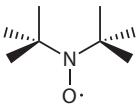
ΕΠΙΔΡΑΣΗ 19 ...ΣΤΗ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ ΚΑΙ ΤΗ ΝΑΝΟΕΠΙΣΤΗΜΗ: Ανιχνευτές σπιν

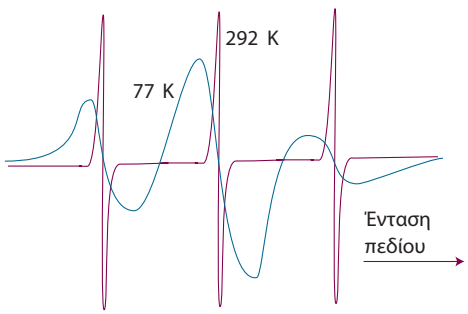
Η ανισοτροπία της τιμής *g* και των πυρηνικών υπέρλεπτων αλληλεπιδράσεων μπορούν να παρατηρηθούν όταν μια ρίζα είναι ακινητοποιημένη μέσα σε ένα στερεό. Στο σχήμα 1 φαίνεται η μεταβολή της μορφής των γραμμών του φάσματος EPR της ρίζας δι-*tert*-βουτυλονιτροξείδιο (Εικ. **1**) με τη θερμοκρασία. Στους 292 K, η ρίζα στροβιλίζεται ελεύθερα και η ισότροπη υπέρλεπτη σύζευξη με τον πυρήνα ^{14}N δίνει τρεις έντονες κορυφές. Στους 77 K, η κίνηση της ρίζας είναι περιορισμένη. Η μορφή του φάσματος καθορίζεται και από την ισότροπη και από την ανισότροπη υπέρλεπτη σύζευξη, οπότε το φάσμα αποτελείται τώρα από τρεις διαπλατυσμένες κορυφές.



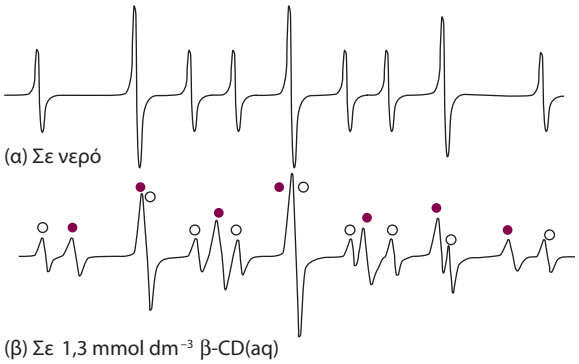
Εικ. **1** Δι-*tert*-βουτυλονιτροξείδιο

Ένας **ανιχνευτής σπιν** είναι μια ρίζα που αλληλεπιδρά με ένα μοριακό σύνολο (ένα βιοπολυμερές ή μια νανοδομή) και έχει φάσμα EPR που εξαρτάται από τις δομικές και δυναμικές ιδιότητες του συνόλου. Ο ιδανικός ανιχνευτής σπιν είναι εκείνος του οποίου το φάσμα μεταβάλλεται σημαντικά αποκρινόμενο στο περιβάλλον του: οι ρίζες νιτροξειδίου είναι πολύ χρήσιμες από αυτή την άποψη. Παραδείγματος χάριν, ανιχνευτές σπιν νιτροξειδίου έχουν χρησιμοποιηθεί για να δειχθεί ότι το υδρόφοβο εσωτερικό των βιολογικών μεμβρανών, που κάποτε πιστευόταν ότι ήταν άκαμπτο, είναι στην πραγματικότητα πολύ ρευστό και τα μεμονωμένα μόρια των λιπιδίων κινούνται πλευρικά διά μέσου της λεπτής δομής της μεμβράνης.

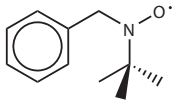
Το βενζο *tert*-βουτυλονιτροξείδιο (Εικ. **2**) και το διβενζονιτροξείδιο (Εικ. **3**) σχηματίζουν εύκολα σύμπλοκα ξενιστή-φιλοξενούμενου με ουσίες όπως η β-κυκλοδεξτρίνη (Εικ. **4**), και έχει βρεθεί ότι τα φάσματα EPR από το ελεύθερο και το δέσμιο νιτροξείδιο είναι πολύ διαφορετικά (Σχ. 2). Το μέγεθος της υπέρλεπτης σύζευξης στο άτομο του αζώτου φαίνεται ότι είναι ευαίσθητο στον βαθμό έκθεσης της ομάδας N—O στον διαλύτη, έτσι ένα σύμπλοκο στο οποίο η ομάδα N—O είναι βαθιά μέσα στον ξενιστή (και έτσι είναι θωρακισμένη από τον διαλύτη) έχει φάσμα EPR πολύ διαφορετικό από το ελεύθερο νιτροξείδιο, ή από ένα σύμπλοκο στο οποίο η ομάδα N—O είναι μερικώς εκτεθειμένη στον διαλύτη. Επιπρόσθετα, η τιμή



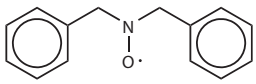
Σχήμα 1 Φάσματα EPR της ρίζας δι-*tert*-βουτυλονιτροξείδιο στους 292 K και 77 K. Πηγή: J.R. Bolton, *Biological applications of electron spin resonance*, H.M. Swartz, J.R. Bolton, and D.C. Borg (ed.), Wiley, New York (1972).



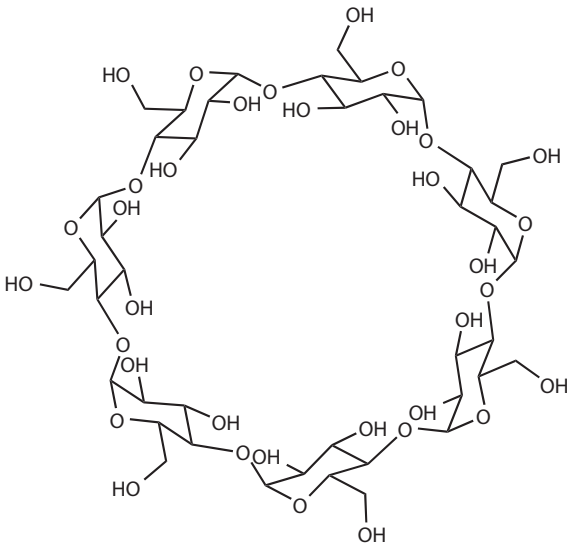
Σχήμα 2 Τα φάσματα EPR του διβενζονιτροξειδίου (α) σε νερό και (β) παρουσία β-κυκλοδεξτρίνης. Στο φάσμα (α) φαίνονται διαχωρισμοί που οφείλονται σε σύζευξη με ένα άτομο N και δύο ισοδύναμα άτομα H. Το φάσμα (β) είναι μια υπέρθεση του φάσματος από τη ρίζα στο νερό (οι κορυφές που σημειώνονται με απλό κύκλο) και του φάσματος από τη ρίζα που είναι δέσμια στον ξενιστή (οι κορυφές που σημειώνονται με μωβ κύκλο), για το οποίο οι υπέρλεπτες συζεύξεις είναι διαφορετικές.
(Με βάση το P. Franchi et al., *Curr. Org. Chem.* **8**, 1831, (2004).)



Εικ. **2** Βενζο *tert*-βουτυλονιτροξείδιο



Εικ. **3** Διβενζονιτροξείδιο


Εικ. **4** β-κυκλοδεξτρίνη

της υπέρλεπτης σύζευξης στα βενζοϊκά άτομα H (τα άτομα H των ομάδων CH_2 που είναι προσκολλημένες στον δακτύλιο του βενζολίου) είναι ευαίσθητη στη δίεδρη γωνία μεταξύ αυτών των δεσμών C—H και του δεσμού N—O. Για το ελεύθερο νιτροξείδιο είναι πιθανόν ότι υπάρχει ελεύθερη περιστροφή ως προς τον δεσμό C—N, που οδηγεί σε μια μέση τιμή για τη σύζευξη. Όταν έχει δεσμευτεί στην κυκλοδεξτρίνη, η περιστροφή είναι πιο περιορισμένη, οδηγώντας σε διαφορετική τιμή για τη σύζευξη.

Το γεγονός ότι βλέπουμε διαφορετικά φάσματα για το ελεύθερο και το δέσμιο νιτροξείδιο, αντί ενός μέσου φάσματος, συνεπάγεται ότι ο ρυθμός εναλλαγής ανάμεσα στα δύο περιβάλλοντα είναι αργός ως προς τη χρονική κλίμακα του EPR. Αυτό αποτελεί πλεονέκτημα επειδή σημαίνει ότι καταγράφοντας τα φάσματα με διαφορετικές συγκεντρώσεις νιτροξειδίου και φιλοξενούμενου, και σε διαφορετικές θερμοκρασίες, είναι δυνατόν να προσδιορίσουμε τιμές της σταθεράς ισορροπίας, τις σταθερές ταχύτητας για τη δέσμευση και τη διάσπαση, την (πρότυπη) μεταβολή ενθαλπίας για τη διεργασία σχηματισμού συμπλόκου, και τις ενέργειες ενεργοποίησης.

Το συμμετρικό νιτροξείδιο (Εικ. **3**) μπορεί να ενωθεί με δύο μόρια κυκλοδεξτρίνης και να σχηματίσει ένα σύμπλοκο 2:1. Η παρατηρούμενη τιμή της υπέρλεπτης σύζευξης του ατόμου N είναι συνεπής με τη χαμηλή έκθεση της ομάδας N—O στον διαλύτη, όπως αναμένεται για ένα σύμπλοκο στο οποίο η ομάδα προστατεύεται και από τις δύο πλευρές από μόρια κυκλοδεξτρίνης.