ποσοστών *cis* και *trans* ισομερών και των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μορίων του αμιδίου και μεταξύ μορίων του αμιδίου και του διαλύτη εμφανίζεται μία πολύ ευρεία ταινία στην περιοχή $1720\text{-}1640\text{ cm}^{-1}$ στην οποία μπορούν να εμπεριέχονται κορυφές από δονήσεις τάσεως $\nu\text{C=O}$ προερχόμενες από ένα πλήθος διαφορετικών περιπτώσεων που είναι πολύ δύσκολο να διακριθούν και να ταυτοποιηθούν.

Από την ανάλυση όλων των πειραματικών δεδομένων που αφορούν στις περιπτώσεις των NMF και TBF σε διαλύτες όχι ιδιαίτερα πολικούς, όπως το ακετονιτρίλιο, το διχλωρομεθάνιο και το χλωροφόρμιο δύνανται να εξαχθούν τα ακόλουθα συμπεράσματα τα οποία συγκλίνουν μεταξύ τους και έχουν ως εξής:

- (α) **Η αύξηση του όγκου του *N*-αλκυλο-υποκαταστάτη** παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην αύξηση του *cis* ισομερούς σε συστήματα απλών μοντέλων πεπτιδίων σε διαλύτες μέτριας πολικότητας όπως συμβαίνει και στις περιπτώσεις του νερού και της μεθανόλης.
- (β) **Η πολικότητα του διαλύτη** φαίνεται πως μπορεί να παίζει σημαντικό ρόλο στον τύπο των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων στο εκάστοτε σύστημα αμιδίου-διαλύτη. Διαλύτες υψηλότερης σχετικά διηλεκτρικής σταθεράς, όπως για παράδειγμα το ακετονιτρίλιο, δρουν ανταγωνιστικά ως προς το αμίδιο εμποδίζοντας, εν γένει, τη δημιουργία διμερών ή/και πολυμερών αλυσίδων. Όπως φάνηκε και από τη μελέτη των χημικών μετατοπίσεων του αμιδικού πρωτονίου, μόνο σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις του αμιδίου η επίδραση του διαλύτη αρχίζει να περιορίζεται και υπερτερούν πλέον οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ μορίων του αμιδίου. Αντίθετα, σε



λιγότερο πολικούς διαλύτες ευνοούνται οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ μορίων του αμιδίου σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις. Στο σημείο αυτό συγκλίνουν απόλυτα και τα δεδομένα της δονητικής φασματοσκοπίας. Στην περίπτωση του ακετονιτριλίου είναι εμφανής η κυριαρχία της αλληλεπίδρασης του διαλύτη με το πρωτόνιο -NH τόσο του NMF όσο και του TBF, ενώ σε διχλωρομεθάνιο και σε χλωροφόρμιο φαίνεται καθαρά η δημιουργία διμερών και πολυμερών αλυσίδων μεταξύ μορίων του αμιδίου.

- (γ) Η αύξηση της θερμοκρασίας προκαλεί, εν γένει, αύξηση του ποσοστού του *cis* ισομερούς. Εξαιρέση φαίνεται να αποτελεί το TBF σε μη πολικούς διαλύτες. Στην περίπτωση αυτή η ύπαρξη ογκώδους *N*-αλκυλοϋποκαταστάτη ενισχύει την τάση δημιουργίας κυκλικών διμερών μεταξύ *cis* ισομερών ακόμη και σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις. Οπότε αύξηση της θερμοκρασίας προκαλεί εξασθένιση και σχάση των δεσμών υδρογόνου με αποτέλεσμα τη μετατόπιση της *cis-trans* ισορροπίας προς το *trans* ισομερές που είναι θερμοδυναμικά σταθερότερο.
- (δ) Η θερμοδυναμική ανάλυση επιβεβαιώνει πως στην περίπτωση του NMF το *trans* ισομερές του αμιδίου είναι σταθερότερο και στους τρεις διαλύτες, αφού ευνοείται ενθαλπικά σε σημαντικό βαθμό σε σχέση με τη *cis* μορφή. Στην περίπτωση του ακετονιτριλίου η μεταβολή στην ελεύθερη ενέργεια, θα πρέπει να οφείλεται σε ύπαρξη σταθεροποιητικών παραγόντων, όπως είναι οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ αμιδίου και διαλύτη. Στο διχλωρομεθάνιο και στο χλωροφόρμιο η μείωση του παράγοντα της εντροπίας αποδίδεται σε σταθεροποίηση του αμιδίου μέσω δημιουργίας ισχυρών δεσμών υδρογόνου, οι οποίοι θα πρέπει να προέρχονται από τη δημιουργία κυκλικών διμερών ή/και πολυμερών αλυσίδων.

Στην περίπτωση του ακετονιτριλίου το *trans* ισομερές του TBF αποδεικνύεται σταθερότερο αφού όπως φαίνεται ευνοείται ενθαλπικά. Μικρή αύξηση στην εντροπία πρέπει πιθανόν να οφείλεται στη σχετική δυσχέρεια επιδιαλύτωσης του *trans* ισομερούς του αμιδίου λόγω στερεοχημικής παρεμπόδισης από τον ογκώδη *N*-αλκυλοϋποκαταστάτη. Σε διάλυμα, όμως, διχλωρομεθανίου και χλωροφορμίου, η *trans* μορφή του TBF, σε αντίθεση με το NMF, δεν ευνοείται ενθαλπικά κάτι που πιθανώς οφείλεται τόσο στην ύπαρξη της *tert*-βουτυλομάδας όσο και στη μειωμένη τάση αλληλεπίδρασης του αμιδίου με μόρια των συγκεκριμένων διαλυτών. Η αύξηση στην τιμή της εντροπίας υποδηλώνει, πιθανόν, μείωση των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων σε σχέση με την περίπτωση του NMF, όπως είναι για

παράδειγμα η δημιουργία διμερών ή πολυμερών αλυσίδων με αποτέλεσμα να επηρεάζεται σε μικρότερο βαθμό η ευκινησία του αμιδίου.



6.3. ΜΕΛΕΤΕΣ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ ΣΕ ΜΗ ΠΟΛΙΚΟΥΣ ΔΙΑΛΥΤΕΣ - ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΔΙΑΜΟΡΙΑΚΩΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ

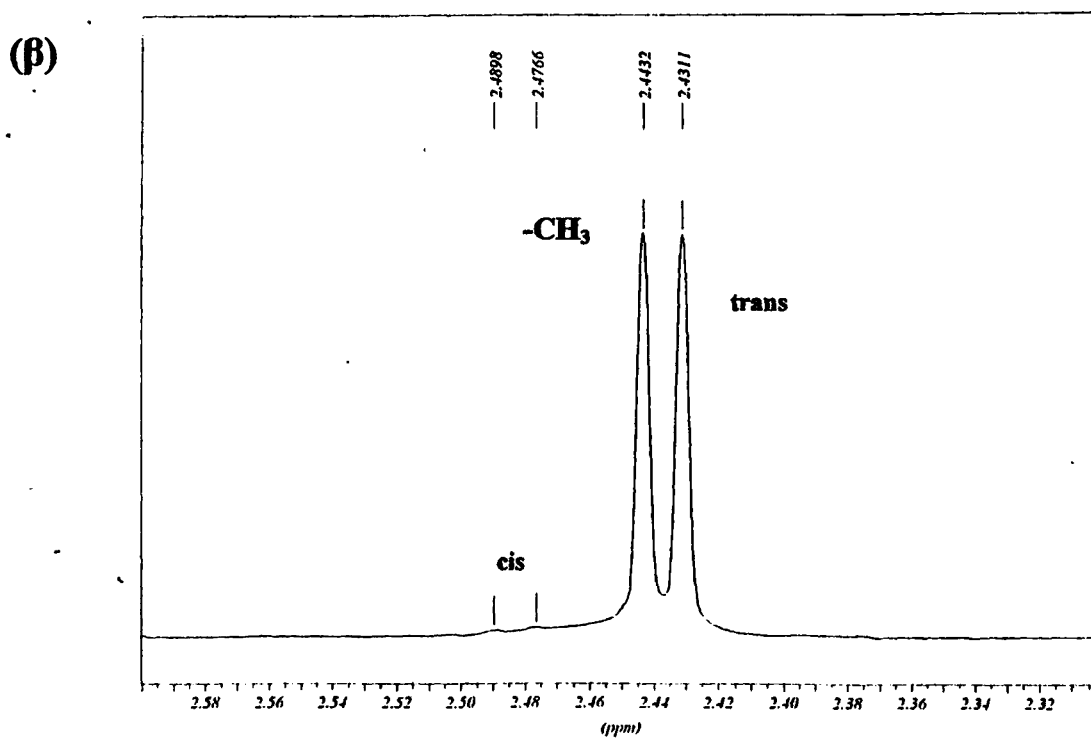
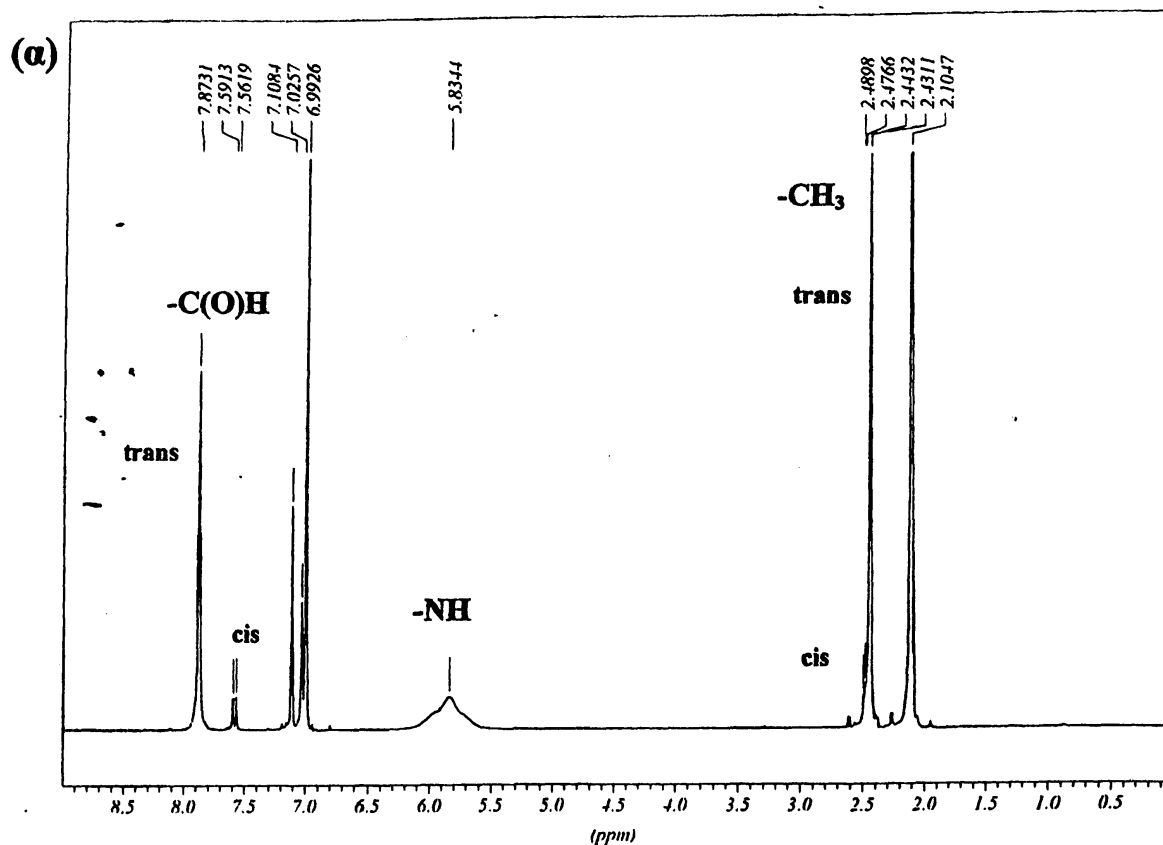
Στους Πίνακες που ακολουθούν και στα Διαγράμματα που τους συνοδεύουν παρατίθενται τα δεδομένα ολοκλήρωσης, όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, μεταβλητής θερμοκρασίας, κατά τη μελέτη της *cis-trans* ισορροπίας του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF) και του *N-tert*-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF) σε μη πολικούς διαλύτες όπως είναι το τολουόλιο, το βενζόλιο, το *n*-εξάνιο και το κυκλοεξάνιο. Το τμήμα αυτό της παρούσας διατριβής επικεντρώνεται στην προσπάθεια προσομοίωσης ενός περιβάλλοντος υδρόφοβων ιδιοτήτων, όπως είναι το εσωτερικό σφαιρικών πρωτεϊνών. Αν και η συγκέντρωση των διαλυμάτων ήταν αρκετά μικρή (έως 2 mM), ώστε να ελαχιστοποιούνται κατά το δυνατόν οι διαμοριακές αλληλεπιδράσεις αμιδίου-αμιδίου, στην περίπτωση αυτή παρατηρήθηκαν κυρίως φαινόμενα διμερισμού και πολυμερισμού.

Μετά την παράθεση των πειραματικών δεδομένων ακολουθεί συζήτηση και θερμοδυναμική ανάλυση του *cis-trans* ισομερισμού των εξεταζόμενων συστημάτων αμιδίου-διαλύτη.

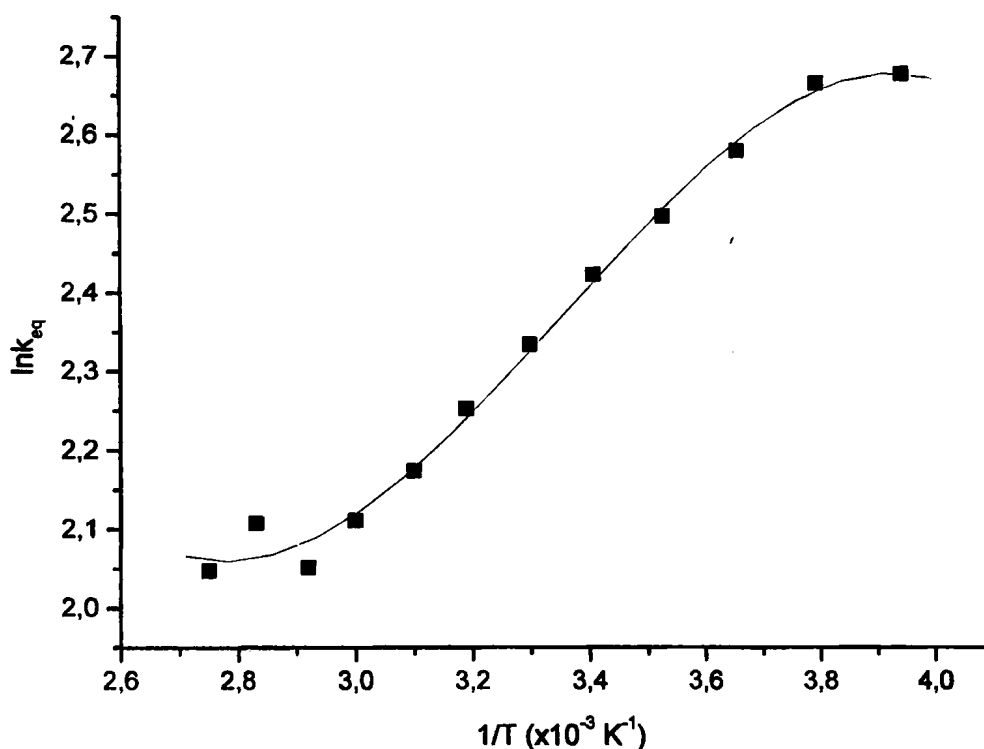
6.3.1. Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΩΝ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΤΟΛΟΥΟΛΙΟΥ ΚΑΙ BENZOLΙΟΥ

Στο Σχήμα 43, στο Διάγραμμα 16 και στους Πίνακες Π-31 και Π-32 του Παραρτήματος, παρατίθενται τα δεδομένα ολοκλήρωσης όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, μεταβλητής θερμοκρασίας, κατά τη μελέτη της *cis-trans* ισορροπίας του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF) σε τολουόλιο. Επίσης, στο Σχήμα 44, στο Διάγραμμα 17 και στους Πίνακες Π-33 και Π-34 του Παραρτήματος, παρατίθενται τα αντίστοιχα δεδομένα για το *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιο (TBF) σε διάλυμα τολουολίου.

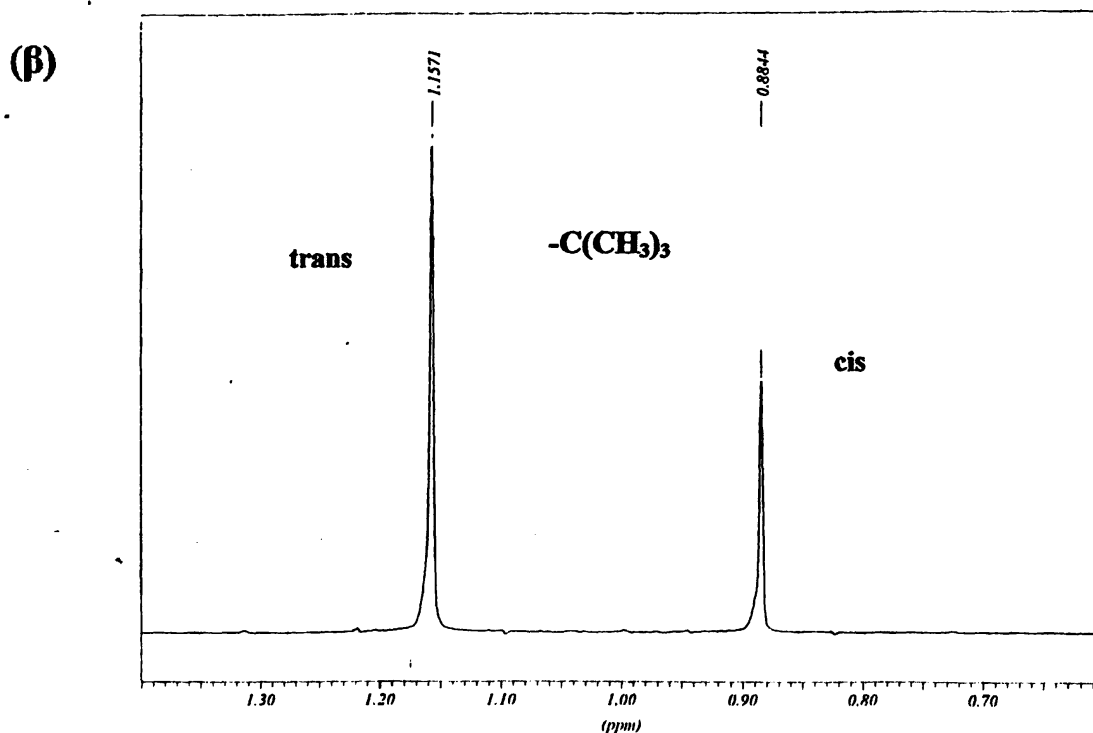
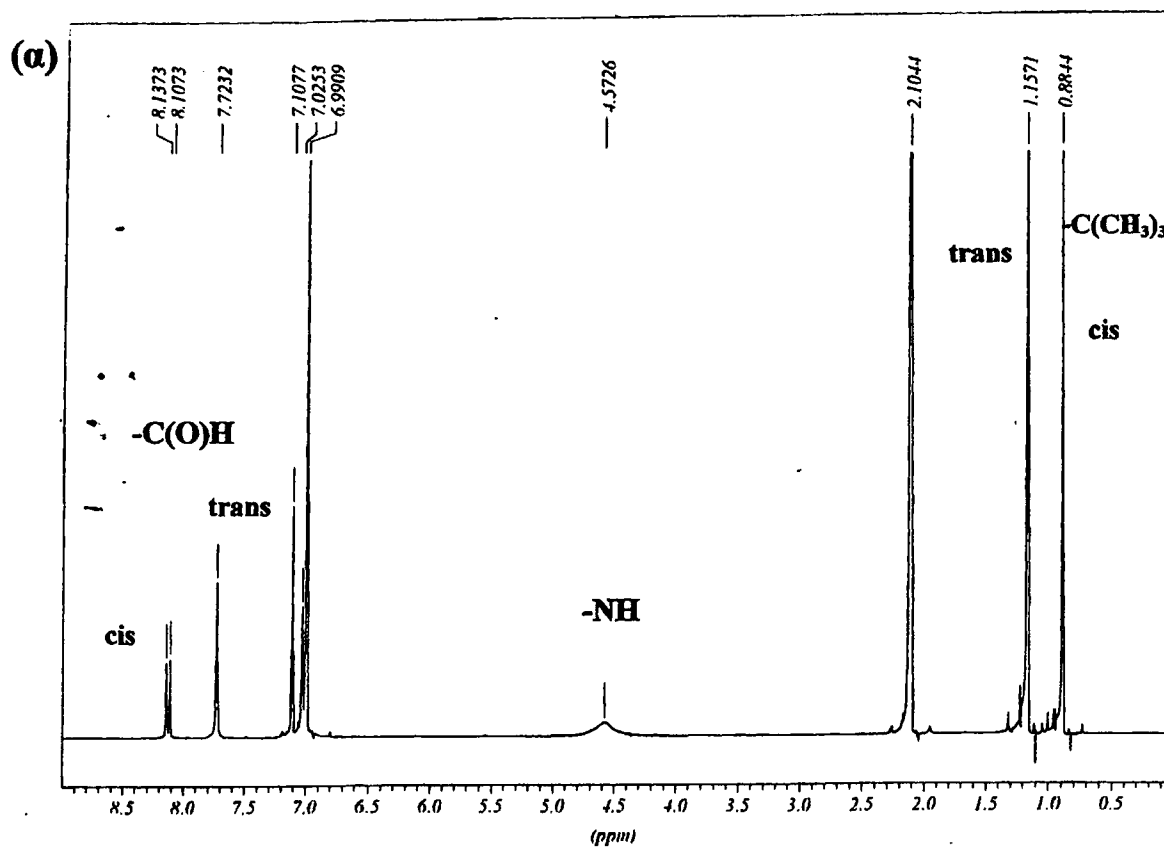




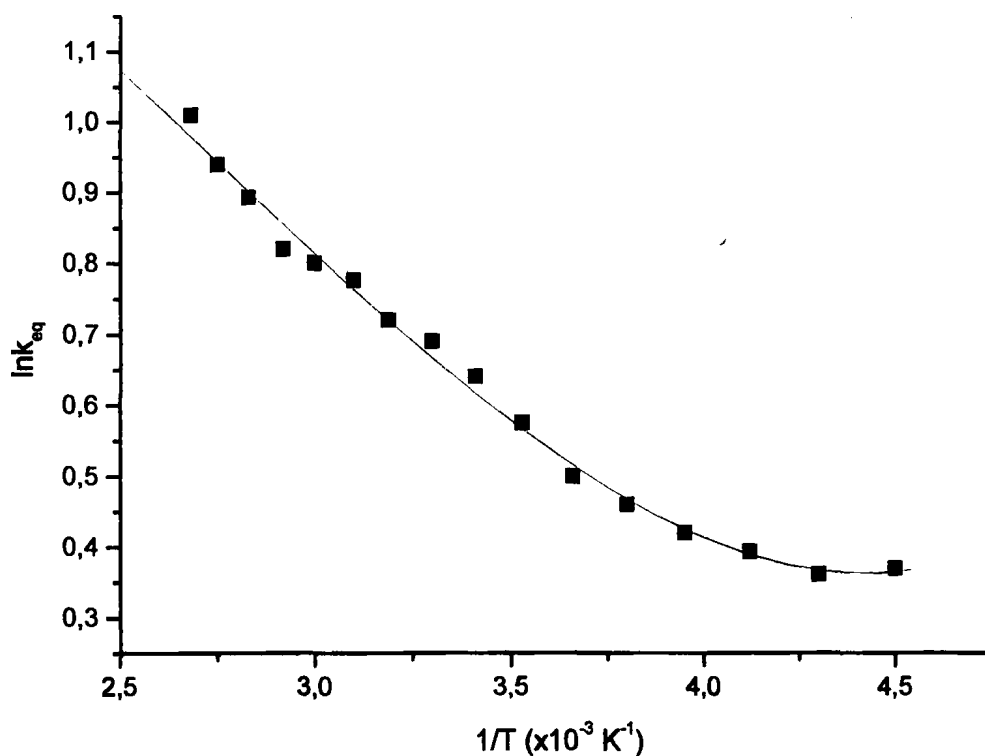
Σχ. 43. (α) Ενδεικτικό πρωτονιακό φάσμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF), σε διαλύτη δευτεριωμένο τολουόλιο, Toluene-*d*₈ και συγκέντρωση 2 mM, στους 303K. Επισημαίνονται οι κορυφές συντονισμού των πρωτονίων -CH₃, NH και C(O)H του *trans* και του *cis* ισομερούς του αμίδιου. (β) Ανηγγμένη η περιοχή του φάσματος όπου εμφανίζονται τα σήματα συντονισμού των πρωτονίων -CH₃ τόσο του *trans* όσο και του *cis* ισομερούς του αμίδιου.



Διάγραμμα 16. Δεδομένα ολοκλήρωσης των πρωτονίων $-\text{CH}_3$ του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF), όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, κατά τη μελέτη της *trans-cis* ισορροπίας σε διαλύτη δευτεριωμένο τολουόλιο, Toluene- d_8 , συγκέντρωση 2 mM και θερμοκρασίες από 363K έως 253K. Το κάθε σημείο του Διαγράμματος προέκυψε έπειτα από τέσσερις επαναλήψεις του ίδιου πειράματος. Τα σημεία του Διαγράμματος προσεγγίζονται από πολυώνυμο τρίτου βαθμού, το οποίο έχει εξίσωση $Y=A+B_1X+B_2X^2+B_3X^3$, συντελεστή παλινδρόμησης R^2 (COD) = 0,99348 και αντίστοιχη τυπική απόκλιση (SD) = 0,02244. Οι τιμές των συντελεστών για το συγκεκριμένο πολυώνυμο είναι οι εξής: $A = 29,95961 (\pm 5,89769)$, $B_1 = -26,27167 (\pm 5,35811)$, $B_2 = 8,06809 (\pm 1,61191)$ και $B_3 = -0,80138 (\pm 0,16058)$.



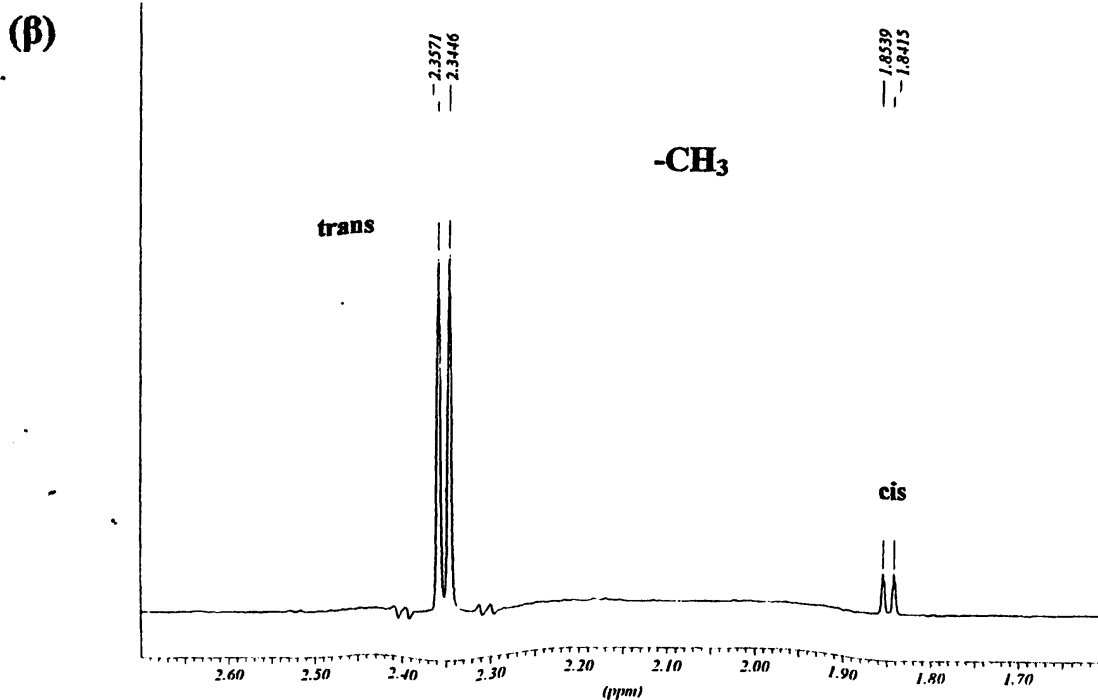
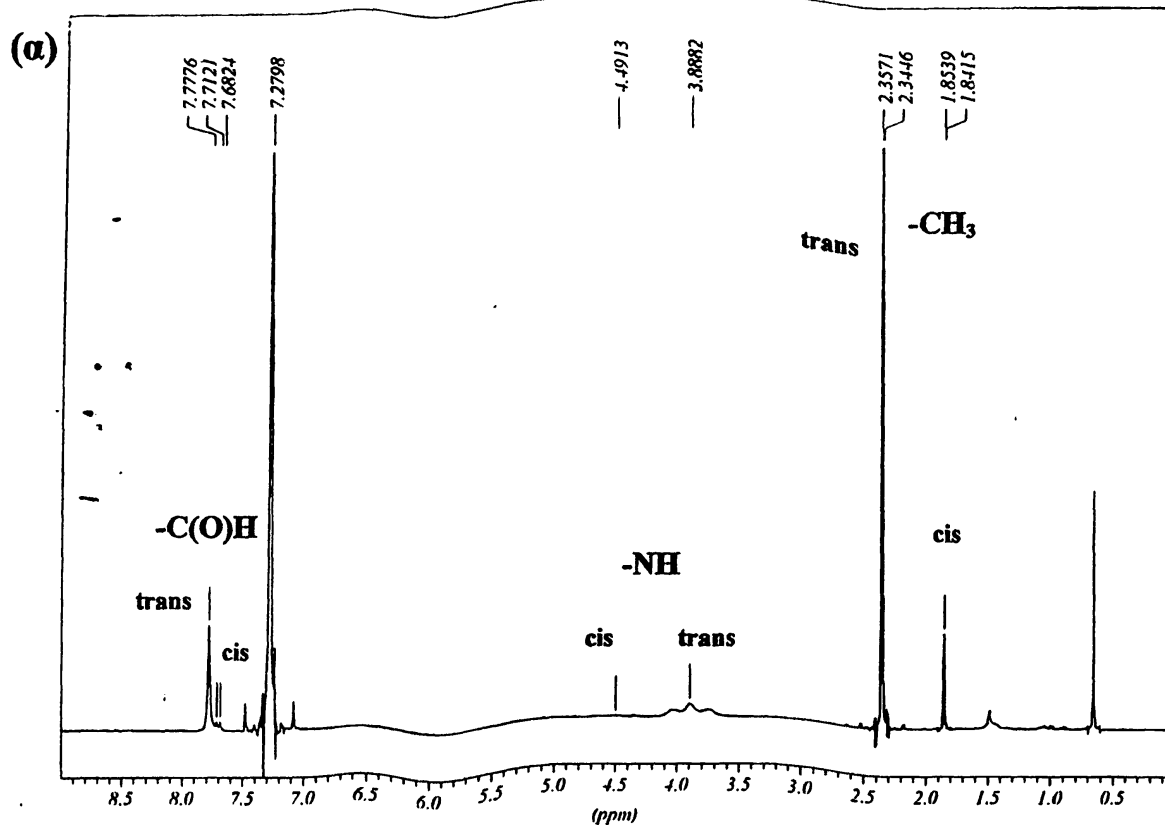
Σχ. 44. (α) Ενδεικτικό πρωτονιακό φάσμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), σε διαλύτη δευτεριωμένο τολουόλιο, Toluene- d_8 και συγκέντρωση 2 mM, στους 303K. Επισημαίνονται οι κορυφές συντονισμού των πρωτονίων $-C(CH_3)_3$, $-NH$ και $-C(O)H$ του *trans* και *cis* ισομερούς του αμίδιου. (β) Ανηγγμένη η περιοχή του φάσματος όπου εμφανίζονται τα σήματα συντονισμού των πρωτονίων $-C(CH_3)_3$ τόσο του *trans* όσο και του *cis* ισομερούς του αμίδιου.



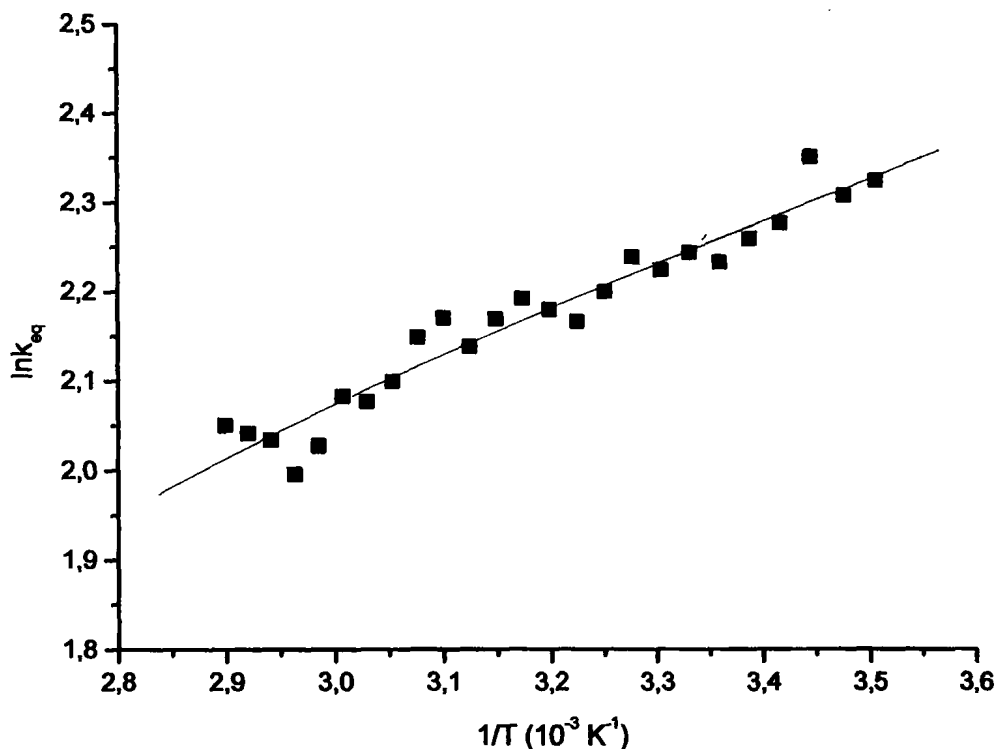
Διάγραμμα 17. Δεδομένα ολοκλήρωσης των πρωτονίων $-C(CH_3)_3$ του *N-tert*-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF), όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, κατά τη μελέτη της *trans-cis* ισορροπίας του αμιδίου σε διαλύτη δευτεριωμένο τολουόλιο, Toluene- d_8 , συγκέντρωση 2 mM και θερμοκρασίες από 373K έως 223K. Το κάθε σημείο του Διαγράμματος προέκυψε έπειτα από οκτώ επαναλήψεις του ίδιου πειράματος. Τα σημεία του Διαγράμματος προσεγγίζονται ικανοποιητικά από πολυώνυμο τρίτου βαθμού, με τύπο $Y=A+B_1X+B_2X^2+B_3X^3$, συντελεστή πάλινδρόμησης R^2 (COD) = 0,99405 και αντίστοιχη τυπική απόκλιση (SD) = 0,01851. Οι τιμές των συντελεστών για το συγκεκριμένο πολυώνυμο είναι οι εξής: $A = 1,14548 (\pm 1,51291)$, $B_1 = 0,84009 (\pm 1,30332)$, $B_2 = -0,49977 (\pm 0,36937)$ και $B_3 = 0,061 (\pm 0,03445)$.

Στο Σχήμα 45, στο Διάγραμμα 18 και στους Πίνακες Π-35 και Π-36 του Παραρτήματος, παρατίθενται τα δεδομένα ολοκλήρωσης, όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, μεταβλητής θερμοκρασίας, κατά τη μελέτη της *cis-trans* ισορροπίας του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF) σε βενζόλιο. Επίσης, στο Σχήμα 46, στο Διάγραμμα 19 και στους Πίνακες Π-37 και Π-38 του Παραρτήματος, παρατίθενται τα αντίστοιχα δεδομένα για το *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιο (TBF) σε διάλυμα βενζολίου.

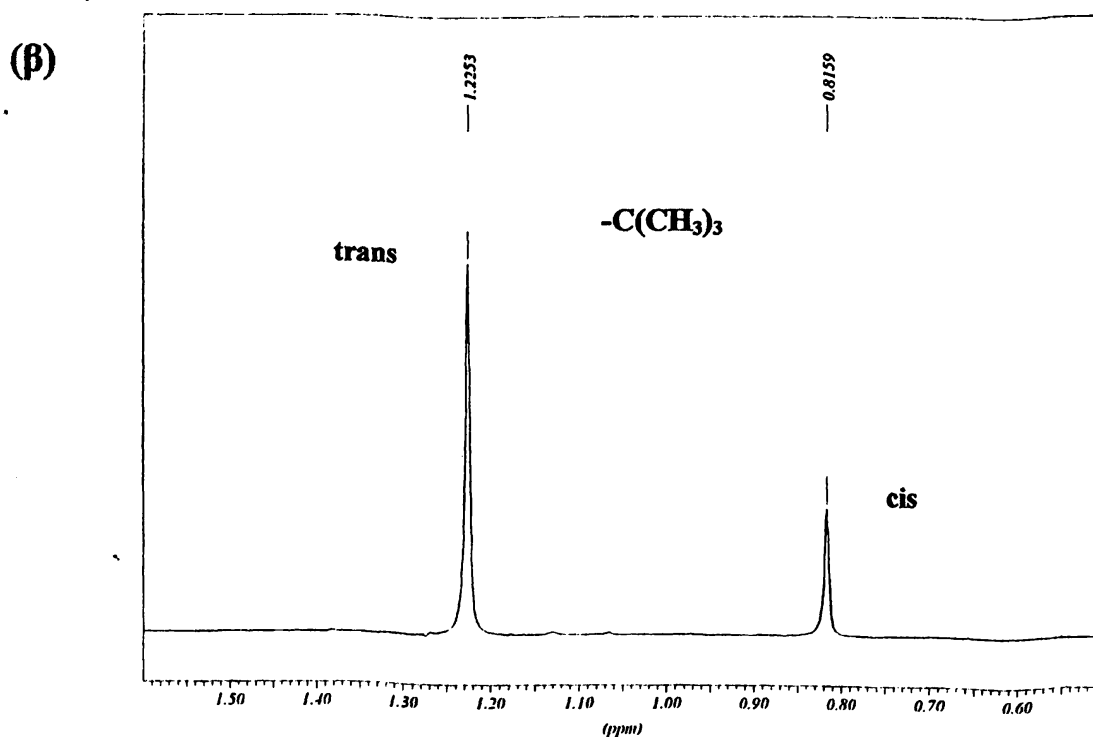
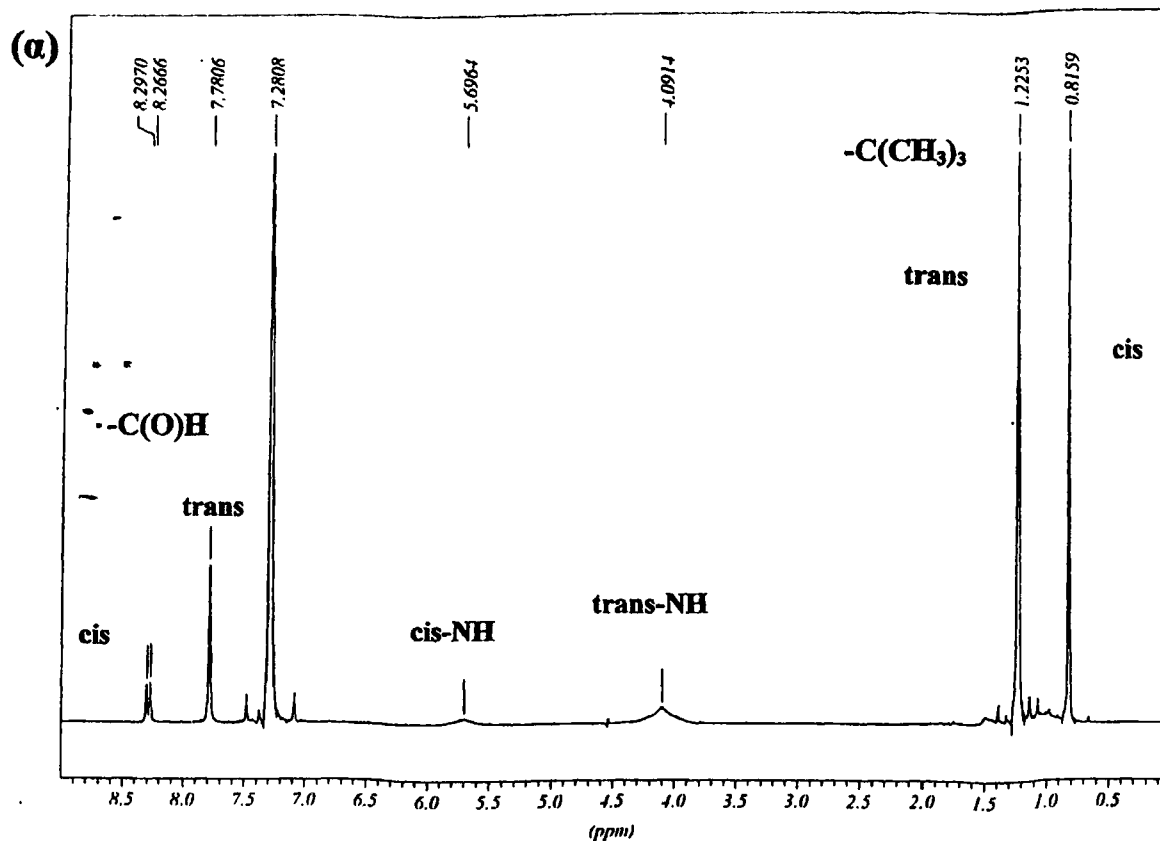




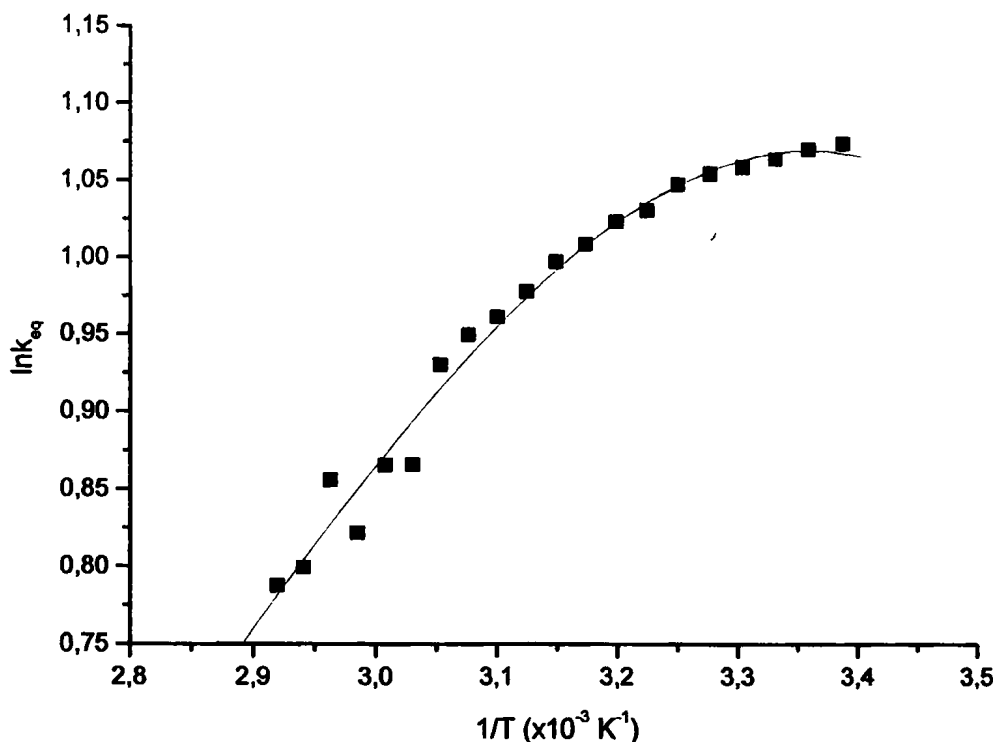
Σχ. 45. (α) Ενδεικτικό πρωτονιακό φάσμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF), σε διαλύτη δευτεριωμένο βενζόλιο, C_6D_6 και συγκέντρωση 1 mM, στους 300K. Επισημαίνονται οι κορυφές συντονισμού των πρωτονίων $-CH_3$, NH και C(O)H του *trans* και του *cis* ισομερούς του αμιδίου. (β) Ανηγγμένη η περιοχή του φάσματος όπου εμφανίζονται τα σήματα συντονισμού των πρωτονίων $-CH_3$ τόσο του *trans* όσο και του *cis* ισομερούς του αμιδίου.



Διάγραμμα 18. Δεδομένα ολοκλήρωσης των πρωτονίων $-\text{CH}_3$ του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF), όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, κατά τη μελέτη της *trans-cis* ισορροπίας του αμιδίου σε διαλύτη δευτεριωμένο βενζόλιο, C_6D_6 , συγκέντρωση 1 mM και θερμοκρασίες από 345K έως 285K. Το κάθε σημείο του Διαγράμματος προέκυψε έπειτα από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος. Εφαρμογή πολωνύμου τρίτου βαθμού επί των σημείων του Διαγράμματος δίνει τα ακόλουθα αποτελέσματα: Ο τύπος του πολωνύμου είναι: $Y=A+B_1X+B_2X^2+B_3X^3$ με συντελεστή παλινδρόμησης R^2 (COD) = 0,93738 και αντίστοιχη τυπική απόκλιση (SD) = 0,02646. Οι τιμές των συντελεστών για το συγκεκριμένο πολυώνυμο είναι οι εξής: $A = -6,24345 (\pm 36,00473)$, $B_1 = 6,50116 (\pm 33,85908)$, $B_2 = -1,75191 (\pm 10,59578)$ και $B_3 = 0,16968 (\pm 1,10341)$.



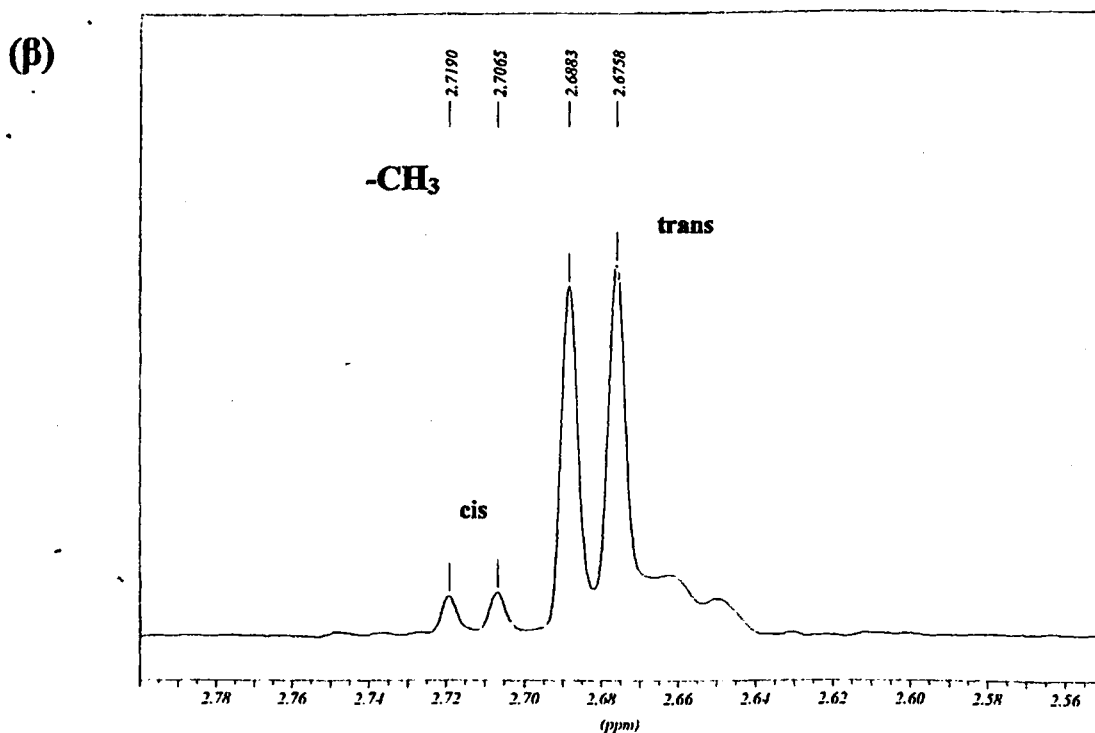
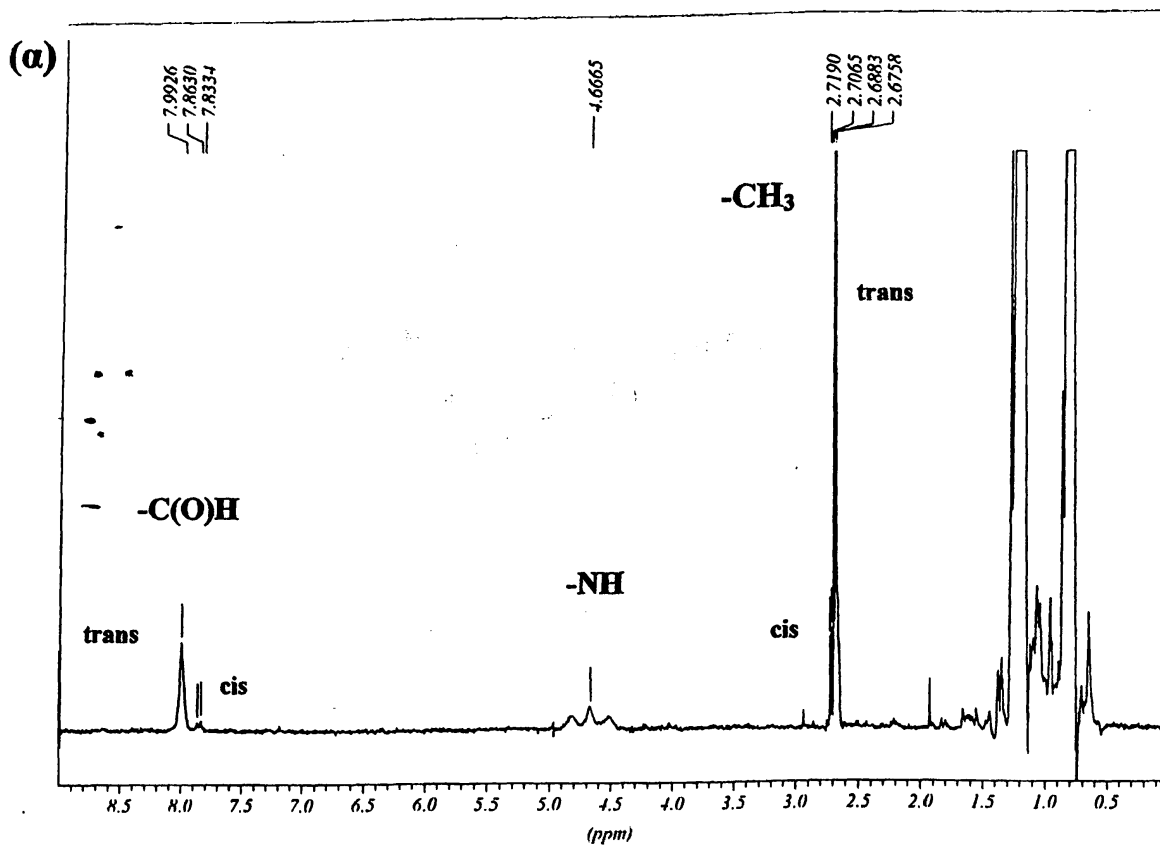
Σχ. 46. (α) Ενδεικτικό πρωτονιακό φάσμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του *N*-tert-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), σε διαλύτη δευτεριωμένο βενζόλιο, C_6D_6 και συγκέντρωση 1 mM, στους 300K. Επισημαίνονται οι κορυφές συντονισμού των πρωτονίων $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$, NH και $\text{C}(\text{O})\text{H}$ του *trans* και *cis* ισομερούς του αμιδίου. (β) Ανηγγμένη η περιοχή του φάσματος όπου εμφανίζονται τα σήματα συντονισμού των πρωτονίων $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ τόσο του *trans* όσο και του *cis* ισομερούς του αμιδίου.



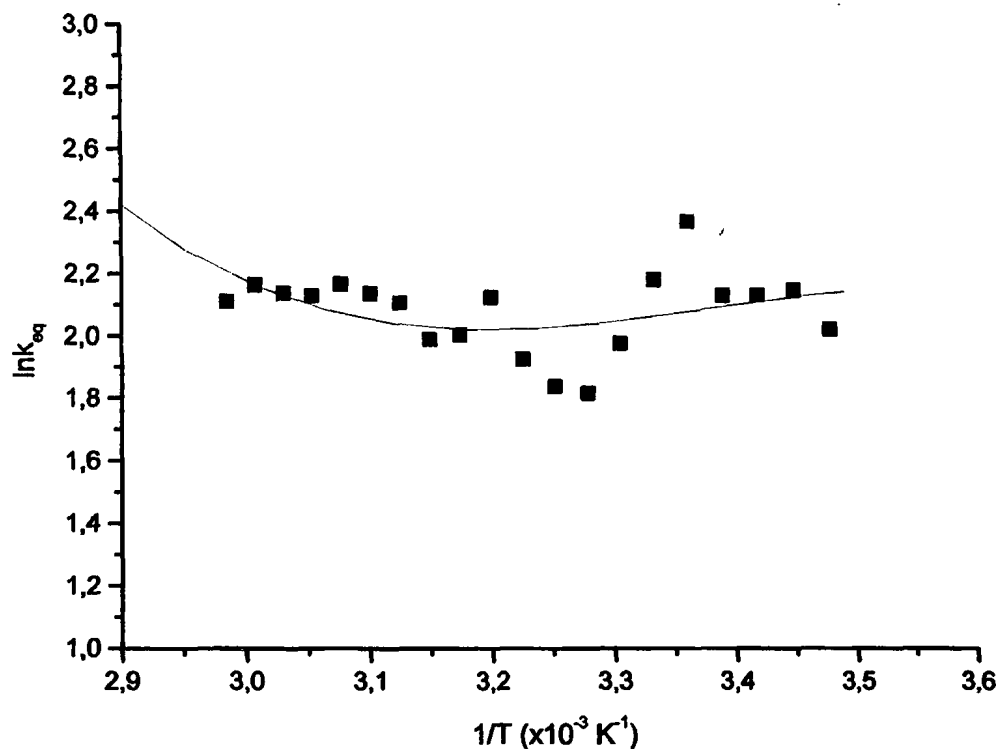
Διάγραμμα 19. Δεδομένα ολοκλήρωσης των πρωτονίων $-C(CH_3)_3$ του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, κατά τη μελέτη της *trans-cis* ισορροπίας του αμιδίου σε διαλύτη δευτεριωμένο βενζόλιο, C_6D_6 , συγκέντρωση 1 mM και θερμοκρασίες από 342,5K έως 295K. Το κάθε σημείο του Διαγράμματος προέκυψε έπειτα από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος. Εφαρμογή πολωνύμου τρίτου βαθμού επί των σημείων του Διαγράμματος δίνει τα εξής αποτελέσματα: Το πολυώνυμο με τύπο: $Y=A+B_1X+B_2X^2+B_3X^3$ εμφανίζει συντελεστή παλινδρόμησης R^2 (COD) = 0,98258 και αντίστοιχη τυπική απόκλιση (SD) = 0,01399. Οι τιμές των συντελεστών για το συγκεκριμένο πολυώνυμο είναι οι εξής: $A = 21,09785 (\pm 43,47866)$, $B_1 = -24,47212 (\pm 41,4513)$, $B_2 = 9,24212 (\pm 13,15892)$ και $B_3 = -1,11094 (\pm 1,39099)$.

6.3.2. Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΩΝ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΕΞΑΝΙΟΥ ΚΑΙ ΚΥΚΛΟΕΞΑΝΙΟΥ

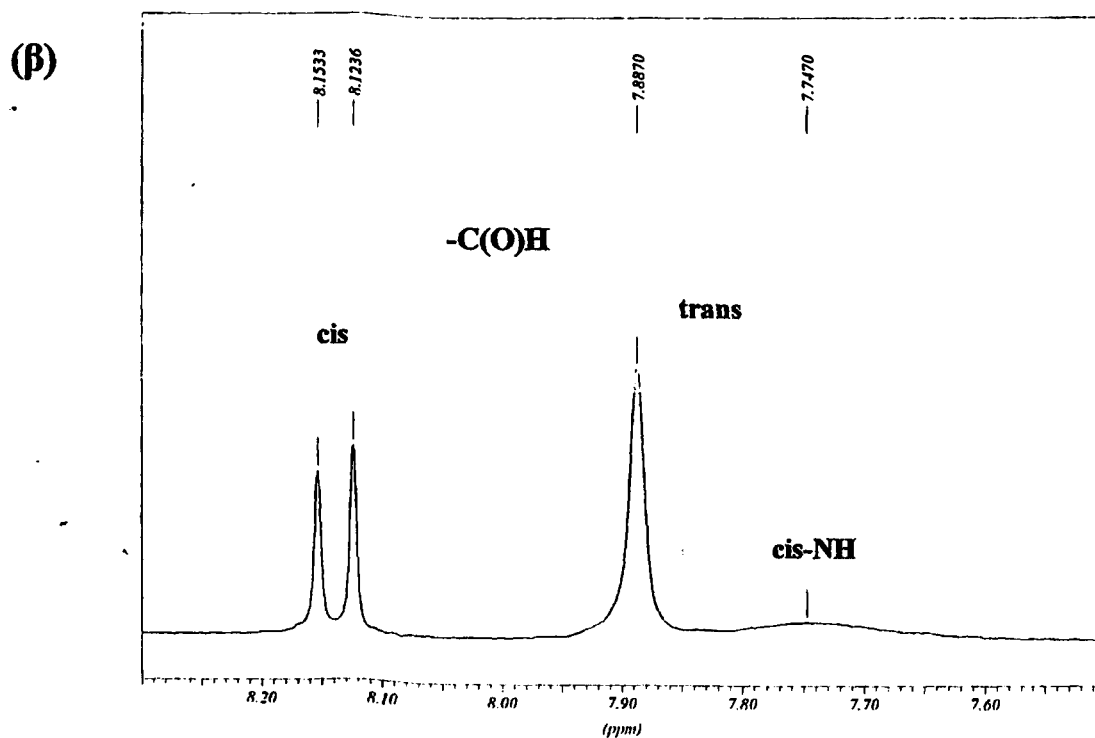
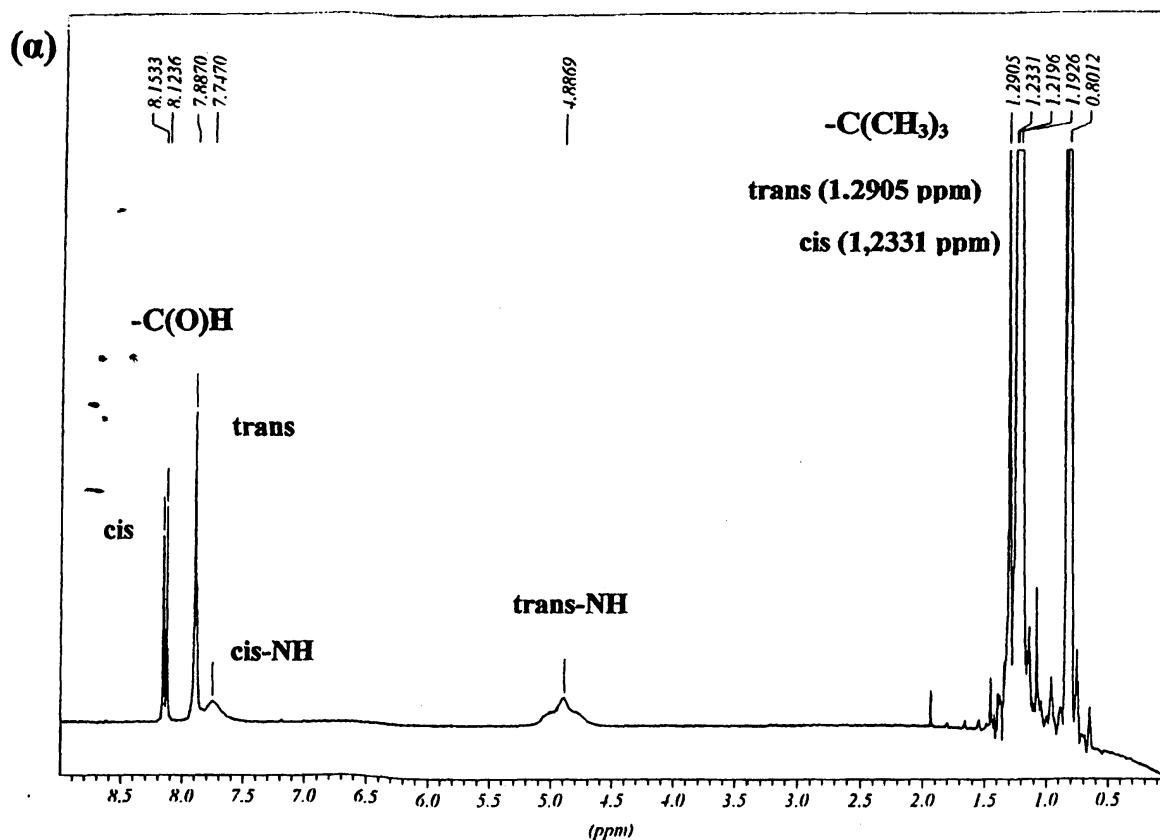
Στο Σχήμα 47, στο Διάγραμμα 20 και στους Πίνακες Π-39 και Π-40 του Παραρτήματος, παρατίθενται τα δεδομένα ολοκλήρωσης όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, μεταβλητής θερμοκρασίας, κατά τη μελέτη της *cis-trans* ισορροπίας του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF) σε εξάνιο. Επίσης, στο Σχήμα 48, στο Διάγραμμα 21 και στους Πίνακες Π-41 και Π-42, παρατίθενται τα αντίστοιχα δεδομένα για το *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιο (TBF) σε διάλυμα εξανίου.



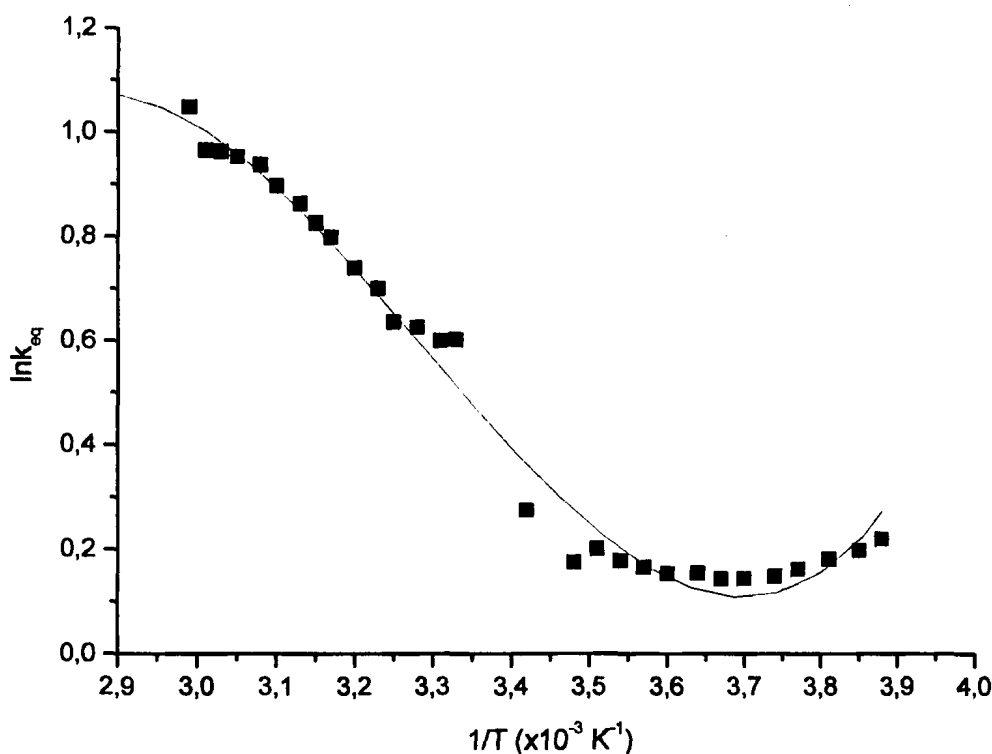
Σχ. 47. (α) Ενδεικτικό πρωτονιακό φάσμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF), σε διαλύτη δευτεριωμένο εξάνιο, *n*-hexane-*d*₆ και συγκέντρωση 1 mM, στους 300K. Επισημαίνονται οι κορυφές συντονισμού των πρωτονίων -CH₃, NH και C(O)H του *trans* και του *cis* ισομερούς του αμιδίου. (β) Ανηγγμένη η περιοχή του φάσματος όπου εμφανίζονται τα σήματα συντονισμού των πρωτονίων -CH₃ του *trans* και του *cis* ισομερούς του αμιδίου.



Διάγραμμα 20. Δεδομένα ολοκλήρωσης των πρωτονίων $-CH_3$ του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF), όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, κατά τη μελέτη της *trans-cis* ισορροπίας του αμιδίου σε διαλύτη δευτεριωμένο εξάνιο, *n*-hexane- d_{14} , συγκέντρωση 1 mM και θερμοκρασίες από 335 έως 257,5K. Το κάθε σημείο του Διαγράμματος προέκυψε έπειτα από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος. Εφαρμογή πολωνύμου τρίτου βαθμού επί των σημείων του Διαγράμματος δίνει τα εξής αποτελέσματα: Το πολώνυμο με τύπο: $Y=A+B_1X+B_2X^2+B_3X^3$ εμφανίζει συντελεστή παλινδρόμησης R^2 (COD) = 0,17058 και αντίστοιχη τυπική απόκλιση (SD) = 0,12663. Οι τιμές των συντελεστών για το συγκεκριμένο πολώνυμο είναι οι εξής: $A = 203,72803 (\pm 366,26417)$, $B_1 = -179,75952 (\pm 340,91929)$, $B_2 = 53,2524 (\pm 105,65898)$ και $B_3 = -5,24234 (\pm 10,90335)$.

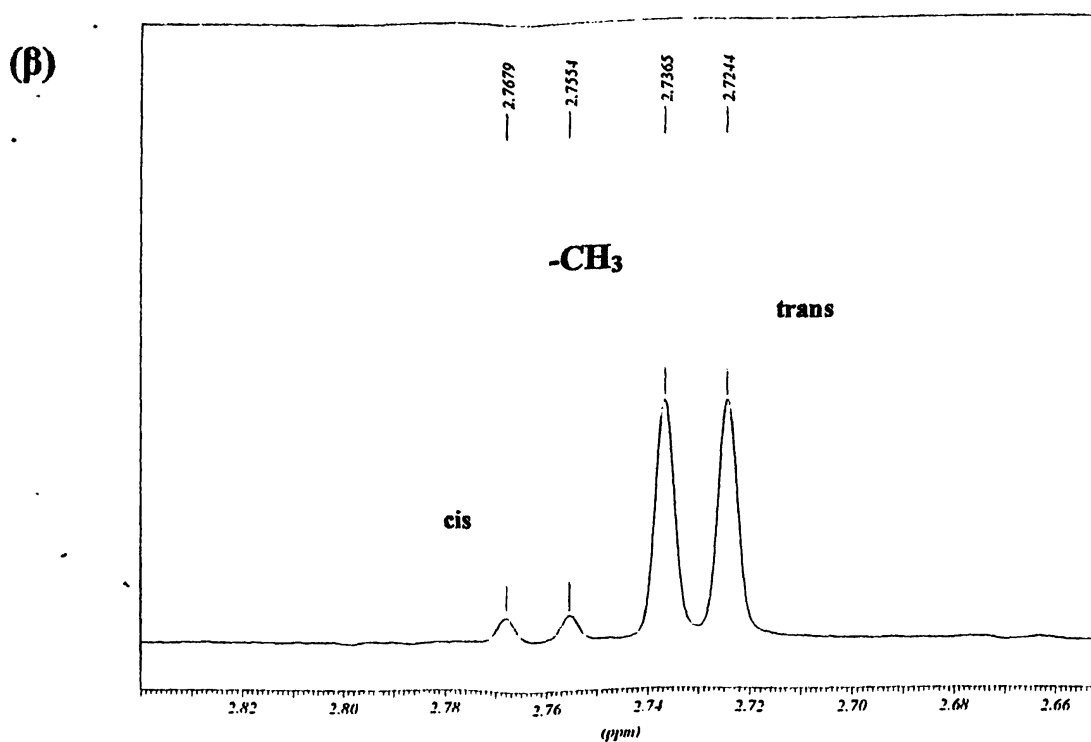
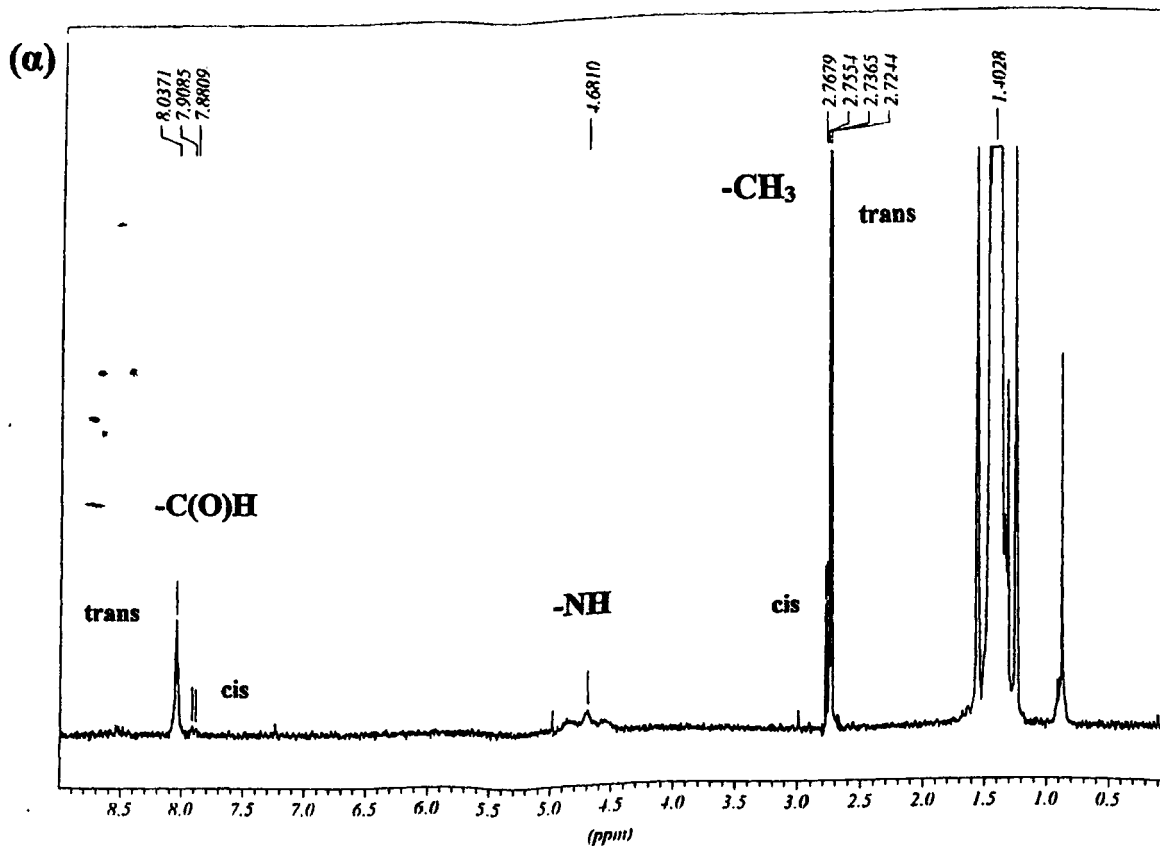


Σχ. 48. (α) Ενδεικτικό πρωτονιακό φάσμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), σε διαλύτη δευτεριωμένο εξάνιο, *n*-hexane-*d*₁₄ και συγκέντρωση 2 mM, στους 300K. Επισημαίνονται οι κορυφές συντονισμού των πρωτονίων -C(CH₃)₃, NH και C(O)H του *trans* και *cis* ισομερούς του αμίδιου. (β) Ανηγμένη η περιοχή του φάσματος όπου εμφανίζονται τα σήματα συντονισμού του καρβονυλικού πρωτονίου C(O)H τόσο του *trans* όσο και του *cis* ισομερούς του αμίδιου.

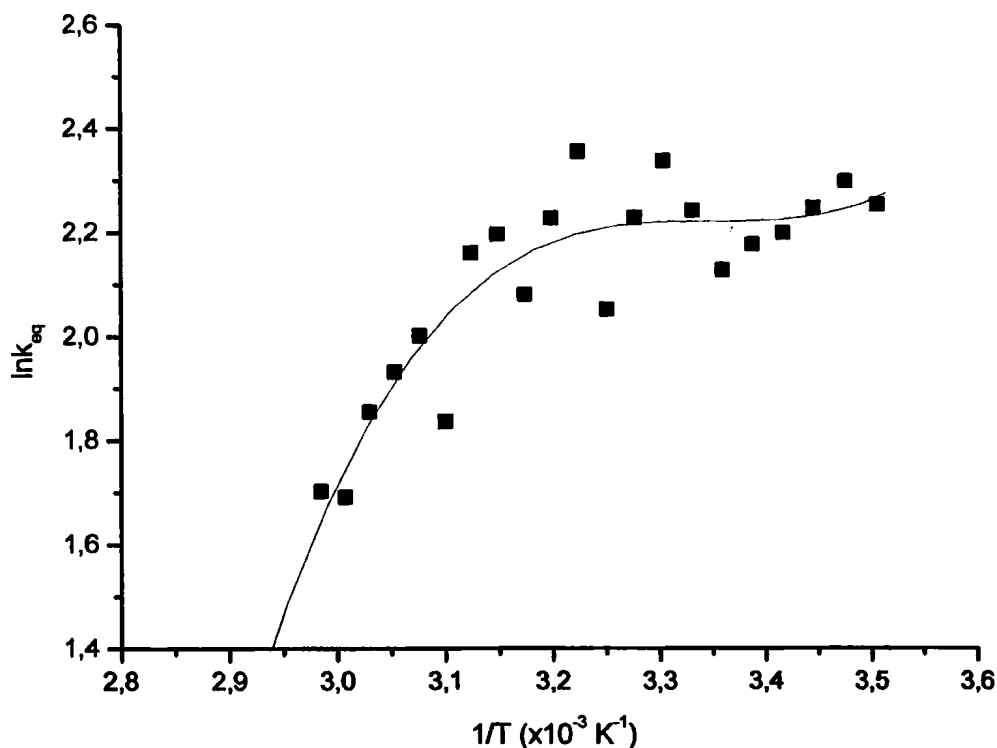


Διάγραμμα 21. Δεδομένα ολοκλήρωσης του καρβονυλικού πρωτονίου του *N-tert*-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF), όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, κατά τη μελέτη της *trans-cis* ισορροπίας του αμιδίου σε διαλύτη δευτεριωμένο εξάνιο, *n*-hexane-*d*₁₄, συγκέντρωση 2 mM και θερμοκρασίες από 335 έως 257,5K. Το κάθε σημείο του Διαγράμματος προέκυψε έπειτα από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος. Προσέγγιση των σημείων του Διαγράμματος με πολυώνυμο τρίτου βαθμού δίνει τα ακόλουθα αποτελέσματα: Το πολυώνυμο με τύπο: $Y=A+B_1X+B_2X^2+B_3X^3$ εμφανίζει συντελεστή παλινδρόμησης R^2 (COD) = 0,98678 και αντίστοιχη τυπική απόκλιση (SD) = 0,04134. Οι τιμές των συντελεστών για το συγκεκριμένο πολυώνυμο είναι οι εξής: $A = -114,62233 (\pm 19,97293)$, $B_1 = 108,70957 (\pm 17,57341)$, $B_2 = -33,62098 (\pm 5,13805)$ και $B_3 = 3,41099 (\pm 0,49921)$.

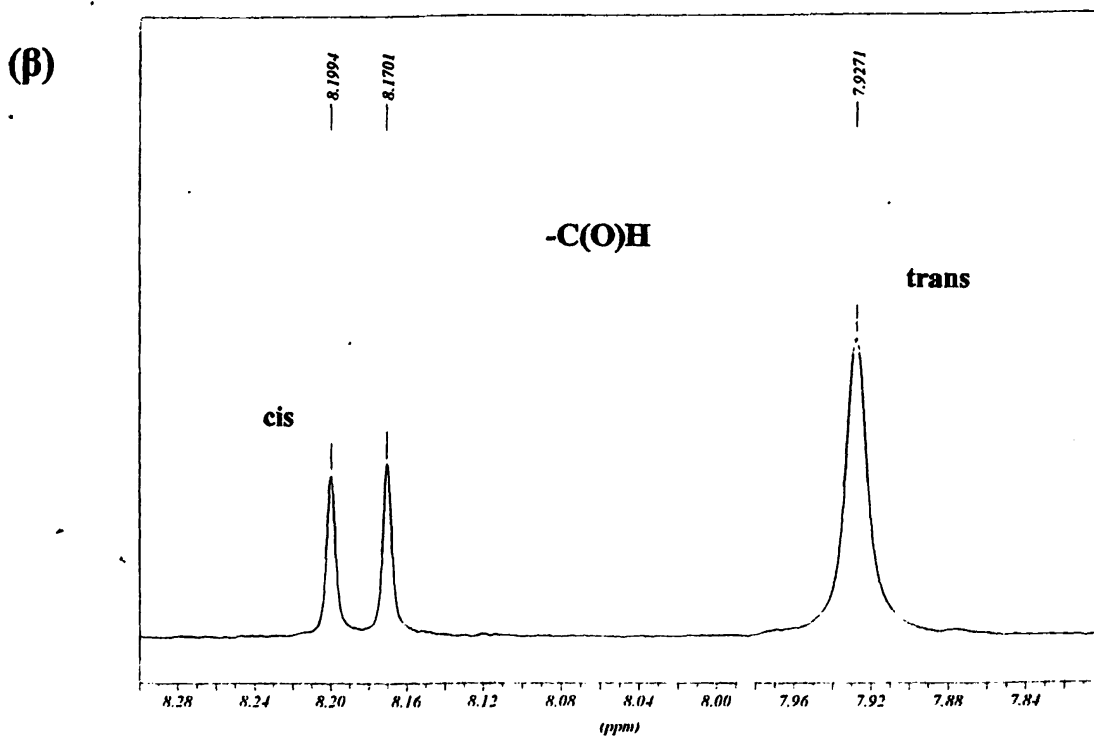
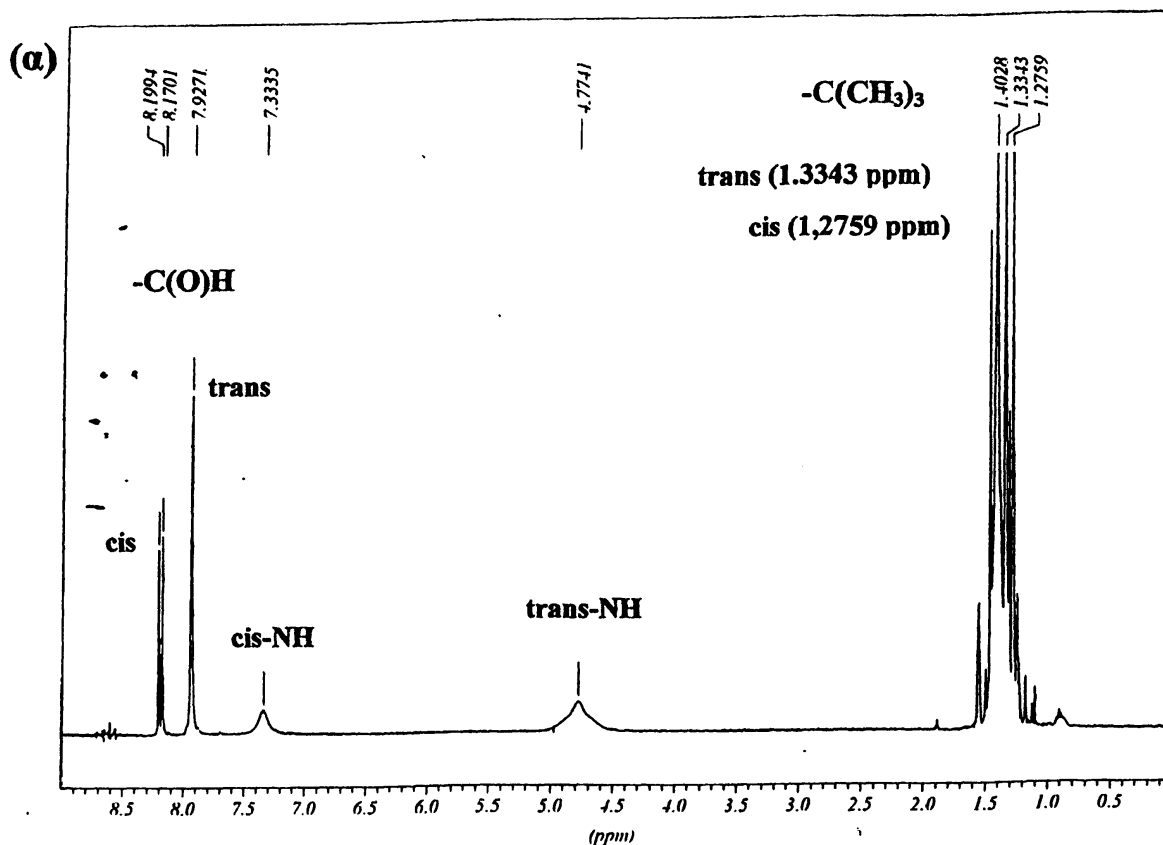
Στο Σχήμα 49, στο Διάγραμμα 22 και στους Πίνακες Π-43 και Π-44 του Παραρτήματος, παρατίθενται τα δεδομένα ολοκλήρωσης όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, μεταβλητής θερμοκρασίας, κατά τη μελέτη της *cis-trans* ισορροπίας του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF) σε κυκλοεξάνιο. Επίσης, στο Σχήμα 50, στο Διάγραμμα 23 και στους Πίνακες Π-45 και Π-46 του Παραρτήματος, παρατίθενται τα αντίστοιχα δεδομένα για το *N-tert*-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF) σε διάλυμα εξανίου συγκέντρωσης 1 mM, ενώ στο Σχήμα 51, στο Διάγραμμα 24 και στους Πίνακες Π-47 και Π-48, παρατίθενται τα αντίστοιχα δεδομένα για το *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιο (TBF) σε διάλυμα εξανίου συγκέντρωσης 0,25 mM.



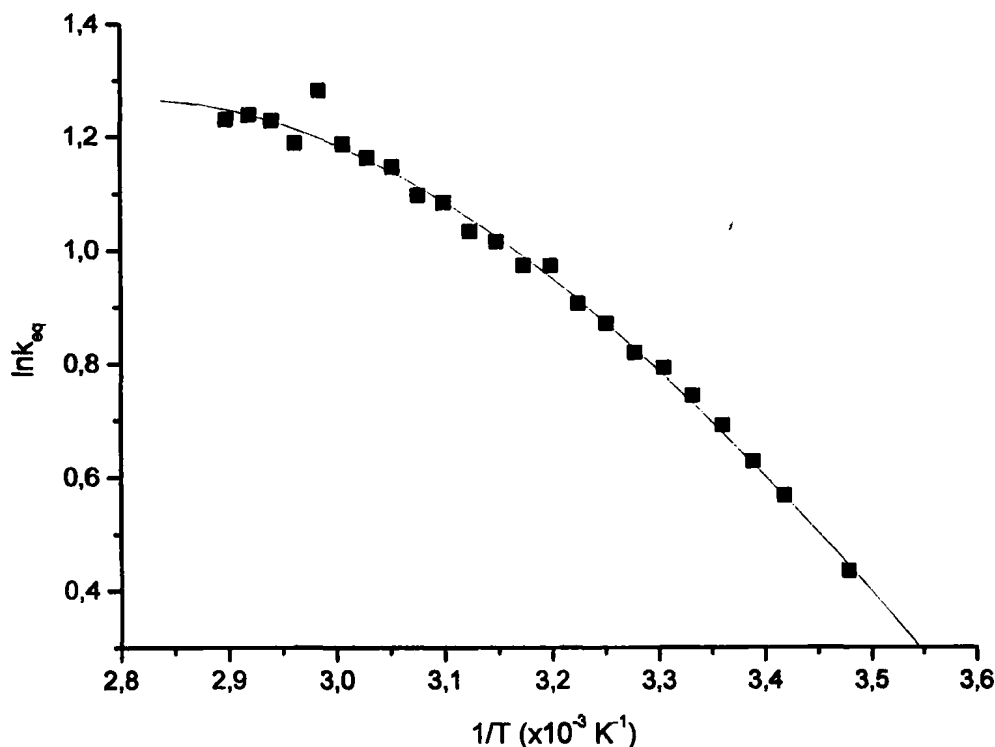
Σχ. 49. (α) Ενδεικτικό πρωτονιακό φάσμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF), σε διαλύτη δευτεριωμένο κυκλοεξάνιο, *c*-hexane-*d*₁₂ και συγκέντρωση 1 mM, στους 300K. Επισημαίνονται οι κορυφές συντονισμού των πρωτονίων -CH_3 , NH και C(O)H του *trans* και του *cis* ισομερούς του αμιδίου. (β) Ανηγμένη η περιοχή του φάσματος όπου εμφανίζονται τα σήματα συντονισμού των πρωτονίων -CH_3 του *trans* και του *cis* ισομερούς του αμιδίου.



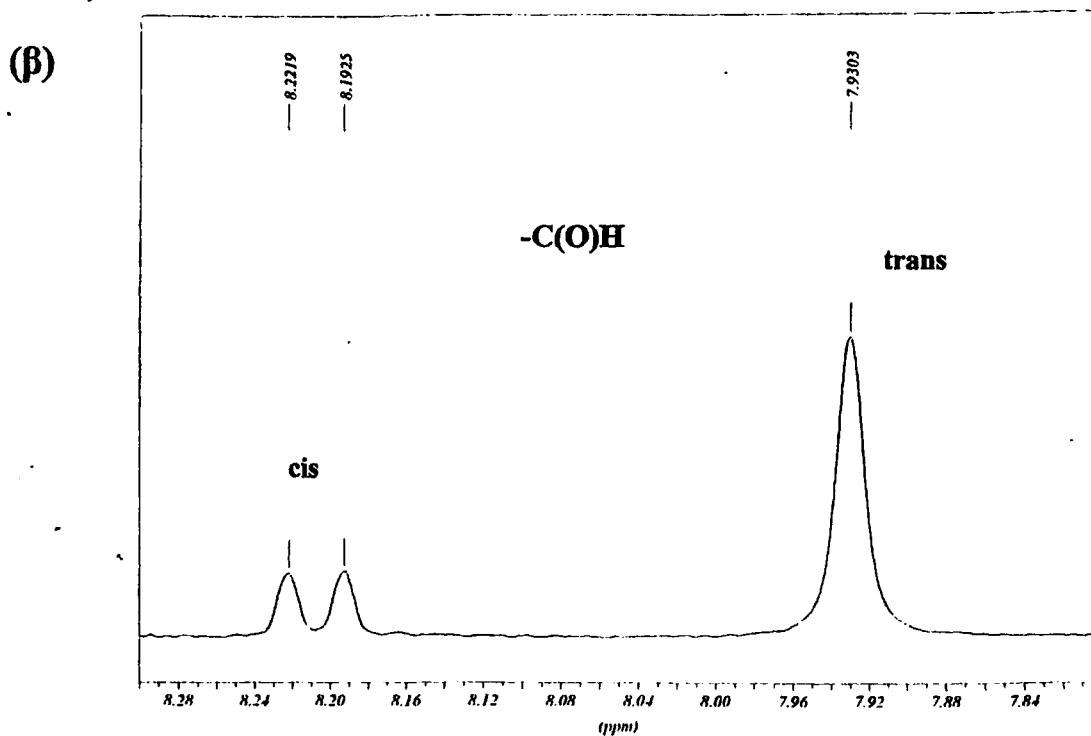
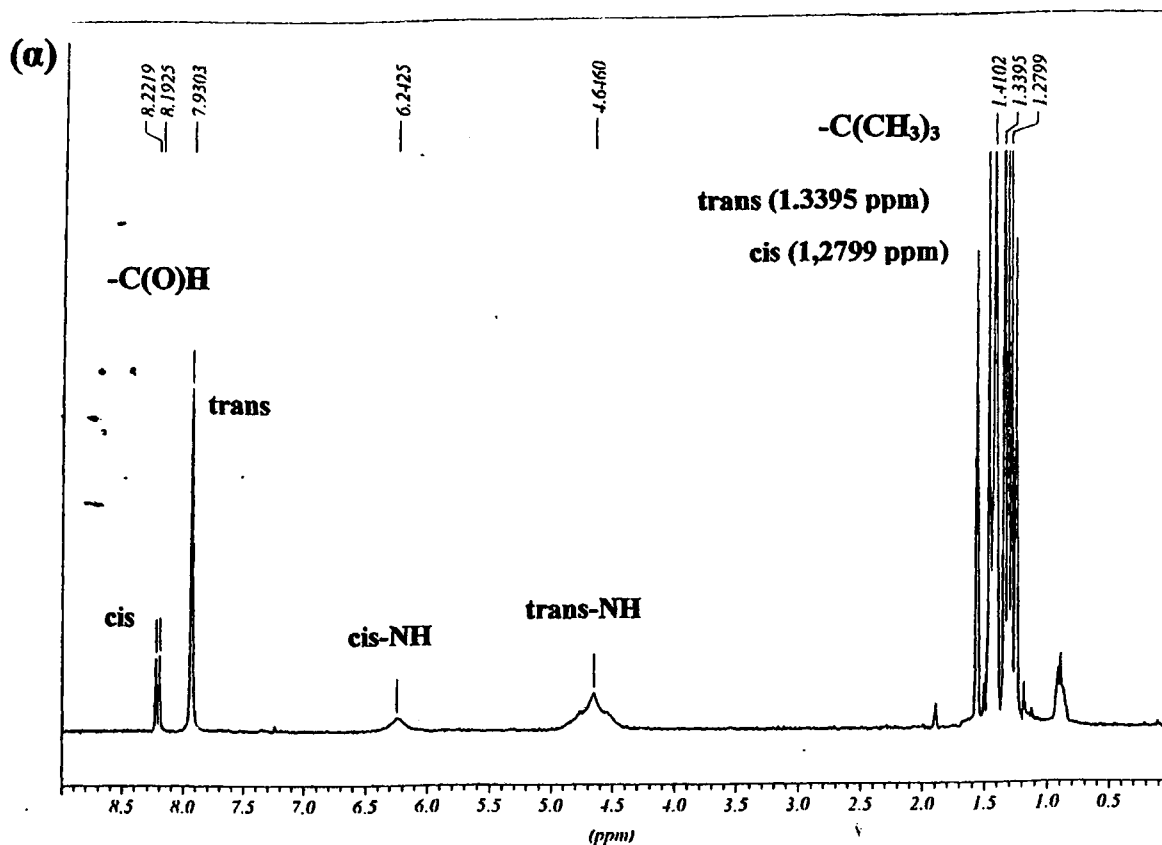
Διάγραμμα 22. Δεδομένα ολοκλήρωσης των πρωτονίων $-CH_3$ του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF), όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, κατά τη μελέτη της *trans-cis* ισορροπίας του αμιδίου σε διαλύτη δευτεριωμένο κυκλοεξάνιο, *c*-hexane-*d*₁₂, συγκέντρωση 1 mM και θερμοκρασίες από 345K έως 285K. Το κάθε σημείο του Διαγράμματος προέκυψε έπειτα από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος. Τα σημεία του Διαγράμματος προσεγγίζονται με πολυώνυμο τρίτου βαθμού το οποίο δίνει τα εξής αποτελέσματα: Το πολυώνυμο με τύπο: $Y=A+B_1X+B_2X^2+B_3X^3$ εμφανίζει συντελεστή παλινδρόμησης R^2 (COD) = 0,81487 και αντίστοιχη τυπική απόκλιση (SD) = 0,09216. Οι τιμές των συντελεστών για το συγκεκριμένο πολυώνυμο είναι οι εξής: $A = -433,85181 (\pm 221,53751)$, $B_1 = 390,28751 (\pm 205,30519)$, $B_2 = -116,43688 (\pm 63,34265)$ και $B_3 = 11,57914 (\pm 6,50635)$.



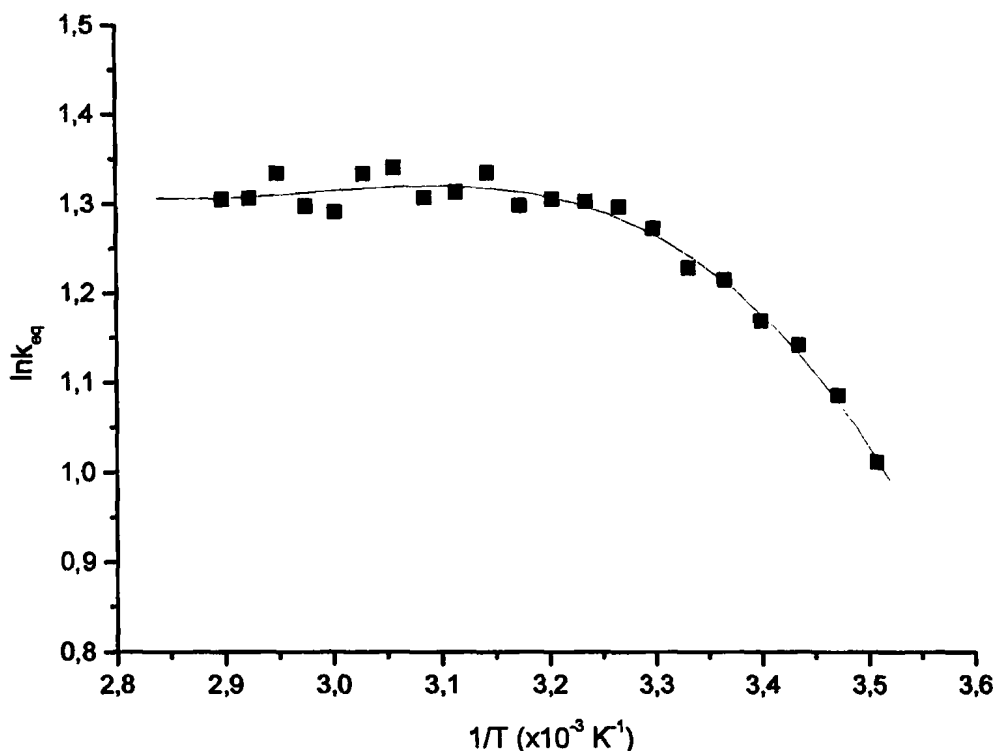
Σχ. 50. (α) Ενδεικτικό πρωτονιακό φάσμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του *N*-tert-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), σε διαλύτη δευτεριωμένο κυκλοεξάνιο, *c*-hexane-*d*₁₂ και συγκέντρωση 1 mM, στους 300K. Επισημαίνονται οι κορυφές συντονισμού των πρωτονίων $-C(CH_3)_3$, NH και $C(O)H$ του *trans* και *cis* ισομερούς του αμιδίου. (β) Ανηγμένη η περιοχή του φάσματος όπου εμφανίζονται τα σήματα συντονισμού του καρβονυλικού πρωτονίου $C(O)H$ του *trans* και του *cis* ισομερούς του αμιδίου.



Διάγραμμα 23. Δεδομένα ολοκλήρωσης του καρβονυλικού πρωτονίου του *N-tert*-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF), όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, κατά τη μελέτη της *trans-cis* ισορροπίας του αμιδίου σε διαλύτη δευτεριωμένο κυκλοεξάνιο, *c*-hexane-*d*₁₂, συγκέντρωση 1 mM και θερμοκρασίες από 345K έως 285K. Το κάθε σημείο του Διαγράμματος προέκυψε έπειτα από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος. Πολυωνυμική προσέγγιση, τρίτου βαθμού, των σημείων του Διαγράμματος δίνει τα εξής αποτελέσματα: Το πολυώνυμο με τύπο: $Y=A+B_1X+B_2X^2+B_3X^3$ εμφανίζει συντελεστή παλινδρόμησης R^2 (COD) = 0,99184 και αντίστοιχη τυπική απόκλιση (SD) = 0,02333. Οι τιμές των συντελεστών για το συγκεκριμένο πολυώνυμο είναι οι εξής: $A = -37,07703 (\pm 37,78084)$, $B_1 = 34,06045 (\pm 35,71958)$, $B_2 = -9,67871 (\pm 11,24026)$ και $B_3 = 0,85901 (\pm 1,1773)$.



Σχ. 51. (α) Ενδεικτικό πρωτονιακό φάσμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού του *N*-tert-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), σε διαλύτη δευτεριωμένο κυκλοεξάνιο, *c*-hexane-*d*₁₂ και συγκέντρωση 0,25 mM, στους 300K. Επισημαίνονται οι κορυφές συντονισμού των πρωτονίων -C(CH₃)₃, NH και C(O)H του *trans* και *cis* ισομερούς του αμιδίου. (β) Ανηγμένη η περιοχή του φάσματος όπου εμφανίζονται τα σήματα συντονισμού του καρβονυλικού πρωτονίου C(O)H του *trans* και του *cis* ισομερούς του αμιδίου.



Διάγραμμα 24. Δεδομένα ολοκλήρωσης του καρβονυλικού πρωτονίου του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, κατά τη μελέτη της *trans-cis* ισορροπίας του αμιδίου σε διαλύτη δευτεριωμένο κυκλοεξάνιο, *c*-hexane-*d*₁₂, συγκέντρωση 0,25 mM και θερμοκρασίες από 345K έως 285K. Το κάθε σημείο του Διαγράμματος προέκυψε έπειτα από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος. Μία ικανοποιητική προσέγγιση των σημείων του Διαγράμματος γίνεται με πολυώνυμο τρίτου βαθμού, με τα εξής αποτελέσματα: Το πολυώνυμο με τύπο: $Y=A+B_1X+B_2X^2+B_3X^3$ εμφανίζει συντελεστή παλινδρόμησης R^2 (COD) = 0,97783 και αντίστοιχη τυπική απόκλιση (SD) = 0,01437. Οι τιμές των συντελεστών για το συγκεκριμένο πολυώνυμο είναι οι εξής: $A = -63,41519 (\pm 20,93716)$, $B_1 = -62,69132 (\pm 19,68849)$, $B_2 = 21,0637 (\pm 6,16082)$ και $B_3 = -2,35553 (\pm 0,6415)$.

6.3.3. ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Στον Πίνακα 24 που ακολουθεί παρατίθενται συγκεντρωτικά τα ποσοστά των *cis* και *trans* ισομερών όπως αυτά διαμορφώνονται στην παρούσα ερευνητική εργασία για το *N*-μεθυλοφορμαμίδιο (NMF) και το *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιο (TBF) σε τρεις ενδεικτικές θερμοκρασίες ανά διαλύτη.



Πίνακας 24. Μεταβολή της κατανομής των *cis* και *trans* ισομερών ανά σύστημα αμιδίου/διαλύτη για τα πρότυπα αμίδια *N*-μεθυλοφορμαμίδιο (NMF) και *N*-tert-βουτυλοφορμαμίδιο (TBF).

Διαλύτης	NMF		TBF	
	% <i>cis</i>	% <i>trans</i>	% <i>cis</i>	% <i>trans</i>
Toluene- <i>d</i> ₈ (2 mM)	11,4 (363K)	88,6 (363K)	26,6 (373K)	73,4 (373K)
	8,8 (303K)	91,2 (303K)	33,4 (303K)	66,6 (303K)
	6,4 (253K)	93,6 (253K)	40,9 (223K)	59,1 (223K)
C ₆ D ₆ (1 mM)	11,4 (345K)	88,6 (345K)	31,3 (342,5K)	68,7 (342,5K)
	9,6 (300K)	90,4 (300K)	25,7 (300K)	74,3 (300K)
	8,9 (285K)	91,1 (285K)	25,5 (295K)	74,5 (295K)
c-hexane- <i>d</i> ₁₂ (1 mM)	15,4 (335K)	84,6 (335K)	22,6 (345K)	77,4 (345K)
	9,6 (300K)	90,4 (300K)	32,2 (300K)	67,8 (300K)
	9,5 (285K)	90,5 (285K)	39,3 (287,5K)	60,7 (287,5K)
c-hexane- <i>d</i> ₁₂ (0,25 mM)	-	-	21,3 (345K)	78,7 (345K)
	-	-	22,7 (300K)	77,3 (300K)
	-	-	26,7 (285K)	73,3 (285K)
n-hexane- <i>d</i> ₁₄ (2 mM)	10,8 (335K)	89,2 (335K)	25,9 (335K)	74,1 (335K)
	10,2 (300K)	89,8 (300K)	35,4 (300K)	64,6 (300K)
	10,7 (287,5K)	89,3 (287,5K)	44,5 (257,5K)	55,5 (257,5K)

Από τα δεδομένα του Πίνακα 24 προκύπτουν δύο στοιχεία που θα πρέπει να αξιολογηθούν χωριστά. Το πρώτο σχετίζεται με τη διαφοροποίηση των ποσοστών των *cis* και *trans* ισομερών μεταξύ του TBF και του NMF ενώ το δεύτερο με το πώς η μεταβολή της θερμοκρασίας επηρεάζει τη *cis-trans* ισορροπία στο κάθε σύστημα αμιδίου-διαλύτη χωριστά.

Σε όλα καταρχήν τα συστήματα αμιδίου-διαλύτη υπερτερεί κατά πολύ το *trans* ισομερές έναντι του *cis* ενισχύοντας τη γενικότερη αντίληψη περί μεγαλύτερης σταθερότητας της συγκεκριμένης διαμόρφωσης. Όπως συνέβη, όμως και στις περιπτώσεις των ισχυρά και μέτρια πολικών διαλυτών, έτσι και στη συγκεκριμένη κατηγορία των μη πολικών διαλυτών παρατηρείται έντονη διαφοροποίηση των *cis* και *trans* ποσοστών μεταξύ των δύο πρότυπων αμιδίων. Στην περίπτωση του TBF το ποσοστό του *cis* ισομερούς εμφανίζεται εμφανώς υψηλότερο έναντι του NMF. Αυτό, όπως τονίστηκε στη συζήτηση που προηγήθηκε θα πρέπει να αποδοθεί στον ογκώδη *N*-αλκυλοϋποκαταστάτη του TBF που δεν ευνοεί στεreoχημικά τη *trans* διαμόρφωση.



Το δεύτερο σημείο του Πίνακα 24 που χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή αφορά στην επίδραση της θερμοκρασίας στη μεταβολή των *cis* και *trans* ποσοστών των δύο αμιδίων. Στην περίπτωση του NMF αύξηση της θερμοκρασίας επιφέρει μικρή αύξηση του ποσοστού της *cis* διαμόρφωσης. Καθώς η θερμοκρασία αυξάνει, ελαττώνεται η ενεργειακή διαφορά μεταξύ των δύο ισομερών, με αποτέλεσμα να παρατηρείται αυτή η διαφοροποίηση των δύο ποσοστών του αμιδίου. Η επίδραση του διαλύτη θα μπορούσε να αποτελέσει αιτία, αν και όχι καθοριστική, αυτής της αύξησης, καθώς υπάρχει μεγαλύτερη ευχέρεια αλληλεπίδρασης με το *cis* ισομερές.

Μεταβαίνοντας στο TBF σε διαλύτη κυκλοεξάνιο, παρατηρείται αύξηση του *cis* ισομερούς καθώς η συγκέντρωση του αμιδίου αυξάνει από 0,25 σε 1 mM. Αυτό οφείλεται κατά κύριο λόγο σε *cis-cis* διαμοριακές αλληλεπιδράσεις που οδηγούν στο σχηματισμό πολύ σταθερών κυκλικών διμερών. Άλλωστε το φαινόμενο του διμερισμού και του πολυμερισμού έχει παρατηρηθεί ότι ενισχύεται σε μη πολικούς διαλύτες και μάλιστα αυξανόμενης της συγκέντρωσης του αμιδίου. Αύξηση της θερμοκρασίας προκαλεί χαλάρωση και πιθανή διάσπαση των δεσμών υδρογόνου που δημιουργούνται κατά το σχηματισμό διμερών, με αποτέλεσμα να επέρχεται σημαντική μείωση του *cis* ισομερούς και η *cis-trans* ισορροπία να μετατοπίζεται προς τη θερμοδυναμικά σταθερότερη *trans* διαμόρφωση. Αυτή η γενική τάση φαίνεται από τον Πίνακα 24 ότι ισχύει για το TBF στα διαλύματα τολουολίου, εξανίου και κυκλοεξανίου. Στην περίπτωση, όμως, του TBF σε διαλύτη βενζόλιο, παρατηρείται αύξηση του *cis* ποσοστού με την αύξηση της θερμοκρασίας. Εδώ σημαντικό ρόλο φαίνεται να παίζει ο διαλύτης ή καλύτερα ο τρόπος διευθέτησης μορίων του διαλύτη περί των μορίων του TBF.

Ακολουθεί η θερμοδυναμική ανάλυση των δεδομένων που προέκυψαν από τα φάσματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού.

6.3.3.1. ΘΕΡΜΟΔΥΝΑΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Στον Πίνακα 25 δίνονται οι τιμές μεταβολής της ενθαλπίας (ΔH°), της εντροπίας (ΔS°) και της ελεύθερης ενέργειας Gibbs (ΔG°), υπολογισμένες στους 298K, για τον *cis-trans* ισομερισμό των πρότυπων αμιδίων NMF και TBF στους μη πολικούς διαλύτες τολουόλιο, βενζόλιο, n-εξάνιο και κυκλοεξάνιο.



Πίνακας 25. Μεταβολές στις τιμές της των θερμοδυναμικών παραμέτρων ΔH° , ΔS° and ΔG° κατά τον *cis-trans* ισομερισμό του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF) και του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF) σε σειρά διαλυτών στους 298K, όπως προκύπτουν μέσω μη-γραμμικής προσέγγισης.

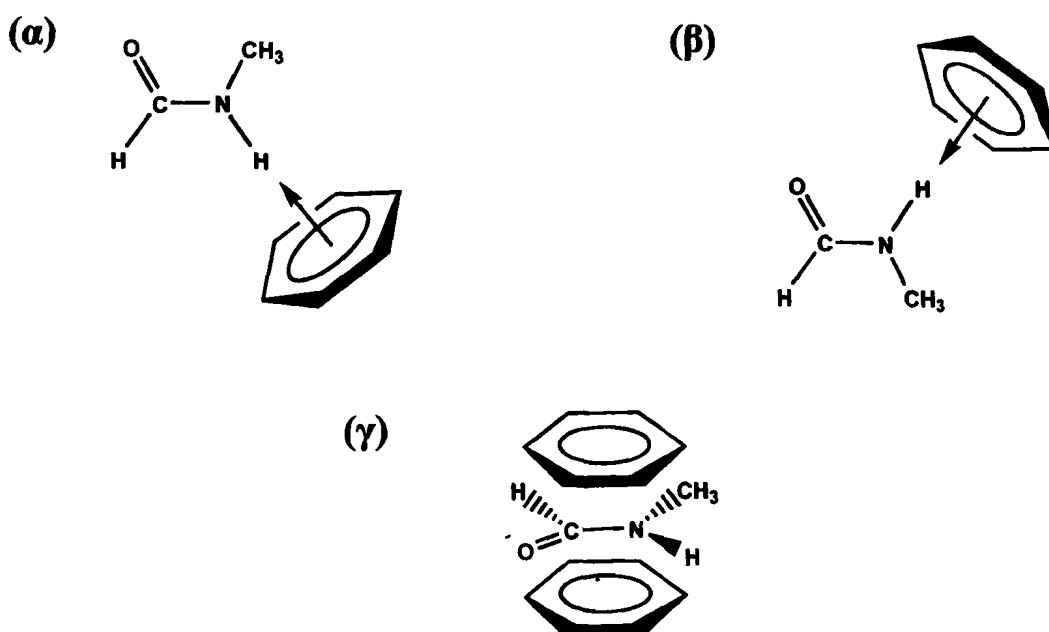
<i>N</i> -μεθυλοφορμαμίδιο (NMF)				
Διαλύτης	ΔH° (kJ mol ⁻¹)	$T \cdot \Delta S^\circ$ (kJ mol ⁻¹)	ΔS° (J K ⁻¹ mol ⁻¹)	ΔG° (kJ mol ⁻¹)
Toluene-d ₈	-6,71	-0,83	-2,79	-5,88
C ₆ D ₆	-3,94	1,65	5,55	-5,59
c-hexane-d ₁₂	-0,39	5,11	17,16	-5,51

<i>N-tert</i> -βουτυλοφορμαμίδιο (TBF)				
Διαλύτης	ΔH° (kJ mol ⁻¹)	$T \cdot \Delta S^\circ$ (kJ mol ⁻¹)	ΔS° (J K ⁻¹ mol ⁻¹)	ΔG° (kJ mol ⁻¹)
Toluene-d ₈	3,65	5,25	17,60	-1,59
C ₆ D ₆	-5,23	-2,52	-8,45	-2,71
c-hexane-d ₁₂	15,54	17,25	57,88	-1,71
n-hexane-d ₁₄	14,30	15,45	51,84	-1,15

Από τις τιμές του Πίνακα 25, γίνεται αμέσως αντιληπτό, ότι οι μεταβολές τόσο της ενθαλπίας ΔH° όσο και της εντροπίας ΔS° διαφέρουν σημαντικά για τα δύο αμίδια ιδιαίτερα στην περίπτωση του *n*-εξανίου και του κυκλοεξανίου.

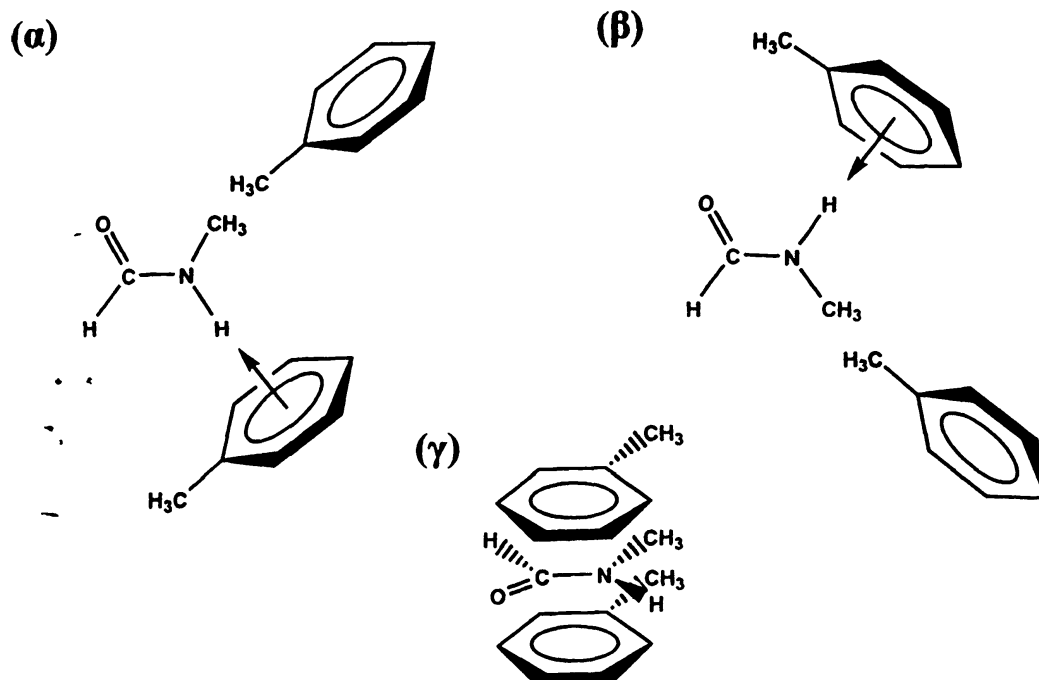
Σε διάλυμα τολουολίου και βενζολίου το *trans* ισομερές του NMF ευνοείται σαφώς ενθαλπικά ($\Delta H^\circ = -6,71$ kJ mol⁻¹ και $\Delta H^\circ = -3,94$ kJ mol⁻¹, αντίστοιχα). Ενώ όμως σε διάλυμα τολουολίου, το *trans* ισομερές του NMF, δεν ευνοείται εντροπικά καθώς επέρχεται μία μικρή ελάττωση της εντροπίας ($T\Delta S^\circ$ (298K) = -0,83 kJ mol⁻¹), δε φαίνεται να συμβαίνει το ίδιο στην περίπτωση του βενζολίου, όπου το *trans* ισομερές του NMF ευνοείται και εντροπικά ($T\Delta S^\circ$ (298K) = 1,65 kJ mol⁻¹), είναι δηλαδή πιο ευκίνητο. Όπως έχει καταγραφεί, σε μη πολικούς διαλύτες, εμφανίζεται η τάση δημιουργίας διμερών και πολυμερών αλυσίδων μεταξύ μορίων του αμιδίου, καθώς ο διαλύτης δεν έχει τη δυνατότητα έντονης αλληλεπίδρασης με το αμίδιο. Το φαινόμενο αυτό, σε διαλύτη βενζόλιο, δεν φαίνεται να υφίσταται στον ίδιο βαθμό για το *trans*

ισομερές του NMF. Όσον αφορά στον ίδιο το διαλύτη, και στις δύο αυτές περιπτώσεις, ο αρωματικός δακτύλιος αυτού θα πρέπει να διευθετείται σε τέτοια θέση σε σχέση με τα μόρια του αμιδίου ώστε να διευκολύνεται ο σχηματισμός π-συμπλόκων και με τα δύο ισομερή του αμιδίου. Σύμπλοκα τέτοιου τύπου σχηματίζονται μεταξύ δότη ηλεκτρονίων, ο οποίος περιέχει π συζυγιακό σύστημα και δέκτη του οποίου η θέση δεν είναι καθορισμένη στο σύμπλοκο, αλλά όμως συγκρατείται ισότιμα απ' όλα τα π ηλεκτρόνια του δότη όπως προσεγγιστικά αποδίδεται στο Σχήμα 52 (α) και 52 (β) που ακολουθεί:



Σχ. 52. (α)-(β) Προσεγγιστική παρουσίαση πιθανής π-αλληλεπίδρασης του αρωματικού δακτυλίου του βενζολίου με το *trans* και με το *cis* ισομερές του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου, αντίστοιχα, (γ) Πιθανές «stacking» αλληλεπιδράσεις μεταξύ του αμιδίου και του αρωματικού δακτυλίου του βενζολίου.

Το φαινόμενο αυτό, μάλιστα, στην περίπτωση του τολουολίου, αναμένεται να εμφανίζεται πιο έντονο από ότι στην περίπτωση του βενζολίου καθώς υπάρχει η μεθυλομάδα του τολουολίου, η οποία δύναται να αλληλεπιδράσει με ασθενείς δυνάμεις London, με τον *N*-μεθυλοϋποκαταστάτη του NMF. Η επιπρόσθετη αυτή αλληλεπίδραση, επιφέρει μείωση της δυνατότητας κίνησης του αμιδίου, σταθεροποιώντας, έτσι, ακόμα περισσότερο το σύστημα όπως προσεγγιστικά παριστάνεται στο Σχήμα 53 που ακολουθεί:



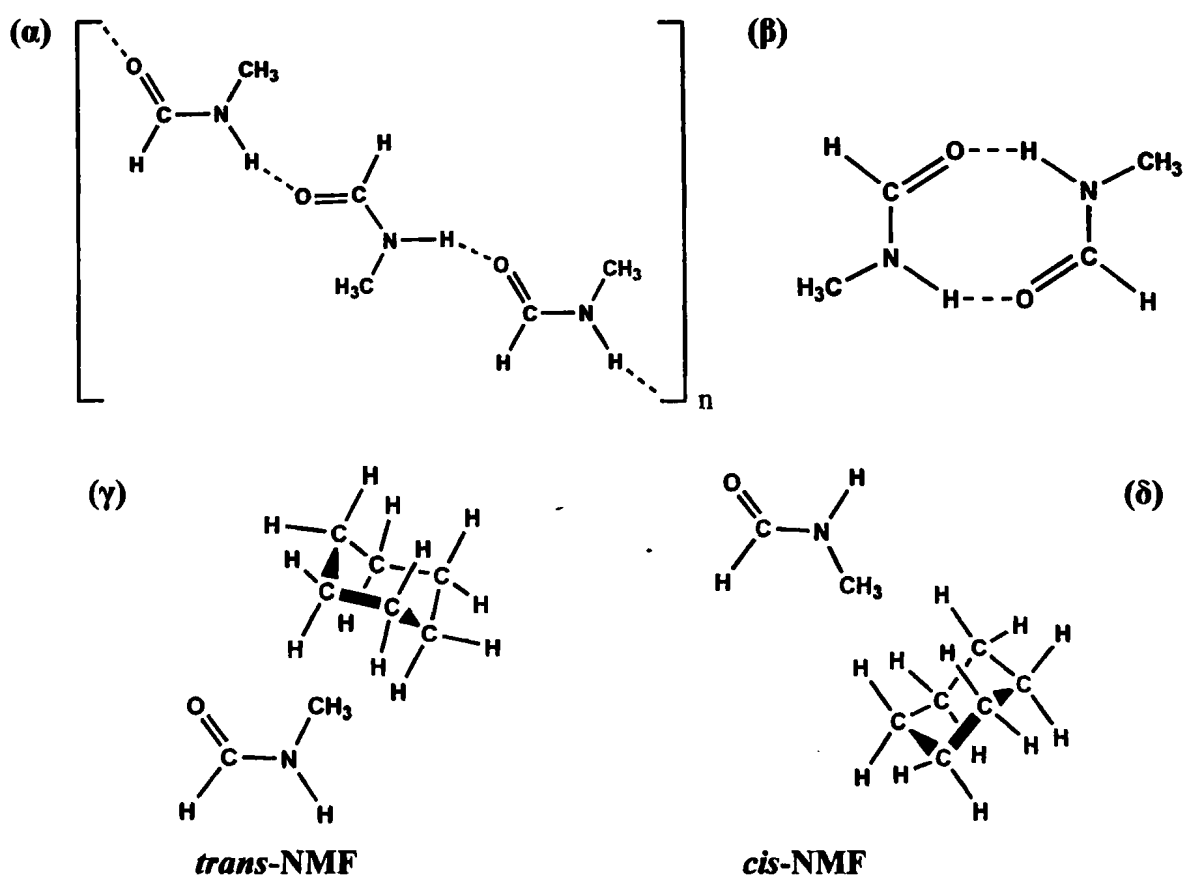
Σχ. 53. Προσεγγιστική παρουσίαση πιθανής αλληλεπίδρασης του αρωματικού δακτυλίου και του μεθυλο-υποκαταστάτη του τολουολίου (α) με το *trans* και (β) με το *cis* ισομερές του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου. Επίσης στη (γ) περίπτωση παρουσιάζονται πιθανές «stacking» αλληλεπιδράσεις του αρωματικού δακτυλίου του διαλύτη με το αμίδιο που έχουν ως αποτέλεσμα την σταθεροποίηση του συστήματος.

Οι τιμές της μεταβολής της ελεύθερης ενέργειας Gibbs σε αυτούς τους δύο αρωματικούς διαλύτες (ΔG° (298K) = -5,59 kJ mol⁻¹ και -5,88 kJ mol⁻¹ για το βενζόλιο και το τολουόλιο, αντίστοιχα) καθορίζονται σχεδόν αποκλειστικά από τον ενθαλπικό παράγοντα από όπου προκύπτει το συμπέρασμα ότι η μοριακή διευθέτηση σε αυτούς τους διαλύτες θα πρέπει να οδηγεί σε ιδιαίτερα σταθερά συστήματα μέσω διαμοριακών αλληλεπιδράσεων.

Σε διάλυμα κυκλοεξανίου το *trans* ισομερές του NMF ευνοείται σε σημαντικό βαθμό εντροπικά ($T\Delta S^\circ$ (298K) = 5,11 kJ mol⁻¹) καθορίζοντας σχεδόν εξ ολοκλήρου την τιμή της ελεύθερης ενέργειας (ΔG° (298K) = -5,51 kJ mol⁻¹) με την ενθαλπία (ΔH° = -0,39 kJ mol⁻¹) να επηρεάζει ελάχιστα, πλην όμως θετικά, την ισορροπία. Προκειμένου να ερμηνευτούν αυτά τα αποτελέσματα θα πρέπει να ληφθεί υπόψη, πως αλληλεπιδράσεις μπορεί να εμφανιστούν μεταξύ μη πολικών μορίων σε μη πολικό μέσο, όπως έλξεις μεταξύ υδρογονανθράκων σε μη πολικό διαλύτη, οι οποίες οφείλονται στις λεγόμενες δυνάμεις διασποράς ή δυνάμεις London. Στην περίπτωση

αυτή, μόρια του κυκλοεξανίου ενδεχομένως να εντοπίζονται κυρίως γύρω από τη μεθυλομάδα του αζώτου χωρίς να επηρεάζει την κίνηση του υπόλοιπου μορίου.

Η ελάττωση, σε απόλυτες τιμές, της ενθαλπίας σε σχέση με το βενζόλιο και το τολουόλιο, πιθανά να οφείλεται σε μικρότερη συμμετοχή του *trans* ισομερούς στο σχηματισμό διαμοριακών αλληλεπιδράσεων. Τυχόν υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις μεταξύ *trans* μορίων του NMF και μορίων του διαλύτη δε δύνανται να επηρεάσουν την ευκινησία του αμιδίου. Στο Σχήμα 54 που ακολουθεί παρατίθενται προσεγγιστικά οι πιθανές διαμοριακές αλληλεπιδράσεις στο σύστημα NMF-κυκλοεξάνιο.

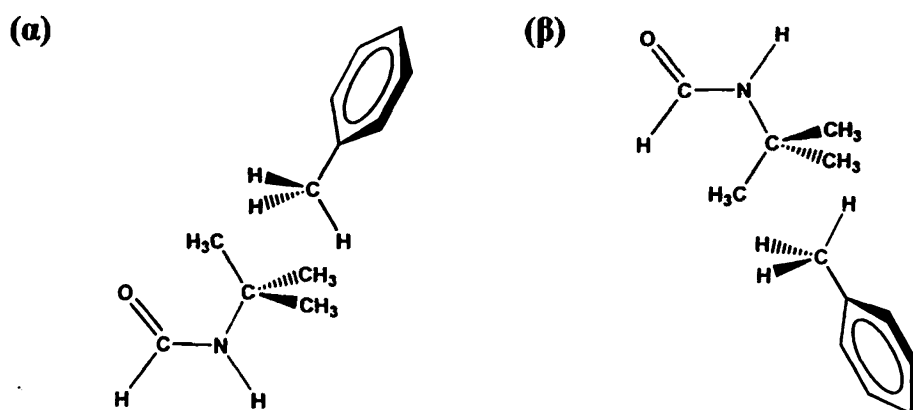


Σχ. 54. Πιθανή διευσθέτηση μορίων του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου σε διαλύτη κυκλοεξάνιο. Εκτιμώντας τις μεταβολές στις τιμές ενθαλπίας και εντροπίας και δεδομένης της φύσης του διαλύτη, υπάρχει το ενδεχόμενο (α) σχηματισμού γραμμικών πολυμερών αλυσίδων μεταξύ κυρίως *trans* ισομερών του αμιδίου (β) σχηματισμού κυκλικών διμερών μεταξύ *cis* ισομερών του αμιδίου και (γ)-(δ) αλληλεπίδρασης του διαλύτη με την αμιδική μεθυλομάδα του *trans* και του *cis* ισομερούς αντίστοιχα.



Σε διάλυμα βενζολίου το *trans* ισομερές του TBF, όπως και στην περίπτωση του NMF, ευνοείται σημαντικά ενθαλπικά ($\Delta H^\circ = -5,23 \text{ kJ mol}^{-1}$), ενώ δεν ευνοείται εντροπικά, όπως προκύπτει από μία μικρή ελάττωση στην τιμή της εντροπίας ($T\Delta S^\circ (298\text{K}) = -2,52 \text{ kJ mol}^{-1}$). Στην περίπτωση αυτή, ο αρωματικός δακτύλιος του διαλύτη θα πρέπει να διευθετείται σε τέτοια θέση σε σχέση με τα μόρια του αμιδίου ώστε να ευνοείται ο σχηματισμός σταθερών π-συμπλόκων, γεγονός που τεκμηριώνεται και από μελέτες σχετικές με το σχηματισμό δεσμών υδρογόνου του τύπου $\text{N-H}\cdots\pi$ μεταξύ του TBF και αρωματικών συστημάτων (Nikolić *et al.*, 1986).

Σε διάλυμα όμως τολουολίου, το *trans* ισομερές του TBF δεν ευνοείται ενθαλπικά ($\Delta H^\circ = 3,65 \text{ kJ mol}^{-1}$) ενώ παρατηρείται μία σημαντική αύξηση της εντροπίας ($T\Delta S^\circ (298\text{K}) = 5,25 \text{ kJ mol}^{-1}$). Στην περίπτωση αυτή, αντίθετα με ό,τι συμβαίνει στο διάλυμα βενζολίου, δεν θα πρέπει να ευνοείται ο σχηματισμός σταθερών π-συμπλόκων. Απεναντίας, είναι πιθανόν, λόγω στερεοχημικής παρεμπόδισης, να ενισχύεται η κινητικότητα των μορίων στο διάλυμα, με επικρατέστερη την αλληλεπίδραση της μεθυλομάδας του τολουολίου με την ογκώδη *tert*-βουτυλομάδα του αζώτου του αμιδικού δεσμού. Η πιθανότητα αυτή δίνεται κατά προσέγγιση στο Σχήμα 55 που ακολουθεί:



Σχ. 55. Πιθανή αλληλεπίδραση της μεθυλομάδας του τολουολίου με την ογκώδη *tert*-βουτυλομάδα του αζώτου του αμιδικού δεσμού και των δύο ισομερών (α) *trans* και (β) *cis* του *N-tert*-βουτυλοφορμαμιδίου.

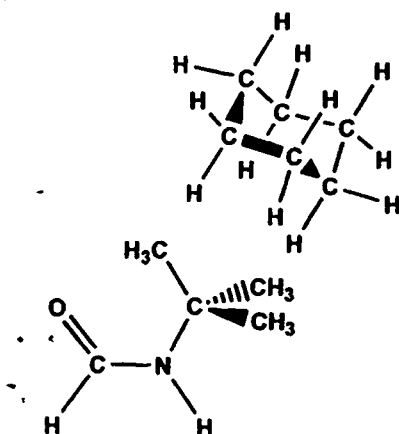
Ιδιαίτερο ενδιαφέρον, τέλος, παρουσιάζει η περίπτωση του TBF σε διάλυμα κυκλοεξανίου και εξανίου. Τόσο στο κυκλοεξάνιο όσο και στο εξάνιο που είναι



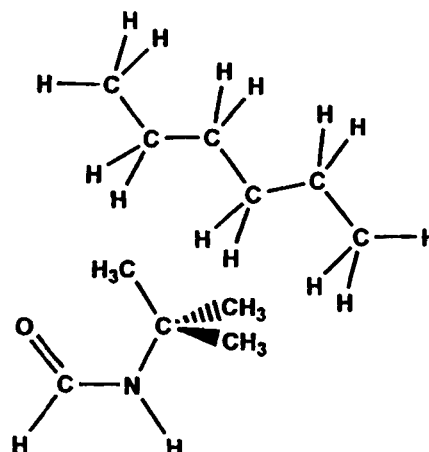
διαλύτες με εξαιρετικά χαμηλή διηλεκτρική σταθερά, προσδίδοντας στο περιβάλλον του αμιδίου υδρόφοβες ιδιότητες, το *trans* ισομερές του TBF δείχνει να ευνοείται ισχυρά εντροπικά ($T\Delta S^\circ(298K) = 17,25 \text{ kJ mol}^{-1}$ και $T\Delta S^\circ(298K) = 15,45 \text{ kJ mol}^{-1}$ για το κυκλοεξάνιο και για το κανονικό εξάνιο, αντίστοιχα). Στο εντροπικό αυτό όφελος δρα αντίρροπα ο παράγοντας της ενθαλπίας με τελικό αποτέλεσμα μία πολύ μικρή διαφοροποίηση στην ελεύθερη ενέργεια Gibbs. Η μεταβολή στην τιμή της ενθαλπίας ($\Delta H^\circ = 15,54 \text{ kJ mol}^{-1}$ και $\Delta H^\circ = 14,30 \text{ kJ mol}^{-1}$ για το κυκλοεξάνιο και για το κανονικό εξάνιο, αντίστοιχα) από ό,τι φαίνεται, δεν ευνοεί τη δημιουργία δεσμών. Τα συμπεράσματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με βιβλιογραφικά δεδομένα που αναφέρουν ότι σε θερμοκρασία περιβάλλοντος οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις ευνοούνται εντροπικά (Calderone *et al.*, 2001). Η διαφοροποίηση αυτή στην ενθαλπία του TBF από το NMF ενδεχομένως να οφείλεται στο γεγονός ότι ο *N*-αλκυλοϋποκαταστάτης στην περίπτωση του NMF δεν επιφέρει καμία στερεοχημική παρεμπόδιση στο σύστημα ευνοώντας με μεγαλύτερο βαθμό το σχηματισμό πολυμερών (γραμμικών ή κυκλικών) από ότι στην περίπτωση του ογκώδους *N*-αλκυλοϋποκαταστάτη του TBF. Θερμοδυναμικές μελέτες σε συστήματα αμιδίων και αμινών σε κυκλοεξάνιο (Spector *et al.*, 1998) έδειξαν πως όσο περισσότερο μεθυλιωμένο είναι ένα μόριο τόσο πιο διαλυτό είναι στο κυκλοεξάνιο, λόγω ανάπτυξης ισχυρών δυνάμεων London, δικαιολογώντας τις έντονες διαφοροποιήσεις στις τιμές ΔH° και ΔS° μεταξύ NMF και TBF. Αυτού του τύπου οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ του TBF και μορίων του εξανίου ή του κυκλοεξανίου παριστάνονται προσεγγιστικά στο Σχήμα 56.



(α)



(β)



Σχ. 56. Διευθέτηση μορίων του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου σε διαλύτη (α) κυκλοεξάνιο και (β) κανονικό εξάνιο. Με βάση τις μεταβολές στις τιμές ενθαλπίας και εντροπίας υπάρχει πιθανότητα αλληλεπίδρασης του διαλύτη με την *tert*-βουτυλομάδα του αζώτου του αμιδικού δεσμού μέσω αναπτυσσόμενων δυνάμεων London.

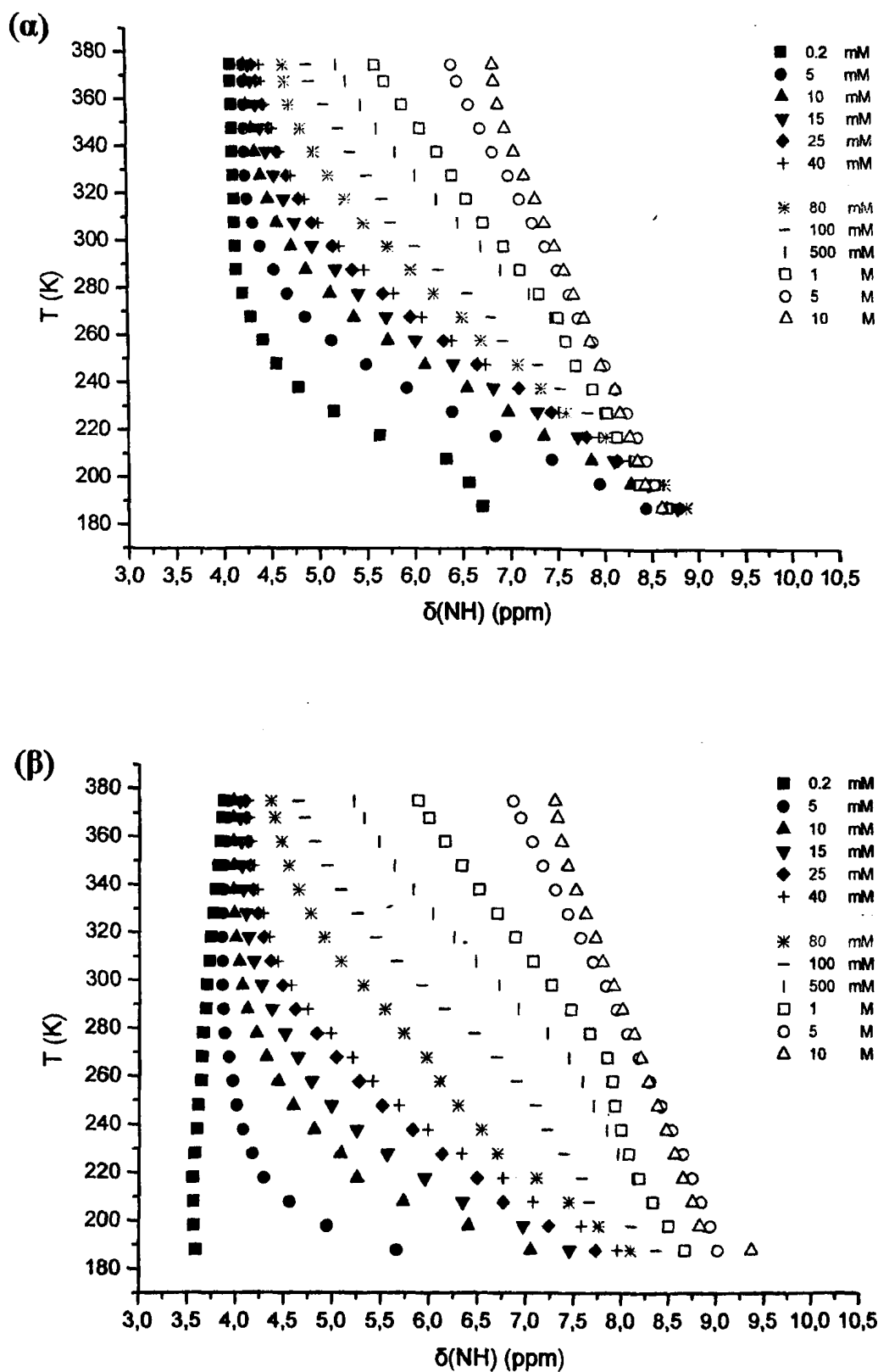
Στην περίπτωση όπου η συγκέντρωση του αμιδίου είναι μόλις 0,25 mM, η πιθανότητα σχηματισμού διμερών ή πολυμερών αλυσίδων θα πρέπει να θεωρηθεί αμελητέα. Παρ' όλα αυτά, όπως θα φανεί στη συνέχεια κατά τη μελέτη της χημικής μετατόπισης του πρωτονίου NH του TBF σε διάλυμα κυκλοεξανίου, η εμφάνιση διαμοριακών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των *cis* ισομερών του αμιδίου είναι έκδηλη από πολύ μικρές συγκεντρώσεις, όπως αυτή των 5 mM.

6.3.3.2. ΕΞΑΡΤΗΣΗ ΤΩΝ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΕΩΝ -NH ΑΠΟ ΤΗ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ, ΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΚΑΙ ΤΟ ΔΙΑΛΥΤΗ

Στα Διαγράμματα που ακολουθούν φαίνεται η εξάρτηση χημικών μετατοπίσεων του πρωτονίου της ομάδας NH του *cis* και του *trans* ισομερούς των πρότυπων μοντέλων πεπτιδίων NMF και TBF από τη θερμοκρασία, το διαλύτη και τη συγκέντρωση του αμιδίου στο διάλυμα.

Στα Διαγράμματα 25 (α) και 25 (β) που ακολουθούν όπως και στους Πίνακες Π-49 και Π-50 του Παραρτήματος, παρατίθενται τα δεδομένα των χημικών μετατοπίσεων του αμιδικού πρωτονίου -NH του *cis* και του *trans* ισομερούς του NMF σε διαλύτη τολουόλιο.



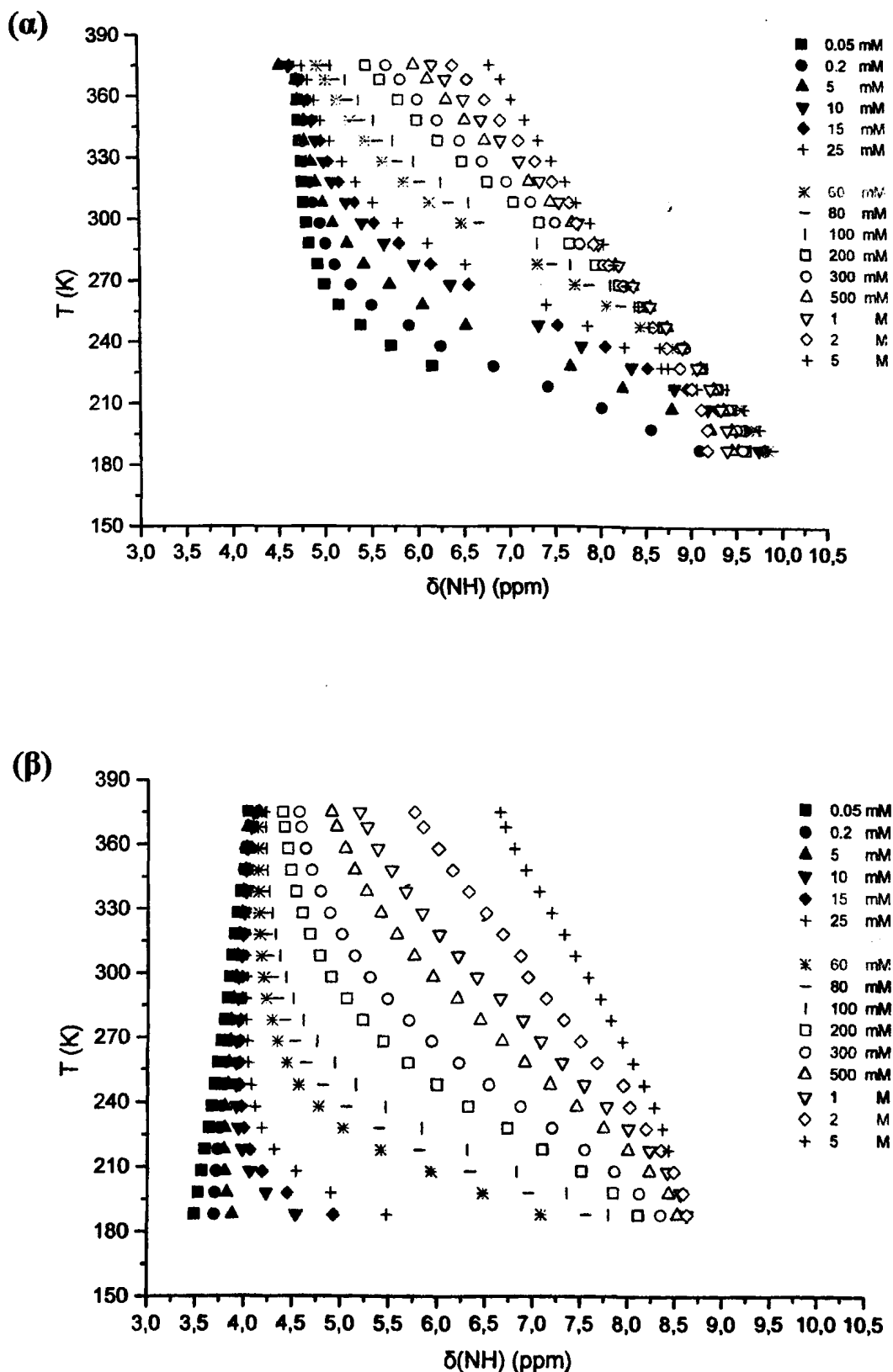


Διάγραμμα 25. Χημικές μετατοπίσεις του αμιδικού πρωτονίου NH ($\delta(\text{NH})$ σε ppm, (α) του *cis* και (β) του *trans* ισομερούς του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF) ως συνάρτηση της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του αμιδίου, σε διαλύτη τολουόλιο.

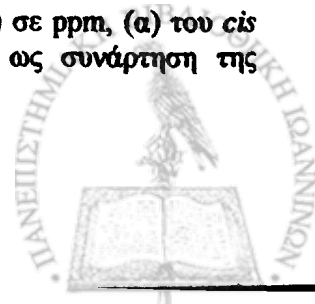


Στα Διαγράμματα 26 (α) και 26 (β) που ακολουθούν όπως και στους Πίνακες Π-51 και Π-52 του Παραρτήματος, παρατίθενται τα πειραματικά δεδομένα των χημικών μετατοπίσεων του αμιδικού πρωτονίου -NH του *cis* και του *trans* ισομερούς του TBF σε διαλύτη τολουόλιο.





Διάγραμμα 26. Χημικές μετατοπίσεις του αμιδικού πρωτονίου NH ($\delta(\text{NH})$) σε ppm, (α) του *cis* και (β) του *trans* ισομερούς του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF) ως συνάρτηση της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του αμιδίου, σε διαλύτη τολουόλιο.



Σε σχέση με το ακετονιτρίλιο και το χλωροφόρμιο που εξετάστηκαν στην προηγούμενη ενότητα, στην περίπτωση των διαλυμάτων τολουολίου τόσο του NMF όσο και του TBF παρατηρούνται δραματικές αλλαγές. Όπως προέκυψε από τη μέχρι τώρα ανάλυση των αποτελεσμάτων, στο συγκεκριμένο διαλύτη ευνοείται ο σχηματισμός διμερών και πολυμερών μεταξύ μορίων του αμιδίου από πολύ μικρές συγκεντρώσεις κάτι που φαίνεται από την ισχυρή αποπροστασία που αρχίζει να παρουσιάζει το πρωτόνιο NH και στα δύο ισομερή των αμιδίων NMF και TBF, ήδη από τη συγκέντρωση των 10 mM σε θερμοκρασία 300K. Εμφανής και στα δύο αμίδια είναι η πολύ μεγαλύτερη επίδραση της μεταβολής της συγκέντρωσης στο *cis* ισομερές σε σχέση με το *trans* στις χαμηλότερες συγκεντρώσεις. Οι διαφορές αυτές θα μπορούσαν να αποδοθούν στην μεγαλύτερη δυνατότητα που έχει το *cis* ισομερές να αλληλεπιδρά με άλλα *cis* μόρια του αμιδίου σχηματίζοντας εκτός από πολυμερείς αλυσίδες και σταθερά κυκλικά διμερή. Τη δυνατότητα αυτή δεν την έχουν τα *trans* ισομερή. Επίσης, με τη μείωση της θερμοκρασίας και μάλιστα σε συνδυασμό με την αύξηση της συγκέντρωσης παρατηρείται μία περαιτέρω ενίσχυση της αποπροστασίας του αμιδικού πρωτονίου. Αυτό το φαινόμενο θα πρέπει να αποδοθεί, όπως και στις προηγούμενες περιπτώσεις που εξετάστηκαν, σε μείωση της κινητικότητας του συστήματος αμιδίου-διαλύτη με επακόλουθη την ισχυροποίηση των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων μέσω δεσμών υδρογόνου.

Στον Πίνακα 26 και στα Διαγράμματα του Σχήματος 57 που ακολουθούν, παρουσιάζεται η εξάρτηση της χημικής μετατόπισης του αμιδικού πρωτονίου του *cis* και του *trans* ισομερούς του NMF από τη θερμοκρασία, σε όλο το εύρος των μελετηθέντων συγκεντρώσεων του αμιδίου. Οι τιμές της παραμέτρου $\Delta(\delta)/\Delta(T)$ επιβεβαιώνουν απόλυτα τα συμπεράσματα της συζήτησης που προηγήθηκε.

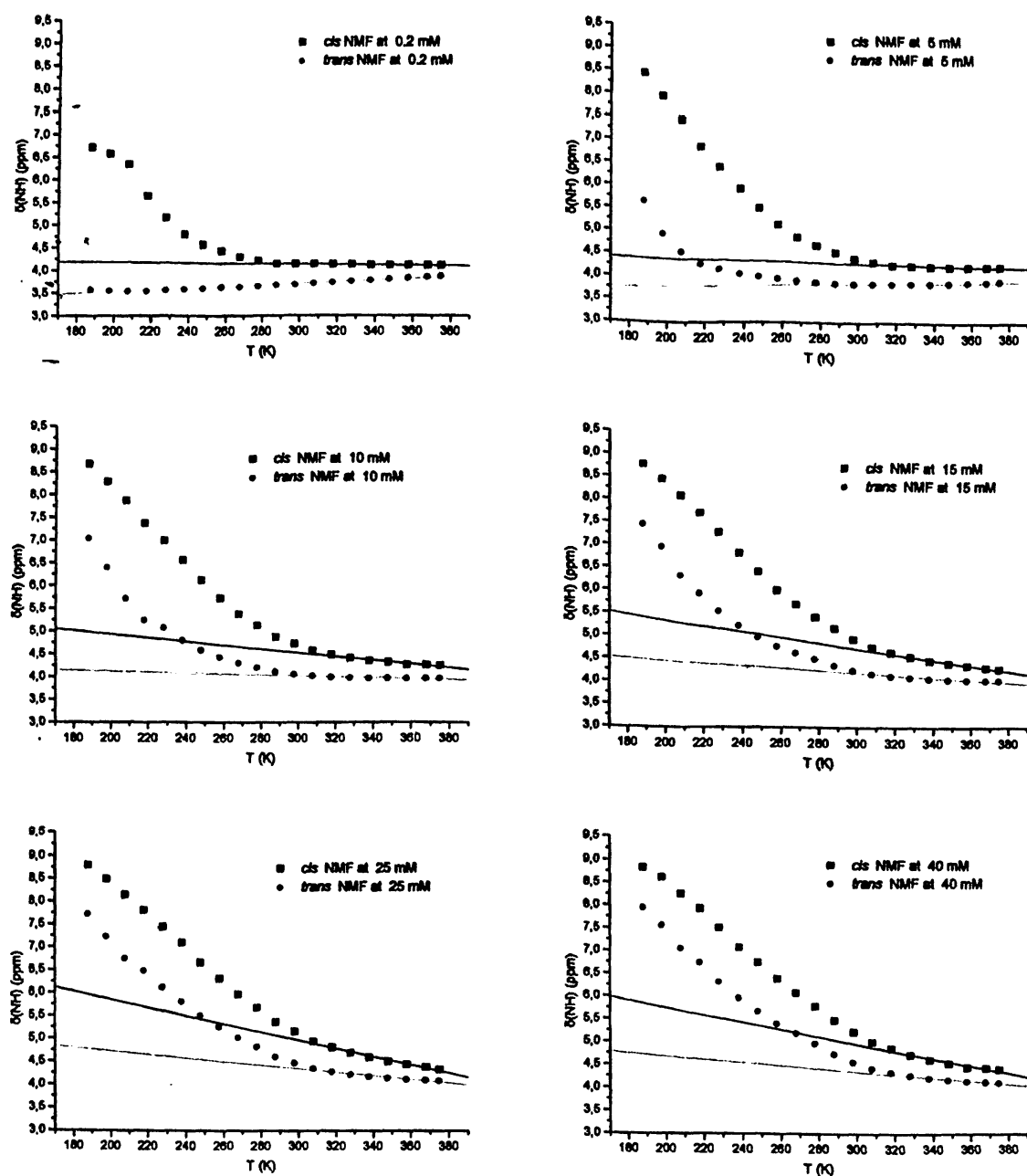
Θα πρέπει να σημειωθεί ότι οι τιμές παραμέτρου $\Delta(\delta)/\Delta(T)$ για τις συγκεντρώσεις από 0,2 έως 60 mM υπολογίστηκαν για το θερμοκρασιακό εύρος 300-375K. Σε θερμοκρασίες μικρότερες των 300K η εξάρτηση της χημικής μετατόπισης NH από τη θερμοκρασία φαίνεται να αυξάνει δραματικά. Αυτό είναι αναμενόμενο λόγω της ισχυροποίησης των δεσμών υδρογόνου μεταξύ των μορίων του συστήματος που επιφέρει η μείωση της θερμοκρασίας.



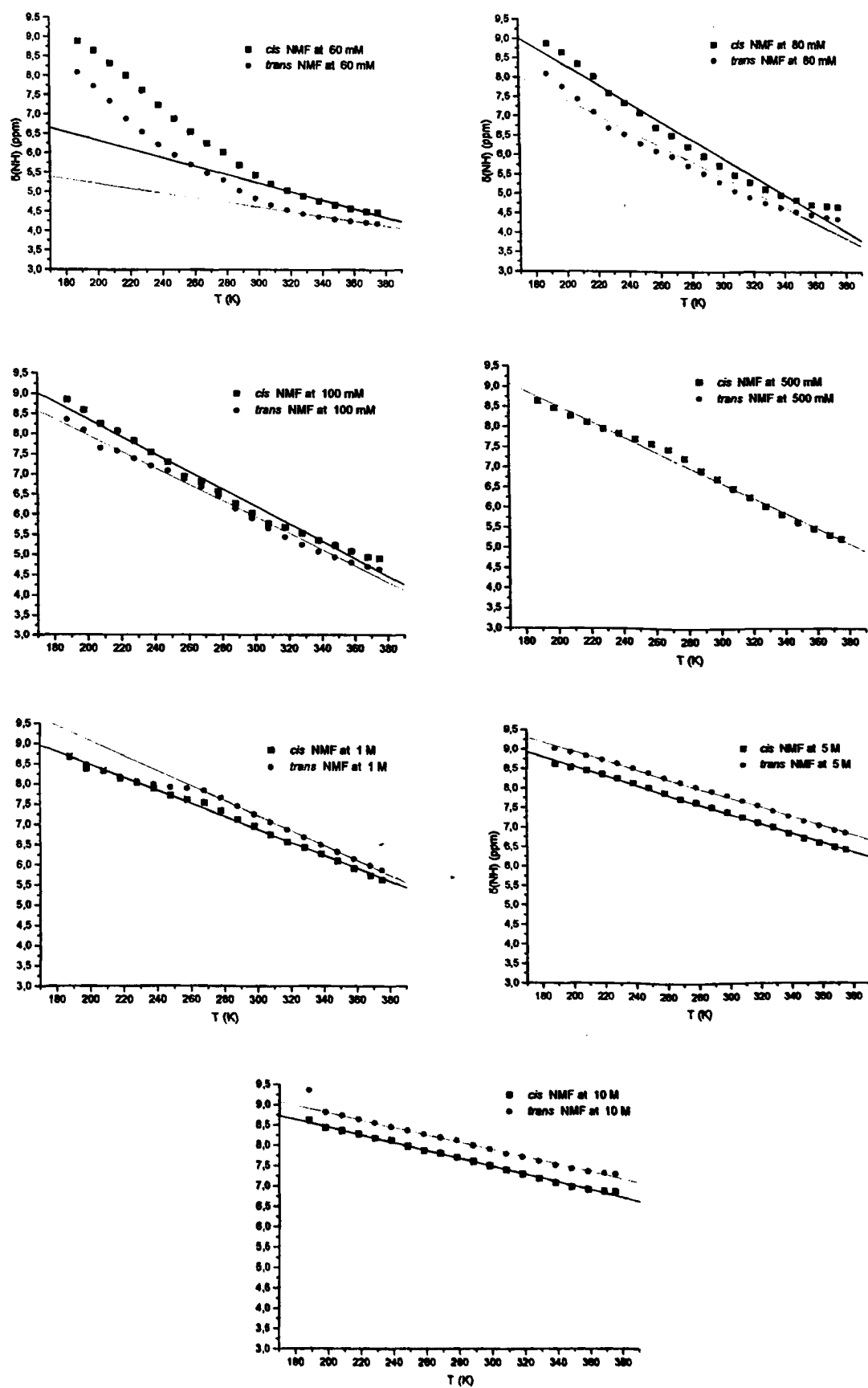
Πίνακας 26. Εξάρτηση της παραμέτρου $\Delta(\delta)/\Delta(T)$ από τη μεταβολή της συγκέντρωσης του *cis* και του *trans* ισομερούς του NMF σε τολουόλιο.

Συγκέντρωση	Cis Ισομερές	Trans Ισομερές
	$\Delta\delta/\Delta T$ (ppb/K)	$\Delta\delta/\Delta T$ (ppb/K)
0,2 mM	-0,43±0,01	1,76±0,09
5 mM	-0,95±0,35	0,67±0,15
10 mM	-4,08±0,48	-1,01±0,26
15 mM	-6,14±0,45	-2,59±0,41
25 mM	-8,91±0,58	-3,88±0,43
40 mM	-7,93±0,86	-3,36±0,34
60 mM	-10,96±0,75	-6,02±0,51
80 mM	-23,66±0,95	-19,76±0,86
100 mM	-21,64±0,65	-20,30±0,44
500 mM	-18,93±0,39	-18,93±0,39
1 M	-16,04±0,24	-18,53±0,17
5 M	-12,17±0,14	-11,85±0,13
10 M	-9,59±0,14	-9,05±0,12





Σχ. 57. Εξάρτηση της παραμέτρου $\Delta(\delta)/\Delta(T)$ από τη μεταβολή της συγκέντρωσης του *cis* και του *trans* ισομερούς του NMF σε τολουόλιο.



Σχ. 57 (συνέχεια). Εξάρτηση της παραμέτρου $\Delta(\delta)/\Delta(T)$ από τη μεταβολή της συγκέντρωσης του *cis* και του *trans* ισομερούς του NMF σε τολουόλιο.

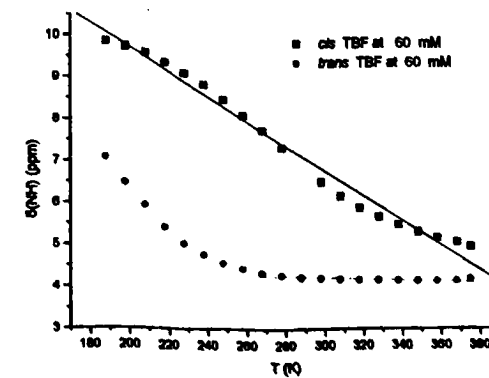
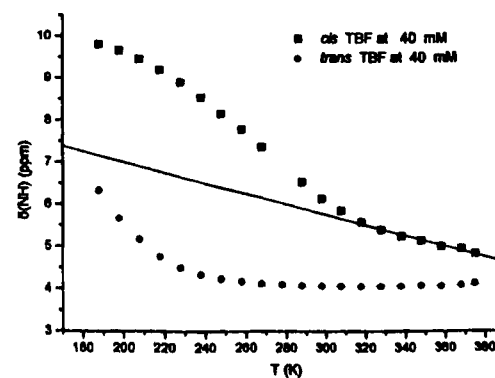
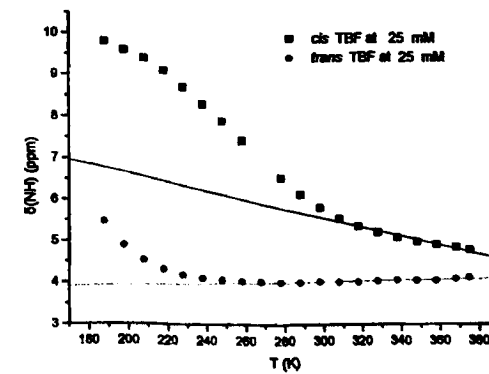
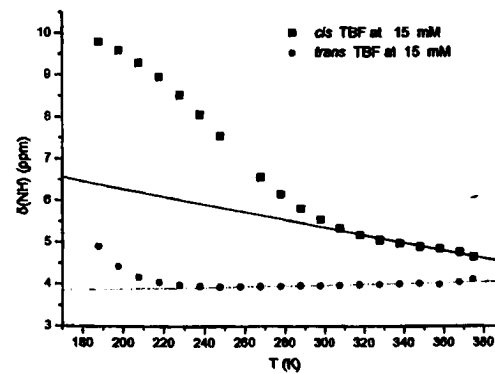
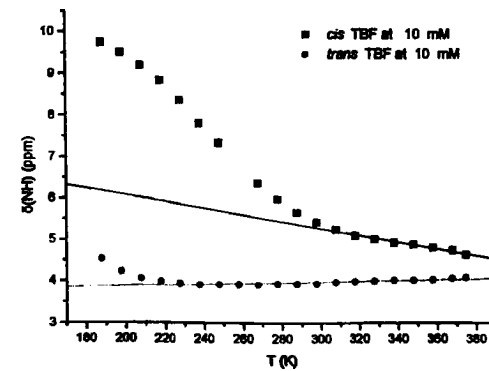
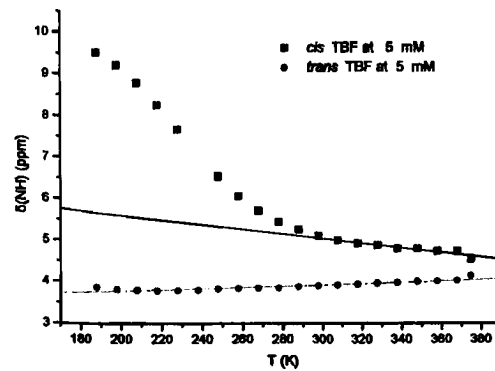
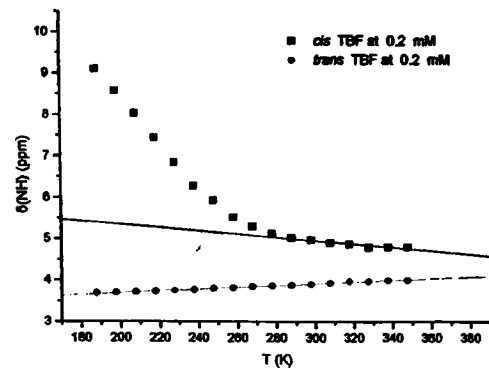
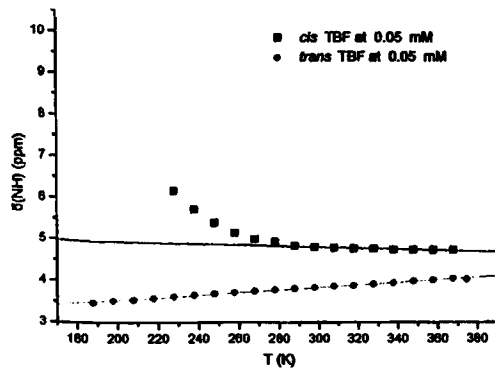


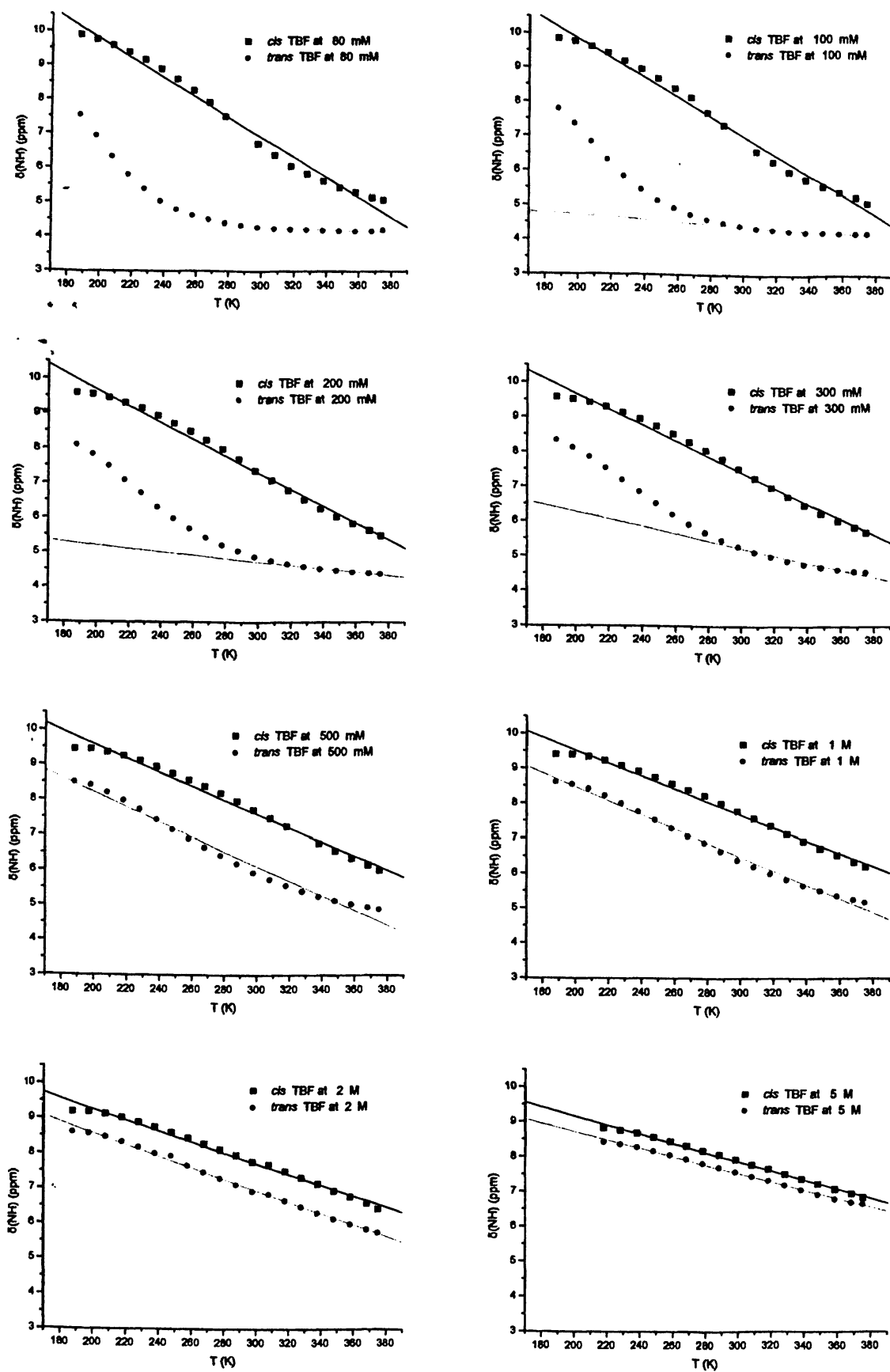
Στον Πίνακα 27 και στα Διαγράμματα του Σχήματος 58 που ακολουθούν, παρουσιάζεται, όπως και στην περίπτωση του NMF, η εξάρτηση της χημικής μετατόπισης του αμιδικού πρωτονίου του *cis* και του *trans* ισομερούς του TBF από τη θερμοκρασία, σε όλο το εύρος των μελετηθέντων συγκεντρώσεων του αμιδίου. Οι μεταβολές στις τιμές της παραμέτρου $\Delta(\delta)/\Delta(T)$ επιβεβαιώνουν για άλλη μία φορά την ύπαρξη ισχυρών διαμοριακών αλληλεπιδράσεων από πολύ μικρές συγκεντρώσεις.

Πίνακας 27. Εξάρτηση της παραμέτρου $\Delta(\delta)/\Delta(T)$ από τη μεταβολή της συγκέντρωσης του *cis* και του *trans* ισομερούς του TBF σε τολουόλιο.

Συγκέντρωση	<i>Cis</i> Ισομερές $\Delta\delta/\Delta T$ (ppb/K)	<i>Trans</i> Ισομερές $\Delta\delta/\Delta T$ (ppb/K)
0,05 mM	-1,28±0,14	3,07±0,05
0,2 mM	-3,99±0,60	2,12±0,05
5 mM	-5,56±0,72	1,50±0,16
10 mM	-8,12±0,49	0,90±0,15
15 mM	-9,25±0,58	0,91±0,15
25 mM	-10,79±0,83	0,87±0,17
40 mM	-12,51±0,68	0,36±0,21
60 mM	-29,57±0,92	-1,47±0,33
80 mM	-29,02±0,82	-1,65±0,34
100 mM	-28,19±0,72	-3,15±0,40
200 mM	-24,09±0,58	-4,84±0,40
300 mM	-22,38±0,54	-10,34±0,79
500 mM	-19,92±0,56	-21,03±0,66
1 M	-18,41±0,48	-19,92±0,37
2 M	-15,46±0,37	-16,32±0,24
5 M	-13,11±0,21	-12,01±0,16





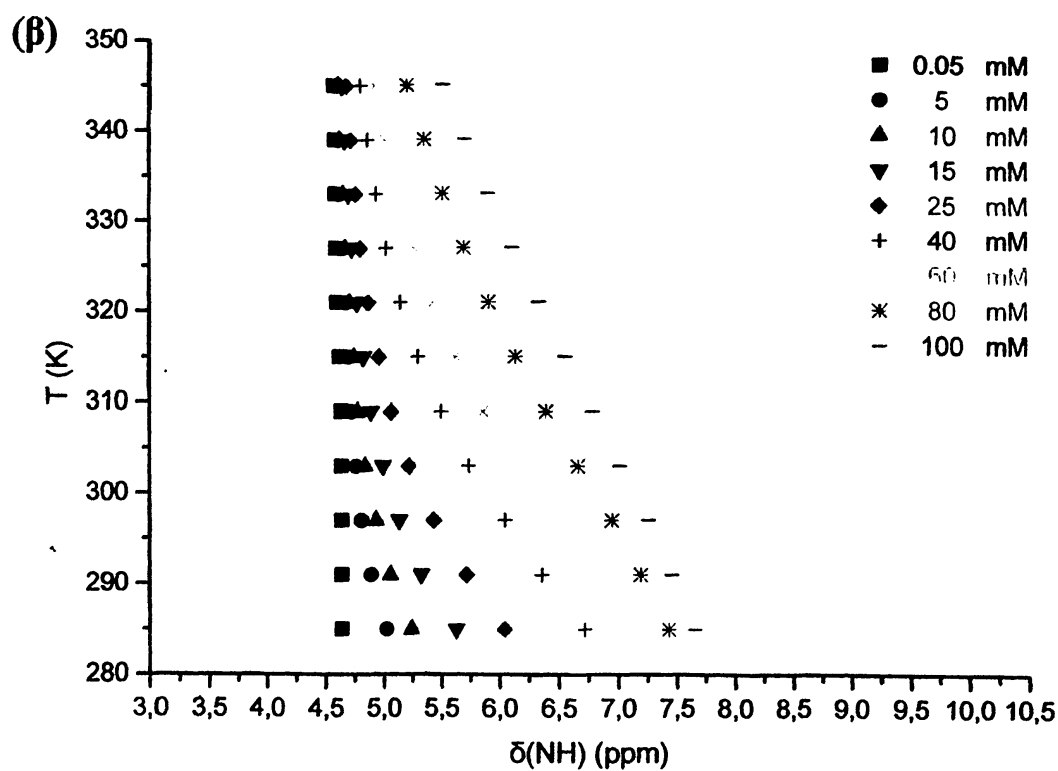
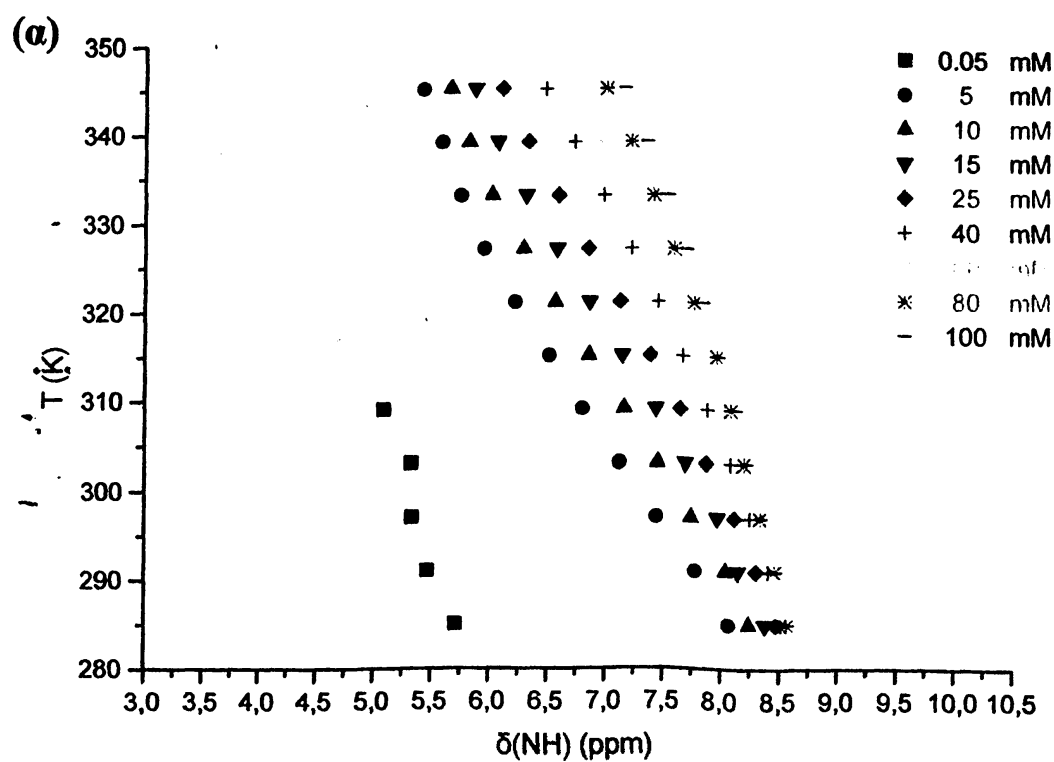


Σχ. 58 (συνέχεια). Εξάρτηση της παραμέτρου $\Delta(\delta)/\Delta(T)$ από τη μεταβολή της συγκέντρωσης του *cis* και του *trans* ισομερούς του TBF σε τολουόλιο.

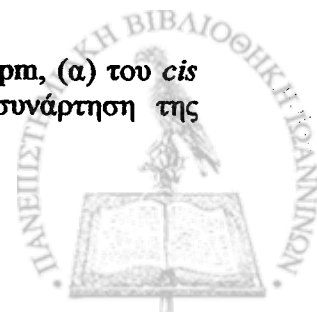


Στα Διαγράμματα 27 (α) και 27 (β) που ακολουθούν όπως και στους Πίνακες Π-53 και Π-54 του Παραρτήματος, παρατίθενται τα πειραματικά δεδομένα των χημικών μετατοπίσεων -NH του *cis* και του *trans* ισομερούς του TBF σε διαλύτη κυκλοεξάνιο.





Διάγραμμα 27. Χημικές μετατοπίσεις του αμιδικού πρωτονίου NH ($\delta(NH)$) σε ppm, (α) του *cis* και (β) του *trans* ισομερούς του *N-tert*-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF) ως συνάρτηση της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του αμιδίου, σε διαλύτη κυκλοεξάνιο.

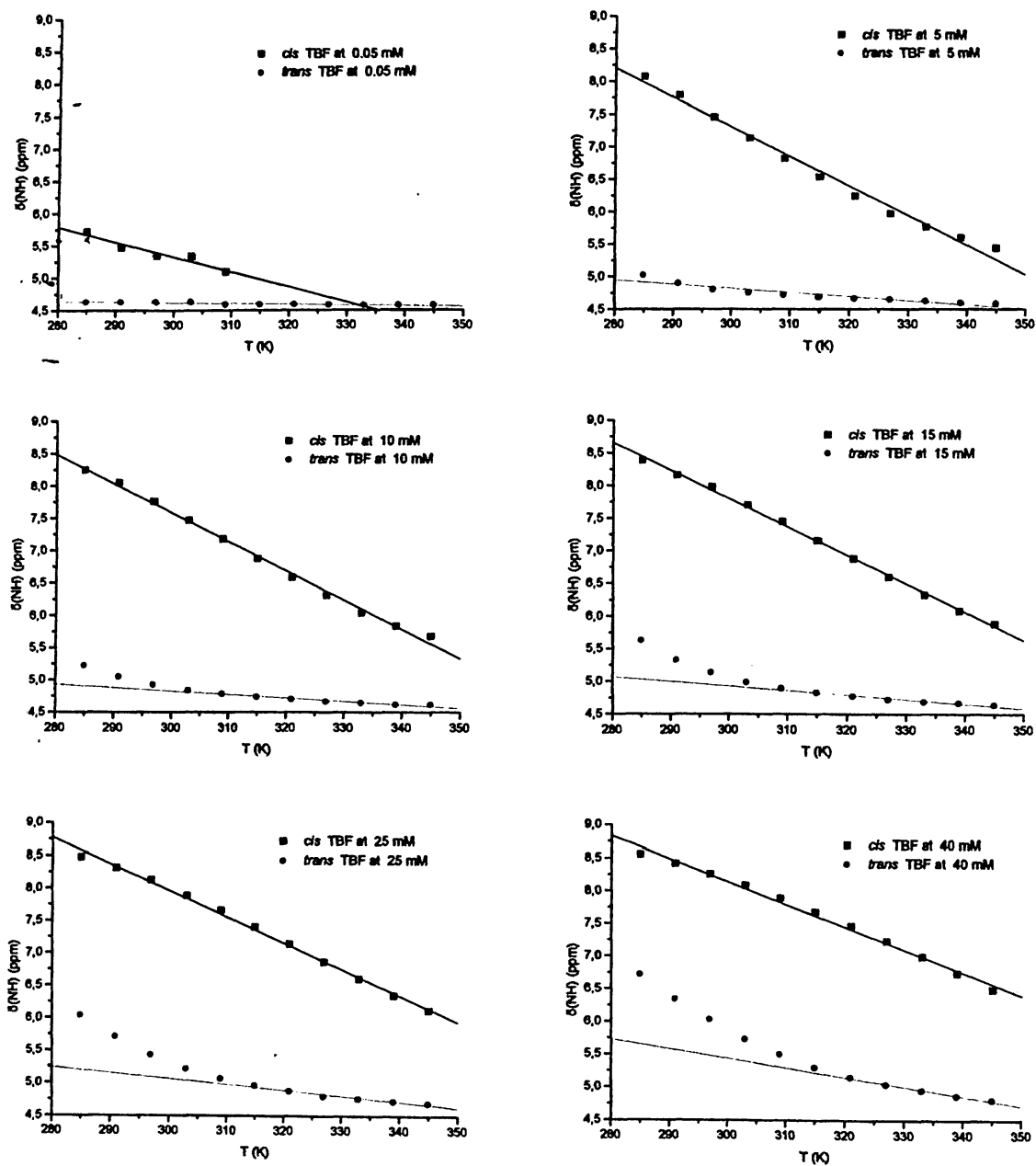


Οι χημικές μετατοπίσεις του αμιδικού πρωτονίου του TBF σε διάλυμα κυκλοεξανίου παρουσιάζουν την ίδια εικόνα με την περίπτωση του τολουολίου. Αυτό ενισχύει την άποψη ότι σε μη πολικούς διαλύτες ευνοείται έντονα ο σχηματισμός κυρίως κυκλικών διμερών μεταξύ *cis* ισομερών του αμιδίου αλλά και γραμμικών πολυμερών αλυσίδων. Οι διαμοριακές αυτές αλληλεπιδράσεις λαμβάνουν χώρα από πολύ μικρές συγκεντρώσεις του αμιδίου και ισχυροποιούνται με τη μείωση της θερμοκρασίας. Οι υψηλές τιμές της εξάρτησης της χημικής μετατόπισης από τη θερμοκρασία σε όλες τις συγκεντρώσεις του αμιδίου συνάδουν στο ίδιο συμπέρασμα περί πολύ ισχυρών διαμοριακών αλληλεπιδράσεων. Σχετικά δεδομένα παρατίθενται στον Πίνακα 28 και στα Διαγράμματα του Σχήματος 59 που ακολουθούν

Πίνακας 28. Εξάρτηση της παραμέτρου $\Delta(\delta)/\Delta(T)$ από τη μεταβολή της συγκέντρωσης του *cis* και του *trans* ισομερούς του TBF σε κυκλοεξάνιο.

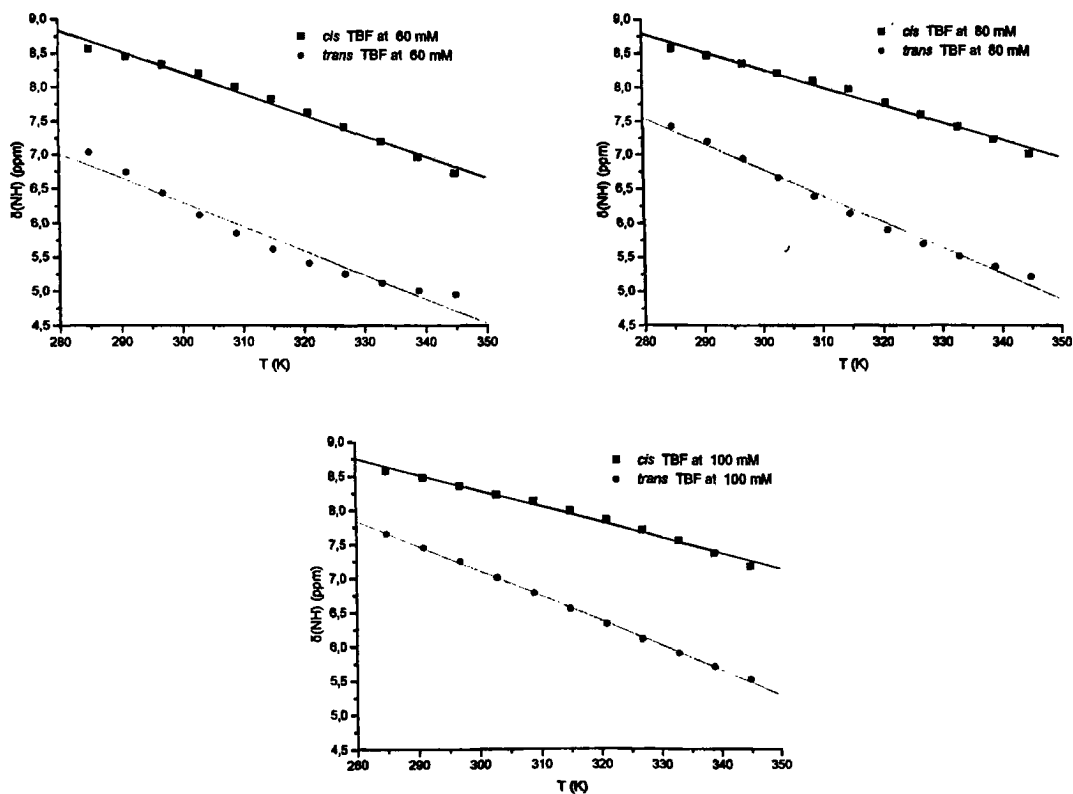
Συγκέντρωση	Cis Ισομερές	Trans Ισομερές
	$\Delta\delta/\Delta T$ (ppb/K)	$\Delta\delta/\Delta T$ (ppb/K)
0,05 mM	-23,14 $\pm$ 3,67	-1,18 $\pm$ 0,15
5 mM	-45,33 $\pm$ 1,60	-6,36 $\pm$ 0,81
10 mM	-45,18 $\pm$ 0,93	-5,39 $\pm$ 0,49
15 mM	-43,24 $\pm$ 0,64	-6,92 $\pm$ 0,65
25 mM	-40,58 $\pm$ 0,77	-8,90 $\pm$ 0,96
40 mM	-34,79 $\pm$ 1,00	-14,47 $\pm$ 0,87
60 mM	-30,99 $\pm$ 1,14	-35,49 $\pm$ 2,38
80 mM	-25,77 $\pm$ 0,96	-38,11 $\pm$ 1,24
100 mM	-22,96 $\pm$ 0,74	-36,38 $\pm$ 0,35





Σχ. 59. Εξάρτηση της παραμέτρου $\Delta(\delta)/\Delta(T)$ από τη μεταβολή της συγκέντρωσης του *cis* και του *trans* ισομερών του TBF σε κυκλοεξάνιο.





Σχ. 59 (συνέχεια). Εξάρτηση της παραμέτρου $\Delta\delta/\Delta(T)$ από τη μεταβολή της συγκέντρωσης του *cis* και του *trans* ισομερούς του TBF σε κυκλοεξάνιο.

6.4. ΜΕΛΕΤΕΣ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ ΣΕ ΜΗ ΠΟΛΙΚΟΥΣ ΔΙΑΛΥΤΕΣ - ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΔΙΑΜΟΡΙΑΚΩΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ

Ακολούθως, γίνεται συζήτηση των φασμάτων υπερύθρου του NMF σε διάλυμα τολουολίου και του TBF σε διάλυμα τολουολίου και κυκλοεξανίου, προκειμένου να προκύψουν συμπληρωματικές πληροφορίες που να αποσαφηνίζουν τις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις σ' αυτούς τους μη πολικούς διαλύτες.

Στους Πίνακες που ακολουθούν παρατίθενται οι χαρακτηριστικές ταινίες απορρόφησης των FT-IR φασμάτων των αμιδίων ανά διαλύτη και συγκέντρωση διαλύματος. Οι Πίνακες συνοδεύονται με τα αντίστοιχα φάσματα υπερύθρου.

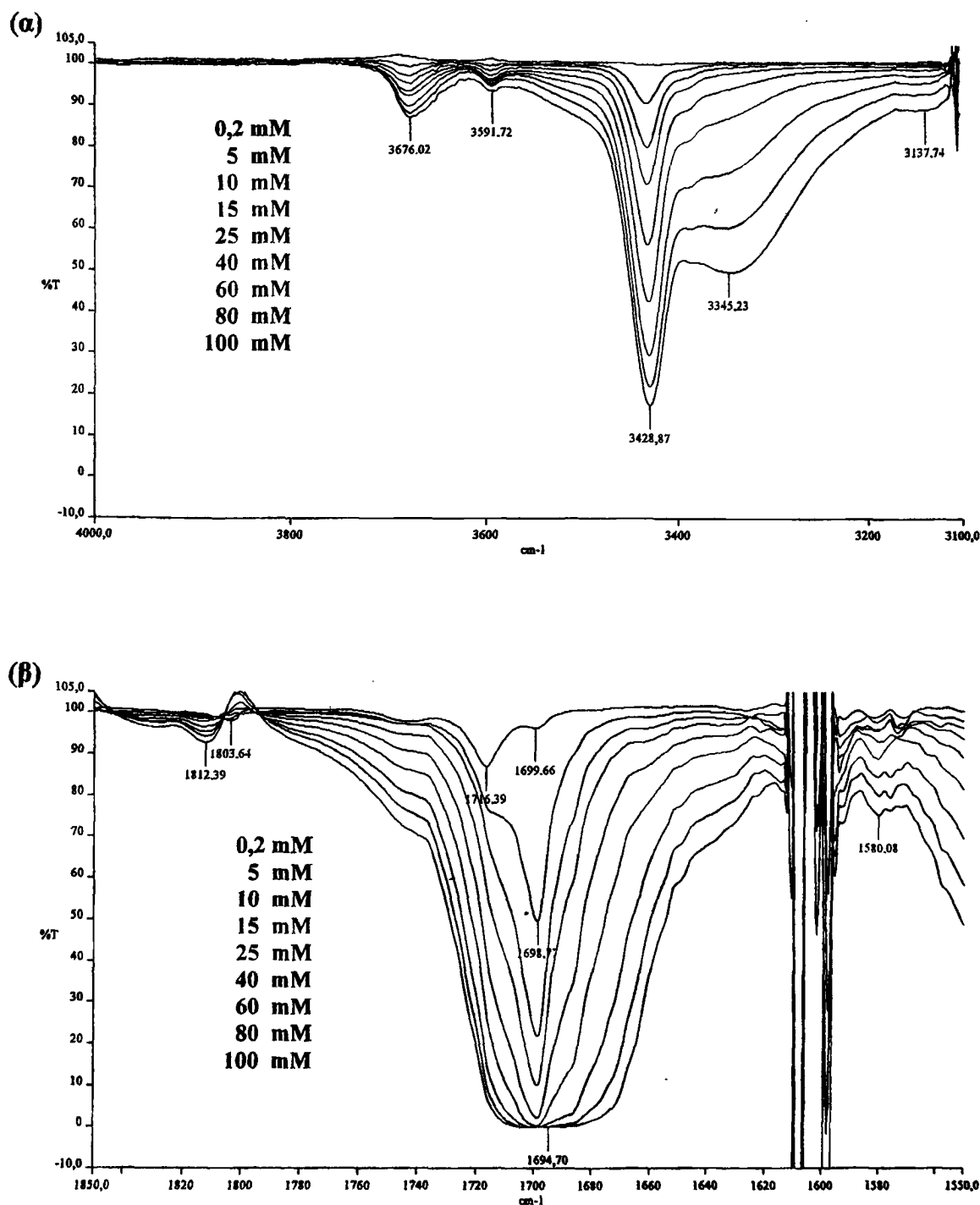
6.4.1. ΜΕΛΕΤΕΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ NMF ΚΑΙ TBF ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΤΟΛΟΥΟΛΙΟΥ

Στον Πίνακα 29 και στα Σχήματα 60 (α) και 60 (β) παρατίθενται τα δεδομένα της φασματοσκοπίας υπερύθρου από μία σειρά πειραμάτων του NMF σε διάλυμα τολουολίου.

Πίνακας 29. Χαρακτηριστικές δονήσεις τάσεως (cm^{-1}) των FT-IR φασμάτων του N-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF) στην περιοχή απορρόφησης $4000\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$, σε διαλύτη τολουόλιο και συγκεντρώσεις από 5 έως 100 mM.

	Συγκέντρωση N-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF) (mM)							
	(Διαλύτης: Τολουόλιο)							
	5	10	15	25	40	60	80	100
Χαρακτηριστικές ταινίες απορρόφησης (cm^{-1})	3676	3676	3676	3676	3676	3676	3676	3676
	3592	3592	3592	3592	3592	3592	3592	3592
	3429	3429	3429	3429	3429	3429	3429	3429
	-	-	-	3345	3345	3345	3345	3345
				3138	3138	3138	3138	3138
	1716	-	-	-	-	-	-	-
	1699	1699	1699	1699	1699	1694	1694	1694





Σχ. 60. Φάσματα υπέρυθρου του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF) (α) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας NH και (β) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας C=O, σε διαλύτη τολουόλιο και συγκεντρώσεις από 5 έως 100 mM.

Το NMF σε διάλυμα τολουολίου παρουσιάζει στα φάσματα υπέρυθρου την αναμενόμενη, από τη συζήτηση που προηγήθηκε, εικόνα. Στην περιοχή των δονήσεων

τάσεως της ομάδας NH, η πολύ έντονη κορυφή στους 3429 cm^{-1} αποδίδεται στο ελεύθερο *trans* ισομερές του αμιδίου [Σχήμα 60 (α)]. Ελάχιστα πιο χαμηλά διακρίνεται ένας ώμος, ο οποίος, πιθανώς, θα μπορούσε να αποδοθεί στο ελεύθερο *cis* ισομερές. Η εικόνα αυτή είναι αναμενόμενη εξαιτίας του πολύ μικρού ποσοστού (8,8% σε θερμοκρασία 303K, βλ. Πίνακα 24, σελ. 169) της *cis* διαμόρφωσης στο διάλυμα.

Από τη συγκέντρωση των 25 mM αρχίζουν να διακρίνονται δύο πολύ ευρείες ταινίες γύρω στους 3345 και 3138 cm^{-1} , των οποίων η ένταση αυξάνει δραματικά με την αύξηση της συγκέντρωσης και οι οποίες αποδίδονται σε διαμοριακές αλληλεπιδράσεις μέσω σχηματισμού ισχυρών δεσμών υδρογόνου (δημιουργία πολυμερών αλυσίδων και ιδιαίτερα σταθερών κυκλικών διμερών, αντίστοιχα).

Στην περιοχή δονήσεων τάσεως της καρβονυλομάδας, σε πολύ χαμηλή συγκέντρωση (0,2 mM), παρατηρούνται, όπως και στα διαλύματα του NMF σε χλωροφόρμιο, δύο ταινίες στους 1716 cm^{-1} και στους 1699 cm^{-1} , από τις οποίες, η μεν πρώτη αποδίδεται πολύ πιθανά στο ελεύθερο *trans* ισομερές ενώ η δεύτερη θα μπορούσε να αποδοθεί στο ελεύθερο *cis* ισομερές [Σχήμα 60 (β)]. Με την αύξηση βέβαια της συγκέντρωσης παρατηρείται μία πολύ ευρεία και έντονη ταινία, η οποία, όπως και στις προηγούμενες περιπτώσεις, δύναται να περιλαμβάνει δονήσεις τάσεως ενός πλήθους μη αναγνωρίσιμων αλληλεπιδράσεων.

Στον Πίνακα 30 και στα Σχήματα 61 (α) και 61 (β) παρατίθενται τα δεδομένα της φασματοσκοπίας υπερύθρου από μία σειρά πειραμάτων του TBF σε διάλυμα τολουολίου.

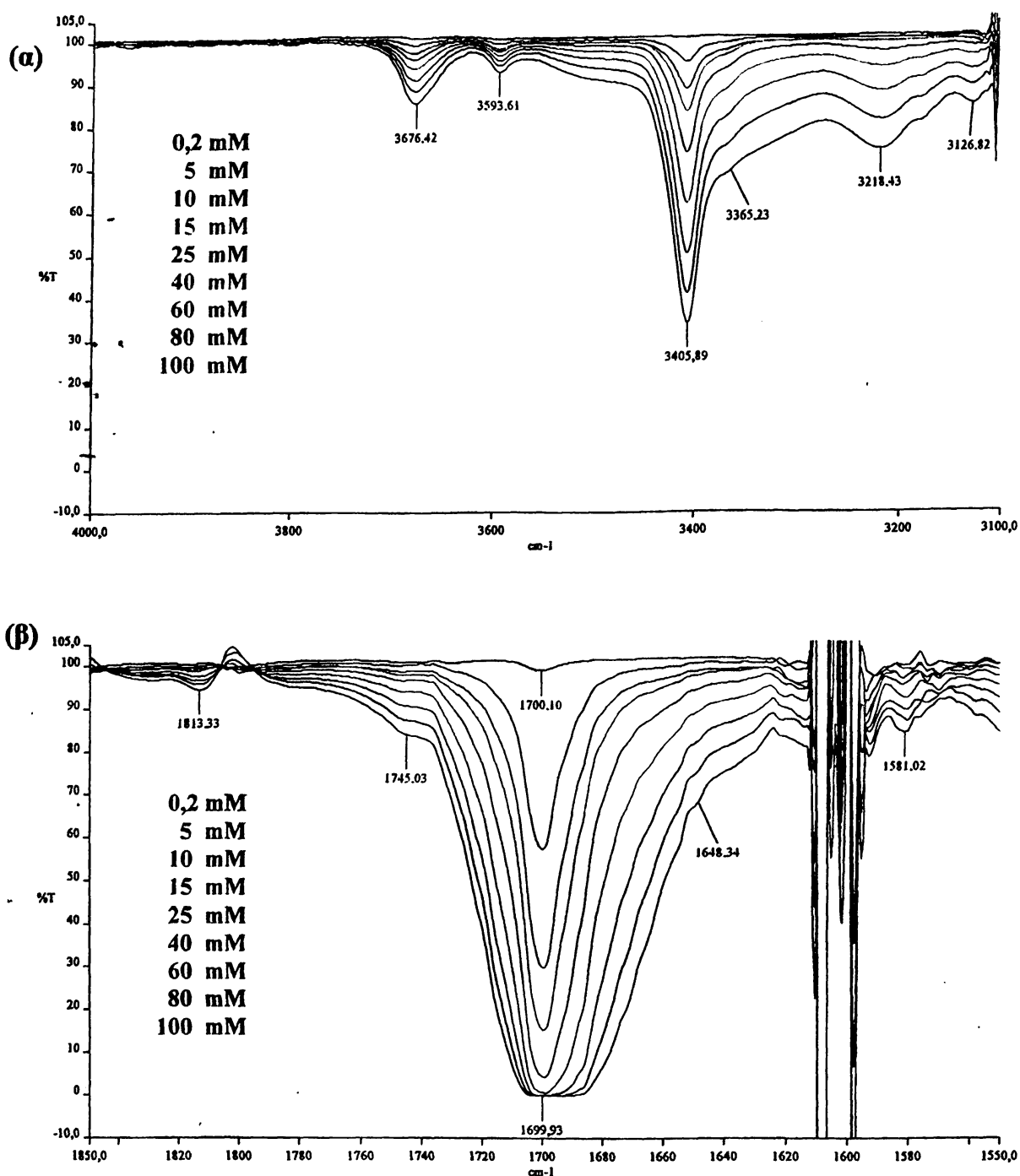


Πίνακας 30. Χαρακτηριστικές δονήσεις τάσεως (cm^{-1}) των FT-IR φασμάτων του *N-tert*-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF) στην περιοχή απορρόφησης $4000\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$, σε διαλύτη τολουόλιο και συγκεντρώσεις από 5 έως 100 mM.

		Συγκέντρωση <i>N-tert</i> -βουτυλοφορμαμιδίου (TBF) (mM)							
		(Διαλύτης: Τολουόλιο)							
		5	10	15	25	40	60	80	100
Χαρακτηριστικές ταινίες απορρόφησης (cm^{-1})		3676	3676	3676	3676	3676	3676	3676	3676
		3594	3594	3594	3594	3594	3594	3594	3594
		3406	3406	3406	3406	3406	3406	3406	3406
		3365sh	3365sh	3365sh	3365sh	3365sh	3365sh	3365sh	3365sh
		3218	3218	3218	3218	3218	3218	3218	3218
		-	-	-	1745	1745	1745	1745	1745
		1700	1700	1700	1700	1700	1700	1700	1700
		1648sh	1648sh	1648sh	1648sh	1648sh	1648sh	1648sh	1648sh

Στη περίπτωση του TBF σε διάλυμα τολουολίου το ποσοστό του *cis* ισομερούς (33,4% σε θερμοκρασία 303K, βλ. Πίνακα 24, σελ. 169) γίνεται αντιληπτό από τον ώμο που εμφανίζεται στους 3365 cm^{-1} , ενώ η έντονη κορυφή στους 3405 cm^{-1} αποδίδεται στο *trans* ισομερές [Σχήμα 61 (α)]. Επίσης, ήδη από τα 15 mM εμφανίζονται δύο ευρείες ταινίες με κέντρο στους 3218 cm^{-1} και 3127 cm^{-1} , αντίστοιχα που αποδίδονται στο σχηματισμό πολυμερών αλυσίδων και κυκλικών διμερών μεταξύ μορίων του αμιδίου. Οι ταινίες όμως αυτές είναι, όπως άλλωστε αναμένεται, μικρότερης έντασης από τις αντίστοιχες ταινίες του NMF. Η ταινία που αποδίδεται στο *trans* ισομερές εμφανίζεται μετατοπισμένη από τη συχνότητα απορρόφησης της ελεύθερης ομάδας NH. Αυτό υποδηλώνει, πιθανόν, τη συμμετοχή και των δύο ισομερών μορφών σε διαμοριακές αλληλεπιδράσεις από πολύ μικρές συγκεντρώσεις και ενδεχομένως σε π-αλληλεπιδράσεις του αμιδικού πρωτονίου NH με τον αρωματικό δακτύλιο του τολουολίου (Σχήμα 53, σελ. 173).





Σχ. 61. Φάσματα υπερύθρου του *N*-tert-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF) (α) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας NH και (β) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας C=O, σε διαλύτη τολουόλιο και συγκεντρώσεις από 0,2 έως 100 mM.

Η περιοχή του καρβονυλίου είναι πολύ ασαφής, για τους λόγους που προαναφέρθηκαν σε όλες τις προηγούμενες περιπτώσεις, αφού παρουσιάζει μία τεράστια και ευρεία ταινία με κέντρο τους 1700 cm⁻¹, η οποία είναι πολύ δύσκολο να ταυτοποιηθεί [Σχήμα 61 (β)].

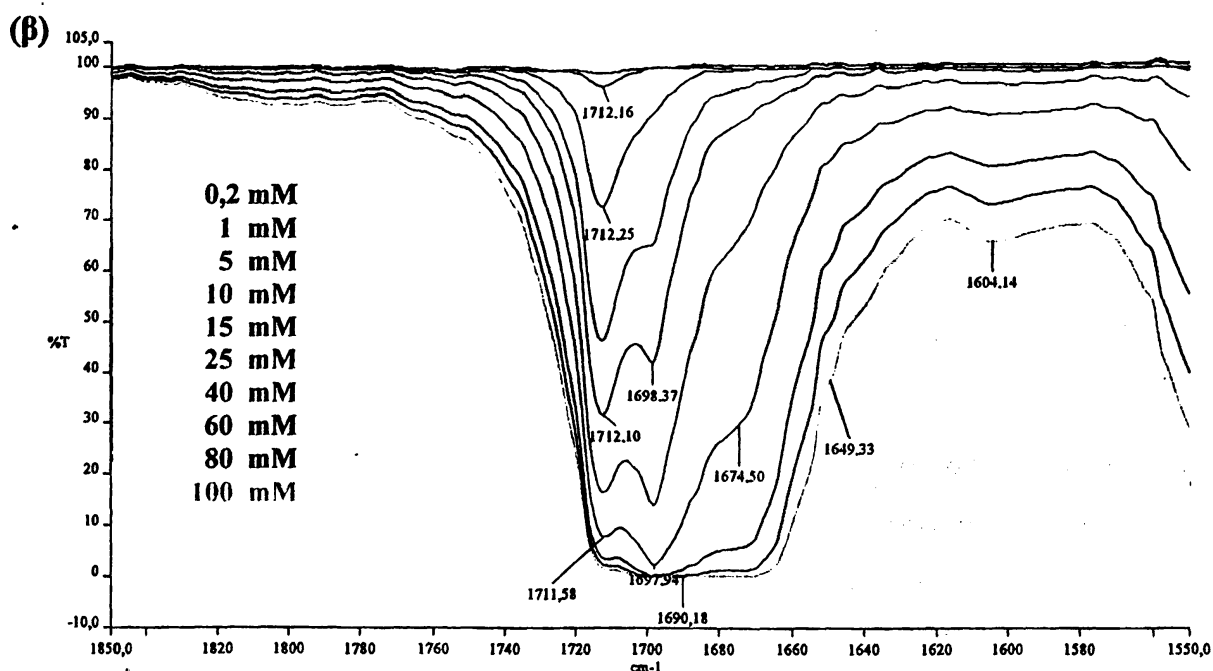
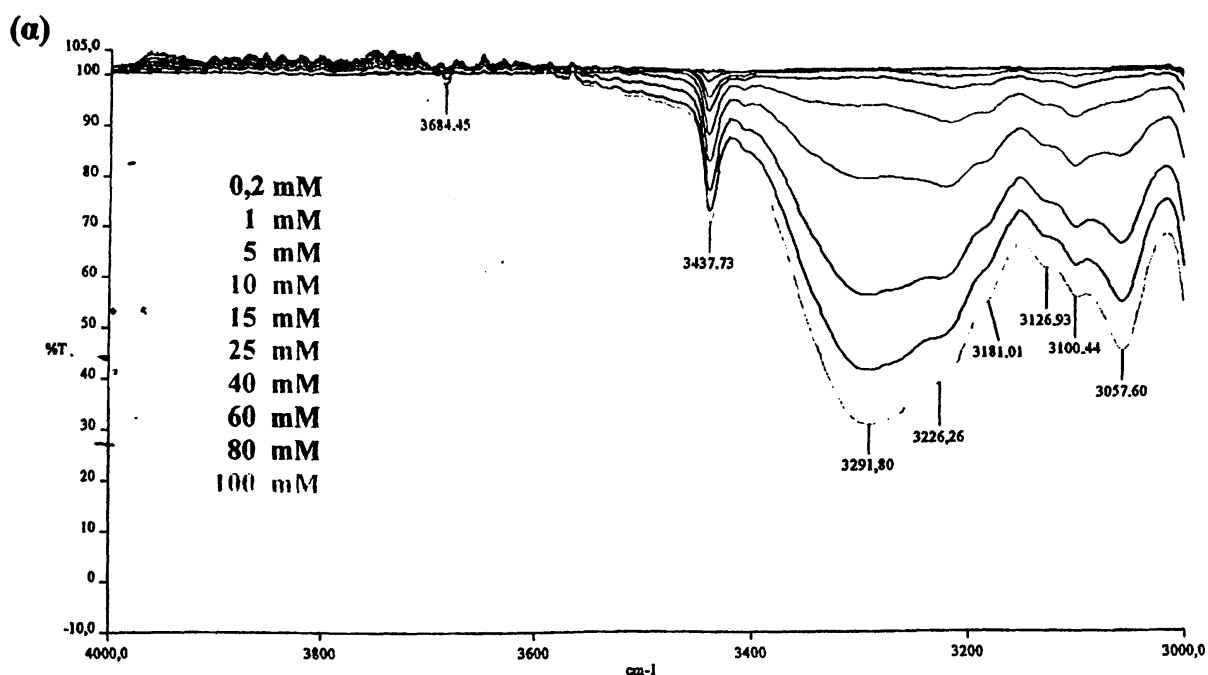
6.4.2. ΜΕΛΕΤΕΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ TBF ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΚΥΚΛΟΕΞΑΝΙΟΥ

Στον Πίνακα 31 και στα Σχήματα 62 (α) και 62 (β) παρατίθενται τα δεδομένα της φασματοσκοπίας υπερύθρου από μία σειρά πειραμάτων του TBF σε διάλυμα κυκλοεξανίου.

Πίνακας 31. Χαρακτηριστικές δονήσεις τάσεως (cm^{-1}) των FT-IR φασμάτων του *N*-tert-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF) στην περιοχή απορρόφησης $4000\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$, σε διαλύτη κυκλοεξάνιο και συγκεντρώσεις από 5 έως 100 mM.

Χαρακτηριστικές ταινίες απορρόφησης (cm^{-1})	Συγκέντρωση <i>N</i> -tert-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF) (mM) (Διαλύτης: Κυκλοεξάνιο)							
	5	10	15	25	40	60	80	100
	5	10	15	25	40	60	80	100
3684	3684	3684	3684	3684	3684	3684	3684	3684
3434	3434	3434	3434	3434	3434	3434	3434	3434
-	-	-	3292	3292	3292	3292	3292	3292
-	-	3226	3226	3226	3226	3226	3226	3226
3058	3058	3058	3058	3058	3058	3058	3058	3058
1712	1712	1712	1712	1712	1712	1712	1712	1712
1698sh	1698	1698	1698	1698	1698	1698	1698	1698
-	-	-	-	1675	1675	1675	1675	1675
-	-	-	-	-	-	1649	1649	1649





Σχ. 62. Φάσματα υπέρυθρου του *N*-tert-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF) (α) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας NH και (β) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας C=O, σε διαλύτη κυκλοεξάνιο και συγκεντρώσεις από 0,2 έως 100 mM.

Στα φάσματα υπέρυθρου του TBF σε κυκλοεξάνιο είναι εμφανής η τάση για δημιουργία διμερών και πολυμερών μεταξύ μορίων του αμιδίου από πολύ μικρές



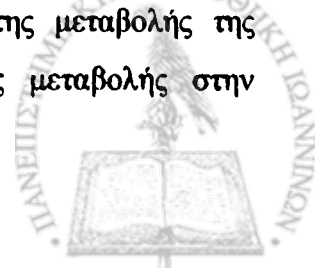
συγκεντρώσεις. Έτσι, στην περιοχή των απορροφήσεων NH η ταινία στους 3438 cm^{-1} αποδίδεται στο ελεύθερο *trans* ισομερές ενώ ένας πολύ μικρός ώμος λίγο πιο χαμηλά ίσως θα μπορούσε να αποδοθεί στο *cis* ισομερές [Σχήμα 62 (α)]. Στην περιοχή του φάσματος από 3300 έως 3000 cm^{-1} εμφανίζεται μία σειρά από πολύ ευρείες απορροφήσεις με ισχυρότερες αυτές στους 3291 cm^{-1} και στους 3058 cm^{-1} . Οι ταινίες αυτές αποδίδονται στο σχηματισμό πολυμερών και διμερών που προέρχονται από πλήθος διαμοριακών αλληλεπιδράσεων οι οποίες, όπως προλέχθηκε, ευνοούνται σημαντικά σε μη πολικούς διαλύτες. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές στα φάσματα υπερύθρου γίνονται αντιληπτές ήδη από τη συγκέντρωση των 10 mM , συνηγορώντας με τα αποτελέσματα που προέκυψαν κατά τη μελέτη των χημικών μετατοπίσεων NH.

Στην περιοχή απορρόφησης της καρβονυλομάδας η ταινία στους 1712 cm^{-1} αποδίδεται πιθανά στο ελεύθερο *trans* ισομερές ενώ η ταινία στους 1698 cm^{-1} στο ελεύθερο *cis* σε συνδυασμό με τα σχηματιζόμενα διμερή [Σχήμα 62 (β)]. Με την αύξηση της συγκέντρωσης εμφανίζονται και άλλες ταινίες απορρόφησης που αποδίδονται σε δονήσεις $\nu\text{C=O}$ προερχόμενες από μία σειρά διαμοριακών αλληλεπιδράσεων που είναι πολύ δύσκολο να ταυτοποιηθούν, δεδομένου ότι αλληλεπικαλύπτονται δημιουργώντας μία ευρεία ταινία που καλύπτει την περιοχή μεταξύ 1620 cm^{-1} και 1740 cm^{-1} .

6.5. ΤΟ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΑΝΤΙΡΡΟΠΗΣΗΣ ΕΝΘΑΛΠΙΑΣ – ΕΝΤΡΟΠΙΑΣ

Ολοκληρώνοντας τη συζήτηση που αφορά στη θερμοδυναμική που διέπει τα συστήματα πρότυπων αμιδίων όπως είναι το NMF και το TBF σε μία ποικιλία διαλυτών διαφορετικών ιδιοτήτων, κρίνεται σκόπιμο να γίνει μία αναφορά στο φαινόμενο αντιρρόπησης ενθαλπίας-εντροπίας (enthalpy-entropy compensation).

Πρόκειται για ένα φαινόμενο κατά το οποίο η μείωση στη θετική επίδραση της ενθαλπίας αντισταθμίζεται, εν μέρει, από μία αντίθετη επίδραση της εντροπίας. Αυτό το φαινόμενο της αντιρρόπησης μεταξύ ενθαλπίας και εντροπίας, που αρχικά προτάθηκε από τον Jenks και τους συνεργάτες του (Page *et al.* 1971), είναι πρωταρχικής σημασίας σε διαμοριακές αλληλεπιδράσεις όπου η ενθαλπία δεσμών είναι συγκρίσιμη της θερμικής ενέργειας RT ($\approx 2,5\text{ kJ mol}^{-1}$ στους 298K). Αρκετές θερμοδυναμικές μελέτες, έκτοτε έχουν αποπειραθεί να διαφωτίσουν τη σχέση μεταξύ της μεταβολής της ενθαλπίας διαμοριακών αλληλεπιδράσεων και της αντίστοιχης μεταβολής στην

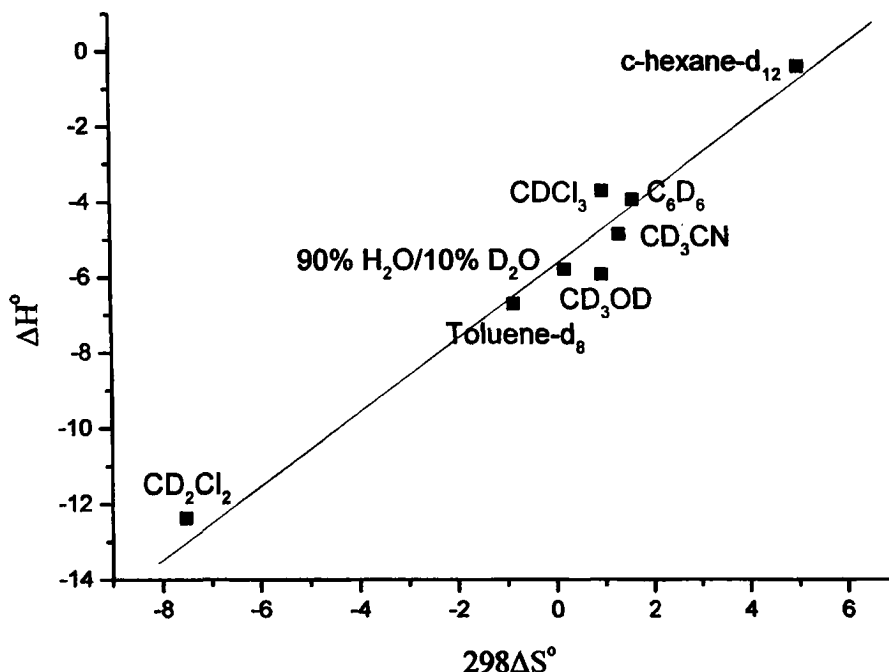


εντροπία που συνοδεύει της αλληλεπιδράσεις αυτές τόσο σε διάφορους διαλύτες όσο και σε διεργασίες βιολογικού ενδιαφέροντος (Finney *et al.*, 1980, Searle *et al.*, 1992, Dunitz, 1995, Searle *et al.*, 1995, Lee *et al.*, 1996, Westwell *et al.*, 1996, Möhle *et al.*, 1997, Qian, 1998, Williams *et al.*, 1998, Amzel, 2000, Calderone *et al.*, 2001, Liu *et al.*, 2001, Stone, 2001, Jusuf *et al.*, 2002, Hunter *et al.*, 2003).

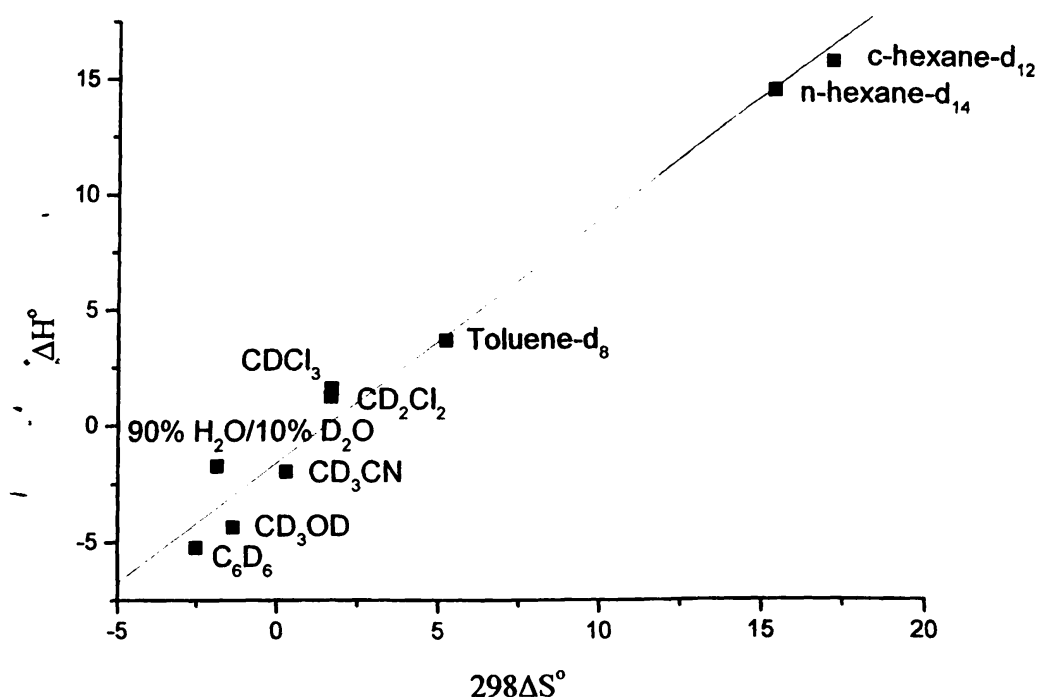
Η αντιρρόπηση ενθαλπίας-εντροπίας είναι συνέπεια ασθενών αλληλεπιδράσεων, όπου η μεταβολή της ενθαλπίας είναι πολύ μικρότερη από την περίπτωση των τυπικών ομοιοπολικών δεσμών. Το φαινόμενο της αντιρρόπησης ενθαλπίας-εντροπίας σχετίζεται με αλληλεπιδράσεις βιολογικής σπουδαιότητας (Searle *et al.*, 1992, Dunitz, 1995). Παρ' όλα αυτά, η θερμοδυναμική ανάλυση αλληλεπιδράσεων που κρίνονται πολύ σημαντικές στη βιολογία, περιπλέκεται από πολλούς παράγοντες, όπως είναι η πιθανή αλλαγή στις εσωτερικές κινήσεις των αλληλεπιδρώντων μορίων, η επίδραση του διαλύτη και ιδιαίτερα του νερού και φαινόμενα συνεργιστικής δράσης (Westwell *et al.*, 1996). Τα μόρια, άλλωστε, σε διάλυμα έχουν βαθμούς ελευθερίας που οφείλονται στη μεταφορική και περιστροφική τους κίνηση και σε ενδομοριακές περιστροφές περί τους απλούς δεσμούς, οι οποίοι περιορίζονται σημαντικά όταν δύο μόρια αλληλεπιδρούν προκειμένου να σχηματίσουν ένα σταθερό σύμπλοκο.

Κατά τη μελέτη των πειραματικών δεδομένων της παρούσας εργασίας, το φαινόμενο της αντιρρόπησης μεταξύ ενθαλπίας και εντροπίας βρίσκει εφαρμογή όπως προκύπτει από τα Διαγράμματα 28 και 29 που ακολουθούν.





Διάγραμμα 28. Γραφική παράσταση όπου παρουσιάζονται οι μεταβολές των τιμών της ενθαλπίας, ΔH° , συναρτήσει των μεταβολών των τιμών της εντροπίας, ΔS° , στους 298K, κατά τη μελέτη του *cis-trans* ισομερισμού του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF) σε ένα πλήθος διαλυτών διαφορετικών ιδιοτήτων. Η γραμμική προσέγγιση μεταξύ των σημείων του Διαγράμματος που εκφράζεται μέσω της εξίσωσης: $Y = A + BX$, όπου $A = 5,87719 (\pm 0,53748)$ και $B = 1,03063 (\pm 0,08507)$, με συντελεστή $R = 0,98017$, επιβεβαιώνει την ύπαρξη του φαινομένου της αντιστροφής ενθαλπίας-εντροπίας.



Διάγραμμα 29. Γραφική παράσταση των μεταβολών των τιμών της ενθαλπίας, ΔH° , συναρτήσει των μεταβολών των τιμών της εντροπίας, ΔS° , στους 298K, κατά τη μελέτη του *cis-trans* ισομερισμού του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF) σε διάφορους διαλύτες. Η γραμμική προσέγγιση μεταξύ των σημείων του Διαγράμματος που εκφράζεται μέσω της εξίσωσης: $Y = A + BX$, όπου $A = 1,50983 (\pm 0,4156)$ και $B = 0,96796 (\pm 0,05486)$ και έχει συντελεστή $R = 0,98894$, επιβεβαιώνει και σε αυτήν την περίπτωση, την καλή εφαρμογή του φαινομένου της αντιστροφής ενθαλπίας-εντροπίας.

Τόσο για το *N*-μεθυλοφορμαμίδιο (Διάγραμμα 28) όσο και για το *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιο (Διάγραμμα 29), οι μεταβολές της ενθαλπίας παρουσιάζουν μία εξαιρετική γραμμική συσχέτιση με τις μεταβολές της εντροπίας, επιβεβαιώνοντας την ύπαρξη του φαινομένου της αντιστροφής των δύο αυτών θερμοδυναμικών παραμέτρων, κατά τη μελέτη του φαινομένου του *cis-trans* ισομερισμού (Liu *et al.* 2001). Την εκτίμηση αυτή ενισχύει ο υψηλότερος συντελεστής συσχέτισης (R) μεταξύ των σημείων και για τα δύο πρότυπα αμίδια ($R = 0,98$ και $R = 0,99$ για το NMF και το TBF, αντίστοιχα).

Τα αποτελέσματα δείχνουν πως, σε όλες τις περιπτώσεις, η ύπαρξη διαμοριακών αλληλεπιδράσεων (περισσότερο αρνητικές τιμές ενθαλπίας) αντισταθμίζεται από ένα υψηλότερο εντροπικό κόστος ως απόρροια σχηματισμού ενός σταθερού μοριακού συμπλέγματος. Σε κάθε περίπτωση, όπως συζητήθηκε εκτενώς παραπάνω, τα μόρια αλληλεπιδρούν ασθενώς μεταξύ τους (weak intermolecular interactions), είτε μέσω

σχηματισμού ενός πλέγματος δεσμών υδρογόνου είτε μέσω των υδρόφοβων ομάδων τους. Η αναδιοργάνωση αυτή των μορίων συνοδεύεται από έναν αναμενόμενο περιορισμό της κινητικότητας των αλληλεπιδρώντων ομάδων με αποτέλεσμα την εμφάνιση του φαινομένου αντιρρόπησης ενθαλπίας-εντροπίας.

Από την ανάλυση όλων των πειραματικών δεδομένων που αφορούν στις περιπτώσεις των NMF και TBF σε μη πολικούς, όπως το ακετονιτρίλιο, το τολουόλιο, το βενζόλιο το εξάνιο και το κυκλοεξάνιο μπορούν να εξαχθούν τα ακόλουθα συμπεράσματα τα οποία συγκλίνουν μεταξύ τους και έχουν ως εξής:

- (α) **Η αύξηση του όγκου του *N*-αλκυλο-υποκαταστάτη** και στην περίπτωση αυτή οδηγεί σε αύξηση του ποσοστού του *cis* ισομερούς σε συστήματα απλών μοντέλων πεπτιδίων όπως είναι το NMF και το TBF.
- (β) **Η πολικότητα του διαλύτη** παίζει καθοριστικό ρόλο στην ύπαρξη και στον τύπο των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων στο εκάστοτε σύστημα αμιδίου-διαλύτη. Διαλύτες χαμηλής διηλεκτρικής σταθεράς, δεν αλληλεπιδρούν ιδιαίτερα με το αμίδιο ενοώντας τη δημιουργία διμερών ή/και πολυμερών αλυσίδων. Όπως φάνηκε και από τη μελέτη των χημικών μετατοπίσεων του αμιδικού πρωτονίου, ήδη από πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, λαμβάνουν χώρα ισχυρές αλληλεπιδράσεις μεταξύ μορίων του αμιδίου. Στο σημείο αυτό συγκλίνουν απόλυτα και τα δεδομένα της δονητικής φασματοσκοπίας. Στην περίπτωση του κυκλοεξανίου είναι έκδηλη η ύπαρξη όλων των πιθανών διαμοριακών (*cis-cis*, *cis-trans* και *trans-trans*) αλληλεπιδράσεων, ενώ στο τολουόλιο θα πρέπει να υπάρχουν π-αλληλεπιδράσεις του αμιδικού πρωτονίου NH με τον αρωματικό δακτύλιο του τολουολίου όπως και υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις μεταξύ της μεθυλομάδας του τολουολίου και του *N*-αλκυλοϋποκαταστάτη.
- (γ) **Η αύξηση της θερμοκρασίας** προκαλεί, εν γένει, αύξηση του ποσοστού του *cis* ισομερούς στην περίπτωση του NMF. Αυτό, στην περίπτωση του TBF, φαίνεται να ισχύει μόνο στην περίπτωση του βενζολίου. Σε όλους τους άλλους διαλύτες συμβαίνει ακριβώς το αντίθετο. Αυτό σε συνδυασμό με το υψηλότερο ποσοστό του *cis* ισομερούς στο TBF οδηγεί στο πιθανό συμπέρασμα πως τα σταθερά κυκλικά διμερή που δημιουργούνται σε χαμηλότερες θερμοκρασίες, διασπώνται σταδιακά με την αύξηση της θερμοκρασίας επηρεάζοντας τη *cis-trans* ισορροπία του αμιδίου

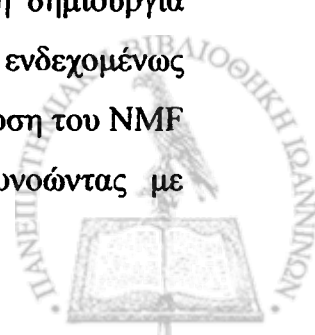
σε όφελος του θερμοδυναμικά σταθερότερου *trans* ισομερούς.

- (δ) Η **θερμοδυναμική ανάλυση** δείχνει πως σε διάλυμα τολουολίου και βενζολίου το *trans* ισομερές του NMF ευνοείται σαφώς ενθαλπικά ενώ ο εντροπικός παράγοντας διαφοροποιείται υποδηλώνοντας κάποια τροποποίηση στον τρόπο αλληλεπίδρασης του διαλύτη με τα μόρια του NMF. Και στις δύο αυτές περιπτώσεις, ο αρωματικός δακτύλιος θα πρέπει να σχηματίζει π-σύμπλοκα και με τα δύο ισομερή του αμιδίου. Στην περίπτωση του τολουολίου υπάρχει επιπλέον και η μεθυλομάδα του τολουολίου, η οποία δύναται να αλληλεπιδράσει ασθενώς με τον *N*-μεθυλοϋποκαταστάτη του NMF. Η επιπρόσθετη αυτή αλληλεπίδραση, επιφέρει μείωση της δυνατότητας κίνησης του αμιδίου, σταθεροποιώντας, έτσι, ακόμα περισσότερο το σύστημα.

Σε διάλυμα κυκλοεξανίου το *trans* ισομερές του NMF ευνοείται σε σημαντικό βαθμό εντροπικά με την ενθαλπία να επηρεάζει ελάχιστα, πλην όμως θετικά, την ισορροπία. Στην περίπτωση αυτή πιθανές υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις μεταξύ μορίων του κυκλοεξανίου και της μεθυλομάδας του αζώτου δε φαίνεται να επηρεάζουν την ευκινησία του αμιδίου.

Σε διάλυμα βενζολίου το *trans* ισομερές του TBF, όπως και στην περίπτωση του NMF, ευνοείται σημαντικά ενθαλπικά, ενώ δεν ευνοείται εντροπικά. Στην περίπτωση αυτή, ο αρωματικός δακτύλιος του διαλύτη θα πρέπει να διευθετείται σε τέτοια θέση σε σχέση με τα μόρια του αμιδίου ώστε να ευνοείται ο σχηματισμός σταθερών π-συμπλόκων. Σε διάλυμα όμως τολουολίου, το *trans* ισομερές του TBF δεν ευνοείται ενθαλπικά, ενώ παρατηρείται μία σημαντική αύξηση της εντροπίας. Στην περίπτωση αυτή, αντίθετα με ό,τι συμβαίνει στο διάλυμα βενζολίου, δεν θα πρέπει να ευνοείται ο σχηματισμός σταθερών π-συμπλόκων. Απεναντίας, είναι πιθανόν, λόγω στερεοχημικής παρεμπόδισης που δεν ευνοεί τις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις, να ενισχύεται η κινητικότητα των μορίων στο διάλυμα, με επικρατέστερη την αλληλεπίδραση της μεθυλομάδας του τολουολίου με την ογκώδη *tert*-βουτυλομάδα του αζώτου του αμιδικού δεσμού.

Σε διάλυμα κυκλοεξανίου και εξανίου το *trans* ισομερές του TBF ευνοείται ισχυρά εντροπικά ενώ η μεταβολή στην τιμή της ενθαλπίας δεν ευνοεί τη δημιουργία δεσμών. Η διαφοροποίηση αυτή στην ενθαλπία του TBF από το NMF ενδεχομένως να οφείλεται στο γεγονός ότι ο *N*-αλκυλοϋποκαταστάτης στην περίπτωση του NMF δεν επιφέρει καμία στερεοχημική παρεμπόδιση στο σύστημα ευνοώντας με



μεγαλύτερο βαθμό το σχηματισμό πολυμερών (γραμμικών ή κυκλικών) από ότι στην περίπτωση του ογκώδους *N*-ακυλοϋποκαταστάτη του TBF. Στην περίπτωση όπου η συγκέντρωση του αμιδίου είναι μόλις 0,25 mM, η πιθανότητα σχηματισμού διμερών ή πολυμερών αλυσίδων θα πρέπει να θεωρηθεί αμελητέα. Παρ' όλα αυτά, όπως προκύπτει και από τη μελέτη της χημικής μετατόπισης του πρωτονίου NH του TBF σε διάλυμα κυκλοεξανίου, η εμφάνιση διαμοριακών αλληλεπιδράσεων μεταξύ κυρίως των *cis* ισομερών του αμιδίου είναι έκδηλη από πολύ μικρές συγκεντρώσεις, όπως αυτή των 5 mM.

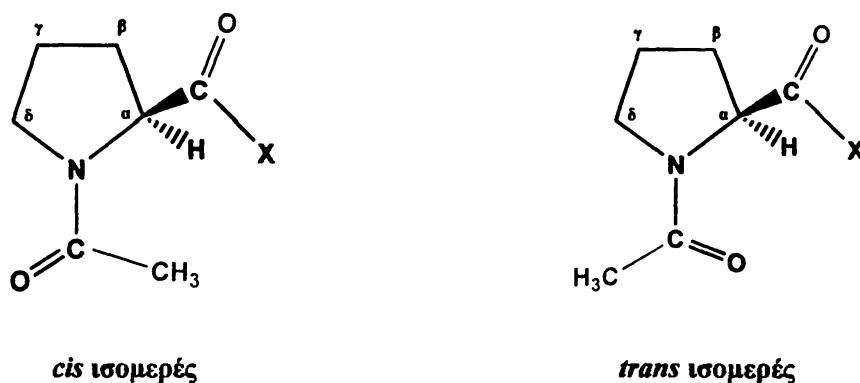


6.6. Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΗΣ Ν-ΑΚΕΤΥΛΟ-Λ-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΑΥΤΗΣ

6.6.1. ΓΕΝΙΚΑ ΣΧΟΛΙΑ

Η Ν-ακετυλο-Λ-προλίνη και ιδιαίτερα το μεθυλαμίδιο αυτής έχουν μελετηθεί εκτενώς ως μοντέλα για τη διερεύνηση της δευτεροταγούς δομής πεπτιδίων που περιέχουν στην αλυσίδα τους προλίνες (Higashijima *et al.*, 1977, Hunston *et al.*, 1985, Akiyama *et al.*, 1994, Eberhardt *et al.*, 1996, Cox *et al.*, 1997, Reimer *et al.*, 1997, Cox *et al.*, 1998, Buevich *et al.*, 2000, Kay *et al.*, 2000, Bretscher *et al.*, 2001, Taylor *et al.*, 2003, DeCamp *et al.*, 2005, Kang, 2006, Park *et al.*, 2006, Sul *et al.*, 2006).

Η Ν-ακετυλο-Λ-προλίνη καθώς επίσης το μεθυλαμίδιο και ο μεθυλεστέρας αυτής, σε διάλυμα, υφίστανται ως ισορροπία δύο ισομερών *cis* και *trans*, ακριβώς λόγω του αμιδικού δεσμού. Ως *trans* ισομερές ορίζεται αυτό που έχει σε *trans* θέση τις ομάδες CH₃ και CO του COOH ως προς τον αμιδικό δεσμό όπως φαίνεται στο Σχήμα 63 που ακολουθεί:



Σχ. 63. *Cis* και *trans* ισομερή της Ν-ακετυλο-Λ-προλίνης και των παραγώγων αυτής. Ο Χ υποκαταστάτης υποδηλώνει OH στην περίπτωση της Ν-ακετυλο-Λ-προλίνης, OCH₃ στην περίπτωση του μεθυλεστέρα της Ν-ακετυλο-Λ-προλίνης και NHCH₃ στην περίπτωση του Ν-μεθυλαμιδίου της Ν-ακετυλο-Λ-προλίνης.

Από πλήθος μελετών αποδεικνύεται πως τόσο η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) όσο και η δονητική φασματοσκοπία (FT-IR)



παρέχουν πολύτιμες πληροφορίες για τις μοριακές διαμορφώσεις και ειδικότερα για το ποσοστό των μορίων που βρίσκονται στη *cis* και στην *trans* διαμόρφωση βοηθώντας έτσι, στην κατανόηση της σταθερότητας του συστήματος.

Η σταθερότητα της διαμόρφωσης του εκάστοτε παραγώγου εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το μέγεθος και τη μορφή (την πολικότητα) του C-τελικού άκρου του μορίου. Για παράδειγμα, στη συζήτηση που ακολουθεί, δίνεται ιδιαίτερη έμφαση στον τρόπο αλληλεπίδρασης του καρβοξυλικού υδροξυλίου του μορίου της *N*-ακετυλο-L-προλίνης με τον εκάστοτε διαλύτη.

Ανάμεσα στις ασθενείς αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μορίων, ο δεσμός υδρογόνου είναι ο πλέον ισχυρός και ο σχηματισμός του αποτελεί διεργασία κλειδί στη φύση. Ο δεσμός υδρογόνου καθορίζει τις ιδιότητες πολλών συστημάτων (συμπεριλαμβανομένου και του νερού) και παίζει αδιαμφισβήτητα τον πρωτεύοντα ρόλο στη μελέτη της διαμόρφωσης και της σταθερότητάς τους. Επίσης, καθοριστικός είναι ο ρόλος του κατά τη διερεύνηση της επίδρασης του διαλύτη σε περιπτώσεις διαλυμάτων (Fujinaga *et al.*, 1980, Beeson *et al.*, 1993, Juranić *et al.*, 1996, Bagno *et al.*, 2000, Kang, 2000, Remer *et al.*, 2000).

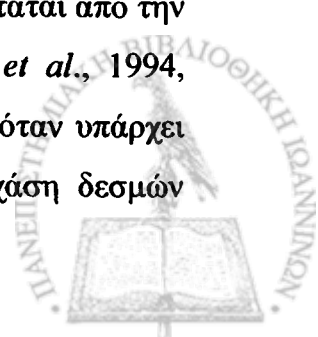
Οι δύο προαναφερθείσες μεθοδολογίες έχουν αποδειχτεί πολύ ισχυρά εργαλεία τόσο για την πιστοποίηση ύπαρξης δεσμών υδρογόνου στο εξεταζόμενο σύστημα, όσο και για τη διερεύνηση της ισχύος των δεσμών αυτών. Κριτήρια μελέτης αποτελούν οι συχνότητες στο υπέρυθρο όπου εμφανίζονται δονήσεις τάσεως των ομάδων που συμμετέχουν σε δεσμό υδρογόνου, καθώς επίσης και η χημική μετατόπιση, στα φάσματα NMR, του πρωτονίου που συμμετέχει σε δεσμό υδρογόνου, σε σχέση με αυτή του αδέσμευτου. Σε εξαιρετικές περιπτώσεις ισχυρής αποπροστασίας, η χημική μετατόπιση του πρωτονίου, έχει παρατηρηθεί ότι φτάνει μέχρι και τα 20 ppm (Madison *et al.*, 1980, Garcia-Viloca *et al.*, 1997, Tjandra *et al.*, 1997, Garcia-Viloca *et al.*, 1998, Kumar *et al.*, 1998, Del Bene *et al.*, 1999, Arnold *et al.*, 2000, Del Bene *et al.*, 2000).

Το μεθυλαμίδιο της *N*-ακετυλο-L-προλίνης είναι μία πρότυπη ένωση γνωστής κρυσταλλικής δομής (Matsuzaki *et al.*, 1971), η οποία έχει πλήρως μελετηθεί και παρέχει καλώς πιστοποιημένα δεδομένα που αφορούν τόσο στη διαμόρφωση του μορίου όσο και στο πώς η διαμόρφωση αυτή επηρεάζεται μεταβαίνοντας από την κρυσταλλική κατάσταση σε κατάσταση διαλύματος είτε υδρόφιλων είτε υδρόφοβων ιδιοτήτων (Akiyama *et al.*, 1994, Ramek *et al.*, 1995, Kang *et al.*, 2002, Kang, 2002, Kang *et al.*, 2005, Sul *et al.* 2006). Με γνώμονα δεδομένα για το μεθυλαμίδιο της *N*-

ακετυλο-L-προλίνης, από τη δονητική φασματοσκοπία και τη φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού που παρουσιάζονται στην παρούσα διατριβή και που έρχονται σε καλή συμφωνία με τη διεθνή βιβλιογραφία, επιχειρείται μελέτη στοιχείων της δομής της *N*-ακετυλο-L-προλίνης καθώς αυτά επηρεάζονται άμεσα με την αλλαγή του περιβάλλοντος και της συγκέντρωσης της ένωσης σε διάλυμα.

Επιχειρείται, λοιπόν, η ταυτοποίηση των φασμάτων υπέρυθρου της *N*-ακετυλο-L-προλίνης και ακολούθως πραγματοποιείται σύγκριση αυτών με αντίστοιχα φάσματα του *N*-μεθυλαμιδίου και του μεθυλεστέρα αυτής σε χλωροφόρμιο, ακετονιτρίλιο και διμεθυλοσουλφοξείδιο μεταβάλλοντας σε κάθε περίπτωση τη συγκέντρωση του αμιδίου. Ειδικά στην περίπτωση του χλωροφορμίου θα γίνει σύγκριση των αποτελεσμάτων που προκύπτουν από την υπέρυθρη φασματοσκοπία με αυτά της φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού, η οποία παρέχει πληροφορίες σχετικά με τα ποσοστά των ισομερών των ενώσεων καθώς επίσης και για το πώς αυτά διαφοροποιούνται κατά τη μεταβολή της θερμοκρασίας.

Δύο είναι οι περιοχές των φασμάτων υπέρυθρου στις οποίες δίνεται ιδιαίτερη έμφαση. Πρώτα εξετάζεται η περιοχή του υπέρυθρου όπου απορροφούν η υδροξυλομάδα της *N*-ακετυλο-L-προλίνης και η αμινομάδα του μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-L-προλίνης, δηλαδή η περιοχή των δονήσεων τάσεως νOH ($2500\text{--}3550\text{ cm}^{-1}$) και νNH ($3200\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$). Στην περιοχή αυτή του φάσματος δεν υπάρχουν ταινίες απορρόφησης στην περίπτωση του μεθυλεστέρα της *N*-ακετυλο-L-προλίνης. Η περιοχή αυτή μεταξύ 4000 και 2000 cm^{-1} επιλέγεται κυρίως στη βιβλιογραφία για τη διερεύνηση της ύπαρξης ή μη δεσμών υδρογόνου στο εξεταζόμενο σύστημα και στο πώς αυτοί οι δεσμοί επηρεάζουν και καθορίζουν την επικρατούσα διαμόρφωση (Tsuboi *et al.*, 1958, Avignon *et al.*, 1970, Cheng *et al.*, 1977, Maxfield *et al.*, 1979, Delaney *et al.*, 1982, Pulla Rao *et al.*, 1983, Liang *et al.*, 1992, Akiyama *et al.*, 1994, Haque *et al.*, 1994, Beausoleil *et al.*, 1996, John *et al.*, 2001, Jin *et al.*, 2002). Είναι γνωστό, άλλωστε, ότι οι δονήσεις τάσεως της ομάδας NH αποτελούν άμεση απόδειξη της ύπαρξης ή μη δεσμών υδρογόνου (Aubry *et al.*, 1985, Haque *et al.*, 1994, Jin *et al.*, 2002). Η ταινία απορρόφησης μετατοπίζεται σημαντικά προς χαμηλότερες συχνότητες όταν η ομάδα NH συμμετέχει σε δεσμό υδρογόνου, το μέγεθος δε της μετατόπισης εξαρτάται από την ισχύ και τη γεωμετρία του δεσμού αυτού (Leiserowitz, 1976, Haque *et al.*, 1994, Pimentel *et al.*, 1960, Jeffrey 1997, Jin *et al.*, 2002). Για το λόγο αυτό, όταν υπάρχει ισορροπία ισομερών, η οποία χαρακτηρίζεται από σχηματισμό και σχάση δεσμών



υδρογόνου, θα πρέπει να παρατηρούνται στο φάσμα υπερύθρου σαφείς ταινίες που αντιστοιχούν σε κάθε μία από τις δύο αυτές περιπτώσεις.

Η *N*-ακετυλο-*L*-προλίνη και το μεθυλαμίδιο αυτής μπορούν να αλληλεπιδράσουν με σχηματισμό δεσμών υδρογόνου τόσο με άλλα μόρια διαμοριακά (διμερή, πολυμερή ή με το διαλύτη) ή και ενδομοριακά με δημιουργία γ -στροφής όπως φαίνεται στο Σχήμα 64. Σε διαλύτη διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO), που είναι ισχυρός δέκτης πρωτονίου, το πρωτόνιο του μεθυλαμιδίου καθώς επίσης και το καρβοξυλικό πρωτόνιο της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης αναμένεται να σχηματίζει δεσμό υδρογόνου με τα μόρια του διαλύτη, με αποτέλεσμα η πιθανότητα σχηματισμού γ -στροφής σχεδόν να εξαλείφεται. Το ίδιο φαινόμενο της ανταγωνιστικότητας του διαλύτη έναντι της τάσης δημιουργίας ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου φαίνεται να παρατηρείται και σε υδατικά διαλύματα. Αυτοί οι διαμοριακοί δεσμοί υδρογόνου με τα μόρια του διαλύτη φαίνεται να μειώνονται σημαντικά και σχεδόν να εξαφανίζονται σε διάλυμα CHCl_3 , καθώς το χλωροφόρμιο δε σχηματίζει δεσμούς υδρογόνου με τα αμιδικά πρωτόνια (London, 1979, Ishimoto *et al.*, 1999, Troganis *et al.*, 2000, Sugawara *et al.*, 2001, Jin *et al.*, 2002). Το ποσοστό του *trans* πεπτιδίου που σχηματίζει γ -στροφή αυξάνεται όσο η συγκέντρωση του πεπτιδίου μειώνεται σε διάλυμα χλωροφορμίου (London, 1979). Όσο η συγκέντρωση του αμιδίου στο διάλυμα αυξάνει, αρχίζουν να παρατηρούνται ισχυρές αλληλεπιδράσεις που βασίζονται στο σχηματισμό διαμοριακών δεσμών υδρογόνου μεταξύ μορίων του αμιδίου.

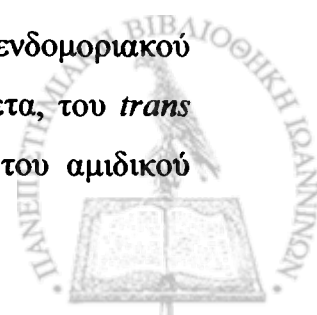
Πειράματα υπέρυθρης φασματοσκοπίας και πρωτονιακής φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού, μεταβλητής συγκέντρωσης και θερμοκρασίας που αναφέρονται στη βιβλιογραφία, δείχνουν την παρουσία πολύ μικρού ποσοστού διαμοριακών αλληλεπιδράσεων σε διάλυμα διχλωρομεθανίου, συγκέντρωσης 1 mM. Ως εκ τούτου, η ένταση της δόνησης τάσεως της δεσμευμένης, μέσω δεσμών υδρογόνου, ομάδας NH θα πρέπει να προέρχεται σχεδόν εξ ολοκλήρου από ενδομοριακές αλληλεπιδράσεις, όπως είναι, για παράδειγμα, ο σχηματισμός γ -στροφής (C_7 δακτύλιος). Η δόνηση τάσεως που αποδίδεται στην ελεύθερη ομάδα NH προέρχεται από ένα μικρό ποσοστό *cis* ισομερούς και από το ποσοστό εκείνο του *trans* ισομερούς που δεν σχηματίζει γ -στροφή (Liang *et al.*, 1992 και οι αναφορές εντός αυτής).

Ακολουθώς, εξετάζεται η περιοχή του φάσματος υπερύθρου όπου απορροφούν η καρβοξυλομάδα και η καρβονυλομάδα των πεπτιδίων, δηλαδή η περιοχή δονήσεων τάσεως $\nu\text{C}=\text{O}$. Η περιοχή αυτή του φάσματος συνήθως δεν προτιμάται, εν γένει, στη

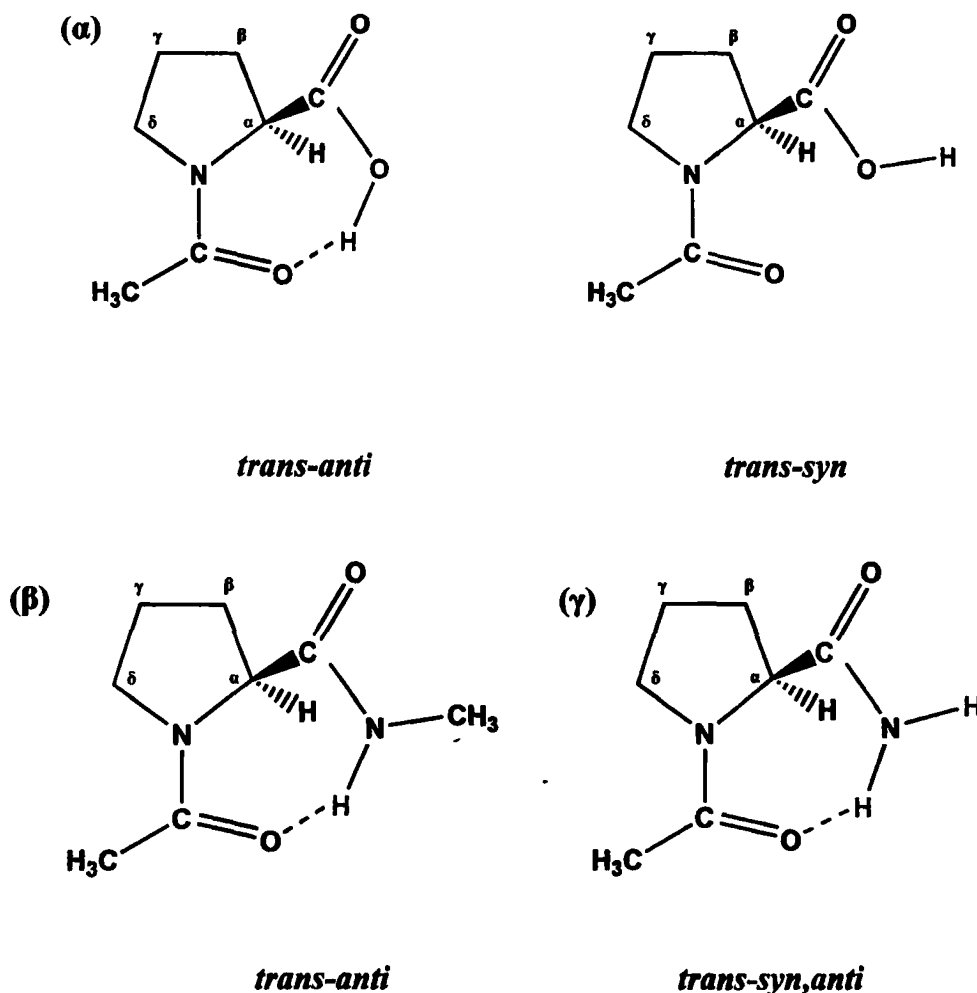
διεθνή βιβλιογραφία, ενδεχομένως λόγω της πολυπλοκότητας που παρουσιάζει και η οποία εισάγει ένα ποσοστό ασάφειας στα συμπεράσματα που θα μπορούσαν να προκύψουν σε σχέση με τη διαμόρφωση του πεπτιδίου. Πολύ πρόσφατες μελέτες, οι οποίες κάνουν χρήση υπέρυθρης φασματοσκοπίας δύο διαστάσεων, προσπαθούν να αντιμετωπίσουν, με πολύ ενθαρρυντικά αποτελέσματα, το έντονο αυτό πρόβλημα ταυτοποίησης της περιοχής απορρόφησης της καρβονυλομάδας στα φάσματα υπέρυθρου (DeCamp *et al.*, 2005, Park *et al.*, 2006, Sul *et al.*, 2006).

Στην περίπτωση του *N*-μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης σε διάλυμα, έχει αποδειχτεί η ύπαρξη ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου, γ -στροφής (Madison *et al.*, 1970, Matsuzaki *et al.*, 1971 και οι αναφορές εντός αυτής, Akiyama *et al.*, 1994, Ramek *et al.*, 1995 και οι αναφορές εντός αυτής). Μελετώντας μάλιστα με υπέρυθρη φασματοσκοπία το λόγο των εντάσεων των δονήσεων τάσεως της ελεύθερης ομάδας NH σε σχέση με την δεσμευμένη σε δεσμό υδρογόνου, σε μικρές συγκεντρώσεις όπου δε σχηματίζονται διμερή, έχει αποδειχτεί ότι η διαμόρφωση με ενδομοριακό δεσμό υδρογόνου είναι κυρίαρχη σε διαλύματα μη πολικών διαλυτών όπως η περίπτωση του τετραχλωράνθρακα και του κυκλοεξανίου όπου δεν ευνοούνται αλληλεπιδράσεις του αμιδίου με το διαλύτη. Απόδειξη δε του γεγονότος, ότι ο παρατηρούμενος δεσμός υδρογόνου είναι ενδομοριακός και όχι διαμοριακός αποτελεί η διατήρηση του λόγου των εντάσεων κατά τη μεταβολή της συγκέντρωσης του μεθυλαμιδίου της ακετυλοπρολίνης σε συγκεντρώσεις από 0,15 σε 0,3 mM τόσο στους 30 °C όσο και στους 60 °C. Αυτή η παρατήρηση θα αποτελέσει κριτήριο για την πιστοποίηση της ύπαρξης ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου στο μόριο της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης και του *N*-μεθυλαμιδίου αυτής σε διάλυμα, κατά τη συζήτηση των πειραματικών δεδομένων της παρούσας μελέτης.

Στο *trans* ισομερές της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης, ο ενδομοριακός δεσμός υδρογόνου, θεωρείται ότι είναι, ίσως, λιγότερο σταθερός απ' ό,τι στην περίπτωση του μεθυλαμιδίου αυτής. Αυτό το συμπέρασμα προκύπτει από ενεργειακές μελέτες που σχετίζονται με τη διευθέτηση του καρβοξυλικού πρωτονίου στην περίπτωση της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης. Έχει βρεθεί πως όταν το συγκεκριμένο πρωτόνιο βρίσκεται σε *syn* διαμόρφωση, το *trans* ισομερές ευνοείται ενεργειακά περισσότερο από όταν το πρωτόνιο αυτό διευθετείται σε *anti* θέση κάτι που είναι απαραίτητο για το σχηματισμό ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου (γ -στροφής) [Σχήμα 64 (α)]. Στην περίπτωση, αντίθετα, του *trans* ισομερούς του μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης, η *anti* θέση του αμιδικού



πρωτονίου είναι αυτή που ευνοείται ενεργειακά [Σχήμα 64 (β)] ενώ, τέλος, στην περίπτωση του *trans* ισομερούς του αμιδίου της *N*-ακετυλο-L-προλίνης, που έχει δύο αμιδικά πρωτόνια, δεν τίθεται ζήτημα ενεργειακής διαφοράς, αφού υπάρχει πάντα ένα πρωτόνιο σε *anti* θέση [Σχήμα 64 (γ)].



Σχ. 64. Διαμορφώσεις που ευνοούνται ενεργειακά βάσει της *syn* ή *anti* διεύθεσης του H που φαίνεται χρωματισμένο με μπλε χρώμα (α) της καρβοξυλομάδας της *N*-ακετυλο-L-προλίνης, (β) του *N*-μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-L-προλίνης και (γ) του αμιδίου της *N*-ακετυλο-L-προλίνης.

Έτσι, στις δύο περιπτώσεις των αμιδίων της *N*-ακετυλο-L-προλίνης ο σχηματισμός ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου ευνοείται ενεργειακά. Αντίθετα, στην περίπτωση της *N*-ακετυλο-L-προλίνης, προκειμένου να σχηματιστεί ενδομοριακός δεσμός υδρογόνου, θα πρέπει το ενεργειακό κόστος που προκύπτει από τη διεύθεση του καρβοξυλικού

πρωτονίου σε *anti* θέση να αντισταθμίζεται υποχρεωτικά από μία μείωση στην ενέργεια κατά το σχηματισμό της γ -στροφής (Madison *et al.*, 1970, Leiserowitz, 1976, Sapse *et al.*, 1987).

Μία ιδιάζουσα περίπτωση, όπου η *anti* διευθέτηση του καρβοξυλικού πρωτονίου είναι αποτέλεσμα ενός ισχυρού διαμοριακού και όχι ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου, αποτελεί το *trans* ισομερές της 1-(D-3-Mercapto-2-methylpropionyl)-L-proline (captopril) μιας παράγωγης ένωσης της *N*-ακετυλο-L-προλίνης, που αποτελεί ισχυρό αναστολέα του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης (Angiotensin Converting Enzyme, ACE). Αυτό προκύπτει από τη μελέτη της κρυσταλλικής δομής της ένωσης όπου η ομάδα -COOH ενός μορίου σχηματίζει δεσμό υδρογόνου με την ομάδα -COCH₃ ενός άλλου (Fujinaga *et al.*, 1980).

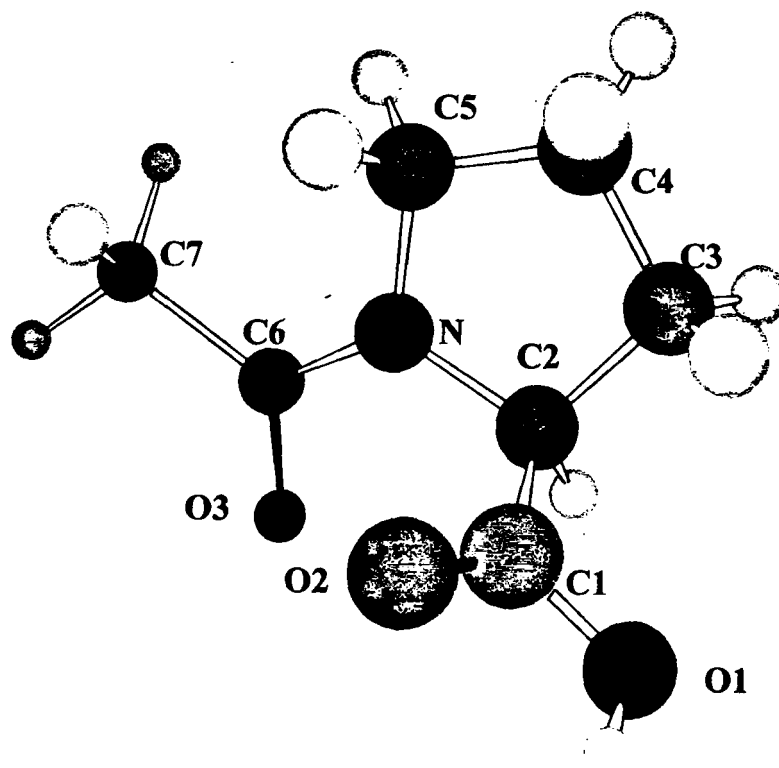
Εκτενείς μελέτες φασμάτων υπερύθρου που έγιναν στο μεθυλαμίδιο της *N*-ακετυλο-L-προλίνης έδειξαν ότι η τάση σχηματισμού ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου (γ -στροφής) κυριαρχεί σε μη πολικούς διαλύτες όπως ο τετραχλωράνθρακας ενώ το φαινόμενο αυτό εξασθενεί δραστικά με την αύξηση της πολικότητας του διαλύτη (Mizushima *et al.*, 1951, Mizushima *et al.*, 1954, Madison *et al.*, 1970 και οι αναφορές εντός αυτής, Madison *et al.*, 1980). Μελέτες υπερύθρου φασματοσκοπίας αποδεικνύουν ότι σε αραιά διαλύματα τετραχλωράνθρακα το ποσοστό του *trans* ισομερούς του μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-L-προλίνης που εμπλέκεται σε ενδομοριακό δεσμό υδρογόνου ανέρχεται σε ποσοστό 90% (Tsuboi *et al.*, 1959, Madison *et al.*, 1980 και οι αναφορές εντός αυτής). Αναμένεται επομένως και στην περίπτωση της *N*-ακετυλο-L-προλίνης ο σχηματισμός ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου σε μη πολικούς διαλύτες.



6.6.2. Η ΚΡΥΣΤΑΛΛΙΚΗ ΔΟΜΗ ΤΗΣ *N*-ΑΚΕΤΥΛΟ-*L*-ΠΡΟΛΙΝΗΣ

Οι κρύσταλλοι της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης ελήφθησαν από ανακρυστάλλωσή της από οξικό αιθυλεστέρα (βλ. σελ. 53).

Η κρυσταλλική δομή της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης, που απεικονίζεται στο Σχήμα 65, δείχνει ότι ο δακτύλιος της προλίνης είναι πρακτικά επίπεδος (η απόκλιση υπολογίζεται στα 0,02 Å) και σχηματίζει διεδρη γωνία 1° με την επίπεδη ακετυλο-ομάδα, ενώ με το επίπεδο της καρβοξυλομάδας η διεδρη γωνία είναι $75,9^\circ$. Η διευθέτηση αυτή της καρβοξυλομάδας σε σχέση με τον πυρολλιδινικό δακτύλιο έχει ως αποτέλεσμα το μόριο της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης να βρίσκεται σε μία ενδιάμεση κατάσταση στην οποία δεν ευνοείται ο σχηματισμός γ -στροφής παρά το γεγονός ότι το μόριο της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης βρίσκεται σε *trans* διαμόρφωση.



Σχ. 65. Κρυσταλλική δομή της *trans*-*N*-ακετυλο-*L*-προλίνης.

Ο κρύσταλλος χαρακτηρίζεται από τη συγκρυστάλλωση ενός μορίου *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης με ένα μόριο ύδατος. Οι διαστάσεις της μοναδιαίας κυψελίδας *a*, *b* και *c* είναι

6,609, 10,679 και 6,652 Å, αντίστοιχα (Σχήμα 66). Στον κρύσταλλο τα μόρια της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης διευθετούνται σε έναν «ζιγκ-ζαγκ» σχηματισμό κατά μήκος του άξονα *b*, η δε απόσταση μεταξύ των πυρολλιδινικών δακτυλίων που διευθετούνται παράλληλα «stacking distance» υπολογίζεται στα 6,652 Å. Τα μόρια του νερού εντοπίζονται ανάμεσα στα μόρια της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης κατά μήκος του άξονα *a*. Όλα τα άτομα οξυγόνου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης συνδέονται μέσω δεσμών υδρογόνου με μόρια νερού με αποτέλεσμα τη σταθεροποίηση του κρυσταλλικού πλέγματος.

Λεπτομερή δεδομένα για τις αποστάσεις των ατόμων, τις γωνίες των δεσμών και τις αποκλίσεις των ατόμων από το επίπεδο, όπως έχουν υπολογιστεί με τη βοήθεια του προγράμματος ORTEP-III δίνονται στους Πίνακες 32, 33 και 34 που ακολουθούν.

Στη δομή της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης παρατηρούνται επίσης, ασθενέστεροι δεσμοί υδρογόνου του τύπου C-H...O μεταξύ των καρβονυλικών ατόμων οξυγόνου O2 και O3 και των ατόμων υδρογόνου του πυρολλιδινικού δακτυλίου (βλ. Πίνακα 35).



Πίνακας 32. Αποστάσεις δεσμών σε Angstroms (Å) της κρυσταλλικής δομής της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης.

Ατομο		Απόσταση (Å)
A	B	
C1	O2	1,210
C1	O1	1,317
C1	C2	1,506
C2	Hc2	0,973
C2	N	1,435
C2	C3	1,584
C3	H1c3	0,970
C3	H2c3	0,970
C3	C4	1,345
C4	H1c4	0,970
C4	H2c4	0,970
C4	C5	1,474
C5	H2c5	0,863
C5	H1c5	1,016
C5	N	1,476
C6	O3	1,235
C6	N	1,326
C6	C7	1,494
C7	H2c7	0,902
C7	H1c7	0,943
C7	H3c7	0,995
Ho1	O1	0,889
H1w	Ow	0,809
H2w	Ow	0,775
O3	O1	3,643
O3	O2	3,183



Πίνακας 33. Γωνίες δεσμών σε μοίρες (°) της κρυσταλλικής δομής της Ν-ακετυλο-L-προλίνης.

Ατομο			Γωνία (°)
A	B	C	
O2	C1	O1	123,38
O2	C1	C2	124,63
O1	C1	C2	111,94
Hc2	C2	N	106,68
Hc2	C2	C1	105,65
Hc2	C2	C3	122,27
N	C2	C1	113,03
N	C2	C3	103,25
C1	C2	C3	106,18
H1c3	C3	H2c3	108,62
H1c3	C3	C4	110,41
H1c3	C3	C2	110,41
H2c3	C3	C4	110,41
H2c3	C3	C2	110,42
C4	C3	C2	106,56
H1c4	C4	H2c4	107,55
H1c4	C4	C3	108,58
H1c4	C4	C5	108,59
H2c4	C4	C3	108,58
H2c4	C4	C5	108,59
C3	C4	C5	114,73
H2c5	C5	H1c5	113,16
H2c5	C5	C4	118,91
H2c5	C5	N	110,47
H1c5	C5	C4	104,10
H1c5	C5	N	106,43
C4	C5	N	102,60
O3	C6	N	119,94
O3	C6	C7	122,16
N	C6	C7	117,90
H2c7	C7	H1c7	109,50
H2c7	C7	C6	109,95
H1c7	C7	C6	124,37
C6	N	C2	119,96
C6	N	C5	127,26
C2	N	C5	112,53
Ho1	O1	C1	115,22

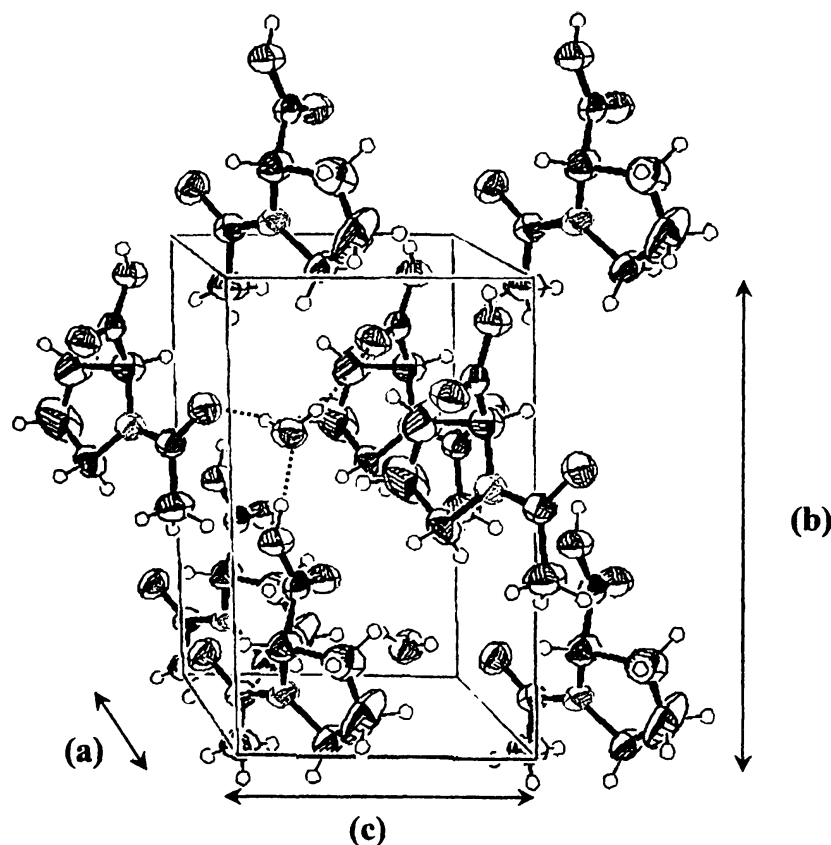


Πίνακας 34. Αποκλίσεις ατόμων από το επίπεδο στην κρυσταλλική μονάδα της N-ακετυλο-L-προλίνης.

Ατομο	Residual Mean Square (RMS) Displacements			Mean Square Atomic Displacements		
	Min	Mid	Max	Min	Mid	Max
C1	0,1856	0,2075	0,2386	0,03446	0,04306	0,05691
C2	0,1993	0,2194	0,2695	0,03973	0,04812	0,07264
C3	0,1691	0,2537	0,3973	0,02859	0,06436	0,15786
C4	0,1959	0,3134	0,4818	0,03836	0,09820	0,23211
C5	0,1823	0,2523	0,2811	0,03325	0,06367	0,07899
C6	0,1964	0,2185	0,2366	0,03858	0,04772	0,05598
C7	0,2100	0,2685	0,3025	0,04410	0,07212	0,09150
Ho1	0,1000	0,1000	0,1000	0,01000	0,01000	0,01000
H1c3	0,1000	0,1000	0,1000	0,01000	0,01000	0,01000
H1c7	0,1000	0,1000	0,1000	0,01000	0,01000	0,01000
H1c4	0,1000	0,1000	0,1000	0,01000	0,01000	0,01000
H1c5	0,1000	0,1000	0,1000	0,01000	0,01000	0,01000
H1w	0,1000	0,1000	0,1000	0,01000	0,01000	0,01000
Hc2	0,1000	0,1000	0,1000	0,01000	0,01000	0,01000
H2c3	0,1000	0,1000	0,1000	0,01000	0,01000	0,01000
H2c4	0,1000	0,1000	0,1000	0,01000	0,01000	0,01000
H2c7	0,1000	0,1000	0,1000	0,01000	0,01000	0,01000
H2c5	0,1000	0,1000	0,1000	0,01000	0,01000	0,01000
H2w	0,1000	0,1000	0,1000	0,01000	0,01000	0,01000
H3c7	0,1000	0,1000	0,1000	0,01000	0,01000	0,01000
N	0,1743	0,2266	0,2483	0,03040	0,05137	0,06165
Ow	0,2052	0,2360	0,2986	0,04211	0,05571	0,08914
O1	0,1941	0,2486	0,2624	0,03766	0,06181	0,06886
O2	0,2122	0,2314	0,2987	0,04504	0,05355	0,08920
O3	0,2051	0,2395	0,2976	0,04206	0,05735	0,08857



Όλα τα άτομα οξυγόνου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης συνδέονται μέσω ισχυρών δεσμών υδρογόνου με μόρια νερού και ένα μόριο νερού συνδέεται με τρία διαφορετικά μόρια *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης (Πίνακας 35), με αποτέλεσμα τη σταθεροποίηση του κρυσταλλικού πλέγματος, όπως φαίνεται στο Σχήμα 66 που ακολουθεί.



Σχ. 66. Διευθέτηση των μορίων της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης και του νερού στο κρυσταλλικό πλέγμα. Με στικτές κόκκινες γραμμές διακρίνονται οι δεσμοί υδρογόνου που σχηματίζει ένα μόριο νερού με τρία μόρια *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης σταθεροποιώντας τη δομή του πλέγματος ως εξής:

- (1) ένας δεσμός υδρογόνου σχηματίζεται μεταξύ του ενός H του H_2O με το O της $-COCH_3$ ομάδας ενός μορίου *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης,
- (2) ένας δεσμός υδρογόνου σχηματίζεται μεταξύ του δεύτερου H του H_2O με το O του $C=O$ του $-COOH$ ενός δεύτερου μορίου *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης και
- (3) ένας δεσμός υδρογόνου σχηματίζεται μεταξύ του O του H_2O με το H του $-COOH$ ενός τρίτου μορίου *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης.

Πίνακας 35. Διαμοριακές αποστάσεις (Å) για τους σχηματιζόμενους δεσμούς υδρογόνου.

	Απόσταση (Å) O...O _w (ή C)	Απόσταση (Å) O...H-O (ή C)	Γωνία (°) O...H-O (ή C)
Δεσμοί Υδρογόνου με μόρια νερού			
O ₁ -H _{O1} ...O _w ^a	2,580(3)	1,70(6)	171(4)
O ₂ ...H ₁ -O _w ^b	2,865(3)	2,07(5)	167(5)
O ₃ ...H ₂ -O _w	2,707(3)	1,95(5)	166(5)
Μη συμβατικοί Δεσμοί Υδρογόνου μεταξύ μορίων <i>N</i> -ακετυλο- <i>L</i> -προλίνης στον κρύσταλλο			
O ₂ ...H ₁ -C ₅ ^d	3,588(4)	2,77(6)	138(4)
O ₂ ...H ₂ -C ₇ ^d	3,569(5)	2,78(6)	145(4)
O ₃ ...H ₁ -C ₅ ^d	3,658(8)	2,76(6)	153(4)

Στις συμμετρικά ισοδύναμες θέσεις: ^a1-x, 0,5+y, 1-z; ^b1+x, y, z; ^c-1+x, y, z; ^d1-x, 0,5+y, 1-z

Παρατηρώντας στον Πίνακα 35 τις γωνίες O...H-O (ή C) των ασθενέστερων δεσμών υδρογόνου, που όπως προαναφέρθηκε παρατηρούνται στην κρυσταλλική δομή, γίνεται εμφανές ότι αποκλίνουν σημαντικά από την προβλεπόμενη τιμή των 180°. Το φαινόμενο αυτό είναι σύνηθες σε περιπτώσεις όπου μικρές αποκλίσεις από τη γραμμικότητα σταθεροποιούν το κρυσταλλικό πλέγμα υποβοηθώντας στη μείωση τυχόν ενδομοριακών απωθήσεων (Kollman, 1972).

6.6.3. ΑΝΑΦΟΡΑ ΣΕ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

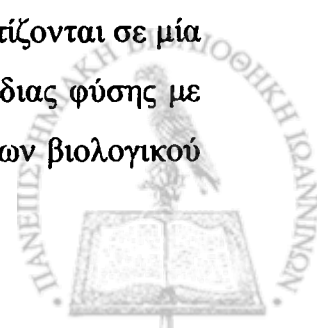
Στην περιγραφή της κρυσταλλικής δομής αναφέρθηκε πως ο δακτύλιος της προλίνης σχηματίζει διεδρη γωνία με το επίπεδο της καρβοξυλομάδας ίση με 75,9°. Η διευθέτηση αυτή της καρβοξυλομάδας σε σχέση με τον πυρολλιδινικό δακτύλιο αναφέρθηκε πως έχει ως αποτέλεσμα το μόριο της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης να βρίσκεται σε μία ενδιάμεση κατάσταση στην οποία δεν ευνοείται ο σχηματισμός γ-στροφής παρά το γεγονός ότι το μόριο της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης βρίσκεται σε *trans* διαμόρφωση. Η ενδιάμεση αυτή κατάσταση, που δεν ευνοείται ενεργειακά, εμφανίζεται και σε άλλες παρόμοιες περιπτώσεις όπως είναι το αμίδιο της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης (Benedetti *et al.*, 1976, Drück *et al.*, 1979). Η συγκεκριμένη δομή, αναφέρεται ότι σταθεροποιείται σε αυτήν την «άβολη» ενεργειακά ενδιάμεση κατάσταση (ο δακτύλιος της προλίνης σχηματίζει διεδρη γωνία με το επίπεδο της ομάδας CONH₂ ίση με 79°), εξαιτίας δύο

ισχυρών διαμοριακών δεσμών υδρογόνου που σχηματίζουν τα δύο αμιδικά πρωτόνια με άτομα οξυγόνου από γειτονικές αμιδικές και ακετυλο-ομάδες. Κάτι παρόμοιο φαίνεται να συμβαίνει και στην περίπτωση της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης. Στην κρυσταλλική δομή του *N*-μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης (Matsuzaki *et al.*, 1971) το καρβονυλικό οξυγόνο της ομάδας CONHMe δε φαίνεται να συμμετέχει καθόλου σε διαμοριακούς δεσμούς υδρογόνου εντός του κρυσταλλικού πλέγματος αν και τα μόρια διατηρούν και σε αυτήν την περίπτωση την *trans* διαμόρφωση. Στη συγκεκριμένη δομή μόρια του *N*-μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης συνδέονται μεταξύ τους διαμοριακά μέσω δεσμών υδρογόνου του τύπου $N-H \cdots O$ (το αμιδικό πρωτόνιο της ομάδας $-CONHCH_3$ ενός μορίου με το καρβονυλικό οξυγόνο της ομάδας $-COCH_3$ ενός άλλου μορίου του κρυσταλλικού πλέγματος), σχηματίζοντας αλυσίδα. Αντίθετα, σε διάλυμα τετραχλωράνθρακα, η δομή του *N*-μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης φαίνεται να σταθεροποιείται μέσω ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου (σχηματισμός γ -στροφής), όπως προκύπτει από μελέτες υπερύθρου (Mizushima *et al.*, 1952).

Ο ρόλος των μορίων του νερού, όπως προκύπτει από πλήθος ερευνών και επιλυμένων κρυσταλλικών δομών βιολογικών μορίων, είναι καθοριστικός, καθώς σχετίζεται άμεσα με την αναδίπλωση, τη σταθεροποίηση και την καλή λειτουργία των βιολογικών συστημάτων (Richards, 1991). Το γεγονός, μάλιστα, ότι εντοπίζονται, σε κρυσταλλικές δομές πρωτεϊνών, να καλύπτουν επιλεγμένα μόνο τμήματα της πρωτεϊνικής επιφάνειας, κάνει τη συσχέτισή τους με την πρωτεϊνική λειτουργία ακόμη πιο σημαντική.

Ένας βασικός ρόλος που φαίνεται να υιοθετούν τα μόρια του νερού που εντοπίζονται στις σφαίρες ενυδάτωσης βιομορίων όπως οι πρωτεΐνες, είναι αυτός του «μεσολαβητή» στις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις. Στο πλήθος των φυσικών ιδιοτήτων που προσδίδουν μοναδικότητα στα μόρια του νερού συγκαταλέγονται το μικρό τους μέγεθος, η δυνατότητά τους να σχηματίζουν τέσσερις κανονικούς δεσμούς υδρογόνου, η ικανότητά τους να περιστρέφονται τάχιστα εναλλάσσοντας τις πλευρές δότη και δέκτη πρωτονίου και η υψηλή τους κινητικότητα που επιτρέπει εύκολη ανταλλαγή της θέσης τους με άλλες πολικές ομάδες (Billeter, 1995).

Οι δεσμοί υδρογόνου που σχηματίζουν τα μόρια του νερού που εντοπίζονται σε μία κρυσταλλική δομή σταθεροποιώντας το κρυσταλλικό πλέγμα είναι της ίδιας φύσης με τις δυνάμεις που συνεισφέρουν στον σχηματισμό διαμοριακών συμπλόκων βιολογικού



ενδιαφέροντος. Στη κρυσταλλική δομή, μάλιστα, της μονοενυδατωμένης *N*-ακετυλο-L-λευκυλο-L-προλίνης (Puliti *et al.*, 1992) παρατηρείται, όπως ακριβώς και στην περίπτωση της *N*-ακετυλο-L-προλίνης, ένα μόριο νερού να σχηματίζει τρεις δεσμούς υδρογόνου με τρία διαφορετικά μόρια *N*-ακετυλο-L-λευκυλο-L-προλίνης σταθεροποιώντας και σε αυτή την περίπτωση το κρυσταλλικό πλέγμα. Οι συγκεκριμένοι μάλιστα δεσμοί υδρογόνου εμφανίζουν τα ίδια δομικά χαρακτηριστικά με αυτά του πλέγματος της *N*-ακετυλο-L-προλίνης (οι διαμοριακές αποστάσεις μεταξύ δότη και δέκτη πρωτονίου είναι 2,842, 2,774 και 2,833 Å ενώ οι αντίστοιχες γωνίες μεταξύ των ατόμων είναι 177°, 167° και 163°) (Βλ. παράλληλα και Πίνακα 27, σελ. 201).

Οι συνθήκες που ωθούν στον σχηματισμό δεσμών υδρογόνου τύπου C-H...O, καθώς και ο ρόλος αυτών στην τελική διαμόρφωση των κρυστάλλων και στη χωροδιάταξη των μορίων εντός του κρυσταλλικού πλέγματος «πακετάρισμα», είναι ιδιαίτερα σημαντικές στη μοριακή βιολογία, όπου τα μόρια που εμπλέκονται εμφανίζουν πλήθος ενδομοριακών και διαμοριακών αλληλεπιδράσεων της μορφής C-H...O και C-H...N (Jeffrey, από το βιβλίο “An Introduction to Hydrogen Bonding”, Oxford University Press, Inc., New York, Oxford, 1997, σελ. 85-97). Τέτοιου τύπου δεσμοί υδρογόνου έχουν παρατηρηθεί και σε άλλες κρυσταλλικές δομές όπως στην *N*-ακετυλο-L-προλυλο-γλυκίνη, στη μονοενυδατωμένη *N*-ακετυλο-L-λευκυλο-L-προλίνη και σε κρυσταλλικά πλέγματα φορμαμιδίων του τύπου HCO(NH)(CH₂)_n(NH)OCH (n = 4-7) (Puliti *et al.*, 1992, Puliti *et al.*, 1993, Chaney *et al.*, 1996).

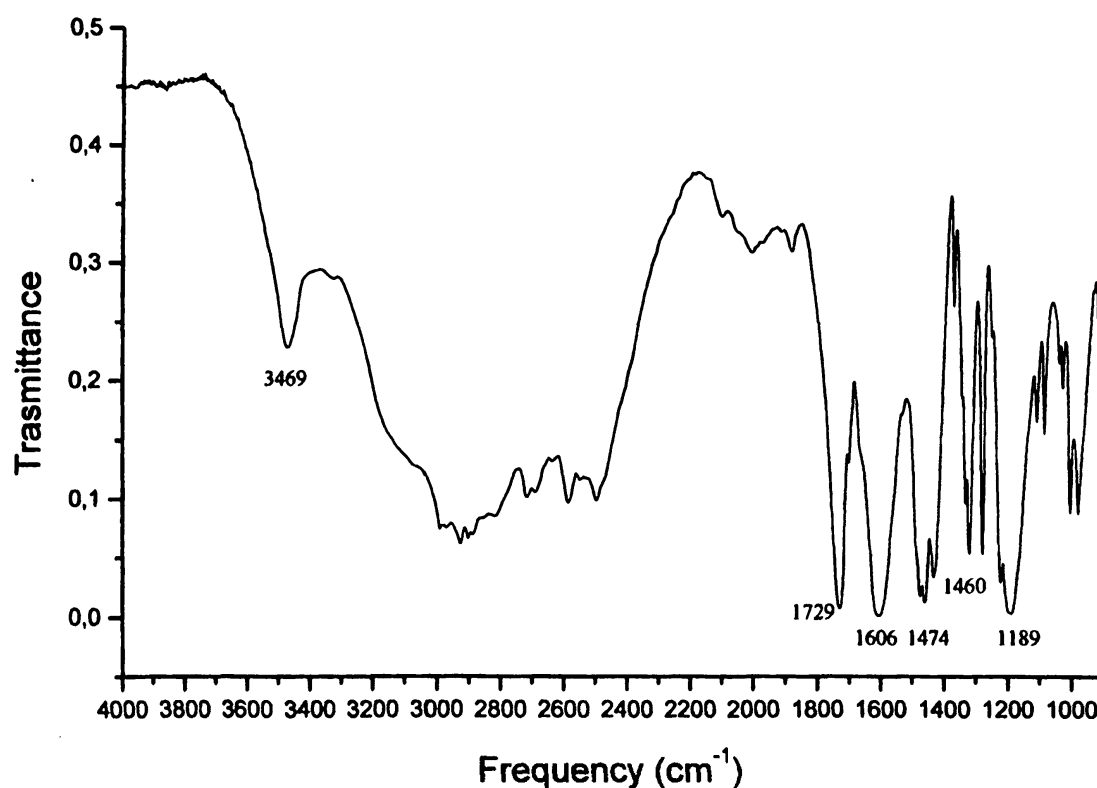
Γενικότερα, ασθενέστεροι δεσμοί υδρογόνου (απόσταση μεταξύ δέκτη και δότη πρωτονίου ίση με 3,243 Å), που έχουν ως αποτέλεσμα τη σταθεροποίηση του κρυσταλλικού πλέγματος, παρατηρούνται και σε παρεμφερή κρυσταλλικά πλέγματα όπως για παράδειγμα στην περίπτωση της μονοενυδατωμένης L-προλίνης (Janczak *et al.*, 1997).



6.6.4. ΦΑΣΜΑΤΑ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΤΗΣ Ν-ΑΚΕΤΥΛΟ-Λ-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ Ν-ΜΕΘΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΚΑΙ ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΑ

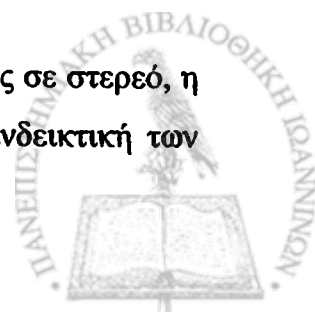
6.6.4.1. ΦΑΣΜΑ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ ΣΤΕΡΕΑΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΗΣ Ν-ΑΚΕΤΥΛΟ-Λ-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΣΚΙΑ KBr

Στο φάσμα υπερύθρου στερεάς κατάστασης (Σχήμα 67) της ένωσης σε δισκία KBr πιστοποιείται η ύπαρξη των δεσμών υδρογόνου μεταξύ των μορίων του νερού και της Ν-ακετυλο-Λ-προλίνης.



Σχ. 67. FT-IR φάσμα, στερεάς κατάστασης, της Ν-ακετυλο-Λ-προλίνης σε δισκίο KBr.

Στην περίπτωση του φάσματος υπερύθρου της Ν-ακετυλο-Λ-προλίνης σε στερεό, η κορυφή στους 3469 cm⁻¹ αποδίδεται στο περιεχόμενο νερό και είναι ενδεικτική των



ισχυρών δεσμών υδρογόνου του μορίων του νερού με τα μόρια της ουσίας. Τόσο η ισχύς των δεσμών υδρογόνου που σχηματίζουν τα μόρια του νερού όσο και η μετατόπιση της ταινίας της δόνησης τάσεως της υδροξυλομάδας OH είναι παράμετροι που σχετίζονται άμεσα. Η απόκριση, ωστόσο, των δύο φαινομένων δεν είναι 1:1. Η ύπαρξη διαφορετικά διευθετημένων δεσμών υδρογόνου στο ίδιο σύστημα, έχει ως αποτέλεσμα την διεύρυνση και υπερκάλυψη των αντιστοίχων νOH ταινιών απορρόφησης στα φάσματα υπερύθρου (Wang *et al.*, 2003).

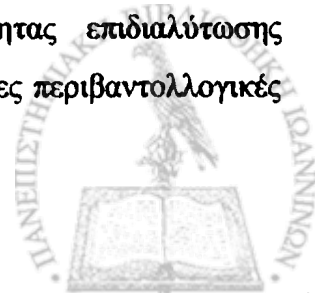
Η πολύ ευρεία και έντονη ταινία που εμφανίζεται στην περιοχή μεταξύ των 3600 και 2400 cm^{-1} οφείλεται στη δόνηση τάσεως της δεσμευμένης μέσω ισχυρών δεσμών υδρογόνου υδροξυλομάδας, νOH, της καρβοξυλικής ομάδας της ένωσης. Αυτή η έντονη μετατόπιση θα πρέπει να αποδοθεί στη μεγάλη ισχύ του δεσμού υδρογόνου που σχηματίζεται μεταξύ του πρωτονίου της καρβοξυλομάδας και του οξυγόνου του νερού.

Η συμμετοχή των μορίων της Ν-ακετυλο-L-προλίνης σε δεσμούς υδρογόνου είναι επίσης προφανής και από τις κορυφές απορρόφησης των καρβονυλικών ομάδων (C=O) της ένωσης τόσο του καρβοξυλίου στα 1729 cm^{-1} όσο και του αμιδικού καρβονυλίου στα 1606 cm^{-1} , μετατοπισμένες προς χαμηλότερες συχνότητες. Οι μετατοπίσεις αυτές, των απορροφήσεων των δύο καρβονυλίων της ένωσης, προς χαμηλότερες συχνότητες, οφείλονται σε σχηματισμό ισχυρών δεσμών υδρογόνου με μόρια του νερού και είναι σε άριστη συμφωνία με τα βιβλιογραφικά δεδομένα (Avram *et al.*, “Spectroscopie Infrarouge. Applications en Chimie Organique”, Paris 1970).

6.6.4.2. ΦΑΣΜΑΤΑ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ ΤΗΣ Ν-ΑΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ

6.6.4.2.1. ΓΕΝΙΚΑ ΣΧΟΛΙΑ

Μέχρι στιγμής, έγινε συζήτηση για τα χαρακτηριστικά της δομής της Ν-ακετυλο-L-προλίνης όπως αυτά προκύπτουν από τα κρυσταλλογραφικά δεδομένα και τη φασματοσκοπία υπερύθρου σε στερεό. Στη συνέχεια, θα δοθεί έμφαση, στην επίδραση διαλυτών διαφορετικής διηλεκτρικής σταθεράς και ικανότητας επιδιαλύτωσης προσομοιώνοντας, κατά περίπτωση, είτε υδρόφιλες είτε υδρόφοβες περιβαλλοντικές



συνθήκες και στη μελέτη της επίδρασης του διαλύτη στην τελική διαμόρφωση του πεπτιδίου. Παράλληλα γίνεται σύγκριση και συσχέτιση με τη βιβλιογραφία.

Θα εξεταστούν οι περιοχές δόνησης τάσεως του $-OH$ και των δύο καρβονυλίων της ένωσης. Τόσο στη μία περιοχή όσο και στην άλλη παρατηρούνται περισσότερες της μιας απόρροφες, οι οποίες αποδίδονται στη συμμετοχή ή μη των συγκεκριμένων ομάδων σε διάφορες ενδομοριακές και διαμοριακές αλληλεπιδράσεις. Συμμετοχή σε δεσμό υδρογόνου οδηγεί σε μείωση της συχνότητας δόνησης, τόσο μεγαλύτερη όσο ισχυρότερος είναι ο σχηματιζόμενος δεσμός υδρογόνου.

Μελέτες διαλυμάτων διολών σε διάλυμα CCl_4 (Kuhn, 1951, Kuhn, 1958), με στόχο τη συλλογή πληροφοριών σχετικών με τη αλληλεξάρτηση μοριακής δομής και σχηματισμού ενδομοριακών δεσμών υδρογόνου, σε μικρές συγκεντρώσεις (έως 5 mM), ώστε να μην ευνοείται σχηματισμός διαμοριακών δεσμών υδρογόνου, έδειξαν ότι στα φάσματα υπερύθρου των εν λόγω συστημάτων εμφανίζονται δύο ταινίες, αντιστοιχούσες σε δόνηση τάσεως νOH . Η ταινία σε υψηλότερες συχνότητες αναφέρεται στην ελεύθερη ομάδα υδροξυλίου, ενώ αυτή σε χαμηλότερες συχνότητες στη δεσμευμένη μέσω δεσμών υδρογόνου. Η εμφάνιση των δύο ταινιών, η μία εκ των οποίων αποδίδεται σε ενδομοριακούς δεσμούς υδρογόνου, συνδέεται άμεσα με τα ακόλουθα στοιχεία: (α) Μόνο οι ενώσεις εκείνες για τις οποίες το μήκος του παρατηρούμενου δεσμού υδρογόνου είναι μικρότερο των 3,3 Å εμφανίζουν δύο ταινίες στο φάσμα υπερύθρου. (β) Ο λόγος των εντάσεων των δύο ταινιών εξαρτάται άμεσα από τη συγκέντρωση του διαλύματος. (γ) Σε πιο πυκνά διαλύματα παρουσιάζεται ταινία οφειλόμενη σε σχηματιζόμενους διαμοριακούς δεσμούς υδρογόνου και μάλιστα σε συχνότητες σημαντικά χαμηλότερες από αυτές που αποδίδονται σε ενδομοριακούς δεσμούς υδρογόνου της ομάδας OH .

Προκειμένου να αποδειχτεί ότι ο παρατηρούμενος δεσμός υδρογόνου είναι ενδομοριακός και όχι διαμοριακός εξετάστηκαν οι εντάσεις των δύο ταινιών σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Όταν η αλληλεπίδραση ήταν διαμοριακή η ένταση της χαμηλής συχνότητας ταινίας μειωνόταν, ενώ της άλλης παρουσίαζε αύξηση οδεύοντας σε αραιότερα διαλύματα. Στην αντίθετη περίπτωση, όπου καμία διαφοροποίηση της μεταβολής της έντασης των δύο αυτών κορυφών δε συνέβαινε καθώς μεταβαλλόταν η συγκέντρωση, προέκυπτε το συμπέρασμα ότι οι παρατηρούμενοι δεσμοί υδρογόνου θα έπρεπε να είναι ενδομοριακοί.



Πυκνά διαλύματα διολών, τέτοια ώστε να επιτρέπουν τη διαμοριακή αλληλεπίδραση (Kuhn, 1951, Kuhn, 1958), εμφάνισαν, επιπλέον των κορυφών που αποδίδονταν σε ελεύθερες και δεσμευμένες μέσω ενδομοριακών δεσμών υδρογόνου ομάδες OH, και τρίτη κορυφή σε χαμηλότερες συχνότητες οφειλόμενη σε σχηματισμό διαμοριακών δεσμών υδρογόνου. Ο συντελεστής απόσβεσης της εν λόγω ταινίας παρουσίασε μείωση κατά την αραιώση των διαλυμάτων, ενώ σε συγκεντρώσεις μικρότερες των 4 mM η ταινία αυτή ήταν πλέον ανεπαίσθητη στο φάσμα υπερύθρου.

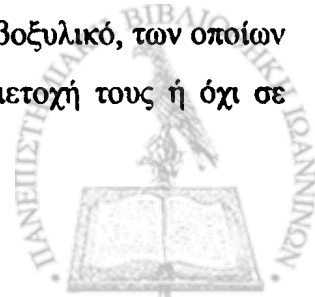
Όσο πιο κοντά βρίσκονται οι δύο αλληλεπιδρούσες υδροξυλομάδες, τόσο ισχυρότερος είναι ο δεσμός υδρογόνου που σχηματίζεται και κατ' επέκταση τόσο μεγαλύτερη και η διαφορά Δν μεταξύ των κορυφών στο φάσμα υπερύθρου, που αποδίδονται στην ελεύθερη και στη δεσμευμένη ομάδα OH.

Μελέτες, τέλος, συστημάτων διολών τόσο σε διάλυμα όσο και σε κρυσταλλική μορφή έδειξαν ότι ο αριθμός των παρατηρούμενων κορυφών σε διάλυμα εξαρτάται κατά κύριο λόγο από τη γεωμετρία του μορίου, ενώ σε στερεά κατάσταση εξαρτάται πιθανότατα από τη γενικότερη γεωμετρία του κρυστάλλου, δηλαδή από τον τρόπο διεύθετης των μορίων στο κρυσταλλικό πλέγμα και τις αναμεταξύ τους αλληλεπιδράσεις.

Δύο παράγοντες δύνανται να παίζουν σημαντικό ρόλο στην ισχύ του σχηματιζόμενου δεσμού υδρογόνου: ο στερικός και η πολικότητα των ατόμων που συμμετέχουν στο δεσμό αυτό. Ο πρώτος παράγοντας, με βάση την προσέγγιση των υδροξυλομάδων, καθορίζει την ισχύ του σχηματιζόμενου δεσμού υδρογόνου. Ο δεύτερος παράγοντας μπορεί να αυξήσει την ισχύ του δεσμού υδρογόνου ενισχύοντας είτε την οξύτητα του ατόμου του υδρογόνου είτε τη βασικότητα του ατόμου του οξυγόνου που συμμετέχει στον εν λόγω δεσμό.

Παρόμοια συμπεριφορά και εξήγηση με τις αλκοόλες-διόλες, οι οποίες έχουν τη δυνατότητα σχηματισμού ενδομοριακών και διαμοριακών δεσμών υδρογόνου, επιδεικνύουν και τα καρβοξυλικά οξέα με τις αντίστοιχες δυνατότητες. Για τα καρβοξυλικά οξέα όμως, που σχηματίζουν ισχυρότερους δεσμούς υδρογόνου, οι συχνότητες δόνησης τάσεως των -OH είναι μετατοπισμένες χαμηλότερα και μία πολύ ευρεία ταινία καλύπτει το φάσμα υπερύθρου από 3600 έως 2400 cm^{-1} περίπου.

Ανάλογα συμπεριφέρονται και τα καρβονύλια, αμιδικό ή καρβοξυλικό, των οποίων οι ταινίες απορρόφησης $\nu_{\text{C=O}}$ επηρεάζονται άμεσα από τη συμμετοχή τους ή όχι σε δεσμό υδρογόνου.



Λαμβάνοντας υπόψη όσα προαναφέρθηκαν μπορεί να γίνει μία καλή προσέγγιση της συμπεριφοράς της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης σε διαλύτες διαφορετικής πολικότητας όπως είναι το ισχυρά πολικό διμεθυλοσουλφοξείδιο (διηλεκτρική σταθερά: 46,7), το ακετονιτρίλιο (διηλεκτρική σταθερά: 37,5) και τέλος το χλωροφόρμιο (διηλεκτρική σταθερά: 4,8).

Στους Πίνακες που ακολουθούν παρατίθενται οι χαρακτηριστικές ταινίες απορρόφησης των FT-IR φασμάτων της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης, ανά διαλύτη και συγκέντρωση διαλύματος καθώς επίσης και των παραγώγων ενώσεων αυτής.

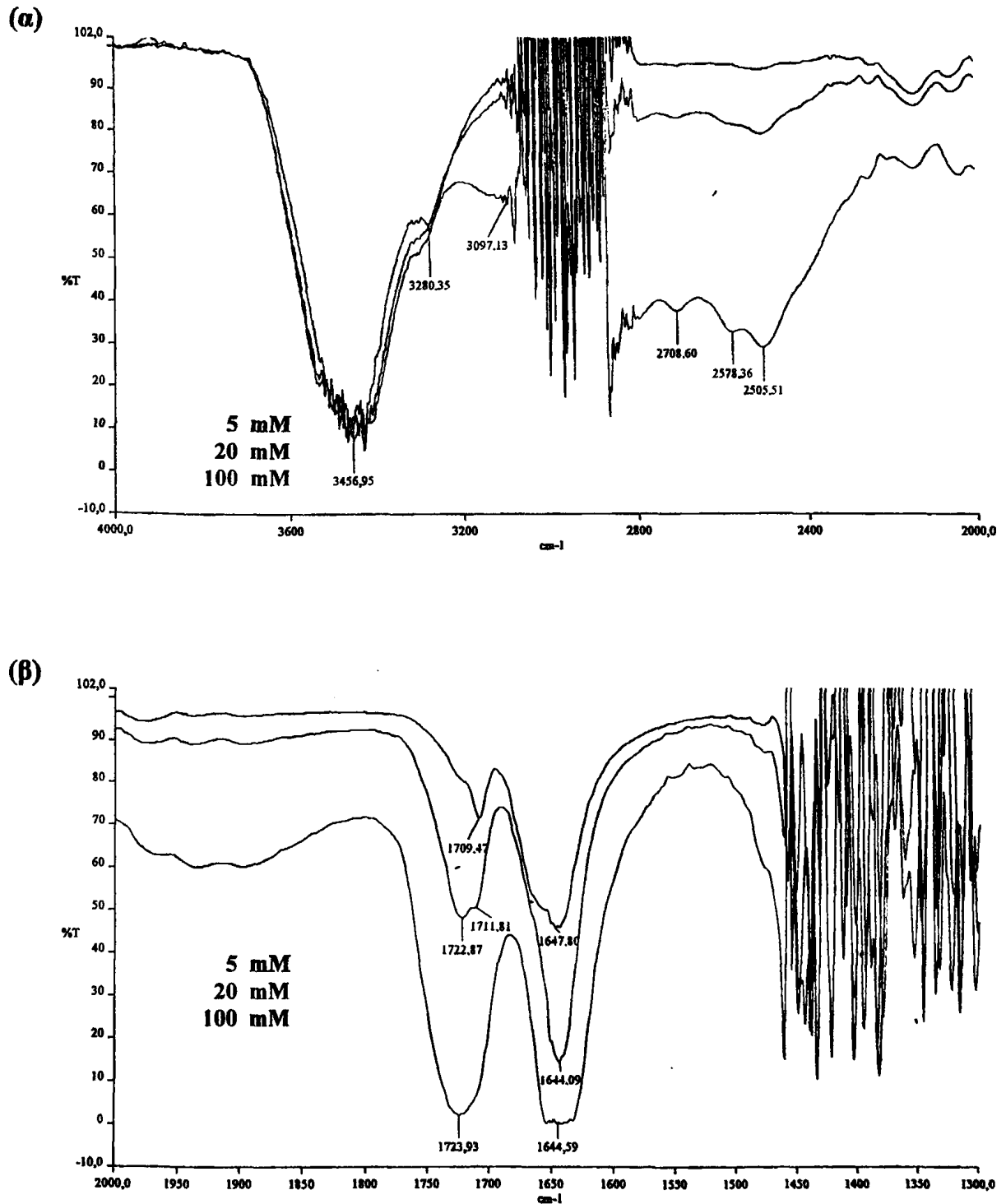
6.6.4.2.2. ΜΕΛΕΤΕΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ ΤΗΣ *N*-ΑΚΕΤΥΛΟ-*L*-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΔΙΜΕΘΥΛΟΣΟΥΛΦΟΞΕΙΔΙΟΥ

Στον Πίνακα 36 και στα Σχήματα 68 (α) και 68 (β) παρατίθενται τα δεδομένα από τα φάσματα υπερύθρου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης σε διάλυμα διμεθυλοσουλφοξειδίου σε τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις.

Πίνακας 36. Χαρακτηριστικές δονήσεις τάσεως (cm^{-1}) των FT-IR φασμάτων της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης στην περιοχή απορρόφησης $4000\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$, σε διαλύτη διμεθυλοσουλφοξείδιο και συγκεντρώσεις από 5 έως 100 mM.

	Συγκέντρωση <i>N</i> -ακετυλο- <i>L</i> -προλίνης (mM) (Διαλύτης: Διμεθυλοσουλφοξείδιο/DMSO)		
	5	20	100
Χαρακτηριστικές ταινίες απορρόφησης (cm^{-1})	3455	3455	3455
	3280	3280	3280
	3097	3097	3097
	2709	2709	2709
	2578	2578	2578
	2506	2506	2506
	1721sh	1723	1724
	1709	1711	-
	1648	1644	1645





Σχ. 68. Φάσματα υπερύθρου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης (α) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας -OH και (β) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας C=O, σε διαλύτη διμεθυλοσουλφοξείδιο και συγκεντρώσεις από 5 έως 100 Mm.

Στα διαλύματα *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης-διμεθυλοσουλφοξειδίου παρατηρείται έντονη αλληλεπίδραση του αμιδίου με το διαλύτη, ο οποίος καθώς είναι ιδιαίτερα

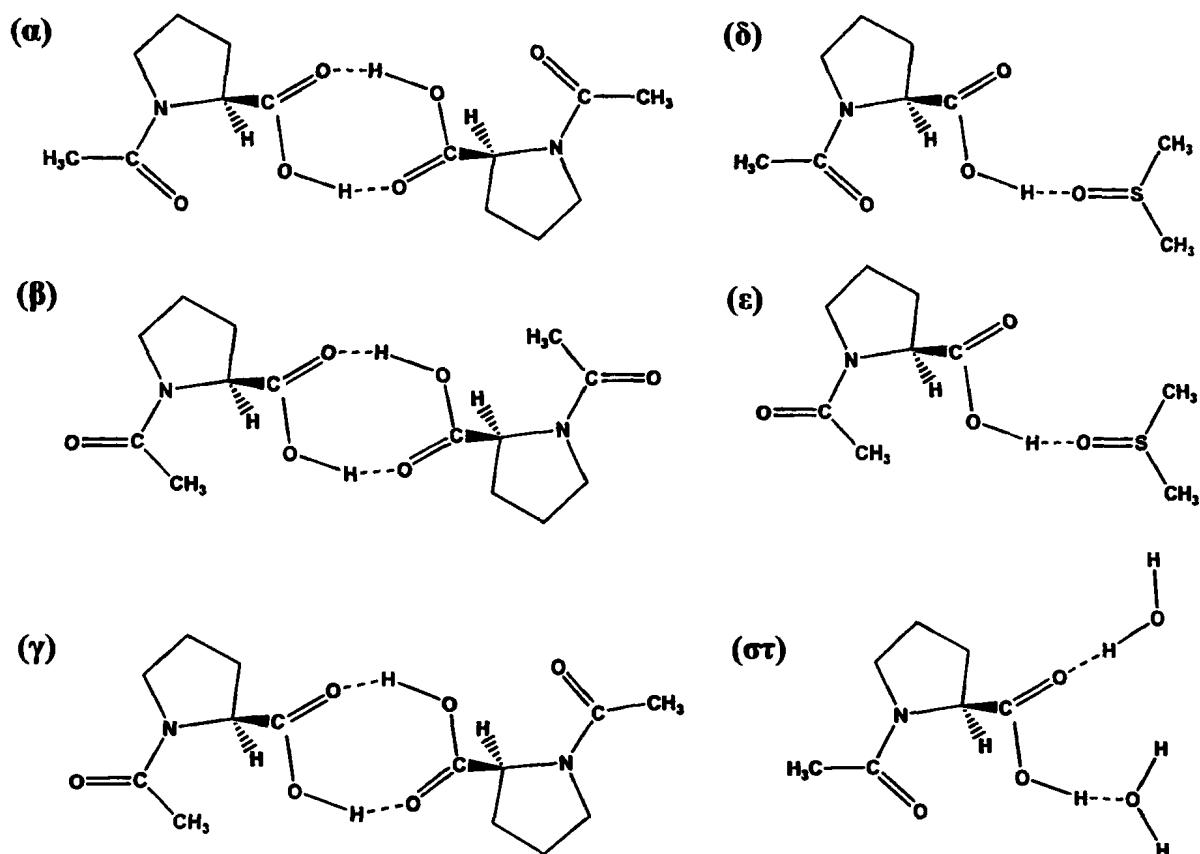


υγροσκοπικός περιέχει και κάποια ποσότητα υγρασίας, που αναπόφευκτα αλληλεπιδρά με μόρια του αμιδίου. Αυτό είναι εμφανές από την πολύ ισχυρή και ευρεία ταινία γύρω στα 3460 cm^{-1} , η οποία δείχνει να είναι ανεξάρτητη της συγκέντρωσης [Σχήμα 68 (α)]. Στην ίδια περιοχή, όμως, απορροφούν και τα OH της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης που σχηματίζουν δεσμό υδρογόνου με το διαλύτη, κάτι που γίνεται εμφανές από την ευρεία κορυφή που εμφανίζεται ως ώμος γύρω στους 3300 cm^{-1} . Η ευρεία ταινία στην περιοχή μεταξύ 2500 και 3100 cm^{-1} θα μπορούσε να αποδοθεί σε δονήσεις τάσεως του OH που συμμετέχει σε σχηματισμό ισχυρών διαμοριακών δεσμών υδρογόνου είτε των σχηματιζόμενων διμερών είτε των πολυμερών αλυσίδων, μια και σε αυτήν την περίπτωση, η ταινία αυτή ενισχύεται σημαντικά με την αύξηση της συγκέντρωσης.

Η ισχυρή επίδραση του διαλύτη είναι εμφανής και στην περιοχή απορρόφησης του καρβονυλίου, όπου έχουμε κυρίως δύο ταινίες για τα δύο καρβονύλια του μορίου, αυτή στους 1710 cm^{-1} και 1724 cm^{-1} για το καρβοξυλικό καρβονύλιο και αυτή στους 1645 cm^{-1} για το αμιδικό καρβονύλιο [Σχήμα 68 (β)]. Η απουσία ταινίας γύρω στους 1590 cm^{-1} αποτελεί ένδειξη για τη μη συμμετοχή του καρβονυλικού C=O σε ισχυρό ενδομοριακό δεσμό υδρογόνου (γ -στροφή) στο συγκεκριμένο σύστημα. Ο σχηματισμός ωμών περίπου στους 1710 cm^{-1} αποδίδεται στον περιορισμένο σχηματισμό διμερών και ενδεχομένως σε συμμετοχή του C=O του COOH σε δεσμό υδρογόνου με μόρια νερού από το διαλύτη.

Όλες οι παραπάνω διαμοριακές αλληλεπιδράσεις στο σύστημα *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης-DMSO σκιαγραφούνται προσεγγιστικά στο Σχήμα 69 που ακολουθεί:





Σχ. 69. Σχηματική παράσταση πιθανών διαμοριακών αλληλεπιδράσεων στο σύστημα *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης-διμεθυλοσουλφοξειδίου (DMSO). Σχηματισμός κυκλικών διμερών (α) μεταξύ *trans* ισομερών, (β) μεταξύ *cis* ισομερών και (γ) μεταξύ *cis* και *trans* ισομερών της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης. (δ)-(ε) Διαμοριακές αλληλεπιδράσεις μεταξύ *trans* και *cis* ισομερών της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης και του διαλύτη, (στ) Αναπόφευκτη αλληλεπίδραση μορίων της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης και του νερού που φέρει το υγροσκοπικό DMSO.

Από τη μελέτη των φασμάτων γίνεται εμφανής η σχεδόν αποκλειστική επικράτηση της επίδρασης του διαλύτη στο αμίδιο δρώντας ανταγωνιστικά ως προς το σχηματισμό ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου. Η αλληλεπίδραση μάλιστα αμιδίου-διαλύτη είναι έντονη σε όλες τις συγκεντρώσεις ενώ, σε υψηλές συγκεντρώσεις, ανταγωνίζεται ακόμα και το φαινόμενο του διμερισμού/πολυμερισμού.

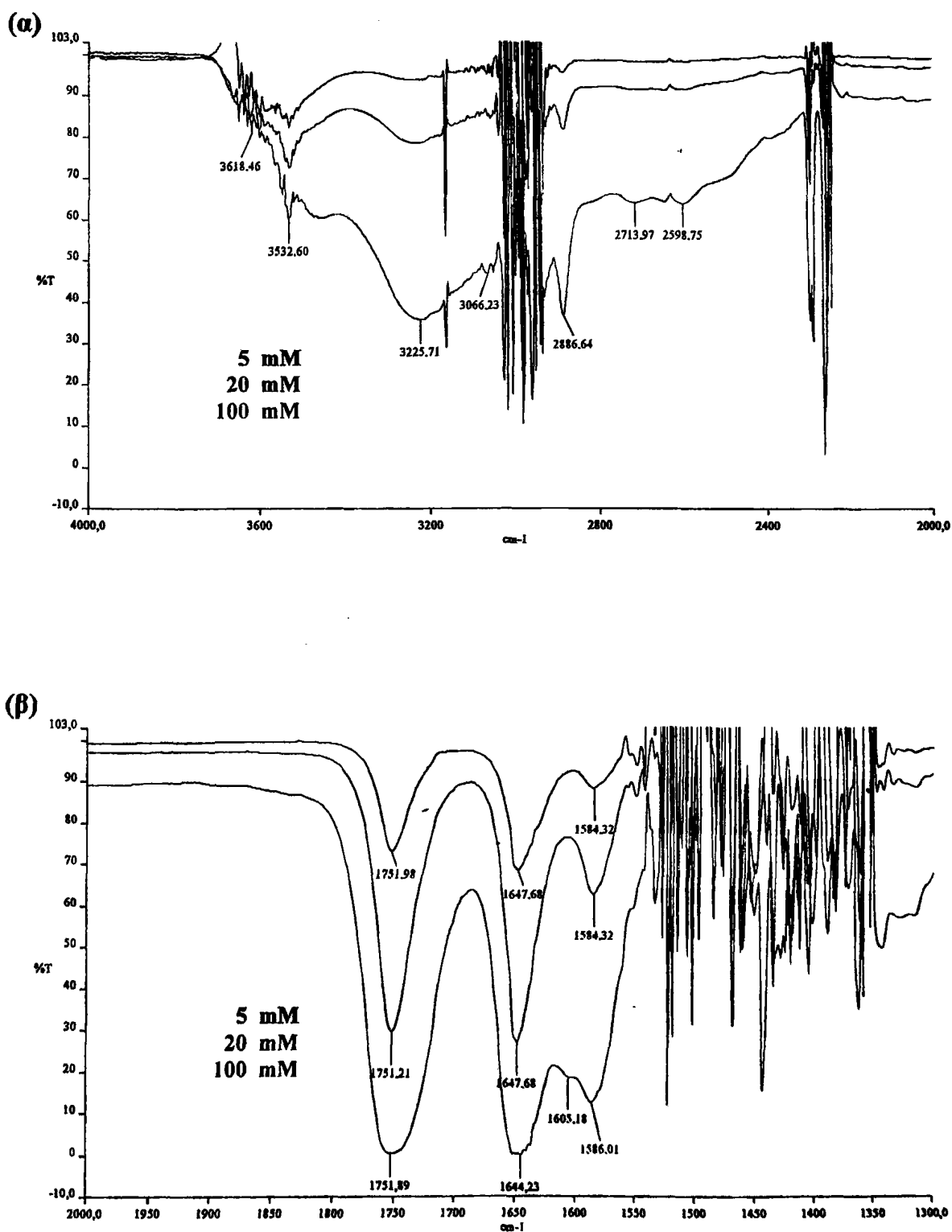
6.6.4.2.3. ΜΕΛΕΤΕΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ ΤΗΣ Ν-ΑΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΑΚΕΤΟΝΙΤΡΙΛΙΟΥ

Στον Πίνακα 37 και στα Σχήματα 70 (α) και 70 (β) παρατίθενται τα δεδομένα από τα φάσματά υπερύθρου της Ν-ακετυλο-L-προλίνης σε διάλυμα ακετονιτρίλιου σε τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις. Από τη μελέτη των συγκεκριμένων φασμάτων υπερύθρου γίνεται, εμφανής η διαφορετική διευθέτηση των μορίων στο σύστημα όπου, στην περίπτωση αυτή, επηρεάζονται λιγότερο από το διαλύτη, σε σύγκριση με την περίπτωση του διμεθυλοσουλφοξειδίου και σε μεγαλύτερο βαθμό από τις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις.

Πίνακας 37. Χαρακτηριστικές δονήσεις τάσεως (cm^{-1}) των FT-IR φασμάτων της Ν-ακετυλο-L-προλίνης στην περιοχή απορρόφησης $4000\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$, σε διαλύτη ακετονιτρίλιο και συγκεντρώσεις από 5 έως 100 mM.

	Συγκέντρωση Ν-ακετυλο-L-προλίνης (mM) (Διαλύτης: Ακετονιτρίλιο)		
	5	20	100
Χαρακτηριστικές ταινίες απορρόφησης (cm^{-1})	3618	3618	3618
	3533	3533	3533
	3226	3226	3226
	2887	2887	2887
	2752	2751	2752
	1721sh	1721	1721
	1648	1648	1649
	-	-	1605
	1584	1584	1586





Σχ. 70. Φάσματα υπεράυθρου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης (α) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας -OH και (β) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας C=O, σε διαλύτη ακετονιτρίλιο και συγκεντρώσεις από 5 έως 100 mM.



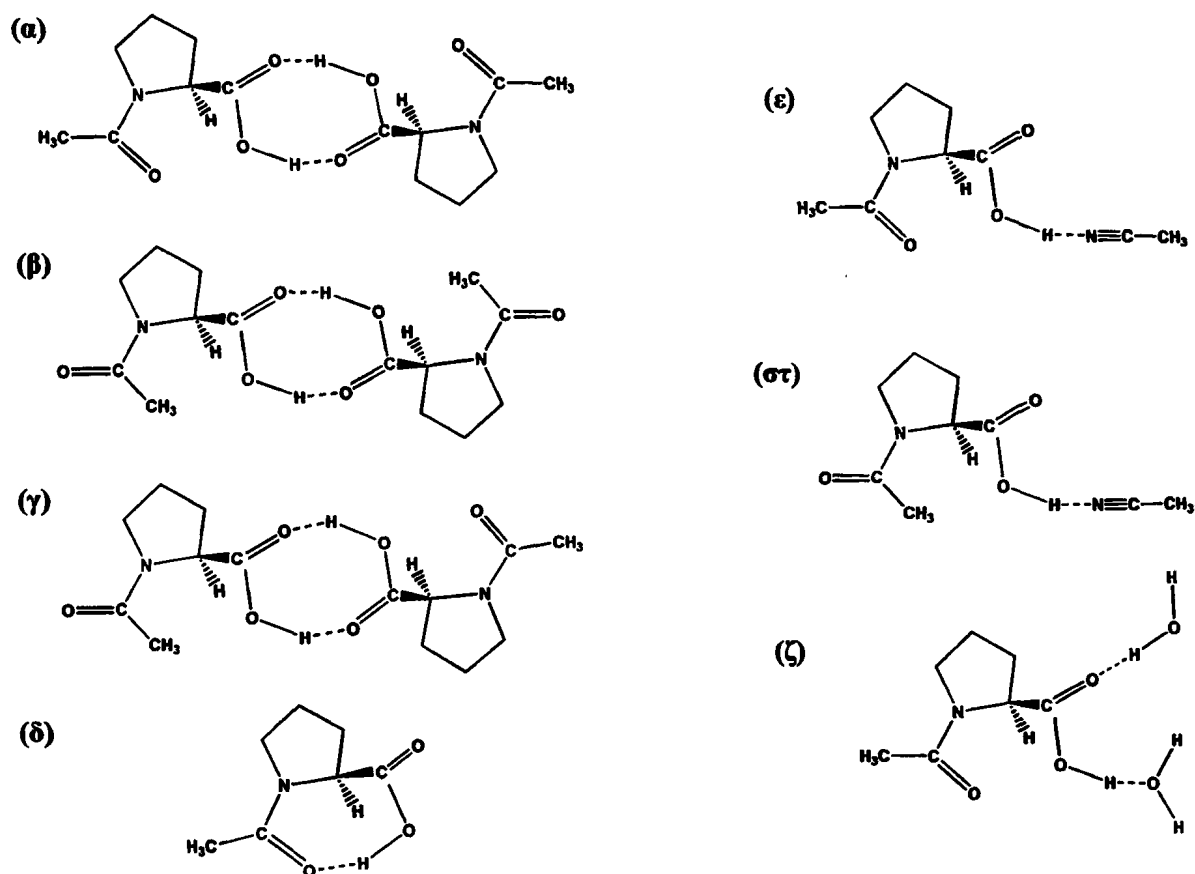
Μία μικρή κορυφή στα 3618 cm^{-1} θα μπορούσε να αποδοθεί στην ύπαρξη ενός πολύ μικρού ποσοστού υγρασίας στο διαλύτη.

Η ευρεία ταινία στα 3533 cm^{-1} θα μπορούσε να αποδοθεί σε σχηματισμό σχετικά ασθενών δεσμών υδρογόνου μεταξύ μορίων της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης και του διαλύτη, του τύπου $\text{-COOH}\cdots\text{N}\equiv\text{C-CH}_3$, ενώ η πολύ ευρεία ταινία, που εντοπίζεται γύρω στους 3226 cm^{-1} και καλύπτει την περιοχή $2400\text{-}3250\text{ cm}^{-1}$, αποδίδεται σε νOH , λόγω ενδόμοριακών (σχηματισμός γ -στροφής) ή διαμοριακών (σχηματισμός διμερών και πολυμερών) αλληλεπιδράσεων μεταξύ μορίων της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης [Σχήμα 70 (α)]. Η ευρεία αυτή ταινία γίνεται ιδιαίτερα έντονη με την αύξηση της συγκέντρωσης.

Στην περιοχή απορρόφησης των καρβονυλίων παρατηρούνται τέσσερις ταινίες εκ των οποίων μία στους 1752 cm^{-1} , ένας ώμος περίπου στους 1720 cm^{-1} , μία τρίτη στους 1648 cm^{-1} και τέλος μία τέταρτη κορυφή στους 1584 cm^{-1} [Σχήμα 70 (β)]. Το ακετονιτρίλιο είναι ένας μέτρια πολικός διαλύτης, ο οποίος αλληλεπιδρά με την ομάδα COOH της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης σχηματίζοντας δεσμούς υδρογόνου σε όλες τις συγκεντρώσεις, οι οποίοι, όμως, είναι ασθενέστεροι από αυτούς των ενδομοριακών και των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων μεταξύ μορίων του αμιδίου. Ως εκ τούτου αυτές οι ταινίες απορρόφησης μπορούν να αποδοθούν ως εξής: Η ταινία στους 1648 cm^{-1} αποδίδεται στο αμιδικό καρβονύλιο C=O ($\text{CH}_3\text{C(O)N<}$), όταν δε συμμετέχει σε δεσμό υδρογόνου το ίδιο, ενώ η ταινία στους 1584 cm^{-1} αποδίδεται στην ίδια ομάδα του *trans* ισομερούς όταν εμπλέκεται η ίδια σε δεσμό υδρογόνου, στην περίπτωση της γ -στροφής. Απόδειξη τούτου αποτελεί το γεγονός ότι η ταινία αυτή υπάρχει στο φάσμα από τη συγκέντρωση των 5 mM . Η ταινία στους 1752 cm^{-1} αποδίδεται στο C=O του COOH με ενδομοριακό δεσμό υδρογόνου (γ -στροφή), αφού δεν εμπλέκεται το ίδιο, ενώ όταν σχηματίζει διμερή εμφανίζεται χαμηλότερα, ως ώμος, στους 1720 cm^{-1} . Η εμφάνιση μίας ταινίας απορρόφησης γύρω στους 1600 cm^{-1} , ως ώμος, σε συγκέντρωση 100 mM θα μπορούσε να αποδοθεί στο μερικά ιονισμένο καρβοξύλιο που δημιουργείται εντός του συγκεκριμένου διαλύτη.

Όλες οι παραπάνω διαμοριακές αλληλεπιδράσεις στο σύστημα *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης-ακετονιτρίλιου παριστάνονται προσεγγιστικά στο Σχήμα 71 που ακολουθεί:





Σχ. 71. Σχηματική παράσταση πιθανών διαμοριακών αλληλεπιδράσεων στο σύστημα *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης-ακετονιτριλίου. Σχηματισμός κυκλικών διμερών (α) μεταξύ *trans* ισομερών, (β) μεταξύ *cis* ισομερών και (γ) μεταξύ *cis* και *trans* ισομερών της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης, (δ) Σχηματισμός ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου στο *trans* ισομερές της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης (γ-στροφή), (ε)-(στ) Διαμοριακές αλληλεπιδράσεις μεταξύ *trans* και *cis* ισομερών της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης και του διαλύτη, (ζ) Αναπόφευκτη αλληλεπίδραση μορίων της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης και του νερού που φέρει το ακετονιτρίλιο.

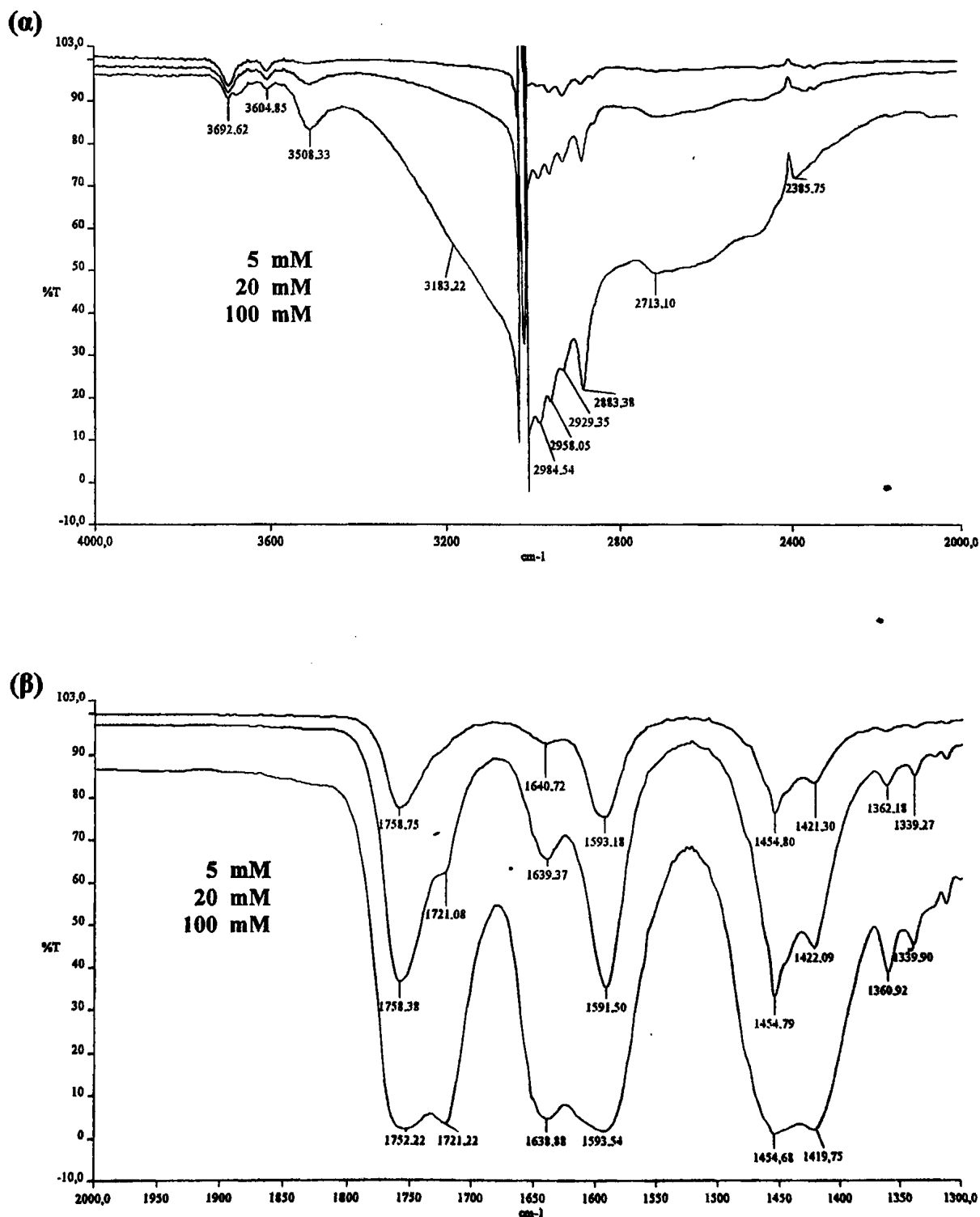
6.6.4.2.4. ΜΕΛΕΤΕΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ ΤΗΣ Ν-ΑΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ

Στον Πίνακα 38 και στα Σχήματα 72 (α) και 72 (β) παρατίθενται τα δεδομένα από τα φάσματα υπερύθρου της Ν-ακετυλο-L-προλίνης σε διάλυμα χλωροφόρμιο σε συγκεντρώσεις 5, 20 και 100 mM.

Πίνακας 38. Χαρακτηριστικές δονήσεις τάσεως (cm^{-1}) των FT-IR φασμάτων της Ν-ακετυλο-L-προλίνης στην περιοχή απορρόφησης $4000\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$, σε διαλύτη χλωροφόρμιο και συγκεντρώσεις από 5 έως 100 mM.

	Συγκέντρωση Ν-ακετυλο-L-προλίνης (mM) (Διαλύτης: Χλωροφόρμιο)		
	5	20	100
Χαρακτηριστικές ταινίες απορρόφησης (cm^{-1})	3693	3693	3693
	3605	3605	3605
	3508	3508	3508
	2985	2985	2985
	2958	2958	2958
	2929	2929	2929
	2883	2883	2883
	2713	2713	2713
	1721sh	1721	1721
	1640	1639	1639
	1593	1592	1594
	1455	1455	1455
	1421	1422	1420





Σχ. 72. Φάσματα υπερύθρου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης (α) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας -OH και (β) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας C=O, σε διαλύτη γλωροφόρμιο και συγκεντρώσεις από 5 έως 100 mM.



Η ταινία που παρατηρείται στους 3508 cm^{-1} , αποδίδεται στη δόνηση τάσεως της ελεύθερης υδροξυλομάδας [Σχήμα 72 (α)]. Η πολύ ευρεία ταινία που καλύπτει την περιοχή από τους 3400 cm^{-1} έως και τους 2400 cm^{-1} και που γίνεται πολύ έντονη με την αύξηση της συγκέντρωσης, αποδίδεται στην ύπαρξη πλήθους διαμοριακών αλληλεπιδράσεων και διαμορφώσεων, μεταξύ των οποίων συγκαταλέγεται και ο σχηματισμός ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου που έχει τη δυνατότητα να σχηματίσει το *trans* ισομερές, που οδηγούν, όπως είναι αναμενόμενο, σε μία γενικότερη ασάφεια όσον αφορά στην καλή ερμηνεία της συγκεκριμένης περιοχής.

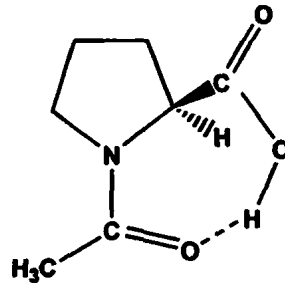
Στην περιοχή δόνησης των καρβονυλομάδων [Σχήμα 72 (β)], εξετάζεται η συμμετοχή ή μη του καρβοξυλικού C=O και του αμιδικού C=O σε δεσμούς υδρογόνου, ενδομοριακούς ή διαμοριακούς.

Έτσι, η ταινία στους 1758 cm^{-1} αποδίδεται στο C=O του καρβοξυλίου, του οποίου το OH συνδέεται με ενδομοριακό δεσμό υδρογόνου με το αμιδικό (N-τελικό) C=O. Η ταινία στους 1721 cm^{-1} θα μπορούσε να αποδοθεί στη συμμετοχή του καρβοξυλικού C=O σε διμερές με σχηματισμό διαμοριακού δεσμού υδρογόνου (Σχήμα 73).

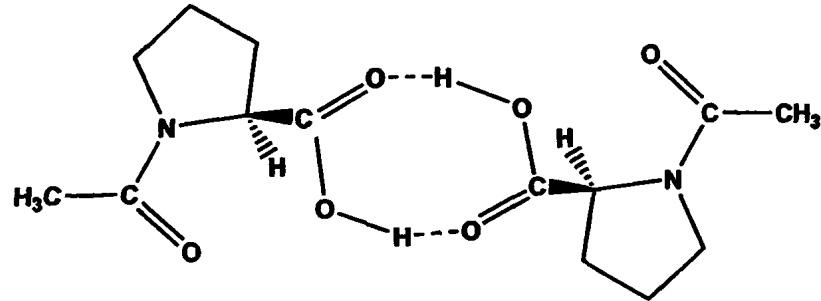
Η ταινία στους 1640 cm^{-1} , περίπου, αποδίδεται στη δόνηση τάσεως του ελεύθερου αμιδικού καρβονυλίου ($\text{CH}_3\text{CO-N}<$) του *cis* ισομερούς, ή/και των διμερών, στο σχηματισμό των οποίων δε συμμετέχει αυτό το C=O. Η διευρυμένη ταινία στους 1593 cm^{-1} αποδίδεται στη δόνηση τάσεως του ίδιου καρβονυλίου, μετατοπισμένη σαφώς σε χαμηλότερες συχνότητες, κάτι που θα πρέπει να οφείλεται στα μόρια που υφίστανται σε διαμόρφωση γ-στροφής, λόγω σχηματισμού ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου όπως φαίνεται στο Σχήμα 73 που ακολουθεί.



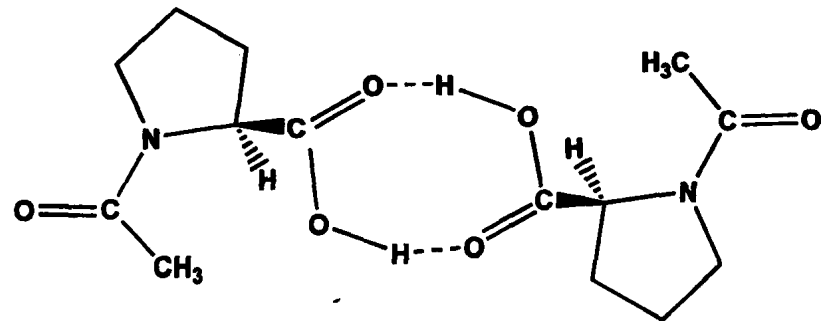
(α)



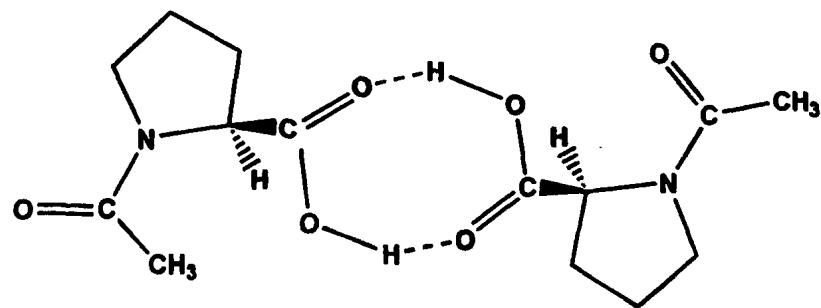
(β)



(γ)



(δ)



Σχ. 73. Σχηματική παράσταση (α) του ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου που σχηματίζει το *trans* ισομερές της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης καθώς και κυκλικών διμερών που δύνανται να δημιουργηθούν κατά τη διαμοριακή αλληλεπίδραση μεταξύ (β) *trans*, (γ) *cis* ή (δ) *cis* και *trans* ισομερών της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης.



Συμπερασματικά από τις τρεις περιπτώσεις φασμάτων υπερύθρου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης σε διάλυμα που εξετάστηκαν προκύπτει ότι στον μη πολικό διαλύτη χλωροφόρμιο επικρατεί το *trans* ισομερές με ενδομοριακό δεσμό υδρογόνου, ενώ αυξανόμενης της συγκέντρωσης αυξάνονται τα διμερή και τα πολυμερή. Αντίθετα, στους πολικούς μη-πρωτικούς διαλύτες όπως είναι το διμεθυλοσουλφοξείδιο και λιγότερο στο ακετονιτρίλιο είναι έντονη η αλληλεπίδραση του καρβοξυλίου με το διαλύτη και λιγότερο έντονος ο σχηματισμός διμερών, πολυμερών ή γ-στροφής.



6.6.4.3. ΦΑΣΜΑΤΑ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ ΤΟΥ Ν-ΜΕΘΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΤΗΣ Ν-ΑΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ

6.6.4.3.1. ΜΕΛΕΤΕΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΤΟΥ Ν-ΜΕΘΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΤΗΣ Ν-ΑΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΔΙΜΕΘΥΛΟΣΟΥΛΦΟΞΕΙΔΙΟΥ

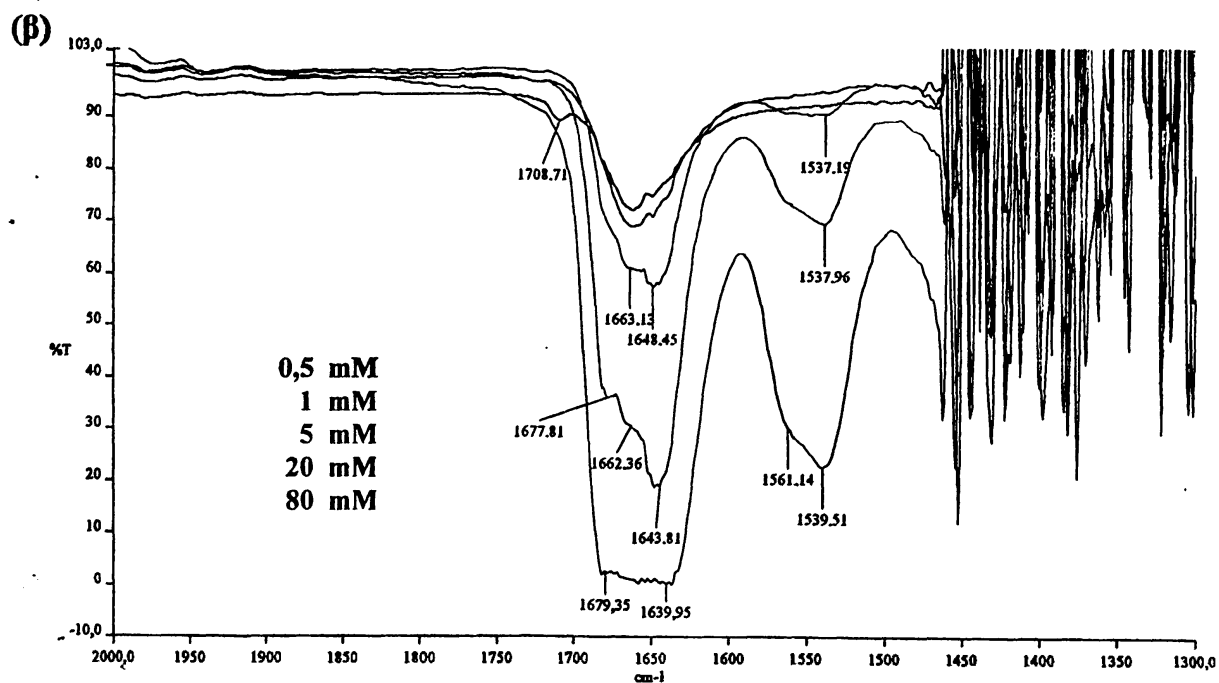
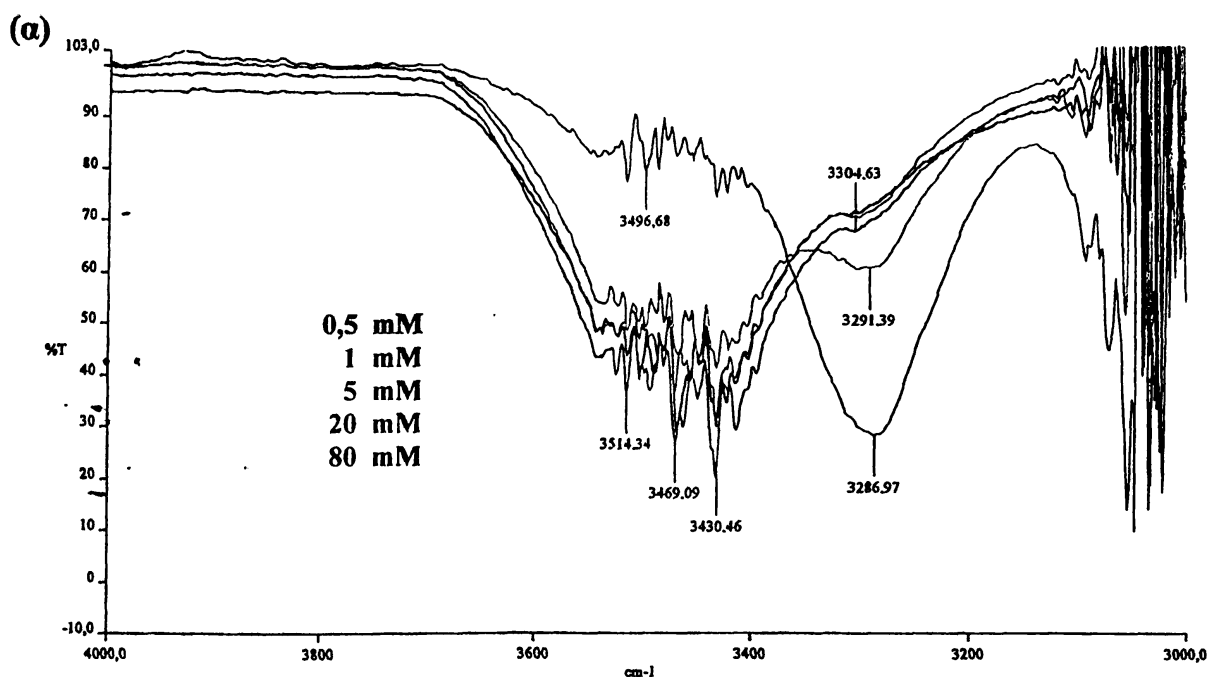
Στον Πίνακα 39 και στα Σχήματα 74 (α) και 74 (β) παρατίθενται τα δεδομένα από τα φάσματα υπερύθρου του Ν-μεθυλαμιδίου της Ν-ακετυλο-L-προλίνης σε διάλυμα διμεθυλοσουλφοξειδίου σε πέντε διαφορετικές συγκεντρώσεις.

Πίνακας 39. Χαρακτηριστικές δονήσεις τάσεως (cm^{-1}) των FT-IR φασμάτων του Ν-μεθυλαμιδίου της Ν-ακετυλο-L-προλίνης στην περιοχή απορρόφησης $4000-1000 \text{ cm}^{-1}$, σε διαλύτη διμεθυλοσουλφοξείδιο και συγκεντρώσεις από 0,5 έως 80 mM.

	Συγκέντρωση του Ν-Μεθυλαμιδίου της Ν-ακετυλο-L-προλίνης (mM)				
	(Διαλύτης: Διμεθυλοσουλφοξείδιο/DMSO)				
	0,5	1	5	20	80
3514	3514	3514	3514	3514	3514
3469	3469	3469	3469	3469	3469
3430	3430	3430	3430	3430	3430
3305	3305	3305	3305	3291	3287
1709	-	-	-	-	-
-	-	-	-	1678	1679
1663	1662	1662	1662	1662	1662
1648	1648	1648	1648	1644	1640
-	-	-	1561	1561	1561
-	-	-	1537	1538	1540

Χαρακτηριστικές ταινίες απορρόφησης
(cm^{-1})





Σχ. 74. Φάσματα υπέρυθρου του *N*-μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης (α) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας NH και (β) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας C=O, σε διαλύτη διμεθυλοσουλφοξείδιο και συγκεντρώσεις από 0,5 έως 80 mM.



Στα φάσματα υπερύθρου του μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης σε διάλυμα διμεθυλοσουλφοξειδίου, ενός διαλύτη ισχυρά πολικού, γίνεται εμφανές ότι το μόριο σχηματίζει σε πολύ μικρό βαθμό ενδομοριακό δεσμό υδρογόνου. Στην περίπτωση αυτή ο διαλύτης δρα, όπως και στην περίπτωση της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης, ανταγωνιστικά ευνοώντας το φαινόμενο αλληλεπίδρασης αμιδίου-διαλύτη. Οι διαμοριακές αλληλεπιδράσεις μεταξύ διαλύτη και διαλυμένης ένωσης στα εξεταζόμενα συστήματα φαίνεται ότι συχνά αποτελούν τον καθοριστικό παράγοντα στην τελική διαμόρφωση της δομής. Εξαιτίας της επίδρασης του διαλύτη, προκύπτουν συχνά ευνοϊκότερες διαμορφώσεις στις οποίες διαμοριακές αλληλεπιδράσεις διαλύτη-διαλυμένης ένωσης αντικαθιστούν ενδομοριακές διευθετήσεις (Delaney *et al.*, 1982, Madison *et al.*, 1970, Madison *et al.*, 1980).

Η ευρεία ταινία που εμφανίζεται γύρω στους 3430 με 3500 cm^{-1} [Σχήμα 74 (α)] θα πρέπει να οφείλεται στο νερό που περιέχεται στο υγροσκοπικό DMSO, δηλαδή στις δονήσεις τάσεως νOH μορίων του H_2O που αλληλεπιδρούν με το DMSO μέσω δεσμών υδρογόνου. Η συγκεκριμένη αποτίμηση της ταινίας στους 3430 cm^{-1} ενισχύεται από το γεγονός ότι η ταινία αυτή είναι πολύ ισχυρή στις χαμηλές συγκεντρώσεις του αμιδίου. Η αλληλεπίδραση του *N*-μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης με τα μόρια του διαλύτη είναι εμφανής, όπως και στην περίπτωση της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης, από την κορυφή που εμφανίζεται και εδώ γύρω στους 3300 cm^{-1} . Η ταινία αυτή στις χαμηλές συγκεντρώσεις των $0,5$, 1 και 5 mM , εμφανίζεται ως ώμος στους 3305 cm^{-1} . Με την αύξηση της συγκέντρωσης, η ταινία αυτή γίνεται πολύ έντονη, υποδηλώνοντας την ισχυρή τάση αλληλεπίδρασης του *N*-μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης με το διμεθυλοσουλφοξείδιο. Καθώς αυξάνει δραστικά η συγκέντρωση του *N*-μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης σε 20 mM και ακόμη περισσότερο σε 80 mM σε διμεθυλοσουλφοξείδιο, ενισχύεται το φαινόμενο σχηματισμού διμερών και πολυμερών αλυσίδων μέσω διαμοριακών αλληλεπιδράσεων. Αυτού του τύπου οι αλληλεπιδράσεις έχουν ως συνέπεια την ενίσχυση της ευρείας ταινίας που επικεντρώνεται στους 3287 cm^{-1} στη συγκέντρωση των 80 mM αποδιδόμενη σε δονήσεις τάσεως της ομάδας NH που εμπλέκεται σε ισχυρούς δεσμούς υδρογόνου.

Στην περιοχή απορρόφησης των καρβονυλίων γίνεται σαφής η διαμοριακή αλληλεπίδραση των μορίων του *N*-μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης καθώς και η επίδραση του διαλύτη [Σχήμα 74 (β)].

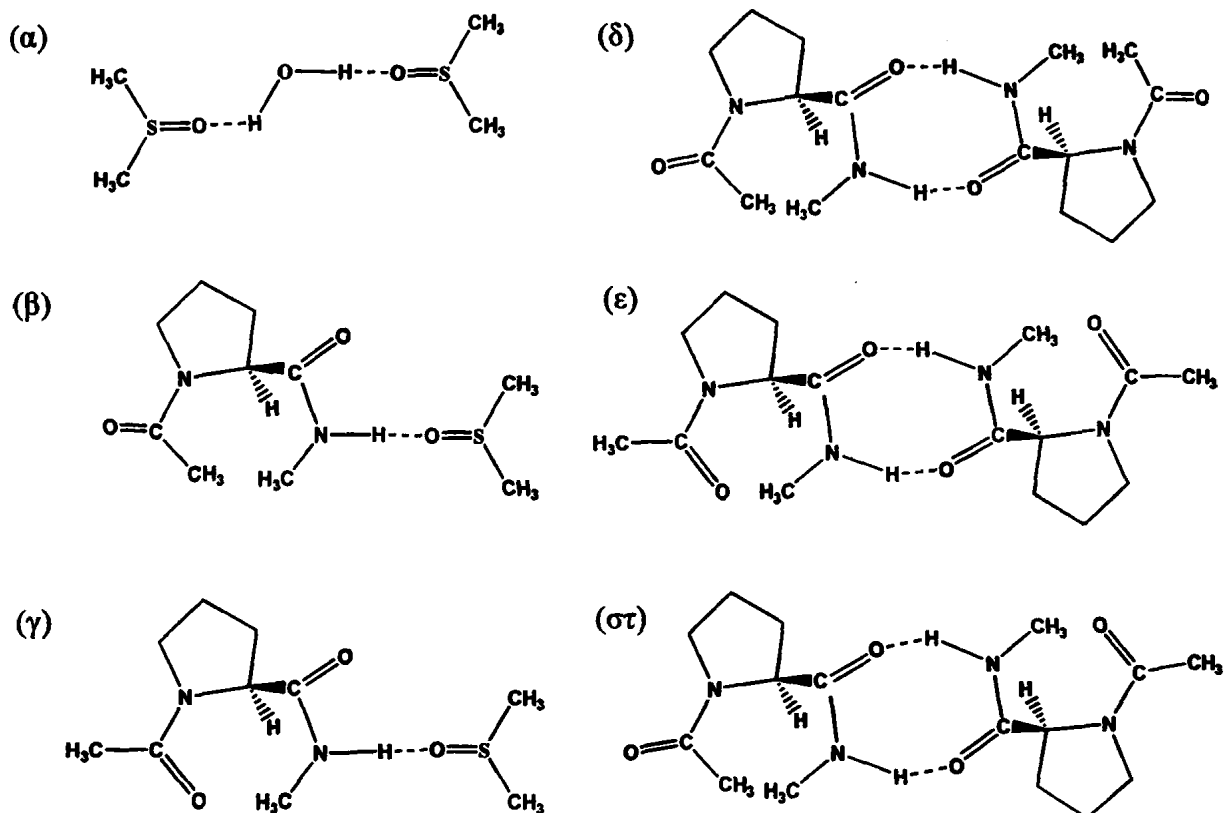


Μία αρκετά διευρυμένη ταινία που εμφανίζεται περίπου στους 1538 cm^{-1} αποδίδεται στη δόνηση κάμψεως δNH και οφείλεται σε μόρια του *N*-μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης που αλληλεπιδρούν με δεσμούς υδρογόνου με τα μόρια του διαλύτη, καθώς και μία ταινία, ως ώμος, περίπου στους 1560 cm^{-1} , οφείλεται στη δόνηση κάμψεως δNH των μορίων που αλληλεπιδρούν μεταξύ τους σχηματίζοντας διμερή.

Οι ταινίες στους 1645 cm^{-1} και 1663 cm^{-1} , θα μπορούσαν κυρίως να αποδοθούν στο *N*-τελικό $\text{C}=\text{O}$ και στο *C*-τελικό $\text{C}=\text{O}$, αντίστοιχα, όταν το μόριο σχηματίζει δεσμό υδρογόνου με το διαλύτη διμεθυλοσουλφοξείδιο, ενώ διαφοροποιήσεις, ως διευρύνσεις ή ως ώμοι προκύπτουν λόγω σχηματισμού διμερών είτε των *cis* είτε των *trans* ισομερών.

Όλες οι προαναφερθείσες διαμοριακές αλληλεπιδράσεις στο σύστημα *N*-μεθυλαμίδιο της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης-DMSO, αποδίδονται προσεγγιστικά στο Σχήμα 75 που ακολουθεί:





Σχ. 75. Σχηματική παράσταση διαμοριακών αλληλεπιδράσεων που δύνανται να λάβουν χώρα στο σύστημα *N*-μεθυλαμίδιο της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης-διμεθυλοσουλφοξειδίου (DMSO). (α) Αλληλεπίδραση μορίων του νερού που φέρει το υγροσκοπικό DMSO με μόρια του DMSO. Αλληλεπίδραση *cis* (β) και *trans* (γ) ισομερών του *N*-μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης με μόρια του DMSO. Σχηματισμός κυκλικών διμερών (δ) μεταξύ *cis* ισομερών (ε) μεταξύ *trans* ισομερών και (στ) μεταξύ *cis* και *trans* ισομερών της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης.

6.6.4.3.2. ΜΕΛΕΤΕΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΤΟΥ Ν-ΜΕΘΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΤΗΣ Ν-ΑΚΕΤΥΛΟ-Λ-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ

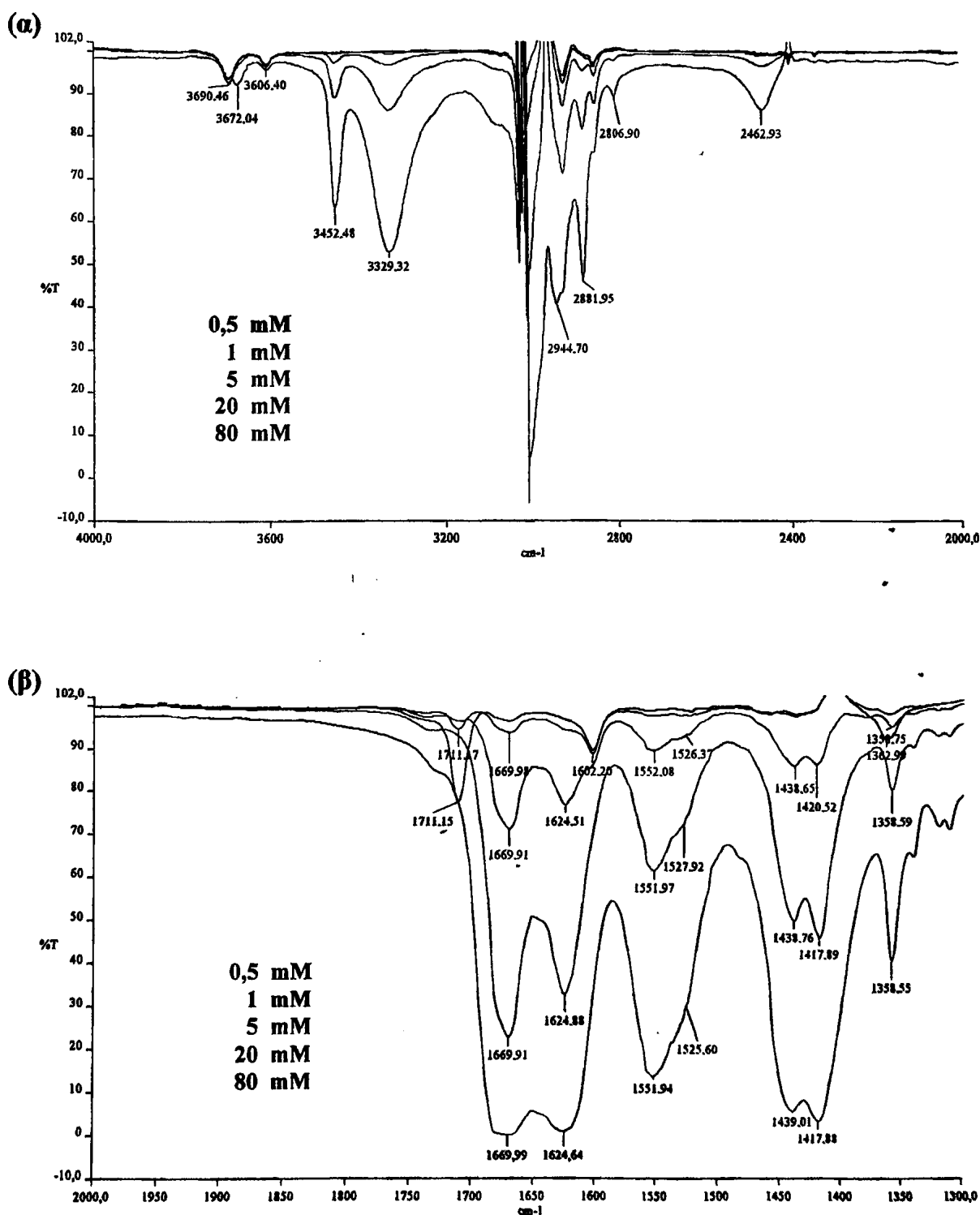
Τα φάσματα υπερύθρου του μεθυλαμιδίου της Ν-ακετυλο-Λ-προλίνης, τα οποία μελετήθηκαν σε συγκεντρώσεις από 0,5 έως και 80 mM σε διάλυμα CHCl_3 φαίνονται στα Σχήματα 76 (α) και 68 (β) ενώ οι παρατηρούμενες κορυφές καταγράφονται συγκεντρωτικά στον Πίνακα 39.

Πίνακας 39. Χαρακτηριστικές δονήσεις τάσεως (cm^{-1}) των FT-IR φασμάτων του Ν-μεθυλαμιδίου της Ν-ακετυλο-Λ-προλίνης στην περιοχή απορρόφησης $4000\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$, σε διαλύτη χλωροφόρμιο και συγκεντρώσεις από 0,5 έως 80 mM.

	Συγκέντρωση του Ν-Μεθυλαμιδίου της Ν-ακετυλο-Λ-προλίνης (mM)				
	(Διαλύτης: Χλωροφόρμιο)				
	0,5	1	5	20	80
3690	3690	3690	3690	3690	3672
3606	3606	3606	3606	3606	3606
3452	3452	3452	3452	3452	3452
3329	3329	3329	3329	3329	3329
2945	2945	2945	2945	2945	2945
2882	2882	2882	2882	2882	2882
1711	1711	1711	-	-	-
1670	1670	1670	1670	1670	1670
-	-	-	1625	1625	1625
1602	1602	1602	-	-	-
1552	1552	1552	1552	1552	1552
1526	1526	1526	1526	1526	1526
1489	1489	1489	1489	1489	1489
-	-	-	1420	1418	1418

Χαρακτηριστικές ταινίες απορρόφησης
(cm^{-1})



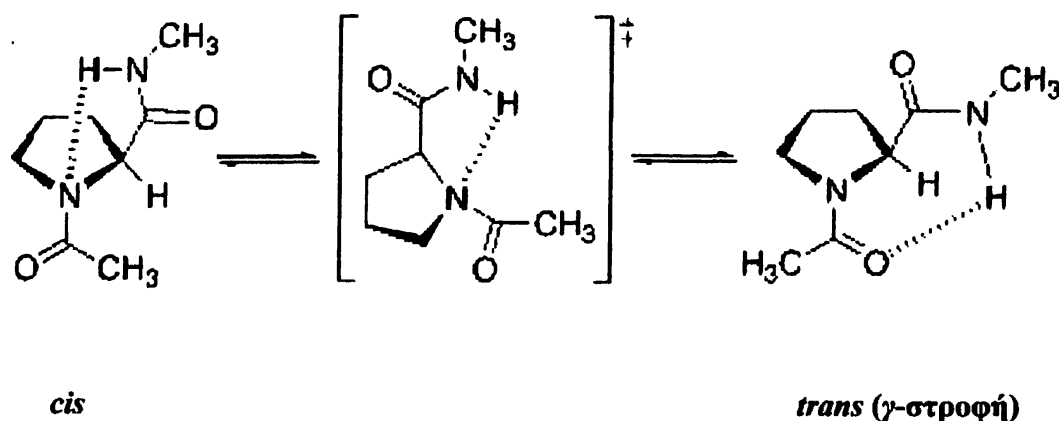


Σχ. 76. Φάσματα υπερύθρου του *N*-μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης (α) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας NH και (β) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας C=O, σε διαλύτη γλωροφόρμιο και συγκεντρώσεις από 0,5 έως 80 mM.

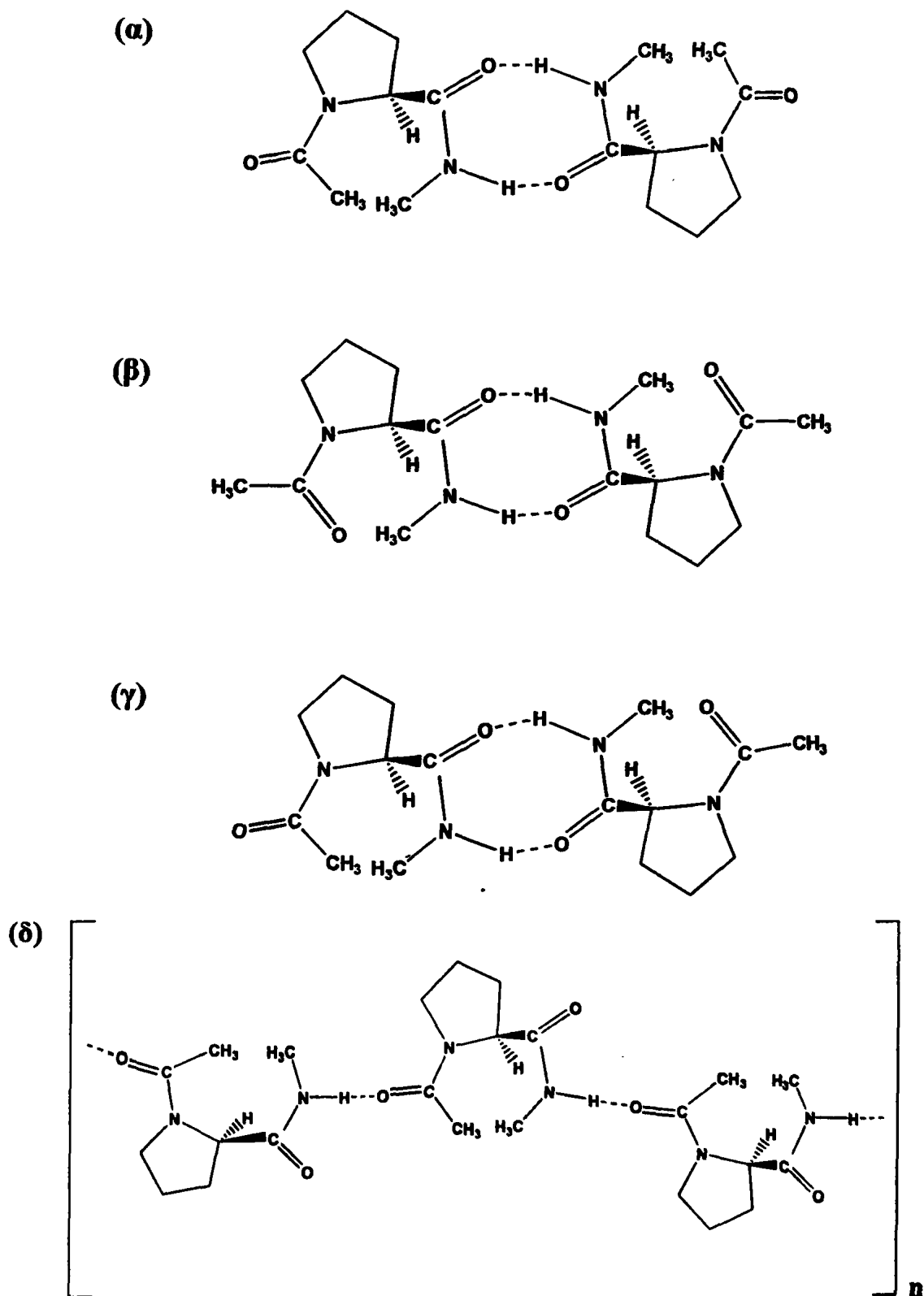


Η ύπαρξη δεσμού υδρογόνου στο σύστημα είναι σαφής από την ταινία στα 3329 cm^{-1} [Σχήμα 76 (α)]. Αυτός ο δεσμός υδρογόνου μπορεί να είναι ή ενδομοριακός (σχηματισμός γ -στροφής) στο *trans* ισομερές ή να προέρχεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις από το σχηματισμό διμερών ή πολυμερών αλυσίδων των *cis* και των *trans* ισομερών (Σχήματα 77 και 78).

Σε αυτήν την περιοχή του φάσματος θα μπορούσε να απορροφά επίσης και ένα πολύ μικρό αλλά υπολογίσιμο ποσοστό *cis* ισομερούς (Higashijima *et al.*, 1977, Kang *et al.*, 2002, Kang, 2002, Kang *et al.*, 2005, Madison *et al.*, 1970) που έχει τη δυνατότητα σχηματισμού ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου (Σχήμα 77) (Cox *et al.*, 1997, Cox *et al.*, 1998, Taylor *et al.*, 2003). Η κορυφή, όμως, αυτή προφανώς επικαλύπτεται από την κορυφή του επικρατούντος *trans* ισομερούς και από τις απορροφήσεις των σχηματιζόμενων διμερών.

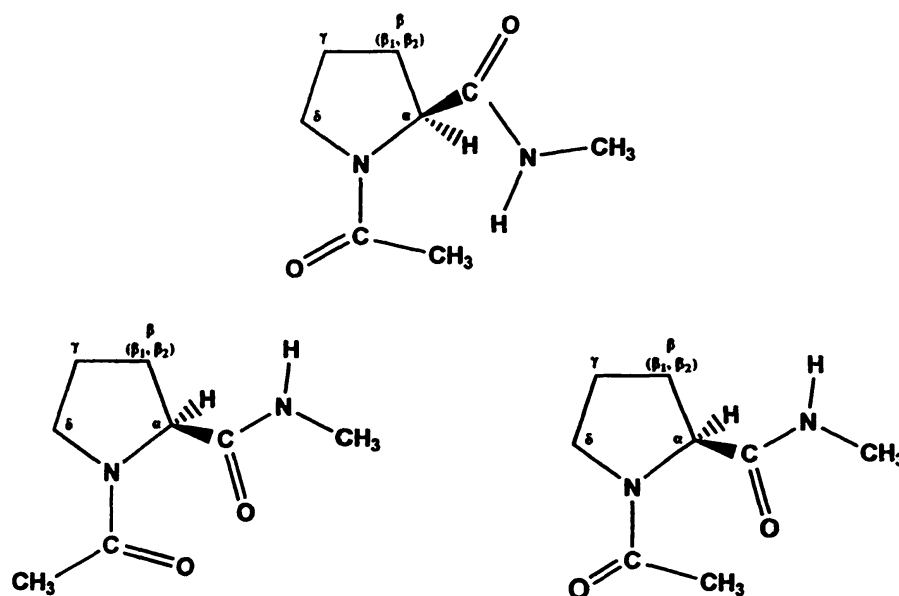


Σχ. 77. Ενδομοριακοί δεσμοί υδρογόνου των *cis* και *trans* ισομερών του *N*-μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης (Cox *et al.*, 1997, Cox *et al.*, 1998, Taylor *et al.*, 2003).



Σχ. 78. Σχηματική παράσταση διαμοριακών αλληλεπιδράσεων που δύνανται να λάβουν χώρα μεταξύ μορίων *N*-μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης σε διάλυμα χλωροφορμίου. Σχηματισμός κυκλικών διμερών (α) μεταξύ *cis* ισομερών, (β) μεταξύ *trans* ισομερών και (γ) μεταξύ *cis* και *trans* ισομερών του *N*-μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης. (δ) Σχηματισμός πολυμερών αλυσίδων μεταξύ *cis* ισομερών του *N*-μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης.

Αντίθετα, η ταινία στους 3452 cm^{-1} αποδίδεται στην ελεύθερη, εν γένει, ομάδα NH κυρίως του *trans* ισομερούς με την ταινία του ελεύθερου *cis* να επικαλύπτεται στην ίδια περιοχή. Πιθανές διαμορφώσεις του αμιδίου που έχουν ως αποτέλεσμα την εμφάνιση της κορυφής στους 3452 cm^{-1} παρατίθενται στο Σχήμα 79 (Tsuboi *et al.*, 1959, Akiyamā *et al.*, 1994).



Σχ. 79. Πιθανές διαμορφώσεις του *N*-μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης, με ελεύθερο το αμιδικό πρωτόνιο, σε διάλυμα χλωροφορμίου που έχουν ως αποτέλεσμα την εμφάνιση της ταινίας στα 3452 cm^{-1} στα φάσματα υπερύθρου της ένωσης.

Η κατάσταση είναι πιο πολύπλοκη στην περιοχή όπου απορροφά η καρβονυλική ($\text{C}=\text{O}$) ομάδα [Σχήμα 76 (β)].

Η ταινία στους 1711 cm^{-1} , στο φάσμα υπερύθρου του μεθυλαμιδίου σε χλωροφόρμιο, που εμφανίζεται σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις θα πρέπει να αποδοθεί στη δόνηση τάσεως του C-τελικού αμιδικού καρβονυλίου ($-\text{CONHCH}_3$) που συμμετέχει σε ενδομοριακό δεσμό υδρογόνου ως ομάδα, μέσω του NH αυτού με το N-τελικό $\text{C}=\text{O}$ ($\text{CH}_3\text{CON}<$), το οποίο απορροφά στους 1602 cm^{-1} . Πρέπει να αναφερθεί πως το ποσοστό της ένωσης που παρουσιάζει την τάση σχηματισμού γ -στροφής είναι σταθερό και ανεξάρτητο της συγκέντρωσης του διαλύματος. Ως εκ τούτου, η ταινία αυτή που είναι σαφής σε συγκέντρωση $0,5\text{ mM}$ εξακολουθεί να υφίσταται σε

υψηλότερες συγκεντρώσεις, ως ώμος μιας ταινίας σαφώς μετατοπισμένης και διευρυμένης. Οι ταινίες στους 1670 cm^{-1} και στους 1625 cm^{-1} θα πρέπει να ερμηνευτούν με βάση την ισχυρή δυνατότητα σχηματισμού διμερών ή γραμμικών πολυμερών (Σχήμα 78). Το γεγονός ότι το μόριο υιοθετεί την *trans* διαμόρφωση σε ένα ποσοστό 89%, δε σημαίνει απαραίτητα ότι όλο αυτό το ποσοστό σχηματίζει αποκλειστικά και μόνο ενδομοριακό δεσμό υδρογόνου. Έτσι, η ταινία στους 1625 cm^{-1} αποδίδεται στη δόνηση τάσεως του N-τελικού καρβονυλίου ($\text{CH}_3\text{CON}<$) του μορίου, ενώ η ταινία στους 1670 cm^{-1} αποδίδεται στο C-τελικό αμιδικό καρβονύλιο των πολυμερών. Η διευρυμένη ταινία στους 1552 cm^{-1} αποδίδεται στη δόνηση κάμψεως δNH των μορίων που υφίστανται σε διαμόρφωση γ -στροφής, καθώς και στο διμερές. Αυτή η δόνηση κάμψεως βρίσκεται σε σχετικά υψηλότερη συχνότητα από το ελεύθερο NH (ώμος στους 1530 cm^{-1}).

6.6.4.3.3. ΜΕΛΕΤΕΣ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΤΟΥ N-ΜΕΘΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΤΗΣ N-ΑΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΑΚΕΤΟΝΙΤΡΙΛΙΟΥ

Αντίστοιχες αλληλεπιδράσεις με το DMSO, αλλά πιο ήπιες, παρατηρούνται και σε διαλύματα ακετονιτρίλιου. Στην περίπτωση του CH_3CN , η ταινία που αποδίδεται στη δόνηση τάσεως της ελεύθερης ομάδας NH εμφανίζεται στους 3400 cm^{-1} λόγω αλληλεπίδρασης, μέσω σχηματισμού δεσμών υδρογόνου, με τα μόρια του διαλύτη ενώ μία ευρεία ταινία στους 3330 cm^{-1} αποδίδεται στο δεσμευμένο, μέσω δεσμού υδρογόνου, NH είτε σε σχηματισμό γ -στροφής, είτε σε διμερή συσσωματώματα (Delaney *et al.*, 1982).

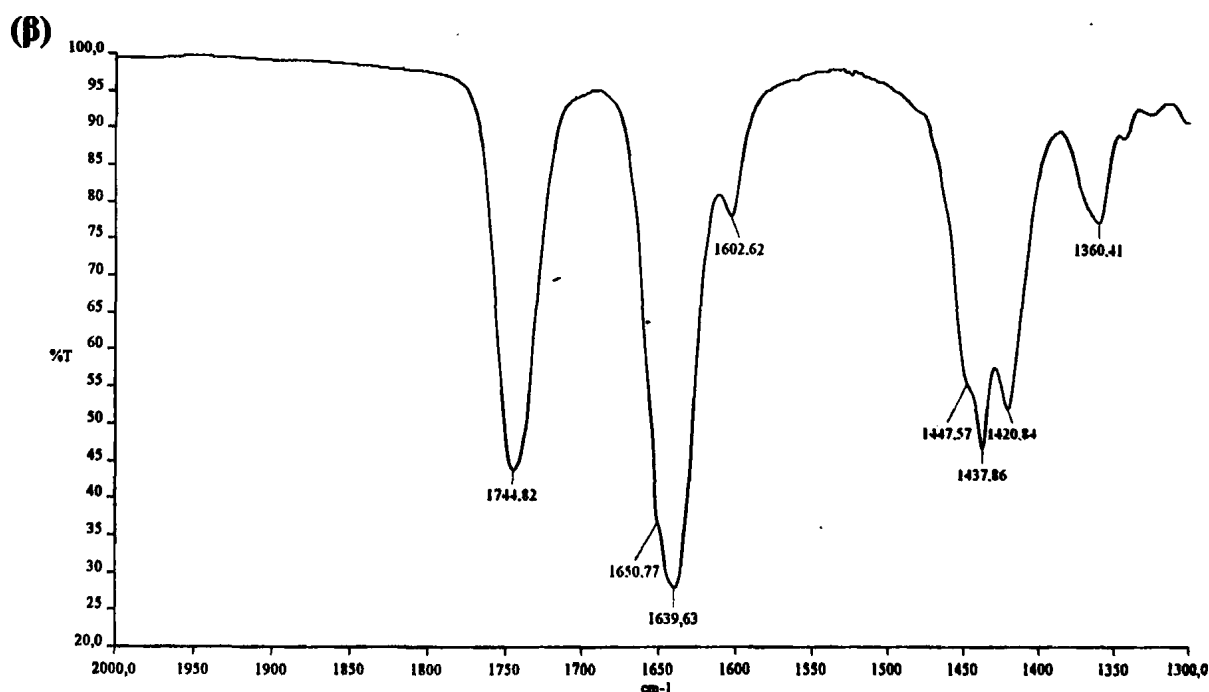
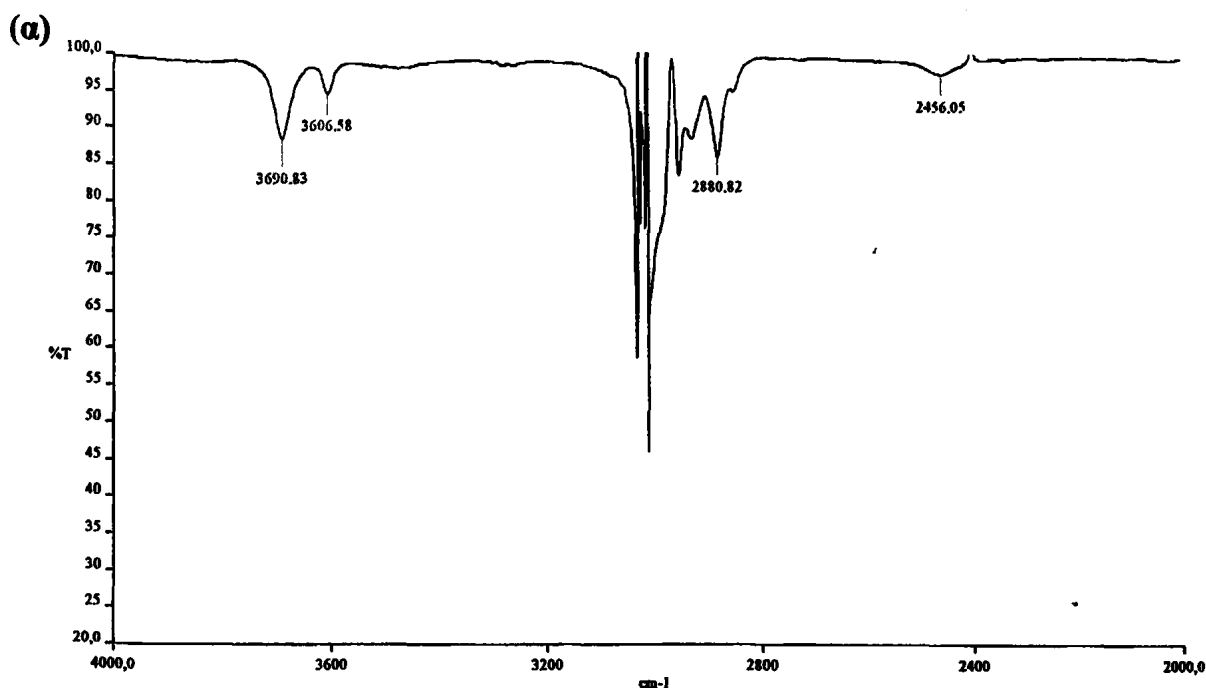
Από τις τρεις περιπτώσεις φασμάτων υπερύθρου του N-μεθυλαμιδίου της N-ακετυλο-L-προλίνης σε διάλυμα που εξετάστηκαν προκύπτουν συμπεράσματα ανάλογα με αυτά στην περίπτωση της N-ακετυλο-L-προλίνης. Επιγραμματικά, μη πολικοί διαλύτες ευνοούν τις διαμοριακές και ενδομοριακές αλληλεπιδράσεις με εμφανή το σχηματισμό γ -στροφής. Στην αντίθετη περίπτωση, πολικοί διαλύτες, όπως είναι το διμεθυλοσουλφοξείδιο και λιγότερο στο ακετονιτρίλιο, αλληλεπιδρούν έντονα με μόρια του αμιδίου δρώντας ανταγωνιστικά στο σχηματισμό διμερών-πολυμερών ή γ -στροφής.

6.6.4.4. Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΟΥ ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΑ ΤΗΣ Ν-ΑΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗΣ

Στον Πίνακα 40 και στα Σχήματα 80 (α) και 80 (β) παρατίθενται τα δεδομένα από το φάσμα υπερύθρου του μεθυλεστέρα της Ν-ακετυλο-L-προλίνης σε χλωροφόρμιο.

Πίνακας 40. Χαρακτηριστικές δονήσεις τάσης (cm^{-1}) των FT-IR φασμάτων του μεθυλεστέρα της Ν-ακετυλο-L-προλίνης στην περιοχή απορρόφησης $4000\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$, σε διαλύτη χλωροφόρμιο.

Μεθυλεστέρας της Ν-ακετυλο-L-προλίνης (Διαλύτης: Χλωροφόρμιο)	
Χαρακτηριστικές ταινίες απορρόφησης (cm^{-1})	3691
	3607
	2881
	1745
	1651sh
	1640
	1603
	1448sh
	1438
	1421



Σχ. 80. Φάσματα υπερύθρου του μεθυλεστέρα της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης (α) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως των ομάδων OH και NH και (β) στην περιοχή εμφάνισης των δονήσεων τάσεως της ομάδας C=O, σε διαλύτη χλωροφόρμιο.

Στο φάσμα υπερύθρου σε χλωροφόρμιο του μεθυλεστέρα της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης, όπου δεν υπάρχει δυνατότητα σχηματισμού ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου



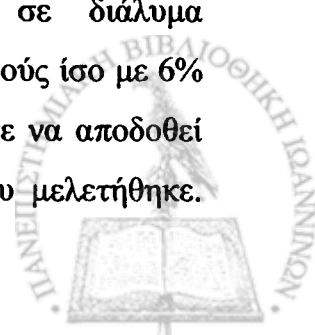
και που ο διαλύτης δεν είναι ιδιαίτερα πολικός, η ταινία στους 1745 cm^{-1} αποδίδεται στη δόνηση τάσεως του καρβονυλίου του εστέρα [Σχήμα 80 (β)]. Η ταινία στους 1639 cm^{-1} αποδίδεται στη δόνηση τάσεως του αμιδικού καρβονυλίου, όπως αναμενόταν. Ο ώμος στους 1651 cm^{-1} θα μπορούσε να αποδοθεί στο αμιδικό καρβονύλιο του *cis* ισομερούς, λόγω του ότι δε δύναται να αλληλεπιδράσει μέσω ηλεκτροστατικών δυνάμεων διπόλου-διπόλου με το εστερικό καρβονύλιο, το οποίο όμως είναι δυσδιάκριτο στο φάσμα υπερύθρου.

6.6.5. ΦΑΣΜΑΤΑ ΠΡΩΤΟΝΙΑΚΟΥ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ ΤΗΣ Ν-ΑΚΕΤΥΛΟ-Λ-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ Ν-ΜΕΘΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΚΑΙ ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΑ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ

Οι αναπτυσσόμενες αλληλεπιδράσεις στο σύστημα διαλύτη-αμιδίου, η μεταβολή της συγκέντρωσης, όπως επίσης και η θερμοκρασία σε ένα βαθμό, είναι συχνά καθοριστικοί παράγοντες στην επικράτηση κάποιας διαμόρφωσης όπως φαίνεται από ανάλογες μελέτες. Σύμφωνα με τους Kauzmann και Eyring (Kauzmann *et al.*, 1941) το κυριότερο αποτέλεσμα της αύξησης της θερμοκρασίας είναι η μείωση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ διαλύτη και αμιδίου και ως εκ τούτου η αλλαγή της κατανομής των ισομερών στο σύστημα.

Φάσματα NMR σε χλωροφόρμιο στους 30 με 35 °C, της Ν-ακετυλο-Λ-προλίνης, του Ν-μεθυλαμιδίου της Ν-ακετυλο-Λ-προλίνης όπως επίσης και του μεθυλεστέρα αυτής, συγκέντρωσης μεταξύ 10 και 100 mM, έδειξαν ότι το *cis* ισομερές υφίσταται σε ποσοστό 20%, 14% και 27% αντίστοιχα σε θερμοκρασία 30 με 35 °C (DeTar *et al.*, 1977, Madison *et al.*, 1970) επιβεβαιώνοντας την μεγαλύτερη τάση του μεθυλαμιδίου για σχηματισμό ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου μια και ο ενδομοριακός δεσμός υδρογόνου, που έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία γ-στροφής, είναι αλληλένδετος με την *trans* διαμόρφωση.

Στο πρωτονιακό φάσμα NMR της Ν-ακετυλο-Λ-προλίνης σε διάλυμα χλωροφορμίου της παρούσας διατριβής βρέθηκε ποσοστό του *cis* ισομερούς ίσο με 6% περίπου. Η διαφορά αυτή από τα βιβλιογραφικά δεδομένα θα μπορούσε να αποδοθεί στην πολύ μικρή συγκέντρωση (2 mM) του αμιδίου στο διάλυμα που μελετήθηκε.



Αύξηση της συγκέντρωσης του αμιδίου οδηγεί σε αύξηση του ποσοστού του *cis* ισομερούς στο διάλυμα οδηγώντας στο συμπέρασμα, ότι σε πυκνά διαλύματα κυριαρχούν όντως οι διαμοριακές αλληλεπιδράσεις μεταξύ *cis* ισομερών καθώς και οι διαμοριακές αλληλεπιδράσεις μεταξύ *cis* και *trans* ισομερών. Αντιθέτως, σε χαμηλές συγκεντρώσεις, πρωταρχικό ρόλο έχει ο σχηματισμός γ-στροφής που ευνοεί θερμοδυναμικά το *trans* ισομερές. Αυτό προκύπτει και από μελέτες NMR μεταβλητής συγκέντρωσης σε σήματα συντονισμού του αμιδικού πρωτονίου σε διάλυμα CDCl_3 (Higashijima *et al.*, 1977).

Εάν υποθεθεί ότι ένα συγκεκριμένο ισομερές μιας ένωσης παρουσιάζει ιδιαίτερη σταθερότητα, τότε, εξ ορισμού, απουσία αλληλεπιδράσεων με άλλα μόρια, το μεγαλύτερο ποσοστό της εξεταζόμενης ένωσης θα βρίσκεται υπό τη συγκεκριμένη διαμόρφωση. Ωστόσο, αλληλεπιδράσεις άλλων διαμορφώσεων με μόρια του διαλύτη κάνουν την κατανομή των εμφανιζομένων ισομερών να είναι εξαρτημένη από το διαλύτη. Ένας διαλύτης που παρουσιάζει μικρή τάση αλληλεπίδρασης με τα μόρια της διαλυμένης ένωσης, ευνοεί τη σταθεροποίηση αυτής μέσω ενδομοριακών διευθετήσεων (ενδομοριακοί δεσμοί υδρογόνου). Έτσι, στην περίπτωση της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης και των παραγώγων αμιδίων αυτής, αύξηση της θερμοκρασίας και διαλύτες με μικρή διηλεκτρική σταθερά, όπως το κυκλοεξάνιο, ευνοούν το σχηματισμό γ-στροφής. Αντίθετα, σε περισσότερο πολικούς διαλύτες φαίνεται να ευνοείται η σταθεροποίηση άλλων ισομερών. Στην περίπτωση υδατικών διαλυμάτων, αύξηση της θερμοκρασίας δεν φαίνεται να επιφέρει τα προαναφερθέντα αποτελέσματα, καθώς οι αλληλεπιδράσεις των μορίων της ένωσης με τα μόρια του νερού αποδεικνύεται ότι είναι ιδιαίτερα ισχυρές (Madison *et al.*, 1970 και οι αναφορές εντός αυτής).

Πράγματι, παρατηρώντας τη μεταβολή των ποσοστών των *trans* ισομερών έναντι των *cis* στα μοντέλα πεπτιδίων της παρούσης διατριβής αυτό γίνεται ιδιαίτερα αντιληπτό. Στον Πίνακα 41 παρατίθενται τα ποσοστά των *cis* και *trans* ισομερών του *N*-μεθυλαμιδίου και του μεθυλεστέρα της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης σε τρεις ενδεικτικές θερμοκρασίες σε διάλυμα χλωροφορμίου όπως προέκυψαν στην παρούσα ερευνητική εργασία. Τα ποσοστά των *cis* και *trans* ισομερών προκύπτουν από τα σχετικά ολοκληρώματα των κορυφών των πρωτονίων χαρακτηριστικών ομάδων (COCH_3 , OCH_3 ή H_α). Τα αποτελέσματα όπως παρουσιάζονται στον Πίνακα 41 για το *N*-μεθυλαμίδιο έρχονται σε καλή συμφωνία και με υπάρχοντα βιβλιογραφικά δεδομένα, όπου για συγκέντρωση του *N*-μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης 8 mM σε

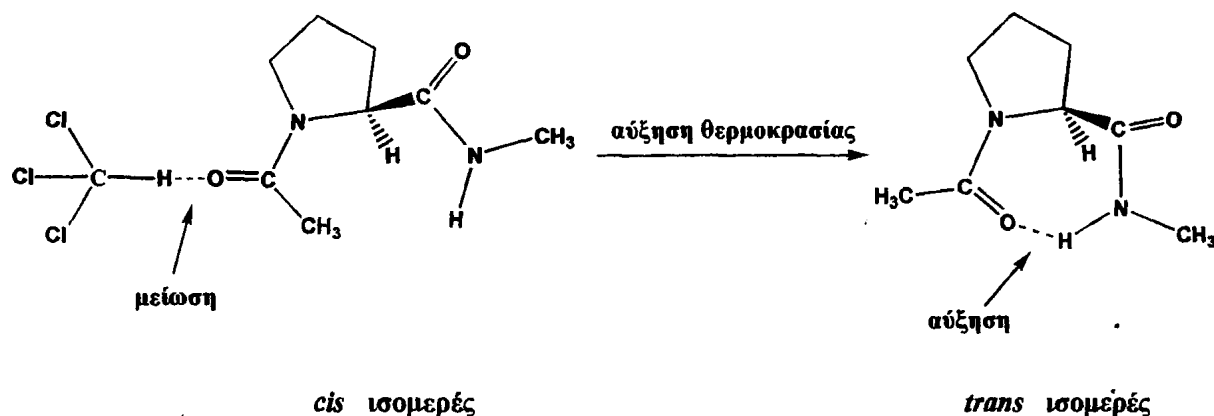
διάλυμα χλωροφορμίου και σε θερμοκρασία 30 με 35 °C το ποσοστό του *trans* ισομερούς ανέρχεται συνολικά περίπου στο 82% (Madison *et al.*, 1980).

Πίνακας 41. Μεταβολή της κατανομής των *cis* και *trans* ισομερών ανά σύστημα παραγώγου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης/χλωροφορμίου.

Διαλύτης	<i>N</i> -ακετυλο- <i>L</i> -προλίνη		<i>N</i> -μεθυλαμίδιο της <i>N</i> -ακετυλο- <i>L</i> -προλίνης		Μεθυλεστέρας της <i>N</i> -ακετυλο- <i>L</i> -προλίνης	
	% <i>cis</i>	% <i>trans</i>	% <i>cis</i>	% <i>trans</i>	% <i>cis</i>	% <i>trans</i>
CDCl ₃	330K	-	10,2	89,8	23,9	76,1
	300K	6	11,2	88,8	20,4	79,6
	215K	-	14,0	86,0	13,7	86,3

Από τα δεδομένα του Πίνακα 41 φαίνεται πως στην περίπτωση του *N*-μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης το ποσοστό του *cis* ισομερούς μειώνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας. Αυτό ενδεχομένως να οφείλεται στην αύξηση της κινητικότητας των μορίων του συστήματος που συνεπάγεται η αύξηση της θερμοκρασίας με αποτέλεσμα οι διαμοριακές αλληλεπιδράσεις του αμιδίου με μόρια του διαλύτη να μην ευνοούνται ενώ αντίθετα ενισχύονται κάπως οι ενδομοριακές αλληλεπιδράσεις. Αυτό οδηγεί σε αύξηση του ποσοστού του *trans* ισομερούς γεγονός που είναι απόρροια του σχηματισμού ενδομοριακού δεσμού (γ-στροφής) όπως παραστατικά δίνεται στο Σχήμα 81.





Σχ. 81. Η αύξηση της θερμοκρασίας επιφέρει μείωση των διαμοριακών και αύξηση των ενδομοριακών αλληλεπιδράσεων στο σύστημα *N*-μεθυλαμίδιο της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης/χλωροφόρμιο. Αυτό με τη σειρά του μεταφράζεται ως μείωση του *cis* και αύξηση του *trans* ισομερούς του αμιδίου, αντίστοιχα.

Αντίθετα, στην περίπτωση του μεθυλεστέρα της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης σε χλωροφόρμιο παρατηρείται μείωση του *trans* και αύξηση του *cis* ισομερούς με την αύξηση της θερμοκρασίας. Με την αύξηση της θερμοκρασίας μειώνεται η ενεργειακή διαφορά μετάβασης από τη μια διαμόρφωση στην άλλη με αποτέλεσμα να παρατηρείται μία σχετική αύξηση του *cis* ισομερούς.

Υπάρχοντα βιβλιογραφικά δεδομένα πρωτονιακών φασμάτων πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR-¹H) της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης και των παραγώγων ενώσεων αυτής, σε διάλυμα χλωροφορμίου (Madison *et al.*, 1970, Liang *et al.*, 1992, Akiyama *et al.*, 1994, Beausoleil *et al.*, 1996, Eberhardt *et al.*, 1996), επιβεβαιώνουν τα συμπεράσματα, όπως αυτά προέκυψαν στην παρούσα διατριβή, από τη φασματοσκοπία υπερύθρου. Μία από τις βασικές συνεισφορές της φασματοσκοπίας NMR κατά τη μελέτη τέτοιων πρότυπων ενώσεων έγκειται στον προσδιορισμό του ποσοστού των *cis* και *trans* ισομερών του ακετυλο-προλυλικού δεσμού. Σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, η *trans* διαμόρφωση φαίνεται να ευνοείται σε όλες τις περιπτώσεις. Η πιθανότητα σχηματισμού ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου σε διάλυμα χλωροφορμίου σταθεροποιεί ακόμα περισσότερο το *trans* ισομερές της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης (~98%) και του *N*-μεθυλαμιδίου αυτής (~91%). Τα ποσοστά αυτά προσεγγίζουν τα ποσοστά της παρούσας ερευνητικής εργασίας (Πίνακας 41, σελ. 255). Ο σχηματισμός γ-στροφής επιβεβαιώνεται και από υπάρχουσες μελέτες NMR-¹⁷O, σε διάλυμα χλωροφορμίου, από

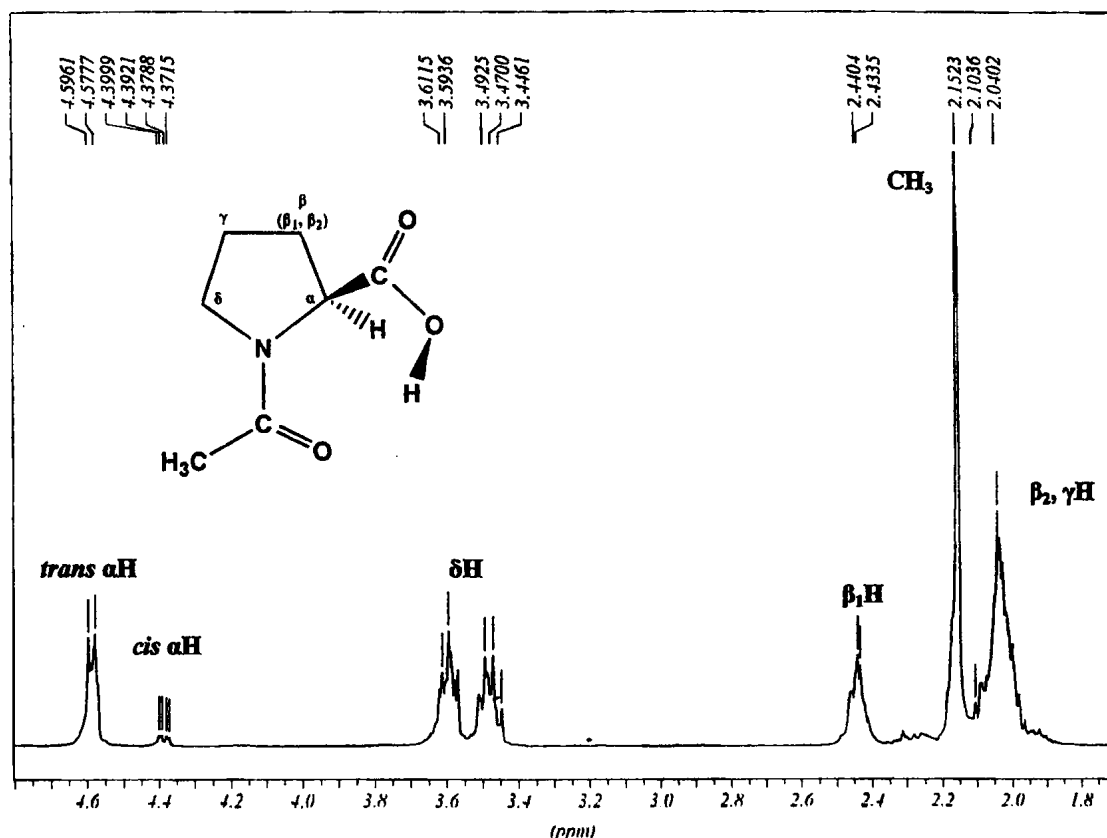
τη μεγάλη χημική μετατόπιση της τάξης των 22 ppm μεταξύ των σημάτων συντονισμού των *cis* και *trans* ισομερών της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης (Hunston *et al.*, 1985).

Στα διαγράμματα που ακολουθούν παρατίθενται τα δεδομένα ολοκλήρωσης, όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, μεταβλητής θερμοκρασίας, κατά τη μελέτη της *cis-trans* ισορροπίας των παραγώγων ενώσεων της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης, όπως είναι το *N*-μεθυλαμίδιο και ο μεθυλεστέρας. Ως διαλύτης χρησιμοποιήθηκε το δευτεριωμένο χλωροφόρμιο. Η συγκέντρωση των διαλυμάτων ήταν αρκετά μικρή (έως 2 mM), στοχεύοντας στην ελαχιστοποίηση των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων αμιδίου-αμιδίου (αποφυγή φαινομένων διμερισμού και/ή πολυμερισμού) ώστε να παρατηρείται αποκλειστικά το φαινόμενο του *cis-trans* ισομερισμού.



6.6.5.1. ΜΕΛΕΤΕΣ NMR ΤΗΣ Ν-ΑΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ

Στο Σχήμα 82 δίνεται το φάσμα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού των πρωτονίων της Ν-ακετυλο-L-προλίνης σε διάλυμα χλωροφορμίου:



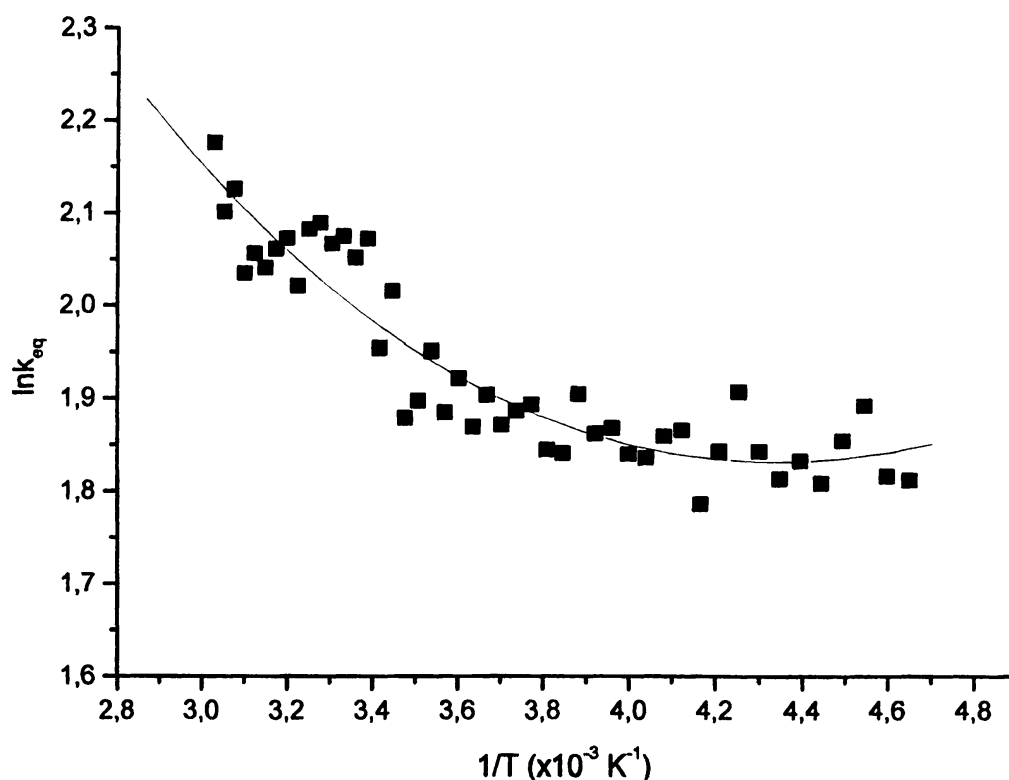
Σχ. 82. NMR-¹H φάσμα της Ν-ακετυλο-L-προλίνης και ταυτοποίηση των κορυφών, σε διάλυμα χλωροφορμίου στους 277K. Ολοκλήρωση των πρωτονίων που βρίσκονται στη θέση α του πυρολλιδινικού δακτυλίου αποδεικνύει ότι, κάτω στις συγκεκριμένες συνθήκες, η Ν-ακετυλο-L-προλίνη βρίσκεται σχεδόν αποκλειστικά σε *trans* διαμόρφωση. Το ποσοστό του *trans* ισομερούς υπολογίζεται γύρω στο 94%.

Αναλυτικά η ταυτοποίηση του φάσματος NMR-¹H της Ν-ακετυλο-L-προλίνης σε διάλυμα χλωροφορμίου έχει ως εξής (CDCl₃, *cis*-6 %):

4,60-4,58 ppm (dd, 1H_α *trans*) και 4,40-4,37 ppm (dd, H_α, trace *cis*), 3,42-3,61 ppm (m, 2H_δ), 2,44 ppm (m, 1H_β), 1,85-2,15 ppm (m, 3H_{β,γ}), 2,15 ppm (s, 3H, CH₃CO, *trans*), 2,10 ppm (s, trace, CH₃CO, *cis*).

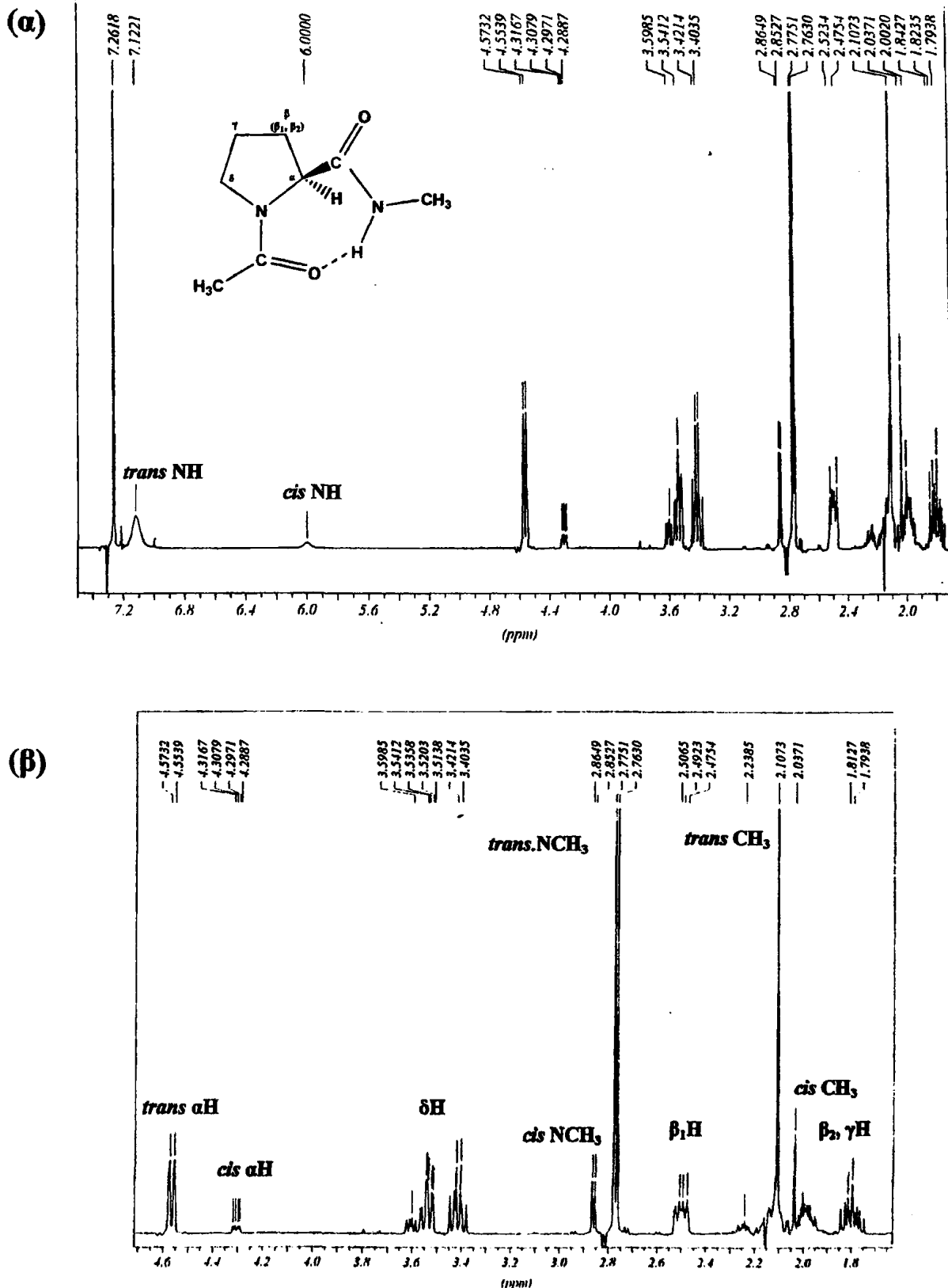
6.6.5.2. ΜΕΛΕΤΕΣ NMR ΤΟΥ Ν-ΜΕΘΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΤΗΣ Ν-ΑΚΕΤΥΛΟ-Λ-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ

Στο Σχήμα 83, στο Διάγραμμα 30 και στους Πίνακες Π-55 και Π-56 του Παραρτήματος, παρατίθενται τα δεδομένα ολοκλήρωσης όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, μεταβλητής θερμοκρασίας, κατά τη μελέτη της *cis-trans* ισορροπίας του Ν-μεθυλαμιδίου της Ν-ακετυλο-Λ-προλίνης σε διαλύτη χλωροφόρμιο.



Διάγραμμα 30. Δεδομένα ολοκλήρωσης των πρωτονίων NCH_3 του Ν-μεθυλαμιδίου της Ν-ακετυλο-Λ-προλίνης, όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, κατά τη μελέτη της *trans-cis* ισορροπίας του αμιδίου σε διαλύτη δευτεριωμένο χλωροφόρμιο, CDCl_3 , συγκέντρωση 2 mM και θερμοκρασίες από 330K έως 215K. Το κάθε σημείο του Διαγράμματος προέκυψε από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος. Μία ικανοποιητική προσέγγιση των σημείων του Διαγράμματος γίνεται με πολυώνυμο τρίτου βαθμού, με τα εξής αποτελέσματα: Το πολυώνυμο με τύπο: $Y=A+B_1X+B_2X^2+B_3X^3$ εμφανίζει συντελεστή παλινδρόμησης R^2 (COD) = 0,86472 και αντίστοιχη τυπική απόκλιση (SD) = 0,04035. Οι τιμές των συντελεστών για το συγκεκριμένο πολυώνυμο είναι οι εξής: $A = 6,1613 (\pm 3,76578)$, $B_1 = -2,31533 (\pm 3,00644)$, $B_2 = 0,37755 (\pm 0,79351)$ και $B_3 = -0,01704 (\pm 0,06925)$.





Σχ. 83. (α) NMR- ^1H φάσμα του *N*-μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης και ταυτοποίηση των κορυφών, σε διάλυμα χλωροφορμίου στους 300K. Ολοκλήρωση των πρωτονίων που βρίσκονται στη θέση α του πυρολλιδινικού δακτυλίου αποδεικνύει ότι, κάτω στις συγκεκριμένες συνθήκες, το *N*-μεθυλαμίδιο της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης βρίσκεται στην *trans* διαμόρφωση σε ένα ποσοστό που υπολογίζεται γύρω στο 89%. (β) Ανηγμένη περιοχή του φάσματος NMR- ^1H του *N*-μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης.

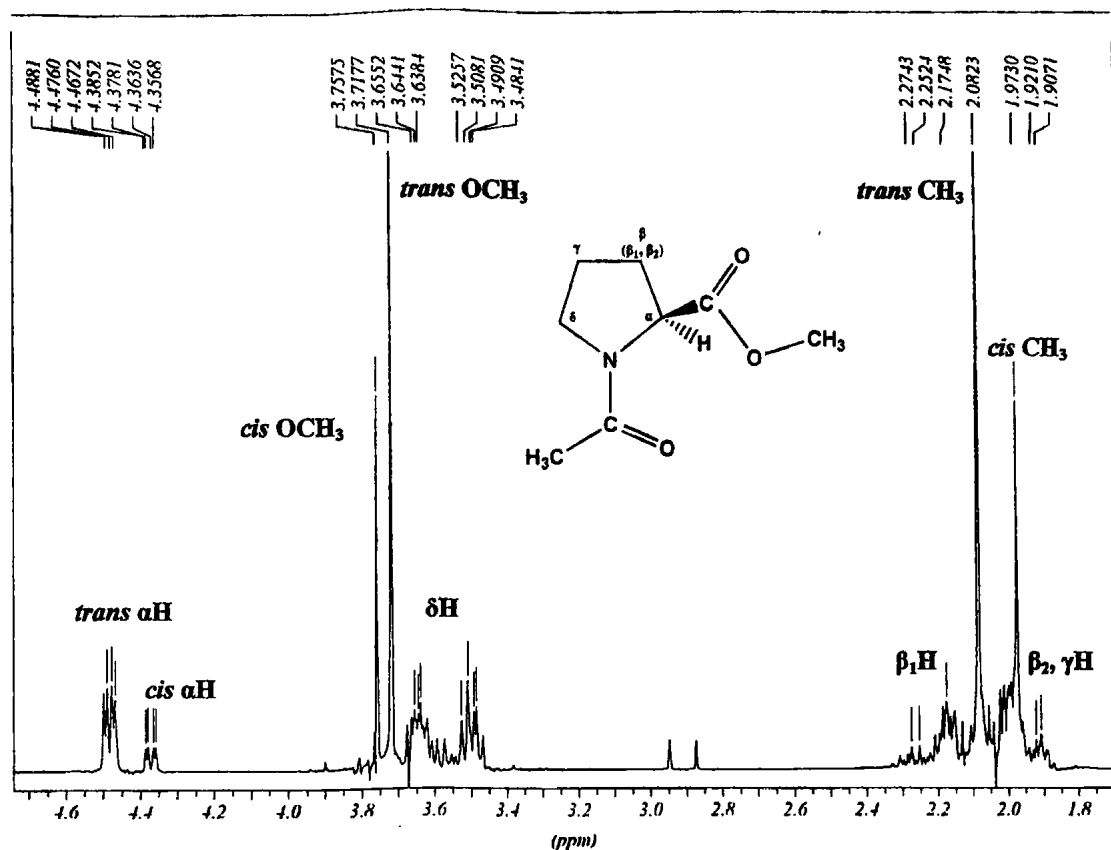
Αναλυτικά η ταυτοποίηση του φάσματος NMR- ^1H του *N*-μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης σε διάλυμα χλωροφορμίου έχει ως εξής (CDCl_3 , *cis*~11 %):

7,12 ppm (s, NH *trans*) και 6,00 ppm (s, NH *cis*), 4,57-4,55 ppm (dd, 1H_α , *trans*) και 4,31-4,29 ppm (dd, H_α , *cis*), 3,59-3,40 ppm (m, 2H_δ), 2,78-2,76 ppm (d, 3H , NHCH_3 , *trans*) και 2,86-2,85 ppm (d, NHCH_3 , *cis*), 2,50-2,48 ppm (m, 1H_β), 1,70-2,30 ppm (m, $3\text{H}_{\beta,2\gamma}$), 2,11 ppm (s, 3H , CH_3CO , *trans*) και 2,04 ppm (s, CH_3CO , *cis*).

6.6.5.3. ΜΕΛΕΤΕΣ NMR ΤΟΥ ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΑ ΤΗΣ *N*-ΑΚΕΤΥΛΟ-*L*-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ

Στο Σχήμα 84, στο Διάγραμμα 31 και στους Πίνακες Π-57 και Π-58 του Παραρτήματος, παρατίθενται τα δεδομένα ολοκλήρωσης όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, μεταβλητής θερμοκρασίας, κατά τη μελέτη της *cis-trans* ισορροπίας του μεθυλεστέρα της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης σε διαλύτη χλωροφόρμιο.



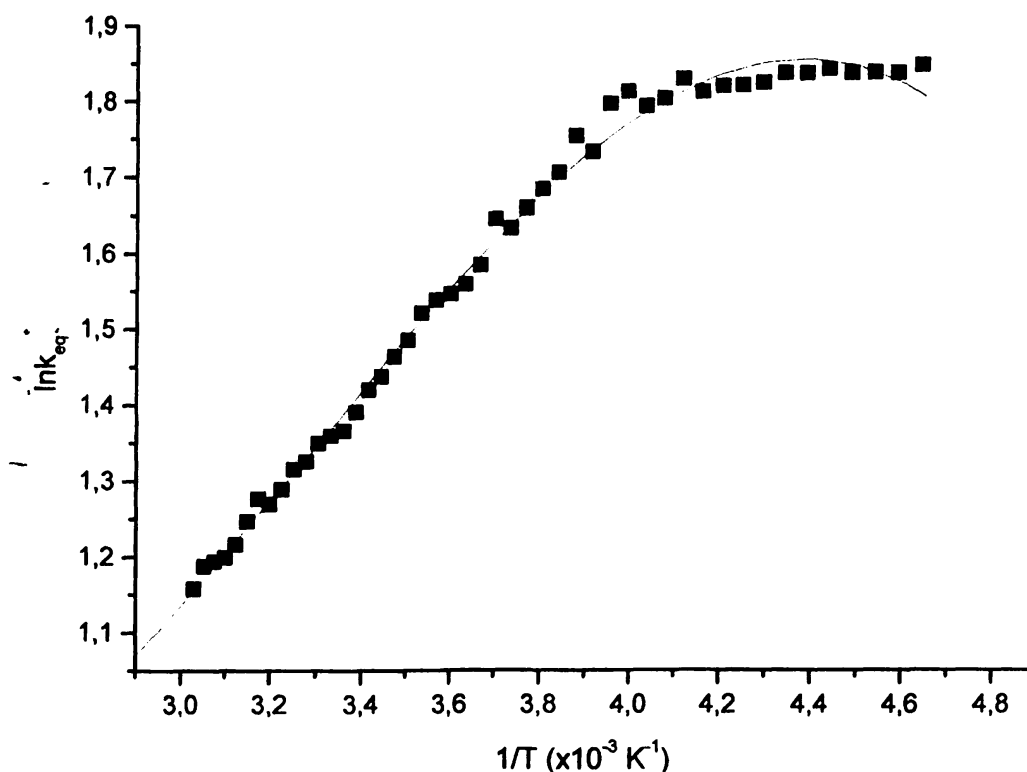


Σχ. 84. NMR- ^1H φάσμα του μεθυλεστέρα της *N*-ακετυλο-L-προλίνης και ταυτοποίηση των σημάτων συντονισμού, σε διάλυμα χλωροφορμίου στους 300K. Ολοκλήρωση των πρωτονίων που βρίσκονται στη θέση α του πυρολλιδινικού δακτυλίου αποδεικνύει ότι, κάτω στις συγκεκριμένες συνθήκες, ο μεθυλεστέρας της *N*-ακετυλο-L-προλίνης βρίσκεται στην *trans* διαμόρφωση σε ένα ποσοστό που υπολογίζεται γύρω στο 80%.

Αναλυτικά η ταυτοποίηση του φάσματος NMR- ^1H του Μεθυλεστέρα της *N*-ακετυλο-L-προλίνης σε διάλυμα χλωροφορμίου έχει ως εξής (CDCl_3 , *cis*~20 %):

4,49-4,47 ppm (dd, 1H_α , *trans*) και 4,38-4,36 ppm (dd, H_α , *cis*), 3,72 ppm (s, 3H, OCH_3 , *trans*) και 3,76 ppm (s, OCH_3 , *cis*), 3,65-3,45 ppm (m, 2H_δ), 2,30-1,80 ppm (m, $4\text{H}_{\beta_2, \gamma}$), 2,08 ppm (s, 3H, CH_3CO , *trans*) και 1,97 ppm (s, CH_3CO , *cis*).

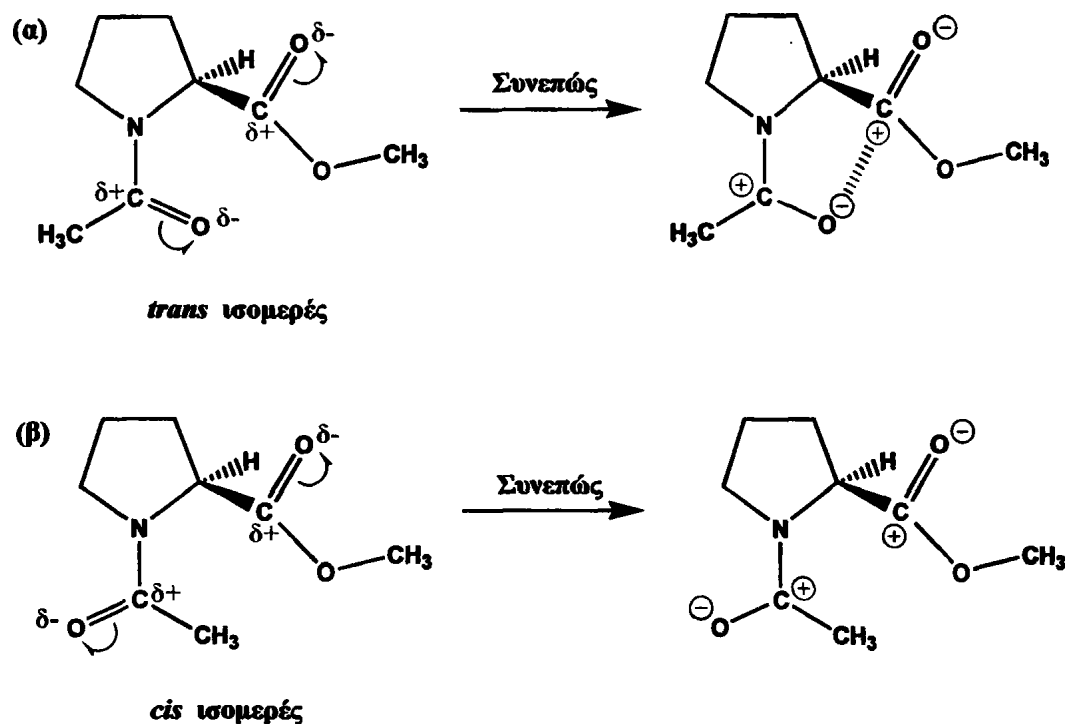




Διάγραμμα 31. Δεδομένα ολοκλήρωσης του αH του μεθυλεστέρα της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης, όπως αυτά προέκυψαν από τα πρωτονιακά φάσματα NMR, κατά τη μελέτη της *trans-cis* ισορροπίας του αμιδίου σε διαλύτη δευτερωμένο χλωροφόρμιο, CDCl_3 , συγκέντρωση 2 mM και θερμοκρασίες από 330K έως 215K. Το κάθε σημείο του Διαγράμματος προέκυψε από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος. Γίνεται πολυωνμική προσέγγιση, τρίτου βαθμού, των σημείων του Διαγράμματος με τα ακόλουθα αποτελέσματα: Το πολυώνυμο με τύπο: $Y=A+B_1X+B_2X^2+B_3X^3$ εμφανίζει συντελεστή παλινδρόμησης R^2 (COD) = 0,9949 και αντίστοιχη τυπική απόκλιση (SD) = 0,01736. Οι τιμές των συντελεστών για το συγκεκριμένο πολυώνυμο είναι οι εξής: $A = 5,40931 (\pm 1,61989)$, $B_1 = -5,18745 (\pm 1,29325)$, $B_2 = 1,80951 (\pm 0,34133)$ και $B_3 = -0,18508 (\pm 0,02979)$.

Πειράματα πρωτονιακού μαγνητικού συντονισμού μεταβλητής θερμοκρασίας σε διάλυμα χλωροφορμίου, έδειξαν πως το *trans* ισομερές του μεθυλεστέρα της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης ευνοείται σημαντικά ενθαλπικά ($\Delta H^\circ = -5,4 \text{ kJ mol}^{-1}$) αλλά και εντροπικά ($298\Delta S^\circ = 2,0 \text{ kJ mol}^{-1}$, $\Delta S^\circ = 6,7 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$). Αυτές οι τιμές δείχνουν την αυθόρμητη τάση του μεθυλεστέρα της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης να υιοθετεί την *trans* διαμόρφωση χωρίς ταυτόχρονα να δημιουργούνται διαμοριακοί δεσμοί που να επηρεάζουν την κινητικότητα της ένωσης. Η σταθερότητα του συστήματος είναι εμφανής και από την τιμή της ελεύθερης ενέργειας Gibbs ($\Delta G^\circ = -7,5 \text{ kJ mol}^{-1}$). Μία εξήγηση που βασίζεται στην ενδομοριακή έλξη διπόλου-διπόλου στο *trans* ισομερές και

που πιθανά ερμηνεύει τη σταθεροποίηση της *trans* διαμόρφωσης έναντι της *cis*, δίνεται στο Σχήμα 85.



Σχ. 85. (α) Ενδομοριακή έλξη διπόλου-διπόλου όταν ο μεθυλεστέρας της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης βρίσκεται στην *trans* διαμόρφωση. Συνέπεια της έλξης αυτής είναι η σταθεροποίηση της *trans* διαμόρφωσης. (β) Το αντίθετο συμβαίνει όταν ο μεθυλεστέρας της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης βρίσκεται στη *cis* διαμόρφωση, με αποτέλεσμα η *cis* διαμόρφωση να μην είναι ιδιαίτερα σταθερή.

7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στόχος της παρούσας διατριβής, όπως τονίστηκε στο εισαγωγικό σημείωμα, ήταν η μελέτη του *cis-trans* ισομερισμού πρότυπων ενώσεων αμιδίων και η προσπάθεια εξαγωγής συμπερασμάτων που αφορούν ευρύτερα πεπτίδια και πρωτεΐνες.

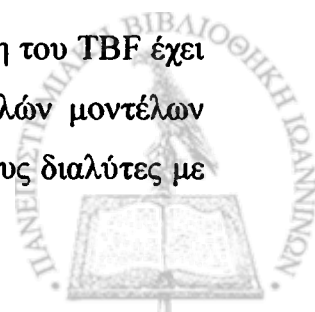
Στα πλαίσια αυτά, υπήρξε δυνατότητα ερμηνείας του ρόλου του κάθε διαλύτη, του τρόπου αλληλεπίδρασης, σε κάθε περίπτωση, αμιδίου-διαλύτη και κατ' επέκταση μπόρεσε να προκύψει μία αρκετά σαφής εικόνα του γιατί, σε ποιο βαθμό και υπό ποιές συνθήκες ευνοείται η *cis* ή η *trans* διαμόρφωση του πεπτιδικού δεσμού.

Τα αποτελέσματα της έρευνας της παρούσας εργασίας ήταν απόρροια μελέτης τριών παραμέτρων οι οποίες αφορούν στη θερμοδυναμική περιγραφή του κάθε συστήματος αμιδίου/διαλύτη, στην ερμηνεία των χημικών μετατοπίσεων των σημάτων συντονισμού του αμιδικού πρωτονίου (δNH) της πρότυπης αμιδικής ένωσης ως συνάρτηση της συγκέντρωσης του αμιδίου, της θερμοκρασίας και της πολικότητας του διαλύτη και στην ταυτοποίηση των απορροφήσεων χαρακτηριστικών ομάδων των αμιδίων στα φάσματα υπερύθρου. Μία πολύ σημαντική παρατήρηση αποτελεί το γεγονός ότι τα δεδομένα τόσο από τη φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού όσο και από τη δονητική φασματοσκοπία συνέκλιναν σε κοινή ερμηνεία των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων των εξεταζόμενων συστημάτων.

Συγκεντρωτικά τα συμπεράσματα που προέκυψαν από την ερμηνεία των πειραματικών δεδομένων της παρούσας διατριβής έχουν ως εξής:

(Α) *N*-αλκυλοϋποκατεστημένα Φορμαμίδια

- (α) Η αύξηση του όγκου του *N*-αλκυλοϋποκαταστάτη στην περίπτωση του TBF έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του *cis* ισομερούς σε συστήματα απλών μοντέλων πεπτιδίων σε μία σειρά διαλυτών από τους πλέον πολικούς μέχρι τους διαλύτες με



εξαιρετικά χαμηλή διηλεκτρική σταθερά. Το μέγεθος, δηλαδή, του *N*-αλκυλοϋποκαταστάτη δύναται να επηρεάσει, για στερεοχημικούς λόγους, τη *cis-trans* ισορροπία του αμιδίου.

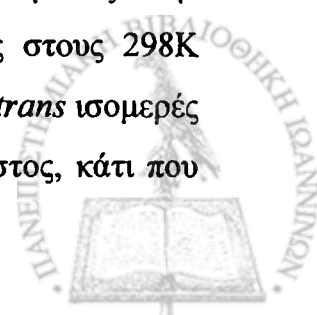
- (β) **Η πολικότητα του διαλύτη** φαίνεται πως μπορεί να παίζει σημαντικό ρόλο στην ύπαρξη και στον τύπο των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων στο εκάστοτε σύστημα αμιδίου-διαλύτη. Διαλύτες υψηλότερης διηλεκτρικής σταθεράς, όπως για παράδειγμα το νερό, η μεθανόλη και το ακετονιτρίλιο, δρουν ανταγωνιστικά ως προς το αμίδιο, δημιουργώντας δεσμούς υδρογόνου κυρίως με το καρβονυλικό οξυγόνο, αλλά και με το αμιδικό πρωτόνιο εμποδίζοντας, εν γένει, τη δημιουργία διμερών ή/και πολυμερών αλυσίδων. Όπως φάνηκε και από τη μελέτη των χημικών μετατοπίσεων του αμιδικού πρωτονίου, μόνο σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις του αμιδίου και σε διαλύτες λιγότερο πολικούς από το νερό και τη μεθανόλη, η επίδραση του διαλύτη αρχίζει να περιορίζεται και υπερτερούν πλέον οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ μορίων του αμιδίου. Αντίθετα, σε λιγότερο πολικούς διαλύτες ευνοούνται οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ μορίων του αμιδίου σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις. Οι παρατηρήσεις αυτές έρχονται σε συμφωνία με τα δεδομένα της δονητικής φασματοσκοπίας. Στην περίπτωση του ακετονιτρίου είναι εμφανής η κυριαρχία της αλληλεπίδρασης του διαλύτη με το πρωτόνιο -NH τόσο του NMF όσο και του TBF, ενώ σε διχλωρομεθάνιο και σε χλωροφόρμιο φαίνεται καθαρά η δημιουργία διμερών και πολυμερών αλυσίδων μεταξύ μορίων του αμιδίου. Διαλύτες χαμηλής διηλεκτρικής σταθεράς, δεν αλληλεπιδρούν ιδιαίτερα με το αμίδιο ευνοώντας τη δημιουργία διμερών ή/και πολυμερών αλυσίδων. Όπως φάνηκε τόσο από τη μελέτη των χημικών μετατοπίσεων του αμιδικού πρωτονίου όσο και από τα φάσματα υπερύθρου, ήδη από πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, στην περίπτωση του κυκλοεξανίου, λαμβάνουν χώρα ισχυρές διαμοριακές (*cis-cis*, *cis-trans* και *trans-trans*) αλληλεπιδράσεις μεταξύ μορίων του αμιδίου ενώ στο τολουόλιο θα πρέπει να υπάρχουν π-αλληλεπιδράσεις του αμιδικού πρωτονίου NH με τον αρωματικό δακτύλιο του τολουολίου όπως και υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις μεταξύ της μεθυλομάδας του τολουολίου και του *N*-αλκυλοϋποκαταστάτη.



(γ) **Η αύξηση της θερμοκρασίας** προκαλεί, εν γένει, αύξηση του ποσοστού του *cis* ισομερούς. Εξαίρεση φαίνεται να αποτελεί το TBF σε μη πολικούς διαλύτες. Στην περίπτωση αυτή η ύπαρξη ογκώδους *N*-αλκυλοϋποκαταστάτη ενισχύει την τάση δημιουργίας κυκλικών διμερών μεταξύ *cis* ισομερών ακόμη και σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις. Οπότε αύξηση της θερμοκρασίας προκαλεί εξασθένηση και σχάση των δεσμών υδρογόνου με αποτέλεσμα τη μετατόπιση της *cis-trans* ισορροπίας προς το *trans* ισομερές που είναι θερμοδυναμικά σταθερότερο. **Μείωση της θερμοκρασίας** έχει ως αποτέλεσμα μία περαιτέρω αποπροστασία του αμιδικού πρωτονίου αφού περιορίζεται η κινητικότητα των μορίων και ισχυροποιούνται οι δεσμοί υδρογόνου.

(δ) **Η θερμοδυναμική ανάλυση** αποδεικνύει, πως υπάρχει άμεση συσχέτιση του *cis-trans* ισομερισμού του πεπτιδικού δεσμού των πρότυπων μοντέλων πεπτιδίων με τις ιδιότητες του διαλύτη. Αυτό φαίνεται τόσο από τις διαφοροποιήσεις, ανά περίπτωση, του ενθαλπικού και του εντροπικού παράγοντα που διέπουν την *cis-trans* ισορροπία, όσο και από τις μεταβολές στην ελεύθερη ενέργεια Gibbs. Η άποψη αυτή ενισχύεται από υπάρχοντα δεδομένα σύμφωνα με τα οποία, η αναδιοργάνωση που επιφέρει το εκάστοτε περιβάλλον, δηλαδή ο εκάστοτε διαλύτης, στους δεσμούς υδρογόνου και εν γένει, στις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις του συστήματος αμιδίου-διαλύτη, έχει άμεση επίδραση στις θερμοδυναμικές του ιδιότητες.

Στο NMF τόσο σε υδατικό διάλυμα όσο και σε διάλυμα μεθανόλης, η *trans* μορφή φαίνεται να ευνοείται ενθαλπικά σε σημαντικό ενώ η θετική επίδραση της εντροπίας είναι πολύ μικρή. Αυτό υποδηλώνει ύπαρξη διαμοριακών αλληλεπιδράσεων όπως είναι η δημιουργία δεσμών υδρογόνου που σταθεροποιούν το σύστημα. Στην περίπτωση του TBF σε υδατικό διάλυμα η *trans* μορφή δε φαίνεται να ευνοείται ενθαλπικά κατά τον *cis-trans* ισομερισμό σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην περίπτωση του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου. Αυτό οφείλεται πιθανότατα σε ισχυρά στερικά φαινόμενα εξαιτίας της ογκώδους *tert*-βουτυλομάδας και στη μειωμένη επιδιαλύτωση της καρβονυλικής ομάδας στην περίπτωση του *trans* ισομερούς. Αντίθετα, η τιμή της εντροπίας στους 298K εμφανίζεται ελαφρά μεγαλύτερη. Στην περίπτωση της μεθανόλης το *trans* ισομερές δείχνει να ευνοείται ενθαλπικά, ενώ διαφαίνεται ένα εντροπικό κόστος, κάτι που

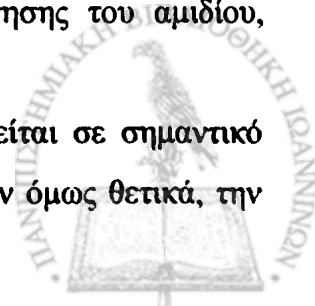


οδηγεί στο συμπέρασμα πως η μεθανόλη θα πρέπει να αλληλεπιδρά, όπως και το νερό, με το καρβονυλικό οξυγόνο του αμιδικού δεσμού ευνοώντας το σχηματισμό δεσμών υδρογόνου και περιορίζοντας με τον τρόπο αυτό την «αταξία» του συστήματος.

Στην περίπτωση του ακετονιτριλίου η μεταβολή στην ελεύθερη ενέργεια του NMF, θα πρέπει να οφείλεται σε ύπαρξη σταθεροποιητικών παραγόντων, όπως είναι οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ αμιδίου και διαλύτη. Στο διχλωρομεθάνιο και στο χλωροφόρμιο η μείωση του παράγοντα της εντροπίας αποδίδεται σε σταθεροποίηση του αμιδίου μέσω δημιουργίας ισχυρών δεσμών υδρογόνου, οι οποίοι θα πρέπει να προέρχονται από τη δημιουργία κυκλικών διμερών ή/και πολυμερών αλυσίδων. Σε διάλυμα ακετονιτριλίου το *trans* ισομερές του TBF αποδεικνύεται σταθερότερο αφού δείχνει να ευνοείται ενθαλπικά. Μικρή αύξηση στην εντροπία πρέπει πιθανόν να οφείλεται στη σχετική δυσχέρεια επιδιαλύτωσης του *trans* ισομερούς του αμιδίου λόγω στερεοχημικής παρεμπόδισης από τον ογκώδη *N*-αλκυλοϋποκαταστάτη. Σε διάλυμα, όμως, διχλωρομεθανίου και χλωροφορμίου, η *trans* μορφή του TBF, σε αντίθεση με το NMF, δεν ευνοείται ενθαλπικά κάτι που πιθανώς οφείλεται τόσο στην ύπαρξη της *tert*-βουτυλομάδας όσο και στη μειωμένη τάση αλληλεπίδρασης του αμιδίου με μόρια των συγκεκριμένων διαλυτών. Η αύξηση στην τιμή της εντροπίας υποδηλώνει πιθανόν μείωση των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων σε σχέση με την περίπτωση του NMF όπως είναι για παράδειγμα η δημιουργία διμερών ή πολυμερών αλυσίδων με αποτέλεσμα να επηρεάζεται σε μικρότερο βαθμό η ευκινησία του αμιδίου.

Σε διάλυμα τολουολίου και βενζολίου το *trans* ισομερές του NMF ευνοείται σαφώς ενθαλπικά ενώ ο εντροπικός παράγοντας διαφοροποιείται υποδηλώνοντας κάποια τροποποίηση στον τρόπο αλληλεπίδρασης του διαλύτη με τα μόρια του NMF. Και στις δύο αυτές περιπτώσεις, ο αρωματικός δακτύλιος θα πρέπει να σχηματίζει σύμπλοκα και με τα δύο ισομερή του αμιδίου. Στην περίπτωση του τολουολίου υπάρχει επιπλέον και η μεθυλομάδα του τολουολίου, η οποία δύναται να αλληλεπιδράσει ασθενώς με τον *N*-μεθυλοϋποκαταστάτη του NMF. Η επιπρόσθετη αυτή αλληλεπίδραση, επιφέρει μείωση της δυνατότητας κίνησης του αμιδίου, σταθεροποιώντας, έτσι, ακόμα περισσότερο το σύστημα.

Σε διάλυμα κυκλοεξανίου το *trans* ισομερές του NMF ευνοείται σε σημαντικό βαθμό εντροπικά με την ενθαλπία να επηρεάζει ελάχιστα, πλην όμως θετικά, την



ισορροπία. Στην περίπτωση αυτή πιθανές υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις μεταξύ μορίων του κυκλοεξανίου και της μεθυλομάδας του αζώτου δε φαίνεται να επηρεάζουν την ευκινησία του αμιδίου.

Σε διάλυμα βενζολίου το *trans* ισομερές του TBF, όπως και στην περίπτωση του NMF, ευνοείται σημαντικά ενθαλπικά, ενώ δεν ευνοείται εντροπικά. Στην περίπτωση αυτή, ο αρωματικός δακτύλιος του διαλύτη θα πρέπει να διευθετείται σε τέτοια θέση σε σχέση με τα μόρια του αμιδίου ώστε να ευνοείται ο σχηματισμός σταθερών π-συμπλόκων. Σε διάλυμα όμως τολουολίου, το *trans* ισομερές του TBF δεν ευνοείται ενθαλπικά, ενώ παρατηρείται μία σημαντική αύξηση της εντροπίας. Στην περίπτωση αυτή, αντίθετα με ό,τι συμβαίνει στο διάλυμα βενζολίου, δεν θα πρέπει να ευνοείται ο σχηματισμός σταθερών π-συμπλόκων. Απεναντίας, είναι πιθανόν, λόγω στερεοχημικής παρεμπόδισης που δεν ευνοεί τις διαμοριακές, μέσω δεσμών υδρογόνου, αλληλεπιδράσεις, να ενισχύεται η κινητικότητα των μορίων στο διάλυμα, η οποία δεν θα πρέπει να επηρεάζεται από πιθανή αλληλεπίδραση της μεθυλομάδας του τολουολίου με την ογκώδη *tert*-βουτυλομάδα του αζώτου του αμιδικού δεσμού.

Σε διάλυμα κυκλοεξανίου και εξανίου το *trans* ισομερές του TBF ευνοείται ισχυρά εντροπικά ενώ η μεταβολή στην τιμή της ενθαλπίας δεν ευνοεί τη δημιουργία δεσμών. Η διαφοροποίηση αυτή στην ενθαλπία του TBF από το NMF ενδεχομένως να οφείλεται στο γεγονός ότι ο *N*-αλκυλοϋποκαταστάτης στην περίπτωση του NMF δεν επιφέρει καμία στερεοχημική παρεμπόδιση στο σύστημα ευνοώντας με μεγαλύτερο βαθμό το σχηματισμό πολυμερών (γραμμικών ή κυκλικών) από ότι στην περίπτωση του ογκώδους *N*-αλκυλοϋποκαταστάτη του TBF. Στην περίπτωση όπου η συγκέντρωση του αμιδίου είναι μόλις 0,25 mM, η πιθανότητα σχηματισμού διμερών ή πολυμερών αλυσίδων θα πρέπει να θεωρηθεί αμελητέα. Παρ' όλα αυτά, όπως προκύπτει και από τη μελέτη της χημικής μετατόπισης του πρωτονίου NH του TBF σε διάλυμα κυκλοεξανίου, η εμφάνιση διαμοριακών αλληλεπιδράσεων μεταξύ κυρίως των *cis* ισομερών του αμιδίου είναι έκδηλη από πολύ μικρές συγκεντρώσεις, όπως αυτή των 5 mM.

Σε όλες τις παραπάνω περιπτώσεις υπήρξε πολύ σημαντική η παρατήρηση του φαινομένου αντιρρόπησης ενθαλπίας-εντροπίας, το οποίο αποδεικνύεται πολύ σημαντικό στη μελέτη βιολογικών συστημάτων.



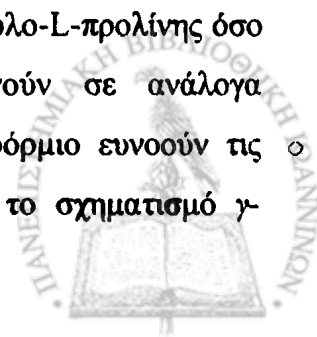
(B) *N*-ακετυλο-*L*-προλίνη

Ακολούθως παρατίθενται συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα που αφορούν στην μελέτη της πρότυπης αμιδικής ένωσης, *N*-ακετυλο-*L*-προλίνη, καθώς και των παραγώγων ενώσεων αυτής, του μεθυλαμιδίου και του μεθυλεστέρα. Η ιδιαιτερότητα της ένωσης αυτής βασίζεται, όπως διεξοδικά συζητήθηκε στο κείμενο της διατριβής, στην ύπαρξη του πυρολλιδινικού δακτυλίου της προλίνης.

(α) **Η κρυσταλλική δομή της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης**, που παρουσιάζεται για πρώτη φορά στην παρούσα εργασία, δείχνει ότι τα άτομα στο μόριο της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης διευθετούνται έτσι, ώστε να μην ευνοείται ο σχηματισμός γ -στροφής, παρά το γεγονός ότι το μόριο της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης βρίσκεται σε *trans* διαμόρφωση. Ο κρύσταλλος χαρακτηρίζεται από τη συγκρυστάλλωση ενός μορίου *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης με ένα μόριο νερού. Όλα τα άτομα οξυγόνου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης συνδέονται μέσω δεσμών υδρογόνου με μόρια νερού με αποτέλεσμα τη σταθεροποίηση του κρυσταλλικού πλέγματος. Στη δομή της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης παρατηρούνται επίσης, ασθενέστεροι δεσμοί υδρογόνου του τύπου C-H $\cdots$ O μεταξύ των καρβονυλικών ατόμων οξυγόνου και των ατόμων υδρογόνου του πυρολλιδινικού δακτυλίου. Τέτοιου τύπου δεσμοί υδρογόνου έχουν παρατηρηθεί και σε άλλες κρυσταλλικές δομές και έχουν ως αποτέλεσμα τη σταθεροποίηση του κρυσταλλικού πλέγματος.

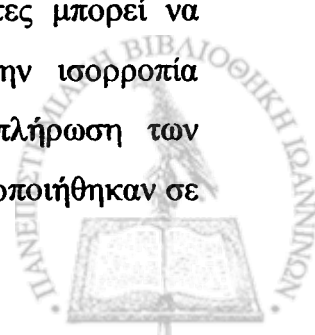
(β) **Η φύση του διαλύτη** φαίνεται να παίζει καθοριστικό ρόλο στις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις που δύνανται ή δε δύνανται να λάβουν χώρα στο κάθε σύστημα. Μελέτες πρωτονιακής φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού συμπεραίνουν πως, σε διάλυμα χλωροφορμίου, τόσο στην *N*-ακετυλο-*L*-προλίνη όσο και στις παράγωγες ενώσεις αυτής, το *trans* ισομερές επικρατεί με πολύ υψηλά ποσοστά αποδεικνύοντας πως είναι θερμοδυναμικά σταθερότερο.

(γ) **Μελέτες φασμάτων υπερέθρου σε διάλυμα** τόσο της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης όσο και του *N*-μεθυλαμιδίου αυτής που εξετάστηκαν οδηγούν σε ανάλογα συμπεράσματα. Μη πολικοί διαλύτες όπως είναι το χλωροφόρμιο ευνοούν τις διαμοριακές και ενδομοριακές αλληλεπιδράσεις με εμφανή το σχηματισμό γ -



στροφής ιδιαίτερα στο *trans* ισομερές. Στην αντίθετη περίπτωση, πολικοί διαλύτες, όπως είναι το διμεθυλοσουλφοξείδιο και λιγότερο το ακετονιτρίλιο, αλληλεπιδρούν έντονα με μόρια του αμιδίου δρώντας ανταγωνιστικά στο σχηματισμό διμερών-πολυμερών ή γ-στροφής. Αξίζει να σημειωθεί εδώ πως τα βασικότερα συμπεράσματα σχετικά με τις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις σε κάθε διαλύτη προέκυψαν κυρίως, από τη μελέτη εκείνης της περιοχής των φασμάτων υπερύθρου, όπου απορροφούν η οι ομάδες NH και OH. Η περιοχή του φάσματος που απορροφούν οι καρβονυλομάδες των εξεταζόμενων αμιδίων εμφανίζουν μία γενικότερη πολυπλοκότητα και ασάφεια. Εάν ληφθεί υπόψη ότι εκτός από τα απλά ισομερή που αναφέρονται και που το ποσοστό των οποίων εξαρτάται από το διαλύτη, τη συγκέντρωση και τη θερμοκρασία, υπάρχουν ακόμα (α) οι δομές που αλληλεπιδρούν με το διαλύτη ή μεταξύ τους σχηματίζοντας διμερή ή/και πολυμερή συστήματα και (β) τα μόρια του νερού που περιέχονται στο διαλύτη και τα οποία αλληλεπιδρούν και αυτά εντός του συστήματος, είναι εύκολο να διαπιστωθεί πως δεν είναι δυνατόν να γίνει σαφής αποτίμηση αλλά απλώς εκτίμηση του φάσματος υπερύθρου. Αυτός είναι και ο λόγος της ευρείας χρήσης, στις πιο πρόσφατες έρευνες, της φασματοσκοπίας υπερύθρου δύο διαστάσεων. Η συγκεκριμένη μεθοδολογία αποκαλύπτει και άλλες κορυφές οι οποίες κατηγορηματικά αποδεικνύουν τη συνύπαρξη ενός πλήθους διαμορφομερών που είναι αδύνατο να διακριθούν με απλό γραμμικό φάσμα IR. Συνεπώς η αποτίμηση ενός γραμμικού φάσματος αυτών των μορίων δεν μπορεί να είναι τελείως ακριβής. Προκειμένου να προκύψουν κάποια ασφαλή συμπεράσματα, εξετάζονται οι περιοχές απορρόφησης NH ή OH και η περιοχή του καρβονυλίου και συνεκτιμούνται όλα τα δεδομένα. Αυξανόμενης της συγκέντρωσης κάποιες απορροφήσεις αυξάνονται ή διαφοροποιούνται οπότε προκύπτουν κάποια συμπεράσματα που αφορούν στο σχηματισμό γ-στροφής ή πολυμερών δομών (Polypyrrolone-II).

Από την όλη συζήτηση των αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής είναι προφανές ότι η χρήση φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού και φασματοσκοπίας υπερύθρου σε συνδυασμό με θερμοδυναμικές μελέτες μπορεί να οδηγήσει σε πολύτιμα συμπεράσματα σχετικά με τη δομή και την ισορροπία βιοπολυμερών σε διάλυμα. Υπήρξε ταύτιση αλλά και αλληλοσυμπλήρωση των δεδομένων που προέκυψαν από όλες τις μεθόδους ανάλυσης που χρησιμοποιήθηκαν σε



μία μεγάλη ποικιλία συνθηκών. Τα αποτελέσματα οδηγούν στο συμπέρασμα πως όλοι οι παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της συγκέντρωσης του αμιδίου και της φύσης του διαλύτη, δύνανται να επηρεάσουν σε καθοριστικό βαθμό τη διαμόρφωση και τον τρόπο λειτουργίας ενός βιομορίου, όπως είναι για παράδειγμα μία πρωτεΐνη, σε μία βιολογική διεργασία τόσο σε τοπικό όσο και σε συνολικό επίπεδο.



8. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

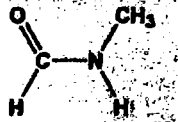




8.1. Ν-ΜΕΘΥΛΟΦΟΡΜΑΜΙΔΙΟ ΚΑΙ Ν-tert-ΒΟΥΤΥΛΟΦΟΡΜΑΜΙΔΙΟ ΣΕ ΞΗΡΑ ΠΟΛΙΚΟΥΣ ΔΙΑΛΥΤΕΣ

8.1.1. NMF-NEPO

Πίνακας Π-1. Σταθερές ισορροπίας, k_{eq} και επί τοις εκατό (%) ποσοστό του *trans* ισομερούς του Ν-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF), όπως προκύπτει από τη μελέτη μεταβλητής θερμοκρασίας NMR- ^1H , με ολοκλήρωση των σημάτων συντονισμού των πρωτονίων $-\text{CH}_3$, σε διαλύτη 90% $\text{H}_2\text{O}/10\% \text{D}_2\text{O}$ και συγκέντρωση 20 mM.

k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)	
7,70	363	88,51	
7,89	353	88,75	
8,32	343	89,27	
8,82	333	89,81	
9,26	323	90,25	
9,87	313	90,80	
10,97	303	91,65	
11,58	295	92,05	
12,82	285	92,76	
13,69	277	93,19	

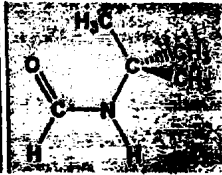
Πίνακας Π-2. Τιμές $\ln k_{eq}$ και $1/T$ της *trans-cis* ισορροπίας του Ν-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF), υπό τις πειραματικές συνθήκες του Πίνακα Π-1.

$\ln k_{eq}$	T (K)	$1/T (\times 10^3 \text{ K}^{-1})$
2,04	363	2,76
2,07	353	2,83
2,12	343	2,92
2,18	333	3,00
2,23	323	3,10
2,29	313	3,20
2,40	303	3,30
2,45	295	3,39
2,55	285	3,51
2,62	277	3,61



8.1.2. TBF-NEPO

Πίνακας Π-3. Σταθερές ισορροπίας, k_{eq} και επί τοις εκατό (%) ποσοστό του *trans* ισομερούς του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), όπως προκύπτει από τη μελέτη μεταβλητής θερμοκρασίας NMR- ^1H , με ολοκλήρωση των σημάτων συντονισμού των πρωτονίων $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$, σε διαλύτη 90% $\text{H}_2\text{O}/10\% \text{D}_2\text{O}$ και συγκέντρωση 20 mM.

k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)	
0,87	338	46,58	
0,88	328	46,89	
0,90	318	47,37	
0,92	308	47,87	
0,94	298	48,53	
0,97	288	49,28	

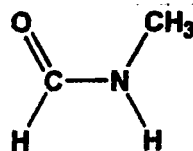
Πίνακας Π-4. Τιμές $\ln k_{eq}$ και $1/T$ της *trans-cis* ισορροπίας του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), υπό τις πειραματικές συνθήκες του Πίνακα Π-3.

$\ln k_{eq}$	T (K)	$1/T$ (K $^{-1}$)
-0,14	338	2,96
-0,12	328	3,05
-0,11	318	3,15
-0,09	308	3,25
-0,06	298	3,36
-0,03	288	3,47



8.1.3. NMF-ΜΕΘΑΝΟΛΗ

Πίνακας Π-5. Σταθερές ισοροπίας, k_{eq} και επί τοις εκατό (%) ποσοστό του *trans* ισομερούς του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF), όπως προκύπτει από τη μελέτη μεταβλητής θερμοκρασίας NMR- ^1H , με ολοκλήρωση των σημάτων συντονισμού των πρωτονίων $-\text{CH}_3$, σε διαλύτη δευτεριωμένη μεθανόλη, CD_3OD και συγκέντρωση 2 mM. Η κάθε τιμή του Πίνακα προέκυψε από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος.



$-k_{eq}$	T (K)	<i>trans</i> (%)	k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)
12,52	327,5	92,60	19,36	270	95,08
12,93	325	92,82	20,99	267,5	95,45
12,71	322,5	92,7	21,18	265	95,49
13,41	320	93,06	21,21	262,5	95,50
13,49	317,5	93,09	19,88	260	95,20
12,54	315	92,57	19,23	257,5	95,05
13,84	312,5	93,25	19,12	255	95,03
14,03	310	93,34	19,18	252,5	95,04
15,05	307,5	93,77	19,60	250	95,15
15,33	305	93,86	20,34	247,5	95,31
16,17	302,5	94,18	20,19	245	95,28
16,69	300	94,32	20,61	242,5	95,37
16,36	297,5	94,24	19,88	240	95,21
16,69	295	94,34	19,52	237,5	95,13
16,74	292,5	94,36	19,53	235	95,13
16,65	290	94,33	19,55	232,5	95,13
17,27	287,5	94,52	19,68	230	95,15
17,04	285	94,45	19,97	227,5	95,23
17,78	282,5	94,68	20,34	225	95,31
18,22	280	94,79	20,00	222,5	95,24
18,88	277,5	94,97	19,59	220	95,14
18,56	275	94,89	19,98	217,5	95,23
19,65	272,5	95,15			



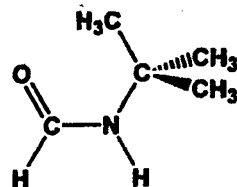
Πίνακας Π-6. Τιμές $\ln k_{eq}$ και $1/T$ της *trans-cis* ισορροπίας του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF), υπό τις πειραματικές συνθήκες του Πίνακα Π-5.

$\ln k_{eq}$	T (K)	$1/T$ ($\times 10^3 \text{ K}^{-1}$)	$\ln k_{eq}$	T (K)	$1/T$ ($\times 10^3 \text{ K}^{-1}$)
2,53	327,5	3,05	2,96	270	3,70
2,56	325	3,07	3,04	267,5	3,74
2,54	322,5	3,10	3,05	265	3,77
2,60	320	3,12	3,05	262,5	3,81
2,60	317,5	3,15	2,99	260	3,85
2,53	315	3,17	2,96	257,5	3,88
2,63	312,5	3,20	2,95	255	3,92
2,64	310	3,22	2,95	252,5	3,96
2,71	307,5	3,25	2,98	250	4,00
2,73	305	3,28	3,01	247,5	4,04
2,78	302,5	3,30	3,01	245	4,08
2,81	300	3,33	3,03	242,5	4,12
2,79	297,5	3,36	2,99	240	4,17
2,81	295	3,39	2,97	237,5	4,21
2,82	292,5	3,42	2,97	235	4,25
2,81	290	3,45	2,97	232,5	4,30
2,85	287,5	3,48	2,98	230	4,35
2,84	285	3,51	2,99	227,5	4,39
2,88	282,5	3,54	3,01	225	4,44
2,90	280	3,57	3,00	222,5	4,49
2,94	277,5	3,60	2,98	220	4,55
2,92	275	3,64	2,99	217,5	4,59
2,98	272,5	3,67			

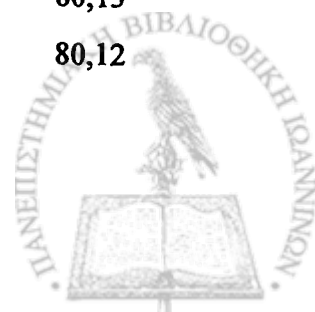


8.1.4. TBF-ΜΕΘΑΝΟΛΗ

Πίνακας II-7. Σταθερές ισορροπίας, k_{eq} και επί τοις εκατό (%) ποσοστό του *trans* ισομερούς του *N*-*tert*-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF), όπως προκύπτει από τη μελέτη μεταβλητής θερμοκρασίας NMR- ^1H , με ολοκλήρωση των σημάτων συντονισμού των πρωτονίων $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$, σε διαλύτη δευτεριωμένη μεθανόλη, CD_3OD και συγκέντρωση 2 mM. Η κάθε τιμή του Πίνακα προέκυψε από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος.



k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)	k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)
2,73	327,5	73,15	3,87	270	79,45
2,86	325	74,09	4,09	267,5	80,35
2,79	322,5	73,62	4,07	265	80,26
2,92	320	74,48	4,15	262,5	80,58
3,04	317,5	75,26	4,13	260	80,51
3,06	315	75,34	4,07	257,5	80,28
3,02	312,5	75,11	3,97	255	79,87
3,08	310	75,52	3,95	252,5	79,77
3,19	307,5	76,15	4,19	250	80,73
3,21	305	76,21	4,08	247,5	80,30
3,35	302,5	77,02	4,11	245	80,43
3,25	300	76,47	4,03	242,5	80,12
3,28	297,5	76,64	3,97	240	79,89
3,33	295	76,92	3,98	237,5	79,94
3,36	292,5	77,04	4,07	235	80,27
3,48	290	77,67	4,05	232,5	80,19
3,51	287,5	77,81	4,06	230	80,23
3,71	285	78,76	4,02	227,5	80,07
3,59	282,5	78,20	4,07	225	80,29
3,67	280	78,60	4,09	222,5	80,36
3,68	277,5	78,62	4,03	220	80,13
3,81	275	79,21	4,03	217,5	80,12
3,78	272,5	79,07			



Πίνακας Π-8. Τιμές $\ln k_{eq}$ και $1/T$ της *trans-cis* ισορροπίας του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), υπό τις πειραματικές συνθήκες του Πίνακα Π-7.

$\ln k_{eq}$	T (K)	$1/T$ ($\times 10^3 \text{ K}^{-1}$)	$\ln k_{eq}$	T (K)	$1/T$ ($\times 10^3 \text{ K}^{-1}$)
1,00	327,5	3,05	1,35	270	3,70
1,05	325	3,07	1,41	267,5	3,74
1,03	322,5	3,10	1,40	265	3,77
1,07	320	3,12	1,42	262,5	3,81
1,11	317,5	3,15	1,42	260	3,85
1,12	315	3,17	1,40	257,5	3,88
1,10	312,5	3,20	1,38	255	3,92
1,13	310	3,22	1,37	252,5	3,96
1,16	307,5	3,25	1,43	250	4,00
1,16	305	3,28	1,41	247,5	4,04
1,21	302,5	3,30	1,41	245	4,08
1,18	300	3,33	1,39	242,5	4,12
1,19	297,5	3,36	1,38	240	4,17
1,20	295	3,39	1,38	237,5	4,21
1,21	292,5	3,42	1,40	235	4,25
1,25	290	3,45	1,40	232,5	4,30
1,25	287,5	3,48	1,40	230	4,35
1,31	285	3,51	1,39	227,5	4,39
1,28	282,5	3,54	1,40	225	4,44
1,30	280	3,57	1,41	222,5	4,49
1,30	277,5	3,60	1,39	220	4,55
1,34	275	3,64	1,39	217,5	4,59
1,33	272,5	3,67			



8.1.5. ΜΕΛΕΤΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΕΩΝ TBF ΣΕ ΜΕΘΑΝΟΛΗ

Πίνακας Π-9. Χημικές μετατοπίσεις του αμιδικού πρωτονίου NH (δ NH) σε ppm, του *cis* ισομερούς του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF) ως συνάρτηση της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του αμιδίου, σε διαλύτη CD_3OH .

T (K)	Συγκέντρωση Αμιδίου στο Διάλυμα			
	0,2 M	1 M	5 M	8,5 M
345	-	-	-	7,52
340	-	-	-	7,58
335	-	-	-	7,64
330	-	-	7,56	7,73
325	-	-	7,62	7,80
320	7,59	-	7,68	7,86
315	7,62	-	7,73	7,92
310	7,65	-	7,78	-
305	7,69	-	7,84	8,03
300	7,73	7,76	-	8,08
295	7,79	7,80	7,96	8,13
290	7,81	7,83	8,01	8,19
285	7,90	-	8,07	8,24
280	7,95	7,96	8,12	8,29
275	8,01	8,00	8,15	8,36
270	8,06	8,06	8,20	8,40
265	8,09	8,09	8,25	8,44
260	8,12	8,12	8,30	8,47
255	8,16	8,18	8,34	8,52
250	8,23	8,22	8,39	8,57
245	8,26	8,27	8,43	-
240	8,29	8,31	8,47	-
235	8,33	8,35	8,52	-
230	8,37	8,39	8,55	-
225	8,41	8,43	8,60	-
220	8,45	8,46	8,63	-
215	8,48	8,50	8,67	-



Πίνακας Π-10. Χημικές μετατοπίσεις του πρωτονίου της ομάδας NH (δNH) σε ppm, του *trans* ισομερούς του *N-tert*-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF) ως συνάρτηση της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του αμιδίου, σε διαλύτη CD_3OH .

T (K)	Συγκέντρωση Αμιδίου στο Διάλυμα			
	0,2 mM	1 M	5 M	8,5 M
345	-	-	-	7,40
340	-	-	-	7,44
335	-	-	-	7,48
330	7,40	7,41	7,46	7,56
325	7,46	7,45	7,51	7,62
320	7,51	7,50	7,56	7,67
315	7,56	7,55	7,60	7,72
310	7,60	7,58	7,64	7,76
305	7,64	7,63	7,68	7,81
300	7,68	7,68	7,73	7,85
295	7,72	7,72	7,78	7,90
290	7,77	7,77	7,82	7,94
285	7,81	7,82	7,87	7,99
280	-	7,85	-	8,04
275	7,89	7,89	7,94	8,08
270	7,94	7,92	7,98	8,12
265	7,97	7,96	8,02	8,16
260	8,00	7,98	8,06	8,19
255	8,04	8,03	8,10	8,23
250	8,07	8,07	8,13	8,27
245	8,11	8,11	8,17	-
240	8,15	8,15	8,21	-
235	8,18	8,18	8,24	-
230	8,22	8,22	8,28	-
225	8,25	8,26	8,32	-
220	8,29	8,28	8,35	-
215	8,33	8,32	8,38	-



8.2. NMF ΚΑΙ TBF ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΑΚΕΤΟΝΙΤΡΙΛΙΟΥ, ΔΙΧΛΩΡΟΜΕΘΑΝΙΟΥ ΚΑΙ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ

8.2.1. NMF-ΑΚΕΤΟΝΙΤΡΙΛΙΟ

Πίνακας Π-11. Σταθερές ισορροπίας, k_{eq} και επί τοις εκατό (%) ποσοστό του *trans* ισομερούς του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF), όπως προκύπτει από τη μελέτη μεταβλητής θερμοκρασίας NMR- ^1H , με ολοκλήρωση των σημάτων συντονισμού των πρωτονίων $-\text{CH}_3$, σε διαλύτη δευτεριωμένο ακετονιτρίλιο, CD_3CN , συγκέντρωση 2 mM και θερμοκρασίες από 348K έως 238K. Η κάθε τιμή του Πίνακα προέκυψε από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος.

$ \begin{array}{c} \text{O} \quad \text{CH}_3 \\ \parallel \quad \diagup \\ \text{C} - \text{N} \\ \diagdown \quad \parallel \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array} $					
k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)	k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)
8,53	348	89,51	14,01	290,5	93,34
9,79	345,5	90,73	14,34	288	93,48
9,45	343	90,43	14,38	285,5	93,50
9,82	340,5	90,75	14,56	283	93,57
10,28	338	91,13	15,09	280,5	93,78
10,14	335,5	91,02	15,97	278	94,11
10,27	333	91,13	15,91	275,5	94,08
10,19	330,5	91,05	16,03	273	94,13
9,84	328	90,78	16,03	270,5	94,13
9,96	325,5	90,88	16,97	268	94,44
10,72	323	91,17	17,47	265,5	94,58
10,61	320,5	91,39	18,31	263	94,82
10,82	318	91,54	18,94	260,5	94,98
10,92	315,5	91,61	19,48	258	95,11
11,14	313	91,76	19,13	255,5	95,03
11,03	310,5	91,69	19,04	253	95,01
11,22	308	91,82	18,98	250,5	94,99
11,95	305,5	92,28	18,91	248	94,98
12,12	303	92,37	18,90	245,5	94,97
12,06	300,5	92,34	19,21	243	95,05
13,15	298	92,94	18,94	240,5	94,98
12,85	295,5	92,77	19,07	238	95,02
13,80	293	93,24			



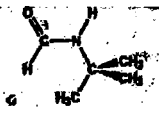
Πίνακας Π-12. Τιμές $\ln k_{eq}$ και $1/T$ της *trans-cis* ισορροπίας του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF) υπό τις πειραματικές συνθήκες του Πίνακα Π-11.

$\ln k_{eq}$	T (K)	$1/T$ ($\times 10^3 \text{ K}^{-1}$)	$\ln k_{eq}$	T (K)	$1/T$ ($\times 10^3 \text{ K}^{-1}$)
2,14	348	2,87	2,64	290,5	3,44
2,28	345,5	2,89	2,66	288	3,47
2,25	343	2,92	2,67	285,5	3,50
2,28	340,5	2,94	2,68	283	3,53
2,33	338	2,96	2,71	280,5	3,57
2,32	335,5	2,98	2,77	278	3,60
2,33	333	3,00	2,77	275,5	3,63
2,32	330,5	3,03	2,77	273	3,66
2,28	328	3,05	2,77	270,5	3,70
2,30	325,5	3,07	2,83	268	3,73
2,34	323	3,10	2,86	265,5	3,77
2,36	320,5	3,12	2,91	263	3,80
2,38	318	3,14	2,94	260,5	3,84
2,39	315,5	3,17	2,97	258	3,88
2,41	313	3,19	2,95	255,5	3,91
2,40	310,5	3,22	2,95	253	3,95
2,42	308	3,25	2,94	250,5	3,99
2,48	305,5	3,27	2,94	248	4,03
2,49	303	3,30	2,94	245,5	4,07
2,49	300,5	3,33	2,96	243	4,12
2,58	298	3,36	2,94	240,5	4,16
2,55	295,5	3,38	2,95	238	4,20
2,62	293	3,41			



8.2.2. TBF-AKETONITRILIO

Πίνακας Π-13. Σταθερές ισορροπίας, k_{eq} και επί τοις εκατό (%) ποσοστό του *trans* ισομερούς του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), όπως προκύπτει από τη μελέτη μεταβλητής θερμοκρασίας NMR- ^1H , με ολοκλήρωση των σημάτων συντονισμού των πρωτονίων $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$, σε διαλύτη δευτεριωμένο ακετονιτρίλιο, CD_3CN , συγκέντρωση 2 mM και θερμοκρασίες από 348K έως 238K. Η κάθε τιμή του Πίνακα προέκυψε από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος.

k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)	
2,29	348	69,65	
2,30	338	69,67	
2,29	328	69,62	
2,37	318	70,31	
2,45	308	71,05	
2,52	298	71,58	
2,60	288	72,25	
2,61	278	72,28	
2,67	268	72,77	
2,80	258	73,68	
2,82	248	73,83	
2,86	238	74,12	

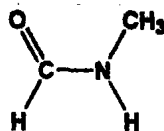
Πίνακας Π-14. Τιμές $\ln k_{eq}$ και $1/T$ της *trans-cis* ισορροπίας του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF) υπό τις πειραματικές συνθήκες του Πίνακα Π-13.

$\ln k_{eq}$	T (K)	$1/T (\times 10^3 \text{ K}^{-1})$
0,83	348	2,87
0,83	338	2,96
0,83	328	3,05
0,86	318	3,14
0,90	308	3,25
0,92	298	3,36
0,96	288	3,47
0,96	278	3,60
0,98	268	3,73
1,03	258	3,88
1,04	248	4,03
1,05	238	4,20



8.2.3. NMF-ΔΙΧΛΩΡΟΜΕΘΑΝΙΟ

Πίνακας Π-15. Σταθερές ισορροπίας, k_{eq} και επί τοις εκατό (%) ποσοστό του *trans* ισομερούς του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF), όπως προκύπτει από τη μελέτη μεταβλητής θερμοκρασίας NMR- ^1H , με ολοκλήρωση των σημάτων συντονισμού των πρωτονίων $-\text{CH}_3$, σε διαλύτη δευτεριωμένο διχλωρομεθάνιο, CD_2Cl_2 , συγκέντρωση 2 mM και θερμοκρασίες από 305 έως 215K. Η κάθε τιμή του Πίνακα προέκυψε από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος.



k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)	k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)
5,60	305	84,85	9,89	257,5	90,82
6,82	302,5	87,21	9,92	255	90,84
7,19	300	87,77	10,00	252,5	90,91
7,47	297,5	88,19	9,98	250	90,89
7,84	295	88,69	9,84	247,5	90,78
7,79	292,5	88,62	9,84	245	90,77
8,15	290	89,06	9,87	242,5	90,8
8,56	287,5	89,53	10,00	240	90,91
8,78	285	89,77	10,00	237,5	90,93
8,97	282,5	89,97	9,91	235	90,83
8,94	280	89,94	10,10	232,5	90,98
8,92	277,5	89,92	10,20	230	91,04
8,95	275	89,95	10,10	227,5	90,97
9,19	272,5	90,19	9,92	225	90,84
9,37	270	90,36	9,88	222,5	90,81
9,80	267,5	90,74	9,88	220	90,81
10,00	265	90,95	9,88	217,5	90,81
10,10	262,5	90,99	9,88	215	90,81
10,00	260	90,91			



Πίνακας Π-16. Τιμές $\ln k_{eq}$ και $1/T$ της *trans-cis* ισορροπίας του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF), υπό τις πειραματικές συνθήκες του Πίνακα Π-15.

$\ln k_{eq}$	T (K)	$1/T$ ($\times 10^3 \text{ K}^{-1}$)	$\ln k_{eq}$	T (K)	$1/T$ ($\times 10^3 \text{ K}^{-1}$)
1,72	305 (x2)	3,28	2,29	257,5	3,88
1,92	302,5	3,31	2,29	255	3,92
1,97	300	3,33	2,30	252,5	3,96
2,01	297,5	3,36	2,30	250	4,00
2,06	295	3,39	2,29	247,5	4,04
2,05	292,5	3,42	2,29	245	4,08
2,10	290	3,45	2,29	242,5	4,12
2,15	287,5	3,48	2,30	240	4,17
2,17	285	3,51	2,30	237,5	4,21
2,19	282,5	3,54	2,29	235	4,26
2,19	280	3,57	2,31	232,5	4,30
2,19	277,5	3,60	2,32	230	4,35
2,19	275	3,64	2,31	227,5	4,40
2,22	272,5	3,67	2,29	225	4,44
2,24	270	3,70	2,29	222,5	4,49
2,28	267,5	3,74	2,29	220	4,55
2,31	265	3,77	2,29	217,5	4,60
2,31	262,5	3,81	2,29	215	4,65
2,30	260	3,85			



8.2.4. TBF-ΔΙΧΛΩΡΟΜΕΘΑΝΙΟ

Πίνακας Π-17. Σταθερές ισορροπίας, k_{eq} και επί τοις εκατό (%) ποσοστό του *trans* ισομερούς του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), όπως προκύπτει από τη μελέτη μεταβλητής θερμοκρασίας NMR- ^1H , με ολοκλήρωση των σημάτων συντονισμού των πρωτονίων $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ σε διαλύτη δευτεριωμένο διχλωρομεθάνιο, CD_2Cl_2 και συγκέντρωση 2 mM. Η κάθε τιμή του Πίνακα από τους 303K μέχρι τους 263K προέκυψε από τέσσερις επαναλήψεις, ενώ από τους 253K έως τους 223K προέκυψε από οκτώ επαναλήψεις του ίδιου πειράματος.

k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)	
1,22	303	54,90	
1,20	293	54,52	
1,18	283	54,07	
1,14	273	53,20	
1,10	263	52,42	
1,07	253	51,72	
1,05	243	51,12	
1,03	233	50,74	
1,03	223	50,67	

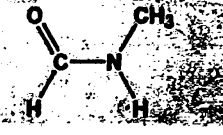
Πίνακας Π-18. Τιμές $\ln k_{eq}$ και $1/T$ της *trans-cis* ισορροπίας του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), υπό τις πειραματικές συνθήκες του Πίνακα Π-17.

$\ln k_{eq}$	T (K)	$1/T$ (K $^{-1}$)
0,20	303	3,30
0,18	293	3,41
0,16	283	3,53
0,13	273	3,66
0,10	263	3,80
0,07	253	3,95
0,04	243	4,12
0,03	233	4,29
0,03	223	4,48



8.2.5. NMF-ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟ

Πίνακας Π-19. Σταθερές ισορροπίας, k_{eq} και επί τοις εκατό (%) ποσοστό του *trans* ισομερούς του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF), όπως προκύπτει από τη μελέτη μεταβλητής θερμοκρασίας NMR- ^1H , με ολοκλήρωση των σημάτων συντονισμού των πρωτονίων $-\text{CH}_3$, σε διαλύτη δευτεριωμένο χλωροφόρμιο, CDCl_3 , συγκέντρωση 2 mM και θερμοκρασίες από 330K έως 215K. Η κάθε τιμή του Πίνακα προέκυψε από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος.

k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)	
5,64	330	84,94	
5,83	325	85,36	
5,95	320	85,60	
6,17	315	86,05	
6,32	310	86,33	
6,41	305	86,50	
6,47	300	86,60	
6,79	295	87,16	
6,99	290	87,49	
7,19	285	87,79	
7,48	280	88,21	
7,60	275	88,38	
7,76	270	88,58	
7,88	265	88,74	
7,90	260	88,76	
7,93	255	88,81	
7,92	250	88,79	
8,05	245	88,95	
8,06	240	88,97	
8,22	235	89,16	
8,28	230	89,23	
8,38	225	89,34	
8,34	220	89,29	
8,49	215	89,46	



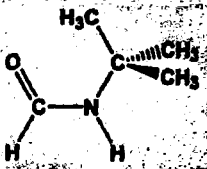
Πίνακας Π-20. Τιμές $\ln k_{eq}$ και $1/T$ της *trans-cis* ισορροπίας του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF), υπό τις πειραματικές συνθήκες του Πίνακα Π-19.

$\ln k_{eq}$	$T (K)$	$1/T (\times 10^3 K^{-1})$
1,73	330	3,03
1,76	325	3,08
1,78	320	3,13
1,82	315	3,17
1,84	310	3,23
1,86	305	3,28
1,87	300	3,33
1,92	295	3,39
1,95	290	3,45
1,97	285	3,51
2,01	280	3,57
2,03	275	3,64
2,05	270	3,70
2,06	265	3,77
2,07	260	3,85
2,07	255	3,92
2,07	250	4,00
2,09	245	4,08
2,09	240	4,17
2,11	235	4,26
2,11	230	4,35
2,13	225	4,44
2,12	220	4,55
2,14	215	4,65



8.2.6. TBF-ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟ

Πίνακας Π-21. Σταθερές ισορροπίας, k_{eq} και επί τοις εκατό (%) ποσοστό του *trans* ισομερούς του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), όπως προκύπτει από τη μελέτη μεταβλητής θερμοκρασίας NMR- 1H , με ολοκλήρωση των σημάτων συντονισμού των πρωτονίων $-C(CH_3)_3$, σε διαλύτη δευτεριωμένο χλωροφόρμιο, $CDCl_3$, συγκέντρωση 2 mM και θερμοκρασίες από 330K έως 215K. Η κάθε τιμή του Πίνακα προέκυψε από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος.

k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)	
1,15	330	53,43	
1,12	325	52,87	
1,10	320	52,28	
1,09	315	52,07	
1,08	310	51,83	
1,07	305	51,76	
1,04	300	50,91	
1,05	295	51,24	
1,03	290	50,66	
1,02	285	50,58	
1,01	280	50,32	
1,00	275	50,08	
1,00	270	50,03	
0,98	265	49,61	
0,98	260	49,61	
0,98	255	49,44	
0,97	250	49,29	
0,97	245	49,17	
0,97	240	49,26	
0,96	235	49,10	
0,96	230	49,09	
0,96	225	48,98	
0,96	220	49,06	
0,96	215	48,96	



Πίνακας Π-22. Τιμές $\ln k_{eq}$ και $1/T$ της *trans-cis* ισορροπίας του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), υπό τις πειραματικές συνθήκες του Πίνακα Π-21.

$\ln k_{eq}$	$T (K)$	$1/T (\times 10^3 K^{-1})$
0,14	330	3,03
0,11	325	3,08
0,09	320	3,13
0,08	315	3,17
0,07	310	3,23
0,07	305	3,28
0,04	300	3,33
0,05	295	3,39
0,03	290	3,45
0,02	285	3,51
0,01	280	3,57
0,00	275	3,64
0,00	270	3,70
-0,02	265	3,77
-0,02	260	3,85
-0,02	255	3,92
-0,03	250	4,00
-0,03	245	4,08
-0,03	240	4,17
-0,04	235	4,26
-0,04	230	4,35
-0,04	225	4,44
-0,04	220	4,55
-0,04	215	4,65



8.2.7. ΜΕΛΕΤΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΕΩΝ NMF ΚΑΙ TBF ΣΕ ΑΚΕΤΟΝΙΤΡΙΑΙΟ

Πίνακας Π-23. Χημικές μετατοπίσεις του αμιδικού πρωτονίου NH (δ NH) σε ppm, του *cis* ισομερούς του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF) ως συνάρτηση της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του αμιδίου, σε διαλύτη CD₃CN.

T (K)	Συγκέντρωση Αμιδίου στο Διάλυμα				
	100 mM	500 mM	1 M	5 M	10 M
350	5,72	5,82	5,91	6,40	6,79
344	5,74	5,86	5,94	6,44	6,82
338	5,75	5,87	5,98	6,48	6,85
332	5,78	5,91	6,01	6,53	6,90
326	5,81	5,93	6,05	6,58	6,94
320	5,84	5,96	6,09	6,63	7,01
314	5,85	6,00	6,12	6,68	7,05
308	5,89	6,02	6,16	6,72	7,09
302	5,90	6,05	6,19	6,77	7,14
296	5,93	6,08	6,23	6,81	7,19
290	5,95	6,12	6,26	6,87	7,24
284	5,99	6,15	6,30	6,91	7,28
278	6,01	6,20	6,35	6,97	7,33
272	6,03	6,22	6,39	7,02	7,37
266	6,05	6,25	6,44	7,08	7,43
260	6,08	6,29	6,48	7,12	7,47
254	6,11	6,34	6,52	7,17	7,52
248	6,14	6,39	6,57	7,23	7,56
242	6,17	6,43	6,63	7,29	7,62
236	6,20	6,48	6,69	7,35	7,67



Πίνακας Π-24. Χημικές μετατοπίσεις του αμιδικού πρωτονίου NH (δ NH) σε ppm, του *trans* ισομερούς του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF) ως συνάρτηση της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του αμιδίου, σε διαλύτη CD₃CN.

T (K)	Συγκέντρωση Αμιδίου στο Διάλυμα				
	100 mM	500 mM	1 M	5 M	10 M
350	6,13	6,25	6,34	6,84	7,24
344	6,16	6,28	6,37	6,88	7,26
338	6,18	6,30	6,41	6,93	7,29
332	6,21	6,33	6,44	6,97	7,33
326	6,23	6,36	6,48	7,02	7,37
320	6,26	6,39	6,52	7,06	7,42
314	6,28	6,42	6,55	7,11	7,46
308	6,31	6,45	6,58	7,14	7,51
302	6,33	6,48	6,62	7,19	7,55
296	6,35	6,51	6,65	7,23	7,59
290	6,38	6,54	6,69	7,28	7,64
284	6,40	6,57	6,72	7,32	7,68
278	6,43	6,60	6,76	7,37	7,73
272	6,44	6,63	6,79	7,42	7,77
266	6,47	6,66	6,84	7,47	7,82
260	6,50	6,70	6,87	7,51	7,86
254	6,52	6,74	6,92	7,56	7,90
248	6,54	6,78	6,96	7,60	7,94
242	6,57	6,82	7,01	7,66	7,99
236	6,60	6,86	7,06	7,71	8,03



Πίνακας Π-25. Χημικές μετατοπίσεις του αμιδικού πρωτονίου NH (δ NH) σε ppm, του *cis* ισομερούς του *N-tert*-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF) ως συνάρτηση της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του αμιδίου, σε διαλύτη CD₃CN.

T (K)	Συγκέντρωση Αμιδίου στο Διάλυμα					
	60 mM	80 mM	100 mM	500 mM	1 M	5 M
350	-	-	-	-	6,20	6,76
344	-	-	-	-	6,25	6,82
338	-	-	-	6,17	6,29	6,92
332	-	-	-	6,17	6,33	7,00
326	-	-	-	6,19	6,38	7,08
320	-	-	-	6,25	6,42	7,15
314	-	-	-	6,30	6,47	7,21
308	-	-	-	6,35	6,52	7,27
302	-	-	-	6,38	6,6	7,34
296	-	-	-	6,42	6,67	7,41
290	-	-	6,25	6,48	6,74	7,48
284	-	-	6,28	6,54	6,81	7,54
278	-	-	6,31	6,60	6,87	7,60
272	-	6,31	6,33	6,67	6,94	7,67
266	-	6,35	6,38	6,73	7,00	7,73
260	6,37	6,38	6,43	6,79	7,07	7,80
254	6,39	6,41	6,49	6,86	7,15	7,87
248	6,42	6,45	6,54	6,92	7,22	7,94
242	6,48	6,53	6,60	7,01	7,31	8,00
236	6,54	6,59	6,66	7,08	7,39	8,06



Πίνακας II-26. Χημικές μετατοπίσεις του αμιδικού πρωτονίου NH (δNH) σε ppm, του *trans* ισομερούς του *N*-*tert*-βουτυλολφοφωμυλίου (TBF) ως συνάρτηση της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του αμιδίου, σε διαλύτη CD₃CN.

T (K)	5 mM	10 mM	15 mM	25 mM	40 mM	60 mM	80 mM	100 mM	500 mM	1 M	5 M
350	5,90	5,90	5,91	5,91	5,91	5,92	5,92	5,93	6,01	6,10	6,68
344	5,93	5,93	5,94	5,94	5,94	5,94	5,95	5,96	6,06	6,14	6,71
338	5,96	5,97	5,97	5,97	5,97	5,97	5,98	5,99	6,09	6,18	6,76
332	5,98	5,98	5,99	5,99	6,00	6,00	6,02	6,02	6,12	6,22	6,81
326	6,00	6,00	6,01	6,02	6,02	6,03	6,04	6,04	6,15	6,26	6,87
320	6,03	6,04	6,03	6,05	6,05	6,05	6,07	6,08	6,18	6,30	6,92
314	6,06	6,06	6,06	6,07	6,07	6,08	6,09	6,10	6,22	6,33	6,98
308	6,08	6,09	6,09	6,10	6,1	6,11	6,13	6,13	6,24	6,38	7,02
302	6,11	6,12	6,11	6,12	6,13	6,13	6,15	6,16	6,28	6,42	7,08
296	6,14	6,13	6,13	6,15	6,15	6,17	6,18	6,19	6,31	6,46	7,13
290	6,16	6,17	6,17	6,17	6,18	6,19	6,20	6,22	6,35	6,50	7,19
284	6,19	6,20	6,19	6,21	6,21	6,22	6,24	6,26	6,38	6,55	7,24
278	6,21	6,21	6,22	6,23	6,24	6,25	6,27	6,28	6,42	6,58	7,29
272	6,23	6,24	6,24	6,27	6,27	6,28	6,3	6,31	6,45	6,63	7,35
266	6,26	6,27	6,28	6,29	6,29	6,31	6,32	6,34	6,49	6,67	7,40
260	6,29	6,29	6,30	6,31	6,32	6,34	6,35	6,36	6,53	6,72	7,45
254	6,31	6,31	6,33	6,34	6,35	6,37	6,38	6,40	6,57	6,77	7,51
248	6,34	6,34	6,35	6,37	6,38	6,39	6,41	6,42	6,61	6,81	7,57
242	6,37	6,37	6,38	6,40	6,40	6,42	6,44	6,46	6,65	6,87	7,62
236	6,40	6,41	6,41	6,42	6,43	6,45	6,46	6,49	6,69	6,92	7,68

8.2.8. ΜΕΛΕΤΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΕΩΝ NMF ΚΑΙ TBF ΣΕ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟ

Πίνακας Π-27. Χημικές μετατοπίσεις του αμιδικού πρωτονίου NH (δ NH) σε ppm, του *cis* ισομερούς του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF) ως συνάρτηση της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του αμιδίου, σε διαλύτη CDCl_3 .

T (K)	Συγκέντρωση Αμιδίου στο Διάλυμα				
	100 mM	500 mM	1 M	5 M	10 M
330	5,46	5,80	6,07	6,60	6,66
325	5,49	5,83	6,12	6,65	6,71
320	5,51	5,87	6,16	6,70	6,75
315	5,55	5,91	6,21	6,74	6,79
310	5,59	5,95	6,25	6,79	6,83
305	5,72	6,00	6,3	6,84	6,85
300	5,78	6,03	6,35	6,88	6,89
295	5,81	6,08	6,39	6,92	6,93
290	5,86	6,12	6,44	6,97	6,96
285	5,91	6,17	6,49	7,02	6,99
280	5,95	6,22	6,54	7,07	7,02
275	5,99	6,28	6,59	7,11	7,05
270	6,05	6,32	6,66	7,16	7,08
265	6,08	6,39	6,71	7,21	7,11
260	6,14	6,44	6,78	7,24	7,14
255	6,18	6,51	6,84	7,30	7,18
250	6,25	6,58	6,90	7,35	7,21
245	6,32	6,65	6,97	7,39	7,24
240	6,39	6,73	7,05	7,44	7,25
235	6,47	6,82	7,11	7,48	7,28
230	6,54	6,9	7,19	7,51	7,30
225	6,62	6,97	7,27	7,54	7,33
220	6,70	7,06	7,34	7,57	7,34
215	6,79	7,14	7,42	7,58	7,34



Πίνακας Π-28. Χημικές μετατοπίσεις του αμιδικού πρωτονίου NH (δNH) σε ppm, του *trans* ισομερούς του Ν-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF) ως συνάρτηση της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του αμιδίου, σε διαλύτη CDCl₃.

T (K)	0.2 mM	5 mM	10 mM	15 mM	25 mM	40 mM	60 mM	80 mM	100 mM	150 mM	200 mM	250 mM	300 mM
330	5,33	5,34	5,37	5,37	5,39	5,40	5,47	5,53	5,77	6,11	6,55	7,10	7,10
325	5,35	5,36	5,38	5,39	5,41	5,43	5,50	5,55	5,81	6,16	6,61	7,14	7,14
320	5,37	5,38	5,40	5,40	5,43	5,44	5,52	5,58	5,84	6,21	6,67	7,18	7,19
315	5,39	5,4	5,42	5,42	5,45	5,48	5,54	5,60	5,89	6,27	6,72	7,22	7,21
310	5,41	5,41	5,43	5,44	5,46	5,51	5,56	5,63	5,92	6,32	6,77	7,27	7,25
305	5,43	5,43	5,45	5,46	5,48	5,52	5,59	5,66	5,97	6,37	6,83	7,30	7,26
300	5,44	5,45	5,47	5,48	5,51	5,55	5,62	5,69	6,02	6,43	6,89	7,34	7,30
295	5,46	5,47	5,50	5,51	5,53	5,58	5,65	5,72	6,07	6,49	6,94	7,37	7,33
290	5,48	5,48	5,51	5,52	5,55	5,61	5,67	5,76	6,11	6,54	7,00	7,42	7,35
285	5,49	5,51	5,54	5,54	5,58	5,64	5,71	5,8	6,15	6,60	7,05	7,45	7,38
280	5,52	5,53	5,55	5,56	5,59	5,66	5,74	5,83	6,22	6,67	7,11	7,49	7,40
275	5,54	5,54	5,57	5,59	5,63	5,69	5,79	5,87	6,26	6,73	7,17	7,53	7,43
270	5,55	5,56	5,59	5,62	5,64	5,71	5,82	5,91	6,33	6,78	7,23	7,57	7,45
265	5,58	5,59	5,61	5,63	5,67	5,75	5,86	5,95	6,36	6,85	7,29	7,61	7,49
260	5,59	5,61	5,63	5,65	5,69	5,77	5,89	5,99	6,43	6,91	7,35	7,65	7,51
255	5,61	5,63	5,65	5,68	5,72	5,80	5,92	6,04	6,48	6,97	7,40	7,68	7,54
250	5,64	5,65	5,66	5,68	5,75	5,84	5,96	6,08	6,55	7,05	7,46	7,71	7,56
245	5,64	5,67	5,68	5,71	5,77	5,86	6,00	6,12	6,61	7,12	7,52	7,75	7,58
240	5,66	5,69	5,71	5,74	5,79	5,89	6,04	6,17	6,68	7,19	7,59	7,78	7,60
235	5,67	5,71	5,73	5,76	5,83	5,93	6,08	6,22	6,75	7,26	7,65	7,81	7,62
230	5,68	5,73	5,75	5,79	5,86	5,96	6,13	6,27	6,81	7,34	7,71	7,84	7,64
225	5,70	5,75	5,78	5,81	5,89	6,01	6,19	6,33	6,88	7,40	7,78	7,86	7,66
220	5,72	5,77	5,80	5,84	5,92	6,04	6,24	6,39	6,95	7,48	7,84	7,88	7,67
215	5,73	5,80	5,81	5,85	5,96	6,09	6,30	6,45	7,03	7,55	7,90	7,90	7,67

Πίνακας II-29. Χημικές μετατοπίσεις του αμιδικού πρωτονίου NH (δNH) σε ppm, του cis ισομερούς του *N*-tert-βουτυλοφορμαμίδου (TBF) ως συνάρτηση της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του αμιδίου, σε διαλύτη CDCl₃.

T (K)	Συγκέντρωση Αμιδίου στο Διάλυμα														
	0.2 mM	5 mM	10 mM	15 mM	25 mM	40 mM	60 mM	80 mM	100 mM	200 mM	300 mM	500 mM	1 M	2 M	5 M
330	5,51	5,52	5,53	5,53	5,57	5,60	5,66	5,70	5,75	5,93	6,04	6,23	6,41	6,70	6,97
325	5,52	5,53	5,54	5,55	5,59	5,62	5,67	5,72	5,77	5,98	6,10	6,29	6,49	6,78	7,04
320	5,54	5,56	5,56	5,57	5,62	5,65	5,70	5,76	5,81	6,02	6,17	6,36	6,56	6,86	7,11
315	5,55	5,56	5,58	5,58	5,62	5,68	5,73	5,79	5,85	6,08	6,23	6,42	6,63	6,94	7,18
310	5,57	5,58	5,58	5,59	5,65	5,70	5,76	5,82	5,89	6,13	6,29	6,50	6,71	7,02	7,24
305	5,57	5,59	5,59	5,62	5,67	5,72	5,79	5,86	5,92	6,19	6,35	6,56	6,79	7,10	7,30
300	5,59	5,60	5,62	5,64	5,68	5,75	5,82	5,90	5,97	6,25	6,43	6,64	6,87	7,17	7,36
295	5,59	5,62	5,63	5,66	5,71	5,77	5,84	5,93	6,03	6,31	6,50	6,72	6,95	7,24	7,42
290	5,60	5,64	5,66	5,66	5,73	5,80	5,88	5,97	6,07	6,38	6,59	6,82	7,05	7,32	7,49
285	5,62	5,65	5,66	5,69	5,75	5,83	5,92	6,02	6,13	6,46	6,67	6,92	7,14	7,39	7,53
280	5,64	5,67	5,68	5,71	5,78	5,86	5,96	6,07	6,19	6,54	6,77	7,02	7,24	7,47	7,61
275	5,67	5,67	5,70	5,73	5,81	5,90	6,02	6,13	6,25	6,63	6,84	7,09	7,34	7,56	7,66
270	5,68	5,69	5,72	5,75	5,84	5,94	6,06	6,19	6,33	6,71	6,93	7,18	7,43	7,64	7,73
265	5,69	5,71	5,74	5,77	5,87	5,99	6,12	6,26	6,42	6,80	7,03	7,27	7,51	7,71	7,77
260	5,72	5,73	5,76	5,81	5,91	6,04	6,19	6,33	6,50	6,90	7,12	7,36	7,59	7,79	7,84
255	5,74	5,75	5,78	5,84	5,95	6,10	6,26	6,42	6,58	6,99	7,22	7,44	7,67	7,86	7,89
250	5,74	5,78	5,82	5,88	6,00	6,16	6,33	6,50	6,67	7,09	7,32	7,54	7,76	7,94	7,94
245	5,77	5,79	5,85	5,92	6,06	6,23	6,41	6,60	6,77	7,19	7,42	7,64	7,84	8,01	8,00
240	5,79	5,82	5,88	5,96	6,11	6,30	6,50	6,69	6,88	7,30	7,53	7,73	7,93	8,10	8,05
235	5,82	5,84	5,92	6,00	6,18	6,38	6,59	6,79	6,98	7,40	7,63	7,83	8,02	8,18	8,08
230	5,83	5,88	5,95	6,05	6,27	6,47	6,72	6,89	7,09	7,52	7,74	7,93	8,11	8,25	8,12
225	5,87	5,91	5,99	6,11	6,34	6,58	6,81	7,01	7,19	7,63	7,85	8,03	8,20	8,31	8,14
220	5,88	5,95	6,05	6,18	6,43	6,68	6,92	7,12	7,32	7,74	7,95	8,13	8,28	8,38	-
215	5,90	6,00	6,11	6,27	6,54	6,80	7,05	7,21	7,44	7,85	8,05	8,20	8,35	8,44	-

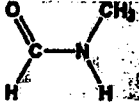
Πίνακας Π-30. Χημικές μετατοπίσεις του αμιδικού πρωτονίου NH (δNH) σε ppm, του *trans* ισομερούς του *N*-tert-βουτυλοφωσφωρμυδίου (TBF) ως συνάρτηση της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του αμιδίου, σε διαλύτη CDCl₃.

T (K)	Συγκέντρωση Αμιδίου στο Αλκάλιο														
	0.2 mM	5 mM	10 mM	15 mM	25 mM	40 mM	60 mM	80 mM	100 mM	200 mM	300 mM	500 mM	1 M	2 M	5 M
330	5,13	5,13	5,13	5,13	5,14	5,14	5,16	5,18	5,19	5,30	5,38	5,51	5,71	6,12	6,66
325	5,13	5,13	5,14	5,14	5,15	5,15	5,17	5,19	5,21	5,32	5,40	5,55	5,75	6,18	6,71
320	5,14	5,15	5,15	5,15	5,16	5,18	5,19	5,22	5,24	5,34	5,43	5,58	5,79	6,24	6,77
315	5,15	5,16	5,17	5,17	5,17	5,19	5,21	5,23	5,26	5,37	5,47	5,61	5,83	6,29	6,81
310	5,17	5,18	5,18	5,19	5,20	5,21	5,23	5,25	5,29	5,40	5,50	5,65	5,88	6,34	6,86
305	5,17	5,19	5,19	5,19	5,21	5,22	5,24	5,27	5,30	5,42	5,53	5,68	5,92	6,40	6,90
300	5,21	5,21	5,21	5,22	5,22	5,24	5,27	5,29	5,31	5,44	5,56	5,72	5,96	6,44	6,96
295	5,21	5,22	5,22	5,23	5,23	5,26	5,28	5,31	5,34	5,47	5,59	5,76	6,01	6,49	7,01
290	5,23	5,24	5,24	5,25	5,25	5,27	5,30	5,32	5,36	5,50	5,63	5,80	6,06	6,55	7,05
285	5,25	5,25	5,25	5,26	5,27	5,28	5,31	5,34	5,38	5,53	5,66	5,84	6,11	6,60	7,09
280	5,25	5,25	5,26	5,27	5,29	5,30	5,33	5,36	5,40	5,56	5,70	5,89	6,18	6,66	7,15
275	5,28	5,28	5,28	5,29	5,30	5,33	5,35	5,38	5,42	5,59	5,73	5,93	6,23	6,71	7,18
270	5,29	5,29	5,31	5,31	5,32	5,34	5,37	5,40	5,45	5,62	5,77	5,97	6,28	6,77	7,22
265	5,31	5,31	5,32	5,32	5,34	5,36	5,39	5,42	5,48	5,66	5,81	6,01	6,33	6,83	7,25
260	5,33	5,33	5,33	5,34	5,36	5,38	5,41	5,44	5,50	5,69	5,85	6,06	6,38	6,89	7,30
255	5,34	5,34	5,35	5,35	5,37	5,40	5,44	5,47	5,53	5,72	5,90	6,11	6,44	6,94	7,33
250	5,34	5,38	5,38	5,38	5,39	5,42	5,46	5,49	5,55	5,76	5,94	6,17	6,50	7,01	7,37
245	5,36	5,37	5,38	5,39	5,41	5,44	5,48	5,51	5,58	5,80	5,98	6,22	6,56	7,07	7,41
240	5,37	5,38	5,40	5,40	5,43	5,46	5,50	5,54	5,62	5,84	6,03	6,29	6,63	7,14	7,43
235	5,39	5,40	5,41	5,42	5,45	5,48	5,52	5,57	5,64	5,88	6,09	6,35	6,71	7,20	7,45
230	5,40	5,42	5,43	5,43	5,47	5,50	5,56	5,58	6,68	5,93	6,15	6,42	6,78	7,27	7,48
225	5,42	5,43	5,44	5,45	5,48	5,52	5,58	5,61	5,71	5,98	6,21	6,49	6,85	7,33	7,48
220	5,44	5,45	5,46	5,47	5,50	5,55	5,60	5,64	5,75	6,04	6,27	6,55	6,93	7,40	-
215	5,45	5,46	5,48	5,49	5,53	5,57	5,63	5,67	5,79	6,09	6,34	6,62	7,00	7,46	-

8.3. ΜΕΛΕΤΕΣ NMR ΣΕ ΜΗ ΠΟΛΙΚΟΥΣ ΔΙΑΛΥΤΕΣ

8.3.1. NMF-ΤΟΛΟΥΟΛΙΟ

Πίνακας Π-31. Σταθερές ισορροπίας, k_{eq} και επί τοις εκατό (%) ποσοστό του *trans* ισομερούς του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF), όπως προκύπτει από τη μελέτη μεταβλητής θερμοκρασίας NMR- ^1H , με ολοκλήρωση των σημάτων συντονισμού των πρωτονίων $-\text{CH}_3$, σε διαλύτη δευτεριωμένο τολουόλιο, Toluene- d_8 , συγκέντρωση 2 mM και θερμοκρασίες από 363K έως 253K. Η κάθε τιμή του Πίνακα προέκυψε έπειτα από τέσσερις επαναλήψεις του ίδιου πειράματος.

k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)	
7,75	363	88,57	
8,23	353	89,17	
7,78	343	88,61	
8,26	333	89,19	
8,79	323	89,79	
9,51	313	90,49	
10,30	303	91,16	
11,30	293	91,85	
12,10	283	92,39	
13,20	273	92,95	
14,40	263	93,50	
14,60	253	93,58	

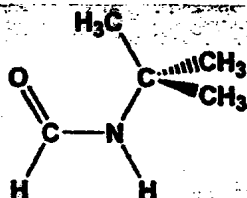
Πίνακας Π-32. Τιμές $\ln k_{eq}$ και $1/T$ της *trans-cis* ισορροπίας του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF) υπό τις πειραματικές συνθήκες του Πίνακα Π-31.

$\ln k_{eq}$	T (K)	$1/T (10^3 \text{ K}^{-1})$
2,05	363	2,75
2,11	353	2,83
2,05	343	2,92
2,11	333	3,00
2,17	323	3,10
2,25	313	3,19
2,33	303	3,30
2,42	293	3,41
2,50	283	3,53
2,58	273	3,66
2,67	263	3,80
2,68	253	3,95



8.3.2. TBF-ΤΟΛΟΥΟΛΙΟ

Πίνακας Π-33. Σταθερές ισορροπίας, k_{eq} και επί τοις εκατό (%) ποσοστό του *trans* ισομερούς του *N-tert*-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF), όπως προκύπτει από τη μελέτη μεταβλητής θερμοκρασίας NMR- ^1H , με ολοκλήρωση των σημάτων συντονισμού των πρωτονίων $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$, σε διαλύτη δευτεριωμένο τολουόλιο, Toluene- d_8 , συγκέντρωση 2 mM και θερμοκρασίες από 373K έως 223K. Η κάθε τιμή του Πίνακα προέκυψε έπειτα από οκτώ επαναλήψεις του ίδιου πειράματος.



k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)
2,76	373	73,37
2,56	363	71,88
2,43	353	70,79
2,26	343	69,36
2,23	333	69,05
2,17	323	68,49
2,06	313	67,34
1,99	303	66,59
1,90	293	65,48
1,78	283	63,96
1,65	273	62,30
1,59	263	61,36
1,53	253	60,42
1,48	243	59,71
1,44	233	58,99
1,45	223	59,11

Πίνακας Π-34. Τιμές $\ln k_{eq}$ και $1/T$ της *trans-cis* ισοροπίας του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), υπό τις πειραματικές συνθήκες του Πίνακα Π-33.

$\ln k_{eq}$	$T (K)$	$1/T (10^3 K^{-1})$
1,01	373	2,68
0,94	363	2,75
0,89	353	2,83
0,82	343	2,92
0,80	333	3,00
0,78	323	3,10
0,72	313	3,19
0,69	303	3,30
0,64	293	3,41
0,57	283	3,53
0,50	273	3,66
0,46	263	3,80
0,42	253	3,95
0,39	243	4,12
0,36	233	4,30
0,37	223	4,50



8.3.3. NMF-BENZOΔΙΟ

Πίνακας Π-35. Σταθερές ισορροπίας, k_{eq} και επί τοις εκατό (%) ποσοστό του *trans* ισομερούς του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF), όπως προκύπτει από τη μελέτη μεταβλητής θερμοκρασίας NMR- ^1H , με ολοκλήρωση των σημάτων συντονισμού των πρωτονίων $-\text{CH}_3$, σε διαλύτη δευτεριωμένο βενζόλιο, C_6D_6 , συγκέντρωση 1 mM και θερμοκρασίες από 345K έως 285K. Η κάθε τιμή του Πίνακα προέκυψε έπειτα από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος.

k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)	
7,77	345	88,59	
7,70	342,5	88,51	
7,65	340	88,43	
7,37	337,5	88,03	
7,60	335	88,37	
8,03	332,5	88,92	
7,98	330	88,86	
8,16	327,5	89,08	
8,57	325	89,55	
8,76	322,5	89,75	
8,49	320	89,46	
8,75	317,5	89,74	
8,95	315	89,95	
8,84	312,5	89,84	
8,72	310	89,72	
9,02	307,5	90,02	
9,38	305	90,36	
9,24	302,5	90,24	
9,42	300	90,40	
9,32	297,5	90,31	
9,57	295	90,53	
9,74	292,5	90,69	
10,50	290	91,29	
10,10	287,5	90,94	
10,20	285	91,08	



Πίνακας Π-36. Τιμές $\ln k_{eq}$ και $1/T$ της *trans-cis* ισοροπίας του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF), υπό τις πειραματικές συνθήκες του Πίνακα Π-35.

$\ln k_{eq}$	T (K)	$1/T$ ($\times 10^3$ K $^{-1}$)
2,05	345	2,90
2,04	342,5	2,92
2,03	340	2,94
2,00	337,5	2,96
2,03	335	2,99
2,08	332,5	3,01
2,08	330	3,03
2,10	327,5	3,05
2,15	325	3,08
2,17	322,5	3,10
2,14	320	3,13
2,17	317,5	3,15
2,19	315	3,17
2,18	312,5	3,20
2,17	310	3,23
2,20	307,5	3,25
2,24	305	3,28
2,22	302,5	3,31
2,24	300	3,33
2,23	297,5	3,36
2,26	295	3,39
2,28	292,5	3,42
2,35	290	3,45
2,31	287,5	3,48
2,32	285	3,51



8.3.4. TBF-BENZOΛΙΟ

Πίνακας Π-37. Σταθερές ισοροπίας, k_{eq} και επί τοις εκατό (%) ποσοστό του *trans* ισομερούς του *N-tert*-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF), όπως προκύπτει από τη μελέτη μεταβλητής θερμοκρασίας NMR- ^1H , με ολοκλήρωση των σημάτων συντονισμού των πρωτονίων $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$, σε διαλύτη δευτεριωμένο βενζόλιο, C_6D_6 , συγκέντρωση 1 mM και θερμοκρασίες από 342,5K έως 295K. Η κάθε τιμή του Πίνακα προέκυψε έπειτα από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος.

k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)
2,20	342,5	68,73
2,22	340	68,98
2,35	337,5	70,18
2,27	335	69,46
2,38	332,5	70,38
2,38	330	70,39
2,54	327,5	71,72
2,59	325	72,11
2,62	322,5	72,34
2,66	320	72,67
2,71	317,5	73,05
2,74	315	73,28
2,78	312,5	73,57
2,80	310	73,71
2,85	307,5	74,03
2,87	305	74,17
2,88	302,5	74,25
2,90	300	74,35
2,92	297,5	74,47
2,93	295	74,54



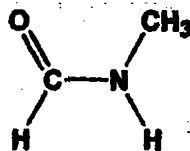
Πίνακας Π-38. Τιμές $\ln k_{eq}$ και $1/T$ της *trans-cis* ισορροπίας του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), υπό τις πειραματικές συνθήκες του Πίνακα Π-37.

$\ln k_{eq}$	$T (K)$	$1/T (10^3 K^{-1})$
0,79	342,5	2,92
0,80	340	2,94
0,86	337,5	2,96
0,82	335	2,99
0,87	332,5	3,01
0,87	330	3,03
0,93	327,5	3,05
0,95	325	3,08
0,96	322,5	3,10
0,98	320	3,13
1,00	317,5	3,15
1,01	315	3,17
1,02	312,5	3,20
1,03	310	3,23
1,05	307,5	3,25
1,05	305	3,28
1,06	302,5	3,31
1,06	300	3,33
1,07	297,5	3,36
1,07	295	3,39



8.3.5. NMF-ΕΞΑΝΙΟ

Πίνακας Π-39. Σταθερές ισορροπίας, k_{eq} και επί τοις εκατό (%) ποσοστό του *trans* ισομερούς του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF), όπως προκύπτει από τη μελέτη μεταβλητής θερμοκρασίας NMR- ^1H , με ολοκλήρωση των σημάτων συντονισμού των πρωτονίων $-\text{CH}_3$, σε διαλύτη δευτεριωμένο εξάνιο, *n*-hexane- d_{14} , συγκέντρωση 1 mM και θερμοκρασίες από 335 έως 287,5K. Η κάθε τιμή του Πίνακα προέκυψε έπειτα από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος.



k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)
8,26	335	89,19
8,70	332,5	89,69
8,48	330	89,45
8,41	327,5	89,35
8,72	325	89,71
8,49	322,5	89,42
8,22	320	89,14
7,30	317,5	87,95
7,41	315	88,11
8,36	312,5	89,30
6,86	310	87,25
6,32	307,5	86,19
6,15	305	86,00
7,21	302,5	87,80
8,85	300	89,82
10,70	297,5	91,39
8,40	295	89,35
8,41	292,5	89,37
8,56	290	89,49
7,53	287,5	88,27



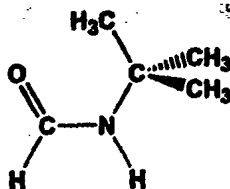
Πίνακας Π-40. Τιμές $\ln k_{eq}$ και $1/T$ της *trans-cis* ισορροπίας του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF), υπό τις πειραματικές συνθήκες του Πίνακα Π-39.

$\ln k_{eq}$	T (K)	$1/T$ ($\times 10^3$ K ⁻¹)
2,11	335	2,99
2,16	332,5	3,01
2,14	330	3,03
2,13	327,5	3,05
2,17	325	3,08
2,14	322,5	3,10
2,11	320	3,13
1,99	317,5	3,15
2,00	315	3,17
2,12	312,5	3,20
1,92	310	3,23
1,84	307,5	3,25
1,82	305	3,28
1,97	302,5	3,31
2,18	300	3,33
2,37	297,5	3,36
2,13	295	3,39
2,13	292,5	3,42
2,14	290	3,45
2,02	287,5	3,48



8.3.6. TBF-ΕΞΑΝΙΟ

Πίνακας Π-41. Σταθερές ισορροπίας, k_{eq} και επί τοις εκατό (%) ποσοστό του *trans* ισομερούς του *N-tert*-βουτυλοφορμαμιδίου (TBF), όπως προκύπτει από τη μελέτη μεταβλητής θερμοκρασίας NMR- ^1H , με ολοκλήρωση των σημάτων συντονισμού του καρβονυλικού πρωτονίου σε διαλύτη δευτεριωμένο εξάνιο, *n*-hexane- d_{14} , συγκέντρωση 2 mM και θερμοκρασίες από 335 έως 257,5K. Η κάθε τιμή του Πίνακα προέκυψε έπειτα από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος.



k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)	k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)
2,85	335	74,05	-	295	-
2,62	332,5	72,41	1,32	292,5	56,84
2,62	330	72,37	-	290	-
2,59	327,5	72,18	1,19	287,5	54,37
2,56	325	71,87	1,22	285	55,01
2,45	322,5	71,05	1,19	282,5	54,43
2,37	320	70,35	1,18	280	54,11
2,29	317,5	69,57	1,17	277,5	53,81
2,22	315	68,98	1,17	275	53,87
2,09	312,5	67,69	1,15	272,5	53,59
2,01	310	66,83	1,15	270	53,58
1,89	307,5	65,39	1,16	267,5	53,70
1,87	305	65,14	1,18	265	54,04
1,82	302,5	64,58	1,20	262,5	54,53
1,83	300	64,60	1,22	260	54,93
-	297,5	-	1,25	257,5	55,47

Πίνακας Π-42. Τιμές $\ln k_{eq}$ και $1/T$ της *trans-cis* ισοροπίας του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), υπό τις πειραματικές συνθήκες του Πίνακα Π-41.

$\ln k_{eq}$	T (K)	$1/T$ ($\times 10^3 \text{ K}^{-1}$)	$\ln k_{eq}$	T (K)	$1/T$ ($\times 10^3 \text{ K}^{-1}$)
1,05	335	2,99	-	295	3,39
0,96	332,5	3,01	0,28	292,5	3,42
0,96	330	3,03	-	290	3,45
0,95	327,5	3,05	0,18	287,5	3,48
0,94	325	3,08	0,20	285	3,51
0,90	322,5	3,10	0,18	282,5	3,54
0,86	320	3,13	0,16	280	3,57
0,83	317,5	3,15	0,15	277,5	3,60
0,80	315	3,17	0,16	275	3,64
0,74	312,5	3,20	0,14	272,5	3,67
0,70	310	3,23	0,14	270	3,70
0,64	307,5	3,25	0,15	267,5	3,74
0,63	305	3,28	0,16	265	3,77
0,60	302,5	3,31	0,18	262,5	3,81
0,60	300	3,33	0,20	260	3,85
-	297,5	3,36	0,22	257,5	3,88



8.3.7. NMF-KΥΚΛΟΕΞΑΝΙΟ

Πίνακας Π-43. Σταθερές ισορροπίας, k_{eq} και επί τοις εκατό (%) ποσοστό του *trans* ισομερούς του *N*-μεθυλοφορμαμιδίου (NMF), όπως προκύπτει από τη μελέτη μεταβλητής θερμοκρασίας NMR- ^1H , με ολοκλήρωση των σημάτων συντονισμού των πρωτονίων $-\text{CH}_3$, σε διαλύτη δευτεριωμένο κυκλοεξάνιο, *c*-hexane- d_{12} , συγκέντρωση 1 mM και θερμοκρασίες από 335 έως 285K. Η κάθε τιμή του Πίνακα προέκυψε έπειτα από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος.

k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)	
5,51	335	84,56	
5,42	332,5	84,43	
6,42	330	86,41	
6,89	327,5	87,32	
7,39	325	88,07	
6,33	322,5	86,16	
8,66	320	89,64	
8,98	317,5	89,98	
8,02	315	88,86	
9,28	312,5	90,24	
10,60	310	91,26	
7,81	307,5	88,56	
9,30	305	90,24	
10,30	302,5	91,18	
9,40	300	90,38	
8,38	297,5	89,34	
8,88	295	89,75	
9,00	292,5	90,00	
9,51	290	90,38	
9,99	287,5	90,83	
9,52	285	90,47	



Πίνακας Π-44. Τιμές $\ln k_{eq}$ και $1/T$ της *trans-cis* ισορροπίας του *N*-μεθυλοφορμαμίδιου (NMF), υπό τις πειραματικές συνθήκες του Πίνακα Π-43.

$\ln k_{eq}$	$1/T$ (K)	$1/T$ ($\times 10^3$ K $^{-1}$)
1,70	335	2,99
1,69	332,5	3,01
1,85	330	3,03
1,93	327,5	3,05
2,00	325	3,08
1,84	322,5	3,10
2,16	320	3,13
2,20	317,5	3,15
2,08	315	3,17
2,23	312,5	3,20
2,35	310	3,23
2,05	307,5	3,25
2,23	305	3,28
2,34	302,5	3,31
2,24	300	3,33
2,13	297,5	3,36
2,18	295	3,39
2,20	292,5	3,42
2,25	290	3,45
2,30	287,5	3,48
2,25	285	3,51



8.3.8. TBF-KΥΚΛΟΕΞΑΝΙΟ (ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ 1 mM)

Πίνακας Π-45. Σταθερές ισορροπίας, k_{eq} και επί τοις εκατό (%) ποσοστό του *trans* ισομερούς του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), όπως προκύπτει από τη μελέτη μεταβλητής θερμοκρασίας NMR- ^1H , με ολοκλήρωση των σημάτων συντονισμού του καρβονυλικού πρωτονίου, σε διαλύτη δευτεριωμένο κυκλοεξάνιο, *c*-hexane- d_{12} , συγκέντρωση 1 mM και θερμοκρασίες από 345 έως 287,5K. Η κάθε τιμή του Πίνακα προέκυψε έπειτα από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος.

k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)	
3,43	345	77,41	
3,45	342,5	77,54	
3,42	340	77,37	
3,29	337,5	76,67	
3,61	335	78,29	
3,28	332,5	76,65	
3,20	330	76,21	
3,15	327,5	75,91	
3,00	325	74,98	
2,96	322,5	74,73	
2,81	320	73,75	
2,76	317,5	73,41	
2,65	315	72,59	
2,64	312,5	72,56	
2,47	310	71,21	
2,39	307,5	70,50	
2,27	305	69,43	
2,21	302,5	68,85	
2,10	300	67,79	
2,00	297,5	66,64	
1,88	295	65,23	
1,76	292,5	63,83	
-	290	-	
1,54	287,5	60,69	



Πίνακας Π-46. Τιμές $\ln k_{eq}$ και $1/T$ της *trans-cis* ισορροπίας του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), υπό τις πειραματικές συνθήκες του Πίνακα Π-45.

$\ln k_{eq}$	$T (K)$	$1/T (x10^3 K^{-1})$
1,23	345	2,90
1,24	342,5	2,92
1,23	340	2,94
1,19	337,5	2,96
1,28	335	2,99
1,19	332,5	3,01
1,16	330	3,03
1,15	327,5	3,05
1,10	325	3,08
1,08	322,5	3,10
1,03	320	3,13
1,02	317,5	3,15
0,97	315	3,17
0,97	312,5	3,20
0,91	310	3,23
0,87	307,5	3,25
0,82	305	3,28
0,79	302,5	3,31
0,74	300	3,33
0,69	297,5	3,36
0,63	295	3,39
0,57	292,5	3,42
-	290	-
0,43	287,5	3,48



8.3.9. TBF-KΥΚΛΟΕΞΑΝΙΟ (ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ 0,25 mM)

Πίνακας Π-47. Σταθερές ισορροπίας, k_{eq} και επί τοις εκατό (%) ποσοστό του *trans* ισομερούς του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), όπως προκύπτει από τη μελέτη μεταβλητής θερμοκρασίας NMR- ^1H , με ολοκλήρωση των σημάτων συντονισμού του καρβονυλικού πρωτονίου, σε διαλύτη δευτεριωμένο κυκλοεξάνιο, *c*-hexane- d_{12} , συγκέντρωση 0,25 mM και θερμοκρασίες από 345 έως 285K. Η κάθε τιμή του Πίνακα προέκυψε έπειτα από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος.

k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)	
3,69	345	78,67	
3,69	342	78,68	
3,80	339	79,15	
3,66	336	78,53	
3,64	333	78,42	
3,80	330	79,14	
3,82	327	79,25	
3,69	324	78,70	
3,72	321	78,81	
3,80	318	79,16	
3,66	315	78,55	
3,69	312	78,67	
3,68	309	78,63	
3,66	306	78,53	
3,57	303	78,11	
3,42	300	77,35	
3,37	297	77,11	
3,22	294	76,29	
3,13	291	75,80	
2,96	288	74,75	
2,75	285	73,34	



Πίνακας Π-48. Τιμές $\ln k_{eq}$ και $1/T$ της *trans-cis* ισορροπίας του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (TBF), υπό τις πειραματικές συνθήκες του Πίνακα Π-47.

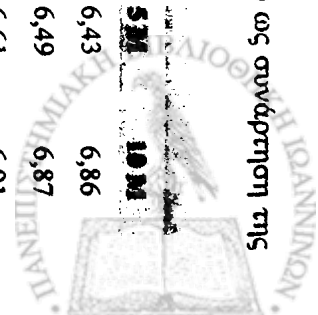
$\ln k_{eq}$	T (K)	$1/T (\times 10^3 K^{-1})$
1,30	345	2,90
1,31	342	2,92
1,33	339	2,95
1,30	336	2,98
1,29	333	3,00
1,33	330	3,03
1,34	327	3,06
1,31	324	3,09
1,31	321	3,12
1,33	318	3,14
1,30	315	3,17
1,31	312	3,21
1,30	309	3,24
1,30	306	3,27
1,27	303	3,30
1,23	300	3,33
1,21	297	3,37
1,17	294	3,40
1,14	291	3,44
1,09	288	3,47
1,01	285	3,51

8.3.10. ΜΕΛΕΤΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΤΑΤΟΠΗΣΕΩΝ NMF ΚΑΙ TBF ΣΕ ΤΟΛΟΥΟΛΙΟ



Πίνακας II-49. Χημικές μετατοπίσεις του αμιδικού πρωτονίου NH (δNH) σε ppm, του cis ισομερούς του Ν-μεθυλοδορμαμίδιου (NMF) ως συνάρτηση της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του αμιδίου, σε διαλύτη τοουόλαιο.

T (K)	Συγκέντρωση Αμιδίου στο Διάλυμα									
	0.2 mM	5 mM	10 mM	15 mM	25 mM	40 mM	60 mM	80 mM	100 mM	500 mM
375	4,10	4,23	4,25	4,29	4,33	4,41	4,47	4,66	4,90	5,22
368	4,11	4,24	4,26	4,32	4,38	4,44	4,49	4,68	4,94	5,32
358	4,11	4,24	4,27	4,37	4,44	4,46	4,57	4,72	5,08	5,47
348	4,11	4,24	4,32	4,41	4,50	4,54	4,67	4,83	5,23	5,63
338	4,12	4,24	4,35	4,47	4,59	4,62	4,77	4,97	5,35	5,83
328	4,12	4,24	4,41	4,55	4,69	4,73	4,89	5,12	5,53	6,03
318	4,13	4,26	4,48	4,65	4,81	4,87	5,04	5,29	5,68	6,25
308	4,13	4,33	4,58	4,77	4,95	5,01	5,21	5,49	5,77	6,48
298	4,14	4,40	4,73	4,95	5,16	5,23	5,44	5,73	6,02	6,71
288	4,14	4,54	4,88	5,19	5,36	5,49	5,69	5,97	6,26	6,92
278	4,21	4,68	5,13	5,43	5,68	5,79	6,01	6,22	6,57	7,22
268	4,29	4,86	5,38	5,71	5,97	6,09	6,25	6,51	6,81	7,44
258	4,42	5,14	5,73	6,01	6,31	6,40	6,55	6,70	6,93	7,59
248	4,56	5,50	6,12	6,42	6,66	6,75	6,89	7,09	7,30	7,71
238	4,79	5,92	6,56	6,83	7,10	7,08	7,24	7,34	7,54	7,84
228	5,16	6,40	6,98	7,29	7,44	7,52	7,63	7,60	7,82	7,96
218	5,63	6,85	7,36	7,72	7,81	7,95	8,00	8,02	8,07	8,12
208	6,33	7,44	7,86	8,10	8,14	8,26	8,32	8,34	8,24	8,27
198	6,57	7,95	8,28	8,46	8,49	8,63	8,64	8,64	8,59	8,46
188	6,71	8,44	8,66	8,78	8,79	8,84	8,89	8,87	8,84	8,64



Πίνακας II-50. Χημικές μετατροπές του αμιδιικού πρωτονίου NH (δNH) σε ppm, του *trans* ισομερούς του *N*-μεθυλοδορυμινιδίου (NMF) ως συνάρτηση της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του αμιδίου, σε διαλύτη τολουόλιο.

T (K)	Συγκέντρωση Αμιδίου στο Διάλυμα												
	0.2 mM	5 mM	10 mM	15 mM	25 mM	40 mM	60 mM	80 mM	100 mM	500 mM	1 M	5 M	10 M
375	3,87	3,92	3,98	4,04	4,10	4,12	4,20	4,36	4,65	5,22	5,88	6,86	7,30
368	3,86	3,90	3,97	4,04	4,11	4,13	4,22	4,4	4,71	5,32	5,99	6,94	7,33
358	3,84	3,89	3,97	4,05	4,12	4,15	4,26	4,47	4,82	5,47	6,15	7,06	7,36
348	3,81	3,88	3,97	4,06	4,15	4,18	4,31	4,55	4,94	5,63	6,33	7,17	7,43
338	3,79	3,87	3,98	4,08	4,18	4,23	4,37	4,65	5,08	5,83	6,51	7,30	7,52
328	3,76	3,86	3,98	4,1	4,23	4,28	4,45	4,77	5,25	6,03	6,70	7,43	7,62
318	3,74	3,85	4,00	4,13	4,29	4,35	4,55	4,92	5,44	6,25	6,88	7,57	7,72
308	3,72	3,86	4,04	4,19	4,37	4,43	4,67	5,08	5,66	6,48	7,07	7,69	7,80
298	3,69	3,85	4,07	4,26	4,48	4,57	4,85	5,31	5,91	6,71	7,26	7,83	7,91
288	3,69	3,87	4,12	4,37	4,62	4,74	5,04	5,54	6,15	6,92	7,46	7,94	8,00
278	3,66	3,88	4,22	4,51	4,84	4,98	5,31	5,74	6,46	7,22	7,66	8,06	8,13
268	3,64	3,92	4,32	4,64	5,04	5,20	5,50	5,97	6,69	7,44	7,84	8,18	8,20
258	3,64	3,97	4,44	4,78	5,27	5,41	5,72	6,10	6,90	7,59	7,90	8,29	8,28
248	3,61	4,01	4,6	4,99	5,51	5,68	5,97	6,3	7,10	7,71	7,93	8,42	8,38
238	3,59	4,07	4,81	5,25	5,83	5,98	6,24	6,54	7,22	7,84	7,99	8,53	8,47
228	3,58	4,17	5,09	5,57	6,13	6,34	6,56	6,70	7,40	7,96	8,07	8,64	8,56
218	3,56	4,29	5,25	5,95	6,50	6,76	6,90	7,11	7,58	8,12	8,19	8,75	8,65
208	3,56	4,55	5,73	6,34	6,76	7,07	7,35	7,45	7,66	8,27	8,33	8,84	8,75
198	3,57	4,94	6,41	6,97	7,24	7,58	7,74	7,76	8,10	8,46	8,50	8,93	8,82
188	3,59	5,66	7,05	7,46	7,74	7,96	8,10	8,10	8,37	8,64	8,67	9,02	9,37

Πίνακας II-51. Χημικές μετατοπίσεις του αμιδικού πρωτονίου NH (δNH) σε ppm, του cis ισομερούς του *N*-tert-βουτυλοδοφρυλαμίδιου (TBF) ως συνάρτηση της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του αμιδίου, σε διαλύτη τολουόλιο.

T (K)	Συγκέντρωση Αμιδίου στο Λάδι (ppm)															
	0.05 mM	0.2 mM	5 mM	10 mM	15 mM	25 mM	40 mM	60 mM	80 mM	100 mM	200 mM	300 mM	500 mM	1 M	2 M	5 M
375	-	-	4,54	4,64	4,66	4,79	4,83	4,95	5,07	5,10	5,48	5,70	6,00	6,20	6,42	6,83
368	4,74	-	4,72	4,75	4,77	4,85	4,95	5,05	5,14	5,26	5,63	5,85	6,15	6,34	6,58	6,95
358	4,74	-	4,74	4,81	4,85	4,92	5,01	5,16	5,29	5,40	5,83	6,04	6,35	6,54	6,77	7,06
348	4,74	4,80	4,80	4,89	4,89	4,98	5,14	5,30	5,42	5,56	6,03	6,25	6,55	6,72	6,94	7,21
338	4,75	4,79	4,80	4,93	4,98	5,08	5,25	5,46	5,60	5,77	6,26	6,50	6,77	6,94	7,14	7,36
328	4,77	4,80	4,88	5,02	5,07	5,21	5,40	5,65	5,81	5,99	6,52	6,74	-	7,14	7,32	7,50
318	4,78	4,86	4,92	5,10	5,18	5,36	5,58	5,88	6,05	6,28	6,79	7,00	7,25	7,36	7,50	7,65
308	4,79	4,89	5,00	5,25	5,34	5,54	5,85	6,15	6,36	6,58	7,07	7,27	7,48	7,58	7,69	7,77
298	4,82	4,97	5,11	5,42	5,55	5,81	6,14	6,50	6,69	-	7,36	7,53	7,72	7,79	7,77	7,92
288	4,84	5,02	5,26	5,66	5,82	6,13	6,54	-	-	7,33	7,69	7,80	7,96	8,01	7,95	8,06
278	4,94	5,12	5,43	5,98	6,16	6,53	-	7,33	7,49	7,69	7,97	8,06	8,20	8,23	8,12	8,18
268	5,01	5,29	5,71	6,37	6,57	-	7,36	7,74	7,90	8,13	8,23	8,29	8,39	8,39	8,28	8,31
258	5,16	5,51	6,07	-	-	7,41	7,79	8,09	8,24	8,40	8,48	8,53	8,57	8,57	8,45	8,44
248	5,40	5,92	6,54	7,34	7,55	7,88	8,16	8,47	8,58	8,68	8,72	8,75	8,76	8,75	8,60	8,56
238	5,72	6,26	-	7,81	8,07	8,29	8,56	8,82	8,89	8,95	8,94	8,96	8,95	8,93	8,76	8,68
228	6,17	6,83	7,68	8,36	8,54	8,69	8,92	9,09	9,16	9,18	9,15	9,14	9,12	9,08	8,90	8,76
218	-	7,43	8,26	8,83	8,97	9,08	9,21	9,34	9,38	9,42	9,31	9,30	9,26	9,23	9,03	8,83
208	-	8,02	8,80	9,19	9,31	9,38	9,46	9,57	9,58	9,60	9,45	9,42	9,37	9,34	9,12	-
198	-	8,57	9,22	9,50	9,61	9,58	9,66	9,72	9,76	9,75	9,55	9,52	9,46	9,40	9,19	-
188	-	9,10	9,53	9,75	9,81	9,79	9,81	9,85	9,89	9,84	9,60	9,58	9,46	9,40	9,19	-

Πίνακας II-52. Χημικές μετατοπίσεις του αμιδικού πρωτονίου NH (δNH) σε ppm, του *trans* ισομερούς του *N*-tert-βουτυλοδοφορμαμίδου (TBF) ως συνάρτηση της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του αμιδίου, σε διαλύτη τολουόλιο.

Συγκέντρωση Αμιδίου στο Διάλυμα																
T (K)	0,05 mM	0,2 mM	5 mM	10 mM	15 mM	25 mM	40 mM	60 mM	80 mM	100 mM	200 mM	300 mM	500 mM	1 M	2 M	5 M
375	4,04	-	4,15	4,09	4,13	4,14	4,15	4,18	4,21	4,22	4,40	4,57	4,90	5,19	5,76	6,65
368	4,06	-	4,03	4,07	4,06	4,10	4,11	4,14	4,17	4,22	4,42	4,59	4,95	5,27	5,85	6,70
358	4,03	-	4,02	4,03	4,01	4,06	4,08	4,14	4,18	4,22	4,45	4,63	5,04	5,38	6,00	6,79
348	4,01	4,00	4,02	4,02	4,04	4,06	4,09	4,14	4,19	4,24	4,49	4,70	5,14	5,52	6,15	6,92
338	3,97	4,00	3,99	4,02	4,02	4,07	4,08	4,15	4,19	4,26	4,54	4,79	5,26	5,67	6,32	7,06
328	3,93	3,97	3,98	4,01	4,02	4,05	4,08	4,15	4,21	4,29	4,60	4,89	5,41	5,84	6,50	7,19
318	3,90	3,97	3,95	3,99	4,00	4,03	4,08	4,16	4,23	4,33	4,68	5,01	5,58	6,02	6,68	7,32
308	3,88	3,94	3,93	3,98	3,99	4,02	4,08	4,18	4,25	4,37	4,78	5,14	5,75	6,21	6,86	7,44
298	3,85	3,91	3,92	3,94	3,98	4,03	4,09	4,20	4,29	4,43	4,90	5,30	5,95	6,41	6,94	7,58
288	3,83	3,88	3,89	3,94	3,98	4,01	4,10	4,23	4,35	4,51	5,06	5,48	6,20	6,65	7,13	7,71
278	3,80	3,87	3,86	3,94	3,96	4,02	4,12	4,29	4,42	4,61	5,23	5,70	6,44	6,89	7,32	7,82
268	3,77	3,85	3,86	3,93	3,96	4,03	4,14	4,34	4,52	4,75	5,43	5,93	6,67	7,07	7,49	7,94
258	3,73	3,82	3,85	3,92	3,96	4,05	4,19	4,45	4,64	4,94	5,70	6,22	6,91	7,30	7,67	8,06
248	3,70	3,80	3,84	3,92	3,96	4,08	4,26	4,57	4,81	5,16	5,99	6,54	7,17	7,54	7,95	8,17
238	3,67	3,77	3,81	3,93	3,98	4,12	4,36	4,77	5,06	5,46	6,32	6,87	7,46	7,78	8,02	8,28
228	3,64	3,75	3,80	3,95	4,01	4,19	4,52	5,03	5,40	5,84	6,73	7,20	7,75	8,01	8,19	8,37
218	3,60	3,73	3,80	3,99	4,07	4,32	4,78	5,42	5,81	6,31	7,10	7,55	8,00	8,23	8,35	8,43
208	3,56	3,71	3,80	4,06	4,19	4,54	5,19	5,93	6,34	6,82	7,51	7,86	8,23	8,42	8,49	-
198	3,53	3,70	3,83	4,28	4,45	4,90	5,69	6,48	6,95	7,35	7,85	8,12	8,43	8,56	8,59	-
188	3,49	3,70	3,88	4,54	4,93	5,47	6,36	7,08	7,56	7,79	8,11	8,35	8,52	8,63	8,62	-

8.3.11. ΜΕΛΕΤΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΤΑΤΟΠΙΣΕΩΝ ΤΒΦ ΣΕ ΚΥΚΛΟΕΞΑΝΙΟ

Πίνακας II-53. Χημικές μετατοπίσεις του αμιδικού πρωτονίου NH (δNH) σε ppm, του *cis* ισομερούς του *N-tert*-βουτυλοφορμαμίδιου (ΤΒΦ) ως συνάρτηση της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του αμιδίου, σε διαλύτη κυκλοεξάνιο.

T (K)	0,05 mM	5 mM	10 mM	15 mM	25 mM	40 mM	60 mM	80 mM	100 mM
345	-	5,43	5,67	5,88	6,12	6,49	6,73	7,02	7,17
339	-	5,60	5,83	6,08	6,35	6,74	6,96	7,23	7,37
333	-	5,76	6,03	6,33	6,61	6,99	7,19	7,42	7,55
327	-	5,96	6,30	6,59	6,87	7,23	7,42	7,60	7,71
321	-	6,23	6,58	6,87	7,14	7,46	7,63	7,77	7,86
315	-	6,53	6,87	7,16	7,40	7,68	7,82	7,97	7,99
309	5,09	6,82	7,17	7,45	7,66	7,89	8,00	8,09	8,13
303	5,33	7,13	7,46	7,70	7,88	8,09	8,19	8,21	8,23
297	5,34	7,45	7,75	7,98	8,13	8,26	8,33	8,35	8,35
291	5,48	7,78	8,05	8,15	8,31	8,42	8,44	8,46	8,48
285	5,72	8,07	8,25	8,39	8,48	8,56	8,56	8,57	8,57

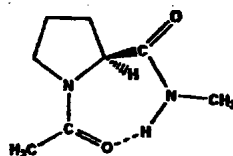
Πίνακας II-54. Χημικές μετατροπές του αμιδικού πρωτονίου NH (δNH) σε ppm, του *trans* ισομερούς του *N*-tert-βουτυλοδοφορμαμίδου (TBF) ως συνάρτηση της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του αμιδίου, σε διαλύτη κυκλοεξάνιο.

T (K)	Συγκέντρωση Αμιδίου στο Διάλυμα								
	0,05 mM	5 mM	10 mM	15 mM	25 mM	40 mM	60 mM	80 mM	100 mM
345	4,58	4,59	4,62	4,65	4,69	4,81	4,93	5,21	5,52
339	4,58	4,62	4,62	4,67	4,73	4,87	5,02	5,36	5,70
333	4,59	4,62	4,65	4,7	4,77	4,94	5,13	5,51	5,90
327	4,59	4,65	4,67	4,74	4,81	5,03	5,26	5,70	6,11
321	4,6	4,67	4,71	4,78	4,88	5,15	5,43	5,90	6,33
315	4,62	4,70	4,75	4,83	4,97	5,30	5,62	6,13	6,55
309	4,64	4,72	4,78	4,89	5,07	5,50	5,86	6,39	6,79
303	4,64	4,76	4,84	5,00	5,23	5,74	6,12	6,66	7,02
297	4,64	4,81	4,94	5,14	5,44	6,04	6,45	6,95	7,26
291	4,64	4,89	5,06	5,33	5,72	6,36	6,74	7,19	7,46
285	4,64	5,02	5,24	5,63	6,05	6,72	7,05	7,43	7,66

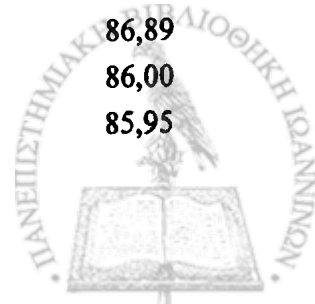
8.4. ΜΕΛΕΤΕΣ NMR ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΤΗΣ Ν-ΑΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗΣ, Ν-ΜΕΘΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΚΑΙ ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΑ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ

8.4.1. Ν-ΜΕΘΥΛΑΜΙΔΙΟ ΤΗΣ Ν-ΑΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ

Πίνακας Π-55. Σταθερές ισορροπίας, k_{eq} και επί τοις εκατό (%) ποσοστό του *trans* ισομερούς του Ν-μεθυλαμιδίου της Ν-ακετυλο-L-προλίνης, όπως προκύπτει από τη μελέτη μεταβλητής θερμοκρασίας NMR- 1H , ολοκληρώνοντας τα σήματα συντονισμού των πρωτονίων NCH_3 σε διαλύτη δευτεριωμένο χλωροφόρμιο, $CDCl_3$, συγκέντρωση 2 mM και θερμοκρασίες από 330K έως 215K. Η κάθε τιμή του Πίνακα προέκυψε από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος.



k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)	k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)
8,81	330	89,80	6,50	270	86,66
8,18	327,5	89,10	6,60	267,5	86,83
8,37	325	89,33	6,64	265	86,91
7,65	322,5	88,43	6,33	262,5	86,34
7,82	320	88,65	6,30	260	86,30
7,71	317,5	88,48	6,72	257,5	87,03
7,86	315	88,70	6,44	255	86,55
7,94	312,5	88,81	6,47	252,5	86,62
7,54	310	88,29	6,30	250	86,29
8,02	307,5	88,91	6,27	247,5	86,23
8,08	305	88,98	6,42	245	86,52
7,90	302,5	88,76	6,46	242,5	86,59
7,96	300	88,83	5,97	240	85,64
7,78	297,5	88,61	6,32	237,5	86,31
7,94	295	88,81	6,73	235	87,07
7,05	292,5	87,58	6,31	232,5	86,33
7,50	290	88,23	6,13	230	85,97
6,56	287,5	86,72	6,25	227,5	86,20
6,67	285	86,96	6,10	225	85,92
7,04	282,5	87,54	6,38	222,5	86,46
6,58	280	86,81	6,63	220	86,89
6,84	277,5	87,21	6,15	217,5	86,00
6,49	275	86,64	6,12	215	85,95
6,71	272,5	87,02			



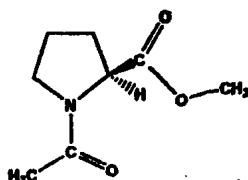
Πίνακας Π-56. Τιμές $\ln k_{eq}$ και $1/T$ της *trans-cis* ισορροπίας του *N*-μεθυλαμιδίου της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης, υπό τις πειραματικές συνθήκες του Πίνακα Π-55.

$\ln k_{eq}$	T (K)	$1/T$ ($\times 10^3 \text{ K}^{-1}$)	$\ln k_{eq}$	T (K)	$1/T$ ($\times 10^3 \text{ K}^{-1}$)
2,18	330	3,03	1,87	270	3,70
2,10	327,5	3,05	1,89	267,5	3,74
2,12	325	3,08	1,89	265	3,77
2,03	322,5	3,10	1,84	262,5	3,81
2,06	320	3,13	1,84	260	3,85
2,04	317,5	3,15	1,9	257,5	3,88
2,06	315	3,17	1,86	255	3,92
2,07	312,5	3,20	1,87	252,5	3,96
2,02	310	3,23	1,84	250	4,00
2,08	307,5	3,25	1,84	247,5	4,04
2,09	305	3,28	1,86	245	4,08
2,07	302,5	3,31	1,87	242,5	4,12
2,07	300	3,33	1,79	240	4,17
2,05	297,5	3,36	1,84	237,5	4,21
2,07	295	3,39	1,91	235	4,26
1,95	292,5	3,42	1,84	232,5	4,30
2,01	290	3,45	1,81	230	4,35
1,88	287,5	3,48	1,83	227,5	4,40
1,90	285	3,51	1,81	225	4,44
1,95	282,5	3,54	1,85	222,5	4,49
1,88	280	3,57	1,89	220	4,55
1,92	277,5	3,60	1,82	217,5	4,60
1,87	275	3,64	1,81	215	4,65
1,90	272,5	3,67			



8.4.2. ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΤΗΣ Ν-ΑΚΕΤΥΛΟ-L-ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ

Πίνακας Π-57. Σταθερές ισορροπίας, k_{eq} και επί τοις εκατό (%) ποσοστό του *trans* ισομερούς του μεθυλεστέρα της Ν-ακετυλο-L-προλίνης, όπως προκύπτει από τη μελέτη μεταβλητής θερμοκρασίας NMR- ^1H , ολοκληρώνοντας τα σήματα συντονισμού του πρωτονίου αH, σε διαλύτη δευτεριωμένο χλωροφόρμιο, CDCl_3 , συγκέντρωση 2 mM και θερμοκρασίες από 330K έως 215K. Η κάθε τιμή του Πίνακα προέκυψε από δύο επαναλήψεις του ίδιου πειράματος.



k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)	k_{eq}	T (K)	<i>trans</i> (%)
3,18	330	76,09	5,17	270	83,80
3,28	327,5	76,63	5,11	267,5	83,63
3,30	325	76,74	5,25	265	83,98
3,32	322,5	76,83	5,37	262,5	84,30
3,37	320	77,13	5,49	260	84,58
3,48	317,5	77,68	5,76	257,5	85,19
3,58	315	78,19	5,63	255	84,92
3,56	312,5	78,06	6,00	252,5	85,72
3,63	310	78,40	6,11	250	85,91
3,73	307,5	78,85	5,99	247,5	85,68
3,77	305	79,01	6,05	245	85,81
3,86	302,5	79,42	6,20	242,5	86,12
3,89	300	79,57	6,10	240	85,91
3,92	297,5	79,67	6,14	237,5	86,00
4,02	295	80,07	6,15	235	86,01
4,13	292,5	80,51	6,17	232,5	86,05
4,21	290	80,79	6,25	230	86,20
4,32	287,5	81,19	6,25	227,5	86,20
4,41	285	81,51	6,28	225	86,26
4,57	282,5	82,04	6,25	222,5	86,20
4,65	280	82,29	6,25	220	86,21
4,69	277,5	82,42	6,24	217,5	86,19
4,75	275	82,60	6,31	215	86,32
4,87	272,5	82,96			

Πίνακας Π-58. Τιμές $\ln k_{eq}$ και $1/T$ της *trans-cis* ισορροπίας του μεθυλεστέρα της *N*-ακετυλο-*L*-προλίνης, υπό τις πειραματικές συνθήκες του Πίνακα Π-57.

$\ln k_{eq}$	T (K)	$1/T$ ($\times 10^3 \text{ K}^{-1}$)	$\ln k_{eq}$	T (K)	$1/T$ ($\times 10^3 \text{ K}^{-1}$)
1,16	330	3,03	1,64	270	3,70
1,19	327,5	3,05	1,63	267,5	3,74
1,19	325	3,08	1,66	265	3,77
1,20	322,5	3,10	1,68	262,5	3,81
1,22	320	3,13	1,7	260	3,85
1,25	317,5	3,15	1,75	257,5	3,88
1,28	315	3,17	1,73	255	3,92
1,27	312,5	3,20	1,79	252,5	3,96
1,29	310	3,23	1,81	250	4,00
1,32	307,5	3,25	1,79	247,5	4,04
1,33	305	3,28	1,80	245	4,08
1,35	302,5	3,31	1,83	242,5	4,12
1,36	300	3,33	1,81	240	4,17
1,37	297,5	3,36	1,82	237,5	4,21
1,39	295	3,39	1,82	235	4,26
1,42	292,5	3,42	1,82	232,5	4,30
1,44	290	3,45	1,83	230	4,35
1,46	287,5	3,48	1,83	227,5	4,40
1,48	285	3,51	1,84	225	4,44
1,52	282,5	3,54	1,83	222,5	4,49
1,54	280	3,57	1,83	220	4,55
1,54	277,5	3,60	1,83	217,5	4,60
1,56	275	3,64	1,84	215	4,65
1,58	272,5	3,67			





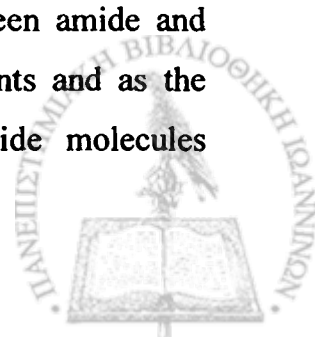
9. SUMMARY

The *cis-trans* isomerization of the peptide group is very significant in many processes that require alteration of peptide and protein structure, such as stability, folding, denaturation and recognition of peptides and proteins.

In the present work, the *cis-trans* equilibrium of very simple model peptides was investigated by the use of variable temperature $^1\text{H-NMR}$, FT-IR and thermodynamic calculations in aqueous solutions and in various organic solvents with varying dielectric constant and solvation ability.

Variable temperature $^1\text{H-NMR}$ studies of the *cis-trans* conformational equilibrium of *N*-substituted amides in aqueous and apolar solutions demonstrate that ΔH° and ΔS° values indicate significant variations. In planar amides at 298K and in the absence of bulky *N*-substitution, like *N*-methylformamide (NMF), the thermodynamic difference of the *cis-trans* isomers is due to enthalpic differences in both polar and apolar media with a significant contribution of entropy. In sterically hindered amides, like *N*-*tert*-butylformamide (TBF), the contribution of entropy at 298K becomes, generally, equal to the effect of enthalpy in both polar and apolar solutions. A decreasing enthalpic benefit of the *trans* isomer, in all the examined cases, is partially offset by an adverse entropy contribution, in agreement with the general phenomenon of enthalpy versus entropy compensation. This study provides direct evidence that both enthalpy and entropy are strongly dependent on the *N*-alkyl substitution of the amide bond and the nature of the solvent.

Extensive studies upon temperature and concentration dependence of the amide proton chemical shift and of the infrared absorption band of free and hydrogen bonded NH group show that in polar media intermolecular interactions between amide and solvent molecules are dominant. On the contrary, in less polar solvents and as the concentration of the amide increases, self-association between amide molecules



becomes significant by forming very stable cyclic dimers between *cis* isomers *via* strong hydrogen bonds and/or polymeric amide chains.

Finally, *N*-substitution of *N*-alkylformamides has been found to play very important role to the *cis-trans* equilibrium of the peptide bond. Generally, increasing the volume of the *N*-substitution results to an increase of the percentage of the *cis* isomer of the amide.

The crystal structure of *N*-acetyl-L-proline was determined *via* X-ray crystallography. Each *N*-acetyl-L-proline molecule cocrystallizes with a water molecule and adopts the *trans* conformation without forming intramolecular hydrogen bond (γ -turn). In the crystal, *N*-acetyl-L-proline forms channels that enclose the water molecules. Each water molecule forms three hydrogen bonds to individual *N*-acetyl-L-proline molecules in the channel, being an important part in the crystal packing and, thus, strengthening the lattice. The *cis-trans* equilibrium of *N*-acetyl-L-proline and its derivatives like *N*-methanamide and methylester in solution was, also, investigated by FT-IR and ^1H -NMR spectroscopy, showing the preference for the *trans* isomer and the formation of γ -turn in less polar solvents.



10. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

10.1. ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Αλεξάνδρου Ν. Ε. «Γενική Οργανική Χημεία. Δομή-Φάσματα-Μηχανισμοί», Τεύχη Α'-Β', Αναθεωρημένη Έκδοση, Θεσσαλονίκη, 1993.
- Βάκκα Κ. «Μελέτη Ενώσεων Βιολογικού Ενδιαφέροντος με Πολυδιάστατο και Δισδιάστατο NMR και FT-IR και Εφαρμογή Θεωρητικών Υπολογιστικών Προγραμμάτων», Διδακτορική Διατριβή, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα, 1997.
- Γεροθανάσης Ι. Π. «Φασματοσκοπία Οργανικών Ενώσεων», Ιωάννινα, 1998.
- Γεροθανάσης Ι. Π. «Μέθοδοι Μαγνητικού Συντονισμού στη Βιοανόργανη Χημεία», Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα ΕΠΕΑΕΚ στη Βιοανόργανη Χημεία, Υπεύθυνος: Καθηγητής Χατζηλιάδης Ν., Ιωάννινα, 1998, σελ. 1-124.
- Γεροθανάσης Ι. Π. «Φασματοσκοπία NMR» από το «Εργαστήριο Φασματοχημικών και Φυσικοχημικών Τεχνικών», Κεφάλαιο 2, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα ΕΠΕΑΕΚ στη Βιοανόργανη Χημεία, Υπεύθυνος: Καθηγητής Χατζηλιάδης Ν., Ιωάννινα, 1999, σελ. 61-100.
- Θεοφανίδης Θ., Αναστασοπούλου Ι. «Φασματοσκοπία Δονήσεων-Συμμετρία», Αθήνα, 1997.
- Μπαρμπάρου Κ. «Φασματοσκοπική Μελέτη Συμπλόκων Ιόντων Μαγνησίου και Μαγγανίου με 5'-Μονοφωσφορική Γουανοζίνη», *Διπλωματική Εργασία*, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο-Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Τομέας Επιστήμης και Τεχνικής των Υλικών, Εργαστήριο Ακτινοχημείας και Βιοφασματοσκοπίας, Αθήνα, 1997.
- Ρακιντζής Ν. Θ. «Φυσικοχημεία», Γ' Έκδοση, Παπασωτηρίου, Αθήνα, 1994.



10.2. ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Atkins P. W. (α) "Physical Chemistry", Sixth Edition, Oxford University Press, 1998.
(β) «Φυσικοχημεία», Τόμος Ι, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, Ηράκλειο, 2000.
- Avram M., Mateescu Gh. D. "Spectroscopie Infrarouge. Applications en Chimie Organique", Traduit du Roumain par Alice Marie Glatz Dr. Ing. Dunod, Paris 1970.
- Banwell C. N. "Fundamentals of Molecular Spectroscopy", 4th Edition, Mc Graw Hill, New York, 1994.
- Brisdon Alan K. "Inorganic Spectroscopic Methods", Oxford Chemistry Primers, Oxford Science Publications, Oxford University Press Inc., New York, 1998.
- Brown W. H., Rogers E. P. "General, Organic, and Biochemistry", Third Edition, Brooks/Cole Publishing Company, Monterey, California, 1987.
- Carrington A., McLachlan D. A. "Introduction to Magnetic Resonance with Applications to Chemistry and Chemical Physics", Harper & Row Publishers, New York, 1967.
- Derome E. A. "Modern NMR Techniques for Chemistry Research", Organic Chemistry Series; Vol. 6, Pergamon Press, 1987.
- Drago S. R. "Physical Methods in Inorganic Chemistry", Chapter 8, pp. 239-314, Reinhold Publishing Corporation, New York, 1965.
- Eaton D. R. "Nuclear Magnetic Resonance" in "Physical Methods in Advanced Inorganic Chemistry", Ch. 10, Hill H. A. O. and Day P., Eds., Wiley-Interscience, New York, 1968.
- Green N. J. B. "Quantum Mechanics 1: Foundations", Oxford Chemistry Primers, Oxford Science Publications, Oxford University Press Inc., New York, 1997.
- Green N. J. B. "Quantum Mechanics 2: The Toolkit", Oxford Chemistry Primers, Oxford Science Publications, Oxford University Press Inc., New York, 1998.
- Günther H. "NMR SPECTROSCOPY. Basic Principles, Concepts, and Applications in Chemistry", Second Edition, John Wiley & Sons Ltd., England, 1995.
- Harris K. R. "Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy", Longman Scientific & Technical. Copublished in the United States with John Wiley & Sons Inc., New York, 1983, 1986.



- Hore P. J. "Nuclear Magnetic Resonance", Oxford Chemistry Primers, Oxford Science Publications, Oxford University Press Inc., New York, 1995.
- Huheey J. E., Keiter E. A., Keiter R. L. "Inorganic Chemistry. Principles of Structure and Reactivity", Fourth Edition, HarperCollins College Publishers, New York, 1993.
- Jeffrey A. G. "An Introduction to Hydrogen Bonding", Oxford University Press, Inc., New York, Oxford, 1997.
- Jeffrey A. G., Saenger W. "Hydrogen Bonding in Biological Structure", Springer-Verlag: Berlin, 1991.
- Lehninger A. L., Nelson D. L., Cox M. M. "Principles of Biochemistry", Second Edition, Worth Publishers, New York, 1993.
- Macomber S. R. "A Complete Introduction to Modern NMR Spectroscopy", Wiley-Interscience, John Wiley & Sons Inc., 1998.
- Pimentel G. McClellan A. L., "The Hydrogen Bond", W. H. Freeman and Co., San Francisco, 1960.
- Richards W. G. Scott P. R. "Energy Levels in Atoms and Molecules", Oxford Chemistry Primers, Oxford Science Publications, Oxford University Press Inc., New York, 1994.
- Sanders K. M. J. Hunter K. B., "Modern NMR Spectroscopy. A Guide for Chemists", Second Edition, Oxford University Press, Inc., New York, 1993.
- Schulz G. E., Schirman R. H. "Principles of Protein Structure", Springer-Verlag, New York, 1979.
- Sheldrick G. M., "SHELX97. *Program for the Refinement of Crystal Structures*", University of Göttingen, Germany, 1997.
- Stryer L. "Biochemistry", Fourth Edition, W. H. Freeman and Company, New York, 1995.
- Winter J. M. "Chemical Bonding", Oxford Chemistry Primers, Oxford Science Publications, Oxford University Press Inc., New York, 1994.

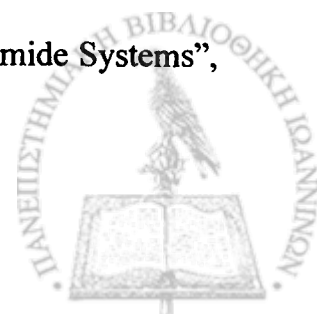


10.3. ΑΡΘΡΑ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΟΔΙΚΩΝ

- Akiyama M. "Study on Hydration Enthalpy of *N*-Methylacetamide in Water", *Spectrochim. Acta Part A* 2002, 58, 1943-1950.
- Akiyama M., Ohtani T. "Hydrogen Bonding of *N*-methylacetamide in CDCl_3 Solution Studied by NMR and IR Spectra", *Spectrochim. Acta* 1994, 50A (2), 317-324.
- Akiyama M., Ohtani T., Furuta T., Watanabe E. "Conformational Distributions of *N*-Acetyl-L-proline *N*-Methylamide in CDCl_3 Solution Studied by NMR and IR Spectra", *Spectrochim. Acta* 1994, 50A (8/9), 1675-1683.
- Akiyama M., Torii H. "Cooperative Effect in Hydrogen Bonding of *N*-methylacetamide in Carbon Tetrachloride Solution Confirmed by NMR and IR Spectroscopies", *Spectrochim. Acta Part A* 1999, 56, 137-144.
- Amzel M. "Calculation of Entropy Changes in Biological Processes: Folding, Binding, and Oligomerization", *Methods in Enzymology* 2000, 323, 167-177.
- Arnold W. D., Oldfield E. "The Chemical Nature of Hydrogen Bonding in Proteins via NMR: *J*-Couplings, Chemical Shifts, and AIM Theory", *J. Am. Chem. Soc.* 2000, 122, 12835-12841.
- Aubry A., Cung M. T., Marraud M. " β I- and β II-Turn Conformation in Model Dipeptides with the Pro-Xaa Sequences", *J. Am. Chem. Soc.* 1985, 107, 7640-7647.
- Aubry A., Vitoux B., Boussard G., Marraud M. "*N*-methyl Peptides. IV. Water and β -turn in Peptides. Crystal Structure of *N*-pivaloyl-L-prolyl-*N,N'*-dimethyl-D-alaninamide in the Anhydrous and Monohydrated States", *Int. J. Peptide Protein Res.* 1981, 18(2), 195-202.
- Avignon M., Huong P. V. "Une Méthode de Dosage des Isomères de Rotation des Dipeptides en Solution par Spectroscopie Infrarouge", *Biopolymers* 1970, 9, 427-432.
- Bagno A., Gerard S., Kevelam J., Scorrano G. "Detecting Hydrogen Bonding by NMR Relaxation of the Acceptor Nuclei", *Chem. Eur. J.* 2000, 6(16), 2915-2924.
- Beausoleil E., Lubell W. D. "Steric Effects on the Amide Isomer Equilibrium of Prolyl Peptides. Synthesis and Conformational Analysis of *N*-Acetyl-5-*tert*-butylproline *N'*-Methylamides", *J. Am. Chem. Soc.* 1996, 118, 12902-12908.



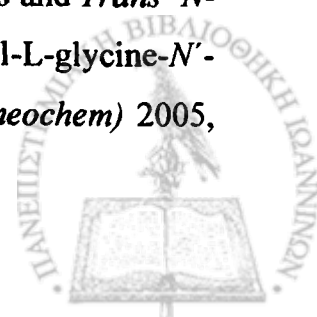
- Becker E. D., "Hydrogen bonding", in: Grant D. M. and Harris R. K. (Eds.), *Encyclopedia of Nuclear Magnetic Resonance* 4, 1996, Wiley, New York, pp. 2409-2415.
- Beeson C., Pham N., Shipps G. Jr., Dix T. A. "A Comprehensive Description of the Free Energy of an Intramolecular Hydrogen Bond as a Function of Solvation: NMR Study", *J. Am. Chem. Soc.* 1993, 115, 6803-6812.
- Benedetti E., Christensen A., Gilon C., Fuller W., Goodman M. "Conformational Studies of Peptides. The Crystal Structures of *N*-Acetyl-L-Prolinamide and *N*-Acetyl-(*S*)-Thiazolidine-4-Carboxamide", *Biopolymers* 1976, 15, 2523-2534.
- Berkovitch-Yellin Z., Leiserowitz L. "The Comparative Roles of the Proton-Acceptor Properties of Amide and Carboxyl Groups in Influencing Crystal Packing Patterns: Doubly vs. Singly Hydrogen-Bonded Systems in *N*-Acyl Amino Acids and in Other Amide-Acid Crystals", *J. Am. Chem. Soc.* 1983, 105, 765-767.
- Billeter M. "Hydration Water Molecules Seen by NMR and by X-Ray Crystallography", *Prog. NMR Spectrosc.* 1995, 27, 635-645.
- Borden K. L. B., Richards F. M. "Folding Kinetics of Phage T4 Thioredoxin", *Biochemistry* 1990, 29, 3071-3077.
- Boussard G., Marraud M. " β -Turns in Model Dipeptides. An Infrared Quantitative Analysis with NMR Correlation", *J. Am. Chem. Soc.* 1985, 107, 1825-1828.
- Brandts J. F., Halvorson H. R., Brennan M. "Consideration of the Possibility that the Slow Step in Protein Denaturation Reactions Is Due to *Cis-Trans* Isomerism of Proline Residues", *Biochemistry* 1975, 14, 4953-4963.
- Brenner M., Huber W. "Preparation of α -Amino Acids Esters by Alcoholysis of the Methyl Esters" *Helv. Chim. Acta*, 1953, 36, 1109-1115.
- Bretscher L. E., Jenkins C. L., Taylor K. M., DeRider M. L., Raines R. T. "Conformational Stability of Collagen Relies on a Stereoelectronic Effect", *J. Am. Chem. Soc.* 2001, 123, 777-778.
- Buevich A. V., Dai Q.-H., Liu X., Brodsky B., Baum J. "Site-Specific NMR Monitoring of *Cis-Trans* Isomerization in the Folding of the Proline-Rich Collagen Triple Helix", *Biochemistry* 2000, 39, 4299-4308.
- Burgar M. I., Amour T. E. St., Flat D. " ^{17}O and ^{14}N NMR Studies of Amide Systems", *J. Phys. Chem.* 1981, 85, 502-510.



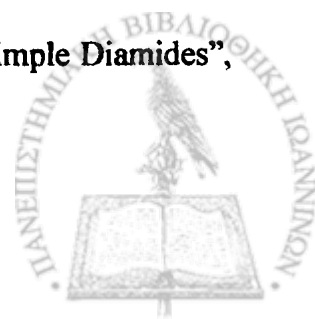
- Bushuev Yu. G., Davletbaeva S. V. "Structural Properties of Liquid *N*-Methylformamide", *Russ. Chem. Bull.* 2000, 49(2), 238-250.
- Calderone C. T., Williams D. H. "An Enthalpic Component in Cooperativity: The Relationship between Enthalpy, Entropy, and Noncovalent Structure in Weak Associations", *J. Am. Chem. Soc.* 2001, 123, 6262-6267.
- Castaneda J. P., Denisov G. S., Kuchеров S., Yu., Schreiber V. M., Shurukhina A. V. "Infrared and Ab Initio Studies of Hydrogen Bonding and Proton Transfer in the Complexes Formed by Pyrazoles", *J. Mol. Struct.* 2003, 660, 25-40.
- Chaney J. D., Goss C. R., Folting K., Santarsiero B. D., Hollingsworth M. D. "Formyl C-H...O Hydrogen Bonding in Crystalline Bis-Formamides?", *J. Am. Chem. Soc.* 1996, 118, 9432-9433.
- Chapman C. F., Fee R. S., Maroncelli M. "Solvation Dynamics in *N*-Methylamides", *J. Phys. Chem.* 1990, 94, 4929-4935.
- Cheng H. N., Bovey F. A. "Cis-Trans Equilibrium and Kinetic Studies of Acetyl-L-Proline and Glycyl-L-Proline", *Biopolymers* 1977, 16, 1465-1472.
- Clifton I. J., Doan L. X., Sleeman M. C., Topf M., Suzuki H., Wilmouth R. C., Schofield C. J. "Crystal Structure of Carbapenem Synthase (CarC)", *J. Biol. Chem.* 2003, 278:23, 20843-20850.
- Cox C., Lectka T. "Intramolecular Catalysis of Amide Isomerization: Kinetic Consequences of the 5-NH---N_a Hydrogen Bond in Prolyl Peptides", *J. Am. Chem. Soc.* 1998, 120, 10660-10668.
- Cox C., Young V. G. Jr., Lectka T. "Intramolecular Catalysis of Amide Isomerization", *J. Am. Chem. Soc.* 1997, 119, 2307-2308.
- Creighton T. E. "The Protein Folding Problem", *Science* 1988, 240, 267-344.
- DeCamp M. F., DeFlores L., McCracken J. M., Tokmakoff A., Kwac K., Cho M. "Amide I Vibrational Dynamics of *N*-Methylacetamide in Polar Solvents: The Role of Electrostatic Interactions", *J. Phys. Chem. B* 2005, 109, 11016-11026.
- Delaney N. G., Madison V. "Novel Conformational Distributions of Methylproline Peptides", *J. Am. Chem. Soc.* 1982, 104, 6635-6641.
- Del Bene J. E., Perera S. A., Bartlett R. J. "Hydrogen Bond Types, Binding Energies, and ¹H NMR Chemical Shifts", *J. Phys. Chem. A* 1999, 103, 8121-8124.



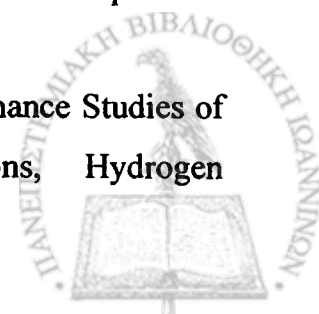
- Del Bene J. E., Jordan M. J. T. "Vibrational Spectroscopic and NMR Properties of Hydrogen-Bonded Complexes: Do They Tell Us the Same Thing?", *J. Am. Chem. Soc.* 2000, *122*, 4794-4797.
- Demetropoulos I. N., Gerothanassis I. P., Vakka C., Kakavas C. "Ab Initio Molecular Orbital Calculations of Solvent Clusters of *Trans-N*-Methylacetamide: Structure, Ring Cluster Formation and Out-of-Plane Deformation", *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* 1996, *92(6)*, 921-931.
- DeTar D. F., Luthra N. P. "Conformations of Proline", *J. Am. Chem. Soc.* 1977, *99*:4, 1232-1244.
- Drück U., Littke W. "The Structure of 1-Acetylprolinamide", *Acta Cryst.* 1979, *B35*, 253-255.
- Dugave C., Demange L. "Cis-Trans Isomerization of Organic Molecules and Biomolecules: Implications and Applications", *Chem. Rev.* 2003, *103(7)*, 2475-2532.
- Dunitz J. D. "Win Some, Lose Some: Enthalpy-Entropy Compensation in Weak Intermolecular Interactions", *Chemistry & Biology* 1995, *2*:11, 709-712.
- Eaton G., Symons M. C. R. "Spectroscopic Studies of the Solvation of *N,N*-Dimethyl Amides in Pure and Mixed Solvents", *J. Chem. Soc., Faraday Trans 1* 1988, *84(10)*, 3459-3473.
- Eaton G., Symons M. C. R., Rastogi P. P. "Spectroscopic Studies of the Solvation of Amides with N-H Groups", *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1* 1989, *85(10)*, 3257-3271.
- Eberhardt E. S., Loh S. N., Hinck A. P., Raines R. T. "Solvent Effects on the Energetics of Prolyl Peptide Bond Isomerization", *J. Am. Chem. Soc.* 1992, *114*, 5437-5439.
- Eberhardt E. S., Loh S. N., Raines R. T. "Thermodynamic Origin of Prolyl Peptide Bond Isomers", *Tetrahedron Letters* 1993, *34(19)*, 3055-3056.
- Eberhardt E. S., Panasik N., Jr., Raines R. T. "Inductive Effects on the Energetics of Prolyl Peptide Bond Isomerization: Implications for Collagen Folding Stability", *J. Am. Chem. Soc.* 1996, *118*, 12261-12266.
- Enriz R. D., Morales M. E., Baldoni H. A. "Conformational Study of 'Cis and Trans' *N*-formyl-*N*-methyl-L-glycine-*N'*-amide and *N*-acetyl-*N*-methyl-L-glycine-*N'*-methanamide. An Ab-initio and DFT Study", *J. of Mol. Struct. (Theochem)* 2005, *731*, 177-185.



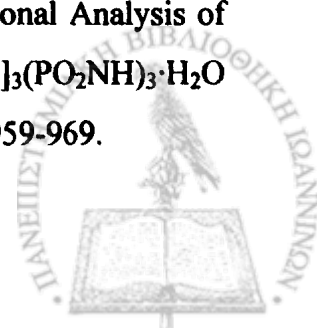
- Eyles S. J., Gierasch L. M. "Multiple Roles of Prolyl Residues in Structure and Folding", *J. Mol. Biol.* 2000, *301*, 737-747.
- Finney J. L., Gellatly B. J., Golton I. C., Goodfellow J. "Solvent Effects and Polar Interactions in the Structural Stability and Dynamics of Globular Proteins" *Biophys. J.* 1980, *32*, 17-33.
- Fischer G. "Chemical Aspects of Peptide Bond Isomerization", *Chem. Soc. Rev.* 2000, *29*, 119-127.
- Fischer G. "Peptidyl-Prolyl *cis/trans* Isomerases and Their Effectors", *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1994, *33*, 1415-1436.
- Fischer S., Dunbrack R. L. Jr., Karplus M. "Cis-Trans Imide Isomerization of the Proline Dipeptide", *J. Am. Chem. Soc.* 1994, *116*, 11931-11937.
- Fox R. O., Evans P. A., Dobson C. M. "Multiple Conformations of a Protein Demonstrated by Magnetization Transfer NMR Spectroscopy", *Nature* 1986, *320*, 192-194.
- Fujinaga M., James M. N. G. "SQ 14,225: 1-(D-3-Mercapto-2-methylpropionyl)-L-proline", *Acta Cryst.* 1980, *B36*, 3196-3199.
- García Martínez A., Teso Vilar E., Garcia Fraile A., Martinez-Ruiz P. "A Computational and Experimental Study on the Relative Stabilities of *Cis* and *Trans* Isomers of *N*-Alkylamides in Gas Phase and in Solution", *J. Phys. Chem. A* 2002, *106*, 4942-4950.
- Garcia-Viloca M., Gelabert R., González-Lafont À., Moreno M., Lluch J. M. "Is an Extremely Low-Field Proton Signal in the NMR Spectrum Conclusive Evidence for a Low-Barrier Hydrogen Bond?", *J. Phys. Chem. A* 1997, *101*, 8727-8733.
- Garcia-Viloca M., Gelabert R., González-Lafont À., Moreno M., Lluch J. M. "Temperature Dependence of Proton NMR Chemical Shift as a Criterion to Identify Low-Barrier Hydrogen Bonds", *J. Am. Chem. Soc.* 1998, *120*, 10203-10209.
- Gate E. N., Threadgill M. D., Stevens M. F. G., Chubb D., Vickers L. M., Langdon S. P., Hickman J. A., Gescher A. "Structural Studies on Bioactive Compounds. 4. A Structure-Antitumor Activity Study of Analogues of *N*-Methylformamide", *J. Med. Chem.* 1986, *29*, 1046-1052.
- Gellman S. H., Adams B. R. "Intramolecular Hydrogen Bonding in Simple Diamides", *Tetrahedron Letters* 1989, *30*(26), 3381-3384.



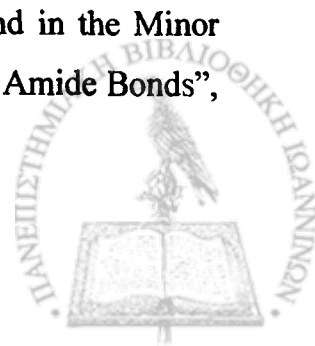
- Gellman S. H., Dado G. P., Liang G.-B., Adams B. R. "Conformation-Directing Effects of a Single Intramolecular Amide-Amide Hydrogen Bond: Variable-Temperature NMR and IR Studies on a Homologous Diamide Series", *J. Am. Chem. Soc.* 1991, *113*, 1164-1173.
- Gerothanassis I. P., Troganis A., Exarchou V., Barbarossou K. "Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy: Basic Principles and Phenomena, and Their Applications to Chemistry, Biology and Medicine", *Chemistry Education: Research and Practice in Europe* 2002, *3*(2), 229-252.
- Gerothanassis I. P., Troganis A., Vakka C. " ^{17}O and ^1H - ^{15}N Heteronuclear Multiple Quantum Coherence (^1H - ^{15}N HMQC) NMR of Linear Amides: Evidence of an Out-of-Plane (Torsion Angle) Deformation of the Amide Bond and Pyramidity at the Amide Nitrogen", *Tetrahedron* 1995, *51*(38), 9493-9500.
- Gerothanassis I. P., Troganis A., Vakka C. "The First Experimental Evidence of Differential Hydration of *E/Z* Isomers of Sterically Hindered Amides: One Dimensional Steady-State Selective Intermolecular ^{13}C , ^1H Overhauser Effect Study of *Tert*-butylformamide", *Tetrahedron Letters* 1996, *36*, 6569-6572.
- Gerothanassis I. P., Vakka C. " ^{17}O NMR Chemical Shifts as a Tool to Study Specific Hydration Sites of Amides and Peptides: Correlation with the IR Amide I Stretching Vibration" *J. Org. Chem.* 1994, *59*, 2341-2348.
- Gerothanassis I. P., Vakka C., Troganis A. " ^{17}O NMR Studies of the Solvation State of *Cis/Trans* Isomers of Amides and Model Protected Peptides", *J. Magn. Reson.* 1996, *Series B 111*, 220-229.
- Gottlieb H. E., Kotlyar V., Nudelman A. "NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities", *J. Org. Chem.* 1997, *62*, 7512-7515.
- Grathwohl C., Wüthrich K. "NMR Studies of the Rates of Proline *Cis-Trans* Isomerization in Oligopeptides", *Biopolymers* 1981, *20*, 2623-2633.
- Haque T. S., Little J. C., Gellman S. H. "'Mirror Image' Reverse Turns Promote β -Hairpin Formation", *J. Am. Chem. Soc.* 1994, *116*, 4105-4106.
- Higashijima T., Tasumi M., Miyazawa T. " ^1H Nuclear Magnetic Resonance Studies of Melanostatin: Dependence of the Chemical Shifts of NH Protons on Temperature and Concentration", *FEBS Letters* 1975, *57*(2), 175-178.
- Higashijima T., Tasumi M., Miyazawa T. " ^1H Nuclear Magnetic Resonance Studies of *N*-Acetyl-*L*-Proline *N*-Methylamide. Molecular Conformations, Hydrogen



- Bondings, and Thermodynamic Quantities in Various Solvents", *Biopolymers* 1977, 16, 1259-1270.
- Hinderaker M. P., Raines R. T. "An Electronic Effect on Protein Structure", *Protein Science* 2003, 12, 1188-1194.
- Hübner D., Drakenberg T., Forsén S., Fischer G. "Peptidyl-Prolyl *Cis-Trans* Isomerase Activity as Studied by Dynamic Proton NMR Spectroscopy", *FEBS Letters* 1991, 284(1), 79-81.
- Huelsekopf M., Ludwig R. "Correlations between Structural, NMR and IR Spectroscopic Properties of *N*-Methylacetamide", *Magn. Reson. Chem.* 2001, 39, S127-S134.
- Hunston R. N., Gerothanassis I. P., Lauterwein J. "A Study of L-Proline, Sarcosine, and the *Cis/Trans* Isomers of *N*-Acetyl-L-Proline and *N*-Acetylsarcosine in Aqueous and Organic Solution by ^{17}O NMR", *J. Am. Chem. Soc.* 1985, 107, 2654-2661.
- Hunter Ch. A., Tomas S. "Cooperativity, Partial Bound States, and Enthalpy-Entropy Compensation", *Chemistry & Biology* 2003, 10, 1023-1032.
- Ishimoto B., Tonan K., Ikawa S.-i. "Intramolecular Hydrogen Bonding of the C-terminal NH_2 Groups of Small Peptide Amides in Solution", *Spectrochim. Acta Part A* 1999, 55, 2321-2327.
- Ishimoto B., Tonan K., Ikawa S.-i. "Coupling of Intramolecular Hydrogen Bonding to the *Cis-to-Trans* Isomerization of a Proline Imide Bond of Small Model Peptides", *Spectrochim. Acta Part A* 1999, 56, 201-209.
- Janczak J., Luger P. "L-Proline Monohydrate at 100 K", *Acta Cryst.* 1997, C53, 1954-1956.
- Jarec R. L., Flesher R. J., Shin S. K. "Kinetics of Internal Rotation of *N,N*-Dimethylacetamide: A Spin-Saturation Experiment", *J. Chem. Educ.* 1997, 74, 978-982.
- Jin Y., Tonan K., Ikawa S.-i. "Competitive Formation of 10- and 7-Membered Hydrogen-Bonded Rings of Proline-Containing Model Peptides", *Spectrochim. Acta Part A* 2002, 58, 2795-2802.
- John A., Philip D., Stock N., Schnick W., Devanarayanan S. "Vibrational Analysis of $\text{Ag}_3(\text{PO}_2\text{NH})_3$, $\text{Na}_3(\text{PO}_2\text{NH})_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_3(\text{PO}_2\text{NH})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $[\text{C}(\text{NH}_2)_3]_3(\text{PO}_2\text{NH})_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ and $(\text{NH}_4)_4(\text{PO}_2\text{NH})_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ", *Spectrochim. Acta Part A* 2001, 57, 959-969.



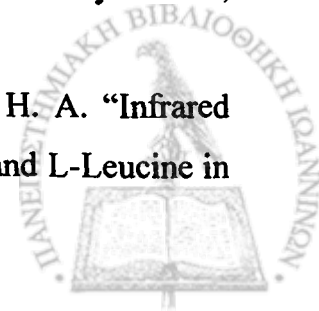
- Jorgensen W. L., Gao J. "Cis-Trans Energy Difference for Peptide Bond in the Gas Phase and in Aqueous Solution", *J. Am. Chem. Soc.* 1988, *110*, 4212-4216.
- Juranić N., Likić V. A., Prendergast F. G., Macura S. "Protein-Solvent Hydrogen Bonding Studied by NMR $^1J_{NC}$ Coupling Constant Determination and Molecular Dynamics Simulations", *J. Am. Chem. Soc.* 1996, *118*, 7859-7860.
- Jusuf S., Loll P. J., Axelsen P. H. "The Role of Configurational Entropy in Biochemical Cooperativity", *J. Am. Chem. Soc.* 2002, *124*, 3490-3491.
- Kang Y. K. "Which Functional Form Is Appropriate for Hydrogen Bond of Amides?", *J. Phys. Chem. B* 2000, *104*, 8321-8326.
- Kang Y. K. "Cis-Trans Isomerization of N-Acetyl-N'-Methylamides of 5-Methylproline and 5,5-dimethylproline", *J. Mol. Struct. (Theochem)* 2002, *585*, 209-221.
- Kang Y. K., Park H. S. "Comparative Conformational Study of N-Acetyl-N'-Methylprolineamide with Different Basis Sets", *J. Mol. Struct. (Theochem)* 2002, *593*, 55-64.
- Kang Y. K., Park H. S. "Internal Rotation About The C-N Bond of Amides", *J. Mol. Struct. (Theochem)* 2004, *676*, 171-176.
- Kang Y. K., Park H. S. "Ab Initio Conformational Study of N-acetyl-L-proline-N',N'-dimethylamide: A Model for Polyproline", *Biophysical Chemistry* 2005, *113*, 93-101.
- Kang Y. K. "Conformational Preferences of Non-Prolyl and Prolyl Residues", *J. Phys. Chem. B* 2006, *110*, 21338-21348.
- Kauzmann W., Eyring H. "The Effect of the Rotation of Groups about Bonds on Optical Rotatory Power", *J. Chem. Phys.* 1941, *9*, 41-53.
- Kay B. K., Williamson M. P., Sudol M. "The Importance of Being Proline: The Interaction of Proline-Rich Motifs in Signaling Proteins with Their Cognate Domains", *FASEB J.* 2000, *14*, 231-241.
- Kern D., Schutkowski M., Drakenberg T. "Rotational Barriers of Cis/Trans Isomerization of Proline and Their Catalysis by Cyclophilin", *J. Am. Chem. Soc.* 1997, *119*, 8403-8408.
- Kessler H., Anders U., Schudok M. "An Unexpected Cis Peptide Bond in the Minor Conformation of a Cyclic Hexapeptide Containing Only Secondary Amide Bonds", *J. Am. Chem. Soc.* 1990, *112*, 5908-5916.



- Kiefhaber T., Schmid F. X. "Kinetic Coupling between Protein Folding and Prolyl Isomerization I. Theoretical Models", *J. Mol. Biol.* 1992, 224, 217-229.
- Kiefhaber T., Kohler H. H., Schmid F. X. "Kinetic Coupling between Protein Folding and Prolyl Isomerization II. Folding of Ribonuclease A and Ribonuclease T₁", *J. Mol. Biol.* 1992, 224, 231-240.
- Klotz I. M., Franzen J. S. "Hydrogen Bonds between Model Peptide Groups in Solution", *J. Am. Chem. Soc.* 1962, 84, 3461-3466.
- Kollman P. A. "A Theory of Hydrogen Bond Directionality", *J. Am. Chem. Soc.* 1972, 94:6, 1837-1842.
- Kuhn L. P. "The Hydrogen Bond. I. Intra- and Intermolecular Hydrogen Bonds in Alcohols", *J. Am. Chem. Soc.* 1951, 74, 2492-2499.
- Kuhn L. P. "The Hydrogen Bond. III. The Effect of the Size of Substituents Upon the Length of the Hydrogen Bond in Various Substituted 1,2-Diols", *J. Am. Chem. Soc.* 1958, 80, 5950-5954.
- Kumar G. A., McAllister M. A. "Theoretical Investigation of the Relationship Between Proton NMR Chemical Shift and Hydrogen Bond Strength", *J. Org. Chem.* 1998, 63, 6968-6972.
- Kupka T., Gerothanassis I. P., Demetropoulos I. N. "Density Functional Study of a Model Amide. Prediction of Formamide Geometry, Dipole Moment, IR Harmonic Vibration $\nu_{C=O}$ and GIAO NMR Shieldings", *J. Mol. Struct. (Theochem)* 2000, 531, 143-157.
- Langley C. H., Allinger N. L. "Molecular Mechanics (MM4) Calculations on Amides", *J. Phys. Chem. A* 2002, 106, 5638-5652.
- Larive C. K., Guerra L., Rabenstein D. L. "Cis/Trans Conformational Equilibrium Across the Cystein-Proline Peptide Bond of Oxytocin, Arginine, Vasopressin, and Lysine Vasopressin", *J. Am. Chem. Soc.* 1992, 114, 7331-7337.
- Lee B., Graziano G. "A Two-State Model of Hydrophobic Hydration that Produces Compensating Enthalpy and Entropy Changes", *J. Am. Chem. Soc.* 1996, 118, 5163-5168.
- Leiserowitz L. "Molecular Packing Modes. Carboxylic Acids", *Acta Cryst.* 1976, B32, 775-802.60



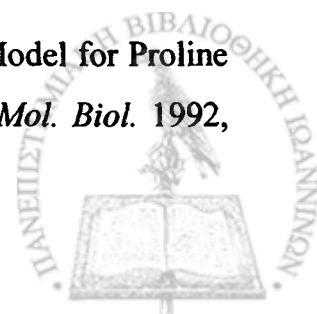
- Leiserowitz L., Nader F. "The Molecular Packing Modes and the Hydrogen-Bonding Properties of Amide: Dicarboxylic Acid Complexes", *Acta Cryst.* 1977, *B33*, 2719-2733.
- Leiserowitz L., Tuval M. "Molecular-Packing Modes. *N*-Methylamides", *Acta Cryst.* 1978, *B34*, 1230-1247.
- Liang G.-B., Rito C. J., Gellman S. H. "Variations in the Turn-Forming Characteristics of *N*-Acyl Proline Units", *Biopolymers* 1992, *32*, 293-301.
- Liu L., Guo Q.-X. "Isokinetic Relationship, Isoequilibrium Relationship, and Enthalpy-Entropy Compensation", *Chem. Rev.* 2001, *101*, 673-695.
- London R. E. "Quantitative Evaluation of γ -Turn Conformation in Proline-Containing Peptides Using ^{13}C N.M.R.", *Int. J. Peptide Protein Res.* 1979, *14*, 377-387.
- Ludwig R., Weinhold F., Farrar T. C. "Structure of Liquid *N*-Methylacetamide: Temperature Dependence of NMR Chemical Shifts and Quadrupole Coupling Constants" *J. Phys. Chem. A* 1997, *101*, 8861-8870.
- Ludwig R., Reis O., Winter R., Weinhold F., Farrar T. C. "Quantum Cluster Equilibrium Theory of Liquids: Temperature Dependence of Hydrogen Bonding in Liquid *N*-Methylacetamide Studied by IR Spectra" *J. Phys. Chem. B* 1998, *102*, 9312-9318.
- Ludwig R. "Cooperative Hydrogen Bonding in Amides and Peptides", *Journal of Molecular Liquids* 2000, *84*, 65-75.
- Madison V., Kopple K. D. "Solvent-Dependent Conformational Distributions of Some Dipeptides", *J. Am. Chem. Soc.* 1980, *102*, 4855-4863.
- Madison V., Schellman J. "Location of Proline Derivatives in Conformational Space. I. Conformational Calculations; Optical Activity and NMR Experiments", *Biopolymers* 1970, *9*, 511-567.
- Maia H. L., Orrell K. G., Rydon H. N. "Evaluation of the Thermodynamic Parameters for the Interconversion of the Conformational Isomers of Two *N*-acyl-prolines by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy" *J. Chem. Soc. D: Chem. Commun.* 1971, *19*, 1209-1210.
- Matsuzaki T., Iitaka Y. "The Crystal Structure of Acetyl-L-Proline-*N*-Methylamide", *Acta Cryst.* 1971, *B27*, 507-516.
- Maxfield F. R., Leach S. J., Stimson E. R., Powers S. P., Scheraga H. A. "Infrared Spectra of the *N*-Acetyl-*N'*-Methylamides of Glycine, L-Alanine, and L-Leucine in



- Dilute Solutions of Chloroform and Carbon Tetrachloride”, *Biopolymers* 1979, 18, 2507-2521.
- McDonald D. Q., Still W. C. “Molecular Mechanics Parameters and Conformational Free Energies of Proline-Containing Peptides” *J. Org. Chem.* 1996, 61, 1385-1391.
- Miyazawa T., Higashijima T. “NMR Analyses of Conformations of Linear Peptides in Solution”, *Biopolymers* 1981, 20, 1949-1958.
- Mizushima S.-I., Shimanouchi T., Tsuboi M., Sugita T., Kato E., Kondo E. “Near Infrared Spectra of Compounds with Two Peptide Bonds and the Configuration of a Polypeptide Chain”, *J. Am. Chem. Soc.* 1951, 73, 1330-1333.
- Mizushima S.-I., Shimanouchi T., Tsuboi M., Sugita T., Kurosaki K., Mataga N., Souda R. “Near Infrared Spectra of Compounds with Two Peptide Bonds and the Configuration of a Polypeptide Chain. II.”, *J. Am. Chem. Soc.* 1952, 74, 4639-4641.
- Mizushima S.-I., Tsuboi M., Shimanouchi T., Sugita T., Yoshimoto T. “Near Infrared Spectra of Compounds with Two Peptide Bonds and the Configuration of a Polypeptide Chain. IV.”, *J. Am. Chem. Soc.* 1954, 76, 2479-2482.
- Möhle K., Gussmann M., Rost A., Cimiraglia R., Hofmann H.-J. “Correlation Energy, Thermal Energy, and Entropy Effects in Stabilizing Different Secondary Structures of Peptides”, *J. Phys. Chem. A* 1997, 101, 8571-8574.
- Morris A. L., Mac Arthur M. W., Hutchinson E. G., Thornton J. M. “Stereochemical Quality of Protein Structure Coordinates”, *Proteins: Structure, Function, and Genetics* 1992, 12, 345-364.
- Nguyen M. T., Leroux N., Zeegers-Huyskens T. “Theoretical Characterization of the Hydrogen-Bond Interaction of Diacetamide with Water and Methanol”, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* 1997, 93(1), 33-41.
- Nikolić A. D., Petrović S. D., Perišić-Janjić N., Kobilarov N. L. “Infrared Study of N-H... π Hydrogen Bonding. N-*tert*-Butylformamide-Aromatic Donor Systems”, *J. Mol. Struct.* 1986, 143, 329-332.
- Ohtaki H., Katayama N., Ozutsumi K., Radnai T. “The Structure of Liquid Formamide Studied by Means of X-Ray Diffraction and NMR at High Temperatures and High Pressures”, *Journal of Molecular Liquids* 2000, 88, 109-120.



- Page M. I., Jenks W. P. "Entropic Contributions to Rate Accelerations in Enzymic and Intramolecular Reactions and the Chelate Effect", *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 1971, 68(8), 1678-1683.
- Panasik N., Jr., Eberhardt E. S., Edison A. S., Powell D. R., Raines R. T. "Inductive Effects on the Structure of Proline Residues", *Int. J. Peptide Protein Res.* 1994, 44, 262-269.
- Park J., Hochstrasser R. M. "Multidimensional Infrared Spectroscopy of a Peptide Intramolecular Hydrogen Bond", *Chemical Physics* 2006, 323, 78-86.
- Pawar D., Mark H. L., Hosseini H., Harris Y., Noe E. A. "Conformational Studies of Alkyl Nitrites Using Low-Temperature ^{13}C , ^{17}O , and ^{14}N NMR Spectroscopy. ^{17}O NMR of *N*-Substituted Formamides", *J. Phys. Chem.* 1993, 97, 7480-7483.
- Pawar D. M., Khalil A. A., Hooks D. R., Collins K., Elliot T., Stafford J., Smith L., Noe E. A. "E and Z Conformations of Esters, Thiol Esters, and Amides" *J. Am. Chem. Soc.* 1998, 120, 2108-2112.
- Perrin C. L., Lollo C. P. "Mechanisms of NH Proton Exchange in Amides and Proteins: Solvent Effects and Solvent Accessibility", *J. Am. Chem. Soc.* 1984, 106, 2754-2757.
- Pfuetzner R. A., Chan W. W.-C. "Synergistic Binding of Ligands to Angiotensin-Converting Enzyme", *J. Biol. Chem.* 1988, 263, 4056-4058.
- Puliti R., Mattia C. A., Lilley T. H. "Structure of *N*-Acetyl-L-Leucyl-L-Prolinamide Monohydrate", *Acta Cryst.* 1992, C48, 709-712.
- Puliti R., Mattia C. A., Lilley T. H. "Structure of *N*-Acetyl-L-prolylglycinamide", *Acta Cryst.* 1993, C49, 2173-2176.
- Pulla Rao Ch., Balaram P., Rao C. N. R. "Infrared Spectroscopic Study of C_7 Intramolecular Hydrogen Bonds in Peptides", *Biopolymers* 1983, 22, 2091-2104.
- Qian H. "Entropy-Enthalpy Compensation: Conformational Fluctuation and Induced-Fit" *J. Chem. Phys.* 1998, 109, 10015-10017.
- Radzika A., Pedersen L., Wolfenden R. "Influences of Solvent Water on Protein Folding: Free Energies of Solvation of *Cis* and *Trans* Peptides are Nearly Identical", *Biochemistry* 1988, 27, 4538-4541.
- Raleigh D. P., Evans P. A., Pitkeathly M., Dobson C. M. "A Peptide Model for Proline Isomerism in the Unfolded State of Staphylococcal Nuclease" *J. Mol. Biol.* 1992, 228, 338-342.



- Ramachandran G. N., Kolaskar A. S. "The Non-Planar Peptide Unit II. Comparison of Theory with Crystal Structure Data", *Biochim. Biophys. Acta* 1973, 303, 385-388.
- Ramek M., Kelterer A.-M., Teppen B. J., Schäfer L. "Theoretical Structure Investigations of *N*-Acetyl-L-Proline Amide", *J. Mol. Struct.* 1995, 352/353, 59-70.
- Reimer U., Mokdad N. El, Schutkowski M., Fischer G. "Intramolecular Assistance of *Cis/Trans* Isomerization of the Histidine-Proline Moiety", *Biochemistry* 1997, 36, 13802-13808.
- Remer L. C., Jensen J. H. "Toward a General Theory of Hydrogen Bonding: The Short, Strong Hydrogen Bond [HOH...OH]⁻", *J. Phys. Chem. A* 2000, 104, 9266-9275.
- Richards F. M. "The Protein Folding Problem", *Scientific American* 1991, 54-63.
- Rodriguez-Larrea D., Minning S., Borchert T. V., Sanchez-Ruiz J. M. "Role of Solvation Barriers in Protein Kinetic Stability", *J. Mol. Biol.* 2006, 360, 715-724.
- Rothe M., Rott H. "NMR Spectroscopic Detection of *Cis* and *Trans* Peptide Bonds in Unprotected Oligo-L-Prolines", *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1976, 15(12), 770-771.
- Sak K., Karelson M., Järv J. "Quantum Chemical Modeling of the Effect of Proline Residues on Peptide Conformation", *International Journal of Quantum Chemistry* 1998, 66, 391-396.
- Sapse A.-M., Mallah-Levy L., Daniels S. B., Erickson B. W. "The γ Turn: Ab Initio Calculations on Proline and *N*-Acetylproline Amide", *J. Am. Chem. Soc.* 1987, 109, 3526-3529.
- Scherer G., Kramer M. L., Schutkowski M., Reimer U., Fischer G. "Barriers to Rotation of Secondary Amide Peptide Bonds", *J. Am. Chem. Soc.* 1998, 120, 5568-5574.
- Schmid F. X., Mayr L. M., Mucke M., Schönbrunner E. R. "Prolyl Isomerases: Role in Protein Folding", *Adv. Protein Chem.* 1993, 44, 25-66.
- Schweitzer-Stenner R. "Advances in Vibrational Spectroscopy as a Sensitive Probe of Peptide and Protein Structure. A Critical Review", *Vibr. Spectrosc.* 2006, 42 (1), 98-117.
- Searle M. S., Williams D. H. "The Cost of Conformational Order: Entropy Changes in Molecular Associations", *J. Am. Chem. Soc.* 1992, 114, 10690-10697.

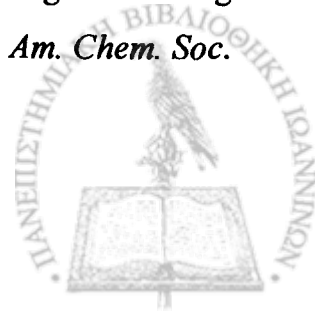


- Searle M. S., Westwell M. S., Williams D. H. "Application of a Generalized Enthalpy-Entropy Relationship to Binding Co-operativity and Weak Associations in Solution", *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* 1995, 2, 141-151.
- Shi T., Spain S. M., Rabenstein D. L. "Unexpectedly Fast *Cis/Trans* Isomerization of Xaa-Pro Peptide Bonds in Disulfide-Constrained Cyclic Peptides", *J. Am. Chem. Soc.* 2004, 126, 790-796.
- Shin S., A. Kurawaki A., Hamada Y., Shinya K., Ohno K., Tohara A., Sato M. "Conformational Behavior Of *N*-methylformamide in The Gas, Matrix, and Solution States as Revealed by IR and NMR Spectroscopic Measurements and by Theoretical Calculations" *J. Mol. Struct.* 2006, 791, 30-40.
- Siegal G., van Duynhoven J., Baldus M. "Biomolecular NMR: Recent Advances in Liquids, Solids and Screening", *Current Opinion in Chemical Biology* 1999, 3, 530-536.
- Spector T. I., Kollman P. A. "Investigation of the Anomalous Solvation Free Energies of Amides and Amines: FEP Calculations in Cyclohexane and PS-GVB Calculations on Amide-Water Complexes", *J. Phys. Chem. B* 1998, 102, 4004-4010.
- Spyracopoulos L., Sykes B. D. "Thermodynamic Insights into Proteins from NMR Spin Relaxation Studies", *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2001, 11, 555-559.
- Stevens E. S., Sugawara N., Bonora G. M., Toniolo C. "Conformational Analysis of Linear Peptides. 3. Temperature Dependence of NH Chemical Shifts in Chloroform", *J. Am. Chem. Soc.* 1980, 102, 7048-7050.
- Stewart D. E., Sarkar A., Wampler J. E. "The Occurrence and Role of *Cis* Peptide Bonds in Protein Structures", *J. Mol. Biol.* 1990, 214, 253-260.
- Stewart W. E., Siddall T. H. "Nuclear Magnetic Resonance Studies of Amides", *Chem. Rev.* 1970, 70, 517-551.
- Stone M. J. "NMR Relaxation Studies of the Role of Conformational Entropy in Protein Stability and Ligand Binding", *Acc. Chem. Res.* 2001, 34, 379-388.
- Sugawara M., Tonan K., Ikawa S.-i. "Effect of Solvent on the *Cis-Trans* Conformational Equilibrium of a Proline Imide Bond of Short Model Peptides in Solution", *Spectrochim. Acta Part A*, 2001, 57, 1305-1316.



- Sugawara N., Stevens E. S., Bonora G. M., Toniolo C. "Conformational Analysis of Linear Peptides. 2. A Vapor-Pressure Osmometry Study of Self-Association in Chloroform", *J. Am. Chem. Soc.* 1980, *102*, 7044-7047.
- Sul S., Karaickaj D., Jiang Y., Ge N.-H. "Conformations of *N*-Acetyl-L-Prolinamide by Two-Dimensional Infrared Spectroscopy", *J. Phys. Chem. B* 2006, *110*, 19891-19905.
- Taha A. N., True N. S. "Experimental ^1H NMR and Computational Studies of Internal Rotation of Solvated Formamide", *J. Phys. Chem. A* 2000, *104*, 2985-2993.
- Taylor C. M., Hardré R., Edwards P. J. B., Park J. H. "Factors Affecting Conformation in Proline-Containing Peptides", *Organic Letters* 2003, *5*(23), 4413-4416.
- Tjandra N., Bax A. "Solution NMR Measurement of Amide Proton Chemical Shift Anisotropy in ^{15}N -Enriched Proteins. Correlation with Hydrogen Bond Length", *J. Am. Chem. Soc.* 1997, *119*, 8076-8082.
- Torchia D. A. "Evidence for *Cis* Peptide Bonds in Copolypeptides of Glycine and Proline" *Biochemistry* 1972, *11*, 1462-1468.
- Troganis A., Gerothanassis I. P., Athanassiou Z., Mavromoustakos T., Hawkes G. E., Sakarellos C. "Thermodynamic Origin of *Cis/Trans* Isomers of a Proline-Containing β -Turn Model Dipeptide in Aqueous Solution: A Combined Variable Temperature ^1H -NMR, Two-Dimensional ^1H , ^1H Gradient Enhanced Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy (NOESY), One-Dimensional Steady-State Intermolecular ^{13}C , ^1H NOE, and Molecular Dynamics Study", *Biopolymers* 2000, *53*, 72-83.
- Troganis A., Sicilia E., Barbarossou K., Gerothanassis I. P., Russo N. "Solvation Properties of *N*-substituted *Cis* and *Trans* Amides are Not Identical: Significant Enthalpy and Entropy Changes are Revealed by the Use of Variable Temperature ^1H NMR in Aqueous and Chloroform Solutions and Ab Initio Calculations", *J. Phys. Chem. A* 2005, *109*, 11878-11884.
- Tsierkezos N. G., Filippou A. C. "Thermodynamic Investigation of *N,N*-dimethylformamide/Toluene Binary Mixtures in the Temperature Range From 278.15 to 293.15 K" *J. Chem. Thermodynamics* 2006, *38*, 952-961.
- Tsuboi M., Shimanouchi T., Mizushima S.-I. "Near Infrared Spectra of Compounds with Two Peptide Bonds and the Configuration of a Polypeptide Chain. VII. On the Extended Forms of Polypeptide Chains", *J. Am. Chem. Soc.* 1959, *81*, 1406-1411.

- Vaara J., Kaski J., Jokisaari J., Diehl P. "NMR Properties of Formamide: A First Principles and Experimental Study", *J. Phys. Chem. A* 1997, 101, 5069-5081.
- Wang Z., Pakoulev A., Pang Y., Dlott D. D. "Vibrational Substructure in the OH Stretching Band of Water", *Chem. Phys. Lett.* 2003, 378, 281-288.
- Wang W.-H., Hsieh H.-Ch. "Direct Evidence for the Imidic Acid Mechanism of Proton Exchange in *N*-Methyl Amides", *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 1994, 67, 216-221.
- Westwell M. S., Searle M. S., Klein J., Williams D. H. "Successful Predictions of the Residual Motion of Weakly Associated Species as a Function of the Bonding Between Them", *J. Phys. Chem.* 1996, 100, 16000-16001.
- Wiberg K. B., Rablen P. R., Rush D. J.; Keith T. A. "Amides. 3. Experimental and Theoretical Studies of the Effect of the Medium on the Rotational Barriers for *N,N*-Dimethylformamide and *N,N*-Dimethylacetamide", *J. Am. Chem. Soc.* 1995, 117, 4261-4270.
- Williams D. H., Westwell M. S. "Aspects of Weak Interactions" *Chem. Soc. Rev.* 1998, 27, 57-63.
- Williams K. A., Deber C. M. "Proline Residues in Transmembrane Helices: Structural or Dynamic Role?", *Biochemistry* 1991, 30(37), 8919-8923.
- Winkler F. K., Dunitz J. D. "The Non-Planar Amide Group", *J. Mol. Biol.* 1971, 59, 169-182.
- Wolfenden R. "Free Energies of Hydration and Hydrolysis of Gaseous Acetamide", *J. Am. Chem. Soc.* 1976, 98, 1987-1988.
- Wolfenden R. "Interaction of the Peptide Bond with Solvent Water: A Vapor Phase Analysis", *Biochemistry* 1978, 17(1), 201-204.
- Wu M. G., Deem M. W. "Analytical Rebridging Monte Carlo: Application to *Cis/Trans* Isomerization in Proline-containing, Cyclic Peptides" *J. Chem. Phys.* 1999, 111, 6625-6632.
- Wu W.-J., Raleigh D. P. "Local Control of Peptide Conformation: Stabilization of *Cis* Proline Peptide Bonds by Aromatic Proline Interactions", *Biopolymers* 1998, 45, 381-394.
- Yang J., Gellman S. H. "Energetic Superiority of Two-Center Hydrogen Bonding Relative to Three-Center Hydrogen Bonding in a Model System" *J. Am. Chem. Soc.* 1998, 120, 9090-9091.



- Yu H.-A., Pettitt B. M., Karplus M. "Aqueous Solvation of *N*-Methylacetamide Conformers: Comparison of Simulations and Integral Equation Theories *J. Am. Chem. Soc.* 1991, *113*, 2425-2434.
- Zielkiewicz J., Mazerski J. "Solvation of *N*-Methylformamide by Ethanol: A Comparison of Molecular Dynamics Calculations with the Experimental Data", *J. Phys. Chem. B* 2002, *106*, 861-869.

