



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΤΟΜΕΑΣ ΑΝΟΡΓΑΝΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ

ΠΙΝΑΚΑ ΑΦΡΟΔΙΤΗ
ΜΗΧΑΝΙΚΟΣ ΤΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΥΛΙΚΩΝ

ΟΡΘΟΜΕΤΑΛΛΙΚΑ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΤΟΥ Pt(II) ΜΕ
ΠΟΛΥΠΥΡΙΔΙΝΙΚΟΥΣ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΕΣ:
ΣΥΝΘΕΣΗ, ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ
ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥΣ ΜΕ CT-DNA

ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΥ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ ΣΤΗΝ
ΒΙΟΑΝΟΡΓΑΝΗ ΧΗΜΕΙΑ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ, ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2008



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΤΟΜΕΑΣ ΑΝΟΡΓΑΝΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ

ΠΙΝΑΚΑ ΑΦΡΟΔΙΤΗ
ΜΗΧΑΝΙΚΟΣ ΤΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΥΛΙΚΩΝ

**ΟΡΘΟΜΕΤΑΛΛΙΚΑ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΤΟΥ Pt(II) ΜΕ
ΠΟΛΥΠΥΡΙΔΙΝΙΚΟΥΣ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΕΣ:
ΣΥΝΘΕΣΗ, ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ
ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥΣ ΜΕ CT-DNA**

ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΥ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ ΣΤΗΝ
ΒΙΟΑΝΟΡΓΑΝΗ ΧΗΜΕΙΑ

Που εκπονήθηκε στο Ερευνητικό Εργαστήριο Ανόργανης Χημείας του Τομέα
Ανόργανης και Αναλυτικής του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ

ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ : ΑΧΙΛΛΕΑΣ ΓΑΡΟΥΦΗΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η ερευνητική εργασία που αναφέρεται στην παρούσα Διατριβή Μεταπτυχιακής Ειδίκευσης εκπονήθηκε στο ερευνητικό Εργαστήριο Ανόργανης Χημείας του Τομέα Ανόργανης και Αναλυτικής του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων το χρονικό διάστημα Νοέμβριος 2005 – Ιούνιος 2008 στα πλαίσια του διατμηματικού μεταπτυχιακού προγράμματος ειδίκευσης «Βιοανόργανη Χημεία».

Η ανάθεση του θέματος της διατριβής έγινε από τον κ. Αχιλλέα Γαρούφη, Επίκουρο Καθηγητή του τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων τον οποίο θα ήθελα να ευχαριστήσω, για την καθοδήγηση, την επιστημονική επίβλεψη και τις χρήσιμες συμβουλές κατά την εξέλιξη των ερευνητικών μου προσπαθειών.

Θα ήθελα, επιπλέον να ευχαριστώ την οικογένεια μου για την αμέριστη ηθική και οικονομική στήριξη, καθώς και όλους τους συναδέλφους μου που πραγματοποίησαν Διατριβές στο ερευνητικό εργαστήριο Ανόργανης Χημείας για την αλληλεγγύη και για την δημιουργία θαυμάσιου κλίματος στο εργαστήριο.

Τέλος, ευχαριστώ την Υποψήφια Διδάκτορα Κατελίτσα Τριανταφυλλίδη, για τις συμβουλές της σε επιστημονικά θέματα κατά τη διάρκεια της μεταπτυχιακής μου διατριβής.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα διατριβή πραγματοποιήθηκε η σύνθεση και ο χαρακτηρισμός των συμπλόκων (1)[Pt(ppy)(rhen)]Cl, (2)[Pt(ppy)(rpx)]Cl, (3)[Pt(ppy)(phen-dione)]Cl και (4)[Pt(ppy)(drq)]Cl. Συγχρόνως μελετήθηκε η αλληλεπίδρασή τους με CT-DNA. Η μελέτη της αλληλεπίδρασης και η εύρεση των σταθερών δέσμησης πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού. Οι σταθερές δέσμησης βρέθηκαν α) $K_b=3.9 \cdot 10^5 M^{-1}$, $s=0.13$, β) $K_b=2,9 \cdot 10^6 M^{-1}$, $s=0.21$ και γ) $K_b=2,7 \cdot 10^6 M^{-1}$, $s=0.09$ για τα σύμπλοκα (1), (2), και (4) αντίστοιχα. Οι τιμές των σταθερών δέσμησης υποδηλώνουν την ύπαρξη μιας ισχυρής σύνδεσης των συμπλόκων στις αλυσίδες του DNA, μη ειδικώς (κύρια ή δευτερεύουσα) η οποία δεν προκαλεί μεταβολές στο λ_{max} της MLCT, ενώ παράλληλα αποτελούν ένα νέο πάνω όριο των τιμών της K_b για σύνδεση μορίων σε αλυσίδες του DNA.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1 Σύμπλοκες ενώσεις του λευκοχρύσου και ο βιολογικός τους ρόλος.....	2
1.1.1. Εισαγωγή	2
1.1.2. Σύμπλοκες ενώσεις του λευκοχρύσου (II).....	4
1.1.3. Αντικαρκινικά σύμπλοκα του λευκοχρύσου	6
α) Αντικαρκινικά σύμπλοκα του λευκοχρύσου 1 ^{ης} γενιάς (cisplatin) και μηχανισμός δράσης τους.....	8
β) Αντικαρκινικά σύμπλοκα του λευκοχρύσου 2 ^{ης} γενιάς και μηχανισμός δράσης τους.....	10
γ) Αντικαρκινικά σύμπλοκα του λευκοχρύσου 3 ^{ης} γενιάς και μηχανισμός δράσης τους	13
1.1.4. Ορθομεταλλικά σύμπλοκα του λευκοχρύσου(II) με πολυπυριδινικούς υποκαταστάτες	18
1.2. Αλληλεπίδραση συμπλόκων του λευκοχρύσου με DNA	21
1.2.1. Δομή DNA.....	21
1.2.2. Τρόποι αλληλεπίδρασης συμπλόκων λευκοχρύσου με το DNA	24
1.2.3. Αλληλεπίδραση συμπλόκων του λευκοχρύσου με DNA και σταθερές δέσμευσης K_b	28

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	30
2.1. Αντιδραστήρια και μέθοδοι	31
2.1.1. Αντιδραστήρια	31
2.1.2. Φυσικές μετρήσεις και μέθοδοι	31
2.1.3. Προετοιμασία των δειγμάτων CT-DNA και τιτλοδότησή τους με τα σύμπλοκα	32
2.1.4. Εύρεση της συγκέντρωσης του διαλύματος CT-DNA	32
2.1.5. Μεθοδολογία εύρεσης της σταθεράς δέσμευσης K_b σε M^{-1} του συμπλόκου με CT-DNA	33
2.1.6. Γραφικές παραστάσεις και καμπύλες εύρεσης της σταθεράς δέσμευσης K_b του συμπλόκου με το CT-DNA	36
2.2. Σύνθεση υποκαταστατών και συμπλόκων	38
2.2.1. Σύνθεση υποκαταστατών	38

2.2.1.1. Σύνθεση της 2-(2'-πυριδυλ) κινόξαλίνης (pqx)	38
2.2.1.2. Σύνθεση της 1,10-φαινανθρολίνη-5,6-διόνης (phen-dione)	38
2.2.1.3. Σύνθεση της διπύριδο[3,2-d:2',3'-f]κινόξαλίνης (dpq).....	39
2.2.2. Σύνθεση του (Bu ₄ N)[Pt(ppy)Cl ₂]	40
2.2.3. Σύνθεση συμπλόκων	41
2.2.3.1. Σύνθεση του συμπλόκου [Pt(ppy)(phen)]Cl χωρίς τη χρήση διαλυτών	41
2.2.3.2. Σύνθεση του συμπλόκου [Pt(ppy)(pqx)]Cl χωρίς τη χρήση διαλυτών	42
2.2.3.3. Σύνθεση του συμπλόκου [Pt(ppy)(phen-dione)]Cl	43
2.2.3.4. Σύνθεση του συμπλόκου [Pt(ppy)(dpq)]Cl	43
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ	
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ	45
3.1. Σύνθεση	46
3.1.1. Σύνθεση υποκαταστατών	46
3.1.1.1. Σύνθεση της 2-(2'-πυριδυλ) κινόξαλίνης (pqx)	46
3.1.1.2. Σύνθεση της 1,10-φαινανθρολίνη-5,6-διόνης (phen-dione)	46
3.1.1.3. Σύνθεση της διπύριδο[3,2-d:2',3'-f]κινόξαλίνης (dpq).....	47
3.1.2. Σύνθεση του (Bu ₄ N)[Pt(ppy)Cl ₂]	47
3.1.3. Σύνθεση συμπλόκων	47
3.1.3.1. Σύνθεση του συμπλόκου [Pt(ppy)(phen)]Cl χωρίς τη χρήση διαλυτών	47
3.1.3.2. Σύνθεση του συμπλόκου [Pt(ppy)(pqx)]Cl χωρίς τη χρήση διαλυτών	48
3.1.3.3. Σύνθεση του συμπλόκου [Pt(ppy)(phen-dione)]Cl	48
3.1.3.4. Σύνθεση του συμπλόκου [Pt(ppy)(dpq)]Cl	48
3.2. Φασματοσκοπικός χαρακτηρισμός	49
3.2.1. Φασματοσκοπικός χαρακτηρισμός υποκαταστατών	49
3.2.1.1. Φασματοσκοπικός χαρακτηρισμός της 2-(2'-πυριδυλ)κινόξαλίνης (pqx)....	49
3.2.1.2. Φασματοσκοπικός χαρακτηρισμός της 1,10-φαινανθρολίνη-5,6-διόνης (phen-dione)	50
3.2.1.3. Φασματοσκοπικός χαρακτηρισμός της διπύριδο[3,2-d:2',3'-f]κινόξαλίνης (dpq)	51
3.2.2. Φασματοσκοπικός χαρακτηρισμός του (Bu ₄ N)[Pt(ppy)Cl ₂]	52
α) Φασματοσκοπία υπερύθρου	52
β) Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR	53
3.2.3. Φασματοσκοπικός χαρακτηρισμός συμπλόκων	55
3.2.3.1. Φασματοσκοπικός χαρακτηρισμός του συμπλόκου [Pt(ppy)(phen)]Cl	55

α) Φασματοσκοπία υπερύθρου	55
β) Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR	56
γ) Φασματομετρία μάζας	57
3.2.3.2. Φασματοσκοπικός χαρακτηρισμός του συμπλόκου [Pt(ppy)(pqx)]Cl	59
α) Φασματοσκοπία υπερύθρου	59
β) Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR	60
γ) Φασματομετρία μάζας	61
3.2.3.3. Φασματοσκοπικός χαρακτηρισμός του συμπλόκου [Pt(ppy)(phen-dione)]Cl	63
α) Φασματοσκοπία υπερύθρου	63
β) Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR	64
γ) Φασματομετρία μάζας	65
3.2.3.4. Φασματοσκοπικός χαρακτηρισμός του συμπλόκου [Pt(ppy)(dpq)]Cl	67
α) Φασματοσκοπία υπερύθρου	67
β) Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR	68
γ) Φασματομετρία μάζας	69
3.3. Μελέτη της αλληλεπίδρασης συμπλόκων με CT-DNA	71
3.3.1. Μελέτη της αλληλεπίδρασης των συμπλόκων [Pt ^{II} (ppy)(phen)]Cl, [Pt ^{II} (ppy)(pqx)]Cl και [Pt ^{II} (ppy)(dpq)]Cl με CT-DNA και εύρεση της σταθεράς δέσμευσης K _b	71
3.3.1.1. Μελέτη της αλληλεπίδρασης του συμπλόκου [Pt ^{II} (ppy)(phen)]Cl με CT- DNA και εύρεση της σταθεράς δέσμευσης K _b	71
3.3.1.2. Μελέτη της αλληλεπίδρασης του συμπλόκου [Pt ^{II} (ppy)(pqx)]Cl με CT-DNA και εύρεση της σταθεράς δέσμευσης K _b	76
3.3.1.3. Μελέτη της αλληλεπίδρασης του συμπλόκου [Pt ^{II} (ppy)(dpq)]Cl με CT-DNA και εύρεση της σταθεράς δέσμευσης K _b	81

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	88
--------------------	----

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	89
--------------------	----

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1	94
-------------------	----

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2	100
-------------------	-----

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

Σχήμα 1.1. Το cisplatin όπως διατίθεται στο εμπόριο.	3
Σχήμα 1.2. Σχετικές ενέργειες των d τροχιακών για τα μέταλλα οκταεδρικής συμμετρίας με τετραγωνική επίπεδη διαμόρφωση (square planar), ως αποτέλεσμα του φαινομένου Jahn-Teller	4
Σχήμα 1.3. Μηχανισμός υδρόλυσης του cisplatin	9
Σχήμα 1.5. Τα σύμπλοκα cisplatin και carboplatin.....	11
Σχήμα 1.6. Τριδιάστατη απεικόνιση του συμπλόκου carboplatin	12
Σχήμα 1.7. Δομή του συμπλόκου oxaliplatin.....	15
Σχήμα 1.8. Δομές ορισμένων συμπλόκων λευκοχρύσου 3 ^{ης} γενιάς που εντάσσονται στις παραπάνω κατηγορίες	17
Σχήμα 1.9. Ενεργειακό διάγραμμα των διαδικασιών εκπομπής (ευθεία γραμμή) και μη εκπομπής (τεθλασμένη γραμμή) ακτινοβολίας κατά τη διαδικασία αποδιέγερσης των ηλεκτρονίων των συμπλόκων με γενικό τύπο $[Pt(N^{\wedge}C)(N^{\wedge}N)]^+$, όπου με (N [^] C) συμβολίζονται οι υποκαταστάτες 2-φαινυλ-πυριδίνη (ppy) και 2-(2-θειενυλ-πυριδίνη) (tpy) και με (N [^] N) συμβολίζονται πολυπυριδινικοί υποκαταστάτες όπως 1,10-φαινανθρολίνη (phen), διπυριδοκινοξαλίνη (dpq) και διπυριδο-φαιναζίνη (dppz)	19
Σχήμα 1.10. Η δομή του μορίου του DNA	23
Σχήμα 1.11. Πιθανοί τρόποι αλληλεπίδρασης του cisplatin με το DNA	25
Σχήμα 1.12. Δομή του κύριου τύπου δεσμού μεταξύ του cisplatin και του DNA [d(GpG)]	26
Σχήμα 1.13. Αλληλεπίδραση του συμπλόκου $[(terpy)Pt(HET)]^+$ με το DNA μέσω παρεμβολής μεταξύ δύο γειτονικών ζευγών βάσεων γουανίνης-κυτοσίνης [d(CpG)].....	27
Σχήμα 1.14. Επίπεδα τετραγωνικά σύμπλοκα του λευκοχρύσου(II) με πολυπυριδινικούς υποκαταστάτες, τα οποία αλληλεπιδρούν με παρεμβολή των	

υποκαταστατών τους στις βάσεις του DNA. Τα σύμπλοκα αυτά έχουν K_b της τάξεως 10^5 - 10^6 M^{-1} 29

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

Σχήμα 2.1. Φάσμα υπεριώδους-ορατού για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του

DNA ανά νουκλεοτίδιο (0.08 mgr σε 2-4-6 mL ρυθμιστικού διαλύματος αντίστοιχα)..... 33

Σχήμα 2.2. Πρότυπες καμπύλες τιτλοδότησης συμπλόκου με DNA σύμφωνα με το μοντέλο των Bard και Thorp 37

Σχήμα 2.3. Αντίδραση σύνθεσης του υποκαταστάτη 2-(2'-πυριδυλ) κινοξαλίνη 38

Σχήμα 2.4. Αντίδραση σύνθεσης του υποκαταστάτη 1,10-φαινανθρολίνη-5,6-διόνη 39

Σχήμα 2.5. Αντίδραση σύνθεσης του υποκαταστάτη διπύριδο[3,2-d:2',3'-f]κινοξαλίνη 40

Σχήμα 2.6. Αντίδραση σύνθεσης του $(Bu_4N)[Pt(ppy)Cl_2]$ 41

Σχήμα 2.7. Αντίδραση σύνθεσης του συμπλόκου $[Pt(ppy)(phen)]Cl$ 42

Σχήμα 2.8. Αντίδραση σύνθεσης του συμπλόκου $[Pt(ppy)(pqx)]Cl$ 42

Σχήμα 2.9. Αντίδραση σύνθεσης του συμπλόκου $[Pt(ppy)(phen-dione)]Cl$ 43

Σχήμα 2.10. Αντίδραση σύνθεσης του συμπλόκου $[Pt(ppy)(dpq)]Cl$ 44

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

Σχήμα 3.1. Αντίδραση σύνθεσης του υποκαταστάτη 2-(2'-πυριδυλ) κινοξαλίνη. 46

Σχήμα 3.2. Φάσμα υπερύθρου του $(Bu_4N)[Pt(ppy)Cl_2]$ 53

Σχήμα 3.3. Φάσμα υπερύθρου του συμπλόκου $[Pt(ppy)(phen)]Cl$ 55

Σχήμα 3.4. Φάσμα MS του συμπλόκου $[Pt(ppy)(phen)]Cl$ 58

Σχήμα 3.5. Θεωρητική ισοτοπική κατανομή του ιόντος $[Pt(ppy)(phen)]^+$ 58

Σχήμα 3.6. Φάσμα υπερύθρου του συμπλόκου $[Pt(ppy)(pqx)]Cl$ 59

Σχήμα 3.7. Φάσμα MS του συμπλόκου $[Pt(ppy)(pqx)]Cl$ 62

Σχήμα 3.8. Θεωρητική ισοτοπική κατανομή του ιόντος $[Pt(ppy)(pqx)]^+$ 62

Σχήμα 3.9. Φάσμα υπεριώθρου του συμπλόκου [Pt(ppy)(phen-dione)]Cl.	63
Σχήμα 3.10. Φάσμα MS του συμπλόκου [Pt(ppy)(phen-dione)]Cl	66
Σχήμα 3.11. Θεωρητική ισοτοπική κατανομή του ιόντος [Pt(ppy)(phen-dione)] ⁺	66
Σχήμα 3.12. Φάσμα υπεριώθρου του συμπλόκου [Pt(ppy)(dpq)]Cl	67
Σχήμα 3.13. Φάσμα MS του συμπλόκου [Pt(ppy)(dpq)]Cl	70
Σχήμα 3.14. Θεωρητική ισοτοπική κατανομή του ιόντος [Pt(ppy)(dpq)] ⁺	70
Σχήμα 3.15. Φάσμα υπεριώδους-ορατού του συμπλόκου [Pt(ppy)(phen)]Cl απουσία και παρουσία του DNA σε αναλογία $r = 0,3$	72
Σχήμα 3.16. Μεταβολές των φασμάτων υπεριώδους-ορατού του συμπλόκου κατά την τιτλοδότηση με διάλυμα CT-DNA	74
Σχήμα 3.17. Γραφική παράσταση της συγκέντρωσης του DNA συναρτήσει του $(\epsilon_{\alpha}-\epsilon_{\beta})/(\epsilon_{\beta}-\epsilon_{\gamma})$	75
Σχήμα 3.18. Γραφική παράσταση της καλύτερης καμπύλης της συγκέντρωσης του DNA συναρτήσει του $(\epsilon_{\alpha}-\epsilon_{\beta})/(\epsilon_{\beta}-\epsilon_{\gamma})$, σύνδεση των σημείων	76
Σχήμα 3.19. Φάσμα υπεριώδους-ορατού του συμπλόκου [Pt(ppy)(pqx)]Cl απουσία και παρουσία του DNA σε αναλογία $r = 0,3$	77
Σχήμα 3.20. Μεταβολές των φασμάτων υπεριώδους-ορατού του συμπλόκου κατά την τιτλοδότηση με διάλυμα CT-DNA	79
Σχήμα 3.21. Γραφική παράσταση της συγκέντρωσης του DNA συναρτήσει του $(\epsilon_{\alpha}-\epsilon_{\beta})/(\epsilon_{\beta}-\epsilon_{\gamma})$	80
Σχήμα 3.22. Γραφική παράσταση της καλύτερης καμπύλης της συγκέντρωσης του DNA συναρτήσει του $(\epsilon_{\alpha}-\epsilon_{\beta})/(\epsilon_{\beta}-\epsilon_{\gamma})$, σύνδεση των σημείων	81
Σχήμα 3.23. Φάσμα υπεριώδους-ορατού του συμπλόκου [Pt(ppy)(dpq)]Cl απουσία και παρουσία του DNA σε αναλογία $r = 0,26$	82
Σχήμα 3.24. Μεταβολές των φασμάτων υπεριώδους-ορατού του συμπλόκου κατά την τιτλοδότηση με διάλυμα CT-DNA	84
Σχήμα 3.25. Γραφική παράσταση της συγκέντρωσης του DNA συναρτήσει του $(\epsilon_{\alpha}-\epsilon_{\beta})/(\epsilon_{\beta}-\epsilon_{\gamma})$	85
Σχήμα 3.26. Γραφική παράσταση της καλύτερης καμπύλης της συγκέντρωσης του DNA συναρτήσει του $(\epsilon_{\alpha}-\epsilon_{\beta})/(\epsilon_{\beta}-\epsilon_{\gamma})$, σύνδεση των σημείων	86

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

Πίνακας 1.1. Αντικαρκινικά σύμπλοκα του λευκοχρύσου, τα οποία έχουν υποβληθεί σε κλινικές δοκιμές από το 1971 έως και το 2003	7
---	---

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

Πίνακας 3.1. Χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του υποκαταστάτη 2-(2'-πυριδυλ)κινοξαλίνη	50
Πίνακας 3.2. Χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του υποκαταστάτη 1,10-φαινανθρολίνη-5,6-διόνη	51
Πίνακας 3.3. Χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του υποκαταστάτη διπύριδο[3,2-d:2',3'-f]κινοξαλίνη	52
Πίνακας 3.4. Χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Pt}(\text{ppy})\text{Cl}_2]$	54
Πίνακας 3.5. Χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του συμπλόκου για τον υποκαταστάτη 1,10-φαινανθρολίνη ..	56
Πίνακας 3.6. Χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του συμπλόκου για το τμήμα $[\text{Pt}(\text{ppy})]^+$	57
Πίνακας 3.7. Χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του συμπλόκου για τον υποκαταστάτη 2-(2'-πυριδυλ)κινοξαλίνη	60
Πίνακας 3.8. Χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του συμπλόκου για το τμήμα $[\text{Pt}(\text{ppy})]^+$	61
Πίνακας 3.9. Χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του συμπλόκου για τον υποκαταστάτη 1,10-phenanthroline-5,6-dione	64

Πίνακας 3.10. Χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του συμπλόκου για το τμήμα $[\text{Pt}(\text{ppy})]^+$	65
Πίνακας 3.11. Χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του συμπλόκου για τον υποκαταστάτη dq	68
Πίνακας 3.12. Χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του συμπλόκου για το τμήμα $[\text{Pt}(\text{ppy})]^+$	69
Πίνακας 3.13. Απεικόνιση των αποτελεσμάτων της τιτλοδότησης του συμπλόκου με CT-DNA	73
Πίνακας 3.14. Απεικόνιση των αποτελεσμάτων της τιτλοδότησης του συμπλόκου με CT-DNA	78
Πίνακας 3.15. Απεικόνιση των αποτελεσμάτων της τιτλοδότησης του συμπλόκου με CT-DNA	83

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

*Σύμπλοκα του λευκοχρύσου με θεραπευτικές
ιδιότητες.*

1.1. Σύμπλοκες ενώσεις του λευκοχρύσου και ο βιολογικός τους ρόλος.

1.1.1. Εισαγωγή

Ως βιοανόργανη χημεία ορίζεται ο κλάδος της ανόργανης χημείας, ο οποίος αφορά στην έρευνα σχετικά με το ρόλο των μεταλλικών ιόντων και των συμπλόκων τους στα βιολογικά συστήματα. Η ανάπτυξη της βιοανόργανης χημείας έχει ως παρακαταθήκη τη συσσωρευμένη γνώση που έχει προσφέρει η ανόργανη χημεία σχετικά με τους μηχανισμούς ένταξης και τις οξειδοαναγωγικές ιδιότητες των μεταλλικών ιόντων. Τα μεταλλικά κέντρα, έχοντας θετικό φορτίο, αποκτούν κάλλιστα τη δυνατότητα να σχηματίζουν ιοντικούς δεσμούς με αρνητικά φορτισμένες ομάδες από βιολογικά μόρια ή δεσμούς ένταξης με ποικιλία από άτομα δότες που βρίσκονται σε πρωτεΐνες, νουκλεϊκά οξέα, κ.λ.π. Ειδικότερα, τα δομικά στοιχεία των πρωτεϊνών και των νουκλεϊκών οξέων αποτελούν ιδανικούς υποκαταστάτες (ligands), οι οποίοι έχουν τη δυνατότητα να σχηματίζουν δεσμούς με τα μεταλλικά ιόντα¹. Επομένως, η χρήση των μεταλλικών συμπλόκων στη φαρμακευτική αποκτά ιδιαίτερο ενδιαφέρον και σημαντικές προοπτικές εξέλιξης.

Ο καρκίνος ανήκει σε μια κατηγορία ασθενειών ή διαταραχών που χαρακτηρίζονται από ανεξέλεγκτη διαίρεση κυττάρων και την δυνατότητα αυτών των κυττάρων να εισβάλουν σε άλλους ιστούς, είτε από την άμεση αύξηση στον παρακείμενο ιστό μέσω εισβολής, είτε από την εμφύτευση σε απόμακρες περιοχές μέσω μετάστασης. Αυτή η ανεξέλεγκτη αύξηση προκαλείται από βλάβη στο DNA, με συνέπεια τις μεταλλάξεις στα γονίδια που ελέγχουν την κυτταροδιαίρεση². Για τη θεραπεία του καρκίνου χρησιμοποιούνται διαφορετικές μέθοδοι, ανάλογα με το στάδιο στο οποίο βρίσκεται η ασθένεια^{3,4}.

Η χημειοθεραπεία συνίσταται στη χρήση φαρμάκων με σκοπό την εξόντωση των καρκινικών κυττάρων και την παρεμπόδιση της εξάπλωσης της ασθένειας, χωρίς παράλληλα να προσβληθεί ο φιλοξενών οργανισμός. Αντικαρκινικά φάρμακα έχουν παραχθεί από μια ποικιλία χημικών διεργασιών, οι οποίες είτε υπάρχουν αυτούσιες στη φύση (φυτικοί οργανισμοί, μικρόβια, μύκητες), είτε συνθετικά στο εργαστήριο¹.

Επιπλέον, έχει διαπιστωθεί ότι τα μεταλλικά ιόντα και τα σύμπλοκα μετάλλων αλληλεπιδρούν σε σημαντικό βαθμό με τα βιολογικά συστήματα.

Στα τέλη της δεκαετίας του '60, η τυχαία ανακάλυψη του B.Rosenberg σχετικά με τον τρόπο αλληλεπίδρασης του cisplatin (cis-[Pt(NH₃)₂Cl₂]) με βιολογικά μόρια^{5,6}, οδήγησε στην εντατικοποίηση της έρευνας γύρω από τα σύμπλοκα μετάλλων και τις εφαρμογές τους στη φαρμακευτική. Από τότε μέχρι σήμερα, το cisplatin έχει κατοχυρωθεί ως ένα από τα σημαντικότερα αντικαρκινικά φάρμακα, αφενός γιατί έχει συμβάλλει στην ίαση του καρκίνου των όρχεων (σχεδόν στο 90% των περιπτώσεων) και αφετέρου καθώς έχει παρουσιάσει αντικαρκινική δράση σε αρκετούς τύπους νεοπλασιών, όπως ο καρκίνος του λεμφικού συστήματος, των ωοθηκών και άλλων⁷.

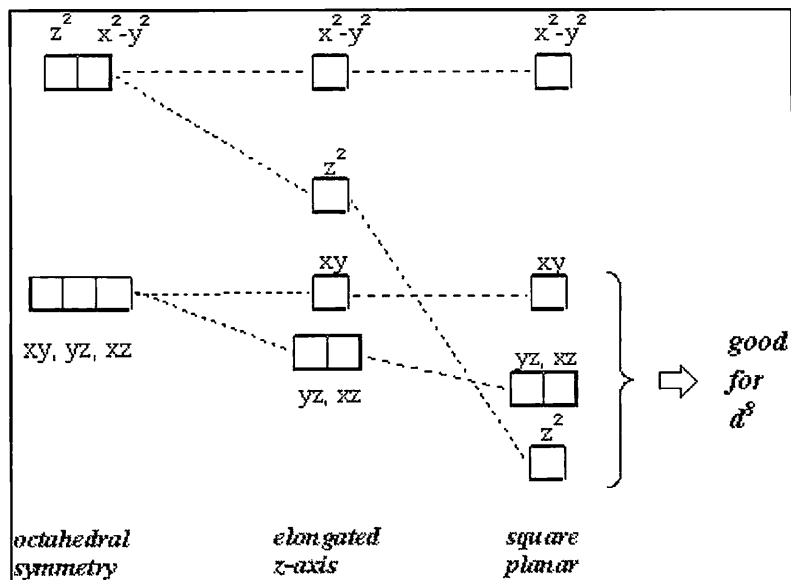
Παρόλα αυτά, η δραστηριότητα του cisplatin παραμένει περιορισμένη σε σχέση με ορισμένες μορφές καρκίνου, όπως ο καρκίνος του πνεύμονα και η λευχαιμία. Επιπλέον, η μακροχρόνια χορήγησή του κατά τη διάρκεια της θεραπείας προκαλεί σοβαρές παρενέργειες στον πάσχοντα οργανισμό, οι οποίες συνδέονται με την αυξημένη τοξικότητα του cisplatin. Αναγνωρίζοντας τα παραπάνω μειονεκτήματα, οι ερευνητές έχουν στρέψει το ενδιαφέρον τους στη σύνθεση αναλόγων ενώσεων του cisplatin, αλλά και άλλων συμπλόκων με άλλα μέταλλα όπως ρουθίνιο, χρυσό, κασσίτερο, τιτάνιο και άλλα^{8,9,10}, για την ανακάλυψη φαρμάκων, τα οποία θα συνδυάζουν τη μέγιστη δυνατή αντικαρκινική δράση με την ελάχιστη δυνατή τοξικότητα.



Σχήμα 1.1. Το cisplatin όπως διατίθεται στο εμπόριο.

1.1.2. Σύμπλοκες ενώσεις του λευκοχρύσου (II).

Ο λευκόχρυσος(II) έχει την ηλεκτρονιακή δομή $[\text{Xe}]4f^{14}5d^8$. Παρά το γεγονός ότι είναι γνωστή η ύπαρξη συμπλόκων με αριθμούς ένταξης 5 ή 6, η πλειοψηφία των συμπλόκων του λευκοχρύσου(II) έχει αριθμό ένταξης 4 ενώ παρουσιάζουν τετραγωνική επίπεδη γεωμετρία^{11,12,13}. Η διαμόρφωση αυτή χαρακτηρίζεται από σταθερότητα και κινητική αδράνεια. Τα χαρακτηριστικά αυτά καθιστούν ιδιαίτερης σημασίας τη μελέτη των παραπάνω συμπλόκων.



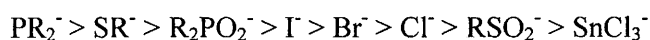
Σχήμα 1.2. Σχετικές ενέργειες των d τροχιακών για τα μέταλλα οκταεδρικής συμμετρίας με τετραγωνική επίπεδη διαμόρφωση (*square planar*), ως αποτέλεσμα του φαινομένου *Jahn-Teller*.

Η ακτίνα των ιόντων λευκοχρύσου(II) σε επίπεδη τετραγωνική γεωμετρία, έχει ακριβώς το ίδιο μήκος με αυτήν των ιόντων παλλαδίου (II). Παρόλα αυτά τα σύμπλοκα του παλλαδίου(II) αντιδρούν έως και 10^6 φορές ταχύτερα από τα αντίστοιχα σύμπλοκα του λευκοχρύσου(II)¹⁴. Η βασική διαφορά μεταξύ των δύο στοιχείων είναι η ύπαρξη στον λευκόχρυσο 4f ηλεκτρονίων. Εξαιτίας της προάσπισης των 4f ηλεκτρονίων από τον πυρήνα, τα δισθενή ιόντα των δύο μετάλλων έχουν το ίδιο μέγεθος. Όμως τα 5d τροχιακά του λευκοχρύσου είναι πιο διευρυμένα από τα 4d τροχιακά του παλλαδίου, με

αποτέλεσμα να παρεμποδίζεται η αξονική συναρμογή και να επιβραδύνονται οι αντιδράσεις υποκατάστασης. Για αυτό το λόγο τα σύμπλοκα λευκοχρύσου(II) είναι περισσότερο αδρανή.

Ο λευκόχρυσος (II) σχηματίζει σύμπλοκα με υποκαταστάτες που λειτουργούν ως σ-δότες αλλά και ως π-δότες ηλεκτρονιακής πυκνότητας . Οι διαφορές στον τύπο του δεσμού (σ ή π), αλλά και στην ικανότητα του εκάστοτε υποκαταστάτη να αποδέχεται π-ηλεκτρονιακή πυκνότητα από το μέταλλο, επηρεάζουν τη θερμοδυναμική και κινητική συμπεριφορά των συμπλόκων λευκοχρύσου(II)¹⁴. Οι υποκαταστάτες που χρησιμοποιούνται είναι κυρίως ανιονικοί ή ουδέτεροι, ενώ στα πιθανά άτομα-δότες συμπεριλαμβάνονται σχεδόν όλα τα στοιχεία που δεν ανήκουν στην κατηγορία των μετάλλων.

Τα άτομα δότες των υποκαταστατών, τα οποία διαθέτουν την απαραίτητη ηλεκτρονιακή πυκνότητα και την κατάλληλη διευθέτηση τροχιακών, είναι δυνατό να οδηγήσουν στην ένωση δύο ή περισσότερων ατόμων λευκοχρύσου, με αποτέλεσμα το σχηματισμό διμερών ή πολυμερών. Κατά τη διάρκεια πειραμάτων με ορισμένους ανιονικούς υποκαταστάτες, η τάση για σχηματισμό ενώσεων με δύο ή περισσότερα άτομα λευκοχρύσου μειωνόταν σύμφωνα με την παρακάτω σειρά¹⁵:



Σε ουδέτερα ή βασικά υδατικά διαλύματα, τα ιόντα υδροξυλίου πολλές φορές λειτουργούν ως υποκαταστάτες για το σχηματισμό πολυπυρηνικών συμπλόκων λευκοχρύσου(II).

1.1.3. Αντικαρκινικά σύμπλοκα του λευκοχρύσου.

Η έρευνα γύρω από τις αντικαρκινικές ιδιότητες των συμπλόκων του λευκοχρύσου ξεκίνησε στα τέλη της δεκαετίας του '60, όταν ο B. Rosenberg ανακάλυψε τυχαία την αντικαρκινική δράση του συμπλόκου cisplatin (cis-dichlorodiammineplatinum(II)) κατά τη διάρκεια μιας σειράς πειραμάτων σχετικών με την επίδραση του ηλεκτρικού πεδίου στην ανάπτυξη βακτηριακών κυττάρων^{5,6}. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε ότι κατά τη διαβίβαση εναλλασσόμενου ρεύματος μέσω ηλεκτροδίων λευκοχρύσου, η διαίρεση των βακτηριακών κυττάρων σταματούσε και παράλληλα αναπτύσσονταν μακρά νημάτια. Διαπιστώθηκε πως, υπεύθυνο για το φαινόμενο αυτό ήταν το σύμπλοκο cis-(NH₃)₂PtCl₂, το οποίο παραγόταν κατά τη διάρκεια της ηλεκτρόλυσης, από την αντίδραση των ελεύθερων ιόντων λευκοχρύσου με αμμωνιακά άλατα παρουσία φωτός.

Από τότε έως και σήμερα το cis-(NH₃)₂PtCl₂ έχει κατοχυρωθεί ως ένα από τα σημαντικότερα αντικαρκινικά φάρμακα και αποτελεί το βασικό άξονα για μια σειρά ερευνών, που στόχο έχουν τη σύνθεση νέων αναλόγων ενώσεων με αντικαρκινική δράση και βελτιωμένες φαρμακολογικές ιδιότητες. Οι περισσότερες από αυτές τις νέες ενώσεις δεν είχαν τα επιθυμητά αποτελέσματα, ενώ πολύ λίγες απ' αυτές εμφάνισαν σημαντικότερη αντικαρκινική δράση του cis-(NH₃)₂PtCl₂, και ακόμη λιγότερες χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία κάποιων μορφών καρκίνου. Πιο συγκεκριμένα από τα 33 σύμπλοκα του λευκοχρύσου, τα οποία έχουν κατά καιρούς εγκριθεί για κλινικές δοκιμές, μόνο ένα, το cis-diammine(1,1-cyclobutanedicarboxylato)platinum(II) (γνωστό με την εμπορική ονομασία carboplatin) έχει κατοχυρωθεί παγκοσμίως και χρησιμοποιείται για τη θεραπεία σημαντικού αριθμού νεοπλασιών. Τέσσερα ακόμη σύμπλοκα του λευκοχρύσου (oxaliplatin, nedaplatin, lobaplatin, SKI2053R) έχουν εγκριθεί σε αρκετές χώρες για χρήση σε χημειοθεραπευτικές μεθόδους, ενώ οκτώ ακόμα σύμπλοκα βρίσκονται στο στάδιο της αξιολόγησης μέσω κλινικών δοκιμών⁷.

Στον παρακάτω πίνακα καταγράφονται τα σύμπλοκα του λευκοχρύσου, τα οποία εγκρίθηκαν για κλινικές δοκιμές, σε χρονολογική σειρά, από το 1971 έως και το 2003.

Πίνακας 1.1. Αντικαρκινικά σύμπλοκα του λευκοχρύσου, τα οποία έχουν υποβληθεί σε κλινικές δοκιμές από το 1971 έως και το 2003⁷.

Compound	Current status
Entered clinical studies in 1970s	
Cisplatin (CDDP)	Approved worldwide for a broad range of solid neoplasms
PAD	Abandoned during phase I (insufficient solubility)
Platinum uracil blue (PUB)	Abandoned during phase I (cardiac toxicity)
MBA	Abandoned during phase I (one case of severe hypersensitivity)
JM-20 (SHP)	Abandoned during phase I (severe allergic reactions)
JM-74 (PHM)	Abandoned during phase II (nephrotoxicity, inferior activity)
Neo-SHP	Abandoned during phase I (severe allergic reactions)
Neo-PHM	Abandoned during phase II (nephrotoxicity, inferior activity)
BOP	Abandoned during phase I (insufficient solubility)
Entered clinical studies in 1980s	
Carboplatin (CBDCA; JM-8)	Approved worldwide for a broad range of solid neoplasms
Iproplatin (CHIP; JM-9)	Abandoned during phase III (lower activity than carboplatin)
JM-82 (DACCP)	Abandoned during phase II (chemical instability, low activity)
JM-11	Abandoned after pharmacokinetic study
Spiroplatin (TNO-6)	Abandoned during phase II (nephrotoxicity)
PYP	Abandoned during phase I (nephrotoxicity + myelosuppression)
JM-40	Abandoned during phase I (nephrotoxicity)
PHIC	Abandoned during phase I (difficulties in synthesis)
Oxaliplatin (<i>l</i> -OHP)	Approved in over 60 countries for metastatic colorectal cancer
Nedaplatin (254-S)	Approved in Japan for several solid neoplasms
CI-973 (NK-121)	Abandoned during phase II (lack of activity)
DWA2114R (miboplatin)	Abandoned during phase III (no advantage over cisplatin)
Enloplatin	Abandoned during phase II (nephrotoxicity)
Zenioplatin	Abandoned during phase II (nephrotoxicity)
L-NDDP (aroplatin)	Phase II
Entered clinical studies in 1990s	
Lobaplatin (D-19466)	Approved in China
Ormaplatin (tetraplatin)	Abandoned during phase I (neurotoxicity)
Cycloplatin	Phase II
JM-216 (satraplatin)	Phase III
SKI 2053R	Approved in South Korea for advanced gastric cancer
ZD0473 (AMD473)	Phase III
SPI-77 (liposomal CDDP)	Phase II
TRK-710	Phase I
BBR3464	Phase II
Entered clinical studies in 2000s	
AP5280	Phase I

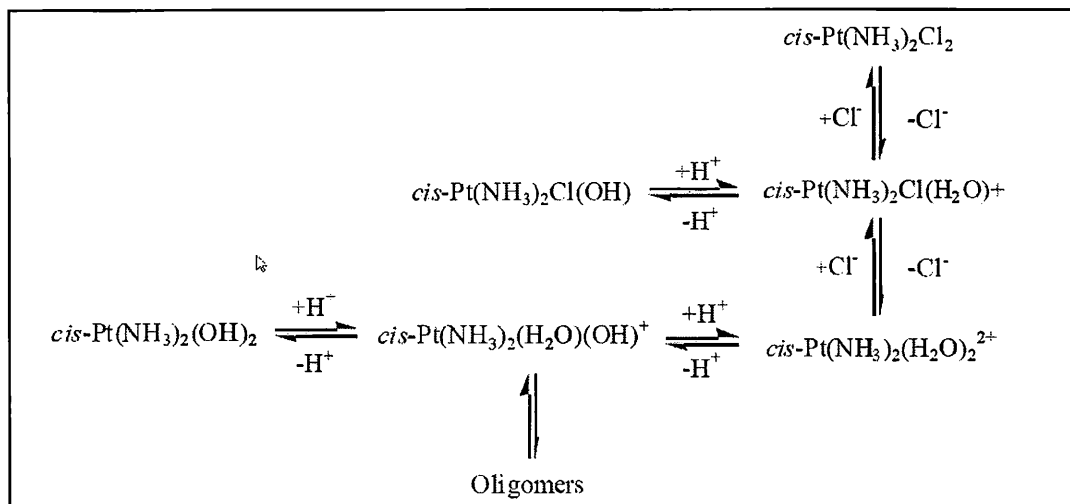
α) Αντικαρκινικά σύμπλοκα του λευκοχρύσου 1^{16} γενιάς (cisplatin) και μηχανισμός δράσης τους.

Το cisplatin αποτελεί κύριο συστατικό της συνδυαστικής χημειοθεραπείας από τα τέλη της δεκαετίας του '70 έως σήμερα. Σε αυτό οφείλεται η κατά 90% επιτυχία στην ίαση του καρκίνου των όρχεων, ακόμα και σε προχωρημένο ή μεταστατικό στάδιο, ενώ χρησιμοποιείται για τη θεραπεία αρκετών ακόμα μορφών καρκίνου, όπως ο καρκίνος των ωοθηκών, του τραχήλου της μήτρας, του ενδομητρίου, του οισοφάγου, της ουροδόχου κύστεως και ορισμένοι τύποι καρκίνου του δέρματος. Επίσης, λόγω των φωτοχημικών του ιδιοτήτων, το cisplatin βρίσκει εφαρμογές στη συνδυαστική ακτινοθεραπεία-χημειοθεραπεία κατά του καρκίνου του πνεύμονα και του καρκινώματος του πλακώδους επιθηλίου (καρκίνος του δέρματος)^{16,17}. Το trans-ισομερές του μετά από σχετικές έρευνες διαπιστώθηκε ότι δεν παρουσιάζει ανάλογες αντικαρκινικές ιδιότητες¹⁸, πλην όμως σε ορισμένες κυτταρικές σειρές εμφανίζει μια κάποια δραστηριότητα.

Το cisplatin εισάγεται στον οργανισμό ενδοφλεβίως, υπό τη μορφή χλωριούχου διαλύματος. Οι αντιδράσεις του cisplatin συνήθως πραγματοποιούνται μέσω υδρόλυσής του. Η αντικατάσταση του ενός ή και των δύο χλώρο-υποκαταστατών με μόρια H_2O προηγείται της αντίδρασης με βιομόρια. Η δραστηριότητα του cisplatin σε βιολογικά μέσα εξαρτάται από τη συγκέντρωση των ιόντων χλωρίου στο διάλυμα καθώς η συγκέντρωση τους ρυθμίζει και την ταχύτητα υδρόλυσης. Κατά την αντίδραση υδρόλυσης (σχήμα 1.4.) προκύπτει το υδατο-σύμπλοκο, το οποίο είναι κινητικά περισσότερο δραστικό από τα χλώρο- ή τα ύδροξο-σύμπλοκα. Κατά τη χορήγηση του φαρμάκου, η υψηλή συγκέντρωση ιόντων χλωρίου στο αίμα (~0,1M) καταστέλλει τη δραστηριότητά του. Μετά τη διάχυση μέσω της κυτταροπλασματικής μεμβράνης, όπου η συγκέντρωση ιόντων χλωρίου μειώνεται στα 4mM, γίνεται δυνατή η πραγματοποίηση αντιδράσεων με βιολογικούς στόχους.

Η υδρόλυση περιπλέκεται από την πιθανότητα σχηματισμού του ύδροξο-συμπλόκου, cis- $[Pt(NH_3)_2(H_2O)(OH)]^+$, το οποίο υφίσταται αντιδράσεις υδρόλυσης σε δι-, τρι- και τετραπυρηνικά είδη $\mu-OH$. Οι ενώσεις αυτές είναι σχετικά κινητικά αδρανείς, μη δραστικές και εμφανίζουν σημαντική νευροτοξικότητα¹⁹. Σε αραιά διαλύματα το ποσοστό σχηματισμού τους είναι πολύ μικρό, ενώ εύκολα μπορούν να

σχηματιστούν σε ανομοιογενή κατανομή ιστών, σε περιοχές υψηλής συγκέντρωσης λευκοχρύσου. Συμπερασματικά, η κατανομή των διαφόρων προϊόντων της υδρόλυσης είναι συνάρτηση του pH και της συγκέντρωσης ιόντων χλωρίου.



Σχήμα 1.3. Μηχανισμός υδρόλυσης του cisplatin.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η υδρόλυση του cisplatin στο αίμα εμποδίζεται λόγω της υψηλής συγκέντρωσης ιόντων χλωρίου. Παράλληλα ενδέχεται να συμβούν αντιδράσεις με ορισμένους υποκαταστάτες όπως η κυστεΐνη μικρών πεπτιδίων ή άλλοι βιολογικοί υποκαταστάτες με άτομα δότες θείου, ειδικά στην περιοχή των νεφρών. Οι αντιδράσεις αυτές ενδέχεται να προκαλούν σοβαρές παρενέργειες. Είναι γνωστό ότι περίπου το 50% του cisplatin που χορηγείται στους ασθενείς χάνεται μέσω των νεφρών στα ούρα σε διάστημα λίγων ημερών^{19,20} ενώ το υπόλοιπο παραμένει στον οργανισμό για πολύ μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

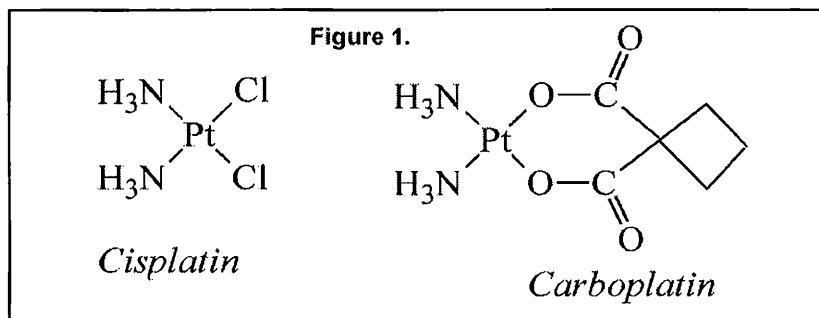
Ο κύριος στόχος του cisplatin κατά την εισαγωγή του στο κύτταρο είναι το DNA²¹. Το cisplatin μπορεί να δώσει σταθερούς δεσμούς με τα άζωτα των βάσεων του DNA με αντικατάσταση των δύο χλώρο-υποκαταστατών. Αν και έχει τη δυνατότητα να ενωθεί με όλες τις βάσεις του DNA, παρουσιάζει ισχυρή προτίμηση για τη θέση N-7 της γουανίνης. Κατά την ένωσή τους σχηματίζονται ενδοκλωνικοί διασταυρούμενοι δεσμοί

(intrastrand cross-links) οι οποίοι προκαλούν σημαντική παραμόρφωση της δομής της έλικας, αναστέλλοντας ενδεχομένως με αυτόν τον τρόπο τη σύνθεση του DNA²².

β) Αντικαρκινικά σύμπλοκα του λευκοχρύσου 2¹⁵ γενιάς και μηχανισμός δράσης τους.

Παρά το γεγονός ότι το cisplatin αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα αντικαρκινικά φάρμακα παγκοσμίως, δεν είναι δυνατό να παραβλεφθούν οι σοβαρές παρενέργειες που προκαλούνται στον πάσχοντα οργανισμό κατά τη μακροχρόνια χορήγησή του στα πλαίσια της χημειοθεραπείας. Τα σημαντικότερα προβλήματα που δημιουργούνται στον οργανισμό κατά τη διάρκεια της θεραπείας με cisplatin είναι η νεφρο- και ώτο-τοξικότητα, οι βλάβες του περιφερειακού νευρικού συστήματος, η εμφάνιση αναιμίας, η ναυτία και η τάση για εμετό. Για αυτό το λόγο η θεραπεία με cisplatin συχνά συνδυάζεται με πρόσθετη φαρμακευτική αγωγή, η οποία με τη σειρά της είναι δυνατό να οδηγήσει σε νέες σοβαρές παρενέργειες. Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω δεδομένα, οι ερευνητές έχουν στραφεί προς την κατεύθυνση της σύνθεσης νέων συμπλόκων με νέες φαρμακοκινητικές και φαρμακοδυναμικές ιδιότητες, τα οποία θα παρουσιάζουν τη μέγιστη δυνατή αντικαρκινική δράση, σε συνδυασμό με τις ελάχιστες δυνατές παρενέργειες στον πάσχοντα οργανισμό.

Σημαντική πρόοδος προς την παραπάνω κατεύθυνση σημειώθηκε με την αντικατάσταση των δύο χλώρο-υποκαταστατών του cisplatin με σχετικά σταθερότερους, διδοντικούς υποκαταστάτες, καθυστερώντας με αυτόν τον τρόπο τον μηχανισμό της υδρόλυσης του φαρμάκου κατά την είσοδο στον οργανισμό. Μέχρι σήμερα δύο από τα αντικαρκινικά φάρμακα λευκοχρύσου 2¹⁵ γενιάς, τα οποία έχουν την παραπάνω διαμόρφωση, έχουν εγκριθεί για χρήση στη χημειοθεραπεία. Το carboplatin (cis-diammine(1,1-cyclobutanedicarboxylato)platinum(II)), χρησιμοποιείται παγκοσμίως για τη θεραπεία πολλών μορφών καρκίνου αντί του cisplatin, λόγω της μικρότερης τοξικότητάς του, ενώ το nedaplatin (cis-diammineglycolatoplatinum(II)) έχει εγκριθεί για χρήση στην Ιαπωνία⁷.



Σχήμα 1.5. Τα σύμπλοκα cisplatin και carboplatin.

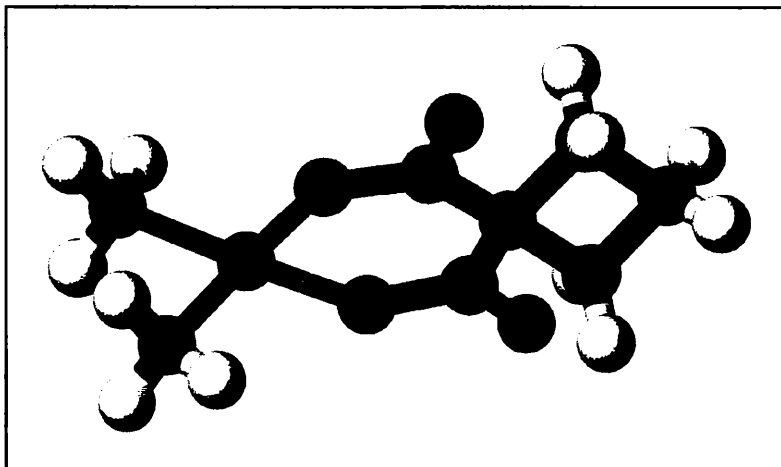
Carboplatin

Από τα αντικαρκινικά σύμπλοκα του λευκοχρύσου 2^{16} γενιάς, τα οποία έχουν συντεθεί μέχρι σήμερα, το carboplatin φαίνεται να είναι το πλέον ευρέως χρησιμοποιούμενο. Ένα από τα κυριότερα πλεονεκτήματά του είναι το γεγονός ότι δεν παρουσιάζει μεγάλη νεφροτοξικότητα στις συνήθεις δόσεις, με αποτέλεσμα να είναι δυνατή η χορήγησή του χωρίς τη συνοδεία πρόσθετωνσκευασμάτων. Επιπλέον, η νεφροτοξικότητα και η ωτοτοξικότητά του είναι σαφώς μικρότερου βαθμού σε σύγκριση με το cisplatin, οι διαταραχές στο πεπτικό σύστημα είναι λιγότερο σοβαρές και ευκολότερα ελέγξιμες, ενώ κατά τη χορήγησή του μειώνεται η πιθανότητα εμφάνισης αναιμίας. Παρόλα αυτά, υπάρχει περίπτωση εμφάνισης θρομβοπενίας κατά τη χορήγηση του carboplatin σε σχετικά μεγάλες δόσεις. Οι παραπάνω ιδιότητες καθιστούν το carboplatin καταλληλότερο για χρήση στη θεραπεία του καρκίνου των ωοθηκών και ορισμένων τύπων καρκίνου του πνεύμονα, σε σχέση με το cisplatin, καθώς το πρώτο είναι δυνατό να χορηγηθεί σε μεγαλύτερες δόσεις, χωρίς την παράλληλη εμφάνιση παρενεργειών^{16,17}.

Η μειωμένη τοξικότητα του carboplatin αποδίδεται στην υψηλότερη σταθερότητά του σε σχέση με το cisplatin. Ο μηχανισμός υδρόλυσης του συμπλόκου είναι σημαντικά βραδύτερος. Πιο συγκεκριμένα, ο ρυθμός ενυδάτωσης του carboplatin σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών αλάτων με ουδέτερο pH είναι περίπου 100 φορές μικρότερος σε σχέση με τον αντίστοιχο του cisplatin²³. Επιπλέον, το carboplatin παρουσιάζει μικρότερη τάση για σχηματισμό δεσμών με τις πρωτεΐνες του πλάσματος συγκρινόμενο με το cisplatin. Λόγω αυτής της ιδιότητας το carboplatin είναι δυνατό να παραμείνει στον οργανισμό με την αρχική του μορφή, ακόμα και αρκετές ώρες μετά τη χορήγησή του, με

αποτέλεσμα να γίνεται δυνατή η αποβολή του από τον οργανισμό μέσω των νεφρών σε μεγαλύτερο ποσοστό, συγκρινόμενο με το cisplatin^{24,25}. Όπως συμβαίνει και με το cisplatin, το carboplatin είναι δυνατό να αντιδρά απευθείας, χωρίς προηγούμενη υδρόλυση, με υποκαταστάτες που έχουν άτομα δότες θείου, όπως η μεθειονίνη²⁶.

Λόγω της αυξημένης σταθερότητας του carboplatin, η διαδικασία σχηματισμού δεσμών με τις βάσεις του DNA γίνεται με πιο αργούς ρυθμούς. Από τη στιγμή που ξεκινά ο σχηματισμός δεσμών με το DNA, το carboplatin παρουσιάζει τον ίδιο βαθμό κυτταροτοξικότητας με το cisplatin και σχηματίζει τους ίδιους τύπους διασταυρούμενων δεσμών με τα μόρια της γουανίνης. Παρόλα αυτά, αξίζει να σημειωθεί μια σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο συμπλόκων: το cisplatin παρουσιάζει προτίμηση για πρόσδεση στις θέσεις N-7 δύο διαδοχικών γουανινών (1,2-d(GpG)), ενώ το carboplatin παρουσιάζει προτίμηση για πρόσδεση στις θέσεις N-7 δύο γουανινών, μεταξύ των οποίων παρεμβάλλεται μια άλλη βάση (1,3-d(GpNpG))²⁷.



Σχήμα 1.6. τριδιάστατη απεικόνιση του συμπλόκου carboplatin.

γ) Αντικαρκινικά σύμπλοκα του λευκοχρύσου 3¹⁵ γενιάς και μηχανισμός δράσης τους.

Παρά την εξακριβωμένη αποτελεσματικότητα του cisplatin στη χημειοθεραπεία, υπάρχουν ακόμα αρκετοί τύποι καρκίνου που δεν μπορούν να θεραπευτούν με χρήση του συγκεκριμένου φαρμάκου. Επιπλέον έχει διαπιστωθεί ότι κατά τη μακροχρόνια χημειοθεραπεία παρατηρείται σε πολλές περιπτώσεις η ανάπτυξη αντίστασης του πάσχοντα οργανισμού στο cisplatin, με αποτέλεσμα την τελική αποτυχία της θεραπείας. Η χρήση του carboplatin για τη θεραπεία νεοπλασιών που έχουν προηγουμένως αναπτύξει ανθεκτικότητα στο cisplatin σε πολλές περιπτώσεις έχει κριθεί αναποτελεσματική, καθώς σε αυτές τις περιπτώσεις η ανταπόκριση του οργανισμού στο carboplatin είναι μειωμένη. Το φαινόμενο της ανάπτυξης αντίστασης στη χημειοθεραπεία με cisplatin και carboplatin, πιθανότατα οφείλεται σε τέσσερις πρωταρχικούς μηχανισμούς¹⁹:

- Στη μικρότερη ποσότητα cisplatin που εισέρχεται στα καρκινικά κύτταρα, πιθανά λόγω αλλοιώσεων στη μεμβράνη από τη μεταφορά του cisplatin.
- Στην απενεργοποίηση του cisplatin λόγω αυξημένης συγκέντρωσης στα καρκινικά κύτταρα ενώσεων με δότες άτομα θείου, όπως η γλουταθειόνη.
- Στην αυξημένη ανθεκτικότητα των καρκινικών κυττάρων στο cisplatin και κατά συνέπεια στην αυξανόμενη δυνατότητα επιδιόρθωσης της βλάβης που προκαλεί το cisplatin στο DNA. Μετά την τροποποίηση του DNA, είναι πιθανό ένα ανθεκτικό κύτταρο να παράγει ένζυμα επιδιόρθωσης του DNA, ικανά να αποκόπτουν την προκληθείσα αλλαγή και να επιδιορθώνουν τις έλικες του πολυνουκλεοτιδίου.

Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω, οι ερευνητές έχουν στραφεί στην κατεύθυνση της σύνθεσης νέων συμπλόκων λευκοχρύσου με αντικαρκινική δραστηριότητα, για τα οποία δεν θα παρατηρείται το φαινόμενο της ανάπτυξης αντίστασης από τον οργανισμό κατά τη θεραπεία. Μέχρι σήμερα μόνο ένα σύμπλοκο, το oxaliplatin ((*trans-R,R*-1,2-diaminocyclohexane)oxalatoplatinum(II)), το οποίο έχει παρουσιάσει αντικαρκινική δράση στη θεραπεία του καρκίνου του ορθού (έναν τύπο καρκίνου εξαρχής ανθεκτικό στη θεραπεία με cisplatin), έχει εγκριθεί για χρήση σε μεγάλο αριθμό χωρών της Ευρώπης, της Ασίας και της Αμερικής⁷.

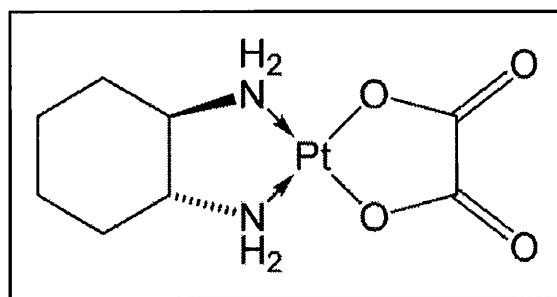
Oxaliplatin

Σημαντικός αριθμός ερευνών έχει πραγματοποιηθεί σχετικά με τα σύμπλοκα λευκοχρύσου 3^η γενιάς, τα οποία περιέχουν στη δομή τους 1,2-διαμινοκυκλοεξάνιο (DACH). Μεταξύ αυτών, το oxaliplatin ((trans-R,R-1,2-diaminocyclohexane) oxalatoplatinum(II)) πλεονεκτεί, καθώς είναι μερικώς διαλυτό στο νερό. Έχει εμφανίσει σημαντική αντικαρκινική δράση κατά του καρκίνου του ορθού, τόσο σε αρχικό, όσο και σε προχωρημένο στάδιο. Παρά το γεγονός ότι κατά τη θεραπεία με oxaliplatin ο μέσος όρος ζωής των ασθενών δεν αυξάνεται σημαντικά, η αυξημένη ανταπόκριση του οργανισμού στη θεραπεία είναι δυνατό να εξασφαλίσει καλύτερη ποιότητα ζωής στον ασθενή^{28,29}. Η αποτελεσματικότητα του oxaliplatin έχει διαπιστωθεί κατά τη θεραπεία περιπτώσεων καρκίνου των ωοθηκών και των όρχεων, στις οποίες η θεραπεία με cisplatin και carboplatin απέτυχε^{30,31}. Επιπλέον έχει παρατηρηθεί αξιοσημείωτη αντικαρκινική δράση του oxaliplatin σε ορισμένους τύπους καρκίνου του αίματος, των πνευμόνων και του στήθους^{32,33}.

Το oxaliplatin, σε αντίθεση με το cisplatin δεν παρουσιάζει νεφροτοξικότητα και έχει πολύ πιο ήπιας μορφής αιματολογική τοξικότητα στις συνήθεις δόσεις. Οι διαταραχές του πεπτικού συστήματος που προκαλούνται κατά τη χρήση του είναι παρόμοιες με εκείνες του cisplatin, ενώ ένα μειονέκτημα του oxaliplatin αποτελεί η νευροτοξικότητά του³⁴, η οποία κατά την εφαρμογή της θεραπείας μετριάζεται με κατάλληλους τρόπους χορήγησης του φαρμάκου³⁵.

Σε αντίθεση με το carboplatin το oxaliplatin κατά τη χορήγηση στον οργανισμό παρουσιάζει αυξημένη τάση για δημιουργία δεσμών με τις πρωτεΐνες του πλάσματος και τα ερυθροκύτταρα, με αποτέλεσμα το μεγαλύτερο ποσοστό του αρχικού συμπλόκου να μετατρέπεται σε διάφορα παράγωγα, μέσα σε διάστημα μερικών ωρών³⁶. Οι αντιδράσεις αυτές γίνονται μέσω της αντικατάστασης του οξαλικού ιόντος με άλλους πυρηνόφιλους υποκαταστάτες, όπως η μεθειονίνη και η κυστεΐνη μικρών πεπτιδίων. Τα παραπάνω παράγωγα δεν παρουσιάζουν δραστηριότητα³⁷. Ο ρυθμός αποβολής του oxaliplatin από τον οργανισμό μέσω των νεφρών είναι ενδιάμεσος των αντίστοιχων ρυθμών του cisplatin και του carboplatin, αλλά σε αντιδιαστολή με το τελευταίο, ο κύριος όγκος που αποβάλλεται με τα ούρα αποτελείται από παράγωγα του oxaliplatin και όχι από το αρχικό σύμπλοκο³⁶.

Το oxaliplatin σχηματίζει δεσμούς με το DNA με τρόπο παρόμοιο με το cisplatin και παρουσιάζει την ίδια προτίμηση με το τελευταίο για σχηματισμό δεσμών τύπου 1,2-d(GpG) με τα μόρια της γουανίνης. Παρόλα αυτά, η διαδικασία σχηματισμού δεσμών με το DNA είναι πιο αργή για το oxaliplatin. Αξίζει να σημειωθεί η διαπίστωση πως, παρά το γεγονός ότι το oxaliplatin σχηματίζει σε μικρότερο ποσοστό δεσμούς με το DNA, καθώς το μεγαλύτερο μέρος του μετασχηματίζεται σε διάφορα μη δραστικά παράγωγα κατά την είσοδο στον οργανισμό, η συνολική κυτταροτοξικότητά του είναι ίδιου βαθμού ή ακόμα και μεγαλύτερη από αυτή του cisplatin³⁸.



Σχήμα 1.7. δομή του συμπλόκου oxaliplatin.

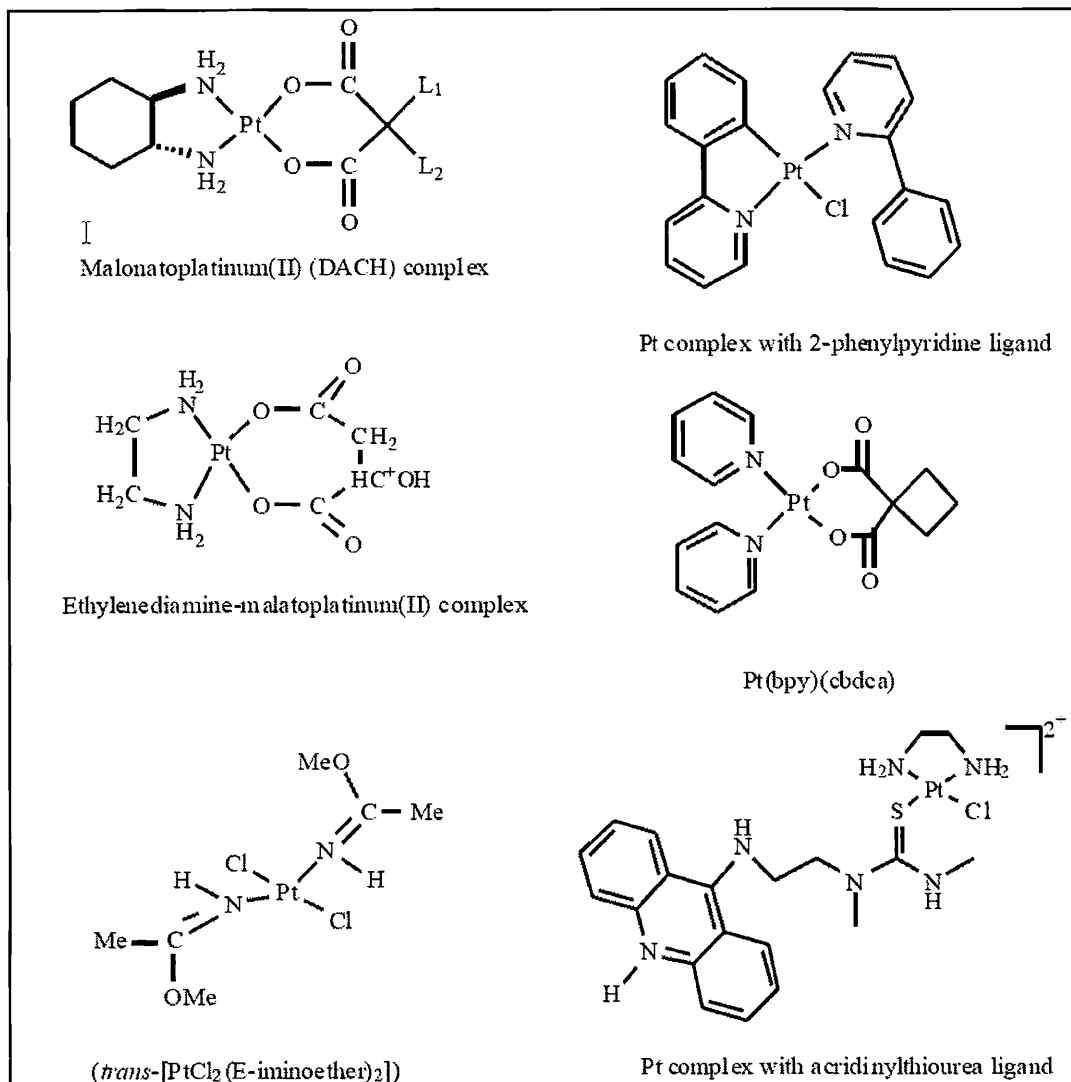
Τα σύμπλοκα λευκοχρύσου(II) που περιέχουν ως υποκαταστάτη το 1,2-διαμινοκυκλοεξάνιο (DACH), εντάσσονται σε μια ευρύτερη κατηγορία συμπλόκων του λευκοχρύσου με διάμινο- υποκαταστάτες. Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν μεταξύ άλλων τα σύμπλοκα με γενικό τύπο $PtCl_2(LL)$, όπου το LL συμβολίζει έναν χηλικό διάμινο-υποκαταστάτη³⁹, καθώς και τα σύμπλοκα λευκοχρύσου με αιθυλενοδιαμίνη⁴⁰.

Γενικότερα, τα σύμπλοκα λευκοχρύσου 3^{ης} γενιάς, τα οποία έχουν συντεθεί και παρουσιάζουν βιολογικό ενδιαφέρον μπορούν να ενταχθούν στις παρακάτω κατηγορίες:

- Σύμπλοκα λευκοχρύσου(II) με αμίνο- υποκαταστάτες όπως το $cis-Pt(LL')Cl_2$ όπου $LL'=N,N$ -διμεθυλ-αιθυλενοδιαμίνη⁴¹, καθώς και αλκυκλικά $cis-(NH_3)(R-NH_2)Cl_2Pt(II)$ σύμπλοκα⁴².
- Σύμπλοκα λευκοχρύσου(II) με trans- ισομέρεια. Τα τελευταία χρόνια έχει διαπιστωθεί ότι συγκεκριμένα σύμπλοκα του λευκοχρύσου(II) με trans- ισομέρεια

παρουσιάζουν μια κάποια αντικαρκινική δράση, τόσο *in vitro* όσο και σε μερικές περιπτώσεις *in vivo*^{43,44}.

- Πολυπυρηνικά σύμπλοκα του λευκοχρύσου(II). Τα σύμπλοκα αυτά παρουσιάζουν αντικαρκινική δράση και αποτελούνται από δύο, τρία ή τέσσερα μεταλλικά κέντρα λευκοχρύσου, τόσο με cis-, όσο και με trans- διαμόρφωση. Για τη σύνδεση των μεταλλικών κέντρων χρησιμοποιούνται συνήθως πολυαμίνες⁴⁵.
- Σύμπλοκα του λευκοχρύσου(IV). Τα σύμπλοκα αυτά παρουσιάζουν μεγαλύτερη σταθερότητα, και μεγαλύτερη τάση για αναγωγικές αντιδράσεις στα κύτταρα συγκρινόμενα με τα σύμπλοκα λευκοχρύσου(II), με συνέπεια να είναι δυνατή η εισχώρησή τους συμπλόκου χωρίς μεταβολές στη δομή τους στα καρκινικά κύτταρα σε μεγαλύτερα ποσοστά. Τα αντικαρκινικά φάρμακα των παραπάνω συμπλόκων συνήθως λαμβάνονται από το στόμα. Ένα από τα πιο γνωστά φάρμακα του λευκοχρύσου(IV) είναι το JM-216, το οποίο ήδη έχει εγκριθεί για χρήση στη χημειοθεραπεία⁴⁶.
- Καινοτόμα (non classical) σύμπλοκα λευκοχρύσου(II). Η κατηγορία αυτή περιλαμβάνει μεγάλο αριθμό συμπλόκων του λευκοχρύσου, τα οποία δομικά παρουσιάζουν μεγάλες διαφορές με το cisplatin και σχηματίζουν διαφόρων τύπων δεσμούς με το DNA. Σε αυτά συγκαταλέγονται τα σύμπλοκα λευκοχρύσου(II) που έχουν υποκαταστάτες με πυριδινικούς δακτυλίους⁴⁷, με εστερομάδες⁵⁰, με πυριμιδίνες⁴⁸, με θειουρία⁴⁹, όπως επίσης τα ορθομεταλλικά σύμπλοκα του λευκοχρύσου(II) με πολυπυριδινικούς υποκαταστάτες.



Σχήμα 1.8. Δομές ορισμένων συμπλόκων λευκοχρύσου 3^{ης} γενιάς που εντάσσονται στις παραπάνω κατηγορίες.

1.1.4. Ορθομεταλλικά σύμπλοκα του λευκοχρύσου(II) με πολυπυριδινικούς υποκαταστάτες.

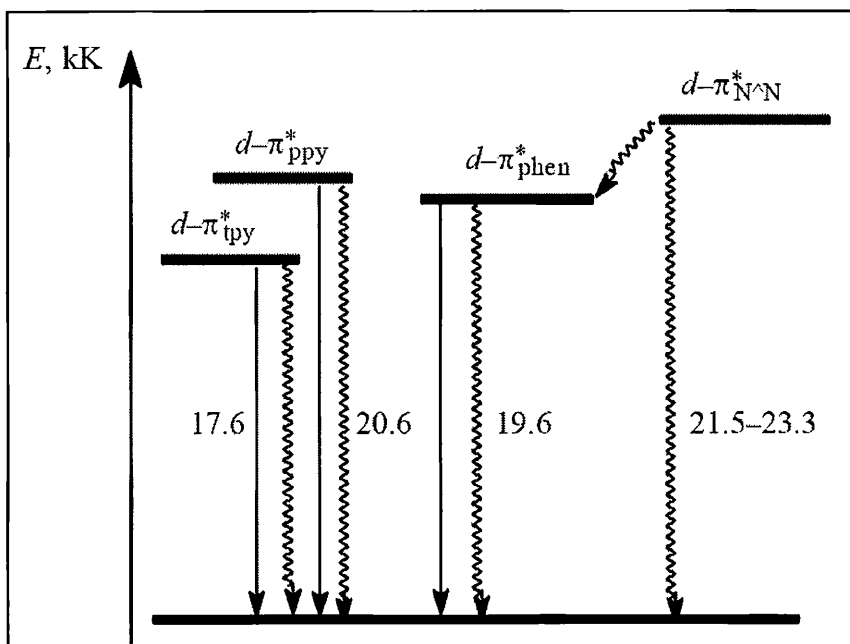
Οι έρευνες των τελευταίων χρόνων έχουν οδηγήσει στο συμπέρασμα ότι σημαντικός αριθμός συμπλόκων του λευκοχρύσου, τα οποία διαφέρουν δομικά κατά πολύ από το γνωστό cisplatin, είναι δυνατό να παρουσιάσουν αξιοσημείωτη κυτταροτοξικότητα και κατά συνέπεια αντικαρκινική δράση. Τα σύμπλοκα αυτά αλληλεπιδρούν με το DNA, αλλά με μηχανισμούς διαφορετικούς από εκείνους του cisplatin. Έτσι η ανάπτυξη αντιστάσεων στον πάσχοντα οργανισμό κατά τη θεραπεία με cisplatin είναι δυνατό να παρακαμφθεί μέσω της χρήσης στη χημειοθεραπεία νέων συμπλόκων με διαφορετικούς μηχανισμούς αντικαρκινικής δράσης.

Το 2001, στα πλαίσια ερευνών σχετικών με την αντικαρκινική δράση συγκεκριμένων συμπλόκων του λευκοχρύσου(II), διαπιστώθηκε κατά τύχη ότι τα μονολειτουργικά ορθομεταλλικά σύμπλοκα του λευκοχρύσου με φαινυλ-πυριδίνη παρουσίαζαν αντικαρκινική δράση *in vivo* κατά καρκινικών κυττάρων ποντικών, τα οποία είχαν αναπτύξει ανθεκτικότητα σε θεραπεία με cisplatin⁵¹. Το γεγονός ότι τα μονολειτουργικά σύμπλοκα του λευκοχρύσου με φαινυλ-πυριδίνη δεν μπορούν να σχηματίσουν διασταυρούμενους δεσμούς με το DNA, οδήγησε στο συμπέρασμα ότι τα σύμπλοκα αυτά δημιουργούν άλλους τύπους δεσμών με το μόριο του DNA.

Κατά τη μελέτη της αλληλεπίδρασης μεταξύ επίπεδων τετραγωνικών συμπλόκων λευκοχρύσου(II) με πολυπυριδινικούς υποκαταστάτες και μορίων DNA διαπιστώθηκε ότι τα σύμπλοκα αυτά αλληλεπιδρούν με τα μόρια του DNA μέσω παρεμβολής (intercalation) των υποκαταστατών τους στις βάσεις του DNA. Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκαν επίπεδα τετραγωνικά σύμπλοκα του λευκοχρύσου(II) με υποκαταστάτες τερπυριδίνη (terpy)⁵³, διπυριδίνη (bpy) και δικινολίνη (biq)⁵². Η διαπίστωση αυτή είναι ιδιαίτερης σημασίας, καθώς επιβεβαιώνει τη δυνατότητα των παραπάνω συμπλόκων λευκοχρύσου να αλληλεπιδρούν με το DNA και να εμφανίζουν αντικαρκινική δράση, υιοθετώντας ένα μηχανισμό αλληλεπίδρασης πολύ διαφορετικό από αυτόν του cisplatin.

Οι K.P. Balashev^{54,55}, P.I Kvam και J. Songstad^{56,57} μετά από εκτενή μελέτη ορθομεταλλικών συμπλόκων του λευκοχρύσου(II) με γενικό τύπο $[Pt(N^{\wedge}C)(N^{\wedge}N)]^+$, όπου με $(N^{\wedge}C)$ συμβολίζεται ο υποκαταστάτης 2-φαινυλ-πυριδίνη που συνδέεται με τον

λευκόχρυσο χηλικά μέσω των ατόμων άνθρακα και αζώτου και με ($N^{\wedge}N$) συμβολίζονται πολυπυριδινικοί υποκαταστάτες (που συνδέονται χηλικά με τον λευκόχρυσο μέσω των δύο ατόμων αζώτου) όπως 1,10-φαινανθρολίνη (phen), διπυριδο-κινόξαλίνη (dprq) και διπυριδο-φαιναζίνη (dprz), διαπίστωσαν πως τα παραπάνω σύμπλοκα εμφανίζουν ενδιαφέρουσες φωτοχημικές ιδιότητες. Η ικανότητα των ηλεκτρονίων τους να παραμένουν σε διεγερμένη κατάσταση για μεγάλο χρονικό διάστημα και η εκπομπή σημαντικών ποσών ακτινοβολίας κατά το στάδιο της αποδιέγερσης, καθώς και η ικανότητα ρύθμισης των οξειδοαναγωγικών τους ιδιοτήτων και του μεγέθους τους με αλλαγή των υποκαταστατών ($N^{\wedge}N$), αποτελούν σημαντικές προϋποθέσεις για τη χρήση των παραπάνω συμπλόκων σε φωτοδυναμικές εφαρμογές⁵⁸. Οι εφαρμογές αυτές άπτονται των τομέων της ιατρικής, της φαρμακευτικής, των επιστημών του περιβάλλοντος και της επιστήμης και τεχνολογίας υλικών.



Σχήμα 1.9. Ενεργειακό διάγραμμα των διαδικασιών εκπομπής (ευθεία γραμμή) και μη εκπομπής (τεθλασμένη γραμμή) ακτινοβολίας κατά τη διαδικασία αποδιέγερσης των ηλεκτρονίων των συμπλόκων με γενικό τύπο $[Pt(N^{\wedge}C)(N^{\wedge}N)]^+$, όπου με ($N^{\wedge}C$) συμβολίζονται οι υποκαταστάτες 2-φαινυλ-πυριδίνη (ppy) και 2-(2-θεινυλ-πυριδίνη) (try)

και με (N^N) συμβολίζονται πολυπυριδινικοί υποκαταστάτες όπως 1,10-φαινανθρολίνη (*rhen*), διπυριδο-κινόξαλίνη (*dprq*) και διπυριδο-φαιναζίνη (*dprz*)⁵⁵.

Με γνώμονα τις παραπάνω έρευνες και με σκοπό την περαιτέρω διερεύνηση των ιδιοτήτων των ορθομεταλλικών συμπλόκων του λευκοχρύσου(II) με πολυπυριδινικούς υποκαταστάτες, πραγματοποιήθηκε σύνθεση, χαρακτηρισμός και μελέτη της αλληλεπίδρασης με βιολογικά μόρια ενός γνωστού και τριών νέων ορθομεταλλικών συμπλόκων του λευκοχρύσου(II) με 2-φαινυλ-πυριδίνη και πολυπυριδινικούς υποκαταστάτες 1,10-φαινανθρολίνη, 2-(2'-πυριδυλ)-κινόξαλίνη, 1,10-φαινανθρολίνη-5,6-διόνη, διπύριδο[3,2-d:2',3'-f]κινόξαλίνη.

1.2. Αλληλεπίδραση συμπλόκων του λευκοχρύσου με DNA

1.2.1. Δομή DNA

Το DNA είναι ένα νουκλεϊνικό οξύ που περιέχει τις γενετικές πληροφορίες που καθορίζουν την βιολογική ανάπτυξη όλων των κυτταρικών μορφών ζωής και των περισσότερων ιών. Είναι ένα μακρομόριο που συγκροτείται από αζωτούχες αρωματικές βάσεις, φωσφορικό οξύ και σάκχαρα. Βρίσκεται κυρίως μέσα στον πυρήνα του κυττάρου και σε άλλα οργανίδια του, όπως τα μιτοχόνδρια. Είναι ο φορέας των γενετικών πληροφοριών του κυττάρου, όχι μόνο με την έννοια της μεταβίβασης χαρακτηριστικών, αλλά και της ρύθμισης της φυσιολογίας εξειδίκευσης κάθε κυττάρου για την επιτέλεση των ιδιαίτερων λειτουργιών του.

Η δευτεροταγής δομή του DNA βρέθηκε το φθινόπωρο του 1961 από τους J.D.Watson και Crick. Οι δύο παραπάνω ερευνητές έπρεπε να προτείνουν μια δομή για το DNA που θα ερμήνευε πλήρως όλα τα χημικά και κρυσταλλογραφικά δεδομένα, και συγχρόνως θα συμφωνούσε με όλα τα συντακτικά χαρακτηριστικά των μονάδων που συμμετέχουν : το μοριακό μέγεθος και σχήμα, τις γωνίες και τα μήκη δεσμών, τις στερεοχημικές διατάξεις και τις διαμορφώσεις. Τελικά τον Απρίλιο του 1961 οι δύο παραπάνω ερευνητές κατέληξαν στην τελική δομή του DNA, την γνωστή έως σήμερα διπλή έλικα⁵⁹.

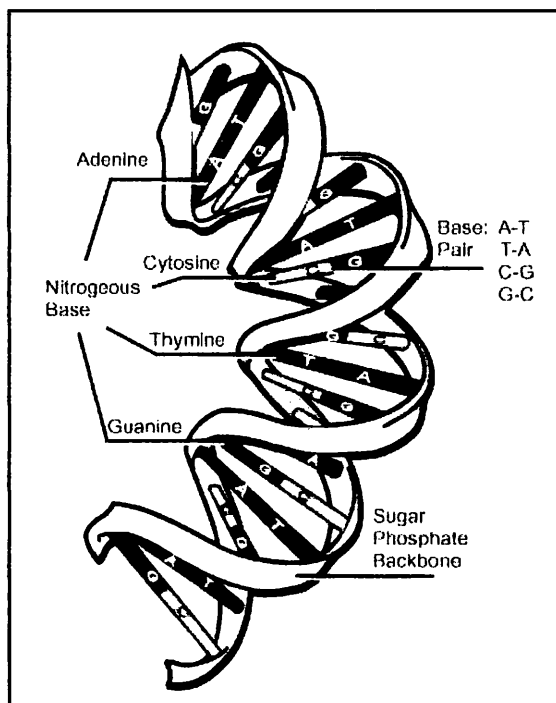
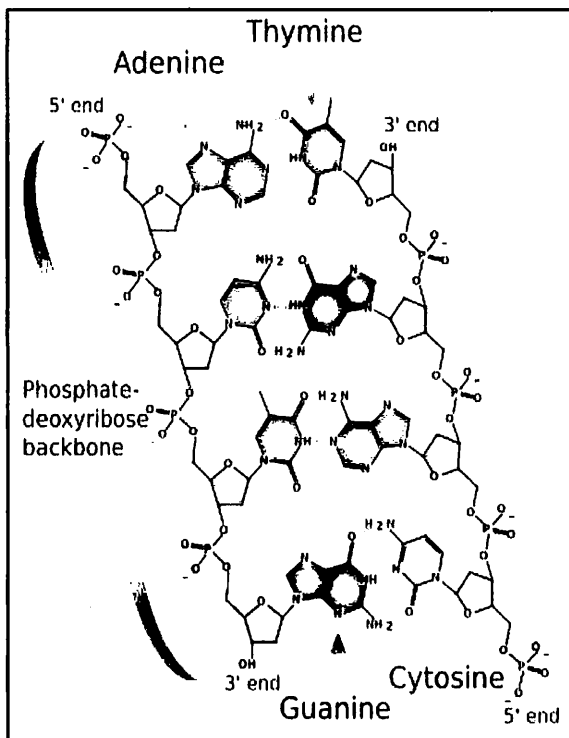
Το DNA αποτελείται από δύο αλυσίδες πολυνουκλεοτιδίων οι οποίες περιτυλίσσονται η μία με την άλλη και σχηματίζουν μια διπλή έλικα που για το DNA B τύπου είναι διαμέτρου 20 \AA . Η κάθε έλικα είναι δεξιόστροφη και έχει δέκα μονάδες νουκλεοτιδίων για κάθε πλήρη στροφή, η οποία συμβαίνει κάθε 34 \AA κατά μήκος του άξονα. Οι δύο αλυσίδες κατευθύνονται σε αντίθετες διευθύνσεις, δηλαδή οι μονάδες της δεοξυριβόζης προσανατολίζονται σε αντίθετες διευθύνσεις. Στην μια αλυσίδα η σειρά είναι $C_3 \rightarrow C_5$, ενώ στην άλλη $C_5 \rightarrow C_3$.

Οι δύο αλυσίδες του DNA συγκρατούνται με δεσμούς υδρογόνου. Οι δεσμοί υδρογόνου είναι ευθύγραμμοι και σχηματίζονται μεταξύ αδενίνης (A) και θυμίνης (T) και μεταξύ γουανίνης (G) και κυτοσίνης (C). Οι παραπάνω ενώσεις είναι οι βάσεις του DNA. Δεσμοί υδρογόνου μεταξύ άλλων ζευγών βάσεων δεν θα έδιναν στο DNA το

μοντέλο της διπλής έλικας. Οι δύο αλυσίδες του DNA είναι συμπληρωματικές, δηλαδή απέναντι από κάθε αδενίνη της μίας έλικας υπάρχει μια θυμίνη στην άλλη έλικα, και απέναντι σε κάθε γουανίνη βρίσκεται μια κυτοσίνη⁵⁹.

Κάθε κλώνος της διπλής έλικας περιέχει την δομή του γενετικού κώδικα και το ξεδίπλωμα σε χωριστούς κλώνους με τον επακόλουθο σχηματισμό συμπληρωματικών κλώνων για κάθε έναν από τους αρχικούς θα οδηγήσει στην δημιουργία δυο νέων διπλών ελίκων DNA, κάθε μια από τις οποίες είναι αντίγραφο της αρχικής. Η διαδικασία της αντιγραφής απαιτεί την παρουσία ιόντων μετάλλου, όπως Zn^{2+} , και μπορεί, επίσης, να ανασταλεί από μεταλλικά ιόντα ή σύμπλοκα. Αυτό αποδεικνύει την σημασία των μεταλλικών συμπλόκων στην βιοχημεία των νουκλεϊκών οξέων⁵⁹.

Κάθε βήμα στην εφαρμογή του γενετικού κώδικα για την τελική παραγωγή των αντίστοιχων πρωτεϊνών καθοδηγείται κατά κάποιο τρόπο από την παρουσία ιόντων μετάλλου. Η μεταγραφή του DNA σε mRNA επηρεάζεται, επίσης, από μεταλλικά ιόντα. Ο γενετικός κώδικας στο mRNA περιέχεται σε αλληλουχίες τρινουκλεοτιδίων που καλούνται κωδικόνια. Η δέσμευση των tRNA αντικωδικονίων στα mRNA κωδικόνια συμβαίνει στην επιφάνεια των ριβοσωμάτων, των οποίων η δομή καθορίζεται από την περιεκτικότητά τους σε μεταλλικά ιόντα. Βλέπουμε λοιπόν, ότι οι τρεις στοιχειώδεις διαδικασίες, αντιγραφή, μεταγραφή και μετάφραση επηρεάζονται από μεταλλικά ιόντα η σύμπλοκα τους⁵⁹.



Σχήμα 1.10. Η δομή του μορίου του DNA.

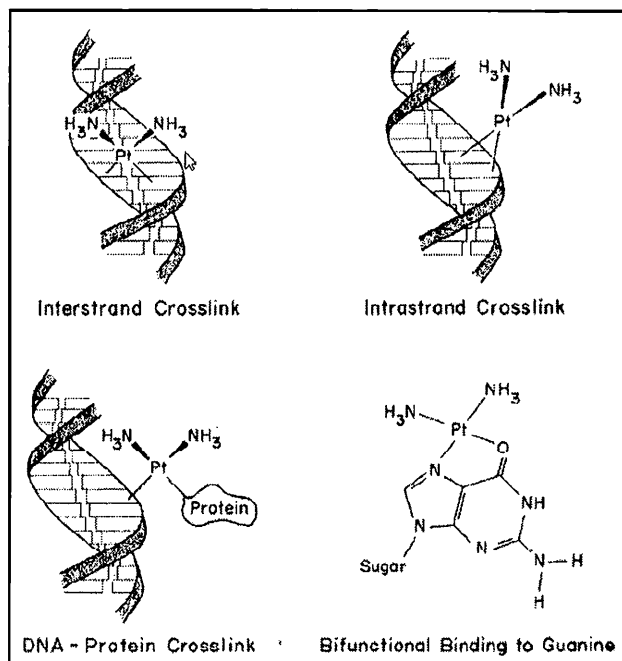
1.2.2. Τρόποι αλληλεπίδρασης συμπλόκων λευκοχρύσου με το DNA.

Η αλληλεπίδραση των συμπλόκων του λευκοχρύσου με το DNA έχει αποτελέσει αντικείμενο έρευνας πολλών επιστημόνων, από την περίοδο της ανακάλυψης της αντικαρκινικής δράσης του cisplatin έως και σήμερα. Στον ιδιαίτερο τρόπο αλληλεπίδρασης των συμπλόκων αυτών με το DNA πιστεύεται ότι κατά πάσα πιθανότητα οφείλονται και οι αντικαρκινικές τους ιδιότητες. Τα σύμπλοκα του λευκοχρύσου έχουν τη δυνατότητα να ενώνονται με το DNA σχηματίζοντας δεσμούς ένταξης με άτομα δότες των βάσεων του DNA (covalently), όπως επίσης είναι δυνατή η αλληλεπίδρασή τους με το DNA με «μη-ομοιοπολικούς» (non-covalent) δεσμούς⁵³. Στις μη-ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις περιλαμβάνονται: α) η σύνδεση στην αύλακα του DNA με δεσμούς υδρογόνου, Van der Waals κ.λ.π. β) η αλληλεπίδραση με παρεμβολή (intercalation) των υποκαταστατών ανάμεσα στις βάσεις του DNA με π δεσμούς ανάμεσα στους αρωματικούς δακτυλίους των βάσεων και των υποκαταστατών, γ) η ηλεκτροστατική δέσμευση στις αρνητικά φορτισμένες φωσφορικές ομάδες⁶⁰.

Για το σύμπλοκο cis-(NH₃)₂PtCl₂ που δρα σχηματίζοντας δεσμούς ένταξης, τέσσερις τρόποι είναι οι πλέον πιθανοί (σχήμα 1.11): α) δημιουργία διλειτουργικού δεσμού μεταξύ του συμπλόκου και μιας βάσης του DNA, β) δημιουργία διακλωνικών διασταυρούμενων δεσμών μεταξύ του συμπλόκου και δύο βάσεων του DNA, γ) δημιουργία ενδοκλωνικών διασταυρούμενων δεσμών μεταξύ του συμπλόκου και δύο βάσεων του DNA και δ) δημιουργία διασταυρούμενων δεσμών μεταξύ του DNA και μίας πρωτεΐνης²¹.

Η πιθανότητα δημιουργίας διλειτουργικού δεσμού μεταξύ του cisplatin και μιας βάσης του DNA έχει σε γενικές γραμμές απορριφθεί, καθώς δεν υπάρχουν επαρκή πειραματικά δεδομένα που να επιβεβαιώσουν την ύπαρξη τέτοιου τύπου δεσμού σε συνθήκες ανάλογες εκείνων που υπάρχουν σε βιολογικά συστήματα⁶¹. Παρόλα αυτά, μετά από σχετικές έρευνες έχει προκύψει το συμπέρασμα πως η δημιουργία του συγκεκριμένου τύπου δεσμού είναι πιθανή για ορισμένα σύμπλοκα του λευκοχρύσου σε ακραίες όμως για βιολογικά συστήματα συνθήκες pH και θερμοκρασιών⁶². Το cisplatin μπορεί να ενωθεί με όλες τις βάσεις του DNA· παρόλα αυτά παρουσιάζει ισχυρή προτίμηση για δεσμό με τα άτομα στη θέση N-7 της γουανίνης⁶³. Έχει διαπιστωθεί ότι

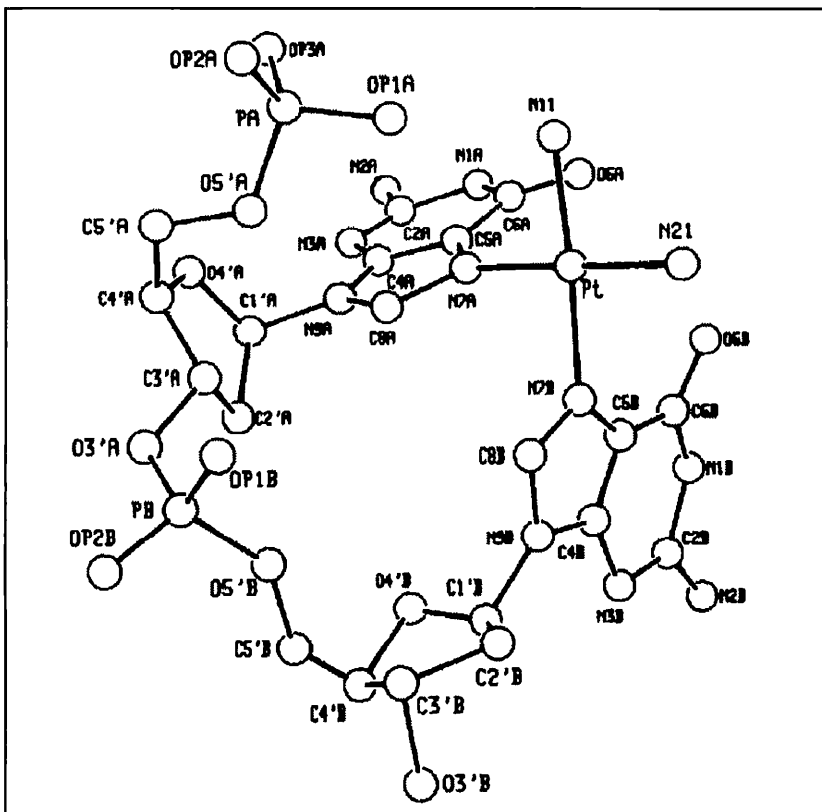
κατά το μεγαλύτερο ποσοστό η αλληλεπίδραση του cisplatin με το DNA γίνεται μέσω της δημιουργίας ενδοκλωνικών διασταυρούμενων δεσμών μεταξύ δύο γουανινών. Από αυτούς, το 65% περίπου είναι δεσμοί με τις θέσεις N-7 δύο διαδοχικών γουανινών [d(GpG)], 25% περίπου είναι δεσμοί με τις θέσεις N-7 μίας γουανίνης και N-7 μιας γειτονικής αδενίνης [d(ApG)], και 6% περίπου είναι δεσμοί με τις θέσεις N-7 δύο γουανινών, μεταξύ των οποίων παρεμβάλλεται μια άλλη βάση [d(GpNpG)]¹⁹.



Σχήμα 1.11. Πιθανοί τρόποι αλληλεπίδρασης του cisplatin με το DNA²¹.

Λιγότερο από το 1% των διασταυρούμενων δεσμών που σχηματίζει το cisplatin με το DNA είναι διακλωνικοί και μόνο το περίπου 0,15% των συνολικών διασταυρούμενων δεσμών είναι δεσμοί μεταξύ του cisplatin⁶⁴, του DNA και πρωτεϊνών. Λόγω του ότι το trans-ανάλογο, το οποίο δεν εμφανίζει αξιόλογη αντικαρκινική δράση, σχηματίζει με το DNA κατά κύριο λόγο διακλωνικούς διασταυρούμενους δεσμούς και δεσμούς με το DNA και πρωτεΐνες, είναι απίθανο κάποιος από αυτούς τους δεσμούς να είναι υπεύθυνος για την αντικαρκινική δράση του cisplatin¹⁹. Τα σύμπλοκα carboplatin

και oxaliplatin, τα οποία χρησιμοποιούνται ευρέως για τη θεραπεία ορισμένων τύπων καρκίνου, αλληλεπιδρούν με το DNA με τρόπο παρόμοιο με το cisplatin.



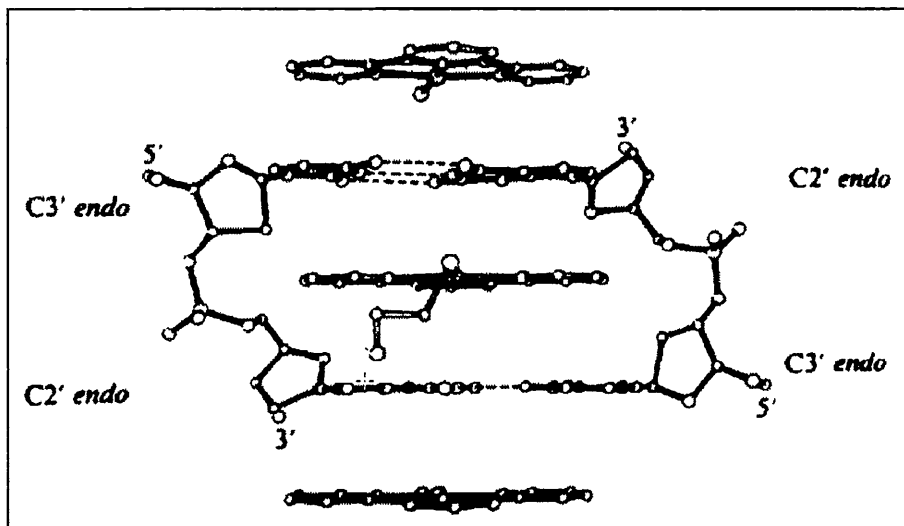
Σχήμα 1.12. Δομή του κύριου τύπου δεσμού μεταξύ του cisplatin και του DNA $[d(GpG)]^{53}$.

Ένας ακόμα τύπος αλληλεπίδρασης των συμπλόκων λευκοχρύσου με το DNA που παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, είναι η αλληλεπίδραση με παρεμβολή (intercalation) των υποκαταστατών των συμπλόκων ανάμεσα στις βάσεις του DNA. Η αλληλεπίδραση μέσω παρεμβολής προτάθηκε αρχικά από τον Lerman για να εξηγήσει την ισχυρή τάση αλληλεπίδρασης με το DNA ορισμένων μικρών επίπεδων αρωματικών μορίων⁶⁵. Ο συγκεκριμένος τύπος αλληλεπίδρασης είναι ιδιαίτερης σημασίας, καθώς συμβάλλει στην παρεμπόδιση της σύνθεσης των νουκλεϊκών οξέων *in vivo*, με

αποτέλεσμα, τα σύμπλοκα που αλληλεπιδρούν μέσω παρεμβολής να παρουσιάζουν αξιοσημείωτη βιολογική δράση⁶⁶.

Ο όρος «παρεμβολή» χρησιμοποιείται για να περιγράψει την εισαγωγή ενός μορίου μεταξύ δύο γειτονικών ζευγών βάσεων του DNA. Μια ποικιλία υδρόφοβων και υδρόφιλων αλληλεπιδράσεων με τις βάσεις του DNA και τις φωσφορικές ομάδες αποτελεί την οδηγούσα δύναμη για την όλη διαδικασία. Ακόμη αν το μόριο που παρεμβάλλεται έχει θετικό φορτίο, τότε στη διαδικασία συνεισφέρουν και οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις που αναπτύσσονται μεταξύ του μορίου και των αρνητικά φορτισμένων φωσφορικών ομάδων⁵².

Μετά από σχετικές έρευνες διαπιστώθηκε ότι συγκεκριμένα επίπεδα τετραγωνικά σύμπλοκα του λευκοχρύσου(II) με πολυπυριδινικούς υποκαταστάτες, όπως τερπυριδίνη (terpy)⁵³, διπυριδίνη (bpy) και δικινολίνη (biq)⁵², είναι δυνατό να αλληλεπιδράσουν με το DNA μέσω παρεμβολής των υποκαταστατών του ανάμεσα στα ζεύγη βάσεων του DNA. Γενικότερα η πιθανότητα αλληλεπίδρασης με παρεμβολή είναι μεγάλη για τα σύμπλοκα λευκοχρύσου, τα οποία διαθέτουν επίπεδη διαμόρφωση, κατάλληλο μέγεθος και κατάλληλη ηλεκτρονιακή πυκνότητα, ενώ σημαντικό παράγοντα επίσης αποτελεί η ύπαρξη θετικού φορτίου.



Σχήμα 1.13. Αλληλεπίδραση του συμπλόκου $[(terpy)Pt(HET)]^+$ με το DNA μέσω παρεμβολής μεταξύ δύο γειτονικών ζευγών βάσεων γουανίνης-κυτοσίνης $[d(CpG)]^{53}$.

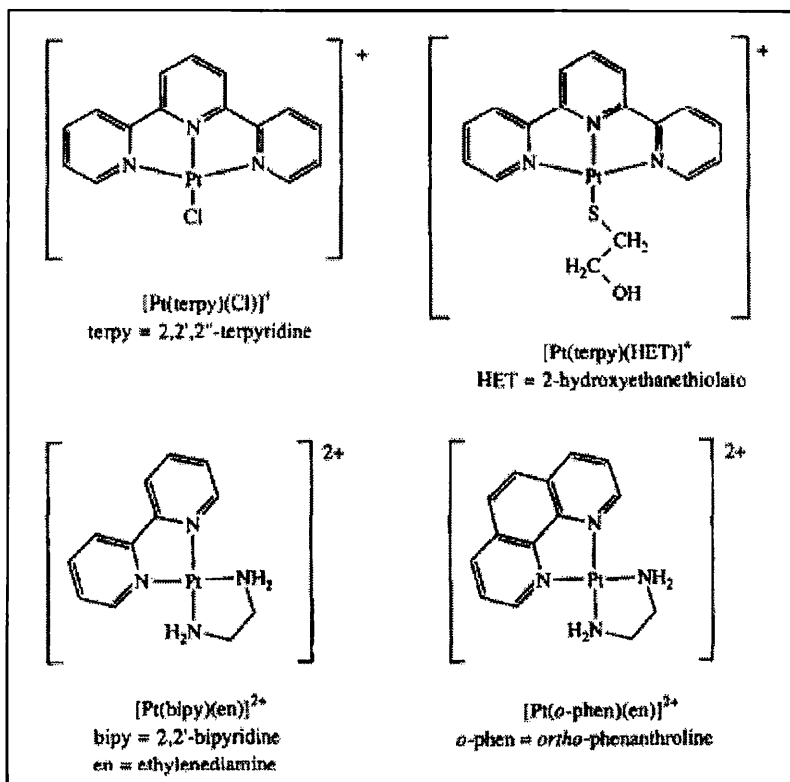
1.2.3. Αλληλεπίδραση συμπλόκων του λευκοχρύσου με DNA και σταθερές δέσμευσης K_b .

Η αλληλεπίδραση κάθε συμπλόκου με το DNA περιγράφεται και από μία σταθερά δέσμευσης. Οι τιμή μιας σταθεράς δέσμευσης μετράται σε M^{-1} . Η σταθερά δέσμευσης είναι το μέτρο της ισχύος της αλληλεπίδρασης του συμπλόκου με το DNA. Όσο μεγαλύτερη είναι η τιμή της σταθεράς δέσμευσης τόσο ισχυρότερη είναι η αλληλεπίδραση μεταξύ συμπλόκου και DNA. Οι αλληλεπιδράσεις των συμπλόκων με το DNA και οι αντίστοιχες σταθερές δέσμευσης αποτέλεσαν αντικείμενο έρευνας πολλών επιστημόνων τα τελευταία χρόνια, καθώς οι αντικαρκινικές ιδιότητες των συμπλόκων του λευκοχρύσου πιθανότατα σχετίζονται με τον τρόπο αλληλεπίδρασής τους με το βιολογικό μόριο.

Οι M. Cusumano και A. Gianetto μελέτησαν με χρήση φασματοσκοπίας UV-Vis τα επίπεδα τετραγωνικά σύμπλοκα του λευκοχρύσου(II) με μοριακό τύπο $[Pt(bpy)en]^{2+}$ και $[Pt(biq)en]^{2+}$ (με bpy συμβολίζεται ο υποκαταστάτης 2,2'-διπυριδίνη, με biq ο υποκαταστάτης 2,2'-δικινολίνη και με en ο υποκαταστάτης αιθυλενοδιαμίνη)⁵². Κατά την τιτλοδότηση του πρώτου συμπλόκου με DNA θύμου αδένος μόσχου (CT-DNA) η σταθερά δέσμευσης K_b βρέθηκε ίση με $1,524 \cdot 10^5 M^{-1}$ για συγκέντρωση ιόντων $[Na^+]$ ίση με 0,011M. Επιπλέον παρατηρήθηκε υποχρωμία σε ποσοστό 49% και μετατόπιση προς το ερυθρό κατά 5,2nm της κύριας ταινίας απορρόφησης του συμπλόκου. Για το δεύτερο σύμπλοκο, η τιμή της σταθεράς δέσμευσης K_b βρέθηκε ίση με $0,968 \cdot 10^5 M^{-1}$ για συγκέντρωση ιόντων $[Na^+]$ ίση με 0,011M. Επίσης παρατηρήθηκε υποχρωμία σε ποσοστό 39% και μετατόπιση προς το ερυθρό κατά 5,7nm της κύριας ταινίας απορρόφησης του συμπλόκου. Η μετατόπιση προς το ερυθρό της κύριας ταινίας απορρόφησης των συμπλόκων υποδηλώνει την αλληλεπίδρασή τους με το DNA με παρεμβολή.

Επιπλέον η μελέτη με φασματοσκοπία UV-Vis του συμπλόκου $[Pt(terpy)(HET)]^+$ (όπου terpy είναι η τερ-πυριδίνη και HET είναι το 2-υδροξυ-θειολάτο ιόν)⁶⁷ έδειξε ότι η σταθερά δέσμευσης του συμπλόκου είναι της τάξεως του $10^5 M^{-1}$. Γενικότερα, σύμφωνα με τα διαθέσιμα πειραματικά δεδομένα⁵³, η τιμή της σταθεράς δέσμευσης K_b για τα επίπεδα τετραγωνικά μόρια λευκοχρύσου(II) που παρεμβάλλονται έστω και μερικώς

ανάμεσα στις βάσεις του DNA, αναμένεται να είναι από 10^5 έως και μεγαλύτερες του 10^6 M^{-1} . Η διαπίστωση αυτή βρίσκεται σε συμφωνία με τα πειραματικά δεδομένα των M. Cusumano και A. Gianetto, οι οποίοι επίσης υπολόγισαν τιμή της σταθεράς δέσμευσης K_b της τάξεως του 10^5 M^{-1} . Μικρότερες τιμές είναι πιθανόν να δείχνουν δέσμευση στις αλύκες του DNA ή ακόμη και απλές ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις.



Σχήμα 1.14. Επιπεδα τετραγωνικά σύμπλοκα του λευκοχρύσου(II) με πολυπυριδινικούς υποκαταστάτες, τα οποία αλληλεπιδρούν με παρεμβολή των υποκαταστατών τους στις βάσεις του DNA⁵³. Τα σύμπλοκα αυτά έχουν K_b της τάξεως 10^5 - 10^6 M^{-1} .

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

*Σύνθεση ορθομεταλλικών συμπλόκων του
λευκοχρύσου με πολυπυριδινικούς
υποκαταστάτες και μέθοδοι για τον
προσδιορισμό της σταθεράς δέσμευσής τους
με CT-DNA.*

2.1. Αντιδραστήρια και μέθοδοι

2.1.1. Αντιδραστήρια

Η 1,10-φαινανθρολίνη καθαρότητας 99+% αγοράστηκε από την εταιρία Aldrich. Η 2-φαινυλ-πυριδίνη, η 2-πυριδυλ-κετόνη και η αιθυλενοδιαμίνη αγοράστηκαν από την εταιρία Merck. Το χλωρίδιο του τετραβουτυλοαμμωνίου καθαρότητας 97%, αγοράστηκε από την εταιρία Fluka. Το DNA θύμου αδένος μόσχου (CT-DNA) καθαρότητας 97 %, αγοράστηκε από την εταιρία Sigma. Το τετραχλωρολευκοχρυσικό κάλιο (K_2PtCl_4) καθαρότητας 99% παρασκευάστηκε στο εργαστήριο από καθαρό μεταλλικό Pt υψηλής καθαρότητας 99,9% σύμφωνα με τις μεθόδους της βιβλιογραφίας. Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν καθαρότητας HPLC (Fluka) και το νερό για τα πειράματα του DNA δις αποσταγμένο. Τέλος, οι δευτεριωμένοι διαλύτες DMSO- d_6 , D_2O , μεθανόλη D_4 , ήταν καθαρότητας 99,7% και προμηθεύτηκαν από την εταιρία Sigma.

2.1.2. Φυσικές μετρήσεις και μέθοδοι

Η λήψη των φασμάτων υπερύθρου των συμπλόκων και των υποκαταστατών στην περιοχή $4000-300\text{ cm}^{-1}$ έγινε σε φασματοφωτόμετρο Perkin-Elmer Spectrum GX σε δισκία KBr. Τα φάσματα υπεριώδους-ορατού (200-700 nm) λήφθηκαν με κυψελίδες από χαλαζία με $b=1\text{ cm}$, σε φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης Jasco-520. Για τις μετρήσεις πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού 1H NMR χρησιμοποιήθηκε όργανο Bruker Avance 400 με συχνότητα συντονισμού πρωτονίου 400.13 MHz και Bruker Avance 250 με συχνότητα συντονισμού πρωτονίου 250.11 MHz. Τα φάσματα μάζης λήφθηκαν σε φασματόμετρο τύπου Agilent Technology LC/MSD Trap SL με τις τεχνικές Electrospray Ionisation (ESI) και Atmospheric Pressure Chemical Ionisation (APCI), σε αραιά (10^{-4}) διαλύματα μεθανόλης. Τέλος, οι στοιχειακές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν στην Ολλανδία σε αναλυτή C, H, N Perkin-Elmer 2400 series II.

2.1.3 Προετοιμασία των δειγμάτων CT-DNA και τιτλοδότησή τους με τα σύμπλοκα

Η μελέτη της αλληλεπίδρασης των συμπλόκων του λευκοχρύσου με το DNA πραγματοποιήθηκε με τη χρήση φασματοσκοπίας υπεριώδους-ορατού, ενώ χρησιμοποιήθηκε κατάλληλο τμήμα γραμμικού DNA από θύμο αδένα μόσχου (CT-DNA). Κατάλληλη ποσότητα CT-DNA διαλύθηκε σε ρυθμιστικό διάλυμα (A) φωσφορικών αλάτων ($\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$) συγκέντρωσης 5mM, το οποίο περιείχε NaCl σε συγκέντρωση 50mM. Το pH του ρυθμιστικού διαλύματος μετρήθηκε με πεχάμετρο και βρέθηκε ίσο με 7.00 σε θερμοκρασία 25 °C. Το διάλυμα του CT-DNA αναδεύτηκε με vortex και φυλάχθηκε στο ψυγείο στους 5 °C. Η συγκέντρωση του DNA, εκφρασμένη σε moles νουκλεοτιδίων ανά λίτρο [P], καθορίστηκε με φασματοσκοπία υπεριώδους – ορατού μετρώντας την απορρόφηση στα 260nm ($\epsilon_{260}=6600\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, T=298K). Ο λόγος A_{260}/A_{280} στο δείγμα βρέθηκε ίσος με 1.9, τιμή που αντιστοιχεί σε διάλυμα με χαμηλή συγκέντρωση πρωτεϊνών (<0,4%)^{68,69}.

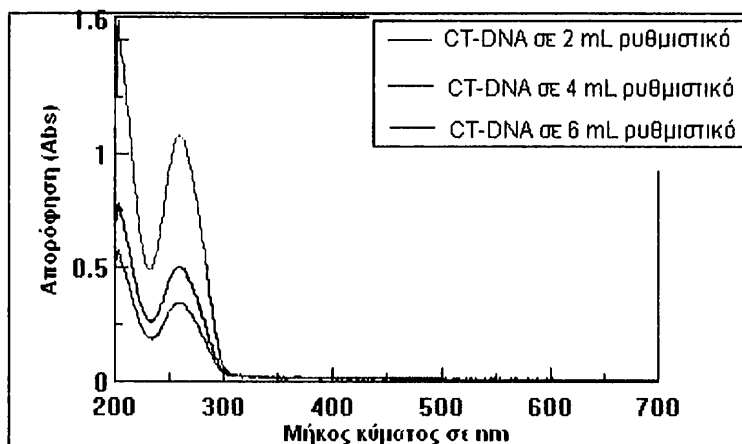
Αφού παρασκευάστηκε το διάλυμα CT-DNA, ζυγίστηκε κατάλληλη ποσότητα από το κάθε σύμπλοκο και διαλύθηκε στο διάλυμα (A) των φωσφορικών αλάτων. Η συγκέντρωση του κάθε συμπλόκου ήταν 20μM. Για τη μελέτη της αλληλεπίδρασης του κάθε συμπλόκου με το CT-DNA έγινε προσθήκη 2mL διαλύματος συμπλόκου σε κυψελίδα χαλαζία και στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε τιτλοδότηση με το διάλυμα CT-DNA. Οι τελικές συγκεντρώσεις του CT-DNA στην κυψελίδα ήταν 0, 0.85, 1.7, 2.55, 3.4... έως 25.5 μM. Για κάθε νέα προσθήκη ποσότητας διαλύματος CT-DNA στο διάλυμα συμπλόκου λαμβανόταν το αντίστοιχο φάσμα UV-Vis, μετά από ισχυρή ανάδευση και χρόνο επώασης 10 λεπτών, ώστε να πραγματοποιηθεί πλήρως η αντίδραση. Η προσθήκη του διαλύματος CT-DNA στην κυψελίδα έγινε με πιπέτα ακριβείας (10-100μL). Η συγκέντρωση του συμπλόκου θεωρήθηκε πρακτικά σταθερή (20μM), ενώ όλα τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε θερμοκρασία 25°C.

2.1.4. Εύρεση της συγκέντρωσης του διαλύματος CT-DNA

Η συγκέντρωση των διαλυμάτων του CT-DNA ανά νουκλεοτίδιο βρέθηκε με τη βοήθεια της φασματοσκοπίας UV-Vis, από την απορρόφηση στα 260nm ($\epsilon_{260}=6600\text{M}^{-1}$

$^1\text{cm}^{-1}$) χρησιμοποιώντας το νόμο του Beer, $A=\epsilon bC$, όπου ϵ ο μοριακός συντελεστής ($6600\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ στα 260nm), b το πάχος της κυψελίδας που χρησιμοποιήθηκε ($b=1\text{cm}$), A η παρατηρούμενη απορρόφηση και C η συγκέντρωση του δείγματος.

Παρακάτω δίνεται το φάσμα UV-Vis του διαλύματος CT-DNA που χρησιμοποιήθηκε σε ρυθμιστικό διάλυμα 5mM φωσφορικών.



Σχήμα 2.1. Φάσμα υπεριώδους-ορατού για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του DNA ανά νουκλεοτίδιο (0.08 mgr σε 2-4-6 mL ρυθμιστικού διαλύματος αντίστοιχα).

2.1.5. Μεθοδολογία εύρεσης της σταθεράς δέσμευσης K_b σε M^{-1} του συμπλόκου με CT-DNA

Στα πειράματα εύρεσης της σταθεράς K_b του κάθε συμπλόκου με το CT-DNA, η συγκέντρωση του συμπλόκου παρέμεινε σταθερή (20 μM), ενώ η συγκέντρωση του CT-DNA στο διάλυμα κατά την τιτλοδότηση μεταβαλλόταν από 0 έως 25,5 μM . Για κάθε νέα συγκέντρωση DNA στην κυψελίδα κατά την τιτλοδότηση λήφθηκε φάσμα UV-Vis και μελετήθηκε η μεταβολή στις ταινίες απορρόφησης του συμπλόκου (π^* υποκαταστατών και της MLCT ($d_\pi(\text{Pt})\rightarrow\pi^*(\text{ligand})$)). Ο χρόνος επώασης (χρονικό διάστημα που απαιτείται για να ολοκληρωθεί η δέσμευση του συμπλόκου στο DNA) υπολογίστηκε στα 10 λεπτά. Από τις μεταβολές κυρίως στην MLCT ($d_\pi(\text{Pt})\rightarrow\pi^*(\text{ligand})$) ταινία του συμπλόκου έγινε ο υπολογισμός της σταθεράς σύνδεσης K_b , μετά από

κατάλληλη επεξεργασία. Πιο συγκεκριμένα για κάθε συγκέντρωση του DNA από κάθε φάσμα UV-Vis του συμπλόκου μετρήθηκε η απορρόφηση (A) της ταινίας MLCT ($d_{\pi}(\text{Pt}) \rightarrow \pi^*(\text{ligand})$) του συμπλόκου, η οποία βρισκόταν ανάλογα με το σύμπλοκο στην περιοχή 300 – 400 nm και δεν επηρεαζόταν από τις ταινίες απορρόφησης του DNA. Από τις τιμές των απορροφήσεων και με τη βοήθεια του νόμου του Beer ($A = \epsilon b C$), που ισχύει για την περιοχή συγκεντρώσεων που εξετάστηκε, έγινε εξαγωγή του μοριακού συντελεστή ϵ ($\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$) της ταινίας MLCT ($d_{\pi}(\text{Pt}) \rightarrow \pi^*(\text{ligand})$) για κάθε συγκέντρωση του DNA στην κυψελίδα. Κατά την εξαγωγή του μοριακού συντελεστή ϵ , ορίστηκε ως ϵ_f ο συντελεστής μοριακής απορρόφησης του ελεύθερου συμπλόκου, όπως υπολογίστηκε από το φάσμα UV-Vis του ελεύθερου συμπλόκου όπου δεν έχει προστεθεί ποσότητα DNA, ως ϵ_a ο παρατηρούμενος συντελεστής μοριακής απορρόφησης για κάθε συγκέντρωση DNA και ως ϵ_b ο συντελεστής μοριακής απορρόφησης του πλήρως δεσμευμένου συμπλόκου στο DNA. Όταν έπαυε να παρατηρείται περαιτέρω υπερχρωμία ή υποχρωμία στην MLCT ($d_{\pi}(\text{Pt}) \rightarrow \pi^*(\text{ligand})$) ταινία του συμπλόκου, τότε θεωρήθηκε ότι το σύμπλοκο έχει δεσμευτεί πλήρως στο DNA. Στη συνέχεια δημιουργήθηκε πίνακας δύο στηλών, όπου στην πρώτη στήλη καταγράφηκαν οι τιμές του μεγέθους $\Psi = (\epsilon_a - \epsilon_f) / (\epsilon_b - \epsilon_f)$ που παριστάνει το κλάσμα του δεσμευμένου συμπλόκου και στη δεύτερη καταγράφηκαν οι τιμές του μεγέθους $X = C$. Με βάση τα παραπάνω μεγέθη έγινε εξαγωγή της γραφικής παράστασης με άξονα $x'x$ την εκάστοτε συγκέντρωση του DNA και άξονα $y'y$ το αντίστοιχο μέγεθος $(\epsilon_a - \epsilon_f) / (\epsilon_b - \epsilon_f)$.

Τα σημεία της γραφικής παράστασης απεικονίστηκαν με τη βοήθεια του προγράμματος ORIGIN 8, ενώ η προσέγγιση της γραφικής παράστασης έγινε με χρήση της εξίσωσης των Bard και Thorp^{70,71}.

$$(\epsilon_a - \epsilon_f) / (\epsilon_b - \epsilon_f) = (b - \{b^2 - 2K_b C_t [\text{DNA}] / s\}^{1/2}) / 2K_b C_t$$

$$\text{όπου } b = 1 + K_b C_t + K_b [\text{DNA}] / 2s$$

Εξίσωση 2.1. Η σχέση των Bard και Thorp, που χρησιμοποιήθηκε για την εύρεση των σταθερών δέσμευσης K_b .

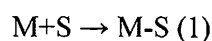
Όπου συμβολίζονται ως K_b η σταθερά δέσμευσης σε M^{-1} , ως $[DNA]$ η συγκέντρωση του DNA ανά νουκλεοτίδιο, ως C_t η συνολική συγκέντρωση του συμπλόκου και ως s ο αριθμός βάσεων του DNA που δεσμεύονται ανά κατιόν συμπλόκου.

Έτσι, με τη βοήθεια του προγράμματος για την καταλληλότερη καμπύλη υπολογίστηκαν οι αντίστοιχες τιμές του s και του K_b .

Η εξίσωση 2.1 χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό της σταθεράς δέσμευσης K_b του συμπλόκου με το DNA. Η σταθερά δέσμευσης K_b έδωσε χρήσιμα αποτελέσματα σχετικά με το βαθμό δέσμευσης του συμπλόκου στο DNA.

Εξαγωγή της εξίσωσης 2.1: Η εξίσωση 2.1 εφαρμόστηκε αρχικά από τους Bard και Thorp με στόχο την περιγραφή της σύνδεσης κάθε συμπλόκου στο DNA. Οι δύο παραπάνω ερευνητές κατέληξαν στην εξίσωση 2.1 σύμφωνα με τον παρακάτω συλλογισμό:

Έστω ότι σύμπλοκο (M) συνδέεται σε μια περιοχή (site) της διπλής έλικας του DNA (S) που αποτελείται από s ζευγάρια βάσεων. Αποτέλεσμα της παραπάνω αντίδρασης είναι η παραγωγή του συμπλόκου-DNA (M-S). Άρα θα ισχύει:



Η αντίδραση (1) περιγράφει τη σύνδεση του συμπλόκου στο DNA. Η σταθερά ισορροπίας για την παραπάνω αντίδραση δέσμευσης θα είναι:

$$K=C_b/C_f \cdot C_s \quad (2)$$

Όπου C_b : η συγκέντρωση ισορροπίας του δεσμευμένου συμπλόκου (bound), C_f : η συγκέντρωση ισορροπίας του μη δεσμευμένου συμπλόκου (free) και C_s : η συγκέντρωση ισορροπίας των ελεύθερων περιοχών σύνδεσης (free binding sites). Η C_t είναι η συνολική συγκέντρωση του συμπλόκου. Επιπρόσθετα ισχύει:

$$C_t = C_b+C_f \quad (3)$$

Δηλαδή η ολική συγκέντρωση το συμπλόκου είναι το άθροισμα των συγκεντρώσεων του δεσμευμένου και του ελεύθερου. Επιπρόσθετα η συνολική συγκέντρωση των περιοχών κατά μήκος ενός μορίου DNA με μέσο αριθμό ζευγών βάσεων L είναι:

$$\chi \cdot C_{DNA} = C_b+C_s \quad (4)$$

$$\text{όπου: } \chi = L/s \text{ (5)}$$

με s : τα ζεύγη βάσεων του DNA που δεσμεύονται ανά σύμπλοκο (στην συγκεκριμένη περιοχή σύνδεσης του DNA) και χ : ο μέσος αριθμός περιοχών σύνδεσης ανά μόριο DNA.

Έτσι με συνδυασμό των (1)-(5) προκύπτει η τελική εξίσωση:

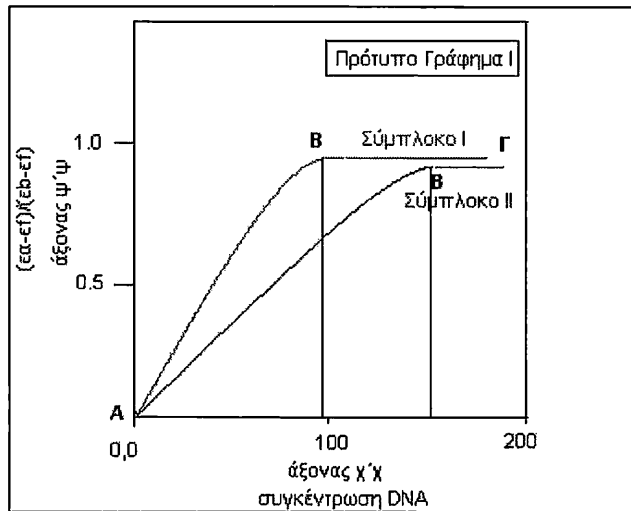
$$C_b = \{b - [b^2 - (2 \cdot K^2 \cdot C_t \cdot C_{DNA}/s)]^{1/2}\} / 2 \cdot K \text{ (6)}$$

$$\text{Με } b = 1 + K \cdot C_t + K \cdot C_{DNA} / 2 \cdot s \text{ (7)}$$

Οι εξισώσεις 6 και 7 ισχύουν με τη βασική προϋπόθεση ότι η σύνδεση κάθε κατιόντος συμπλόκου στο DNA είναι ανεξάρτητη και δεν επηρεάζεται από το προηγούμενο κατιόν που έχει συνδεθεί⁷¹.

2.1.6. Γραφικές παραστάσεις και καμπύλες εύρεσης της σταθεράς δέσμευσης K_b του συμπλόκου με το CT-DNA.

Αφού υπολογίστηκαν οι συγκεντρώσεις του DNA (άξονας χ'), καθώς και οι αντίστοιχες τιμές του μεγέθους $(\epsilon_a - \epsilon_f) / (\epsilon_b - \epsilon_f)$ (άξονας ψ'), κατασκευάστηκαν οι αντίστοιχες γραφικές παραστάσεις. Από όλες τις γραφικές παραστάσεις προέκυψε μία σιγμοειδής καμπύλη.



Σχήμα 2.2. Πρότυπες καμπύλες τιτλοδότησης συμπλόκου με DNA σύμφωνα με το μοντέλο των Bard και Thorp^{70,71}.

Όπως παρατηρείται από το παραπάνω σχήμα όλες οι σιγμοειδείς καμπύλες αποτελούνται από δύο τμήματα. Το τμήμα AB και το τμήμα ΒΓ. Για όλες τις συγκεντρώσεις του DNA του τμήματος AB η αντίδραση αλληλεπίδρασης του συμπλόκου με το DNA βρίσκεται σε εξέλιξη. Από την συγκέντρωση του DNA στην αφετηρία του τμήματος ΒΓ και έπειτα, το σύμπλοκο έχει δεσμευτεί πλήρως στο DNA, επομένως η περαιτέρω προσθήκη DNA δεν συνεπάγεται αλλαγή στις τιμές του άξονα $\psi' \psi$, αφού το ϵ της ταινίας του συμπλόκου πλέον παραμένει σταθερό. Με τη χάραξη κατακόρυφης ευθείας από το σημείο Β στον άξονα $\chi' \chi$ υπολογίζεται η συγκέντρωση του DNA στην οποία παρατηρείται πλήρης δέσμευση του συμπλόκου στο DNA. Δηλαδή, με τη βοήθεια γραφημάτων όπως το παραπάνω παρατηρείται η εξέλιξη της τιτλοδότησης κάθε συμπλόκου με το DNA και εξάγονται χρήσιμα συμπεράσματα. Όλες οι καμπύλες αυτής της μορφής περιγράφονται από τη σχέση των Bard και Thorp (εξίσωση 2.1).

Οι τιμές Ψ της παραπάνω εξίσωσης κυμαίνονται από 0 (όταν η συγκέντρωση του DNA στο σύμπλοκο είναι μηδενική) έως 1 (όταν το σύμπλοκο έχει δεσμευτεί πλήρως στο DNA), δηλαδή $0 < \Psi < 1$.

Σε τιτλοδότηση κάθε συμπλόκου με το DNA οι καμπύλες έχουν την ίδια περίπου μορφή. Το παραπάνω μοντέλο ισχύει για τα πειράματα στα οποία παρατηρείται υπερχρωμία (αύξηση του ϵ της υπό μελέτη ταινίας του συμπλόκου κατά την

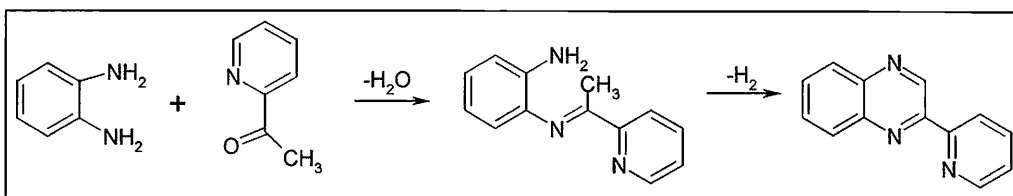
τιλοδότηση), όπως επίσης και για τα πειράματα στα οποία παρατηρείται υποχρωμία (μείωση του ε της ταινίας του συμπλόκου), με αποτέλεσμα οι μετρήσεις να φτάνουν έως ένα μέγιστο ή ελάχιστο αντίστοιχα.

2.2. Σύνθεση υποκαταστατών και συμπλόκων

2.2.1. Σύνθεση υποκαταστατών

2.2.1.1. Σύνθεση της 2-(2'-πυριδυλ) κινοξαλίνης (pqx)⁷²

Πειραματική πορεία: 2,16g (20mmol) φαινυλενοδιαμίνης διαλύθηκαν σε σφαιρική φιάλη (των 150mL), σε μίγμα που περιείχε 30mL ισοπροπανόλης και 0,4mL μυρμηγκικού χλωρο-μεθυλεστέρα σε θερμοκρασία 50°C. Στο προκύπτον διάλυμα προστέθηκαν 4,5mL 2-πυριδυλ-κετόνης και ακολούθησε θέρμανση με κάθετο ψυκτήρα (reflux) στους 70°C για 24h και στη συνέχεια ψύξη του διαλύματος για 12h σε θερμοκρασία 4°C. Μετά το πέρας της διαδικασίας παρατηρήθηκε σχηματισμός στερεού ιζήματος. Το στερεό λήφθηκε με διήθηση υπό κενό σε συσκευή Buchner, ενώ στη συνέχεια έγινε έκπλυση με κρύα ισοπροπανόλη και πετρελαϊκό αιθέρα. Το τελικό προϊόν λήφθηκε με ανακρυστάλλωση. Απόδοση: 85%.

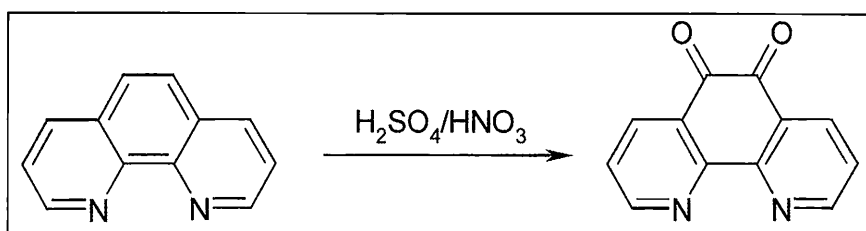


Σχήμα 2.3. Αντίδραση σύνθεσης του υποκαταστάτη 2-(2'-πυριδυλ) κινοξαλίνης.

2.2.1.2. Σύνθεση της 1,10-φαινανθρολίνη-5,6-διόνης (phen-dione)⁷³

Πειραματική πορεία: Μίγμα 1,10-φαινανθρολίνης (1,83g, 10,2mmol) και KBr (12,43g, 104,4mmol) προστέθηκε σε 41mL πυκνού διαλύματος H₂SO₄ (98%), το οποίο είχε προηγουμένως ψυχθεί σε λουτρό υγρού αζώτου. Το μίγμα αφέθηκε να προσεγγίσει σταδιακά τη θερμοκρασία δωματίου (25°C), με αποτέλεσμα να σχηματιστεί πορτοκαλί

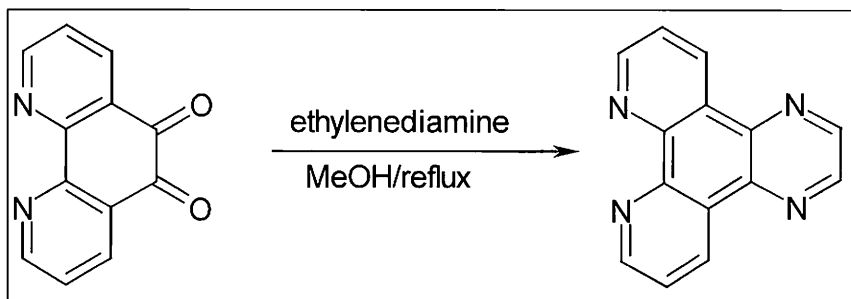
πάστα. Στη συνέχεια 22,5mL πυκνού νιτρικού οξέος προστέθηκαν στάγδην στο μίγμα σε θερμοκρασία δωματίου. Το προκύπτον διάλυμα θερμάνθηκε στους 90°C με κάθετο ψυκτήρα (reflux) και παράλληλη ανάδευση για περίπου 3h, ενώ στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε έγχυση του διαλύματος σε 500mL H₂O. Το διάλυμα εξουδετερώθηκε με προσθήκη πυκνού διαλύματος NaOH και ακολούθησε εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο (CHCl₂). Στο διάλυμα κίτρινου χρώματος που λήφθηκε από την εκχύλιση προστέθηκε μικρή ποσότητα MgSO₄ για την απομάκρυνση της υγρασίας και στη συνέχεια έγινε απομάκρυνση του διαλύτη (CHCl₂) σε περιστροφικό εξατμιστήρα (flash) υπό κενό στους 25°C. Το τελικό προϊόν (κίτρινο στερεό) λήφθηκε με ανακρυστάλλωση σε μίγμα MeOH – EtOH. Απόδοση 47%.



Σχήμα 2.4. Αντίδραση σύνθεσης του υποκαταστάτη 1,10-φαινανθρολίνη-5,6-διόνης.

2.2.1.3. Σύνθεση της διπύριδο[3,2-d:2',3'-f]κινόξαλίνης (dpq)⁷⁴

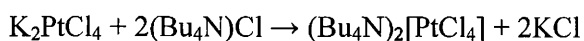
Πειραματική πορεία: Μίγμα 1,10-φαινανθρολίνη-5,6-διόνης (450mg, 2,16mmol) και αιθυλενοδιαμίνης (2,2mL) προστέθηκε σε EtOH (200mL). Ακολούθησε θέρμανση με κάθετο ψυκτήρα (reflux) στους 40°C με ισχυρή ανάδευση για 2h και στη συνέχεια ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 12h. Το προκύπτον διάλυμα εξατμίστηκε υπό κενό σε περιστροφικό συμπυκνωτήρα στους 50°C με αποτέλεσμα να σχηματιστεί κρεμάδες στερεό. Το στερεό αφέθηκε σε θερμοκρασία δωματίου για 6h, ενώ στη συνέχεια προστέθηκε σε αυτό μίγμα MeOH/H₂O (10/90 V/V) και πραγματοποιήθηκε διήθηση υπό κενό σε συσκευή Buehner. Το τελικό προϊόν (λευκό στερεό) λήφθηκε με ανακρυστάλλωση σε MeOH. Απόδοση 79%.



Σχήμα 2.5. Αντίδραση σύνθεσης του υποκαταστάτη διπύριδο[3,2-d:2',3'-f]κινόξαλίνη.

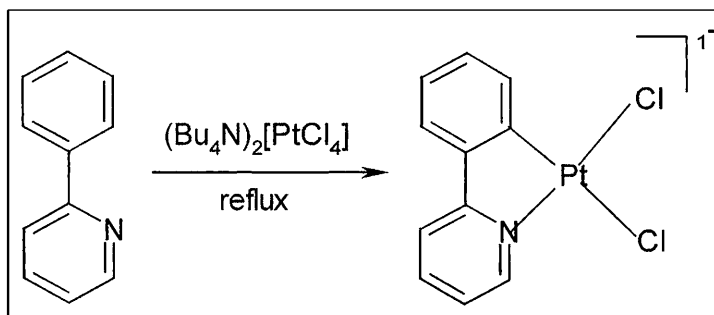
2.2.2. Σύνθεση του $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Pt}(\text{ppy})\text{Cl}_2]$ ⁷⁵

Πειραματική πορεία: 2gr (4,75mmol) K_2PtCl_4 διαλύθηκαν σε 90mL H_2O και προστέθηκαν σε 1,29gr (4,36mmol) Bu_4NCl διαλυμένο σε 90 mL διχλωρομεθάνιο (CH_2Cl_2). Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε ανάδευση του διαλύματος για 1/2h, με αποτέλεσμα το σχηματισμό δύο φάσεων στο διάλυμα. Η αντίδραση που πραγματοποιήθηκε είχε ως εξής:



Η οργανική φάση (κάτω), η οποία περιείχε το $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{PtCl}_4]$ λήφθηκε με πιπέτα παστέρ, στη συνέχεια διηθήθηκε σε τριπλό ηθμό για τη συγκράτηση τυχόν υγρασίας και ξηράνθηκε σε άνυδρο Na_2SO_4 . Στο προκύπτον διάλυμα προστέθηκαν 2,75mL 2-φαινυλ-πυριδίνης (ppy) διαλυμένης σε 90mL MeOH και ακολούθησε θέρμανση με κάθετο ψυκτήρα (reflux) στους 50°C και ταυτόχρονη ισχυρή ανάδευση για 24h, με αποτέλεσμα να σχηματιστεί σκούρο πράσινο ίζημα. Το προκύπτον διάλυμα απομακρύνθηκε από τη θέρμανση και εξατμίστηκε υπό κενό σε περιστροφικό συμπυκνωτήρα στους 50 C έτσι ώστε να σχηματιστεί παχύρρευστο υγρό. Το υγρό αφέθηκε να προσεγγίσει τη θερμοκρασία δωματίου (25°C) και στη συνέχεια προστέθηκε σε αυτό ποσότητα

διαιθυλαιθέρα με αποτέλεσμα το σχηματισμό κρυστάλλων κιτρινοπράσινου χρώματος. Ακολούθησε διήθηση και έκπλυση των κρυστάλλων με διαιθυλαιθέρα. Απόδοση 63%.

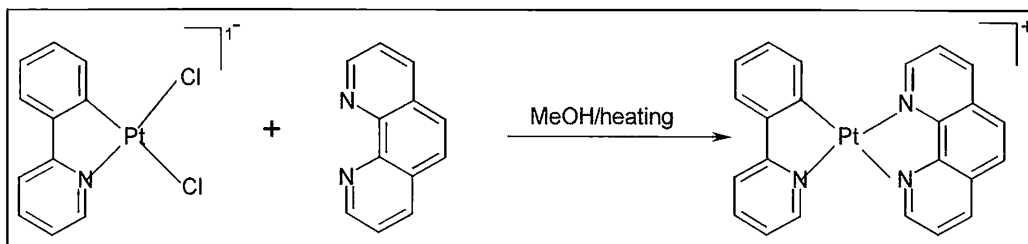


Σχήμα 2.6. Αντίδραση σύνθεσης του $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Pt}(\text{ppy})\text{Cl}_2]$.

2.2.3. Σύνθεση συμπλόκων

2.2.3.1. Σύνθεση του συμπλόκου $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{phen})]\text{Cl}^{56}$ χωρίς τη χρήση διαλυτών.

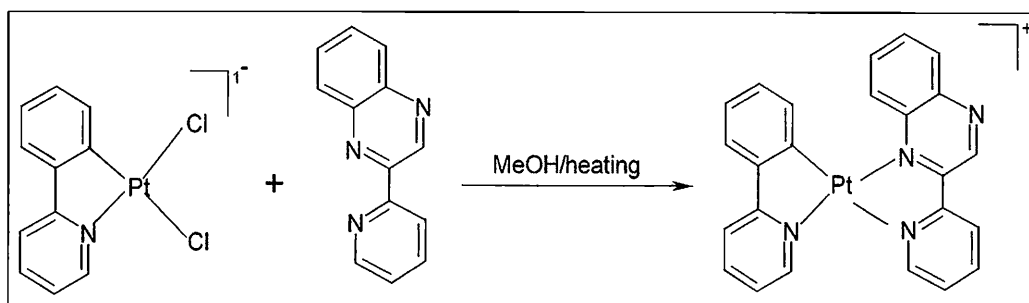
Πειραματική πορεία: 80mg (0,18mmol) του $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Pt}(\text{ppy})\text{Cl}_2]$ προστέθηκαν σε περίσσεια 1,10-φαινανθρολίνης και ακολούθησε θέρμανση του στερεού μίγματος στους 130°C (θερμοκρασία τήξεως της 1,10-φαινανθρολίνης) με ταυτόχρονη ισχυρή ανάδευση. Το τήγμα που προέκυψε απέκτησε κόκκινο χρώμα από τα πρώτα λεπτά, ενώ η ανάδευσή του συνεχίστηκε για 2h. Με το πέρας των 2h το κόκκινο τήγμα απομακρύνθηκε από τη θέρμανση και αφέθηκε να προσεγγίσει τη θερμοκρασία δωματίου, ενώ στη συνέχεια προστέθηκε σε αυτό ποσότητα μεθανόλης και πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρηση. Στο διάλυμα κίτρινου χρώματος που προέκυψε προστέθηκε ποσότητα διαιθυλαιθέρα, με αποτέλεσμα τη σταδιακή καταβύθιση ιζήματος κόκκινου χρώματος. Το τελικό προϊόν (κόκκινο στερεό λεπτού διαμερισμού) λήφθηκε με διήθηση σε πτυχωτό ηθμό. Απόδοση 23%. Στοιχειακή ανάλυση για $\text{C}_{23}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{PtCl}$: Θεωρητικά C:48,93%, H:2,84%, N:7,45%. Βρέθηκε C:48,54%, H:2,86%, N:7,12%.



Σχήμα 2.7. Αντίδραση σύνθεσης του συμπλόκου [Pt(ppy)(phen)]Cl.

2.2.3.2. Σύνθεση του συμπλόκου [Pt(ppy)(pqx)]Cl χωρίς τη χρήση διαλυτών.

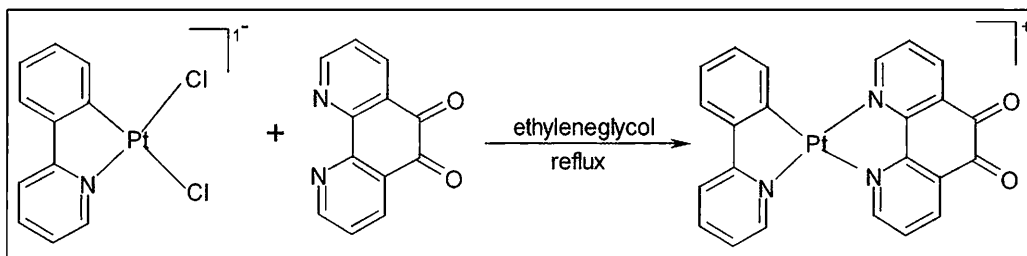
Πειραματική πορεία: 100mg (0,23mmol) (Bu₄N)[Pt(ppy)Cl₂] προστέθηκαν σε περίσσεια 2-(2'- πύριδyl-κινόξαλίνης) και ακολούθησε θέρμανση του μίγματος στους 140 C με παράλληλη ισχυρή ανάδευση, με αποτέλεσμα το σχηματισμό τήγματος κιτρινοπράσινου χρώματος. Η ανάδευση του τήγματος συνεχίστηκε για 2h, ενώ στη συνέχεια απομακρύνθηκε από τη θέρμανση και αφήθηκε να κρυώσει σε θερμοκρασία δωματίου. Κατόπιν προστέθηκε σε αυτό ποσότητα μεθανόλης και το προκύπτον διάλυμα διηθήθηκε σε πτυχωτό ηθμό. Στη συνέχεια έγινε έκπλυση του ιζήματος με διαιθυλαιθέρα και αφήθηκε να ξηραθεί σε θερμοκρασία δωματίου, με αποτέλεσμα να ληφθεί το τελικό προϊόν (σκόνη κίτρινου χρώματος). Απόδοση 75%. Στοιχειακή ανάλυση για C₂₄H₁₇N₄PtCl: Θεωρητικά C:48,73%, H:2,88%, N:9,48%. Βρέθηκε C:48,65%, H:2,86%, N:9,15%.



Σχήμα 2.8. Αντίδραση σύνθεσης του συμπλόκου [Pt(ppy)(pqx)]Cl.

2.2.3.3. Σύνθεση του συμπλόκου [Pt(ppy)(phen-dione)]Cl.

Πειραματική πορεία: 50mg (0,12mmol) (Bu₄N)[Pt(ppy)Cl₂] και 75mg (0,36mmol) 1,10-φαινανθρολίνη-5,6-διόνης (αναλογία 1:3) προστέθηκαν σε 6mL αιθυλενογλυκόλης και το διάλυμα θερμάνθηκε στους 120 C με κάθετο ψυκτήρα (reflux) και παράλληλη ανάδευση για 24h. Από τα πρώτα λεπτά της θέρμανσης το χρώμα του διαλύματος μεταβλήθηκε από κίτρινο σε σκούρο καφέ. Μετά το πέρας των 24h το διάλυμα απομακρύνθηκε από τη θέρμανση και προστέθηκε σε αυτό μίγμα ακετόνης – διαιθυλαιθέρα, με αποτέλεσμα να σχηματιστεί καφέ ίζημα λεπτού διαμερισμού. Πραγματοποιήθηκε διήθηση του διαλύματος σε πτυχωτό ηθμό, έκπλυση του ιζήματος με διαιθυλαιθέρα και στη συνέχεια ξήρανση σε θερμοκρασία δωματίου και ανακρυστάλλωση σε μίγμα ακετόνης-μεθανόλης, με αποτέλεσμα τη λήψη του τελικού προϊόντος (καφέ στερεό). Απόδοση: 60%. Στοιχειακή ανάλυση για C₂₃H₁₄N₃PtCl: Θεωρητικά C:46,46%, H:2,36%, N:7,07%. Βρέθηκε C:46,67%, H:2,38%, N:6,93%.

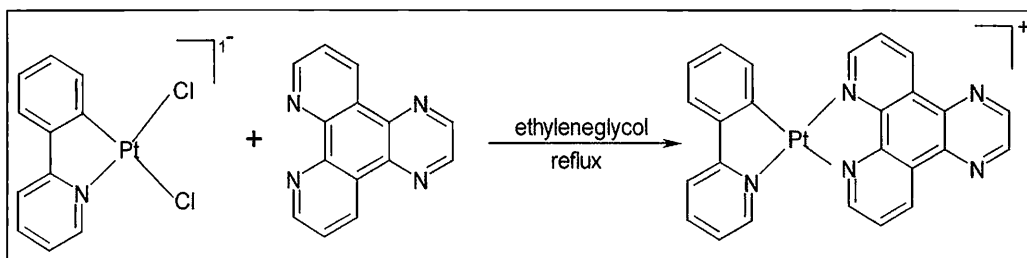


Σχήμα 2.9. Αντίδραση σύνθεσης του συμπλόκου [Pt(ppy)(phen-dione)]Cl.

2.2.3.4. Σύνθεση του συμπλόκου [Pt(ppy)(dpq)]Cl.

Πειραματική πορεία: 80mg (0,18mmol) του (Bu₄N)[Pt(ppy)Cl₂] και 132mg (0,54mmol) dpq (αναλογία 1:3) προστέθηκαν σε 6mL αιθυλενογλυκόλης και το διάλυμα θερμάνθηκε στους 120°C με κάθετο ψυκτήρα (reflux) και παράλληλη ανάδευση για 24h. Μετά το πέρας των 24h το διάλυμα, του οποίου το χρώμα μεταβλήθηκε από κίτρινο σε πορτοκαλί, απομακρύνθηκε από τη θέρμανση και προστέθηκε σε αυτό μίγμα ακετόνης – διαιθυλαιθέρα, με αποτέλεσμα να σχηματιστεί πορτοκαλί ίζημα λεπτού διαμερισμού. Πραγματοποιήθηκε διήθηση του διαλύματος σε συσκευή Buchner και έκπλυση του ιζήματος με διαιθυλαιθέρα. Το τελικό προϊόν (πορτοκαλί στερεό) λήφθηκε μετά από ξήρανση του ιζήματος σε θερμοκρασία δωματίου. Απόδοση 67%. Στοιχειακή ανάλυση

για $C_{25}H_{16}N_5PtCl$: Θεωρητικά C:48,70%, H:2,59%, N:11,36%. Βρέθηκε C:48,87%, H:2,65%, N:11,24%.



Σχήμα 2.10. Αντίδραση σύνθεσης του συμπλόκου $[Pt(ppy)(dprq)]Cl$.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

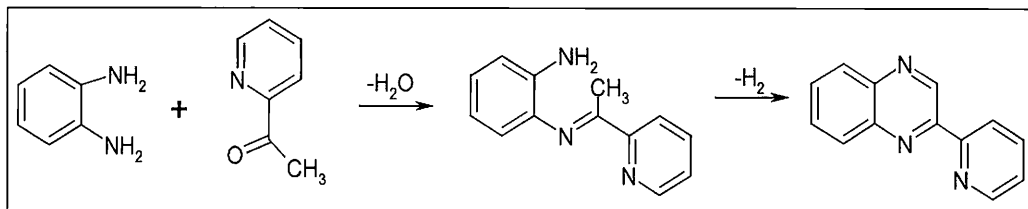
*Χαρακτηρισμός ορθομεταλλικών συμπλόκων
του λευκοχρύσου με πολυπυριδινικούς
υποκαταστάτες και μελέτη της
αλληλεπίδρασής τους με CT-DNA.*

3.1. Σύνθεση

3.1.1. Σύνθεση υποκαταστατών

3.1.1.1. Σύνθεση της 2-(2'-πυριδυλ) κινόξαλίνης (pqx)

Ο υποκαταστάτης 2-(2'-πυριδυλ) κινόξαλίνη (pqx) συντέθηκε στο εργαστήριο σύμφωνα με τη μέθοδο της βιβλιογραφίας⁷². Η διαδικασία της σύνθεσης περιλάμβανε δύο στάδια. Κατά το πρώτο στάδιο πραγματοποιήθηκε αντίδραση συμπύκνωσης μεταξύ της μίας αμινομάδας της φαινυλενοδιαμίνης και του καρβονυλίου της πύριδυλ-κετόνης, ενώ κατά το δεύτερο στάδιο πραγματοποιήθηκε αντίδραση κυκλοποίησης με ταυτόχρονη δημιουργία διπλού δεσμού N=C, με αποτέλεσμα να σχηματιστεί το τελικό μόριο του υποκαταστάτη.



Σχήμα 3.1. Αντίδραση σύνθεσης του υποκαταστάτη 2-(2'-πυριδυλ) κινόξαλίνη.

3.1.1.2. Σύνθεση της 1,10-φαινανθρολίνη-5,6-διόνης (phen-dione)

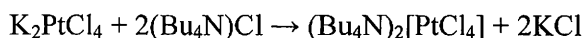
Ο υποκαταστάτης 1,10-φαινανθρολίνη-5,6-διόνη (phen-dione) συντέθηκε στο εργαστήριο σύμφωνα με τη μέθοδο της βιβλιογραφίας⁷³. Η διαδικασία της σύνθεσης περιλάμβανε τρία στάδια. Αρχικά πραγματοποιήθηκε προσθήκη νιτροομάδας (-NO₃) σε θέση-5 του μορίου της 1,10-φαινανθρολίνης, στη συνέχεια ακολούθησε αναγωγή της νιτροομάδας, ενώ το τελικό προϊόν λήφθηκε με οξείδωση.

3.1.1.3. Σύνθεση της διπύριδο[3,2-d:2',3'-f]κινόξαλίνης (dprq)

Ο υποκαταστάτης διπύριδο[3,2-d:2',3'-f]κινόξαλίνη (dprq) συντέθηκε στο εργαστήριο σύμφωνα με τη μέθοδο της βιβλιογραφίας⁷⁴. Αναλυτικότερα, πραγματοποιήθηκε οξειδωση της 1,10-φαινανθρολίνης σε 1,10-φαινανθρολίνη-5,6-διόνη σύμφωνα με τη διαδικασία που περιγράφεται στην παραπάνω παράγραφο, ενώ σε δεύτερο στάδιο πραγματοποιήθηκε αντίδραση συμπύκνωσης μεταξύ της 1,10-φαινανθρολίνη-5,6-διόνης και της αιθυλενοδιαμίνης, με αποτέλεσμα να ληφθεί το τελικό προϊόν.

3.1.2. Σύνθεση του (Bu₄N)[Pt(ppy)Cl₂]

Το (Bu₄N)[Pt(ppy)Cl₂] συντέθηκε στο εργαστήριο σύμφωνα με τη μέθοδο της βιβλιογραφίας⁷⁵. Κατά το πρώτο στάδιο της διαδικασίας σύνθεσης, πραγματοποιήθηκε αντίδραση απλής αντικατάστασης μεταξύ της ένωσης K₂PtCl₄ και ποσότητας χλωριδίου του τετραβουτυλοαμμωνίου, η οποία είχε ως εξής:



Με τον τρόπο αυτό λήφθηκε στην οργανική φάση σε διχλωρομεθάνιο το άλας του λευκοχρύσου. Κατά το δεύτερο στάδιο, πραγματοποιήθηκε αντίδραση του (Bu₄N)₂[PtCl₄] με φαινυλ-πυριδίνη, με αποτέλεσμα την καταβύθιση του τελικού προϊόντος με τη μορφή άλατος (Bu₄N)[Pt(ppy)Cl₂]. Η αντίδραση αυτή είναι ένα κλασικό παράδειγμα σύνθεσης ορθομεταλλικών συμπλόκων του Pt.

3.1.3. Σύνθεση συμπλόκων

3.1.3.1. Σύνθεση του συμπλόκου [Pt(ppy)(phen)]Cl χωρίς τη χρήση διαλυτών

Το σύμπλοκο [Pt(ppy)(phen)]Cl συντέθηκε στο εργαστήριο σύμφωνα με τη μέθοδο της βιβλιογραφίας⁵⁶. Η διαδικασία της σύνθεσης πραγματοποιήθηκε σε ένα στάδιο, κατά το οποίο περίσσεια του υποκαταστάτη 1,10-φαινανθρολίνης και (Bu₄N)[Pt(ppy)Cl₂] αντέδρασαν υπό τη μορφή τήγματος, χωρίς τη χρήση διαλυτών,

δίνοντας το τελικό προϊόν, το οποίο λήφθηκε με κατάλληλες εκχυλίσσεις όπως περιγράφεται στο πειραματικό μέρος.

3.1.3.2. Σύνθεση του συμπλόκου [Pt(ppy)(pqx)]Cl χωρίς τη χρήση διαλυτών

Το σύμπλοκο [Pt(ppy)(pqx)]Cl συντέθηκε στο εργαστήριο, σύμφωνα με τη διαδικασία που ακολουθήθηκε για τη σύνθεση του συμπλόκου [Pt(ppy)(phen)]Cl. Πιο αναλυτικά, περίσσεια του υποκαταστάτη 2-(2'-πυριδυλ)κινόξαλίνη και (Bu₄N)[Pt(ppy)Cl₂] αντέδρασαν υπό μορφή τήγματος σε υψηλή θερμοκρασία, χωρίς την παρουσία διαλυτών, δίνοντας το τελικό προϊόν το οποίο λήφθηκε με κατάλληλες εκχυλίσσεις.

3.1.3.3. Σύνθεση του συμπλόκου [Pt(ppy)(phen-dione)]Cl

Η απόπειρα σύνθεσης του συμπλόκου [Pt(ppy)(phen-dione)]Cl σύμφωνα με τη διαδικασία που ακολουθήθηκε για τη σύνθεση των δύο προηγούμενων συμπλόκων δεν ήταν δυνατή, καθώς ο υποκαταστάτης 1,10-φαινανθρολίνη-5,6-διόνη παρουσίασε πολύ υψηλό σημείο τήξης (268 C) με συνέπεια την αποσύνθεση του συμπλόκου (Bu₄N)[Pt(ppy)Cl₂]. Έτσι η σύνθεση του τελικού συμπλόκου πραγματοποιήθηκε με διαδικασία αντίδρασης ενός σταδίου, κατά την οποία ισομοριακές ποσότητες του υποκαταστάτη 1,10-φαινανθρολίνη-5,6-διόνης και (Bu₄N)[Pt(ppy)Cl₂], διαλύθηκαν σε αιθυλενογλυκόλη και με την εφαρμογή θέρμανσης επί αρκετό χρόνο αντέδρασαν παρέχοντας το τελικό προϊόν ως ίζημα με τη μορφή χλωριούχου άλατος [Pt(ppy)(phen-dione)]Cl.

3.1.3.4. Σύνθεση του συμπλόκου [Pt(ppy)(dpq)]Cl

Το σύμπλοκο [Pt(ppy)(dpq)]Cl συντέθηκε στο εργαστήριο, σύμφωνα με τη μέθοδο σύνθεσης του συμπλόκου [Pt(ppy)(phen-dione)]Cl. Η διαδικασία σύνθεσης χωρίς διαλύτες, η οποία χρησιμοποιήθηκε στις παραγράφους 3.1.3.1. και 3.1.3.2 ήταν αδύνατο να εφαρμοστεί, καθώς ο υποκαταστάτης διπύριδο[3,2-d:2',3'-f]κινόξαλίνη παρουσίασε

υψηλό σημείο τήξης (331°C). Έτσι, η σύνθεση του συμπλόκου πραγματοποιήθηκε σε ένα στάδιο με χρήση αιθυλενογλυκόλης ως διαλύτη. Το τελικό προϊόν καταβυθίστηκε με τη μορφή χλωριούχου άλατος [Pt(ppy)(dpq)]Cl.

3.2. Φασματοσκοπικός χαρακτηρισμός

Ο φασματοσκοπικός χαρακτηρισμός των συμπλόκων που συντέθηκαν έγινε με φασματοσκοπία υπερύθρου (IR), φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητισμού πρωτονίου (^1H NMR, ^{13}C NMR, 2D-COSY, 2D-TOCSY), φασματοσκοπία UV-vis και φασματομετρία μάζας με ιονισμό Electrospray Ionization (ESI) και Atmospheric Pressure Chemical Ionization (APCI). Αν και οι υποκαταστάτες έχουν χαρακτηριστεί στο σύνολο τους στην βιβλιογραφία, εν τούτοις για λόγους σύγκρισης έγινε ταυτοποίηση και εκ νέου χαρακτηρισμός τους σε συγκεντρώσεις και διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για τον χαρακτηρισμό των συμπλόκων.

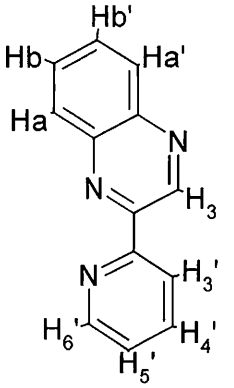
3.2.1. Φασματοσκοπικός χαρακτηρισμός υποκαταστατών

3.2.1.1. Φασματοσκοπικός χαρακτηρισμός της 2-(2'-πυριδυλ)κινόξαλίνης (pqx).

Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR.

Ο υποκαταστάτης 2-(2'-πυριδυλ)κινόξαλίνη χαρακτηρίστηκε με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού ^1H -NMR. Στον παρακάτω Πίνακα παρουσιάζονται οι χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα ^1H -NMR του υποκαταστάτη.

Πίνακας 3.1. Χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του υποκαταστάτη 2-(2'-πυριδυλ)κινόξαλίνη.

2-(2'-πυριδυλ) κινόξαλίνη	H ₃ '	H ₄ '	H ₅ '	H ₆ '	H ₃	H _{a,a'}	H _{b,b'}
	8,6(d)	8,11(t)	7,64(t)	8,86(d)	9,93(s)	8,22(t)	7,95(t)

Σύμφωνα με τον παραπάνω πίνακα στο φάσμα παρατηρούνται επτά σήματα συντονισμού, ενώ στο μόριο του υποκαταστάτη υπάρχουν εννιά πρωτόνια. Αυτό συμβαίνει καθώς τα πρωτόνια H_a-H_{a'} και H_b-H_{b'} είναι χημικώς ισοδύναμα, με αποτέλεσμα να δίνει το κάθε ζεύγος ένα σήμα συντονισμού. Το πρωτόνιο H₃, καθώς βρίσκεται κοντά σε άτομο N και μακριά από τα υπόλοιπα πρωτόνια αποπροστατεύεται περισσότερο με αποτέλεσμα να δίνει σήμα συντονισμού στα 9,93ppm.

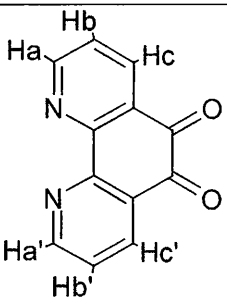
3.2.1.2. Φασματοσκοπικός χαρακτηρισμός της 1,10-φαινανθρολίνη-5,6-διόνης (phen-dione).

Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR.

Ο υποκαταστάτης 1,10-φαινανθρολίνη-5,6-διόνη χαρακτηρίστηκε με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού $^1\text{H-NMR}$. Στον παρακάτω Πίνακα

παρουσιάζονται οι χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του υποκαταστάτη.

Πίνακας 3.2. Χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του υποκαταστάτη 1,10-φαινανθρολίνη-5,6-διόνη.

1,10-φαινανθρολίνη- 5,6-διόνη	$\text{H}_{\text{a},\text{a}'}$	$\text{H}_{\text{b},\text{b}'}$	$\text{H}_{\text{c},\text{c}'}$
	9,02(d)	7,69(t)	8,43(d)

Στον παραπάνω πίνακα εμφανίζονται τρία σήματα συντονισμού, που αντιστοιχούν στα συνολικά έξι πρωτόνια του μορίου του υποκαταστάτη. Εφόσον το μόριο είναι συμμετρικό, υπάρχουν σε αυτό τρία ζεύγη χημικώς ισοδύναμων πρωτονίων ($\text{H}_{\text{a}}-\text{H}_{\text{a}'}$, $\text{H}_{\text{b}}-\text{H}_{\text{b}'}$, $\text{H}_{\text{c}}-\text{H}_{\text{c}'}$) τα οποία δίνουν τρία διαφορετικά σήματα συντονισμού. Το ζεύγος $\text{H}_{\text{a}}-\text{H}_{\text{a}'}$ βρίσκεται κοντά σε άτομα N, με συνέπεια να αποπροστατεύεται περισσότερο από τα υπόλοιπα και να δίνει σήμα συντονισμού στα 9,02ppm.

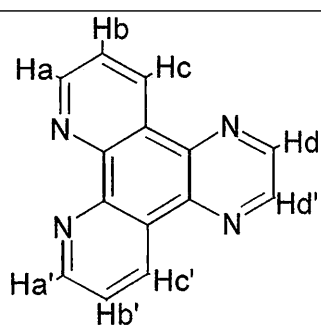
3.2.1.3 Φασματοσκοπικός χαρακτηρισμός της διπύριδο[3,2-d:2',3'-f]κινόξαλίνης (dprq).

Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR.

Ο υποκαταστάτης διπύριδο[3,2-d:2',3'-f]κινόξαλίνη χαρακτηρίστηκε με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού $^1\text{H-NMR}$. Στον παρακάτω Πίνακα

παρουσιάζονται οι χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του υποκαταστάτη.

Πίνακας 3.3. Χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του υποκαταστάτη διπύριδο[3,2-d:2',3'-f]κιννοξαλίνη.

διπύριδο[3,2-d:2',3'-f]κιννοξαλίνη	$\text{H}_{a,a'}$	$\text{H}_{b,b'}$	$\text{H}_{c,c'}$	$\text{H}_{d,d'}$
	9,28(d)	8,01(t)	9,51(d)	9,23(s)

Σύμφωνα με τον παραπάνω πίνακα παρατηρούνται τέσσερα σήματα συντονισμού για τα οκτώ συνολικά πρωτόνια του υποκαταστάτη. Αφού το μόριο είναι συμμετρικό, υπάρχουν τέσσερα ζεύγη ($\text{H}_a\text{-H}_{a'}$, $\text{H}_b\text{-H}_{b'}$, $\text{H}_c\text{-H}_{c'}$, $\text{H}_d\text{-H}_{d'}$) χημικώς ισοδύναμων πρωτονίων, τα οποία δίνουν τέσσερα σήματα συντονισμού.

3.2.2. Φασματοσκοπικός χαρακτηρισμός του $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Pt}(\text{ppy})\text{Cl}_2]$.

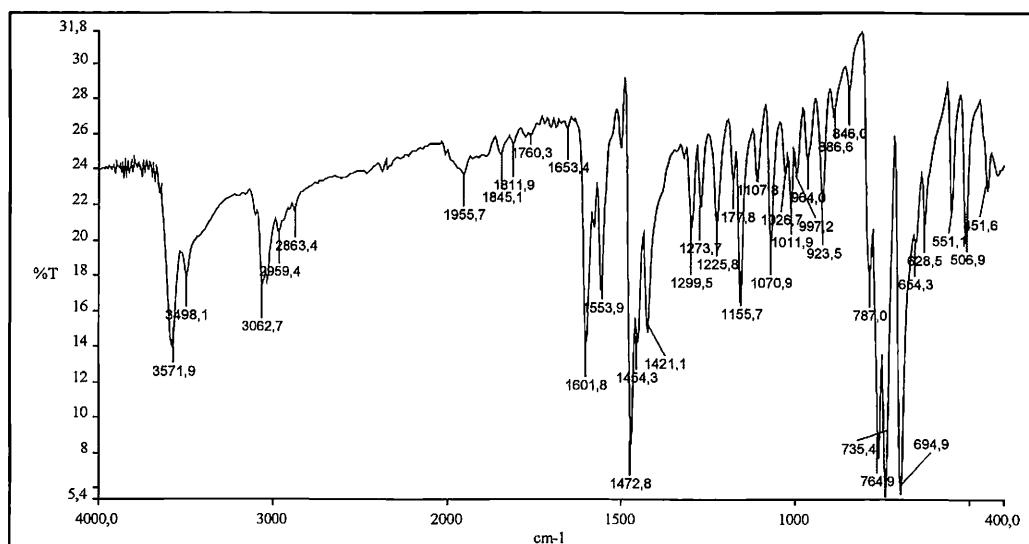
α) Φασματοσκοπία υπερύθρου.

Το $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Pt}(\text{ppy})\text{Cl}_2]$ χαρακτηρίστηκε με φασματοσκοπία υπερύθρου. Στο φάσμα που προέκυψε εντοπίστηκαν οι εξής ταινίες απορρόφησης:

1. στα 765 και 695 cm^{-1} , οι οποίες οφείλονται σε δονήσεις κάμψης των δεσμών C-H του φαινυλικού δακτυλίου,
2. στα 1472 cm^{-1} , η οποία οφείλεται σε δονήσεις τάσης του δεσμού C=N του πυριδυλικού δακτυλίου,

3. στα 1602cm^{-1} , η οποία οφείλεται σε δονήσεις τάσης των δεσμών C=C των αρωματικών δακτυλίων,
4. στα 3062cm^{-1} , η οποία οφείλεται σε δονήσεις τάσης των δεσμών C-H των αρωματικών δακτυλίων.

Παρακάτω δίδεται το φάσμα υπερώθρου του $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Pt}(\text{ppy})\text{Cl}_2]$:

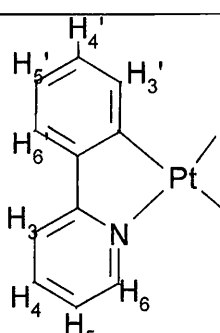


Σχήμα 3.2. Φάσμα υπερώθρου του $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Pt}(\text{ppy})\text{Cl}_2]$.

β) Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR.

Το $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Pt}(\text{ppy})\text{Cl}_2]$ χαρακτηρίστηκε με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού $^1\text{H-NMR}$. Στον παρακάτω Πίνακα παρουσιάζονται οι χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Pt}(\text{ppy})\text{Cl}_2]$.

Πίνακας 3.4. Χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Pt}(\text{ppy})\text{Cl}_2]$.

$[\text{Pt}(\text{ppy})]^+$	H_3	H_4	H_5	H_6	$\text{H}_{3'}$	$\text{H}_{4'}$	$\text{H}_{5'}$	$\text{H}_{6'}$
	7,38(d)	7,6(t)	6,96(t)	7,75(d)	7,83(d)	7,54(t)	7,54(t)	7,81(d)

Στον παραπάνω πίνακα παρατηρούνται οκτώ σήματα συντονισμού, καθώς όλα τα πρωτόνια του μονομερούς είναι μη χημικώς ισοδύναμα μεταξύ τους. Το πρωτόνιο $\text{H}_{3'}$ αποπροστατεύεται περισσότερο από τα υπόλοιπα, καθώς βρίσκεται πλησίον του ατόμου Pt, με αποτέλεσμα να δίνει σήμα συντονισμού στα 7,83ppm. Σημαντικό είναι το γεγονός ότι δεν υπάρχει ταινία συντονισμού που να μπορεί να αποδοθεί στο $\text{H}_{2'}$ του φαινυλικού δακτυλίου, επιβεβαιώνοντας τη δημιουργία δεσμού Pt-C₂ με ταυτόχρονη αποπρωτονίωση αυτής της θέσης. Ακόμη, στο φάσμα $^{13}\text{C NMR}$ του συμπλόκου, που λήφθηκε ενδεικτικά λόγω της μικρής διαλυτότητας του συμπλόκου και κατά συνέπεια χαμηλής συγκέντρωσης, παρατηρήθηκαν δύο ταινίες εκατέρωθεν του ασθενούς σήματος συντονισμού του C₂ και σε μεταξύ τους απόσταση περίπου 120 Hz, οι οποίες μπορούν να αποδοθούν σε ^1J σύζευξη $^{195}\text{Pt}-^{13}\text{C}_2$.

3.2.3. Φασματοσκοπικός χαρακτηρισμός συμπλόκων.

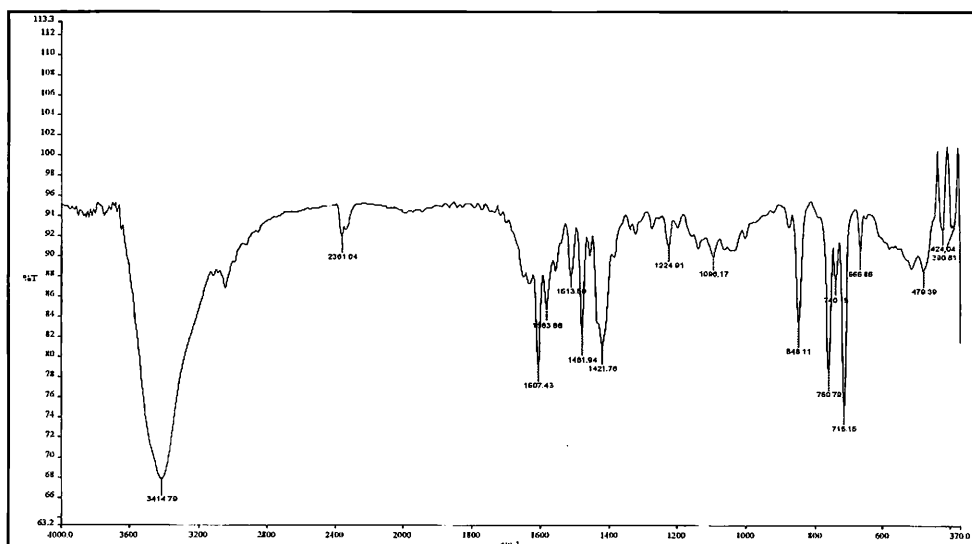
3.2.3.1. Φασματοσκοπικός χαρακτηρισμός του συμπλόκου [Pt(ppy)(phen)]Cl.

α) Φασματοσκοπία υπερύθρου.

Το σύμπλοκο [Pt(ppy)(phen)]Cl χαρακτηρίστηκε με φασματοσκοπία υπερύθρου. Στο φάσμα που προέκυψε εντοπίστηκαν οι εξής χαρακτηριστικές ταινίες απορρόφησης:

1. στα 715 και 760cm^{-1} , οι οποίες οφείλονται σε δονήσεις κάμψης των δεσμών C–H των φαινυλικών δακτυλίων,
2. στα 1481 cm^{-1} , η οποία οφείλεται σε δονήσεις τάσης των δεσμών C=N των πυριδυλικών δακτυλίων,
3. στα 1607cm^{-1} , η οποία οφείλεται σε δονήσεις τάσης των δεσμών C=C των αρωματικών δακτυλίων.

Παρακάτω δίδεται το φάσμα υπερύθρου του συμπλόκου:

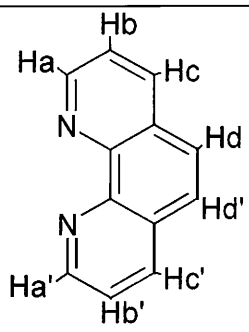


Σχήμα 3.3. Φάσμα υπερύθρου του συμπλόκου [Pt(ppy)(phen)]Cl.

β) Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR.

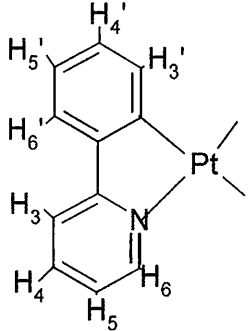
Το σύμπλοκο [Pt(ppy)(phen)]Cl χαρακτηρίστηκε με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού $^1\text{H-NMR}$. Στους παρακάτω Πίνακες παρουσιάζονται οι χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ για τον υποκαταστάτη 1,10-φαινανθρολίνη και για το τμήμα [Pt(ppy)]⁺ του συμπλόκου.

Πίνακας 3.5. Χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του συμπλόκου για τον υποκαταστάτη 1,10-φαινανθρολίνη.

τμήμα συμπλόκου	πρωτόνιο			
	H _{a,a'}	H _{b,b'}	H _{c,c'}	H _{d,d'}
	9,10	8,41	9,14	8,41

Σύμφωνα με τον παραπάνω πίνακα, ο υποκαταστάτης 1,10-φαινανθρολίνη διατηρεί τη συμμετρία στο μόριό του κατά την ένταξή του στο σύμπλοκο, αφού εντοπίζονται συνολικά τέσσερα σήματα συντονισμού, τα οποία αντιστοιχούν στα ζεύγη πρωτονίων H_a-H_{a'}, H_b-H_{b'}, H_c-H_{c'} και H_d-H_{d'}. Σημαντική παρατήρηση είναι επίσης ότι τα τέσσερα σήματα συντονισμού του ενταγμένου υποκαταστάτη βρίσκονται σε υψηλότερα ppm από τα αντίστοιχα της ελεύθερης 1,10-φαινανθρολίνης, πιθανότατα λόγω της ένταξης του μορίου του υποκαταστάτη στο άτομο Pt.

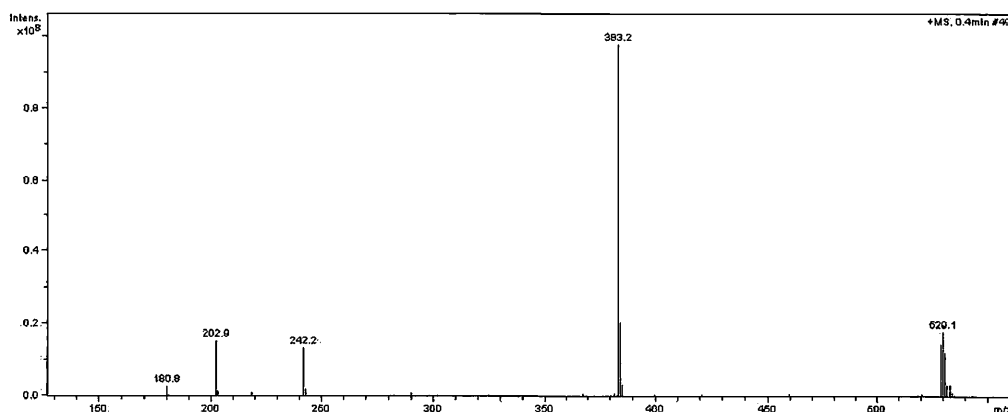
Πίνακας 3.6. Χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του συμπλόκου για το τμήμα [Pt(ppy)]⁺.

τμήμα συμπλόκου	πρωτόνιο							
$[Pt(ppy)]^+$	H ₃	H ₄	H ₅	H ₆	H _{3'}	H _{4'}	H _{5'}	H _{6'}
	7,82(d)	7,52(t)	8,19(t)	9,52(d)	7,56(d)	7,34(t)	7,20(t)	7,28(d)

Σύμφωνα με το παραπάνω φάσμα, εντοπίζονται οκτώ σήματα συντονισμού τα οποία αποδίδονται στα οκτώ μη χημικώς ισοδύναμα πρωτόνια της ppy. Το πρωτόνιο H₆ αποπροστατεύεται περισσότερο από τα υπόλοιπα λόγω της ύπαρξης διπλανού μορίου N, αλλά και λόγω της ένταξης του υποκαταστάτη 1,10-φαινανθρολίνη στο μόριο, με αποτέλεσμα να δίνει σήμα συντονισμού στα 9,52ppm.

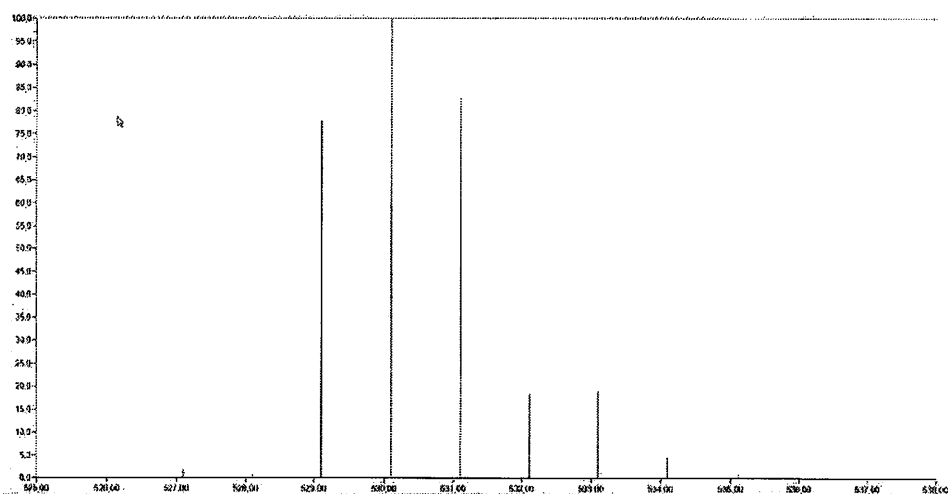
γ) Φασματομετρία μάζας.

Το σύμπλοκο $[Pt(ppy)(phen)]Cl$ χαρακτηρίστηκε με φασματομετρία μάζας (MS), και πιο συγκεκριμένα με την τεχνική Electrospray Ionisation (ESI). Χρησιμοποιήθηκε μεθανόλη ως διαλύτης. Το φάσμα που λήφθηκε (θετική περιοχή) απεικονίζεται παρακάτω:



Σχήμα 3.4. Φάσμα MS του συμπλόκου $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{phen})]\text{Cl}$.

Στο παραπάνω φάσμα παρατηρήθηκε η ύπαρξη κορυφής στην περιοχή $m/z=529$. Ο θεωρητικός υπολογισμός της ισοτοπικής κατανομής του ιόντος $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{phen})]^+$ (M.B.=529) έγινε με τη χρήση του προγράμματος Molecular Weight Calculator και το φάσμα που λήφθηκε απεικονίζεται παρακάτω:



Σχήμα 3.5. Θεωρητική ισοτοπική κατανομή του ιόντος $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{phen})]^+$.

Παρατηρήθηκε ότι η θεωρητική ισοτοπική κατανομή του ιόντος $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{phen})]^+$ ταυτίζεται με αυτή που απεικονίζεται στο πειραματικό φάσμα, με αποτέλεσμα να επιβεβαιώνεται η παρουσία του συμπλόκου $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{phen})]\text{Cl}$.

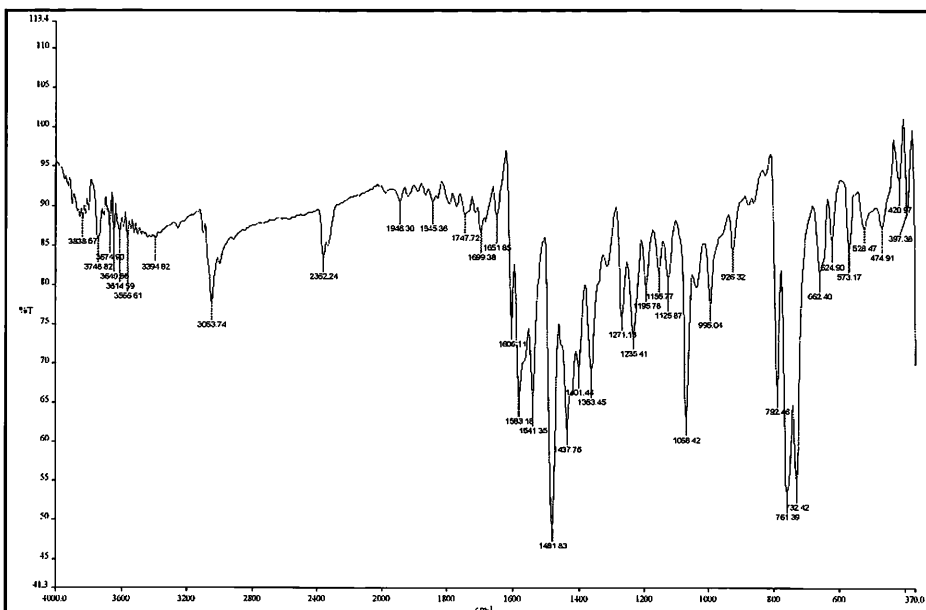
3.2.3.2. Φασματοσκοπικός χαρακτηρισμός του συμπλόκου [Pt(ppy)(pqx)]Cl.

α) Φασματοσκοπία υπερόθρου.

Το σύμπλοκο [Pt(ppy)(pqx)]Cl χαρακτηρίστηκε με φασματοσκοπία υπερόθρου. Στο φάσμα που προέκυψε εντοπίστηκαν οι εξής χαρακτηριστικές ταινίες απορρόφησης:

1. στα 732 και 761cm^{-1} , οι οποίες οφείλονται σε δονήσεις κάμψης των δεσμών C–H των φαινυλικών δακτυλίων,
2. στα 1481cm^{-1} , η οποία οφείλεται σε δονήσεις τάσης των δεσμών C=N των πυριδυλικών δακτυλίων,
3. στα 1606cm^{-1} , η οποία οφείλεται σε δονήσεις τάσης των δεσμών C=C των αρωματικών δακτυλίων,
4. στα 3054cm^{-1} , η οποία οφείλεται σε δονήσεις τάσης των δεσμών C–H των αρωματικών δακτυλίων.

Παρακάτω δίδεται το φάσμα υπερόθρου του συμπλόκου:

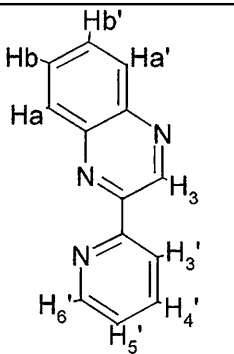


Σχήμα 3.6. Φάσμα υπερόθρου του συμπλόκου [Pt(ppy)(pqx)]Cl.

β) Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR.

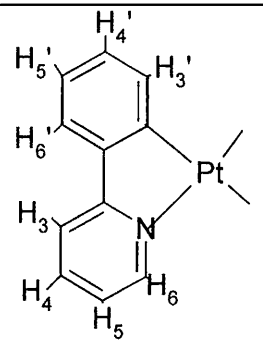
Το σύμπλοκο $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{pqx})]\text{Cl}$ χαρακτηρίστηκε με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού $^1\text{H-NMR}$. Στους παρακάτω Πίνακες παρουσιάζονται οι χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ για τον υποκαταστάτη 2-(2'-πυριδυλ) κινόξαλίνη και για το τμήμα $[\text{Pt}(\text{ppy})]^+$ του συμπλόκου.

Πίνακας 3.7. Χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του συμπλόκου για τον υποκαταστάτη 2-(2'-πυριδυλ) κινόξαλίνη.

τμήμα συμπλόκου	πρωτόνιο						
2-(2'-πυριδυλ) κινόξαλίνη	H _{3'}	H _{4'}	H _{5'}	H _{6'}	H ₃	H _{a,a'}	H _{b,b'}
	8,57(d)	8,07(t)	7,60(t)	8,83(d)	9,90(s)	8,18(t)	7,93(t)

Σύμφωνα με τον παραπάνω πίνακα, για τον υποκαταστάτη 2-(2'-πυριδυλ) κινόξαλίνη εμφανίζονται επτά σήματα συντονισμού, επομένως τα πρωτόνια H_a-H_{a'} και H_b-H_{b'} παραμένουν αντίστοιχα χημικώς ισοδύναμα κατά την ένταξη του υποκαταστάτη στο άτομο Pt.

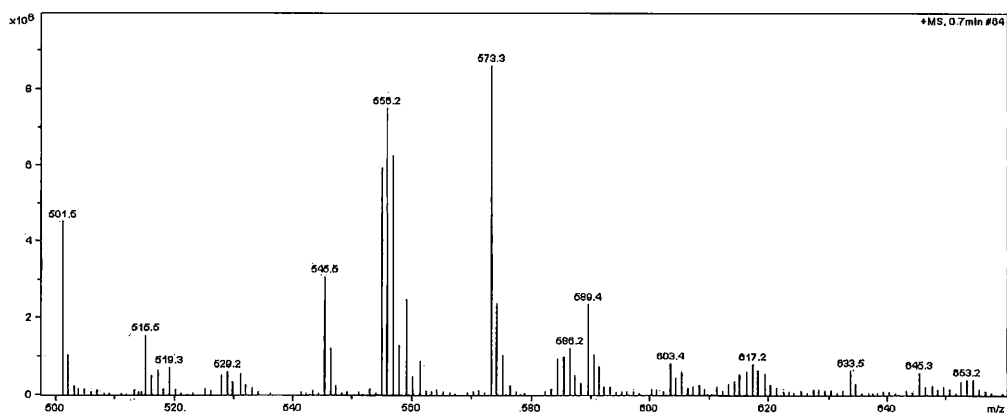
Πίνακας 3.8. Χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του συμπλόκου για το τμήμα $[\text{Pt}(\text{ppy})]^+$.

τμήμα συμπλόκου	πρωτόνιο							
	H_3	H_4	H_5	H_6	$\text{H}_{3'}$	$\text{H}_{4'}$	$\text{H}_{5'}$	$\text{H}_{6'}$
	8,14(d)	8,14(t)	7,51(t)	9,50(d)	8,22(d)	7,18(t)	7,20(t)	7,78(d)

Σύμφωνα με το παραπάνω φάσμα, εντοπίζονται οκτώ σήματα συντονισμού τα οποία αποδίδονται στα οκτώ μη χημικώς ισοδύναμα πρωτόνια της ppy. Το πρωτόνιο H_6 αποπροστατεύεται περισσότερο από τα υπόλοιπα λόγω της ύπαρξης διπλανού μορίου N, αλλά και λόγω της ένταξης του υποκαταστάτη 2-(2'-πυριδυλ) κινολαλίνη στο μόριο, με αποτέλεσμα να δίνει σήμα συντονισμού στα 9,50ppm.

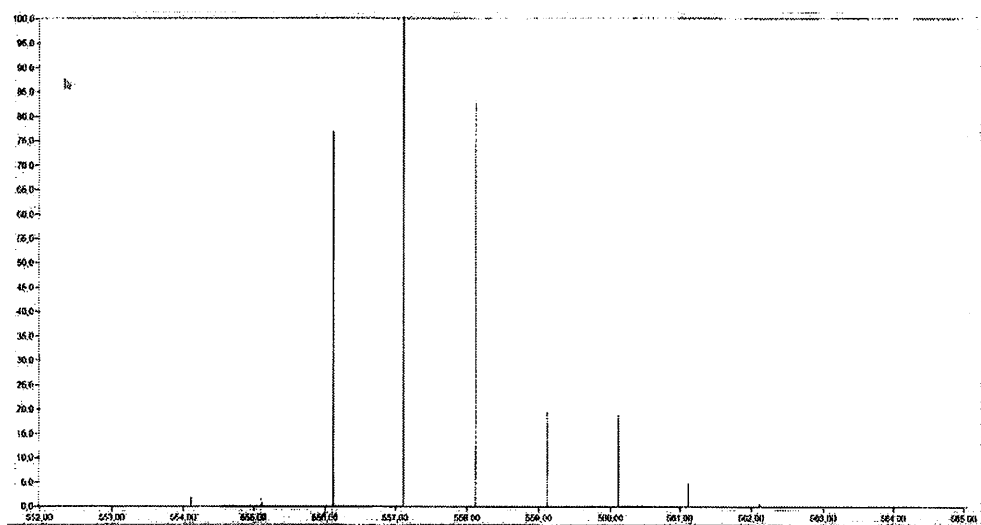
γ) Φασματομετρία μάζας.

Το σύμπλοκο $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{pqx})]\text{Cl}$ χαρακτηρίστηκε με φασματομετρία μάζας (MS), και πιο συγκεκριμένα με την τεχνική Electrospray Ionization (ESI). Χρησιμοποιήθηκε μεθανόλη ως διαλύτης. Τμήμα του φάσματος που λήφθηκε (θετική περιοχή) απεικονίζεται παρακάτω:



Σχήμα 3.7. Φάσμα MS του συμπλόκου $[Pt(ppy)(pqx)]Cl$.

Στο παραπάνω φάσμα παρατηρήθηκε η ύπαρξη κορυφής στην περιοχή $m/z=556$. Ο θεωρητικός υπολογισμός της ισοτοπικής κατανομής του ιόντος $[Pt(ppy)(pqx)]^+$ ($M.B.=556$) έγινε με τη χρήση του προγράμματος Molecular Weight Calculator και το φάσμα που λήφθηκε απεικονίζεται παρακάτω:



Σχήμα 3.8. Θεωρητική ισοτοπική κατανομή του ιόντος $[Pt(ppy)(pqx)]^+$.

Παρατηρήθηκε ότι η θεωρητική ισοτοπική κατανομή του ιόντος $[Pt(ppy)(pqx)]^+$ ταυτίζεται με αυτή που απεικονίζεται στο πειραματικό φάσμα, με αποτέλεσμα να επιβεβαιώνεται η παρουσία του συμπλόκου $[Pt(ppy)(pqx)]Cl$.

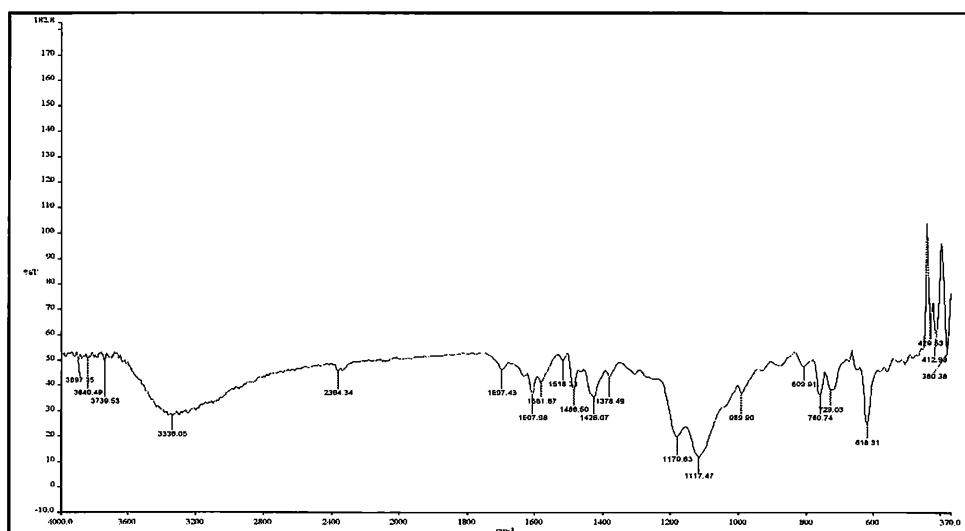
3.2.3.3. Φασματοσκοπικός χαρακτηρισμός του συμπλόκου [Pt(ppy)(phen-dione)]Cl.

α) Φασματοσκοπία υπερέθρου.

Το σύμπλοκο [Pt(ppy)(phen-dione)]Cl χαρακτηρίστηκε με φασματοσκοπία υπερέθρου. Στο φάσμα που προέκυψε εντοπίστηκαν οι εξής χαρακτηριστικές ταινίες απορρόφησης:

1. στα 729 και 760cm^{-1} , οι οποίες οφείλονται σε δονήσεις κάμψης των δεσμών C–H των φαινυλικών δακτυλίων,
2. στα 1486 cm^{-1} , η οποία οφείλεται σε δονήσεις τάσης των δεσμών C=N των πυριδυλικών δακτυλίων,
3. στα 1608cm^{-1} , η οποία οφείλεται σε δονήσεις τάσης των δεσμών C=C των αρωματικών δακτυλίων,
4. στα 1697cm^{-1} , η οποία οφείλεται σε δονήσεις τάσης των δεσμών C=O του υποκαταστάτη phen-dione.

Παρακάτω δίδεται το φάσμα υπερέθρου του συμπλόκου:

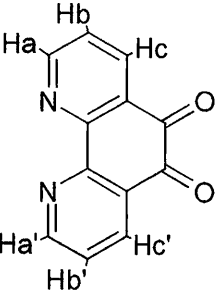


Σχήμα 3.9. Φάσμα υπερέθρου του συμπλόκου [Pt(ppy)(phen-dione)]Cl.

β) Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR.

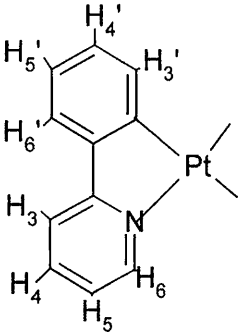
Το σύμπλοκο $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{phen-dione})]\text{Cl}$ χαρακτηρίστηκε με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού $^1\text{H-NMR}$. Στους παρακάτω Πίνακες παρουσιάζονται οι χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ για τον υποκαταστάτη phen-dione και για το τμήμα $[\text{Pt}(\text{ppy})]^+$ του συμπλόκου.

Πίνακας 3.9. Χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του συμπλόκου για τον υποκαταστάτη 1,10-phenanthroline-5,6-dione.

τμήμα συμπλόκου	πρωτόνιο		
1,10-φαινανθρολίνη-5,6-διόνη	$\text{H}_{\text{a,a}'}$	$\text{H}_{\text{b,b}'}$	$\text{H}_{\text{c,c}'}$
	8,99(dd)	7,67(t)	8,39(dd)

Σύμφωνα με τον παραπάνω πίνακα, το μόριο της phen-dione διατηρεί τη συμμετρία του κατά την ένταξη στο σύμπλοκο, αφού παρατηρούνται τρία σήματα συντονισμού για τα τρία ζεύγη χημικώς ισοδύναμων πρωτονίων του υποκαταστάτη.

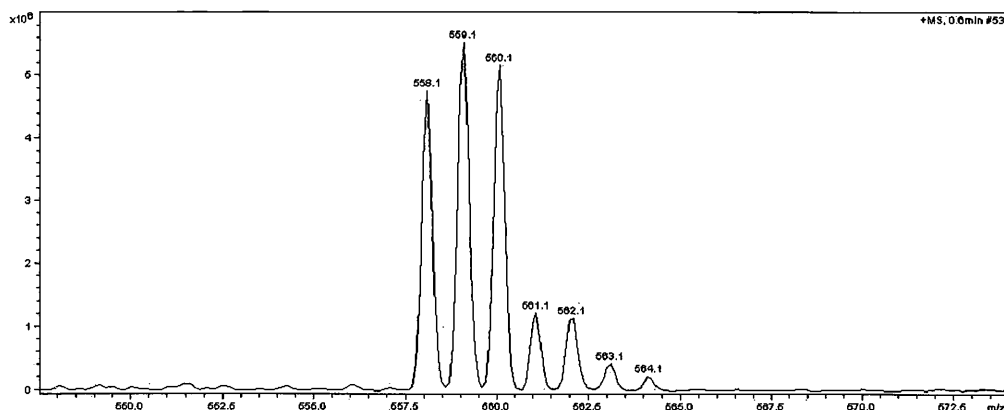
Πίνακας 3.10. Χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του συμπλόκου για το τμήμα $[\text{Pt}(\text{ppy})]^+$.

τμήμα συμπλόκου	πρωτόνιο							
$[\text{Pt}(\text{ppy})]^+$	H ₃	H ₄	H ₅	H ₆	H _{3'}	H _{4'}	H _{5'}	H _{6'}
	8,15(d)	8,14(t)	7,52(t)	9,50(d)	7,89(d)	7,17(t)	7,17(t)	8,22(d)

Σύμφωνα με το παραπάνω φάσμα, εντοπίζονται οκτώ σήματα συντονισμού τα οποία αποδίδονται στα οκτώ μη χημικώς ισοδύναμα πρωτόνια της ppy. Το πρωτόνιο H₆ αποπροστατεύεται περισσότερο από τα υπόλοιπα λόγω της ύπαρξης διπλανού μορίου N, αλλά και λόγω της ένταξης του υποκαταστάτη phen-dione στο μόριο, με αποτέλεσμα να δίνει σήμα συντονισμού στα 9,50ppm.

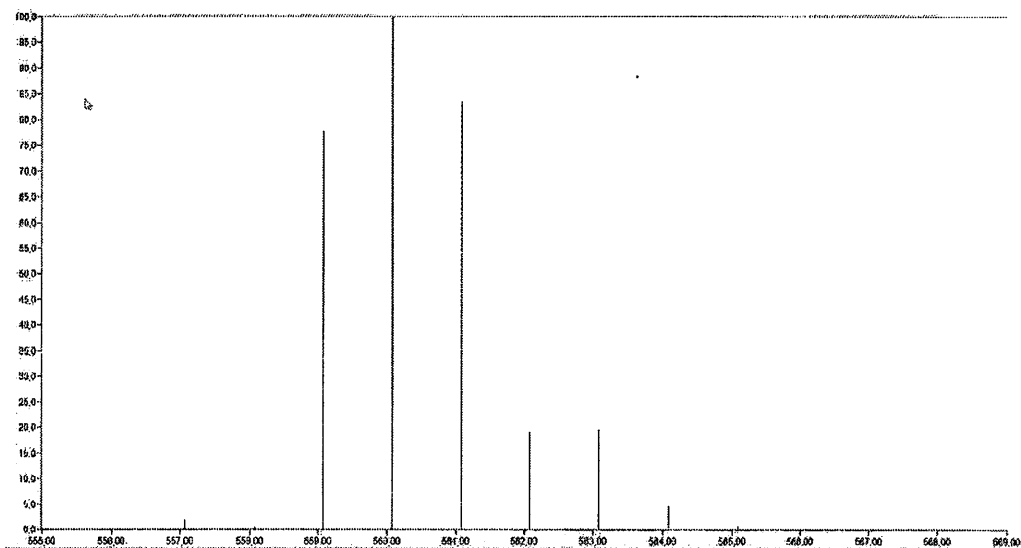
γ) Φασματομετρία μάζας.

Το σύμπλοκο $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{phen-dione})]\text{Cl}$ χαρακτηρίστηκε με φασματομετρία μάζας (MS), και πιο συγκεκριμένα με την τεχνική Atmospheric Pressure Chemical Ionisation (APCI). Χρησιμοποιήθηκε μεθανόλη ως διαλύτης. Τμήμα του φάσματος που λήφθηκε (θετική περιοχή) απεικονίζεται παρακάτω:



Σχήμα 3.10. Φάσμα MS του συμπλόκου [Pt(ppy)(phen-dione)]Cl.

Στο παραπάνω φάσμα παρατηρήθηκε η ύπαρξη κορυφής στην περιοχή $m/z=559$. Ο θεωρητικός υπολογισμός της ισοτοπικής κατανομής του ιόντος [Pt(ppy)(phen-dione)]⁺ (M.B.=559) έγινε με τη χρήση του προγράμματος Molecular Weight Calculator και το φάσμα που λήφθηκε απεικονίζεται παρακάτω:



Σχήμα 3.11. Θεωρητική ισοτοπική κατανομή του ιόντος [Pt(ppy)(phen-dione)]⁺.

Παρατηρήθηκε ότι η θεωρητική ισοτοπική κατανομή του ιόντος $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{phen-dione})]^+$ ταυτίζεται απόλυτα με αυτή που απεικονίζεται στο πειραματικό φάσμα, με αποτέλεσμα να επιβεβαιώνεται η παρουσία του συμπλόκου $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{phen-dione})]\text{Cl}$.

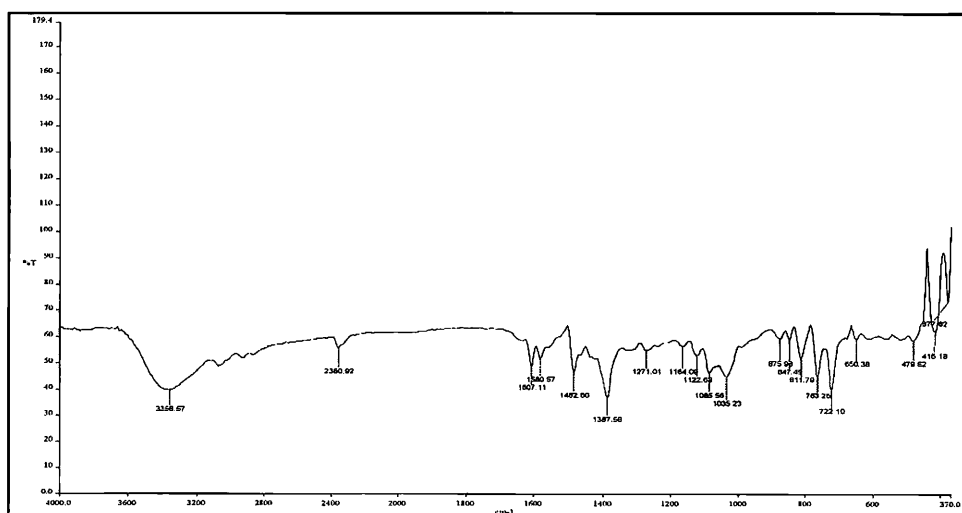
3.2.3.4. Φασματοσκοπικός χαρακτηρισμός του συμπλόκου $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{dpq})]\text{Cl}$.

α) Φασματοσκοπία υπερόθρου.

Το σύμπλοκο $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{dpq})]\text{Cl}$ χαρακτηρίστηκε με φασματοσκοπία υπερόθρου. Στο φάσμα που προέκυψε εντοπίστηκαν οι εξής χαρακτηριστικές ταινίες απορρόφησης:

1. στα 722 και 763cm^{-1} , οι οποίες οφείλονται σε δονήσεις κάμψης των δεσμών C–H των φαινυλικών δακτυλίων,
2. στα 1482cm^{-1} , η οποία οφείλεται σε δονήσεις τάσης των δεσμών C=N των πυριδυλικών δακτυλίων,
3. στα 1607cm^{-1} , η οποία οφείλεται σε δονήσεις τάσης των δεσμών C=C των αρωματικών δακτυλίων.

Παρακάτω δίδεται το φάσμα υπερόθρου του συμπλόκου:

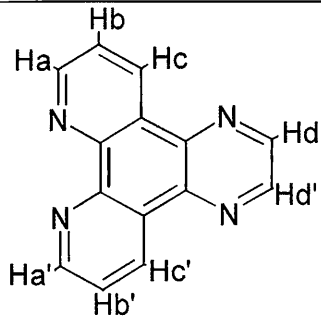


Σχήμα 3.12. Φάσμα υπερόθρου του συμπλόκου $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{dpq})]\text{Cl}$.

β) Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR.

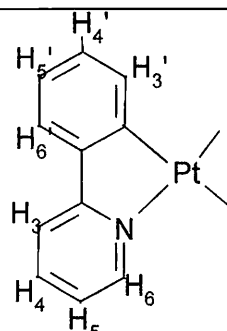
Το σύμπλοκο $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{dprq})]\text{Cl}$ χαρακτηρίστηκε με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού $^1\text{H-NMR}$. Στους παρακάτω Πίνακες παρουσιάζονται οι χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ για τον υποκαταστάτη dprq και για το τμήμα $[\text{Pt}(\text{ppy})]^+$ του συμπλόκου.

Πίνακας 3.11. Χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του συμπλόκου για τον υποκαταστάτη dprq .

τμήμα συμπλόκου	πρωτόνιο			
	$\text{H}_{\text{a,a}'}$	$\text{H}_{\text{b,b}'}$	$\text{H}_{\text{c,c}'}$	$\text{H}_{\text{d,d}'}$
διπύριδο[3,2-d:2',3'-f]κινόξαλίνη				
	9,51(d)	8,20(t)	9,13(d)	9,44(s)

Σύμφωνα με το παραπάνω φάσμα το μόριο του υποκαταστάτη dprq διατηρεί τη συμμετρία του κατά την ένταξη στο σύμπλοκο, αφού εμφανίζονται τέσσερα σήματα συντονισμού που αντιστοιχούν στα τέσσερα ζεύγη χημικώς ισοδύναμων πρωτονίων του υποκαταστάτη. Επίσης παρατηρείται η μετακίνηση των σημάτων συντονισμού των πρωτονίων $\text{H}_{\text{a,a}'}$, $\text{H}_{\text{b,b}'}$ και $\text{H}_{\text{d,d}'}$ σε υψηλότερα ppm, πιθανότατα λόγω της ένωσης του μορίου του υποκαταστάτη με το άτομο Pt.

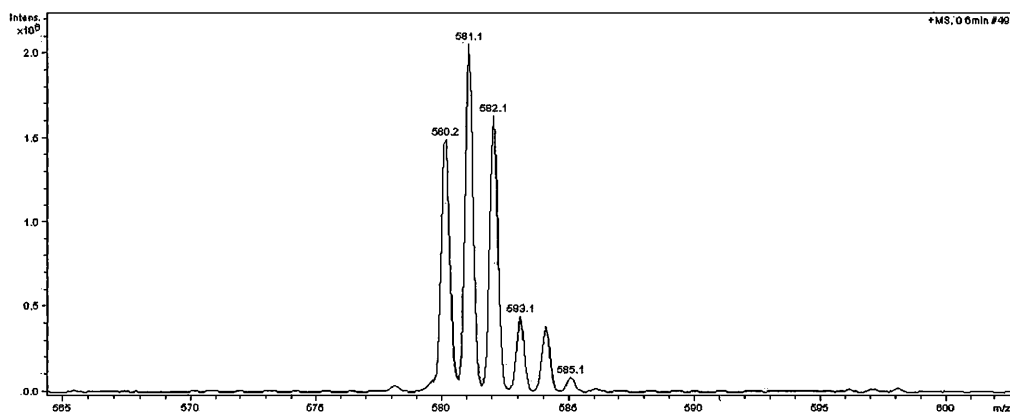
Πίνακας 3.12. Χημικές μετατοπίσεις όλων των πρωτονίων, που παρατηρούνται στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του συμπλόκου για το τμήμα $[\text{Pt}(\text{ppy})]^+$.

τμήμα συμπλόκου	πρωτόνιο							
	H_3	H_4	H_5	H_6	$\text{H}_{3'}$	$\text{H}_{4'}$	$\text{H}_{5'}$	$\text{H}_{6'}$
	7,82(d)	8,48(t)	7,56(t)	9,88(d)	7,64(d)	-	7,20(t)	7,28(d)

Σύμφωνα με το παραπάνω φάσμα, εντοπίζονται οκτώ σήματα συντονισμού τα οποία αποδίδονται στα οκτώ μη χημικώς ισοδύναμα πρωτόνια της ppy. Το πρωτόνιο H_6 αποπροστατεύεται περισσότερο από τα υπόλοιπα λόγω της ύπαρξης διπλανού μορίου N, αλλά και λόγω της ένταξης του υποκαταστάτη drq στο μόριο, με αποτέλεσμα να δίνει σήμα συντονισμού στα 9,88ppm. Το σήμα συντονισμού του πρωτονίου $\text{H}_{4'}$ δεν εντοπίζεται, καθώς είναι πιθανό να επικαλύπτεται από άλλο σήμα συντονισμού.

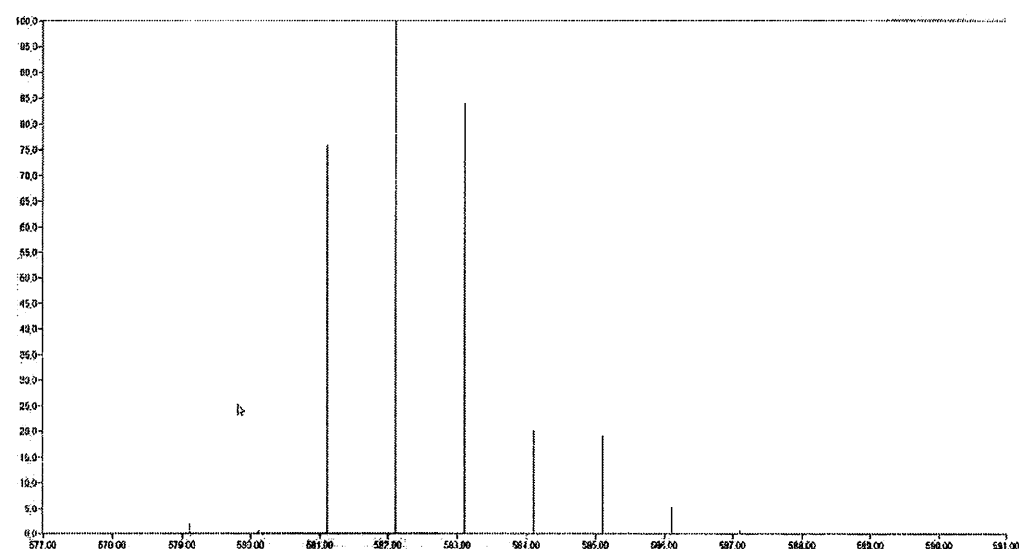
γ) Φασματομετρία μάζας.

Το σύμπλοκο $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{drq})]\text{Cl}$ χαρακτηρίστηκε με φασματομετρία μάζας (MS), και πιο συγκεκριμένα με την τεχνική Atmospheric Pressure Chemical Ionisation (APCI). Χρησιμοποιήθηκε μεθανόλη ως διαλύτης. Τμήμα του φάσματος που λήφθηκε (θετική περιοχή) απεικονίζεται παρακάτω:



Σχήμα 3.13. Φάσμα MS του συμπλόκου $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{dpq})]\text{Cl}$.

Στο παραπάνω φάσμα παρατηρήθηκε η ύπαρξη κορυφής στην περιοχή $m/z=581$. Ο θεωρητικός υπολογισμός της ισοτοπικής κατανομής του ιόντος $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{dpq})]^+$ (M.B.=581) έγινε με τη χρήση του προγράμματος Molecular Weight Calculator και το φάσμα που λήφθηκε απεικονίζεται παρακάτω:



Σχήμα 3.14. Θεωρητική ισοτοπική κατανομή του ιόντος $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{dpq})]^+$.

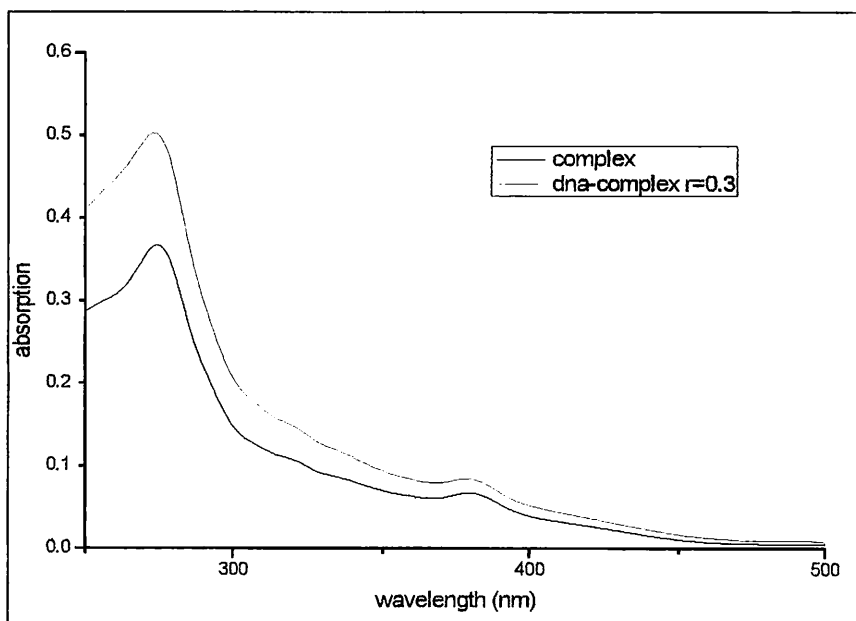
Παρατηρήθηκε ότι η θεωρητική ισοτοπική κατανομή του ιόντος $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{dq})]^+$ ταυτίζεται με αυτή που απεικονίζεται στο πειραματικό φάσμα, με αποτέλεσμα να επιβεβαιώνεται η παρουσία του συμπλόκου $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{dq})]\text{Cl}$.

3.3. Μελέτη της αλληλεπίδρασης συμπλόκων με CT-DNA

3.3.1. Μελέτη της αλληλεπίδρασης των συμπλόκων $[\text{Pt}^{\text{II}}(\text{ppy})(\text{phen})]\text{Cl}$, $[\text{Pt}^{\text{II}}(\text{ppy})(\text{rpx})]\text{Cl}$ και $[\text{Pt}^{\text{II}}(\text{ppy})(\text{dq})]\text{Cl}$ με CT-DNA και εύρεση της σταθεράς δέσμησης K_b .

3.3.1.1. Μελέτη της αλληλεπίδρασης του συμπλόκου $[\text{Pt}^{\text{II}}(\text{ppy})(\text{phen})]\text{Cl}$ με CT-DNA και εύρεση της σταθεράς δέσμησης K_b .

Όπως αναφέρθηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο, όλα τα πειράματα διεξάχθηκαν σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών αλάτων με $\text{pH} = 7.00$ στους 25°C . Στα φάσματα υπεριώδους – ορατού του συμπλόκου παρατηρήθηκε μια υπερχρωμία (αύξηση του ϵ) στην ταινία MLCT ($d_\pi(\text{Pt}) \rightarrow \pi^*(\text{ligand})$) (με $\lambda_{\text{max}} = 379\text{nm}$) με την αύξηση της αναλογίας $r = [\text{DNA}]/[\text{σύμπλοκο}]$. Το φαινόμενο αυτό εξακολούθησε να παρατηρείται μέχρι μιας ανώτατης τιμής του r . Επιπλέον, κατά την προσθήκη του CT-DNA δεν παρατηρήθηκε υπιχρωμία ή βαθυχρωμία (μετατόπιση κατά μήκος του άξονα $\chi'\chi$) της ταινίας MLCT (με $\lambda_{\text{max}} = 379\text{nm}$) του συμπλόκου. Αυτές οι μεταβολές στο φάσμα υπεριώδους – ορατού του συμπλόκου υποδηλώνουν ότι το σύμπλοκο $[\text{Pt}^{\text{II}}(\text{ppy})(\text{phen})]\text{Cl}$ αλληλεπιδρά με το CT-DNA μάλλον ασθενώς. Παρακάτω παρατίθεται το φάσμα UV-Vis του συμπλόκου, σε σύγκριση με το αντίστοιχο φάσμα του συστήματος συμπλόκου – DNA σε αναλογία $r = [\text{DNA}]/[\text{σύμπλοκο}] = 0.3$



Σχήμα 3.15. Φάσμα υπεριώδους-ορατού του συμπλόκου απουσία και παρουσία του DNA σε αναλογία $r = 0,3$.

Η % υπερχρωμία στην ταινία μεταφοράς φορτίου MLCT του συμπλόκου βρέθηκε ίση με $\%H = 100 \cdot (A_b - A_f) / A_f = 36,6\%^{76}$. Επομένως, σύμφωνα με αυτά τα δεδομένα η τιμή αυτή κρίθηκε ικανοποιητική για τον προσδιορισμό της σταθεράς δέσμευσης K_b , ενώ τιμές $\leq 1\%$ οριακά μπορούν να αποδώσουν ασφαλή μέτρηση της K_b . Επίσης δεν παρατηρήθηκε μετακίνηση της ταινίας αυτής προς το ερυθρό ή το ιώδες. Θα πρέπει να τονιστεί ότι οι μεταβολές στην ταινία MLCT του συμπλόκου οφείλονται αποκλειστικά στην αλληλεπίδραση συμπλόκου – DNA, καθώς δεν υπάρχουν ταινίες του DNA στην περιοχή αυτή και το πείραμα διεξήχθη σε σταθερό pH=7.00 (ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών). Εφόσον δεν παρατηρήθηκε μετατόπιση προς την περιοχή του ερυθρού της ταινίας MLCT του συμπλόκου, όπως συμβαίνει στις περιπτώσεις κατά τις οποίες η αλληλεπίδραση συνοδεύεται από παρεμβολή (intercalation) ενός υποκαταστάτη του συμπλόκου μεταξύ των βάσεων του DNA, αλλά ούτε και υποχρωμία, το σύμπλοκο $[Pt^{II}(ppy)(phen)]Cl$ πιθανότατα αλληλεπιδρά ηλεκτροστατικά ή με δέσμευση στην επιφάνεια της αύλακας. Ένας ακόμη παράγοντας της αλληλεπίδρασης του συμπλόκου με το DNA είναι η σταθερά δέσμευσης K_b , η οποία υπολογίζεται παρακάτω.

Εύρεση της σταθεράς δέσμευσης K_b του $[Pt^{II}(ppy)(phen)]Cl$ με CT-DNA.

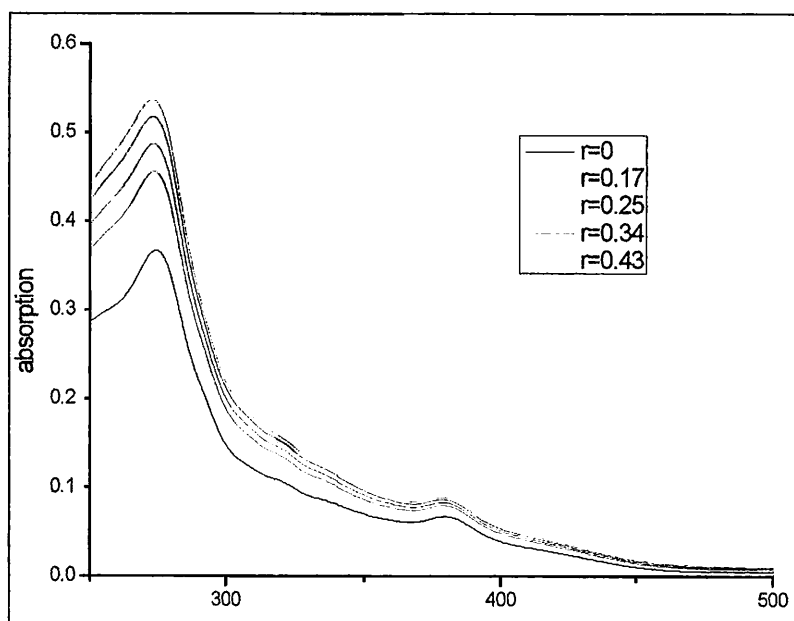
Εφόσον διαπιστώθηκε ότι το σύμπλοκο $[Pt^{II}(ppy)(phen)]Cl$ δεσμεύεται στο DNA, έγινε προσπάθεια προσδιορισμού της σταθεράς δέσμευσης K_b , η τιμή της οποίας δείχνει το πόσο ισχυρά συνδέεται το σύμπλοκο με το DNA. Η εύρεση της σταθεράς δέσμευσης βασίστηκε στο μοντέλο των Bard και Thorp. Τα αποτελέσματα της τιτλοδότησης του συμπλόκου με το DNA δίνονται στον παρακάτω πίνακα:

α/α	DNA σε μM Άξονας χ'χ	Απορρόφηση A της MLCT	μορ. συντελεστής ϵ_a	$(\epsilon_a - \epsilon_f)/(\epsilon_b - \epsilon_f)$ άξονας ψ'ψ
1	0	0.0677	$\epsilon_f=3385$	0
2	0,85	0.07319	3659.5	0,22
3	1,7	0.07586	3793	0,33
4	2,55	0.07798	3899	0,41
5	3,4	0.08013	4006.5	0,50
6	4,25	0.08194	4097	0,57
7	5,1	0.08345	4172.5	0,64
8	5,95	0.08505	4252.5	0,70
9	6,8	0.08686	4343	0,77
10	8,5	0.08908	4454	0,86
11	12,75	0.09248	$\epsilon_b=4624$	1,00
12	15,3	0.09198	4599	0,98
13	18,7	0.09149	4574.5	0,96

Πίνακας 3.13. Απεικόνιση των αποτελεσμάτων της τιτλοδότησης του συμπλόκου με CT-DNA.

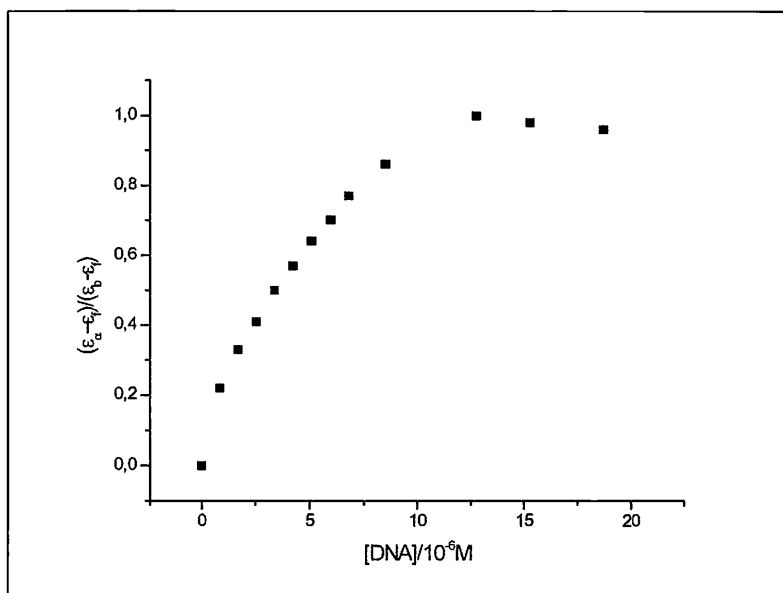
Από τον παραπάνω πίνακα εξάχθηκε το συμπέρασμα ότι ο μοριακός συντελεστής απόσβεσης ϵ της ταινίας MLCT του συμπλόκου αυξάνεται με την προσθήκη DNA. Η αύξηση του συντελεστή ϵ παρατηρείται έως ότου η συγκέντρωση του CT-DNA γίνει 12.75 μM . Για συγκεντρώσεις DNA άνω των 12.75 μM ο συντελεστής μοριακής

απόσβεσης ϵ τείνει να σταθεροποιηθεί. Επομένως το σύμπλοκο έχει δεσμευτεί πλήρως στο DNA όταν η συγκέντρωση του τελευταίου φτάσει τα $12.75\mu\text{M}$ ($r=0.64$). Το ϵ_f υπολογίστηκε σε 3385 για την ταινία του συμπλόκου απουσία DNA. Το ϵ_b υπολογίστηκε σε 4624, για την ταινία MLCT του συμπλόκου με συγκέντρωση DNA $12.75\mu\text{M}$. Παρακάτω απεικονίζονται τα φάσματα τιτλοδότησης του συμπλόκου με το DNA:



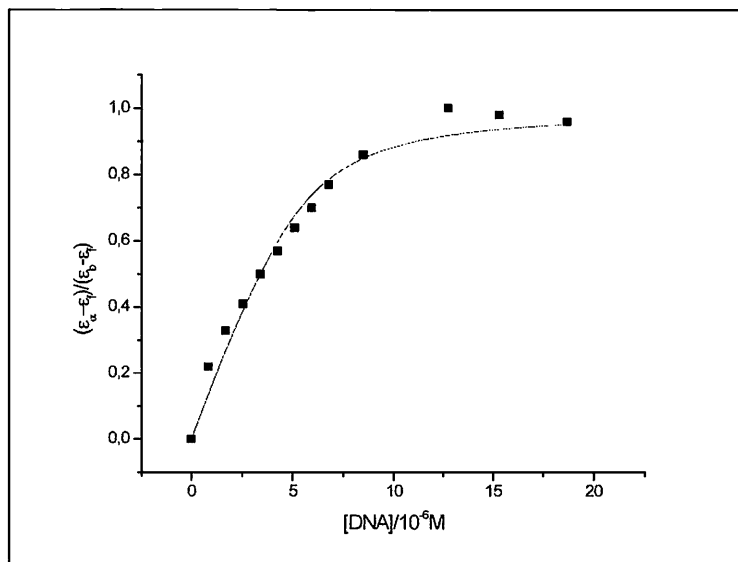
Σχήμα 3.16. Μεταβολές των φασμάτων υπεριώδους-ορατού του συμπλόκου κατά την τιτλοδότηση με διάλυμα CT-DNA.

Για την εύρεση της σταθεράς δέσμευσης K_b σχεδιάστηκε η γραφική παράσταση με άξονες χ' τις τιμές της δεύτερης στήλης του παραπάνω πίνακα (συγκέντρωση DNA) και ψ' τις τιμές της πέμπτης στήλης του παραπάνω πίνακα (το μέγεθος $(\epsilon_a - \epsilon_f)/(\epsilon_b - \epsilon_f)$). Η γραφική παράσταση απεικονίζεται παρακάτω:



Σχήμα 3.17. Γραφική παράσταση της συγκέντρωσης του DNA συναρτήσει του $(\epsilon_a - \epsilon_f) / (\epsilon_b - \epsilon_f)$.

Στην παραπάνω γραφική παράσταση έγινε προσαρμογή (fitting) στην εξίσωση των Bard και Thorp που αναφέρθηκε παραπάνω, με παραμέτρους τα K_b και s , έτσι ώστε με βάση τις τιμές των τελευταίων να χαραχθεί η καλύτερη δυνατή καμπύλη που διέρχεται από τα περισσότερα σημεία.



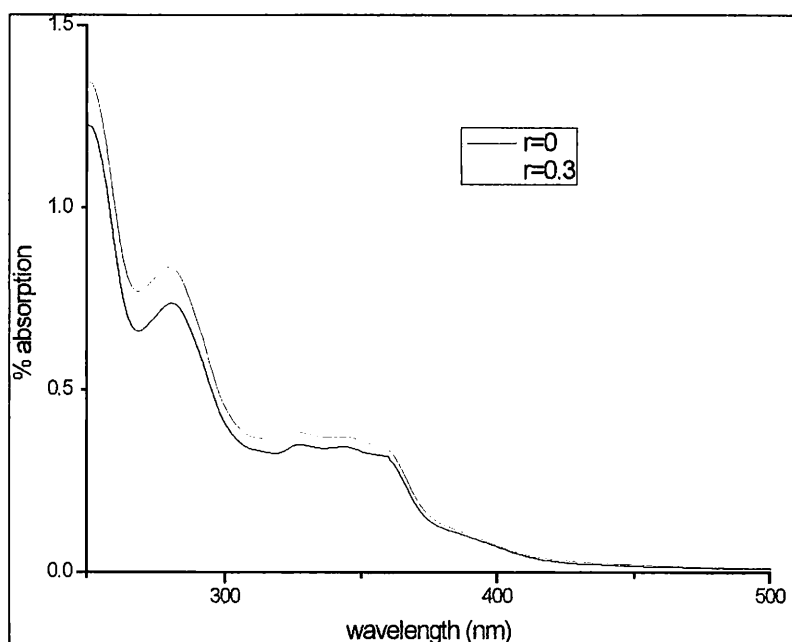
Σχήμα 3.18. Γραφική παράσταση της καλύτερης καμπύλης της συγκέντρωσης του DNA συναρτήσει του $(\epsilon_a - \epsilon_f) / (\epsilon_b - \epsilon_f)$, σύνδεση των σημείων.

Σύμφωνα με την παραπάνω γραφική παράσταση για τις τιμές $K_b = 3.9 \cdot 10^5 M^{-1}$, $s = 0.13$ και $C_i = 20 \cdot 10^{-6} M$ η παραπάνω καμπύλη είναι αυτή που διέρχεται από τα περισσότερα σημεία. Το s στην περίπτωση του συμπλόκου $[Pt^{II}(ppy)(phen)]Cl$ είναι 0,15. Η τιμή αυτή ισούται με τον αριθμό των βάσεων του DNA (ανά νουκλεοτίδιο) που δεσμεύονται ανά σύμπλοκο.

3.3.1.2. Μελέτη της αλληλεπίδρασης του συμπλόκου $[Pt^{II}(ppy)(pqx)]Cl$ με CT-DNA και εύρεση της σταθεράς δέσμευσης K_b .

Στα φάσματα υπεριώδους – ορατού του συμπλόκου παρατηρήθηκε μια υπερχρωμία (αύξηση του ϵ) στην ταινία MLCT ($d_\pi(Pt) \rightarrow \pi^*(\text{ligand})$) (με $\lambda_{max} = 327,5 \text{ nm}$) με την αύξηση της αναλογίας $r = [DNA] / [\text{σύμπλοκο}]$. Το φαινόμενο αυτό εξακολούθησε να παρατηρείται μέχρι μιας ανώτατης τιμής του r . Επιπλέον, κατά την προσθήκη του CT-

DNA δεν παρατηρήθηκε υπιχρωμία ή βαθυχρωμία (μετατόπιση κατά μήκος του άξονα χ') της ταινίας MLCT (με $\lambda_{\max} = 327,5\text{nm}$) του συμπλόκου. Αυτές οι μεταβολές στο φάσμα υπεριώδους – ορατού του συμπλόκου υποδηλώνουν ότι το σύμπλοκο $[\text{Pt}^{\text{II}}(\text{ppy})(\text{pqx})]\text{Cl}$ αλληλεπιδρά με το CT-DNA. Παρακάτω παρατίθεται το φάσμα UV-Vis του συμπλόκου, σε σύγκριση με το αντίστοιχο φάσμα του συστήματος συμπλόκου – DNA σε αναλογία $r = [\text{DNA}]/[\text{σύμπλοκο}] = 0,3$



Σχήμα 3.19. Φάσμα υπεριώδους-ορατού του συμπλόκου απουσία και παρουσία του DNA σε αναλογία $r = 0,3$.

Η % υπερχρωμία στην ταινία μεταφοράς φορτίου MLCT του συμπλόκου βρέθηκε ίση με $\%H = 100 \cdot (A_b - A_f) / A_f = 13,6\%$. Επομένως, σύμφωνα με αυτά τα δεδομένα η τιμή αυτή κρίθηκε ικανοποιητική για τον προσδιορισμό της σταθεράς δέσμευσης K_b , ενώ τιμές $\leq 1\%$ οριακά μπορούν να αποδώσουν ασφαλή μέτρηση της K_b . Επίσης δεν παρατηρήθηκε μετακίνηση της ταινίας αυτής προς το ερυθρό ή το ιώδες. Οι μεταβολές στην ταινία MLCT του συμπλόκου οφείλονται αποκλειστικά στην αλληλεπίδραση συμπλόκου – DNA, καθώς δεν υπάρχουν ταινίες του DNA στην περιοχή αυτή και το πείραμα διεξήχθη σε σταθερό $\text{pH} = 7,00$ (ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών). Ένας

ακόμη παράγοντας της αλληλεπίδρασης του συμπλόκου με το DNA είναι η σταθερά δέσμευσης K_b , η οποία υπολογίζεται παρακάτω.

Εύρεση της σταθεράς δέσμευσης K_b του $[Pt^{II}(ppy)(pqx)]Cl$ με CT-DNA.

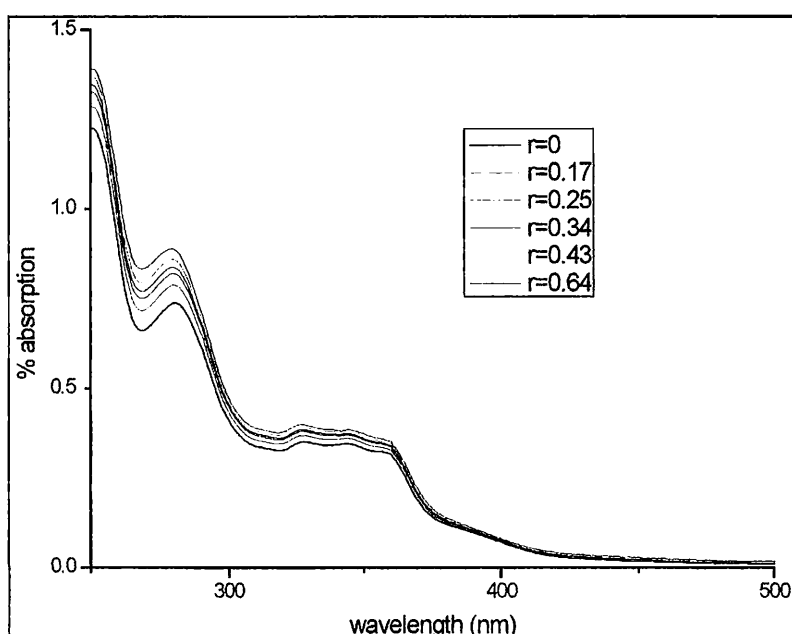
Εφόσον διαπιστώθηκε ότι το σύμπλοκο $[Pt^{II}(ppy)(pqx)]Cl$ αλληλεπιδρά με το DNA, έγινε προσπάθεια προσδιορισμού της σταθεράς δέσμευσης K_b , η τιμή της οποίας δείχνει το πόσο ισχυρά συνδέεται το σύμπλοκο με το DNA. Η εύρεση της σταθεράς δέσμευσης βασίστηκε στο μοντέλο των Bard και Thorp. Τα αποτελέσματα της τιτλοδότησης του συμπλόκου με το DNA δίνονται στον παρακάτω πίνακα:

α/α	DNA σε μM Άξονας $\chi'\chi$	Απορρόφηση A της MLCT	μορ. συντελεστής ϵ_a	$(\epsilon_a - \epsilon_f)/(\epsilon_b - \epsilon_f)$ άξονας $\psi'\psi$
1	0	0.3507	$\epsilon_f=17535$	0
2	1,7	0.3598	17990	0,19
3	3,4	0,3685	18422.5	0,37
4	5,1	0,3797	18982.5	0,61
5	6,8	0.3849	19246	0,72
6	8,5	0.3927	19632.5	0,88
7	12,75	0.3984	19921	1,00
8	17	0.3965	19849.5	0,97
9	21,25	0.3964	19825.5	0,96
10	25,5	0.3965	19849.5	0,97

Πίνακας 3.14. Απεικόνιση των αποτελεσμάτων της τιτλοδότησης του συμπλόκου με CT-DNA.

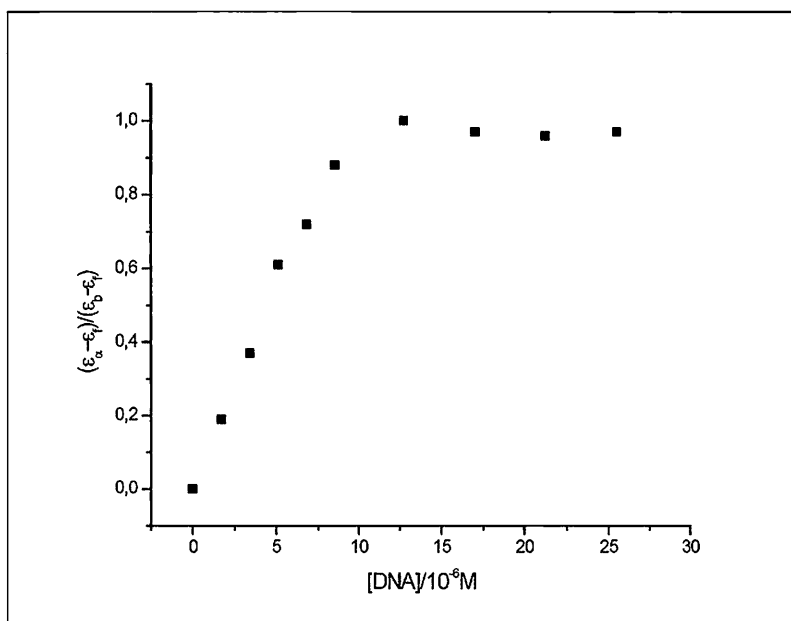
Από τον παραπάνω πίνακα εξάχθηκε το συμπέρασμα ότι ο μοριακός συντελεστής απόσβεσης ϵ της ταινίας MLCT του συμπλόκου αυξάνεται με την προσθήκη DNA. Η αύξηση του συντελεστή ϵ παρατηρείται έως ότου η συγκέντρωση του CT-DNA γίνει 12.75 μM . Για συγκεντρώσεις DNA άνω των 12.75 μM ο συντελεστής μοριακής

απόσβεσης ϵ τείνει να σταθεροποιηθεί. Επομένως το σύμπλοκο έχει δεσμευτεί πλήρως στο DNA όταν η συγκέντρωση του τελευταίου φτάσει τα $12.75\mu\text{M}$ ($r=0.64$). Το ϵ_f υπολογίστηκε σε 17535 για την ταινία του συμπλόκου απουσία DNA. Το ϵ_b υπολογίστηκε σε 19921, για την ταινία MLCT του συμπλόκου με συγκέντρωση DNA $12.75\mu\text{M}$. Παρακάτω απεικονίζονται τα φάσματα τιτλοδότησης του συμπλόκου με το DNA:



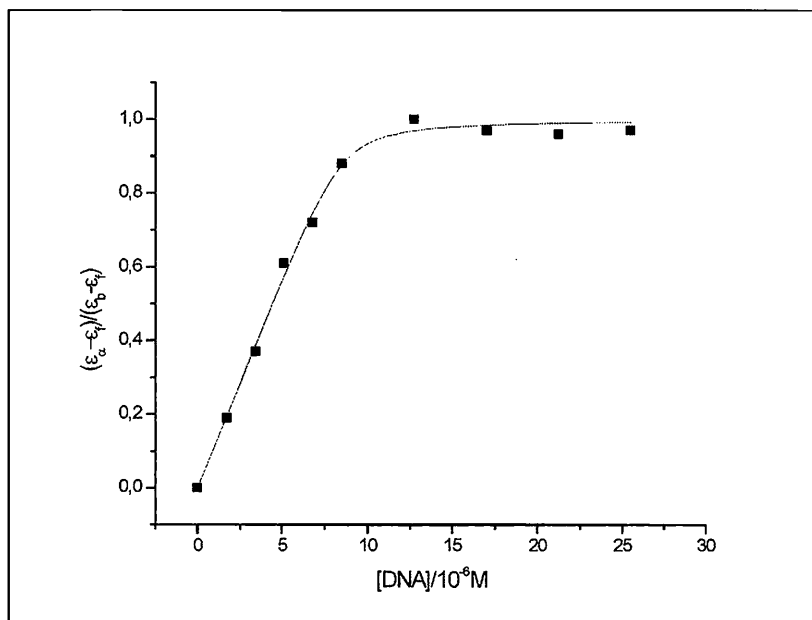
Σχήμα 3.20. Μεταβολές των φασμάτων υπεριώδους-ορατού του συμπλόκου κατά την τιτλοδότηση με διάλυμα CT-DNA.

Για την εύρεση της σταθεράς δέσμευσης K_b σχεδιάστηκε η γραφική παράσταση με άξονες χ' τις τιμές της δεύτερης στήλης του παραπάνω πίνακα (συγκέντρωση DNA) και ψ' τις τιμές της πέμπτης στήλης του παραπάνω πίνακα (το μέγεθος $(\epsilon_a - \epsilon_f)/(\epsilon_b - \epsilon_f)$). Η γραφική παράσταση απεικονίζεται παρακάτω:



Σχήμα 3.21. Γραφική παράσταση της συγκέντρωσης του DNA συναρτήσει του $(\epsilon_{\alpha}-\epsilon_f)/(\epsilon_{\beta}-\epsilon_f)$.

Στην παραπάνω γραφική παράσταση έγινε προσαρμογή (fitting) στην εξίσωση των Bard και Thorp που αναφέρθηκε παραπάνω, με παραμέτρους τα K_b και s , έτσι ώστε με βάση τις τιμές των τελευταίων να χαραχθεί η καλύτερη δυνατή καμπύλη που διέρχεται από τα περισσότερα σημεία.



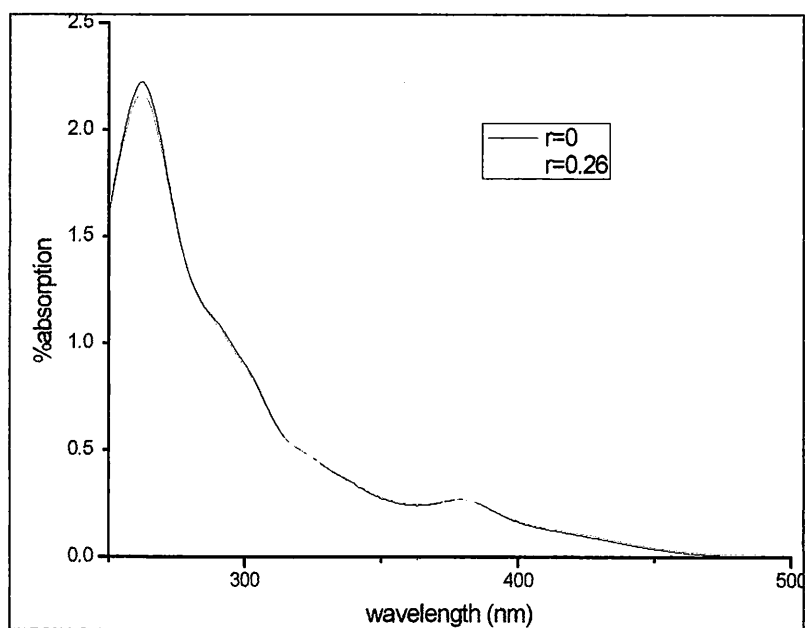
Σχήμα 3.22. Γραφική παράσταση της καλύτερης καμπύλης της συγκέντρωσης του DNA συναρτήσει του $(\epsilon_a - \epsilon_f)/(\epsilon_b - \epsilon_f)$, σύνδεση των σημείων.

Σύμφωνα με την παραπάνω γραφική παράσταση για τις τιμές $K_b = 2,9 \cdot 10^6 \text{M}^{-1}$, $s = 0,21$ και $C_f = 20 \cdot 10^{-6} \text{M}$ η παραπάνω καμπύλη είναι αυτή που διέρχεται από τα περισσότερα σημεία. Το s στην περίπτωση του συμπλόκου $[\text{Pt}^{\text{II}}(\text{ppy})(\text{prq})]\text{Cl}$ είναι 0,21. Η τιμή αυτή ισούται με τον αριθμό των βάσεων του DNA (ανά νουκλεοτίδιο) που δεσμεύονται ανά σύμπλοκο.

3.3.1.3. Μελέτη της αλληλεπίδρασης του συμπλόκου $[\text{Pt}^{\text{II}}(\text{ppy})(\text{prq})]\text{Cl}$ με CT-DNA και εύρεση της σταθεράς δέσμευσης K_b .

Στα φάσματα υπεριώδους – ορατού του συμπλόκου παρατηρήθηκε μια μικρή υπερχρωμία (αύξηση του ϵ) στην ταινία MLCT ($d_\pi(\text{Pt}) \rightarrow \pi^*(\text{ligand})$) (με $\lambda_{\text{max}} = 379 \text{nm}$) με την αύξηση της αναλογίας $r = [\text{DNA}]/[\text{σύμπλοκο}]$. Το φαινόμενο αυτό εξακολούθησε να παρατηρείται μέχρι μιας ανώτατης τιμής του r . Επιπλέον, κατά την προσθήκη του CT-DNA δεν παρατηρήθηκε υψιχρωμία ή βαθυχρωμία (μετατόπιση κατά μήκος του άξονα

χ'χ) της ταινίας MLCT (με $\lambda_{\max} = 379\text{nm}$) του συμπλόκου. Αυτές οι μεταβολές στο φάσμα υπεριώδους – ορατού του συμπλόκου υποδηλώνουν ότι το σύμπλοκο $[\text{Pt}^{\text{II}}(\text{ppy})(\text{dprq})]\text{Cl}$ αλληλεπιδρά με το CT-DNA, σε πολύ μικρότερο βαθμό όμως σε σχέση με τα προηγούμενα δύο σύμπλοκα. Παρακάτω παρατίθεται το φάσμα UV-Vis του συμπλόκου, σε σύγκριση με το αντίστοιχο φάσμα του συστήματος συμπλόκου – DNA σε αναλογία $r = [\text{DNA}]/[\text{σύμπλοκο}] = 0.26$



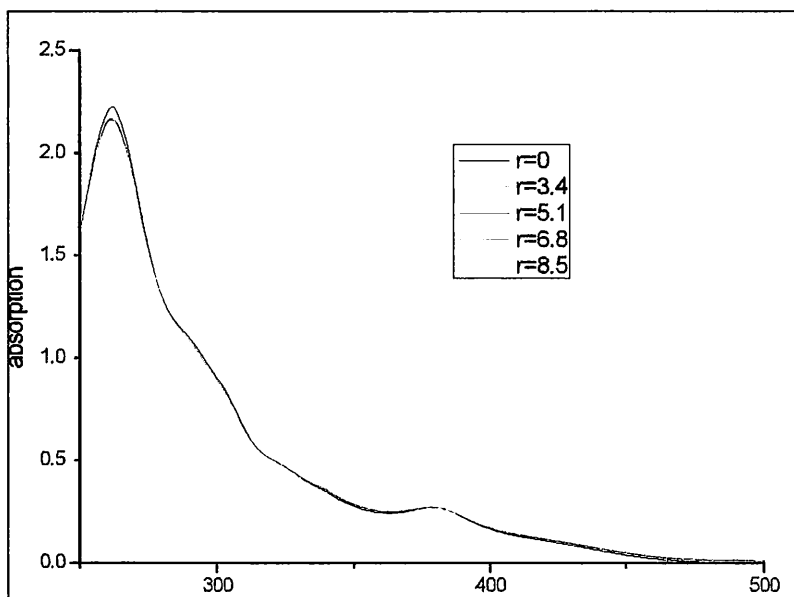
Σχήμα 3.23. Φάσμα υπεριώδους-ορατού του συμπλόκου απουσία και παρουσία του DNA σε αναλογία $r = 0,26$.

Η % υπερχρωμία στην ταινία μεταφοράς φορτίου MLCT του συμπλόκου βρέθηκε ίση με $\%H = 100 \cdot (A_b - A_f) / A_f = 0.45\%$. Σύμφωνα με αυτά τα δεδομένα η τιμή αυτή **δεν κρίθηκε ικανοποιητική** για τον προσδιορισμό της σταθεράς δέσμευσης K_b , αφού τιμές $\leq 1\%$ οριακά μπορούν να αποδώσουν ασφαλή μέτρηση της K_b . Παρόλα αυτά έγινε προσπάθεια προσδιορισμού της σταθεράς δέσμευσης K_b , η οποία δείχνει το πόσο ισχυρά συνδέεται το σύμπλοκο με το DNA. Η εύρεση της σταθεράς δέσμευσης βασίστηκε στο μοντέλο των Bard και Thorp. Τα αποτελέσματα της τιτλοδότησης του συμπλόκου με το DNA δίνονται στον παρακάτω πίνακα:

a/a	DNA σε μM Άξονας $\chi'\chi$	Απορρόφηση A της MLCT	μορ. συντελεστής ϵ_a	$(\epsilon_a - \epsilon_f)/(\epsilon_b - \epsilon_f)$ άξονας $\psi'\psi$
1	0	0.27099	$\epsilon_f=13549.5$	0
2	1.7	0.27159	13579.5	0.46
3	3.4	0.27204	13602	0.82
4	5.1	0.27221	$\epsilon_b=13610.5$	1.00
5	6.8	0.27218	13609	0.97
6	8.5	0.27215	13607.5	0.95
7	12.75	0.27216	13608	0.97

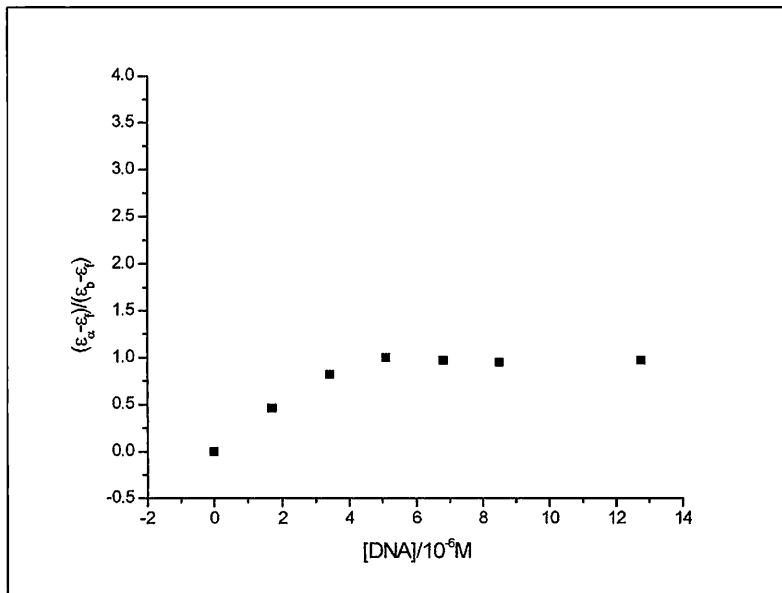
Πίνακας 3.15. Απεικόνιση των αποτελεσμάτων της τιτλοδότησης του συμπλόκου με CT-DNA.

Από τον παραπάνω πίνακα εξάχθηκε το συμπέρασμα ότι ο μοριακός συντελεστής απόσβεσης ϵ της ταινίας MLCT του συμπλόκου αυξάνεται με την προσθήκη DNA. Η αύξηση του συντελεστή ϵ παρατηρείται έως ότου η συγκέντρωση του CT-DNA γίνει 5.1 μM . Για συγκεντρώσεις DNA άνω των 5.1 μM ο συντελεστής μοριακής απόσβεσης ϵ τείνει να σταθεροποιηθεί. Επομένως το σύμπλοκο έχει δεσμευτεί πλήρως στο DNA όταν η συγκέντρωση του τελευταίου φτάσει τα 5.1 μM ($r=0.26$). Το ϵ_f υπολογίστηκε σε 13549.5 για την ταινία του συμπλόκου απουσία DNA. Το ϵ_b υπολογίστηκε σε 13610.5, για την ταινία MLCT του συμπλόκου με συγκέντρωση DNA 5.1 μM . Παρακάτω απεικονίζονται τα φάσματα τιτλοδότησης του συμπλόκου με το DNA:



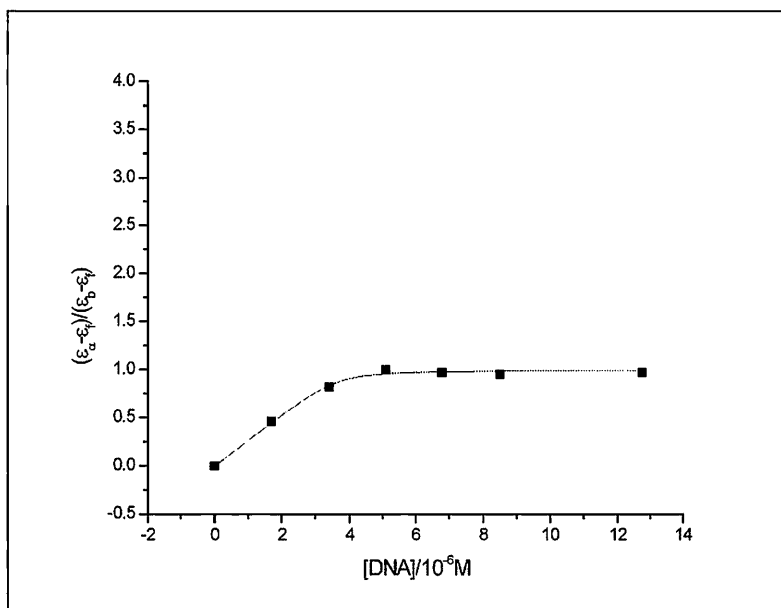
Σχήμα 3.24. Μεταβολές των φασμάτων υπεριώδους-ορατού του συμπλόκου κατά την τιτλοδότηση με διάλυμα CT-DNA.

Για την εύρεση της σταθεράς δέσμευσης K_b σχεδιάστηκε η γραφική παράσταση με άξονες χ^2 τις τιμές της δεύτερης στήλης του παραπάνω πίνακα (συγκέντρωση DNA) και ψ^2 τις τιμές της πέμπτης στήλης του παραπάνω πίνακα (το μέγεθος $(\epsilon_a - \epsilon_f) / (\epsilon_b - \epsilon_f)$). Η γραφική παράσταση απεικονίζεται παρακάτω:



Σχήμα 3.25. Γραφική παράσταση της συγκέντρωσης του DNA συναρτήσει του $(\epsilon_a - \epsilon_f)/(\epsilon_b - \epsilon_f)$.

Στην παραπάνω γραφική παράσταση έγινε προσαρμογή (fitting) στην εξίσωση των Bard και Thorp που αναφέρθηκε παραπάνω, με παραμέτρους τα K_b και s , έτσι ώστε με βάση τις τιμές των τελευταίων να χαραχθεί η καλύτερη δυνατή καμπύλη που διέρχεται από τα περισσότερα σημεία.



Σχήμα 3.26. Γραφική παράσταση της καλύτερης καμπύλης της συγκέντρωσης του DNA συναρτήσει του $(\epsilon_a - \epsilon_f) / (\epsilon_b - \epsilon_f)$, σύνδεση των σημείων.

Σύμφωνα με την παραπάνω γραφική παράσταση για τις τιμές $K_b = 2,7 \cdot 10^6 M^{-1}$, $s = 0,09$ και $C_f = 20 \cdot 10^{-6} M$ η παραπάνω καμπύλη είναι αυτή που διέρχεται από τα περισσότερα σημεία. Όπως παρατηρείται από τα πειραματικά αποτελέσματα το ποσοστό σφάλματος κατά τον υπολογισμό του K_b είναι πολύ μεγάλο, με αποτέλεσμα να γίνεται αδύνατος ο προσδιορισμός της σταθεράς K_b με ακρίβεια, όπως άλλωστε διαπιστώθηκε και παραπάνω. Το s στην περίπτωση του συμπλόκου $[Pt^{II}(ppy)(dprq)]Cl$ είναι 0,09. Η τιμή αυτή ισούται με τον αριθμό των βάσεων του DNA (ανά νουκλεοτίδιο) που δεσμεύονται ανά σύμπλοκο.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

4. Συμπεράσματα.

Στην παρούσα εργασία συντέθηκαν και χαρακτηρίστηκαν τα σύμπλοκα $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{rhen})]\text{Cl}$, $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{rhen-dione})]\text{Cl}$, $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{rqx})]\text{Cl}$, και $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{drq})]\text{Cl}$, με απλή αντίδραση των αντιστοιχών αρωματικών αμινών με το ορθομεταλλικό σύμπλοκο του λευκόχρυσου $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Pt}(\text{ppy})\text{Cl}_2]$ σε διάφορες συνθήκες διαλυτών και θερμοκρασίας. Σε όλες τις περιπτώσεις η αρωματική αμίνη δρα χηλικά μέσω των δύο αζώτων της, ενώ ο σχηματισμός του τελικού συμπλόκου διατηρεί τον δεσμό $(\text{ppy})\text{C}_2\text{-Pt}$ τόσο σε πολικούς διαλύτες όσο και σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 250°C που χρησιμοποιήθηκαν για τη σύνθεση του συμπλόκου $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{rqx})]\text{Cl}$ σε μορφή τήγματος, δείχνοντας αξιοσημείωτη θερμική σταθερότητα.

Όλα τα σύμπλοκα που μελετήθηκαν στις αλληλεπιδράσεις τους με CT-DNA δείχνουν ξεκάθαρα ότι δεν δρουν σαν κλασσικοί intercalators καθώς ούτε μετακίνηση του μεγίστου λ_{max} της MLCT παρατηρήθηκε αλλά ούτε και υποχρωμία της ίδιας ταινίας, φαινόμενα που παρατηρούνται σε περιπτώσεις παρεμβολής του επίπεδου αρωματικού μέρους ενός υποκαταστάτη του συμπλόκου μεταξύ των βάσεων του DNA. Ακόμη, η πολύ μικρή τιμή του s η οποία παρατηρήθηκε σε όλες τις περιπτώσεις, οδηγεί στο συμπέρασμα μιας μάλλον μη ειδικής σύνδεσης του συμπλόκου με το DNA, καθώς 5 έως 10 βάσεις του DNA αλληλεπιδρούν με ένα μόριο συμπλόκου.

Παρόλα αυτά οι τιμές των σταθερών σύνδεσης των συμπλόκων με το DNA είναι ιδιαίτερα υψηλές (περίπου 10^6), ανάλογες με εκείνες των κλασσικών intercalators, ακολουθώντας μάλιστα την αύξηση του μήκους του αρωματικού επιπέδου του υποκαταστάτη $\text{drq}\sim\text{rqx}>\text{rhen}$, δείχνοντας ότι το σύμπλοκο αλληλεπιδρά με το DNA από την πλευρά του υποκαταστάτη $\text{drq}\sim\text{rqx}>\text{rhen}$ και όχι από την πλευρά της φαίνυλοπυριδίνης (ppy).

Τα παραπάνω δεδομένα υποδηλώνουν την ύπαρξη μιας ισχυρής σύνδεσης των συμπλόκων στις αύλακες του DNA, μη ειδικώς (κύρια ή δευτερεύουσα) η οποία είναι γνωστό ότι δεν προκαλεί μεταβολές στο λ_{max} της MLCT, ενώ η μικρή τιμή της σταθεράς s που παρατηρείται έρχεται να ενισχύσει το παραπάνω συμπέρασμα. Επιπλέον, οι τιμές K_b της τάξης του $>10^6$ φαίνεται να αποτελούν ένα νέο πάνω όριο των τιμών της K_b για σύνδεση μορίων σε αύλακα του DNA.

Πειράματα για τον βιολογικό ρόλο των πιο πάνω ενώσεων βρίσκονται σε εξέλιξη.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ

1. **I. Kostova**, Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery, 2006, 1, 1-22.
2. **B. B. Tysnes and R. Bjerkvig**, Biochim. Biophys. Acta 2007, 1775, 283-297.
3. **H. Ali , J.E. van Lier**, Chem Rev 1999, 99, 2379-450.
4. **A.Y. Louie, T.J. Meade**, Chem Rev 1999, 99, 2711-34.
5. **B. Rosenberg, L.Van Camp, J.E.Trosko**, Nature, 1969, 222, 385.
6. **B. Rosenberg, L.Van Camp, T.Krigas**, Nature, 1965, 205, 698.
7. **M.A. Jakupec, M. Galanski, B.K. Keppler**, Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol., 2003, 146, 1-53.
8. **M. J . Clarke** Metal complexes in Cancer chemotherapy. Ed. Keppler, B. K., VCH, Weinheim, Germany, 1993, 129.
9. **P. J. Sadler; R. A. Sue**, Metal Based Drugs, 1994, 1, 107.
10. **M. Gielen**, Metal Based Drugs, 1994, 1, 213.
11. **E.A.H. Ebsworth, J.M. Edward, E.J.S. Reed , J.D. Whitelock**, J. Chem. Soc. Dalton, 1978, 1161.
12. **G. Natile, L. Maresca, L. Cattalini, U. Belluco, P. Uguagliati, U. Croatto**, Inorg. Chim. Acta, 1976, 20, 49.
13. **L. Maresca, G. Natile and L. Gattalini**, Inorg. Chim. Acta, 1975, 14, 79.
14. **Mary E. Howe-Grant and Stephen J. Lippard**, Metal Ions in Biological Systems, Ed. Sigel, vol. 11, p. 63.
15. **J. Chatt and D.M.P. Mingos**, J. Chem. Soc., A, 1969, 1770.
16. **P.J. O'Dwyer, J.P. Stevenson, S.W. Johnson**, Wiley-VCH, Weinheim, 1999, 31-69.
17. **M.S. Highley, A.H. Calvert**, Clinical experience with cisplatin and carboplatin, Humana, Totowa, 2000, 171-194.
18. **A.L. Pinto, S.J. Lippard**, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1985, 82, 4616.
19. **N.Χατζηλιάδης, Δ.Κόβαλα**, Βιοανόργανη Χημεία II, 1999,262-273.
20. **E. Gamelin, P. Allain, P. Maillart, A. Turcant, R. Delva, A. Lortholary, F. Larra**, Cancer Chemother. Pharmacol., 1995, 37, 97-102.
21. **S.E. Sherman, S.J. Lippard**, Chem. Rev., 1987, 87, 1153-1181.
22. **E. R. Jamieson, S. J. Lippard**, Chem. Rev., 1999, 99, 2467-98.

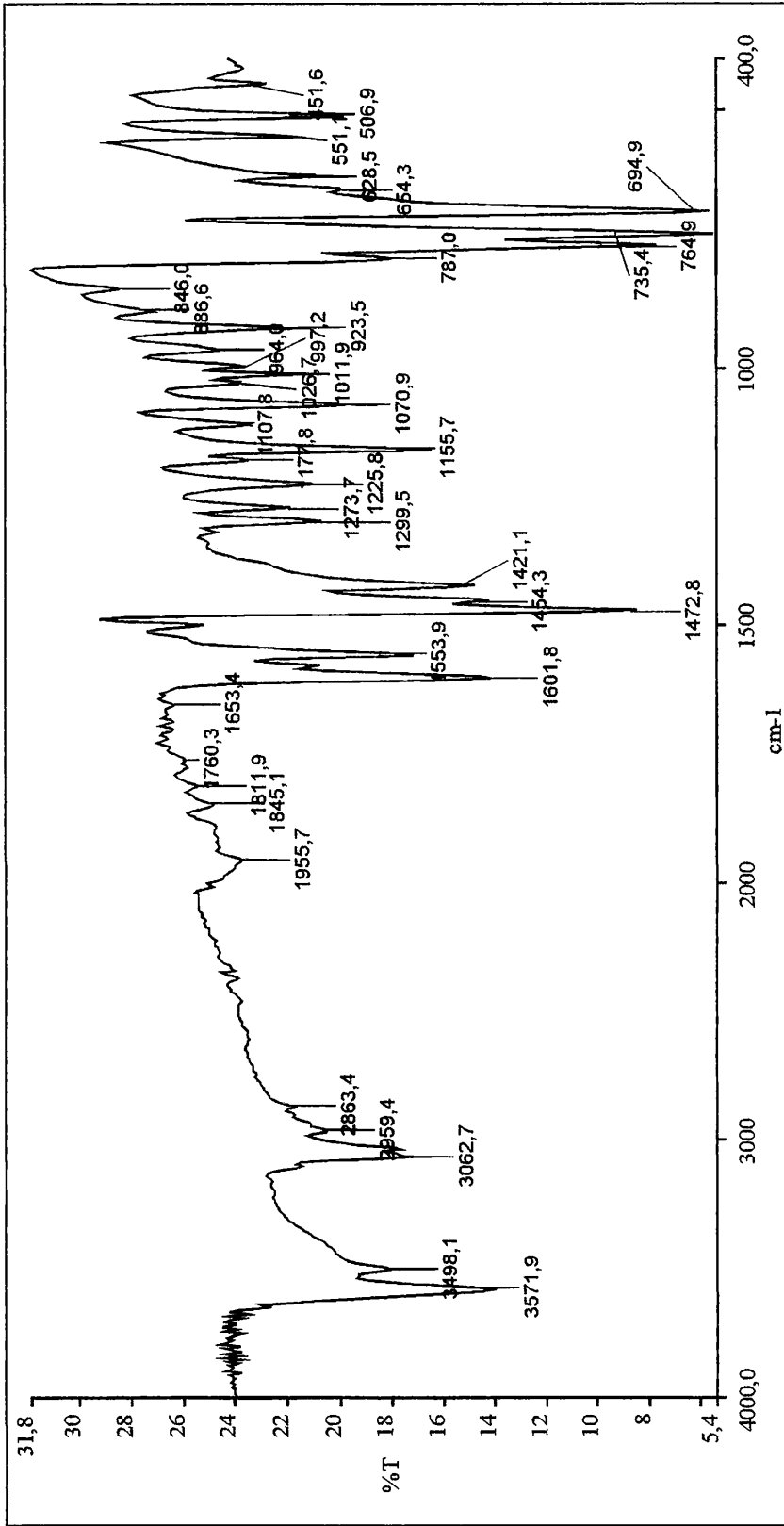
23. **R.J. Knox, F. Friedlos, D.A. Lydall, J.J. Roberts**, *Cancer Res.*, 1986, 46, 1972-1979.
24. **S.B. Dufull, B.A. Robinson**, *Clin. Pharmacokinet.*, 1997, 33, 161-183.
25. **W.J.F. van der Vijgh**, *Clin. Pharmacokinet.*, 1991, 21, 242-261.
26. **K.J. Barnham, M.I. Dluran, P. Murdoch, J.D. Ranford, P.J. Sadler**, *Inorg. Chem.*, 1996, 35, 1065-1072.
27. **F.A. Blommaert, H.C.M. van Dijk-Knijenburg, F.J. Dijt, L. den Engelse, R.A. Baan, P. Berends, A.M.J. Fichtinger-Shepman**, *Biochemistry*, 1995, 34, 8474-8480.
28. **J.L. Misset, H. Bleiberg, W. Sutherland, M. Bekradda, E. Cvitkovic**, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 2000, 35, 75-93.
29. **E. Cvitkovic, M. Bekradda**, *Semin. Oncol.*, 1999, 26, 647-662.
30. **P. Chollet, M.A. Bensmaïne, S. Brienza, C. Deloche, H. Curé, H. Callet, E. Cvitkovic**, *Ann. Oncol.*, 1996, 7, 1065-1070.
31. **M.J. Piccart, J.A. Green, A.J. Lacave, N. Reed, I. Vergote, P. Benedetti-Panici, A. Bonetti, V. Kristeller-Tome, C.M. Fernandez, D. Curran, M. van Glabekke, D. Lacombe, M.C. Pinel, S. Pecorelli**, *J. Clin. Oncol.*, 2000, 18, 1193-1202.
32. **C. Garufi, C. Nisticò, S. Brienza, A. Vaccaro, A. D'Ottavio, A.R. Zappala, A.M. Aschelter, E. Terzoli**, *Ann. Oncol.*, 2000, 12, 179-182.
33. **I. Monnet, S. Brienza, F. Hugret, S. Voisin, J. Gastiaburu, J.C. Saltier, P. Soulié, J.P. Armand, E. Cvitkovic, H. de Cremoux**, *Eur. J. Cancer*, 1998, 34, 1124-1127.
34. **J.M. Extra, M. Espie, F. Caivo, C. Ferme, L. Mignot, M. Marty**, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 1990, 25, 299-303.
35. **F. Levi, G. Metzger, C. Massari, G. Miiانو**, *Clin. Pharmacokinet.* 2000, 38, 1-21.
36. **M.A. Graham, G.F. Lockwood, D. Greenslade, S. Brienza, M. Bayssas, E. Gamelin**, *Clin. Cancer Res.*, 2000, 6, 1205-1218.
37. **F.R. Luo, S.D. Wyrick, S.G. Chaney**, *Oncol. Res.*, 1998, 10, 595-603.

38. J.M. Woynarowski, S. Faivre, M.C.S. Herzig, P. Juniewicz, *Mol. Pharmacol.*, 2000, 58, 920-927.
39. S. Moradell, J. Lorenzo, A. Rovira, J. Inorg. Biochem., 2003, 96, 493-502.
40. Y. Kageyama, Y. Yamazaki, H. Okumo, *J. Inorg. Biochem.*, 1998, 70, 25-32.
41. T. Hirano, K. Inagaki, T. Fukai, M. Alink, H. Nakahara, Y. Kidani, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 1990, 38, 2850-2.
42. M. Yoshida, A.R. Khokhar, Z.H. Ziddik, *Oncol. Rep.*, 1998, 5, 1281-7.
43. J.M. Perez, E.I. Montero, A.M. Gonzalez, A. Alvarez-Valdes, C. Alonso, C. Navarro-Ranninger, *J. Inorg. Biochem.*, 1999, 77, 37-42.
44. N. Farrell, L.F. Povirk, Y. Dange, *Biochem. Pharmacol.*, 2004, 68, 857-66.
45. G. Pratesi, P. Perego, D. Polizzi, *Br. J. Cancer*, 1999, 80, 1912-9.
46. M.D. Hall, C. Martin, D.J. Ferguson, R.M. Phillips, T.W. Hambley, R. Gallagher, *Biochem. Pharmacol.*, 2004, 67, 17-30.
47. D. Kovaia-Demertzi, P.N. Yadav, M.A. Demertzis, M. Coluccia, *J. Inorg. Biochem.*, 2000, 78, 347-54.
48. I. Lakomska, E. Szlyk, J. Sitkowski, *J. Inorg. Biochem.*, 2004, 98, 167-72.
49. E.T. Martins, H. Baruah, J. Kramarczyk, *J. Med. Chem.*, 2001, 44, 4492-6.
50. E. Brzezynska-Blaszczyk, M. Mincikiewicz, J. Gchocki, *Eur. J. Pharmacol.*, 1996, 298, 155-8.
51. T. Okada, I. M. El-Mehasseb, M. Kodaka, T. Tomohiro, K. Okamoto and H. Okuno, *J. Med. Chem.* 2001, 44, 4661-4667.
52. M. Cusumano, G. Gianetto, *J. Inorg. Biochem.*, 1997, 65, 137-144.
53. W.I. Sundquist and S.J. Lippard, *Coord. Chemistry Rev.*, 1990, 100, 293-322.
54. K.P. Balashev, M.V. Puzyk, V.S. Kotlyar, M.V. Kylikova, *Coord. Chemistry Rev.*, 1997, 159, 109-120.
55. K.P. Balashev, M.A. Ivanov, T.V. Taraskina, E.A. Cherezova, *Russian Journal of General Chemistry*, 2006, 76, 781-790.
56. P.I. Kvam, and J. Songstad, *Acta Chem. Scand.*, 1995, 49, 313-324.
57. P.-I. Kvam, T. Engebretsen, K. Maartmann-Moe and J. Songstad, *Acta Chem. Scand.*, 1996, 50, 107.

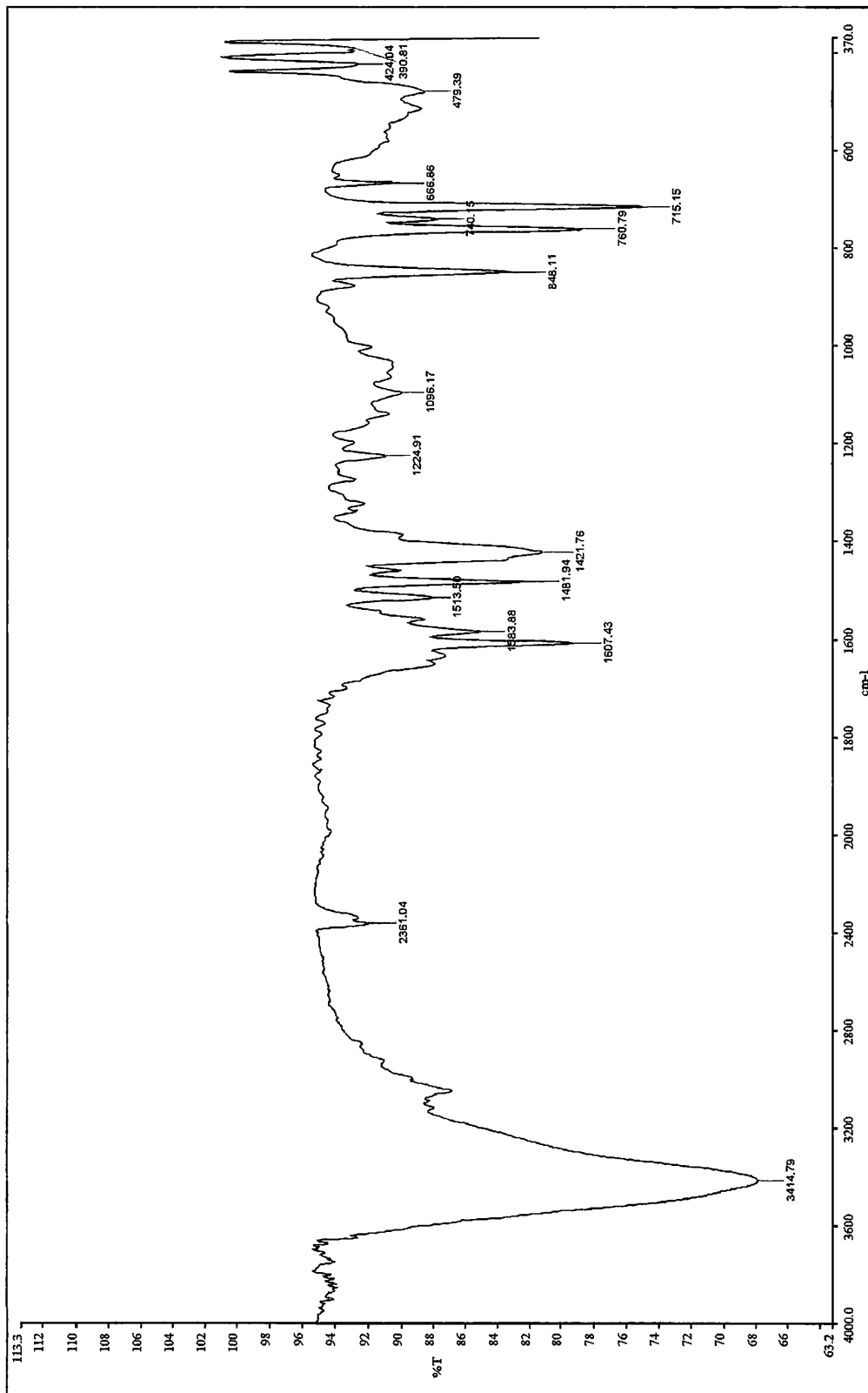
58. **K. Szacilowski, W. Macyk, A. Drzewiecka-Matuszek, M. Brindell and G. Stochei**, *Chem. Rev.*, 2005, 105, 2647-2694.
59. **R.T. Morrison, R.N. Boyd**, *Organic Chemistry*, Ed. Prentice Hall.
60. **M. Howe-Grant, S.J. Lippard**, *Biochemistry*, 1979, 18, 5762.
61. **F. J. Dijt, G.W. Canters, J.H.J. den Hartog, A.T.M. Marcelis, J. Reedijk, J.**
Am. Chem. Soc. 1984, 106, 3644.
62. **H. Schollhorn, R. Beyerle-Pfnur, U. Thewalt, B. Lippert**, *J. Am. Chem. Soc.*
1986, 108, 3680.
63. **S. Mansy, G.Y.H. Chu, R.E. Duncan, R.S. Tobias**, *J. Am. Chem. Soc.* 1978,
100, 607.
64. **A.C.M. Plooy, M. Van Dijk, P.H.M. Lohman**, *Cancer Res.* 1984,44, 2043.
65. **L. S. Lerman**, *J. Mol. Biol.*, 1961, 3, 18.
66. **W. D. Wilson , R. L. Jones**, *Adv. Pharmacol. Chemother.*,1981, 18, 177.
67. **G. Dougherty, W.J. Pigram**, *CRC Crit. Rev. Biochem.*, 1982, 12, 103.
68. **J. Marmur**, *J. Mol. Biol.* 1961, 3, 208–218.
69. **H.-Q. Liu, T.-C. Cheung, S.-M. Peng, C.-M. Che**, *J. Chem. Soc., Chem.*
Commun. 1995, 1787–1788.
70. **Sven Schäfer, Ingo Ott, Ronald Gust, and William S. Sheldrick**, *Eur. J. Inorg.*
Chem. 2007, 3034–3046.
71. **Michael T. Carter, Marisol Rodriguez, and Allen J. Bard**, *J. Am. Chem. Soc.*
1989, 111, 8901-8911.
72. **S. Kasselouri, A. Garoufis, A. Katehanakis, G. Kalkanis, S. Perlepes, N.**
Hadjiliadis, *Inorg. Chim. Acta*, 1993, 207, 255-258
73. **F. Calderazzo, F. Marchetti, G. Pampaloni, V. Passarelli**, *J. Chem. Soc.*
Dalton Trans., 1999, 4389
74. **J.G. Collins, A.D. Sleeman, J.R. Aldrich-Wright, I. Greguric, T.W. Hambley**,
Inorg. Chem., 1998, 37, 3133-3141
75. **C.A. Craig, F.O. Garces, R.J. Watts, R. Palmans A.J. Frank**, *Coord. Chem.*
Rev., 1990, 97, 193-208
76. **F. Liu, K. Wang, G. Bai, Y. Zhang, L. Gao**, *Inorg. Chem.*, 2004, 43, 1444-1447.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1

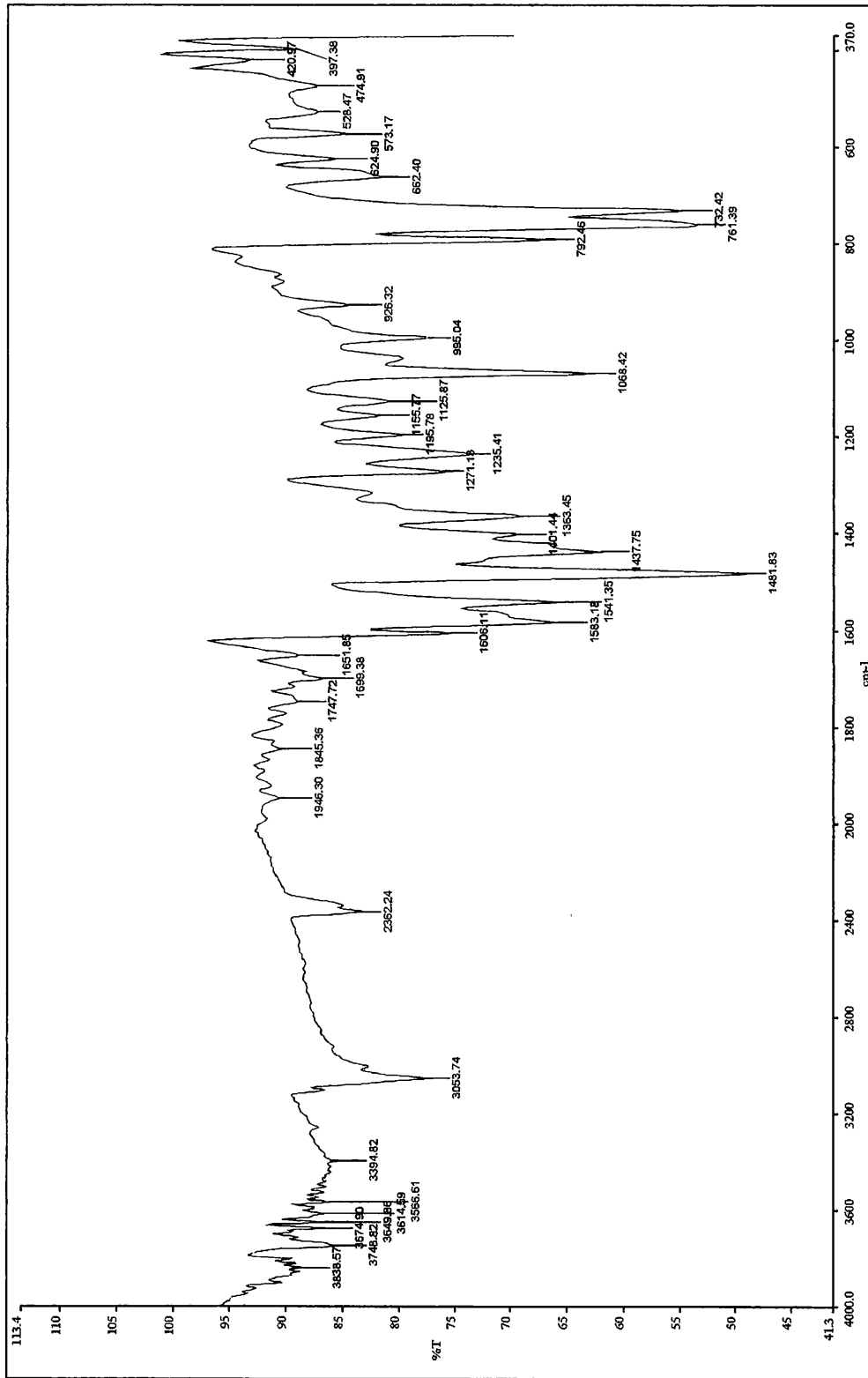
ΠΑΡΑΘΕΣΗ ΦΑΣΜΑΤΩΝ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ



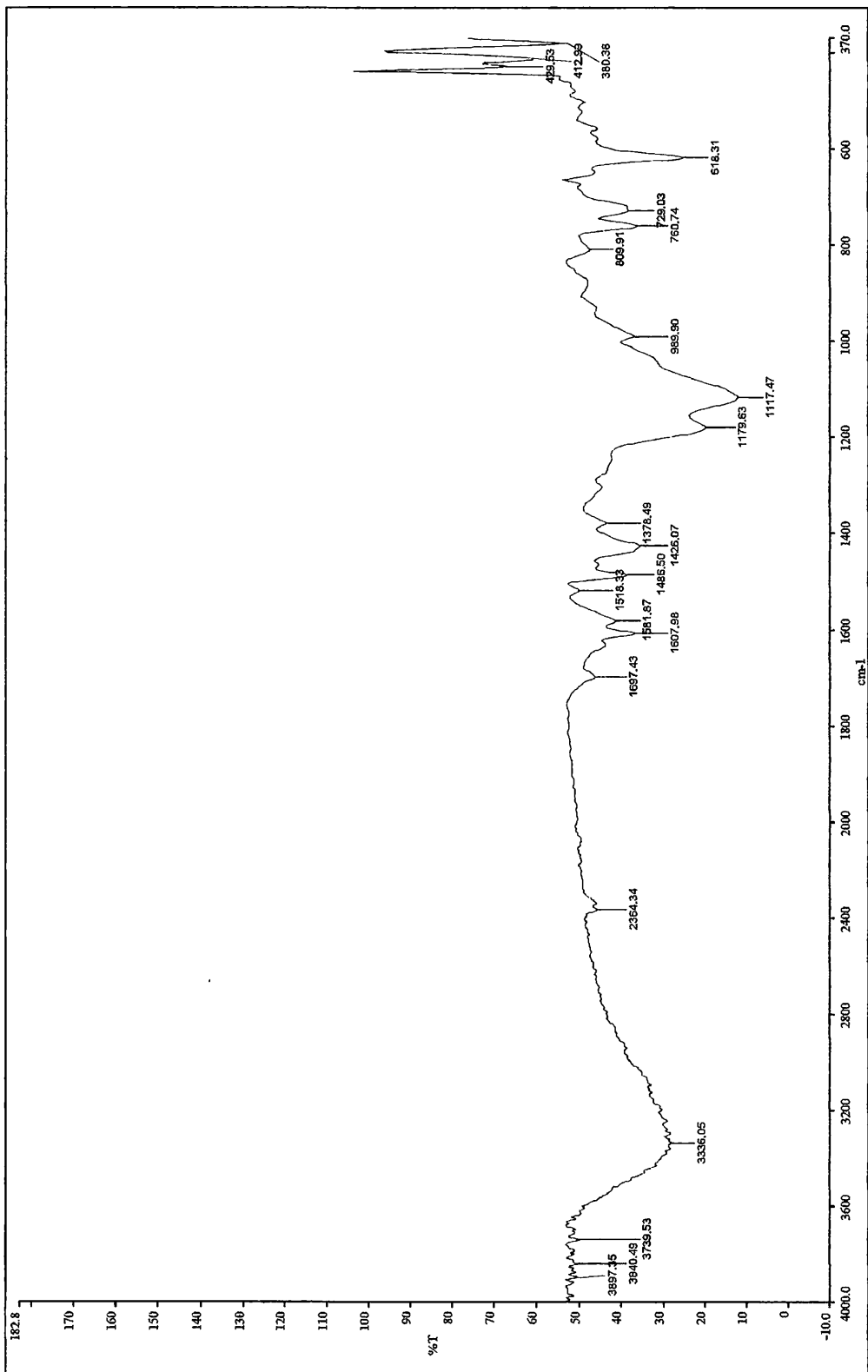
1.1. Φάσμα υπέρυθρου του $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Pt}(\text{ppy})\text{Cl}_2]$.



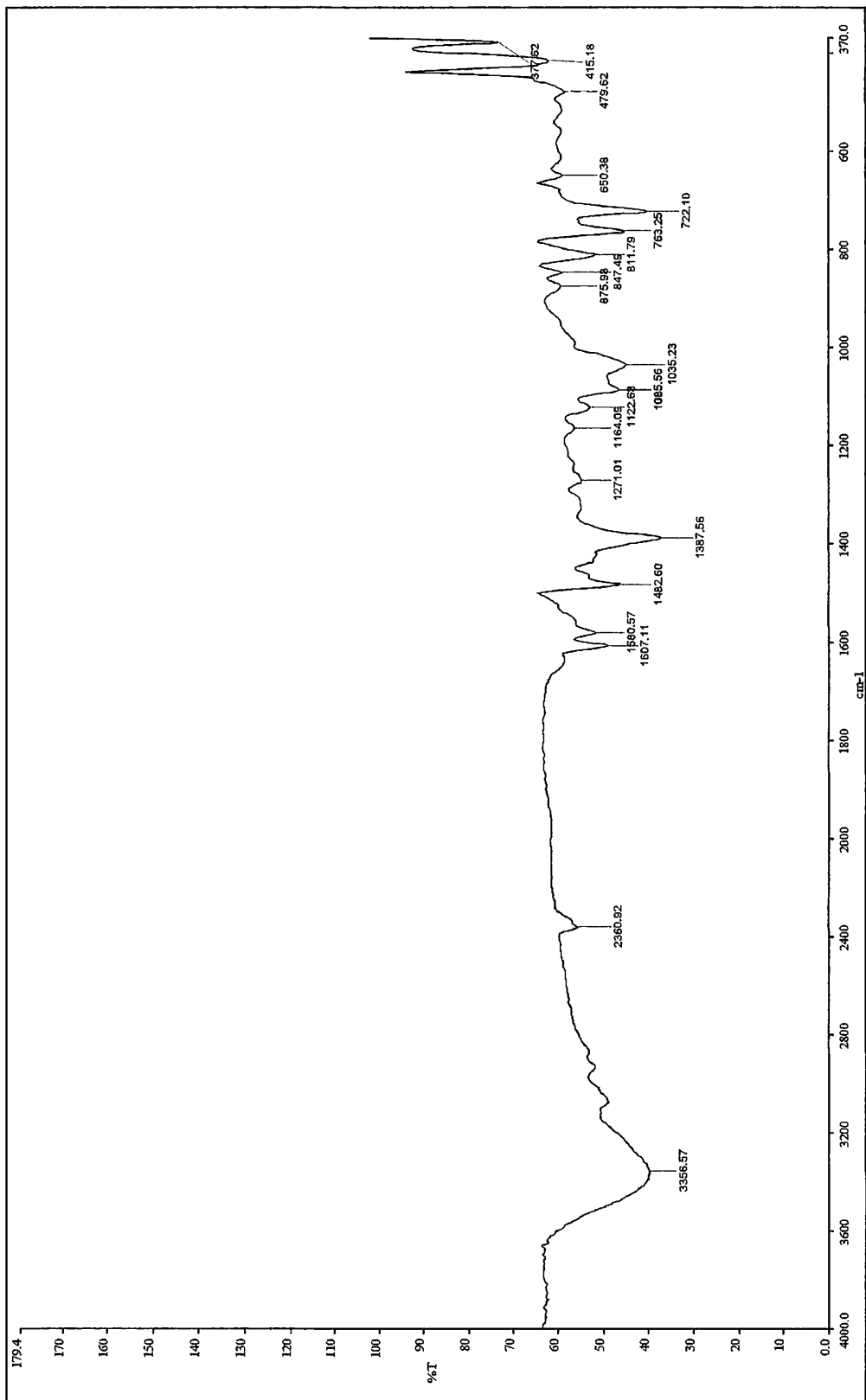
1.2. Φάσμα υπέρυθρου του συμπλόκου [Pt(ppy)(phen)]Cl.



1.3. Φάσμα υπεράθρου του συμπλόκου [Pt(ppy)(pqa)]Cl.



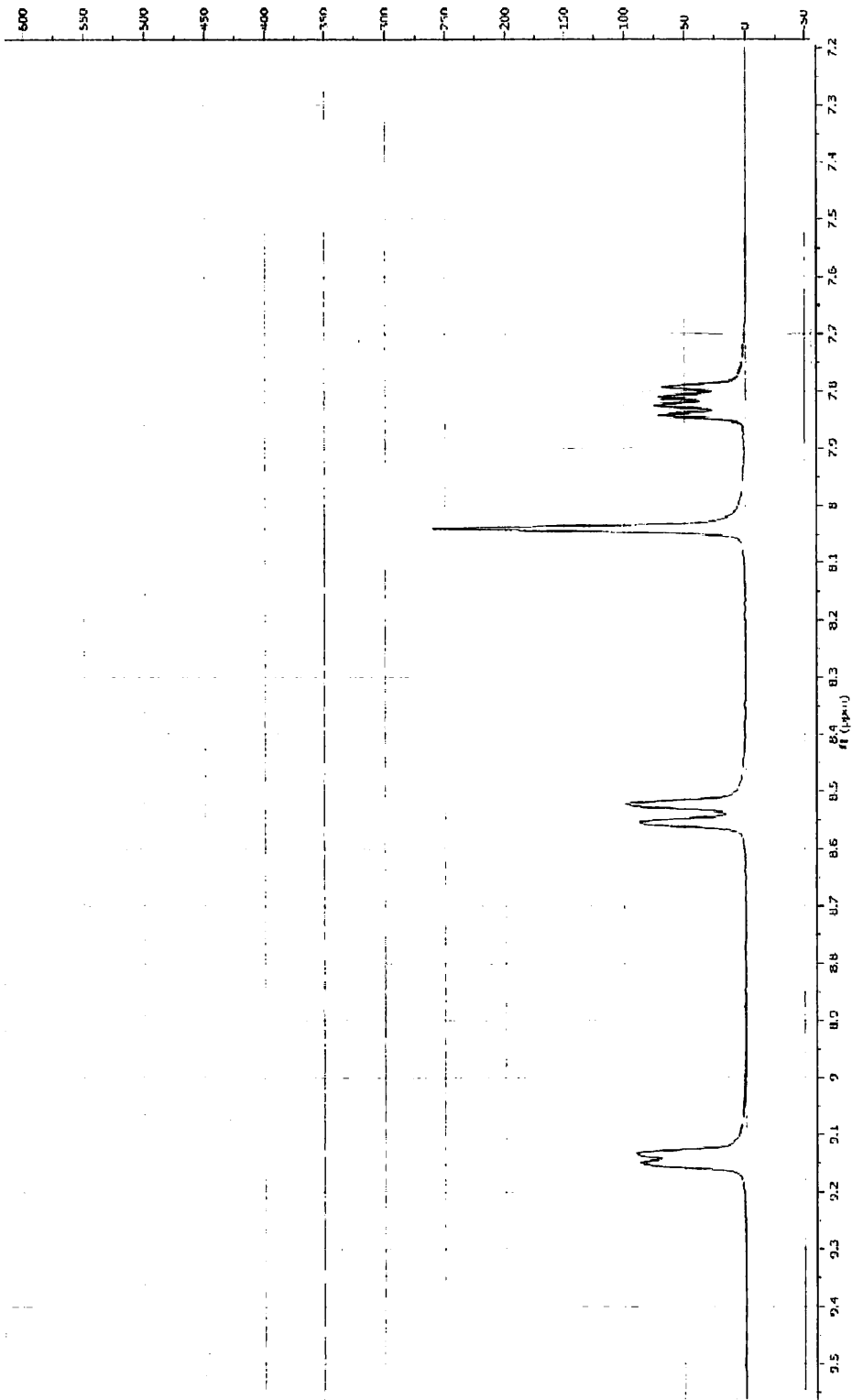
1.4. Φάσμα υπέρυθρου του συμπλόκου $[Pt(ppy)(phen-dione)]Cl$.



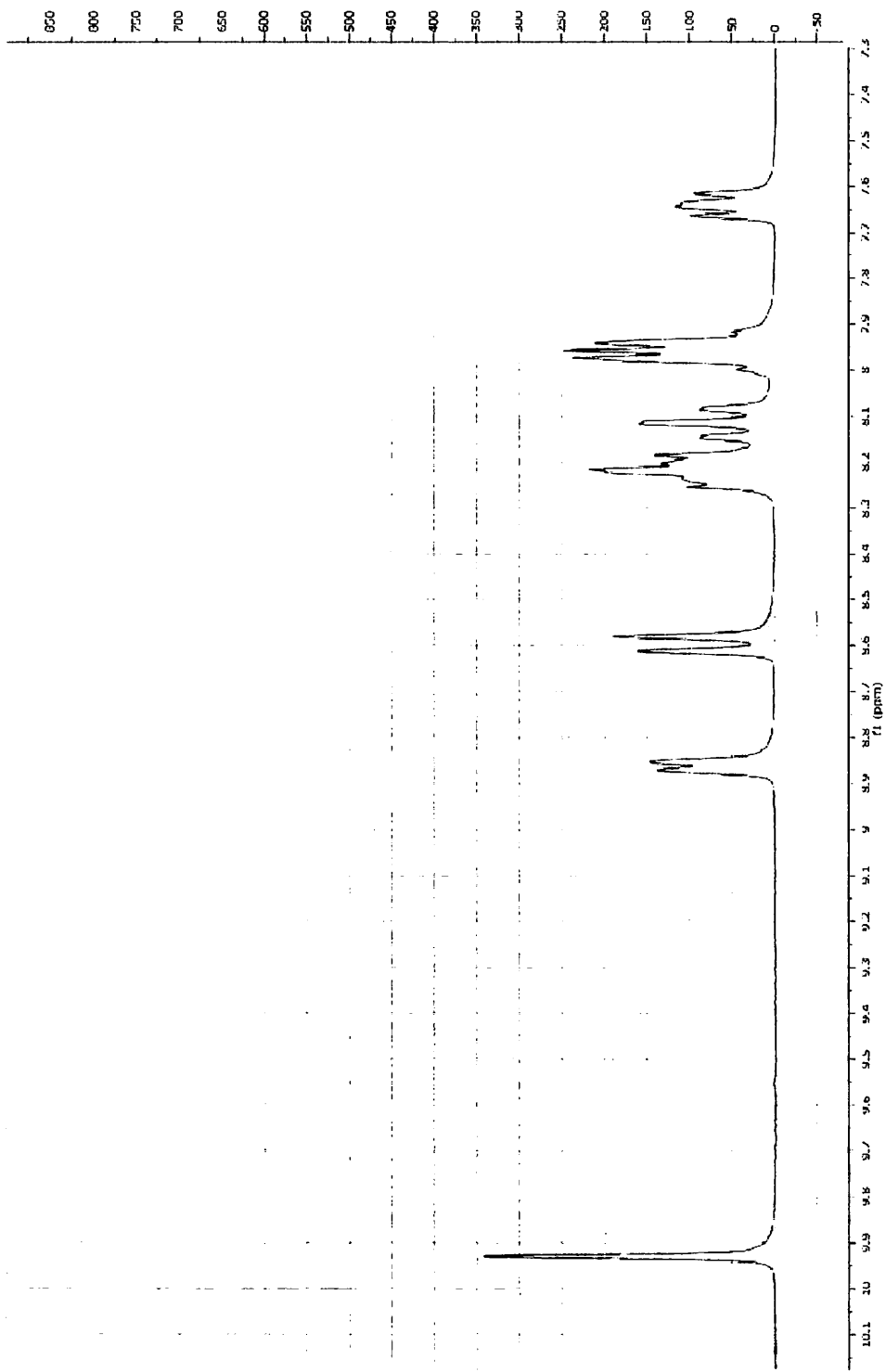
1.5. Φάσμα υπέρυθρου του συμπλόκου [Pt(ppy)₃]Cl.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2

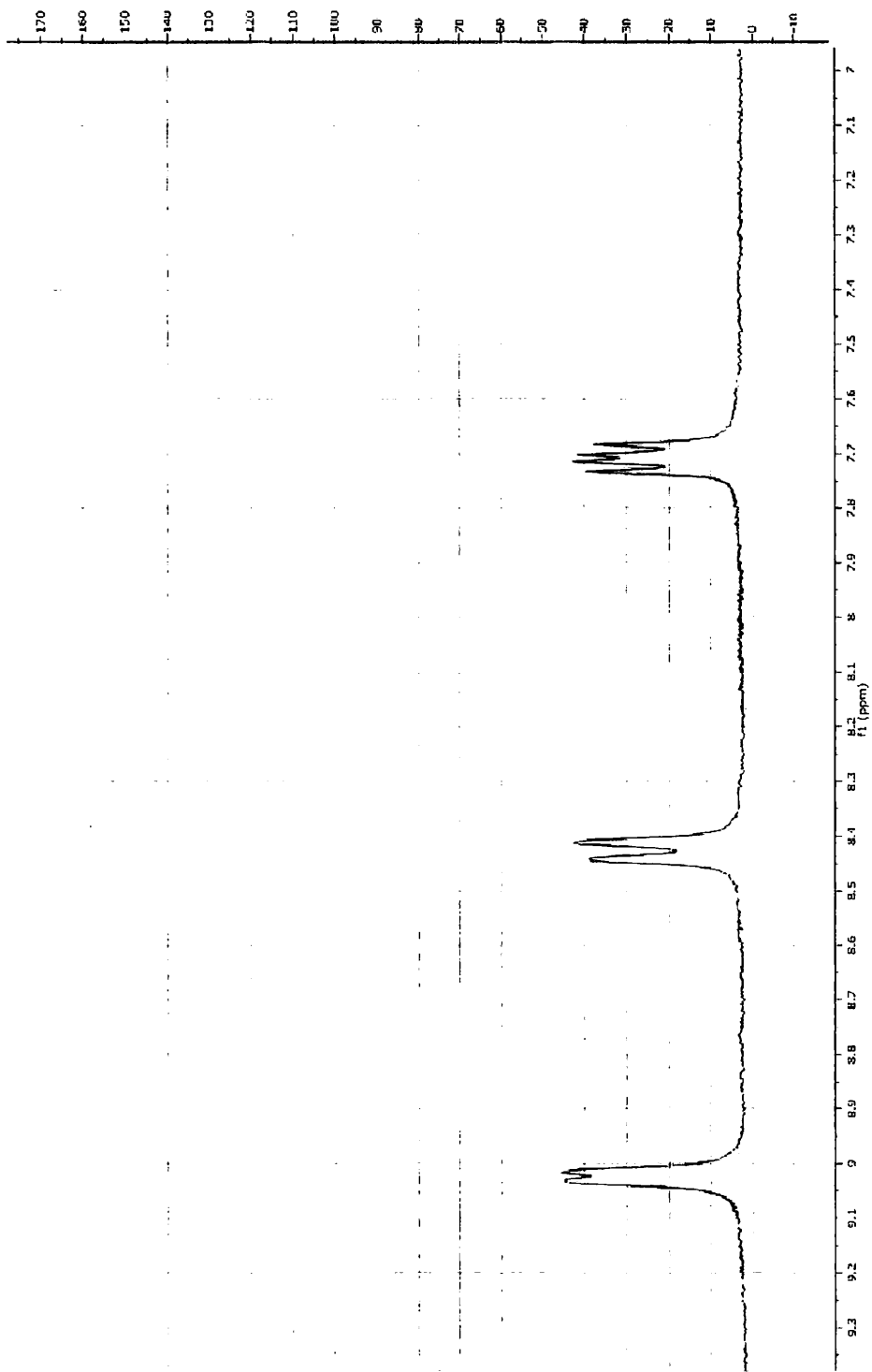
ΠΑΡΑΘΕΣΗ ΦΑΣΜΑΤΩΝ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ



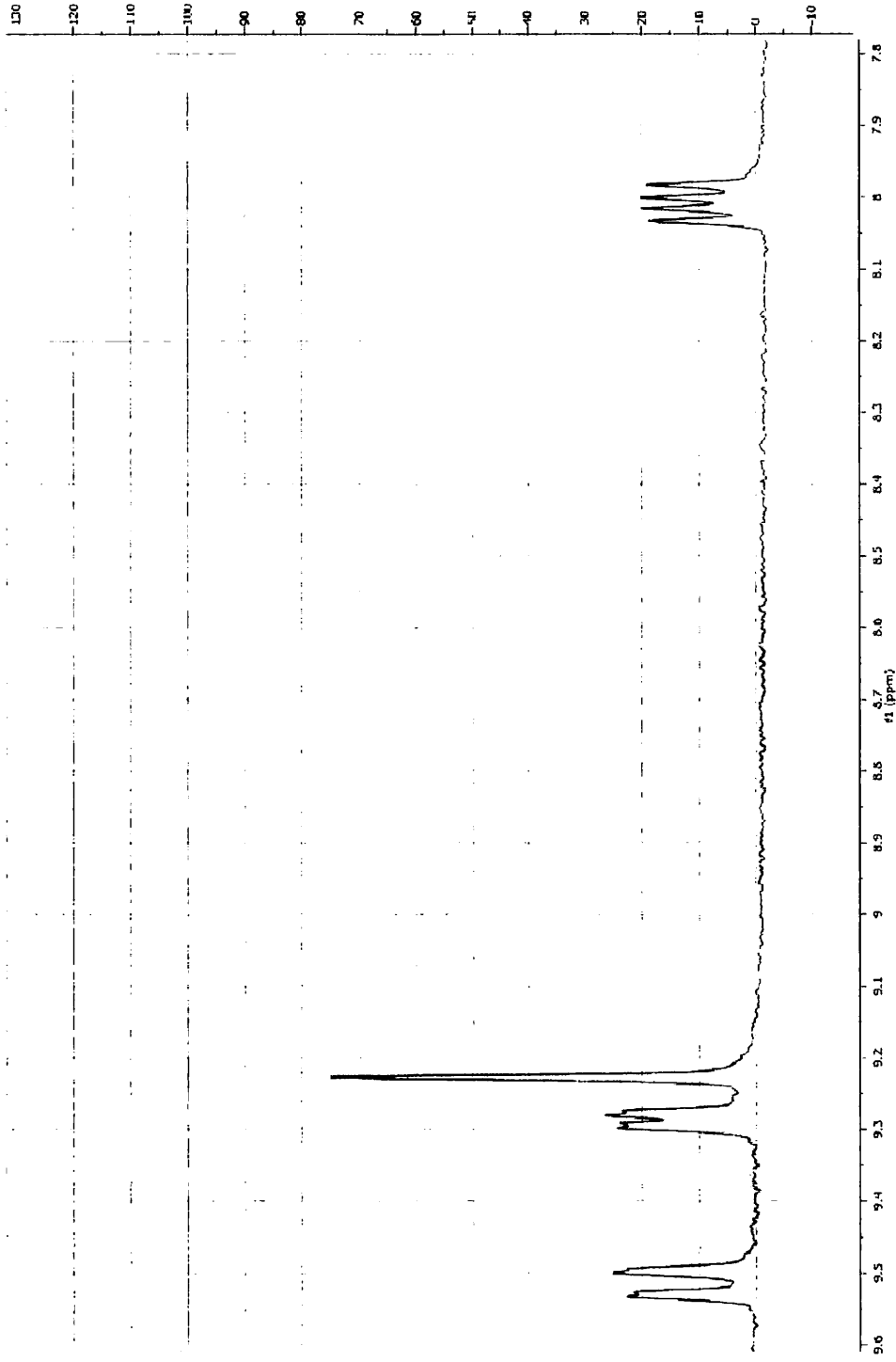
2.1. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ 1D του υλοκαταστάτη 1,10-phenanthroline.



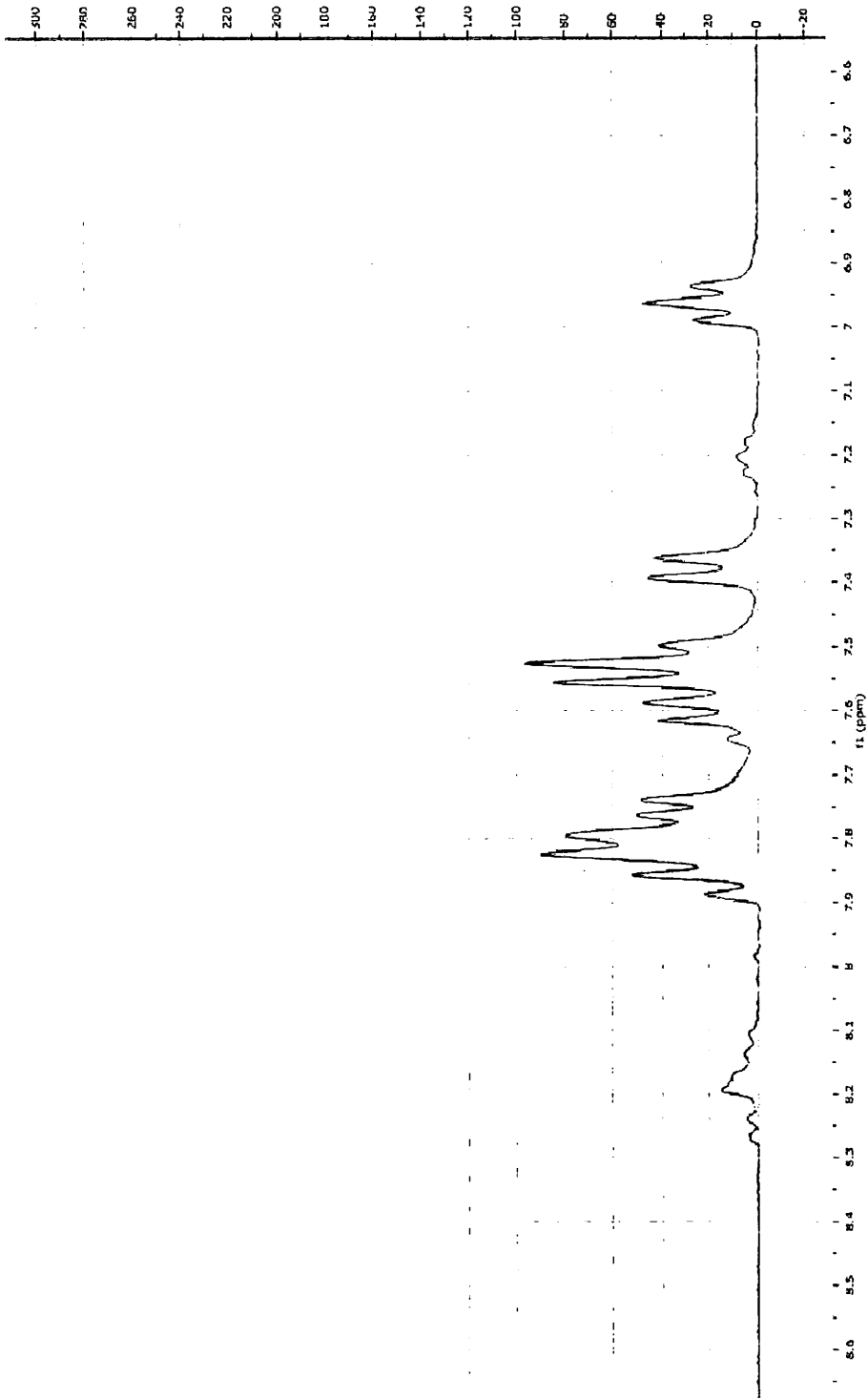
2.2. Φάσμα ¹H-NMR 1D του υποκαταστάτη 2-(2'-pyridyl-quinoline).



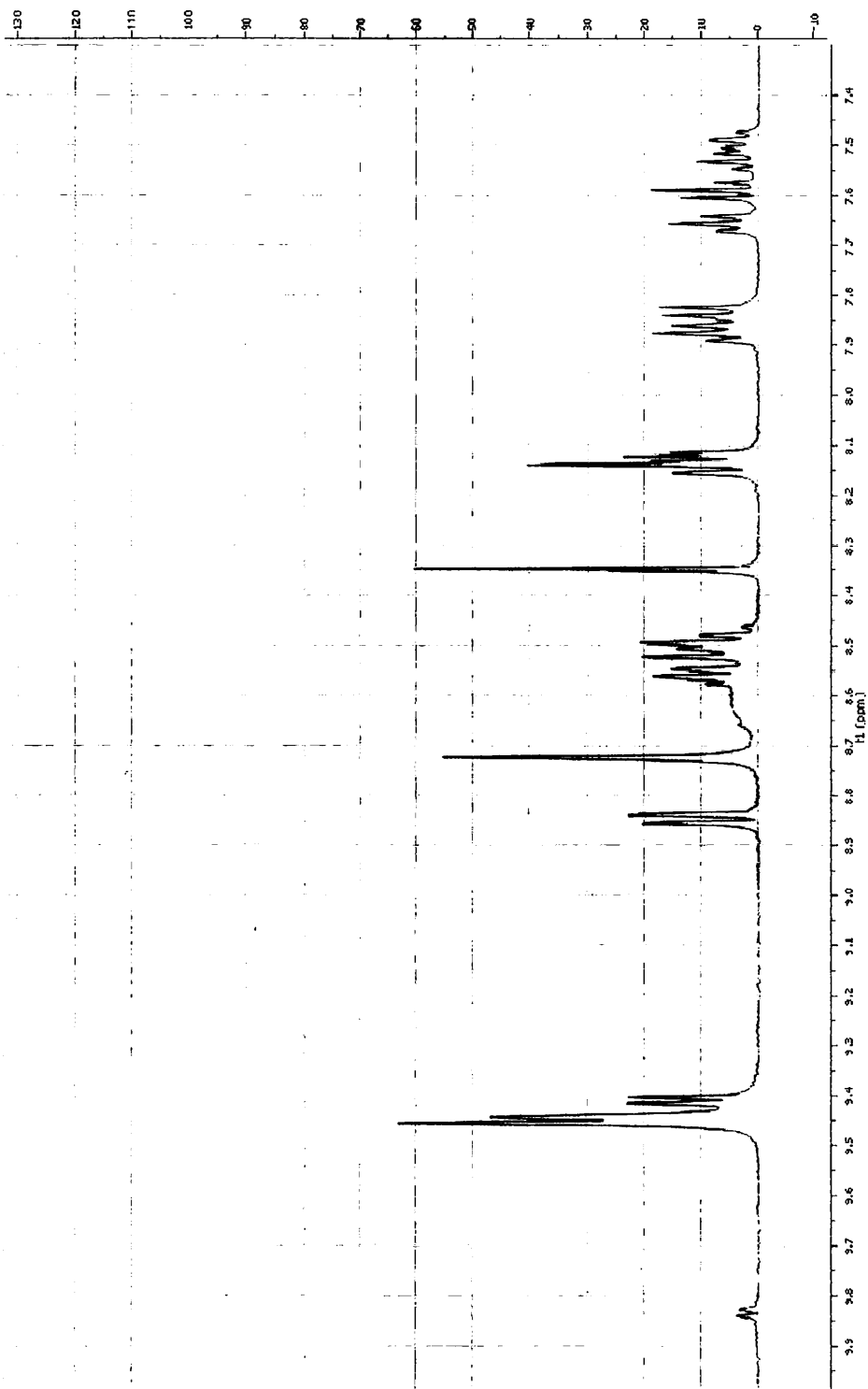
2.3. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ 1D του υλοκαταστάτη 1,10-phenanthroline-5,6-dione.



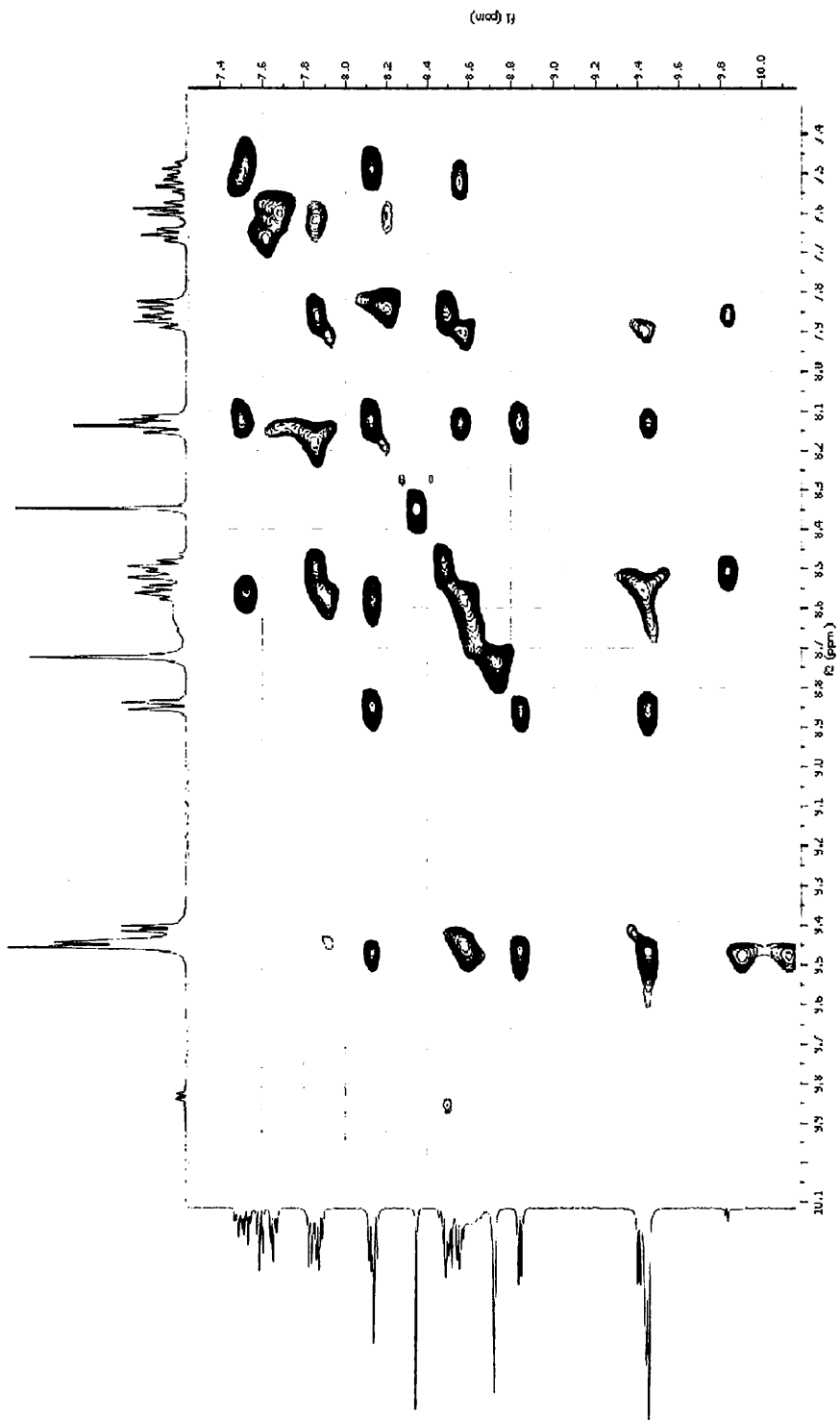
2.4. Φάσμα ¹H-NMR 1D του υποκαταστάτη διπυρίδο[3,2-d:2',3'-f] quinoxaline.



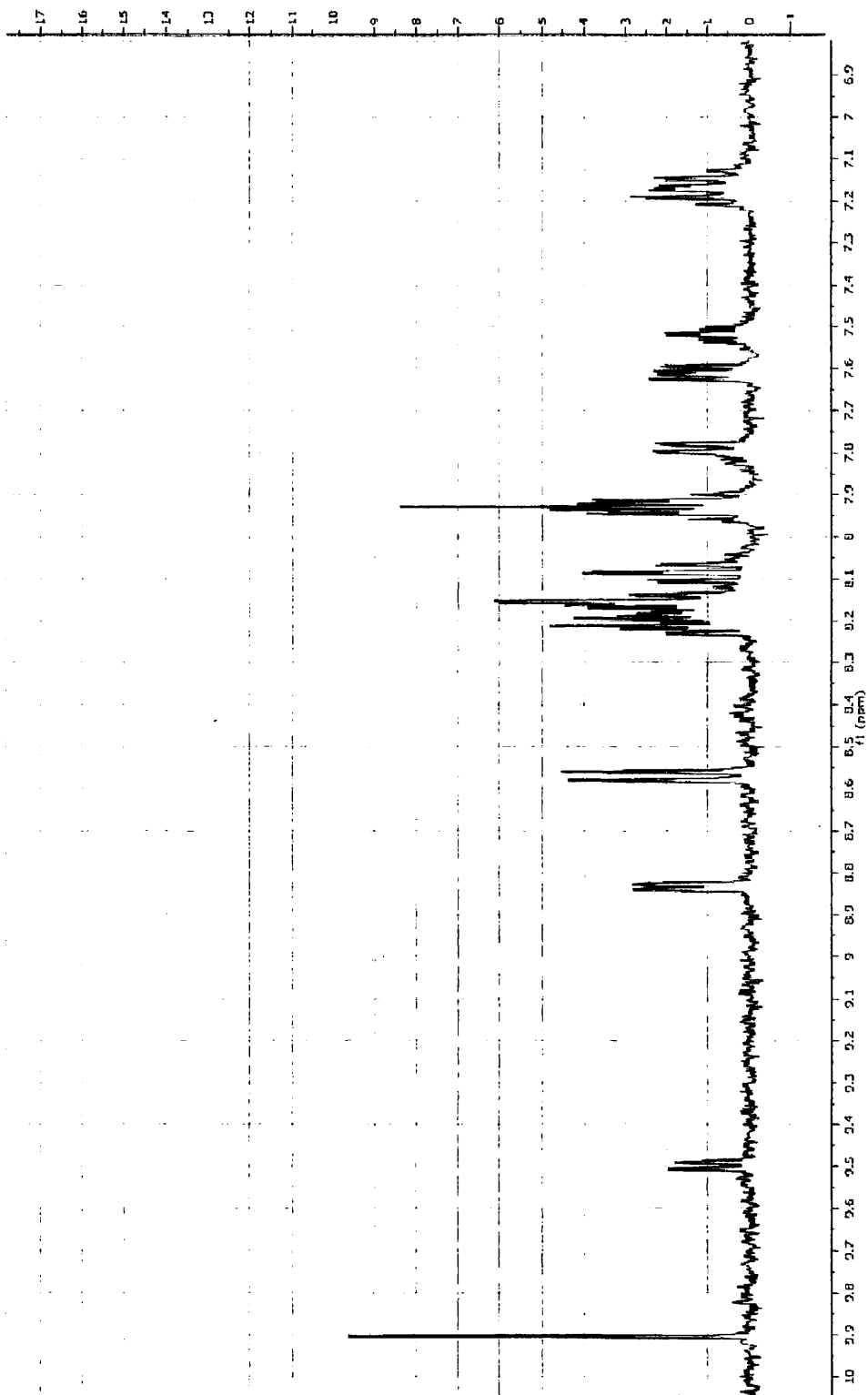
2.5. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ 1D του $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Pt}(\text{ppy})\text{Cl}_2]$.



2.6. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ 1D του συμπλόκου $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{phen})]\text{Cl}$.

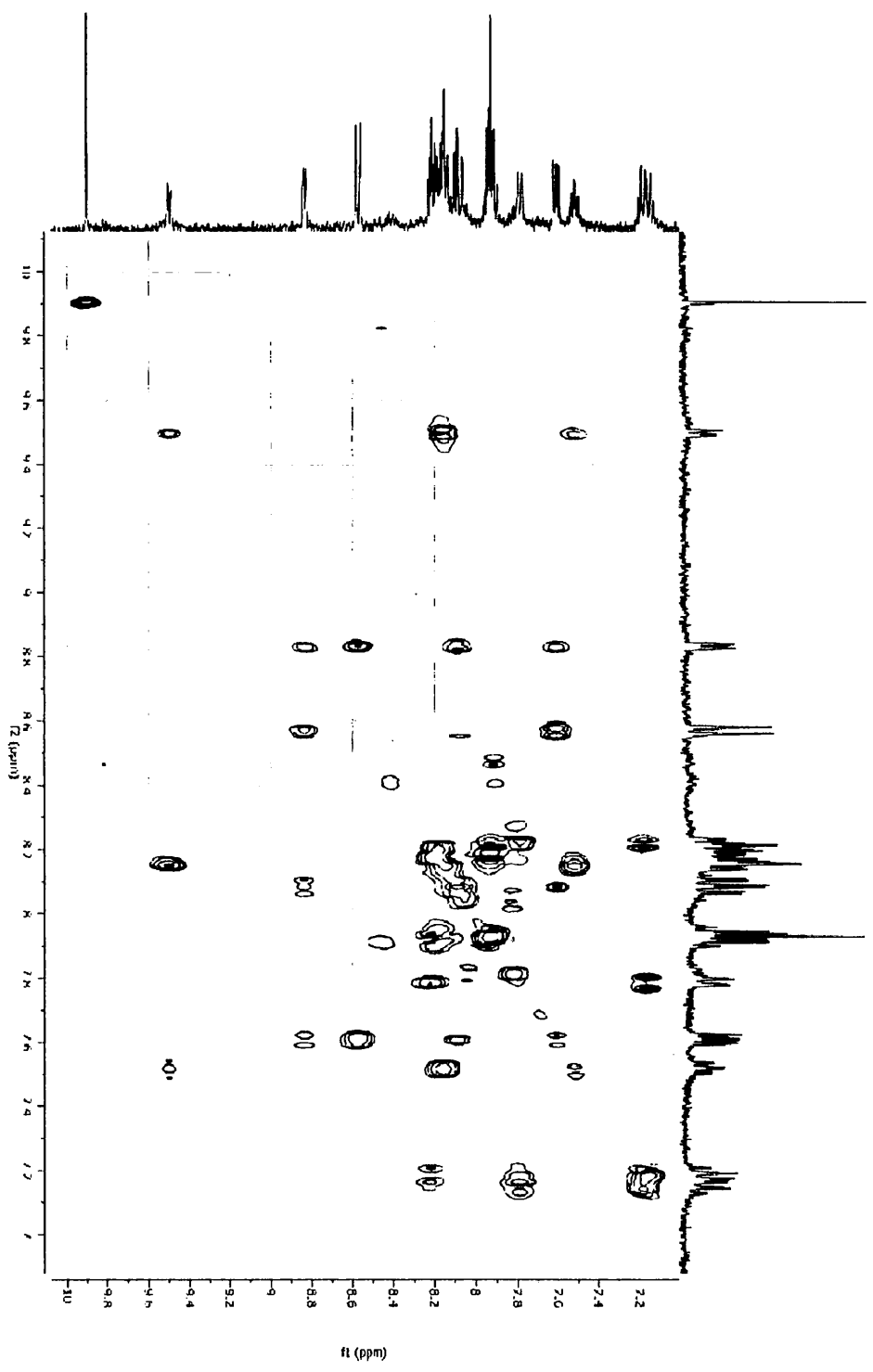


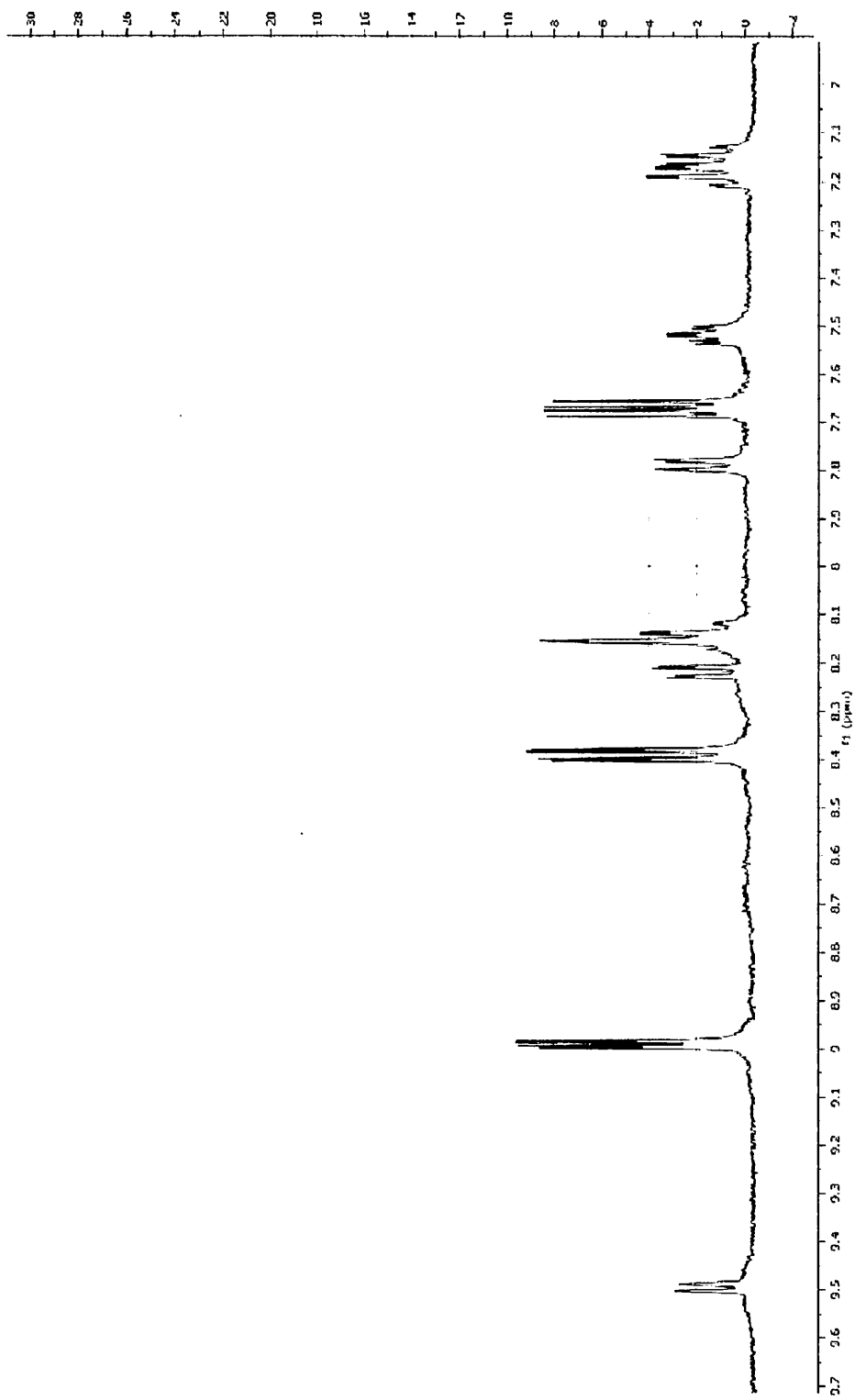
2.7. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ TOCSY του συμπλόκου $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{phen})]\text{Cl}$.



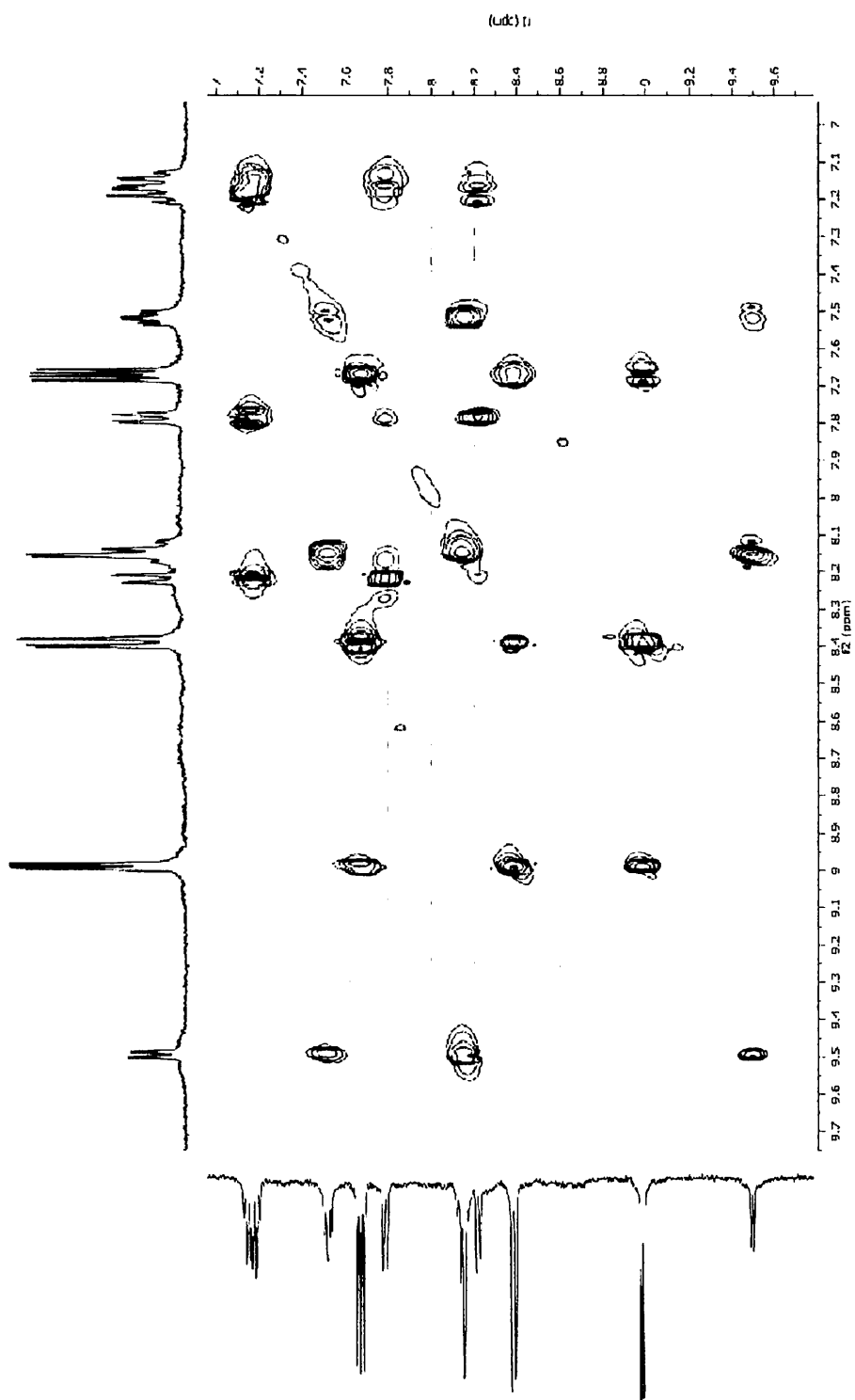
2.8. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ 1D του συμπλόκου $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{pdx})]\text{Cl}$.

2.9. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ TOCSY του συμπλόκου $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{pqx})]\text{Cl}$.

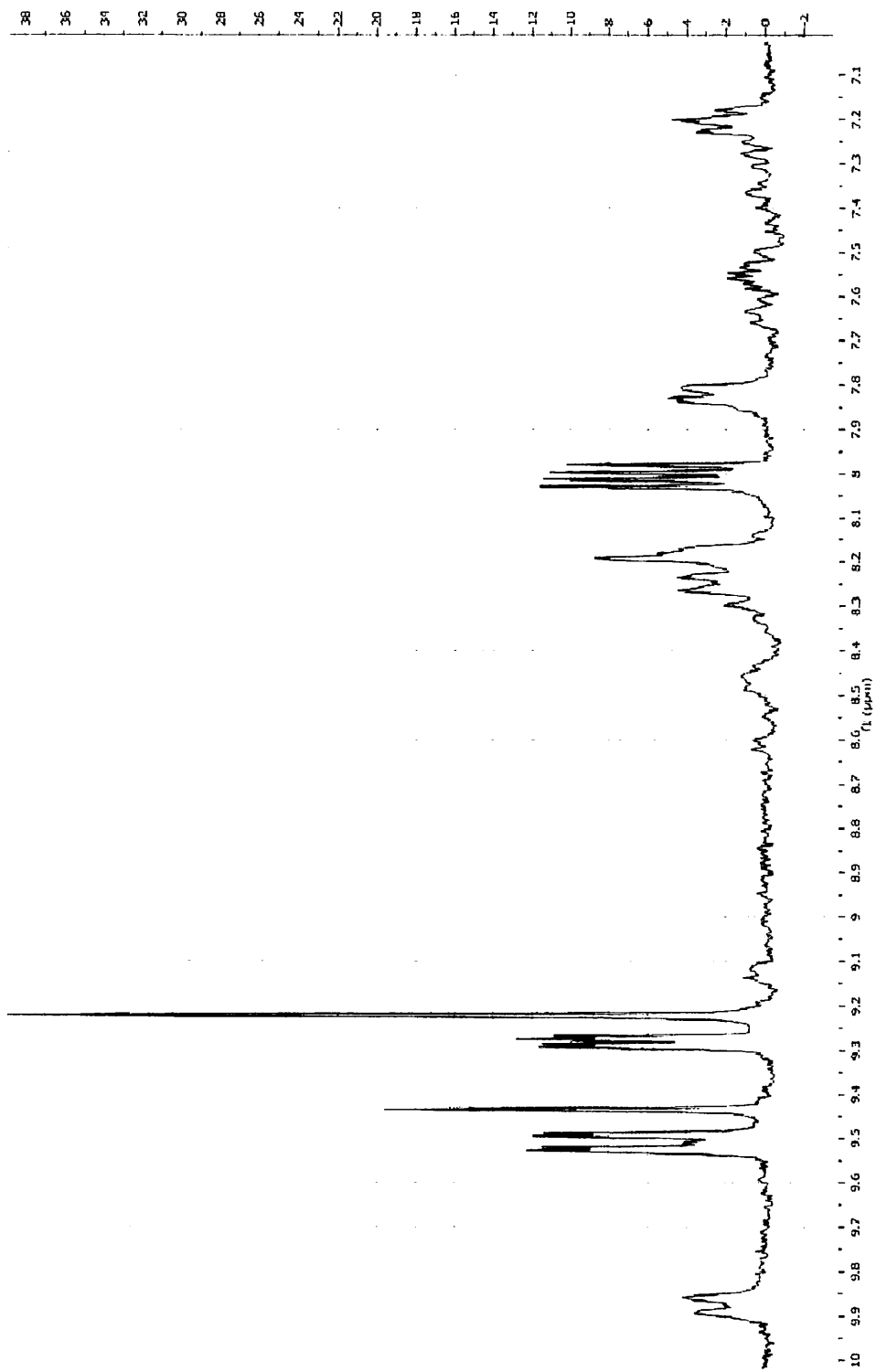




2.10. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ 1D του συμπλόκου $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{phen-dione})]\text{Cl}$.



2.11. Φάσμα ¹H-NMR TOCSY του συμπλόκου [Pt(ppy)(phen-dione)]Cl.



2.12. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ 1D του συμπλόκου $[\text{Pt}(\text{ppy})_3]\text{Cl}$.