



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ ΣΧΟΛΗ
ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΔΙ-ΙΔΡΥΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ (Δ.Π.Μ.Σ.)
«ΑΝΟΡΓΑΝΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ»

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΜΑΓΓΑΝΙΟΥ ΜΕ ΤΟ 4'-ΒΡΩΜΟ-ΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ



ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ ΣΠ. ΜΠΑΚΑΛΗ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

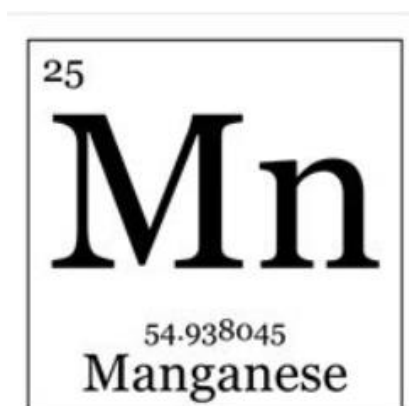
ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2026



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ ΣΧΟΛΗ
ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΔΙ-ΙΔΡΥΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ (Δ.Π.Μ.Σ.)
«ΑΝΟΡΓΑΝΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ»

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΜΑΓΓΑΝΙΟΥ ΜΕ ΤΟ 4'-ΒΡΩΜΟ-ΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ



ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ ΣΠ. ΜΠΑΚΑΛΗ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2026

**Εισαγωγή στο ΔΙ-ΙΔΡΥΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
(Δ.Π.Μ.Σ.) «ΑΝΟΡΓΑΝΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ»**

ΤΟΥ Κ. _____

Επιβλέπων μέλος ΔΕΠ: Καθηγητής ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΨΩΜΑΣ

Θέμα: «ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΜΑΓΓΑΝΙΟΥ ΜΕ ΤΟ 4'-ΒΡΩΜΟ-ΦΑΙΝΑΜΙΚΟ
ΟΞΥ»

Ορισμός Τριμελούς Εξεταστικής Επιτροπής από την Επιτροπή Προγράμματος
Σπουδών (ΕΠΣ):.....^Α/...-...-.....

- 1 Καθηγητής ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΨΩΜΑΣ - Επιβλέπων Καθηγητής
- 2 Καθηγητής ΣΩΤΗΡΙΟΣ ΧΑΤΖΗΚΑΚΟΥ - Μέλος εξεταστικής επιτροπής
- 3 Καθηγητής ΑΝΤΩΝΙΟΣ ΧΑΤΖΗΔΗΜΗΤΡΙΟΥ - Μέλος εξεταστικής επιτροπής

Έγκριση Μεταπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας στις

Ο Διευθυντής του Δ.Π.Μ.Σ.

Καθηγητής _____

Ο/Η Γραμματέας

Στη μνήμη του πατέρα μου

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	9
ABSTRACT.....	10
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	11
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 – Το μαγγάνιο.....	12
Γενικά χαρακτηριστικά του Μαγγανίου	12
Χημικές Ιδιότητες του μαγγανίου	12
Φυσικές Ιδιότητες του μαγγανίου	14
Προέλευση του μαγγανίου.....	15
Χρήσεις του μαγγανίου	16
Το μαγγάνιο στον ανθρώπινο οργανισμό	20
Ιδιότητες του μαγγανίου στον οργανισμό.....	22
Έλλειψη Μαγγανίου	25
Πρωτεΐνες του μαγγανίου	36
Οξειδοαναγωγικά ένζυμα του μαγγανίου	36
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 – Μη-στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα	45
Γενικά για τα ΜΣΑΦ	45
Φαιναμικά οξέα	48
Χημική Δομή των φαιναμικών οξέων	51
Σύμπλοκες ενώσεις με ΜΣΑΦ.....	52
co-ligand που συναρμολογούνται με μέταλλα	52
Σύμπλοκα του μαγγανίου με φαιναμικά οξέα.....	57
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	69
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.....	70
Αντιδραστήρια – Όργανα – Μελέτες	70
Αντιδραστήρια	70
Όργανα	71
Μελέτες βιολογικής δράσης.....	73
Μελέτη της αλληλεπίδρασης των ενώσεων με CT DNA	75
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 – ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ.....	78
Σύνθεση του 4'-Br-fenH	78
Σύνθεση συμπλόκων μαγγανίου με το 4-βρωμο-φαιναμικό οξύ	78
Σύνθεση συμπλόκου $[Mn(4'-Br-fen)_2(MeOH)_4]$ (I)	78
Σύνθεση του συμπλόκου $[Mn(4'-Br-fen)_2(neoc)]$ (II)	79

Σύνθεση του συμπλόκου $[Mn(4'-Br-fen)_2(phen)]$ (III)	79
Σύνθεση του συμπλόκου $[Mn(4'-Br-fen)_2(bipy)]$ (IV)	79
Σύνθεση του συμπλόκου $[Mn(4'-Br-fen)_2(bipyam)]$ (V)	79
Διαλυτότητα των ενώσεων	80
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 – ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ	81
Μελέτη των συμπλόκων με φασματοσκοπία υπεριώθρου	81
Μελέτη συμπλόκων με φασματοσκοπία UV-vis	84
Χαρακτηρισμός της δομής των συμπλόκων	87
Κρυσταλλική δομή της ένωσης $[Mn(4'-Br-fen)_2(neoc)]$ (II)	87
Κρυσταλλική δομή της ένωσης $[Mn(4'-Br-fen)_2(bipy)]_n$ (IV)	89
Προτεινόμενη δομή για τις ενώσεις (I), (III) και (V)	90
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 – ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ	92
Αλληλεπίδραση συμπλόκων με το DNA	92
Επίδραση των μεταλλικών ιόντων στη δομή και λειτουργία των νουκλεϊκών οξέων	92
Μελέτες αλληλεπίδρασης συμπλόκων με φασματοσκοπία UV-vis	95
Μελέτες αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με ιξωδομετρία	97
Μελέτες ανταγωνιστικής δράσης μεταξύ των συμπλόκων και του EB	98
Μελέτες αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με αλβουμίνες	101
Μελέτες αλληλεπίδρασης με την BSA	102
Μελέτες αλληλεπίδρασης με την HSA	104
Προσδιορισμός της θέσης δέσμευσης στις αλβουμίνες	107
Μελέτη της Αντιοξειδωτικής Δράσης των Συμπλόκων	109
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	112
Περαιτέρω έρευνα	114
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	115
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	127

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τίτλος: Αλληλεπίδραση του Μαγγανίου(II) με το 4'-βρωμο-φαιναμικό οξύ

Η παρούσα μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Ανόργανης Χημείας του Τμήματος Χημείας του ΑΠΘ. Στα πλαίσια της εργασίας αυτής έγινε η σύνθεση, ο χαρακτηρισμός της δομής και η μελέτη της βιολογικής δράσης συμπλόκων ενώσεων του Μαγγανίου(II) με το μη-στεροειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο, 4'-βρωμο-φαιναμικό οξύ, παρουσία ή απουσία των ετεροκυκλικών *N,N'*-δοτών νεοκουπροΐνη, 1,10-φαινανθρολίνη, 2,2'-διπυριδίνη και 2,2'-διπυριδυλαμίνη. Ο χαρακτηρισμός των νέων συμπλόκων πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπικές τεχνικές (IR και UV-Vis). Η κρυσταλλική δομή των συμπλόκων επιλύθηκε με περίθλαση ακτίνων-Χ. Η αλληλεπίδραση των συμπλόκων ενώσεων που παρασκευάστηκαν με το calf-thymus DNA μελετήθηκε με φασματοσκοπία UV-Vis και ιξωδομετρία και μέσω της ικανότητας τους να αντικαταστούν το αιθίδιο βρωμίδιο. Επιπροσθέτως, μελετήθηκε η αλληλεπίδραση τους με την αλβουμίνη ανθρώπινου και βόειου ορού και η αντιοξειδωτική τους δράση.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: Σύμπλοκα μαγγανίου, μη-στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα, *N,N'*-δότες, αλληλεπίδραση με DNA, αλληλεπίδραση με αλβουμίνη.

ABSTRACT

Title: Interaction of manganese(II) with 4'-bromo-fenamic acid

This MSc Thesis was carried out at the Laboratory of Inorganic Chemistry, Department of Chemistry, Aristotle University of Thessaloniki. Within this context, the synthesis, the structural characterization, and the evaluation of the biological activity of manganese(II) coordination compounds with the non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID), 4'-bromo-fenamic acid, in the absence or presence of the N,N'-donors neocuproine, 1,10-phenanthroline, 2,2'-bipyridine, and 2,2'-dipyridylamine as co-ligands was performed. The characterization of the new complexes was carried out with spectroscopic techniques (IR and UV-Vis). The crystal structures of the complexes were determined with single-crystal X-ray crystallography. The interaction of the compounds with calf-thymus was investigated with UV-Vis spectroscopy and viscometry, as well as via their ability to displace ethidium bromide. Additionally, the interaction of the compounds with human and bovine serum albumin was also studied as well as their antioxidant activity.

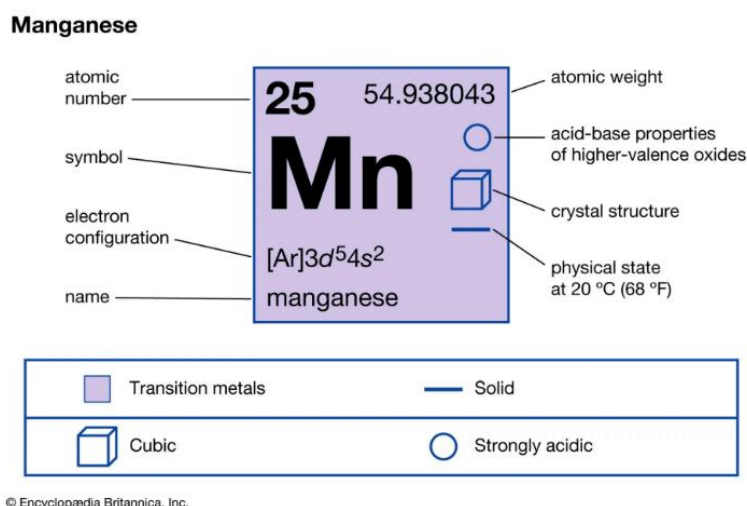
KEYWORDS: Manganese complexes, non-steroidal anti-inflammatory drugs, nitrogen-donor ligands, DNA interaction, albumin interaction.

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 – Το μαγγάνιο

Γενικά χαρακτηριστικά του Μαγγανίου

Το Μαγγάνιο (Mn) είναι ένα χημικό στοιχείο με αργυρή μεταλλική όψη. Είναι μεταβατικό μέταλλο με ατομικό αριθμό 25, ηλεκτρονιακή διαμόρφωση $[\text{Ar}] 3d^5 4s^2$ και ατομικό βάρος 54.938 amu. Ανήκει στην ομάδα των στοιχείων μετάπτωσης και συγκεκριμένα στην τέταρτη (4^η) περίοδο, έβδομη (7^η) ομάδα και d τομέα του περιοδικού πίνακα [1]. Η πυκνότητα του μαγγανίου στους 20 °C είναι 7.21 g/cm³ [2].



Χημικές Ιδιότητες του μαγγανίου

Το ισότοπο του Μαγγανίου που έχει βρεθεί στη φύση και είναι σταθερό είναι το ^{55}Mn . Από τα υπόλοιπα 18 ραδιοϊσότοπα του που έχουν απομονωθεί και περιγράφει τα σταθερότερα είναι το ^{53}Mn , το ^{54}Mn και το ^{52}Mn με χρόνο ημιζωής τα 3,7 εκατομμύρια έτη, τις 312,3 και τις 5.591 μέρες, αντίστοιχα [3]. Οι οξειδωτικές καταστάσεις που έχουν παρατηρηθεί για το μαγγάνιο είναι από -3 έως +7 (εκτός από την -2), με τις πιο οξειδωτικές βαθμίδες να είναι οι +2, +3, +4, +6 και +7. Το μαγγάνιο σε οξειδωτική κατάσταση +7 βρίσκεται υπό μορφή αλάτων, του έντονα πορφυρού υπερμαγγανικού ανιόντος MnO_4^- [4]. Μια ιδιαίτερα κοινή βαθμίδα οξείδωσης για το μαγγάνιο σε υδατικό διάλυμα είναι η +2, το οποίο έχει ανοιχτό ροζ χρώμα. Πολλές ενώσεις μαγγανίου (II) είναι

γνωστές, όπως τα υδατο-σύμπλοκα που προέρχονται από θειικό μαγγάνιο (II) (MnSO_4) και χλωριούχο μαγγάνιο (II) (MnCl_2). Αυτή η βαθμίδα οξείδωσης παρατηρείται επίσης στον ορυκτό ροδοχρωσίτη (ανθρακικό μαγγάνιο (II)). Το μαγγάνιο (II) υπάρχει συνήθως με υψηλό σπιν ($S = 5/2$) στη θεμελιώδη



Εικόνα 1 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

κατάσταση λόγω της υψηλής ενέργειας σύζευξης. Η ύπαρξη μη επιτρεπόμενων d-d μεταπτώσεων στο μαγγάνιο(II), εξηγούν το αχνό χρώμα του [5].

Η οξειδωτική βαθμίδα +2 είναι η σταθερότερη λόγω των ημισυμπληρωμένων d τροχιακών [6]. Το μεταλλικό μαγγάνιο προσβάλλεται αργά από το νερό και διαλύεται εύκολα σε οξέα ($\text{Mn} + 2\text{HCl} \rightarrow \text{MnCl}_2 + \text{H}_2$). Το λεπτά διαμερισμένο μέταλλο είναι αυτοαναφλέξιμο στον αέρα, αλλά ο κύριος όγκος του μετάλλου δεν προσβάλλεται εκτός και αν θερμανθεί ($3\text{Mn} + 2\text{O}_2 \rightarrow \text{Mn}_3\text{O}_4$). Σε αυξημένες θερμοκρασίες, ενώνεται με τα περισσότερα αμέταλλα ($3\text{Mn} + \text{N}_2 \rightarrow \text{Mn}_3\text{N}_2$), αλογόνα ($\text{Mn} + \text{Cl}_2 \rightarrow \text{MnCl}_2$), C, Si και B. Το μαγγάνιο παρουσιάζει το ευρύτερο φάσμα οξειδωτικών καταστάσεων από οποιοδήποτε άλλο μέταλλο της πρώτης σειράς μετάλλων του d-τομέα και σχηματίζει πολυάριθμα σύμπλοκα με δότες βάσεις όπως η αμμωνία, τα κυανιούχα και χηλικά ligand. Οι χαμηλότερες οξειδωτικές βαθμίδες σταθεροποιούνται από ligand π-δέκτες, συνήθως σε οργανομεταλλικά σύμπλοκα. Ωστόσο, διάλυση της σκόνης Mn σε υδατικό διάλυμα NaCN απουσία αέρα δίνει το σύμπλοκο $\text{Mn(I)} \text{Na}_5[\text{Mn}(\text{CN})_6]$ [7]. Ενώσεις του μαγγανίου σε υψηλές βαθμίδες οξείδωσης παρουσιάζουν έντονο οξειδωτικό χαρακτήρα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το Υπερμαγγανικό κάλιο (KMnO_4), το οποίο δρα ως ισχυρό οξειδωτικό μέσο σε όξινα και ουδέτερα διαλύματα [8].

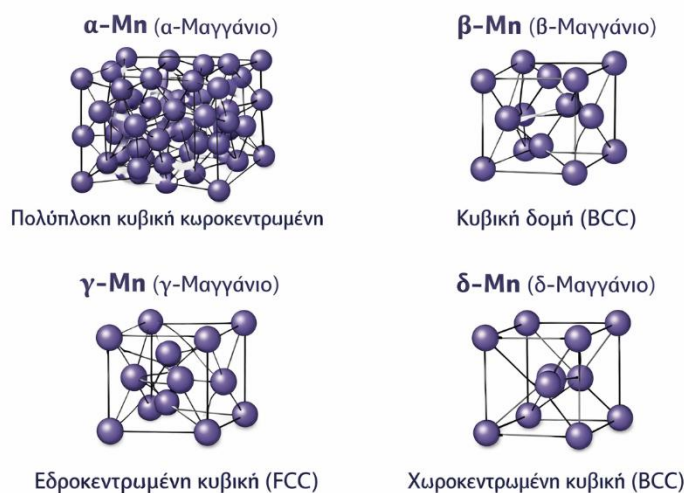
Πίνακας 1 Οξειδωτικές καταστάσεις του μαγγανίου και χαρακτηριστικές ενώσεις.

-3	$\text{Mn}(\text{CO})(\text{NO})_3$	+3	$\text{MnF}_3, \text{Mn}_2\text{O}_3$
-1	$\text{HMn}(\text{CO})_5$	+4	MnO_2
0	$\text{Mn}_2(\text{CO})_{10}$	+5	K_3MnO_4
+1	$\text{MnC}_5\text{H}_4\text{CH}_3(\text{CO})_3$	+6	K_2MnO_4
+2	$\text{MnCl}_2, \text{MnO}$	+7	$\text{KMnO}_4, \text{Mn}_2\text{O}_7$

Φυσικές Ιδιότητες του μαγγανίου

Το μαγγάνιο είναι ένα εύθραυστο, σκληρό μέταλλο [1]. Σε καθαρή μορφή εμφανίζει αργυρόλευκο έως γκρι χρώμα με μεταλλική λάμψη. Έχει σημείο τήξης στους 1.246°C (2.275°F) βαθμούς και σημείο βρασμού περίπου 2.061°C (3.742°F) βαθμούς, ενώ η θερμική του αγωγιμότητα στους 300K είναι $7.8 \text{ W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ [2]. Σε θερμοκρασία δωματίου είναι παραμαγνητικό, λόγω της παρουσίας ασύζευκτων ηλεκτρονίων στη d-στοιβάδα του [8].

Αλλοτροπικές μορφές του μαγγανίου (Mn)



Εικόνα 2 Αλλοτροπικές μορφές του Μαγγανίου

Το μεταλλικό μαγγάνιο παρουσιάζει έντονο πολυμορφισμό και απαντά σε τέσσερις αλλοτροπικές μορφές που συμβολίζονται ως α -, β -, γ - και δ -Mn. Η σταθερή μορφή σε θερμοκρασία δωματίου είναι η α -Mn η οποία κρυσταλλώνεται σε κυβικό χωροκεντρωμένο πλέγμα με 58 άτομα ανά

μοναδιαία κυψελίδα. Στη δομή της τα άτομα καταλαμβάνουν τέσσερις κρυσταλλογραφικά μη-ισοδύναμες θέσεις, γεγονός που οδηγεί σε διαφορετικά τοπικά περιβάλλοντα σύνδεσης. Η πολυπλοκότητα της κρυσταλλικής δομής α-Mn επηρεάζει σημαντικά τη μηχανική συμπεριφορά και συμβάλλει στην εγγενή ευθραυστότητα του καθαρού στοιχείου. Με αύξηση της θερμοκρασίας πάνω από περίπου 727°C, η α-μορφή μετατρέπεται στην β-Mn. Η β-Mn διατηρεί κυβική συμμετρία αλλά περιλαμβάνει σημαντικά μικρότερο αριθμό ατόμων στη μοναδιαία κυψελίδα σε σχέση με την α-μορφή. Σε ακόμη υψηλότερες θερμοκρασίες περίπου πάνω από 1095°C, το μαγγάνιο μετατρέπεται στη γ-μορφή. Η γ-Mn υιοθετεί εδροκεντρωμένη κυβική δομή (fcc), παρόμοια με αυτή πολλών όλκιμων μετάλλων. Πλησίον του σημείου τήξης, πάνω από περίπου 1134°C, σταθεροποιείται η δ-μορφή του μαγγανίου. Η δ-Mn εμφανίζει χωροκεντρωμένη κυβική δομή (bcc), η οποία είναι θερμοδυναμικά ευνοϊκή σε υψηλές θερμοκρασίες. Οι μετασχηματισμοί μεταξύ των αλλοτροπικών μορφών συνοδεύονται από μεταβολές στον όγκο και στις μαγνητικές ιδιότητες του μετάλλου [9,10].

Προέλευση του μαγγανίου

Το μαγγάνιο απαντά στη φύση κυρίως υπό μορφή *οξειδίων*, όπως ο Πυρολουσίτης (MnO_2), ο οποίος είναι και το σημαντικότερο βιομηχανικό μέταλλευμα του στοιχείου και η κύρια πηγή για την παραγωγή μεταλλικού μαγγανίου και διοξειδίου υψηλής καθαρότητας, ο *μαγγανίτης* ($MnO(OH)$), ο *χαουσμαννίτης* (Mn_3O_4) και ο *κρυπτομελάνης*, ο οποίος είναι οξείδιο με παρουσία καλίου. Επίσης το Mn απαντάται υπό μορφή ανθρακικών όπως ο *ροδοχρωσίτης* ($MnCO_3$), ο *κουτνοχορίτης* που είναι ανθρακικό, το *Ca-Mn* το οποίο σχηματίζει στερεά διαλύματα μεταξύ ασβεστίτη και ροδοχρωσίτη και ο *μαγγανοκαλσίτης* που αποτελεί ποικιλία ασβεστίτη πλούσιος σε μαγγάνιο, καθώς και υπό μορφή πυριτικών ορυκτών, όπως ο *ροδονίτης* ($MnSiO_3$), ο *σπεσσαρτίνης* που είναι γρανάτης μαγγανίου και ο *τεφροΐτης* (Mn_2SiO_4) [11,12].



Εικόνα 3 Χαουσμαννίτης



Ροδοχρωσίτης



Σπεσσαρτίνης

Χρήσεις του μαγγανίου

Μεταλλουργικές εφαρμογές και παραγωγή χάλυβα

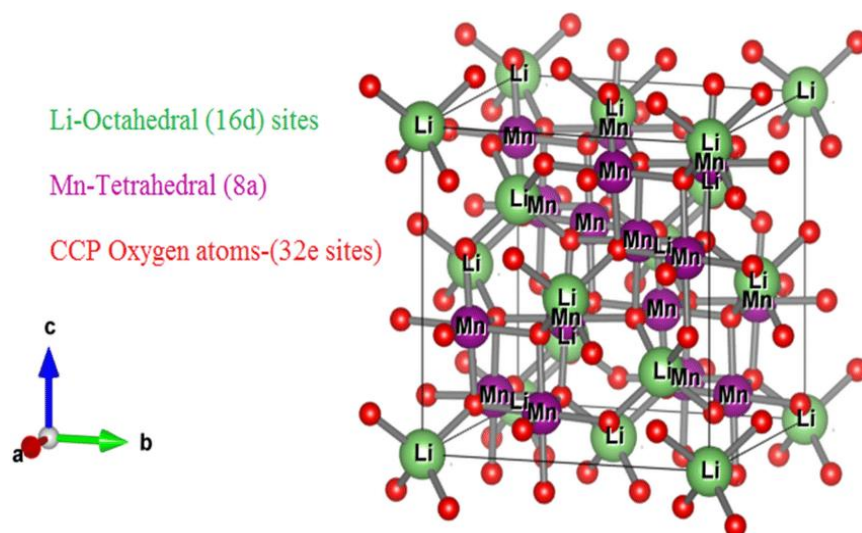
Το μαγγάνιο αποτελεί βασικό στοιχείο κραμάτων στη χαλυβουργία, καθώς χρησιμοποιείται κυρίως υπό μορφή σιδηρομαγγανίου (Ferromanganese, FeMn) και πυριτιομαγγανίου (Silicomanganese, SiMn) για τη ρύθμιση της σύστασης και των μηχανικών ιδιοτήτων των χαλύβων. Η παρουσία του μαγγανίου βοηθάει κατά την τήξη, στη δέσμευση του οξυγόνου και του θείου και στη βελτίωση της καθαρότητας του μετάλλου. Επιπλέον, η προσθήκη του μαγγανίου αυξάνει τη σκληρότητα, την αντοχή στη φθορά και την ανθεκτικότητα σε κρούση, χαρακτηριστικά τα οποία είναι κρίσιμα για κατασκευαστικές και βιομηχανικές εφαρμογές. Οι ωστενιτικοί υψηλομαγγανιούχοι χάλυβες (τύπου Hadfield) παρουσιάζουν έντονη εργοσκληρυνση και χρησιμοποιούνται σε περιβάλλοντα υψηλής μηχανικής καταπόνησης [13].

Μπαταρίες

Το διοξείδιο του μαγγανίου (MnO_2) αποτελεί το βασικό καθοδικό υλικό στις πρωτογενείς αλκαλικές και ψευδαργύρου-άνθρακα μπαταρίες λόγω της υψηλής οξειδωτικής του ικανότητας και της σταθερότητας του Mn(IV) σε αλκαλικό περιβάλλον. Το MnO_2 χρησιμοποιείται επειδή προσφέρει ασφαλές, χαμηλού κόστους και υψηλής χωρητικότητας σύστημα. Το βιομηχανικά κρίσιμο υλικό για τις αλκαλικές μπαταρίες είναι συχνά το electrolytic manganese dioxide (EMD), το οποίο περιγράφεται ως $\gamma\text{-MnO}_2$. Το $\gamma\text{-MnO}_2$ δεν αντιμετωπίζεται ως μια ιδανική πλήρως τακτοποιημένη κρυσταλλική φάση, αλλά περιγράφεται συχνά ως intergrowth δύο δομών MnO_2 , του *πυρολουσίτη* και του *ραμοδελίτη*. Κατά την εκφόρτιση, το MnO_2 ανάγεται κυρίως σε MnOOH μέσω ενδιάμεσων

βαθμίδων οξείδωσης επιτρέποντας την αποθήκευση και απελευθέρωση ηλεκτρονίων [14].

Επιπροσθέτως, το μαγγάνιο αποτελεί βασικό συστατικό πολλών καθοδικών υλικών λιθοϊοντικών μπαταριών, όπως το LiMn_2O_4 (LMO) και τα υλικά τύπου $\text{Li}(\text{Ni}, \text{Mn}, \text{Co})\text{O}_2$ (NMC). Το LiMn_2O_4 είναι καθοδικό υλικό με δομή spinel. Στη δομή αυτή το Mn εναλλάσσεται μεταξύ Mn^{3+} και Mn^{4+} κατά την φόρτιση και εκφόρτιση [15]. Η παρουσία του Mn^{3+} προκαλεί το φαινόμενο Jahn-Teller, το οποίο οδηγεί σε τοπική παραμόρφωση του πλέγματος. Η παραμόρφωση αυτή συνδέεται με απώλεια χωρητικότητας και δομική υποβάθμιση κατά τη μακροχρόνια κυκλική λειτουργία. Παρά τους περιορισμούς αυτούς το καθοδικό υλικό LiMn_2O_4 χρησιμοποιείται λόγω του χαμηλού κόστους και της θερμικής ασφάλειας που προσφέρει [16]. Στα NMC, το Mn λειτουργεί κυρίως ως σταθεροποιητικό στοιχείο του στρωματοποιημένου πλέγματος. Το Mn μειώνει τη δομική αστάθεια κατά την απολιθίωση σε υψηλές τάσεις. Παράλληλα, ενισχύει τη θερμική σταθερότητα περιορίζοντας την αποδέσμευση οξυγόνου σε σχέση με Ni-rich ή Co-rich καθόδους. Η αύξηση της περιεκτικότητας σε Mn βελτιώνει την ασφάλεια και μειώνει το κόστος παραγωγής [17].



Εικόνα 4 Διάγραμμα της κρυσταλλικής δομής του spinel [16]

Οξείδια του μαγγανίου σε καταλυτικές/περιβαλλοντικές διεργασίες

Τα οξείδια του μαγγανίου (MnO_x) θεωρούνται ισχυρά υλικά για περιβαλλοντικές εφαρμογές επειδή συνδυάζουν οξειδωτική ικανότητα και

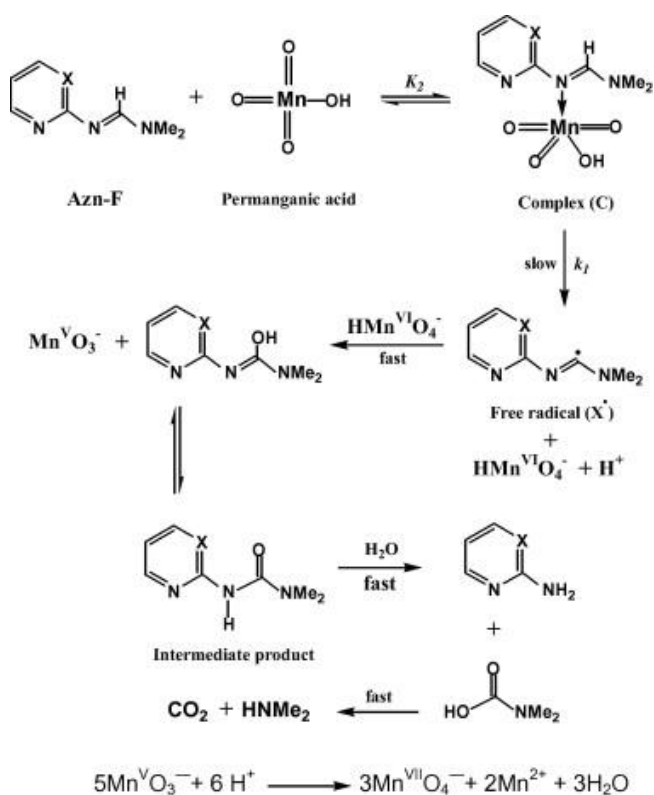
προσροφητική συμπεριφορά απομακρύνοντας ρύπους από υδατικά διαλύματα [18]. Η χρησιμότητα των $MnOx$ οφείλεται στο ότι εμφανίζουν πολλαπλές καταστάσεις οξείδωσης $Mn^{4+}/Mn^{3+}/Mn^{2+}$, κάτι που υποστηρίζει οξειδοαναγωγικούς μηχανισμούς σε καταλυτικές διεργασίες [19]. Το διοξείδιο του μαγγανίου που έχει ενσωματωθεί σε πορώδες υλικό παρουσιάζει καλή ικανότητα προσρόφησης και απομάκρυνσης Pb^{2+} από υδατικά διαλύματα μέσω ενός μοντέλου που μπορεί να θεωρηθεί χημειοπροσρόφηση [20]. Ακόμη, υλικά βασισμένα σε MnO_2 απομακρύνουν οργανικούς ρύπους όπως χρωστικές και οργανικές ενώσεις μέσω προσρόφησης ή/και οξειδωτικής αποδόμησης [21]. Νανοσωματίδια MnO έχουν επιδείξει αποτελεσματική μείωση δεικτών ρύπανσης όπως COD, θειικά και φωσφορικά σε επεξεργασία λυμάτων, υποδεικνύοντας φωτοκαταλυτικές και προσροφητικές ιδιότητες για δύσκολους οργανικούς ρύπους [22].

Υπερμαγγανικό Κάλιο ($KMnO_4$) ως βιομηχανικό οξειδωτικό

Το $KMnO_4$ (potassium permanganate) είναι ένας ευρέως χρησιμοποιούμενος οξειδωτικός παράγοντας σε *in situ* chemical oxidation (ISCO) για απορρύπανση υπόγειων νερών και εδαφικών σχηματισμών, λόγω του σχετικά υψηλού οξειδοαναγωγικού δυναμικού, της ικανότητας οξείδωσης πολλών οργανικών, της αποτελεσματικότητας του εύρους pH και του χαμηλού σχετικά κόστους του. Το $KMnO_4$ δρα μέσω αντιδράσεων μεταφοράς ηλεκτρονίων κάτι που το καθιστά πρακτικά εφαρμόσιμο και σε περιβάλλοντα χαμηλής διαπερατότητας [23].

Επιπλέον, το $KMnO_4$ ως οξειδωτικό μπορεί να παρακολουθηθεί σχετικά εύκολα στο πεδίο (monitoring) και παρουσιάζει σχετικά αργό ρυθμό αποσύνθεσης σε σχέση με άλλους οξειδωτικούς παράγοντες, γεγονός που ευνοεί την εφαρμογή του σε υπόγειο περιβάλλον. Συγκεκριμένα, το $KMnO_4$ χρησιμοποιείται για την οξείδωση χλωριωμένων αλκενίων (trichloroethylene, perchloroethylene, cis-1,2-dichloroethylene) μέσω μηχανισμού μεταφοράς ηλεκτρονίων και διάσπασης του διπλού δεσμού ($C=C$), αλλά και χλωριωμένων αλκανίων (1,1,1-trichloroethane) με πιο αργή αντίδραση σε σύγκριση με τα αλκένια [24], αρωματικών υδρογονανθράκων, όπως το βενζόλιο, το τολουόλιο και ξυλόλια (BTEx) σε υδατικά περιβάλλοντα [25], πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (PAHs) σε μολυσμένα εδάφη και υπόγεια νερά [26],

φαινολικών ενώσεων σε υδατικά διαλύματα [27], αναδυσόμενων οργανικών ρύπων (φαρμακευτικοί) [28] και ανόργανων ρύπων (Mn(II), Fe(II)) σε υδατικά διαλύματα [29].



where X = N for Pym-F and X = CH for Py-F

Εικόνα 5 Μηχανισμός οξειδωσης χλωριωμένων [24]

Κεραμικά, τούβλα και υαλουργία

Το μαγγάνιο χρησιμοποιείται στα κεραμικά ως χρωστική και τροποποιητής υάλωσης. Σε οξειδωτικές συνθήκες όπτησης το Mn τείνει να σταθεροποιείται σε υψηλότερες καταστάσεις οξείδωσης αποδίδοντας καφέ/μωβ τόνους σε υαλώματα και κεραμικές επιφάνειες. Σε αναγωγικές συνθήκες το Mn μπορεί να συμβάλει σε πιο σκούρες ή μεταλλικές αποχρώσεις λόγω της αλλαγής της οξειδωτικής κατάστασης και αλληλεπίδρασης του με άλλα μεταλλικά οξείδια (Fe₂O₃, CoO, Cr₂O₃) στο κεραμικό σώμα [30].

Στην υαλουργία το μαγγάνιο χρησιμοποιείται ως αποχρωματιστικό (decolorizer) για την εξουδετέρωση της πράσινης απόχρωσης που προκαλείται από ιχνοποσότητες Fe²⁺ στο γυαλί. Η δράση αυτή βασίζεται στην οξείδωση του Fe²⁺ σε Fe³⁺. Τα οξείδια του μαγγανίου μπορούν επίσης να επηρεάσουν ιδιότητες του γυαλιού όπως η απορρόφηση ακτινοβολίας και οπτική

διαπερατότητα. Η συμπεριφορά του μαγγανίου στο λιωμένο γυαλί εξαρτάται από την οξειδοαναγωγική ισορροπία του συστήματος και τη σύσταση της υαλώδους μήτρας ($\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-CaO}$) [31].

Το μαγγάνιο στον ανθρώπινο οργανισμό

Πηγές πρόσληψης

Το μαγγάνιο αποτελεί ουσιώδες ιχνοστοιχείο για τον ανθρώπινο οργανισμό, συμμετέχοντας σε ενζυμικές διεργασίες που σχετίζονται με τον μεταβολισμό και την αντιοξειδωτική άμυνα [32]. Η επαρκής πρόσληψη του μαγγανίου (Adequate Intake, AI) για ενήλικες ορίζεται στα 2,3 mg/ημέρα για τους άνδρες και 1,8mg/ημέρα για τις γυναίκες [33]. Η κύρια πηγή πρόσληψης του μαγγανίου είναι τα τρόφιμα. Τρόφιμα πλούσια σε μαγγάνιο είναι τα δημητριακά ολικής άλεσης (καστανό ρύζι, κριθάρι), οι ξηροί καρποί και σπόροι (καρύδια, φιστίκια, σπόροι κολοκύθας), τα όσπρια (φακές, ρεβίθια, φασόλια), τα πράσινα φυλλώδη λαχανικά (σπανάκι), τα φρούτα (ανανάς, μύρτιλα, αβοκάντο) και ορισμένα θαλασσινά (μύδια, στρείδια) [34].



Εικόνα 6 Τροφές πλούσιες σε Μαγγάνιο [34]

Μονοπάτι πρόσληψης, απορρόφησης και απέκκρισης του Μαγγανίου

Η απορρόφηση του μαγγανίου λαμβάνει χώρα κυρίως στο λεπτό έντερο, ιδιαίτερα στο δωδεκαδάκτυλο και τη νήστιδα, όπου το μαγγάνιο βρίσκεται κυρίως στη δισθενή μορφή (Mn^{2+}) [35]. Η εντερική μεταφορά του Mn^{2+} πραγματοποιείται κυρίως μέσω του διαμεμβρανικού μεταφορέα DMT1 (Divalent Metal Transporter 1), ο οποίος είναι υπεύθυνος για τη μεταφορά

δισθενών κατιόντων, συμπεριλαμβανομένου του σιδήρου (Fe^{2+}). Λόγω της κοινής οδού μεταφοράς, η ποσότητα του σιδήρου στον οργανισμό επηρεάζει σημαντικά την απορρόφηση του μαγγανίου. Σε συνθήκες σιδηροπενίας παρατηρείται αυξημένη έκφραση του DMT1 στα εντεροκύτταρα ως αντιρροπιστικός μηχανισμός για την ενίσχυση της απορρόφησης του σιδήρου γεγονός που οδηγεί ταυτόχρονα και σε αυξημένη απορρόφηση του μαγγανίου [36].

Μετά την απορρόφηση το μαγγάνιο μεταφέρεται μέσω της πυλαίας φλέβας στο ήπαρ, δηλαδή το αγγειακό μονοπάτι που μεταφέρει θρεπτικά στοιχεία και ιχνοστοιχεία απευθείας από το έντερο στο ήπαρ [37]. Το ήπαρ επιτελεί κεντρικό ρόλο στην ομοιόσταση του μαγγανίου επειδή συνδυάζει ισχυρή πρόσληψη από το αίμα και ταυτόχρονα ισχυρή απέκκριση, ώστε να διατηρείται χαμηλή η συγκέντρωση του μαγγανίου στη συστηματική κυκλοφορία [38]. Στο πλάσμα της συστηματικής κυκλοφορίας το μαγγάνιο βρίσκεται δεσμευμένο με πρωτεΐνες όπως η τρανσφερρίνη, η αλβουμίνη και η α2-μακροσφαιρίνη, επιτρέποντας τη συστηματική του διανομή στους περιφερειακούς ιστούς. Όταν το μαγγάνιο βρίσκεται στην τρισθενή μορφή (Mn^{3+}) μπορεί να προσδεθεί στη τρανσφερρίνη και να εισέλθει στα κύτταρα μέσω των υποδοχέων τρανσφερρίνης (TfR). Η κατανομή του μαγγανίου παρατηρείται κυρίως σε όργανα με αυξημένη μεταβολική δραστηριότητα, όπως το ήπαρ, τα οστά, το πάγκρεας και ο εγκέφαλος, όπου συμμετέχει σε βασικά ενζυμικά συστήματα συμπεριλαμβανομένης της μιτοχονδριακής σουπεροξειδικής δισμουτάσης (Mn-SOD) [39].

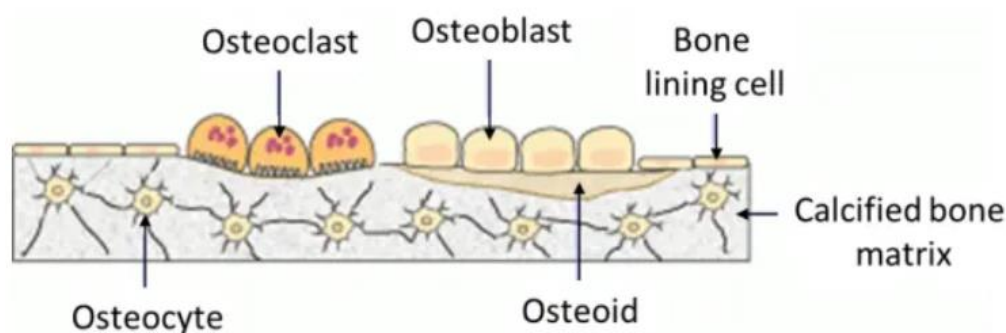
Το μαγγάνιο που εισέρχεται στην κυκλοφορία απομακρύνεται πρώτιστα από το ήπαρ και εκκρίνεται στη χολή, η οποία με τη σειρά της μεταφέρει μεγάλες ποσότητες μαγγανίου προς το λεπτό έντερο για τελική αποβολή με τα κόπρανα. Αυτή η ηπατο-χολική οδός είναι η κυρίαρχη οδός αποβολής για το στοιχείο στον άνθρωπο [40]. Δεδομένα από μελέτες απομάκρυνσης ραδιοϊσοτόπων δείχνουν ότι η απέκκριση του μαγγανίου στη χολή και τα κόπρανα είναι πολύ υψηλότερη από την ουρολογική οδό. Η ουροποιητική απέκκριση του μαγγανίου είναι πολύ περιορισμένη και συνήθως αποτελεί μόνο μια μικρή ποσοστιαία συνεισφορά στην συνολική αποβολή, ακόμη και όταν οι ημερήσιες προσλήψεις είναι αυξημένες. Η φυσιολογική λειτουργία της χολικής απέκκρισης είναι κρίσιμη καθώς η ικανότητα αποβολής του μαγγανίου μειώνεται με αποτέλεσμα τη

συσσώρευση του στο αίμα και τους ιστούς, όπως έχει παρατηρηθεί σε κλινικές μελέτες ασθενών με ηπατική νόσο. Σε ορισμένες περιπτώσεις υπάρχει και άμεση εντερική αποβολή του μαγγανίου μέσω της επαναπροώθησης του στον αυλό του εντέρου συμβάλλοντας επιπλέον στην απομάκρυνση του [41].

Ιδιότητες του μαγγανίου στον οργανισμό

Οστά

Το μαγγάνιο είναι απαραίτητο ιχνοστοιχείο για τον φυσιολογικό σχηματισμό και τη διατήρηση του οστικού ιστού, κυρίως μέσω της συμμετοχής του ως συμπαραγοντας σε ένζυμα που εμπλέκονται στη σύνθεση της θεμέλιας ουσίας του οστού. Συγκεκριμένα, το μαγγάνιο αποτελεί απαραίτητο συμπαραγοντα για τις γλυκοζυλοτρανσφεράσες που συμμετέχουν στη σύνθεση γλυκοζαμινογλυκανών και πρωτεογλυκανών που είναι δομικά συστατικά της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας του χόνδρου και του οστού. Η επάρκεια του μαγγανίου είναι σημαντική για τον σχηματισμό του οργανικού υποστρώματος (οστεοειδούς), το οποίο στη συνέχεια υφίσταται μεταλλοποίηση με άλατα ασβεστίου και φώσφορου, συμβάλλοντας στην αντοχή και τη μηχανική σταθερότητα του οστού. Επιπλέον, το μαγγάνιο συμμετέχει έμμεσα στην προστασία των οστικών κυττάρων από οξειδωτικό στρες μέσω της μιτοχονδριακής σουπεροξειδικής δισμουτάσης (MnSOD), συμβάλλοντας στη διατήρηση της βιωσιμότητας των οστεοβλαστών [39]. Πειραματικές μελέτες έχουν δείξει ότι η έλλειψη μαγγανίου οδηγεί σε διαταραχές της ανάπτυξης των οστών, μειωμένη οστική πυκνότητα και ανωμαλίες στη δομή του χόνδρου, γεγονός που αποδίδεται σε ανεπαρκή σύνθεση πρωτεογλυκανών [35].



Εικόνα 7 Διάφοροι τύποι κυττάρων των οστών [39]

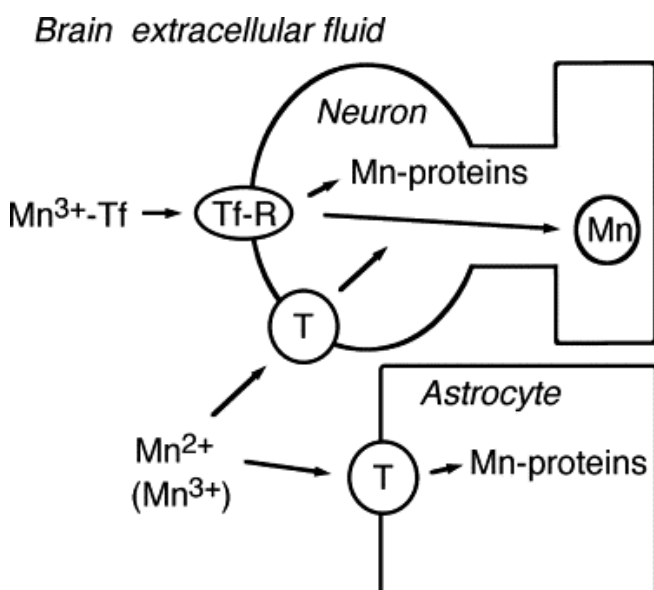
Αντιοξειδωτικός ρόλος

Ο σημαντικότερος αντιοξειδωτικός ρόλος του μαγγανίου στον ανθρώπινο οργανισμό παρατηρείται μέσω της σουπεροξειδικής δισμουτάσης (MnSOD) ενός μεταλλοενζύμου που εντοπίζεται αποκλειστικά στα μιτοχόνδρια. Το ένζυμο αυτό περιέχει μαγγάνιο στο ενεργό του κέντρο και καταλύει τη μετατροπή του ανιόντος σουπεροξειδίου ($O_2^{\cdot-}$), το οποίο παράγεται ως παραπροϊόν της αερόβιας κυτταρικής αναπνοής, σε υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) και μοριακό οξυγόνο (O_2). Η αντίδραση αυτή αποτελεί κρίσιμο στάδιο της ενδοκυττάριας αντιοξειδωτικής άμυνας καθώς περιορίζει τη συσσώρευση δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) που μπορούν να προκαλέσουν βλάβη σε βιομόρια όπως το μιτοχονδριακό DNA, οι πρωτεΐνες και τα λιπίδια των κυτταρικών μεμβρανών. Ο μηχανισμός πραγματοποιείται σε δύο διαδοχικά βήματα οξειοαναγωγής. Στο πρώτο βήμα, το Mn^{3+} στο ενεργό κέντρο της δισμουτάσης δέχεται ένα ηλεκτρόνιο από ένα ιόν σουπεροξειδίου ($O_2^{\cdot-}$) και ανάγεται σε Mn^{2+} ενώ το σουπεροξείδιο μετατρέπεται σε μοριακό οξυγόνο O_2 . Στο δεύτερο βήμα, το Mn^{2+} δίνει ένα ηλεκτρόνιο σε ένα δεύτερο ιόν $O_2^{\cdot-}$ παρουσία πρωτονίων σχηματίζοντας το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) και το μαγγάνιο επανέρχεται στη βαθμίδα Mn^{3+} κατάσταση. Το παραγόμενο υπεροξείδιο του υδρογόνου απομακρύνεται από άλλα ένζυμα όπως η καταλάση ή η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης ώστε να αποτραπεί περαιτέρω ο σχηματισμός ιδιαίτερα αντιδραστικών ριζών όπως η ρίζα υδροξυλίου ($\cdot OH$). Η σημασία της MnSOD έγκειται στο γεγονός ότι το υπεροξείδιο του υδρογόνου δεν διαπερνά εύκολα τις μεμβράνες και επομένως λειτουργεί ως «πρώτη γραμμή άμυνας» έναντι των ROS στο μιτοχονδριακό περιβάλλον [42].

Εγκέφαλος

Το μαγγάνιο είναι απαραίτητο για την ανάπτυξη και λειτουργία του εγκεφάλου διότι συμμετέχει ως συμπαραγοντας σε ένζυμα που εμπλέκονται στον μεταβολισμό των νευροδιαβιβαστών και σε άλλες βιοχημικές οδούς στο νευρικό ιστό [43]. Μερικά ένζυμα του μαγγανίου όπως η εξαρτώμενη από το μαγγάνιο γλουταμινική συνθετάση στα αστροκύτταρα, τα οποία είναι τύπος γλοιακών κυττάρων του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ), συμβάλλουν στην ομοιόσταση του γλουταμινικού και άλλων νευροδιαβιβαστών

διασφαλίζοντας κατά αυτό τον τρόπο την ισορροπία ανάμεσα στη διέγερση και την αναστολή στις νευρωτικές συνάψεις [44]. Το μαγγάνιο ως δισθενές κατιόν (Mn^{2+}), μπορεί να εισέλθει στους νευρώνες μέσω διαύλων που φυσιολογικά μεταφέρουν Ca^{2+} , το οποίο είναι το βασικό ιόν που εισέρχεται στον προσυναπτικό νευρώνα και πυροδοτεί την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών, ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια έντονης νευρωτικής δραστηριότητας, γεγονός που καθιστά την κυτταρική πρόσληψη του μαγγανίου εξαρτώμενη από τη συναπτική ενεργοποίηση [37].



Εικόνα 8 Μηχανισμός εισαγωγής του μαγγανίου στα κύτταρα του εγκεφάλου [44]

Μεταβολισμός θρεπτικών συστατικών

Το μαγγάνιο διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στον μεταβολισμό θρεπτικών συστατικών κυρίως μέσω της λειτουργίας του ως συμπαραγοντας ή ενεργοποιητής ενζύμων που συμμετέχουν στον μεταβολισμό υδατανθράκων, αμινοξέων, λιπιδίων και στη γλυκοζυλίωση πρωτεϊνών [35]. Το μαγγάνιο αποτελεί βασικό συμπαραγοντα της πυροσταφυλικής καρβοξυλάσης (pyruvate carboxylase) ενός μιτοχονδριακού ενζύμου που καταλύει τη μετατροπή του πυροσταφυλικού σε οξαλοξικό βήμα, το οποίο είναι απαραίτητο για τη γλυκονεογένεση και την αναπλήρωση ενδιάμεσων του κύκλου του Krebs. Μέσω αυτής της δράσης το Mn συμβάλλει άμεσα στη διατήρηση της ενεργειακής ομοιόστασης και της φυσιολογικής ρύθμισης των επιπέδων γλυκόζης [45]. Επιπλέον, το μαγγάνιο αποτελεί μεταλλικό στοιχείο του ενεργού

κέντρου της αργινάσης (arginase), ενός ενζύμου που καταλύει το τελικό στάδιο του κύκλου της ουρίας, μετατρέποντας την L-αργινίνη σε ουρία και L-ορνιθίνη. Η δράση αυτή πραγματοποιείται για την απομάκρυνση της αμμωνίας που παράγεται κατά τον καταβολισμό των αμινοξέων [46]. Ακόμη, το μαγγάνιο συμμετέχει στη ρύθμιση ενζυμικών διεργασιών που σχετίζονται με τη σύνθεση και τον μεταβολισμό των λιπιδίων, συμπεριλαμβανομένων ενζύμων που εμπλέκονται στη βιοσύνθεση χοληστερόλης. Κατά αυτό τον τρόπο το μαγγάνιο συνεισφέρει στην ομαλή λιπιδιακή ομοιόσταση και στην παραγωγή κυτταρικών μεμβρανών και στεροειδών μορίων [35].

Επούλωση τραυμάτων και παραγωγή κολλαγόνου

Το μαγγάνιο συμβάλλει στην επούλωση τραυμάτων κυρίως μέσω της συμμετοχής του ως συμπαραγοντα ενζύμων που εμπλέκονται στη σύνθεση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και του κολλαγόνου. Ειδικότερα, το μαγγάνιο είναι απαραίτητο για τη λειτουργία των γλυκοζυλοτρανσφερασών που συμμετέχουν στη βιοσύνθεση πρωτεογλυκανών, δομικών συστατικών που σταθεροποιούν και οργανώνουν τις ίνες κολλαγόνου στον αναγεννώμενο ιστό [35]. Παράλληλα, μέσω της εξαρτώμενης από το μαγγάνιο αργινάσης το μαγγάνιο συμβάλλει στη παραγωγή ορνιθίνης που είναι πρόδρομο μόριο της προλίνης η οποία είναι ένα αμινοξύ θεμελιώδους σημασίας για τη δομή της τριπλής έλικας του κολλαγόνου [47]. Επιπλέον, το μαγγάνιο συμβάλλει στη φυσιολογική αναγέννηση και αναδόμηση των ιστών μέσω της συμμετοχής του στην μιτοχονδριακή σουπεροξειδική δισμουτάση MnSOD που προσφέρει αντιοξειδωτική προστασία στα κύτταρα του τραύματος [42]. Ενώ, σε συνδυασμό με τη βιταμίνη Κ συμβάλλει στην πήξη του αίματος και τη διατήρηση της αιμόστασης [48].

Έλλειψη Μαγγανίου

Το μαγγάνιο αποτελεί απαραίτητο ιχνοστοιχείο που λειτουργεί ως συμπαραγοντας σε πολυάριθμα ένζυμα ζωτικής σημασίας. Η έλλειψη του οδηγεί σε διαταραχές επειδή μειώνεται η δραστηριότητα των εξαρτώμενων από αυτό ενζύμων με αποτέλεσμα να διακόπτονται φυσιολογικές βιοχημικές διεργασίες που υπό κανονικές συνθήκες διασφαλίζουν την κυτταρική ομοιόσταση.

Διαταραχή της Μιτοχονδριακής Λειτουργίας

Το μαγγάνιο βρίσκεται στο ενεργό κέντρο της μιτοχονδριακής σουπεροξειδικής δισμουτάσης MnSOD του κύριου αντιοξειδωτικού ενζύμου της μιτοχονδριακής μήτρας. Η έλλειψη μαγγανίου επιδρά στην καταλυτική ικανότητα του ενζύμου με συνέπεια την συσσώρευση σουπεροξειδίου ($O_2^{\cdot-}$) που παράγεται φυσιολογικά στα σύμπλοκα I και III της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETC). Το αυξημένο $O_2^{\cdot-}$ οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή H_2O_2 είτε μέσω της μειωμένης ενζυμικής δράσης είτε μέσω άλλων μη ενζυμικών αντιδράσεων (redox), όπου δύο ιόντα $O_2^{\cdot-}$ αντιδρούν μεταξύ τους ($2O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$). Το H_2O_2 παρουσία ιόντων Fe^{2+} συμμετέχει σε αντιδράσεις Fenton ($Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH^{\cdot}$) παράγοντας ρίζες υδροξυλίου οι οποίες είναι εξαιρετικά αντιδραστικές και κυτταροτοξικές. Το $O_2^{\cdot-}$ αντιδρά επίσης ταχέως με μονοξείδιο του αζώτου ($NO^{\cdot}$) σχηματίζοντας υπεροξυνιτρώδες ιόν ($ONOO^-$). Η αυξημένη συγκέντρωση δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) εντός του μιτοχονδρίου οδηγεί σε υπεροξειδωση των μιτοχονδριακών λιπιδίων όπως η καρδιολιπίνη, η οξειδωση της οποίας οδηγεί σε αποσταθεροποίηση συμπλόκων της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETC). Η αποσταθεροποίηση της ETC μειώνει την αποδοτικότητα της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης και την παραγωγή ATP με άμεσο αντίκτυπο στα κύτταρα που έχουν υψηλές ενεργειακές απαιτήσεις [49].

Διαταραχές στο μεταβολισμό υδατανθράκων και λιπιδίων

Το μαγγάνιο αποτελεί βασικό συμπράγοντα της πυροσταφυλικής καρβοξυλάσης, ένα ένζυμο το οποίο είναι υπεύθυνο για τη μετατροπή του πυροσταφυλικού σε οξαλοξικό. Αυτή η μετατροπή είναι κρίσιμη για τη γλυκονεογένεση και τη ρύθμιση του σακχάρου στο αίμα καθώς αποτελεί το εναρκτήριο βήμα. Συγκεκριμένα, στη γλυκονεογένεση, το οξαλοξικό κατευθύνει την παραγωγή φωσφοενολοπυροσταφυλικού και έπειτα γλυκόζης. Στη περίπτωση υπολειτουργίας του ενζύμου τα κύτταρα, ιδιαίτερα τα ηπατικά περιορίζονται να συνθέσουν γλυκόζη από μη-υδατανθρακικές πηγές, με αποτέλεσμα να παρατηρείται μεταβολική δυσλειτουργία και πιθανή υπογλυκαιμία. Επιπλέον, το οξαλοξικό που είναι σημαντικό ενδιάμεσο και του κύκλου του Krebs επειδή συνδέεται με το ακέτυλο-CoA για τον σχηματισμό του

κιτρικού. Συνεπώς, η δυσλειτουργία της πυροσταφυλικής καρβοξυλάσης επηρεάζει τη ροή του απαιτούμενου άνθρακα στο κύκλο του Krebs για την παραγωγή ATP.

Επιπροσθέτως, το μαγγάνιο συμμετέχει στη ρύθμιση του μεταβολισμού των υδατανθράκων και στη λειτουργία των β-κυττάρων των νησίδων του παγκρέατος. Η σύνθεση και έκκριση ινσουλίνης από το πάγκρεας πραγματοποιείται από τα β-κύτταρα των νησίδων του Langerhans. Η ινσουλίνη είναι αυτή που ρυθμίζει τη μεταφορά της γλυκόζης, όπου παράγεται κατά την πρόσληψη υδατανθράκων, από το αίμα προς τους διάφορους ιστούς [50]. Η παραγωγή της πραγματοποιείται μέσω της έκφρασης του γονιδίου της και την μεταγραφή του σε mRNA, το οποίο στη συνέχεια μεταφράζεται σε προϊνσουλίνη και τελικά μέσω μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων σε ινσουλίνη [51]. Σε συνθήκες έλλειψης μαγγανίου μελέτες σε αρουραίους έχουν δείξει ότι η ικανότητα των β-παγκρεατικών κυττάρων τους να εκκρίνουν ινσουλίνη μειώνεται. Συγκεκριμένα, αρουραίοι με διατροφή χαμηλή σε μαγγάνιο παρουσίασαν μειωμένη παραγωγή και απελευθέρωση ινσουλίνης με συνέπεια την αύξηση των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα [52]. Αυτό συμβαίνει καθώς το ένζυμο MnSOD έχει μειωμένη δράση, λόγω της έλλειψης του μετάλλου, και τα επίπεδα των ROS αυξάνονται με συνέπεια να επηρεάζουν τη λειτουργία μεταγραφικών παραγόντων, όπως ο PDX-1, που ρυθμίζει το γονίδιο της ινσουλίνης [53]. Συμπερασματικά, αυτή η διαταραχή που προκαλείται στην παραγωγή της ινσουλίνης οδηγεί σε γλυκοζική δυσανεξία [50].

Ακόμη το μαγγάνιο είναι απαραίτητος συμπαράγοντας για τη λειτουργία ενζύμων που σχετίζονται με τον μεταβολισμό των λιπιδίων, οπότε σε συνθήκες έλλειψης του μετάλλου παρατηρείται συσσώρευση λίπους και μεταβολικές διαταραχές. Συγκεκριμένα, η λειτουργία των μιτοχονδρίων είναι καθοριστική για τη β-οξειδωση των λιπαρών οξέων. Σε καταστάσεις αυξημένου οξειδωτικού στρες λόγω μειωμένης δράσης του ενζύμου MnSOD η β-οξειδωση μειώνεται με συνέπεια την αναποτελεσματική οξειδωση των λιπαρών οξέων και έτσι τη συσσώρευση τους στο ήπαρ υπό τη μορφή τριγλυκεριδίων που μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση ηπατικής στεάτωσης και μη-αλκοολικής λιπώδους νόσου του ήπατος (NAFLD). Επίσης, τα υψηλά επίπεδα οξειδωτικού στρες έχουν ως συνέπεια την διέγερση της παραγωγής προφλεγμονωδών κατταροκινών, όπως ο παράγοντας νέκρωσης όγκων-α (TNF-α) και η

ιντερλευκίνη-6 (IL-6), οι οποίες συμβάλλουν στην ανάπτυξη χρόνιων φλεγμονωδών καταστάσεων στο ήπαρ και στον λιπώδη ιστό και ως εκ τούτου την εμφάνιση παχυσαρκίας και μεταβολικού σύνδρομου.[54] Ακόμη, προκαλούν υπεροξειδωση των φωσφολιπιδίων, όπως η καρδιολιπίνη, της εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης, με αποτέλεσμα η διαπερατότητα της μεμβράνης να αυξάνεται και το κυτόχρωμα c να απελευθερώνεται στο κυτταρόπλασμα ενεργοποιώντας την αποπτωτική οδό και τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο [55].

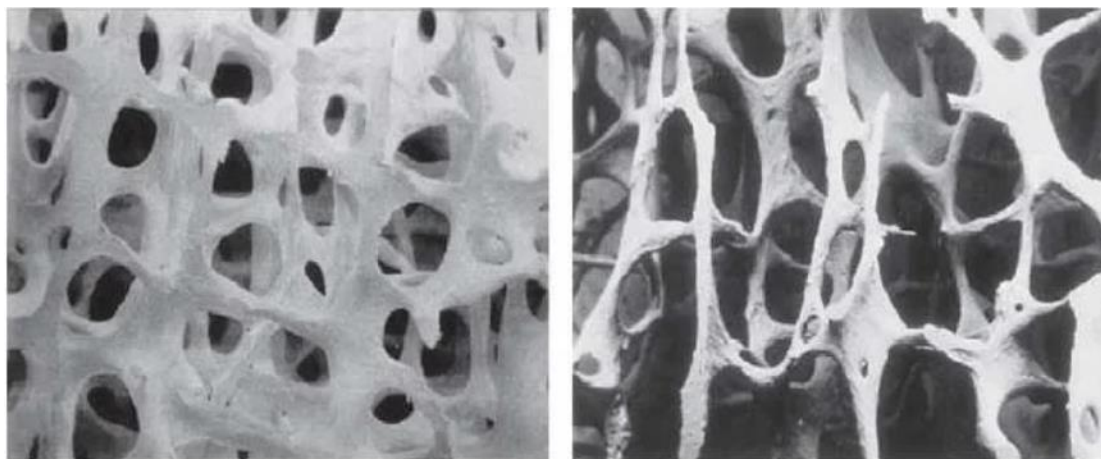
Επιπλέον, η έλλειψη του μετάλλου επηρεάζει την έκφραση των μεταγραφικών παραγόντων peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs), οι οποίοι κατέχουν σπουδαίο ρόλο στη ρύθμιση της λιπογένεσης, της λιπόλυσης και της οξείδωσης λιπαρών οξέων προκαλώντας μεταβολικές δυσλειτουργίες [56]. Συμπληρωματικά, οι διαταραχές που προκαλούνται από την έλλειψη του μαγγανίου στον μεταβολισμό των λιπιδίων επηρεάζει τη σύνθεση και μεταφορά λιποπρωτεϊνών με αποτέλεσμα να παρατηρείται αύξηση της LDL και μείωση της HDL χοληστερόλης. Οι αλλαγές αυτές συμβάλλουν στην ανάπτυξη δυσλιπιδαιμίας και αυξάνουν τον κίνδυνο για καρδιαγγειακές παθήσεις [57].

Επιπτώσεις της έλλειψης μαγγανίου στο σκελετικό σύστημα

Το μαγγάνιο κατέχει σπουδαίο ρόλο στην ανάπτυξη και διατήρηση του σκελετικού συστήματος. Συγκεκριμένα, αποτελεί συμπαράγοντα ενζύμων, όπως οι γλυκοζυλοτρανσφεράσες, οι οποίες συμμετέχουν στη σύνθεση της εξωκυττάριας μήτρας των οστών και του χόνδρου μέσω της σύνθεσης πρωτεογλυκανών και γλυκοζαμινογλυκανών. Τα μόρια των πρωτεογλυκανών αποτελούνται από έναν πρωτεϊνικό πυρήνα πάνω στον οποίο είναι συνδεδεμένος ομοιοπολικά ένας μεγάλος αριθμός πλευρικών αλυσίδων γλυκοζαμινογλυκανών [58]. Τα μόρια αυτά είναι απαραίτητα για τους ιστούς (χόνδρος, οστό, δέρμα, τένοντες) καθώς, η αγγρεκάνη (κύρια πρωτεογλυκάνη του αρθρικού χόνδρου) αλληλοεπιδρά με το υαλουρονικό οξύ και σχηματίζει τριμερή σύμπλοκα, τα οποία αυξάνουν την μηχανική αντοχή του χόνδρου, διατηρούν την ελαστικότητα των αρθρώσεων και προστατεύουν τις αρθρικές επιφάνειες. Επιπλέον, λόγω του ισχυρού αρνητικού φορτίου των γλυκοζαμινογλυκανών μεγάλες ποσότητες νερού μπορούν να δεσμευτούν και

έτσι ο χόνδρος και άλλοι συνδετικοί ιστοί μπορούν να δεχτούν μηχανικές πιέσεις και να λειτουργούν ως «αμορτισέρ» για τις αρθρώσεις [59]. Ακόμη, συμμετέχουν στην οστική αναδιαμόρφωση κατά την οποία το παλιό οστό αποδομείται από τους οστεοκλάστες και αντικαθίσταται από νέο με την συμβολή των οστεοβλαστών. Η αποδόμηση του οστού έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση αυξητικών παραγόντων (όπως TGF- β και BMPs) που συμβάλλουν στην ενεργοποίηση των οστεοβλαστών.

Οι πρωτεογλυκάνες και οι γλυκοζαμινογλυκάνες εμπλέκονται στην διαδικασία της αναδιαμόρφωσης μέσω της δέσμευσης και βιοδιαθεσιμότητας των αυξητικών παραγόντων. Η διατήρηση της ισορροπίας οστεοβλαστών και οστεοκλαστών είναι πολύ σημαντική για τη διατήρηση της οστικής πυκνότητας. Μελέτες έχουν δείξει ότι το οξειδωτικό στρες, που προκαλείται λόγω των αυξημένων ποσοτήτων των ROS κατά την μειωμένη δράση της MnSOD, αναστέλλει τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών και αυξάνει τη δραστηριότητα των οστεοκλαστών με συνέπεια την ανάπτυξη οστεοπενίας και οστεοπόρωσης [60]. Επιπλέον μελέτες φανερώνουν ότι, η ανεπάρκεια μαγγανίου επιφέρει μειωμένη σύνθεση πρωτεογλυκανών προκαλώντας διαταραχές στη λειτουργία του επιφυσιακού πέταλου ανάπτυξης (growth plate) [61] αλλά και ποιοτικές αλλαγές στη σύσταση αυτών οδηγώντας σε πρωτεογλυκάνες με ελαττωμένη περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες που επιφέρει αλλοίωση της εξωκυττάριας μήτρας του χόνδρου. Όλα αυτά έχουν ως συνέπεια τη μειωμένη ανάπτυξη των οστών και την εμφάνιση σκελετικών παραμορφώσεων. Εάν εμφανιστεί έλλειψη μαγγανίου κατά την εμβρυική ή στην πρώιμη μεταγεννητική ζωή μπορεί να προκληθεί σοβαρή διαταραχή της σκελετικής ανάπτυξης. Χονδροδυστροφία (νανισμός, dwarfism) προκαλείται από μειωμένη ενδοχονδρική ανάπτυξη των οστών [58].



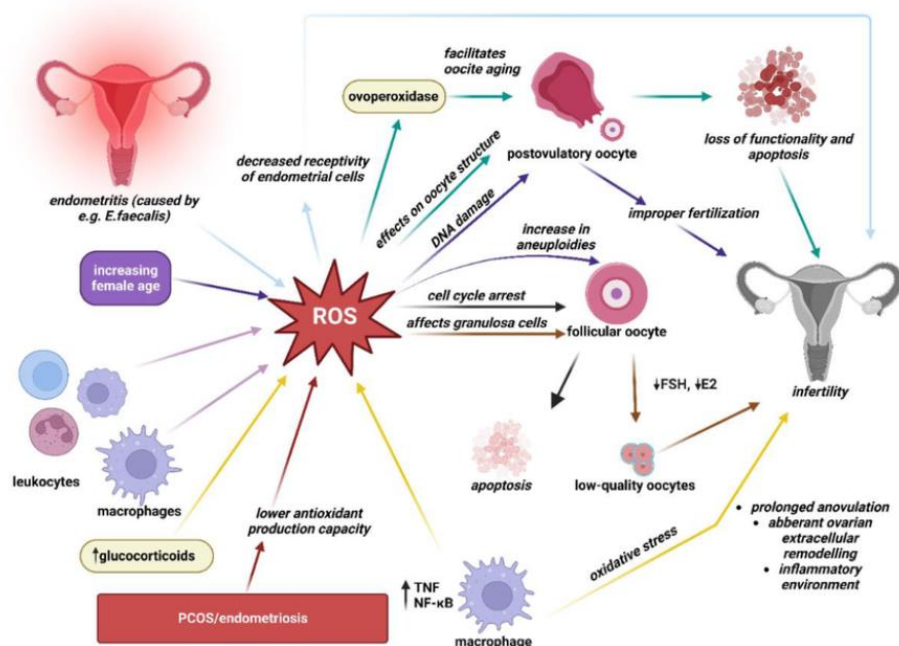
Εικόνα 9 Σύγκριση της δομής του δοκιδωδους οστού μεταξύ υγιούς (αριστερά) και οστεοπορωτικού οστού (δεξιά) [60]

Διαταραχές στο Αναπαραγωγικό Σύστημα

Το μαγγάνιο είναι ένα ιχνοστοιχείο με σπουδαίο ρόλο στο αναπαραγωγικό σύστημα. Μελέτες σε ζώα έχουν φανερώσει ότι η ανεπάρκεια του μαγγανίου στη διατροφή μπορεί να προκαλέσει διαταραχή στην ωορρηξία, εκφύλιση των όρχεων και αύξηση της θνησιμότητας των απογόνων. Οι όρχεις είναι το κύριο όργανο του ανδρικού αναπαραγωγικού συστήματος καθώς εκεί συντίθενται τα σπερματοζωάρια και τα ανδρογόνα όπως η τεστοστερόνη. Τα ανδρογόνα ρυθμίζουν τη σεξουαλική ανάπτυξη, διατηρούν τη σεξουαλική επιθυμία, προάγουν το σχηματισμό δευτερογενών χαρακτηριστικών του φύλου και κατέχουν συστηματικές επιδράσεις στον μεταβολισμό και τη συνολική υγεία. Το οξειδωτικό στρες που προκαλείται κατά την έλλειψη του μαγγανίου επιφέρει διαταραχές στη λειτουργικότητα των όρχεων, μείωση της κινητικότητας του σπέρματος και εκφύλιση των σπερματικών πόρων και των κυττάρων της επιδιδυμίδας [62].

Όσο αναφορά τις γυναίκες μελέτες έχουν δείξει ότι το μαγγάνιο συγκεντρώνεται κυρίως στα ωοθυλάκια (Graafian follicle) και στο ωχρό σωματίο (corpus luteum) πιθανώς λόγω της μεγάλης συγκέντρωσης των μιτοχονδρίων στα κύτταρα αυτά. Το μαγγάνιο συμμετέχει στη ρύθμιση της έκκρισης των ορμονών, στην ωρίμανση των ωαρίων, στην εμβρυική ανάπτυξη και στη λειτουργία του ωχρού σωματίου. Σε συνθήκες έλλειψης του ιχνοστοιχείου έχει παρατηρηθεί ότι υπάρχουν διαταραχές στον οιστρικό κύκλο,

αύξηση των βλαβών στο DNA και προβλήματα στην ανάπτυξη ωαρίων με συνέπεια την αύξηση της απόπτωσης των κυττάρων τους, ενώ σε ζώα έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει αρνητικά τον κύκλο αναπαραγωγής. Η αντιοξειδωτική προστασία που προσφέρει το μαγγάνιο μέσω της MnSOD προστατεύει τα κύτταρα των ωοθηκών από τις αυξημένες βλάβες που επάγονται από το οξειδωτικό στρες [63].



Εικόνα 10 Μηχανισμοί υπογονιμότητας που σχετίζεται με το οξειδωτικό στρες. Η αυξημένη παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) και η μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα οδηγούν σε απόπτωση, χαμηλή ποιότητα ωαρίων και ανωορρηξία καταλήγοντας τελικά σε υπογονιμότητα

Τοξικότητα του Μαγγανίου στον Ανθρώπινο Οργανισμό

Μεγάλη ποικιλία μεταβολικών και φυσιολογικών λειτουργιών στον ανθρώπινο οργανισμό απαιτούν μαγγάνιο για τη διατήρησή τους, καθώς αποτελεί συμπαραγοντάς για αρκετά μεταβολικά και αντιοξειδωτικά ένζυμα. Ωστόσο, η χρόνια έκθεση σε αυτό το ιχνοστοιχείο μπορεί να έχει αρνητικές επιπτώσεις. Η υψηλή συγκέντρωση του μαγγανίου μπορεί να οφείλεται σε εισπνοή σωματιδίων από βιομηχανικές εκπομπές, χώρους εξόρυξης, λιπάσματα, πρόσθετα βενζίνης (MMT), αλλά και έκθεση σε μολυσμένο έδαφος, νερό και τροφές [64]. Ακόμη, η τοξικότητα μπορεί να οφείλεται σε ένα εξασθενημένο ή μη πλήρως ανεπτυγμένο σύστημα απέκκρισης, αλλά και στην

δυσλειτουργία των μεταφορέων του. Η συσσώρευση λοιπόν μπορεί να προκαλέσει τη δυσλειτουργία πολλών οδών επιφέροντας διαταραχή της μιτοχονδριακής αναπνοής, ενεργειακή αποτυχία, οξειδωτικό και νιτροσωτικό στρες, φλεγμονή και διεγερτοτοξικότητα [65]. Το μαγγάνιο συσσωρεύεται σε περιοχές του εγκεφάλου όπως τα βασικά γάγγλια, ο μετωπιαίος φλοιός, ο ιππόκαμπος και η παρεγκεφαλίδα [64]. Η διαταραχή της ομοιόστασης του μαγγανίου έχει συσχετιστεί με πολυάριθμες νευρολογικές ασθένειες όπως η νόσος Parkinson, το Alzheimer, το ALS, το prion και η Huntington [65]. Η ευαισθησία των ατόμων για τοξικότητα καθορίζεται από αρκετούς ατομικούς παράγοντες, όπως η ηλικία, το φύλο, η εθνικότητα, η γενετική προδιάθεση και προϋπάρχουσες παθολογικές καταστάσεις. Τα βρέφη λόγω της αυξημένης εντερικής απορρόφησης του ιχνοστοιχείου, της μεγαλύτερης διαπερατότητας των νευρικών φραγμών και της μειωμένης χολικής απέκκρισης έχουν αυξημένο κίνδυνο συσσώρευσης του στο κεντρικό νευρικό σύστημα και εμφάνιση νευροτοξικότητας, ενώ υψηλά αλλά και χαμηλά επίπεδα μαγγανίου στο μητρικό αίμα έχουν συσχετιστεί με τη μειωμένη νευροαναπτυξιακή απόδοση και τη μεταβολή ενζυμικών λειτουργιών των βρεφών. Επίσης ευάλωτη ομάδα αποτελούν οι ηλικιωμένοι, καθώς η έκθεση σε μαγγάνιο μπορεί να επιδεινώσει προϋπάρχουσες ή υποκλινικές νευρολογικές διαταραχές, λόγω πιθανού συνδυασμού των βλαβών, και να επιταχύνει την πτώση της κινητικής λειτουργίας. Ακόμη, έχει παρατηρηθεί ότι οι γυναίκες παρουσιάζουν υψηλότερα επίπεδα του μαγγανίου στο αίμα λόγω πιθανών μεταβολικών διαφορών, ενώ τα άτομα με έλλειψη σιδήρου είναι πιο ευάλωτα εξαιτίας της αυξημένης γαστρεντερικής απορρόφησης του στοιχείου [66].

Βιολογικοί Δείκτες και Τεχνικές Ανίχνευσης Τοξικότητας του Μαγγανίου

Η τοξικότητα του μαγγανίου μπορεί να εμφανιστεί πολύ σύντομα στη περίπτωση επαγγελματικής έκθεσης, όπου τα επίπεδα είναι υψηλά, ενώ στην περιβαλλοντική έκθεση τα συμπτώματα εμφανίζονται πιο αργά και είναι δυσκολότερο να εντοπιστούν. Για τον λόγο αυτό είναι απαραίτητη η χρήση αξιόπιστων βιοδεικτών για την έγκαιρη ανίχνευση και την πρόληψη μη-αναστρέψιμων βλαβών που μπορεί να προκαλέσει. Κλασικοί βιοδείκτες αποτελούν το αίμα, τα ούρα, το σάλιο, τα μαλλιά, τα νύχια και τα οστά. Επειδή, το μαγγάνιο μετά την απορρόφηση του κατανέμεται κυρίως στους ιστούς και

στα ενδοκυττάρια διαμερίσματα, η συγκέντρωσή του στο αίμα δεν αντιπροσωπεύει τη πραγματική του κατανομή στους ιστούς-στόχους, ιδιαίτερος στον εγκέφαλο, καθώς έχει χρόνο ημιζωής μικρότερο από δύο ώρες. Ωστόσο, χρησιμοποιείται για τη διάκριση μεταξύ εκτεθειμένων και μη εκτεθειμένων ατόμων. Η αναλογία Mn/Fe (MIR) στο πλάσμα ή στα ερυθροκύτταρα αποτελεί έναν εναλλακτικό βιοδείκτη. Επειδή έχει αποδειχθεί ότι η συγκέντρωση του μαγγανίου επηρεάζει την ομοιοστάση του σιδήρου, η χρήση αυτής της αναλογίας ιδιαίτερα στα ερυθροκύτταρα μπορεί να προσφέρει δεδομένα για τις συγκεντρώσεις του μαγγανίου και του σιδήρου στα άτομα που εξετάζονται σε περιπτώσεις έκθεσης σε μαγγάνιο. Παράλληλα, οι απεικονιστικές τεχνικές συμβάλλουν σημαντικά στην εκτίμηση της έκθεσης. Η μαγνητική τομογραφία (MRI) σε συνδυασμό με τη μαγνητική φασματοσκοπία (MRS) για τη μη επεμβατική εκτίμηση νευροχημικών δεικτών όπως το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA) μπορεί να δώσει ισχυρές ενδείξεις έκθεσης με μαγγάνιο ακόμη και απουσία κλινικών συμπτωμάτων. Βέβαια, σε περιπτώσεις μακροχρόνιας έκθεσης χαμηλής έντασης ή σε άτομα που είχαν εκτεθεί στο παρελθόν ούτε τα ευρήματα της MRI επαρκούν για την αξιόπιστη εκτίμηση της έκθεσης ή τοξικότητας. Το γεγονός ότι υπάρχει σημαντική συσσώρευση του στοιχείου στο σκελετό, η μέτρηση της συγκέντρωσής του στα οστά αναδεικνύεται ως μία πολλά υποσχόμενη προσέγγιση. Η χρήση φασματοσκοπίας φθορισμού ακτίνων X και η νετρονική ενεργοποίηση ενδέχεται να προσφέρουν νέα εργαλεία για την πιο ακριβή αξιολόγηση της έκθεσης και τοξικότητας του μαγγανίου [67].

Μαγγανισμός

Η συσσώρευση μαγγανίου στην περιοχή των βασικών γάγγλιων του εγκεφάλου που μπορεί να προκαλέσει ένα σύνδρομο με παθολογικά συμπτώματα παρόμοια με τη νόσο του Parkinson ονομάζεται μαγγανισμός. Η νόσος μπορεί να εμφανιστεί σε άτομα με ηπατική και νεφρική ανεπάρκεια ή άτομα που τους γίνεται χορήγηση της τροφής παρεντερικά, ενώ έχει παρατηρηθεί και σε συνθήκες ανεπάρκειας σιδήρου λόγω ανταγωνισμού των μεταφορέων αυτών των ιχνοστοιχείων [68]. Οι ασθενείς εμφανίζουν ψυχιατρικά συμπτώματα, όπως οι διαταραχές της συμπεριφοράς, οι ψευδαισθήσεις και η ψύχωση, αλλά και κινητικά όπως η διαταραχή της βάδισης, η αστάθεια, η

βραδυκίνησια, το ανέκφραστο πρόσωπο, οι διαταραχές στην ομιλία και δυστονία που περιλαμβάνει μορφασμούς του προσώπου, κάμψη πέλματος και χαρακτηριστική βάδιση (cock walk).

Ο μαγγανισμός διακρίνεται από τη νόσο του Parkinson, επειδή η πρώτη προκαλεί βλάβη κυρίως στον ωχρό πυρήνα, υπάρχει απουσία σωμάτων Lewy, τα οποία βρίσκονται μέσα στους νευρώνες και συνδέονται με την εκφύλιση αυτών και αποτελούνται κυρίως από την πρωτεΐνη α-συνουκλεΐνη, και η ντοπαμίνη υπάρχει αλλά δεν μπορεί να αξιοποιηθεί σωστά. Η νόσος του Πάρκινσον (PD) προκαλεί εκφύλιση των νευρώνων ντοπαμίνης στη μέλαινα ουσία, υπάρχει παρουσία των σωμάτων Lewy και ο οργανισμός αδυνατεί να συνθέσει ντοπαμίνη [69].

Για την αντιμετώπιση της νόσου δεν υπάρχει κάποια αποτελεσματική θεραπεία. Η θεραπεία με EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid), το οποίο είναι μια χημική ένωση που χρησιμοποιείται ως χηλικός παράγοντας, μειώνει τα επίπεδα του μαγγανίου στον οργανισμό αλλά έχει περιορισμένη κλινική αποτελεσματικότητα κυρίως λόγω της αδυναμίας του να διεισδύει επαρκώς στον εγκέφαλο και έτσι απομακρύνεται κυρίως το εξωκυττάριο μαγγάνιο και όχι το ενδοκυττάριο που είναι υπεύθυνο για τη νευρωτική βλάβη, αλλά και δεν μπορεί να βοηθήσει στην αποκατάσταση των κατεστραμμένων νευρώνων. Ωστόσο, η θεραπεία με το PAS (para-aminosalicylic acid), το οποίο είναι ένα χηλικό φάρμακο, είναι πιο αποτελεσματική επειδή δεσμεύει το μαγγάνιο και διευκολύνει την απομάκρυνσή του από τον οργανισμό, αλλά και λόγω της αντιφλεγμονώδους του δράσης μπορεί να συμβάλλει στη νευροπροστασία.[70] Ακόμη, η αποτελεσματικότητα της θεραπείας με L-dopa μπορεί να φαίνεται ότι βοηθά σε μεμονωμένες περιπτώσεις με βελτίωση των συμπτωμάτων όπως η βραδυκίνησια, η δυσκαμψία και η ισορροπία, ωστόσο κάποιοι ασθενείς παρουσίασαν υποτροπιασμό της νόσου. Επομένως, η ανταπόκριση στην L-dopa στο μαγγανισμό συμβάλλει μόνο για τη διαφορική διάγνωση από την ιδιοπαθή νόσο του Parkinson [71].



Εικόνα 11 MRI εγκεφάλου, στην οποία απεικονίζεται αμφοτερόπλευρο υπερέντονο σήμα στα βασικά γάγγλια (Α), στον μέσο εγκέφαλο (Β), και στο καλυπτρικό τμήμα της γέφυρας (Γ). Τα ευρήματα αυτά είναι χαρακτηριστικά του μαγγανισμού, αν και υπερέντονο σήμα των βασικών γαγγλίων μπορεί να εμφανιστεί και στη νόσο συσσώρευσης χαλκού, στη δηλητηρίαση από CO, κατά την υπατική ανεπάρκεια και στην υπεργλυκαιμία.

Επιπτώσεις της συσσώρευσης μαγγανίου σε διάφορα λειτουργικά όργανα

Σύμφωνα με μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί έχει φανερωθεί ότι η έκθεση σε μαγγάνιο αναστέλλει τη συστολή του μυοκαρδίου, διαστέλλει τα αιμοφόρα αγγεία και προκαλεί υπόταση με όλα αυτά τα συμπτώματα να υποδηλώνουν την επίδραση του στην καρδιακή λειτουργία. Ο ακριβής μηχανισμός για την καρδιακή τοξικότητα δεν έχει αποδειχθεί, ωστόσο έχει διαπιστωθεί η άμεση επίδραση του μαγγανίου στη μιτοχονδριακή λειτουργία που επιφέρει τα αναφερθέντα συμπτώματα.

Ακόμη, η αυξημένη βρεφική θνησιμότητα έχει παρατηρηθεί σε περιοχές στις οποίες υπάρχει αυξημένη συγκέντρωση μαγγανίου στο πόσιμο νερό βάσει μελετών που διεξήχθησαν σε υπόγεια ύδατα στη Βόρεια Καρολίνα και στο Μπαγκλαντές.

Το ήπαρ αποτελεί κύριο όργανο αποθήκευσης του μαγγανίου και η ηπατοχολική απομάκρυνση του αντιπροσωπεύει το 80% της αποβολής. Ο μεταφορέας SLC30A10 κατέχει σπουδαίο ρόλο στη ρύθμιση της απομάκρυνσης του μαγγανίου από τα κύτταρα, ιδιαίτερα στο ήπαρ, οπότε μεταλλάξεις στο γονίδιο αυτό μεταβάλλουν την ομοιόσταση του. Επιπλέον, πιθανή ηπατική βλάβη, λόγω χρόνιων νοσημάτων μπορεί να οδηγήσει σε υπερβολική συσσώρευση στον εγκέφαλο προκαλώντας νευροεκφύλιση, αλλά και μια ασθένεια που ονομάζεται ηπατική εγκεφαλοπάθεια από μαγγάνιο. Η μεταμόσχευση ήπατος αποδείχθηκε αποτελεσματική για τη θεραπεία των ασθενών αυτών [66].

Πρωτεΐνες του μαγγανίου

Το μαγγάνιο είναι απαραίτητο ιχνοστοιχείο για όλες τις μορφές ζωής. Βρίσκεται στο ενεργό κέντρο πολλών ενζύμων. Επίσης, ως συνένζυμο, είναι υπεύθυνο για την ενεργοποίηση και δραστικότητα άλλων ενζύμων. Το ένζυμο μαγγανική σουπεροξειδική δισμουτάση (Mn-SOD) είναι το κυριότερο αντιοξειδωτικό στα μιτοχόνδρια. Ένζυμα που ενεργοποιούνται από το μαγγάνιο συνεισφέρουν στο μεταβολισμό των υδατανθράκων, των αμινοξέων και της χοληστερόλης. Επιπρόσθετα, το μαγγάνιο εμπλέκεται στο σχηματισμό των οστών και των συνδετικών ιστών, τη λειτουργία του θυροειδούς, την απορρόφηση του ασβεστίου, τη ρύθμιση του σακχάρου στο αίμα, την αξιοποίηση των βιταμινών A, B, C και E καθώς και το μεταβολισμό υδατανθράκων και λιπών [72].

Οξειδοαναγωγικά ένζυμα του μαγγανίου

Το μαγγάνιο αποτελεί σημαντικό μεταλλικό ιχνοστοιχείο στα βιολογικά συστήματα, καθώς συμμετέχει σε ποικιλία ενζυμικών αντιδράσεων ως μεταλλικός συμπαραγόντας. Η βιολογική χρησιμότητα του σχετίζεται με την ικανότητα του να εμφανίζεται σε διαφορετικές οξειδωτικές καταστάσεις, κυρίως ως Mn(II), Mn(III) και Mn(IV) [73]. Η δυνατότητα εναλλαγής μεταξύ αυτών των

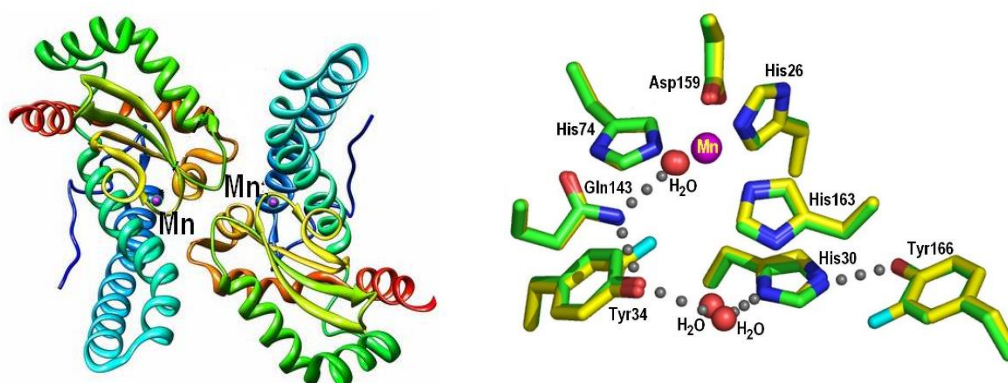
οξειδωτικών καταστάσεων επιτρέπει στο μαγγάνιο να συμμετέχει σε αντιδράσεις μεταφοράς ηλεκτρονίων. Στα οξειδοαναγωγικά ένζυμα του μαγγανίου το μεταλλικό κέντρο δεν έχει μόνο δομικό ρόλο, αλλά συμμετέχει άμεσα στον καταλυτικό μηχανισμό. Οι αλλαγές στην οξειδωτική κατάσταση του μετάλλου μπορούν να ελέγχουν τη δημιουργία ριζικών ενδιάμεσων ή τη μεταφορά ηλεκτρονίων προς και από το υπόστρωμα [74]. Αυτά τα ένζυμα περιλαμβάνουν τη σουπεροξειδική δισμουτάση και την καταλάση του μαγγανίου, τη μαγγανική υπεροξειδάση, τη ριβονουκλεοτιδική ρεδοκτάσή του μαγγανίου και ίσως το πιο σημαντικό ένζυμο του μαγγανίου το OEC του φωτοσυστήματος II.

MnSOD

Ανάμεσα στα ένζυμα που χρησιμοποιούν το μαγγάνιο για την οξειδοαναγωγική τους δράση, οι σουπεροξειδικές δισμουτάσες του μαγγανίου (SOD) είναι πιο καλά καθορισμένες δομικά. Το ένζυμο που καταλύει τη μετατροπή των σουπεροξειδικών ριζών σε οξυγόνο και υπεροξείδιο του υδρογόνου.



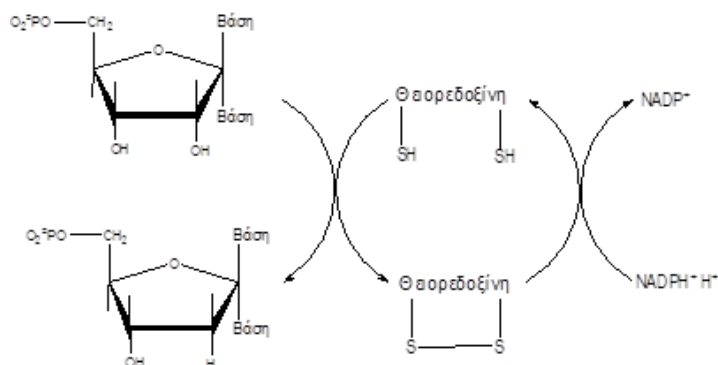
Το ένζυμο βρίσκεται στα μιτοχόνδρια των ευκαρυωτικών οργανισμών από το *Saccharomyces cerevisiae* μέχρι τον άνθρωπο. Η Mn SOD από το *Thermus thermophilus* έχει κρυσταλλωθεί και έτσι προσδιορίστηκε η δομή της. Η πρωτεΐνη αυτή είναι ένα τετραμερές με αλυσίδα που αποτελείται από 203 αμινοξέα. Τα ligands σε κάθε ιόν του Mn(III) που είναι ενωμένα με την πρωτεΐνη προσδιορίστηκαν ως τρεις ιστιδίνες, μια ασπαρτάμη και ένα H₂O, τοποθετημένα σε τριγωνική διπυραμιδική γεωμετρία. Τόσο η βασική δομή όσο και το ενεργό μεταλλικό κέντρο δεν αλλάζουν όταν το ένζυμο μεταπίπτει στη βαθμίδα Mn(II). Πιστεύεται ότι το έκτο ligand, σουπεροξείδιο στην κανονική αντίδραση ή αζίδιο στις ανηγμένες μορφές, εισέρχεται στη σφαίρα συναρμογής του μαγγανίου για να σχηματίσει μια ένωση με εσωτερική σφαίρα μεταφοράς ηλεκτρονίων. Θεωρείται ότι το μαγγάνιο αλλάζει μεταξύ των οξειδωτικών καταστάσεων +2 και +3 με μηχανισμό τύπου *ping-pong*.



Εικόνα 12 Η δομή και το μεταλλικό κέντρο της ενεργού περιοχής του Mn SOD [72]

Μαγγανική ριβονουκλεοτιδική αναγωγή (ρεδουκτάση)

Τα σπειροειδή βακτήρια, οργανισμοί που χρησιμοποιούνται βιομηχανικά για την παραγωγή των αμινοξέων και των νουκλεοτιδίων, απαιτούν μαγγάνιο για την ανάπτυξη τους κυρίως για τη σύνθεση του DNA. Η σύνθεση του DNA εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα μη οξυγονούχων ριβονουκλεοτιδίων. Τα υποστρώματα για τη δημιουργία αυτών των μη οξυγονούχων ριβονουκλεοτιδίων είναι τα διφωσφορικά ριβονουκλεοτίδια, ADP, GDP, CDP και UDP. Το ένζυμο που προκαλεί την αναγωγή αυτών σε μη-οξυγονούχα ριβονουκλεοτίδια είναι η αναγωγή των φωσφορικών ριβονουκλεοτιδίων, η οποία χρησιμοποιεί θειορεδοξίνη (*thioredoxin*) ως συνυπόστρωμα. Η μαγγανική ριβονουκλεοτιδική αναγωγή που απομονώθηκε από τη *B. Ammonia* διαπιστώθηκε ότι αποτελείται από ένα διμερές MB = 100 kDa και ένα μονομερές MB = 80 kDa. Προτείνεται η παρουσία του Mn(II) ως δομικός παράγοντας. Αντισώματα που αναστέλλουν τη δράση της αναγωγής των φωσφορικών ριβονουκλεοτιδίων που περιέχει σίδηρο διαπιστώθηκε ότι είναι μη δραστικά απέναντι στο μαγγανικό ένζυμο.

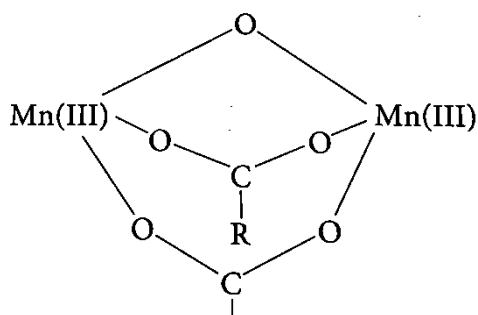


Εικόνα 13 Ο τρόπος δράσης της ρεδοκτάσης [72]

Καταλάση του Μαγγανίου

Οι μη αιμικές καταλάσες μαγγανίου βρίσκονται ευρέως στη μικροβιακή ζωή και αντιπροσωπεύουν μια περιβαλλοντικά σημαντική εναλλακτική λύση στις καταλάσες που περιέχουν αίμη στην αντιοξειδωτική άμυνα. Οι καταλάσες μαγγανίου περιέχουν ένα διπυρηνικό σύμπλοκο μαγγανίου ως καταλυτική ενεργή θέση τους και όχι μια αίμη. Οι καταλάσες χρησιμεύουν ως η πρώτη γραμμή άμυνας ενάντια στο υπεροξείδιο του υδρογόνου, που σχηματίζεται ποικιλοτρόπως ως παράγοντας σηματοδότησης κυττάρων, ως όπλο διακυτταρικού πολέμου ή ως υποπροϊόν αερόβιας μεταβολισμού. Όλες οι καταλάσες καταλύουν την ακόλουθη αντίδραση: $2\text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O}$ [75].

Από τις καταλάσες που περιέχουν μαγγάνιο εκτενέστερα μελετήθηκε αυτή από τον *Lactobacillus plantarum* με μέσο μοριακό βάρος περίπου 170 kDa και ύπαρξη πέντε όμοιων υπομονάδων που περιέχουν δύο ιόντα μαγγανίου ανά υπομονάδα. Τα ιόντα μαγγανίου στη καταλάση βρίσκονται με τη μορφή Mn(III), χωρίς βέβαια να αποκλείεται λαμβάνοντας υπόψη νεότερα οπτικά



Εικόνα 14 Προτεινόμενη μορφή του ενεργού κέντρου των καταλασών που περιέχουν μαγγάνιο [72]

δεδομένα ένα μεικτού σθένους διπυρηνικό κέντρο του τύπου Mn(II)/Mn(III) ή Mn(III)/Mn(IV).

Το μαγγάνιο στη φωτοσύνθεση

Η διάσπαση του ύδατος με τη βοήθεια της ηλιακής ενέργειας σε οξυγόνο και πρωτόνια, τα οποία συμμετέχουν στο μεταβολισμό των φυτών κατά τη φωτοσύνθεση, αποτελεί μια από τις σημαντικότερες χημικές διεργασίες για την ύπαρξη υψηλών μορφών ζωής πάνω στη Γη. Οι βασικές διεργασίες που γίνονται στα φυτά είναι:

α) Διάσπαση του ύδατος κατά τη φωτοσύνθεση, η οποία προκαλείται με τη βοήθεια του ορατού φωτός και πραγματοποιείται στη θυλακοειδή μεμβράνη των χλωροπλαστών.

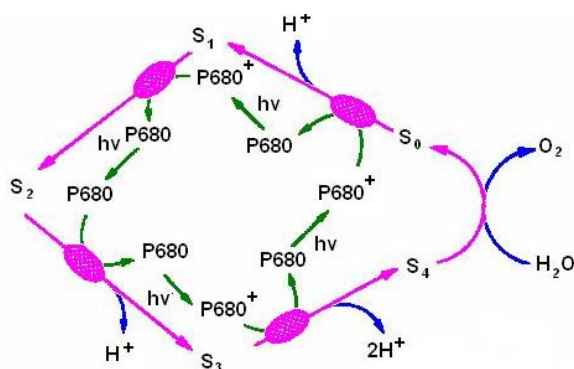
β) Οξειδωτική αντίδραση του συναρμωσμένου υδρογόνου με οξυγόνο που πραγματοποιείται στην εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων και αποθήκευση της ελευθερούμενης ενέργειας με σχηματισμό του ATP [72].

Η πιο σημαντική βιοχημική καινοτομία που επιτρέπει τη διάσπαση του νερού μέσω του φωτός και την παραγωγή μοριακού οξυγόνου είναι το κέντρο παραγωγής οξυγόνου (oxygen evolving center, OEC) ή υδατοοξειδωτικό σύμπλεγμα (WOC) του φωτοσυστήματος II (PSII). Το OEC είναι ένα κουβανικό σύμπλεγμα υψηλού σθένους τεσσάρων οξειδοαναγωγικών ενεργών κέντρων Mn και ενός κέντρου Ca, Mn_4CaO_5 cluster, που συνδέονται με οξο-γέφυρες, το οποίο εξυπηρετεί μια σημαντική λειτουργία της δράσης ως ένας τύπος οξειδοαναγωγικού πυκνωτή που προσαρμόζει τη φυσική χημεία ενός ηλεκτρονίου του κέντρου αντίδρασης για την οξείδωση τεσσάρων ηλεκτρονίων δύο μορίων νερού. Αυτή η βιοσυνθετική διαδικασία απαιτεί μόνο Mn^{2+} και φως. Κατά τη διάρκεια του καταλυτικού κύκλου και της μεταφοράς ηλεκτρονίων μέσω του φωτοσυστήματος δωρίζονται πέντε ηλεκτρόνια από τέσσερα άτομα μαγγανίου για να παραχθεί η βασική κατάσταση οξείδωσης (S_0 : $Mn(III)Mn(IV)_3$) του OEC [76].

Η διάσπαση του ύδατος που γίνεται στο φωτοσύστημα II πραγματοποιείται σε τέσσερα στάδια. Πιστεύεται ότι στα ενδιάμεσα στάδια σχηματίζονται προϊόντα (OH^- , H_2O_2 , HO_2^-) τα οποία θα μπορούσαν να οδηγήσουν στην καταστροφή των βιολογικών συστημάτων. Το δυναμικό οξειδοαναγωγής είναι αρκετά υψηλό ($E = 0,815 V$) για αυτό γίνεται φωτοχημικά και καταλύεται από το ένζυμο διάσπασης του ύδατος OEC, ενώ η αντίθετη

διεργασία σχηματισμού ύδατος καταλύεται από το ένζυμο κυτοχρωμική οξειδάση.

Ο αποδεκτός μηχανισμός διάσπασης του ύδατος από το OEC προτάθηκε από τον Kok και σύμφωνα με αυτόν κάθε κέντρο αντίδρασης του PSII ενεργεί ανεξάρτητα για να προκαλέσει τέσσερις οξειδώσεις διαδοχικά. Το OEC οξειδώνεται σε τέσσερα στάδια ενός ηλεκτρονίου μέχρι τη κατάσταση S_4 , όπου απελευθερώνεται O_2 . Ένα πρωτόνιο απελευθερώνεται κατά τη μετατροπή S_0 - S_1 , ένα κατά τη μετατροπή S_2 - S_3 και δύο κατά το σχηματισμό της S_4 .



Εικόνα 15 Κύκλος διάσπασης του ύδατος κατά τον Kok [72]

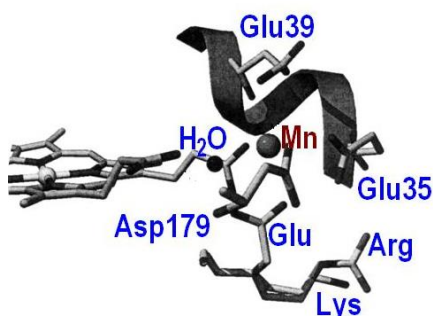
Μπορούμε να συνοψίσουμε τις μελέτες για το OEC στα εξής γενικά συμπεράσματα:

- 1) Για τη καταλυτική δράση του OEC απαιτούνται τέσσερα ιόντα μαγγανίου και ένα ιόν ασβεστίου.
- 2) Μερικά ή όλα τα άτομα του μαγγανίου σχηματίζονται cluster(s) κατά τη διάρκεια του καταλυτικού κύκλου.
- 3) Κάθε κέντρο αντίδρασης δρα ανεξάρτητα και απαιτεί 4 φωτοχημικά οξειδωτικά ισοδύναμα για κάθε μόριο οξυγόνου που απελευθερώνεται [72].

Υπεροξειδάση του Μαγγανίου

Η υπεροξειδάση του μαγγανίου ($Mn\{P\}$) είναι ένα από τα δύο γνωστά ένζυμα που είναι ικανά για την οξειδωτική αποικοδόμηση της λιγνίνης. Η λιγνίνη είναι ένα άμορφο, αρωματικό πολυμερές που αποτελείται από p-υδροξυκιναμική αλκοόλη, 4-υδροξυ-3-μεθοξυκιναμική αλκοόλη και 3,5-διμεθοξυ-4-υδροξυκιναμική αλκοόλη, όλες πρόδρομες ενώσεις από ξυλώδη

φυτά. Αποτελείται κατά 20-30% από τους ιστούς των φυτών και είναι ενσωματωμένη στο τοίχωμα του κυττάρου, όπου επιβραδύνει τη βιοαποικοδόμηση της κυτταρίνης. Οι μόνοι γνωστοί οργανισμοί που είναι ικανοί για την αποικοδόμηση της λιγνίνης είναι οι *White Rot Basidiomycetes*, οι οποίοι περιέχουν τη λιγνινάση και τη Mn{P}. Και τα δύο αυτά ένζυμα περιέχουν την προσθετική ομάδα πρωτοπορφυρίνη IX της αίμης που είναι παρόμοια με την υπεροξειδάση της αίμης με μια L5-ιστιδίνη. Επίσης και τα δύο χρησιμοποιούν υπεροξείδιο του υδρογόνου για να αποσυνθέσουν οξειδωτικά τη λιγνίνη [72].



Εικόνα 16 Το μεταλλικό κέντρο της υπεροξειδάσης του μαγγανίου [72]

Μη οξειδοαναγωγικά ένζυμα μαγγανίου

Στα μη-οξειδοαναγωγικά ένζυμα του μαγγανίου (ένζυμα κατά Lewis), το μαγγάνιο βρίσκεται συνήθως στην οξειδωτική κατάσταση Mn(II) και δεν αλλάζει ουσιαστικά οξειδωτική βαθμίδα κατά τη διάρκεια του καταλυτικού κύκλου. Το μέταλλο στα ένζυμα αυτά δρα με παρόμοιο τρόπο με άλλα δισθενή κατιόντα όπως Mg(II), Ca(II) και Zn(II), διότι μπορεί να σταθεροποιεί φορτισμένες μεταβατικές καταστάσεις και να διευκολύνει την κατάλυση. Επομένως, η κατά Lewis δράση του μαγγανίου είναι σημαντική σε αντιδράσεις υδρόλυσης, καρβοξυλίωσης και μεταφοράς ομάδων στις οποίες απαιτείται σταθεροποίηση φορτίων ή ενεργοποίηση υποστρωμάτων χωρίς άμεση μεταφορά ηλεκτρονίων από το μέταλλο.[77]

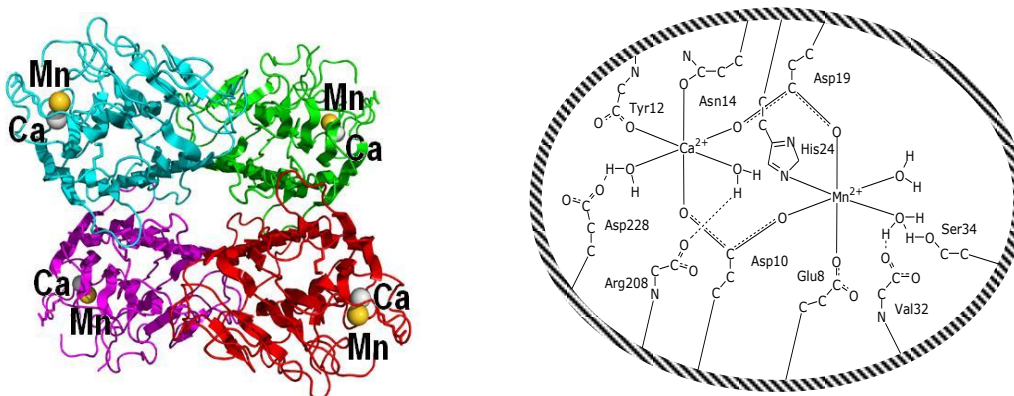
Κονκαναβαλίνη Α

Η Κονκαναβαλίνη Α ανήκει στις λεκτίνες, οι οποίες συναρμολογούνται με σακχαρίτες (saccharide) μέσω μεταλλοϊόντων και είναι μια μεταλλοπρωτεΐνη Mn-Ca που έχει χαρακτηριστεί και κρυσταλλογραφικά. Η Κονκαναβαλίνη Α

απαντάται ως διμερής σε $\text{pH} = 6$ και ως τετραμερής σε $\text{pH} > 7$. Κάθε μονάδα έχει δύο σημεία συναρμογής:

- α) το σημείο S_1 , το οποίο διατίθεται για συναρμογή μεταβατικού μετάλλου και
- β) το σημείο S_2 , το οποίο διατίθεται αποκλειστικά για συναρμογή του ιόντος ασβεστίου.

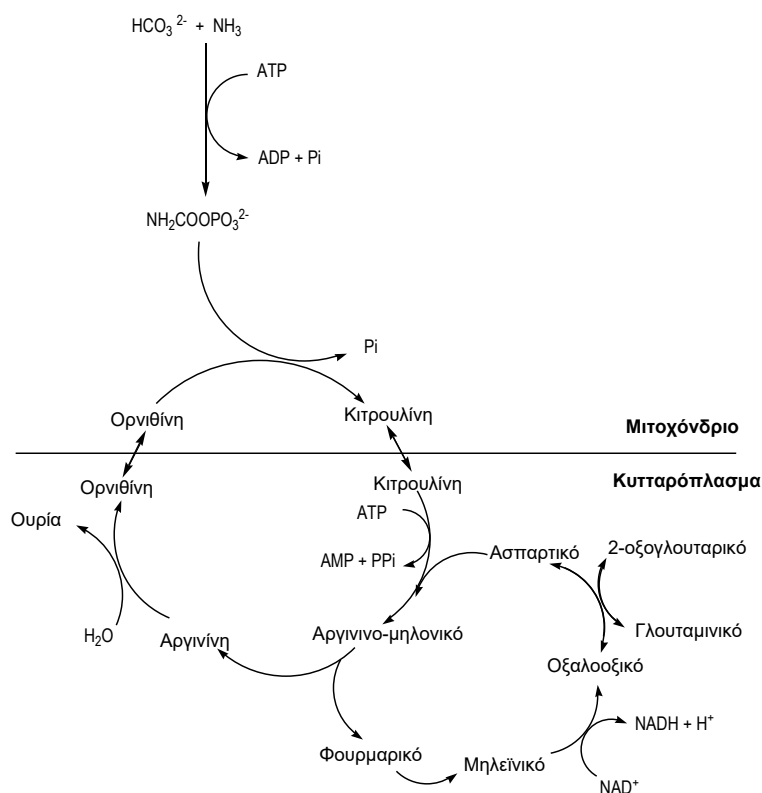
Το Mn(II) συναρμόζεται με το πρωτεϊνικό μέρος μέσω των αμινοξέων της πρωτεϊνικής αλυσίδας Glu, His, και 2Asp, ενώ η οκταεδρική συναρμογή του Mn(II) συμπληρώνεται με δύο μόρια ύδατος. Ο ρόλος των μεταλλοϊόντων είναι δομικός.



Εικόνα 17 (α) Η δομή και (β) το μεταλλικό κέντρο της κονκαναβαλίνης Α [72]

Αργινάση

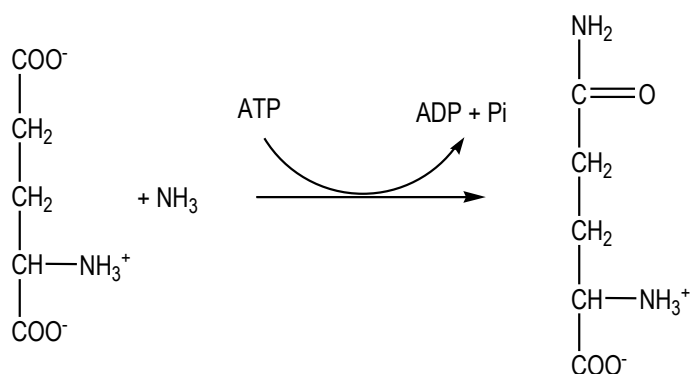
Η αργινάση είναι το τελευταίο ένζυμο στο κύκλο της ουρίας και καταλύει την υδρολυτική διάσπαση της αργινίνης προς ουρία και ορνιθίνη σύμφωνα με τη παρακάτω αντίδραση. Η αργινάση, η οποία απαντάται στα μιτοχόνδρια, περιέχει τέσσερα ιόντα Mn(II) ανά μόριο ενζύμου.



Εικόνα 18 Κύκλος της ουρίας [72]

Γλουταμινική συνθετάση

Η συνθετάση της γλουταμίνης και η συνθετάση του γλουταμινικού οξέος δρουν συνεργιστικά. Η συνθετάση της γλουταμίνης καταλύει τη σύνθεση της γλουταμίνης σε όλους τους οργανισμούς σύμφωνα με την αντίδραση:

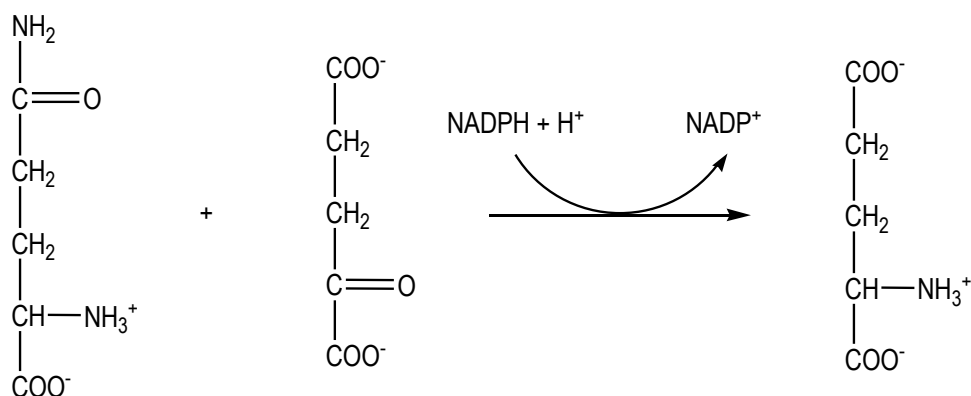


Γλουταμινικό οξύ

Γλουταμίνη

Εικόνα 19 Η αντίδραση μετατροπής του γλουταμινικού οξέος σε γλουταμίνη που πραγματοποιείται από τη συνθετάση της γλουταμίνης [72]

Η συνθετάση του γλουταμινικού οξέος, η οποία δεν υπάρχει στον άνθρωπο αλλά έχει βρεθεί στα βακτήρια, καταλύει το σχηματισμό του γλουταμινικού οξέος σύμφωνα με την αντίδραση:



Γλουταμίνη

2-Οξογλουταρικό οξύ

Γλουταμινικό οξύ

Εικόνα 20 Η αντίδραση μετατροπής της γλουταμίνης σε γλουταμινικό οξύ που πραγματοποιείται από τη συνθετάση του γλουταμινικού οξέος [72]

Αυτό το ενζυμικό ζεύγος χρησιμοποιείται από τα πράσινα φύκη και απαντάται στα μιτοχόνδρια. Η συνθετάση της γλουταμίνης περιλαμβάνει δύο μεταλλικά κέντρα με ιόντα Mn(II), τα οποία βρίσκονται σε απόσταση 8 - 10 Å, ενώ κάθε ιόν μαγγανίου είναι συναρμοσμένο με ligands με δότες N ή O [72].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 – Μη-στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα

Γενικά για τα ΜΣΑΦ

Τα μη-στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ, non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs) είναι κοινά θεραπευτικά φάρμακα που χρησιμοποιούνται ως αντιπυρετικοί, αναλγητικοί και αντιφλεγμονώδεις παράγοντες. Τα κοινά χαρακτηριστικά των ΜΣΑΦ είναι οι πανομοιότυπες φαρμακολογικές τους ιδιότητες, οι μηχανισμοί δράσης και οι ανεπιθύμητες ενέργειες. Κλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι τα φάρμακα αυτά μπορούν να ρυθμίσουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τον κυτταρικό θάνατο σε καλλιεργημένα καρκινικά κύτταρα *in vitro* και καθυστερούν ή προλαμβάνουν το καρκίνωμα του παχέος εντέρου και του μαστού σύμφωνα με μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε ζώα. Επιπλέον, τα περισσότερα δρουν αναστέλλοντας μη επιλεκτικά τόσο τον μεταβολισμό της κυκλοοξυγενάσης-1 (COX-1) και της κυκλοοξυγενάσης-2 (COX-2), που υπερεκφράζεται στη πρόδρομη φάση του καρκίνου του μαστού, όσο και της λιποξυγενάσης (LOX) [78].

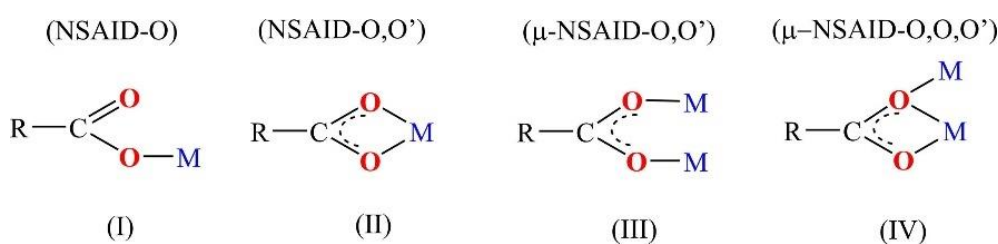
Οι μηχανισμοί των κυτταροτοξικών και χημειοπροληπτικών επιδράσεων των ΜΣΑΦ που προκαλούν κυρίως την απόπτωση επιτυγχάνεται μέσω της

αναστολής της συνθετάσης της προσταγλανδίνης, της αναστολής της δραστηριότητας των COX, της παρεμβολής του μεταβολισμού της γλυκόζης, της μείωσης του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGF) στον ανθρώπινο όγκο του παχέος εντέρου, της αύξησης της έκφρασης του ογκοκατασταλτικών γονιδίων PTEN (καταστολέας όγκου) και MAP (mitogen-activated protein)[78] και της μείωσης της πρόληψης ασβεστίου από τα κύτταρα [79]. Ακόμη είναι αποτελεσματικά κατά της μόλυνσης από βακτήρια καθώς αναστέλλουν την παραγωγή του υπεροξειδίου [78], αλλά και καταστέλλουν τη βλάβη του DNA που προκαλείται από τα ROS [79].

Με βάση τη χημική τους δομή, τα πιο κοινά ΜΣΑΦ μπορούν να ταξινομηθούν σε: (α) φαινυλαλκανοϊκά οξέα, όπως είναι το oxaprozin (Hoxa), το indomethacin (Hindo), το naproxen (Hnap), το ibuprofen (Hibu), το ketoprofen (Hketo), το diclofenac (Hdicl) και το tolmetin (Htolm), (β) σε ανθρανιλικά οξέα, όπως είναι το mefenamic acid (Hmef), το meclofenamic acid (Hmeclof), το clonixin (Hclon), το tolfenamic acid (Htolf), το flufenamic acid (Hfluf) και το niflumic acid (Hnif) και (γ) σε παράγωγα σαλικυλικού, όπως είναι η ασπιρίνη (Hasp), το diflunisal (H2difl) και το salsalate (Hsals) [80]. Οι κοξίμπες αποτελούν νεότερη κατηγορία ΜΣΑΦ και δρουν ως εκλεκτικοί αναστολείς της κυκλοοξυγενάσης-2 (COX-2). Η ανάπτυξή τους βασίστηκε στην ανάγκη βελτίωσης του θεραπευτικού προφίλ των κλασικών ΜΣΑΦ, καθώς η μακροχρόνια χρήση των τελευταίων συχνά περιορίζεται από γαστρεντερικές ανεπιθύμητες ενέργειες. Οι κοξίμπες σχεδιάστηκαν ώστε να διατηρούν την αντιφλεγμονώδη και αναλγητική δράση μέσω αναστολής της COX-2, περιορίζοντας παράλληλα την αναστολή της COX-1, η οποία σχετίζεται με την προστασία του γαστρικού βλεννογόνου [81]. Επιπλέον, οι οξικάμες αποτελούν κατηγορία ΜΣΑΦ και χρησιμοποιούνται κλινικά για την αντιμετώπιση οξείας και χρόνιας φλεγμονής. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν ενώσεις όπως η πιροξικάμη, η μελοξικάμη και η τενοξικάμη. Η φαρμακολογική τους δράση σχετίζεται κυρίως με την αναστολή των ενζύμων κυκλοοξυγενάσης, τα οποία συμμετέχουν στη βιοσύνθεση των προσταγλανδινών, ενώ η μελοξικάμη εμφανίζει σχετική εκλεκτικότητα προς την COX-2 [82]. Εκτός από τη δομική ταξινόμηση, τα ΜΣΑΦ έχουν επίσης κατηγοριοποιηθεί με βάση την ειδική ανασταλτική τους δράση για το PGHS (προσταγλανδίνη Η συνθετάση) καθώς και την ημιζωή τους στον ορό [83]. Επειδή, τα περισσότερα ΜΣΑΦ είναι ανιονικά σε φυσιολογικό pH,

εμποδίζεται η δυνατότητα προσέγγισής τους στον πολυανιονικό σκελετό του DNA, όμως, η παρουσία μεταλλικών ιόντων μπορεί να επηρεάσει τη διαθεσιμότητά τους [78]. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι τα μεταλλικά ιόντα έχουν την ικανότητα να σχηματίζουν σύμπλοκα με τα ΜΣΑΦ των οποίων η θεραπευτική ισχύς είναι πολύ ανώτερη σε σύγκριση με τα ελεύθερα ΜΣΑΦ [79]. Η συνδυαστική χρήση μετάλλου με φάρμακα ή με άλλες βιολογικά δραστικές ενώσεις έχει οδηγήσει σε ενισχυμένη δράση αυτών των ενώσεων ως αποτέλεσμα της συνέργειας, των ηπιότερων παρενεργειών, των διαφορετικών πιθανών μηχανιστικών οδών, της υπερνίκησης της κυτταρικής αντίστασης και των αλλαγών στη διαλυτότητα [80]. Η προκατάληψη κατά των φαρμάκων με βάση τα μέταλλα πηγάζει σε μεγάλο βαθμό από την ιδέα ότι τα μεταλλικά σύμπλοκα συμπεριφέρονται με τον ίδιο τρόπο όπως τα μεταλλικά ιόντα, και ως εκ τούτου είναι τοξικές οντότητες, χωρίς να συνειδητοποιούμε ότι η σφαίρα συναρμογής μπορεί να αλλάξει εντελώς τη χημεία τους, επομένως, και τη βιολογία και την τοξικότητά τους [78].

Σύμφωνα, με μελέτες κρυσταλλογραφίας που έχουν πραγματοποιηθεί έχει γίνει γνωστό ότι η καρβοξυλική ομάδα των ΜΣΑΦ αποπρωτονιώνεται και συνδέεται με το ιόν μετάλλου με τέσσερεις διαφορετικούς τρόπους οι οποίοι είναι: (I) ο μονοδραστικός (ΜΣΑΦ-O), (II) ο διδραστικός χηλικός (ΜΣΑΦ-O,O'), (III) ο διδραστικός μ_{1,3}-γεφυρωτικός (μ-ΜΣΑΦ-O,O') και (IV) ο τριδραστικός γεφυρωτικός (μ-ΜΣΑΦ-O,O,O').



Εικόνα 21 Τρόποι συναρμογής των ΜΣΑΦ με ιόντα [80]

Στον πρώτο τρόπο συναρμογής (I), η καρβοξυλική ομάδα του ΜΣΑΦ συνδέεται με το μέταλλο μέσω ενός καρβοξυλικού οξυγόνου, στο (II) το ΜΣΑΦ συναρμόζεται χηλικά στο μέταλλο μέσω των δύο καρβοξυλικών οξυγόνων, στον (III) τρίτο η καρβοξυλική ομάδα των ΜΣΑΦ μπορεί να συμμετέχει στο σχηματισμό γέφυρας μεταξύ δύο μεταλλικών ιόντων μέσω των δύο

καρβοξυλικών οξυγόνων ($\mu_{1,3-O,O'}$) και στο (IV) το ένα μέταλλο συνδέεται με τα δύο καρβοξυλικά οξυγόνα ενώ το δεύτερο μόνο με το ένα [80].

Φαιναμικά οξέα

Τα φαιναμικά οξέα (fenamic acids/ fenamates) αποτελούν παράγωγα του N-φαινυλο-ανθρανιλικού οξέος με αντιφλεγμονώδεις, αναλγητικές, αντιπυρετικές και αντικαρκινικές ιδιότητες. Η δράση τους αποδίδεται κυρίως στη μη-εκλεκτική αναστολή της δραστηριότητας των κυκλοοξυγενασών, τόσο της COX-1 όσο και της COX-2, οι οποίες καταλύουν τη βιοσύνθεση των προσταγλανδινών κατά τη φλεγμονώδη διαδικασία [84]. Η COX-1 είναι ένα ένζυμο σταθερής έκφρασης, ενώ η έκφραση της COX-2 επάγεται από κυτοκίνες, γλουταμικό, αυξητικούς παράγοντες, PAF (παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων) και άλλους μεσολαβητές ενώ, η αναστολή της επάγεται από τα γλυκοκορτικοειδή. Στους περισσότερους ιστούς, η διέγερση, ο τραυματισμός, τα φλεγμονώδη ερεθίσματα και άλλες μορφές κυτταρικού στρες ενεργοποιούν την έκφραση του γονιδίου της COX-2. Ωστόσο, ο εγκέφαλος, η πυκνή κηλίδα του νεφρού, οι όρχεις και το γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα εμφανίζουν επίσης σημαντικά επίπεδα της COX-2 [85]. Οι προσταγλανδίνες που προέρχονται από την COX-1 προστατεύουν τον γαστρικό βλεννογόνο μέσω αγγειοδιαστολής, διέγερσης και έκκρισης γαστροδωδεκαδακτυλικής βλέννης και διττανθρακικών, αλλά και με τον σχηματισμό προστατευτικού φραγμού έναντι της βλάβης από το οξύ. Η δράση τους είναι σημαντική για την επούλωση τραυμάτων που προκαλούνται δευτερογενώς από βλεννογονικές βλάβες εξαιτίας της διέλευσης των τροφών από το στομάχι [86]. Τα ΜΣΑΦ δεσμεύονται στο μόριο των COX με αποτέλεσμα την αναστολή της σύνθεσης των προσταγλανδινών. Ωστόσο, αυτή η μη εκλεκτική αναστολή της COX προκαλεί διάφορες δυσλειτουργίες στον ανθρώπινο οργανισμό όπως γαστρεντερικές δυσλειτουργίες έπειτα από μακροχρόνια χρήση. Η χρήση του μεφαιναμικού οξέος ως ΜΣΑΦ προκαλεί σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες που οφείλονται στη μείωση της ποσότητας των κυτταροπροστατευτικών προσταγλανδινών. Γαστρικός ερεθισμός και έλκος, δυσπεψία, αιμορραγία, ηπατοτοξικότητα αλλά και νεφροτοξικότητα είναι κάποια από τα ανεπιθύμητα αποτελέσματα της μακροχρόνιας χρήσης του. Η ανάπτυξη εκλεκτικών

αναστολέων της COX-2 έχει μειώσει τον γαστρεντερικό κίνδυνο. Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν φανέρωσαν ότι πέρα των πολλών ομοιοτήτων μεταξύ των δύο ισομορφών της COX το ενεργό κέντρο της COX-2 είναι περίπου 25% μεγαλύτερο σε σχέση με αυτό της COX-1. Επομένως, η τροποποίηση των κλασικών ΜΣΑΦ και δημιουργία μεγαλύτερων οδήγησε σε εκλεκτικότητα έναντι της COX-2. Η σελεκοξίμπη και η ροφεκοξίμπη αποτέλεσαν εκλεκτικούς αναστολείς, όμως η ροφεκοξίμπη αποσύρθηκε από την αγορά διότι αποτελούσε κύρια αιτία για καρδιαγγειακές διαταραχές με συνέπεια τον θάνατο ασθενών με νόσο Alzheimer. Αντιθέτως, η σελεκοξίμπη χρησιμοποιείται στην ρευματοειδή αρθρίτιδα ή νόσο του Bechterew [87]. Επιπροσθέτως, η COX-2 καταλύει την οξυγόνωση του αραχιδονικού οξέος και των ενδοκανναβινοειδών υποστρωμάτων, όπως η 2-αραχιδονοϋλογλυκερόλη και η ανανδαμίδα. Κατά τη μετατροπή του αραχιδονικού οξέος σχηματίζεται η προσταγλανδίνη H_2 , η οποία αποτελεί πρόδρομο μόριο για βιοδραστικές ενώσεις που συμμετέχουν στη φυσιολογική ομοιόσταση και σε παθολογικές καταστάσεις όπως η φλεγμονή και ο καρκίνος. Έχει αποδειχθεί ότι ορισμένα ταχέως αναστρέψιμα, ανταγωνιστικά ΜΣΑΦ, όπως η ιβουπροφαίνη και το μεφαιναμικό οξύ, αναστέλλουν την COX-2 με υποστρωματο-εκλεκτικό τρόπο καθώς, είναι ασθενείς ανταγωνιστικοί αναστολείς της οξυγόνωσης του αραχιδονικού οξέος, αλλά ισχυροί μη ανταγωνιστικοί αναστολείς της οξυγόνωσης των ενδοκανναβινοειδών. Συγκεκριμένα, η πρόσδεση του αναστολέα σε ένα μόνο μονομερές είναι αρκετή για να αναστείλει την οξυγόνωση των ενδοκανναβινοειδών, αλλά όχι του αραχιδονικού οξέος. Η υποστρωματο-εκλεκτική αναστολή της COX-2 αυξάνει τα επίπεδα ενδοκανναβινοειδών *in vivo* κάτι το οποίο συμβάλλει στη μείωση του άγχους, στη θεραπεία της κατάθλιψης και στην ανακούφιση του πόνου, ενώ ταυτόχρονα αποφεύγονται οι γαστρικές και καρδιαγγειακές συνέπειες που οφείλονται στην αναστολή της οξυγόνωσης του αραχιδονικού οξέος [88].

Εκτός της μη-εκλεκτικής αναστολής των κυκλοοξυγενασών, τα φαιναμικά ΜΣΑΦ είναι ρυθμιστές χαμηλής ισχύος μιας ποικιλίας διαύλων ιόντων και ενζύμων καθώς εμφανίζουν είτε ενεργοποιητική είτε ανασταλτική δράση. Συγκεκριμένα, αναστέλλουν τους διαύλους χλωρίου οι οποίοι ενεργοποιούνται από ιόντα Ca^{2+} , τους ευαίσθητους στα ATP διαύλους καλίου και τους μη-εκλεκτικούς διαύλους κατιόντων. Αντιθέτως, ενεργοποιούν τους διαύλους ιόντων K^+ μεγάλης αγωγιμότητας οι οποίοι ενεργοποιούνται από

Ca²⁺(Slo1), τους διαύλους transient receptor potential ankyrin-1 και τους διαύλους ιόντων Na⁺ brain-liver-intestine. Έχει επίσης αναφερθεί ότι τα φαιναμικά ΜΣΑΦ ενισχύουν ή τροποποιούν τη ρύθμιση (gating) των διαύλων K_v4.2 και K_v4.3 των διαύλων KCNQ1/KCNE1, των διαύλων KCNQ2/3, καθώς και των ανθρώπινων ether-a-go-go-related gene 1-3 [89].

Επιπλέον, έχει μελετηθεί η δράση ορισμένων ΜΣΑΦ στους υποδοχείς του γ-αμινοβουτυρικού οξέος τύπου A (GABA_A) οι οποίοι αποτελούν το κύριο ταχείας δράσης ανασταλτικό νευροδιαβιβαστικό σύστημα στον εγκέφαλο. Ορισμένα φαιναμικά οξέα όπως το μεφαιναμικό, το νιφλουμικό, το τολφαιναμικό και το μεκλοφαιναμικό οξύ μπορούν να διεγείρουν ή να αναστείλουν τη λειτουργία των υποδοχέων GABA_A τόσο σε ζωικά μοντέλα όσο και σε ανασυνδυασμένους υποδοχείς. Η ενεργοποίηση αυτών των υποδοχέων σχετίζεται με κατασταλτικές, αγχολυτικές, υπνωτικές και αναισθητικές δράσεις καθώς αποτελούν στόχο για φάρμακα όπως οι βενζοδιαζεπίνες και άλλα γενικά αναισθητικά. Ενώ, η λειτουργία τους εμπλέκεται και στη ρύθμιση του πόνου. Συγκεκριμένα, τα παράγωγα του ανθρανιλικού οξέος παρουσιάζουν ισχυρή αγωνιστική δράση στους υποδοχείς GABA_A στον εγκέφαλο. Η δράση αυτή μελετήθηκε με τη χρήση του ραδιοσημασμένου προσδέτη [³⁵S]TBPS ο οποίος προσδένεται στους διαύλους χλωρίου των υποδοχέων GABA_A. Η μείωση της δέσμευσης του προσδέτη θεωρείται ένδειξη ενεργοποίησης ή αγωνιστικής δράσης στους υποδοχείς GABA_A. Οι μελέτες έδειξαν ότι τα περισσότερα φαιναμικά οξέα μείωσαν σημαντικά τη δέσμευση του ραδιοσημασμένου προσδέτη σε διάφορες περιοχές του εγκεφάλου, υποδηλώνοντας έτσι την ικανότητα τους να ενισχύουν την λειτουργία των υποδοχέων αυτών. Ακόμη, η μελέτη αναφέρει ότι η δράση παρατηρήθηκε σε αρκετές περιοχές του εγκεφάλου γεγονός που υποδηλώνει ότι τα φαιναμικά επηρεάζουν ένα μεγάλο αριθμό υποδοχέων GABA_A. Ωστόσο, η δράση τους επηρεάζεται από τη σύσταση των υποδοχέων αυτών και διαφέρει μεταξύ των φαιναμικών. Συγκεκριμένα, οι υποδοχείς GABA_A είναι πενταμερείς διαύλοι ιόντων και η φαρμακολογική τους συμπεριφορά εξαρτάται σημαντικά από τις υπομονάδες που τους αποτελούν, όπως οι α, β και γ υπομονάδες.

Επιπλέον, τα φαιναμικά λόγω της ικανότητας τους να διαπερνούν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό έχουν ευεργετικά αποτελέσματα και σε άλλα προβλήματα. Για παράδειγμα, το μεφαιναμικό οξύ έχει μελετηθεί σε

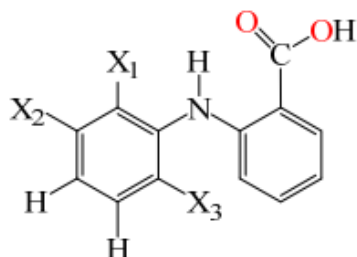
πειραματικά μοντέλα ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου, επιληπτικών κρίσεων και για τη νόσο του Alzheimer, καθώς έχει αναφερθεί και η πιθανή φαρμακευτική δράση του τολφαιναμικού οξέος για την ημικρανία και τα συμπτώματα του hangover. Τα αποτελέσματα αυτά ενισχύουν την άποψη ότι τα φαιναμικά οξέα δεν περιορίζονται μόνο στην αντιφλεγμονώδη δράση τους, αλλά επηρεάζουν άμεσα και εγκεφαλικούς μηχανισμούς [90].

Χημική Δομή των φαιναμικών οξέων

Ο βασικός σκελετός των φαιναμικών οξέων έχει ως κεντρική δομή τον ανθρανιλικό δακτύλιο (2-aminobenzoic acid) που συνδέεται μέσω αζώτου (-NH-) με έναν υποκατεστημένο φαινυλικό δακτύλιο. Στην κεντρική αυτή δομή, η καρβοξυλική ομάδα (-COOH) του ανθρανιλικού μορίου είναι η βασική λειτουργική ομάδα για τη φαρμακολογική δραστηριότητα των φαιναμικών ΜΣΑΦ. Ο φαινυλικός δακτύλιος που είναι συνδεδεμένος με άζωτο (-NH-) έχει έξι πιθανούς τόπους υποκατάστασης (1'-6') και αυτοί καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό τις φυσικοχημικές και φαρμακολογικές ιδιότητες. Συγκεκριμένα, υποκαταστάσεις στις θέσεις 2' και 3' του φαινυλικού δακτυλίου αυξάνουν τη λιποφιλία και δημιουργούν μεγαλύτερη αλληλεπίδραση με το ενεργό κέντρο της COX και άλλους στόχους. Η υποκατάσταση στη θέση 4' επιδρά κυρίως στην ηλεκτρονική κατανομή του δακτυλίου επηρεάζοντας την pKa, την ιονική ισορροπία και τη συμπεριφορά πρόσδεσης στα ένζυμα. Ακόμη, υποκαταστάσεις στις θέσεις 5' και 6' επηρεάζουν την στερεοχημική δομή της σύνδεσης στο ενεργό κέντρο και μπορούν να τροποποιήσουν την κατεύθυνση πρόσδεσης λόγω στερεοχημικής παρεμπόδισης [91]. Η παρουσία ηλεκτραγωγικών υποκαταστάτων (F, Cl) στο φαινυλικό δακτύλιο μειώνει την ηλεκτρονική πυκνότητα και αλλάζει την ιονική ισορροπία της καρβοξυλικής ομάδας, γεγονός που μπορεί να επηρεάσει την πρόσδεση σε πρωτεϊνικούς στόχους και την φαρμακοκινητική. Πολύ μεγάλοι υποκαταστάσεις (CF₃) προκαλούν στερεοχημική παρεμπόδιση και τροποποιούν την κινητικότητα ή γραμμική ευθυγράμμιση του μορίου στο ενεργό κέντρο της COX ή άλλων στόχων [92].

Πίνακας 2 Διαφορετική υποκατάσταση φαιναμικών οξέων

Μόριο	Υποκατάσταση
Mefenamic acid	2',3'-dimethyl
Flufenamic acid	3'-CF ₃
Tolfenamic acid	2'-methyl, 3'-chloro
Meclofenamic acid	2',6'-dichloro, 3'-methyl



Fenamic acid (Hfen): X₁ = H, X₂ = H, X₃ = H
Mefenamic acid (Hmef): X₁ = CH₃, X₂ = CH₃, X₃ = H
Tolfenamic acid (Htolf): X₁ = CH₃, X₂ = Cl, X₃ = H
Flufenamic acid (Hfluf): X₁ = H, X₂ = CF₃, X₃ = H
Meclofenamic acid (Hmecf): X₁ = Cl, X₂ = CH₃, X₃ = Cl

Εικόνα 22 Οι συντακτικοί τύποι των εμπορικά διαθέσιμων φαιναμικών ενώσεων, φαιναμικό οξύ (Hfen) και των παραγώγων του: μεφαιναμικό οξύ (Hmef), τολφαιναμικό οξύ (Htolf), φλουφαιναμικό οξύ (Hfluf) και μεκλοφαιναμικό οξύ (Hmecf)[145]

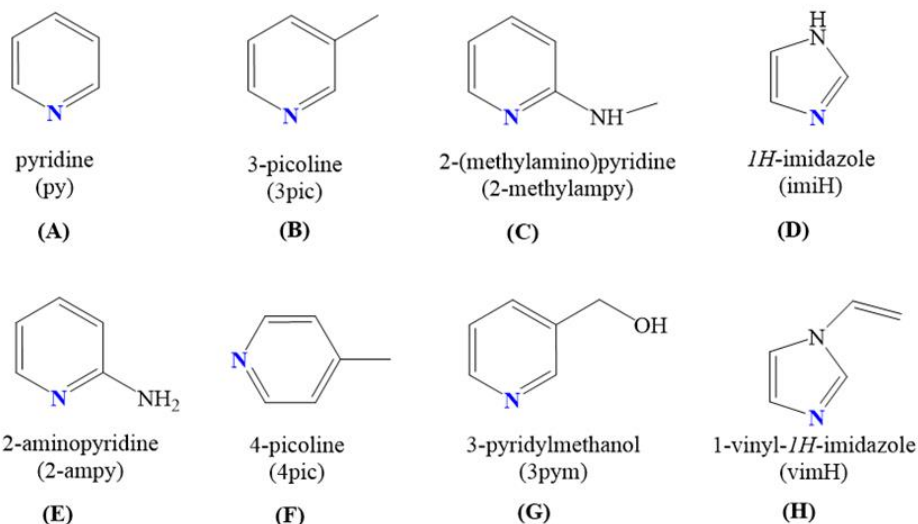
Σύμπλοκες ενώσεις με ΜΣΑΦ

co-ligand που συναρμόζονται με μέταλλα

Κατά το σχηματισμό των συμπλόκων μετάλλων με τα ΜΣΑΦ χρησιμοποιούνται και άλλες ενώσεις ως co-ligand. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία αυτά τα co-ligand μπορούν να χωριστούν σε τρεις κατηγορίες:

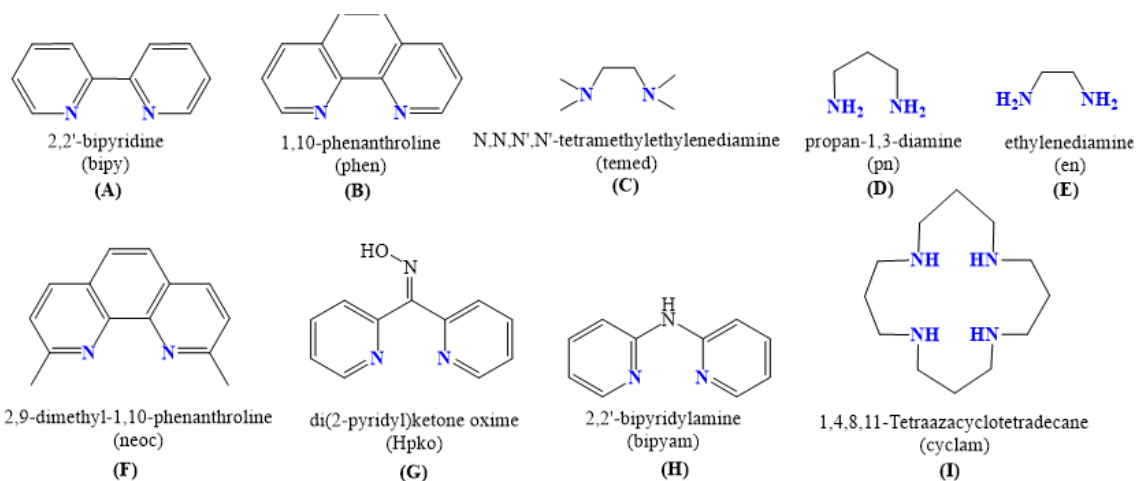
(I) δότες ατόμου οξυγόνου (O-δότης), όπως είναι το H₂O, η MeOH, το διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO), το τετραϋδροφουράνιο (THF) και το N,N-διμεθυλακεταμίδιο (DMA)

(II) δότες ενός ατόμου αζώτου (N-δότης), όπως είναι η πυριδίνη (py) και τα παράγωγά της 2-αμινοπυριδίνη (2ampy), 2-(μεθυλαμινο)πυριδίνη (2methylampy), 3-πικολίνη (3pic), 4-πικολίνη (4pic) και 3-πυριδυλμεθανόλη (3pym) ή το ιμιδαζόλιο (imiH) και το παράγωγό του 1-βινυλ-1H-ιμιδαζόλιο (vimH)



Εικόνα 23 Ενώσεις που χρησιμοποιούνται ως *N*-δότες [93]

(III) δότες δύο ατόμων αζώτου (*N,N'*-δότης), όπως η 2,2'-διπυριδίνη (bipy), η 2,2'-διπυριδυλαμίνη (bipyam), η 1,10-φαινανθρολίνη (phen), η δι(2-πυριδυλ)κετόνη οξίμη (Hpko), η αιθυλενοδιαμίνη (en) και η προπαν-1, 3-διαμίνη (pn).

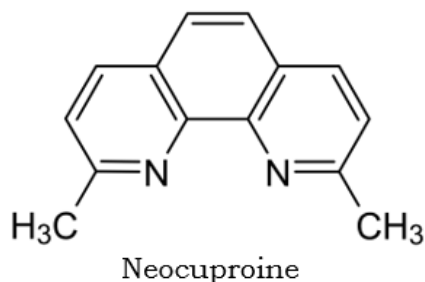


Εικόνα 24 Ενώσεις που χρησιμοποιούνται ως *N,N'*-δότες [93]

2,9-διμεθυλ-1,10-φαινανθρολίνη (νεοκουπροΐνη)

Μια από τις ετεροκυκλικές ενώσεις που χρησιμοποιήθηκε ως co-ligand κατά τη σύνθεση των συμπλόκων ήταν η 2,9-διμεθυλο-1,10-φαινανθρολίνη ή αλλιώς neocuproine (neoc). Η ένωση αυτή είναι δότης δύο ατόμων αζώτου

(*N,N'*-δότης) και χρησιμοποιήθηκε γιατί βοηθάει στον σχηματισμό κρυστάλλων των συμπλόκων αλλά και για τη βελτίωση των βιολογικών τους ιδιοτήτων λόγω πιθανής συνεργιστικής δράσης [93].

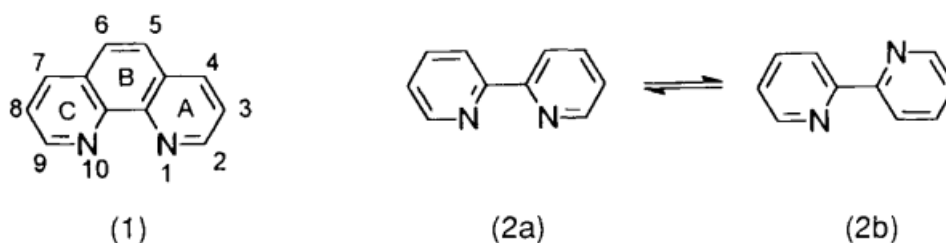


Η νεοκουπροΐνη είναι μια ετεροκυκλική οργανική ένωση και χηλικός παράγοντας. Είναι παράγωγο της 1,10-φαινανθρολίνης με δύο επιπλέον μεθύλια στις θέσεις 2 και 9 [94]. Στις αρχές της δεκαετίας του 1930, τα παράγωγα φαινανθρολίνης έγιναν γνωστά για τη χρήση τους ως χρωματομετρικοί δείκτες για πολλά μέταλλα μετάπτωσης. Η νεοκουπροΐνη αποδείχθηκε ότι είναι εξαιρετικά εκλεκτική για τον χαλκό(I). Το σύμπλοκο που προκύπτει από την αντίδραση του νεο με τον χαλκό(I) είναι το $[\text{Cu}(\text{neoc})_2]^+$ και έχει ένα βαθύ πορτοκαλοκόκκινο χρώμα [95]. Οι ιδιότητες του συμπλόκου αυτού έχουν μελετηθεί ευρέως, όπως είναι η χρήση του για την παρασκευή των συμπλόκων κατενανίου και ροταξανίου [96]. Επίσης, έχει ανακαλυφθεί ότι η νεοκουπροΐνη έχει ιδιότητες που προκαλούν κατακερματισμό και εξαφάνιση της μελανίνης σε ενήλικα μελανοκύτταρα το zebrafish. Συγκεκριμένα, τα κύτταρα που εκφράζουν την πρωτεΐνη GFP (green fluorescent protein) έχει παρατηρηθεί ότι χάνουν τον φθορισμό παρουσία νεοκουπροΐνης [97].

1,10-Φαινανθρολίνη

Η 1,10-φαινανθρολίνη (1,10-phenanthroline, phen) θεωρείται η κύρια ένωση μιας τάξης χηλικών παραγόντων. Σε σύγκριση με το πιο κοινό σύστημα 2,2'-διπυριδίνης, η phen έχει πολλές διακριτές ιδιότητες. Η άκαμπτη δομή που επιβάλλεται από τον κεντρικό δακτύλιο B, που φαίνεται στην εικόνα, έχει ως αποτέλεσμα τα δύο άτομα αζώτου να διατηρούνται πάντα σε αντιπαράθεση,

ενώ η ελεύθερη περιστροφή γύρω από τον δεσμό σύνδεσης επιτρέπει στα δύο άζωτα να διαχωριστούν ($2a \leftrightarrow 2b$), ιδίως υπό βασικές ή έντονα όξινες συνθήκες. Αυτό το εντροπικό πλεονέκτημα της 1,10-φαινανθρολίνης έχει ως αποτέλεσμα τα σύμπλοκα με μεταλλικά ιόντα να μπορούν να σχηματιστούν πιο γρήγορα γεγονός που είναι πολύ σημαντικό. Μια άλλη συνέπεια της επίπεδης φύσης της 1,10-φαινανθρολίνης είναι η ικανότητά της να συνδέεται είτε μέσω παρεμβολής είτε ως είδος που συνδέεται με την αύλακα με το DNA και το RNA. Μια άλλη σημαντική ιδιότητα του πυρήνα της 1,10-φαινανθρολίνης είναι η ικανότητά του να δρα ως φωτοευαισθητοποιητής τριπλής κατάστασης, ειδικά σε σύμπλοκα με λανθανίδες όπως το ευρώπιο. Οι ιδιότητες χηλικοποίησης μετάλλων της phen έχουν χρησιμοποιηθεί σε μια σειρά αναλυτικών αντιδραστηρίων και ανιχνευτών καθώς και ζιζανιοκτόνων. Επιπλέον, πολλά φυσικά προϊόντα που ενσωματώνουν αυτόν τον ετεροκυκλικό πυρήνα έχουν πλέον απομονωθεί, αρκετά από τα οποία διαθέτουν ενδιαφέρουσες αντικαρκινικές ιδιότητες. Την τελευταία δεκαετία, η ομάδα της 1,10-φαινανθρολίνης έχει επίσης γίνει αντικείμενο εκμετάλλευσης από ερευνητές που ενδιαφέρονται για συστήματα μοριακής αναγνώρισης και αυτοσυναρμολόγησης [98].

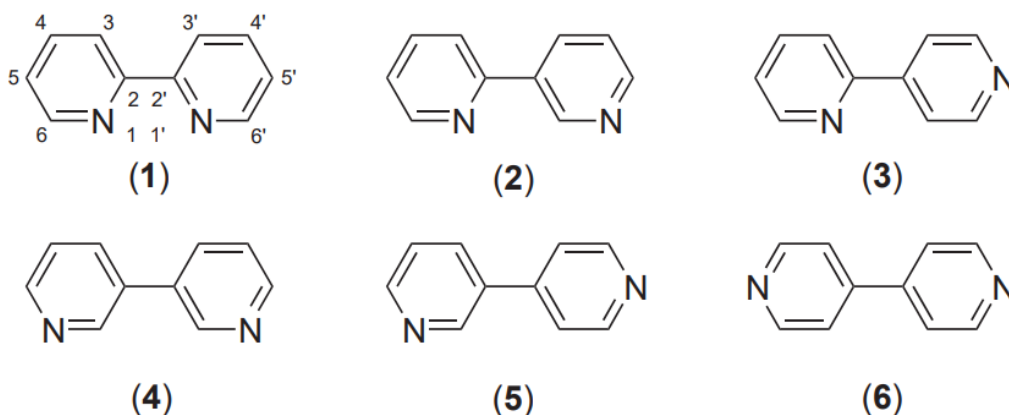


Εικόνα 25 Συντακτικός τύπος της 1,10-phenanthroline [98]

2,2-διπυριδίνη

Οι διπυριδίνες κατά (IUPAC), επίσης γνωστές ως διπυριδύλια είναι αρωματικοί ετεροκυκλικοί δακτύλιοι με άζωτο που σχηματίζουν σύμπλοκα με τα περισσότερα μέταλλα μετάπτωσης. Αυτή η κατηγορία ενώσεων περιέχει έξι πιθανά τοποϊσομερή τα οποία είναι τα 2,2'- (1), 2,3'- (2), 2,4'- (3), 3,3'- (4), 3,4'- (5), και 4,4'- (6), πιο κοινό από τα οποία είναι η διδραστική χηλική ένωση 2,2'-διπυριδίνη (bipy). Τα ligands διπυριδίνης αλληλεπιδρούν με μέταλλα μέσω των αζώτων που είναι σ-δότες και των μοριακών τροχιακών που είναι π-δέκτες. Οι

διπυριδίνες κατέχουν εξέχουσα θέση σε μελέτες μεταφοράς ηλεκτρονίων και ενέργειας, στην υπερμοριακή χημεία και χημεία υλικών και στην κατάλυση [99].



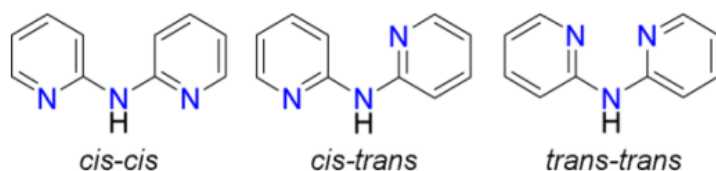
Εικόνα 26 Τοποϊσομερή Διπυριδινών [99]

Επιπροσθέτως, ligands διπυριδίνης έχουν ενσωματωθεί σε πολυπεπτίδια στο άκρο της αλυσίδας, στη ραχοκοκαλιά και ως προσαρτημένοι υποκαταστάτες. Η 2,2'-διπυριδίνη παρουσιάζει ισχυρή σταθερότητα οξειδοαναγωγής και υπεργλυκαιμική δραστηριότητα. Ακόμη, δρα ως διδραστικό χηλικό ligand που σχηματίζει σύμπλοκα με ιόντα μετάλλων μετάπτωσης και παρουσιάζει αντιμυκητιακή, αντιβακτηριακή και αντιική δράση. Χρησιμοποιείται για τον χρωματομετρικό προσδιορισμό του σιδήρου καθώς και για δείκτες μείωσης της οξειδωσης για την επιβεβαίωση της παρουσίας ιόντων σιδήρου στα εδάφη. Σχηματίζει σύμπλοκα με ρουθίνιο και πλατίνα, που παρουσιάζουν έντονη φωταύγεια, η οποία μπορεί να έχει πρακτικές εφαρμογές. Σύμπλοκα 2,2'-διπυριδίνης-χαλκού (I) εμπλέκονται στην οξείδωση των αλκοολών υπό αερόβιες συνθήκες [100]. Τέλος, έχει χρησιμοποιηθεί ως σύμπλοκο με CuBr_2 στην πράσινη σύνθεση προπαργουλαμινών, στη σύνθεση του $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]\text{Cl}_2$, ενός κοινού συμπλόκου με χρήσιμη φωτοχημεία που χρησιμοποιείται συχνά στην κατάλυση φωτοοξειδοαναγωγής ως ευαισθητοποιητής και ως αναστολέας σε μεταλλοπρωτεάσες [101].

2,2'-διπυριδυλαμίνη

Η 2,2'-διπυριδυλαμίνη (2,2'-dipyridylamine, bipyam) κατέχει ιδιαίτερη θέση στην σύγχρονη χημεία συναρμογής. Η ευελιξία της bipyam είναι πολλαπλή: μπορεί να υπάρχει σε πολλές καταστάσεις πρωτονίωσης, να

υιοθετήσει έναν από τους εννέα διακριτούς τρόπους συναρμογής και να σταθεροποιήσει σύμπλοκα που περιέχουν ένα, δύο ή τρία άτομα μετάλλου, συμπεριλαμβανομένων ενώσεων με άμεσους δεσμούς μετάλλου-μετάλλου. Το ligand 2,2'-διπυριδυλαμίνη (bipyam) και το αποπρωτονωμένο ανιόν του 2,2'-διπυριδυλαμίδιο (dpa) έχουν δει ευρεία χρήση στην οργανομεταλλική και ανόργανη χημεία ως πολυδραστικά ligand. Η ευελιξία των bipyam και dpa έχει αποδειχθεί από την ποικιλία των μονοπυρηνικών, διπυρηνικών και τριπυρηνικών συμπλόκων που συντίθενται με μέταλλα και αμέταλλα από όλο τον περιοδικό πίνακα. Δύο χαρακτηριστικά των αζωτοδοτών που επιτρέπουν αυτήν την ευελιξία είναι η ικανότητά τους να υιοθετούν τρεις διαφορετικές διαμορφώσεις (*cis-cis*, *cis-trans* και *trans-trans*) και εννέα πιθανούς τρόπους συναρμογής [102].

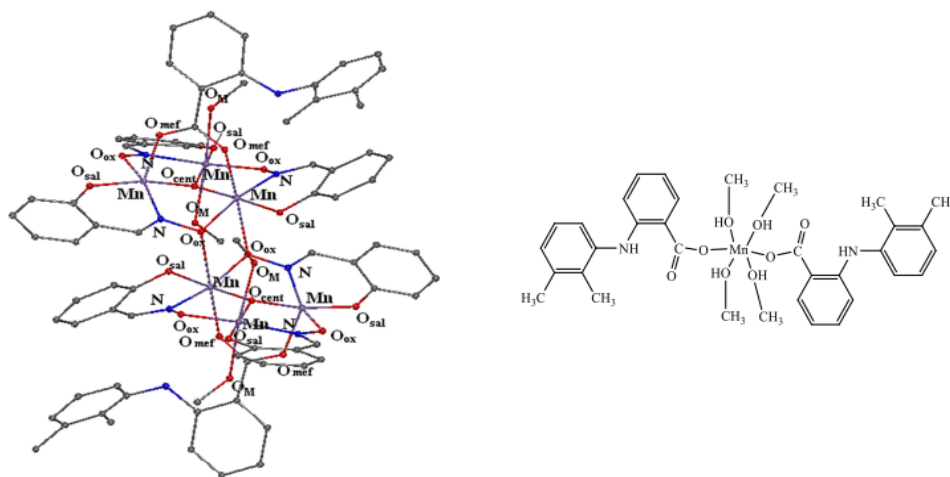


Εικόνα 27 Πιθανές διαμορφώσεις της 2,2'-dipyridylamine [102]

Σύμπλοκα του μαγγανίου με φαιναμικά οξέα

Το εξαπυρηνικό σύμπλοκο $[Mn_6(O)_2(mef)_2(sao)_6(CH_3OH)_4]$ αποτελείται από δύο ανεστραμμένους *inverse*-[9MC3] μεταλλοκορονοειδείς δακτυλίους (metallacrowns) που φιλοξενούν μεφαιναμικά ανιόντα. Ο πυρήνας κάθε μεταλλοκορονοειδούς δακτυλίου αποτελείται από τρία ιόντα Mn(III) και τρία διπλά αποπρωτονιωμένα ligands σαλικυλαλδοξίμης (sao^{2-}). Το οξιμάτο-οξυγόνα (O_{ox}) και το οξιμάτο-άζωτα (N) του ligand sao^{2-} γεφυρώνουν δυο ιόντα Mn(III), οδηγώντας στο σχηματισμό του δακτυλίου του MC, ενώ τα σαλικυλικά-οξυγόνα (O_{sal}) των ligands sao^{2-} συμμετέχουν στο σχηματισμό ενός χηλικού δακτυλίου ο οποίος σταθεροποιεί περαιτέρω τον πυρήνα του MC. Ένα δι-ανιόν οξυγόνου (O_{cent}) είναι εγκλωβισμένο στο εσωτερικό κάθε δακτυλίου MC. Οι σφαίρες συναρμογής των πέντε- ή έξα-συναρμοσμένων ιόντων μαγγανίου συμπληρώνονται από άτομα O των διδραστικών μεφαιναμικών γεφύρων και μεθανόλης. Το σύμπλοκο αυτό εμφάνισε αντισιδηρομαγνητική συμπεριφορά. Η

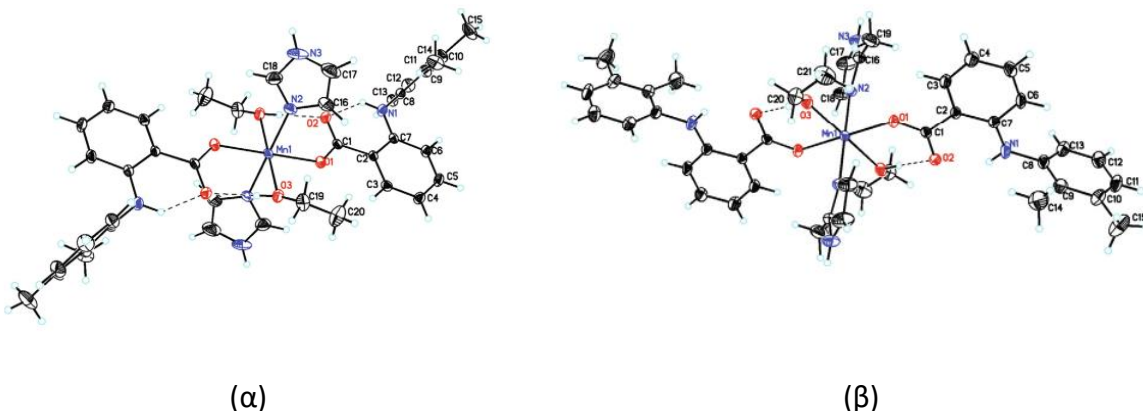
δομή του συμπλόκου $[\text{Mn}(\text{mef})_2(\text{CH}_3\text{OH})_4]$ προτάθηκε με βάση τις φασματοσκοπικές μελέτες. Το σύμπλοκο είναι μονοπυρηνικό και το $\text{Mn}(\text{II})$ περιβάλλεται από έξι άτομα οξυγόνου, τα δύο από τα μονοδραστικά μεφαιναμικά ligands και τα τέσσερα από τα ligands μεθανόλης. Σύμφωνα με τις βιολογικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν, βρέθηκε ότι τα σύμπλοκα συνδέονται με το CT-DNA μέσω παρεμβολής καθώς μπορούν επίσης να συνδέονται ισχυρά και αναστρέψιμα με τις αλβουμίνες BSA και HSA. Επιπλέον, η *in silico* πρόβλεψη της δραστηριότητας του συμπλόκου $[\text{Mn}(\text{mef})_2(\text{CH}_3\text{OH})_4]$ συνέβαλε στην αποσαφήνιση της *in vitro* δράσης του και φανέρωσε τις πιθανές αλληλεπιδράσεις του με διάφορα μακρομόρια που εμπλέκονται σε πολλές ασθένειες και ιδιαίτερα στον καρκίνο. Συγκεκριμένα, το σύμπλοκο $[\text{Mn}(\text{mef})_2(\text{CH}_3\text{OH})_4]$ στα ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα του μαστού, δρα ως ανταγωνιστής του υποδοχέα των οιστρογόνων άλφα ($\text{hER}\alpha$), καθώς και ως καταστολέας (*down-regulator*) του πρωτο-ογκογονιδίου DEK, ενός νέου γονιδίου-στόχου του υποδοχέα οιστρογόνων α ($\text{ER}\alpha$), του οποίου η έκφραση προάγει τον πολλαπλασιασμό που επάγεται από τα οιστρογόνα. Περαιτέρω οι *in silico* μελέτες, με τη χρήση διαφόρων διαδικασιών, συνέβαλαν στην κατανόηση του ρόλου του συμπλόκου αυτού σε διάφορες ασθένειες, προτείνοντας έναν πιθανό μηχανισμό δράσης αυτής της ένωσης [103].



Εικόνα 28 Μοριακή δομή του συμπλόκου $[\text{Mn}_6(\text{O})_2(\text{mef})_2(\text{sao})_6(\text{CH}_3\text{OH})_4]$ και προτεινόμενη δομή για το σύμπλοκο $[\text{Mn}(\text{mef})_2(\text{CH}_3\text{OH})_4]$ [103]

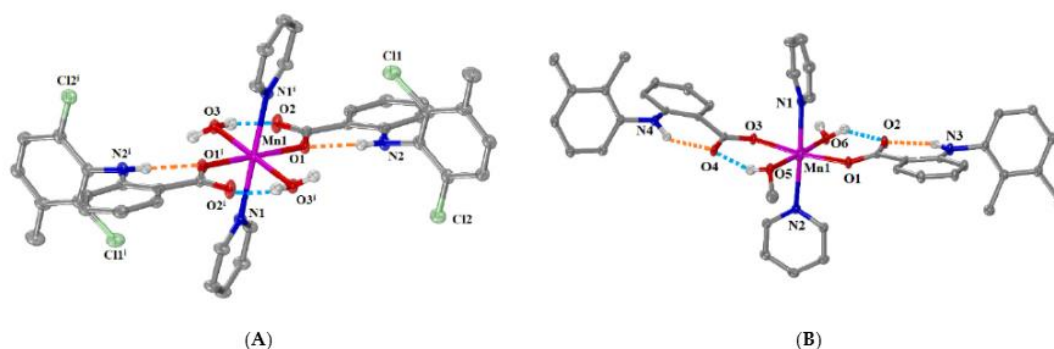
Τα σύμπλοκα $[\text{Mn}(\text{mef})_2(\text{imi})_2(\text{EtOH})_2]$ και $[\text{Mn}(\text{mef})_2(\text{mei})_2(\text{EtOH})_2]$ είναι μονοπυρηνικά με τα ιόντα του $\text{Mn}(\text{II})$ να είναι έξα-συναρμοσμένα.

Συγκεκριμένα, συναρμόζεται μονοδραστικά με μεφαιναμικά ανιόντα, δύο ιμιζαζόλια (imi) ή 2-μεθυλοϊμιδαζόλια (mei) και δύο ligand αιθανόλης (EtOH) σχηματίζοντας μια ελαφρώς παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία. [104]



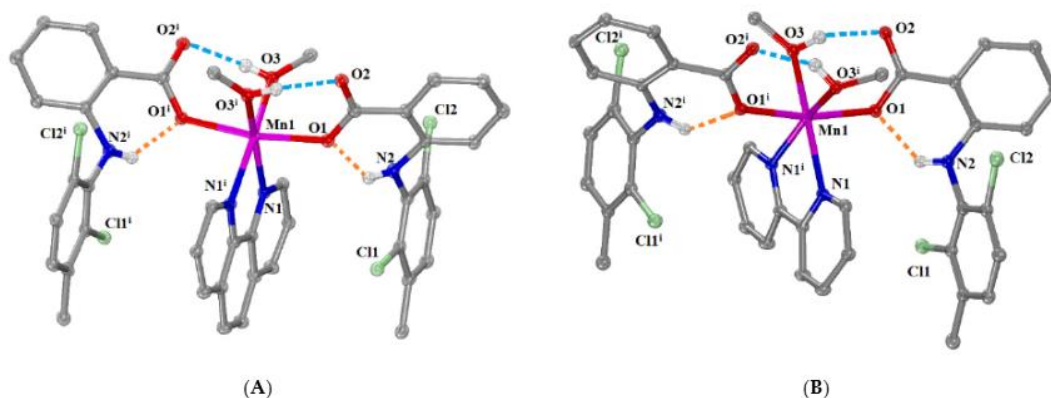
Εικόνα 29 (α) Δομή του συμπλόκου $[\text{Mn}(\text{mef})_2(\text{imi})_2(\text{EtOH})_2]$, (β) Δομή του συμπλόκου $[\text{Mn}(\text{mef})_2(\text{meI})_2(\text{EtOH})_2]$ [104]

Στα $[\text{Mn}(\text{mefclf-O})_2(\text{py})_2(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 2\text{py}$ και $[\text{Mn}(\text{mef-O})_2(\text{py})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{MeOH})] \cdot 1,5\text{py}$, το ιόν του Mn(II) είναι έξα-συναρμοσμένο. Τα αποπρωτονιομένα ΜΣΑΦ meclf-O και mef-O συναρμόζονται μονοδραστικά μέσω του καρβοξυλικού οξυγόνου τους στο ιόν του μαγγανίου που εμφανίζει παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία, η οποία, εκτός από τα καρβοξυλικά οξυγόνα, περιλαμβάνει τα δύο άτομα αζώτου από τις πυριδίνες (py) και τα δύο άτομα οξυγόνου που προέρχονται από τους δότες οξυγόνου H_2O και MeOH . [105]



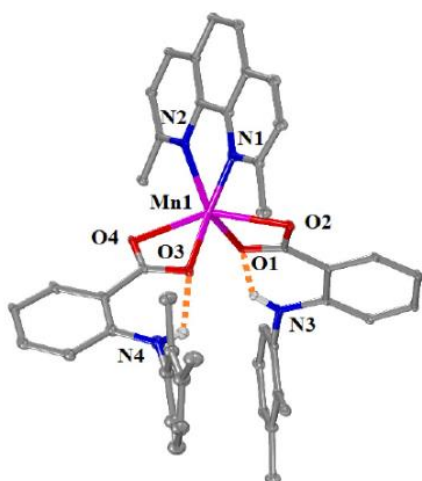
Εικόνα 30 Μοριακή δομή των συμπλόκων (A) $[\text{Mn}(\text{mefclf-O})_2(\text{py})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ και (B) $[\text{Mn}(\text{mef-O})_2(\text{py})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{MeOH})]$ [105]

Στα σύμπλοκα $[\text{Mn}(\text{mecf-O})_2(\text{phen})(\text{MeOH})_2]$ και $[\text{Mn}(\text{mecf-O})_2(\text{bipy})(\text{MeOH})_2]$, τα ιόντα $\text{Mn}(\text{II})$ είναι έξα-συναρμωσμένα και στα δύο σύμπλοκα. Η σφαίρα συναρμογής των ιόντων $\text{Mn}(\text{II})$ περιλαμβάνει τα καρβοξυλικά οξυγόνα των δύο μεκλοφαιναμικών ligand και των δύο μεθανολών, και τα δύο άτομα N των N,N' -δοτών phen και bipy, αντίστοιχα, και η γεωμετρία τους είναι παραμορφωμένη οκταεδρική, ενώ η παρουσία intraligand και ενδομοριακών (intramolecular) δεσμών υδρογόνου σταθεροποιούν περαιτέρω τις δομές και των δύο συμπλόκων [105].



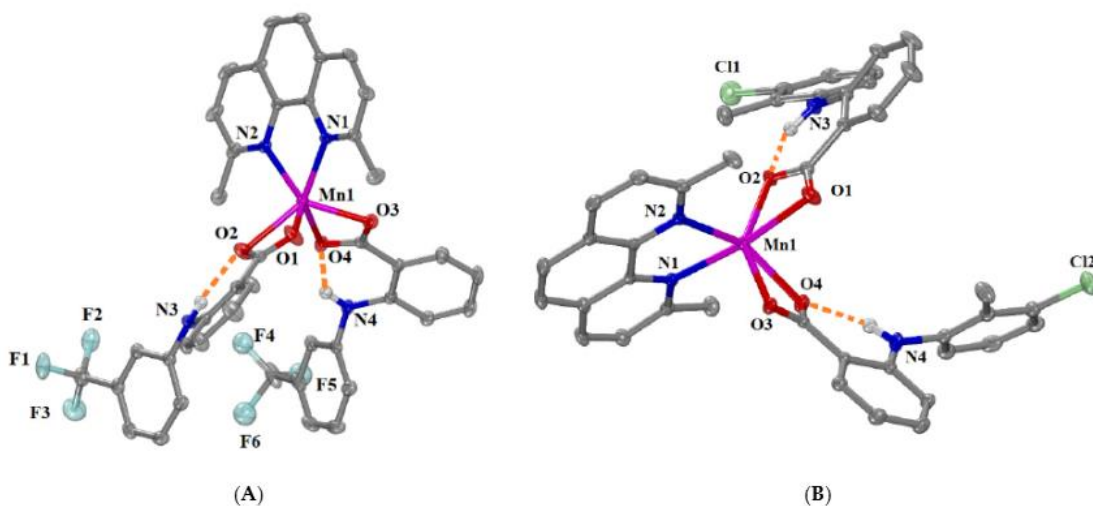
Εικόνα 31 Μοριακή δομή των συμπλόκων (A) $[\text{Mn}(\text{mecf-O})_2(\text{phen})(\text{MeOH})_2]$, και (B) $[\text{Mn}(\text{mecf-O})_2(\text{bipy})(\text{MeOH})_2]$ [105]

Το σύμπλοκο $[\text{Mn}(\text{mef-O}, \text{O}')_2(\text{neoc})] \cdot 1,5\text{MeOH} \cdot 0,25\text{H}_2\text{O}$ κρυσταλλώνεται σε τρικλινές κρυσταλλικό σύστημα και P-1 space group και είναι μονοπυρηνικό. Στο ιόν $\text{Mn}(\text{II})$ συναρμόζονται με τα καρβοξυλικά οξυγόνα δύο διδραστικών χηλικών μεφαιναμικών ligand και τα άτομα N ενός N,N' -δότη (neocuproine). Η γεωμετρία γύρω από τα ιόντα μαγγανίου χαρακτηρίζεται ως παραμορφωμένη τριγωνική πρισματική στην οποία ένα άτομο οξυγόνου του καρβοξυλίου από κάθε μεφαιναμικό και ένα άτομο αζώτου από το neoc σχηματίζουν τα επίπεδα βάσης του πρίσματος [105].



Εικόνα 32 Μοριακή δομή του συμπλόκου $[Mn(mef-O,O')_2(neoc)]$ [105]

Το σύμπλοκο $[Mn(fluf-O,O')_2(neoc)]$ κρυσταλλώνεται σε ορθορομβικό κρυσταλλικό σύστημα και space group $P2_12_12_1$, ενώ το σύμπλοκο $[Mn(tolf-O,O')_2(neoc)]$ σε μονοκλινές κρυσταλλικό σύστημα και space group $P2_1/c$. Και στα δύο σύμπλοκα η γεωμετρία γύρω από τα ιόντα $Mn(II)$ χαρακτηρίζεται ως παραμορφωμένη τριγωνική πρισματική στην οποία ένα καρβοξυλικό οξυγόνο από κάθε φλουφαιναμικό ή τολφαιναμικό ligand και ένα άτομο αζώτου από το neoc σχηματίζουν τα επίπεδα της βάσης του πρίσματος [105].



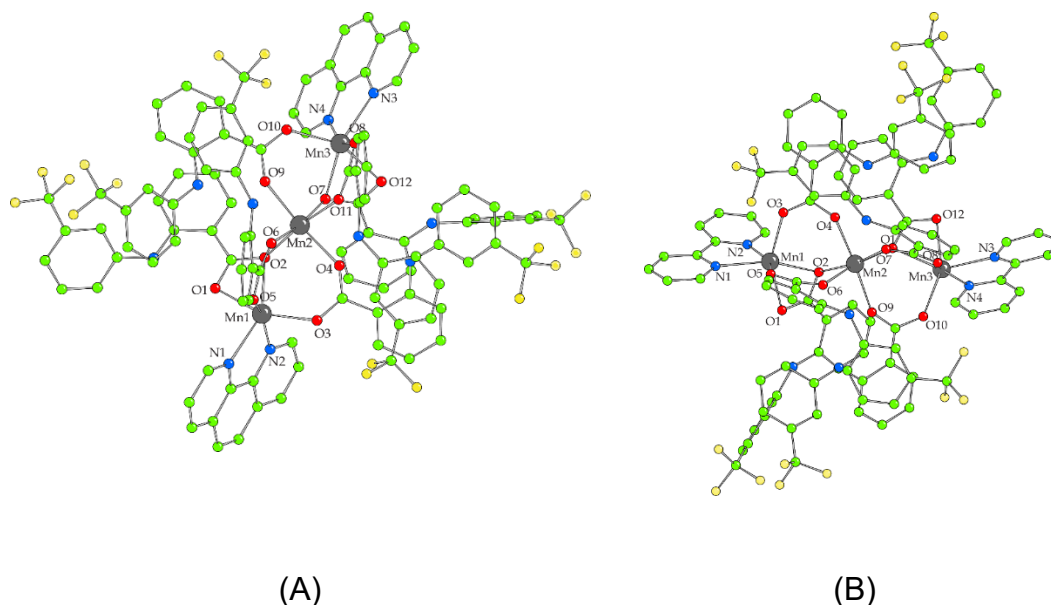
Εικόνα 33 Μοριακή δομή των συμπλόκων (Α) $[Mn(fluf-O,O')_2(neoc)]$ και (Β) $[Mn(tolf-O,O')_2(neoc)]$ [105]

Τα σύμπλοκα $[\text{Mn}(\text{mecf})_2(\text{py})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$, $[\text{Mn}(\text{fluf})_2(\text{neoc})]$, $[\text{Mn}(\text{tolf})_2(\text{neoc})]$, $[\text{Mn}(\text{mef})_2(\text{py})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{MeOH})]$, $[\text{Mn}(\text{mecf})_2(\text{phen})(\text{MeOH})_2]$, $[\text{Mn}(\text{mecf})_2(\text{bipy})(\text{MeOH})_2]$ και $[\text{Mn}(\text{mef})_2(\text{neoc})]$ μπορούν να αλληλεπιδρούν με το CT DNA μέσω παρεμβολής και έχουν μεγαλύτερη συγγένεια προς το DNA σε σύγκριση με τα αντίστοιχα ΜΣΑΦ, με το σύμπλοκο $[\text{Mn}(\text{fluf})_2(\text{neoc})]$ να εμφανίζει την ισχυρότερη πρόσδεση στο DNA ($K_b = 1.10 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$) μεταξύ των ενώσεων. Οι τιμές K_b των συμπλόκων ήταν της ίδιας ή και μεγαλύτερης τάξης μεγέθους από εκείνη του κλασικού παρεμβαλλόμενου παράγοντα EB ($K_b = 1.23 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) και βρίσκονταν εντός του εύρους που έχει αναφερθεί για σειρά συμπλόκων μετάλλου(II)–ΜΣΑΦ. Επιπλέον, η σύνδεση των συμπλόκων με τις αλβουμίνες ορού είναι ισχυρή και αναστρέψιμη, αποκαλύπτοντας τη δυνατότητα μεταφοράς τους προς πιθανούς βιολογικούς στόχους, όπου ενδέχεται να απελευθερωθούν. Όσο αναφορά την αντιοξειδωτική δράση αυτών των συμπλόκων μελετήθηκε η δράση τους ενάντια των ριζών ABTS. Σχεδόν όλα τα σύμπλοκα εμφανίζουν καλύτερη δράση από τα αντίστοιχα ελεύθερα ΜΣΑΦ. Τα σύμπλοκα $[\text{Mn}(\text{mef})_2(\text{neoc})]$, $[\text{Mn}(\text{mef})_2(\text{py})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{MeOH})]$, $[\text{Mn}(\text{mecf})_2(\text{bipy})(\text{MeOH})_2]$ και $[\text{Mn}(\text{tolf})_2(\text{neoc})]$ παρουσιάζουν ιδιαίτερα υψηλή ικανότητα εξουδετέρωσης των ριζών ABTS και είναι πιο δραστικά έναντι των ριζών ABTS από την πρότυπη ένωση trolox, με το σύμπλοκο $[\text{Mn}(\text{tolf})_2(\text{neoc})]$ να εμφανίζει την ισχυρότερη δράση. [105]

Το σύμπλοκο $[\text{Mn}(\text{mef})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ παρουσίασε ικανοποιητική δράση κατά της ρίζα DPPH, η οποία εξαρτάται τόσο από τον χρόνο όσο και από τη συγκέντρωση, ενώ ήταν εντελώς ανενεργό ως προς την εξουδετέρωση της ρίζας υδροξυλίου $\text{HO}^\bullet$. Επιπλέον, το σύμπλοκο παρουσιάζει ικανοποιητική ανασταλτική δράση έναντι της λιποξυγενάσης σόγιας (LOX), ιδιότητες που δεν παρουσιάζονται στο ελεύθερο μεφαιναμικό οξύ, αλλά δεν παρουσίασε καμία δράση έναντι της β-γλυκουρονιδάσης. Τέλος, βρέθηκε ότι αναστέλλει *in-vitro* την τρυψίνη [106].

Τα σύμπλοκα $[\text{Mn}_3(\text{fluf})_6(\text{phen})_2] \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ και $[\text{Mn}_3(\text{fluf})_6(\text{bipy})_2]$ είναι μη-γραμμικά τριπυρηνικά σύμπλοκα του Mn(II). Η τριπυρηνική διάταξη των συμπλόκων χαρακτηρίζεται από τριπλή γεφύρωση, μια $\mu_{1,1}$ - και δύο $\mu_{1,3}$ -. Τα ακραία μαγγάνια Mn_1 και Mn_3 απέχουν από το κεντρικό Mn_2 σε μια απόσταση που κυμαίνεται 3.627(2)-3.646(2)Å. Και τα τρία άτομα μαγγανίου είναι έξα-

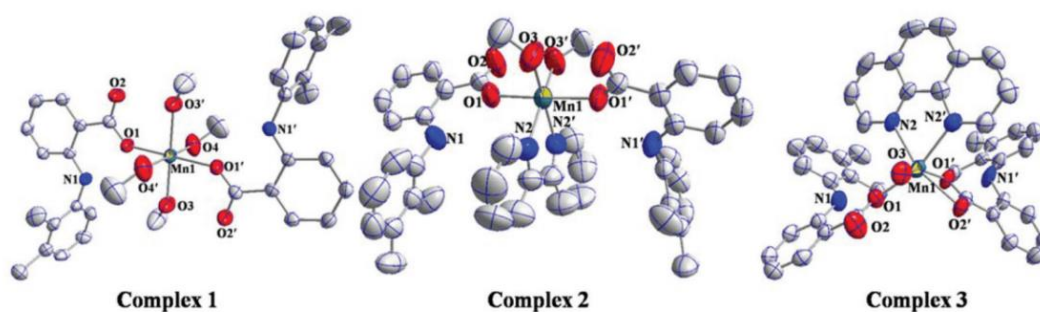
συναρμοσμένα και παρουσιάζουν παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία. Το κεντρικό μαγγάνιο Mn_2 έχει στη σφαίρα συναρμογής του έξι άτομα οξυγόνου των καρβοξυλικών ομάδων των φλουφαιναμικών ligand ενώ τα ακραία άτομα των μαγγανίων έχουν στη σφαίρα συναρμογής τους τέσσερα άτομα οξυγόνου των καρβοξυλικών ομάδων των ΜΣΑΦ και δύο άτομα αζώτου της phen ή bipy, αντίστοιχα. Τα σύμπλοκα αλληλεπιδρούν με το DNA μέσω παρεμβολής και συνδέονται στο CT DNA ισχυρότερα σε σύγκριση με τα αντίστοιχα ελεύθερα ΜΣΑΦ, με το σύμπλοκο $[Mn_3(fluf)_6(bipy)_2]$ να παρουσιάζει τη μεγαλύτερη σταθερά πρόσδεσης στο DNA. Τα σύμπλοκα αλληλεπιδρούν ισχυρά και αντιστρεπτά με τις αλβουμίνες HSA και BSA, με το σύμπλοκο $[Mn_3(fluf)_6(phen)_2] \cdot 0,5H_2O$ να εμφανίζει την ισχυρότερη σταθερά δέσμευσης. Οι δοκιμές *in vitro* για την ικανότητα εξουδετέρωσης ριζών των συμπλόκων έναντι των ριζών DPPH, ABTS και υδροξυλίου έδειξαν ότι είναι πιο δραστήρια από το αντίστοιχο ελεύθερο φλουφαιναμικό οξύ με ισχυρότερη δράση έναντι της ρίζας υδροξυλίου [107].



Εικόνα 34 Μοριακή δομή των συμπλόκων (A) $[Mn_3(fluf)_6(phen)_2] \cdot 0,5H_2O$ και (B) $[Mn_3(fluf)_6(bipy)_2]$ [107]

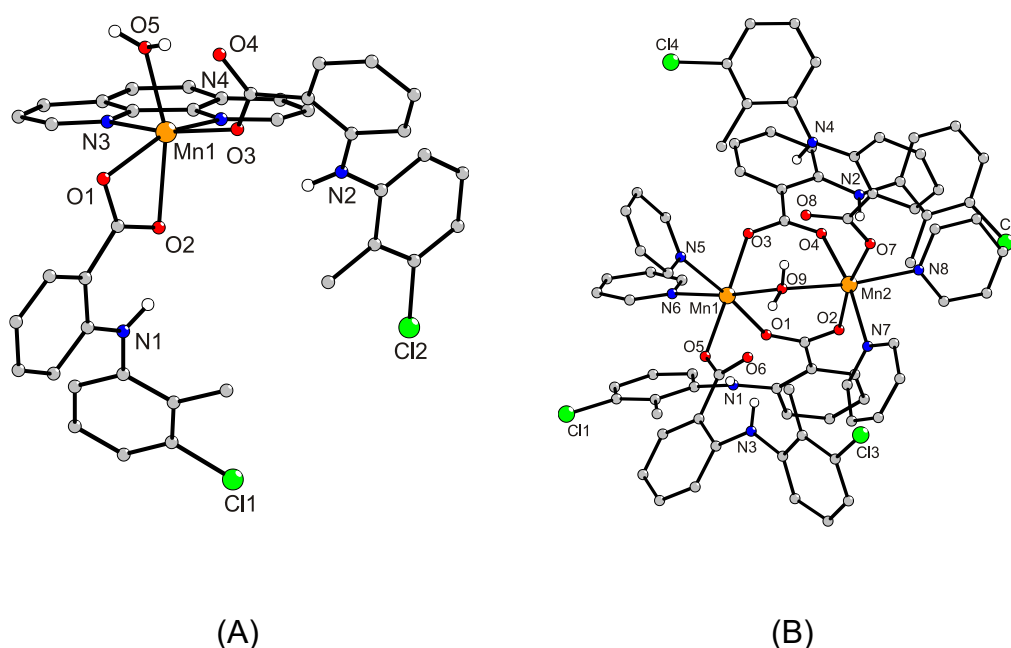
Το σύμπλοκο $[Mn(mef)_2(CH_3OH)_4]$ είναι ένα κεντροσυμμετρικό μονοπυρηνικό σύμπλοκο με το έξα-συναρμοσμένο $Mn(II)$ να έχει οκταεδρική γεωμετρία στην οποία οι τέσσερις ισημερινές θέσεις καταλαμβάνονται από τα δύο οξυγόνα μεθανόλης και από δύο καρβοξυλικά οξυγόνα μονοδραστικών

μεφαιναμικών ligand και οι αξονικές θέσεις καταλαμβάνονται από τα οξυγόνα των άλλων δύο μεθανολών. Στο σύμπλοκο $[\text{Mn}(\text{mef})_2(\text{bipy})(\text{CH}_3\text{OH})_2]$ το έξα-συναρμοσμένο Mn(II) εμφανίζει παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία στην οποία οι θέσεις συναρμογής καταλαμβάνονται από δύο καρβοξυλικά οξυγόνα των μονοδραστικών μεφαιναμικών ligands, δύο άτομα N από τον *N,N'*-δότη bipy και δύο οξυγόνα από τις μεθανόλες. Στο $[\text{Mn}(\text{mef})_2(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})]$, το ένα από τα δύο μεφαιναμικά ligand συναρμόζεται μονοδραστικά ενώ το δεύτερο διδραστικά χηλικά στο έξα-συναρμοσμένο Mn(II). Δύο άτομα αζώτου από τον *N,N'*-δότη phen και το οξυγόνο της μεθανόλης συμπληρώνουν τη σφαίρα συναρμογής. Τα τρία σύμπλοκα παρουσίασαν υψηλότερη ανασταλτική δράση έναντι της λιποξυγενάσης (LOX-1) σε σύγκριση με το ελεύθερο μεφαιναμικό οξύ. Η ανασταλτική δράση των συμπλόκων σχετίζεται στενά με τη χωρική τους διάταξη, η οποία καθορίζει τον τρόπο αλληλεπίδρασής τους με την LOX-1. Το σύμπλοκο $[\text{Mn}(\text{mef})_2(\text{CH}_3\text{OH})_4]$ αναστέλλει τη δραστηριότητα του ενζύμου με ανταγωνιστικό τρόπο, ενώ τα πιο ογκώδη και χαμηλότερης συμμετρίας σύμπλοκα $[\text{Mn}(\text{mef})_2(\text{bipy})(\text{CH}_3\text{OH})_2]$, $[\text{Mn}(\text{mef})_2(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})]$ τείνουν να αναστέλλουν τη δραστηριότητα του ενζύμου με μη-ανταγωνιστικό τρόπο. Το σύμπλοκο $[\text{Mn}(\text{mef})_2(\text{bipy})(\text{CH}_3\text{OH})_2]$ εμφάνισε ισχυρότερη ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH. Τα σύμπλοκα παρουσίασαν αναστολή δραστηριότητας SOD κατά 65.73% $[\text{Mn}(\text{mef})_2(\text{CH}_3\text{OH})_4]$, 82.00% $[\text{Mn}(\text{mef})_2(\text{bipy})(\text{CH}_3\text{OH})_2]$ και 70.14% $[\text{Mn}(\text{mef})_2(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})]$ σε συγκέντρωση 0.5 μM [108].



Εικόνα 35 Μοριακή δομή των συμπλόκων $[\text{Mn}(\text{mef})_2(\text{CH}_3\text{OH})_4]$ (1), $[\text{Mn}(\text{mef})_2(\text{bipy})(\text{CH}_3\text{OH})_2]$ (2), $[\text{Mn}(\text{mef})_2(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})]$ (3) [108]

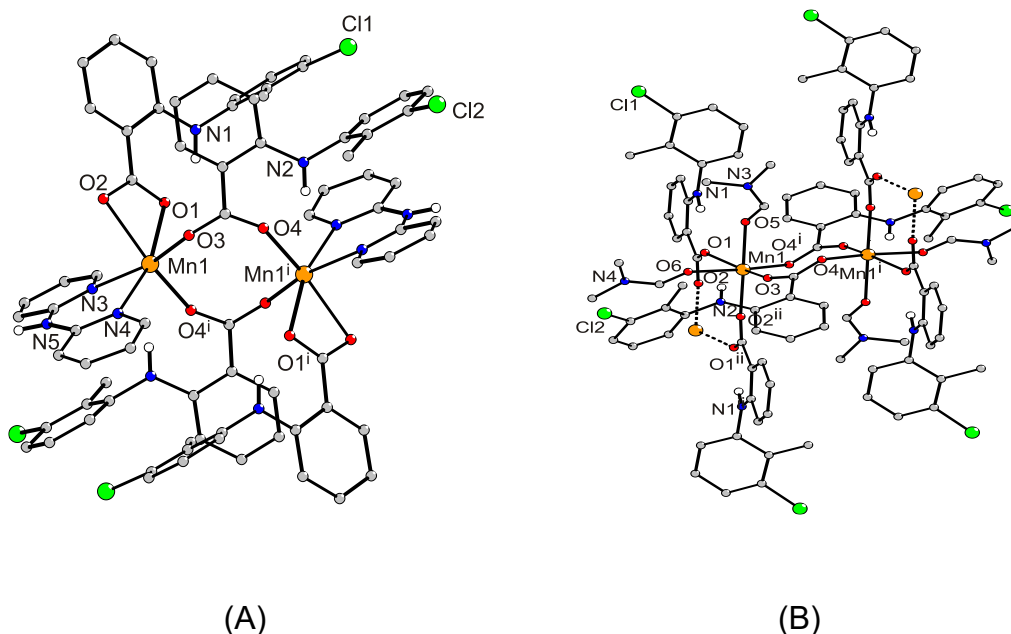
Το σύμπλοκο $[\text{Mn}(\text{tolf})_2(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})]$ είναι μονοπυρηνικό και από τα δύο τολφαιναμικά ligands το ένα συναρμόζεται μονοδραστικά και το άλλο διδραστικά χηλικά. Το ιόν του μαγγανίου είναι έξα-συναρμωσμένο και παρουσιάζει παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία. Η δομή σταθεροποιείται με ενδομοριακούς και διαμοριακούς δεσμούς υδρογόνου. Το σύμπλοκο $[\text{Mn}_2(\text{tolf})_4(\text{py})_4(\text{H}_2\text{O})] \cdot 1.5\text{MeOH} \cdot \text{py}$ είναι διπυρηνικό με δύο από τα τέσσερα τολφαιναμικά ligand να συναρμόζονται διδραστικά γεφυρωτικά και τα άλλα δύο μονοδραστικά. Το H_2O γεφυρώνει τα δύο άτομα μαγγανίου μέσω του οξυγόνου του. Τα ιόντα $\text{Mn}(\text{II})$ παρουσιάζουν παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία και η σφαίρα συναρμογής τους περιλαμβάνει τρία άτομα O από τα τρία τολφαιναμικά ligand, το O από το H_2O και δύο άτομα N από δύο πυριδίνες [109].



Εικόνα 36 Μοριακή δομή των συμπλόκων (A) $[\text{Mn}(\text{tolf})_2(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})]$ και (B) $[\text{Mn}_2(\text{tolf})_4(\text{py})_4(\text{H}_2\text{O})]$ [109]

Στο διπυρηνικό σύμπλοκο $[\text{Mn}_2(\text{tolf})_4(\text{bipyam})_2]$ τα δύο τολφαιναμικά Ligands συναρμόζονται διδραστικά χηλικά σχηματίζοντας *syn-anti* γέφυρες μεταξύ των δύο $\text{Mn}(\text{II})$, ενώ τα άλλα δύο τολφαιναμικά ligand και ο *N,N'*-δότης *bipyam* συναρμόζονται με διδραστικό χηλικό τρόπο. Στο σύμπλοκο και τα δύο ιόντα $\text{Mn}(\text{II})$ είναι έξα-συναρμωσμένα και έχουν παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία. Στο σύμπλοκο $[\text{Mn}(\text{tolf})_2(\text{DMF})_2]_n$ το ιόν του μαγγανίου είναι έξα-

συναρμοσμένο και έχει οκταεδρική γεωμετρία. Τα κέντρα του μαγγανίου Mn^{2+} γεφυρώνονται μέσω των καρβοξυλικών οξυγόνων των τολφαιναμικών ligand και έτσι δημιουργείται μία zigzag πολυμερής δομή. Το οκτάεδρο συγκροτείται από έξι άτομα οξυγόνου που προέρχονται δύο από τα ligand του διαλύτη DMF (N,N'-διμεθυλοφορμαμίδιο) και τέσσερα από τα τολφαιναμικά ligand [109].

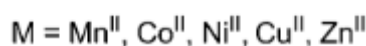
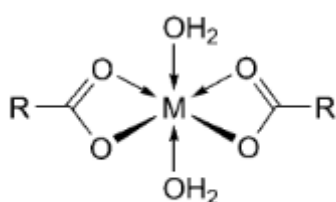


Εικόνα 37 Μοριακή δομή των συμπλόκων (A) $[Mn_2(tol)_4(bipyam)_2]$ και (B) $[Mn(tol)_2(DMF)_2]$ [109]

Τα σύμπλοκα $[Mn(tol)_2(phen)(H_2O)]$, $[Mn_2(tol)_4(py)_4(H_2O)]$, $[Mn_2(tol)_4(bipyam)_2]$ και $[Mn(tol)_2(DMF)_2]_n$ συνδέονται στο CT DNA μέσω παρεμβολής με το σύμπλοκο $[Mn(\mu_2-tol)_2(DMF)_2]_n$ να παρουσιάζει την υψηλότερη τιμή K_b ($K_b = 5.21 \times 10^5 M^{-1}$) μεταξύ των εξεταζόμενων ενώσεων. Η αλληλεπίδραση των συμπλόκων με τις αλβουμίνες HSA και BSA είναι ισχυρή και αντιστρεπτή με τα σύμπλοκα $[Mn_2(tol)_4(py)_4(H_2O)]$ και $[Mn_2(tol)_4(bipyam)_2]$ να εμφανίζουν την καλύτερη σύνδεση μεταξύ των συμπλόκων για την BSA και την HSA, αντίστοιχα. Τα σύμπλοκα παρουσίασαν χαμηλή έως μέτρια δραστηριότητα έναντι των ριζών DPPH και υψηλή δραστηριότητα έναντι των ριζών υδροξυλίου και ABTS, καθώς και αναστολή της LOX με το σύμπλοκο $[Mn(tol)_2(phen)(H_2O)]$ να έχει την υψηλότερη δραστηριότητα μεταξύ των συμπλόκων [109].

Το σύμπλοκο $[Mn(tol)_2(H_2O)_2]$ είναι μονοπυρηνικό και το ιόν του μαγγανίου είναι έξα-συναρμοσμένο με ψεύδο-οκταεδρική γεωμετρία. Επιπλέον,

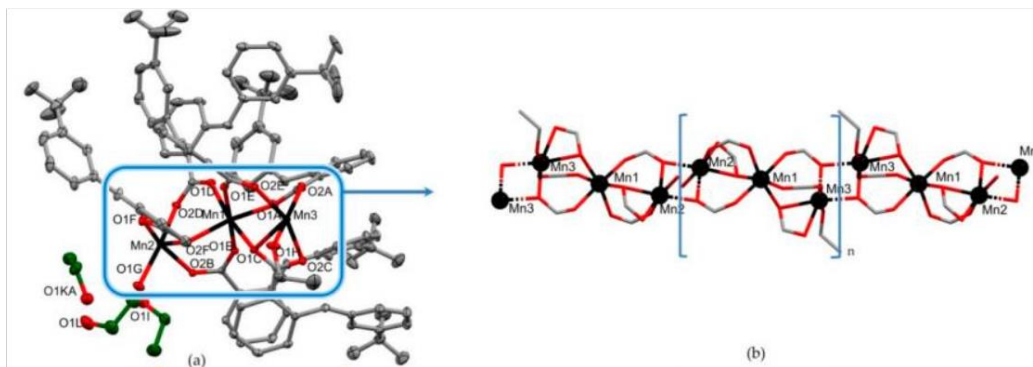
το σύμπλοκο εμφανίζει ικανοποιητική αντιοξειδωτική δράση έναντι των ριζών DPPH, χαμηλή έναντι των ριζών υδροξυλίου, μέτρια ανασταλτική δράση έναντι της λιποξυγενάσης της σόγιας (LOX) και σημαντική αναστολή του ενζύμου θρυψίνη, ιδιότητες οι οποίες δεν εμφανίζονται κατά τη δράση του ελεύθερου τολφαιναμικού οξέος. Αξιοσημείωτη είναι και η εκλεκτικότητα του έναντι των καρκινικών κυττάρων T24 (καρκινικών κυττάρων της ουροδόχου κύστης), με την τιμή IC₅₀ (Half maximal Inhibitory Concentration) να είναι παρόμοια ή καλύτερη από του αντικαρκινικού φαρμάκου cisplatin [110].



Εικόνα 38 Προτεινόμενη δομή για το σύμπλοκο $[Mn(tolfa)_2(H_2O)_2]$ [110]

Το τριπυρηνικό σύμπλοκο $[Mn_3(fluf)_6(EtOH)(H_2O)] \cdot 3EtOH$ κρυσταλλώνεται στη κεντροσυμμετρική τρικλινή ομάδα χώρου $P1^-$ με τα ιόντα $Mn(II)$ να είναι έξα-συναρμωσμένα και να έχουν παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία. Δύο φλουφαιναμικά (fluf) συναρμόζονται με διδραστικό γεφυρωτικό τρόπο ($\mu_2:\eta^1:\eta^1$) ενώ τα υπόλοιπα τέσσερα με τριδραστικό τρόπο ($\mu_2:\eta^2:\eta^1$), μέσω των καρβοξυλικών οξυγόνων τους. Στην εσωτερική σφαίρα συναρμογής συμμετέχουν ένα H_2O και μια $EtOH$ ενώ τρία μόρια αιθανόλης εντοπίζονται σε κοιλότητες του πλέγματος εκτός των σφαιρών συναρμογής των ιόντων μαγγανίου. Η κρυσταλλική δομή σταθεροποιείται περαιτέρω με δια- και ενδομοριακούς δεσμούς υδρογόνου. Η *in vitro* αντιμικροβιακή δράση αξιολογήθηκε έναντι διαφόρων βακτηριακών και μυκητιασικών στελεχών αναφοράς. Οι ενώσεις βανκομυκίνη (Van), σιπροφλοξασίνη (Cip) και νυστατίνη (Nys) χρησιμοποιήθηκαν ως πρότυπα φάρμακα. Το σύμπλοκο δεν εμφάνισε βιοδραστικότητά έναντι των Gram-αρνητικών στελεχών αναφοράς, με εξαίρεση το στέλεχος *P. Mirabilis*, ενώ η δραστηριότητα του έναντι των περισσότερων Gram-θετικών βακτηρίων αναφοράς ήταν συγκρίσιμη με εκείνη του ελεύθερου flufenamic acid. Επιπλέον, παρουσίασε μέτρια δραστηριότητα έναντι των

στελεχών *S. mutans* και *E. Faecalis*. Το ελεύθερο flufenamic acid και το σύμπλοκο εμφάνισαν συγκρίσιμη, μέτρια αντιμυκητιασική δραστικότητα έναντι των στελεχών αναφοράς *Candida spp* [111].



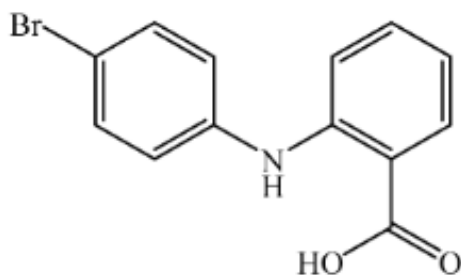
Εικόνα 39 (α) Η ασύμμετρη μονάδα της ένωσης $[Mn_3(fluf)_6(EtOH)(H_2O)]$. Τα άτομα μαγγανίου απεικονίζονται με μαύρο χρώμα, τα οξυγόνα με κόκκινο και τα ligand στην εσωτερική σφαίρα με γκρι. (β) Η αλυσίδα του πολυμερούς συναρμογής [111]

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

Αντιδραστήρια – Όργανα – Μελέτες

Το ligand που χρησιμοποιήθηκε στη συγκεκριμένη πειραματική μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία ανήκει στη κατηγορία των ΜΣΑΦ και συγκεκριμένα είναι το 4'-βρωμο-φαιναμικό οξύ, ένα παράγωγο του φαιναμικού οξέος, του οποίου ο συντακτικός τύπος φαίνεται στη παρακάτω. Η σύνθεση του 4'-Br-fenamic acid (4'-Br-fenH) αναφέρεται στη βιβλιογραφία [112].



Εικόνα 40 Συντακτικός τύπος του 4'-Br-fenamic acid

Αντιδραστήρια

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν στη συγκεκριμένη πειραματική πτυχιακή εργασία είναι τα εξής: $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 4-Br-fenamic acid (4'-Br-fenH), Sodium diclofenac (Na dicl), KOH, πυκνό HCl (35% v/v), NaCl, trisodium citrate, calf-thymus (CT) DNA, bovine serum albumin (BSA), human serum albumin (HSA), ibuprofen, warfarin και αιθίδιο βρωμίδιο (EB) που αγοράστηκαν από την εταιρία Sigma Aldrich και χρησιμοποιήθηκαν όπως παραλήφθηκαν. Ο διαλύτης μεθανόλη (MeOH) αγοράστηκε από την εταιρία Chemlab σε βαθμό καθαρότητας “χημικώς καθαρά”. Όλα τα αντιδραστήρια χρησιμοποιήθηκαν όπως παραλήφθηκαν.

Το διάλυμα DNA που χρησιμοποιήθηκε για τις μελέτες αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με το DNA παρασκευάστηκε στο εργαστήριο. Συγκεκριμένα, έγινε διάλυση του CT-DNA σε ρυθμιστικό διάλυμα (150 mM NaCl και 15 mM κιτρικού νατρίου) με pH= 7.0 (το οποίο ρυθμίστηκε με διάλυμα 0.1M HCl) υπό συνεχή ανάδευση για 72h και διατηρήθηκε στους 4°C. Για να διαπιστωθεί η

καθαρότητα του DNA από πρωτεϊνικές προσμίξεις, βρέθηκε ο λόγος των εντάσεων απορρόφησης στα 260 και 280 nm. Ο λόγος των δύο αυτών εντάσεων (A_{260}/A_{280}) βρέθηκε ίσος με 1.85-1.90 και αυτό επιβεβαιώνει την καθαρότητα του DNA. Επιπρόσθετα, η συγκέντρωση που χρησιμοποιήθηκε κατά τη διάρκεια των μελετών προσδιορίστηκε με βάση την απορρόφηση που εμφανίζει το DNA στα 260nm, έπειτα από μία αραιώση 1:20 κ.ό. του αρχικού διαλύματος, Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης χρησιμοποιήθηκε ο τύπος Lambert-Beer:

$$A = \epsilon \cdot d \cdot c$$

όπου: A: η απορρόφηση ϵ : η μοριακή απορρόφηση ($\epsilon = 6600\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) [113], d: το πάχος της κυψελίδας (1 cm) c: η συγκέντρωση διαλυμένης ουσίας (M).

Όργανα

Η λήψη των φασμάτων υπερύθρου (IR) πραγματοποιήθηκε σε φασματόμετρο Thermo Scientific™ Nicolet™ iS20 FTIR Spectrometer στην περιοχή $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ με τη μορφή σκόνης που είχε το στεγνό ίζημα. Τα φάσματα UV-visible (UV-vis) λήφθηκαν σε εύρος συγκεντρώσεων $10^{-5} - 5 \times 10^{-3}\text{ M}$ (σε διάλυμα DMSO ή/και buffer) σε κυψελίδα πάχους 1 cm σε φασματοφωτόμετρο Hitachi U-2001. Τα φάσματα φθορισμού λήφθηκαν σε φασματοφωτόμετρο Hitachi F-7000. Η μελέτη της ιξωδομετρίας έγινε με τη χρήση ενός περιστροφικού ιξωδόμετρου ALPHA L της Fungilab με 18 mL LCP spindle στα 100 rpm.

Η επίλυση των κρυσταλλικών δομών των ενώσεων $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{neoc})]$ και $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipy})]$ έγινε με περίθλαση ακτίνων-X στο τμήμα Χημείας του Α.Π.Θ σε περιθλασίμετρο Brucker Kappa APEX II εξοπλισμένο με μονοχρωμάτορα τύπου TRIUMPH σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Οι μετρήσεις περίθλασης καταγράφηκαν χρησιμοποιώντας ακτινοβολία από πηγή Mo. Οι διαστάσεις των μοναδιαίων κυψελίδων προσδιορίστηκαν χρησιμοποιώντας τουλάχιστον 130 ανακλάσεις. Τα δεδομένα έντασης (intensity data) συλλέχθηκαν χρησιμοποιώντας τη λειτουργία σάρωσης φ και ω . Για τη συλλογή και επεξεργασία των ανακλάσεων για κάθε κρύσταλλο, που οδήγησε στην επίλυση των δομών, οι ανακλάσεις ενσωματώθηκαν στο πακέτο λογισμικού Bruker SAINTS [114] χρησιμοποιώντας narrow-frame αλγόριθμο.

Τα δεδομένα διορθώθηκαν για απορρόφηση χρησιμοποιώντας την αριθμητική μέθοδο (SADABS) με βάση τις διαστάσεις των κρυστάλλων. Οι δομές επιλύθηκαν χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα SUPERFLIP [115] και βελτιώθηκαν με τη βοήθεια της μεθόδου ελαχίστων τετραγώνων σε F^2 σε full-matrix με το πρόγραμμα CRYSTALS 14.61_build_6236 [116]. Όλα τα άτομα (εκτός των H) προσδιορίστηκαν ανισότροπα. Τα άτομα H βρέθηκαν στις αναμενόμενες θέσεις. Τα κρυσταλλογραφικά δεδομένα των ενώσεων **II** και **IV** παρατίθενται στον **Πίνακες 1**.

Πίνακας 1. Κρυσταλλογραφικά δεδομένα για τις ενώσεις $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2\text{(neoc)}]$ (**II**) και $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipy})]_n$ (**IV**).

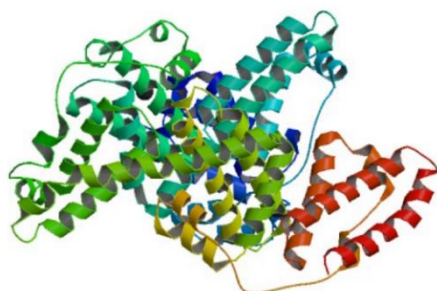
	$[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{neoc})]$ (II)	$[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipy})]_n$ (IV)
Crystal data		
Chemical formula	$\text{C}_{40}\text{H}_{30}\text{Br}_2\text{Mn}_1\text{N}_4\text{O}_4$	$\text{C}_{36}\text{H}_{26}\text{Br}_2\text{MnN}_4\text{O}_4$
Mr	845.44	793.36
Crystal system	Monoclinic	Monoclinic
space group	$P2_1/c$	$C2/c$
Temperature (K)	295	295
a (Å)	13.323 (4)	34.94 (3)
b (Å)	29.043 (9)	10.466 (8)
c (Å)	9.435 (3)	9.168 (8)
α (°)	90	90
β (°)	96.175 (7)	103.18 (3)
γ (°)	90	90
V (Å ³)	3929.7 (19)	3264 (5)
Z	4	4
Radiation type	Mo Ka	Mo Ka
$\mu(\text{mm}^{-1})$	2.61	2.90
Data collection		
Diffractometer	Bruker Kappa Apex2	
Absorption correction	Numerical, Analytical Absorption [117]	
T _{min} , T _{max}	0.68, 0.73	0.73, 0.82
Measured reflections	37583	12404
Independent reflections	6921	3122

Observed reflections [I>2.0σ(I)]	5544	2025
R _{int}	0.023	0.037
(sin θ/λ) _{max} (Å ⁻¹)	0.614	0.612
Refinement		
R[F ² > 2σ(F ²)], wR(F ²), S	0.046, 0.059, 1.00	0.052, 0.062, 1.00
No. of reflections	5544	2025
No. of parameters	468	213
No. of restraints	8	8
H-atom treatment	H-atoms treated by a mixture of independent and constrained refinement	H-atoms parameters constrained
Δρ _{max} , Δρ _{min} (e Å ⁻³)	0.64, -0.46	0.61, -0.72

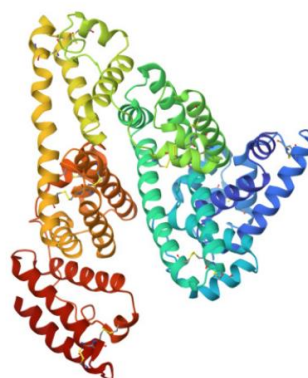
Μελέτες βιολογικής δράσης

Μελέτη της αλληλεπίδρασης ενώσεων με αλβουμίνες

Για τις μελέτες αλληλεπίδρασης των συμπλόκων ενώσεων με τις αλβουμίνες ορού αίματος, χρησιμοποιήθηκε η αλβουμίνη βόειου ορού (Bovine serum albumin – BSA) και η αλβουμίνη ανθρώπινου ορού (Human serum albumin – HSA).



BSA



HSA

Εικόνα 41 Κρυσταλλική δομή αλβουμίνης βόειου ορού (BSA) και ανθρώπινου ορού (HSA).

Οι μελέτες βασίζονται στη μείωση του φθορισμού της τρυπτοφάνης της αλβουμίνης, εξαιτίας της αλληλεπίδρασης των συμπλόκων ενώσεων. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα της BSA (3 μM) και της HSA (3 μM) σε buffer (150 mM NaCl και 15 mM κιτρικού νατρίου) με pH = 7.0. Η μελέτη της ελάττωσης της έντασης της εκπομπής φθορισμού της τρυπτοφάνης της BSA στα 342 nm και της HSA στα 351 nm έγινε με την προσθήκη των συμπλόκων σε αυξανόμενη συγκέντρωση. Η διέγερση έγινε σε μήκος κύματος 295nm, ενώ τα φάσματα καταγράφηκαν στο εύρος 300-500nm (η καταγραφή των φασμάτων εκπομπής των ελεύθερων συμπλόκων έγινε στα ίδια μήκη κύματος).

Για την επίτευξη ορθότερων αποτελεσμάτων, πραγματοποιήθηκε διόρθωση των εκάστοτε φασμάτων μέσω αφαίρεσης των φασμάτων του εκάστοτε ελεύθερου συμπλόκου από το αρχικό φάσμα. Η επίδραση του φαινομένου εσωτερικού φίλτρου στις μετρήσεις αξιολογήθηκε με τη παρακάτω εξίσωση [118]:

$$I_{corr} = I_{meas} \times 10^{\frac{\varepsilon(\lambda_{exc})cd}{2}} \times 10^{\frac{\varepsilon(\lambda_{em})cd}{2}} \quad (\text{Εξίσωση 1})$$

όπου: I_{corr} = η διορθωμένη ένταση, I_{meas} = η μετρούμενη ένταση, c = η συγκέντρωση του αποσβέστη, d = το μήκος της κυψελίδας (1 cm) και $\varepsilon(\lambda_{exc})$ και $\varepsilon(\lambda_{em})$ = ο συντελεστής μοριακής απορρόφησης του αποσβέστη στο μήκος κύματος της διέγερσης και της εκπομπής, αντίστοιχα, όπως υπολογίστηκε από τα φάσματα UV-vis των συμπλόκων.

Οι εξισώσεις των Stern-Volmer (Εξίσωση 2, 3) και Scatchard (Εξίσωση 4) καθώς και τα αντίστοιχα διαγράμματα, χρησιμοποιήθηκαν ώστε να γίνει δυνατός ο υπολογισμός της σταθεράς Stern-Volmer K_{sv} (σε M^{-1}), η σταθερά απόσβεσης K_q (σε $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$), η σταθερά σύνδεσης της BSA (K) και ο αριθμός θέσεων σύνδεσης ανά αλβουμίνη (n).

$$\frac{I_0}{I} = 1 + k_q \tau_0 [Q] = 1 + K_{sv}[Q] \quad (\text{Εξίσωση 2})$$

όπου: I_0 = ο αρχικός φθορισμός της αλβουμίνης, I = ο φθορισμός της αλβουμίνης μετά τη προσθήκη της ένωσης, k_q = η σταθερά απόσβεσης των αλβουμινών.

Γνωρίζοντας ότι $\tau_0 = 10^{-8}$ s και αφού υπολογίσουμε τη σταθερά Stern-Volmer από τη κλίση του διαγράμματος I_0/I προς $[Q]$, μπορούμε να υπολογίσουμε τη σταθερά απόσβεσης k_q από τη σχέση:

$$K_{SV} = k_q \times \tau_0 \quad (\text{Εξίσωση 3})$$

Με βάση την εξίσωση Scatchard:

$$\frac{\Delta I/I_0}{[Q]} = nK - K \frac{\Delta I}{I_0} \quad (\text{Εξίσωση 4})$$

η K είναι η σταθερά σύνδεσης της αλβουμίνης με την ένωση και μπορεί να υπολογιστεί από την κλίση της ευθείας στο διάγραμμα $(\Delta I/I_0)/[Q]$ προς $\Delta I/I_0$ και n ο αριθμός των θέσεων σύνδεσης ανά αλβουμίνη που υπολογίζεται από τη τεταγμένη επί την αρχή προς την κλίση στο ίδιο διάγραμμα [93].

Μελέτη της αλληλεπίδρασης των ενώσεων με CT DNA

Η μελέτη της αλληλεπίδρασης διαφόρων ενώσεων με DNA γίνεται με διάφορες μεθόδους και στηρίζεται κυρίως στη μελέτη των αλλαγών που λαμβάνουν χώρα σε διαλύματα CT DNA κατά την προσθήκη κατά αυξανόμενες ποσότητες διαλύματος της μελετούμενης ένωσης.

Οι κυριότερες τεχνικές που χρησιμοποιούνται είναι η φασματοσκοπία υπεριώδους (UV-Vis), η φασματοσκοπία κυκλικού διαχωρισμού (CD), η ιξωδομετρία, η κυκλική βολταμμετρία, η ηλεκτροφόρηση, ο προσδιορισμός της θερμοκρασίας μετουσίωσης του DNA, ο προσδιορισμός της γωνίας υπερελίκωσης και η ανταγωνιστική δράση με ουσίες που έχουν γνωστό τρόπο δράσης με το DNA. Για τον προσδιορισμό του τρόπου και της ισχύς σύνδεσης της ένωσης με το DNA απαιτείται ο συνδυασμός μεθόδων έτσι ώστε να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα [72].

Μελέτη της αλληλεπίδρασης των ενώσεων με το DNA με φασματοσκοπία UV-Vis

Η αλληλεπίδραση των συμπλόκων που αναφέρονται στη παρούσα εργασία με CT DNA μελετήθηκε με φασματοσκοπία UV-Vis ώστε να γίνει η διερεύνηση του πιθανού τρόπου σύνδεσης των ενώσεων στο CT DNA, καθώς και ο υπολογισμός της σταθεράς σύνδεσης στο DNA, K_b . Τα φάσματα UV των

συμπλόκων καταγράφηκαν παρουσία του CT DNA για διάφορους λόγους $r = [\text{σύμπλοκο}]/[\text{DNA}]$. Η εξίσωση Wolfe-Shimer (Εξίσωση 5):

$$\frac{[DNA]}{\epsilon_A - \epsilon_f} = \frac{[DNA]}{(\epsilon_b - \epsilon_f)} + \frac{1}{K_b(\epsilon_b - \epsilon_f)} \quad (\text{Εξίσωση 5})$$

όπου $[DNA]$: η συγκέντρωση του CT DNA, ϵ_A : ο λόγος της απορρόφησης προς τη συγκέντρωση της ένωσης σε κάθε μέτρηση, ϵ_f : ο συντελεστής μοριακής απορρόφησης για την ελεύθερη ένωση, ϵ_b : ο συντελεστής μοριακής απορρόφησης της πλήρως δεσμευμένης ένωσης, και τα διαγράμματα $[DNA]/(\epsilon_A - \epsilon_f)$ προς $[DNA]$ από τα φάσματα των συμπλόκων που καταγράφηκαν παρουσία DNA για διάφορες τιμές r , χρησιμοποιήθηκαν για να υπολογιστούν οι τιμές K_b . Η σταθερά K_b (σε M^{-1}) λαμβάνεται μελετώντας τις μεταβολές στην απορρόφηση των αντίστοιχων $\lambda_{\max}$ με αυξανόμενες συγκεντρώσεις του CT DNA και αυτή δίνεται από το λόγο της τεταγμένης επί την αρχή προς τη κλίση της ευθείας ελαχίστων τετραγώνων στο διάγραμμα του λόγου $[DNA]/(\epsilon_A - \epsilon_f)$ προς $[DNA]$ σύμφωνα με την εξίσωση Wolfe-Shimer.

Μελέτη της αλληλεπίδρασης των ενώσεων με το DNA με ιξωδομετρία

Το ιξώδες του DNA ($[DNA] = 0.1 \text{ mM}$) σε διάλυμα buffer (150 mM NaCl και 15 mM trisodium citrate σε pH 7.0) μετρήθηκε παρουσία αυξανόμενων ποσοτήτων των συμπλόκων. Όλες οι μετρήσεις έγιναν σε θερμοκρασία δωματίου. Όλα τα δεδομένα που λήφθηκαν παρουσιάζονται ως διαγράμματα $(\eta/\eta_0)^{1/3}$ προς r , όπου η είναι το ιξώδες του DNA παρουσία του συμπλόκου και η_0 είναι το ιξώδες μόνο του DNA σε διάλυμα buffer.

Μελέτη της ανταγωνιστικής δράσης των συμπλόκων με το βρωμιούχο αιθίδιο (Ethidium bromide – EB)

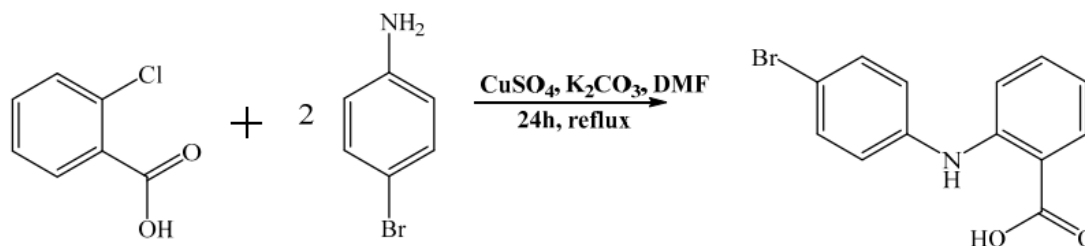
Η μελέτη της ανταγωνιστικής δράσης των συμπλόκων με το EB πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπία φθορισμού εκπομπής με σκοπό να εξεταστεί αν οι ενώσεις μπορούν να αντικαταστήσουν το EB σε σύμπλοκο DNA-EB. Το σύμπλοκο DNA-EB παρασκευάστηκε προσθέτοντας 20 μM EB και 26 μM CT DNA σε διάλυμα buffer. Η ικανότητα των συμπλόκων να παρεμβάλλονται στο DNA μελετήθηκε με τη προσθήκη σταδιακά αυξανόμενης

ποσότητας του διαλύματος του συμπλόκου σε διάλυμα DNA-EB. Η επίδραση της προσθήκης καθενός συμπλόκου στο διάλυμα DNA-EB λήφθηκε καταγράφοντας την αλλαγή στο φάσμα εκπομπής με μήκος κύματος διέγερσης στα 540nm. Οι σταθερές Stern-Volmer (K_{sv} , σε M^{-1}) υπολογίστηκαν σύμφωνα με τη γραμμική εξίσωση Stern-Volmer (Εξίσωση 2) και από τη κλίση της γραφικής παράστασης I_0/I προς $[Q]$, στην οποία I_0 και I είναι οι εντάσεις απουσία και παρουσία της υπό μελέτη ένωσης, αντίστοιχα και $[Q]$ είναι η συγκέντρωση της ένωσης. Λαμβάνοντας ως χρόνο φθορισμού του συστήματος DNA-EB τη τιμή $\tau_0 = 23$ ns, [119] η σταθερά απόσβεσης (K_d , $M^{-1}s^{-1}$) των συμπλόκων υπολογίζεται από την εξίσωση 3.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 – ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

Σύνθεση του 4'-Br-fenH

Για τη σύνθεση του 4'-Br-fenH [112] προστέθηκαν αρχικά 227 mg 2-chlorobenzoic acid (1.45 mmol), 500 mg 4-bromo-aniline (2.9 mmol), 100 mg ανθρακικό κάλιο (K_2CO_3) (0.725 mmol) και 8mg θειικός χαλκός ($CuSO_4$) (καταλυτική ποσότητα). Όλα αυτά διαλύθηκαν σε DMF (5mL) και αφέθηκαν υπό reflux στους 150°C για 24 h. Όταν το διάλυμα της αντίδρασης έφτασε σε θερμοκρασία δωματίου, προστέθηκαν . Έπειτα, προστέθηκαν 15mL υδροχλωρικού οξέος 1M και αφέθηκε για 24 h σε θερμοκρασία δωματίου με σκοπό την καταβύθιση του προϊόντος. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε διήθηση υπο κενό και πλύση με 200 mL H_2O με σκοπό τον διαχωρισμό της οργανικής ένωσης, το ίζημα αφέθηκε να στεγνώσει υπό κενό σε θερμοκρασία δωματίου.



Σύνθεση συμπλόκων μαγγανίου με το 4-βρωμο-φαιναμικό οξύ

Σύνθεση συμπλόκου $[Mn(4'-Br-fen)_2(MeOH)_4]$ (I)

Σε μεθανολικό διάλυμα (13mL) 4'-Br-fenH (0,2 mmol, 49 mg) προστέθηκαν 200 μ L KOH (1M, 0,2 mmol) και το διάλυμα αναδεύτηκε για 1 h για να πραγματοποιηθεί αποπρωτονίωση. Στη συνέχεια, το διάλυμα προστέθηκε σε μεθανολικό διάλυμα (3mL) $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ (0,1 mmol, 20 mg). Το διάλυμα που προέκυψε αναδεύτηκε για ½ h. Έπειτα από μερικές μέρες το διάλυμα διηθήθηκε και συλλέχθηκε ανοικτό καφέ προϊόν το οποίο αφέθηκε να στεγνώσει (απόδοση: 65 mg, 86%)

Σύνθεση του συμπλόκου [Mn(4'-Br-fen)₂(neoc)] (II)

Σε μεθανολικό διάλυμα (13mL) 4'-Br-fenH (0,2 mmol, 49 mg) προστέθηκαν 200 μ L KOH (1M, 0,2 mmol) και το διάλυμα αναδεύτηκε για 1h για να πραγματοποιηθεί αποπρωτονίωση. Στη συνέχεια, το διάλυμα προστέθηκε υπό ανάδευση μαζί με μεθανολικό διάλυμα (3mL) neoc (0,1 mmol, 21 mg) σε μεθανολικό διάλυμα (3mL) MnCl₂·4H₂O (0,1 mmol, 20 mg). Το διάλυμα που προέκυψε αναδεύτηκε για ½ h. Έπειτα από μερικές μέρες συλλέχθηκαν καφέ μονοκρύσταλλοι κατάλληλοι για επίλυση της δομής με περίθλαση ακτίνων-Χ. (απόδοση: 65 mg, 77%)

Σύνθεση του συμπλόκου [Mn(4'-Br-fen)₂(phen)] (III)

Σε μεθανολικό διάλυμα (13mL) 4'-Br-fenH (0,2 mmol, 49 mg) προστέθηκαν 200 μ L KOH (1M, 0,2 mmol) και το διάλυμα αναδεύτηκε για 1 h για να πραγματοποιηθεί αποπρωτονίωση. Στη συνέχεια, το διάλυμα προστέθηκε υπό ανάδευση μαζί με μεθανολικό διάλυμα (3mL) phen (0,1 mmol, 18 mg) σε μεθανολικό διάλυμα (3mL) MnCl₂·4H₂O (0,1 mmol, 20 mg). Το διάλυμα που προέκυψε αναδεύτηκε για ½ h. Έπειτα από μερικές μέρες το διάλυμα διηθήθηκε και συλλέχθηκε σκούρο καφέ προϊόν το οποίο αφέθηκε να στεγνώσει. (απόδοση: 65 mg, 80%)

Σύνθεση του συμπλόκου [Mn(4'-Br-fen)₂(bipy)] (IV)

Σε μεθανολικό διάλυμα (13mL) 4'-Br-fenH (0,2 mmol, 49 mg) προστέθηκαν 200 μ L KOH (1M, 0,2 mmol) και το διάλυμα αναδεύτηκε για 1h για να πραγματοποιηθεί αποπρωτονίωση. Στη συνέχεια, το διάλυμα προστέθηκε υπό ανάδευση μαζί με μεθανολικό διάλυμα (3mL) 2,2'-bipy (0,1 mmol, 16 mg) σε μεθανολικό διάλυμα (3mL) MnCl₂·4H₂O (0,1 mmol, 20 mg). Το διάλυμα που προέκυψε αναδεύτηκε για ½ h. Έπειτα από μερικές μέρες, συλλέχθηκαν μαύροι μονοκρύσταλλοι κατάλληλοι για επίλυση της δομής με περίθλαση ακτίνων-Χ. (απόδοση: 70 mg, 88%)

Σύνθεση του συμπλόκου [Mn(4'-Br-fen)₂(bipyam)] (V)

Σε μεθανολικό διάλυμα (13mL) 4'-Br-fenH (0,2 mmol, 49 mg) προστέθηκαν 200 μ L KOH (1M, 0,2 mmol) και το διάλυμα αναδεύτηκε για 1 h για να πραγματοποιηθεί αποπρωτονίωση. Στη συνέχεια, το διάλυμα προστέθηκε υπό ανάδευση μαζί με μεθανολικό διάλυμα (3mL) bipyam (0,1

mmol, 17 mg) σε μεθανολικό διάλυμα (3mL) $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0,1 mmol, 20 mg). Το διάλυμα που προέκυψε αναδεύτηκε για $\frac{1}{2}$ h. Έπειτα από μερικές μέρες, συλλέχθηκε σκούρο καφέ προϊόν το οποίο αφέθηκε να στεγνώσει. (απόδοση: 65 mg, 80%)

Διαλυτότητα των ενώσεων

Στο πλαίσιο του φυσικοχημικού χαρακτηρισμού των συντεθειμένων συμπλόκων πραγματοποιήθηκαν ποιοτικές μελέτες διαλυτότητας σε διαλύτες διαφορετικής πολικότητας και χημικής φύσης. Συγκεκριμένα, εξετάστηκε η συμπεριφορά των συμπλόκων σε νερό, ακετόνη, N,N-διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF), διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO), μεθανόλη (MeOH), αιθανόλη (EtOH), διχλωρομεθάνιο (CH_2Cl_2), χλωροφόρμιο (CHCl_3) και ακετονιτρίλιο (CH_3CN). Από τη συνολική μελέτη διαλυτότητας προέκυψε ότι τα (**I** - **V**) παρουσιάζουν καλύτερη διαλυτότητα στους πολικούς απρωτικούς διαλύτες DMF και DMSO, όπου διαλύθηκαν όλα άμεσα ή/και με χρήση υπερήχων. Στη μεθανόλη η διαλυτότητα ήταν επίσης ικανοποιητική, αν και για τα περισσότερα σύμπλοκα απαιτήθηκε θέρμανση. Στην αιθανόλη διαλύθηκαν τα σύμπλοκα **I**, **II** και **V** μετά από θέρμανση, ενώ τα σύμπλοκα **III** και **IV** παρέμειναν αδιάλυτα. Στο ακετονιτρίλιο τα σύμπλοκα **I**, **II**, **IV** και **V** διαλύθηκαν μερικώς μετά την εφαρμογή υπερήχων, ενώ το σύμπλοκο **III** δεν διαλύθηκε. Τέλος, στους λιγότερο πολικούς χλωριωμένους διαλύτες CH_2Cl_2 και CHCl_3 τα σύμπλοκα **II** και **IV** ήταν διαλυτά αμέσως ή/και με την εφαρμογή υπερήχων και στους δύο διαλύτες, ενώ τα σύμπλοκα **I**, **III** και **V** εμφάνισαν μερική διαλυτότητα στο CHCl_3 .

Πίνακας 2 Διαλυτότητα συμπλόκων I-V

	MeOH	EtOH	CH_3CN	DMSO	DMF	H_2O	CHCl_3	CH_2Cl_2	Ακετόνη
$[\text{Mn}(\text{4'-Br-fen})_2(\text{MeOH})_4]$	✓	✓	✓	✓	✓	-	✓	-	✓
$[\text{Mn}(\text{4'-Br-fen})_2(\text{neoc})]$	✓	✓	✓	✓	✓	-	✓	✓	✓
$[\text{Mn}(\text{4'-Br-fen})_2(\text{phen})]$	✓	-	-	✓	✓	-	✓	-	✓
$[\text{Mn}(\text{4'-Br-fen})_2(\text{bipy})]_n$	✓	-	✓	✓	✓	-	✓	✓	✓
$[\text{Mn}(\text{4'-Br-fen})_2(\text{bipyam})]$	✓	✓	✓	✓	✓	-	✓	-	✓

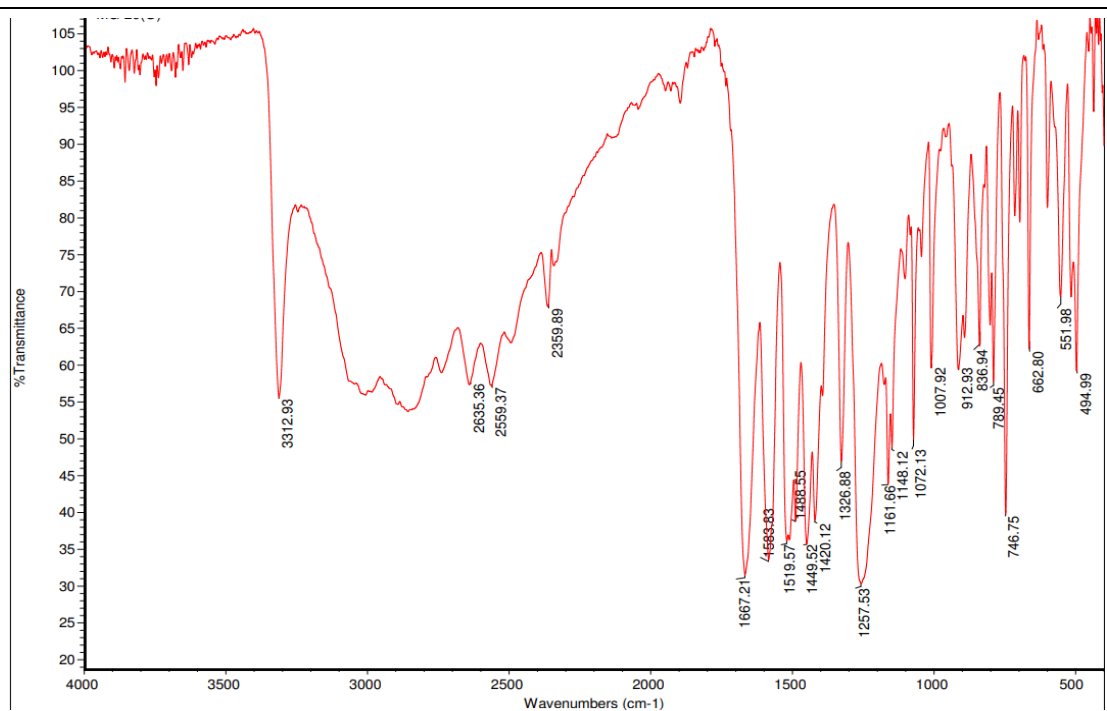
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 – ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

Μελέτη των συμπλόκων με φασματοσκοπία υπερύθρου

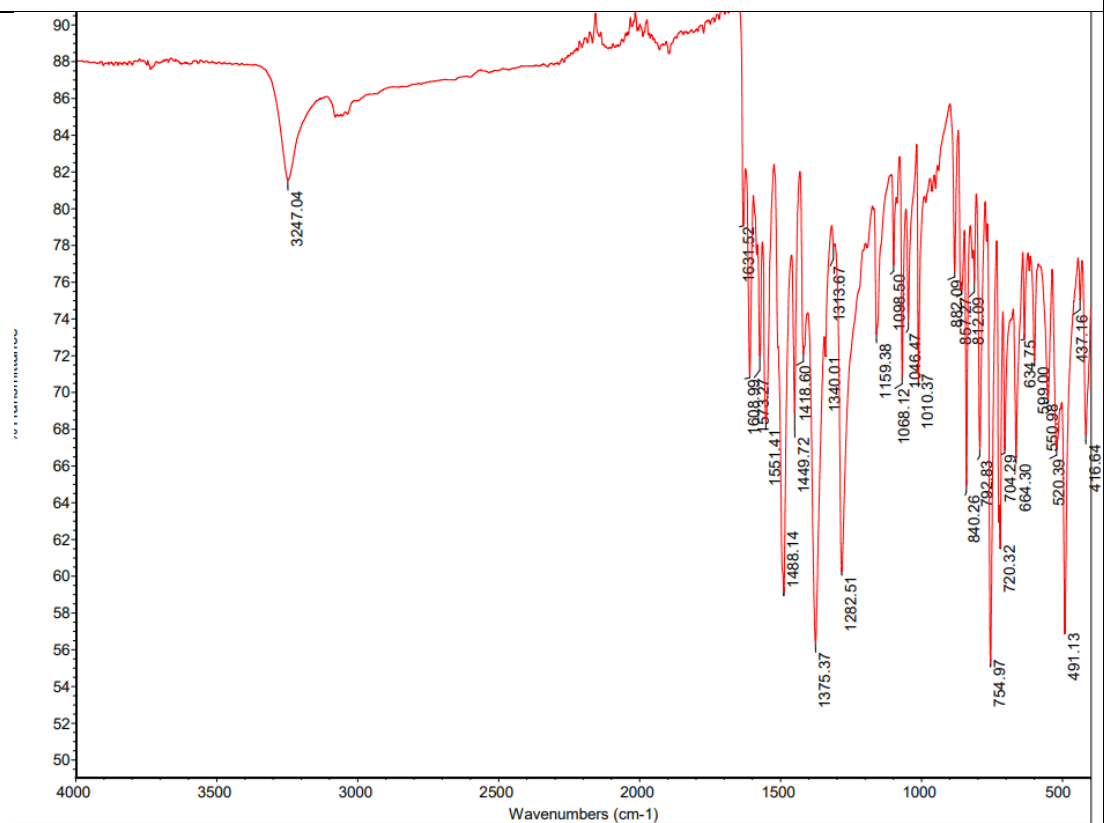
Η χρήση της φασματοσκοπίας υπερύθρου είναι μια μελέτη ρουτίνας και επιτρέπει το γρήγορο και εύκολο έλεγχο για την ύπαρξη χαρακτηριστικών ομάδων ή/και ατόμων σε μια ένωση. Με τον όρο φασματοσκοπία IR συνήθως περιγράφεται το εύρος κύματος ανάμεσα στα 400 cm^{-1} και στα 4000 cm^{-1} . Μέσω των κλασσικών σχέσεων που συσχετίζουν την ακτινοβολία και την ύλη μπορεί να γίνει ο υπολογισμός της ενέργειας της υπέρυθρης ακτινοβολίας. Συνήθως, χρησιμοποιείται η έννοια του κυματάριθμου (cm^{-1}) και συγκεκριμένα οι περιοχές $14000\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ (εγγύς υπέρυθρο), $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ (μέσο υπέρυθρο) και $<400\text{ cm}^{-1}$ (άπω υπέρυθρο). Η φασματοσκοπία υπερύθρου καθίσταται ιδιαίτερα ελκυστική, εξαιτίας της μικρής ποσότητας δείγματος που απαιτεί και του μικρού κόστους. Η αλληλεπίδραση του υπέρυθρου φωτός με την εκάστοτε ένωση προκαλεί μεταβολές στη διπολική ροπή του μορίου δημιουργώντας δονήσεις στο μόριο. Μέσω των δονήσεων αυτών που αποτυπώνονται σε ένα φάσμα υπερύθρου, είναι δυνατή η ταυτοποίηση χαρακτηριστικών ομάδων που υπάρχουν στο μόριο [115].

Στην παρούσα εργασία, η φασματοσκοπία IR χρησιμοποιήθηκε για να εξεταστεί ο τρόπος συναρμογής των ligand στο μέταλλο. Για το λόγο αυτό, οι κορυφές που εξετάστηκαν είναι αυτές που οφείλονται στην αντισυμμετρική, $\nu_{\text{asym}}(\text{COO})$, και συμμετρική, $\nu_{\text{sym}}(\text{COO})$ δόνηση τάσης της καρβοξυλικής ομάδας των 4'-Br-fen ligand καθώς από τη διαφορά $\Delta\nu(\text{COO}) = \nu_{\text{asym}}(\text{COO}) - \nu_{\text{sym}}(\text{COO})$ μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα για τον τρόπο συναρμογής των καρβοξυλικών ligand.

4'-Br-fenH



Σύμπλοκο III



Εικόνα 42 Φάσμα υπερύθρου του 4'-Br-fenH και του συμπλόκου III.

Πίνακας 3 Χαρακτηριστικές δονήσεις (σε cm^{-1}) φάσματα IR των συμπλόκων I-IV και οι τιμές της $\Delta\nu(\text{COO}) = \nu_{\text{asym}}(\text{COO}) - \nu_{\text{sym}}(\text{COO})$

Ένωση	$\nu_{\text{asym}}(\text{COO})$	$\nu_{\text{sym}}(\text{COO})$	$\Delta\nu(\text{COO})$	$\rho(\text{C-H})$ <i>N,N'</i> -δοτή
$[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{MeOH})_4]$ (I)	1575	1385	190	---
$[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{neoc})]$ (II)	1581	1386	195	731
$[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{phen})]$ (III)	1573	1375	198	721
$[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipy})]_n$ (IV)	1580	1385	195	758
$[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipyam})]$ (V)	1575	1384	191	766

Από τα φάσματα IR και τον **πίνακα 3**, εξάγονται τα εξής συμπεράσματα:

1. Οι χαρακτηριστικές κορυφές που οφείλονται στις δονήσεις τάσης των δεσμών $(\text{C=O})_{\text{carboxylic}}$ και $\nu(\text{C-O})_{\text{carboxylic}}$ της καρβοξυλικής ομάδας του ελεύθερου ΜΣΑΦ έχουν αντικατασταθεί από δύο νέες κορυφές που αποδίδονται στην αντισυμμετρική δόνηση τάσης $\nu_{\text{asym}}(\text{COO})$ και τη συμμετρική δόνηση τάσης $\nu_{\text{sym}}(\text{COO})$ της συναρμοσμένης καρβοξυλικής του ομάδας.
2. Με βάση την τιμή της παραμέτρου $\Delta\nu(\text{COO})$, δίνεται η δυνατότητα να εξετάσουμε τον τρόπο με τον οποίο συναρμόζεται το ligand μέσω της καρβοκυλικής ομάδας στο μέταλλο. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία [120,121], για $\Delta\nu(\text{COO}) > 190 \text{ cm}^{-1}$ ($\Delta\nu(\text{COO}) > \Delta\nu(\text{COO})_{\text{άλατος}}$) η συναρμογή είναι μονοδραστική, για $150 \text{ cm}^{-1} < \Delta\nu(\text{COO}) \leq 190 \text{ cm}^{-1}$, ($\Delta\nu(\text{COO}) \leq \Delta\nu(\text{COO})_{\text{άλατος}}$) η συναρμογή είναι διδραστική χηλική και για $\Delta\nu(\text{COO}) < 150 \text{ cm}^{-1}$ η συναρμογή είναι διδραστική γεφυρωτική. Για τις ενώσεις **I-V**, η παράμετρος $\Delta\nu(\text{COO})$ έχει τιμές $190\text{-}198 \text{ cm}^{-1}$ που υποδηλώνουν μονοδραστική ή ασύμμετρη διδραστική συναρμογή της καρβοξυλικής ομάδας του 4'-Br-fen ligand στο Mn(II) [120,121].
3. Στην περιοχή του δακτυλικού αποτυπώματος, παρατηρούμε την εμφάνιση μέτριας έντασης κορυφών στην περιοχή $721\text{-}766 \text{ cm}^{-1}$, που αποδίδονται στις εκτός του επιπέδου παραμορφώσεις των δεσμών C-H, $\rho(\text{C-H})$, των *N,N'*-δοτών, που υποδηλώνουν την παρουσία και τη συναρμογή των *N,N'*-δοτών στα σύμπλοκα [120].

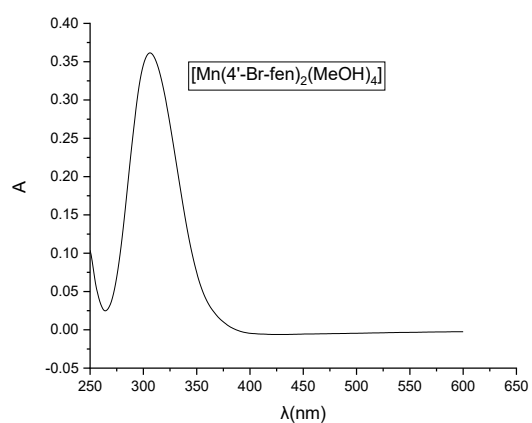
Μελέτη συμπλόκων με φασματοσκοπία UV-vis

Η φασματοσκοπία υπεριώδους - ορατού (UltraViolet-visible, UV-vis) αφορά ακτινοβολία με $\lambda_{\max}$ στην περιοχή 200 – 800 nm. Η απορρόφηση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στην περιοχή αυτή είναι αποτέλεσμα των ενεργειακών μεταβολών στην ηλεκτρονική δομή των μορίων. Συγκεκριμένα, τα φάσματα απορρόφησης που προκαλούνται σε αυτό το είδος της φασματοσκοπίας οφείλονται στη μετάπτωση ηλεκτρονίων από μια τροχιά σε μια άλλη. Στη φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού, η απορροφούμενη ενέργεια αντιστοιχεί στη ποσότητα που απαιτείται για τη μετακίνηση ενός ηλεκτρονίου από ένα τροχιακό σε κάποιο άλλο.

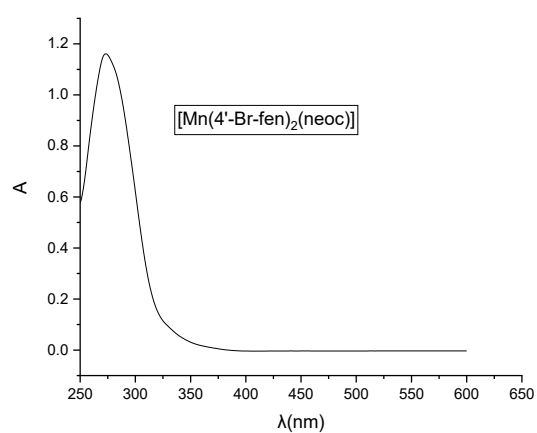
Η φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους-ορατού ($\lambda=200-1100$ nm), χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να διερευνηθεί η δομή των ενώσεων και σε διάλυμα. Το χρώμα των ενώσεων επηρεάζεται άμεσα από την απορρόφηση ή την ανάκλαση. Αξίζει να σημειωθεί πως πέρα από τις ενεργειακές καταστάσεις των διαφόρων ligand, υπάρχουν και αυτές που οφείλονται στα τροχιακά του μετάλλου.

Συγκεκριμένα:

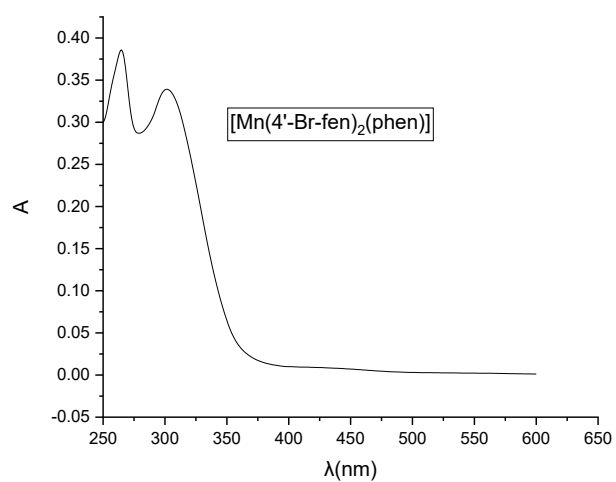
1. Διεγέρσεις ανάμεσα στα τροχιακά των ligands και του μετάλλου. Οι διεγέρσεις αυτές ονομάζονται ταινίες μεταφοράς φορτίου επειδή στη διεγερμένη κατάσταση ένα ηλεκτρόνιο βρίσκεται σε ένα τροχιακό που εντοπίζεται σε άλλο τμήμα του μορίου από εκείνο στο οποίο ανήκε στη βασική κατάσταση. Μπορούν να ταξινομηθούν σε ταινίες μεταφοράς από το μέταλλο στο ligand (MLCT) ή από το ligand στο μέταλλο (LMCT).
2. Διεγέρσεις ανάμεσα στα τροχιακά του ίδιου του μετάλλου. Οι διεγέρσεις αυτές είναι πιο γνωστές ως d-d διεγέρσεις και οφείλονται στην επίδραση του πεδίου του ligand στα τροχιακά του μετάλλου και εμφανίζονται σε μεγαλύτερο μήκος κύματος και άρα σε μικρότερη ενέργεια.
3. Σε μικρότερα μήκη κύματος και μεγαλύτερη ενέργεια βρίσκονται οι διεγέρσεις μεταξύ των διάφορων ενεργειακών σταθμών των ligands (Intra-Ligands, IL).



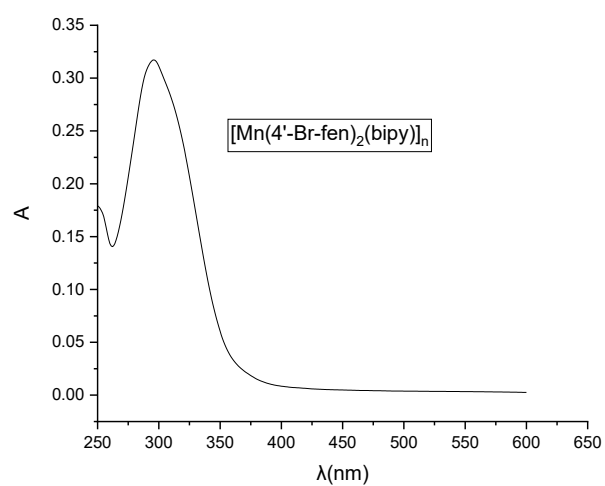
(I)



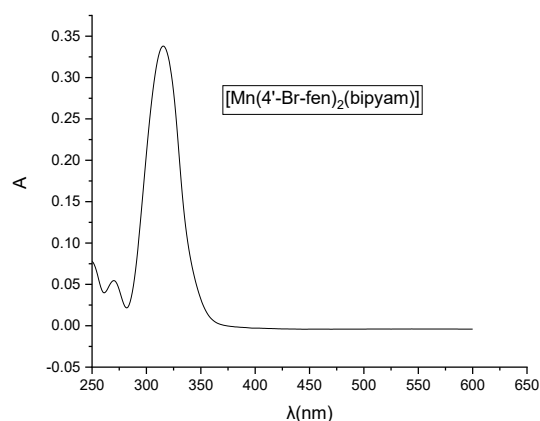
(II)



(III)



(IV)



(V)

Εικόνα 43 Φάσματα UV-vis για τις σύμπλοκες ενώσεις (I) $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{MeOH})_4]$ (10^{-5} M), (II) $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{neoc})]$ (5×10^{-6} M), (III) $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{phen})]$ (10^{-5} M), (IV) $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipy})]$ (10^{-5} M) και (V) $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipyam})]$ (10^{-5} M).

Πίνακας 4 Ταινίες (λ_{max} σε nm (ϵ , σε $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)) που εμφανίζονται στα φάσματα UV-vis των συμπλόκων σε διάλυμα DMSO.

Ένωση	Ταινία/ες
$[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{MeOH})_4]$ (I)	306 (3600)
$[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{neoc})]$ (II)	272 (23000)
$[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{phen})]$ (III)	301 (3400), 265 (3800)
$[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipy})]_n$ (IV)	295 (3200)
$[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipyam})]$ (V)	315 (3400), 270 (sh)(5500)

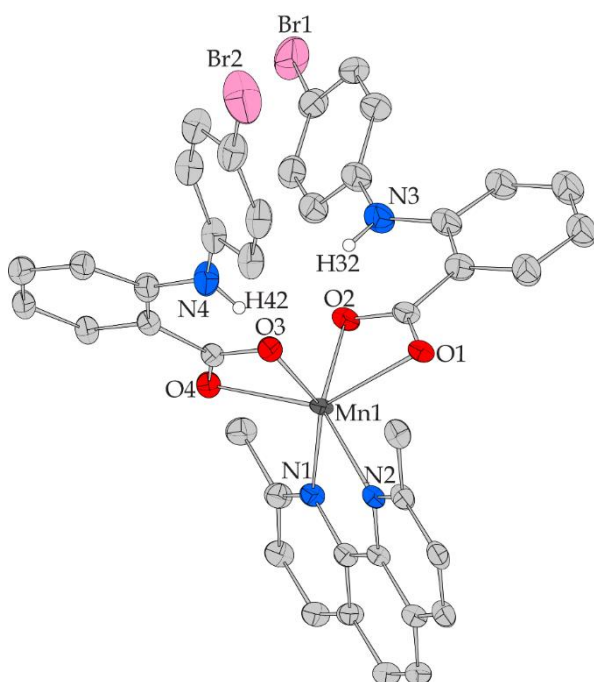
Τα UV-Vis φάσματα των συμπλόκων παρουσιάζουν ταινίες απορρόφησης στην υπεριώδη περιοχή. Οι ταινίες αυτές αποδίδονται κυρίως σε intra-ligand μεταπτώσεις, όπως $\pi \rightarrow \pi^*$ των αρωματικών δακτυλίων και πιθανώς $n \rightarrow \pi^*$ μεταπτώσεις. Η παρουσία των ετεροκυκλικών *N,N'*-δοτών επηρεάζει τόσο τη θέση όσο και την ένταση των ταινιών. Στην ορατή περιοχή δεν παρατηρούνται d-d μεταπτώσεις καθώς το Mn(II) είναι υψηλού spin (d^5) όπου οι d-d μεταπτώσεις είναι συνήθως spin-forbidden και επομένως πολύ ασθενείς.

Χαρακτηρισμός της δομής των συμπλόκων

Από το σύνολο των πέντε συμπλόκων που παρουσιάζονται στη παρούσα μεταπτυχιακή εργασία, απομονώθηκαν δύο σε κρυσταλλική μορφή που επέτρεψαν την επίλυση τους. Οι δομές τους καθώς και τα κρυσταλλογραφικά δεδομένα παρουσιάζονται στη συνέχεια.

Κρυσταλλική δομή της ένωσης $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{neoc})]$ (II)

Η μοριακή δομή του συμπλόκου παρουσιάζεται στην **Εικόνα 44**, και στον **Πίνακα 5** δίνονται μήκη και γωνίες επιλεγμένων δεσμών.



Εικόνα 44 Μοριακή δομή συμπλόκου $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{neoc})]$ (II). Τα αρωματικά και μεθυλενικά άτομα Η απουσιάζουν για λόγους ευκρίνειας της δομής.

Πίνακας 5 Μήκη (σε Å) και γωνίες (σε °) επιλεγμένων δεσμών για το σύμπλοκο [Mn(4'-Br-fen)₂(neoc)] (II).

Δεσμός	Απόσταση Å	Δεσμός	Απόσταση Å
Mn1-O1	2.1955 (17)	Mn1-O4	2.2093 (18)
Mn1-O2	2.2753 (17)	Mn1-N1	2.222 (2)
Mn1-O3	2.2182 (18)	Mn1-N2	2.257 (2)
O1-C1	1.258 (3)	O3-C14	1.261 (3)
O2-C1	1.264 (3)	O4-C14	1.233 (3)
Δεσμοί	Γωνία (°)	Δεσμοί	Γωνία (°)
O1-Mn1-O2	57.51 (7)	O3-Mn1-N1	145.36 (7)
O1-Mn1-O3	98.33 (7)	O4-Mn1-N1	93.43 (7)
O2-Mn1-O3	101.73 (7)	O1-Mn1-N2	88.96 (7)
O1-Mn1-O4	139.95 (7)	O2-Mn1-N2	140.29 (7)
O2-Mn1-O4	93.06 (7)	O3-Mn1-N2	103.88 (7)
O3-Mn1-O4	58.60 (7)	O4-Mn1-N2	126.22 (7)
O1-Mn1-N1	116.16 (7)	N1-Mn1-N2	75.06 (7)
O2-Mn1-N1	99.61 (7)		

Πρόκειται για ένα μονοπυρηνικό σύμπλοκο του Mn(II) με τη σφαίρα συναρμογής MnO₄N₂. Τα 4'-Br-φαιναμικά ligand συναρμόζονται με το ιόν Mn(II) μέσω των καρβοξυλικών τους ομάδων ασύμμετρα διδραστικά χηλικά διδραστικά τύπου κ²-O,O', όπως φαίνεται και από τις αποστάσεις των δεσμών Mn-O (**Πίνακας 5**). Το ιόν Mn(II) έχει αριθμό συναρμογής έξι και παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία. Οι αποστάσεις Mn-O κυμαίνονται από 2.1955 (17) Å έως 2.2753 (17) Å. Η νεοκουπροΐνη συναρμόζεται διδραστικά χηλικά με μήκη δεσμών Mn1-N1 = 2.222 (2) Å και Mn1-N2 = 2.257 (2) Å.

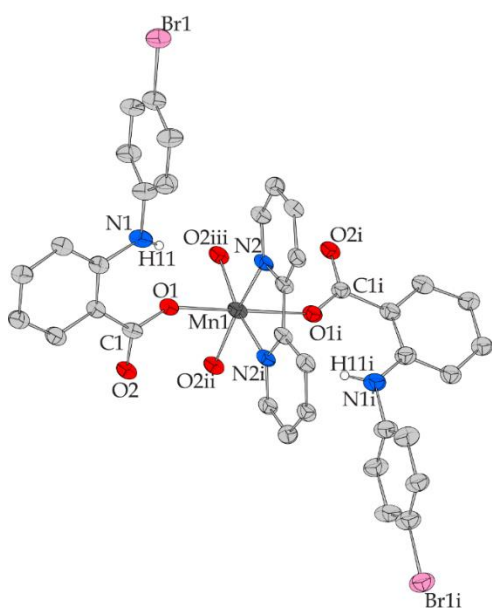
Δεσμοί H αναπτύσσονται μεταξύ των ιμινικών υδρογόνων H32 και H42 με τα καρβοξυλικά οξυγόνα O2 και O3, αντίστοιχα, των 4'-Br-φαιναμικών ligand (**Πίνακας 6**) και συμβάλλουν στη σταθερότητα της δομής.

Πίνακας 6 Δεσμοί υδρογόνου (μήκη σε Å και γωνίες σε °) στο σύμπλοκο $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{neoc})]$ (II).

$D\cdots A$	$D\cdots H$ (Å)	$H\cdots A$ (Å)	$D\cdots A$ (Å)	$D\cdots H\cdots A$ (°)
N3-H32 $\cdots$ O2	0.86 (2)	1.98 (2)	2.680 (4)	138 (2)
N4-H42 $\cdots$ O3	0.85 (2)	2.10 (2)	2.691 (4)	127 (2)

Κρυσταλλική δομή της ένωσης $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipy})]_n$ (IV)

Η μοριακή δομή του συμπλόκου παρουσιάζεται στην **Εικόνα 45**, και μήκη και γωνίες επιλεγμένων δεσμών δίνονται στον **Πίνακα 7**.



Εικόνα 45 Μοριακή δομή συμπλόκου $[\text{Cu}(4'\text{-Br-fen})_2(2,2'\text{-bipy})]$ (IV). Τα αρωματικά και μεθυλινικά άτομα H απουσιάζουν για λόγους ευκρίνειας της δομής.

Πίνακας 7 Μήκη (σε Å) και γωνίες (σε °) επιλεγμένων δεσμών για το σύμπλοκο $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipy})]_n$ (IV).

Δεσμός	Απόσταση Å	Δεσμός	Απόσταση Å
Mn1-O1	2.238 (4)	Mn1-O2 ⁱⁱⁱ	2.092 (4)
Mn1-N2	2.275 (5)		
O1-C1	1.238 (7)	O2-C1	1.259 (6)
Δεσμοί	Γωνία (°)	Δεσμοί	Γωνία (°)
O1-Mn1-N2	82.97 (17)	O2 ⁱ -Mn1-O1	93.69 (17)
O2 ⁱⁱ -Mn1-O2 ⁱⁱⁱ	96.1 (2)	O2 ⁱⁱⁱ -Mn1-O1	94.05 (16)
N2 ⁱ -Mn1-O2 ⁱⁱ	95.79 (17)	N2 ⁱ -Mn1-O1	87.68 (17)
O1 ⁱ -Mn1-O1	168.4 (2)	N2 ⁱ -Mn1-N2	72.4 (3)
N2 ⁱ -Mn1-O2 ⁱⁱⁱ	167.81 (18)		

Symmetry codes: (i) -x+1, y, -z+3/2; (ii) -x+1; -y, -z+1; (iii) x, -y, z+1/2.

Πρόκειται για ένα 1D πολυμερές σύμπλοκο του Mn(II) με βασική μονάδα το $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipy})]$ σχηματίζοντας *syn-anti* $\mu_2\text{-}\eta^1:\eta^1\text{-O, O'}$. Η απόσταση μεταξύ γειτονικών ιόντων Mn(II) (Mn...Mn) είναι 5.001 Å. Κάθε ιόν Mn(II) είναι εξα-συναρμωσμένο και περιβάλλεται από τέσσερα καρβοξυλικά οξυγόνα και δύο άτομα αζώτου, έχοντας σφαίρα συναρμογής MnO_4N_2 και παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία. Παρόμοια δομικά χαρακτηριστικά αναφέρθηκαν για τη δομή του πολυμερούς συμπλόκου $[\text{Mn}(\text{tolf})_2(\text{DMF})_2]_n$ [122].

Δεσμοί H που αναπτύσσονται μεταξύ των ιμινικών ατόμων υδρογόνου H11 με τα καρβοξυλικά οξυγόνα O1 των 4'-Br-φαιναμικών ligand (**Πίνακας 8**) συμβάλλουν περαιτέρω στη σταθερότητα της δομής.

Πίνακας 8 Δεσμοί υδρογόνου (μήκη σε Å και γωνίες σε $^\circ$) στο σύμπλοκο $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipy})]_n$ (IV)

D-H...A	D-H (Å)	H...A (Å)	D...A (Å)	D-H...A ($^\circ$)
N1-H11...O1	0.87	1.99	2.640 (9)	130

Symmetry code: (iv) x, -y, z-1/2.

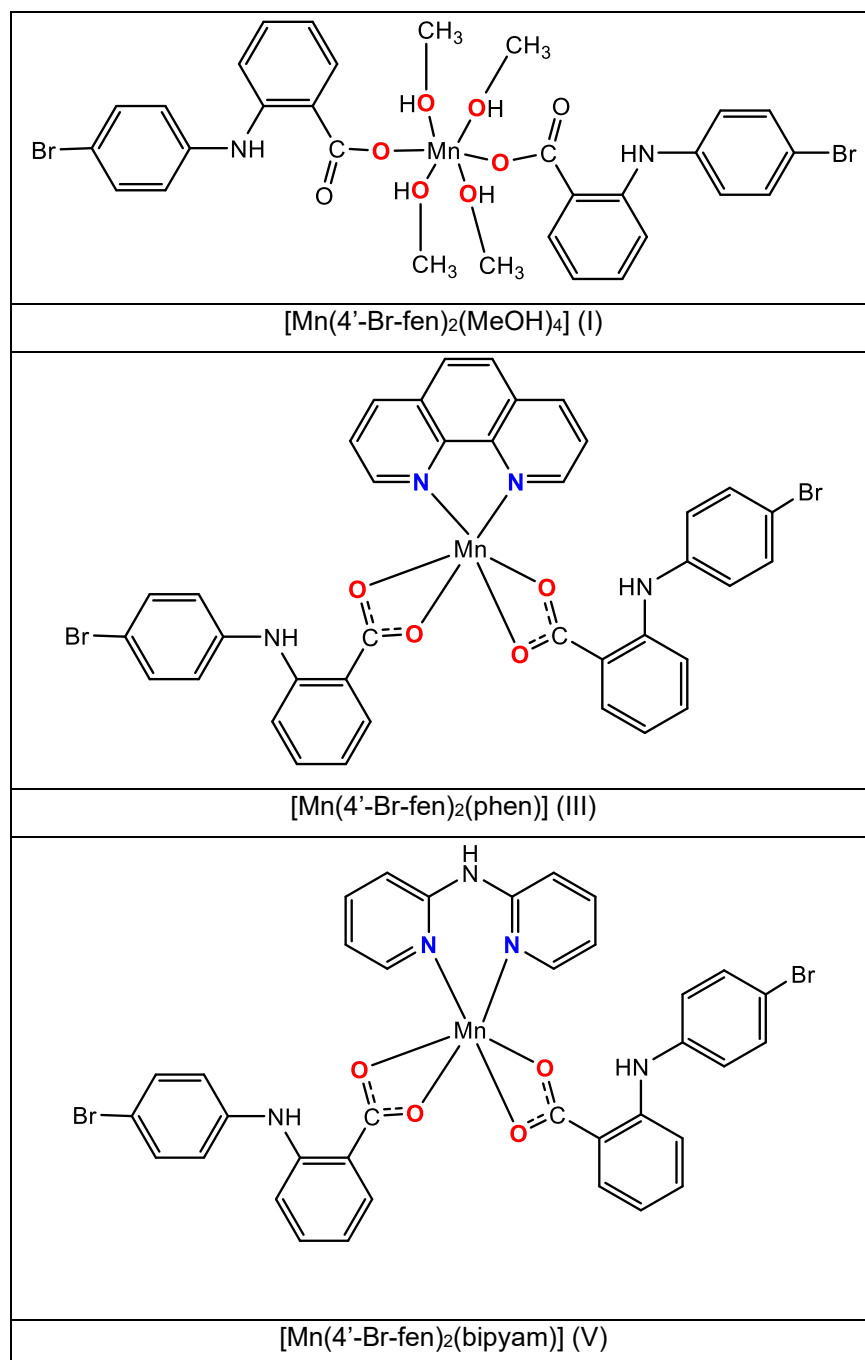
Προτεινόμενη δομή για τις ενώσεις (I), (III) και (V)

Με βάση τα πειραματικά αποτελέσματα και σύγκριση με τη βιβλιογραφία, προτείνονται οι δομές των συμπλόκων $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{MeOH})_4]$ (I), $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{phen})]$ (III) και $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipyam})]$ (V).

Στο σύμπλοκο (I), τα δύο 4'-Br-φαιναμικά ligand συναρμίζονται μονοδραστικά με ένα καρβοξυλικό οξυγόνο και η σφαίρα συναρμογής του εξα-συναρμωσμένου Mn(II) συμπληρώνεται με τα άτομα O από τέσσερις μεθανόλες. Η γεωμετρία γύρω από το Mn(II) προτείνεται ότι είναι παραμορφωμένη οκταεδρική (**Εικόνα 46**). Παρόμοια διευθέτηση των ατόμων O γύρω από το Mn(II) σε σύμπλοκα του τύπου $[\text{Mn}(\text{MΣΑΦ})_2(\text{O-δότης})]$ έχει αναφερθεί και για τα σύμπλοκα $[\text{Mn}(\text{mef-O})_2(\text{MeOH})_4]$ [123] και $[\text{Mn}(\text{niflumato-O})_2(\text{MeOH})_4]$ [124].

Τα σύμπλοκα (III) και (V) αναμένεται να έχουν παρόμοια δομή με το σύμπλοκο II, δηλαδή είναι μονοπυρηνικά σύμπλοκα του Mn(II) με τύπο $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{N,N'-δότης})]$, όπου τα 4'-Br-φαιναμικά ligand συναρμίζονται ασύμμετρα διδραστικά χηλικά στο Mn(II) μέσω των δύο καρβοξυλικών οξυγόνων και η σφαίρα συναρμογής του εξα-συναρμωσμένου Mn(II)

συμπληρώνεται με τα δύο άτομα N του *N,N'*-δότη. Η γεωμετρία γύρω από το Mn(II) προτείνεται ότι είναι παραμορφωμένη οκταεδρική (**Εικόνα 46**). Παρόμοια διευσθέτηση των ατόμων γύρω από το Mn(II) σε σύμπλοκα του τύπου [Mn(MΣΑΦ)₂(*N,N'*-δότης)] έχει αναφερθεί και για τα σύμπλοκα [Mn(diclofenac-O,O')₂(bipyam)] [125], [Mn(mef-O,O')₂(neoc)], [Mn(diclofenac-O,O')₂(neoc)] [Mn(fluf-O,O')₂(neoc)] και [Mn(tolif-O,O')₂(neoc)] [105].



Εικόνα 46 Προτεινόμενες δομές για τα σύμπλοκα (I), (III) και (IV).

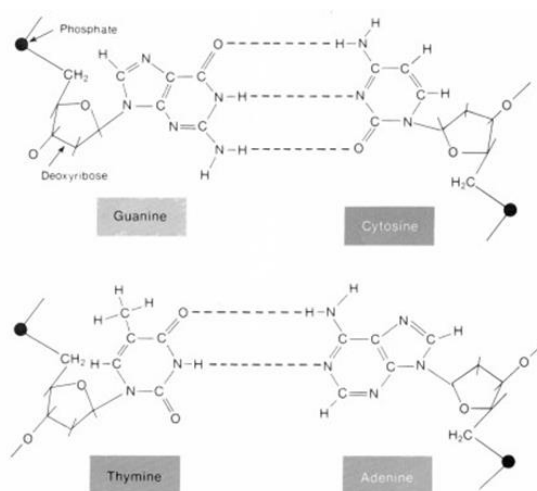
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 – ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

Αλληλεπίδραση συμπλόκων με το DNA

Επίδραση των μεταλλικών ιόντων στη δομή και λειτουργία των νουκλεϊκών οξέων

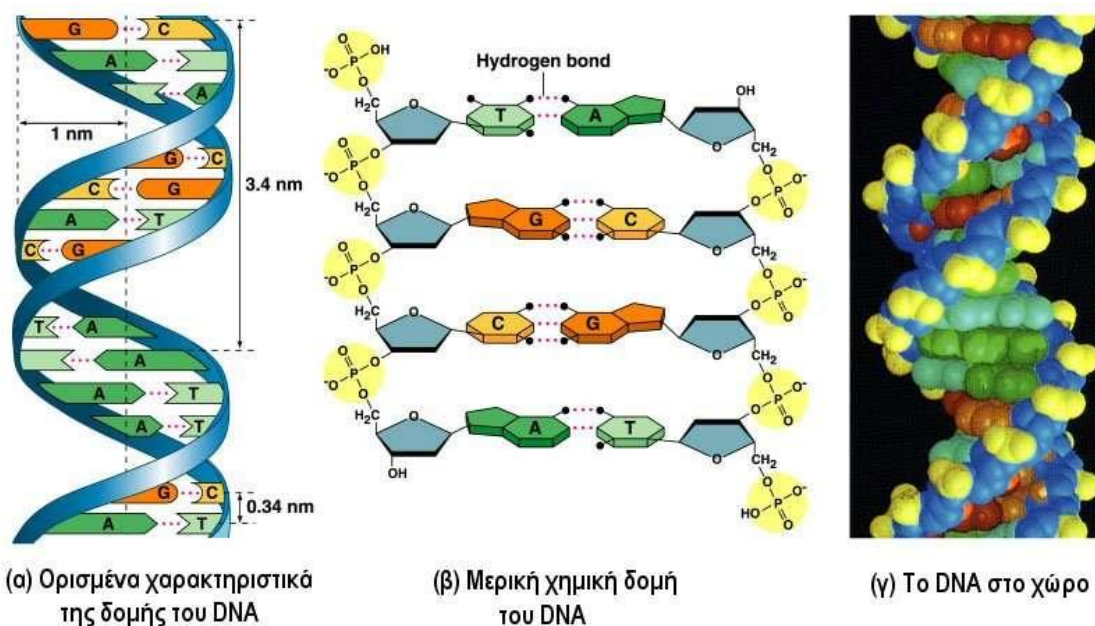
Τα νουκλεϊνικά οξέα παρουσιάζουν δύο ομάδες ικανές για σύνδεση με μέταλλα οι οποίες είναι τα σάκχαρα και οι ετεροκυκλικές βάσεις. Η σταθερότητα των συμπλόκων μετάλλου-νουκλεϊνικού οξέος ποικίλει ανάλογα με την επίδραση διαφόρων δομικών παραγόντων, όπως η εξουδετέρωση των αρνητικών φορτίων, η προκύπτουσα μεταβολή και ο συναγωνισμός μεταξύ μετάλλου και δεσμών υδρογόνου. Έχουν διατυπωθεί πολλές αντικρουόμενες απόψεις σχετικά με τη σπουδαιότητα των διαφόρων τύπων αλληλεπίδρασης των ιόντων του μετάλλου με την έλικα του DNA. Πιστεύεται ότι υπάρχουν τέσσερις τύποι αλληλεπίδρασης:

- I. Άμεση σύνδεση του μεταλλοϊόντος με μια φωσφορική ομάδα ή περισσότερες.
- II. Απεριόριστη μετακίνηση εφυδατωμένων συμπλόκων του μετάλλου κατά μήκος του συνόλου των φωσφορικών ομάδων
- III. Αλληλεπιδράσεις του μεταλλικού ιόντος με βασικές θέσεις των ετεροκυκλικών βάσεων
- IV. Αλληλεπιδράσεις μέσω του χώρου [126]



Εικόνα 47 : Η σύνδεση των ζευγών βάσεων γουανίνης-κυτοσίνης με τρεις δεσμούς υδρογόνου και της αδενίνης-θυμίνης με δύο δεσμούς υδρογόνου

Η διάλυση του δίκλωνου DNA σε απεσταγμένο νερό οδηγεί σε άνοιγμα της διπλής έλικας προς δύο απλούς κλώνους κατά τυχαίο τρόπο συσπειρωμένους. Η αποελίκωση αυτή οφείλεται στο γεγονός ότι η επιφάνεια του μορίου του DNA κατακλύζεται από τα αρνητικά φορτία των φωσφορικών ομάδων οι οποίες απωθούνται μεταξύ τους καθιστώντας έτσι τη διατεταγμένη δομή ασταθή. Η παρουσία ηλεκτρολύτη σε συγκέντρωση τουλάχιστον 2×10^{-3} M σταθεροποιεί το μόριο του διότι τα φορτία των φωσφορικών ομάδων εξουδετερώνονται από τα αντισταθμιστικά ιόντα. Τα δισθενή ιόντα είναι βεβαίως αποτελεσματικότερα από τα μονοσθενή. Βρέθηκε ότι η θερμοκρασία μετουσίωσης (T_m = melting temperature) του DNA – δηλαδή η θερμοκρασία στην οποία τα μισά μόρια έχουν ανοίξει τελείως προς απλές έλικες ή όλα τα μόρια έχουν αποελικωθεί κατά το ήμισυ – αυξάνεται γραμμικά με το λογάριθμο της ιοντικής ισχύς του διαλύματος. Η σταθεροποίηση της διπλής έλικας του DNA δεν είναι γενικό φαινόμενο όλων των μεταλλικών ιόντων [126].



Εικόνα 48 Δομή διπλής έλικας του DNA

Η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη τεχνική στις μελέτες μετουσίωσης του DNA είναι η φασματοσκοπία UV-vis. Συγκεκριμένα, μελετάται η μεταβολή της απορρόφησης του διαλύματος μετάλλου-DNA σε συνάρτηση με τη θερμοκρασία, σε μήκος κύματος 258-260 nm. Η απορρόφηση σε αυτό το μήκος

κύματος οφείλεται στις βάσεις του πολυνουκλεοτιδίου και αντιστοιχεί σε $n-\pi^*$ και $\pi-\pi^*$ μεταπτώσεις. Οι $n-\pi^*$ οφείλονται σε μη-δεσμικά ζεύγη ηλεκτρονίων των ατόμων οξυγόνου και αζώτου, ενώ το μεγαλύτερο μέρος της κορυφής στα 260 nm αποτελούν οι $\pi-\pi^*$ μεταπτώσεις. Η αύξηση της απορρόφησης του διαλύματος με την αύξηση της θερμοκρασίας οφείλεται στο φαινόμενο της υπερχρωμίας, κατά το οποίο η απορρόφηση υπεριώδους ακτινοβολίας από ένα κανονικά διατεταγμένο μόριο είναι μικρότερη του αθροίσματος των τιμών απορροφήσεων των συστατικών του. Κατά την αύξηση της θερμοκρασίας διαλύματος DNA, οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των βάσεων καταστρέφονται με αποτέλεσμα να χαλάει και η κανονική δομή της διπλής έλικας, οπότε χάνεται η υποχρωμικότητα και αυξάνεται η απορρόφηση. Κατά τη ψύξη του διαλύματος σχηματίζονται δεσμοί υδρογόνου μεταξύ συμπληρωματικών βάσεων του ίδιου κλώνου – οι ονομαζόμενες θηλιές ή φουρκέτες – και έτσι μειώνεται η τιμή της απορρόφησης [127].

Εάν το μέταλλο του διαλύματος έχει την ικανότητα να σχηματίζει σταυροδεσμούς με το DNA κρατώντας τους δύο κλώνους του σε μικρή απόσταση, τότε κατά την ψύξη συμβαίνει επανασχηματισμός του δίκλωνου DNA και η απορρόφηση φθάνει τα αρχικά επίπεδα. Εάν όμως το μέταλλο δεν έχει την ιδιότητα αυτή, οι δυο κλώνοι δεν μπορούν να ξανασυνδεθούν και η απορρόφηση μειώνεται μόνον λίγο με την ελάττωση της θερμοκρασίας χωρίς φυσικά να φθάνει την αρχική της τιμή [128].

“Σκληρά” μέταλλα (όπως το Mg^{2+} και Ca^{2+}), τα οποία έχουν μικρή τάση σχηματισμού ομοιοπολικών δεσμών, σταθεροποιούν τη διπλή έλικα ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση του μετάλλου. Επομένως, για την αποελίκωση του DNA απαιτείται μεγαλύτερη ενέργεια και έτσι αυξάνεται η τιμή του T_m . Εφόσον κάθε ιόν του μετάλλου που είναι συνδεδεμένο με το DNA εξουδετερώνει ένα μέρος από το αρνητικό φορτίο αυτού η επιπρόσθετη σύνδεση γίνεται ασθενέστερη δηλαδή η σύνδεση γίνεται ανταγωνιστική. Όταν η ποσότητα των μεταλλοϊόντων που έχει προστεθεί στο διάλυμα είναι ικανή για πλήρη εξουδετέρωση του αρνητικού φορτίου των φωσφορικών ομάδων τότε η περαιτέρω προσθήκη μετάλλου οδηγεί σε αποσταθεροποίηση της διπλής έλικας [129].

Μεταλλικά ιόντα τα οποία συνδέονται με τις βάσεις του DNA, αφενός μεν εξουδετερώνουν την ηλεκτροστατική άπωση μεταξύ των φωσφορικών ομάδων,

αφετέρου δε προκαλούν την καταστροφή των δεσμών υδρογόνου μεταξύ των ζευγών των βάσεων και των αλληλεπιδράσεων που αναπτύσσονται εξαιτίας του στοιβάγματος των βάσεων. Έτσι αποσταθεροποιείται η διπλή έλικα και μειώνεται η θερμοκρασία τήξεως, διότι η ενέργεια που απαιτείται για το άνοιγμα του DNA ελαττώνεται. Υπάρχουν περιπτώσεις, όπως αυτή του Ag, όπου η σύνδεση του μετάλλου με τις βάσεις οδηγεί σε μια σταθερότερη δίκλωνη έλικα. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι και σε αυτή την περίπτωση δε σταθεροποιείται η αρχική έλικα του DNA αλλά παράγεται μια εντελώς διαφορετική έλικα. Τα περισσότερα μεταλλοϊόντα σε χαμηλές συγκεντρώσεις σταθεροποιούν τη δομή της διπλής έλικας, ενώ την αποσταθεροποιούν σε υψηλότερες συγκεντρώσεις καθώς αρχικά αλληλοεπιδρούν με τις φωσφορικές ομάδες και στη συνέχεια συνδέονται με τις βάσεις [129].

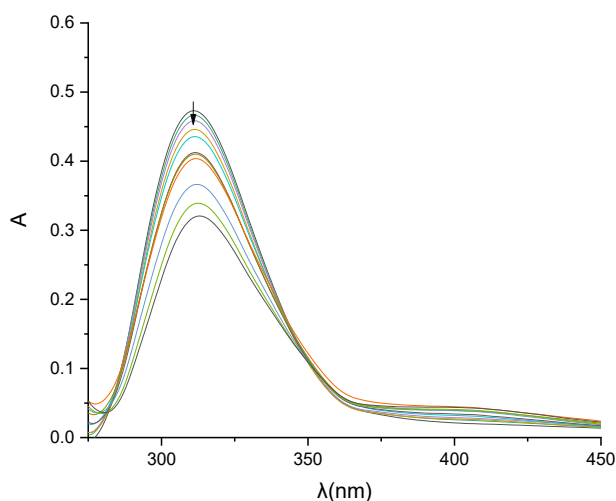
Μελέτες αλληλεπίδρασης συμπλόκων με φασματοσκοπία UV-vis

Η φασματοσκοπία UV-vis παρέχει χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με τον τρόπο αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με το DNA καθώς και με την ισχύ της σύνδεσης τους με αυτό μέσω του υπολογισμού της σταθεράς σύνδεσης, K_b . Κατά τη πραγματοποίηση της μελέτης τιτλοδοτείται διάλυμα της ένωσης με τη προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων του CT DNA και καταγράφονται τα φάσματα καθώς και οι μεταβολές των απορροφήσεων και της τιμής του λ_{max} που παρατηρούνται. Οι μεταβολές που παρατηρούνται μπορούν να οδηγήσουν σε αξιόπιστα συμπεράσματα σχετικά με το είδος της αλληλεπίδρασης. Μετατόπιση της απορρόφησης σε μεγαλύτερα μήκη κύματος σε συνδυασμό με μείωση της απορρόφησης (υποχρωμία) υποδηλώνει παρεμβολή στο CT DNA και σταθεροποίηση. Η υπερχρωμία υποδηλώνει ότι η ένωση συναρμόζεται πιθανότατα στην εξωτερική επιφάνεια του DNA, στην κύρια ή τη δευτερεύουσα αύλακα.

Κατά την αλληλεπίδραση των συμπλόκων με το DNA με παρεμβολή παρατηρείται στα φάσματα UV-vis εμφάνιση βαθυχρωμίας (red-shift) η οποία οφείλεται στη μείωση της ενέργειας μετατόπισης $\pi \rightarrow \pi$ κατά τη σύζευξη του π -αρωματικού συστήματος του ligand με το π -αρωματικό σύστημα των βάσεων του DNA. Όταν το τροχιακό π σύζευξης συμπληρώνεται μερικώς με ηλεκτρόνια, περιορίζονται σημαντικά οι πιθανότητες μεταπτώσεων με αποτέλεσμα την εμφάνιση υποχρωμίας.

Κατά τη διάρκεια των μελετών αρχικά λάβαμε τα φάσματα UV-Vis για αυξανόμενη ποσότητα DNA σε διάλυμα συμπλόκου γνωστής συγκέντρωσης. Τα φάσματα καταγράφηκαν καθώς και οι μεταβολές των απορροφήσεων, συμπεριλαμβανομένης της τιμής $\lambda_{\max}$. Οι παρατηρούμενες μεταβολές οδηγούν σε αξιόπιστα συμπεράσματα σχετικά με το είδος της αλληλεπίδρασης με το DNA. Μετατόπιση προς μεγαλύτερα μήκη κύματος σε συνδυασμό με υποχρωμία υποδηλώνει παρεμβολή της ένωσης στο DNA και σταθεροποίηση, ενώ η υπερχρωμία υποδηλώνει πως η ένωση συναρμόζεται πιθανότατα στην εξωτερική επιφάνεια του DNA ή/και μέσω δέσμευσης στη μικρή ή μεγάλη αύλακά του.

Τα φάσματα που λήφθηκαν φαίνονται στην **Εικόνα 49** και στο Παράρτημα **Εικόνα 58**. Παρατηρούμε από τα διαγράμματα ότι οι περισσότερες intraligand ταινίες στα φάσματα UV-Vis των συμπλόκων εμφανίζουν μετά τη προσθήκη διαλύματος CT DNA υποχρωμία (**Πίνακας 9**) που συνοδεύεται από βαθύχρωμικη μετατόπιση (red-shift), χαρακτηριστικά που μπορούν να υποδηλώσουν την πιθανότητα παρεμβολής των ενώσεων στο DNA και ενδεχόμενη σταθεροποίηση.



Εικόνα 49 Φάσμα UV-Vis διαλύματος DMSO του συμπλόκου (III) (10 μ M) παρουσία CT-DNA σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις. Το βέλος υποδηλώνει τις μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά την προσθήκη του διαλύματος του CT DNA.

Πίνακας 9 Στοιχεία από τη μελέτη της αλληλεπίδρασης των ενώσεων με το CT DNA με φασματοσκοπία UV-vis. Δίνονται τα μέγιστα των ταινιών $\lambda_{\max}$ (σε nm), τα ποσοστά υποχρωμίας/υπερχρωμίας ($\Delta A/A_0$, σε %), η μεταβολή του $\lambda_{\max}$ της ταινίας ($\Delta\lambda$, σε nm), και οι σταθερές σύνδεσης των ενώσεων με το DNA (K_b , σε M^{-1}).

Ένωση	$\lambda_{\max}$ (nm) ($\Delta A/A_0(\%)$) ^α , $\Delta\lambda$ (nm)	$K_b(M^{-1})$
[Mn(4'-Br-fen) ₂ (MeOH) ₄] (I)	318(-10 ^α , -8 ^β)	8.61 (±0.10) x10 ⁵
[Mn(4'-Br-fen) ₂ (neoc)] (II)	272(-13, 0), 345 (sh) ^γ (-30, εξ ^γ)	2.08 (±0.34) x10 ⁴
[Mn(4'-Br-fen) ₂ (phen)] (III)	311(-30, 0)	1.78 (±0.22) x10 ⁴
[Mn(4'-Br-fen) ₂ (bipy)] _n (IV)	316(-20, 0)	2.48 (±0.34) x10 ⁴
[Mn(4'-Br-fen) ₂ (bipyam)] (V)	319(-25, 0)	1.05 (±0.30) x10 ⁴
4'-Br-fenamic acid [112]	301(+8 ^α , +9 ^β), 347(-40, εξ)	4.42 (±0,30) x10 ⁴

^α «-» υποδηλώνει υποχρωμία, «+» υποδηλώνει υπερχρωμία.

^β «-» υποδηλώνει κυανή μετατόπιση, «+» υποδηλώνει ερυθρή μετατόπιση.

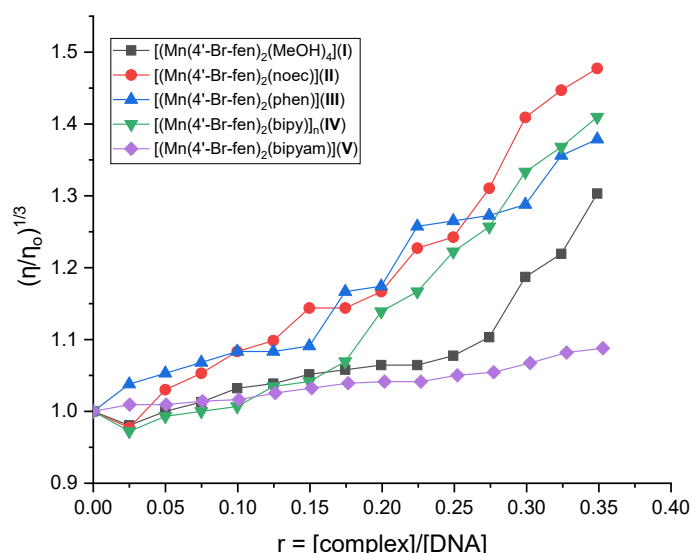
^γ sh = shoulder, «εξ» υποδηλώνει εξαφάνιση της ταινίας

Οι τιμές της σταθεράς K_b που φανερώνουν την ισχύ της σύνδεσης των ενώσεων με το CT-DNA υπολογίστηκαν σύμφωνα με την εξίσωση Wolfe-Shimer (Εξίσωση 5) [130] και από τα αντίστοιχα διαγράμματα (Παράρτημα **Εικόνα 59**). Το σύμπλοκο [Mn(4'-Br-fen)₂(MeOH)₄] (I) εμφανίζει την υψηλότερη τιμή K_b , άρα και μεγαλύτερη συγγένεια για το CT DNA, τόσο μεταξύ των συμπλόκων ($K_b = (8.61 (\pm 0.10) \times 10^5 M^{-1})$) όσο και από το αντίστοιχο ελεύθερο ΜΣΑΦ (**Πίνακας 9**).

Μελέτες αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με ιξωδομετρία

Η ιξωδομετρία αποτελεί ακόμη μια μέθοδο με την οποία εξετάζουμε την αλληλεπίδραση των συμπλόκων με το DNA. Στην μέθοδο αυτή γίνεται η μέτρηση του ιξώδους διαλύματος του DNA, το οποίο είναι ευαίσθητο στις αλλαγές του μήκους της αλυσίδας του DNA και για αυτό η ιξωδομετρία αποτελεί αξιόπιστη μέθοδο εξακρίβωσης του τρόπου σύνδεσης ενός συμπλόκου στο DNA. Αν η ένωση συνδέεται εξωτερικά με το DNA, είτε ηλεκτροστατικά είτε στην αύλακα, παρατηρείται μικρή κάμψη της έλικας του DNA, μειώνοντας ελάχιστα το μήκος της. Έτσι το ιξώδες μειώνεται ή παραμένει αμετάβλητο. Εάν το σύμπλοκο δημιουργεί ρήξη στην έλικα του DNA, προκύπτουν θραύσματα μικρότερου μήκους και το ιξώδες ελαττώνεται σημαντικά. Τέλος, στην

περίπτωση της κλασικής παρεμβολής, παρατηρείται αύξηση του μήκους της έλικας του DNA, καθώς τα ζεύγη βάσεων του DNA διαχωρίζονται για να φιλοξενήσουν την εισερχόμενη ένωση και κατά συνέπεια αυξάνεται το ιξώδες [131].



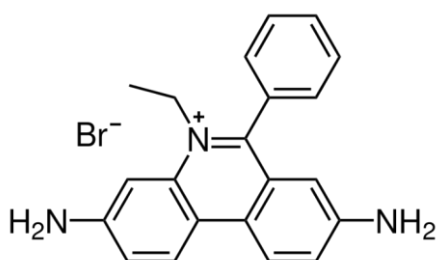
Εικόνα 50 Διάγραμμα του ιξώδους $(\eta/\eta_0)^{1/3}$ σε συνάρτηση με τον λόγο $r = [\text{ένωση}]/[\text{DNA}]$ για τα σύμπλοκα (I)-(V).

Στην **Εικόνα 50** εμφανίζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων του ιξώδους κατά την πραγματοποίηση μετρήσεων σε διάλυμα CT DNA (0,1 mM) συνοδευόμενη από προσθήκη συνεχώς αυξανόμενων ποσοτήτων των συμπλόκων. Για όλα τα σύμπλοκα **(I)-(V)** παρατηρούμε ότι το ιξώδες αυξάνεται, έτσι οδηγούμαστε στο συμπέρασμα ότι η παρεμβολή είναι ο πιο πιθανός τρόπος αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με το CT DNA.

Μελέτες ανταγωνιστικής δράσης μεταξύ των συμπλόκων και του EB

Αρκετές φορές πραγματοποιούνται μελέτες ανταγωνιστικής δράσης της εξεταζόμενης ένωσης με μια ένωση αναφοράς η οποία έχει γνωστό τρόπο σύνδεσης με το DNA ώστε να διαπιστωθεί ο τρόπος σύνδεσης της προς εξέταση ένωσης. Βασική προϋπόθεση βέβαια στο συγκεκριμένο είδος μελέτης είναι η εξεταζόμενη ένωση και η ένωση αναφοράς να εμφανίζουν παρόμοιες σταθερές σύνδεσης με το DNA. Η πιο διαδεδομένη ένωση αναφοράς σε τέτοιου είδους μελέτες στις περιπτώσεις σύνδεσης στο DNA μέσω παρεμβολής είναι το αιθίδιο βρωμίδιο (EB) που θεωρείται φθορισμομετρικός αισθητήρας/δείκτης. Το

(EB) είναι μία φθορίζουσα ένωση και συγκεκριμένα μια φαινανθριδίνη που συνδέεται με τα νουκλεϊκά οξέα προς σχηματισμό ευδιάλυτων συμπλόκων. Πιο συγκεκριμένα, συνδέεται στην διπλή έλικα του DNA μέσω παρεμβολής του επίπεδου δακτυλίου της φαινανθρίνης μεταξύ δύο γειτονικών βάσεων της διπλής έλικας του DNA [132].



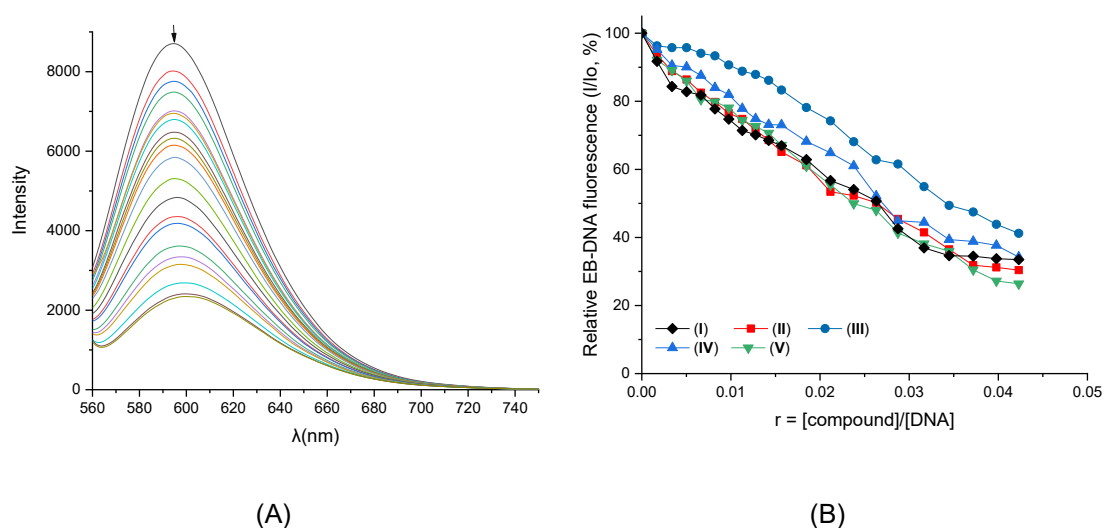
Εικόνα 51 Συντακτικός τύπος της ένωσης του EB

Οι φασματοσκοπικές αλλαγές του EB στη συναρμογή του με το DNA χρησιμοποιούνται συχνά για να εξεταστεί η αλληλεπίδραση του DNA με άλλες ενώσεις. Ειδικότερα, μελετώνται οι αλλαγές που λαμβάνουν χώρα στα φάσματα φθορισμού του συμπλόκου του EB με το DNA κατά τη προσθήκη της ένωσης σε αυξανόμενες ποσότητες. Θα πρέπει επίσης να τονισθεί ότι η ένωση δεν πρέπει να εμφανίζει ταινία εκπομπής στην περιοχή του φάσματος φθορισμού του συμπλόκου EB - DNA, έτσι ώστε να μη υπάρχει επικάλυψη δύο διαφορετικών φαινομένων διότι επηρεάζει την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων.

Όταν διάλυμα EB διεγερθεί με ακτινοβολία μήκους κύματος $\lambda_{\max} = 540$ nm, εμφανίζει σχετικά ασθενή φθορισμό εκπομπής στα $\lambda_{\max} = 600$ nm. Κατά την προσθήκη διαλύματος DNA στο διάλυμα EB εμφανίζεται σημαντικά αυξανόμενος φθορισμός εκπομπής με $\lambda_{\max} = 592 - 594$ nm που οφείλεται στη συναρμογή του EB μέσω παρεμβολής μεταξύ δύο γειτονικών βάσεων της διπλής έλικας του DNA. Η ένταση της ταινίας εκπομπής στα 592 nm που αποδίδεται στο σύμπλοκο EB-DNA ελαττώνεται κατά τη προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων της υπό μελέτη ένωσης που συνδέεται με το DNA το ίδιο ή πιο ισχυρά από ότι το EB. Αυτή η ελάττωση του φθορισμού αποκαλύπτει τον ανταγωνισμό μεταξύ της ένωσης και του EB κατά τη σύνδεση τους στην ίδια θέση του DNA. Μικρή ή αμελητέα ελάττωση φθορισμού υποδηλώνει μη-

ικανότητα αντικατάστασης του EB και έχει παρατηρηθεί κυρίως για ενώσεις που δεν συμπεριφέρονται ως παρεμβολείς [72].

Για την πραγματοποίηση των μελετών μας το σύμπλοκο του EB-DNA παρασκευάστηκε με την ανάμιξη των διαλυμάτων EB (40 μM) και CT-DNA (40 μM) σε ρυθμιστικό διάλυμα χλωριούχου νατρίου (150 mM) και κιτρικού νατρίου (15 mM) σε ουδέτερο pH (pH=7.0). Έπειτα ακολούθησε η προσθήκη σε αυξανόμενες ποσότητες των διαλυμάτων των συμπλόκων **I-V**. Η προσθήκη των συμπλόκων οδήγησε σε έντονη μείωση του φθορισμού στα 594 nm όπως φαίνεται και από την **Εικόνα 52** και στο Παράρτημα **Εικόνα 60**.



Εικόνα 52 (A) Φάσματα εκπομπής φθορισμού EB-DNA ($\lambda_{\text{ διεγ }} = 592 \text{ nm}$) παρουσία του συμπλόκου V. Το βέλος υποδηλώνουν τις μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά την προσθήκη του διαλύματος του συμπλόκου. (B) Διάγραμμα ποσοστού έντασης φθορισμού ($I/I_0, \%$) σε $\lambda = 592 \text{ nm}$ σε συνάρτηση με τον λόγο $r = [\text{compound}]/[\text{DNA}]$ για τα σύμπλοκα (I)-(V).

Με βάση το διάγραμμα στην **Εικόνα 52** παρατηρούμε ότι η ένταση της ταινίας εκπομπής που αποδίδεται στο σύμπλοκο EB-DNA κατά την προσθήκη των ενώσεων (**I-V**) ελαττώνεται σημαντικά (έως 73.3%, **Πίνακας 10**) γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι τα σύμπλοκα (**I-V**) δρουν ανταγωνιστικά και έχουν την ικανότητα να αντικαθιστούν το EB στο σύμπλοκο EB-DNA, υποδηλώνοντας έμμεσα την παρεμβολή τους στην έλικα του DNA.

Πίνακας 10 Τιμές σταθεράς K_{sv} (σε M^{-1}) και K_q (σε $M^{-1}s^{-1}$) και ποσοστό ελάττωσης φθορισμού του συστήματος EB-DNA κατά την αλληλεπίδραση με τα σύμπλοκα (I)-(V).

Ένωση	$\Delta I/I_0\%$	$K_{sv}(M^{-1})$	$k_q(M^{-1}s^{-1})$
$[Mn(4'-Br-fen)_2(MeOH)_4]$ (I)	66.5	$1.53(\pm 0.04) \times 10^5$	$6.63(\pm 0.16) \times 10^{12}$
$[Mn(4'-Br-fen)_2(neoc)]$ (II)	69.6	$1.31(\pm 0.05) \times 10^6$	$5.71(\pm 0.20) \times 10^{13}$
$[Mn(4'-Br-fen)_2(phen)]$ (III)	58.8	$2.50(\pm 0.13) \times 10^5$	$1.09(\pm 0.05) \times 10^{13}$
$[Mn(4'-Br-fen)_2(bipy)]$ (IV)	65.8	$4.52(\pm 0.11) \times 10^5$	$1.96(\pm 0.05) \times 10^{13}$
$[Mn(4'-Br-fen)_2(bipyam)]$ (V)	73.6	$5.62(\pm 0.24) \times 10^5$	$2.44(\pm 0.11) \times 10^{13}$
4'-Br-fenamic acid [112]	39.1	$2.59 (\pm 0,07) \times 10^4$	$1.13 (\pm 0,03) \times 10^{12}$

Ο υπολογισμός της σταθεράς Stern-Volmer (K_{sv}) είναι απαραίτητος για την εκτίμηση της ικανότητας μείωσης του φθορισμού που προκαλείται από τη καθεμία ένωση καθώς δείχνει την ισχύ με την οποία συνδέονται οι ενώσεις με το CT-DNA και δίνεται από την Εξίσωση 2 [132]. Από τα διαγράμματα I_0/I σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση της ένωσης (διαγράμματα Stern-Volmer) υπολογίζονται οι τιμές K_{sv} μέσω της κλίσης της ευθείας ελαχίστων τετραγώνων (Παράρτημα **Εικόνα 61**). Από τα δεδομένα του **Πίνακα 10** παρατηρούμε ότι τη μεγαλύτερη σταθερά K_{sv} μεταξύ των συμπλόκων παρουσιάζει το σύμπλοκο (II). ($K_{sv} = 1,33(\pm 0.05) \times 10^6 M^{-1}$). Οι σταθερές απόσβεσης K_q (quenching constants) των συμπλόκων **I-V** υπολογίστηκαν από την εξίσωση: $K_{sv} = k_q \tau_0$ (Εξίσωση 3) όπου $\tau_0 = 23$ ns η διάρκεια ζωής φθορισμού του συμπλόκου EB-DNA [133]. Οι τιμές των K_q είναι υψηλότερες από $10^{10} M^{-1}s^{-1}$ (**Πίνακας 10**) [132] και φανερώνουν στατικό μηχανισμό απόσβεσης που επιβεβαιώνει την αλληλεπίδραση των ενώσεων με τη φθορίζουσα ουσία και τη εκτόπιση της (EB). Τη μεγαλύτερη τιμή της σταθεράς έχει το σύμπλοκο (II) ($K_q = 5.78(\pm 0.23) \times 10^{13} (M^{-1}s^{-1})$).

Μελέτες αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με αλβουμίνες

Στο πλάσμα του αίματος, η αλβουμίνη ορού αποτελεί την πρωτεΐνη με την μεγαλύτερη αφθονία. Η αλβουμίνη είναι μια από τις πιο σημαντικές πρωτεΐνες στο κυκλοφοριακό σύστημα του οργανισμού καθώς παίζει ζωτικό ρόλο στη ρύθμιση της οσμωτικής πίεσης κάτι το οποίο είναι προαπαιτούμενο

για τη διατήρηση του φυσιολογικού όγκου αίματος και της φυσιολογικής περιεκτικότητας του νερού στο μεσοκυττάριο υγρό αλλά και στους ιστούς. Από τις σημαντικότερες λειτουργίες των αλβουμινών είναι η μεταφορά μικρών μορίων, φαρμάκων και ιόντων μέσω του κυκλοφορικού συστήματος προς τους διάφορους ιστούς. Η μελέτη των αλληλεπιδράσεων που έχουν οι διάφορες ενώσεις με τις αλβουμίνες είναι ιδιαίτερα σημαντική καθώς η αλληλεπίδραση αυτή πιθανότατα οδηγεί σε αλλαγές στη βιολογική δράση και στις βιολογικές ιδιότητες των αλβουμινών.

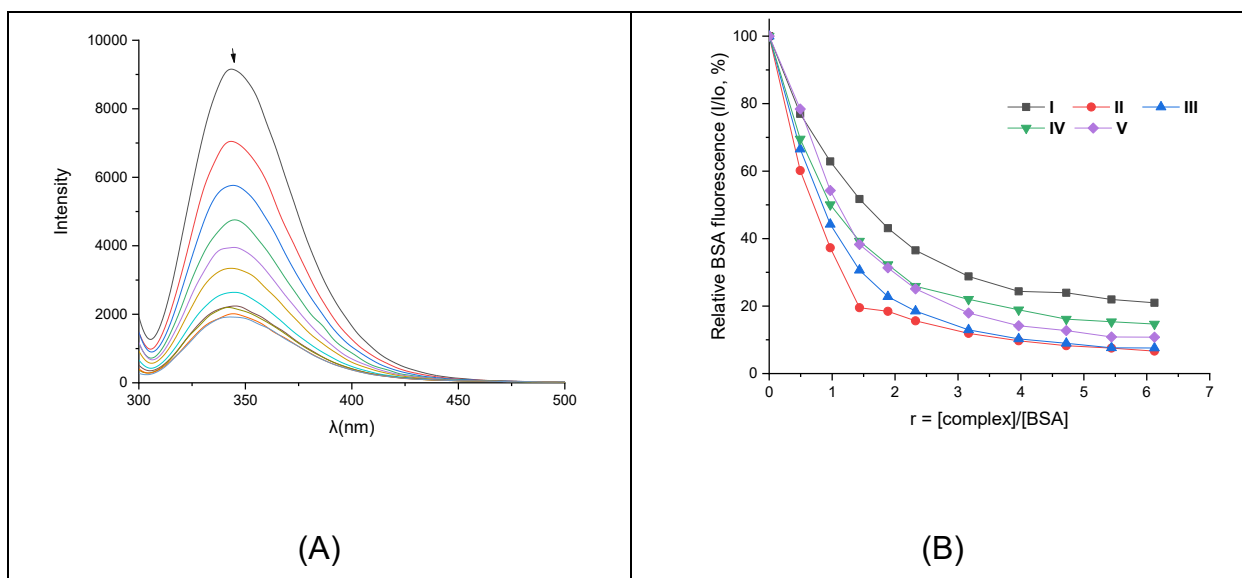
Μελέτες αλληλεπίδρασης με την BSA

Η πιθανή αυτή αλληλεπίδραση μελετήθηκε στην αλβουμίνη του βόειου ορού (BSA, bovine serum albumin). Η BSA περιέχει δύο τρυπτοφάνες στις θέσεις 134 και 212 στις δομικές μονάδες IB και IIA, αντίστοιχα. Η αλβουμίνη αυτή μπορεί να δεσμευτεί αντιστρεπτά με ένα μεγάλο αριθμό ενδογενών και εξωγενών ενώσεων.

Η μελέτη της αλληλεπίδρασης της αλβουμίνης με τις ενώσεις έγινε με πειράματα μελέτης της ελάττωσης της έντασης εκπομπής φθορισμού, χρησιμοποιώντας BSA (3 μ M) σε ρυθμιστικό διάλυμα (κιτρικό νάτριο 15 mM και χλωριούχο νάτριο 150 mM σε pH = 7.0). Το διάλυμα BSA παρουσιάζει έντονη εκπομπή φθορισμού στα $\lambda_{em,max}=342$ nm, λόγω της παρουσίας των τρυπτοφανών, για μήκος διέγερσης στα 295 nm. Τα φάσματα εκπομπής φθορισμού λήφθηκαν στην περιοχή 300-500 nm, και οι υπολογισμοί για τις ενώσεις έγιναν με κατάλληλη διόρθωση των φασμάτων τους αφαιρώντας τα φάσματα εκπομπής των ενώσεων από τα φάσματα αλβουμίνης. Οι πιθανές αλλαγές στα φάσματα φθορισμού της BSA οφείλονται στην αλλαγή της πρωτεϊνικής διαμόρφωσης, στην ένωση των υπομονάδων, στη σύνδεση των υποστρωμάτων ή ακόμα και στη μετουσίωση. Συγκεκριμένα, όταν κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων μιας ένωσης στα διαλύματα αυτά, παρατηρείται ελάττωση της έντασης φθορισμού της BSA που αποτελεί ένδειξη της αλληλεπίδρασης της ένωσης με την αλβουμίνη. [134]

Στα φάσματα φθορισμού εκπομπής της BSA παρουσία των συμπλόκων **I-V**) παρατηρείται έντονη μείωση του φθορισμού στα $\lambda_{max} = 342$ nm, κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων των συμπλόκων (**Εικόνα 53** και στο

Παράρτημα **Εικόνα 62**). Η μείωση αυτή, υποδεικνύει πως υπάρχει αλληλεπίδραση των συμπλόκων με την αλβουμίνη BSA.



Εικόνα 53 (A) Φάσματα εκπομπής φθορισμού της BSA ($\lambda_{\text{διεγ}} = 295\text{nm}$) παρουσία του συμπλόκου I. Τα βέλη υποδηλώνουν τις μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά την προσθήκη του διαλύματος του συμπλόκου. (B) Μεταβολή του ποσοστού φθορισμού εκπομπής της BSA ($I/I_0, \%$) στα 342 nm

Στο διάγραμμα (**Εικόνα 53**) δίνεται η μείωση του φθορισμού εκπομπής που λαμβάνει χώρα κατά τη προσθήκη των συμπλόκων **I-V** στη BSA. Τη μεγαλύτερη ελάττωση της εκπομπής φθορισμού παρουσιάζει το σύμπλοκο (II). Πιθανή αιτία της ελάττωσης της εκπομπής είναι η αλλαγή της δευτεροταγούς δομής της BSA που έχει ως αποτέλεσμα τη σύνδεση των συμπλόκων με την πρωτεΐνη.

Πίνακας 11. Σταθερές και παραμέτροι αλληλεπίδρασης συμπλόκων με την BSA

Ένωση	$K_{\text{sv}}(\text{M}^{-1})$	$k_q(\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	$K(\text{M}^{-1})$	n
$[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{MeOH})_4]$ (I)	$2.14(\pm 0.08) \times 10^5$	$2.14(\pm 0.08) \times 10^{13}$	$1.66(\pm 0.07) \times 10^5$	1.16
$[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{neoc})]$ (II)	$7.72(\pm 0.20) \times 10^5$	$7.72(\pm 0.20) \times 10^{13}$	$5.43(\pm 0.22) \times 10^5$	1.04
$[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{phen})]$ (III)	$7.39(\pm 0.24) \times 10^5$	$7.39(\pm 0.24) \times 10^{13}$	$4.20(\pm 0.27) \times 10^5$	1.09
$[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipy})]$ (IV)	$3.54(\pm 0.11) \times 10^5$	$3.54(\pm 0.11) \times 10^{13}$	$3.35(\pm 0.14) \times 10^5$	1.02
$[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipyam})]$ (V)	$5.27(\pm 0.16) \times 10^5$	$5.27(\pm 0.16) \times 10^{13}$	$3.14(\pm 0.16) \times 10^5$	1.08
4'-Br-fenH[112]	$1.74 (\pm 0.09) \times 10^5$	$1.74 (\pm 0.09) \times 10^{13}$	$2.72 (\pm 0.09) \times 10^5$	0.89

Η σταθερά απόσβεσης (K_q), που δίνεται στον **Πίνακα 11** αφορά την αλληλεπίδραση των ενώσεων με τη BSA και υπολογίστηκε από τα διαγράμματα

Stern-Volmer (Παράρτημα **Εικόνα 63**) μέσω της εξίσωσης Stern-Volmer [135]. Η τιμή K_q που υπολογίστηκε για τα σύμπλοκα είναι τρεις τάξεις υψηλότερη από $10^{10} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ γεγονός που υποδηλώνει την ύπαρξη στατικού μηχανισμού απόσβεσης. Όλα τα σύμπλοκα **I-V** εμφανίζουν υψηλή ικανότητα αλληλεπίδρασης με την BSA, με το σύμπλοκο **II** να έχει την μεγαλύτερη σταθερά απόσβεσης ($K_q = 7.72 (\pm 0,20) \times 10^{13} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, Πίνακας 11).

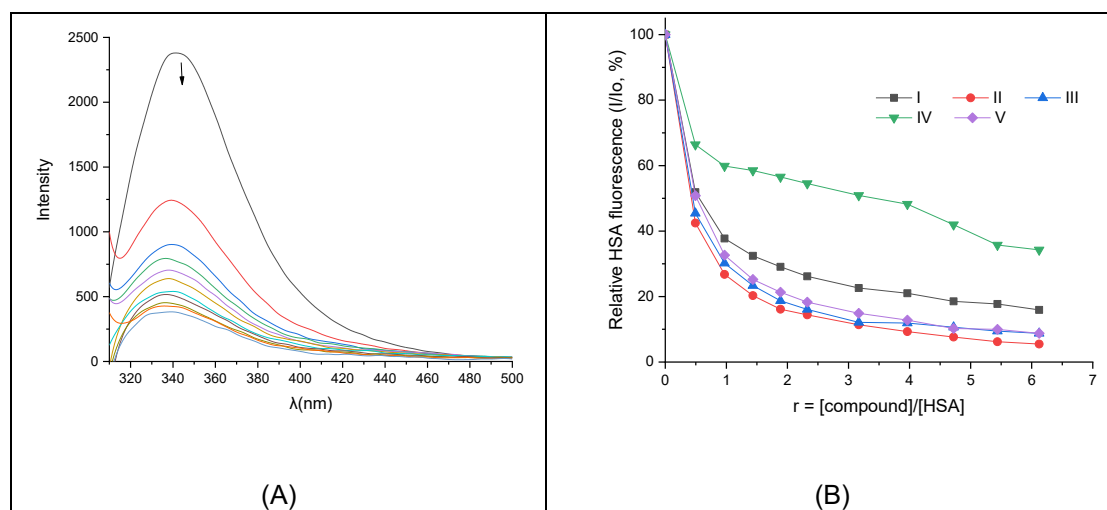
Οι σταθερές σύνδεσης (K) για τα σύμπλοκα **I-V** υπολογίστηκαν από τη κλίση των διαγραμμάτων Scatchard (Παράρτημα **Εικόνα 64**) χρησιμοποιώντας την αντίστοιχη εξίσωση 4. Τα σύμπλοκα **II-V** εμφανίζουν υψηλές τιμές σταθεράς σύνδεσης που είναι υψηλότερες από την αντίστοιχη του ελεύθερου 4'-Br-fenH γεγονός που υποδηλώνει ισχυρότερη σύνδεση των ενώσεων στην αλβουμίνη BSA με σκοπό τη μεταφορά τους προς τους επιθυμητούς βιολογικούς στόχους. Τη μεγαλύτερη σταθερά K εμφανίζει το σύμπλοκο (**II**) ($K = 5.43 (\pm 0.22) \times 10^5 \text{ M}^{-1}$). Ωστόσο, όλες οι τιμές είναι μικρότερες από την τιμή 10^{15} M^{-1} που είναι η σταθερά δέσμευσης με την αβιδίνη και θεωρείται ως το όριο μεταξύ αντιστρεπτών και μη-αντιστρεπτών αλληλεπιδράσεων, γεγονός που υποδηλώνει ότι η αλληλεπίδραση όλων των ενώσεων με την αλβουμίνη BSA είναι αντιστρεπτή [135], μία ιδιότητα που καταστεί τις ενώσεις ικανές να απελευθερώνονται όταν πλησιάζουν στους βιολογικούς στόχους.

Μελέτες αλληλεπίδρασης με την HSA

Η αλβουμίνη του ανθρώπινου ορού (HSA - Human Serum Albumin) είναι η πιο άφθονη πρωτεΐνη που κυκλοφορεί στον ανθρώπινο οργανισμό, αποτελώντας περισσότερο από το 50% των συνολικών πρωτεϊνών του πλάσματος, και διαθέτει ένα ευρύ φάσμα βιολογικών ιδιοτήτων. Εκτός από τη σημαντική συμβολή της στην οσμωτική πίεση, συμμετέχει επίσης στη λεπτή ρύθμιση πολλών άλλων φυσιολογικών διεργασιών, όπως η ισορροπία της οξειδοαναγωγικής κατάστασης (redox state), οι φλεγμονώδεις και ανοσολογικές αποκρίσεις, καθώς και η φαρμακοκινητική και η φαρμακοδυναμική πολλών φαρμάκων [136]. Η αξιολόγηση της αλληλεπίδρασης βιολογικά δραστικών ενώσεων (όπως τα παράγωγα μεφαιναμικού οξέος) με την αλβουμίνη του ανθρώπινου ορού είναι ιδιαίτερα

σημαντική, καθώς η δέσμευση στη πρωτεΐνη μπορεί είτε να μειώσει είτε να ενισχύσει τη βιολογική τους δράση και το θεραπευτικό τους δυναμικό [137].

Η φασματοσκοπία φθορισμού παρέχει μια χρήσιμη προσέγγιση για τη μελέτη αυτών των αλληλεπιδράσεων. Η ανθρώπινη ορολευκωματίνη (HSA) εμφανίζει έντονο εγγενή φθορισμό στα 351 nm, λόγω του κατάλοιπου τρυπτοφάνης (Trp-214), όταν διεγείρεται στα 295 nm. Μετά την προσθήκη συμπλόκων, παρατηρούνται συνήθως μεταβολές στην ένταση του φθορισμού (είτε απόσβεση είτε ενίσχυση). Οι μεταβολές αυτές υποδηλώνουν δέσμευση συμπλόκου και αποδίδονται σε αλλαγές στο τοπικό περιβάλλον των καταλοίπων τρυπτοφάνης, αντανakλώντας πιθανώς δομικές αναδιατάξεις της πρωτεΐνης [137]. Στα φάσματα φθορισμού εκπομπής της HSA παρουσία των συμπλόκων **I-V** παρατηρείται έντονη μείωση του φθορισμού στα $\lambda_{\max} = 342$ nm, κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων των συμπλόκων (**Εικόνα 54** και στο Παράρτημα **Εικόνα 65**). Η μείωση αυτή, υποδεικνύει πως υπάρχει αλληλεπίδραση των συμπλόκων με την αλβουμίνη HSA.



Εικόνα 54 Φάσματα εκπομπής φθορισμού της HSA ($\lambda_{\text{διεγ}} = 295$ nm) παρουσία του συμπλόκου I. Τα βέλη υποδηλώνουν τις μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά την προσθήκη του διαλύματος του συμπλόκου. (B) Μεταβολή του ποσοστού φθορισμού εκπομπής της HSA ($I/I_0, \%$) στα 351 nm σε συνάρτηση με το λόγο $r = [\text{σύμπλοκο}]/[\text{HSA}]$ και για τα σύμπλοκα I-V.

Στο διάγραμμα (**Εικόνα 54**) δίνεται η μείωση του φθορισμού εκπομπής που λαμβάνει χώρα κατά τη προσθήκη των συμπλόκων **I-V** στη HSA. Τη μεγαλύτερη ελάττωση της εκπομπής φθορισμού παρουσιάζει το σύμπλοκο (II). Πιθανή αιτία της ελάττωσης της εκπομπής είναι η αλλαγή της δευτεροταγούς

δομής της HSA που έχει ως συνέπεια τη σύνδεση των συμπλόκων με την πρωτεΐνη.

Πίνακας 12 Σύνολο σταθερών και παραμέτρων αλληλεπίδρασης συμπλόκων με την HSA

Ένωση	$K_{sv}(M^{-1})$	$k_q(M^{-1}s^{-1})$	$K(M^{-1})$	n
$[Mn(4'-Br-fen)_2(MeOH)_4]$ (I)	$2.56(\pm 0.16) \times 10^5$	$2.56(\pm 0.16) \times 10^{13}$	$7.99(\pm 0.27) \times 10^5$	0.88
$[Mn(4'-Br-fen)_2(neoc)]$ (II)	$7.73(\pm 0.21) \times 10^5$	$8.73(\pm 0.21) \times 10^{13}$	$9.35(\pm 0.16) \times 10^5$	0.99
$[Mn(4'-Br-fen)_2(phen)]$ (III)	$5.54(\pm 0.17) \times 10^5$	$5.54(\pm 0.17) \times 10^{13}$	$8.71(\pm 0.16) \times 10^5$	0.97
$[Mn(4'-Br-fen)_2(bipy)]_n$ (IV)	$6.03(\pm 0.33) \times 10^4$	$6.03(\pm 0.33) \times 10^{12}$	$4.54(\pm 0.27) \times 10^5$	0.61
$[Mn(4'-Br-fen)_2(bipyam)]$ (V)	$5.56(\pm 0.15) \times 10^5$	$5.56(\pm 0.15) \times 10^{13}$	$6.95(\pm 0.19) \times 10^5$	0.98
4'-Br-fenH [112]	$1.52 (\pm 0.75) \times 10^5$	$1.52 (\pm 0.75) \times 10^{13}$	$2.70 (\pm 0.06) \times 10^5$	0.82

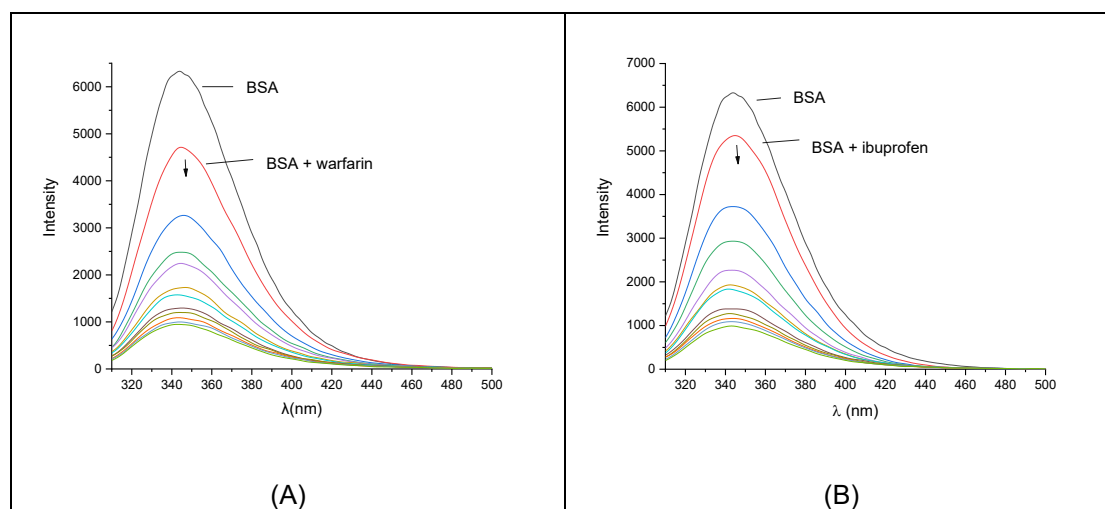
Η τιμή της K_q , (**Πίνακας 12**) για την αλληλεπίδραση των ενώσεων με τη HSA και υπολογίστηκε από τα διαγράμματα Stern-Volmer (Παράρτημα **Εικόνα 66**) μέσω της εξίσωσης Stern-Volmer [135]. Η τιμή K_q που υπολογίστηκε για τα σύμπλοκα είναι τρεις τάξεις υψηλότερη από $10^{10} M^{-1}s^{-1}$ κάτι που υποδηλώνει την ύπαρξη στατικού μηχανισμού απόσβεσης. Όλα τα σύμπλοκα **I-V** εμφανίζουν υψηλή ικανότητα αλληλεπίδρασης με την HSA, με το σύμπλοκο **II** να έχει την μεγαλύτερη σταθερά απόσβεσης.

Επιπλέον, οι σταθερές σύνδεσης (K) για τα σύμπλοκα **I-V** υπολογίστηκαν από τη κλίση των διαγραμμάτων Scatchard (Παράρτημα **Εικόνα 67**) χρησιμοποιώντας την αντίστοιχη εξίσωση 4. Όλα τα σύμπλοκα **I-V** εμφανίζουν υψηλές τιμές σταθεράς σύνδεσης που είναι υψηλότερες από την αντίστοιχη του ελεύθερου 4'-Br-fenH γεγονός που υποδηλώνει ισχυρότερη σύνδεση των ενώσεων στην αλβουμίνη HSA με σκοπό τη μεταφορά τους προς τους επιθυμητούς βιολογικούς στόχους. Τη μεγαλύτερη σταθερά K εμφανίζει το σύμπλοκο **(II)** ($K = 9.35 (\pm 0.16) \times 10^5 M^{-1}$). Ωστόσο, όλες οι τιμές είναι μικρότερες από την τιμή $10^{15} M^{-1}$ που είναι η σταθερά δέσμευσης με την αβιδίνη και θεωρείται ως το όριο μεταξύ αντιστρεπτών και μη-αντιστρεπτών αλληλεπιδράσεων, γεγονός που υποδηλώνει ότι η αλληλεπίδραση όλων των ενώσεων με την αλβουμίνη BSA είναι αντιστρεπτή [135], υποδηλώνοντας ότι οι ενώσεις είναι ικανές να απελευθερώνονται όταν πλησιάζουν στους βιολογικούς στόχους.

Προσδιορισμός της θέσης δέσμευσης στις αλβουμίνες

Η ταυτοποίηση της θέσης της αλβουμίνης στην οποία επιλέγουν να δεσμευτούν οι συντεθειμένες ενώσεις αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την περαιτέρω κατανόηση της αλληλεπίδρασης τους. Για τον προσδιορισμό της προτιμώμενης θέσης δέσμευσης στην αλβουμίνη (θέση 1 του Sudlow ή θέση δέσμευσης φαρμάκων I στην υποπεριοχή IIA, ή θέση 2 του Sudlow ή θέση δέσμευσης φαρμάκων II στην υποπεριοχή IIIA), πραγματοποιήθηκαν πειράματα ανταγωνιστικής δέσμευσης με χρήση της βαρφαρίνης και της ιβουπροφαίνης ως δείκτες θέσης. Η βαρφαρίνη και η ιβουπροφαίνη αποτελούν τους πιο συχνά χρησιμοποιούμενους δείκτες για τη μελέτη αυτών των θέσεων δέσμευσης στην αλβουμίνη, λόγω της εκλεκτικής τους δέσμευσης στις θέσεις δέσμευσης φαρμάκων I και II, αντίστοιχα [138].

Όταν οι ενώσεις προστέθηκαν σε διάλυμα που περιείχε BSA ή HSA και έναν από τους δείκτες (βαρφαρίνη ή ιβουπροφαίνη), παρατηρήθηκε σημαντική μείωση του φθορισμού (**Εικόνα 55** και στο Παράρτημα **Εικόνα 68-71**). Για τον ακριβέστερο προσδιορισμό της προτιμώμενης θέσης δέσμευσης, οι σταθερές δέσμευσης των ενώσεων με την εκάστοτε αλβουμίνη υπολογίστηκαν παρουσία βαρφαρίνης ή ιβουπροφαίνης χρησιμοποιώντας την εξίσωση Scatchard (εξίσωση 4) και τα αντίστοιχα διαγράμματα (Παράρτημα **Εικόνα 72-75**). Η μείωση της σταθεράς δέσμευσης (K) παρουσία ενός δείκτη υποδηλώνει ότι η δέσμευση της ένωσης στην αλβουμίνη επηρεάζεται ανταγωνιστικά από την παρουσία του αντίστοιχου δείκτη [139].



Εικόνα 55 (Α) Φάσματα εκπομπής φθορισμού της BSA ($\lambda_{\text{ διεγ }} = 295\text{nm}$) και βαρφαρίνης παρουσία του συμπλόκου I. (Β) Φάσματα εκπομπής φθορισμού της BSA ($\lambda_{\text{ διεγ }} = 295\text{nm}$) και ιβουπροφαίνης παρουσία του συμπλόκου I. Τα βέλη υποδηλώνουν τις μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά την προσθήκη του διαλύματος του συμπλόκου.

Πίνακας 13. Οι σταθερές δέσμευσης των BSA/HSA (K , σε M^{-1}) που υπολογίστηκαν για το 4'-Br-fenH και τα σύμπλοκα I-V, απουσία ή παρουσία των δεικτών θέσεων βαρφαρίνης και ιβουπροφαίνης

Ένωση	$K_{BSA} (M^{-1})$	$K_{BSA, Warfarin} (M^{-1})$	$K_{BSA, Ibuprofen} (M^{-1})$
$[Mn(4'-Br-fen)_2(MeOH)_4]$ (I)	$1.66(\pm 0.07) \times 10^5$	$3.34(\pm 0.12) \times 10^5$	$3.15(\pm 0.11) \times 10^5$
$[Mn(4'-Br-fen)_2(neoc)]$ (II)	$5.43(\pm 0.22) \times 10^5$	$3.73(\pm 0.16) \times 10^5$	$4.15(\pm 0.12) \times 10^5$
$[Mn(4'-Br-fen)_2(phen)]$ (III)	$4.20(\pm 0.27) \times 10^5$	$2.70(\pm 0.09) \times 10^5$	$1.80(\pm 0.08) \times 10^5$
$[Mn(4'-Br-fen)_2(bipy)]$ (IV)	$3.35(\pm 0.14) \times 10^5$	$3.34(\pm 0.09) \times 10^5$	$2.16(\pm 0.08) \times 10^5$
$[Mn(4'-Br-fen)_2(bipyam)]$ (V)	$3.14(\pm 0.16) \times 10^5$	$2.95(\pm 0.11) \times 10^5$	$2.20(\pm 0.10) \times 10^5$
4'-Br-fenH [112]	$2.72(\pm 0.09) \times 10^5$	$1.65(\pm 0.06) \times 10^5$	$1.79(\pm 0.05) \times 10^5$
Ένωση	$K_{HSA} (M^{-1})$	$K_{HSA, Warfarin} (M^{-1})$	$K_{HSA, Ibuprofen} (M^{-1})$
$[Mn(4'-Br-fen)_2(MeOH)_4]$ (I)	$7.99(\pm 0.27) \times 10^5$	$5.40(\pm 0.17) \times 10^5$	$6.41(\pm 0.13) \times 10^5$
$[Mn(4'-Br-fen)_2(neoc)]$ (II)	$9.35(\pm 0.16) \times 10^5$	$8.68(\pm 0.27) \times 10^5$	$1.37(\pm 0.06) \times 10^6$
$[Mn(4'-Br-fen)_2(phen)]$ (III)	$8.71(\pm 0.16) \times 10^5$	$7.11(\pm 0.21) \times 10^5$	$6.01(\pm 0.19) \times 10^5$
$[Mn(4'-Br-fen)_2(bipy)]$ (IV)	$4.54(\pm 0.27) \times 10^5$	$6.02(\pm 0.21) \times 10^5$	$2.59(\pm 0.10) \times 10^5$
$[Mn(4'-Br-fen)_2(bipyam)]$ (V)	$6.95(\pm 0.19) \times 10^5$	$9.60(\pm 0.45) \times 10^5$	$5.12(\pm 0.17) \times 10^5$
4'-Br-fenH [112]	$2.70(\pm 0.06) \times 10^5$	$1.96(\pm 0.06) \times 10^5$	$2.26(\pm 0.07) \times 10^5$

Στην περίπτωση της BSA, η ένωση II παρουσίασε χαμηλότερη τιμή της σταθεράς K παρουσία του δείκτη βαρφαρίνης, γεγονός που υποδηλώνει ότι εμφανίζει εκλεκτικότητα δέσμευσης προς τη θέση δέσμευσης φαρμάκων I (drug site I). Αντίθετα, οι ενώσεις III-V εμφάνισαν χαμηλότερες τιμές K παρουσία του δείκτη ιβουπροφαίνης, γεγονός που υποδεικνύει προτίμηση δέσμευσης προς τη θέση II του Sudlow. Επιπλέον, το 4'-Br-fenH παρουσίασε σχεδόν εξίσου μειωμένες τιμές K παρουσία και των δύο δεικτών, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι δεν εμφανίζουν ιδιαίτερη προτίμηση δέσμευσης μεταξύ των θέσεων I και II.

Όσον αφορά την HSA, η συμπεριφορά εκλεκτικότητας των ενώσεων διαφοροποιήθηκε σε ορισμένες περιπτώσεις. Πιο συγκεκριμένα, το 4'-Br-fenH και τα σύμπλοκα I και II φάνηκε να δεσμεύονται εκλεκτικά στη θέση δέσμευσης φαρμάκων I, ενώ τα σύμπλοκα III-V φάνηκε να προτιμούν τη θέση δέσμευσης φαρμάκων II.

Μελέτη της Αντιοξειδωτικής Δράσης των Συμπλόκων

Οι ελεύθερες ρίζες είναι είδη που διαθέτουν ασύζευκτο(α) ηλεκτρόνιο(α) και διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στη φλεγμονώδη διαδικασία. Η μεταφορά των ασύζευκτων ηλεκτρονίων των ελευθέρων ριζών σε γειτονικά μόρια προκαλεί την έναρξη αλυσιδωτών αντιδράσεων, οι οποίες ευθύνονται για μια ποικιλία ανεπιθύμητων επιδράσεων στους οργανισμούς, όπως οίδημα, φλεγμονές ή ακόμη και καρκίνο [140]. Οι πιθανές αντιφλεγμονώδεις και αντικαρκινικές ιδιότητες των ΜΣΑΦ και των συμπλόκων τους ενδέχεται να σχετίζονται με την ικανότητά τους να καταπολεμούν τις ελεύθερες ρίζες, οι οποίες αποτελούν σημαντικούς παράγοντες της φλεγμονώδους διεργασίας. Τα ΜΣΑΦ, λόγω του ευρέος φάσματος δράσεων τους, μπορούν να λειτουργούν είτε ως αναστολείς δημιουργίας ελευθέρων ριζών είτε ως παράγοντες παγίδευσης αυτών των ριζών. Συνεπώς, σύμπλοκα με αντιοξειδωτικές ιδιότητες θα μπορούσαν να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στην αντιμετώπιση της φλεγμονής, ανοίγοντας ενδεχομένως τον δρόμο για την ανάπτυξη αποτελεσματικών φαρμακευτικών ουσιών.[141] Η πιθανή αντιοξειδωτική δράση των ενώσεων αξιολογήθηκε μέσω της ικανότητάς τους να εξουδετερώνουν τις ρίζες DPPH και ABTS, καθώς και να ανάγουν το H_2O_2 , και συγκρίθηκε με επιλεγμένες πρότυπες ενώσεις, όπως οι NDGA, BHT, trolox και L-ασκορβικό οξύ.

Τα αντιοξειδωτικά που παρουσιάζουν ικανότητα δέσμευσης των ριζών DPPH αποκτούν ολοένα και μεγαλύτερη αναγνώριση, λόγω της πολλά υποσχόμενης δυνατότητάς τους να συμβάλλουν στην καταπολέμηση του καρκίνου, στην επιβράδυνση της διαδικασίας γήρανσης και στη μείωση των φλεγμονών. Επομένως, οι ενώσεις αυτές ενδέχεται να παρέχουν προστασία έναντι της ρευματοειδούς αρθρίτιδας και των φλεγμονωδών καταστάσεων, λειτουργώντας πιθανώς ως αποτελεσματικοί θεραπευτικοί παράγοντες. Η DPPH, η οποία χαρακτηρίζεται από τη σταθερή φύση της ως ελεύθερη ρίζα, εμφανίζει έντονη ταινία απορρόφησης στα 517 nm [142]. Η ικανότητα των ενώσεων να εξουδετερώνουν τη ρίζα DPPH διαπιστώθηκε ότι ήταν ανεξάρτητη από τον χρόνο, με εξαίρεση το σύμπλοκο II που εμφάνισε αυξημένη δράση στα 60 λεπτά (**Πίνακας 14**). Σε σύγκριση με τη πρότυπη ένωση NDGA, τα σύμπλοκα I-V παρουσίασαν πολύ χαμηλή ικανότητα δέσμευσης της DPPH, η

οποία ήταν ελαφρώς υψηλότερη από εκείνη του αντίστοιχου ελεύθερου ΜΣΑΦ. Μεταξύ των υπό μελέτη συμπλόκων, το $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{neoc})]$ εμφάνισε τη μεγαλύτερη δράση έναντι της DPPH στα 60min (6.10%).

Πίνακας 14 Ποσοστό δέσμευσης της ρίζας DPPH (DPPH%), της ρίζας ABTS (ABTS%) και της αναγωγής του H_2O_2 ($\text{H}_2\text{O}_2\%$) παρουσία των συμπλόκων I-V και των αντίστοιχων ενώσεων αναφοράς

Ένωση	DPPH% 30 min/60 min	ABTS%	$\text{H}_2\text{O}_2\%$
$[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{MeOH})_4]$ (I)	0.46±0.05 / 2.87±0.42	22.07±0.89	60.80±1.24
$[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{neoc})]$ (II)	0.90±0.35 / 6,10±0.06	13.36±0.29	58.27±1.32
$[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{phen})]$ (III)	2.12±0.81 / 4.19±0.68	12.76±0.53	65.51±0.78
$[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipy})]$ (IV)	2.53±0.02 / 2.42±0.32	3.99±0.52	62.16±1.07
$[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipyam})]$ (V)	0.92±0.13 / 3.37±0.36	13.80±0.39	73.88±1.21
4'-Br-fenH [112]	ΜΔ / ΜΔ ^α	0.84±0.54	65.60±0.76
BHT [112]	70.23 ± 0.50 / 86.54±0.53	ΔΔ ^α	ΔΔ
NDGA	95.21±0.18 / 95.04±0.86	ΔΔ	ΔΔ
Trolox	ΔΔ	91.16±1.18	ΔΔ
L-ασκορβικό οξύ	ΔΔ	ΔΔ	60.99±1.64

^α ΜΔ = Μη-δραστικό, ΔΔ = δε δοκιμάστηκε

Η συνολική αντιοξειδωτική αποτελεσματικότητα των ενώσεων συνδέεται συνήθως με την ικανότητά τους να εξουδετερώνουν την κατιοντική ρίζα ABTS ($\text{ABTS}^{+\bullet}$). Η διαδικασία βασίζεται στον αποχρωματισμό του σκούρου πράσινου διαλύματος της κατιοντικής ρίζας $\text{ABTS}^{+\bullet}$ λόγω οξειδωσης που προκαλείται από έναν αντιοξειδωτικό παράγοντα δότη υδρογόνου [143]. Η δραστηριότητα των συμπλόκων έναντι των ριζών ABTS είναι χαμηλή και, σε όλα τα σύμπλοκα μεγαλύτερη από τη δραστηριότητα του ελεύθερου 4'-Br-fenH (Πίνακας 13). Το σύμπλοκο $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{MeOH})_4]$ επέδειξε τη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα μεταξύ των συμπλόκων (22.07±0.89 %), ωστόσο η δραστηριότητά του είναι πολύ χαμηλότερη από εκείνη της πρότυπης ένωσης trolox (91.16±1.18 %).

Το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2) λειτουργεί ως οξειδωτικός παράγοντας με ικανότητα παραγωγής ριζών υδροξυλίου ($\bullet\text{OH}$) κατά την αλληλεπίδρασή του με ιόντα μετάλλων μεταβατικών μετάλλων. Συνεπώς, ουσίες που δεσμεύουν τις ρίζες υδροξυλίου ή ανάγουν το H_2O_2 έχουν τη

δυνατότητα να προσφέρουν προστασία από το οξειδωτικό στρες και να αναστείλουν την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου [144]. Η αλληλεπίδραση των συμπλόκων με το H_2O_2 , αποκάλυψε ότι τα σύμπλοκα (I-V) είναι ακόμη πιο δραστικά από την πρότυπη ένωση L-ασκορβικό οξύ (Πίνακας 13) και μπορούν να ελαττώσουν σημαντικά τη ποσότητα του H_2O_2 (έως $73.88 \pm 1.21\%$, όπως παρατηρήθηκε για το σύμπλοκο $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipyam})]$).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε η σύνθεση, ο χαρακτηρισμός και η μελέτη της βιολογικής δράσης νέων συμπλόκων ενώσεων του μαγγανίου(II) με το 4'-βρωμο-φαιναμικό οξύ. Το 4'-βρωμο-φαιναμικό οξύ επιλέχθηκε ως μη-στεροειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο, με σκοπό τη διερεύνηση της ικανότητάς του να συναρμόζεται με το Mn(II), τόσο απουσία όσο και παρουσία ετεροκυκλικών N,N'-δοτών, όπως η νεοκουπρόϊνη, η 1,10-φαινανθρολίνη, η 2,2'-διπυριδίνη και η 2,2'-διπυριδυλαμίνη.

Συνολικά συντέθηκαν πέντε σύμπλοκα του Mn(II), και συγκεκριμένα τα $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{MeOH})_4]$ (I), $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{neoc})]$ (II), $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{phen})]$ (III), $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipy})]_n$ (IV) και $[\text{Mn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipyam})]$ (V). Τα προϊόντα απομονώθηκαν ως στερεά ανοικτού καφέ χρώματος, ενώ για τα σύμπλοκα II και IV λήφθηκαν μονοκρύσταλλοι κατάλληλοι για επίλυση της κρυσταλλικής δομής με περίθλαση ακτίνων Χ.

Ο φασματοσκοπικός χαρακτηρισμός με IR επιβεβαίωσε τη συναρμογή του 4'-Br-fen ligand στο μεταλλικό κέντρο μέσω της αποπρωτονιωμένης καρβοξυλικής ομάδας. Οι τιμές $\Delta\nu(\text{COO})$ υποδεικνύουν μονοδραστικό ή ασύμμετρο διδραστικό τρόπο συναρμογής. Παράλληλα, η παρουσία χαρακτηριστικών ταινιών των ετεροκυκλικών N,N'-δοτών στα σύμπλοκα II–V επιβεβαίωσε τη συμμετοχή τους στη σφαίρα συναρμογής του Mn(II). Τα φάσματα UV-Vis εμφάνισαν κυρίως ταινίες που αποδίδονται σε μεταπτώσεις των ligands, ενώ δεν εμφανίστηκαν d–d μεταπτώσεις, όπως αναμένεται για τα σύμπλοκα του Mn(II).

Η κρυσταλλογραφική μελέτη των συμπλόκων II και IV έδειξε ότι το Mn(II) είναι εξα-συναρμοσμένο, με σφαίρα συναρμογής MnO_4N_2 και παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία. Το σύμπλοκο II είναι μονοπυρηνικό, ενώ το σύμπλοκο IV σχηματίζει μονοδιάστατη πολυμερική δομή, λόγω της γεφυρωτικής δράσης των καρβοξυλικών ομάδων των 4'-Br-fen ligands. Με βάση τα φασματοσκοπικά

δεδομένα και τη σύγκριση με συγγενείς δομές, αντίστοιχη παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία προτείνεται και για τα υπόλοιπα σύμπλοκα.

Η αλληλεπίδραση των συμπλόκων με το CT DNA αξιολογήθηκε με φασματοσκοπία UV-vis, ιξωδομετρία και ανταγωνιστικές μελέτες με αιθίδιο βρωμίδιο (EB). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι όλα τα σύμπλοκα αλληλεπιδρούν με το DNA, πιθανότατα μέσω παρεμβολής. Η αύξηση του ιξώδους του DNA παρουσία των συμπλόκων και η ικανότητά τους να αντικαθιστούν το αιθίδιο βρωμίδιο από το σύστημα EB-DNA ενισχύουν το συμπέρασμα αυτό. Το σύμπλοκο I εμφάνισε τη μεγαλύτερη σταθερά σύνδεσης με το CT DNA, ενώ το σύμπλοκο II παρουσίασε ιδιαίτερα ισχυρή ανταγωνιστική δράση έναντι του EB.

Επιπλέον, τα σύμπλοκα αλληλεπιδρούν αποτελεσματικά με τις αλβουμίνες ορού BSA και HSA, όπως προέκυψε από τις μελέτες φθορισμού. Η απόσβεση του φθορισμού αποδόθηκε κυρίως σε στατικό μηχανισμό, γεγονός που υποδηλώνει σχηματισμό συμπλόκου μεταξύ των ενώσεων και των πρωτεϊνών. Οι τιμές των σταθερών σύνδεσης δείχνουν ότι η δέσμευση είναι αρκετά ισχυρή αλλά αντιστρεπτή, στοιχείο σημαντικό για πιθανή μεταφορά των ενώσεων μέσω της αλβουμίνης στον οργανισμό. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσίασε το σύμπλοκο II, το οποίο εμφάνισε τις υψηλότερες σταθερές σύνδεσης τόσο με την BSA όσο και με την HSA.

Οι ανταγωνιστικές μελέτες με βαρφαρίνη και ιβουπροφαίνη έδειξαν ότι η θέση δέσμευσης των ενώσεων στις αλβουμίνες επηρεάζεται από τη φύση του N,N' -δότη. Στην BSA, το σύμπλοκο II φαίνεται να προτιμά τη θέση δέσμευσης I, ενώ τα σύμπλοκα III–V τη θέση δέσμευσης II. Αντίστοιχα, στην HSA, το 4'-Br-fenH και τα σύμπλοκα I και II φαίνεται να δεσμεύονται κυρίως στη θέση I, ενώ τα σύμπλοκα III–V στη θέση II.

Η αντιοξειδωτική δράση των συμπλόκων αξιολογήθηκε με τη δέσμευση των ριζών DPPH, ABTS και την αναγωγή του H_2O_2 . Στις δοκιμές DPPH και ABTS τα σύμπλοκα παρουσίασαν χαμηλή έως μέτρια δράση, γενικά υψηλότερη από αυτή του ελεύθερου 4'-Br-fenH αλλά χαμηλότερη από τις πρότυπες αντιοξειδωτικές ενώσεις. Αντίθετα, στη δοκιμή αναγωγής του H_2O_2 εμφάνισαν σημαντική δραστηριότητα, με το σύμπλοκο V να παρουσιάζει την υψηλότερη αποτελεσματικότητα.

Συνολικά, τα αποτελέσματα της εργασίας δείχνουν ότι το 4'-βρωμοφαιναμικό οξύ αποτελεί κατάλληλο ligand για τη σύνθεση συμπλόκων Mn(II),

ενώ η παρουσία ετεροκυκλικών *N,N'*-δοτών επηρεάζει ουσιαστικά τη δομή και τη βιολογική συμπεριφορά των συμπλόκων. Τα σύμπλοκα που παρασκευάστηκαν εμφανίζουν αξιόλογη ικανότητα αλληλεπίδρασης με το DNA και τις αλβουμίνες ορού, καθώς και ενδιαφέρουσα αντιοξειδωτική δράση, κυρίως έναντι του H_2O_2 . Επομένως, τα σύμπλοκα Mn(II) με 4'-βρωμο-φαιναμικό οξύ παρουσιάζουν ενδιαφέρον ως βιοδραστικές ενώσεις και μπορούν να αποτελέσουν βάση για περαιτέρω μελέτες στον τομέα της βιοανόργανης και μεταλλοφαρμακευτικής χημείας.

Περαιτέρω έρευνα

Ως περαιτέρω έρευνα προτείνεται η σύνθεση νέων συμπλόκων Mn(II) με το 4'-βρωμο-φαιναμικό οξύ και διαφορετικούς ετεροκυκλικούς *N,N'*-δότες, ώστε να διερευνηθεί περαιτέρω η επίδραση τους στη δομή και στη βιολογική δράση των ενώσεων. Επιπλέον, ενδιαφέρον θα παρουσίαζε η μελέτη της σταθερότητας των συμπλόκων σε φυσιολογικά μέσα, καθώς και η αξιολόγηση της κυτταροτοξικής τους δράσης σε καρκινικές και φυσιολογικές κυτταρικές σειρές, προκειμένου να εκτιμηθεί η πιθανή φαρμακολογική τους προοπτική. Παράλληλα, θα μπορούσαν να πραγματοποιηθούν μελέτες αντιμικροβιακής δράσης έναντι Gram-θετικών και Gram-αρνητικών βακτηρίων, ώστε να διερευνηθεί κατά πόσο η συναρμογή του 4'-Br-fen στο Mn(II) και η παρουσία των *N,N'*-δοτών ενισχύουν τη βιολογική δραστηριότητα των ενώσεων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] N.N. GREENWOOD, A. EARNSHAW, Chemistry of the Elements, Second Edition, Elsevier, 1997. <https://doi.org/10.1016/c2009-0-30414-6>.
- [2] W.M. Haynes, CRC Handbook of Chemistry and Physics: A Ready-Reference Book of Chemical and Physical Data, 97th edition, CRC Press / Taylor & Francis Group, Boca Raton, Florida, USA, 2016. <https://doi.org/10.1201/9781315380476>.
- [3] E.J. Martinez-Finley, S. Chakraborty, M. Aschner, Manganese in Biological Systems, Encyclopedia of Metalloproteins (2013) 1297–1303. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-1533-6_284.
- [4] J.H. LUFT, Permanganate—A New Fixative for Electron Microscopy, J. Biophys. Biochem. Cytol. 2 (1956) 799–802. <https://doi.org/10.1083/JCB.2.6.799>.
- [5] Geoff Rayner-Canham, Tina Overton, Student solutions manual for descriptive inorganic chemistry: with Sixth Edition correlation, Sixth Edition, W. H. Freeman and Company, New York, 2014. <https://archive.org/details/studentsolutions0000rayn/page/142/mode/2up> (accessed June 3, 2024).
- [6] Manganese in Periodic Table, 2020. <https://www.priyamstudycentre.com/2020/12/manganese.html>.
- [7] Catherine E. Housecroft, Alan G. Sharpe, Inorganic Chemistry, Third edition 2008, Pearson Prentice Hall / Prentice Hall, Harlow, England · New York, 2008.
- [8] Peter Atkins, Julio de Paula, Atkins' Physical Chemistry, 8th edition, Oxford University Press, 2006.
- [9] Jr. William D. Callister, David G. Rethwisch, Materials Science and Engineering: An Introduction, 10th edition, Wiley / John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, 2018. <https://anupturnedworld.wordpress.com/wp-content/uploads/2016/06/callister-materials-science-and-engineering.pdf> (accessed February 16, 2026).
- [10] T.B. Massalski, Binary Alloy Phase Diagrams, 2nd edition, ASM International, Metals Park, Ohio, USA, 1990. <https://www.scrip.org/reference/referencespapers?referenceid=1535248> (accessed February 16, 2026).
- [11] John M. Guilbert, Jr. Charles F. Park, The Geology of Ore Deposits, Waveland Press, Long Grove, Illinois, USA, 2007. https://books.google.com/books/about/The_Geology_of_Ore_Deposits.html?hl=el&id=ZV0WAAAAQBAJ (accessed February 16, 2026).
- [12] L. Robb, Introduction to Ore-Forming Processes, 2nd edition, Wiley / John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, USA, n.d.
- [13] S.E. Olsen, M. Tangstad, T. Lindstad, Thermodynamic and kinetic considerations in manganese ferroalloy production, Scand. J. Metall. 24 (1995) 255–260.

- [14] V. Raghuveer, A. Manthiram, Improved rechargeability of manganese oxide cathodes in alkaline cells in the presence of TiB₂ and TiS₂, *J. Power Sources* 159 (2006) 1468–1473. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2005.12.005>.
- [15] N. Li, D. Li, W. Zhang, K. Chang, F. Dang, Y. Du, H.J. Seifert, Development and application of phase diagrams for Li-ion batteries using CALPHAD approach, *Progress in Natural Science: Materials International* 29 (2019) 265–276. <https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2019.05.007>.
- [16] M. Michalska, L. Lipińska, M. Mirkowska, M. Aksienionek, R. Didusko, M. Wasiucionek, Nanocrystalline lithium–manganese oxide spinels for Li-ion batteries — Sol-gel synthesis and characterization of their structure and selected physical properties, *Solid State Ion.* 188 (2011) 160–164. <https://doi.org/10.1016/j.ssi.2010.12.003>.
- [17] W. Li, E.M. Erickson, A. Manthiram, High-nickel layered oxide cathodes for lithium-based automotive batteries, *Nat. Energy* 5 (2020) 26–34. <https://doi.org/10.1038/s41560-019-0513-0>.
- [18] L. Jia, Q. Zhou, Y. Li, W. Wu, Application of manganese oxides in wastewater treatment: Biogeochemical Mn cycling driven by bacteria, *Chemosphere* 336 (2023) 139219. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139219>.
- [19] S. Ndayiragije, Y. Zhou, X. Wang, L. Zhu, S. Wang, N. Wang, Tailoring oxygen vacancies of MnO₂ for peroxymonosulfate activation to singlet oxygen for contaminant degradation, *J. Environ. Chem. Eng.* 13 (2025) 117716. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2025.117716>.
- [20] H.T. Danh, et al., Removal of Pb(II) from Aqueous Solutions with Manganese Oxide-Modified Diatomite, *J. Chem.* (2023). <https://doi.org/10.1155/2023/7744896>.
- [21] R. Yang, Y. Fan, R. Ye, Y. Tang, X. Cao, Z. Yin, Z. Zeng, MnO₂-Based Materials for Environmental Applications, *Advanced Materials* 33 (2021) 2004862. <https://doi.org/10.1002/adma.202004862>.
- [22] A. Ishfaq, M. Shahid, M. Nawaz, D. Ibrar, S. Hussain, T. Shahzad, F. Mahmood, A. Rais, S. Gul, A.R.Z. Gaafar, M.S. Hodhod, S. Khan, Remediation of wastewater by biosynthesized manganese oxide nanoparticles and its effects on development of wheat seedlings, *Front. Plant Sci.* 14 (2023) 1263813. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1263813>.
- [23] C.M. Kao, K.D. Huang, J.Y. Wang, T.Y. Chen, H.Y. Chien, Application of potassium permanganate as an oxidant for in situ oxidation of trichloroethylene-contaminated groundwater: A laboratory and kinetics study, *J. Hazard. Mater.* 153 (2008) 919–927. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.09.116>.
- [24] X. Liao, D. Zhao, X. Yan, Determination of potassium permanganate demand variation with depth for oxidation–remediation of soils from a PAHs-contaminated coking plant, *J. Hazard. Mater.* 193 (2011) 164–170. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.07.045>.
- [25] M.G. Mahmoodlu, S.M. Hassanizadeh, N. Hartog, Evaluation of the kinetic oxidation of aqueous volatile organic compounds by permanganate, *Science of The Total Environment* 485–486 (2014) 755–763. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.11.066>.

- [26] X.D. Li, F.W. Schwartz, DNAPL remediation with in situ chemical oxidation using potassium permanganate: Part I. Mineralogy of Mn oxide and its dissolution in organic acids, *J. Contam. Hydrol.* 68 (2004) 39–53. [https://doi.org/10.1016/S0169-7722\(03\)00144-X](https://doi.org/10.1016/S0169-7722(03)00144-X).
- [27] S. Tian, Y. Liu, L. Jia, L. Tian, J. Qi, J. Ma, G. Wen, L. Wang, Insight into the oxidation of phenolic pollutants by enhanced permanganate with biochar: The role of high-valent manganese intermediate species, *J. Hazard. Mater.* 430 (2022) 128460. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128460>.
- [28] E.S. Lee, F.W. Schwartz, Characteristics and applications of controlled-release KMnO₄ for groundwater remediation, *Chemosphere* 66 (2007) 2058–2066. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.09.093>.
- [29] K. Wu, Y. Jia, D. Song, A. Li, X. Bai, X. Sun, R. Li, Z. Li, Insights to enhanced coagulation based on the control of metal forms for treating acid mine drainage: Performance and mechanisms, *J. Hazard. Mater.* 494 (2025) 138577. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2025.138577>.
- [30] R.M. Novais, M.P. Seabra, J.S. Amaral, R.C. Pullar, Hidden value in low-cost inorganic pigments as potentially valuable magnetic materials, *Ceram. Int.* 42 (2016) 9605–9612. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2016.03.045>.
- [31] J.E. Shelby, *Introduction to Glass Science and Technology*, 2nd edition, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 2005. <https://doi.org/10.1039/9781847551160>.
- [32] J.L. Aschner, M. Aschner, Nutritional aspects of manganese homeostasis, *Mol. Aspects Med.* 26 (2005) 353–362. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.003>.
- [33] D.L. Baly, C.L. Keen, L.S. Hurley, Dietary Standards for Manganese: Overlap between Nutritional and Toxicological Studies, *J. Nutr.* 128 (1998) 368S–371S. <https://doi.org/10.1093/jn/115.7.872>.
- [34] J.H. Freeland-Graves, T.Y. Mousa, S. Kim, International variability in diet and requirements of manganese: Causes and consequences, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 38 (2016) 24–32. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2016.05.004>.
- [35] J.L. Aschner, M. Aschner, Nutritional aspects of manganese homeostasis, *Mol. Aspects Med.* 26 (2005) 353–362. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.003>.
- [36] C. Au, A. Benedetto, M. Aschner, MANGANESE IN EUKARYOTES: THE ROLE OF DMT1, *Neurotoxicology* 29 (2008) 569. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2008.04.022>.
- [37] M. Aschner, T.R. Guilarte, J.S. Schneider, W. Zheng, Manganese: Recent advances in understanding its transport and neurotoxicity, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 221 (2007) 131–147. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2007.03.001>.
- [38] J.A. Roth, Homeostatic and toxic mechanisms regulating manganese uptake, retention, and elimination, *Biol. Res.* 39 (2006) 45–57. <https://doi.org/10.4067/S0716-97602006000100006>.
- [39] A.W. Dobson, K.M. Erikson, M. Aschner, Manganese neurotoxicity, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1012 (2004) 115–128. <https://doi.org/10.1196/annals.1306.009>.

- [40] Roberto G. Lucchini, Michael Aschner, Yangho Kim, Manganese, in: Gunnar F. Nordberg, Max Costa (Eds.), *Handbook on the Toxicology of Metals*, 5th edition, Elsevier / Academic Press, London, 2022: pp. 501–538. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822946-0.00019-2>.
- [41] K.C. Gurol, M. Aschner, D.R. Smith, S. Mukhopadhyay, Role of excretion in manganese homeostasis and neurotoxicity: a historical perspective, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 322 (2021) G79. <https://doi.org/10.1152/AJPGI.00299.2021>.
- [42] A.K. Holley, V. Bakthavatchalu, J.M. Velez-Roman, D.K. St. Clair, Manganese superoxide dismutase: guardian of the powerhouse, *Int. J. Mol. Sci.* 12 (2011) 7114–7162. <https://doi.org/10.3390/ijms12107114>.
- [43] J.L. Aschner, M. Aschner, Brain manganese and the balance between essential roles and neurotoxicity, *Journal of Biological Chemistry* 295 (2020) 6312–6329. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.003>.
- [44] A. Takeda, Manganese action in brain function, *Brain Res. Rev.* 41 (2003) 79–87. [https://doi.org/10.1016/S0165-0173\(02\)00234-5](https://doi.org/10.1016/S0165-0173(02)00234-5).
- [45] M.C. Scrutton, M.F. Utter, Pyruvate Carboxylase IX. SOME PROPERTIES OF THE ACTIVATION BY CERTAIN ACYL DERIVATIVES OF COENZYME A*, *Journal of Biological Chemistry* 242 (1967) 1723–1735. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)96061-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)96061-8).
- [46] Z.F. Kanyo, L.R. Scolnick, D.E. Ash, D.W. Christianson, Structure of a Unique Binuclear Manganese Cluster in Arginase, *Nature* 383 (1996) 554–557. <https://doi.org/10.1038/383554a0>.
- [47] R.W. Caldwell, P.C. Rodriguez, H.A. Toque, S. Priya Narayanan, R.B. Caldwell, Arginase: A Multifaceted Enzyme Important in Health and Disease, *Physiol. Rev.* 98 (2018) 641. <https://doi.org/10.1152/physrev.00037.2016>.
- [48] J.M. Studer, W.P. Schweer, N.K. Gabler, J.W. Ross, Functions of manganese in reproduction, *Anim. Reprod. Sci.* 238 (2022) 106924. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2022.106924>.
- [49] M.P. Murphy, How mitochondria produce reactive oxygen species, *Biochemical Journal* 417 (2009) 1–13. <https://doi.org/10.1042/BJ20081386>.
- [50] Z. Sun, Y. Shao, K. Yan, T. Yao, L. Liu, F. Sun, J. Wu, Y. Huang, The Link between Trace Metal Elements and Glucose Metabolism: Evidence from Zinc, Copper, Iron, and Manganese-Mediated Metabolic Regulation, *Metabolites* 13 (2023) 1048. <https://doi.org/10.3390/metabo13101048>.
- [51] A.E. Kitabchi, Proinsulin and C-peptide: a review, *Metabolism* 26 (1977) 547–587. [https://doi.org/10.1016/0026-0495\(77\)90099-3](https://doi.org/10.1016/0026-0495(77)90099-3).
- [52] D.L. Baly, D.L. Curry, C.L. Keen, L.S. Hurley, Effect of Manganese Deficiency on Insulin Secretion and Carbohydrate Homeostasis in Rats, *J. Nutr.* 114 (1984) 1438–1446. <https://doi.org/10.1093/jn/114.8.1438>.
- [53] R.P. Robertson, J. Harmon, P.O. Tran, Y. Tanaka, H. Takahashi, Glucose toxicity in β -cells: Type 2 diabetes, good radicals gone bad, and the glutathione connection, *Diabetes* 52 (2003) 581–587. <https://doi.org/10.2337/diabetes.52.3.581>.
- [54] L. Li, X. Yang, The Essential Element Manganese, Oxidative Stress, and Metabolic Diseases: Links and Interactions, *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2018 (2018) 7580707. <https://doi.org/10.1155/2018/7580707>.

- [55] V.E. Kagan, H.A. Bayir, N.A. Belikova, O. Kapralov, Y.Y. Tyurina, V.A. Tyurin, J. Jiang, D.A. Stoyanovsky, P. Wipf, P.M. Kochanek, J.S. Greenberger, B. Pitt, A.A. Shvedova, G. Borisenko, Cytochrome c/cardiolipin relations in mitochondria: a kiss of death, *Free Radic. Biol. Med.* 46 (2009) 1439–1453.
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.03.004>.
- [56] Y. Hu, S. Tang, S. Wang, C. Sun, B. Chen, B. Cai, H. Yin, Effects of Mn Deficiency on Hepatic Oxidative Stress, Lipid Metabolism, Inflammatory Response, and Transcriptomic Profile in Mice, *Nutrients* 17 (2025).
<https://doi.org/10.3390/nu17193030>.
- [57] M. Zhao, G. Yin, J. Xu, X. Ge, A. Li, Y. Mei, J. Wu, X. Liu, L. Wei, Q. Xu, Independent, combine and interactive effects of heavy metal exposure on dyslipidemia biomarkers: A cross-sectional study in northeastern China, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 250 (2023) 114494.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.114494>.
- [58] A.C. Liu, B.S. Heinrichs, R.M. Leach, Influence of Manganese Deficiency on the Characteristics of Proteoglycans of Avian Epiphyseal Growth Plate Cartilage, *Poult. Sci.* 73 (1994) 663–669.
<https://doi.org/10.3382/ps.0730663>.
- [59] C. Kiani, L. Chen, Y.J. Wu, A.J. Yee, B.B. Yang, Structure and function of aggrecan, *Cell Res.* 12 (2002) 19–32.
<https://doi.org/10.1038/sj.cr.7290106>.
- [60] R. Florencio-Silva, G.R.D.S. Sasso, E. Sasso-Cerri, M.J. Simões, P.S. Cerri, Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells, *Biomed Res. Int.* 2015 (2015) 421746.
<https://doi.org/10.1155/2015/421746>.
- [61] R.M. Leach, C. V. Gay, Role of Epiphyseal Cartilage in Endochondral Bone Formation, *J. Nutr.* 117 (1987) 784–790.
<https://doi.org/10.1093/jn/117.4.784>.
- [62] D. Peng, F. Feng, H. Yin, J. Zhao, S. Cao, J. Liu, Manganese Deficiency Causes Testicular Developmental Disorders, Blood–Testis Barrier Damage, and Spermatogenesis Disruption via Nrf2-Mediated Oxidative Stress, *Nutrients* 17 (2025) 3007.
<https://doi.org/10.3390/nu17183007>.
- [63] W. Tang, X. Zhu, Y. Chen, S. Yang, C. Wu, D. Chen, L. Xue, Y. Guo, Y. Dai, S. Wei, M. Wu, M. Wu, S. Wang, Towards prolonging ovarian reproductive life: Insights into trace elements homeostasis, *Ageing Res. Rev.* 97 (2024) 102311. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2024.102311>.
- [64] E. Pajarillo, I. Nyarko-Danquah, G. Adinew, A. Rizor, M. Aschner, E. Lee, Neurotoxicity mechanisms of manganese in the central nervous system, *Adv. Neurotoxicol.* 5 (2021) 215–238.
<https://doi.org/10.1016/bs.ant.2020.11.003>.
- [65] G. Magro, V. Laterza, F. Tosto, A. Torrente, Manganese Neurotoxicity: A Comprehensive Review of Pathophysiology and Inherited and Acquired Disorders, *J. Xenobiot.* 15 (2025) 54.
<https://doi.org/10.3390/jox15020054>.
- [66] S.L. O’Neal, W. Zheng, Manganese Toxicity Upon Overexposure: a Decade in Review, *Curr. Environ. Health Rep.* 2 (2015) 315–328.
<https://doi.org/10.1007/s40572-015-0056-x>.

- [67] W. Zheng, S.X. Fu, U. Dydak, D.M. Cowan, Biomarkers of manganese intoxication, *Neurotoxicology* 32 (2011) 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2010.10.002>.
- [68] G.F. Kwakye, M.M.B. Paoliello, S. Mukhopadhyay, A.B. Bowman, M. Aschner, Manganese-Induced Parkinsonism and Parkinson's Disease: Shared and Distinguishable Features, *Int. J. Environ. Res. Public Health* 12 (2015) 7519. <https://doi.org/10.3390/ijerph120707519>.
- [69] C.W. Olanow, Manganese-Induced Parkinsonism and Parkinson's Disease, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1012 (2004) 209–223. <https://doi.org/10.1196/annals.1306.018>.
- [70] Y.M. Jiang, X.A. Mo, F.Q. Du, X. Fu, X.Y. Zhu, H.Y. Gao, J.L. Xie, F.L. Liao, E. Pira, W. Zheng, Effective Treatment of Manganese-Induced Occupational Parkinsonism with p-Aminosalicylic Acid: A Case of 17-Year Follow-Up Study, *J. Occup. Environ. Med.* 48 (2006) 644–649. <https://doi.org/10.1097/01.jom.0000204114.01893.3e>.
- [71] J.J. Brooks, R.C. Kwong, Y.-J. Tung, M.S. Weaver, B.W. D'Andrade, V. Adamovich, M.E. Thompson, S.R. Forrest, J.J. Brown, The diagnosis of manganese-induced parkinsonism, *Neurotoxicology* 27 (2006) 340–346. <https://doi.org/10.1117/12.564757>.
- [72] Δ. Κεσίσσογλου, Γ. Ψωμάς, Βιοανόργανη Χημεία, Εκδόσεις Ζήτη, Θεσσαλονίκη, 2011.
- [73] N.A. Law, M.T. Caudle, V.L. Pecoraro, Manganese Redox Enzymes and Model Systems: Properties, Structures, and Reactivity, *Adv. Inorg. Chem.* 46 (1998) 305–440. [https://doi.org/10.1016/S0898-8838\(08\)60152-X](https://doi.org/10.1016/S0898-8838(08)60152-X).
- [74] W. Zhu, N.G.J. Richards, Biological functions controlled by manganese redox changes in mononuclear Mn-dependent enzymes, *Essays Biochem.* 61 (2017) 259–270. <https://doi.org/10.1042/EBC20160070>.
- [75] J.W. Whittaker, Non-heme manganese catalase – The 'other' catalase, *Arch. Biochem. Biophys.* 525 (2012) 111–120. <https://doi.org/10.1016/J.ABB.2011.12.008>.
- [76] W.W. Fischer, J. Hemp, J.E. Johnson, Manganese and the Evolution of Photosynthesis, *Orig Life Evol Biosph* 45 (2015) 351–357. <https://doi.org/10.1007/s11084-015-9442-5>.
- [77] D.P. Kessissoglou, Manganese-Proteins and -Enzymes and Relevant Trinuclear Synthetic Complexes, in: D.P. Kessissoglou (Ed.), *Bioinorg. Chem.*, Springer, Dordrecht, 1995: pp. 299–320. https://doi.org/10.1007/978-94-011-0255-1_23.
- [78] C.N. Banti, S.K. Hadjikakou, Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) in Metal Complexes and Their Effect at the Cellular Level, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2016 (2016) 3048–3071. <https://doi.org/10.1002/EJIC.201501480>.
- [79] H. Yasir Khan, S. Parveen, I. Yousuf, S. Tabassum, F. Arjmand, Metal complexes of NSAIDs as potent anti-tumor chemotherapeutics: Mechanistic insights into cytotoxic activity via multiple pathways primarily by inhibition of COX–1 and COX–2 enzymes, *Coord. Chem. Rev.* 453 (2022) 214316. <https://doi.org/10.1016/J.CCR.2021.214316>.
- [80] G. Psomas, Copper(II) and zinc(II) coordination compounds of non-steroidal anti-inflammatory drugs: Structural features and antioxidant

- activity, *Coord. Chem. Rev.* 412 (2020) 213259.
<https://doi.org/10.1016/J.CCR.2020.213259>.
- [81] G.A. FitzGerald, C. Patrono, The Coxibs, Selective Inhibitors of Cyclooxygenase-2, *New England Journal of Medicine* 345 (2001) 433–442.
<https://doi.org/10.1056/NEJM200108093450607>; JOURNAL: JOURNAL: NEJMS.
- [82] S. Xu, C.A. Rouzer, L.J. Marnett, Oxicams, a Class of NSAIDs and beyond, *IUBMB Life* 66 (2014) 803. <https://doi.org/10.1002/IUB.1334>.
- [83] S. Bindu, S. Mazumder, U. Bandyopadhyay, Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective, *Biochem. Pharmacol.* 180 (2020).
<https://doi.org/10.1016/J.BCP.2020.114147>.
- [84] L. Zapła, E. Ciszkowicz, M. Kosińska-Pezda, U. Maciołek, A.E. Koziół, A. Miłoś, E. Woźnicka, A. Bocian, W. Zapła, K. Rydel-Ciszek, M.G. Perrone, Novel silver(I) complexes with fenamates: Insights into synthesis, spectral characterization, and bioactivity, *J. Inorg. Biochem.* 266 (2025) 112846. <https://doi.org/10.1016/J.JINORGBIO.2025.112846>.
- [85] N.G. Bazan, D.T. Stark, N.A. Petasis, Lipid Mediators: Eicosanoids, Docosanoids and Platelet-Activating Factor, in: S.T. Brady, G.J. Siegel, R.W. Albers, D.L. Price (Eds.), *Basic Neurochemistry: Principles of Molecular, Cellular, and Medical Neurobiology*, 8th edition, Elsevier / Academic Press, Amsterdam / Boston, 2012: pp. 643–662.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374947-5.00036-5>.
- [86] K. Mathews, S. Boston, *Nonsteroidal Antiinflammatory Analgesics, Canine and Feline Gastroenterology* (2013) 463–470.
<https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-3661-6.00038-9>.
- [87] L. Useini, M. Mojić, M. Laube, P. Lönnecke, J. Dahme, M.B. Sárosi, S. Mijatović, D. Maksimović-Ivanić, J. Pietzsch, E. Hey-Hawkins, Carboranyl Analogues of Mefenamic Acid and Their Biological Evaluation, *ACS Omega* 7 (2022) 24282–24291.
<https://doi.org/10.1021/acsomega.2c01523>.
- [88] B.J. Orlando, M.G. Malkowski, Substrate-selective Inhibition of Cyclooxygenase-2 by Fenamic Acid Derivatives Is Dependent on Peroxide Tone, *Journal of Biological Chemistry* 291 (2016) 15069–15081. <https://doi.org/10.1074/JBC.M116.725713>.
- [89] P. Garg, M.C. Sanguinetti, Structure-Activity Relationship of Fenamates as Slo2.1 Channel Activators, *Mol. Pharmacol.* 82 (2012) 795–802.
<https://doi.org/10.1124/MOL.112.079194>.
- [90] S. Mansikkamäki, S.T. Sinkkonen, E.R. Korpi, H. Lüddens, Multiple actions of fenamates and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs on GABAA receptors, *Eur. J. Pharmacol.* 853 (2019) 247–255.
<https://doi.org/10.1016/J.EJPHAR.2019.03.039>.
- [91] M. Sharma, P. Prasher, Synthesis and Medicinal Applications of Fenamic Acid Derivatives, *Curr. Org. Chem.* 27 (2023) 1132–1142.
<https://doi.org/10.2174/1385272827666230914113509>.
- [92] P. Garg, M.C. Sanguinetti, Structure-Activity Relationship of Fenamates as Slo2.1 Channel Activators, *Mol. Pharmacol.* 82 (2012) 795.
<https://doi.org/10.1124/mol.112.079194>.

- [93] E.K. Efthimiadou, Y. Sanakis, N. Katsaros, A. Karaliota, G. Psomas, Transition metal complexes with the quinolone antibacterial agent pipemidic acid: Synthesis, characterization and biological activity, *Polyhedron* 26 (2007) 1148–1158. <https://doi.org/10.1016/J.POLY.2006.10.017>.
- [94] C.J. Chandler, L.W. Deady, J.A. Reiss, Synthesis of some 2,9-disubstituted-1,10-phenanthrolines, *J. Heterocycl. Chem.* 18 (1981) 599–601. <https://doi.org/10.1002/JHET.5570180332>.
- [95] I.O. Synthesis, L.E. By, R.A. Plowman, COORDINATION COMPOUNDS OF SUBSTITUTED 1,10-PHENANTHROLINES AND RELATED DIPYRIDYLS, n.d.
- [96] A.S. Abel, A.D. Averin, I.P. Beletskaya, A. Bessmertnykh-Lemeune, TRANSITION-METAL-CATALYZED FUNCTIONALIZATION OF 1, Targets in Heterocyclic Systems 24 (2020) 419–444. <https://doi.org/10.17374/targets.2021.24.419>.
- [97] T. O'Reilly-Pol, S.L. Johnson, Neocuproine ablates melanocytes in adult zebrafish, *Zebrafish* 5 (2008) 257–264. <https://doi.org/10.1089/ZEB.2008.0540>.
- [98] P.G. Sammes, G. Yahiolu, 1,10-Phenanthroline: a versatile ligand, *Chem. Soc. Rev.* 23 (1994) 327–334. <https://doi.org/10.1039/CS9942300327>.
- [99] A.P. Smith, C.L. Fraser, Bipyridine Ligands, *Comprehensive Coordination Chemistry II* (2003) 1–23. <https://doi.org/10.1016/B0-08-043748-6/01103-8>.
- [100] M.L. Moss, M.G. Mellon, Colorimetric Determination of Iron with 2,2'-Bipyridyl and with 2,2',2'-Terpyridyl, *Industrial and Engineering Chemistry - Analytical Edition* 14 (2002) 862–865. <https://doi.org/10.1021/I560111A014>.
- [101] X. Zhou, D. Zhu, Y. Liao, W. Liu, H. Liu, Z. Ma, D. Xing, Synthesis, labeling and bioanalytical applications of a tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II)-based electrochemiluminescence probe, *Nat. Protoc.* 9 (2014) 1146–1159. <https://doi.org/10.1038/NPROT.2014.060>.
- [102] D.W. Brogden, J.F. Berry, Coordination Chemistry of 2,2'-Dipyridylamine: The Gift That Keeps on Giving, *Comments on Inorganic Chemistry* 36 (2016) 17–37. <https://doi.org/10.1080/02603594.2015.1079522>.
- [103] T. Pringsheim, W.J. Davenport, D. Dodick, Manganese coordination compounds of mefenamic acid: In vitro screening and in silico prediction of biological activity, *J. Inorg. Biochem.* 190 (2019) 1–14. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000310638.54698.36>.
- [104] C.S. Mullins, V.L. Pecoraro, Manganese (II)-imidazole complexes of the non-steroidal anti-inflammatory drug mefenamic acid: Synthesis, and structural studies, *Inorganica Chim. Acta* 512 (2020) 119878. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2007.07.021>.
- [105] F. Dimiza, A.G. Hatzidimitriou, G. Psomas, Manganese(II) Complexes with Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs: Structure and Biological Activity, *Int. J. Mol. Sci.* 25 (2024) 13457. <https://doi.org/10.3390/IJMS252413457/S1>.
- [106] D. Kovala-Demertzi, D. Hadjipavlou-Litina, M. Staninska, A. Primikiri, C. Kotoglou, M.A. Demertzis, Anti-oxidant, in vitro, in vivo anti-

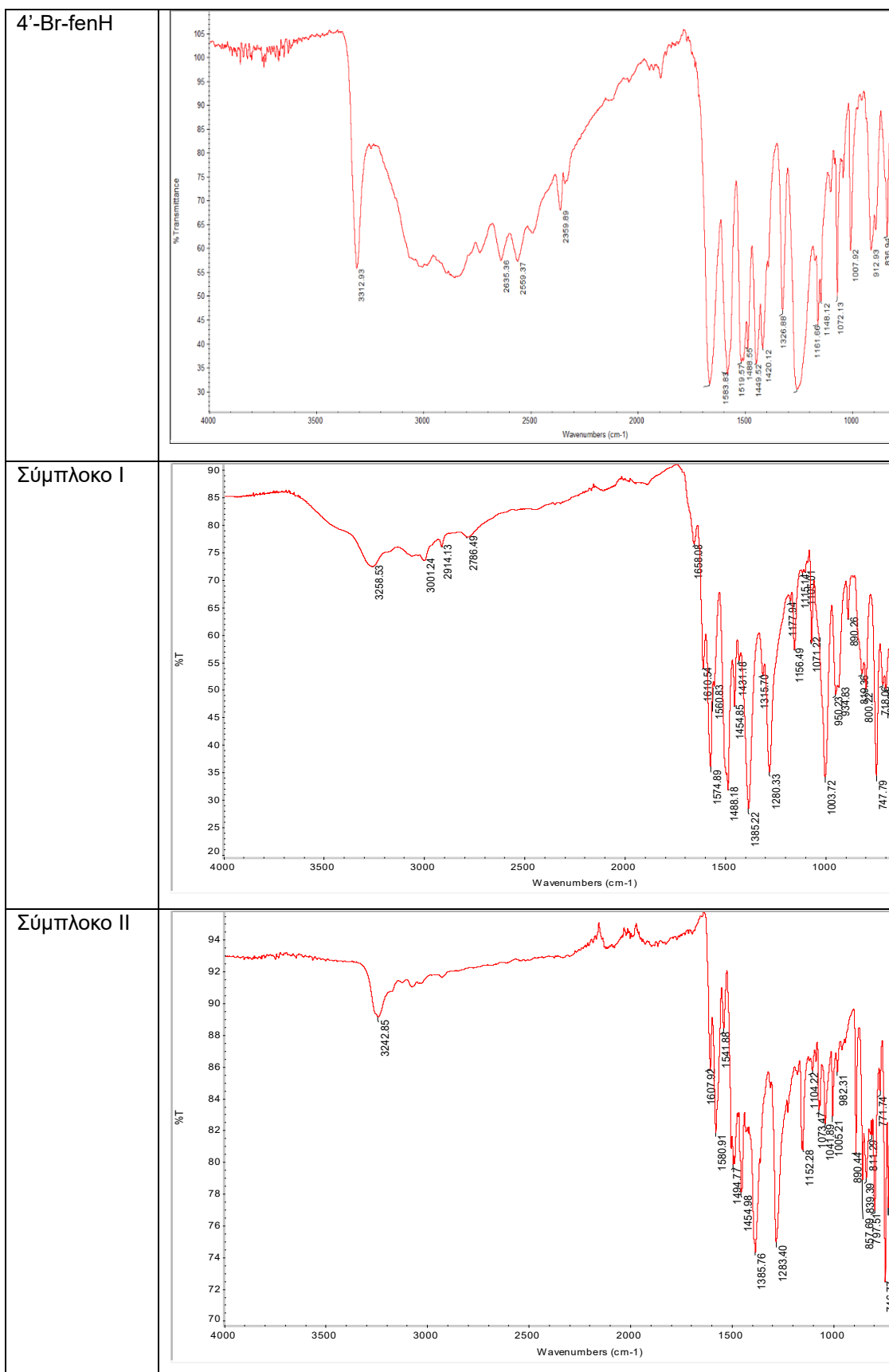
- inflammatory activity and antiproliferative activity of mefenamic acid and its metal complexes with manganese(II), cobalt(II), nickel(II), copper(II) and zinc(II), *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 24 (2009) 742–752.
<https://doi.org/10.1080/14756360802361589>.
- [107] F. Dimiza, M. Lazou, A.N. Papadopoulos, A.G. Hatzidimitriou, G. Psomas, Manganese(II) coordination compounds of carboxylate non-steroidal anti-inflammatory drugs, *J. Inorg. Biochem.* 203 (2020) 110906. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.110906>.
- [108] J. Feng, X. Du, H. Liu, X. Sui, C. Zhang, Y. Tang, J. Zhang, Manganese-mefenamic acid complexes exhibit high lipoxygenase inhibitory activity, *Dalton Transactions* 43 (2014) 10930–10939.
<https://doi.org/10.1039/c4dt01111b>.
- [109] M. Zampakou, N. Rizeq, V. Tangoulis, A.N. Papadopoulos, F. Perdihi, I. Turel, G. Psomas, Manganese(II) complexes with the non-steroidal anti-inflammatory drug tolafenamic acid: Structure and biological perspectives, *Inorg. Chem.* 53 (2014) 2040–2052.
<https://doi.org/10.1021/ic4025487>.
- [110] D. Kovala-Demertzi, D. Hadjipavlou-Litin, A. Primikiri, M. Staninska, C. Kotoglou, M.A. Demertzis, Anti-inflammatory, antiproliferative, and radical-scavenging activities of tolafenamic acid and its metal complexes, *Chem. Biodivers.* 6 (2009) 948–960.
<https://doi.org/10.1002/cbdv.200800120>.
- [111] M. Gacki, K. Kafarska, A. Pietrzak, M. Szczesio, I. Korona-Głowniak, W.M. Wolf, Transition Metal Complexes with Flufenamic Acid for Pharmaceutical Applications—A Novel Three-Centered Coordination Polymer of Mn(II) Flufenamate, *Materials* 13 (2020) 3705.
<https://doi.org/10.3390/MA13173705>.
- [112] G. Malis, C.N. Banti, A. Tialiou, M.R. Reithofer, A.G. Hatzidimitriou, S.K. Hadjikakou, K.C. Fylaktakidou, G. Psomas, Cobalt(II) Complexes of 4 '-Bromo-Fenamic Acid: Antioxidant Properties, Antibacterial Activity, and Interaction with DNA and Albumins, (2025).
<https://doi.org/10.3390/ijms26199787>.
- [113] M.E. Reichmann, S.A. Rice, C.A. Thomas, P. Doty, A Further Examination of the Molecular Weight and Size of Desoxypentose Nucleic Acid, *J. Am. Chem. Soc.* 76 (2002) 3047–3053.
<https://doi.org/10.1021/JA01640A067>.
- [114] G.J. Goerigk, The Significance of Solutions Obtained from Ill-Posed Systems of Linear Equations Constituted by Synchrotron Radiation Based Anomalous Small-Angle X-Ray Scattering, *Advances in Linear Algebra & Matrix Theory* 08 (2018) 64–86.
<https://doi.org/10.4236/ALAMT.2018.81007>.
- [115] L. Palatinus, G. Chapuis, SUPERFLIP— a computer program for the solution of crystal structures by charge flipping in arbitrary dimensions, *J. Appl. Crystallogr.* 40 (2007) 786–790.
<https://doi.org/10.1107/S0021889807029238>.
- [116] P.W. Betteridge, J.R. Carruthers, R.I. Cooper, K. Prout, D.J. Watkin, CRYSTALS version 12: software for guided crystal structure analysis, *J. Appl. Crystallogr.* 36 (2003) 1487–1487.
<https://doi.org/10.1107/S0021889803021800>.

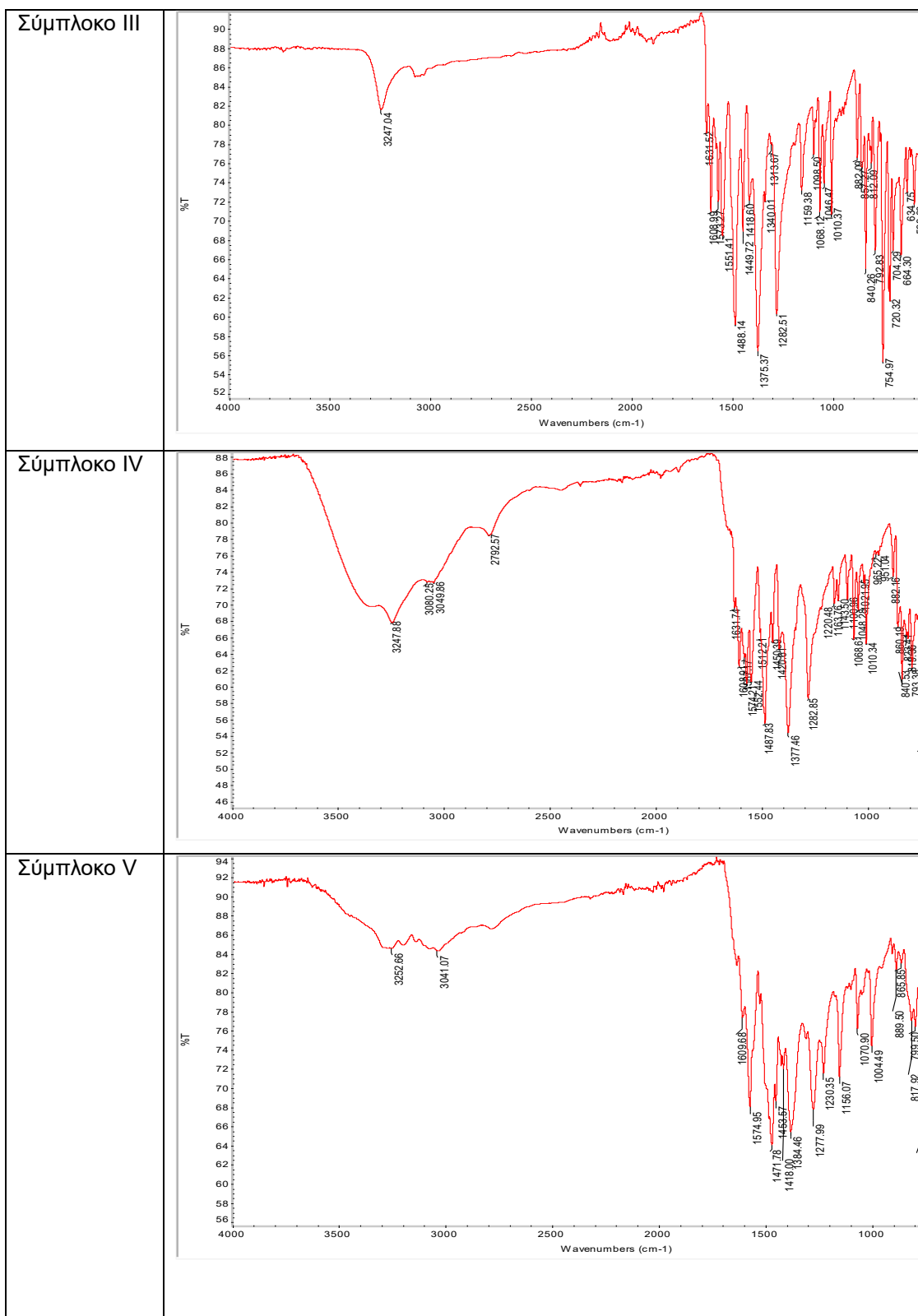
- [117] J. de Meulenaer, H. Tompa, The absorption correction in crystal structure analysis, *Acta Crystallogr.* 19 (1965) 1014–1018. <https://doi.org/10.1107/S0365110X65004802;WGROU:STRING:PUBLICATION>.
- [118] L. Stella, A.L. Capodilupo, M. Bietti, A reassessment of the association between azulene and [60]fullerene. Possible pitfalls in the determination of binding constants through fluorescence spectroscopy, *Chemical Communications* (2008) 4744–4746. <https://doi.org/10.1039/B808357F>.
- [119] D.P. Heller, C.L. Greenstock, Fluorescence lifetime analysis of DNA intercalated ethidium bromide and quenching by free dye, *Biophys. Chem.* 50 (1994) 305–312. [https://doi.org/10.1016/0301-4622\(93\)E0101-A](https://doi.org/10.1016/0301-4622(93)E0101-A).
- [120] K. Nakamoto, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds: Part B: Applications in Coordination, Organometallic, and Bioinorganic Chemistry*, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds: Part B: Applications in Coordination, Organometallic, and Bioinorganic Chemistry* (2008) 1–408. <https://doi.org/10.1002/9780470405888>.
- [121] A. Szorcsik, L. Nagy, J. Sletten, G. Szalontai, E. Kamu, T. Fiore, L. Pellerito, E. Kálmán, Preparation and structural studies on dibutyltin(IV) complexes with pyridine mono- and dicarboxylic acids, *J. Organomet. Chem.* 689 (2004) 1145–1154. <https://doi.org/10.1016/J.JORGANCHEM.2003.11.040>.
- [122] M. Zampakou, N. Rizeq, V. Tangoulis, A.N. Papadopoulos, F. Perdih, I. Turel, G. Psomas, Manganese(II) complexes with the non-steroidal anti-inflammatory drug tolfenamic acid: Structure and biological perspectives, *Inorg. Chem.* 53 (2014) 2040–2052. https://doi.org/10.1021/IC4025487/SUPPL_FILE/IC4025487_SI_005.CIF.
- [123] J. Feng, X. Du, H. Liu, X. Sui, C. Zhang, Y. Tang, J. Zhang, Manganese-mefenamic acid complexes exhibit high lipooxygenase inhibitory activity, *Dalton Transactions* 43 (2014) 10930–10939. <https://doi.org/10.1039/C4DT01111B>.
- [124] P. Tsiliki, F. Perdih, I. Turel, G. Psomas, Structure, DNA- and albumin-binding of the manganese(II) complex with the non-steroidal antiinflammatory drug niflumic acid, *Polyhedron* 53 (2013) 215–222. <https://doi.org/10.1016/J.POLY.2013.01.049>.
- [125] M. Zampakou, V. Tangoulis, C.P. Raptopoulou, V. Psycharis, A.N. Papadopoulos, G. Psomas, Structurally diverse manganese(II)-diclofenac complexes showing enhanced antioxidant activity and affinity to serum albumins in comparison to sodium diclofenac, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2015 (2015) 2285–2294. <https://doi.org/10.1002/EJIC.201500078;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTER>.
- [126] B.J. Pages, D.L. Ang, E.P. Wright, J.R. Aldrich-Wright, Metal complex interactions with DNA, *Dalton Trans.* 44 (2015) 3505–3526. <https://doi.org/10.1039/C4DT02700K>.
- [127] Y. Liu, L. Wan, C.K. Ngai, Y. Wang, S.L. Lam, P. Guo, Structures and conformational dynamics of DNA minidumbbells in pyrimidine-rich repeats associated with neurodegenerative diseases, *Comput. Struct.*

- Biotechnol. J. 21 (2023) 1584–1592.
<https://doi.org/10.1016/J.CSBJ.2023.02.010>.
- [128] C. Hofr, N. Farrell, V. Brabec, Thermodynamic properties of duplex DNA containing a site-specific d(GpG) intrastrand crosslink formed by an antitumor dinuclear platinum complex, *Nucleic Acids Res.* 29 (2001) 2034–2040. <https://doi.org/10.1093/NAR/29.10.2034>.
- [129] Hamilton Richard J., *Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2015: Deluxe Lab-Coat Edition*, 16th edition, Jones & Bartlett Learning / Tarascon, Burlington, Massachusetts, USA, 2015.
https://www.researchgate.net/publication/272681064_Tarascon_Pocket_Pharmacopoeia_2015 (accessed June 19, 2026).
- [130] A. Wolfe, G.H. Shimer, T. Meehan, Polycyclic aromatic hydrocarbons physically intercalate into duplex regions of denatured DNA, *Biochemistry* 26 (1987) 6392–6396.
<https://doi.org/10.1021/BI00394A013>.
- [131] A.M. Pizarro, P.J. Sadler, Unusual DNA binding modes for metal anticancer complexes, *Biochimie* 91 (2009) 1198–1211.
<https://doi.org/10.1016/j.biochi.2009.03.017>.
- [132] J.R. Lakowicz, *Principles of fluorescence spectroscopy*, *Principles of Fluorescence Spectroscopy* (2006) 1–954. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-46312-4>.
- [133] D.P. Heller, C.L. Greenstock, Fluorescence lifetime analysis of DNA intercalated ethidium bromide and quenching by free dye, *Biophys. Chem.* 50 (1994) 305–312. [https://doi.org/10.1016/0301-4622\(93\)E0101-A](https://doi.org/10.1016/0301-4622(93)E0101-A).
- [134] S. Perontsis, G.D. Geromichalos, A. Pekou, A.G. Hatzidimitriou, A. Pantazaki, K.C. Fylaktakidou, G. Psomas, Structure and biological evaluation of pyridine-2-carboxamidine copper(II) complex resulting from N'-(4-nitrophenylsulfonyloxy)-2-pyridine-carboxamidoxime, *J. Inorg. Biochem.* 208 (2020) 111085.
<https://doi.org/10.1016/J.JINORGBIO.2020.111085>.
- [135] O.H. Laitinen, V.P. Hytönen, H.R. Nordlund, M.S. Kulomaa, Genetically engineered avidins and streptavidins, *Cellular and Molecular Life Sciences* 63 (2006) 2992–3017. <https://doi.org/10.1007/S00018-006-6288-Z/METRICS>.
- [136] M. Naldi, M. Baldassarre, M. Domenicali, M. Bartolini, P. Caraceni, Structural and functional integrity of human serum albumin: Analytical approaches and clinical relevance in patients with liver cirrhosis, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 144 (2017) 138–153.
<https://doi.org/10.1016/J.JPBA.2017.04.023>.
- [137] S. Naithani, M. Sharma, S. Kumar, P. Prasher, Coordination chemistry of mefenamic acid with bioactive first-row transition metals: Insights into their DNA binding and anticancer potential, *Coord. Chem. Rev.* 543 (2025) 216943. <https://doi.org/10.1016/J.CCR.2025.216943>.
- [138] G. Sudlow, D.J. Birkett, D.N. Wade, Further characterization of specific drug binding sites on human serum albumin, *Mol. Pharmacol.* 12 (1976) 1052–1061. [https://doi.org/10.1016/s0026-895x\(25\)10855-9](https://doi.org/10.1016/s0026-895x(25)10855-9).
- [139] M. Lazou, A. Tarushi, P. Gritzapis, G. Psomas, Transition metal complexes with a novel guanine-based (E)-2-(2-(pyridin-2-ylmethylene)hydrazinyl)quinazolin-4(3H)-one: Synthesis,

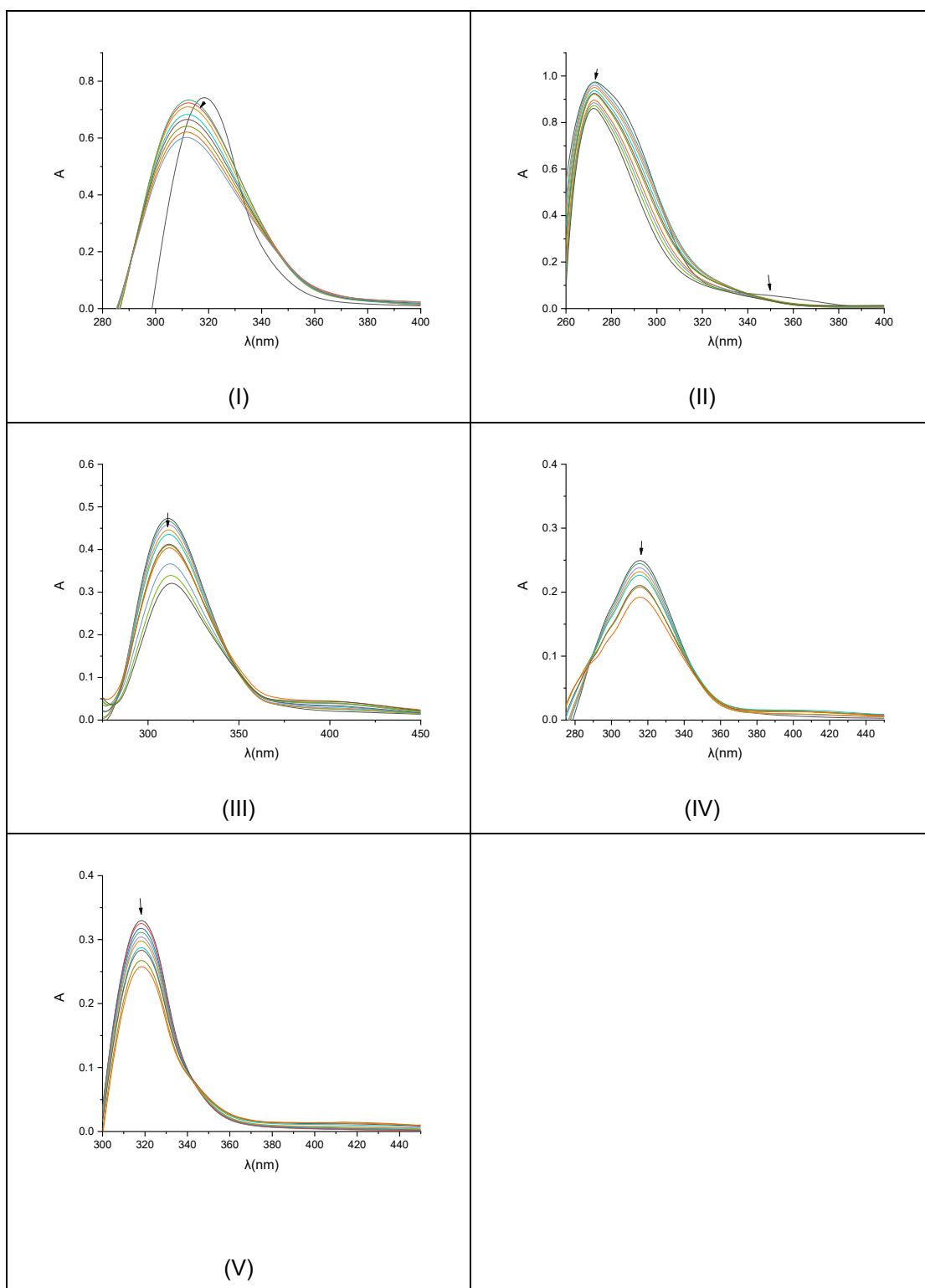
- characterization, interaction with DNA and albumins and antioxidant activity, *J. Inorg. Biochem.* 206 (2020) 111019. <https://doi.org/10.1016/J.JINORGBIO.2020.111019>.
- [140] G. Psomas, Copper(II) and zinc(II) coordination compounds of non-steroidal anti-inflammatory drugs: Structural features and antioxidant activity, *Coord. Chem. Rev.* 412 (2020) 213259. <https://doi.org/10.1016/J.CCR.2020.213259>.
- [141] C. Tolia, A.N. Papadopoulos, C.P. Raptopoulou, V. Psycharis, C. Garino, L. Salassa, G. Psomas, Copper(II) interacting with the non-steroidal antiinflammatory drug flufenamic acid: Structure, antioxidant activity and binding to DNA and albumins, *J. Inorg. Biochem.* 123 (2013) 53–65. <https://doi.org/10.1016/J.JINORGBIO.2013.02.009>.
- [142] F. Dimiza, S. Fountoulaki, A.N. Papadopoulos, C.A. Kontogiorgis, V. Tangoulis, C.P. Raptopoulou, V. Psycharis, A. Terzis, D.P. Kessissoglou, G. Psomas, Non-steroidal antiinflammatory drug-copper(II) complexes: Structure and biological perspectives, *Dalton Transactions* 40 (2011) 8555–8568. <https://doi.org/10.1039/C1DT10714C>.
- [143] A. Bampa, A.G. Hatzidimitriou, G. Psomas, Copper(II) complexes with meclofenamate ligands: Structure, interaction with DNA and albumins, antioxidant and anticholinergic activity, *J. Inorg. Biochem.* 217 (2021) 111357. <https://doi.org/10.1016/J.JINORGBIO.2021.111357>.
- [144] M. Wettasinghe, F. Shahidi, Scavenging of reactive-oxygen species and DPPH free radicals by extracts of borage and evening primrose meals, *Food Chem.* 70 (2000) 17–26. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00269-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00269-1).
- [145] G. Malis, A. Roussa, E.A. Papantopoulou, S. Kalogiannis, A.G. Hatzidimitriou, K.C. Fylaktakidou, G. Psomas, Cobalt(II) Complexes of 4'-Nitro-Fenamic Acid: Characterization and Biological Evaluation, *Molecules* 30 (2025) 2621. <https://doi.org/10.3390/molecules30122621>.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

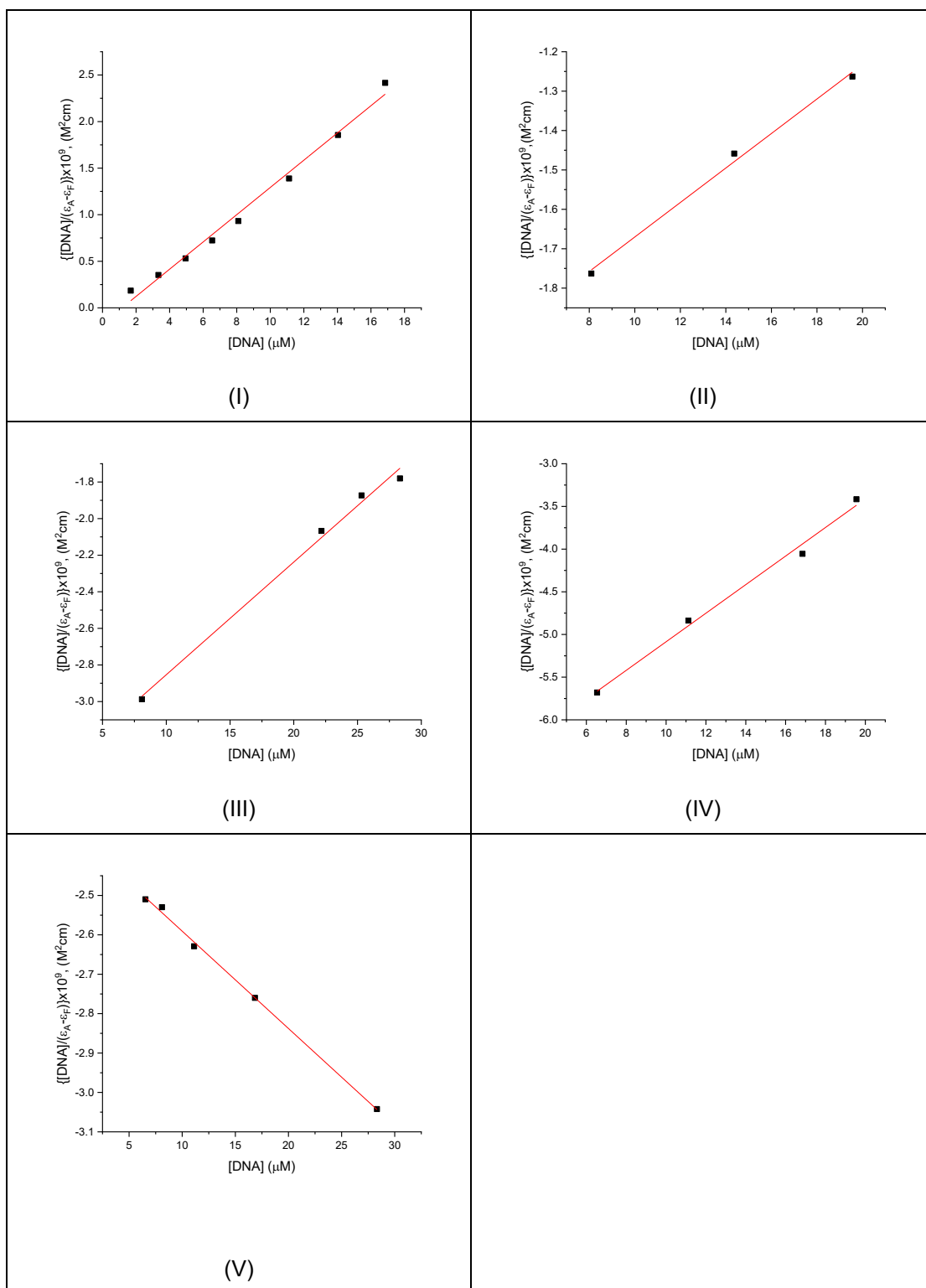




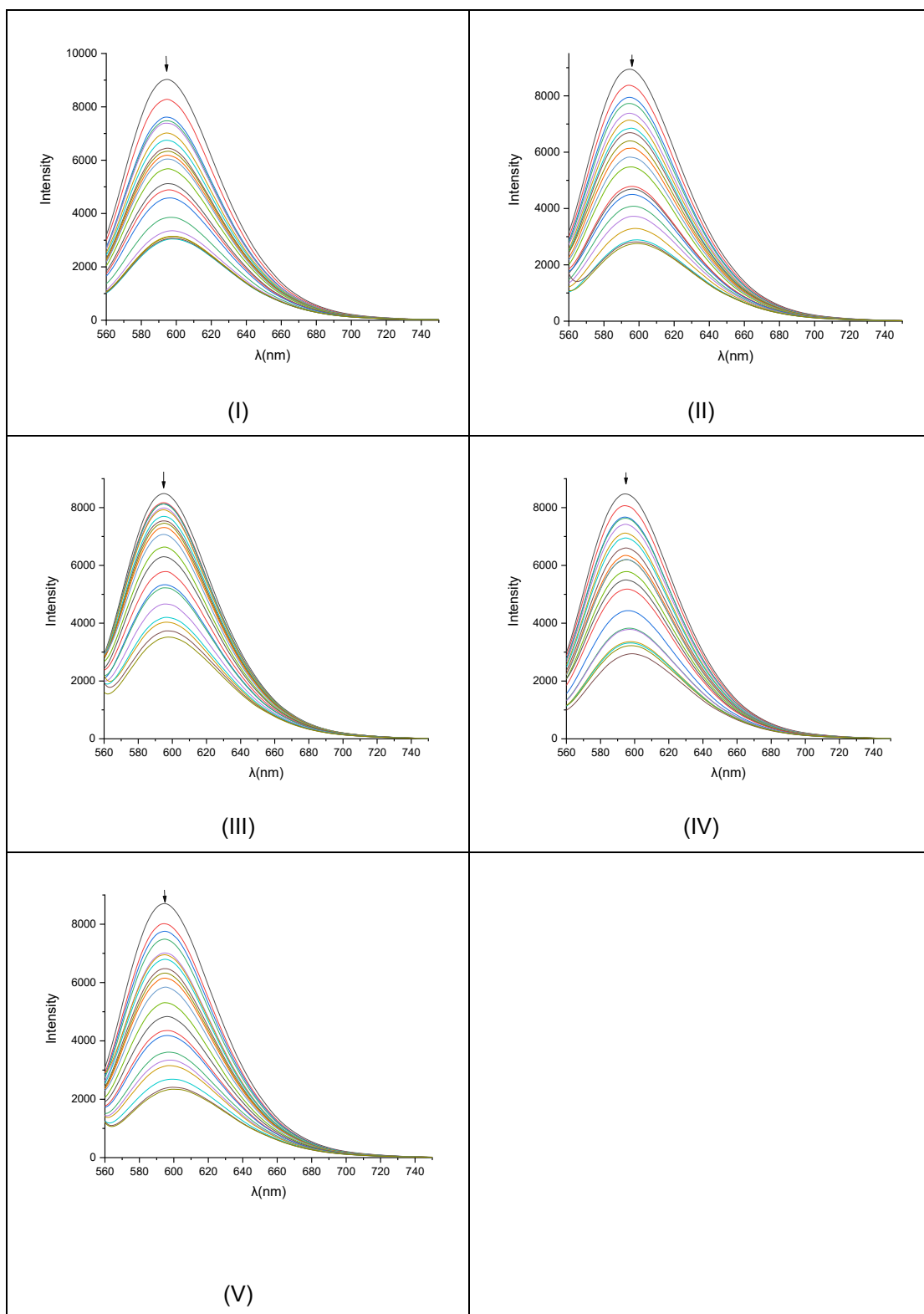
Εικόνα 57 Φάσμα υπεράθρου των ενώσεων.



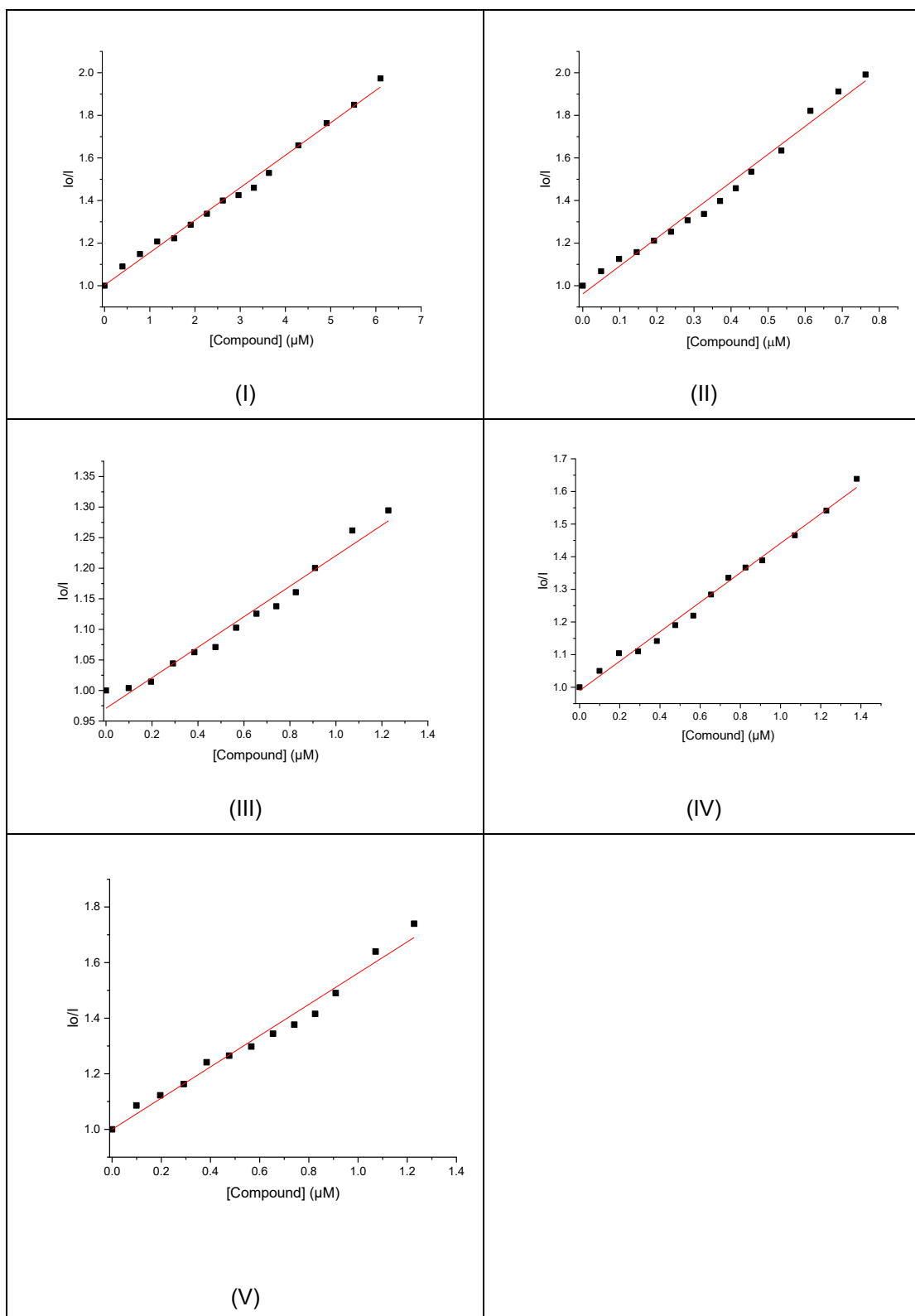
Εικόνα 58 Φάσμα UV-νίς διαλύματος DMSO των συμπλόκων (I)-(V) (5 – 10 μ M) παρουσία CT DNA σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις. Τα βέλη υποδηλώνουν τις μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά την προσθήκη του διαλύματος του CT DNA.



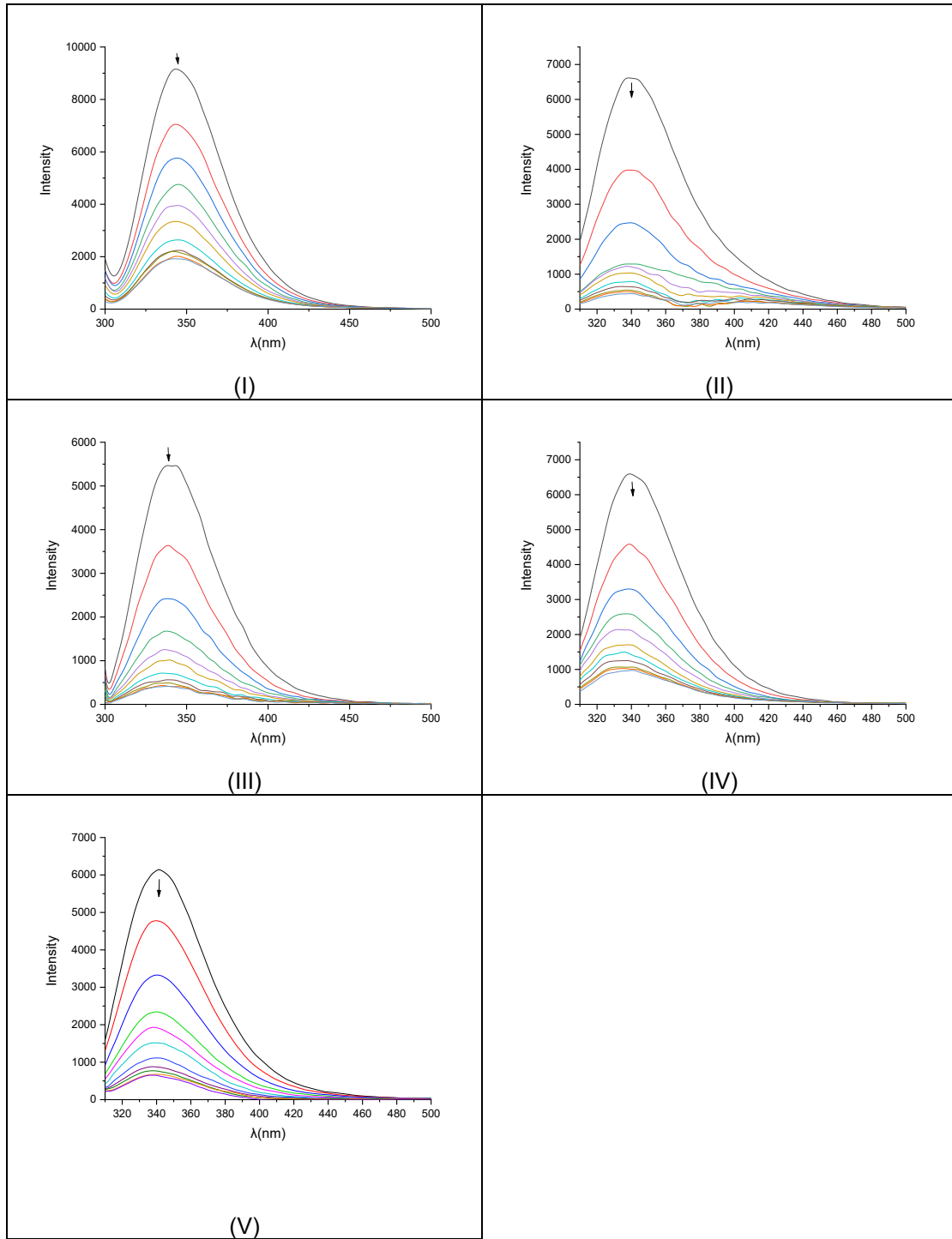
Εικόνα 59 Διαγράμματα υπολογισμού K_b για τα σύμπλοκα (I) – (V).



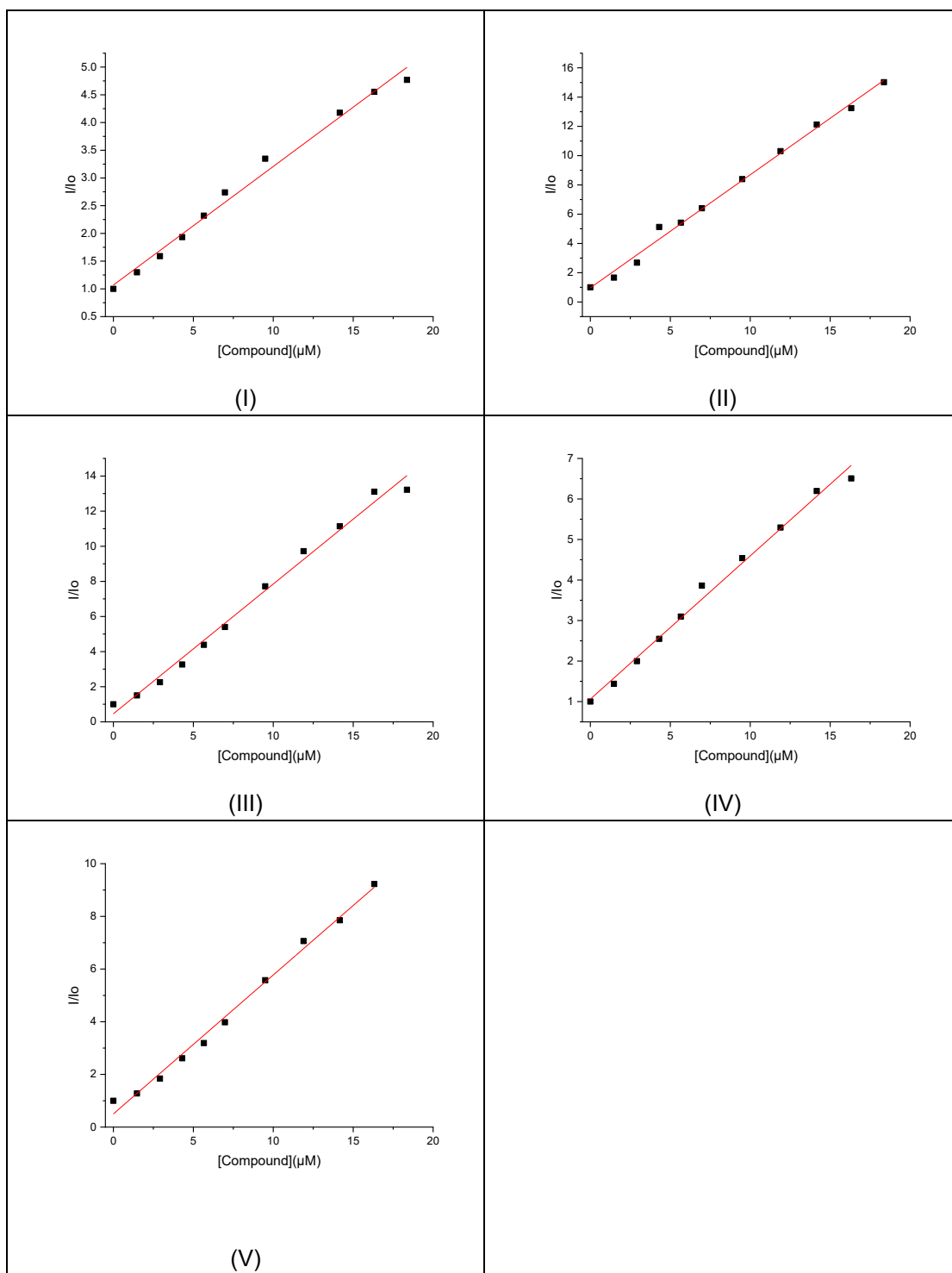
Εικόνα 60 Φάσματα εκπομπής φθορισμού EB-DNA ($\lambda_{\delta i \epsilon \gamma} = 592 \text{ nm}$) παρουσία των συμπλόκων I-V. Τα βέλη υποδηλώνουν τις μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά την προσθήκη του διαλύματος του συμπλόκου.



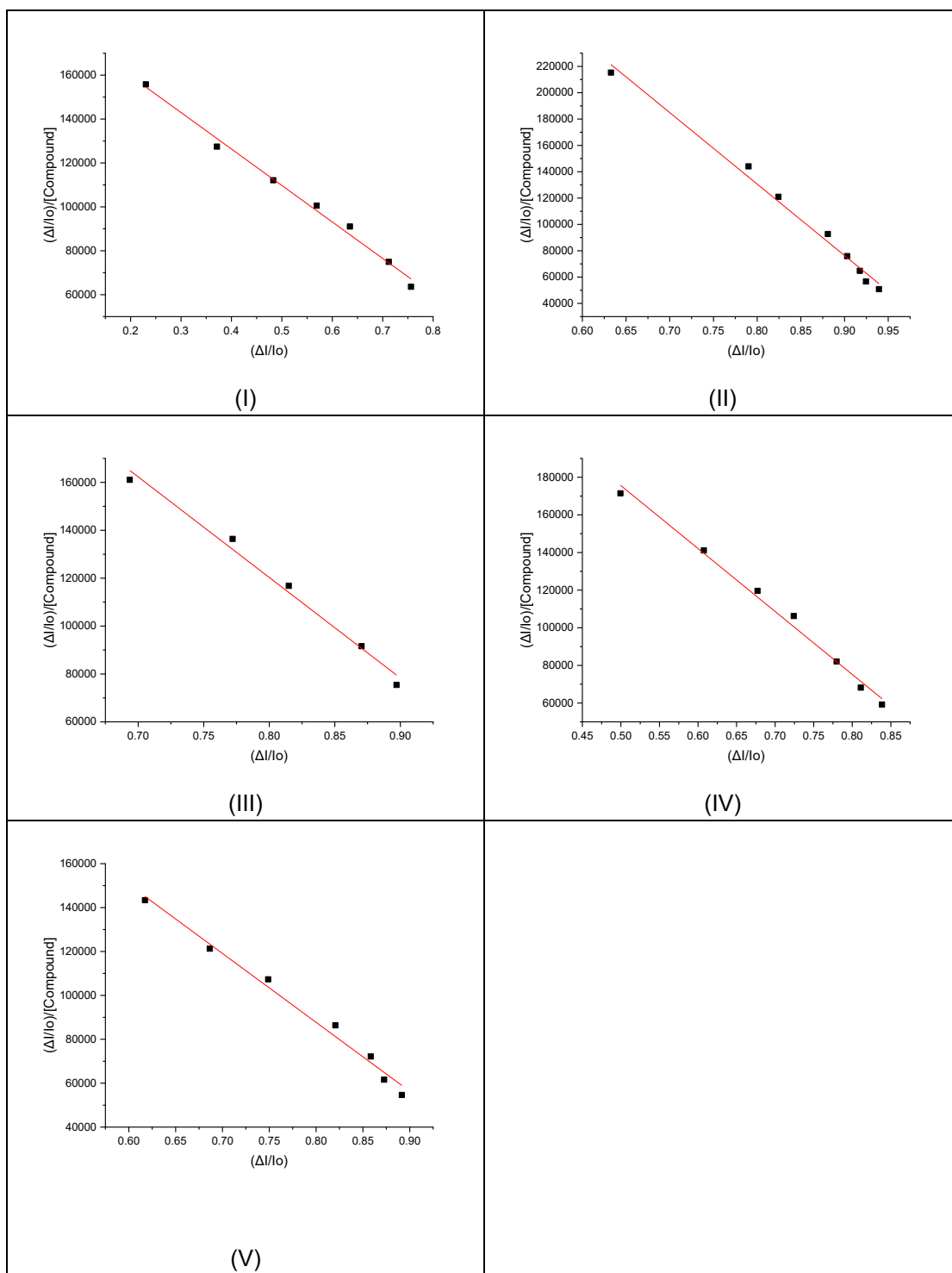
Εικόνα 61 Διαγράμματα Stern-Volmer της ελάττωσης φθορισμού EB-DNA για τα σύμπλοκα I-V.



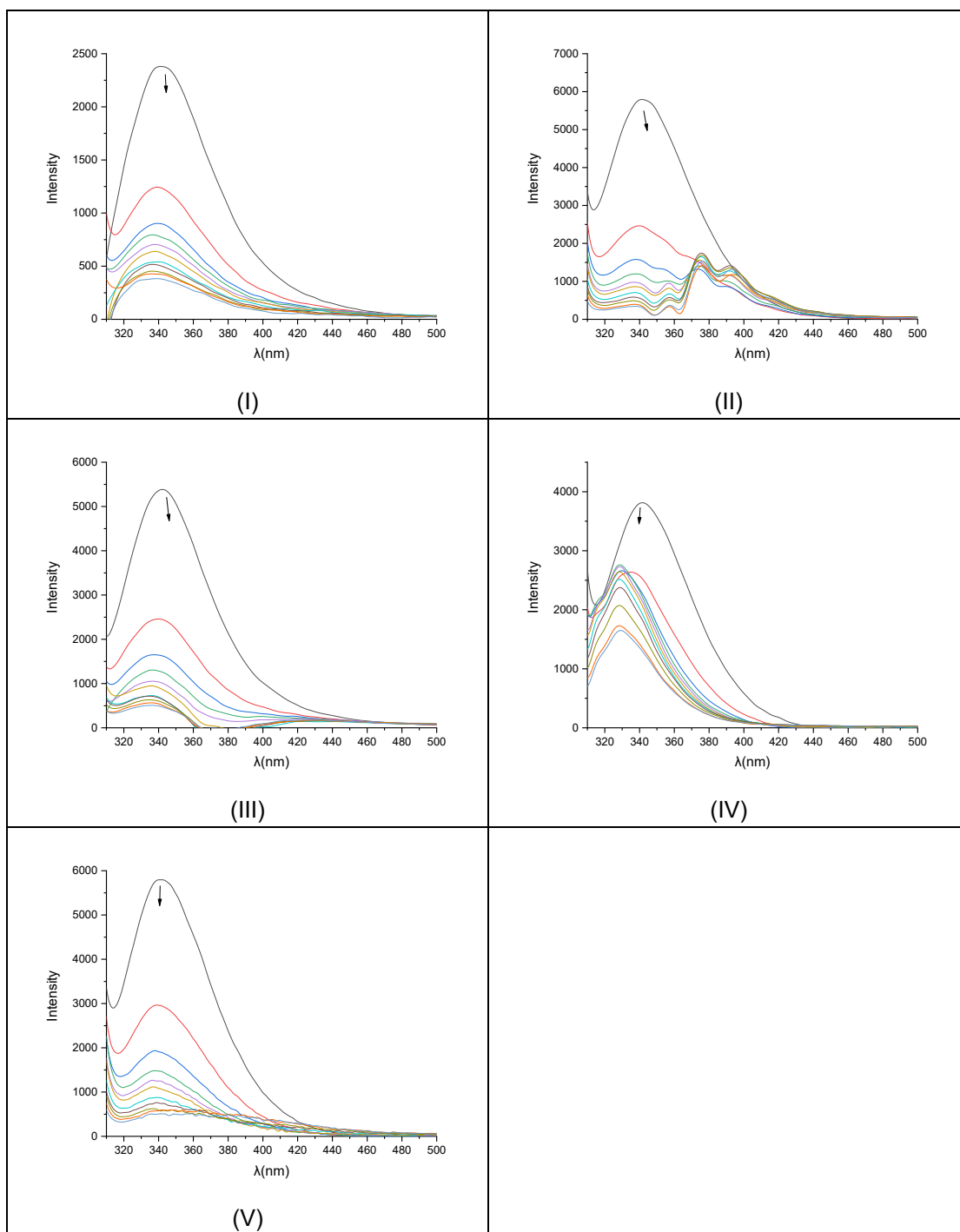
Εικόνα 62 Φάσματα εκπομπής φθορισμού της BSA ($\lambda_{\text{ διεγ }} = 295\text{nm}$) παρουσία των συμπλόκων I-V. Τα βέλη υποδηλώνουν τις μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά την προσθήκη του διαλύματος του συμπλόκου.



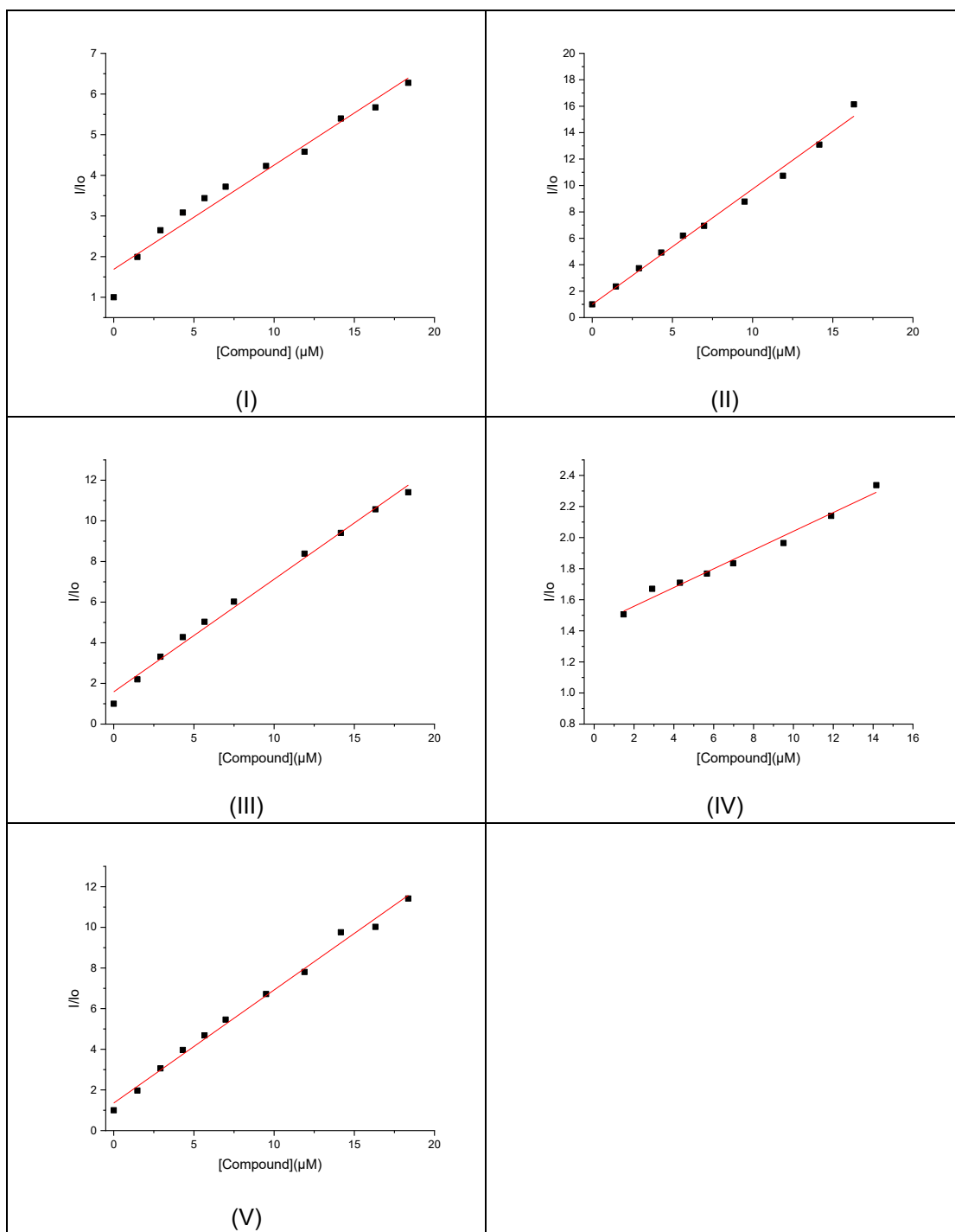
Εικόνα 63 Διαγράμματα Stern-Volmer της BSA για τα σύμπλοκα I-V.



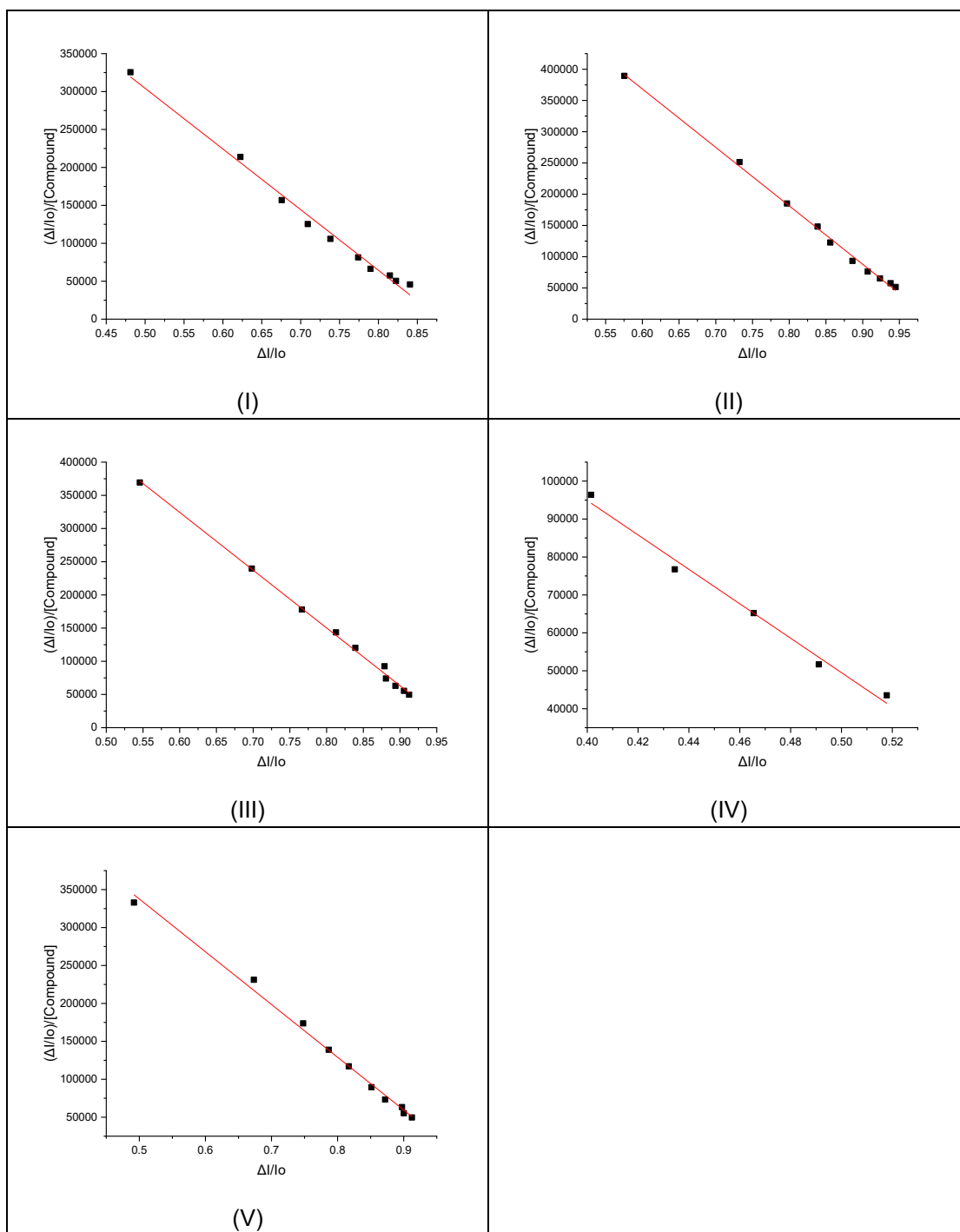
Εικόνα 64 Διαγράμματα Scatchard της BSA για τα σύμπλοκα I-V.



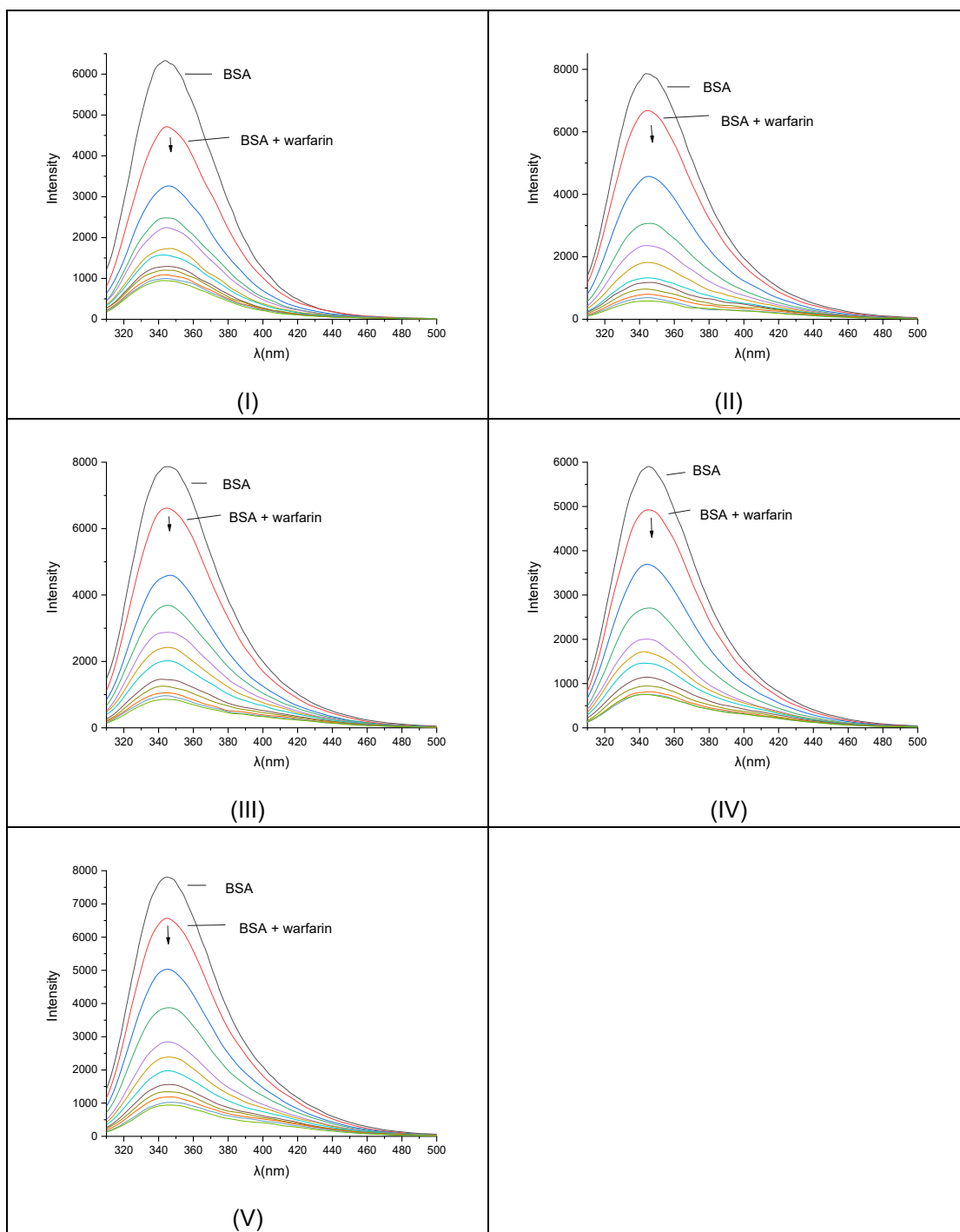
Εικόνα 65 Φάσματα εκπομπής φθορισμού της HSA ($\lambda_{\text{διεγ}} = 295 \text{ nm}$) παρουσία των συμπλόκων I-V. Τα βέλη υποδηλώνουν τις μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά την προσθήκη του διαλύματος του συμπλόκου.



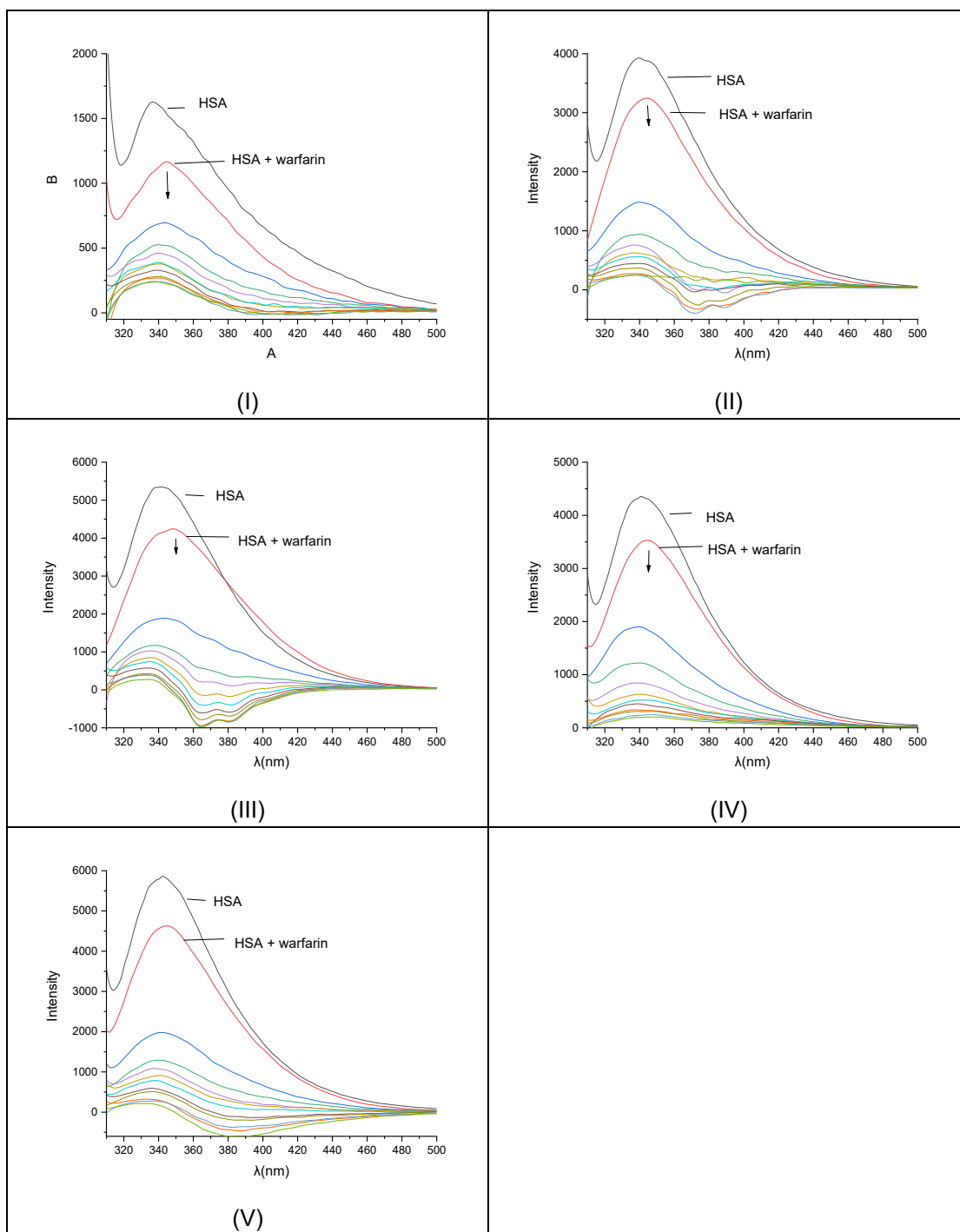
Εικόνα 66 Διαγράμματα Stern-Volmer της HSA για τα σύμπλοκα I-V.



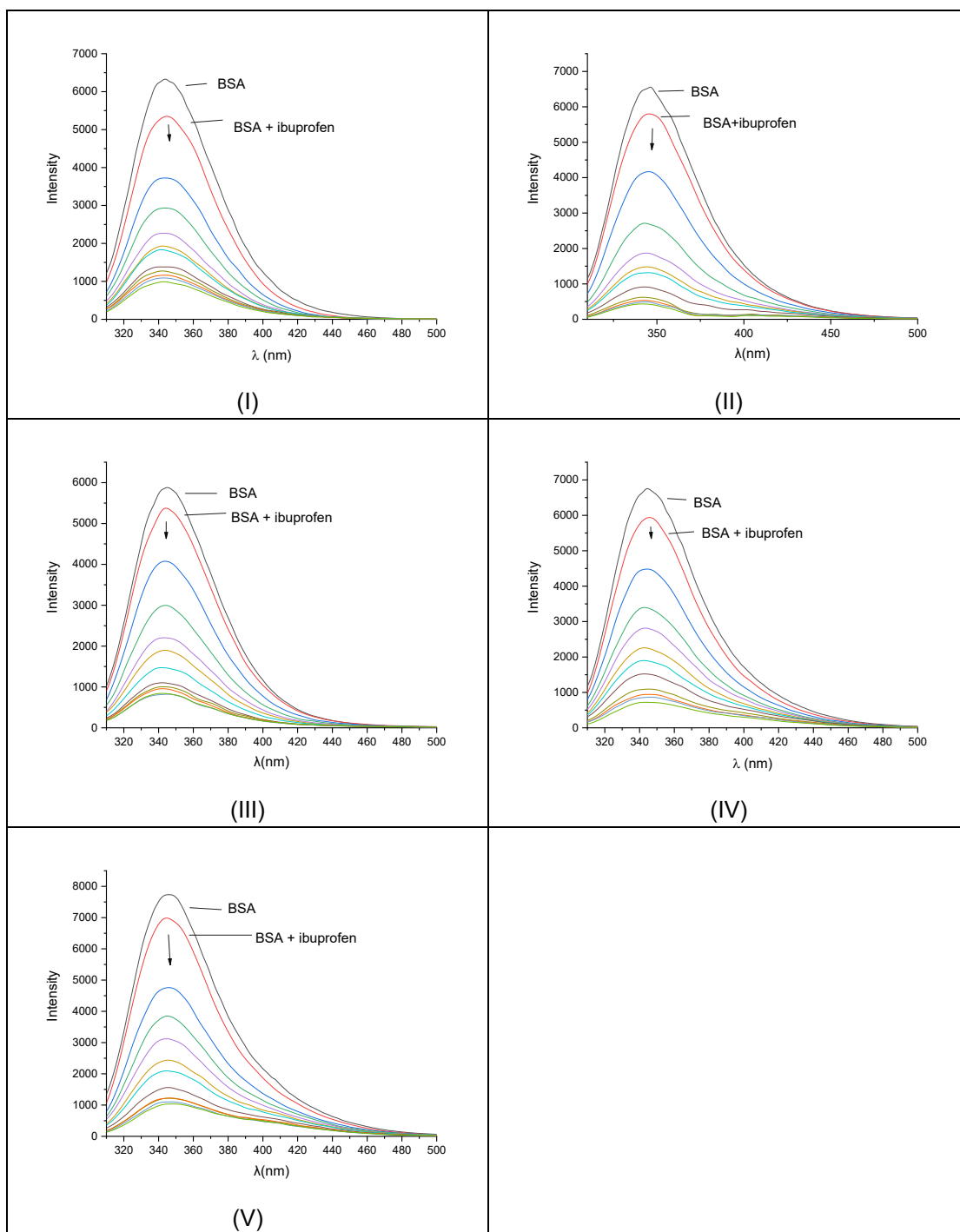
Εικόνα 67 Διαγράμματα Scatchard της HSA για τα σύμπλοκα I-V.



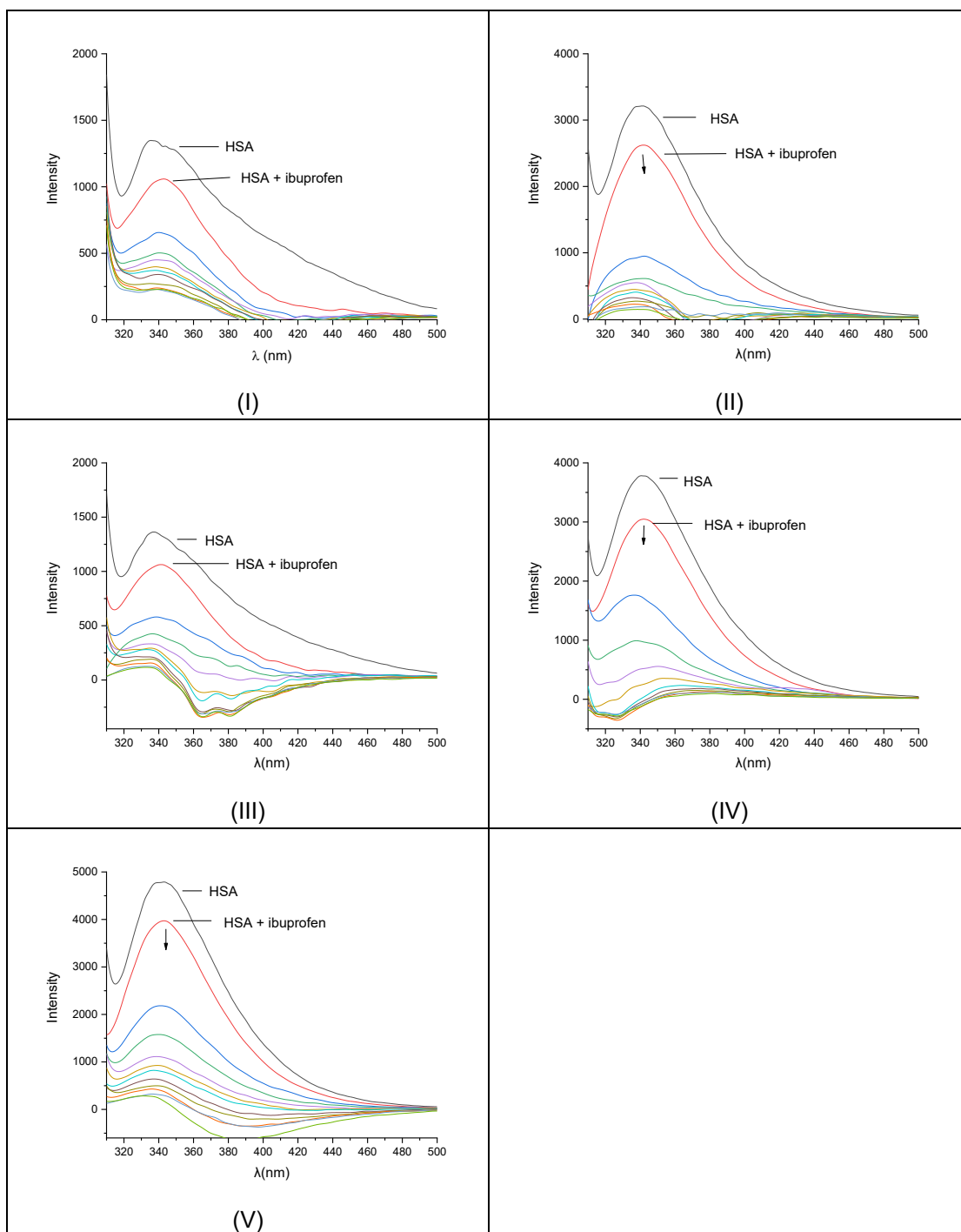
Εικόνα 68 Φάσματα εκπομπής φθορισμού της BSA ($\lambda_{\text{ διεγ }} = 295\text{nm}$) παρουσία βαρφαρίνης και των συμπλόκων I-V. Τα βέλη υποδηλώνουν τις μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά την προσθήκη του διαλύματος του συμπλόκου.



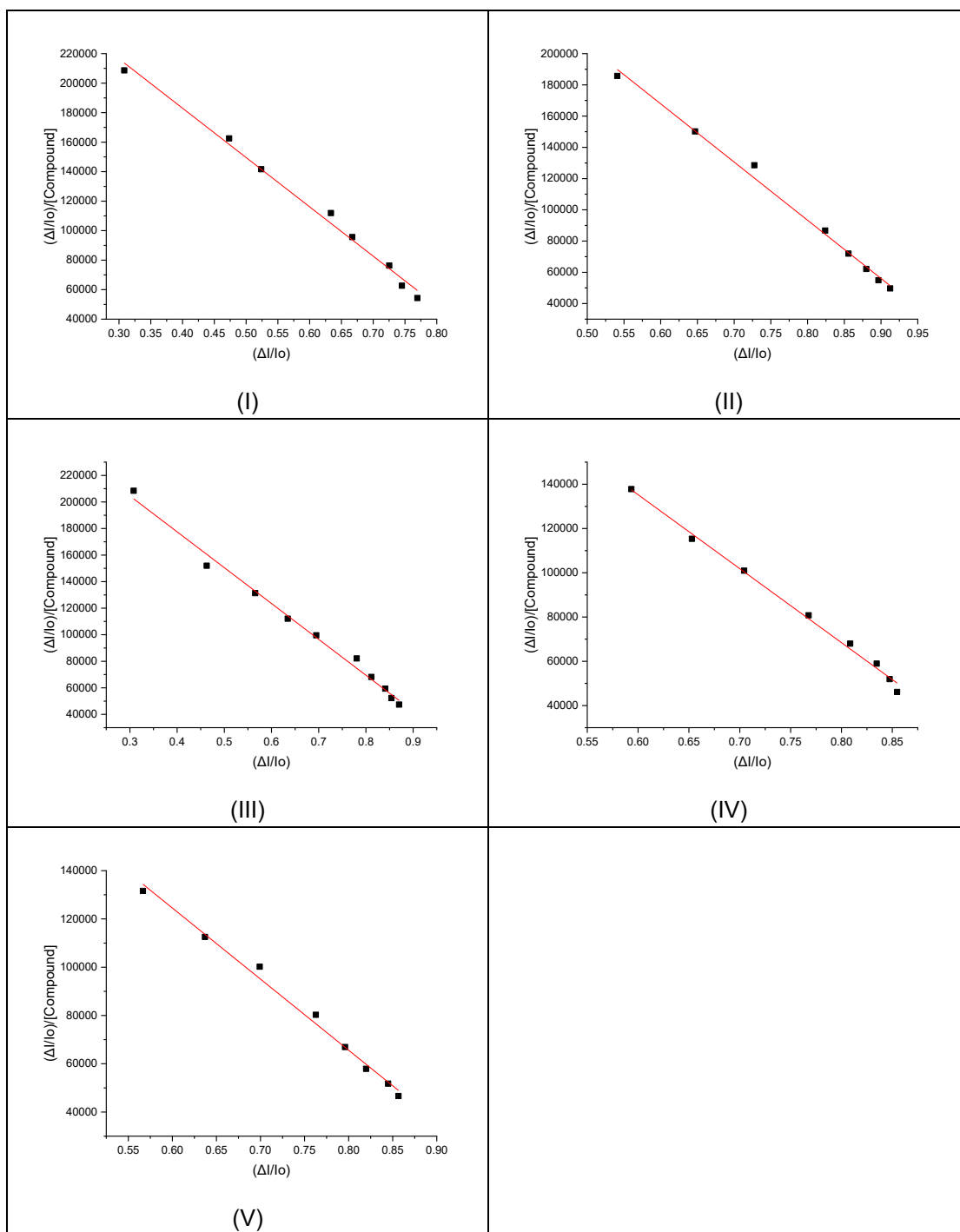
Εικόνα 69 Φάσματα εκπομπής φθορισμού της HSA ($\lambda_{\text{ διεγ }} = 295\text{nm}$) παρουσία βαρφαρίνης και των συμπλόκων I-V. Τα βέλη υποδηλώνουν τις μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά την προσθήκη του διαλύματος του συμπλόκου.



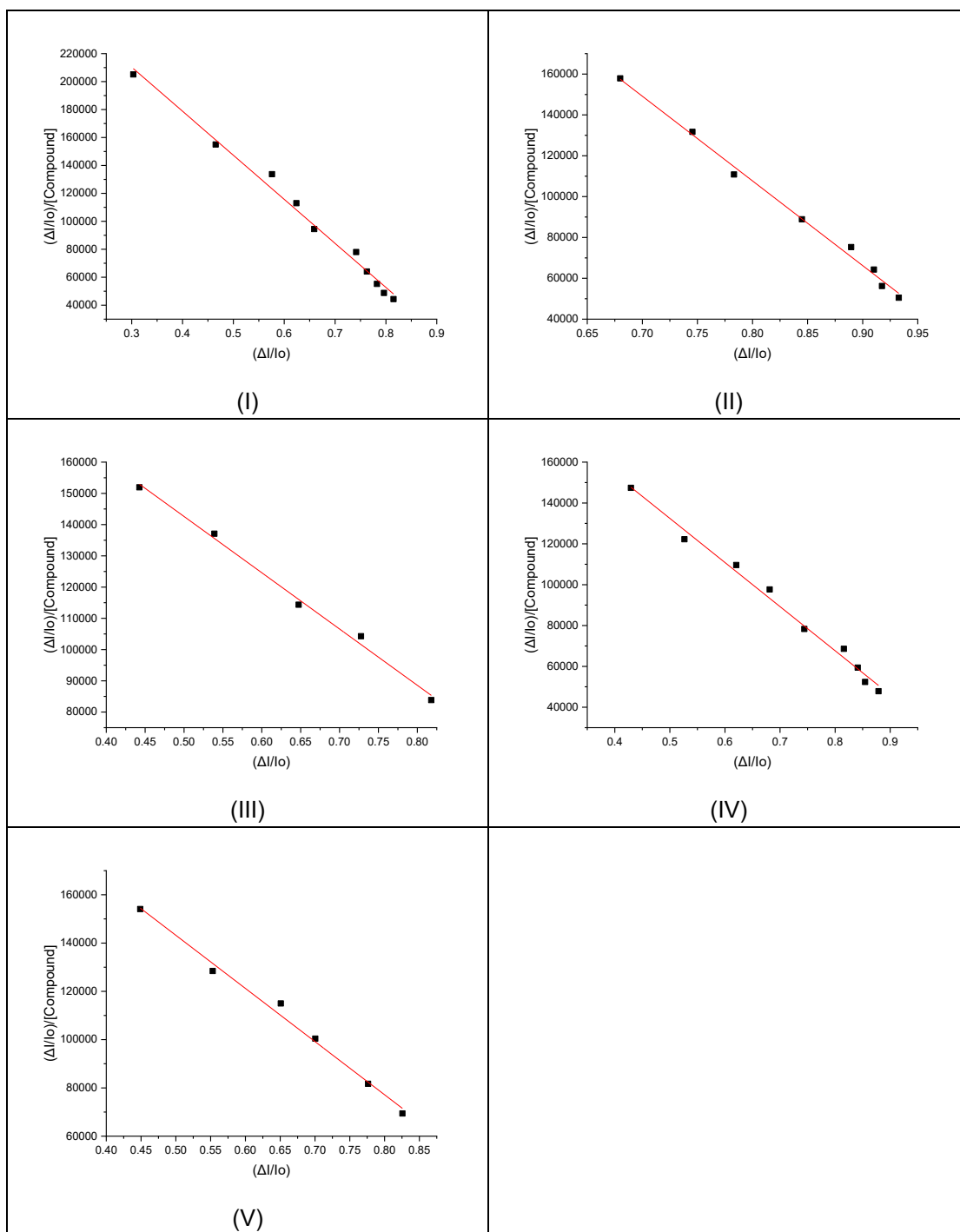
Εικόνα 70 Φάσματα εκπομπής φθορισμού της BSA ($\lambda_{\text{dieg}} = 295\text{nm}$) παρουσία ιβουπροφαίνης και των συμπλόκων I-V. Τα βέλη υποδηλώνουν τις μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά την προσθήκη του διαλύματος του συμπλόκου.



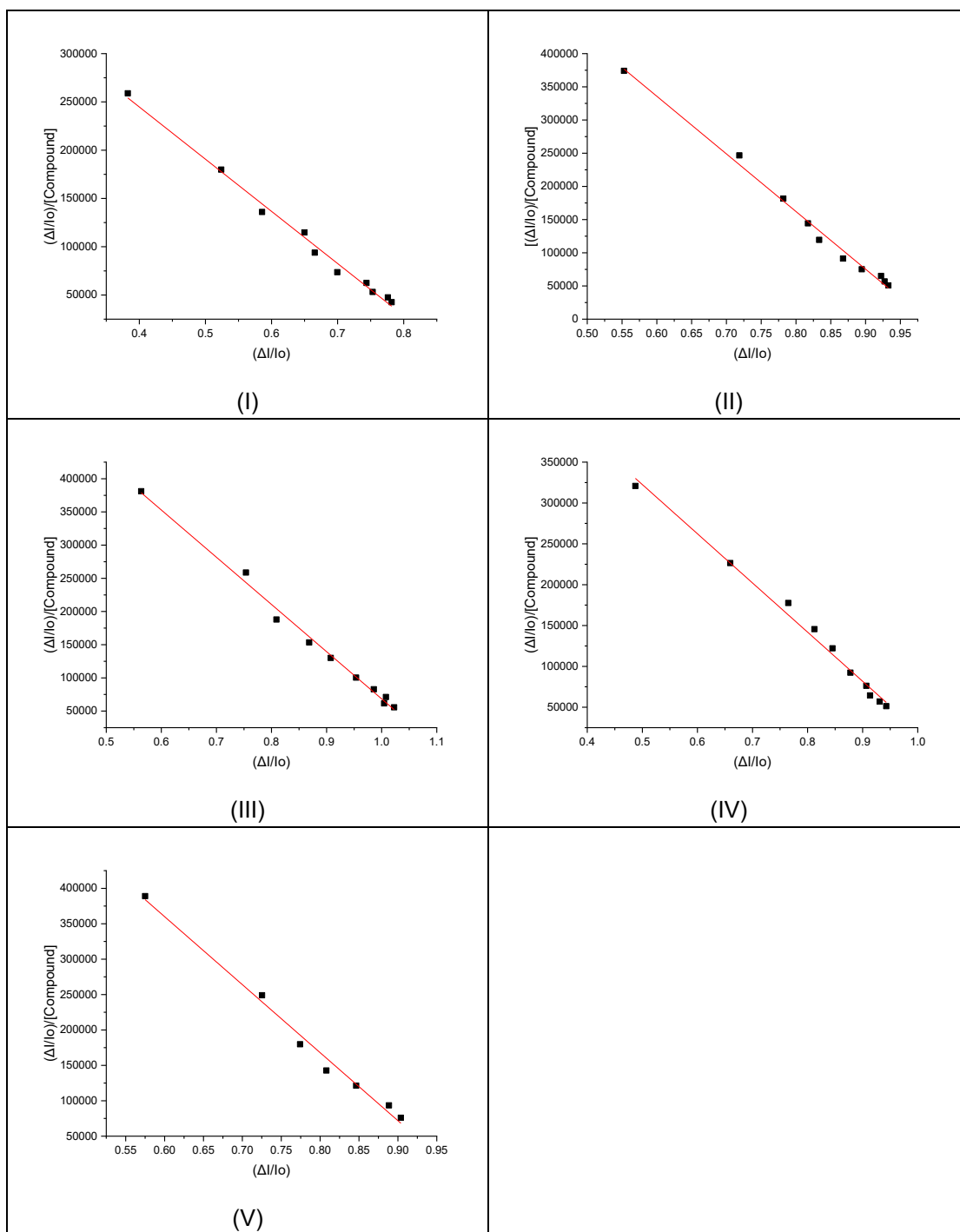
Εικόνα 71 Φάσματα εκπομπής φθορισμού της HSA ($\lambda_{\text{dieg}} = 295\text{nm}$) παρουσία ιβουπροφαίνης και των συμπλόκων I-V. Τα βέλη υποδηλώνουν τις μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά την προσθήκη του διαλύματος του συμπλόκου.



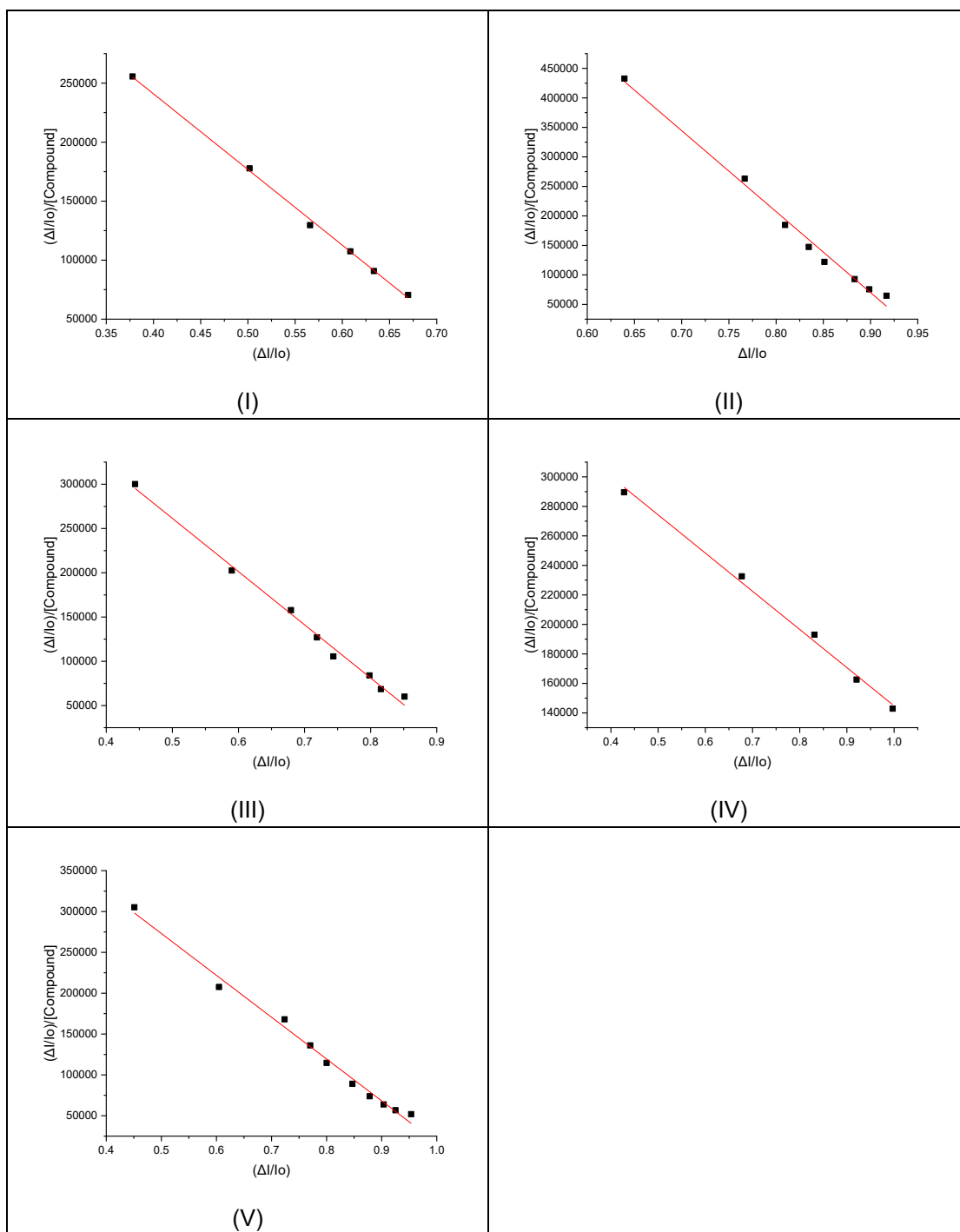
Εικόνα 72 Διαγράμματα Scatchard της BSA με Warfarin για τα σύμπλοκα I-V.



Εικόνα 73 Διαγράμματα Scatchard της BSA με Ibumprofen για τα σύμπλοκα I-V.



Εικόνα 74 Διαγράμματα Scatchard της HSA με Warfarin για τα σύμπλοκα I-V.



Εικόνα 75 Διαγράμματα Scatchard της HSA με Ibumprofen για τα σύμπλοκα I-V.

