

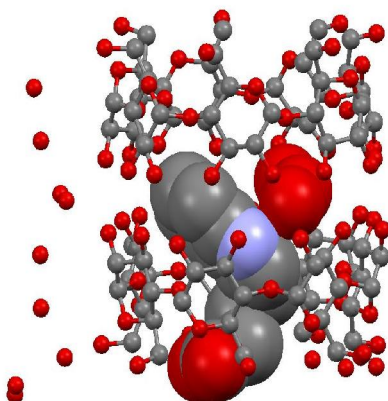
**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΓΕΝΙΚΟ ΤΜΗΜΑ**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΚΗΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΘΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ ΣΤΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑ»
ΚΛΑΔΟΣ ΙΙΙ: ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΘΕΜΑ:

*“Σχηματισμός, Κρυσταλλογραφική μελέτη και
Βιοδοκιμές του Προϊόντος Εγκλεισμού της
Φυτοορμόνης IBA (ινδολο-3-βουτυρικό οξύ)
σε β-Κυκλοδεξτρίνη”*



**Βασιλική Ε. Μάζη
Βιολόγος**

**Επιβλέπων καθηγητής: Κ. Μπεθάνης, Επίκουρος Καθηγητής, Γενικό
Τμήμα, Εργ. Φυσικής, Γ.Π.Α.**

ΑΘΗΝΑ 2012

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΘΕΜΑ:

“ Σχηματισμός, Κρυσταλλογραφική μελέτη και Βιοδοκιμές του Προϊόντος Εγκλεισμού της Φυτοορμόνης IBA (ινδολολο-3-βουτυρικό οξύ) σε β-Κυκλοδεξτρίνη”

ΒΑΣΙΛΙΚΗ Ε. ΜΑΖΗ
ΒΙΟΛΟΓΟΣ

Επιβλέπων καθηγητής: Κ. Μπεθάνης, Επίκουρος Καθηγητής, Γενικό Τμήμα, Εργ. Φυσικής, Γ.Π.Α.

Τριμελής Συμβουλευτική και Εξεταστική Επιτροπή:

Κ.Μπεθάνης, Επίκουρος Καθηγητής, Γενικό Τμήμα, Εργ. Φυσικής Γ.Π.Α., Εισηγητής

Α.Χούντας, Καθηγητής, Γενικό Τμήμα, Δ/ντης Εργ. Φυσικής Γ.Π.Α., Μέλος

Ι. Κλώνης, Καθηγητής, Τμήμα Βιοτεχνολογίας, Δ/ντης Εργ. Ενζ. Τεχνολογίας Γ.Π.Α.,

Μέλος

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ		σελ.
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....		5
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....		6
ABSTRACT.....		7
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....		9
1.1 IBA.....		9
2.ΦΥΤΟΟΡΜΟΝΕΣ.....		11
1.2.1. Γενικά.....		11
1.2.2. Αυξίνες.....		13
1.2.3. Ορμονική δράση των αυξινών.....		15
1.2.4. Επιδράσεις- Εφαρμογές.....		17
1.2.5. Βιοσύνθεση και μηχανισμός δράσης του IBA.....		19
1.3. ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΕΣ.....		25
1.3.1. Κυκλοδεξτρίνες και φυτοφάρμακα.....		28
1.3.2. Μηχανισμοί της δράσης των κυκλοδεξτρινών.....		28
1.3.3 Εγκλεισμός ξενιζομένου μορίου σε κυκλοδεξτρίνη.....		31
1.4. ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΑ ΑΚΤΙΝΩΝ Χ.....		32
1.4.1. Γενικά.....		32
1.4.2. Κρυστάλλωση.....		32
1.4.3. Ακτίνες Χ-Συνθήκη των Bragg.		33
1.4.4. Επεξεργασία με μετασχηματισμό Fourier.....		34
1.4.5. Προσδιορισμός της κρυσταλλικής δομής.....		36
1.5. ΣΥΜΠΛΟΚΑ IBA ΜΕ ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗ.		36
2. ΣΚΟΠΟΣ.....		37
3.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....		40

3.1. ΚΡΥΣΤΑΛΛΩΣΗ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΑΡΓΗΣ ΨΥΞΗΣ	40
.....	
3.1.1. Επιλογή και στήριξη του κρυστάλλου(Mouiting)	41
3.2. ΚΡΥΣΤΑΛΛΩΣΗ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ β-CD/IBA	42
3.3. ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ	44
3.4. ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ	48
3.4.1. Επίλυση δομής και βελτιστοποίηση δομής	48
3.4.2. Έλεγχος αξιοπιστίας των συντεταγμένων της δομής	51
3.4.3. Οπτικοποίηση	51
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ	54
4.1. ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΤΟΥ ΞΕΝΙΣΤΗ (β-CD) ΣΤΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ	54
4.2. ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΔΙΜΕΡΟΥΣ ΤΗΣ β-CD ΣΤΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ β-CD/IBA	61
4.3. ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ β-CD/IBA	64
4.4. ΚΡΥΣΤΑΛΛΙΚΗ ΜΟΡΙΑΚΗ ΔΙΑΤΑΞΗ ΤΩΝ ΔΙΜΕΡΩΝ ΤΗΣ β-CD (Crystal Packing)	71
4.5. ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΤΟΥ ΔΙΚΤΥΟΥ ΤΩΝ ΜΟΡΙΩΝ ΝΕΡΟΥ	76
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	78
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	80
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι	84
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ	85

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα ερευνητική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Φυσικής του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Θέλω να ευχαριστήσω θερμά τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Κωνσταντίνο Μπεθάνη, για την επίβλεψη της εργασίας, την αμέριστη συμπαράσταση και διαρκή συμβολή του κατά τη διάρκεια της διεξαγωγής της. Τον ευχαριστώ για τις πολύτιμες συμβουλές του, για την υπομονή του και για όσα μου δίδαξε.

Ευχαριστώ τον Καθηγητή κ. Α. Χούντα, Δ/ντή του Εργ. Φυσικής, του Γενικού Τμήματος του Γ.Π.Α για το ενδιαφέρον και τη βοήθειά του.

Ευχαριστώ τον Καθηγητή, κ. Ι. Κλώνη, Δ/ντή του Εργαστηρίου. Ενζυμικής Τεχνολογίας, του Τμήματος Βιοτεχνολογίας του Γ.Π.Α., για τις παρατηρήσεις, τις συμβουλές και τη φιλία του.

Ευχαριστώ, ιδιαιτέρως, τον υποψήφιο διδάκτορα κ. Ηλία Χριστοφορίδη για την πολύτιμη βοήθειά του και τα μέλη του Εργαστηρίου Φυσικής για τη φιλία τους.

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για την συμπαράστασή τους, την υπομονή και την αγάπη τους.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα διατριβή μελετήθηκε ο εγκλεισμός του IBA σε β -κυκλοδεξτρίνη με κρυσταλλογραφία ακτίνων X. Το IBA θεωρείται ως μία συνθετική αυξίνη, αν και τα τελευταία χρόνια αναγνωρίστηκε ως ένα φυσικό συστατικό των φυτών, και χρησιμοποιείται εκτενώς, για την επαγωγή της ριζοβολίας των μοσχευμάτων. Ο εγκλεισμός του IBA σε κυκλοδεξτρίνες προσφέρει ευεργετικές μεταβολές στις φυσικοχημικές ιδιότητές του (αύξηση υδατοδιαλυτότητας και επομένως βιοδιαθεσιμότητας, προστασία, σταθερότητα, κ.λ.π.) καθώς και ελεγχόμενη απελευθέρωση του μορίου. Για τους λόγους αυτούς παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον η μελέτη του προϊόντος εγκλεισμού του IBA σε β -κυκλοδεξτρίνη, η οποία έχει το χαμηλότερο κόστος ώστε το προϊόν να μπορεί να αναπτυχθεί και να εφαρμοσθεί ευρέως στη γεωπονία.

Κατά την πειραματική διαδικασία οι βέλτιστοι κρύσταλλοι για την συλλογή δεδομένων ακτίνων X ήταν εκείνοι, που δημιουργήθηκαν από το δείγμα β -κυκλοδεξτρίνης/IBA, με στοιχειομετρική αναλογία 1.5/1. Η κρυσταλλική δομή, που διαμορφώθηκε, αποτελείτο από διμερή με μοριακή αναλογία β -κυκλοδεξτρίνη/IBA 2/1. Η συμμετρία ομάδας χώρου ήταν C 2, ενώ οι διαστάσεις της μοναδιαίας κυψελίδας ήταν $a= 19.235(5) \text{ \AA}$, $b= 24.561(3) \text{ \AA}$, $c= 16.023 \text{ \AA}(19)$. Δύο μόρια β -κυκλοδεξτρίνης, με προσανατολισμό κεφαλής-κεφαλής (head-to-head), συνδέονται με δεσμούς υδρογόνου μεταξύ τους, κατά μήκος του άξονα b και σχηματίζουν διμερές. Τα διμερή, που διευθετούνται κατά μήκος των αξόνων a και b , σχηματίζουν στρώσεις κατά τον άξονα c , ακολουθώντας διάταξη τύπου καναλιού. Ένα μόριο IBA εγκλείεται στην υδροφοβική κοιλότητα του διμερούς της β -κυκλοδεξτρίνης, σχηματίζοντας σύμπλοκο και στατιστικά μπορεί να βρεθεί σε δύο θέσεις, κατά μήκος του άξονα b . Η θέση του ινδολικού δακτυλίου του IBA μέσα στην κοιλότητα της β -κυκλοδεξτρίνης δεν επιτρέπει τον εγκλεισμό και άλλου μορίου IBA στο συμμετρικό του ξενιστή. Παρατηρείται, επίσης, ένα μόριο νερού εγκλεισμένο στην κοιλότητα που σχηματίζει το διμερές. Το μόριο, αυτό, του νερού βρίσκεται αποδιατεταγμένο σε δύο θέσεις, σε μία από τις οποίες δεσμεύεται με δεσμό υδρογόνου με το άτομο του αζώτου του ινδολίου του ξενιζόμενου μορίου.

ABSTRACT

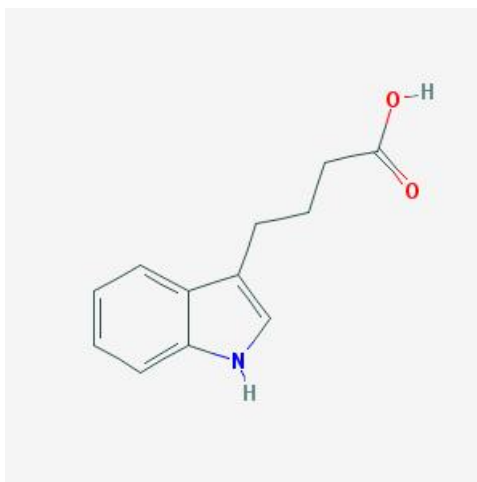
The structure of the indole-3-butyric acid (IBA) inclusion compound in β -cyclodextrin (β -CD) has been investigated by X-ray crystallography. IBA is used extensively as a synthetic auxin for the induction of root formation (including the rooting of cuttings). The last few years, only, was it identified as a natural constituent of plants. The inclusion of IBA in β -CD offers many beneficial modifications in its physicochemical properties and a controlled release. Crystallization has been achieved using a β -CD/ IBA 2:1 molar ratio. The formed β -CD/IBA inclusion complex crystallizes in the $C2$ space group with unit cell dimensions $a = 19.235(5)$ Å, $b = 24.561(3)$ Å, $c = 16.023(19)$ Å. Two β -CD molecules, related by the b axis form head-to-head dimers each containing one guest molecule. The dimers, translated along a and b axes, form layers, stacking along the c axis according to Channel packing mode. One guest molecule is included inside the β -CD dimeric cavity, statistically distributed over two positions related by the b axis. The location of the guest's indole moiety of IBA close to the intradimer region inside the β -CD cavity does not allow the inclusion of two IBA molecules, because of short contacts between the symmetry related guests (0.335 Å). The fact that only one of the two monomers in the dimer is hosting a guest is confirmed by the presence of one molecule of water, disordered in two positions inside the dimeric cavity.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

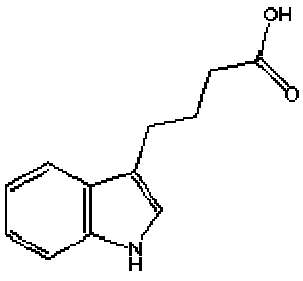
1.1 ΤΟ ΜΟΡΙΟ ΤΟΥ IBA.

Το όνομα του IBA κατά IUPAC είναι ινδολο-3-βουτυρικό οξύ. Το IBA είναι μία φυτική ορμόνη της οικογενείας των αυξινών και είναι υπεύθυνο για τη ριζοβολία των μοσχευμάτων. Είναι ένα λευκό έως ελαφρώς κίτρινο κρυσταλλικό στερεό. Χρησιμοποιείται ευρέως, από το 1934, μαζί με το ναφθαλενοξικό οξύ και το ναφθυλακεταμίδιο, και διατίθεται ως εμπορικό προϊόν σε μορφή σκόνης ή διαλύματος (Fryer & Makepeace, 1977). Το IBA είναι αδιάλυτο στο νερό και για να χρησιμοποιηθεί στη φυτική ριζοβολία διαλύεται σε 75% ή καθαρότερη αιθανόλη δημιουργώντας ένα διάλυμα μεταξύ των 10 και 50 ppm. Κατόπιν, σ' αυτό το αλκοολικό διάλυμα προστίθεται αποσταγμένο νερό για να επιτευχθεί η επιθυμητή συγκέντρωση. Το IBA διατίθεται, επίσης, και ως άλας, που είναι ευδιάλυτο στο νερό. Το διάλυμα πρέπει να φυλάσσεται σε δροσερό και σκοτεινό μέρος για καλύτερα αποτελέσματα. Για πολλά χρόνια θεωρείτο ότι ήταν μία συνθετική αυξίνη, όμως πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι είναι ένα φυσικό συστατικό (Bandurski *et al.*, 1995). Βρέθηκε, επίσης, ότι συμβαίνει αλληλομετατροπή μεταξύ του IBA και του IAA (ινδολο-3-οξικό οξύ), της πρώτης φυσικής αυξίνης που απομονώθηκε στα φυτά και έχει μελετηθεί διεξοδικά. Θεωρείται ότι υπάρχει μία βιοχημική σχέση μεταξύ τους (Ludwig-Muller *et al.*, 1995). Η κρυσταλλική δομή και η φυσιολογική δράση του IAA και πλήθους παραγώγων του έχουν μελετηθεί εκτενώς (Nigovic *et al.*, 2000). Όμως, δεν έχει βρεθεί καμία συσχέτιση των φυσικοχημικών ιδιοτήτων και των δομικών παραμέτρων με την βιολογική τους δράση.



Σχήμα 1.1. Συντακτικός τύπος του IBA.

Πίνακας 1.1. Συνοπτικός πίνακας των κύριων φυσικοχημικών ιδιοτήτων του IBA

Ινδολοβουτυρικό οξύ	
	<ul style="list-style-type: none"> • 4-(3-1H-Indolyl)butyric acid • 1H-Indole-3-butyric acid • Hormex • Oxyberon • Seradix • Stim-Root
Μοριακός Τύπος	C ₁₂ H ₁₃ NO ₂
Συντακτικός Τύπος	
Μορφή	Μπεζ-ροζ στερεό με ελαφρά, χαρακτηριστική οσμή.
Χρήση	Φυτορρυθμιστική ουσία – διεγείρει τη ριζοβολία των μοσχευμάτων.
Κατηγορία Τοξικότητας	Μεταλλαξιογόνο
Μοριακό Βάρος	203.24
Σημείο Τήξης	121-126° C
Πυκνότητα	1.27g/cm ³
Διαλυτότητα στο νερό	Δυσδιάλυτο
pKa	4.83
Σταθερότητα	Σταθερό σε συνήθεις συνθήκες.
Ασυμβατότητες	Ισχυροί οξειδωτικοί παράγοντες, ισχυρές βάσεις.
Προϊόντα αποδόμησης	Οξείδια αζώτου, CO, CO ₂
Αποθήκευση	Σε δοχεία συσκευασίας ερμητικά κλειστά, σε δροσερό και ξηρό, και καλά αεριζόμενο περιβάλλον, μακριά από μη συμβατές ουσίες.
Υγεία	Οι τοξικές ιδιότητες της ουσίας δεν έχουν ερευνηθεί πλήρως. Πιθανός ερεθισμός πεπτικής οδού κατά την κατάποση, τραχείας κατά την εισπνοή, ματιών και δέρματος κατά την επαφή.

1.2. ΦΥΤΟΡΜΟΝΕΣ

1.2.1 Γενικά

Οι φυτικές ορμόνες είναι χημικές ενώσεις, που σε μικρές ποσότητες προάγουν και επηρεάζουν την αύξηση, την ανάπτυξη και την διαφοροποίηση κυττάρων και ιστών. Η βιοσύνθεσή τους γίνεται μέσα στους φυτικούς ιστούς και μετακινούνται εύκολα σε όλο το φυτό. Η διακίνησή τους γίνεται με τέσσερις τρόπους: α) κυτοπλασμική ροή εντός των κυττάρων, β) αργή διάχυση μεταξύ των κυττάρων, γ) διακίνηση μέσω ηθμών από τα φύλλα προς τις ρίζες και τα άνθη και δ) διακίνηση νερού και μέσω των ξυλωδών αγγείων από τις ρίζες προς το φύλλωμα. Τα φυτά χρειάζονται τις ορμόνες σε πολύ συγκεκριμένες χρονικές στιγμές κατά την διάρκεια της ανάπτυξης και σε συγκεκριμένες θέσεις, αλλά θα πρέπει να απαλλάσσονται από τις επιδράσεις τους, όταν πλέον δεν τις χρειάζονται. Η παραγωγή των ορμονών συχνά πραγματοποιείται σε θέσεις ενεργής αύξησης μέσα στα μεριστώματα και προτού τα κύτταρα διαφοροποιηθούν πλήρως. Μετά τον σχηματισμό τους, οι ορμόνες, μετακινούνται σε άλλο μέρος του φυτού, όπου προκαλούν άμεσες επιδράσεις ή αποθηκεύονται στα κύτταρα ώστε να απελευθερωθούν αργότερα. Τα φυτά χρησιμοποιούν διαφορετικά μεταβολικά μονοπάτια για να ρυθμίσουν εσωτερικά τις ποσότητες των ορμονών και να μετριάσουν τις επιδράσεις τους. Ρυθμίζουν δηλαδή την ποσότητα των χημικών, που χρησιμοποιούνται στην βιοσύνθεση των ορμονών, απενεργοποιούν ή αναστέλλουν την δράση των ήδη σχηματισμένων ορμονών αναγκάζοντας, τις τελευταίες να ενωθούν με υδρογονάνθρακες, αμινοξέα ή πεπτίδια ή τέλος τις αποδομούν αποτελεσματικά καταστρέφοντας ή αποθηκεύοντας αυτές στα κύτταρα. Τα φυτά μεταφέρουν ορμόνες και εκτός του φυτικού σώματος, αραιώνοντας την συγκέντρωσή τους. Δεν αντιδρούν όλα τα φυτικά κύτταρα στις ορμόνες και αυτά που το κάνουν είναι προγραμματισμένα να ανταποκρίνονται σε συγκεκριμένα σημεία κατά την αύξησή τους, ώστε οι μεγαλύτερες επιδράσεις να συμβαίνουν σε συγκεκριμένα στάδια της ζωής των κυττάρων.

Η συγκέντρωση των ορμονών που απαιτείται για να ανταποκριθεί το φυτό είναι πολύ χαμηλή (10^{-6} έως 10^{-5} mol/L), κι έτσι η μελέτη τους δεν είχε να επιδείξει κάτι σημαντικό μέχρι την δεκαετία του '70. Οι περισσότερες εργασίες που είχαν γίνει έως τότε επικεντρώνονταν στις γενετικές δυσλειτουργίες ή στην σύγκριση του ρυθμού ανάπτυξης φυτικών ιστών, που καλλιεργήθηκαν *in vitro* με διαφορετικές αναλογίες ορμονών (Χριστοφορίδης Η., 2008).

Οι φυτικές ορμόνες επηρεάζουν την έκφραση των γονιδίων και τα επίπεδα μεταγραφής, την κυτταρική διαίρεση και ανάπτυξη.

Γενικά, υπάρχουν πέντε κύριες κατηγορίες φυτικών ορμονών, ορισμένες από τις οποίες αποτελούνται από διαφορετικής χημικής σύστασης ουσίες. Κάθε ουσία τοποθετείται σε μια κατηγορία με βάση την δομή της και την επίδραση στην φυσιολογία του φυτού. Άλλοι φυτικοί ρυθμιστές αύξησης δεν εντάσσονται εύκολα σε κάποια από τις προαναφερθείσες κατηγορίες. Κάθε κατηγορία επιφέρει συνεργιστικές ή παρεμποδιστικές επιδράσεις στην φυσιολογία του φυτού εξαρτώμενη από την αναλογία της ουσίας σε σχέση με την αντίστοιχη άλλης κατηγορίας. Οι πέντε κατηγορίες είναι:

A) Το αμψισικό οξύ (ABA)

Δρα ως αναστολέας επηρεάζοντας την ανάπτυξη του βλαστού και τον λήθαργο του σπόρου. Χωρίς το ABA, τόσο ο βλαστός όσο και ο σπόρος του φυτού θα αρχίσει να εκπύσσεται κατά τις θερμές περιόδους του χειμώνα και θα καταστραφεί με την πρώτη παγωνιά. Σε φυτά που βρίσκονται υπό υδατικό στρες, το ABA παίζει ρόλο στο κλείσιμο των στοματίων.

B) Οι αυξίνες

Οι αυξίνες είναι ουσίες που επηρεάζουν θετικά την επιμήκυνση του κυττάρου, τον σχηματισμό του βλαστού και την δημιουργία της ρίζας. Επίσης, προάγουν την παραγωγή άλλων ορμονών και σε συνδυασμένη δράση με τις κυτοκινίνες ελέγχουν την αύξηση βλαστών, ριζών, ανθέων και καρπών. Οι αυξίνες είναι τοξικές σε πολύ μεγάλες συγκεντρώσεις, κυρίως στα μονοκότυλα και λιγότερο στα δικότυλα φυτά.

Γ) Οι κυτοκινίνες

Οι κυτοκινίνες ή CKs είναι ουσίες που επηρεάζουν την κυτταρική διαίρεση και τον σχηματισμό των βλαστών. Βοηθούν στην καθυστέρηση της ωρίμανσης των ιστών, είναι υπεύθυνες για την μεταφορά των αυξινών εκτός του φυτού και επηρεάζουν το μήκος των μεσογονάτιων διαστημάτων και την αύξηση των φύλλων. Οι κυτοκινίνες δρουν ανταγωνιστικά με τις αυξίνες στο φαινόμενο της κυριαρχίας της κορυφής, αλλά συνεργιστικά με το αιθυλένιο, όπου προάγουν την ωρίμανση των φύλλων, των ανθικών μερών και των καρπών.

Δ) Το αιθυλένιο

Το αιθυλένιο είναι αέριο που σχηματίζεται από την αποδόμηση της μεθειονίνης σε όλα τα κύτταρα. Έχει χαμηλή διαλυτότητα στο νερό και δεν συσσωρεύεται μέσα στα κύτταρα, αλλά διαφεύγει από αυτά. Η δράση του ως φυτική ορμόνη εξαρτάται από τον

ρυθμό παραγωγής προς τον ρυθμό διαφυγής του από το κύτταρο. Νεαροί βλαστοί και εκπυσώμενοι σπόροι παράγουν περισσότερη ποσότητα αιθυλενίου από αυτήν που διαφεύγει, με αποτέλεσμα η αυξημένη παρουσία του να παρεμποδίζει την φυλλική ανάπτυξη. Το αιθυλένιο επηρεάζει την κυτταρική ανάπτυξη και το σχήμα, καθώς και την διάμετρο και το ύψος του βλαστού. Τέλος, επηρεάζει την ωρίμανση των καρπών.

Ε) Οι γιββερελίνες

Οι γιββερελίνες αποτελούνται από ένα μεγάλο αριθμό χημικών ενώσεων, που παράγονται φυσικά από φυτά ή μύκητες. Παίζουν σημαντικό ρόλο στην βλάστηση του σπόρου, επηρεάζοντας την παραγωγή του ενζύμου που ευθύνεται για την αποδόμηση και επομένως για τη χρήση της αποθηκευμένης τροφής στο ενδοσπέρμιο (George *et al.*, 2008).

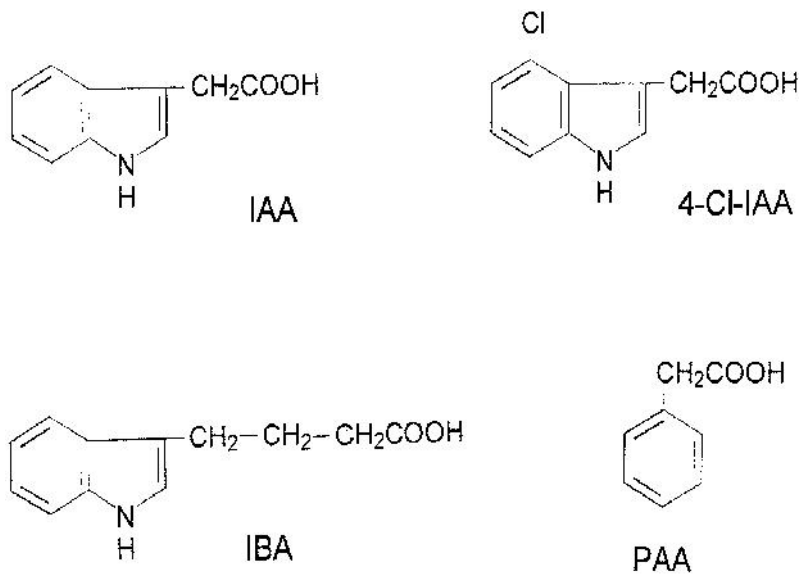
1.2.2. Αυξίνες

Οι αυξίνες είναι φυτικές ορμόνες, που συμμετέχουν στην ανάπτυξη και μορφογένεση των φυτών και την εμφάνιση των φυτικών κινήσεων. Παίζουν σημαντικό ρόλο στον συντονισμό πολλών διαδικασιών ανάπτυξης και συμπεριφοράς καθόλη την διάρκεια του βιολογικού κύκλου του φυτού.

Ιστορικά, είναι οι πρώτες ορμόνες, που ανακαλύφθηκαν και αποτελούν το κυριότερο σήμα για την φυτική ανάπτυξη. Η διαδικασία της μεταφοράς τους μέσα στους φυτικούς ιστούς είναι πολύπλοκη, και οι αυξίνες συχνά δρουν συνεργιστικά (ή ανταγωνιστικά) με άλλες φυτορμόνες, π.χ. η αναλογία αυξίνης προς κυτοκίνη σε συγκεκριμένους φυτικούς ιστούς ευνοεί την ανάπτυξη ριζιδίων, σε βάρος των νέων βλαστών.

Το πιο σημαντικό μέλος της οικογένειας των αυξινών είναι το ινδολο-3-οξικό οξύ (IAA). Συμμετέχει στην πλειοψηφία των αυξητικών επιδράσεων στα νεαρά φυτά, καθώς αποτελεί την ισχυρότερη φυσική αυξίνη. Ωστόσο, τα μόρια του IAA είναι χημικά ασταθή σε υδατικά διαλύματα, κι έτσι το IAA δεν έχει εμπορική εφαρμογή ως φυτικός ρυθμιστής αύξησης.

Οι φυσικές αυξίνες περιλαμβάνουν, εκτός από το IAA, το ινδολο-3-βουτυρικό οξύ (IBA), το 4-χλωρο-ινδολοξικό οξύ και φαινοξυοξικό οξύ (PAA) (Σχήμα 1.2.1.) (J. Ludwig-Müller, 2000). Αντίθετα, οι συνθετικές αυξίνες περιλαμβάνουν το 1-ναφθαλινοξικό οξύ (α -NAA), το 2-ναφθαλινοξικό οξύ (β -NAA), το 4-χλωροφαινοξυοξικό οξύ (4-CPA), 2,4-διχλωροφαινοξυοξικό οξύ (2,4-D), το τριχλωροφαινοξυοξικό οξύ (2,4,5-T) και άλλα

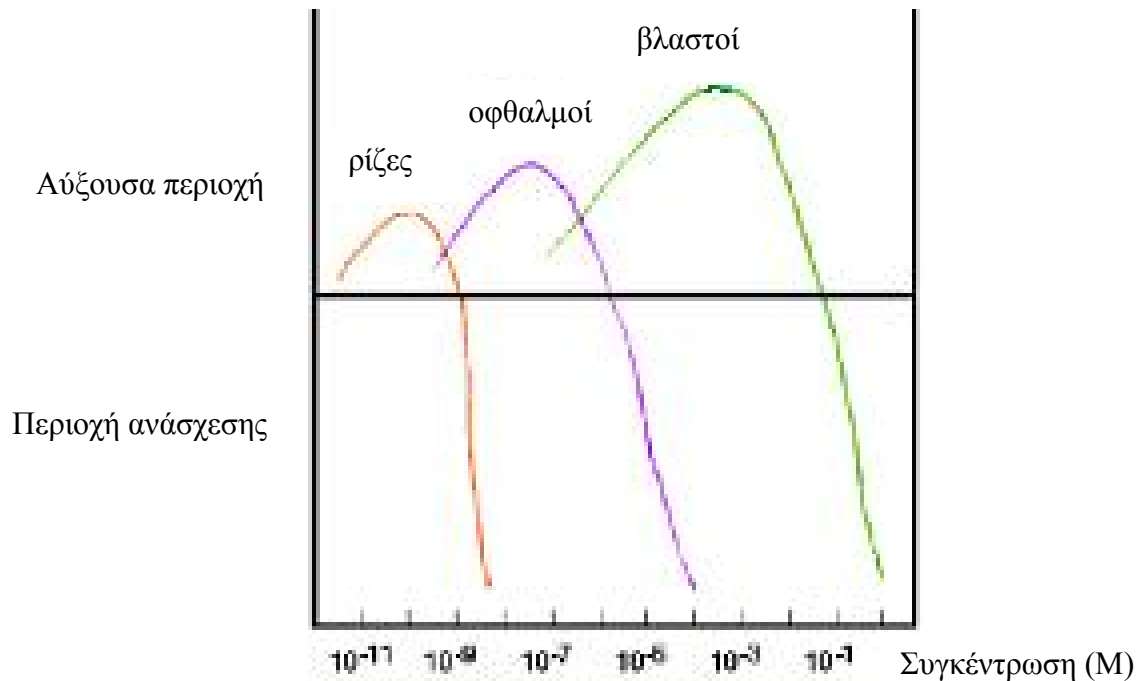


Σχήμα 1.2.1 .Δομή φυσικών αυξινών (J. Ludwig-Müller, 2000)

Οι συνθετικές αυξίνες χρησιμοποιούνται ευρύτατα στη γεωργία, για παράδειγμα για τη ριζοβολία μοσχευμάτων, την αύξηση ανθοφορίας και τη παρεμπόδιση βλάστησης οφθαλμών κονδύλων και βολβών. Επίσης, χρησιμοποιούνται ευρύτατα ως ζιζανιοκτόνα, όπως το 2,4-D.

Οι διάφοροι φυτικοί ιστοί ανταποκρίνονται διαφορετικά στην επίδραση των αυξινών. Οι οφθαλμοί είναι λιγότερο ευαίσθητοι από τις ρίζες και απαιτούν μεγαλύτερη συγκέντρωση αυξινών για να δραστηριοποιηθούν. Οι ρίζες είναι οι πιο ευαίσθητες στις αυξίνες και οι βλαστοί οι λιγότερο ευαίσθητοι.

Έχει παρατηρηθεί ότι, όταν αυξάνεται η συγκέντρωση της αυξίνης, αρχικά, η ανάπτυξη προάγεται, αλλά επιπλέον εφαρμογή της αυξίνης επιφέρει ανάσχεση της ανάπτυξης (Σχήμα 1.2.2., Τσορτέκη Φ., 2006).



Σχ. 1.2.2. Η ανάπτυξη του φυτικού ιστού συναρτίζεται της συγκέντρωσης της αυξίνης για τις ρίζες, τους οφθαλμούς και τους βλαστούς. Σε κάθε καμπύλη διακρίνονται η αύξουσα περιοχή (αύξηση ιστού) και η φθίνουσα περιοχή (ανασχεση ανάπτυξης) (Τσορτέκη Φ., 2006).

1.2.3. Ορμονική δράση αυξινών

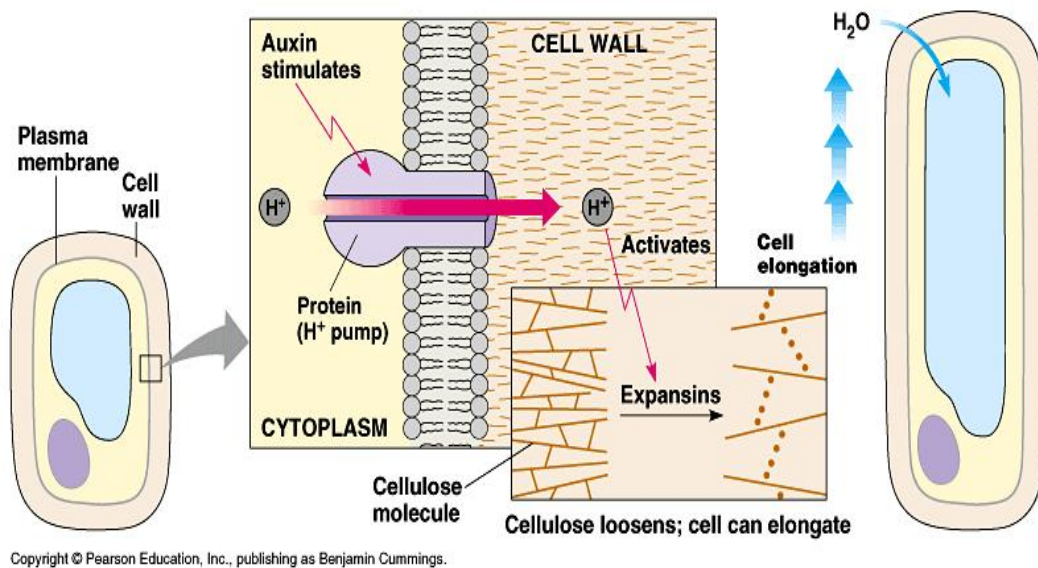
Οι αυξίνες συντονίζουν την ανάπτυξη σε όλα τα επίπεδα, από το κυτταρικό έως την πλήρη ανάπτυξη των οργάνων του φυτού.

Σε μοριακό επίπεδο, οι αυξίνες διεγείρουν ή αναστέλλουν άμεσα την έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων. Πιο συγκεκριμένα, επάγουν την μεταγραφή, στοχεύοντας στον εκφυλισμό των πρωτεϊνών-αναστολέων της παραπάνω διαδικασίας.

Σε κυτταρικό επίπεδο, οι αυξίνες είναι απαραίτητες για την κυτταρική αύξηση, επηρεάζοντας τόσο την κυτταροδιαίρεση όσο και ανάπτυξη του κυττάρου. Ανάλογα με τον ιστό, μπορεί να ευνοούν την επιμήκυνση (στους βλαστούς), την παράλληλη ανάπτυξη (στα φυμάτια των ριζών) ή την ισοδιαμετρική ανάπτυξη (στους καρπούς). Σε

μερικές περιπτώσεις (ανάπτυξη κολεόπτυλου), η εξαρτώμενη από την αυξίνη κυτταρική αύξηση συμβαίνει απουσία κυτταρικής διαίρεσης. Σε άλλες περιπτώσεις, η εξαρτώμενη από την αυξίνη κυτταροδιαίρεση και ανάπτυξη μπορεί να αλληλοδιαδέχονται η μια την άλλη στον ίδιο ιστό (αρχές σχηματισμού ρίζας, ωρίμανση καρπών). Σε ζωντανούς ιστούς φυτών οι αυξίνες φαίνεται να αλληλεπιδρούν στενά με άλλες φυτικές ορμόνες καθορίζοντας το πλάνο της φυτικής ανάπτυξης.

Οι αυξίνες διεγείρουν απευθείας τα πρώτα στάδια της κυτταρικής επιμήκυνσης αναγκάζοντας τα κύτταρα-στόχους να μεταφέρουν ενεργά ιόντα H^+ εκτός του κυττάρου, προκαλώντας έτσι πτώση του pH γύρω από τα συγκεκριμένα κύτταρα. Η πτώση του pH στην περιοχή του κυτταρικού τοιχώματος ενεργοποιεί τα ένζυμα expansins, που αποδιατάσσουν την δομή του κυτταρικού τοιχώματος, καθιστώντας το πιο εύκαμπτο. Το τελευταίο αυξάνεται πλέον πιο εύκολα σε μήκος λόγω της πίεσης, που προέρχεται από το εσωτερικό του κυττάρου, και ειδικά από το αναπτυσσόμενο χυμοτόπιο. (Σχήμα 1.2.3)



Σχήμα 1.2.3..Κυτταρική επιμήκυνση

Εκτός από την συνεισφορά τους στον σχηματισμό οργάνων, οι αυξίνες απαιτούνται για την κατάλληλη ανάπτυξη του ίδιου του φυτού. Χωρίς ορμονική ρύθμιση, τα φυτά θα ήταν ένας σωρός όμοιων κυττάρων. Ο ρόλος των αυξινών ξεκινά από το έμβρυο. Η κατάλληλη κατανομή τους εκεί, πυροδοτεί την αύξηση και ανάπτυξη του φυτού προς μια συγκεκριμένη κατεύθυνση και τον μετέπειτα σχηματισμό του βλαστού και των οργάνων. Καθόλη την διάρκεια της ζωής του φυτού, οι αυξίνες βοηθούν στην διατήρηση αυτής της

πορείας της αύξησης και στην αναγνώριση από το φυτό των κλάδων (ή οργάνων) που συνδέονται με αυτό.

Η κατανομή των αυξινών επηρεάζει και το φαινόμενο που είναι γνωστό ως κυριαρχία της κορυφής. Οι αυξίνες, που παράγονται από τον κορυφαίο βλαστό, διαχέονται προς τα κάτω εμποδίζοντας την έκπτυξη πλάγιων βλαστών, οι οποίοι θα ανταγωνίζονταν τον κορυφαίο για φωτισμό και θρεπτικά στοιχεία.

Προκειμένου να προκληθεί αύξηση σε συγκεκριμένες περιοχές, είναι απαραίτητο οι τελευταίες να περιέχουν υψηλά ποσοστά σε ενεργές αυξίνες. Οι αυξίνες δεν συντίθενται οπουδήποτε, αλλά κάθε κύτταρο διατηρεί την ικανότητα σύνθεσής τους, αλλά μόνον κάτω από κατάλληλες συνθήκες. Για αυτόν τον λόγο, δεν αρκεί να μεταφέρονται στις θέσεις που απαιτούνται, αλλά θα πρέπει να υπάρχει κι ένας μηχανισμός ανίχνευσης αυτών των θέσεων. Η μεταφορά λαμβάνει χώρα σε ολόκληρο το φυτικό σώμα και κυρίως από τους βλαστούς της κορυφής προς τις ρίζες. Για μεγάλες αποστάσεις, η μεταφορά γίνεται διαμέσου των αγγείων του φλοιού, ενώ για μικρές χρησιμοποιείται ένα σύστημα πολικής μεταφοράς από κύτταρο σε κύτταρο. Αυτή η διαδικασία της μεταφοράς είναι κατευθυνόμενη και απολύτως ελεγχόμενη, αφού βασίζεται στην άνιση κατανομή των μεταφορέων των αυξινών στην πλασματική μεμβράνη, που κατευθύνουν τις αυξίνες στην κατάλληλη κατεύθυνση.

Οι αυξίνες εδράζουν:

1. Σε μεριστωματικούς ιστούς βλαστών (και ριζών)
2. Σε νεαρά φύλλα
3. Σε ώριμα φύλλα σε πολύ μικρές ποσότητες
4. Σε ώριμα κύτταρα της ρίζας σε ακόμη μικρότερες ποσότητες

Διακινούνται σε ολόκληρο το φυτό με κατεύθυνση κυρίως από την κορυφή προς τα κάτω.

1.2.4. Επιδράσεις-Εφαρμογές

Οι επιδράσεις των αυξινών στα φυτά και επομένως και οι εμπορικές εφαρμογές τους, συνοψίζονται στα εξής:

A) Επάγουν την κυτταρική επιμήκυνση διεγείροντας την παραγωγή ουσιών, όπως η ελαστίνη, που 'χαλαρώνουν' το κυτταρικό τοίχωμα. Η επίδραση γίνεται εντονότερη παρουσία γιββερελίνης, ενώ παρουσία κυτοκινίνης επάγουν την κυτταρική διαίρεση.

Εφαρμογή αυξίνης και κυτοκινίνης σε κάλλο έχει ως αποτέλεσμα την ριζοβολία, αν η συγκέντρωση της πρώτης είναι μεγαλύτερη από αυτήν την δεύτερης και την ανάπτυξη ξυλώδους ιστού, αν οι συγκεντρώσεις εξισωθούν.

Β) Συμμετέχουν στον φωτοτροπισμό, γεωτροπισμό και τις άλλες αναπτυξιακές αλλαγές.

Γ) Επάγουν συσσώρευση σακχάρων και ανοργάνων συστατικών στα σημεία που απαιτούνται.

Δ) Επάγουν τον σχηματισμό και την οργάνωση του ηθμού και του ξύλου. Σε περίπτωση τραυματισμού του φυτού, οι αυξίνες επάγουν την διαφοροποίηση του κυττάρου και αναγεννούν τους κατεστραμμένους ιστούς των αγγείων.

Ε) Επάγουν τον σχηματισμό νέων ριζών σπάζοντας την κυριαρχία του ακραίου μεριστώματος της ρίζας που προκαλείται από τις κυτοκινίνες. Στον αγενή πολλαπλασιασμό, οι αυξίνες, ειδικά το NAA και το IBA, χρησιμοποιούνται ευρέως προκειμένου τα κομμένα φυτικά τμήματα (μοσχεύματα) να ριζοβολήσουν. Ωστόσο υψηλές συγκεντρώσεις αυξίνης εμποδίζουν την επιμήκυνση της ρίζας και ευνοούν τον σχηματισμό τυχαίων ριζών. Αφαίρεση του ακραίου μεριστώματος της ρίζας οδηγεί στην ανάπτυξη πλαγίων ριζών.

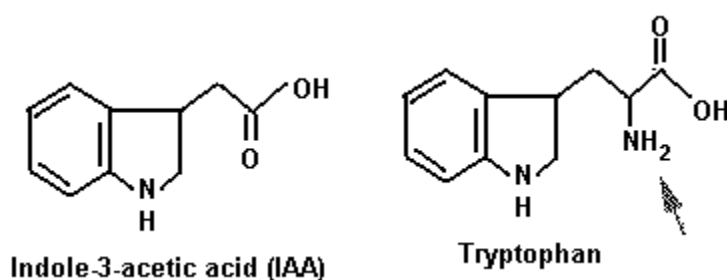
ΣΤ) Επάγουν το φαινόμενο της κυριαρχίας της κορυφής, εμποδίζοντας τους βλαστούς που προέρχονται από μασχαλιαίους οφθαλμούς να αναπτυχθούν. Κι αυτό διότι τα υψηλά ποσοστά αυξίνης στην κορυφή επάγουν άμεσα την σύνθεση αιθυλενίου στους πλάγιους βλαστούς, που αναστέλλει την ανάπτυξή τους. Αφαίρεση της κορυφής, επιτρέπει στο φυτό να αναπτύξει πλάγια βλάστηση

Ζ) Σε χαμηλές συγκεντρώσεις εμποδίζουν τον σχηματισμό αιθυλενίου, ενώ σε υψηλές τον επάγουν. Ωστόσο, η υψηλή συγκέντρωση φαίνεται να επάγει την θηλυκότητα στα άνθη ορισμένων φυτών. Όσον αφορά την άνθηση, δεν φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο, αν και μπορούν να καθυστερήσουν την ωρίμανση των ανθέων σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Ακόμη, εμποδίζουν την πρόωρη απόπτωση και επομένως την ωρίμανση των φύλλων.

Η) Καθυστερούν την ωρίμανση των καρπών. Απαιτούνται για την ανάπτυξη των καρπών. Αφαίρεση σπόρων από φράουλες, σταματά την αύξηση του καρπού, η οποία πάντως μπορεί να συνεχιστεί με εφαρμογή εξωγενούς αυξίνης. Σε καρπούς με μη γονιμοποιημένους σπόρους η εφαρμογή εξωγενούς αυξίνης επιφέρει παρθενοκαρπία.

1.2.5. Βιοσύνθεση και μηχανισμός δράσης του IBA

Τα τελευταία χρόνια έχει αποδειχθεί με TLC, HPLC και φασματοσκοπία GC-MS ότι το IBA, είναι μία ενδογενής ένωση που απαντά σε διάφορα φυτικά είδη. Όταν εφαρμόζεται εξωγενώς, το IBA παρουσιάζει ποικιλία από διαφορετικές επιπτώσεις στην αύξηση και την ανάπτυξη των φυτών, αλλά εξακολουθεί να χρησιμοποιείται κυρίως για την επαγωγή των τυχαίων ριζών. Δεδομένου ότι προσδιορίστηκε ως ενδογενής ένωση σε αρκετά φυτικά είδη, το IBA έχει θεωρηθεί ως ενδογενής αυξίνη. Το IBA αντιπροσωπεύει το 25-30% της ολικής αυξίνης στο φυτό *Arabidopsis*. Ως οδός βιοσύνθεσης του IBA θεωρείται, αυτή, που έχει ως πρόδρομο μόριο το ινδολο-3-οξικό οξύ (IAA). Η φυσική αυξίνη IAA θεωρείται ότι προέρχεται από την θρυπτοφάνη με ενδιάμεσα στάδια την θρυπταμίνη και την ινδολοξική αλδεύδη. Η ομοιότητα στα μόρια της θρυπτοφάνης και του IAA φαίνεται στο Σχήμα 1.2.4.



Σχήμα 1.2.4. Συντακτικοί τύποι IAA και θρυπτοφάνης (George *et al.*, 2008).

Παρά το γεγονός ότι για την βιοσύνθεση του IBA έχει προταθεί και μια οδός, πιθανώς, ανεξάρτητη από το IAA, μέχρι στιγμής έχει αποδειχθεί μόνο ένα μονοπάτι σχηματισμού, κατά το οποίο η πλευρική αλυσίδα του προσχηματισμένου IAA επιμηκύνεται με τη δράση του ενζύμου συνθάση IBA. Ως εκ τούτου, ενδέχεται, το IBA να συντίθεται εξ ολοκλήρου από το IAA (George *et al.*, 2008) (Σχήμα 1.2.5.). Το IBA μπορεί να μετατραπεί ξανά σε IAA με β-οξειδωση από τη δράση ενζύμων στα υπεροξειδώματα και μπορεί να χρησιμεύσει ως μία πιο σταθερή μορφή αποθήκευσης του IAA.

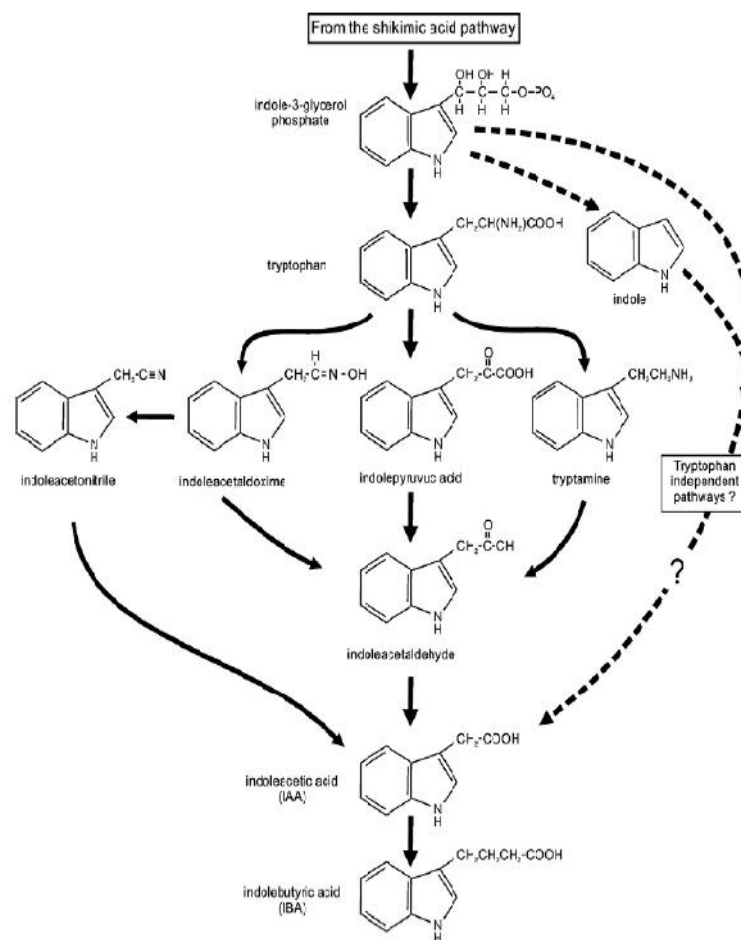
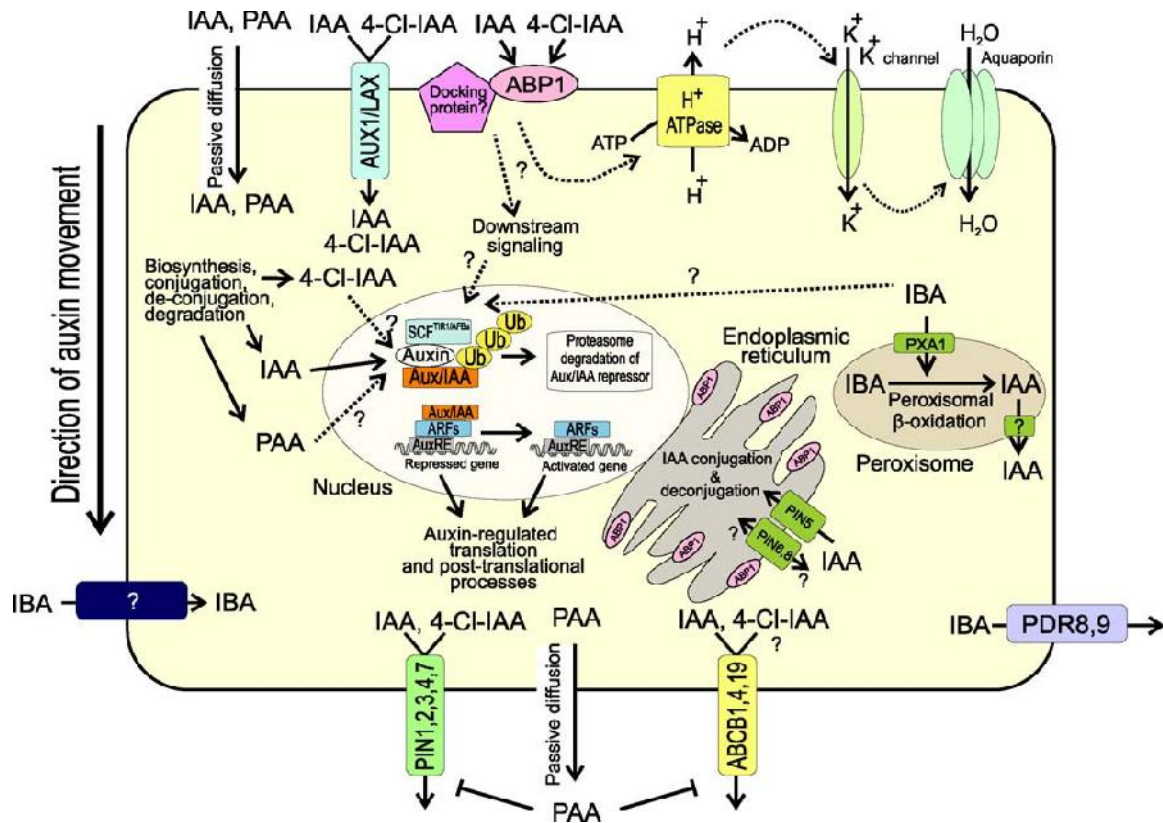


Fig. 5.2 Pathways of IAA biosynthesis.

Σχήμα 1.2.5. Βιοσυνθετική οδός IAA-IBA (George *et al.*, 2008).

Μολονότι, η βιοσύνθεση και ο μεταβολισμός του IAA συμβάλλει σημαντικά στο σχηματισμό της επιπέδων της αυξίνης, η μεταφορά του IAA αποτελεί τον μεγαλύτερο παράγοντα της διαφορετικής κατανομής της αυξίνης. Το IAA μεταφέρεται στη κυτταρική μεμβράνη είτε με παθητική διάχυση σε αδιάστατη μορφή (IAA), είτε με ενεργό μεταφορά σε όξινη μορφή (IAA⁻). Το, περισσότερο, αλκαλικό εσωτερικό περιβάλλον του κυττάρου σε σχέση με το εξωτερικό, χαρακτηρίζεται από υψηλούς ρυθμούς διάστασης του IAA. Ως εκ τούτου, η παθητική πρόσληψη του IAA, ακολουθείται από σημαντικές συγκεντρώσεις του IAA⁻ μέσα στο κύτταρο και απαιτούνται φορείς εισροής και εκροής, που καθορίζουν τη κατεύθυνση της μεταφοράς. Τρεις τύποι φορέων έχουν χαρακτηριστεί στα φυτά. Οι PIN φορείς εκροής, της πλασματικής μεμβράνης, είναι οι πρωταρχικοί παράγοντες, που καθορίζουν τη κατεύθυνση της ροής της αυξίνης στο εσωτερικό του κυττάρου. Μία υποομάδα τους, οι

PIN5, PIN6 και PIN8, θεωρείται, ότι μεταφέρουν την αυξίνη μεταξύ των μεμβρανών του ενδοπλασματικού δικτύου. Οι AUX1/LAX (Auxin Resistant 1/Like Auxin Resistant) φορείς εισροής και οι ABCB/MDR/PGP (ATP-binding cassette subfamilyB/Multidrug Resistance/Phosphoglycoprotein) εμπλέκονται στη ροή των αυξινών στο κύτταρο (Simon S. & Petracek J., 2011) (Σχήμα 1.2.6).



Σχήμα 1.2.6 Απεικόνιση της ενδοκυτταρική κατανομής και μηχανισμοί δράσης των ενδογενών αυξινών (Simon S. & Petracek J., 2011).

Το IAA, εκτός από την παθητική διάχυση, χρησιμοποιεί τους AUX1/LAX φορείς εισροής για την ενεργό πρόσληψή του στο εσωτερικό του κυττάρου και τους PIN / ABCB φορείς για την ενεργό εκροή. Στον πυρήνα βρίσκονται οι υποδοχείς της αυξίνης TIR1/AFB, των F-box πρωτεϊνών. Η αλληλεπίδρασή τους με την αυξίνη έχει ως αποτέλεσμα την έκφραση γονιδίων λόγω της αποδόμησης των Aux/IAA καταστολέων, παρουσία της ουβικιτίνης (ubiquitin). Η αλληλεπίδρασή των TIR1 με τα 4-Cl-IAA, IBA και PAA δεν έχει ακόμη ερευνηθεί. Στην πλασματική μεμβράνη βρίσκονται οι ABP1 πρωτεΐνες, που συνδέονται με μια άγνωστη πρωτεΐνη και ενεργοποιούν την H⁺ATPάση και το κανάλι του καλίου. Η αύξηση των ιόντων του K⁺ προκαλεί την εισροή του νερού μέσα στο κύτταρο και έχει ως αποτέλεσμα την διεύρυνση (σπαργή) του κυττάρου.

Μεγαλύτερο μέρος των ABP1 (ABP1 auxin binding protein) εντοπίζονται στους αυλούς του ενδοπλασματικού δικτύου, αν και η λειτουργία τους εκεί είναι αμφισβητήσιμη. Θα μπορούσαν, ίσως, να συνεργάζονται με τους PIN5, PIN6 φορείς της αυξίνης για τη μεταφορά του IAA μέσα και έξω από το ενδοπλασματικό δίκτυο.

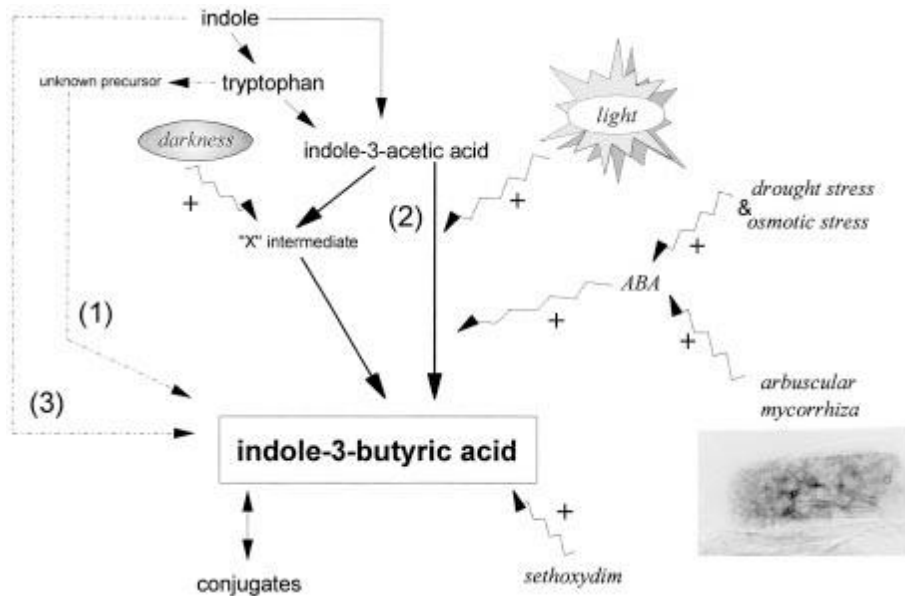
Το IBA μεταφέρεται στα υπεροξεισώματα χρησιμοποιώντας τον PXA1 ABC φορέα και μετατρέπεται σε IAA μέσω β-οξειδωσης. Επίσης, μεταφέρεται, έξω από το κύτταρο μέσω των PDR φορέων. Ο ρόλος των PAA φορέων, που βρίσκονται στη μεμβράνη, δεν έχει, ακόμη, ερμηνευθεί. Έχει αναφερθεί ότι, μάλλον, λειτουργούν ως ρυθμιστές της μεταφοράς IAA.

Αυτή η διαδικασία απαιτεί φορείς, που μεταφέρουν το IBA στα υπεροξεισώματα. Ένας τέτοιος φορέας, ο PXA1 (Peroxisomal ATP Binding transporter) των λιπαρών οξέων, εντοπίστηκε σε μεταλλαγμένα φυτά *Arabidopsis*, που ήταν ανθεκτικά στο IBA.

Το IBA χρησιμεύει μάλλον ως μια σημαντική πηγή του IAA σε καλά ρυθμισμένα αναπτυξιακά και περιβαλλοντικά πλαίσια. Ο σχηματισμός του IAA από το IBA σε νεαρά φυτά *Arabidopsis* διαδραματίζει ένα ρόλο στην επιμήκυνση των ριζικών τριχιδίων και στην επέκταση των κυττάρων της κοτυληδόνας, ενώ η επιμήκυνση του υποκοτυλίου συντηρείται από το IAA. Η ομοιόσταση των IBA-IAA επηρεάζεται από την αυξημένη σύνθεση του IBA σε συνθήκες ξηρασίας και σε stress αλατότητας. Αυξημένη σύνθεση του IBA παρατηρήθηκε, επίσης, σε ρίζες καλαμποκιού μετά από ένοφθαλμισμό μυκήτων (*Arbuscular mycorrhizal*) (Ludwig-Muller J., 2000).

Το IBA μεταφέρεται ενεργά στα φυτά με έναν μηχανισμό μεταφοράς παράλληλο με αυτόν του IAA. Δύο φορείς, στην πλασματική μεμβράνη, από την ομάδα των ABCBG της οικογενείας των PDR πρωτεϊνών (Pleiotropic Drug Resistance), οι PDR8/ABCG36 και PDR9/ABCG37 μεσολαβούν για ενεργό κυτταρική εκροή του IBA στις ρίζες του *Arabidopsis thaliana* (Σχήμα 1.2.6). Και οι δύο φορείς μεταφέρουν ένα ευρύ φάσμα ενώσεων των αυξινών και των μεταβολιτών τους. Ωστόσο, δεν μεταφέρουν το IAA. Ως εκ τούτου, πέραν του ότι είναι μια μορφή αποθήκευσης του IAA, το IBA μέσω της μετατροπής του σε IAA μπορεί να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παραγωγή αυξημένων συγκεντρώσεων IAA κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης ή ως απόκριση σε στρεσογόνους παράγοντες. Οι έρευνες, μέχρι σήμερα, έχουν δείξει ότι το IBA είναι ένας σημαντικός ρυθμιστής της αυξινικής δράσης, ιδιαίτερα κατά τη δημιουργία διαφορετικών επιπέδων IAA σε συγκεκριμένους ιστούς.

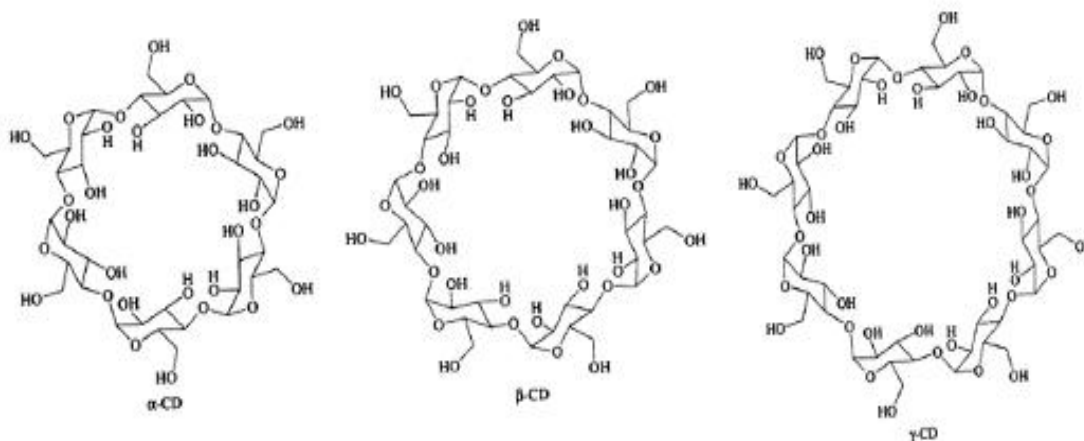
Χρησιμοποιώντας μοριακές τεχνικές, έχουν απομονωθεί πολλά γονίδια, που επάγονται, κατά το σχηματισμό των τυχαίων ριζών, από το IBA. Η βιοσύνθεση του IBA σε αραβόσιτο (*Zea mays* L.) εμπλέκει το IAA ως άμεσο πρόδρομο. Οι μεμβράνες των μικροσωμάτων του αραβόσιτου μπορούν να μετατρέψουν το IAA σε IBA χρησιμοποιώντας ATP και ακετυλο-CoA ως συμπαράγοντες (Babczinski, P. & Fischer R., 1991; Burton J.D. et al., 1989). Το ένζυμο, που καταλύει αυτή την αντίδραση στον αραβόσιτο, απομονώθηκε και έχει μερικώς καθαρισθεί. Η *in vitro* βιοσύνθεση του IBA φαίνεται να ρυθμίζεται από διάφορους εξωτερικούς και εσωτερικούς παράγοντες (Σχήμα 1.2.7.): i) μικροσωμικές μεμβράνες από φυτά αραβόσιτου που αναπτύσσονται σε φως συνθέτουν άμεσα IBA, ενώ από φυτά αραβόσιτου, που αναπτύσσονται σε σκοτεινό μέρος, οι μικροσωμικές μεμβράνες απελευθερώνουν ένα ακόμη άγνωστο προϊόν, το οποίο μετατρέπεται σε IBA σε ένα δεύτερο στάδιο. ii) Ξηρασία και ωσμωτική πίεση αυξάνουν τη βιοσύνθεση του IBA, ίσως μέσω της αύξησης του ενδογενούς αμψισικού οξέος (ABA), επειδή η εφαρμογή του ABA, επίσης, οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα του IBA. iii) Η σύνθεση του IBA αυξάνεται με ζιζανιοκτόνα της ομάδας sethoxydim. iv) Το IBA και η δραστηριότητα σύνθεσης του ενισχύεται κατά τη διάρκεια του αποικισμού των ριζών του αραβόσιτου από τον μύκητα *Glomus intraradices*. Ο ρόλος του IBA για ορισμένες αναπτυξιακές διαδικασίες σε φυτά ερευνάται και υποστηρίζεται ότι το IBA είναι καθαυτό μία αυξίνη και δεν δρα μέσω της μετατροπής σε IAA (Ludwig-Muller J., 2000).



Σχήμα 1.2.7. Η βιοσύνθεση του IBA και η πιθανή ρύθμισή του από ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες. (→) Αντιδράσεις, που φαίνεται να εμπλέκονται στη σύνθεση του IBA στο καλαμπόκι(2), (→) πιθανά βιοσυνθετικά μονοπάτια, που δεν φαίνεται, όμως, να συμβαίνουν στα φυτά(1), (3); (→) μονοπάτια, που φαίνεται να συμβαίνουν για την βιοσύνθεση του IAA (→) Επιδράσεις στη βιοσύνθεση του IBA από ερεθίσματα του περιβάλλοντος και ενδογενείς παράγοντες. Ξηρασία και ωσμωτικό στρες καθώς και αποικίες συμβιωτικών μικροοργανισμών (AM) μπορεί να αυξήσουν το ενδογενές IBA μέσω της αύξησης του ενδογενούς αμψισικού οξέος (ABA) στο φυτό, επειδή, όταν το ABA χορηγείται εξωτερικά μπορεί επίσης να ενισχύσει τη σύνθεση του IBA (Ludwig-Muller J., 2000).

1.3. ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΕΣ

Οι κυκλοδεξτρίνες είναι κυκλικοί ολιγοσακχαρίτες, αποτελούμενοι συνήθως από έξι έως οκτώ μονάδες α-D-γλυκοπυρανόζης, συνδεδεμένες με (α-1,4)-γλυκοζιτικούς δεσμούς. Τα τρία πιο σημαντικά μέλη της οικογένειας των κυκλοδεξτρινών είναι η α-κυκλοδεξτρίνη, η β-κυκλοδεξτρίνη και η γ-κυκλοδεξτρίνη (α-CD, β-CD και γ-CD αντίστοιχα) (Σχίμα 1.3.1.), που περιέχουν έξι, επτά και οκτώ μονάδες αντίστοιχα. Ανώτερες κυκλοδεξτρίνες (δ-CDs και ε-CDs), που περιέχουν εννιά και δέκα μονάδες αντίστοιχα είναι επίσης γνωστές. Η ονοματολογία α, β και γ εξυπηρετεί την διάκριση των μορίων με βάση μόνο το μέγεθος του δακτυλίου και διατηρείται κυρίως για ιστορικούς λόγους. Ωστόσο η ονοματολογία α, β και γ χρησιμοποιείται ευρέως, επειδή και η συστηματική ονομασία των κυκλοδεξτρινών είναι αρκετά πολύπλοκη. Για τις β-κυκλοδεξτρίνες συχνά χρησιμοποιούνται και οι όροι κυκλομαλτοεπτόζη, κυκλοεπταγλυκάνη και κυκλοεπταμυλόζη, ενώ αντίστοιχοι όροι χρησιμοποιούνται και για τα άλλα μέλη της οικογένειας (Szejtli J., 1998).



Σχίμα 1.3.1 Χημικές δομές α-, β- και γ-CDs.

Οι α- και β-CDs (σε αντίθεση με την γ-CD) δεν υδρολύονται από την ανθρώπινη σίελο και τις παγκρεατικές αμυλάσες. Ωστόσο, και η α- και η β-κυκλοδεξτρίνη μπορούν να 'ζυμωθούν' από την εντερική μικροχλωρίδα. Οι κυκλοδεξτρίνες είναι μόρια μεγάλα σε μέγεθος (το MB κυμαίνεται από 1000 έως και άνω των 2000 Daltons) και υδρόφιλα με σημαντικό αριθμό ατόμων που δρουν ως δότες ή δέκτες πρωτονίων. Επομένως, δεν απορροφούνται από το γαστρεντερικό σύστημα στην κανονική τους μορφή. Οι

υδρόφιλες κυκλοδεξτρίνες θεωρούνται μη-τοξικές σε χαμηλές και μέτριες δοσολογίες. Αντίθετα τα λιπόφιλα παράγωγά τους, π.χ. οι μεθυλιωμένες κυκλοδεξτρίνες απορροφούνται από το γαστρεντερικό σύστημα και ενδέχεται να εμφανίζουν τοξικότητα κυρίως μετά από παρεντερική χορήγηση. Περίπου τριάντα διαφορετικά φαρμακευτικά προϊόντα, που περιέχουν κυκλοδεξτρίνες, κυκλοφορούν στην διεθνή αγορά (A. Magnúsdóttir *et al.*, 2002).

Ο δακτύλιος των CD, στην πραγματικότητα είναι ένας κύλινδρος ή καλύτερα ένας κωνικός κύλινδρος και χαρακτηρίζεται συχνά με τον όρο ‘κόλουρος κώνος’. Οι περιφέρειες των CD παρουσιάζουν υδρόφιλο χαρακτήρα, εξαιτίας της παρουσίας υδροξυλομάδων (πρωτοταγών και δευτεροταγών). Στο μεγαλύτερο χείλος του κόλουρου κώνου βρίσκονται τα δευτεροταγή υδροξύλια και στο μικρότερο τα πρωτοταγή (Naidoo *et al.*, 2004; Saenger, 1987). Η κοιλότητα, που σχηματίζει η CD, παρουσιάζει υδρόφοβο χαρακτήρα λόγω της παρουσίας αιθερικών ατόμων οξυγόνου, που σχηματίζουν γέφυρες, αλλά και πολλών ατόμων υδρογόνου των C3H και C5H μεθινικών ομάδων και C6H2 μεθυλενικών ομάδων. Τα ελεύθερα ζεύγη ηλεκτρονίων των γλυκοζιτικών δεσμών του οξυγόνου είναι διευθετημένα προς το εσωτερικό της κοιλότητας αυξάνοντας την ηλεκτρονιακή πυκνότητα εκεί και προσδίδοντας σε αυτήν τον χαρακτηρισμό της βάσης κατά Lewis. Είναι αυτή η κοιλότητα, σε συνδυασμό με την διαλυτότητα στο νερό, που προσδίδουν στις κυκλοδεξτρίνες την μοναδική ικανότητα σχηματισμού συμπλόκων σε υδατικά διαλύματα (Harata G.G., 1998; Steed J.W. and Atwood J.L., 2002).

Το άμυλο, αποτελεί την κύρια αποθήκη ενέργειας του κυττάρου, είναι άμεσα διαλυτό και μετατρέπεται βιοχημικά σε δεξτρίνες. Οι δεξτρίνες όταν αποικοδομηθούν από το ένζυμο γλυκοζο-τρανσφεράση, το κύριο προϊόν της διάσπασης της αλυσίδας (ένας γραμμικός ολιγοσακχαρίτης) υφίσταται ενδομοριακά κυκλοποίηση, δίνοντας τις κυκλοδεξτρίνες. Η γλυκοζο-τρανσφεράση, που προέρχεται από τον *Bacillus* No. 38-2 είναι ένα ένζυμο κατάλληλο για την βιομηχανική παραγωγή των CD με αρκετά υψηλή απόδοση, ενεργό ακόμη και στους 80°C και σε pH 6-10, δηλαδή σε συνθήκες υπό τις οποίες δεν δρουν άλλα ένζυμα. Το 80% του αμύλου μετατρέπεται κυρίως σε β-CD (Saenger W., 1980). Οι βιομηχανικά παραγόμενες κυκλοδεξτρίνες μπορούν να είναι 99% καθαρές. Οι ελεύθερες CD απομονώνονται με συμπλοκοποίηση με τολουένιο, το οποίο είναι το καταλληλότερο αντιδραστήριο για την παραγωγή των CD (Saenger W., 1980).

Κάθε χρόνο χιλιάδες τόνοι CDs παράγονται μέσω τεχνολογιών φιλικών προς το περιβάλλον, για τον λόγο αυτό η τιμή τους δεν είναι πλέον απαγορευτική για βιομηχανική παραγωγή (Szejtli J., 1998). Οι εφαρμογές των CDs αναφέρονται κυρίως

στη βιομηχανία τροφίμων. Το 80-90% της παγκόσμιας παραγωγής προορίζεται για αυτήν χάρη στην σταθερότητα που προσφέρει σε αυτές τις υψηλές θερμοκρασίες (οι οποίες συχνά χρησιμοποιούνται κατά την επεξεργασία των τροφίμων), στην ανθεκτικότητα που αποκτούν διάφορες εγκλειόμενες αρωματικές ενώσεις ενώσεων έναντι της οξείδωσης, και της θερμικής αποδιάταξης. Επίσης σημαντική για την ευρεία χρήση τους είναι η σταθερότητα χρωματισμού, η ευκολία χειρισμού κ.α. (Steed J.W. and Atwood J.L., 2002). Η συμπλοκοποίηση ακριβών αιθέριων ελαίων με κυκλοδεξτρίνες μειώνει δραματικά τις ποσότητες που χρειάζεται να προστεθούν στα τρόφιμα και άλλα προϊόντα προκειμένου να επιτευχθεί το επιθυμητό αποτέλεσμα. (Loftsson T. *et al.*, 2005).

Σημαντικές είναι οι εφαρμογές των κυκλοδεξτρινών στη βιομηχανία των φαρμάκων. Οι κυκλοδεξτρίνες δρουν ως προστατευτικοί παράγοντες, εμποδίζοντας τον πρόωρο μεταβολισμό των φαρμάκων. Έτσι επιτρέπουν, για παράδειγμα, την λήψη των φαρμάκων από το στόμα και όχι ενδοφλέβια. Επίσης, τροποποιούν την σταθερότητα και την μεταφορά του φαρμάκου, αυξάνοντας την εξειδικευμένη δράση και την βιοδιαθεσιμότητα του. Αυτό επιτυγχάνεται με αύξηση της διαλυτότητας των λιγότερο διαλυτών φαρμάκων, χωρίς την χρήση χημικής τροποποίησης τους, που συχνά περιλαμβάνει προσθήκη υδροφιλικών κατάλοιπων (Szejtli J., 2004).

Ένα άλλο μεγάλο πεδίο εφαρμογής των κυκλοδεξτρινών είναι η αναλυτική χημεία, και ιδιαίτερα οι χρωματογραφικές μέθοδοι, όπως η χρωματογραφία λεπτής στιβάδας, η αέρια χρωματογραφία, η ηλεκτροφόρηση σε τριχοειδή σωλήνα και η υψηλής απόδοσης υγρή χρωματογραφία (HPLC). Εδώ και πάλι, ο ρόλος των κυκλοδεξτρινών είναι να σχηματίζουν σύμπλοκα με τον υπό εξέταση αναλυτή. Η παρουσία κυκλοδεξτρινών (και παραγώγων τους), είτε ως προσθετικά στην κινητή φάση, είτε ως χημικά συνδεδεμένες στην σταθερή φάση, μπορούν να βελτιώσουν την ικανότητα διαχωρισμού και την ταχύτητα της ανάλυσης και να οδηγήσουν στον διαχωρισμό στενά συνδεδεμένων ενώσεων και ισομερών, ειδικά εναντιομερών.

Εκτός από τις ανωτέρω εφαρμογές, οι CDs χρησιμοποιούνται και ως βιομημητικά μόρια από την βιοτεχνολογία (Steed J.W. and Atwood J.L., 2002). Τέλος, οι CDs σχηματίζουν σύμπλοκα με μια μεγάλη ποικιλία αγροχημικών, όπως φυτορρυθμιστικές ουσίες, ζιζανιοκτόνα, εντομοκτόνα, μηκυτοκτόνα και φερομόνες (Τσορτέκη Φ., 2006).

1.3.1. Κυκλοδεξτρίνες και φυτοφάρμακα

Πολλά συνθετικά φυτοφάρμακα (ζιζανιοκτόνα, εντομοκτόνα, μυκητοκτόνα, κ.λ.π.) μπορούν να σχηματίσουν σύμπλοκα με κυκλοδεξτρίνες. Αυτή η «μοριακή ενθυλάκωση», συχνά, έχει ως αποτέλεσμα πλεονεκτικές τροποποιήσεις των ιδιοτήτων των ουσιών, που συμπλοκοποιούνται. Η συμπλοκοποίηση ουσιών, που είναι δυσδιάλυτες στο νερό, πτητικές ή ασταθείς, με κυκλοδεξτρίνες επιφέρει τα παρακάτω αποτελέσματα:

A) Ουσίες, που είναι ευκολοδιασπώμενες παρουσία φωτός, θερμότητας, ιόντων ή εύκολα οξειδώνονται, γίνονται σταθερές.

B) Πτητικές, υγρές και αέριες ουσίες ή ουσίες έντονα δύσοσμες μπορούν να μετατραπούν, αντίστοιχα, σε μικροκρυστάλλικές, σταθερές και αρκετά άοσμες.

Γ) Ενισχύεται η διαβρεκτικότητα, η διαλυτότητα και η βιοδιαθεσιμότητα ουσιών.

Δ) Βιολογικά δραστικές ουσίες παρουσιάζουν αργή απελευθέρωση (π.χ.η ορμονική δράση του αιθυλενίου μπορεί να παραταθεί).

E) Διατίθενται υπό μορφή μικροκρυσταλλικής σκόνης σε υδατικά διαλύματα χωρίς να απαιτούνται οργανικοί διαλύτες.

ΣΤ) Η δράση των ουσιών έχει μακρά διάρκεια, επειδή απελευθερώνονται μόνο μετά από την επαφή τους με νερό.

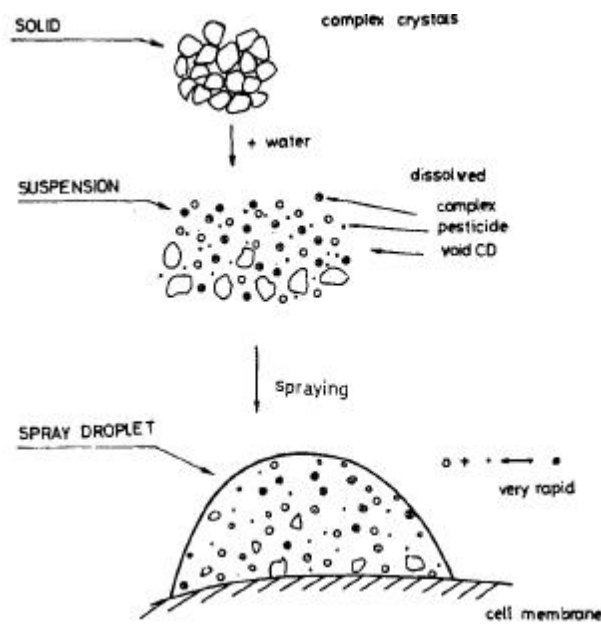
Z) Οι κυκλοδεξτρίνες επηρεάζουν τη βλάστηση των σπόρων, που περιέχουν άμυλο. Παρουσιάζουν μία δράση, παρόμοια των αυξινών, με ένα μηχανισμό, που δεν είναι, ακόμη, γνωστός. Επίσης, φαίνεται, ότι δρουν ως αντίδοτα σε ορισμένες φυτοτοξικές ουσίες και εμποδίζουν την ανάπτυξη των μυκήτων.

1.3.2. Μηχανισμοί της δράσης των κυκλοδεξτρινών

Προϋπόθεση της βιολογικής δράσης των χημικών ουσιών είναι η επαφή των μορίων τους με τις μεμβράνες των κυττάρων. Το περιβάλλον των βιολογικών συστημάτων είναι υδατικό και οι βιολογικά δραστικές ουσίες μπορούν να απορροφηθούν και να δράσουν αν είναι ευδιάλυτες. Ο σκοπός της συμπλοκοποίησης των, ελάχιστα, διαλυτών στο νερό ουσιών (η πλειονότητα των φυτοφαρμάκων), είναι να υπάρξει

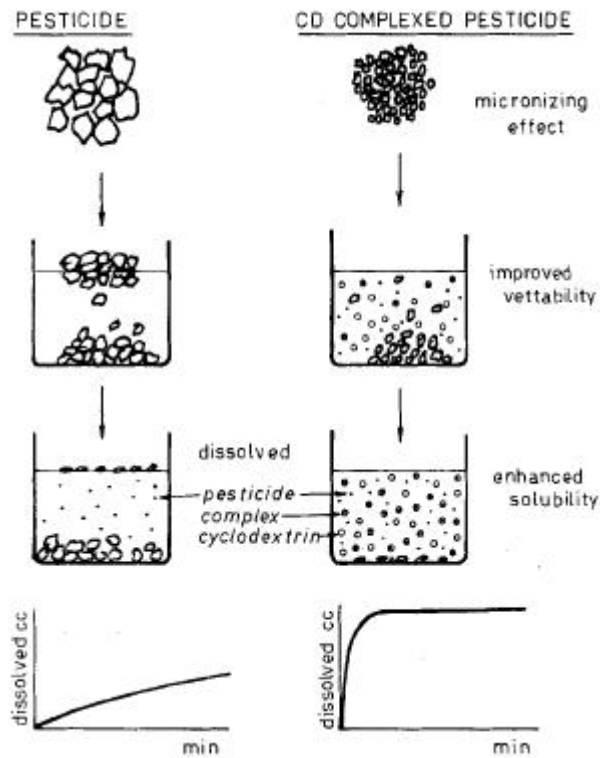
ομοιογενής κατανομή μίας μικρής ποσότητας της ουσίας σε μία μεγάλη επιφάνεια και να μεταφερθεί το μεγαλύτερο τμήμα της στο εσωτερικό του κυττάρου. Η αποτελεσματικότητα της δράσης των φυτοφαρμάκων (δηλαδή η αναγκαία δόση) εξαρτάται από το βαθμό της διασποράς τους.

Στο σχήμα 1.3.2. φαίνεται ο τρόπος δράσης των συμπλόκων κυκλοδεξτρίνης. Τα σύμπλοκα, υπό μορφή εναιωρήματος, ύστερα από ψεκάσμο έρχονται σε επαφή με την κυτταρική μεμβράνη. Στο υδατικό εναιώρημα υπάρχουν : σύμπλοκα του φυτοφαρμάκου με κυκλοδεξτρίνη, διαλυμένα μόρια φυτοφαρμάκου και μόρια κυκλοδεξτρίνης. Όταν, διαλυμένα μόρια περάσουν από τη μεμβράνη, μειώνεται η συγκέντρωση των διαλυμένων μορίων στο εξωτερικό, και επιπλέον μόρια δραστικής ουσίας απελευθερώνονται από τα σύμπλοκα και εισέρχονται στο εσωτερικό του κυττάρου. Έτσι, τα συμπλοκοποιημένα μόρια, μπορούν να θεωρηθούν «αποθήκες» του φυτοφαρμάκου.



Σχήμα 1.3.2. Σχηματική απεικόνιση της ενίσχυσης της βιοδιαθεσιμότητας μίας σταγόνας (spray-drop), δυσδιάλυτου στο νερό φυτοφαρμάκου, μετά από συμπλοκοποίησή του με CD (Szejtli J., 1985).

Το καθοριστικό βήμα της απορρόφησης, είναι η συγκέντρωση της δραστικής ουσίας στο υδατικό διάλυμα. Στο σχήμα 1.3.3., φαίνεται, ότι η συμπλοκοποίηση πλεονεκτεί έναντι της χρήσης διαλυμάτων φυτοφαρμάκων, που σε στερεή κτάσταση έχουν υποστεί μηχανικούς χειρισμούς, (π.χ. λειοτριβήση, κ.λ.π.) λόγω αύξησης της διαβρεκτικότητας, της διαλυτότητας και, άρα, της βιοδιαθεσιμότητας των ουσιών.



Σχήμα 1.3.3. Απεικόνιση της διάλυσης φυτοφαρμάκου και του συμπλόκου του με κυκλοδεξτρίνη (Szejtli J., 1985)

Κατά την διάλυση των συμπλόκων των κυκλοδεξτρινών στο νερό, η σύσταση του σχηματιζόμενου συστήματος εξαρτάται:

- A) Από τη διαλυτότητα της ελεύθερης ουσίας,
- B) Από τη διαλυτότητα των συμπλόκων της κυκλοδεξτρίνης
- Γ) Από τη σταθερά της συμπλοκοποίησης
- Δ) Από τη μοριακή αναλογία των συστατικών (φυτοφάρμακο/CD)
- E) Από την αναλογία στερεού/ νερού

Σε εξαιρετικές περιπτώσεις, το σύμπλοκο διαλύεται εντελώς. Στο διάλυμα είναι παρόντα, μόνο, τα ευδιάλυτα σύμπλοκα και τα συστατικά τους (ελεύθερη κυκλοδεξτρίνη και φυτοφάρμακο). Αδιάλυτη στερεή ουσία παραμένει στο διάλυμα όταν υφίσταται είτε

ως αδιάλυτο σύμπλοκο, είτε ως μίγμα φυτοφαρμάκου και κυκλοδεξτρίνης Αυτή μπορεί να απομακρυνθεί και να επανακρυσταλλωθεί.

1.3.3. Εγκλεισμός ξενιζομένου μορίου σε κυκλοδεξτρίνη.

Η μεγάλη σημασία των CDs, τόσο στην έρευνα όσο και στη βιομηχανία, βασίζεται στην ικανότητα τους να εγκλείουν μόρια κατά εκλεκτικό τρόπο, χάρη στο φαινόμενο της μοριακής αναγνώρισης ή της χειρομορφικής αναγνώρισης αναφερόμενοι σε εναντιομερή μόρια. Η μελέτη των παραγόντων που οδηγούν σε αυτή την εκλεκτική συμπλοκοποίηση είναι πολύ σημαντική, καθώς αυτή μπορεί να αξιοποιηθεί σε πολλές εφαρμογές προσχεδιασμένης συμπλοκοποίησης (Dodziuk H., 2006).

Ο εγκλεισμός μορίων στην υδροφοβική κοιλότητα των κυκλοδεξτρινών τους προσδίδει πολύ σημαντικά πλεονεκτήματα, όπως:

- Η σταθεροποίηση μορίων ευαίσθητων στο φως ή στο οξυγόνο.
- Ο έλεγχος της χημικής δραστηριότητας των ξενιζομένων μορίων.
- Σταθεροποίηση των πολύ πτητικών ουσιών, παρεμπόδιση της εξάτμισης τους, ασφαλέστερη αποθήκευση και ασφαλέστερο χειρισμό.
- Τροποποίηση ορισμένων φυσικοχημικών ιδιοτήτων των ξενιζόμενων μορίων, όπως η αύξηση της διαλυτότητας αρκετά δυσδιάλυτων ουσιών, η βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας ενός φαρμάκου ελάχιστα διαλυτού στο νερό (ταχύτερη διάλυση στο νερό, ταχύτερη και πληρέστερη απορρόφηση), αλλαγές στο φάσμα απορρόφησης του ξενιζόμενου μορίου (κάλυψη ή μεταβολή χρώματος), παρεμπόδιση δυσάρεστων οσμών ή γεύσεων (Szejtli J., 1998).

Τα μόρια ξενιστή και ξενιζόμενου συνδέονται με μη ομοιοπολικούς δεσμούς, με δυνάμεις όπως ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις, δυνάμεις Van der Waals, υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις, δεσμοί υδρογόνου, αλληλεπιδράσεις λόγω μεταφοράς φορτίου (Liu, 2002; Szejtli J., 1988).

Το γενικότερο πλαίσιο της διαδικασίας εγκλεισμού ενός ξενιζόμενου μορίου μέσα στις κυκλοδεξτρίνες έχει ως εξής:

- Τα μόρια νερού φεύγουν από την κοιλότητα της CD και μετακινούνται σε ένα ενεργειακό επίπεδο αντίστοιχο με εκείνο της αέριας κατάστασης. Κατά συνέπεια, οι αλληλεπιδράσεις Van der Waals και ο αριθμός των υδρογονικών δεσμών μειώνεται, ενώ οι βαθμοί ελευθερίας μετατόπισης και περιστροφής των ελευθέρων μορίων νερού αυξάνονται.

- Η ενέργεια διαμόρφωσης του δακτυλίου της CD μειώνεται στην περίπτωση της α - ή της τροποποιημένης β - CD.
- Το άπολο ξενιζόμενο μόριο απαλλάσσεται από το ενυδατωμένο περίβλημα του κι επίσης υιοθετεί την κατάσταση του ιδανικού αερίου. Αυτό το άδειο περίβλημα ενυδάτωσης καταρρέει και αναδιατάσσεται.
- Το ξενιζόμενο μόριο, θεωρούμενο ότι βρίσκεται σε κατάσταση ιδανικού αερίου, εισέρχεται στην άδεια κοιλότητα CD και το σύμπλοκο σταθεροποιείται με αλληλεπιδράσεις Van der Waals, και μερικές φορές με υδρογονικούς δεσμούς. Το ξενιζόμενο μόριο διατηρεί ένα βαθμό ελευθερίας που αντιστοιχεί σε μονοδιάστατη περιστροφή.
- Τα εκτοπιζόμενα μόρια νερού συμπυκνώνονται από την αέρια στην υγρή κατάσταση. Αλλαγές στην ενθαλπία και την εντροπία μπορούν να θεωρηθούν ως ενδεικτικές με εκείνες της καλά γνωστής συμπύκνωσης νερού.
- Η δομή του νερού αποκαθίσταται γύρω από τα εκτεθειμένα μέρη του ξενιζομένου μορίου και ενσωματώνεται σε κέλυφος ενυδάτωσης του δακτυλίου της CD (Szejtli J., 1988).

1.4. ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΑ ΑΚΤΙΝΩΝ-X

1.4.1. Γενικά.

Η κρυσταλλογραφία ακτίνων-X είναι το πρωταρχικό εργαλείο για τον προσδιορισμό των ατομικών θέσεων των μορίων. Για την κρυσταλλογραφική ανάλυση μέσω ακτίνων X απαιτούνται: η πηγή των ακτίνων X, ο κρύσταλλος και ένας ανιχνευτής (Stryer L., 1997). Η εφαρμογή της κρυσταλλογραφίας απαιτεί τη δημιουργία κρυστάλλου υψηλής ποιότητας του συστήματος, του οποίου η δομή μελετάται. Ένας υψηλής ποιότητας κρύσταλλος περιέχει μόρια διατεταγμένα κανονικά, στη βάση ενός πλέγματος. Το πλέγμα είναι μια αόριστη διάταξη σημείων (ατόμων) στο χώρο, τα οποία όπως έδειξε ο Bravais, μπορούν να σχηματίσουν 14 διαφορετικά είδη πλεγμάτων (Hammes G. G., 2005).

1.4.2. Κρυστάλλωση.

Η κρυσταλλογραφική μελέτη ξεκινά με την διαδικασία της κρυστάλλωσης. Η κρυστάλλωση απαιτεί συγκεκριμένες συνθήκες, καθώς είναι εξαιρετικά ευαίσθητη τόσο στο pH, τη θερμοκρασία, τους διαλύτες και τη συγκέντρωση της διαλυμένης ουσίας. Η

κρυστάλλωση είναι μια σχετικά αργή διαδικασία, που συνήθως απαιτεί αρκετές μέρες και στηρίζεται στην αρχή της βαθμιαίας αύξησης της συγκέντρωσης της διαλυμένης ουσίας σε κατάλληλο διαλύτη μέχρι ένα σημείο πέραν του κορεσμού. Η συγκέντρωση αυτή μπορεί να επιτευχθεί με τη μέθοδο της βραδείας εξάτμισης, της βραδείας ψύξης ή της διάχυσης. Οι πυρήνες κρυστάλλωσης που θα προκύψουν, ανάλογα με τη συγκέντρωση και τη θερμοκρασία του διαλύματος, θα πρέπει να έχουν ορισμένο μέγεθος για να προχωρήσει η διαδικασία της κρυστάλλωσης.

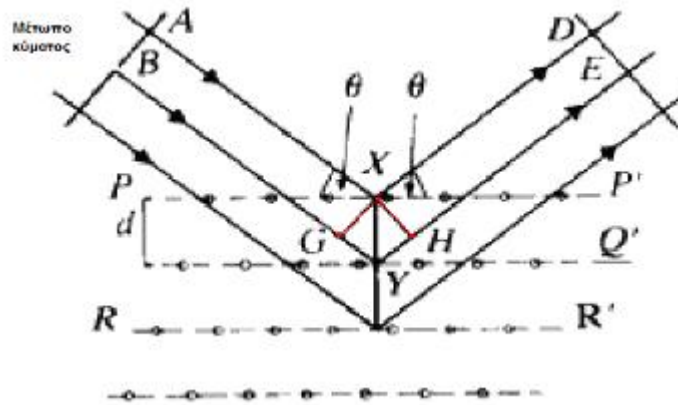
1.4.3. Ακτίνες X-Συνθήκη του Bragg.

Η κρυσταλλογραφική μελέτη συνεχίζεται με την ακτινοβολία του κρυστάλλου με ακτίνες X. Ο κρύσταλλος τοποθετείται σε έναν τριχοειδή σωλήνα ή σε θηλεία και παίρνει έναν συγκεκριμένο προσανατολισμό σε σχέση με τις ακτίνες X και το φιλμ (Stryer L., 1997). Η δέσμη ακτίνων X, παράγεται από ηλεκτρόνια που επιταχύνονται προς ένα στόχο χαλκού. Οι ακτίνες-X είναι οι καταλληλότερες ακτίνες, καθώς το μήκος κύματος τους βρίσκεται στην περιοχή των Angstroms (0,1nm) και προσεγγίζει το μήκος των ενδομοριακών δεσμών (Hammes G.G., 2005). Μια στενή δέσμη ακτίνων X προσκρούει στον κρύσταλλο, ένα μέρος της τον διαπερνά, ενώ η υπόλοιπη σκεδάζεται ή περιθλάται σε διάφορες κατευθύνσεις. Η δέσμη που σκεδάζεται ή περιθλάται μπορεί να ανιχνευτεί σε φιλμ ακτίνων X, ή από ένα ηλεκτρονικό ανιχνευτή στερεάς κατάστασης, όπου η ένταση των κηλίδων είναι ανάλογη προς την ένταση των ακτίνων (Stryer L., 1997).

Ο W. L. Bragg έδειξε ότι η περίθλαση των ακτίνων-X από έναν κρύσταλλο μπορεί να περιγραφεί ως η σκέδαση από παράλληλα επίπεδα μορίων, (Σχήμα 1.4.1), που έχει ως αποτέλεσμα μια φωτογραφία ακτίνων X που αποτελείται από επαναλαμβανόμενες σειρές σημείων που λέγονται ανακλάσεις. Εάν η προσπίπτουσα ακτινοβολία σχηματίζει γωνία θ με το μοριακό επίπεδο, τότε θα σκεδαστεί επίσης με γωνία θ . Αυτή καλείται ελαστική σκέδαση και γίνεται η παραδοχή ότι η σκεδαζόμενη ακτινοβολία δεν χάνει ούτε απορροφά ενέργεια (Hammes G.G., 2005).

Για ένα επιλεγμένο κύμα, η ακτινοβολία μπορεί να σκεδαστεί από καθένα από τα επίπεδα, με διαφορετική όμως φάση σκεδαζόμενης ακτινοβολίας, καθώς κάθε κύμα θα έχει διανύσει μια διαφορετική απόσταση ανάλογα με την μεταξύ των επιπέδων απόσταση d . Εάν η διαφορά στο μήκος της διαδρομής που έχει διανυθεί από τις σκεδαζόμενες από διαφορετικά επίπεδα ακτινοβολίες ($d'=2d.\sin\theta$) είναι ίση με το μήκος κύματος ή με

ακέραιο πολλαπλάσιο του μήκους κύματος, τότε τα δύο κύματα θα βρίσκονται σε φάση και μια συμβολή ενίσχυσης θα συμβεί, και αυτό σημαίνει ότι η ένταση της ακτινοβολίας θα είναι μέγιστη. Αυτή είναι η συνθήκη του Bragg, δηλ. $n\lambda = 2d\sin\theta$ (Hammes G.G., 2005).



Σχήμα 1.4.1. Ανακλάσεις από οικογένεια πλεγματικών επιπέδων σύμφωνα με τη συνθήκη του Bragg.

Η φωτογραφία ακτίνων X είναι μια τομή δυο διαστάσεων μέσα από ένα τρισδιάστατο πλέγμα 25.000 σημείων. Οι εντάσεις είναι τα βασικά πειραματικά δεδομένα μιας κρυσταλλογραφικής ανάλυσης ακτίνων X. Από τις πειραματικές παρατηρούμενες εντάσεις και τις υπολογισμένες φάσεις (βλέπε § 1.4.4.), λαμβάνουμε μέσω ενός μετασχηματισμού Fourier τη συνάρτηση της ηλεκτρονιακής πυκνότητας στην επαναλαμβανόμενη μοναδιαία κυψελίδα του κρυστάλλου. Το τελικό επομένως αποτέλεσμα ενός κρυσταλλογραφικού πειράματος δεν είναι πραγματικά μια εικόνα των ατόμων, αλλά ένας χάρτης της κατανομής των ηλεκτρονίων στο μόριο, δηλ. ένας χάρτης πυκνότητας ηλεκτρονίων. Εν τούτοις, δεδομένου ότι τα ηλεκτρόνια είναι συνήθως στενά εντοπισμένα γύρω από τους πυρήνες, ο χάρτης πυκνότητας ηλεκτρονίων μας δίνει μια αρκετά καλή εικόνα του μορίου. Αυτό συμβαίνει επειδή η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία (συμπεριλαμβανομένων των ακτίνων X) αλληλεπιδρά με το υλικό μέσω του μεταβαλλόμενου ηλεκτρικού πεδίου της, το οποίο επιταχύνει φορτισμένα μόρια. Επειδή τα ηλεκτρόνια έχουν ένα πολύ υψηλότερο ειδικό φορτίο(l/m) από τα πρωτόνια των ατομικών πυρήνων, είναι αποδοτικότερα σε αυτήν την διαδικασία (Stryer L., 1997).

1.4.4. Επεξεργασία με μετασχηματισμό Fourier

Για τις ακτίνες X δεν υπάρχουν φακοί για την εστίαση τους. Η εικόνα σχηματίζεται από μια μαθηματική ανάλυση που λέγεται μετασχηματισμός Fourier..

Αναλυτικότερα, η ένταση της περιθλώμενης ακτινοβολίας εξαρτάται από την σκεδαστική ικανότητα των ξεχωριστών ατόμων (ατομικός παράγοντας f) και την φάση των κυμάτων από κάθε πηγή σκέδασης. Ο παράγοντας δομής, F , για κάθε επίπεδο μπορεί να οριστεί ως το άθροισμα των ατομικών παραγόντων σκέδασης f_i , πολλαπλασιασμένων με έναν παράγοντα φάσης, a_i , για το κάθε άτομο: $F = \sum f_i a_i$.

Η ένταση της περιθλώμενης ακτινοβολίας είναι ανάλογη με την τιμή του πλάτους του παράγοντα δομής. Ο παράγοντας δομής F_{hkl} , που αντιστοιχεί στο ανακλώμενο κύμα από το επίπεδο hkl (hkl : δείκτες Miller που προσδιορίζουν ένα επίπεδο του κρυσταλλικού πλέγματος), εκφράζεται με ένα μιγαδικό αριθμό πλάτους $|F_{hkl}|$ και φάσης φ_{hkl} , δηλ. $F_{hkl} = |F_{hkl}| \exp(i\varphi_{hkl})$ (τα ατομικά ζεύγη συντεταγμένων είναι γνωστά).

Η μετατροπή των παραγόντων δομής σε ατομικές συντεταγμένες γίνεται με χρήση του μετασχηματισμού Fourier, $p(\mathbf{r}) = (1/V) \sum_{hkl} |F_{hkl}| \exp(-2\pi i \varphi_{hkl})$ (1).

Υπολογίζεται έτσι, η συνάρτηση κατανομής της ηλεκτρονιακής πυκνότητας, $p(\mathbf{r})$ (οι ακτίνες-X σκεδάζονται μόνο από τα ατομικά ηλεκτρόνια) και οι ατομικές θέσεις αντιστοιχούν στα μέγιστα της $p(\mathbf{r})$.

Τα πειράματα περίθλασης ακτίνων-X μπορούν να δώσουν πληροφορίες μόνο για την ένταση της περιθλώμενης ακτινοβολίας, που είναι ανάλογη του τετραγώνου του πλάτους του παράγοντα δομής ($I_{hkl} \sim |F_{hkl}|^2$), ενώ δεν μπορούν να δώσουν καμιά πληροφορία για την φάση, φ_{hkl} , του παράγοντα δομής. Αυτό είναι ένα πρόβλημα που ονομάζεται «πρόβλημα των φάσεων» και είναι κεντρικό στον κρυσταλλογραφικό προσδιορισμό των δομών (Taylor G., 2003).

Για την λύση του προβλήματος των φάσεων, δεν υπάρχει μια γενική λύση αλλά έχουν αναπτυχθεί διάφοροι μέθοδοι, που βασίζονται αποκλειστικά στην πληροφορία της έντασης της περιθλώμενης ακτινοβολίας και δεν απαιτούν προηγούμενη γνώση καμιάς από τις ατομικές θέσεις (Hauptman H. A., 1991). Στην περίπτωση των κρυσταλλικών δομών που συναντούμε στα υπερμοριακά συστήματα των προϊόντων εγκλεισμού σε κυκλοδεξτρίνες χρησιμοποιούνται οι άμεσες μέθοδοι, η ισόμορφη αντικατάσταση και η μοριακή αντικατάσταση (Hammes G.G., 2005).

1.4.5. Προσδιορισμός της κρυσταλλικής δομής

Ο προσδιορισμός της κρυσταλλικής δομής, εξαρτάται από την εύρεση των φάσεων των περιθλώμενων ακτίνων-Χ από τον μονοκρύσταλλο. Η επεξεργασία των δεδομένων, αρχικά απαιτεί τη δεικτοδότηση των ανακλάσεων που καταγράφηκαν στις πολλαπλές καταγεγραμμένες εικόνες περίθλασης. Αυτό σημαίνει αρχικά αναγνώριση των διαστάσεων της μοναδιαίας κυψελίδας και αντιστοίχιση των κηλίδων των εικόνων περίθλασης με θέσεις του αντιστρόφου χώρου. Ένα προϊόν της δεικτοδότησης είναι ο προσδιορισμός της συμμετρίας του κρυστάλλου, δηλαδή της ομάδας χώρου αυτού, μέσω των δεδομένων που συνενώνονται σε ενιαίο σύνολο. Κηλίδες που εμφανίζονται σε δύο ή περισσότερες εικόνες πρέπει να συγχωνευτούν και τελικά να αναχθούν σε κοινή κλίμακα, έτσι ώστε να έχουν μια συνεχή κλίμακα έντασης. Η βελτιστοποίηση της κλίμακας εντάσεων είναι κρίσιμη, γιατί η σχετική ένταση των κηλίδων είναι η πληροφορία κλειδί από την οποία η δομή προσδιορίζεται.

1.5. ΣΥΜΠΛΟΚΑ IBA ΜΕ ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗ.

Έχουν μελετηθεί σύμπλοκα IBA με τροποποιημένες β -κυκλοδεξτρίνες, επτάκις (2,3,6-τρι-*O*-μεθυλο)- β -CD (TRIMEB) (Tsorteki *et al*, 2003). Οι τροποποιημένες κυκλοδεξτρίνες, που προκύπτουν με τη χημική προσθήκη μορίων στο δακτύλιο της κυκλοδεξτρίνης, μπορεί να προσδώσουν νέες ιδιότητες, όπως αύξηση της υδατοδιαλυτότητας (Yu Liu *et al.*, 2007).

Σύμπλοκο IBA/ α -CD χρησιμοποιήθηκε για τον χειρισμό βασικών, μεσαίων και κορυφαίων ξυλωδών μοσχευμάτων φουντουκιάς και έδωσε για τα μεσαία μοσχεύματα ποσοστό ριζοβολίας 63.53% έναντι χειρισμού με IBA/αλκοόλη (5.28%) και με καλιούχο άλας της IBA (43.63%) σε συνδυασμό με θέρμανση της βάσης (Ughini,& Roversi, 1999).

2. ΣΚΟΠΟΣ

Το ινδολο-3-βουτυρικό οξύ (IBA) είναι μια αυξίνη, που χρησιμοποιείται κυρίως για την επαγωγή των πρώτων ριζών. Το IBA είναι αποτελεσματικό για τη ριζοβολία τόσο κατά τον μικροπολλαπλασιασμό όσο και για μοσχεύματα.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη των φαινομένων εγκλεισμού του IBA σε ξενιστή β -κυκλοδεξτρίνη (β -CD). Πιο συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκε εγκλεισμός του IBA σε β -CD. Ακολούθησε κρυστάλλωση του προϊόντος εγκλεισμού και προσδιορισμός της δομής του συμπλόκου IBA/ β -CD από δεδομένα περίθλασης ακτίνων X στον κρύσταλλό του, με την μέθοδο της μοριακής αντικατάστασης. Τέλος, το πρότυπο της δομής βελτιστοποιήθηκε με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων.

Η συμπλοκοποίησή του IBA με β -κυκλοδεξτρίνη αναμένεται να αυξήσει την βιοδιαθεσιμότητά του, λόγω των επιφερόμενων αλλαγών στις φυσικοχημικές του ιδιότητες και συγκεκριμένα:

1. να αυξηθεί η διαλυτότητα του.
2. να αυξηθούν τα επίπεδα της συγκέντρωσης του IBA, για τα οποία επέρχεται ανάσχεση ανάπτυξης (εκβλάστηση σπόρων, μικροπολλαπλασιασμός).
3. να μειωθεί ο ρυθμός αδρανοποίησης της αυξίνης, η οποία παρατηρείται μετά την πρόσληψή της από το φυτικό ιστό (μικροπολλαπλασιασμός).
4. από την προβλεπόμενη αύξηση λόγω του χειρισμού με CD να αντισταθμισθεί η ανασχετική δράση του
5. να προστατευθεί το περιβάλλον (γειτονικές καλλιέργειες, έδαφος) από λανθασμένους χειρισμούς και την παραμένουσα δράση.

Η κρυσταλλογραφική μελέτη εστιάζει στο προϊόν εγκλεισμού του IBA σε β -CD, με σκοπό τη μελέτη της χωροταξικής διάταξης των ατόμων του προϊόντος εγκλεισμού, της γεωμετρίας σύνδεσής τους, των δυνάμεων και δεσμών που εμφανίζονται μεταξύ των ατόμων, τον προσανατολισμό του συμπλόκου στη μοναδιαία κυψελίδα και την κρυσταλλική διευθέτησή του στο κρυσταλλικό πλέγμα παρουσία μορίων νερού.

Η ολοκλήρωση της κρυσταλλογραφικής μελέτης μπορεί να επιτευχθεί με θερμογραφική ανάλυση (TGA) για τον πλήρη καθορισμό των μορίων νερού που συγκρατούν στο κρυσταλλικό πλέγμα τα διμερή της β -CD, ενώ η διενέργεια βιολογικού πειράματος για την σύγκριση της δράσης των φυτορρυθμιστικών ουσιών στην ελεύθερη

μορφή τους με τα αντίστοιχα προϊόντα εγκλεισμού σε β -CD θα αποκαλύψει την σπουδαιότητα της διαδικασίας του εγκλεισμού

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1. ΚΡΥΣΤΑΛΛΩΣΗ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΑΡΓΗΣ ΨΥΞΗΣ

Οι κρύσταλλοι οργανικών ενώσεων χαμηλού M.W. είναι πολύ διαφορετικοί από τους πρωτεϊνικούς. Δημιουργούνται κι αυτοί αργά, απαιτούν ημέρες (ενώ οι πρωτεϊνικοί ίσως μήνες), και είναι συνήθως λιγότερο εύθραυστοι. Υπάρχουν πολλές διαφορετικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για να δημιουργηθούν οι κρύσταλλοι, αλλά η βασική ιδέα είναι η βαθμιαία αύξηση της συγκέντρωσης της ουσίας πέρα από το όριο διαλυτότητας. Η κρυσταλλοποίηση είναι εξαιρετικά ευαίσθητη στο pH, τη θερμοκρασία (πρέπει να είναι πολύ σταθερή), στις δονήσεις και τους διαλύτες (π.χ. ιόντα, κα). Σήμερα, υπάρχουν εμπορικά διαθέσιμα Kits για την δημιουργία καταλλήλων συνθηκών ανάπτυξης του κρυστάλλου. Μάλιστα ένας μεγάλος αριθμός διαφορετικών συνθηκών εξερευνείται συστηματικά, για να βρεθούν αυτές στις οποίες οι κρύσταλλοι αναπτύσσονται ικανοποιητικά. Λόγω του μικρού μεγέθους των κρυστάλλων, όλοι οι χειρισμοί γίνονται συνήθως κάτω από χαμηλής έντασης μικροσκόπιο. Μόλις διαμορφωθεί ένα κατάλληλος κρύσταλλος ελέγχεται για άλλες ιδιότητες, π.χ. την δυνατότητα να προξενήσει ικανοποιητική περίθλαση ακτίνων-X, κλπ.

Η έκθεση σε ακτίνες-X για τη συλλογή δεδομένων πραγματοποιείται με την τοποθέτηση, αρχικά, του κρυστάλλου είτε στο άκρο λεπτής ράβδου είτε σε ένα τριχοειδές αγγείο. Πολλοί κρύσταλλοι βλάπτονται εύκολα από τις υψηλές ενέργειες των ακτίνων X, δημιουργώντας ελεύθερες ρίζες. Η χρησιμοποίηση χαμηλών θερμοκρασιών ($T \approx 100$ K) δίνει μια λύση γύρω από αυτό το πρόβλημα, αφού σήμερα είναι πολύ εύκολο να παγώσουμε γρήγορα τον κρύσταλλο στο υγρό άζωτο και να τον εκλούσουμε σε κρύο αέριο N_2 κατά τη διάρκεια της συλλογής δεδομένων.

Στην παρούσα εργασία η κρυστάλλωση έγινε με την μέθοδο της αργής ψύξης. Η πειραματική διαδικασία που ακολουθείται για την δημιουργία και την ανάπτυξη κρυστάλλων των προϊόντων εγκλεισμού σε β -CD είναι η ακόλουθη:

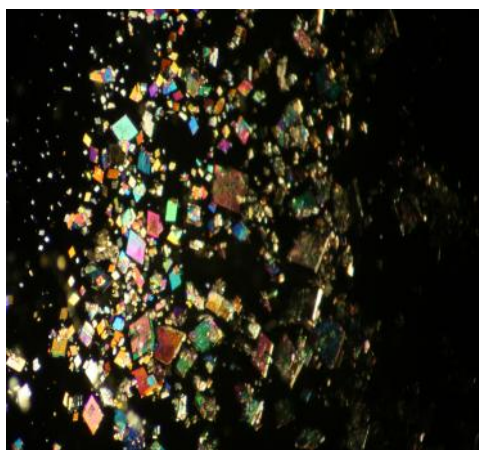
Σε υδατικό διάλυμα προστίθενται ποσότητες β -CD και της ουσίας που πρόκειται να εγκλειστεί σε αυτή στη συνήθη αναλογία (β -CD: ξενιζόμενο μόριο) 1/1, χωρίς η συγκεκριμένη αναλογία να είναι πάντα η ενδεδειγμένη για την δημιουργία του συμπλόκου. Για την δημιουργία κορεσμένου διαλύματος απαιτούνται 30 mg β -CD σε 1 mL νερού.

Το διάλυμα, που περιέχει την CD και την προς εγκλεισμό ουσία, αναδεύεται και τοποθετείται σε υδατόλουτρο, όπου πραγματοποιείται βαθμιαία ψύξη του δείγματος. Η αρχική θερμοκρασία των 70⁰C, σταδιακά μειώνεται μέχρι την θερμοκρασία των 25⁰C (θερμοκρασία περιβάλλοντος) περίπου. Η μείωση της θερμοκρασίας πρέπει να είναι σταδιακή και αργή, ειδικά τις τελευταίες μέρες του πειράματος της κρυστάλλωσης. Η διαδικασία της κρυστάλλωσης μπορεί να διαρκέσει 7-15 ημέρες περίπου και η ελάττωση της θερμοκρασίας γίνεται 2 ή 3 φορές την ημέρα και είναι της τάξης των 3-4⁰C τις πρώτες ημέρες του πειράματος, ενώ αργότερα η μείωση πρέπει να είναι της τάξης των 1 έως 2⁰C. Όταν πραγματοποιηθεί η βαθμιαία ψύξη των διαλυμάτων, τα δείγματα τοποθετούνται για μια ημέρα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και κατόπιν σε δωμάτιο θερμοκρασίας 18⁰C, με σκοπό να ολοκληρωθεί η ανάπτυξη των κρυστάλλων και να διατηρηθούν χωρίς αλλοιώσεις.

3.1.1. Επιλογή και στήριξη του κρυστάλλου (Mouting)

Η διαδικασία της επιλογής του κρυστάλλου και της τοποθέτησής του σε τριχοειδή σωλήνα είναι μια ιδιαίτερα δύσκολη και επικίνδυνη για τον κρύσταλλο διαδικασία. Αυτό συμβαίνει γιατί οι περισσότεροι κρύσταλλοι είναι ευαίσθητοι στη θερμοκρασία, το φως, τον αέρα και την υγρασία και οι χειρισμοί κατά την διάρκεια της στήριξης πρέπει να είναι προσεκτικοί, γρήγοροι και αποτελεσματικοί.

Αρχικά, με την βοήθεια οπτικού μικροσκοπίου, επιλέγεται κρύσταλλος καλής ποιότητας, χωρίς διδυμίες ή σχισμούς και με ευκρινή περατωτικά στοιχεία (έδρες, ακμές). Ο κρύσταλλος πρέπει συνεχώς να βρίσκεται μέσα στο μητρικό του υγρό (mother liquor) για να μην καταστραφεί (Εικόνα 3.1). Στην συνέχεια τοποθετείται, συνήθως με την βοήθεια πιπέτας Pauster, σε τριχοειδή σωλήνα διαμέτρου 0.7mm. Η τοποθέτηση του μονοκρυστάλλου στον τριχοειδή σωλήνα γίνεται με τον άξονά του ή την επιφάνειά του παράλληλα προς τον άξονα του σωλήνα. Αφού επιβεβαιωθεί η τοποθέτηση του κρυστάλλου στον τριχοειδή σωλήνα με την βοήθεια του μικροσκοπίου, τα άκρα του σωλήνα σφραγίζονται με κερί. Η επόμενη φάση της πειραματικής διαδικασίας περιλαμβάνει την συλλογή δεδομένων από τον κρύσταλλο (Σκοπελίτου, 2006).



Εικόνα 3.1. Κρύσταλλοι 4CPA/β-CD σε μητρικό υγρό

3.2. ΚΡΥΣΤΑΛΛΩΣΗ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ β-CD/IBA

Στην παρούσα κρυστάλλωση χρησιμοποιήθηκε ως ξενιστής, η ουσία β-CD από την εταιρεία Fluka, με μοριακό βάρος (MW)=1135.12, και ως ξενιζόμενο μόριο, IBA σε μορφή σκόνης από την εταιρεία Serva μοριακού βάρους (MW)=203,24 . Κατά την πειραματική διαδικασία για τον σχηματισμό κρυστάλλων δοκιμάστηκαν δύο διαφορετικές αναλογίες β-κυκλοδεξτρίνης/IBA, για να επιλεγεί εκείνη που σχηματίζει τους καταλληλότερους κρυστάλλους για την συλλογή κρυσταλλογραφικών δεδομένων. Οι αναλογίες β-κυκλοδεξτρίνης/IBA που δοκιμάστηκαν ήταν: 1/1 και 1.5/1. Και στις δύο περιπτώσεις 30 mg β-κυκλοδεξτρίνης διαλύθηκαν σε 1 mL απιονισμένου νερού, έτσι ώστε να σχηματιστεί κορεσμένο διάλυμα. Για να διευκολυνθεί η συμπλοκοποίηση και να σχηματιστεί διαυγές διάλυμα προστέθηκαν μερικές σταγόνες αιθανόλης. Οι ποσότητες των χημικών ουσιών που χρησιμοποιήθηκαν παρουσιάζονται στον πίνακα 3.2..

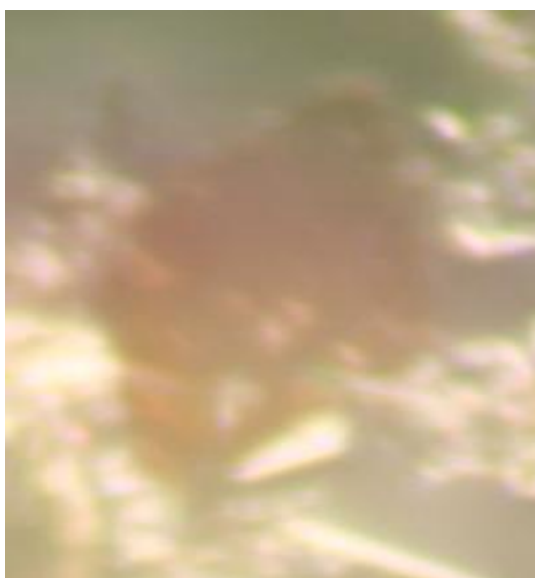
Πίνακας 3.2. Οι αναλογίες των χημικών ουσιών που χρησιμοποιήθηκαν για την κρυστάλλωση του συμπλόκου β-CD/IBA.

αναλογία	β-CD(mg)	IBA(mg)	Σταγόνες αιθανόλης(0,05ml)*	Σχηματισμός κρυστάλλων
1/1	30	5,34	+	Ναι. Μη αξιοποιήσιμοι κρύσταλλοι
1.5/1	45	5,34	+	Πρισματικοί

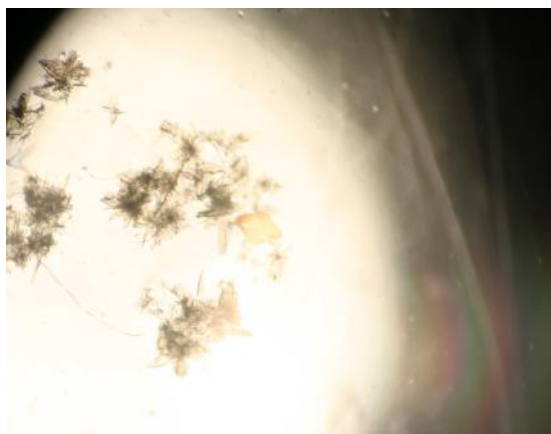
*Η προσθήκη της αιθανόλης έγινε με πιπέτα Paster

Τα διαλύματα που περιείχαν το σύμπλοκο β -CD/IBA, εισήχθησαν σε υδατόλουτρο, στο οποίο μειωνόταν σταδιακά η θερμοκρασία. Με την συγκεκριμένη διαδικασία σχηματίζονται σταδιακά κρύσταλλοι. Σχεδιάστηκε λοιπόν ένα πρόγραμμα μειούμενης θερμοκρασίας, το οποίο διήρκεσε 8 ημέρες και η θερμοκρασία μειώθηκε από τους 70°C στους 25°C. Τις πρώτες τρεις ημέρες η θερμοκρασία μειωνόταν κατά 5°C/12 ώρες, ενώ τις επόμενες ημέρες μειωνόταν 3°C/8 ώρες περίπου, ώσπου η θερμοκρασία του υδατόλουτρου να φτάσει σε θερμοκρασία δωματίου (25°C). Στη συνέχεια, οι κρύσταλλοι αφού παρέμειναν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 24 ώρες, μεταφέρθηκαν σε θάλαμο ελεγχόμενης θερμοκρασίας στους 18°C, ώστε οι κρύσταλλοι να αναπτυχθούν σε κατάλληλο μέγεθος.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι καταλληλότεροι κρύσταλλοι σχηματίζονται με την στοιχειομετρική αναλογία β -CD/IBA 1.5/1. Όπως φαίνεται και στην εικόνα 3.2. α., ο κρύσταλλος που σχηματίστηκε είναι, ευκρινής και καλοσχηματισμένος. Η αναλογία 1/1 δεν έδωσε αξιοποιήσιμους κρυστάλλους, αποδεικνύοντας ότι δεν ικανοποιείται η απαραίτητη στοιχειομετρική αναλογία για το σχηματισμό συμπλόκου και επομένως μονοκρυστάλλου. Από τον πίνακα 3.2. φαίνεται ότι η μοριακή αναλογία ξεριστή/ξενιζόμενου πρέπει να είναι από 1.5/1



α.



β.

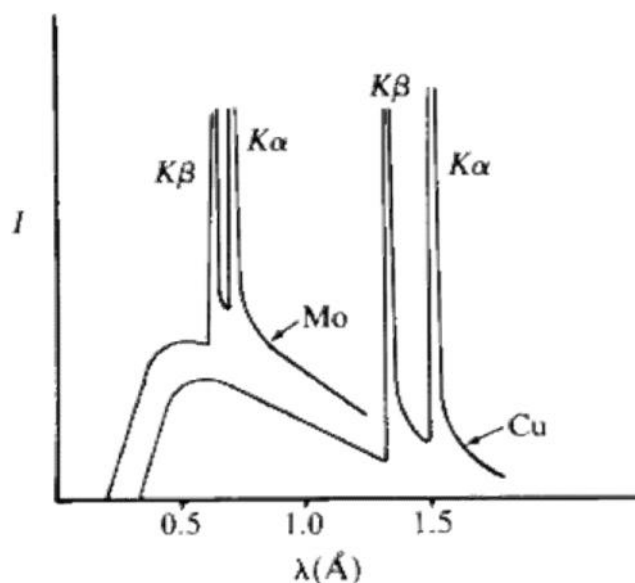
Εικόνα 3.2. α. Πρισματικός μονοκρύσταλλος κατάλληλος για συλλογή δεδομένων περίθλασης ακτίνων-Χ, ο οποίος δημιουργήθηκε με στοιχειομετρική αναλογία 1.5/1.
β. Ακατάλληλοι κρύσταλλοι μικρού μεγέθους οι οποίοι δημιουργήθηκαν από στοιχειομετρική αναλογία β-CD/IBA 1/1.

3.3. ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Η συλλογή δεδομένων περίθλασης ακτίνων-Χ στον κρύσταλλο του συμπλόκου β-CD/IBA πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Κρυσταλλογραφίας Ακτίνων-Χ του

Ινστιτούτου Επιστήμης Υλικών του ΕΚΕΦΕ «ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ». Τα περιθλασίμετρο, που χρησιμοποιήθηκε, ήταν Syntex P2₁ τεσσάρων κύκλων αναβαθμισμένο με Crystal Logic (Strouse, 2002). Η πηγή ακτίνων-X ήταν τύπου περιστρεφόμενης ανόδου (Rigaku RU-H 3R) και χρησιμοποιήθηκε μονοχρωματική ακτινοβολία μήκους κύματος $\lambda=1.392 \text{ \AA}$ (Cu K β). Η σταθερότητα των κρυστάλλων ελεγχόταν μέσω περιοδικής μέτρησης των εντάσεων τριών ανακλάσεων αναφοράς. Οι τρεις αυτές ανακλάσεις ελέγχονταν ανά 97 ανακλάσεις. Η συνολική ποιοτική υποβάθμιση του κρυστάλλου βρέθηκε μικρότερη του 6.00 % και έγινε αναγωγή μετρήσεων. Η επεξεργασία και διόρθωση των δεδομένων (πόλωση Lorentz, απορρόφηση) έγιναν με χρήση υπολογιστικών συστημάτων της Crystal Logic

Οι παραγόμενες ακτίνες-X διέρχονται συνήθως από διάφορα διαφράγματα ή μονοχρωμάτορες. Αν και συνηθέστερα στην κρυσταλλογραφία μονοκρυστάλλων σε ανόδους Cu χρησιμοποιούνται φίλτρα Ni και επιλέγεται μονοχρωματική ακτινοβολία K α ($\lambda=1.541 \text{ \AA}$), εξαιτίας της μεγαλύτερης έντασής της, στη διάρκεια του πειράματος της παρούσας εργασίας επιλέχθηκε η K β ακτινοβολία του Cu.



Σχήμα 3.3.1. Σχέση $\lambda \text{ \AA}$ και I K α και K β ακτινοβολίας του Cu και του Mo

Στην εικόνα 3.3.δίνεται ένα περιθλασίμετρο τεσσάρων κύκλων. Σε αυτό η προσπίπτουσα ακτινοβολία-X προσπίπτει στον μονοκρύσταλλο, που τοποθετείται, όπως αναφέρθηκε στην § 1.4.3, σε γωνιομετρική κεφαλή, η οποία περιστρέφεται κατά τις γωνίες φ , χ και ω (Σχήμα 3.3.2.). Για να αποφευχθεί ο μεγάλος θόρυβος, που αναμένεται

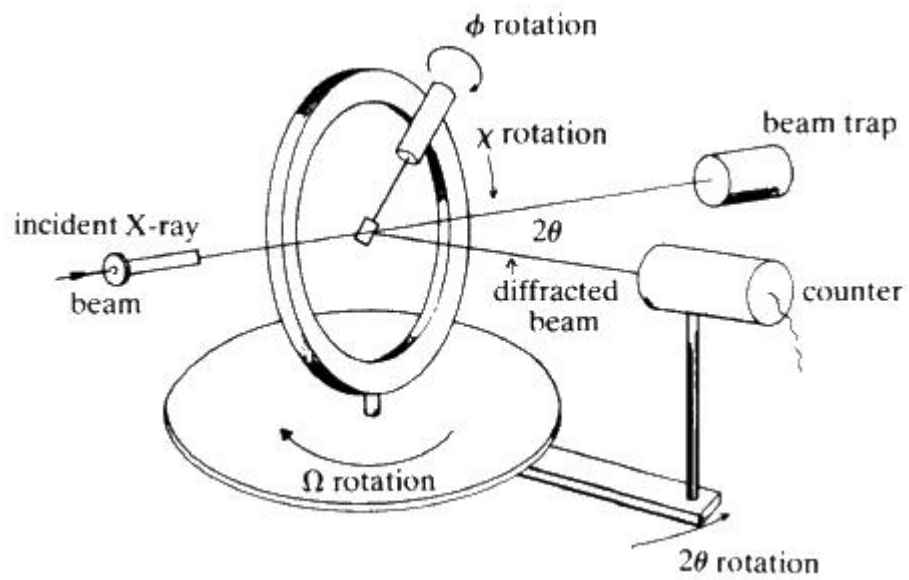
στην κατεύθυνση πρόσπτωσης των ακτίνων-X, και ‘πίσω’ από τον κρύσταλλο τοποθετείται μία παγίδα των ακτίνων (beam trap ή beam stop).



Εικόνα 3.3. Ένα απλό περιθλασίμετρο

Ο ανιχνευτής κινείται στην περιφέρεια υποθετικού κύκλου, ο οποίος έχει κέντρο το σημείο συμβολής των ακτίνων – X επί του δείγματος και ακτίνα την απόσταση της πηγής και του σημείου αυτού. Ο κύκλος αυτός λέγεται γωνιομετρικός κύκλος και καθορίζει την ακρίβεια μετρήσεων της κάθε διατάξεως ακτίνων – X, αφού η ανακλώμενη δέσμη ακτίνων μονίμως και σταθερά θα πρέπει να εστιάζεται επί του γωνιομετρικού κύκλου. Τυχόν απόκλιση έστω και ελάχιστη είναι προφανές ότι οδηγεί σε απώλεια μετρήσεων.

Για διάταξη γωνιομέτρου θ - 2θ η λυχνία των ακτίνων – X παραμένει ακίνητη, το δείγμα και ο ανιχνευτής κινούνται. Καθώς το δείγμα περιστρέφεται βήμα-βήμα κατά μία τυχαία γωνία, ο ανιχνευτής περιστρέφεται κατά το διπλάσιο αυτής με πολύ υψηλή ακρίβεια. Αυτό επιτυγχάνεται με ειδικούς κινητήρες προσαρμοσμένους στο γωνιόμετρο. Σε αξιόπιστα γωνιόμετρα το βήμα περιστροφής του δείγματος πρέπει να είναι μικρό και συνήθως είναι ένα εκατοστό της μοίρας.



Σχήμα 3.3.2. Παράσταση γωνιομετρικού κύκλου

Πίνακας 3.3.1. Αρχικά πειραματικά δεδομένα κρυσταλλογραφικής μελέτης β -CD/IBA.

Πειραματικά δεδομένα	
Κώδικας Αναγνώρισης	IBA
Εμπειρικός Τύπος	$C_{48}H_{76}N_{0.50}O_{46.50}$
Μοριακό βάρος	1404.09
Θερμοκρασία	293 (2) °K
Μήκος κύματος Cu $K\beta$	1.392 Å
Κρυσταλλικό Σύστημα, Ομάδα χώρου	Μονοκλινές, C2
Διαστάσεις μοναδιαίας κυψελίδας	a= 19.235 (5)Å alpha=90° b=24.561(3)Å beta=109.71° c= 16.023(19)Å gamma=90°
Όγκος μοναδιαίας κυψελίδας	7170(9) Å ³
Z, Υπολογισμένη πυκνότητα	4, 1.301 Mg/m ³
Συντελεστής απορρόφησης	1.037 mm ⁻¹
F(000)	2958
Διαστάσεις κρυστάλλου	0.35x0.20x0.08 mm
Πλήθος ανεξαρτήτων ανακλάσεων	4288
Ανακλάσεις που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της μοναδιαίας κυψελίδας	53

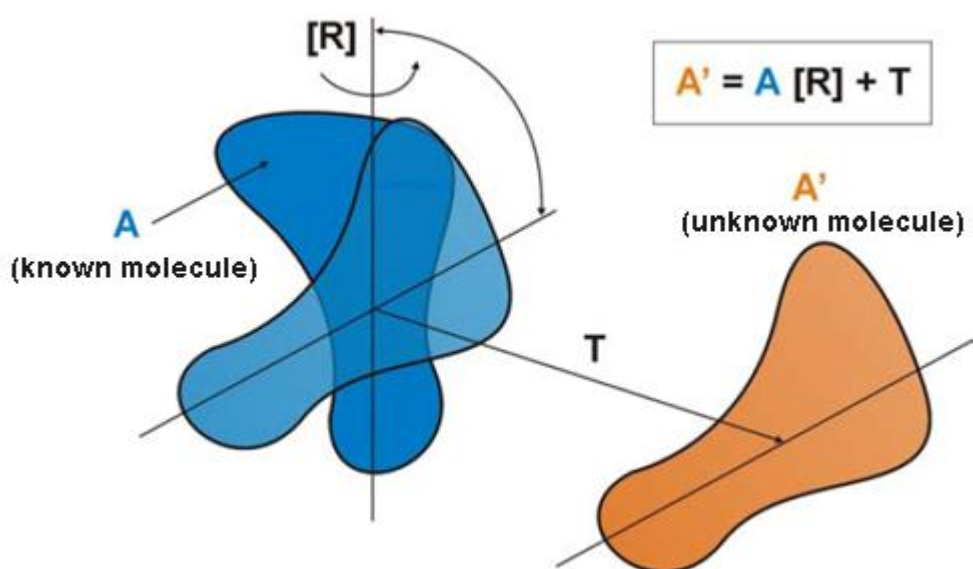
3.4. ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ.

3.4.1. Επίλυση δομής και βελτιστοποίηση δομής.

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για τον αρχικό προσδιορισμό των φάσεων, ήταν αυτή της μοριακής αντικατάστασης. Αρχικά για την επίλυση της δομής χρησιμοποιήθηκε, ως ομόλογο μοντέλο του συμπλόκου β -CD/IBA, το σύμπλοκο της

καρβακρόλης σε β -CD. Το σύμπλοκο αυτό κρυσταλλώνει με παρομοίων διαστάσεων μοναδιαία κυψελίδα. Με αυτό το δεδομένο έγινε η υπόθεση ότι το συγκεκριμένο μοριακό μοντέλο παρουσιάζει ικανοποιητική ομοιότητα με το μοριακό μοντέλο του συμπλόκου β -CD/IBA.

Με τη χρήση του υπολογιστικού προγράμματος *DIRDIF99* (Beurskens P.T. *et al.*, 1998), το οποίο βασίζεται στη μέθοδο της μοριακής αντικατάστασης στο χώρο των διανυσμάτων Patterson, επετεύχθη ο προσδιορισμός ενός αρχικού μοντέλου, με βελτιστοποίηση του οποίου προέκυψε το τελικό μοντέλο. Η βελτιστοποίηση της δομής έγινε με την μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων βασιζόμενη στο F^2 , χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα *SXELXL97* (Sheldrick J., 2008). Τα προγράμματα επίλυσης, βελτιστοποίησης αλλά και σχεδιασμού της υπό έρευνα κρυσταλλικής δομής, χρησιμοποιήθηκαν μέσα από το πακέτο *WINGX* (Farrugia L.J., 1999), κατάλληλο για την πλατφόρμα των Windows.



Εικόνα 3.4.1. Απεικόνιση των συναρτήσεων περιστροφής και μετατόπισης που εφαρμόζονται για την υπέρθεση μιας δομής ανιχνευτή και μιας δομής στόχου στην μοριακή αντικατάσταση.

Ο δείκτης αξιοπιστίας για το αρχικό μοντέλο της δομής, όπως προέκυψε από το πρόγραμμα μοριακής αντικατάστασης (*DIRDIF99*), ήταν $R_1=0.25$. Με διαδοχικούς διαφορικούς χάρτες Fourier, που υπολογίστηκαν με την βοήθεια του προγράμματος *SXELXL97* (Sheldrick J., 2008), βασιζόμενοι σε λογικές στερεοχημικές υποθέσεις, εντοπίστηκαν σταδιακά όλες οι ατομικές θέσεις της β -CD, τα μόρια του IBA και τα μόρια νερού, με δείκτη αξιοπιστίας, που συγκλίνει τελικά στην τιμή $R_1 = 0.1038$. Τα άτομα του υδρογόνου, που συνδέονται με τα άτομα του άνθρακα των μορίων- ξενιστών,

τοποθετήθηκαν υπολογιστικά σε C-H αποστάσεις, 0.97 Å και 0.98 Å για τα δευτεροταγή και τα τεταρτοταγή άτομα C αντίστοιχα, και οι θερμοί παράμετροι καθορίστηκαν σε $1.2 \times U_{\text{iso}}$ των ισοτροπικών θερμοικών παραμέτρων των αντιστοιχών ατόμων C. Η γεωμετρία του ξενιζομένου μορίου βελτιστοποιήθηκε γραφικά προσαρμόζοντας το μοντέλο στα ανώτατες τιμές της διαφοράς του χάρτη ηλεκτρονιακής πυκνότητας $\Delta\rho$. Τα φαινυλικά τμήματα του ξενιζομένου μορίου τέθηκαν σε ιδανική γεωμετρία (C-C αποστάσεις=1.39 Å, C-C-C γωνίες=120°). Οι παράγοντες κατάληψης για όλα τα άτομα του ξενιζομένου μορίου συγκλίνουν, μετά τη βελτιστοποίηση, στο 0.5. Ανισοτροποικοί παράμετροι θερμικής κίνησης εφαρμόστηκαν μόνο για τα μη αποδιατεταγμένα άτομα του οξυγόνου των μορίων του ξενιστή λόγω του περιορισμένου αριθμού των διαθέσιμων ανακλάσεων (παρατηρούμενες ανακλάσεις/παράμετροι=4122/622=6.627). Πενηντατρείς (53) ανακλάσεις τελικά παραλείφθηκαν, εξαιτίας της κακής συμφωνίας των πειραματικά προσδιορισμένων και των υπολογισμένων από το τελικό μοντέλο εντάσεων τους. Η διαδικασία βελτιστοποίησης συγκλίνει τελικά σε μοντέλο με δείκτη αξιοπιστίας $R_1 = 0.1081$, για τις παρατηρούμενες ανακλάσεις με $I_0 > 2.0\sigma(I_0)$.

Αναλυτικότερα, κατά την βελτιστοποίηση, ακολουθούνται τα εξής βήματα:

1. Εύρεση όλων των ατομικών θέσεων της β -CD.
2. Σταδιακός εντοπισμός των μορίων νερού στην ασύμμετρη μονάδα της κρυσταλλικής δομής.
3. Σταδιακή εύρεση των ατόμων του ξενιζομένου μορίου.
4. Εντοπισμός των ατόμων που είναι σε αποδιάταξη και εύρεση των παραγόντων κατάληψης των θέσεων που αυτά καταλαμβάνουν.
5. Κάθε κύκλο βελτιστοποίησης της δομής, ακολουθεί βελτιστοποίηση των γεωμετρικών χαρακτηριστικών (ατομικές αποστάσεις, γωνίες που σχηματίζουν ενδεχόμενοι δεσμοί, συνεπίπεδες ατομικές θέσεις, που αντιστοιχούν σε αρωματικούς δακτυλίους).
6. Πρόσθεση ατόμων υδρογόνου σε κατάλληλες θέσεις με υπολογιστικό τρόπο.
7. Άτομα με υψηλή θερμική κίνηση, όπως τα οξυγόνα τίθενται ως ανισοτροπικά.

Οι εικόνες που ακολουθούν δείχνουν κάποια χαρακτηριστικά στάδια επίλυσης της δομής, τα οποία ξεκινούν από την αρχική δομή, που προσδιορίστηκε από το πρόγραμμα *DIRDIF99*, όπου παρατηρείται το μεγαλύτερο μέρος της δομής της β -CD. Η κρυσταλλική δομή ανήκει σε μονοκλινές κρυσταλλικό σύστημα εδροκεντρωμένο και

εμφανίζει κρυσταλλική συμμετρία C2. Η μοναδιαία κυψελίδα (unit cell) χαρακτηρίζεται από $a= 19.235(5) \text{ \AA}$, $b= 24.561(3) \text{ \AA}$, $c=16.023(19) \text{ \AA}$, $\beta=108.711^{\circ} (19)$, $\alpha=\gamma=90^{\circ}$.

3.4.2. Έλεγχος αξιοπιστίας των συντεταγμένων της δομής.

Η αξιολόγηση της αξιοπιστίας του μοντέλου, στο οποίο καταλήξαμε, γίνεται με έλεγχο της ορθότητας του κρυσταλλογραφικού πειράματος με δείκτες αξιοπιστίας, όπως R_{int} , του χειρισμού των δεδομένων, της συμφωνίας του τελικού μοντέλου με τα δεδομένα (δείκτες, $goof R$) και των στερεοχημικών-γεωμετρικών ιδιοτήτων αυτού (PLATON check cif).

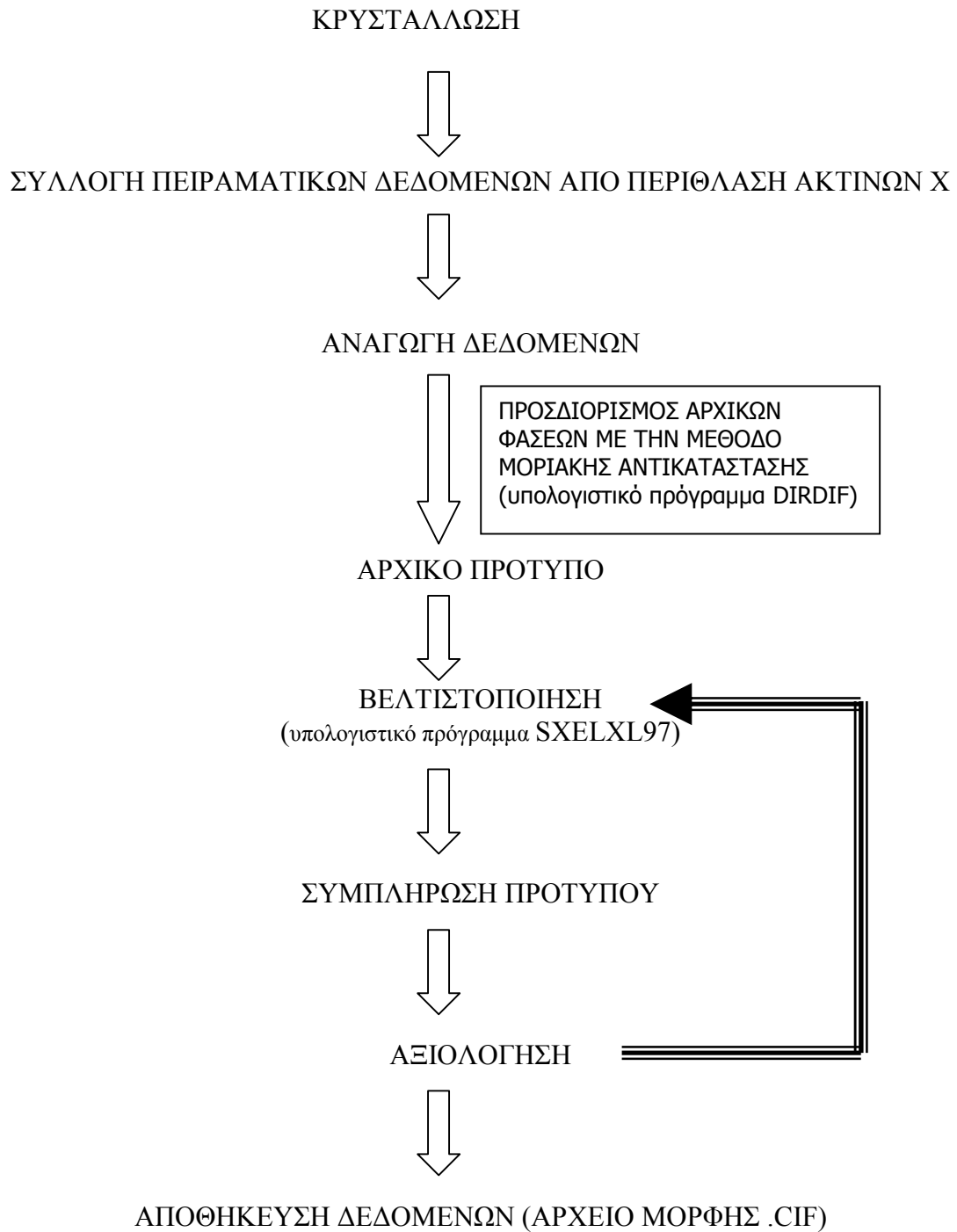
3.4.3. Οπτικοποίηση.

Τέλος, για την οπτικοποίηση του μοριακού μοντέλου και την μελέτη των γεωμετρικών χαρακτηριστικών χρησιμοποιήθηκε το υπολογιστικό πρόγραμμα Mercury 1.4.2. (Macrae C.F. *et al.*, 2008). Επιπλέον το συγκεκριμένο πρόγραμμα χρησιμοποιήθηκε και για την μελέτη των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μορίων του συμπλόκου.

Πίνακας 3.4.1. Κρυσταλλογραφικά δεδομένα της κρυσταλλογραφικής μελέτης β -CD/IBA.

Κρυσταλλογραφικά Δεδομένα	
Κώδικας Αναγνώρισης	IBA
Περιθλασίμετρο	Syntex P2 ₁
Μέθοδος συλλογής δεδομένων	$\theta/2\theta$
Εύρος $\theta(^{\circ})$ για συλλογή δεδομένων	2.63 έως 47.52 deg
Διόρθωση απορρόφησης	Δεν έγινε
Συντελεστής απορρόφησης	1.037mm ⁻¹
Συνολικές ανακλάσεις /Μοναδικές	4288/ 4152 [R(int)=0.0749]
Πληρότητα ως προς $\theta(^{\circ})$	24.08 99.4%
Οριακοί δείκτες	-20 =>h=>15 -15 =>k => 24 -15 => l=>16
ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ	
Μέθοδος βελτιστοποίησης	Μέθοδος ελαχίστων τετραγώνων επί του F ²
Δεδομένα / Περιορισμοί /Παράμετροι	4152/ 27/ 622
Δείκτης αξιοπιστίας R [I>2 σ (I)]	R1=0.1038
Μέγιστη εναπομείνασα διαφορική ηλεκτρονιακή πυκνότητα	0.413και -0.313e. Å ³
Απόσβεση έντασης (%)	5.20

Στο διάγραμμα 3.4.1. δίνεται το διάγραμμα ροής της κρυσταλλογραφικής μελέτης που εκπονήθηκε για την παρούσα εργασία.



Διάγραμμα 3.4.1. Διάγραμμα ροής κρυσταλλογραφικής μελέτης προϊόντος εγκλεισμού IBA σε β -CD.

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.

4.1. ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΤΟΥ ΞΕΝΙΣΤΗ (β -CD) ΣΤΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ.

Για τον υπολογισμό των γεωμετρικών χαρακτηριστικών της δομής του προϊόντος εγκλεισμού IBA σε β -CD χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα μοριακής προσομοίωσης Mercury 1.4.2. (Macrae C.F. *et al.*, 2008). Το συγκεκριμένο πρόγραμμα μας επιτρέπει την μελέτη των στοιχείων που αφορούν την γεωμετρία των μορίων του συμπλόκου στον χώρο, τις αλληλεπιδράσεις τους και πώς αυτές σταθεροποιούν το σύμπλοκο και την μοριακή διεύθετηση της κρυσταλλικής δομής.

Για την μελέτη της διαμόρφωσης του μορίου της β -CD μετά τον εγκλεισμό του μορίου του IBA μέσα σε αυτήν, προσδιορίστηκαν οι τιμές γεωμετρικών χαρακτηριστικών που παρατίθενται στον πίνακα 4.1.1. Τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά που μελετώνται είναι τα ακόλουθα:

- ❖ Οι αποστάσεις D , $[D=O4n...O4(n+1) \text{ αποστάσεις}]$, (πλευρές του επταγώνου που σχηματίζεται από τα $O4$ των γλυκοζιτικών μονάδων, όπου n ($n=1...7$) ο αριθμός της γλυκοζιτικής μονάδας.
- ❖ Οι γωνίες, Φ_h , του επταγώνου που σχηματίζεται από τα $O4$ των γλυκοζιτικών μονάδων $[\Phi_h= O4(n-1)...O4n...O4(n+1) \text{ γωνίες}]$, όπου n ($n=1...7$) ο αριθμός της γλυκοζιτικής μονάδας.
- ❖ Οι αποστάσεις d σε Å των $O4$ ατόμων κάθε γλυκοζιτικής μονάδας της κυκλοδεξτρίνης από το μέσο επίπεδο που αυτά σχηματίζουν.
- ❖ Οι αποστάσεις D_K σε Å των $O4$ ατόμων κάθε γλυκοζιτικής μονάδας της κυκλοδεξτρίνης από το βαρύκεντρο αυτών, $[D_K=KA...O4n \text{ απόσταση}]$, όπου KA το βαρύκεντρο και n ($n=1...7$) ο αριθμός της γλυκοζιτικής μονάδας.
- ❖ Οι διέδρες γωνίες, t , μεταξύ των $O5-C5-C6-O6$ κάθε γλυκοζιτικής μονάδας, με $[t= (O5n-C5n-C6n-O6n) \text{ γωνία}]$ όπου n ($n=1...7$) ο αριθμός της γλυκοζιτικής μονάδας για τον προσδιορισμό της διαμόρφωσης gauche-gauche (gg) ή gauche-trans(gt) κάθε γλυκοζιτικής μονάδας.

Πίνακας 4.1.1. Παρουσίαση των γεωμετρικών παραμέτρων που εμφανίζονται στην β-κυκλοδεξτρίνη με τον εγκλεισμό της IBA σε αυτή.

	β-CD/ IBA							
Γλυκοζιτική μονάδα	n=1	n=2	n=3	n=4	n=5	n=6	n=7	ΜΕΣΕΣ ΤΙΜΕΣ
Q(Å)	0.587	0.538	0.558	0.571	0.580	0.565	0.551	
θ(°)	2.04	3.57	1.96	5.70	3.36	2.47	3.57	
D(Å)	4.39	4.32	4.50	4.30	4.39	4.30	4.36	4.37
Φ _h (°)	130.50	125.7	128.70	130.1	128.0	127.9	129.2	128.58
d(Å)	-0,012	0.042	-0.033	-0.003	0,018	0.001	-0.012	0.017
D _K (Å)	4.97	5.16	5.05	4.97	5.07	5.08	4.99	5.041
Φ _K (°)	51.3	50.0	53.4	50.8	51.2	50.5	52.8	
τ(°)	9.0	13.1	9.2	14.6	12.4	12.4	6.6	
t(°)	81.4	80.6	84.2	79.1	81.2	82.1	85.4	
τ _l (°)	-62	-67	-65(A) -57(B)	-69(A) 55(B)	-56(A) 53(B)	-59	-70	
Διαμόρφωση (C)	gg	gg	gg /gg	gg/gt	gg/gt	gg	gg	

Q και θ = Παράμετροι Cremer-Pople, d = αποστάσεις O4n...O4(n+1), Φ_h = Γωνίες O4(n-1)...O4n ... O4(n+1), D_K = αποστάσεις εκάστου O4n ατόμου από το κατά προσέγγιση κέντρο K του επταγώνου των O4n, Φ_K = Γωνία O4n... K...O4(n+1), d = αποκλίσεις των O4n ατόμων από το μέσο τους επίπεδο, τ = Γωνίες κλίσης μεταξύ του μέσου επιπέδου O4n και του μέσου επιπέδου των ατόμων O4(n-1), C1n, C4n, O4n, τ_l =

Γωνίες συστροφής $O5n-C5n-C6n-O6n$; C = Προσανατολισμός των πρωτοταγών αλυσίδων

Σύμφωνα με τον πίνακα 4.1.1. διαπιστώνουμε ότι δεν παρατηρείται παραμόρφωση των ξενιστών λόγω του εγκλεισμού της IBA και της κρυσταλλικής διευθέτησης. Το συμπέρασμα, αυτό, προκύπτει από το γεγονός ότι:

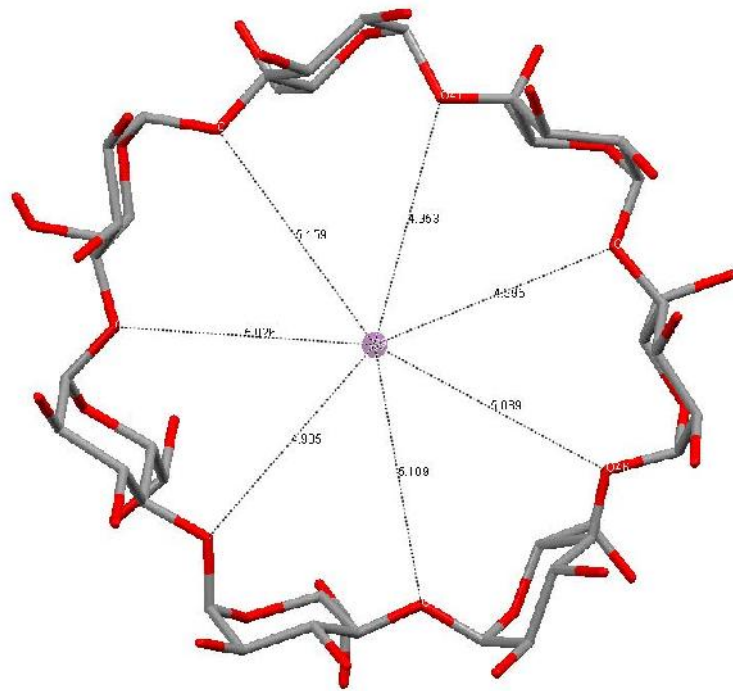
1. Από τις τιμές των παραμέτρων Cremer-Pople Q και θ , παρατηρούμε ότι οι γλυκοζιτικές μονάδες εξακολουθούν να υιοθετούν 4C_1 - διαμόρφωση ανακλίντρου.

2. Οι αποστάσεις των $O4n$ από το κέντρο του μορίου (d_K), είναι περίπου ίδιες και περίπου ίσες με 5Å ($d_K=5.041\text{Å}$) και οι γωνίες Φ_h είναι περίπου ίσες, επομένως τα $O4n$ των γλυκοζιτικών δεσμών διατηρούν το σχήμα του κανονικού επταγώνου.

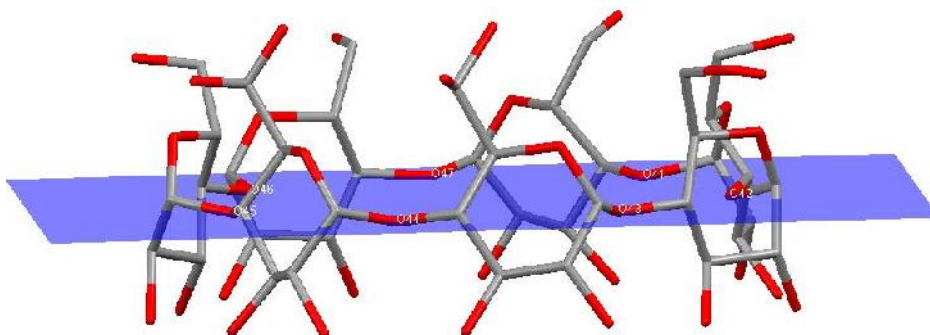
3. Επίσης, οι αποστάσεις D_K αλλά και οι γωνίες Φ_K είναι περίπου ίδιες γεγονός, που δείχνει ότι διατηρείται ο μοριακός άξονας 7^{nc} τάξης, που χαρακτηρίζει τον ξενιστή.

4.Επιπλέον, δεν παρατηρείται παραμόρφωση του μέσου επιπέδου του μακρόκυκλου των CD, καθώς τα $O4n$ άτομα δεν παρεκκλίνουν σχεδόν καθόλου από το μέσο επίπεδο που αυτά ορίζουν ($d(\text{Å})= 0.017$), οπότε μπορούν να θεωρηθούν συνεπίπεδα άτομα, των οποίων μάλιστα οι αποστάσεις σχηματίζουν κατά προσέγγιση κανονικά πολύγωνα, βάσει των παραμέτρων D και Φ_h που παρουσιάζονται στον πίνακα 4.1.1. (Εικόνα 4.4.1.). Το γεγονός της μη παραμόρφωσης των μορίων CD κατά τον εγκλεισμό του IBA σε αυτά, πιθανά να εξηγείται από την φύση των δυνάμεων που οδηγούν σε αυτόν (μη-ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις).

Ορισμένα από τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά, που περιλαμβάνονται στα οποία βασίστηκαν οι υπολογισμοί του πίνακα 4.1.1..



Εικόνα 4.4.1. Αποστάσεις, που σχηματίζουν τα O4 της β -CD από το βαρύκεντρο αυτών.

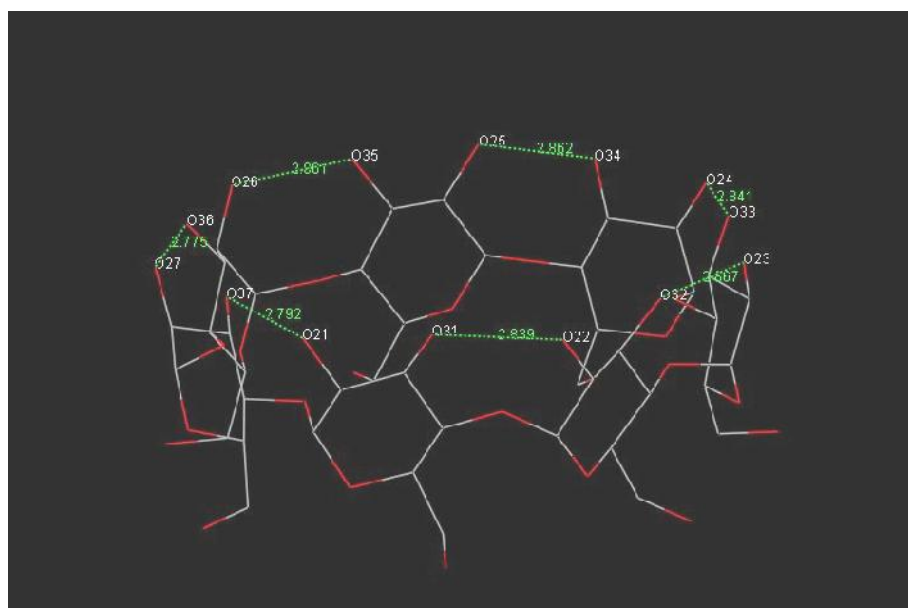


Εικόνα 4.4.2. Τα άτομα O(4n) της β -CD δεν παρεκκλίνουν από το μέσο επίπεδο

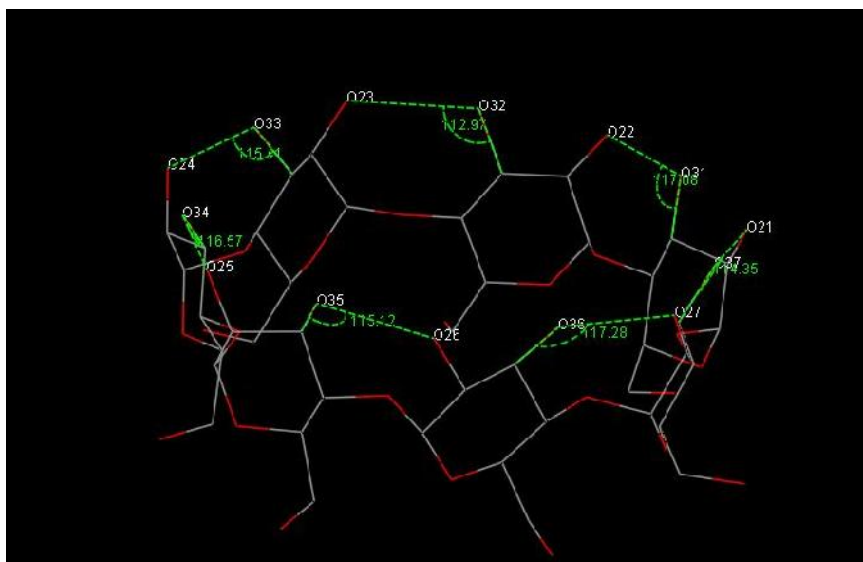
Η σταθερότητα της δομής των κυκλοδεξτρινών βασίζεται στο σχηματισμό ενδομοριακών δεσμών υδρογόνου που δημιουργούνται μεταξύ των διαδοχικών γλυκοζιτικών μονάδων (Εικόνα 4.4.3.). Πρόκειται για τους δεσμούς O(3n-1)...O2(n), όπου n=1,2...7 ο αριθμός της γλυκοζιτικής μονάδας της β-CD

Πίνακας 4.4.2. Περιγραφή των ενδομοριακών δεσμών υδρογόνου O2nB...O3(8-n) στο μόριο της κυκλοδεξτρίνης

		Αποστάσεις(Å)	Γωνίες(°)
O22B	O31A	2.796	117.08
O23B	O32A	2.864	112.97
O24B	O33A	2.844	115.41
O25B	O34A	2.839	116.57
O26B	O35A	2.900	115.12
O27B	O36A	2.758	117.28
O21B	O37A	2.785	114.35



Εικόνα 4.4.3. Οι ενδομοριακοί δεσμοί υδρογόνου O2n...O3(8-n)



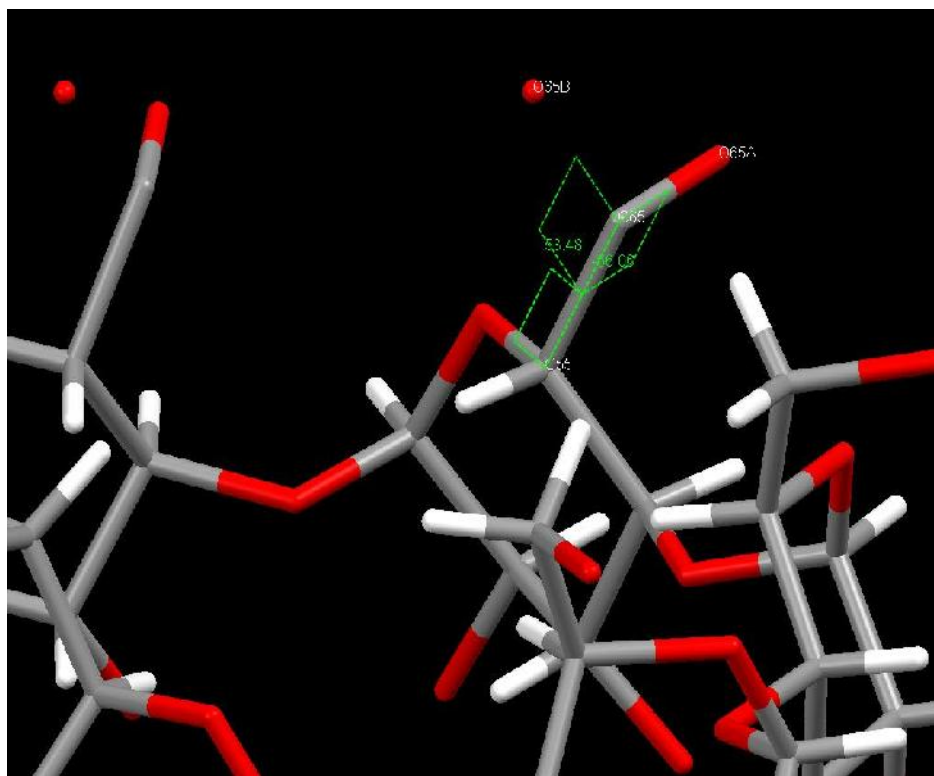
Εικόνα 4.4.4. Οι γωνίες **C3(8-n)-O3(8-n)-O2n**

Οι παραπάνω δεσμοί σχηματίζονται καθώς όλες οι δευτεροταγείς O(2) και O(3) υδροξυλομάδες βρίσκονται στην ίδια πλευρά των κυκλοδεξτρινών, χάρη στον προσανατολισμό των γλυκοζιτικών μονάδων (*cis* διαμόρφωση) που σχηματίζουν τις κυκλοδεξτρίνες. Αντίθετα, όλες οι πρωτοταγείς υδροξυλομάδες των O(6) των κυκλοδεξτρινών, που βρίσκονται στην άλλη πλευρά της κυκλοδεξτρίνης, μπορούν να περιστρέφονται γύρω από τον C(5)-C(6) δεσμό με τον προτιμώμενο προσανατολισμό της διαδοχής O(5)-C(5)-C(6)-O(6) να έχει αρνητικό πρόσημο, (-)-*gauche*, όπως φαίνεται και στον πίνακα 4.1.1. (δίδερη γωνία t).

Ο προσανατολισμός αυτός σημαίνει ότι οι O(6) υδροξυλομάδες δείχνουν προς τα έξω από το κέντρο του μακρόκυκλου. Κρυσταλλογραφικές μελέτες έχουν δείξει ότι η προτιμώμενη διαμόρφωση των α -D-γλυκοπυρανοζών και των β -κυκλοδεξτρινών, είναι αυτή κατά την οποία οι O(6) υδροξυλομάδες δείχνουν έξω από το κέντρο του μακρόκυκλου. Η διαμόρφωση αυτή λέγεται (-)-*gauche* και αντιστοιχεί σε αρνητική τιμή ($\sim -60^\circ$) της δίδερης γωνίας O(5)-C(5)-C(6)-O(6) (Εικόνα 4.4.5.)

Τρεις πρωτοταγείς υδροξυλομάδες του μορίου της β -CD, μετά τον εγκλεισμό του IBA σε αυτό, οι O63, O64 και O65, είναι αποδιατεταγμένες σε πάνω δύο θέσεις (Εικόνα 4.3.1). Όπως υποδηλώνεται από τις τιμές των γωνιών στρέψης, η πλειονότητα των υδροξυλομάδων του IBA έχουν *gauche-gauche* (gg) διαμόρφωση και στρέφονται προς το εξωτερικό της κοιλότητας της κυκλοδεξτρίνης. Μόνο οι δεύτερες θέσεις των O64 και O65 υδροξυλομάδων, έχουν *gauche-trans* (gt) διαμόρφωση και στρέφονται

προς το εσωτερικό. Η O63 υδροξυλομάδα και στις δύο αποδιατεταγμένες θέσεις της στρέφεται προς το εξωτερικό.



Εικόνα 4.4.5. Δίεδρη γωνία O55-C55-C65-O66 είναι -56.06° . Τα πρωτοταγή $-OH$ της 6^{ης} γλυκοζιτικής μονάδας έχουν τη gg διαμόρφωση (στρέφεται προς τα ‘έξω’ του μακρόκυκλου όπως και η πλειονότητα των πρωτοταγών $-OH$).

Πίνακας 4.4.3. Οι διέδρες γωνίες φ και ψ των γλυκοζιτικών μονάδων της κυκλοδεξτρίνης.

φ	
C41-O41-C12-O52	111.4
C42-O42-C13-O53	113.1
C43-O43-C14-O54	106.6
C44-O44-C15-O55	112.3
C45-O45-C16-O56	106.9
C46-O46-C17-O57	108.0
C47-O47-C11-O51	111.2
ψ	
C11-O47-C47-C37	128.1
C12-O41-C41-C31	130.1
C13-O42-C42-C32	125.2
C14-O43-C43-C33	132.7
C15-O44-C44-C34	128.3
C16-O45-C45-C35	127.8
C17-O46-C46-C36	123.2

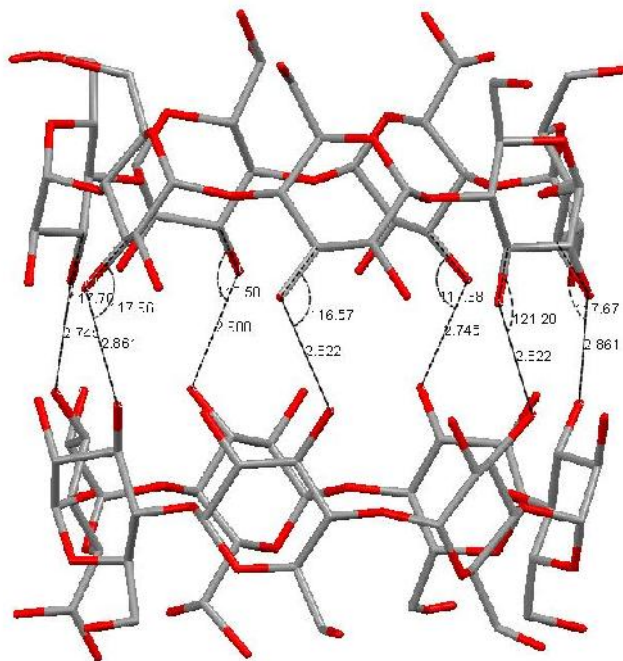
Ο σχετικός προσανατολισμός των γλυκοζιτικών υπομονάδων περιγράφεται καλά και από τις διέδρες γωνίες γύρω από τους γλυκοζιτικούς δεσμούς που ορίζονται από την φ , O5(x)-C1(x)-O4(x')-C4(x') και ψ , C1(x)-O4(x')-C4(x')-C3(x') (όπου x, ο αριθμός της γλυκοζιτικής μονάδας και x' ο αριθμός της γλυκοζιτικής μονάδας που ακολουθεί σύμφωνα με το σχήμα της κυκλοδεξτρίνης). Οι αναμενόμενες τιμές για τις γωνίες φ και ψ κυμαίνονται μεταξύ 102-123° και 112-149° αντίστοιχα για τις β -CDs (Saenger W. and Steiner T., 1998). Από τον πίνακα 4.4.3, γίνεται φανερό ότι οι γωνίες φ και ψ των γλυκοζιτικών μονάδων της β -CD μετά τον εγκλεισμό του IBA παραμένουν στα ίδια όρια, οπότε η διαμόρφωση της β -CD μπορεί να θεωρηθεί αμετάβλητη σε σχέση με την διαμόρφωση της, όταν δεν εγκλείεται κάποιο μόριο στην κοιλότητα αυτής.

4.2. ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΔΙΜΕΡΟΥΣ ΤΗΣ β -CD ΣΤΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ β -CD/IBA.

Δύο μόρια β -CD, όπως φαίνεται στην εικόνα 4.2.1., σχηματίζουν διμερές τύπου κεφαλής-κεφαλής (head to head) μέσω O3n...O'3(8-n) δεσμών υδρογόνου (όπου n=1,2...7, ο αριθμός της γλυκοζιτικής μονάδας). Η ένταση των δεσμών υδρογόνου μεταξύ ουδέτερων μορίων καθορίζεται υπολογιστικά από την απόσταση των μορίων

(Lei Liu and Qing-Xiang Guo, 2002). Οι δεσμοί υδρογόνου του συμπλόκου που μελετάμε, φαίνονται στο σχήμα που ακολουθεί και περιγράφονται από τον πίνακα 4.2.1.

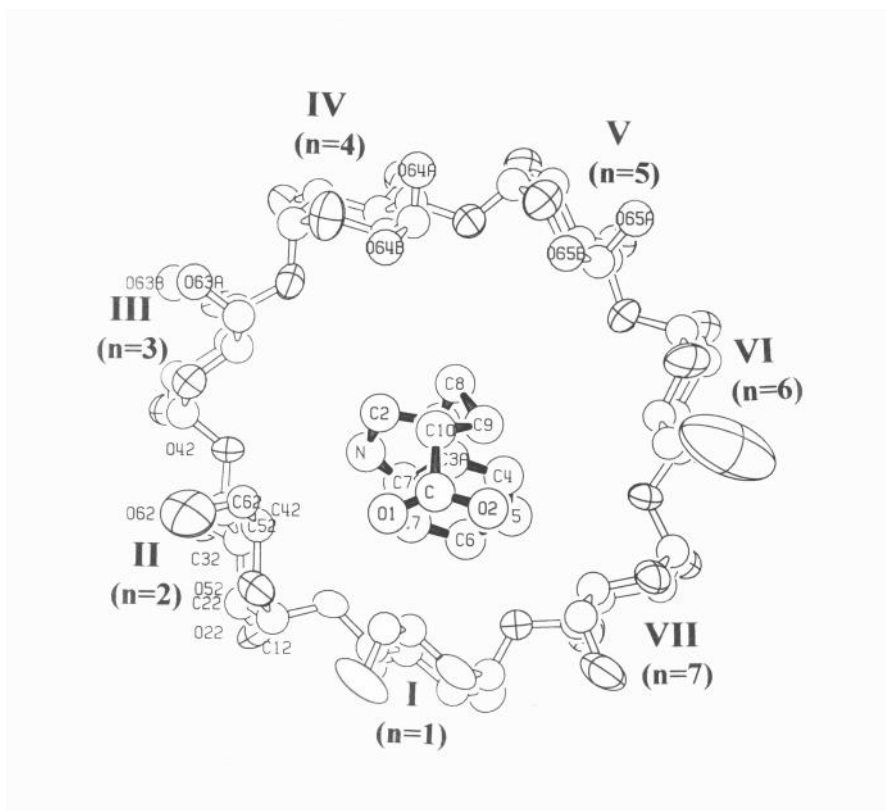
Εικόνα 4.2.1. Οι διαμοριακοί δεσμοί υδρογόνου $O3n...O'3(8-n)$ που συνενώνουν τα δύο μόρια της κυκλοδεξτρίνης.



Πίνακας 4.2.1. Διαμοριακοί δεσμοί υδρογόνου O3n...O'3(8-n) που συνενώνουν τα δύο μόρια της κυκλοδεξτρίνης προς σχηματισμό διμερούς.

		Αποστάσεις(Å)	Γωνίες(°)
O31	O'37	2.822	116.57
O32	O'36	2.861	117.96
O33	O'35	2.745	117.70
O34	O'34	2.900	118.58
O35	O'33	2.745	117.38
O36	O'32	2.861	117.67
O37	O'31	2.822	121.20

4.3. ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ β -CD/IBA.

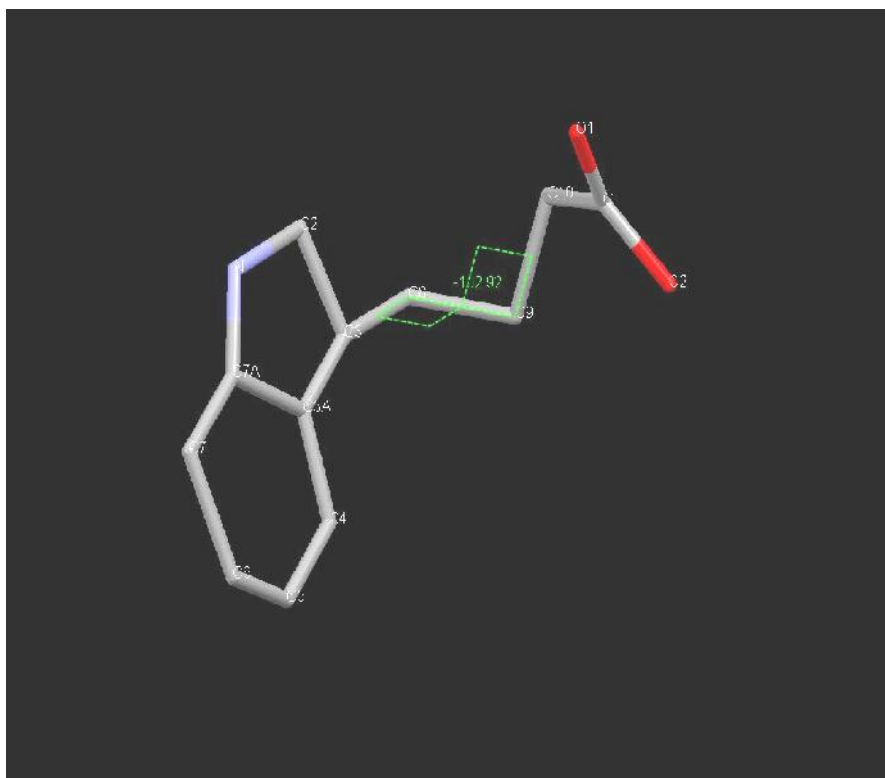


Εικόνα 4.3.1.

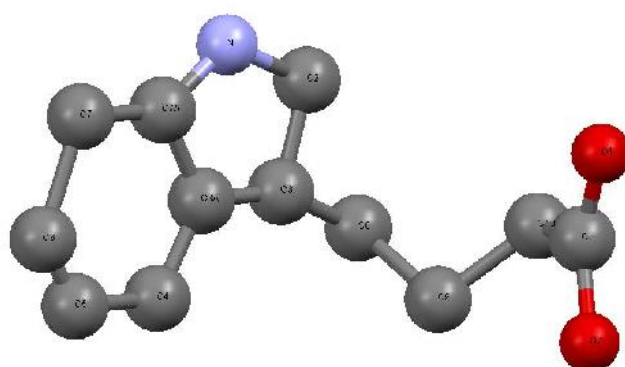
Από την ολοκλήρωση της επεξεργασίας των κρυσταλλογραφικών δεδομένων προέκυψε ένα μοντέλο, του οποίου η ασύμμετρη μονάδα αποτελείται από δύο μόρια β -κυκλοδεξτρίνης και ένα μόριο IBA. Η ομάδα χώρου της κρυσταλλικής δομής είναι C 2. Δύο μόρια β -κυκλοδεξτρίνης συνδέονται με δεσμούς υδρογόνου με τα $O3n...O'3(8-n)$ υδροξύλια, κατά μήκος του άξονα b και σχηματίζουν διμερές. Η στοιχειομετρία ξενιστή:ξενιζομένου είναι 2:1. Ένα μόριο IBA εγκλείεται στην κοιλότητα του διμερούς της β -κυκλοδεξτρίνης και στατιστικά μπορεί να βρεθεί σε δύο θέσεις, κατά μήκος του άξονα b . Η θέση του ινδολικού δακτυλίου του IBA μέσα στην κοιλότητα της β -κυκλοδεξτρίνης δεν επιτρέπει τον εγκλεισμό και άλλου μορίου IBA στο συμμετρικό του ξενιστή. Αυτό είναι εμφανές και από τη μικρή απόσταση, που παρατηρείται μεταξύ των συμμετρικών ατομικών θέσεων του IBA στο διμερές (π.χ. η απόσταση μεταξύ του C5 ατόμου του IBA και του συμμετρικού είναι 0.335 Å).

Το IBA αποτελείται από έναν εξαμελή δακτύλιο ενωμένο με ένα ετεροκυκλικό (περιέχει άτομο N) πενταμελή δακτύλιο (ινδόλιο) και ένα αλειφατικό τμήμα που περιέχει καρβοξύλιο. Η γωνία συστροφής, που σχηματίζουν τα άτομα C(3), C(8), C(9),

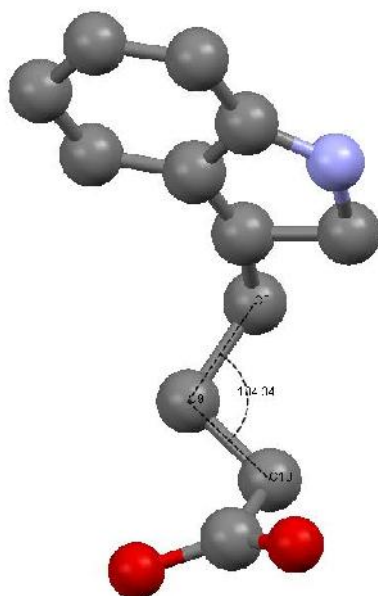
C(10) του αλειφατικού τμήματος του IBA είναι -102.92° (Εικόνα 4.3.2.) ενώ η γωνία μεταξύ των C(8), C(9), C(10), είναι $C_8-\hat{C}_9-C_{10} \approx 104.34^\circ$ (Εικόνα 4.3.4.).



Εικόνα 4.3.2. Γωνία συστροφής

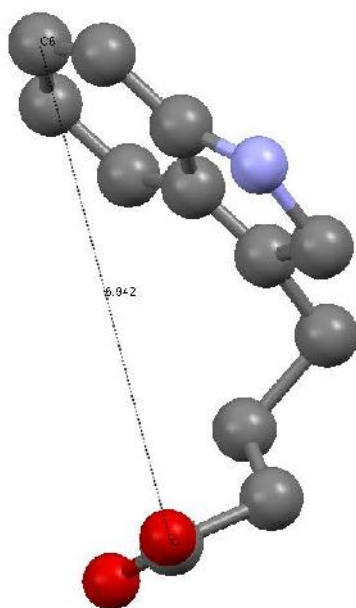


Εικόνα 4.3.3 Διαμόρφωση του ΙΒΑ στο σύμπλοκο



Εικόνα 4.3.4.

Ο C(8) συνδέει το ινδολικό τμήμα του μορίου με το υπόλοιπο (αλειφατικό) και επομένως η τιμή της γωνίας του καθορίζει το μέγιστο μήκος του μορίου στην καθεμιά διαμόρφωσή του. Η απόσταση μεταξύ του C(6) και του C, που ενδεικτικά δείχνει το μήκος του μορίου υπολογίστηκε στα 6.942 Å (Εικόνα 4.3.5).



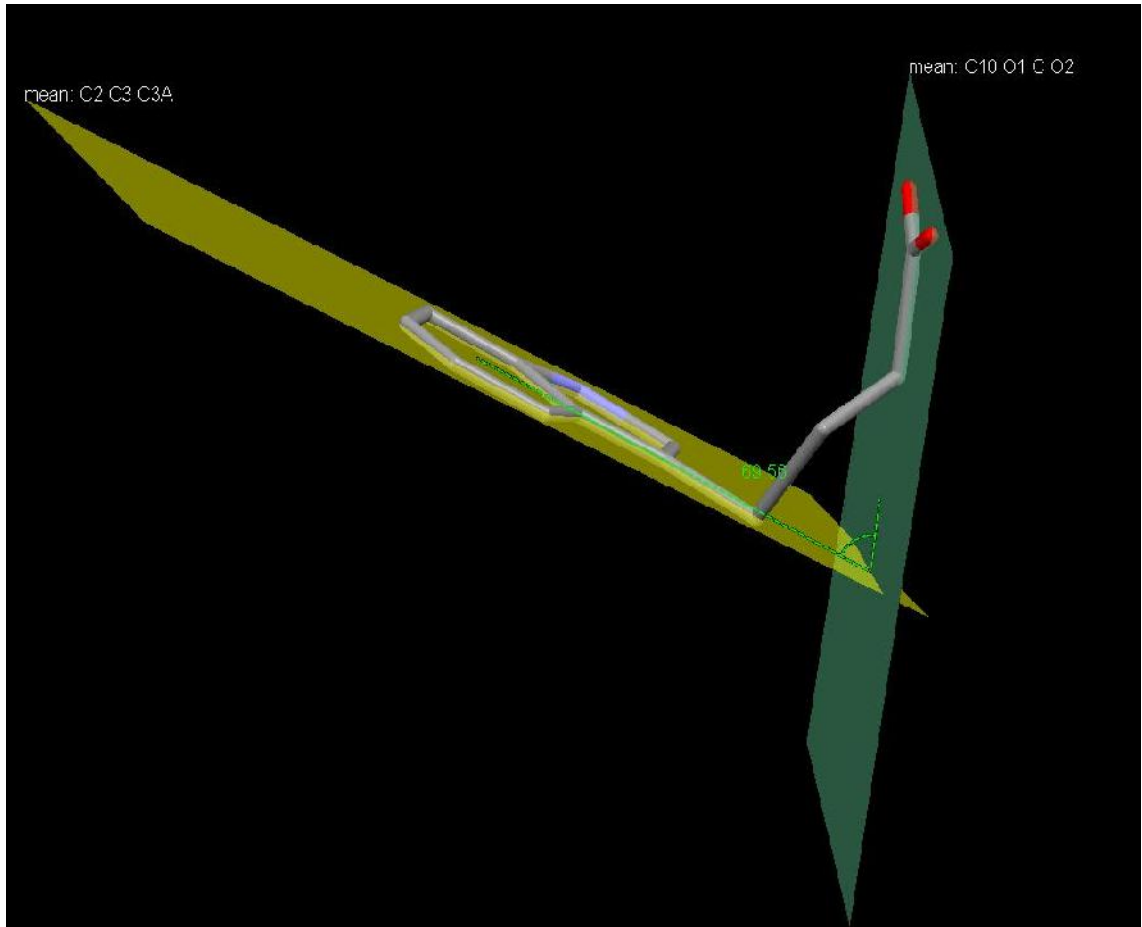
Εικόνα 4.3.5.

Η μικρή τιμή της γωνίας, που σχηματίζεται μεταξύ των ατόμων C(3),C(8),C(9),C(10) (-102.92°) του IBA, φανερώνει πως το μόριο αναγκάζεται να καμφθεί και να λάβει μια πολύ συγκεκριμένη διαμόρφωση προκειμένου να εισέλθει στην κοιλότητα της β -CD με το αλειφατικό του τμήμα (Εικόνες 4.3.2 και 4.3.3).

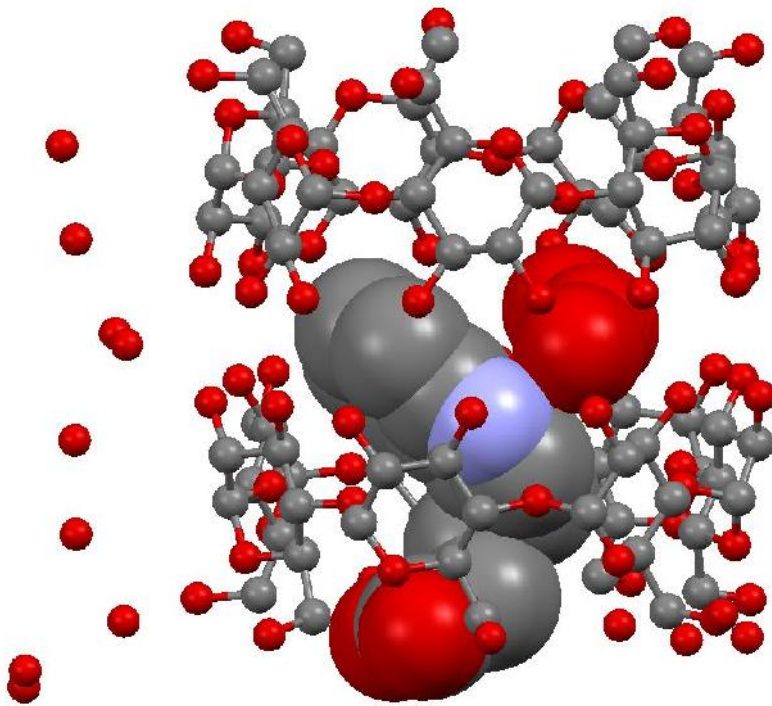
Ο δακτύλιος του ινδολίου είναι σχεδόν επίπεδος. Η βουτυρική αλυσίδα του IBA είναι σχεδόν κάθετη προς το μέσο επίπεδο του δακτυλίου του ινδολίου. (Εικόνα 4.3.6). Οι καρβοξυλικές ομάδες του IBA βρίσκονται στην πρωτοταγή περιοχή του ξενιστή και μερικά άτομα του φαινολικού δακτυλίου βρίσκονται κοντά στην διεπαφή (διασύνδεση) του διμερούς. Τα επίπεδα του δακτυλίου του ινδολίου σχηματίζουν γωνία 69.56° με το μέσο επίπεδο των γλυκοσιδικών O4n ατόμων. Αυτός ο προσανατολισμός είναι αρκετά διαφορετικός από τον παρατηρούμενο στο σύμπλοκο IBA/TM/ β -CD, όπου ο δακτύλιος

του ινδολίου είναι κάθετος με το μέσο επίπεδο των $O4n$ ατόμων και βρίσκεται κατά μήκος του επιμήκη άξονα του ελλειπτικού $O4n$ επαγώνου (Tsorteki *et al.*, 2004).

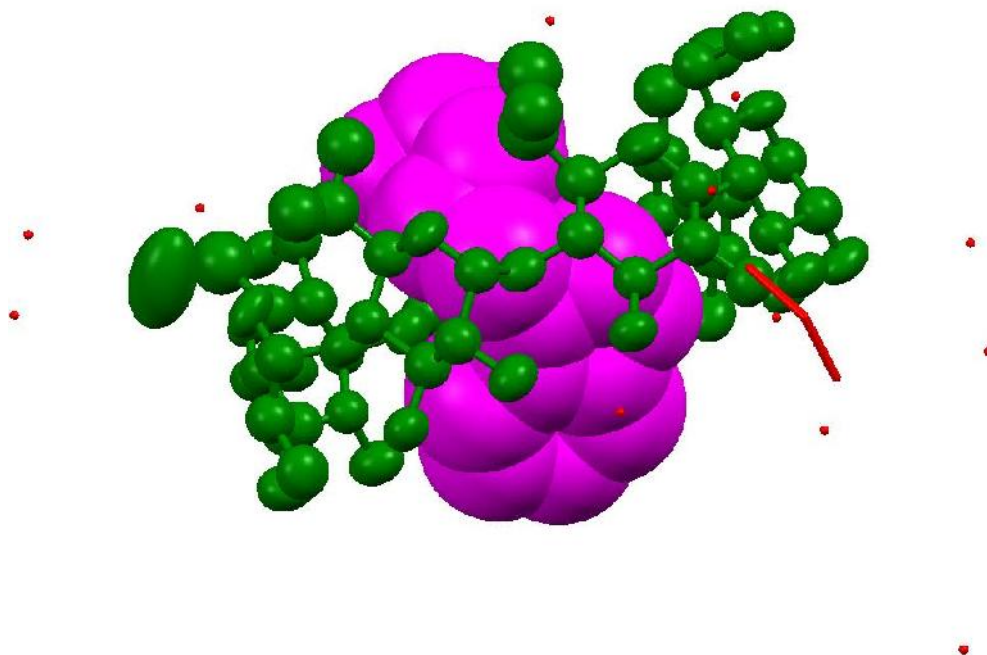
Το γεγονός ότι μόνο στο ένα μόριο του διμερούς εγκλείεται ένα ξενιζόμενο μόριο επιβεβαιώνεται και από την παρουσία ενός μορίου νερού στην υδροφοβική κοιλότητα του συμπλόκου.



Εικόνα 4.3.6.



Εικόνα 4.3.7. Το διμερές β -CD/IBA. Ο αριθμός κατάληψης του μορίου του IBA , που εγκλείεται σε κάθε κοιλότητα β -CD, είναι 0.5, και ως εκ τούτου μόνο ένα μόριο IBA μπορεί να βρίσκεται μέσα στην κοιλότητα του διμερούς με αναλογία ξενιστή:ξενιζόμενου 2:1

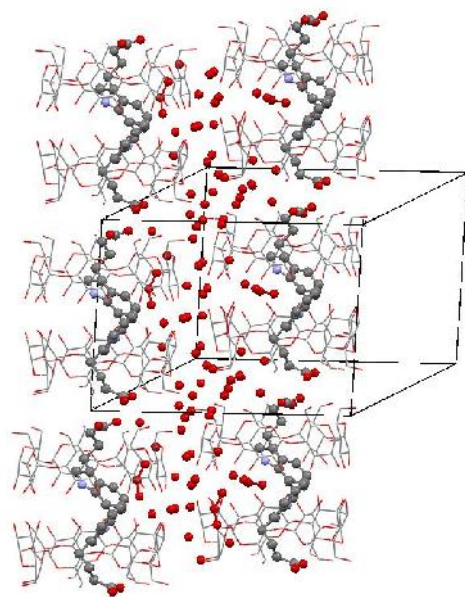


Εικόνα 4.3.8. Χωροπληρωματικό μοντέλο για το ξενιζόμενο μόριο IBA. Οι σφαίρες των ατόμων σχεδιάζονται με τις ακτίνες Van der Waals και τις αλληλεπιδράσεις στις περιοχές επαφής των ατομικών σφαιρών.

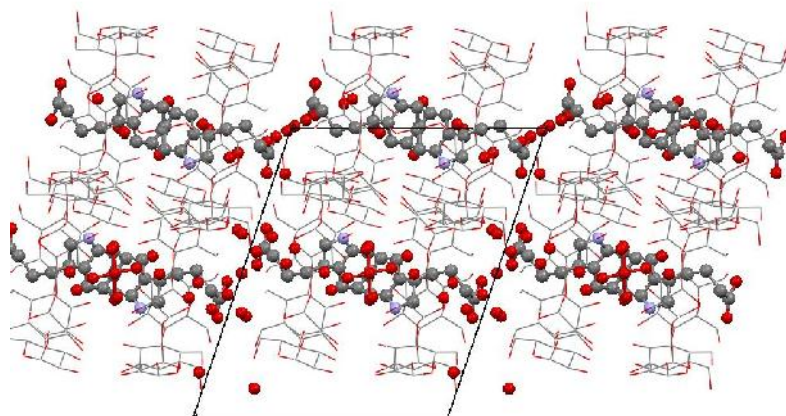
Η διαμόρφωση αυτή και η στοιχειομετρία του συμπλόκου β -CD/IBA είναι προϊόν των υδροφοβικών δυνάμεων, που παίζουν κυρίαρχο ρόλο στη διαδικασία της δημιουργίας του συμπλόκου. Ο φαινολικός δακτύλιος και ο δακτύλιος του ινδολίου και η βουτυρική αλυσίδα βυθίζονται στην υδροφοβική κοιλότητα του διμερούς της β -κυκλοδεξτρίνης λόγω, κυρίως, των υδροφοβικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ του μορίου του IBA και της υδροφοβικής κοιλότητας της β -κυκλοδεξτρίνης. Η θέση αυτή ευνοεί τη δημιουργία δεσμών υδρογόνου μεταξύ των O2 ατόμων των καρβοξυλομάδων των γειτονικών διμερών. Η παρουσία ενός ακόμα μορίου IBA, στην κοιλότητα του σχηματιζόμενου διμερούς, περιορίζεται από στερικές αλληλεπιδράσεις.

4.4. ΚΡΥΣΤΑΛΛΙΚΗ ΜΟΡΙΑΚΗ ΔΙΕΥΘΕΤΗΣΗ ΤΩΝ ΔΙΜΕΡΩΝ ΤΗΣ β -CD (Crystal Packing).

Κατά τη κρυσταλλική μοριακή διεύθετηση τα διμερή που σχηματίζονται από τις β -κυκλοδεξτρίνες, διευθετούνται σε στρώσεις κατά τον κρυσταλλογραφικό άξονα c και παράλληλα στο άξονα b της μοναδιαίας κυψελίδας. Οι συστάδες που διαμορφώνονται παρουσιάζουν σχηματισμό ζικ-ζακ (Εικόνα 4.4.1.). Κατά τον άξονα c το βαρύκεντρο κάθε διμερούς είναι μετατοπισμένο κατά 2.36 Å από το βαρύκεντρο του επόμενου διμερούς.



Εικόνα 4.4.1. Η κρυσταλλική μοριακή διεύθετηση κατά τον άξονα των διμερών β -CD/IBA κατά τον άξονα c .



Εικόνα 4.4.2. Η κρυσταλλική μοριακή διεύθυνση κατά τον άξονα των διμερών β -CD/IBA κατά τον άξονα b.

Η γωνία που σχηματίζουν τα επίπεδα δύο συνεχόμενων στρώσεων διμερών β -CD είναι 10.2° . Οι, κατά προσέγγιση, άξονες 7^{th} τάξης των μορίων του ξενιστή σχηματίζουν γωνίες 8.54° με τον άξονα c. Οι υδρογονικοί δεσμοί μεταξύ των ατόμων του οξυγόνου των καρβοξυλίων των ξενιζομένων μορίων σε δύο γειτονικά διμερή κατά μήκος του ίδιου καναλιού εξηγούν την παρατηρούμενη προσέγγιση των διμερών στο IBA και τη μείωση της πλευρικής μετατόπισης των γειτονικών στρώσεων. Οι αποστάσεις μεταξύ των $O4n$ μέσω επιπέδων μεταξύ των γειτονικών διμερών είναι 15.85 \AA . Η κρυσταλλική δομή έχει 10.66 μόρια νερού στην ασύμμετρη μονάδα τα οποία διανέμονται σε 17 θέσεις. Τα διμερή συγκροτούν κρυσταλλικό πλέγμα μέσω των υδρογονικών δεσμών που σχηματίζονται μεταξύ των υδροξυλίων της πρωτοταγούς περιοχής των κυκλοδεξτρινών και των μορίων του δικτύου του νερού (Εικόνα 4.4.5.).

Οι Mentzafos *et al.*, (1991) πρότειναν τέσσερις τρόπους ταξινόμησης της κρυσταλλικής μοριακής διάταξης των δημοσιευμένων συμπλόκων των διμερών της β -CD: καναλιού (CH), ενδιάμεση (IM), καναλιού τύπου βίδας (SC) και σκακιέρας (CB). Τα διμερή σύμπλοκα της β -CD κατατάσσονται σε μία από αυτές τις κατηγορίες ανάλογα με τη μοναδιαία κυψελίδα και την ομάδα χώρου, που κρυσταλλώνονται. Τα σύμπλοκα των διμερών της β -CD αποτελούνται από πυκνές εδροκεντρωμένες στρώσεις διμερών β -CD και οι σχετικές θέσεις αυτών των δισδιάστατων αμετάβλητων στρώσεων

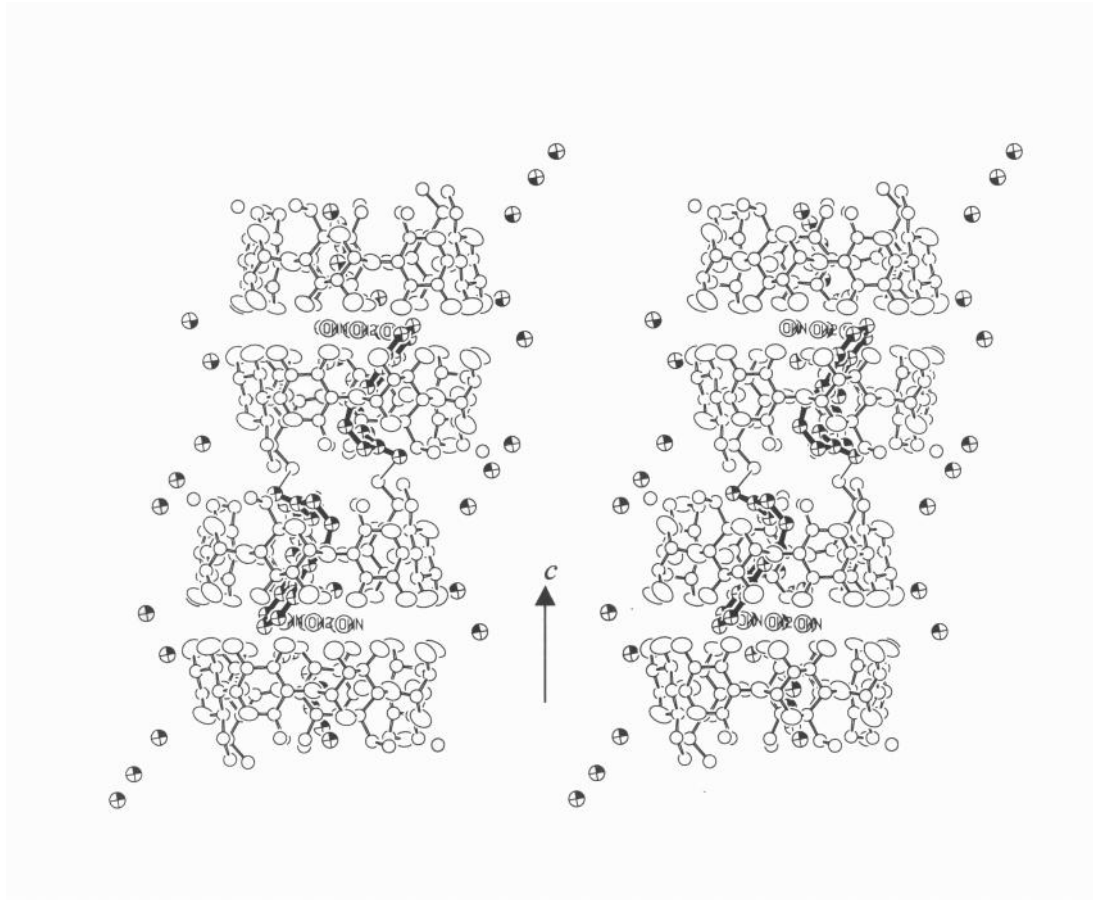
παράγουν τους διαφορετικούς τρόπους διάταξης. Επειδή τα ξενιζόμενα μόρια 'προεξέχουν' από τις πρωτοταγείς περιοχές των διμερών, που αποτελούν την άνω και κάτω όψη των στρώσεων, είναι φυσικό να επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό η κρυσταλλική μοριακή διάταξη. Έτσι, στη διάταξη τύπου καναλιού (*CH*), η πλευρική μετατόπιση των γειτονικών στρώσεων ποικίλλει από 1.14 Å έως 3.1 Å και εξαρτάται από το ξενιζόμενο μόριο (Tsorteki *et al.*, 2005; Πίνακας 4.4.1.). Στη περίπτωση της ενδιάμεσης διάταξης (*IM*) έχουν παρατηρηθεί τα παρακάτω: Δύο σύμπλοκα διμερών β -CD (ομάδας χώρου *C2*) με πλευρική μετατόπιση περίπου 6.9 Å (Πίνακας 4.4.1.), δείχνουν ότι σχηματίζεται μία νέα διάταξη σχεδιασμένη σαν <<τετράδα>> (Tetrad) (Brett *et al.*, 2000; Tsorteki *et al.*, 2005). Η διμερής δομή του βενζοϊκού οξέος- β -CD (Aree & Chaichit, 2003), που κρυσταλλώνει στην ομάδα χώρου *P*₁, δείχνει πλευρική μετατόπιση 6.49 Å. Όλες οι δομές, που χαρακτηρίζονται ως ενδιάμεσες (*IM*) και κρυσταλλώνουν στην ομάδα χώρου *P*₁ (Mentzafos *et al.*, 1991), εμφανίζουν πλευρική μετατόπιση των γειτονικών στρώσεων μεταξύ 6.0 Å έως 7.0 Å.

Πρόσφατα, έχουν εμφανιστεί στη βιβλιογραφία δομές με νέες διαστάσεις μοναδιαίας κυψελίδας (Giastas *et al.*, 2003) ή οι κυψελίδες τους δεν ακολουθούν τους κανόνες, που αναφέρθηκαν προηγουμένως (Caira *et al.*, 2003; Sanchez-Ruiz *et al.*, 1999). Προτάθηκε, ότι, αυτό προκαλείται από το ξενιζόμενο μόριο. Ειδικότερα, η γεωμετρία, η ευελιξία ή η αποδιάταξη του ξενιζομένου μορίου, επηρεάζουν τη συμμετρία του συμπλόκου και το πλέγμα αποκτά χαμηλότερη συμμετρία.

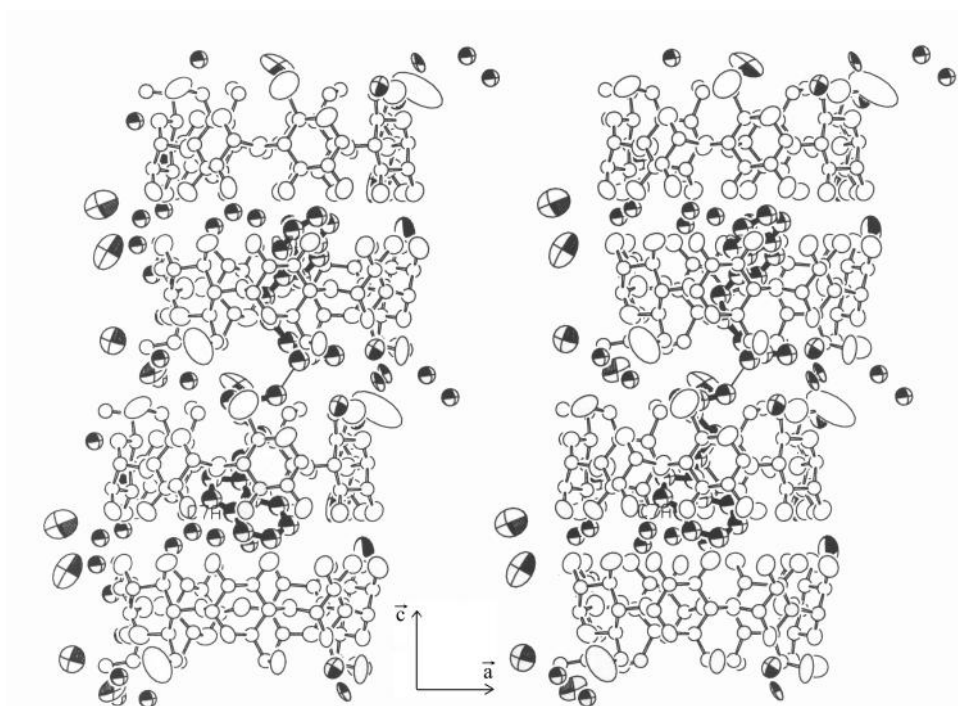
Στην σταθεροποίηση αυτής της κρυσταλλικής δομής συμβάλλουν οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ: (i) των μορίων της β -CD και του δικτύου νερού γύρω από αυτά καθώς και (ii) μεταξύ της υδροξυλομάδας των μορίων IBA, που εξέχει του διμερούς, με το δίκτυο των μορίων νερού.

Πίνακας 4.4.1. Κρυσταλλικά δεδομένα και τρόποι μοριακής διάταξης συμπλόκων διμερών β-CD

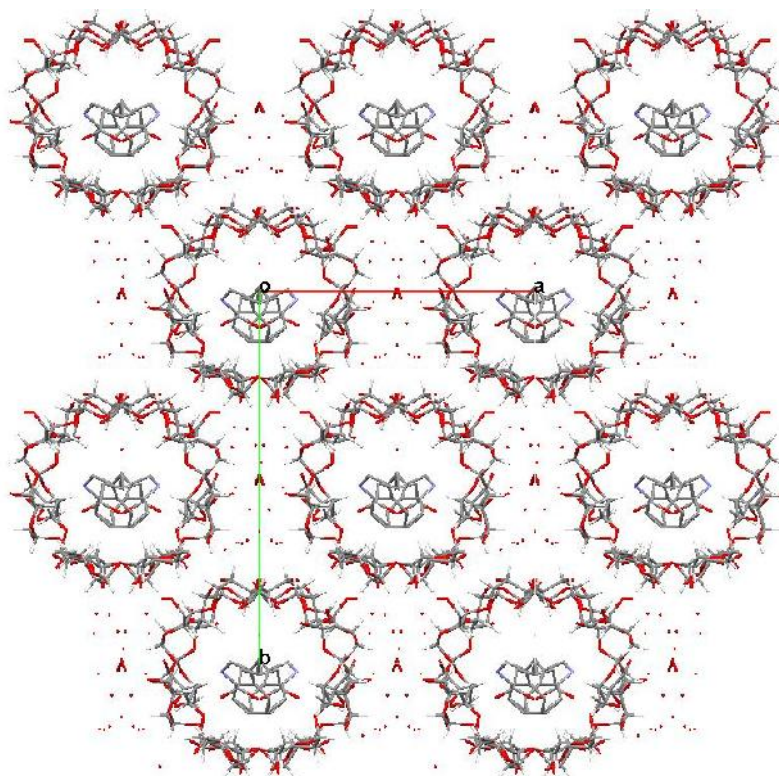
Ξενιζόμενο μόριο(Quest)	a (Å) α (°)	b (Å) (°)	c (Å) (°)	Ομάδα χώρου	Πλευρική Μετατόπιση (Å)
CH Packing mode (
p-hydroxybenzaldehyde ¹	15.262(2) 92.67(1)	15.728(1) 96.97(1)	16.350(1) 103.31(1)	$P1$	1.14
trans-cinnamic acid ²	19.422(3)	24.461(3) 108.648(4)	15.941(2)	$C2$	2.31
β-narthoxyacetic acid ³	19.341(3)	24.632(3) 108.770(4)	15.975(2)	$C2$	2.32
IBA	19.235(5)	24.561(3) 108.711(19)	16.023(19)	$C2$	2.34
Benzoate. OH-UO2 (CI) ⁴	16.143(4)	24.81(1) 92.03(3)	19.11(1)	$P2_1$	2.64
Benzoate. OH-UO2 (CII) ⁵	18.917(7)	24.49(1) 110.5(2)	15.730(5)	$C2$	2.87
IM Packing mode (
benzoic acid ⁶	15.210(1) 89.13(1)	15.678(1) 74.64(1)	15.687(1) 76.40(1)	$P1$	6.49
4,7-dimethylcoumarin ⁷	19.514(4)	24.024(5) 104.49(3)	16.414(3)	$C2$	6.86
4CPA ⁸	18.999(9)	24.820(10) 105.29(3)	16.662(7)	$C2$	7.00



Εικόνα 4.4.3. Απεικόνιση του ζικ-ζακ σχηματισμού που διαμορφώνεται κατά την κρυσταλλική μοριακή διεύθεση του διμερούς β -CD/IBA.



Εικόνα 4.4.4. Παρουσίαση της κρυσταλλικής μοριακής διεύθεσης κατά το επίπεδο ac.



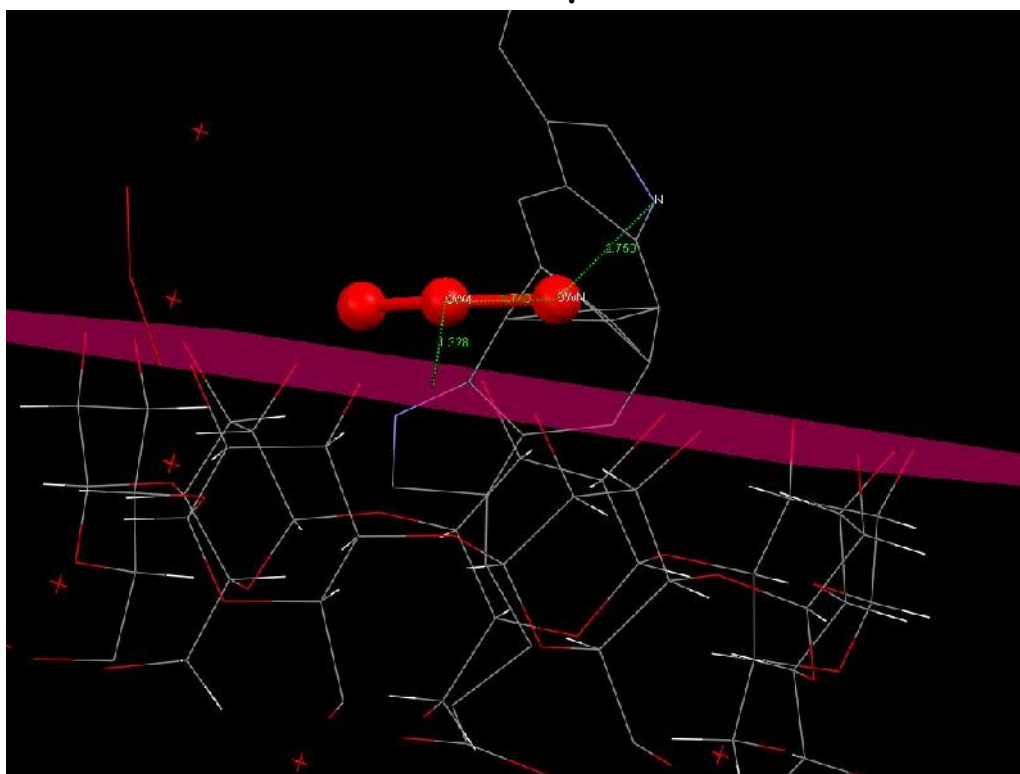
Εικόνα 4.4.5 Παρουσίαση της κρυσταλλικής μοριακής διευθέτησης κατά το ab επίπεδο

4.5. ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΤΟΥ ΔΙΚΤΥΟΥ ΤΩΝ ΜΟΡΙΩΝ ΝΕΡΟΥ

Πολύ σημαντικό ρόλο στην διαμόρφωση των κρυστάλλων παίζει το δίκτυο των μορίων νερών. Τα μόρια των νερών δημιουργούν δεσμούς υδρογόνου μεταξύ τους, αλλά και με τα μόρια του συμπλόκου β -κυκλοδεξτρίνης/IBA, με αποτέλεσμα να σχηματίζονται γέφυρες μεταξύ των διμερών. Τα μόρια της β -κυκλοδεξτρίνης δημιουργούν δεσμούς υδρογόνου με το δίκτυο του νερού μέσω των πρωτοταγών υδροξυλίων τους. Κατά την μελέτη της κρυσταλλογραφικής δομής ανιχνεύτηκαν 17 θέσεις νερού στη ασύμμετρη μονάδα. Οι θέσεις αυτές εντοπίζονται όλες στον ενδιάμεσο χώρο μεταξύ των διμερών, ενώ ανιχνεύτηκε ένα μόριο νερού, αποδιατεταγμένο σε δύο θέσεις, τις OW4 και το OWN, με αριθμό κατάληψης 0.32 και 0.48 αντίστοιχα. στο εσωτερικό της υδροφοβικής κοιλότητας των κυκλοδεξτρίνων. Το OW4 βρίσκεται σε ειδική θέση (special position). Το OW4 βρίσκεται στον άξονα b και σε απόσταση 1.329 Å από το μέσο επίπεδο των $O2n$ και $O3n$ ατόμων. Η αντίστοιχη απόσταση της άλλης θέσης OWN είναι 1.039 Å και σχηματίζει δεσμό υδρογόνου με το

άτομο του αζώτου του ινδολίου (απόσταση N...OWN=2.741 Å, γωνίες C7a-N...OWN=101.1° και C2-N...OWN=86.6°). (Εικόνα 4.5.1).

Είναι αρκετά σπάνια η ύπαρξη μορίων νερού στο εσωτερικό κοιλότητας σηματισμένου διμερούς φυσικής κυκλοδεξτρίνης. Η ύπαρξη του μορίου νερού σε αυτή τη θέση οφείλεται, πιθανώς, στο άτομο αζώτου του ξενιζομένου μορίου, το οποίο συγκρατεί με υδρογονικό δεσμό το μόριο νερού μέσα στην κοιλότητα και επειδή υπάρχει χώρος μέσα στο διμερές (δεν χωράει δεύτερο μόριο IBA).



Εικόνα 4.5.1.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Μετά την διερεύνηση της δομής του συμπλόκου β -κυκλοδεξτρίνης/IBA διαπιστώθηκε ότι στην κρυσταλλική φάση σχηματίζεται διμερές με στοιχειομετρία ξενιστή/ξενιζομένου 2:1. Η συμμετρία ομάδας χώρου είναι C₂, ενώ οι διαστάσεις της μοναδιαίας κυψελίδας είναι $a= 19.235 \text{ \AA}$, $b= 24.561 \text{ \AA}$, $c= 16.023 \text{ \AA}$. Από τη δομή του συμπλόκου προκύπτει ότι ένα μόριο IBA εγκλείεται “εσωτερικά” του διμερούς. Η θέση και το ‘βάθος βύθισης’ του εγκλεισμένου μορίου IBA στο διμερές δεν επιτρέπουν την ύπαρξη δεύτερου ξενιζομένου μορίου. Κυρίαρχο ρόλο στη γεωμετρία του εγκλεισμού και συνακόλουθα στη στοιχειομετρία του παίζουν οι υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις που οδηγούν στη συμπλοκοποίηση. Το δίκτυο των μορίων του νερού παίζει, επίσης, πολύ σημαντικό ρόλο στην διαμόρφωση των κρυστάλλων, καθώς δημιουργούνται δεσμοί υδρογόνου μεταξύ τους, αλλά και με μόρια του συμπλόκου β -κυκλοδεξτρίνης/IBA, σχηματίζοντας γέφυρες μεταξύ των διμερών.

Το εγκλεισμένο μόριο, όπως έχει προαναφερθεί, επηρεάζει την κρυσταλλική μοριακή διάταξη των συμπλόκων των διμερών της β -CD. Ειδικότερα, η διάταξη καθορίζεται από τη δομή του διμερούς και κυρίως από τις αλληλεπιδράσεις του τμήματος του ξενιζομένου μορίου, που εμφανίζεται να προεξέχει από τις πρωτοταγείς περιοχές του διμερούς. Το ξενιζόμενο μόριο παίζει έναν κρίσιμο ρόλο στη διάταξη των συμπλόκων, επειδή τα σύμπλοκα των διμερών της β -CD, που αποτελούνται από εδροκεντρωμένες στρώσεις της β -CD, διευθετούνται με ποικίλους τρόπους, που χαρακτηρίζονται από διαφορετικές σχετικές θέσεις των διμερών. Οι θέσεις αυτές εξαρτώνται από τον τρόπο, που μπορούν να διευθετηθούν οι πρωτοταγείς περιοχές των διμερών, οι οποίες αποτελούν τις δύο όψεις των στρώσεων των β -CD διμερών.

Η εσωτερική κοιλότητα του διμερούς της β -CD είναι υδροφοβική και είναι ασυνήθιστο να περικλείονται μόρια νερού σ’ αυτή. Παρ’ όλα αυτά, αν υπάρχει επαρκής ελεύθερος χώρος, κυρίως στην περίπτωση, που η στοιχειομετρία ξενιστή -ξενιζομένου είναι 2:1, είναι δυνατόν να βρεθούν μόρια νερού στην κοιλότητα. Επίσης, είναι δυνατόν να βρεθούν μόρια νερού στον εσωτερικό χώρο του συμπλόκου του διμερούς αν το επιτρέπει ο ξενιστής, όταν η κρυσταλλική του διάταξη είναι τύπου καναλιού (CH), μολονότι το περιβάλλον είναι υδροφοβικό. Στο σύμπλοκο του *trans*-κινναμικού οξέος- β -CD (Kokkinou et.al., 2000), δύο μόρια νερού βρίσκονται σ’ αυτή την περιοχή και σχηματίζουν γέφυρες με τα μόρια του ξενιζομένου μορίου των γειτονικών διμερών του καναλιού μέσω δεσμών υδρογόνου.

Τα διμερή της β -CD σχηματίζουν νανοσωλήνες και τα εγκλειόμενα μόρια του IBA συνδέονται μεταξύ τους με δεσμούς υδρογόνου σχηματίζοντας νανοκαλώδια. Οι δομές, αυτές, εμφανίζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον αφού αυξάνουν τη βιοδιαθεσιμότητα της εγκλειόμενης ουσίας. Θα ήταν ενδιαφέρον να ερευνηθεί, αν αυτές οι νανοδομές εξακολουθούν να υπάρχουν όχι μόνο στη κρυσταλλική διάταξη αλλά και σε υδατικά διαλύματα IBA, ώστε να υπάρξει εφαρμογή στη γεωργία.

BIBΛIOΓPAΦIA

- 1. Aree T. & Chaichit N. (2003).** Crystal structure of beta-cyclodextrin-benzoic acid inclusion complex. *Carbohydr Res* 338 (5): 439-46
- 2. Babczinski, P. and Fischer R. (1991)** Inhibition of acetylcoenzyme A carboxylase by the novel grass-selective herbicide -(2,4-dichlorophenyl)-perhydroindolizine-2,4-dione. *Pestic Sci* 33: 455–466
- 3. Bandurski, R.S., Cohen, J.D., Pernise Slovin, J. & Reinecke, D.M. (1995).** Auxin biosynthesis and metabolism In Plant Hormones. Physiology, Biochemistry and Molecular Biology. *In Plant Hormones*, Davies, P. ed., Kluwer, 39-65
- 4. Bethanis K.; Tzamalīs P.; Hountas A.; Tsoucaris G.; Kokkinou A. & Mentzafos D., (2000).** New developments of the *TWIN* algorithm for phase extension and refinement in disordered supramolecular structures, *Acta Cryst.*, **A56**, 606-608
- 5. Beurskens P. T., Beurskens G., Gelder R., S. Granda -Garcia, Gould R. O. and M. M. Smits J. (2008).** The DIRDIF2008 program system. Crystallography Laboratory, University of Nijmegen. The Netherlands
- 6. Brett T.J., Alexander J.M. & Stezowski J.J. (2000)** Structural studies of supramolecular β -Cyclodextrin Complexes with butyrophenone and vaporophenone: an explanation of photochemical reaction modification. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1095-1103.
- 7. Burton J.D., Gronwald J.W.; Somers D.A.; Gengenbach B.G. and Wyse D.L. (1989).** Inhibition of corn acetyl-CoA carboxylase by cyclohexanedione and aryloxyphenoxypropionate herbicides. *Pestic Biochem Physiol.* 34: 76–85
- 8. Caira M. R.; de Vries E. J. C. & Nassimbeni L.R. (2003).** Crystallization of two forms of a cyclodextrin inclusion complex containing a common organic guest *Chem. Commun.* :2058-2059
- 9. Dodziuk H. (2006).** Cyclodextrins and Their Complexes; chemistry, analytical methods, applications, *WILEY-VCH*
- 10. Farrugia Louis J. (1999)** WinGXsuite for small molecule single-crystal crystallography. *J. Appl. Cryst.*, **32**, 837-838
- 11. Fryer, J.D. & Makepeace, R.J. (1977)** *Weed Control Handbook, Vol. I.* Blackwell
- 12. George E., F.; Hall M., A. and De Klerk G., J. (2008)** Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition, 175-204.

-
- 13. Giastas P. ;Yannakopoulou K. and Mavridis I.M. (2003).** Molecular structures of the inclusion complexes β -cyclodextrin-1,2-bis(4-aminophenyl)ethane and β -cyclodextrin-4,4'-diaminobiphenyl; packing of dimeric β -cyclodextrin inclusion complexes. *Acta Cryst.* B59, 287-299.
- 14. Hammes G. G. (2005).** Spectroscopy for the Biological Sciences. *Wiley Interscience Publication.* 17-25.
- 15. Harata K. (1998).** Structural Aspects of Stereodifferentiation in the Solid State. *Chem. Rev.* 98, 1803-1827.
- 16. Hauptman, H. A. (1991).** The phase problem of x-ray crystallography. *Rep. Prog. Phys.* 1427-1454
- 17. Liu L. and Qing-Xiang G. (2002).** The Driving Forces in the Inclusion Complexation of Cyclodextrins. *Journ. of Inc. Phen. And Macr. Chem.*, 42, 1-2, 1-14
- 18. Loftsson T.; Másson M.; Brewster M. E. (2004).** Self-Association of Cyclodextrin Complexes. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 93, No. 5.
- 19. Loftsson T.; Jarho P.; Másson M. & Järvinen T.(2005).** Cyclodextrins in drug delivery. *Expert Opin. Drug Deliv.*, 2, 335-351
- 20. Ludwig-Müller J. (2000).** Indole-3-butyric acid in plant growth and development *Plant Growth Regulation* **32**: 219–230
- 21. Ludwig-Müller J.; Hilgenberg, W. & Epstein, E. (1995)** The *in vitro* biosynthesis of indole-3-butyric acid in maize *Phytochemistry*, 40 (1), 61-68
- 22. Macrae C. F.; Bruno I. J.; Chisholm J. A.; Edgington P. R.; McCabe P. Pidcock E.; Rodriguez-Monge L.; Taylor R.; Streek J. and Wood P. A. (2008).** Mercury CSD 2.0 - New features for the visualisation and investigation of crystal structures. *J. Appl. Cryst.*, 41, 466-470
- 23. Magnúsdóttir A.; Másson M. and Loftsson T. (2002).** Cyclodextrin. *J. Incl. Phenom. Macroc. Chem.*, 44, 213-218
- 24. Mentzafos D. ; Mavridis I. M. ; Le Bas G. & Tsoucaris G. (1991).** Structure of the 4-tert-Butylbenzyl Alcohol- β -Cyclodextrin Complex. Common Features in the Geometry of β -Cyclodextrin Dimeric Complexes. *Acta Cryst.*, B47, 746-757

-
25. Naidoo Kevin J.; Chen Jeff Yu-Jen; Jansson Jennie L. M.; Widmalm G. and Maliniak A. (2004). Molecular Properties Related to the Anomalous Solubility of β -Cyclodextrin. *J. Phys. Chem. B* 108(14), 4236-4238
26. Nigovic, B.; Antolic, S.; Kojic-Prodi B.; Kiralj, R.; Magnus, V. & Salopek-Sondi, B. (2000). Correlation of structural and physico-chemical parameters with the bioactivity of alkylated derivatives of indole-3-acetic acid, a phytohormone (auxin) *Acta Cryst.*, **B56**, 94-111
27. Saenger W. (1980). Cyclodextrin Inclusion Compounds in Research and Industry. *Angew. Chem. Int. Ed. Engi.*, 19, 344-362
28. Saenger W. and Steiner T. (1998). Cyclodextrin Inclusion Complexes: Host-Guest Interactions and Hydrogen-Bonding Networks, *Acta Cryst.* A54, pp. 798-805.
29. Sánchez-Ruiz X.; Alvarez-Larena A.; Jaime C.; Piniella J.F; Redondo J.; Virgili A; Sánchez-Ferrando F; Germain G & Baert F. (1999) Molecular and Crystal Structure of the 1:1 Complex of Adamantanone with β -Cyclodextrin *Supramolecular Chemistry* 10(3):219-223.
30. Sheldrick G. M. (2008). A short history of SHELX *Acta Crystallogr. Sect. A*: 64, 112-122.
31. Simon S. & Petrasek J. (2011) Why plants need more than one type of auxin. *Plant Science*.180; 454–460
32. Steed J.W. and Atwood J.L. (2002). *Supramolecular Chemistry*, Wiley, 321-334
33. Strouse, C. (2000). *Unpublished*
34. Stryer L. (1997). Βιοχημεία Ι, Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, Δεύτερη έκδοση
35. Szejtli J. (2004). Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology, 283-304
36. Szejtli, J. (1985). Cyclodextrins in Pesticides. *Starch* 37 11, 382-386
37. Szejtli, J. (1998). Introduction and Overview of Cyclodextrin Chemistry. *Chem Rev.* 98, 1743-1753
38. Taylor G. (2003). The phase problem. *Acta Crystallogr.* D59, 1881-1890
39. Tsorteki F., Bethanis K.; Pinotsis N.; Giastas P. & Mentzafos D. (2005). Inclusion compounds of plant growth regulators in cyclodextrins. V. 4-Chlorophenoxyacetic acid encapsulated in β -cyclodextrin and heptakis (2,3,6-tri-*O*-methyl)- β -cyclodextrin. *Acta Cryst.*, B61, 207-217.
40. Tsorteki F.; Bethanis K. & Mentzafos D. (2004). Structure of the inclusion complexes of the heptakis(2,3,6-tri-*O*-methyl)- β -cyclodextrin with indole-3-butyric acid and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Carbohydrate Research*. **339**, 233-240

41. Ughini, V.& Roversi, A. (1999) Effect of alternate bearing on the mineral nutrition in hazelnut. *Hort.Sci.*, 1-3

42. Σκοπελίτου Καθολική (2006). Μεταπτυχιακή Διατριβή, Μελέτη με ακτίνες X του προϊόντος εγκλεισμού της καρβακρόλης σε β-CD, ΓΠΑ

43. Τσορτέκη Φ. (2006). Διδακτορική Διατριβή, Κρυσταλλογραφική ανάλυση προϊόντων εγκλεισμού αυξινών σε υπερμεθυλιωμένες κυκλοδεξτρίνες, ΓΠΑ

44. Χριστοφορίδης Δ. Ηλίας (2008) Μεταπτυχιακή Διατριβή. Κρυσταλλογραφική μελέτη με ακτίνες X του προϊόντος εγκλεισμού του 2-ναφθαλινοξείκου οξέος σε β-κυκλοδεξτρίνη. ΓΠΑ.

Ηλεκτρονικές πηγές:

1. URL: <http://ull.chemistry.uakron.edu>

2. URL: <http://en.wikipedia.org/wiki/Auxin>

3. URL: <http://en.wikipedia.org/wiki/Crystal>

4. URL: <http://xrayweb.chem.ou.edu/notes/xray.html#mono>

5. URL: <http://serc.carleton.edu/details/images/8400.html>

6.URL:<http://www-structmed.cimr.cam.ac.uk/Course/Overview/Overview.html>

7.URL:<http://www-structmed.cimr.cam.ac.uk/Course/Fourier/Fourier.html>

8.URL:http://www-structmed.cimr.cam.ac.uk/Course/Basic_phasing/Phasing.html

9. URL: [http://en.wikipedia.org/wiki/Stacking_\(chemistry\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Stacking_(chemistry))

10.URL: <http://en.wikipedia.org/wiki/TGA>

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

A. Υπολογιστικό πακέτο WINGX

Το WinGX είναι μια συλλογή από συναφή προγράμματα, που τρέχουν στην πλατφόρμα των Microsoft Windows™, και περιέχει τα καλύτερα ελεύθερα διαθέσιμα προγράμματα. Περιέχει μερικά προγράμματα από το πακέτο GX (Mallinson & Muir, 1985), από όπου και το όνομα του. Η μεταφορά δεδομένων μεταξύ διαφορετικών προγραμμάτων (ώστε η διαδικασία προσδιορισμού της δομής να είναι απλή και αυτοματοποιημένη) γίνεται αυτόματα, και η χειροκίνητη επέμβαση στους φακέλους περιορίζεται στο ελάχιστο. Το πακέτο WinGX περιλαμβάνει τα προγράμματα: SHELXS (Sheldrick G. M., 2008), DIRDIF (Beurskens P. T. *et al.*, 1996) για την επίλυση της δομής και SIR92 (Altomare *et al.*, 1993), SHELXL93 (Sheldrick G. M., 1993) και ORTEPIII (Johnson & Burnett, 1996; Farrugia L.J, 1997) για την βελτιστοποίηση αυτής. . Ακόμα, υπάρχουν πολλές ενσωματωμένες συνδέσεις με εξωτερικά προγράμματα γραφικών, όπως τα RasMol (Sayle & Milner-White, 1995) και SCHAKAL (Keller, 1989), αλλά και νεότερα προγράμματα όπως τα SHELX97 (Sheldrick G. M., 1997) και SIR97 (Altomare *et al.*, 1999). Το πρόγραμμα χρησιμοποιεί τις μορφές SHELX και CIF για τις κύριες διεργασίες διαχείρισης και αποθήκευσης των φακέλων. Ουσιαστικά, όλοι οι φάκελοι χρησιμοποιούν τον ASCII κωδικό και επομένως ο χειρισμός τους μπορεί να γίνει με έναν κοινό επεξεργαστή κειμένου. Οι περισσότερες λειτουργίες επιτυγχάνονται μέσω GUIs. Το πρόγραμμα (γραμμένο πλήρως σε Fortran77) έχει απαιτήσεις: Η/Υ IBM ή συμβατό υπολογιστή με τα Microsoft Windows2 versions 3.1x, Windows 95/98 ή Windows NT, με επεξεργαστή στα 486 66 MHz, μνήμη RAM τουλάχιστον 16 Mbyte και ελεύθερο χώρο στον σκληρό δίσκο 20 Mbyte τουλάχιστον.

Το Πρόγραμμα SHELXL-97

Το SHELXL-97 είναι ένα υποπρόγραμμα του πακέτου Wingx, το οποίο χρησιμοποιείται για βελτιστοποίηση κρυσταλλικών δομών. Για το συγκεκριμένο πρόγραμμα απαιτείται ένα αρχείο εισαγωγής (name.hkl), το οποίο περιέχει δεδομένα ανακλάσεων (h , k , l , F^2 και $\sigma(F^2)$). Τα κρυσταλλογραφικά δεδομένα, οι εντολές βελτιστοποίησης και οι συντεταγμένες των ατόμων εισάγονται ως αρχείο name.ins. Οι εντολές εμφανίζονται στο αρχείο ως λέξεις 4 χαρακτήρων, που ακολουθούνται από ονόματα ατόμων, αριθμούς θέσεων, κ.α. Ένας πλήρης κατάλογος των ενεργειών γράφεται σε ένα αρχείο name.lst. Μετά από κάθε κύκλο βελτιστοποίησης (ξανά) γράφεται ένα αρχείο name.res, με τις τελευταίες τιμές για όλες τις βελτιστοποιημένες παραμέτρους. Οι εντολές ACTA και CONF παράγουν αρχεία name.cif, για ηλεκτρονική δημοσίευση. Οι εντολές LIST 6 και WPDB δίνουν αρχεία name.fcf και name.pdb, από τα οποία μπορούν να σχεδιαστούν με την βοήθεια του προγράμματος SHELXPRO διαφορετικοί χάρτες ηλεκτρονικής πυκνότητας (διαβάζονται από πρόγραμμα Rymol). Τέλος, οι εντολές FLAT, AFIX και DFIX αφορούν γεωμετρικούς περιορισμούς, που είναι απαραίτητοι για τον συγκερασμό των πειραματικών δεδομένων με το θεωρητικό μοντέλο.

B. Πρόγραμμα Mercury 1.4.2., 2.3

Το πρόγραμμα *Mercury* αναπτύχθηκε από το Cambridge Crystallographic Data Centre και χρησιμοποιήθηκε αρχικά ως ένα εργαλείο γραφικής αναπαράστασης δομής. Το Mercury 1.4.2. χρησιμοποιείται για οπτικοποίηση της υπό εξέταση δομής (ουσιαστικά του αρχείου name.res), αλλά και την μελέτη της κρυσταλλικής διάταξης. Τα χαρακτηριστικά του προγράμματος είναι τα εξής: α) Δέχεται ως αρχεία εισόδου τα name.cif, name.pdb, κα β) Έχει την δυνατότητα αναπαράστασης της δομής με διάφορες μορφές (όπως ελλείψεις) γ) Πραγματοποιεί μετρήσεις αποστάσεων, γωνιών και ροπών στρέψης τόσο ατόμων όσο και κεντροειδών (centroids) ή επιπέδων δ) Εντοπίζει και παρουσιάζει υδρογονικούς δεσμούς και άλλες αλληλεπιδράσεις (δεσμοί Van der Waals) ε) Παρουσιάζει επιπλέον πληροφορίες για την δομή, όπως χημικά διαγράμματα και ατομικές συντεταγμένες και στ) Αποθηκεύει τις μετρήσεις και τις αλλαγές ως εικόνες τύπου name.jpg, name.png, name.bmp, κα

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ II

Τα αρχεία checkcif.pdf, IBA.hkl, IBA.res, IBA.cif, IBA.pdb, IBA.fcf και καθώς και το κείμενο παρατίθενται ηλεκτρονικά στον επισυναπτόμενο οπτικό δίσκο.

