

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

Τμήμα Χημείας

Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Βιοανόργανης Χημείας



ΣΥΝΘΕΣΗ, ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ
ΔΙΠΥΡΗΝΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΤΟΥ Ni(II) ΠΟΥ
ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ ΕΝΕΡΓΟ ΚΕΝΤΡΟ ΤΗΣ
ΟΥΡΕΑΣΗΣ

Διατριβή Μεταπτυχιακής Ειδίκευσης

Κων/νος Ι. Μήλιος

Χημικός

Δήμητρα Κόβαλα-Δαφουζή

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2000

Περιεχόμενα

		<u>Σελ.</u>
I.	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	
A.	<i>Η Βιοανόργανη Χημεία στο Κατώφλι του 21^{ου} Αιώνα.</i>	1
A1.	Εισαγωγή και Ιστορική Αναδρομή.	1
A2.	Σύγχρονες Ερευνητικές Τάσεις.	12
B.	<i>Τα Βασικά Χαρακτηριστικά της Χημείας Ένταξης του Ni(II).</i>	
B1.	Εισαγωγή.	22
B2.	Σύμπλοκα του Ni(0).	23
B3.	Σύμπλοκα του Ni(I).	24
B4.	Σύμπλοκα του Ni(II).	24
B4.1.	Σύμπλοκα με Αριθμό Ένταξης 4.	26
B4.2.	Σύμπλοκα με Αριθμό Ένταξης 5.	28
B4.3.	Σύμπλοκα με Αριθμό Ένταξης 6.	29
B4.4.	Σύμπλοκα με Άλλους Αριθμούς Ένταξης.	30
B5.	Σύμπλοκα του Ni(III).	31
B6.	Σύμπλοκα του Ni(IV).	32
Γ.	<i>Η Βιοανόργανη Χημεία του Νικελίου.</i>	
Γ1.	Εισαγωγή.	33
Γ2.	Το Ένζυμο Υδρογονάση.	34
Γ3.	Το Ένζυμο CO-δεϋδρογονάση.	37
Γ4.	Το Ένζυμο μεθυλο-συνένζυμο Μ αναγωγή.	40
Γ5.	Το Ένζυμο Ni-σουπεροξειδική δισμουτάση.	42
Γ6.	Το Ένζυμο Ουρεάση.	43
Γ6.1.	Εισαγωγή.	43
Γ6.2.	Φασματοσκοπικές Μελέτες του Ενεργού Κέντρου.	44
Γ6.3.	Κρυσταλλογραφικές Μελέτες του Ενζύμου.	45
Γ6.4.	Πιθανοί Μηχανισμοί Δράσης του Ενζύμου.	49
Γ6.5.	Αναστολείς του Ενζύμου.	55

Γ6.6.	Ενώσεις Μοντέλα που Προσομοιάζουν το	58
	Ενεργό Κέντρο της Ουρεάσης.	
Γ7.	Ανασκόπηση των Δομών και των Ρόλων του Ni	63
	στη Βιολογία.	
II.	ΣΤΟΧΟΙ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	67
III.	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
Δ.	Αρχικά Υλικά.	69
Ε.	Παρασκευή των Συμπλόκων.	
Ε1.	Προϊόντα των Συστημάτων Αντίδρασης	70
	$\text{Ni}^{\text{II}}/\text{MeCO}_2^-/\text{bpy}$, diMebpy , phen .	
Ε2.	Διμερή Σύμπλοκα $\text{Ni}^{\text{II}}/\text{RCO}_2^-/\text{N}$ -δότες/ H_2O .	73
Ε3.	Διμερή Καρβοξυλάτο Σύμπλοκα του $\text{Ni}(\text{II})$ με	75
	Υποκαταστάτες την tmen και τον Αναστολέα	
	της Ουρεάσης βενζοϋδροξαμικό οξύ (ΒΗΑ).	
ΣΤ.	Δομικός Χαρακτηρισμός των Συμπλόκων.	76
Ζ.	Τεχνικές και Όργανα Φυσικών και	79
	Φασματοσκοπικών Μεθόδων.	
IV.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	
Η.	Η Παρασκευή των Συμπλόκων.	81
Θ.	Περιγραφή Δομών.	87
Ι.	Η Μελέτη των IR Φασμάτων των Διπυρηνικών	105
	Συμπλόκων του $\text{Ni}(\text{II})$.	
Κ.	Η Θερμική Διάσπαση του Συμπλόκου	114
	$[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CCCl}_3)_4(\text{OH}_2)(\text{tmen})_2]$.	
V.	ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	118
Λ.	Βιβλιογραφία.	121
	Περίληψη.	126
	Abstract.	128

Κατάλογος Σχημάτων

	Σελ.
<u>Σχήμα 1.</u> Επιλεγμένα στοιχεία που είναι σημαντικά για τη βιοανόργανη χημεία	3
<u>Σχήμα 2.</u> Οι ταυτομερείς μορφές της ιστιδίνης και οι πιθανοί τρόποι ένταξής της	6
<u>Σχήμα 3.</u> Το αντικαρκινικά φάρμακα cisplatin(A) και carboplatin(B)	13
<u>Σχήμα 4.</u> Το σύμπλοκο I (JM126) και τα προϊόντα του ύστερα από επώαση με ανθρώπινο πλάσμα(II, III, IV)	14
<u>Σχήμα 5.</u> Σχέση μεταξύ συνθετικών μοντέλων και μεταλλοενζύμου	18
<u>Σχήμα 6.</u> Δύο προσφάτως προταθέντα μοντέλα των μεταλλικών κέντρων των δύο πρωτεϊνών της νιτρογενάσης	20
<u>Σχήμα 7.</u> Διάσχιση των d τροχιακών του Ni(II) για τετραεδρική γεωμετρία	25
<u>Σχήμα 8.</u> Διάσχιση των d τροχιακών για οκταεδρική, παραμορφωμένη τετραγωνική και επίπεδη τετραγωνική γεωμετρία	25
<u>Σχήμα 9.</u> Το ενεργό κέντρο της <i>D.gigas</i> υδρογονάσης	35
<u>Σχήμα 10.</u> Προτεινόμενος μηχανισμός του ενζύμου υδρογεννάση	36
<u>Σχήμα 11.</u> Δύο προτεινόμενα μοντέλα των δομών της πλειάδας-C στην CODH και της πλειάδας-A στο ενεργό κέντρο της ACS	38
<u>Σχήμα 12.</u> Ο μηχανισμός κατάλυσης από την πλειάδα-C της CODH	39
<u>Σχήμα 13.</u> Προτεινόμενος μηχανισμός κατάλυσης από την πλειάδα-A της ACS	40
<u>Σχήμα 14.</u> Η δομή της ουρεάσης <i>Klebsiella aerogenes</i> (KAU)	45
<u>Σχήμα 15.</u> Το ενεργό κέντρο της ουρεάσης <i>Klebsiella aerogenes</i> (KAU)	46
<u>Σχήμα 16.</u> Η δομή του ενεργού κέντρου της ουρεάσης <i>Bacillus pasteurii</i> (BPU)	48
<u>Σχήμα 17.</u> Ο προτεινόμενος μηχανισμός λειτουργίας της ουρεάσης από τον Zerner	49
<u>Σχήμα 18.</u> Ο προτεινόμενος μηχανισμός της Jabri για το καταλυτικό κέντρο της ουρεάσης	50

Σχήμα 19. Η δομή του ενεργού κέντρου του ενζύμου BPU παρουσία DAP	52
Σχήμα 20. Ο προτεινόμενος μηχανισμός λειτουργίας του ενζύμου ουρεάσης <i>Bacillus pasteurii</i> (BPU) από τον Ciurli	53
Σχήμα 21. Διαφορές μεταξύ προτεινόμενων μηχανισμών Jabri και Ciurli	54
Σχήμα 22. Η δομή του ενεργού κέντρου του ενζύμου ουρεάση <i>Bacillus pasteurii</i> (BPU) παρουσία του αναστολέα β-μερκαπτοαιθανόλη	55
Σχήμα 23. Η δομή του ενεργού κέντρου του ενζύμου ουρεάση <i>Bacillus pasteurii</i> (BPU) παρουσία του αναστολέα ακετοϋδροξαμικό οξύ (AHA)	57
Σχήμα 24. Προτεινόμενος μηχανισμός αναστολής του ακετοϋδροξαμικού οξέος (AHA) στη δράση του ενζύμου ουρεάση <i>Bacillus pasteurii</i> (BPU)	58
Σχήμα 25. Ο προτεινόμενος μηχανισμός υδρόλυσης του πικολιναμιδίου από την ένωση $[\text{Ni}_2(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})_3(\text{bdptz})](\text{OTs})_3$	62
Σχήμα 26. Προτεινόμενος μηχανισμός δράσης της ουρεάσης στηριζόμενος στο μηχανισμό υδρόλυσης του πικολιναμιδίου	62
Σχήμα 27. Το IR φάσμα της ένωσης με εμπειρικό τύπο $\text{Ni}(\text{Cl}_3\text{CCOO})(\text{C}_6\text{H}_4\text{OHCONHO})(\text{tmen})$.	86
Σχήμα 28. Η μοριακή δομή του κατιόντος $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{bpy})_2]^+$ του συμπλόκου $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{bpy})_2](\text{ClO}_4)$	88
Σχήμα 29. Η μοριακή δομή του κατιόντος $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{bpy})_2(\text{H}_2\text{O})]^+$ του συμπλόκου $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{bpy})_2(\text{H}_2\text{O})](\text{MeCO}_2) \cdot 3\text{CHCl}_3$	89
Σχήμα 30. Η μοριακή δομή του κατιόντος $[\text{Ni}(\text{bpy})_3]^{+2}$ του συμπλόκου $[\text{Ni}(\text{bpy})_3](\text{ClO}_4)_2$	90
Σχήμα 31. Η μοριακή δομή του συμπλόκου $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})_2(\text{diMebpy})(\text{H}_2\text{O})_2]$	92
Σχήμα 32. Η μοριακή δομή του κατιόντος $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{diMebpy})_2]^+$ του συμπλόκου $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{diMebpy})_2](\text{ClO}_4) \cdot \text{MeOH}$	93
Σχήμα 33. Η μοριακή δομή του κατιόντος $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{phen})_2]^+$ του συμπλόκου $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{phen})_2](\text{ClO}_4)$	94

<u>Σχήμα 34.</u> Η μοριακή δομή του ενός διπυρηνικού μορίου του συμπλόκου $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CCCl}_3)_4(\text{OH}_2)(\text{tmen})_2]$	95
<u>Σχήμα 35.</u> Η μοριακή δομή του συμπλόκου $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CCPh}_3)_4(\text{OH}_2)(\text{py})_4]\cdot\text{MeOH}$	98
<u>Σχήμα 36.</u> Η μοριακή δομή του κατιόντος $[\text{Ni}_2(\text{C}_6\text{H}_5\text{CONHO})_2(\text{O}_2\text{CMe})(\text{tmen})_2]^+$	102
<u>Σχήμα 37.</u> Το FT-IR φάσμα ($4000\text{-}450\text{ cm}^{-1}$) του συμπλόκου $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CCCl}_3)_4(\text{OH}_2)(\text{tmen})_2]$	106
<u>Σχήμα 38.</u> Το FT-IR φάσμα ($4000\text{-}450\text{ cm}^{-1}$) του συμπλόκου $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CCPh}_3)_4(\text{OH}_2)(\text{py})_4]\cdot\text{MeOH}$	107
<u>Σχήμα 39.</u> Το FT-IR φάσμα ($4000\text{-}450\text{ cm}^{-1}$) του συμπλόκου $[\text{Ni}_2(\text{PhCONHO})_2(\text{O}_2\text{CMe})(\text{tmen})_2](\text{MeCO}_2)\cdot 0.5\text{H}_2\text{O}\cdot\text{EtOH}$	108
<u>Σχήμα 40.</u> Το far-IR φάσμα του συμπλόκου $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CCCl}_3)_4(\text{OH}_2)(\text{tmen})_2]$	109
<u>Σχήμα 41.</u> Η ψευδο γεφυρωτική συμπεριφορά των μονοδοντικών καρβοξυλάτο υποκαταστατών	111
<u>Σχήμα 42.</u> Οι καμπύλες TG και DTG του συμπλόκου $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CCCl}_3)_4(\text{OH}_2)(\text{tmen})_2]$ στην περιοχή $30\text{-}600\text{ }^\circ\text{C}$	115
<u>Σχήμα 43.</u> Οι καμπύλες TG και DTA του συμπλόκου $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CCCl}_3)_4(\text{OH}_2)(\text{tmen})_2]$ στην περιοχή $30\text{-}600\text{ }^\circ\text{C}$	116

Κατάλογος Πινάκων

	Σελ.
ΠΙΝΑΚΑΣ 1. Αμινοξέα που βρίσκονται στις πλευρικές αλυσίδες πρωτεϊνών	7
ΠΙΝΑΚΑΣ 2. Οι συνήθεις τρόποι ένταξης της καρβοξυλικής ομάδας	7
ΠΙΝΑΚΑΣ 3. Ορισμένες φυσικοχημικές τεχνικές ανάλυσης χρήσιμες στη βιοανόργανη χημεία	12
ΠΙΝΑΚΑΣ 4. Μερικά σύμπλοκα του νικελίου	23
ΠΙΝΑΚΑΣ 5. Κρυσταλλογραφικά δεδομένα και πληροφορίες από τη συλλογή των δεδομένων και την επίλυση των δομών των συμπλόκων της παρούσης εργασίας	77
ΠΙΝΑΚΑΣ 6. Επιλεγμένα μήκη (Å) και γωνίες δεσμών (°) του συμπλόκου $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CCCl}_3)_4(\text{OH}_2)(\text{tmen})_2]$	96
ΠΙΝΑΚΑΣ 7. Επιλεγμένα μήκη (Å) και γωνίες δεσμών (°) του συμπλόκου $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CCPh}_3)_4(\text{OH}_2)(\text{py})_4] \cdot \text{MeOH}$	99
ΠΙΝΑΚΑΣ 8. Χαρακτηριστικά μήκη (Å) και γωνίες δεσμών (°) διμερών καρβοξυλάτο συμπλόκων του Ni(II) με τύπους $[\text{Ni}_2(\mu_2:\eta^1:\eta^1-\text{O}_2\text{CR})_2(\eta^1-\text{O}_2\text{CR})_2(\mu_2-\text{OH}_2)(\text{L-L})_2]$ ή $[\text{Ni}_2(\mu_2:\eta^1:\eta^1-\text{O}_2\text{CR})_2(\eta^1-\text{O}_2\text{CR})_2(\mu_2-\text{OH}_2)\text{L}_4]$	101
ΠΙΝΑΚΑΣ 9. Επιλεγμένα μήκη (Å) και γωνίες δεσμών (°) για το σύμπλοκο $[\text{Ni}_2(\text{BA})_2(\text{O}_2\text{CMe})(\text{tmen})_2](\text{MeCO}_2) \cdot 0.5\text{H}_2\text{O} \cdot \text{EtOH}$	103
ΠΙΝΑΚΑΣ 10. Διαγνωστικές ταινίες (cm^{-1}) των FT-IR φασμάτων των συμπλόκων	110

Συντομογραφίες

AA ⁻	Ακετοϋδροξαμάτο (-1) ιόν
Ac-	Ακετυλο-
ACS	Ακετυλο-συνένζυμο συνθετάση
AHA	Ακετοϋδροξαμικό οξύ
Ala	Αλανίνη
Asp	Ασπαραγινικό οξύ
BA ⁻	Βενζοϋδροξαμάτο (-1) ιόν
BHA	Βενζοϋδροξαμικό οξύ
bpy	2, 2'-διπυριδίνη
CODH	CO-δεϋδρογονάση
Cys	Κυστεΐνη
diMebpy	4, 4'-διμεθυλο-2, 2'-διπυριδίνη
DNA	Δεοξυριβονουκλεϊνικό οξύ
en	Αιθυλενοδιαμίνη
EPR	Φασματοσκοπία ηλεκτρονικού παραμαγνητικού συντονισμού
Et-	Αιθυλο-
EXAFS	Εκτεταμένη απορρόφηση ακτίνων Χ λεπτής δομής
FT-IR	Fourier transform φασματοσκοπία υπερύθρου
Glu	Γλουταμινικό οξύ
Gly	Γλυκίνη
His	Ιστιδίνη
Lys	Λυσίνη
mAbs	Μονόκλωνα αντισώματα
MCR	Μεθυλο-συνένζυμο M αναγωγή
Me-	Μεθυλο-
Met	Μεθειονίνη
NMR	Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού
OTf	Τριφθορομεθανοσουλφονικό (-1) ιόν
Ph-	Φαινυλο-
Phe	Φαινυλαλανίνη
phen	1, 10-φαινανθρολίνη

PR ₃	Φωσφίνη
Pro	Προλίνη
Py	Πυριδίνη
RNA	Ριβονουκλεϊνικό οξύ
SeCys	Σεληνοκυστεΐνη
Ser	Σερίνη
SHA	Σαλικυλοϋδροξαμικό οξύ
tmen	Τετραμεθυλοαιθυλενοδιαμίνη
Tyr	τυροσίνη

Πρόλογος

Η παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε στο *Εργαστήριο Γενικής και Ανόργανης Χημείας* του Πανεπιστημίου Πατρών, στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος ΕΠΕΑΕΚ στη Βιοανόργανη Χημεία (Υπεύθυνος: Καθηγητής κ. Νικόλαος Χατζηλιάδης), κατά το χρονικό διάστημα 20/9/1999 – 28/9/2000.

Την ανάθεση του θέματος και την άμεση επίβλεψη της εργασίας είχε ο Αναπληρωτής Καθηγητής του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Πατρών κ. ΣΠΥΡΟΣ Π. ΠΕΡΛΕΠΕΣ, τον οποίο ευχαριστώ θερμά όχι μόνο για την ανάθεση του θέματος αλλά και για την επιστημονική του βοήθεια καθ' όλη τη διάρκεια της εργασίας μου, καθώς και για την ανεκτίμητη βοήθειά του στη συγγραφή της εργασίας.

Επίσης επιθυμώ να ευχαριστήσω τον υποψήφιο Διδάκτορα του Πανεπιστημίου Πατρών κ. Ιωάννη Παπαευσταθίου για τις πολύτιμες συμβουλές του και παροτρύνσεις κατά τη διάρκεια της εργασίας.

Όλες οι δομές των ενώσεων που παρασκευάστηκαν στα πλαίσια αυτής της εργασίας επιλύθηκαν από το ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος» και συγκεκριμένα από τους Δρ. Άρη Τερζή και Δρ. Αικατερίνη Ραπτοπούλου, τους οποίους ευχαριστώ θερμά.

Κων/νος Ι. Μήλιος
Πάτρα, Σεπτέμβριος 2000

I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

A. Η ΒΙΟΑΝΟΡΓΑΝΗ ΧΗΜΕΙΑ ΣΤΟ ΚΑΤΩΦΛΙ ΤΟΥ 21^{ΟΥ} ΑΙΩΝΑ¹⁻¹³

Βρισκόμαστε λίγους μήνες μετά την έναρξη ενός νέου αιώνα. Κατά τη διάρκεια του 20^{ου} αιώνα, η ανόργανη χημεία πέρασε από πολλά στάδια εξέλιξης και ανάπτυξης. Σήμερα θεωρείται ένας συνεχώς αναπτυσσόμενος κλάδος έρευνας. Κατά την άποψή μας ένας από τους πιο «θερμούς» τομείς ερευνητικής δραστηριότητας στην ανόργανη χημεία είναι ο τομέας της βιοανόργανης χημείας.

A1. Εισαγωγή και Ιστορική Αναδρομή

Η βιοανόργανη χημεία αποτελεί το χώρο αλληλεπίδρασης των πιο κλασικών κλάδων της ανόργανης χημείας και της βιολογίας. Αν και ο όρος «βιοανόργανη» δεν φαίνεται λογικός ως προς τις δύο συνθετικές του έννοιες – βίος και ανόργανη- αυτό αντικατροπτίζει μια παρεξήγηση που έχει τις ρίζες της στις αρχές των θετικών επιστημών. Στην αρχή του 19^{ου} αιώνα η χημεία ήταν ακόμα διαιρεμένη σε δύο μεγάλα πεδία, την οργανική η οποία περιελάμβανε μόνο ουσίες που προέρχονταν από ζώντες οργανισμούς και την ανόργανη χημεία της «νεκρής ύλης». Ο διαχωρισμός αυτός άρχισε να καταρρέει το 1828 όταν ο Wöhler πρώτος συνέθεσε «οργανική» ουρία από «ανόργανο» κυανιούχο αμμώνιο. Σήμερα, πλέον, η οργανική χημεία ορίζεται ως η χημεία των ενώσεων του άνθρακα και ιδιαίτερα των υδρογονανθράκων και διαφόρων παραγώγων τους. Επίσης η οργανική χημεία συμπεριλαμβάνει και ενώσεις του άνθρακα με διάφορα ετεροάτομα, όπως άζωτο, οξυγόνο, θείο κ.α.

Η ολοένα αυξανόμενη μελέτη ζώντων οργανισμών οδήγησε στη δημιουργία της «βιοχημείας» η οποία για πολλά χρόνια θεωρούνταν ως υποδιαίρεση της οργανικής χημείας, εφόσον το κύριο αντικείμενο μελέτης της ήταν οργανικές ενώσεις.

Ένας σημαντικός παράγοντας που οδήγησε στο συνδυασμό της βιοχημείας και της ανόργανης χημείας ήταν η ανάπτυξη και η βελτίωση διαφόρων αναλυτικών μεθόδων που αποκάλυψαν την ύπαρξη «ανοργάνων»

στοιχείων σε βιοχημικές διαδικασίες. Εξάλλου μερικά «ανόργανα» στοιχεία είχαν ήδη ανακαλυφθεί σε ζώντες οργανισμούς, όπως το ανθρακικό κάλιο, K_2CO_3 , σε διάφορα φυτά, σύμπλοκα του σιδήρου, $K_{3,4}[Fe(CN)_6]$, σε αίμα ζώων κατά τον 18^ο αιώνα, στοιχειακός φωσφόρος (P_4) σε κατάλοιπα ουρίνης το 1669 και στοιχειακό ιώδιο σε στάχτες από θαλασσινά φύκια το 1812. Στα μέσα του 19^{ου} αιώνα, μελέτες του Liebig πάνω στο μεταβολισμό των ανοργάνων ενώσεων, κυρίως του αζώτου, του φωσφόρου και αλάτων του καλίου βελτίωσαν σημαντικά τη γεωργία και συνεπώς αυτό το συγκεκριμένο τμήμα της χημείας γνώρισε τεράστια πρακτική εφαρμογή. Παρόλα αυτά όμως οι θεωρητικές βάσεις και οι μέθοδοι ανάλυσης εκείνη την εποχή ήταν ελλιπείς για ολοκληρωμένη συλλογή πληροφοριών πάνω στο μηχανισμό δράσης αυτών των στοιχείων, μερικά από τα οποία υπήρχαν σε ίχνη. Αργότερα αναλύθηκαν και χαρακτηρίστηκαν ενώσεις όπως η αιμογλοβίνη –που περιέχει σίδηρο- και η χλωροφύλλη –που περιέχει μαγνήσιο- οι οποίες κίνησαν πραγματικά το ενδιαφέρον των χημικών. Έτσι άρχισε να αποκαλύπτεται η ύπαρξη «ανοργάνων» στοιχείων μέσα σε ζώντες οργανισμούς και να δημιουργείται ένα καινούργιο πεδίο της χημείας το οποίο ασχολούνταν με τη μελέτη και τη συλλογή πληροφοριών από τις αλληλεπιδράσεις αυτών των στοιχείων με τα βιολογικά μόρια, που ονομάστηκε βιοανόργανη χημεία. Μόλις μετά το 1960 η βιοανόργανη χημεία έγινε ένα ανεξάρτητο και ταχέως αναπτυσσόμενο ερευνητικό πεδίο. Οι λόγοι που οδήγησαν σε αυτήν την ανάπτυξη ήταν οι εξής:

Η ανακάλυψη νέων μεθόδων απομόνωσης και καθαρισμού βιομορίων, όπως η χρωματογραφία, και νέων φυσικοχημικών μεθόδων στοιχειακής ανάλυσης, όπως η φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης ή εκπομπής, οι οποίες απαιτούν πολύ μικρές ποσότητες δείγματος για ανάλυση. Οι μέθοδοι αυτές είχαν ως αποτέλεσμα να ανιχνευθούν αλλά και να χαρακτηριστούν διάφορα ιχνοστοιχεία μέσα σε βιολογικά μόρια.

Οι προσπάθειες που έγιναν για την κατανόηση οργανικών, ανοργάνων και βιοχημικών αντιδράσεων οδήγησαν σε μερική κατανόηση του βιολογικού ρόλου που έχουν ορισμένα «ανόργανα» στοιχεία. Σήμερα, γίνονται πολλές προσπάθειες για να μιμηθούμε τις βιοχημικές αντιδράσεις μέσω μελετών με ενώσεις μοντέλα.

1											13	14	
	2												
3 Li 6.941													
11 Na 22.99		3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
19 K 39.098	20 Ca 40.078	21 Sc 44.958	22 Ti 47.88	23 V 50.942	24 Cr 51.998	25 Mn 54.938	26 Fe 55.847	27 Co 58.933	28 Ni 58.693	29 Cu 63.546	30 Zn 65.39		
		39 Y 88.906	40 Zr 91.224	41 Nb 92.906	42 Mo 95.94	43 Tc (97.91)	44 Ru 101.07	45 Rh 102.91	46 Pd 106.42	47 Ag 107.87	48 Cd 112.41		
		57 La 138.91	72 Hf 178.49	73 Ta 180.95	74 W 183.84	75 Re 186.21	76 Os 190.23	77 Ir 192.22	78 Pt 195.08	79 Au 196.97	80 Hg 200.59		

3

Η περιοχή της επιστήμης που ασχολείται με τις αλληλεπιδράσεις των μεταλλοϊόντων με διάφορους υποκαταστάτες καλείται χημεία ένταξης ή συναρμογής. Τέτοιες αλληλεπιδράσεις έχουν καθοριστικό ρόλο στα βιολογικά συστήματα της φύσης και συνεπώς είναι πολύ σημαντικές για τη φύση αλλά και τον άνθρωπο. Τα μέταλλα συγκρατούνται στη θέση τους μέσω δεσμών ένταξης με τους υποκαταστάτες τους, οι οποίοι με τη σειρά τους είναι καταλλήλως προσανατολισμένοι, πολωμένοι ή ενεργοποιημένοι.

Τα μεταλλικά στοιχεία τα οποία βρίσκονται μέσα σε βιολογικά συστήματα μπορούν να διακριθούν σε ομοιοπολικά και ιοντικά συνδεδεμένα. Έτσι στην πρώτη κατηγορία ανήκουν μέταλλα όπως Pt, Hg, Cd και Pb, ενώ στη δεύτερη ανήκουν μέταλλα όπως Ca, Mg, Na και K. Σε μια ενδιάμεση κατηγορία ανήκουν μέταλλα μετάπτωσης όπως Zn, Cu και Co.

Οι υποκαταστάτες των μετάλλων στα βιολογικά συστήματα διακρίνονται συνήθως ανάλογα με τα άτομα-δότες που περιέχουν. Έτσι ιοντικοί είναι αυτοί που περιέχουν ομάδες με άτομο-δότη οξυγόνο όπως οι καρβοξυλικές και οι αλκοολικές ομάδες, ενώ μη-ιοντικοί υποκαταστάτες θεωρούνται αυτοί που έχουν άτομα-δότες θείο ή φωσφόρο. Ενδιάμεση κατηγορία αποτελούν οι υποκαταστάτες με άτομο-δότη άζωτο. Ο θεμελιώδης κανόνας στην ένταξη των μετάλλων στα διάφορα βιοσυστήματα είναι ότι «ιοντικά» μέταλλα εντάσσονται με «ιοντικούς» υποκαταστάτες και «μη-ιοντικά» μέταλλα με «μη-ιοντικούς» υποκαταστάτες.

Στα βιολογικά συστήματα, τα μέταλλα εντάσσονται σε μια ποικιλία βιομορίων όπως:

- στις πρωτεΐνες και ιδιαίτερα στις πλευρικές τους αλυσίδες,
- στις φωσφορικές ομάδες αλλά και στα άτομα N των νουκλεϊνικών οξέων,
- στους υδρογονάνθρακες, όπως τα λιπίδια και
- σε στερεά βιοσώματα, όπως τα κόκκαλα και τα δόντια.

Ως γνωστόν οι πρωτεΐνες, καθώς και τα ένζυμα, αποτελούνται από α-αμινοξέα τα οποία ενώνονται με πεπτιδικούς δεσμούς του τύπου $-C(=O)-N(-H)$. Οι πλευρικές ομάδες των αμινοξέων είναι αυτές που συνήθως αλληλεπιδρούν με το μέταλλο με δεσμούς ένταξης. Έτσι, ανάλογα με την πλευρική ομάδα για τα διάφορα αμινοξέα των πρωτεϊνικών αλυσίδων ισχύει: (βλέπε Πίνακα 1 και Σχήμα 2)

Η ιστοιδίνη (His) εντάσσεται κυρίως μέσω του βασικού δ-αζώτου και μερικές φορές μέσω του ε-αζώτου του ιμιδαζολικού δακτυλίου (ταυτομερείς μορφές). Μερικές φορές είναι δυνατή η ένταξη και των δύο αζώτων του δακτυλίου, εφόσον αυτός έχει αποπρωτονιωθεί παρουσία του μετάλλου, δημιουργώντας έτσι μια ιμιδαζολάτο γέφυρα μεταξύ δυο μεταλλικών κέντρων, όπως για παράδειγμα στο ένζυμο σουπεροξειδική δισμουτάση των Cu, Zn.

Η μεθειονίνη (Met) εντάσσεται μέσω του ουδέτερου ατόμου θείου της θειοαιθερικής ομάδας.

Η κυστεΐνη (Cys) στην αποπρωτονιωμένη μορφή της ($pK_a=8.5$) έχει ένα αρνητικά φορτισμένο άτομο θείου το οποίο μπορεί να γεφυρώσει δύο μέταλλα.

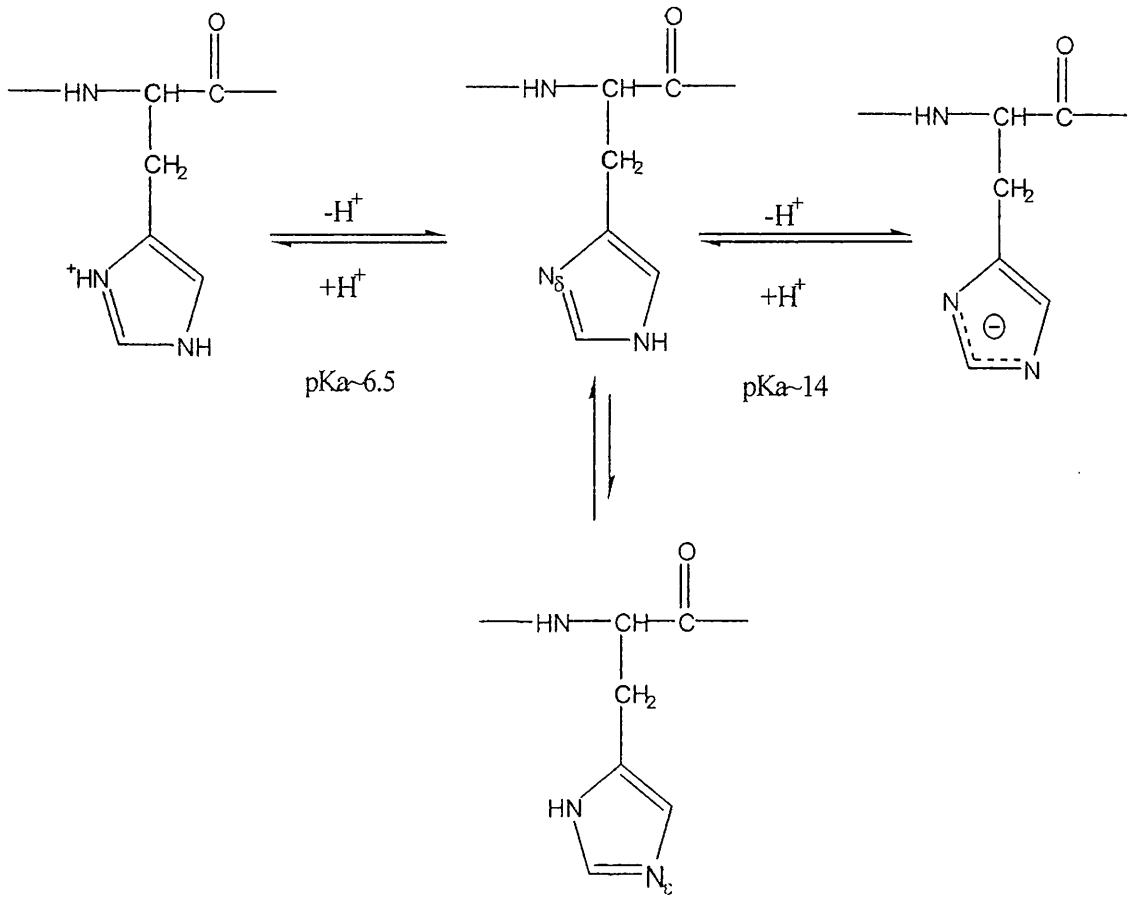
Η σεληνοκυστεΐνη (SeCys), ένα αμινοξύ που ανακαλύφθηκε προσφάτως, στην αποπρωτονιωμένη της μορφή ($pK_a\sim 5$) έχει ένα αρνητικά φορτισμένο άτομο σεληνίου.

Η τυροσίνη (Tyr) εντάσσεται στην αποπρωτονιωμένη μορφή της ($pK_a=10$) μέσω του αρνητικά φορτισμένου ατόμου οξυγόνου. Επίσης, η δέσμευση του μετάλλου μπορεί να γίνει και με την ουδέτερη φαινολική της μορφή ή ακόμα και με τη μορφή τυροσυλορίζας.

Το γλουταμινικό (Glu) καθώς και το ασπαραγινικό (Asp) οξύ εντάσσονται μέσω των αρνητικά φορτισμένων καρβοξυλικών ομάδων ($pK_a\sim 4.5$). Οι καρβοξυλικές ομάδες μπορούν συνήθως να δράσουν ως μονοδοντικοί (η^1), χηλικοί (η^2) ή τέλος ως γεφυρωτικοί ($\mu_2:\eta^1:\eta^1$) υποκαταστάτες (Πίνακας 2).

Τα υπόλοιπα αμινοξέα που έχουν απλές υδρόξυ- ή αμινο- ομάδες στην πλευρική τους αλυσίδα, όπως η σερίνη (Ser), η θρεονίνη (Thr) και η λυσίνη (Lys) δεν παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον στη βιολογική χημεία ένταξης των μετάλλων.

His

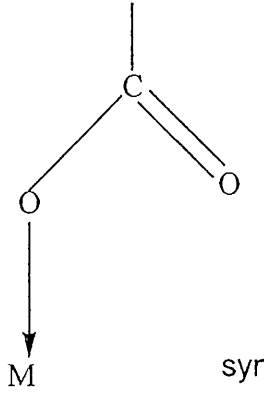
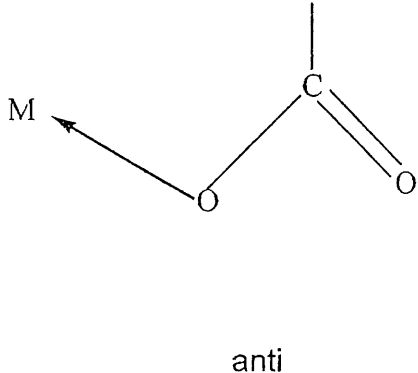
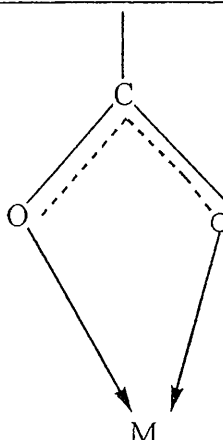
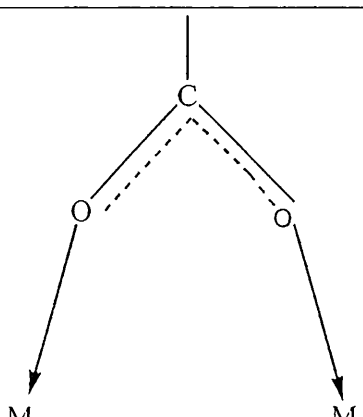


Σχήμα 2. Οι ταυτομερείς μορφές της ιστιδίνης και οι πιθανοί τρόποι ένταξης της.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. Αμινοξέα που βρίσκονται στις πλευρικές αλυσίδες πρωτεϊνών.

Met	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{S} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} $	Cys	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{S} \\ \\ \text{H} \end{array} $
SeCys	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{Se} \\ \\ \text{H} \end{array} $	Tyr	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_4 \\ \\ \text{O} \\ \\ \text{H} \end{array} $
Asp	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{O} \\ \\ \text{H} \end{array} $	Glu	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{O} \\ \\ \text{H} \end{array} $

ΠΙΝΑΚΑΣ 2. Οι συνήθεις τρόποι ένταξης της καρβοξυλικής ομάδας.^a

η^1	
η^1	
η^2	
$\mu\text{-}\eta^1\text{:}\eta^1$	

^a Εκτός από αυτούς τους τρόπους ένταξης υπάρχουν και πολλοί άλλοι λιγότερο συνηθισμένοι.

Κατά την ένταξη των μετάλλων στα βιομόρια παρατηρούνται δύο αξιοσημείωτα φαινόμενα που έχουν σχέση με τον αριθμό ένταξης CN (Coordination Number) και τη γεωμετρία που υιοθετούν στο ενεργό κέντρο (active site) της πρωτεΐνης ή του ενζύμου :

Τα μέταλλα που συμπλοκοποιούνται με υποκαταστάτες πλευρικές ομάδες αμινοξέων έχουν, συνήθως, μικρότερους αριθμούς ένταξης από ότι με «κοινούς» υποκαταστάτες και αυτό οφείλεται στη σχετικά μικρή ικανότητα ένταξης των πλευρικών ομάδων. Αυτό το γεγονός είναι πολύ σημαντικό στις διαδικασίες ενζυμικής κατάλυσης διότι υπάρχει μία κενή θέση ένταξης για την υποδοχή του υποστρώματος. Στις περισσότερες περιπτώσεις αυτήν τη θέση ένταξης καταλαμβάνουν μερικώς μόρια νερού τα οποία απομακρύνονται ή τροποποιούνται με την άφιξη του υποστρώματος.

Για τους πιο συνηθισμένους αριθμούς ένταξης 4 και 6, η γεωμετρία του ενεργού κέντρου (δηλ. του μετάλλου και των υποκαταστατών του) της πρωτεΐνης ή του ενζύμου αποκλίνει πολύ από την τετραεδρική, την επίπεδη τετραγωνική και την οκταεδρική. Βεβαίως, ένα μεγάλο ποσοστό αυτής της απόκλισης πρέπει να αποδοθεί στους διαφορετικούς υποκαταστάτες και στη γενικότερη ασυμμετρία που προσδίδει ο πρωτεϊνικός κορμός.

Χαρακτηριστικά παραδείγματα των δύο παραπάνω φαινομένων συναντώνται σε ένζυμα των μετάλλων Zn(II), Cu(I), Cu(II), Fe(II), Ni(II), Co(II) κ.λ.π.

Η παρουσία των μετάλλων στα βιολογικά συστήματα είναι άμεσα συνδεδεμένη με τη λειτουργία τους. Αυτό γίνεται φανερό και από το γεγονός ότι τα βιολογικά συστήματα έχουν αναπτύξει τρόπους και μεθόδους πρόσληψης, μεταφοράς και αποθήκευσης των μεταλλικών ιόντων. Ανάλογα με τη λειτουργία των μετάλλων στα βιοσυστήματα, αυτά διακρίνονται σε :

Δομικά, όταν τα μεταλλοϊόντα συγκρατούν μέρη του πρωτεϊνικού κορμού σε μια κατάλληλη διεύθυνση για τη λειτουργία του συστήματος. Μέταλλα που διαδραματίζουν τέτοιο ρόλο είναι συνήθως τα Ca^{2+} και Mg^{2+} . Χαρακτηριστικό παράδειγμα τέτοιας λειτουργίας είναι η διπλή έλικα του DNA η οποία διατηρείται μόνον παρουσία μονοσθενών ή δισθενών μεταλλοκατιόντων, τα οποία ελαττώνουν σημαντικά τις απωστικές ηλεκτροστατικές δυνάμεις μεταξύ των αρνητικά φορτισμένων φωσφορικών ομάδων των νουκλεοτιδίων. Επίσης άλλο παράδειγμα είναι η σταθεροποίηση

των τελομερών (ομάδων που τερματίζουν τη διπλή έλικα του DNA στα χρωμοσώματα) από K^+ . Έχει βρεθεί ότι τα τελομερή δεν συγκρατούνται από αλληλεπιδράσεις τύπου Watson-Crick αλλά με τη συμπλοκοποίηση οχτώ γουανινικών βάσεων γύρω από το μονοσθενές μέταλλο.

Μεταφορείς φορτίου, για ταχύτατη μεταφορά πληροφοριών, όπως τα Na^+ , K^+ και Ca^{2+} . Αυτά τα μέταλλα ελέγχουν βιολογικές διαδικασίες όπως τη συστολή των μυών και τη μεταβίβαση ερεθισμάτων στα νεύρα.

Καταλυτικά στα μεταλλοένζυμα, όπως ο Zn^{2+} , το Mg^{2+} και το Ni^{2+} . Ο σχηματισμός, ο μεταβολισμός και, τέλος, η αποσύνθεση των οργανικών ενώσεων στους οργανισμούς συχνά απαιτεί όξινη ή βασική κατάλυση. Εφόσον το φυσιολογικό pH κυμαίνεται σε τιμές κοντά στο 7 (εκτός από μερικά μέρη του οργανισμού όπως το στομάχι), τέτοιες αντιδράσεις δεν μπορούν να γίνουν εύκολα και απαιτούνται οξέα και βάσεις κατά Lewis παρουσία μετάλλων (όπως στην καρβονική ανυδράση και στις καρβοξυτεπτιδάσες) .

Μεταφορείς ηλεκτρονίων, που είναι ουσιώδεις για τις ενεργειακές μετατροπές. Συνήθως αυτά τα μέταλλα απαντώνται σε οξειδοαναγωγικά ζεύγη και πολλές φορές έχουν ασυνήθιστους αριθμούς οξείδωσης. Έτσι συναντούμαι $Fe(II)/Fe(III)/Fe(IV)$, $Cu(I)/Cu(II)$, $Mn(II)/Mn(III)/Mn(IV)$, $Mo(IV)/Mo(V)/Mo(VI)$, $Co(I)/Co(II)/Co(III)$ και $Ni(I)/Ni(II)/Ni(III)$. Η σταθεροποίηση των ασυνήθιστων οξειδωτικών βαθμίδων οφείλεται στην παρουσία των βιολογικών υποκαταστατών.

Επίσης, τα μεταλλικά ιόντα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην *ενεργοποίηση* των ενζύμων. Τα ασύζευκτα ηλεκτρόνια των μεταλλικών κέντρων μετάπτωσης και η ικανότητά τους να δίνουν αλλά και να δέχονται ηλεκτρονιακό φορτίο (π-back-bonding) επιτρέπει στα ένζυμα να καταλύουν ενεργειακά δαπανηρές αλλά και μηχανιστικά δύσκολες αντιδράσεις, όπως η μετατροπή του μοριακού αζώτου σε αμμωνία (παρουσία Fe, Mo και V), η αναγωγή του διοξειδίου του άνθρακα (παρουσία Ni και Fe) και η αντιστρεπτή πρόσληψη, αποθήκευση, μεταφορά και μετατροπή του οξυγόνου (παρουσία Fe και Cu).

Τέλος, έχει βρεθεί ότι ορισμένα μέταλλα και ιδιαίτερα μετάπτωσης έχουν το ρόλο *οργανομεταλλικών* αντιδραστηρίων, όπως χαρακτηριστικά ισχύει για το συνένζυμο της κοβαλαμίνης το οποίο περιέχει έναν σ-δεσμό μεταξύ Co και πρωτοταγών άλκυλο ομάδων .

Όπως αναφέραμε παραπάνω, ένας από τους λόγους που οδήγησαν στην ανάπτυξη και εξάπλωση της βιοανόργανης χημείας ήταν η ανακάλυψη νέων φυσικοχημικών μεθόδων μελέτης των βιολογικών συστημάτων. Όπως είναι γνωστό, τις περισσότερες δομικές πληροφορίες για ένα σύστημα τις δίνει η κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ. Με αυτήν τη μέθοδο μπορούμε να συλλέξουμε πληροφορίες για τις διαμοριακές αποστάσεις, τις γωνίες και τα μήκη δεσμών που υπάρχουν στο σύστημα και γενικότερα να το «φωτογραφίσουμε». Η εφαρμογή αυτής της μεθόδου στη βιοανόργανη χημεία μας δίνει πληθώρα πληροφοριών για το ενεργό κέντρο του ενζύμου ή της πρωτεΐνης, όπως για τον αριθμό ένταξης του μεταλλικού κέντρου, για τους υποκαταστάτες του, για τη γεωμετρία του και για τυχόν αλληλεπιδράσεις που μπορούν να υπάρχουν μεταξύ του μετάλλου και ενός τμήματος του πρωτεϊνικού κορμού. Με τη συλλογή αυτών των πληροφοριών οι βιοανόργανοι χημικοί είναι σε θέση να προτείνουν διάφορους μηχανισμούς για τον τρόπο δράσης του συστήματος και τελικά να το κατανοήσουν καλύτερα. Όμως, είναι λίγες φορές εφικτή η χρησιμοποίηση αυτής της μεθόδου επειδή είναι αρκετά δύσκολη και επίπονη εφόσον προϋποθέτει την ύπαρξη μονοκρυστάλλων. Με την ανάπτυξη νέων φυσικοχημικών μεθόδων ανάλυσης το πρόβλημα αυτό λύθηκε μερικώς και οι βιοανόργανοι χημικοί είναι σε θέση να «υποθέτουν» για τα ζητήματα που αφορούν το ενεργό κέντρο ενός ενζύμου ή μιας πρωτεΐνης. Στον Πίνακα 3 δίδονται μερικές από αυτές τις μεθόδους καθώς και οι πληροφορίες που μπορούμε να αντλήσουμε.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3. Ορισμένες φυσικοχημικές τεχνικές ανάλυσης χρήσιμες στη βιοανόργανη χημεία

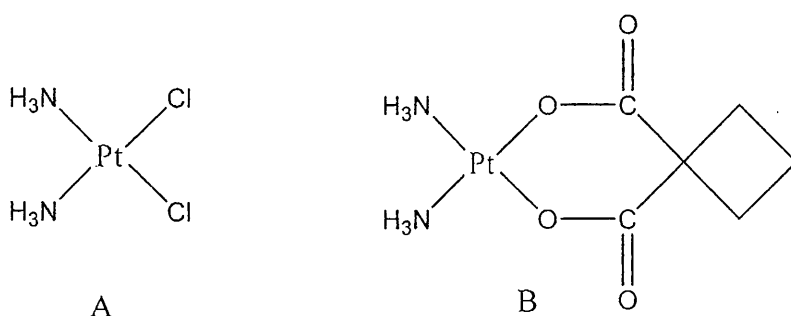
Μέθοδος	Πληροφορίες
Μαγνητοχημεία	Αριθμός ασύζευκτων e^- στη θεμελιώδη κατάσταση. Μαγνητικές συζεύξεις μεταξύ μετάλλων.
Φασματοσκοπία Ηλεκτρονικού Παραμαγνητικού Συντονισμού (EPR)	Υποκαταστάτες ενταγμένοι στο μεταλλικό κέντρο. Ταυτοποίηση μεταλλικού κέντρου.
Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)	Μελέτη δομών παραμαγνητικών πρωτεϊνών. Δομική, κινητική και θερμοδυναμική μελέτη του ενεργού κέντρου και του πρωτεϊνικού κορμού.
Φασματοσκοπία Δόνησης (IR και Raman)	Ταυτοποίηση υποκαταστατών του μεταλλικού κέντρου. Τρόποι ένταξης των υποκαταστατών. Ισχύς δεσμών.
Φασματοσκοπία ENDOR	Υπέρλεπτες αλληλεπιδράσεις μεταξύ υποκαταστατών και μεταλλικού κέντρου.
Φασματοσκοπία ESEEM	Υπέρλεπτες αλληλεπιδράσεις μεταξύ μέταλλου και μη-ενταγμένων γειτονικών ατόμων (π.χ. αζώτου)

A2. Σύγχρονες Ερευνητικές Τάσεις

Η βιοανόργανη χημεία έχει δύο κύριες κατευθυντήριες «λεωφόρους» έρευνας: τη μελέτη των φυσικώς απαντώμενων ανόργανων στοιχείων στη

βιολογία και την εισαγωγή μετάλλων στα βιολογικά συστήματα ως «ανιχνευτών» και φαρμάκων. Περιφερειακά ασχολείται και με θέματα όπως η σημασία των ανόργανων στοιχείων στη διατροφή, η τοξικότητα των ανόργανων ειδών, καθώς και ο τρόπος που αντιμετωπίζεται από τη φύση αλλά και τον άνθρωπο, και η μεταφορά και αποθήκευση των μεταλλοϊόντων από τα βιολογικά συστήματα.

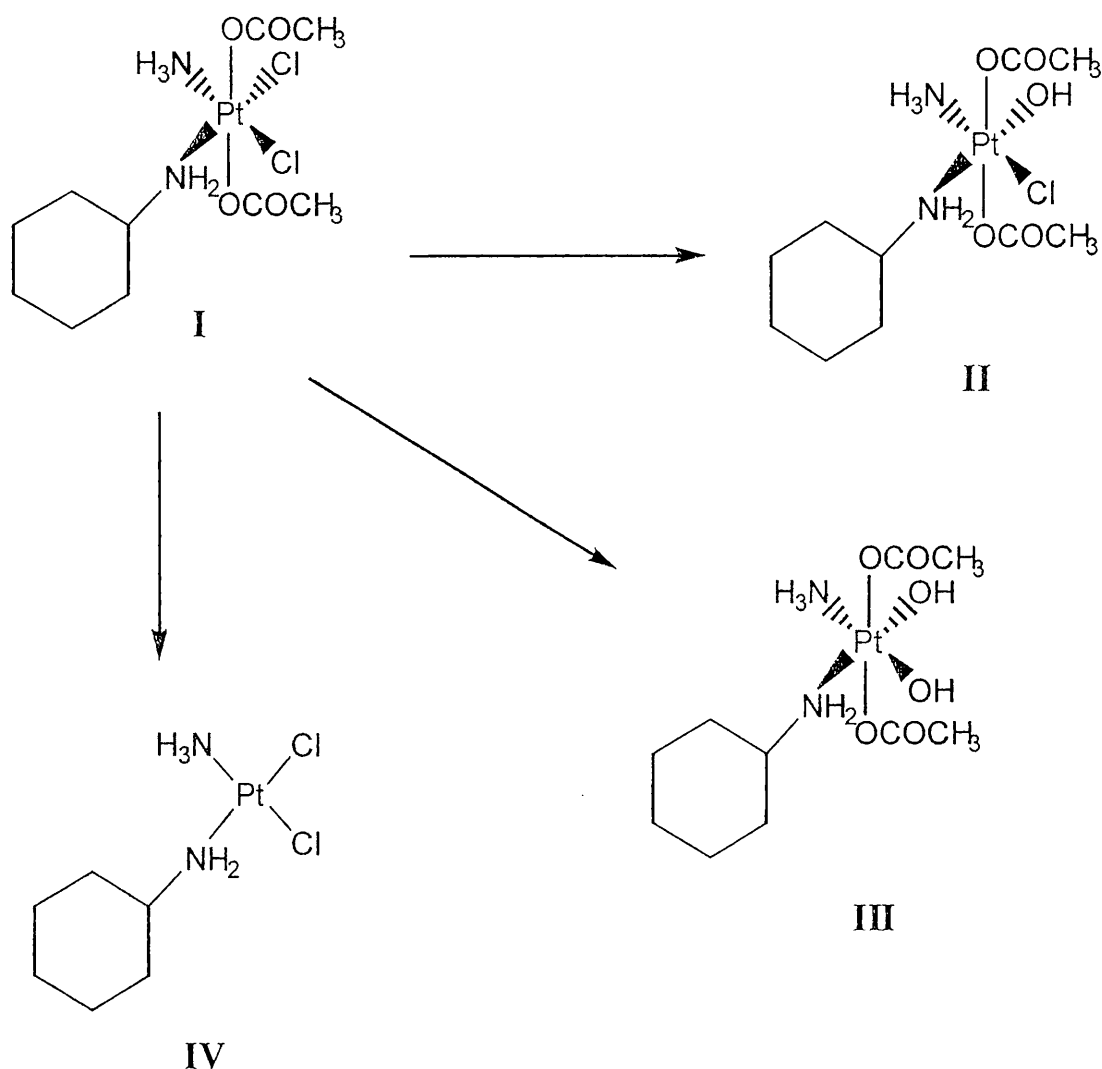
Η βιοανόργανη χημεία, μελετώντας τις αλληλεπιδράσεις των ανόργανων στοιχείων με τα βιολογικά συστήματα, προσφέρει στη φαρμακολογία τη δυνατότητα σχεδιασμού και ανάπτυξης νέων ανόργανων φαρμάκων για την καταπολέμηση αρκετών ασθενειών. Ο ορίζοντας αυτός διευρύνθηκε με την τεράστια επιτυχία που είχε το αντικαρκινικό φάρμακο cisplatin. Σήμερα το cisplatin μαζί με το carboplatin αποτελούν ίσως τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα φάρμακα στην καταπολέμηση του καρκίνου.



Σχήμα 3. Το αντικαρκινικά φάρμακα cisplatin(A) και carboplatin(B).

Τέσσερα ακόμα σύμπλοκα του Pt(II) έχουν εγκριθεί ως ενέσιμα για κλινική χορήγηση και μερικά άλλα *cis*-διάμινo σύμπλοκα είναι σε κλινικές δοκιμές, συμπεριλαμβανομένου και ενός συμπλόκου του Pt(IV) για στοματική χορήγηση(I), το οποίο φαίνεται να παρουσιάζει αυξημένη δραστηριότητα συγκριτικά με το cisplatin κατά διαφόρων καρκινικών όγκων στον αυχένα, στους πνεύμονες και στις ωοθήκες. Επώαση του συμπλόκου I (JM216) σε ανθρώπινο πλάσμα έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση έξι βιοπροϊόντων που περιέχουν τα μονο- και δι-υδρόξο σύμπλοκα του Pt(IV) (II, III) καθώς και του

χλώρο-υποκατεστημένου συμπλόκου του Pt(II), **IV**, όπως φαίνεται στο Σχήμα 4.

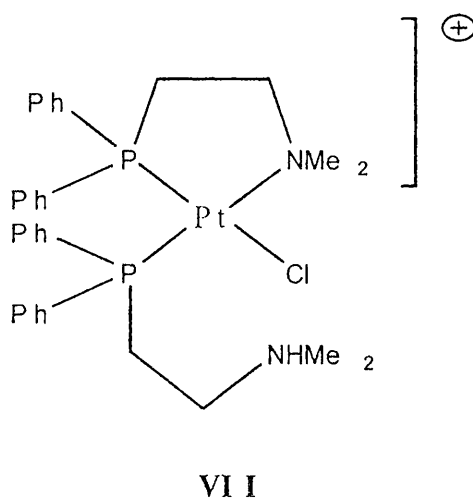
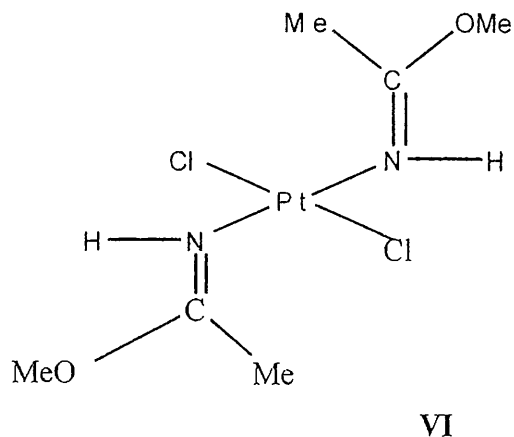
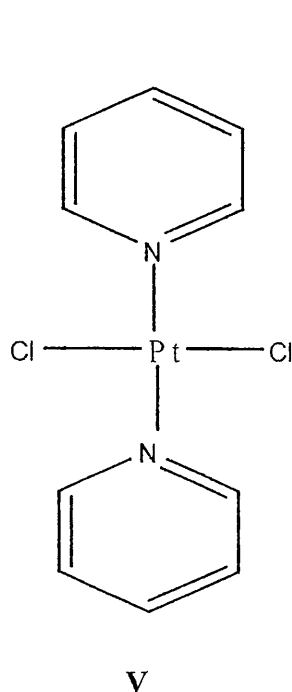


Σχήμα 4. Το σύμπλοκο **I** (JM126) και τα προϊόντα του ύστερα από επώαση με ανθρώπινο πλάσμα(**II**, **III**, **IV**).

Το σημαντικό εύρημα με το σύμπλοκο **I** είναι ότι οι μεταβολίτες του (**II**, **III**, **IV**) παρουσιάζουν δραστικότητα κατά του καρκίνου.

Η γνώση που αποκτήθηκε από τη μελέτη της σχέσης μεταξύ δομής και αντικαρκινικών ιδιοτήτων του cisplatin οδήγησε σε αντικαρκινικά φάρμακα δεύτερης γενιάς όπως το carboplatin. Σήμερα η βιοανόργανη χημεία ασχολείται με την ερευνά και άλλων ενώσεων που μπορεί να εμφανίζουν

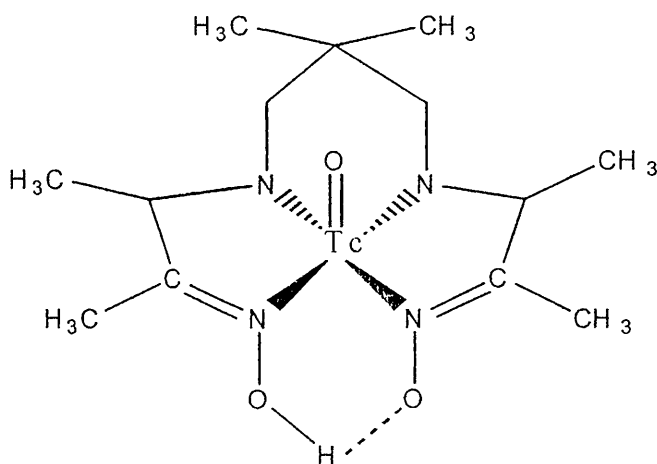
αντικαρκινικές ιδιότητες. Έτσι μελετά ενεργά *trans*- σύμπλοκα που περιέχουν ογκώδεις υποκαταστάτες π.χ. πυριδίνη, **V**, *trans*-ιμινοαιθερικά σύμπλοκα του Pt(II), π.χ. **VI**, και αμινοφωσφονικά σύμπλοκα του Pt(II), π.χ. **VII**.



Επίσης πραγματοποιείται έρευνα και για τις αντικαρκινικές ιδιότητες συμπλόκων ενώσεων και άλλων μετάλλων όπως των Ru(II), Au(I), Rh(II), Cu(I, II), Ga(III) και Sn(IV).

Άλλος τομέας σύγχρονης ερευνητικής δραστηριότητας των βιοανόργανων χημικών αποτελεί ο κλάδος της πυρηνικής φαρμακευτικής. Το κλινικό ενδιαφέρον συγκεντρώνεται πλέον όχι μόνο στους ραδιενεργούς πυρήνες που εκπέμπουν υψηλής έντασης ακτίνες γ όπως ^{99m}Tc, ²⁰¹Tl, ¹¹¹In, ⁶⁷Ga, ⁵¹Co και ¹⁶⁹Yb που χρησιμεύουν ως διαγνωστικά μέσα, αλλά και στους πυρήνες που εκπέμπουν β ακτινοβολία όπως ⁸⁹Sr, ¹⁵³Sm και ¹⁸⁶Re ως

θεραπευτικά μέσα. Αρκετές ενώσεις του ^{99m}Tc άρχισαν να χρησιμοποιούνται προσφάτως στην κλινική διάγνωση. Το σύμπλοκο $[\text{}^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}(\text{dl-hm-pao})]$ (VIII), γνωστό ως Ceretec, χρησιμοποιείται με πολύ καλά αποτελέσματα στην εκτίμηση των καρδιακών εμφραγμάτων.



VIII

Ένα νέο είδος ενώσεων που προκύπτει από τη σύζευξη ραδιοϊσοτόπων με μονόκλωνα αντισώματα (mAbs) είναι χρήσιμο για την ανίχνευση διαφόρων μορφών καρκίνου και αρκετές από τις ενώσεις αυτές φαίνεται να έχουν και θεραπευτικές ιδιότητες ελκύοντας το ενδιαφέρον πολλών βιοανόργανων χημικών. Αρκετά μονόκλωνα αντισώματα, συμπεριλαμβανομένου και της ανθρώπινης ανοσογλοβίνης, έχουν ραδιοσημανθεί και προσφάτως εισήχθησαν στο στάδιο των κλινικών δοκιμασιών.

Η βιοανόργανη χημεία ερευνά επίσης ενώσεις που είναι χρήσιμες και στον κλάδο της νευρολογίας. Το Li^+ είναι γνωστό ότι επηρεάζει τη διάθεση όπως το αλκοόλ. Αυτό ανακαλύφθηκε πριν από περίπου πενήντα χρόνια από τον Cade. Σήμερα απλά άλατα του Li^+ , όπως το ανθρακικό λίθιο (Li_2CO_3), χρησιμοποιούνται ευρέως από το περίπου 0.1% του πληθυσμού διαφόρων χωρών, για προληπτική αγωγή κατά της μανιακής κατάθλιψης. Οι δόσεις είναι της τάξης των γραμμαρίων και το επίπεδο του Li^+ στο αίμα κυμαίνεται μεταξύ 1-2 mM κατά τη διάρκεια της αγωγής. Όμως εξαιτίας της μεγάλης κινητικής αστάθειας των ενώσεών του, το Li^+ κατανέμεται ευρέως μέσα σε όλο το σώμα.

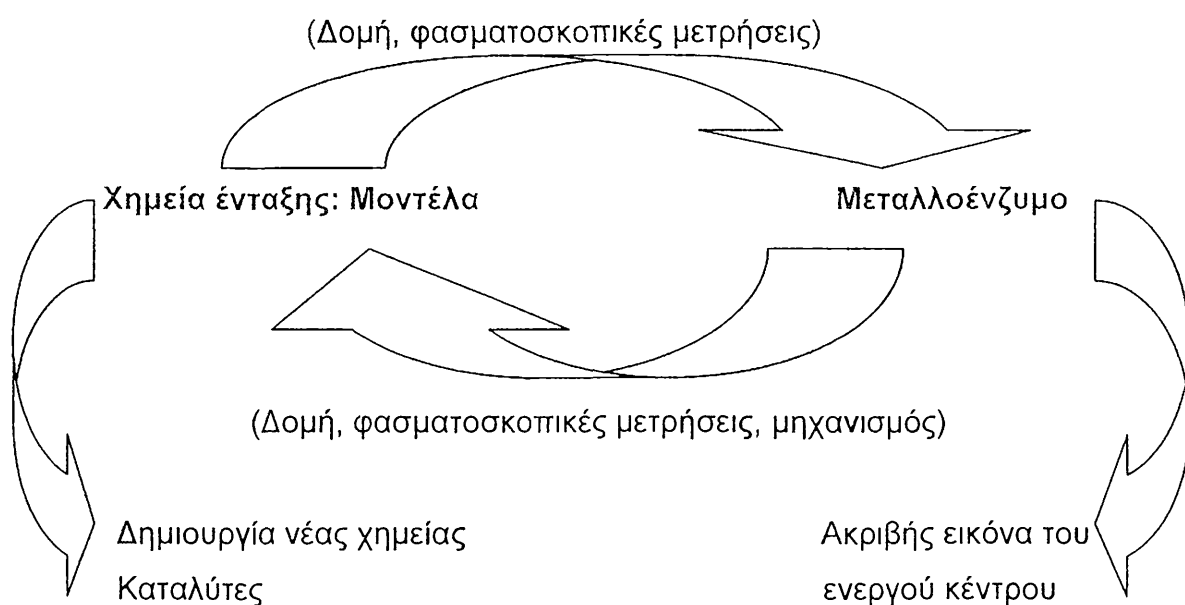
Η έρευνα των βιοανόργανων χημικών επικεντρώνεται πλέον στο σχεδιασμό φαρμάκων του Li^+ που θα μειώνουν αυτή την κινητική αστάθεια, επιτρέποντας έτσι τη βραδεία απελευθέρωσή του.

Πριν από πενήντα χρόνια ανακαλύφθηκε ότι ενώσεις του V(V) και V(IV) μπορούν να μιμηθούν τις ιδιότητες της ινσουλίνης και να οδηγήσουν στη σύνθεση γλυκογόνου. Οι ενώσεις του V(V) βρέθηκαν αποτελεσματικές στην καταπολέμηση του διαβήτη σε ποντίκια, αλλά αρκετά τοξικές για τον άνθρωπο. Οι ενώσεις του V(IV), όπως το VO_2 , κρίθηκαν και αυτές ακατάλληλες εξαιτίας των μεγάλων απαιτούμενων δόσεων που οφείλονταν στη μικρή απορρόφηση των ενώσεων από τη στοματική οδό. Η σύγχρονη βιοανόργανη χημεία ασχολείται με τη σύνθεση ενώσεων του βαναδίου με οργανικούς υποκαταστάτες που φαίνονται ότι είναι λιγότερο τοξικές και παρουσιάζουν βελτιωμένη υδατοδιαλυτότητα και λιποφιλικότητα.

Ένα «θερμό» ερευνητικό πεδίο της βιοανόργανης χημείας είναι η σύνθεση ενώσεων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αντιδραστήρια αντίθεσης στη μαγνητική τομογραφία. Η μαγνητική τομογραφία αποτελεί πλέον ένα πανίσχυρο μέσο ανίχνευσης διαφόρων ασθενειών. Η μεγάλη ανάπτυξη των τεχνικών απεικόνισης με πυρηνικό μαγνητικό συντονισμό (MRI) και η περαιτέρω κλινική εφαρμογή τους δημιούργησε την ανάγκη για μια νέα κατηγορία ενώσεων. Τα αντιδραστήρια αντίθεσης είναι παραμαγνητικά σύμπλοκα τα οποία μπορούν να μειώσουν τους χρόνους αποδιέγερσης (relaxation time) γειτονικών πυρήνων μέσω διπολικών αλληλεπιδράσεων. Αυτά τα «φάρμακα» χορηγούνται στον ασθενή για να βελτιώσουν την ποιότητα του συγκεκριμένου οργάνου που απεικονίζεται, για να ενισχύσουν τις διαφορές μεταξύ υγιών και ασθενών κυττάρων και για να δείξουν την κατάσταση λειτουργίας ενός οργάνου. Το ενδιαφέρον των ερευνητών εστιάζεται σε παραμαγνητικά σύμπλοκα των μετάλλων μετάπτωσης ή των λανθανιδίων, π.χ. του Gd(III) .

Ένα σημαντικό μεγάλο ποσοστό των βιοανόργανων χημικών επικεντρώνει το ενδιαφέρον του στη μελέτη των μεταλλοενζύμων. Η κατανόηση της σχέσης αλληλεξάρτησης μεταξύ της δομής και της βιολογικής λειτουργίας ενός ενζύμου δεν αποτελεί μόνο μία συναρπαστική πρόκληση των ερευνητών, αλλά μπορεί να ανοίξει το δρόμο και στην ανάπτυξη νέων βιομηχανικών καταλυτών. Η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδος για την

κατανόηση των μεταλλοενζύμων είναι η σχεδίαση και παρασκευή συνθετικών μοντέλων που παρουσιάζουν ανάλογες δομικές και φασματοσκοπικές ιδιότητες με το ενεργό κέντρο του μεταλλοενζύμου. Με αυτόν τον τρόπο οι βιοανόργανοι χημικοί έχουν τη δυνατότητα να εργασθούν με «μικρές» ενώσεις οι οποίες μιμούνται ή προσεγγίζουν τη βιολογική μονάδα όσον αφορά θέματα υποκαταστατών, οξειδωτικής βαθμίδας και γεωμετρίας ένταξης του μεταλλικού κέντρου στο ένζυμο (Σχήμα 5). Τα μοντέλα ανάλογα με τις ιδιότητές τους χωρίζονται στα *θεωρητικά* (*speculative*) και στα *επιβεβαιωτικά* (*corroborative*). Έτσι, όταν η δομή του ενεργού κέντρου ενός μεταλλοενζύμου δεν είναι γνωστή και το συνθετικό μοντέλο απλώς αναπαράγει ορισμένες φασματοσκοπικές ιδιότητες του συστήματος, τότε το μοντέλο είναι θεωρητικό. Αντίστοιχα, το επιβεβαιωτικό μοντέλο προσπαθεί να μιμηθεί τη δομή του ενεργού κέντρου ενός δομικά χαρακτηρισμένου μεταλλοενζύμου. Βέβαια το τέλειο μοντέλο για έναν βιοανόργανο χημικό θα ήταν το *λειτουργικό* μοντέλο το οποίο θα αναπαρίστανε το ενεργό κέντρο του μεταλλοενζύμου όχι μόνο δομικά αλλά και λειτουργικά.

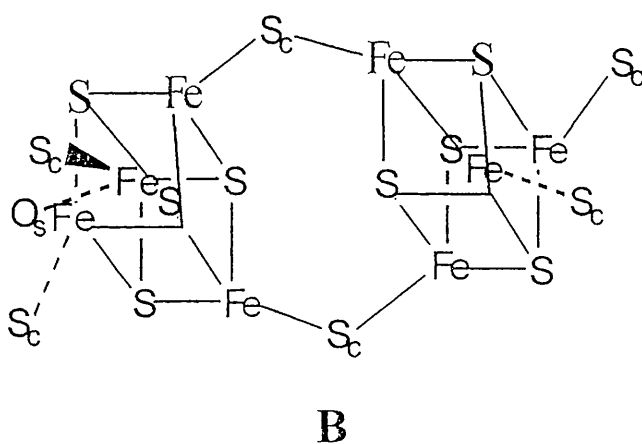
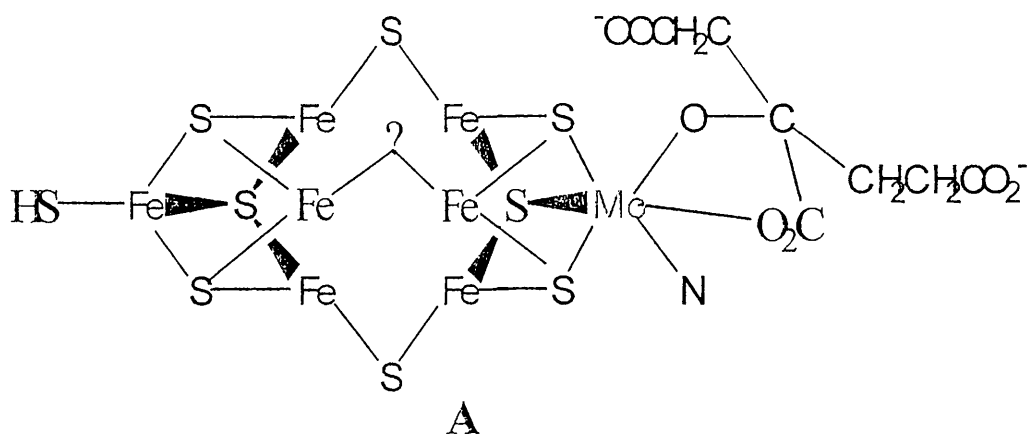


Σχήμα 5. Σχέση μεταξύ συνθετικών μοντέλων και μεταλλοενζύμου.

Μια κατηγορία μεταλλοενζύμων που «ταλαιπώρησε» για αρκετά χρόνια τους βιοανόργανους χημικούς και συνεχίζει να αποτελεί πεδίο επιστημονικών «συγκρούσεων» είναι οι νιτρογενάσες.

Όπως η φωτοσύνθεση, έτσι και η ενζυματική μετατροπή του αζώτου σε αμμωνία αποτελεί θεμελιώδη συνθετική διεργασία της φύσης. Η μετατροπή του αζώτου σε αμμωνία καταλύεται από ένζυμα που ονομάζονται νιτρογενάσες. Οι νιτρογενάσες μπορούν να διακριθούν ανάλογα με τα μεταλλικά στοιχεία που περιέχουν. Έτσι υπάρχουν νιτρογενάσες που στο ενεργό τους κέντρο περιέχουν Fe, Mo ή Fe, V ή τέλος Fe, Fe. Όλες οι νιτρογενάσες χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη υποκαταστατών με άτομα δότες S στο ενεργό τους κέντρο. Το επίκεντρο των ερευνητών για πολλά χρόνια ήταν οι νιτρογενάσες Fe, Mo και επικρατούσε η πεποίθηση ότι το Mo ήταν ουσιώδες συστατικό τους. Η σταδιακή ανακάλυψη όμως των νιτρογενασών Fe, V και Fe, Fe έδειξε ότι για τη λειτουργία του ενζύμου δεν ήταν απαραίτητη η ύπαρξη δύο διαφορετικών μετάλλων. Το 1993 τελικά για πρώτη φορά έγινε εφικτή η απομόνωση κρυσταλλικής μορφής της νιτρογενάσης Fe, Mo. Η δομή της αποτέλεσε μεγάλη έκπληξη για την επιστημονική κοινότητα καταρρίπτοντας όλα τα προϋπάρχοντα μοντέλα του ενζύμου. Η κρυσταλλική μορφή του ενζύμου απεκάλυψε την ύπαρξη δύο πρωτεϊνών. Μιας πρωτεΐνης που περιέχει μόνο Fe και μιας δεύτερης που περιέχει Fe και Mo. Η παρουσία και των δύο πρωτεϊνών είναι απαραίτητη για την αναγωγή του αζώτου σε αμμωνία. Ο ρόλος των δύο αυτών πρωτεϊνών στην πρόσληψη και αναγωγή του αζώτου δεν έχει ακόμα εξακριβωθεί τελείως και αποτελεί «θερμό» πεδίο ερευνητικής δραστηριότητας. Παρόλα αυτά η ακριβής ταυτοποίηση σε επίπεδο ατόμων στο ενεργό κέντρο δεν έχει γίνει ακόμα γνωστή παρά τη βελτιωμένη διακριτική ικανότητα της δομής ($2.7 \text{ \AA}$, $R=0.20$). Στο Σχήμα 6 παρουσιάζονται δύο προσφάτως προταθέντα μοντέλα των δύο μεταλλικών κέντρων βασιζόμενα σε δεδομένα κρυσταλλογραφίας, μελέτες πρωτεϊνικής αλληλουχίας, αποτελέσματα μεταλλαξογένεσης, μετρήσεις EXAFS και άλλες φασματοσκοπικές τεχνικές. Από τα μέχρι τώρα συμπεράσματα που έχουν εξαχθεί για το μεταλλοένζυμο φαντάζει ακατόρθωτη η εφαρμογή ενός τέτοιου συστήματος στη βιομηχανική παραγωγή αμμωνίας και αυτό εξαιτίας των αναρίθμητων παραμέτρων που συμβάλλουν στη λειτουργία του ενζύμου όπως το πρωτεϊνικό περιβάλλον, οι εξειδικευμένες αναγωγικές πρωτεΐνες, το MgATP κ.α. Ίσως τελικά το δίδαγμα της φύσης από ένα τέτοιο σύστημα να είναι η χρησιμοποίηση μετάλλων

μετάπτωσης σε ένα περιβάλλον πλούσιο από άτομα θείου για την επίτευξη πολύ δύσκολων καταλυτικών αντιδράσεων σε ήπιες συνθήκες.



Σχήμα 6. Δύο προσφάτως προταθέντα μοντέλα των μεταλλικών κέντρων των δύο πρωτεϊνών της νιτρογενάσης. A= Πρωτεΐνη Fe, Mo. B= Πρωτεΐνη Fe. (S_c = γ-άτομο θείου κυστεΐνη, O_s = γ-άτομο οξυγόνου σερίνης, ? = η φύση της γέφυρας αυτής δεν έχει ακόμα καθοριστεί και πιστεύεται ότι είναι $-NH$ ή $-O$).

Τέλος, ένα σημαντικό ερευνητικό πεδίο της βιοανόργανης χημείας αποτελεί η χρησιμοποίηση φασματοσκοπικά-ενεργών «ανακριτών»

(spectroscopically-active probes) για τη συλλογή πληροφοριών που αφορούν δομικά, κινητικά και θερμοδυναμικά χαρακτηριστικά βιομορίων που περιέχουν μεταλλικά ενεργά κέντρα που είναι φασματοσκοπικά σιωπηλά. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί ο Zn(II) ο οποίος είναι d^{10} μεταλλοϊόν. Συνεπώς δεν έχει μαγνητικές ιδιότητες, είναι EPR-σιωπηλός και δεν παρουσιάζει d-d ηλεκτρονιακές μεταπτώσεις στο ορατό φάσμα. Επιπλέον το μόνο NMR-ενεργό ισότοπο, ο ^{67}Zn , έχει πολύ χαμηλή ευαισθησία και πυρηνική τετραπολική ροπή που προκαλεί μεγάλες ταχύτητες πυρηνικής χαλάρωσης. Η μόνη φασματοσκοπική τεχνική που χρησιμοποιείται για την έρευνα ενζύμων του Zn(II) είναι η φασματοσκοπία EXAFS που δίνει πληροφορίες για τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά της συμπλοκοποίησης του Zn(II) . Συνεπώς το πιο ισχυρό εργαλείο για τη δομική και μηχανιστική έρευνα του Zn(II) είναι η κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ. Αν και μελέτες με κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ έχουν οδηγήσει στη διευκρίνιση του τύπου των υποκαταστατών και της γεωμετρίας ένταξης του Zn(II) στα ενεργά κέντρα αρκετών μεταλλοενζύμων, οι λεπτομέρειες του μηχανισμού της κάθε αντίδρασης δεν έχουν μέχρι τώρα κατανοηθεί πλήρως. Συγκεκριμένα η δράση και ο ρόλος του Zn(II) στο ενεργό κέντρο του κάθε ενζύμου είναι ανεπαρκώς καθορισμένα στον ολικό μηχανισμό, και σε πολλές περιπτώσεις αδιευκρίνιστα. Για τη μελέτη των κέντρων του Zn(II) στα βιομόριά του συχνά χρησιμοποιείται η «ισόμορφη αντικατάσταση» του Zn(II) από κάποιο άλλο μεταλλοϊόν που έχει κατάλληλες διαγνωστικές ηλεκτρονιακές και μαγνητικές ιδιότητες. Μετά την αντικατάσταση του φυσικού Zn(II) η ενζυμική δραστηριότητα διατηρείται μερικώς ή πλήρως. Η μερική αντικατάσταση του μεταλλικού κέντρου είναι ένα χρήσιμο εργαλείο για την παρακολούθηση της δράσης του πρωτεϊνικού μορίου με φασματοσκοπικές τεχνικές. Επιπλέον εξάγονται χρήσιμες πληροφορίες για το πως η δραστηριότητα του ενζύμου εξαρτάται από τη φύση και τα χαρακτηριστικά ένταξης του μεταλλοϊόντος. Δύο από τα μέταλλα που συνήθως χρησιμοποιούνται για την αντικατάσταση του Zn(II) στα πρωτεϊνικά του μόρια είναι τα Co(II) και Cd(II) .

Άλλο παράδειγμα αποτελεί η χρησιμοποίηση ορισμένων λανθανιδίων για την αντικατάσταση του Ca(II) , το οποίο είναι «φασματοσκοπικά σιωπηλό», στις πρωτεΐνες ασβεστίου όπως στη θερμολυσίνη, στη καλμοδουλίνη κ.α.

Β. ΤΑ ΒΑΣΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ ΕΝΤΑΞΗΣ ΤΟΥ Ni(II)^{14, 15}

B1. Εισαγωγή

Το νικέλιο έχει ατομικό αριθμό 28 και ατομικό βάρος 58.69. Η ηλεκτρονιακή του διαμόρφωση είναι $[Ar]3d^8 4s^2$ και έχει 5 φυσικά ισότοπα, ^{58}Ni 68.27%, ^{60}Ni 26.10%, ^{61}Ni 1.13%, ^{62}Ni 3.59% και ^{64}Ni 0.91%. Το στοιχείο απομονώθηκε το 1751 από τον A. F. Cronsted και πήρε την ονομασία του από το μέταλλευμα «Kupfernickel». Απαντάται σε πολλά πυριτικά, θειούχα, οξυγονούχα και αρσενικούχα μεταλλεύματα, όπως ο λεμονίτης $(Fe, Ni)O(OH) \cdot x H_2O$.

Το νικέλιο έχει χρώμα ασημί-άσπρο και παρουσιάζει ιδιαίτερα υψηλές ιδιότητες ηλεκτρικής και θερμικής αγωγιμότητας. Το σημείο τήξης του είναι 1452 °C και είναι ελατό. Αντέχει στην επαφή με τον αέρα και το νερό και για αυτό το λόγο χρησιμοποιείται ως επικαλυπτικό στρώμα κατά τη διαδικασία του γαλβανισμού. Επειδή το μέταλλο αντιδρά βραδέως με το φθόριο, το νικέλιο και ορισμένα κράματά του βρίσκουν εφαρμογή στο χειρισμό του φθορίου και φθοριούχων ενώσεων. Είναι, επίσης, σιδηρομαγνητικό και ελαφρώς ηλεκτροθετικό και, όπως ο σίδηρος, δε διαλύεται σε διάλυμα πυκνού νιτρικού οξέος.

Το νικέλιο χρησιμοποιείται ευρέως σήμερα σε βιομηχανική κλίμακα ως καταλύτης σε αντιδράσεις υδρογόνωσης με τη διαδικασία Raney, κατά την οποία ένα κράμα νικελίου-αλουμινίου κατεξεργάζεται με υδατικό διάλυμα NaOH, με αποτέλεσμα την απομάκρυνση του αλουμινίου κάτω από συνθήκες αδρανούς αερίου.

Η χημεία ένταξης του νικελίου συμπεριλαμβάνει ένα πολύ μεγάλο αριθμό μονο- και πολυδοντικών υποκαταστατών με αριθμούς οξείδωσης του μετάλλου από 0 έως και +IV. Έχουν ακόμα αναφερθεί και οργανομεταλλικές ενώσεις του στοιχείου όπου το νικέλιο έχει –I και –II αριθμούς οξείδωσης. Η πιο συνήθης οξειδωτική κατάσταση του νικελίου είναι το Ni(II) αν και αρκετά σύμπλοκα του Ni(0) είναι γνωστά. Οι οξειδωτικές καταστάσεις των Ni(I) και Ni(III) είναι σπάνιες, ενώ το Ni(IV) απαντάται σε σύμπλοκα με συγκεκριμένους

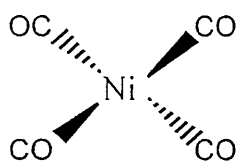
υποκαταστάτες. Στον Πίνακα 4 φαίνονται μερικά από τα σύμπλοκα που σχηματίζουν οι διάφορες οξειδωτικές βαθμίδες του νικελίου.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4. Μερικά σύμπλοκα του νικελίου.

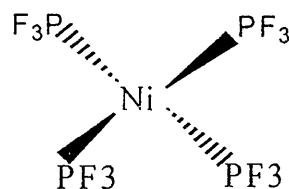
Οξειδωτική βαθμίδα	Σύμπλοκα
0	$[\text{Ni}(\text{PR}_3)_3]$, $[\text{Ni}(\text{PR}_3)_4]$, $[\text{Ni}(\text{CO})_4]$, $[\text{Ni}(\text{CN})_4]^{4-}$
+I	$[\text{Ni}(\text{PR}_3)_3\text{Br}]$, $[\text{Ni}(\text{PR}_3)_2\{\text{N}(\text{SiMe}_3)_2\}]$, $[\text{Ni}_2(\text{CN})_6]^{4-}$
+II	$[\text{Ni}(\text{NPh}_2)_3]$, $[\text{Ni}_2(\text{NR}_2)_4]$, $[\text{Ni}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$, $[\text{Ni}(\text{bipy})_3]^{2+}$
+III	$[\text{NiCl}_2([\text{14}] \text{aneN}_4)]$, $[\text{Ni}([\text{9}] \text{aneX}_3)_2]^{3+}$, $[\text{NiX}_3(\text{PR}_3)_2]$
+IV	$[\text{NiF}_6]^{2-}$

B2. Σύμπλοκα του Ni(0)

Τα σύμπλοκα του Ni(0) έχουν d^{10} ηλεκτρονιακή διαμόρφωση και σταθεροποιούνται από υποκαταστάτες που λειτουργούν ως π-δέκτες, όπως το CO, τα αλκένια, οι φωσφίνες (PR_3), το N_2 και το CN^- . Συνεπώς ο δεσμός που σχηματίζει το Ni(0) στα σύμπλοκά του είναι ασυνήθιστα πολικός, με ισχυρό το φαινόμενο του π-back bonding από το πλούσιο σε ηλεκτρόνια μέταλλο προς τους υποκαταστάτες που είναι δέκτες ηλεκτρονιακής πυκνότητας. Αρκετά σύμπλοκα του Ni(0) είναι οργανομεταλλικές ενώσεις που υπακούουν στον κανόνα των $18e^-$ και το μέταλλο είναι συνήθως τετραενταγμένο με αποτέλεσμα το σύμπλοκο να παρουσιάζει τετραεδρική γεωμετρία. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν οι ενώσεις $[\text{Ni}(\text{CO})_4]$ (IX) και $[\text{Ni}(\text{PF}_3)_4]$ (X).



IX



X

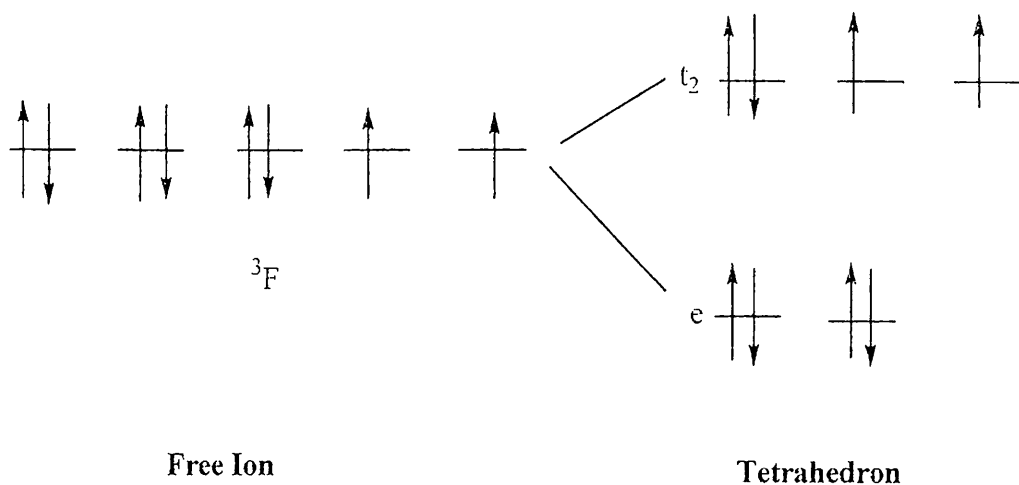
Χρησιμοποιώντας πιο ογκώδεις τριτοταγείς φωσφίνες ως υποκαταστάτες είναι δυνατή η παρασκευή τρι-ενταγμένων συμπλόκων ενώσεων του Ni(0) όπως το $[\text{Ni}(\text{PPh}_3)_3]$ και το $[\text{Ni}(\text{Pcy}_3)_3]$. Επίσης έχουν αναφερθεί και σύμπλοκες ενώσεις του Ni(0) που εμφανίζουν επίπεδη τετραγωνική γεωμετρία με υποκαταστάτες O_2 , CO_2 , CS_2 και SO_2 . Οι ενώσεις του Ni(0) είναι διαμαγνητικές και με αντιδράσεις προσθήκης μετασχηματίζονται ταχέως σε οκταεδρικά σύμπλοκα.

B3. Σύμπλοκα του Ni(I)

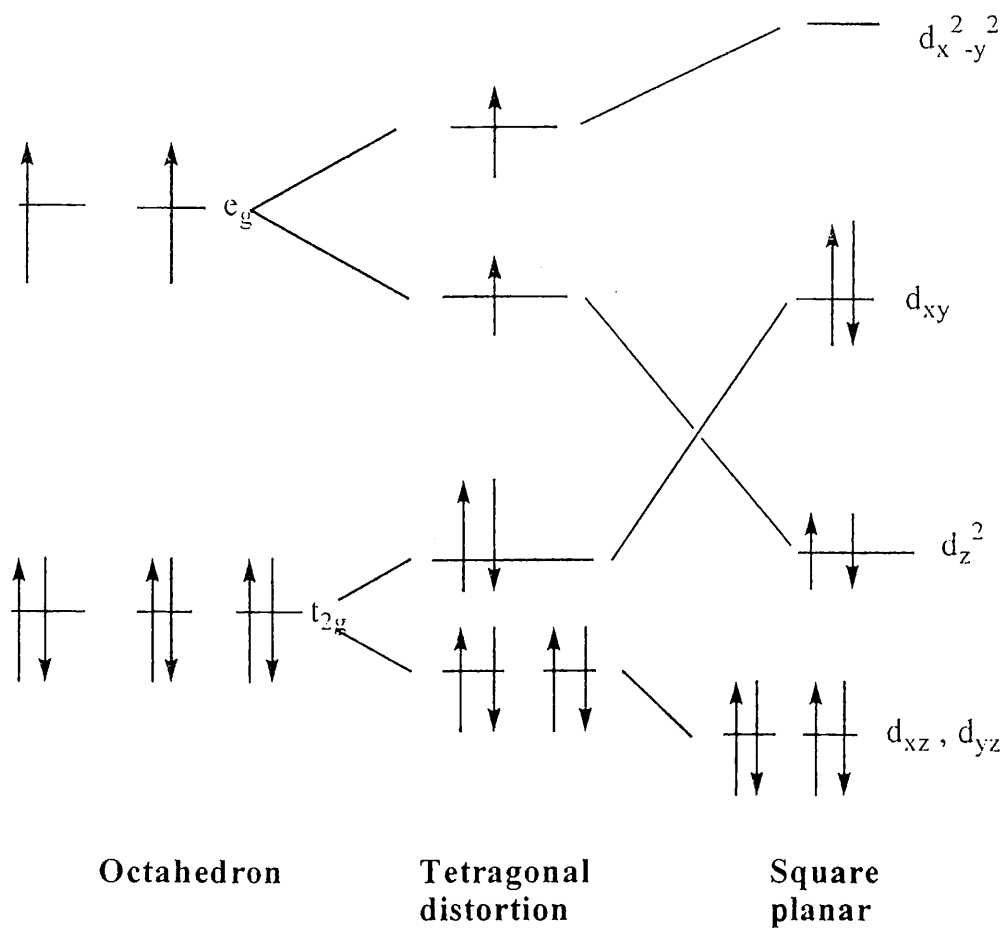
Τα σύμπλοκα του Ni(I) είναι σχετικώς περιορισμένα σε αριθμό και συνήθως σταθεροποιούνται από μακροκυκλικούς N-δότες και P-δότες. Το Ni(I) έχει ηλεκτρονιακή διαμόρφωση d^9 και τα σύμπλοκά του είναι παραμαγνητικά με ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο. Εμφανίζουν μια ευρεία ποικιλία στον αριθμό ένταξης του μετάλλου, ο οποίος εξαρτάται από τη φύση των υποκαταστατών, αν και ο πιο συνήθης αριθμός ένταξης είναι 4 ή 5.

B4. Σύμπλοκα του Ni(II)

Η πιο γνωστή οξειδωτική βαθμίδα του νικελίου είναι η +II κατά την οποία το μέταλλο έχει d^8 ηλεκτρονιακή διαμόρφωση. Το Ni(II) εμφανίζει διάφορους αριθμούς ένταξης και βρίσκεται στα σύμπλοκά του ως τετρα-, πεντα- ή κυρίως εξα-ενταγμένο. Γενικά «μαλακοί» υποκαταστάτες όπως ενώσεις του S και του P, έχουν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία συμπλόκων ενώσεων με τετρα-ενταγμένο Ni(II) με γεωμετρία επίπεδη τετραγωνική. Στο Σχήμα 7 φαίνεται η διάσχιση των d τροχιακών για τετραεδρικό κρυσταλλικό, ενώ στο Σχήμα 8 φαίνεται η διάσχιση των d τροχιακών για οκταεδρική, παραμορφωμένη τετραγωνική και επίπεδη τετραγωνική γεωμετρία.



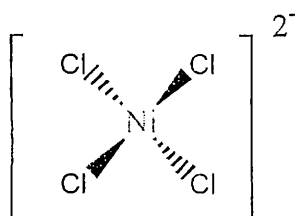
Σχήμα 7. Διάσχιση των d τροχιακών του Ni(II) για τετραεδρική γεωμετρία.



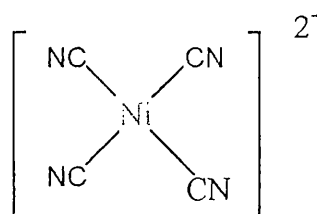
Σχήμα 8. Διάσχιση των d τροχιακών για οκταεδρική, παραμορφωμένη τετραγωνική και επίπεδη τετραγωνική γεωμετρία.

1. Σύμπλοκα με αριθμό ένταξης 4

Ο αριθμός ένταξης 4 για τα σύμπλοκα του Ni(II) είναι αρκετά συνήθης και οι γεωμετρίες των συμπλόκων κυμαίνονται από τετραεδρικές έως επίπεδες τετραγωνικές. Υποκαταστάτες που είναι καλοί π-δότες, όπως τα ιόντα αλογόνων, τείνουν να σταθεροποιούν τετραεδρικές γεωμετρίες, π.χ. $[\text{NiCl}_4]^{2-}$ (XI), ενώ υποκαταστάτες που λειτουργούν ως π-δέκτες, όπως PR_3 και CN^- υιοθετούν επίπεδη τετραγωνική γεωμετρία, π.χ. $[\text{Ni}(\text{CN})_4]^{2-}$ (XII).



XI



XII

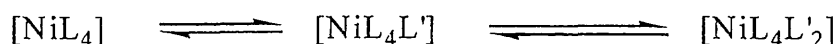
Τα τετραεδρικά σύμπλοκα του Ni(II) είναι συνήθως μπλε ή πράσινα, με τρεις αναμενόμενες d-d μεταπτώσεις, ${}^3\text{T}_1(\text{F}) \rightarrow {}^3\text{T}_2(\text{F})$ (ν_1), ${}^3\text{T}_1(\text{F}) \rightarrow {}^3\text{A}_2(\text{F})$ (ν_2) και ${}^3\text{T}_1(\text{F}) \rightarrow {}^3\text{T}_1(\text{P})$ (ν_3) αν και τα παρατηρούμενα φάσματα τείνουν να είναι πιο περίπλοκα λόγω σύζευξης τροχιάς-spin. Επίσης, είναι παραμαγνητικά με χαρακτηριστικές τιμές μ_{eff} που κυμαίνονται μεταξύ 3.5 και 4.2 BM.

Τα επίπεδα τετραγωνικά σύμπλοκα του Ni(II) έχουν συνήθως κίτρινο, κόκκινο ή καφέ χρώμα και είναι διαμαγνητικά, αν και στη βιβλιογραφία έχουν αναφερθεί και ορισμένα παραμαγνητικά σύμπλοκα του Ni(II) με επίπεδη τετραγωνική γεωμετρία.

Ένα αξιοσημείωτο χαρακτηριστικό των τετρα-ενταγμένων συμπλόκων του Ni(II) είναι η αλληλομετατροπή μεταξύ παραμαγνητικών τετραεδρικών και διαμαγνητικών επίπεδων τετραγωνικών συμπλόκων. Εξαιτίας αυτού του φαινομένου, σύμπλοκα του τύπου $[\text{NiX}_2(\text{PR}_3)_2]$ προτιμούν τη μία ή την άλλη γεωμετρία αναλόγως με τη φύση των X, R. Έτσι, το σύμπλοκο $[\text{NiCl}_2(\text{PPh}_3)_2]$ είναι τετραεδρικής γεωμετρίας, ενώ το σύμπλοκο $[\text{NiBr}_2(\text{PEt}_3)_2]$ είναι επίπεδο τετραγωνικό. Επιπλέον έχουν αναφερθεί και παραδείγματα, όπως η ένωση $[\text{NiBr}_2(\text{PPh}_2\text{Bz})_2]$, όπου στην στερεά κατάσταση παρουσιάζονται και τα δυο

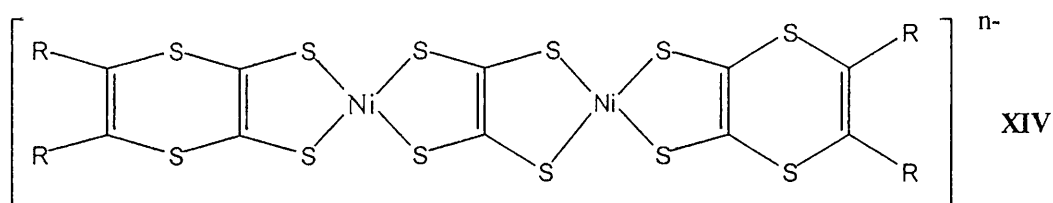
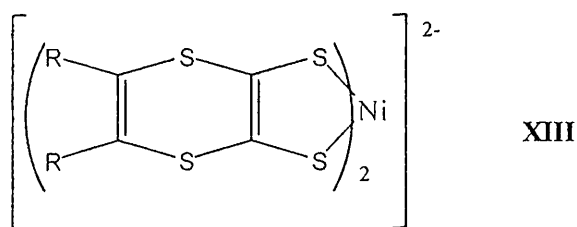
είδη γεωμετρίας. Αυτές οι μετατροπές μεταξύ τετραεδρικής και επίπεδης τετραγωνικής γεωμετρίας οφείλονται στη στερεοχημική παρεμπόδιση των υποκαταστατών και σε γενικές γραμμές οι ογκώδεις υποκαταστάτες ευνοούν την τετραεδρική γεωμετρία.

Ένα κοινό χαρακτηριστικό των επίπεδων τετραγωνικών συμπλόκων του Ni(II) είναι η ένταξη επιπλέον υποκαταστατών σε διάλυμα για την επίτευξη ισορροπίας μεταξύ τετρα-, πεντα- και εξα-ενταγμένων συμπλόκων σύμφωνα με την εξίσωση :



Με αυτόν τον τρόπο διαμαγνητικά, επίπεδα τετραγωνικά σύμπλοκα του Ni(II) μπορούν να μετασχηματιστούν σε παραμαγνητικά, οκταεδρικής γεωμετρίας παρουσία περίσσειας υποκαταστατών. Σε αρκετές περιπτώσεις ο υποκαταστάτης L' είναι διαλύτης με ικανότητα ένταξης, π.χ. H₂O, ROH, DMF, DMSO κ.λ.π. Αυτοί οι μετασχηματισμοί γίνονται φανεροί με τη βοήθεια της ηλεκτρονιακής φασματοσκοπίας.

Επίσης, ένα άλλο φαινόμενο που παρατηρείται συχνά στα επίπεδα τετραγωνικά σύμπλοκα του Ni(II) είναι ο πολυμερισμός τους προς το σχηματισμό παραμαγνητικών πολυμερών. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το σύμπλοκο [Ni(Me-salen)₂] το οποίο σχηματίζει διμερή και ολιγομερή μέσω γεφυρωτικών Ο-δότην.

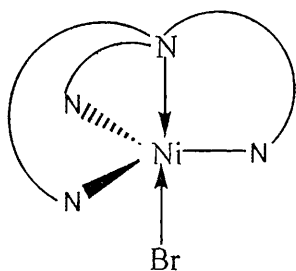


Μία ασυνήθιστη κατηγορία των τετρα-ενταγμένων συμπλόκων του Ni(II) είναι τα μεταλλοδιθειολένια (π.χ. **XIII**, **XIV**) τα οποία οξειδώνονται πολύ εύκολα προς το σχηματισμό των Ni(III) και Ni(IV) συμπλόκων.

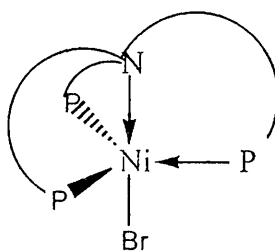
2. Σύμπλοκα με αριθμό ένταξης 5

Οι σύμπλοκες ενώσεις του Ni(II) που έχουν αριθμό ένταξης 5 έχουν συνήθως τριδοντικούς ή τετραδοντικούς χηλικούς υποκαταστάτες με άτομα δότες συνήθως N, P και As. Έχουν παρατηρηθεί και σε πιο απλά συστήματα όπως για το $[\text{Ni}(\text{CN})_5]^{3-}$ και το $[\text{Ni}(\text{PPh-Me}_2)_3(\text{CN})_2]$. Μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζει το σύμπλοκο $[\text{Ni}(\text{CN})_5]^{3-}$ το οποίο έχει κρυσταλλωθεί και χαρακτηριστεί σε δύο διαφορετικές γεωμετρίες, την τετραγωνική πυραμιδική και την τριγωνική διπυραμιδική. Αυτό το φαινόμενο αλληλομετατροπής μεταξύ τετραγωνικής πυραμιδικής και τριγωνικής διπυραμιδικής διευθέτησης παρατηρείται συχνά σε πεντα-ενταγμένα σύμπλοκα των μετάλλων μετάπτωσης.

Τα πεντα-ενταγμένα σύμπλοκα μπορεί να είναι παραμαγνητικά (υψηλού spin, $\mu_{\text{eff}}=3.2\text{-}3.5$ BM) όπως το $[\text{NiBr}(\text{tren})]^+$ (**XV**) ή διαμαγνητικά (χαμηλού spin) όπως το $[\text{NiBr}(\text{NP}_3)]^+$ (**XVI**).



XV

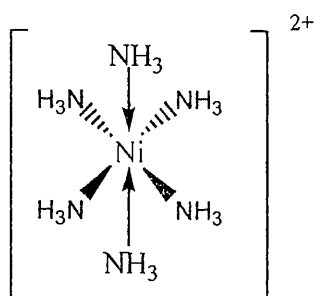


XVI

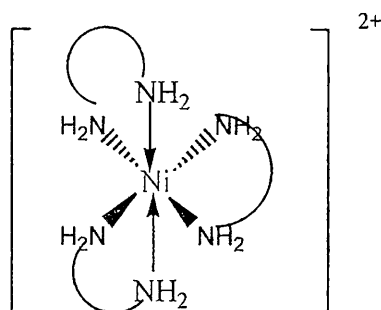
3. Σύμπλοκα με αριθμό ένταξης 6

Ο μέγιστος αριθμός ένταξης για τα σύμπλοκα του Ni(II) είναι το 6 και παρατηρείται για ένα ευρύ φάσμα μονο- και πολυδοντικών υποκαταστατών, π.χ. $[\text{NiL}_6]^{2+}$ ($\text{L} = \text{H}_2\text{O}$, py, NH_3 (XVII)), $[\text{Ni}(\text{L-L})_3]^{2+}$ ($\text{L-L} = \text{en}$ (XVIII), bpy, phen). Η γεωμετρία των συμπλόκων είναι οκταεδρική.

Τα εξα-ενταγμένα σύμπλοκα του Ni(II) μπορεί να έχουν έξι ταυτόσημους υποκαταστάτες, όπως τα $[\text{Ni}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$, $[\text{Ni}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$ και $[\text{Ni}(\text{en})_3]^{2+}$, ή να έχουν αξονικούς υποκαταστάτες που είναι διαφορετικοί από τους υπόλοιπους τέσσερις, $[\text{NiL}_4\text{L}'_2]^{2+}$.

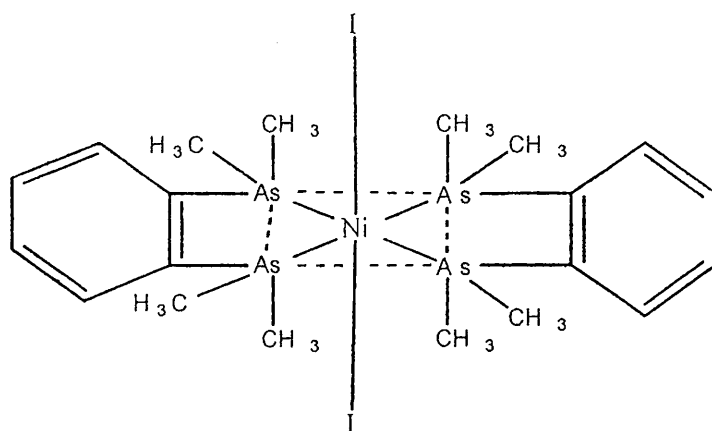


XVII



XVIII

Τα πρώτα είναι παραμαγνητικά με δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια όπως αναμένεται από τον απλό διαχωρισμό του κρυσταλλικού πεδίου. Ο δεύτερος τύπος περιλαμβάνει προϊόντα αντιδράσεων επιπέδων τετραγωνικών συμπλόκων με δύο πρόσθετους υποκαταστάτες (οι οποίοι μπορεί να είναι μόρια διαλύτη). Το προκύπτον τετραγωνικό πεδίο είναι συνήθως αρκετά κοντά σε ένα μη παραμορφωμένο οκταεδρικό πεδίο έτσι ώστε το σύμπλοκο να είναι παραμαγνητικό όπως στα οκταεδρικά σύμπλοκα. Εάν υπάρχει αρκετή διαφορά μεταξύ των θέσεων στη φασματοχημική σειρά των δύο υποκαταστατών, το προκύπτον προϊόν προσθήκης είναι διαμαγνητικό, όπως το διιωδο δις(ο-φαινυλαινεδισδιμεθυλοαρσίνη)νικέλιο(II) (XIX).

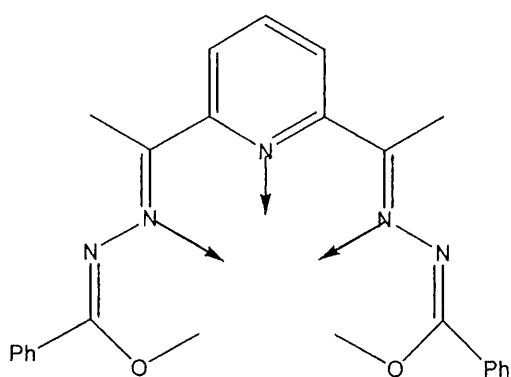


XIX

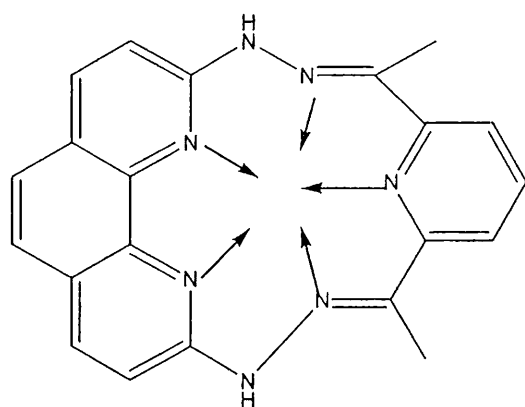
4. Σύμπλοκα με άλλους αριθμούς ένταξης

Ο αριθμός ένταξης 3 είναι πολύ σπάνιος για τα σύμπλοκα του Ni(II) και έχει παρατηρηθεί σε ορισμένα σύμπλοκα τα οποία περιέχουν ως υποκαταστάτες φωσφίνες και αμίνες με μεγάλη στερεοχημική παρεμπόδιση. Τα σύμπλοκα με αριθμό ένταξης 3 είναι των γενικών τύπων $[\text{Ni}(\text{NPh}_2)_3]^+$ και $[(\text{R}_2\text{N})\text{Ni}(\mu^2\text{-NR}_2)_2\text{Ni}(\text{NR}_2)]$.

Ο αριθμός ένταξης 7, αν και σπάνιος, παρατηρείται σε πενταγωνικά διπυραμιδικά σύμπλοκα με υποκαταστάτες που είναι πενταδοντικοί χηλικοί ή μακροκυκλικοί, όπως οι υποκαταστάτες **XX** και **XXI**.



XX



XXI

5. «Ανώμαλες» ιδιότητες των συμπλόκων του Ni(II)

Ένας αρκετά μεγάλος αριθμός συμπλόκων ενώσεων του Ni(II) δεν συμπεριφέρεται όπως θα αναμενόταν σύμφωνα με τη «λογική». Τα σύμπλοκα αυτά, κατά το παρελθόν, ονομάστηκαν «ανώμαλα». Όλες αυτές οι ανωμαλίες μπορούν να εξηγηθούν ικανοποιητικά με βάση διάφορα είδη διαμορφωτικών και δομικών μεταβολών. Σήμερα είναι γνωστά πολλά τέτοια σύμπλοκα και ο όρος «ανώμαλα» δεν ισχύει πλέον.

Οι «περίεργες» ιδιότητες των συμπλόκων του Ni(II) είναι οι εξής:

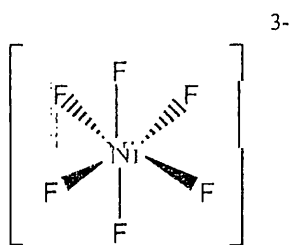
Σχηματισμός πεντα- και εξα-ενταγμένων συμπλόκων με προσθήκη υποκαταστατών σε επίπεδα τετραγωνικά σύμπλοκα,

Ισορροπίες μονομερών-πολυμερών. Σε πολλές περιπτώσεις, τετρα-ενταγμένα σύμπλοκα πολυμερίζονται προς σχηματισμό ενώσεων όπου τα ιόντα νικελίου είναι πεντα- ή εξα-ενταγμένα. Σε μερικά σύμπλοκα το πολυμερές που δημιουργείται είναι τόσο σταθερό, ώστε το τετρα-ενταγμένο μονομερές να παρατηρείται μόνο σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες. Σε άλλα σύμπλοκα επικρατεί μία ισορροπία μεταξύ μονομερούς και πολυμερούς σε θερμοκρασία δωματίου και έτσι συνυπάρχουν, π.χ. κόκκινα, διαμαγνητικά μονομερή με πράσινα ή μπλε, παραμαγνητικά πολυμερή.

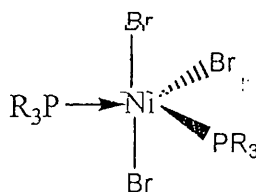
Ισορροπία μεταξύ τετραεδρικών και επίπεδων τετραγωνικών συμπλόκων. Όπως ήδη έχει αναφερθεί συγκεκριμένοι τύποι ενώσεων του Ni(II) μπορούν να έχουν τετραεδρική ή επίπεδη τετραγωνική γεωμετρία ανάλογα με τη φύση των υποκαταστατών.

B5. Σύμπλοκα του Ni(III)

Τα σύμπλοκα του Ni(III) έχουν d^7 ηλεκτρονιακή διαμόρφωση και το μεταλλοϊόν έχει συνήθως αριθμό ένταξης 5 ή 6. Εξαιτίας του φαινομένου Jahn-Teller, η γεωμετρία τους είναι συχνά παραμορφωμένη οκταεδρική και τα σύμπλοκα αυτά παρουσιάζουν χαρακτηριστικό φάσμα ESR. Το Ni(III) σταθεροποιείται από αλογονίδια όπως στο σύμπλοκο $[\text{NiF}_6]^{3-}$ (XXII) και από ισχυρούς σ-δότες, όπως υποκαταστάτες που περιέχουν N ή P (XXIII). Οι σύμπλοκες ενώσεις του Ni(III) συνήθως παρασκευάζονται από την ηλεκτροχημική οξειδωση προδρόμων ενώσεων του Ni(II).



XXII

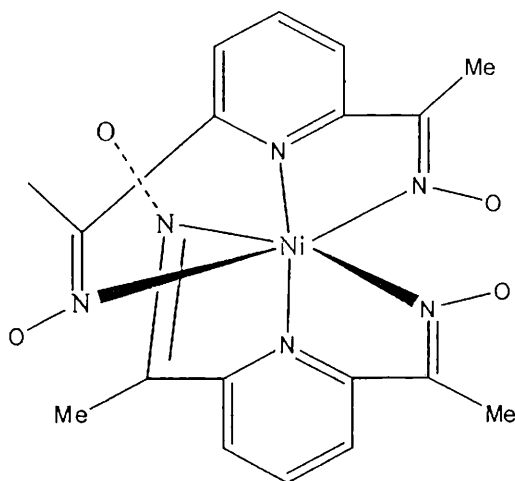


XXIII

Παρά το γεγονός ότι η οξειδωτική βαθμίδα +III για το νικέλιο είναι σχετικά σπάνια, ο αριθμός των συμπλόκων ενώσεων του Ni(III) αυξάνεται συνεχώς κυρίως με υποκαταστάτες που περιέχουν πολυάζα μακροκυκλικές μονάδες.

B6. Σύμπλοκα του Ni(IV)

Τα σύμπλοκα του Ni(IV) έχουν d^6 ηλεκτρονιακή διαμόρφωση και είναι οκταεδρικής γεωμετρίας. Είναι διαμαγνητικά και σταθεροποιούνται με υποκαταστάτες που περιέχουν ισχυρούς σ- και π- δότες όπως αλογονίδια, οξίμες με O, N-δότες, αμινοξέα και αμιδικούς υποκαταστάτες. Οι ενώσεις του Ni(IV) είναι ισχυρά οξειδωτικά μέσα και δεν εμφανίζουν μεγάλη σταθερότητα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα συμπλόκου του Ni(IV) είναι η ένωση δις(διακετυλοπυριδινηδιοξιμάτο)νικέλιο (IV) (XXIV) η οποία είναι αρκετά σταθερή σε υδατικά διαλύματα σε χαμηλές τιμές pH.



XXIV

Γ. Η ΒΙΟΑΝΟΡΓΑΝΗ ΧΗΜΕΙΑ ΤΟΥ ΝΙΚΕΛΙΟΥ

Γ1. Εισαγωγή^{16, 17,20}

Το νικέλιο κατέχει ένα σημαντικό ρόλο στη χημεία των βιολογικών συστημάτων, παρά το γεγονός ότι βρίσκεται σε πολύ μικρότερα ποσοστά από ότι ο χαλκός, ο σίδηρος και ο ψευδάργυρος. Η βιοχημεία του νικελίου παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον διότι, παρά το μικρό αριθμό βιομορίων που περιέχουν νικέλιο, αυτά επιτελούν ποικίλες βιολογικές διεργασίες.

Η μελέτη των ειδικών ρόλων του νικελίου στα βιολογικά συστήματα ξεκίνησε με την ανακάλυψη το 1975 ότι το ενεργό κέντρο του ενζύμου ουρεάση περιέχει άτομα νικελίου. Αυτό το ένζυμο ήταν ήδη αρκετά γνωστό, διότι ήταν το πρώτο ένζυμο που κρυσταλλώθηκε, το 1926. Ο μισός περίπου αιώνας που πέρασε μεταξύ των δύο αυτών γεγονότων, φανερώνει το πρόβλημα ανίχνευσης του νικελίου στα βιολογικά συστήματα μέσω συνηθισμένων φασματοσκοπικών μεθόδων και συνέβαλλε στη δημιουργία του μύθου ότι το νικέλιο δεν είναι απαραίτητο βιολογικό στοιχείο. Από το 1975 και μετά, όμως, ανακαλύφθηκε ένας αριθμός ενζύμων που επιτελούν υδρολυτικές ή οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις τα οποία περιέχουν νικέλιο στο ενεργό τους κέντρο, γεγονός που φανερώνει ότι το νικέλιο είναι βιολογικά απαραίτητο.

Σήμερα πλέον έχουν ανακαλυφθεί επτά ένζυμα που περιέχουν νικέλιο στο ενεργό τους κέντρο και είναι τα εξής: υδρογονάση, CO-δεϋδρογονάση, μεθυλο-συνένζυμο Μ αναγωγάση, Ni-υπεροξειδική δισμουτάση, γλυοξαλάση I, *cis-trans* ισομεράση και η ουρεάση. Η παρουσία του νικελίου στα διάφορα ένζυμα απαιτεί την ύπαρξη συστημάτων που είναι υπεύθυνα για την όλη “κατεργασία” του μετάλλου, εφόσον ελεύθερα μέταλλα μετάπτωσης είναι βλαβερά για τα κύτταρα. Ένα τέτοιο σύστημα “επεξεργασίας” του νικελίου θα είναι υπεύθυνο για την αναγνώριση και τη μεταφορά του μετάλλου μέσα στο κύτταρο, καθώς και για τις διάφορες ενδοκυτταρικές τροποποιήσεις του. Η μελέτη αυτών των συστημάτων έχει αρχίσει να γίνεται ολοένα και πιο διεξοδικά με τη βοήθεια της βιοχημείας, της μοριακής βιολογίας και της σύγχρονης φασματοσκοπίας.

Κατόπιν τούτου, τα τελευταία χρόνια έχει αρχίσει να αναπτύσσεται με ραγδαίους ρυθμούς η βιοχημεία του νικελίου και αυτή αποτελεί ένα “θερμό” ερευνητικό πεδίο, κυρίως για τους βιοανόργανους χημικούς.

Γ2. Το Ένζυμο Υδρογονάση¹⁷⁻¹⁹

Το ένζυμο υδρογονάση καταλύει την αντιστρεπτή αντίδραση που φαίνεται στην παρακάτω εξίσωση:

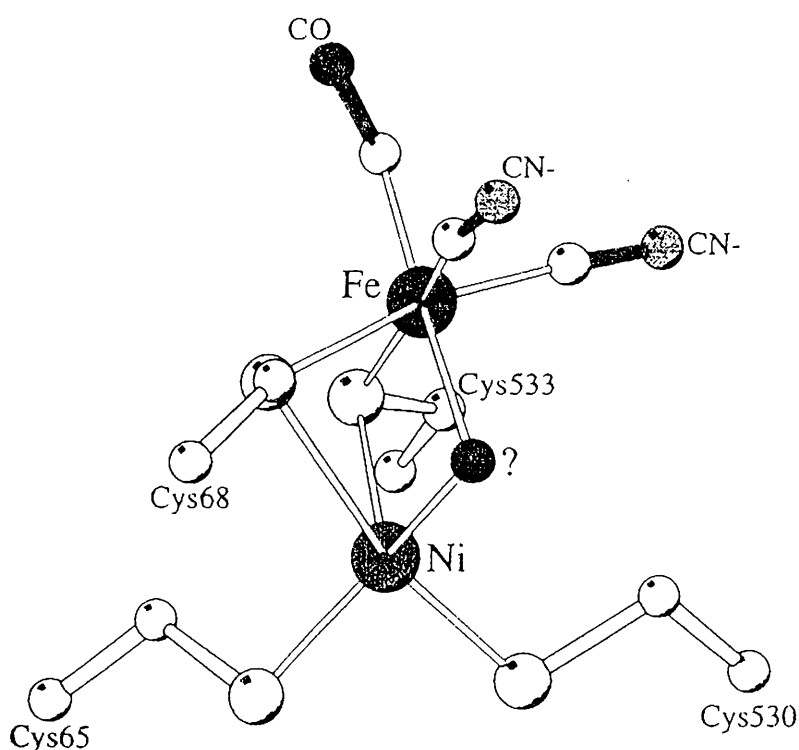


Η φορά της αντίδρασης συνήθως χρησιμοποιείται για την ταξινόμηση του ενζύμου. Εάν η *in vivo* λειτουργία του ενζύμου είναι να καταναλώνει υδρογόνο, τότε το ένζυμο ονομάζεται ως υδρογονάση που προσλαμβάνει (uptake-υδρογονάση), ενώ αντιθέτως εάν το ένζυμο παράγει H_2 τότε ονομάζεται υδρογονάση που παράγει υδρογόνο (hydrogen-evolving υδρογεννάση. Μέχρις σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί τρεις κατηγορίες υδρογεννασών: (i) αυτές που περιέχουν στο ενεργό τους κέντρο σίδηρο, (ii) αυτές που περιέχουν σίδηρο-νικέλιο ή σίδηρο-νικέλιο-σελήνιο, και τέλος (iii) αυτές που δεν περιέχουν ούτε σίδηρο ούτε νικέλιο.

Οι υδρογονάσες που περιέχουν Ni ταξινομούνται σε δύο κατηγορίες με διαφορετικές τεταρτοταγείς δομές. Μία κατηγορία περιέχει τα ένζυμα που αποτελούνται από δύο υπομονάδες. Η μεγάλη υπομονάδα ποικίλει από 45 έως 65 kDa και περιέχει το ενεργό κέντρο του νικελίου. Ανάμεσα στις υδρογονάσες Ni-Fe που έχουν απομονωθεί από διάφορους οργανισμούς, παρατηρείται μεγάλη ομοιότητα στην αλληλουχία αμινοξέων, όσον αφορά τη μεγάλη υπομονάδα. Η μικρή υπομονάδα φαίνεται να συμμετέχει σε μία μεταφορά ηλεκτρονίου από τη μεγάλη υπομονάδα και ο βαθμός ομοιότητας στην αλληλουχία αμινοξέων είναι πολύ μικρότερος από αυτόν της μεγάλης.

Η κρυσταλλική ανάλυση της *D. gigas* υδρογονάσης έδειξε ότι το ενεργό κέντρο, το οποίο αρχικά θεωρούσαν ως μονοπυρηνικό, είναι διπυρηνικό ετερομεταλλικό και περιέχει Ni και Fe. Τα ιόντα του Ni και του Fe βρίσκονται γεφυρωμένα από δύο θειολάτο υποκαταστάτες (Cys) και μια τρίτη γέφυρα

σχηματίζεται από ένα άτομο το οποίο πιστεύεται ότι είναι οξυγόνο ή θείο. Επίσης, όσον αφορά τη σφαίρα ένταξης του νικελίου, αυτή συμπληρώνεται από άλλους δύο θειολάτο υποκαταστάτες (Cys) και προτείνεται ότι είναι τετραγωνική πυραμιδική με μία κενή -εντός επιπέδου- θέση ένταξης. Στο Σχήμα 9 φαίνεται η κρυσταλλική δομή του ενεργού κέντρου της *D. gigas* υδρογονάσης.

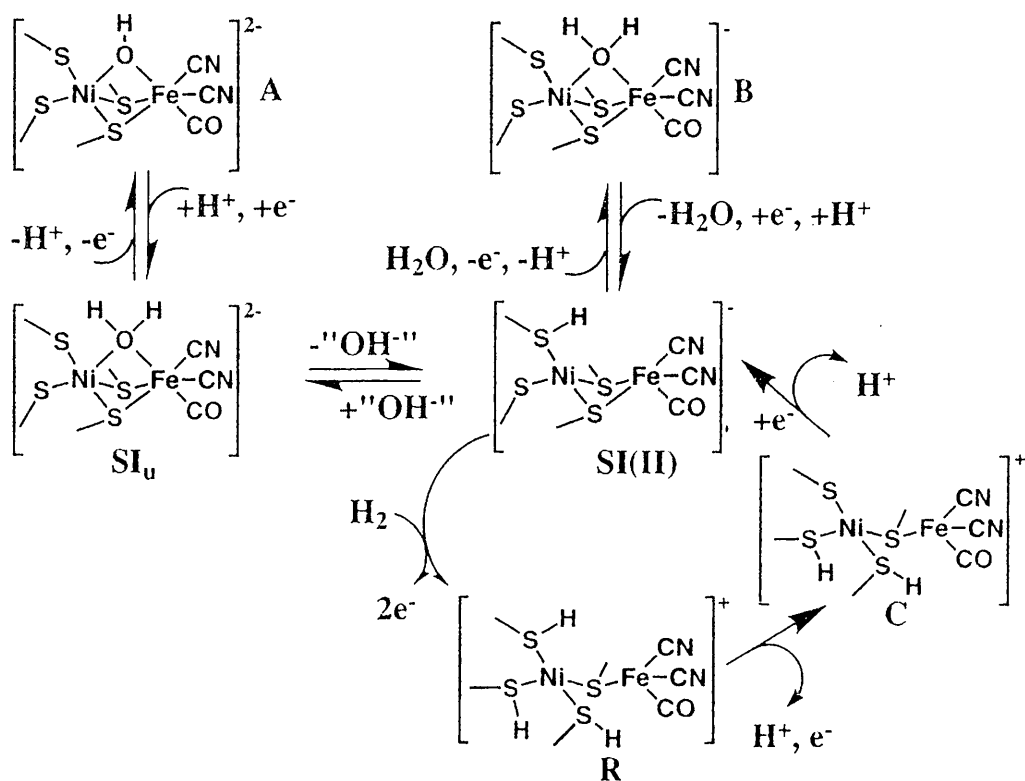


Σχήμα 9. Το ενεργό κέντρο της *D.gigas* υδρογονάσης. Το “?” παριστάνει πιθανότατα έναν όξο-υποκαταστάτη ενωμένο ισχυρά με το νικέλιο. Η απόδοση των CO και CN⁻ βασίζεται στο πρωτεϊνικό περιβάλλον του ενεργού κέντρου (το οποίο δεν φαίνεται).

Η μικρή υπομονάδα του ενζύμου (26 kDa) περιέχει δύο σύμπλοκα Fe₄S₄ και ένα σύμπλοκο Fe₃S₄. Η ευθύγραμμη διεύθετηση των συμπλόκων Fe-S, πιθανόν δείχνει ότι λειτουργούν ως κανάλια τα οποία απομακρύνουν ηλεκτρόνια μακριά από το ενεργό κέντρο. Το κέντρο του νικελίου βρίσκεται βαθιά μέσα στον πρωτεϊνικό κορμό και μάλλον απαιτούνται βοηθητικές πρωτεΐνες προκειμένου η μεγάλη υπομονάδα να παραμείνει ανοιχτή, ώστε το

ιόν του νικελίου να φθάσει στη θέση του. Εναλλακτικά, προτείνεται ότι η υδρόλυση ενός τριφωσφορικού νουκλεοτιδίου έχει ως αποτέλεσμα το άνοιγμα της πρωτεΐνης και την εισαγωγή του ιόντος νικελίου στο ενεργό κέντρο.

Οι διάφοροι μηχανισμοί δράσης του ενζύμου που έχουν προταθεί στηρίζονται σε κρυσταλλογραφικά δεδομένα. Το ιόν του νικελίου είναι πεντα-ενταγμένο με τετραγωνική πυραμιδική γεωμετρία, ενώ το ιόν του σιδήρου είναι εξα-ενταγμένο με παραμορφωμένη οκταεδρική συμμετρία. Για το ιόν του σιδήρου δεν εμφανίζεται σήμα EPR και αυτό υποδηλώνει ότι ο σίδηρος είναι χαμηλού-spin Fe^{2+} , γεγονός που βρίσκεται σε συμφωνία με την ένταξη υποκαταστατών όπως CN^- και CO . Για το νικέλιο έχει προταθεί ότι δεν αλλάζει αριθμό οξειδωσης κατά τη διάρκεια της κατάλυσης, βλέπε Σχήμα 10. Θα πρέπει, όμως να σημειωθεί ότι έχει προταθεί και άλλος μηχανισμός κατά τον οποίο μεταβάλλεται η οξειδωτική βαθμίδα του Ni μεταξύ III και II.

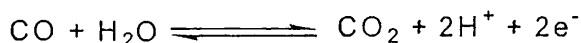


Σχήμα 10. Προτεινόμενος μηχανισμός του ενζύμου υδρογεννάση. SI, R είναι σιωπηλές EPR καταστάσεις.

Οι υπόλοιπες υδρογονάσες που περιέχουν νικέλιο είναι τετραμερείς και είναι πρωτεΐνες των μεμβρανών.

Γ3. Το Ένζυμο CO-δεϋδρογονάση^{18, 19}

Οι CO-δεϋδρογονάσες (CODH_s) είναι μια ομάδα ενζύμων που καταλύουν την οξειδοαναγωγική αντίδραση δύο ηλεκτρονίων του μονοξειδίου του άνθρακα, CO, όπως φαίνεται στην παρακάτω αντίδραση:



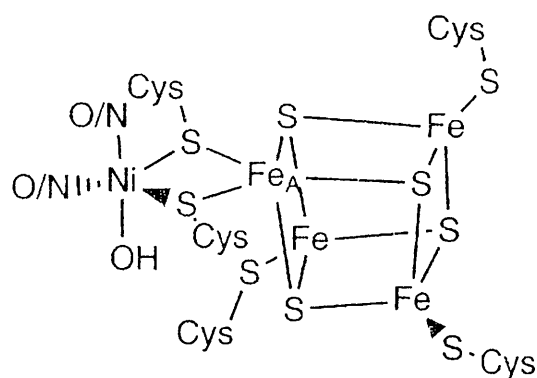
Οι αερόβιοι οργανισμοί χρησιμοποιούν ένα ένζυμο που περιέχει Mo, Fe και φλαβίνη για την οξείδωση του CO κατά την αναπνοή, ενώ οι αναερόβιοι οργανισμοί χρησιμοποιούν ένζυμα τα οποία περιέχουν Ni και σύμπλοκα Fe-S.

Οι CODH_s σε αρκετά βιολογικά συστήματα έχουν και το ρόλο της ακετυλο-συνένζυμο συνθετάσης, σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση, όπως η CODH που απομονώθηκε από το *Clostridium thermoaceticum*.

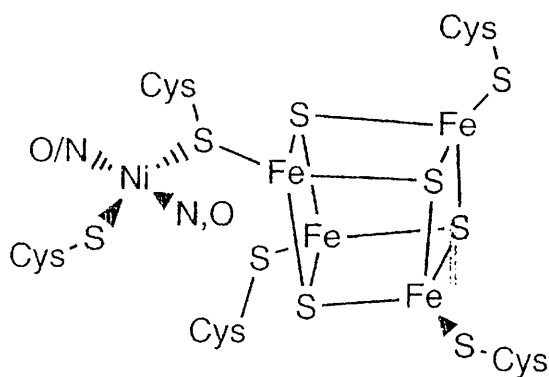


Η οξείδωση του CO και η σύνθεση του ακετυλο-συνενζύμου (ACS) γίνονται σε δύο διαφορετικά ενεργά κέντρα τα οποία περιέχουν Ni και σύμπλοκα Fe-S. Το ενεργό κέντρο που σχετίζεται με δραστικότητα ACS ονομάζεται πλειάδα-A, ενώ το ενεργό κέντρο στο οποίο συμβαίνει η οξειδοαναγωγή του μονοξειδίου του άνθρακα ονομάζεται πλειάδα-C.

Μέχρις σήμερα δεν υπάρχουν πληροφορίες αναφορικά με τη δομή των ενεργών κέντρων του Ni από κρυσταλλογραφικά δεδομένα. Οι προτεινόμενες δομές των ενεργών κέντρων βασίζονται σε πληροφορίες που λαμβάνονται από διάφορες φυσικοχημικές μεθόδους ανάλυσης, όπως φασματοσκοπία EPR, ανάλυση EXAFS, φασματοσκοπία Mössbauer και φασματοσκοπία Raman. Κατόπιν τούτου, έχει προταθεί ότι το νικέλιο στην πλειάδα-C έχει ως υποκαταστάτες δύο άτομα θείου (2S) και τρία άτομα οξυγόνου ή αζώτου (3N/O). Στο Σχήμα 11 παρουσιάζονται δύο μοντέλα των δομών των πλειάδων A και C.



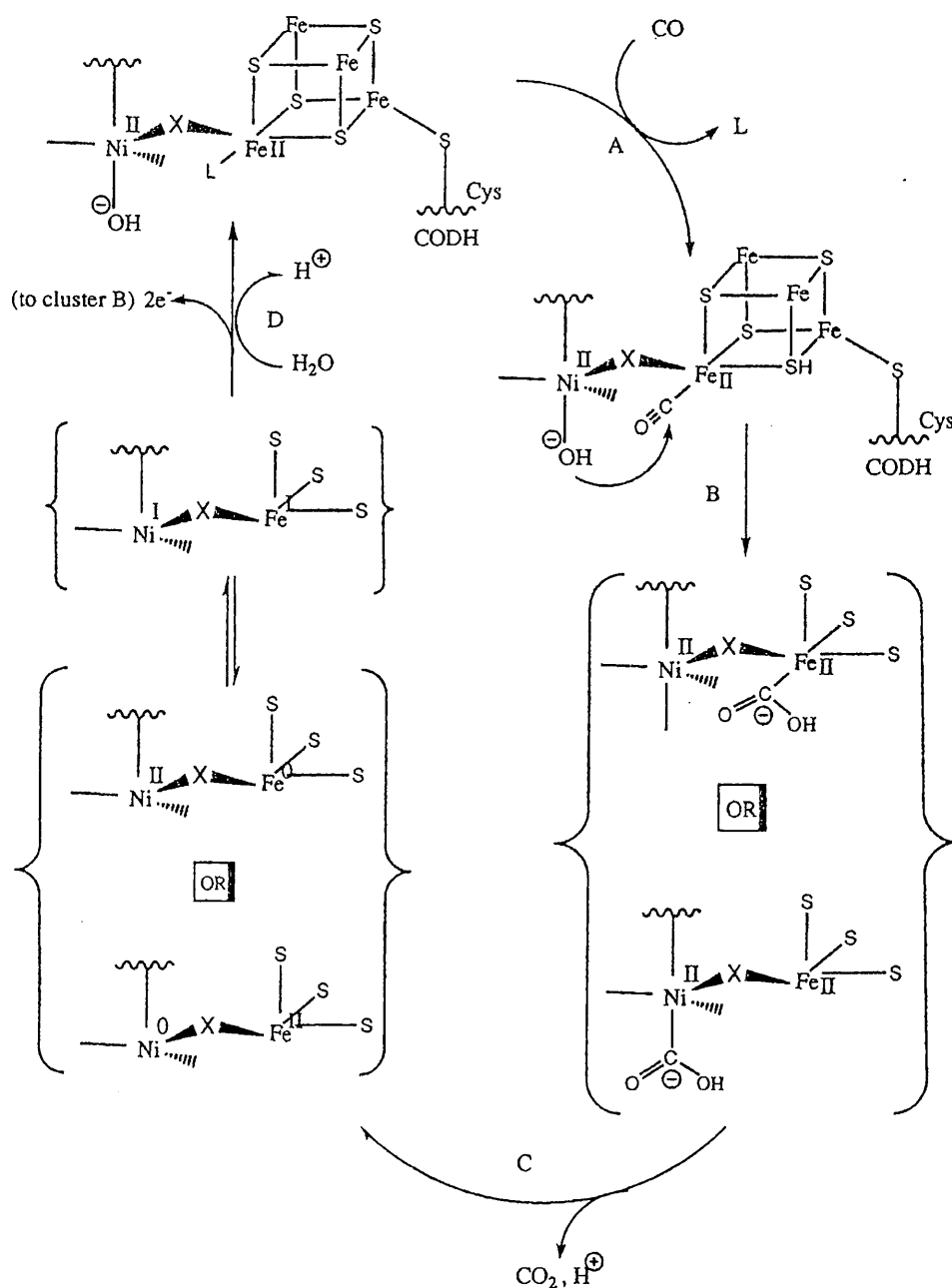
Cluster C



Cluster A

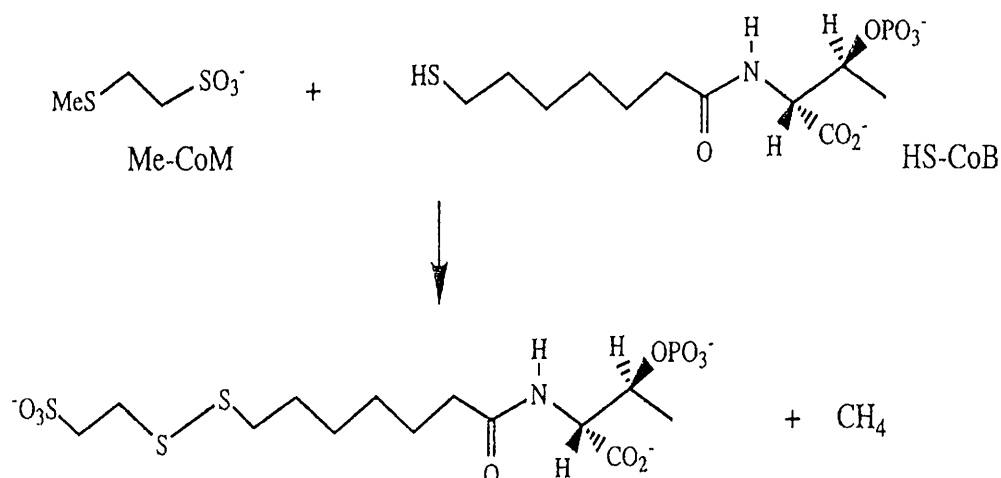
Σχήμα 11. Δύο προτεινόμενα μοντέλα των δομών της πλειάδας-C στην CODH και της πλειάδας-A στο ενεργό κέντρο της ACS.

Στο Σχήμα 12 παρουσιάζεται ένας προτεινόμενος μηχανισμός αντιστρεπτής αντίδρασης οξείδωσης του μονοξειδίου του άνθρακα προς σχηματισμό διοξειδίου του άνθρακα, ενώ στο Σχήμα 13 φαίνεται ένας προτεινόμενος μηχανισμός της αντίδρασης σχηματισμού του ακετυλο-συνενζύμου A.



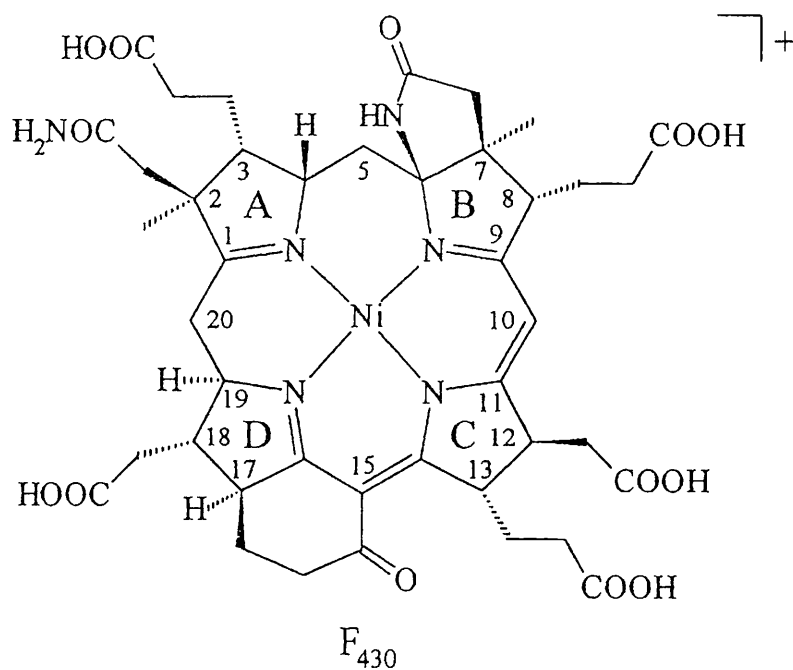
Σχήμα 12. Ο μηχανισμός κατάλυσης από την πλειάδα-C της CODH. Το ενεργό κέντρο βρίσκεται στην “ήρεμη” μορφή του στην επάνω αριστερή γωνία του σχήματος. Σε αυτόν το μηχανισμό το νικέλιο θεωρείται ότι αλλάζει συνεχώς οξειδωτικές βαθμίδες.

λιπίδια, οι υδατάνθρακες και οι πρωτεΐνες αποσυντίθενται προς σχηματισμό υδρογόνου, διοξειδίου του άνθρακα, μυρμηκικού και οξικού οξέος. Στη συνέχεια το μεθάνιο παράγεται με αναγωγή του διοξειδίου του άνθρακα με υδρογόνο. Το τελευταίο στάδιο αυτής της διαδικασίας περιλαμβάνει την αντίδραση ενός θειοαιθέρα και μιας θειόλης προς σχηματισμό ενός δισουλφιδίου με ταυτόχρονη παραγωγή μεθανίου, όπως φαίνεται στην παρακάτω αντίδραση:



Το ένζυμο είναι ένα διμερές τριμερών, $\alpha_2\beta_2\gamma_2$, με μοριακό βάρος περίπου 300 kDa. Περιέχει δύο μόρια συνενζύμου F_{430} , το οποίο είναι συνδεδεμένο με μη-ομοιοπολικό τρόπο. Το συνένζυμο F_{430} (XXV) αποτελείται από έναν τετραπυρρολικό δακτύλιο που περιέχει νικέλιο και αποτελεί το ενεργό κέντρο του ενζύμου. Ο δακτύλιος αυτός είναι ο πιο κορεσμένος 16μελής που έχει βρεθεί σε βιολογικά συστήματα και φέρει ένα αρνητικό φορτίο με αποτέλεσμα το σύμπλοκο με το $\text{Ni}(\text{II})$ να είναι θετικά φορτισμένο.

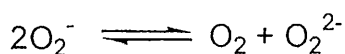
Η κρυσταλλική ανάλυση του ενεργού κέντρου του συνενζύμου F_{430} αποκάλυψε ότι ο τετραπυρρολικός δακτύλιος δεν έχει τελείως επίπεδη διαμόρφωση, αλλά είναι παραμορφωμένος ώστε να μπορεί να ενταχθεί το χαμηλού-spin $\text{Ni}(\text{II})$.



XXV

Γ5. Το Ένζυμο Ni-σουπεροξειδική δισμουτάση^{18, 19}

Το 1996 ταυτοποιήθηκε μια σουπεροξειδική δισμουτάση, που περιέχει νικέλιο από το *Streptomyces coelicolor*. Οι σουπεροξειδικές δισμουτάσες είναι ένζυμα που καταλύουν το μετασχηματισμό του $O_2^{\cdot -}$ σε O_2^{2-} σύμφωνα με την αντίδραση:

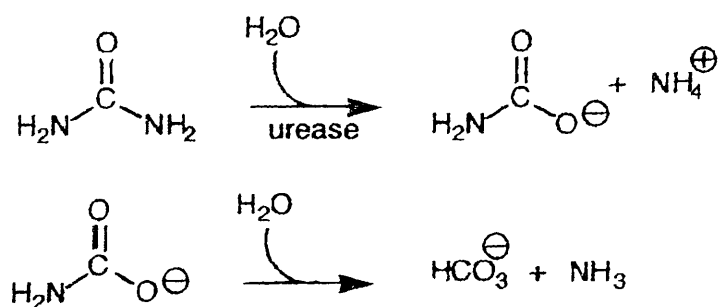


Το ένζυμο αυτό φαίνεται ότι παίζει ρόλο στην προστασία του κυττάρου από τοξικές επιδράσεις δραστικών ειδών οξυγόνου, όπως τη σουπεροξειδική ρίζα και τη ρίζα υδροξυλίου. Από μελέτες με φασματοσκοπία EPR προτείνεται ότι το νικέλιο έχει αριθμό οξείδωσης +III και είναι χαμηλού-spin. Επίσης από δεδομένα και πληροφορίες φασματοσκοπίας EPR πιστεύεται ότι υπάρχει αξονική ένταξη του νικελίου από ένα N-δότη πιθανώς μια ιστιδίνη του πρωτεϊνικού κορμού. Οι υποκαταστάτες που εντάσσονται στο νικέλιο, καθώς επίσης και το πρωτεϊνικό περιβάλλον του δεν είναι ακόμα γνωστά και αποτελούν ένα αρκετά ενδιαφέρον θέμα έρευνας.

Γ6. Το Ένζυμο Ουρεάση

1. Εισαγωγή¹⁶⁻²⁴

Το ένζυμο ουρεάση κατέχει μια μακρά και διακεκριμένη πορεία στην ανάπτυξη της ενζυμολογίας. Το ένζυμο αυτό καταλύει την υδρόλυση της ουρίας, ενός τελικού προϊόντος του μεταβολισμού (ο άνθρωπος παράγει περίπου 10 kg ουρίας το χρόνο), προς σχηματισμό ιόντος αμμωνίου και καρβαμικού, όπως φαίνεται στην παρακάτω αντίδραση. Το καρβαμικό ιόν είναι ασταθές και διασπάται σε φυσιολογικό pH αυθόρμητα προς αμμωνία και όξινο ανθρακικό ιόν.



Η ουρεάση βρίσκεται σε διάφορους οργανισμούς, όπως βακτήρια, μύκητες, φυτά και σε διάφορα ασπόνδυλα, όπου διασπά την ουρία με ρυθμό 10^{14} φορές πιο γρήγορα από την αυθόρμητη διάσπαση της ουρίας, ώστε να παρέχει σε αυτούς τους οργανισμούς μια πηγή αζώτου.

Υπάρχουν δύο σημαντικοί λόγοι οι οποίοι καθιστούν την ουρεάση σημείο αναφοράς για την ανάπτυξη της ενζυμολογίας. Ο πρώτος είναι ότι αποτελεί το πρώτο ένζυμο που απομονώθηκε και κρυσταλλώθηκε το 1926 από τον Dr. James B. Sumner. Για περίπου έναν αιώνα οι χημικοί προσπαθούσαν ανεπιτυχώς να απομονώσουν και να κρυσταλλώσουν ένζυμα και μέχρι το επίτευγμα του Sumner η φύση και η χημική σύσταση των ενζύμων ήταν τελείως άγνωστα. Αναφορικά με την υπόσταση των ενζύμων εκείνη την εποχή διατυπώνονταν θεωρίες ότι τα ένζυμα δεν ανήκουν σε κάποια γνωστή ομάδα χημικών ενώσεων, είναι πολύ ασταθή και έχουν κολλοειδή φύση. Για αυτούς τους λόγους η απομόνωση ενός ενζύμου θεωρούνταν ακατόρθωτο επίτευγμα. Ο δεύτερος λόγος είναι η ανακάλυψη από τους Blakeley και Zerner, ότι η

ουρεάση περιέχει νικέλιο, και έτσι υπεγράφη η ληξιαρχική πράξη «θανάτου» της πεπτοίθησης του Sumner ότι τα ένζυμα είναι πρωτεΐνες απαλλαγμένες από οργανικά συνένζυμα και μεταλλοϊόντα.

Ο Sumner για την απομόνωση και κρυστάλλωση της ουρεάσης τιμήθηκε με την ανώτερη διάκριση, κερδίζοντας το βραβείο Nobel στη χημεία το 1946.

Ανάλυση της δομής του ενζύμου με κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ έγινε εφικτή για πρώτη φορά μόλις το 1995, περίπου εβδομήντα χρόνια μετά την απομόνωση του ενζύμου!

2. Φασματοσκοπικές μελέτες του ενεργού κέντρου του ενζύμου^{17,20-25}

Το 1975 με μελέτες φασματοσκοπίας οπτικής απορρόφησης σε ουρεάση που απομονώθηκε από φασόλια (*jack beans*, JBU), προτάθηκε για πρώτη φορά η ύπαρξη εξα-ενταγμένου νικελίου. Αυτό το γεγονός επιβεβαιώθηκε και από μελέτες EXAFS που έγιναν το 1984 σε JBU και υπέδειξαν την ύπαρξη ιόντων νικελίου με ψευδοοκταεδρική γεωμετρία και υποκαταστάτες τρία άτομα αζώτου (3N), που πιθανώς προέρχονται από ιστιδίνες του πρωτεϊνικού κορμού σε απόσταση 2.04 Å, δύο άτομα οξυγόνου (2O) σε απόσταση 2.07 Å και ένα άτομο οξυγόνου σε απόσταση 2.25 Å. Από μελέτες φασματοσκοπίας απορρόφησης ακτίνων Χ, το 1990, προτάθηκε ότι τα ιόντα νικελίου έχουν παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία και ότι εντάσσονται με πέντε ή έξι άτομα-δότες N/O, σε μια μέση απόσταση 2.06 Å. Επίσης, μετρήσεις μαγνητικής επιδεκτικότητας υπέδειξαν ότι τα ιόντα του νικελίου είναι υψηλού-spin ($S=1$) και βρίσκονται αντισιδηρομαγνητικώς συζευγμένα ($J=-6.3 \text{ cm}^{-1}$), καθώς και ότι η απόσταση μεταξύ των δύο ιόντων νικελίου είναι μικρότερη από 4 Å. Το 1994 με νέες μελέτες EXAFS πιστοποιήθηκε η ύπαρξη ιστιδίνης σε πεντα-ενταγμένο νικέλιο που βρίσκεται στην οξειδωτική βαθμίδα +2, με σφαίρα ένταξης $\text{Ni}(\text{His})_x(\text{N}, \text{O})_{5-x}$, ($x=2$ ή 3). Η απόσταση μεταξύ των δύο ιόντων νικελίου υπολογίστηκε 3.26 Å.

3. Κρυσταλλογραφικές μελέτες του ενζύμου^{23, 24, 27}

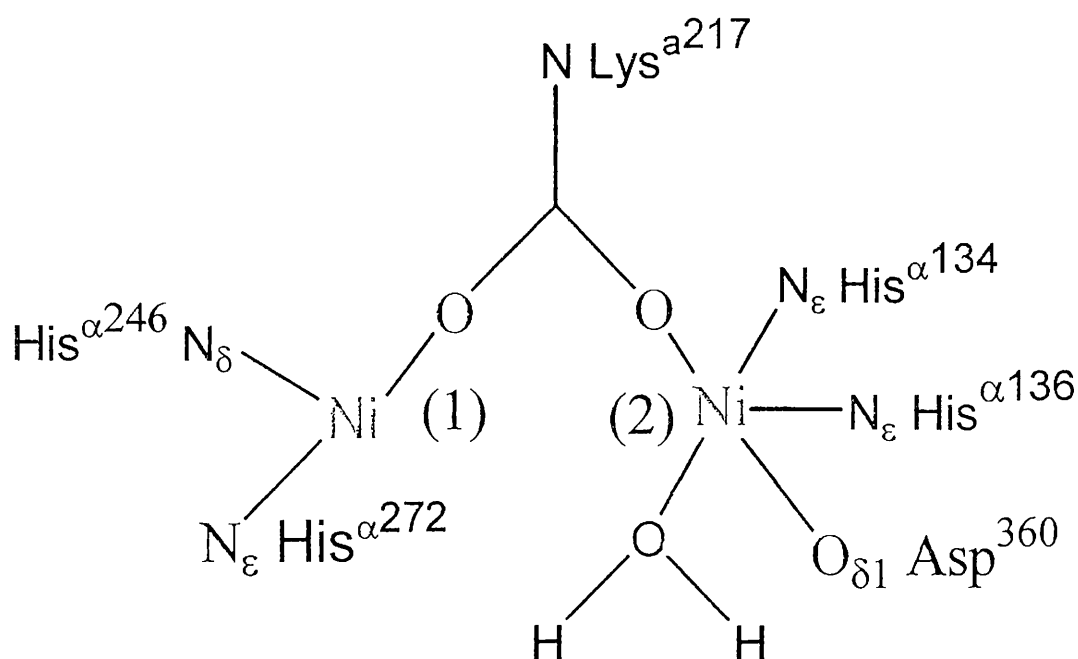
Η κρυσταλλογραφική ανάλυση της ουρεάσης από *Klebsiella aerogenes* (KAU) έγινε εφικτή μόλις το 1995 και αποκάλυψε τη δομή του ενζύμου, που φαίνεται στο Σχήμα 14. Το ένζυμο KAU είναι τριμερές με μονάδες ($\alpha\beta\gamma$), όπου α (60.3 kDa), β (11.7 kDa) και γ (11.1 kDa) είναι οι υπομονάδες του. Οι μονάδες ($\alpha\beta\gamma$) βρίσκονται σε τριγωνική διεύθετηση. Το τριμερές ($\alpha\beta\gamma$)₃ δημιουργείται από εκτεταμένες επαφές που έχουν οι υπομονάδες του ενζύμου μεταξύ τους. Κάθε υπομονάδα α αναδιπλώνεται μεταξύ των άλλων δύο υπομονάδων α και έρχεται σε επαφή με δύο β και δύο γ προς σχηματισμό των πλευρών του τριγώνου. Κάθε υπομονάδα β αναδιπλώνεται μεταξύ δύο γειτονικών α στις γωνίες του τριγώνου και κάθε υπομονάδα γ αλληλεπιδρά με δύο α και τις άλλες δύο γ στον κρυσταλλογραφικό άξονα 3^{ης} τάξης. Εξαιτίας αυτών των ισχυρών αλληλεπιδράσεων δεν είναι γνωστό ακόμα ποιες υπομονάδες συγκροτούν τη βασική μονάδα.



Σχήμα 14. Η δομή της ουρεάσης *Klebsiella aerogenes* (KAU).

Όσον αφορά το ενεργό κέντρο του ενζύμου, αυτό παρουσιάζεται στο Σχήμα 15 και αποτελείται από δύο ιόντα νικελίου Ni(II), που βρίσκονται σε

απόσταση 3.5 Å και γεφυρώνονται από μια καρβοξυλική ομάδα μιας καρβαμυλιωμένης λυσίνης (Lys^{a217}) του πρωτεϊνικού κορμού. Το Ni(1) είναι επιπλέον ενταγμένο με το άζωτο N_δ της ιστιδίνης του πρωτεϊνικού κορμού His^{a246} και με το άζωτο N_ε της ιστιδίνης His^{a272}, ενώ το Ni(2) εντάσσεται με το άζωτο N_ε της ιστιδίνης His^{a134}, το άζωτο N_ε της ιστιδίνης His^{a136} και το οξυγόνο O_{δ1} του ασπαραγινικού οξέος Asp^{a360}. Ακόμα το Ni(2) εντάσσεται και με το οξυγόνο ενός μορίου H₂O, το οποίο προτάθηκε ότι παίζει το ρόλο του νουκλεόφιλου κατά τη διάρκεια του καταλυτικού κύκλου. Σύμφωνα με την ανάλυση της δομής του ενεργού κέντρου, το Ni(1) είναι τρι-ενταγμένο, ενώ το Ni(2) είναι πεντα-ενταγμένο με τριγωνική διπυραμιδική ή παραμορφωμένη τετραγωνική πυραμιδική γεωμετρία.



Σχήμα 15. Το ενεργό κέντρο της ουρεάσης *Klebsiella aerogenes* (KAU).

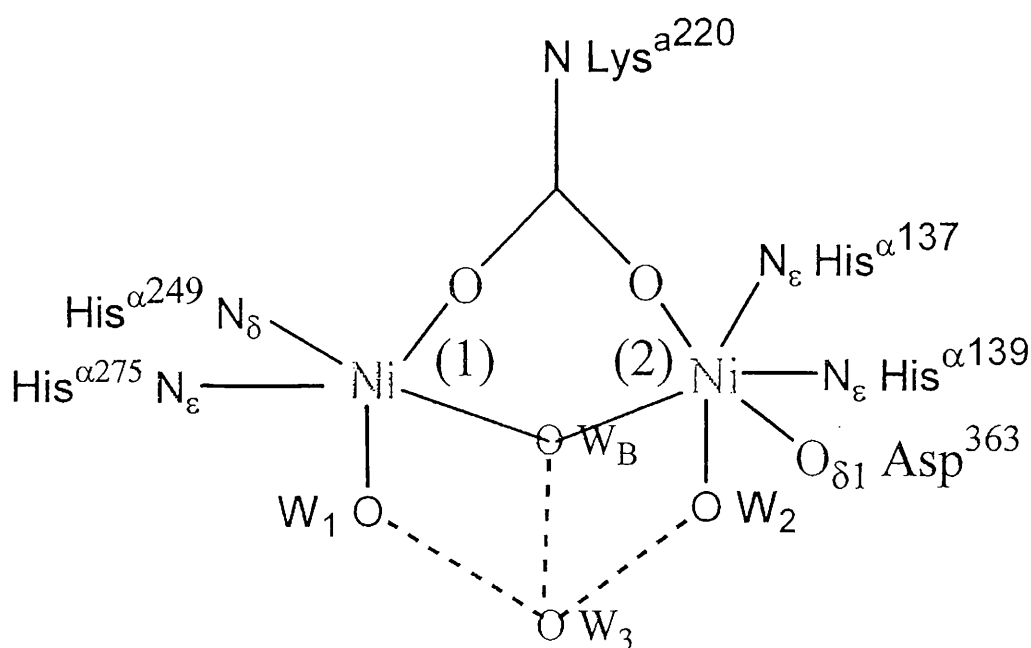
Η ε-αμινομάδα της Lys^{a217} του πρωτεϊνικού κορμού έχει τροποποιηθεί αντιδρώντας με διοξείδιο του άνθρακα προς σχηματισμό μιας καρβामικής ομάδας η οποία γεφυρώνει τα δύο ιόντα νικελίου. Πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι το CO₂ απαιτείται για τη δέσμευση των μεταλλοϊόντων από το αποένζυμο προκειμένου να σχηματιστεί το ενεργό κέντρο. Εξάλλου, η ουρεάση δεν είναι το πρώτο ένζυμο στο οποίο μια Lys έχει τροποποιηθεί προς σχηματισμό

καρβαμικού, εφόσον παρόμοια χημεία συμβαίνει και στο ένζυμο ριβουλόζη-1,5-διφωσφορική καρβοξυλάση/ οξυγενάση (Rubisco). Υπάρχουν δύο πιθανοί λόγοι για τους οποίους η φύση διάλεξε να τροποποιήσει μια Lys από το να χρησιμοποιήσει την καρβοξυλομάδα αμινοξέων, όπως ασπαραγινικού (Asp) ή γλουταμινικού (Glu). Οι πλευρικές ομάδες των Asp, Glu είναι μικρότερες συγκριτικά με αυτήν της λυσίνης οπότε πιθανώς η καρβοξυλομάδα τους να μην μπορούσε να προσεγγίσει το διπυρηνικό κέντρο. Ένας δεύτερος λόγος είναι ότι η καρβαμυλιωμένη Lys έχει διάφορες μορφές συντονισμού, με συνέπεια να υπάρχει μεγαλύτερο επί μέρους αρνητικό φορτίο στα οξυγόνα της καρβοξυλομάδας από αυτό των απλών καρβοξυλικών αμινοξέων. Με αυτόν τον τρόπο η καρβαμυλιωμένη Lys έλκει ισχυρότερα τα δύο ιόντα νικελίου.

Το ενεργό κέντρο του ενζύμου, εκτός από το διπυρηνικό μεταλλικό κέντρο, περιέχει μια κοιλότητα (flap) που μετά βίας έχει το μέγεθος της ουρίας. Η κοιλότητα αυτή δημιουργείται από ορισμένες όξινες και βασικές πλευρικές αλυσίδες του πρωτεϊνικού κορμού, που θα μπορούσαν να παίζουν ρόλο στην κατάλυση. Όταν το ένζυμο είναι στην ανενεργή του μορφή αυτή η κοιλότητα είναι απομονωμένη από το ενεργό κέντρο εξαιτίας της πλευρικής αλυσίδας της κυστεΐνης Cys^{a319} που ανήκει σε ένα στενό “κανάλι” που οδηγεί στην επιφάνεια του ενζύμου. Μερικά κατάλοιπα αυτού του καναλιού είναι αρκετά “ευκίνητα” και μπορούν άνετα να ανοίξουν την κοιλότητα και να επιτρέψουν στο υπόστρωμα, την ουρία, εκτεταμένη πρόσβαση στο ενεργό κέντρο.

Μόλις το 1998 λύθηκε η δομή της ουρεάσης *Bacillus pasteurii* (BPU) αποκαλύπτοντας αρκετές ομοιότητες αλλά και διαφορές με τη δομή της ουρεάσης *Klebsiella aerogenes* (KAU). Σύμφωνα με αυτήν, στο ενεργό κέντρο της BPU που φαίνεται στο Σχήμα 16, βρίσκονται δύο ιόντα Ni^{II} γεφυρωμένα από ένα καρβαμυλιωμένο παράγωγο λυσίνης (Lys^{a220}) του πρωτεϊνικού κορμού σε απόσταση 3.7 Å. Το Ni(1) εντάσσεται με το άζωτο N_δ της ιστιδίνης His^{a249} και το άζωτο N_ε της ιστιδίνης His^{a275} του πρωτεϊνικού κορμού, ενώ το Ni(2) εντάσσεται με το άζωτο N_ε της ιστιδίνης His^{a137}, το άζωτο N_ε της ιστιδίνης His^{a139} και το οξυγόνο Oδ1 του ασπαραγινικού Asp^{a363}. Μέχρις εδώ οι σφαίρες ένταξης των ενεργών κέντρων των δύο ενζύμων είναι ίδιες. Όμως στην BPU βρέθηκαν τέσσερα μόρια H₂O, τρία από τα οποία είναι απευθείας ενωμένα στα δύο ιόντα νικελίου. Ένα από τα μόρια νερού (W_B), το οποίο

βρίσκεται υπό τη μορφή υδροξειδίου, γεφυρώνει τα δύο ιόντα νικελίου δημιουργώντας έτσι μια γέφυρα υδροξειδίου. Δύο άλλα μόρια νερού (W_1 και W_2) εντάσσονται τερματικά, ένα στο κάθε ιόν Ni^{II} συμπληρώνοντας έτσι τις σφαίρες ένταξης. Άρα, το $Ni(1)$ είναι πεντα-ενταγμένο με παραμορφωμένη τετραγωνική πυραμιδική γεωμετρία, ενώ το $Ni(2)$ είναι εξα-ενταγμένο με παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία. Το τέταρτο μόριο νερού (W_3) αλληλεπιδρά ισχυρά με τα W_B , W_1 και W_2 μέσω δεσμών υδρογόνου.

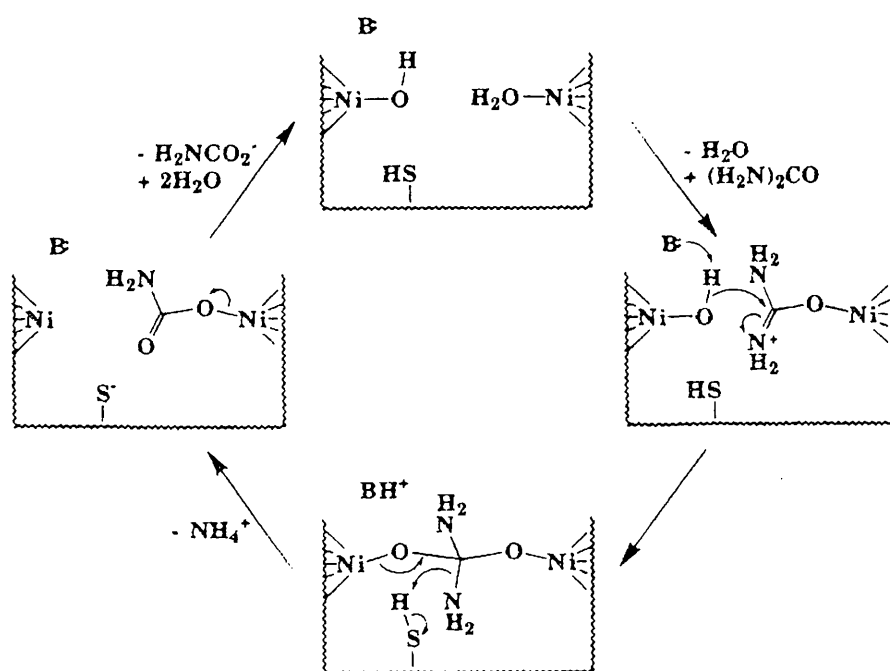


Σχήμα 16. Η δομή του ενεργού κέντρου της ουρεάσης *Bacillus pasteurii* (BPU).

Η απόδοση των W_1 και W_2 ως μορίων H_2O στο pH δράσης του ενζύμου, (pH=8.0), βασίστηκε στην σταθερά πρώτης διάστασης του $[Ni(H_2O)_6]^{2+}$ ($pK_a=10.6$). Σε διπυρηνικά σύμπλοκα που έχουν γέφυρα H_2O , η τιμή του πρώτου pK_a για τη γέφυρα H_2O μειώνεται σημαντικά προς όξινες τιμές, ενώ το pK_a για την αποπρωτονίωση του υδροξειδίου είναι ελαφρώς χαμηλότερο από το pK_a του πρώτου ιονισμού του H_2O που είναι δεσμευμένο σε ένα ιόν Ni^{II} . Έτσι το υπολογιζόμενο pK_a για την αποπρωτονίωση του γεφυρωτικού υδροξειδίου ($pK_a \sim 9-10$) υποδεικνύει ότι σε pH=8.0 το W_B βρίσκεται στην υδρόξο μορφή.

4. Πιθανοί μηχανισμοί δράσης του ενζύμου ^{21, 23, 24}

Ο πρώτος μηχανισμός δράσης του ενζύμου, που παρουσιάζεται στο Σχήμα 17, προτάθηκε από τον Zerner το 1980 και βασίστηκε πάνω σε φασματοσκοπικά δεδομένα, εφόσον δεν είχε ακόμα προσδιοριστεί η κρυσταλλική δομή του ενζύμου.

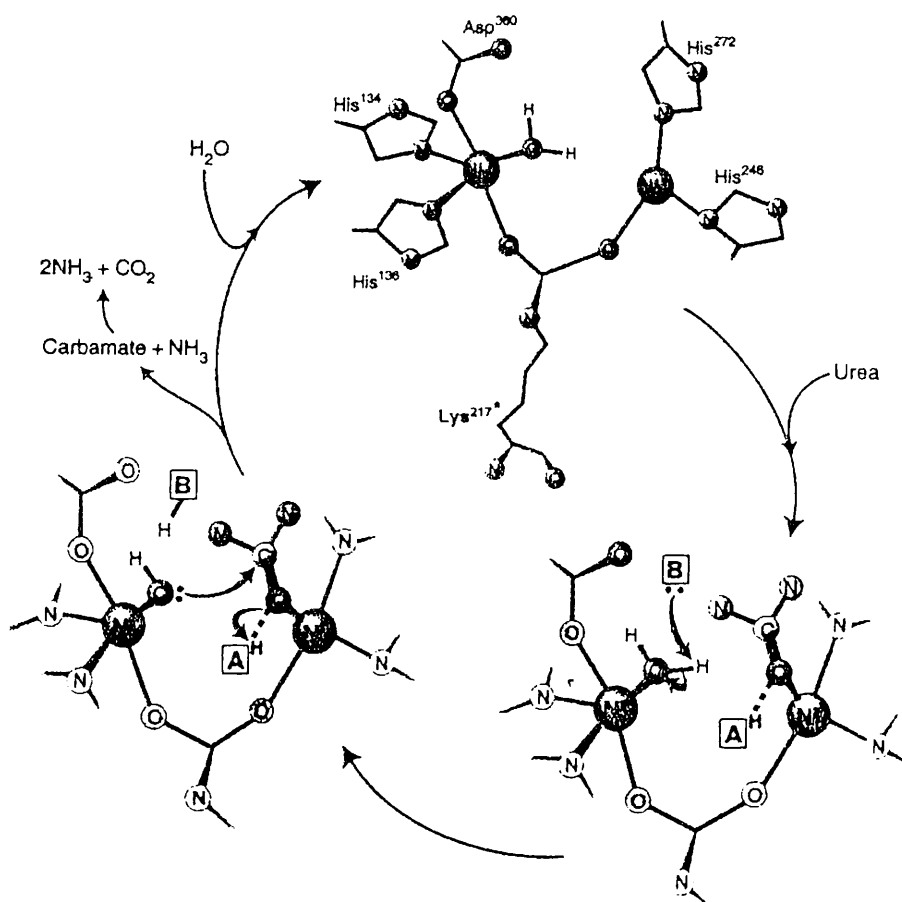


Σχήμα 17. Ο προτεινόμενος μηχανισμός λειτουργίας της ουρεάσης από τον Zerner πριν ακόμα διευκρινιστεί κρυσταλλογραφικώς η δομή του ενεργού κέντρου του ενζύμου.

Σύμφωνα με το μηχανισμό του Zerner η ουρία εντάσσεται μονοδοντικά μέσω του καρβονυλικού οξυγόνου της σε ένα άτομο Ni^{II} και υπόκειται σε νουκλεόφιλη προσβολή από ένα νουκλεόφιλο (πιθανώς υδροξείδιο) το οποίο είναι ενταγμένο στο άλλο ιόν Ni^{II} , δημιουργώντας έτσι ένα τετραεδρικό ενδιάμεσο. Το υπόστρωμα, η ουρία, σταθεροποιείται και πολώνεται δημιουργώντας δεσμούς H με μια πλευρική αλυσίδα του πρωτεϊνικού κορμού που έχει $-\text{COO}^-$ (οι δεσμοί H δεν φαίνονται στο παραπάνω σχήμα). Η βάση που απαιτείται για την αποπρωτονίωση και “ενεργοποίηση” του ενταγμένου υδροξειδίου πιστεύεται ότι είναι μια ιστιδίνη του πρωτεϊνικού κορμού.

Αξιοσημείωτο του παραπάνω μηχανισμού είναι το γεγονός ότι ο καταλυτικός κύκλος δεν απαιτεί την παρουσία του διπυρηνικού κέντρου .

Το 1995 που λύθηκε η δομή του ενεργού κέντρου του ενζύμου ουρεάση *Klebsiella aerogenes* (KAU) προτάθηκε ένας νέος μηχανισμός κατάλυσης από την Jabri, ο οποίος στηρίχτηκε πάνω στα κρυσταλλογραφικά δεδομένα. Σύμφωνα με αυτόν το μηχανισμό που φαίνεται στο Σχήμα 18, το ένα ιόν Ni^{II} λειτουργεί ως οξύ κατά Lewis πολώνοντας και σταθεροποιώντας το υπόστρωμα, ενώ το άλλο ιόν συμβάλλει στην αποπρωτονίωση ενός μορίου νερού που βρίσκεται ενταγμένο στο ενεργό κέντρο, δημιουργώντας με αυτόν τον τρόπο ένα ιόν OH^- το οποίο χρησιμεύει ως νουκλεόφιλο.



Σχήμα 18. Ο προτεινόμενος μηχανισμός της Jabri για το καταλυτικό κέντρο της ουρεάσης(A: όξινο αμινοξύ, B: βασικό αμινοξύ).

Όπως φαίνεται στο παραπάνω σχήμα, η ουρία εντάσσεται μονοδοντικά σε ένα ιόν Ni^{II} μέσω του καρβονυλικού ατόμου οξυγόνου της και πολώνεται

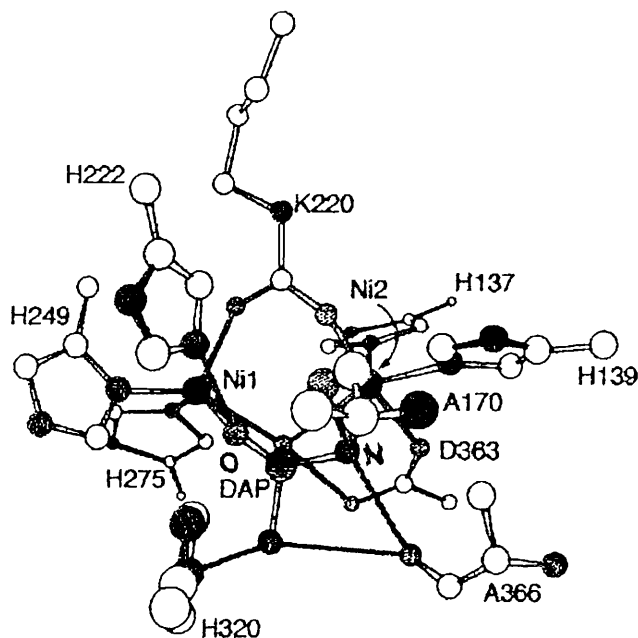
δημιουργώντας δεσμούς υδρογόνου με ένα όξινο κατάλοιπο του πρωτεϊνικού κορμού το οποίο πιθανόν είναι η ιστιδίνη His^{a219}. Εν συνεχεία, ένα βασικό αμινοξύ του πρωτεϊνικού κορμού, πιθανόν το ασπαραγινικό Asp³⁶⁰ που είναι ενταγμένο στο άλλο ιόν Ni^{II} ή η ιστιδίνη His³²⁰ που πλησιάζει το ενεργό κέντρο κατά τη δέσμευση της ουρίας, αποπρωτονιώνει το ενταγμένο μόριο H₂O, δημιουργώντας το ιόν OH⁻ το οποίο στη συνέχεια προσβάλλει το μόριο της ουρίας. Με αυτόν τον τρόπο σχηματίζεται ένα τετραεδρικό ενδιάμεσο και με αποβολή ενός μορίου NH₃ και καρβαμικού τελειώνει ο καταλυτικός κύκλος του ενζύμου.

Μεταξύ των δύο μηχανισμών που αναφέρθηκαν υπάρχουν ορισμένες ομοιότητες και διαφορές. Και οι δύο μηχανισμοί προτείνουν τη μονοδοντική ένταξη της ουρίας μέσω του καρβονυλικού ατόμου οξυγόνου σε ένα ιόν Ni^{II}, καθώς και την νουκλεόφιλη προσβολή της από ένα ιόν OH⁻ ενταγμένου στο άλλο ιόν Ni^{II} προς σχηματισμό ενός τετραεδρικού ενδιάμεσου. Οι διαφορές τους αφορούν ορισμένα χαρακτηριστικά του ενεργού κέντρου. Έτσι, στο μηχανισμό που προτάθηκε από την Jabri, το ιόν Ni^{II} στο οποίο εντάσσεται η ουρία δεν έχει ενταγμένο μόριο H₂O, ενώ κατά το μηχανισμό του Zerner υπάρχει ενταγμένο μόριο H₂O το οποίο αποδεσμεύεται κατά την ένταξη της ουρίας. Επίσης, στο μηχανισμό της Jabri, το OH⁻ που χρησιμεύει στην νουκλεόφιλη προσβολή του υποστρώματος δημιουργείται από την αποπρωτονίωση ενός μορίου H₂O από ένα βασικό κατάλοιπο της πρωτεϊνικής αλυσίδας, ενώ στον πρώτο μηχανισμό του Zerner αυτό το OH⁻ προϋπάρχει ενταγμένο. Τέλος, το ρόλο του όξινου κατάλοιπου κατά το μηχανισμό της Jabri τον έχει η ιστιδίνη His^{a219}, ενώ κατά τον Zerner αυτόν το ρόλο τον έχει μια κυστεΐνη του πρωτεϊνικού κορμού.

Όμως ο προτεινόμενος μηχανισμός της Jabri παρουσιάζει δυο ατέλειες αναφορικά με το ενεργό κέντρο του ενζύμου. Πρώτον, λείπει μια βάση με pK_a=9, που θα μπορούσε να αποπρωτονιώσει το μόριο H₂O στο βέλτιστο pH λειτουργίας του ενζύμου που είναι 8.0. Δεύτερον, η ιστιδίνη που προτείνεται ότι δρα ως οξύ πολώνοντας το μόριο της ουρίας πρέπει να είναι πρωτονιωμένη σε pH=8, παρά το γεγονός ότι έχει pK_a=6.5.

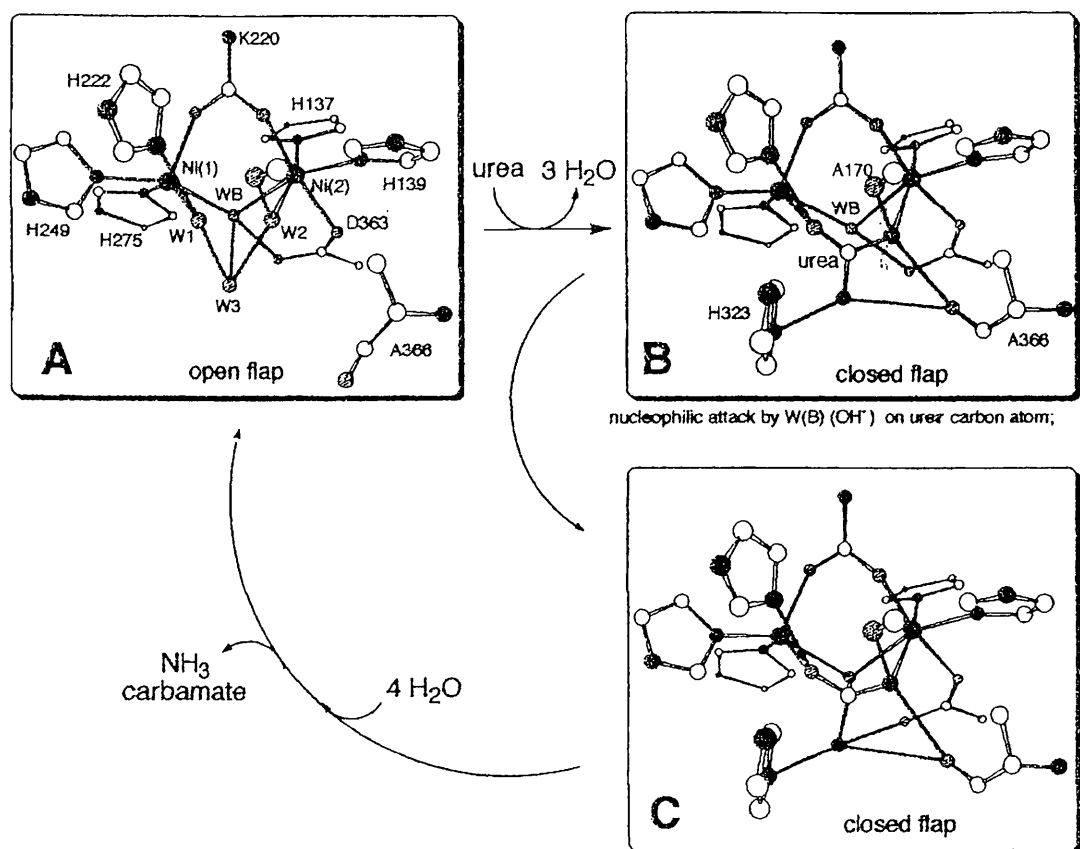
Το 1999 ο Ciurli και οι συνεργάτες του πρότειναν ένα νέο μηχανισμό δράσης του ενζύμου στηριζόμενοι στη δομή της ουρεάσης *Bacillus pasteurii* (BPU), που ήδη έχει αναφερθεί, αλλά και στη δομή του συμπλόκου ουρεάσης-

διαμιδοφωσφορικού ιόντος ($(\text{NH}_2)_2\text{PO}_2^{-2}$, DAP) που παρουσιάζεται στο Σχήμα 19. Το ιόν αυτό είναι αναστολέας του ενζύμου. Σε αυτή τη δομή το ιόν $(\text{NH}_2)_2\text{PO}_2^{-2}$ δρα ως γεφυρωτικός υποκαταστάτης. Ένα άτομο O και ένα άτομο N ενώνονται με τα δύο διαφορετικά ιόντα Ni^{II} , ενώ το δεύτερο άτομο O γεφυρώνει συμμετρικά τα δύο μεταλλοϊόντα· το δεύτερο άτομο N κατευθύνεται προς το άνοιγμα της κοιλότητας. Το άτομο O που ενώνεται με το $\text{Ni}(1)$ «λαμβάνει» ένα δεσμό H (δέκτης) από το N_ϵ της $\text{His}^{\text{a}222}$, ενώ αντίθετα το αμιδικό N που ενώνεται με το $\text{Ni}(2)$ σχηματίζει δύο δεσμούς H (δότης) με τα καρβονυλικά άτομα O της $\text{Ala}^{\text{a}366}$ και της $\text{Ala}^{\text{a}170}$. Επίσης το απομακρυσμένο N του DAP συμπεριφέρεται ως δότης δεσμών H με τις $\text{Ala}^{\text{a}366}$ και $\text{Gly}^{\text{a}280}$ (μέσω ενός ατόμου H), καθώς και με το N_ϵ της $\text{His}^{\text{a}323}$. Τέλος, το γεφυρωτικό άτομο O του DAP βρίσκεται σε απόσταση δεσμού H από το Oδ2 του $\text{Asp}^{\text{a}363}$.



Σχήμα 19. Η δομή του ενεργού κέντρου του ενζύμου BPU παρουσία DAP.

Σύμφωνα με αυτόν το μηχανισμό που παρουσιάζεται στο Σχήμα 20, η ουρία εντάσσεται στο πιο ηλεκτρόφιλο πεντα-ενταγμένο νικέλιο $\text{Ni}(1)$ μέσω του καρβονυλικού οξυγόνου της και στο εξα-ενταγμένο $\text{Ni}(2)$ μέσω μιας εκ των δύο αμινομάδων της. Πρόκειται για μια διδοντική γεφυρωτική ένταξη του υποστρώματος στο ενεργό κέντρο του ενζύμου!



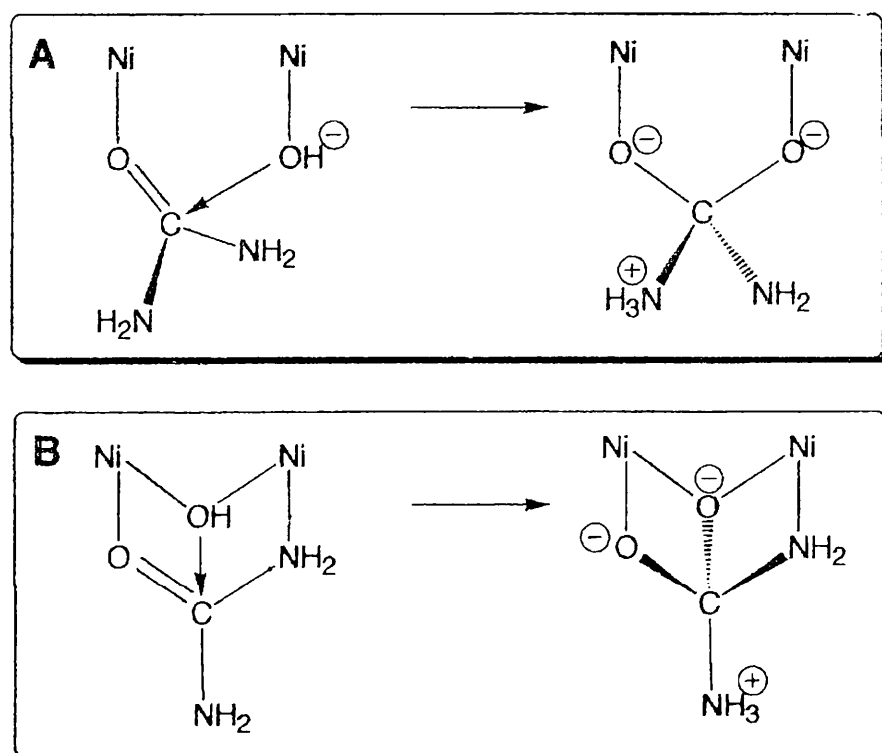
Σχήμα 20. Ο προτεινόμενος μηχανισμός λειτουργίας του ενζύμου ουρεάσης *Bacillus pasteurii* (BPU) από τον Ciurli.

Η ουρία σταθεροποιείται μέσα στο ενεργό κέντρο του ενζύμου μέσω ενός δικτύου δεσμών υδρογόνου που δημιουργεί με αμινοξέα που βρίσκονται κοντά στο ενεργό κέντρο, όπως η αλανίνη Ala³⁶⁶, η αλανίνη Ala¹⁷⁰ και η ιστιδίνη His²²². Κατόπιν τούτου, η ιστιδίνη His²²² σταθεροποιεί την ένταξη του ατόμου οξυγόνου της ουρίας στο Ni(1). Με τη δέσμευση αυτή, η κοιλότητα (flap) μέσα στην οποία υπάρχει το ενεργό κέντρο "κλείνει" με αποτέλεσμα οι καρβονυλικές ομάδες των αμινοξέων αλανίνη Ala³⁶⁶ και αλανίνη Ala¹⁷⁰ να προσανατολίζονται με τέτοιο τρόπο ώστε τα καρβονυλικά άτομα οξυγόνου να "κοιτάζουν" προς το Ni(2) και να λειτουργούν ως δέκτες δεσμών υδρογόνου προς την αμινομάδα της ουρίας, βοηθώντας έτσι την ένταξή της στο Ni(2). Η ουρία δεν είναι καλός χηλικός υποκαταστάτης εξαιτίας του ασθενούς βασικού χαρακτήρα των αμινομάδων της. Όμως, λόγω των δεσμών υδρογόνου που σχηματίζει με τα γειτονικά καρβονυλικά άτομα οξυγόνου η βασικότητα των αμινομάδων αυξάνεται αρκετά και διευκολύνεται έτσι η ένταξη στο Ni(2).

Η διδοντική γεφυρωτική ένταξη της ουρίας στα δυο ηλεκτρόφιλα ιόντα Ni^{II} , καθώς και το εκτεταμένο δίκτυο δεσμών υδρογόνου που υπάρχει στο ενεργό κέντρο του ενζύμου, “προετοιμάζουν” την εισερχόμενη ουρία να δεχθεί τη νουκλεόφιλη προσβολή πολώνοντας το δεσμό C-O και το δεσμό C-NH₂.

Αυτός ο νέος μηχανισμός ξεπερνάει τα προβλήματα του μηχανισμού της Jabri διότι το γεφυρωμένο υδροξείδιο προτείνεται ότι παίζει το ρόλο του νουκλεόφилου και του οξέος που πολώνει το μόριο της ουρίας. Στο Σχήμα 21 παρουσιάζονται συνοπτικά οι δύο προτεινόμενοι μηχανισμοί της Jabri και του Ciurli και γίνονται σαφείς οι μεταξύ τους διαφορές.

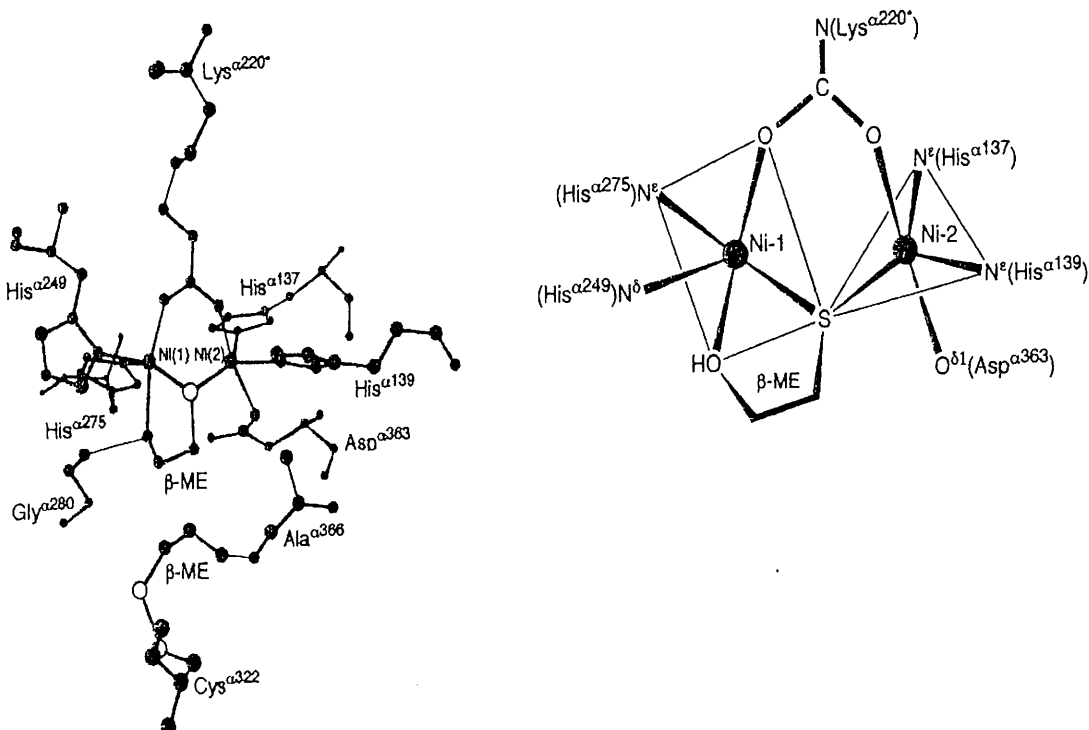
Επίσης, ο μηχανισμός του Ciurli δίνει και μια έμμεση απάντηση στο ερώτημα γιατί υπάρχουν ιόντα νικελίου Ni^{II} στο διπυρηνικό κέντρο της ουρεάσης και όχι τα πιο συνήθως απαντώμενα σε υδρολυτικά ένζυμα ιόντα ψευδαργύρου. Τα ιόντα Ni^{II} χαρακτηρίζονται από μεγαλύτερη συγγένεια για υποκαταστάτες που δρουν ως N-δότες από ότι τα ιόντα Zn^{II} , σταθεροποιώντας έτσι καλύτερα την ουρία.



Σχήμα 21. A: προτεινόμενος μηχανισμός της Jabri, B: Ο προτεινόμενος μηχανισμός του Ciurli. Είναι εμφανείς οι διαφορές που παρουσιάζουν τα ενδιάμεσα παράγωγα του καταλυτικού κύκλου των δυο μηχανισμών.

5. Αναστολείς του ενζύμου ουρεάση^{24, 28-38}

Ο πιο γνωστός αναστολέας δράσης του ενζύμου είναι η β-μερκαπτοαιθανόλη (β-ME), HS-CH₂-CH₂-OH. Το 1998 λύθηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ η κρυσταλλική δομή του ενζύμου ουρεάση *Bacillus pasteurii* (BPU) παρουσία του αναστολέα β-μερκαπτοαιθανόλη. Το ενεργό κέντρο του ενζύμου παρουσιάζεται στο Σχήμα 22.



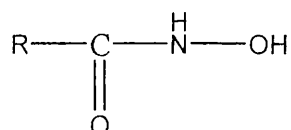
Σχήμα 22. Η δομή του ενεργού κέντρου του ενζύμου ουρεάση *Bacillus pasteurii* (BPU) παρουσία του αναστολέα β-μερκαπτοαιθανόλη.

Από το παραπάνω σχήμα γίνεται κατανοητό ότι το άτομο θείου S του αναστολέα γεφυρώνει τα δυο ιόντα Ni^{II}. Επίσης, έκπληξη προκαλεί το γεγονός ότι η β-μερκαπτοαιθανόλη λειτουργεί ως χηλικός υποκαταστάτης με τη συμμετοχή της ομάδας -OH στην ένταξη. Είναι γνωστόν ότι η υδροξυλομάδα αυτή δεν παρουσιάζει ισχυρό βασικό χαρακτήρα κατά Lewis με αποτέλεσμα η β-μερκαπτοαιθανόλη να μην μπορεί να δράσει ως χηλικός υποκαταστάτης. Όμως, εξαιτίας των δεσμών υδρογόνου που δημιουργούνται μεταξύ της υδροξυλομάδας του αναστολέα και ενός καρβονυλικού ατόμου O της Gly^{α280},

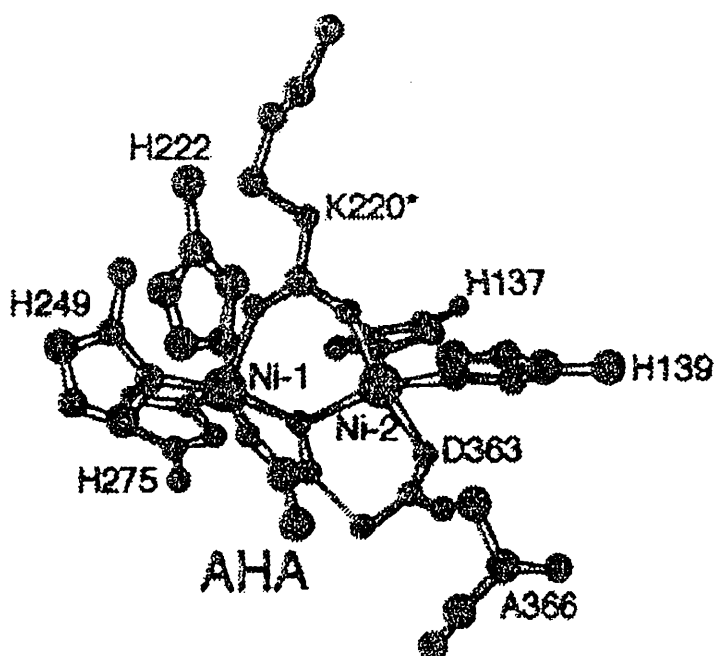
η βασικότητα του υδροξυλικού οξυγόνου αυξάνεται διευκολύνοντας έτσι την ένταξη του στο Ni(1). Στο Σχήμα 22 φαίνεται ακόμα η ύπαρξη ενός δευτέρου μορίου β-μερκαπτοαιθανόλης στο ενεργό κέντρο του ενζύμου, το οποίο δημιουργεί δισουλφιδικό δεσμό με ένα κατάλοιπο κυστεΐνης Cys^{a322} του πρωτεϊνικού κορμού και αλληλεπιδρά μέσω δεσμών υδρογόνου με το άτομο οξυγόνου της αλανίνης Ala^{a366}. Αυτό το κατάλοιπο Cys^{a322} προτείνεται ότι “ελέγχει” το άνοιγμα και το κλείσιμο της “πύλης” της κοιλότητας μέσα στην οποία βρίσκεται το ενεργό κέντρο του ενζύμου. Ο τρόπος αυτός σύνδεσης του δεύτερου μορίου αναστολέα έχει ως αποτέλεσμα η πρόσβαση του υποστρώματος στην κοιλότητα του ενεργού κέντρου να μην είναι εφικτή λόγω στερεοχημικής παρεμπόδισης.

Παρατηρούμε, λοιπόν, ότι η αναστολή δράσης του ενζύμου επιτυγχάνεται με δυο τρόπους: άμεσα, με την ένταξη του αναστολέα απευθείας στα δυο ιόντα Ni^{II} και έμμεσα παρεμποδίζοντας την πρόσβαση του υποστρώματος στο καταλυτικό κέντρο.

Άλλοι αναστολείς του ενζύμου είναι τα υδροξαμικά οξέα που ανήκουν στην κατηγορία ενώσεων με γενικό τύπο:



(R=αλκυλο- ή αρυλο-ομάδα). Η αναστολή του ενζύμου από υδροξαμικά οξέα και παράγωγά τους ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά το 1962 και μελετήθηκε σε ουρεάσες που απομονώθηκαν από διάφορα φυτά και βακτήρια. Με τη βοήθεια φασματοσκοπικών μεθόδων βρέθηκε ότι οι αναστολείς αυτού του τύπου δεσμεύονται με ιόντα Ni^{II} στο ενεργό κέντρο του ενζύμου. Το 1997 επιλύθηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ η δομή του ενζύμου ουρεάση *Klebsiella aerogenes* (KAU), παρουσία του αναστολέα ακετοϋδροξαμικό οξύ AHA (R=CH₃), ενώ μόλις το 2000 προσδιορίστηκε κρυσταλλογραφικά η δομή της ουρεάσης *Bacillus pasteurii* (BPU) παρουσία του ίδιου αναστολέα, που φαίνεται στο Σχήμα 23. Από τη δομή του ενεργού κέντρου, φαίνεται ότι το ακετοϋδροξαμικό οξύ λειτουργεί ως γεφυρωτικός και χηλικός υποκαταστάτης. Μέσω του οξυγόνου της υδροξυλικής ομάδας (O_B) γεφυρώνει τα δυο ιόντα Ni^{II}, ενώ μέσω του καρβονυλικού οξυγόνου (O_T) ενώνεται με το Ni(1) δημιουργώντας χηλικό δακτύλιο.



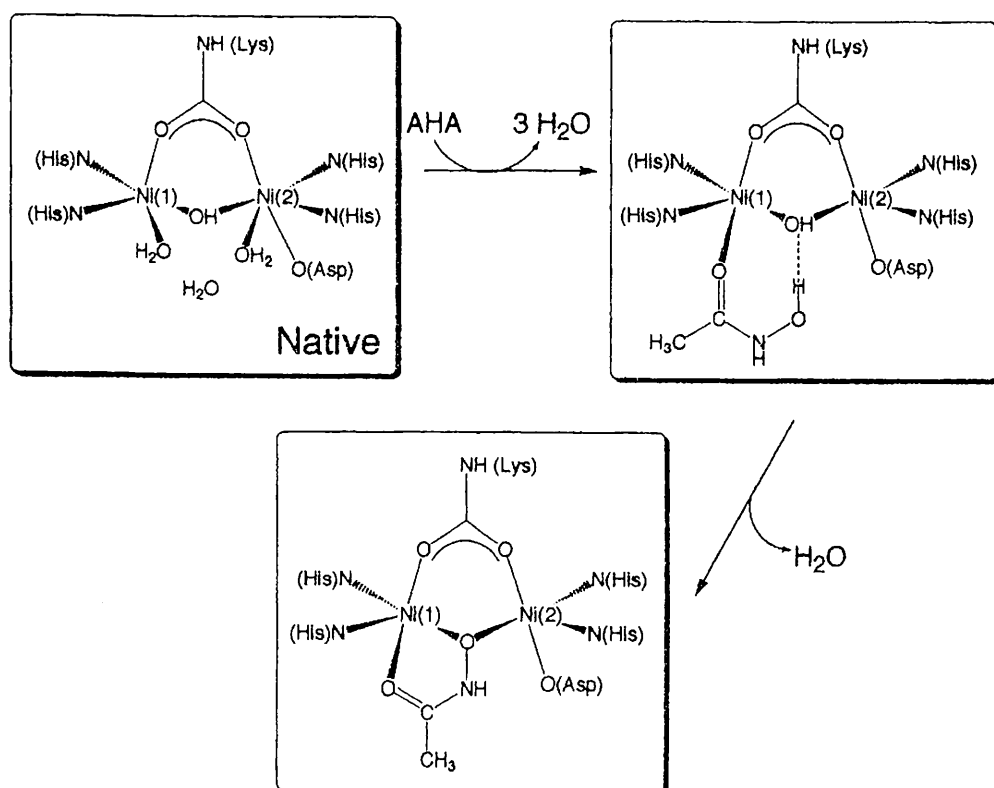
Σχήμα 23. Η δομή του ενεργού κέντρου του ενζύμου ουρεάση *Bacillus pasteurii* (BPU) παρουσία του αναστολέα ακετοϋδροξαμικό οξύ (AHA).

Το πιο ηλεκτραρνητικό άτομο του αναστολέα, που είναι το οξυγόνο του υδροξυλίου, γεφυρώνει τα δυο ιόντα Ni^{II} ενώ το καρβονυλικό άτομο οξυγόνου εντάσσεται στο $\text{Ni}(1)$ που έχει ακόρεστη σφαίρα ένταξης και επομένως είναι η θέση με τη μεγαλύτερη πυκνότητα θετικού φορτίου.

Παρόμοια συμπεριφορά του ακετοϋδροξαμικού οξέος παρατηρήθηκε και στο ένζυμο ουρεάση *Klebsiella aerogenes* (KAU), όπου ο αναστολέας δρα πάλι ως γεφυρωτικός και χηλικός υποκαταστάτης. Μια σημαντική, όμως, διαφορά μεταξύ των δυο αυτών περιπτώσεων είναι ότι στην ουρεάση *Bacillus pasteurii* (BPU) το υδροξυλικό οξυγόνο γεφυρώνει συμμετρικά τα δυο ιόντα Ni^{II} με απόσταση $\text{Ni}-\text{O}_\text{B}=2.0 \text{ \AA}$, ενώ στην ουρεάση *Klebsiella aerogenes* (KAU) ασύμμετρα με αποστάσεις $\text{Ni}(1)-\text{O}_\text{B}=2.6 \text{ \AA}$ και $\text{Ni}(2)-\text{O}_\text{B}=2.0 \text{ \AA}$.

Με βάση τα κρυσταλλογραφικά δεδομένα που προέκυψαν από τη λύση της δομής του ενζύμου ουρεάση *Bacillus pasteurii* παρουσία ακετοϋδροξαμικού οξέος, προτάθηκε ένας πιθανός μηχανισμός δράσης του αναστολέα που φαίνεται στο Σχήμα 24. Σύμφωνα με αυτόν, κατά τη δέσμευση του αναστολέα απομακρύνονται τα τρία μόρια H_2O που υπάρχουν στην κοιλότητα του ενεργού κέντρου και το ακετοϋδροξαμικό οξύ εντάσσεται μονοδοντικά στο $\text{Ni}(1)$ μέσω του καρβονυλικού οξυγόνου, ενώ παράλληλα

δημιουργούνται δεσμοί υδρογόνου μεταξύ του γεφυρωτικού υδροξειδίου (που προϋπήρχε) και του υδροξυλίου του ακετοϋδροξαμικού οξέος. Στη συνέχεια γίνεται βραδεία αντικατάσταση του γεφυρωτικού μορίου H_2O (που πιθανά σχηματίστηκε με τη μεταφορά πρωτονίου από την $-\text{OH}$ του μορίου AHA στο γεφυρωτικό OH^-) από το αποπρωτονιωμένο άτομο O του αναστολέα, με συνέπεια να λαμβάνεται η δομή που παρατηρείται κρυσταλλογραφικά.



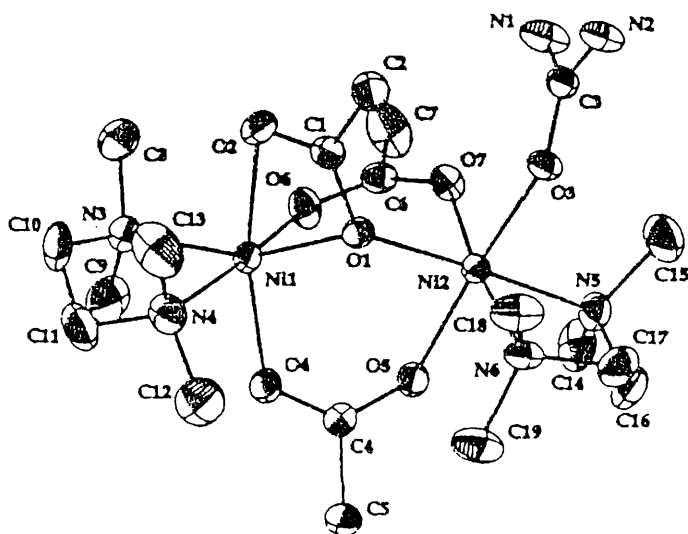
Σχήμα 24. Προτεινόμενος μηχανισμός αναστολής του ακετοϋδροξαμικού οξέος (AHA) στη δράση του ενζύμου ουρεάση *Bacillus pasteurii* (BPU).

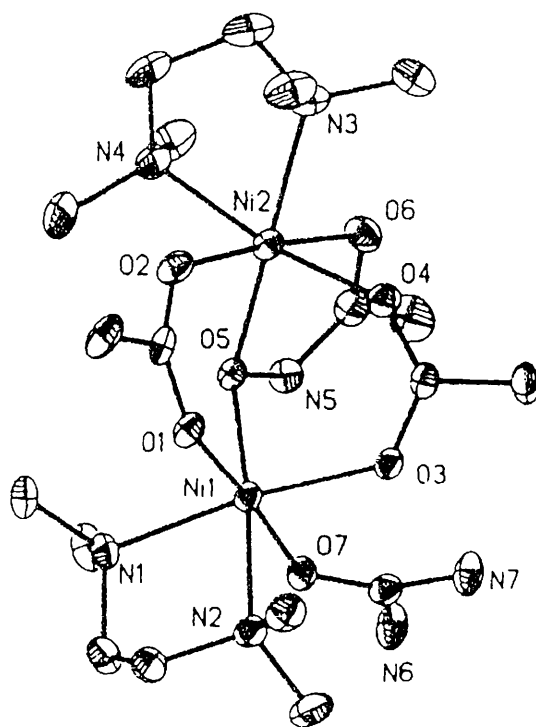
6. Ενώσεις μοντέλα που προσομοιάζουν το ενεργό κέντρο της ουρεάσης^{36,39-50}

Κατά τη διάρκεια των μακροχρόνιων προσπαθειών των βιοανόργανων χημικών να κατανοήσουν τη χημεία που λαμβάνει χώρα στο ενεργό κέντρο της ουρεάσης, συντέθηκαν ορισμένες διπυρηνικές ενώσεις του Ni(II) οι οποίες

προσομοιάζουν κάπως το διπυρηνικό κέντρο του ενζύμου. Η ομοιότητα αυτών των ενώσεων με το ενεργό κέντρο αφορά χαρακτηριστικά των σφαιρών ένταξης του διμεταλλικού πυρήνα καθώς και φασματοσκοπικές ιδιότητες. Επίσης μελετήθηκε η δραστηριότητα των διπυρηνικών ενώσεων ως προς την ένταξη της ουρίας, των αναστολέων της, αλλά και οι τυχόν καταλυτικές τους ιδιότητες όσον αφορά την υδρόλυση του υποστρώματος.

Ένα τέτοιο μοντέλο είναι η διπυρηνική ένωση του Ni(II) $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CMe})_4(\text{tmen})_2(\text{H}_2\text{O})]$, όπου tmen= τετραμεθυλοαιθυλενοδιαμίνη. Αυτή η ένωση περιέχει μια γέφυρα H_2O , δυο γέφυρες MeCO_2^- και δυο τερματικά MeCO_2^- , ενώ υπάρχουν και δυο χηλικά μόρια tmen, ένα σε κάθε ιόν Ni^{II} . Από την αντίδραση της παραπάνω ένωσης με ουρία προέκυψε το ιόν $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CMe})_3(\text{urea})(\text{tmen})_2(\text{H}_2\text{O})]^+$ (XXVI) υπό τη μορφή του αλατός του με CF_3SO_3^- . Όπως φαίνεται από τη δομή της ένωσης XXVI το σύμπλοκο αποτε-



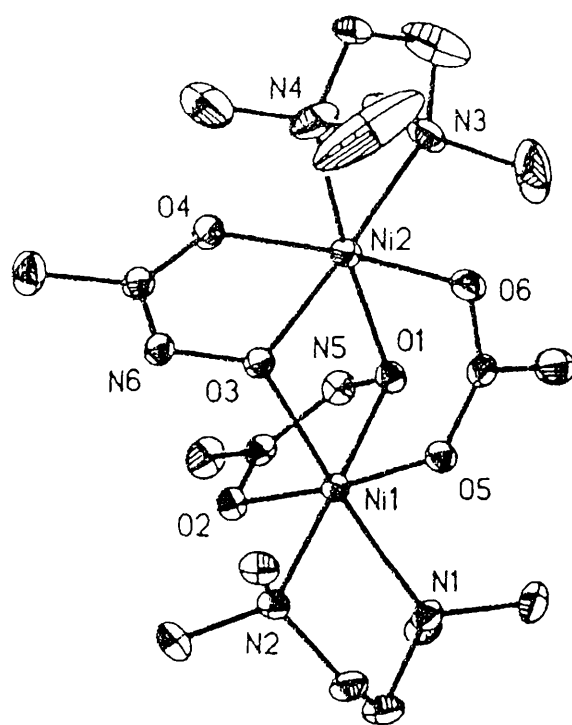


XXVII

Από τη σύγκριση των δομών **XXVI** και **XXVII**, γίνεται αντιληπτό ότι το $\eta^1:\eta^2:\mu_2$ MeCO_2^- της **XXVI** έχει αντικατασταθεί από ένα $\eta^1:\eta^2:\mu_2$ ιόν AA^- . Η ουρία παραμένει ενταγμένη μέσω του οξυγόνου της στο άλλο ιόν Ni^{II} . Και τα δυο ιόντα Ni^{II} έχουν παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία.

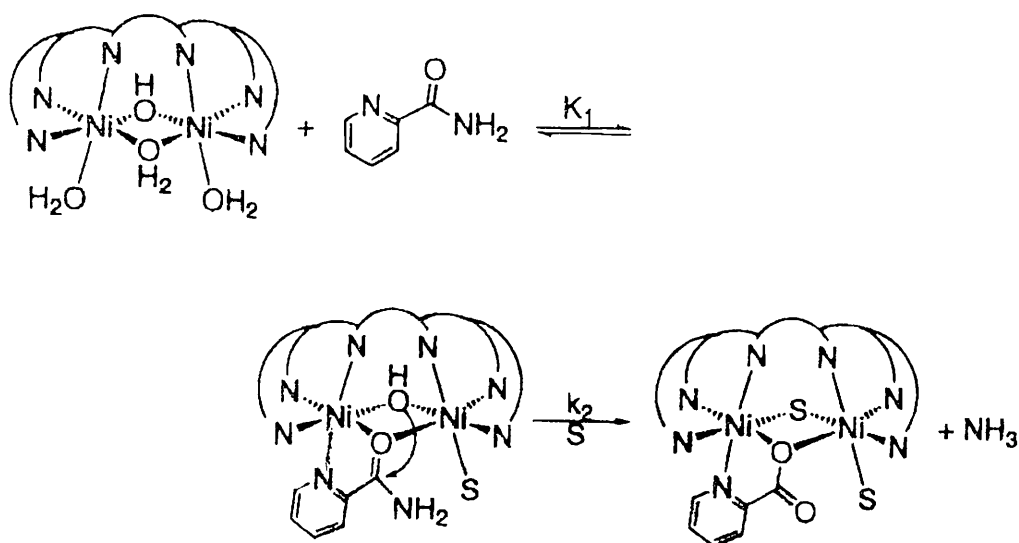
Απευθείας αντίδραση της ένωσης $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CMe})_4(\text{tmen})_2(\text{H}_2\text{O})]$ με ακετοϋδροξαμικό οξύ (AHA) οδήγησε στην απομόνωση και στο χαρακτηρισμό του άλατος $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CMe})(\text{AA})_2(\text{tmen})_2](\text{MeCO}_2)$ (**XXVIII**). Παρατηρούμε ότι σε αυτήν την ένωση ένα γεφυρωτικό MeCO_2^- , το γεφυρωτικό μόριο H_2O και τα δυο τερματικά MeCO_2^- έχουν αντικατασταθεί από δυο γεφυρωτικά ακετοϋδροξαμικά ανιόντα που είναι ενταγμένα με παρόμοιο τρόπο όπως στο ιόν **XXVII**. Τα δυο ιόντα Ni^{II} εξακολουθούν να έχουν παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία.

Από τις παραπάνω δομικές μελέτες εξάγεται το συμπέρασμα ότι ένα ακετοϋδροξαμικό ανιόν (AA^-) μπορεί να αντικαταστήσει γεφυρωτικά MeCO_2^- ή γέφυρες H_2O .



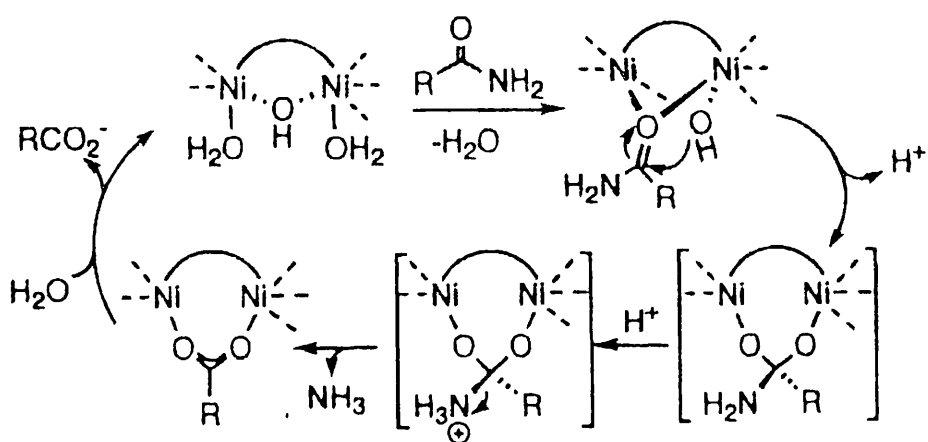
XXVIII

Μια άλλη ένωση που παρουσιάζει ενδιαφέρον ως μοντέλο του ενεργού κέντρου του ενζύμου είναι η $[\text{Ni}_2(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})_3(\text{bdptz})](\text{OTs})_3$, όπου $\text{bdptz} = 1,4$ -δισ(2,2'-διπυριδυλομεθυλο)φθαλαζίνη και $\text{OTs} = p$ -τολουολοσουλφονικό ανιόν. Το μεγάλο ενδιαφέρον της έγκειται στο γεγονός ότι είναι η πρώτη ένωση που εμφανίζει υδρολυτική δραστηριότητα έναντι αμιδίου, και συγκεκριμένα του πικολιναμιδίου, προς σχηματισμό αμμωνίας σύμφωνα με το Σχήμα 25. Το προϊόν της υδρόλυσης πιστοποιήθηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ. Σύμφωνα με το μηχανισμό υδρόλυσης του πικολιναμιδίου που προτάθηκε το υπόστρωμα εντάσσεται γεφυρωτικά μέσω του αμιδικού οξυγόνου στα δυο ιόντα $\text{Ni}(\text{II})$. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα το καρβονυλικό άτομο άνθρακα να γίνεται πιο ηλεκτρόφιλο. Έτσι η νουκλεόφιλη προσβολή του "ενεργοποιημένου" αμιδίου από ένα νουκλεόφιλο γίνεται πιο εύκολα και η πρωτονίωση της αποχωρούσας αμινομάδας έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία του μορίου αμμωνίας. Στην αντίδραση που παρουσιάζεται στο Σχήμα 25 το γεφυρωτικό ιόν υδροξειδίου προτείνεται ότι είναι το μόνο που μπορεί να δράσει ως νουκλεόφιλο, προσβάλλοντας τον καρβονυλικό άνθρακα του υποστρώματος.



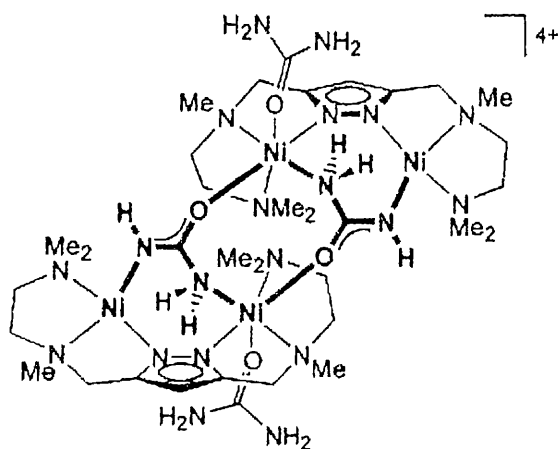
Σχήμα 25. Ο προτεινόμενος μηχανισμός υδρόλυσης του πικολιναμιδίου από την ένωση $[\text{Ni}_2(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})_3(\text{bdptz})](\text{OTs})_3$, όπου $\text{S}=\text{EtOH}$.

Ανάλογος μηχανισμός προτείνεται ότι συμβαίνει και στο ενεργό κέντρο της ουρεάσης, σύμφωνα με το Σχήμα 26 (που αναφέρεται σε αμίδια). Είναι πιθανόν ότι η ουρία συμπλοκοποιείται γεφυρωτικά μέσω του ατόμου Ο. Η συμπλοκοποίηση του μορίου της ουρίας και με τα δύο ιόντα Ni^{II} στο ενεργό κέντρο της ουρεάσης πολώνει τον καρβονυλικό δεσμό και τον ενεργοποιεί για νουκλεόφιλη προσβολή.

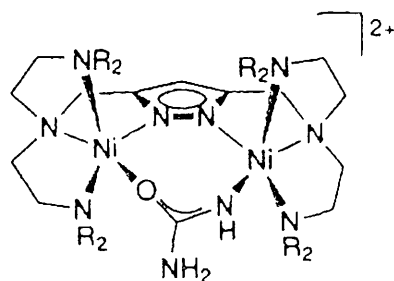


Σχήμα 26. Προτεινόμενος μηχανισμός δράσης της ουρεάσης στηριζόμενος στο μηχανισμό υδρόλυσης του πικολιναμιδίου.

Τέλος, μοντέλα των ενδιαμέσων του καταλυτικού κύκλου της ουρεάσης μπορούν να θεωρηθούν τα άλατα των ιόντων **XXIX** και **XXX**, στα οποία παρατηρούνται νέοι τρόποι ένταξης της ουρίας σε διπυρηνικές ενώσεις Ni(II).



XXIX



XXX

Στο ιόν **XXIX** παρατηρούμε ότι η ουδέτερη ουρία και το μονοανιόν της εντάσσονται με δυο διαφορετικούς τρόπους. Ο πρώτος τρόπος που υιοθετεί η ουδέτερη ουρία είναι μονοδοντικά μέσω του καρβονυλικού οξυγόνου σε ένα ιόν Ni^{II}. Ο δεύτερος τρόπος παρατηρείται για πρώτη φορά: το ανιόν της ουρίας γεφυρώνει τρία ιόντα Ni^{II} μέσω του ατόμου O και των δύο ατόμων N. Στο ιόν **XXX** παρατηρείται μια διδοντική μ₂-γεφυρωτική ένταξη του ανιόντος της ουρίας μέσω του καρβονυλικού οξυγόνου και μέσω του αζώτου της αποπρωτονιωμένης αμινομάδας.

Γ7. Ανασκόπηση των Δομών και των Ρόλων του Ni στη Βιολογία ¹⁸

Η επιλογή της φύσης να χρησιμοποιήσει το νικέλιο στα ενεργά κέντρα διαφόρων ενζύμων είναι αρκετά περίεργη αν αναλογιστεί κανείς την κατανομή των ευδιάλυτων μετάλλων στη γη. Υπάρχουν πιο κατάλληλα μέταλλα τα οποία μπορούν να δράσουν ως οξέα κατά Lewis στις βιολογικές υδρολύσεις, π.χ. Zn, και οξειδοαναγωγικά κέντρα ενός ηλεκτρονίου που περιέχουν Fe και Cu είναι ευρέως γνωστά στη βιολογία. Ένας πιθανός λόγος για τον οποίον η

φύση επέλεξε το νικέλιο μπορεί να είναι οι διαφορετικές συνθήκες που επικρατούσαν τότε που έγινε η επιλογή. Πριν το οξυγόνο γίνει άφθονο στην ατμόσφαιρα, πολλά μέταλλα μετάπτωσης πιθανόν να ήταν παρόντα με τη μορφή σουλφιδίων και ως γνωστόν τα σουλφίδια του νικελίου είναι μεταξύ των πιο διαλυτών σουλφιδίων των μετάλλων μετάπτωσης.

Το γεγονός ότι η βιοσύνθεση των ενζύμων του Ni απαιτεί ένα περίπλοκο σύστημα πρόσληψης, μεταφοράς και «χειρισμού» του μετάλλου, υποδεικνύει ότι η επιλογή του μετάλλου έγινε για πιο σημαντικούς λόγους. Στην περίπτωση της ουρεάσης, το Ni φαίνεται να προτιμά την ένταξη της ουρίας μέσω του καρβονυλικού οξυγόνου, γεγονός που ευνοεί το σχηματισμό του τετραεδρικού ενδιαμέσου κατά την υδρόλυση. Η παρουσία του Ni σε ενεργά κέντρα που αφορούν οξειδοαναγωγικές διαδικασίες είναι ακόμα πιο περίεργη, διότι σύμπλοκα του Ni με O/N-δότες δεν «φημίζονται» για την ευχέρειά τους σε οξειδοαναγωγικές διαδικασίες στα βιολογικώς εφικτά δυναμικά. Επιπλέον, αν εξαιρέσουμε την σουπεροξειδική δισμουτάση, οι αντιδράσεις που καταλύονται απαιτούν οξειδοαναγωγικές διαδικασίες δύο ηλεκτρονίων και συνεπώς θα χρειάζονταν περισσότερα από ένα μέταλλο ικανό για οξειδοαναγωγική χημεία ενός ηλεκτρονίου. Το πιο σύνηθες βιολογικό οξειδοαναγωγικό κέντρο δύο ηλεκτρονίων που είναι το Mo ενέχεται σε διαδικασίες μεταφοράς ατόμων και όχι σε αντιδράσεις δύο ηλεκτρονίων που καταλύονται από τα ένζυμα του Ni. Η συμπλοκοποίηση του Ni με κυστεϊνάτο, π.χ. στα ένζυμα υδρογονάσες, CODH, ACS, και θειολάτο υποκαταστάτες π.χ. στο συνένζυμο F₄₃₀, μάλλον υποδεικνύει το ρόλο του S που είναι η απευθείας κατάλυση των οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων ή η σταθεροποίηση κέντρων Ni(III) όπου το φορτίο που δημιουργείται κατανέμεται σε διάφορα άτομα. Η τροποποίηση των θειολάτο S-δοτών με πρωτονίωση ή αλκυλίωση πιθανόν σημαίνει ότι το Ni(I) σταθεροποιείται σε περιβάλλον πλούσιο σε S-δότες. Εναλλακτικά, το Ni μπορεί να χρησιμεύει ως κέντρο «ελέγχου» της οξειδοαναγωγικής χημείας που συμβαίνει σε θειολάτο υποκαταστάτες και, συνεπώς, η παρουσία του σε ένζυμα με οξειδοαναγωγικό ρόλο να οφείλεται στην αδυναμία του να συμμετέχει απευθείας σε οξειδοαναγωγικές διαδικασίες. Η σύνδεση του Ni με άλλους οξειδοαναγωγικούς συμπαραγόντες, π.χ. Fe, πλειάδες Fe, S και τετραπυρρολικούς δακτυλίους, κάνει ακόμα πιο περίπλοκο το ρόλο του Ni στην οξειδοαναγωγική κατάλυση. Είναι πιθανόν ότι όλες οι

παραπάνω εναλλακτικές προτάσεις ισχύουν σε μικρότερο ή μεγαλύτερο βαθμό στα ένζυμα του Ni.

Η πρόσφατη διασάφηση μερικών δομών κέντρων Ni σε ένζυμα μετατοπίζει το θέμα σε μια δομική βάση. Η γνώση αυτή, σε συνδυασμό με το χαρακτηρισμό των ενζύμων του Ni από τη μοριακή βιολογία, «ανοίγει» το πεδίο σε μελέτες μεταλλαξογέννεσης που θα προσδιορίσουν το ρόλο των υποκαταστατών στην κατάλυση. Μένει, πλέον, με μελέτες που στηρίζονται σε βιοφυσικές τεχνικές ο επακριβής προσδιορισμός του ρόλου του Ni στην κατάλυση.

II. ΣΤΟΧΟΙ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η εργασία μας έχει τρεις στόχους:

Ο *πρώτος* στόχος είναι η παρασκευή και ο χαρακτηρισμός διπυρηνικών συμπλόκων του Ni(II) με περιβάλλον ένταξης καρβοξυλάτο οξυγόνα (που μοντελοποιούν το Asp και την καρβαμυλιωμένη Lys του ενεργού κέντρου της ουρεάσης) και N-δότες (που μοντελοποιούν τις His). Η παρουσία γεφυρωτικού μορίου H_2O ή OH^- στα σύμπλοκα είναι επιθυμητή γιατί έχει διαπιστωθεί κρυσταλλογραφικά στο φυσικό ένζυμο (βλέπε παράγραφο 5 υποκεφ. Γ₆). Η επιδίωξή μας είναι η αναπαραγωγή των αριθμών ένταξης και των “χρωμοφόρων” των δύο ιόντων Ni^{II} που υπάρχουν στην ουρεάση.

Ο *δεύτερος* στόχος είναι η μελέτη της χημικής δραστηριότητας των διπυρηνικών συμπλόκων με ουρία. Τα προϊόντα αποτελούν δυνητικά μοντέλα ενδιάμεσων παραγώγων του καταλυτικού κύκλου της ουρεάσης. Ενδιαφερόμαστε να συνθέσουμε σύμπλοκα που να έχουν ένα μόριο ουρίας ανά $Ni_2^{II, II}$, ώστε να διαπιστώσουμε τον τρόπο συμπλοκοποίησής της σε αυτά και επομένως να συνεισφέρουμε, έστω και με αυτό, στη διευκρίνιση του μηχανισμού δράσεως του ενζύμου. Υπενθυμίζουμε (βλέπε παραγράφους 4 και 6 υποκεφ. Γ₆) ότι έχουν προταθεί τρεις(!) διαφορετικοί τρόποι συμπλοκοποίησης (μονοδοντικός, διδοντικός γεφυρωτικός, συμπλοκοποίηση υπό μορφή μονοατομικής γέφυρας) του υποστρώματος στο ενεργό κέντρο της ουρεάσης.

Ο *τρίτος* στόχος της εργασίας μας είναι η μελέτη της χημικής δραστηριότητας των διπυρηνικών συμπλόκων (που θα παρασκευαστούν στα πλαίσια των δύο παραπάνω στόχων) με υδροξαμικά οξέα. Τα υδροξαμικά οξέα είναι η πιο γνωστή κατηγορία αναστολέων του ενζύμου (βλέπε παράγραφο 5 του υποκεφ. Γ₆). Ενδιαφερόμαστε κυρίως να μοντελοποιήσουμε τον τρόπο συμπλοκοποίησης του ακετοϋδροξαμάτο (-1) ιόντος που διαπιστώθηκε πρόσφατα στις δομές KAU και BPU παρουσία του αναστολέα. Ο τρόπος συμπλοκοποίησης του αναστολέα και η δομή των διπυρηνικών συμπλόκων του μπορούν να συμβάλλουν στη συζήτηση που υπάρχει σήμερα στην επιστημονική κοινότητα για το μηχανισμό αναστολής του ενζύμου.

III. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Δ. ΑΡΧΙΚΑ ΥΛΙΚΑ

Το άλας του Ni(II) που χρησιμοποιήθηκε ως αρχικό αντιδραστήριο ήταν το $\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ το οποίο προήλθε από εμπορική πηγή (Aldrich).

Τα οργανικά οξέα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τα Cl_3CCOOH και Ph_3CCOOH τα οποία αγοράστηκαν από εμπορικές πηγές (Merck, Aldrich).

Η tmen, η bpy και η diMebpy αγοράστηκαν από την εταιρεία Aldrich, ενώ η py και η phen από την εταιρεία Merck.

Το BHA προήλθε από την εταιρεία Aldrich.

Όλες οι διεργασίες έγιναν στην ατμόσφαιρα. Όλοι οι οργανικοί διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν προήλθαν από εμπορικές πηγές και δεν υπέστησαν προηγούμενο καθαρισμό, ενώ το H_2O που χρησιμοποιήθηκε ήταν απιονισμένο.

Ε. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ

E1. Προϊόντα των Συστημάτων Αντίδρασης $\text{Ni}^{\text{II}}/\text{MeCO}_2^-/\text{bpy}$, diMe bpy , phen

$[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{bpy})_2](\text{ClO}_4)$ (1)

Σε 5 ml MeOH προστέθηκε $\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.25 g, 1.0 mmol) και αφέθηκε υπό μαγνητική ανάδευση και ήπια θέρμανση για 10 min περίπου. Στο τέλος των 10 min σχηματίστηκε πράσινο (ανοικτό) διάλυμα (Α). Σε 5 ml MeOH προστέθηκε bpy (0.32 g, 2.0 mmol) και με ήπια θέρμανση υπό μαγνητική ανάδευση σχηματίστηκε γρήγορα άχρωμο διάλυμα (Β). Σε 5 ml MeOH προστέθηκε NaClO_4 (0.12 g, 1.0 mmol) και με ήπια θέρμανση υπό μαγνητική ανάδευση σχηματίστηκε αμέσως άχρωμο διάλυμα (Γ). Ακολούθησε προσθήκη υπό ανάδευση του διαλύματος Β στο Α οπότε προέκυψε μπλε σκούρο διάλυμα. Στο προκύπτον διάλυμα έγινε προσθήκη του Γ και ελήφθη διαυγές βιολετί διάλυμα. Μετά από υγρή διάχυση διπλάσιου όγκου μίγματος $\text{Et}_2\text{O}/n\text{-hexane}$ (50:50, v/v) στο διάλυμα της αντίδρασης σχηματίστηκαν βιολετί πρισματικοί κρύσταλλοι, κατάλληλοι για κρυσταλλογραφικές μελέτες. Οι κρύσταλλοι συλλέχθηκαν με διήθηση υπό κενό, εκπλύθηκαν με Et_2O (2x5 ml) και ξηράθηκαν στον αέρα. Απόδοση 0.22 g (~43%). Αναλυτικά δεδομένα: C 50.15, H 3.46, N 10.38, Ni 12.09%. Υπολογισμένες τιμές για τύπο $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{ClN}_4\text{NiO}_6$: C 49.85, H 3.58, N 10.57, Ni 11.08%. IR (KBr, cm^{-1}): 3428 (wb), 3110 (w), 2360(m), 2016(w), 1640(m), 1602(s), 1558(s), 1538(s), 1492(w), 1444(s), 1316(vs), 1250(m), 1224(w), 1160(s), 1092(vs), 1016(m), 974(w), 944(m), 896(w), 766(vs), 736(s), 682(s), 654(m), 622(vs).

Η παραπάνω πορεία, με μόνη διαφορά τη χρησιμοποίηση αναλογίας $\text{bpy}:\text{Ni}^{\text{II}}$ ίσης με 1:1 έδωσε το ίδιο προϊόν.

$[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{bpy})_2(\text{H}_2\text{O})](\text{MeCO}_2) \cdot 3\text{CHCl}_3$ (2)

Σε 15 ml CHCl_3 προστέθηκε bpy (0.16 g, 1.0 mmol) υπό μαγνητική ανάδευση και προέκυψε άχρωμο διάλυμα. Ακολούθησε προσθήκη $\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.12 g, 0.5 mmol) το οποίο διαλύθηκε υπό ανάδευση και βρασμό με κάθετο ψυκτήρα (reflux) για 1 h, δίνοντας σκούρο πράσινο διαυγές

διάλυμα. Μετά από υγρή διάχυση του προκύπτοντος διαλύματος με διπλάσιο όγκο Et₂O προέκυψαν πράσινοι πρισματικοί κρύσταλλοι κατάλληλοι για κρυσταλλογραφικές μελέτες. Οι κρύσταλλοι συλλέχθηκαν με διήθηση υπό κενό, εκπλύθηκαν με Et₂O (2x4 ml) και ξηράθηκαν στον αέρα. Απόδοση 0.14 g (~34%). Το δείγμα που στάλθηκε για στοιχειακή ανάλυση έδειξε τύπο [Ni(O₂CMe)(bpy)₂(H₂O)](MeCO₂). Αναλυτικά δεδομένα: C 56.54, H 4.83, N 11.26, Ni 10.71%. Υπολογισμένες τιμές για τύπο C₂₄H₂₄N₄NiO₅: C 56.83, H 4.73, N 11.05, Ni 11.58%. IR (KBr, ν/cm⁻¹): 3382 (wb), 2360 (w), 1632 (w), 1600 (m), 1568 (m), 1542 (m), 1494 (m), 1476 (s), 1446 (sh), 1414 (w), 1318 (s), 1252 (w), 1224 (w), 1160 (m), 1106 (w), 1060 (m), 1026 (s), 944 (m), 772 (vs), 736 (s), 684 (m), 656 (m), 636 (w).

Η παραπάνω πορεία, με μόνη διαφορά τη χρησιμοποίηση αναλογίας bpy:Ni^{II} ίσης με 1:1 έδωσε το ίδιο προϊόν.

[Ni(bpy)₃](ClO₄)₂ (3)

Σε 10 ml MeOH προστέθηκε Ni(O₂CMe)₂·4H₂O (0.12 g, 0.5 mmol) και με μαγνητική ανάδευση και ήπια θέρμανση σχηματίστηκε πράσινο διάλυμα (Α). Σε 10 ml MeOH προστέθηκε bpy (0.24 g, 1.5 mmol) και με μαγνητική ανάδευση υπό ήπια θέρμανση σχηματίστηκε άχρωμο διάλυμα (Β). Σε 10 ml MeOH προστέθηκε NaClO₄ (0.12 g, 1 mmol) και με μαγνητική ανάδευση υπό ήπια θέρμανση σχηματίστηκε άχρωμο διάλυμα (Γ). Ακολούθησε προσθήκη υπό ανάδευση του διαλύματος Β στο Α και προέκυψε μπλε-ανοικτό διάλυμα. Στο διάλυμα αυτό προστέθηκε το Γ και σχηματίστηκε ροζ διάλυμα. Μετά από υγρή διάχυση του προκύπτοντος διαλύματος με διπλάσιο όγκο Et₂O προέκυψαν ροζ βελονοειδείς κρύσταλλοι κατάλληλοι για κρυσταλλογραφικές μελέτες. Οι κρύσταλλοι συλλέχθηκαν με διήθηση υπό κενό, εκπλύθηκαν με Et₂O (2x5 ml) και ξηράθηκαν στον αέρα. Απόδοση 0.13 g (~36%). Αναλυτικά δεδομένα: C 49.87, H 3.21, N 11.72, Ni 9.01%. Υπολογισμένες τιμές για τύπο C₃₀H₂₄Cl₂N₆NiO₈: C 49.60, H 3.30, N 11.57, Ni 8.08%. IR (KBr, ν/cm⁻¹): 3074 (w), 2360 (w), 2008 (w), 1604 (s), 1564 (w), 1494 (m), 1472 (s), 1442 (vs), 1314 (s), 1246 (m), 1220 (w), 1172 (w), 1086 (vs), 1020 (m), 962 (w), 888 (w), 766 (vs), 736 (m), 652 (m), 622 (s).

[Ni(O₂CMe)₂(diMebpy)(H₂O)₂] (4)

Σε 15 ml CHCl₃ προστέθηκε diMebpy (0.09 g, 0.5 mmol) και υπό μαγνητική ανάδευση προέκυψε άχρωμο διάλυμα. Ακολούθησε προσθήκη Ni(O₂CMe)₂·4H₂O (0.12 g, 0.5 mmol) και βρασμός υπό μαγνητική ανάδευση με κάθετο ψυκτήρα (reflux) για 1 h, δίνοντας γαλαζοπράσινο διαυγές διάλυμα. Μετά από υγρή διάχυση του διαλύματος της αντίδρασης με διπλάσιο όγκο Et₂O προέκυψαν γαλαζοπράσινοι κρύσταλλοι κατάλληλοι για κρυσταλλογραφικές μελέτες. Οι κρύσταλλοι συλλέχθηκαν με διήθηση υπό κενό, εκπλύθηκαν με Et₂O (2x4 ml) και ξηράθηκαν στον αέρα. Απόδοση 0.05 g (~29%). Αναλυτικά δεδομένα: C 48.12, H 5.46, N 7.11, Ni 15.7%. Υπολογισμένες τιμές για τύπο C₁₆H₂₂N₂NiO₆: C 48.39, H 5.54, N 7.05, Ni 14.79%. IR (KBr, ν/cm⁻¹): 3332 (wb), 2926 (mb), 2360 (m), 1616 (s), 1560 (vs), 1416 (vs), 1340 (w), 1242 (m), 1100 (w), 1046 (w), 1018 (s), 918 (m), 842 (s), 740 (w), 660 (s), 552 (w), 520 (m).

[Ni(O₂CMe)(diMebpy)₂](ClO₄) · MeOH (5)

Σε 5 ml MeOH προστέθηκε Ni(O₂CMe)₂·4H₂O (0.12 g, 0.5 mmol) και με μαγνητική ανάδευση υπό ήπια θέρμανση σχηματίστηκε πράσινο διάλυμα (Α). Σε 20 ml MeOH και 10 ml EtOH προστέθηκε diMebpy (0.18 g, 1.0 mmol) και ακολούθησε θέρμανση υπό μαγνητική ανάδευση. Η ποσότητα diMebpy δεν διαλύθηκε ολόκληρη. Ακολούθησε διήθηση με πτυχωτό ηθμό και προέκυψε άχρωμο διήθημα (διάλυμα Β). Σε 5 ml MeOH προστέθηκε NaClO₄ (0.06 g, 0.5 mmol) και με μαγνητική ανάδευση υπό ήπια θέρμανση σχηματίστηκε άχρωμο διάλυμα (Γ). Ακολούθησε προσθήκη του διαλύματος Β στο Α και προέκυψε μπλε διάλυμα. Στο νέο διάλυμα προστέθηκε το διάλυμα Γ και δεν παρατηρήθηκε καμιά χρωματική αλλαγή. Μετά από υγρή διάχυση του διαλύματος της αντίδρασης με διπλάσιο όγκο n-hexane σχηματίστηκαν καλοσχηματισμένοι πορφυροί κρύσταλλοι κατάλληλοι για κρυσταλλογραφικές μελέτες. Οι κρύσταλλοι συλλέχθηκαν με διήθηση υπό κενό, εκπλύθηκαν με Et₂O (2x5 ml) και ξηράθηκαν στον αέρα. Απόδοση 0.12 (~42%). Το δείγμα που στάλθηκε για στοιχειακή ανάλυση αναλύθηκε ως [Ni(O₂CMe)(diMebpy)₂](ClO₄). Αναλυτικά δεδομένα: C 53.60, H 4.72, N 9.41, Ni 11.02%. Υπολογισμένες τιμές για τύπο C₂₆H₂₇ClN₄NiO₆: C 53.31, H 4.61, N

9.56, Ni 10.03%. IR (KBr, ν/cm^{-1}): 3492 (wb), 3068 (m), 2924 (w), 2360 (w), 2012 (w), 1754 (w), 1618 (vs), 1560 (s), 1536 (s), 1488 (s), 1450 (s), 1410 (sh), 1378 (w), 1306 (m), 1286 (w), 1244 (m), 1204 (w), 1094 (vs), 1022 (m), 940 (m), 910 (m), 844 (s), 824 (s), 740 (w), 676 (s), 622 (vs), 554 (s), 516 (vs).

Η παραπάνω πορεία, με μόνη διαφορά τη χρησιμοποίηση αναλογίας $\text{diMebrpy:Ni}^{\text{II}}$ ίσης με 1:1 έδωσε το ίδιο προϊόν.

[Ni(O₂CMe)(phen)₂](ClO₄) (6)

Σε 5 ml MeOH προστέθηκε $\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.12 g, 0.5 mmol) και με μαγνητική ανάδευση υπό ήπια θέρμανση σχηματίστηκε πράσινο διάλυμα (A). Σε 10 ml MeOH προστέθηκε $\text{phen} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0.20 g, 1.0 mmol) και με μαγνητική ανάδευση προέκυψε άχρωμο διάλυμα (B). Σε 5 ml MeOH προστέθηκε NaClO_4 (0.06 g, 0.5 mmol) και σχηματίστηκε άχρωμο διάλυμα. Ακολούθησε προσθήκη του διαλύματος B στο A και προέκυψε πορφυρό διαυγές διάλυμα. Στο διάλυμα αυτό προστέθηκε το διάλυμα Γ και το νέο διάλυμα είχε χρώμα πορφυρό-ροζ. Μετά από υγρή διάχυση του διαλύματος της αντίδρασης με διπλάσιο όγκο Et_2O σχηματίστηκαν καλοσχηματισμένοι πορφυροί κρύσταλλοι κατάλληλοι για κρυσταλλογραφικές μελέτες. Οι κρύσταλλοι συλλέχθηκαν με διήθηση υπό κενό, εκπλύθηκαν με Et_2O (2x4 ml) και ξηράθηκαν στον αέρα. Απόδοση 0.12 g (~44%). Αναλυτικά δεδομένα: C 54.31, H 3.25, N 9.88, Ni 10.99%. Υπολογισμένες τιμές για τύπο $\text{C}_{26}\text{H}_{19}\text{ClN}_4\text{NiO}_6$: C 54.05, H 3.29, N 9.70, Ni 10.16%. IR (KBr, ν/cm^{-1}): 3562 (wb), 3430 (wb), 3066 (m), 2616 (w), 2294 (w), 2010 (w), 1818 (w), 1626 (s), 1606 (w), 1586 (s), 1536 (m), 1518 (s), 1456 (s), 1426 (vs), 1342 (s), 1308 (w), 1258 (w), 1226 (s), 1146 (s), 1096 (vs), 948 (w), 870 (m), 850 (vs), 778 (s), 726 (vs), 684 (s), 644 (w), 624 (vs), 502 (w).

Η παραπάνω πορεία, με μόνη διαφορά τη χρησιμοποίηση αναλογίας $\text{phen:Ni}^{\text{II}}$ ίσης με 1:1 έδωσε το ίδιο προϊόν.

E2. Διμερή Σύμπλοκα $\text{Ni}^{\text{II}}/\text{RCO}_2^-/\text{N-δότες}/\text{H}_2\text{O}$

[Ni₂(O₂CCOI₃)₄(OH₂)(tmen)₂] (7)

Σε 5 ml H₂O προστέθηκε Ni(O₂CMe)₂·4H₂O (0.49 g, 2.0 mmol) και με μαγνητική ανάδευση υπό ήπια θέρμανση σχηματίστηκε ανοικτό πράσινο διάλυμα (Α). Σε 10 ml EtOH προστέθηκε Cl₃CCOOH (0.65 g, 4.0 mmol) και με μαγνητική ανάδευση σχηματίστηκε άχρωμο διάλυμα (Β). Σε 10 ml EtOH προστέθηκε tmen (0.30 ml, 2.0 mmol) και με μαγνητική ανάδευση σχηματίστηκε άχρωμο διαυγές διάλυμα (Γ). Ακολούθησε αργή προσθήκη του διαλύματος Β+Γ στο διάλυμα Α υπό μαγνητική ανάδευση και ήπια θέρμανση και σχηματίστηκε πράσινο διαυγές διάλυμα. Το διάλυμα αφέθηκε για αργή εξάτμιση σε θερμοκρασία δωματίου και σχηματίστηκαν πράσινοι πρισματικοί κρύσταλλοι, κατάλληλοι για κρυσταλλογραφικές μελέτες. Οι κρύσταλλοι συλλέχθηκαν με διήθηση υπό κενό και ξηράνθηκαν σε ξηραντήρα κενού υπεράνω CaCl₂. Απόδοση 0.21 g (~42%). Αναλυτικά δεδομένα: C 23.87, H 3.26, N 5.66, Ni 12.24%. Υπολογισμένες τιμές για τύπο C₂₀H₃₄Cl₁₂N₄Ni₂O₉: C 23.58, H 3.34, N 5.50, Ni 11.53%. IR (KBr, ν/cm⁻¹): 3024 (w), 2988 (w), 2894 (w), 2808 (w), 2358 (w), 2088 (wb), 1714 (vs), 1688 (w), 1636 (w), 1476 (s), 1442 (w), 1352 (vs), 1286 (m), 1244 (w), 1196 (w), 1170 (w), 1124 (w), 1062 (w), 1046 (w), 1022 (m), 1010 (w), 954 (s), 836 (vs), 804 (s), 772 (w), 730 (vs), 682 (vs), 590 (w), 502 (w).

[Ni₂(O₂CCPh₃)₄(OH₂)(py)₄] · MeOH (8)

Σε 20 ml MeOH και 2 ml H₂O προστέθηκε Ni(O₂CMe)₂·4H₂O (0.12 g, 0.5 mmol) και ακολούθησε βρασμός υπό μαγνητική ανάδευση με κάθετο ψυκτήρα (reflux) για 45 min. Το μίγμα είχε χρώμα πράσινο, ενώ παράμεινε αρκετή ποσότητα Ni(O₂CMe)₂·4H₂O αδιάλυτη. Ακολούθησε προσθήκη Ph₃CCOOH (0.28 g, 1.0 mmol) και py (0.04 ml, 0.5 mmol) και ο βρασμός συνεχίστηκε για 20 min, οπότε σχηματίστηκε πράσινο-γαλάζιο διαυγές διάλυμα. Το διάλυμα αφέθηκε πρώτα για ψύξη και εν συνεχεία για αργή εξάτμιση σε θερμοκρασία δωματίου, οπότε σχηματίστηκαν πράσινοι-γαλάζιοι πρισματικοί κρύσταλλοι κατάλληλοι για κρυσταλλογραφικές μελέτες. Οι κρύσταλλοι συλλέχθηκαν με διήθηση και ξηράνθηκαν σε ξηραντήρα κενού υπεράνω CaCl₂ για 24 h. Απόδοση 0.24 g (~29%). Η ποσοτική ανάλυση του ξηρανθέντος δείγματος έδειξε τον τύπο [Ni₂(O₂CCPh₃)₄(py)₄(H₂O)]. Αναλυτικά δεδομένα: C 75.27, H 5.03, N 3.19, Ni 8.02%. Υπολογισμένες τιμές για τύπο C₁₀₀H₈₂N₄Ni₂O₉: C 75.02, H 5.12, N 3.50, Ni 7.34%. IR (KBr, ν/cm⁻¹): 3450 (wb), 3054 (s), 2360

(w), 2070 (wb), 1956 (w), 1818 (w), 1714 (w), 1632 (s), 1602 (m), 1574 (w), 1560(sh), 1488 (s), 1444 (s), 1368 (s), 1218 (s), 1186 (m), 1150 (m), 1070 (s), 1040 (s), 1002 (w), 968 (w), 944 (w), 904 (m), 786 (s), 754 (s), 740 (s), 698 (s), 672 (s), 646 (s), 630 (m), 622 (w), 606 (s), 530 (w).

E3. Διμερή Καρβοξυλάτο Σύμπλοκα του Ni(II) με Υποκαταστάτες την tmen και τον Αναστολέα της Ουρεάσης βενζοϋδροξαμικό οξύ (BHA)

$[\text{Ni}_2(\text{BA})_2(\text{O}_2\text{CMe})(\text{tmen})_2](\text{MeCO}_2) \cdot 0.5\text{H}_2\text{O} \cdot \text{EtOH}$ (9)

Σε 3 ml H_2O προστέθηκε $\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.24 g, 1.0 mmol) και με μαγνητική ανάδευση υπό ήπια θέρμανση σχηματίστηκε ανοικτό πράσινο διάλυμα (Α). Σε 9 ml EtOH προστέθηκε tmen (0.15 ml, 1.0 mmol) και Cl_3CCOOH (0.16 g, 1 mmol) και με μαγνητική ανάδευση σχηματίστηκε άχρωμο διάλυμα (Β). Σε 5 ml EtOH προστέθηκε BHA (0.13 g, 1.0 mmol) και με μαγνητική ανάδευση σχηματίστηκε διάλυμα (Γ). Ακολούθησε προσθήκη του διαλύματος Β στο Γ υπό μαγνητική ανάδευση και προέκυψε άχρωμο διαυγές διάλυμα, το οποίο αφέθηκε υπό ανάδευση για 10 min. Το διάλυμα αυτό προστέθηκε υπό μαγνητική ανάδευση στάγδην στο διάλυμα Α και προέκυψε πράσινο διάλυμα, το οποίο αφέθηκε για αργή εξάτμιση οπότε σχηματίστηκαν πράσινοι καλοσχηματισμένοι κρύσταλλοι κατάλληλοι για κρυσταλλογραφικές μελέτες. Οι κρύσταλλοι συλλέχθηκαν με διήθηση και ξηράθηκαν σε ξηραντήρα κενού υπεράνω CaCl_2 για 24 h. Απόδοση 0.09 g (~24%). Αναλυτικά δεδομένα: C 48.61, H 7.28, N 10.33, Ni 13.86%. Υπολογισμένες τιμές για τύπο $\text{C}_{32}\text{H}_{57}\text{N}_6\text{NiO}_{9.5}$: C 48.33, H 7.17, N 10.57, Ni 14.77%. IR (KBr, v/cm^{-1}): 3462 (wb), 3230 (mb), 3048 (m), 2988 (m), 2892 (m), 2848 (m), 2808 (m), 1948 (w), 1694 (m), 1614 (s), 1588 (s), 1490 (sh), 1464 (s), 1430 (s), 1330 (m), 1290 (s), 1150 (s), 1130 (m), 1104 (s), 1064 (s), 1026 (vs), 958 (vs), 940 (w), 910 (vs), 884 (m), 802 (vs), 786 (m), 772 (w), 692 (vs), 672 (s), 652 (w), 614 (vs), 532 (m), 464 (m).

Το σύμπλοκο **9** παρασκευάζεται και από την αντίδραση ενός ισοδύναμου $\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ με ένα ισοδύναμο tmen και ένα ισοδύναμο BHA σε EtOH/ H_2O .

ΣΤ. ΔΟΜΙΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ

Στον Πίνακα 5 υπάρχουν κρυσταλλογραφικά δεδομένα και πληροφορίες από τη συλλογή των δεδομένων και την επίλυση των δομών των συμπλόκων **1**, **7**, **8** και **9**.

Οι κρυσταλλικές δομές που παρουσιάζονται στην παρούσα διατριβή επιλύθηκαν στο Ινστιτούτο Επιστήμης Υλικών του ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», Αγία Παρασκευή Αττικής. Τα περιθλασίμετρα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν Syntex P2₁, Nicolet P2₁ και Crystal Logic Dual Goniometer.

Ο χειρισμός των κρυστάλλων πραγματοποιήθηκε στον αέρα με εξαίρεση το σύμπλοκο **2** που τοποθετήθηκε σε τριχοειδές σώληνριο με σταγόνες του μητρικού υγρού για να αποφευχθεί η απώλεια του συγκρυσταλλωμένου διαλύτη. Τα δεδομένα συλλέχθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου.

Οι διαστάσεις της μοναδιαίας κυψελίδας προσδιορίστηκαν και βελτιστοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας τις γωνιακές τοποθετήσεις 25 αυτόματα κεντραρισμένων ανακλάσεων στην περιοχή $11^\circ < 2\theta < 23^\circ$. Τα δεδομένα έντασης συλλέχθηκαν συλλέχθηκαν χρησιμοποιώντας την τεχνική σάρωσης θ - 2θ . Τρεις συγκεκριμένες ανακλάσεις μετρήθηκαν για κάθε 97 συλλεγόμενες και έδειξαν μεταβολή μικρότερη από 3% και καθόλου διάσπαση. Η πόλωση Lorentz και η διόρθωση απορρόφησης με την εμπειρική μέθοδο ψ -scan έγιναν χρησιμοποιώντας προγράμματα της Crystal Logic.

Οι δομές επιλύθηκαν με τις άμεσες μεθόδους χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα SHELXS-86 και βελτιστοποιήθηκαν με τεχνικές ελαχίστων τετραγώνων πλήρης μήτρας χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα SHELXL-93. Στα σύμπλοκα **7** και **8** όλα τα μη-υδρογονικά άτομα βελτιστοποιήθηκαν ανισοτροπικά, ενώ στο **9** μόνο τα μόρια του διαλύτη βελτιστοποιήθηκαν ισοτροπικά (τα υπόλοιπα βελτιστοποιήθηκαν ανισοτροπικά). Στο σύμπλοκο **7** όλα τα άτομα H εντοπίστηκαν στους χάρτες ηλεκτρονικής πυκνότητας σύνθεσης διαφορών Fourier και οι θέσεις τους βελτιστοποιήθηκαν ισοτροπικά. Στο σύμπλοκο **8** όλα τα άτομα H τοποθετήθηκαν σε υπολογισμένες ιδανικές θέσεις, ενώ τέλος στο σύμπλοκο **9** μερικά άτομα H εντοπίστηκαν και βελτιστοποιήθηκαν ισοτροπικά ενώ τα περισσότερα τοποθετήθηκαν σε υπολογισμένες ιδανικές θέσεις.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5. Κρυσταλλογραφικά δεδομένα και πληροφορίες από τη συλλογή των δεδομένων και την επίλυση των δομών των συμπλόκων $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{bpy})_2](\text{ClO}_4)$ (**1**), $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CCCl}_3)_4(\text{OH}_2)(\text{tmen})_2]$ (**7**), $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CCPh}_3)_4(\text{OH}_2)(\text{py})_4] \cdot \text{MeOH}$ (**8**) και $[\text{Ni}_2(\text{BA})_2(\text{O}_2\text{CMe})(\text{tmen})_2](\text{MeCO}_2) \cdot 0.5\text{H}_2\text{O} \cdot \text{EtOH}$ (**9**).

Ένωση	1	7	8	9
Εμπειρικός τύπος	$\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{ClN}_4\text{NiO}_6$	$\text{C}_{40}\text{H}_{72}\text{Cl}_{24}\text{N}_8\text{Ni}_4\text{O}_{18}$	$\text{C}_{101}\text{H}_{86}\text{N}_4\text{Ni}_2\text{O}_{10}$	$\text{C}_{32}\text{H}_{57}\text{N}_6\text{Ni}_2\text{O}_{9.50}$
Τυπικό βάρος	529.58	2038.70	1633.16	795.26
Χρώμα κρυστάλλου	Βιολετί	Πράσινο	Πράσινο-γαλάζιο	Πράσινο
Κρυσταλλικό σύστημα	Μονοκλινές	Μονοκλινές	Μονοκλινές	Ορθορομβικό
Ομάδα συμμετρίας χώρου	$P2_1/c$	$P2_1/c$	$P2_1/n$	$Pnaa$
a (Å)	9.222 (1)	11.292 (7)	13.493 (4)	19.712 (11)
b (Å)	8.339 (1)	26.510 (16)	26.107 (8)	19.907 (12)
c (Å)	14.609 (2)	27.223 (18)	24.374 (8)	20.342 (13)
α (°)				
β (°)	102.82 (1)	93.96 (2)	101.37 (1)	
γ (°)				
V (Å ³)	1095.40	8129.5 (90)	8418 (5)	7982.1 (82)
Z	2	4	4	8
$D_{\text{υπολ.}}$ (g cm ⁻³)	1.606	1.666	1.289	1.324

Ακτινοβολία (λ , Å)	Mo-K α (0.71073)	Mo-K α (0.7103)	Mo-K α (0.71073)	Mo-K α (0.71073)
F (000)		4128	3424	3384
μ (mm ⁻¹)	1.058	1.761	0.511	0.999
$2\theta_{\max}$ (°)	45.0	44.3	43.5	47.0
Ταχύτητα σάρωσης (° min ⁻¹)	6.0	2.2	2.0	2.2
Ανακλάσεις που συλλέχθηκαν	2661	10405	10263	5572
Μοναδικές ανακλάσεις	1438	10153	9977	5558
Αριθμός παραμέτρων που βελτιστοποιήθηκαν	α	1126	1400	518
$(\Delta\rho)_{\max}, (\Delta\rho)_{\min}$ (e Å ⁻³)	0.3 / α	0.425, -0.719	0.492, -0.527	1.465, -0.761
GOF ^β		1.055	1.081	1.068 ^γ
R1 ^{γ, δ}		0.0972	0.0753	0.1580
wR2 ^{γ, δ}		0.1723	0.1424	0.3067
R ^ε	0.272			
R _w ^ε	0.315			

^α Δεν αναφέρθηκαν. ^β Η μέθοδος βελτιστοποίησης βασίζεται στο F^2 . ^γ Το R1 βασίζεται στις τιμές F , ενώ το wR2 στις τιμές F^2 .

^δ Οι τιμές αυτές είναι για τις ανακλάσεις που χρησιμοποιήθηκαν. ^ε Οι τιμές αυτές είναι βασισμένες στα F .

Z. ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΑ ΦΥΣΙΚΩΝ ΚΑΙ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ

Τα IR φάσματα όλων των ενώσεων στην περιοχή 4000-450 cm^{-1} καταγράφηκαν με φασματόμετρο Fourier transform (FT) Perkin-Elmer 16 PC. Χρησιμοποιήθηκε η τεχνική των διάφανων δισκίων με φασματοσκοπικό KBr.

Οι καμπύλες TG, DTG και DTA ελήφθησαν με όργανο TA SDT 2960. Χρησιμοποιήθηκε ροή ξηρού N_2 (50 ml min^{-1}). Τα βάρη των δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν ήταν της τάξεως των 5 mg. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στο Laboratorium Anorganische Scheikunde, Rijksuniversitair Centrum Antwerpen, Belgium.

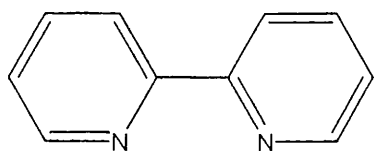
Οι στοιχειακές αναλύσεις C, H και N πραγματοποιήθηκαν στο μικροαναλυτικό Εργαστήριο του Χημικού Τμήματος του Πανεπιστημίου της Φλωρεντίας, στην Ιταλία.

Το Ni(II) προσδιορίστηκε σταθμικά με τη μέθοδο της διμεθυλογλυοξίμης⁵¹.

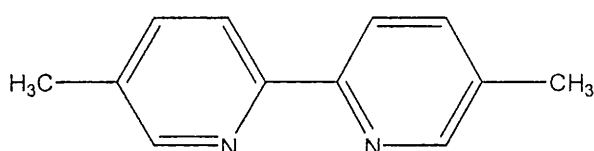
IV. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η. Η ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ

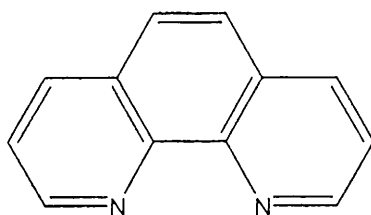
Ύστερα από κρυσταλλογραφική διευκρίνιση της δομής του ενεργού κέντρου της ουρεάσης^{23,24} έγινε φανερό ότι η σύνθεση δομικών μοντέλων αποτελεί μια πολύ δύσκολη υπόθεση. Ο πρώτος στόχος μας ήταν η παρασκευή διπυρηνικών ενώσεων του Ni(II) στις οποίες το περιβάλλον του μετάλλου να αποτελείται αποκλειστικά από καρβοξυλάτο άτομα οξυγόνου και άτομα-δότες αζώτου. Ως «πηγή» των ιόντων RCO_2^- χρησιμοποιήθηκε το $\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, ενώ για την παροχή των ατόμων αζώτου χρησιμοποιήθηκαν αρχικά υποκαταστάτες που δρουν διδοντικά χηλικά όπως η 2,2'-διπυριδίνη (bpy, **XXX**), η 4,4'-διμεθυλοδιπυριδίνη (diMe₂bpy, **XXXI**) και η 1,10-φαινανθρολίνη (phen, **XXXII**). Η επιλογή αυτών των υποκαταστατών έγινε με βάση προηγούμενη εμπειρία του Εργαστηρίου μας και βιβλιογραφία^{52,53}. Τα μόρια bpy, diMe₂bpy και phen θεωρούνται ιδανικοί υποκαταστάτες για την αποφυγή λήψης πολυμερών και την απομόνωση διμερών εφόσον καταλαμβάνουν δύο θέσεις ένταξης ανά μεταλλοϊόν (για να γίνει αυτό πρέπει η γραμμομοριακή αναλογία υποκαταστάτη: μέταλλο να είναι μικρή, π.χ. 1:1, ώστε να αποφεύγονται μονομερή σύμπλοκα). Όμως, προς



XXX



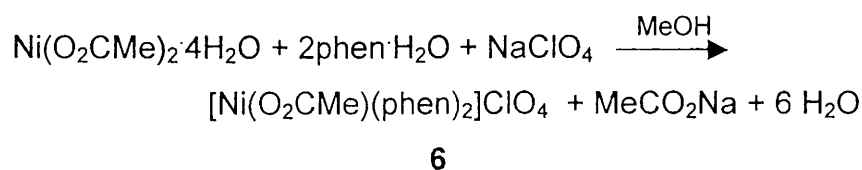
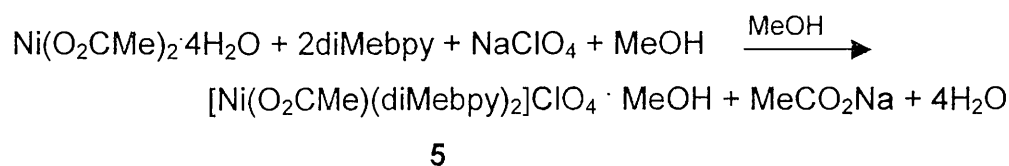
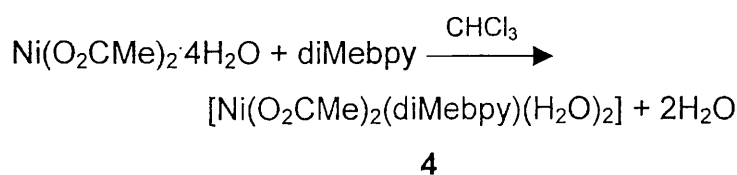
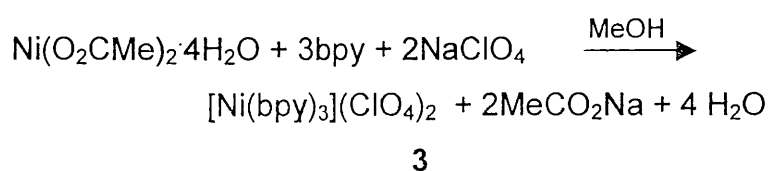
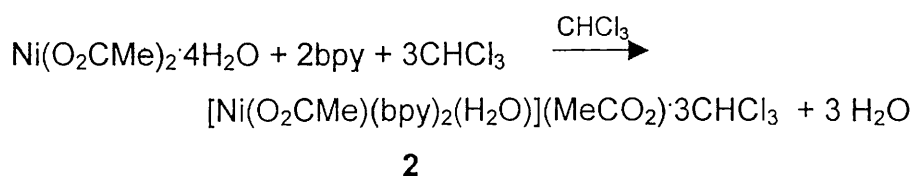
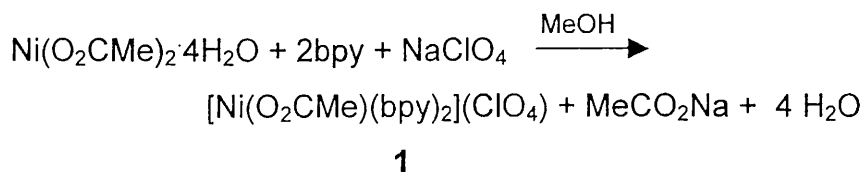
XXXI



XXXII

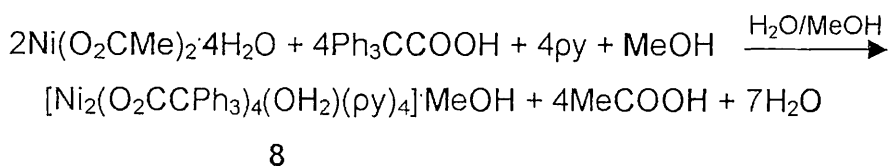
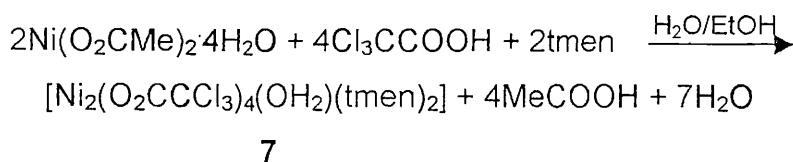
γοήτευση, δεν ήταν εφικτή η παρασκευή διμερών ενώσεων, παρά μόνο μονομερών (Σύμπλοκα 1-6). Οι **στοιχειομετρικές** χημικές εξισώσεις των

αντιδράσεων που οδήγησαν στην απομόνωση των **1-6** φαίνονται παρακάτω. Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι στα σύμπλοκα **1**, **2**, **5** και **6** η αναλογία υποκαταστάτη: Ni^{II} είναι 2:1 παρόλο ότι αρχικά στα πειράματα μας χρησιμοποιήθηκε αναλογία 1:1.



Στην προσπάθειά μας να παρασκευάσουμε διμερή καρβοξυλάτο σύμπλοκα του Ni(II) καταφύγαμε σε εκτεταμένη βιβλιογραφική επισκόπηση³⁹⁻⁶³ και διαπιστώσαμε ότι ο σχηματισμός διμερών ευνοείται κυρίως για RCO₂⁻ = ClCH₂CO₂⁻, Cl₂CHCO₂⁻, ClCH₂CH₂CO₂⁻, CH₃CHClCO₂⁻ και Me₃CCO₂⁻. Εμείς χρησιμοποιήσαμε τους «συγγενείς» καρβοξυλάτο υποκαταστάτες Cl₃CCO₂⁻ και Ph₃CCO₂⁻. Τα πειράματα με bpy, diMebpy και phen έδωσαν

μικροκρυσταλλικά στερεά και για αυτό στραφήκαμε στο γνωστό διδοντικό χηλικό υποκαταστάτη τετραμεθυλοαιθυλενοδιαμίνη (tmen). Με τη χρησιμοποίηση του ζεύγους $\text{Cl}_3\text{CCO}_2^-$ / tmen απομονώθηκε το σύμπλοκο 7 υπό μορφή κρυστάλλων. Η επίλυση της δομής του έδειξε ότι ήταν διμερές. Από χημική περιέργεια και προκειμένου να διαπιστώσουμε αν το υπεύθυνο για το διμερισμό ήταν το ογκώδες $\text{Cl}_3\text{CCO}_2^-$ ή η tmen, χρησιμοποιήσαμε στη θέση της τελευταίας διπλάσια ισοδύναμα του μονοδοντικού υποκαταστάτη πυριδίνη (py). Η έλλειψη καλής κρυσταλλικότητας μας οδήγησε να χρησιμοποιήσουμε έναν πιο ογκώδη καρβοξυλάτο υποκαταστάτη. Το ζεύγος $\text{Ph}_3\text{CCO}_2^-$ / py έδωσε κατάλληλους (για κρυσταλλογραφία) κρυστάλλους του διπυρηνικού συμπλόκου 8. Οι χημικές εξισώσεις των αντιδράσεων παρασκευής των 7 και 8 φαίνονται παρακάτω.



Η αντικατάσταση των MeCO_2^- από τα $\text{Cl}_3\text{CCO}_2^-$ στη σφαίρα ένταξης του $\text{Ni}(\text{II})$ είναι συνεπής με τη γνωστή μεγαλύτερη οξύτητα των Cl_3CCOOH ($\text{pK}_a=0.75$) και Ph_3CCOOH ($\text{pK}_a \sim 3.8$) έναντι του MeCOOH ($\text{pK}_a=4.75$). Ο μηχανισμός αντικατάστασης⁶⁴ ενέχει πρωτονίωση των συμπλοκοποιημένων MeCO_2^- από τα πιο όξινα RCOOH ($\text{R}=\text{Cl}_3\text{C}-$, $\text{Ph}_3\text{C}-$) που ακολουθείται από την εκτόπισή τους από τα ιόντα RCO_2^- που δημιουργούνται.

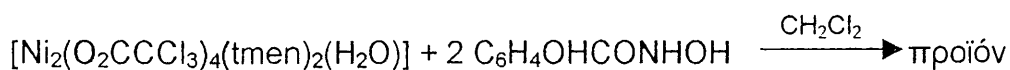
Από τα παραπάνω δεν είναι σαφές ποιός είναι ο παράγοντας που οδηγεί στα διμερή. Είναι πιθανό ότι τα MeCO_2^- δεν ευνοούν το σχηματισμό διμερών συμπλόκων. Στη χημεία ένταξης του $\text{Cu}(\text{II})$ έχει παρατηρηθεί^{65,66} ότι αυξάνοντας την οξύτητα του καρβοξυλικού οξέος και/ή τη βασικότητα του τερματικού N-δότη ευνοείται η τάση σχηματισμού μονομερών συμπλόκων.

Στη χημεία του Ni(II), τουλάχιστον όσον αφορά τα σύμπλοκα που αναφέρθηκαν στην παρούσα συζήτηση, φαίνεται να ισχύει το αντίθετο!

Και τα δύο διμερή σύμπλοκα χαρακτηρίστηκαν με στοιχειακή ανάλυση, κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ και φασματοσκοπία IR. Η μελέτη με κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ αποκάλυψε ότι και στα δύο σύμπλοκα τα ανιόντα RCO_2^- δρουν ως διδοντικοί γεφυρωτικοί ($\mu_2:\eta^1:\eta^1$) και μονοδοντικοί (η^1) υποκαταστάτες. Στο σύμπλοκο **7** η τετραμεθυλοαιθυλενοδιαμίνη συμπεριφέρεται. Και στα δύο σύμπλοκα το μόριο H_2O βρέθηκε στη σπάνια γεφυρωτική του μορφή.

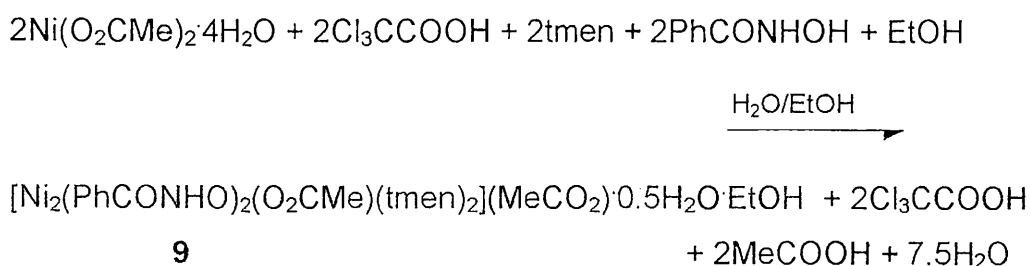
Στη συνέχεια το ενδιαφέρον μας επικεντρώθηκε στη μελέτη της χημικής δραστηριότητας των συμπλόκων **7** και **8** με ουρία και υποκατεστημένες ουρίες, στην προσπάθειά μας να εξάγουμε συμπεράσματα για το μηχανισμό δράσης της ουρεάσης και τον τρόπο συμπλοκοποίησης της ουρίας στο ενεργό κέντρο του ενζύμου που δεν είναι γνωστός. Δηλαδή στην ουσία ενδιαφερόμαστε για τη σύνθεση μοντέλων των ενδιαμέσων του καταλυτικού μηχανισμού της ουρεάσης. Παρά τις εκατοντάδες αντιδράσεις μεταξύ των **7** και **8** και της ουρίας που πραγματοποιήσαμε δεν κατορθώσαμε να απομονώσουμε κάποιο σύμπλοκο που να περιέχει ουρία. Στις αντιδράσεις αυτές μεταβάλαμε αρκετές συνθετικές παραμέτρους, όπως γραμμομοριακή αναλογία των αντιδρώντων, φύση του διαλύτη, θερμοκρασία και χρησιμοποίηση αντισταθμιστικών ιόντων.

Στη συνέχεια στραφήκαμε στη μελέτη της χημικής δραστηριότητας των συμπλόκων **7** και **8** με αναστολείς του ενζύμου (βλ. υποκεφ.Γ6.5), και συγκεκριμένα με υδροξαμικά οξέα με στόχο να συνεισφέρουμε στην κατανόηση του μηχανισμού παρεμπόδισης. Χρησιμοποιήθηκαν τα υδροξαμικά οξέα ακετούδροξαμικό (CH_3CONHOH), βενζοϋδροξαμικό ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CONHOH}$) και σαλικυλοδροξαμικό οξύ ($\text{C}_6\text{H}_4\text{OHCONHNOH}$). Όμως, δεν έγινε εφικτή η απομόνωση μονοκρυστάλλων των προϊόντων και συνεπώς δεν επιτεύχθηκε ο χαρακτηρισμός τους. Σε μία μόνο περίπτωση απομονώθηκαν καλοί κρύσταλλοι, αλλά μετά από κρυσταλλογραφική προκαταρκτική ανάλυση αποδείχθηκαν δίδυμοι και δεν έγινε δυνατός ο χαρακτηρισμός τους. Οι κρύσταλλοι προήλθαν από την εξής αντίδραση:



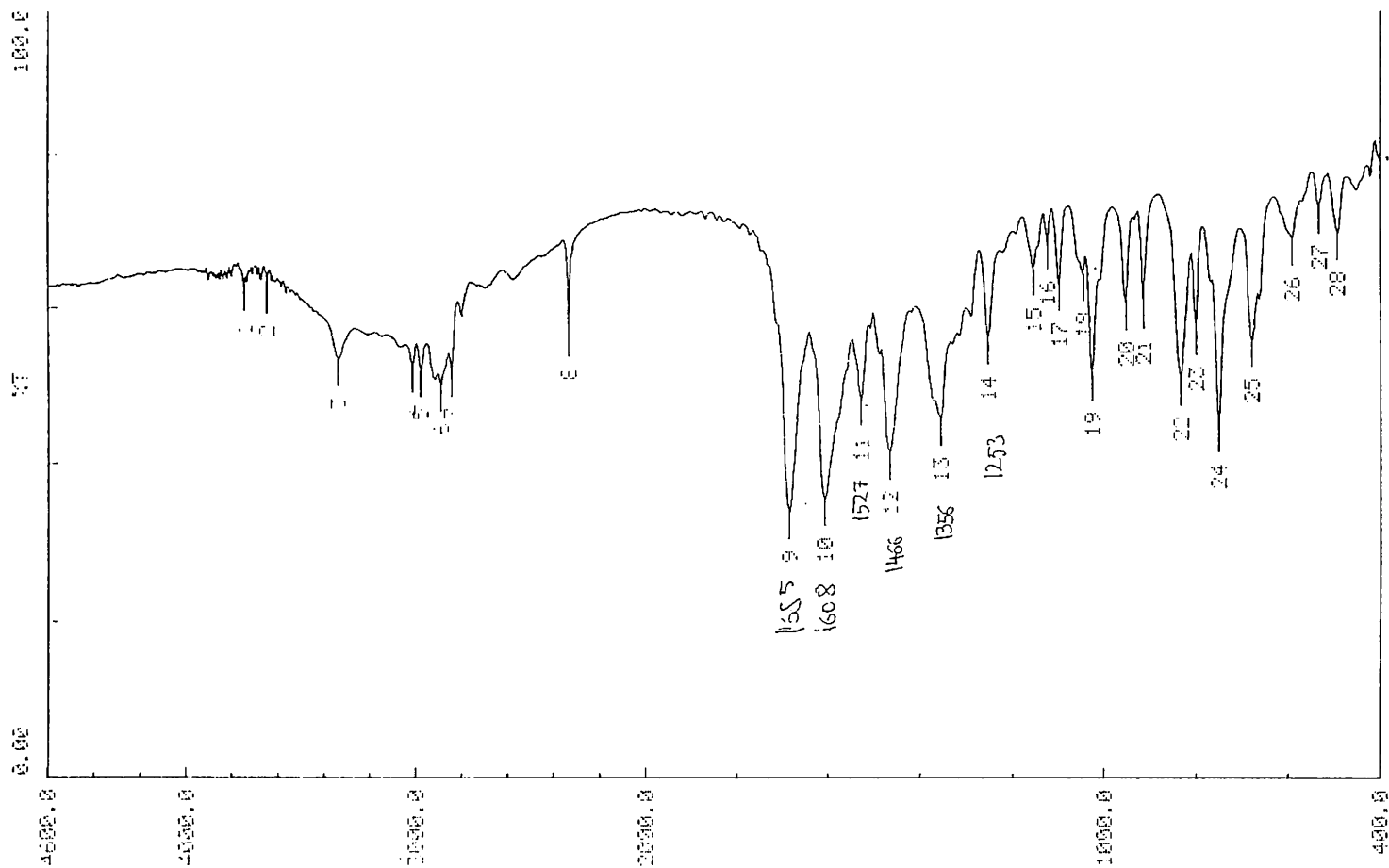
Η στοιχειακή ανάλυση του προϊόντος έδειξε ότι έχει εμπειρικό τύπο $\text{Ni}(\text{Cl}_3\text{CCO}_2)(\text{C}_6\text{H}_4\text{OHCONHO})(\text{tmen})$. Το IR φάσμα της ένωσης φαίνεται στο Σχήμα 27. Η μελέτη του φάσματος δείχνει ότι το προϊόν έχει τους τρεις υποκαταστάτες που υποδεικνύεται από τον εμπειρικό τύπο του.

Εφόσον οι προσπάθειες του δομικού χαρακτηρισμού των προϊόντων από τις αντιδράσεις των 7 και 8 με υδροξαμικά οξέα απέτυχαν, στραφήκαμε σε *in situ* αντιδράσεις ξεκινώντας από $\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Δηλαδή «επαναλάβουμε» τις αντιδράσεις παρασκευής των διμερών παρουσία των αναστολέων. Στις προσπάθειές μας αυτές φανήκαμε πιο τυχεροί και μπορέσαμε να κρυσταλλώσουμε το διπυρηνικό προϊόν της παρακάτω αντίδρασης:



Όπως φαίνεται (τουλάχιστον εκ πρώτης όψεως) τα μόρια του Cl_3CCOOH δεν συμμετέχουν στην αντίδραση! Αυτό χημικά δεν φαίνεται λογικό γιατί τα MeCO_2^- που υπάρχουν στο σύστημα της αντίδρασης θα έπρεπε να πρωτονιωθούν από τα πρωτόνια του Cl_3CCOOH , δεδομένου ότι το δεύτερο είναι πολύ πιο ισχυρό οξύ ($\text{pK}_a=0.75$) από το MeCOOH ($\text{pK}_a=4.75$). Έτσι θα περιμέναμε να έχουν συμπλοκοποιηθεί τα $\text{Cl}_3\text{CCO}_2^-$, κάτι που δε συνέβη. Δεν είμαστε σε θέση να προσφέρουμε κάποια εξήγηση για αυτό, ούτε ήμασταν σε θέση να διερευνήσουμε το μηχανισμό της αντίδρασης. Πάντως εντύπωση προκαλεί το γεγονός ότι ενώ στην αντίδραση παρασκευής του διμερούς **7** (που πραγματοποιήθηκε απουσία αναστολέα) τα Cl_3CO_2^- συμπλοκοποιούνται (αναμενόμενο), στην αντίδραση παρασκευής του **9** δεν συμπλοκοποιούνται (μη-αναμενόμενο).

Όπως είναι φυσικό η αντίδραση του $\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ με ένα ισοδύναμο *tmen* και ένα ισοδύναμο BHA σε $\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$ έδωσε σκόνη του ίδιου συμπλόκου (όπως διαπιστώθηκε από τα φάσματα IR).



Σχήμα 27. Το IR φάσμα της ένωσης με εμπειρικό τύπο $\text{Ni}(\text{Cl}_3\text{CCOO})(\text{C}_6\text{H}_4\text{OHCONHO})(\text{tmen})$.

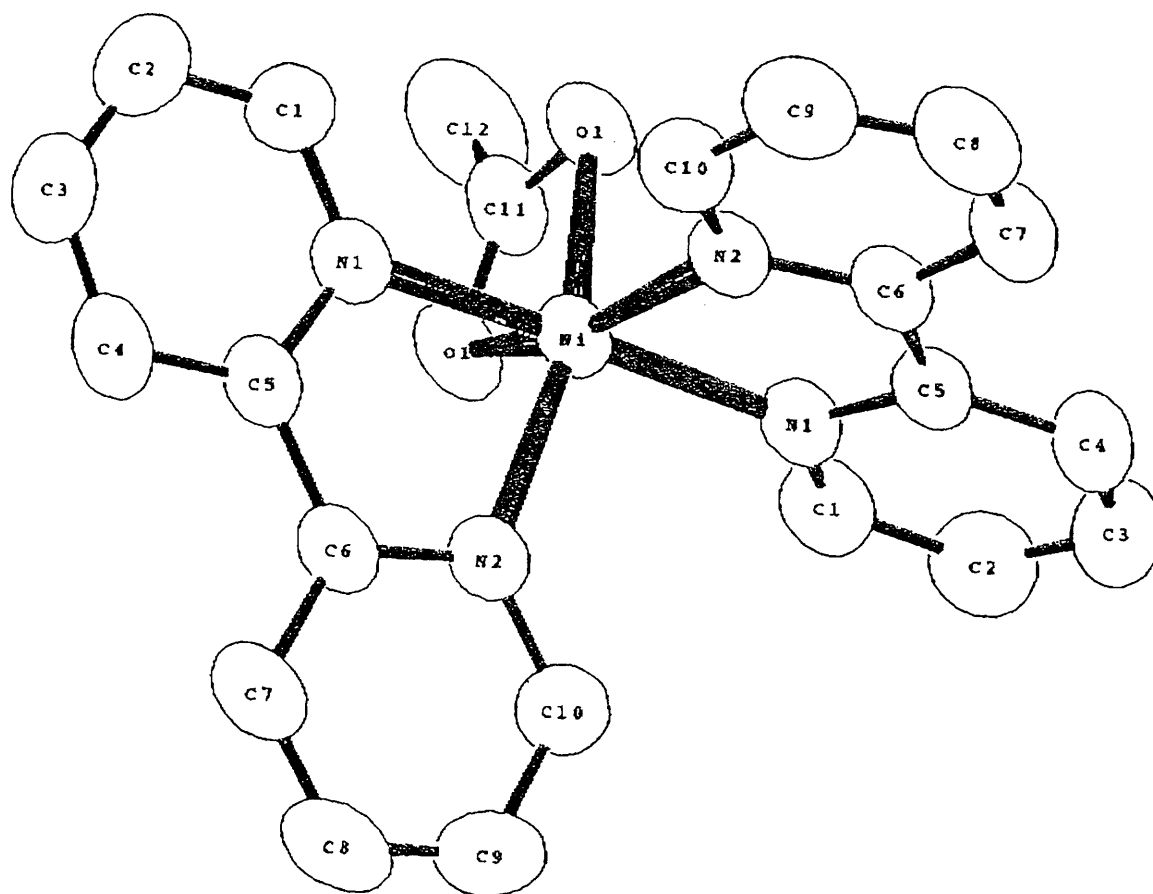
Θ. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΔΟΜΩΝ

Οι δομές των συμπλόκων **1-9** προσδιορίστηκαν με κρυσταλλογραφία Ακτίνων Χ. Επειδή τα *μονοπυρηνικά* σύμπλοκα **1-6** δεν παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον στα πλαίσια της παρούσης εργασίας (βλέπε Μέρος II), η περιγραφή της δομής τους θα γίνει παρακάτω με συνοπτικό τρόπο χωρίς την παράθεση πινάκων με τα μήκη και τις γωνίες δεσμού.

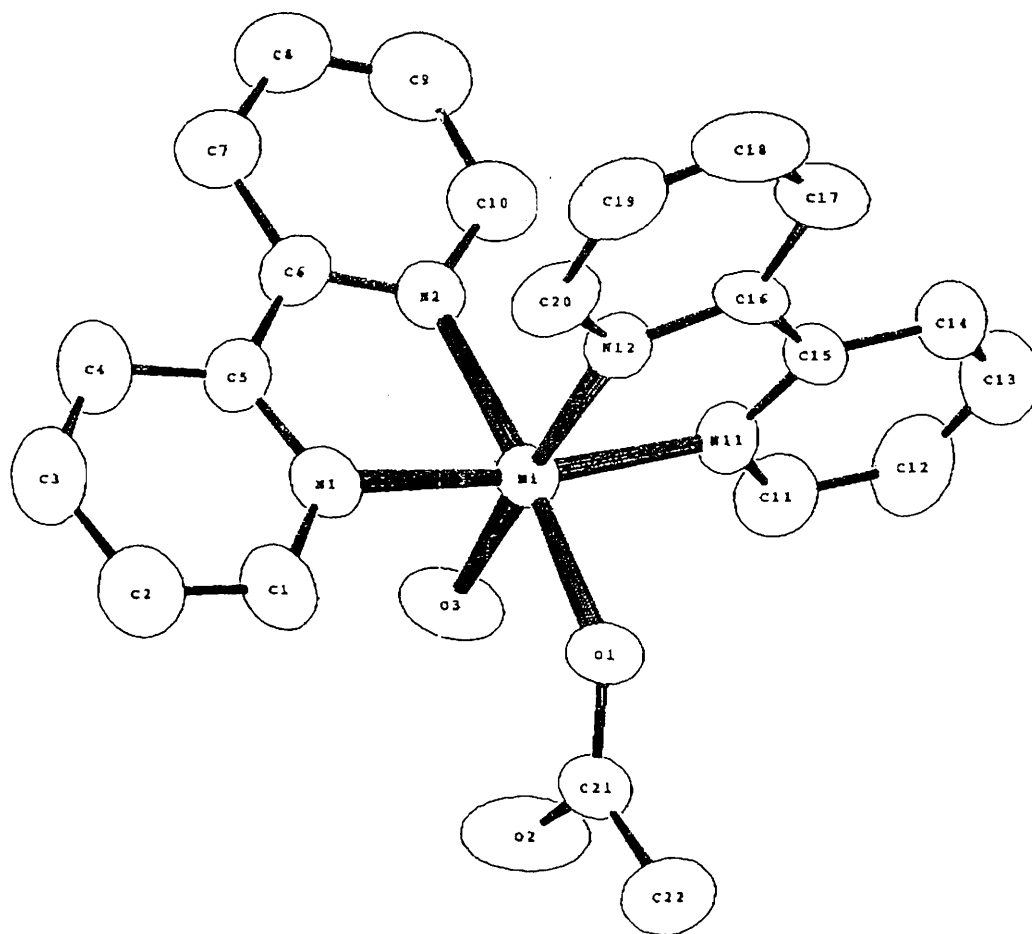
Η μοριακή δομή του κατιόντος $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{bpy})_2]^+$ του συμπλόκου **1** φαίνεται στο Σχήμα 28. Το ιόν Ni^{II} βρίσκεται σε κρυσταλλογραφικό άξονα $2^{\text{ης}}$ τάξης (C_2). Το κατιόν αποτελείται από δύο μόρια bpy τα οποία είναι ενταγμένα με χηλικό τρόπο στο ιόν Ni^{II} , μέσω των δύο ατόμων N. Τη σφαίρα ένταξης του μετάλλου συμπληρώνει ένα MeCO_2^- το οποίο εντάσσεται χηλικά μέσω των δύο ατόμων O. Το $\text{Ni}(\text{II})$ έχει αριθμό ένταξης 6 και η γεωμετρία γύρω από αυτό είναι οκταεδρική. Το φορτίο του κατιόντος αντισταθμίζεται από ένα ανιόν ClO_4^- .

Στο Σχήμα 29 φαίνεται η μοριακή δομή του κατιόντος $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{bpy})_2(\text{H}_2\text{O})]^+$ του συμπλόκου **2**. Το κατιόν περιέχει δύο χηλικά μόρια bpy, ένα μονοδοντικό (η^1) και ένα μόριο H_2O . Ο αριθμός ένταξης του μετάλλου είναι 6. Το φορτίο του κατιόντος αντισταθμίζεται από ένα MeCO_2^- , ενώ υπάρχουν και τρία μόρια διαλύτη CHCl_3 συγκρυσταλλωμένα στο κρυσταλλικό πλέγμα. Οι δομές των συμπλόκων κατιόντων των αλάτων **1** και **2** μπορούν να θεωρηθούν παρόμοιες. Η θέση ένταξης που καταλαμβάνεται από το δεύτερο άτομο O του χηλικού MeCO_2^- στο **1** έχει αντικατασταθεί από ένα μόριο H_2O στο **2**.

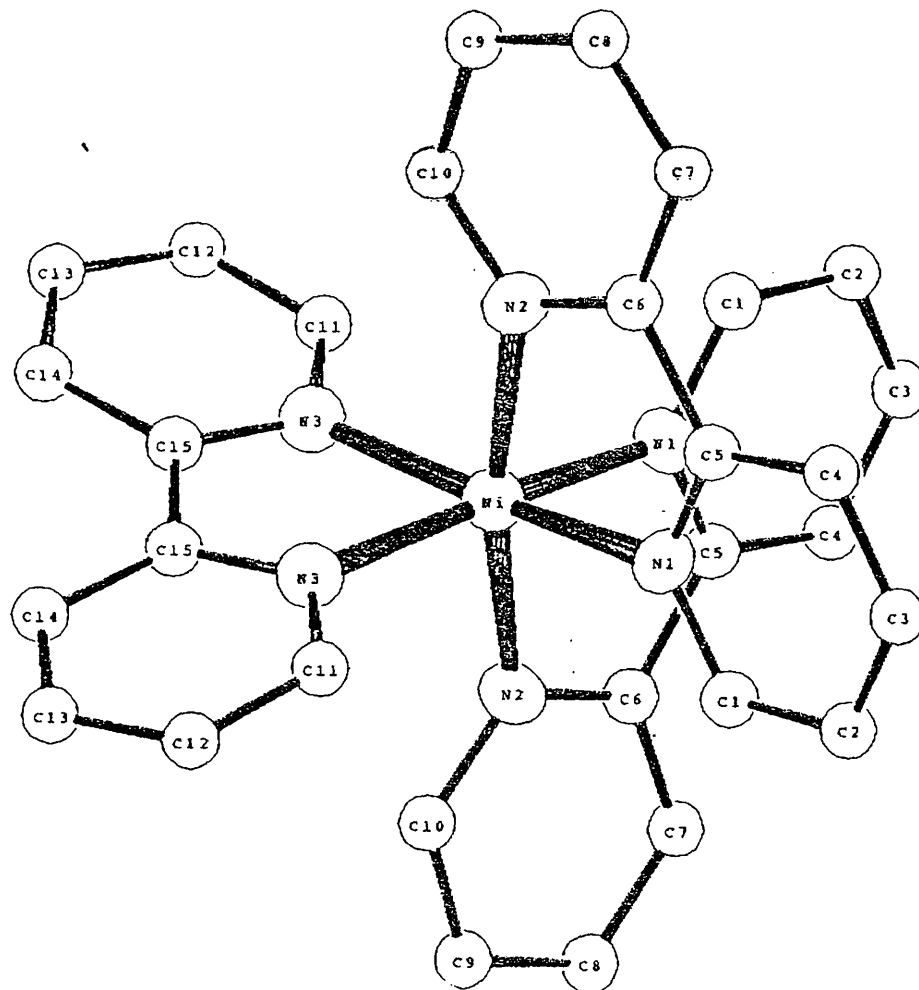
Η μοριακή δομή του κατιόντος $[\text{Ni}(\text{bpy})_3]^{+2}$ του συμπλόκου $[\text{Ni}(\text{bpy})_3](\text{ClO}_4)_2$ (**3**) φαίνεται στο Σχήμα 30. Το κατιόν αποτελείται από τρία μόρια bpy που βρίσκονται ενταγμένα με χηλικό τρόπο στο μεταλλοϊόν, δημιουργώντας τρεις πενταμελείς χηλικούς δακτυλίους. Το ιόν Ni^{II} έχει αριθμό ένταξης 6 (οκταεδρική γεωμετρία) και το φορτίο του κατιόντος αντισταθμίζεται από δύο ClO_4^- . Το μεταλλοϊόν βρίσκεται σε κρυσταλλογραφικό άξονα συμμετρίας $2^{\text{ης}}$ τάξης (C_2). Το κατιόν $[\text{Ni}(\text{bpy})_3]^{2+}$ του **3** παρουσιάζει μεγάλη δομική ομοιότητα με το κατιόν $[\text{Ni}(\text{bpy})_3]^{2+}$ του συμπλόκου $[\text{Ni}(\text{bpy})_3][\text{NaAl}(\text{ox})_3]$ ⁶⁷.



Σχήμα 28. Η μοριακή δομή του κατιόντος $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{bpy})_2]^+$ του συμπλόκου $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{bpy})_2](\text{ClO}_4)$ (1).



Σχήμα 29. Η μοριακή δομή του κατιόντος $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{bpy})_2(\text{H}_2\text{O})]^+$ του συμπλόκου $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{bpy})_2(\text{H}_2\text{O})](\text{MeCO}_2) \cdot 3\text{CHCl}_3$ (2).



Σχήμα 30. Η μοριακή δομή του κατιόντος $[\text{Ni}(\text{bpy})_3]^{+2}$ του συμπλόκου $[\text{Ni}(\text{bpy})_3](\text{ClO}_4)_2$ (3).

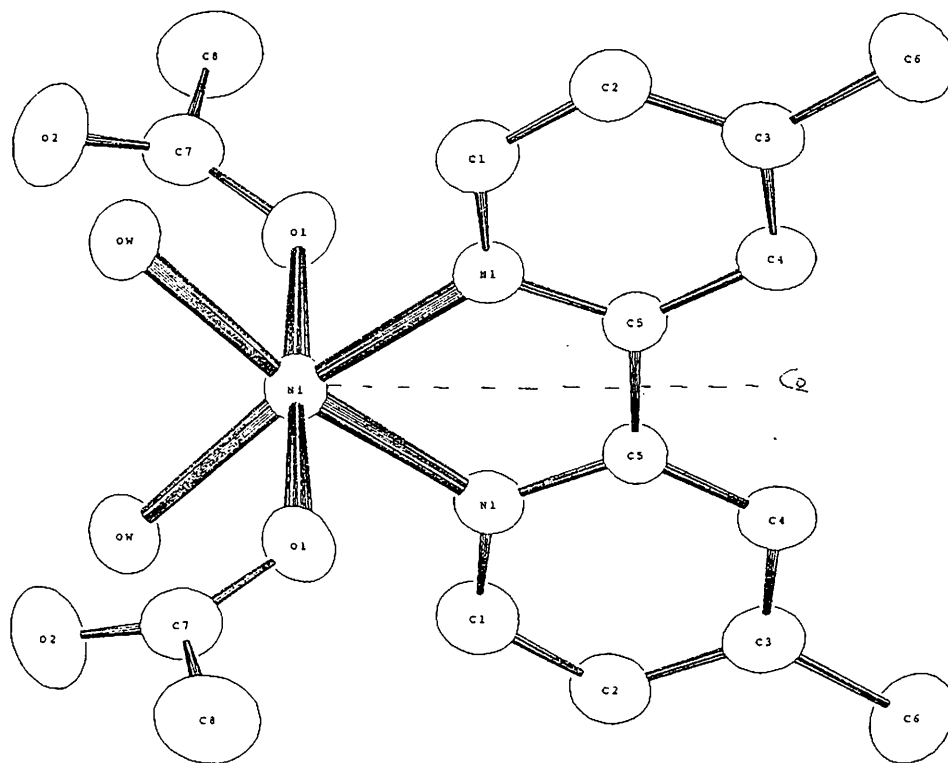
Στο Σχήμα 31 φαίνεται η μοριακή δομή του συμπλόκου $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})_2(\text{diMe bpy})(\text{H}_2\text{O})_2]$ (**4**). Το σύμπλοκο αποτελείται από ένα μόριο diMe bpy το οποίο βρίσκεται χηλικά ενταγμένο στο ιόν Ni^{II} μέσω των δύο ατόμων N. Το μέταλλο βρίσκεται επιπλέον ενταγμένο με δύο μονοδοντικά (η^1) MeCO_2^- που κατέχουν αξονικές θέσεις ένταξης και δύο μόρια H_2O . Ο αριθμός ένταξης του είναι 6, υιοθετώντας ελαφρώς παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία. Το σύμπλοκο έχει κρυσταλλογραφικό άξονα C_2 ο οποίος διέρχεται από το μεταλλοϊόν και διχοτομεί τη γωνία OW-Ni-OW.

Η μοριακή δομή του κατιόντος $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{diMe bpy})_2]^+$ του συμπλόκου **5** δίνεται στο Σχήμα 32. Το κατιόν αποτελείται από δύο μόρια diMe bpy τα οποία είναι χηλικά ενταγμένα στο μεταλλοϊόν δημιουργώντας δύο πενταμελείς χηλικούς δακτυλίους. Η σφαίρα ένταξης του μεταλλοϊόντος συμπληρώνεται από ένα χηλικό MeCO_2^- . Το ιόν Ni^{II} έχει αριθμό ένταξης 6 (οκταεδρική γεωμετρία) και το φορτίο του κατιόντος αντισταθμίζεται από ένα ClO_4^- , ενώ υπάρχει και ένα συγκρυσταλλωμένο μόριο διαλύτη (MeOH).

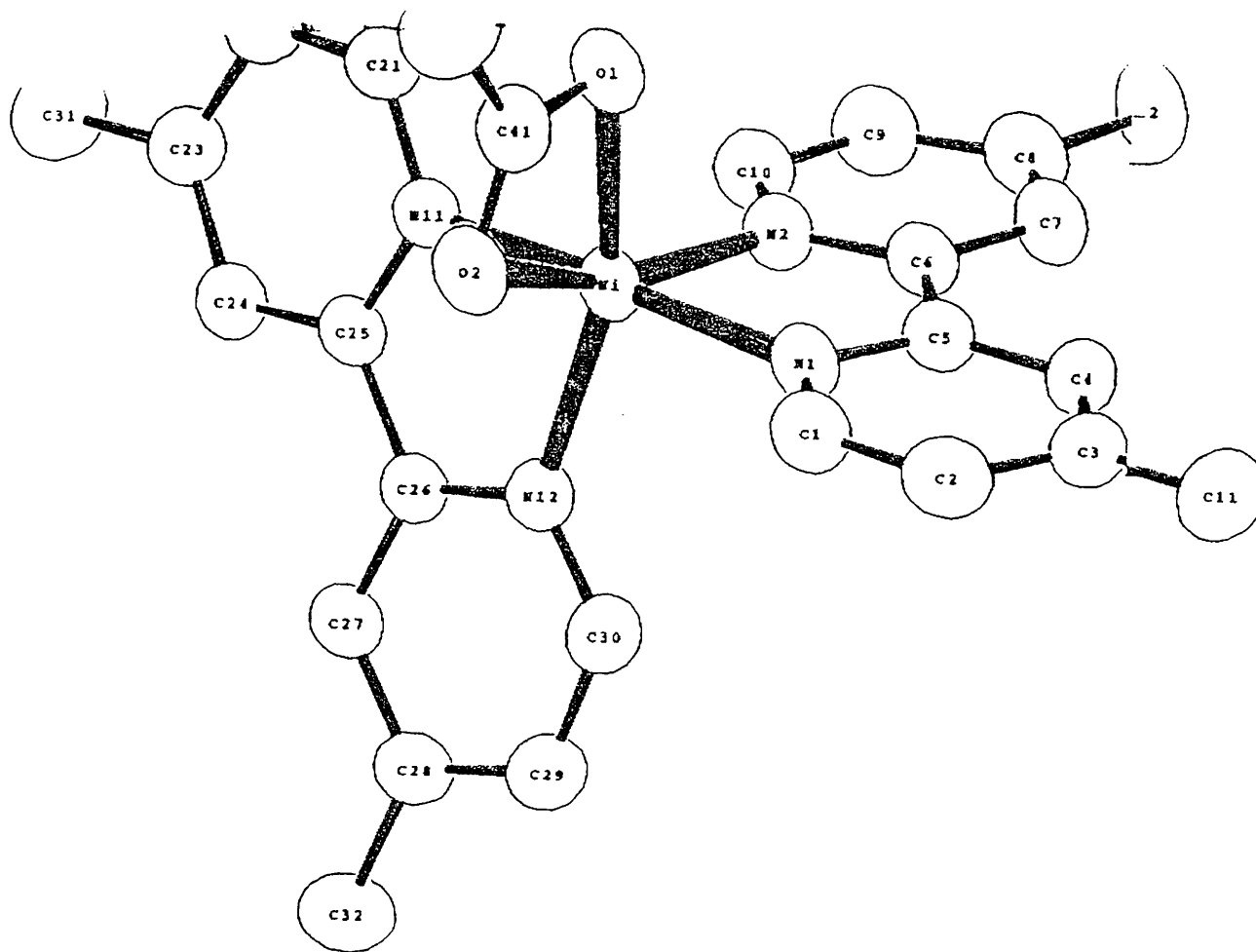
Στο Σχήμα 33 φαίνεται η μοριακή δομή του κατιόντος $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{phen})_2]^+$ του συμπλόκου **6**. Το κατιόν αποτελείται από δύο μόρια phen τα οποία εντάσσονται με χηλικό τρόπο στο μεταλλοϊόν, δημιουργώντας έτσι δύο πενταμελείς χηλικούς δακτυλίους. Τη σφαίρα ένταξης του μεταλλοϊόντος συμπληρώνει ένα MeCO_2^- που βρίσκεται χηλικά ενταγμένο. Το ιόν Ni^{II} έχει αριθμό ένταξης 6 (οκταεδρική γεωμετρία). Το φορτίο του κατιόντος αντισταθμίζεται από ένα ClO_4^- . Η μοριακή δομή του κατιόντος $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{phen})_2]^+$ είναι παρόμοια με αυτή των κατιόντων στα σύμπλοκα **1** και **5**. Προφανώς η αντικατάσταση της bpy και της diMe bpy από τον πιο ογκώδη υποκαταστάτη phen δεν έχει αξιοσημείωτη δομική επίδραση.

Οι κρυσταλλικές δομές των συμπλόκων **1**, **3**, **5** και **6** σταθεροποιούνται με π - π αλληλεπιδράσεις τύπου θημωνιάς (π - π stacking interactions), ενώ στη σταθεροποίηση των κρυσταλλικών δομών **2** και **4** συνεισφέρουν και διαμοριακοί δεσμοί H.

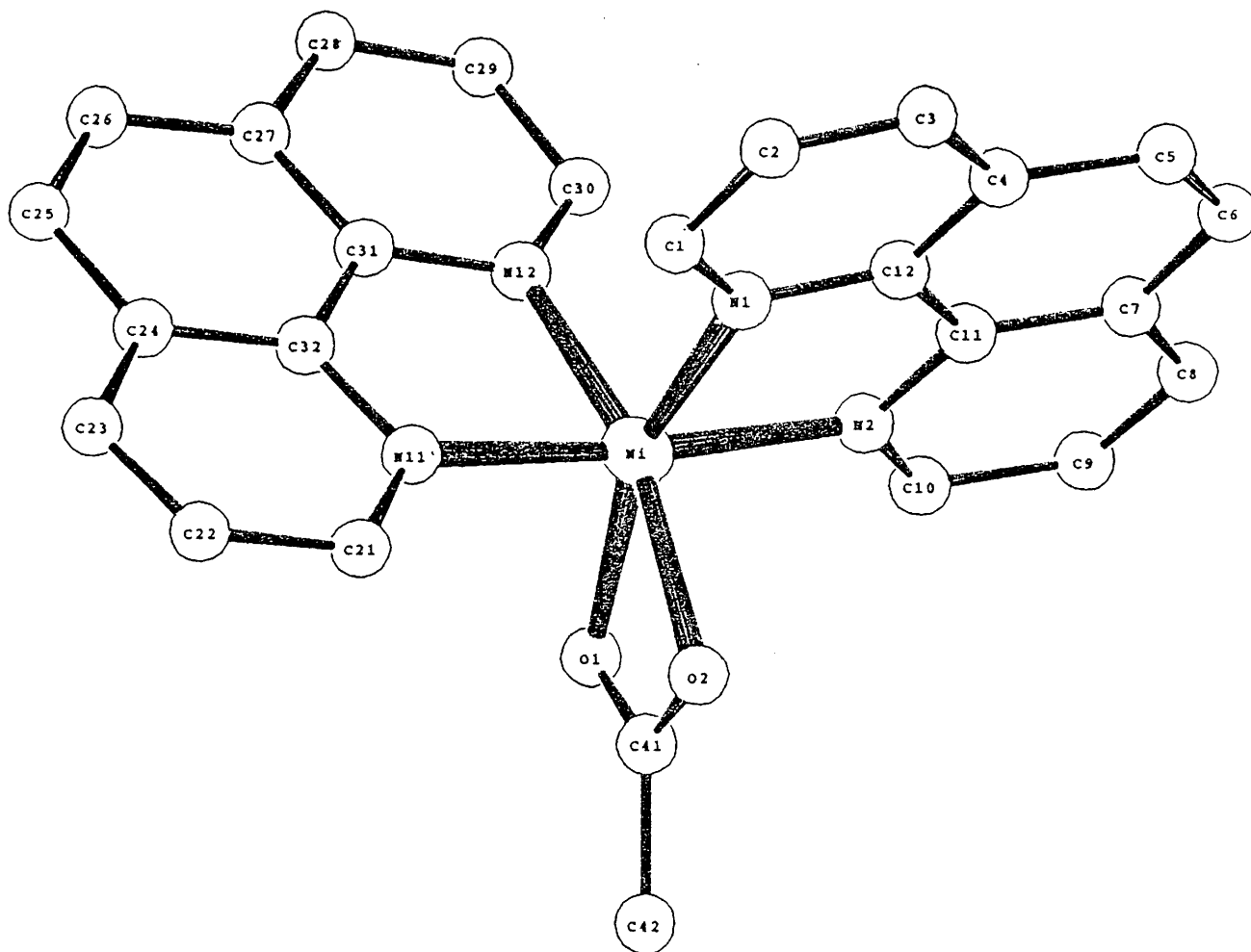
Η μοριακή δομή του συμπλόκου $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CCCl}_3)_4(\text{OH}_2)(\text{tmen})_2]$ (**7**) παρουσιάζεται στο Σχήμα 34. Στην μοναδιαία κυψελίδα βρέθηκαν δύο δομικά παρόμοια διπυρηνικά μόρια. Παρακάτω δίνουμε πληροφορίες για το ένα [αυτό που περιέχει τα ιόντα $\text{Ni}(1)$ και $\text{Ni}(2)$]. Στον Πίνακα 6 δίδονται επιλεγμένες διατομικές αποστάσεις (Å) και γωνίες δεσμού ($^\circ$) για το σύμπλοκο. Η μοριακή



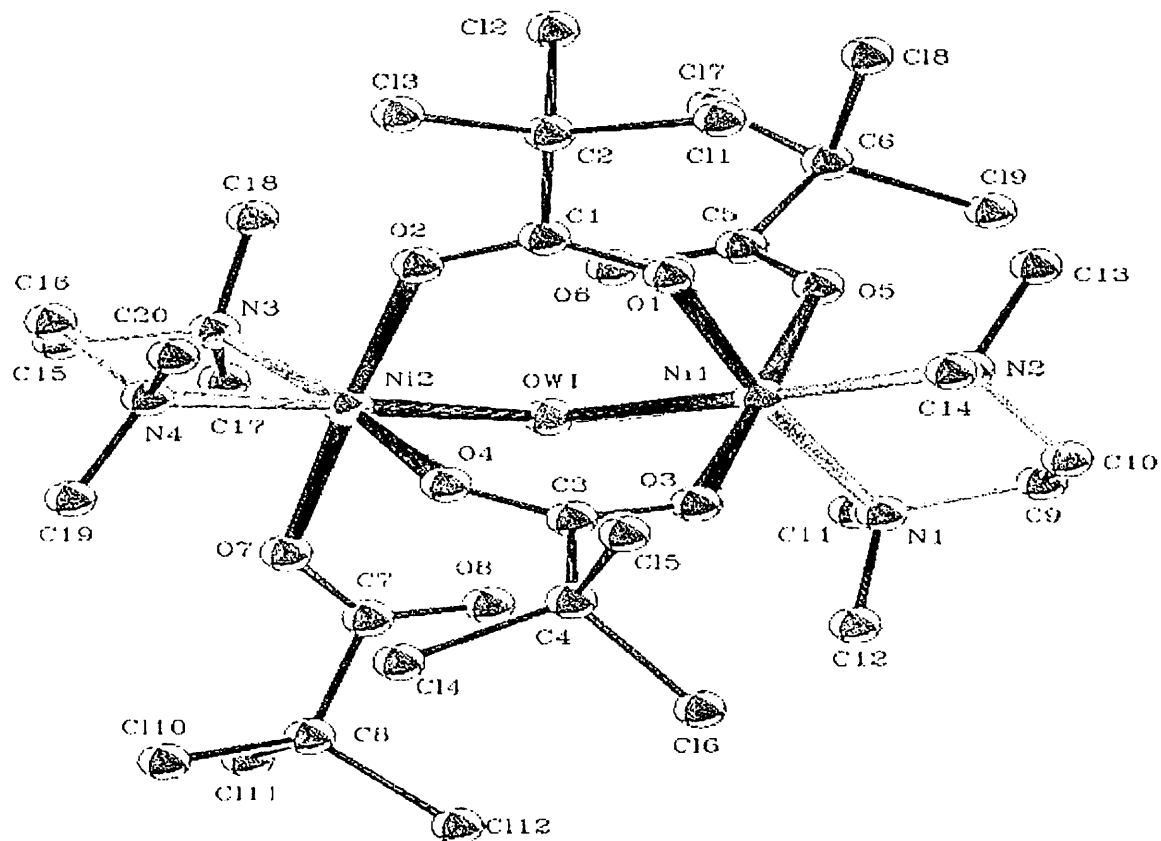
Σχήμα 31. Η μοριακή δομή του συμπλόκου $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})_2(\text{diMebpy})(\text{H}_2\text{O})_2]$ (4).



Σχήμα 32. Η μοριακή δομή του κατιόντος $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{diMebpy})_2]^+$ του συμπλόκου $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{diMebpy})_2](\text{ClO}_4) \cdot \text{MeOH}$ (5).



Σχήμα 33. Η μοριακή δομή του κατιόντος $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{phen})_2]^+$ του συμπλόκου $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{phen})_2](\text{ClO}_4)$ (6).



Σχήμα 34. Η μοριακή δομή του ενός διπυρηνικού μορίου του συμπλόκου $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CCCl}_3)_4(\text{OH}_2)(\text{tmen})_2]$ (7).

ΠΙΝΑΚΑΣ 6. Επιλεγμένα μήκη (Å) και γωνίες δεσμών (°) του συμπλόκου 7.

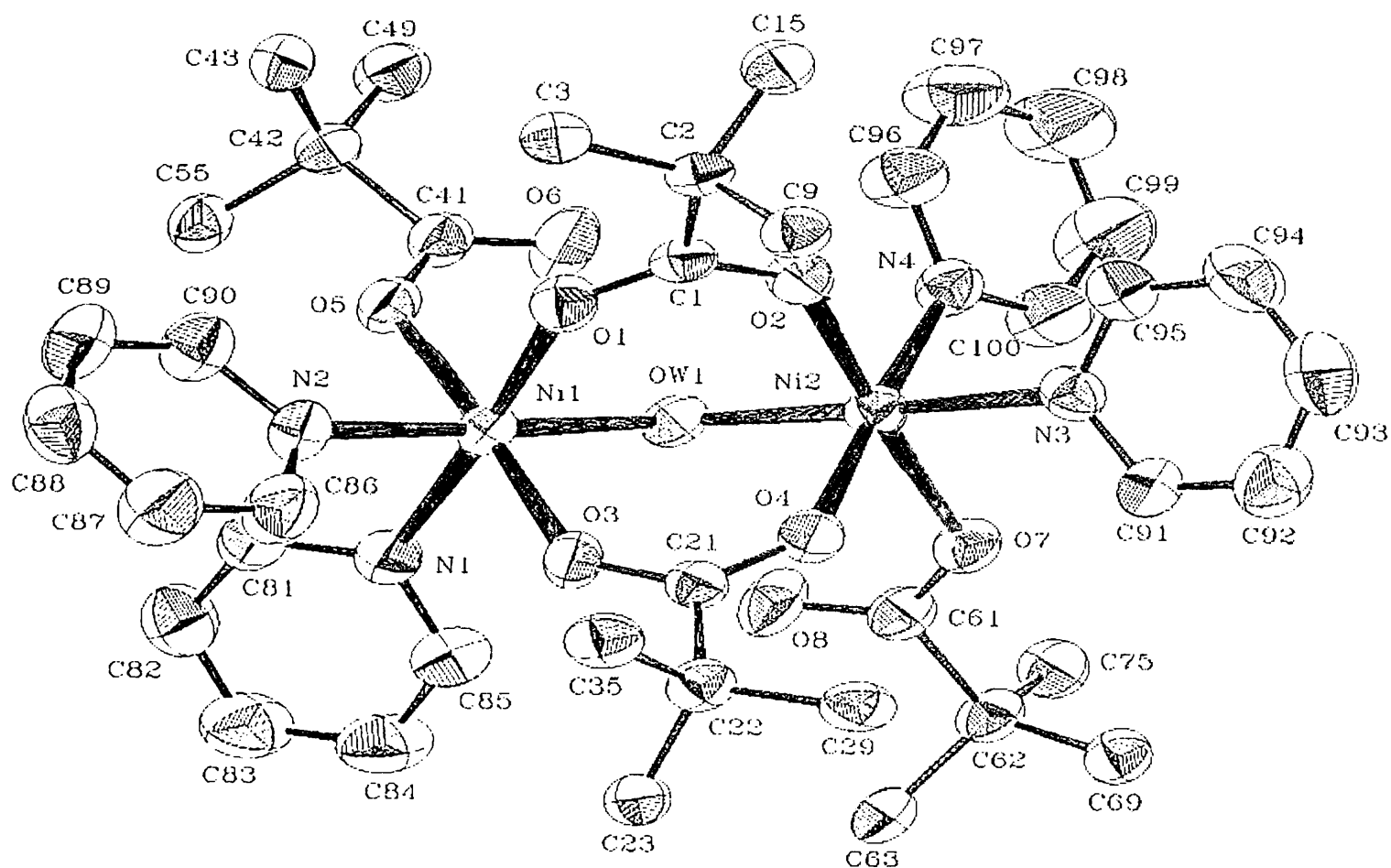
Μήκη Δεσμών (Å)		Γωνίες Δεσμών (°)	
Ni(1)-O(1)	2.037 (4)	O(1)-Ni(1)-O(3)	92.3 (2)
Ni(1)-O(3)	2.038 (5)	O(1)-Ni(1)-O(5)	87.5 (2)
Ni(1)-O(5)	2.068 (4)	O(3)-Ni(1)-O(5)	178.5 (2)
Ni(1)-OW(1)	2.126 (4)	O(1)-Ni(1)-OW(1)	89.5 (2)
Ni(1)-N(2)	2.136 (6)	O(3)-Ni(1)-OW(1)	89.9 (2)
Ni(1)-N(1)	2.141 (5)	O(5)-Ni(1)-OW(1)	88.6 (2)
Ni(2)-O(4)	2.016 (4)	O(1)-Ni(2)-N(2)	87.9 (2)
Ni(2)-O(2)	2.050 (4)	O(3)-Ni(1)-N(2)	91.4 (2)
Ni(2)-O(7)	2.088 (4)	O(5)-Ni(1)-N(2)	90.1 (2)
Ni(2)-OW(1)	2.115 (4)	OW(1)-Ni(1)-N(2)	177.1 (2)
Ni(2)-N(4)	2.133 (5)	O(1)-Ni(1)-N(1)	172.8 (2)
Ni(2)-N(3)	2.138 (5)	O(4)-Ni(2)-O(2)	90.8 (2)
O(1)-C(1)	1.223 (7)	O(4)-Ni(2)-O(7)	85.4 (2)
O(2)-C(1)	1.227 (7)	O(2)-Ni(2)-O(7)	176.1 (2)
O(3)-C(3)	1.232 (8)	O(4)-Ni(2)-OW(1)	90.9 (2)
O(4)-C(3)	1.225 (8)	O(2)-Ni(2)-OW(1)	90.5 (2)
O(5)-C(5)	1.255 (8)	O(7)-Ni(2)-OW(1)	88.7 (2)
O(7)-C(7)	1.238 (7)	O(4)-Ni(2)-N(4)	87.8 (2)
N(1)-C(9)	1.489 (9)	O(2)-Ni(2)-N(4)	89.6 (2)
N(2)-C(10)	1.491 (9)	O(7)-Ni(2)-N(4)	91.1 (2)
N(3)-C(15)	1.486 (9)	OW(1)-Ni(2)-N(4)	178.7 (2)
N(4)-C(16)	1.463 (9)	O(4)-Ni(2)-N(3)	172.1 (2)

δομή του συμπλόκου **7** δείχνει ότι αυτό αποτελείται από δύο ιόντα Ni^{II} τα οποία βρίσκονται σε απόσταση 3.646(2) Å. Τα δύο ιόντα Ni^{II} γεφυρώνονται από ένα μόριο H_2O και δύο $\mu_2:\eta^1:\eta^1$ $\text{Cl}_3\text{CCO}_2^-$. Η *tmep* δρα ως διδοντικός χηλικός υποκαταστάτης μέσω των ατόμων N καταλαμβάνοντας δυο θέσεις ένταξης σε κάθε ιόν Ni^{II} , σχηματίζοντας με αυτόν τον τρόπο δύο πενταμελείς χηλικούς δακτυλίους. Ένα μονοδοντικό $\text{Cl}_3\text{CCO}_2^-$ συμπληρώνει αριθμό ένταξης 6 για κάθε ιόν Ni^{II} . Τα δύο μεταλλικά κέντρα υιοθετούν οκταεδρική γεωμετρία. Όπως διαπιστώνεται από τις γωνίες δεσμού η παραμόρφωση από την ιδανική οκταεδρική γεωμετρία είναι μικρή. Μπορούμε να φανταστούμε ότι η δομή του συμπλόκου αποτελείται από δύο οκτάεδρα που έχουν κοινή κορυφή το OW(1).

Η μοριακή δομή του διμερούς συμπλόκου φαίνεται ότι σταθεροποιείται από ισχυρούς ενδομοριακούς δεσμούς υδρογόνου μεταξύ του γεφυρωτικού μορίου H_2O και των μη ενταγμένων ατόμων O των μονοδοντικών τριχλωροοξικών ιόντων. Οι διαστάσεις των δύο δεσμών H είναι: OW(1)...O(8)=2.567 Å, HW(1A)...O(8)=1.808 Å, OW(1)-HW(1A)...O(8)=161.9° και OW(1)...O(6)=2.617 Å, HW(1B)...O(6)=1.792 Å, OW(1)-HW(1B)...O(6)=159.7°.

Η μοριακή δομή του συμπλόκου $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CCPh}_3)_4(\text{OH}_2)(\text{py})_4]\cdot\text{MeOH}$ (**8**) παρουσιάζεται στο Σχήμα 35 και στον Πίνακα 7 φαίνονται επιλεγμένες διατομικές αποστάσεις (Å) και γωνίες δεσμών (°) του συμπλόκου.

Το σύμπλοκο **8**, όπως φαίνεται και από τη μοριακή του δομή, αποτελείται από δύο ιόντα Ni^{II} τα οποία βρίσκονται σε απόσταση 3.591(1) Å. Τα ιόντα $\text{Ph}_3\text{CCO}_2^-$, όπως αντίστοιχα στο προηγούμενο σύμπλοκο **7** τα $\text{Cl}_3\text{CCO}_2^-$, συμπεριφέρονται ως υποκαταστάτες με δύο διαφορετικούς τρόπους: δύο από αυτά ως διδοντικοί γεφυρωτικοί υποκαταστάτες $\mu_2:\eta^1:\eta^1$ γεφυρώνοντας τα δύο μεταλλικά κέντρα μέσω των O ατόμων των καρβοξυλομάδων και τα υπόλοιπα δύο ως μονοδοντικοί τερματικοί (η^1) υποκαταστάτες. Τα δύο ιόντα Ni^{II} γεφυρώνονται επίσης και από το άτομο O [OW(1)] του μορίου H_2O , με αποστάσεις Ni(1)...OW(1) 2.112 και Ni(2)...OW(1) 2.106 Å. Δύο μόρια *py* συμπληρώνουν αριθμό ένταξης 6 για κάθε μεταλλικό κέντρο. Τα δύο ιόντα Ni^{II} υιοθετούν ελάχιστα παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία, με τα δύο μόρια *py* σε κάθε μεταλλοϊόν να καταλαμβάνουν *cis* θέσεις [N(1)-Ni(1)-N(2)=89.7(1) και [N(3)-Ni(2)-



Σχήμα 35. Η μοριακή δομή του συμπλόκου $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CCPh}_3)_4(\text{OH}_2)(\text{py})_4] \cdot \text{MeOH}$ (8). Το μόριο MeOH δεν φαίνεται στο Σχήμα.

ΠΙΝΑΚΑΣ 7. Επιλεγμένα μήκη (Å) και γωνίες δεσμών (°) του συμπλόκου 8.

Μήκη Δεσμών (Å)		Γωνίες Δεσμών (°)	
Ni(1)-O(3)	2.025(3)	O(3)-Ni(1)-O(5)	176.45(12)
Ni(1)-O(5)	2.044(3)	O(3)-Ni(1)-O(1)	92.67(12)
Ni(1)-O(1)	2.079(3)	O(5)-Ni(1)-O(1)	90.39(12)
Ni(1)-OW(1)	2.112(3)	O(3)-Ni(1)-OW(1)	91.23(12)
Ni(1)-N(2)	2.127(4)	O(5)-Ni(1)-OW(1)	90.45(12)
Ni(1)-N(1)	2.143(4)	O(1)-Ni(1)-OW(1)	92.19(12)
Ni(2)-O(2)	2.009(3)	O(3)-Ni(1)-N(2)	89.66(13)
Ni(2)-O(7)	2.061(3)	O(5)-Ni(1)-N(2)	88.80(13)
Ni(2)-O(4)	2.102(3)	O(1)-Ni(1)-N(2)	85.29(13)
Ni(2)-N(3)	2.102(4)	OW(1)-Ni(1)-N(2)	177.37(13)
Ni(2)-OW(1)	2.106(3)	O(3)-Ni(1)-N(1)	88.55(13)
Ni(2)-N(4)	2.135(4)	O(5)-Ni(1)-N(1)	88.24(13)
O(1)-C(1)	1.239(5)	O(1)-Ni(1)-N(1)	174.88(13)
O(2)-C(1)	1.259(5)	OW(1)-Ni(1)-N(1)	92.75(13)
O(3)-C(21)	1.252(5)	O(2)-Ni(2)-O(7)	175.32(12)
O(4)-C(21)	1.237(5)	O(2)-Ni(2)-O(4)	93.50(11)
O(5)-C(41)	1.248(5)	O(7)-Ni(2)-O(4)	86.26(11)
O(7)-C(61)	1.251(5)	O(2)-Ni(2)-N(3)	87.54(13)
N(1)-C(85)	1.327(6)	O(7)-Ni(2)-N(3)	87.78(13)
N(1)-C(81)	1.346(6)	O(4)-Ni(2)-N(3)	88.93(12)
N(2)-C(86)	1.323(6)	O(2)-Ni(2)-OW(1)	90.65(11)
N(2)-C(90)	1.347(6)	O(7)-Ni(2)-OW(1)	94.03(11)
N(3)-C(91)	1.337(6)	O(4)-Ni(2)-OW(1)	91.80(12)
N(3)-C(95)	1.341(6)	N(3)-Ni(2)-OW(1)	178.09(12)
N(4)-C(100)	1.329(6)	O(4)-Ni(2)-N(4)	177.09(12)
N(4)-C(96)	1.344(6)	Ni(2)-OW(1)-Ni(1)	116.77(13)

N(4)=89.2(1)°]. Η μοριακή δομή του διμερούς συμπλόκου φαίνεται ότι σταθεροποιείται από ισχυρούς ενδομοριακούς δεσμούς υδρογόνου μεταξύ του γεφυρωτικού μορίου H₂O και των μη ενταγμένων ατόμων O των καρβοξυλομάδων των μονοδοντικών τριφαινυλοοξικών ανιόντων. Οι διαστάσεις των δύο δεσμών H είναι: OW(1)...O(8)=2.562 Å, HW(1)...O(8)=1.935Å, OW(1)-HW(1A)...O(8)=168.9° και OW(1)...O(6)=2.611 Å, HW(1B)...O(6)=1.426 Å, OW(1)-HW(1B)...O(6)=171.8°. Στο σύμπλοκο υπάρχει συγκρυσταλλωμένο ένα μόριο διαλύτη (MeOH).

Μόρια H₂O που συμπεριφέρονται ως μ_2 υποκαταστάτες είναι σχετικά σπάνια στη χημεία των συμπλόκων των 3d μεταλλοϊόντων μετάπτωσης⁶⁸.

Τα σύμπλοκα **7** και **8** αποτελούν μέλη μιας μικρής οικογένειας διπυρηνικών καρβοξυλάτο συμπλόκων του Ni(II)^{60,61} που έχουν τη δομική μονάδα (δομικό πυρήνα, core) {Ni₂(μ -O₂CR)₂(μ -OH₂)}²⁺. Ο πλήρης χημικός τύπος των ενώσεων αυτών είναι [Ni₂(μ_2 : η^1 : η^1 -O₂CR)₂(η^1 -O₂CR)₂(μ_2 -OH₂)(L-L)₂] ή είναι [Ni₂(μ_2 : η^1 : η^1 -O₂CR)₂(η^1 -O₂CR)₂(μ_2 -OH₂)L₄], όπου L-L=διδοντικοί χηλικοί N-δότες και L=μονοδοντικοί N-δότες. Ορισμένα δομικά χαρακτηριστικά αυτών των συμπλόκων δίδονται στον Πίνακα 8.

Τα σύμπλοκα **7** και **8** χαρακτηρίζονται από μεγάλη απόσταση Ni...Ni. Η μεγάλη αυτή απόσταση είναι μερική συνέπεια της μεγάλης γωνίας Ni-O-Ni [118.5(2) και 116.8(1)°]. Πράγματι αυτές οι δύο γωνίες είναι από τις μεγαλύτερες στον Πίνακα 8. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι στο σύμπλοκο **8** [που είναι το πρώτο δομικά χαρακτηρισμένο σύμπλοκο του Ni(II) με υποκαταστάτη το Ph₃CCO₂]⁻ η απόσταση Ni-O(μ_2 -O₂CR) είναι η μεγαλύτερη, ενώ η απόσταση Ni-O(η^1 -O₂CR) είναι η μικρότερη. Δεν φαίνεται να υπάρχουν άλλες δομικές τάσεις στα σύμπλοκα του Πίνακα 9, π.χ. ως συνάρτηση του pK_a του RCOOH.

Η μοριακή δομή του κατιόντος [Ni₂(PhCONHO)₂(O₂CMe)(tmen)₂]⁺ του συμπλόκου **9** παρουσιάζεται στο Σχήμα 36 και στον Πίνακα 9 φαίνονται επιλεγμένες διατομικές αποστάσεις (Å) και γωνίες δεσμών (°).

Η μοριακή δομή του συμπλόκου **9** δείχνει ότι το κατιόν αποτελείται από δύο ιόντα Ni(II) τα οποία βρίσκονται σε απόσταση 3.003(1) Å. Η γεφύρωση των δύο ιόντων Ni^{II} πραγματοποιείται από δύο βενζοϋδροξαμάτο⁽⁻¹⁾ υποκαταστάτες. Το ανιόν PhCONHO⁻ συμπεριφέρεται ως μ_2 : η^2 : η^1 γεφυρωτικός υποκαταστάτης. Μέσω του οξυγόνου της αποπρωτονιωμένης

ΠΙΝΑΚΑΣ 8. Χαρακτηριστικά μήκη (Å) και γωνίες δεσμών^α (°) διμερών καρβοξυλάτο συμπλόκων του Ni(II) με τύπους [Ni₂(μ₂:η¹:η¹-O₂CR)₂(η¹-O₂CR)₂(μ₂-OH₂)(L-L)₂] ή [Ni₂(μ₂:η¹:η¹-O₂CR)₂(η¹-O₂CR)₂(μ₂-OH₂)L₄], όπου L-L=διδοντικοί χηλικοί N-δότες και L=μονοδοντικοί N-δότες, που περιέχουν το δομικό πυρήνα {Ni₂(μ-O₂CR)₂(μ-OH₂)}²⁺.

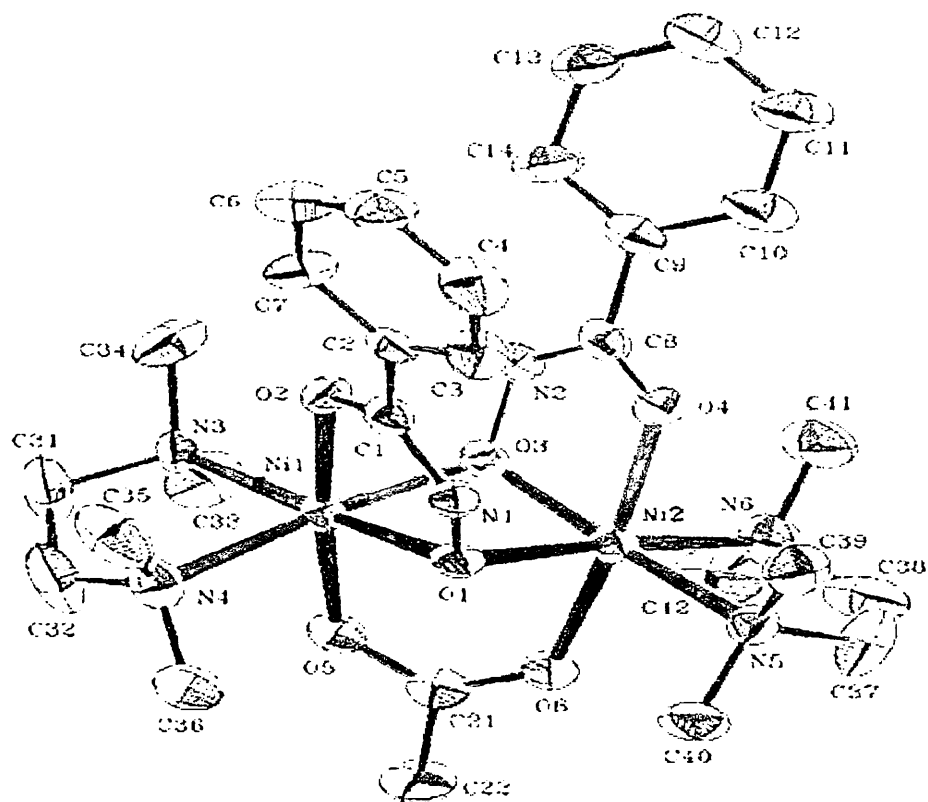
R-,L-L/L ^β	Ni-Ni	Ni-O(μ ₂ -O ₂ CR)	Ni-O(μ ₂ -OH ₂)	Ni-O(η ¹ -O ₂ CR)	Ni-O-Ni	Παραπομπή
CH ₃ -, tmen	3.563(1)	2.037(6)	2.088(4)	2.072(6)	117.2(2)	47
ClCH ₂ -, tmen	3.567(3)	2.040(9)	2.088(9)	2.117(9)	117.4(4)	59
Cl ₂ CH-, tmen	3.567(1)	2.048(5)	2.133(4)	2.092(5)	118.1(2)	60
Cl ₃ C-, tmen ^γ	3.652(2)	2.034(4)	2.120(4)	2.078(4)	118.5(2)	παρούσα εργασία
CH ₃ -CH ₂ -, tmen	3.497(1)	2.035(4)	2.073(4)	2.109(4)	115.0(2)	60
CH ₃ -CH(Cl)-, tmen	3.566(3)	2.028(9)	2.112(7)	2.076(9)	114.6(5)	60
ClCH ₂ -CH ₂ -, tmen	3.549(3)	2.038(13)	2.109(10)	2.062(13)	115.2(4)	60
Ph ₃ C-, py ^δ	3.591(1)	2.053(3)	2.109(3)	2.052(3)	116.8(1)	παρούσα εργασία
Me ₃ C-, py	3.513(1)	2.024(2)	2.076(2)	2.056(2)	115.6(1)	61
Me ₃ C-, 3,5-Lut	3.549(3)	2.006(2)	2.104(6)	2.099(3)	114.9(2)	61
Me ₃ C-, bpy	3.479(1)	2.024(3)	2.085(3)	2.053(3)	113.0(1)	61

^α Όταν υπάρχουν περισσότερες από μία χημικώς ισοδύναμες αποστάσεις ή γωνίες, δίδεται η μέση τιμή αυτών.

^β tmen=τετραμεθυλοαιθυλενοδιαμίνη, py=πυριδίνη, 3,5-lut=3,5-διμεθυλοπυριδίνη, bpy=2,2'-διπυριδίνη.

^γ Σύμπλοκο 7.

^δ Σύμπλοκο 8.



ΠΙΝΑΚΑΣ 9. Επιλεγμένα μήκη (Å) και γωνίες δεσμών (°) για το σύμπλοκο **9**.

Μήκη Δεσμών (Å)		Γωνίες Δεσμών (°)	
Ni(1)-O(5)	2.014(8)	O(5)-Ni(1)-O(2)	173.7(3)
Ni(1)-O(2)	2.052(7)	O(5)-Ni(1)-O(1)	94.0(3)
Ni(1)-O(1)	2.053(8)	O(2)-Ni(1)-O(1)	79.9(3)
Ni(1)-O(3)	2.100(8)	O(5)-Ni(1)-O(3)	85.4(3)
Ni(1)-N(3)	2.137(9)	O(2)-Ni(1)-O(3)	92.5(3)
Ni(1)-N(4)	2.153(11)	O(1)-Ni(1)-O(3)	85.6(3)
Ni(2)-O(6)	2.030(8)	O(5)-Ni(1)-N(3)	91.4(4)
Ni(2)-O(3)	2.061(8)	O(2)-Ni(1)-N(3)	94.8(4)
Ni(2)-O(4)	2.070(8)	O(1)-Ni(1)-N(3)	174.4(3)
Ni(2)-O(1)	2.101(8)	O(3)-Ni(1)-N(3)	96.1(3)
Ni(2)-N(5)	2.137(10)	O(5)-Ni(1)-N(4)	86.5(4)
Ni(2)-N(6)	2.181(12)	O(6)-Ni(2)-O(3)	92.3(3)
O(1)-N(1)	1.377(11)	O(6)-Ni(2)-O(4)	171.9(3)
O(2)-C(1)	1.273(14)	O(3)-Ni(2)-O(4)	79.6(3)
O(3)-N(2)	1.389(12)	O(6)-Ni(2)-O(1)	86.7(3)
O(4)-C(8)	1.240(14)	O(3)-Ni(2)-O(1)	85.3(3)
O(5)-C(21)	1.27(2)	O(4)-Ni(2)-O(1)	92.3(3)
O(6)-C(21)	1.26(2)	O(6)-Ni(2)-N(5)	90.5(4)
N(3)-C(31)	1.46(2)	O(3)-Ni(2)-N(5)	177.1(4)
N(4)-C(32)	1.45(2)	O(4)-Ni(2)-N(5)	97.6(3)
N(5)-C(37)	1.46(2)	Ni(1)-O(1)-Ni(2)	92.5(3)
N(6)-C(38)	1.32(3)	Ni(2)-O(3)-Ni(1)	92.3(3)

υδροξυλικής ομάδας γεφυρώνει τα δύο ιόντα Ni^{II} , ενώ μέσω του καρβονυλικού οξυγόνου ενώνεται με ένα ιόν $\text{Ni}(\text{II})$ δημιουργώντας πενταμελή χηλικό δακτύλιο. Η tmen δρα ως διδοντικός χηλικός υποκαταστάτης μέσω των ατόμων N καταλαμβάνοντας δυο θέσεις ένταξης σε κάθε ιόν $\text{Ni}(\text{II})$, σχηματίζοντας με αυτόν τον τρόπο δύο πενταμελείς χηλικούς δακτυλίους. Το οξικό ανιόν είναι διδοντικός γεφυρωτικός $\mu_2:\eta^1:\eta^1$ υποκαταστάτης. Τα δύο ιόντα Ni^{II} έχουν αριθμό ένταξης 6 και υιοθετούν οκταεδρική γεωμετρία. Αξιοσημείωτη είναι η απουσία μονοδοντικών τερματικών καρβοξυλάτο υποκαταστατών. Το φορτίο του κατιόντος αντισταθμίζεται από ένα οξικό ανιόν, ενώ υπάρχουν συγκρυσταλλωμένα μόρια διαλυτών (H_2O , EtOH).

Η μοριακή και η κρυσταλλική δομή του συμπλόκου σταθεροποιείται από τρεις δεσμούς H. Οι διαστάσεις τους είναι: α) $\text{N}(1)\dots\text{O}(11)$ [x, y, z] = 2.823 Å, $\text{HN}(1)\dots\text{O}(11)$ = 1.770 Å, $\text{N}(1)\text{-HN}(1)\dots\text{O}(11)$ = 168.3°, β) $\text{N}(2)\dots\text{O}(13')$ [0.5- $x, -0.5+y, 1-z$] = 2.888 Å, $\text{HN}(2)\dots\text{O}(13')$ = 2.185 Å, $\text{N}(2)\text{-HN}(2)\dots\text{O}(13')$ = 164.8° και γ) $\text{O}(12)\dots\text{OW}$ [$-x, 1-y, 1-z$] = 2.940 Å. Τα άτομα $\text{O}(11)$ και $\text{O}(12)$ ανήκουν στο αντισταθμιστικό MeCO_2^- , ενώ το άτομο $\text{O}(13')$ ανήκει στο μόριο της πλεγματικής EtOH .

Η μικρότερη απόσταση $\text{Ni}\dots\text{Ni}$ στο **9** (σε σχέση με τα διμερή **7** και **8**) αποδίδεται στην παρουσία δύο μονοατομικών γεφυρών [$\text{O}(1)$, $\text{O}(3)$] στο **9** σε σύγκριση με τη μια μόνο [$\text{OW}(1)$] στα **7** και **8**.

Το σύμπλοκο **9** παρουσιάζει μεγάλη δομική ομοιότητα με το πρόσφατα ανακοινωθέν³⁶ σύμπλοκο $[\text{Ni}(\text{MeCONHO})_2(\text{O}_2\text{CMe})(\text{tmen})_2](\text{MeCO}_2)$. Ο $\mu_2:\eta^2:\eta^1$ τρόπος συμπλοκοποίησης του PhCONHO^- έχει επίσης διαπιστωθεί και στο σύμπλοκο³⁶ $[\text{Ni}_2(\text{MeCONHO})(\text{O}_2\text{CMe})_2(\text{urea})(\text{tmen})_2](\text{OTf})$. Σε αυτό το σημείο αξίζει επίσης να αναφερθεί και το σύμπλοκο $[\text{Ni}_2(\text{Hshi})(\text{H}_2\text{shi})(\text{O}_2\text{CMe})(\text{py})_4]$, όπου H_3shi =σαλικυλυδροξαμικό οξύ. Στη δομή αυτού του συμπλόκου και το Hshi^{2-} και το H_2shi^- συμπλοκοποιούνται με τον ίδιο $\mu_2:\eta^2:\eta^1$ τρόπο με άτομα δότες το αποπρωτονιωμένο υδροξυλικό O και το κετονικό O.

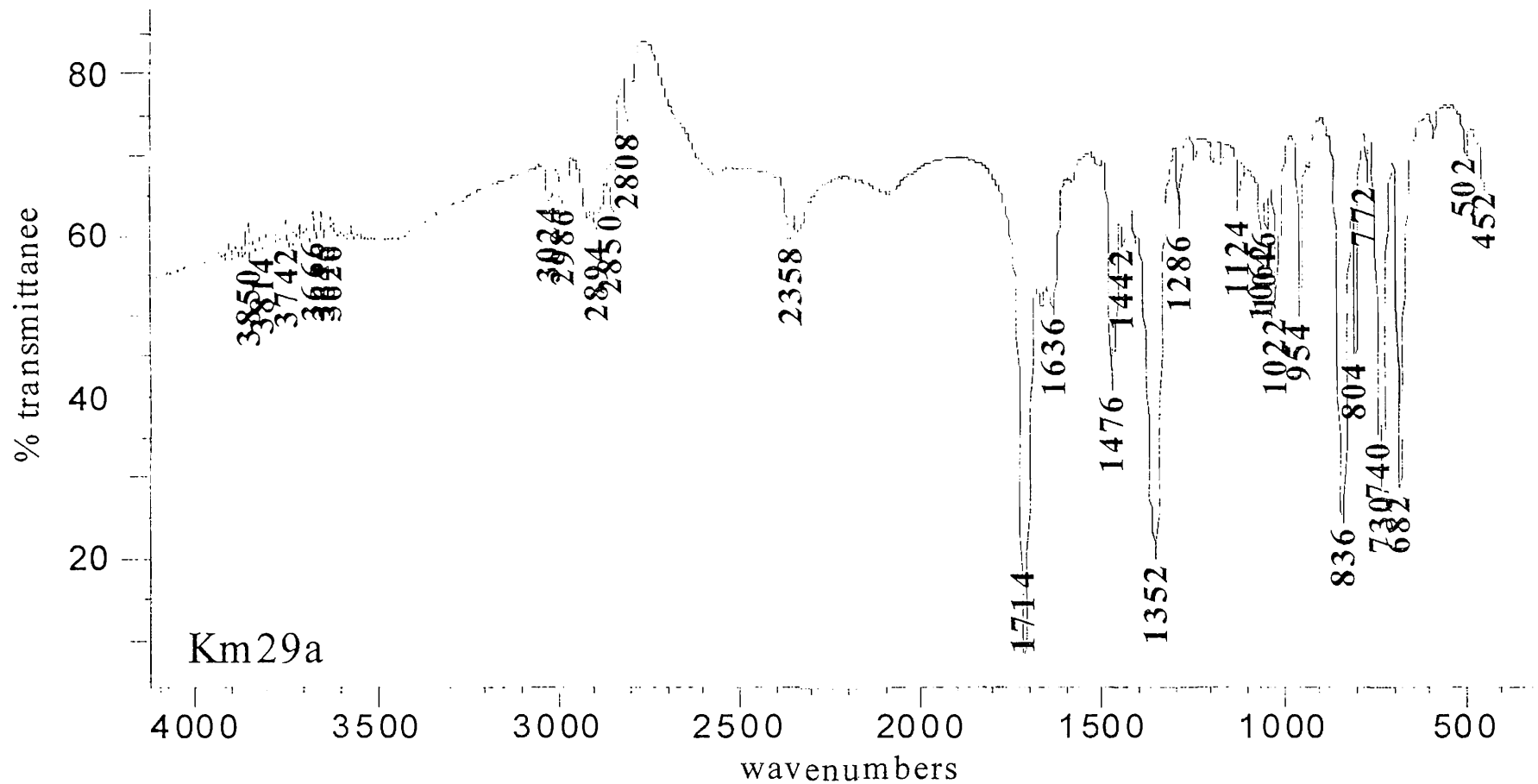
Ι. Η ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ IR ΦΑΣΜΑΤΩΝ ΤΩΝ ΔΙΠΥΡΗΝΙΚΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΤΟΥ ΝΙ(ΙΙ)

Επειδή τα σύμπλοκα 1-6 δεν παρουσιάζουν ενδιαφέρον σε σχέση με τους στόχους αυτής της εργασίας, δεν προχωρήσαμε στη μελέτη των IR φασμάτων τους. Τα IR φάσματα των διπυρηνικών συμπλόκων 7, 8 και 9 παρουσιάζονται στα Σχήματα 37, 38 και 39 αντίστοιχα. Δεδομένα far-IR υπάρχουν μόνο για το σύμπλοκο 7 (Σχήμα 40). Οι αποδόσεις (assignments) των πλέον διαγνωστικών IR ταινιών των 7-9 συνοψίζονται στον Πίνακα 10.

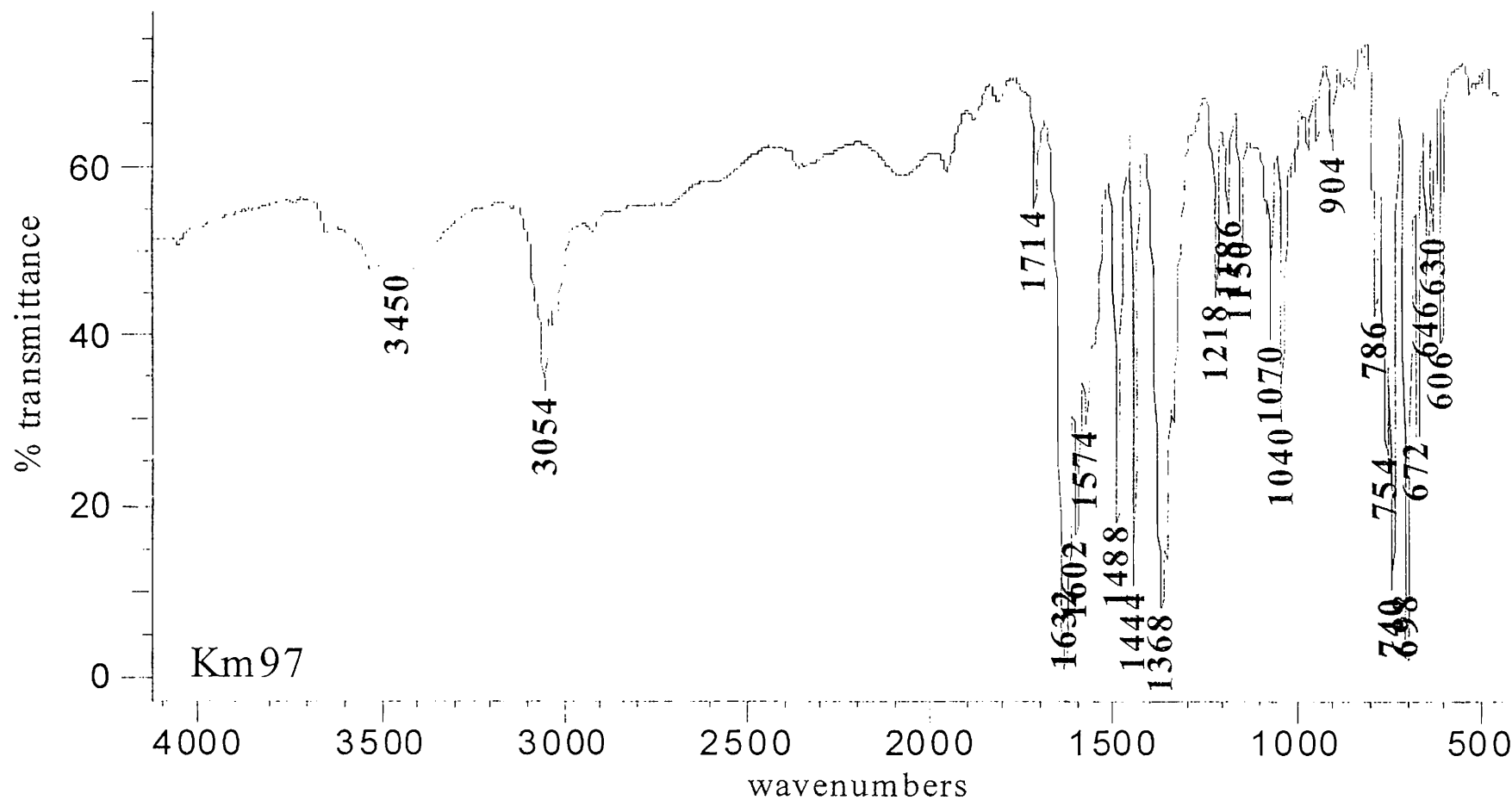
Τα IR φάσματα των συμπλόκων 8 και 9 παρουσιάζουν μια ασθενή και μια ευρεία ταινία περί τα 3450 cm^{-1} που αποδίδεται⁶⁹ στη δόνηση τάσης του δεσμού O-H [$\nu(\text{OH})$] των διαλυτών πλέγματος (MeOH, EtOH, H₂O).

Η αντισυμμετρική δόνηση τάσης των δεσμών O-H του συμπλοκοποιημένου H₂O [$\nu_{\text{as}}(\text{OH}_2)$] δεν εμφανίζεται στην περιοχή πάνω από τα 3000 cm^{-1} που είναι η συνηθισμένη⁷⁰ για το συμπλοκοποιημένο H₂O. Προκαλεί έκπληξη το γεγονός ότι αυτός ο τύπος δόνησης εμφανίζεται σε πολύ χαμηλές συχνότητες ($<2700\text{ cm}^{-1}$) στα φάσματα των 7 και 8. Αυτό οφείλεται⁵⁵ στη συμμετοχή του μορίου H₂O σε ισχυρότατους δεσμούς H με τα μη-ενταγμένα άτομα O των μονοδοντικών καρβοξυλάτο υποκαταστατών. Το γεγονός ότι παρατηρούνται περισσότερες από μία αποστάσεις O...O στην περιοχή 2.5-2.7 Å μπορεί να δικαιολογήσει την εμφάνιση δύο ταινιών τάσης O-H σε κάθε φάσμα. Θεωρητικοί υπολογισμοί⁷¹ έχουν δείξει ότι για μια απόσταση O...O ίση με 2.60 Å αναμένεται ελάττωση της συχνότητας τάσης O-H κατά περίπου 1100 cm^{-1} σε πλήρη συμφωνία με τα αποτελέσματά μας.

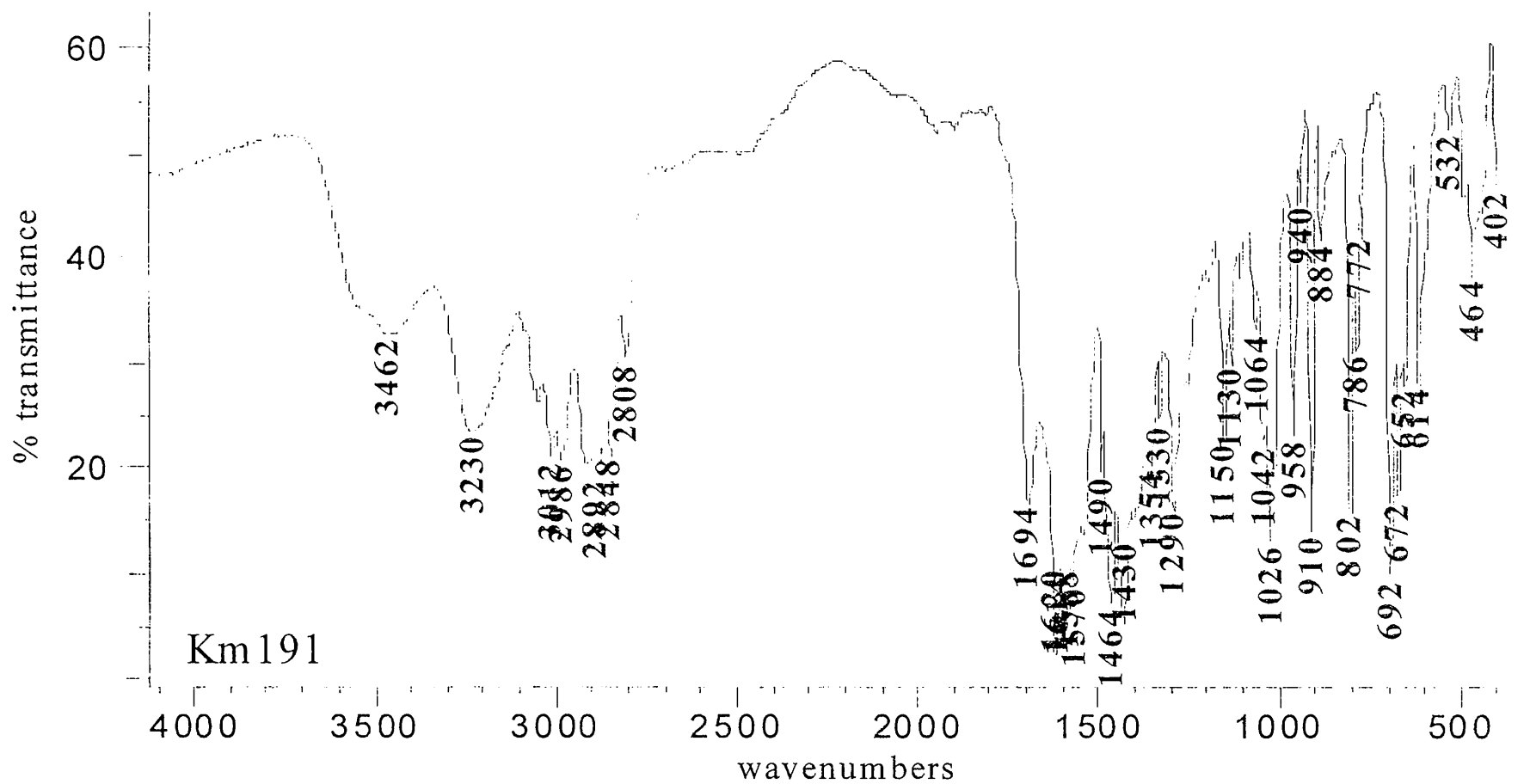
Οι ταινίες που οφείλονται στους τύπους δόνησης $\nu_{\text{as}}(\text{CO}_2)$ και $\nu_{\text{s}}(\text{CO}_2)$ είναι διαγνωστικές του τρόπου συμπλοκοποίησης των καρβοξυλάτο υποκαταστατών⁷². Στα σύμπλοκα 7 και 8 εμφανίζονται, σύμφωνα με τα δεδομένα της Κρυσταλλογραφίας Ακτίνων Χ, δύο διαφορετικοί τρόποι συμπλοκοποίησης των RCO_2^- (δύο από αυτά είναι μονοδοντικά και δύο διδοντικά γεφυρωτικά). Επομένως θα αναμέναμε⁷² την εμφάνιση δύο ταινιών $\nu_{\text{as}}(\text{CO}_2)$ και $\nu_{\text{s}}(\text{CO}_2)$ σε κάθε φάσμα. Το ίδιο θα αναμέναμε και για το σύμπλοκο 9 στο οποίο υπάρχει ένα ιοντικό (αντισταθμιστικό) και ένα διδοντικό γεφυρωτικό MeCO_2^- . Στα φάσματα των 7 και 8 εμφανίζεται μόνο μια ταινία



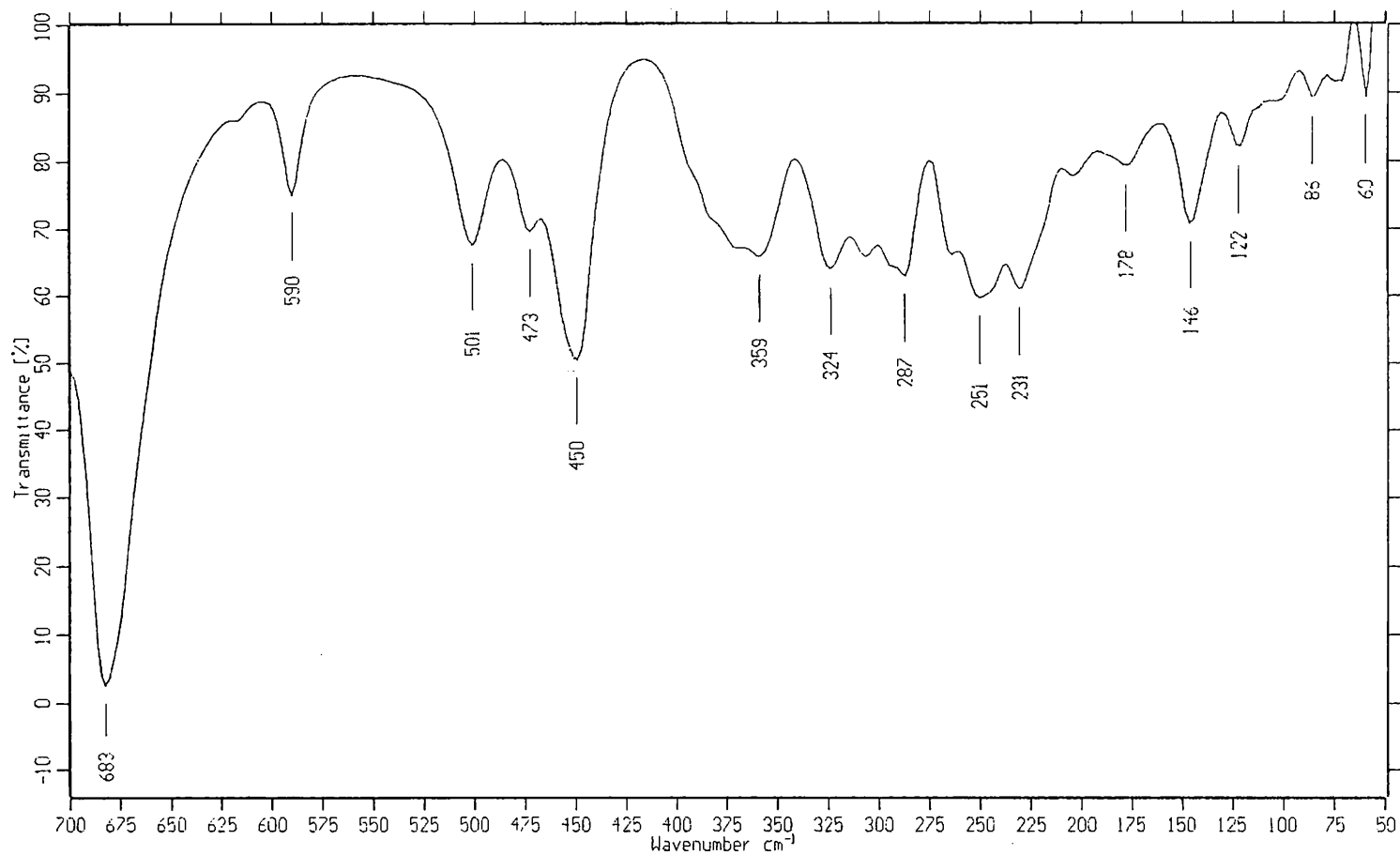
Σχήμα 37. Το FT-IR φάσμα ($4000\text{--}450\text{ cm}^{-1}$) του συμπλόκου $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CCCl}_3)_4(\text{OH}_2)(\text{tmen})_2]$ (7).



Σχήμα 38. Το FT-IR φάσμα ($4000\text{--}450\text{ cm}^{-1}$) του συμπλόκου $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CCPh}_3)_4(\text{OH}_2)(\text{py})_4]\cdot\text{MeOH}$ (8).



Σχήμα 39. Το FT-IR φάσμα ($4000\text{--}450\text{ cm}^{-1}$) του συμπλόκου $[\text{Ni}_2(\text{PhCONHO})_2(\text{O}_2\text{CMe})(\text{tmen})_2](\text{MeCO}_2)\cdot 0.5\text{H}_2\text{O}\cdot \text{EtOH}$ (9).



Σχήμα 40. Το far-IR φάσμα του συμπλόκου $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CCCl}_3)_4(\text{OH}_2)(\text{tmen})_2]$ (7).

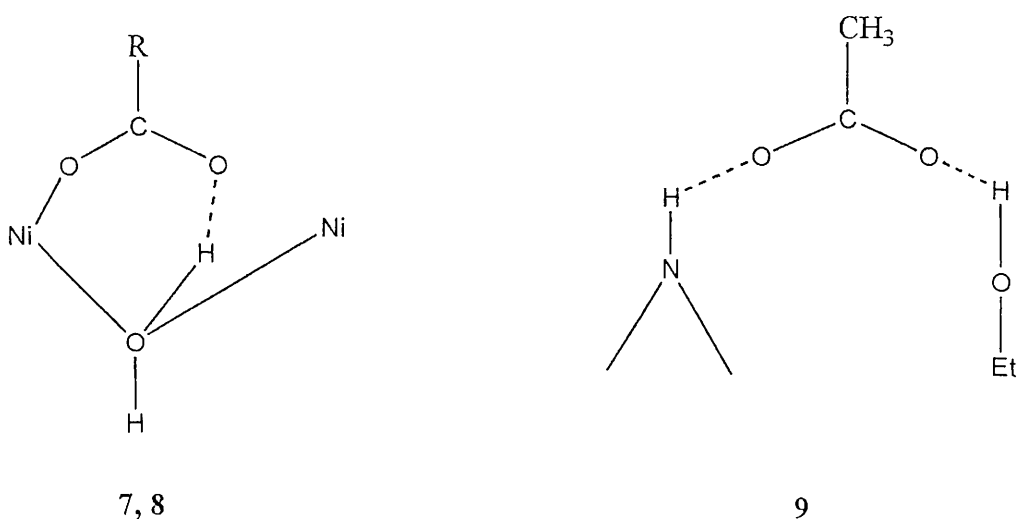
ΠΙΝΑΚΑΣ 10. Διαγνωστικές ταινίες (cm^{-1}) των FT-IR φασμάτων των συμπλόκων 7, 8 και 9.

Απόδοση	7	8	9
$\nu(\text{OH})_{\text{MeOH/EtOH/H}_2\text{O}}$		3450wb	3462wb
$\nu(\text{NH})$			3230mb
$\nu(\text{OH})_{\text{γερ. H}_2\text{O}}$	~2650wb, 2088wb	~2400wb, 2070wb	
$\nu_{\text{as}}(\text{CO}_2)$	1714s	1632s	1588s ^a , 1575sh
$\nu(\text{CO})$			1614s
Δονήσεις τάσης αρωματικών		1602m, 1574w, 1560sh,	1588s ^a , 1530sh, 1490sh,
δακτυλίων		1488s, 1444s	1415sh
$\nu(\text{CN})_{\text{BA-}}$			1464s
$\nu_{\text{s}}(\text{CO}_2)$	1352s	1368s	1430s ^β
$\delta(\text{py})$		646m	

^a Αλληλεπικαλύπτονται.

^β Πιθανώς ενέχει και χαρακτήρα δόνησης τάσης [$\nu(\text{C-C})$] του βενζολικού δακτυλίου.

που θα μπορούσε να αποδοθεί στη δόνηση τάσης $\nu_{as}(\text{CO}_2)$. Επίσης στα φάσματα των **7-9** μόνο μια ταινία μπορεί να αποδοθεί στη δόνηση $\nu_s(\text{CO}_2)$. Μόνο στο φάσμα του **9** παρατηρούμε δύο ταινίες (η μία υπό μορφή ώμου) που μπορούν να οφείλονται σε δονήσεις $\nu_{as}(\text{CO}_2)$, χωρίς όμως να είμαστε και απόλυτα βέβαιοι ότι ο ώμος στα 1575 cm^{-1} δεν οφείλεται σε δόνηση τάσης του βενζολικού δακτυλίου. Το γεγονός της εμφάνισης μιας ταινίας $\nu_{as}(\text{CO}_2)$ και μιας $\nu_s(\text{CO}_2)$ το αποδίδουμε^{72,73} στη συμμετοχή του μη-ενταγμένου O των μονοδοντικών RCO_2^- (**7**, **8**) και των «ελεύθερων» O του αντισταθμιστικού MeCO_2^- (**9**) σε πολύ ισχυρούς δεσμούς H (βλέπε Κεφάλαιο Θ). Έτσι τα μονοδοντικά RCO_2^- στην περίπτωση των **7** και **8** και το ιοντικό MeCO_2^- στην περίπτωση του **9** μπορούν να θεωρηθούν ως δίδοντικά γεφυρωτικά (Σχήμα 41) με συνέπεια να μην είναι δυνατή η φασματοσκοπική τους διάκριση από τους πραγματικούς δίδοντικούς γεφυρωτικούς καρβοξυλάτο υποκαταστάτες.



Σχήμα 41. Η *ψευδο* γεφυρωτική συμπεριφορά των μονοδοντικών καρβοξυλάτο υποκαταστατών στην περίπτωση των **7**, **8** και του ιοντικού (αντισταθμιστικού) MeCO_2^- στην περίπτωση του **9**.

Οι συχνότητες των ταινιών $\nu_{as}(\text{CO}_2)$ και $\nu_s(\text{CO}_2)$ στο σύμπλοκο **7** είναι παραπλήσιες με αυτές που έχουν διαπιστωθεί⁷⁴ σε διμερή σύμπλοκα του Cu(II) που έχουν αποκλειστικά $\mu_2:\eta^2:\eta^1 \text{Cl}_3\text{CCOOH}$, γεγονός που επιβεβαιώνει τους παραπάνω ισχυρισμούς μας.

Στο σύμπλοκο **9** η φασματοσκοπική παράμετρος $\Delta[\nu_{\text{as}}(\text{CO}_2) - \nu_{\text{s}}(\text{CO}_2)]$ είναι 185 cm^{-1} (1588-1430). Αυτή η τιμή είναι ελαφρά μικρότερη από την τιμή $\Delta_{\text{ιοντικό}}$ (η τιμή αυτή έχει ληφθεί από το $\text{NaO}_2\text{CMe}^{72}$) που είναι 164 cm^{-1} . Το γεγονός ότι $\Delta_{\text{συμπλόκου}} < \Delta_{\text{ιοντικό}}$ φανερώνει⁷² γεφυρωτική ή/και χηλική συμπεριφορά του MeCO_2^- .

Το φάσμα του συμπλόκου **9** έχει και τις ταινίες που οφείλονται στο συμπλοκοποιημένο βενζοϋδροξαμάτο (-1) υποκαταστάτη^{30-32,36}. Εκτός από τις δονήσεις του βενζολικού δακτυλίου στην περιοχή $1588\text{-}1415 \text{ cm}^{-1}$, εμφανίζεται μια ταινία στα 3230 cm^{-1} που αποδίδεται στη δόνηση τάσης του δεσμού $[\nu(\text{NH})]$. Στο φάσμα του ελεύθερου βενζοϋδροξαμικού οξέος (BHA) η ταινία αυτή απαντάται στα 3300 cm^{-1} . Η διαφοροποίηση της συχνότητας μεταξύ του **9** και του BHA πιθανότατα οφείλεται στη συμμετοχή της ομάδας $-\text{NH}-$ σε διαφορετικούς δεσμούς H στις δύο ενώσεις: οι διαφορετικοί δεσμοί H μπορούν να θεωρηθούν ως μερική συνέπεια του διαφορετικού φορτίου του υποκαταστάτη.

Η ισχυρή ταινία στα 1614 cm^{-1} αποδίδεται στη δόνηση τάσης της καρβονυλομάδας $[\nu(\text{CO})]$. Η μετατόπισή της σε χαμηλότερη συχνότητα, σε σύγκριση με την ταινία αυτή στο BHA (1660 cm^{-1}), αποδίδεται στην ένταξη του καρβονυλικού O.

Η ταινία στα 1464 cm^{-1} οφείλεται στη δόνηση τάσης του δεσμού C-N της ομάδας $-\text{OC-NH}(\text{OH})$ $[\nu(\text{CN})_{\text{BA}}]$. Η ταινία αυτή συναντάται στα 1450 cm^{-1} στο φάσμα του BHA. Η μετατόπισή της προς υψηλότερες συχνότητες στο φάσμα του συμπλόκου **9** θεωρείται ότι προέρχεται από την απομάκρυνση ηλεκτρονικού φορτίου από την καρβονυλομάδα και την ενίσχυση της ηλεκτρονιακής πυκνότητας του δεσμού C-N.

Το φάσμα του συμπλόκου **8** χαρακτηρίζεται από τις ταινίες της ενταγμένης πυριδίνης. Στον Πίνακα 10 έχουν καταχωρηθεί μόνο οι ταινίες $\nu(\text{C-N})$, $\nu(\text{C-C})$ και $\delta(\text{py})$. Οι ταινίες τάσης του πυριδινικού δακτυλίου είναι ελαφρώς μετατοπισμένες σε υψηλότερες συχνότητες σε σχέση με το φάσμα της ελεύθερης py, γεγονός που έχει αποδοθεί στην ένταξή της^{75,76}. Η ταινία που οφείλεται στην εντός του επιπέδου παραμόρφωση του πυριδινικού δακτυλίου $[\delta(\text{py})]$ εμφανίζεται στα 604 cm^{-1} στο φάσμα της ελεύθερης py. Η κατά 42 cm^{-1} μετατόπισή της προς υψηλότερες συχνότητες στο φάσμα του **8** έχει, επίσης, αποδοθεί στη συμπλοκοποίησή της^{77,78}.

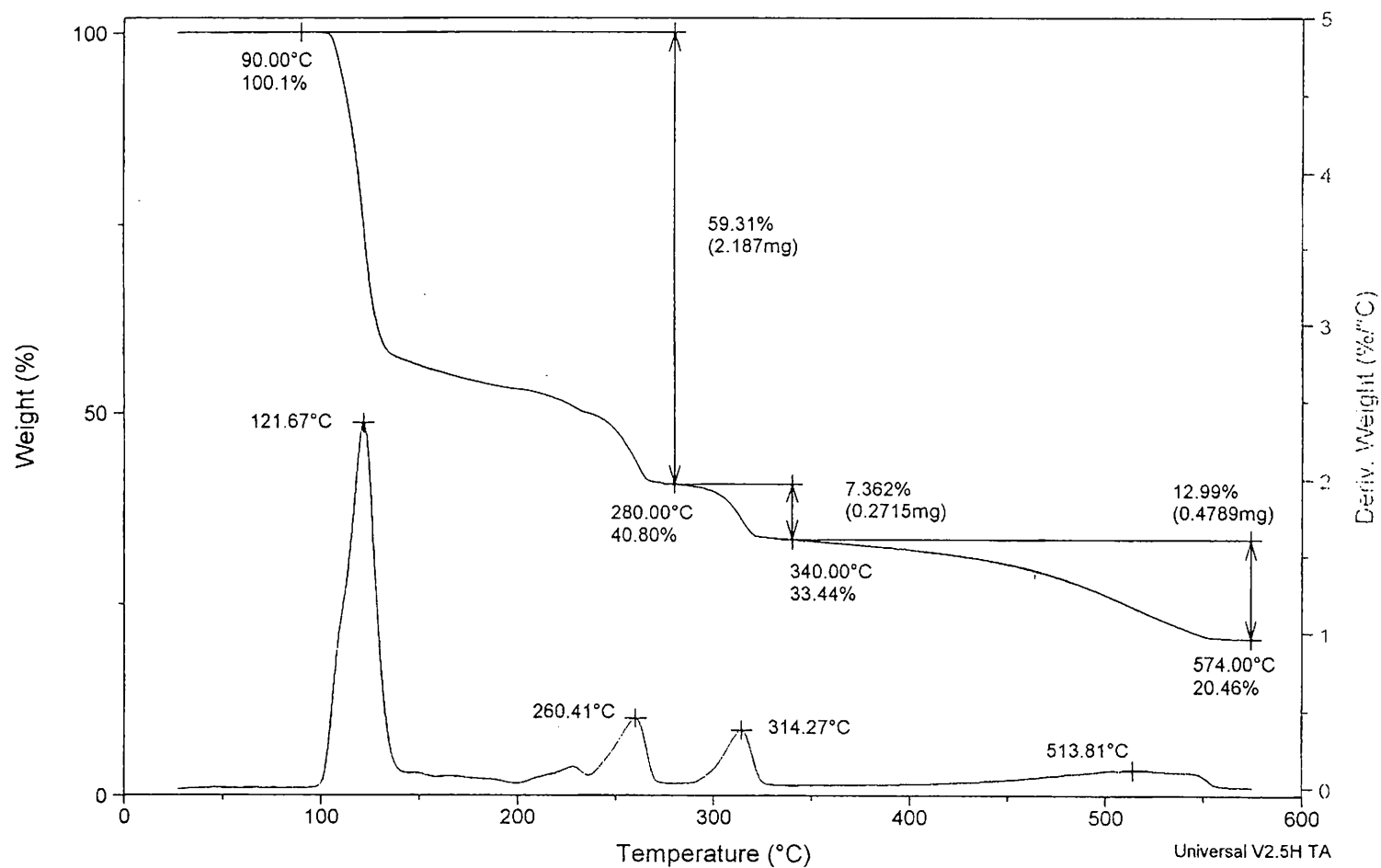
Το far-IR φάσμα του **7** είναι πολύπλοκο. Απουσία δεδομένων για το far-IR φάσμα της ελεύθερης tmen, η απόδοση των ταινιών του **7** είναι μια δύσκολη υπόθεση. Η ταινία στα 359 cm^{-1} αποδίδεται⁷⁰ στη δόνηση τάσης του δεσμού Ni-O(H₂O). Οι ώμοι στα 381 και 370 cm^{-1} αποδίδονται σε δονήσεις $\nu(\text{Ni-N}_{\text{tmen}})$: η απόδοση γίνεται με βάση το far-IR φάσμα του κατιόντος $[\text{Ni}(\text{en})_3]^{2+}$ (en=αιθυλενοδιαμίνη) που εμφανίζει⁷⁹ τις ταινίες $\nu(\text{M-N})$ στην περιοχή $410\text{-}380\text{ cm}^{-1}$. Μερικές από τις ταινίες στην περιοχή $325\text{-}250\text{ cm}^{-1}$ οφείλονται σε δονήσεις τάσης των δεσμών $\text{Ni-O}(\text{RCO}_2^-)$ ^{70,80}.

Κ. Η ΘΕΡΜΙΚΗ ΔΙΑΣΠΑΣΗ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CCCl}_3)_4(\text{OH}_2)(\text{tmen})_2]$ (7).

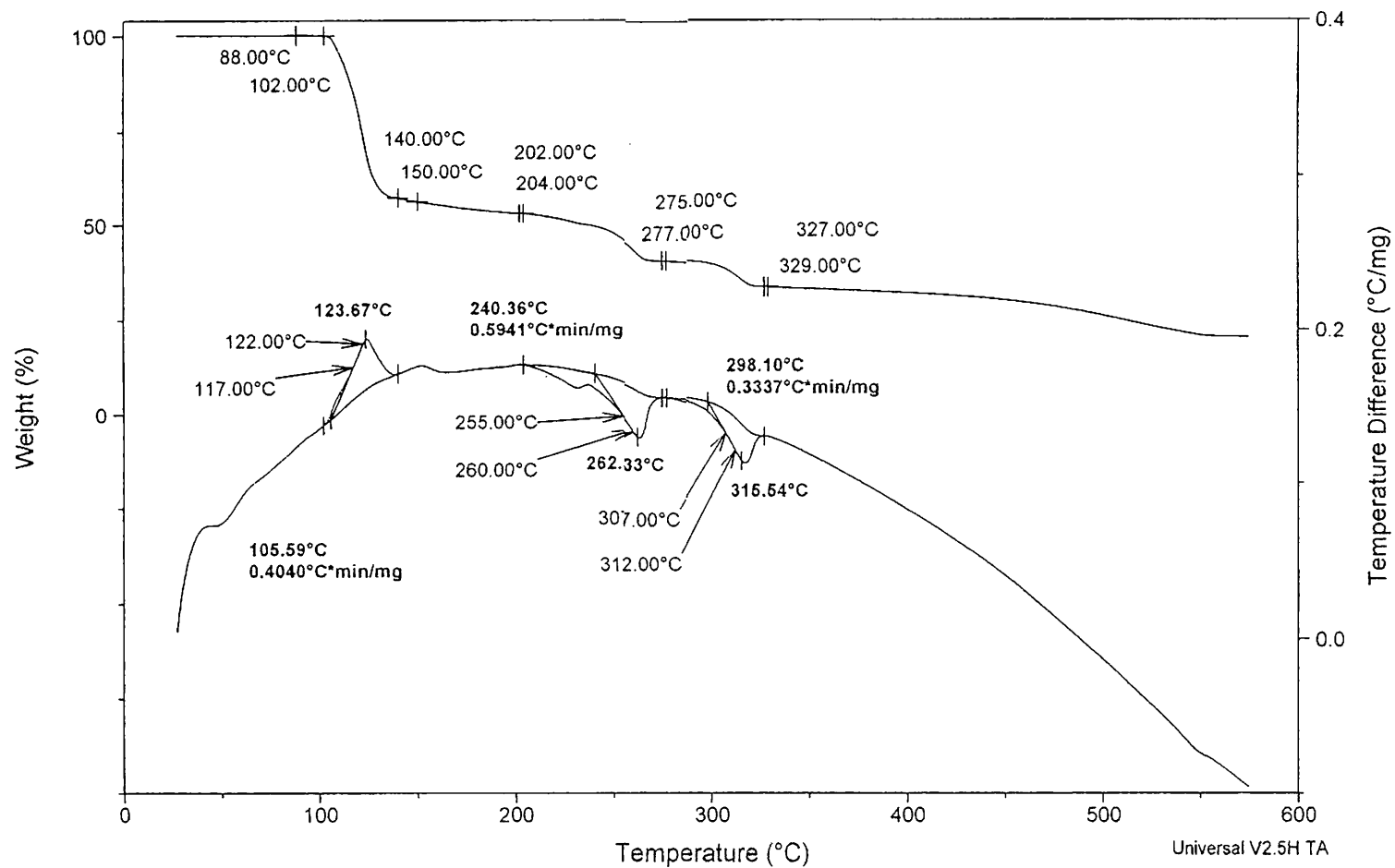
Υπάρχουν δεδομένα TG/DTG (Σχήμα 42) και TG/DTA (Σχήμα 43) για το σύμπλοκο **7** στην περιοχή 30-600 °C.

Το σύμπλοκο διασπάται γρήγορα σε ένα εξώθερμο στάδιο στην περιοχή 102-135 °C. Η απώλεια βάρους για αυτό το στάδιο είναι ~42 %. Η απώλεια αυτή είναι συντριπτικά μεγαλύτερη από αυτήν που αναμένεται για την απομάκρυνση 1 mmol H_2O ανά mmol συμπλόκου (1.8 %). Το γεγονός αυτό φανερώνει τη σπουδαιότητα του γεφυρωτικού μορίου H_2O στη σταθεροποίηση της διπυρηνικής δομής του **7**. Η απώλεια των 42 % δεν οδηγεί σε στοιχειομετρική ένωση.

Στη συνέχεια το σύμπλοκο διασπάται αργά στην περιοχή 135-270 °C (απώλεια βάρους: 17.3 %) σε δύο ή τρία ενδόθερμα στάδια. Υπάρχει ένα μικρό πλατό στην περιοχή 270-285 °C και αμέσως μετά ακολουθεί νέα ενδόθερμη διάσπαση στην περιοχή 285-325 °C (απώλεια βάρους: 7.4 %). Στη συνέχεια λαμβάνει χώρα μια αργή διάσπαση στην περιοχή 325-555 °C (απώλεια βάρους: 13.0 %) οπότε λαμβάνεται θερμικά σταθερό υπόλειμμα σε θερμοκρασία μεγαλύτερη των 560 °C. Το % βάρος του υπολείμματος είναι 20.5 % και πιθανά αντιστοιχεί σε μίγμα NiO (θεωρ. τιμή: 14.6 %) και NiCO_3 (θεωρ. τιμή: 23.3 %).



Σχήμα 42. Οι καμπύλες TG και DTG του συμπλόκου **7** στην περιοχή 30-600 °C.



Σχήμα 43. Οι καμπύλες TG και DTA του συμπλόκου **7** στην περιοχή 30-600 °C.

V. ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα εργασία παρασκευάσθηκαν οκτώ τριαδικά σύμπλοκα (1-8) $\text{Ni}^{\text{II}}/\text{RCO}_2^-/\text{N-δότες}$ ($\text{R} = \text{Me}, \text{Cl}_3\text{C}, \text{Ph}_3$ και $\text{N-δότης} = \text{bpy}, \text{diMebpy}, \text{phen}, \text{py}, \text{tmen}$) καθώς και το σύμπλοκο $[\text{Ni}_2(\text{BA})_2(\text{O}_2\text{CMe})(\text{tmen})_2](\text{MeCO}_2)$ [9]. Τα σύμπλοκα χαρακτηρίσθηκαν με Κρυσταλλογραφία Ακτίνων Χ και φασματοσκοπία IR.

Τα τρία διπυρηνικά σύμπλοκα (7-9) παρουσιάζουν σχετικό βιολογικό ενδιαφέρον σε σχέση με το ενεργό κέντρο της ουρεάσης. Τα διπυρηνικά σύμπλοκα $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CCCl}_3)_4(\text{OH}_2)(\text{tmen})_2]$ (7) και $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CCPh}_3)_4(\text{OH}_2)(\text{py})_4] \cdot \text{MeOH}$ (8) έχουν στη σφαίρα ένταξης των δύο Ni^{II} O- και N-υποκαταστάτες. Τέτοιοι υποκαταστάτες υπάρχουν και στο ενεργό κέντρο του ενζύμου. Από αυτήν την άποψη οι ενώσεις 7 και 8 μπορούν να θεωρηθούν ως δομικά μοντέλα του διπυρηνικού ενεργού κέντρου $\text{Ni}_2^{\text{II,II}}$ της ουρεάσης. Οι αποστάσεις $\text{Ni} \dots \text{Ni}$ στα σύμπλοκά μας είναι 3.646 [7] και 3.592 [8] Å και μπορούν να συγκριθούν ικανοποιητικά με τις αποστάσεις 3.5 Å για την KAU και 3.7 Å για τη BPU. Ιδιαίτερου ενδιαφέροντος είναι η παρουσία ενός γεφυρωτικού μορίου H_2O στα 7 και 8. Υπενθυμίζουμε ότι στη δομή της BPU, ένα μόριο H_2O (W_B , βλέπε Σχήμα 16) που βρίσκεται υπό τη μορφή υδροξειδίου, γεφυρώνει τα δύο ιόντα Ni^{II} . Πιστεύουμε ότι με την παρασκευή και το χαρακτηρισμό των συμπλόκων 7 και 8 εκπληρώθηκε εν μέρει ο πρώτος στόχος της εργασίας (βλέπε Μέρος II). Θα πρέπει πάντως να σημειωθεί ότι στα σύμπλοκα δεν αναπαράγεται ο αριθμός ένταξης (και άρα και η γεωμετρία ένταξης) του πενταενταγμένου ιόντος Ni^{II} στην κρυσταλλική δομή της BPU (που είναι και η πλέον έγκυρη), αλλά αναπαράγεται η γεωμετρία και το "χρωμοφόρο" $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{N}_2\text{O}_4]$ του εξαενταγμένου μεταλλοϊόντος.

Ο δεύτερος στόχος της εργασίας (βλέπε Μέρος II) απέτυχε πλήρως. Όλες οι αντιδράσεις των 7 και 8 με ουρία, στην προσπάθειά μας να συνθέσουμε μοντέλα των ενδιάμεσων του καταλυτικού μηχανισμού της ουρεάσης, δεν έδωσαν προϊόντα που περιείχαν ουρία. Σύμφωνα με την άποψη του Okawa και των συνεργατών του⁴⁸ αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι και τα δύο ιόντα Ni^{II} στα συνθετικά σύμπλοκα έχουν αριθμούς ένταξης 6 και επομένως αυτά είναι κορεσμένα ως προς την ένταξη (coordinatively saturated) και συνεπώς δεν μπορούν να ενωθούν με ένα ασθενή μονοδοντικό δότη, όπως η ουρία. Επίσης στα 7 και 8 δεν υπάρχει κάποιος υποκαταστάτης ασθενώς ενωμένος με τα ιόντα Ni^{II} , π.χ. μόρια

διαλύτη (το μ_2 μόριο H_2O ενώνεται ισχυρά με τα μεταλλοϊόντα, βλέπε κεφάλαιο Θ), που θα μπορούσε να αντικατασταθεί από ένα μόριο ουρίας. Στο ενεργό κέντρο ένταξης του ενζύμου BPU υπάρχουν τέτοια μόρια διαλύτη που αντικαθίστανται από το υπόστρωμα. Πάντως η άποψη του Okawa πιθανά να μην είναι σωστή γιατί ο Lippard και οι συνεργάτες του⁴⁷ έχουν συνθέσει το διπυρηνικό σύμπλοκο $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CMe})_3(\text{urea})(\text{tmen})_2](\text{OTf})$ από την αντίδραση ουρίας με διμερές στο οποίο οι αριθμοί ένταξης των δύο ιόντων Ni^{II} είναι 6.

Το σύμπλοκο **9** παρουσιάζει σημαντικό βιοανόργανο ενδιαφέρον γιατί περιέχει ως υποκαταστάτη έναν από τους πιο καλά μελετημένους αναστολείς της ουρεάσης. Μάλιστα ο τρόπος συμπλοκοποίησης του βενζοϋδροξαμάτο (-1) ιόντος στο **9** είναι ο ίδιος που διαπιστώθηκε κρυσταλλογραφικά^{35,24b} στη δομή της ουρεάσης παρουσία του δομικά παρόμοιου αναστολέα ακετοϋδροξαμάτο (-1) ιόντος, βλέπε και παράγραφος 5 του υποκεφαλαίου Γ₆. Υπενθυμίζουμε στον αναγνώστη ότι ο αναστολέας γεφυρώνει τα δύο ιόντα Ni^{II} μέσω του οξυγόνου της υδροξυλικής ομάδας και ενώνεται με το ένα Ni^{II} μέσω του καρβονυλικού οξυγόνου. Υπάρχουν διαφορές ανάμεσα στο συνθετικό σύμπλοκο **9** και στα ενεργά κέντρα των BPU/AA⁻ και KAU/AA⁻. Στα ένζυμα υπάρχει μόνο μια γέφυρα του αναστολέα, ενώ στο **9** υπάρχουν δύο γέφυρες BA⁻. Η απόσταση $\text{Ni}^{\text{II}} \dots \text{Ni}^{\text{II}}$ στα φυσικά συστήματα είναι 3.7 Å (KAU/AA⁻) και 3.5 Å (BPU/AA⁻), ενώ στο **9** είναι 3.0 Å. Αυτή η μικρή απόσταση οφείλεται στο τριπλά γεφυρωτικό σύστημα υποκαταστατών (δύο από τις γέφυρες είναι μονοατομικές) στο **9** σε σχέση με το διπλά γεφυρωτικό σύστημα υποκαταστατών στα φυσικά συστήματα. Μια άλλη διαφορά βρίσκεται στους αριθμούς ένταξης των ιόντων Ni^{II} που είναι 6/5 στις KAU/AA⁻ και BPU/AA⁻ και 6/6 στο **9**. Επειδή η ουρεάση αναστέλλεται στοιχειομετρικά από τα υδροξαμικά οξέα, είναι σίγουρο ότι η αναστολή περιλαμβάνει μόνο ένα ιόν αναστολέα ανά Ni_2 . Ο γεφυρωτικός τρόπος συμπλοκοποίησης του BA⁻ βρίσκεται σε συμφωνία με τη σημερινή άποψη ότι ο μηχανισμός αναστολής ενέχει γεφυρωτική ένταξη του αναστολέα. Κατά συνέπεια μπορούμε να ισχυριστούμε ότι ο *τρίτος στόχος της εργασίας (βλέπε Μέρος II) εκπληρώθηκε εν μέρει* γιατί με το χαρακτηρισμό του **9** μοντελοποιήθηκε μόνο ο τρόπος συμπλοκοποίησης του αναστολέα. Πιστεύεται ότι ο $\mu_2:\eta^2:\eta^1$ τρόπος συμπλοκοποίησης των υδροξαμάτο (-1) ιόντων είναι αυτός που προκαλεί και την αναστολή όχι μόνο στην ουρεάση αλλά και σε πολλά άλλα ένζυμα με

διπυρηνικό κέντρο (ενολάσεις, αμινοπεπτιδάσες), όπως έχει διαπιστωθεί από πρόσφατες μελέτες³³.

Το θέμα της εργασίας μας θα μπορούσε να συνεχισθεί προς την κατεύθυνση Διδακτορικής Διατριβής. Σε μια τέτοια περίπτωση θα πρέπει μεταξύ των άλλων να εκπληρωθεί πλήρως ο πρώτος στόχος, να παρασκευασθούν και να μελετηθεί η χημική δραστικότητα συμπλόκων Ni_2^{II} , $^{\text{II}}/\text{RCO}_2^-/\text{N}$ -δότες/urea και να συντεθούν διπυρηνικά σύμπλοκα με ένα ιόν αναστολέα/ Ni_2 .

Λ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Z. Guo and P. Sadler, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **38**, 1512, 1998.
2. S. J. Lippard in "Progress in Inorganic Chemistry: Bioinorganic Chemistry", (editor: S. J. Lippard), vol.**38**, Wiley, New York, 1990, pp. vii-xv
3. B. Lippert in "Progress in Inorganic Chemistry", (editor: S. J. Lippard), vol.**37**, Wiley, New York, 1989, pp.1-97.
4. S. J. Lippard and J. M. Berg, "Principles of Bioinorganic Chemistry", University Science Books, Mill Valley, CA., 1995.
5. J. Reedijk in "Bioinorganic Catalysis", (editor: J. Reedijk), Marcel Dekker Inc., New York, 1993, pp.1-10.
6. W. Kaim and B. Schwederski, "Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in the Chemistry of Life. An Introduction and Guide", Wiley, New York, 1993.
7. D. E. Fenton, *Chem. Soc. Rev.*, **28**, 159, 1999.
8. J. A. Ibers and R. H. Holm, *Science*, **209**, 223, 1980.
9. Ν. Λαλιώτη, "Μελέτη των Τριαδικών Συστημάτων $Zn^{II}/RCO_2^-/N$ -Δότες: Συμβολή σε Θέματα Βιοανόργανης Χημείας και Χημείας Μοριακών Υλικών", Διδακτορική Διατριβή, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα 1999.
10. R. H. Holm, P. Kennepohl and E. I. Solomon, *Chem. Rev.*, **96**, 2239, 1999.
11. D. Sellman, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **32**, 6467, 1993.
12. D. Coucouvanis, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **1**, 594, 1996.
13. S. C. Davies, D. J. Evans, D. L. Hughes, S. Longhurst and J. R. Sanders, *Chem. Commun.*, 1935, 1999.
14. M. Schröder in "Encyclopedia of Inorganic Chemistry", (editor-in-chief: R. B. King), vol.**5**, Wiley, New York, 1994, pp.2392-2411.
15. F. A. Cotton, J. Wilkinson, C. A. Murillo and M. Bochmann, "Advanced Inorganic Chemistry", 6th ed., Wiley, New York, 1999.
16. R. K. Watt and P. W. Ludden, *Cellular and Molecular Life Sciences*, **56**, 604, 1999.

17. M. A. Halcrow and G. Christou, *Chem. Rev.*, **94**, 2421, 1994.
18. M. J. Huroney, G. Davidson, C. B. Allan and J. Figlar, *Structure and Bonding*, **92**, 1, 1998.
19. J. C. Fontecilla-Camps, *Structure and Bonding*, **91**, 1, 1998.
20. R. P. Hausinger, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **2**, 279, 1997.
21. R. A. Andrews, R. L. Blakeley and B. Zerner in "Urease, a Ni(II) metalloenzyme", VCH, New York, 141-166, 1989.
22. R. P. Hausinger, "Biochemistry of Nickel", Plenum, New York, 1993.
23. E. Jabri, M. B. Carr, R. P. Hausinger and P. A. Karplus, *Science*, **268**, 996, 1995.
24. (a) S. Ciurli, S. Benini, W. R. Rypniewski, K. S. Wilson, S. Miletto and S. Mangani, *Coord. Chem. Rev.*, 190-192, 331, 1999; (b) S. Benini, W. R. Rypniewski, K. S. Wilson, S. Miletto, S. Ciurli and S. Mangani, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **5**, 110, 2000.
25. G. J. Colpas, G. Brayman, J. McCracken, M. A. Pressler, G. T. Bubcock, L.-J. Ming, C. M. Colangelo, R. A. Soott and R. P. Hausinger, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **3**, 150, 1998.
26. K. Yamaguchi, N. J. Gosper, C. Stalhundske, R. A. Scott, M. A. Pearson, P. A. Caroluse and R. P. Hausinger, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **4**, 468, 1999.
27. E. Jabri and P. A. Karplus, *Biochemistry*, **35**, 10616, 1996.
28. S. Benini, W. R. Rypniewski, K. S. Wilson, S. Ciurli and S. Mangani, *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, **3**, 268, 1998.
29. S. Benini, S. Ciurli, W. Rypniewski, K. S. Mangani, *Acta Crystallogr. D*, **54**, 409, 1998.
30. B. Chatterjee, *Coord. Chem. Rev.*, **26**, 281, 1978.
31. B. Kurzak, H. Kozlowski and E. Farkus, *Coord. Chem. Rev.*, **114**, 169, 1992.
32. S. Mizukami and K. Nagata, *Coord. Chem. Rev.*, **3**, 267, 1968.
33. A. J. Stemmler, J. W. Kampf, N. L. Kirk and V. L. Pecoraro, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 6368, 1995.
34. N. E. Dixon, J. A. Hinds, A. K. Fihelly, C. Gazzola, D. J. Winzor, R. L. Blakeley and B. Zerner, *Canad. J. Biochem.*, **58**, 1323, 1980.

35. M. A. Pearson, M. Overbye, R. P. Hausinger and P. A. Karplus, *Biochemistry*, **36**, 8164, 1997.
36. M. Arnold, D. A. Brown, O. Deeg, W. Errington, W. Haase, K. Herlihy, T. J. Kemp, H. Nimir and R. Werner, *Inorg. Chem.*, **37**, 2920, 1998.
37. D. A. Brown, K. M. Herlihy and S. K. O'Shea, *Inorg. Chem.*, **38**, 5198, 1999.
38. D. A. Brown, L. P. Kuffe, O. Deeg, W. Errington, N. J. Fitzpatrick, W. K. Glass, T. J. Kamp and H. Nimir, *Chem. Commun.*, 2433, 1998.
39. D. Volkmer, A. Hortmann, K. Griesar, W. Haase and B. Krebs, *Inorg. Chem.*, **35**, 1132, 1996.
40. D. Volkmer, B. Hommerich, K. Griesar, W. Haase and B. Krebs, *Inorg. Chem.*, **35**, 3792, 1996.
41. K. Yamaguchi, S. Koshiro, F. Akagi, M. Suzuki, A. Uehara and S. Suzuki, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 5752, 1997.
42. B. E. Schultz, B.-H. Ye, X. Li and S. I-Chan, *Inorg. Chem.*, **36**, 2617, 1997.
43. F. Meyer, M. Konrad and E. Kaifer, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 1851, 1999.
44. R. M. Buchanan, M. S. Mushuta, K. J. Oberhausen and J. F. Richardson, *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 4497, 1989.
45. F. Meyer, A. Jacobi, B. Nuber, P. Rutsch and L. Zsolnai, *Inorg. Chem.*, **37**, 1213, 1998.
46. S. Uozumi, H. Furutachi, M. Ohba, H. Okawa, D. E. Fenton, K. Shindo, S. Murata and D. J. Kitko, *Inorg. Chem.*, **37**, 6281, 1998.
47. H. E. Wages, K. L. Taft and S. Lippard, *Inorg. Chem.*, **32**, 4985, 1993.
48. T. Koga, H. Furutachi, T. Nakamura, N. Fukita, M. Ohba, K. Takahashi and H. Okawa, *Inorg. Chem.*, **37**, 989, 1998.
49. A. M. Barrios and S. J. Lippard, *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 11751, 1999.
50. F. Meyer and H. Pritzkow, *Chem. Commun.*, 1555, 1998.
51. A. I. Vogel, "A Text-Book of Quantitative Inorganic Analysis", 3rd ed., Longman, London, pp.479-481, 1961.
52. G. Christou, S. P. Perlepes, E. Libby, K. Folting, J. C. Huffman, R. J. Webb and D. N. Hendrickson, *Inorg. Chem.*, **29**, 3657, 1990.
53. A. M. Panagiotopoulos, Th. F. Zafiropoulos, S. P. Perlepes, E.

- Bakalbassis, I. Masson-Ramade, O. Kahn, A. Terzis and C. P. Raptopoulou, *Inorg. Chem.*, **34**, 4918, 1995.
54. J. Catterick and P. Thornton, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 233, 1975.
 55. U. Turpeinen, R. Hamalainen and J. Reedijk, *Polyhedron*, **6**, 1603, 1987.
 56. P. Chaudhuri, H. Kuppers, K. Wiegardt, S. Gehring, W. Haase and J. Weiss, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1367, 1988.
 57. P. Chaudhuri, M. Winter, H. Kuppers, K. Wiegardt, B. Nuber and J. Weiss, *Inorg. Chem.*, **26**, 3302, 1987.
 58. N. Hirashima, S. Husebye, M. Kato, Y. Muto and T. Tokii, *Acta Chem. Scand.*, **44**, 984, 1990.
 59. U. Turpeinen, *Finn. Chem. Lett.*, 173, 1976.
 60. M. Ahlgren, U. Turpeinen and R. Hamalainen, *Acta Chem. Scand.*, **A32**, 189, 1978.
 61. I. L. Eremenko, S. E. Nefedov, A. A. Sidorov, M. A. Golubnichaya, P. V. Danilov, V. N. Ikorskii, Y. Shvedenkov, V. M. Novotortsev and I. I. Moiseev, *Inorg. Chem.*, **38**, 3764, 1999.
 62. C. K. Prout, C. Walker and F. J. C. Rossotti, *J. Chem. Soc.*, (A), 556, 1971.
 63. C. A. Salata, M-Youinou and C. J. Burrows, *Inorg. Chem.*, **30**, 3454, 1991.
 64. J. B. Vincent, C. Christmas, H-R. Chang, Q. Li, P. D. W. Boyd, J. C. Huffman, D. N. Hendrickson and G. Christou, *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 2086, 1989.
 65. N. E. Heimer and I. Y. Ahmed, *Inorg. Chim. Acta*, **64**, L65, 1982.
 66. M. Kato and Y. Muto, *Coord. Chem. Rev.*, **92**, 45, 1988.
 67. P. Roman, C. G. Miralles and A. Luque, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 3985, 1996.
 68. P. Chaudhuri, D. Ventur, K. Wiegardt, E. M. Peters, K. Peters and A. Simon, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **24**, 57, 1985.
 69. L. S. Gelfand, F. J. Iaconiani, L. L. Pytlewski, A. N. Specca, C. M. Mikulski and N. M. Karayannis, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **42**, 377, 1980.
 70. K. Nakamoto, "Infrared and Raman Spectra of Inorganic and

- Coordination Compounds", 4th ed., Wiley, New York, pp.227-239, 1986.
71. L. J. Bellamy and A. J. Owen, *Spectrochim. Acta, Part A*, **25**, 329, 1969.
 72. G. B. Deacon and R. J. Phillips, *Coord. Chem. Rev.*, **33**, 227, 1980.
 73. S. P. Perlepes, E. Libby, W. E. Streib, K. Folting and G. Chrisrtou, *Polyhedron*, **11**, 923, 1992.
 74. Y. Muto, H. Horie, T. Tadashi, M. Nakashima, M. Koikawa, O. W. Steward, S. Ohba, H. Uekusa, S. Husebye, I. Suzuki and M. Kato, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **70**, 1573, 1997.
 75. N. S. Gill, R. H. Nuttall, D. E. Scaife and D. W. A. Sharp, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **18**, 79, 1961.
 76. P. C. H. Mitchell, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **21**, 382, 1961.
 77. R. J. H. Clark and C. S. Williams, *Inorg. Chem.*, **4**, 350, 1965.
 78. C. W. Frank and L. B. Rogers, *Inorg. Chem.*, **5**, 615, 1966.
 79. Z. Gabelica, *Spectrochim. Acta, Part A*, **32**, 327, 1976.
 80. D. M. Adams, "Metal-Ligand and Related Vibrations", E. Arnold Ltd., London, pp.281-284, 1967.

Περίληψη

Η ουρεάση, το μόνο γνωστό ένζυμο που περιέχει Ni^{II} και ανήκει στην κατηγορία των υδρολασών, καταλύει την υδρόλυση της ουρίας προς αμμωνία και καρβαμικό οξύ. Οι κρυσταλλικές δομές ουρεάσης από δύο διαφορετικούς μικροοργανισμούς επιλύθηκαν πρόσφατα παρέχοντας μια λεπτομερή εικόνα του ενεργού κέντρου του ενζύμου. Το ένζυμο περιέχει δύο ιόντα Ni^{II} τα οποία βρίσκονται σε απόσταση 3.5 Å. Τα δύο ιόντα Ni^{II} γεφυρώνονται από ένα μοναδικό παράγωγο καρβαμυλιωμένης λυσίνης, ενώ σε κάθε ιόν Ni^{II} εντάσσονται δύο ιστιδίνες. Επιπλέον, ένα ιόν Ni^{II} είναι ενωμένο με ένα κατάλοιπο ασπαραγινικού οξέος. Ένα μόριο H_2O ή ιόν OH^- γεφυρώνει τα δύο μεταλλοϊόντα και τέλος ένα μόριο H_2O εντάσσεται τερματικά σε κάθε μεταλλικό κέντρο. Η λειτουργία του ενζύμου αναστέλλεται από μια ποικιλία ενώσεων, συμπεριλαμβανομένων και των υδροξαμικών οξέων.

Έχουμε ξεκινήσει μια ανόργανη προσέγγιση της ουρεάσης, μέσω συνθετικών μοντέλων, με σκοπό να συνεισφέρουμε στη διευκρίνιση διαφόρων απόψεων για το μηχανισμό υδρόλυσης της ουρίας καθώς και για την αναστολή λειτουργίας του ενζύμου από τα υδροξαμικά οξέα. Η προσέγγισή μας περιλαμβάνει τη μελέτη συστημάτων αντίδρασης $\text{Ni}^{\text{II}}/\text{RCO}_2^-/\text{N}$ -δότες και $\text{Ni}^{\text{II}}/\text{RCO}_2^-/\text{N}$ -δότες/ BHA, όπου $\text{R} = \text{Me}, \text{Cl}_3\text{C}, \text{Ph}_3\text{C}$, N -δότες=2,2'-διπυριδίνη (bpy), 4,4'-διμεθυλο-2, 2'-διπυριδίνη (diMebpy), 1, 10'-φαινανθρόλίνη (phen), τετραμεθυλοαιθυλενοδιαμίνη (tmen), πυριδίνη (py) και BHA= βενζοϋδροξαμικό οξύ. Κατά τη διάρκεια αυτής της εργασίας παρασκευάστηκαν τα εξής νέα σύμπλοκα: $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{bpy})_2](\text{ClO}_4)$ (**1**), $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{bpy})_2(\text{H}_2\text{O})](\text{MeCO}_2) \cdot 3\text{CHCl}_3$ (**2**), $[\text{Ni}(\text{bpy})_3](\text{ClO}_4)_2$ (**3**), $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})_2(\text{diMebpy})(\text{H}_2\text{O})_2]$ (**4**), $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{diMebpy})_2](\text{ClO}_4) \cdot \text{MeOH}$ (**5**), $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{phen})_2](\text{ClO}_4)$ (**6**), $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CCCl}_3)_4(\text{OH}_2)(\text{tmen})_2]$ (**7**), $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CCPh}_3)_4(\text{OH}_2)(\text{py})_4] \cdot \text{MeOH}$ (**8**) και $[\text{Ni}_2(\text{BA})_2(\text{O}_2\text{CMe})(\text{tmen})_2](\text{MeCO}_2) \cdot 0.5\text{H}_2\text{O} \cdot \text{EtOH}$ (**9**). Τα σύμπλοκα χαρακτηρίστηκαν με Κρυσταλλογραφία Ακτίνων Χ και φασματοσκοπία IR.

Τα διπυρηνικά σύμπλοκα **7-9** παρουσιάζουν βιοανόργανο ενδιαφέρον. Οι αποστάσεις $\text{Ni} \dots \text{Ni}$ στα **7** και **8** είναι 3.646 και 3.592 Å αντίστοιχα, συγκριτικά με 3.5 Å στην ουρεάση, ενώ οι σφαίρες ένταξης των ιόντων Ni^{II}

αποτελούνται από N- και O- δότες, συμπεριλαμβανομένου και ενός γεφυρωτικού μορίου H₂O. Οι ενώσεις **7** και **8** μπορούν να θεωρηθούν ως δομικά μοντέλα του ενεργού κέντρου του ενζύμου. Οι αντιδράσεις κάτω από διάφορες συνθετικές συνθήκες απέτυχαν να δώσουν προϊόντα που να περιέχουν ουρία. Ο $\mu_2:\eta^2:\eta^1$ τρόπος ένταξης του BA⁻ στο σύμπλοκο **9** είναι ο ίδιος με αυτόν που διευκρινίστηκε πρόσφατα για το παράγωγο C319A της ουρεάσης *K. aerogenes* και της ουρεάσης *B. pasteurii* παρουσία του αναστολέα ακετοϋδροξαμικό οξύ.

Abstract

Urease, the only known Ni^{II} -dependent enzyme in the hydrolases family, catalyzes the hydrolysis of urea into ammonia and carbamic acid. Crystal structures of urease from two different microorganisms have recently been solved, providing a detailed picture of the active site. The enzyme contains two Ni^{II} ions separated by 3.5 Å. The Ni^{II} ions are each coordinated by two histidines and bridged by a unique carbamylated lysine residue. One of the Ni^{II} ions is further ligated by an aspartate residue; a solvent-derived H_2O or OH^- ion bridges the two metal ions and one H_2O molecule binds terminally to each metal center. The enzyme is inhibited by a variety of agents, including hydroxamic acids.

We have initiated an inorganic model approach to urease in order to contribute in the elucidation of various aspects of the hydrolysis mechanism of urea and inhibition of the enzyme by hydroxamic acids. Our model approach involves the investigation of the $\text{Ni}^{\text{II}}/\text{RCO}_2^-/\text{N-donor}$ and $\text{Ni}^{\text{II}}/\text{RCO}_2^-/\text{N-donor}/\text{BHA}$ reaction systems, where $\text{R} = \text{Me}, \text{Cl}_3\text{C}, \text{Ph}_3\text{C}$, $\text{N-donor} = 2,2'$ -bipyridine (bpy), 4,4'-dimethyl-2,2'-bipyridine (diMebpy), 1,10-phenanthroline (phen), tetramethylethylenediamine (tmen), pyridine (py) and BHA=benzohydroxamic acid. The new complexes $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{bpy})_2](\text{ClO}_4)$ (**1**), $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{bpy})_2(\text{H}_2\text{O})](\text{MeCO}_2) \cdot 3\text{CHCl}_3$ (**2**), $[\text{Ni}(\text{bpy})_3](\text{ClO}_4)_2$ (**3**), $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})_2(\text{diMebpy})(\text{H}_2\text{O})_2]$ (**4**), $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{diMebpy})_2](\text{ClO}_4) \cdot \text{MeOH}$ (**5**), $[\text{Ni}(\text{O}_2\text{CMe})(\text{phen})_2](\text{ClO}_4)$ (**6**), $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CCCl}_3)_4(\text{OH}_2)(\text{tmen})_2]$ (**7**), $[\text{Ni}_2(\text{O}_2\text{CCPh}_3)_4(\text{OH}_2)(\text{py})_4] \cdot \text{MeOH}$ (**8**) and $[\text{Ni}_2(\text{BA})_2(\text{O}_2\text{CMe})(\text{tmen})_2](\text{MeCO}_2) \cdot 0.5\text{H}_2\text{O} \cdot \text{EtOH}$ (**9**) have been prepared. The complexes have been characterized by single-crystal X-ray crystallography and IR spectroscopy.

The dinuclear complexes **7-9** present a bioinorganic interest. The $\text{Ni} \dots \text{Ni}$ distances in **7** and **8** are 3.646 and 3.592 Å, respectively, compared to 3.5 Å in urease, while the coordination spheres of the Ni^{II} ions consist of N- and O-donors including a bridging H_2O molecule. Complexes **7** and **8** can be regarded as structural models of the enzyme active site. The reactions of **7** and **8** under several synthetic conditions failed to yield products containing urea; a possible explanation of this failure is given. The $\mu_2:\eta^2:\eta^1$ coordination

mode of BA^- in complex **9** is the same with that recently determined for the acetohydroxamate-inhibited C319A variant of *K. aerogenes* urease and for the acetohydroxamate-inhibited urease from *B. pasteurii*.